

Regioselektivna sinteza 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazolnih derivata

Gregorić, Tomislav

Master's thesis / Diplomski rad

2016

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:236880>

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 DIPLOMSKI STUDIJ

Tomislav Gregorić

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, lipanj 2016



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Tomislav Gregorić
Regioselektivna sinteza 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazola

Diplomski rad

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

Članovi ispitnog povjerenstva:

Prof. dr. sc. Silvana Raić- Malić

Doc. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević

Prof. dr. sc. Bruno Zelić

Zagreb, lipanj 2016

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Silvani Raić-Malić na stručnom vođenju i sugestijama prilikom izrade diplomskog rada. Posebno hvala asistetici dr. sc. Andrijani Meščić. Također se zahvaljujem dr. sc. Aniti Šalić na upoznavanju s mikroreaktorima te svim djelatnicima i kolegama studentima na Zavodu za organsku kemiju i Zavodu za reakcijsko inženjerstvo i katalizu na pomoći i ugodnoj atmosferi.

Posebno hvala mojoj zaručnici Jurji i obitelji na pruženoj ljubavi i podršci tijekom dosadašnjeg studiranja.

SAŽETAK

Cilj ovog rada bila je sinteza novih 1,2,3-triazolnih derivata 4,5-didehidro-5,6-dideoksi-L-askorbinske kiseline (**5–13**) regioselektivnom 1,3-dipolarnom cikloadicijom odgovarajućih terminalnih alkina i C-6-azidnog derivata L-askorbinske kiseline (**4**). Pored konvencionalne sintetske metode, provedeno je optimiranje „klik“ reakcija (**14–27**) u mikroreaktorskom sustavu uz pomoć ultrazvučnog zračenja pri protoku od 0,5 $\mu\text{l}/\text{min}$ i temperaturi od 50 °C. Analiza reakcijskih smjesa primjenom visokoučinkovite tekućinske kromatografije (HPLC) pokazala je da je većina „klik“ reakcija provedenih u mikroreaktoru bila uspješnija, uz veća iskorištenja i znatno kraće vrijeme reakcija u odnosu na konvencionalnu sintezu. Triazolnim derivatima 2,3-*O,O*-dibenzil-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-L-askorbinske kiseline (**7–9**) potom je uklonjena benzilna zaštitna skupina pomoću boron-triklorida pri čemu su izolirani spojevi **11–13** sa slobodnim hidroksilnim skupinama. Strukture svih sintetiziranih spojeva potvrđene su spektroskopijom ^1H - i ^{13}C -NMR.

Novosintetiziranim spojevima ispitat će se antitumorska aktivnost na više tumorskih staničnih linija porijeklom iz čovjeka, a spojevima sa slobodnim hidroksilnim skupinama (**11–13**) ispitat će se i antioksidativna aktivnost.

Ključne riječi: molekularni hibridi, L-askorbinska kiselina, 1,2,3-triazoli, „klik“ kemija, mikroreaktor

SUMMARY

The aim of this work was the synthesis of new 1,2,3-triazole 4,5-didehydro-5,6-dideoxy-L-ascorbic acid derivatives (**5–13**) using regioselective 1,3-dipolar cycloaddition of the corresponding terminal alkynes and C-6-azido L-ascorbic acid derivative (**4**). Besides the conventional synthetic approach, reactions of „click“ chemistry were optimized in a microreactor at a flow rate of 0.5 $\mu\text{L}/\text{min}$ and 50 $^{\circ}\text{C}$ under ultrasonic irradiation (**14–27**). The analysis of reaction mixtures by high performance liquid chromatography (HPLC) demonstrated that most of the click reactions in microreactors were more efficient and proceeded with higher yields and shorter reaction time than those for conventional syntheses. The benzyl groups from the triazole 2,3-*O,O*-dibenzyl-4,5-didehydro-5,6-dideoxy-L-ascorbic acid derivatives **7–9** were removed using boron trichloride and compounds (**11–13**) with free hydroxyl groups were obtained. The structures of all synthesized compounds were determined by ^1H - and ^{13}C -NMR spectroscopy.

The novel compounds will be evaluated for their antitumor activity in several human tumor cell lines and antioxidant capacity of compounds (**11–13**) with free hydroxyl groups will be also tested.

Keywords: molecular hybrids, L-ascorbic acid, 1,2,3-triazoles, „click“ chemistry, microreactors.

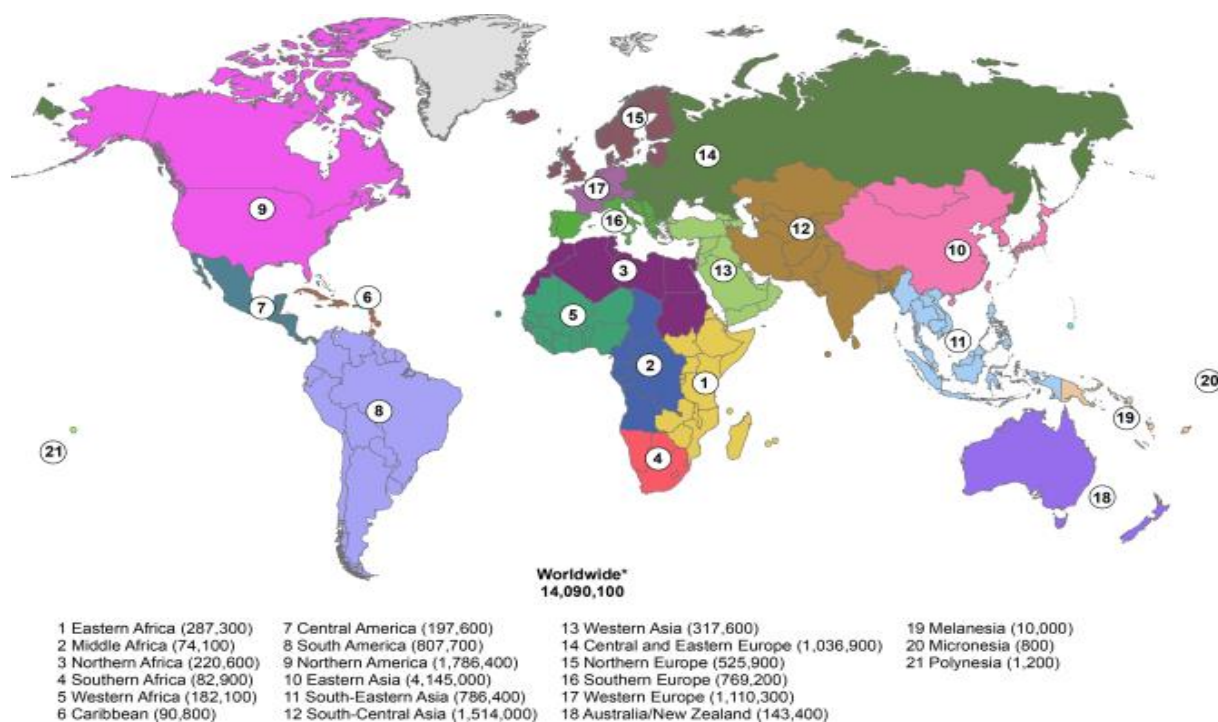
SADRŽAJ

1. UVOD.....	7
1.1. UVOD	8
2. TEORIJSKI DIO	11
2.1. L-ASKORBINSKA KISELINA.....	12
2.2. MOLEKLSKA HIBRIDIZACIJA	14
2.3. „KLIK KEMIJA“	15
2.3.1. HUISGENOVA 1,3-DIPOLARNA CIKLOADICIJA TERMINALNIH ALKINA I AZIDA S BAKAR(I) KAO KATALIZATOROM	16
2.4. TRIAZOLNI PRSTEN	17
2.5. MIKROREAKTORI	19
3. EKSPERIMENTALNI DIO	22
3.1. OPĆE NAPOMENE.....	23
3.2. PREGLED SINTETIZIRANIH SPOJEVA	25
3.3. PRIPREMA SPOJEVA	26
4. REZULTATI I RASPRAVA	40
4.1. SINTEZA SPOJEVA	41
4.2. SINTEZA SPOJEVA U MIKROREAKTORU	43
4.3. ANALIZA SPEKTARA ¹ H NMR.....	46
5. ZAKLJUČCI.....	50
6. LITERATURA.....	52
7. ŽIVOTOPIS	55

1. UVOD

1.1. UVOD

U 21. stoljeću čovjek je suočen sa širokim spektrom bolesti koje moramo liječiti i kontrolirati što je zapravo ironično jer kao društvo i kao inteligentna bića napredujemo, ali uz nas napreduju i bolesti.¹ Početkom 20. stoljeća pobijeđene su infekcije otkrićem penicilina, a tijekom vremena sintetizirani su mnogi derivati penicilina i drugih antibiotika. Dok smo liječili infekcije, ne sluteći, bakterije su također napredovale te se pojavio problem sve veće pojave rezistencije na antibiotike što je posljedica nekontroliranog propisivanja antibiotika i nesavjesnog uzimanja antibiotika od strane pacijenata.¹ Svjedoci smo još jedne druge bolesti koja sve više napreduje i ne zna se kada ćemo uspjeti zaustaviti diferencijaciju bolesti. Ta bolest ima mnoge uzročnike, otkrivene su različite vrste, a poznata je pod zajedničkim imenom rak ili tumor. Prvi postojeći zapis o tumoru datira iz drevnog Egipta gdje se u jednom medicinskom tekstu spominje stanje koje se ne može liječiti nego se može samo kirurški odstraniti², a ime bolesti skrojio je kasnije Hipokrat od grčke riječi carcinos.



Slika 1. Rasprostranjenost tumora u svijetu za 2012. godinu.²

Prema definiciji tumor je opći naziv za veliku skupinu bolesti koje mogu utjecati na bilo koji dio tijela, a nastaje kao posljedica brzog stvaranja abnormalnih stanica koje rastu izvan svojih

uobičajenih granica, a koje se onda mogu proširiti na susjedne dijelove tijela i na druge organe.² Proces širenja tumora se naziva metastaziranje i glavni je uzrok smrti od tumora. Podaci (slika 1) pokazuju da je u 2012. godini od posljedica raka umrlo 8,1 milijuna ljudi dok ih je 14,1 milijuna novo oboljelih širom svijeta.² Od svih dijagnosticiranih tumora u slabije razvijenim državama potvrđeno je oko 57 % novih slučajeva tumora dok oko 35 % svih novih slučajeva odnosi se na one u razvijenim državama. Možemo primijetiti da to i nije velika razlika s obzirom da razvijene države posjeduju bolje organiziranu zdravstvenu zaštitu, bolju opremljenosti i mogućnost liječenja. Pojava tumora prostate, debelog crijeva, dojke u žena i raka pluća je nekoliko puta veća u razvijenijim državama u usporedbi s manje razvijenim državama gdje su najviše prisutni tumori jetre, želuca i vrata maternice³. Vodeći tumor u svijetu po novim slučajevima i smrtnosti je rak pluća, zatim slijede rak dojke, debelog crijeva, jetre i na kraju grlića maternice (tablica 1).

Tablica 1. Podaci za pet najučestalih tumora.

TUMOR	NOVI SLUČAJEVI	SMRTNOST
rak pluća	1,8 milijuna	1,59 milijuna
rak dojke	1,7 milijuna	0,52 milijuna
rak debelo crijeva	1,4 milijuna	0,69 milijuna
rak jetre	0,78 milijuna	0,74 milijuna
rak grlića maternice	0,53 milijuna	0,26 milijuna

Muškarci najčešće obolijevaju od raka pluća i prostate, a umiru najčešće od raka pluća i raka jetre. Žene najčešće obolijevaju od raka dojke i debelog crijeva, a najčešće umiru od raka dojke i pluća. Ovi podaci mogu se povezati s faktorima rizika kao što su: pušenje (povećava vjerojatnost za pojavu raka pluća, jetre i želuca), prekomjerna tjelesna težina i fizička neaktivnost (kolorektalni karcinom i karcinom dojke) te infekcije (rak jetre, želuca i grlića maternice).

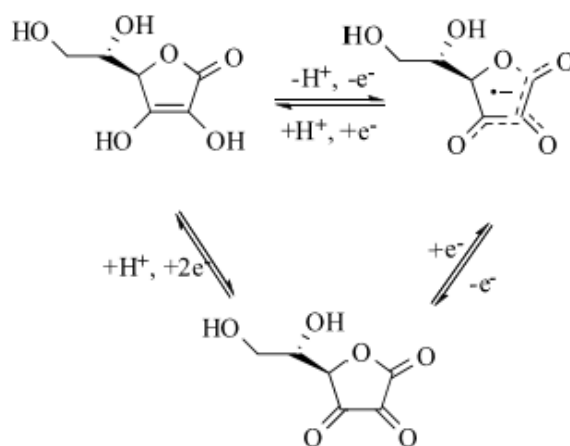
Nadalje, medicinska kemija se počela razvijati od pojave prvih bolesti, kada je čovjek primijetio promjene stanja organizma i želio vratiti stanje na početnu točku te je upotrijebio terapiju, najčešće u obliku neke biljke. S vremenom su se polako počeli graditi temelji medicinske kemije, interdisciplinarne znanosti kojoj je osnovni cilj dizajnirati i pripremiti

farmakološki aktivne tvari koje bi se mogle primijeniti u medicini za prevenciju i liječenje određenih bolesti čovjeka i životinja.⁴ Konkretno, ovaj rad se bavi sintetskom organskom kemijom koja je u službi medicinske kemije za razvoj novih lijekova. U sklopu razvoja novih lijekova potrebno je primijeniti znanja iz raznim granama prirodnih znanosti kao što su molekularna biologija, biokemija i računalna kemija.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. L-ASKORBINSKA KISELINA

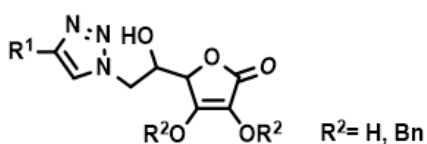
L-askorbinska kiselina, poznatija kao vitamin C, jedna je od esencijalnih molekula za život čovjeka i meta mnogih znanstvenih istraživanja za različite bolesti.⁵ Sadrži peteročlani laktonski prsten s bočnim diolnim lancem (slika 2) i kiralni centar na C-5 ugljikovom atomu bočnog lanca. Prisutnost hidroksilnih skupina na prstenu upućuje na moguće oksido-redukcijske mehanizme zato što su C-2 i C-3 ugljikovi atomi u kombinaciji s vezanim hidroksilnim skupinama bogati elektronima.⁶ Ta svojstva L-askorbinske kiseline organizam iskorištava za uklanjanje molekula slobodnih reaktivnih kisikovih (Reactive Oxygen Species, ROS) i dušikovih (Reactive Nitrogen Species, RNS) radikala.



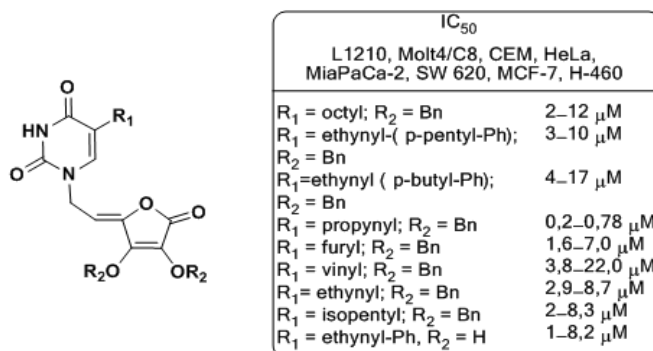
Slika 2. Oksido-redukcijske reakcije L-askorbinske kiseline.

Vitamin C je potreban ljudskom organizmu jer ga čovjek ne može sam sintetizirati dok ga ribe, gmazovi i vodozemci sintetiziraju u bubregu, a pojedini sisavci, kao na primjer miš, u jetri.⁷ Viši sisavci su evolucijski izgubili mogućnost biosinteze vitamina C i zato ga moraju unositi u organizam konzumacijom voća i povrća bogatog vitaminom C. U organizmu, vitamin C ima ulogu očuvanja imuniteta, izgradnje hemoglobina i crvenih krvnih zrnaca te je poznato da poboljšava apsorpciju željeza, sudjeluje u sintezi kolagena te je značajan i u drugim procesima koji upotrebljavaju vitamin C zbog povoljnih strukturnih značajki. Veliki zagovaratelj velikog unosa vitamina C bio je kemičar Linus Pauling koji je tvrdio da je potrebno unositi 1 g vitamina C dnevno⁸, a preporučena dnevna doza je 60-90 mg.⁹ Prava povijest vitamina C započinje pomorskim otkrivanjem novog svijeta i povezana je sa skorbutom. Skorbut je bolest uzrokovana nedostatkom unosa vitamina C, a simptomi su lako krvarenje i stvaranje modrica, gubitak kose i zubi, bol i oticanje zglobova i krvarenje desni.

Skorbut je najčešće pogađao moreplovce te križare za vrijeme putovanja prema Svetoj zemlji. Pomorci su na svoja putovanja nosili sa sobom sušenu hranu bez svježeg voća i povrća bogatog vitaminom C i često su bili desetkovani skorbutom sve dok 1720. godine liječnik J.G.H. Kramer nije otkrio da svježe voće liječi skorbut, a 30. godina kasnije britanski brodski liječnik J. Lind napisao je knjigu o skorbutu i njegovim izlječenju¹⁰ i tako omogućio širenje novih informacije o bolesti. Godine 1928. izoliran je vitamin C (tada je nazvan heksuronska kiselina) iz različitih biljaka radom biokemičara Joseph L. Svirbelya i Alberta Von Szent Gyorgyia.¹¹ Godine 1937., A. Von S. Gyoryia dobio je Nobelovu nagradu za rad na askorbinskoj kiselini. Tada počinje intenzivnije proučavanje djelovanja askorbinske kiseline na razne bolesti i stanja kao na primjer: protiv virusa herpesa¹², tumora¹³, diabetesa¹⁴ i mnogih drugih bolesti. Zbog značajnog biološkog djelovanja L-askorbinske kiseline, sintetizirani su brojni novi derivati askorbinske kiseline kao potencijalni antitumorski¹⁵ i antivirusni¹⁶ agensi. Nedavno su sintetizirani 1,2,3-triazolni derivati L-askorbinske kiseline koji su pokazali izraženo djelovanje na pojedine tumorske stanične linije (slika 3a). Promatranje odnosa strukture i aktivnosti pokazalo je kako antitumorska aktivnost ovisi o supstituentu u položaju C-4 triazola. Najizraženije citotoksično djelovanje pokazali su derivati L-askorbinske kiseline s bromfenilnim, decilnim i *tert*-butilnim supstituentom u položaju C-4 triazola (slika 3a). Derivati L-askorbinske kiseline mogu djelovati kao nukleozidni analozi ili antimetaboliti. Hibridi askorbinske kiseline i purinske ili pirimidinske nukleozidne baze (slika 3b) ponašaju se kao nukleozidni analozi jer svojom strukturom oponašaju prirodne nukleinske kiseline i mogu konkurirati u procesima gdje sudjeluju nukleozidne baze.¹⁷



R ¹	R ²	IC ₅₀ ^a (μM)							
		A549	CFPAC-1	HCT-116	HeLa	HepG2	MCF-7	SW620	WI-38
H	Bn	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
	Bn	0.75	5.83	9.42	3.91	5.07	5.62	3.76	2.86
	Bn	6.75	40.27	28.83	22.89	12.24	0.08	45.15	0.08
	Bn	33.97	54.88	28.26	18.33	29.21	0.73	35.78	11.85
	H	25.44	>100	>100	>100	>100	6.72	>100	73.93
	H	>100	>100	>100	>100	>100	26.91	>100	>100

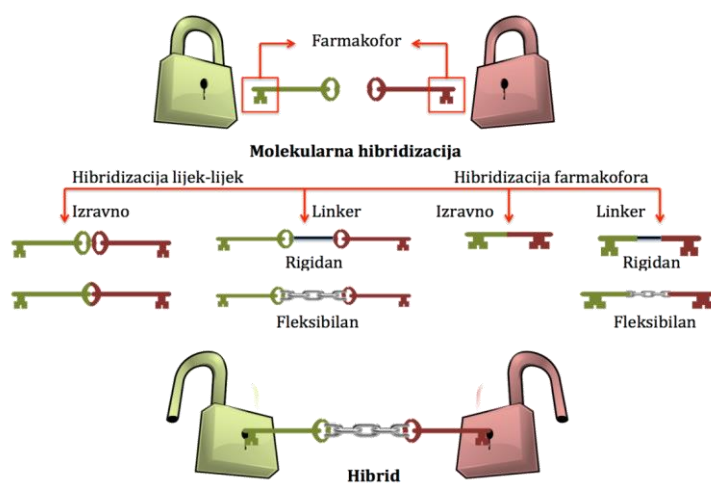


Slika 3. Citotoksično djelovanje nekih derivata L-askorbinske kiseline.¹⁷

Derivati askorbinske kiseline koji strukturom ne oponašaju prirodne nukleozide, pripadaju skupini antimetabolita jer sudjeluju u metaboličkim procesima stanica uzrokujući procese koje vode do smrti stanice.

2.2. MOLEKULSKA HIBRIDIZACIJA

U svijetu je trenutačno dostupno oko 8000 lijekova različitih struktura, načina primjene i pristupa liječenju.¹⁸ Kako bi se dobili lijekovi koji ima bolju bioraspodivnost, djelovanje, netoksičnost i mnoga druga superiorna svojstva u odnosu na početni lijek, često se modificira struktura osnovnog lijeka. Pregled velike baze podataka spojeva raznih struktura i načina djelovanja olakšava organskim sintetičarima sintezu novih potencijalno bioloških aktivnih spojeva. Obično biološki aktivnim spojem smatramo cijelu molekulu, dok gledano s kemijske strane, samo je jedan dio molekule aktivan i to zovemo farmakoforni dio molekule. Kombiniranjem različitih farmakofora, možemo stvarati nove hibride s potencijalnim biološkim djelovanjem (slika 4).

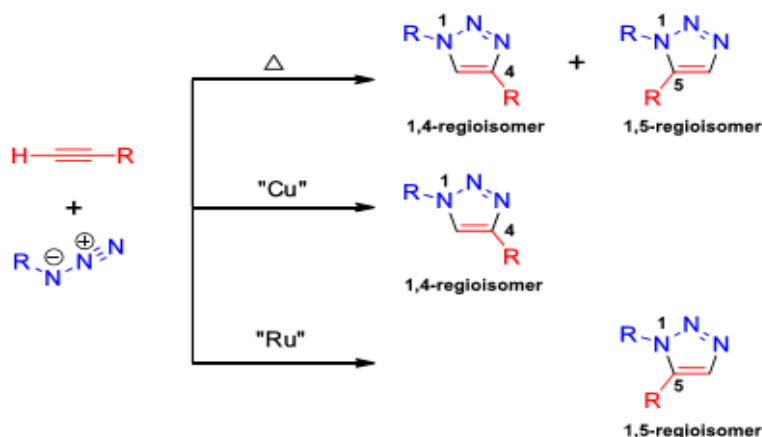


Slika 4. Prikaz vrsta molekulske hibridizacije.

Prvi način kombinacije je spajanje kovalentnom vezom dvije ili više molekula zajedno, a ta spojica može biti izravna ili preko linkera koji može biti čvrst ili fleksibilan. Novi hibrid može imati svojstva obje molekule ili neka nova svojstva. Poznati je primjer kinin-acetilsalicilata koji je antipiretski-analgetski-antimalarski lijek nastao izravnom hibridizacijom acetilsalicilne kiseline (antipiretik, analgetik) i kinina (antimalarik).¹⁹ Drugi način spajanja je da se farmakofori pojedinih lijekova hibridiziraju u novu molekulu s novim aktivnim svojstvima. Pojedini dijelovi mogu biti spojeni izravno ili preko linkera koji kao i u prethodnom načinu može biti rigidan ili fleksibilan (slika 4). Kako se ovaj rad bavi sintezom triazolnog prstena, može se naglasiti da triazolni prsten ima veliku ulogu kao linker u mnogim molekulama zbog svoje jednostavne sinteze.²⁰ Molekulska hibridizacija pripada racionalnom dizajnu lijekova jer se prije sinteze proučavaju svojstva buduće molekule što štedi novac, vrijeme i u krajnjoj liniji to je i ekološki pristup jer se sintetiziraju molekule s većom vjerojatnošću aktivnosti i smanjuje se broj sintetiziranih spojeva. Postoje još dvije velike skupine racionalnog dizajniranja lijekova: kvantno-mehanički pristup uz pomoć kvantno mehaničkih proračuna uzima elektronske značajke odgovorne za kemijske promjene dok molekulska orbitalni pristup uzima u obzir ovisnost elektronskog naboja i molekulske građe.²¹ Današnje bolesti zahtijevaju sve veću selektivnost jer lijek mora djelovati protiv samog čovjeka s obzirom da stanice raka potječu iz samih metaboličkih i strukturnih procesa koji se događaju u organizmu. Time je potrebno postaviti granicu između dobrih procesa i onih loših, a često se ti procesi međusobno isprepliću jer upotrebljavaju slične stanične i metaboličke reakcije.

2.3. „KLIK KEMIJA“

U ovom radu kao glavnu reakciju predstavljamo sintezu 1,2,3-triazolnog prstena 1,3-dipolarnom cikloadicijom uz bakar (I) kao katalizator. Triazolni prsten je prvi put sintetiziran radom njemačkog kemičara R. Huisgena 1967. godine. On je proveo reakciju između terminalnog alkina i azida te pri povišenoj temperaturi izolirao dva produkta 1,4 i 1,5-disupstituirani triazolni prsten u približnom omjera 1:1.²² Prava revolucija se dogodila kada je američki znanstvenik K. Barry Sharpless²³ sa suradnicima sintetizirao 1,2,3-triazolni prsten uz bakar(I) kao katalizator pri čemu je izolirao samo 1,4-disupstituirani triazolni prsten i time postavio osnove za provođenje regioselektivnih “klik“ reakcija. Upotrebom rutenija kao katalizatora dobiven je samo 1,5-regioizomer (slika 5).²⁴



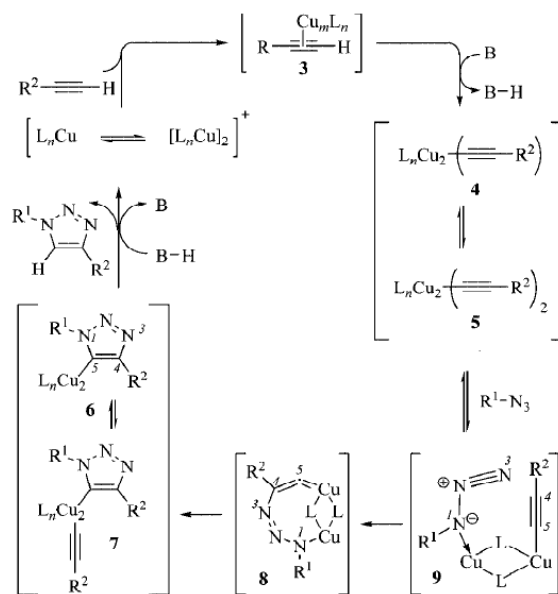
Slika 5. Regioselektivnost 1,3-dipolarne cikloadicije.²⁴

„Klik kemija“ se trenutno najčešće veže za sintezu triazolnog prstena, ali obuhvaća mnogo više reakcija koje zadovoljavaju određene uvjete. Reakcije koje se svrstavaju u koncept „klik kemije“ imaju svojstva da su široko primjenjive, stereospecifične, visokog iskorištenja i da se u reakciji dobiva vrlo malo nusprodukata. Reakcijski uvjeti u kojima se odvija „klik reakcija“ zahtijevaju komercijalno dostupne početne tvari i reagense, korištenje otapala koja nisu veliki zagađivači, jednostavnu izolaciju i pročišćavanje produkata (npr. prekrizacijom, ekstrakcijom).²⁴ Možemo reći da „klik kemiju“ možemo svrstati u „zelenu kemiju“. Reakcije koje zadovoljavaju kriterije „klik reakcije“ su: cikloadicije nezasićenih vrsta (pogotovo 1,3-dipolarna cikloadicija) i Diels-Alderove transformacije, nukleofilne supstitucije (posebno reakcije s otvaranjem epoksidnog prstena), adicije na C-C višestruke veze kao što su epoksidacija, dehidroksilacija, Michaelova adicija – Nu-H reaktanata.

2.3.1. HUISGENOVA 1,3-DIPOLARNA CIKLOADICIJA TERMINALNIH ALKINA I AZIDA S BAKAR(I) KAO KATALIZATOROM

U prethodnom poglavlju spomenuta je 1,3-dipolarna cikloadicija između terminalnog alkina i azida s bakrom(I) kao katalizatorom za sintezu 1,2,3-triazolnog prstena. Izvori Cu(I) iona potrebnih za reakciju mogu biti soli Cu(I), soli Cu(II) koje redukcijom prelaze u Cu(I), a kao reducens upotrebljava se natrijev askorbat. Također, može se koristiti bakrov(II) acetat otopljen u metanolu gdje dolazi do redukcije bakra(II) u bakar(I) uz pomoć metanola. Model koji se pokazao još učinkovitijim je sinteza 1,2,3-triazola potpomognuta mikrovalovima u mikrovalnom reaktoru.²⁵ Kao otapalo najčešće se koriste metanol, smjese otapala, poput

$\text{CH}_2\text{Cl}_2 : \text{H}_2\text{O}$, $\text{DMF} : \text{H}_2\text{O}$ te *tert*-butilni alkohol : H_2O u različitim omjerima.²⁶ Upotrebom bakra (I) kao katalizatora postignuta je regioselektivnost reakcije jer katalizator snižava aktivacijsku energiju, pa je tako u reakciji 1,3-dipolarne cikloadicije uz Cu(I) aktivacijska energija niža za oko 11 kcal/mol²⁵ i usmjeruje reakciju prema jednom produktu odnosno 1,4-disupstituiranom triazolnom prstenu. Prema pretpostavljenom mehanizmu reakcije vidimo da je prvi stupanj u katalitičkom procesu stvaranje π -kompleksa **3** između Cu(I) i π -elektrona trostruke veze (slika 6).



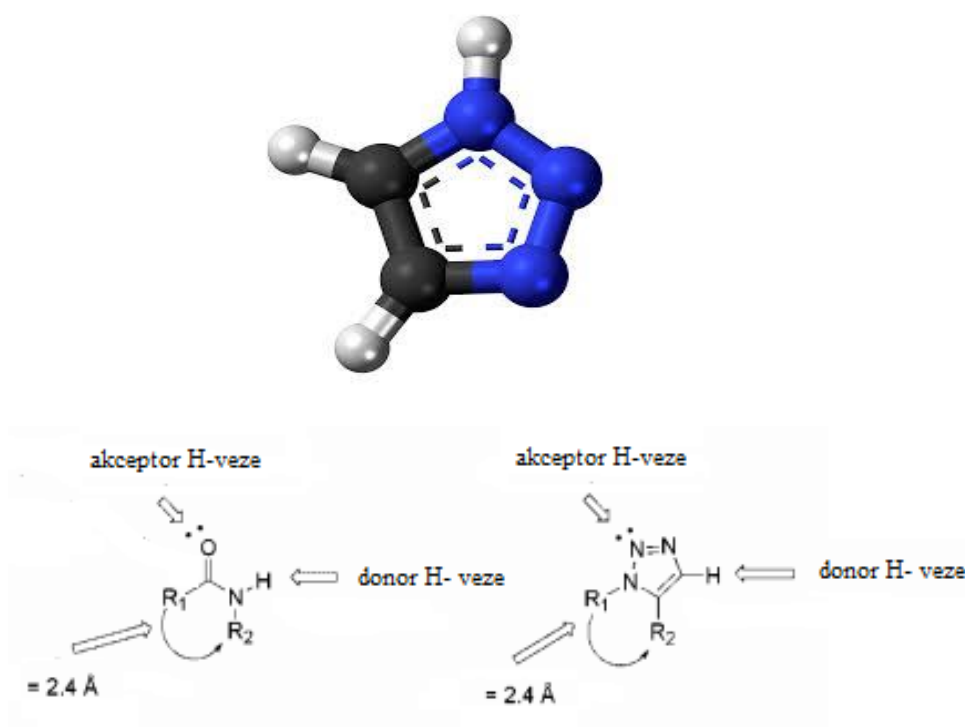
Slika 6. Pretpostavljeni mehanizam reakcije 1,3- dipolarne cikloadicije.²⁵

Vežanje bakra u π -kompleks omogućava sniženje pK_a vodikovog atoma alkina ($\equiv\text{CH}$) do 9,8 što omogućava deprotoniranje sa slabima bazama kao što je voda.²⁷ Time se omogućava upotreba vode kao otapala. Cu(I) služi kao poveznica, odnosno most između alkina i azida, i omogućava nukleofilni napad **9** (slika 6) ugljikovog atoma C-4 na dušikov atom N-3 i zatvaranje triazolnog prstena. Reakcijska kinetika usko je vezana uz reakcijske uvjete i time nastajanje različitih Cu(I)-acetilena (π -kompleksa). Prema istraživanjima kinetika reakcija je drugog reda prema koncentraciji Cu(I), ali povećavanjem koncentracije Cu(I) reakcija je između prvoga i drugoga kinetičkog reda.²⁸

2.4. TRIAZOLNI PRSTEN

Unazad nekoliko godina triazolni prsten se sve više upotrebljava u sintetskoj organskoj kemiji i medicinskoj kemiji, u razvoju novih materijala te u razvoju novih kemijskih i bioloških

senzora.²⁸ Razlog implementacije triazolnog prstena u sve više znanstvenih područja, pogotovo kao poveznice (linker) dviju funkcionalnih struktura (molekulski hibridi, blok kopolimeri, dostava lijekova)²⁹ je u tome što se može sintetizirati pri različitim reakcijskim uvjetima u visokom iskorištenju. U medicinskoj kemiji ima svoju primjenu jer ima zadovoljavajuća fizikalno-kemijska svojstva. 1,2,3-triazolni prsten može stvarati π - π interakcije s aromatskim prstenovima kao što je benzenski prsten. Također, 1,2,3-triazolni prsten posjeduje i dipolni moment (5,2-5,6 Debye). Dva atoma dušika N-2 i N-3 u strukturi triazola mogu stvarati vodikove veze s donorima vodikovih veza ili koordinirati s metalnim ionima. Nedavna istraživanja na 1,2,3-triazolima potvrdila su da vodikove veze i dipolne interakcije s triazolom mogu pogodovati njihovom vezivanju na biomolekularne mete i povećati njihovu topljivost.²⁹ Nadalje, 1,2,3-triazoli su vrlo stabilni na metaboličku i kemijsku razgradnju, te inertni pri hidrolitičkim, oksidacijskim i redukcijskim uvjetima, čak i pri visokim temperaturama.

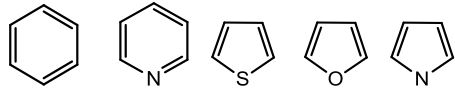
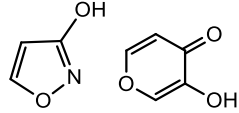
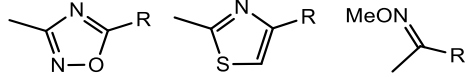


Slika 7. Triazolni prsten kao bioizoster amidne veze.

Kao što je prikazano na slici 7, najvažnije svojstvo triazolnog prstena za medicinsku kemiju je da je triazolni prsten bioizoster amidne veze i pokazuje dobru biološku aktivnost posebice antitumorska³⁰, antimikrobna³¹, antivirusna³² i druga svojstva. Bioizosterija je noviji pristup sintezi potencijalno bioloških aktivnih molekula na način da se zamjenjuju funkcionalne skupine koje su odgovorne za biološku aktivnost (tablica 2) sa strukturno drugačijim

skupinama s ciljem promjene farmakodinamičkih svojstava koja su važna u pronalasku novih lijekova.

Tablica 1. Prikaz aktivnih skupina i njihovih bioizostera.

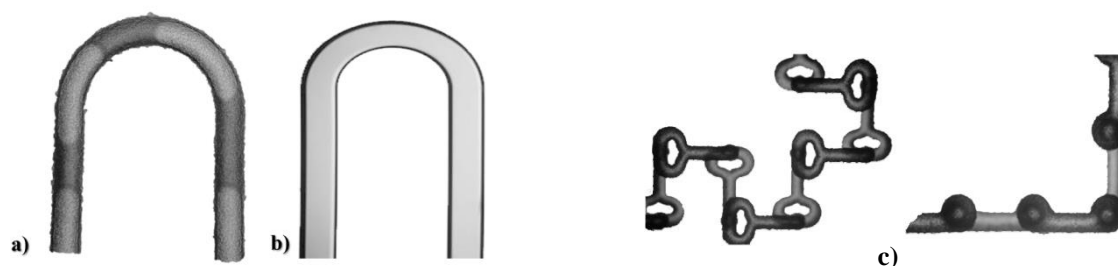
aktivne skupine	bioizosterne skupine
-OH	-NHCOR, -NHSO ₂ R, -CH ₂ OH, -NHCN, -CH(CN) ₂
-NR ₂	-C(=NR)NR ₂ , -NRC(=NR)NR, NR ₃ ⁺
-aril	
-COOH	-PO(OH) ₂ , -SO ₂ NHCOR, -CONHCN 
-COOR	

Na tržištu postoje lijekovi koji u svojoj strukturi sadrže 1,2,3-triazolni prsten: β -laktamski antibiotik tazobaktam koji je inhibitor bakterijskog enzima betalaktamaze i ima antiproliferativnu aktivnost, te cefalosporinski antibiotik cefatrizin koji pokazuje izvrsnu aktivnost protiv bakterija *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Proteus mirabilis*.³³

2.5. MIKROREAKTORI

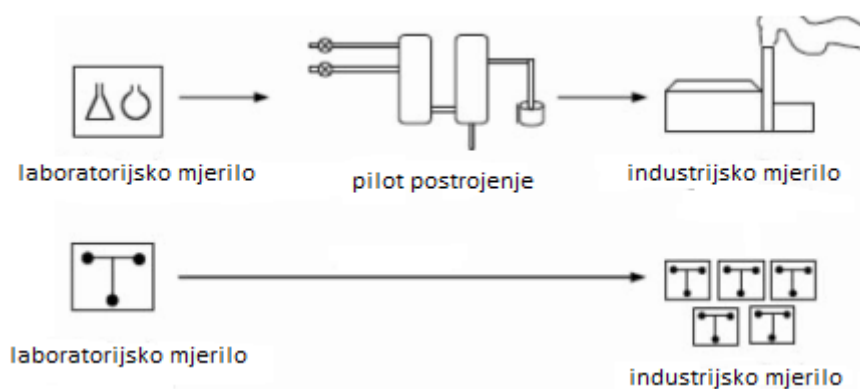
Sinteze koje se provode u industrijskom mjerilu prenešene su iz laboratorijskog u industrijsko mjerilo („scale up“ proces). U posljednjih desetljeća postoje naznake i naponi da se to promijeni, a ta je promjena započela uz nastajanje prvog prototipa mikroreaktora početkom 1990-ih godina.³⁴ Mikroreaktori predstavljaju mrežu malih cjevčica ili kanala različitih dimenzija, između 10-300 μm , izrađenih od različitih materijala (staklo, teflon, metal) koje se nalaze na postolju (eng. „chip“), unutar kojih dolazi do spajanja struja reaktanata. Mreža cjevčica može biti različitih duljina i načina izvedbe kao npr. hrapavo staklo za bolje miješanje, ugrađeni elementi (mikromikseri, separacijski kanali), različiti broj ulaza ovisno o potrebi istraživanja (slika 8). Važni dodatni dijelovi mikroreaktora su pumpe koje tjeraju reaktante kroz mikroreaktor i za potrebe automatizacije procesa izlaz iz mikroreaktora može

se direktno spojiti na analizator kao na primjer HPLC-MS.³⁵ Mikroreaktor se također može uklopiti u sustave s ultrazvučnim,³⁶ ultraljubičastim ili mikrovalnim zračenjem.³⁷



Slika 8. Mikroreaktori: a) s hrapavom površinom, b) glatkom površinom c) mikroreaktor s mikromikserima.

Zbog malih promjera kanala, mikroreaktori imaju mnoge prednosti: bolja difuzija i miješanje, bolji transport energije posebno prilikom zagrijavanja sustava, manja količina otapala što dovodi do smanjenja troškova i očuvanje okoliša, mogućnost automatizacije.³⁸ Mikroreaktor karakterizira i kraće vrijeme reakcija koje ovisi o vremenu zadržavanja u reaktoru što u nekim slučajevima, ovisno o protoku, može iznositi 10 s. Za industrijsku primjenu, prednost mikroreaktora je u tome što nije potrebno uvećanje procesa nego se samo iz laboratorijskog prenese u industrijsko mjerilo³⁹ (slika 9), odnosno povećava se broj reaktora, bez potrebe izrađivanja pilot postrojenja za proučavanje ponašanja reakcijskog sustava u većem mjerilu. Primjena mikroreaktora ima i nedostatke poput pojave začepjenja sustava zbog malih promjera kanala, manje izlazne količine produkata, razmjer veličina između mikroreaktora i sustava koji su potrebni za funkcioniranje kao pumpe, analizatori.



Slika 9. Prikaz uvećanja različitih reakcijskih sustava.

Mikroreaktori su prisutni u sintetskoj organskoj kemiji već duži period i mnoge reakcije poput: Michael adicije,⁴⁰ Sonogashirina reakcije,⁴¹ 1,3-dipolarne cikloadicije⁴² provedene su u mikroreaktoru. Prilikom sinteze triazolnog prstena⁴³ u mikroreaktoru, važno je postići homogenost reakcijske smjese da ne bi došlo do začepljenja reaktora zbog prisutnosti bakra. Također, pripremljeni su mikroreaktori od bakra koji ujedno imaju ulogu karalizatora⁴¹ dok se reakcije mogu provoditi pri različitim uvjetima:⁴³ kod povišene temperature, različitim protocima, upotrebom hvatača bakra (eng. „scavenging“).

Nadalje, područje koje proučava zakone na mikro promjerima cijevi je mikrofluidika, a primjenjuje se najviše u analitičkoj kemiji i to najviše u medicinskog dijagnostici. Razvijen je mikroanalitički uređaj μ -STAT⁴⁴ koji upotrebljava zakone mikrofluidike za brzu i kompletnu analizu pacijentove krvi, a za analizu je potrebno 2-3 kapi krvi. Također, mogu se raditi različite analize krvi zamjenom raznih analitičkih „kazeta“. Razvijen je GeneChip⁴⁵ sustav koji na malenoj pločici može sadržavati specifične DNK-sekvence. Nakon pripreme i dodavanja uzorka prati se ekspresija vezanja na specifične sekvence DNK i ovisno na koju se sekvencu veže može se otkriti koju gensku anomaliju posjeduje uzorak.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. OPĆE NAPOMENE

Sva otapala su sušena/pročišćavana prema preporučenom postupku sušenja agensima i/ili destiliranjem preko molekulskih sita veličine 3 Å. Za tankoslojnu kromatografiju (TLC) korištene su ploče 60F-254 prevučene slojem silikagela *Merck*, a za detekciju izoliranih komponenata korištena je UV svjetlost valne duljine 254 nm.

Kromatografija na koloni provedena je na silikagelu (*Fluka*, 0,063-0,2 mm). Staklene kolone su punjene pod utjecajem gravitacije, a kao eluens je korištena odgovarajuća smjesa CH₂Cl₂/CH₃OH.

Točke tališta sintetiziranih spojeva određene su na instrumentu Kofler (*Reichert*, Wien) i nisu korigirane.

Spektri ¹H i ¹³C NMR snimljeni su na spektrometru Bruker 300 i 600 MHz. Svi uzorci su otopljeni u DMSO-*d*₆ i mjereni pri 298 K. Kemijski pomaci (δ) u ¹H i ¹³C NMR spektrima izraženi su u ppm u odnosu prema signalu tetrametilsilana na δ 0,0 ppm za ¹H i prema signalu DMSO δ 39.50 ppm za ¹³C. Pojedine rezonancije su pridružene na temelju kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta signala i H-H konstante sprege.

Mikroreaktorski sustav (slika 10) sastojao se od mikročipa s mikrokanalima od borosilikatnog stakla (cijevni mikroreaktor, dužina : širina : visina = 330 : 250 : 50 μm s unutarnjim volumenom 4,125 mm³). Srednja hrapavost mikrokanala je u području 0,8 – 2,5 μm ovisno o načinu izrade. Mikroreaktor je opremljen s dva ulaza "Y"-oblika, za odvojeno uvođenje različitih procesnih struja i jednog izlaza istog oblika. Čipovi mikroreaktora smješteni su u nosač od nehrđajućeg čelika, koji omogućuje spajanje bez gubitaka (*Micronit Microfluidics BV*, Nizozemska). Čipovi su stavljeni u ultrazvučnu kupelj temperature 50° C. Dvije pumpe (PHD 4400, *Harvard Apparatus*, SAD) opremljene špicama od nehrđajućeg čelika (8 cm³, *Harvard Apparatus*, SAD) korištene su za dovodenje procesnih struja. Mikroreaktorski čipovi su spojeni na pumpe silicijskim cjevčicama (375 μm O.D., 150 μm I.D., *Micronit Microfluidics BV*, Nizozemska).

Skupljene frakcije na izlazu iz mikroreaktora su analizirane pomoću visoko učinkovite tekućinske kromatografije (HPLC) s UV lampom kao detektorom marke *Shimadzu*. Kao kolona se upotrebljavala *Agilent Eclipse XDB-C18* (4,6*150 mm). Kao dvokomponentna tekućinska faza upotrebljavala se voda (0,1% mravlje kiseline) i acetonitril (475 ml ACN, 50 ml H₂O, 0,5 ml mravlje kiseline) pri protoku od 1 ml/min u različitim gradijetnim omjerima ovisno o reakcijskoj smjesi.

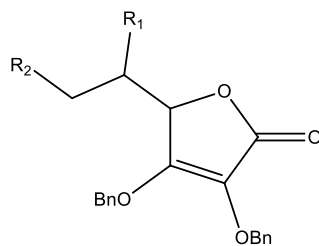


Slika 10. Mikroreaktorski sustav.

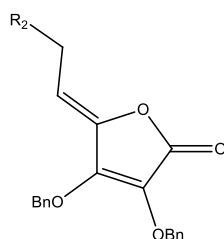


Slika 11. Uređaj za tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti (HPLC) proizvođača Shimadzu.

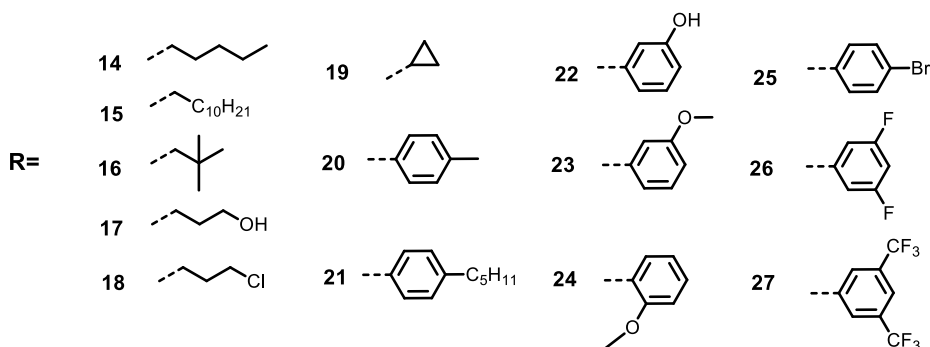
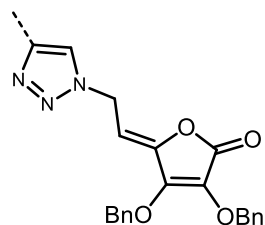
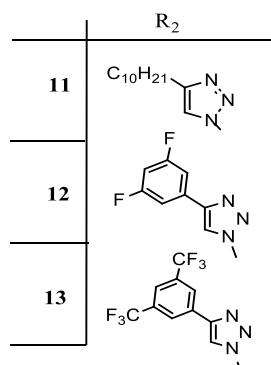
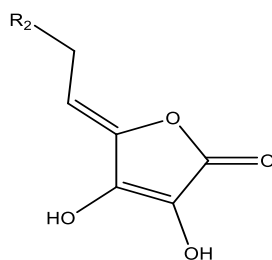
3.2. PREGLED SINTETIZIRANIH SPOJEVA



	R ₁ R ₂
1	
2	OH
3	



	R ₂
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



3.3. PRIPREMA SPOJEVA

2,3-*O,O*-dibenzil-5,6-*O,O*-izopropiliden-L-askorbinska kiselina (1)⁴⁶

5,6-*O,O*-izopropiliden-L-askorbinska kiselina (20,0 g, 93 mmol) se otopi u dimetilformamidu (DMF, 100 ml) te se otopini dodaju K₂CO₃ (14,1 g, 116 mmol) i benzil-klorid (23,3 ml, 93 mmol). Reakcijska smjesa se miješa preko noći na 60 °C. Nakon završetka reakcije (provjera tankoslojnom kromatografijom), K₂CO₃ se odfiltrira a otapalo upari pri sniženom tlaku. Ostatak nakon uparavanja se otopi u etil-acetatu (100 ml) te ekstrahira vodom (50 ml) i zasićenom otopinom natrijevog klorida (50 ml). Organski sloj je sušen iznad bezvodnog

magnezij-sulfata te profiltriran, a filtrat je uparen pri sniženom tlaku. Produkt se prekrystalizira u vrućem metanolu. Izoliran je spoj **1** (28,8 g, 80 %).

2,3-*O,O*-dibenzil-L-askorbinska kiselina (2)⁴⁶

Otopini spoja **1** (25,5 g, 64,3 mmol) u metanolu (250 ml) doda se octena kiselina (50 % u MeOH, 180 ml). Reakcijska smjesa se miješa preko noći na 70 – 80 °C. Otapalo se upari pri sniženom tlaku, a ostatak se otopi u etil-acetatu (200 ml) te ekstrahira zasićenom otopinom natrijevog klorida (200 ml) te vodom (100 ml). Organski sloj je sušen iznad bezvodnog natrij-sulfata te filtriran. Filtrat je uparen pri sniženom tlaku, a produkt je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens CH₂Cl₂ : CH₃OH = 40 : 1. Izoliran je spoj **2** (13,2 g, 56%).

2,3-*O,O*-dibenzil-5,6-*O*-ditosil-L-askorbinska kiselina (3)⁴⁶

Spoj **2** (3 g, 8,4 mmol) se otopi u suhom diklormetanu (26 ml) i suhom piridinu (9 ml). Otopini se kroz 2 h dokapa *p*-toluensulfonil-klorid (6,3 g, 33,04 mmol) otopljen u CH₂Cl₂ (25 ml). Reakcijska smjesa se miješa preko noći na sobnoj temperaturi. Otapalo se upari pri sniženom tlaku (koupavanje s toluenom). Ostatak nakon uparavanja se otopi u CH₂Cl₂ (100 ml), te se ekstrahira s vodom (100 ml). Organski sloj se suši iznad bezvodnog Na₂SO₄. Na₂SO₄ se odfiltrira, a filtrat upari pri sniženom tlaku i pročisti kolonskom kromatografijom uz CH₂Cl₂ kao eluens. Izoliran je spoj **3** (2,57 g, 46 %).

2,3-*O,O*-dibenzil-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-6-azido-L-askorbinska kiselina (4)

Spoj **3** (1 g, 1,5 mmol) se otopi u acetonitrilu (25 ml) te se doda NaN₃ (600 mg, 9,23 mmol) i ostavi se miješati na refluksu 5 sati, a zatim se reakcijska smjesa ostavi preko noći na sobnoj temperaturi uz miješanje. Otapalo se upari pri sniženom tlaku, a ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom uz CH₂Cl₂ kao eluens. Izoliran je spoj **4** (400,5 mg, 73 %).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 7.44–7.33 (10H, m, Ph), 5.53 (1H, t, H-5, *J* = 7.7 Hz), 5.34 (2H, s, CH₂Ph), 5.15 (2H, s, CH₂Ph), 4.09 (2H, s, H-6) ppm.

¹³C (151 MHz, DMSO) (δ/ppm): 163.6 (C-1), 147.9 (C-4), 143.6 (C-3), 135.3 (Ph-g), 128.9–127.9 (C-Ph), 123.3 (C-2), 102.2 (C-5), 74.0 (C-OCH₂), 73.0 (C-OCH₂), 43.9 (C-6) ppm.

Opći postupak za sintezu 1,2,3-triazolnih derivata L-askorbinske kiseline (5-10).

Otopini bakrovog acetata (0,05 eq) u metanolu doda se spoj **4** (1 eq) i dokapa se odgovarajući alkin (1 eq). Reakcijska smjesa miješa se 5h na temperaturi 50 °C. Nakon završetka reakcije otapalo se upari pri sniženom tlaku i ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom. Izolirani su bijeli praškasti spojevi **5–10**.

2,3-O,O-dibenzil-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-6-(4-(ciklopropil)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (5)

Reagensi: spoj **4** (330 mg, 0,908 mmol), ciklopropilacetilen (0,08 ml, 0,908 mmol), bakrov acetat (9,023 mg, 0,049 mmol), MeOH (18 ml). Provedena je kolonska kromatografija uz eluens CH₂Cl₂. Izoliran je bijeli praškasti spoj **5** (272,3 mg, 70 %, t.t. = 65–67 °C).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 7.85 (1H, s, H-7), 7.44–7.30 (10H, m, Ph), 5.60 (1H, t, H-5, *J* = 7.5 Hz), 5.32 (2H, s, CH₂Ph), 5.14 (2H, s, CH₂Ph), 5.12 (2H, s, H-6), 1.96–1.87 (1H, m, H-1'), 0.91–0.84 (2H, m, H-2'), 0.71–0.66 (2H, m, H-3') ppm.

¹³C-NMR (151 MHz, DMSO) (δ/ppm): 163.5 (C-1), 149.2 (C-8), 147.9 (C-4), 143.1 (C-3), 135.7 (Ph-g), 135.3 (Ph-g), 128.8–127.9 (C-Ph), 123.3 (C-2), 120.8 (C-7), 102.2 (C-5), 74.0 (C-OCH₂), 73.0 (C-OCH₂), 43.9 (C-6), 7.5 (C-2', C-3'), 66.5 (C-1') ppm.

2,3-O,O-dibenzil-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-6-(4-(2-hidroksiet-1-il)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (6)

Reagensi: spoj **4** (300 mg, 0,825 mmol), 3-hidroksibut-1-in (0,08 ml, 0,825 mmol), bakrov acetat (7,821 mg, 0,043 mmol), MeOH (16,5 ml). Provedena je kolonska kromatografija uz eluens CH₂Cl₂. Izoliran je bijeli praškasti spoj **6** (218,0 mg, 61%, t.t.= 59–60 °C).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 7.89 (1H, s, H-7), 7.44–7.31 (10H, m, Ph), 5.61 (1H, t, H-5, *J* = 7.5 Hz), 5.32 (2H, s, CH₂Ph), 5.18 (2H, s, H-6), 5.16 (2H, s, CH₂Ph), 4.67 (1H, t, OH, *J* = 5.0 Hz), 3.61 (2H, dd, H-2', *J* = 4.9 Hz, *J* = 6.6 Hz), 2.75 (2H, t, H-1', *J* = 6.9 Hz) ppm.

¹³C-NMR (151 MHz, DMSO) (δ/ppm): 163.5 (C-1), 147.9 (C-4), 144.7 (C-8), 143.1 (C-3), 135.7 (C-Ph), 135.3 (C-Ph), 128.8–127.9 (C-Ph), 123.3 (C-2), 122.5 (C-7), 102.2 (C-5), 74.0 (C-OCH₂), 73.0 (C-OCH₂), 60.3 (C-2'), 43.8 (C-6), 29.1 (C-1') ppm.

2,3-*O,O*-dibenzil-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-(4-dec-1-il-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (7)

Reagensi: spoj **4** (351 mg, 0,965 mmol), dodecin (0,21 ml, 0,982 mmol), bakrov acetat (9,234 mg, 0,051 mmol), MeOH (20,0 ml). Provedena je kolonska kromatografija uz eluens CH₂Cl₂. Izoliran je bijeli praškasti spoj **7** (360,8 mg, %, t.t. 88–70 °C).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 7.87 (1H, s, H-7), 7.44–7.31 (10H, m, Ph), 5.61 (1H, t, H-5, *J* = 7.2 Hz), 5.32 (2H, s, CH₂Ph), 5.19 (2H, s, H-6), 5.17 (2H, s, CH₂Ph) ppm, 2.57 (2H, t, H-1', *J* = 7.5 Hz), 1.60-1.51 (2H, m, H-2'), 1.23 (14H, s, CH₂-), 0.84 (3H, t, H-10', *J* = 6.9 Hz) ppm.

¹³C-NMR (151 MHz, DMSO) (δ/ppm): 163.5 (C-1), 147.9 (C-4), 147.2 (C-8), 143.0 (C-3), 135.7 (C-Ph), 135.4 (C-Ph), 128.8–127.9 (C-Ph), 123.3 (C-2), 121.8 (C-7), 102.2 (C-5), 74.0 (C-OCH₂), 73.0 (C-OCH₂), 43.8 (C-6), 31.2 (C-1), 28.9 (CH₂), 28.7 (CH₂), 28.6 (CH₂), 28.5 (CH₂), 24.9 (CH₂), 22.1 (CH₂), 13.9 (CH₃) ppm.

2,3-*O,O*-dibenzil-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-(4-(3,5-difluorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (8)

Reagensi: spoj **4** (300 mg, 0,825 mmol), 3,5-difluorfenilacetilen (0,10 ml, 0,825 mmol), bakrov acetat (7,821 mg, 0,043 mmol), MeOH (16,5 ml). Provedena je kolonska kromatografija uz eluens CH₂Cl₂. Izoliran je bijeli praškasti spoj **8** (257,3 mg, 62%, t.t. 74–76 °C).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8.75 (1H, s, H-7), 7.58–7.18 (13H, m, Ph), 5.69 (1H, t, H-5, *J* = 7.2 Hz), 5.34 (2H, s, CH₂Ph), 5.29 (2H, d, H-6, *J* = 7.8 Hz), 5.18 (2H, s, CH₂Ph) ppm.

¹³C-NMR (151 MHz, DMSO) (δ/ppm): 164.1 (C-1), 163.3 (Ph-3',5', dd, Hz), 148.4 (C-3), 145.1 (C-8), 144.1 (C-4), 135.7 (Ph-g), 135.3 (Ph-g), 134.6 (Ph-1', t, *J* = 10.5 Hz), 128.9–126.9 (C-Ph), 123.9 (C-2), 123.4 (C-7), 108.1 (Ph-2', 6', dd, *J*_{CF} = 21.1 Hz, *J*_{CF} = 5.5 Hz), 103.1 (Ph-4', t, *J* = 26.0 Hz), 98.4 (C-5), 74.5(C-OCH₂), 73.5(C-OCH₂), 44.9 (C-6), ppm.

2,3-*O,O*-dibenzil-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-(4-(3,5-di-(trifluormetil)-fenil)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (9)

Reagensi: spoj **4** (300 mg, 0,825 mmol), 3,5-difluormetilfenilacetilen (0,20 ml, 0,825 mmol), bakrov acetat (7,821 mg, 0,043 mmol), MeOH (16,5 ml). Provedena je kolonska

kromatografija uz eluens CH_2Cl_2 . Izoliran je bijeli praškasti spoj **9** (400,9 mg, 81 %, t.t. 89–90 °C).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 9.00 (1H, s, Ph-4'), 8.51 (2H, s, Ph-2',6'), 8.07 (1H, s, H-7), 7.44–7.32 (10H, m, Ph), 5.72 (1H, t, H-5, $J = 7.7$ Hz), 5.34 (2H, s, CH_2Ph), 5.21 (2H, s, H-6), 5.18 (2H, s, CH_2Ph) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, DMSO) (δ/ppm): 164.0 (C-1), 148.4 (C-3), 144.4 (C-4), 144.1 (C-8), 133.7 (Ph-1'), 136.1 (Ph-g), 135.8 (Ph-g), 131.0 (Ph-3', 5'), 125.5–128.0 (C-Ph), 122.3 (C-2), 121.0 (C-7), 98.2 (C-5), 74.5(C-OCH₂), 73.5(C-OCH₂), 44.5 (C-6), ppm.

2,3-O,O-dibenzil-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-(4-(3-hidroksifenil)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (10)

Reagensi: spoj **4** (300,0 mg, 0,825 mmol), 3-hidroksifenilaceten (0,20 ml, 0,825 mmol), bakrov acetat (7,821 mg, 0,043 mmol), MeOH (16,5 ml). Provedena je kolonska kromatografija uz eluens CH_2Cl_2 . Izoliran je bijeli praškasti spoj **10** (313,9 mg, 79 %, t.t. 160–161 °C).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 9.53 (1H, s, OH), 8.54 (2H, s, Ph-2',6'), 8.54 (1H, s, H-7), 7.44–7.22 (13H, m, Ph), 6.74–6.71 (1H, m, Ph), 5.70 (1H, t, H-5, $J = 7.5$ Hz), 5.33 (2H, s, CH_2Ph), 5.26 (2H, d, H-6, $J = 7.5$ Hz), 5.17 (2H, s, CH_2Ph) ppm.

Opći postupak za uklanjanje benzilnih skupina

Otopini spojeva **7–9** u suhom diklormetanu (20 ml) ohlađenoj na -65 °C, dokapa se boron-triklorid (BCl_3 , 6 eq) pod strujom argona. Reakcijska smjesa se miješa 5h, a potom ostavi u zamrzivaču preko noći. Reakcijskoj smjesi se doda smjesa diklormetana i metanola (1:1, 15 ml) i miješanje se nastavi kroz posla sata. Otapalo se upari, a u reakcijsku smjesu otoplenu u metanolu (20 ml) doda se ionski izmjenjivač Amberlit IRA-743 koji neutralizira reakcijsku smjesu. Amberlit se odfiltrira te se otapalo upari, a ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom uz eluens CH_2Cl_2 : MeOH.

2,3-O,O-dihidroksi-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-(4-dec-1-il)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (11)

Reagensi: spoj **7** (200 mg, 0,38 mmol), CH_2Cl_2 (20 ml), BCl_3 (2,24 ml, 2,25 mmol). Izoliran je bijeli praškasti spoj **11** (55 mg, 42%, t.t. = 169–171 °C).

¹H-NMR (600 MHz, DMSO) (δ/ppm): 11.28 (1H, s, OH), 9.73 (1H, s, OH), 7.86 (1H, s, H-7), 5.52 (1H, t, H-5, *J* = 7.5 Hz), 5.14 (2H, s, H-6), 2.60–2.57 (2H, m, H-1'), 1.58–1.56 (2H, m, H-2'), 1.26 (14H, s, CH₂-), 0.84 (3H, t, H-10', *J* = 7.0 Hz) ppm.

¹³C-NMR (151 MHz, DMSO) (δ/ppm): 164.6 (C-1), 147.2 (C-3), 144.9 (C-4), 143.0 (C-8), 121.9 (C-2), 121.7 (C-7), 99.3 (C-5), 43.9 (C-6), 31.2 (C-1), 28.9 (CH₂), 28.7 (CH₂), 28.6 (CH₂), 28.5 (CH₂), 24.9 (CH₂), 22.1 (CH₂), 13.9 (CH₃) ppm.

2,3-*O,O*-dihidroksi-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-(4-(3,5-difluorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (12)

Reagensi: spoj **7** (200 mg, 0,39 mmol) CH₂Cl₂ (20 ml), BCl₃ (2,27 ml, 2,6 mmol). Izoliran je bijeli praškasti spoj **11** (61.1 mg, 48%, t.t. = > 200 °C).

¹H-NMR (600 MHz, DMSO) (δ/ppm): 11.31 (1H, s, OH), 9.83 (1H, s, OH), 8.75 (1H, s, H-7), 7.59 (1H, m, Ph-H), 7.58 (1H, m, Ph-H), 7.22–7.19 (1H, m, Ph-H), 5.58 (1H, t, H-5, *J* = 7.7 Hz), 5.26 (2H, d, H-6, *J* = 7.7 Hz) ppm.

¹³C-NMR (151 MHz, DMSO) (δ/ppm): 164.6 (C-1), 162.9 (Ph-3',5', dd, *J*_{CF} = 245.6 Hz, *J*_{CF} = 13.7 Hz), 145.7 (C-3), 144.6 (C-8), 142.9 (C-4), 134.2 (Ph-1', t, *J* = 10.5 Hz), 122.7 (C-2), 122.0 (C-7), 108.1 (Ph-2',6', dd, *J*_{CF} = 21.1 Hz, *J*_{CF} = 5.5 Hz), 103.1 (Ph-4', t, *J* = 26.0 Hz), 98.4 (C-5), 44.5 (C-6), ppm.

2,3-*O,O*-dihidroksi-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-(4-(3,5-di-(trifluormetil)fenil)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (13)

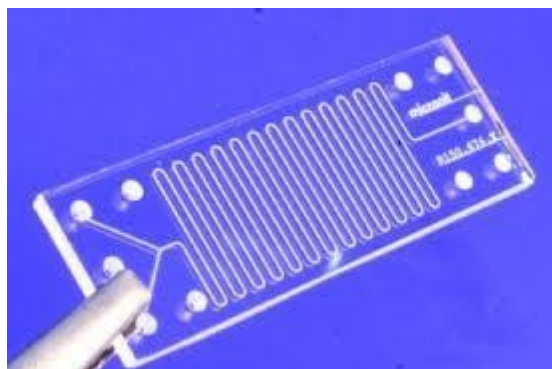
Reagensi: spoj (**7**) (200 mg, 0,33 mmol) CH₂Cl₂ (20 ml), BCl₃ (1.98 ml, 2,2 mmol). Izoliran je bijeli praškasti spoj **11** (72.1 mg, 52 %, t.t. = > 200 °C).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 11.21 (1H, s, OH), 9.95 (1H, s, OH) 9.01 (1H, s, Ph-4'), 8.54 (2H, s, Ph-2',6'), 8.07 (1H, s, H-7), 5.61 (1H, t, H-5, *J* = 7.7 Hz), 5.30 (2H, s, H-6) ppm.

¹³C-NMR (151 MHz, DMSO) (δ/ppm): 164.6 (C-1), 145.8 (C-3), 143.8 (C-4), 142.9 (C-8), 133.2 (Ph-1'), 131.0 (Ph-3', 5', *J*_{CF} = 33.0 Hz), 124.1 (m, CF₃), 123.3 (Ph-4', m), 123.2.0 (Ph, *J*_{CF} = 272.8 Hz), 122.3 (C-2), 121.0 (C-7), 98.2 (C-5), 44.5 (C-6), ppm.

Opći postupak za sintezu 1,2,3-triazolnih derivata L-askorbinske kiseline u mikroreaktoru (14–27)

Pripremi se 0,1 M otopina azida **4** u metanolu s odabranim alkinom (1 eq) (ulaz 1) i 0,005 M otopina bakrovog acetata u metanolu (ulaz 2). Reakcije su provedene u mikoreaktoru s dva ulaza i jedinim izlazom u ultrazvučnoj kupelji pri temperaturi od 50 °C . Reakcija na izlazu je zaustavljena dodatkom Quadra Pure smole. Nakon 6 sati skupljanja, izlazna frakcija je analizirana uz pomoć HPLC–kromatografije. Iskorištenje reakcije izračunato je prema omjeru površina u kromatogramu koje odgovaraju početnom spoju **4** prije i nakon reakcije u mikoreaktoru.

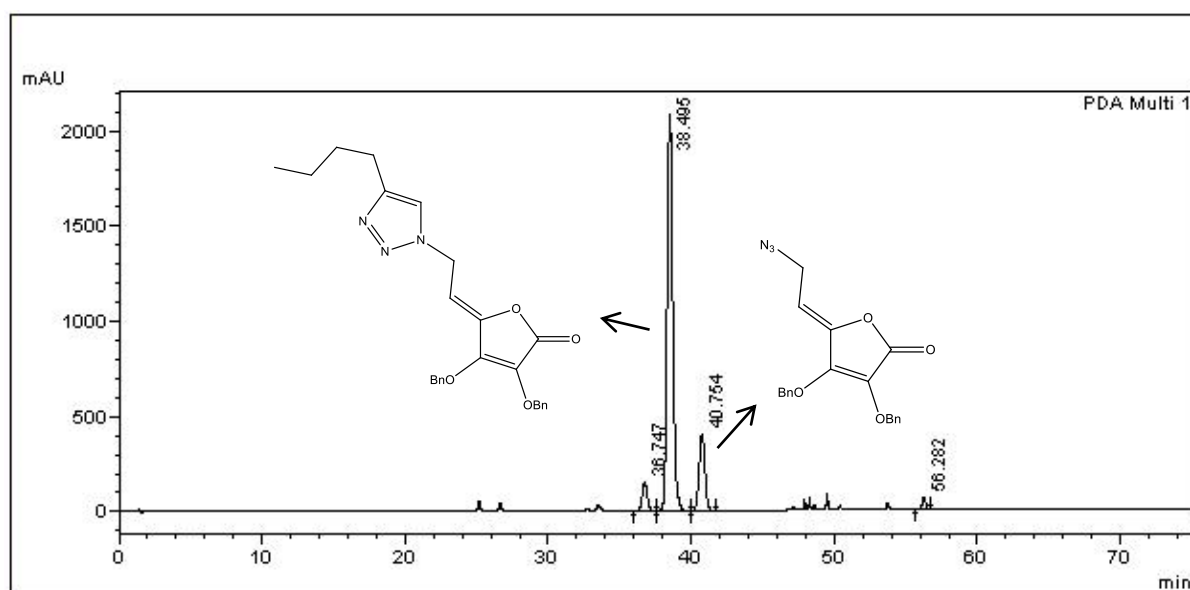


Slika 12. Prikaz mikoreaktora.

2,3-O,O-dihidroksi-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-(4-but-1-il)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (14)

Ulaz 1: spoj **4** (42,73 mg) i heksin (13,93 μ l) u 1,17 ml MeOH;

Ulaz 2: Cu(OAc)₂ (3,83 mg) u 4,2 ml MeOH; η = 81%

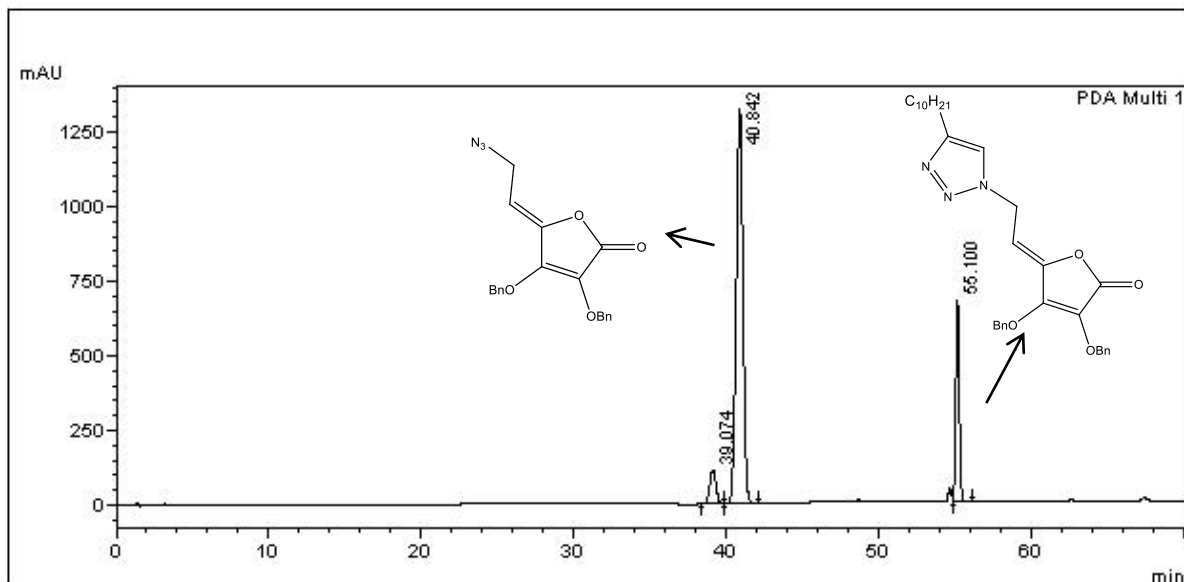


Slika 13. Kromatogram HPLC izlazne frakcije u reakciji sinteze spoja **14** u mikoreaktoru.

2,3-*O,O*-dihidroksi-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-(4-(dec-1-il)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (15)

Ulaz 1: spoj 4 (53,16 mg) i dodecin (37,21 μ l) u 1,46 ml MeOH;

Ulaz 2: Cu(OAc)₂ (2,12 mg) u 2,33 ml MeOH; η = 47 %

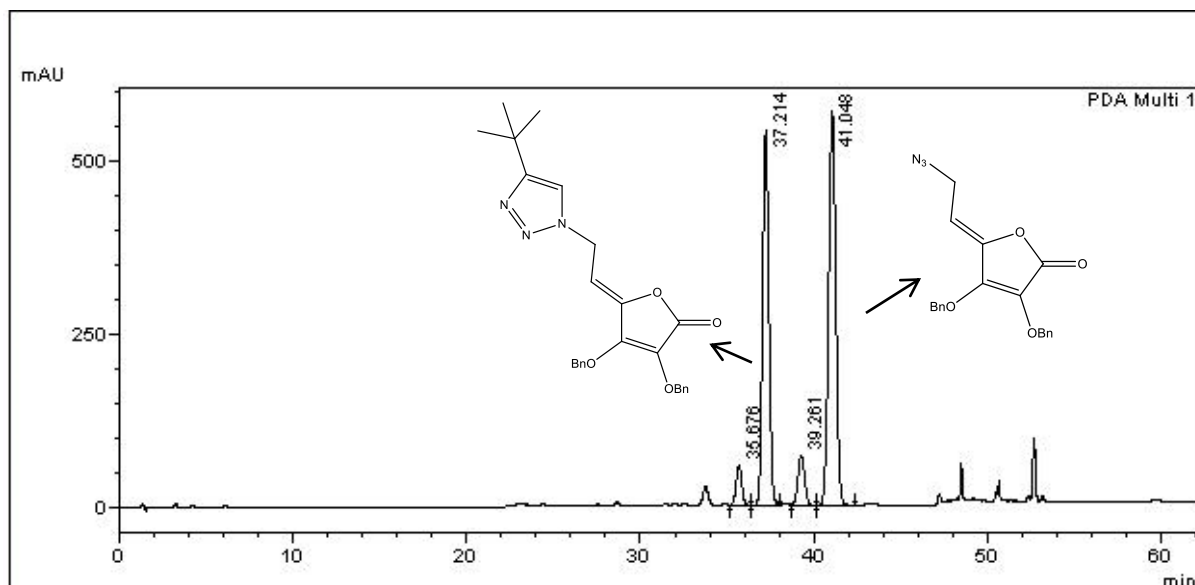


Slika 14. Kromatogram HPLC izlazne frakcije u reakciji sinteze spoja 15 u mikroreaktoru.

2,3-*O,O*-dihidroksi-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-(4-(1,1-dimetilet-1-il)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (16)

Ulaz 1: spoj 4 (51,30 mg) i 3,3-dimetilbutin (17,74 μ l) u 1,25 ml MeOH;

Ulaz 2: Cu(OAc)₂ (3,97 mg) u 4,3 ml MeOH; η = 57%

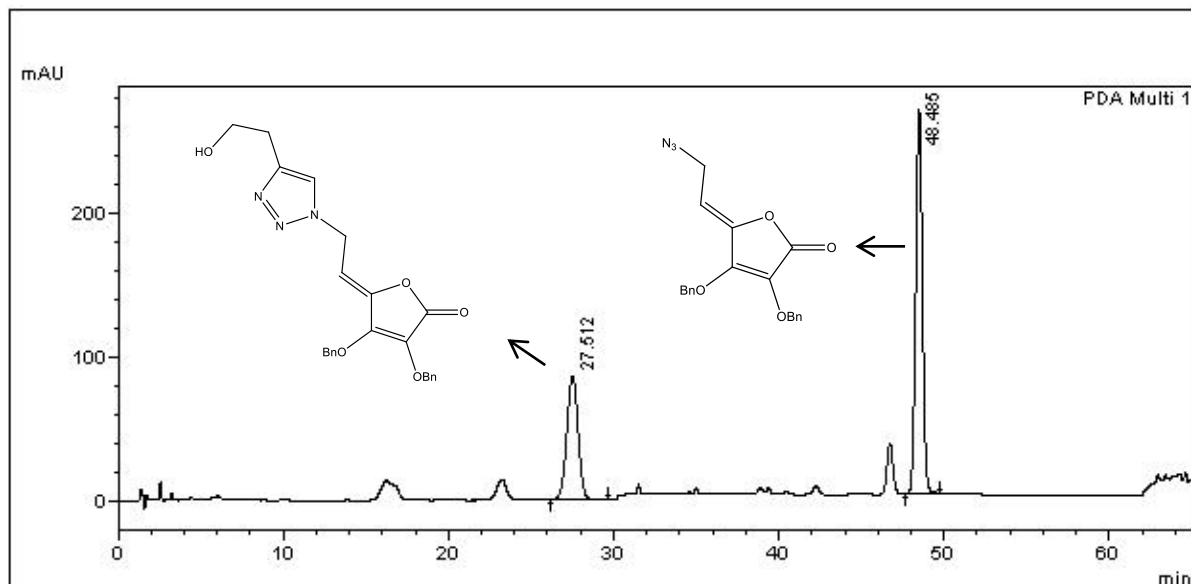


Slika 15. Kromatogram HPLC izlazne frakcije u reakciji sinteze spoja 16 u mikroreaktoru.

2,3-*O,O*-dihidroksi-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-(4-(2-hidroksiprop-1-il)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (17)

Ulaz 1: spoj 4 (53,55 mg) i 3-hidroksibut-1-in (11,7 μ l) u 1,5 ml MeOH;

Ulaz 2: Cu(OAc)₂ (3,20 mg) u 3,50 ml MeOH; η = 81%

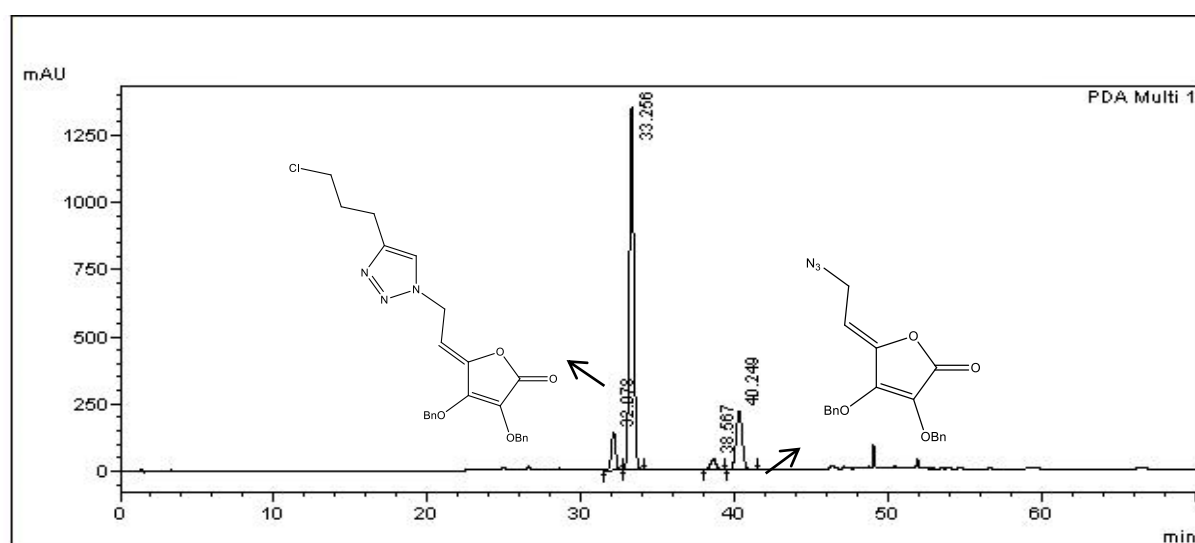


Slika 16. Kromatogram HPLC izlazne frakcije u reakciji sinteze spoja 17 u mikroreaktoru.

2,3-*O,O*-dihidroksi-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-(4-(3-klorprop-1-il)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (18)

Ulaz 1: spoj 4 (44,22 mg) i 5-klor-1-pentin (12,9 μ l) u 1,22 ml MeOH;

Ulaz 2: Cu(OAc)₂ (3,26 mg) u 3,57 ml MeOH; η = 84%

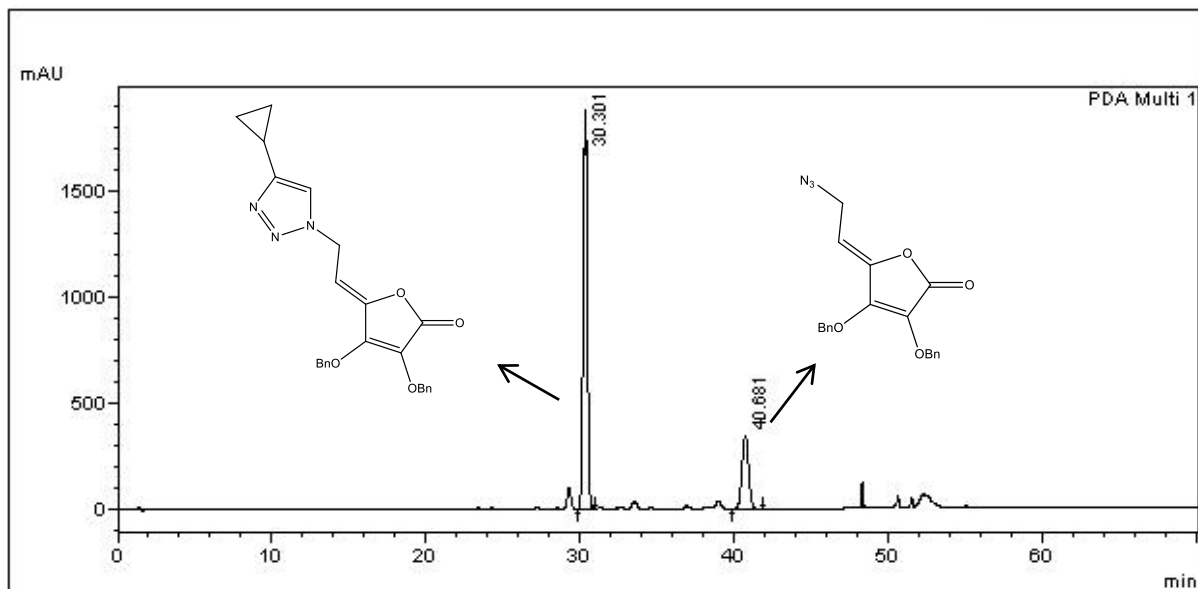


Slika 17. Kromatogram HPLC izlazne frakcije u reakciji sinteze spoja 18 u mikroreaktoru.

2,3-*O,O*-dihidroksi-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-(4-(cikloprop-1-il)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (19)

Ulaz 1: spoj **4** (49,97 mg) i ciklopropilacetilen (12,00 μ l) u 1,37 ml MeOH;

Ulaz 2: Cu(OAc)₂ (2,06 mg) u 2,20 ml MeOH; η = 73%

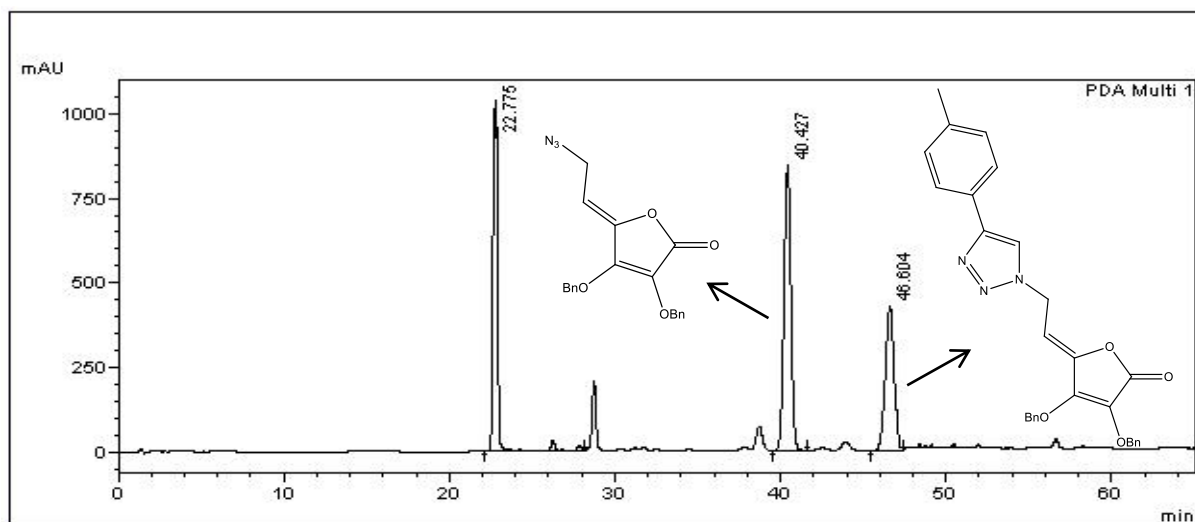


Slika 18. Kromatogram HPLC izlazne frakcije u reakciji sinteze spoja **19** u mikroreaktoru.

2,3-*O,O*-dihidroksi-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-(4-(4-metil-1-fenil)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (20)

Ulaz 1: spoj **4** (41,79 mg) i 4-metil-1-etinilbenzen (15,58 μ l) u 1,15 ml MeOH;

Ulaz 2: Cu(OAc)₂ (2,81mg) u 3,08 ml MeOH; η = 36%

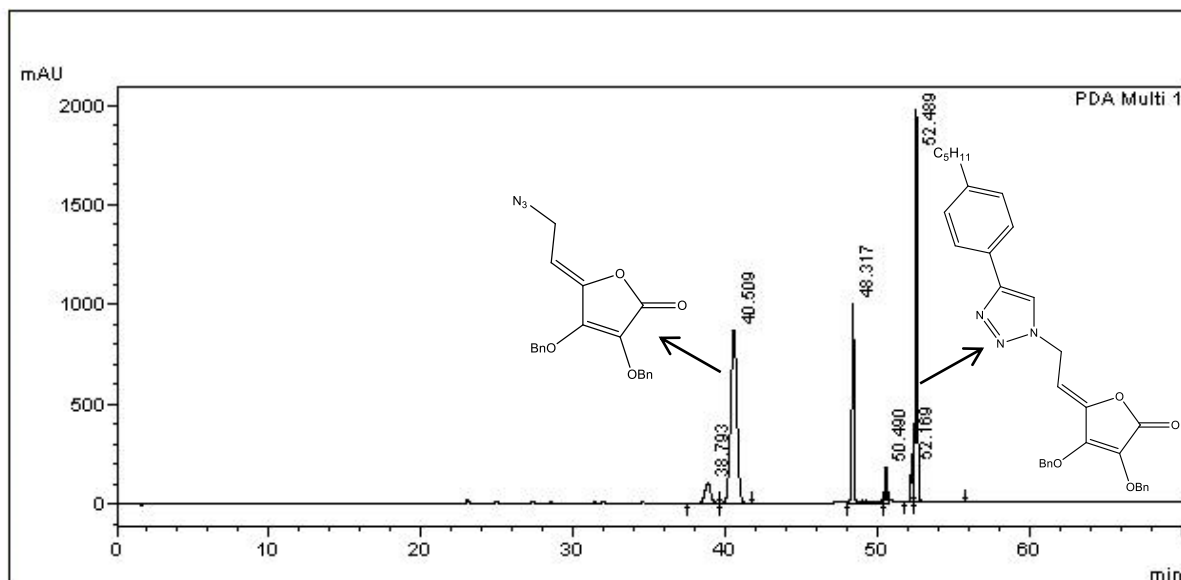


Slika 19. Kromatogram HPLC izlazne frakcije u reakciji sinteze spoja **20** u mikroreaktoru.

2,3-*O,O*-dihidroksi-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-(4-(4-pentil-1-fenil)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (21)

Ulaz 1: spoj **4** (42,35 mg) i 4-petil-1-etinil-benzen (22,70 μ l) u 1,16 ml MeOH;

Ulaz 2: Cu(OAc)₂ (3,26mg) u 3,57 ml MeOH; η = 35%

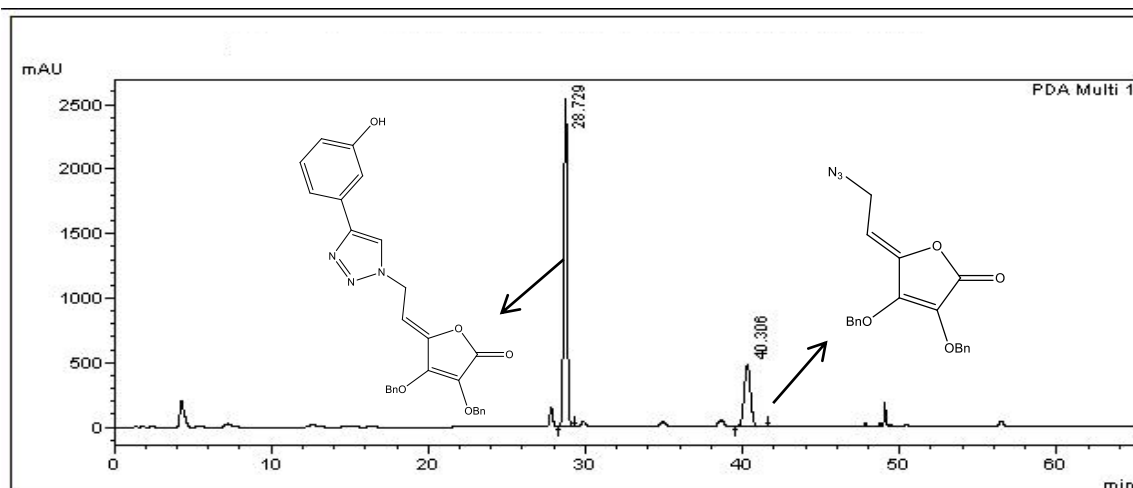


Slika 20. Kromatogram HPLC izlazne frakcije u reakciji sinteze spoja **21** u mikroreaktoru.

2,3-*O,O*-dihidroksi-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-(4-(3-hidroksi-1-fenil)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (22)

Ulaz 1: spoj **4** (49,97 mg) i 3-hidroksifenilacetilen (17,8 μ l) u 1,55 ml MeOH;

Ulaz 2: Cu(OAc)₂ (1,95 mg) u 2,14 ml MeOH; η = 65%

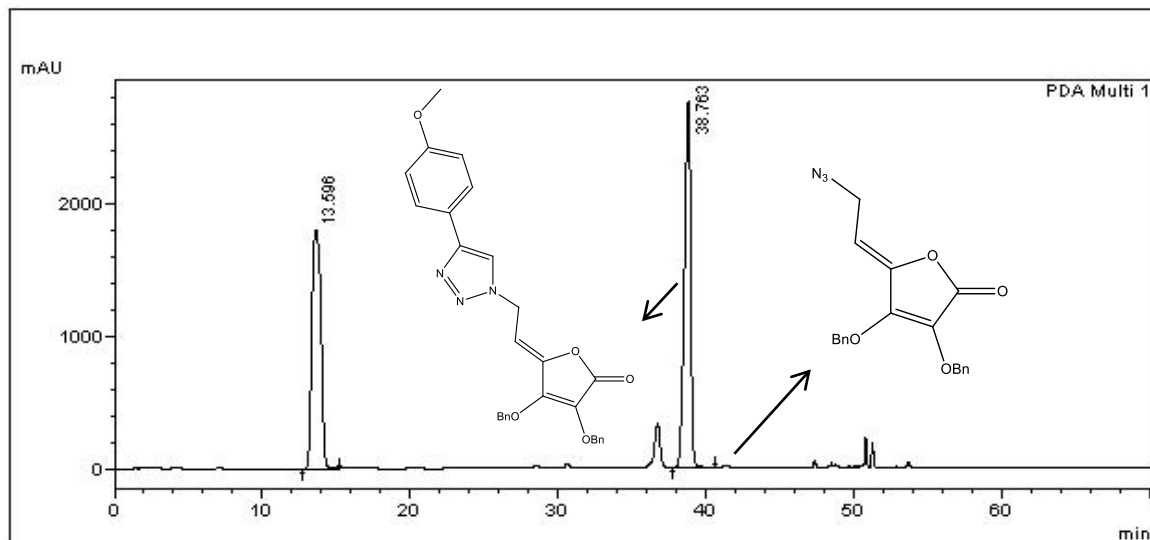


Slika 21. Kromatogram HPLC izlazne frakcije u reakciji sinteze spoja **22** u mikroreaktoru.

2,3-*O,O*-dihidroksi-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-(4-(4-metoksi-1-fenil)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (23)

Ulaz 1: spoj 4 (19,33 mg) i 4-metoksi-1-etinilbenzen (7,00 μ l) u 1,40 ml MeOH;

Ulaz 2: Cu(OAc)₂ (3,31mg) u 3,63 ml MeOH; η = 98%

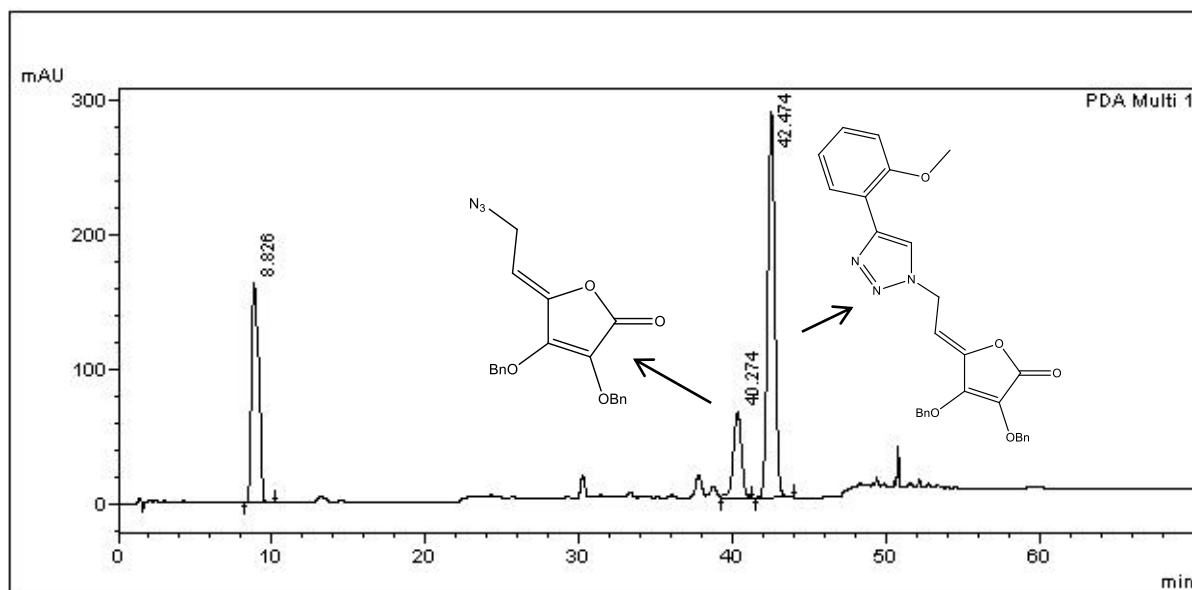


Slika 22. Kromatogram HPLC izlazne frakcije u reakciji sinteze spoja **23** u mikroreaktoru.

2,3-*O,O*-dihidroksi-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-(4-(2-metoksi-1-fenil)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (24)

Ulaz 1: spoj 4 (41,40 mg) i 2-metoksi-1-etinilbenzen (15,19 μ l) u 1,14 ml MeOH;

Ulaz 2: Cu(OAc)₂ (3,31mg) u 3,63 ml MeOH; η = 94%

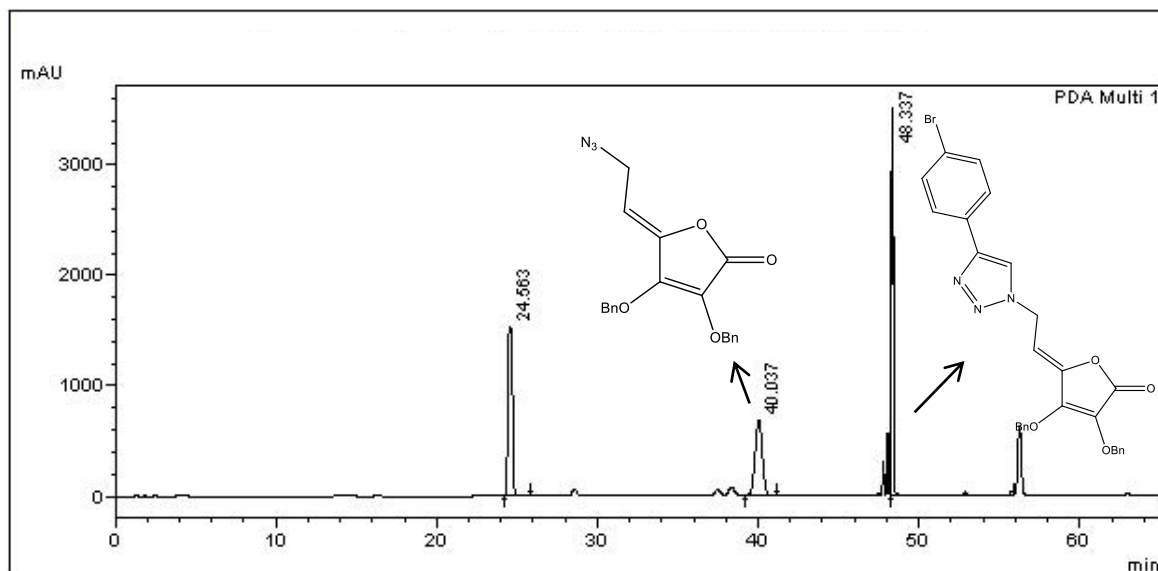


Slika 23. Kromatogram HPLC izlazne frakcije u reakciji sinteze spoja **24** u mikroreaktoru.

2,3-*O,O*-dihidroksi-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-(4-(4-brom-1-fenil)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (25)

Ulaz 1: spoj **4** (45,28 mg) i 4-brom-1-etinilbenzen (23,06 mg) u 1,24 ml MeOH;

Ulaz 2: Cu(OAc)₂ (3,31mg) u 3,63 ml MeOH; $\eta = 44\%$

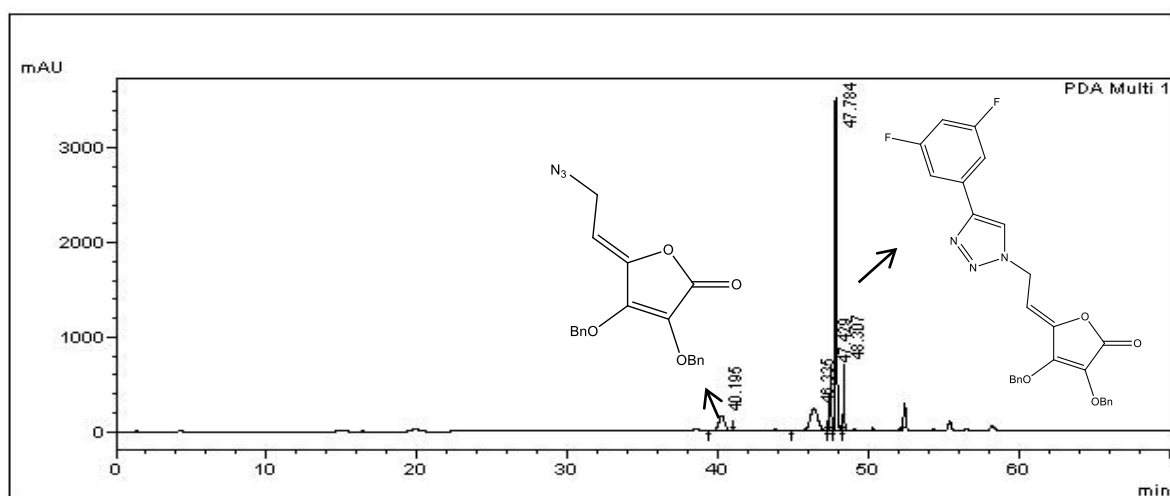


Slika 24. Kromatogram HPLC izlazne frakcije u reakciji sinteze spoja **25** u mikroreaktoru.

2,3-*O,O*-dihidroksi-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-(4-(3,5-difluor-1-fenil)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (26)

Ulaz 1: spoj **4** (49,97 mg) i 3,5-difluorfenilacetilen (16,8 μ l) u 1,37 ml MeOH;

Ulaz 2: Cu(OAc)₂ (1,95 mg) u 2,14 ml MeOH; $\eta = 88\%$

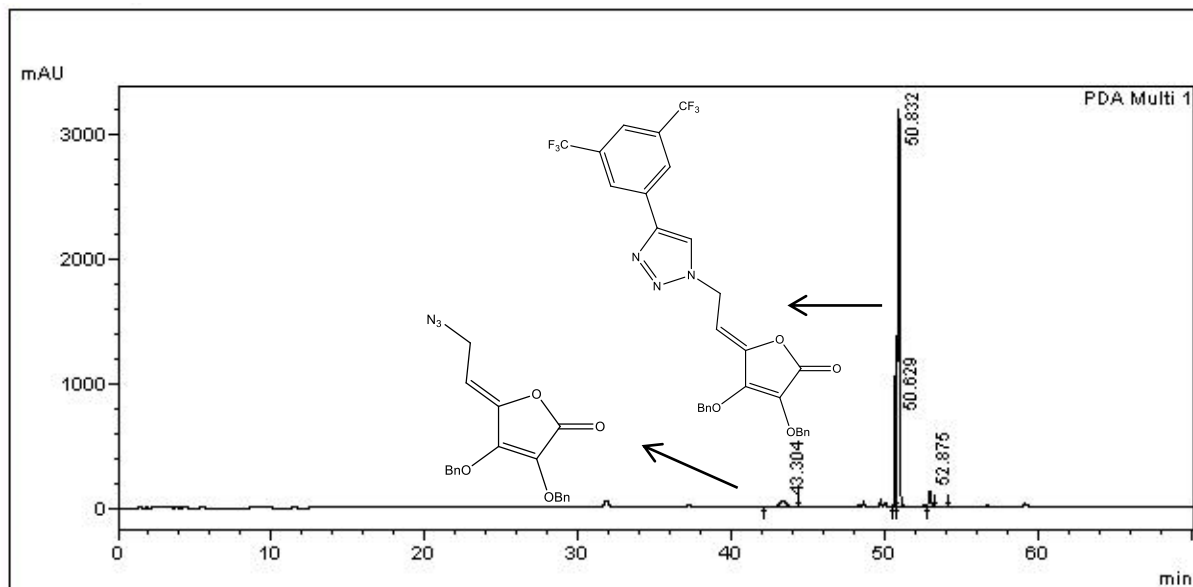


Slika 25. Kromatogram HPLC izlazne frakcije u reakciji sinteze spoja **26** u mikroreaktoru.

2,3-O,O-dihidroksi-4,5-didehidro-5,6-dideoksi-(4-(3,5-difluormetil-1-fenil)-1,2,3-triazol-1-il)-L-askorbinska kiselina (27)

Ulaz 1: spoj 4 (58,57 mg) i 3,5-difluormetilfenilacetilen (29,0 μ l) u 1,60 ml MeOH;

Ulaz 2: Cu(OAc)₂ (3,20 mg) u 3,50 ml MeOH; η = 99 %

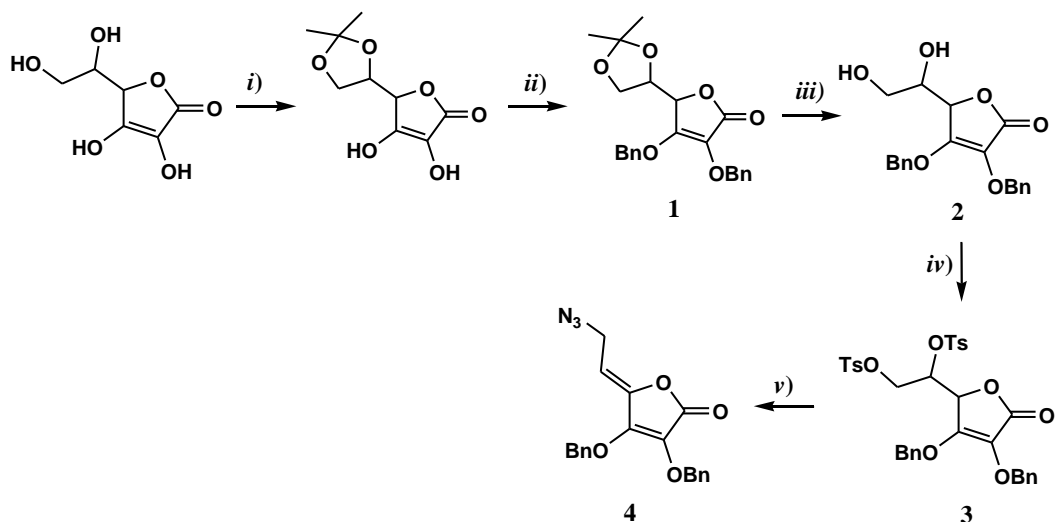


Slika 26. Kromatogram HPLC izlazne frakcije u reakciji sinteze spoja **27** u mikroreaktoru.

4. REZULTATI I RASPRAVA

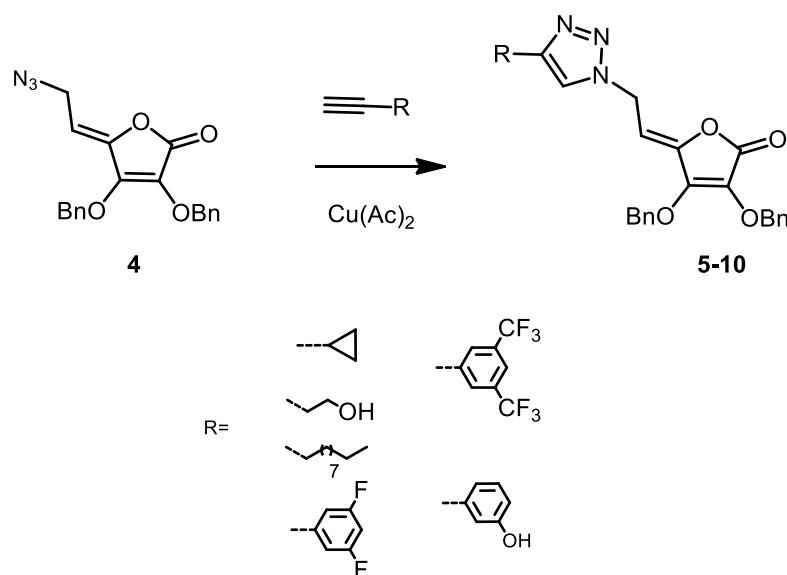
4.1. SINTEZA SPOJEVA

Kako bi se sintetizirali hibridi 1,2,3-triazola i L-askorbinske kiseline, pripremljen je C-6 azido derivat L-askorbinske kiseline s dvostrukom vezom između atoma C-4 i C-5 (**4**). Za to je bilo potrebno transformirati L-askorbinsku kiselinu na način da se zaštite hidroksilne skupine na položajima C-2 i C-3 laktonskog prstena benzilnom zaštitnom skupinom koja je stabilna pri zadanim reakcijskim uvjetima (shema 1). Da bi se selektivno zaštitile prethodno navedene hidroksilne skupine primijenjena je prvo izopropilidenska zaštitna skupina za zaštitu položaja C-5 i C-6. Reakcijom L-askorbinske kiseline s acetil kloridom u acetonu, izoliran je spoj koji je u reakciji s benzil-kloridom dao spoj **1** u iskorištenju 80%. Izopropilidenska zaštita je uklonjena u kiselom mediju reakcijom spoja **1** i octene kiseline pri čemu je izoliran spoj **2** sa slobodnim OH-skupinama u položaju C-5 i C-6 u iskorištenju od 56%. Reakcijom spoja **2** s tosil-kloridom uvedena je dobro odlazeća skupina i izoliran je ditosilatni derivat **3** u iskorištenju od 55%. Nukleofilnim napadom natrijevog azida na spoj **3** provedena je reakcija eliminacije i nukleofilne supstitucije pri čemu je izoliran C-6 azido derivat L-askorbinske kiseline **4** (shema 1).

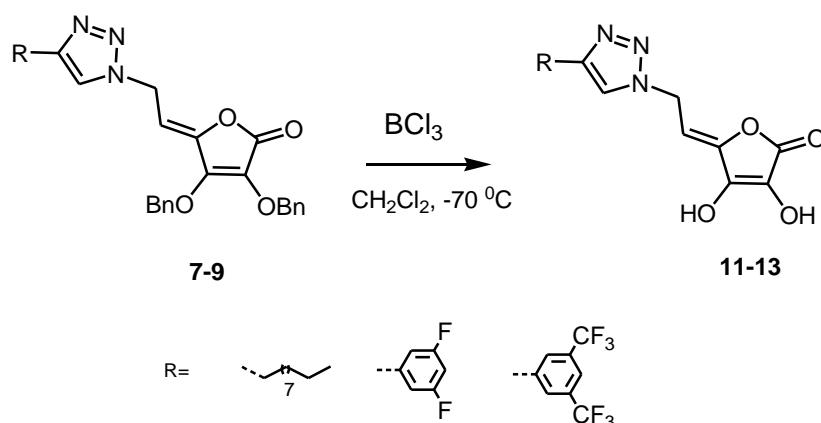


Shema 1. Transformacije L-askorbinske kiseline i sinteza C-6 azidnog derivata **4**: (i) acetil-klorid (ii) benzil-klorid, K_2CO_3 , DMF (iii) octena kiselina (50 %), metanol, 70-80 °C, 24 h (iv) *p*-toluensulfonil-klorid, CH_2Cl_2 , piridin, 24 h (v) natrijev azid, CH_3CN , 70-80 °C, 24 h.

Hibridi L-askorbinske kiseline i 1,2,3-triazola (**5–10**) sintetizirani su reakcijom odabranih terminalnih alkina i C-6 azido derivata L-askorbinske kiseline **4** uz bakrov acetat u metanolu kao katalizator (shema 2). Reakcijom metanola i Cu(II) iona dolazi do redukcije u Cu(I) ione. Reakcije su provedene pri temperaturi od 50 °C te je prosječno trajanje reakcije bilo 5 h. Prosječno iskorištenja za reakcije 1,3-dipolarne cikloadicije u sintezi spojeva **5–10** je oko 70%. Možemo zaključiti da sinteze spojeva **5–10** odgovaraju konceptu „klik“ kemije jer zadovoljavaju osnovne uvjete, a to su: vrlo brza sinteza, visoko iskorištenje i jednostavna izolacija.



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



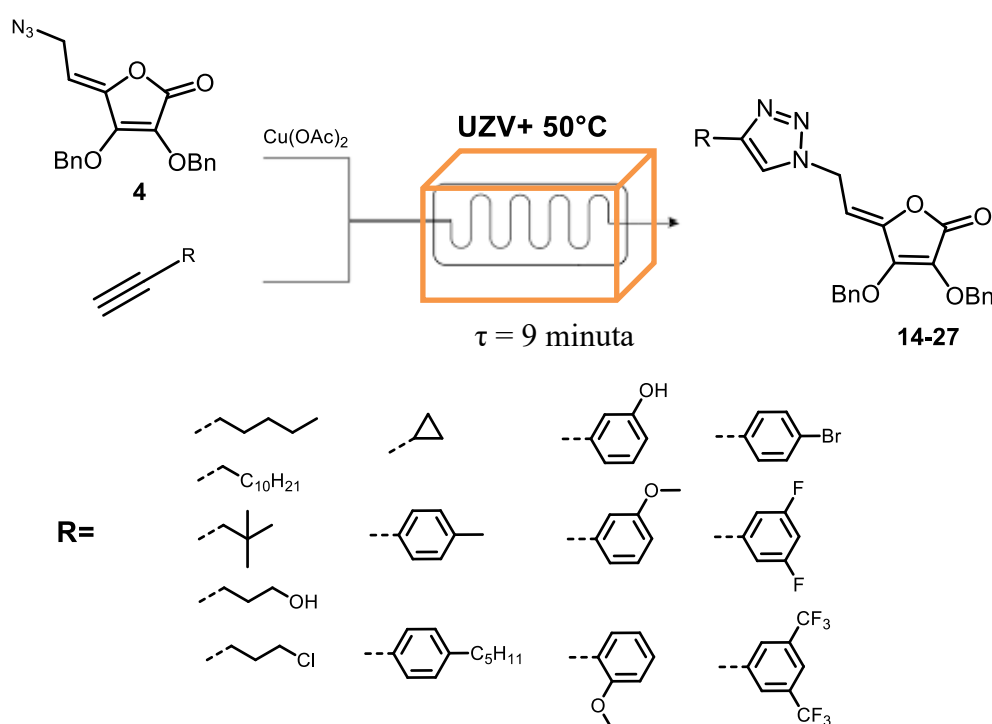
Shema 3. Prikaz postupka uklanjanja benzilne zaštite.

Kao reagens za uklanjanje benzilne zaštitne skupine, korišten je boron-triklorid (BCl_3) kod vrlo niske temperature. Reakcijom 1,2,3-triazolnih derivata L-askorbinske kiseline **7–9** s BCl_3

izolirani su spojevi **11–13** sa slobodnim hidroksilnim skupinama u položaju C-2 i C-3 s iskorištenjima reakcije od 42% do 52%.

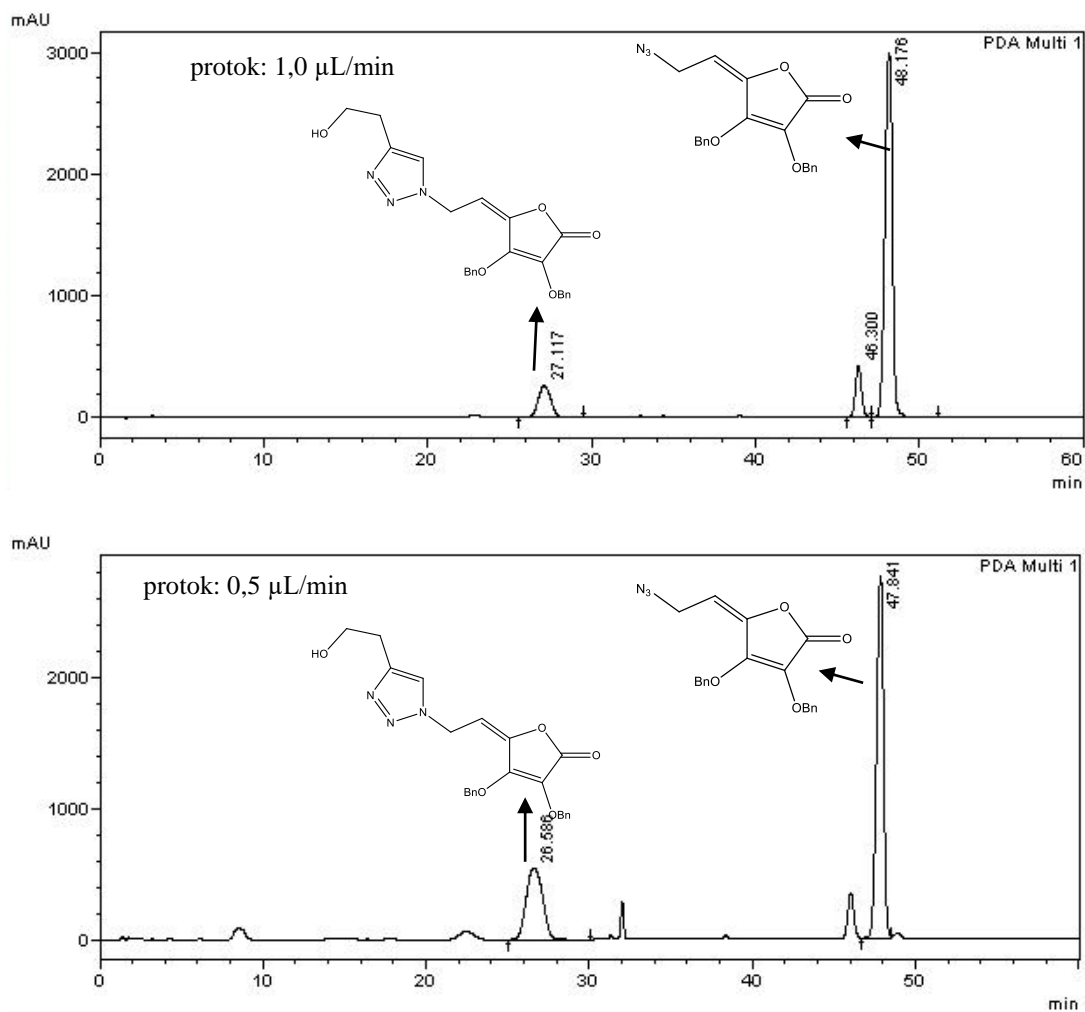
4.2. SINTEZA SPOJEVA U MIKROREAKTORU

Usporedno s konvencionalnom sintezom u tikvici, provedena je i sinteza 1,2,3-triazolnih derivata L-askorbinske kiseline (**14–27**) u mikroreaktoru pri povišenoj temperaturi (50 °C) uz ultrazvučno zračenje (UZV), te protok od 0,5 µl/min (shema 4).



Shema 4. Sinteza 1,2,3-triazolnih derivata L-askorbinske kiseline (**14–27**) u mikroreaktoru.

Za optimiranje reakcijskih uvjeta u mikroreaktoru odabrani su spojevi **17** i **27**. Kako bi se izabrao optimalni protok koji rezultira najvećom konverzijom početnog azidnog derivata, sinteza spoja **17** u mikroreaktoru provedena je pri protoku od 1 µl/min, 0,5 µl/min i 0,25 µl/min te temperaturi od 50 °C. S povećanjem vremena zadržavanja, povećano je i iskorištenje reakcije (slika 19, tablica 3). Kao optimalni protok odabran je protok od 0,5 µl/min, a vrijeme zadržavanja iznosilo je 9 minuta.

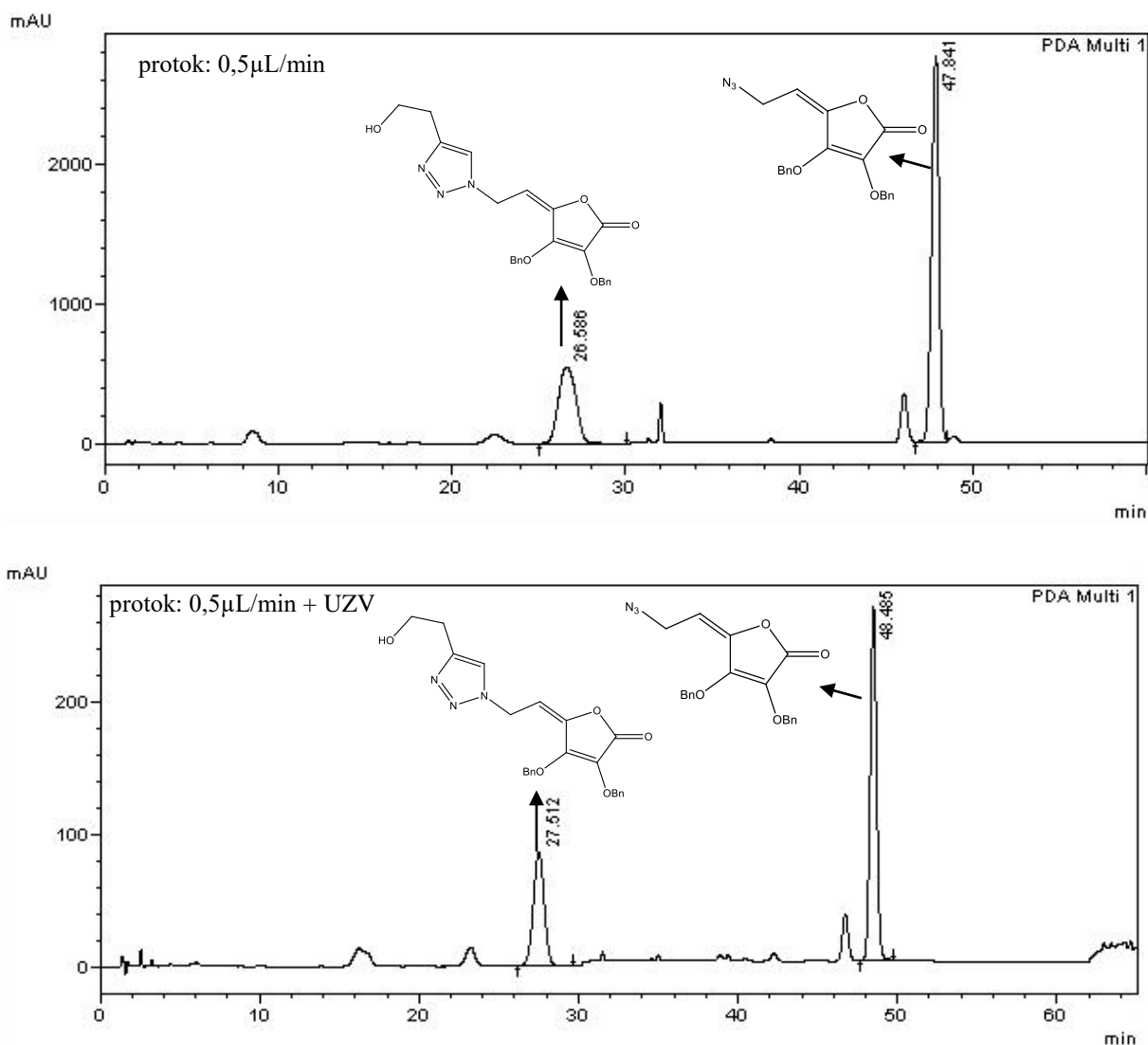


Slika 27. Kromatogrami HPLC reakcije u sintezi spoja **17** u mikroreaktoru pri protocima od 1 µl/min i 0,5 µl/min.

Također je provedeno preliminarno ispitivanje utjecaja ultrazvučnih valova na iskorištenje reakcija u sintezi spojeva **17** i **27**. Pokazano je poboljšanje iskorištenja u sintezi spoja **17** sa 72%, bez UZV, na 81%, uz upotrebu UZV, te povećanje iskorištenja u sintezi spoja **27** sa 50%, bez UZV, na 99%, uz upotrebu UZV (slika 20, tablica 3).

Tablica 3. Usporedba iskorištenja reakcija u sintezi spojeva **17** i **27** pri različitim uvjetima u mikroreaktoru.

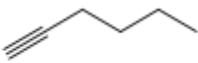

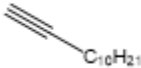
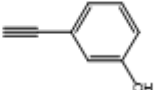

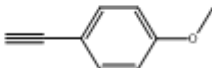

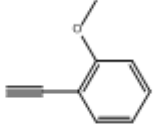

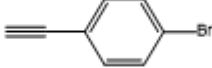

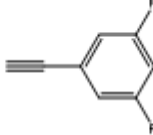
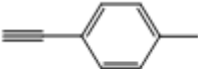
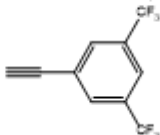
UVJETI	17	27
1 µl/min, 50°C	51%	/
0,5 µl/min, 50°C	72%	50%
0,5 µl/min, 50°C + UZV	81%	81%



Slika 20. Kromatogrami HPLC reakcije sinteze spoja **17** u mikroreaktoru pri protoku 0,5 µl / min primjenom UZV i bez UZV.

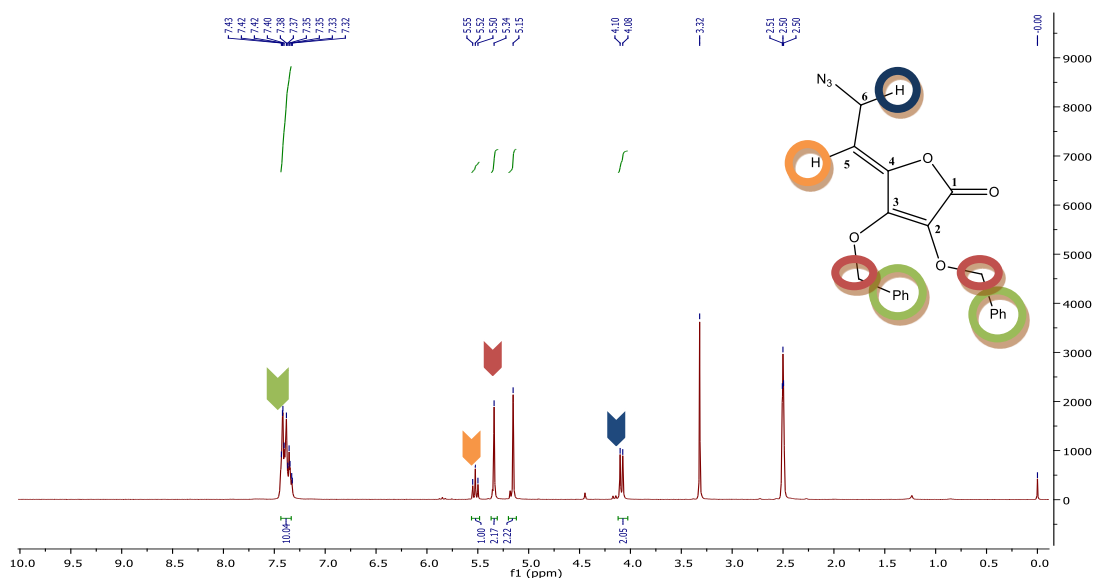
S obzirom na dobivene rezultate u preliminarnim ispitivanjima provedene su sinteze preostalih ciljanih 1,2,3-triazolnih derivata 4,5-didehidro-5,6-dideoksi-L-askorbinske kiseline (**14–27**) u mikroreaktorskome sustavu uz pomoć ultrazvučnog zračenja pri protoku od 0,5 µl/min i temperaturi od 50 °C (tablica 4). Usporedbom konvencionalne sinteze i sinteze u mikroreaktoru, možemo zaključiti da su iskorištenja većine reakcija provedenih u mikroreaktoru znatno veća u odnosu na iskorištenja dobivenih pri konvencionalnim sintezama spojeva. Pored toga, vrijeme reakcija u mikroreaktoru je smanjeno s 5h na samo 9 minuta.

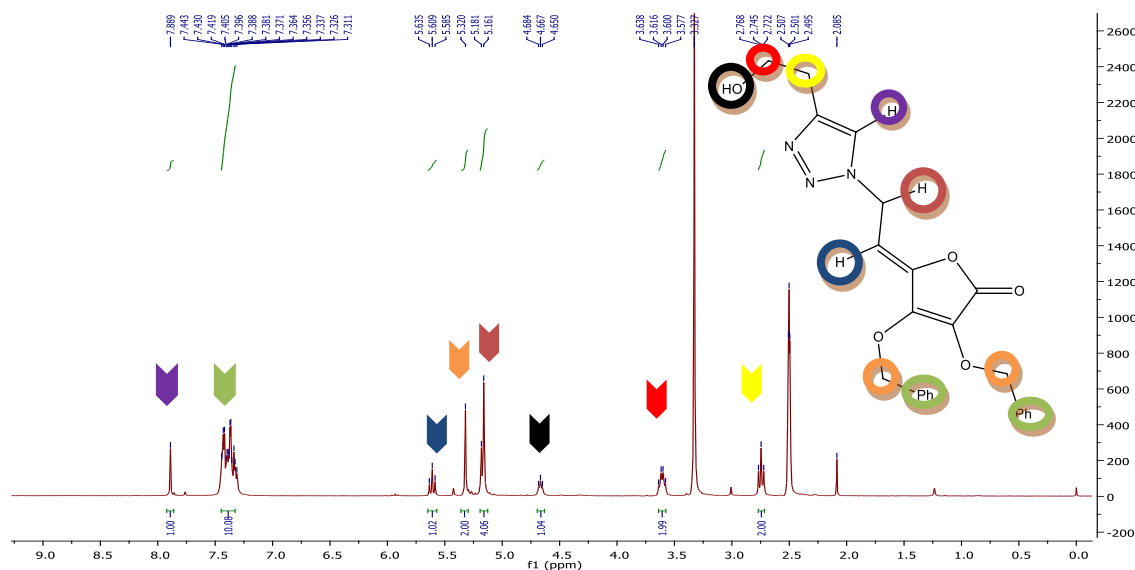
Tablica 4. Usporedba iskorištenja klasične sinteze i sintezu u mikroreaktoru

„Klik“ sinteza	Sinteza u mikroreaktoru	Konvencionalna sinteza	„Klik“ sinteza	Sinteza u mikroreaktoru	Konvencionalna sinteza
	70%	64%		35%	46%
	43%	83%		65%	79%
	57%	26%		98%	49%
	81%	61%		94%	82%
	84%	36%		44%	49%
	73%	70%		88%	62%
	36%	19%		99%	81%

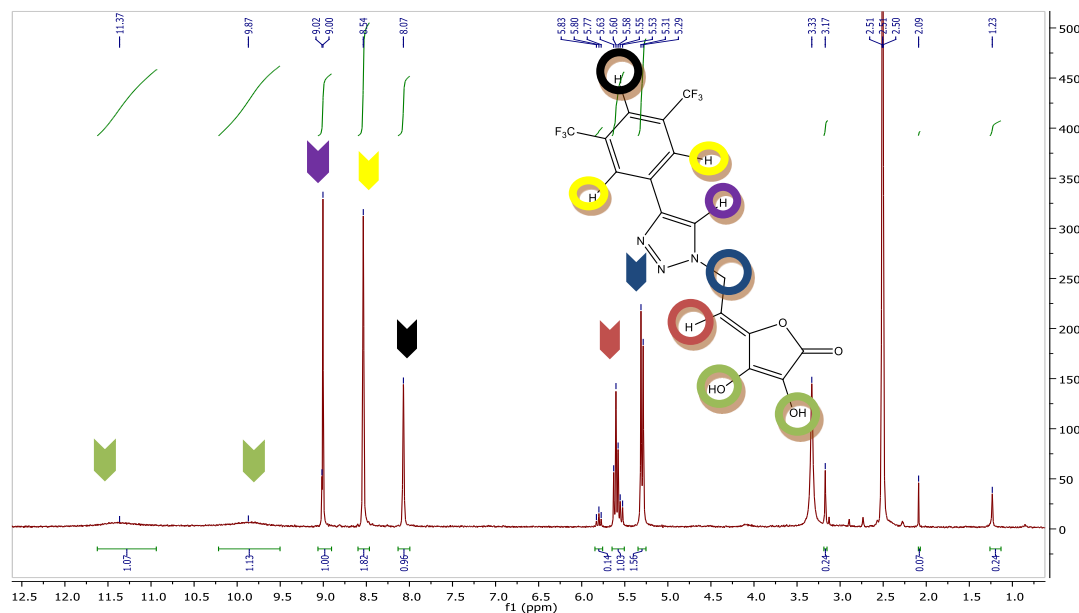
4.3. ANALIZA SPEKTARA ^1H NMR

Strukture sintetiziranih spojeva određene su uz pomoć spektroskopskih metoda ^1H i ^{13}C NMR na temelju kemijskih pomaka, veličine i multipliciteta rezonancije. Na spektrima ^1H NMR triazolnih derivata L-askorbinske kiseline **5–10** vidljivi su karakteristični pomaci koji odgovaraju metilenskim protonima benzilne skupine (5.5–5.2 ppm). Na području oko 5.5 ppm vidljiv je triplet koji odgovara H-5 atomu dvostruke veze. Vrijednost konstante sprege vodikovih atoma H-5 i H-6 iznosi oko 7.1–7.7 Hz. Prisutnost triazolnog prstena u molekuli potvrđena je karakterističnim signalom H-7 u aromatskom području spektra (~8 ppm) (slika 22).


 Slika 21. Spektar ^1H NMR spoja **4**.

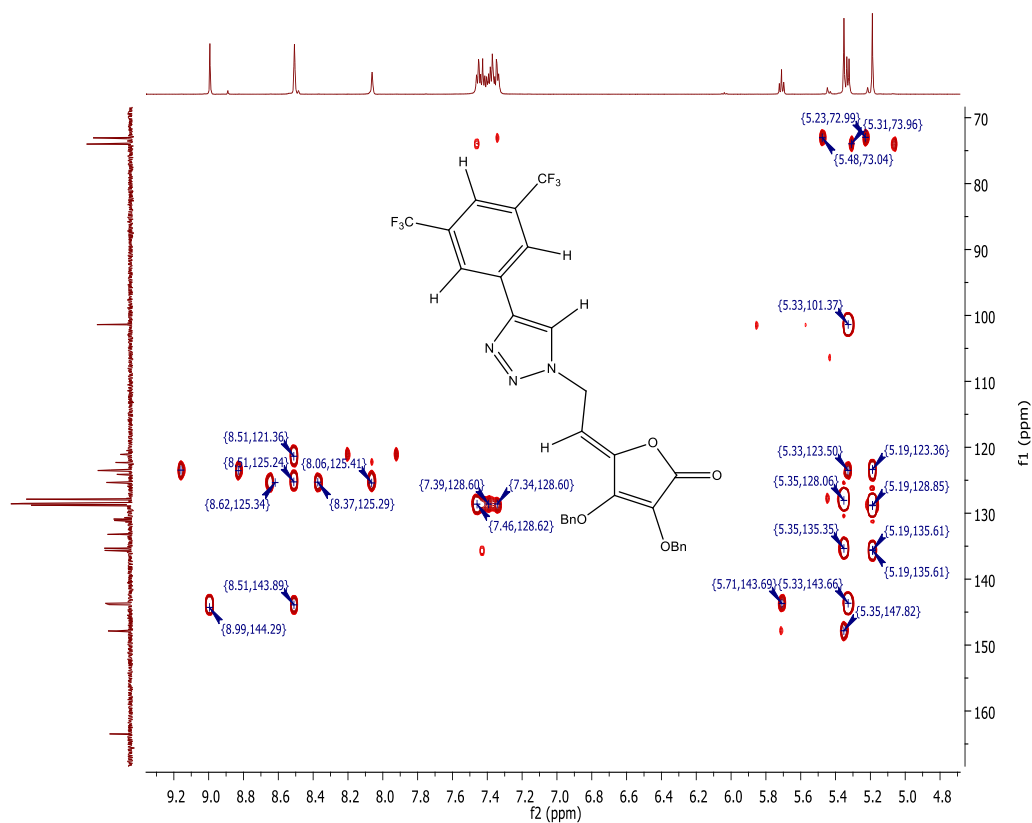

 Slika 22. Spektar ^1H NMR spoja 6.

U spektrima ^1H NMR za spojeve **11–13** pojava novih karakterističnih širokih signala (10–11 ppm) koji odgovaraju hidroksilnim skupina kao i nestanak signala koji odgovaraju protonima benzilne zaštitne skupine (~ 5 ppm i 7,5 ppm) potvrđuju da je uspješno provedeno uklanjanje benzilne skupine (slika 23).


 Slika 23. Spektar ^1H NMR spoja 13.

Spektar HMBC spoja **9** (slika 24) omogućio je identifikaciju atoma C-3 i C-8, kao i signala koji odgovara protonu H-7 triazolnog prstena. U spektru HMBC vidljiva je interakcija

atoma C-3 s H-5 protonom kao i sa metilenskim protonima benzilne skupine. Nadalje, vidljiva je interakcija atoma C-8 s fenilnim protonima Ph-2' i Ph-6' kao i s protonom H-7 triazolnog prstena (slika 24).



Slika 24. Spektar HMBC spoja 9.

5. ZAKLJUČCI

- Odgovarajućim kemijskim transformacijama hidroksilnih skupina u alifatskom lancu i onih vezanih za laktonski prsten sintetiziran je C-6 azido derivat 4,5-didehidro-5,6-dideoksi-L-askorbinske kiseline (**4**) s dvostrukom vezom između atoma C-4 i C-5.
- Regioselektivnom 1,3-dipolarnom cikloadicijom alkina i azida, nazvanom „klik“ reakcijom, sintetizirani su ciljani 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazolni derivati L-askorbinske kiseline. Priprava hibrida 1,2,3-triazola i L-askorbinske kiseline (**5–10**) provedena je reakcijom odabranih terminalnih alkina i azidnog derivata L-askorbinske kiseline **4** pomoću bakrovog acetata pri temperaturi od 50°C.
- Novopripremljenim spojevima potvrđena je struktura, kao i čistoća primjenom spektroskopije ¹H- i ¹³C-NMR te visokoučinkovite tekućinske kromatografije (HPLC).
- Uspješno su provedene sinteze 1,2,3-triazolnih derivata 4,5-didehidro-5,6-dideoksi-L-askorbinske spojeva **14–27** u mikroreaktorskom sustavu uz prisutnost ultrazvučnog zračenja pri protoku od 0,5 μl/min i temperaturi od 50°C. Uspoređujući provedene klik reakcije u mikroreaktoru s konvencionalnim sintezama možemo zaključiti da su iskorištenja većine reakcija u mikroreaktoru znatno veća, a vrijeme reakcija znatno kraća u odnosu na konvencionalne sinteze.

6. LITERATURA

1. J. Davies, D. Davies, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2010, 74, 417.
2. <http://www.cancer.org/>, American cancer society: The History of Cancer,.
3. L. A. Torre, F. Bray, R. L. Siegel, J. Ferlay, J. Lortet-Tieulent, A. Jemal, *Cancer J. Clin.*, 65, 2, 87.
4. M. Mintas, S. Raić-Malić; *Medicinska kemija*; Medicinska naklada, Zagreb, 2009.
5. R.P. Tripathi, B. Singh, S. S. Bishz, J. Pandey, *Curr. Org. Chem.*, 2009, 13, 99.
6. B. H. J. Bielski; In *Ascorbic Acid: Chemistry, Metabolism, and Uses*; Seib, P. A., Tolbert, B. M., Eds., American Chemical Society, Washington, D.C, 1982, 81.
7. I. B. Chatterjee, *Science* 1973, 182, 1271.
8. L. Pauling, *Vitamin C and the Common Cold*, San Francisco, WH Freeman, 1976.
9. <http://pi.oregonstate.edu/mic/vitamins/vitamin-C>,
10. Wilhelm Friedrich, *Vitamins*, Walter de Gruyter, University of Michigan 1988.
11. J. L. Svirbely¹, A. Szent-Györgyi, *Biochem J.* 1932, 26, 865.
12. J. C. Stephensi M. Cook, *Med. World News*, 1972.
13. G. E. Schiegel, *Trans. Amer. Assn. Genitour. Surg.*, 1969, 3, 61.
14. J. F. Dice, C. W. Daniel, *International Research Communications System*, 1973, 41.
15. T. Gazivoda, M. Šokčević, M. Kralj, L. Šuman. K. Pavelić, E. De Clercq, G. Andrei, R. Snoeck, J. Balzarini, M. Mintas, S. Raić-Malić, *J. Med. Chem.*, 2007, 50, 4105.
16. K. Wittine, M. Stipkovic Babić, D. Makuc, J. Plavec, S. Kraljević- Pavelić, M. Sedić, K. Pavelić, P. Leyssen, J. Neyts, J. Balzarini, M. Mintas, *Bioorg. Med. Chem.*, 2012, 20, 3675.
17. K. Wittine, M. Stipkovic Babic, M. Kosuti, M. Cetina, K. Rissanenc, S. Kraljević-Pavelić. Tomljenovic, M. Sedić, K. Pavelić, M. Mintas, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, 46, 2770.
18. D. S. Wishart, C. Knox, A. C. Guo, S. Shrivastava, M. Hassanali, P. Stothard, Z.Chang, J. Woolsey, *Nucleic. Acids. Res.*, 2006, 1, 34.
19. C. Henry Arnaud, *Science & Technology*, 85, 46, 46.
20. J. Hou, X. Liu, S. Jie, G. Zhao, P. Wang, *Expert. Opin. Drug. Discov.*, 2012, 7, 489.
21. Kolegij Organska kemija u razovju lijekova, doc.dr.sc. Tatjana Gazivoda Kraljević, FKIT 2015.
22. R Husigen, G. Szeimies, L. Mobius, *Chem. Ber.* 1967, 100, 2494.
23. H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem.*, 2004, 40, 2001.
24. L. K. Rasmussen, B. C. Boren, V. V. Fokin, *Org. Lett.*, 2007, 9, 5337.
25. V. D. Bock, H. Hiemstra, H. J. van Maarseveen, *Eur. J. Org. Chem.*, 2006, 1, 51.
26. B. Lee, S. Park, J. Bae, H. Kwan Soo, *Tetrahedron Lett.*, 2006, 47, 5105.

27. A. Loupy, L. Perreux, M. Liagre, K. Burle, M. Moneuse, *Pure Appl. Chem.*, 2001, 73, 161.
28. F. Ahmeda, K. Shaha, I. Z. Awanb, M. Raza Shaha, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2016, 129, 103.
29. R. Duncan, *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2003, 2, 247.
30. A. H. Kategaonkar, P. V. Shinde, S. K. Pasale, B. B. Shingate, M. S. Shingare, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, 45, 3142.
31. X. Wang, K. Wan, C. Zhou, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, 45, 4631.
32. M. Whiting, J. C. Tripp, Y. Lin, W. Lindstrom, A. J. Olson, J. H. Elder, K. B. Sharpless, V. V. J. Fokin, *J. Med. Chem.*, 2006, 49, 7697.
33. S. G. Agalave, S. R. Maujan, V. S. Pore, *Chem. Asian J.*, 2011, 6, 2696
34. Workshop on Microsystem Technology for Chemical Biological Microreactors, organized by DECHEMA and IMM, Mainz, 1995, see: *Microsystem Technology for Chemical and Biological Microreactors*, DECHEMA Monographs Vol. 132, W. Ehrfeld, I. H. sellschaft, Weinheim 1996, 51.
35. E. Garcia-Egido, V. Spikmans, S. Y. F. Wong, B. H. Warrington, *Lab. Chip*, 2003, 3, 73.
36. Z. Dong, C. Yao, X. Zhang, J. Xu, G. Chen, Y. Zhaoa, Q. Yuana, *Lab Chip*, 2015, 15, 1145.
37. C. Wiles, P. Watts, *Eur. J. Org. Chem.* 2008, 10, 1655
38. W. Ehrfeld, V. Hessel, V. Haverkamp, *Microreactors*, Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.
39. P. Watts, W. Charlotte, *Org. Biomol. Chem.*, 2007, 5, 727.
40. C. Wiles, P. Watts, S. J. Haswell, E. Pombo-Villar, *Lab Chip*, 2002, 2, 62.
41. L. Tan, Z. Sem, W. Yuan Chong, X. Liu, Hendra, W. Lek Kwan, L. Chi-Lik Ken, *Org.lett.* 2015, 15, 65.
42. J. Totobenazara, A. J. Burke, *Tetrahedron Lett.*, 2015, 56, 2853.
43. A. C. Varas, Timothy No 1, Q. Wang, i V. Hessel, *Chem.Sus.Chem.* 2012, 5, 1703
44. <https://www.abbottpointofcare.com/home>.
45. http://www.affymetrix.com/catalog/131406/AFFY/Complete+GeneChip+Instrument+System#1_1.
46. S. Raić-Malić, D. Svedružić, T. Gazivoda, A. Marunović, A. Hergold-Brundic, A. Nagl, J. Balzarini, E. De Clercq, M. Mintas, *J. Med. Chem.*, 2000, 43, 4806.

7. ŽIVOTOPIS



Životopis

OSOBNE INFORMACIJE **Tomislav Gregorić, univ.bacc.appl.chem**

📍 Franje Ljubetića 27, Gornji Desinec, 10450 Jastrebarsko (Hrvatska)

📞 0977081017

✉ tgregoric8@gmail.com

Spol Muško | Datum rođenja 26/08/1992 | Državljanstvo hrvatsko

RADNO ISKUSTVO

03/2013–06/2016 **Student istraživač**
FKIT; Zavod za organsku kemiju; voditelj: prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić

08/2013–09/2013 **Stručna praksa**
Institut Ruđer Bošković; Zavod za organsku kemiju i biokemiju; Laboratorij za sintetsku organsku kemiju, Zagreb (Hrvatska)

2011–2016 **Razni studentski poslovi**

06/2010–07/2010 **Stručna praksa**
Ljekame Zagrebačke županije, Jastrebarsko (Hrvatska)

OBRAZOVANJE I OSPOSOBLJAVANJE

09/2014–danas **Diplomski studij: smjer primijenjene kemije**
Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb (Hrvatska)

10/2011–07/2014 **Preddiplomski studij: smjer primijenjene kemije**
Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb (Hrvatska)

2007–2011 **Farmaceutski tehničar**
Zdravstveno učilište, Zagreb (Hrvatska)

1999–2007 **Završena osnovna škola**
Osnovna škola "Ljubo Babić", Jastrebarsko (Hrvatska)

OSOBNE VJEŠTINE

Materinski jezik hrvatski

Ostali jezici	RAZUMJEVANJE		GOVOR		PISANJE
	Stušanje	Čitanje	Govorna interakcija	Govorna produkcija	
engleski	B2	B1	B1	B1	B1

Stupnjevi: A1 i A2: Početnik - B1 i B2: Samostalni korisnik - C1 i C2: Iskusni korisnik
Zajednički europski referentni okvir za jezike



Poslovne vještine	Marljivost, brza prilagodba, timski duh, upornost, pouzdanost, odgovornost
Digitalna kompetencija	Microsoft Office (Word, Excel, Publisher i PowerPoint), ChemOffice, AutoDOCK 4, AutoDock Tools, MestreNova
Ostale vještine	2016.godina- stjecanje čina "Vatrogasni dočasnik" 2015. godina- pripadnik Državne intervencijske postrojbe civilne zaštite za spašavanje iz ruševina 2013. godina - stjecanje čina " Vatrogasac I. klase" 2011.godina - temeljna obuka za dobrovoljnog vatrogasca
Vozačka dozvola	B
DODATNE INFORMACIJE	
Izvorni znanstveni i pregledni radovi u CC časopisima	Tomislav Gregorić, Mirela Sedić, Petra Grbčić, Andrea Tomljenović Paravić, Sandra Kraljević Pavelić, Mario Cetina, Robert Vianello and Silvana Raić-Malić Novel pyrimidine-2,4-dione-1,2,3-triazole and furo[2,3- <i>d</i>]pyrimidine-2-one-1,2,3-triazole hybrids as potential anticancer agents: synthesis, computational and X-ray analysis, and biological evaluation, rad u recenziji
Sažeci u zbionicima skupova	Tomislav Gregorić, Silvana Raić- Malić. Antitumorska aktivnost novih hibrida 1,2,3-triazola pirimidina i furopirimidina. // XI. Susret mladih kemijskih inženjera, KNJIGA SAŽETAKA / Gordana Marijašić (ur.). Zagreb, 2016. 50 str. (usmeno izlaganje,domaća recenzija,sažetak) T. Gregorić, A. Bistrović, A. Tomljenović Paravić, M. Sedić, S. Kraljević Pavelić, V. Stepanić, T. Gazivoda-Kraljević, S. Raić-Malić. Derivati purinskih bioizostera i pirimidina s 1,2,3-triazolom kao farmakoforom // 24.Hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera, Zagreb, 21.-24.4.2015. (poster) Tomislav Gregorić, Silvana Raić-Malić. Sinteza i molekulsko modeliranje novih hibrida 1,2,3-triazola i pirimidina s potencijalnim protutumorskim djelovanjem // 2. Simpozij studenata kemičara, Knjiga sažetaka / Ana Milas; Nikola Bedeković, Tomislav Piteša (ur.). Zagreb, 2015. 40 (usmeno izlaganje, sažetak) Tomislav Gregorić, Matej Perković, Silvija Petković, Tatjana Gazivoda Kraljević i Silvana Raić- Malić. Sinteza bioloških interesantnih konjugata 1,2,3- triazola i heterocikla. // X. Susret mladih kemijskih inženjera, KNJIGA SAŽETAKA / Findrik Blažević, Zvezdana ; Sudar, Martina ; Šalić, Anita ; Vrsalović Presečki, Ana ; Vrsaljko, Domagoj (ur.). Zagreb, 2014. 148-148 (poster,domaća recenzija,sažetak) Tomislav Gregorić, Silvana Raić-Malić. Sinteza 1,4- disupstituiranih 1,2,3- triazola na položaju N-1 i N-3 5 bromuracila // 1. Simpozij studenata kemičara, Knjiga sažetaka / Ana Milas; Nikola Bedeković, Tomislav Piteša (ur.). Zagreb, 2014. 30 str. (usmeno izlaganje, sažetak)
Završni rad	Gregorić, Tomislav. "Klik reakcijom do novih 1,4-disupstituiranih 1,2,3- triazola" / završni rad - preddiplomski studij.Zagreb : Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, 8.07. 2014., 37 str. Voditelj: Raić-Malić, Silvana
Priznanja i nagrade	3. mjesto u izlaganju znanstvenog rada, Tehnologijada 2016, Rovinj 2.5-8.5.2016 Rektorova nagrada za rad "Sinteza i molekulsko modeliranje novih hibrida 1,2,3- triazola i pirimidina s potencijalnim protutumorskim djelovanjem" (2015.)