

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Ines Cazin

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, srpanj 2015.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Ines Cazin

L-askorbinska kiselina i njezini derivati /

L-ascorbic acid and its derivatives

ZAVRŠNI RAD

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

Članovi ispitnog povjerenstva:

1. prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić
2. dr. sc. Andrijana Meščić
3. doc. dr. sc. Šime Ukić

Zagreb, srpanj 2015.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za organsku kemiju na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.

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

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

Zahvaljujem svojim roditeljima koji su mi omogućili ovaj studij i bili velika podrška.

Na kraju želim zahvaliti svim članovima Zavoda za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije na ugodnoj atmosferi pri izradi eksperimentalnog dijela.

SAŽETAK RADA

L-askorbinska kiselina i njezini derivati

Cilj ovog rada bila je regioselektivna sinteza 1,4-disupstituiranih-1,2,3-triazolnih derivata L-askorbinske kiseline (**6–17**) kao potencijalnih antitumorskih spojeva. U tu svrhu sintetizirani su derivati L-askorbinske kiseline **1**, **2**, **3** i **4** koji su ključni za sintezu azida L-askorbinske kiseline **5**. 1,2,3-triazolni derivati L-askorbinske kiseline pripremljeni su reakcijom 1,3-dipolarne cikloadicije s Cu(I) kao katalizatorom. S ciljem dobivanja većeg sveukupnog iskorištenja ciljanih produkata, korištena su dva sintetska puta. Prvi put predstavljao je tandemsku reakciju prevođenja tosiliranog derivata L-askorbinske **4** u azid i 'klik' kemiju azida **4** u 1,4-disupstituirane-1,2,3-triazolne derivate L-askorbinske kiseline (**6–17**), dok se drugim putem provodila sinteza i izolacija svih navedenih spojeva. Strukture svih sintetiziranih spojeva potvrđene su ^1H - i ^{13}C -NMR spektroskopijom.

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

SUMMARY

L-ascorbic acid and its derivatives

The aim of this work was the synthesis of 1,4-disubstituted 1,2,3-triazole derivatives of L-ascorbic acid (**6–17**) with potential antiproliferative activity using regioselective approach. For this purpose, L-ascorbic acid derivatives **1**, **2**, **3** and **4** required for the synthesis of L-ascorbic acid azide **5** were prepared by 1,3-dipolar cycloaddition reaction with Cu(I) as a catalyst. In order to obtain better overall yield of target compounds, two synthetic pathways were used. First pathway represented tandem reaction of tosylated L-ascorbic acid derivative **4** to azide derivative **5** and click chemistry of azide to 1,4-disubstituted 1,2,3-triazole derivatives of L-ascorbic acid (**6–17**), while other synthetic pathway involved synthesis and isolation of each above-mentioned product. The structures of all compounds have been confirmed by ¹H- and ¹³C-NMR spectroscopy.

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

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO.....	3
2.1. 'Klik' kemija.....	4
2.1.1. 'Klik' kemija u vodi	4
2.1.2. Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija terminalnih alkina i azida.....	5
2.1.3. Mehanizam CuAAC reakcije	7
2.2. 1,2,3 – triazoli	8
2.2.1. Biološka aktivnost triazola.....	9
2.3. L-askorbinska kiselina	11
2.3.1. Biološka aktivnost L-askorbinske kiseline.....	12
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	15
3.1. Opće napomene.....	16
3.2. Pregled sintetiziranih spojeva	17
3.3. Postupci za pripremu spojeva od 1–18	19
4. REZULTATI I RASPRAVA	29
4.1. Sinteze spojeva	30
4.2. Analiza spektara ¹ H-NMR.....	32
5. ZAKLJUČCI.....	35
6. LITERATURA.....	37
7. ŽIVOTOPIS	41

1. UVOD

Cilj medicinske kemije je otkrivanje i razvoj novih agenasa za liječenje bolesti. Kako bi se pronašli biološki aktivni spojevi, potrebno je ujediniti sposobnost i trud ljudi iz raznih područja znanstvenih i društvenih disciplina. Procesi razvoja lijeka i faze kliničkih ispitivanja su dugi i odvijaju se u nekoliko koraka. U laboratorijima širom svijeta svakodnevno se radi na otkrivanju spojeva koji mogu postati korisni lijekovi. U nekim slučajevima lijek se traži ciljano, dok se novi lijekovi kandidati mogu otkriti i slučajno. Nakon identifikacije molekule kandidata utvrđuje se u kojem obliku najbolje djeluje (otopina, tableta, kapsula itd.) i njezin način primjene kao budućega lijeka (na usta, u venu, preko kože itd.). Molekulu kandidata potrebno je ispitati laboratorijski pomoću različitih kemijskih i biokemijskih proba, kultura stanica i životinjskih modela. Faza nekliničkog ispitivanja može trajati i do nekoliko godina. Samo jedna od 10 000 molekula ispitivanih u nekliničkim uvjetima dospije u fazu kliničkog ispitivanja. Ukupni klinički razvoj lijeka može trajati preko deset godina.

U suvremenom svijetu virusna i tumorska oboljenja su sve češća, te predstavljaju veliki izazov za medicinu.¹ Prema UNAIDS-ovom izvještaju o pandemiji AIDS-a za 2005. godinu, u svijetu živi više od 45 milijuna ljudi zaraženih HIV-om. Brzina kojom se virus umnožava i velika sposobnost mutacije glavni su razlozi što svjetska epidemija ne jenjava. Danas veliki problem predstavlja i karcinom za kojeg je karakterističan nekontrolirani rast stanica i metastaze. Da bi liječenje bilo što uspješnije potrebno je rano otkriće tumorskih stanica.

2. OPĆI DIO

2.1. 'Klik' kemija

Proces dobivanja novih lijekova izuzetno je kompleksan, spor i skup te uključuje povezivanje raznih područja znanstvenih i društvenih disciplina. 'Klik' kemija je noviji pristup sintezi lijekova. Početkom 21. stoljeća (2001. godine) američki znanstvenik K. Barry Sharpless 'klik' kemiju definira kao skupinu reakcija koje su široko primjenjive, visokog iskorištenja, stereospecifične (ne moraju nužno biti i enantioselektivne), fiziološki stabilne, termodinamički povoljne te stvaraju malu količinu nusprodukata. Reakcijski uvjeti su jednostavni i zahtijevaju lako dostupne polazne tvari i reagense, provođenje u otapalima koja nisu zagađivači (npr. voda) te proces nije osjetljiv na vodu i kisik. Izolacija i pročišćavanje dobivenih produkata je također jednostavna i moguće je koristiti nekromatografske metode (npr. kristalizacija, destilacija) čime se izbjegava korištenje štetnih otapala.²

Dio reakcija koje zadovoljavaju navedene uvjete su: cikoadicije nezasićenih spojeva (posebice 1,3-dipolarna cikoadicija), Diels-Alderove reakcije, nukleofilne supstitucije (npr. reakcije epoksida), adicije na C-C višestruke veze (epoksidacija, dehidroksilacija, Michaelova adicija).

'Klik' kemija je jedna od najčešćih i pouzdanijih metoda za kovalentno povezivanje molekula te tako nalazi primjenu u različitim disciplinama uključujući područje nanomaterijala, biologije, istraživanje lijekova, medicinske kemije i radiokemije. Nadalje, djelotvorna je sintetska metoda u pripravi mnogih novih spojeva s biološkim djelovanjem. Polazne tvari (alkini i azidi) su komercijalno dostupni. Reakcije su ekološki prihvatljive te su sinonim za „zelenu kemiju“.

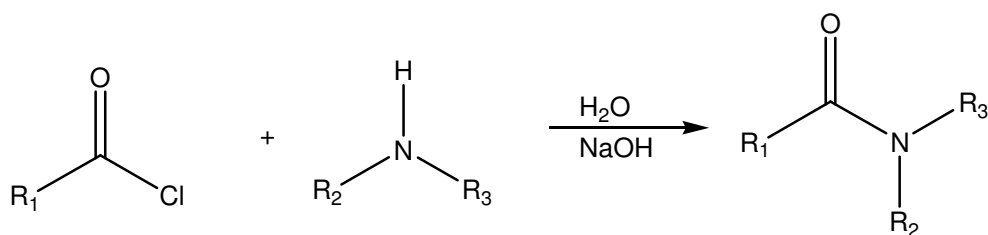
2.1.1. 'Klik' kemija u vodi

Zanimljivo je da 'klik' reakcije puno bolje uspijevaju u vodi nego u organskim otapalima, što je rezultat sljedećih čimbenika:

- 1) Neovisno o tome jesu li reaktanti kao i produkti topljivi ili netopljivi u vodenom mediju, prilikom provođenja klik reakcije u vodi pri višim temperaturama nastaje jedan produkt. Organske molekule imaju veću konstantu brzine reakcije u vodenim medijima nego u

organskim otapalima.³ Također, organske molekule imaju veću slobodnu energiju ako se slabije solvatiziraju u vodi.⁴ Ta veća reaktivnost kompenzira niske koncentracije reaktanata.

- 2) U nukleofilnim reakcijama adicije epoksida⁵ i azirdina, elektrofilni preferiraju otapala koja pogoduju nastajanju vodikovih veza. Iz tog razloga voda je i u ovom slučaju najbolja.
- 3) Kod 'klik' reakcija olefina i acetilena važna su dva koraka: oksidacija pomoću elektrofilnog reagensa i reakcije cikloadicije. Ta dva procesa su usklađena ili uključuju polarizaciju nukleofila/elektrofila. Upotreba vode je poželjna jer omogućuje bolje razlikovanje reaktivnosti kompeticijskih "tvrdih" (nepolarnih) i "mekih" (polarnih) vrsta.⁶
- 4) Reakcije će biti povoljnije što je koncentracija otopljenih tvari niža. Reakcija otopljene tvari koncentracije 0,1M bit će puno brža od reakcije otopljene tvari koncentracije 55M. Poznat primjer takve reakcije je Schotten–Baumannova reakcija za sintezu amida (shema 1).



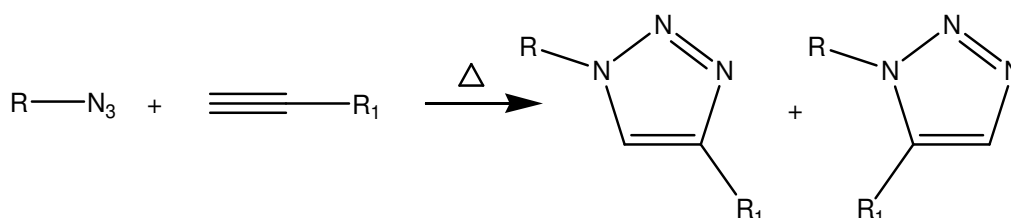
Shema 1. Prikaz Schotten-Baumannove reakcije.

- 5) Voda je vrlo dobar medij za hlađenje, a s druge strane ima pogodnu temperaturu vrenja te visoki toplinski kapacitet. Obje se pogodnosti koriste prilikom provedbe reakcija, jeftina je te nema negativan utjecaj na okoliš. Ukoliko se 'klik' reakcije odvijaju u vodi, hidroksidne O-H i amidne N-H skupine neće ometati tijekom sinteze, stoga je ovaj način sinteze vrlo pogodan jer se izbjegava stavljanje i uklanjanje zaštitnih skupina.

2.1.2. Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija terminalnih alkina i azida

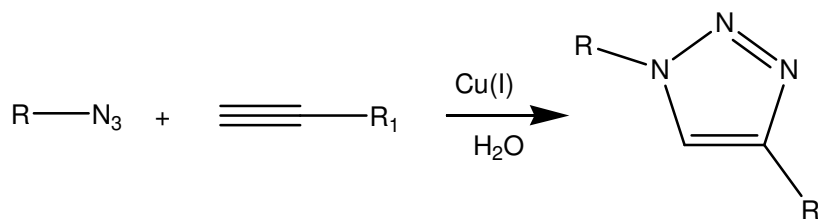
Reakciju 1,3-dipolarne cikloadicije između terminalnih alkina i azida bez katalizatora prvi je izveo njemački kemičar R. Huisgen 1963. godine.⁷ Međutim, reakcija nije bila od velikog interesa sve dok nije otkriveno da se reakcija može provesti u blagim uvjetima koristeći Cu(I) kao katalizator. Kod nekatalizirane Huisgenove reakcije kao produkt nastaje

smjesa 1,4 i 1,5- regioizomera triazolnog prstena približnog omjera 1:1⁸ (shema 2). Reakcija je vrlo spora i zahtjeva visoku temperaturu ili tlak. Reakcija je također vrlo egzotermna, a niska reakcijska iskorištenja rezultat su velike energije aktivacije čak i pri povišenoj temperaturi.⁹



Shema 2. Općeniti primjer Huisgenove 1,3-dipolarne cikloadicije; kao produkt nastaje smjesa 1,4 i 1,5- regioizomera.

Danski kemičar Meldali i već ranije spomenuti američki znanstvenik Sharpless istodobno su otkrili da se upotrebom Cu(I) kao katalizatora izolira samo 1,4- regioizomer.¹⁰ (shema 3).



Shema 3. Prikaz CuAAC reakcije.

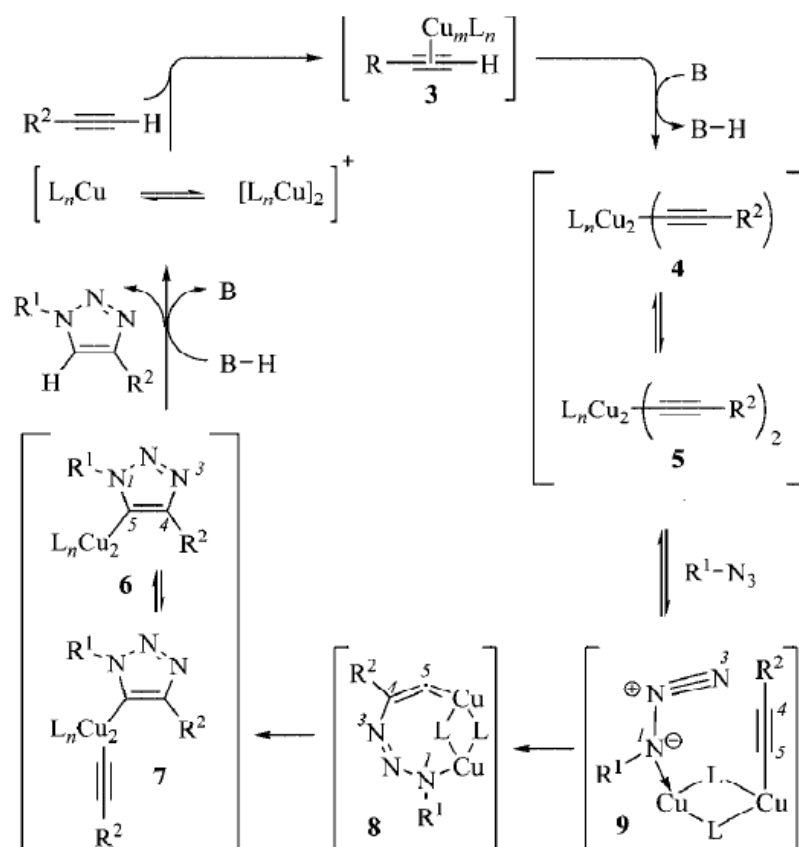
Učinkovitost CuAAC (1,3-dipolarna cikloadicija terminalnih alkina i azida s Cu(I) kao katalizatorom) reakcije na sobnoj temperaturi je velika. Reakcija se može provesti korištenjem komercijalnih izvora Cu(I), kao što je bakrov bromid ili bakrov jodid. Također, može se koristiti i izvor Cu(II) (najčešće bakrov sulfat) koji se *in situ* prevodi u Cu(I) pomoću redukcijskog sredstva kao što je natrijev askorbat ili Cu žica. CuAAC reakcija može se provesti u različitim otapalima kao što je voda, etanol, *tert*-butil alkohol i slično.¹¹ Poželjno je izbjegavati acetonitril kao otapalo zbog snažnog djelovanja nitrila prema Cu(I). Otopljenost polaznih reagensa ne utječe na uspješnost reakcije.

Ostale prednosti CuAAC reakcije uključuju njenu djelotvornost u fiziološkim uvjetima, kemijska selektivnost koja omogućuje označavanje funkcionalnih biomolekula kao što su peptidi, proteini, nukleinske kiseline, polisaharidi i slično.¹² S obzirom da bakar kao

katalizator može imat štetne učinke povezane s toksičnošću¹³, u znanstvenoj zajednici veliki interes su izazvale alternative za korištenje drugih metala kao katalizatora u 'klik' reakciji.¹⁴

2.1.3. Mehanizam CuAAC reakcije

CuAAC reakcija odvija se brže od 10^7 do 10^8 puta u usporedbi s nekataliziranom 1,3-dipolarnom cikloadicijom. Može se provesti pri širokom rasponu temperatura i pH vrijednosti te pri raznim otapalima. Čisti produkti mogu se izolirati filtracijom ili ekstrakcijom bez kromatografije ili rekristalizacije.¹⁵ Kao što je poznato, djelovanje katalizatora zasniva se na činjenici da oni smanjuju energiju aktivacije reaktanata, čime povećavaju brzinu reakcije, pri čemu ne utječu na termodinamičku ravnotežu reakcije. U ovom slučaju kao katalizator se koristi bakrov ion oksidacijskog stanja Cu(I) koji snižava energiju aktivacije za približno 11 kcal/mol.¹⁶ Prema slici 1 prvi stupanj katalizirane reakcije je stvaranje π -kompleksa između Cu(I) i π elektrona trostruke veze kod alkina¹⁷.



Slika 1. Mehanizam CuAAC reakcije.

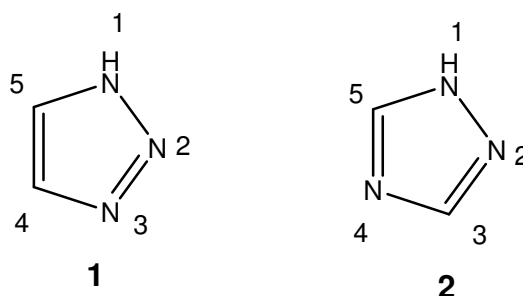
Nastajanje bakrova kompleksa dovodi do snižavanja pK_a vodikovog atoma alkina do 9,8 jedinica, što omogućuje deprotonaciju u vodenim otapalima bez dodatka baze.¹⁸

Drugi ion Cu(I) služi kao poveznica između alkina i azida te tako omogućava nukleofilni napad ugljikovog atoma alkina C(4) na dušikov atom azida N(3).

Istraživanja pokazuju da je kinetika reakcije drugog reda prema koncentraciji Cu(I) i koncentraciji alkina. Povećanjem koncentracije Cu(I) reakcija je između prvoga i drugoga kinetičkog reda.¹⁹

2.2. 1,2,3 – triazoli

Triazoli su peteročlani heterociklički aromatski prsteni molekulske formule $C_2H_3N_3$. Poznata su dva izomerna oblika triazola: 1,2,3-triazol (**1**) i 1,2,4-triazol (**2**), koji se razlikuju u rasporedu dušikovih atoma unutar prstena (slika 2).²⁰



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

Na slici 3 prikazani su tautomerni oblici u kojima se mijenja položaj vodika na dušikovim atomima.



Slika 3. Strukture 1H-1,2,3-triazola i 2H-1,2,3-triazol.

Struktura triazola je iznenađujuće stabilna s obzirom na druge organske spojeve s tri susjedna dušikova atoma. Prsten je stabilan na sobnoj temperaturi, dok pri pirolizi na 500 °C dolazi do gubitka dušika i nastaje azirdin. Iako se u prirodi ne pojavljuju, sintetske molekule koje sadrže 1,2,3-triazolni prsten imaju veliku biološku aktivnost. Triazolni prsten nalazimo u strukturama koje posjeduju antitumorska, antivirusna i antimikrobna djelovanja.²¹

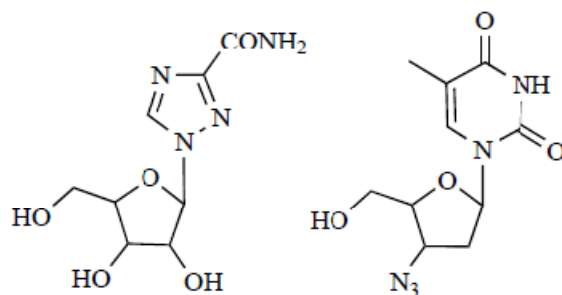
Derivate triazola nalazimo u raznim farmaceuticima kao što su: antibiotici, inhibitori HIV proteaze, antituberkulotici i antitumorski lijekovi.²² Koriste se kao lijekovi protiv gljivica, fungicidi u poljoprivredi, inhibitori su za mnoge metale i legure te u industriji služe kao boje i bjelila za vlakna.²³

1,2,3-triazoli mogu se sintetizirati na razne načine. Jedan od njih je pomoću 1,3-dipolarne cikloadicije uz prisutnost katalizatora bakra ili rutenija.²⁴

2.2.1. Biološka aktivnost triazola

U posljednjih nekoliko godina 1,2,3-triazoli privukli su veliku pozornost zbog izražene biološke aktivnosti prema raznim virusima i malignim stanicama mikroorganizama. 1,2,3-triazoli imaju značajno biološko djelovanje jer djeluju kao rigidne poveznice kojima imitiraju atome i elektronska svojstva peptidne veze te su otporni na hidrolitičku razgradnju.²⁵

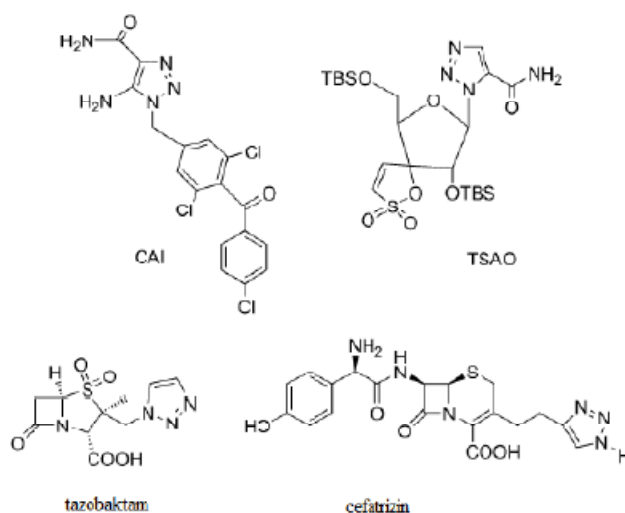
Razvijeni su brojni nukleozidni analozi koji u svojoj strukturi sadrže 1,2,3-triazol koji su se pokazali kao snažni antivirusni i antitumorski kemoterapeutici. Uspješno su razvijeni brojni nukleozidni analozi za liječenje humanog virusa imunodeficijencije (HIV), virusa hepatitisa B (HBV), virusa hepatitisa C (HCV), herpes simpleks virusa (HSV), citomegalovirusa (CHV) i varicella zoster virusa (VZV). Uvođenje triazolnog prstena u nukleozidne derivate postalo je često u praksi dizajniranja lijekova zbog poboljšanja biološke aktivnosti u antitumorske ili antivirusne svrhe. Ribavirin (slika 4) je prvi triazolni nukleozid sa snažnim antivirusnim djelovanjem²⁶ protiv virusa hepatitisa C te se danas koristi diljem svijeta.²⁷ Razvoj ribavirina i azidotimidina (zidovudin, AZT) (slika 4) dali su poticaj za sintezu i ispitivanje biološkog djelovanja brojnih 1,2,3-triazolnih nukleozida.²⁸



Slika 4. Strukture antivirusnih lijekova ribavirina i zidovudina (AZT).

Neki od potencijalnih lijekova koji su bazirani na 1,2,3-triazolnom prstenu su: karboksiamidotriazol (CAI), *tert*-butildimetilsililspiroaminooksatioldioksid (TSAO), β -laktamski antibiotik tazobaktam, cefalosporin cefatrizin.²⁹ Mnogi su 1,2,3-triazolni derivati na tržištu ili u zadnjim fazama kliničkih ispitivanja (slika 5).

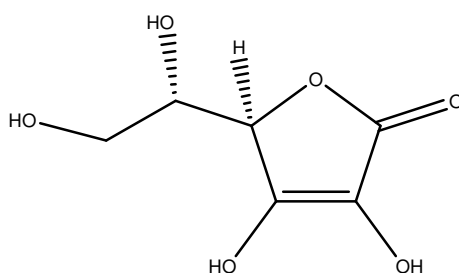
Karboksiamidotriazol (CAI) posjeduje antitumorsko djelovanje te sprječava rast tumora kao što su rak prostate i dojke. β -laktamski antibiotik tazobaktam je inhibitor bakterijskog enzima betalaktamaze te cefalosporin cefatrizin koji pokazuje izvrsnu aktivnost protiv gram-pozitivnih bakterija, a inhibira bakterije *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Proteus mirabilis*.



Slika 5. Potencijalni lijekovi bazirani na 1,2,3-triazolnom prstenu.

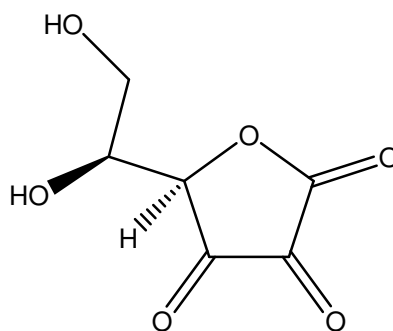
2.3. L-askorbinska kiselina

L-askorbinska kiselina (AscH_2 , vitamin C) je oksolakton sa šest ugljikovih atoma pa je po strukturi jako slična glukozu (slika 6). Jedan je od najispitivanijih i najviše opisanih vitamina i prvi sintetski dobiveni vitamin. Sudjeluje kao reducens u brojnim biološkim procesima. To je bijeli kristalni prah, bez mirisa, kiselog okusa i osjetljiv na svjetlost. Lako se otapa u vodi i u alkoholu te je praktički netopljiv u kloroformu i eteru. Najjači je antioksidans među vitaminima topljivim u vodi. Izuzetno je nestabilna i lako gubi svojstva skladištenjem i prokuhavanjem. Podložna je oksidaciji, posebno na zraku i pod utjecajem alkalija, željeza i bakra.



Slika 6. Struktura L-askorbinske kseline.

Svojim dehidro-oblikom (slika 7) sudjeluje u oksidacijsko-redukcijskim procesima i u staničnom disanju. Sudjeluje u prevođenju folne kiseline u folinsku kiselinu i u metabolizmu lijekova u mikrosomima i hidrosilacijidopamina u norepinefrin. L-askorbinska kiselina djeluje i na neke peptidne hormone (oksitocin, antidiuretski hormon, kolecistokinin), potičući aktivnost enzima odgovornih za njihovo djelovanje. Nadalje, L-askorbinska kiselina sudjeluje u redukciji trovalentnog oksidacijskog stanja (Fe^{3+}) u dvovalentno oksidacijsko stanje (Fe^{2+}), u redukciji bakra, u sintezi adrenokortikosteroida, te u sintezi međustanične tvari u kostima, zubima te kapilarnom endotelu.



Slika 7. Struktura dehidroaskorbinske kiseline (DHA).

2.3.1. Biološka aktivnost L-askorbinske kiseline

L-askorbinska kiselina uključena je u više od 300 bioloških procesa u organizmu među kojima se mogu izdvojiti:

- Biosinteza kolagena - L-askorbinska kiselina potrebna je *in vivo* (u živom organizmu) kao kofaktor za najmanje osam enzima. Najpoznatiji su prolinhidroksilaza i lizinhidroksilaza koji sudjeluju u biosintezi kolagena. Oba enzima na svojim aktivnim mjestima sadrže željezo. Kolagen sintetiziran u odsutnosti L-askorbinske kiseline nedovoljno je hidroksiliran, pa vlakna nisu čvrsta, što uzrokuje krhkost krvnih žila. Kolagen je inače temeljni protein vezivnog tkiva, nužan za izgradnju i zaštitu krvnih žila, za kosti, zglobove i mišiće.
- Hormonski sustav - L-askorbinska kiselina sudjeluje u sintezi hormona nadbubrežne žlijezde. Potrebna je za sintezu enzima dopamin- β -hidroksilaze koja sadrži bakar i pretvara dopamin u noradrenalin.
- Krvožilni sustav - L-askorbinska kiselina važna je u stvaranju kolesterola u jetri i njegovoj pretvorbi u žučne kiseline. Potiče normalnu razinu kolesterola i LDL kolesterola u krvi. Utječe i na normalnu cirkulaciju, što je važno za rad srca. Održava normalan krvni tlak.
- Živčani sustav - L-askorbinska kiselina sudjeluje u pretvorbi aminokiseline triptofana u serotonin, prijenosnik živčanih podražaja s brojnim funkcijama u živčanom sustavu.
- Slobodni radikali reagiraju s biološkim molekulama u organizmu (proteinima, nukleinskim kiselinama, staničnim lipidima) te mogu izazvati oštećenja biološkog sustava povezana s mnogim teškim oboljenjima (neurodegenerativna oboljenja, pojava

raka...). L-askorbinska kiselina djeluje *in vitro* kao antioksidans na nekoliko načina: uklanja radikale stvorene od nekih lijekova; štiti pluća od oštećenja, posebno od jakih zagađivača iz zraka, tako što reducira peroksidaciju masti iz dima cigarete; uklanja peroksi, sulfenil, urat, nitroksid i druge radikale. Ono što je ključno za mnoge antioksidacijske učinke L-askorbinske kiseline u reakciji s reaktivnim radikalima je davanje jednog elektrona od njegove molekule, što dovodi do nastajanja askorbil radikala koji predstavlja prilično neaktivan oblik.

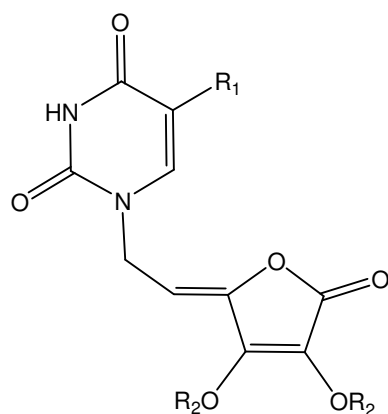
Neki radovi ukazuju na značajno djelovanje askorbinske kiseline protiv prehlade, dok drugi radovi to osporavaju.³⁰ Djelovanje vitamina C povezuje se s njegovim antihistaminskim djelovanjem te se koncentracija histamina u krvi zamorca i čovjeka eksponencijalno se povećava kada koncentracija askorbinske kiseline u plazmi padne ispod 1 mg%.³¹

Askorbinska kiselina ima pozitivan učinak na duljinu života bolesnika oboljelih od raka. Utječe na smanjenje količine endoplazmatskog retikuluma u stanicama sarkoma.³² Nadalje, ukoliko se kombinira kemoterapija neuroblastoma i zloćudnog melanoma *in vitro* tumorske stanice se vraćaju u normalne stanice.³³

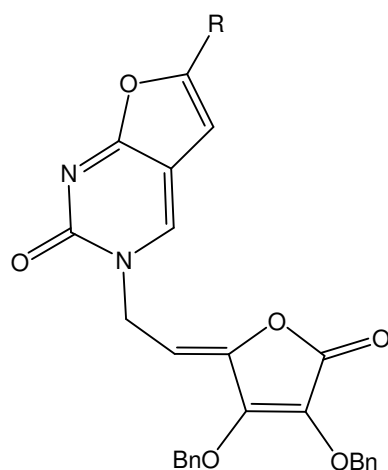
Derivati L-askorbinske kiseline, poput 6-brom-, 6-amino- i *N,N*-dimetil-6-amino-6-deoksi-L-askorbinske kiseline inhibiraju rast stanica zloćudnih tumora kod čovjeka: vrata maternice (HeLa), grkljana (Hep 2) i gušterače (MiaPaCa 2).³⁴

Mnogi pirimidinski derivati L-askorbinske kiseline pokazali su značajno antiproliferativno djelovanje na tumorske stanice porijeklom iz čovjeka (slika 8).

Neki purinski derivati L-askorbinske kiseline pokazuju izraženo antitumorsko djelovanje na stanice mišje leukemije (L1210/0), karcinoma dojke miša (FM3A) i zloćudno preobražene T-limfocite (Molt4/C8 i CEM/0).³⁴



IC ₅₀ L1210, Molt4/C8, CEM, HeLa, MiaPaCa-2, SW 620, MCF-7, H-460	
R ₁ = octyl; R ₂ = Bn	2–12 μM
R ₁ = ethynyl- (p-pentyl-Ph) ; R ₂ = Bn	3–10 μM
R ₁ =ethynyl (p-butyl-Ph) ; R ₂ = Bn	4–17 μM
R ₁ = propynyl; R ₂ = Bn	0,2–0,78 μM
R ₁ = furyl; R ₂ = Bn	1,6–7,0 μM
R ₁ = vinyl; R ₂ = Bn	3,8–22,0 μM
R ₁ = ethynyl; R ₂ = Bn	2,9–8,7 μM
R ₁ = isopentyl; R ₂ = Bn	2–8,3 μM
R ₁ = ethynyl-Ph, R ₂ = H	1–8,2 μM



IC ₅₀ L1210, Molt4/C8, CEM, HeLa, MiaPaCa-2, SW 620, MCF-7, H-460	
R = butyl	4,5–20 μM
R = p-Br-Ph	

Slika 8. C-5 supstituirani arilni, alkenilni, alkinilpirimidinski i furo[2,3-*d*]pirimidinski derivati 4',5'-didehidro-L-askorbinske kiseline s citotoksičnim djelovanjem.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

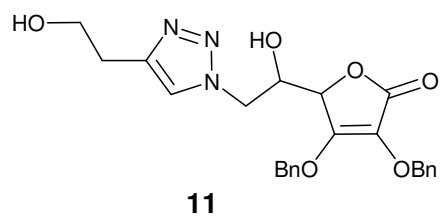
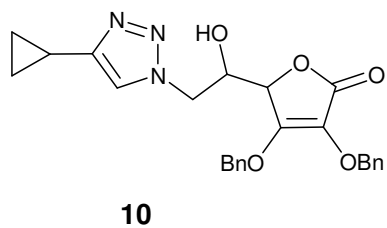
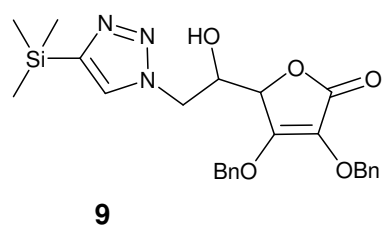
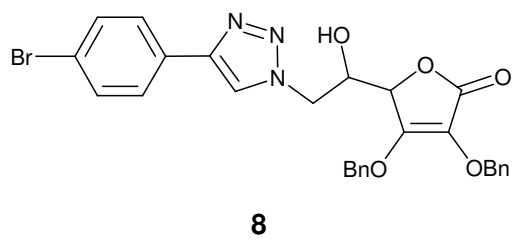
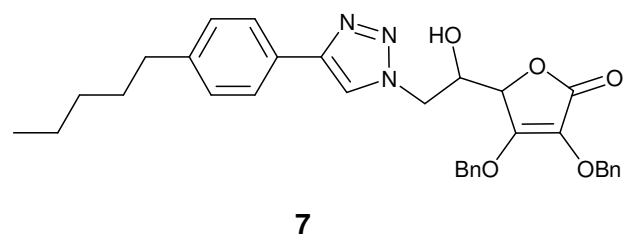
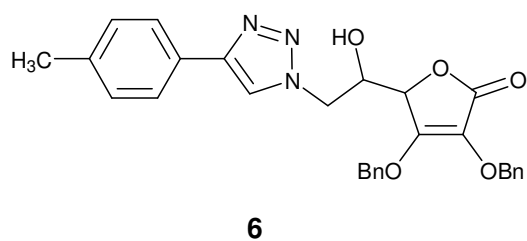
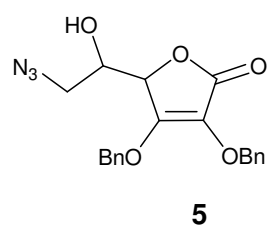
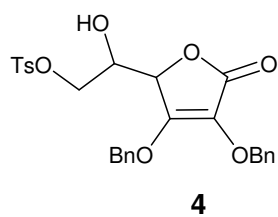
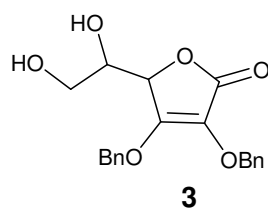
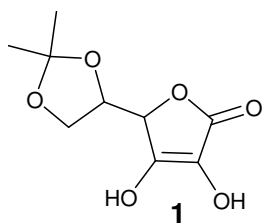
3.1. Opće napomene

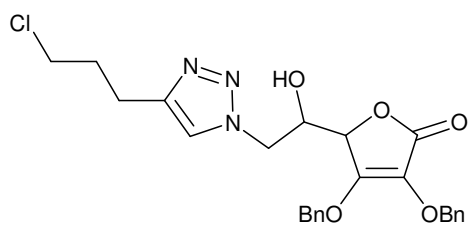
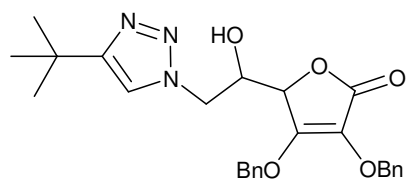
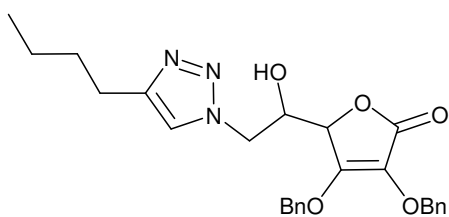
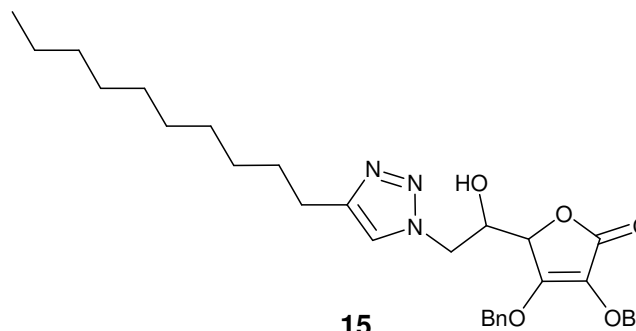
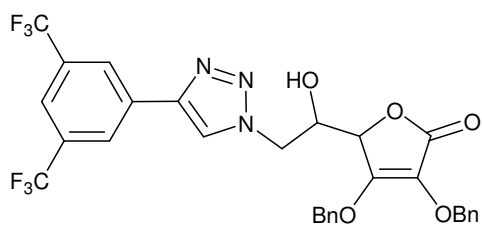
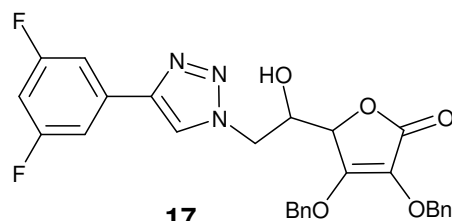
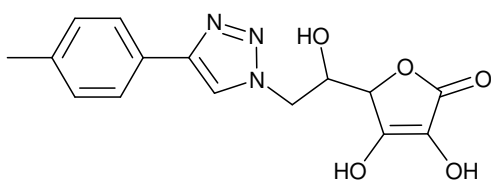
Sva korištena otapala sušena su i pročišćavana prema preporučenom postupku sušenja agensima i/ili destiliranjem preko molekulskih sita veličine 3Å. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom (TLC), koja je provedena na pločama 60F-254 presvučenim slojem silikagela Merck u odgovarajućem sustavu otapala. Za detekciju izoliranih komponenata korištena je UV-svjetlost valne duljine 254 nm.

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

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 DMSO na δ2.50 ppm za ¹H i δ39.50 ppm za ¹³C. Pojedine rezonancije su pridružene na temelju kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta signala i H-H konstante sprege.

3.2. Pregled sintetiziranih spojeva



**12****13****14****15****16****17****18**

3.3. Postupci za pripravu spojeva od 1–18

5,6-*O,O*-izopropiliden-L-askorbinskakiselina (1)³⁵

L-askorbinska kiselina otopi se (156 g; 0,89 mol) u acetonu (186 ml) i otopini se lagano dokapa acetil klorid (14 ml). Reakcijska smjesa se miješa 4h na sobnoj temperaturi, a nakon toga se ostavi u hladnjaku 24 h na 0 °C. Tijek reakcije provjerava se tankoslojnom kromatografijom (diklormetan : metanol = 10 : 1). Nastali bijeli kristali se odfiltriraju i pritom nekoliko puta isperu hladnim acetonom. Dobiven je spoj **1** (162,7 g; 85 %).

2,3-*O,O*-dibenzil-L-askorbinska kiselina (3)³⁶

2,3-*O,O*-dibenzil-5,6-*O,O*-izopropiliden-L-askorbinskakiselina (13,5 g; 0,06 mol) otopi se u MeOH (137 ml) doda se 50 % octena kiselina (200 ml, 100 ml octene kiseline i 100 ml vode). Reakcijska smjesa ostavi se uz miješanje preko noći na temperaturi 70–80 °C. Otapalo se upari pod sniženim tlakom, a ostatak nakon uparavanja ekstrahira (etil-acetat : vodena otopina NaCl; vodena otopina Na₂CO₃). Etil-acetat se upari, a ostatak pročisti kolonskom kromatografijom (diklormetan : metanol = 40 : 1). Dobiven je uljasti spoj **3** (8,6 g; 70,6 %).

6-*O*-tosil-2,3-*O,O*-dibenzil-L-askorbinska kiselina (4)³⁷

Spoj **2** (2,7 g; 7,6 mmol) otopi se u suhom diklormetanu (22 ml) i suhom piridinu (7 ml) te se reakcijska smjesa miješa na 0 °C u atmosferi argona. Otopini se kroz 2 h dokapa otopina *p*-toluensulfonil-klorida (1,6 g; 8,4 mmol) u diklormetanu (15 ml). Reakcijska smjesa se miješa preko noći na sobnoj temperaturi. Otapalo se upari pod sniženim tlakom (koupavanje s toluenom). Ostatak nakon uparavanja se ekstrahira (diklormetan : voda i zasićena otopina NaHCO₃). Organski sloj se suši iznad MgSO₄. MgSO₄ se odfiltrira, a filtrat upari i pročisti kolonskom kromatografijomna silikagelu (diklormetan : metanol = 200 : 1). Spoj **4** izoliran je kao bijeli prah (2,7 g; 65,9 %).

C-6-azido-2,3-O,O-dibenzil-L-skorbinska kiselina (5)

Spoj **3** (400 mg; 0,78 mmol) otopi se u DMF-u (20 ml). Otopini se dokapa NaN₃ (254,4 mg; 3,91 mmol) otopljen u vodi (2 ml). Reakcijska smjesa miješa se preko noći na 80 °C. Otapalo se upari, a ostatak nakon uparavanja se ekstrahira (etil-acetat: voda). Organski sloj se suši iznad MgSO₄. MgSO₄ se odfiltrira, a filtrat upari pod sniženim tlakom i pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 200 :1). Dobiven je spoj **5** kao ulje (196 mg; 65,6 %).

¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 7,50 – 7,26 (m, 10H, OCH₂Ph), 5,71 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H, H-4), 5,24 (dd, *J* = 29,7, 11,7 Hz, 2H, OCH₂Ph), 4,98 (q, *J* = 11,2 Hz, 2H, OCH₂Ph), 4,87 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H, OH), 3,97 – 3,79 (m, 1H, H-5), 3,39 (ddd, *J* = 12,6; 10,4; 6,3 Hz, 2H, H-6).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO) δ 169,00 (C-1), 157,37 (C-3), 136,15 (Ph-q), 135,63 (Ph-q), 128,65 (Ph), 128,44 (Ph), 128,44 (Ph), 128,39 (Ph), 128,35 (Ph), 127,73 (Ph), 120,92 (C-2), 75,73 (C-4), 73,61 (OCH₂Ph), 72,75 (OCH₂Ph), 67,66 (C-5), 52,72 (C-6).

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

Metoda A: Spoj **4** (75 mg; 0,20 mmol) otopi se u DMF-u (1 ml). Nakon toga se u reakcijsku smjesu doda *tert*-butanol (1,5 ml) i voda (1,5 ml). Otopini se doda 1-etinil-4-metilbenzen (1,2 eq; 0,03 ml), potom Cu žica (0,4 eq; 10,2 mg; 0,16 mmol) i 1 M otopina CuSO₄ x 5H₂O (0,3eq; 0,06 ml). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 1 h na 80 °C (300 W). Nakon završetka reakcije otapalo se upari pod sniženim tlakom, a ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 200 :1). Izoliran je bijeli praškasti spoj **6** (49,2 mg; 49,8%).

Metoda B: Spoj **3** (300 mg; 0,59 mmol) otopi se u DMF-u (7 ml). Otopini se dokapa NaN₃ (95,4 mg; 1,47 mmol) otopljen u vodi (4,5 ml). U reakcijsku smjesu se doda 1-etinil-4-metilbenzen (1,2 eq; 0,1 ml), potom Cu žica (0,4 eq; 30,5 mg) i 1 M otopina CuSO₄ x 5H₂O (0,3 eq; 0,18 ml). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 1 h na 80 °C (300 W). Otapalo se upari pod sniženim tlakom, a produkt se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 200 :1). Dobiven je bijeli praškasti spoj **6** (87,9 mg; 30,1 %).

^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8,52 (s, 1H, H-7), 7,72 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H, Ph-2', 6'), 7,43-7,21 (m, 12H, OCH_2Ph , Ph-3', 5'), 5,73 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H), 5,23 (dd, $J = 24,3; 11,6$ Hz, 2H, OCH_2Ph), 5,04-4,95 (m, 3H, OCH_2Ph , OH), 4,69 (dd, $J = 13,7; 3,6$ Hz, 1H, H-6), 4,43 (dd, $J = 13,7; 9,5$ Hz, 1H, H-6), 4,28 – 4,17 (m, 1H, H-5), 2,33 (s, 3H, CH_3).

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

Spoj **4** (75 mg; 0,20 mmol) otopi se u DMF-u (1 ml). Nakon toga se u reakcijsku smjesu doda *tert*-butanol (1,5 ml) i voda (1,5 ml). Otopini se doda 1-etinil-4-pentilbenzen (1,2 eq; 0,05 ml), potom Cu žica (0,4 eq; 10,2 mg; 0,16 mmol) i 1 M otopina $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ (0,3eq; 0,04 ml). Reakcijska smjesa se miješa na sobnoj temperaturi preko noći. Nakon završetka reakcije otapalo se upari pod sniženim tlakom. Produkt se izolira kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 200 :1). Izoliran je bijeli praškasti spoj **7** (63,9 mg; 58,7%).

^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8,53 (s, 1H, H-7), 7,74 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H, Ph-2',6'), 7,51 – 7,11 (m, 12H, OCH_2Ph , Ph-3',5'), 5,75 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H, H-4), 5,22 (dd, $J = 24,1; 11,6$ Hz, 2H, OCH_2Ph), 5,04-4,95 (m, 2H, OCH_2Ph , OH), 4,70 (dd, $J = 13,7; 3,6$ Hz, 1H, H-6), 4,43 (dd, $J = 13,7; 9,5$ Hz, 1H, H-6), 4,27 – 4,17 (m, 1H, H-5), 2,67 – 2,52 (m, 2H, H-1'), 1,59 (k, $J = 7,5$ Hz, 2H, H-2'), 1,35 – 1,15 (m, 4H, H-3', H-4'), 0,86 (t, $J = 6,8$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 168,94 (C-1), 157,14 (C-3), 146,14 (C-8), 141,96 (Ph-q), 136,09 (Ph-q), 135,54 (Ph-q), 128,69 (Ph), 128,63 (Ph), 128,41 (Ph), 128,39 (Ph), 128,37 (Ph), 128,31 (Ph), 128,23 (Ph-q), 127,73 (Ph), 125,04 (Ph), 121,99 (C-7), 121,01 (C-2), 75,54 (C-4), 73,61 (OCH_2Ph), 72,78 (OCH_2Ph), 67,25 (C-5), 52,39 (C-6), 34,77 (C-1'), 30,78 (C-3'), 30,40 (C-2'), 21,84 (C-4'), 13,81 (CH_3).

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

Metoda A: Spoj **4** (300 mg; 0,79 mmol) otopi se u DMF-u (3 ml). Nakon toga se u reakcijsku smjesu doda *tert*-butanol (3 ml) i voda (3 ml). Otopini se doda 1-brom-4-etinilbenzen (1,2 eq; 178,0 mg; 0,98 mmol), potom Cu žica (0,4 eq; 40,9 mg; 0,64 mmol) i 1 M otopina $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ (0,3eq; 0,24 ml). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 1 h na 80 °C (300 W). Nakon završetka reakcije otapalo se upari pod

sniženim tlakom. Produkt se izolira kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 200 :1). Izoliran je spoj **8** kao bijeli prah (296,1 mg; 66,9%).

Metoda B: Spoj **3** (350 mg; 0,69 mmol) otopi se u DMF-u (8 ml). Otopini se dokapa NaN_3 (111,6 mg; 1,72 mmol) otopljen uvodi (3,5 ml) . U reakcijsku smjesu se doda 1-etinil-4-metilbenzen (1,2 eq; 0,1 ml), potom Cu žica (0,4 eq; 30,5 mg) i 1 M otopina $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ (0,3 eq; 0,18 ml). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 1 h na 80 °C (300 W). Otapalo se upari pod sniženim tlakom, a produkt se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 200 :1). Izoliran je spoj **8** kao bijeli prah (53 mg; 13,7 %).

^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8,65 (s, 1H, H-7), 7,80 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, Ph-2',6'), 7,65 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, Ph-3',5'), 7,46 – 7,26 (m, 10H, OCH_2Ph), 5,75 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H, H-4), 5,22 (dd, $J = 45,3; 11,6$ Hz, 2H, OCH_2Ph), 5,03 (d, $J = 1,1$ Hz, 1H, OH), 4,99 (q, $J = 11,2$ Hz, 2H, OCH_2Ph), 4,71 (dd, $J = 13,8; 3,6$ Hz, 1H, H-6), 4,44 (dd, $J = 13,8; 9,6$ Hz, 1H, H-6), 4,25 – 4,19 (m, 1H, H-5).

6-[4-(4-trimetilsililfenil)-1,2,3-triazol-1-il]-2,3-O,O-dibenzil-L-askorbinska kiselina (9)

Spoj **4** (205 mg; 0,54 mmol) otopi se u DMF-u (4 ml). Nakon toga se u reakcijsku smjesu doda *tert*-butanol (3 ml) i voda (3 ml). Otopini se doda etiniltrimetilsilan (1,2 eq; 0,5ml), potom Cu žica (0,4 eq; 28,4 mg; 0,45 mmol) i 1 M otopina $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ (0,3eq; 0,2 ml). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 1 h na 80 °C (300 W). Nakon završetka reakcije otapalo se upari pod sniženim tlakom. Produkt se izolira kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 200 :1). Izoliran je spoj **9** kao bijeli prah (109,8 mg; 42,6%).

^1H NMR (600 MHz, CD_3CN) δ 8,14 (s, 1H, H-7), 7,53 – 7,22 (m, 10H, CH_2Ph), 5,65 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H, H-4), 5,22 (dd, $J = 49,3; 11,6$ Hz, 2H, OCH_2Ph), 5,07 – 4,89 (m, 3H, OCH_2Ph , OH), 4,66 (dd, $J = 13,7; 3,6$ Hz, 1H, H-6), 4,41 (dd, $J = 13,8; 9,6$ Hz, 1H, H-6), 4,20-4,13 (m, 1H, H-5), 0,25 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3\text{Si}$).

6-(4-ciklopropil-1,2,3-triazol-1-il)-2,3-O,O-dibenzil-L-askorbinska kiselina (10)

Metoda A: Spoj **4** (212,3 mg; 0,56 mmol) otopi se u DMF-u (3 ml). Nakon toga se u reakcijsku smjesu doda *tert*-butanol (3 ml) i voda (3 ml). Otopini se doda etinilciklopropan (1,2 eq; 0,06 ml), potom Cu žica (0,4 eq; 29,0 mg; 0,46 mmol) i 1 M otopina CuSO₄ x 5H₂O (0,3eq; 0,17 ml). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 1 h na 80 °C (300 W). Nakon završetka reakcije otapalo se upari pod sniženim tlakom. Produkt se izolira kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 200 :1). Izoliran je spoj **10** kao bijeli prah (137,5 mg; 54,9 %).

Metoda B: Spoj **3** (300 mg; 0,59 mmol) otopi se u DMF-u (7 ml). U vodi (3 ml) se otopi NaN₃ (95,7 mg; 1,47 mmol) te se lagano dokapava u reakcijsku smjesu. U smjesu se doda etinilciklopropan (1,2 eq; 0,06 ml), potom Cu žica (0,4 eq; 30,6 mg) i 1 M otopina CuSO₄ x 5H₂O (0,3 eq; 0,18 ml). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 1 h na 80 °C (300 W). Nakon završetka reakcije otapalo se upari pod sniženim tlakom. Produkt se izolira kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 200 :1). Izoliran je spoj **10** kao bijeli prah (28 mg; 10,6 %).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7,83 (s, 1H, H-7), 7,49 – 7,25 (m, 10H, OCH₂Ph), 5,64 (d, *J* = 6,5 Hz, 1H, H-4), 5,21 (q, *J* = 11,6 Hz, 2H, OCH₂Ph), 5,02-4,96 (m, 2H, OCH₂Ph), 4,93 (d, *J* = 1,3 Hz, 1H, OH), 4,56 (dd, *J* = 13,7; 3,8 Hz, 1H, H-6), 4,31 (dd, *J* = 13,7; 9,3 Hz, 1H, H-6), 4,19 – 4,03 (m, 1Hf, H-5), 1,97-1,88 (m, 1H, H-1'), 0,94 – 0,74 (m, 2H, H'), 0,76 – 0,49 (m, 2H, H').

6-[4-(2-hidroksietil)-1,2,3-triazol-1-il]-2,3-O,O-dibenzil-L-askorbinska kiselina (11)

Spoj **4** (222 mg; 0,58 mmol) otopi se u DMF-u (3 ml). Nakon toga se u reakcijsku smjesu doda *tert*-butanol (3 ml) i voda (3 ml). Otopini se doda but-3-in-1-ol (1,2 eq; 0,06 ml), potom Cu žica (0,4 eq; 30,3 mg; 0,48 mmol) i 1 M otopina CuSO₄ x 5H₂O (0,3eq; 0,17 ml). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 1 h na 80 °C (300 W). Nakon završetka reakcije otapalo se upari pod sniženim tlakom. Produkt se izolira kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 200 :1). Izoliran je spoj **11** kao bijeli prah (88,2 mg; 33,7 %).

^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7,87 (s, 1H, H-7), 7,56 – 7,19 (m, 10H, OCH_2Ph), 5,64 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H, H-4), 5,22 (dd, $J = 23,3, 11,7$ Hz, 2H, OCH_2Ph), 5,04-4,96 (m, 2H, OCH_2Ph), 4,93 (d, $J = 1,3$ Hz, 1H, OH), 4,63 (t, $J = 5,3$ Hz, 1H, OH), 4,61-4,55 (m, 1H, H-6), 4,35 (dd, $J = 13,7; 9,3$ Hz, 1H, H-6), 4,19 – 4,08 (m, 1H, H-5), 3,62 (dd, $J = 12,3; 6,9$ Hz, 2H, H-2'), 2,76 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H, H-1').

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 169,01 (C-1), 157,22 (C-3), 144,00 (C-8), 136,10 (Ph-q), 135,56 (Ph-q), 128,67 (Ph), 128,45 (Ph), 128,42 (Ph), 128,36 (Ph), 127,77 (Ph), 123,42 (C-7), 120,96 (C-2), 75,57 (C-4), 73,64 (OCH_2Ph), 72,78 (OCH_2Ph), 67,36 (C-5), 60,35 (C-2'), 52,06 (C-6), 29,11 (C-1').

6-[4-(3-klorpropil)-1,2,3-triazol-1-il]-2,3-O,O-dibenzil-L-askorbinska kiselina (12)

Spoj **4** (258,5 mg; 0,68 mmol) otopi se u DMF-u 4 ml). Nakon toga se u reakcijsku smjesu doda *tert*-butanol (3 ml) i voda (3 ml). Otopini se doda 5-klorpentin (1,2 eq; 0,12 ml), potom Cu žica (0,4 eq; 35,3 mg; 0,55 mmol) i 1 M otopina $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ (0,3eq; 0,20 ml). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 1 h na 80 °C (300 W). Nakon završetka reakcije otapalo se upari pod sniženim tlakom. Produkt se izolira kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 200 :1). Izoliran je spoj **12** kao bijeli prah (232,2 mg; 70,8 %).

^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7,91 (s, 1H, H-7), 7,53 – 6,95 (m, 10H, OCH_2Ph), 5,65 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H, H-4), 5,22 (q, $J = 11,7$ Hz, 2H, OCH_2Ph), 4,98 (d, $J = 1,9$ Hz, 2H, OCH_2Ph), 4,94 (d, $J = 1,3$ Hz, 1H, OH), 4,60 (dd, $J = 13,7; 3,8$ Hz, 1H, H-6), 4,35 (dd, $J = 13,7; 9,3$ Hz, 1H, H-6), 4,22 – 4,02 (m, 1H, H-5), 3,68 (t, $J = 6,5$ Hz, 1H, H-3'), 2,75 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H, H-1'), 2,12 – 1,92 (m, 2H, H-2').

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 169,28 (C-1), 157,48 (C-3), 145,42 (C-8), 136,23 (Ph-q), 135,69 (Ph-q), 128,90 (Ph), 128,67 (Ph), 128,64 (Ph), 128,60 (Ph), 128,12 (Ph), 127,98 (Ph), 123,39 (C-7), 121,06 (C-2), 75,75 (C-4), 73,84 (OCH_2Ph), 72,97 (OCH_2Ph), 67,46 (C-5), 52,33 (C-6), 44,85 (C-3'), 31,88 (C-1'), 22,37 (C-2').

6-[4-*tert*-butil-1,2,3-triazol-1-il]-2,3-*O,O*-dibenzil-L-askorbinska kiselina (13)

Spoj **4** (279 mg; 0,73 mmol) otopi se u DMF-u (4 ml). Nakon toga se u reakcijsku smjesu doda *tert*-butanol (3 ml) i voda (3 ml). Otopini se doda 3,3-dimetilbutin (1,2 eq; 0,14 ml), potom Cu žica (0,4 eq; 38,0 mg; 0,60 mmol) i 1 M otopina CuSO₄ x 5H₂O (0,3eq; 0,22 ml). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 1 h na 80 °C (300 W). Nakon završetka reakcije otapalo se upari pod sniženim tlakom. Produkt se izolira kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 200 :1). Izoliran je bijeli praškasti spoj **13** (242,8 mg; 55,6 %).

¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 7,85 (s, 1H, H-7), 7,44 – 7,28 (m, 10H, OCH₂Ph), 5,64 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H, H-4), 5,23 (dd, *J* = 48,9; 11,6 Hz, 2H, OCH₂Ph), 4,98 (q, *J* = 11,2 Hz, 2H, OCH₂Ph), 4,94 (d, *J* = 1,3 Hz, 1H, OH), 4,58 (dd, *J* = 13,8; 3,7 Hz, 1H, H-6), 4,33 (dd, *J* = 13,8; 9,4 Hz, 1H, H-6), 4,19 – 4,14 (m, 1H, H-5), 1,27 (s, 9H, 3 x CH₃).

6-[4-butil-1,2,3-triazol-1-il]-2,3-*O,O*-dibenzil-L-askorbinska kiselina (14)

Spoj **4** (208 mg; 0,54 mmol) otopi se u DMF-u (4 ml). Nakon toga se u reakcijsku smjesu doda *tert*-butanol (3 ml) i voda (3 ml). Otopini se doda heksin (1,2 eq; 0,15 ml), potom Cu žica (0,4 eq; 28,4 mg; 0,45 mmol) i 1 M otopina CuSO₄ x 5H₂O (0,3eq; 0,16 ml). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 1 h na 80 °C (300 W). Nakon završetka reakcije otapalo se upari pod sniženim tlakom. Produkt se izolira kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 200 :1). Izoliran je spoj **14** kao bijeli prah (70 mg; 28 %).

¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 7,84 (s, 1H, H-7), 7,50 – 7,23 (m, 10H, OCH₂Ph), 5,63 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H, H-4), 5,22 (dd, *J* = 42,8, 11,6 Hz, 2H, OCH₂Ph), 4,98 (q, *J* = 11,2 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4,92 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H, OH), 4,58 (dd, *J* = 13,8; 3,9 Hz, 1H, H-6), 4,34 (dd, *J* = 13,8; 9,3 Hz, 1H, H-6), 4,17 – 4,12 (m, 1H, H-5), 2,60 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, H-1'), 1,68 – 1,50 (m, 2H, H-2'), 1,37-1,28 (m, 2H, H-3'), 0,89 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H, CH₃).

6-[4-decil-1,2,3-triazol-1-il]-2,3-O,O-dibenzil-L-askorbinska kiselina (15)

Spoj **4** (210 mg; 0,55 mmol) otopi se u DMF-u (4 ml). Nakon toga se u reakcijsku smjesu doda *tert*-butanol (3 ml) i voda (3 ml). Otopini se doda dodecin (1,2 eq; 0,18 ml), potom Cu žica (0,4 eq; 29,1 mg; 0,46 mmol) i 1 M otopina CuSO₄ x 5H₂O (0,3eq; 0,20 ml). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 1 h na 80 °C (300 W). Nakon završetka reakcije otapalo se upari pod sniženim tlakom. Produkt se izolira kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 200 :1). Izoliran je bijeli praškasti spoj **15** (167 mg; 55,3%).

¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 7,84 (s, 1H, H-7), 7,43-7,29 (m, 10H, OCH₂Ph), 5,62 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H, H-4), 5,22 (dd, *J* = 42,3; 11,7 Hz, 2H, OCH₂Ph), 4,98 (q, *J* = 11,2 Hz, 2H, OCH₂Ph), 4,91 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H, OH), 4,58 (dd, *J* = 13,8; 3,9 Hz, 1H, H-6), 4,34 (dd, *J* = 13,8; 9,3 Hz, 1H, H-6), 4,18 – 4,07 (m, 1H, H-5), 2,59 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, H-1'), 1,68 – 1,49 (m, 2H, H-2'), 1,34 – 1,22 (m, 14H, CH₂' x 7), 0,85 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO) δ 169,02 (C-1), 157,23 (C-3), 146,56 (C-8), 136,12 (Ph-q), 135,58 (Ph-q), 128,69 (Ph), 128,47 (Ph), 128,44 (Ph), 128,38 (Ph), 127,78 (Ph), 122,82 (C-7), 120,98 (C-2), 75,58 (C-4), 73,66 (OCH₂Ph), 72,79 (OCH₂Ph), 67,37 (C-5), 52,06 (C-6), 31,25 (C-1'), 28,96 (CH₂'), 28,95 (CH₂'), 28,93 (CH₂'), 28,76 (CH₂'), 28,66 (CH₂'), 28,58 (CH₂'), 24,96 (CH₂'), 22,06 (CH₂'), 13,92 (CH₃).

6-[4-(3,5-ditrifluorometilfenil)-1,2,3-triazol-1-il]-2,3-O,O-dibenzil-L-askorbinska kiselina (16)

Spoj **3** (300 mg; 0,59 mmol) otopi se u DMF-u (7 ml). U vodi (3 ml) se otopi NaN₃ (95,7 mg; 1,47 mmol) te se lagano dokapava u reakcijsku smjesu. U smjesu se doda 1-etinil-3,5-bis(trifluorometil)benzene (1,2 eq; 0,13 ml), potom Cu žica (0,4 eq; 30,6 mg) i 1 M otopina CuSO₄ x 5H₂O (0,3 eq; 0,18 ml). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 1 h na 80 °C (300 W). Nakon završetka reakcije otapalo se upari pod sniženim tlakom. Produkt se izolira kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 200 :1). Izoliran je bijeli praškasti spoj **16** (123,5 mg; 33,9 %).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9,02 (s, 1H, Ph-4'), 8,52 (s, 2H, Ph-2', Ph-6'), 8,07 (s, 1H, H-7), 7,45-7,30 (m, 10H, OCH₂Ph), 5,81 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H, H-4), 5,22 (dd, *J* = 25,4; 11,6 Hz,

2H, OCH₂Ph), 5,05 (bs, 1H, OH), 5,04 – 4,92 (m, 2H, OCH₂Ph), 4,77 (dd, $J = 13,8; 3,5$ Hz, 1H, H-6), 4,47 (dd, $J = 13,7; 9,5$ Hz, 1H, H-6), 4,28 – 4,13 (m, 1H, H-5).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO) δ 168,98 (C-1), 157,16 (C-3), 143,49 (C-8), 136,10 (Ph-q), 135,55 (Ph-q), 133,40 (Ph-1'), 131,72 (Ph), 131,28; 130,84 (Ph-3',5', $J^2 = 33$ Hz), 128,71 (Ph), 128,47 (Ph), 128,44 (Ph), 128,39 (Ph), 127,82 (Ph), 125,30 (Ph-4'), 125,05; 121,43 (CF₃, $J^1 = 272$ Hz), 124,50 (C-7), 120,97 (C-2), 75,49 (C-4), 73,66 (OCH₂Ph), 72,85 (OCH₂Ph), 67,17 (C-5), 52,74 (C-6).

6-[4-(3,5-difluorfenil)-1,2,3-triazol-1-il]-2,3-O,O-dibenzil-L-askorbinska kiselina (17)

Spoj **3** (300 mg; 0,59 mmol) otopi se u DMF-u (7 ml). U vodi (3 ml) se otopi NaN₃ (95,7 mg; 1,47 mmol) te se lagano dokapava u reakcijsku smjesu. U smjesu se doda 1-etinil-3,5-difluorbenzen (1,2 eq; 0,09 ml), potom Cu žica (0,4 eq; 30,6 mg) i 1 M otopina CuSO₄ x 5H₂O (0,3 eq; 0,18 ml). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 1 h na 80 °C (300 W). Nakon završetka reakcije otapalo se upari pod sniženim tlakom. Produkt se izolira kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 200 :1). Izoliran je spoj **17** kao bijeli prah. (35,8 mg; 11,7 %).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8,75 (s, 1H, H-7), 7,65 – 7,49 (m, 2H, Ph-2', Ph-6'), 7,47 – 7,28 (m, 10H, OCH₂Ph), 7,21 (tt, $J = 9,3; 2,3$ Hz, 1H, Ph-4'), 5,79 (d, $J = 6,7$ Hz, 1H, H-4), 5,22 (dd, $J = 25,2; 11,6$ Hz, 2H, OCH₂Ph), 5,05 (d, $J = 1,1$ Hz, 1H, OH), 5,04 – 4,93 (m, 2H, OCH₂Ph), 4,74 (dd, $J = 13,7; 3,4$ Hz, 1H, H-6), 4,44 (dd, $J = 13,8; 9,6$ Hz, 1H, H-6), 4,27 – 4,01 (m, 1H, H-5).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO) δ 169,64 (C-1), 164,14; 164,05; 162,51; 162,42 (dd, $^1J_{CF} = 245$ Hz; $^3J_{CF} = 13,4$ Hz), 157,77 (C-3), 144,62 (C-8), 136,36 (Ph-q), 135,84 (Ph-q), 134,49 (t, $^3J_{CF} = 10,7$ Hz, Ph-1'), 129,17 (Ph), 128,95 (Ph), 128,92 (Ph), 128,21 (Ph), 124,21 (C-7), 121,26 (C-2), 108,45 (d, $^2J_{CF} = 26,7$ Hz, Ph-2',6'), 103,50 (t, $^2J_{CF} = 25,9$ Hz, Ph-4'), 75,98 (C-4), 74,12 (OCH₂Ph), 73,27 (OCH₂Ph), 67,55 (C-5), 53,06 (C-6).

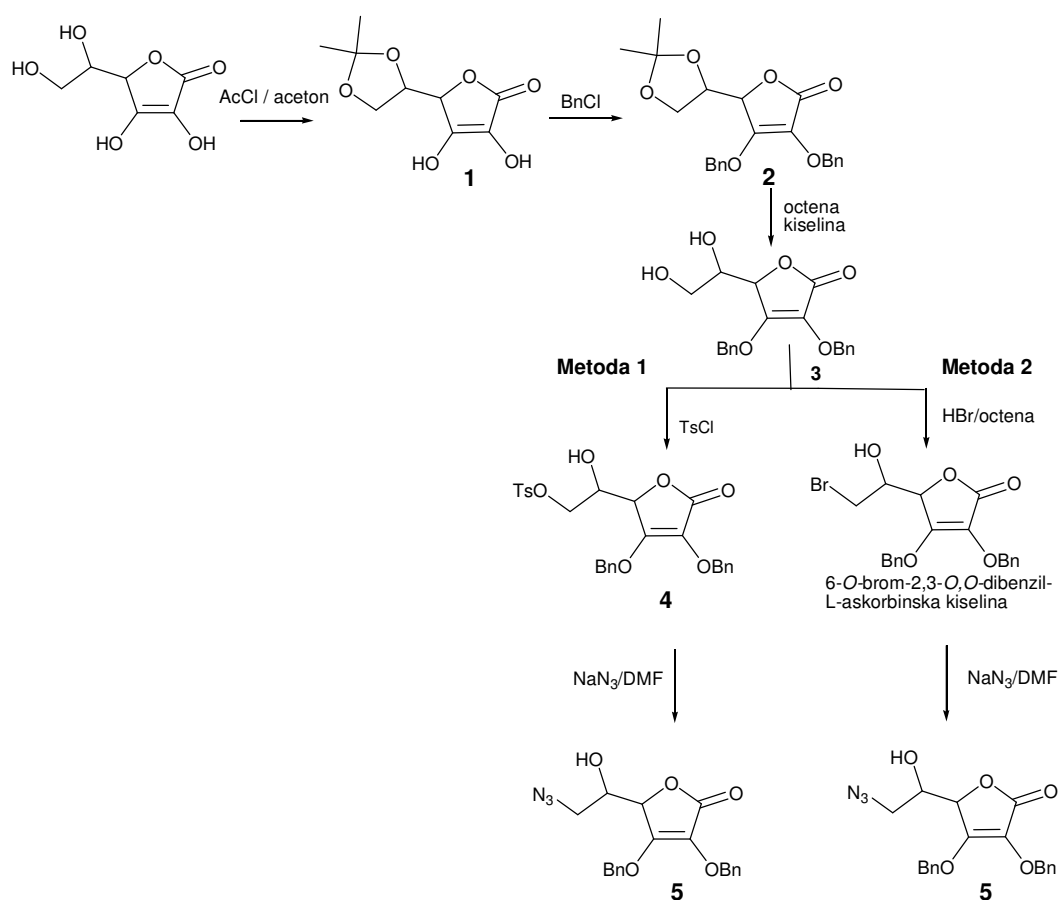
6-(4-tolil-1,2,3-triazol-1-il)-2,3-O,O-dihidroksi-L-askorbinska kiselina (18)

Otopini suhog spoja **6** (156,6 mg; 0,32 mmol) u suhomdikhlorometanu (20 ml) u atmosferi argona lagano se dokapa boron-triklorid (BCl₃, 1,9 ml) pri temperaturi -65 °C. Reakcijska smjesa se miješa 3 h na temperaturi -65 °C, a preko noći se ostavi u zamrzivaču. Sutradan se upari otapalo pod sniženim tlakom. Produkt se izolira kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklorometan : metanol = 200 :1). Dobiven je spoj **18** kao bijeli prah (65 mg; 65 %).

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Sinteze spojeva

Cilj ovog završnog rada bila je sinteza potencijalno biološki aktivnih C-6 supstituiranih 1,2,3-triazolnih derivata L-askorbinske kiseline Huisgenovom 1,3-dipolarnom cikloadicijom (shema 4 i 5). Kako bi se pripravio C-6 azidni derivat L-askorbinske kiseline **5** pristupilo se sintezi različito zaštićenih derivata L-askorbinske kiseline **1–4** (shema 4).



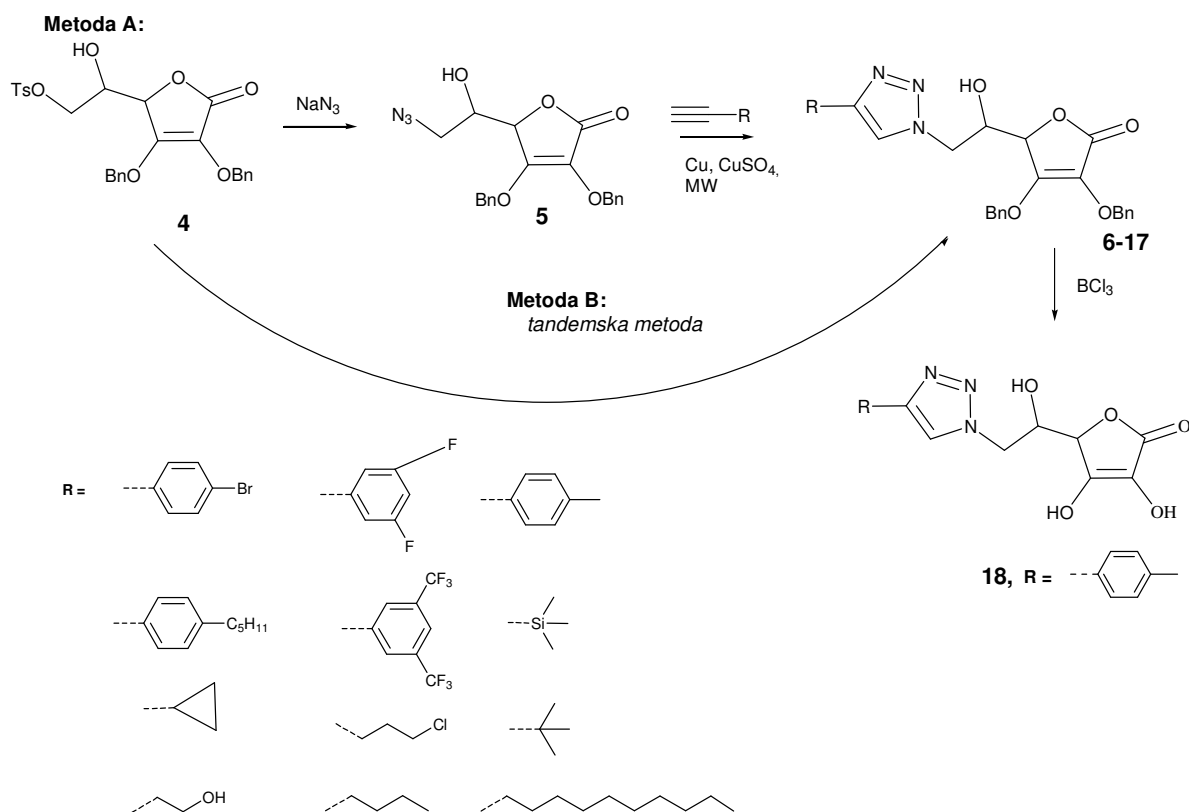
Shema 4. Sinteza C-6 azidnog derivata L-askorbinske kiseline **5**.

U prvom stupnju hidroksilne skupine L-askorbinske kiseline na položajima C-5 i C-6 zaštićene su izopropilidenskom zaštitom. Spoj **1** je sintetiziran reakcijom acetil-klorida i L-askorbinske kiseline u acetonu u iskorištenju od 85 %. Hidroksilne skupine na položajima C-2 i C-3 laktonskog prstena zaštićene su benzilnim skupinama reakcijom spoja **1** s benzil-kloridom i kalijevim karbonatom u DMF-u pri čemu je izoliran spoj **2**. Izopropilidenska zaštita uklonjena je reakcijom spoja **2** i octene kiseline u metanolu. Spoj **4** sintetiziran je reakcijom spoja **3** s *p*-toluensulfonil-kloridom u piridinu u iskorištenju od 65,9 %. U

konačnici provedena je reakcija spoja **4** i natrijevog azida pri čemu je tosilatna skupina zamijenjena azidnom skupinom i izoliran je spoj **5** u iskorištenju od 65,6 %.

Kao što je prikazano na shemi 4, moguća su dva sintetska puta za dobivanje spoja **5**. Prema metodi 1, za dobivanje C-6 azidnog derivata L-askorbinske kiseline, koristi se C-6 tosilni derivat **4**. Reakcijom spoja **4** s natrijevim azidom u DMF-u, izoliran je spoj **5**. Prema metodi 2, za dobivanje spoja **5** koristi se bromirani derivat L-askorbinske kiseline reakcijom spoja **3** i bromovodične kiseline u octenoj kiselini. Azidni derivat L-askorbinske kiseline, izoliran je reakcijom 6-O-brom-2,3-O,O-dibenzil-L-askorbinske kiseline i natrijevog azida. S obzirom da je metoda 1 dala bolje iskorištenje od metode 2, u ovom radu spojevi su pripremljeni isključivo metodom 1.

Nadalje, ciljani 1,2,3-triazolni derivati L-askorbinske kiseline **6–17** s različitim supstutentina na položaju C-4 triazola (fenilni, *tert*-butilni, alkilni, ciklopropilni, trimetilsililni) sintetizirani su reakcijom 1,3-dipolarne cikloadicije (shema 5). Regioselektivna sinteza je provedena uz Cu(I) kao katalizator.



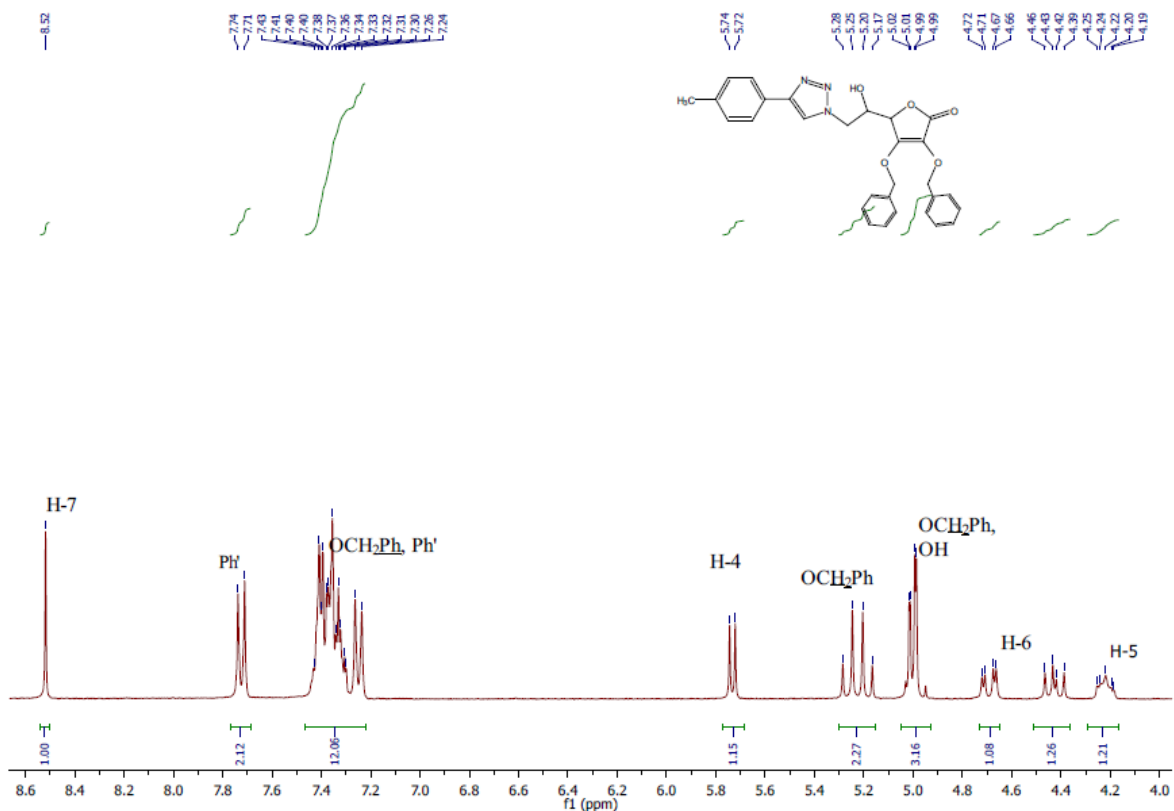
Shema 5. Sinteza 1, 4-supstituiranih-1,2,3-triazolnih derivata L-askorbinske kiseline.

Na shemi 5 prikazana su dva moguća sintetska puta za dobivanje 1,4-supstituiranih-1,2,3-triazolnih derivata L-askorbinske kiseline. Kod metode A sintetski koraci odvijaju se postepeno, do željenih 1,2,3-triazolnih derivata L-askorbinske kiseline (**6–17**) dolazi se reakcijom 6-*O*-tosil-2,3-*O,O*-dibenzil-L-askorbinske kiseline (**4**) s natrijevim azidom. Nadalje, 1,3-dipolarnom cikloadicijom odgovarajućih terminalnih alkina i dobivenog azidnog derivata L-askorbinske kiseline (**5**) sintetizirani su 1,4-supstituirani-1,2,3-triazolni derivati L-askorbinske kiseline uz korištenje katalizatora Cu(0) i 1M CuSO₄. Metoda B temelji se na tandemskoj sintezi uz tosilni derivat L-askorbinske kiseline **4** kao početni spoj pri čemu se azidni derivat **5** ne izolira iz reakcijske smjese. Obje metode sinteze su se odvijale korištenjem mikrovalova pri temperaturi od 80 °C i 300 W. Spojevi pripremljeni metodom A izolirani su u većem iskorištenju od spojeva pripremljenih metodom B. Metodom A sintetizirani su spojevi **6–17**, dok su metodom B sintetizirani spojevi **6, 8 i 10**.

Derivati L-askorbinske kiseline s tosilnim supstituentom (**6**), *p*-bromfenilnim supstituentom (**8**) i ciklopropilnim supstituentom (**10**) u položaju C-4 triazola izolirani su metodom A u iskorištenjima 49,8 %; 66,9 %, i 54,9 %, dok su metodom B izolirani u iskorištenjima: 30,1 %; 13,7 % i 10,6 %.

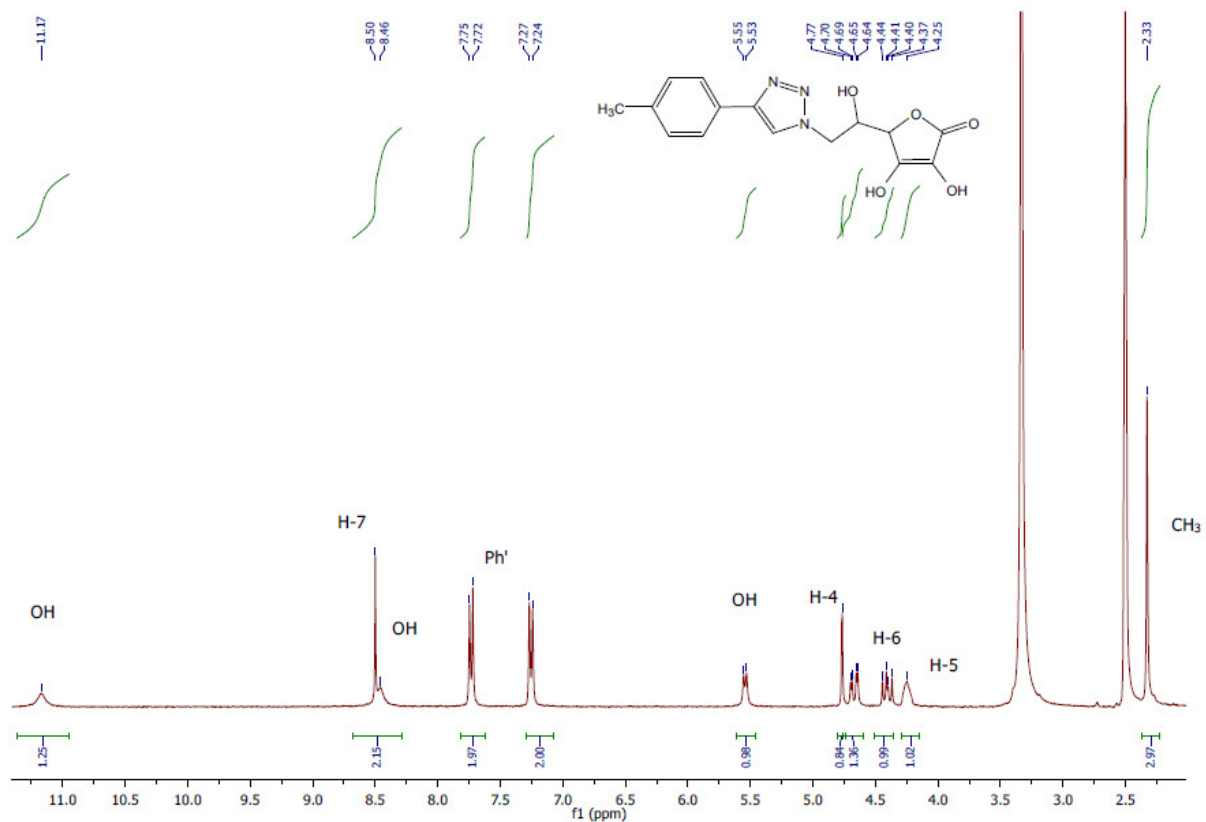
4.2. Analiza spektara ¹H-NMR

U ¹H-NMR spektru spoja **6** s tosilnim supstituentom na položaju C-4 triazola (slika 9) signal H-7' u aromatskom području spektara (~8 ppm) potvrđuje prisustvo triazolnog prstena.



Slika 9. Spektar $^1\text{H-NMR}$ spoja **6**.

Prisutni su i signali koji odgovaraju fenilnom supstituentu (~7,7 ppm). Također se prepoznaju signali koji odgovaraju protonima laktorskog prstena L-askorbinske kiseline (H-4', H-5' i H-6'). Prepoznaju se i metilenski protoni benzilne zaštite (~4 ppm) kao i fenilni protoni benzilne skupine (~7,4 ppm). U $^1\text{H-NMR}$ spektru spoja **18** (slika 10) signal H-7' u aromatskom području spektara (~8 ppm) također potvrđuje prisustvo triazolnog prstena.



Slika 10. Spektar $^1\text{H-NMR}$ spoja 18.

Prisutni su signali koji odgovaraju fenilnom supstituentu ($\sim 7,6$ ppm i $\sim 7,2$ ppm). Nadalje, prepoznaju se signali koji odgovaraju protonima laktorskog prstena L-askorbinske kiseline (H-4', H-5' i H-6'). U ovom spektru prisutni su signali hidroksilnih skupina ($\sim 11,0$ ppm, $\sim 8,0$ ppm, $\sim 5,5$ ppm). Nisu prisutni signali koji odgovaraju benzilnoj skupini.

5. ZAKLJUČCI

- Pripravljene su derivati L-askorbinske kiseline **1**, **2**, **3** i **4** kao prekursori za sintezu azida L-askorbinske kiseline **5** koji se je koristio u 'klik' reakcijama pripreme 1,4-disupstituirani-1,2,3-triazolnih derivata L-askorbinske kiseline (**6–17**).
- Regioselektivnom 1,3-dipolarnom cikloadicijom potom su uspješno sintetizirani 1,4-supstituirani-1,2,3-triazolni derivati L-askorbinske kiseline (**6–17**) s fenilnim, ciklopropilnim, alkilnim, trimetilsililnim supstituentima u položaju C-4 triazolnog prstena.
- Postepeni sintetski put u dobivanju 1,2,3-triazolnih derivata L-askorbinske kiseline pokazao se uspješnijim od tandemske reakcije.
- Strukture svih sintetiziranih spojeva potvrđene su ^1H - i ^{13}C -NMR spektroskopijom.
- Antiproliferativna ispitivanja novopripremljenih spojeva na zloćudne tumorske stanice porijeklom iz čovjeka su u tijeku.

6. LITERATURA

1. Jemal A., Bray F., Center M. M., Ferlay J., Ward E., Forman D., *CA-Cancer J. Clin.*, 2011, **61**, 69–90.
2. Kolb H. C., Finn M. G., Sharpless K. B., *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, 2001, **40**, 2004–2021.
3. a) Li C.-J., Chan T.-H., *Organic Reactions in Aqueous Media*, Wiley, New York, 1997. b) Cornils B., Herrmann W. A., *Aqueous Phase Organometallic Catalysis*, Wiley-VCH, Weinheim, 1998. c) Grieco P. A., *Organic Synthesis in Water*, Blackie, London, 1998. d) Breslow R., *Acc. Chem. Res.*, 1991, **24**, 159 – 164; e) Breslow R., *Pure Appl. Chem.*, 1998, **70**, 1933 – 1938.
4. Gajewski J. J., *Acc. Chem. Res.*, 1997, **30**, 219–225.
5. Fringuelli F., Piermatti O., Pizzo F., Vaccaro L., *J. Org. Chem.*, 1999, **64**, 6094 – 6096.
6. van Mersbergen D., Wijnen J. W., Engberts J. B. F. N., For an example of the beneficial effects of aqueous solvent on 1,3-dipolar cycloaddition reactions, *J. Org. Chem.*, 1998, **63**, 8801–8805.
7. Husigen R., Szeimies G., Mobius L., *Chem. Ber.*, 1967, **100**, 2494.
8. Gothelf K.V., Jorhensen K.A., *Chem. Rev.*, 1998, **98**, 863–909.
9. Rostovtsev V. V., Green L. G., Fokin V. V., Sharpless K. B., *Angew. Chem. Int. 1 Ed.*, 2002, **41**, 2596–2599.
10. Kolb H. C., Sharpless K. B., *Drug Discovery Today*, 2003.
11. Rostovtsev V.V.; Green L.G.; Fokin V.V.; Sharpless K.B., A step wise Huisgen cycloaddition process: Copper(I)-catalyzed regioselective “ligation” of azides and terminal alkynes, *Angew. Chem. Int. Edit.*, 2002, **41**, 2596–2599.
12. Nwe K., Brechbiel M. W., Growing Applications of “Click Chemistry” for bioconjugation in contemporary biomedical research., *CancerBiother. Radiopham*, 2009, **24**, 289–302.
13. Link A. J., Tirrell D. A., Cell surface labeling of Escherichiacoli via copper(I) catalyzed 3+2 cycloaddition, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 11164–11165.
14. Hein C. D., Liu X.-M., Wang D., Click chemistry, a powerful tool for pharmaceutical sciences. *Pharm. Res.*, 2008, **25**, 2216–2230.
15. Himo F., Lovell T., Hilgraf R., Rostovtsev V. V., Noodleman L., Sharpless K. B., Fokin V. V., *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 210–216.
16. Himo F., Lovell T., Hilgraf R., Rostovtsev V.V., Noodleman L., Sharpless K.B., Fokin V.V., *J.Am.Chem.Soc.*, 2005, 127–210.

17. Bock V. D., Hiemstra H., van Maarseveen H. J., *Eur. J. Org. Chem.*, 2006, 51–68.
18. Himo F., Lovell T., Hilgraf R., Rostovtsev V. V., Noodleman L., Sharpless K. B., Fokin V. V., *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127–210.
19. Bock V. D., Hiemstra H., van Maarseveen J. H., *Eur. J. Org. Chem.*, 2006, **1**, 51–58.
20. Gilchrist T. L., *Heterocyclic chemistry*, ISBN 0-582-01421-2.
21. Agalave G. S., Maujan R. S., Pore V. S., *Chem. Asian J*, 2011, **6**, 2696–2718 .
22. Agalave S.; Maujan S. R.; Vandana S., *Click Chemistry: 1,2,3-Triazoles as Pharmacophores*, *Chem. Asian J.*, 2011, **6**, 2696 – 2718.
23. Kamijo S., Jin T., Huo Z, Yamamoto Y., *J. Org. Chem.*, 2004, **69**, 2386.
24. Huisgen R., Grashey R., Sauer J., *Cycloaddition Reactions Of Alkenes*. In *The Chemistry Of Alkenes* Patai S., Ed., John Wiley Sons Ltd., New York, 1964, 739.
25. Raić-Malić S.; Meščić A., *Recent Trends in 1,2,3-Triazolo-Nucleosides as Promising Anti-Infective and Anticancer Agents*, *Current Medicinal Chemistry*, 2015.
26. 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-β-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3 carboxamide*, *Science*, 1972, **177 (4050)**, 705–706.
27. Reddy K. R., Nelson D. R., Zeuzem S., *Ribavirin: current role in the optimal clinical management of chronic hepatitis C*, *J. Hepatol*, 2009, **50 (2)**, 402–411.
28. Broder S., *The development of antiretroviral therapy and its impact on the HIV-1/AIDS pandemic*, *Antivir. Res.*, 2010, **85 (1)**, 1–18.
29. Agalave S. G., Maujan S. R., Vandana S., *Click Chemistry: 1,2,3-Triazoles as Pharmacophores*, *An Asian Journal*, 2011, **6**, 2696–2718.
30. Pitt H. A., Costrini A. M., *J. Am. Med. Assoc.*, 1979, **241**, 908.
31. Clemetson C. A. B., *J. Nutr.*, 1980, **110**, 662.
32. Cameron E., Campbell A., Jack T., *Biol. Interact.*, 1975, **11**, 387.
33. Seib P. A., Tolbert B. M., *Ascorbic Acid: Chemistry, Metabolism, and Uses*, *Advances in Chemistry Series*, *Am. Chem. Soc.*, 1982, **200**, 369.
34. Bonifačić M., Ljubenkov I., Eckert-Maksić M., *International J. of Radiat. Biol.*, 1994, **66 (2)**, 123.
35. Raić-Malić, S; Svedružić D; Gazivoda T.; Marunović A.; Hergold-Brundić A.; Nagl A.; Balzarini J.; Celrcq E.; Mintas M., *J. Med. Chem.*, 2000, **43**, 4807.

36. Raić-Malić, S; Svedružić D; Gazivoda T.; Marunović A.; Hergold-Brundić A.; Nagl A.; Balzarini J.; Celrcq E.; Mintas M., *J. Med. Chem.*, 2000, **43**, 4807.

37. Raić-Malić, S; Svedružić D; Gazivoda T.; Marunović A.; Hergold-Brundić A.; Nagl A.; Balzarini J.; Celrcq E.; Mintas M., *J. Med. Chem.*, 2000, **43**, 4807.

7. ŽIVOTOPIS

Zovem se Ines Cazin, rođena sam u Ogulinu 4. rujna 1992. godine. Osnovnu školu završila sam u Ogulinu gdje sam paralelno pohađala i osnovnu glazbenu školu, a potom sam upisala Opću gimnaziju u Ogulinu. Maturirala sam 2011. godine te iste godine upisala Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, smjer Primijenjena kemija. Za vrijeme fakultetskog obrazovanja odradila sam stručnu praksu na Institutu Ruđer Bošković, u Laboratoriju za kemiju ugljikohidrata, peptida i glikopeptida. Od veljače 2014. godine počela sam volontirati na znanstvenom projektu prof. dr. sc. Silvane Raić-Malić vezanim uz sintezu potencijalno biološki aktivnih nukleozidnih mimetika.

Popis priopćenja:

- I. Cazin, I. Kovačić, A. Meščić, V. Stepanić, S. Raić-Malić, 1,2,3-triazole appended L-ascorbic acid with antioxidant properties // 24.Hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera, Zagreb, 21.-24.4.2015. (poster)