

Sinteza i strukturna karakterizacija novih ferocenskih derivata 7-deazapurina kao potencijalnih elektrokemijskih markera

Novak, Mateja

Undergraduate thesis / Završni 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:149:953225>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-12**



FKITMCMXIX

Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Mateja Novak

**Sinteza i strukturna karakterizacija novih ferocenskih derivata 7-deazapurina
kao potencijalnih elektrokemijskih markera**

ZAVRŠNI RAD

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

Članovi povjerenstva:

1. Izv. prof. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević
2. Doc. dr. sc. Svjetlana Krištafor
3. Doc. dr. sc. Dragana Vuk

Zagreb, rujan 2017.

Zahvaljujem se mentorici izv. prof. dr. sc. Tatjani Gazivoda Kraljević na predloženoj temi, stručnom vodstvu, susretljivosti, te brojnim korisnim savjetima pri izradi završnog rada.

Zahvaljujem se mag. appl. chem. Mateji Lužar na susretljivosti te pruženoj pomoći pri eksperimentalnom i pisanom dijelu rada.

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

Zahvaljujem i svim djelatnicima i kolegama Zavoda za organsku kemiju na stručnim savjetima i na ugodnom radnom okruženju.

Posebno se zahvaljujem svojoj obitelji i kolegama na pruženoj podršci tijekom dosadašnjeg studiranja.

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

SAŽETAK

Cilj ovog rada bila je sinteza novih derivata purina i 7-deazapurina s ferocenskim supstituentom te njihova strukturna karakterizacija i elektrokemijska ispitivanja. Reakcijom *N*-alkiliranja purinskog ili 7-deazapurinskog prstena s odgovarajućim 1,4-dihalo-but-2-enom ili propargil-bromidom uz NaH kao bazu u DMF-u pripremljeni su *N*-9-butenilni derivati 7-deazapurina (**1** i **5**) i propargilni derivati 7-deazapurina (**2**) i purina (**3** i **4**). Pd-kataliziranom Sonogashira-inom reakcijom unakrsnog spajanja 6-klor-*N*-9-propargilpurina (**3**) s etinilferocenom sintetiziran je 6-(2-ferocenetinil)-9-(prop-2-in-1-il)purin (**6**). Strukturna karakterizacija purinskih i 7-deazapurinskih derivata provedena je ¹H NMR spektroskopijom. Elektrokemijska ispitivanja spojeva **3** i **6** provedena su cikličkom voltametrijom.

Ključne riječi: purin, 7-deazapurin, ferocen, *N*-alkiliranje, Sonogashira-ina reakcija

SUMMARY

The aim of this study was to synthesize the novel purine and 7-deazapurine derivatives with ferrocenyl substituent and their structural characterization and electrochemical evaluation. *N*-alkylation reaction of purine or 7-deazapurine ring with corresponding 1,4-dihalo-but-2-enes or propargyl bromide in the presence of NaH as base in DMF *N*-9-butenyl derivatives of 7-deazapurine (**1** i **5**) and propargyl derivatives of 7-deazapurine (**2**) and purine (**3** and **4**). Pd-catalysed Sonogashira cross-coupling reaction of 6-chloro-*N*-9-propargylpurine (**3**) with ethynyl ferrocene gave 6-(2-ferrocene ethynyl)-9-(prop-2-yn-1-yl) purine (**6**). Structural characterization of purine and 7-deazapurine derivatives was performed using ¹H NMR spectroscopy. Electrochemical evaluation of compounds **3** and **6** was performed by cyclic voltammetry.

Keywords: purine, 7-deazapurine, ferrocene, *N*-alkylation reaction, Sonogashira reaction

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. OPĆI DIO	3
2.1. Purini.....	3
2.1.1. Izosteri purina	5
2.1.2. 7-Deazapurin i njegovi derivati.....	8
2.2. Ferocen i njegovi derivati	12
2.3. Sonogashira-ina reakcija.....	15
2.4. 'Klik' reakcije.....	17
2.5. Ciklička voltometrija.....	20
3. EKSPERIMENTALNI DIO	23
3.1. Opće napomene.....	23
3.2. Priprava spojeva.....	24
3.2.1. 9-(Trans-4-brombut-2-en-1-il)-6-klor-7-deazapurin (1)	24
3.2.2. 6-Klor-9-(prop-2-in-1-il)-7-deazapurin (2).....	24
3.2.3. 6-Klor-9-(prop-2-in-1-il)-7H-purin (3).....	24
3.2.4. 2,6-Diklor-9-(prop-2-in-1-il)purin (4a) i 2,6-Diklor-7-(prop-2-in-1-il)purin (4b).....	25
3.2.5. 6-Klor-9-(cis-4-klorbut-2-en-1-il)-7-deazapurin (5).....	25
3.2.6. 6-(2-Ferocenetinil)-9-(prop-2-in-1-il)purin (6).....	26
3.2.7. 6-klor-9-((4-ferocenil-1,2,3-triazol-1-il)metil)-7-deazapurin (7).....	26
3.2.8. 1,1-Bis(4-brom-but-2-en-1-il)ferocen (8)	27
3.3. Ciklička voltometrija.....	28
4. REZULTATI I RASPRAVA	30
4.1. Pregled sintetiziranih spojeva	30
4.2. Sinteze spojeva.....	31
4.3. Analiza ¹ H NMR spektara.....	35
4.4. Analiza cikličkih voltamograma	41
5. ZAKLJUČCI.....	42
6. LITERATURA	43
7. ŽIVOTOPIS.....	47

1.UVOD

Povijest lijekova seže daleko u prošlost, prvi zapisi o tome nađeni su u 16.st. pr. Krista, a radilo se o Eberovim zapisima o liječenju biljem. Moderno ljekarništvo postaje znanost tek nakon razvoja medicinske i farmaceutske kemije. Medicinsku kemiju možemo smatrati vrstom primijenjene biokemije jer se ona zapravo bavi kemijskim promjenama u organizmu, a njezin glavni cilj je dizajniranje i priprava farmakološki aktivnih tvari koje se kasnije mogu primijeniti za liječenje čovjeka i životinja. Osnovni cilj koji si postavlja medicinski kemičar je otkriti strukturu novog lijeka kandidata, što uključuje apsorpciju, distribuciju i metabolizam lijeka kao i njegovo izlučivanje iz organizma. Zbog toga su potrebna znanja o biokemijskim procesima na kojima se temelji interakcija lijeka i receptora.¹

Danas medicinska kemija svoju pozornost sve više usmjerava na interakcije malih molekula s proteinima, a ne genima koji kontroliraju sintezu proteina. Kako svaka osoba u sebi sadrži svoje enzime u budućnosti se treba okrenuti dizajniranju takvih lijekova koji će odgovarati samo toj određenoj osobi odnosno određenoj skupini bolesnika.¹ Tako primjerice rak uzrokuje preko pola milijuna smrtnih slučajeva godišnje te se po svojoj smrtnosti nalazi odmah iza srčanih bolesti koje su i dalje najveći problem današnjice. Nekontrolirano i brzo širenje oboljelih stanica jedna je od značajnih karakteristika ove bolesti. Terapije koje su danas dostupne osim što uzrokuju mnogobrojne nuspojave sve više dovode do pojave rezistencije na te lijekove. Zbog toga se teži konutinuiranoj potrazi za novim učinkovitijim ali i sigurnijim lijekovima protiv raka.²

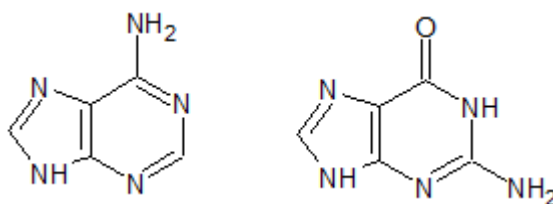
Prije gotovo dva desetljeća u kemiji se pojavljuje novo područje – bioorganometalna kemija, a kako joj i samo ime govori nastala je iz organometalne kemije i biokemije. Bioorganometalna kemija bavi se sintezama novih organometalnih spojeva te njihovim biološkim i medicinskim djelovanjem protiv nekih vrsta bolesti kao što su rak i malarija. Najpoznatiji spoj iz ove skupine je ferocen, a njegova upotreba zadnjih nekoliko godina vrtoglavo raste. Radi se o spoju koji pokazuje odlična biološka djelovanja protiv raznih bolesti današnjice, te zbog toga stručnjaci predviđaju da će upotreba ferocena ali i njegovih derivata biti beskonačna.³

S druge strane modifikacijama nukleozida također se otvara jedno novo poglavlje u borbi protiv raznih bolesti. Mnoga terapijska liječenja raznih tumora, gljivičnih infekcija ali i HIV-a znatno su unaprijeđena zahvaljujući istraživanjima na ovom području. Velik broj supstituiranih analoga nukleozida pokazao je izvrsno biološko djelovanje što navodi znanstvenike da sve više pažnje posvete njima. Sintetiziranje ovakvih spojeva je u porastu, kako bi se raznim ispitivanjima mogla pratiti njihova antivirusna i citostatska djelovanja. Zbog sve većeg utjecaja okoline na metaboličke i kataboličke procese u čovjeku, potreba za novosintetiziranim nukleozidnim analogima raste iz dana u dan.⁴

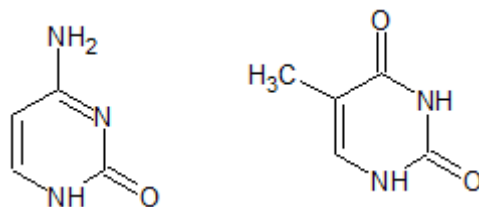
2. OPĆI DIO

2.1. Purini

Svaki lanac DNA sastoji se od nukleotida. Nukleotid se sastoji od šećera riboze ili deoksiriboze, fosfatne skupine i dušične baze. Baza može biti purinska ili pirimidinska. Purinske baze su adenin i gvanin (slika 1), a pirimidinske baze su citozin i timin (slika 2).⁴

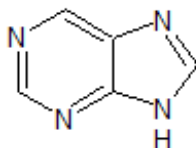


Slika 1. Strukture purinskih baza adenina i gvanina



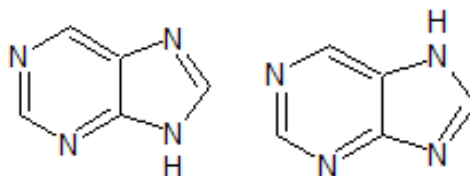
Slika 2. Strukture pirimidinskih baza citozina i timina

Kemijski gledano purini su heterociklički aromatski organski spojevi opće kemijske formule C₅H₄N₄ (slika 3).⁴ Prvi su put sintetizirani 1899., a sintetizirao ih je Emil Fischer iz mokraćne kiseline. Purini i supstituirani purini čine jednu od najraširenijih skupina dušikovih heterocikla u prirodi.⁵



Slika 3. Struktura purinskog prstena

Purini nastaju kondenzacijom pirimidina i imidazola, a aromatski karakter posljedica je prisustva konjugiranih veza te ih to svrstava među najstabilnije spojeve u prirodi. Purin dolazi u dva tautomerna oblika (slika 4), pri čemu dolazi do promjene položaja vodika na dušikovom atomu.⁵



Slika 4. Tautomerni oblici purina, *9H*-purin i *7H*-purin

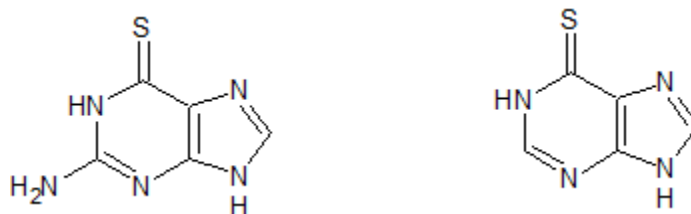
Purin podliježe nukleofilnim i elektrofilnim reakcijama. Kada govorimo o protoniranju purina ono se odvija na položaju *N*-1, dok se reakcije alikiliranja provode na položajima *N*-7 i *N*-9. Nukleofilnu aromatsku supstituciju moguće je provesti na halo-, alkoksi- i alkilsulfanilpurinima, ali i na samom purinu.⁵

Već spomenute purinske baze sastavni su dio molekula koje su važne za stanične procese. Tako se adenin nalazi u adenzin-5'-trifosfatu (ATP), koenzimu A i nikotinamid-adenin-dinukleotidu (NADH). Gvanin je prisutan u procesu glukoneogeneze, on se nalazi u gvanozin-5'-trifosfatu čijom se hidrolizom dobiva energija potrebna za prevođenje oksalacetata u fosfoenolpiruvat.⁵

2.1.1. Izosteri purina

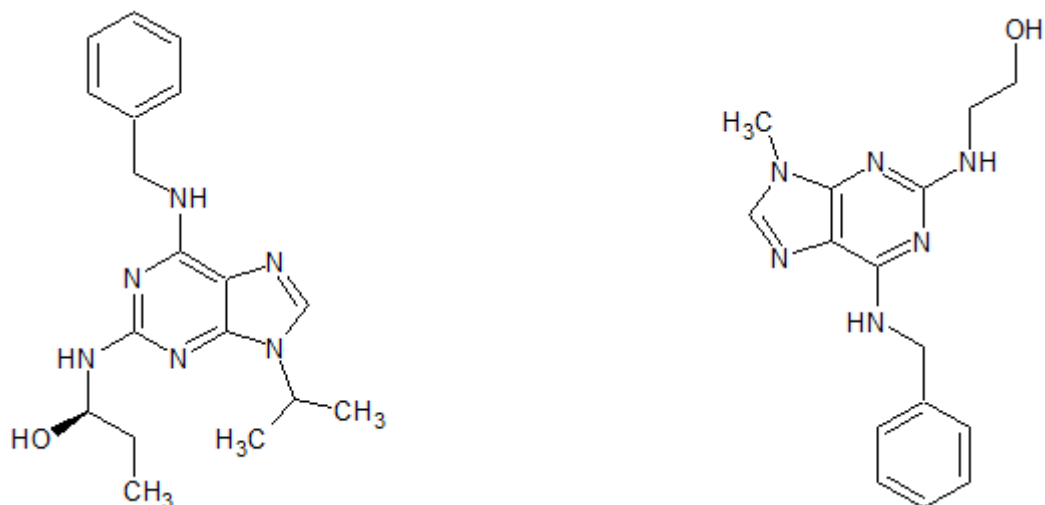
Purini i njihovi izosteri uključeni su u razne biološke i metaboličke procese kao kofaktori, te su na taj način povezani s brojnim enzimima i receptorima. Analози purina čine dio antimetabolita, kako se struktura tih spojeva temelji na purinskom prstenu oni oponašaju ulogu nukleozida u metabolizmu tako da se ugrade u rastući lanac DNA (u nekim slučajevima i RNA) te inhibiraju sintezu lanca.⁶ Neki od njih mogu inhibirati enzime koji su ključni u stvaranju purinskih nukleotida te na taj način direktno uzrokuju smrt stanice. Zbog toga se koriste u liječenju zloćudnih tkiva i tumora.⁷

Hitchings i Elion prvi su utvrdili da bakterije ne mogu sintetizirati nukleinske kiseline ako nemaju odgovarajuću purinsku bazu, te tada započinju sintezu antimetabolita koji bi zaustavili djelovanje enzima koji kataliziraju ugradnju odgovarajućih purina u nukleinske kiseline. Prvi sintetizirani analози purina bili su 2,6-diaminopurin i tiogvanin (slika 5). Elion je kasnije priredila 6-merkaptopurin (slika 5) koji je najpoznatiji imunosupresivni lijek koji se koristi pri liječenju akutne limfoblastične leukemije u kombinaciji s drugim lijekovima, te se koristi kod liječenja nekih autoimunih bolesti.¹



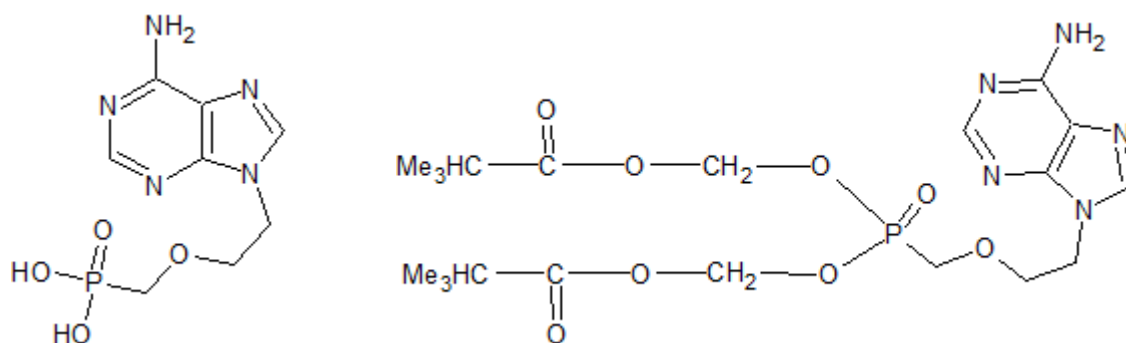
Slika 5. Strukture tiogvanina i 6-merkaptopurina

Najpoznatiji predstavnici 2,6-diaminopurina koji inhibiraju kinazu ovisnu o ciklinu (CDK), ali i druge enzime i receptore, su roskovitin i olomoukin (slika 6), . Roskovitin osim što se koristi pri liječenju raka koristi se i u liječenju neurodegenerativnih bolesti, virusnih infekcija i policističnih bubrežnih bolesti.⁸



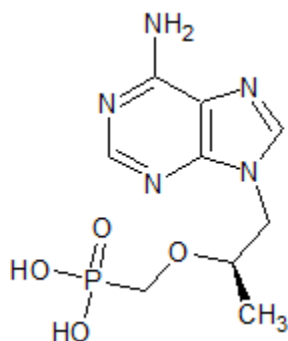
Slika 6. Struktura roskovitina i olomoukina

Bis(pivaloiloksimetil)-9-(2-fosfonilmetoksietil)adenin (slika 7) koji je sintetiziran iz 9-(2-fosfonilmetoksietil)adenina (PMEA) (slika 7) je prolijek koji se nalazi u fazi kliničkih ispitivanja razvoja lijeka koji bi se koristio protiv hepatitisa B.¹

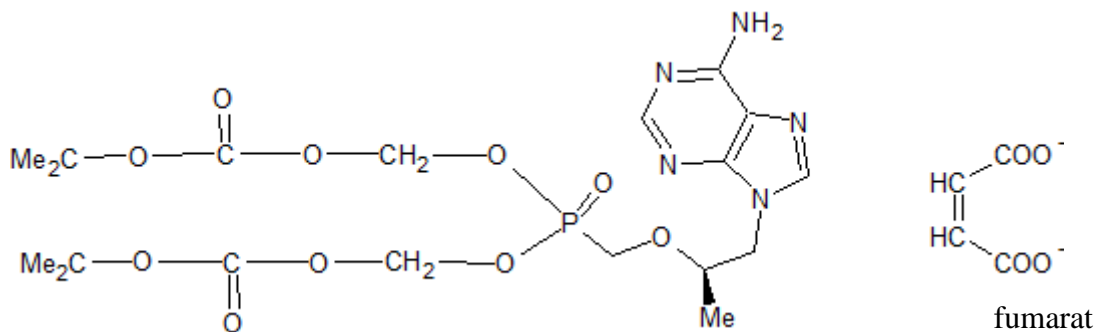


Slika 7. Stukture PMEA-e i bis(pivaloiloksimetil)-9-(2-fosfonilmetoksietil)adenina

Iz 9-[(*R*)-2-(fosfonilmetoksi)propil]adenina (PMPA, tenofovir) (slika 8) pripravljen je prolijek za oralnu upotrebu koji je prošao sve faze ispitivanja lijeka protiv infekcija uzrokovanih HIV-om, a radi se o bis(izopropilkarbniloksimetil)-(*R*)-9-(2-fosfonilmetoksi)propil)adenin fumaratu (slika 9).¹



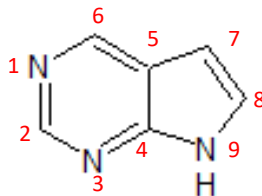
Slika 8. Struktura tenofovira



Slika 9. Struktura bis(izopropilkarbniloksimetil)-(*R*)-9-(2-fosfonilmetoksi)propil)adenin fumarata

2.1.2. 7-Deazapurin i njegovi derivati

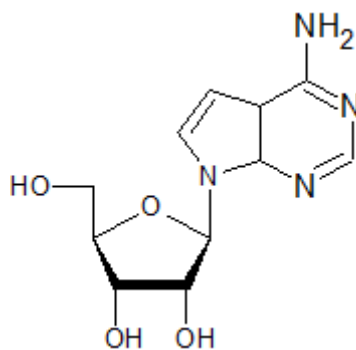
7-Deazapurini, poznatiji kao pirolo[2,3-*d*]pirimidini su analozi purina, a na položaju 7 purinskog prstena umjesto dušikovog nalazi se ugljikov atom (slika 10). 7-deazapurin se nalazi u nukleinskim kiselinama ili može biti dio monomernih ribonukleotida.⁵



Slika 10. Struktura 7-deazapurina

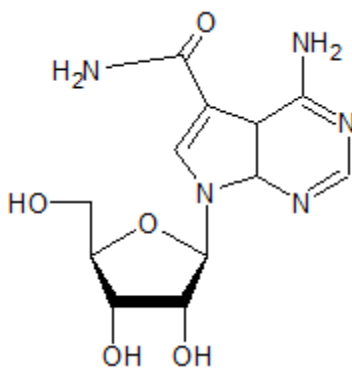
Djelovanje ovih spojeva temelji se na mehanizmu umetanja u sintetizirajući lanac DNA umjesto 'pravih' dušičnih baza i prekidanje daljnje sinteze, čime dolazi do sprječavanja razmnožavanja tumorskih stanica, ali i stanica zaraženih virusom. Važno je sagledati kakav učinak molekula ima i na zdravu stanicu, tj. citotoksičnost prema zdravim stanicama. Cilj je pronaći molekulu u ovoj klasi spojeva koja će imati selektivnu aktivnost prema zaraženim ali i zdravim stanicama.⁵ 7-deazapurini pokazuju raznoliku biološku aktivnost između ostalog i antitumorsku.⁹ S obzirom da imaju antioksidativna svojstva posjeduju i aktivnost protiv zračenja. Oni djeluju kao inhibitori dihidrofolat-reduktaze, tirozin-kinaze c-Src ili Lck, CDK te kao antagonisti receptora adenzina. Brojni derivati 7-deazapurina već su dostupni na tržištu zbog svojih antivirusnih, antitumorskih ali i antibakterijskih svojstava. Zbog značajne strukturne sličnosti između purina i prirodnih antibiotika tubercidina, tojokamicina, sangivamicina i kadeguomicina želi se razviti sintetski postupak za pripravu nukleozidnih derivata 7-deazapurinskih prstena.⁵

Tubercidin osim svoje antitumorske aktivnosti pokazuje i dobro djelovanje protiv virusa, bakterija i gljivica.¹⁰ Tako sprječava umnažanje DNA i RNA kod virusa, te inhibira rast mnogih mikroorganizama (slika 11).⁵



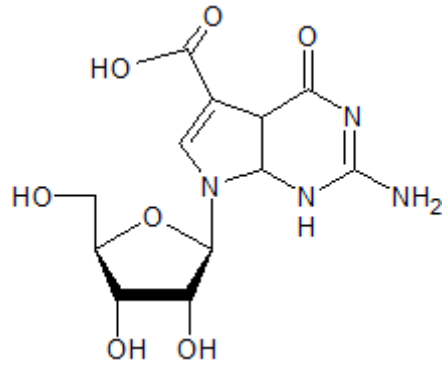
Slika 11. Struktura tubercidina

Sangimivacin (slika 12) pokazuje inhibitorno i citotoksično djelovanje. Citotoksičan je na široko rasprostranjeni humani citomegalovirus (HCMV). Također se pokazao učinkovit inhibitor protein-kinaze C koju inhibira kompetitivno u odnosu na ATP i nekompetitivno u odnosu na histonske i lipidne kofaktore.³⁰



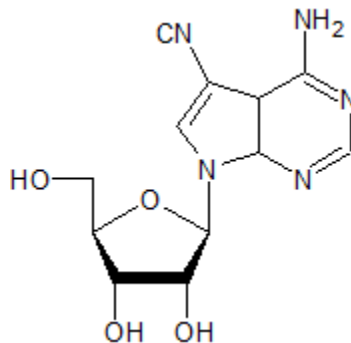
Slika 12. Struktura sangimivacina

Kadeguomicin (slika 13) ima inhibitorni učinak na transplantiranim životinjskim tumorima, ali nema značajnu antibakterijsku i antigljivičnu aktivnost.³²



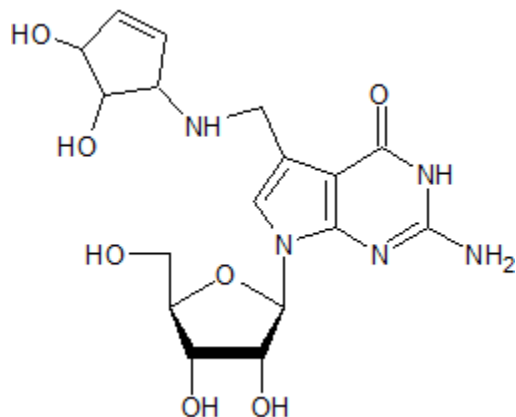
Slika 13. Struktura kadeguomicina

Tojokamicin (slika 14) je analog tubercdina te pokazuje slična svojstva protiv tumora i bakterija. On ima jako inhibitorno djelovanje samopucanja veza u RNA molekulama unutar stanica sisavaca, također je inhibitor fosfatidilinozitol-kinaze te inhibitor signaliziranja auksina – biljnog hormona koji ima ulogu u razvoju i rastu biljke. Zbog svoje toksičnosti tojokamicin je zabranjen iako je njegova antitumorska aktivnost značajna.⁵



Slika 14. Struktura tojokamicina

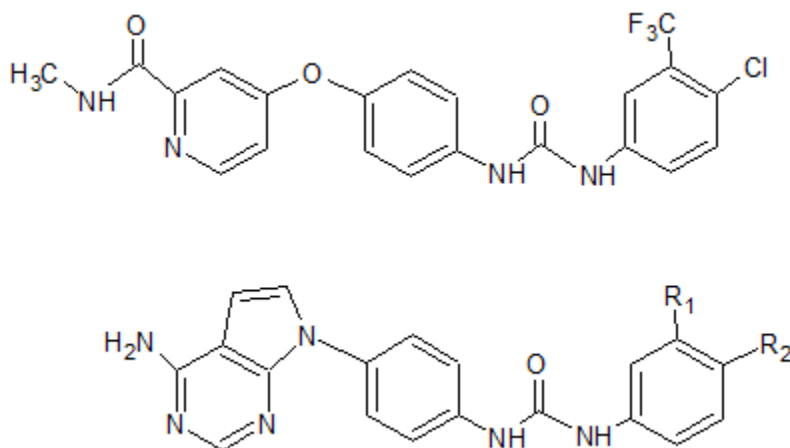
7-Deazapurin se nalazi i u t-RNA eukariota ali i prokariota u obliku hipermodificiranog nukleozida ‘Quenosina’, 2-amino-5-(4,5-dihidroksi-2-ciklopent-1-il)amino)metil)-7-(β -D-ribofuranozil) -1,7-dihidro-pirol[2,3-*d*] pirimidin-4-on) (slika 15).



Slika 15. Nukleoizid "Q"

Otkrićem ovog nukleoizida pojavila su se nagađanja da bi strukturna izmjena baze mogla uzrokovati promjene u tripletu nukleinske kiseline.³¹

Sorafenib je jedan od lijekova koji se koristi u kliničkom liječenju melanoma od kojeg obolijeva sve više ljudi. Kako bi se poboljšala svojstva sorafeniba (2-metilaminkarbonil)-piridin-4-il-okso skupina je zamijenjena s pirolo[2,3-*d*]pirimidinom, te su izmijenjeni i supstituenti R₁ i R₂. Biološka ispitivanja pokazala su da neki spojevi pokazuju jednako dobru aktivnost protiv stanica melanoma kao i sam sorafenib dok su neki spojevi pokazali bolju aktivnost od sorafeniba (slika 16).¹¹

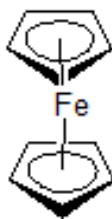


Slika 16. Struktura sorafeniba i derivata 7-deazapurina

2.2. Ferocen i njegovi derivati

Iako je otkriven 1951. godine, prava struktura ferocena objavljena je tek kasnije. Ovaj aromatski “sendvič”- spoj zaslužan je za značajan razvoj organometalne kemije.¹² Kako je ferocen kemijski stabilan na zraku i u vodenom mediju, te kako su njegovi derivati lako dostupni i imaju dobra elektrokemijska svojstva, ovaj spoj svoje mjesto pronašao je i u farmakologiji.¹³

Ferocen (slika 17) je stabilna narančasta kristalinična tvar koja pripada skupini metalocena. Nadalje, ferocen je kemijski stabilan i netoksičan te može prolaziti kroz stanične membrane. Sastoji se od dvaju ciklopentadienskih prstena između kojih je smješten atom željeza, tzv. struktura sendviča u kojoj je metalni atom uklopljen između organskih prstenastih struktura. Centralni atom željeza je najčešće u +2 oksidacijskom stanju, dok se svaki ciklopentadienilni prsten sastoji od 6π -elektrona. Ferocen podliježe reakcijama elektrofilne supstitucije.⁴

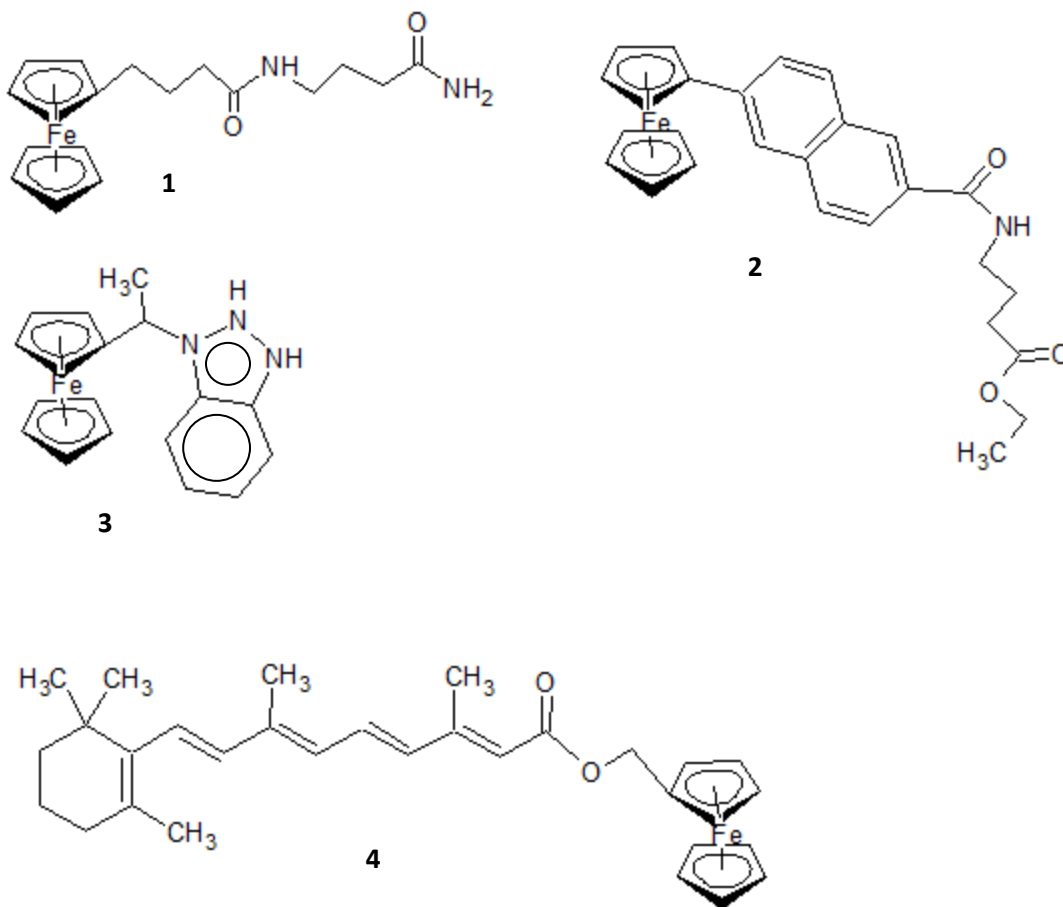


Slika 17. Kemijska struktura ferocena

Svojstva ferocena zadivila su kemičare diljem svijeta te su u njemu odmah vidjeli potencijal koji se može iskoristiti. Derivati ferocena imaju dobra antitumorska svojstva,¹⁴ vrlo su učinkoviti, a pokazalo se da su manje toksični od kliničkih lijekova.⁹ Osim dobrih antitumorskih svojstava za ferocenske derivate pokazalo se da su učinkoviti, kako *in vitro* tako i *in vivo*, za suzbijanje raznih gljivičnih i bakterijskih bolesti, malarije¹⁵ i HIV-a.¹⁶

Brynes je sa svojim suradnicima po prvi puta 1970.-ih godina uočio da ferocenski spojevi koji u sebi sadrže amidnu ili amino skupinu pokazuju antitumorska svojstva. U njegovom slučaju radilo se o miševima oboljelim od limfocitne leukemije koji su dobro reagirali na terapiju s ovim ferocenskim derivatom (slika 18, **1**).

10 godina kasnije grupa miševa oboljelih od Ehrlichovog ascitesnog tumora (EAT) tretirana je ferocenskim solima koje su sadržavale različite anione u svojoj strukturi. Optimalna doza nekih soli povećala je šansu za preživljavanje miševa čak do 83% .¹⁷

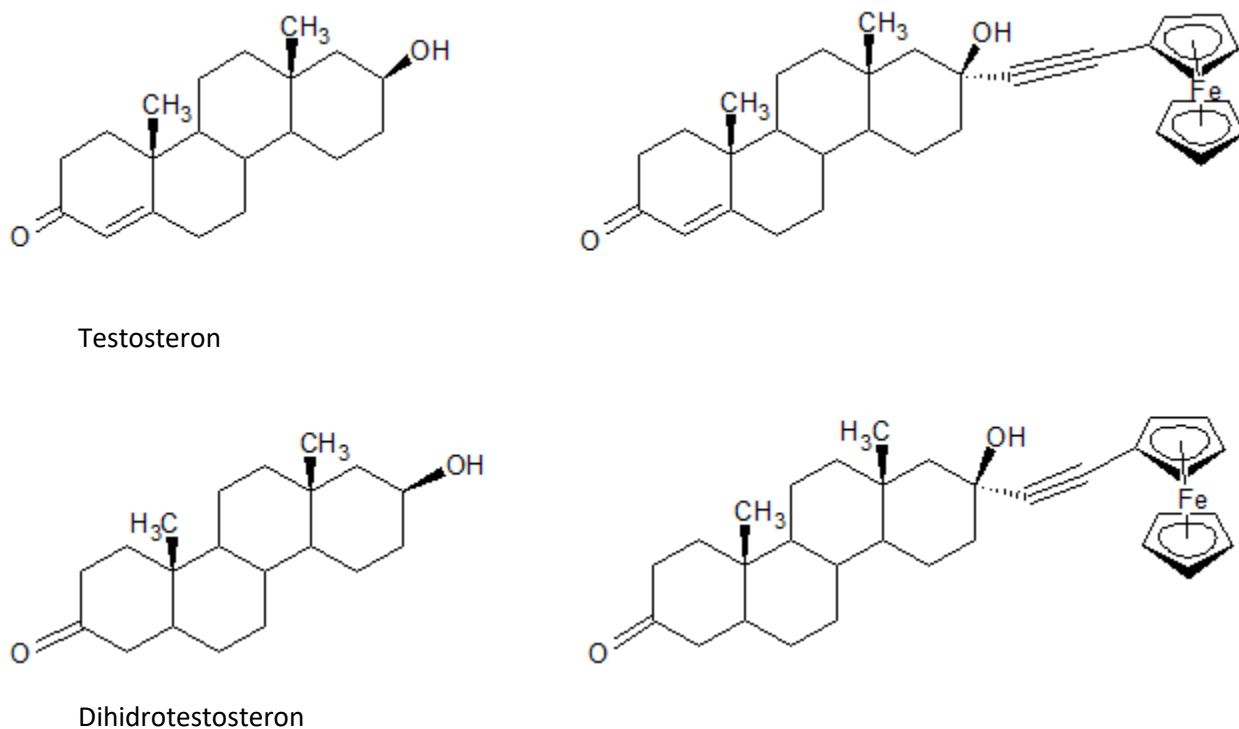


Slika 18. Derivati ferocena

Ferocenalkilni azoli osim što su manje toksični od čistog ferocena i dostupnih lijekova protiv raka, inhibiraju rast tumora te su testiranja na životinjama bila vrlo uspješna. Najučinkovitijima su se pokazali u borbi protiv tumora krvnih i limfnih žila (slika 18, 3). Etil-*N*-(6-ferocenil-2-naftoil)- γ -aminobutiroat *in vitro* pokazao se djelotvornim protiv stanica raka pluća kod čovjeka (slika 18, 4).¹⁷

Vitamin A je esencijalni nutrijent u ljudskom tijelu i u organizmu se pojavljuje u različitim oblicima, a skupina vitamina A pripada retinoidima tj. derivatima retinoične kiseline. U užem smislu vitamin A nazivamo retinol ili vitamin A1 (slika 18, 2). Ovaj vitamin važan je za rast i razvoj epitelnog tkiva, ali sudjeluje i u stvaranju očnog pigmenta. Neke retinoične kiseline danas se koriste kod kožnih bolesti ali i kao kemoterapeutici u liječenju raka dojke i raka endometrija. Kako su znanstvenici željeli poboljšati svojstva retinoične kiseline sintetizirali su ferocenski derivat te se na kraju pokazalo da ferocenski analog ima bolja antiproliferativna svojstva od matičnog spoja, retinoične kiseline.¹⁷

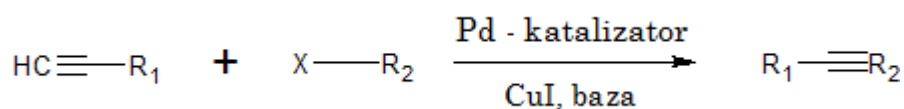
Testosteron i dihidrotestosteron (DHT) su androgeni hormoni. Ferocenski derivati ovih spojeva pokazuju izuzetnu antitumorsku aktivnost protiv stanica raka prostate (slika 19).¹⁷



Slika 19. Kemijske strukture testosterona i DHT i njihovih ferocenskih derivata

2.3. Sonogashira-ina reakcija

Sonogashira-ina reakcija je reakcija za pripremu konjugiranih enina ili arilnih aklina kondenzacijom vinilnih ili arilnih halogenida s terminalnim alkinima. Ovu reakciju je 1975. godine otkrio japanski kemičar Kenkichi Sogonoshira, po kojemu je reakcija i dobila ime. Radi se o unakrsnom spajanju u organskoj sintezi pri čemu dolazi do stvaranja veza ugljik-ugljik. Kao katalizator koristi se paladij, a ko-katalizator je bakrov(I) jodid uz prisustvo baze poput višesupstituiranih amina (slika 20).¹⁸



R₁ = aril, alkil, alenil

R₂ = aril, vinil, alkil

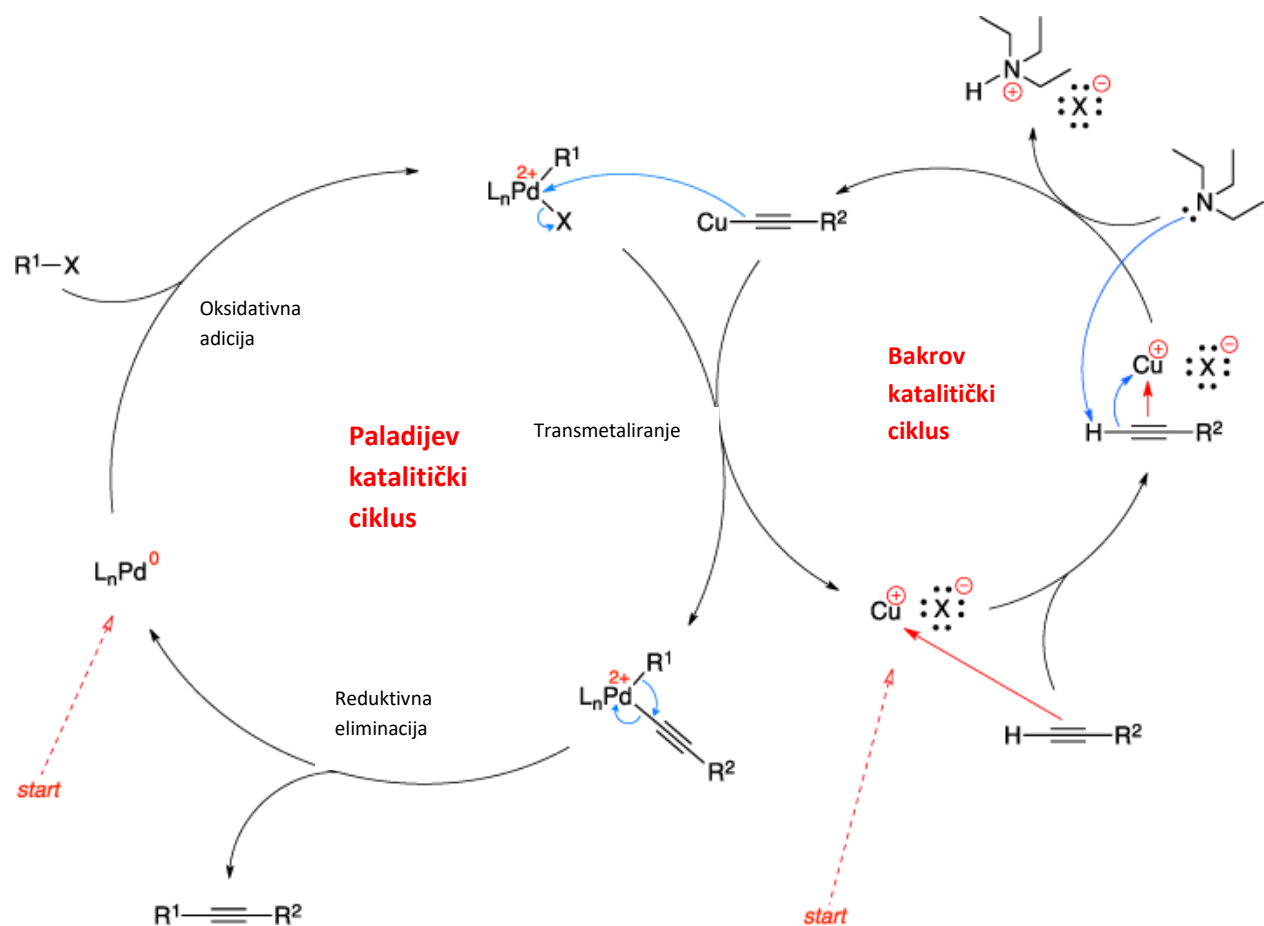
X = Br, I, OTf

Slika 20. Sonogashira-ina reakcija

Ova reakcija primjenjuje se u raznim područjima, primjerice u sintezi lijekova, prirodnih proizvoda, organskih tvari i nanomaterijala, a može se provoditi u blagim uvjetima, pri sobnoj temperaturi, u vodenom mediju i sa slabom bazom.

Kako mehanizam Sonogashira-ine reakcije nije u potpunosti razjašnjen zbog kompleksnosti, ali i poteškoća u izolaciji i analizi organometalnih spojeva koji u reakciji nastaju kao intermedijari, pretpostavlja se da je mehanizam reakcije sličan drugim reakcijama koje su katalizirane paladijem a sastoji se od oksidativne adicije, transmetaliranja i reduktivne eliminacije. Paladij se koristi za stvaranje veze ugljik-ugljik između terminalnog alkina i arila ili vinilnog halida. Arilni halid koji oksidativnom adicijom ulazi u paladijev katalitički ciklus kao produkt daje organometalni spoj. Za to vrijeme u bakrovom katalitičkom ciklusu odvija se disocijacija bakrovog halogenida pri čemu nastaje organometalni spoj u kojem je bakar vezan na alkin. Taj se alkin veže na višesupstituirani amin koji tvori kvaternu amonijevu sol s halogenidom koji je nastao disocijacijom s bakrom. Transmetaliranjem, ta dva nastala organometalna spoja uzrokuju otpuštanje halogena u arilnom i bakra u alkilnom spoju. Bakrov halogenid se regenerira u bakrovom katalitičkom ciklusu. Reduktivna eliminacija je zadnji

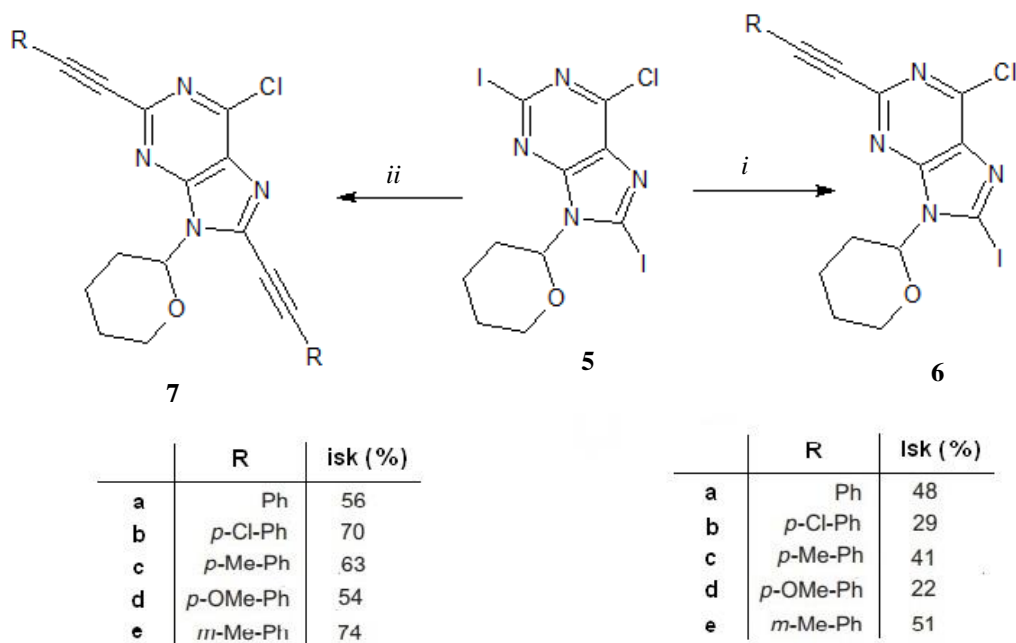
stupanj i u njemu nastaje konačni produkt pri čemu dolazi do nastajanja veze između arila i alkina, a paladijev katalizator se regenerira u paladijevom katalitičkom ciklusu (slika 21).¹⁹



Slika 21. Mehanizam Sonogashira-ine reakcije²⁰

Organski kemičari izvrsno su prihvatili Sonogashira-inu reakciju jer je predstavljala rješenje mnogih problema s kojima su se do tada susretali. Uvođenjem koncepta korištenja bakrovog(I) jodida kao ko-katalizatora uz paladijev katalizator omogućilo je konjugaciju eninskih i arilnih alkina na sobnoj temperaturi, dok su ranije za ovakvu vrstu reakcije bile potrebne temperature i do 100°C.¹⁹

Istraživanja su pokazala da je sinteza derivata 2,8-dibrompurina i 2,8-dijodpurina moguća iz 6-klorpurina pomoću regioselektivne reakcije unakrsnog spajanja. Tako dijodpurin (**5**) u Sonogashira-inim uvjetima, ako se koristi jedan ekvivalent alkina daje derivate **6a-e**, a ako se doda više od jednog ekvivalenta alkina tada nastaju derivati **7a-e** (Slika 22).²¹



Slika 22. Sonogashira-ine reakcije diiodpurina s terminalnim alkinima

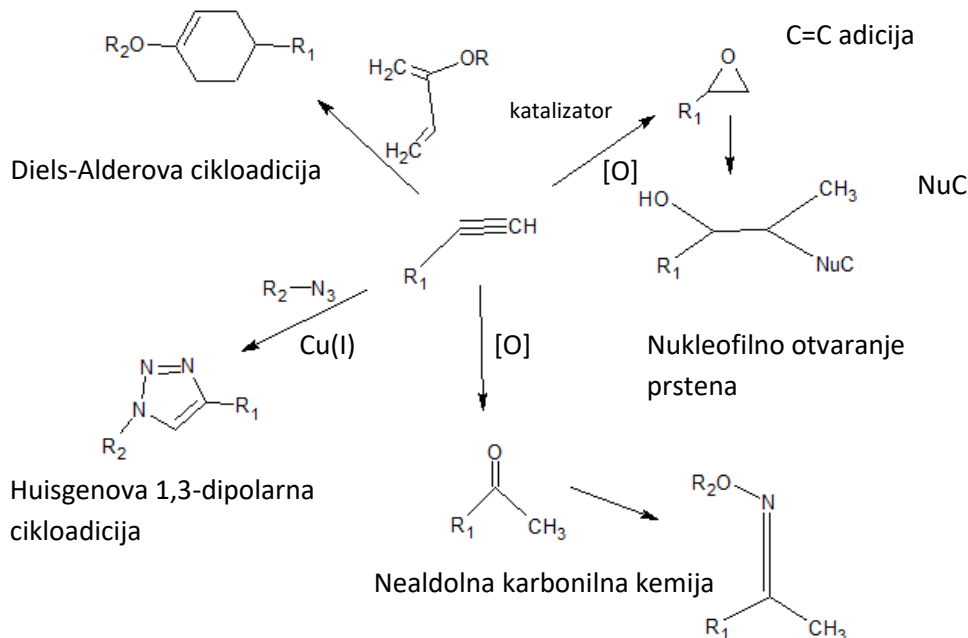
Reakcijski uvjeti: (i) alkin, 1.05 eq, CuI, 12 mol %, Pd[(PPh)₃]₄, 25 mol %, Cs₂CO₃, DMF, 24 h;

(ii) alkin, 3 eq, CuI, 12 mol %; Pd[(PPh)₃]₄, 6 mol %, Cs₂CO₃, 3 eq; DMF, 2-3 h

2.4. 'Klik' reakcije

K. B. Sharpless sa svojim suradnicima 2001. godine opisuje koncept 'klik' kemije. Riječ je o reakcijama koje imaju visoko iskorištenje, mogu se široko primjenjivati te stvaraju bezopasne stereospecifične produkte koje je lako izdvojiti iz reakcijske smjese tj. bez kromatografskih postupaka. Za ove reakcije polazni reagensi i materijali su lako dostupni, reakcijski uvjeti su jednostavni, a otapala koja se koriste nisu toksična te se mogu lako ukloniti.

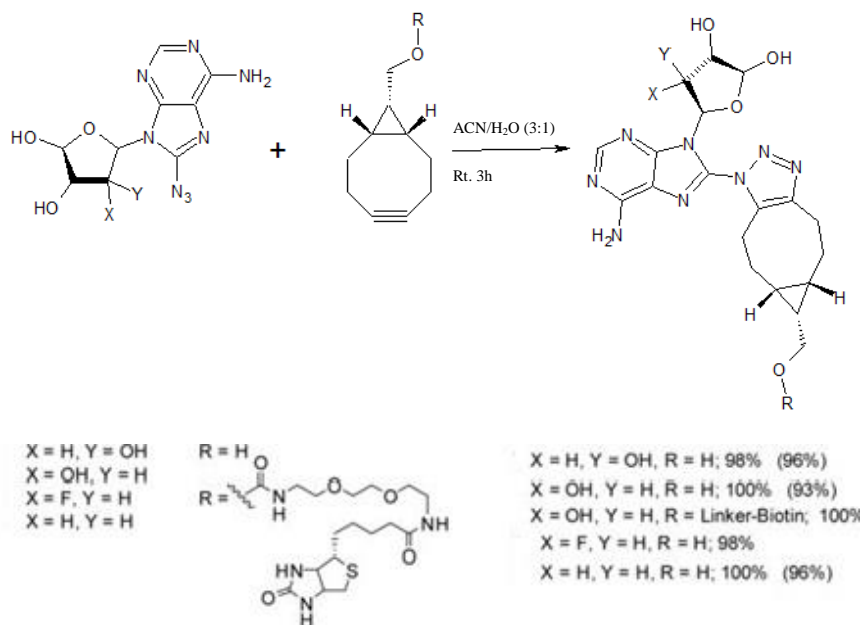
Svega nekoliko vrsta reakcija ispunjava ove uvjete. Radi se o reakcijama otvaranja nukleofilnog epoksidnog ili aziridinskog prstena, nealdolne reakcije karbonilnog tipa poput stvaranja uree, oksima i hidrazona, adicije na dvostruku vezu između dva C-atoma od koji su važne reakcije oksidativnog nastajanja epoksida i Michaelova adicija Nu-H reaktanata, te reakcije cikloadicije među kojima su najvažnije Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija i Diels-Alderova cikloadicija (slika 23).⁵



Slika 23. Reakcije koje ispunjavaju uvjete 'klik' kemije

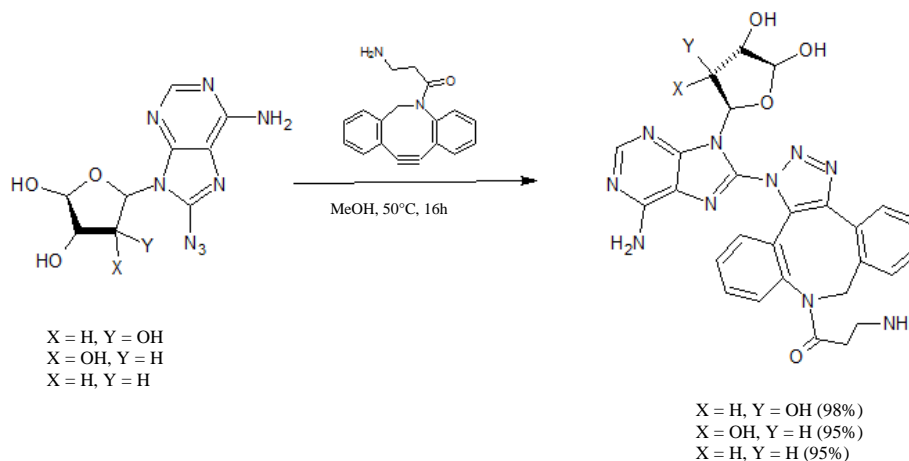
Reakcija Huisgenove 1,3-dipolarne cikloadicije predstavlja "zlatnu" reakciju klik kemije, a njezin mehanizam je otkriven 1960.-ih godina.²¹ Riječ je o azid-alkin cikloadiciji u kojoj se kao katalizator koristi bakar.²² Ova reakcija nije osjetljiva ni na povišene temperature niti na pH. Čisti produkti se izoliraju ekstrakcijom ili filtriranjem. Reakcija je primjenjiva gotovo posvuda i vrlo je pouzdana te ju to čini najboljom reakcijom klik kemije.²¹

Kao primjer klik reakcije valja spomenuti reakciju 8-azidoadenozina i ciklopropilciklooktina (Slika 24). Ova reakcija se može provoditi i u vodenim medijima, a ne zahtijeva povišenu temperaturu. Ekvivalentne količine ovih spojeva otape se u acetonitrilu, reakcija se odvija 3 sata pri sobnoj temperature te nastane 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazol.²³



Slika 24. Klik reakcija 8-azidoadenozina i ciklopropilciklooktina

8-azidoadenozin također reagira i s kompleksnijim ciklooktinom poput dibenzilciklooktina (Slika 25). Reakcijski uvjeti se razlikuju te ova reakcija zahtijeva povišenu temperaturu. Reakcija se odvija preko noći na temperaturi od 50°C u kojoj s terminalnim aminom nastaje kao produkt 1,2,3-triazol.²³ U reakcijama cikloadicije, kao katalizatori najčešće se koriste bakar ili rutenij.²⁴



Slika 25. Klik reakcija 8-azidoadenozina i dibenzilcikloooktina

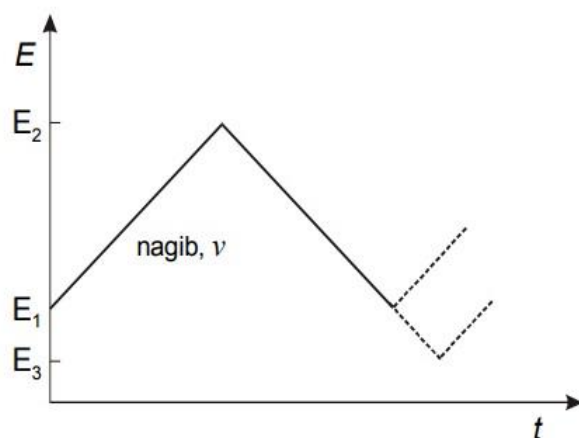
Mnogi triazolni derivati pokazali su širok spektar biološke aktivnosti. Tako većina njih pokazuje antibakterijsko, antifungalno, antituberkulozno, antialergeno, protuupalno, antivirusno i antitumorsko djelovanje, zbog čega se nalaze pri samom vrhu u ispitivanjima razvoja novih lijekova.²⁵

2.5. Ciklička voltometrija

Ciklička voltometrija je elektroanalitička tehnika koja je efikasna kod istraživanja novih sustava a njena se mjerenja temelje na tome da je signal pobude linearno promjenjiv potencijal, a signal odziva struja. Osnovni princip ove tehnike je da se potencijal elektrode mijenja s vremenom.^{26, 27}

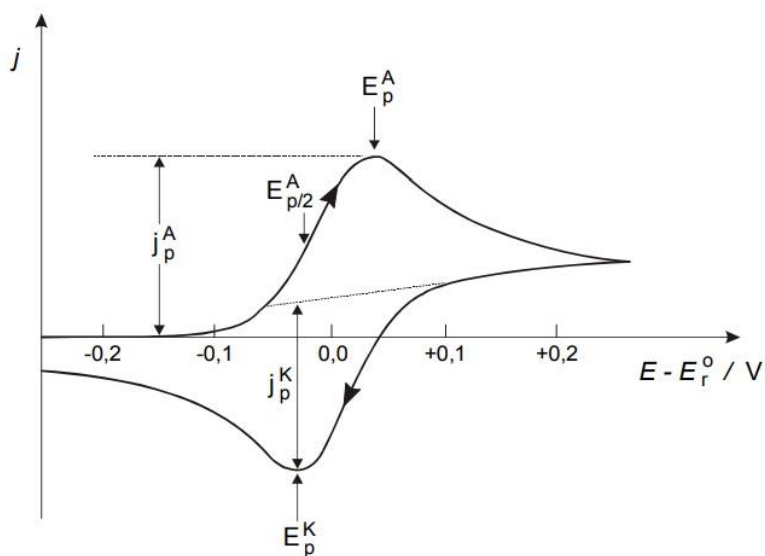
Krivulja pobude potencijal-vrijeme prikazana je na slici 26. Kroz područje potencijala u kojem se odvija reakcija na elektrodi, potencijal se mijenja linearno. Smjer promjene potencijala obrnemo kako bi odredili da li je produkt elektronskog prijelaza stabilan ili da li su reakcijski međuprodukt i završni produkt elektroaktivni. Eksperimentalne varijable koje su specifične za cikličku voltometriju su:

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



Slika 26. Pobuda cikličke voltametrije potencijal-vrijeme

Eksperiment najčešće počinje na potencijalu gdje elektrodne reakcije nema ($j=0$) i zatim se pomiče prema pozitivnim vrijednostima, ako se radi o oksidaciji, odnosno prema negativnim vrijednostima ako se radi o redukciji. Granice potencijala definiraju dopuštene elektrodne reakcije.²⁶ Odziv za reverzibilne reakcije je reverzibilni jednoelektronski prijelaz prikazan na slici 27.

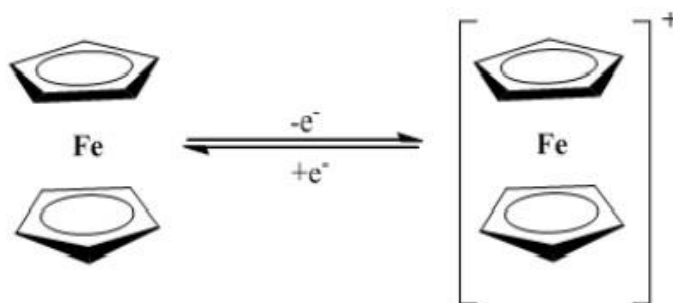


Slika 27. Ciklički voltamogram za reverzibilnu reakciju jednoelektronskog prijelaza

Vrijeme početnog dijela ciklusa $E=E_1 + vt$, dok je za vrijeme povratnog dijela ciklusa $E=E_2 + vt$. Zbog vremenski ovisnih graničnih uvjeta matematički račun je veoma složen. Oblik

voltametrijskog odziva pokazuje da je neovisan o brzini promjene potencijala, ali ne i o vrijednosti gustoća struje.²⁶

Zbog svojih svojstava ferocen je dobar kandidat za elektrokemijska istraživanja, naime on podliježe oksidaciji u kojoj sudjeluje jedan elektron te reverzibilno nastaje ferocenijski kation $\text{Fe}(\text{C}_5\text{H}_5)_2^+$ (slika 28).²⁸



Slika 28. Reverzibilna mono-oksidacija ferocena

Ovaj redoks sustav vrlo je zanimljiv u elektrokemiji zato što se može koristiti za baždarenje instrumentalnog i referentnog potencijala u organskim medijima.²⁹

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Opće napomene

Tijek reakcija praćen je tankoslojnom kromatografijom (TLC). Kao nepokretna faza korištene su pločice Merck 60F-254 prevučene tankim slojem silikagela, a kao eluens je korištena smjesa otapala diklorometan : metanol (CH_2Cl_2 : CH_3OH) u različitim omjerima. Za detekciju komponenata korištena je UV svjetlost valne duljine 254 nm.

Produkti su izolirani i pročišćeni kromatografijom na staklenim kolonama punjenim silikagelom pod utjecajem gravitacije, a kao eluens korištena je smesa otapala diklorometan : metanol (CH_2Cl_2 : CH_3OH).

Struktura dobivenih spojeva potvrđena je ^1H NMR spektroskopijom, a spektri su snimljeni na spektrometru Bruker 300 MHz (Institut "Ruđer Bošković"). Uzorci su otopljeni u $\text{DMSO}-d_6$ i mjereni pri 298 K u NMR cjevčici promjera 5 mm. Kemijski pomaci (δ) u ^1H - NMR spektrima izraženi su u jedinicama ppm (*parts per million*) 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.

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

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

3.2. Priprava spojeva

3.2.1. 9-(Trans-4-brombut-2-en-1-il)-6-klor-7-deazapurin (1)

6-klor-7-deazapurin (0,50 g; 3,26 mmol) otopljen je u dvogrloj tikvici u dimetilformamidu (DMF) (10 mL) uz dodatak natrijevog hidrida (0,13 g; 5,42 mmol). Reakcijska smjesa miješana je jedan sat, uz uvođenje argona na sobnoj temperaturi i zatim je dodan *trans*-1,4-dibrombut-2-en (0,85 g; 3,97 mmol). Reakcijska smjesa miješana je preko noći na sobnoj temperaturi. Napredovanje reakcije praćeno je TLC-om. Nakon završetka reakcije otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂ : MeOH = 60:1). Izolirani su bijeli kristali spoja **1** (3,6 mg; 0,4 %).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8,67 (s, 1H, H-2), 7,80 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H, H-8), 6,70 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H, H-7), 5,63 (m, 1H, H-3'), 5,55 (m, 1H, H-2'), 5,29 (d, *J* = 3,8 Hz, 2H, H-1'), 4,28 (d, *J* = 4,3 Hz, 1H, H-4').

3.2.2. 6-Klor-9-(prop-2-in-1-il)-7-deazapurin (2)

6-klor-7-deazapurin (0,17 g; 1,09 mmol) otopljen je u dvogrloj tikvici u DMF-u (5 mL) uz dodatak natrijevog hidrida (0,087 g; 2,17 mmol) Reakcijska smjesa je miješana na sobnoj temperaturi 60 minuta uz uvođenje argona, a zatim je dodan propargil-bromid (0,17 mL; 1,30 mmol). Reakcijska smjesa miješana je preko noći na sobnoj temperaturi. Napredovanje reakcije praćeno je TLC-om. Nakon završetka reakcije otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂ : MeOH = 60:1). Izolirani su bijeli kristali spoja **2** (20,7 mg; 9,86 %; T.t.:133-134°C).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8,69 (s, 1H, H-2), 7,82 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H, H-8), 6,71 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H, H-7), 5,17 (d, *J* = 2,5 Hz, 2H, H-1'), 3,47 (t, *J* = 2,5 Hz, 1H, H-3').

3.2.3. 6-Klor-9-(prop-2-in-1-il)-7H-purin (3)

6-klorpurin (1,00 g; 6,47 mmol) otopljen je u dvogrloj tikvici u DMF-u (10 mL) uz dodatak natrijevog hidrida (0,39 g; 9,70 mmol). Reakcijska smjesa je miješana 60 minuta uz

uvođenje argona na sobnoj temperaturi, a zatim je dodan propargil-bromid (1,02 mL; 7,76 mmol). Reakcijska smjesa je miješana preko noći na sobnoj temperaturi. Napredovanje reakcije praćeno je TLC-om. Nakon završetka reakcije otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂ : MeOH = 60:1). Izolirani su blijedožuti kristali spoja **3** (92,7 mg; 7,40 %; T.t.:168-170°C).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8,82 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H, H-2), 8,76 (s, 1H, H-8), 5,21 (d, *J* = 2,5 Hz, 2H, H-1'), 3,56 (t, *J* = 2,5 Hz, 1H, H-3').

3.2.4. 2,6-Diklor-9-(prop-2-in-1-il)purin (4a) i 2,6-Diklor-7-(prop-2-in-1-il)purin (4b)

2,6-diklorpurin (1,00 g; 5,29 mmol) otopljen je u dvogrloj tikvici u DMF-u (15 mL) uz dodatak natrijevog hidrida (0,22 g; 5,29 mmol). Reakcijska smjesa je miješana uz uvođenje argona 60 minuta na sobnoj temperaturi, a zatim je dodan propargil-bromid (0,83 mL; 6,35 mmol). Reakcijska smjesa je miješana preko noći na sobnoj temperaturi. Napredovanje reakcije praćeno je TLC-om. Nakon završetka reakcije otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (CH₂Cl₂ : MeOH = 60:1). Izolirani su bijeli igličasti kristali spoja **4** (289,3 mg; 23,98 %; T.t.: 188-190°C).

4a: ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8,79 (s, 1H), 5,19 (d, *J* = 2,5 Hz, 2H), 3,61 (t, *J* = 2,5 Hz, 1H).

4b: ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8,95 (s, 1H), 5,39 (d, *J* = 2,5 Hz, 2H), 3,70 (t, *J* = 2,5 Hz, 1H).

3.2.5. 6-Klor-9-(cis-4-klorbut-2-en-1-il)-7-deazapurin (5)

6-klor-7-deazapurin (0,50 g; 3,26 mmol) otopljen je u dvogrloj tikvici u DMF-u (10 mL) uz dodatak natrijevog hidrida (0,26 g; 6,51 mmol). Reakcijska smjesa je uz uvođenje argona miješana 120 minuta na sobnoj temperaturi, a zatim je dodan *cis*-1,4-diklorbut-2-en (0,43 mL; 3,90 mmol). Reakcijska smjesa je miješana preko noći na sobnoj temperaturi. Napredovanje reakcije praćeno je TLC-om. Nakon završetka reakcije otapalo je upareno, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (početni eluens CH₂Cl₂, zatim CH₂Cl₂ : MeOH = 60:1). Izoliran je žutio-smeđi uljasti spoj **5** (7,6 mg; 0,96 %).

(300 MHz, DMSO) δ 8,65 (s, 1H, H-2), 7,75 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H, H-8), 6,67 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H, H-7), 5,73 (dd, $J = 11,4, 5,4$ Hz, 1H, H-3'), 5,58 (dt, $J = 8,5, 6,9$ Hz, 1H), 4,97 (d, $J = 6,9$ Hz, 2H), 4,21 (d, $J = 5,9$ Hz, 2H).

3.2.6. 6-(2-Ferocenetinil)-9-(prop-2-in-1-il)purin (6)

Spoj **3** (0,05 g; 0,28 mmol) je sušen oko 2 sata na uljnoj vakuum pumpi i zatim otopljen u dvogrloj tikvici u DMF-u (5 mL). Otopini je potom dodan diizopropiletilamin (DIPEA) (0,097 mL; 0,56 mmol), tetrakis(trifelinfosfin)paladij(0) (0,032 g; 0,028 mmol), etinilferocen (0,088 g; 0,42 mmol) i bakrov(I) jodid (0,0107 g; 0,056 mmol). Reakcijska smjesa miješana je 24 sata na sobnoj temperaturi u struji dušika. Napredovanje reakcije praćeno je TLC-om. Nakon završetka reakcije otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a sirova smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom (početni eluens CH_2Cl_2 , zatim $\text{CH}_2\text{Cl}_2 : \text{MeOH} = 80:1$ i $60:1$). Izoliran je smeđi uljasti spoj **6** (2,2 mg; 2,14%).

^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8,85 (s, 1H), 8,77 (s, 1H), 5,39 (s, 3H), 4,60 – 4,58 (m, 2H), 4,36 (d, $J = 3,5$ Hz, 2H), 4,23 (d, $J = 8,7$ Hz, 5H).

3.2.7. 6-klor-9-((4-ferocetil-1,2,3-triazol-1-il)metil)-7-deazapurin (7)

Spoj **2** (0,02 g; 0,10 mmol) je u kvarcnoj kiveti otopljen u DMF-u (1 mL) i smjesi *tert*-butanol:voda (1:1) (0,80 mL). U otopinu je zatim dodana 1M otopina bakrovog(II) sulfata (0,035 mL) i bakar (0,0066 g; 0,10 mmol) te azidoferocen (0,019 g; 0,084 mmol). Kvarcna kiveta stavljena je u mikrovalni reaktor na 80°C tijekom 60 minuta s prethodnim petominutnim zagrijavanjem do željene temperature te desetominutnim hlađenjem na kraju. Nakon 60 minuta napredovanje reakcije provjereno je TLC-om te je reakcija nastavljena u mikrovalnom reaktoru još 60 minuta pri istim intervalima zagrijavanja i hlađenja. Nakon završetka reakcije otapalo je upareno, a sirova smjesa pročišćena kolonskom kromatografijom (početni eluens CH_2Cl_2 , zatim $\text{CH}_2\text{Cl}_2 : \text{MeOH} = 100:1, 80:1$ i $60:1$). Željeni spoj nije izoliran.

3.2.8. 1,1-Bis(4-brom-but-2-en-1-il)ferocen (8)

Ferocen (0,50 g; 2,69 mmol) i tetrametiletildiamin (TMEDA) (0,05 mL, 0,323 mmol) su otopljeni u suhom tetrahidrofuranu (THF) (25 mL) u trogloj tikvici. Reakcijska smjesa je potom ohlađena na -74°C (smjesa suhog leda i acetona) uz miješanje i uvođenje argona. Nakon 15 minuta dodan je litijev diizopropilamid (LDA) (2,69 mL) a nakon 2 sata dodan *trans*-1,4-dibrombut-2-en (1,15 g). Nakon 2,5 sata napredovanje reakcije je praćeno TLC-om (sustav CH_2Cl_2 : MeOH = 40:1), te je zbog prisustva početnog ferocena u reakcijsku smjesu dodana još jedna količina LDA, a nakon 1,5 sat *trans*-1,4-dibrombut-2-en. Reakcijska smjesa je miješana preko noći na sobnoj temperaturi. Zatim suje ponovno dodane iste količine LDA i *trans*-1,4-dibrombut-2-ena budući da je na razvijenoj TLC-pločici (CH_2Cl_2 : MeOH = 40:1) još uvijek bilo neizreagirano ferocena. Reakcijska smjesa je preko noći miješana na sobnoj temperaturi. Potom je otapalo upareno, a sirova smjesa pročišćena kolonskom kromatografijom (početni eluens CH_2Cl_2 , zatim CH_2Cl_2 : MeOH = 60:1). Željeni spoj nije izoliran.

3.3. Ciklička voltametrija

Elektrokemijska ispitivanja provedena su u otopinama uzoraka različitih koncentracija, a kao osnovni elektrolit korišten je 0,1 M LiBF₄ u acetonitrilu. Instrumentacija se sastoji od potencijostata EG&G Princeton Applied Research, detektora frekvencija EG&G Princeton Applied Research, model 1025 (slika 1a), programa za cikličku voltametriju (EG&G Princeton Applied Research, model 270), osobnog računala i elektrokemijske ćelije.



a



b

Slika 1. Potencijostat EG&G Princeton Applied Research, model 263A (a) i troelektrodni sustav (b)

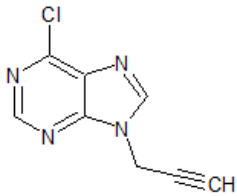
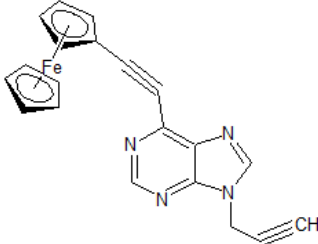
Sva mjerenja su provedena u troelektrodnom sustavu (slika 1b) kojeg čini radna elektroda (Pt disk; $A = 0,07 \text{ cm}^2$), protuelektroda (Pt-lim, $A = 1 \text{ cm}^2$) i referentna elektroda (Ag/AgCl).

Ciklička voltametrija je provedena 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: $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

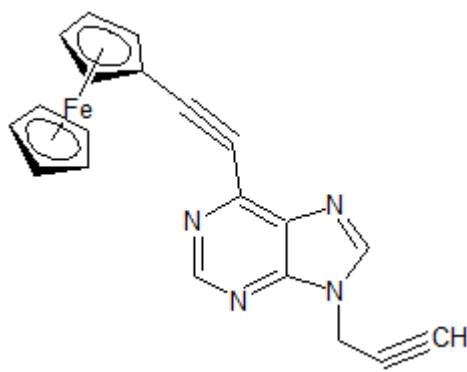
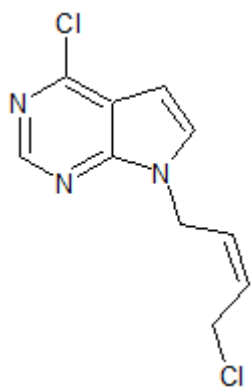
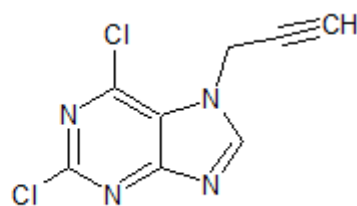
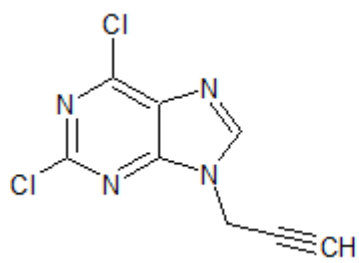
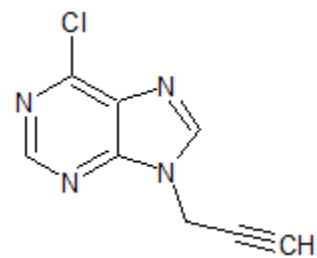
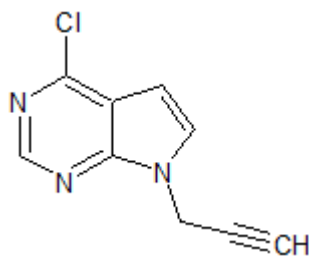
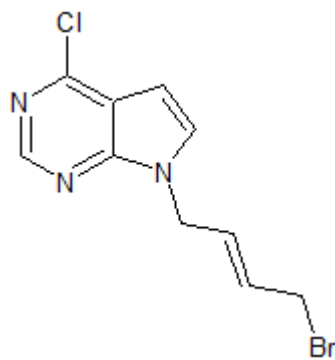
Izmjereni potencijali anodnih i katodnih strujnih vrhova za spojeve **3** i **6** određenih množinskih koncentracija prikazani su u tablici 1.

Tablica 1. Spojevi **3** i **6** s pripadajućim koncentracijama i potencijalima anodnih i katodnih strujnih vrhova

spoj	$c/ \text{mol dm}^{-3}$	E_a/ V	E_k/ V
 <p>3</p>	0,42	-	-
 <p>6</p>	0,58	0,49	0,43

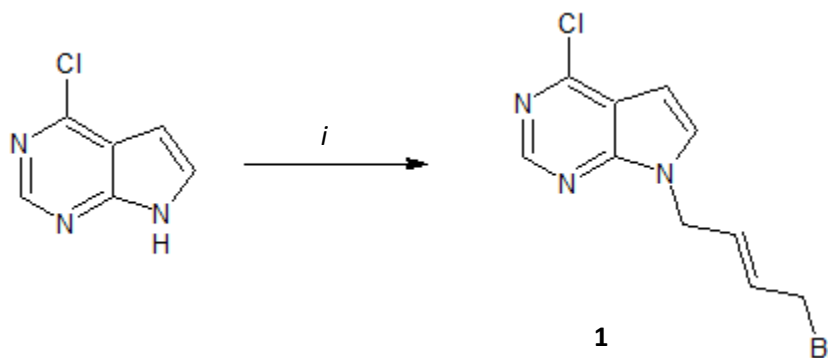
4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Pregled sintetiziranih spojeva



4.2. Sinteze spojeva

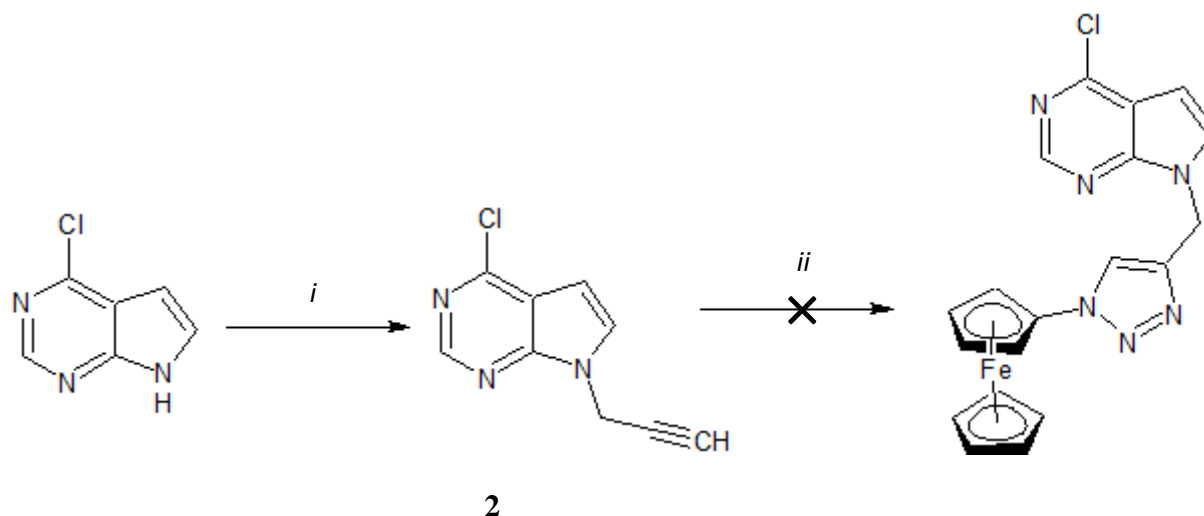
Reakcijom *N*-alkiliranja 6-klor-7-deazapurina s *trans*-1,4-dibrombut-2-enom uz jaku bazu, natrijev hidrid (NaH) u dimetilformamidu (DMF) pripremljen je 9-(*trans*-4-brombut-2-en-1-il)-6-klor-7-deazapurin (**1**) (shema 1) u vrlo niskom iskorištenju (0,4 %). Spoj **1** trebao je poslužiti kao početni prekursor za prevođenje u 9-*trans*-4-azidobutenilni purinski derivat reakcijom s natrijevim azidom, no zbog niskog iskorištenja daljnja reakcija nije provedena.



Shema 1. Sinteza 9-(*trans*-4-brombut-2-en-1-il)-6-klor-7-deazapurina (**1**)

Reagensi i reakcijski uvjeti: (i) DMF/ NaH/ *trans*-1,4-dibrombut-2-en / sobna temp./ preko noći

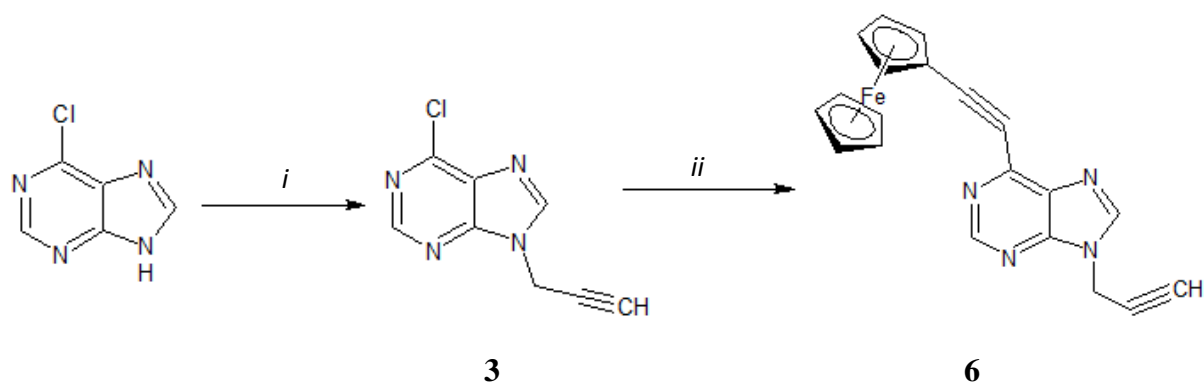
Reakcijom *N*-alkiliranja 6-klor-7-deazapurina s propargil-bromidom uz natrijev hidrid (NaH) kao jaku bazu u dimetilformamidu (DMF) pripremljen je polazni spoj za 'klik' reakciju, 6-klor-9-(prop-2-in-1-il)-7-deazapurin (**2**) (shema 2). 'Klik' reakcija spoja **2** s azidoferoenom potpomognuta mikrovalovima provedena je u DMF-u i smjesi otapala *tert*-butanol:voda (1:1) uz dodatak otopine bakrovog (II) sulfata i bakra kao katalizatorano u reakciji nije sintetiziran ciljani spoj 6-klor-9-((4-ferocenil-1,2,3-triazol-1-il)metil)-7-deazapurin (**7**).



Shema 2. Sinteza 6-klor-9-(prop-2-in-1-il)-7-deazapurina (**2**)

Reagensi i reakcijski uvjeti: (i) DMF/ NaH/ propargil-bromid/ sobna temp./ preko noći
(ii) DMF/ smjesa *tert*-butanol:voda(1:1)/ bakrov(II) sulfat/ Cu/azidoferočen/ 120 min./ 80°C

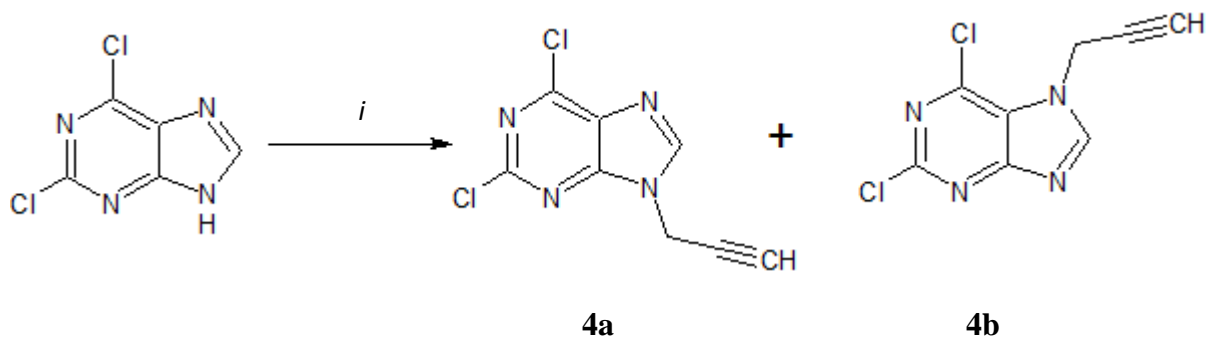
Reakcijom *N*-alkiliranja 6-klorpurina s propargil-bromidom uz jaku bazu (NaH) u dimetilformamidu (DMF) pripravljen je 6-klor-9-(prop-2-in-1-il)-7*H*-purin (**3**). Sonogashira-inom reakcijom 6-klor-9-(prop-2-in-1-il)-9*H*-purina (**3**) s etinilferocenom uz katalitičku količinu tetrakis(trifenilfosfin)paladija [(PPh₃)₄ Pd], bakrov(I) jodid (CuI) i diizopropiletilamin (DIPEA) u DMF-u izoliran je 6-(2-Ferocenetinil)-9-(prop-2-in-1-il)purin (**6**) (shema 3.)



Shema 3. Sinteza 6-(2-Ferocenetinil)-9-(prop-2-in-1-il)purina (**6**)

Reagensi i reakcijski uvjeti: (i) DMF/ NaH/ propargil-bromid/ sobna temp./ preko noći
(ii) DMF/ etinilferocen/ DIPEA/ CuI/ Pd(PPh₃)₄ /sobna temperatura/ 24h

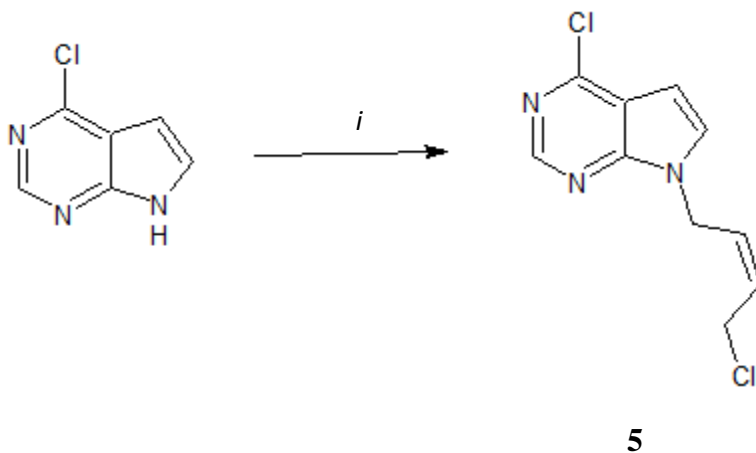
Reakcijom *N*-alkiliranja 2,6-diklorpurina s propargil-bromidom uz jaku bazu, natrijev hidrid (NaH) u dimetilformamidu (DMF) pripravljeni su 2,6-diklor-9-(prop-2-in-1-il)purin (**4a**) i 2,6-Diklor-7-(prop-2-in-1-il)purin (**4b**) (shema 4). Izoliran je čisti *N*-9 regioizomer, te smjesa *N*-9 i *N*-7 regioizomera u omjeru 1:4.



Shema 4. Sinteza 2,6-diklor-9-(prop-2-in-1-il)purin (**4a**) i 2,6-diklor-7-(prop-2-in-1-il)purina (**4b**)

Reagensi i reakcijski uvjeti: (i) DMF/ NaH/ propargil-bromid/ sobna temp./ preko noći

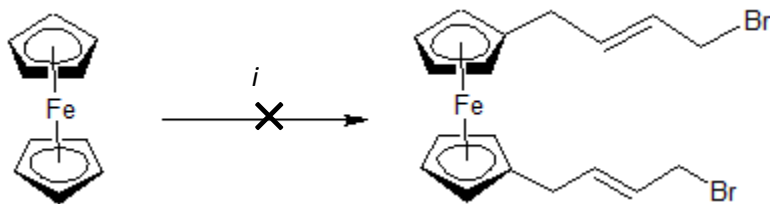
Reakcijom 6-klor-7-deazapurina i *cis*-1,4-diklorbut-2-ena uz jaku bazu (NaH) u dimetilformamidu (DMF) pripravljen je 6-klor-9-(*cis*-4-klorbut-2-en-1-il)-7-deazapurin (**5**) (shema 5).



Shema 5. Sinteza 6-klor-9-(*cis*-4-klorbut-2-en-1-il)-7-deazapurina (**5**)

Reagensi i reakcijski uvjeti: (i) DMF/ NaH/ *cis*-1,4-diklorbut-2-en/ sobna temp./ preko noći

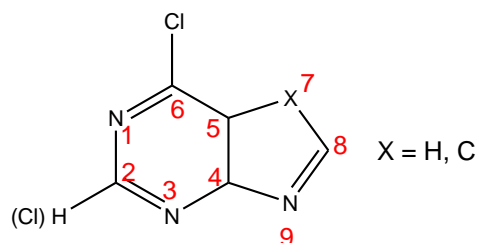
Reakcija bromiranja ferocena s *trans*-1,4-dibrombut-2-enom uz tetrametiletildiamnin (TMEDA) i litijev diizopropilamid (LDA) u suhom tetrahidrofuranu (THF) nije dala željeni 1,1-bis(4-brom-2-buten)ferocen (**8**) (shema 6).



Shema 6. Sinteza 1,1-bis(4-brombut-2-en)ferocena (**8**)

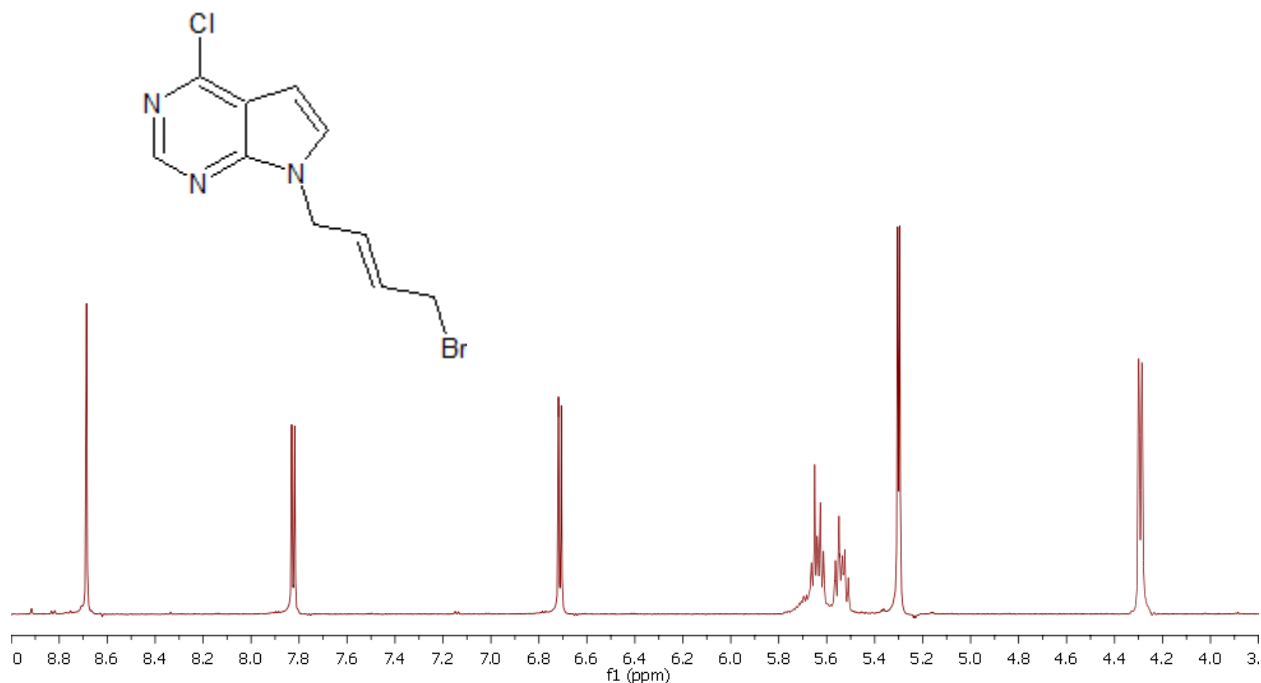
Reagensi i reakcijski uvjeti: (i) THF/ TMEDA/ LDA/ *trans*-1,4-dibrom-2-buten/ -74°C/ sobna temp. / preko noći

4.3. Analiza ^1H NMR spektara



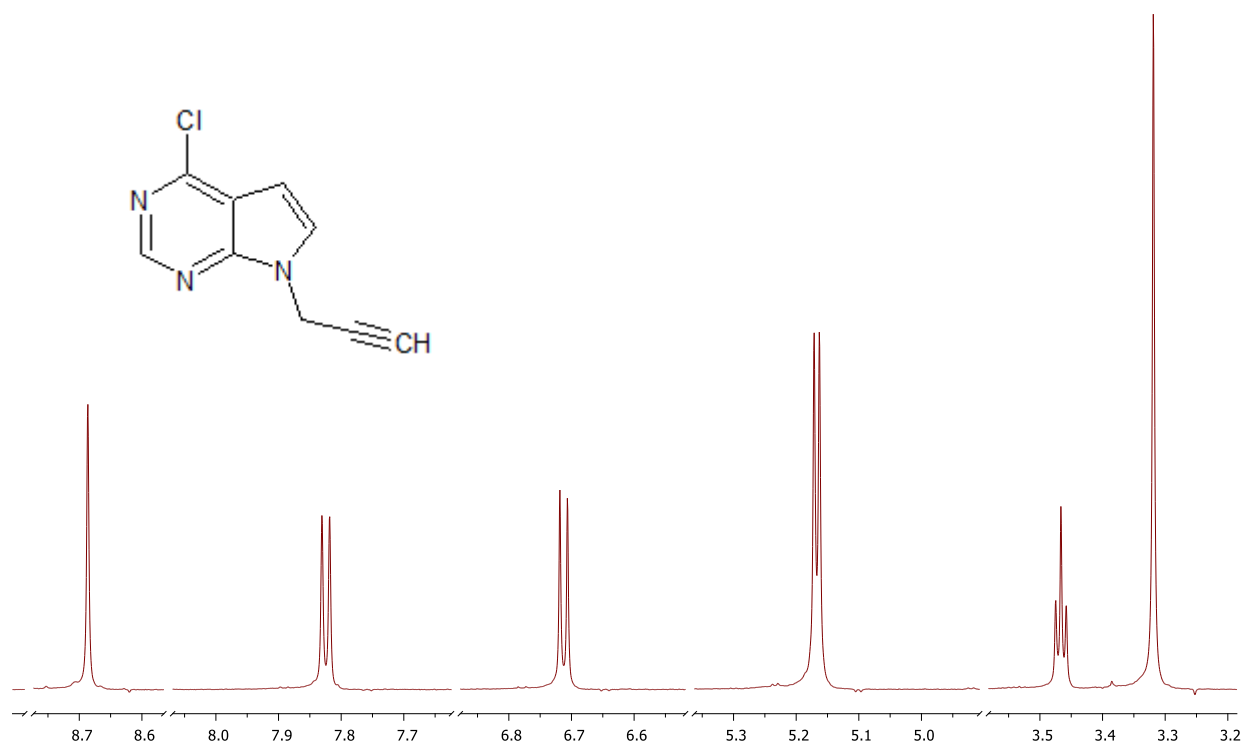
U ^1H NMR spektrima purinskih derivata **1-6** (slike 2-8) prisutni su signali za protone purinskog prstena (H-2 i H-8) u aromatskom dijelu spektra i signali za protone pobočnih lanaca u alifatskom dijelu spektra, čime je potvrđeno uvođenje butenilnih ili propargilnih supstituenata na purinski prsten.

^1H NMR spektar spoja **1** (slika 2) pored signala za protone 7-dezapurinskog prstena: singlet intenziteta 1H na 8,67 ppm za H-2, dublet intenziteta 1H na 7,80 ppm za H-8 i dublet intenziteta 1H na 6,70 ppm za H-7, pokazuje i signale za protone butenilnog supstituenta: multiplieti intenziteta 1H na 5,63 i 5,55 ppm za vinilne protone H-3' i H-2', dubleti intenziteta 2H na 5,29 i 4,28 ppm za metilenske protone H-1' i H-4'.



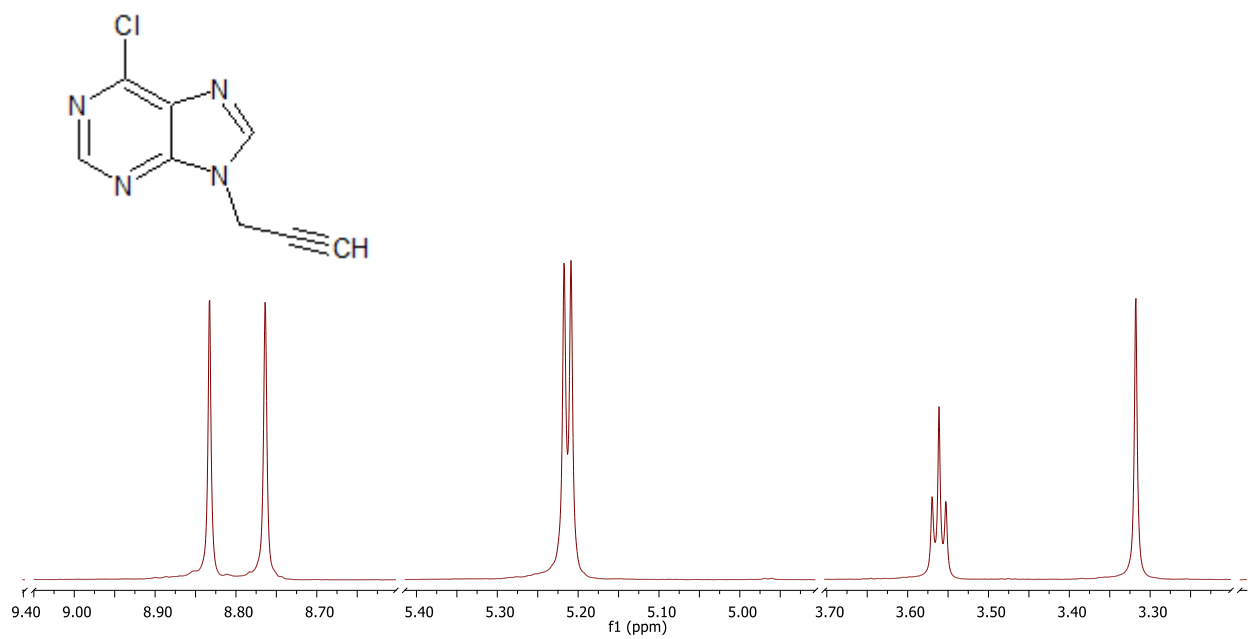
Slika 2. ^1H NMR spektar spoja **1**

U ^1H NMR spektru 6-klor-9-propinil-7-deazapurina (**2**) (slika 3) prisutni su u aromatskom dijelu spektra signali za protone 7-deazapurinskog prstena: singlet intenziteta 1H na 8,69 ppm za H-2, dublet intenziteta 1H na 7,82 ppm za H-8 i dublet intenziteta 1H na 6,71 ppm za H-7, te signali za protone propargilnog supstituenta: dublet intenziteta 2H na 5,17 ppm za metilenske protone H-1' i triplet intenziteta 1H za metinski proton H-3' na 3,47 ppm.



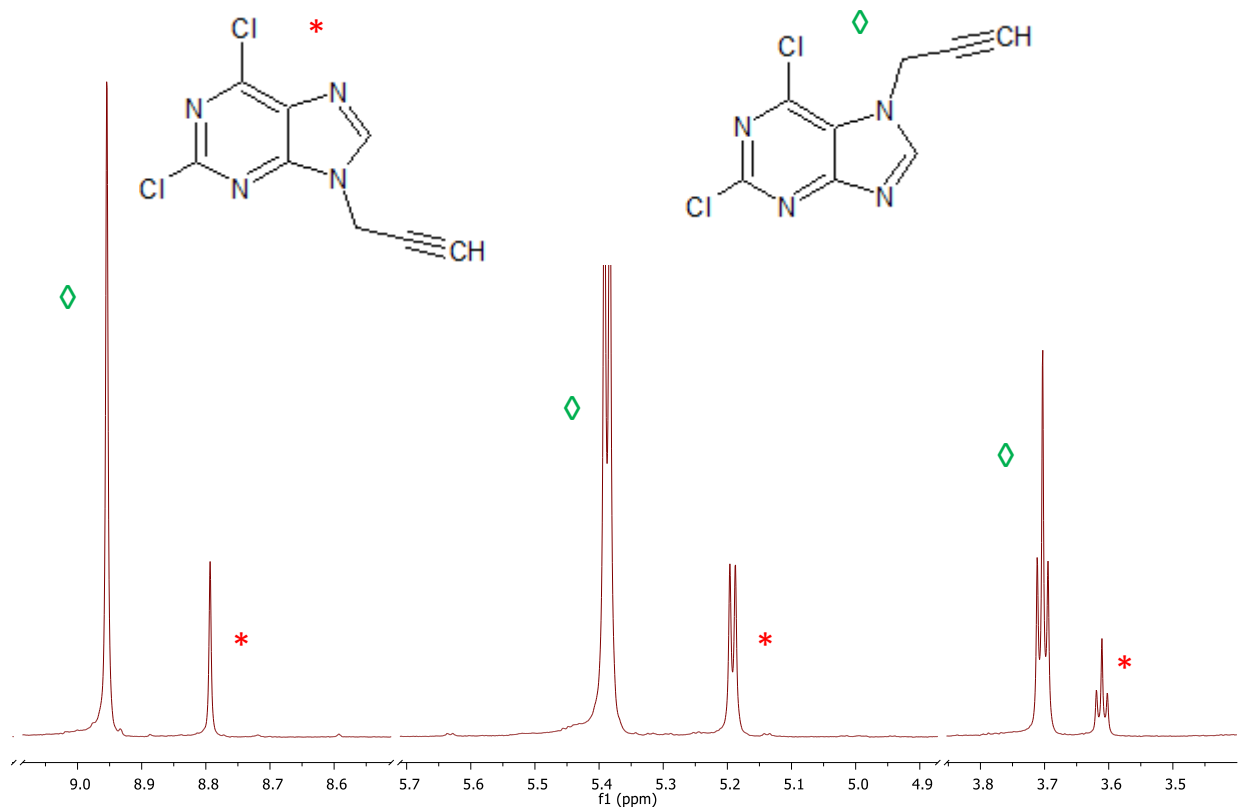
Slika 3. ^1H NMR spektar spoja **2**

^1H NMR spektar 6-klor-9-propinilpurina (**3**) (slika 4) sadrži signale za protone purinskog prstena: singlet intenziteta 1H na 8,82 ppm za H-2 i singlet intenziteta 1H na 8,76 ppm za H-8, te signale za protone propargilnog supstituenta: dublet intenziteta 2H na 5,21 ppm za metilenske protone H-1' i triplet intenziteta 1H za metinski proton H-3' na 3,56 ppm.

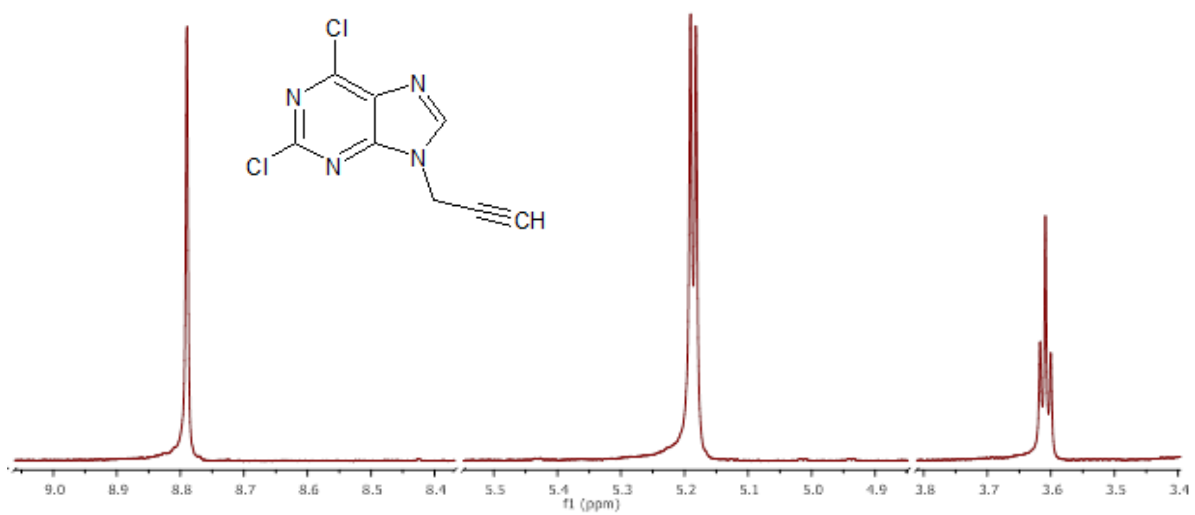


Slika 4. ^1H NMR spektar spoja **3**

^1H NMR spektri regioizomera *N*-9 (**4a**) i *N*-7 (**4b**) (slike 5 i 6) pokazuju signal za proton purinskog prstena H-8 i u alifatskom dijelu spektra signale za protone propargilnog supstituenta: dublet na ~5 ppm za metilenske protone H-1' i triplet na ~3,5 ppm za metinski proton H-3'.

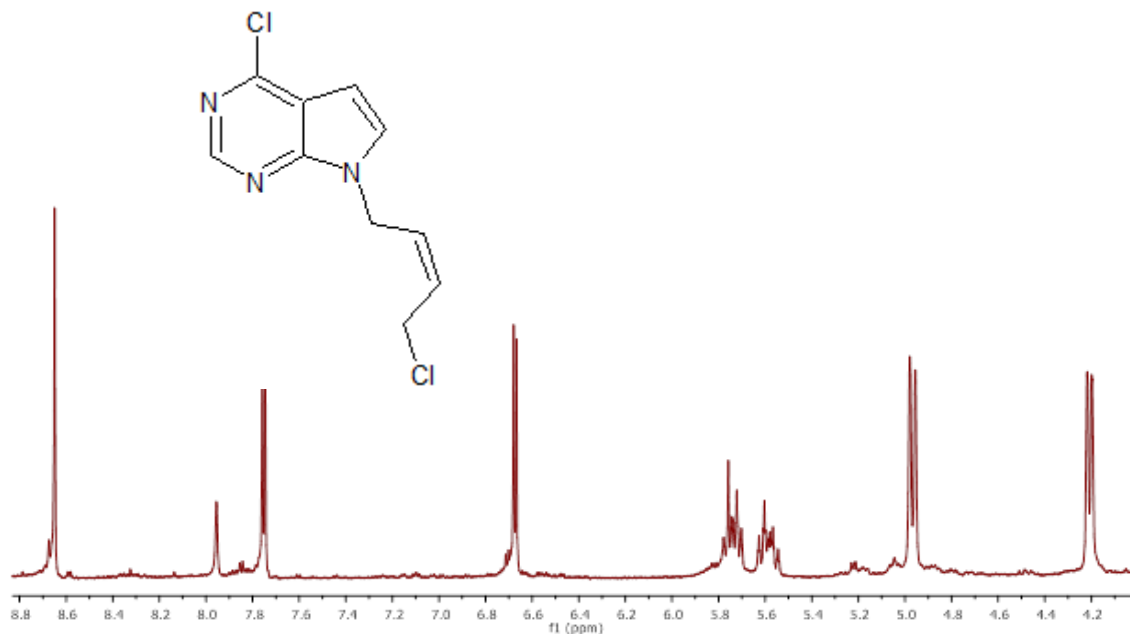


Slika 5. ¹H NMR spektar spoja **4a** (N-9 regioizomer) i **4b** (N-7 regioizomer)



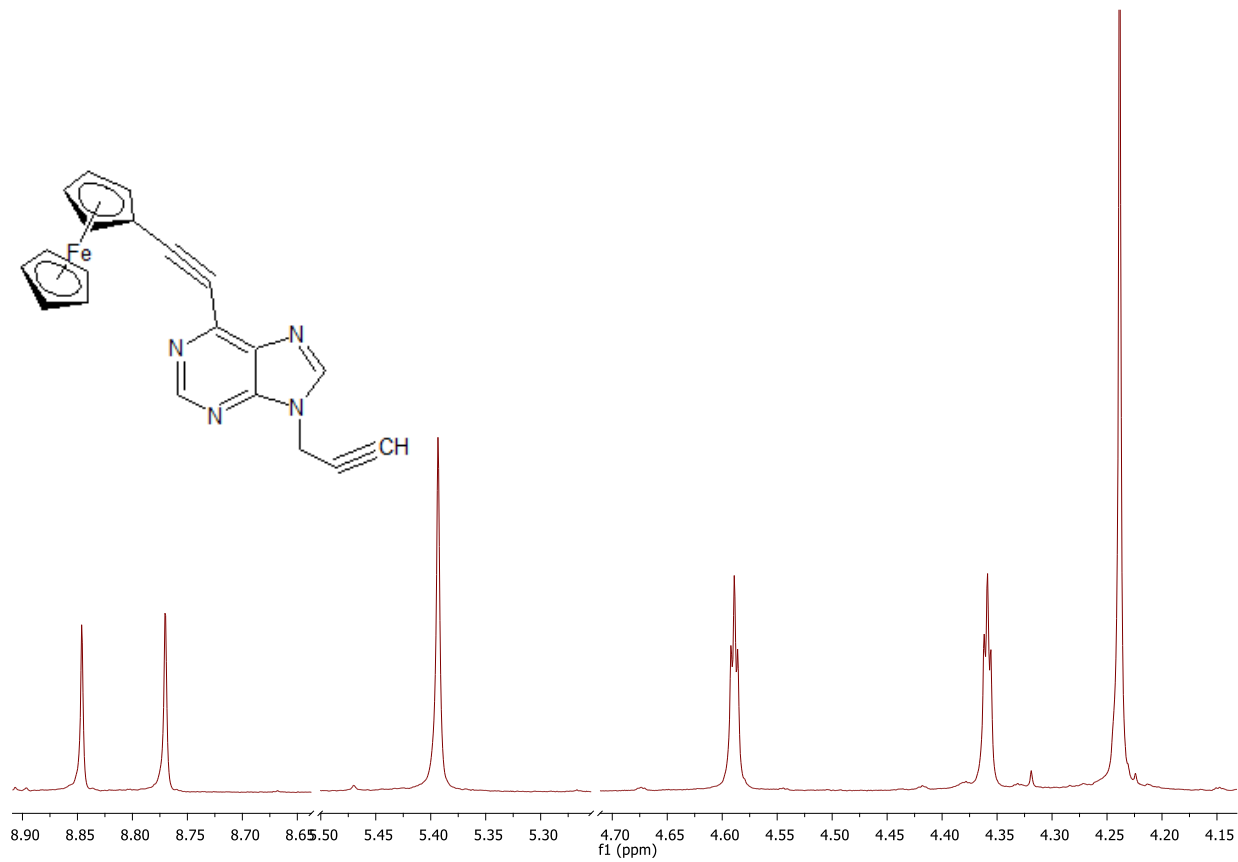
Slika 6. ¹H NMR spektar spoja **4a** (N-9 regioizomer)

U ^1H NMR spektru spoja **5** (slika 7) prisutni su u aromatskom dijelu spektra signali za protone 7-deazapurinskog prstena: singlet intenziteta 1H na 8,65 ppm za H-2, dublet intenziteta 1H na 7,75 ppm za H-8 i dublet intenziteta 1H na 6,67 ppm za H-7, te signali za protone propargilnog supstituenta u alifatskom dijelu spektra: dublet dubleta intenziteta 1H na 5,73 ppm za H-3', dublet tripleta intenziteta 1H na 5,58 ppm za H-2', dubleti intenziteta 2H na 4,97 i 4,21 ppm za metilenske protone H-1' i H-4'.



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

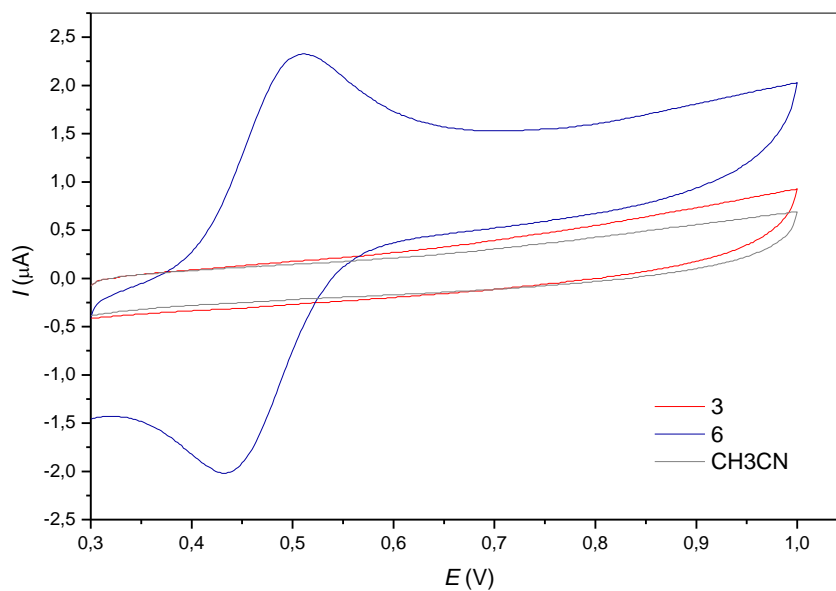
Usporedbom ^1H NMR spektara spojeva **3** (slika 4) i **6** (slika 8) može se zaključiti da je u položaj C-6 purinskog prstena Sonogashira-inom reakcijom spoja **3** s etinilferocenom uveden etinilferocenski prsten. ^1H NMR spektar spoja **6** pored signala prisutnih u spektru spoja **3** sadrži i signale za protone dvaju ciklopentenskih prstenova ferocena na 4.60–4.23 ppm.



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

4.4. Analiza cikličkih voltamograma

Cikličkom voltametrijom je ispitano elektrokemijsko ponašanje novosintetiziranih spojeva **3** i **6**, a odziv je prikazan na slici 9. Iz cikličkog voltamograma ferocenskog derivata **6** i polaznog spoja **3** u $0,1 \text{ mol dm}^{-3} \text{ LiBF}_4$ u acetonitrilu vidljivo je da se strujni vrh spoja **6** u polaznom dijelu cikličkog voltamograma nalazi na $0,49 \text{ V}$, a povratni strujni vrh na $0,43 \text{ V}$. Spoj **3** ne pokazuje značajnu razliku u odnosu na odziv dobiven u osnovnom elektrolitu, dok spoj **6** pokazuje dobra oksido-redukcijska svojstva.



Slika 9. Ciklički voltamogram spojeva **3** i **6** u $0,1 \text{ mol dm}^{-3} \text{ LiBF}_4$ u acetonitrilu

5. ZAKLJUČCI

- Reakcijom *N*-alkiliranja 6-klor-7-deazapurina s *trans*-1,4-dibrombut-2-enom ili *cis*-1,4-diklorbut-2-enom i NaH kao bazom, sintetizirani su 9-(*trans*-4-brombut-2-en-1-il)-6-klor-7-deazapurin (**1**) i 6-klor-9-(*cis*-4-klorbut-2-en-1-il)-7-deazapurin (**5**).
- 6-Klor-9-(prop-2-in-1-il)-7-deazapurin (**2**) pripremljen je reakcijom 6-klor-7-deazapurina s propargil-bromidom i NaH kao bazom.
- Reakcijom *N*-alkiliranja 6-klorpurina s propargil-bromidom i NaH kao bazom sintetiziran je 6-klor-9-(prop-2-in-1-il)-9*H*-purin (**3**).
- Reakcijom *N*-alkiliranja 2,6-diklorpurina s propargil-bromidom i NaH kao bazom, sintetizirani su propargilni *N*-9 i *N*-7 regioizomeri 2,6-diklorpurina (**4a** i **4b**) u omjeru 1:4.
- Sonogashira-inom reakcijom spoja **3** s etinil-ferocenom kao termalnim alkinom sintetiziran 6-(2-Ferocenetinil)-9-(prop-2-in-1-il)purin (**6**).
- Strukturna karakterizacija novosintetiziranih spojeva provedena je ¹H NMR spektroskopijom.
- Elektrokemijska ispitivanja provedena cikličkom voltametrijom pokazuju da novosintetizirani spoj **6**, hibrid purina i ferocena pokazuje dobra oksido-redukcijska svojstva.

6. LITERATURA

1. Mintas, M., Raić-Malić, S., *Medicinska kemija*, Medicinska naklada, Zagreb, 2009., 28-30; 393.
2. Akhtar, J., Khan, A.A., Ali, Z., Haider, R., Shahar Yar, M., Structure-activity relationship (SAR) study and design strategies of nitrogencontaining heterocyclic moieties for their anticancer activities, , *Eur. J. Med. Chem*, **125** (2016) 143.
3. Fouda, M.F.R., Abd-Elzaher, M.M., Abdelsamaia, R.A., Labib, A.A., On the medicinal chemistry of ferrocene, *Appl. Organometal. Chem.*, **21** (2007) 613.
4. Papaik, I., Priprema i karakterizacija ferocenoil uracila, Završni rad, 2015
5. Stipaničev, N., Regioselektivna sinteza 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazola, Završni rad, 2015.
6. Seela, F., Feiling, E., Gross, J., Hillenkamp, F., Ramzaeva, N., Rosemeyer, H., Zulauf, M., Fluorescent DNA: the development of 7-deazapurine nucleoside triphosphates applicable for sequencing at the single molecule level, *J. Biotechnol*, **58** (2001) 269.
7. Cristalli, G., Costanzi, S., Lambertucci, C., Taffi, S., Vittori, S., Volpini, R., Purine and deazapurine nucleosides: synthetic approaches, molecular modelling and biological activity, *Il farmaco*, **58** (2003) 193.
8. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4486920/> ; pristup: 11.7.2017. (12:30)
9. Tangeda S.J., Garlapati, A., Synthesis of new pyrrolo[2,3-d]pyrimidine derivatives and evaluation of their activities against human colon cancer cell lines, *Eur. J. Med. Chem*, **45** (2010) 1453.

10. Tumkevicius, S., Dodonova, J., Functionalization of pyrrolo[2,3-d]pyrimidine by palladium-catalyzed cross-coupling reactions, *Chem. Heterocyc. Compd.*, **48** (2012) 258.
11. Jung, M.H., Oh C.H., Synthesis and Antiproliferative Activities of Pyrrolo[2,3-d]pyrimidine Derivatives for Melanoma Cell, *Bull. Korean Chem. Soc.*, Vol. **29** (2008) 2231.
12. Rapić, V., Čakić Semenčić, M., Organometalna i bioorganometalna kemija – ferocen i metalni karbonili, *Kem. Ind.*, **60** (2011) 61.
13. Žabić, M., Kukrić, Z., Topalić-Trivunović, Lj., Ispitivanje uticaja ferocena i njegovih derivata na aktivnost proteolitičkih enzima prisutnih u lizatu *E.Coli*, *Glasnik hemičara, tehnologa i ekologa Republike Srpske*, **9** (2013) 11.
14. Kocsis, L., Szabó, I., Bősze, S., Jernei, T., Hudecz, F., Csámpai, A., Synthesis, structure and in vitro cytostatic activity of ferrocene - Cinchona hybrids, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **26** (2015) 946.
15. Biot, C., Delhaes, L., Maciejewski, L.A., Mortuaire, M., Camus, D., Dive, D., Brocard J.S., Synthetic ferrocenic mefloquine and quinine analogues as potential antimalarial agents, *Eur. J. Med. Chem.* **35** (2000) 707.
16. Ornelas, C., Application of ferrocene and its derivatives in cancer research, *New J. Chem.*, **35** (2011) 1973.
17. Batchu V.R., Subramanian V., Parasuraman K., Swamy N.K., Kumar S., Pal M., *Nanocatalysis: Synthesis and Applications*, Hoboken, New Jersey, 2013.

18. Sonogashira, K.; Tohda Y.; Hagihara N., A convenient synthesis of acetylenes: catalytic substitutions of acetylenic hydrogen with bromoalkenes, iodoarenes and bromopyridines *Tetrahedron Lett.* **50** (1975) 4467.
19. Chinchilla, R.; Nájera C., The Sonogashira Reaction: A Booming Methodology in Synthetic Organic Chemistry, *Chemical Reviews.* **107** (2007) 874.
20. Ibrahim, N., Chevot, F., Legraverend, M., Regioselective Sonogashira cross-coupling reactions of 6-chloro-2,8-diiodo-9-THP-9H-purine with alkyne derivatives, *Tetrahedron Lett.*, **52** (2011) 305.
21. Agalave, S.G., Maujan, S.R., Pore, V.S., Click Chemistry: 1,2,3-triazole as pharmacophore, *Chem Asian J.*, **6** (2011) 2696.
22. Chu, C.K., *Antiviral Nucleosides: Chiral Synthesis and Chemotherapy*, Elsevier, Amsterdam, Boston, 2003.
23. Zayas, J., Annoual, M., Das, J.K., Felty, Q., Gonzalez, W.G., Miksovska, J., Sharifai, N., Chiba, A., Wnuk, S.F., Strain Promoted Click Chemistry of 2- or 8-Azidopurine and 5-Azidopyrimidine Nucleosides and 8-Azidoadenosine Triphosphate with Cyclooctynes. Application to Living Cell Fluorescent Imaging, *Bioconjug Chem.*, **26** (2015) 1519.
24. Lauria, A., Delisi, R., Mingoia, F., Terenzi, A., Martorana, A., Barone, G., Almerico, A.M., 1,2,3-Triazole in Heterocyclic Compounds, Endowed with Biological Activity, through 1,3-Dipolar Cycloadditions, *Eur. J. Org. Chem.*, **58** (2014) 3289.
25. Zhang, S.Y., Fu, D.J., Yue, X.X., Liu, Y.C., Song, J., Sun, H.H., Liu, H.M., Zhang, Y.B., Relationships of Novel Chalcone-1,2,3-triazole-azole Derivates as Antiproliferative Agents, *MDPI*, **21** (2016) 653.
26. Metikoš-Huković, M., *Elektrokemija*, Zagreb, 2000., 315.

27. Gospić, E.A., Elektrokemijska detekcija antioksidansa na elektrodi od grafitne paste s nanočesticama titan dioksida, Diplomski rad, 2015.
28. Neghmouche, N.S., Lanez, T., Electrochemical properties od ferrocene in aqueous and organic mediums at glassy carbon electrode, *URP Journals*, **1** (2013) 1.
29. Tsierkezos, N.G., Cyclic Voltammetric Studies of Ferrocene in Nonaqueous Solvents in the Temperature Range from 248.15 to 298.15 K, *J. Solution Chem.*, **36** (2007) 289.
30. Turk, S.R., Shipman, C., Nassiri, R., Genzlinger, G., Krawczyk, S.H., Townsend, L.B., a Drach, J.C., Pyrrolo[2,3-d]pyrimidine nucleosides as inhibitors of human cytomegalovirus, *Antimicrob. agents chemother.*, **31** (1987) 544.
31. H. Kasai, H., Ohashi, Z., Harada, F., Nishimura, S., Oppenheimer, N.J., Crain, P.F., Liehr, J.G., Von Minden, D.L., McCloskey, J.A., Structure of the modified nucleoside Q isolated from *Escherichia coli* transfer ribonucleic acid. 7-(4,5-cis-Dihydroxy-1-cyclopenten-3-ylaminomethyl)-7-deazaguanosine, *Biochemistry*, **14** (1975) 4198.
32. Tanaka, N.; Tsun Wu, R.; Okabe, T.; Yamashita, H.; Shimazu, A.; Nishimura, T., Cadeguomycin, a novel nucleoside analog antibiotic, *J. Antibiot.*, **5** (1982) 272.

