

Sinteza i spektroskopska karakterizacija triazolnih derivata pirimidina

Bašić, Ines

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:102239>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-01**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Ines Bašić

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2015.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Ines Bašić

SINTEZA I SPEKTROSKOPSKA KARAKTERIZACIJA
TRIAZOLNIH DERIVATA PIRIMIDINA

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: Doc. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević

Članovi ispitnog povjerenstva:

1. Doc. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije,
Sveučilište u Zagrebu
2. Dr. sc. Maja Stipković Babić, poslijedoktorandica, Fakultet kemijskog inženjerstva i
tehnologije, Sveučilište u Zagrebu
3. Izv. prof. dr. sc. Danijela Ašperger, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije,
Sveučilište u Zagrebu

Zagreb, rujan 2015.

ZAHVALA

Zahvaljujem doc. dr. sc. Tatjani Gazivodi Kraljević na predloženoj temi, pomoći i savjetima.

Zahvaljujem svim članovima Zavoda za organsku kemiju na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije zbog ugodne radne atmosfere i kolegijalnosti.

Zahvaljujem se roditeljima i bližnjima na podršci.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za organsku kemiju, Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu u sklopu projekta HRZZ-5596.

SAŽETAK

Cilj ovog rada bila je sinteza i strukturna karakterizacija novih pirimidinskih derivata u svrhu ispitivanja njihovog biološkog djelovanja protiv tumorskih staničnih linija porijeklom iz čovjeka. Reakcijom *N*-alkiliranja citozina uz prisustvo baze (NaH) kao deprotonirajućeg sredstva i propargil-bromida kao alkilirajućeg reagensa pripremljeni su *N*-1 propargilirani derivat citozina (**1**), *N,N*-1,3-dipropargilirani citozinski derivat (**2**) te biciklički derivat **3**, koji je dobiven *6-endo-dig* ciklizacijom monopropargiliranog citozinskog derivata **1**. Huisgenovom 1,3-dipolarnom cikloadicijom *N,N*-1,3-dipropargilcitozina (**2**) i odgovarajućih azida uz bakar kao katalizator pripremljeni su *N*-1-triazolil-*N*-3-propargilni citozinski derivati (**6** i **7**), te *N*-1-triazolilni citozinski derivati (**4**, **5** i **8**) pri čemu je uveden 1,2,3-triazolni prsten u položaju *N*-1 citozina. "Click" reakcijom *N,N*-1,3-dipropargiliranog citozinskog derivata (**2**) i 1-azido-4-klorbenzena uz bakar kao katalizator sintetizirani su *N*-3-triazolilni (**8**), te *N,N*-1,3-ditriazolilni citozinski derivat s *p*-klorfenilnim supstituentom u položaju 4 na 1,2,3-triazolnoj jezgri (**9**).

Strukture novosintetiziranih spojeva potvrđene su ¹H NMR spektroskopijom.

Ključne riječi: pirimidin; citozin; 1,2,3-triazol; „click“ reakcija.

SUMMARY

The aim of this work was the synthesis and structural characterization of new pyrimidine derivatives in order to determine their activities against human malignant tumor cell lines. *N*-1 propargylated cytosine derivative (**1**), *N,N*-1,3 dipropargylated cytosine derivative (**2**) and bicyclic derivative **3** were synthesized by *N*-alkylation reaction of cytosine using NaH as base and propargyl bromide as alkylating reagent. Bicyclic product **3** was synthesized *via 6-endo-dig* cyclization reaction of the monopropargylated cytosine derivative **1**. Huisgen 1,3-dipolar cycloaddition reaction of *N,N*-1,3-dipropargylcytosine (**2**) with corresponding azides, in the presence of copper as a catalyst, gave *N*-1-triazolyl-*N*-3-propargylated cytosine derivative (**6** and **7**), and *N*-1-triazolyl cytosine derivative (**4**, **5** and **8**) wherein the 1,2,3-triazole ring was introduced into *N*-1 position of cytosine moiety. „Click“ reaction of *N,N*-1,3-dipropargylated cytosine derivative (**2**) and 1-azido-4-chlorobenzene with copper as a catalyst gave *N*-1-triazolyl cytosine derivative (**8**) and *N,N*-1,3-ditriazolyl cytosine derivative (**9**) containing *p*-chlorophenyl substituent at position 4 on 1,2,3-triazole moiety.

The structures of the newly synthesized compounds were confirmed by ¹H NMR spectroscopy.

Key words: pyrimidine; cytosine; 1,2,3-triazole; „click“ reaction.

SADRŽAJ RADA

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	
2.1. Nukleozidi i nukleotidi.....	2
2.2. Citozin.....	5
2.3. <i>N</i> -alkiliranje.....	7
2.4. „ <i>Click</i> “ kemija.....	8
2.5. Biološki aktivni derivati triazola.....	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO	
3.1. Opće napomene.....	13
3.2. Pregled sintetiziranih spojeva.....	14
3.3. Priprava spojeva.....	16
4. REZULTATI I RASPRAVA	
4.1. Sinteze spojeva.....	20
4.2. ¹ H NMR analiza novosintetiziranih spojeva (1-9).....	24
5. ZAKLJUČCI.....	30
6. LITERATURA.....	31
7. ŽIVOTOPIS.....	32

1. UVOD

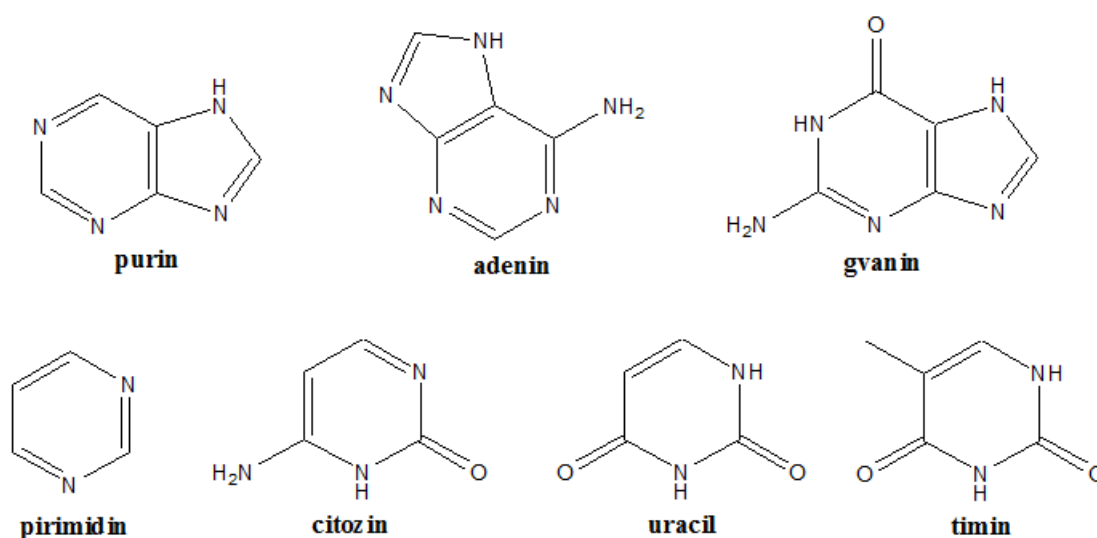
Rak je bolest koja se očituje brzim i nekontroliranim umnažanjem zloćudnih tumorskih stanica i smatra se glavnim uzrokom smrti nakon kardiovaskularnih bolesti. Prema posljednjim podacima o novooboljelima i umrlima od raka, Hrvatska je zemlja srednje incidencije raka, ali visokog mortaliteta. Do progresije raka dolazi zbog gubitka kontrole biokemijskog mehanizma rasta stanica. U liječenju raka primjenjuju se kirurški zahvati na mjestima u organizmu gdje su takvi zahvati mogući, radioterapija i sustavna kemoterapija. Sintetski kemičari od samih početaka borbe u liječenju raka sudjeluju u otkriću i razvoju protutumorskih lijekova, a jedno od takvih bilo je i slučajno otkriće dušikovih iperita koji su još uvijek u upotrebi kao protutumorski lijekovi. Većina protutumorskih lijekova u kliničkoj primjeni ima citostatsko djelovanje. Problemi koji se očituju u primjeni citostatika u kemoterapiji raka su nespecifično djelovanje na tumore, rezistentnost tumora na lijekove, dok je glavni problem razlika između obećavajućih rezultata *in vitro* te rezultata *in vivo* ispitivanja.¹ Među vodećim klasama spojeva u tom području su nukleozidni analozi, derivati pirimidina i purina. Strukturna raznolikost nukleozida sa antivirusnom i antikancerogenom aktivnošću ukazuje da su novi analozi nukleozida vrijedni istraživanja. Aromatski heterociklički prsteni prisutni u raznim ljekovitim sredstvima često su izomeri triazola, 1,2,3-triazoli i 1,2,4-triazoli koji posjeduju različite biološke aktivnosti, kao primjerice antikancerogeno, antifungicidno, antibakterijsko, antituberkulozno i antivirusno djelovanje. Uvođenje triazolnog prstena u nukleozide dovelo je do poboljšanja njihove bioaktivnosti za antitumorsku ili antivirusnu primjenu.² Prvi takav triazolni nukleozid sa širokim spektrom antivirusne aktivnosti bio je ribavirin.³

Osnovni cilj ovih istraživanja bio je sinteza novih triazolnih derivata citozina u uvjetima Huisgenove 1,3-dipolarne cikloadicije uz bakar kao katalizator radi njihovog antitumorskog djelovanja.

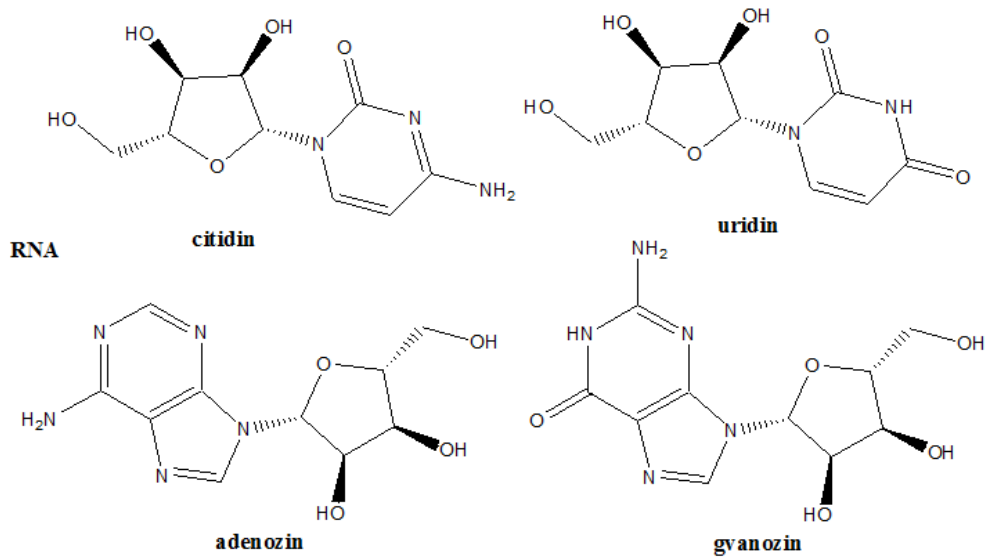
2. TEORIJSKI DIO

2.1. Nukleozidi i nukleotidi

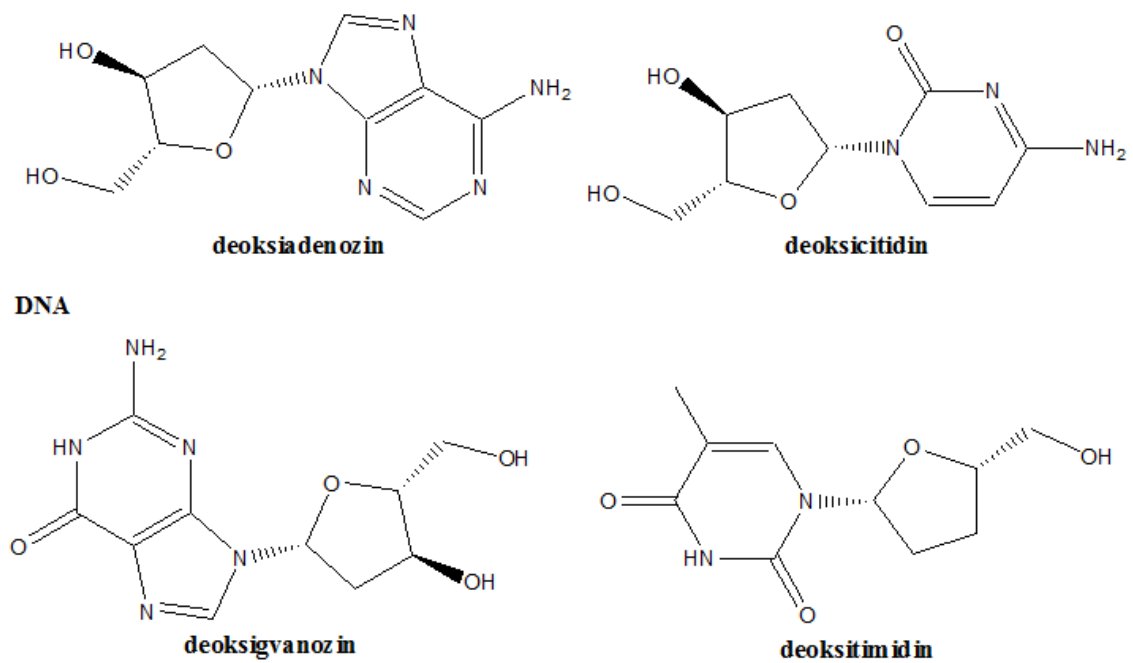
Nukleozidi su biomolekule čiju strukturu čine purinske (adenin i gvanin) ili pirimidinske (timin, citozin i uracil) baze (Slika 1). Najzastupljeniji nukleozidi su β -glikozidni derivati D-riboze ili D-2'-deoksiriboze. Četiri nukleozidne jedinice u ribonukleinskoj kiselini (RNK) jesu adenzin, gvanozin, citidin i uridin (Slika 2), a u deoksiribonukleinskoj kiselini (DNK) su deoksiadenozin, deoksigvanozin, deoksicitidin i deoksitimidin (Slika 3).⁴



Slika 1. Strukture purinskog i pirimidinskog prstena, te nukleozidnih baza

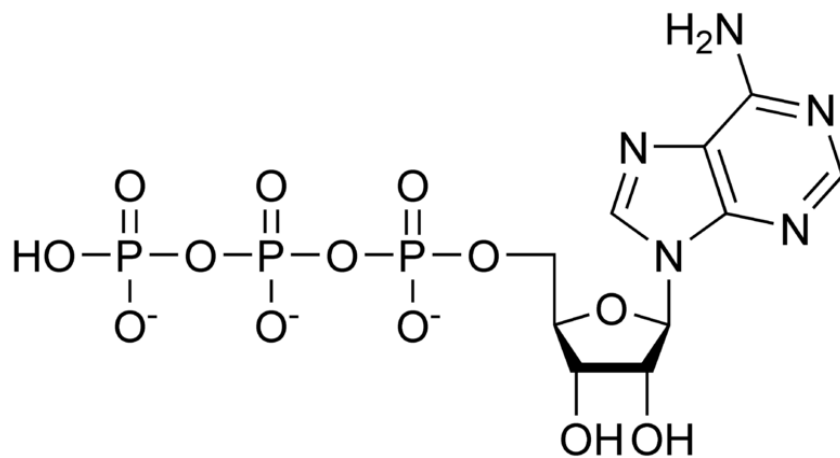


Slika 2. Nukleozidne jedinice u RNK



Slika 3. Nukleozidne jedinice u DNK

Nukleinske kiseline DNK i RNK su linearni polimeri izgrađeni od povezanih međusobno sličnih jedinica. Svaka monomerna jedinica unutar polimera je nukleotid. Nukleotid je nukleozid povezan esterskom vezom s jednom ili više fosfatnih skupina. U prirodnim nukleotidima uobičajeno mjesto vezanja fosfata jest hidroksilna skupina na položaju C-5 šećera. Nukleotidi su potrebni za replikaciju genoma i transkripciju genetske informacije u RNK, služe kao izvor energije za određene skupine bioloških procesa, sudjeluju u biosintetskim procesima i bitne su komponente puteva za prijenos signala. Adenozin trifosfat (ATP) univerzalna je energetska valuta sposobna pohraniti i transportirati energiju unutar stanica (Slika 4).

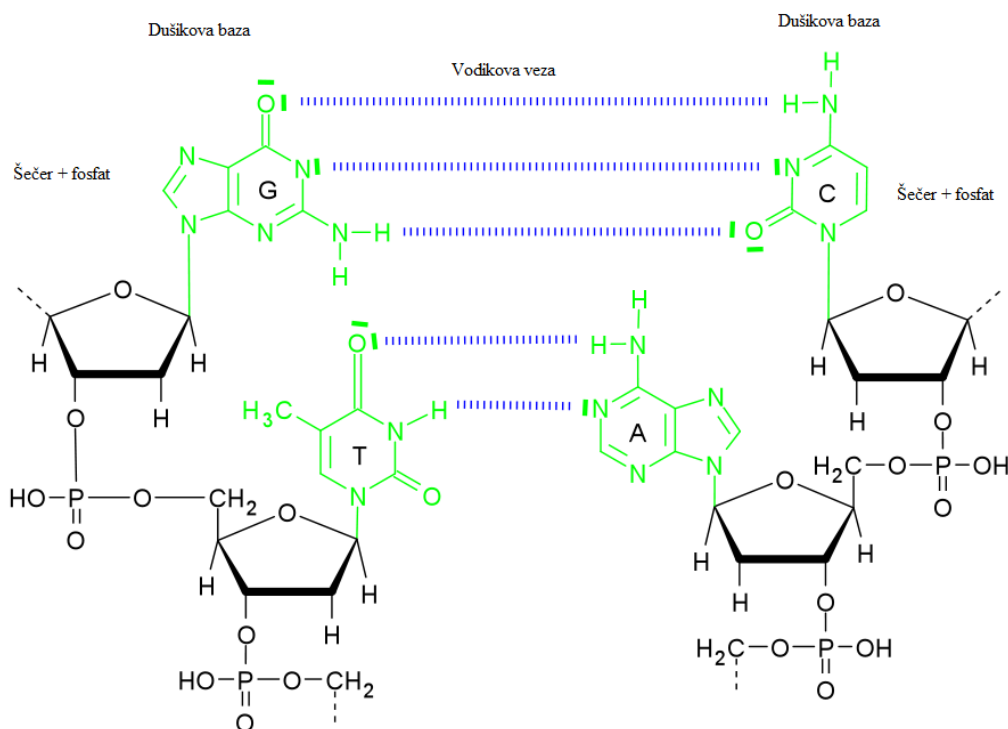


Slika 4. Struktura ATP-a

Postoje dvije vrste puteva za biosintezu nukleotida : sintetski putevi *de novo* i putevi koji iskorištavaju metabolički otpad. U sintezi *de novo* nukleotidne baze nastaju iz jednostavnijih spojeva. Najprije nastaje okosnica pirimidinske baze, a potom se veže riboza-fosfat, dajući pirimidinski nukleotid. Nasuprot tome, purinska se okosnica sintetizira iz dijelova koji se kao takvi najprije povezuju s ribozom, tako da se nukleotidna baza gradi na riboza-fosfatu. U sintezi koja iskorištava metabolički otpad uzimaju se već sintetizirane baze i ponovno povezuju s ribozom.⁵

2.2. Citozin

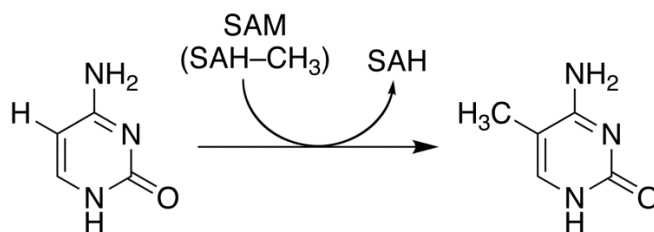
Citozin je jedna od 5 glavnih nukleozidnih baza koje se koriste za skladištenje i prijenos genetskih informacija u stanici unutar nukleinskih kiselina DNK i RNK. Derivat je pirimidina, heterocikličkog aromatskog prstena s dva supstituenta, amino skupinom u položaju C-4 i keto skupinom na položaju C-2.⁶ Nukleotid citozina je citidin, a biomimetik citidina koji inhibira primarno DNK-polimerazu, te ribonukleotid-reduktazu (RNR) naziva se gemcitabin, a primjenjuje se u poboljšanju stanja bolesnika oboljelih od metastatskog raka gušterače, raka jajnika, raka pluća, mjehura, glave i vrata.⁷ U DNK citozin i timin stvaraju vodikove veze sa komplementarnim purinskim derivatima gvaninom i adeninom (Slika 5). U RNK komplementarna baza adenina je uracil umjesto timina.



Slika 5. Prikaz stvaranja vodikovih veza između baza u DNK (G-C, T-A)

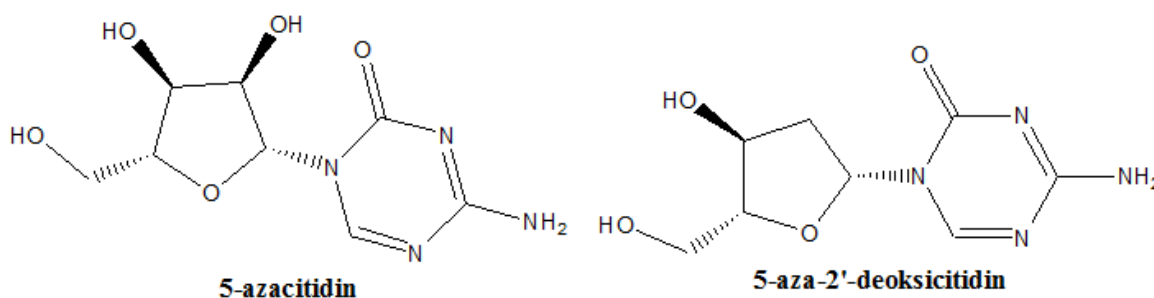
Citozin također može biti dio nukleotida, a da nije povezan sa DNK ili RNK. Kao citidin-trifosfat (CTP) može se ponašati kao kofaktor za enzime i donirati fosfatnu skupinu adenozin-difosfatu (ADP) za pretvorbu u ATP. Citozin također može biti metilirani u 5-metilcitozin uz pomoć enzima DNK-metiltransferaze (Shema 1), te kao takav može biti

uključen u regulaciju transkripcije gena. U tom slučaju, DNK zadržava istu sekvencu dok oblik metiliranih gena može biti promijenjen. Proučavanjem ovih promjena se bavi epigenetika.^{4,8}



Shema 1. Sinteza 5-metilcitozina iz citozina *in vivo*

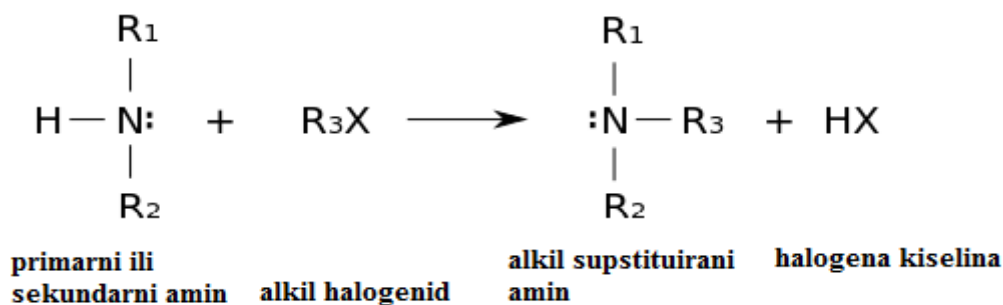
5-azacitidin jedan je od biološki aktivnih derivata citozina koji je pokazao široki raspon antimetaboličke aktivnosti testirane protiv stanica raka, te efektivnost kao kemoterapijski agens za liječenje akutne mijeloične leukemije. Decitabin (5-aza-2'-deoksicitidin) lijek je za liječenje mijelodisplastičnih sindroma (stanja u kojima su određene krvne stanice disfunkcionalne) i za akutnu mijeloičnu leukemiju. Njegovo biološko djelovanje ima sličan uzrok kao i azacitidin, osim što se decitabin može ugraditi samo u rastući lanac DNK, dok azacitidin može biti ugrađen u rast DNK i RNK lanaca. Svojstvo 5-azacitidina da inhibira DNK metiliranje povećalo je upotrebu 5-azacitidina i 5-aza-2'-deoksicitidina (Slika 6) te ukazalo na povezanost gubitka metiliranja u specifičnim genskim regijama i aktiviranja povezanih gena.^{9,10}



Slika 6. Strukture 5-azacitidina i 5-aza-2'-deoksicitidina

2.3. N-alkiliranje

N-alkiliranje je reakcija koja se odvija između alkil halogenida i amonijaka ili amina. To je reakcija nukleofilne aromatske supstitucije, gdje je reakcijski produkt više supstituirani amin (Shema 2).

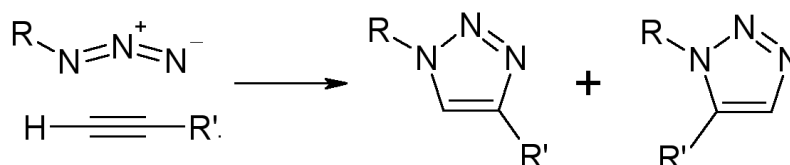


Shema 2. Osnovni prikaz reakcije N-alkiliranja

Amini i amonijak uglavnom lako podliježu direktnom alkiliranju u blagim uvjetima. Teško je kontrolirati takve reakcije jer produkt često više nukleofilan od prekursora ima veću tendenciju reagirati sa sredstvom za alkiliranje. Za laboratorijske svrhe N-alkiliranje je često ograničeno na sintezu tercijarnih amina. Iznimka je reaktivnost α -halogenih karboksilnih kiselina koje omogućuju sintezu primarnih amina sa amonijakom. Intramolekularna reakcija halogenih amina $\text{X}-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}_2$ daje cikličke aziridine, azetidine i piperidine (Slika 7).¹¹ N-alkiliranje pirimidina jedan je od načina aktiviranja pirimidinskog prstena kako bi postigao važna fizikalna i bioaktivna svojstva. N-alkilirane baze nukleinskih kiselina poznate su po tome što su najefektivniji antivirusni i antitumorski agenti te pokazuju antiupalnu i herbicidnu aktivnost. Serija N-(4-supstituiranih-benzil)-pirimidina prepoznata je kao potencijalna i selektivna serija inhibitora timidin-monofosfat-kinaze *Micobacterium tuberculosis*.¹² 1,3-dialkilpirimidinski derivati pripremljeni su N-3 alkilacijom 1-alkilpirimidina ili N,N-1,3 dialkilacijom pirimidinskih nukleotidnih baza. U tu svrhu upotrijebljena je nekolicina baza kao što su: natrijev hidrid (NaH), kalijev fluorid (KF), kalijev karbonat (K_2CO_3), magnezijev oksid (MgO) i kalij hidroksid (KOH). Upotreba ovih baza ima i određene nedostatke: spore reakcije, slaba iskorištenja, teški uvjeti reakcija u kojima je upotreba alkilirajućeg agenta niskog vrelišta otežana i upotreba dimetilformamida (DMF-a) kao otapala sa lošom obradom reakcijske smjese.¹³ Upotreba kombinacije DMF-a sa kalijevim karbonatom (K_2CO_3) pokazala se dobrim rješenjem prilikom čega su reakcije tekle glatko i dale samo N-1 alkilirane produkte.¹⁴

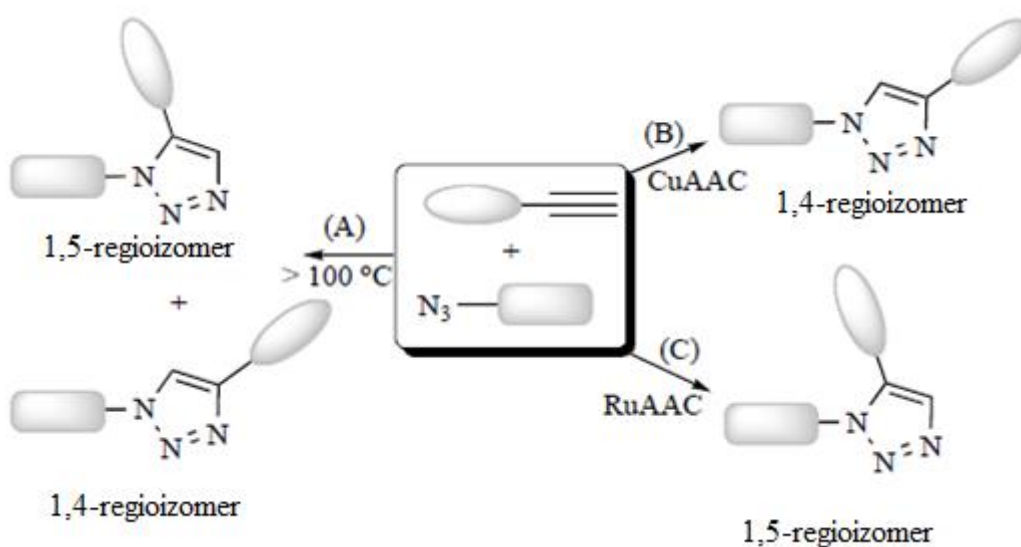
2.4. „Click“ kemija

Sintezu 1,2,3-triazola prvi je proučavao Huisgen 1960-ih godina. 1,3-dipolarna cikloadicija uključuje reakciju alkina i azida čiji su rezultat 1,4- i 1,5-disupstitirani triazolni regioizomeri (Shema 3).¹⁵



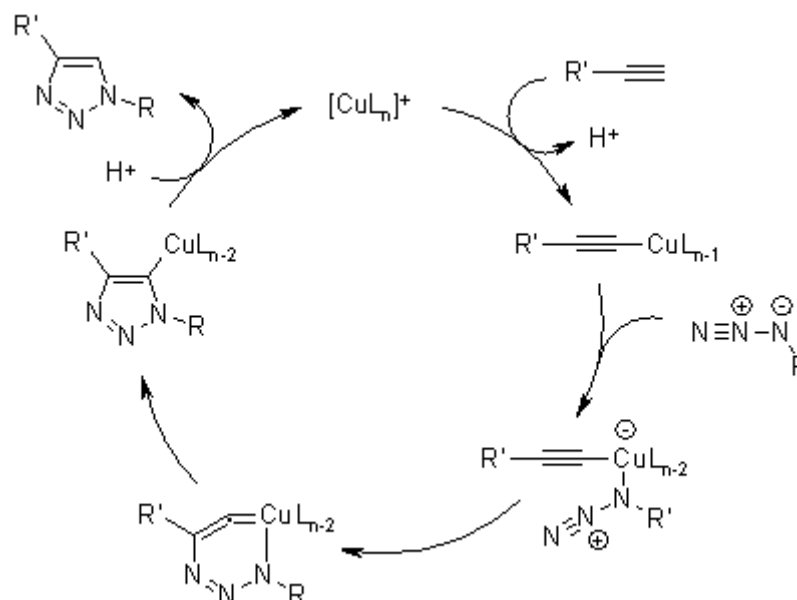
Shema 3. Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija

Na početku Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija nije se uklapala u definiciju „click“ kemije koja opisuje niz jakih, pouzdanih i selektivnih reakcija koje daju produkte brzo povezujući male jedinice preko veze ugljika i heteroatoma (C-X-C). Svojstva „click“ reakcija su: modularnost, široka upotreba i veliko iskorištenje sa raznolikošću polaznog materijala. Nusprodukt se mora moći lagano otkloniti bez upotrebe kromatografskih metoda a i reakcija mora biti stereospecifična. Razvoj Huisgenove 1,3-dipolarne cikloadicije i svrstavanje u „click“ kemiju omogućili su zasebno Meldal i Sharpless upotrebom bakrom kataliziranih azid-alkin cikloadicijskih reakcija što je dovelo do nastajanja 1,4-regioizomera, dok je rutenijem katalizirana cikloadicija dala 1,5-regioizomere (Shema 4).¹⁶



Shema 4. Bakrom (CuAAC) i rutenijem (RuAAC) katalizirane Huisgenove cikloadicije

CuAAC je najšire upotrijebljena metoda „click“ kemijske reakcije zahvaljujući svojoj jednostavnosti i velikoj selektivnosti. Standardni uvjeti upotrebljavaju Cu(I) ili Cu(II) soli sa reducirajućim sredstvom u organskom otapalu ili smjesu vode i *tert*-butil alkohola na sobnoj temperaturi. Sharpless i suradnici pokazali su da je *in situ* priprema katalizatora redukcijom Cu(II) soli efikasnija, jeftinija i čistija od Cu(I) soli.



Shema 5. Katalitički krug bakrom katalizirane Huisgenove 1,3-dipolarne cikloadicije

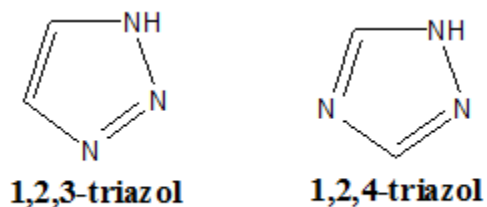
Na shemi 5 prikazan je mehanizam CuAAC reakcije koja uključuje koordinaciju bakra na aceten pri čemu nastaje bakrov acetilid, nakon čega azid zamijeni drugi ligand i veže se na bakar. Tada je formiran neobičan šesteročlani Cu(III) metalni krug. Stvaranjem peteročlanog triazolilnog bakrenog derivata dolazi do ukrućivanja prstena što je popraćeno protoniranjem pri čemu nastaje triazolni produkt i zatvara se katalitički krug.¹⁷

Mikrovalovima potpomognuta reakcija pomno je istraživana jer mikrovalno zračenje dozvoljava efikasan prijenos topline i time se smanjuje vrijeme reakcije, a povećava iskorištenje. 1,2,3-triazoli pripremljeni su „one pot“ metodom iz benzil-halida, natrij-azida i alkina u velikom iskorištenju upotrebom Cu na SiO₂ u vodi potpomognuto mikrovalovima. S obzirom na to da su 1,2,3-triazoli aromatski heterociklički spojevi, prepoznati su kao izosteri aromatskog prstena i dvostruke veze, a kao „linkeri“ su reaktivni i mogu stvarati π - π interakciju sa aromatskim prstenom, te posjeduju veliki dipolni moment (5,2-5,6 D). Jaki dipolni moment triazola polarizira vodik na položaju C-5 do stupnja da može djelovati kao slab donator vodikove veze. Mnogi poznati 1,2,3-triazoli posjeduju različito biološko djelovanje

poput antitumorskog, antigljivičnog, antibakterijskog, antituberkuloznog i antivirusnog i to zahvaljujući tome da mogu biti „linkeri“ u molekulama i tako zamijeniti atome i elektronska svojstva peptidne veze bez osjetljivosti na hidrolizu. Također su poznati i po svojoj primjeni kao materijali, primjerice biciklički [1,2,3] triazoli sa zanimljivim fotozaštitnim svojstvima pripremaju se u bezmetalnim uvjetima u reakcijama potpomognutim mikrovalovima. Razvoj novih metoda za sintezu 1,2,3-triazola i dalje je od velikog interesa zbog primjene u otkriću novih lijekova.^{2,18}

2.5. Biološki aktivni derivati triazola

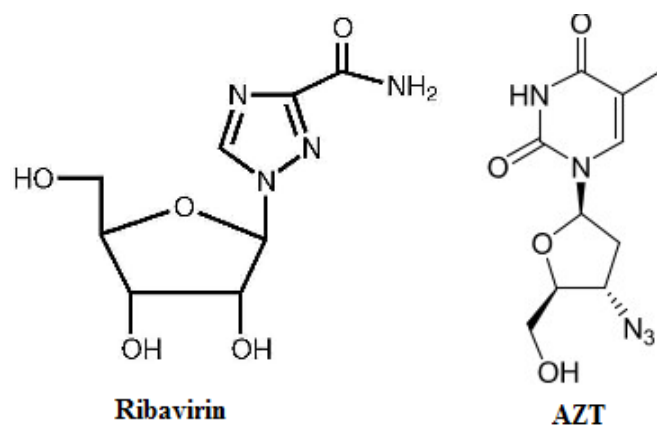
Strukturna raznolikost nukleozida sa antivirusnom i antitumorskom aktivnošću ukazuje da su novi analozi nukleozida vrijedni istraživanja. Brojni analozi nukleozida se koriste za liječenje bolesti uzrokovanih virusima humane imunodeficijencije (HIV), hepatitisa B (HBV), hepatitisa C (HCV), herpes simpleks virusa (HSV), citomegalovirusa (CMV) i varicella-zoster virusa (VZV). Nekoliko nukleozida koristi se u liječenju tumorskih oboljenja i to kladribin, klofarabin, kapecitabin, citarabin, fludarabin, gemcitabin, decitabin i floksuridin. Aromatski heterociklički prsteni prisutni u raznim ljekovitim sredstvima uglavnom su izomeri triazola, 1,2,3-triazoli i 1,2,4-triazoli (Slika 8).



Slika 8. Izomeri triazola (1,2,3-triazol i 1,2,4-triazol)

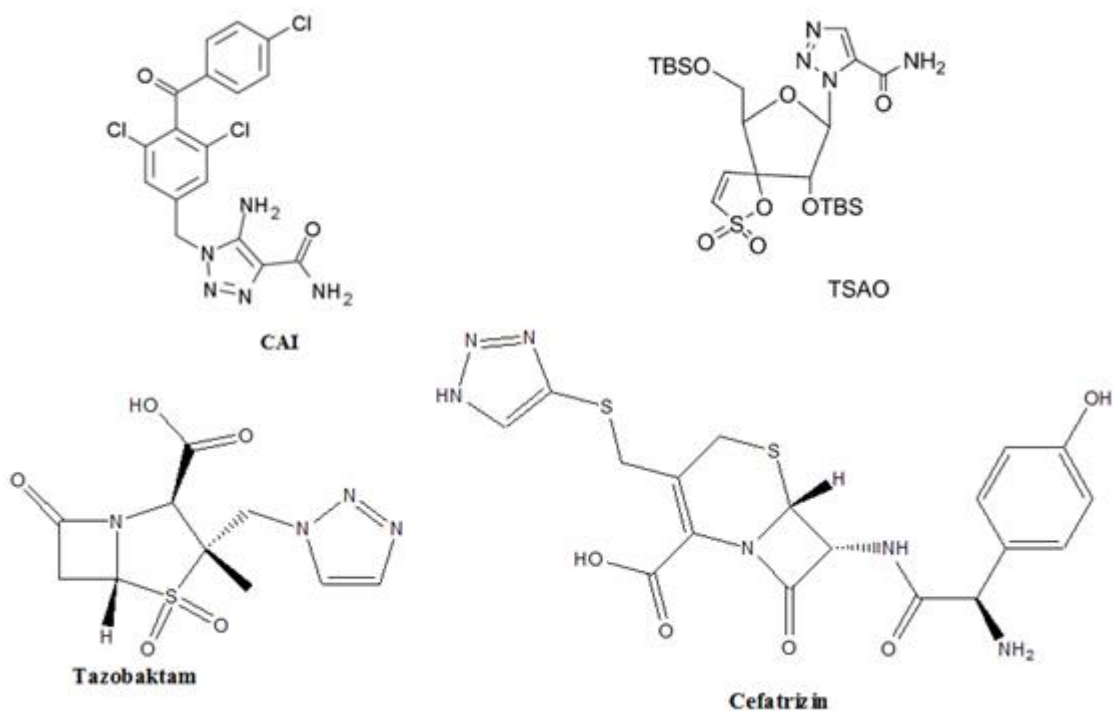
Uvođenje triazolnog prstena u nukleozide dovelo je do poboljšanja njihove antitumorske ili antivirusne aktivnosti. Prvi triazolni nukleozid sa širokim spektrom antivirusne aktivnosti, odobren od strane američke organizacije „*Food and Drug Administration*“ (FDA) za terapiju HCV oboljenja i koji se trenutno koristi širom svijeta bio je ribavirin. Razvoj azidotimidina (AZT) i ribavirina (Slika 9) kao antivirusnih lijekova potaknuo je sintezu i biološka ispitivanja 1,2,3-triazolnih nukleozida.¹⁰ AZT se pokazao učinkovit pri sprječavanju replikacije HIV-a u stanicama, a studije su pokazale da djeluje putem selektivne inhibicije HIV reverzne transkriptaze pomoću metabolizma trifosfata. Ova

otkrića su postavila temelje za prvu klasu antiretrovirusnih sredstava: nukleozidni i nukleotidni inhibitori reverzne-transkriptaze. Tijekom godina razvijeni su kao glavna komponenta antiretrovirusnih kombinaturnih lijekova koji se sada koriste za liječenje svih populacija HIV zaraženih pacijenata.¹⁹



Slika 9. Struktura ribavirina i azidotimidina (AZT)

Neki od potencijalnih lijekova koji sadrže 1,2,3-triazolnu jedinicu su antikancerogeni spoj karboksiamidotriazol (CAI), nukleozidni inhibitor reverzne transkriptaze (TSAO), β -laktamski antibiotik tazobaktam, cefatrizin, cefalosporin i mnogi drugi (Slika 10).



Slika 10. Potencijalni lijekovi bazirani na 1,2,3-triazolu (CAI, TSAO, tazobaktam, cefatrizin)

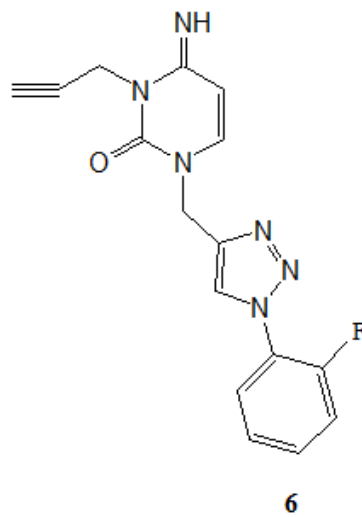
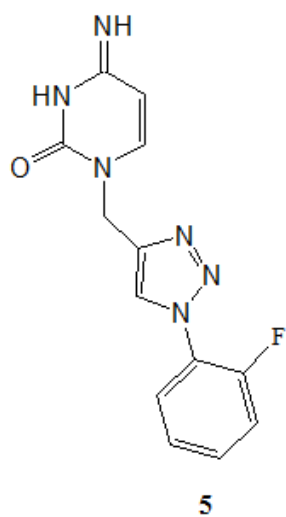
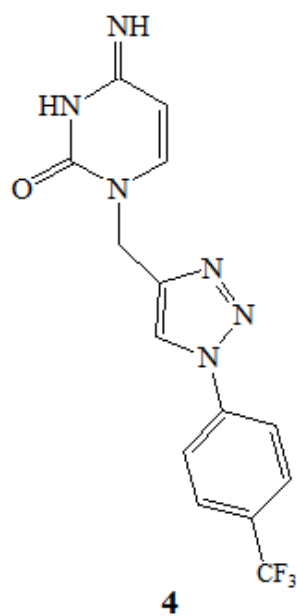
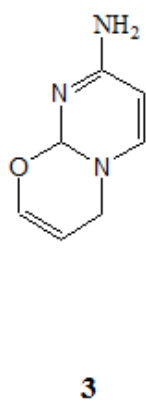
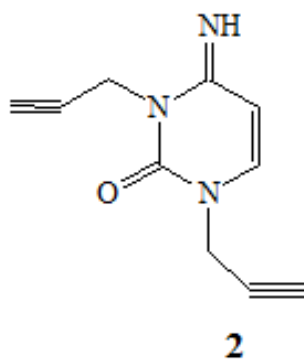
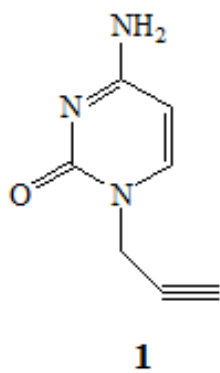
U odnosu na druge aza-heterocikle 1,2,3-triazolni prsten nije protoniran pri fiziološkom pH zbog svoje slabe lužnatosti, stoga neprotonirani sp^2 dušikov atom može bolje oponašati parcijalni pozitivni naboj anomernog ugljika u prijelaznom stanju glukozidaza katalizirane reakcije u odnosu na odgovarajuće dušikove atome imino-šećera. U seriji nukleozidnim analozima u kojima je dušična baza zamijenjena 1,2,3-triazolnim prstenom pojavili su se analozi 1,2,3-triazol- β -D-ribofuranozil-3-spiro-5-oksatiol-dioksida (TSAO) analozi koji su pokazali jaku i selektivnu aktivnost protiv HIV-a.²⁰

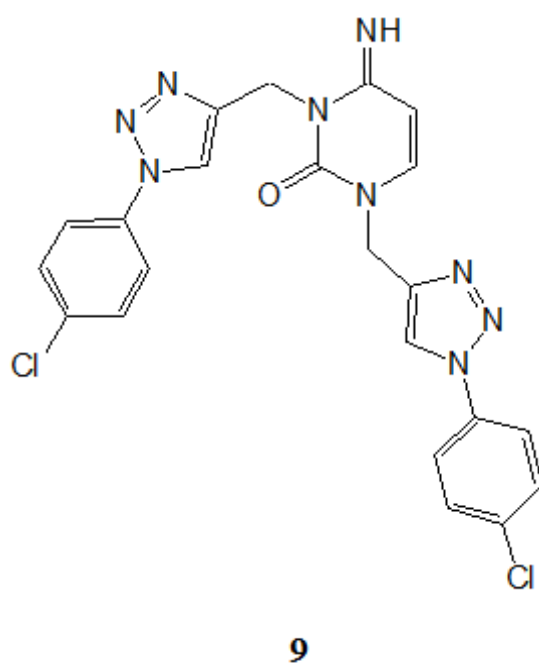
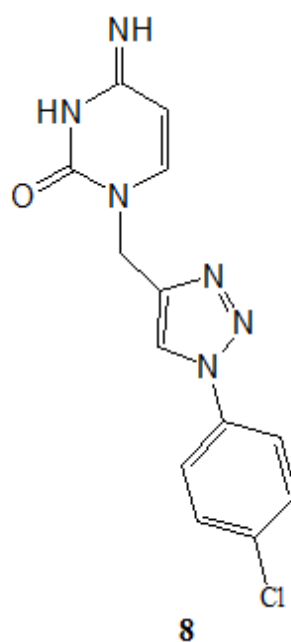
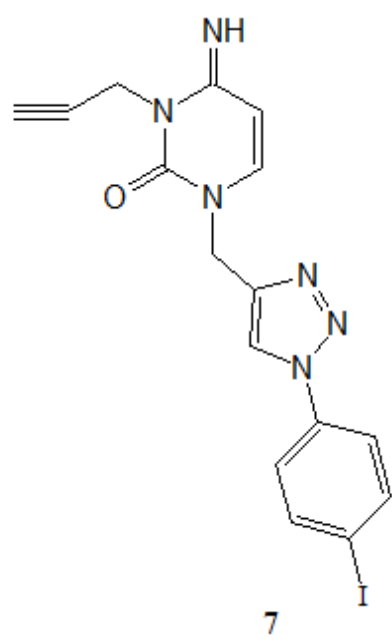
3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Opće napomene

Sva korištena otapala sušena su i pročišćavana prema preporučenom postupku sušenja agensima i/ili destiliranjem preko molekulskih sita veličine 3Å. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom (TLC), koja je provođena na pločama 60F – 254 presvučenim slojem silikagela Merck u odgovarajućem sustavu otapala. Za detekciju izoliranih komponenata korištena je UV-svjetlost valne duljine 254 nm. Kromatografija na koloni provedena je na silikagelu Fluka (0,063 – 0,2 nm), a staklene kolone su punjene pod utjecajem gravitacije te je kao eluens korištena smjesa diklormetan : metanol u odgovarajućem omjeru. Spektri ¹H-NMR su snimljeni na spektrometru Bruker Avance 300 MHz. Svi su uzorci otopljeni u DMSO-*d*₆ i mjereni pri 298 K u NMR cjevčici promjera 5 mm. Kemijski pomaci (δ) u ¹H-NMR spektrima izraženi su u jedinicama ppm u odnosu na tetrametilsilan (TMS, $\delta = 0,0$ ppm), a konstante sprege (*J*) u hercima (Hz). Pojedinačne rezonancije asignirane su na temelju njihovih kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta signala i konstanti sprege H-H. Reakcije potpomognute mikrovalnim zračenjem provedene su u Milestone Start S mikrovalnoj pećnici u kvarcnim posudama.

3.2. Pregled sintetiziranih spojeva





3.3. Priprava spojeva

3.3.1. 4-amino-1-(prop-2-inil)pirimidin-2(1*H*)-on (**1**) i 4-imino-1,3-di(prop-2-inil)-3,4-dihidropirimidin-2(1*H*)-on (**2**) i 4,9*a*-dihidropirimido[2,1-*b*][1,3]oksazin-8-amin (**3**)

Citozin (1 g; 9,01 mmol) je otopljen u dimetilformamidu (DMF) (30 ml) te je u reakcijsku smjesu dodan natrij-hidrid (NaH) (0,22 g; 9,01 mmol). Reakcijska smjesa je miješana 30 minuta na sobnoj temperaturi nakon čega je dodan propargil-bromid (0,68 ml; 9,01 mmol). Reakcija je miješana na sobnoj temperaturi preko noći, a tijek reakcije je praćen tankoslojnom kromatografijom (TLC-om). Nakon završetka reakcije otapalo je upareno, a reakcijska smjesa pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂ : MeOH = 40 : 1; 30 : 1 i 20 : 1). Izolirani su bijeli kristali spoja **1** (39,81 mg; 5,93 %; T_i = 135 – 138 °C), žuto ulje spoja **2** (89,2 mg; 10,58 %) i bijeli kristali spoja **3** (308,62 mg; 87,68 %; T_i = 186 – 189 °C).

1: ¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 3,46 (t, 1H, *J* = 2,4 Hz, H-3'), 4,77 (d, 2H, *J* = 2,4 Hz, H-1'), 6,63 (d, 1H, *J* = 7,7 Hz, H-5), 7,50 (d, 1H, *J* = 7,7 Hz, H-6), 7,53 (s, 1H, NH-4) ppm.

2: ¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2,98 (t, 1H, *J* = 2,4 Hz, H-3''), 3,36 (t, 1H, *J* = 2,5 Hz, H-3'), 4,44 (d, 2H, *J* = 2,5 Hz, H-1''), 4,62 (d, 2H, *J* = 2,4 Hz, H-1'), 5,80 (d, 1H, *J* = 7,9 Hz, H-5), 7,09 (d, 1H, *J* = 7,9 Hz, H-6), 7,81 (s, 1H, NH-4) ppm.

3: ¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 4,47 (d, 2H, *J* = 2,5 Hz, H-1'), 5,72 (d, 1H, *J* = 7,2 Hz, H-5), 7,15 (d, 2H, *J* = 20,2 Hz, NH₂), 7,63 (d, 1H, *J* = 7,2 Hz, H-6) ppm.

3.3.2. **4-imino-1-((1-(4-(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-3,4-dihidropirimidin-2(1*H*)-on (4)**

Spoj **1** (34,8 mg; 0,186 mmol) otopljen je u DMF-u (2,5 ml) i smjesi *tert*-butanol : voda (1 : 1) (2,56 ml), a u reakcijsku smjesu dodani su 1-azido-4-trifluormetilbenzen (0,45 ml; 0,22 mmol), CuSO₄ (0,029 ml) i bakar (Cu(0); 0,0118 g). Reakcija je provedena u mikrovalnom reaktoru tijekom 60 minuta, a tijekom reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a smjesa pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂ : MeOH = 20 : 1 i MeOH). Izoliran je žuti uljasti spoj **4** (6,41 mg; 10,26%).

4: ¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 5,34 (s, 2H, H-1'), 6,62 (d, 1H, *J* = 7,8 Hz, H-5), 7,51 (s, 1H, NH-4), 7,60 (s, 1H, *J* = 7,7 Hz, H-6), 7,96 (d, 2H, *J* = 8,4 Hz, Ph), 8,16 (d, 2H, *J* = 8,8 Hz, Ph), 8,85 (s, 1H, H-3'), 11,02 (s, 1H, NH-3) ppm.

3.3.3. **1-((1-(2-fluorofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-4-imino-3,4-dihidropirimidin-2(1*H*)-on (5) i 1-((1-(2-fluorofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-4-imino-3-(prop-2-inil)-3,4-dihidropirimidin-2(1*H*)-on (6)**

Spoj **2** (43,8 mg; 0,234 mmol) otopljen je u DMF-u (3,0 ml) i smjesi *tert*-butanol : voda (1:1) (3,23 ml), a u reakcijsku smjesu dodani su 1-azido-2-fluorbenzen (0,56 ml; 0,28 mmol), CuSO₄ (0,037 ml) i bakar (Cu(0); 0,0149 g). Reakcija je provedena u mikrovalnom reaktoru tijekom 40 minuta, a tijekom reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a smjesa pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂ : MeOH = 30 : 1 i 20 : 1, te MeOH). Izolirani su bijeli kristali spoja **5** (14,95 mg; 44,76 %; *T*_t = 137 – 140 °C) i žuti uljasti spoj **6** (9,16 mg; 24,17 %).

5: ¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 5,32 (s, 2H, H-1'), 6,64 (s, 1H, H-5), 7,40-7,45 (m, 1H, NH-4), 7,54-7,63 (m, 4H, H-6, Ph), 7,78-7,84 (m, 2H, Ph), 8,61 (d, 1H, *J* = 1,9 Hz, H-3') ppm.

6: ¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0,84 (t, 1H, *J* = 7,1 Hz, H-3"), 5,03 (s, 2H, H-1"), 5,27 (s, 2H, H-1'), 5,87 (s, 1H, H-5), 7,40-7,44 (m, 2H, NH-4, H-6), 7,51-7,61 (m, 4H, Ph), 7,78-7,84 (m, 2H, Ph), 8,37 (s, 1H, OH), 8,56 (1H, s, H-3') ppm.

3.3.4. 4-imino-1-((1-(4-jodofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-3-(prop-2-inil)-3,4-dihidropirimidin-2(1*H*)-on (7)

Spoj 2 (12,2 mg; 0,065 mmol) otopljen je u DMF-u (0,9 ml) i smjesi *tert*-butanol : voda (1 : 1) (0,9 ml), a u reakcijsku smjesu dodani su 1-azido-4-jodbenzen (0,16 ml; 0,078 mmol), CuSO₄ (0,01 ml) i bakar (Cu(0); 4,14 mg). Reakcija je provedena u mikrovalnom reaktoru tijekom 60 minuta, a tijekom reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a smjesa pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂ : MeOH = 30 : 1 i 20 : 1, te MeOH). Izolirani su bijeli kristali spoja 7 (8,74 mg; 31,21 %; T_i = 211 – 215°C).

7: ¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0,83 (t, 1H, *J* = 6,8 Hz, H-3"), 2,22 (s, 2H, H-1"), 5,27 (s, 2H, H-1'), 6,61 (d, 1H, *J* = 7,6 Hz, H-5), 7,51 (s, 1H, NH-4), 7,58 (s, 1H, *J* = 7,7 Hz, H-6), 7,69 (d, 2H, *J* = 8,8 Hz, Ph), 7,92 (d, 2H, *J* = 8,7 Hz, Ph), 8,81 (s, 1H, H-3') ppm.

3.3.5. 1-((1-(4-klorofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-4-imino-3,4-dihidropirimidin-2(1*H*)-on (8) i 1,3-bis((1-(4-klorofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-4-imino-3,4-dihidropirimidin-2(1*H*)-on (9)

Spoj 2 (86,2 mg; 0,46 mmol) otopljen je u DMF-u (6,0 ml) i smjesi *tert*-butanol : voda (1 : 1) (6,35 ml), a u reakcijsku smjesu dodani su 1-azido-4-klorbenzen (1,11 ml; 0,553 mmol), CuSO₄ (0,07 ml) i bakar (Cu(0); 0,029 g). Reakcija je provedena u mikrovalnom reaktoru tijekom 40 minuta, a tijekom reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a smjesa pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂ : MeOH = 80 : 1, 70 : 1, 50 : 1 i 30 : 1). Izolirani su žuti kristali spoja 8 (41,95 mg; 60,80 %; T_t = 205 – 208 °C) i žuto ulje spoja 9 (3,0 mg; 3,48 %).

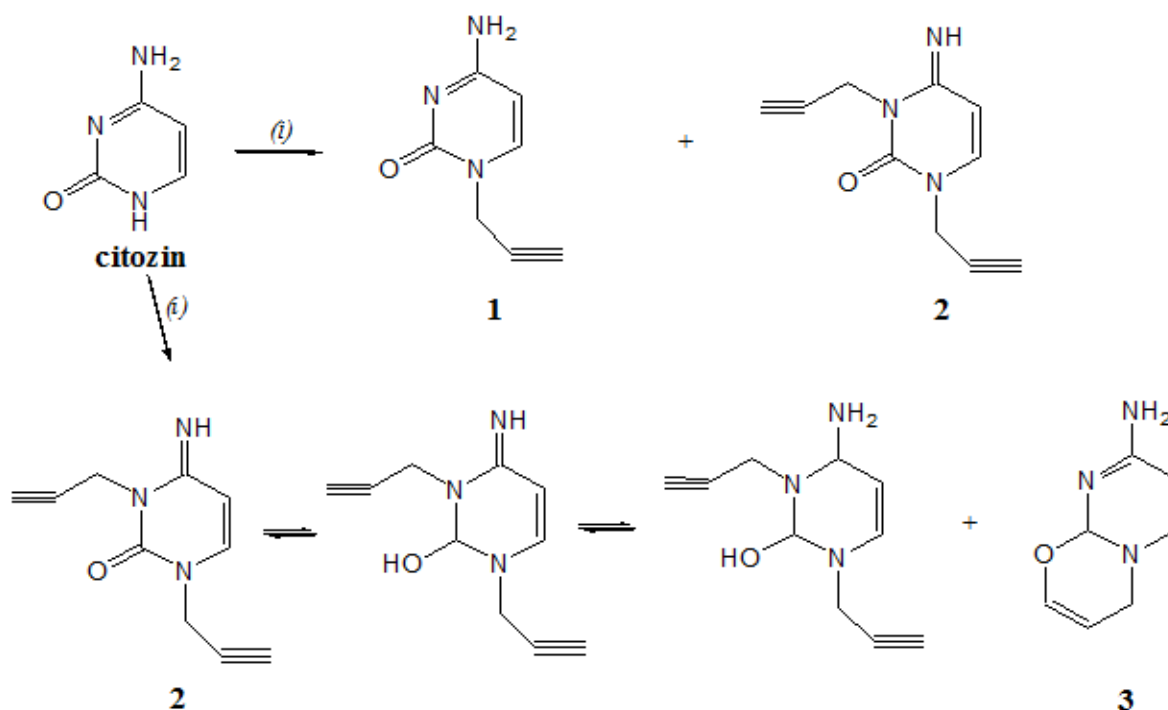
8: ¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 5,30 (s, 2H, H-1'), 6,62 (d, 1H, *J* = 7,7 Hz, H-5), 7,52 (s, 1H, NH-4), 7,59 (d, 2H, *J* = 7,7 Hz, H-6), 7,65 (d, 2H, *J* = 8,8 Hz, Ph), 7,92 (d, 2H, *J* = 8,8 Hz, Ph), 8,82 (s, 1H, H-3') ppm.

9: ^1H NMR (DMSO- d_6): δ 4,59 (m, 2H, H-1''), 5,12 (s, 2H, H-1'), 5,83 (d, 1H, $J = 8,9$ Hz, H-5), 7,64-7,68 (m, 5H, NH-4, Ph), 7,80 (t, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-6), 7,90-7,94 (m, 4H, Ph), 8,66 (s, 1H, H-3''), 8,83 (s, 1H, H-3') ppm.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Sinteze spojeva

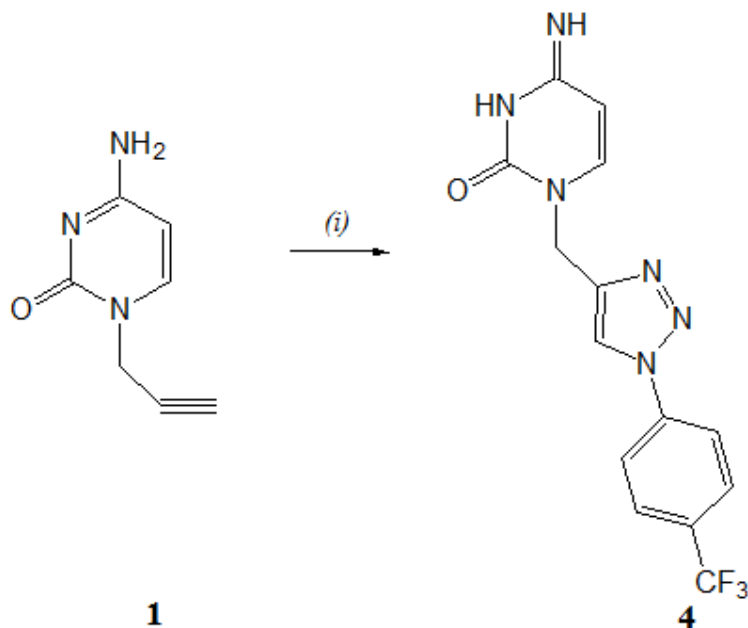
Cilj ovog rada bio je sintetizirati nove derivate citozina supstituirane u položaju *N*-1 i/ili *N*-3 1,2,3-triazolnom jezgrom. Glavni prekursori za sintezu, *N*-1-propargil (1) i *N,N*-1,3-dipropargilirani derivati citozina (2) dobiveni su reakcijom *N*-alkiliranja citozina uz prisustvo baze (NaH) kao deprotonirajućeg sredstva koje omogućuje nukleofilnu supstituciju s propargil-bromidom kao alkilirajućim reagensom (Shema 1).



Reagensi i uvjeti: (i) NaH/ propargil-bromid/ DMF/ 24h/ sobna temperatura

Shema 1: Sinteza *N*-1-propargilcitozina (1), *N,N*-1,3-dipropargilcitozina (2) i bicikličkog produkta 3

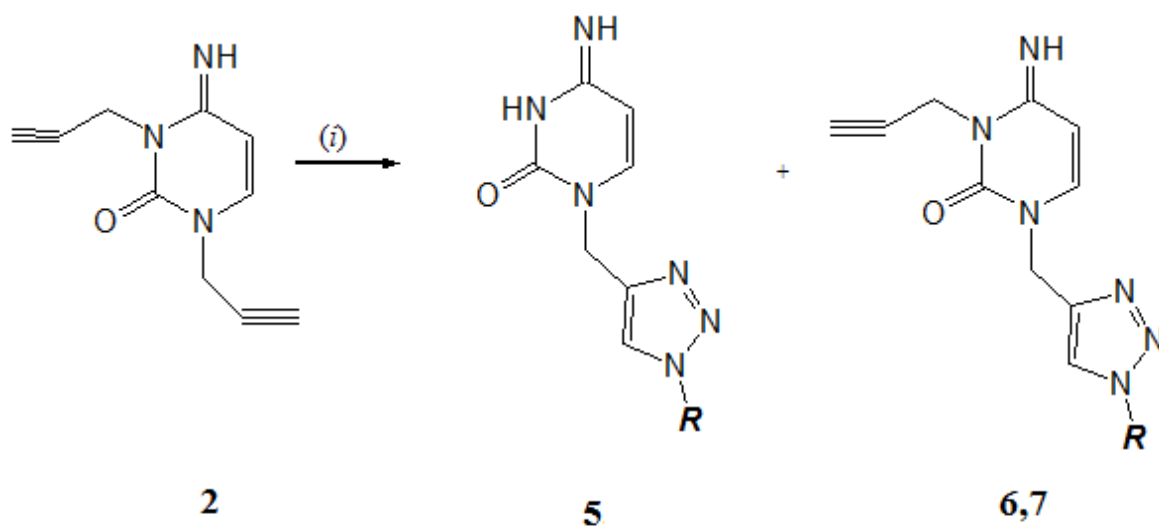
Biciklički produkt **3** dobiven je *6-endo-dig* ciklizacijom monopropargiliranog citozinskog derivata **1** (Shema 1). Također je i izolirana smjesa nekoliko tautomera dipropargiliranog citozinskog derivata **2**, od kojih su neke od tautomernih struktura prikazane na shemi 1. „Click“ reakcijom uveden je 1,2,3-triazolni prsten u položaj *N*-1 citozinskog prstena, odnosno Huisgenovom 1,3-dipolarnom cikloadicijom *N*-1-propargilcitozina (**1**) i 1-azido-4-trifluorometilbenzena uz bakar kao katalizator dobiven je triazolilni derivat citozina, **4** kao 1,4-disupstituirani regioizomer 1,2,3-triazola (Shema 2).





Reagensi i uvjeti: (i) 1-azido-4-trifluorometilbenzen/ CuSO₄/ *t*-BuOH : H₂O = 1 : 1/ DMF/ Cu/ 60 min, 80°C, MW.

Shema 2. Sinteza 4-imino-1-((1-(4-(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-3,4-dihidropirimidin-2(1*H*)-ona (**4**)

Huisgenovom 1,3-dipolarnom cikloadicijom *N,N*-1,3-dipropargilcitozina (**2**) i odgovarajućih azida uz bakar kao katalizator pripremljeni su različito supstituirani triazolilni derivati citozina (**5-8**) pri čemu je uveden 1,2,3-triazolni prsten u položaju *N*-1 citozina (Shema 3). "Click" reakcijom spoja **2** i 1-azido-2-fluorbenzena dobiveni su monosupstituirani triazolilni citozinski derivat 1-((1-(2-fluorofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-4-imino-3,4-dihidropirimidin-2(1*H*)-on (**5**) te *N*-1-triazolil-*N*-3-propargilni derivat **6**, dok je u sličnim reakcijskim uvjetima „click“ reakcije s 1-azido-4-jodbenzenom, izoliran 4-imino-1-((1-(4-jodofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-3-(prop-2-inil)-3,4-dihidropirimidin-2(1*H*)-on (**7**) (Shema 3).

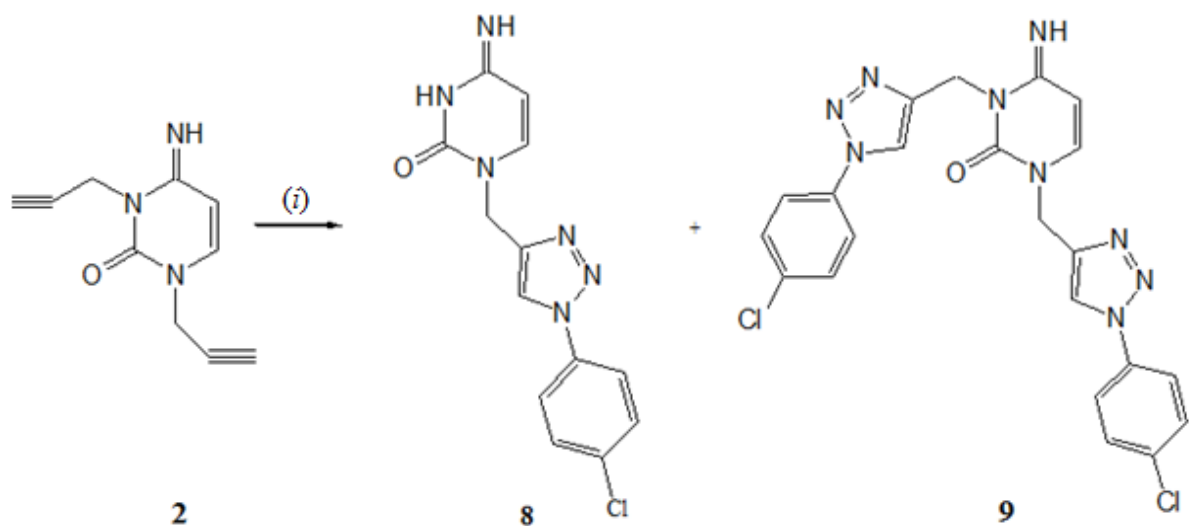


<i>spoj</i>	5,6	7
R		

Reagensi i uvjeti: (i) $RN_3 / CuSO_4 / BuOH : H_2O = 1 : 1 / DMF / Cu / 40 (60) \text{ min}, 80 \text{ } ^\circ C, MW$

Shema 3. Sinteza *N*-1 triazolilnog citozinskog derivata **5** i *N*-1-triazolil-*N*-3-propargilnih derivata **6** i **7**

Huisgenovom 1,3-dipolarnom cikloadicijom *N,N*-1,3-dipropargiliranog citozina (**2**) i 1-azido-4-klorbenzena uz bakar kao katalizator izolirana su dva produkta, monotriazolilni derivat (**8**), te ditriazolilni citozinski derivat s *p*-klorfenilnim supstituentom na 1,2,3-triazolnoj jezgri (**9**) (Shema 4).

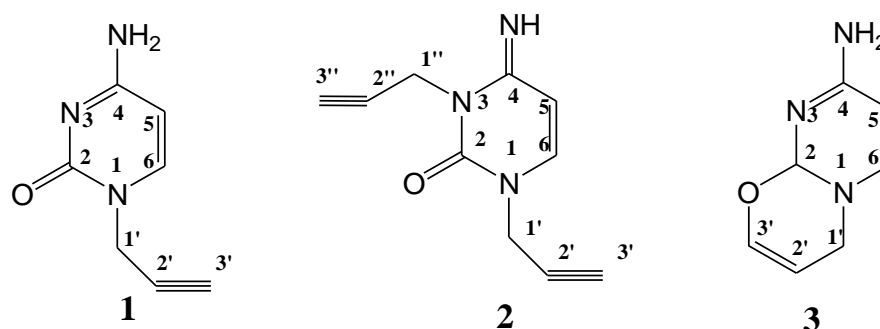


Reagensi i uvjeti: (i) 1-azido-4-klorbenzen/ CuSO₄/ H₂O : BuOH = 1 : 1/ DMF/ Cu/ 40 (60) min, 80 °C, MW

Shema 4. Sinteze 1-((1-(4-klorofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-4-imino-3,4-dihidropirimidin-2(1*H*)-on (**8**) i 1,3-bis((1-(4-klorofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-4-imino-3,4-dihidropirimidin-2(1*H*)-on (**9**)

4.2. ^1H NMR analiza novosintetiziranih spojeva (1-9)

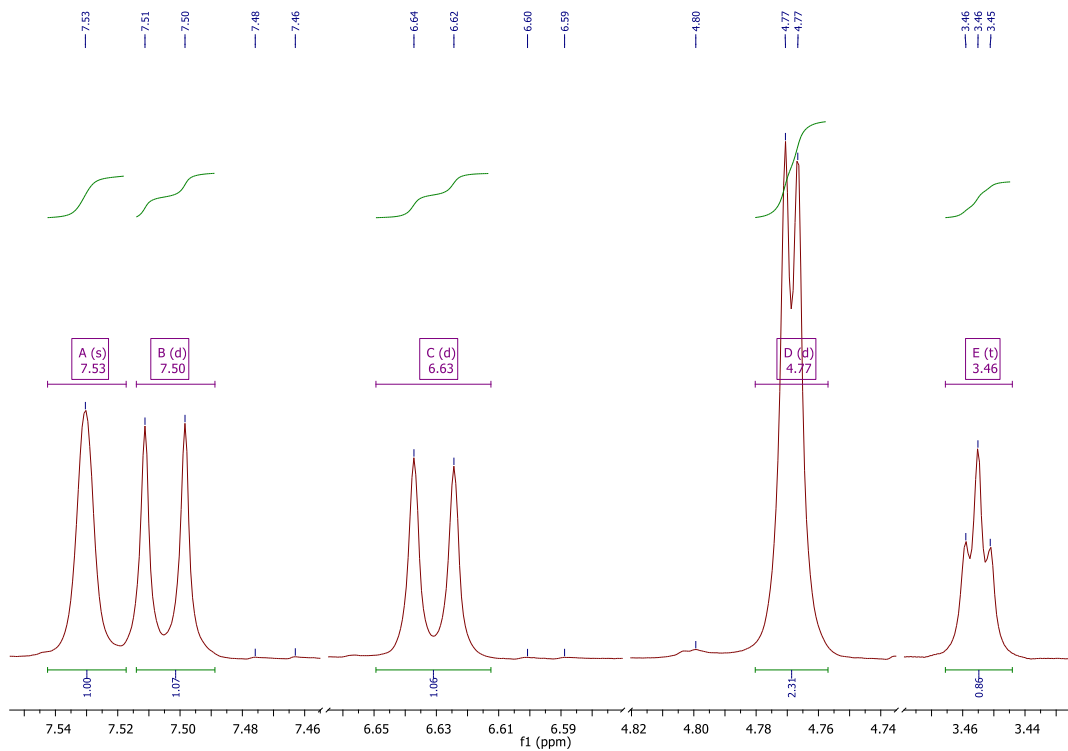
Strukture novosintetiziranih citozinskih derivata (1–9) potvrđene su ^1H NMR spektroskopijom (Slika 1).



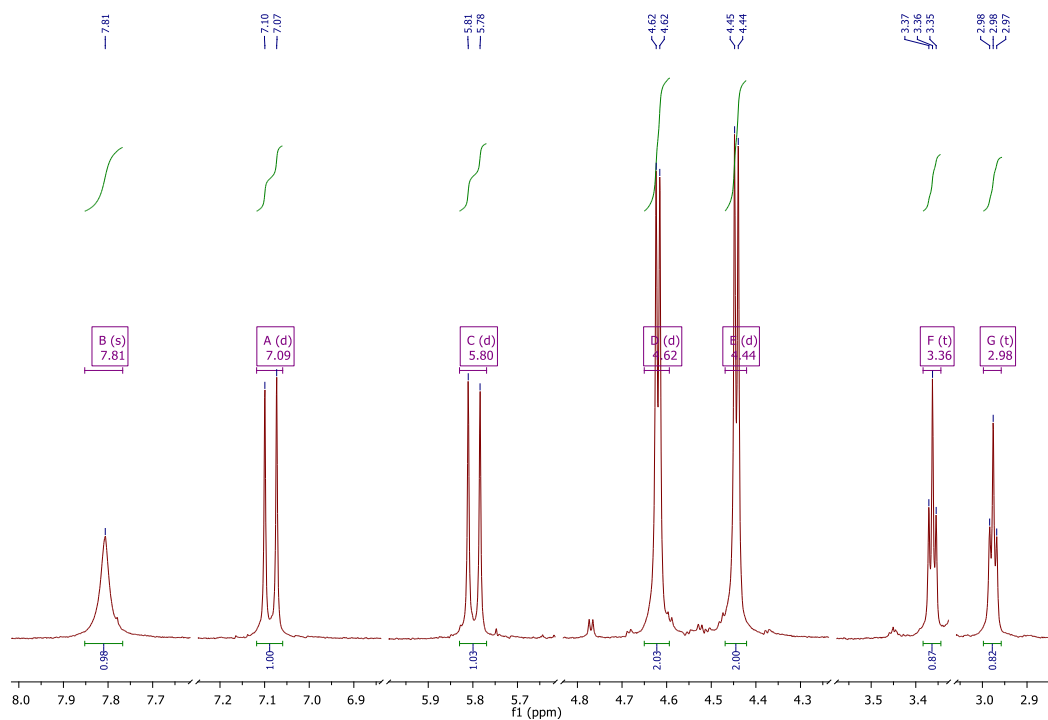
Slika 1. Prikaz struktura citozinskih derivata 1-3

U ^1H NMR spektrima spojeva **1** i **2** (slike 2 i 3) prisutni su signali za protone citozinskog prstena, pa je tako proton H-5 prisutan kao dublet na 6,63 ppm-a kod spoja **1**, odnosno na 5,80 ppm-a kod spoja **2**, a kemijski pomak protona H-6 se kod spoja **1** nalazi na 7,50 ppm-a, odnosno na 7,09 ppm-a kod spoja **2**. Signal za proton NH-4 se nalazi na 7,53-ppm-a kod spoja **1**, odnosno na 7,81 ppm-a kod spoja **2**. Kemijski pomaci protona H-5 i H-6 su kod spoja **2** pomaknuti u viša polja u odnosu na spoj **1**, dok je signal NH-4 protona kod spoja **2** pomaknut u niža polja u odnosu na spoj **1**.

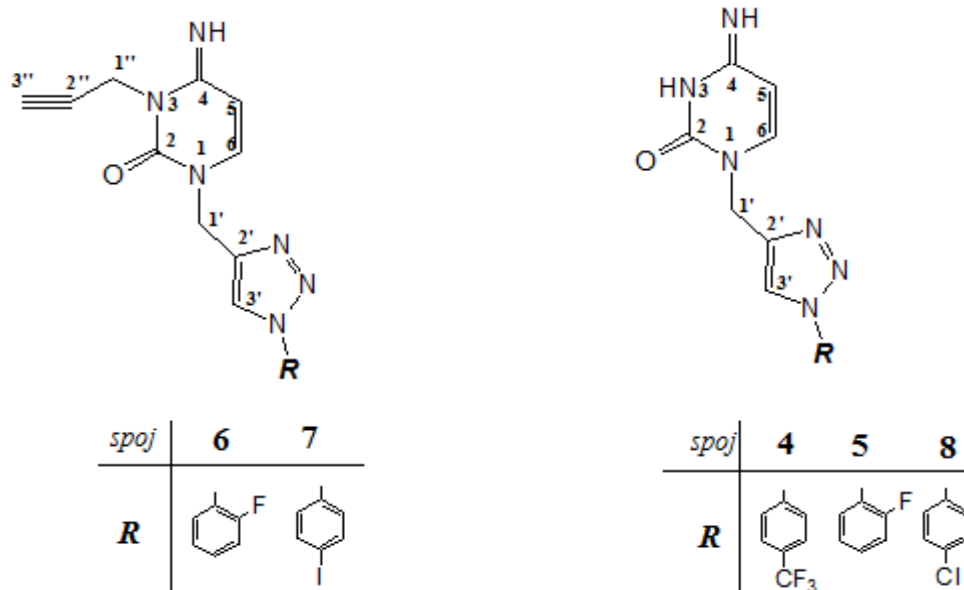
U ^1H NMR spektrima spojeva **1** i **2** (slike 2 i 3) također se mogu vidjeti i signali za metilnske protone propargilnog supstituenta na položaju N-1 (H-3') na ~4,70 ppm-a prisutni kao dubleti intenziteta 2H. Signali intenziteta 1H za metilnski proton H-1' su također prisutni kod oba ^1H NMR spektra na ~3,40 ppm-a kao kao dublet kod spoja **1**, te kao triplet kod spoja **2**. U ^1H NMR spektru spoja **2** (slika 3) u usporedbi sa spektrom spoja **1** prisutni su dodatni signali za propargilni supstituent na položaju N-3: triplet na 2,98 ppm-a za H-3'' i dublet na 4,44 ppm za H-1''.



Slika 2. ^1H NMR spektar spoja 1



Slika 3. ^1H NMR spektar spoja 2



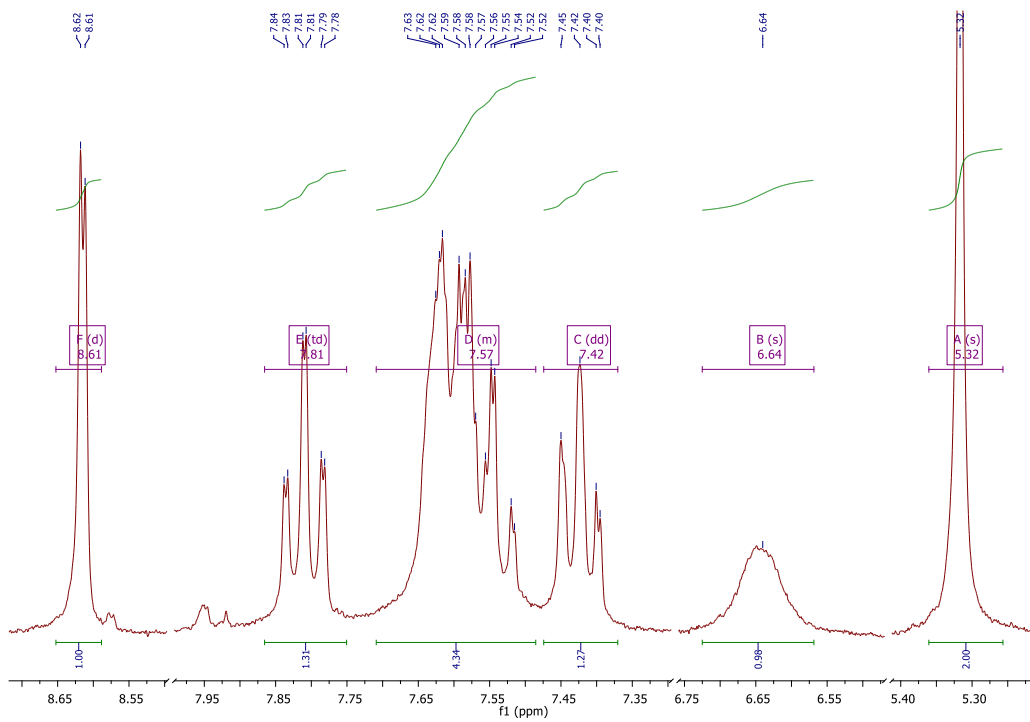
Slika 4. Prikaz struktura *N*-1-triazolil-*N*-3-propargilnih (**6** i **7**) i *N*-1-triazolilnih citozinskih derivata (**4**, **5** i **8**)

U ^1H NMR spektrima *N*-1-triazolil-*N*-3-propargilnih (**6** i **7**, slika 4) te *N*-1-triazolilnih citozinskih derivata (**4**, **5** i **8**, slika 4) prisutni su signali za proton triazolnog prstena u aromatskom području na 8,61 – 8,85 ppm-a uz istovremeni izostanak signala za metinski proton H-3' (triplet na ~3,40 ppm).

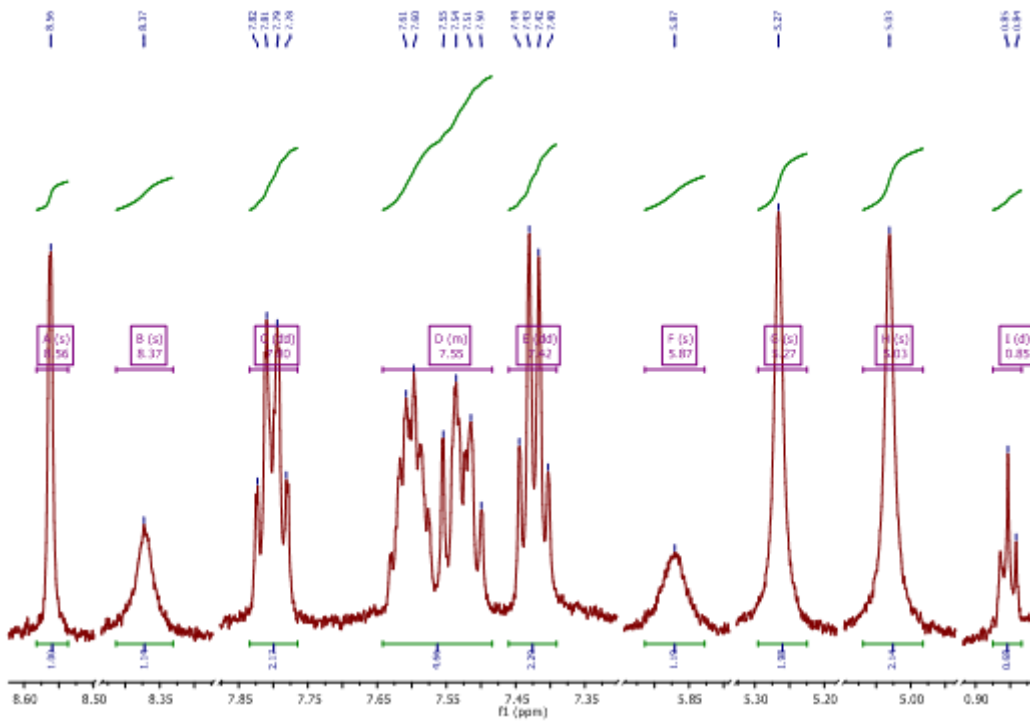
N-1-triazolil-*N*-3-propargilni citozinski derivati (**6** i **7**, slika 4) u ^1H NMR spektrima (slika 6) pokazuju i signale za metilenske protone propargilnog supstituenta na položaju *N*-3 (H-1'') te signal za metinski proton H-3'' na ~0,84 ppm-a kao triplet.

Osim navedenog, ^1H NMR spektri spojeva **4–8** pokazuju signale citozinskog prstena: signal protona H-5 na ~5,80 za spoj **6** (slika 6), odnosno ~6,60 ppm-a za spojeve **4**, **5**, **7** i **8**; signal H-6 protona na ~7,60 ppm-a te signal NH-4 protona kao singlet na 7,50 ppm-a.

Na slici 5 je prikazan ^1H NMR spektar spoja **5**, dok je na slici 6 prikazan ^1H NMR spektar spoja **6**.

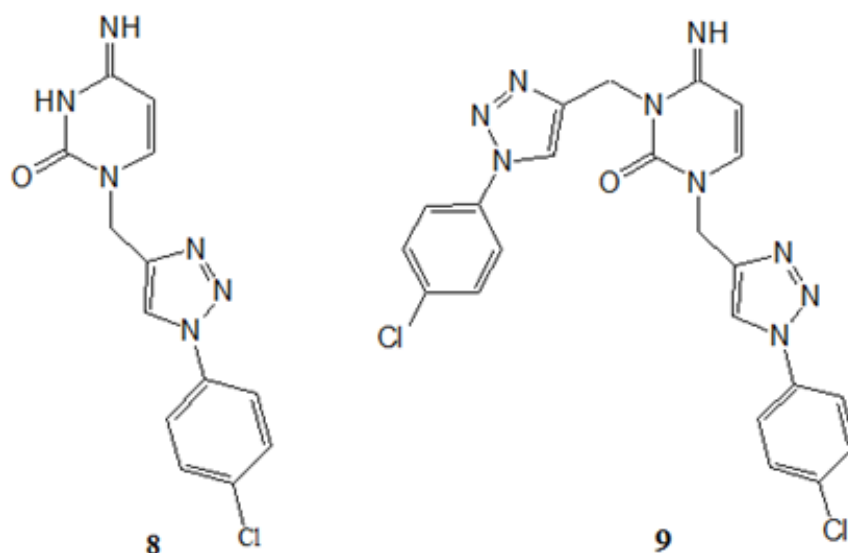


Slika 5. ^1H NMR spektar spoja 5

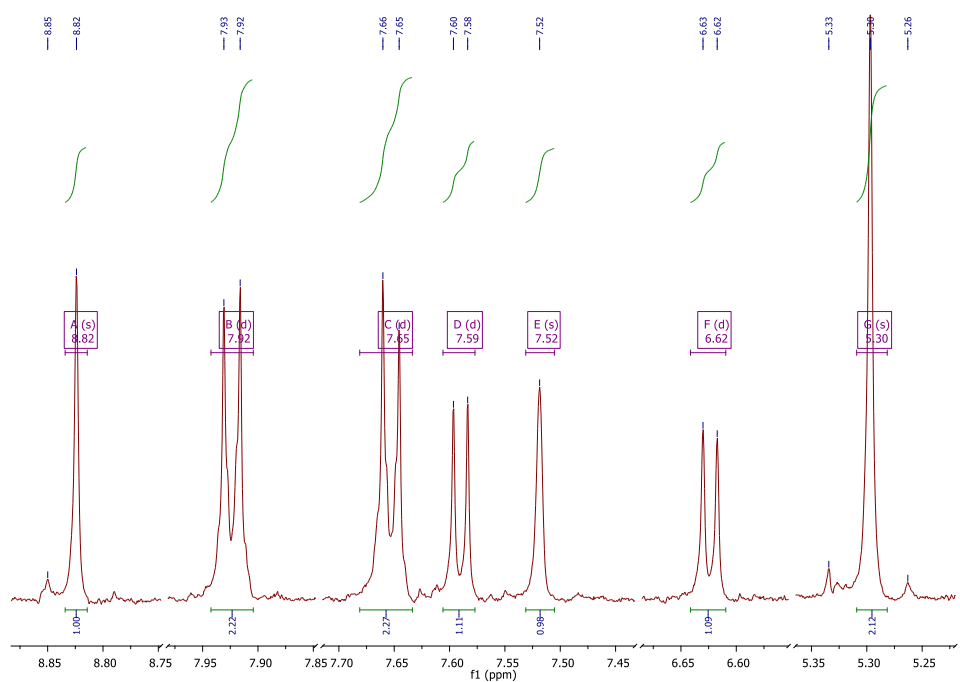


Slika 6. ^1H NMR spektar spoja 6

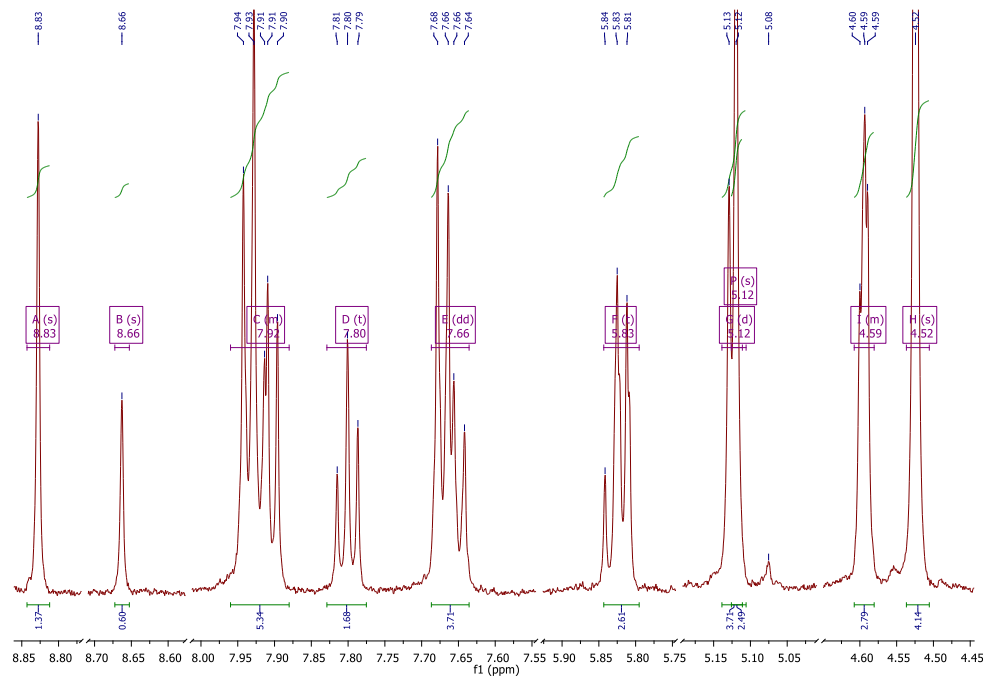
Na slici 7 prikazane su strukture spojeva **8** i **9**, dok su na slikama 8 i 9, prikazani ^1H NMR spektri mono (**8**) i disupstituiranog derivata citozina (**9**), koji u položaju *N*-1, odnosno *N*-1 i *N*-3 imaju 1,2,3-triazolni prsten s *p*-klorfenilnim supstuentom u položaju 4 triazola. ^1H NMR spektar spoja **9** (slika 9) pored signala navedenih za spoj **8** sadrži dodatne signale za supstituirani triazolni prsten vezan za položaj *N*-3 citozina, čime je potvrđeno nastajanje *N,N*-1,3-ditriazolilnog derivata "click" reakcijom.



Slika 7. Strukture spojeva **8** i **9**



Slika 8. ^1H NMR spektar spoja **8**



Slika 9. ^1H NMR spektar spoja 9

5. ZAKLJUČCI

- Reakcijom *N*-alkiliranja citozina sintetizirani su prekursori: *N*-1-propargilni derivat citozina **1** te *N,N*-1,3-dipropargilirani derivat citozina **2**.
- *6-endo-dig* ciklizacijom monopropargiliranog citozinskog derivata **1** pripremljen je biciklički produkt **3**
- Huisgenovom 1,3-dipolarnom cikloadicijom *N*-1-propargilcitozina (**1**) i 1-azido-4-trifluorometilbenzena uz bakar kao katalizator dobiven je *N*-1 triazolilni derivat citozina **4**.
- „Click“ reakcijom *N,N*-1,3-dipropargilcitozina (**2**) i odgovarajućih azida uz bakar kao katalizator pripremljeni su *N*-1 triazolilni derivati citozina (**4**, **5** i **8**), te *N*-1-propargil *N*-3-triazolilni citozinski derivati **6** i **7**.
- Reakcijom *N,N*-1,3-dipropargilcitozina (**2**) i 1-azido-4-klorbenzena kataliziranom bakrom izolirani su monotriazolilni (**8**) i ditriazolilni citozinski derivat s *p*-klorfenilnim supstituentom u položaju 4 na 1,2,3-triazolnoj jezgri (**9**).
- Strukturna karakterizacija novopripremljenih spojeva provedena je ¹H NMR spektroskopijom.

6. LITERATURA

- ¹ Mintas, M., Medicinska kemija protutumorskih lijekova, Medicinska naklada, Zagreb, 2013., str. 2–10.
- ² Raić-Malić, S., Meščić, A., Recent Trends in 1,2,3-Triazolo-Nucleosides as Promising Anti-Infective and Anticancer Agents, *Current Medicinal Chemistry*, **22** (2015)
- ³ Sidwell, R. W., Huffman, J. H., Khare, G. P., Allen, L. B., Witkowski, J. T., Robins, R. K., Broad-spectrum antiviral activity of virazole: 1-f8-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide, *Science*, **177** (2009), str. 705–706.
- ⁴ <http://www.newworldencyclopedia.org/entry/Nucleotide> (pristup 15. kolovoz 2015.)
- ⁵ Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Stryer, L., Biokemija, Školska knjiga, Zagreb, 2013., str. 108–112., str. 710–714.
- ⁶ <http://www.newworldencyclopedia.org/p/index.php?title=Cytosine&oldid=971382> (pristup 15. Kolovoza 2015.)
- ⁷ Mintas, M., Medicinska kemija protutumorskih lijekova, Medicinska naklada, Zagreb, 2013., str. 18.
- ⁸ Griffiths, A. J. F., *An Introduction to genetic analysis*, W. H. Freeman, New York, 2000., Chapter 15: Gene Mutation
- ⁹ Christman, J. K., 5-Azacytidine and 5-aza-2'-deoxycytidine as inhibitors of DNA methylation: mechanistic studies and their implications for cancer therapy, *Oncogene*, **35** (2002), str. 5483–5495.
- ¹⁰ Kantarjian H., Issa J. P., Rosenfeld C.S., Decitabine improves patient outcomes in myelodysplastic syndromes: results of a phase III randomized study, *Cancer*, **106** (2006), str. 1794–1803.
- ¹¹ Pine, S.H., Organska kemija, Školska knjiga, Zagreb, 1994., str. 662–675.
- ¹² Zanatta, N., Brondani, P. B., Amaral, S. S., Oliveira, T. D., Bonacorso, H. G., Martins, M. A. P., N-Alkylation of 4-Trichloromethylpyrimidinones: Synthesis of Some New and Interesting Modified Nucleoside Analogues, *Organic Chemistry Insights*, **2** (2009), str. 7–14
- ¹³ Khalafi-Nezhad, A., Zare, A., Parhami A., Rad, M. N. S., *ARKIVOC*, **12** (2006), str. 161–172
- ¹⁴ Birari, D. R., Ghagare, M. G., Kazi, M. A., Bagul, S. B., Ghotekar B. K., Toche, R. B., Jachak, M. N., Synthesis of Cytosine Derivatives and Study of their Alkylation under Mild Conditions, *Organic Preparations and Procedures International*, **41** (2009), str. 515 – 532.
- ¹⁵ Fox, J. J., Wempen, I., *Advances in Carbohydrate Chemistry*, **14** (1959), str. 283.
- ¹⁶ Huisgen, R., *1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry*, Wiley, New York, 1984., str. 1–176.
- ¹⁷ <http://www.organic-chemistry.org/namedreactions/click-chemistry.shtm> (pristup 8. rujana 2015)
- ¹⁸ Totobenzara, J., Burke, A. J., New click-chemistry methods for 1,2,3-triazoles synthesis: recent advances and applications, *Tetrahedron Letters*, **56** (2015), str. 2852 – 2859.
- ¹⁹ Cihlar T., Ray, S. A., Nucleoside and nucleotide HIV reverse transcriptase inhibitors: 25 years after zidovudine, *Antiviral Research*, **1** (2010), str. 39 – 58.
- ²⁰ Agalave, S. G., Maujan, S. R., Pore, V. S., Click Chemistry: 1,2,3-Triazoles as Pharmacophores, *Chemistry, an Asian Journal*, **6** (2011), str. 2696 – 2718.

7. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 11. srpnja 1992. u Zagrebu. Nakon završetka osnovne škole Samobor u Samoboru, upisala sam Gimnaziju Lucijana Vranjanina, opći smjer u Zagrebu. Maturirala sam 2011. godine s vrlo dobrim uspjehom i iste godine upisala Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu, preddiplomski studij Primjenjena kemija. Položila sam međunarodni ispit iz engleskog jezika, First Certificate in English (FCE) u listopadu 2011.