

# 1,3-dipolarna cikloadicija alkina i azida

---

Milošević, Josipa

Undergraduate thesis / Završni rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:284510>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE**  
**SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ**

**Josipa Milošević**

**ZAVRŠNI RAD**

**Zagreb, rujan 2015.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE**  
**SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ**

Josipa Milošević

*1,3-dipolarna cikloadicija alkina i azida*  
*1, 3-dipolar cycloaddition of alkynes and azides*

**ZAVRŠNI RAD**

Voditelj rada: prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić

**Članovi ispitnog povjerenstva:**

1. prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić
2. dr. sc. Andrijana Meščić
3. prof. dr. sc. Ante Jukić

**Zagreb, rujan 2015.**

*Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Silvani Raić-Malić na predloženoj temi i što mi je omogućila izradu ovog rada i pomogla svojim znanjem, iskustvom i vodstvom.*

*Posebno se želim zahvaliti dr. sc. Andrijani Meščić, na njezinom velikom doprinosu, osobito u području rada u laboratoriju, predanosti u ispravljaju ovog rada te na ljudskoj i stručnoj potpori, strpljenju i brojnim korisnim raspravama i savjetima bez kojih izrada ovog završnog rada ne bi bila moguća.*

*Posebno se želim zahvaliti svojim roditeljima koji su mi omogućili ovaj studij i ostalim članovima svoje obitelji koji su mi bili velika podrška tokom cijelom moga školovanja.*

*Na kraju željela bih se zahvaliti svim članovima Zavoda za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu na ugodnoj atmosferi, koja je uljepšala moj boravak prilikom izrade eksperimentalnog dijela rada.*

## SAŽETAK RADA

### *1,3-dipolarna cikloadicija alkina i azida*

Cilj ovog rada bila je regioselektivna sinteza 1,4-disupstituiranih-1,2,3-triazolnih derivata L-askorbinske kiseline (**2–11**) kao spojeva s potencijalnim antitumorskim djelovanjem. 1,2,3-triazolni derivati (**2–8**) pripremljeni su reakcijom 1,3-dipolarne cikloadicije koja se temelji na konceptu “klik” kemije uz Cu(I) kao katalizator. Za sintezu spojeva **2–8** koristila se tandemska reakcija tosiliranog derivata L-askorbinske kiseline (**1**) i odgovarajućih terminalnih alkina bez izoliranja azidnog derivata L-askorbinske kiseline koji nastaje kao međuprodukt. Sinteze spojeva **2–8** su se provodile primjenom mikrovalova pri temperaturi od 80 °C i 300 W. Kako bi se ispitalo antioksidativno djelovanje 1,2,3-triazolnih derivata L-askorbinske kiseline, priređeni su derivati L-askorbinske kiseline **9–11** sa slobodnim hidroksilnim skupinama uklanjanjem benzilne zaštite. Strukture svih sintetiziranih spojeva (**2–11**) potvrđene su <sup>1</sup>H- i <sup>13</sup>C-NMR spektroskopijom.

Ključne riječi: “klik” kemija, 1,3-dipolarna cikloadicija, L-askorbinska kiselina, 1,2,3-triazoli

## SUMMARY

### *1,3-dipolar cycloaddition of alkynes and azides*

The aim of this work was the synthesis of 1,4-disubstituted 1,2,3-triazole derivatives of L-ascorbic acid (**2–11**) with potential antiproliferative activity using regioselective approach. 1,2,3-triazole derivatives (**2–8**) were prepared using 1,3-dipolar cycloaddition reaction based on the concept of 'click' chemistry with Cu(I) as a catalyst. For the synthesis of compounds **2–8** tandem reaction of the tosylated L-ascorbic acid derivative (**1**) and corresponding alkynes was used without the isolation of the C-6 azide L-ascorbic acid derivative. The synthesis of compound **2–8** was conducted using microwave irradiation at 80°C and 300 W. In order to explore the antioxidant properties of the 1,2,3-triazole L-ascorbic acid derivatives, compounds **9–11** with free hydroxyl groups were prepared by removal of the benzyl protection. The structures of all compounds (**2–11**) have been confirmed by <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy.

Keywords: 'click' chemistry, 1,3-dipolar cycloaddition, L-ascorbic acid, 1,2,3-triazoles

1. UVOD	
1.1. Medicinska kemija i kemija antitumornih lijekova.....	2
2. OPĆI DIO	
2.1. L-askorbinska kiselina (vitamin C).....	4
2.2. Otkriće vitamina C i upotreba .....	7
2.3. Antitumorski učinak derivata L-askorbinske kiseline .....	8
2.4. „Klik“ kemija .....	9
2.5. Triazolni prsten i 1,2,3-triazoli.....	10
2.6. Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija alkina i azida .....	11
2.7. Mehanizam 1,3-dipolarne cikloadicije alkina i azida katalizirane Cu(I) ionima .....	13
2.8. Reakcija cikloadicije katalizirana rutenijevim kompleksom .....	14
2.9. Sinteza potpomognuta mikrovalovima .....	15
3. EKSPERIMENTALNI DIO	
3.1. Opće napomene .....	19
3.2. Pregled sintetiziranih spojeva.....	20
3.3. Postupci za pripravu spojeva od <b>1–11</b> .....	22
4. REZULTATI I RASPRAVA	
4.1. Sinteze spojeva.....	29
4.2. Analiza spektara <sup>1</sup> H-NMR .....	33
5. ZAKLJUČCI.....	36
6. LITERATURA .....	38
7. ŽIVOTOPIS.....	42

# 1. UVOD



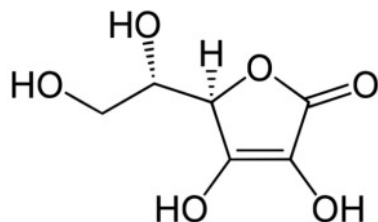
## 1.1. Medicinska kemija i kemija antitumorskih lijekova

Iako je povijest lijekova i ljekovitih tvari iz prirode stara koliko i čovjek, ljekarništvo postaje znanost tek rađanjem dviju kemija: medicinske kemije i farmaceutske kemije. Medicinska kemija se bavi kemijskim promjenama u organizmu u fiziološkom i patološkom stanju pa je tako možemo smatrati nekom vrstom primijenjene biokemije. Osnovni cilj medicinske kemije je dizajnirati i pripremiti farmakološki aktivne supstance koje bi se mogle primijeniti u medicini za prevenciju i liječenje ljudi i životinja. Istraživanja u medicinskoj kemiji su usmjerena na otkrivanje strukture novog lijeka prateći pritom i sudbinu lijeka koji se unosi u organizam. Lijekovi u osnovi mogu djelovati na sljedeće dijelove stanice: 1. membrane, koje sadržavaju brojne receptore, 2. citosol, koji sadržava membrane organela s nosiocima (transporterima) iona i enzime, 3. jezgre, na koje djeluju antitumorski lijekovi (genetska terapija) i hormoni. Kako bismo razumjeli djelovanje lijekova potrebno je poznavati biofizičke i biokemijske procese na kojima se temelji interakcija lijeka i receptora.<sup>1</sup> U nešto novije vrijeme zbog povećane pojave različitih vrsta karcinoma raste interes za otkrivanjem i razvojem protutumorskih lijekova. Karcinom (rak) je bolest čovjeka i životinja koji razara strukturu i normalno funkcioniranje njihova tkiva. Iako točan uzrok mnogih vrsta raka nije još uvijek utvrđen, poznato je da zaraze te vanjski čimbenici kao što su kemijske tvari i zračenje mogu izazvati preobrazbu normalnih stanica u zloćudne tvorevine. Kemijske modifikacije sumporovih iperita dovele su do slučajnog otkrića dušikovih iperita koji se još i danas upotrebljavaju kao protutumorski lijekovi. Sintetička se kemija od tog otkrića primjenjivala za određivanje struktura lijekova i sintezu farmakoloških učinkovitih tvari izoliranih iz prirodnih izvora. Iako se stalno istražuju nove metode u kliničkoj terapiji karcinoma, stvarna učinkovitost u kliničkom liječenju karcinoma često je razočaravajuća.<sup>2</sup> Sedamdesetih godina 20-og stoljeća u liječenju karcinoma kod bolesnika u uznapredovaloj fazi karcinoma, upotrebljena je L-askorbinska kiselina (vitamin C).<sup>3</sup> Daljnjim istraživanjem tadašnja ugledna klinika Mayo nije potvrdila učinkovitost vitamina C kao potencijalnog antitumorskog lijeka.<sup>4</sup> Tijekom kasnijih godina pa sve do danas otkriva se i istražuje moguća upotreba vitamina C pri liječenju karcinoma. U tu svrhu sintetiziraju se i istražuju različiti derivati vitamina C s potencijalnim antitumorskim djelovanjem.

## 2. OPĆI DIO

## 2.1. L-askorbinska kiselina (vitamin C)

Vitamin C odnosno L-askorbinska kiselina je ketolakton sa šest ugljikovih atoma koji je po strukturi sličan glukozi (slika 1).

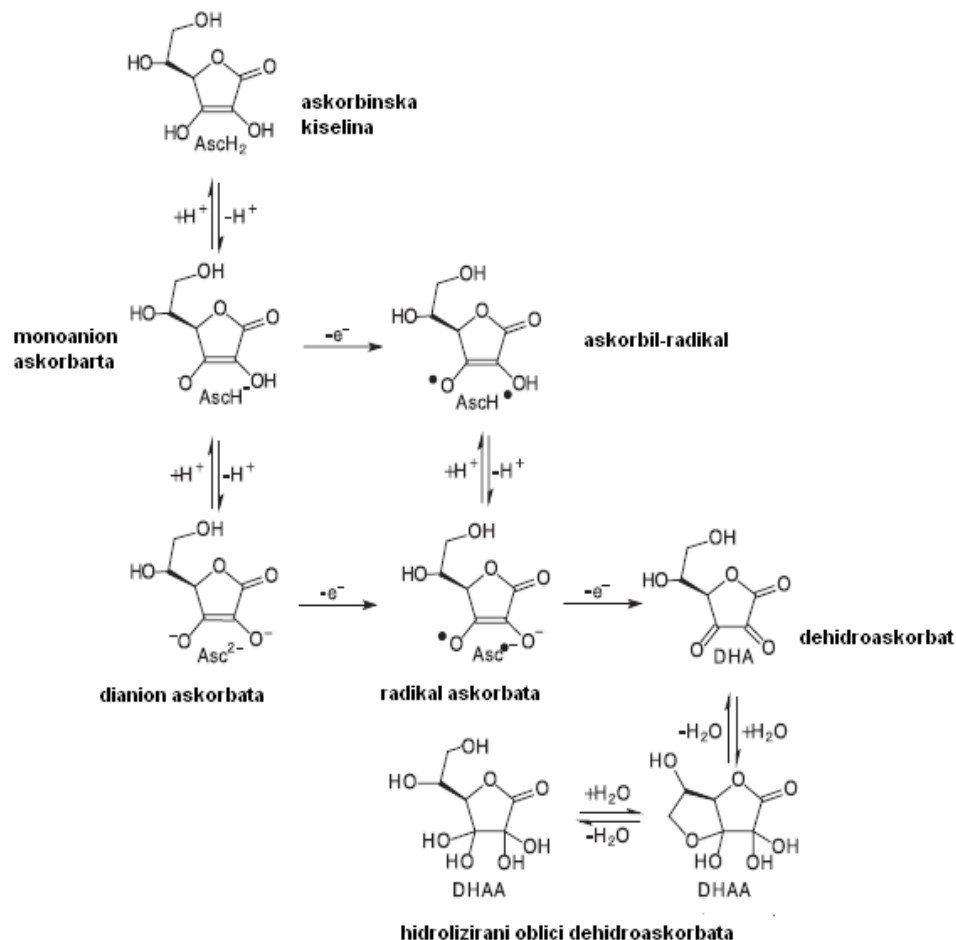


Slika 1. Struktura L-askorbinske kiseline

Sintetizira se iz glukoze u jetri većine sisavaca i kod biljaka, dok se kod ljudi znatna količina vitamina C unosi putem hrane. Gubitkom samo jednog elektrona askorbinska kiselina postaje slobodni radikal te nastaje semidehidroksilna kiselina ili askorbilni radikal. U usporedbi s drugim radikalima relativno je stabilna te tako poprilično nereaktivna. Gubitkom drugog elektrona formira se dehidroaskorbinska kiselina čija stabilnost ovisi o temperaturi i pH vrijednosti. L-askorbinska kiselina ima mogućnost doniranja dva elektrona iz dvostruke veze između drugog i trećeg ugljikovog atoma što je uzrok njezinog djelovanja kao antioksidansa. Sve poznate fiziološke i biokemijske funkcije posljedica su djelovanja L-askorbinske kiseline kao elektron-donora.<sup>5</sup>

Čista askorbinska kiselina je bijeli prah dobro topljiv u vodi.<sup>6</sup> Prilikom oralnog unosa dobro se apsorbira u nižim dozama. U krvi se L-askorbinska kiselina lako filtrira i lako se reapsorbira u bubrezima. Pretpostavlja se da nepromijenjena prolazi kroz glomerule i aktivnu tubularnu reapsorpciju koju provodi transportni protein ovisno o koncentraciji vitamina C. Višak vitamina nastao zasićenjem transportnog proteina izlučuje se putem mokraće. Uz pomoć glutaciona stanice preuzimaju DHA (dehidroaskorbinsku kiselinu) nastalu oksidacijom L-askorbinske kiseline i reduciraju je ponovo u askorbinsku kiselinu. Kažemo da se izvanstanično oksidiran askorbat reciklira unutar stanica. Taj proces nazivamo recikliranje askorbata. Ovisno o pH vrijednosti

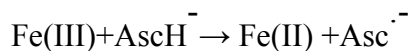
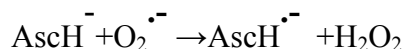
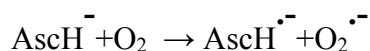
medija i oksidacijskom stanju pojavljuje se u različitim oblicima (slika 2). U fiziološkim uvjetima 99,95 % vitamina C prisutno je u obliku askorbatnog monoaniona ( $\text{AscH}^-$ ) kojeg još nazivamo “askorbat“.



Slika 2. Ravnoteža i redoks vrste u sustavu askorbinske-dehidroaskorbinske kiseline

L- askorbinska kiselina je važan antioksidans koji sprječava oksidaciju drugih spojeva. Njezin antioksidacijski učinak u prehrambenim proizvodima može se procijeniti *in vivo* na temelju određenih pokazatelja među kojima je najvažniji pokazatelj sama koncentracija L-askorbinske kiseline koja je samim time pokazatelj oksidacijskog stresa. Antioksidacijski mikronutritijenti i antioksidacijski enzimi su obrambeni sustavi u tijelu protiv reaktivnih molekula i slobodnih radikala. Normalni stanični metabolizam proizvodi visoko reaktivne kisikove metabolite koji su dio imunološkog sustava u tijelu, metabolizma arahidonske kiseline, mitohondrijskog respiratornog lanca, ovulacije fertilizacije. Iako se slobodni radikali neprekidno proizvode u našem tijelu, njihovo se stvaranje može pojačati u patološkim okolnostima. Halliwell je ukazao

da bi terapija antioksidansima mogla imati zaštitni učinak ili pak pojačati oksidacijsko oštećenje. Uzimanje snažnog antioksidansa nakon što je nastupilo oksidacijsko oštećenje pojačat će oštećenje ukoliko je antioksidans snažniji kao reducirajući agens ovisno o mjestu u redosljedu događaja. Neki pak podaci ukazuju na zaštitnu ulogu vitamina C u oksidaciji DNA, dok drugi ne ukazuju na učinak vitamina C na oštećenje DNA ili primjerice na djelotvornost u zaštiti od oštećenja kromosoma. S druge strane manjak vitamina i minerala oštećuje DNA što uzrokuje kidanje jednostrukih i dvostrukih lanaca te oksidacijske ozljede. Sposobnost vitamina C da ošteti DNA, proteine i lipide *in vitro* pripisuje se stvaranju reaktivnih metabolita kisika u prisutnosti iona prijelaznih metala koji se uglavnom nalaze u tragovima. Primjer su radikal superoksidnog aniona i vodikov peroksid ili hidroksilni radikal (OH<sup>•</sup>).



Nadalje, L-askorbinska kiselina donira elektrone za 8 enzima koji sudjeluju u biosintezi karnitina i noradrenalina, kolagena, amidaciji peptidnih hormona te u metabolizmu tirozina. Ima neenzimske reduktivne funkcije u kemijskim reakcijama zbog svog redoksnog potencijala i intermedijara slobodnog radikala. Doniranjem elektrona L-askorbinska kiselina sprječava oksidaciju drugih spojeva i djeluje kao antioksidans.

Smanjena količina vitamina C može uzrokovati posljedice koje povezuju vitamin C s akutnim pankreatisom, astmom, šećernom bolesti te nestabilnim koronarnim sindromom. Osim navedenih posljedica nastalih nedovoljnim unosom vitamina važna je i njegova uloga u sprječavanju i liječenju bolesti. U studijama je dokazano da visoke doze vitamina C primijenjene ubrzo nakon nastupa prehlade nisu smanjile trajanje i jačinu simptoma prehlade, no zato su znatno smanjile simptome gripe. Ima ključnu ulogu u obrani u napada oksidanata u dišnim putevima što je od značajne važnosti ljudima koji boluju od upale dišnih puteva (astme). Unos 100 mg vitamina C

na dan prehranom povezan je s smanjenjem pojave ili smrtnosti od moždanog udara, srčanih bolesti ili karcinoma. Zajedno sa aminokiselinom metioninom utječe na koncentracije lipidnih peroksida i aktivnost antioksidacijskih enzima u modelu Alzheimerove bolesti, ukazujući time na njegovu moguću uporabu u liječenju neurodegenerativnih bolesti.<sup>7</sup>

## 2.2. Otkriće Vitamina C i njegova upotreba

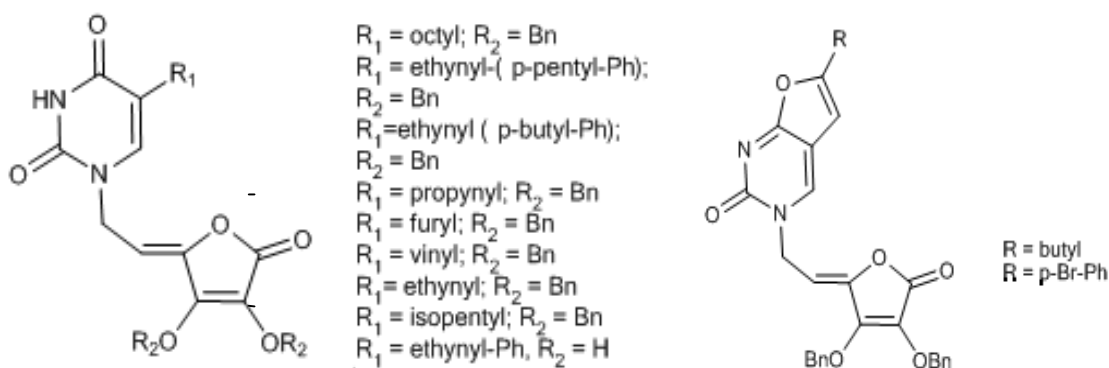
Sredinom 18. stoljeća James Lind otkrio je da svježi agrumi pomažu prilikom liječenja skorbuta.<sup>8</sup> Uloga L-askorbinske kiseline u liječenju te bolesti tada još nije bila poznata sve do 1928. godine kad je Albert Szent-Gyorgy prvi put izolirao L-askorbinsku kiselinu. Za njegovu popularizaciju zaslužan Linus Pauling koji sredinom sedamdesetih godina 20. stoljeća dolazi do spoznaje o važnosti vitamina C u prevenciji prehlade te liječenju karcinoma. Vitamin C predstavlja jednu od najvažnijih biomolekula koja se zbog nedostataka enzima L-gulono-lakton-oksidade u organizmu čovjeka, isključivo unosi hranom i to najčešće voćem i povrćem (tablica 1). Kao posljedica nedovoljnog unosa vitamina C u organizmu javlja se skorbut koji, ako se ne liječi na vrijeme, može uzrokovati smrt.<sup>7</sup>

Tablica 1. Količina vitamina C u namirnicama izražena u miligramima po 100 g namirnice<sup>9</sup>

Namirnice bogate vitaminom C	mg/100g namirnice
šipak	270
čili paprika	240
crni ribizl	210
peršinov list	182
kopriva	175
žuta paprika	170
crvena paprika	144
kelj	120
kelj pupčar	100
kivi	84
brokula	82

### 2.3. Antitumorski učinak derivata L-askorbinske kiseline

Sedamdesetih godina 20. stoljeća Cameron i Pauling primijenili su L-askorbinsku kiselinu u liječenju karcinoma kod bolesnika u uznapredovaloj fazi karcinoma. Rezultati liječenja pokazali su poboljšanje općeg stanja bolesnika. Većina bolesnika se osjećala bolje sa smanjenim napadajima bolova te uz produljenje životnog vijeka.<sup>3</sup> Međutim daljnjim istraživanjem klinike Mayo rezultati objavljeni u znanstvenom radu nisu ukazivali na nikakav učinak vitamina C u liječenju karcinoma.<sup>4</sup> Tijekom kasnijih godina pa sve do danas otkriva se i istražuje moguća upotreba vitamina C pri liječenju karcinoma. U tu svrhu istražuju se derivati vitamina C koji pokazuju potencijalno antitumorsko djelovanje. Nađeno je da derivati askorbinske kiseline kao što je npr. *N,N*-dimetil-6-amino-6-deoksi-L-askorbinska kiselina, inhibiraju rast određene vrste ljudskih malignih stanica tumora kao što je karcinom vrata maternice, karcinom grkljana i gušterače.<sup>10</sup> Osim toga, važni su i pirimidinski i purinski derivati L-askorbinske kiseline koji pokazuju značajno antiproliferativno djelovanje na tumorske stanice porijeklom iz čovjeka. Slične rezultate pokazuju i ostali derivati vitamina C: C-5 supstituirani arilni, alkenilni, alkinilni pirimidinski i furo[2,3-*d*]pirimidinski derivati 4',5'-didehidro-L-askorbinske kiseline s citotoksičnim djelovanjem (slika 3).<sup>11,12</sup>



Slika 3. C-5 supstituirani arilni, alkenilni, alkinilni pirimidinski i furo[2,3-*d*]pirimidinski derivati 4',5'-didehidro-L-askorbinske kiseline s citotoksičnim djelovanjem<sup>11,12</sup>

## 2.4. „Klik“ kemija

„Klik“ kemija je naziv za niz selektivnih reakcija koje formiraju heteroatomne veze i predstavlja novi pristup u širokom području kemije. Prema tome „klik“ kemija predstavlja djelotvornu sintetsku metodu sa širokom primjenom u pripravi novootkrivenih spojeva s biološkim djelovanjem.<sup>13</sup> Pojam „klik“ kemija pojavljuje se prvi put 2001. godine prateći misao Kolba, Finna i Sharplessa koji objavljuju koncept nove strategije za organsku kemiju.<sup>14</sup> „Klik“ reakcije moraju biti široko primjenjive, visokog iskorištenja i stereospecifične uz nusprodukte koji ne utječu štetno na željeni produkt te se lako mogu ukloniti nekromatografskim metodama. Reakcije bi se trebale provoditi pri jednostavnim reakcijskim uvjetima uz upotrebu lako dostupnih polaznih spojeva i reagensa s ciljem dobivanja produkata koji se lako izoliraju i pročišćavaju. Da bi reakcije mogle ispuniti navedene uvjete moraju biti jako termodinamički povoljne (obično  $\Delta G > 20$  kcal/mol). Reakcije koje zadovoljavaju navedene uvjete su: cikloadicije nezasićenih spojeva, Diels-Alderove reakcije, reakcije nukleofilne supstitucije (reakcije epoksida), reakcije na C-C veze (dehidroksilacija, epoksidacija).

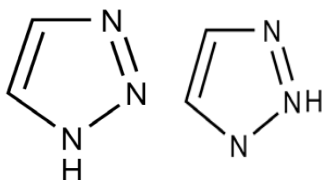
Od navedenih reakcija poseban status „klik“ reakcije ima Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija alkina i azida kojom dobivamo 1,2,3-triazolni prsten koji je od posebnog značaja za razvoj lijekova zbog svog specifičnog biološkog djelovanja.<sup>15</sup>



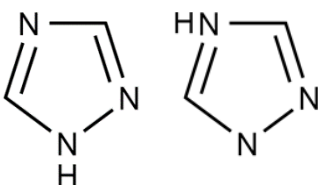
## 2.5. Triazolni prsten i 1,2,3-triazoli

Triazoli sadrže peteročlani triazolni prsten koji se sastoji od 2 atoma ugljika i 3 atoma dušika. Razlikujemo dva izomera triazola: 1,2,3-triazol i 1,2,4-triazol, koji se međusobno razlikuju u odnosu na raspored dušikovih atoma unutar triazolnog prstena.<sup>16</sup>

Svaki od navedenih izomera triazola sadrži po 2 tautomera (slike 4 i 5).



Slika 4. 1H 1,2,3-triazol i 2H 1,2,3-triazol



Slika 5. 1H 1,2,4-triazol i 2H 1,2,4-triazol

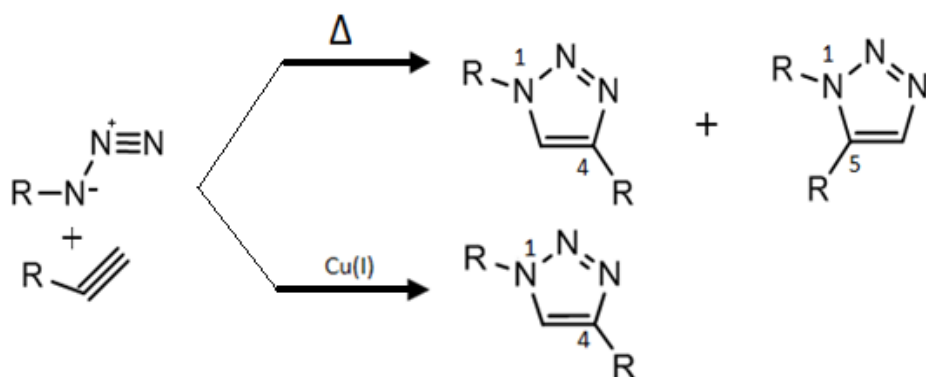
1,2,3-triazoli su aromatski heterociklički spojevi sa specifičnim biološkim djelovanjem čija primjena zbog njihove biološke aktivnosti s vremenom sve više i više raste posebice u otkrivanju novih lijekova. 1,2,3-triazoli nastali reakcijom 1,3-dipolarne cikloadicije prema konceptu „klik kemije“ mogu oponašati razmještaj atoma i elektronske osobine peptidne veze, a da pri tome ne dođe do hidrolitičkog cijepanja. 1,2,3-triazoli sadrže jaki dipolni moment koji omogućuje dušikovim atomima N-2 i N-3 da se ponašaju kao akceptori vodikove veze. Možda zbog te osobine posjeduju različite biološke aktivnosti kao što je anti-HIV aktivnost ili primjerice antibakterijska aktivnost.<sup>15</sup> Nadalje, važna osobina triazolnog prstena je da ne služi samo kao poveznica već sadrži određena specifična fizikalno-kemijska svojstva. S obzirom da triazolni

prsten odnosno 1,2,3-triazoli sadrže dipolni moment mogu ostvariti i  $\pi$ - $\pi$  interakcije s mnogim aromatskim spojevima kao što su spojevi koji sadrže benzenski prsten. Osim toga važna je mogućnost dušikovih atoma N-2 i N-3 koji čine triazolni prsten da tvore vodikove veze s donorima vodikovih veza s obzirom da se zbog jakog dipolnog momenta mogu ponašati kao akceptori elektrona. S druge strane mogu koordinirati i sa metalnim ionima. Nedavna istraživanja na 1,2,3-triazolima pokazuju značajnu ulogu vodikovih veza i dipolnih interakcija u povećanju topivosti 1,2,3-triazola te njihovu ulogu u vezanju na biomolekulske mete.<sup>17</sup> Derivati triazola imaju široku terapijsku primjenu i prisutni su u brojnim lijekovima. Najpoznatija metoda za sintezu 1,2,3-triazola je 'klik' reakcija 1,3-dipolarne cikloadicije organskih azida i terminalnih alkina (CuAAC) uz bakar kao katalizator pri čemu nastaju isključivo 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazoli. Potvrđeno je da 1,2,3-triazoli u kombinaciji s odgovarajućim heterocikličkim strukturama, poput pirimidina, izatina, kumarina, kinolina povećavaju biološku učinkovitost.<sup>18</sup> Prednost 1,2,3-triazola je što su vrlo stabilni i inertni što omogućuje kemijsku i metaboličku razgradnju, te mogućnost djelovanja u oksidacijskim i redukcijskim uvjetima, hidrolitičkim uvjetima te pri visokim temperaturama.<sup>19</sup>

## 2.6. Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija alkina i azida

Razvojem „klik“ kemije ranih godina 21. stoljeća raste interes za istraživanjem novih elemenata dobivenih na temelju pouzdanih i učinkovitih reakcija „klik“ kemije. Potiče se otkrivanje novih spojeva s ciljem identifikacije sve većeg broja reakcija koje odgovaraju kriterijima „klik“ reakcija. Od posebnog značaja za „klik“ kemiju i otkrivanje biološki važnih spojeva je bakrom(I) katalizirana 1,3-dipolarna cikloadicija alkina i azida pri čemu kao produkt dobivamo biološki važne spojeve: 1,2,3-triazole. 1,3-dipolarna cikloadicija definirana je na temelju rada Rolfa Huisgena 1960. godine. Prema tome često je nazivamo Huisgenovom cikloadicijom. 1,3-dipolarna cikloadicija je reakcija dipolarofila (alkana, alkina, azida i drugih molekula sa srodnom heteroatomnom funkcionalnom grupom) s 1, 3-dipolom uz nastajanje peteročlanog prstena kao produkta. Navedena reakcija omogućuje azidima i alkinima ugradnju u molekulu koja je stabilna pri različitim uvjetima. Pri tome je važno spomenuti da su reakcije navedene cikloadicije spore s obzirom da se radi o kinetički stabilnim alkinima i azidima što zahtjeva određenu temperaturu i vrijeme. Huisgen je provodio reakciju uz zagrijavanje alkina i azida prilikom čega je izolirao dva

produkta: 1,4 i 1,5-disupstituirane triazolne prstene (slika 6). Za razliku od Huisgena, K. B. Sharpless i Meldal su upotrebom bakar(I) kao katalizatora dobili se samo jedan produkt, 1,4-disupstituirani triazolni prsten (slika 6).



Slika 6. Shematski prikaz 1,3-dipolarne cikloadicije

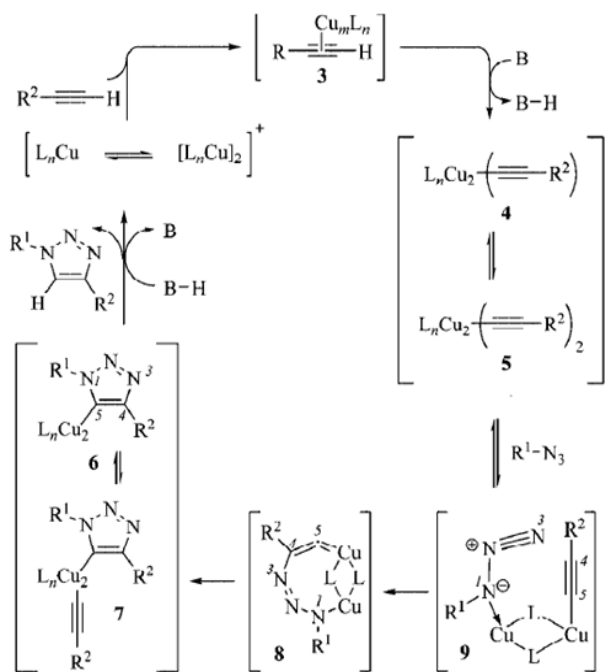
Upotreba bakra kao katalizatora dramatično poboljšava regioselektivnost i značajno povećava brzinu reakcije. Reakcija omogućuje dobivanje 1,2,3-triazola uz minimalne troškove i potrebu za pročišćivanjem.<sup>15</sup>

Reakcijski uvjeti zahtijevaju otapala ili smjesu otapala te izvor Cu(I) iona. Tolerira se široki spektar funkcionalnih skupina uključujući nezaštićene skupine kao što su hidroksilne, karboksilne i amino skupine. Moguća je upotreba raznovrsnih otapala od kojih je najznačajnija upotreba vode kao otapala što omogućuje upotrebu u industrijske svrhe i time smanjuje zagađivanje okoliša uzrokovano upotrebom drugih otapala. Izvor Cu(I) iona mogu biti soli kao što je primjerice CuI, međutim zbog svojstva soli Cu(I) da podliježu redukcijским procesima pri normalnoj atmosferi u većini slučajeva izvor Cu(I) iona posljedica je oksido-redukcijskih reakcija.<sup>20</sup> Prema tome upotreba soli Cu(I) kao izvora bakrovih iona zahtjeva rad u inertnoj atmosferi, dok *in situ* priprava Cu(I) iona iz oksido-redukcijskih procesa ne zahtjeva inertnu atmosferu. Osim toga reakcija se odvija u širokom rasponu pH vrijednosti (5-12)<sup>21</sup> Također, Cu(I) kao katalizator je jeftin i jednostavan za rukovanje. Cu(I)-katalizirana Huisgenova cikloadicija predstavlja jedan od najpopularnijih i najučinkovitijih reakcija unutar koncepta

„klik“ kemije u kombinaciji s potencijalno povoljnim fizikalno-kemijskim svojstvima nastalih triazola.<sup>22</sup>

## 2.7. Mehanizam 1,3-dipolarne cikloadicije alkina i azida katalizirane Cu(I) ionima

Mogućnost upotrebe Cu(I) kao katalizatora u reakciji cikloadicije spominje se prvi put 2002. godine u publikaciji Mortena Meldala u Carlsberg laboratoriju u Danskoj.<sup>23</sup> Gotovo istovremeno 2002. godine Fokina i Sharpless provode reakciju cikloadicije pomoću bakra kao katalizatora na Scripps Research Institutu.<sup>24</sup> Uvođenje bakra kao katalizatora predstavlja ključ poboljšanja Huisgenove cikloadicije što otvara mogućnost provođenja reakcije pri sobnoj temperaturi. Izvorna Huisgenova cikloadicija imala je veliku energiju aktivacije te reakcija nije mogla početi bez povišenja temperature. Dodatkom bakra kao katalizatora snizila se energija aktivacije što je ubrzalo reakciju te omogućilo provođenje reakcije bez povišenja temperature i uz nastajanje jednog produkta u odnosu na izvornu Huisgenovu cikloadiciju pri kojoj kao produkt nastaje smjesa regioizomera.<sup>21</sup> Energija aktivacije smanjila se za oko 11 kcal/mol što je objasnilo poboljšanje tijeka reakcije uzrokovano dodatkom katalizatora (slika 7).

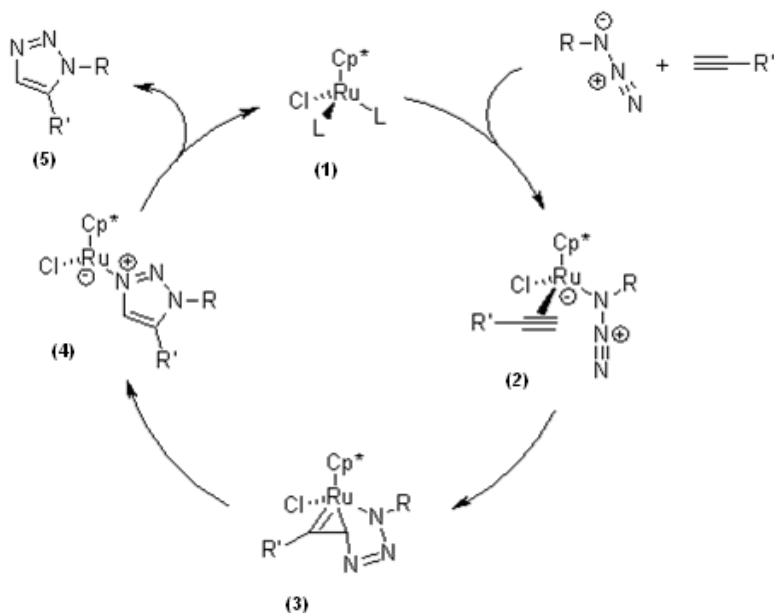


Slika 7. Mehanizam 1,3-dipolarne cikloadicije kataliziran Cu(I) ionima<sup>20</sup>

U prvom stupnju mehanizma pretpostavlja se nastajanje  $\pi$ -kompleksa odnosno Cu(I)-acetilena **3** između  $\pi$ -elektrona trostruke veze i bakrova iona (slika 7). Vezanjem bakra snižava se pKa vodikova atoma alkina (do 9,8) što omogućuje deprotoniranje sa slabima bazama kao što je voda. Bakar služi kao most između azida i alkina što omogućava nukleofilni napad spoja **9** ugljikova atoma C-4 na dušikov atom N-3 i time se zatvara triazolni prsten. Prema istraživanjima kinetika reakcija je drugog reda prema koncentraciji bakrovih iona, dok povećanjem koncentracije iona reakciju svrstavamo prema kinetici u reakciju između prvoga i drugoga kinetičkog reda.<sup>20</sup>

## 2.8. Reakcija cikloadicije katalizirana rutenijevim kompleksom

Potruga za potencijalnim katalizatorima otvara novu mogućnost katalize cikloadicije azida i alkina pomoću pentametilciklopentadienil rutenij klorida kao katalizatora [Cp\* RuCl] u sintezi 1,2,3 triazola. Spomenuti kompleksi su sposobni katalizirati cikloadiciju uz nastajanje 1,5-disupstituiranih 1,2,3-triazola kao produkta. Za razliku od CuAAC reakcija, unutarnji alkini mogu sudjelovati u reakciji (slika 8).<sup>25</sup>



Slika 8. Pretpostavljeni mehanizam cikloadicije katalizirane rutenijevim kompleksom<sup>25</sup>

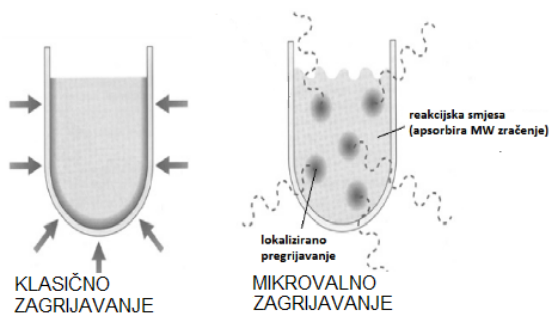
## 2.9. Sinteza potpomognuta mikrovalovima

Mikrovalna tehnologija postala je s vremenom vrlo važan čimbenik u sintezi organskih spojeva i razumno je tvrditi da postoji vrlo mali dio sintetiziranih spojeva sintetske organske kemije čije sinteze nisu potpomognute mikrovalnim zagrijavanjem. Zagrijavanje reakcija pomoću mikrovalova ubrzalo je proces zagrijavanja i time skratilo vrijeme potrebno za sintezu organskih spojeva.

Dielektrično ili mikrovalno zagrijavanje temelji se na svojstvu materije da apsorbira magnetsku energiju i pretvara je u toplinu. Sinteze se odvijaju pomoću mikrovalova koji pripadaju području elektromagnetskog spektra koje odgovara frekvencijama 0,3–300 MHz. Prema definiciji, elektromagnetsko zračenje zapravo predstavlja gibanje energije koje nastaje kao fizikalni fenomen protoka električne struje kroz vodič. Elektromagnetski valovi su titraji međusobno povezanog magnetskog i električnog polja, koji se šire prostorom. Protok struje kroz žicu rezultira stvaranjem dva polja, magnetskog i električnog, koji okružuju vodič, a promjena smjera gibanja struje elektrona uzrokuje pulsiranje oba polja i stvaranje elektromagnetnih valova koji se šire okomito na smjer struje koja ih je izaziva.<sup>26</sup> Primjenjuje se od 1995. nakon objave članka o mogućoj primjeni mikrovalova u sintezi organskih spojeva. Od tog događaja postalo je jasno da će organska sinteza imati veliku korist od razvoja mikrovalne tehnologije.<sup>27</sup>

Mikrovalovi imaju ograničen energetska potencijal, pa ne uzrokuju promjene u strukturi tvari već samo utječu na promjenu temperature sustava.

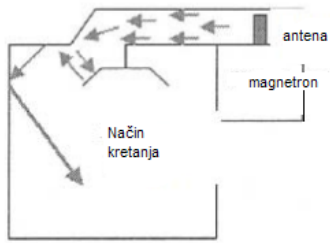
Mikrovalno zračenje u odnosu na klasično zagrijavanje skraćuje vrijeme zagrijavanja, povećava iskorištenje reakcije smanjujući udio nusprodukta, te je moguće provesti neke reakcije koje se ne odvijaju klasičnim putem (slika 9).



Slika 9. Shematski prikaz načina djelovanja klasičnog i mikrovalnog zagrijavanja

Danas se najčešće u tu svrhu koriste jednofunkcijski i višefunkcijski reaktori. Višefunkcijski reaktori sadrže veliko kućište, imaju mogućnost rada s više posudica što omogućuje paralelnu sintezu, pogodni su za “scale up”. Nedostaci višefunkcijskih reaktora su ti da je gustoća magnetskog polja niža, magnetsko polje može biti nehomogeno i mogući su problemi u radu s malim količinama uzorka.

Jednofunkcijski reaktori u odnosu na višefunkcijske imaju malo kućište, uglavnom su pogodni za rad s malim količinama, homogenije je elektromagnetsko polje, sinteza se provodi automatskim postavljanjem uzorka, omogućava rad s jednom posudicom, veća je gustoća magnetskog polja, moguća je “scale up” reakcija jedino primjenom tehnike zaustavljanog ili kontinuiranog protoka.<sup>28</sup>



Slika 10. Mikrovalni reaktori <sup>28</sup>



### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. Opće napomene

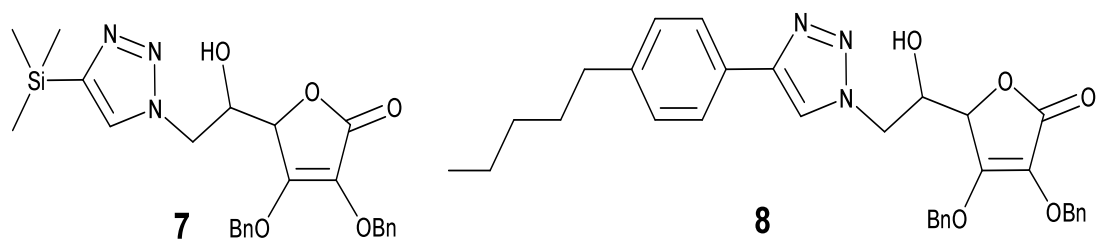
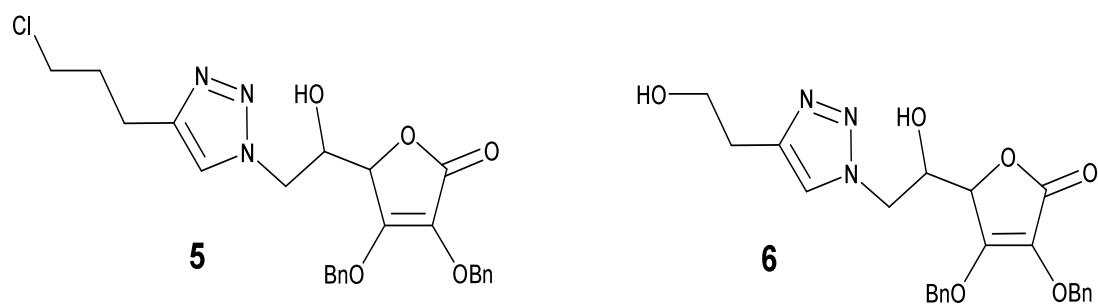
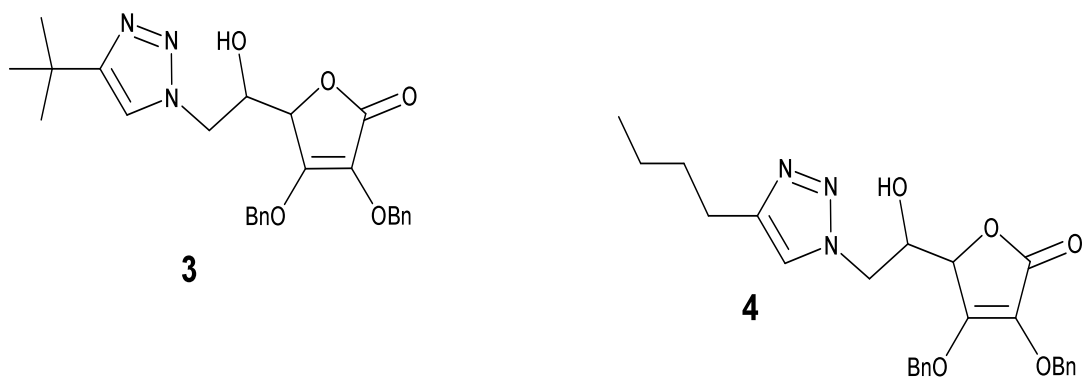
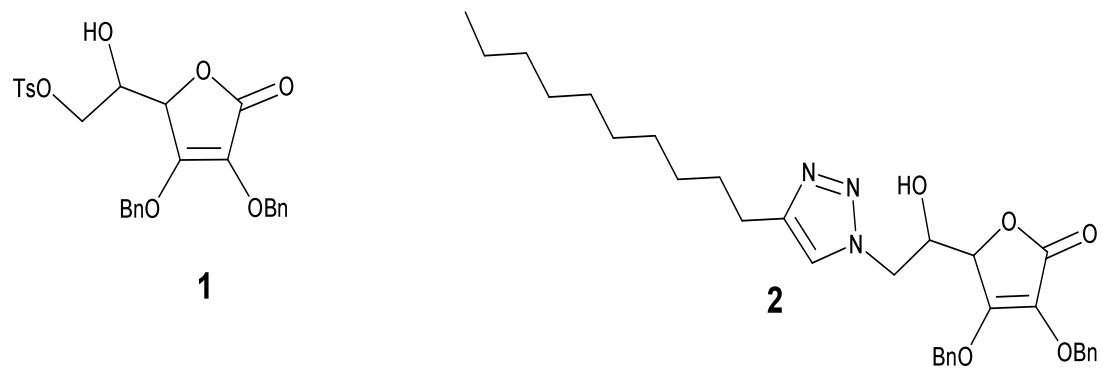
Otapala koja su korištena prilikom sinteze su sušena i pročišćavana prema preporučenom postupku sušenja agensima i/ili destiliranjem preko molekulskih sita veličine 3Å.

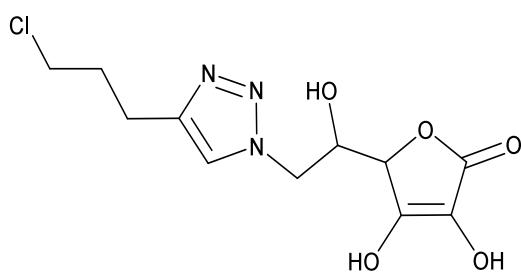
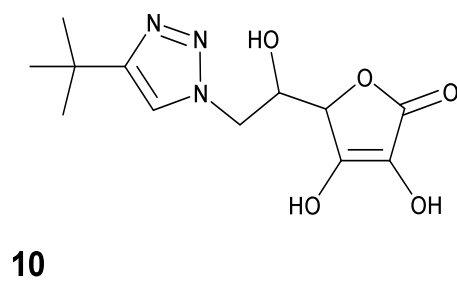
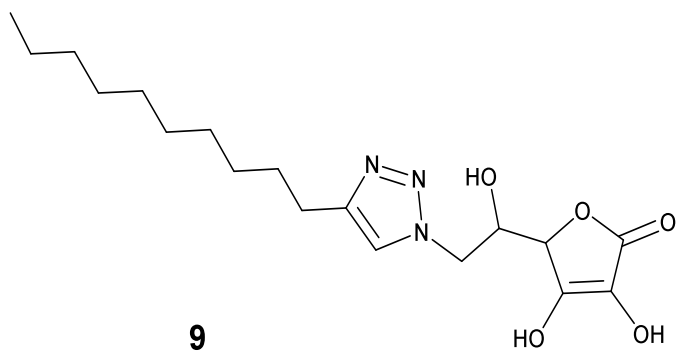
Tijek reakcije je praćen tankoslojnom kromatografijom (TLC), koja se provodila na pločama 60F-254 koje su bile presvučene slojem silikagela Merck u sustavu otapala diklormetan: metanol u odgovarajućem omjeru. Za detekciju izoliranih komponenata korištena je UV-svjetlost čija je valna duljina iznosila 254 nm.

Kromatografija na koloni provedena je na silikagelu (*Fluka*, 0.063-0.2 nm), a staklene kolone su punjene pod utjecajem gravitacije pri čemu je kao eluens korištena smjesa diklormetan : metanol u odgovarajućem omjeru ovisno o sintetiziranom spoju.

NMR spektri  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  snimljeni su na spektrometru Bruker Avance 300 i 600 MHz. Uzorci su otopljeni u DMSO i mjereni pri temperaturi od 298 K. Kemijski pomaci ( $\delta$ ) u  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektrima izraženi su u ppm u odnosu na signal DMSO-a koji se nalazi na  $\delta 2.50$  ppm za  $^1\text{H}$  i  $\delta 39.50$  ppm za  $^{13}\text{C}$  NMR spektar. Konstante sprege ( $J$ ) izražene su u hercima (Hz). Pojedinačne rezonancije dodijeljene su na temelju njihovih kemijskih pomaka, intenziteta i multipliciteta signala te konstanti sprege H-H.

### 3.2. Pregled sintetiziranih spojeva





### 3.3. Postupci za pripremu spojeva (1–11).

#### **6-*O*-tosil-2,3-*O,O*-dibenzil-L-askorbinska kiselina (1)<sup>29</sup>**

2,3-*O,O*-dibenzil-L-askorbinska kiselina (2,7 g; 7,6 mmol) otopi se u suhom diklormetanu (22 ml) i suhom piridinu (7 ml) te se reakcijska smjesa miješa na 0 °C u atmosferi argona. Otopini se kroz 2 h dokapa otopina *p*-toluensulfonil-klorida (1,6 g; 8,4 mmol) u diklormetanu (15 ml). Reakcijska smjesa se miješa preko noći na sobnoj temperaturi. Otapalo se upari pod sniženim tlakom. Ostatak nakon uparavanja se ekstrahira (diklormetan : voda, zasićena otopina NaHCO<sub>3</sub>). Organski sloj se suši iznad MgSO<sub>4</sub>. MgSO<sub>4</sub> se odfiltrira, a filtrat upari i pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 200 : 1). Spoj **1** izoliran je kao bijeli prah (2,3 g; 56,1 %).

#### **6-(4-decil-1,2,3-triazol-1-il)-2,3-*O,O*-dibenzil-L-askorbinska kiselina (2)**

Spoj **1** (300 mg; 0,59 mmol) otopljen je u DMF-u (7 ml). U reakcijsku smjesu dodan je NaN<sub>3</sub> (175,7 mg; 2,70 mmol) otopljen u H<sub>2</sub>O (3,01 ml), dodecin (0,30 ml), Cu žica (30,56 mg; 0,48 mmol) i 1 M otopina CuSO<sub>4</sub> x 5H<sub>2</sub>O (0,18 ml; 0,18 mmol). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 1h na temperaturi 80°C i 300 W. Tijek reakcije je praćen TLC-om. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 200:1). Spoj **2** je izoliran kao bijeli praškasti spoj (110,7mg; 34,3 %).

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO) δ 7,84 (s, 1H, H-7), 7,43-7,29 (m, 10H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5,62 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H, OH), 5,22 (dd, *J* = 42,3; 11,7 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4,98 (q, *J* = 11,2 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4,91 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H, H-4), 4,58 (dd, *J* = 13,8; 3,9 Hz, 1H, H-6), 4,34 (dd, *J* = 13,8; 9,3 Hz, 1H, H-6), 4,18 – 4,07 (m, 1H, H-5), 2,59 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, H-1'), 1,68 – 1,49 (m, 2H, H-2'), 1,34 – 1,22 (m, 14H, CH<sub>2</sub>' x 7), 0,85 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO) δ 169,02 (C-1), 157,23 (C-3), 146,56 (C-8), 136,12 (Ph-q), 135,58 (Ph-q), 128,69 (Ph), 128,47 (Ph), 128,44 (Ph), 128,38 (Ph), 127,78 (Ph), 122,82 (C-7), 120,98 (C-2), 75,58 (C-4), 73,66 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72,79 (OCH<sub>2</sub>Ph), 67,37 (C-5), 52,06 (C-6), 31,25 (C-1'),

28,96 (CH<sub>2</sub>'), 28,95 (CH<sub>2</sub>'), 28,93 (CH<sub>2</sub>'), 28,76 (CH<sub>2</sub>'), 28,66 (CH<sub>2</sub>'), 28,58 (CH<sub>2</sub>'), 24,96 (CH<sub>2</sub>'), 22,06 (CH<sub>2</sub>'), 13,92 (CH<sub>3</sub>).

### **6-(4-*tert*-butil-1,2,3-triazol-1-il)-2,3-*O,O*-dibenzil-L-askorbinska kiselina (3)**

Spoj **1** (200 mg; 0,39 mmol) otopljen je u DMF-u (7 ml). U reakcijsku smjesu dodan je NaN<sub>3</sub> (63,8 mg; 0,98 mmol) otopljen u H<sub>2</sub>O (3 ml), 3,3-dimetilbutin (0,1 ml), Cu žica (20 mg; 0,32 mmol) i 1 M otopina CuSO<sub>4</sub> x 5H<sub>2</sub>O (0,12 ml; 0,12 mmol). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 1 h na temperaturi 80°C i pri 300 W. Tijek reakcije je praćen TLC-om. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 100:1). Spoj **3** je izoliran kao bijeli prah (28,0 mg; 15,5 %).

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO) δ 7.85 (s, 1H, H-7), 7.44 – 7.28 (m, 10H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.64 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H, OH), 5.23 (dd, *J* = 48.9, 11.6 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.98 (q, *J* = 11.2 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.94 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H, H-4), 4.58 (dd, *J* = 13.8, 3.7 Hz, 1H, H-6), 4.33 (dd, *J* = 13.8, 9.4 Hz, 1H, H-6), 4.19 – 4.14 (m, 1H, H-5), 1.27 (s, 9H, 3 x CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 169.56 (C-1), 157.65 (C-3), 156, 43 (C-8), 136.32 (Ph-q), 135.79 (Ph-q), 129.03 (Ph), 128.83 (Ph), 128.81 (Ph), 128.26 (Ph), 128.11 (Ph), 121.18 (C-7), 121.18 (C-2), 75.99 (C-4), 74.03 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.14 (OCH<sub>2</sub>Ph), 67.60 (C-5), 52.43 (C-6), 30.52 (3 x CH<sub>3</sub>).

### **6-(4-butil-1,2,3-triazol-1-il)-2,3-*O,O*-dibenzil-L-askorbinska kiselina (4)**

Spoj **1** (200 mg; 0,39 mmol) otopljen je u DMF-u (7 ml). U reakcijsku smjesu dodan je NaN<sub>3</sub> (63,8 mg; 0,98 mmol) otopljen u H<sub>2</sub>O (3 ml), heksin (0,14 ml), Cu žica (20 mg; 0,32 mmol) i 1 M otopina CuSO<sub>4</sub> x 5H<sub>2</sub>O (0,12 ml, 0,12 mmol). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 1 h na temperaturi 80°C i pri 300 W. Tijek reakcije je praćen TLC-om. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom kromatografijom na slikilagelu (diklormetan : metanol = 200:1). Spoj **4** je izoliran kao bijeli prah (32,4mg; 18,0 %).

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO)  $\delta$  7.84 (s, 1H, H-7), 7.50 – 7.23 (m, 10H,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 5.63 (d,  $J = 7.0$  Hz, 1H, OH), 5.22 (dd,  $J = 42.8, 11.6$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 4.98 (q,  $J = 11.2$  Hz, 1H,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 4.92 (d,  $J = 1.2$  Hz, 1H, H-4), 4.58 (dd,  $J = 13.8, 3.9$  Hz, 1H, H-6), 4.34 (dd,  $J = 13.8, 9.3$  Hz, 1H, H-6), 4.17 – 4.12 (m, 1H, H-5), 2.60 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H, H-1'), 1.68 – 1.50 (m, 2H, H-2'), 1.37-1.28 (m, 2H, H-3'), 0.89 (t,  $J = 7.4$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO)  $\delta$  169.40 (C-1), 157.57 (C-3), 147.0 (C-8), 136.28 (Ph-q), 135.75 (Ph-q), 128.96 (Ph), 128.76 (Ph), 128.73 (Ph), 128.03 (Ph), 123.13 (C-7), 121.15 (C-2), 75.85 (C-4), 73.94 ( $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 73.06 ( $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 67.57 (C-5), 52.32 (C-6), 31.27 (C-1'), 24.80 (C-2'), 21.86 (C-3'), 13.90 ( $\text{CH}_3$ ).

### **6-[4-(3-klorpropil)-1,2,3-triazol-1-il]-2,3-O,O-dibenzil-L-askorbinska kiselina (5)**

Spoj **1** (200 mg; 0,39 mmol) otopljen je u DMF-u (7 ml). U reakcijsku smjesu dodan je  $\text{NaN}_3$  (63,8 mg; 0,98 mmol) otopljen u  $\text{H}_2\text{O}$  (3 ml), 5-klorpentin (0,12 ml), Cu žica (20 mg, 0,32 mmol) i 1 M otopina  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  (0,12 ml; 0,12 mmol). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 1 h na temperaturi  $80^\circ\text{C}$  i pri 300 W. Tijek reakcije je praćen TLC-om. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom kromatografijom (diklormetan : metanol = 100:1). Spoj **5** je izoliran kao bijeli prah (57,2 mg; 30,4 %).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  7,91 (s, 1H, H-7), 7,53 – 6,95 (m, 10H,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 5,65 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H, OH), 5,22 (q,  $J = 11,7$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 4,98 (d,  $J = 1,9$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 4,94 (d,  $J = 1,3$  Hz, 1H, H-4), 4,60 (dd,  $J = 13,7; 3,8$  Hz, 1H, H-6), 4,35 (dd,  $J = 13,7; 9,3$  Hz, 1H, H-6), 4,22 – 4,02 (m, 1H, H-5), 3,68 (t,  $J = 6,5$  Hz, 1H, H-3'), 2,75 (t,  $J = 7,4$  Hz, 2H, H-1'), 2,12 – 1,92 (m, 2H, H-2').

$^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, DMSO)  $\delta$  169,28 (C-1), 157,48 (C-3), 145,42 (C-8), 136,23 (Ph-q), 135,69 (Ph-q), 128,90 (Ph), 128,67 (Ph), 128,64 (Ph), 128,60 (Ph), 128,12 (Ph), 127,98 (Ph), 123,39 (C-7), 121,06 (C-2), 75,75 (C-4), 73,84 ( $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 72,97 ( $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 67,46 (C-5), 52,33 (C-6), 44,85 (C-3'), 31,88 (C-1'), 22,37 (C-2').

### **6-[4-(2-hidroksietil)-1,2,3-triazol-1-il]-2,3-O,O-dibenzil-L-askorbinska kiselina (6)**

Spoj **1** (200 mg; 0,39 mmol) otopljen je u DMF-u (7 ml). U reakcijsku smjesu dodan je  $\text{NaN}_3$  (63,8 mg; 0,98 mmol) otopljen u  $\text{H}_2\text{O}$  (3 ml), but-3-in-1-ol (0,05 ml), Cu žica (20 mg, 0,32 mmol) i 1 M otopina  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  (0,12 ml, 0,12 mmol). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru h na temperaturi  $80^\circ\text{C}$  i pri 300 W. Tijek reakcije je praćen TLC-om. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom kromatografijom (diklormetan : metanol = 100:1). Spoj **6** je izoliran kao bijeli prašak (54,9 mg; 31,2 %).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  7,87 (s, 1H, H-7), 7,56 – 7,19 (m, 10H,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 5,64 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H, OH), 5,22 (dd,  $J = 23,3, 11,7$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 5,04-4,96 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 4,93 (d,  $J = 1,3$  Hz, 1H, OH), 4,63 (t,  $J = 5,3$  Hz, 1H, H-4), 4,61-4,55 (m, 1H, H-6), 4,35 (dd,  $J = 13,7; 9,3$  Hz, 1H, H-6), 4,19 – 4,08 (m, 1H, H-5), 3,62 (dd,  $J = 12,3; 6,9$  Hz, 2H, H-2'), 2,76 (t,  $J = 7,0$  Hz, 2H, H-1').

$^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, DMSO)  $\delta$  169,01 (C-1), 157,22 (C-3), 144,00 (C-8), 136,10 (Ph-q), 135,56 (Ph-q), 128,67 (Ph), 128,45 (Ph), 128,42 (Ph), 128,36 (Ph), 127,77 (Ph), 123,42 (C-7), 120,96 (C-2), 75,57 (C-4), 73,64 ( $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 72,78 ( $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 67,36 (C-5), 60,35 (C-2'), 52,06 (C-6), 29,11 (C-1').

### **6-[4-(4-trimetilsililfenil)-1,2,3-triazol-1-il]-2,3-O,O-dibenzil-L-askorbinska kiselina (7)**

Spoj **1** (200 mg; 0,39 mmol) otopljen je u DMF-u (8 ml). U reakcijsku smjesu dodan je  $\text{NaN}_3$  (63,8 mg; 0,98 mmol) otopljen u  $\text{H}_2\text{O}$  (2 ml), etiniltrimetilsilan (0,8 ml), Cu žica (20 mg, 0,32 mmol) i otopina  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  (0,12 ml, 0,12 mmol). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 1h na temperaturi  $80^\circ\text{C}$  i pri 300 W. Tijek reakcije je praćen TLC-om. Otapalo je upareno, a ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom kromatografijom (diklormetan : metanol = 50:1). Spoj **7** je izoliran kao žuto ulje (54 mg; 28,9 %).

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO)  $\delta$  8.14 (s, 1H, H-7), 7.53 – 7.22 (m, 10H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 5.65 (d,  $J = 7.0$  Hz, 1H, OH), 5.22 (dd,  $J = 49.3, 11.6$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 5.07 – 4.89 (m, 3H,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ , H-4), 4.66 (dd,  $J = 13.7, 3.6$  Hz, 1H, H-6), 4.41 (dd,  $J = 13.8, 9.6$  Hz, 1H, H-6), 4.20-4.13 (m, 1H, H-5), 0.25 (s, 9H,  $(\text{CH}_3)_3\text{Si}$ ).



### **6-[4-(4-pentilfenil)-1,2,3-triazol-1-il]-2,3-O,O-dibenzil-L-askorbinska kiselina (8)**

Spoj **1** (300 mg; 0,59 mmol) otopljen je u DMF-u (8 ml). U reakcijsku smjesu dodan je  $\text{NaN}_3$  (95,7 mg; 1,47 mmol) otopljen u  $\text{H}_2\text{O}$  (2 ml), 1-etinil-4-pentilbenzen (1,4 ml), Cu žica (30,56 mg, 0,48 mmol) i otopina  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  (0,18 ml; 0,18 mmol). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 1h na temperaturi  $80^\circ\text{C}$  i pri 300 W. Tijek reakcije je praćen TLC-om. Otapalo je upareno, a ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom kromatografijom (diklormetan : metanol = 200:1). Spoj **8** je izoliran kao bijeli prašak (168 mg; 51,5 %).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  8.53 (s, 1H, H-7), 7.74 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H, Ph-2',6'), 7.51 – 7.11 (m, 12H,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ , Ph-3',5'), 5.75 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H, OH), 5.22 (dd,  $J = 24.1, 11.6$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 5.04-4.95 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ , H-4), 4.70 (dd,  $J = 13.7, 3.6$  Hz, 1H, H-6), 4.43 (dd,  $J = 13.7, 9.5$  Hz, 1H, H-6), 4.27 – 4.17 (m, 1H, H-5), 2.67 – 2.52 (m, 2H, H-1'), 1.59 (k,  $J = 7.5$  Hz, 2H, H-2'), 1.35 – 1.15 (m, 4H, H-3', H-4'), 0.86 (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, DMSO)  $\delta$  168.94 (C-1), 157.14 (C-3), 146.14 (C-8), 141.96 (Ph-q), 136.09 (Ph-q), 135.54 (Ph-q), 128.69 (Ph), 128.63 (Ph), 128.41 (Ph), 128.39 (Ph), 128.37 (Ph), 128.31 (Ph), 128.23 (Ph-q), 127.73 (Ph), 125.04 (Ph), 121.99 (C-7), 121.01 (C-2), 75.54 (C-4), 73.61 ( $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 72.78 ( $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 67.25 (C-5), 52.39 (C-6), 34.77 (C-1'), 30.78 (C-3'), 30.40 (C-2'), 21.84 (C-4'), 13.81 ( $\text{CH}_3$ ).

### **6-(4-decil-1,2,3-triazol-1-il)-2,3-O,O-dihidroksi-L-askorbinska kiselina (9)**

Otopini suhog spoja **2** (209,1 mg; 0,382 mmol) u suhom diklormetanu (20 ml) u atmosferi argona lagano se dokapa boron-triklorid ( $\text{BCl}_3$ , 1,6 ml) pri temperaturi  $-65^\circ\text{C}$ . Reakcijska smjesa se miješa 3 h na temperaturi  $-65^\circ\text{C}$  te se ostavi u zamrzivaču preko noći. Sutradan se upari otapalo pod sniženim tlakom. Produkt se izolira kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 10:1). Dobiven je spoj **9** kao bijeli prah (25 mg; 17,8 %).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  11.14 (s, 1H, OH), 8.43 (s, 1H, OH), 7.81 (s, 1H, H-7), 5.44 (d,  $J = 5.9$  Hz, H-4), 4.68 (d,  $J = 1.5$  Hz, 1H, OH), 4.56 (dd,  $J = 13.7, 4.0$  Hz, 1H, H-6), 4.32 (dd,  $J =$

13.6, 9.1 Hz, 1H, H-6), 4.22 – 4.11 (m, 1H, H-5), 2.59 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H, H-1'), 1.67 – 1.43 (m, 2H, H-2'), 1.36-1.17 (m, 14H, CH<sub>2</sub>'), 0.85 (t,  $J = 6.6$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>').

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO)  $\delta$  170.26 (C-1), 152.04 (C-3), 146.55 (C-8), 122.76 (C-7), 118.26 (C-2), 75.55 (C-4), 67.18 (C-5), 52.38 (C-6), 31.25 (C-1'), 28.96 (CH<sub>2</sub>'), 28.77 (CH<sub>2</sub>'), 28.67 (CH<sub>2</sub>'), 28.59 (CH<sub>2</sub>'), 24.97 (CH<sub>2</sub>'), 22.06 (CH<sub>2</sub>'), 13.92 (CH<sub>3</sub>).

#### **6-(4-*tert*-butil-1,2,3-triazol-1-il)-2,3-*O,O*-dihidroksi-L-askorbinska kiselina (10)**

Otopini suhog spoja **3** (220,0 mg; 0,475 mmol) u suhom diklormetanu (20 ml) u atmosferi argona lagano se dokapa boron-triklorid (BCl<sub>3</sub>, 2,2 ml) pri temperaturi -65 °C. Reakcijska smjesa se miješa 3 h na temperaturi -65 °C te se ostavi u zamrzivaču preko noći. Sutradan se upari otapalo pod sniženim tlakom. Produkt se izolira kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 10:1). Dobiven je spoj **10** kao bijeli prah (40 mg; 29,74 %).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  11.17 (s, 1H, OH), 8.45 (s, 1H, OH), 7.83 (s, 1H, H-7), 5.45 (s, 1H, H-4), 4.70 (d,  $J = 1.2$  Hz, 1H, OH), 4.56 (dd,  $J = 13.6, 3.8$  Hz, 1H, H-6), 4.32 (dd,  $J = 13.5, 9.1$  Hz, 1H, H-6), 4.21 (s, 1H, H-5), 1.27 (s, 6H, 3 x CH<sub>3</sub>).

#### **6-[4-(3-klorpropil)-1,2,3-triazol-1-il]-2,3-*O,O*-dihidroksi-L-askorbinska kiselina (11)**

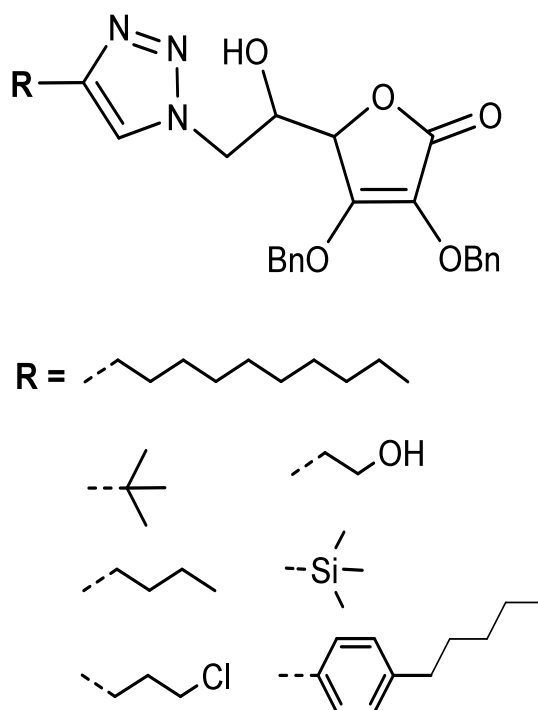
Otopini suhog spoja **5** (200 mg; 0,413 mmol) u suhom diklormetanu (20 ml) u atmosferi argona lagano se dokapa boron-triklorid (BCl<sub>3</sub>, 2,5 ml) pri temperaturi -65 °C. Reakcijska smjesa se miješa 3 h na temperaturi -65 °C te se ostavi u zamrzivaču preko noći. Sutradan se upari otapalo pod sniženim tlakom. Produkt se izolira kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 10 : 1). Dobiven je spoj **11** kao bijeli prah (15 mg; 12,0 %).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  11.15 (s, 1H, OH), 8.44 (s, 1H, OH), 7.88 (s, 1H, H-7), 5.46 (s, 1H, H-4), 4.70 (d,  $J = 1.4$  Hz, 1H, OH), 4.58 (dd,  $J = 13.7, 3.9$  Hz, 1H, H-6), 4.33 (dd,  $J = 13.7, 9.2$  Hz, 1H, H-6), 4.22-4.12 (m, 1H, H-5), 3.68 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2H, H-3'), 2.96 – 2.62 (m, 2H, H-1'), 2.05 (dt,  $J = 13.6, 6.7$  Hz, 2H, H-2').

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

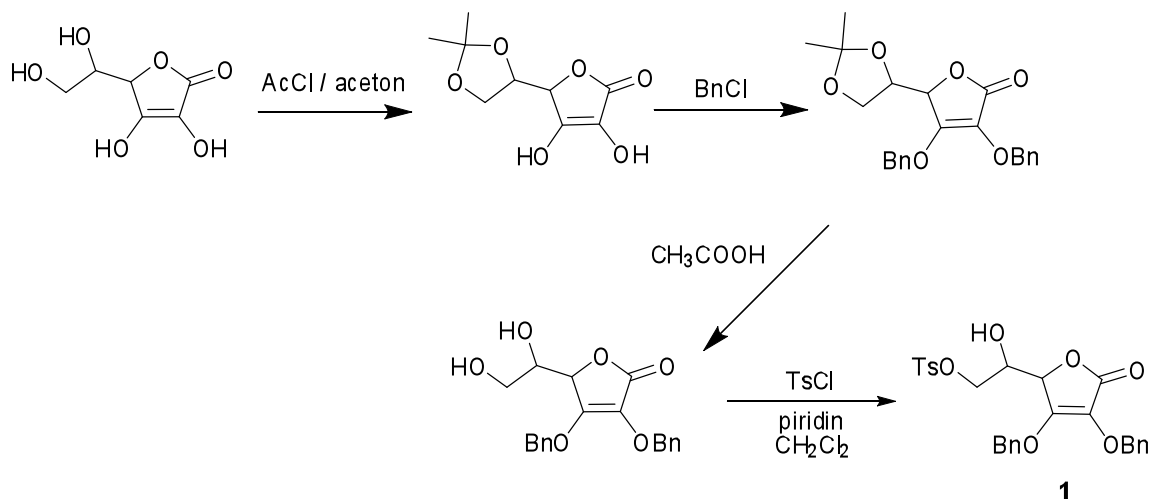
#### 4.1. Sinteze spojeva

Cilj ovoga završnog rada bila je sinteza potencijalno biološki aktivnih 1,2,3-triazolnih derivata L-askorbinske kiselinske regioselektivnom reakcijom 1,3-dipolarne cikloadicije uz Cu(I) kao katalizator. Kako bi se ispitaio utjecaj strukture na biološko djelovanje, sintetizirani su 1,2,3-triazolni derivati L-askorbinske kiseline (**2–8**) s različitim supstytutentima u položaju C-4 triazola (shema 1).



Shema 1. 1,4-supstytutirani-1,2,3-triazolni derivati L-askorbinske kiseline

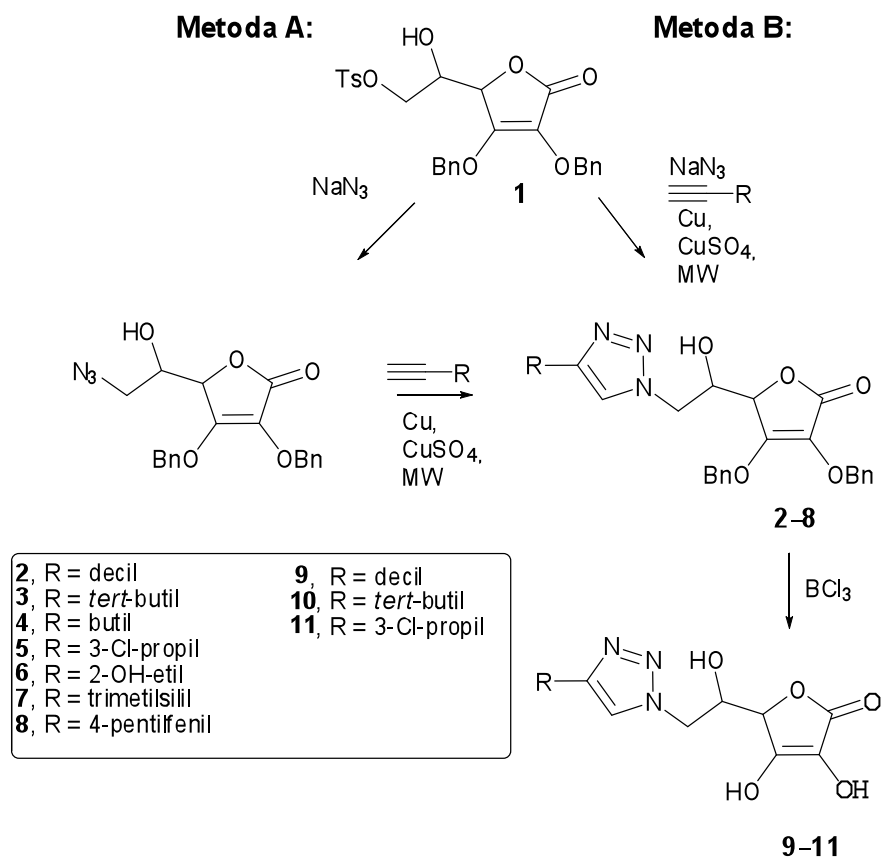
Sinteza je provedena uz tosilirani derivat L-askorbinske kiseline (**1**) kao početni spoj. Spoj **1** sintetiziran je iz L-askorbinske kiseline u četiri koraka (shema 2).



Shema 2. Prikaz sinteze tosilnog derivata L-askorbinske kiseline (1)

Prvi korak je reakcija L-askorbinske kiseline s acetil-kloridom i acetonom pri čemu kao produkt nastaje 5,6-*O,O*-izopropiliden-L-askorbinska kiselina. U drugom koraku nastali produkt reagira s benzil-kloridom i kalijevim karbonatom u DMF-u pri čemu nastaje 5,6-*O,O*-izopropiliden-L-askorbinska kiselina. Nadalje, reakcijom s octenom kiselinom i metanolom uklonjena je izopropilidenska zaštita pri čemu je izolirana 2,3-*O,O*-dibenzil-L-askorbinska kiselina. Tosilni derivat **1** dobiven je reakcijom 2,3-*O,O*-dibenzil-L-askorbinske kiseline s pirimidinom i tosil-kloridom u iskorištenju od 56 % .<sup>29</sup>

Na shemi 3 prikazane su dvije metode za dobivanje 1,4-disupstituiranih-1,2,3-triazolnih derivata L-askorbinske kiseline, metoda A i metoda B.



Shema 3. Sinteza 1,2,3-triazolnih derivata L-askorbinske kiseline

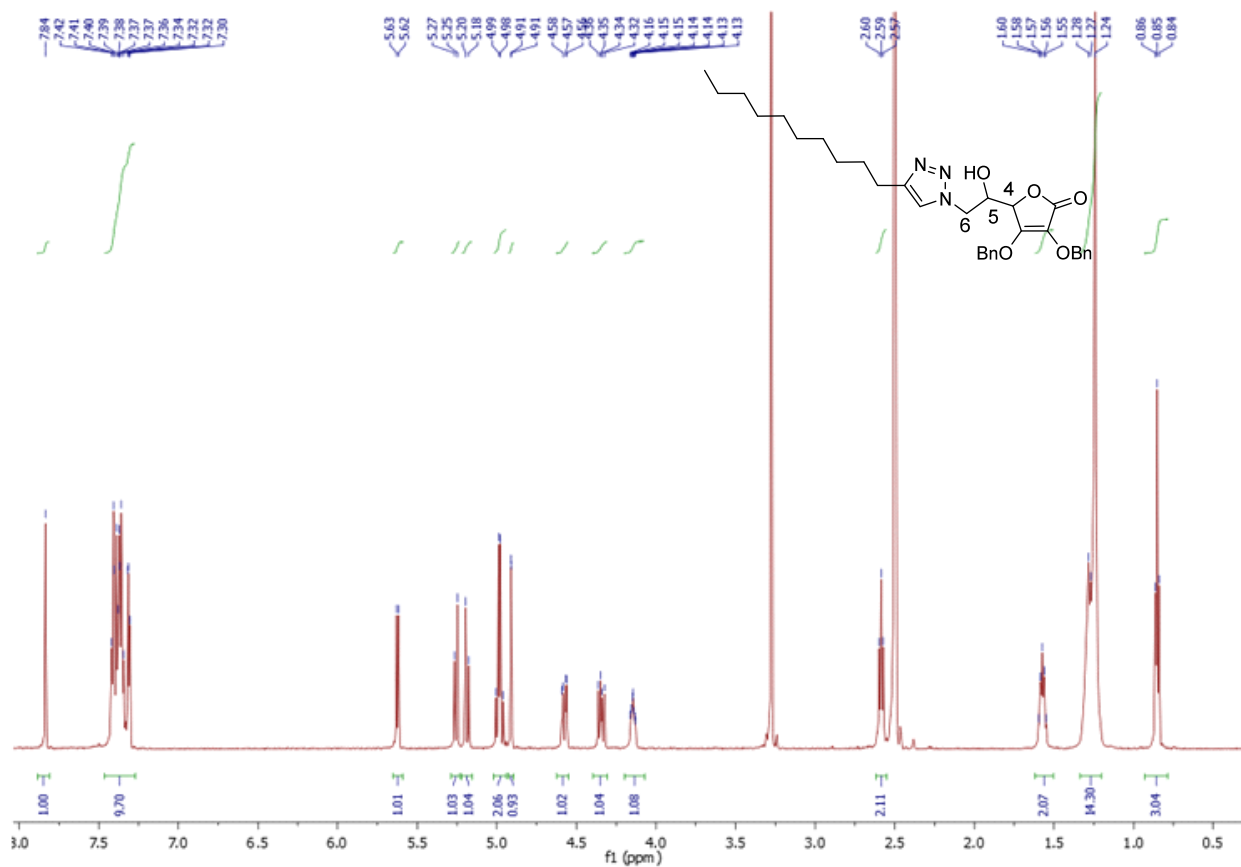
Metodom A sintezi 1,4-supstituiranih derivata L-askorbinske kiseline pristupa se tako da se prvo izolira C-6 azidni derivat L-askorbinske kiseline, a potom slijedi reakcija 1,3-dipolarne ciklo-adicije, dok se metodom B željeni produkti (**2–8**) izravno sintetiziraju reakcijom iz tosiliranog derivata L-askorbinske kiseline (**1**) uz natrijev azid, Cu(I) katalizator te odgovarajući alkin. Metoda B temelji se na tandemskoj sintezi pri čemu se C-6 azidni derivat koji nastaje *in situ* ne izolira iz reakcijske smjese što znatno smanjuje vrijeme sinteze. Obje metode sinteze odvijaju se korištenjem mikrovalova pri temperaturi od 80 °C i 300 W. Za sintezu spojeva u ovom završnom radu korištena je metoda B. Spojevi **2–8** pripremljeni su metodom B uz iskorištenja: 56,1% (spoj **1**), 34,3% ( spoj **2**), 15,5% ( spoj **3**), 18,0% ( spoj **4**), 30,4% ( spoj **5**), 31,2% ( spoj **6**), 28,9% ( spoj **7**), 51,5% ( spoj **8**).

Nadalje spojevima **2**, **3** i **5** uz pomoć boron-triklorida i diklormetana uklonila se benzilna zaštita i sintetizirani su spojevi **9–11** sa slobodnim hidroksilnim skupinama s iskorištenjima: 17,8% ( spoj **9**), 29,7% ( spoj **10**), 12,0% ( spoj **11**).

## 4.2. Analiza spektara $^1\text{H}$ NMR

Analizom spektara  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spojeva **2–11** na temelju karakterističnih signala u NMR spektrima za određene skupine potvrđene su strukture spojeva **2–11**.

U spektru  $^1\text{H}$  NMR spoja **2** s alkilnim supstutentom na položaju C-4 triazola (slika 11) vidimo signal H-7' koji potvrđuje prisutnost triazolnog prstena ( $\sim 7,84$  ppm).

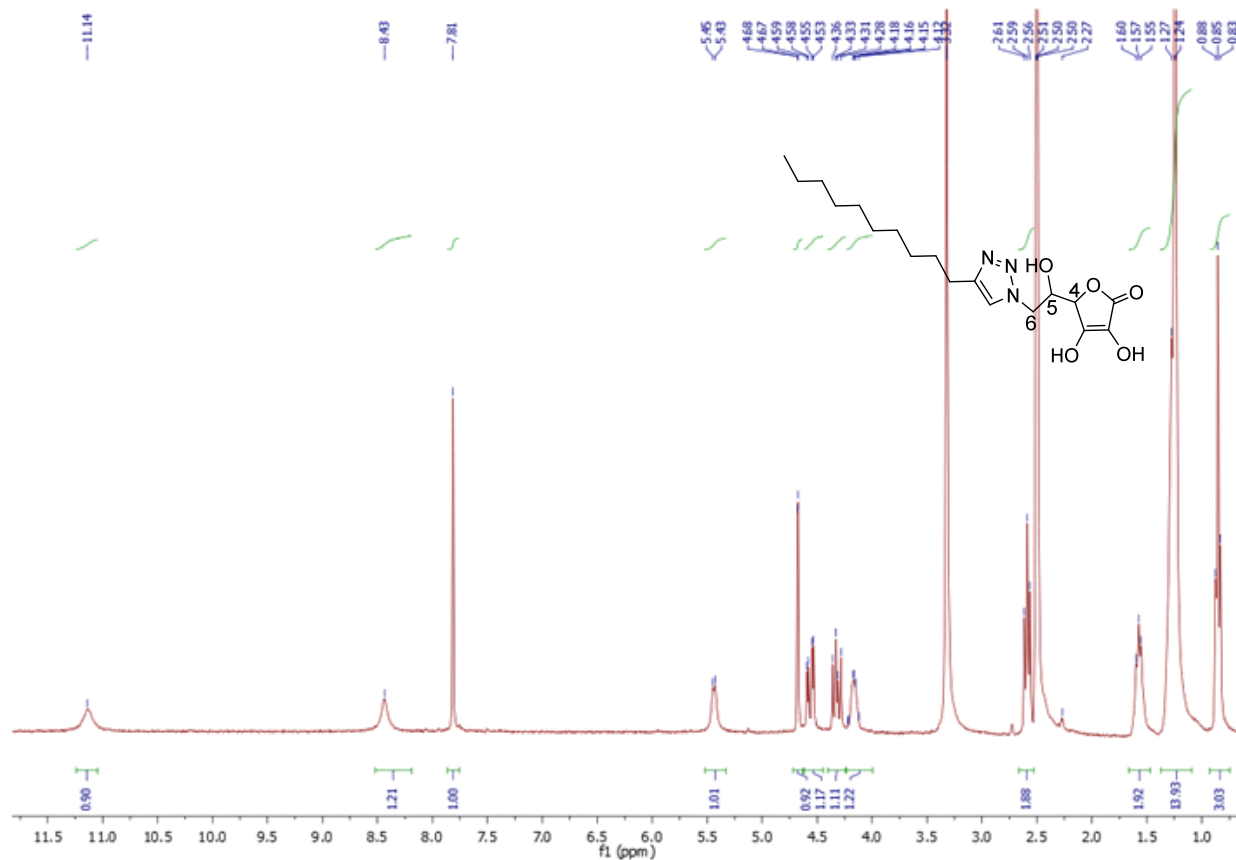


Slika 11. Spektar  $^1\text{H}$  NMR spoja **2**

Nadalje vidimo signale koji odgovaraju protonima benzilne skupine (7,43–7,29 ppm) te metilenske protone benzilne zaštite (5,22 i 4,98 ppm). Također se prepoznaju protoni laktorskog prstena L-askorbinske kiseline (H-4', H-5' i H-6') u području od 4–5 ppm, proton OH skupine (5,62 ppm). Također vidljivi su signali koji potvrđuju prisutnost alkilnog supstituenta ( $\text{CH}_2$ , 1,34–1,22 ppm;  $\text{CH}_3$ , 0,85 ppm)



U odnosu na spektar  $^1\text{H}$  NMR spoja **2** u spektru spoja **9** (slika 12), dobivenog uklanjanjem benzilne zaštite spoja **2**, nisu vidljivi signali koji potvrđuju prisutnost metilenskih i fenilnih protona benzilne zaštite .



Slika 12 .Spektar  $^1\text{H}$  NMR spoja **9**

Međutim na odnosu na spektar spoja **2** (slika 11) na spektru spoja **9** (slika 12) vidimo signale koji dokazuju prisutnost protona OH skupina vezanih za atome C-2 i C-3 laktorskog prstena L-askorbinske kiseline (11,14 i 8,43 ppm). Također su vidljivi protoni laktorskog prstena L-askorbinske kiseline ( H-4', H-5' i H-6') u području od 4–5 ppm, proton OH skupine vezane za C-5 atom L-askorbinske kiseline (5,44 ppm) i vidljivi su signali koji potvrđuju prisutnost alkilnog supstituenta. ( $\text{CH}_2$ , 1,36-1,17 ppm ;  $\text{CH}_3$ , 0,85 ppm)

## 5. ZAKLJUČCI

## 5. ZAKLJUČCI

- ⇒ Pripravljani su 1,4-supstituirani-1,2,3-triazolni derivati L-askorbinske kiseline (**2–8**) regioselektivnom reakcijom 1,3-dipolarne cikloadicije uz Cu(I) kao katalizator.
- ⇒ Spojevi **2–8** s različitim supstituentima u položaju C-4 triazalnog prstena uspješno su sintetizirani tandemskom reakcijom i njihova struktura potvrđena je  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopijom.
- ⇒ Spojevi **9–11** sa slobodnim hidroksilnim skupinama dobiveni su uklanjanjem benzilne zaštite spojeva **2, 3, 5** i njihova struktura potvrđena je  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopijom.
- ⇒ Antiproliferativna ispitivanja novopripremljenih spojeva **2–11** na zloćudne tumorske stanice porijeklom iz čovjeka kao i ispitivanja antioksidativnog djelovanja spojeva **9–11** su u tijeku.

## 6. LITERATURA

## 6. LITERATURA

1. M. Mintas, S. Raić-Malić: Medicinska kemija, *Medicinska naklada*, Zagreb, 2009.
2. M. Mintas: Medicinska kemija protutumorskih lijekova, *Medicinska naklada*, Zagreb, 2013.
3. E. Cameron, L. Pauling: Supplemental ascorbate in the supportive treatment of cancer: reevaluation of prolongation of survival times in terminal human cancer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1978, **75**, 4538–42.
4. C. G. Moertel, T. R. Fleming, E. T. Creagan, J. Rubin, M. J. O'connell, M. M. Ames: High-dose vitamin C versus placebo in the treatment of patients with advanced cancer who have had no prior chemotherapy. A randomized double-blind comparison, *N. Engl. J. Med.*, 1985, **312**, 137–44.
5. S. J. Padayatty, A. Katz, Y. Wang, P. Eck, O. Kwon, J.H. Lee, S. Chen, C. Corpe, A. Dutta, S.K. Dutta: Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention, *Cancer Research*, 2015, **39**, 663–81.
6. S. N. Boushehri, R. M. Yusof, M. Nasir, M. Taib, K. Mirzaei, N. Yazdekhesti, S. Akbarzadeh: Effect of Vitamin Supplementation on Serum Oxidized Low-Density Lipoprotein Levels in Male Subjects with Cardiovascular Disease Risk Factors, *Basic Med.Sci.*, 2012, **15**, 958–64.
7. R. Domitrović: Vitamin C in disease prevention and therapy, *Biochemia Medica*, 2006, **16**, 89–22.
8. E. Cameron, L. Pauling, B. Leibovitz, Ascorbic Acid and Cancer, *A Review Cancer Res.*, 1979, **39**, 663–81.
9. M. A. Perl, A. Perl: Rana i prehrana, *Medix*, 2003, **51**, 71–4.
10. S. Raić-Malić: Sinteza, struktura i biološka ispitivanja modificiranih nukleozida i njihovih derivata s L-askorbinskom kiselinom, *Doktorska disertacija*, Zagreb, 1998.
11. T. Gazivoda, M. Šokčević, M. Kralj, L. Šuman, K. Pavelić, E. D. Clercq, R. Snoeck, J. Balzarini, M. Mintas, S. Raić-Malić: Synthesis and Antiviral and Cytostatic Evaluations

- of the New C-5 Substituted Pyrimidine and Furo[2, 3-d]pyrimidine 4', 5'-Didehydro-L-ascorbic Acid Derivatives, *J. Med. Chem.*, 2007, **50**, 4105–112.
12. T. Gazivoda T. Gazivoda, S. Raić-Malić, M. Marjanović, M. Kralj, K. Pavelić, J. Balzarini, E. De Clercq, M. Mintas: The Novel C-5 Aryl, Alkenyl and Alkynyl Substituted Uracil Derivatives of L-Ascorbic Acid: Synthesis, Cytostatic and Antiviral Activity Evaluations, *Bioorg. Med. Chem.*, 2007, **15**, 749–58.
  13. V. D. Bock, H. Hiemstra, J. H. Maarseveen: CuI-Catalyzed Alkyne-Azide “Click” Cycloadditions from a Mechanic and Synthetic Perspective, *Eur. J. Org. Chem*, 2006, **40**, 51–68.
  14. J. E. Moses, A. D. Moorhouse: The growing applications of click chemistry, *Chem. Soc.*, 2007, **36**, 1262–62.
  15. H. C. Kolb, M.G. Finn, K.B. Sharpless, Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, **40**, 2004–2021
  16. S. G. Agalave, S.R. Maujan, V.S: Click Chemistry: 1,2,3-Triazoles as Pharmacophores, *Chem. Asian J.*, 2011, **6**, 2696–2718.
  17. E. H. da Cruz, C. M. Hussene, G. G. Dias, E. B. T. Diogo, I. M. M. de Melo, B. L. Rodrigues, M. G. da Silva, W. O. Valença, C. A. Camara, R. N. de Oliveira, Y. G. de Paiva, M.O. F. Goulart, B. C. Cavalcanti, C. Pessoa, E. N. da Silva Junior: 1,2,3-Triazole-, arylamino and thio-substituted 1,4-naphthoquinones: Potent antitumor activity, electrochemical aspects, and bioisosteric replacement of C-ring-modified lapachones, *Bioorg. Med. Chem.*, 2014, **22**, 1608–19.
  18. S. Korunda, S. Krištafor, M. Cetina, S. Raić-Malić: *Curr. Org. Chem.* 2013, **17**, 1114–24.
  19. A. H. Kategaonkar, P. V. Shinde, S. K. Pasale, B.B. Shingate, M. S. Shingare, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**, 3142–3146.
  20. V.D. Bock, H. Hiemstra, J.H.V. Maarseveen : *Eur. J. Org. Chem.*, 2006, **1**, 51-58.
  21. M. Arseneault, C. Wafer, J.F. Morin: Recent Advances in Click Chemistry Applied to Dendrimer Synthesis, *Molecules*, 2015, **20**, 9263–9294.
  22. F. Amblard, J. H. Cho, R. F. Schinazicor : The Cu(I)-catalyzed Huisgen azide-alkyne 1,3-dipolar cycloaddition reaction in nucleoside, nucleotide and oligonucleotide chemistry, *Chem. Rev.*, 2009, **109**, 4207–20.

23. C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal : Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3] - Triazoles by Regiospecific Copper(I) -Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides, *J. Org. Chem.*, 2002, **67**, 3057–3064.
24. V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless: A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective “Ligation“ of Azides and Terminal Alkynes, *Angewandte Chemie International Edition*, 2002, **41**, 2596–99.
25. R. Das, N. Majumdar, A. Lahiri : A Review on 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions in Bioconjugation and It’ s Importance in Pharmaceutical Chemistry, *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, 2014, **4**, 467–72.
26. M. Blekić, A. R. Jambrak, F. Chemat: Mikrovalna ekstrakcija bioaktivnih spojeva, *Croat.J.Food Sci.Technol.*, 2011, **3**, 32–47.
27. S. Caddick, R. Fitzmaurice: Microwave enhanced synthesis, *Tetrahedron*, 2009, **65**, 3325–55.
28. I. Zrinski., E. Maksić, Primjena mikrovalnog zračenja u organskoj kemiji, *Kem. Ind.*, 2005, **54**, 469–76.
29. S. Raić-Malić, D. Svedružić, T. Gazivoda, A. Marunović, A. Hergold-Brundić, A. Nagl, J. Balzarini., E. Celrcq, M. Mintas, *J. Med. Chem.*, 2000, **43**, 4807.

## 7. ŽIVOTOPIS



Zovem se Josipa Milošević. Rođena sam u Osijeku 18.12.1992.godine. Osnovnu školu završila sam u Osijeku, a potom sam upisala Tehničku školu i prirodoslovnu gimnaziju Ruđer Bošković u Osijeku. Maturirala sam 2011. godine i stekla zanimanje ekološki tehničar i te iste godine upisala Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, smjer Primijenjena kemija. Za vrijeme fakultetskog obrazovanja odradila sam stručnu praksu u Hep Proizvodnja u Osijeku i upoznala se s procesom obrade vode u svrhu proizvodnje električne i toplinske energije.