

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

Stipaničev, Nikolina

Undergraduate thesis / Završni rad

2015

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:348086>

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

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



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Nikolina Stipaničev

Regioselektivna sinteza 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazola / Regioselective synthesis of 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles

ZAVRŠNI RAD

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

Članovi ispitnog povjerenstva:

prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić

doc. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević

prof. dr. sc. Sandra Babić

Zagreb, rujan 2015.

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Silvani Raić-Malić na predloženoj temi, stručnom vođenju te pomoći i savjetima oko izrade završnog rada. Zahvaljujem se i mag. appl. chem. Andrei Bistrović na pomoći, puno dobre volje, truda i strpljenja prilikom odrade eksperimentalnog dijela te pisanja rada. Također zahvaljujem svim djelatnicima Zavoda za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije na pomoći i ugodnoj radnoj atmosferi. Zahvaljujem Hrvatskoj zakladi za znanost za financiranje na istraživanjima (projekt No. 5596) te doc. dr. sc. Domagoju Drenjačeviću i Katedri za mikrobiologiju i parazitologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku na ispitivanju antibakterijskih djelovanja novopripremljenih kumarinskih spojeva.

Posebno hvala obitelji i bližnjima na podršci tijekom cijelog školovanja.

SAŽETAK

Cilj ovog rada bila je sinteza novih 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazolnih derivata s 7-deazapurinom i 7-hidroksikumarinom kao potencijalnih biološki aktivnih spojeva. Azidni derivat 6-klor-7-deazapurina **2**, kao ključni prekursor, pripremljen je iz *N*-brometilnog derivata 7-deazapurina **1**. Derivati 6-klor-7-deazapurina i 1,2,3-triazola (**3** - **13**) međusobno povezanih etinilnom premostnicom pripremljeni su "click" reakcijom potpomognutom mikrovalovima organskog azida i terminalnih alikina kataliziranom bakrom. Nadalje, Huisgenovom 1,3-dipolarnom cikloadicijom pripremljeni su derivati 1,2,3-triazola i 7-hidroksikumarina (**14** - **17**) iz kumarinskog azida i odgovarajućih terminalnih alkina.

Strukture svih pripremljenih spojeva potvrđene su ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom.

Provedena su ispitivanja antibakterijskog djelovanja spojeva **14** - **17** na osam bakterijskih vrsta (četiri Gram-pozitivne i četiri Gram-negativne bakterijske vrste). Spojevi **16** i **17** pokazali su bolju učinkovitost na Gram-pozitivne bakterije *Enterococcus faecali* od antibiotika ceftazidima (CAZ) i ciprofloksacina (CIP).

Ključne riječi: *1,4-disupstituirani 1,2,3-triazoli, 7-deazapurini, kumarini, 1,3-dipolarna cikloadicija, "click" kemija*

SUMMARY

The aim of this work was the synthesis of novel 1,4-disubstituted 1,2,3-triazole derivatives of 7-deazapurine and coumarin as potential biologically active compounds. The organic azide of 6-chloro-7-deazapurine, as a key precursor, was prepared from *N*-bromoethynyl derivative of the 7-deazapurine **1**. Derivatives of 6-chloro-7-deazapurine and 1,2,3-triazole (**3** - **13**) bound *via* ethynyl linker were prepared by copper catalyzed "click" chemistry approach under microwave irradiation between organic azides and terminal alkynyl. Furthermore, derivatives of 1,2,3-triazole and 7-hydroxycoumarin (**14** - **17**) were prepared by Huisgen 1,3-dipolar cycloaddition from the coumarin azide and corresponding terminal alkynes.

The structures of all synthesized compounds were confirmed by ^1H i ^{13}C NMR spectroscopy.

The anti-bacterial activity of the synthesized compounds **14** - **17** was performed *in vitro* against four Gram-positive bacterial species and four Gram-negative bacterial species. The MIC values of the tested compounds compared with those of ceftazidime and ciprofloxacin. Compounds **16** and **17** have shown anti-bacterial activity, which was higher than ceftazidime against Gram-negative bacteria *Enterococcus faecali*.

Keywords: *1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles, 7-deazapurines, coumarines, 1,3-dipolar cycloaddition, "click" chemistry*

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	2
2.1. Purini.....	2
2.1.1. Derivati purina i njihova biološka aktivnost.....	4
2.2. 7-deazapurini.....	6
2.3. Kumarini.....	8
2.3.1. Biološka aktivnost kumarina i njegovih derivata.....	9
2.4. Triazoli.....	10
2.4.1. Biološka aktivnost triazola.....	11
2.5. "Click" kemija.....	13
2.5.1. Huisgenova cikloadicija.....	14
2.5.2. Azid-alkin cikloadicija katalizirana bakrom.....	15
2.6. Zelena kemija.....	17
2.6.1. Sinteze potpomognute mikrovalovima.....	17
3. EKSPERIMENTALNI DIO	19
3.1. Opće napomene.....	19
3.2. Pregled sintetiziranih spojeva.....	20
3.3. Priprava spojeva.....	21
4. REZULTATI I RASPRAVA	30
4.1. Sinteze spojeva.....	30

4.2. Analiza ^1H NMR spektara.....	35
4.3. Ispitivanje antibakterijskog djelovanja <i>in vitro</i>	37
5. ZAKLJUČAK.....	38
6. LITERATURA.....	39
7. PRILOG.....	41
8. ŽIVOTOPIS.....	50

1. UVOD

Heterociklički dušikovi spojevi široko su rasprostranjeni u prirodi. Nalaze se u purinima, aminokiselinama te u raznim molekulama koje susastavni dio stanica živih bića te sudjeluju u biokemijskim reakcijama živih organizama. Purinske i pirimidinske baze sa šećerima ribozama i deoksiribozama čine nukleotide, koji su osnovne gradivne jedinice lanaca DNK i RNK.¹ Izosteri purina su važni inhibitori DNK i RNK polimeraze pa kao takvi inhibiraju procese širenja tkiva tumora. Purinski analozi, 7-deazapurini, vežu se na receptore te zbog male razlike u strukturi u odnosu na purine djeluju kao inhibitori raznih kinaza u stanicama. Poznati su mnogi purinski i 7-deaza purinski lijekovi, međutim zbog razvijanja rezistencije i visoke toksičnosti istražuju se novi spojevi te njihova primjena.³

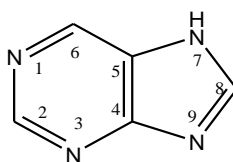
Posljednjih nekoliko desetljeća veliku su pažnju privukli triazoli zbog širokog spektra biološke aktivnosti. Nova istaživanja su pokazala da vodikove veze i dipolne interakcije triazolne jezgre s biomolekulama pomažu u vezanju triazola na biomolekulu te se na taj način povećava njihova topljivost.²⁰ Supstitucijom različitih molekulskih skupina na *N*-1 atomu triazolnog prstena izravno se utječe na svojstva triazola. Triazoli su najšire korišteni kao antifungalni lijekovi, iako su u zadnjih nekoliko desetljeća istražena i druga područja primjene. Tako je, primjerice, ribavirin prvi triazolni nukleozid sa širokim spektrom antivirusnog djelovanja, a koristi se kao lijek protiv virusa Hepatitisa C.²⁰ U posljednjih nekoliko godina na važnosti su dobili kumarinski konjugati 1,2,3-triazola zbog širokog spektra biološke aktivnosti.

Povezivanje biomolekula je u sintezi novih lijekova vrlo važno, a izvodi se azid-alkin cikloadicijom kataliziranom Cu(I) u kojoj nastaju produkti 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazoli. Takva reakcija je regioselektivna, visokih iskorištenja te ne zahtjeva uporabu otapala štetnih za okoliš, dok se primjenom mikrovalnog zračenja odvija brže nego klasičnim putem te kao takva udovoljava zahtjevima zelene kemije.³⁵

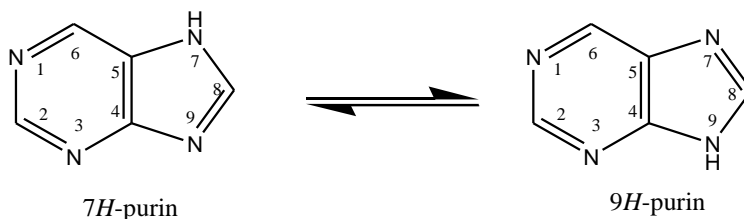
2. OPĆI DIO

2.1. Purini

Purin je heterociklički aromatski spoj koji se sastoji od fuzioniranog pirimidinskog i imidazolnog prstena (slika 1). Emil Fischer prvi je sintetizirao purin (imidazo[4,5-*d*]pirimidin) 1899. godine te pokazao kroz seriju transformacija da neki prirodni purinski spojevi odgovaraju različitim hidroksi i amino derivatima purina.³ Purin može postojati u dva tautomerna oblika, *7H*-purin i *9H*-purin (slika 2), koji se u otopinama nalaze u podjednakim koncentracijama. U čvrstom stanju dominantniji je *7H*-oblik.²



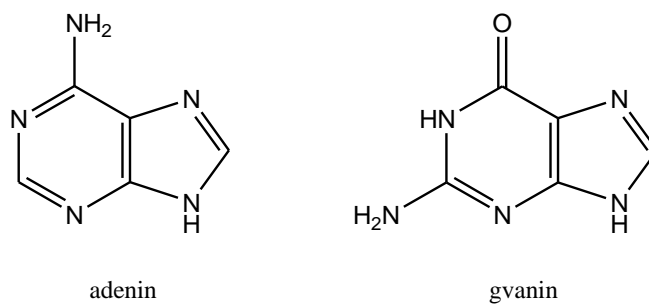
Slika 1. Purinski prsten



Slika 2. Tautomerija purina

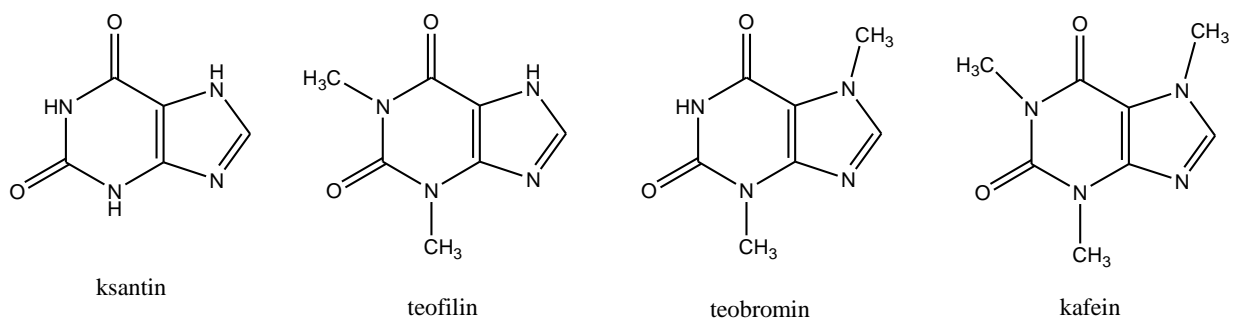
Purin podliježe reakcijama s elektrofilima i nukleofilima. Protoniranje purina odvija se na položaju *N*-1, dok se reakcija alkiliranja može provoditi na položajima *N*-7 i *N*-9. Nukleofilnu aromatsku supstituciju (S_NAr) moguće je izvesti na halo-, alkoksi- te alkilsulfanilpurinima, kao i na samom purinu. Primjer je Čičibabinova reakcija purina s KNH_2 u tekućem amonijaku, gdje je produkt 6-aminopurin (adenin).²

Purin kao takav nije prisutan u prirodi, međutim, njegovi derivati su sastavni dijelovi važnih biomolekula. Adenin i gvanin (slika 3) su purinske baze prisutne u nukleotidima, gradivnim jedinicama molekula DNK i RNK. U DNK i RNK adenin i gvanin se sparuju s komplementarnim pirimidinskim bazama – citozinom, timinom i uracilom.¹



Slika 3. Purinske baze

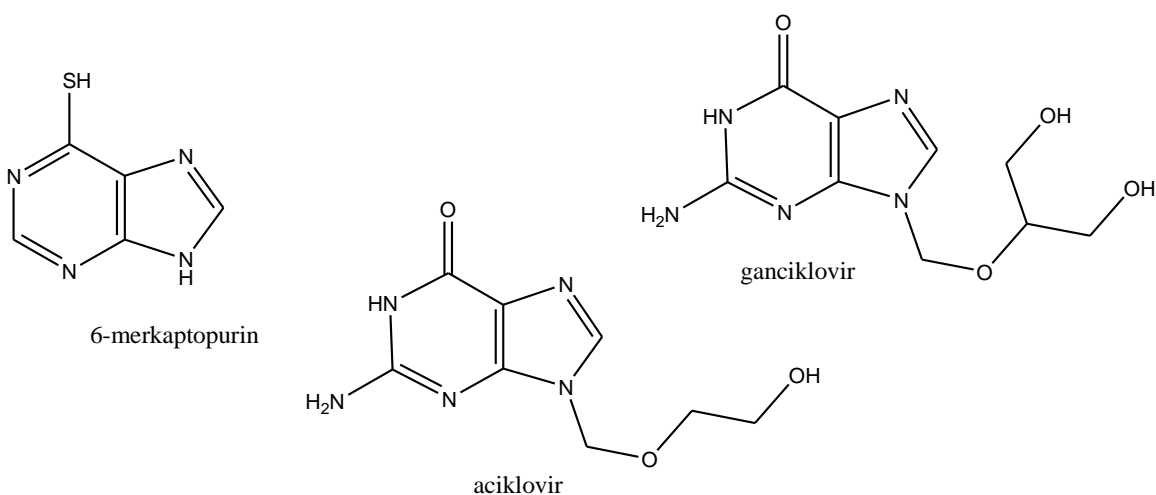
Adenin je prisutan u adenzin-5'-trifosfatu (ATP), koenzimu A i nikotinamid-adenin-dinukleotidu (NADH). To su molekule važne za stanične procese. Gvanin se nalazi u gvanozin-5'-trifosfatu, čijom se hidrolizom dobiva energija za prevođenje oksaloacetata u fosfoenolpiruvat u procesu glukoneogeneze. Drugi prirodni derivati purina su mokraćna kiselina, hipoksantin i ksantin (slika 4). Derivati ksantina su kafein, teobromin i teofilin. Kafein je prisutan u zelenim zrnima kave i djeluje stimulacijski na središnji živčani sustav. Teofilin se nalazi u listovima čaja, a djeluje kao diuretik i vazodilatator. Teobromin se nalazi u zrnima kakaovca i jači je diuretik od teofilina ili kafeina.²



Slika 4. Ksantin i derivati ksantina

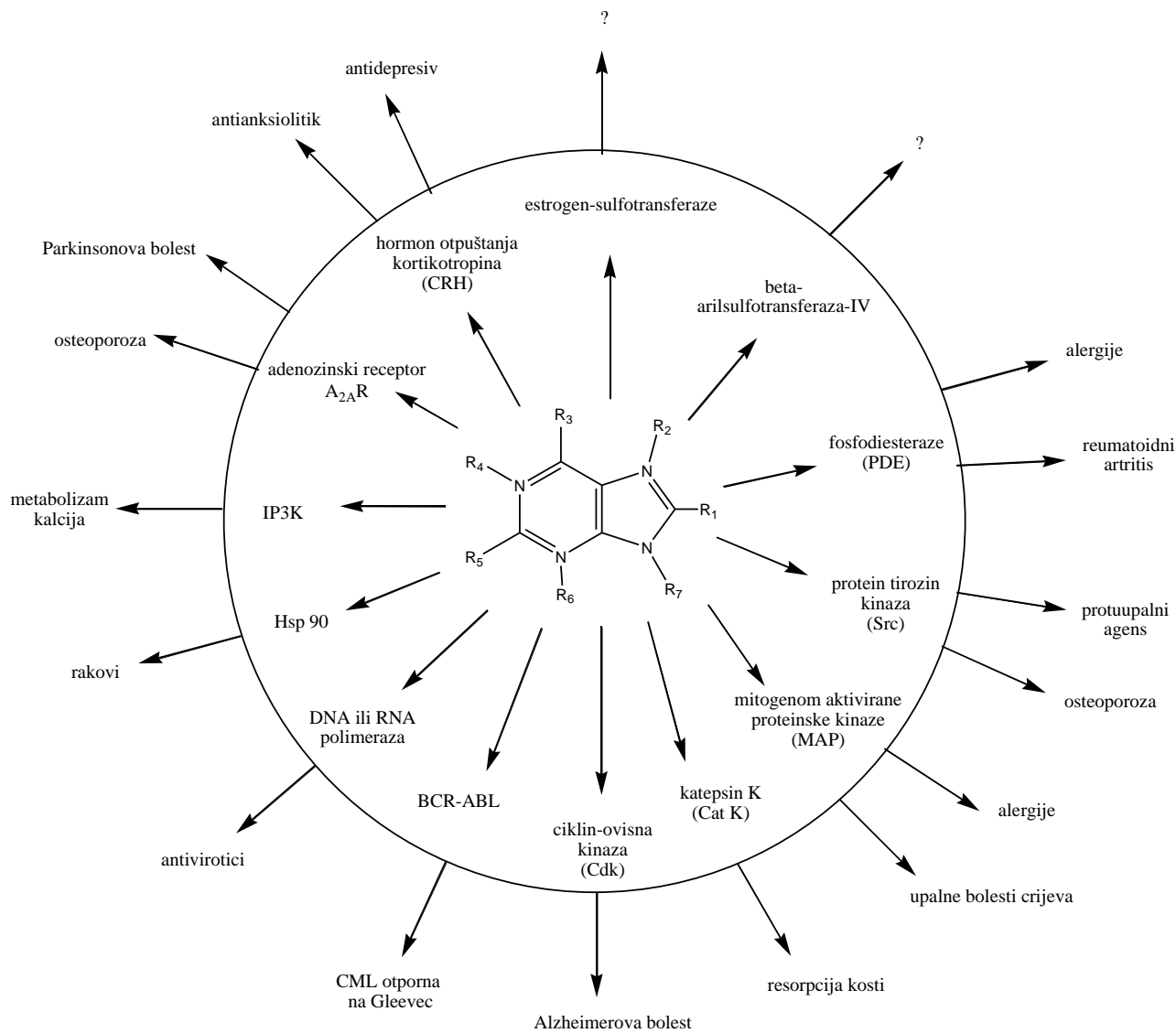
2.1.1. Derivati purina i njihova biološka aktivnost

Purini i njihovi derivati su važni spojevi koji se nalaze u svim oblicima života te su ključni za odvijanje bioloških procesa. Oni sudjeluju u prijenosu signala preko staničnih membrana, translaciji i sintezi proteina, dok se u obliku purinskih nukleozida ponašaju kao neurotransmiteri u raznim tkivima.⁴ Sintetski derivati purina pokazali su djelovanja na široko područje bioloških meta te se primjenjuju u liječenju raka, sistemne mastocitose, virusnih infekcija poput herpesa, hepatitisa C i AIDS-a te u slučaju odbacivanja transplantata.³ Najpoznatiji purinski imunosupresivni lijek je 6-merkaptopurin (slika 5), a primjenjuje se u liječenju akutne limfoblastične leukemije te nekih autoimunih bolesti poput ulceroznog kolitisa i sistemnog eritemskog lupusa. Ganciklovir i aciklovir (slika 5), analozi 2'-deoksigvanozina, su antivirusni i koriste se u liječenju herpesnih virusa.



Slika 5. Purinski lijekovi

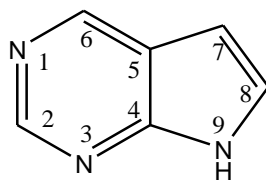
U posljednje vrijeme posebno su zanimljivi novi purinski spojevi koji su pokazali potencijalnu primjenu kao inhibitori enzima i receptori agonista i antagonista. Mogu djelovati kao induceri interferona, antagonisti receptora adenzina, modulatori receptora za otpuštanje kortikotropina ili inhibitori nakupina mikrotubula, Hsp90, sulfotransferaze, leukotrien A₄ hidrolaze, katepsina K, proteina za transport nukleozida, fosfodiesteraze te raznih kinaza (slika 6).



Slika 6. Potencijana primjena purinskih derivata kao lijekova; unutar kruga označene su mete djelovanja purinskih derivata, a izvan kruga potencijalna primjena purinskih derivata s obzirom na naznačenu metu, dok upitnik ukazuje na još nepoznatu primjenu s obzirom na metu djelovanja³

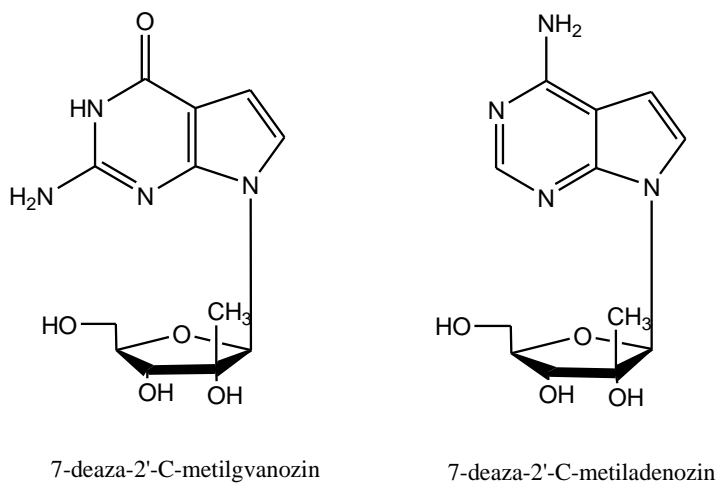
2.2. 7-deazapurini

7-deazapurini (pirolo[2,3-*d*]pirimidini) su analozi purina kod kojih je dušik na položaju 7 purinskog prstena supstituiran ugljikovim atomom (slika 7). 7-deazapurini primijenjuju se u razvoju lijekova zbog širokog spektra biološke aktivnosti i biomimetičkih karakteristika. Zbog manje razlike u strukturi u usporedbi s purinom, 7-deazapurini se najčešće primjenjuju kao antimetaboliti u metabolizmu purina s ciljem inhibicije replikacije RNK i DNK.



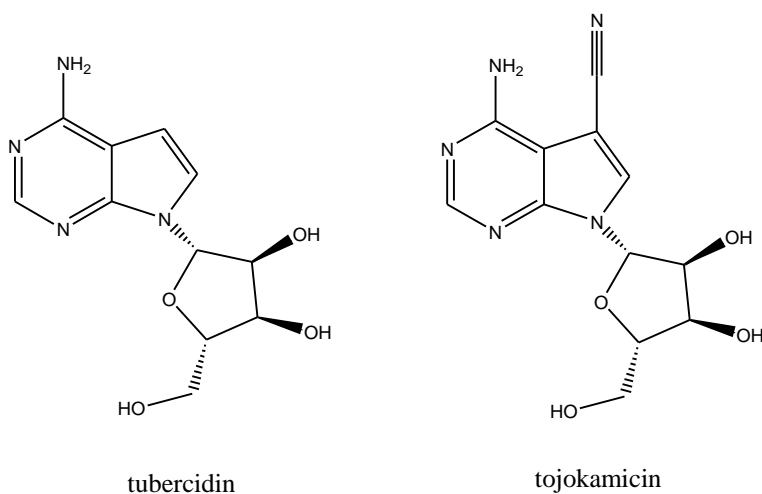
Slika 7. 7-deazapurin

Mehanizam djelovanja 7-deazapurina temelji se na interkalaciji u lanac DNK tijekom replikacije umjesto dušičnih baza koje su u DNK prirodno prisutne. Time se zaustavlja dioba stanica zaraženih virusom, kao i stanica tumora. Trifosfatni nukleozidni analozi 7-deazapurina, kao što su 7-deaza-2'-C-metiladenozin i 7-deaza-2'-C-metilgvanozin (slika 8), su potencijalni inhibitori NS5B polimeraze kod virusa hepatitisa C.⁵ Bolje djelovanje pokazuje 7-deaza-2'-C-metiladenozin zbog slabijeg toksičnog djelovanja na zdrave stanice i boljih farmakokinetičkih parametara.⁵



Slika 8. Nukleozidni analozi 7-deazapurina

Prirodno prisutni nukleozidi 7-deazapurina su tubercidin i tojokamicin (slika 9). Tubercidin je analog adenzina, a može se naći u filtratima kulture *Streptomyces tubercidicus*. Istraživanja su pokazala da tubercidin, osim antibiotskog, ima potencijalno antitumorsko i antivirusno djelovanje.⁶ Tojokamicin je prvi put izoliran iz *Streptomyces toyocaensis* 1956. a inhibitor je enzima fosfatidilinozitol-3-kinaze, koji sudjeluje u provođenju signala među stanicama.

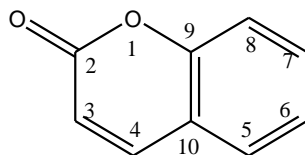


Slika 9. Tubercidin i tojokamicin

U laboratoriju se 7-deazapurini primjenjuju kao zamjena za prirodne nukleozide kako bi se u polimeraznim lančanim reakcijama (eng. Polymerase chain reaction, PCR) dobile DNK s poboljšanim svojstvima. Na taj se način, primjerice, može povećati stabilnost heliksne uzvojnice DNK.⁷

2.3. Kumarini

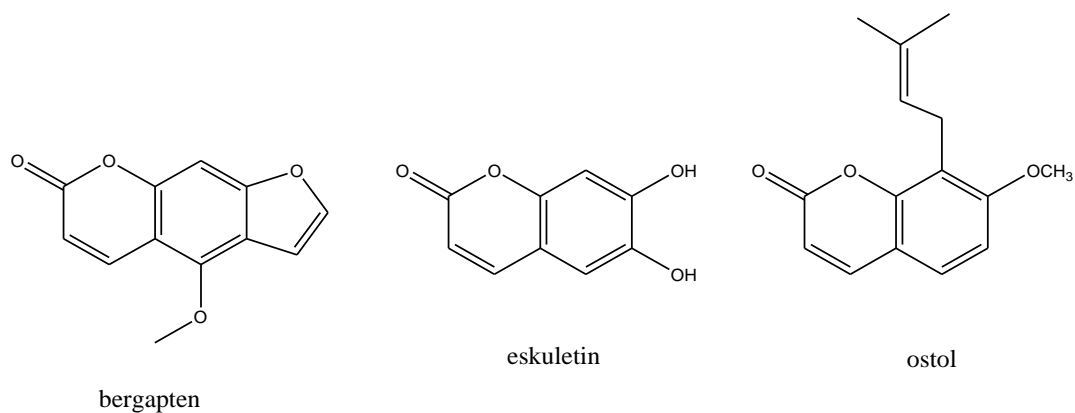
Kumarin (1,2-benzopiron) je heterociklički aromatski spoje koji sadrži u svojoj strukturi dva atoma kisika (slika 10). Kumarin i njegovi derivati su rasprostranjeni u prirodi i nalaze se u mnogim biljkama, voću i povrću, a zbog svoje biološke aktivnosti mnogi su se koristili u tradicionalnoj medicini dugi niz godina. Kumarin je poznat je po svom ugodnom mirisu koji podsjeća na vaniliju. Istraživanje kumarina započelo je prije 200 godina, a prvi puta kumarin je izoliran iz biljke *Coumarouna odorata Aube (Dipteryx odorata)* 1820. g., po kojoj je i dobio ime.⁸



Slika 10. Kumarinski prsten

S obzirom da na kumarinskom prstenu postoji 6 položaja na kojima se može odvijati supstitucija, poznati su mnogi derivati kumarina, bilo sintetičkih ili prirodnih (slika 11). Takva strukturalna raznolikost uzrok je različite biološke aktivnosti.⁸ Eskuletin je hidroksilni derivat kumarina iz biljke *Cichorium intybus*, a ima antikoagulantno djelovanje te se koristi u liječenju varikoznih vena. Ostol je metoksilni derivat kumarina prisutan u biljkama *Cnidium monnieri* i *Angelica pubescens* koji regulira krvni tlak i ima antifungalno djelovanje. Bergapten je furokumarin koji se nalazi u citrusnom voću bergamotu (*Citrus bergamia*). U prošlosti se koristio u tradicionalnoj medicini kao antimalarično sredstvo, dok se danas istražuju njegova antituberkulozna svojstva.

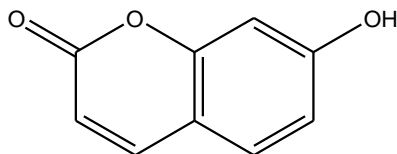
U biljkama se kumarini sintetiziraju hidroksilacijom, glikolizom te ciklizacijom cimetne kiseline, dok se u laboratorijski može prirediti sintetskim metodama, od kojih su najpoznatije Perkinova, Knoevenagelova i Pechmannova sinteza.^{10,11}



Slika 11. Kumarini prisutni u prirodi

2.3.1. Biološka aktivnost kumarina i njegovih derivata

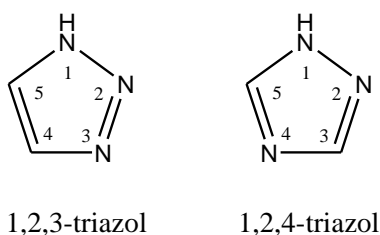
Za kumarine je dokazano da pokazuju širok spektar bioloških aktivnosti zbog niske toksičnosti te se istražuju zbog svojeg potencijalno povoljnog utjecaja na ljudsko zdravlje. Neka farmakološka svojstva koje kumarini posjeduju su anti-HIV, antikoagulantna, antibakterijska, antioksidativna i antilipidna aktivnost.¹² Također je dokazano da inhibiraju peroksidaciju masti te da djeluju vazodilatacijsko, protuupalno i antikarcinogeno.¹³ Ostale biološke aktivnosti uključuju i inhibiciju citokroma P450 i steroidne 5 α -reduktaze⁸, dok neki kumarini mogu uzrokovati značajne promjene u regulaciji imunološkog odgovora, rastu stanica i diferencijaciji.¹⁴ Kumarin je prirodan spoj čiji je aktivni oblik u organizmu 7-hidroksikumarin (slika 12). Nedavna istraživanja su pokazala da kumarin i 7-hidroksikumarin imaju direktno antitumorsko i imunomodulatorno djelovanje.¹⁵



Slika 12. 7-hidroksikumarin

2.4. Triazoli

Triazoli su heterociklički spojevi kod kojih je jedan atom ugljika supstituiran atomom dušika u imidazolnom prstenu. Najjednostavniji primjer triazolnog spoja je sam triazol. To je blijedožuta kristalinična tvar karakterističnog slabog mirisa, topljiva u vodi i alkoholu. Triazol se pojavljuje u obliku dva izomera, 1,2,3-triazola i 1,2,4-triazola (slika 13).¹⁶ Oba triazola tautomeriziraju. 1,2,3-triazol se pojavljuje u dva tautomerna oblika, *1H*- i *2H*- oblik, od kojih je u otopinama stabilniji *2H*-oblik dok 1,2,4-triazol postoji u *1H*- i *4H*-obliku, od kojih je u otopinama stabilniji *4H*-oblik.²

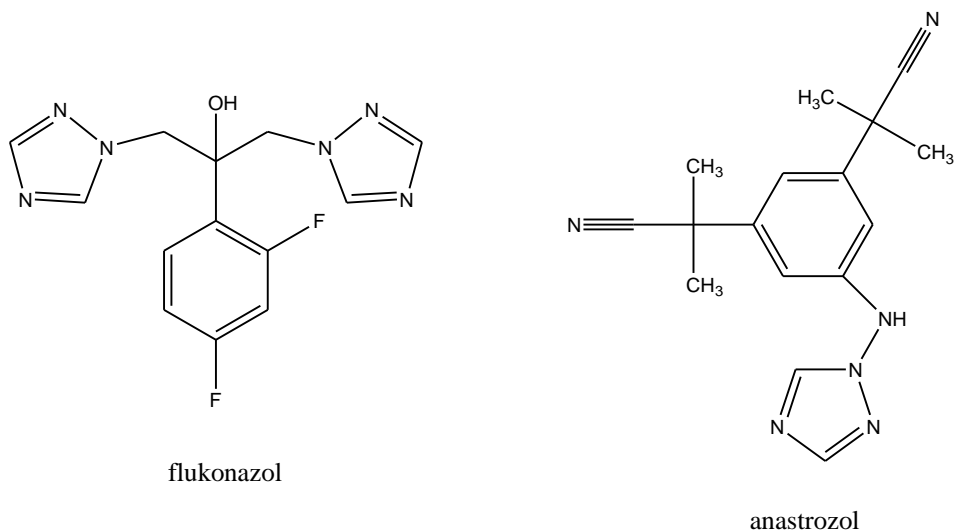


Slika 13. 1,2,3-triazol i 1,2,4-triazol

Triazolni prsteni nisu pronađeni u prirodnim spojevima.¹⁷ Najčešće se primjenjuju u medicini u obliku različitih lijekova zbog svoje izražene biološke aktivnosti. Takva aktivnost je posljedica strukture triazolnog prstena, koji je aromatičan i bogat elektronima. Zbog takve strukture triazolni derivati se mogu vezati na razne enzime i receptore u biološkom sustavu putem međumolekulskih interakcija, kao što su koordinacijske, vodikove i van der Waalsove veze te ion-dipolne interakcije.¹⁸ Triazolni heterocikli imaju potencijalnu primjenu kao agrokemikalije, novi umjetni materijali, umjetni akceptori, supramolekularni ligandi i biomimetički katalizatori.¹⁸

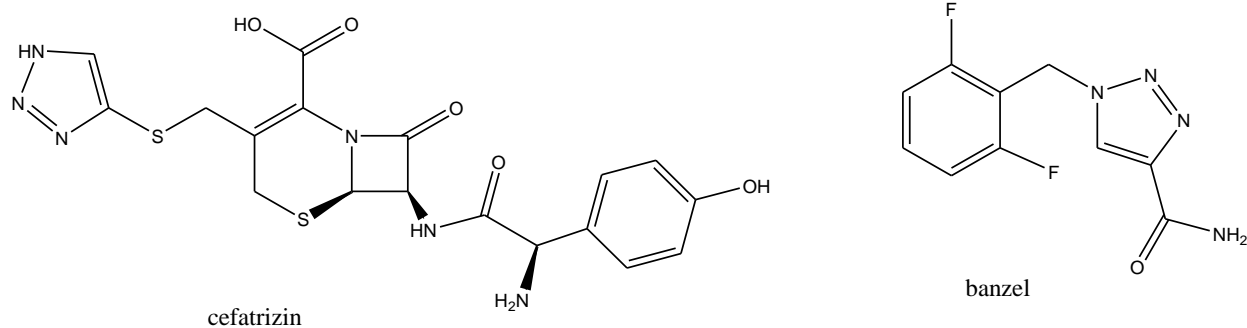
2.4.1. Biološka aktivnost triazola

Triazoli i njihovi derivati privlače pažnju istraživača u posljednjim desetljećima zbog njihove biološke aktivnosti. Mnogi triazolni derivati pokazali su širok spektar farmakološke aktivnosti, poput antibakterijskog, antifungalnog, antituberkuloznog, analgetskog, protuupalnog, anestetskog, antikonvulzantnog, antineoplastičnog, antimalarijskog, antivirusnog, antiproliferativnog i antikarcinogenog.^{19,20} U posljednjih tridesetak godina istraživana je odnosa između strukture i aktivnosti triazolnih derivata. Ta su istraživanja pokazala da se najveća razlika u strukturi i svojstvima postiže supstitucijom N-1 atoma različitim supstituentima.¹⁸ Novija istraživanja su pokazala da vodikove veze i dipolne interakcije triazolne jezgre s biomolekulama pomažu u vezanju triazola na biomolekulu te tako povećava njihova topljivost.²⁰ Flukonazol (slika 14) je 1,2,4-triazolni antifungalni lijek koji se pokazao iznimno uspješan u liječenju infekcija uzrokovanim gljivicama *Candida albicans* i *Cryptococcus neoformans*, međutim, zbog učestale primjene došlo je do razvijanja otpornosti. Modifikacijom alkilnog lanca postiže se poboljšanje farmakoloških svojstava.¹⁸ Drugi poznati lijekovi koji su 1,2,4-triazolni derivati su anastrozol (antineoplastik) i trapidil (vazodilatant).¹⁹



Slika 14. 1,2,4-triazolni lijekovi flukonazol i anastrozol

Cefatrizin je 1,2,3-triazolni antibiotik, kod kojeg se također modifikacijom alkilnog lanca postiže poboljšanje farmakoloških svojstava. Od 1,2,3-triazolnih lijekova poznat je i antiepileptik banzel (slika 15).

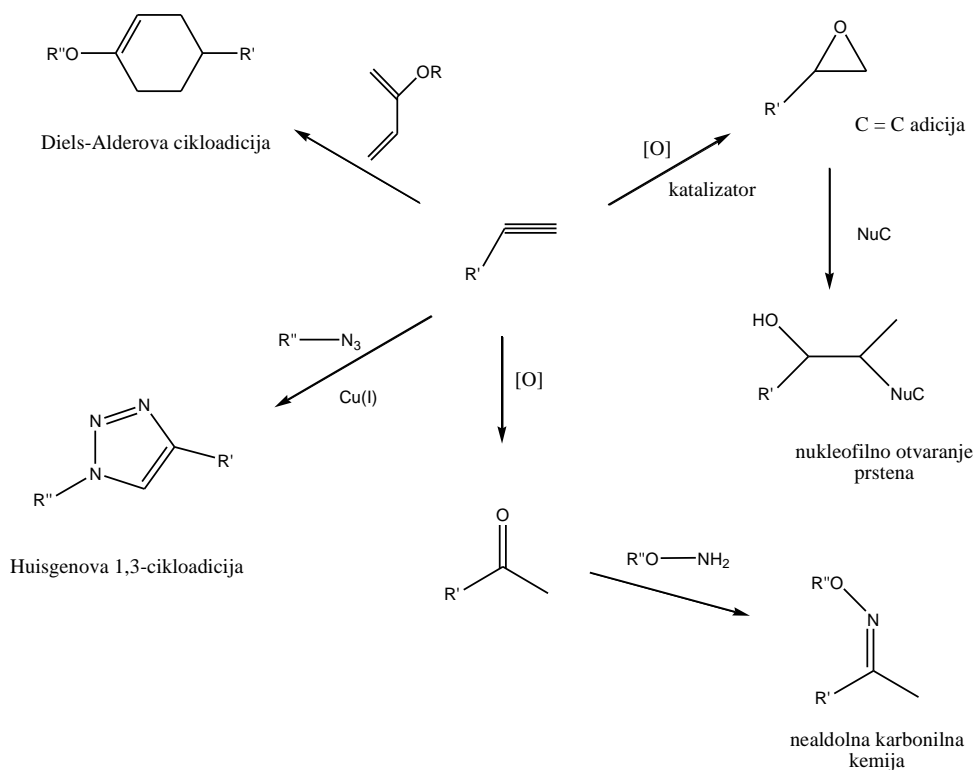


Slika 15. 1,2,3-triazolni lijekovi cefatrizin i banzel

2.5. "Click" kemija

Koncept "click" kemije prvi su opisali K. B. Sharpless i njegovi suradnici 2001. godine.²¹ To je pojam koji opisuje reakcije koje su širokog kruga djelovanja,, visokog iskorištenja te koje stvaraju bezopasne stereospecifične produkte, koji se iz reakcijske smjese lako izdvajaju. Koriste se jednostavni reakcijski uvjeti, spremno dostupni polazni reagensi i materijali te otapala koja nisu toksična i nemaju štetnog utjecaja na okoliš.²²

Iako je teško udovoljiti svim uvjetima "click" reakcija, određene reakcije pokazale su se dovoljno dobrima u ispunjavanju tih uvjeta. To su reakcije nukleofilnog otvaranja prstena, poput epoksida i aziridina; nealdolne reakcije karbonilnog tipa, kao što je formiranje urea, oksima i hidrazona; adicije na dvostruku vezu između dva C-atoma, od kojih su važne reakcije kao što su reakcija oksidativnog formiranja epoksida i Michaelova adicija Nu-H reaktanata; te reakcije cikloadicije, od kojih su najvažnije Huisgenova 1,3-cikloadicija i Diels-Alderova cikloadicija (slika 16).²³

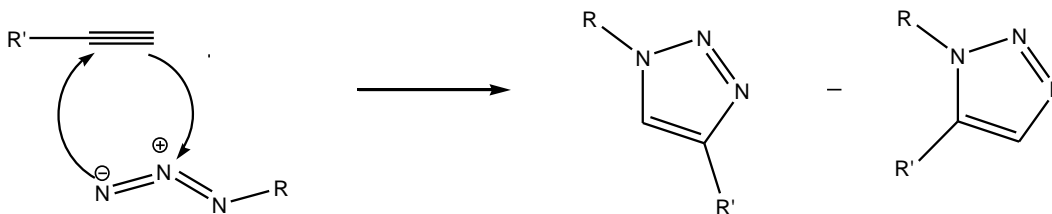


Slika 16. Reakcije koje ispunjavaju uvjete "click" kemije²³

"Click" kemija se pokazala kao brz i djelotvoran pristup sintezama novih spojeva sa željenim djelovanjem te se zbog toga koristi u istraživanju novih lijekova i materijala, biokonjugaciji, makromolekularnom inženjerstvu, razvoju nanomaterijala, označavanju DNK i sintezi oligonukleotida.²⁴⁻²⁶

2.5.1. Huisgenova cikloadicija

U reakcijama cikloadicije najčešće dolazi do nastanka cikličkog produkta, kod kojeg nastaju dvije nove σ -veze na račun dviju π -veza.²⁷ Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija je reakcija u kojoj reagiraju 1,3-dipol i dipolarofil dajući peteročlani prsten. Tom reakcijom moguće je sintetizirati triazole (slika 17).²⁸ 1,3-dipol je organski spoj koji u svojoj strukturi sadrži jedan ili više heteroatoma i može se prikazati pomoću barem jedne rezonantne strukture u kojoj atomi na položajima 1 i 3 imaju pozitivan i negativan naboj. Takvi spojevi su, primjerice, azidi, nitrilni oksidi ili diazoalkani. Dipolarofili su organski spojevi koji reagiraju s 1,3-dipolom, a u svojoj strukturi sadrže dvostruku ili trostruku vezu. Dipolarofili mogu biti alkeni, alkini ili karbonili. Reakcijom 1,3-dipola i dipolarofila nastaje smjesa 1,4- i 1,5-disupstituiranih triazola.



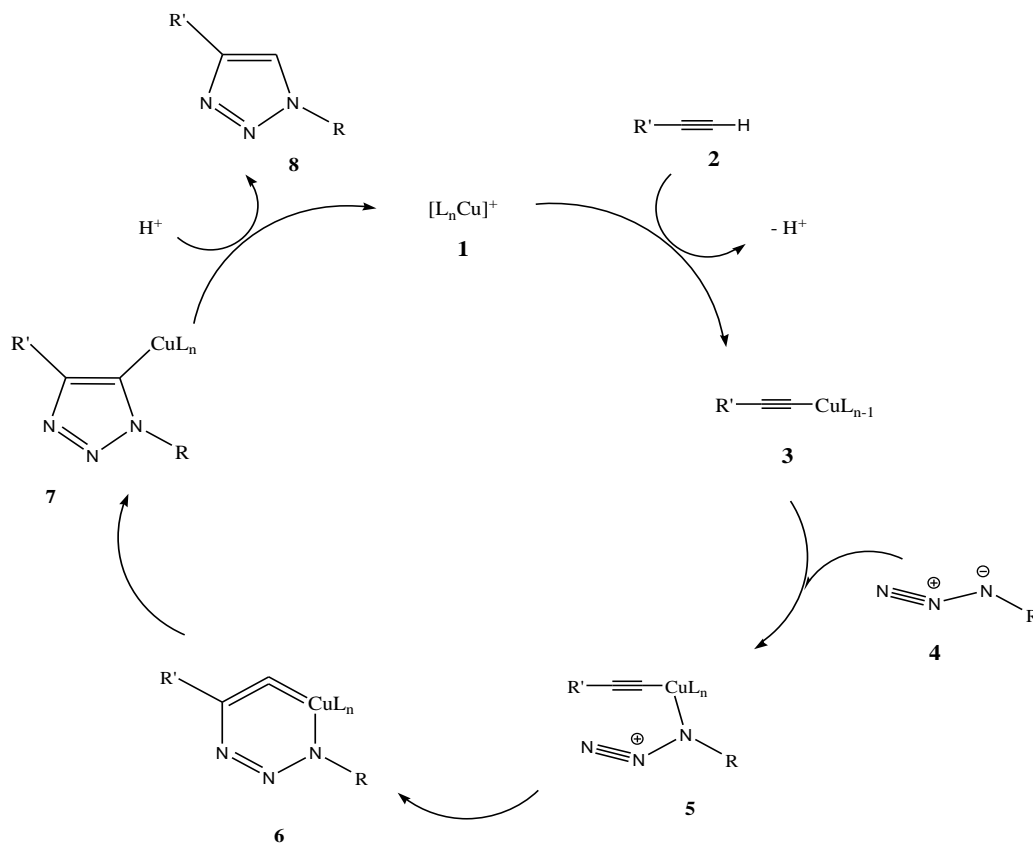
Slika 17. Huisgenova cikloadicija

S obzirom da reakcija nije regioselektivna i zahtjeva povišenu temperaturu, ona ne zadovoljava u potpunosti koncept "click" kemije. Reakcija je u odsutstvu pogodnog katalizatora prilično spora zbog toga što su alkini slabi 1,3-dipolni akceptori. Primjenom pogodnih katalizatora reakcija se ubrzava, povećava se regioselektivnost, a produkti nastaju u većem

iskorištenju.²⁶ Za dobivanje 1,4-disupstituiranih triazola koristi se Cu(I) kao katalizator, dok se za dobivanje 1,5-disupstituiranih triazola koriste rutenijevi kompleksi.

2.5.2. Azid - alkin cikloadicija katalizirana bakrom

Azid-alkin cikloadicija katalizirana bakrom (CuAAC) je regiospecifična reakcija koja se može provoditi i u vodenim medijima, a ne zahtijeva povišenu temperaturu.^{26,29} Reakcija je katalizirana bakrom te rezultira nastajanjem samo 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazola. Kao direktni izvori Cu(I) iona mogu se koristiti razne Cu(I) soli, kao što su CuI, CuOTf · C₆H₆ ili [Cu(NCCH₃)₄][PF₆], međutim, katalizator se može pripremiti *in situ* redukcijom Cu(II) soli uz reducens askorbinsku kiselinu ili natrijev askorbat.²⁹ Cu(I) može se dobiti i reakcijom disproporcioniranja između Cu(II) soli i elementarnog bakra.³⁰ Mehanizam reakcije je prikazan na slici 18.



Slika 18. Mehanizam azid-alkin cikloadicije katalizirane Cu(I) (CuAAC)

Reakcija započinje stvaranjem bakrovog acetilida (spoj **3**) vezanjem bakrovog kompleksa **1** na alkin **2**, koji se pritom deprotonira. Zatim azid **4** zamjenjuje jedan od liganada na bakru u bakrovom acetilidu pa se na bakar veže atom dušika iz azida koji ima formalni negativni naboj. Nastaje intermedijar **5**, koji se ciklizira: terminalni dušikov atom napada atom ugljika na položaju **2** u azid-acetilid kompleksu. Ciklizacijom nastaje intermedijar **6** sa šesterolanim prstenom. Pregrađivanjem šesteročlanog prstena u intermedijaru **6** nastaje spoj **7** s peteročlanim prstenom. Protoniranjem spoja **7** nastaje 1,4-disupstituirani triazol.²⁷

2.6. Zelena kemija

Zelena kemija je grana kemije koja za procese proizvodnje produkata odabire puteve koji su održivi, sigurni, neškodljivi za okoliš te koriste minimum energije i materijala potrebnih za proces proizvodnje pri čemu otpadne tvari ne nastaju ili nastaju u malim količinama.³¹ Koncept zelene kemije temelji se na prevenciji ili smanjenju uporabe i proizvodnje kemikalija koje su toksične i štetne za ljude i okoliš, bioakumulativne ili zapaljive i eksplozivne. Izbjegavanje uporabe štetnih kemikalija rezultira manjom količinom štetnog otpada, čime se direktno sprječava ili smanjuje nastanak onečišćenja. Pristup zelenoj sintezi i proizvodnji zelenih kemikalija podrazumijeva primjenu netradicionalnih aktivacijskih metoda, kao što su mikrovalno zračenje, ultrazvuk, fotokataliza te otapala i katalizatori koji ne onečišćuju okoliš.³²

2.6.1. Sinteze potpomognute mikrovalovima

Mikrovalno zračenje je elektromagnetsko zračenje frekvencije 0,3 do 300 GHz. Prva uporaba mikrovalnog zračenja u kemiji opisana je u radu objavljenom 1986. godine. U početku su se reakcije provodile u kućnim mikrovalnim pećnicama, međutim tako nije bilo moguće kontrolirati uvjete reakcije. Danas se reakcije potpomognute mikrovalovima provode u mikrovalnim reaktorima koji, za razliku od kućnih mikrovalnih pećnica, omogućuju provođenje reakcija u potpuno kontroliranim uvjetima.³³

Važni čimbenici koji utječu na reakcije potpomognute mikrovalovima su polarnost reakcijskog medija i mehanizam reakcije. Preduvjet za odvijanje reakcije pod utjecajem mikrovalnog zračenja je stalan dipol barem jedne komponente u reakcijskoj smjesi. Upotrebom polarnih otapala omogućena je apsorpcija između mikrovalova i polarnih molekula otapala te se tako energija apsorbirana u otapalu prenosi na reakcijsku smjesu. Reakcije u takvim uvjetima daju rezultate slične klasičnim reakcijama koje se provode uz zagrijavanje. Upotrebom nepolarnih otapala omogućuje se apsorpcija energije između mikrovalova i reaktanata. Apsorbirana energija se prenosi s reaktanata na otapalo. Takve reakcije ovise o mehanizmu pa daju drugačije rezultate od onih klasičnih. Reakcije potpomognute mikrovalovima mogu se

provoditi i bez otapala. U takvim reakcijama je apsorpcija mikrovalova ograničena samo na reagirajuće vrste pa bi se njihovom primjenom povećala sigurnost, reaktivnost i selektivnost, smanjili troškovi i potrošnja energije te spriječilo onečišćenje otpadnim otapalima.³⁴

Velik broj reakcija koje se ovijaju klasičnim putem mogu se bolje provesti uz primjenu mikrovalnog zračenja. Primjenom mikrovalnog zračenja u organskoj sintezi omogućeno je kraće trajanje reakcija, uporaba netoksičnih otapala, veća selektivnost, manji udio nusprodukata te veće iskorištenje. Iz tog razloga mikrovalna kemija pripada zelenoj kemiji.^{34,35}

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Opće napomene

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

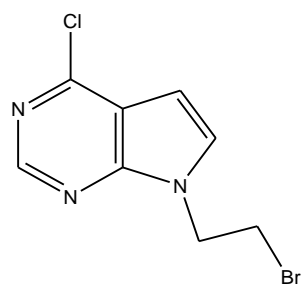
Kromatografija na koloni provedena je na silikagelu (*Fluka*, 0,063-0,2 mm), staklene kolone su punjene pod utjecajem gravitacije, a kao eluens su korištene odgovarajuće smjese CH₂Cl₂/CH₃OH, odnosno n-heksan/etil-acetat.

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

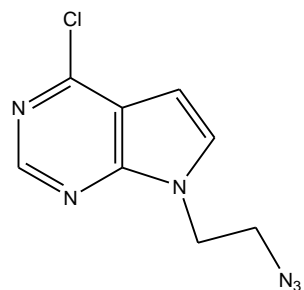
Spektri ¹H NMR snimljeni su na spektrometru Bruker 300 i 600 MHz. Svi uzorci otopljeni su u DMSO-*d*₆ i mjereni pri 298 K. Kemijski pomaci (δ) u ¹H NMR spektrima izraženi su u ppm u odnosu prema DMSO na δ2,50 ppm. Pojedine rezonancije su pridružene na temelju kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta signala i H-H konstante sprege.

Reakcije potpomognute mikrovalovima provedene su u reaktoru Milestrone Start S koristeći staklene kivete pri 80°C i 300 W uz tlak 1 bar.

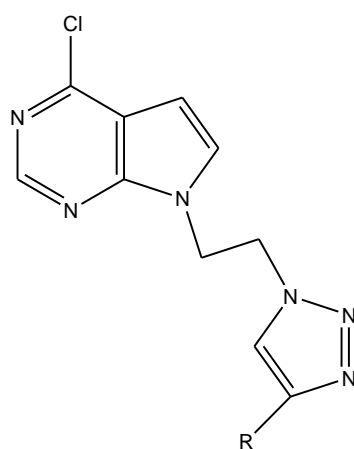
3.2. Pregled sintetiziranih spojeva



1



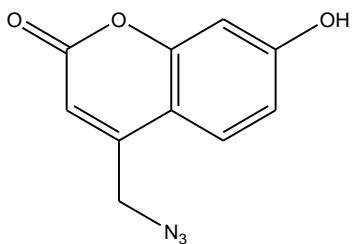
2



3 - 13

Spoj	R
3	
4	
5	
6	
7	

Spoj	R
8	
9	
10	
11	
12	
13	



14 - 17

Spoj	R
14	
15	
16	
17	

3.3. Priprava spojeva

7-(2-brometil)-4-klor-7H-pirololo[2,3-d]pirimidin (1)

6-klor-7-deazapurin (500 mg; 3,26 mmol) i dibrometan (0,34 mL; 3,91 mmol) otopljeni su u 10 mL suhog DMF-a. Reakcijska smjesa je miješana pola sata na sobnoj temperaturi uz uvođenje argona, nakon čega je dodan K_2CO_3 (540 mg; 3,91 mmol). Tijek reakcije je praćen TLC-om. Reakcijska smjesa je miješana 48 h na sobnoj temperaturi, nakon čega je otapalo otpareno pri sniženom tlaku, a smjesa razdvajana kromatografijom na koloni uz eluens n-heksan:etil-acetat = 5:1. Izolirano je bijelo ulje spoja **1** (247,8 mg, 29,21%).

1H NMR (DMSO) δ : 8.66 (1H, s, H-2), 7.85 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-8), 6.69 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-7), 4.71 (2H, t, $J = 6.2$ Hz, H-10), 3.96 (2H, t, $J = 6.2$ Hz, H-11).

7-(2-azidoetil)-4-klor-7H-pirololo[2,3-d]pirimidin (2)

Spoj **1** (247,8 mg, 0,951 mmol) otopljen je u acetonitrilu (10 mL) te je dodan NaN_3 (167,4 mg; 1,904 mmol). Reakcijska smjesa je miješana 24 h na temperaturi refluksa (80°C).

Tijek reakcije praćen je TLC-om. Nakon 24 h otapalo je otpareno pri sniženom tlaku, a smjesa je razdvajana kromatografijom na koloni uz eluens n-heksan:etil-acetat = 5:1. Izolirano je žuto ulje spoja **2** (189,2 mg, 95,34%).

¹H NMR (DMSO) δ : 8.67 (1H, s, H-2), 7.83 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-8), 6.71 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-7), 4.49 (2H, t, $J = 6.2$ Hz, H-10), 3.81 (2H, t, $J = 6.2$ Hz, H-11).

4-klor-7-[1-(4-(4-fluor-*N*-metilfenilsulfonamidil)-1,2,3-triazol-4-il)etil-7*H*-pirolo[2,3-*d*]pirimidin (3)

Spoj **2** (20 mg; 0,096 mmol) otopljen je u 0,5 mL DMF-a i smjesi *t*-BuOH : voda = 1:1 (3 mL). Dodan je Cu(0) (4,98 mg; 0,096 mmol), 1M otopina CuSO₄ · 5H₂O (0,02 mL) i 4-fluoro-*N*-(prop-2-inil)benzen sulfonamid (26,6 mg; 0,115 mmol). Reakcija je provedena pod utjecajem mikrovalova 90 minuta pri 80°C i snazi od 300 W. Tijek reakcije praćen je TLC-om. Nakon završetka reakcije, otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a smjesa je razdvajana kromatografijom na koloni uz eluens CH₂Cl₂:CH₃OH = 80:1. Dobiven je bijeli prah spoja **3** (10,1 mg, 24,17%, $T_f = 178-179^\circ\text{C}$).

¹H NMR (DMSO) δ : 8.59 (1H, s, H-2), 8.13 (1H, s, H-12), 7.83 (1H, d, $J = 5.3$ Hz, NH), 7.81 (2H, d, $J = 7.0$ Hz, Ph-1'), 7.48 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-8), 7.41 (2H, t, $J = 8.8$ Hz, Ph-2'), 6.60 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-7), 4.80 (2H, t, $J = 5.7$ Hz, H-10), 4.72 (2H, t, $J = 5.8$ Hz, H-11), 3.96 (2H, s, CH₂).

4-klor-7-[1-(4-(4-metil-*N*-metilfenilsulfonamidil)-1,2,3-triazol-4-il)etil-7*H*-pirolo[2,3-*d*]pirimidin (4)

Spoj **2** (20 mg; 0,096 mmol) otopljen je u 0,5 mL DMF-a i smjesi *t*-BuOH : voda = 1:1 (3 mL). Dodan je elementarni bakar (4,98 mg; 0,096 mmol), 1M otopina CuSO₄ · 5H₂O (0,02 mL) i 4-metil-*N*-(prop-2-inil)benzen sulfonamid (24,07 mg; 0,115 mmol). Reakcija je provedena 45 minuta pri 80°C pod utjecajem mikrovalnog zračenja (300 W). Tijek reakcije praćen je TLC-om. Nakon završetka reakcije, otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a smjesa je razdvajana

kromatografijom na koloni uz eluens $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH} = 80:1$. Dobiven je bijeli prah spoja **4** (30,3 mg, 73,19%, $T_t = 190-192^\circ\text{C}$).

$^1\text{H NMR}$ (DMSO) δ : 8.59 (1H, s, H-2), 7.99 (1H, t, $J = 5.6$ Hz, NH), 7.78 (1H, s, H-12), 7.66 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, Ph-1'), 7.46 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-8), 7.37 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, Ph-2'), 6.60 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-7), 4.79 (2H, t, $J = 5.8$ Hz, H-10), 4.71 (2H, t, $J = 5.7$ Hz, H-11), 3.92 (2H, d, $J = 5.5$ Hz, CH_2'), 2.38 (3H, s, CH_3).

4-klor-7-[1-(2-(4-fenil-6-metilbenzotiazolil)-*N*-metil)]-1,2,3-triazol-4-il)etil-7*H*-pirolo[2,3-*d*]pirimidin (5)

Spoj **2** (30 mg; 0,144 mmol) otopljen je u 0,5 mL DMF-a i smjesi *t*-BuOH : voda = 1:1 (3 mL). Dodan je Cu(0) (7,48 mg; 0,144 mmol), 1M otopina $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,03 mL) i 4-(6-metilbenzotiazol-2-il)-*N*-(prop-2-inil)benzamin (48,74 mg; 0,173 mmol). Reakcija je provedena pod utjecajem mikrovalova 45 minuta pri 80°C i snazi od 300 W. Tijek reakcije praćen je TLC-om. Nakon završetka reakcije, otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a smjesa je razdvajana kromatografijom na koloni uz eluens $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH} = 70:1$. Dobiven je žuti prah spoja **5** (27,3 mg, 37,90%, $T_t = 228-230^\circ\text{C}$).

$^1\text{H NMR}$ (DMSO) δ : 8.54 (1H, s, H-2), 7.83 (1H, s, H-12), 7.79 (4H, m, Ph-3', 8', 11'), 7.40 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-8), 7.27 (1H, dd, $J = 8.3, 1.1$ Hz, Ph-9'), 6.82 (1H, t, $J = 5.9$ Hz, NH), 6.68 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, Ph-4'), 6.53 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-7), 4.83 (2H, t, $J = 4.7$ Hz, H-10), 4.73 (2H, dt, $J = 4.7$ Hz, H-11), 4.31 (2H, d, $J = 5.9$ Hz, CH_2'), 2.43 (3H, s, CH_3).

4-klor-7-[1-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1,2,3-triazol-4-il)etil-7*H*-pirolo[2,3-*d*]pirimidin (6)

Spoj **2** (30 mg; 0,144 mmol) otopljen je u 0,5 mL DMF-a i smjesi *t*-BuOH : voda = 1:1 (3 mL). Dodan je elementarni bakar (7,48 mg; 0,144 mmol), 1M otopina $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,03 mL) i 1-etinil-3,5-bis(trifluorometil)benzen (0,031 mL; 0,173 mmol). Reakcija je provedena 45 minuta pri 80°C pod utjecajem mikrovalnog zračenja (300 W). Tijek reakcije praćen je TLC-om. Nakon završetka reakcije, otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a smjesa je razdvajana

kromatografijom na koloni uz eluens $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH} = 60:1$. Dobiven je svjetlucavi prah spoja **6** (60,9 mg, 91,91%, $T_t = 215-218^\circ\text{C}$).

$^1\text{H NMR}$ (DMSO) δ : 8.80 (1H, s, H-12), 8.55 (1H, s, H-2), 8.39 (2H, s, Ph-1'), 8.05 (1H, s, Ph-2'), 7.58 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-8), 6.61 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-7), 4.96 (2H, t, $J = 5.5$ Hz, H-10), 4.83 (2H, t, $J = 5.4$ Hz, H-11).

4-klor-7-[1-(3,5-difluorfenil)-1,2,3-triazol-4-il]etil-7H-pirololo[2,3-d]pirimidin (7)

Spoj **2** (30 mg; 0,144 mmol) otopljen je u 0,5 mL DMF-a i smjesi *t*-BuOH : voda = 1:1 (3 mL). Dodan je Cu (0) (7,48 mg; 0,144 mmol), 1M otopina $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,03 mL) i 1-etinil-3,5-difluorobenzen (0,021 mL; 0,173 mmol). Reakcija je provedena pod utjecajem mikrovalova 45 minuta pri 80°C i snazi od 300 W. Tijek reakcije praćen je TLC-om. Nakon završetka reakcije, otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a smjesa je razdvajana kromatografijom na koloni uz eluens $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH} = 70:1$. Dobiveni su bijeli kristali spoja **7** (37,3 mg, 71,90%, $T_t = 187-191^\circ\text{C}$).

$^1\text{H NMR}$ (DMSO) δ : 8.56 (1H, s, H-2), 8.52 (1H, s, H-12), 7.57 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-8), 7.44 (2H, dd, $J = 8.8, 2.2$ Hz, Ph-1'), 7.19 (1H, m, Ph-2'), 6.61 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-7), 4.93 (2H, m, H-10), 4.81 (2H, m, H-11).

4-klor-7-[1-(4-pentilfenil)-1,2,3-triazol-4-il]etil-7H-pirololo[2,3-d]pirimidin (8)

Spoj **2** (30 mg; 0,144 mmol) otopljen je u 0,5 mL DMF-a i smjesi *t*-BuOH : voda = 1:1 (3 mL). Dodan je elementarni bakar (7,48 mg; 0,144 mmol), 1M otopina $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,03 mL) i 1-etinil-4-pentilbenzen (0,034 mg; 0,173 mmol). Reakcija je provedena 45 minuta pri 80°C pod utjecajem mikrovalnog zračenja (300 W). Reakcijska smjesa je zatim miješana 18 h pri sobnoj temperaturi. Tijek reakcije praćen je TLC-om. Nakon završetka reakcije, otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a smjesa je razdvajana kromatografijom na koloni uz eluens $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH} = 100:1$. Dobiveni su prozirni kristali spoja **8** (40 mg, 70,43%, $T_t = 169-174^\circ\text{C}$).

¹H NMR (DMSO) δ : 8.58 (1H, s, H-2), 8.34 (1H, s, H-12), 7.63 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, Ph-1'), 7.56 (1H, d, $J = 3.7$ Hz, H-8), 7.24 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, Ph-2'), 6.61 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-7), 4.90 (2H, m, H-10), 4.82 (2H, m, H-11), 2.59 (2H, m, CH₂-1'), 1.59 (2H, dt, $J = 14.5, 7.1$ Hz, CH₂-2'), 1.30 (4H, m, CH₂-3', 4'), 0.87 (3H, t, $J = 6.8$ Hz, CH₃).

4-klor-7-[1-(4-pentiloksifenil)-1,2,3-triazol-4-il]etil-7H-pirololo[2,3-d]pirimidin (9)

Spoj **2** (30 mg; 0,144 mmol) otopljen je u 0,5 mL DMF-a i smjesi *t*-BuOH : voda = 1:1 (3 mL). Dodan je Cu(0) (7,48 mg; 0,144 mmol), 1M otopina CuSO₄ · 5H₂O (0,03 mL) i 1-etinil-4-(pentiloksi)benzen (0,034 mL; 0,173 mmol). Reakcija je provedena pod 45 minuta pri 80°C pod utjecajem mikrovalnog zračenja (300 W). Reakcijska smjesa je zatim miješana 18 h pri sobnoj temperaturi. Tijek reakcije praćen je TLC-om. Nakon završetka reakcije, otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a smjesa je razdvajana kromatografijom na koloni uz eluens CH₂Cl₂:CH₃OH = 100:1. Dobiven je bijeli prah spoja **9** (49,7 mg, 84,11%, $T_f = 166-168^\circ\text{C}$).

¹H NMR (DMSO) δ : 8.57 (1H, s, H-2), 8.26 (1H, s, H-12), 7.62 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, Ph-1'), 7.55 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-8), 6.96 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, Ph-2'), 6.60 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-7), 4.88 (2H, dd, $J = 6.0, 4.4$ Hz, H-10), 4.80 (2H, dd, $J = 6.5, 4.7$ Hz, H-11), 3.98 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-1'), 1.72 (2H, m, CH₂-2'), 1.37 (4H, dd, $J = 9.6, 6.8$ Hz, CH₂-3', 4'), 0.90 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, CH₃).

4-klor-7-[1-(4-fluorfenil)-1,2,3-triazol-4-il]etil-7H-pirololo[2,3-d]pirimidin (10)

Spoj **2** (30 mg; 0,144 mmol) otopljen je u 0,5 mL DMF-a i smjesi *t*-BuOH : voda = 1:1 (3 mL). Dodan je Cu(0) (7,48 mg; 0,144 mmol), 1M otopina CuSO₄ · 5H₂O (0,03 mL) i 1-etinil-4-fluorobenzen (0,02 mL; 0,173 mmol). Reakcija je provedena pod utjecajem mikrovalova 45 minuta pri 80°C i snazi od 300 W. Tijek reakcije praćen je TLC-om. Nakon završetka reakcije, otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a smjesa je razdvajana kromatografijom na koloni uz eluens CH₂Cl₂:CH₃OH = 40:1. Dobiveni su bijeli kristali spoja **10** (25,8 mg, 52,34%, $T_f = 200-202^\circ\text{C}$).

¹H NMR (DMSO) δ : 8.56 (1H, s, H-2), 8.38 (1H, s, H-12), 7.76 (2H, m, Ph-1'), 7.56 (1H, d, J = 3.6 Hz, H-8), 7.26 (2H, t, J = 8.9 Hz, Ph-2'), 6.61 (1H, d, J = 3.6 Hz, H-7), 4.91 (2H, t, J = 5.5 Hz, H-10), 4.81 (2H, t, J = 5.5 Hz, H-11).

4-klor-7-[1-(3-klorpropil)-1,2,3-triazol-4-il]etil-7H-pirol[2,3-d]pirimidin (11)

Spoj **2** (30 mg; 0,144 mmol) otopljen je u 0,5 mL DMF-a i smjesi *t*-BuOH : voda = 1:1 (3 mL). Dodan je Cu(0) (7,48 mg; 0,144 mmol), 1M otopina CuSO₄ · 5H₂O (0,03 mL) i 5-kloropent-1-in (0,02 mL; 0,173 mmol). Reakcija je provedena pod utjecajem mikrovalova pri 80°C i snazi od 300 W 90 minuta. Reakcijska smjesa je zatim miješana 72 h pri sobnoj temperaturi. Tijek reakcije praćen je TLC-om. Nakon završetka reakcije, otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a smjesa je razdvajana kromatografijom na koloni uz eluens CH₂Cl₂:CH₃OH = 50:1. Dobiveni su bijeli kristali spoja **11** (34,9 mg, 74,64%, T_f = 114-116°C).

¹H NMR (DMSO) δ : 8.56 (1H, s, H-2), 7.67 (1H, s, H-12), 7.54 (1H, d, J = 3.6 Hz, H-8), 6.61 (1H, d, J = 3.6 Hz, H-7), 4.82 (2H, dd, J = 6.1, 4.5 aHz, H-10), 4.75 (2H, m, H-11), 3.55 (2H, t, J = 6.5 Hz, CH₂-1'), 2.65 (2H, t, J = 7.3 Hz, CH₂-3'), 1.92 (2H, m, CH₂-2').

4-klor-7-(1-tolil-1,2,3-triazol-4-il)etil-7H-pirol[2,3-d]pirimidin (12)

Spoj **2** (30 mg; 0,144 mmol) otopljen je u 0,5 mL DMF-a i smjesi *t*-BuOH : voda = 1:1 (3 mL). Dodan je Cu(0) (7,48 mg; 0,144 mmol), 1M otopina CuSO₄ · 5H₂O (0,03 mL) i 4-etiniltoluen (0,02 mL; 0,173 mmol). Reakcija je provedena 45 minuta pri 80°C pod utjecajem mikrovalnog zračenja (300 W). Reakcijska smjesa je zatim dodatno miješana na sobnoj temperaturi 18 h. Tijek reakcije praćen je TLC-om. Nakon završetka reakcije, otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a smjesa je razdvajana kromatografijom na koloni uz eluens CH₂Cl₂:CH₃OH = 70:1. Dobiven je bijeli prah spoja **12** (15 mg, 30,79%, T_f = 198-201°C).

¹H NMR (DMSO) δ : 8.56 (1H, s, H-2), 8.32 (1H, s, H-12), 7.60 (2H, d, J = 8.1 Hz, Ph-1'), 7.56 (1H, d, J = 3.6 Hz, H-8), 7.22 (2H, d, J = 7.9 Hz, Ph-2'), 6.61 (1H, d, J = 3.6 Hz, H-7), 4.89 (2H, dd, J = 6.4, 4.5 Hz, H-10), 4.81 (2H, dd, J = 6.3, 4.2 Hz, H-11), 2.31 (3H, s, CH₃).

4-klor-7-(1-oktil-1,2,3-triazol-4-il)etil-7H-pirololo[2,3-*d*]pirimidin (13)

Spoj **2** (30 mg; 0,144 mmol) otopljen je u 0,5 mL DMF-a i smjesi *t*-BuOH : voda = 1:1 (3 mL). Dodan je Cu(0) (7,48 mg; 0,144 mmol), 1M otopina CuSO₄ · 5H₂O (0,03 mL) i dec-1-in (0,03 mL; 0,173 mmol). Reakcija je provedena pod utjecajem mikrovalnog zračenja 90 minuta pri 80°C i snazi 300 W. Reakcijska smjesa je zatim miješana na sobnoj temperaturi 48 h. Tijek reakcije praćen je TLC-om. Nakon završetka reakcije, otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a smjesa je razdvajana kromatografijom na koloni uz eluens CH₂Cl₂:CH₃OH = 100:1. Dobivena je zelena kruta tvar, spoj **13** (13,6 mg, 26,21%, *T*_f = 115-120°C).

¹H NMR (DMSO) δ: 8.55 (1H, s, H-2), 7.55 (1H, s, H-12), 7.52 (1H, d, *J* = 3.6 Hz, H-8), 6.59 (1H, d, *J* = 3.6 Hz, H-7), 4.80 (2H, t, *J* = 5.6 Hz, H-10), 4.74 (2H, t, *J* = 5.6 Hz, H-11), 2.47 (2H, t, *J* = 7.4 Hz, CH₂-1'), 1.41 (2H, m, CH₂-2'), 1.25 (10H, m, CH₂-3'-7'), 0,86 (3H, t, *J* = 7.1 Hz, CH₃).

4-((4-(4-heksil)-1,2,3-triazol-1-il)metil)-7-hidroksikumarin (14)

Spoj 4-(azidometil)-7-hidroksikumarin (30 mg; 0,138 mmol) otopljen je u 0,5 mL DMF-a i smjesi *t*-BuOH : voda = 1:1 (3 mL). Dodan je Cu(0) (7,18 mg; 0,138 mmol), 1M otopina CuSO₄ · 5H₂O (0,03 mL) i okt-1-in (0,03 mL; 0,166 mmol). Reakcija je provedena 90 minuta pri 80°C pod utjecajem mikrovalnog zračenja (300 W). Reakcijska smjesa je zatim miješana na sobnoj temperaturi 18 h. Tijek reakcije praćen je TLC-om. Nakon završetka reakcije, otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a smjesa je razdvajana kromatografijom na koloni uz eluens CH₂Cl₂:CH₃OH = 100:1. Dobiven je žuti prah, spoj **14** (7,5 mg, 16,61%, *T*_f = 200-205°C).

¹H NMR (DMSO) δ: 10.74 (1H, s, OH), 8.63 (1H, s, H-12), 7.64 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-6), 6.80 (1H, dd, *J* = 8.8, 2.2 Hz, H-7), 6.73 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-9), 5.82 (2H, s, H-10), 5.50 (1H, s, H-3), 2.61 (2H, t, *J* = 7.5 Hz, CH₂-1'), 1.57 (2H, dt, *J* = 7.7 Hz, CH₂-2'), 1.25 (6H, m, CH₂-3'-5'), 0.83 (3H, t, *J* = 6.4 Hz, CH₃).

4-((4-(4-oktil)-1,2,3-triazol-1-il)metil)-7-hidroksikumarin (15)

Spoj 4-(azidometil)-7-hidroksikumarin (30 mg; 0,138 mmol) otopljen je u 0,5 mL DMF-a i smjesi *t*-BuOH : voda = 1:1 (3 mL). Dodan je Cu(0) (7,18 mg; 0,138 mmol), 1M otopina CuSO₄ · 5H₂O (0,03 mL) i dec-1-in (0,03 mL; 0,166 mmol). Reakcija je provedena pod utjecajem mikrovalova pri 80°C i snazi od 300 W u trajanju od 90 minuta. Reakcijska smjesa je zatim miješana na sobnoj temperaturi 18 h. Tijek reakcije praćen je TLC-om. Nakon završetka reakcije, otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a smjesa je razdvajana kromatografijom na koloni uz eluens CH₂Cl₂:CH₃OH = 100:1. Dobivena je žuta krutina, spoj **15** (7,6 mg, 15,49%, *T*_f = 109-112°C).

¹H NMR (DMSO) δ: 10.86 (1H, s, OH), 7.97 (1H, s, H-12), 7.65 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-6), 6.81 (1H, dd, *J* = 8.8, 1.1 Hz, H-7), 6.75 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-9), 5.82 (2H, s, H-10), 5.50 (1H, s, H-3), 2.61 (2H, t, *J* = 7.5 Hz, CH₂-1'), 1.57 (2H, m, CH₂-2'), 1.23 (10 H, CH₂-3'-7'), 0.83 (3H, t, *J* = 7.0 Hz, CH₃).

4-((4-(4-heksilfenil)-1,2,3-triazil-1-il)metil)-7-hidroksikumarin (16)

Spoj 4-(azidometil)-7-hidroksikumarin (40 mg; 0,184 mmol) otopljen je u 0,5 mL DMF-a i smjesi *t*-BuOH : voda = 1:1 (3 mL). Dodan je Cu(0) (9,57 mg; 0,184 mmol), 1M otopina CuSO₄ · 5H₂O (0,04 mL) i 1-etinil-4-heksilbenzen (0,05 mL; 0,221 mmol). Reakcija je provedena pod utjecajem mikrovalova pri 80°C i snazi 300 W u trajanju 90 minuta. Reakcijska smjesa je zatim miješana na sobnoj temperaturi 72 h. Tijek reakcije praćen je TLC-om. Nakon završetka reakcije, otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a smjesa je razdvajana kromatografijom na koloni uz eluens CH₂Cl₂:CH₃OH = 70:1. Dobiven je svijetložuti prah spoja **16** (41,4 mg, 55,76%, *T*_f = 210-218°C).

¹H NMR (DMSO) δ: 10.73 (1H, s, OH), 8.63 (1H, s, H-12), 7.76 (2H, d, *J* = 8.1 Hz, Ph-1'), 7.68 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-6), 7.26 (2H, d, *J* = 8.2 Hz, Ph-2'), 6.82 (1H, dd, *J* = 8.7, 2.2 Hz, H-7), 6.76 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-9), 5.93 (2H, s, H-10), 5.75 (1H, s, H-3), 2.59 (2H, t, *J* = 7.6 Hz, CH₂-1'), 1.58 (2H, m, CH₂-2'), 1.28 (6H, m, CH₂-3'-6'), 0.85 (3H, t, *J* = 6.7 Hz, CH₃).

4-((4-((4-propilcikloheksil)fenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil)-7-hidroksikumarin (17)

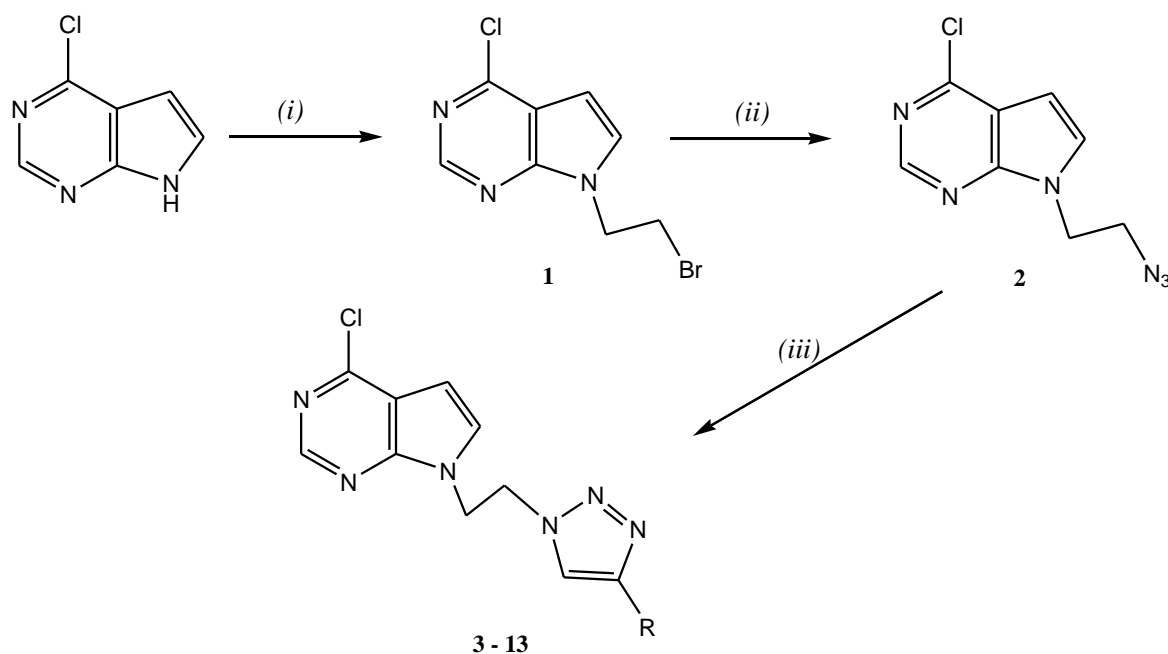
Spoj 4-(azidometil)-7-hidroksikumarin (40 mg; 0,184 mmol) otopljen je u 0,5 mL DMF-a i smjesi *t*-BuOH : voda = 1:1 (3 mL). Dodan je Cu(0) (9,57 mg; 0,184 mmol), 1M otopina CuSO₄ · 5H₂O (0,04 mL) i 4-(4-propil-cikloheksil)-fenilaceten (0,05 mL; 0,221 mmol). Reakcija je provedena pri 80°C 90 minuta pod utjecajem mikrovalnog zračenja (300 W). Reakcijska smjesa je zatim miješana na sobnoj temperaturi 72 h. Tijek reakcije praćen je TLC-om. Nakon završetka reakcije, otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a smjesa je razdvajana kromatografijom na koloni uz eluens CH₂Cl₂:CH₃OH = 70:1. Dobivena je žuta krutina, spoj **17** (66 mg, 80,87%, *T*_t = 227-232°C).

¹H NMR (DMSO) δ: 10.66 (1H, s, OH), 7.95 (1H, s, H-12), 7.76 (2H, dd, *J* = 8.2, 1.2 Hz, Ph-1'), 7.68 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-6), 7.26 (2H, t, *J* = 8.5 Hz, Ph-2'), 6.83 (1H, dd, *J* = 8.5, 2.2 Hz, H-7), 6.76 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H-9), 5.93 (2H, s, H-10), 5.75 (1H, s, H-3), 1.82 (2H, d, *J* = 11.7 Hz, CH₂-7'), 1.58 (4H, m, CH-4', 5'), 1.44 (1H, d, *J* = 12.6 Hz, CH-3'), 1.22 (1H, d, *J* = 10.4 Hz, CH-6'), 1.06 (2H, m, CH₂-8'), 0.85 (3H, q, *J* = 7.1 Hz, CH₃).

4. REZULTATI I RASPRAVA

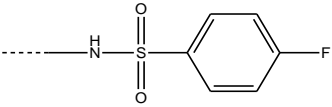
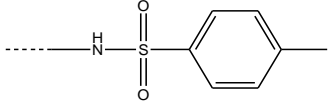
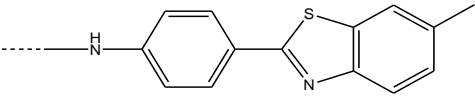
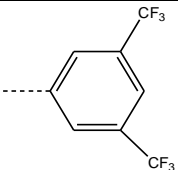
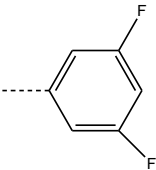
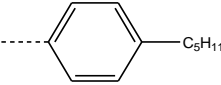
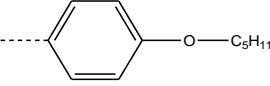
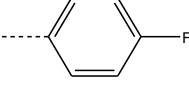
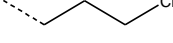
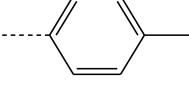
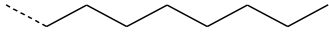
4.1. Sinteze spojeva

U ovom radu pripremljeni su potencijalni biološki aktivni 1,2,3-triazolni derivati 6-klor-7-deazapurina (**3-13**) i 7-hidroksikumarina (**14-17**). Spoj **1** kao ključni prekursor u sintezi novih derivata 6-klor-7-deazapurina i 1,2,3-triazola pripremljen je *N*-alkiliranjem kalijeve soli 6-klor-7-deazapurina s dibrometanom. Spoj **1** je potom preveden u odgovarajući 7-deazapurinski azid **2** u reakciji s NaN_3 u acetonitrilu. 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazolni derivati (**3-13**) pripremljeni su "click" reakcijom potpomognutom mikrovalnim zračenjem s različitim terminalnim alkinima uz Cu(I) kao katalizator. Izolirani su derivati 6-klor-7-deazapurina s alkilnim, halogenfenilnim, alkilfenilnim i benzotiazolnim supstituentima u 4-položaju 1,2,3-triazolnog prstena uz iskorištenja 24 - 92% (Shema 1). Reakcija između spoja **1** i NaN_3 je također provedena u dimetilformamidu (DMF) s ciljem poboljšanja reakcijskih uvjeta, međutim reakcija dobivanja spoja **2** u tim uvjetima nije bila uspješna.

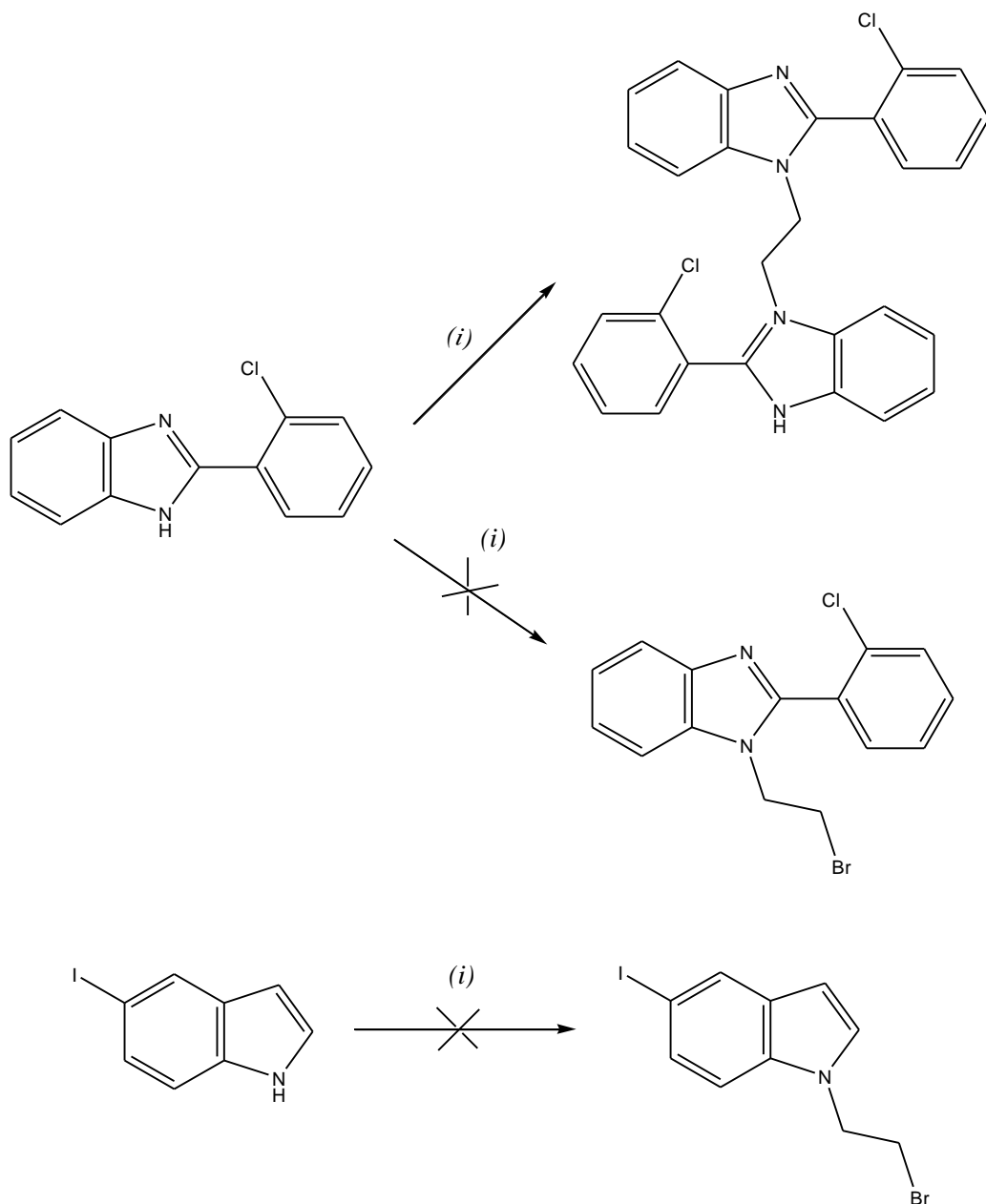


Shema 1. Reagensi i uvjeti: (i) dibrometan, K_2CO_3 , DMF, Ar, s.t., 24 h; (ii) NaN_3 , acetonitril, 80°C , 48 h; (iii) alkin, Cu(0) , 1 M $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$, MW, 300 W, 80°C , 45-90 min, DMF, *t*-BuOH:H₂O = 1:1

Tablica 1. Prikaz iskorištenja sinteze i vrijednosti logaritma koeficijenta raspodjele (Log P) za sintetizirane derivate 6-klor-7-deazapurina s obzirom na supstytutent R na 4-položaju 1,2,3-triazolnog prstena

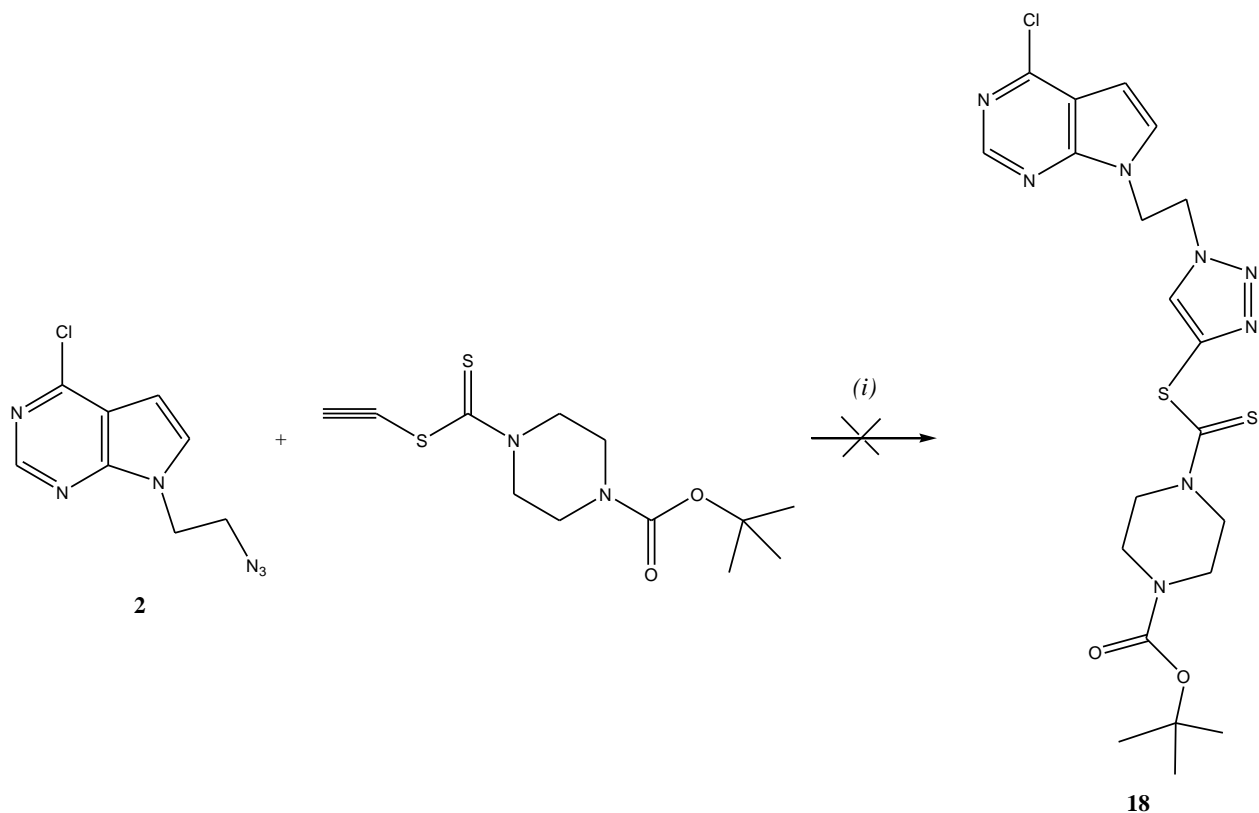
Spoj	R	I, %	Log P
3		24,17	2,53
4		73,19	2,86
5		37,90	6,19
6		91,91	5,19
7		71,90	3,67
8		70,43	5,51
9		84,11	4,89
10		52,34	3,51
11		74,64	2,89
12		30,79	3,84
13		26,21	4,95

Reakcija *N*-alkiliranja provedena je s 2-(2-klorfenil)benzimidazolom i 5-jodindolom (Shema 2) uz K_2CO_3 kao deprotonirajući agens, no reakcije nisu bile uspješne te ciljani *N*-brometilni derivati tih spojeva nisu izolirani. U reakciji 2-(2-klorfenil)benzimidazola s dibrometanom izoliran je dimer, bis(2-(2-klorfenil)benzimidazol)-1,2-etan u slabom iskorištenju.



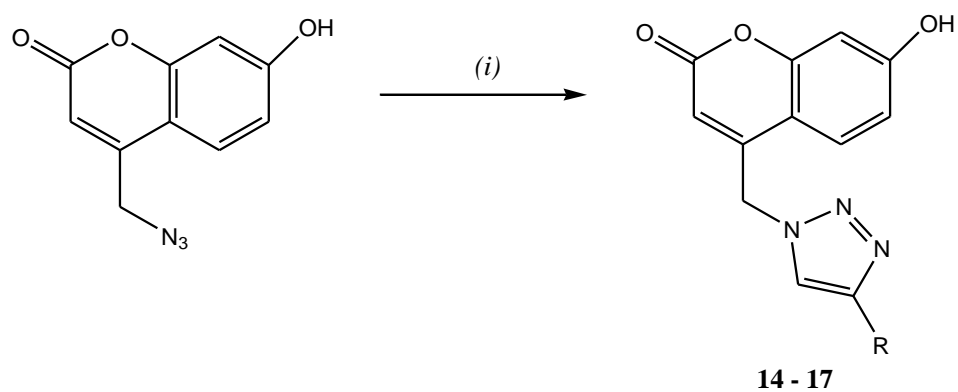
Shema 2. Reagensi i uvjeti: (i) dibrometan, K_2CO_3 , DMF, Ar, s.t., 24 h

Pokušaj "click" reakcije spoja **2** i *tert*-butil-4-(etiniltiokarbtiol)piperazin-1-karboksilata uz mikrovalno zračenje nije bio uspješan te spoj **18** nije izoliran.



Shema 3. Reagensi i uvjeti: (i) alkin, Cu(0), 1 M CuSO₄ · 5 H₂O, MW, 300 W, 80°C, 45-90 min, DMF, *t*-BuOH:H₂O = 1:1

Derivati kumarina s 1,2,3-triazolnim supstuentom u položaju C-4 kumarina pripremljeni su "click" reakcijom između 4-(azidometil)-7-hidroksikumarina i odgovarajućih terminalnih alkinata. 4-(azidometil)-7-hidroksikumarin je 1,3-dipol i reagira s terminalnim alkinima, odnosno dipolarofilima (Shema 4). Triazolni derivati kumarina **14** i **15** koji su u 4-položaju 1,2,3 triazolnog prstena supstituirani s alifatskim lancem nastaju u znatno slabijem iskorištenju u odnosu na derivate s aromatskim supstuentima (spojevi **16** i **17**) u 4-položaju 1,2,3-triazolnog prstena (Tablica 2).



Shema 4. Reagensi i uvjeti: (i) alkin, Cu(0), 1 M CuSO₄ · 5 H₂O, MW, 300 W, 80°C, 45-90 min, DMF, *t*-BuOH:H₂O = 1:1

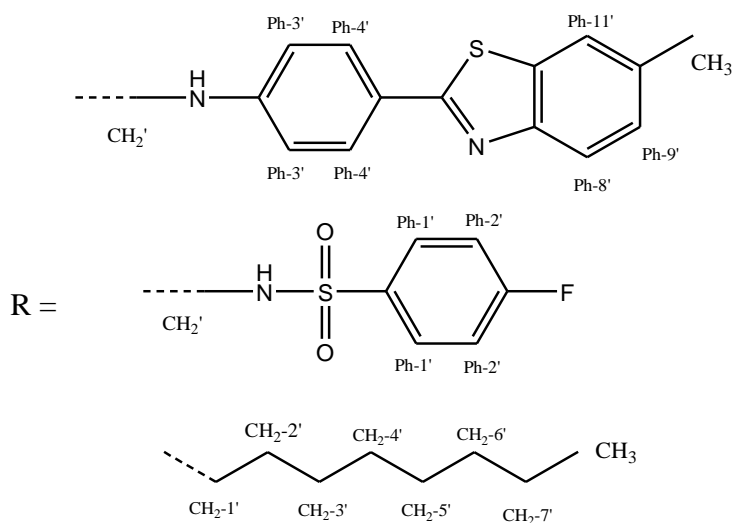
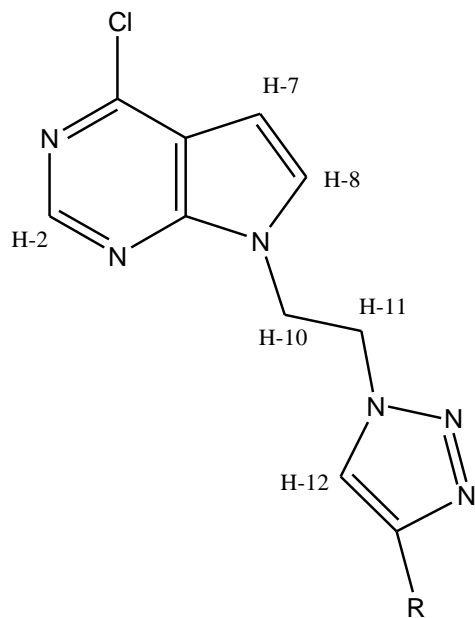
Tablica 2. Prikaz iskorištenja sinteze i vrijednosti logaritma koeficijenta raspodjele (Log P) za sintetizirane derivate 4-(azidometil)-7-hidroksikumarina s obzirom na supstituent R na 4-položaju 1,2,3-triazolnog prstena

Spoj	R	I, %	Log P
14		16,61	3,66
15		15,49	4,49
16		55,76	5,47
17		80,87	4,46

4.2. Analiza spektara ^1H NMR

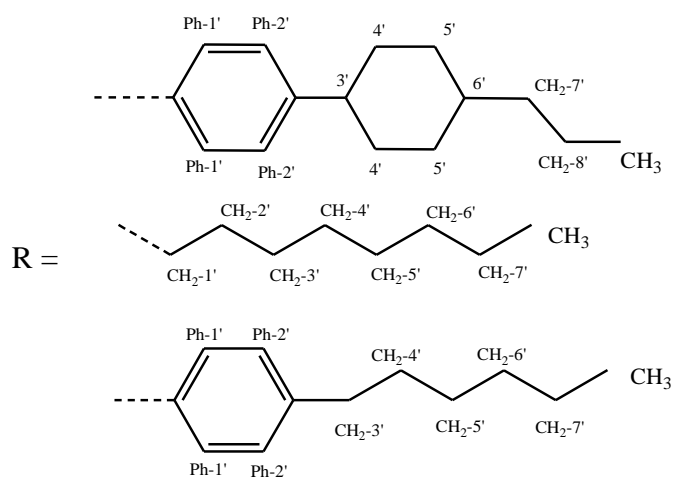
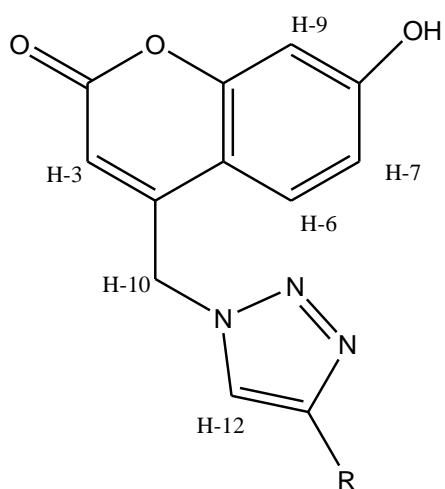
Strukture spojeva **1** - **17** određene su na temelju kemijskih pomaka, veličine signala, veličine i multipliciteta rezonancija te sprega spin-spin između jezgara H-H. Osnovna karakteristika ^1H NMR spektara spojeva **1** - **13** su protoni purinskog prstena H-2, H-7 i H-8 u aromatskom području te protoni etilenske prenosnice H-10 i H-11 (~4.7 - 4.9 ppm). U spektrima spojeva **3** - **13** prisutan je karakterističan signal atoma vodika H-12 triazolnog prstena u aromatskom području spektra (~8 ppm) te signali pripisani atomima vodika supstituenta smještenog na 4-položaju triazolnog prstena.

Primjer asignacije purinskih spojeva:



U spektrima spojeva **14** - **17** vidljivi su karakteristični signali. za protone kumarinskog prstena H-3, H-6, H-7 i H-9, zatim signal protona metilenske prenosnice H-10 i signal protona triazolnog prstena H-12. Spektri tih spojeva također pokazuju i signal za vodik hidroksilne skupine na 2-položaju kumarinskog prstena te signale pripisane atomima vodika supstituenta na 4-položaju triazolnog prstena.

Primjer asignacije kumarinskih spojeva:



4.3. Ispitivanje antibakterijskog djelovanja *in vitro*

Antibakterijsko djelovanje spojeva **14**, **15**, **16** i **17** ispitano je na osam bakterijskih vrsta, četiri Gram-pozitivne: *Staphylococcus aureus* (ATCC 2523), *Enterococcus faecali*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* (VRE: rezistentan na vankomicin) i četiri Gram-negativne: *Pseudomonas aerigonsa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25925), *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606), *Klebsiella pneumoniae* (ESBL). U Tablici 1 prikazani su rezultati djelovanja spojeva **14**, **15**, **16** i **17** te antibiotika ceftazidima (CAZ) i ciprofloksacina (CIP). Rezultati antibakterijskih ispitivanja su pokazali da ispitani spojevi ne pokazuju antibakterijsko djelovanje na Gram-negativne bakterijske vrste. Spojevi **16** i **17** pokazali su veće inhibitorno djelovanje (MIC = 16 µg/ml; MIC = 64 µg/ml) od antibiotika ceftazidima (CAZ) (MIC = 256 µg/ml) na Gram-pozitivnu bakteriju *Enterococcus faecali*.

Tablica 1. Rezultati antibakterijskih ispitivanja za spojeve **14** - **17**

Bakterijska vrsta	Supstanca MIC µg/mL				Antibiotici µg/mL	
	14	15	16	17	CAZ	CIP
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	>256	>256	>256	>256	8	<0.25
<i>Enterococcus faecalis</i>	>256	>256	16	64	256	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	>256	>256	>256	>256	16	<0.25
VRE	256	>256	>256	>256	>256	128
<i>Pseudomonas aerigonsa</i> ATCC 27853	>256	>256	>256	>256	1	<0.125
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25925	>256	>256	>256	>256	<0.25	<0.125
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606	>256	>256	>256	>256	4	<0.125
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL	>256	>256	>256	>256	64	>256

5. ZAKLJUČAK

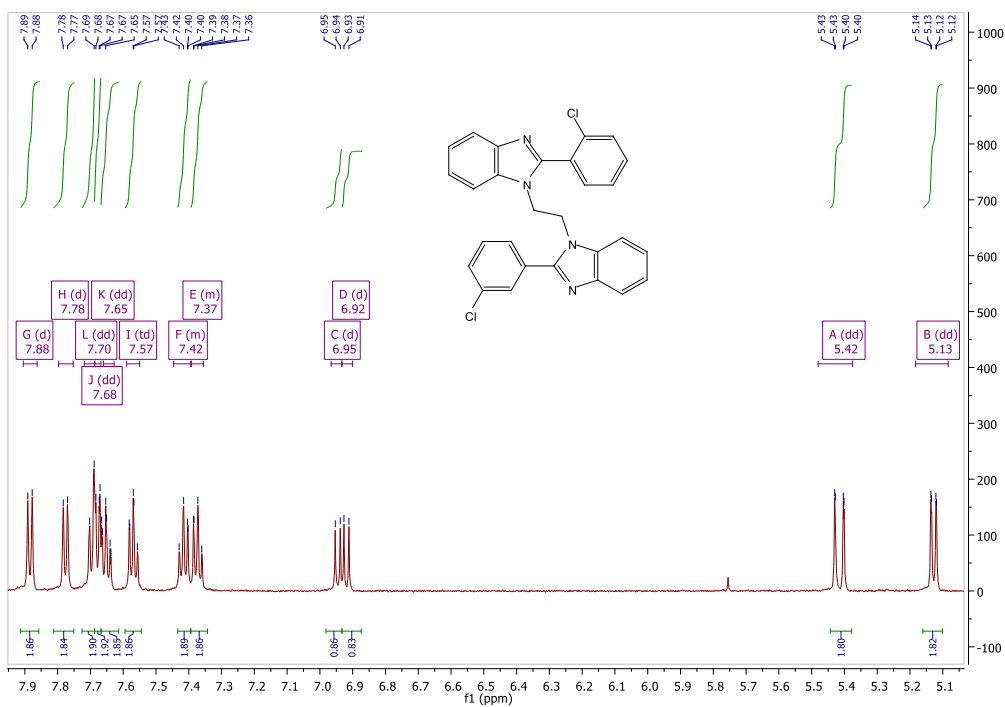
- U ovom radu uspješno je provedena sinteza novih potencijalno biološki aktivnih hibrida 1,2,3-triazola i 7-deazapurina (**1 - 13**) te 1,2,3-triazola i 7-hidroksikumarina (**14 - 17**).
- *N*-9-brometilni derivat 7-deazapurina **1** preveden je u 7-deazapurinski derivat azida **2** koji je potom poslužio kao prekursor za sintezu hibrida 7-deazapurina i 1,2,3-triazolnih derivata (**3 - 13**).
- Regioselektivnom 1,3-dipolarnom cikloadicijom azida i terminalnih alkina priređeni su 1,4-disupstituirani derivati 1,2,3-triazola (**3 - 13**) te derivati 1,2,3-triazola i 7-hidroksikumarina (**14 - 17**). Ciljani derivati pripremljeni su reakcijama potpomognutima mikrovalnim zračenjem u iskorištenjima 24 - 92 % (za **3 - 17**) i 15 - 81% (za **14 - 17**).
- Novopripremljenim spojevima potvrđena je struktura primjenom spektroskopije ¹H i ¹³C NMR.
- Provedena ispitivanja antibakterijskog djelovanja spojeva **14 - 17** na osam bakterijskih vrsta, četiri Gram-pozitivne: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecali*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* (VRE: rezistentan na vankomicin) i četiri Gram-negativne: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25925), *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606), *Klebsiella pneumoniae* (ESBL) pokazala su da ispitani spojevi nemaju učinkovito djelovanje na Gram-negativne bakterije. Spojevi **16** (MIC = 16 µg/ml) i **17** (MIC = 64 µg/ml) imali su bolje inhibitorno djelovanje od antibiotika ceftazidima (CAZ) (MIC = 256 µg/ml) na Gram-pozitivnu bakteriju *Enterococcus faecali*.
- Novopripremljeni spojevi ispitat će se na antiproliferativna djelovanja na zloćudne stanice tumora kod čovjeka.

6. LITERATURA

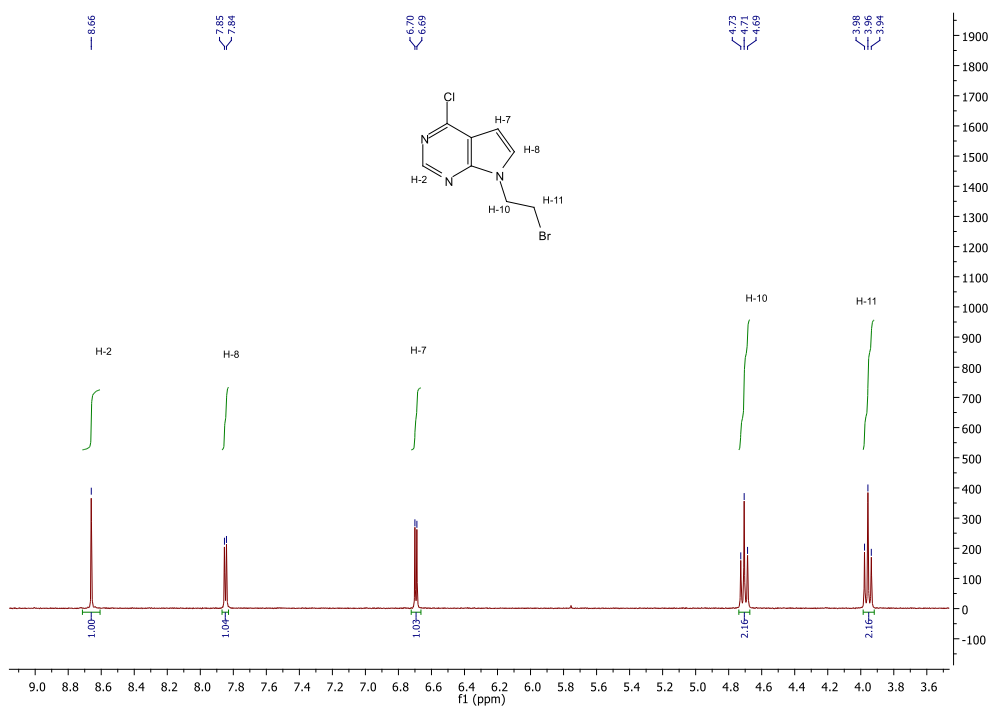
1. J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biokemija*, 1. izd., Školska knjiga, 2013., str. 108-110.
2. T. Eicher, S. Hauptmann, *The Chemistry of Heterocycles*, 2. izd., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2003., str. 408-415
3. M. Legraverend, D.S. Grierson, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **14** (2006) 3987-4006.
4. <http://www.intechopen.com/books/readings-in-advanced-pharmacokinetics-theory-methods-and-applications/role-of-aldehyde-oxidase-and-xanthine-oxidase-in-the-metabolism-of-purine-related-drugs> (pristup 8.7.2015., 17:34)
5. D. B. Olsen et. al., *Antimicrob Agents Chemother.*, **10** (2004) 3944-3953.
6. G. Acs, E. Reich, M. Mori, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **2** (1964) 493-501.
7. http://www.jenabioscience.com/cms/en/1/catalog/2076_7deaza_purines.html (pristup: 5.7.2015., 21:34)
8. M. Molnar, M. Čačić, *Croat. J. Food Sci. Technol.*, **3** (2011) 55-64.
9. S. Čavar, F. Kovač, M. Maksimović, *Food Chem.*, **117** (2009) 135.
10. K. Aslam, M. K. Khosa, N. Jahan, S. Nosheen, *Pak. J. Pharm. Sci.*, **23** (2010) 449.
11. T. Eicher, S. Hauptmann, *The Chemistry of Heterocycles*, 2. izd., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2003., str. 249-250.
12. K. V. Sashidhara, A. Kumar, M. Kumar, J. Sarkar, S. Sinha, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **20** (2010) 7205.
13. N. S. Reddy, M. Reddy Mallireddigari, S. Cosenza, K. Gumireddy, S. C. Bell, E. P. Reddy, M. V. R. Reddy, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14** (2004) 4093.
14. A. Lacy, R. O'Kennedy, *Curr. Pharm. Des.*, **10** (2004) 3797.
15. M. E. Marshall, K. Kervin, C. Benefield, A. Umerani, S. Albainy-Jenei, Q. Zhao, M. B. Khazaeli, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **120** (1994) 3.
16. R. Kumar, M. S. Yar, S. Chaturvedi, A. Srivastava, *Int. J. PharmTech Res.*, **5** (2013) 1844-1869.
17. T. Eicher, S. Hauptmann, *The Chemistry of Heterocycles*, 2. izd., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2003, str. 200-212.
18. C. H. Zhou, Y. Wang, *Curr. Med. Chem.*, **19** (2012) 239-280.

19. R. Kharb, P. C. Sharma, M. S. Yar, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **1** (2011) 1.
20. S. Raić-Malić, A. Meščić, *Curr. Med. Chem.*, **22** (2015) 1-2.
21. J.-F. Lutz, Z. Zarafshani, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **60** (2008) 958.
22. H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **40** (2001) 2004.
23. J. E. Moses, A. D. Moorhouse, *Chem. Soc. Rev.*, **36** (2007) 1249–1250.
24. P. Appukkuttan, W. Dehaen, V. V. Fokin, E. Van der Eycken, *Org. Lett.*, **6** (2004) 4223.
25. S. G. Agalave, S. R. Maujan, and V. S. Pore, *Chem. Asian J.*, **6** (2011) 2697.
26. J.-F. Lutz, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **46** (2007) 1018 – 1025.
27. R. Huisgen, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2** (1963) 566-568.
28. T. Eicher, S. Hauptmann, *The Chemistry of Heterocycles*, 2.izd., Willey-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2003., str. 204.
29. V.V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. Barry Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **41** (2002) 2597.
30. C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Medal, *J. Org. Chem.*, **67** (2002) 3057.
31. S. E. Manahan, *Toxicological Chemistry and Biochemistry*, 3. izd., CRC Press LCC, 2003., str. 53-56.
32. A. Daştan, A. Kulkarni, B. Török, *Green Chem.*, **14** (2012) 17-37.
33. P. Lindström et. al., *Tetrahedron Lett.*, **57** (2001) 9225.
34. L. Perreux, A. Loupy, *Tetrahedron*, **57** (2001) 9199-9223.
35. A. Loupy, L. Perreux, M. Liagre, K. Burle, M. Moneuse, *Pure Appl. Chem.*, **73** (2001) 161.

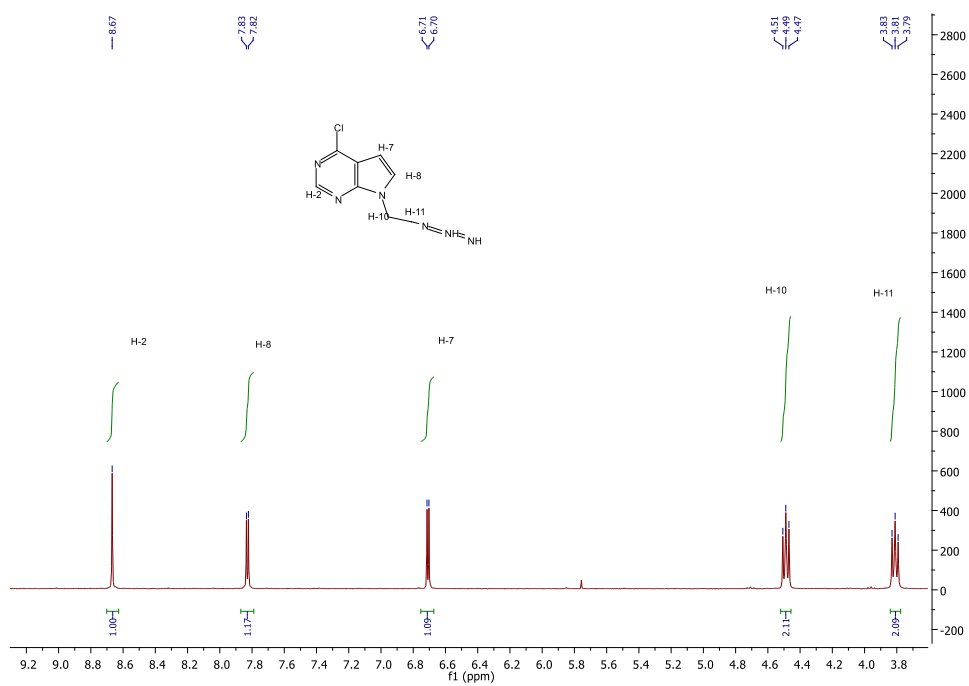
7. PRILOG



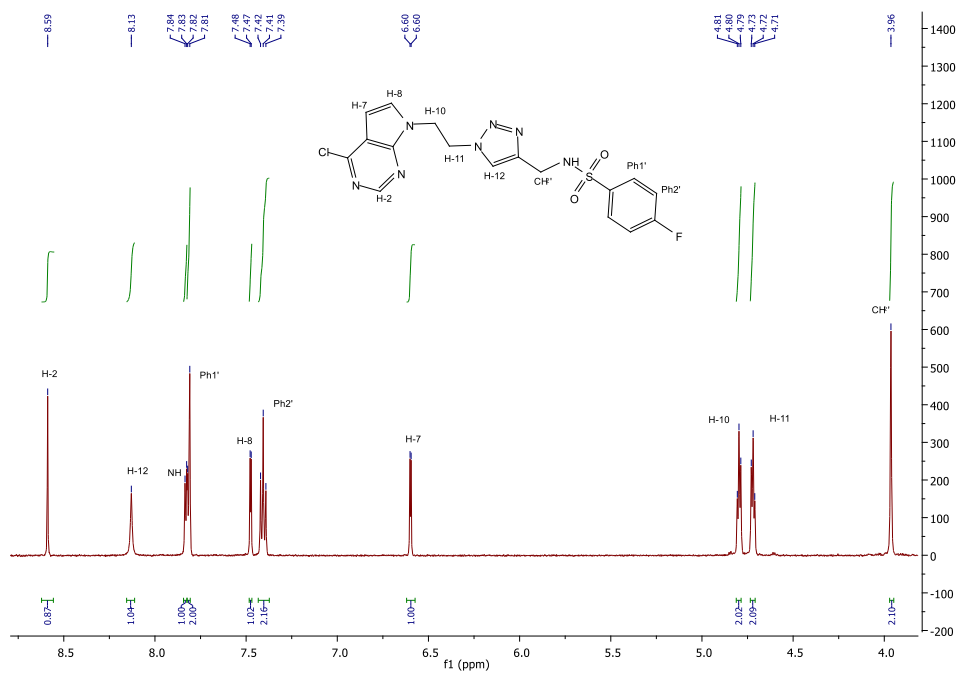
Slika 19. ^1H NMR spektar dimera bis(2-(2-klorfenil)benzimidazol)-1,2-etana



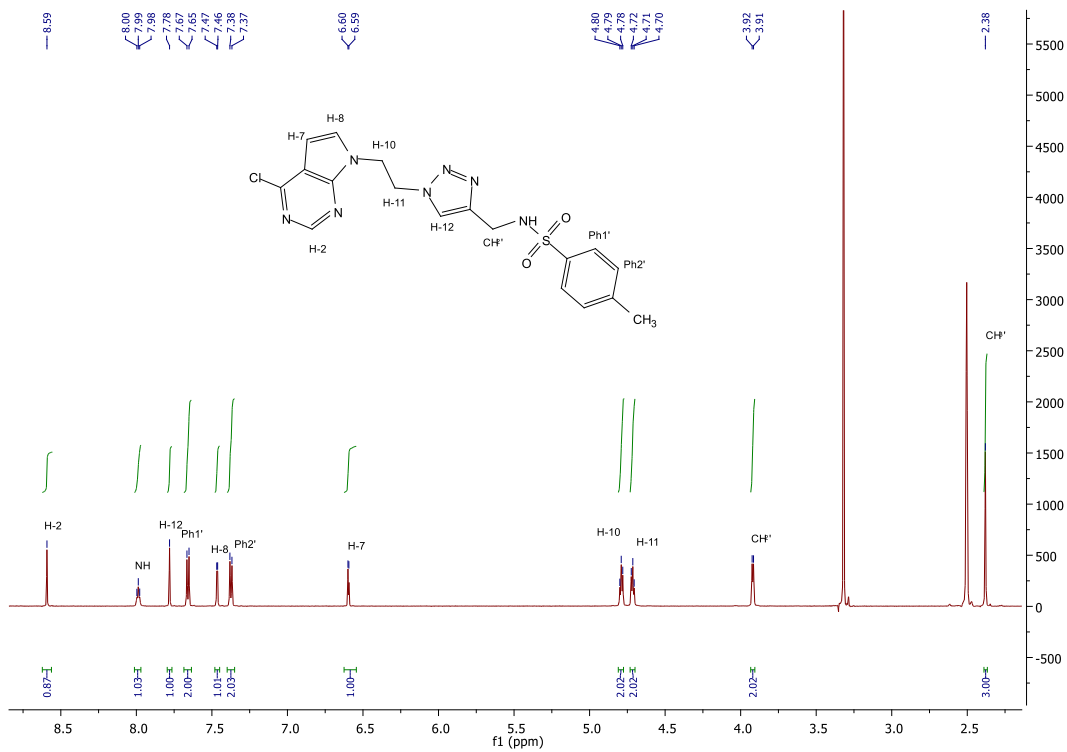
Slika 20. ^1H NMR spektar spoja 1



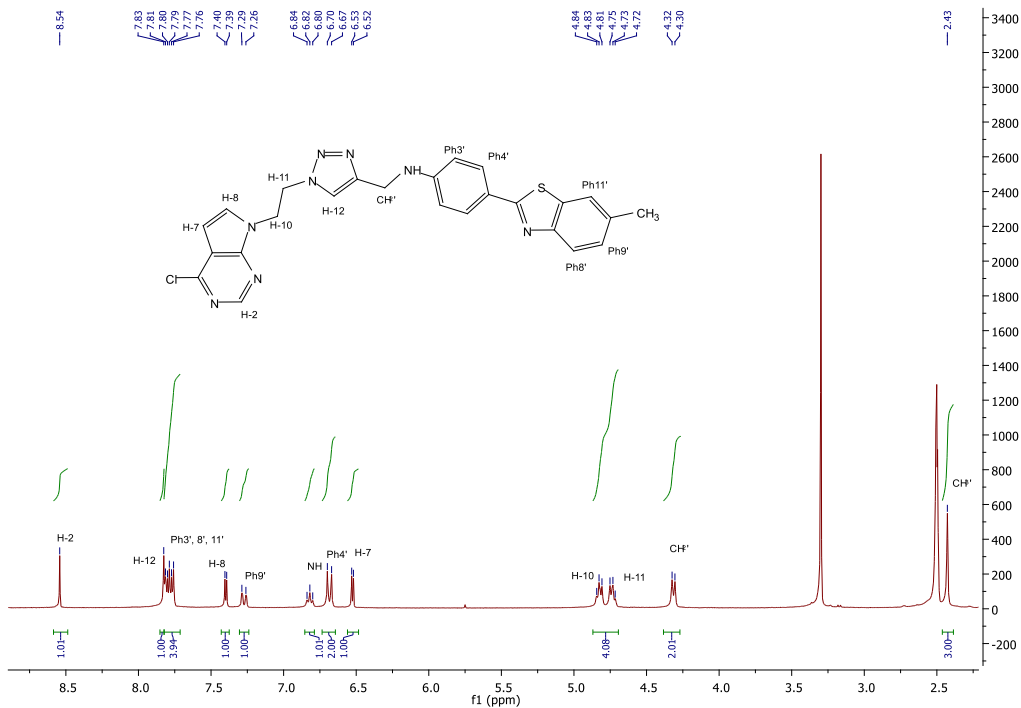
Slika 21. ¹H NMR spektar spoja 2



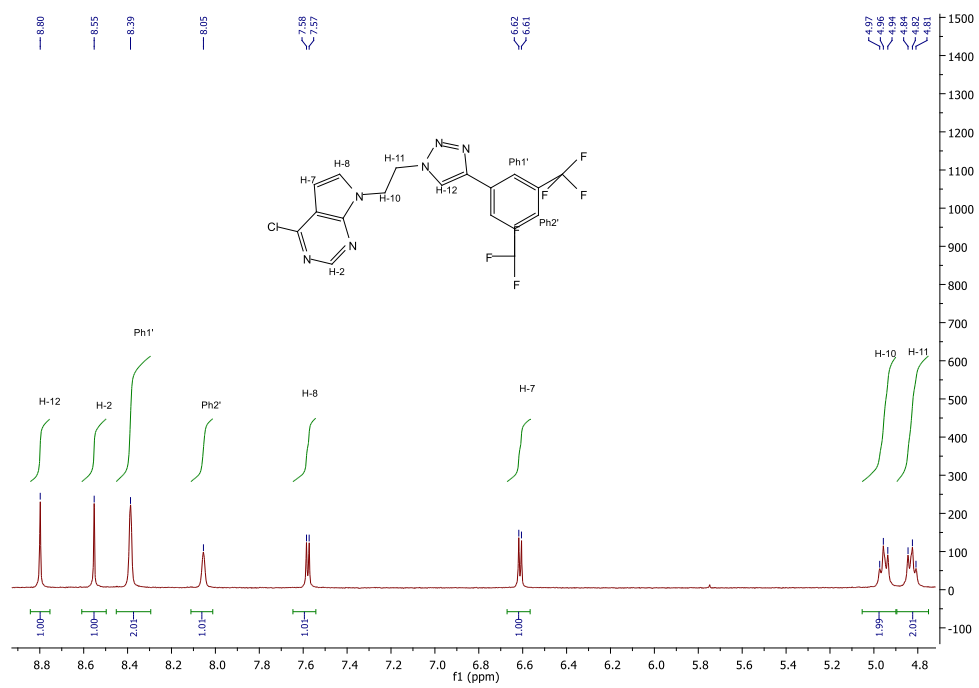
Slika 22. ¹H NMR spektar spoja 3



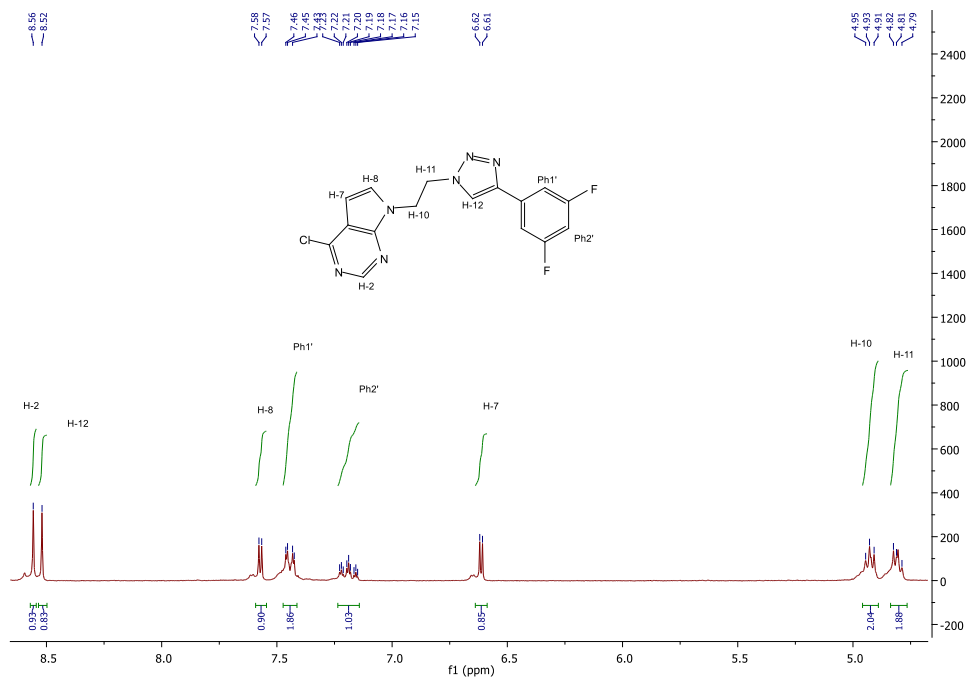
Slika 23. ^1H NMR spektar spoja 4



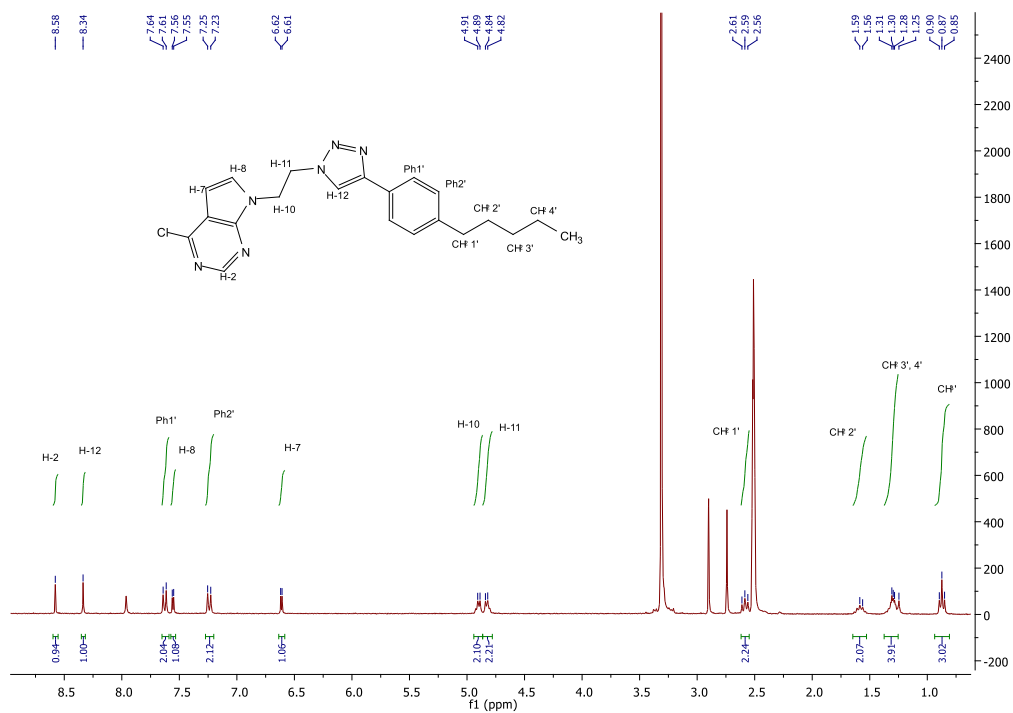
Slika 24. ^1H NMR spektar spoja 5



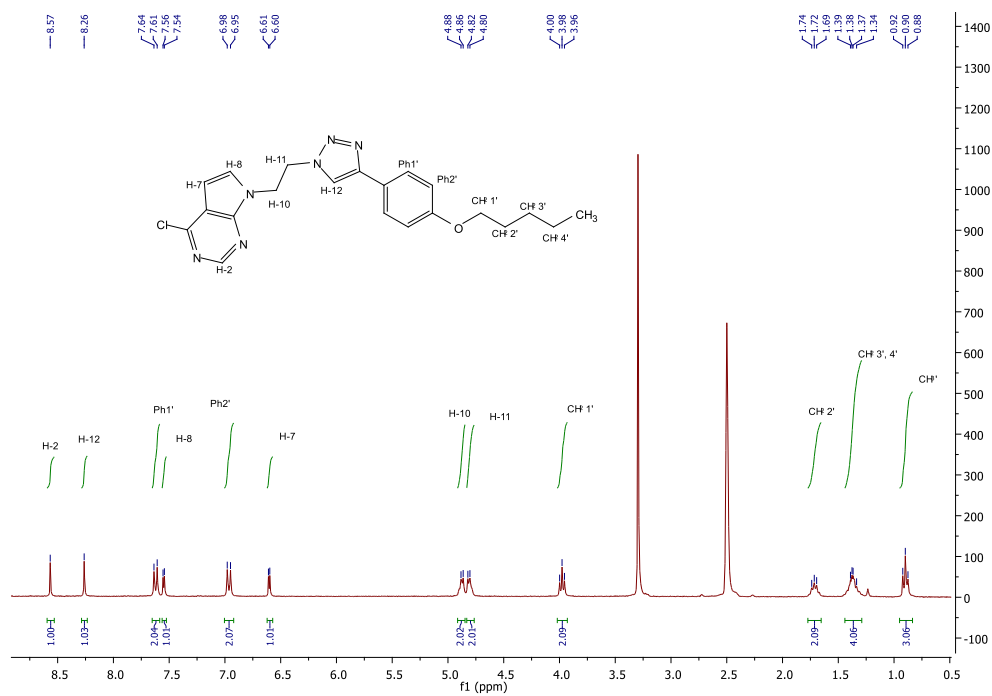
Slika 25. ¹H NMR spektar spoja 6



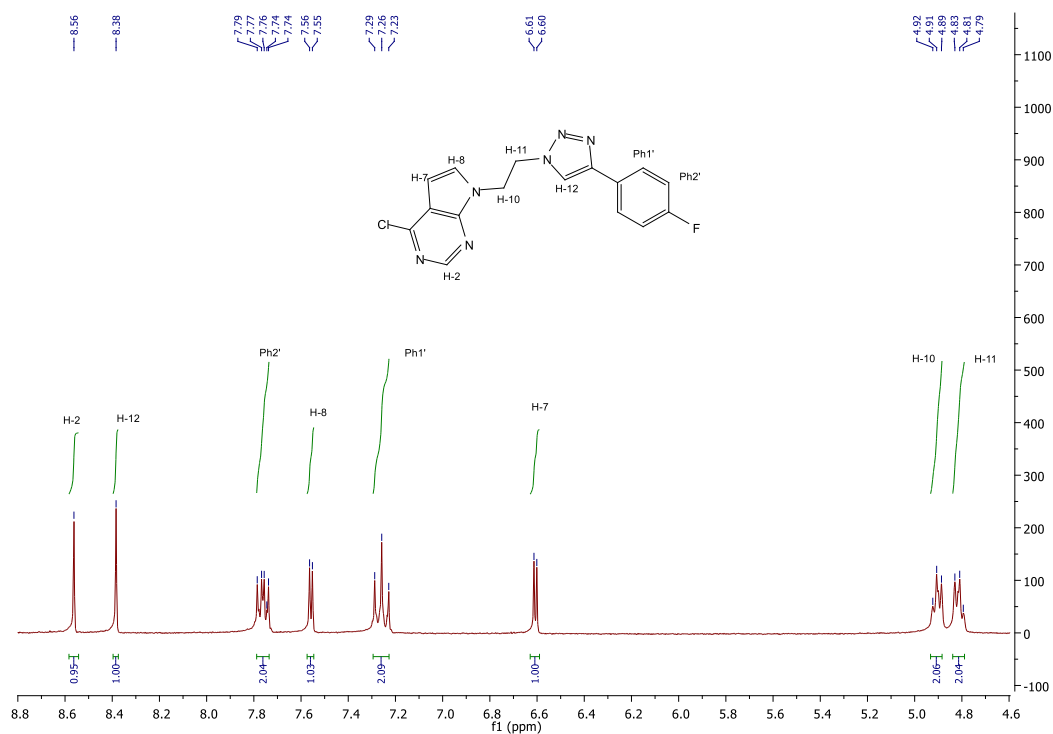
Slika 26. ¹H NMR spektar spoja 7



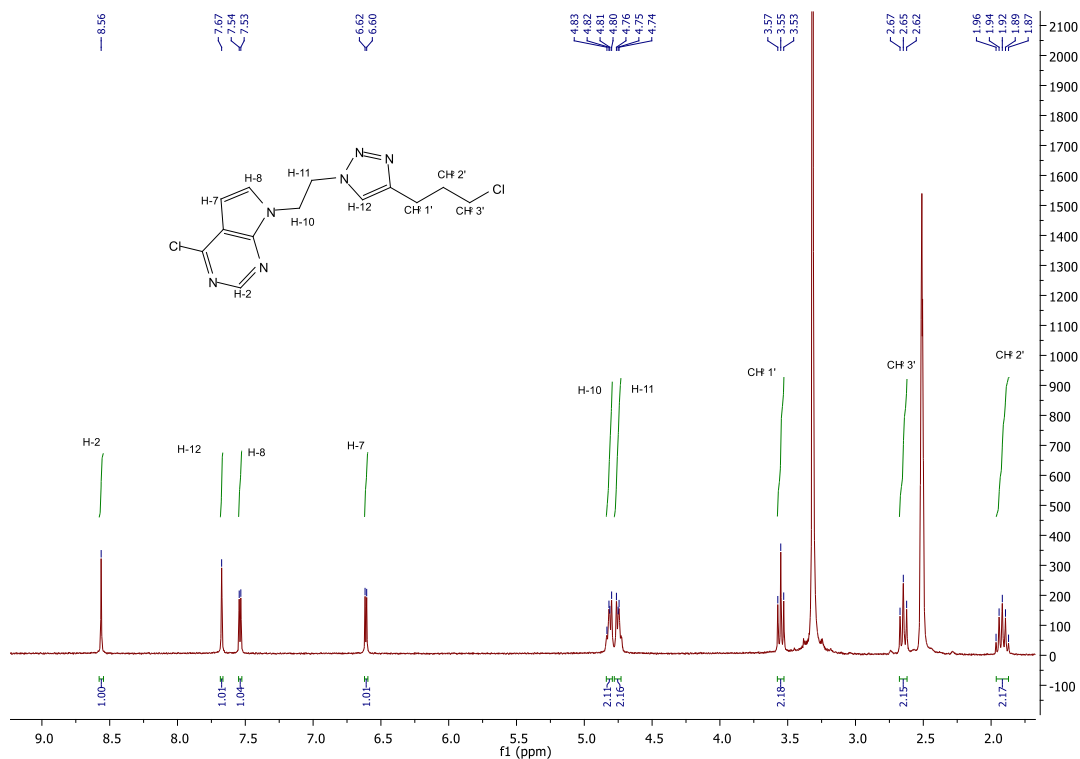
Slika 27. ¹H NMR spektar spoja 8



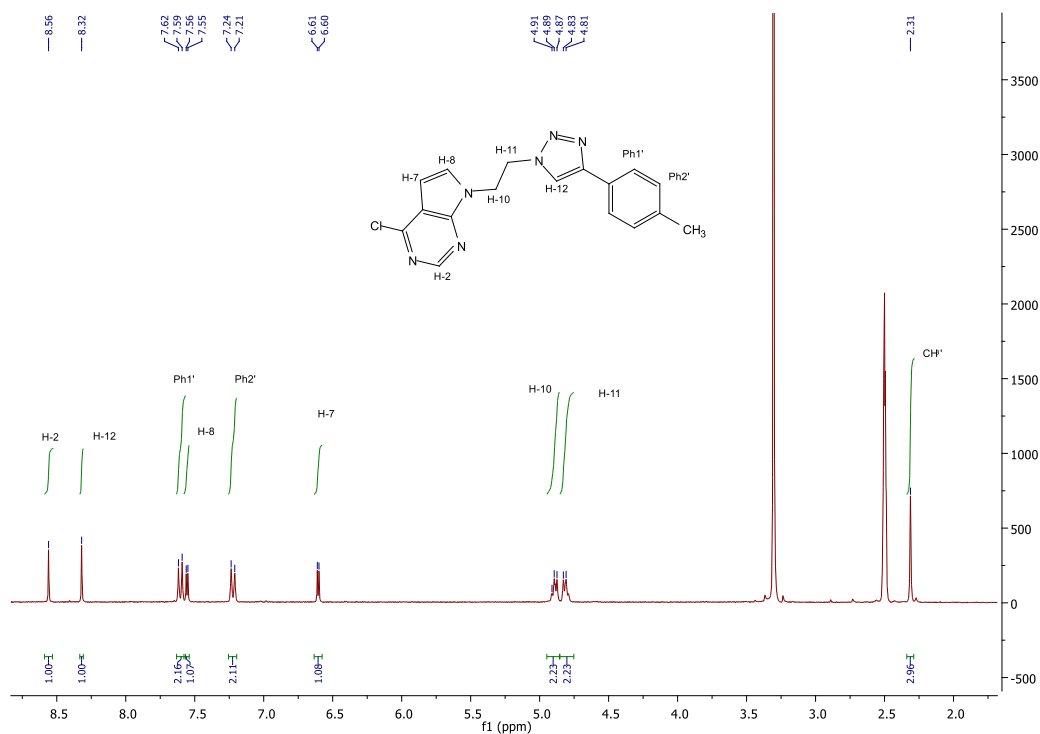
Slika 28. ¹H NMR spektar spoja 9



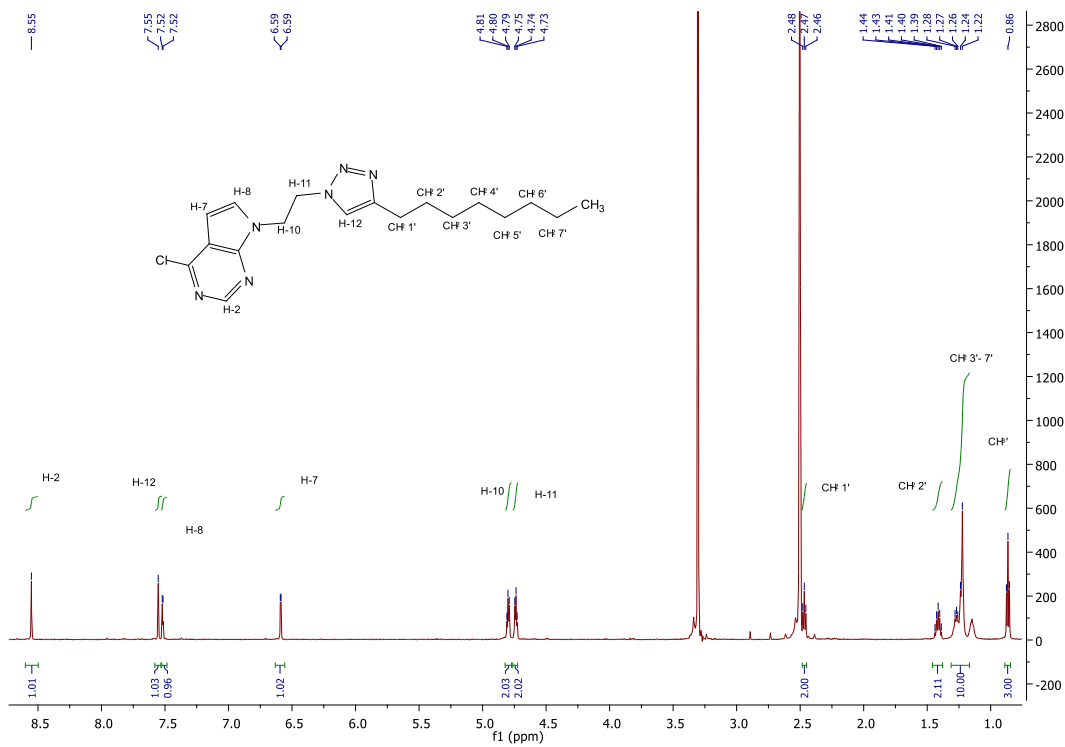
Slika 29. ¹H NMR spektar spoja 10



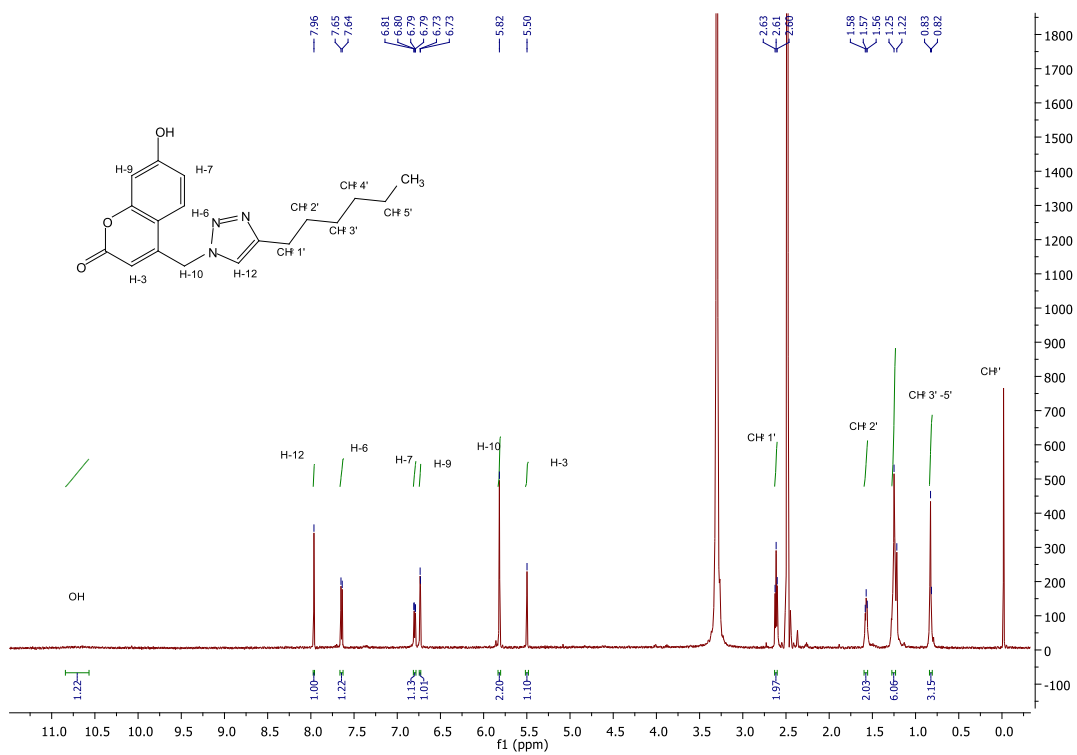
Slika 30. ¹H NMR spektar spoja 11



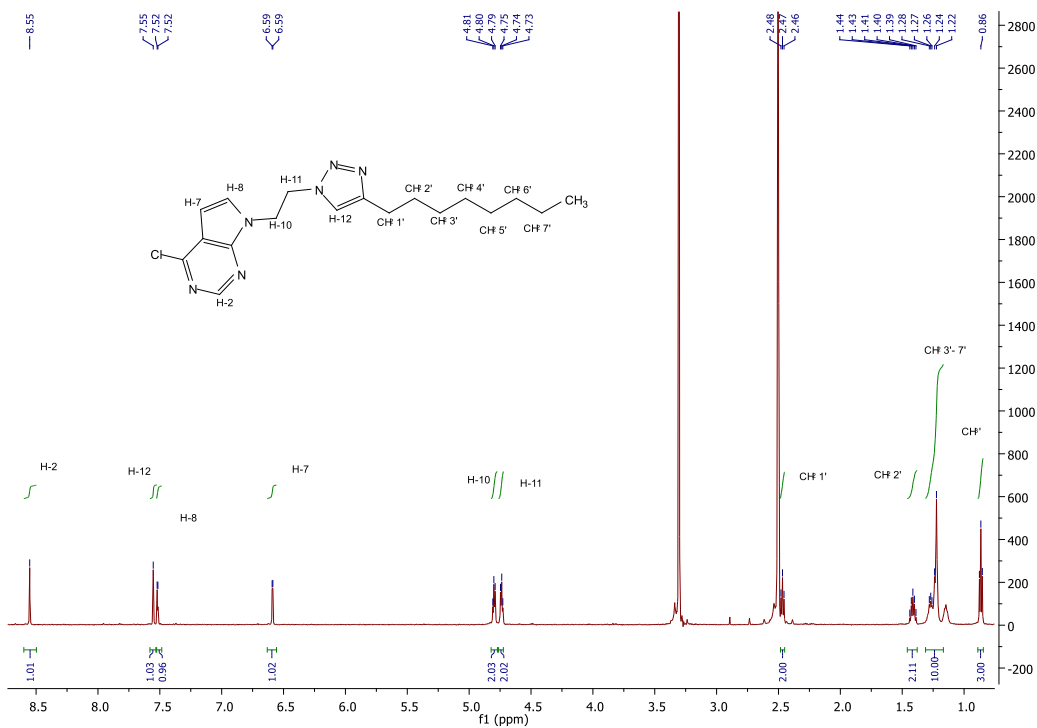
Slika 31. ¹H NMR spektar spoja 12



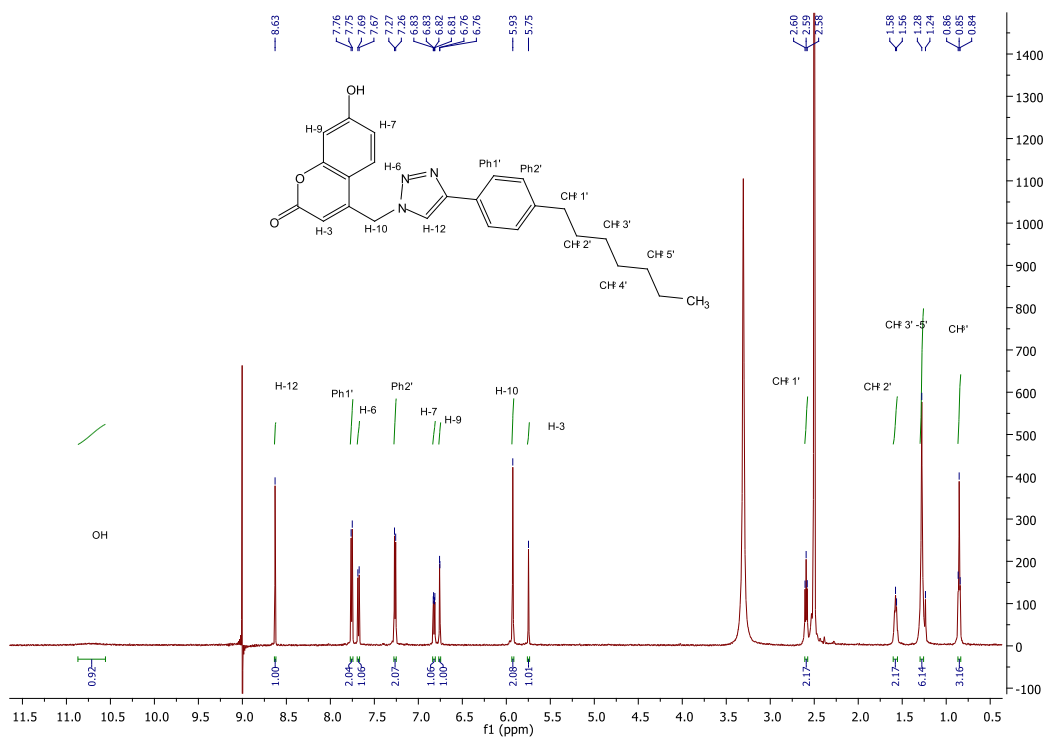
Slika 32. ¹H NMR spektar spoja 13



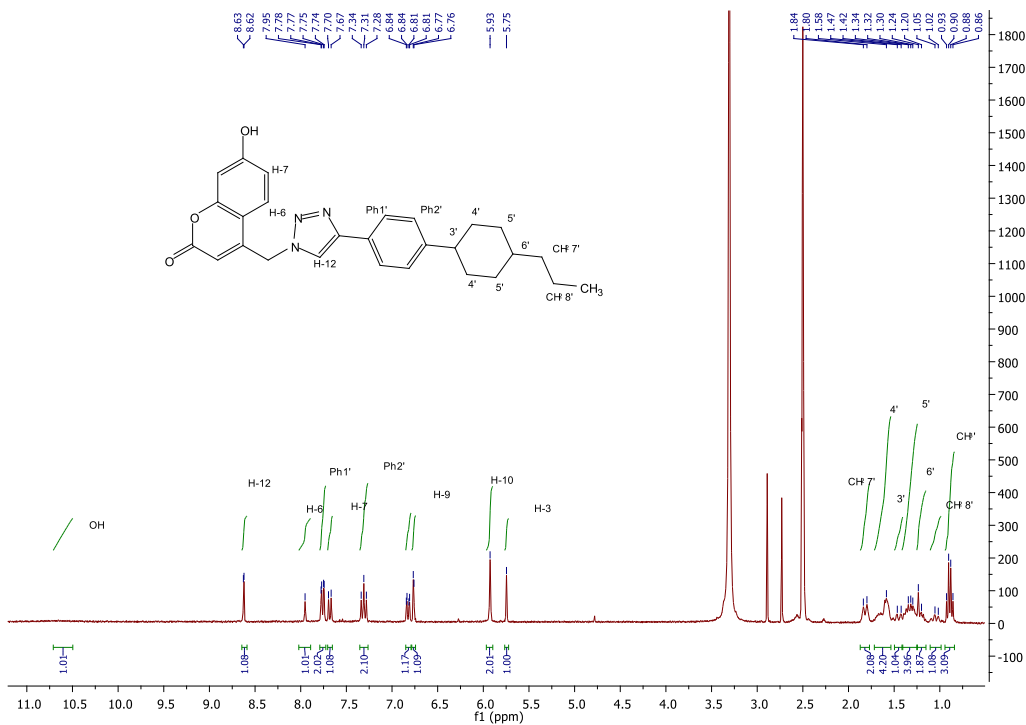
Slika 33. ¹H NMR spektar spoja 14



Slika 34. ¹H NMR spektar spoja 15



Slika 35. ¹H NMR spektar spoja 16



Slika 36. ¹H NMR spektar spoja 17

8. ŽIVOTOPIS

Nikolina Stipaničev rođena je u Zagrebu 6. prosinca 1993. godine. Od 2000. do 2008. pohađala je O.Š. Bartola Kašića u Zagrebu. Od 2008. do 2012. pohađala je X. gimnaziju "Ivan Supek" u Zagrebu te maturirala s odličnim uspjehom. 2012. godine upisala je preddiplomski studij Primijenjene kemije na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.