

Novi hibridi nukleobaza i ferocena: sinteza, strukturna karakterizacija i elektrokemija

Kurajica, Livia

Master's thesis / Diplomski rad

2017

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:149:285260>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-25**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I
TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Livia Kurajica

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, srpanj 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Livia Kurajica

NOVI HIBRIDNI NUKLEOBAZA I FEROCENA: SINTEZA, STRUKTURNA
KARAKTERIZACIJA I ELEKTROKEMIJA

DIPLOMSKI RAD

Voditelj rada: izv. prof. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević

Članovi ispitnog povjerenstva:

1. Izv. prof. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu
2. Prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu
3. Izv. prof. dr. sc. Marijana Kraljić Roković, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

Zagreb, srpanj 2017.

Zahvale

Zahvaljujem izv. prof. dr. sc. Tatjani Gazivoda Kraljević na predloženoj temi, pomoći, te na dragocjenim savjetima i neiscrpnom znanju koje mi je prenijela.

Zahvaljujem mag. appl chem. Mateji Lužar na velikoj pomoći, susretljivosti, strpljivosti i korisnim savjetima koje mi je pružila pri izradi eksperimentalnog dijela.

Zahvaljujem izv. prof. dr. sc. Marijani Kraljić Roković na pomoći pri elektrokemijskim mjerenjima, obradi podataka i korisnim savjetima.

Zahvaljujem svim članovima Zavoda za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije na ugodnoj radnoj atmosferi i kolegijalnosti.

Zahvaljujem svojim prijateljima i kolegama s fakulteta koji su činili studiranje zabavnije i lakše.

Zahvaljujem dečku Mariju-Liviju na velikoj podršci, svim savjetima, motivaciji, veselju i pomoći koju mi je pružio.

Zahvaljujem svojim roditeljima i sestri Petri koji su uvijek tu za mene, hvala na podršci, svim savjetima, brizi i svemu što su učinili da bi bila tu gdje jesam.

SAŽETAK

U ovom radu opisana je sinteza novih hibrida nukleobaza i ferocena te njihova strukturna karakterizacija i elektrokemijska ispitivanja. Reakcijom *N*-alkiliranja uracilnog ili citozinskog prstena sintetizirani su *N*-1 i/ili *N*-3 derivati s propargilnim ili butenilnim supstituentima na uracilnom (**1**, **4**, **7**, **8** i **19-21**) ili citozinskom (**15-17**) prstenu koji su nadalje uz natrijev azid prevedeni u 4-azidobutenilne derivate **5**, **9**, **10** i **23**. Paladijem kataliziranom Sonogashira-inom reakcijom unakrsnog povezivanja 5-jod-*N*-1-propargiluracila (**1**) s etinilferocenom pripremljen je hibrid 5-joduracila i ferocena (**2**) premošten etinilnom poveznicom u položaju 5 uracila. Hibridi nukleobaza i 4-ferocenil-1,2,3-triazola (**3**, **6**, **11**, **12**, **14** i **24**) pripremljeni su mikrovalovima potpomognutom „klik“ reakcijom 4-azidobutenskih derivata uracila i citozina s etinilferocenom uz Cu katalizator. „Klik“ reakcijom *N*-propargiliranih derivata nukleobaza (**1** i **13**) s azidoferocenom uveden je 1,2,3-triazolni prsten u položaj *N*-1 i *N*-3 pri čemu su pripremljeni 4-ferocenil-5-joduracil-1,2,3-triazolni hibrid (**3**) i *N*-4-benzoilcitozinski hibrid 4-ferocenil-1,2,3-triazola (**14**). Strukturna karakterizacija hibrida nukleobaza i ferocena provedena je ¹H NMR spektroskopijom. Elektrokemijska ispitivanja novosintetiziranih spojeva provedena su cikličkom voltametrijom.

Ključne riječi: uracil, citozin, ferocen, Sonogashira-ina reakcija, „klik“ reakcija, ciklička voltametrijom.

SUMMARY

This paper describes the synthesis of new nucleobase and ferrocene hybrids and their structural characterization and electrochemistry. *N*-1 and/or *N*-3 derivatives with propargyl or butenyl side chain on uracil (**1**, **4**, **7**, **8** and **19-21**) or cytosine (**15-17**) ring were synthesized by *N*-alkylation reaction, which were with sodium azide converted to 4-azidobutenyl derivatives **5**, **9**, **10** and **23**. The palladium catalyzed cross-coupling Sonogashira reaction of 5-iodo-*N*-1-propargyluracil (**1**) with ethynylferrocene gave hybrid of 5-iodouracil and ferrocene (**2**) bridged with the ethynyl linkage at position 5 of uracil. Hybrids of nucleobases and 4-ferrocenyl-1,2,3-triazoles (**3**, **6**, **11**, **12**, **14** and **24**) were prepared by "click" reaction assisted by microwave irradiation of 4-azidobutene derivatives of uracil and cytosine with ethynylferrocene in the presence of Cu catalyst. 1,2,3-triazole ring was introduced in *N*-1 and *N*-3 position by "click" reaction of the *N*-propargylated nucleobase derivatives (**1** and **13**) with azidoferrocene where 4-ferrocenyl-5-iodouracil-1,3,3-triazole hybrid (**3**) and *N*-4-benzoylcytosine 4-ferrocenyl-1,2,3-triazole hybrid (**14**) were prepared. Structural characterization of nucleobase and ferrocene hybrids was performed using ¹H NMR spectroscopy. Electrochemical evaluation of novel compounds was performed by cyclic voltammetry.

Key words: uracil, cytosine, ferrocene, Sonogashira reaction, „click“ reaction, cyclic voltammetry

POPIS KRATICA

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

RNK – ribonukleinska kiselina

NMR – nuklearna magnetska rezonancija

TLC – tankoslojna kromatografija

CV – ciklička voltometrija

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije u sklopu projekta Hrvatske zaklade za znanost HRZZ-5596.

SADRŽAJ RADA

1. UVOD	2
2. OPĆI DIO	
2.1. Nukleozidne baze	4
2.1.1. Pirimidinski derivati	5
2.1.2. Kemija pirimidina	8
2.1.3. Biološko djelovanje pirimidinskih derivata	10
2.1.4. Purinski derivati	15
2.1.5. Kemija purina	16
2.1.6. Biološko djelovanje purinskih derivata	18
2.2. Ferocen	21
2.2.1. Kemija ferocena	22
2.2.2. Biološko djelovanje derivata ferocena	25
2.2.3. Ferocenski derivati nukleobaza, nukleotida i nukleozida	27
2.2.4. Elektrokemija ferocena	31
2.3. Molekulska hibridizacija	33
2.4. Derivati 1,2,3-triazola	36
2.5. „Klik“ kemija	39
2.6. Sonogashira-ina reakcija	42
3. EKSPERIMENTALNI DIO	
3.1. Opće napomene	46
3.2. Pregled sintetiziranih spojeva	47

3.3. Sinteza spojeva	50
3.4. Ciklička voltometrija	58
4. REZULTATI I RASPRAVA	
4.1. Sinteza spojeva	61
4.2. Analiza ^1H NMR spektara	68
4.3. Analiza cikličkih voltamograma	76
5. ZAKLJUČAK	81
6. LITRATURA	83
7. ŽIVOTOPIS	89

1. UVOD

1. UVOD

Medicinska kemija je simultano područje koje povezuje razne znanstvene discipline i omogućava suradnju raznih znanstvenika s ciljem istraživanja i razvoja novih lijekova. [1] Zadatak kemičara je sintetizirati lijek ili farmaceutski agens koji će koristiti čovječanstvu. Za otkriće novih lijekova vrlo je važno dobro poznavanje kemije heterocikličkih spojeva. Naime heterociklički prsten nalazimo u raznim spojevima, od alkaloida, esencijalnih aminokiselina, vitamina, hemoglobina, hormona do velikog broja sintetskih lijekova i boja. Različiti sintetski heterociklički spojevi poput pirola, furana, tiofena, piridina i tiazola imaju vrlo važnu primjenu, a neki su i važni intermedijari u sintezama. Purini i pirimidini jedni su od najvažnijih heterocikličkih spojeva jer pokazuju iznimnu farmakološku aktivnost te su esencijalni dijelovi svih stanica i na taj način svih živih bića. Pa tako spojevi koji sadrže purinske ili pirimidinske baze pokazuju različito biološko djelovanje poput antitumorskog, antimikrobnog, antibakterijskog, antigljivičnog, anti-HIV. Mnogi purinski i pirimidinski derivati već se koriste u terapijama, a mnogi će tek biti otkriveni. [2]

Ferocen je spoj koji sadrži atom željeza i dva ciklopentadienilna liganda. Njegovo otkriće početak je današnje moderne organometalne kemije. Zadnjih godina bioorganometalna kemija se razvija kao brzo rastuće i razvijajuće područje koje povezuje klasičnu organometalnu kemiju s biologijom, medicinom i molekularnom biotehnologijom. Stabilnost ferocenilne skupine u vodenom i aerobnom mediju, dostupnost velike raznolikosti derivata te povoljna elektrokemijska svojstva razlog su zašto su ferocen i njegovi derivati vrlo popularne molekule za biološku primjenu i konjugaciju s biomolekulama. [3] Različita biološka aktivnost ferocena proizlazi iz dva svojstva povezana s kompleksom. Prvi je struktura sendviča, a drugi je reverzibilna jednoelektronska oksidacija. Redoks aktivnost ferocena se primjenjuje u osmišljavanju elektrokemijskih biosenzora i u mehanizmima povezanim s redoks procesima koji utječu na antitumorsku aktivnost ferocenskih derivata. Konjugiranje redoks aktivnog ferocena s nukleobazama može poboljšati razvoj novih terapeutika, elektrokemijskih biosenzora i samo-organizirajućih molekularnih materijala. [4]

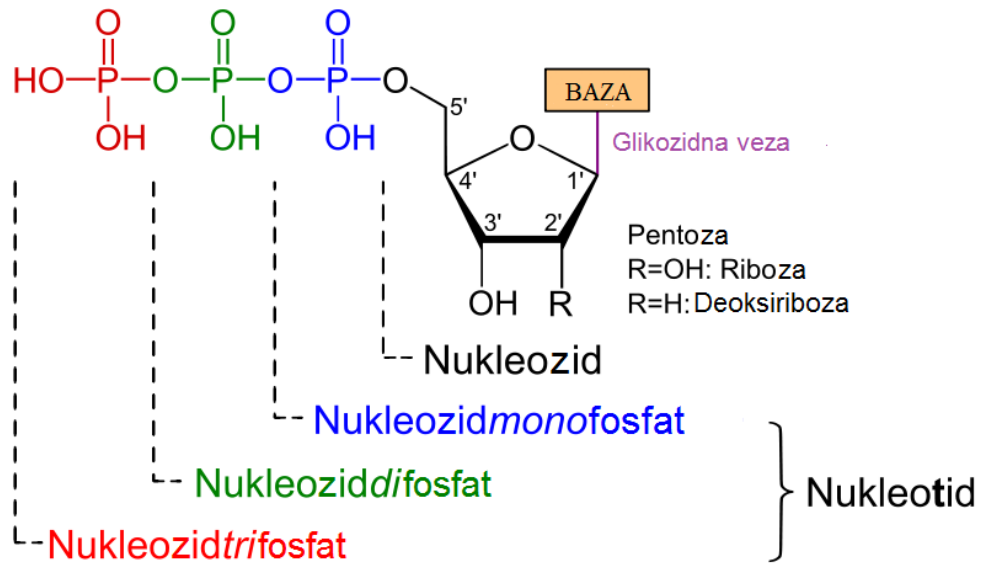
Osnovni cilj ovog istraživanja bio je sinteza novih hibrida ferocena i purinskih i pirimidinskih baza te njihova strukturalna karakterizacija i elektrokemijska ispitivanja sintetiziranih spojeva cikličkom voltametrijom kako bi se dobio bolji uvid u ponašanje tih spojeva u ljudskom organizmu.

2. OPĆI DIO

2. OPĆI DIO

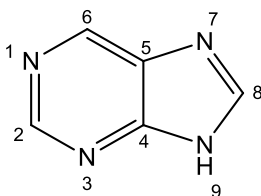
2.1. Nukleozidne baze

Nukleotidi imaju brojne uloge u staničnom metabolizmu, a jedna od njih je da grade nukleinske kiseline: deoksiribonukleinsku kiselinu (DNK) i ribonukleinsku kiselinu (RNK). Nukleotidi se sastoje od dušične baze, šećera pentoze i fosfata. Molekula bez fosfatne skupine naziva se nukleozid (slika 1).

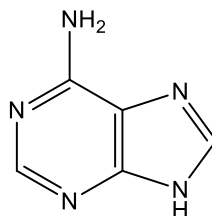


Slika 1. Strukturne razlike između nukleozida i nukleotida

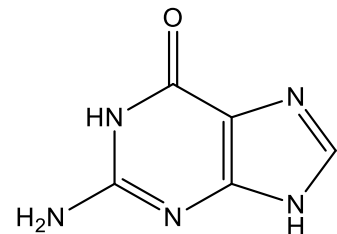
Dušične baze odnosno nukleobaze heterociklički su spojevi i derivati su pirimidina i purina. Glavne purinske baze, koje se nalaze u DNK i RNK su adenin (A) i gvanin (G). Glavne pirimidinske baze su citozin koji je prisutan u obje vrste nukleinskih kiselina i timin (T) koji se nalazi u DNK te uracil koji se nalazi u RNK. Strukture purinskog i pirimidinskog prstena kao i pet glavnih nukleozidnih baza prikazane su na slici 2. [5]



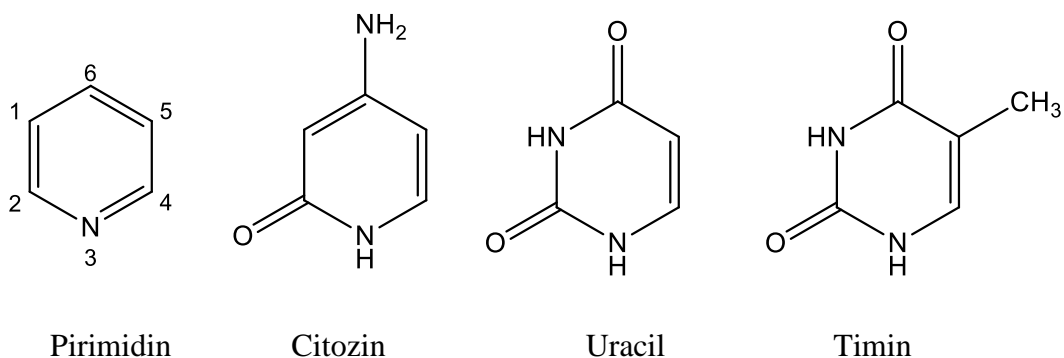
Purin



Adenin



Gvanin



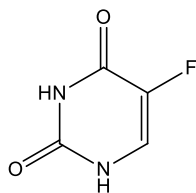
Slika 2. Strukture purinskih i pirimidinskih prstena te glavnih nukleozidnih baza

2.1.1. Pirimidinski derivati

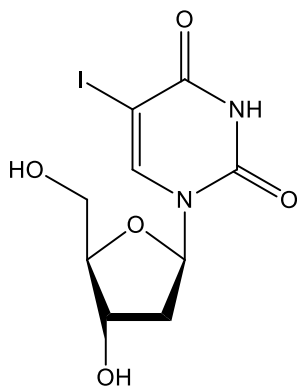
Pirimidini su heterociklički aromatski organski spojevi koji sadrže dva dušikova atoma na položajima 1 i 3 šestoročlanog prstena. Derivati pirimidina koji se nalaze u nukleinskim kiselinama su citozin, timin i uracil. Timin se nalazi samo u DNK, a uracil u RNK. U DNK i RNK derivati pirimidina stvaraju vodikove veze s komplementarnim bazama. U DNK purinski adenin (A) i gvanin (G) stvaraju parove baza s timinom i citozinom, a u RNK komplementarna baza adeninu je uracil. [6]

Biološka važnost pirimidinskih derivata potaknula je mnoge istraživače na sintezu raznih supstituiranih pirimidina. Pošto je pirimidin dušična baza u DNK i RNK, otkrivena je njeno povezanost s različitim biološkim aktivnostima. Tako su mnogobrojni derivati pirimidina našli primjenu u farmaceutskoj industriji i poljoprivredi. Mnogi pirimidinski derivati koriste se i u liječenju leukemije. [7]

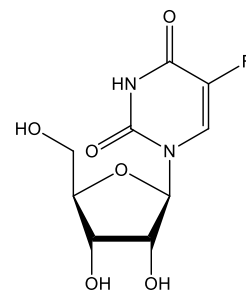
Pirimidinske baze pokazuju izvrsnu farmakološku aktivnost. Primjerice spojevi koji sadrže pirimidinsku bazu imaju širok spektar terapijske primjene poput protuupalne, protutumorske, protugljivične, protuvirusne, protumalarijske, anti-HIV, zatim se primjenjuju i kao antihipertenzivi, sedativi, hipnotici i antihistaminici. U medicinskoj kemiji pirimidinski derivati dobro su poznati po svojoj terapijskoj primjeni. Najpoznatiji pirimidinski derivati po njihovoj biološkoj aktivnosti su 5-fluoruracil koji pokazuje antitumorsko djelovanje, zatim jodoksouridin i trifluoridin koji pokazuju antivirusno djelovanje, zidovudin i stavudin koji se koriste u liječenju HIV-a, trimetoprim, sulfametazin, sulfadiazin koji se koriste kao antibakterijski lijekovi, sulfadoksin kao antimalarik i brojni drugi (slika 3).



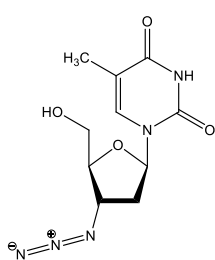
5-fluoruracil



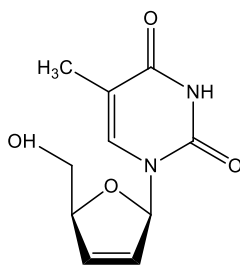
jodoksouridin



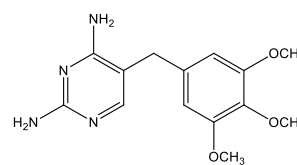
3-fluoruridin



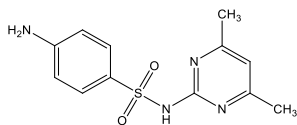
zidovudin



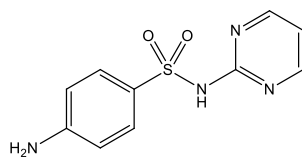
stavudin



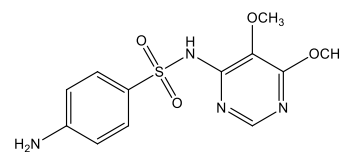
trimetoprim



sulfametazin



sulfadiazin

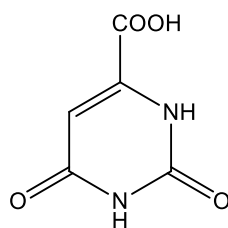


sulfadoksin

Slika 3. Najpoznatiji pirimidinski derivati po njihovoj biološkoj aktivnosti

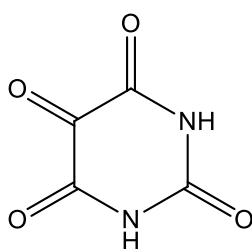
Zbog dobrog djelovanja pirimidinskih derivata oni su i dalje u fokusu medicinskih kemičara koji nastavljaju intenzivnu potragu za novim pirimidinskim derivatima s poboljšanom i selektivnom aktivnošću. [8]

U važne prirodne derivate pirimidina spadaju orotinska kiselina, uracil, timin, aloksan, citozin i tiamin. Pretpostavlja se da je orotinska kiselina (slika 4) ključni prekursor za sintezu svih pirimidina koji se pojavljuju u prirodi. Može se sintetizirati izravno iz ureje i oksal-acetata. Koristi se u kombinaciji s 4-amino-5-imidazol karboksamidom za liječenje bolesti jetre.



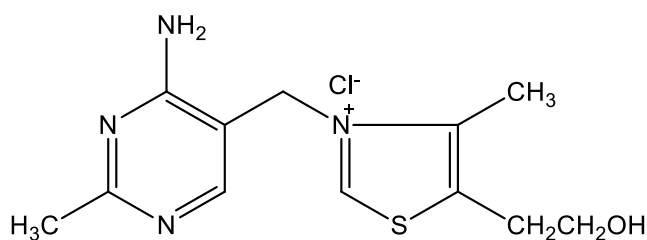
Slika 4. Orotinska kiselina

Uracil je široko rasprostranjen u prirodi pošto je sastavni dio nukleinskih kiselina. Sintetizira se reakcijom jabučne kiseline i ureje u koncentriranoj sumpornoj kiselini. Uracil je početni reagens za pripremu pirimidina, pteridina i purina. Timin se nalazi samo u deoksiribonukleinskoj kiselini. Sintetizira se reakcijom 3-metil-jabučne kiseline sa sumpornom kiselinom pri čemu nastaje 2-formilpropionska kiselina, koja kondenzacijom s urejom daje timin. Aloksan (slika 5) izaziva dijabetes kod mnogih životinja, ali ne i ljudi. Najbolji sintetski put do aloksana je izravna oksidacija barbiturne kiseline s kromovim (VI) trioksidom.



Slika 5. Aloksan

Citozin je vrlo rasprostranjen u prirodi pošto je sastavni dio nukleinskih kiselina, a može se izolirati hidrolizom timusne nukleinske kiseline. Glavni je način sinteze citozina reakcijom 3,3-dihidroksiopropionitrila i ureje. Tiamin odnosno vitamin B₁ (slika 6) derivat je pirimidina, a priprema se višestupnjevitom sintezom. Reakcijom kondenzacije početnog acetamidina s etil-2-etoksipropionatom nastaje 5-etoksimetil-4-hidroksi-2-metilpirimidin. [9]

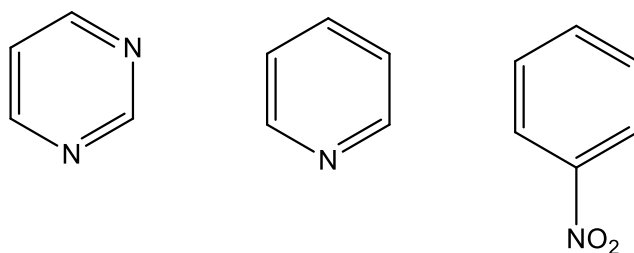


Slika 6. Tiamin

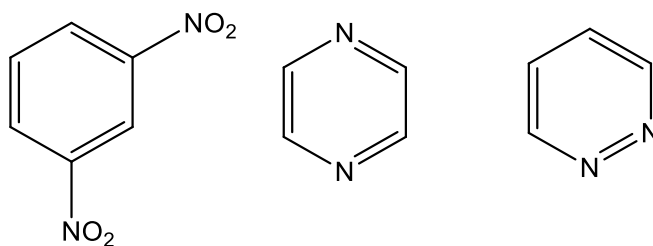
2.1.2. Kemija pirimidina

Karakteristične reakcije i svojstva pirimidina i njegovih derivata proizlaze iz njihove elektronske strukture koja je rezultat pet strukturnih čimbenika čijim se pojedinačnim utjecajem mogu objasniti i predvidjeti različiti eksperimentalni rezultati.

Ugljikovi atomi na 2-, 4- i 6- položaju pirimidina aktivirani su zbog nedostatka π -elektrona, a kojeg uzrokuje elektronska lokalizacija dušikovih atoma u prstenu. Reaktivnost tih položaja slična je aktivnosti C-atoma piridina, nitrobenzena ili 1,3-dinitrobenzena (slika 7) kod kojih su π -elektroni lokalizirani na sličan način zbog utjecaja nitro skupina. Tako primjerice kod 1,3-dinitrobenzena dušikovi su atomi međusobno u *meta* položaju i njihovi pojedinačni utjecaji pojačavaju jedan drugog. Rezultirajući učinak puno je jači kod pirimidina nego njegovih izomera, pirazina ili piridazina (slika 8) kod kojih je naznačeni položaj aktiviran samo jednim dušikom iz prstena. Manjak elektrona na navedenim položajima pirimidina uzrokuje poboljšanu reaktivnost supstituenata na tim položajima. Tako se primjerice halogeni supstituent jednostavno može zamijeniti nukleofilnim reagensom poput amonijaka ili amina koji daju pirimidin amine.



Slika 7. Pirimidin, piridin, nitrobenzen



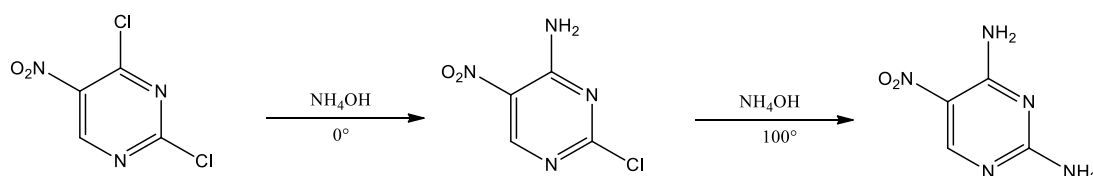
Slika 8. 1,3-nitrobenzen, pirazin, piridazin

Neoznačenom 5-položaju pirimidina u usporedbi s označenim položajima ne nedostaju elektroni i lagano je aktiviran induktivnim efektom dušikovih atoma. Sličan je neoznačenim 3- i 5-položajima piridina te se može opisati kao položaj poluaromatskog karaktera. Zbog toga primjerice 5-halogenpirimidini ne reagiraju lako s amonijakom i aminima, a i 5-

metilpirimidini su prilično nereaktivni. S druge strane elektrofilni reagensi relativno jednostavno napadaju ugljik na 5-položaju, pogotovo uz pomoć jedne ili više elektron-donirajućih skupina smještenih negdje u molekuli.

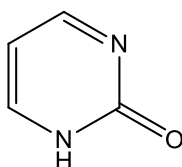
Uvođenjem elektron-donirajuće skupine na bilo koji položaj pirimidina postupno se obnavlja deplacija π -elektrona zbog prisutnosti dušika iz pirimidina što uzrokuje aromatizaciju.. Stoga slobodan ugljik na 5-položaju može biti nitriran ili halogeniran čime skupine na položajima 2-, 4 ili -6- postaju deaktivirane i halogeni supstituenti ne mogu se lagano zamijeniti aminima ili hidroksidnim ionima.

Ako se jake elektron-odvlačeće skupine nalaze na 5-položaju, na primjer 5-nitro skupina, ugljici na 2-,4 – i 6-položaju postaju siromašni elektronima i supstituenti s klorom na bilo kojem položaju postaju vrlo reaktivni za nukleofilnu supstituciju. Na primjer 2,4-dikor-5-nitropirimidin reagira brzo s vodenom otopinom amonijaka pri 0°C pri čemu nastaje 2-klor-5-nitro-4-pirimidinamin, pri čemu se nova elektron-donirajuća 4-amino skupina suprotstavlja elektron-odvlačecom efektu nitro skupine, tako da zamjena drugog klora postaje spora te je stvaranje 5-nitro-2,4-pirimidindiamina sporo čak i pri 100°C (Shema 1).



Shema 1. Učinak elektron odvlačećih skupina

Ako je pirimidinski prsten supstituiran tautomernim skupinama, te skupine također utječu na reaktivnost. 2- ili 4/6-hidroksi-, merkpto- ili aminopirimidin je u tautomeriji s odgovarajućim 2- ili 4/6-okso-, tiokso- ili iminopirimidinom u kojima se proton koji sudjeluje u tautomeriji obično nalazi na *N*-1 ili *N*-3 položaju. Ovakva tautomerija može također uključivati i proton na C-5. Ravnoteže je pomaknuta prema tautomerima.. Na primjer 2-hidroksi-pirimidin je većinom 2(1*H*)-pirimidinon (slika 9.), a ovakav oblik tautomerije ima utjecaj na reaktivnost . Tako 2(1*H*)-pirimidinon podliježe reakciji metiliranja na kisikovom i dušikovom atomu. [10]

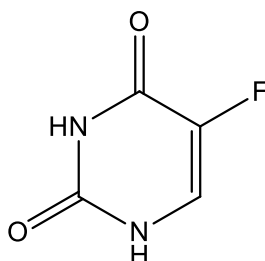


Slika 9. 2(1*H*)-pirimidinon

2.1.3. Biološko djelovanje pirimidinskih derivata

Kao što je ranije navedeno spojevi koji sadrže pirimidinski prsten imaju širok spektar biološkog djelovanja poput protutumorskog, antibakterijskog, protuvirusnog, protugljivičnog i protuupalnog djelovanja. Nadalje, mogu se upotrebljavati kao antimalarici, hipnotici, sedativi te antihistaminici. Većina lijekova koji sadrže pirimidinsku jezgru mogu se svrstati u 4 skupine: barbiturati, sulfonamidi, antimikrobni i protutumorski agensi.

5-fluoruracil (5-FU) (slika 10) široko je rasprostranjeni lijek koji se koristi u liječenju različitih vrsta tumora uključujući kolorektalni, rak dojke i rak probavnog trakta. Iako 5-FU u kombinaciji s ostalim kemoterapeutcima poboljšava stopu preživljavanja kod raka dojke, glave i vrata, kod kolorektalnog karcinoma 5-FU pokazao je najbolji učinak.

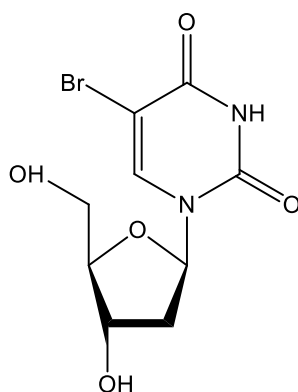


Slika 10. Struktura 5-fluoruracila

5-FU analog je uracila s atomom fluora u položaju C-5. Brzo ulazi u stanicu koristeći isti olakšani transportni mehanizam kao i uracil. Intracelularno se konvertira u nekoliko različitih aktivnih metabolita: fluordeoksiuridin-monofosfat (FdUMP), fluordeoksiuridin-trifosfat (Fd-UTP) i fluoruridin-trifosfat (FUTP). Navedeni aktivni metaboliti ometaju sintezu RNA i djelovanje enzima timidilat-sintaze (TS). [11]

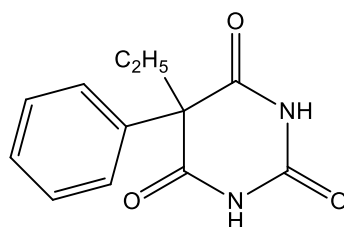
5-brom-2'-deoksiuridin (BrdU) analog je timidina, a prvi put je opisan kao mutagen čija meta su bile stanice raka koje se brzo dijele (slika 11). BrdU se ugrađuje u DNK lanac, a zbog toga što stanice s ugrađenim BrdU nastavljaju relativno normalno funkcionirati-bar kratkoročno

vjeruje se da je vrlo benigna zamjena za timidin. Pretpostavlja se da BrdU djeluje tako da utječe na stabilnost DNK odnosno povećava rizik zamjene sestrinskih kromatida, mutacija i pucanja dvostrukog lanca. Međutim većina ovih učinaka se pojavljuje kada se BrdU kombinira sa sekundarnim stresorima. [12]



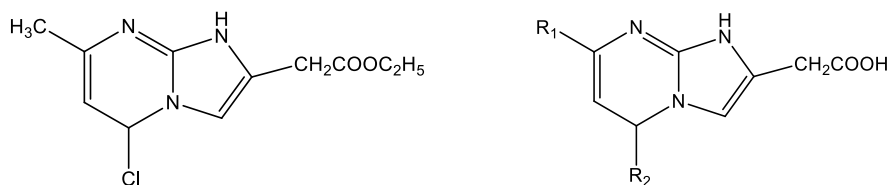
Slika 11. Struktura 5-brom-2'-deoksiuridina

Barbiturna kiselina se dobiva iz dietil-malonata i ureje u etanolnoj otopini natrijevog etoksida i ima raznolika biološka svojstva. Luminol (slika 12), derivat barbiturne kiseline, je pripremljen 1904.godine i koristi se kao sedativ središnjeg živčanog sustava s dugim djelovanjem od 1912. do danas. [13]



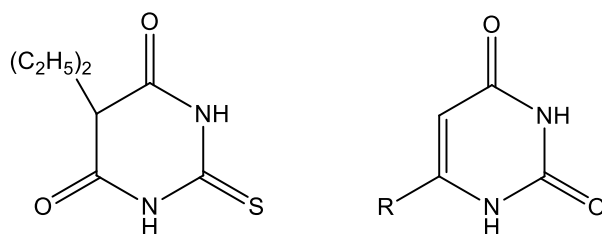
Slika 12. Luminol

Derivati imidazo[1,2-*a*]pirimidin 2-karboksilne kiseline i analozi octene kiseline su sintetizirani i ispitano je njihovo protuupalno djelovanje te su gotovo svi derivati imidazokarboksilne kiseline pokazali značajno protuupalno djelovanje (slika 13). [14]



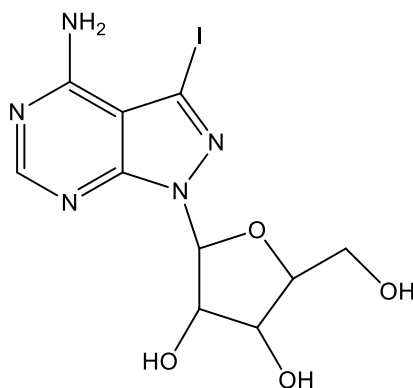
Slika 13. Derivati imidazo[1,2-*a*]pirimidin 2-karboksilne kiseline

Hipertireoza se može liječiti na nekoliko načina. Jedan od načina je djelovanje na sintezu tiroidnih hormona ili uklanjanje joda. Tiouracil i tiobarbital (slika 14) učinkoviti su tiroidni lijekovi. Tako se tiouracil široko koristi zbog slabijih nuspojava u odnosu na ostale lijekove. [15]



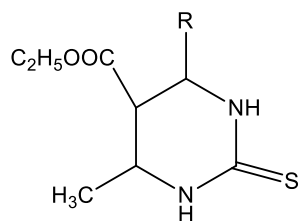
Slika 14. Tiouracil i tiobarbital

Neki pirazolo[3,4-*d*]pirimidinski derivati ispitivani su kao potencijalni inhibitori adenozin-kinaze te je spoj prikazan na slici pokazao dobro protuupalno djelovanje (slika 15). [16]



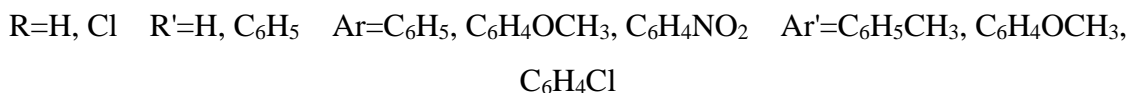
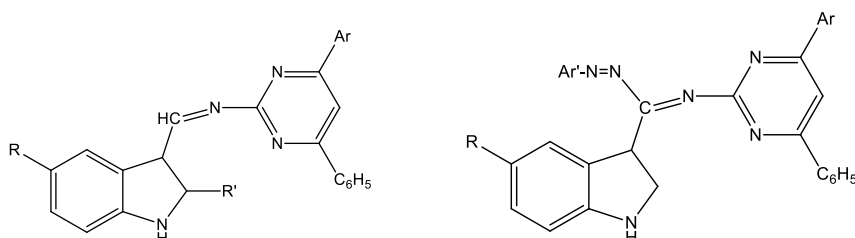
Slika 15. Pirazolo[3,4-*d*]pirimidinskih derivat

Protutumorska aktivnost na stanicama *Ehrlich Ascites Carcinoma in vitro* ispitivana je i za sintetizirane nove pirimidin-2-tione (slika 16). [17]



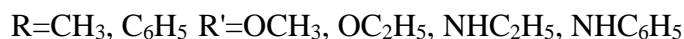
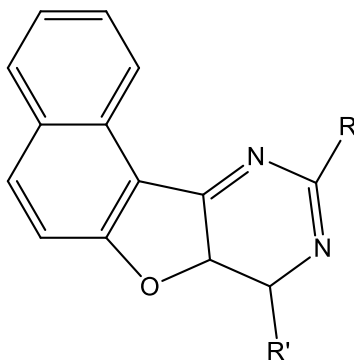
Slika 16. Pirimidin-2-tion

Sintetizirani 2-(2',5' supstituirani indolidenamino-3'-il)-4,6-diarilpirimidini i 2[2',5'-supstituirani indol-3'-il) (fenil azo) metilen imino]-4,6-diaril pirimidini (slika 17) pokazali su izraženo antimikrobno djelovanje protiv Gram negativnih bakterija *E. Coli* i Gram pozitivnih bakterija *S. Aureous*, a pokazali su i protugljjivičnu aktivnost protiv *A. niger* i *A. flavus*. [18]



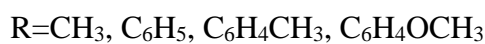
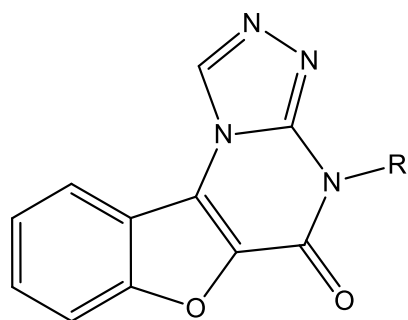
Slika 17. Derivati pirimidina s izraženim antimikrobnim djelovanjem.

Sintetizirani su i nafto[2,1-*b*]furo[3,2-*a*]pirimidini (slika 18) koji su se koristili kao prekursori u sintezi farmakološko aktivnih spojeva protuupalnog i antimikrobnog djelovanja. [18]



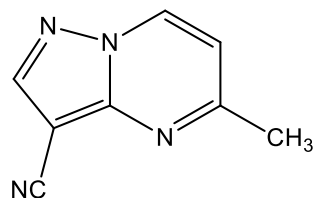
Slika 18. Nafto[2, 1- b]furo[3, 2- a]pirimidini.

Ispitivana je aktivnost 1,2,3,4- tetrahidro-4-okso-2-tiobenzo furo [3,2-*d*] pirimidina (slika 19) protiv *S. Auereus* i *E. coli*. [19]



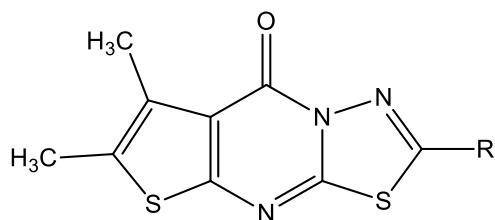
Slika 19. 1,2,3,4- tetrahidro-4-okso-2-tiobenzo furo [3,2-d] pirimidini

Sintetizirani su 2-cijano-5-metilpirazolo[1,5-*a*]derivati pirimidina (slika 20) koji su pokazali raznoliko biološko djelovanje poput antibakterijskog, protuparazitskog i inhibitorynog djelovanja enzima ksantin-oksidadze. [20]



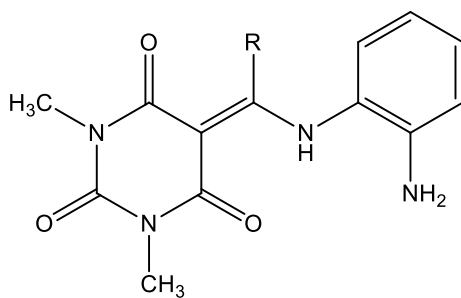
Slika 20. 2-cijano-5-metilpirazolo[1,5-*a*]derivat pirimidina

Opisano je antitumorsko djelovanje supstituiranih (1,3,4)-tiadiazolotieno[3,2-*e*]primidin-5(4*H*)-ena (slika 21) protiv stanica raka dojke i pluća. [21]



Slika 21. Supstituirani (1,3,4)-tiadiazolotieno[3,2-*e*]primidin5(4*H*)-eni

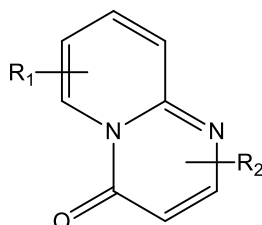
Reakcijom 5 benzoil/5-karbaldehid-/5-(3-fenilakrilolil-0-6-hidroksi-1H-pirimidin-2,4-diona s aminima sintetizirani su odgovarajući enamini (slika 22). Ispitivana je biološka aktivnost na stanicama leukemije, melanoma, tumora pluća, mozga, jajnika i bubrega. [22]



R=H, CH=CH-ph, ph

Slika 22. Pripravljene enamini

Opisana je sinteza kompleksa R_2SnCl_2 određenih derivata 4*H*-pirido[1,2-*a*]primidin-4-ona (slika 23) kao donorskih liganada te je ispitana citotoksičnost pripremljenih spojeva protiv stanica tumora. [23]



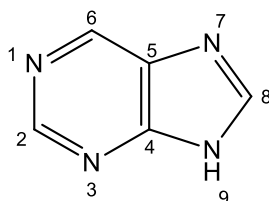
$R_1=H, 7-CH_3, 8-CH_3$

$R_2=2-CH_2Br, 3-CH_3COO$

Slika 23. Derivati 4*H*-pirido[1,2-*a*] primidin-4-ona.

2.1.4 Purinski derivati

Purin, 7*H*-imidazo[4,5-*d*]pirimidin, biciklički je spoj koji se sastoji od dva fuzionirana heterocikla: imidazola i pirimidina (slika 24).

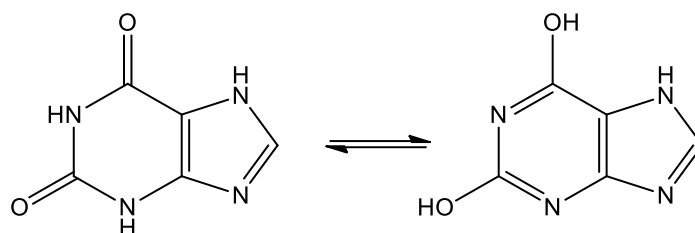


Slika 24. 7*H*-imidazo[4,5-*d*]pirimidin

Purini su među prvim identificiranim prirodnim produktima. 1776. godine Scheele je ekstrahirao tvar iz mokraćnog kamenca, a Fourcroy ju je nazvao mokraćna kiselina. 1834. Liebig i Mitscherlich postavljaju točnu empirijsku formulu $C_5H_4N_4O_3$. 1820. Runge je izolirao kofein iz zrna kave, a 1844. Unger je izolirao gvanin iz gnojiva. Ova i druga otkrića potaknula su Medicusa 1875. godine da predloži bicikličku strukturu za mokraćnu kiselinu i

njezine derivate. Detaljno istraživanje Emila Fischera razjasnilo je vezu koja povezuje ove spojeve i 1884. sadašnje ime purin je dodijeljeno seriji tvari te je potvrđena Medicusova struktura. Otprilike u isto vrijeme Kossel je izolirao gvanin i adenin iz nukleinskih kiselina. Krajem 19. stoljeća provedene su i totalne sinteze purina koje je proveo Traub.

Derivati purina koji sadrže kisik često se prikazuju u izomernom laktamskom obliku poput ksantina prikazanog na slici 25.

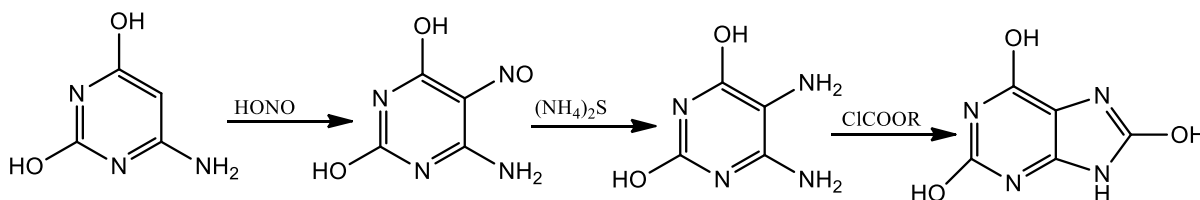


Slika 25. Ksantin

Laktamski oblik purina koji sadrže kisik potvrđen je i IR spektroskopijom, a slobodne amino skupine mogu se detektirati kod amino-purina (npr. adenin). Derivati purina s *N*-metiliranim pirimidinskim prstenom također dolaze u laktamskom obliku. [24]

2.1.5. Kemija purina

Purini se mogu sintetizirati koristeći pirimidinske ili imidazolne prekursore, a najčešće korištena metoda sinteze je Traube-ova sinteza kod koje dolazi do kondenzacije 4,6-diaminopirimidina s jednostavnim derivatima (Shema 2). [25] Svrha je osigurati dio s jednim ugljikovim atomom koji će premostiti dva dušikova atoma amino skupine na pirimidinu.

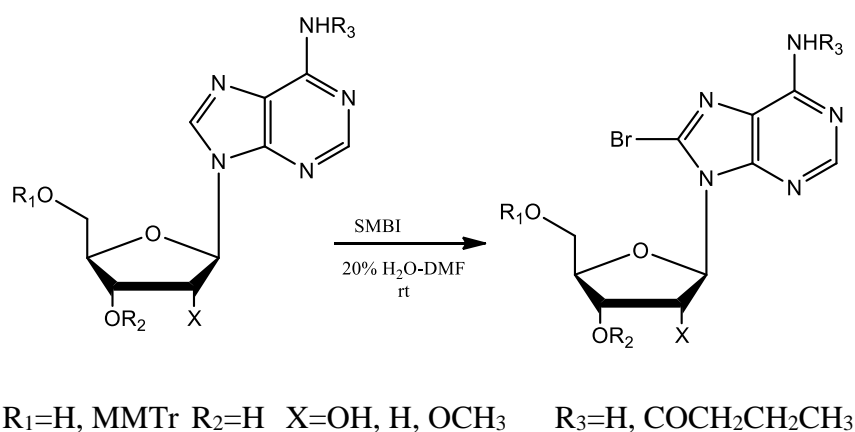


Shema 2. Traube-ova sinteza purina.

Traube-ova sinteza je sinteza 4,5-diaminopurina uvođenjem amino skupine na 5-položaj na 4-amino-6-hidroksi- ili 4,6-diaminopirimidinu nitroziranjem i redukcijom amonijevim sulfidom nakon čega slijedi zatvaranje strukture prstena pomoću mravlje kiseline.

Druga često korištena metode sinteze purina koristi imidazolni derivat i također koristi dio s jednim ugljikovim atomom kako bi pretvorio bočni lanac u pirimidinski prsten. Zbog toga što purini imaju sustav s viškom π -elektrona, ali i sustav s manjkom π -elektrona jedan do drugoga dolazi do kompenzacijskog efekta pa su purini relativno stabilan biciklički sustav. Purini podliježu reakcijama nukleofilne i elektrofilne supstitucije. [26]

Do elektrofilne supstitucije može doći na ugljikovom i na dušikovom atomu. Nitriranje purina zahtijeva prisutnost snažnog nukleofilnog ugljikovog atoma na položaju -8. Za sada samo *N*-metilirani derivati ksantina zadovoljavaju ovaj zahtjev iako je teoretski moguće nitriranje svih purina sa snažnim elektron-donirajućim skupinama. Za halogeniranje na položaju 8 potreban je slabo nukleofilan ugljikov atom. Kod monosupstituiranih purina poput adenina direktno dolazi do uvođenja broma na položaj 8 (shema 3), međutim manje reaktivan klor zahtijeva disupstituirane purine poput ksantina. 8-brompurini su ključni prekursori za sintezu fluorescentnih označenih nukleozida koji se primjenjuju u području molekularne biologije. [27]

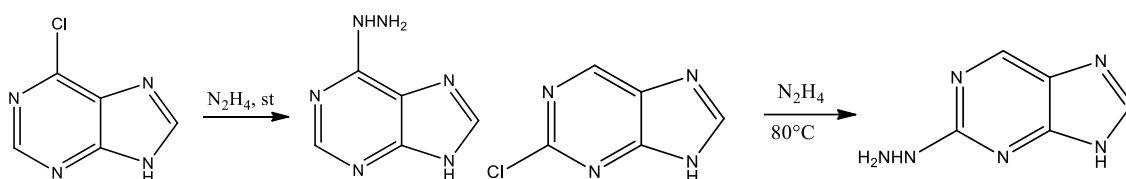


Shema 3. Bromiranje adenzina pomoću natrijevog-monobromizocijanourata (SMBI).

Reakcijom s alkilirajućim reagensima nastaju 7- ili 9-alkilpurini. Prisutnost alkiliranog ugljikovog atoma olakšava daljnje alkiliranje dušikovog atoma u aromatskom prstenu.

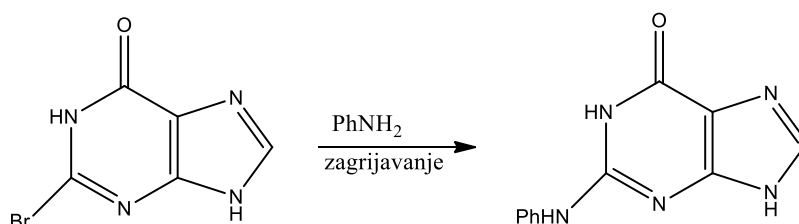
Nukleofilna supstitucija uključuje reakcije supstitucije halogena ili tio-skupine na 2-, 6- i 8-položajima s različitim supstituentima. Klorpurini su najraznolikiji derivati u kojima je redoslijed supstitucije na 2-, 6- i 8-položaju klora nukleofilnim agensom određen postojećim ionskim stanjem u reakcijskom vremenu. U primjeru napada 2,6,8-triklorpurina bazom nukleofilna supstitucija ide redoslijedom C-6, C-2 i C-8. Ako je ovakva ionizacija spriječena kao u slučaju 7- ili 9-metil-2,6,8-triklorpurina slijed ide C-8, C-6 pa C-2. Do navedenog

slijeda supstitucije dolazi i kada je prisutan kation, kao kod reakcija u kiselom mediju. Navedeni efekti objašnjavaju se pretpostavkom da u neioniziranoj molekuli pirimidinski prsten troši imidazolne π -elektrone što rezultira visoko elektrofilnim 8-položajem. U slučaju aniona dolazi do obrata. Deprotoniranjem imino skupine imidazolnog prstena izazvana elektronegativnost čini pirimidinski prsten relativno pozitivnijim čineći C-6 najelektrofilnijim položajem. Relativna reaktivnost može se prikazati uvjetima koji su potrebni za reakcije 2- i 6-klorpurina s hidrazinom, naime 6-klorpurin reagira s hidrazinom pri sobnoj temperaturi, a 2-klorpurin pri temperaturi od 80°C (shema 4).



Slika 4. Reakcije 2- i 6-klorpurina s hidrazinom

Halo-oksoipurini reagiraju čak i sa slabim nukleofilima zbog elektron-odvlačujuće okso skupine. (shema 5) [28]



Shema 5. Reakcija halo-oksoipurina sa slabim nukleofilima

Purini podliježu i reakcijama adicije, međutim pošto je purinski prsten zaštićenog karaktera, reakcije ovog tipa su ograničene. Najznačajnije uključuju adicije na dušikovom atomu. Primjer je Michaelova reakcija adicije alkenilnih derivata sa 6-supstituiranim purinima u bazičnim uvjetima pri čemu nastaju 9-alkilpurini. [26]

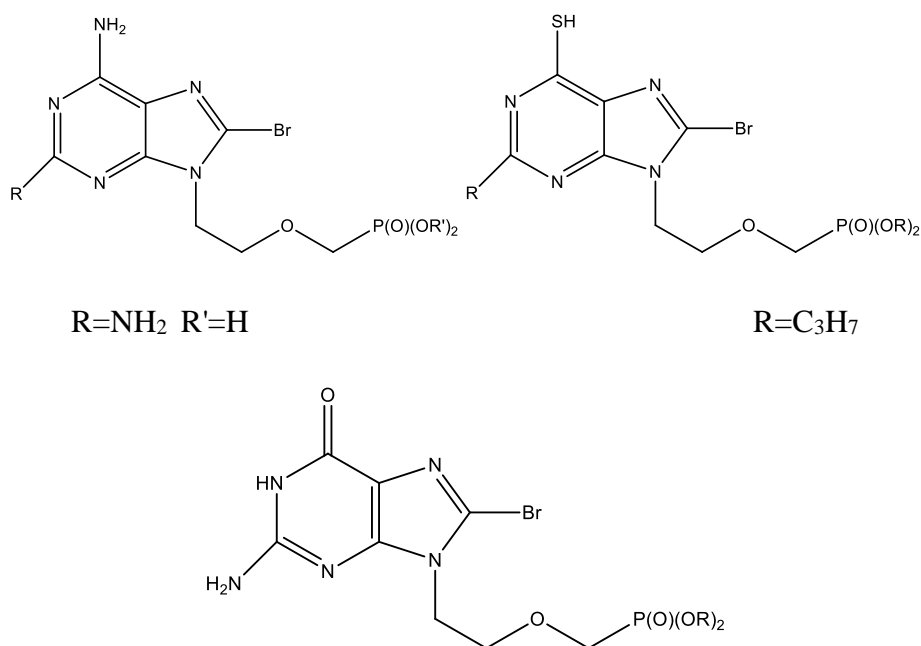
2.1.6 Biološko djelovanje purinskih derivata

Stanice zaražene virusom imaju povećane zahtjeve za purinskim nukleotidima koji su potrebni za sintezu virusne DNK ili RNK. To čini enzim inozin-5'-monofosfat dehidrogenazu

(IMPDH) osjetljivom metom protuvirusne terapije te su sintetizirani 2-funkcionalni purinski nukleozidi i testirani kao protuvirusni agensi *in vitro* protiv vaccinia virusa. [29]

Također je poznato da su mnogi derivati adenzina biološki aktivni *in vitro*, a neaktivni *in vivo* zbog uklanjanja amino skupine pomoću adenzin-deaminaze čime se deaktiviraju inozinski derivati. Pretpostavljeno je da molekule poput 9-[[2-hidroki-1-(hidroksimetil)etoksi]metil]adenina koje imaju sva kemijska svojstva deoksiadenozina, ali kojima nedostaje rigidna struktura karbohidratnog prstena bi bili slab supstrat za adenzin deaminazu. Ako je navedeni spoj slab inhibitor adenzin-deaminaze onda može poslužiti kao odličan protuvirusni agens. Tako je sintetizirana serija purinskih aciklonuklezida i određena njihova protuvirusna aktivnost protiv HSV-1 virusa. [30]

U sličnoj studiji sintetizirana je serija dialkilnih estera purin *N*-[2-(fosfonometoksi)etil] derivata supstituiranih na 2-,6- i 8-položaju purinske baze (slika 26) te je ispitana njihova protuvirusna aktivnost. [31]

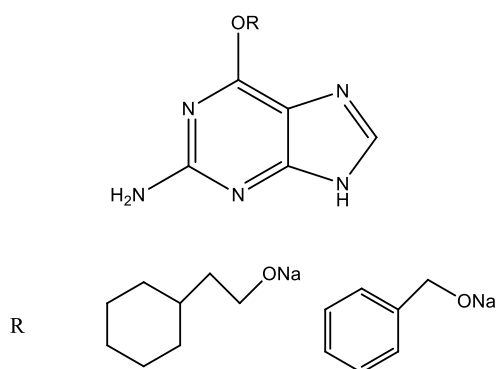


Slika 26. 7-dialkil esteri purin *N*-[2-(fosfonometoksi)etil] derivata

Sintetizirani su i *N*-9 supstituirani 6-klorpurinski derivati i ispitano je njihovo djelovanje protiv *Japanese encephalitis virus* (JEV) no niti jedan od sintetiziranih spojeva nije pokazao značajno protuvirusno djelovanje. [32]

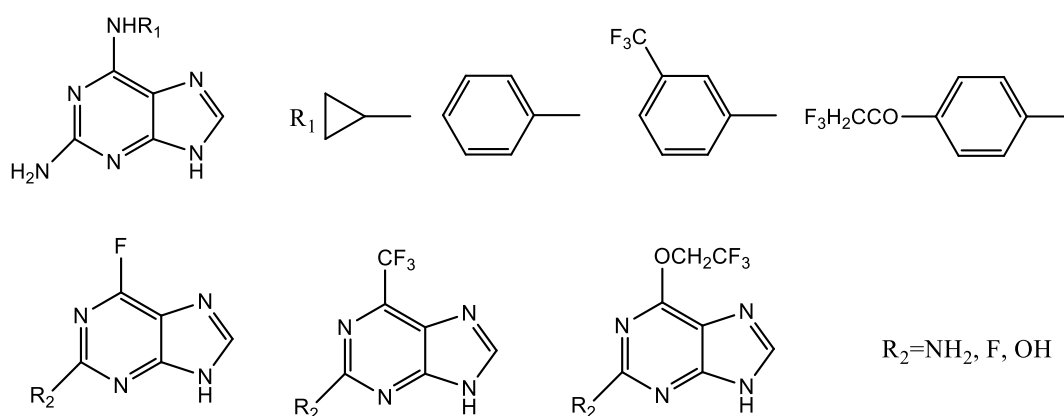
Derivati purina vrlo su važni kemičarima i biologima pošto se mogu naći u raznolikom opusu prirodnih spojeva i u klinički korisnim molekulama koje imaju raznoliko biološko djelovanje.

Poznato je da posjeduju protutuberkulozna, antimikrobna, protuvirusna i protutumorska svojstva. *O*-6-alkilgvaninski derivati igraju važnu ulogu kod stvaranja karcinoma, mutacija i smrti stanica. Ovi adukti usmjeravaju ugradnju timina ili citozina bez blokiranja DNA replikacije što rezultira tranzicijskom mutacijom GC u AT. Ovo pruža način za učinkovito deaktiviranje proteina *O*-6-alkilgvanin-DNA-alkil-transferaze (AGT) proteina i povećava učinkovitost kemoterapeutika alkilirajućih agensa *in vitro*. Tako su sintetizirani *O*-6-alkilgvaninski derivati (slika 27) i ispitana je njihova protugljivična aktivnost protiv gljivica: *Aspergillus niger* i *Candida tropicalis*. [33]



Slika 27.. *O*-6-alkilgvanin derivati

Purinske baze supstituirane u 6-položaju te njihovi derivati posjeduju širok raspon bioloških svojstava poput antituberkuloznog, protugljivičnog, antialegijskog i protutumorskog djelovanja. Derivati 6-supstituiranih purina pokazali su protugljivičnu aktivnost na već spomenutim vrstama (slika 28). [34]

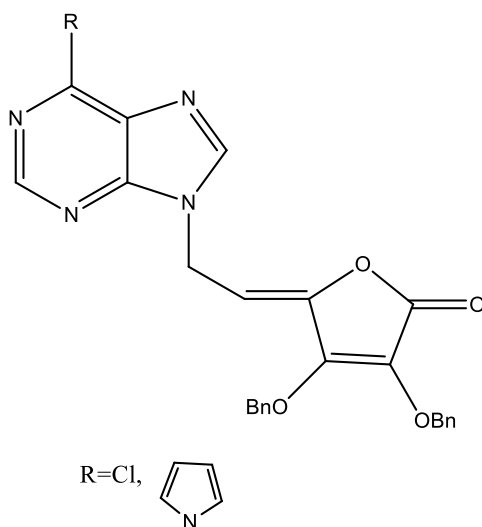


Slika 28. 6-supstituirani purini

Imajući u vidu raznoliku terapijsku aktivnost derivata 6-klorpurina sintetizirani su *N*-6-supstituirani 6-klorpurinski derivati i ispitano je njihovo antibakterijsko djelovanje protiv

bakterija *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* i *Bacillus subtilis*. Niti jedan od spojeva nije pokazao značajno antibakterijsko djelovanje. U skladu s gornjom studijom, pripremljeni su i hibridi terpen-purin iz brojnih rodova spužvi. Neki od ovih derivata su pokazali širok spektar antibakterijskog djelovanja uključujući *Mycobacterium tuberculosis*. [35]

L-askorbinska kiselina i njezini derivati poput 6-brom, 6-amino- i *N,N*-dimetil-6-amino-deoksi-*L*-askorbinske kiseline (slika 29) inhibiraju rast određenih stanica humanih malignih tumora. [36]



Slika 29. Purinski derivati *L*-askorbinske kiseline

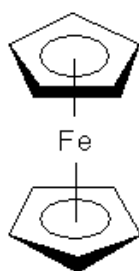
Nadalje, nekoliko nukleozida koji sadrže 5-supstituirani pirimidinski dio inhibiraju rast stanica karcinoma dojke kod miša transformiranog sa herpes simplex virusom tipa 1.

Neki od *N*-6-supstituiranih 6-klorpurinskih derivata pokazali su umjereno protutumorsko djelovanje. [37]

2.2. Ferocen

1951. godine prvi puta se spominje spoj koji sadrži željezo i dva ciklopentadienilna liganda koji je isprva okarakteriziran kao visoko i neočekivano stabilan, no točnu strukturu tek su kasnije predložili neovisno Wilkinson i Fischer. Zbog slične reaktivnosti spoja s benzenom, Woodward je novom spoju dao ime ferocen (slika 30) Izraz „sendvič spoj“ za ovaj spoj danas je opće prihvaćen za puno širu klasu spojeva. Otkriće ferocena i razjašnjenje

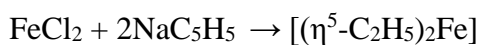
njegove posebne strukture početna je točka današnje moderne organometalne kemije. Zadnjih godina bioorganometalna kemija se razvija kao brzo rastuće i razvijajuće područje koje povezuje klasičnu organometalnu kemiju s biologijom, medicinom i molekularnom biotehnologijom. Stabilnost ferocenilne skupine u vodenom i aerobnom mediju, dostupnost velike raznolikosti derivata te povoljna elektrokemijska svojstva razlog su zašto su ferocen i njegovi derivati vrlo popularne molekule za biološku primjenu i konjugaciju s biomolekulama. [3]



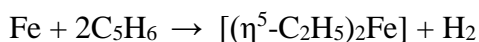
Slika 30. Struktura ferocena

2.2.1. Kemija ferocena

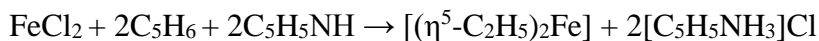
Ferocen, kao i ostali metaloceni, može se pripremiti koristeći tri različita sintetska puta. Prvi uključuje pucanje diciklopentadiena (retro Diels-Alderova reakcija) nakon čega slijedi deprotoniranje slabo kiselog ciklopentadiena s bazičnim metalom. Obradom željezovim (II) kloridom nastaje ferocen:



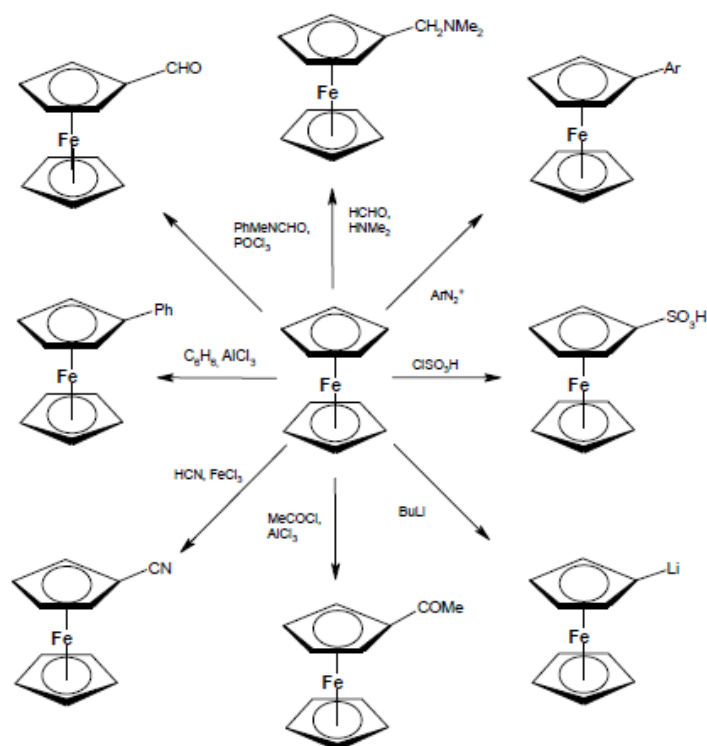
U sljedećoj metodi reaktanti se zagrijavaju do visokih temperatura te se zajedno dovode na hladnu površinu:



Ferocen se također može pripremiti korištenjem pomoćne baze koja stvara *in situ* ciklopentadienilni anion:

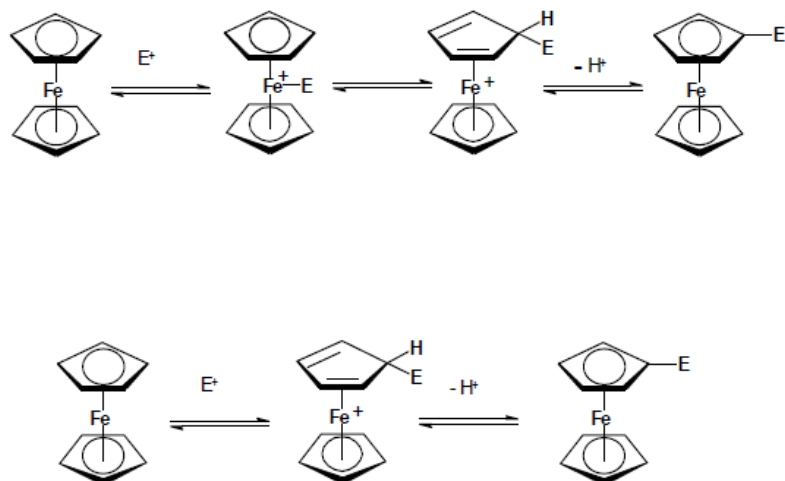


Zbog svoje stabilnosti ferocenska jedinica može izdržati relativno jake reakcijske uvjete što omogućuje širok raspon organskih transformacija (shema 6).



Shema 6. Organske reakcije ferocena

Zbog toga što ima 6 π elektrona delokaliziranih na pet atoma, ferocen je skloniji elektrofilnoj supstituciji od benzena. Ferocenilna skupina jedna je od najjačih elektron-donirajućih skupina (aminoferocen dvadeset puta je bazičniji od anilina). Predložena su dva glavna mehanizma za elektrofilnu supstituciju ferocena (shema 7). [38]



Shema 7. Dva mehanizma elektrofilne supstitucije ferocena

U prvom mehanizmu elektrofil reagira sa središnjim atomom željeza prije prelaska na aromatski prsten uz kasnije deprotoniranje. U drugom mehanizmu elektrofilni napad odvija se bez posredništva metala.

Friedel-Craftsovo aciliranje ferocena provodi se lako, dajući i mono i 1-, 1'-disupstituirane produkte. Jednom kad dođe do aciliranja na prstenu, nesupstituirani prsten je deaktiviran za sljedeću supstituciju zbog elektronskih efekata koji se prenose s jednog prstena na drugi preko centra, odnosno željezovog atoma. Friedel-Craftsova alkiliranje ferocena daje slaba iskorištenja i kombinacije poli-alkilirajućih produkata i zbog toga se značajno ne istražuje.

Litiranje ferocena također se lako provodi pomoću tert-BuLi ili n-BuLi. Protoni aromatskog prstena ferocena su blago kiseli te mogu biti deprotonirani ugljikovodičnim dijelom reagensa. Litiranje se može kontrolirati reakcijskim uvjetima. Mono-litirani intermedijar može nastati obradom ferocena sa stehiometrijskim količinama tert-BuLi ili i-BuLi. 1-, 1'-disupstituirani produkt nastaje kad se n-BuLi koristi uz *N,N,N',N'*-tetrametiletilendiamin (TMEDA). Ovakva selektivnost nemoguća je s natrijevim ili kalijevim reagensom.

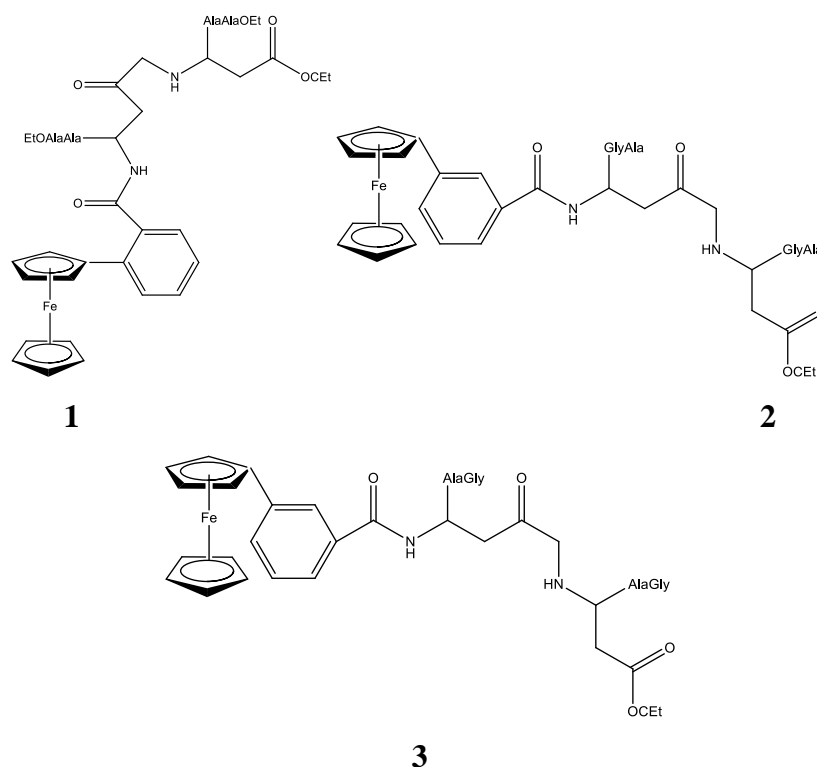
Za razliku od benzena, ferocen podliježe Mannich-ovoj reakciji s formaldehidom i aminom i stoga je više srodan tiofenu nego benzenu po svojoj reaktivnosti. Još jedna važna razlika između benzena i ferocena je u ponašanju ferocena u prisutnosti oksidirajućeg agensa (npr. NO_2^+ ili H_2SO_4). Željezov atom u centru lako se oksidira u ferocenijev ion. Direktno nitriranje, sulfoniranje ili halogeniranje ne može se izvesti na sličan način kao kod benzena. [39]

2.2.2. Biološko djelovanje derivata ferocena

Derivati ferocena s niskim oksidativnim potencijalom su značajni zbog sposobnosti kataliziranja pripreve reaktivnih oksidativnih vrsta u fiziološkim uvjetima koji pokazuju citotoksičan učinak. Neki derivati ferocena pokazali su citotoksičnost na stanice raka pluća i dojke, antiproliferacijski učinak *in vitro*, DNK detekciju i antimalarijsku aktivnost. Potraga za antitumorskim lijekovima baziranim na metalima rezultat je Rosenbergovog otkrića 1965. godine. Naime Rosenberg je otkrio da cisplatin može učinkovito inhibirati tumore. Osim razvoja lijekova na bazi platine, razvijeni su i drugi lijekovi koji u svojoj strukturi sadrže metal, a koji uzrokuju manje nuspojave. Tako se primjerice ferocenilkarboksilna kiselina ($\text{Fc}(\text{CH})_2\text{COOH}$) istražuje za potencijalno liječenje raka. Derivati *N*-(ferocenilmetil)fluorbenzenkarboksiamida pokazuju antitumorsko djelovanje na stanice raka dojke. [40]

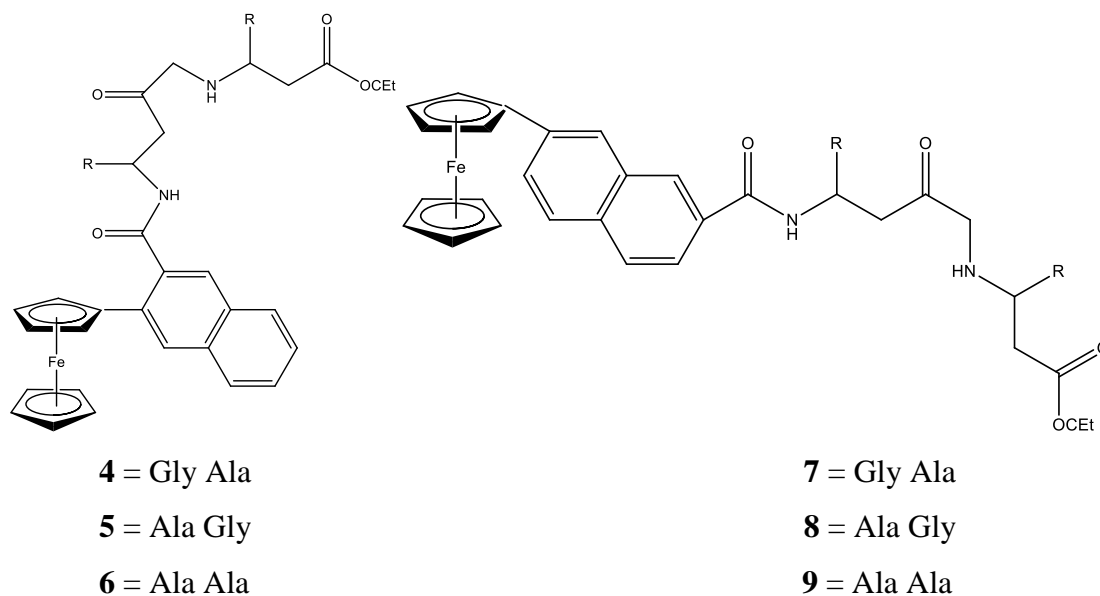
Corry i suradnici usredotočili su se u svojim istraživanjima na sintezu konjugata ferocena u kojima se bioaktivni dio (ferocen) kovalentno veže na prirodne aminokiseline i peptide. Ovakve molekule dizajnirane su s ciljem povećanja interakcije preko elektroaktivne jezgre, konjugiranog linkera koji smanjuje oksidacijski potencijal ferocenskog dijela, aminokiseline ili peptidnog derivata koji međusobno djeluje s ostalim molekulama preko vodikovih veza. Pripravljen je niz *N-meta*-ferocenilbenzoil, *N-ortho*-ferocenilbenzoil, *N*-(3-ferocenil-2-naftalen) dipeptidnih etilnih estera, *N*-(6-ferocenil-2-naftalen) dipeptidnih etilnih estera te *N*-(ferocenil)benzoil tri- i tetrapeptidnih estera te je provedeno njihovo protutumorsko djelovanje protiv staničnih linija raka pluća. Tako spojevi **2** i **3** imaju sličnu strukturu, spoj **2** pokazao se učinkovitiji protiv stanica raka pluća. Također je pronađeno da je za njihovu aktivnost ključan redosljed aminokiselina u dipeptidu. Glicin koji je vezan za benzoilnu skupinu važan je za protutumorsko djelovanje. Protutumorsko djelovanje posljedica je niskog redoks potencijala ovih derivata i njihove sposobnosti da kataliziraju stvaranje reaktivnih oksidativnih vrsta u fiziološkim uvjetima, a koje mogu oksidativno modificirati stanične komponente (na primjer DNK), poremetiti staničnu redoks ravnotežu i/ili interferirati sa staničnim signalnim procesima koji su povezani s redoks procesima. Citotoksičnost također može proizaći i iz direktnih interakcija ovih derivata s ostalim staničnim komponentama poput proteina. Citotoksičnost spoja **1** (slika 31) dva puta je veća od one derivata *ortho*-glicina te njihovo protutumorsko djelovanje proizlazi iz niskog redoks potencijala i njihove sposobnosti da kataliziraju stvaranje reaktivnih oksidativnih vrsta. Pretpostavlja se da peptidni

lanac ovih derivata ima sekundarni način djelovanja. Pravi mehanizam nije jasan, ali moguće je da se lipofilni ferocetilbenzoil dio usidri u staničnu membranu i da peptidni lanac blokira otvaranje kanala u staničnoj membrani što dovodi do stanične smrti.



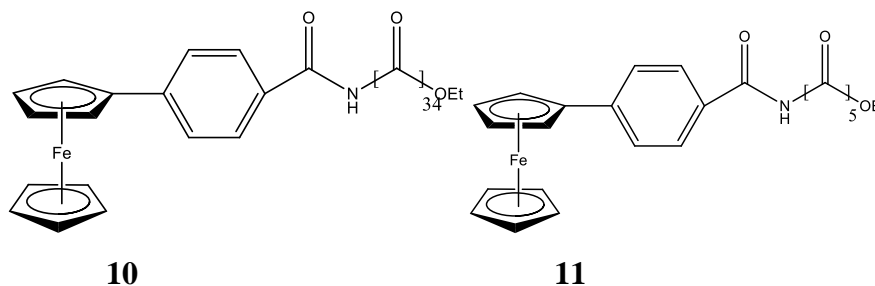
Slika 31. *N-meta*-ferocetilbenzoil, *N-orto*-ferocetilbenzoil dipeptidni etil esteri

Derivati *N*-(ferocetil)-naftalena **4-9** testirani su *in vitro* protiv stanica raka pluća (slika 32), pri čemu je pronađeno da svi derivati imaju citotoksičan učinak. Navedeni spojevi pokazuju bolju citotoksičnost *in vitro* od klinički korištenog protutumorskog lijeka karboplatina. Spojevi **4-9** pokazuju bolju biološku aktivnost u usporedbi s odgovarajućim *N*-(ferocetil)benzoil dipeptid etilnim esterima. Kod *N*-(6-ferocetil-2-naftoil) derivata, jednostavnim variranjem u peptidnom lancu udvostručen je citotoksični učinak. Među *N*-(ferocetil)naftoil derivatima, glicin-L-alanin etilni esteri **4** i **7** pokazuju bolju *in vitro* protutumorsku aktivnost prema stanicama raka pluća u usporedbi s benzoil analogima. Spoj **7** učinkovitiji je *in vitro* protiv već navedenih stanica raka pluća u usporedbi s kliničkim lijekom cisplatinom. Redoslijed aminokiselina u dipeptidnom lancu također se pokazao važnim za protutumorsku aktivnost.



Slika 32. Derivati N-(ferocetil)-naftalena

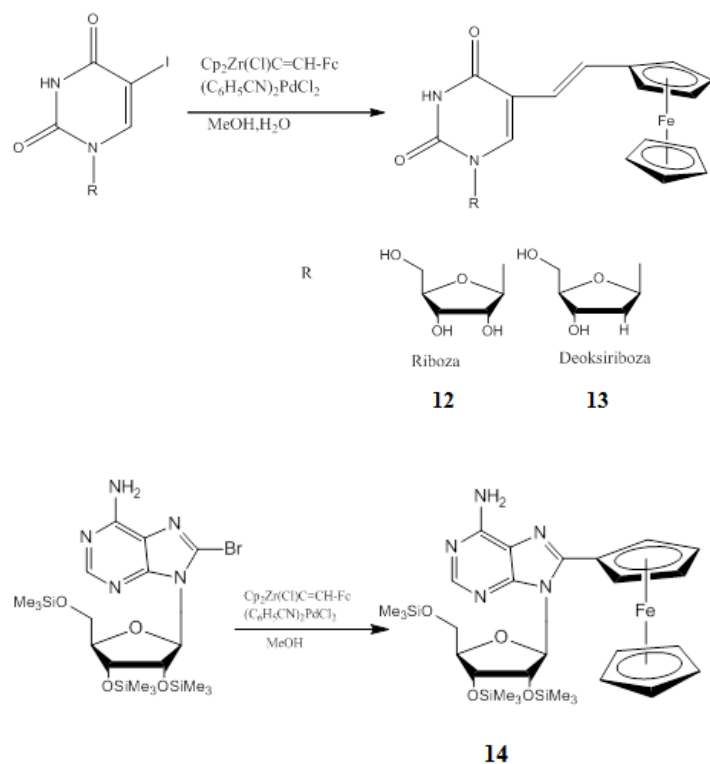
Ortho tri- i tetra-peptidni derivati **10** i **11** (slika 33) također su testirani *in vitro* protiv stanica raka pluća i pokazuju bolje djelovanje od *N*-(ferocetil)benzoilamino kiseline i dipeptidnih estera, iz čega proizlazi da produljenje peptidnog lanca ima negativni učinak na protutumorsko djelovanje. [41]



Slika 33. *Ortho* tri- i tetra-peptidni derivati

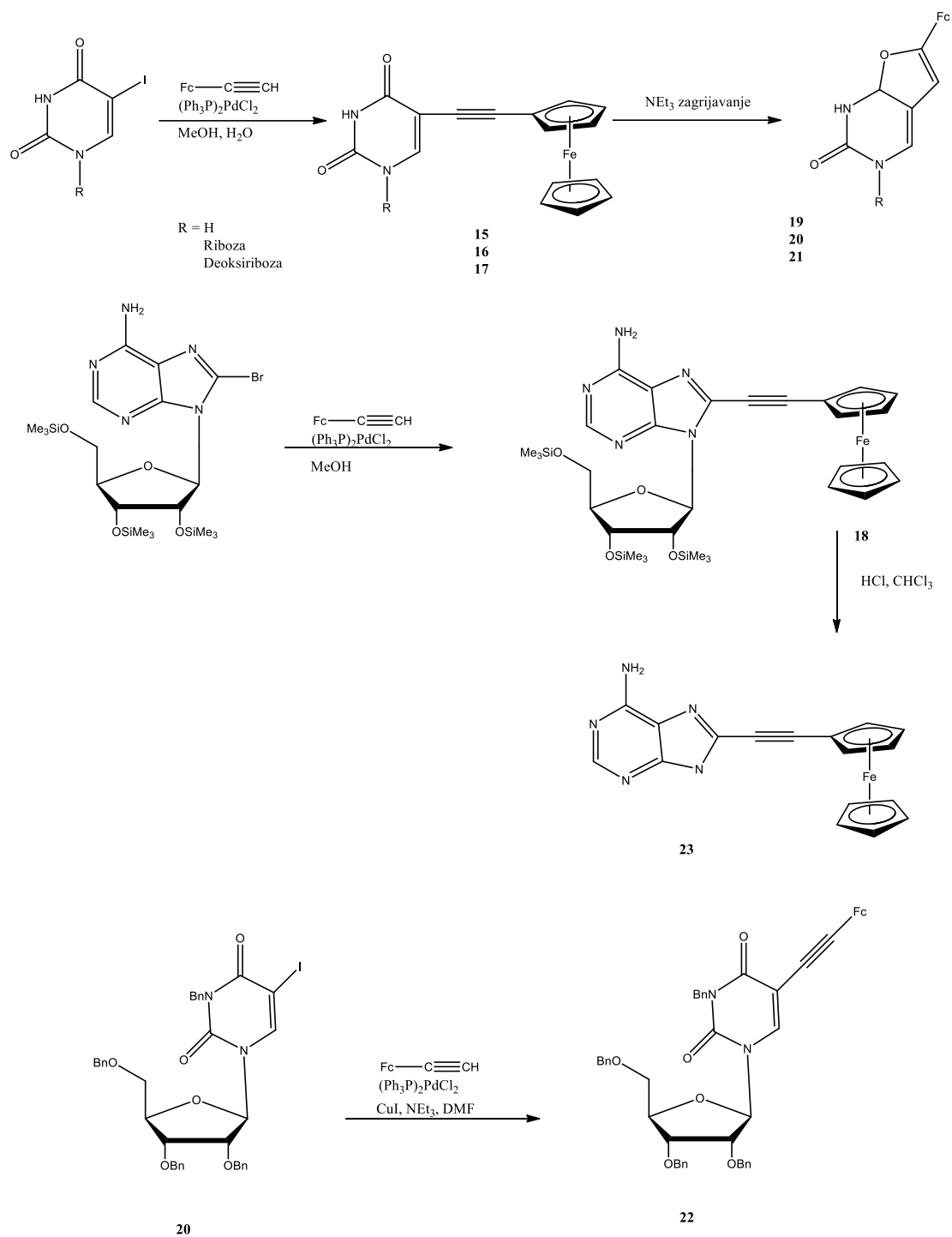
2.2.3. Ferocenski derivati nukleobaza, nukleozida i nukleotida

Ferocenski derivati nukleozida relativno su novo područje istraživanja. Gautheron i suradnici koristili su različite reakcije C—C unakrsnog povezivanja katalizirane paladijem kako bi sintetizirali ferocenske nukleozide i njihove derivate. Reakcija nezaštićenog 5-klorživa-uridina s etenil-ferocenom daje Pd kataliziranom reakcijom ferocetil-uridinske derivate. Provedena je i reakcija s TMS-zaštićenim 5-jodouridinom, 8-bromadenozinom i 2'-dezoksiuridinom uz Zr katalizator, pri čemu su derivati uridina, 2'-dezoksiuridina i adenoza **12-14** dobiveni u dobrim iskorištenjima (Shema 8).



Shema 8. Pd-katalizirana reakcija feroceniliranih nukleozida

Reakciju je također moguće provesti pomoću etinil-ferocena i 5-jodouracila, jodouridina, 2'-dezoksiuridina i bromadenozina (Sonogashira-ina reakcija) kataliziranu paladijem, pri čemu nastaje supstituirana nukleobaza 5-etinilferoceniluridin (**15**), 5-etinil-feroceniluridin (**16**) i 5-etinilferocenildezoksiuridin (**17**) kao i 5-etinilferoceniladenozin (**18**) (Shema 9).

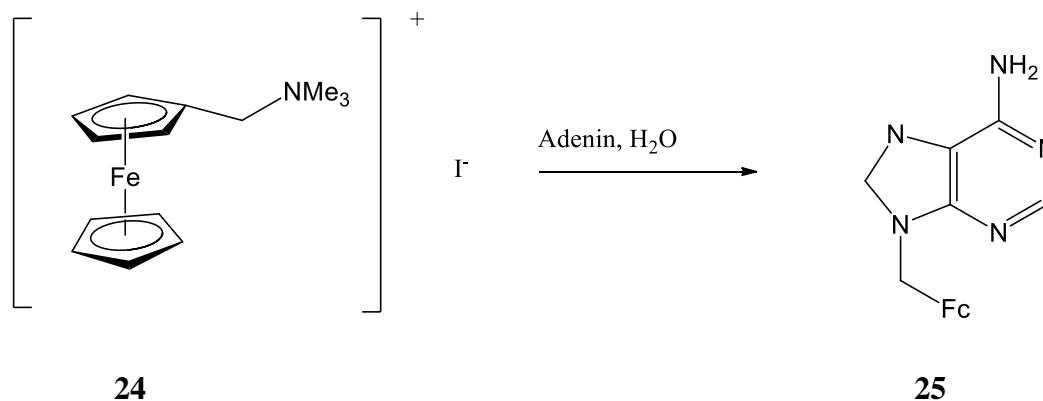


Shema 9. Sintaza feroceniliranih nukleozida Sonogashira-inom reakcijom

5-etiniluracilni derivati mogu ciklizacijom u prisutnosti baze dati ferocenilpirimidinske derivate **19-21** reakcijom *O*-heteroanulacije koja nije metal-katalizirana već se odvija zagrijavanjem etinilferoceniluracila u DMF-u u prisutnosti baze. Mehanizam reakcije predložili su Yu i suradnici. [42] U prvim publikacijama navodi se da je upotreba CuI ključna za nastajanje bicikličkog derivata koji nastaje iz spoja **15**. Mehanizam je predložen i za

zaštićeni nukleozid **20**, kod kojeg ciklizacija nije moguća te nastaje Sonogashira-in produkt **22** s iskorištenjem od 79%. Ferocenični supstituent stabilizira pozitivni naboj na etenilnoj skupini vezanoj na ugljikov atom, tako da je olakšan napad nukleofilnog atoma kisika te nastaje peteročlani prsten. Houlton i suradnici također su istražili navedenu reakciju ciklizacije na zaštićenim derivatima **17-21**. Stvaranje cikliziranog produkta **21** može se u potpunosti potisnuti odvijanjem Sonogashira-ine reakcije pri sobnoj temperaturi 4 h. Pod tim uvjetima zaštićeni 5'-DMT **17** izoliran je u iskorištenju od 75%. Cijepanje anonerne veze u derivatu feroceni-adenozina **18** pridonosi plinoviti HCl u kloroformu pri čemu nastaje produkt **23**, odnosno etinilferoceniadenin, uz pojavu plave boje ferocenijskih kationa, ali nakon obrade dobiven je etinilferoceniadenin u dobrom iskorištenju. Ispitivanje citotoksičnosti ovih derivata pokazalo je umjereno antiproliferacijsko djelovanje. [43]

Trimetil(feroceničnimetil)amonijevim jodidom (**24**) provedene su i reakcije različitih nukleobaza i derivata nukleobaza, pri čemu je sintetizirana serija derivata citozina, timina, uracila, gvanina i adenina. Reakcijom adenina s trimetil(feroceničnimetil)amonijevim jodidom pripremljen je 9-feroceničnimetiladenin (**25**) (shema 10).

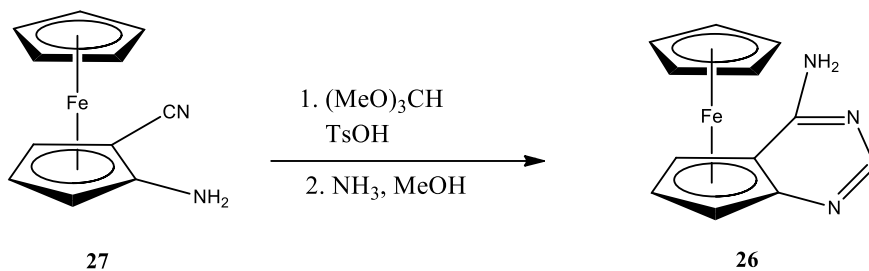


Shema 10. Sinteza 9-feroceničnimetiladenina

Prisutnost lipofilne feroceničnimetilne jedinice čini ove spojeve manje hidrofilnima no neki od ovih spojeva pokazuju stvaranje vodikovih veza u čvrstom stanju što je potvrđeno rendgenskom strukturnom analizom.

Spoj **26** s planarnom kiralnošću predstavlja drugačiji pristup metaloceničnim derivatima nukleobaza., a sintetiziran je regio- i stereospecifično sintezom od 8 stupnjeva. Ključni intermedijar u sintezi je 1-amino-2-cijanoferocen (**27**) koji ciklizacijom s trimetilortoformijatom i *p*-toluensulfonskom kiselinom nakon obrade s otopinom NH₃ u

MeOH daje planaran spoj **26** (Shema 11) koji je elektrokemijski aktivan analog adenina u kojem je elektroaktivni metalocen dio nukleobaze. [44]

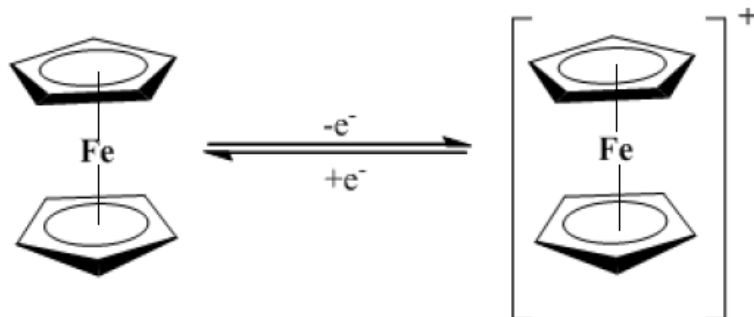


Shema 4. Sinteza spoja **26**

2.2.4. Elektrokemija ferocena

Elektrokemijsko istraživanje organskih spojeva, posebice ciklička voltometrija, učinkovit je i prikladan pristup za *in situ* karakterizaciju istraživanih molekula, a koristi se za istraživanja redoks-aktivnih reagensa u mnogim sustavima.

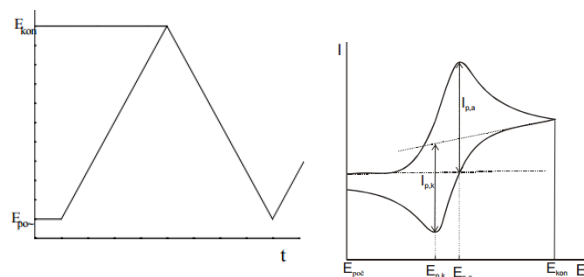
Ferocen je pogodan za elektrokemijska istraživanja jer podliježe oksidaciji u kojoj sudjeluje jedan elektron te reverzibilno nastaje fericenijev kation $\text{Fe}(\text{C}_2\text{H}_5)_2^+$ (slika 34).



Slika 34. Reverzibilna mono-oksidacija ferocena.

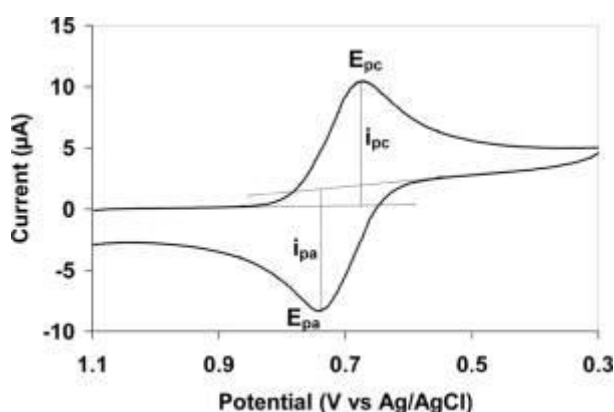
Tehnikom cikličke voltetrije najčešće se proučava redoks par ferocen/ferocenij. [45]

Ciklička voltometrija je elektrokemijska tehnika kod koje se mijenja potencijala elektrode. Jedna je to od tranzijentnih elektrokemijskih tehnika koje se osnivaju na pobudi sustava naponom ili strujom i praćenju odziva sustava.[46] Ciklička voltometrija efikasna je kod proučavanja novih sustava, a prikladna je i za kvantitativnu analizu i određivanje kinetičkih parametara.[47] Signal pobude i signal odziva u cikličkoj voltetriji prikazani su na slici 35. [46] Krivulja pobude pokazuje ovisnost potencijala o vremenu, a krivulja odziva ovisnost jakosti struje o potencijalu.[47]



Slika 35. Prikaz signala pobude i signala odziva.

Prikaz strujnog odziva kao ovisnosti struje o potencijalu naziva se ciklički voltamogram i prikazan je na slici 36. [46]



Slika 36. Ciklički voltamogram

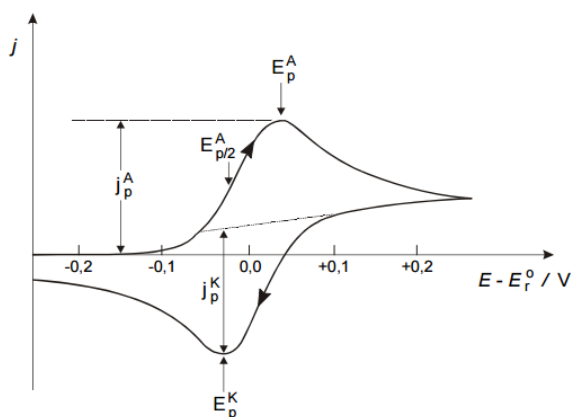
Potencijal se mijenja linearno kroz područje potencijala u kojem se odvija reakcija na elektrodi prije nego se obrne smjer promjene potencijala kako bi se odredilo je li: (a) produkt elektronskog prijelaza stabilan ili (b) reakcijski međuprodukt i završni produkt elektroaktivan. Eksperimentalne varijable specifične za cikličku voltametriju su:

- (i) Granice potencijale E_1 , E_2 , E_3 i smjer promjene potencijala
- (ii) Brzina promjene potencijala, v .

Granice potencijala definiraju dopuštene elektrodne reakcije. Eksperiment obično počinje na potencijalu gdje nema elektrodne reakcije ($j=0$) i pomiče se prema pozitivnijim vrijednostima za proučavanje oksidacije, a prema negativnijim vrijednostima za proučavanje redukcije. Brzina promjene potencijala efektivno određuje duljinu trajanja reakcije. [47]

Reverzibilne elektrodne reakcije se pojavljuju kada je konstanta brzine reakcije jako velika. Tada se koncentracije oksidiranog i reduciranog stanja na površini elektrode pokoravaju

Nernstovoj jednadžbi, a brzina reakcije je pod kontrolom difuzije. Signal odziva u cikličkoj voltametriji prikazan je na slici 37. [46]



Slika 37. Prikaz signala odziva

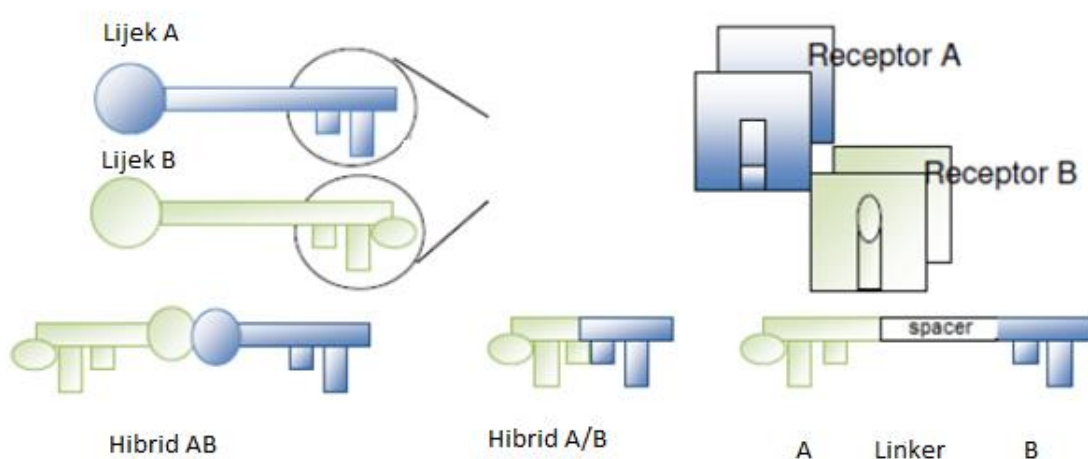
Za vrijeme početnog dijela ciklusa vrijedi $E = E_1 + vt$, a za vrijeme povratnog dijela voltametrijskog ciklusa $E = E_2 - vt$. Teorija pokazuje da je oblik voltametrijskog odziva neovisan o brzini promjene potencijala, ali je ovisan o vrijednosti gustoće struje. Oblik odziva za reverzibilnu reakciju može se potvrditi usporedbom cijelog eksperimentalno dobivenog voltamograma s predviđenim teorijskim odzivom. Za usporedbu se koriste navedeni dijagnostički kriteriji:

1. $\Delta E_p = E_p^A - E_p^K = 59/z \text{ mV}$,
2. $E_p - E_{p/2} = 59/z \text{ mV}$,
3. $\frac{-j_p^K}{j_p^A} = 1$
4. $j_p / v^{1/2}$ –konstantan, ne ovisi o v
5. E_p je neovisan o v [47]

2.3. Molekulska hibridizacija

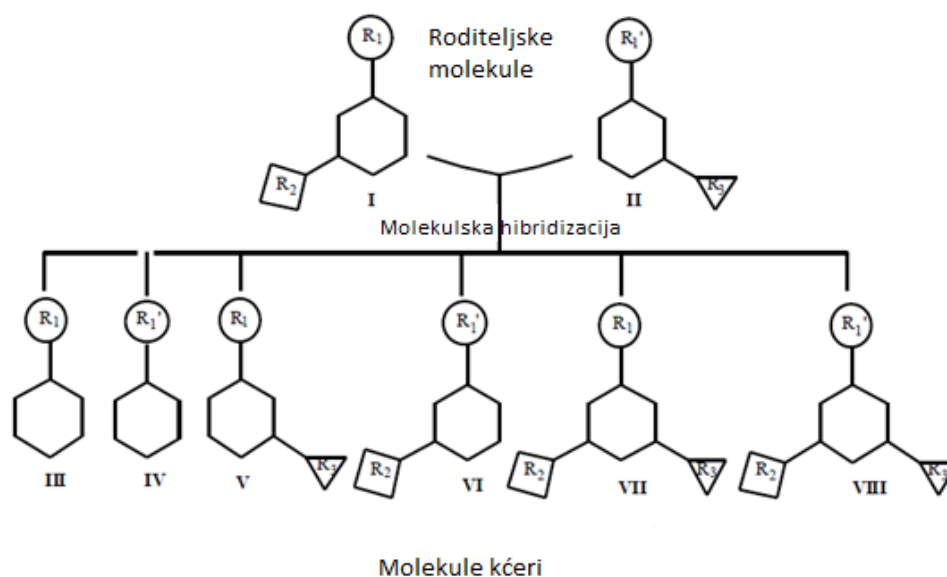
Molekulska hibridizacija je metoda molekuskog modificiranja kojom se dobivaju višestruki-ligandi/spojevi s farmakokinetičkim prednostima kombinirajući dva različita lijeka. Izraz „višestruki ligandi“ odnosi se na lijekove koji prepoznaju više od jednog receptora. Prednosti višestrukih liganada su njihova mogućnost aktiviranja različitih meta jednom molekulom i na taj način povećanje terapijske učinkovitosti i mijenjanje profila biološke

dostupnosti u stanici te mogućnost jednostavnog eliminiranja nakon djelovanja. Proces hibridizacije usko je povezan sa strategijom nastajanja zajedničkog prolijeka. Glavna razlika je da djelovanje prolijeka ovisi o njegovom cijepanju *in vivo* dok hibridni spojevi mogu djelovati „sami po sebi“ kao njihovi specifični receptori ili mete (shema 12). Hibridni spojevi mogu nastati direktnim povezivanjem farmakofornih jedinica ili pomoću spojnog agensa. [48]



Shema 12. Nastajanje molekularnih hibrida. A/B hibrid nastaje povezivanjem dva lijeka sa ili bez linkera.

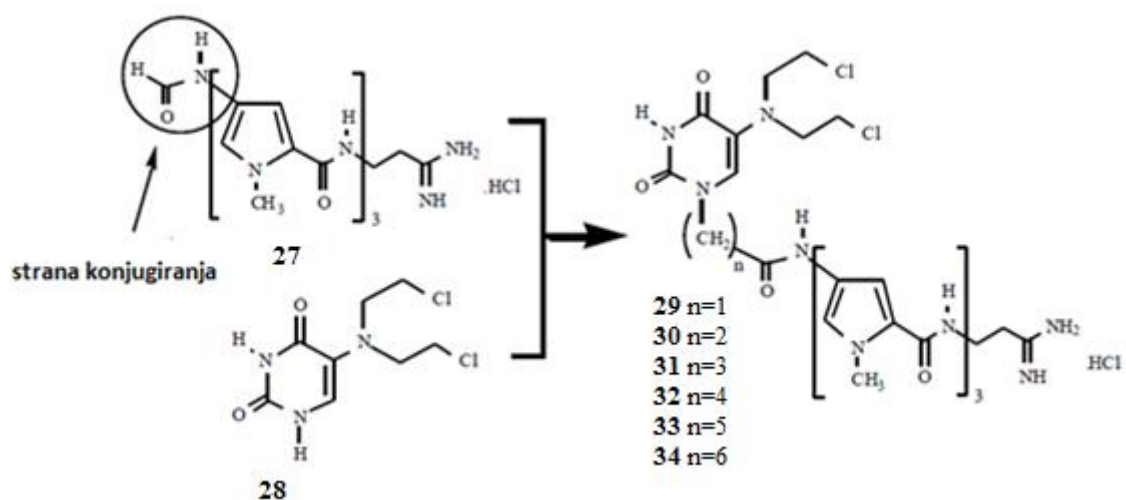
Na temelju poznavanja i korištenja poznatih molekula koji imaju poznata kemijska i farmakološka svojstva, toksičnost i mehanizam djelovanja moguće je stvaranje opsežne kemijske knjižnice. Ta zamišljena knjižnica sastoji se od tisuća sličnih molekularnih hibrida i preko njih pruža visoku razinu prikupljenih informacija poput strukturnih zahtjeva, načina međudjelovanja ligand-protein, mjesto međudjelovanja ligand-receptor i kvantitativni odnos struktura-aktivnost. Navedeni princip omogućuje brži i učinkovitiji razvoj novih lijekova. Holland je predložio poopćenje metode molekularne hibridizacije koristeći principe biološke evolucije da bi objasnio kemijsku evoluciju pomoću genetičkih algoritama koji pomažu prilikom strateškog optimiziranja, a temelje se na Darwinovom modelu prirodne i evolucijske selekcije. Holland je dao prijedlog kemijske evolucije u kojemu se populacija roditeljskih molekula dinamički razvija genetičkim križanjem i optimizacijom čime nastaju nove generacije hibridnih molekula kćeri rekombinacijom strukturnih jedinica R_1 , R_2 , R_1' i R_3 (shema 13).



Shema 13. Prijedlog kemijske evolucije kombiniranjem različitih strukturnih podjedinica roditeljskih molekula

Shema 13 prikazuje dvije roditeljske molekule; I i II. Roditeljska molekula I supstituirana je podjedinicama R_1 i R_2 , a roditeljska molekula II ima supstituente R_1' i R_3 . Podjedinice R_1 i R_1' zadržavaju isto mjesto supstitucije stvaranjem molekula kćeri dok se R_2 i R_3 pojavljuju na drugom i trećem mjestu supstitucije, ali mogu i izostati. Stoga postoji 6 mogućih kombinacija, odnosno nastaje 6 molekula kćeri (III-VIII) u drugoj generaciji rekombiniranjem originalnih molekula I i II. [49]

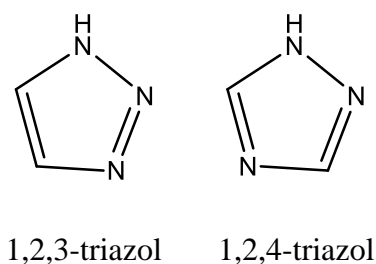
Istraživanjem molekulske hibridizacije s nukleobazama bavili su se Baraldi i suradnici. Oni su istraživali strukturu distamicina-A (**27**) i uramustina (**28**), uracilne gorušice sa snažnom DNK-alkilirajućom aktivnošću kako bi sintetizirali hibridne protutumorske agense. Konjugacijom farmakofornih podjedinica **27** i **28**, povezanih pomoću polimetilenskih lanaca različitih veličina, dobiveno je šest novih hibridnih spojeva (**29-34**) s boljom protutumorskom aktivnošću od distamicina-A i uramustina (slika 38). Spojevi su testirani protiv stanica humane leukemije, a **29**, **30** i **31** imaju kraće linkere (1 do 3 ugljika) te pokazuju sličan, skroman protutumorski učinak, koji se može poboljšati bar dvadeset puta povećanjem duljine linkera. Uočeno je da je hibrid s najvećim citotoksičnim djelovanjem derivat **34**. Njegova citotoksičnost 1000 puta je veća od one distamicina-A u istim eksperimentalnim uvjetima, a povezana je s poboljšanjem transporta ovih molekula zbog povećanja lipofilnosti pošto su hibridi s duljim linkerima bili najaktivniji. [49]



Slika 38. Hibridizacija prtotumorskih agensa distamicina-A i uramustina

2.4. Derivati 1,2,3-triazola

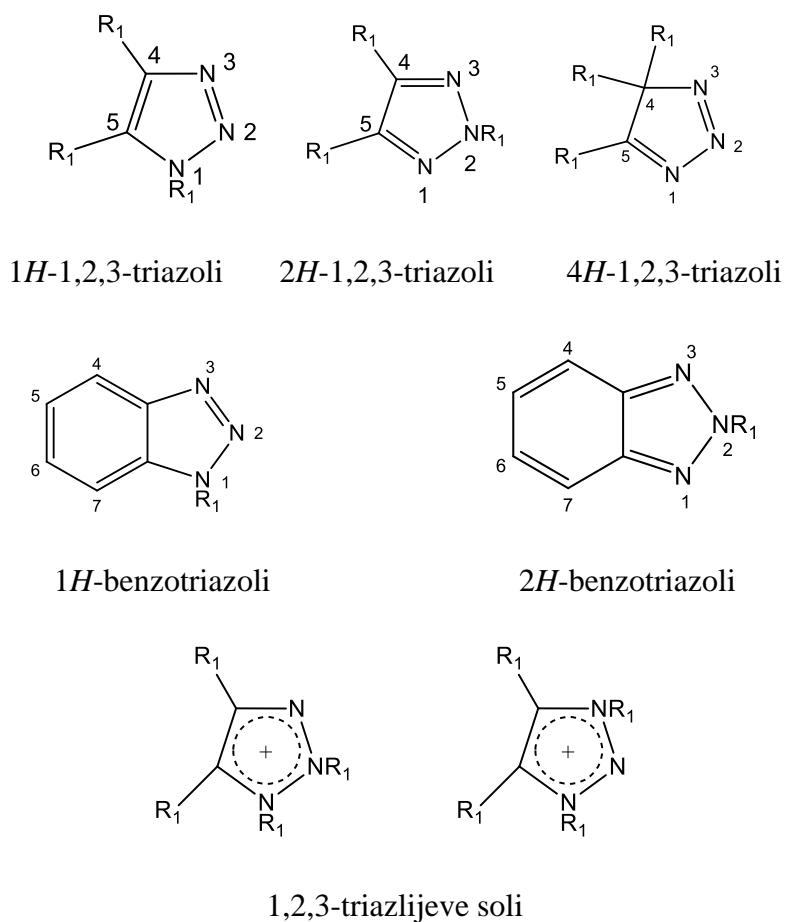
Pojam triazol odnosi se na dva izomera molekulske formule $C_2H_3N_3$. Triazoli u svojoj strukturi sadrže peteročlani prsten s dva ugljikova i tri dušikova atoma. Na slici 39 prikazani su izomeri triazola. [50]



Slika 39. Izomeri triazola

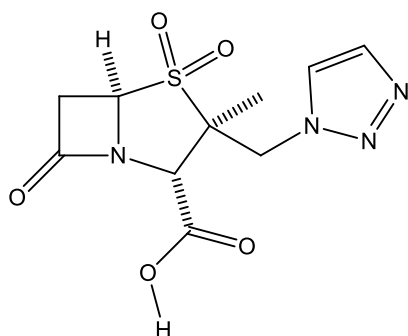
1,2,3-triazoli važni su heterociklički spojevi. Nalaze brojnu primjenu u industriji, i to kao bojila, fluorescentni izbjeljivači, fotostabilizatori polimera, inhibitori korozije te fotografski fotoreceptori. Zbog izuzetne biološke aktivnosti primjenjuju se u medicini i poljoprivredi. Sintaza heterocikličkih sustava s visokim brojem dušikovih atoma važna je u farmaceutskoj i poljoprivrednoj industriji. Triazolna jezgra jedna je od najvažnijih heterocikličkih spojeva te je sastavni dio prirodnih produkata i medicinskih agensa. U njima je upravo triazolna jezgra centar aktivnosti. Nastajanje raznih derivata triazolnog prstena temelji se na fenomenu bioizosterizma. Dolazi do zamjene kisika oksadiazolne jezgre s analogom dušikovog triazola. Triazolni derivati su raznoliki i dio su brojnih klinički korištenih lijekova [51].

1,2,3-triazoli podijeljeni su u tri skupine; monociklički 1,2,3-triazoli, benzotriazoli i 1,2,3-triazolijeve soli. Na slici 40 prikazane su i podjele monocikličkih 1,2,3-triazola ovisno o položaju supstituenata. *1H*- i *2H*-1,2,3-triazoli aromatski su spojevi, a njihov *4H*-izomer nije. Zbog ove činjenice postoji vrlo malo primjera *4H*-1,2,3-triazola. [52]



Slika 40. Podjela 1,2,3-triazola

Supstituirani 1,2,3-triazoli mogu se pripremiti koristeći azid-alkin Huisgenovu cikloadiciju u kojoj azid i alkin podliježu 1,3-dipolarnoj reakciji cikloadicije. Nastaje stabilna struktura u usporedbi s drugim organskim spojevima s tri susjedna dušikova atoma. Međutim, vakuum pirolizom pri 500°C dolazi do izlaska dušika (N₂) i nastaje aziridin. Neki triazoli se relativno lako cijepaju zbog tzv. prsten-lanac tautomerizacije. 1,2,3-triazoli gradivni su blokovi kompleksnijih kemijskih spojeva poput farmaceutskih lijekova primjerice tazobactam. (slika 41) [50]

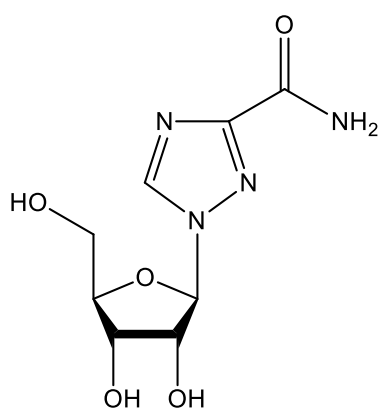


Slika 41. Struktura tazobactama

Razlog česte primjene triazola u medicinskoj kemiji je stabilnost 1,2,3-triazolne jezgre prema kiseloj i bazičnoj hidrolizi. Također je stabilna prema oksidativnim i reduktivnim uvjetima uz visoku aromatsku stabilizaciju i relativnu otpornost prema metaboličkoj razgradnji.[6] U isto vrijeme ima visoki dipolni moment i aktivno sudjeluje u formiranju vodikove veze kao i u dipol-dipol interakcijama. [53].

1,2,3-triazoli posjeduju protuupalnu, antituberkuloznu, antitumornu, antimikrobnu, antivirusnu, antibakterijsku aktivnost i mnoge druge. [54]

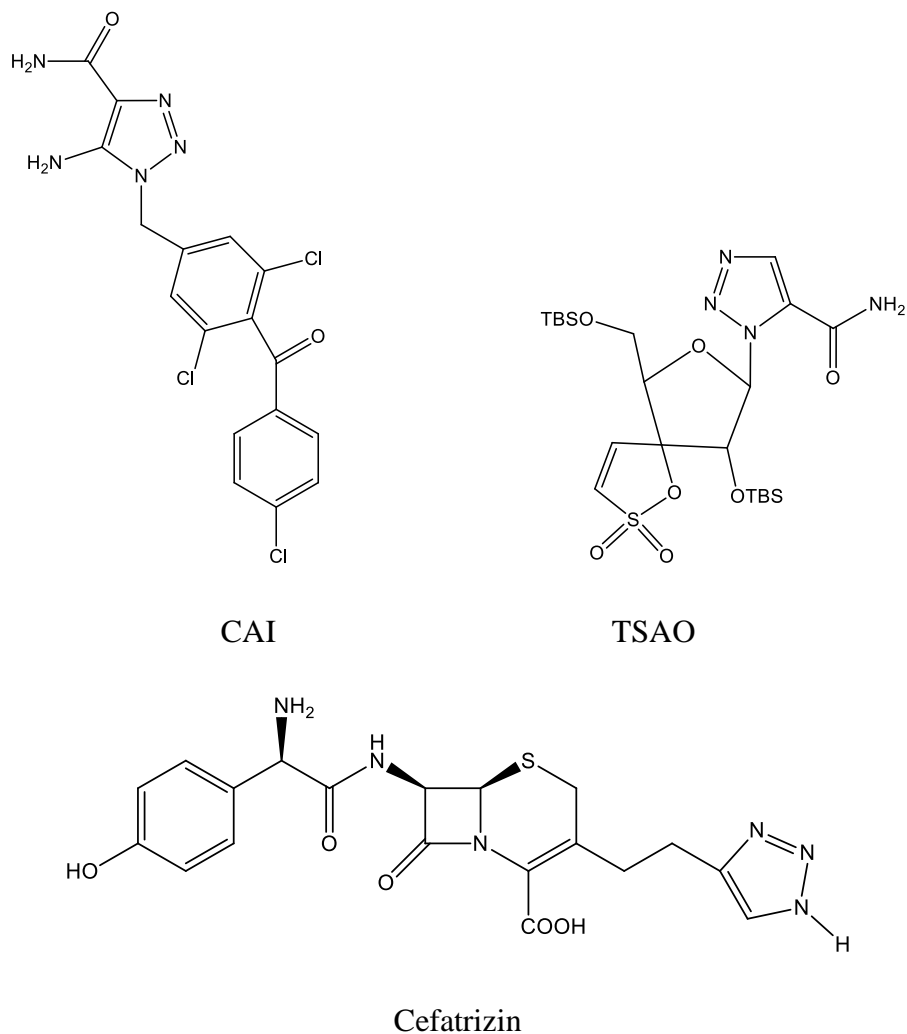
Kako bi se poboljšala protutumorska i protuvirusna aktivnost, triazolni prsten počeo se uvoditi u nukleozidne derivate. Prvi triazolni nukleozid sa širokim spektrom protuvirusnog djelovanja odobren za korištenje protiv hepatitis C virusa koji se koristi diljem svijeta je ribavirin (slika 42). Razvoj navedenog spoja bio je poticaj sintezi i ispitivanju biološkog djelovanja 1,2,3-triazolnih nukleozida. [55]



Slika 42. Struktura ribavirina

Protutumorski spoj karboksiamidotriazol (CAI), nukleozidni derivat koji je inhibitor nenukleozidne reverzne transkriptaze (TSAO), β -laktamski antibiotiktazobaktam,

cefalosporin, cefatrizin i mnogi drugi potencijalni su lijekovi koji u svojoj strukturi sadrže 1,2,3-triazolni prsten (slika 43). [56]



Slika 43. Potencijalni lijekovi temeljeni na strukturi 1,2,3-triazola

2.5. „Klik“ kemija

U području farmaceutskih znanosti istraživači neprestano traže nove molekule i strukture koje posjeduju specifična svojstva. Lako je dizajnirati strukturu, no pravi problem leži u putu sinteze i pročišćavanju. Naime idealno bi bilo kada bi se dostupne strukturne jedinice mogle jednostavno povezati zajedno i tvoriti brojne željene molekule u samo nekoliko kratkih sintetskih koraka. Za sada ovaj koncept ostaje daleko ostvariv san, ali novi koncept „klik“ kemije pruža tračak nade.

Od kad ju je prvi put Dr. Berry Sharpless 1999. godine predstavio na 217. Godišnjem skupu Američkog društva kemičara, „klik“ kemija je postala vrlo popularna tema.

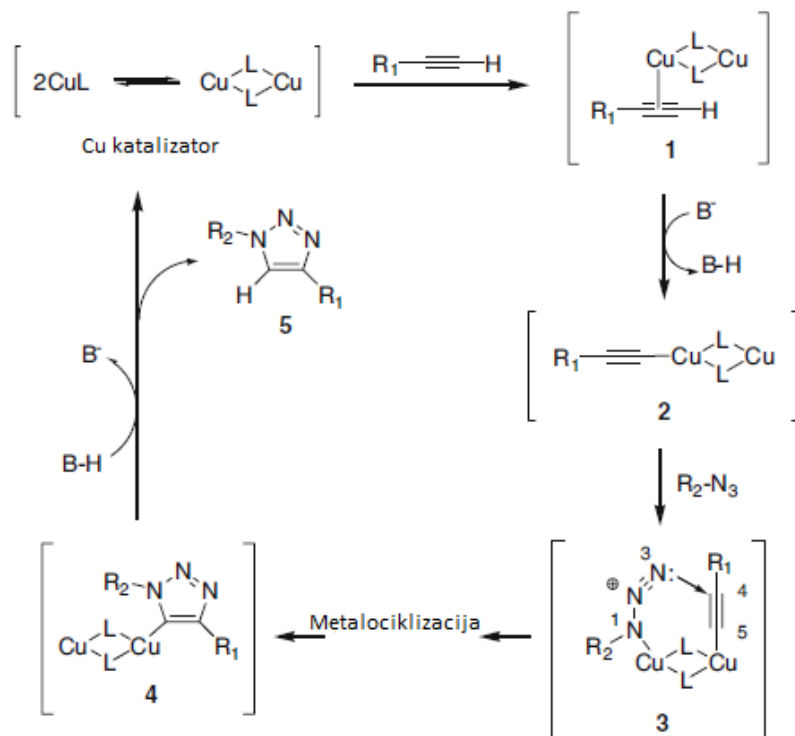
U svom preglednom radu 2001. Dr. Sharpless definira „klik“ kemiju kao skupinu reakcija koje...“ moraju biti modularne, širokog opsega, daju visoka iskorištenja, daju samo neškodljive nusprodukte koji se mogu ukloniti nekromatografskim metodama i mogu biti stereospecifične (ali ne nužno i enantioselektivne). [57] Takve reakcije uključuju jednostavne reakcijske uvjete (idealno proces ne bi trebao biti osjetljiv na kisik i vodu) i lako dostupne početne materijale i reagense. Reakcije se često odvijaju bez otapala, a ako se odvijaju u otapalu, ono je neškodljivo ili se lako uklanja. Produkti se jednostavno izdvajaju. Pročišćavanje, ako je potrebno, provodi se nekromatografskom metodom poput kristalizacije ili destilacije. Produkt mora biti stabilan u fiziološkim uvjetima. Sporost i neučinkovitost konvencionalnih procesa otkrića lijekova potaknuli su dr. Sharplessa da predloži novu metodu kojom se mogu lako i jednostavno pripremiti velike kombinatorne knjižnice vezanjem slobodnih gradivnih blokova pomoću „klik“ reakcija. [58] Glavno pravilo ovog pristupa je...“sva istraživanja moraju biti ograničena na molekule koje je jednostavno „napraviti“. [57] „Klik“ reakcije podijeljene su u kategorije:

- Reakcije cikloadicije – primarno se odnosi na 1,3-dipolarne cikloadicije, ali uključuje i hetero-Diels-Alderove cikloadicije.
- Nukleofilno otvaranje prstena – odnosi se na otvaranje napetih heterocikličkih elektrofila poput aziridina, epoksida, cikličkih sulfata, aziridinijevih iona i slično.
- Karbonilna kemija nealdolnog tipa – primjeri uključuju stvaranje ureje, tioureje, amida, aromatskih heterocikala itd. Općenito su pod termodinamičkom kontrolom, a posljedično imaju duže reakcijsko vrijeme i daju nusprodukte i zbog toga nisu pogodne za „klik“ reakcije.
- Adicije na ugljik-ugljik višestruke veze – primjeri uključuju otvaranje epoksida, aziridina i diola.

Najčešće korištene metode su cikloadicije, posebno Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija katalizirana Cu(I) (HDC) azida i terminalnih alkena pri čemu nastaju 1,2,3-triazoli. Navedeni tip reakcije je školski primjer „klik“ reakcija. Naime savršeno ispunjava sve kriterije „klik“ kemije i zbog toga je vrlo pouzdana i jednostavna za upotrebu. Ovom reakcijom isključivo nastaju 1,4-supstituirani produkti što čini ovu reakciju regiospecifičnom. Ovaj tip reakcije ne zahtijeva visoke temperature već se izvodi pri širokom rasponu temperatura (0-160°C) u

različitim otapalima (uključujući i vodu). Također se provodi u širokom pH području (5-12). Reakcije se odvijaju 10^7 puta brže od nekataliziranih reakcija. Pročišćavanje se sastoji od filtriranja produkta, a sterički faktori ne utječu na ove reakcije. Navedene karakteristike čine reakcije cikloadicije prilično popularnima naspram drugih tipova „klik“ reakcija. Dva dodatna razloga popularnosti reakcija cikloadicije su jednostavno i lako vezivanje azida i terminalnih alkina te ekstremna stabilnost pri standardnim uvjetima.

Slijedi mehanizam HDC reakcija koji se odvija u nekoliko stupnjeva kako je prikazano na shemi 14. Prvi stupanj je π kompleksiranje Cu(I) dimera na alkin (a). Slijedi deprotoniranje terminalnog vodika te stvaranje Cu-acetilida (b). π kompleksiranje Cu(I) dimera snižava pK_a terminalnog alkina za 9,8 pH jedinica što omogućuje deprotoniranje u vodenoj otopini bez dodatka baze. U sljedećem koraku N(1) premješta jedan od liganada sa sekundarnog Cu na Cu-acetilid kompleks čime nastaje (c). Tako aktivirani azid podložan je nukleofilnom napadu na ugljikov atom. Zbog neposrednosti i elektronskih faktora N(3) lako napada C(4) atom alkina što vodi do nastajanja metalocikličkog spoja, a slobodni par elektrona N(1) atoma napada C(5) pri čemu nastaje triazol (d). Nakon stvaranja triazola vezani se Cu dimer odmah veže na sljedeći terminalni alkin. Međutim, drugi terminalni alkin ne podliježe cikloadiciji zbog nepovoljne strukture kompleksa i disocira protoniranjem te nastaje (d). Konačno protoniranje otpušta Cu(I) katalizator s 1,2,3-triazolnog produkta (e) te podliježe sljedećem katalitičkom ciklusu s drugim supstratima. Oba navedena protoniranja najvjerojatnije su rezultat reakcija s protoniranom bazom i/ili otapalom, ali daljnje studije su potrebne da bi se to potvrdilo. [58]



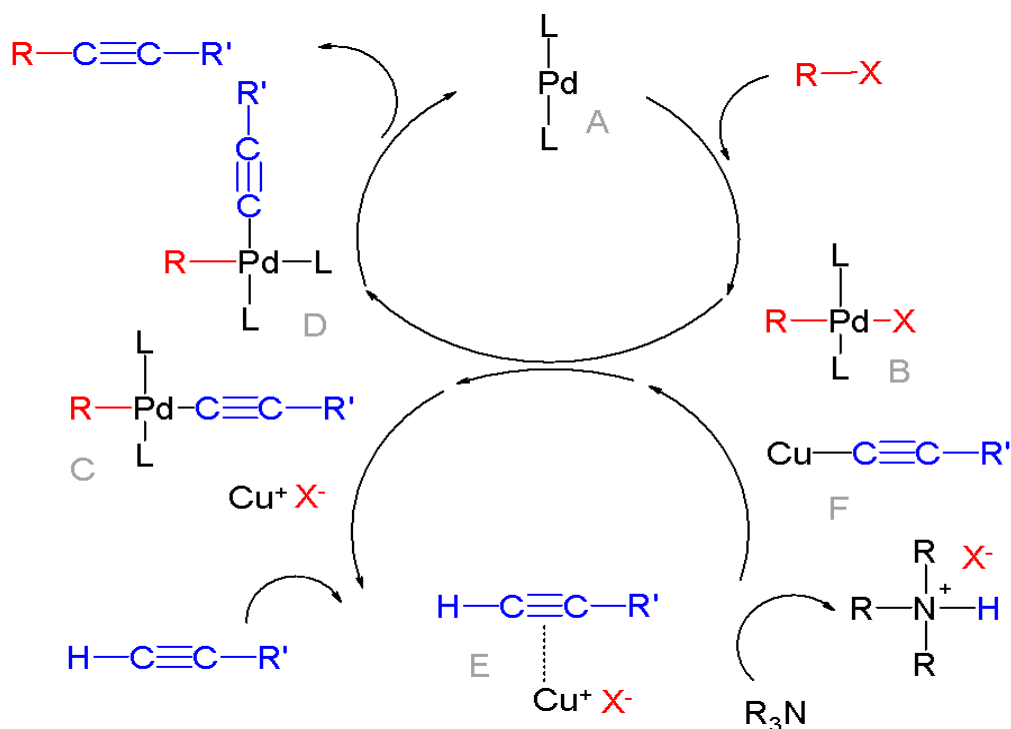
Shema 14. Predloženi mehanizam HDC reakcija

2.6. Sonogashira-ina reakcija

Sonogashira-ina reakcija unakrsnog spajanja jedna je od najšire rasprostranjenih metoda povezivanja vinilnih ili arilnih halida s terminalnim alkinima pri čemu nastaju konjugirani enini ili arilni alkini.[59]

Kenkichi Sonogashira otkrio je Sonogashira-inu reakciju spajanja 1975. godine. [60] Tradicionalne reakcije Sonogashira-inog spajanja su reakcije vinilnih i arilnih halida i terminalnih alkina. Kada se arilni ili vinilni halid veže s terminalnim alkinom može nastati tisuću različitih produkata kako je pokazano i u mnogobrojnoj literaturi koja se temelji na Sonogashira-inim reakcijama. U prošlosti reakcija se najčešće provodila u sustavu koji sadrži paladij kao katalizator, bakrov jodid kao kokatalizator i dodatak amina. [61] Reakcijski uvjeti konstantno se mijenjaju i modificiraju kako bi se riješili problemi koji su povezani s ovim tipom reakcija.

Potpuni mehanizam Sonogashira-ine reakcije nije u potpunosti razjašnjen zbog teškoća izoliranja i analiziranja organometalnih spojeva koji su samo posrednici u reakciji. Pretpostavljena su dva nezavisna katalitička ciklusa (Shema 15) [62]

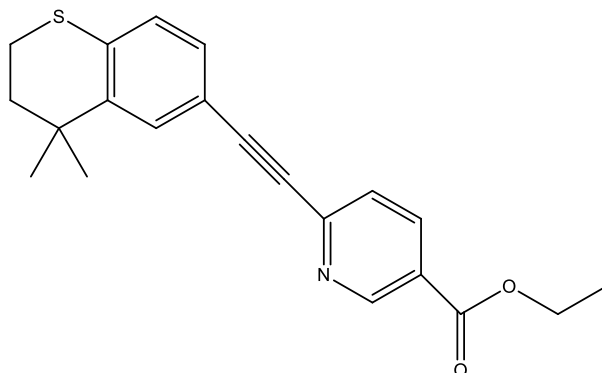


Shema 15. Mehanizam Sonogashira-ine reakcije

Početak paladijevog katalitičkog ciklusa započinje oksidativnom adicijom arilnog halida. Vezanjem arila i halogenog elementa zasebno za atom paladija nastaje organometalni spoj. Bakrov katalitički ciklus započinje disocijacijom bakrovog halogenida i nastajanjem organometalnog spoja u kojem se bakar veže na alkin supstitucijom s terminalnim atomom vodika. Transmetaliranje dva organometalna spoja uzrokuje otpuštanje halogena u arilnom te bakra u alkilnom spoju. Pritom dolazi do regeneracije bakrovog halogenida u bakrovom katalitičkom ciklusu. U zadnjem stupnju reaktivnom eliminacijom nastaje produkt, odnosno stvara se veza između arila i alkina. Pritom dolazi do regeneracije paladijevog katalizatora u paladijevom katalitičkom ciklusu.

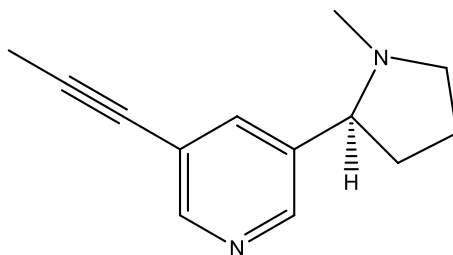
Razlog zašto je otkriće Sonogashira-ine reakcije izazvalo pozitivne reakcije je taj što je riješeno nekoliko problema s kojima su se istraživači suočavali prilikom sinteze specifičnih alkinskih spojeva. Reakcijom je uveden koncept korištenja bakrovog jodida kao kokatalizatora. Novi reagens u paru s paladijevim katalizatorom omogućava sintezu enina i arilnih alkina pri sobnoj temperaturi. Starije reakcije zahtijevale su izvođenje reakcije pri

temperaturama od 100°C. [60] Sonogashira-ine reakcije koriste se u sintezama različitih organskih spojeva te u proizvodnji farmaceutika, poljoprivrednih kemikalija i prirodnih produkata. Sonogashira-ine reakcije koriste se i u medicinskoj kemiji. Na primjer koriste se za sintezu tazarotena (slika 44) koji se koristi u liječenju akni i psorijaze. [63]



Slika 44. Struktura tazarotena.

Još jedan primjer korištenja Sonogashira-ine reakcije u medicinskoj kemiji je za proizvodnju altiniclina (slika 45) koji se koristi u liječenju Parkinsonove bolesti. [64]



Slika 45. Struktura altiniclina

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Opće napomene

Sva korištena otapala sušena su i pročišćavana prema preporučenom postupku sušenja agensima i/ili destiliranjem iznad 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.

Točke tališta određene su na instrumentu *Kofler* micro hot-stage (*Reichert*, Wien) i nisu korigirane.

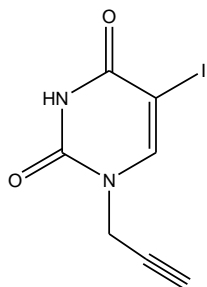
Kromatografija na koloni provedena je na silikagelu *Fluka* (0.063-0.2 nm), a staklene kolone su punjene pod utjecajem gravitacije te je kao eluens korištena smjesa otapala diklormetan : metanol u odgovarajućem omjeru.

Spektri $^1\text{H-NMR}$ su snimljeni na spektrometru Bruker Avance 300 i 600 MHz. Svi su uzorci otopljeni u DMSO-d_6 i mjereni pri 298 K u NMR cjevčici promjera 5 mm. Kemijski pomaci (δ) u $^1\text{H-NMR}$ 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.

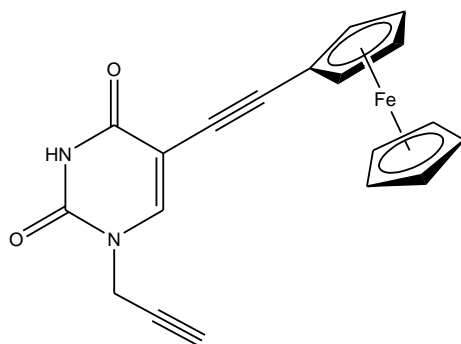
Reakcije potpomognute mikrovalnim zračenjem provedene su u Milestone Start S mikrovalnoj pećnici u kvarcnim posudama.

Ciklička voltometrija provedena je s potencijostatom EG&G Princeton Applied Research, model 263A.

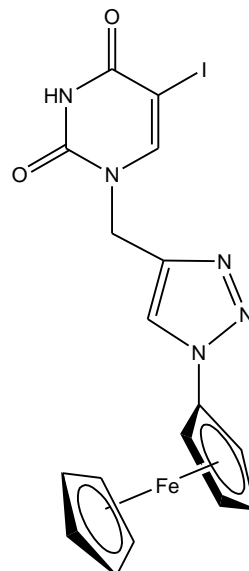
3.2. Pregled sintetiziranih spojeva



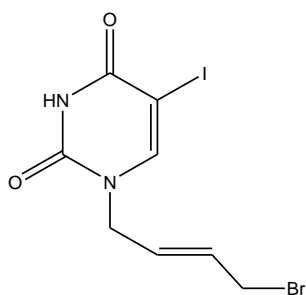
1



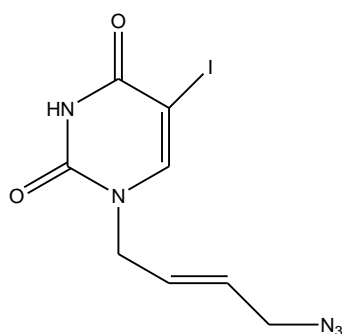
2



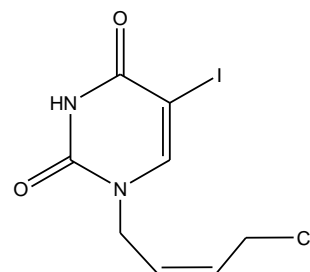
3



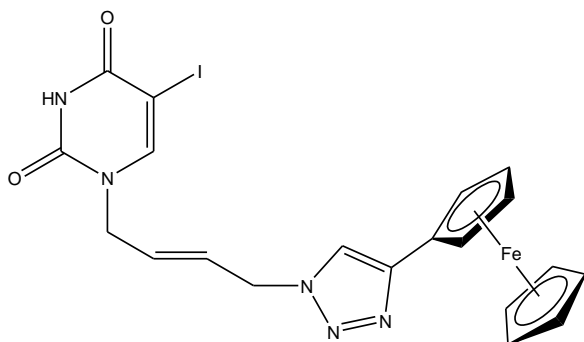
4



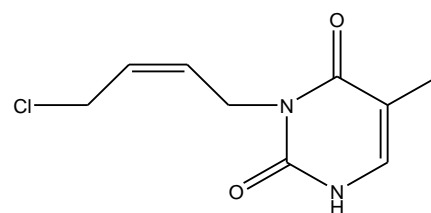
5



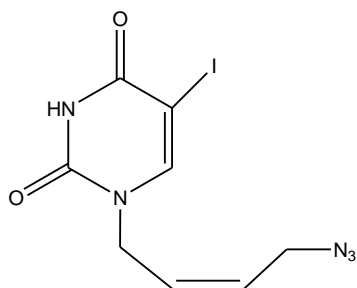
6



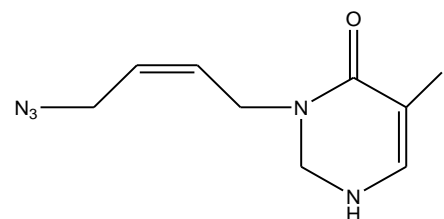
7



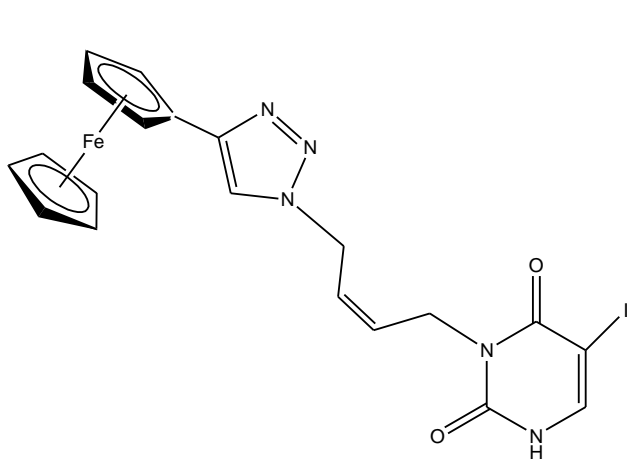
8



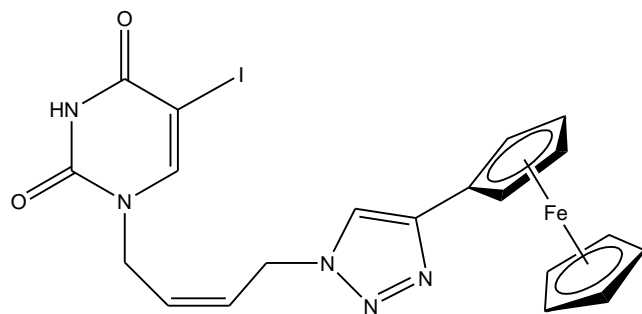
9



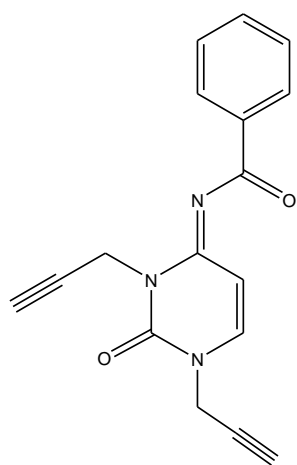
10



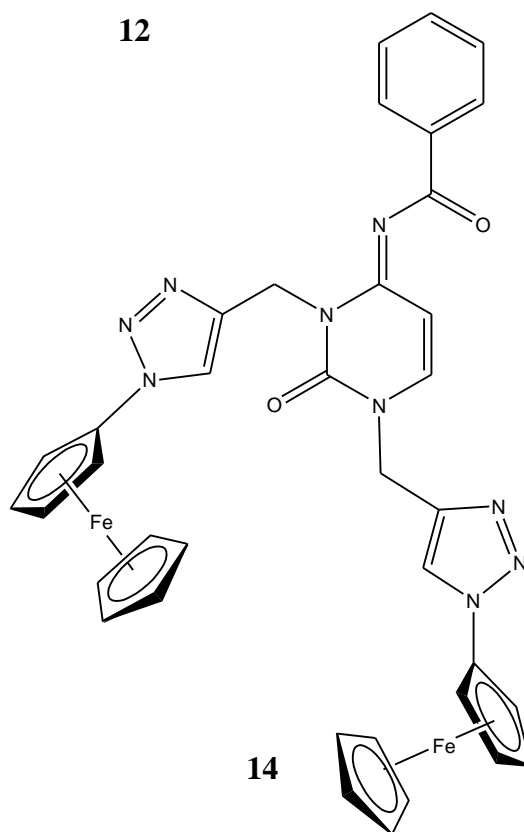
11



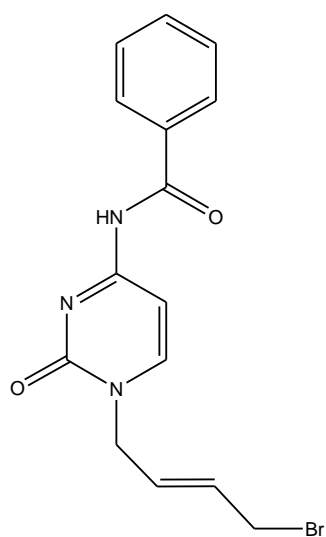
12



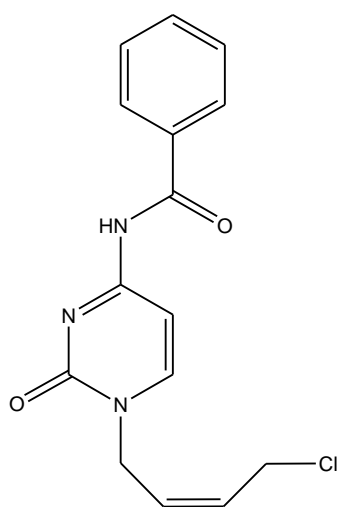
13



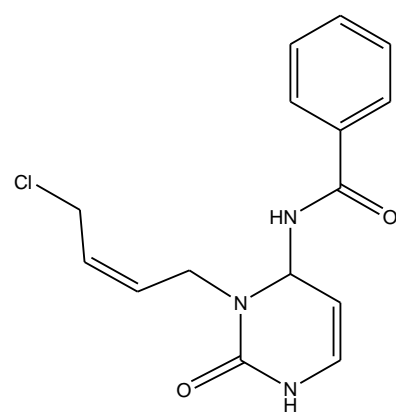
14



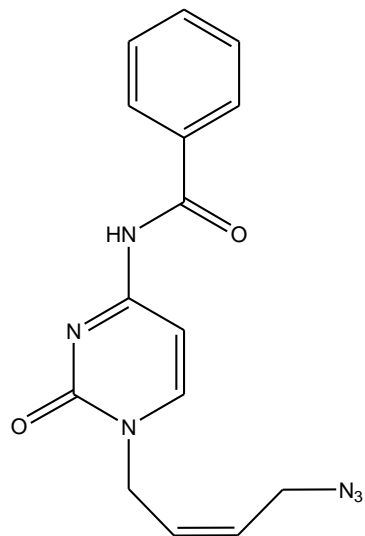
15



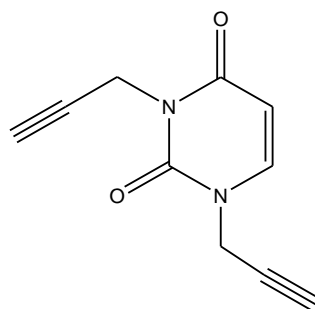
16



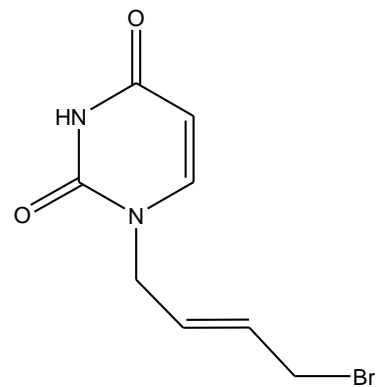
17



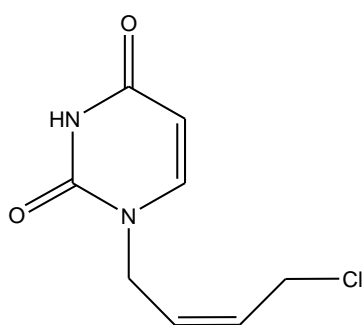
18



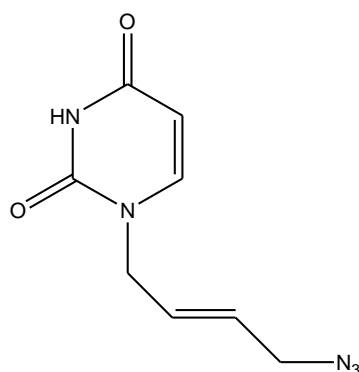
19



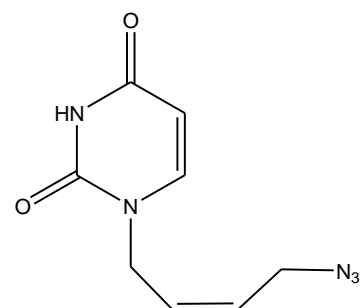
20



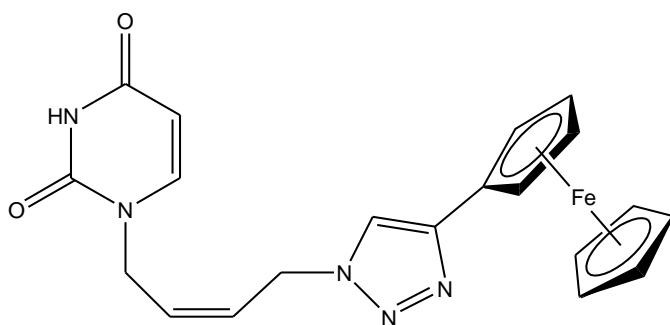
21



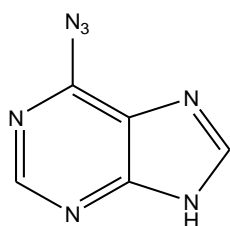
22



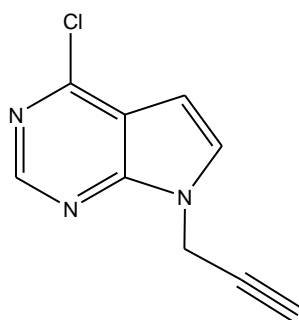
23



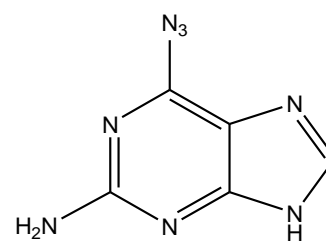
24



25



26



27

3.3. Priprava spojeva

3.3.1. 5-jod-1-(prop-2-in-1-il)pirimidin-2,4-dion (1)

5-joduracil (1 g; 4,20 mmol) otopljen je u DMF-u (16 mL). U reakcijsku smjesu dodan je natrijev hidrid (168,0 mg; 7,0 mmol), a nakon sat vremena propuhivanja argonom propargil-bromid (0,8 mL). Reakcijska smjesa je miješana preko noći pri sobnoj temperaturi, a tijekom reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂, CH₂Cl₂/MeOH=60:1, CH₂Cl₂/MeOH=30:1). Dobiven su bijeli pahuljasti kristali spoja **1** (0,8834 g; 75,11%; T_i=185-188°C).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 11,76 (s, 1H, NH), 8,24 (s, 1H, H-6), 4,50 (d, *J* = 2,5 Hz, 2H, H-1'), 3,43 (t, *J* = 2,4 Hz, 1H, H-3').

3.3.2. 5-etinilferocen-1-(prop-2-en-1-il)pirimidin-2,4-dion (2)

Spoj **1** (100 mg; 0,36 mmol) otopljen je u DMF-u (3 mL) te su u reakcijsku smjesu dodani etinil-ferocen (113, 43 mg; 0,54 mmol), diizopropiletilamin (0,125 mL; 0,73 mmol), katalizator (PPh₃)₄Pd (42 mg; 0,036 mmol) i CuI (14 mg; 0,072 mmol). Otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂, CH₂Cl₂/MeOH=60:1, CH₂Cl₂/MeOH=30:1) Dobiven je smeđi praškasti spoj **2** (17 mg; 13,9%; T_i=93-95°C).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 11,76 (s, 1H, NH), 8,24 (s, 1H, H-5'), 7,96 (s, 1H, H-6), 4,49 (d, *J* = 2,6 Hz, 2H, H-1'), 4,51 (d, *J* = 1,8 Hz, 2H, H-Fer), 4,27 (t, *J* = 1,8 Hz, 2H, H-Fer), 4,22 (s, 4H, H-Fer), 3,43 (t, *J* = 2,4 Hz, 1H, H-3').

3.3.3. 5-jod-1-((1-(ferocenilmetil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)pirimidin-2,4-dion (3)

Spoj **1** (200 mg; 0,71 mmol) otopljen je u DMF-u (5 mL) i smjesi *tert*-butanol:voda (1:1) (8 mL) te stavljen u kvarcnu kivetu. U reakcijsku smjesu dodana je 1M otopina bakrov (II) sulfata (0,27 mL) i bakar (36 mg; 0,568 mmol) te ferocen-azid (170 mg; 0,71 mmol) Kvarcna kiveta stavljena je u mikrovalni reaktor na 80°C tijekom 60 min sa pethodnih 5 min zagrijavanja i 10 min hlađenja na kraju. Tijek reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂, CH₂Cl₂/MeOH=60:1, CH₂Cl₂/MeOH=30:1). Dobiven je bijeli praškasti spoj **3** (36,3 mg; 15 % T_i=160-162°C).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 11,76 (s, 1H, NH), 8,24 (s, 1H, H-6), 4,50 (d, *J* = 2,5 Hz, 2H, H-1'), 3,43 (t, *J* = 2,4 Hz, 1H, H-3').

3.3.4. (E)-1-(4-brombut-2-en-1-il)-5-jodpirimidin-2,4-dion (4)

5-joduracil (1 g; 4,20 mmol) otopljen je u DMF-u (16 mL) te je u reakcijsku smjesu dodan natrijev hidrid (168,0 mg; 7,0 mmol), a nakon sat vremena propuhivanja argonom 1,4-dibrom-2-buten (1,078 g; 5,04 mmol), a tijekom reakcije praćen je TLC-om. Nakon završetka reakcije otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂, CH₂Cl₂/MeOH=60:1, CH₂Cl₂/MeOH=30:1). Dobiven su bijeli pahuljasti kristali spoja **4** (0,698 g; 44,45%; T_t=95-97°C).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 11,67 (s, 1H, NH), 8,15 (s, 1H, H-6), 5,88 (dd, J = 11,6; 6,0 Hz, 2H, H-2', 3'), 4,32 (d, J = 3,6 Hz, 2H, H-4'), 4,13 (dd, J = 6,3, 3,6 Hz, 2H, H-1')

3.3.5. (E)-1-(4-azidobut-2-en-1-il)-5-jodpirimidin-2,4-dion (5)

Spoj **4** (100 mg; 0,267 mmol) otopljen je u DMF-u (3 mL). U reakcijsku smjesu dodan je natrijev azid (60,8 mg; 0,935 mmol). Reakcijska smjesa je miješana preko noći pri sobnoj temperaturi, a tijekom reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂/MeOH=20:1). Dobiven je bijeli praškasti spoj **5** (10,1 mg; 25%; T_t=35-38°C).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 11,67 (s, 1H, NH), 8,16 (s, 1H, H-6), 5,85 – 5,78 (m, 2H, H-2', 3'), 4,33 (d, J = 5,3 Hz, 2H, H-4'), 3,89 (d, J = 5,7 Hz, 2H, H-1').

3.3.6. (E)-1-(4-ferocetil-1,2,3-triazol-1-il)but-2-en-1-il)-5-jodpirimidin-2,4-dion (6)

Spoj **5** (10,4 mg; 0,03 mmol) otopljen je u DMF-u (3 mL) i smjesi *tert*-butanol:voda (1:1) (0,416 mL) te stavljen u kvarcnu kivetu. U reakcijsku smjesu dodana je 1M otopina bakrov (II) sulfata (0,01248 mL) i bakar (1,51 mg; 0,024 mmol) te etinil-ferocen (5,04 mg; 0,024 mmol). Kvarcna kiveta stavljena je u mikrovalni reaktor na 80°C tijekom 60 min sa pethodnih 5 min zagrijavanja i 10 min hlađenja na kraju. Tijekom reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂, CH₂Cl₂/MeOH=60:1, CH₂Cl₂/MeOH=30:1). Dobiven je smeđi uljasti spoj **6** (1,5 mg; 9,3%).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 11,54 (s, 1H, NH), 8,43 (s, 1H, H-5'), 8,11 (s, 1H, H-6), 5,59 (m, 2H, H-2',3'), 4,48 (t, J = 1,9 Hz, 2H, H-Fer), 4,35 (d, J = 11,8 Hz, 2H, H-4'), 4,28 (t, J = 1,9 Hz, 2H, H-Fer), 4,21 (s, 4H, H-Fer), 3,93 (d, J = 11,7 Hz, 2H, H-1').

3.3.7. (Z)-1-(4-klorbut-2-en-1-il)-5-jodpirimidin-2,4-dion (7) i (Z)-3-(4-klorbut-2-en-1-il)-5-jodpirimidin-2,4-dion (8)

5-joduracil (1 g; 4,20 mmol) otopljen je u DMF-u (16 mL) i u reakcijsku smjesu je dodan natrijev hidrid (168,0 mg; 7,0 mmol), a nakon sat vremena propuhivanja argonom *cis*-1,4-diklor-2-buten (0,55 mL; 5,0 mmol). Reakcijska smjesa je miješana preko noći pri sobnoj temperaturi, a tijekom reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH_2Cl_2 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=60:1$, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=30:1$). Dobiveni bijeli praškasti spoj (305 mg; 21,73%; $T_f=178-180^\circ\text{C}$) je smjesa **7** i **8** što je potvrđeno ^1H NMR spektroskopijom.

7: ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 11,29 (s, 1H, NH), 7,60 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, H-6), 5,63 – 5,83 (dt, $J = 17,0, 7,8$ Hz, 1H, H-3'), 5,58 (dd, $J = 7,8, 2,3$ Hz, 1H, H-2'), 4,39 (t, $J = 8,4$ Hz, 4H, H-1',4').

3.3.8. (Z)-1-(4-azidobut-2-en-1-il)-5-jod-2,3-dihidropirimidin-4-on (9) i (Z)-3-(4-azidobut-2-en-1-il)-5-jod-2,3-dihidropirimidin-4-on (10)

Smjesa spojeva **7** i **8** otopljena je u DMF-u (3 mL). U reakcijsku smjesu dodan je natrijev azid (42,5 mg; 0,654 mmol). Reakcijska smjesa je miješana preko noći pri sobnoj temperaturi, a tijekom reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=40:1$, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=10:1$). Dobiveni uljasti spoj (42,6 mg; 68%) je smjesa spojeva **9** i **10** što je potvrđeno ^1H NMR spektroskopijom.

^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 11,53 (s, 1H, NH), 8,10 (s, 1H, H-6), 5,69 (m, 2H, H-2',3'), 4,39 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, H-4'), 4,11 (m, 2H, H-1').

3.3.9. (Z)-1-(4-ferocetil-1,2,3-triazol-1-il)but-2-en-1-il)-5-jodpirimidin-2,4-dion (11) i (Z)-3-(4-ferocetil-1,2,3-triazol-1-il)but-2-en-1-il)-5-jodpirimidin-2,4-dion (12)

Smjesa spojeva **9** i **10** (42,6 mg; 0,13 mmol) otopljena je u DMF-u i smjesi *tert*-butanol:voda (1:1) (1,72 mL) te je stavljena u kvarcnu kivetu. U reakcijsku smjesu dodana je 1M otopina bakrov (II) sulfata (0,05 mL) i bakar (6,6 mg; 0,104 mmol) te etinilferocen (21,5 mg; 0,102 mmol) Kvarcna kiveta stavljena je u mikrovalni reaktor na 80°C tijekom 60 min sa prethodnih 5 min zagrijavanja i 10 min hlađenja na kraju. Tijekom reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH_2Cl_2 ,

CH₂Cl₂/MeOH=60:1, CH₂Cl₂/MeOH=30:1). Dobiven smeđi praškasti spoj (5 mg; 7%; T_f=210-212°C) je smjesa spojeva **11** i **12**.

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 11,67 (s, 1H, NH), 8,46 (s, 1H, H-5'), 8,16 (d, J = 7.9 Hz, 1H, H-6), 5,76 (m, 2H, H-2',3'), 4,49 (t, J = 1,8 Hz, 2H, H-Fer), 4,33 (d, J = 8,3 Hz, 2H, H-4'), 4,27 (t, J = 1,9 Hz, 2H, H-Fer), 4,22 (s, 4H, H-Fer), 3,89 (d, J = 8,1 Hz, 2H, H-1').

3.3.10. (E)-N-(2-okso-1,3-di(prop-2-in-1-il)-2,4-dihidropirimidin-4-iliden)benzamid (**13**)

N-4-benzoilcitozin (1 g; 4,6 mmol) otopljenje u DMF-u (16 mL). U reakcijsku smjesu dodan je natrijev hidrid (276,0 mg; 6,9 mmol), a nakon sat vremena propuhivanja argonom propargil-bromid (0,6 mL). Reakcijska smjesa je miješana preko noći pri sobnoj temperaturi, a tijekom reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂, CH₂Cl₂/MeOH=60:1, CH₂Cl₂/MeOH=30:1). Dobiveni su bijeli pahuljasti kristali spoja **13** (180 mg; 15%; T_f=83-85°C).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8,00 (d, 1H, J=7,3 Hz, H-6), 6,11 (d, 1H, J=8,1 Hz, H-5), 4,71 (d, 2H, J=2,5 Hz, H-1'), 4,61 (d, 2H, J=2,5 Hz, H-1''), 3,45 (t, 1H, J=2,4 Hz, H-3'), 3,20 (t, 1H, J=2,4 Hz, H-3''), 7,49 (t, 2H, J=7,1 Hz, Ph), 7,58 (m, 3H, Ph)

3.3.11. (E)-N-(1,3-bis((1-ferocenil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-2-oxo-2,3-dihidropirimidin-4-iliden)benzamid (**14**)

Spoj **13** (80 mg; 0,31 mmol) otopljen je u DMF-u (3 mL) i smjesi *tert*-butanol:voda (1:1) (4,1 mL) te je stavljen u kvarcnu kivetu u koju je potom dodana 1M otopina bakrovog (II) sulfata (0,05 mL), bakar (15 mg; 0,08 mmol) i ferocen-azid (73,2 mg; 0,31 mmol). Reakcijska smjesa u mikrovalnom reaktoru zagrijavana je na 80°C tijekom 60 min sa prethodnih 5 min zagrijavanja i 10 min hlađenja na kraju. Tijek reakcije praćen je TLC-om, a nakon završetka reakcije otapalo je upareno, a sirova smjesa pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂, CH₂Cl₂/MeOH=60:1, CH₂Cl₂/MeOH=30:1). Dobiven je bijeli uljasti spoj **14** (11,6 mg; 7,6%).

¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8,12 (m, 1H), 7,70 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,61 (m, 1H), 7,51 (m, 1H), 6,42 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,85 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,64 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 4,50 (t, J = 1,9 Hz, 2H), 4,27 (t, J = 1,8 Hz, 2H), 4,25 (s, 4H)

3.3.12. (E)-N-(1-(4-brombut-2-en-1-il)-2-okso-1,2-dihidropirimidin-4-il)benzamid (15)

N-4-benzoilcitozin (1 g; 4,6 mmol) otopljen je u DMF-u (16 mL) i u reakcijsku smjesu je dodan natrijev hidrid (276,0 mg; 6,9 mmol), a nakon sat vremena propuhivanja argonom 1,4-dibrom-2-buten (1,181 g; 5,52 mmol). Reakcijska smjesa je miješana preko noći pri sobnoj temperaturi, a tijek reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂, CH₂Cl₂/MeOH=60:1, CH₂Cl₂/MeOH=30:1). Dobiven su bijeli pahuljasti kristali spoja **15** (80 mg; 5%; T_f=150-152°C).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8,12 (s, 1H, H-6), 7,50 (t, 2H, J = 7,1 Hz, Ph), 7,59 (m, 3H, Ph), 6,18 (d, J = 7,8 Hz, 1H, H-5), 5,17 (m, 2H, H-2',3'), 4,74 (d, 2H, J = 10,6 Hz, H-4'), 3,77 (m, 2H, H-1').

3.3.13. (Z)-N-(1-(4-klorbut-2-en-1-il)-2-okso-1,2-dihidropirimidin-4-il)benzamid (16) i (Z)-N-(3-(4-klorbut-2-en-1-il)-2-okso-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-4-il)benzamid (17)

N-4-benzoilcitozin (1 g; 4,6 mmol) otopljen je u DMF-u (16 mL) i u reakcijsku smjesu je dodan natrijev hidrid (276,0 mg; 6,9 mmol), a nakon sat vremena propuhivanja argonom cis-1,4-diklor-2-buten (0,61 mL; 5,52 mmol). Reakcijska smjesa je miješana preko noći pri sobnoj temperaturi, a tijek reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂, CH₂Cl₂/MeOH=60:1, CH₂Cl₂/MeOH=30:1). Dobiveni spoj (50 mg; 3,6%; T_f=75-77°C) je smjesa spojeva **16** i **17** što je potvrđeno ¹H NMR spektroskopijom.

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8,13 (s, 1H, H-6), 7,52 (t, 2H, J = 7,3 Hz, Ph), 7,56 (m, 3H, Ph), 6,14 (d, J = 7,9 Hz, 1H, H-5), 5,19 (m, 2H, H-2', 3'), 4,68 (d, 2H, J = 3,6 Hz, H-1'), 4,12 (d, 2H, J = 2,8 Hz, H-4').

3.3.14. (E)-N-(1-(4-azidobut-2-en-1-il)-2-okso-1,2-dihidropirimidin-4-il)benzamid (18)

Spoj **15** (80 mg; 0,23 mmol) otopljen je u DMF-u (3 mL). U reakcijsku smjesu dodan je natrijev azid (52,31 mg; 0,8 mmol). Reakcijska smjesa je miješana preko noći pri sobnoj temperaturi, a tijek reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂/MeOH=20:1, CH₂Cl₂/MeOH=10:1). Dobiven je spoj bijeli praškasti spoj **18** (39 mg; 55%; T_f=115-118°C).

^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8,10 (s, 1H, H-6), 7,53 (t, 2H, $J = 7,4$ Hz, Ph), 7,55 (m, 3H, Ph), 6,11 (d, $J = 8$ Hz, 1H, H-5), 4,98 (m, 2H, H-2', 3'), 4,63 (d, 2H, $J = 3,1$ Hz, H-1'), 4,10 (d, 2H, $J = 2,9$ Hz, H-4').

3.3.15. 1-(prop-2-in-1-il)pirimidin-2,4-dion (19)

Uracil (200 mg; 18 mmol) otopljen je u DMF-u (3 mL). U reakcijsku smjesu dodan je natrijev hidrid (65,0 mg; 3,0 mmol), a nakon sat vremena propuhivanja argonom propargilbromid (0,233 mL). Reakcijska smjesa je miješana preko noći pri sobnoj temperaturi, a tijekom reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH_2Cl_2 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=60:1$, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=30:1$). Dobiven su bijeli pahuljasti kristali spoja **19** (6 mg; 2,2%; $T_f=84-86^\circ\text{C}$).

^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8,14 (s, 1H, H-6), 6,22 (s, 1H, H-5), 4,52 (d, $J = 2,6$ Hz, 2H, H-1'), 4,38 (d, $J = 2,7$ Hz, 2H, H-1'), 3,42 (t, $J = 2,4$ Hz, 1H, H-3'), 3,29 (t, $J = 2,5$ Hz, 1H, H-3').

3.3.16. (E)-1-(4-brombut-2-en-1-il)pirimidin-2,4-dion (20)

Uracil (1 g; 8,9 mmol) otopljen je u DMF-u (16 mL). U reakcijsku smjesu dodan je natrijev hidrid (320,0 mg; 13,35 mmol), a nakon sat vremena propuhivanja argonom 1,4-dibrom-2-buten (2,3 g; 12 mmol). Reakcijska smjesa je miješana preko noći pri sobnoj temperaturi, a tijekom reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH_2Cl_2 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=60:1$, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=30:1$). Dobiven su bijeli pahuljasti kristali spoja **20** (205,9 mg; 9,3%; $T_f=130-132^\circ\text{C}$).

^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 11,68 (s, 1H, NH), 8,16 (s, 1H, H-6), 6,21 (s, 1H, H-5), 5,86 (dd, $J = 11,8; 6,1$ Hz, 2H, H-2', 3'), 4,31 (d, $J = 3,8$ Hz, 2H, H-4'), 4,15 (dd, $J = 6,1; 3,8$ Hz, 2H, H-1')

3.3.17. (Z)-1-(4-klorbut-2-en-1-il)pirimidin-2,4-dion (21)

Uracil (1 g; 8,9 mmol) otopljen je u DMF-u (16 mL). U reakcijsku smjesu dodan je natrijev hidrid (320,0 mg; 13,35 mmol), a nakon sat vremena propuhivanja argonom cis-1,4-diklor-2-buten (1,2 mL; 10,68 mmol). Reakcijska smjesa je miješana preko noći pri sobnoj temperaturi, a tijekom reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH_2Cl_2 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=60:1$,

CH₂Cl₂/MeOH=30:1). Dobiven su bijeli pahuljasti kristali spoja **21** (102,8 mg; 5,8%; T_f=150-157°C).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 11,27 (s, 1H, NH), 7,62 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, H-6), 6,10 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H-5), 5,70 (dt, *J* = 16; 7,8 Hz, 1H, H-3'), 5,60 (dd, *J* = 7,8, 2.3 Hz, 1H, H-2'), 4,40 (m, 4H, H-1',4').

3.3.18. (E)-1-(4-azidobut-2-en-1-il)pirimidin-2,4-dion (**22**)

Spoj **20** (175 mg; 7,03 mmol) otopljen je u DMF-u (4 mL). U reakcijsku smjesu dodan je natrijev azid (160 mg; 24,6 mmol). Reakcijska smjesa je miješana preko noći pri sobnoj temperaturi, a tijek reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂/MeOH=10:1). Dobiven je bijeli uljasti spoj **22** (79 mg; 53,7%).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 11,60 (s, 1H, NH), 8,08 (s, 1H, H-6), 6,20 (s, 1H, H-5), 5,74 (dd, *J* = 11,2; 8,8 Hz, 2H, H-2', 3'), 4,30 (d, *J* = 3,9 Hz, 2H, H-4'), 4,12 (dd, *J* = 6,2; 3,9 Hz, 2H, H-1')

3.3. 19. (Z)-1-(4-azidobut-2-en-1-il)pirimidin-2,4-dion (**23**)

Spoj **21** (100 mg; 0,5 mmol) otopljen je u DMF-u (3 mL). U reakcijsku smjesu dodan je natrijev azid (113,7 mg; 1,75 mmol). Reakcijska smjesa je miješana preko noći pri sobnoj temperaturi, a tijek reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂, CH₂Cl₂/MeOH=50:1, CH₂Cl₂/MeOH=30:1). Dobiven je bijeli uljasti spoj **23** (20 mg; 21%).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 11,58 (s, 1H, NH), 8,11 (s, 1H, H-6), 6,24 (s, 1H, H-5), 5,70 (dd, *J* = 6,9; 2,4 Hz, 2H, H-2', 3'), 4,30 (d, *J* = 2,4 Hz, 2H, H-4'), 4,13 (dd, *J* = 6,9, 2,5 Hz, 2H, H-1')

3.3.20. (Z)-1-(4-ferocenil-1,2,3-triazol-1-il)but-2-en-1-il)pirimidin-2,4-dion (**24**)

Spoj **23** (20 mg; 0,105 mmol) otopljen je u DMF-u (3 mL) i smjesi *tert*-butanol:voda (1:1) (0,8 mL) te je stavljen u kvarcnu kivetu u koju je potom dodana 1M otopina bakrovog (II) sulfata (0,02 mL), bakar (5,34 mg; 0,08 mmol) i etinilferocen (17,64 mg; 0,084 mmol) Reakcijska smjesa u mikrovalnom reaktoru zagrijavana je na 80°C tijekom 60 min sa prethodnih 5 min zagrijavanja i 10 min hlađenja na kraju. Tijek reakcije praćen je TLC-om, a

nakon završetka reakcije otapalo je upareno, a sirova smjesa pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂, CH₂Cl₂/MeOH=60:1, CH₂Cl₂/MeOH=30:1). Dobiven je narančasti praškasti spoj **24** (19 mg; 45%; T_f=198-200°C).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 11,55 (s, 1H, NH), 7,98 (s, 1H, H-6), 6,20 (s, 1H, H-5), 5,72 (m, 2H, H-2', 3'), 4,52 (t, *J* = 1,9 Hz, 2H), 4,29 (t, *J* = 1,9 Hz, 2H), 4,34 (d, *J* = 3,7 Hz, 2H, H-4'), 4,25 (s, 4H), 4,13 (dd, *J* = 7; 2,8 Hz, 2H, H-1')

3.3.21. 6-azido-9H-purin (25)

6-klorpurin (200 mg; 1,29 mmol) otopljen je u DMF-u (6 mL) te je dodan natrijev azid (294,0 mg; 4,53 mmol). Reakcijska smjesa je miješana preko noći pri sobnoj temperaturi, a tijekom reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂/MeOH=10:1, CH₂Cl₂/MeOH=5:1). Dobiven su bijeli pahuljasti kristali spoja **25** (91,9 mg; 44%; T_f=95-98°C).

3.3.22. 4-klor-7-(prop-2-in-1-il)-7H-pirololo[2,3-d]pirimidin (26)

6-klor-7-deazapurin (200 mg; 1,3 mmol) otopljen je u DMF-u (5 mL) i potom je dodan natrijev hidrid (46,8 mg; 1,95 mmol), a nakon sat vremena propuhivanja argonom propargil-bromid (0,17 mL). Reakcijska smjesa je miješana preko noći pri sobnoj temperaturi, a tijekom reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂/MeOH=100:1, CH₂Cl₂/MeOH=60:1, CH₂Cl₂/MeOH=30:1). Dobiven su bijeli pahuljasti kristali spoja **26** (40 mg; 16,1%; T_f=115-118°C).

3.3.23. 6-azido-9H-purin-2-amin (27)

2-amino-6-klorpurin (200 mg; 1,18 mmol) otopljen je u DMF-u (5 mL) te je dodan natrijev azid (268,4 mg; 4,128 mmol). Reakcijska smjesa je miješana preko noći pri sobnoj temperaturi, a tijekom reakcije praćen je TLC-om. Otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂/MeOH=5:1, CH₂Cl₂/MeOH=3:1). Dobiven su bijeli pahuljasti kristali spoja **27** (44,1 mg; 21%; T_f=220-222°C).

3.4. Ciklička voltometrija

Elektrokemijska ispitivanja provedena su u otopinama uzoraka različitih koncentracija, a kao osnovni elektrolit korišten je 0,1 M LiBF₄ u acetonitrilu. Instrumentaciju čine potenciostat EG&G Princeton Applied Research, detektor frekvencija EG&G Princeton Applied Research, model 1025 (slika 1), program za cikličku voltometriju (EG&G Princeton Applied Research, model 270), osobno računalo i elektrokemijska ćelija.



Slika 1. Potenciostat EG&G Princeton Applied Research, model 263A

Sva mjerenja su provedena u troelektrodnom sustavu (slika 2) :

- a) radna elektroda: Pt disk ($A = 0,07 \text{ cm}^2$),
- b) protuelektroda: Pt-lim površine, $A=1 \text{ cm}^2$
- c) referentna elektroda: Ag/AgCl.



Slika 2. Troelektrodni sustav

Ciklička voltometrija se provodila pri sljedećim uvjetima:

- početni potencijal: $E_{\text{poč}} = -0,3 \text{ do } 0,3 \text{ V}$
- konačni potencijal: $E_{\text{kon}} = 1 \text{ V do } 1,5 \text{ V}$
- brzina promjene potencijala: $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Izmjereni potencijali anodnih i katodnih strujnih vrhova za spojeve **1-3, 5, 6, 11-12, 14, 23** i **24** određenih množinskih koncentracija prikazani su u tablici 1.

Tablica 1. Spojevi s pripadajućim koncentracijama i potencijalima anodnih i katodnih strujnih vrhova

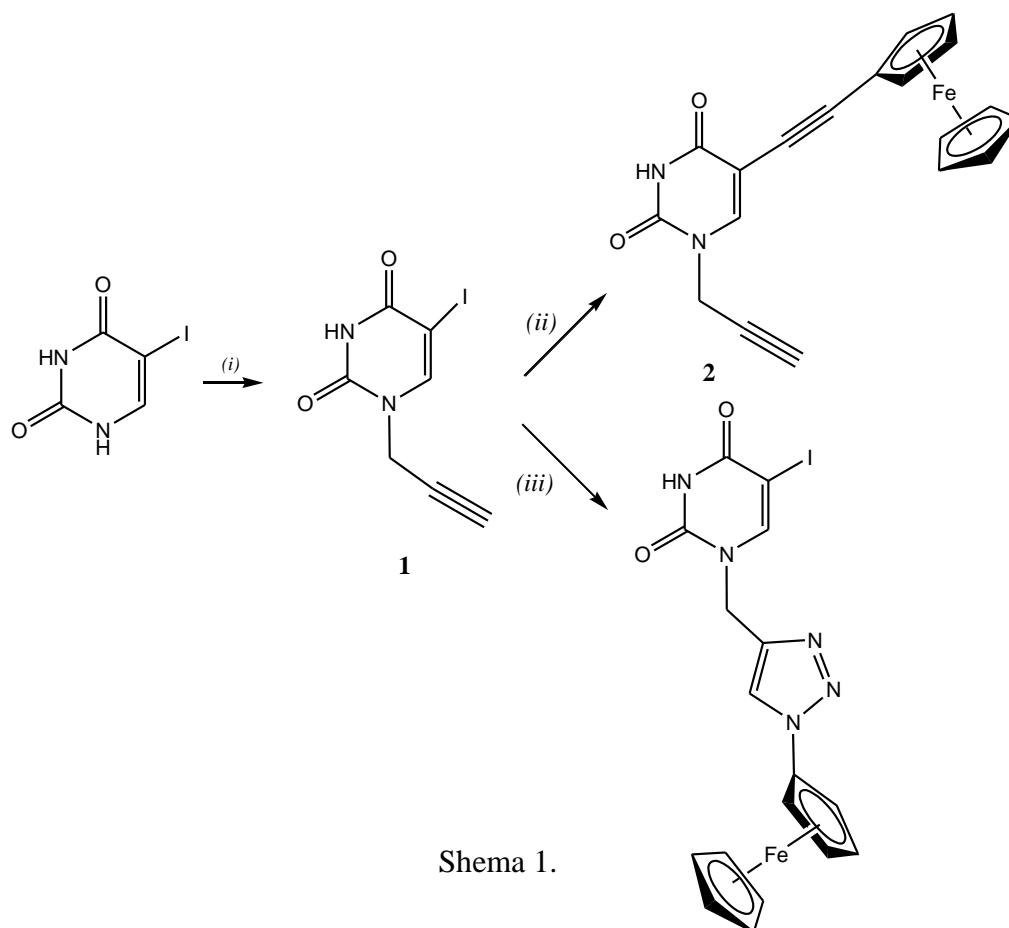
spoj	$c/ \text{mol dm}^{-3}$	E_a/ V	E_k/ V
1	0,71	1,1	-
2	0,59	0,65	0,58
3	0,43	1,2	-
5	0,61	-	-
6	0,37	-	-
11-12	0,37	-	-
14	0,41	1,2	-
23	1,05	-	-
24	0,49	0,5	0,44

4. REZULTATI I RASPRAVA

4. REZULTATI I RASPRAVA

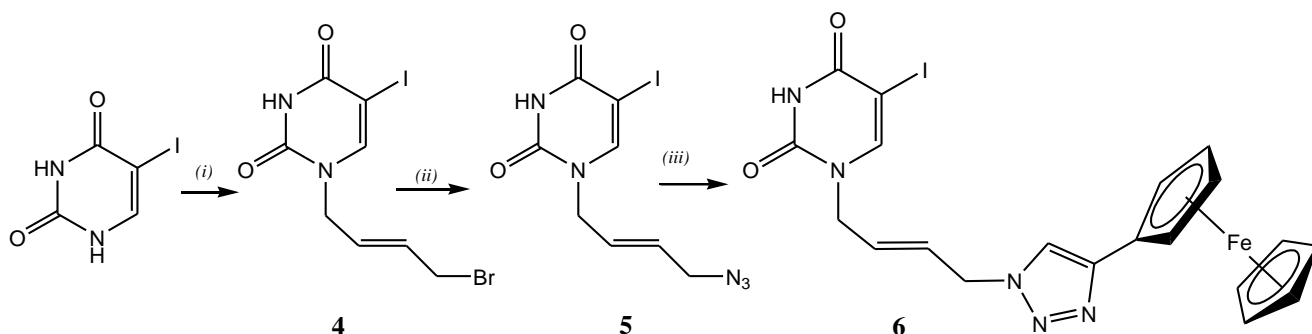
4.1. Sinteze spojeva

Reakcijom *N*-alkiliranja 5-joduracila uz NaH (7,0 mmol) kao deprotonirajuće sredstvo s propargil-bromidom (7,0 mmol) u DMF-u pripravljen je 5-jod-*N*-1-propargilirani derivat 5-joduracila (**1**). Paladijem kataliziranom Sonogashira-inom reakcijom unakrsnog povezivanja spoja **1** s terminalnim alkinom (etinilferocenom) uz katalitičku količinu tetrakis(trifenilfosin) paladija ((PPh)₃)₄, CuI i diizopropiltriethylamina u DMF-u uveden je supstituent s etinskom premosnicom u položaju C-5 pirimidinskog prstena pri čemu je sintetiziran ferocenetinil-*N*-1-propargilirani derivat uracila **2**. U položaj *N*-1 5-joduracila uveden je 1,2,3-triazolni prsten mikrovalovima potpomognutom „klik“ reakcijom tj. Huisgenovom 1,3-dipolarnom cikloadicijom ferocen-azida i 5-jod-*N*-1-propargiluracila (**1**) uz bakar kao katalizator pri čemu je pripravljen konjugat uracila i ferocena premošten triazolom (**3**) (Shema 1).



Reagensi i uvjeti: (i) NaH/Br-CH₂-C≡CH/DMF/24 h/sobna temp.; (ii) Etinilferocen/diizopropiltriethylamin/Pd(PPh₃)₄/CuI/DMF/24 h/sobna temp.; (iii) Ferocen-azid/DMF/H₂O: *tert*-BuOH=1:1/CuSO₄/Cu/60 min/80°C/MW

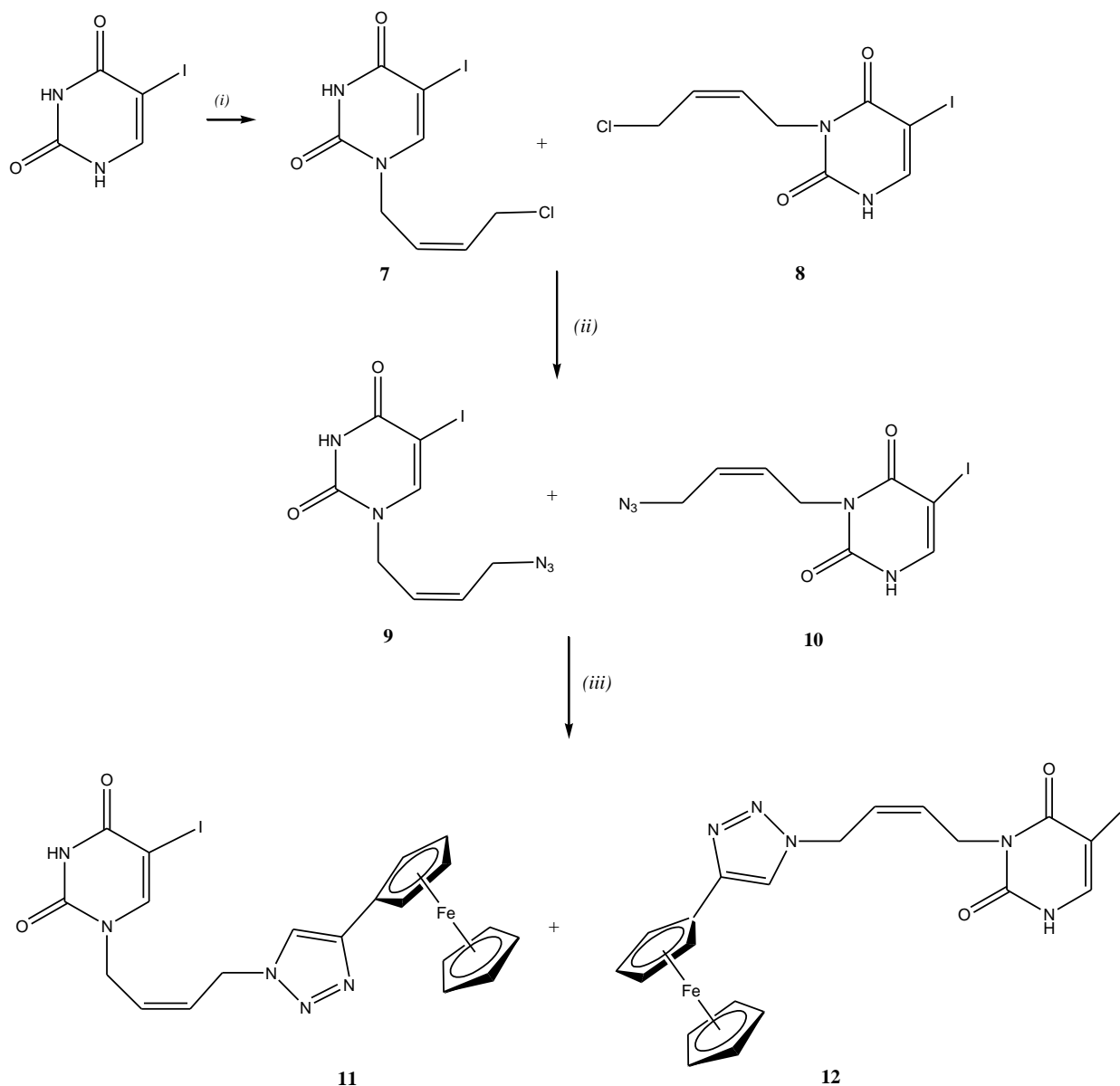
Reakcijom 5-joduracila s *trans*-1,4-dibrom-but-2-enom uz NaH (7,0 mmol) kao deprotonirajuće sredstvo u DMF-u sintetiziran je *N*-1-4-brombutenilni derivat 5-joduracila (**4**), koji je u reakciji s natrijevim azidom u DMF-u preveden u 4-azidobutenilni derivat **5**. U položaj *N*-1 5-joduracila uveden je 1,2,3-triazolni prsten mikrovalovima potpomognutom „klik“ reakcijom azida **5** i etinilferocena uz bakar kao katalizator pri čemu je pripravljen 5-joduracil–4-ferocenil-1,2,3-triazolni hibrid premošten *trans*-butenskom poveznicom (**6**) (Shema 2).



Shema 2.

Reagensi i uvjeti: (i) NaH/*trans*-1,4-dibrom-but-2-en/DMF/24 h/sobna temp.; (ii) NaN₃/DMF/24 h/sobna temp.; (iii) Etinilferocen/DMF/H₂O: *tert*-BuOH=1:1/CuSO₄/Cu/60 min/80°C/MW

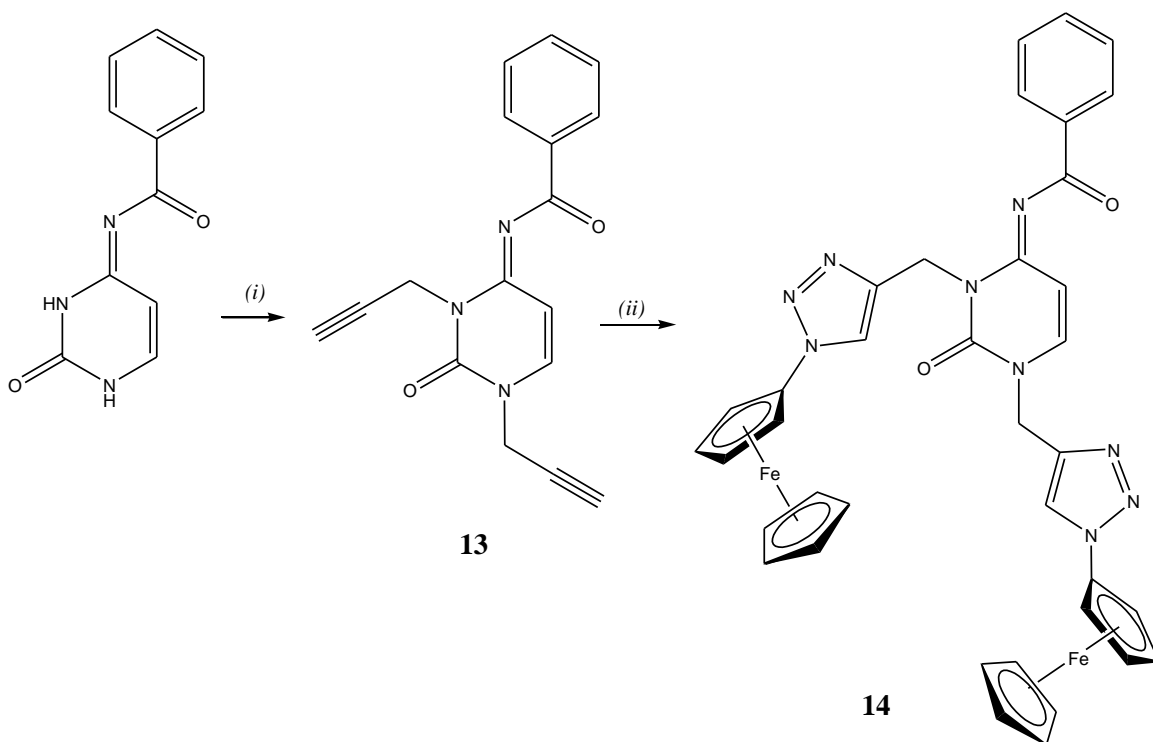
Reakcijom *cis*-1,4-diklor-but-2-ena s 5-joduracilom uz NaH kao deprotonirajuće sredstvo u DMF-u sintetizirani su *N*-1 i *N*-2-alkenilirani derivati 5-joduracila (**7** i **8**), a njihovom reakcijom s natrijevim azidom u DMF-u pripravljeni su 4-azidobutenilni derivati **9** i **10**. „Klik“ reakcijom potpomognutom mikrovalnim zračenjem azida **9** i **10** i etinilferocena uz bakar kao katalizator uveden je u položaj *N*-1 i *N*-3 5-joduracila 1,2,3-triazolni prsten uveden je „pri čemu su pripravljeni hibridi 5-joduracila i 4-ferocenil-1,2,3-triazola premošteni *cis*-butenskom poveznicom (**11** i **12**) (Shema 3).



Shema 3.

Reagensi i uvjeti: (i) NaH/*cis*-1,4-diklor-but-2-en/DMF/24 h/sobna temp.; (ii) NaN₃/DMF/24 h/sobna temp.; (iii) Etilferocen/DMF/H₂O: *tert*-BuOH=1:1/CuSO₄/Cu/60 min/80°C/MW

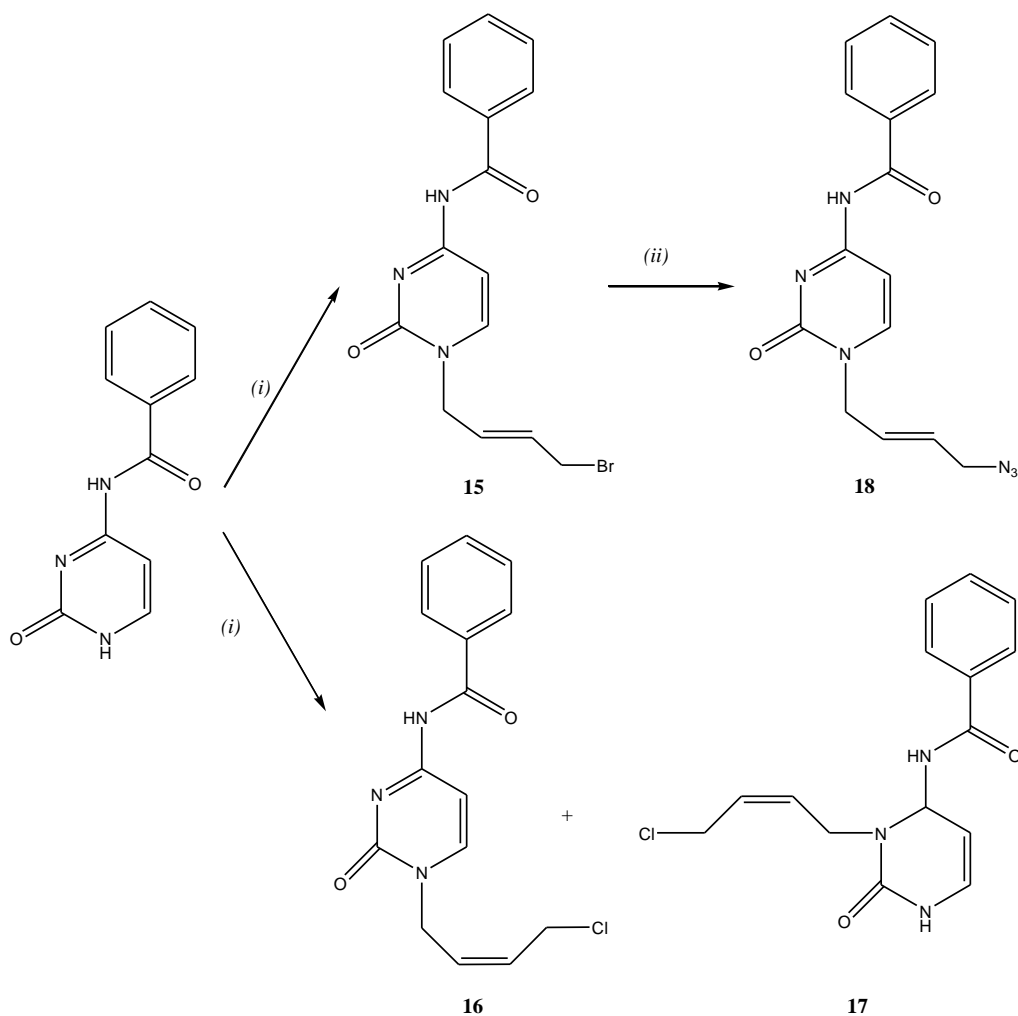
Reakcijom *N*-alkiliranja *N*-4-benzoilcitozina uz NaH kao deprotonirajuće sredstvo s propargil-bromidom u DMF-u pripravljen je *N,N*-1,3-dipropargilirani derivat *N*-4-benzoilcitozina **13**. 1,2,3-triazolni prsten u položaj *N*-1 i *N*-3 spoja **13** uveden je „klik“ potpomognutom mikrovalnim zračenjem s ferocen-azidom uz bakar kao katalizator pri čemu je pripravljen konjugat **14** (Shema 4).



Shema 4.

Reagensi i uvjeti: (i) NaH - $\text{Br-CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ /DMF/24 h/sobna temp.; Ferocen-azid/DMF/ H_2O : *tert*-BuOH=1:1/ CuSO_4/Cu /60 min/ 80°C /MW

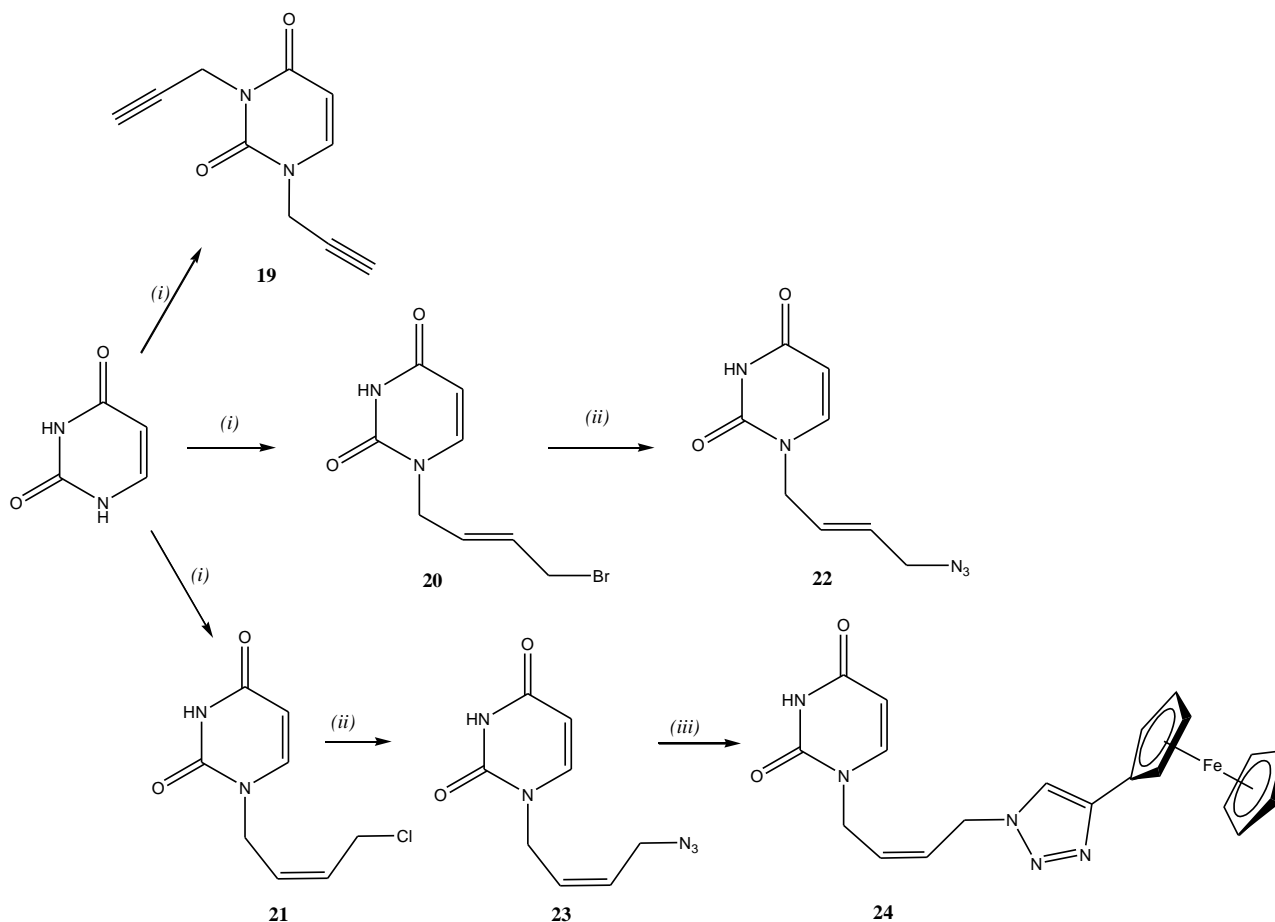
Reakcijom *N*-alkeniranja *N*-4-benzoilcitozina uz bazu NaH s *trans*-1,4-dibrom-but-2-enom pripremljen je *N*-1-alkenirani derivat *N*-4-benzoilcitozina **15**, a reakcijom sa *cis*-1,4-diklor-2-butenom u DMF-u pripremljeni su *N*-1 i *N*-3-alkenirani derivati *N*-4-benzoilcitozina **16** i **17**. Spoj **15** je nadalje u reakciji s natrijevim azidom u DMF-u preveden u *N*-1-(4-azidobutenil)-*N*-4-benzoilcitozin (**18**) (Shema 5).



Shema 5.

Reagensi i uvjeti: (i) NaH/ *trans*-1,4-dibrom-but-2-en ili *cis*-1,4-diklor-but-2-en /DMF/24 h/sobna temp.; (ii) NaN₃/DMF/24 h/sobna temp.

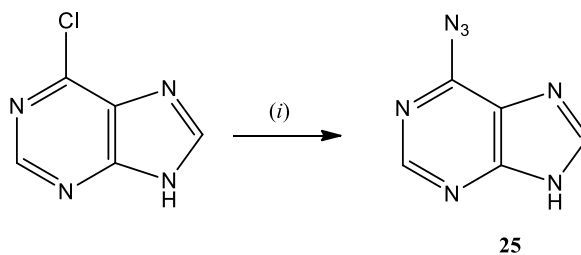
Reakcijom uracila s propargil-bromidom uz NaH kao deprotonirajuće sredstvo u DMF-u pripremljen je *N*-1- uracil (**19**). *N*-alkeniliranjem uracila uz NaH kao bazu s *trans*-1,4-dibrom-but-2-enom odnosno *cis*-1,4-diklor-but-2-enom u DMF-u pripremljeni su derivati uracila **20** i **21** s butenilnim supstituentima u položaju *N*-1. Reakcijom spojeva **20** i **21** s natrijevim azidom u DMF-u pripremljeni su 4-azidobutenilni derivati uracila **22** i **23**. Huisgenovom 1,3-dipolarnom cikloadicijom potpomognutom mikrovalnim zračenjem uveden je 1,2,3-triazolni prsten u položaj *N*-1 uracila iz odgovarajućih azida i etinilferocena uz bakar kao katalizator pri čemu je pripremljen derivat uracila **24** (Shema 6).



Shema 6.

Reagensi i uvjeti: (i) NaH / Br-CH₂-C≡CH ili *trans*-1,4-dibrom-but-2-en ili *cis*-1,4-diklor-but-2-en, DMF/24 h/sobna temp.; (ii) NaN₃/DMF/24 h/sobna temp.; (iii) Etinilferocen/DMF/H₂O: *tert*-BuOH=1:1/CuSO₄/Cu/60 min/80°C/MW

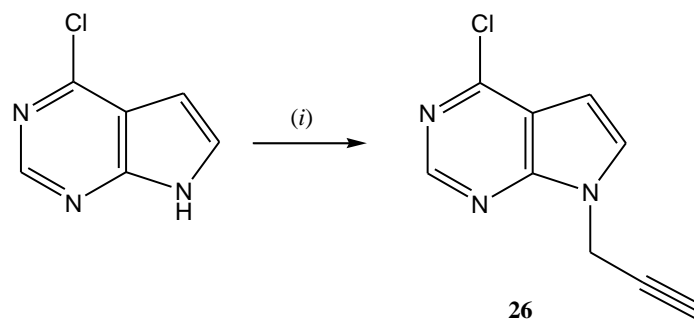
Reakcijom 6-klorpurina s natrijevim azidom u DMF-u sintetiziran je 6-azidopurin (**25**) (Shema 7).



Shema 7.

Reagensi i uvjeti: NaN₃/DMF/24 h/sobna temp.

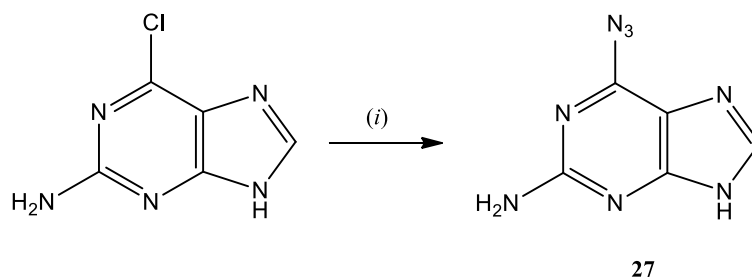
Reakcijom 6-klor-7-deazapurina s propargil-bromidom uz NaH kao bazu u DMF-u pripravljen je *N*-7-propargilirani derivat **26** (Shema 8).



Shema 8.

Reagensi i uvjeti: NaH/ Br-CH₂-C≡CH /DMF/24 h/sobna temp.

Reakcijom 2-amino-6-klorpurina s natrijevim azidom u DMF-u sintetiziran je 2-amino-6-azidopurin (**27**) (Shema 9).



Shema 9.

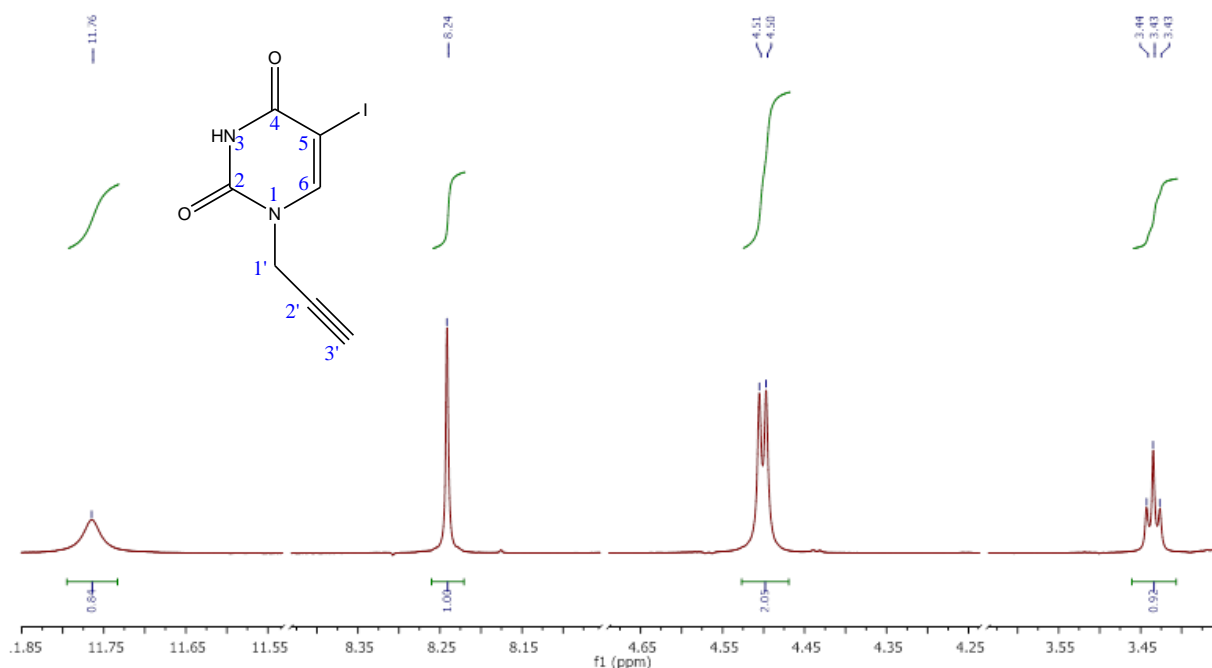
Reagensi i uvjeti: (i) NaN₃/DMF/24 h/sobna temp.

4.2. Strukturna karakterizacija novopripremljenih spojeva ^1H NMR spektroskopijom

Asigniranje ^1H NMR spektara provedeno je na osnovu kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta rezonancija te H-H konstanti sprega.

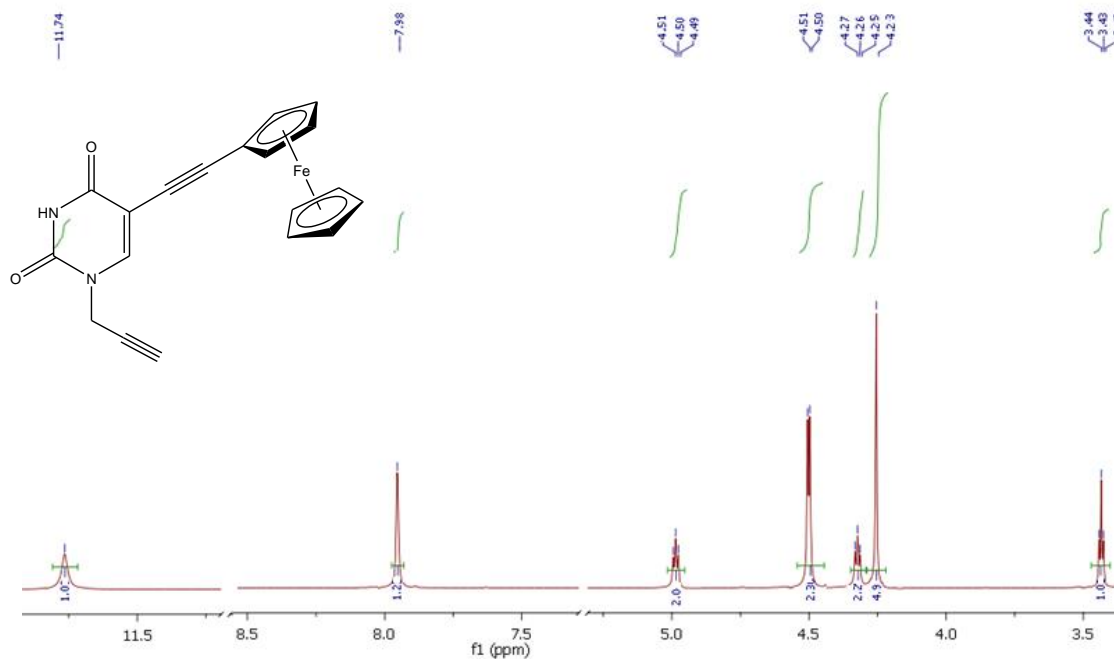
Spektri ^1H NMR spojeva **1-12** (prilozi) pokazuju signale protona uracilnog prstena H-6 i NH uz prisustvo signala za protone ferocena i 1,2,3-triazolnog prstena za spojeve **2, 3, 6, 11, 12** i **14** na temelju čega je potvrđeno da je „klik“ reakcijom uveden supstituirani triazolni prsten supstituiran u položaju 4 ferocenskim supstutentom.

U ^1H NMR spektru spoja **1** (slika 3) prisutni su pored signala za proton NH 11,76 ppm i za proton H-6 na 8,24 ppm pirimidinskog prstena i signali za protone propargilnog supstituenta uvedenog u položaj *N*-1: dublet intenziteta 2 H za metilenske protone (H-1') na 4,50 ppm i triplet intenziteta 1H za metinski proton (H-3') na 3,43 ppm.



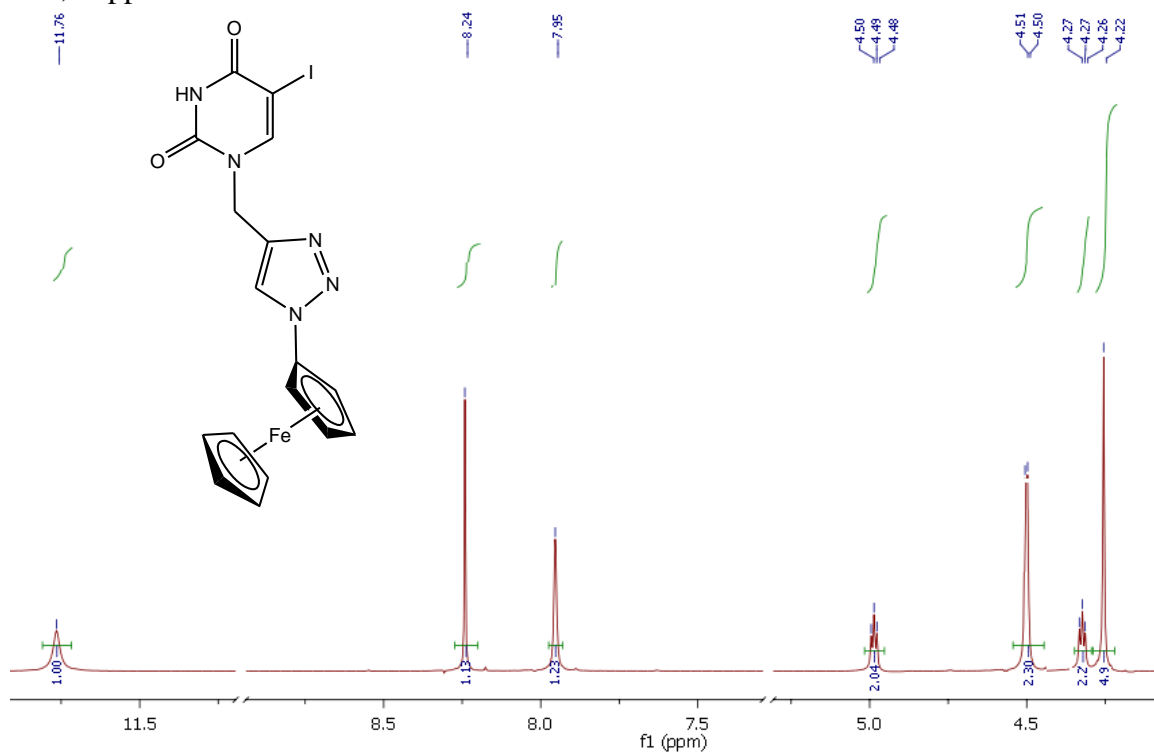
Slika 3. ^1H NMR spektar spoja **1**

U ^1H NMR spektru spoja **2** (slika 4) prisutni su uz signale koji su prisutni u spektru spoja **1** i dodatni signali koji odgovaraju signalima za protone pentadienilnih prstenova ferocena: dva tripleta na 4,50 i 4,26 ppm i singlet intenziteta 4H na 4,23 ppm.



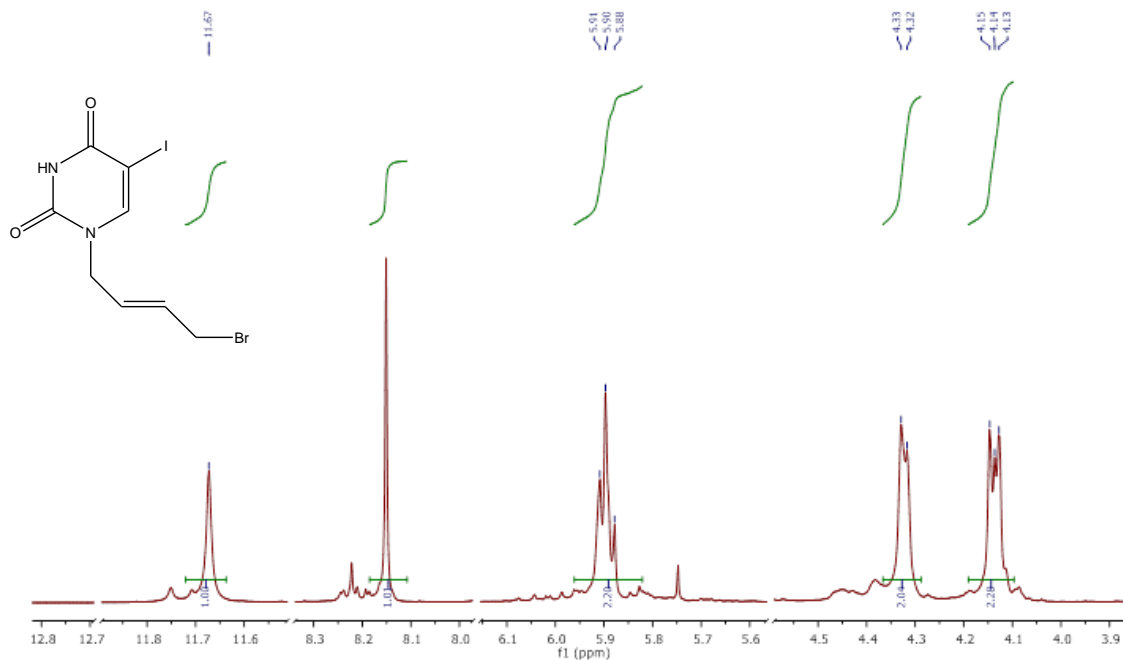
Slika 4. ^1H NMR spektar spoja **2**

Uvođenje 4-ferocenil-1,2,3-triazolnog supstituenta u položaj *N*-1 pirimidina potvrđeno je prisustvom novih signala za proton triazolnog prstena i protone ferocena u usporedbi s ^1H NMR spektrom spoja **1**. Tako ^1H NMR spektar spoja **3** (slika 5) pokazuje u usporedbi sa spektrom spoja **1** pored signala pirimidinskog prstena signale za metilenske protone H-1' na 4,50 ppm, proton triazolnog prstena na 8,24 ppm i protone ferocenskog supstituenta na 4,49, 4,27 i 4,22 ppm.

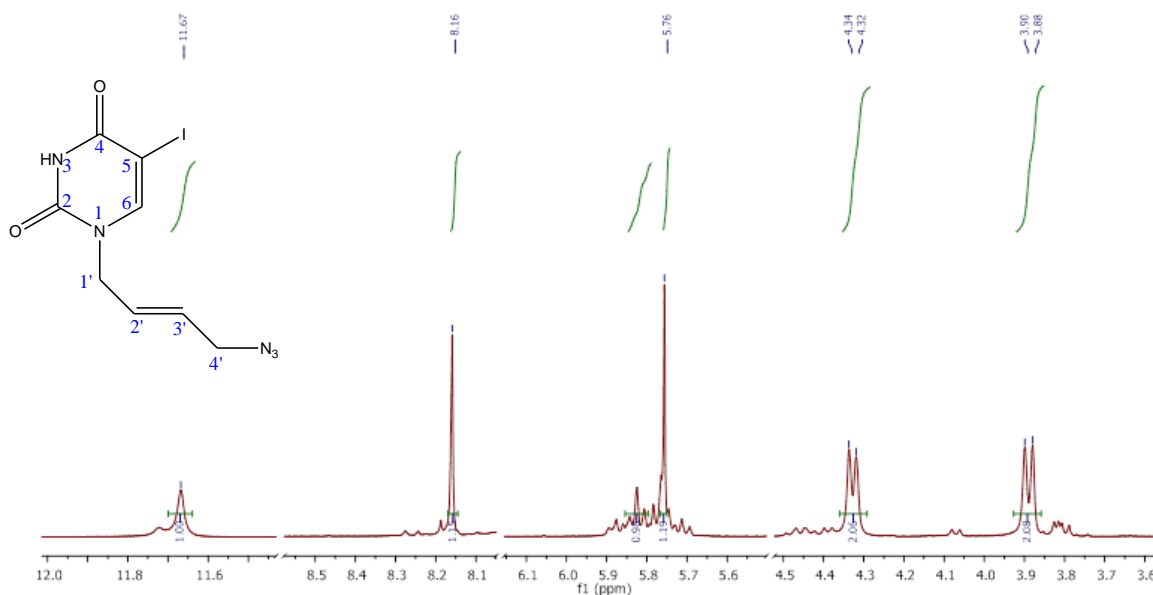


Slika 5. ^1H NMR spektar spoja **3**

^1H NMR spektri spojeva **4** i **5** (slike 6 i 7) pored signala za protone pirimidinskog prstena (singlet na 11.67 ppm za NH i singlet na 8.15 ppm za H-6) pokazuju i signale za protone 4-butenilnog supstituenta na *N*-1 pirimidinskog prstena: za spoj **4** dublet dubleta na 5.88 ppm intenziteta 2H za vinilne protone H-2', H-3', dublet intenziteta 2H na 4.32 ppm za metilenske protone H-4' i dublet dubleta intenziteta 2H na 4.13 ppm za metilenske protone H-1'; za spoj **5**: multiplet intenziteta 2H na 5,81 ppm za vinilne protone, i dva dubleta intenziteta 2H na 4,33 i 3,89 ppm za metilenske protone H-4' i H-1'.

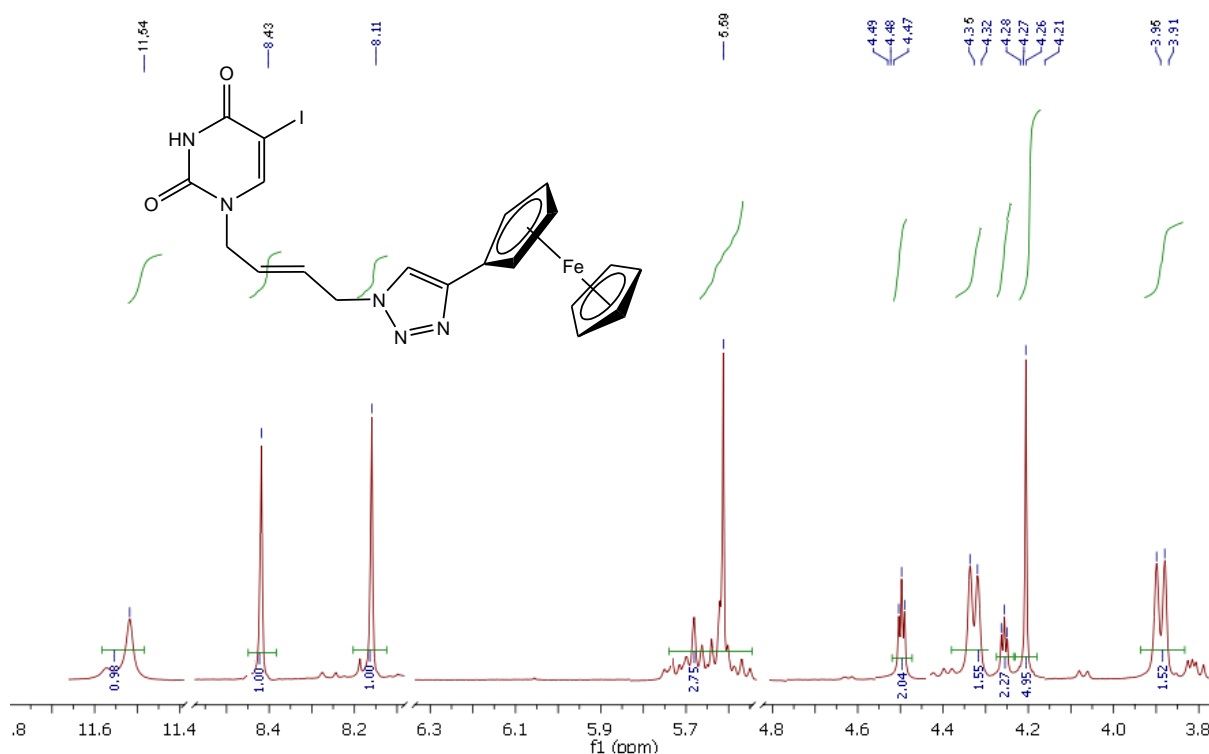


Slika 6. ^1H NMR spektar spoja **4**



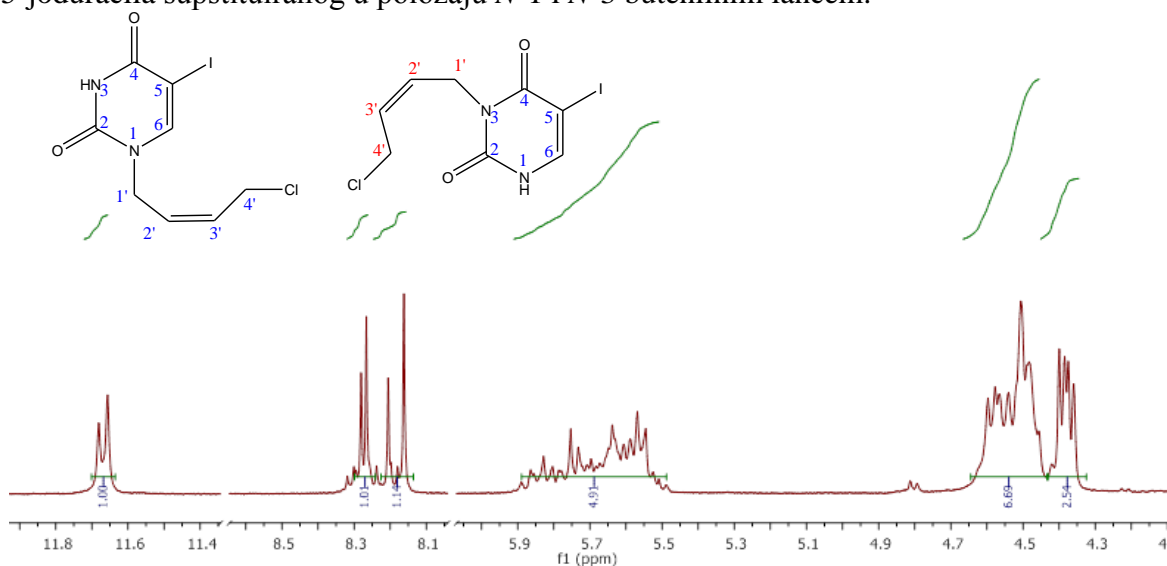
Slika 7. ^1H NMR spektar spoja **5**

U ^1H NMR spektru spoja **6** prisutni su uz signale koji su prisutni u spektru spoja **5** i dodatni signali koji odgovaraju signalima za proton triazolnog prstena na 8,83 ppm i protone ferocenskog supstituenta na ..ppm (slika 8).



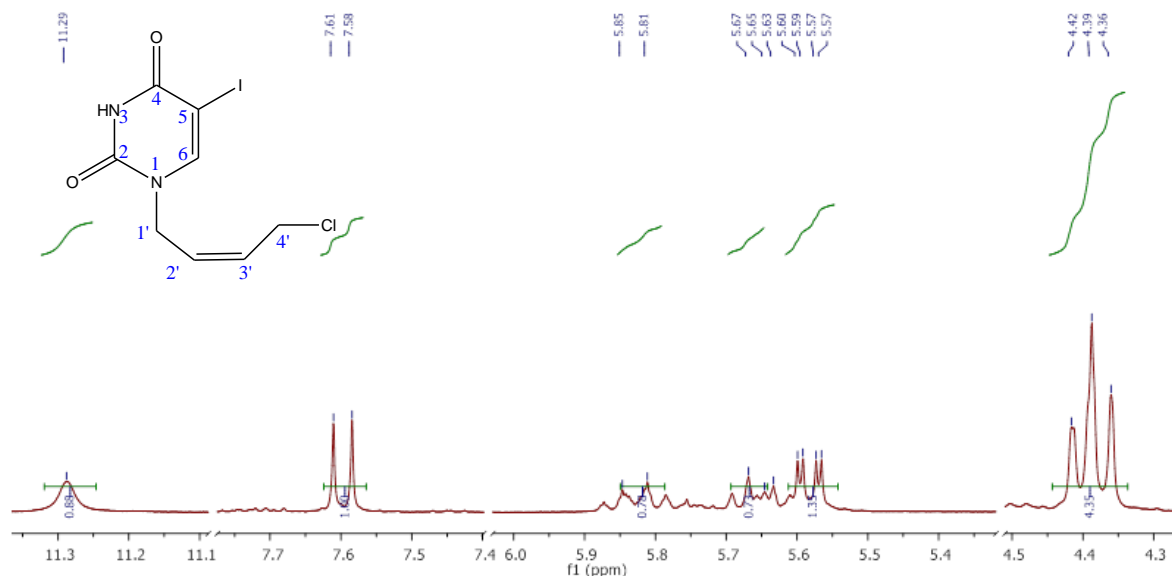
Slika 8. ^1H NMR spektar spoja **6**

^1H NMR spektar smjese spojeva **7** i **8** prikazan na slici 9 pokazuje signale za protone derivata 5-joduracila supstituiranog u položaju *N*-1 i *N*-3 butenilnim lancem.



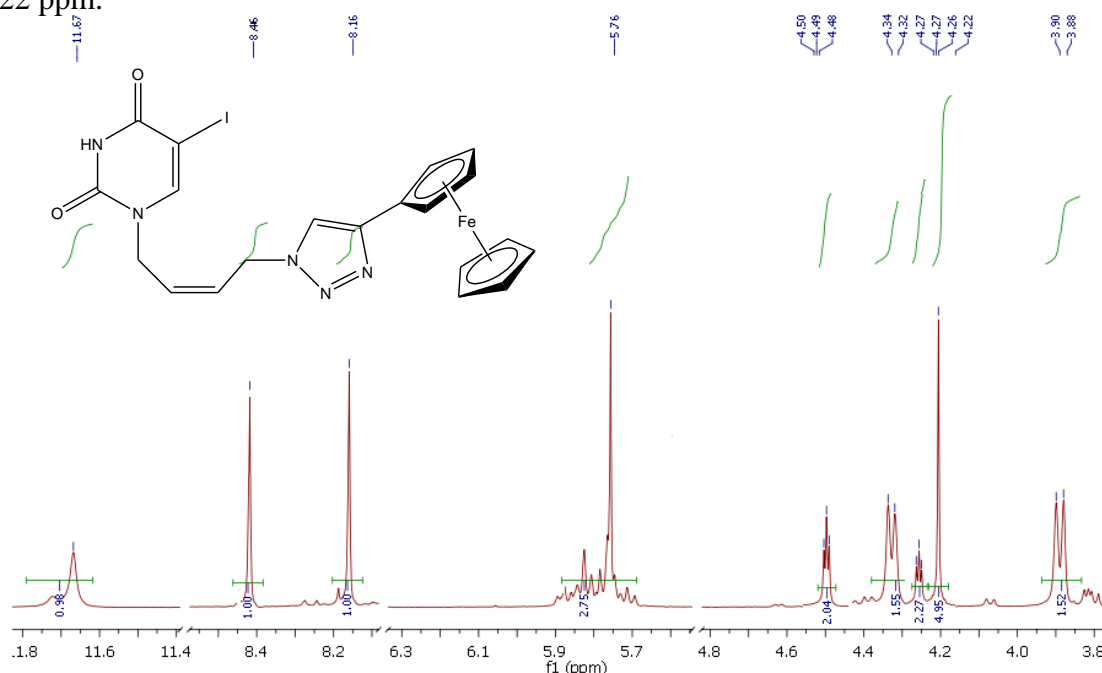
Slika 9. ^1H NMR spektar smjese spojeva **7** i **8**

U ^1H NMR spektru spoja **7** (slika 10) prisutni su uz signale za protone pirimidinskog prstena i dodatni signali za butenski lanac u položaju *N*-1: dublet tripleta na 5,73 ppm intenziteta 1H za H-3', dublet dubleta intenziteta 1H na 5,58 ppm i triplet intenziteta 4H na 4,39 ppm za metilenske protone H-1' i 4'.



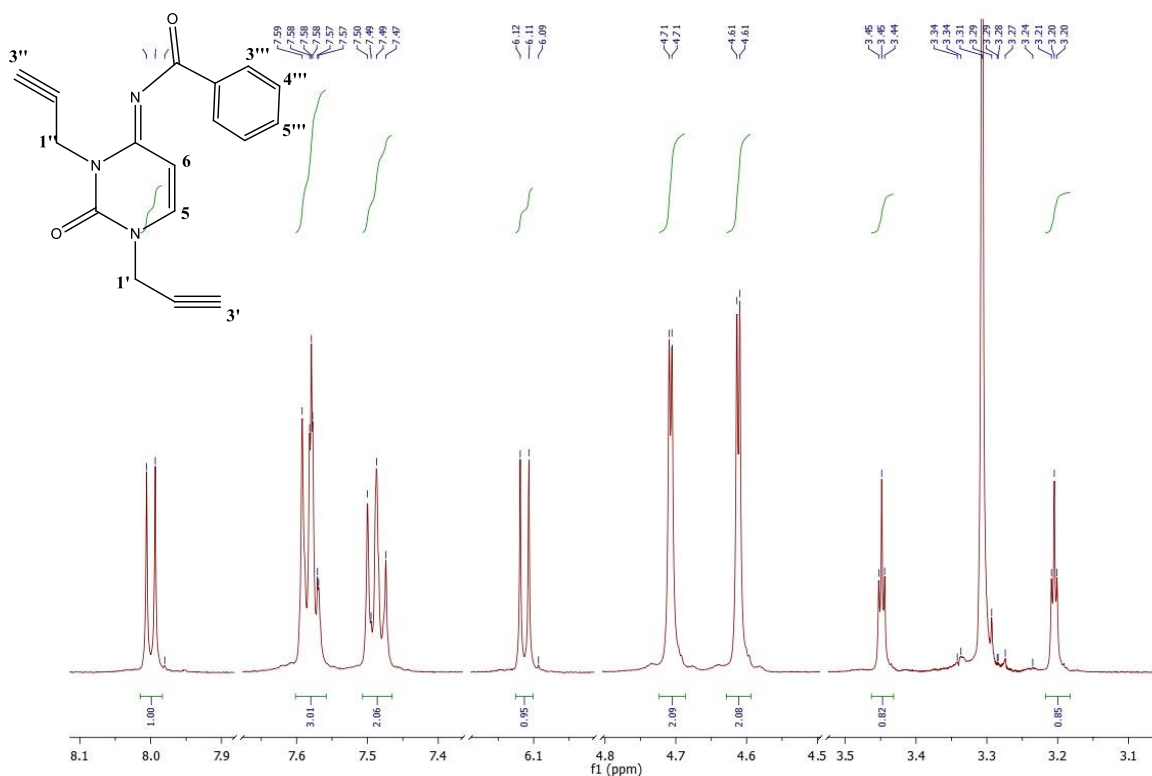
Slika 10. ^1H NMR spektar spoja **7**

^1H NMR spektar spojeva **11** (slika 11) i **12** u usporedbi sa spektrima spojeva **9** i **10** pokazuje dodatne signale za proton triazolnog prstena na 8,46 ppm i protone pentadienilnih prstenova ferocenskog supstituenta: triplete intenziteta 2H na 4,49 i 4,27 ppm, te singlet intenziteta 4H na 4,22 ppm.



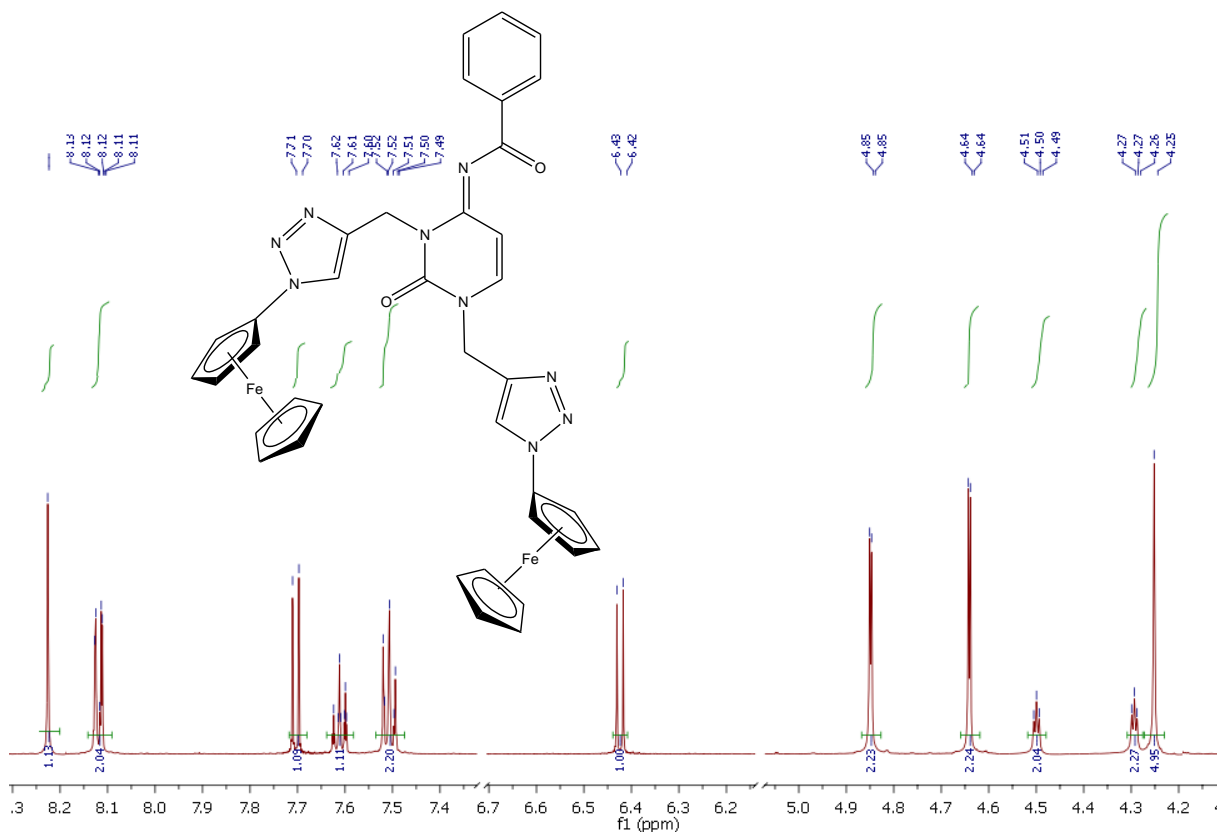
Slika 11. ^1H NMR spektar spoja **12**

U ^1H NMR spektru spoja **13** prisutni su signali za H-6 (8,1 ppm) i H-5 (6,2 ppm) protone citozinskog prstena, fenilne protone benzoilne skupine na položaju *N*-4 citozina, te protone propargilnih supstituenata u položajima *N*-1 i *N*-3 *N*-4-benzoilcitozina: dubleti intenziteta 2H za CH_2 -1' i 1'' na 4,71 i 4,61 ppm, te triplet za metinske (CH -3' i 3'') protone na 3,45 i 3,20 ppm-a (Slika 12).



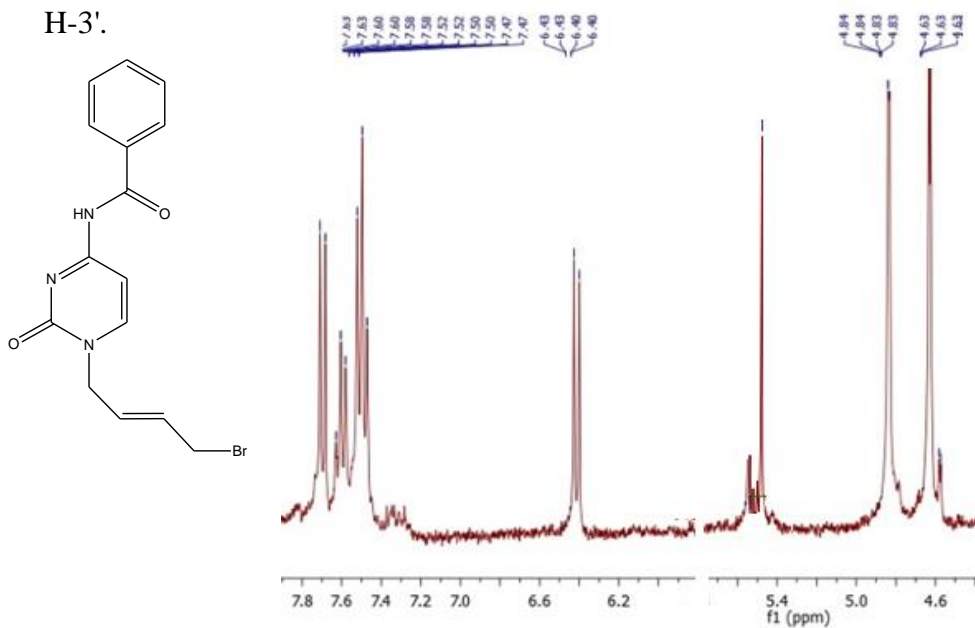
Slika 12. ^1H NMR spektar spoja **13**

U ^1H NMR spektru spoja **14** (slika 13) pored signala koji su prisutni u spektru spoja **13** prisutni su signali za proton triazolnog prstena na 8,25 ppm i protone ferocenskog supstituenta 4,25-4,51 ppm, uz istovremeni izostanak signala za metinski proton H-3'.



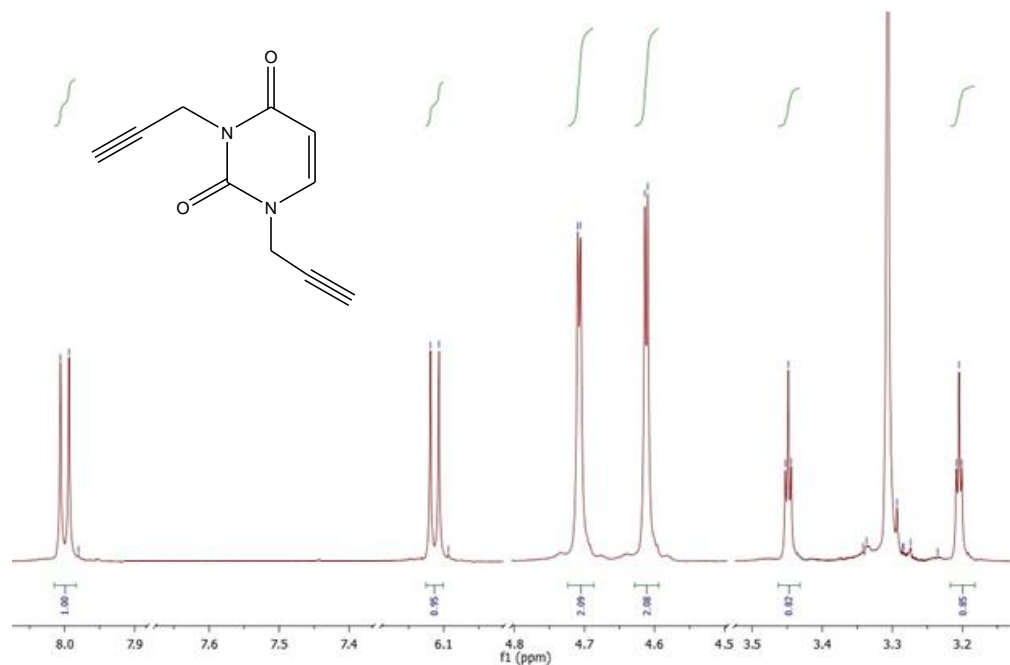
Slika 13. ^1H NMR spektar spoja **14**

^1H NMR spektar spojeva **15** (slika 14), **16** i **17** pored signala za protone uracilnog i fenilnog prstena sadrže i signale za protone za proton triazolnog prstena na 8,25 ppm i protone ferocenskog supstituenta 4,25-4,51 ppm, uz istovremeni izostanak signala za metinski proton H-3'.



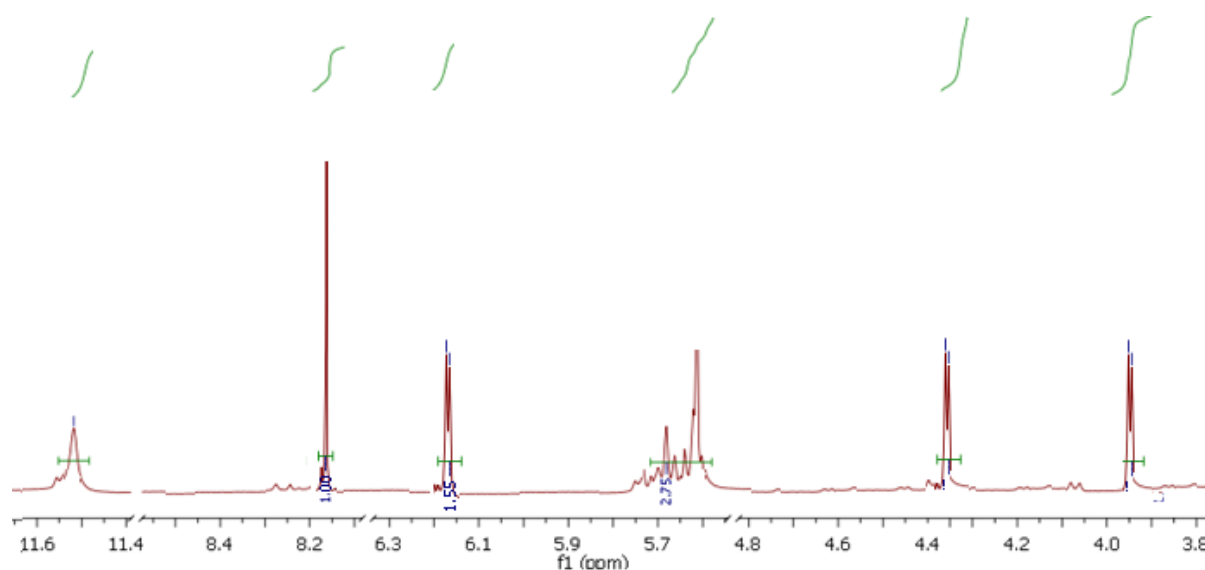
Slika 14. ^1H NMR spektar spoja **15**

U ^1H NMR spektru spoja **19** (slika 15) prisutni su signali za protone uracilnog prstena (dubleti na 8,11 i 6,14 ppm) i signali za protone propargilnog supstituenta u *N*-1 i *N*-3 položajima (dubleti na 4,72 i 4,61 ppm, tripleti 3,42 i 3,20 ppm).



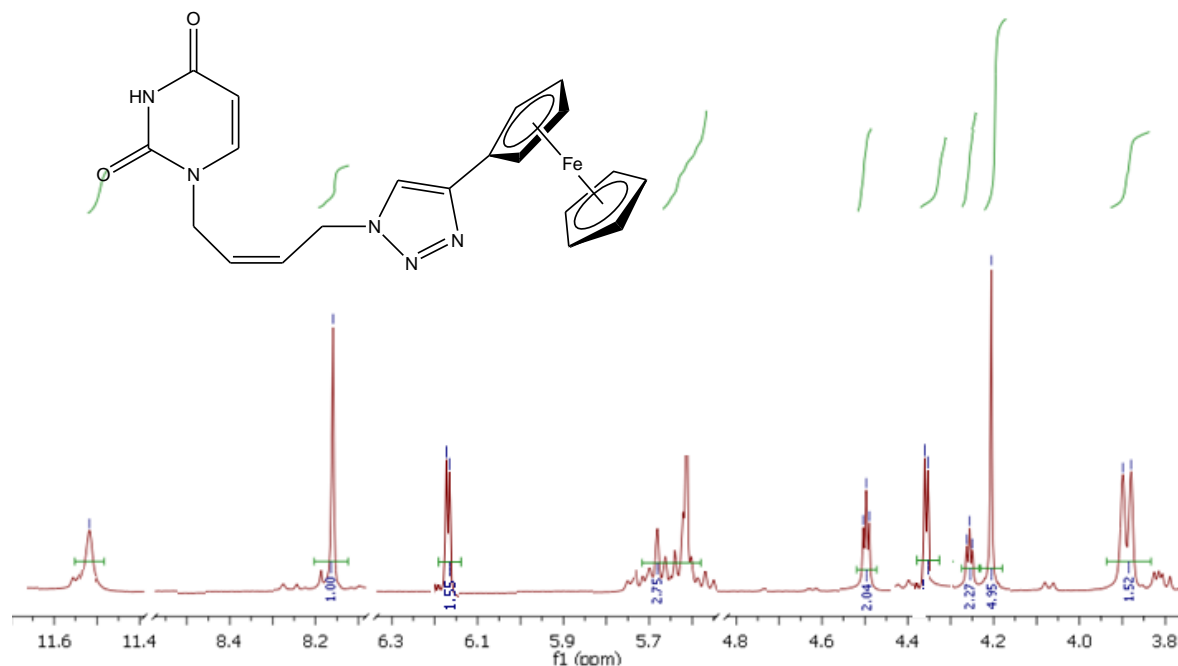
Slika 15. ^1H NMR spektar spoja **19**

^1H NMR spektri spojeva **20** (slika 16) i **21-23** pored signala za protone uracilnog prstena NH, H-5 i H-6 na 11,57, 8,18 i 6,16 ppm sadrže i signale za protone butenskog supstituenta u položaju *N*-1 pirimidinskog prstena (multiplet na 5,63 ppm, dva dubleta na 4,38 i 3,96 ppm).



Slika 16. ^1H NMR spektar spoja **20**

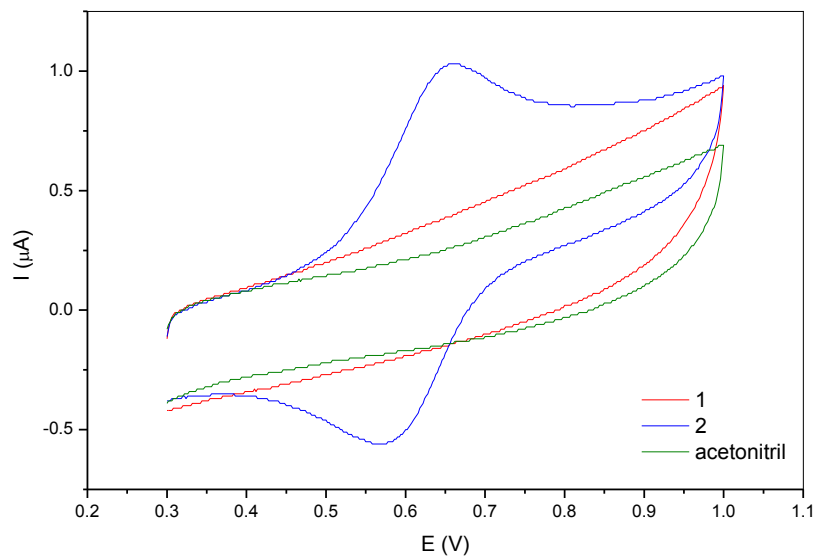
U ^1H NMR spektru spoja **24** (slika 17) prisutni su osim signala u spektru spoja **20** i signali za protone ferocenskog supstituenta (tripleti na 4,50 i 4,28 ppm i singlet na 4,21 ppm).



Slika 17. ^1H NMR spektar spoja **24**

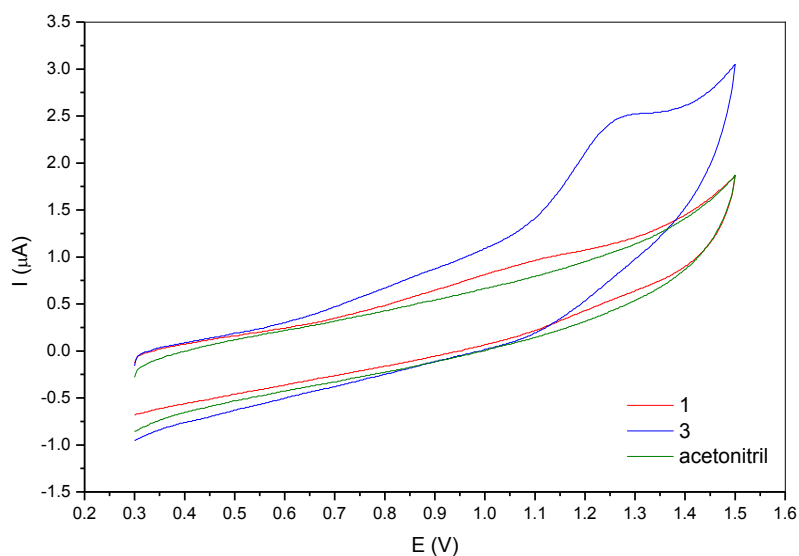
4.3. Analiza cikličkih voltamograma

Ispitano je elektrokemijsko ponašanje novosintetiziranih spojeva cikličkom voltametrijom, a odziv je prikazan na slikama 1-6. Graf 1 prikazuje ciklički voltamogram (CV) ferocenskog derivata **2**, polaznog spoja **1** u $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ LiBF_4 u acetonitrilu. Strujni vrh spoja **2** u polaznom dijelu CV nalazi se na $0,65 \text{ V}$, a u povratu na $0,58 \text{ V}$. Spoj **2** pokazuje dobra oksido-redukcijska svojstva. Odziv spoja **1** se ne razlikuje značajno od odziva zabilježenog u osnovnom elektrolitu.



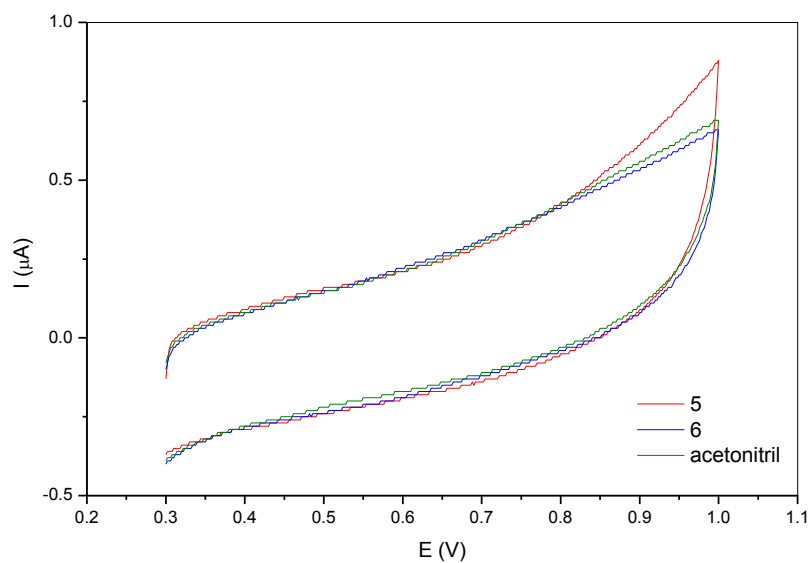
Slika 18. Ciklički voltamogram spojeva **1** i **2** u $0,1 \text{ mol dm}^{-3} \text{ LiBF}_4$ u acetonitrilu

Graf 2 prikazuje CV ferocenskog derivata **3**, polaznog spoja **1** u $0,1 \text{ mol dm}^{-3} \text{ LiBF}_4$ u acetonitrilu. Anodni strujni vrh spoja **3** nalazi se na 1,2 V. Spoj **1** ima slabije izražen strujni vrh pri potencijalu od 1,1 V.



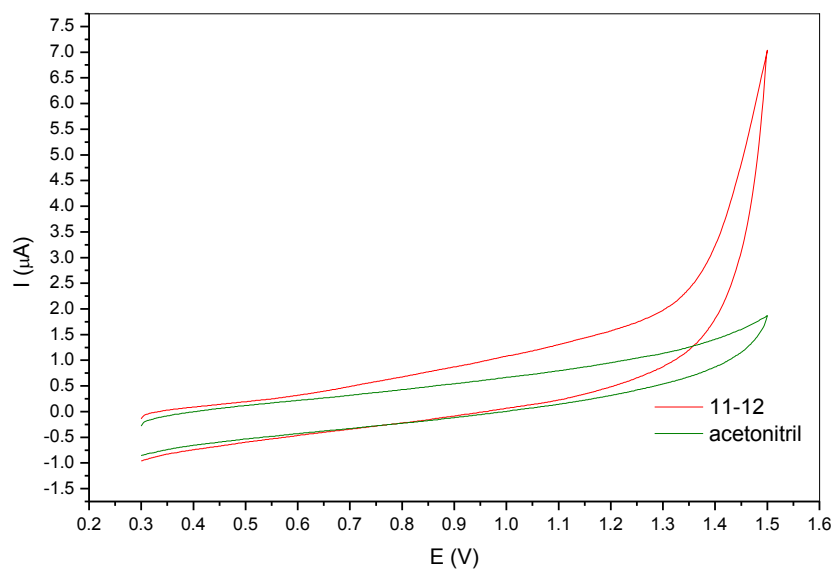
Slika 19. Ciklički voltamogram spojeva **1** i **3** u $0,1 \text{ mol dm}^{-3} \text{ LiBF}_4$

Graf 3 prikazuje CV ferocenskog derivata **6**, polaznog spoja **5** u $0,1 \text{ mol dm}^{-3} \text{ LiBF}_4$ u acetonitrila. Odziv dobiven za spoj **6** ne razlikuje se od odziva dobivenog u osnovnom elektrolitu. Spoj **5** pokazuje blagi porast struje iznad 0,7 V.



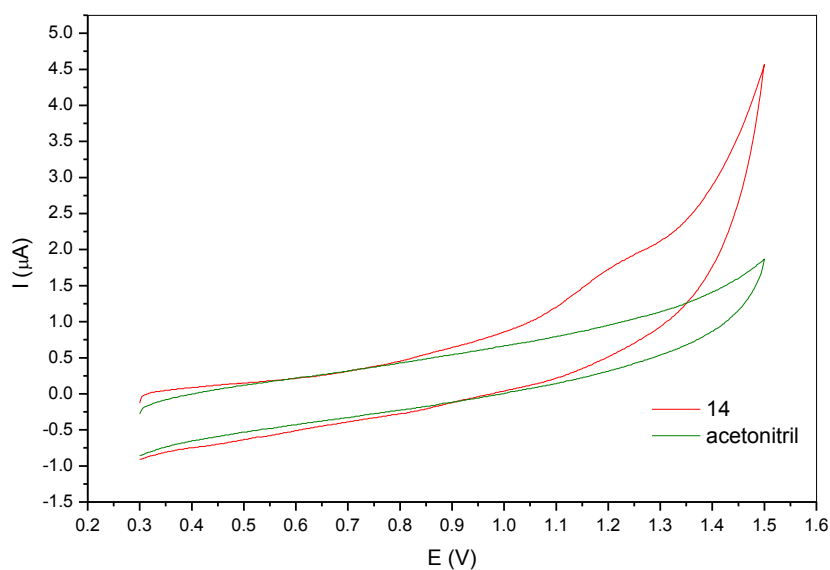
Slika 20. Ciklički voltamogram spojeva **5** i **6** u $0,1 \text{ mol dm}^{-3} \text{ LiBF}_4$ u acetonitrilu

Na grafu 4. prikazani su CV ferocenskih izomera **11** i **12** u $0,1 \text{ mol dm}^{-3} \text{ LiBF}_4$ u acetonitrilu. Izomeri **11** i **12** pokazuju izraženije struje pri potencijalu iznad $1,3 \text{ V}$



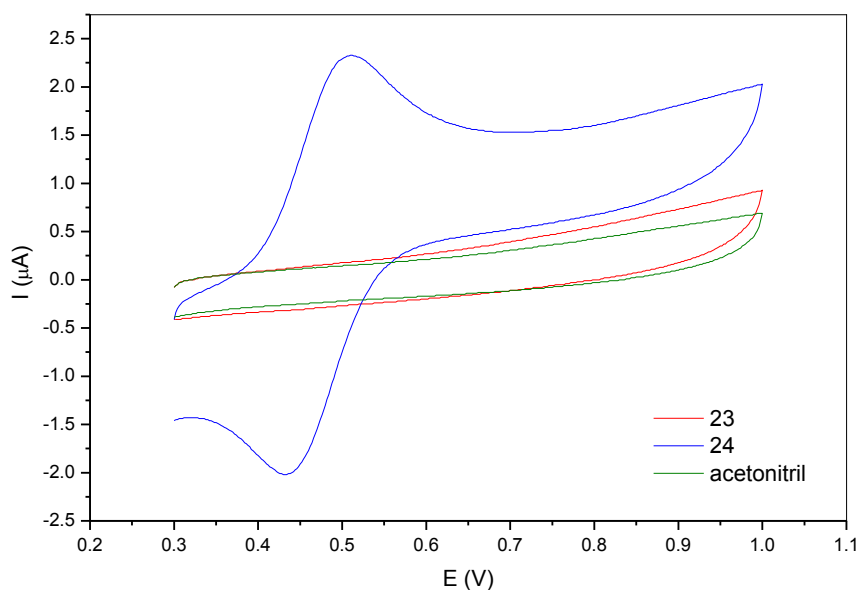
Slika 21. Ciklički voltamogram izomera **11** i **12** u $0,1 \text{ mol dm}^{-3} \text{ LiBF}_4$ u acetonitrilu

Graf 5 prikazuje CV ferocenskog derivata **14** u $0,1 \text{ mol dm}^{-3} \text{ LiBF}_4$ u acetonitrilu. Spoj **14** ima blago izraženi strujni vrh na $1,2 \text{ V}$ i ma izraženi porast struje pri potencijalu većem od $1,3 \text{ V}$.



Slika 22. Ciklički voltamogram spoja **14** u $0,1 \text{ mol dm}^{-3} \text{ LiBF}_4$ u acetonitrilu

Graf 6 prikazuje CV ferocenskog derivata **24**, polaznog spoja **23** u $0,1 \text{ mol dm}^{-3} \text{ LiBF}_4$ u acetonitrilu. Polazni strujni vrh spoja **24** nalazi se na $0,5 \text{ V}$, a povratni na $0,44 \text{ V}$. Spoj **1** ne pokazuje značajnu razliku u odnosu na odziv dobiven u osnovnom elektroltu. Spoj **24** pokazuje dobra oksido-redukcijska svojstva.



Slika 23. Ciklički voltamogram spojeva **23** i **24** u $0,1 \text{ mol dm}^{-3} \text{ LiBF}_4$ u acetonitrilu

5. ZAKLJUČAK

5. ZAKLJUČAK

- 5-jod-*N*-1-propargiluracil (**1**) pripravljen je *N*-alkiliranjem 5-joduracila, te je nadalje Sonogashira-inom reakcijom s etinilferocenom preveden u hibrid uracila i ferocena premošten etinilnom poveznicom, dok je „klik“ reakcijom potpomognutom mikrovalovima s ferocenzidom u položaj *N*-1 uveden 1,2,3-triazolni prsten i pripravljen hibrid **3**.
- *N*-1 alkenilirani derivati **4**, **7** i **8** pripravljeni su reakcijom 5-joduracila s *trans*-1,4-dibrombut-2-enom, odnosno *cis*-1,4-diklorbut-2-enom te su nadalje u reakciji s natrijevim azidom prevedeni u azido derivate **5**, **9** i **10**.
- „Klik“ reakcijom azidoderivata nukleobaza s etinilferocenom pripravljeni su hibridi konjugat **6**, **11** i **12**.
- *N*-1 propargilirani derivat **13** pripravljen je reakcijom *N*-alkiliranja *N*-4-benzoilcitozina uz NaH, koji je potom „klik“ reakcijom s etinilferocenom preveden u hibrid citozina i 4-ferocetil-1,2,3-triazola **14**
- *N*-1 i *N*-3 alkenilirani derivati (**15-17**) pripravljeni su *N*-alkiliranjem *N*-4-benzoilcitozina s *trans*-1,4-dibrombut-2-enom odnosno *cis*-1,4-diklorbut-2-enom. Azido-derivat **18** dobiven je reakcijom derivata **15** s natrijevim azidom.
- *N*-1 derivat **19** dobiven je *N*-alkiliranjem uracila, a *N*-1 alkenilirani derivati **20** i **21** sintetizirani su *N*-1 alkeniliranjem uracila s *trans*-1,4-dibrombut-2-enom odnosno *cis*-1,4-diklorbut-2-enom, koji su zatim prevedeni s natrijevim azidom u 4-azidoderivate
- Hibrid uracila i 4-ferocetil-1,2,3-triazola **24** pripravljen je „klik“ reakcijom spoja **21** s etinilferocenom.
- Spojevi **25** i **27** dobiveni su reakcijom (2-amino-) 6-klorpurina s natrijevim azidom.
- *N*-7-propargilirani derivat **26** dobiven je *N*-alkiliranjem 6-klor-7-deazapurina.
- Strukturna karakterizacija novosintetiziranih spojeva provedena je ¹H NMR spektroskopijom.
- Elektrokemijska ispitivanja provedena cikličkom voltametrijom pokazuju da od novosintetiziranih spojeva dobra oksido-reduktivna svojstva posjeduju hibridi uracila i ferocena **2** i **24**.

6.LITERATURA

6. LITERATURA

- [1] <https://www.acs.org/content/acs/en/careers/college-to-career/chemistry-careers/medicinal-chemistry.html> (17.6.2017. 10:30)
- [2] Venkat Rao N. et al., An Overview on Synthesis and Biological Activity of Pyrimidines, *International Journal of Pharmaceutical Chemistry research*, **2** (2013) 14.
- [3] van Staveren D.R., Metzler-Nolte N., Bioorganometallic Chemistry of Ferrocene, *Chemical Reviews*, **12** (2004) 5931-5932., 5958-5960.
- [4] Kowalski K., Ferrocenyl-nucleobase complexes: Synthesis, chemistry and applications, *Coordination Chemistry Reviews* **317** (2016) 133.
- [5] David L. Nelson, Michael M. Fox; Lehninger PRINCIPLES OF BIOCHEMISTRY, 4th edition, Freeman, W. H. & Company 2004. god (273-274)
- [6] <http://www.newworldencyclopedia.org/entry/Pyrimidine> (14.5. 18 h)
- [7] Naik T.A., Chikhalia K.H., Studies on Synthesis of Pyrimidine Derivatives and their Pharmacological Evaluation, *E-Journal of Chemistry*, **4** (2007) 60-61.
- [8] Amir M., Javed S.A., Kumar H., Pyrimidine as Antiinflammatory Agent: A Review, *Indian J. Pharm. Sci*, **3** (2007) 337.
- [9] Chorlton A.P., Pyrimidine and Pyrimidine Derivatives, *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH, **30** (2012) 593.
- [10] Brown D.J., *The Chemistry of Heterocyclic Compounds*, John Wiley & Sons, New York, 1994., str 30-34.
- [11] Longley D.B., Harkin D.P., Johnston P.G.; 5-fluorouracil-Mechanisms of action and clinical strategies, *Nature Publishing Group*, **3** (2003) 330.
- [12] Levkoff L.K. et al.; Bromodeoxyuridine Inhibits Cancer Cells Proliferation *In Vitro* and *In Vivo*, *Elsevier*, **8** (2008) 804.
- [13] Yerragunta V., Patil P., Anusha V., KumaraSwamy T., Suman D., Samhitha T., Pyrimidine and Its Biological Activity: A Review, *Pharmatutor*, **1** (2013) 39-41.
- [14] Sacchi A., Laneri S., Arena F., Luraschi E., Rossi F., Research of heterocyclic compounds. Part XXXVI. Imidazo[1,2-*a*]pyrimidine-2-acetic derivatives: synthesis and antiinflammatory activity, *Eur. J. Med. Chem.*, **32** (1997) 677.
- [15] Libert P., Stanbury J.B., *The Pharmacology of Substances Affecting the Thyroid Gland*, *Annu. Rev. Pharmacol.*, **11** (1971) 113.
- [16] Cottom H.B. et al., New adenosine kinase inhibitors with oral antiinflammatory activity: synthesis and biological evaluation, *J. Med. Chem.*, **36** (1993) 3424.

- [17] El-Gaby M. S. et al., Synthesis and anticancer activity *in vitro* of some new pyrimidines, *Acta. Pharm.*, **49** (1999) 149.
- [18] Padamshali B, Vaidya V.P., Vijayaya Kumar M.L., Synthesis and Pharmacological evaluation of some naphtho[2,1-*b*]furo[3,2-*d*]pyrimidines, *Indian Journal of Heterocyclic. Chem.*, **12** (2002) 89-94.
- [19] Basararaja KM, Patil VM and Agasimundin YS, Synthesis and Reactions of Biologically active 1,2,3,4-tetrahydro-4-oxo-2-thiobenzofuro[3,2-*d*] pyrimidine derivative, *Indian Journal of Heterocyclic. Chemistry*, **16** (2006) 159-162.
- [20] Mining Li, Wang S., Zhang X., Synthesis, bioactivities, and X-ray structure analysis of 2-cyano-5-methylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidine, *Journal of Chemical Crystallography*, **35** (2005) 667-671.
- [21] Alagarsamy V., Pathak U.S., Revathi R., Anticancer, antibacterial and antifungal activities of some 2-substituted (1,3,4) thiadiazolothieno (3,2-*e*) - pyrimidin-5(4H)-ones, *Indian journal of heterocyclic chemistry*, **12** (2003) 335-338.
- [22] Singh P., Kaur J., Paul K., Reactions of 5-benzoyl-/5-carbaldehyde-/5-(3-phenyl-acryloyl)-6-hidroxy-1*H*-pyrimidin-2,4-diones with amines: Anti-cancer and metal sequestering properties, *Indian journal of chemistry*, **47B** (2008) 291-296.
- [23] Talal A., Allaf K.A., Redna I., Al Bayati I.M., Khuzail R.F., Synthesis, characterization and cytotoxic activity of diorganotin (IV) complexes with 4*H*-pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one derivatives, *Applied orgnometallic chemistry*, **10** (1996) 47-51.
- [24] Lenz H.H., Purine Derivatives, *Ullmann's Encyclopedia od Industrial Chemistry*, Wiley-VCH, **30** (2012) 541-542.
- [25] <http://www.lookchem.com/Chempedia/Basic-Chemical/Chemical-Reaction/8566.html>
(3.6. 18 h)
- [26] Lister J.H., *The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Fused Pyrimidines: The Purines*, John Wiley & Sons, New York, 1971, str. 9-18.
- [27] Maity J., Stromberg J., An Efficient and Facile Methodology for Bromination of Pyrimidine and Purine Nucleosides with Sodium Monobromoisocyanurate (SMBI), *Molecules*, **18** (2013) 12740, 12744.
- [28] Joule J.A., Mills K., *Heterocyclic Chemistry at a Glance*, Second edition, John Wiley & Sons, 2012, str. 127.
- [29] Nair V., Bera B., Earl L.K., Synthesis and biological activities of 2-functionalized purine nucleosides, *Nucleosides, nucleotides & nucleic acids*, **22** (2003) 115-127.
- [30] Ogilve K.K. et al., Synthesis of a purine acyclonucleoside series having pronounced antiviral activity the glyceropurines, *Can. J. Chem.* **62** (1984) 241.

- [31] Holy A. et al., Structure-antiviral activity relationship in the series of pyrimidine and purine *N*-[2-(2-phosphonomethoxy)ethyl] nucleotide analogues. 1. Derivatives substituted at the carbon atoms of the base, **42** (1999) 2064-86.
- [32] Murti Y., Badal N., Pathak D. Synthesis, spectral studies and biological screening of 6-chloropurine derivatives, *Int. Pharm. Sci.* **1** (2011) 116-122.
- [33] Hu Y.L. et al., Synthesis and biological activities of *O*-6-alkylguanine derivatives, *Bull Chem Soc Ethiop* **24** (2010) 425-432.
- [34] Hu Y.L. et al., Synthesis and biological activity of novel 6-substituted purine derivatives, *J. Mex. Chem. Soc.*, **54** (2010) 74-78.
- [35] Gordaliza M., Terpenyl-Purines from the sea, *Mar. Drugs*, **7** (2009) 833-849.
- [36] Raic-Malic S., Hergold-Brundic A., Nagl A., Grdisa M., Pavelic S., Clercq ED et al., Novel pyrimidine and purine derivatives of *L*-ascorbic acid: synthesis and biological evaluation, *J. Med. Chem.*, **42** (1999) 2673-2678.
- [37] Dinesh S. et al., Biological Activities of Purine Analogues, *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*, **2** (2012) 30-32.
- [38] Stone D.L., Smith D.K., Anion binding at the core of branched ferrocene derivatives, *Polyhedron*, **22** (2003) 763.
- [39] Beer P.D., P.D. Beer, Neutral Ferrocenoyl Receptors for the Selective Recognition and Sensing of Anionic Guests, *Inorg. Chem.* **36** (1997) 2112
- [40] Corry A.J., Goel A., Alley S.R., Kelly N.P., Sullivan D.O., Savage D., Kenny P.T., *N*-*ortho*-Ferrocenyl benzoyl dipeptide esters: Synthesis, structural characterization and *in vitro* anti-cancer activity of *N*-{*ortho*-(ferrocenyl)benzoyl}-glycine-L-alanine ethyl ester and *N*-{*ortho*-(ferrocenyl)benzoyl}-L-alanine-glycine ethyl ester, *J. Organomet. Chem.*, **692** (2007) 1410.
- [41] Larik F.A. et al., Recent advances in the synthesis, biological activities and various application of ferrocene derivatives, *Applied Organometallic Chemistry*, **30** (2016) 12-14.
- [42] Yu C. J., Yowanto H., Wan Y., Meade, T. J., Chong Y., Strong M., Donilon L. H., Kayyem J. F., Gozin M., Blackburn G. F., *J. Am. Chem. Soc.* **122** (2000) 6767.
- [43] Meunier, P., Ouattara, I., Gautheron, B., Tirouflet, J., Camboli, D., Besancon, J., Boulay F., Synthesis, characterization and cytotoxic properties of the first 'metallocenonucleosides', *Eur. J. Med. Chem.* **26** (1991) 351.
- [44] Glass R.S., Stessman N.Y.T., Synthesis of a redox active analogue of adenine, *Tetrahedron Letters*, **41** (2000) 9581.
- [45] Neghmouche N.S., Lanez T., Electrochemical properties of ferrocene in aqueous and organic mediums at glassy carbon electrode, *URP Journals*, **1** (2013) 1-2.

- [46] Kraljić Roković M., Voltametrijske i potenciometrijske tehnike [skripta], Zagreb, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije
- [47] Metikoš-Huković M., Elektrokemija [interni udžbenik] (2000) Zagreb, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije
- [48] Bosquesi P.L., Anti-Inflammatory Drug Design Using a Molecular Hybridization Approach, *Pharmaceuticals*, **4** (2014) 1450-1451.
- [49] Viegas-Junior C. et al., Molecular Hybridization: A Useful Tool in the Design of New Drug Prototypes, *Current Medicinal Chemistry*, **14** (2007) 1829-1830., 1834-1836.
- [50] Siddiqui N., Ahsan W., Triazole incorporated thiazoles as a new class of anticonvulsants: Design, synthesis and in vivo screening, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **45** (2010) 1536-43.
- [51] Varvarason A., Tantili-Kakoulidou A., Siatra-Papastasikoudi T., Tiligada E., Synthesis and biological evaluation of indole containing derivatives of thiosemicarbazide and their cyclic 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole analogs. *Arzneim Forsch*, **50** (2000) 48-54.
- [52] Gilchrist T. L., Gymer G. E., 1,2,3-Triazoles, In *Adv. Heterocycl. Chem.* **16** (1974) 33.
- [53] M. Whiting, J. Muldoon, Y. C. Lin, S. M. Silverman, W. Lindstron, A. J. Olson, H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, Inhibitors of HIV-1 protease by using in situ click chemistry, **45** (2006) 1435-9.
- [54] Haider S, Alam MS, Hamid H, Shafi S, Nargotra A, Mahajan P, et al. Synthesis of novel 1,2,3-triazole based benzoxazolinones: Their TNF- α based molecular docking with in-vivo anti-inflammatory, antinociceptive activities and ulcerogenic risk evaluation. *Eur J Med Chem* **70** (2013) 579-588.
- [55] Raić-Malić S.; Mešćić A. Recent Trends in 1,2,3-Triazolo-Nucleosides as Promising Anti-Infective and Anticancer Agents. *Current Medicinal Chemistry*, 2015
- [56] Sandip G.A., Suleman R.M., Vandana S., Click Chemistry: 1,2,3-Triazoles as Pharmacophores. *Chem. Asian J*, **6** (2011) 2696 .
- [57] Hein C.D., Liu Xin-Ming, Wang D. , Click Chemistra, A Powerful tool for Pharmaceutical Sciences, *Pharmaceutical Research* **25** (2008) 2216-2219.
- [58] Kolb H. C., Finn M. G., Sharpless K. B., Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **40** (2001) 2004-2021.
- [59] Liang B., Dai, M., Chen J., Yang, Z., Copper-Free Sonogashira Coupling Reaction with PdCl₂ in Water under Aerobic Conditions, *Journal of Organic Chemistry*, **70** (2005) 391-393.

- [60] Sonogashira K., Tohda Y., Hagihara N., A Convenient Synthesis of Acetylenes: Catalytic Substitutions of Acetylenic Hydrogen with Bromoalkenes, Idoarenes, and Bromopyridines, *Tetrahedron Letters*, **50** (1975) 4467 – 4470.
- [61] Liang Y., Xie Y., Li J., Modified Palladium-Catalyzed Sonogashira Cross-Coupling Reactions under Copper-, Amine-, and Solvent-Free Conditions, *Journal Organic Chemistry*, **71** (2006), 379 – 381.
- [62] Chinchilla R., Nájera C., *Chemical Reviews*, The Sonogashira Reaction: A Booming Methodology in Synthetic Organic Chemistry **107** (2007) 874.
- [63] Frigoli S., Fuganti C., Malpezzi L., Serra S., A Practical and Efficient Process for the Preparation of Tazarotene, *Organic Process Research & Development*, **9** (2005) 646 – 650.
- [64] Wagner F., Comins D., Expedient Five-Step Synthesis of SIB-1508Y from Natural Nicotine, *The Journal of Organic Chemistry*, **71** (2006) 8673-8675.

7. ŽIVOTOPIS

