Transformacijski put modela lijekova u klorirajućim uvjetima. Kvantno-kemijska studija

Preradović, Ratko

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:670348

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

Ratko Preradović

Transformacijski put modela lijekova u klorirajućim uvjetima. Kvantno-kemijska studija

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2022. godina.

Ovaj diplomski rad prijavljuje Ratko Preradović, student studija Farmacije na kolegiju Analitička kemija 1 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta. Diplomski rad izrađen je na Zavodu za analitičku kemiju pod stručnim vodstvom doc. dr. sc. Davora Šakića.

Prvenstveno se želim zahvaliti svom mentoru doc. dr. sc. Davoru Šakiću na iznimnom strpljenju, pomoći i dostupnosti u svako doba dana tijekom pisanja ovog rada.
Zahvaljujem se i svim ostalim profesorima koji su tijekom studija uložili svoje vrijeme i znanje u moje obrazovanje.
Beskrajne zahvale mojoj obitelji na podršci, strpljenju i razumijevanju svih mojih uspjeha i neuspjeha tijekom studiranja, hvala vam što ste vjerovali u mene i bodrili me čak i onda kad to nisam zaslužio.
Hvala mojoj majci na tome što mi je uvijek bila oslonac u životu.
Hvala mome djedu Ljubanu i mojoj baki Slavici na svakom savjetu i toploj riječi.
Hvala Marini na svakoj skripti, bilježnici i pomoći tijekom studiranja.
Hvala svim mojim prijateljima koji su studiranje učinili ljepšim, a studentski život lakšim i zanimljivijim, te se pobrinuli da ovaj period života bude nešto nezaboravno.

SADRŽAJ:

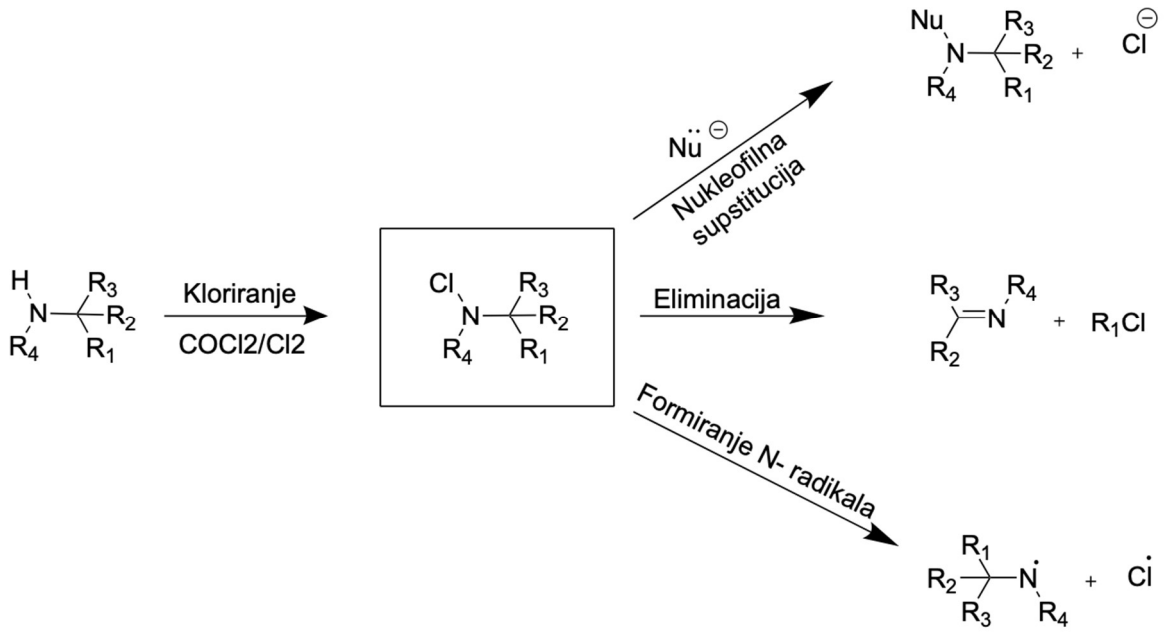
1.UVOD 1
1.1. Lijekovi u okolišu…….....1
1.2. Model lijekova u okolišu.....3
1.3. Piperidin, piperazin i pirolidin kao model lijekova u okolišu …….....7
1.4. Hipokloritna kiselina u vodenom okolišu……9
1.5. Hoffman-Löffler-Freytag (HLF) reakcija……..……..…….11
2.OBRAZLOŽENJE TEME 13
3.MATERIJALI I METODE 14
4. REZULTATI I RASPRAVA 16
4.1. Kloriranje.....16
4.2. Generiranje N-radikala.....18
4.3. Pregradnja N-radikala.....20
4.4. Rekombinacija radikala…….…….22
4.5. Ciklizacija prstena…….…….24
5.ZAKLJUČAK 26
6. LITERATURA.....27
7. SAŽETAK.....30
7.SUMMARY 31
8.PRILOZI 32

1. Uvod

1.1. Lijekovi u okolišu

Nakon primjene lijeka u organizmu lijek se iz organizma eliminira u nepromijenjenom stanju ili u obliku metabolita te kao takav završava u otpadnim vodama putem urina ili fecesa. U istim se tim vodama nalaze i lijekovi bačeni u kanalizaciju ili ispušteni lijekovi iz industrijskih postrojenja. Otpadne vode se pročišćavaju prije ispuštanja u okoliš nizom tehnika, bilo mehaničkih, kemijskih ili bioloških te se na kraju dobiva mulj i prerađena otpadna voda. Prerađene otpadne vode završavaju u rijekama ili u moru, dok se mulj koristi kao gnojivo u poljoprivredi i posipa po poljoprivrednim poljima. Ispiranjem mulja također se može onečistiti vodeni okoliš što može izazvati štetne posljedice na kopnenim i vodenim organizmima u vidu anomalija, bolesti ili poremećenog razvoja, a posljedično i štetne učinke na ljudski organizam (Šakić, 2015).

U vodenom mediju farmaceutici se pregrađuju nizom (foto)kemijskih i biokemijskih reakcija pri čemu mogu nastati metaboliti s različitim kinetičkim, termodinamičkim i eko-toksikološkim profilom u odnosu na početni spoj. Od osobitog su interesa oksidacijske reakcije nastale obradom otpadnih voda kloriranjem ($HOCl/Cl_2$). U reakcijama s klorirajućim specijama metaboliti lijekova, među kojima su nama najzanimljiviji oni koji sadrže amino skupinu, nastaju N-kloramini koji su reaktivniji, toksičniji i perzistentniji oblici. (Šakić, 2015.) Najčešći lijekovi koji dijele tu sudbinu su benzodiazepini, antidepresivi (fluoksetin), antipsihotici (haloperidol), antibiotici (sulfonamidi, klaritromicin, ciprofloksacin, doksicilin, eritromicin,norfloksacin, trimetoprim, metronidazol), hipolipemici (fenofibrat, gemfibrozil, ezetimib), β – blokatori (atenolol, metoprolol, acebutolol, prapranolol, sotalol), psihostimulansi (kofein) te nesteroidni protuupalni lijekovi (diklofenak, kodein, ibuprofen, naproksen, ketoprofen, indometacin) (Koopaei i sur.,2017).



Shema 1. Reakcije formiranja i pregrađivanja N-kloramina

N-halogenski derivati farmaceutika su nestabilni spojevi koji se mogu pregraditi u niz produkata u reakcijama nukleofilne supstitucije, eliminacije, fragmentacije te stvarati reaktivne N-radikale (Shema 1.). Ključni su međuprodukti u razgradnji bioloških molekula te su kao takvi veoma zanimljivi u istraživanjima (Šakić, 2015).

Eksperimentalni su podatci, kojima se može dokazati sudbina farmaceutika, često nepotpuni dok je identifikacija raspadnutih produkata provedena tek u nekoliko navrata. Da bi se valjano istražio ekološki rizik farmaceutika i njihovih metabolita, potrebno je dobro poznavanje reakcija pregrađivanja (Šakić, 2015).

1.2. Model lijekova u okolišu

Osnovna struktura alkilnog lanca s amino skupinom, poput 2-aminoheptana (Tuaminoheptane) posjeduje značajan farmakološki učinak. On je simpatomimetik koji se prvenstveno koristio kao nazalni dekongestiv i vazokonstriktor, a djeluje i kao inhibitor ponovne pohrane noradrenalina te svojim djelovanjem podsjeća na cikličke fenetilamine koji isto djeluju, ali imaju aromatski prsten u svojoj strukturi. Međutim, 2-aminoheptan uzrokuje nadraženost kože i kontaktni dermatitis što ograničava njegovu primjenu (Thevis i sur.,2007).

Najpoznatiji lijekovi fenetilaminske strukture su amfetamin, fentermin, levometamfetamin, pseudoefedrin, bupropion, selegilin i efedrin.

Amfetamin je otkriven prije više od 100 godina. Od onda pa do danas je prošao transformaciju od slobodno propisivanog lijeka za širok spektar oboljenja do visoko kontroliranog lijeka koji se koristi u svega nekoliko indikacija kao što su narkolepsija ili poremećaj pažnje uzrokovan hiperaktivnošću (ADHD). Kao molekula s jednim kiralnim centrom postojan je u dva oblika, kao (D-) i (L-) enantiomer pri čemu je (D-)enantiomer potentniji. Farmakološki je amfetamin prvenstveno bitan jer je u svojoj planarnoj strukturi nalik monoaminima pa služi kao supstrat noradrenalinskom (NET), dopaminskom (DAT) i serotoninskom (SERT) transporteru. Posreduje otpuštanju monoamina, inhibira ponovni povrat istih (djeluje kao kompetitivni inhibitor), te inhibira monoamin oksidazu (MAO) čime povećava koncentraciju monoamina u sinapsi. Ovakvi učinci amfetamina smanjuju anksioznost i depresiju kao komorbiditet ADHD-a. Također je jak psihostimulans jer povećava stupanj budnosti, popravlja raspoloženje te dovodi do euforije. Uzrokuje psihičku ovisnost. Kod nas nije registriran niti jedan lijek na bazi amfetamina dok se u Americi koristi u značajnoj mjeri (Heal i sur., 2013).

Fentermin (Adipex-P ®) je anoreksik kojeg je FDA odobrila 1959.godine kao potporu pri mršavljenju kod pretilih osoba (kada je BMI iznad 30). Zbog slične strukture s amfetaminom njegovo je propisivanje strogo kontrolirano. Kako je s amfetaminom strukturno sličan, slični su im i mehanizmi djelovanja. Fentermin povećava sinaptičku koncentraciju monoamina čime doprinosi osjećaju zadovoljstva i sitosti, a samim tim smanjuje i apetit (www.priručnik.hr).

Mnoge znanstvene studije potvrđuju djelotvornost fentermina, no njegova primjena bi trebala biti kratkotrajna. Neke znanstvene studije pokazuju kako fentermin najbolje djeluje u kombinaciji s topiramatom. Kombinacija fentermina i topiramata, poznata pod robnom markom Qsymia ®, je prema preporukama FDA moguća i u dugoročnoj primjeni jer sadrži znatno niže doze od maksimalnih svakog lijeka, no zbog čestih nuspojava u vidu umora, zatvora, suhoće

usta i lupanja srca njihova primjena nije preporučena duže od pet tjedana ukoliko gubitak kilograma nije veći od 12% početne tjelesne težine. Lijek je kontraindiciran u trudnica, dojilja te osoba sa hipertireozom, glaukomom i srčanim bolestima (www.priručnik.hr).

Efedrin (1R-2S-2-metilamino-1-fenilpropann-1-ol) je simpatomimetički agens izoliran prvenstveno iz biljke Ephedra sinica (Ephedraceae), ali i drugih vrsta porodice Ephedraceae, u kojoj je zastupljen kao glavni alkaloid. Može biti i sintetički pripravljen u laboratoriju (Limberger i sur., 2013).

Efedrin u svom najčišćem obliku se koristi u terapeutske svrhe kao bronhodilatator i dekongestiv, a zbog svoje strukture ima α-, β_1- i β_2- agonističko djelovanje. Također zbog svoje strukture djeluje nalik monoaminima, pa povećava stupanj budnosti i djeluje psihostimulativno. Zbog ovakvog farmakološkog profila često je zlouporabljen u sportu jer povećava izdržljivost i smanjuje tjelesnu težinu. Primjena mu je kontrolirana jer uz svoje dobre strane posjeduje niz neželjenih djelovanja koja se prvenstveno očituju na kardiovaskularnom sustavu. Efedrin se skoro potpuno apsorbira, ima veliki volumen distribucije i ne veže se na proteine plazme pa su mu visoke koncentacije slobodnog oblika u tkivima. Dobro prolazi kroz krvno-moždanu barijeru pa mu to doprinosi psihostimulativnom djelovanju. Podliježe hepatičkom metabolizmu i uglavnom se izlučuje nepromijenjen u urinu (samo se 8%-20% biotransformira) (Limberger i sur., 2013).

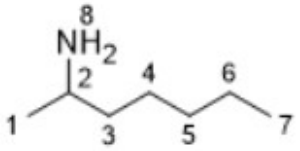
Pseudoefedrin (1R-2R-2-metilamino-1-fenilpropann-1-ol) kao stereoizomer efedrina ima skoro pa ista djelovanja kao efedrin, međutim pseudoefedrin je slabije afinitetan za β-adrenoreceptore pa je bronhodilatacijski učinak nešto slabiji. Djelovanje na α- adrenoreceptore je približno isto, pa zbog visoke zastupljenosti α- adrenoreceptora u krvnim žilama mukoze nosa dekongestivni učinak pseudoefedrina naspram efedrina ne manjka. Isto tako zbog svoje bolje specifičnosti na α- adrenoreceptore je više korišten dekongestiv jer sporedna djelovanja manje izražena. Pseudoefedrin se vrlo dobro apsorbira te je česta djelatna tvar kombiniranih lijekova protiv gripe i prehlade, povišene tjelesne temperature i nazalne kongestije (npr. Maxflu®). Kao i efedrin, pseudoefedrin posjeduje nuspojave poput hipertenzije, psihostimulacije, nesanice, tahikardije i midrijaze pa se njegovo korištenje ne preporuča dijabetičarima, osobama s kardiovaskularnim problemima, osobama s hipertireozom, glaukomom zatvorenog kuta, trudnicama i dojiljama. Metabolizira se slično kao efedrin, N-demetilacijom u jetri, a većina se izlučuje nepromijenjeno urinom (Drew i sur., 1978).

Bupropion (Wellbutrin®) je selektivni inhibitor ponovne pohrane kateholamina (noradrenalin i dopamin), indiciran u liječenju velikih depresivnih epizoda, a korišten je često kao pomoć

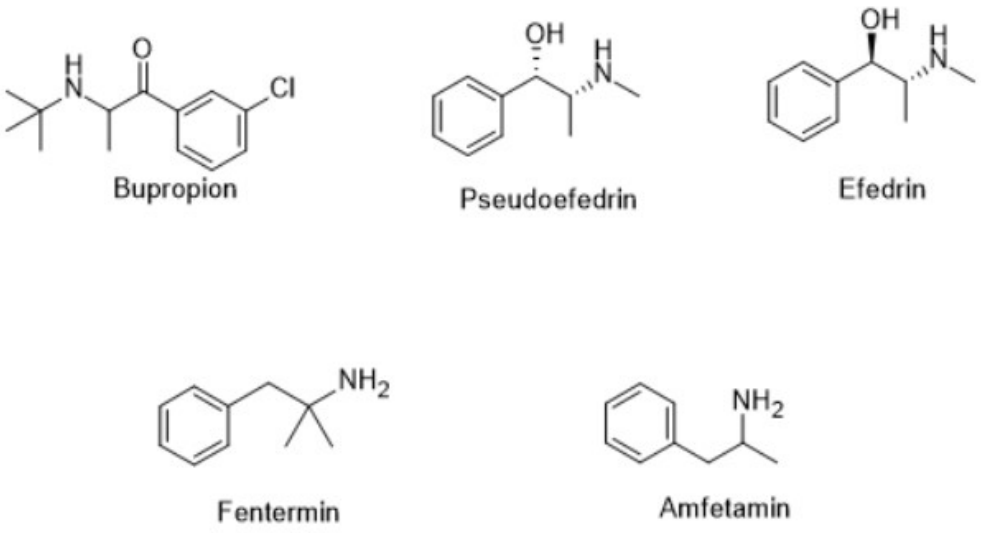
prilikom prestanka pušenja te je vodeći antidepresiv u terapiji erektilne disfunkcije uzrokovane antidepresivima iz skupine inhibitora ponovne pohrane serotonina (SSRI). Zbog svoje strukture također ima ulogu u povećanju monoaminske koncentracije u sinapsama prilikom čeka djeluje psihostimulativno. Najčešće se koristi u kombinaciji s još nekim antidepresivom, a zbog svojeg sigurnosnog profila se prometnuo često i u prvu liniju liječenja spomenutih indikacija. Početak djelovanja bupropiona se može očekivati već nakon 14 dana, a da bi terapija bila potpuno uspješna potrebno je provesti do 6 mjeseci liječenja. Metabolizira se u jetri putem citokroma P450-2B6 u 4-hidroksibupropion, a inhibitor je citokroma P450-2D6 pa bi se trebala izbjegavati kombinacija s lijekovima koji se metaboliziraju preko citokroma P450-2D6 (npr.tamoksifen). Metaboliti se izlučuju urinom (Foley i sur., 2006).

Dakle, nama 2-aminoheptan predstavlja „model“ lijekova koji imaju alkilni lanac i dušikov atom, i nizom reakcija istražit će se kemijske promjene prilikom ispusta u dezinfekcijske bazene. Sve kemijske transformacije, te svi metaboliti koji nastaju tim reakcijama mogu imati farmakološke učinke, te je potrebno detaljno istražiti djelovanje tih metabolita.

Da bismo pokazali sudbinu 2-aminoheptana u okolišu, prvo ćemo pokazati reakcije halogeniranja (kloriranja) amino skupine. Zatim će biti objašnjena fotoaktivacija kloriranog derivata, koji se raspada na N-radikal i atom halogena (klora). Reakcija pregrađivanja iz nestabilnog u stabilniji C-radikal je sljedeći korak u transformaciji našeg metabolita. Na C-radikal se može vezati oslobođeni atom halogena, pri čemu nastaje nova C-halogen veza. U prisutnosti baze, dolazi do ciklizacije, te formiranje piperidinskog ili pirolidinskog prstena. Transformacijom se tako od ravnolančanog alkilnog lanca s amino skupinom dolazi do farmakološki važnih heterocikličnih struktura.



Shema 2. a) Numerirana struktura 2-aminoheptana



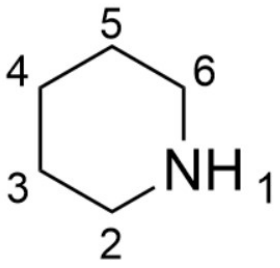
b) Primjeri lijekova fenetilaminske strukture

1.3.Piperidin, piperazin i pirolidin kao model lijekova u okolišu

Piperidin ($C_{15}H_{11}N$) je šesteročlani heterociklički prsten sastavljen od jedne amino skupine (-NH-) i 5 metilnih skupina (-CH_2-) koji po prirodi predstavlja sekundarni amin te po bazičnosti i drugim strukturnim svojstvima podsjeća na sekundarne alifatske amine. Zbog svojih bazičnih svojstava često se koristi kao organska baza u brojnim sintezama te kao organsko otapalo (Bonandi i sur., 2020). U prirodi je nađen u u crnom papru (Piper nigrum, Piperaceae) i od tud mu i potiče ime (Goel i sur., 2018). Zastupljen je u brojnim lijekovima i alkaloidima, a u čistom obliku je veoma zapaljiva tekućina tališta na -9 °C i vrelišta na 106 °C. Molekulske je mase 85,15, otrovan pri udisanju, a u kontaktu s kožom izaziva opekline (Rubiralta i sur.,1991). Otrovan je prvenstveno zbog desenzibilizacije acetilkolinskih receptora što smo vidjeli u primjeru konina iz kukute (Conium maculatum, Apiaceae) (Bonandi i sur., 2020).

Bazičnost piperidina raste dodatkom metilne skupine na piperidinski prsten s 9,3 na 10,66, a dodatkom druge metilne skupine na 10,73, dok se dodatkom treće metilne skupine bazičnost smanjuje. Isto se događa i supstitucijom vodika na dušiku s etilnom skupinom. Dušikov atom u strukturi piperidina je izrazito jak nukleofil, a nukleofilna svojstva mu opadaju supstitucijom vodika na položaju 2 i 6 piperidinskog prstena (Rubiralta i sur., 1991).

Piperidin sudjeluje u reakcijama nukleofilne adicije/eliminacije na karbonilnoj skupini aldehida i ketona pri čemu nastaje hidroksilamin i u konačnici nitron ili nitroksilni radikal ako N-atom piperidina nije supstituiran, a ako je, nastaje kemijski stabilan N-oksid. S aldehidima i ketonima daje N-alkilne derivate, sa sumporom N,N´-dipiperidil sulfid (i u konačnici polisulfide) (Rubiralta i sur., 1991).

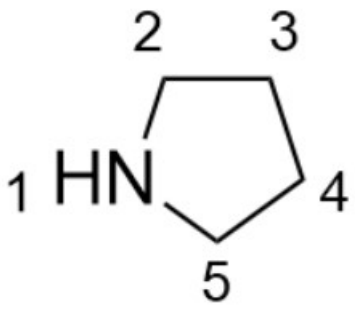


Slika 1. Struktura piperidina

Svojstva derivata piperidina ovise o supstituentima, odnosno o strukturi bočnih lanaca i njihovoj konformaciji i orijentaciji (Vardanyan, 2017).

Pirolidin je heterociklički prsten formule C_4H_9N poznat i pod nazivom tetrahidropirol. Strukturno predstavlja sekundarni amin, a također i stupa u reakcije poput sekundarnih alifatskih amina. Bezbojna je tekućina koja se mješa s vodom i velikim brojem organskih otapala, a mirisom je nalik amonijaku. Dobar je nukleofil te veoma dobro ulazi u reakcije nukleofilne supstitucije sa elektrofilima poput alkil ili acil halogenida čime igra veoma bitnu ulogu u organskim sintezama. Bazičnih je svojstava s pK_b=11,31 (go.drugbank.com).

Pirolidinski motiv u lijekovima široko je rasprostanjen, a zastupljen je i u prirodnim spojevima poput nikotina iz duhana (go.drugbank.com).



Slika 2. Numerirana struktura pirolidina

1.4.Hipokloritna kiselina u vodenom okolišu

Obradu otpadnih voda, čišćenje bazena i dezinfekciju voda najčešće radimo s klorom i njegovim derivatima pri čemu su najzastupljenija hipokloritna kiselina (HOCl) i natrijev i kalcijev hipoklorit. Moguć je i proces ozonolize, no to si mogu priuštiti samo bogatije države.

Hipokloritna kiselina nastaje uvođenjem plinovitog klora u vodu (oko 3,3kg na litru vode) pri čemu nastaje hipokloritna i klorovodična kiselina prema jednadžbi (1) (Šakić, 2015).

$$Cl_2 + H_2O \rightleftarrows HCl + HOCl \qquad (1)$$

Plinoviti klor je toksičan za vodene patogene i za ljude jer nadražuje kožu, sluznice i dišne puteve, a veoma je opasan po opće zdravstveno stanje i može uzrokovati i smrt. Kako uvođenjem u vodu prelazi u hipokloritnu kiselinu prema gornjoj jednadžbi, njegova opasnost po zdravlje više nije prijetnja. Nastala hipokloritna (HOCl) kiselina je slaba kiselina (pK_a u vodi je 7,53) i snažan je oksidans (hrčak.srce.hr).

Natrijev hipoklorit (NaOCl) snažan je izbjeljivač i koristi se za čišćenje u kućanstvu pod imenom Varikina®. Njegovim otapanjem u vodi u kiselom mediju također nastaje hipokloritna kiselina koja je u ravnoteži s molekulskim klorom (Cl_2) prema gornjem izrazu (1) te s hipokloritnim anionom prema izrazu (2) (Šakić, 2015).

$$HOCl \rightleftarrows OCl^- + H^+ \qquad (2)$$

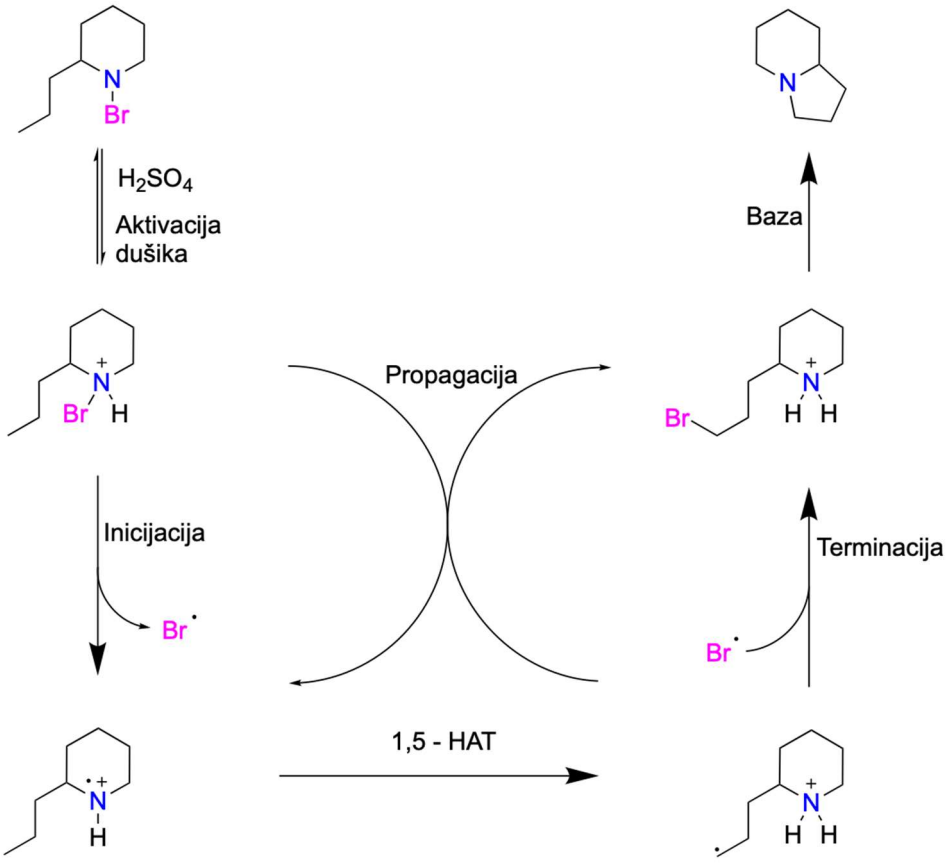
Raspored klornih specija ovisi o pH vode, a njihov raspad također o pH otopine, koncentraciji pojedinih klornih specija, stupnju UV zračenja i kvaliteti vode. Kako je kloriranje glavni mehanizam pročišćavanja voda jer reakcijom kloriranja hemskih i sulfurnih skupina strukturnih proteina i membranskih enzima organizama dolazi do narušavanja integriteta membrane i smrti raznih vrsta mikroorganizama, vodila se polemika oko specije koja klorira i efikasnosti kloriranja svake pojedine specije. Pošto oksidacijski potencijal mjeri koliko koja specija lako reagira s drugim spojem, visok oksidacijski potencijal bi značio lakšu reakciju s drugim spojem, a samim tim i efikasnije kloriranje. Prema tome se HOCl pokazala kao najefikasnija specija koja sudjeluje u kloriranju organskih i anorganskih spojeva. Zbog svojeg visokog oksidacijskog potencijala može služiti i kao hidroksilirajuće sredstvo (Šakić, 2015).

Tablica 1. Oksidacijski potencijal različitih oksidansa

Oksidans	Standardni redukcijski potencijal	Oksidacijski kapacitet
Ozon (O_3)	+2,08 V	$2e^-$
Vodikov peroksid (H_2O_2)	+1,77 V	$2e^-$
Hipokloritna kiselina (HOCl)	+1,63 V	$2e^-$
Hipobromasta kiselina (HOBr)	+1,59 V	$2e^-$
Klor (Cl_2)	+1,36 V	$1e^-$

1.5. Hoffman-Löffler-Freytag (HLF) reakcija

Reakcija stvaranja heterocikličih sustava iz alkilnih lanaca s amino ili amido skupinom poznata je već preko 100 godina. Hoffman je prvi uočio reakciju na modelu N-haloamina i N- haloamida koji u kiselom mediju uz zagrijavanje zatvaraju peteročlane heterociklične prstenove. Kasnije su tu reakciju primjenili i Löffler i Freytag, modificirali je, te koristili za sintezu brojnih heterocikličkih spojeva. Reakcija se odvija u nekoliko koraka (Shema 3.). Započinje protoniranjen N-haloamina pri 140 °C u kiselom pri čemu nastaje N-halogen kation. Pri istim uvjetima N-halogen kation podliježe homolitičkom cijepanju N-halogen veze. Tim korakom nastaje N-kation radikal koji se pregrađuje, uz intramolekularni prijenos atoma vodika s δ-C-atoma (engl. hydrogen atom transfer, HAT), pri čemu nastaje C_5-radikal i protonirani amin. C-radikal potom reagira s drugim N-halogen kationom dajući protonirani 5-haloalkilamin i N-kation radikal, time završava jedan ciklus reakcije. Nadalje u reakciji s bazom dolazi do ciklizacije protoniranog 5-haloalkilamina prema pravilima S_N2 reakcije (Zubčić i sur., 2022).



Shema 3. Prikaz izvorne HLF reakcije na primjeru N-bromo-2-propilpiperidina

HLF reakcija je kroz godine proučavanja, a naročito zadnjih 20-ak godina, dobila mnogo modifikacija i objašnjenja što pojašnjavaju u svojem radu Šakić i sur. Modifikacije i detaljnija objašnjenja nam daju jasniju sliku o pregradnji polaznih spojeva. Reakcijom uglavnom nastaju pirolidinski spojevi, a rjeđe piperidinski. U ovom diplomskom radu ponovit će se cijela reakcijska kaskada, te pokušati predvidjeti metabolite koji nastaju pod halogenirajućim uvjetima uz dovoljnu količinu svjetla za fotoaktivaciju, što odgovara uvjetima dezinfekcijskih bazena.

2. Obrazloženje teme

Prema procjeni Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) za ukupno opterećenje bolestima za Hrvatsku (DALYs) za 2016.godinu, mentalni poremećaji zauzimaju 4. mjesto učestalosti, odmah iza kardiovaskularnih, malignih bolesti i ozljeda. U najčešće mentalne poremećaje tako ubrajamo depresiju, poremećaje uzrokovane alkoholom i anksiozne poremećaje (www.hzjz.hr). Također, gore navedenim stanjima možemo pribrojiti i prehladu i gripu koja svake godine zahvati veoma visok udio populacije. Samim time potreba za lijekovima je veoma visoka, a mnogi od lijekova sadrže amino skupinu, piperidinski, pirolidinski i piperazinski prsten, a upravo te strukture i reakcije istih su predmet ovoga rada. Najinteresantniji lijekovi takve strukture su lijekovi poput efedrina, pseudoefedrina, amfetamina, haloperidola, klopidogrela, donepizila, cetirizina, levetiracetama itd.

Nakon uporabe navedeni, a i ostali lijekovi slične strukture, prolaze razne reakcije biotransformacije i u konačnici bivaju izlučeni u obliku metabolita ili u nepromijenjenom stanju. Ekološku, a i biološku sudbinu ovih lijekova možemo simulirati s hipokloritnom kiselinom. U literaruri je opisano niz reakcija HOCl i lijekova, pri čemu često nastaju reaktivniji, toksičniji i perzistentniji oblici. Dobar primjer za pojačanu perzistentnost lijeka nakon reakcije s hipokloritnom kiselinom je diklofenak koji stvara u vodi netopljive produkte.

S ekološkog aspekta, plinoviti klor je važan reagens za pročišćavanje otpadnih voda kloriranjem zbog čega je moguće da se upravo ove reakcije dogode nađe li se neki od ovih lijekova u otpadnim vodama (Šakić,2015).

Takve klorirane specije vrlo vjerojatno ulaze u daljnje reakcije transformacije i pregradnje, među kojima je nama najinteresantnija Hoffman-Löffler-Freytag (HLF) reakcija. Na osnovi izvorne reakcije, i dosadašnjih spoznaja o prirodi iste, ovim radom ćemo predstaviti nove mogućnosti takve reakcije i sudbine odabranih farmaceutika na takvom modelu.

3. Materijali i metode

Metode molekulskog dizajniranja, u koje spadaju i kvantno-kemijske metode, mogu predvidjeti najpovoljnije reakcijske puteve i mehanizme te strukture nastalih produkata, interakciju s drugim lijekovima, interakciju s raznim receptorima (docking), koeficijente distribucije te opisati ekološku sudbinu lijeka u okolišu. (Blotevogel i sur., 2011).

Računalna kemija temelji se na zakonima fizike i njihovim aproksimacijama, te numerički proučava reakcije i kemijske strukture. Računalnim metodama omogućeno je proučavanje stabilnih molekula, ali i kratko-živućih specija, nestabilnih intermedijara i prijelaznih stanja čije se strukture ne mogu opaziti eksperimentalno (Foresman i sur., 1996).

Struktura promatranog molekulskog sustava koju dobijemo crtanjem strukture u nekom od programskih paketa ne odgovara nužno strukturi najniže energije u bliskom području plohe potencijalne energije (Potencial Energy Surface, PES) (Bachrach, 2007). Mora se napraviti optimizacija geometrije čime ćemo dobiti geometriju sustava najniže energije koja odgovara kritičnoj točki na PES-u, odnosno točki u kojoj prva derivacija energije u odnosu na promjene atomskih koordinata (energijski gradijent) iznosi 0. Tom je računalnom tehnikom moguće predvidjeti ravnotežnu strukturu molekulskog sustava, te locirati osnovna stanja reaktanata i produkata. Nakon optimizacije strukture, nužno je napraviti frekvencijski račun koji ne smije imati imaginarnih frekvencija gibanja atoma u molekuli. Također frekvencijskim računom dobiva se Gibbsova slobodna energija, koju koristimo za izračun termodinamike i kinetike reakcije. Strukture prijelaznih stanja su minimumi u svim smjerovima promjene atomskih koordinata, osim u samo jednom smjeru, koji ujedno određuje reakcijsku koordinatu. Prijelazno stanje se karakterizira kao ona struktura koja ima jednu imaginarnu frekvenciju, čijom animacijom se može uočiti pretvaranje reaktanta u produkte. Za dodatnu potvrdu da određeno prijelazno stanje odgovara reakcijskom putu, rade se računi praćenja intrinzične koordinate do lokalnih minimuma na strani reaktanata i produkata (Šakić, 2015).

Za opis reakcijskog puta, potrebno je najmanje pet podataka: globalni reakcijski minimum reaktanata, lokalni reakcijski minimumi reaktanata, prijelazno stanje, lokalni minimun produkata i globalni minimum produkata. Razlika u energiji globalnih minimuma reaktanata i produkata egzaktno opisuje termodinamiku reakcije, dok razlika u energiji između globalnog minimuma i prijelaznog stanja daje egzaktnu vrijednost brzine kemijske reakcije, odnosno njene kinetičke parametre, putem Eyringove jednadžbe.

Kvantno kemijski izračuni izvedeni su korištenjem programskog paketa Orca. Orca nudi najsuvremenije metode u područjima funkcionala gustoće (DFT – Density Functional Theory) kao i metode temeljene na valnim funkcijama. Korištena je r2SCAN metoda koju su razvili Grimme i suradnici. Ova metoda dobar je omjer brzine i točnosti rezultata, te je postala novi standard za računanje raznih sustava.

Sama procedura pratila je slijedeći algoritam:

1) Crtanje struktura reaktanata i produkata u IQmol programu
2) Optimizacija i karakterizacija struktura reaktanata i produkata (Orca program, !r2SCAN Opt Freq)
3) Frekvencijski račun
4) Traženje prijelaznog stanja korištenjem NEB-TS metode (!r2SCAN NEB-TS), pri čemu su početne točke optimizirane geometrije reaktanata i produkata
5) Karakterizacija prijelaznog stanja (frekvencijski račun)
6) Praćenje intrinzične koordinate do lokalnih minimuma (!r2SCAN IRC)
7) Obrada podataka

Za provedbu svih kvantno kemijskih izračuna korišten je sw.pharma.hr klaster Sveučilišta u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta, koji je nabavljen iz sredstava FarmInova projekta preko Europskih strukturnih fondova.

4. Rezultati i rasprava

4.1 Kloriranje

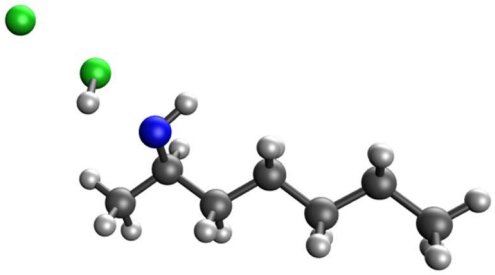
Kloriranje amina veoma je važna reakcija u sintetskoj kemiji i biokemiji. Produkti reakcije su N-kloramini koji su važni reagensi u aminacijskim/amidacijskim reakcijama, prekursori u formiranju N-radikala, koriste se kao klorirajuća sredstva u postrojenjima za obradu otpadnih voda, te sudjeluju u transformaciji farmaceutika u vodenom okolišu. Najčešće rabljen reagens prilikom kloriranja je plinoviti klor (Cl_2) (Vrček i Meštrić, 2009).

Kloriranje amina plinovitim klorom odgovara tipu 2 S_N2 supstitucijskih reakcija gdje se klorirajući sustav sastoji od neutralnog nukleofila i supstrata. U plinovitoj fazi, odvojeni reaktanti tvore slabi prijelazni kompleks u kojem su međumolekulske interakcije uglavnom elektrostatske prirode i učinci prijenosa naboja su relativno maleni. S druge strane, pod utjecajem otapala, direktno nastaju dvije neutralne molekule, molekula N-kloramina i molekula klorovodične kiseline (HCl). Proučavanjem razloga ovakvog ponašanja utvrđeno je da uzrok leži između udaljenosti atoma dušika i klora. U plinovitoj fazi udaljenost iznosi 2,707 angstrema, dok je pod utjecajem otapala ta udaljenost iznosi 2,600 angstrema. Razlika u udaljenosti dovodi do formiranja prijelaznog stanja u ranijim fazama reakcije što samu reakciju čini bržom, a energetsku barijeru za istu manjom (Vrček i Meštrić, 2009).

Brzina i uspješnost kloriranja amina također ovisi i o supstituentima prisutnim na aminu. Istraživanja pokazuju da porastom broja supstituenata na dušiku amina raste i slobodna Gibbsova energija reakcije, ali i udaljenost između atoma dušika i klora prilikom reakcije. Povećanjem udaljenosti atoma dušika i klora smanjuje se udaljenost dva atoma klora unutar molekule što utječe na istezanje molekule i povećanje barijere reakcije. Manja udaljenost dva atoma klora znači veće istezanje molekule i veću energetsku barijeru reakcije jer je mogućnost disocijacije atoma klora iz molekule manja (Vrček i Meštrić, 2009).

Povećanje broja i gustoće supstituenata reakciju čini termodinamički i kinetički nepovoljnijom, te prijelazno stanje odvode prema kasnijim fazama reakcije (Vrček i Meštrić, 2009).

Rezultati:



Slika 3. Prijelazno stanje za kloriranje amina s molekulom Cl_2

Tablica 2. Izračunate vrijednosti za kloriranje 2-aminoheptana u plinskoj fazi s molekulom Cl_2

Ime	G(a.u.)	ΔG(kJ/mol)
TS	-1251,68279352	244,3
Reaktant	-1251,77582871	0,0
Produkt	-1251,76692145	23,4

Unatoč visokoj barijeri, poznato je da se ova reakcija događa u otopini. Utjecaj otapala je značajan na ovu reakciju, zbog toga što eksplicitne molekule vode mogu pomagati u prebacivanju vodikovog atoma s dušika na klor.

Osim Cl_2 kao klorirajućeg sredstva, može se koristiti i hipokloritna kiselina. Naime, u vodenim otopinama plinoviti klor reagira s molekulama vode disproporcionirajući pritom na hipokloritnu i kloridnu kiselinu. U objavljenim radovima jasno je pokazana potreba za ukupno 5 eksplicitnih molekula voda za postizanje eksperimentalnih barijera reakcije.

Iz podataka zaključujemo da model reakcije plinovitog Cl_2 za kloriranje amina nije odgovarajuće rješenje, te da je bolje raditi s klorirajućim sredstvom kojeg očekujemo da je prisutno prilikom obrade otpadnih voda. Nastavljamo daljnje razmatranje pregrađivanja amina, pod pretpostavkom da je nekim drugim tipovima reakcije nastao klorirani produkt.

4.2 Generiranje N-radikala

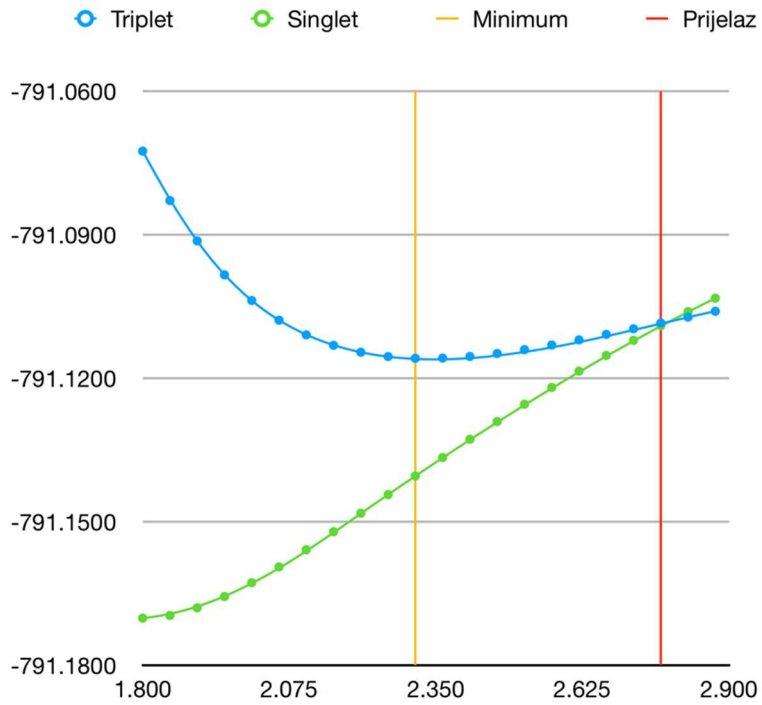
N-radikali nastaju fotolizom N-kloraminskog produkta nastalog u reakciji opisanoj u prethodnom odlomku. Pri fotolitičkim uvjetima dolazi do spontanog homolitičkog kidanja N- Cl veze (Corey i sur., 2006).

Za ovaj reakcijski korak, napravljena je analiza energija u singletnom stanju (veza je očuvana između N-Cl) i u tripletnom stanju (veza N-Cl se razdvojila, čineći biradikalski sustav).

Tablica 3. Usporedba energija u singletnom i tripletnom stanju

N-Cl (a.u.)	Singlet E (a.u.)	Triplet E (a.u.)
1.80000000	-791.170158356769	-791.072497859559
1.85116279	-791.169596544459	-791.082819856402
1.90232558	-791.168000806727	-791.091272873149
1.95348837	-791.165651913679	-791.098365316943
2.00465116	-791.162751336677	-791.103727665430
2.05581395	-791.159446225227	-791.107851602671
2.10697674	-791.155858761792	-791.110917521386
2.15813953	-791.152092322685	-791.113095439432
2.20930233	-791.148227054465	-791.114543815591
2.26046512	-791.144324003510	-791.115457288418
2.31162791	-791.140427491208	-791.115813865274
2.36279070	-791.136571721044	-791.115774438943
2.41395349	-791.132769174279	-791.115434102084
2.46511628	-791.129052407984	-791.114818569946
2.51627907	-791.125426301851	-791.114002862544
2.56744186	-791.121914850290	-791.113038459937
2.61860465	-791.118512982156	-791.111966294009
2.66976744	-791.115230248647	-791.110823128733
2.72093023	-791.112056993426	-791.109645954750

2.77209302	-791.109003532708	-791.108426935199
2.82325581	-791.106066593589	-791.107199019661
2.87441860	-791.103261312937	-791.105979185778



Graf 1. Ovisnost energije o dužini N-Cl veze u singletnom i tripletnom stanju

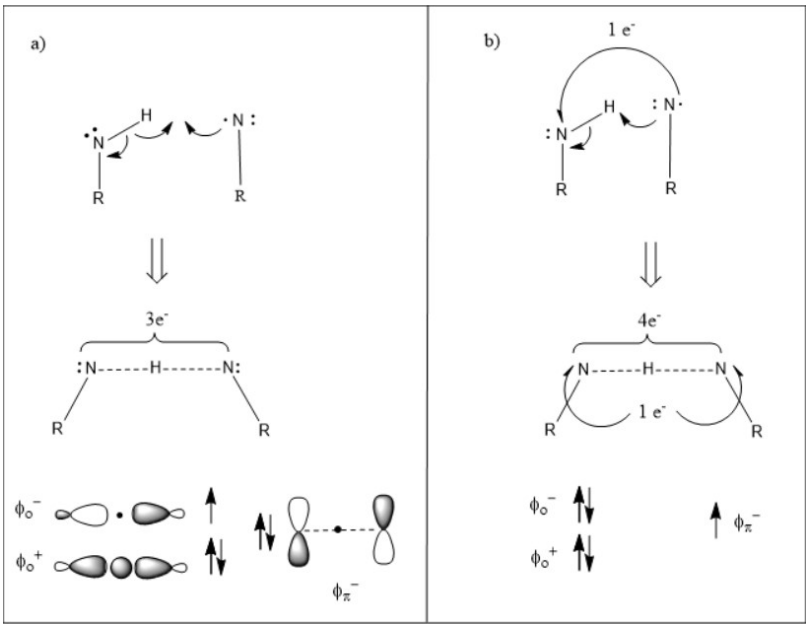
Iz grafikona 1 jasno očitavamo dvije važne vrijednosti: udaljenost od 2,31 angstrema između N-Cl, gdje se nalazi minimum plohe potencijalne energije, te udaljenost od 2,77 angstrema pri kojoj se sijeku plohe potencijalne energije. Iz simulacije točke minimalne energije za prijelaz s jedne plohe potencijalne energije (singleta) na drugu plohu potencijalne energije (triplet), MECP račun, dobije se energija od 123,6 kJ/mol kao potrebna energija za homolitičku disocijaciju N-Cl veze u ovom sustavu. Tako izračunata energija može se pretvoriti u valnu duljinu ekscitacijskog zračenja koje je potrebno za cijepanje veze, putem online kalkulatora (www2.chemistry.msu.edu).

Valna duljina od 967,5 nm odgovara infracrvenom zračenju. Treba napomenuti da je ovaj izračun rađen na niskoj teorijskoj razini, te da nisu modelirani utjecaji otapala.

4.3 Pregradnja N-radikala

Nastali N-radikali se dalje pregrađuju uz intramolekulski prijenos atoma vodika s C_5 ili C_6 atoma na atom dušika prilikom čega nastaju C_5 ili C_6 radikali. Prijenos atoma vodika (HAT) je kemijska transformacija koja se sastoji od usklađenog kretanja dviju elementarnih čestica, protona i elektrona, između dviju molekula supstrata u jednom kinetičkom koraku. Konceptualno, prijenos atoma vodika se može smatrati podklasom proton spregnutog prijenosa elektrona (PCET) (Lai i sur., 2012).

Intramolekulski prijenos atoma vodika (eng. Hydrogen atom transfer, HAT) se razlikuje od protonom spregnutog prijenosa elektrona (eng. Proton coupled electron transfer, PCET). Naime iako su reaktanti i produkti ova dva različita puta jednaki, razlikuju se u načinu prijenosa. Kod HAT, u prijelaznom stanju atom vodika nalazi se točno između N- i C-radikala. Kod PCET, u prijelaznom stanju, na protonu koji se prenosi, elektronska gustoća ne postoji. Elektron se prenosi u tom slučaju preko molekulskih orbitala koje ne uključuju gustoću na samo prelazećem protonu (Lai i sur., 2012).



Slika 4. Sudjelovanje N-radikalskih parova u : a) HAT (eng. Hydrogen atom transfer) procesu i b) PCET (eng. Proton coupled electron transfer) procesu

Radikali se pregrađuju zbog razlike u stabilnosti reaktanata i produkata. Nastali N-radikal manje je stabilan nego C-radikal. To se može izračunati korištenjem eksperimentalnih vrijednosti energije disocijacije veze (eng. Bond dissociation energy, BDE) (Luo, 2007) ili

korištenjem vrijednosti relativnih energija stabilizacije, koje se dobiju iz izodezmičkih reakcija traženog radikala s već poznatim sustavom. Za relativnu stabilnost N-radikala koristi se sustav amonijak/amonijev radikal, a za stabilnost C-radikala koristi se sustav metan/metilni radikal, čije su eksperimentalne vrijednosti BDE višestruko potvrđene.

Tablica 4. Usporedba Gibbsovih slobodnih energija između dva različita HAT procesa

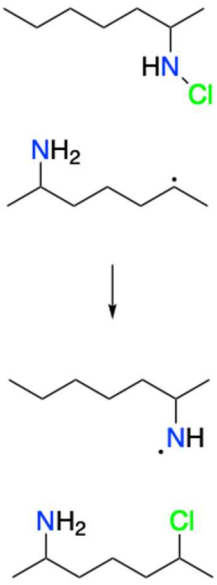
Ime	G(a.u.)	ΔG(kJ/mol)
TS HAT N1-C5	-330.77163389	38.9
TS HAT N1-C6	-330.77352201-	33.9
Reaktant N1 radikal	-330.78643595	0.0
Produkt C6 radikal	-330.79023736	-10.0
Produkt C5 radikal	-330.79113721	-12.3

Iz navedenih podataka vidimo da je termodinamički stabilniji C5 radikal, dok brže nastaje C6 radikal zbog manje energije aktivacije koja je potrebna za svladavanje barijere prijelaznog stanja. Kako su razlike razmjerno male, može se zaključiti da ovom reakcijom mogu nastati i C5 i C6 radikali pregrađivanjem iz N-radikala.

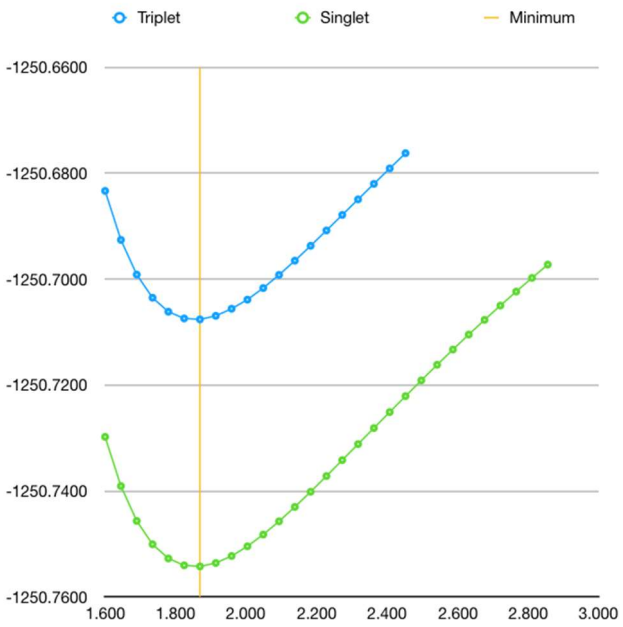
4.4 Rekombinacija radikala

C_5 ili C_6 radikali će se klorirati ili s novom molekulom N-kloro-2-aminoheptana u koraku propagacije ili zaostalim klorom iz procesa formiranja radikala u koraku terminacije fotokatalitičko-radikalskog ciklusa.

U koraku pregrađivanja između C6-radikala i modela N-kloriranog 2-aminoheptana, umjesto 2-aminoheptana koristili smo N-kloro-metilamin. Reakcija se pokazala egzotermnom sa oslobođenom energijom od -101.5 kJ/mol i barijerom od 92.4 kJ/mol. Iz toga zaključujemo da je korak propagacije vrlo brz, te da nije potrebno stalno dodavati pobudnu energiju za stvaranje N-radikala iz N-kloriranih sustava, već je moguća i reakcija pregrađivanja u kojem se transferira atom halogena.



Slika 5. Shema za reakciju prijenosa klora između dvije molekule

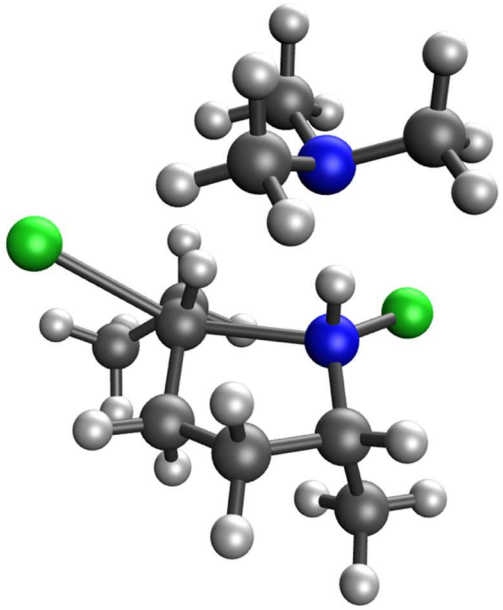


Graf 2. Ovisnost energije o dužini C-Cl veze u singletnom i tripletnom stanju

Za provjeru energetskog profila stvaranja C-halogen veze, urađeno je skeniranje energije po promjeni udaljenosti između C- i Cl- atoma, analogno disocijaciji N-Cl veze u prethodnim poglavljima. Kako je vidljivo iz grafikona 2, singletno stanje i tripletno stanje se razlikuju, te je minimum singletnog stanja kao i tripletnog stanja minimum na 1.87 a.u. Prijelaz s jedne plohe potencijalne energije na drugu ne događa se jer do 3.00 a.u. nije vidljiva točka u kojoj se sijeku dvije plohe. To je u suprotnosti s PES singleta i tripleta za disocijaciju N-Cl veze. MECP metodom, određena je oslobođena energija koja iznosi 132.0 kJ/mol. Možemo zaključiti da će prijelaz s tripletne površine na singletnu površinu dogoditi na istoj udaljenosti, uz otpuštanje značajne količine energije.

4.5 Ciklizacija prstena

Klorirani C-radikali u bazičnim uvjetima ulaze u fazu ciklizacije peteročlanog (pirolidinskog) ili šesteročlanog (piperidinskog prstena). Reakcija ove ciklizacije je S_N2 napad dušika na C5-Cl odnosno na C6-Cl položaj, ali pod utjecajem baze. Naime, kako bi se ostvarila N-C veza, sam dušik mora biti negativno nabijen. To se događa po utjecajem baze, u ovom slučaju trimetilamin kao model baze, koja apstrahira, u prijelaznom stanju, proton s napadajućeg atoma dušika. U prijelaznom stanju na C5, odnosno C6 atomu privremeno je 5 koordiniranih supstituenata, pri čemu je najbolja izlazna skupina upravo klor. Negativni naboj s dušika se prebacuje na atom klora, koji izlazi iz molekule u obliku aniona. Na kraju reakcije ostajemo s pirolidinskim (ili piperidinskim) prstenom i trimetilamin hidrokloridnom soli.



Slika 6. Prijelazno stanje za reakciju ciklizacije pod utjecajem trimetilamina kao baze

Tablica 5. Energetski profil (Gibbsova slobodna energija) reakcije ciklizacije

Ime	G(a.u.)	ΔG(kJ/mol)
TS ciklizacija	-1424.84731077	113.7
Reaktant C5-Cl i NH	-1424.89060130	0.0
Produkt pirolidinski prsten	-1424.90511606	-38.1

Razmjerno visoka barijera u ovoj reakciji može se pripisati razdvajanju naboja koje se događa tokom reakcije. Naime, iz neutralnog spoja, u prijelaznom stanju postoji jasan centar negativnog naboja i centar pozitivnog naboja. U ovom slučaju, zanemarivanje solvatacijskih efekata daje lažnu sliku da je reakcija ciklizacije kinetički nepovoljna, kad u eksperimentalnim uvjetima ista se redovito odvija. Termodinamički, ova reakcija je egzotermna, pri čemu se oslobađa iz sustava 38.1 kJ/mol.

5. Zaključak

Rezultati koje smo dobili prilikom eksperimentalnih mjerenja kloriranjem plinovitim klorom upućuju na to da plinoviti klor zbog nepovoljnih termodinamičnih parametara (visoka barijera reakcije koja iznosi 244,3 kJ/mol) nije najprikladnija klorirajuća specija već da bi upravo hipokloritna kiselina bila odgovarajuća. Prilikom te reakcije nastaju N-kloramini koji se dalje transformiraju do N-radikala prilikom uporabe izvora svjetlosti valne duljine 967,5 nm koje odgovara području infracrvenog zračenja. Nastali N-radikali se pregrađuju do stabilnijih C-radikala putem intramolekulskog prijenosa atoma vodika (eng. Hydrogen atom transfer, HAT) prilikom čega mogu nastati C_5 ili C_6 radikali u ovisnosti s kojeg C atoma se događa prijenos molekule vodika na atom dušika. Nastali C-radikali se kloriraju zaostalim klorom (ili novom molekulom klora) iz prethodne reakcije kloriranja tvoreći klorirane C-radikale koji su pogodni prekursori za reakciju ciklizacije piperidinskog ili pirolidinskog prstena. Reakcija ove ciklizacije je S_N2 napad dušika na C5-Cl odnosno na C6- Cl položaj, ali pod utjecajem baze. Reakcija ovdje završava prilikom čega nastaju novi modeli molekula u okolišu koji predstavljaju veliki izazov u vidu biološke i ekološke prognoze utjecaja takvih vrsta na biljni, ali i životinjski sustav u cjelini.

6. Literatura

Bachrach SM. Computational Organic Chemistry, Wiley-Interscience: Hoboken, New Yersy, USA, 2007, 496.

Blotevogel, J, Mayeno, AN, Sale TC, Borch T. Prediction of contaminant persistence in aqueous phase: A quantum chemical approach, Environmental Science and Technology, 2011, 45, 2236-2242.

Bonandi E, Tedesco G, Perdicchia D, Pasarella D. Total Synthesisof (-)-Anaferine: A Further Ramification in a Diversity-Oriented Approach, Molecules, 2020, 25, 1057.

Capaldo L, Ravelli D. Hydrogen Atom Transfer (HAT): A Versatile Strategy forSubstrate Activation in Photocatalyzed Organic Synthesis*, Eur. J. Org. Chem*., 2017, 2056–2071.

Drew C, Knight G, Hughes D, Bush M. Comparison of the effects of D-(-)-ephedrine and L-(+)-pseudoephedrine on the cardiovascular and respiratory systems in man. *Br. J. Clin. Pharmacol.,* 1978, 6(3), 221–225.

Energy converter, https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/cnvcalc.htm, pristupljeno 04.05.2022.

Fentermin za mršavljenje: prednosti, nuspojave i doziranje, http://www.priručnik.hr, pristupljeno 10.03.2022.

Foley KF, DeSanty KP, Kast RE. Bupropion: pharmacology and therapeutic applications. Expert Review of Neurotherapeutics, 2006, 6(9), 1249–1265.

Foresman, JB, Frisch A, Gaussian I. Exploring chemistry with electronic structure methods, 2nd ed ed., *Gaussian*, Inc: Wallingford, 1996.

Heal DJ, Smith SL, Gosden, J, Nutt, DJ. Amphetamine, past and present – a pharmacological and clinical perspective. *Journal of Psychopharmacology*, 2013, 27(6), 479–496.

Hok L. Mehanizam reakcije kloriranja 5-fluorouracila i ekotoksikološka analiza kloriranih produkata. Rad prijavljen za Rektorovu nagradu Sveučilišta u Zagrebu, 2017.

Kloriranje vode, http://hrčak.srce.hr, pristupljeno 11.03.2022.

Koopaei N, Abdollahi M. Health risks assosiated with the pharmaceuticals in wastewater. *Daru, Journal of Pharmaceutical Sciences,* 2017, 25:9.

Lai W, Li C, Chen H, Shaik S. Hydrogen-Abstraction Reactivity Patterns from A to Y: The Valence Bond Way, *Angew. Chem. Int. Ed*., 2012, 51: 5556-5578.

Limberger RP, Jacques ALB, Schmitt GC, Arbo DM. Pharmacological Effects of Ephedrine, Natural Products, 2013, 1218-1233.

Li Petri G, Raimondi MV, Spanò V, Holl R, Barraja P, Montalbano A. Pyrrolidine in Drug Discovery: A Versatile Scaffold for Novel Biologically Active Compounds. Topics in Current Chemistry, 2021, 379(5).

Luo Y-R. Comprehensive Handbook of Chemical Bond Energies (1st ed.), Boca Roton, CRC Press, 2007, str. 1-1688.

Mishra A, Punia JK, Bladen C, Zamponi GW, Goel RK. Anticonvulsant mechanisms of piperine, a piperidine alkaloid. *Channels,* 2015, 9:5, 317-323.

Pyrrolidines, http://go.drugbank.com, pristupljeno 11.03.2022.

Reddy LR, B.V.S. Reddy BVS, Corey EJ. Efficient Method for Selective Introduction of Substituents as C(5) of Isoleucine and Other α-Amino Acids, *Org. Lett*., 2006, 2819–2821.

Rubiralta M, Giralt E, Diez A. PIPERIDINE Structure, Preparation, Reactivity, and Synthetic Applications of Piperidine and its Derivates, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V., Amsterdam, 1991, str. 2-16.

Schwabe T, Grimme S. Double-hybrid density functionals with long-range dispersion corrections: higher accuracy and extended applicability. Physical Chemistry Chemical Physics, 2007, 9 (26), 3397-3406.

Šakić D. Doktorski rad: Kvantno-kemijsko istraživanje reakcija pregrađivanja odabranih psihofarmaka. Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2015.

Thevis M, Sigmund G, Koch A, Schänzer W. Determination of tuaminoheptane in doping control urine samples, Eur J Mass Spectrom (Chichester). 2007, 213-21.

Vardanyan R, Piperidine-Based Drug Discovery, Elsevier Ltd., 2017, str. 1-88.

Vrsajko M. Diplomski rad: Mehanizam oksidacije atoma dušika hipokloritnom kiselinom u strukturama odabranih psihofarmaka. Kvantno-kemijska studija. Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2021.

Vrček V, Meštrić H. Chlorination of ammonia and aliphatic amines by Cl2: DFT study of medium and substituent effects. Journal of Physical Organic Chemistry, 2009, 22(1), 59–68.

Zubčić G, Shkunnikova S, Šakić D, Marijan M. Renesansa Hofmann-Löffler-Freytag reakcije – razvoj C–H funkcionalizacijskih strategija po principima zelene kemije, Kemija u industriji, 2022.

Wenzhen L., Chunsen L., Chen H., Shajk S. Hydrogen-Abstraction Reactivity Patterns from A to Y: The Valence Bond Way, Angew. Chem. Int. Ed. 2012, 51, 5556 – 5578.

7. Sažetak

Lijekovi nakon uporabe bivaju eliminirani iz organizma i kao takvi dospijevaju u otpadne vode i dezinfekcijske bazene. Prilikom obrade takvih voda najkorištenija metoda je kloriranje raznim klorirajućim specijama među kojima je najučestalija hipokloritna kiselina i plinoviti klor. U reakcijama s klorirajućim specijama metaboliti lijekova, među kojima su nama najzanimljiviji oni koji sadrže amino skupinu, nastaju N-kloramini koji su reaktivniji, toksičniji i perzistentniji oblici.

Sudbine N-kloraminskih specija smo proučavali putem Hoffman-Löffler-Freytag (HLF) reakcije. Računato je koji su produkti vjerojatniji s obzirom na energetske barijere reakcija te stabilnost produkata.

Mehanizmi ovih reakcija proučavani su kvantno-kemijskim modelima kojima su se računale energije produkata, reaktanata i prijelaznih stanja te se putem IQmol programa vizualizirale strukture. Kvantno kemijski izračuni izvedeni su korištenjem programskog paketa Orca. Orca nudi najsuvremenije metode unutar teorije funkcionala gustoće (DFT – Density Functional Theory).

Rezultati dobiveni u ovom radu pokazuju da se N-klorirani derivati pregrađuju u N-radikale koji se putem intramolekulskog prijenosa vodika pregrađuju u stabilnije C-radikale koji se kloriraju i pod utjecajem baze cikliziraju u piperidinske i pirolidinske sustave dajući spojeve novih karakteristika. Na kraju reakcije ostajemo s pirolidinskim (ili piperidinskim) prstenom i trimetilamin hidrokloridnom soli.

Summary

After use, drugs are eliminated from the body and as such end up in wastewater and disinfection pools. When treating such waters, the most used method is chlorination with chlorinating spices, among which hypochlorous acid and chlorine gas are most common. In reactions with chlorinating species, drug metabolites, among which the most interesting are those containing an amino group, N-chloramines are formed which are more reactive, toxic and persistent forms.

The fate of N-chloramine species was studied by Hoffman-Löffler-Freytag (HLF) reactions. It was calculated which products are more likely given the barrier energy response and the stability of products.

The mechanisms of these reactions have been studied by quantum chemical models that calculate the energy of products, reactants and transition states, and structures are visualised through the IQmol program. Quantum chemical calculations were performed using the Orca software package. Orca offers state-of-the-art DFT (density functional theory) methods.

The results obtained in this work show that N-chlorinated derivatives are converted into N-centered radicals which are converted into more stable C-centered radicals by intramolecular hydrogen transfer which are then chlorinated and cyclised under the influence of base into piperidine and pyrrolidine systems giving compounds of new characteristics. At the end of the reaction we are left with a pyrrolidine (or piperidine) ring and trimethylamine hydrochloride salt.

8. Prilozi

Slike:

- Slika 1. Struktura piperidina
- Slika 2. Numerirana struktura pirolidina
- Slika 3. Prijelazno stanje za kloriranje amina s molekulom Cl_2
- Slika 4. Sudjelovanje N-radikalskih parova u : a) HAT (eng. Hydrogen atom transfer) procesu i b) PCET (eng. Proton coupled electron transfer) procesu
- Slika 5. Shema za reakciju prijenosa klora između dvije molekule
- Slika 6. Prijelazno stanje za reakciju ciklizacije pod utjecajem trimetilamina kao baze

Sheme:

- Shema 1. Reakcije formiranja i pregrađivanja N-kloramina
- Shema 2. a) Numerirana struktura 2-aminoheptana; b) Primjeri lijekova fenetilaminske strukture
- Shema 3. Prikaz izvorne HLF reakcije na primjeru N-bromo-2-propilpiperidina

Tablice:

- Tablica 1. Oksidacijski potencijal različitih oksidansa
- Tablica 2. Izračunate vrijednosti za kloriranje 2-aminoheptana u plinskoj fazi s molekulom Cl_2
- Tablica 3. Usporedba energija u singletnom i tripletnom stanju
- Tablica 4. Usporedba Gibbsovih slobodnih energija između dva različita HAT procesa
- Tablica 5. Energetski profil (Gibbsova slobodna energija) reakcije ciklizacije

Grafovi:

- Graf 1. Ovisnost energije o dužini N-Cl veze u singletnom i tripletnom stanju
- Graf 2. Ovisnost energije o dužini C-Cl veze u singletnom i tripletnom stanju

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za Analitičku kemiju, Zavod za organsku kemiju
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

Transformacijski put modela lijekova u klorirajućim uvjetima. Kvantno-kemijska studija.

Ratko Preradović

SAŽETAK

Lijekovi nakon uporabe bivaju eliminirani iz organizma i kao takvi dospijevaju u otpadne vode i dezinfekcijske bazene. Prilikom obrade takvih voda najkorištenija metoda je kloriranje raznim klorirajućim specijama među kojima je najučestalija hipokloritna kiselina i plinoviti klor. U reakcijama s klorirajućim specijama metaboliti lijekova, među kojima su nama najzanimljiviji oni koji sadrže amino skupinu, nastaju N-kloramini koji su reaktivniji, toksičniji i perzistentniji oblici.

Sudbine N-kloraminskih specija smo proučavali putem Hoffman-Löffler-Freytag (HLF) reakcije. Računato je koji su produkti vjerojatniji s obzirom na energetske barijere reakcija te stabilnost produkata.

Mehanizmi ovih reakcija proučavani su kvantno-kemijskim modelima kojima su se računale energije produkata, reaktanata i prijelaznih stanja te se putem IQmol programa vizualizirale strukture. Kvantno kemijski izračuni izvedeni su korištenjem programskog paketa Orca. Orca nudi najsuvremenije metode u područjima funkcionala gustoće (DFT – Density Functional Theory) kao i metode temeljene na valnim funkcijama.

Rezultati dobiveni u ovom radu pokazuju da se N-klorirani derivati pregrađuju u N-radikale koji se putem intramolekulskog prijenosa vodika pregrađuju u stabilnije C-radikale koji se kloriraju i pod utjecajem baze cikliziraju u piperidinske i pirolidinske sustave dajući spojeve novih karakteristika. Na kraju reakcije ostajemo s pirolidinskim (ili piperidinskim) prstenom i trimetilamin hidrokloridnom soli.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 32 stranica, 11 grafičkih prikaza, 5 tablica i 29 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Kloriranje, otpadne vode, Hoffman-Löffler-Freytag (HLF) reakcija, 2-aminoheptan, računalna studija

Mentor: **Dr. sc. Davor Šakić**, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Davor Šakić**, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Marijan Marijan, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Hrvoje Rimac, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: lipanj 2022.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of Analytical Chemistry, Department of Organic Chemistry
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

Transformation pathway of drug models in chlorinating conditions, Quantum-chemical study.

Ratko Preradović

SUMMARY

After use, drugs are eliminated from the body and as such end up in wastewater and disinfection pools. When treating such waters, the most used method is chlorination with chlorinating spices, among which hypochlorous acid and chlorine gas are most common. In reactions with chlorinating species, drug metabolites, among which the most interesting are those containing an amino group, N-chloramines are formed which are more reactive, toxic and persistent forms.

The fate of N-chloramine species was studied by Hoffman-Löffler-Freytag (HLF) reactions. It was calculated which products are more likely given the barrier energy response and the stability of products.

The mechanisms of these reactions have been studied by quantum chemical models that calculate the energy of products, reactants and transition states, and structures are visualized through the IQmol program. Quantum chemical calculations were performed using the Orca software package. Orca offers state-of-the-art methods in the field of functional density theory (DFT - Density Functional Theory) as well as methods based on wave functions.

The results obtained in this paper show that N-chlorinated derivatives are converted into N-radicals which are converted into more stable C-radicals by intramolecular hydrogen transfer which are then chlorinated and cyclized under the influence of base into piperidine and pyrrolidine systems giving compounds of new characteristics. At the end of the reaction we are left with a pyrrolidine (or piperidine) ring and trimethylamine hydrochloride salt.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 32 pages, 11 figures, 5 tables and 29 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Chlorination, waste water, Hoffman-Löffler-Freytag (HLF) reaction, 2-aminoheptan, computer study

Mentor: **Davor Šakić**, **Ph.D.** *Assistant Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Davor Šakić**, **Ph.D.** *Assistant Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Marijan Marijan, **Ph.D.** *Assistant Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Hrvoje Rimac, **Ph.D.** *Assistant Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: June 2022..