

1,2,3-triazolom premošteni konjugati kumarina i ferocena: sinteza i spektroskopska karakterizacija

Majić, Mara

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:149:406500>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-24**



Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I
TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ**

Mara Majić

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2017.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I
TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ**

Mara Majić

**1,2,3-TRIAZOLOM PREMOŠTENI KONJUGATI
KUMARINA I FEROCENA: SINTEZA I
SPEKTROSKOPSKA KARAKTERIZACIJA**

ZAVRŠNI RAD

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

Članovi ispitnog povjerenstva:

1. Izv. prof. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu
2. Izv. prof. dr. sc. Marijana Hranjec, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu
3. Izv. prof. dr. sc. Danijela Ašperger, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

Zagreb, rujan 2017.

ZAHVALE

Zahvaljujem se mentorici i profesorici Tatjani Gazivoda Kraljević na predloženoj temi, korisnim savjetima i stručnom vođenju.

Zahvaljujem se i mag. Appl. Chem. Mateji Belovari na velikoj pomoći, susretljivosti i dobroj volji s kojom je dijelila znanje tijekom izrade eksperimentalnog dijela i pisanju rada.

Zahvaljujem se i svim djelatnicima Zavoda za organsku kemiju na ugodnoj radnoj atmosferi i kolegijalnosti.

Naposlijetku bih se zahvalila obitelji i bližnjima na podršci tijekom cijelog obrazovanja.

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

U ovom radu opisana je sinteza derivata kumarina i ferocena premoštenih 1,2,3-triazolnim prstenom. Perkinovom reakcijom pripremljen je derivat kumarina **1**, koji je potom *in situ* s NaN_3 preveden u 3-azido-4-hidroksikumarin (**2**). Knoevenagel-ovom reakcijom je sintetiziran 7-hidroksi-4-klormetilkumarin (**4**), koji je s NaN_3 *in situ* preveden u 4-azidometilni derivat kumarina **5**. *O*-alkiliranjem spoja **2** s propargil-bromidom uz K_2CO_3 sintetiziran je 3-azido-7-*O*-propargilkumarin (**8**). Klik reakcijom kataliziranom bakrom azidokumarina **2**, **5**, **8** i 4-azidometil-7-metilkumarina s etinilferocenom pripremljeni su derivati kumarina i ferocena premošteni 1,2,3-triazolom (**3**, **6**, **7** i **9**).

Strukturna i spektroskopska karakterizacija sintetiziranih spojeva provedena je ^1H NMR, UV/Vis i fluorimetrijskom spektroskopijom.

Elektrokemijska ispitivanja odabranih spojeva provedena su cikličkom voltametrijom.

Ključne riječi: kumarin, ferocen, 1,2,3-triazol, klik kemija

SUMMARY

This paper describes synthesis of coumarin derivatives and ferrocene linked through 1,2,3-triazole ring. Coumarin derivative **1** was prepared by Perkin reaction, which gave by *in situ* reaction with NaN_3 3-azido-4-hydroxycoumarin (**2**). 4-Chloromethyl-7-hydroxycoumarin (**4**) was synthesized by Knoevenagel reaction, which was then converted *in situ* to 4-azidomethyl coumarin derivative (**5**) with NaN_3 . *O*-alkylation reaction of compound **2** with propargyl bromide in the presence of K_2CO_3 afforded 3-azido-7-*O*-propargylcoumarin (**8**). "Click" reaction catalyzed with Cu of azidocoumarines **2**, **5**, **8** and 4-azidomethyl-7-methylcoumarin with ethynylferrocene gave coumarin and ferrocene derivatives bridged by 1,2,3-triazole ring (**3**, **6**, **7** and **9**).

Structural characterization of synthesized compounds was accomplished using ^1H NMR, UV/Vis and fluorimetric spectroscopy.

Electrochemical evaluation of corresponding compounds are carried out by cyclic voltammetry.

Key words: coumarin, ferrocene, 1,2,3-triazole, click chemistry

SADRŽAJ RADA

| | |
|--|----|
| 1. UVOD..... | 1 |
| 2. OPĆI DIO | |
| 2.1. Kumarini..... | 4 |
| 2.1.1. Podjela kumarina..... | 5 |
| 2.1.2. Kemija kumarina..... | 6 |
| 2.1.3. Sinteza kumarina..... | 7 |
| 2.1.4. Biološka aktivnost derivata kumarina..... | 10 |
| 2.2. Ferocen..... | 14 |
| 2.2.1. Kemija ferocena..... | 15 |
| 2.2.2. Sinteza ferocena..... | 16 |
| 2.2.3. Biološko djelovanje ferocenskih derivata..... | 17 |
| 2.3. 1,2,3-Triazoli..... | 18 |
| 2.3.1. Klik kemija..... | 19 |
| 2.4. Ciklička voltometrija..... | 21 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO | |
| 3.1. Opće napomene..... | 24 |
| 3.2. Pregled sintetiziranih spojeva..... | 25 |
| 3.3. Sinteze spojeva..... | 27 |
| 3.4. Ciklička voltometrija..... | 31 |
| 4. REZULTATI I RASPRAVA | |
| 4.1. Sinteze spojeva..... | 34 |
| 4.2. Strukturna karakterizacija spojeva ^1H NMR spektroskopijom..... | 38 |
| 4.3. Spektroskopska karakterizacija spojeva UV/Vis i fluorimetrijskom spektroskopijom..... | 43 |
| 4.4. Analiza cikličkih voltamograma..... | 46 |
| 5. ZAKLJUČCI..... | 48 |
| 6. LITERATURA..... | 50 |
| 7. ŽIVOTOPIS..... | 52 |

1. UVOD

Osim što je neophodna za funkcioniranje ljudskog organizma, hrana je oduvijek čovjeku služila i kao lijek. Različite bolesti, kao i danas, liječile su se pripravcima raznovrsnih biljaka koje imaju različita blagotvorna djelovanja. Jedina razlika je ta što sada znamo o kojim tvarima govorimo kada je riječ o učincima na ljudsko zdravlje. Kumarin i njegovi derivati otkriveni su izolacijom iz biljaka, no do danas su razvijene brojne klasične i kombinatorne metode i sintetski putevi za njihovu pripravu. Na sve veću popularnost kumarina u organskoj sintezi utječu brojni čimbenici, no najvažnije je što pokazuje različite biološke aktivnosti koje omogućuju terapijsko djelovanje.¹ Strukturna svojstva kumarina, odnosno njihova fizikalno-kemijska svojstva definiraju opseg biološke aktivnosti koju pokazuju. Primjerice, slobodna hidroksilna skupina vezana za položaj C-6 kumarinske jezgre odgovorna je za antifungalno djelovanje, dok je slobodna hidroksilna skupina na C-7 atomu ugljika važna za antibakterijsku aktivnost. Derivati kumarina poznati su po protuupalnom, antioksidativnom i antikancerogenom djelovanju.² S druge strane, uzmu li se jedinstvena kemijska i spektroskopska svojstva organometalnih spojeva poput ferocena koji se mogu inkorporirati u biomolekule i na taj način omogućiti jednostavniju alternativu radioaktivnim markerima, otvara se širok spektar za primjenu derivata kumarina i ferocena u medicini, farmaciji, industriji i drugim granama.³

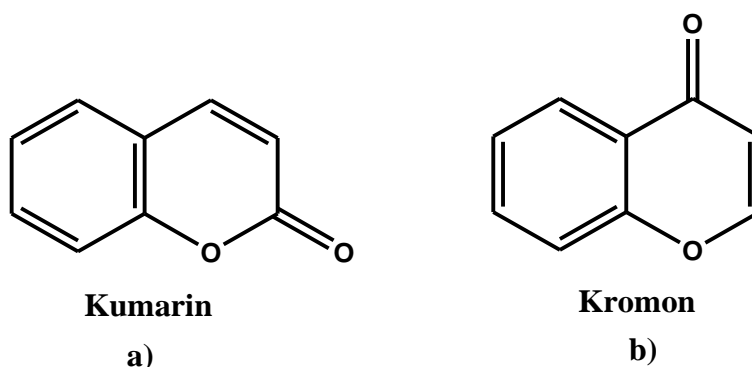
Feroceni se ugrađuju u brojne biomolekule poput aminokiselina i peptida, steroida, šećera i dr. Zbog povoljnih redoks svojstava koje imaju zahvaljujući Fe(III) ionu željeza te specifičnoj strukturi lako vezuju fluorofore iz svoje sredine te služe kao biosenzori.

Biološki aktivni spojevi koji u svojoj strukturi imaju 1,2,3-triazolni prsten također pokazuju biološka djelovanja, a 1,2,3-triazolni skelet molekule može biti supstituiran, ugrađen u heterocikl ili služiti kao prenosnica između dva različita dijela molekule. 1,2,3-triazolni prsten obično se sintetizira Huisgenovom reakcijom, odnosno 1,3-dipolarnom cikloadicijom u bakar kao katalizator. Huisgenova reakcija spada u područje klik kemije.⁴

2. OPĆI DIO

2.1. Kumarini

Kumarini su prirodni spojevi biljnog podrijetla. Pronalazimo ih u sjemenkama, korijenu, listovima i stabljici biljaka premda ih najviše ima u cvjetovima i plodu same biljke. Pripadaju spojevima nazvanima benzopironi (1,2-benzopironi odnosno 2*H*-1-benzopiran-2-oni), koji su široko zastupljeni u biljnom svijetu, no mogu biti i sintetski pripremljeni. Benzopironi su po strukturi heterocikli s atomom kisika, nastali kondenzacijom pironskog prstena i benzenske jezgre. Razlikujemo dvije vrste benzopirona ovisno o položaju karbonilne skupine na pironskom prstenu. To su benzo- α -pironi (kumarini) i benzo- γ -pironi (kromoni) (slika 1.).⁵

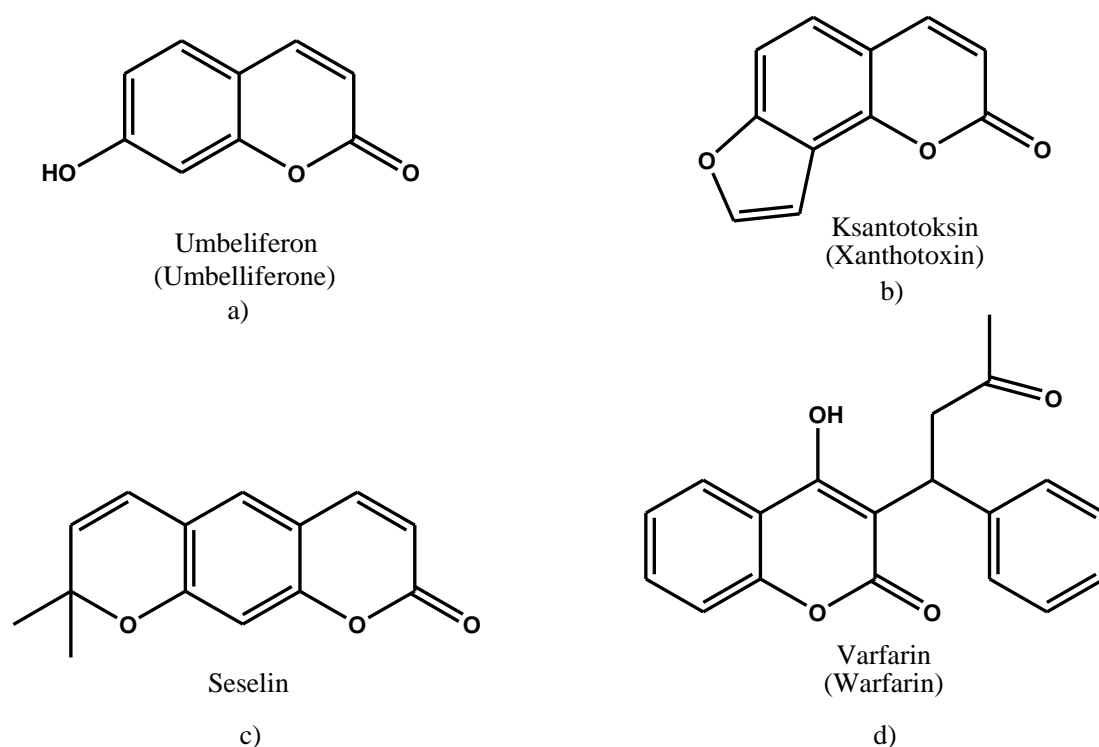


Slika 1. Strukture benzopirona

Kumarin (1,2-benzopiron) izvorna je i najjednostavnija molekula svih kumarinskih derivata. Podrijetlo imena kumarin dolazi iz francuskog naziva za biljku tonkovac (*Dipteryx odorata*), *coumarou*, iz koje je benzopiron prvi puta izoliran 1820. godine.⁶ Premda prvenstveno aromatična svojstva kumarina biljkama služe za obranu od kukaca, karakterističan miris na sijeno i vaniliju, intenzivan zbog sposobnosti sublimacije, uvelike je pronašao svoju ulogu u parfumerijskoj i kozmetičkoj industriji. Neki derivati koriste se kao dodatci prehrani, pojačivači arome u alkoholima i duhanu dok se neki koriste u drugim granama industrije kao optički osvjetljivači, laserske boje i slično. Međutim, svoju najvažniju ulogu pronašli su u organskoj i medicinskoj kemiji, područjima znanosti u kojima je interes za ekstrakciju, sintezu i razvoj novih kumarina naglo porastao.⁷

2.1.1. Podjela kumarina

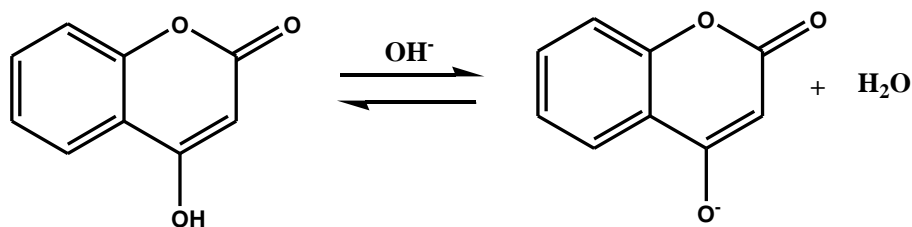
Prema kemijskoj strukturi kumarini su podijeljeni u 4 skupine: na jednostavne kumarine–derivate čiji je benzenski prsten alkiliran, alkoksiliran ili hidroksiliran (npr. 7-hidroksikumarin, 6,7-dihidroksikumarin); furanokumarine–derivate kojima je furanski prsten vezan za benzenski dio samog kumarina; piranokumarine koji su analogni furanokumarinima uz razliku što je umjesto peteročlanog prstena za benzenski dio molekule vezan šesteročlani prsten i na kumarine koji imaju supstituente u pironskom dijelu molekule (slika 2.).⁸



Slika 2. Podjela kumarina

2. 1. 2. Kemija kumarina

Kumarinski prsten ima visoko konjugirani sustav sa sposobnošću prijenosa naboja i bogatstvom elektrona što ga čini vrlo reaktivnim u odnosu na druge ione i molekule.⁵ Kumarin i njegovi derivati jedna su od najreaktivnijih skupina heterocikla. Molekula ima veliku mogućnost otvaranja na acilnom centru što najviše doprinosi njenoj reaktivnosti. Ovisno o položaju te prirodne funkcionalne skupine kao supstituenta na kumarinskom prstenu, ovisi i vrsta aktivnosti koju će molekula posjedovati.⁶ Svi kumarini, osim 4-hidroksi supstituiranih derivata nisu topljivi u vodi. Zbog svojih slabo kiselih svojstava 4-hidroksi kumarinski derivati slabo se otapaju u slabo bazičnim uvjetima (shema 1.).

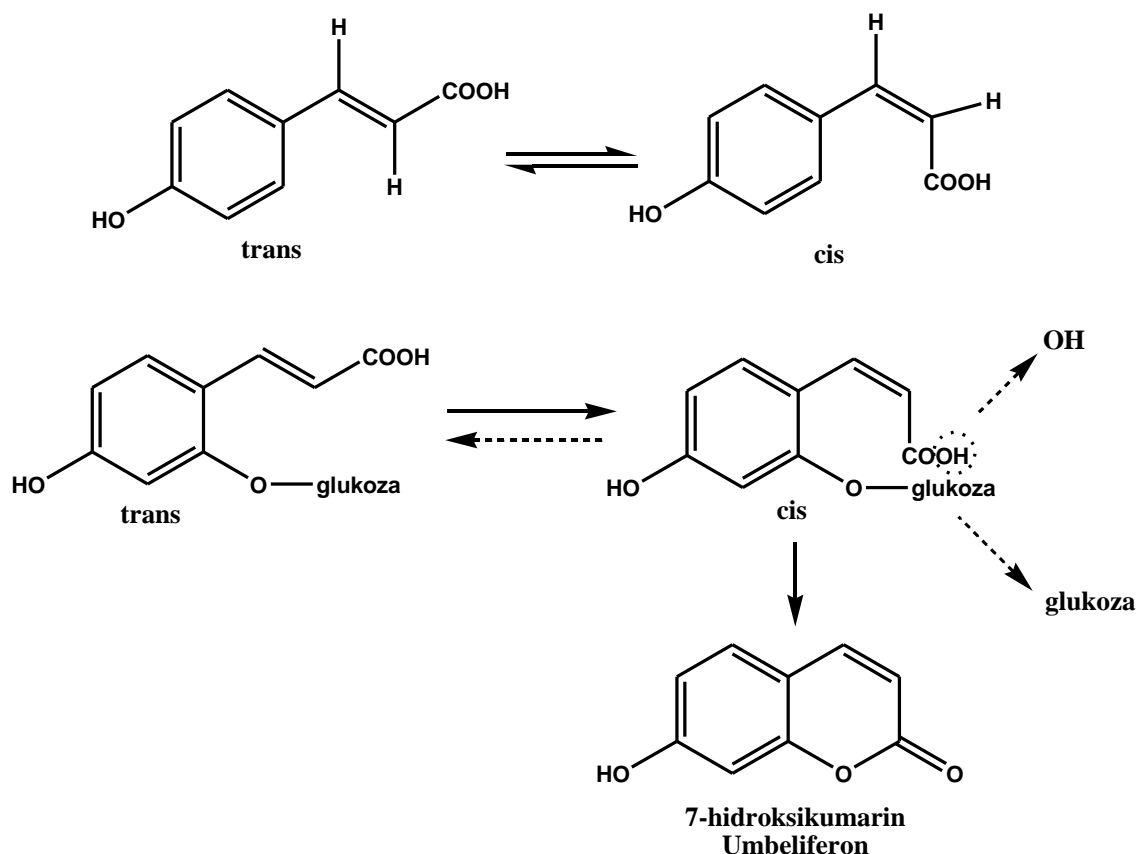


Shema 1. Kisela svojstva 4-hidroksi supstituiranih derivata kumarina

Karakteristične reakcije poput Friedel-Craftsovog aciliranja ili sulfoniranja događaju se kao posljedica elektrofilnog napada na C-6 atom benzenskog prstena te tako nastaju 6-susptituirani derivati, a ukoliko se na C-7 atomu nalazi karbonilna skupina, ona lako podliježe aciliranju, benziliranju te Friedel-Craftsovim reakcijama koje daju 7-susptituirane derivate.⁸ Osnovno obilježje kojim prepoznamo kumarine je apsorpcija UV svjetla sa specifičnom plavom fluorescencijom. Općenito, kumarini su foto-osjetljive molekule koje su vidljive i na prirodnom svjetlu. To svojstvo vrlo je korisno u fotokemoterapiji te u razvoju i primjeni kemijskih senzora.⁵

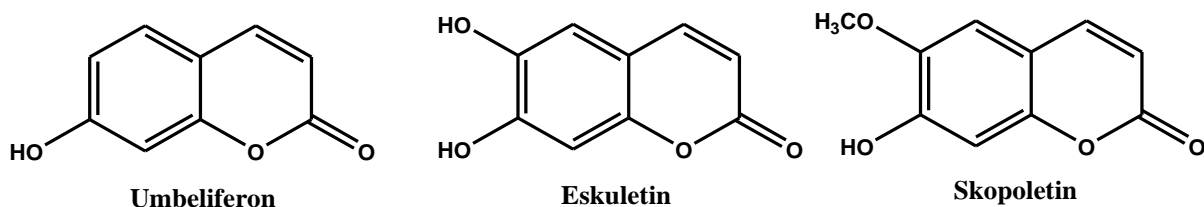
2.1.3. Sinteza kumarina

Prirodni kumarini potječu od cimetine kiseline, koja se u prvom stupnju hidroksilira. Potom slijedi *cis-trans* izomerizacija pobočnog lanca dvostruke veze i u konačnici laktonizacija prstena. Kako bi došlo do izomerizacije iz stabilnog *trans*-izomera u nestabilni *cis*-izomer potreban je enzim izomeraza. Glukoza skupina je odlazeća, a stvaranje stabilnog laktonskog prstena iz *cis* oblika omogućeno je napuštanjem molekule vode uz pomoć enzima β -glukozidaze (shema 2.).



Shema 2. Prirodna sinteza kumarina

Na ovaj način nastaju umbeliferon, eskuletin i skopoletin, najrašireniji kumarini u prirodi (slika 3.).⁶

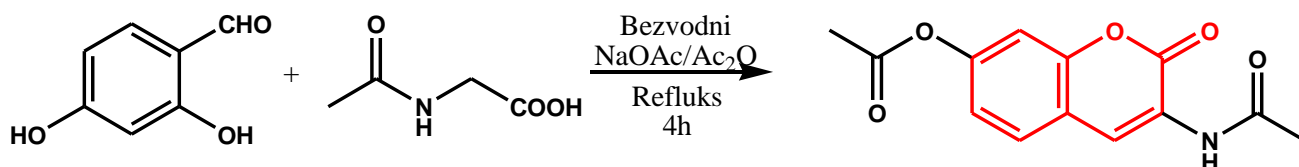


Slika 3. Najrašireniji kumarini u prirodi

Laboratorijskim putem kumarini su prvi put sintetizirani Perkin-ovom reakcijom 1868. godine. Od tada su razvijeni brojni sintetski putevi do novih kumarinskih derivata, a najpopularnije metode osim Perkin-ove su Pechmann-ova, Knoevenagel-ova, Reformatsky-eva, Kostanecki-Robinson-ova te Wittig-ova reakcija.⁷ Najviše korištene reakcije za sintezu kumarinskih derivata su Perkin-ova, Pechmann-ova i Knoevenagel-ova reakcija. Međutim, treba napomenuti da sve metode imaju prednosti i nedostatke što ostavlja prostora daljnjem razvijanju novih sintetskih puteva.

Perkin-ova reakcija

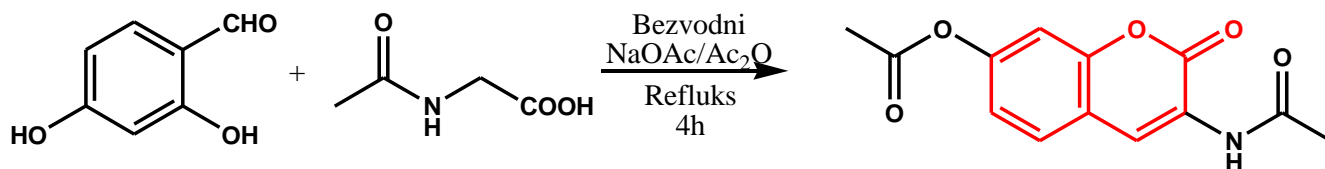
Perkinova reakcija najstariji je sintetski put dobivanja kumarina. Zasniva se na sintezi kumarina aldolnom kondenzacijom koristeći kao polazne spojeve *orto*-hidroksibenzaldehid i anhidrid kiseline uz prisutnost alkalijske soli iste kiseline (shema 3.).



Shema 3. Reakcijski uvjeti Perkin-ove sinteze

Pechmann-ova reakcija

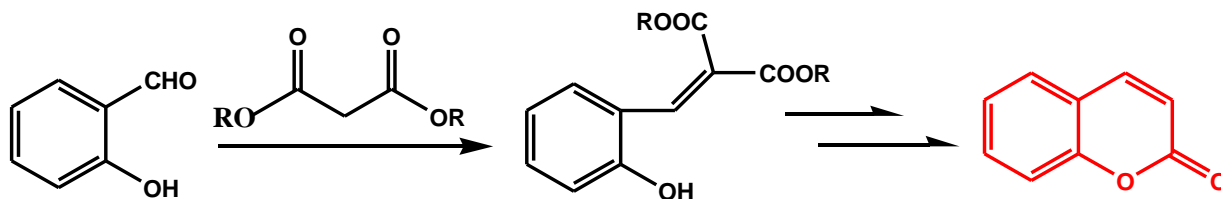
Pechmann-ovom reakcijom kumarini se dobivaju kondenzacijom fenola i β -keto-estera u prisutnosti kiseline kao katalizatora (shema 4.).



Shema 4. Reakcijski uvjeti Pechmann-ove sinteze

Knoevenagel-ova reakcija

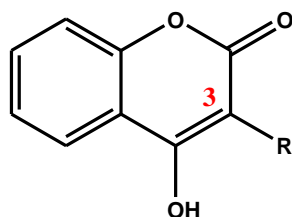
Knoevenagel-ova reakcija podrazumijeva kondenzaciju aldehida i aktivnih metilenskih skupina koja je katalizirana slabim bazama (najčešće amonijak ili amini). Reakcija je vrlo popularna i široko se primjenjuje za sintezu raznih kumarinskih derivata (shema 5.).¹



Shema 5. Reakcijski uvjeti Knoevenagel-ove reakcije

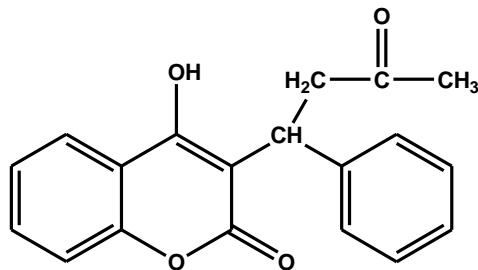
2.1.4. Biološka aktivnost derivata kumarina

U biokemiji i fiziologiji samih biljaka kumarini imaju značajnu ulogu te se ponašaju kao antioksidansi, inhibitori enzima i prekursori toksičnih supstanci, a osim toga sudjeluju u rastu biljke, regulaciji hormona, obrani od nametnika i samoj fotosintezi. Istraživanja bioloških djelovanja pokazala su da djeluju protuupalno, antialergijski, antivirusno, antioksidativno, antitrombotski, hepatoprotektivno te antikancerogeno na stanične linije kod ljudi i životinja te da se nalaze u brojnim prirodnim proizvodima korištenima za poboljšanje kvalitete ljudskog zdravlja i smanjenja rizika od oboljenja.⁶ Citotoksična svojstva kumarina variraju mijenjanjem strukture i supstituenata molekule. Primjerice, 7-hidroksi supstituirani derivati kumarina i kumarin sam inhibiraju rast malignih stanica *in vitro*, a pokazali su dobra svojstva u borbi protiv nekoliko različitih tipova karcinoma na životinjama kao što su rak prostate, maligni melanom i rak stanica bubrega. Pokazali su se selektivno toksičnima i za razne vrste stanica. Općenito, citotoksična svojstva pokazala su se izraženijima na *orto*-dihidroksi supstituiranim derivatima kumarina, a posebno sa supstituentima na položajima C-6 i C-7 ili C-6 i C-8. Tako je primjerice kumarinski derivat eskuletin (6,7-dihidroksikumarin) pokazao izraženu stanično-specifičnu citotoksičnost u testovima na četiri različita tumora kod čovjeka (rak usne šupljine HSC-2 i HSC-3, melanom A-375 i rak promijelocita HL-60). Derivati eskuletina sa supstituentima na C-3 i C-4 atomima pokazali su još izraženija citotoksična svojstva te protuupalno djelovanje, a djeluju tako da blokiraju enzime ciklooksigenazu i lipooksigenazu. Specifičnost kumarina je i ta da imaju antikoagulativna svojstva. Međutim, kumarin i njegov 4-hidroksi derivat ne posjeduju antikoagulativnu aktivnost, te je utvrđeno da je za takvo djelovanje neophodna supstitucija C-3 položaja i prisustvo hidroksilne skupine na položaju C-4 (slika 4.).⁶



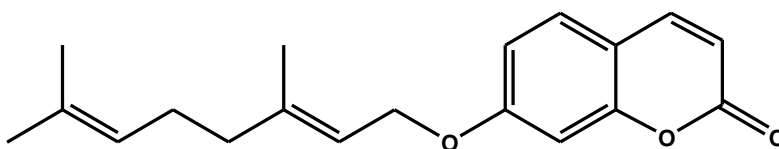
Slika 4. C-3 supstituirani derivati kumarina s antikoagulativnom aktivnošću

Nadalje, varfarin (slika 5.) je kumarinski derivat koji je pokazao svojstvo antikoagulativnosti te je pronašao svoju primjenu u liječenju tromboze te raka pluća.



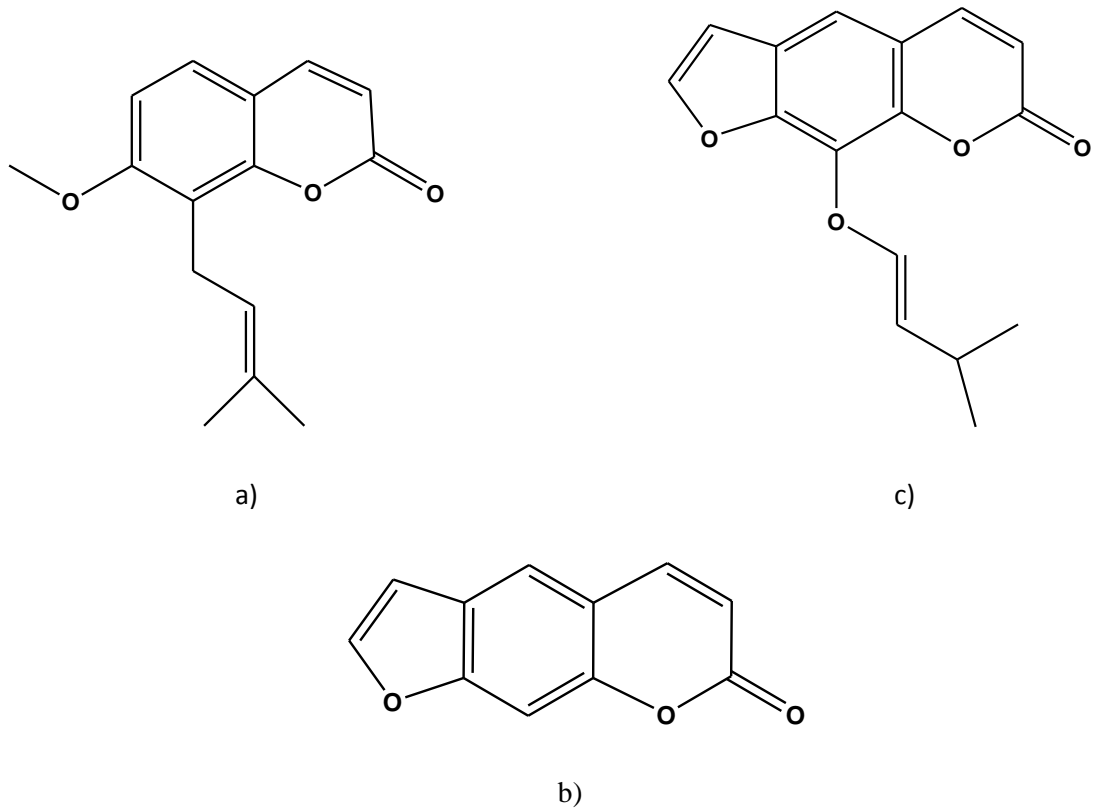
Slika 5. Varfarin

Auraptin (7-geranilohidroksikumarin, slika 6.) je pokazao antioksidativno djelovanje te ima kemopreventivan učinak. U pokusima sa štakorima pokazano je da povećava aktivnost enzima kinon-reduktaze i glutation-*S*-transferaze koji djeluju kao detoksificirajući enzimi u jetri i crijevima, a antikancerogena svojstva pokazao je na koži miševa te jetri, jeziku i jednjaku. U kombinaciji sa cimetidinom uočen je napredak kod bolesnika u liječenju raka bubrega, malignog melanoma i raka pluća.



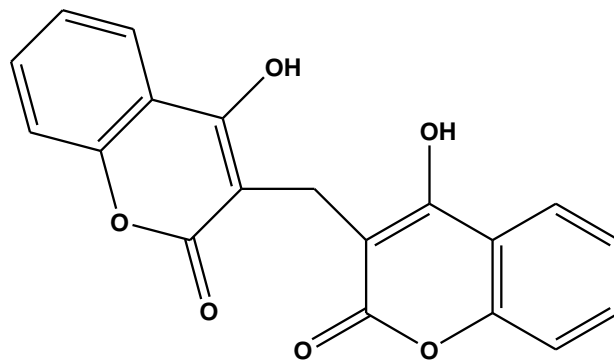
Slika 6. Auraptin

Kao primjer antifungalnog djelovanja kumarina najbolje je spomenuti angelicin koji je svoje djelovanje pokazao u borbi protiv *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae* te *Aspergillus niger*. Osim angelicina, u borbi protiv patogena u biljkama dobru su aktivnost pokazali ostol (koji osim antifungalnog djelovanja pokazuje i pozitivne učinke u liječenju multiple skleroze), psoralen, imepratorin i dr (slika 7.).



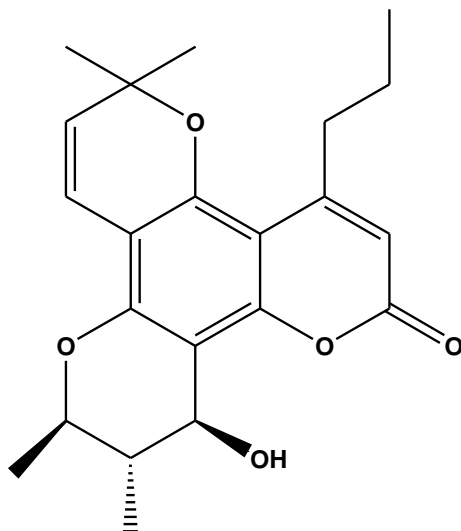
Slika 7. a) ostol b) psoralen i c) imperatorin

Najizraženija antikoagulativna svojstva je pokazao dikumarol (slika 8.). On blokira cikličku konverziju vitamina K i na taj način uzrokuje sintezu proteina sa smanjenom prokoagulativnom aktivnošću.



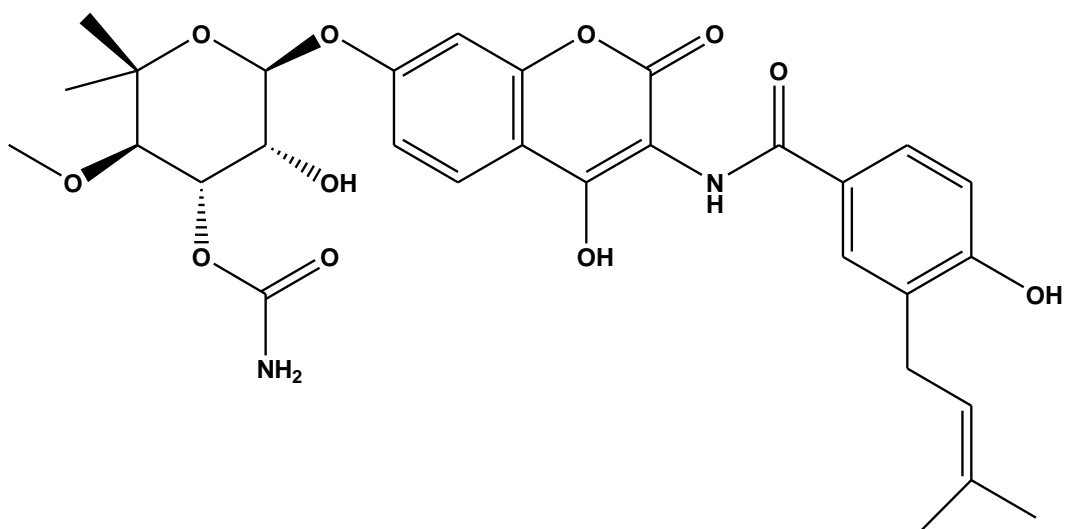
Slika 8. Dikumarol

Derivat kumarina koji pokazuje antivirusno djelovanje protiv virusa humane imunodeficijencije (HIV) je primjerice kalanolid A (slika 9.).



Slika 9. Kalanolid A

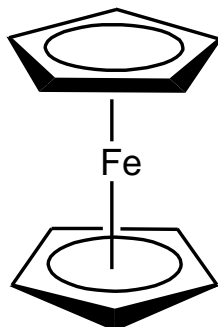
Neki derivati kumarina nemaju svoje podrijetlo u biljkama već mogu biti izolirani i iz mikroorganizama. Predstavnici takvog podrijetla su kumeromicin i novobiocin (slika 10.).⁹



Slika 10. Novobiocin

2.2. Ferocen

Otkako je prvi put izoliran 1951. godine, za ferocen (slika 11.) je u području kemije i organske sinteze pokazan veliki interes.



Slika 11. Ferocen

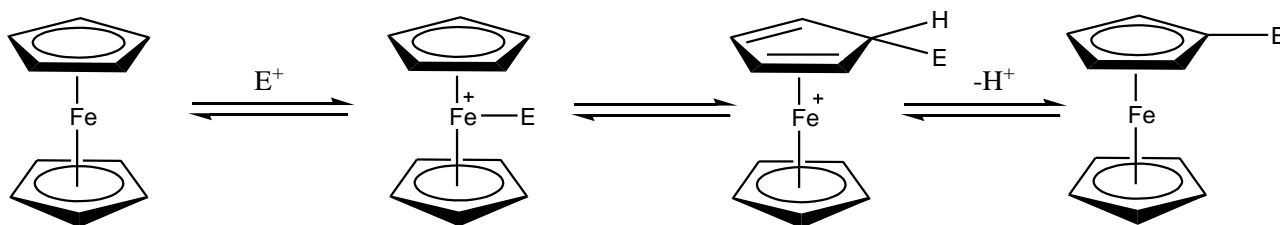
Ferocen je važan za sintezu novih kiralnih i akiralnih disupstituiranih derivata ferocena čija se svojstva mogu primijeniti u kemiji senzora, kemiji liganada, elektrokemiji, medicini, itd.¹⁰ Feroceni su narančaste boje, stabilni na zraku, netopljivi u vodi s temperaturom tališta 173°C. Pokazano je da u IR spektru postoji samo jedna vrpca C-H rastezanja što upućuje na to da su sve sigma veze između ugljikovih i željezovih atoma jednake jakosti, a difrakcijom X-zraka potvrđena je struktura ferocena u kojoj se željezov atom nalazi između dva ciklopentadienilna prstena.¹¹ Zbog svoje strukture ferocen i njegovi derivati pokazali su se pogodnima za sintezu novih liganada aktivnih u redoks reakcijama.¹⁸ Zahvaljujući svojim paramagnetičnim svojstvima, željezov (III) ion efikasno veže fluorofore u pobuđenom stanju i upravo zbog toga je dobar indikator za ione u svojem okolišu.¹⁹ Mogućnost zamjene redoks para koja se može kontrolirati vanjskim uvjetima zainteresiralo je brojne znanstvenike za metalocenske derivate.¹¹

2.2.1. Kemija ferocena

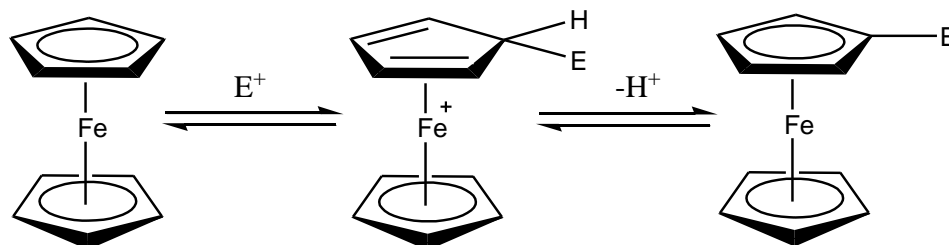
Feroceni podliježu reakciji elektrofile supstitucije, što proizlazi iz elektronske strukture ferocena sa šest π elektrona što ih čini veoma bazičnim molekulama.

Feroceni su podložni reakcijama Friedel-Crafts-ovog aciliranja dok alkiliranje nije pogodna reakcija zbog slabih iskorištenja. Podliježu i Mannich-ovoj reakciji s formaldehidom i aminom, a u prisutnosti reducensa željezov atom podložan je oksidaciji.¹¹

Reakcijom elektrofile supstitucije ferocena prema prvom mehanizmu (shema 6.) dolazi do interakcije elektrofila sa željezovim atomom, a potom do premještanja elektrofila na aromatski prsten uz deprotoniranje. Prema drugom mehanizmu (shema 7.) elektrofil se veže direktno za prsten.



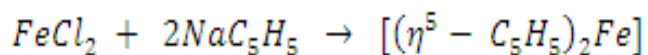
Shema 6. Elektrofilni napad na željezov atom ferocena



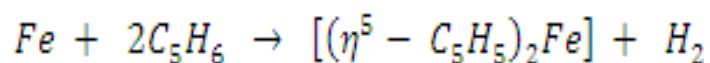
Shema 7. Elektrofilni napad na ciklopentadienski prsten ferocena

2.2.2. Sinteza ferocena

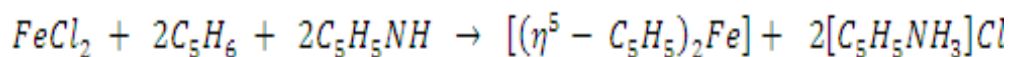
Feroceni se najčešće sintetiziraju jednim od tri sintetska puta. Prvi sintetski put je retro Diels-Alderova reakcija koja uključuje pucanje ciklopentadienskog prstena uklonjenjem slabo kiselog atoma vodika pomoću alkalijskog metala i živinog(II)klorida.



Drugi sintetski put je reakcija u kojoj se reaktanti naglo s visoke temperature dovode na hladnu površinu.



Treći način sinteze ferocena je uz pomoćnu bazu koja *in situ* stvara ciklopentadienilni anion.



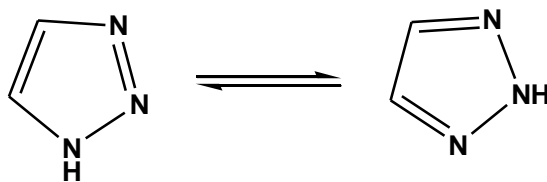
Feroceni su stabilni spojevi i kao takvi podnose i jake reakcijske uvjete stoga se koriste u raznim organskim reakcijama.

2.2.3. Biološka djelovanja ferocenskih derivata

Provode se brojna istraživanja u kojima se ferocenski derivati ugrađuju u biomolekule zbog svojih spektroskopskih svojstava ili pak služe kao biosenzori u samoj detekciji biomolekula. Razlog zbog kojeg su ferocenski derivati postali popularni u bioorganometalnoj kemiji je taj što se veza između ferocena i kovalentno vezanog supstrata može detektirati infracrvenim zračenjem za razliku od najčešće korištenog radioaktivnog zračenja. Osim toga, feroceni su stabilni i netoksični spojevi te su pokazali veliku učinkovitost u borbi protiv štetnih mikroorganizama. Također se koriste pri određivanju količine glukoze u krvi kod dijabetičara te selektivnom prepoznavanju nukleotida, dok se feroceni koji se otapaju u vodi mogu koristiti u proizvodnji ferocenskih lijekova.¹¹

2.3. 1,2,3-Triazoli

1,2,3-Triazoli su heterocikli molekulske formule $C_2H_3N_3$ koji se sastoje od peteročlanog aromatskog prstena s dva ugljikova i tri dušikova atoma, a dolaze u dva tautomerna oblika (slika 12.).



Slika 12. Keto-enolna tautomerija 1,2,3-triazola

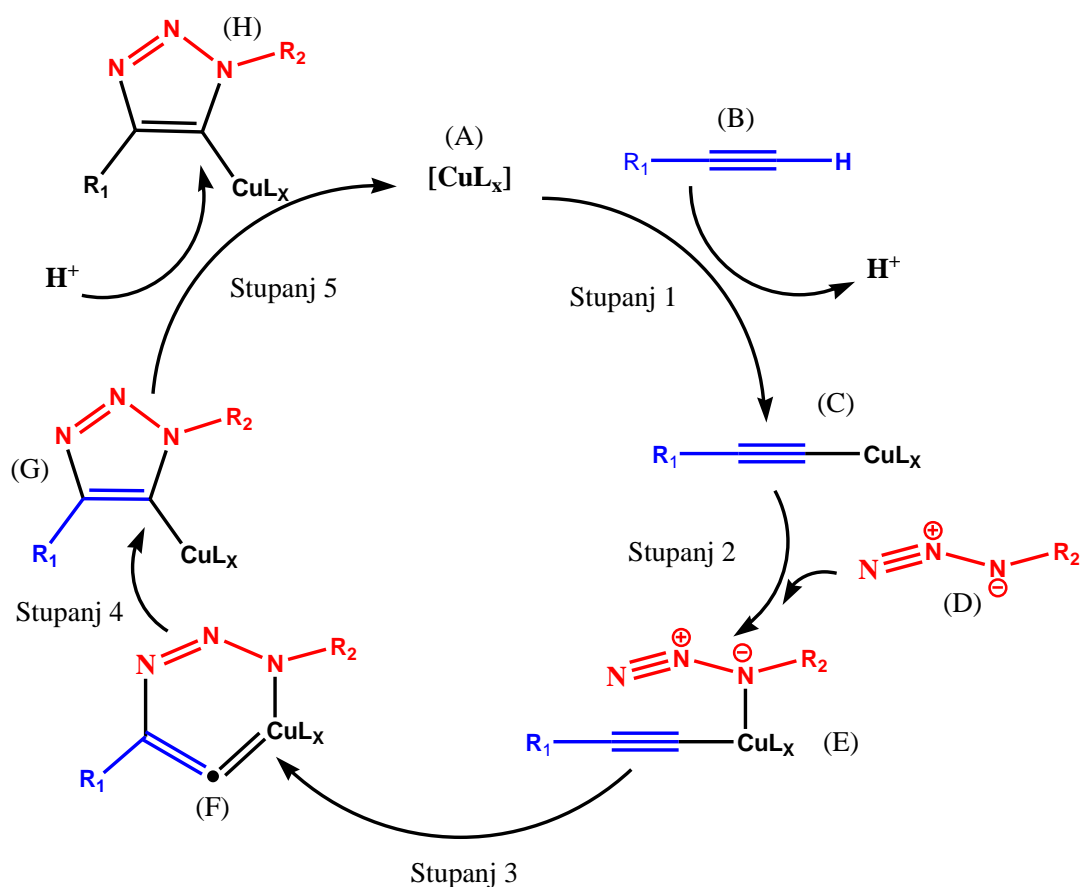
Pokazalo se da triazoli imaju dobra svojstva budući da su stabilni u kiselim i baznim te oksido-redukcijskim uvjetima. Zbog velikog dipolnog momenta lako stvaraju vodikove veze i dipol-dipol interakcije. Osim toga, otporni su na metaboličku razgradnju.¹²

Najuspješnije su se pokazali kao molekule koje služe kao premosnica, odnosno poveznica različitih dijelova molekule. To je posljedica izuzetno stabilnog triazolnog prstena i upravo zbog toga različiti dijelovi molekule ne mogu međusobno reagirati. Veze koje grade slične su amidnim te su u uvjetima karakterističnima za stanicu iznimno stabilni.¹³

2.3.1. Klik kemija

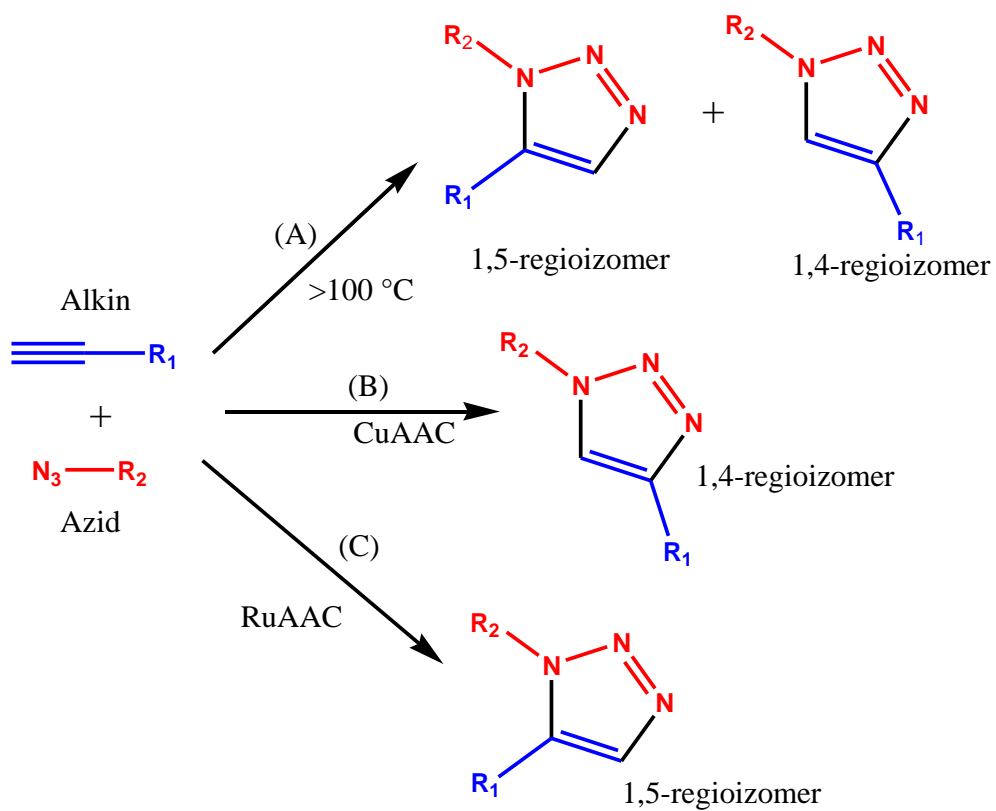
Za sintezu biološki aktivnih komponenti u medicinskoj kemiji bilo je potrebno razviti nove sintetske puteve koji bi omogućili ubrzanje procesa sinteze, kao i njegovu efikasnost i selektivnost. Tako se razvio pojam klik kemija koji opisuje reakciju koja daje visoka iskorištenja uz neškodljive nusprodukte koji se mogu ukloniti nekromatografskim metodama, stereospecifične, prilagodljive reakcije široke primjene.¹⁴ Karakteristike same reakcije su jednostavni reakcijski uvjeti, jednostavni početni reagensi, nekorištenje otapala ili korištenje minimalno škodljivog otapala kao i jednostavna izolacija produkta. Pogodne su za stvaranje ugljik-heteroatom-ugljik veza u vodenom mediju, a imaju biološku i kemijsku primjenu u raznim područjima znanosti.¹⁵

Reakcija koja najbolje odgovara uvjetima klik reakcije je Huisgen-ova 1,3-dipolarna cikloadicija, bakrom (I) katalizirana reakcija termalnog alkina i azida (CuAAC) kojom nastaje 1,2,3-triazolni prsten. Huisgenova reakcija ima nedostatke poput dugog vremena trajanja. Zato se koriste katalizatori poput bakra (shema 9.) ili rutenija. Potrebno je pročišćivanje kromatografijom, a osim toga reakcija nije regioselektivna.



Shema 9. Bakrom katalizirana Huisgen-ova 1,3-dipolarna cikloadicija

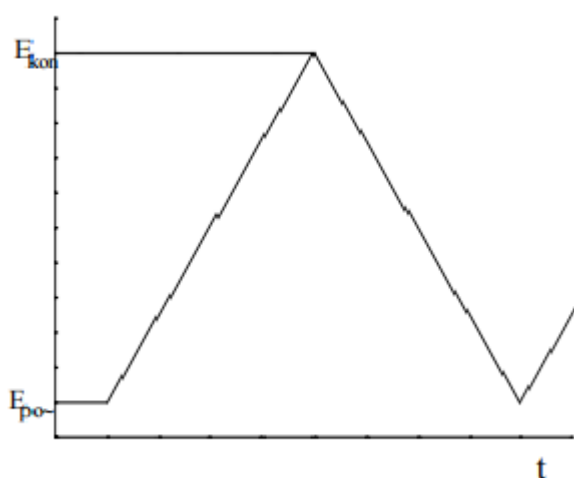
Problem regioselektivnosti riješen je primjenom Cu(I) i Cu(II) katalizatora za sintezu 1,4-disupstituiranih triazola, a Ru kompleksi koriste se za sintezu 1,5-disupstituiranih triazola (shema10.).¹³



Shema 10. Različiti reakcijski uvjeti 1,3-dipolarne cikladiacije

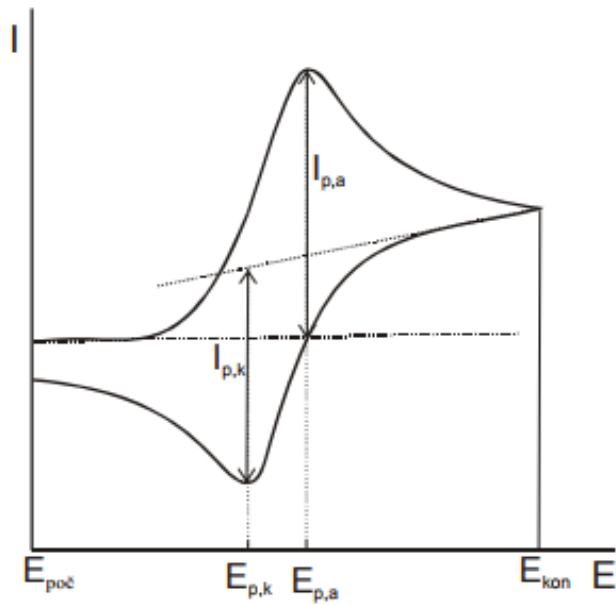
2.4. Ciklička voltametrija

Ciklička voltametrija je elektrokemijska metoda pri kojoj se mjeri struja elektrokemijske ćelije, a potencijal se regulira i opisan je Nernstovom jednačbom. Električni potencijal se ciklizira na radnoj elektrodi i mjeri se u odnosu na referentnu kojoj je potencijal stalan. Konačni rezultatni potencijal koji je primijenjen proizvodi signal pobude (slika 13.). Potencijali kreću iz negativnijih prema pozitivnijim do maksimuma pobuđenog stanja koji je dovoljan da svi redoks parovi pređu iz svojih reduciranih oblika u oksidirane. Potom se narinuti potencijal počinje spuštati do vrijednosti kada su svi prethodno oksidirani oblici tada reducirani. Ukoliko je redukcija prvi proces kojeg je potrebno izvesti, tada će potencijali ići iz pozitivnijih u negativnije.¹⁶



Slika 13. Grafički prikaz signala pobude kod cikličke voltametrije¹⁷

Kao odgovor na signal pobude (napon) mjeri se struja u elektrokemijskoj ćeliji što rezultira cikličkim voltamogramom na kojem možemo očitati redoks ponašanje ispitivane tvari. Ciklički voltamogram prikaz je odziva struje u ovisnosti o narinutom naponu (slika 14.) pri čemu ispitivana tvar pristupa reakciji redukcije i oksidacije. Povećavanjem napona struja u elektrokemijskoj ćeliji penje se prema pozitivnijim vrijednostima te se odvija anodna reakcija oksidacije. U trenutku kada je struja dosegula maksimalnu vrijednost, svi prisutni ioni prešli su iz reduciranog oblika u oksidirani. Potom dolazi do smanjivanja potencijala. Krivulja struje kreće se prema negativnijim vrijednostima, a oksidirani oblici iona prelaze u reducirane.



Slika 14. Grafički prikaz signala odziva kod cikličke voltametrije¹⁷

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Opće napomene

Sva korištena otapala sušena su i pročišćavana prema preporučenom postupku sušenja agensima i/ili destiliranjem iznad molekulskih sita veličine 3 Å.

Tijek reakcije praćen je tankoslojnomkromatografijom (TLC), koja je provedena na pločama 60F-254 presvučenim slojem silikagela Merck u odgovarajućem sustavu otapala. Za detekciju izoliranih komponenata korištena je UV-svjetlost valne duljine 254 nm.

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

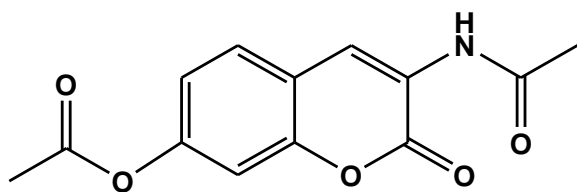
Spektri $^1\text{H-NMR}$ su snimljeni na spektrometru BrukerAvance 300 MHz. Svi su uzorci otopljeni u DMSO-d_6 i mjereni pri 298 K u NMR cjevčici promjera 5 mm. Kemijski pomaci (δ) u $^1\text{H-NMR}$ spektrima izraženi su u jedinicama ppm u odnosu na tertrametilsilan (TMS, $\delta=0,0$ ppm), a konstante sprege (J) u Hercima (Hz). Pojedinačne rezonancije asignirane su na temelju njihovih kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta signala i konstanti sprege H-H.

UV/Vis spektri snimljeni su na VrianCary 50 spektrofotometru, a fluorescencijski emisijski spektri snimljeni su na CaryEclipsespektrofotometru, pri čemu su korištene kvarcne kivete promjera 0,5 cm te volumena 3 cm³.

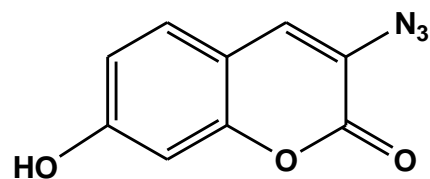
Reakcije potpomognute mikrovalnim zračenjem provedene su u Milestone Start S mikrovalnoj pećnici u kvarcnim posudama.

Ciklička voltometrija provedena je na potenciostatu EG&G Princeton Applied Research, model 263A.

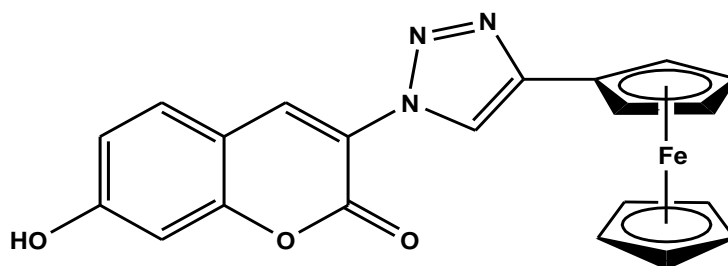
3.2. Pregled sintetiziranih spojeva



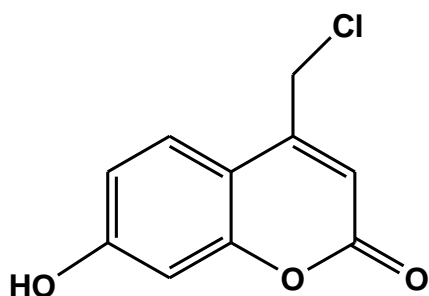
1



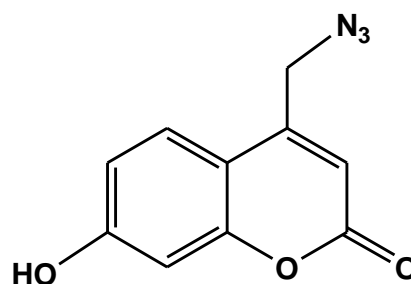
2



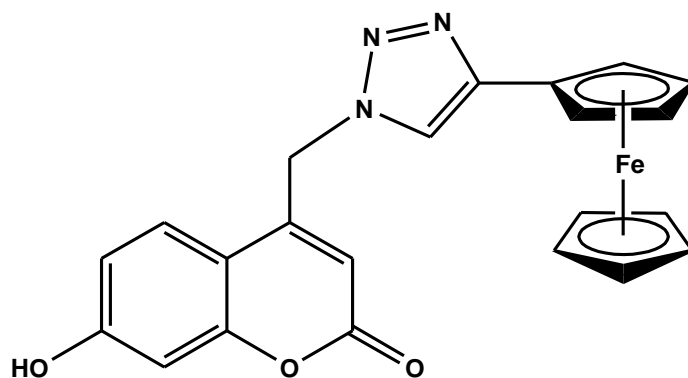
3



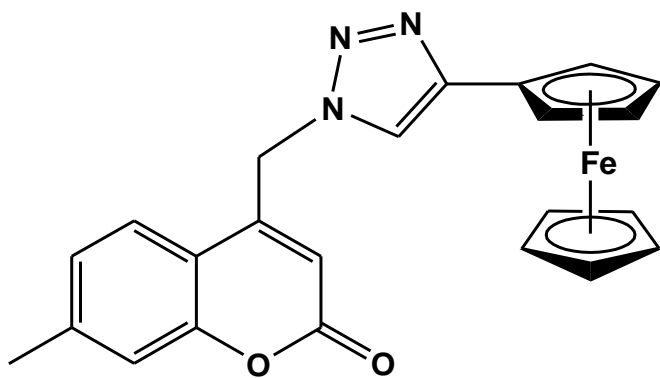
4



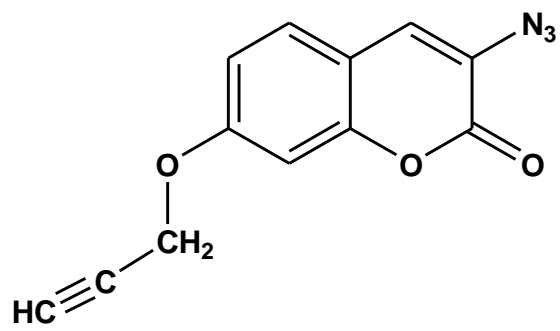
5



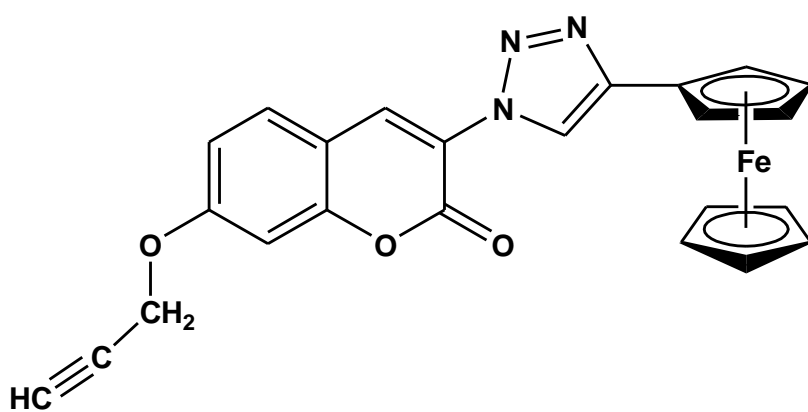
6



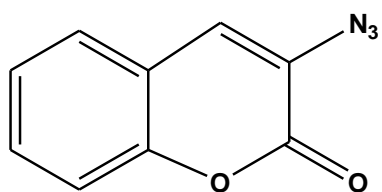
7



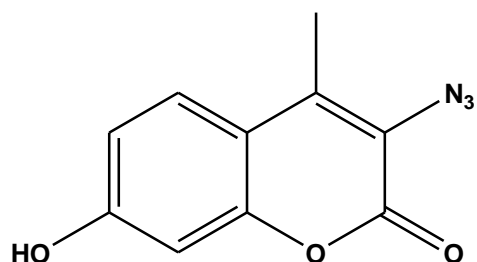
8



9



11



12

3.3. Sinteze spojeva

3.3.1. 3-Acetamido-2-okso-2*H*-kromen-7-il acetat (**1**) i 3-azido-7-hidroksi-2*H*-kromen-2-on (**2**)

Reakcijska smjesa 2,4-dihidroksibenzaldehida (2,76 g; 20 mmol), *N*-acetilglicina (2,34 g; 20 mmol) i natrijevog acetata (4,98 g; 60 mmol) otopljena je u anhidridu octene kiseline (100 ml), te zagrijevana na temperaturi refluksa (140 – 150°C) tijekom 4h. Tijek reakcije praćen je tankoslojnomkromatografijom (TLC). Pri završetku reakcije, na dnu je istaložen talog, koji je zajedno s ostatkom reakcijske smjese izliven na led (300 – 400 ml). Nastali žuti talog je odfiltriran preko Büchnerovog lijevka i ispran hladnom vodom. Nakon sušenja dobiven je spoj **1** (1,32 g; 5,07 mmol), koji je potom otopljen u smjesi koncentrirane klorovodične kiseline i etanola (HCl : EtOH = 2 : 1; 30 ml), te je reakcijska smjesa zagrijavana na temperaturi refluksa (50 – 60°C) tijekom 1h. Reakcijskoj smjesi je dodana ledena voda (400 ml) te je smjesa dodatno hlađena pomoću ledene kupelji pri čemu je dodan NaNO₂ (2,76 g; 40 mmol). Zatim je postupno dodavan NaN₃ (3,90 g; 60 mmol) uz konstantno miješanje tijekom 15 min, pri čemu nastaje talog. Dobiveni talog je odfiltriran preko Büchnerovog lijevka, ispran vodom i osušen pri sniženom tlaku. Izoliran je spoj **2** kao smeđa krutina (0,51g; 17,30%).

3.3.2. 3-(4-Ferocetil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-7-hidroksi-2*H*-kromen-2-on (**3**)

3-azido-7-hidroksikumarin (**1**) (0,20 g; 1 mmol) otopljen je u DMF-u (1 ml) i smjesi *tert*-BuOH:H₂O = 1:1 (1-2 ml) u kivetu za mikrovalni reaktor. Otopini je dodana 1M otopina bakrovog(II)sulfata (0,24) i bakrena žica (50,8 mg), te etinilferocen (168,04 mg). Reakcijska smjesa je prvo zagrijavana 5 min, zatim izložena mikrovalnom zračenju od 300 W tijekom 120 min na 80°C, te zatim hlađena 10 min do sobne temperature. Napredovanje reakcije praćeno je tankoslojnomkromatografijom, te je dodana još polovica početne količine bakra i bakrovog (II)sulfata i reakcijska smjesa ponovno zagrijavana na 80°C tijekom 60 min pri 300 W. Nakon završetka reakcije otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a sirovi produkt pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens CH₂Cl₂ : MeOH = 50 : 1 pri čemu je izoliran spoj **2** (16,5mg; 9,50%, T> 250°C) kao narančasti prah.

3.3.3. 4-(Klormetil)-7-hidroksi-2H-kromen-2-on (4) i 4-(azidometil)-7-hidroksi-2H-kromen-2-on (5)

Rezorcinol (5,50 g; 50 mmol) je oprezno otopljen u H₂SO₄ (95%, 45 ml) na 0°C uz miješanje. Otopini je dokapan etil-4-kloracetat (9,10 g; 55 mmol) i reakcijska smjesa miješana 5h na 0°C. Otopina je zatim polagano izlivena u smjesu led/voda (350 ml) pri čemu je istaložio talog koji je odfiltriran preko Büchnerovog lijevka i ispran nekoliko puta vodom. Dobiveni spoj **4** (5 g; 15 mmol) potom je otopljen u acetonitrilu (80 ml), nakon čega je dokapavan NaN₃ (5,60 g; 72,76 mmol). Reakcijska smjesa je miješana na temperaturi refluksa (50–75 °C) tijekom 24h. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom (TLC). Nakon završetka reakcije otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a dobiveni produkt otopljen u etil-acetatu (150 ml) te ekstrahiran vodom (150 ml) i zasićenom otopinom NaCl (150 ml). Organski sloj je sušen iznad bezvodnog MgSO₄, nakon čega je profiltriran i uparen pri sniženom tlaku. Produkt je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens CH₂Cl₂ : CH₃OH = 100 : 1 pri čemu je izoliran spoj **5** (3,2 g, 11%)

3.3.4. 3-(4-Ferocetil-1,2,3-triazol-1-il)metil-7-hidroksi-2H-kromen-2-on (6)

Spoj **5** otopljen je u DMF-u (1 ml) i smjesi *tert*-BuOH:H₂O = 1:1 (1-2 ml) u kiveri za mikrovalni reaktor. Otopini je dodana 1M otopina bakrovog(II)sulfata (0,06 ml) i bakrena žica (11,7 mg), te etinilferocen (38,6 mg). Reakcijska smjesa je prvo zagrijavana 5 min, zatim izložena mikrovalnom zračenju od 300 W tijekom 120 min na 80°C, te zatim hlađena 10 min do sobne temperature. Napredovanje reakcije praćeno je tankoslojnom kromatografijom te je dodana još polovica početne količine bakra i bakrovog(II)sulfata i reakcijska smjesa ponovno zagrijavana na 80°C tijekom 60 min pri 300 W. Nakon završetka reakcije otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a sirovi produkt pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens CH₂Cl₂ : MeOH = 50 : 1 pri čemu je izoliran spoj **6** kao narančasto-smeđi prah (4,3 mg, 4,73%, T=86-89°C).

3.3.5. 3-(4-Feroceni-1,2,3-triazol-1-il)metil-7-metil-2H-kromen-2-on (7)

Spoj 4-azidometil-7-metilkumarin (0,05g; mmol) otopljen je u DMF-u (1 ml) i smjesi *tert*-BuOH:H₂O = 1:1 (1-2 ml) u kivetu za mikrovalni reaktor. Otopini je dodana 1M otopina bakrovog(II)sulfata (0,06 ml) i bakrena žica (11,8 mg), te etinilferocen (39,1 mg). Reakcijska smjesa je prvo zagrijavana 5 min, zatim izložena mikrovalnom zračenju od 300 W tijekom 120 min na 80°C, te zatim hladena 10 min do sobne temperature. Napredovanje reakcije praćeno je tankoslojnom kromatografijom te je dodana još polovica početne količine bakra i bakrovog(II)sulfata i reakcijska smjesa ponovno zagrijavana na 80°C tijekom 60 min pri 300 W. Nakon završetka reakcije otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a sirovi produkt pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens CH₂Cl₂ : MeOH = 50 : 1 pri čemu je izoliran spoj 7 kao narančasto-smeđi prah (5,5 mg, 8,73%, T=215-218°C).

3.3.6. 3-Azido-7-O-propargil-2H-kromen-2-on (8)

Spoj 2 (300 mg; 1,48 mmol) otopljen je u suhom acetonu (8,7 ml). Reakcijskoj smjesi dodan je K₂CO₃ (1,23 g; 8,88 mmol). Smjesa je zatim miješana na temperaturi refluksa 30 min. Nakon pola sata, dodan je propargil-bromid (0,19 ml; 1,48 mmol) i reakcija je ostavljena na temperaturi refluksa 24 h. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom (TLC). Nakon završetka reakcije smjesa je uparena do suha pri sniženom tlaku i pročišćena kolonskom kromatografijom uz eluens CH₂Cl₂ : MeOH = 50 : 1. Dobiven je smeđi uljasti spoj 8 (49,2 mg, 13,8 %).

3.3.7. 3-(4-Feroceni-1,2,3-triazol-1-il)-7-O-propargil-2H-kromen-2-on (9)

Spoj 8 (0,02 g; 0,06 mmol) otopljen je u DMF-u (1 ml) i smjesi *tert*-BuOH:H₂O = 1:1 (1-2 ml) u kivetu za mikrovalni reaktor. Otopini je dodana 1M otopina bakrovog(II) sulfata (1 ml) i bakrena žica (3,94 mg), te etinilferocen (10,42 mg). Reakcijska smjesa je prvo zagrijavana 5 min, zatim izložena mikrovalnom zračenju od 300 W tijekom 120 min na 80°C, te zatim hladena 10 min do sobne temperature. Napredovanje reakcije praćeno je tankoslojnom kromatografijom te je dodana još polovica početne količine bakra i bakrovog(II)sulfata i reakcijska smjesa ponovno zagrijavana na 80°C tijekom 60 min pri 300 W. Nakon završetka reakcije otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a sirovi produkt pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens CH₂Cl₂ : MeOH = 50 : 1 pri čemu je izoliran spoj 9 (8,4mg, 37,69%) kao narančasti prah.

3.3.8. 3-Azido-2H-kromen-2-on (10)

Reakcijska smjesa 2-hidroksibenzaldehid (10 g; 15 mmol), *N*-acetilglicina (2,34 g; 20 mmol) i natrijevog acetata (4,98 g; 60 mmol) otopljena je u anhidridu octene kiseline (100 ml), te zagrijevana na temperaturi refluksa (140 – 150°C) 4h. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom (TLC). Pri završetku reakcije, na dnu je istaložen talog, koji je zajedno sa ostatkom reakcijske smjese izliven na led (300 – 400 ml). Nastali žuti talog je odfiltriran preko Büchnerovog lijevka i ispran hladnom vodom. Nakon sušenja dobiven je međuprodukt (0,86 g). Novonastali spoj otopljen je u smjesi koncentrirane klorovodične kiseline i etanola (HCl : EtOH = 2 : 1; 30 ml), te zagrijavan na temperaturi refluksa (50 – 60°C) 1h. Reakcijskoj smjesi dodana je ledena voda (400 ml) te je smjesa dodatno hlađena na ledenoj kupelji pri čemu je dodan NaNO₂ (2,76g; 40 mmol). Zatim je postepeno dodan NaN₃ (3,90g; 60,00 mmol) uz konstantno miješanje oko 15 min, pri čemu je nastajao talog. Dobiveni talog je odfiltriran preko Büchnerovog lijevka, ispran vodom i osušen pri sniženim tlakom. Reakcija nije uspjela!

3.3.9. 3-Azido-2H-kromen-2-on (11)

3-Klorkumarin (0,70 g; 3,88 mmol) otopljen je u acetonitrilu (15 ml). Zatim je otopini dokapavan NaN₃ (1,37 g; 21 mmol). Reakcijska smjesa miješana je na temperaturi refluksa (50 – 75 °C) 24h. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom (TLC). Pri završetku reakcije otapalo je upareno pri sniženom tlaku. a dobiveni produkt otopljen je u etilacetatu (150 ml) te ekstrahiran vodom (150 ml) i zasićenom otopinom NaCl (150 ml). Organski sloj sušen je iznad bezvodnog MgSO₄, nakon čega je profiltriran i uparen pri sniženom tlaku. Produkt je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens CH₂Cl₂ : CH₃OH = 100 : 1. Izoliran je spoj **11** (3 mg; 0,37%).

3.3.10. 3-Azido-7-hidroksi-4-metil-2H-kromen-2-on (12)

3-Klor-4-metil-7-hidroksikumarin (1,00 g; 4,61 mmol) otopljen je u acetonitrilu (15 ml). Zatim je otopini dokapavan NaN₃ (1,47 g; 22,56mmol). Reakcijska smjesa je miješana na temperaturi refluksa (50 – 75 °C) 24h. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom (TLC). Pri završetku reakcije otapalo je upareno pri sniženom tlaku. a dobiveni produkt otopljen je u etilacetatu (150 ml) te ekstrahiran vodom (150 ml) i zasićenom otopinom NaCl (150 ml). Organski sloj je sušen iznad bezvodnog MgSO₄, nakon čega je profiltriran i uparen pri sniženom tlaku. Produkt je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens CH₂Cl₂ : CH₃OH = 100 : 1. Izoliran je spoj **12** (2,8 mg; 0,28%).

3.4. Ciklička voltametrija

Elektrokemijska ispitivanja provedena su u otopinama uzoraka određenih koncentracija, a kao osnovni elektrolit korišten je 0,1 M LiBF₄ u acetonitrilu. Instrumentacija se sastoji od potenciostata 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. Potenciostat EG&G Princeton Applied Research, model 263A (a) i elektrokemijska ćelija (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 uvjetima:

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

Izmjereni potencijali anodnih i katodnih strujnih vrhova za spojeve 3-(4-ferocenil-1,2,3-triazol-1-il)metil-7-metilkumarin (**7**) i 4-azidometil-7-metil-kumarin određenih množinskih koncentracija prikazani su u tablici 1.

Tablica 1. Spojevi 4-azidometil-7-metil-kumarin i 3-(4-feroceni-1,2,3-triazol-1-il)metil-7-metil-kumarin (**7**) s pripadajućim koncentracijama i potencijalima anodnih i katodnih strujnih vrhova.

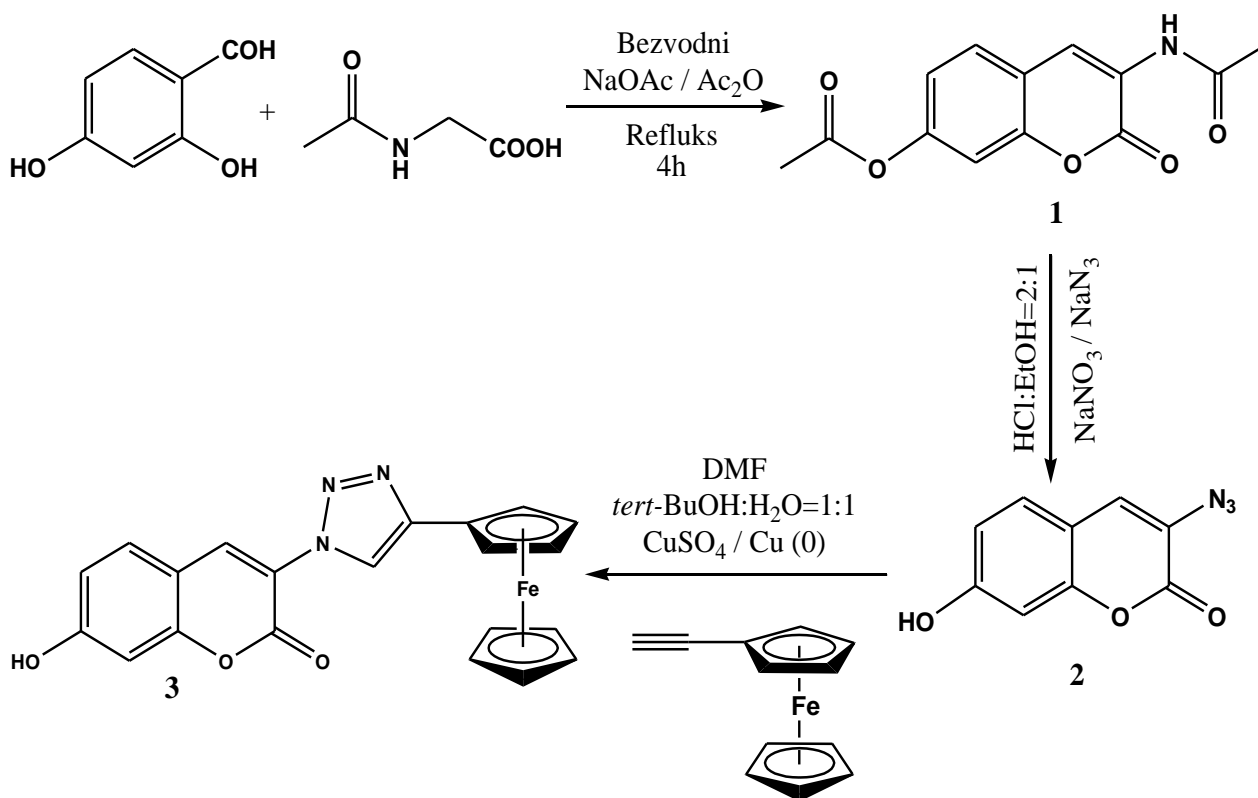
| spoj | $c/ \text{mol dm}^{-3}$ | E_a/ V | E_k/ V |
|-------------|-------------------------|-----------------|-----------------|
| 7-MK | 0,40 | 0,59 | 0,49 |
| 7 | 0,60 | 0,58 | 0,48 |

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Sinteze spojeva

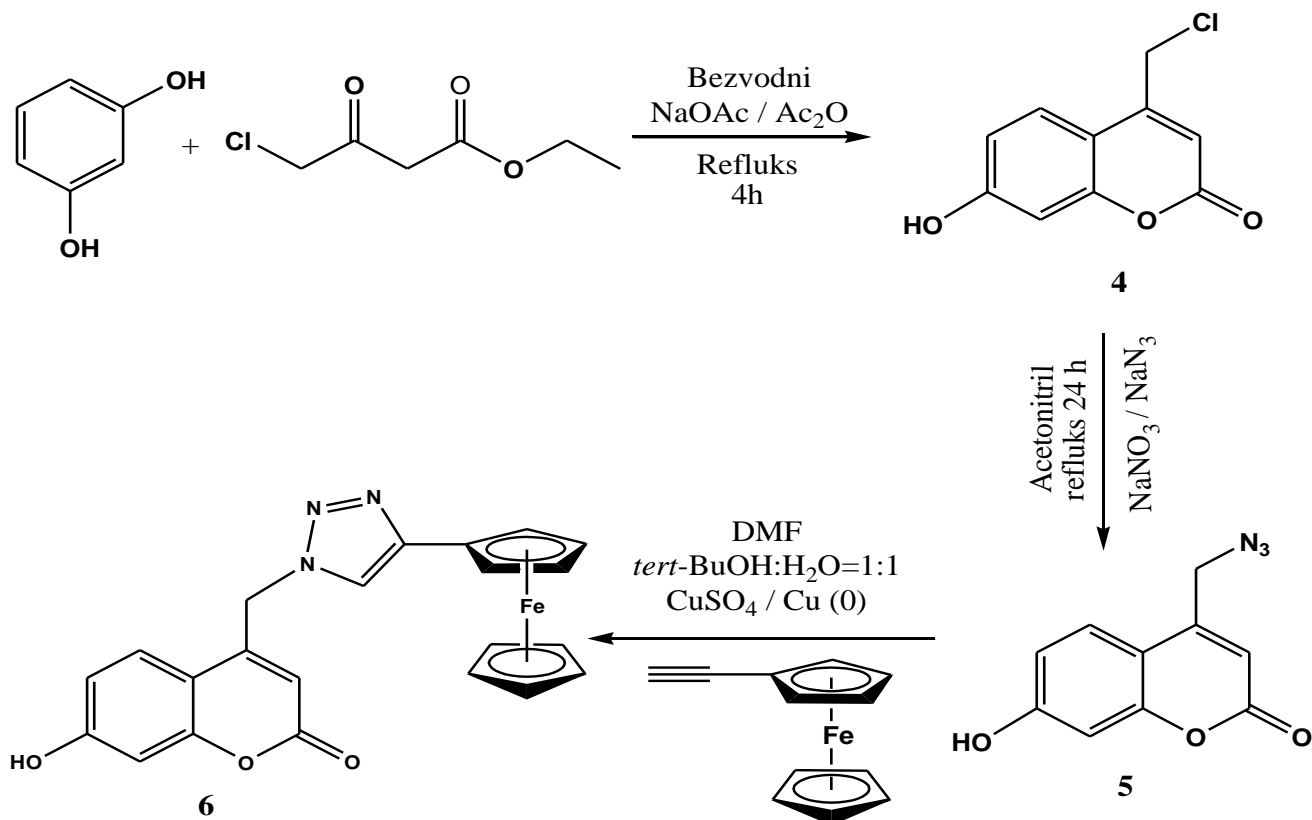
U ovom radu pripremljeni su hibridi derivata kumarina i ferocena premošteni 1,2,3-triazolnim prstenom kao potencijalni biološki aktivni spojevi.

Perkin-ovom reakcijom je iz odgovarajućeg aldehida i amida u bezvodnom natrijevom acetatu i anhidridu octene kiseline ciklizacijom pripremljen derivat kumarina **1**, koji je potom *in situ* reakcijom s NaN_3 preveden u 3-azido-7-hidroksikumarin (**2**) (shema 1). Mikrovalovima potpomognutom klik reakcijom kataliziranom bakrom (I) azidokumarina **2** s etinilferocenom pripremljen je 1,2,3-triazolni hibrid kumarina i ferocena **3**. Dobiveni 3-(4-ferocenil-1,2,3-triazol-1-il)-7-hidroksikumarin (**3**) je nastao regioselektivnom bakrom kataliziranom Huisgenovom 1,3-cikloadicijom iz kumarinskog azida kao 1,3-dipola i etinilferocena kao dipolarofila (shema 1).



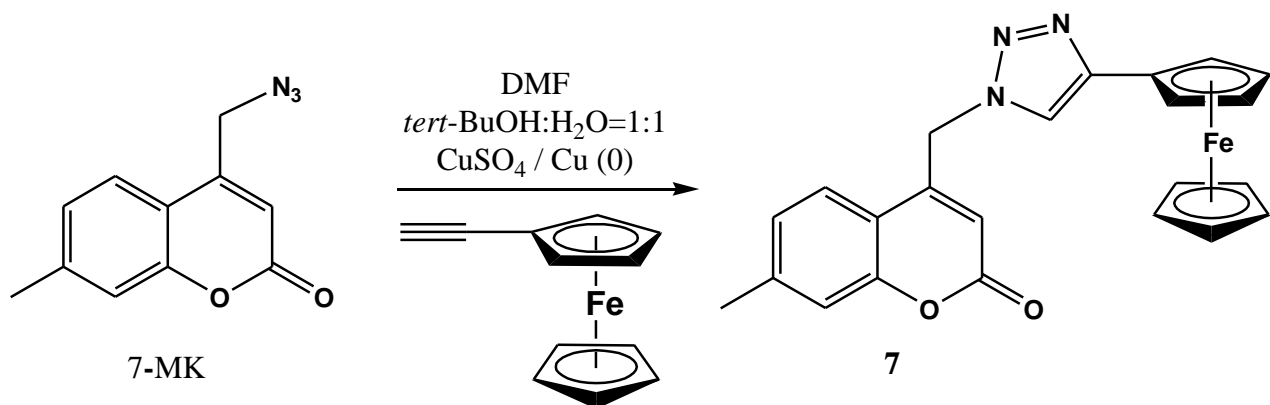
Shema 1. Sinteza 3-(4-ferocenil-1,2,3-triazol-1-il)-7-hidroksikumarina (**3**)

Knoevenagel-ovom reakcijom rezorcinola i β -ketoestera u bezvodnom natrijevom acetatu i anhidridu octene kiseline ciklizacijom je pripravljen derivat kumarina **4**, koji je potom *in situ* reakcijom s NaN_3 preveden u 3-azidometil-7-hidroksikumarin (**5**) (shema 2). Mikrovalovima potpomognutom klik reakcijom kataliziranom bakrom(I) azidometilkumarina **5** s etinilferocenom sintetiziran je 3-(4-ferocenil-1,2,3-triazol-1-il)metil-7-hidroksikumarin (**6**) (shema 2).



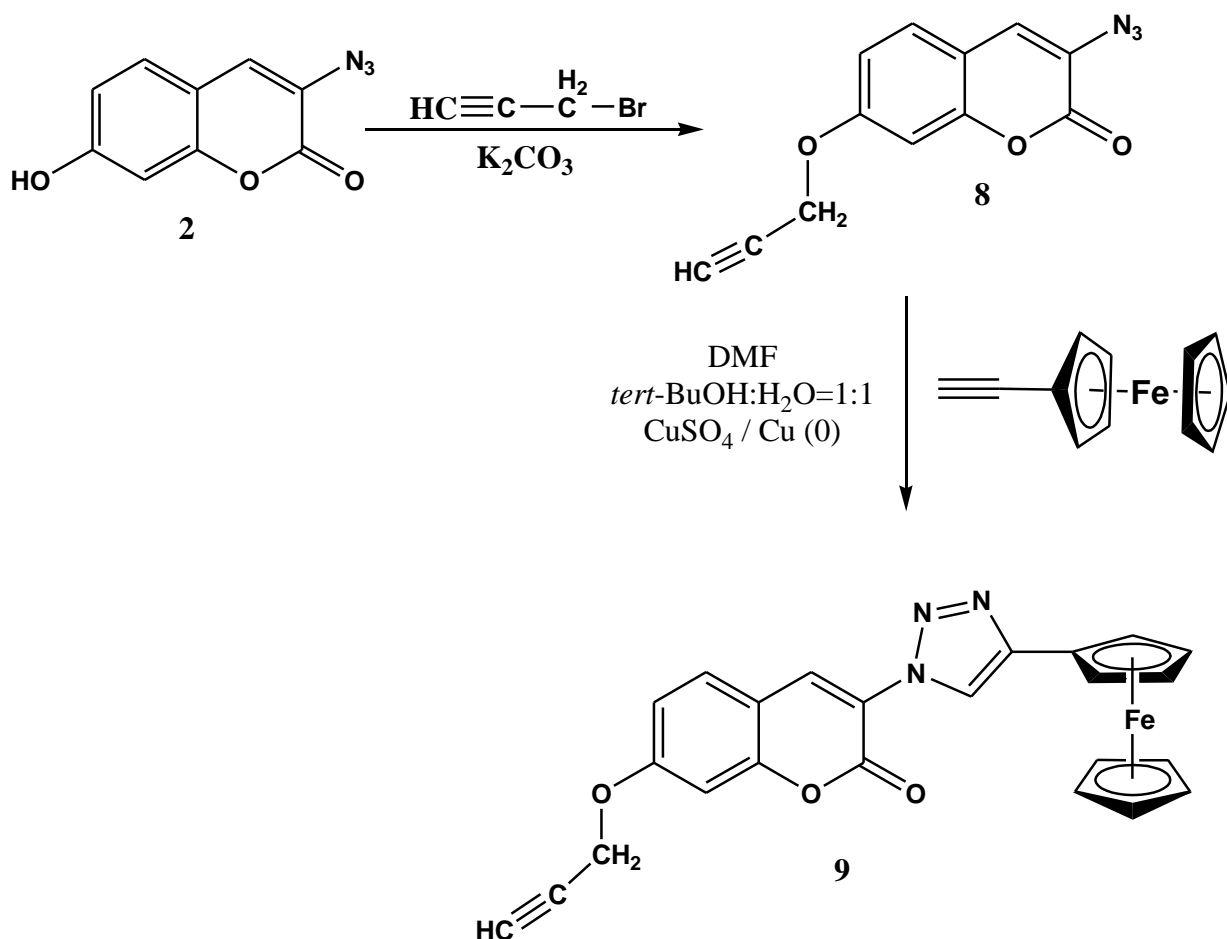
Shema 2. Sinteza 3-(4-ferocenil-1,2,3-triazol-1-il)metil-7-hidroksikumarina (**6**)

Klik reakcijom potpomognutom mikrovalnim zračenjem 3-azidometil-7-metilkumarina (7-MK) s etinilferocenom pripravljen je 3-(4-ferocenil-1,2,3-triazol-1-il)metil-7-metilkumarin (**7**) (shema 3).



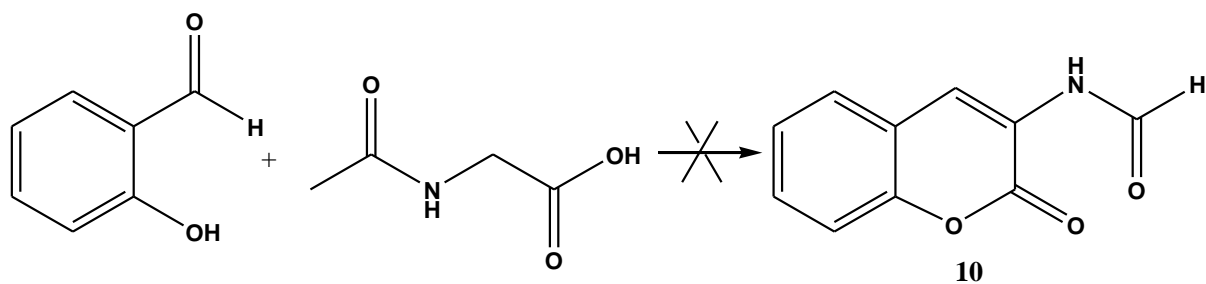
Shema 3. Sinteza 3-(4-ferocenil-1,2,3-triazol-1-il)metil-7-metil-kumarina (**7**)

Reakcijom *O*-alkiliranja 3-azido-7-hidroksikumarina (**2**) s propargil-bromidom uz K_2CO_3 uveden je propargilni supstituent u položaj C-7 kumarina, a potom je reakcijom 3-azido-7-*O*-propargilnog derivata kumarina (**8**) s etinilferocenom mikrovalnom klik reakcijom priređen hibrid kumarina i ferocena premošten 1,2,3-triazolom (**9**) (shema 4).



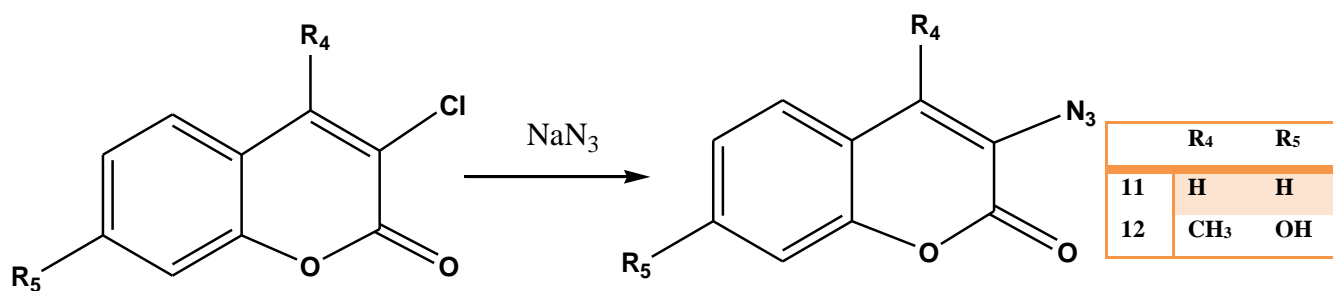
Shema 4. Sinteza 3-(4-ferocenil-1,2,3-triazol-1-il)-7-*O*-propargilkumarina (**9**)

Reakcijom 2-hidroksibenzaldehida i *N*-acetilglicina nije uspješno dobiven željeni produkt, stoga spoj **10** nije izoliran (shema 5.).



Shema 5. Sinteza *N*-(2-okso-2*H*-kromen-3-il)formamida (**10**)

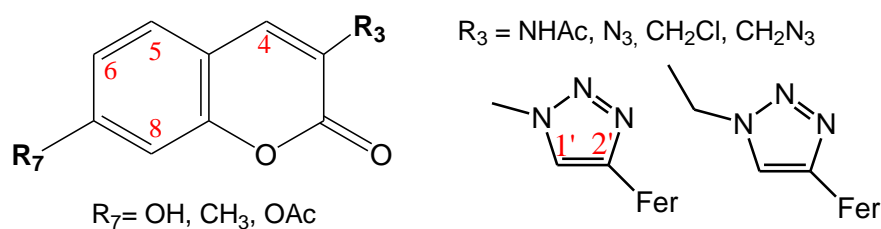
Reakcijom 3-klorkumarinskih derivata s natrijevim azidom sintetizirani su 3-azidokumarinski derivati **11** i **12** (shema 6.).



Shema 6. Sinteza 3-azido-2*H*-kromen-2-ona (**11**) i 3-azido-7-hidroksi-4-metil-2*H*-kromen-2-ona (**12**)

4.2. Strukturna karakterizacija spojeva ^1H NMR spektroskopijom

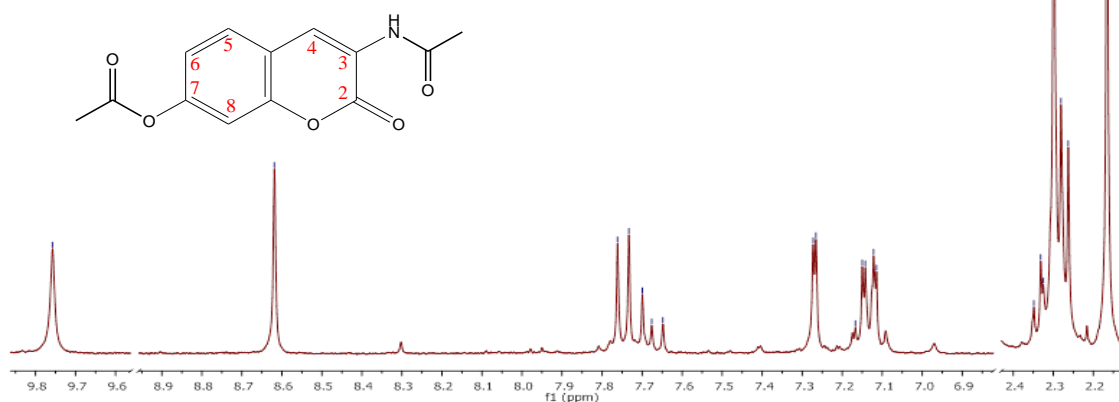
Asigniranje ^1H NMR spektara provedeno je na osnovu kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta rezonancija te H-H konstanti sprega.



Slika 2. Numeriranje protona kumarinskog prstena

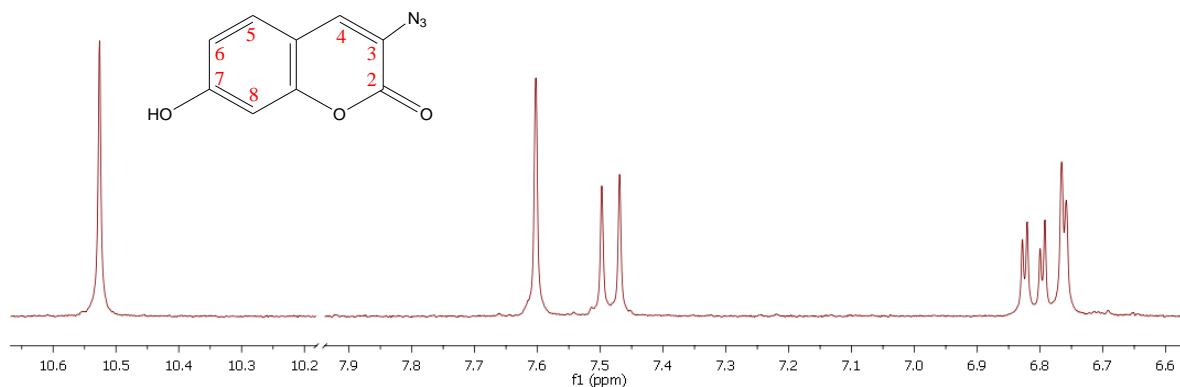
Spektri ^1H NMR hibrida kumarina i ferrocena premoštenih 1,2,3-triazolom (**3**, **6**, **7** i **9**) pokazuju pored signala za protone kumarinskog prstena i signale za proton 1,2,3-triazolnog prstena i protone ferrocena na temelju čega je potvrđeno da je klik reakcijom azidokumarinskih derivata **2**, **5**, **7MK** i **8** uveden 4-feroceniltriazolni prsten u položaj C-3 kumarina.

U ^1H NMR spektru acetamidnog derivata kumarina (**1**) (Slika 3.) prisutni su signali za protone kumarinskog prstena čime je potvrđena ciklizacija kumarinskog derivata Perkinovom reakcijom. U spektru su prisutni signali: singlet intenziteta 1H na 8,62 ppm za proton H-4, multiplet intenziteta 1H na 7,70 ppm za proton H-5, dublet intenziteta 1H na 7,27 ppm ($J=2,1$ Hz) za proton H-8 i multiplet intenziteta 1H na 7,14 ppm za proton H-6. Pored navedenih signala, prisutan je i singlet na 9,76 ppm intenziteta 1H amidnog protona, te signali za metilne protone vezane na amidnoj (dublet ($J=5,4$ Hz) na 2,27 ppm intenziteta 3H) i karboksilnoj skupini (singlet intenziteta 3H na 2,17 ppm).



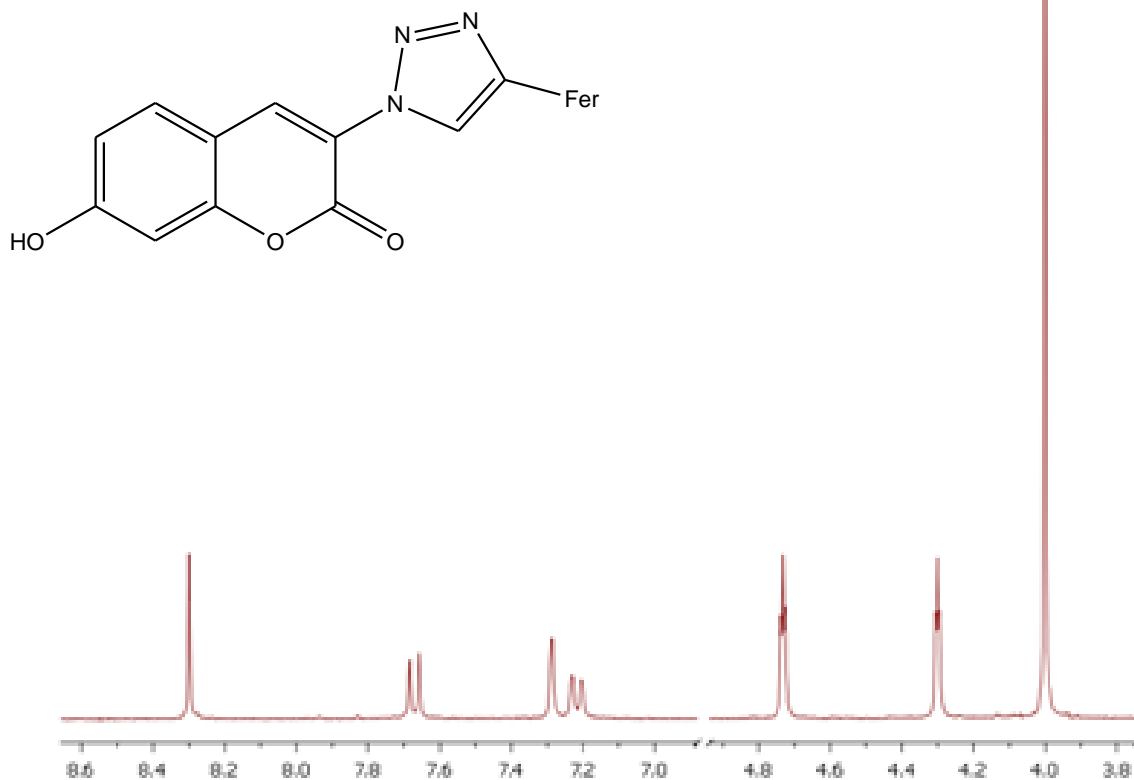
Slika 3. ^1H NMR spektar acetamidnog derivata kumarina (**1**)

Usporedbom ^1H NMR spektara spoja **2** (Slika 4.) i spoja **1**, može se uočiti da spektar spoja **2** pokazuje signale za protone kumarinske jezgre uz istovremeni izostanak signala za protone acetamidne skupine (singlet za proton na 9,76 ppm i signal za metilne protone na 2,27 ppm), te karboksilne skupine (singlet na 2,17 ppm) čime je potvrđeno nastajanje 3-azido-7-hidroksikumarina (**2**).



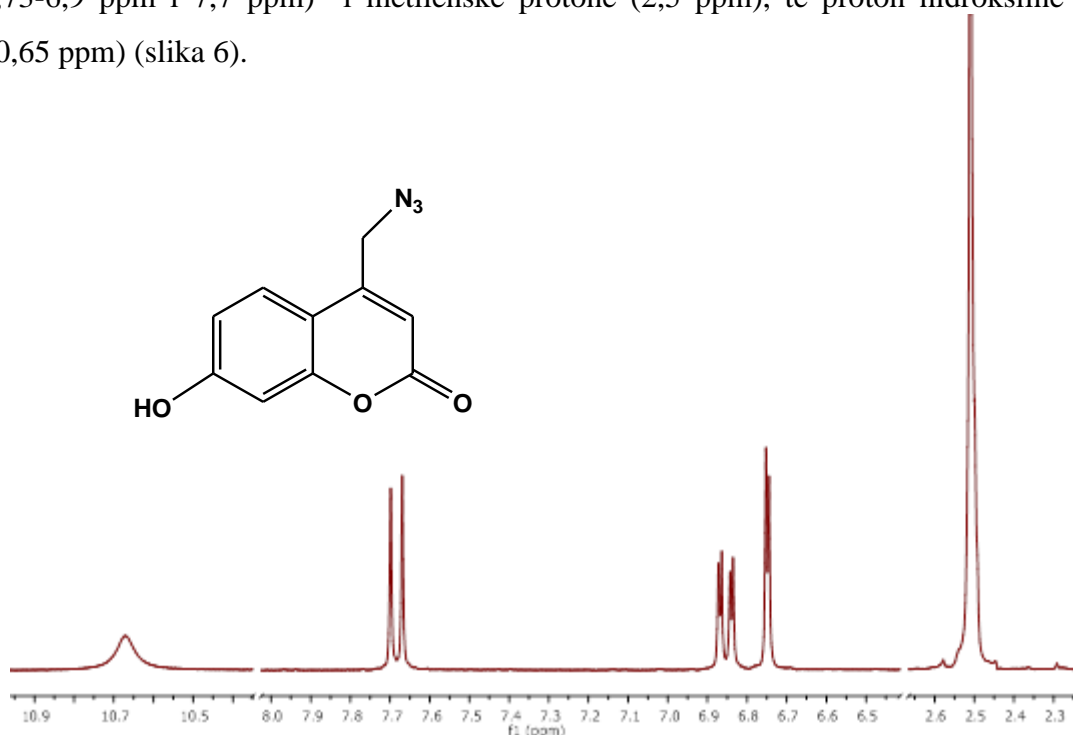
Slika 4. ^1H NMR spektar spoja **2**

^1H NMR spektar spoja **3** pored signala koji su prisutni u spektru spoja **2** sadrži i signal intenziteta 1H za proton triazolnog prstena na 8,3 ppm, te signale za protone ferocenskog prstena na 4.73 ppm i 4.35 – 4.26 ppm. (slika 5.)



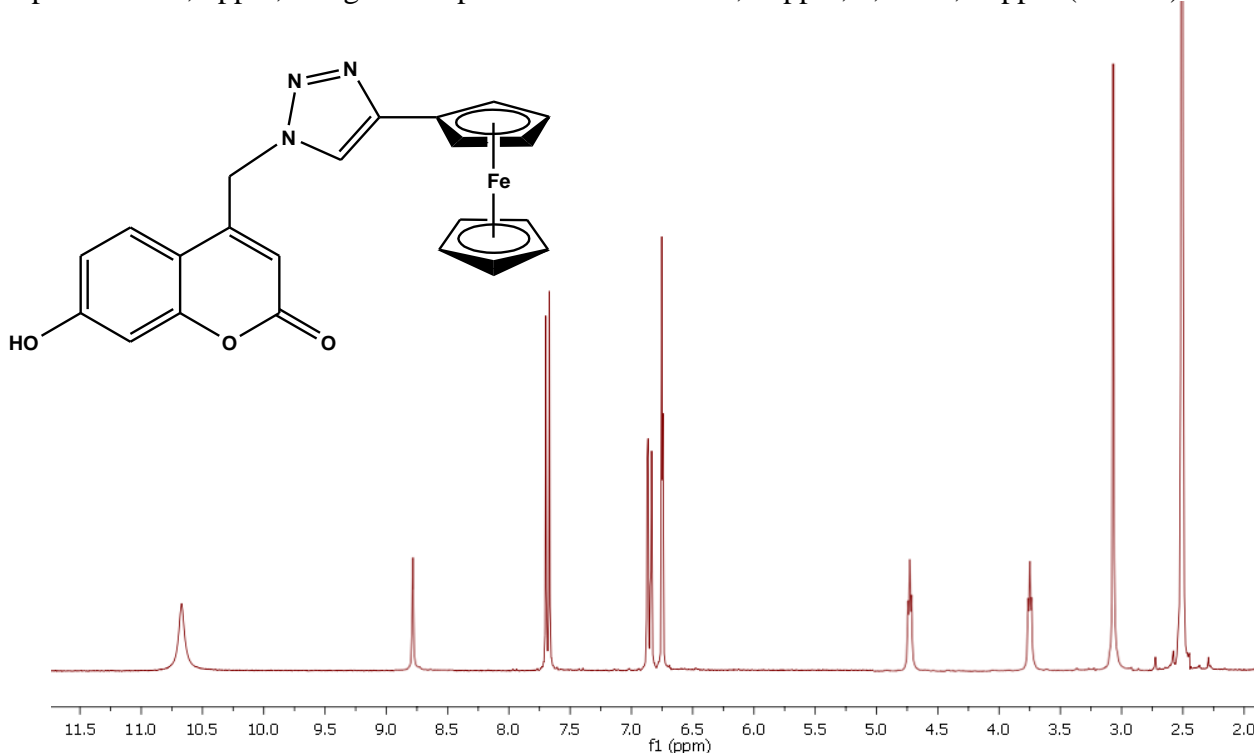
Slika 5. ^1H NMR spektar spoja **3**

Prevođenje 7-hidroksi-3-klormetilkumarina (**4**) u njegov 3-azidometilni derivat (**5**) potvrđeno je na temelju ^1H NMR spektra u kojem su prisutni signali za protone kumarinskog prstena (6,73-6,9 ppm i 7,7 ppm) i metilenske protone (2,5 ppm), te proton hidroksilne skupine (10,65 ppm) (slika 6).



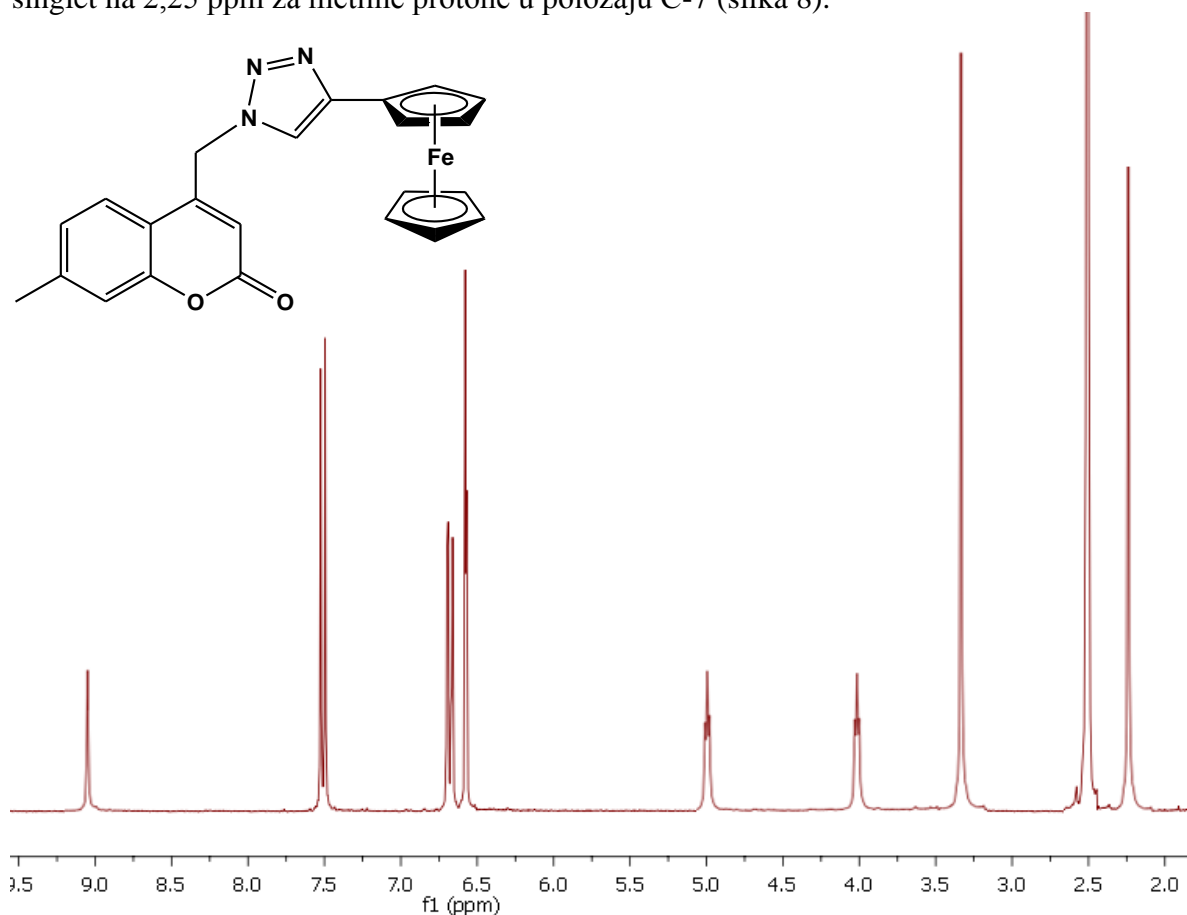
Slika 6. ^1H NMR spektar spoja **5**

^1H NMR spektar spoja **6**, hibrida kumarina i ferocena premošten 1,2,3-triazolom pokazuje pored signala prisutnih u spektru spoja **5** i dodatne signale za proton triazolnog prstena na 8,6 ppm, te signale za protone ferocena na 3,05 ppm, 3,55 i 4,44 ppm (slika 7.).



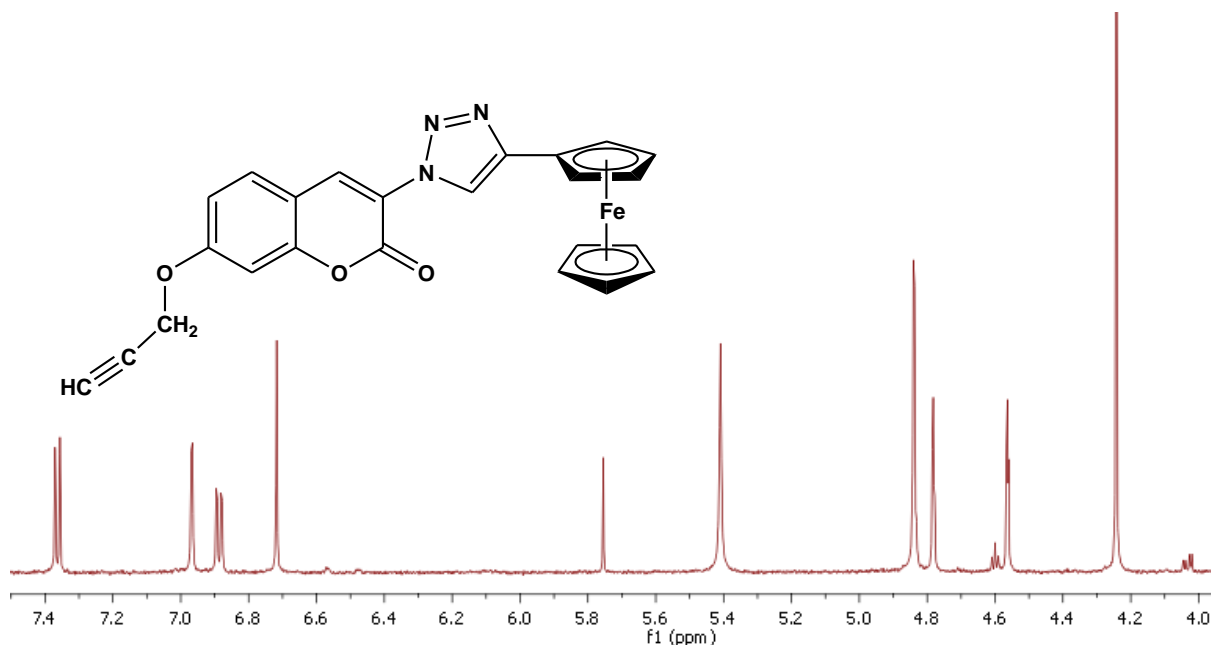
Slika 7. ^1H NMR spektar spoja **6**

^1H NMR spektar spoja **7** pokazuje signale za protone kumarinskog prstena u aromatskom dijelu spektra, signal za proton 1,2,3-triazolnog prstena na 9,1 ppm, signale za protone ferocenskog prstena u alifatskom dijelu spektra na 3,30 ppm, 4,00 i 4,99 ppm i singlet na 2,25 ppm za metilne protone u položaju C-7 (slika 8).



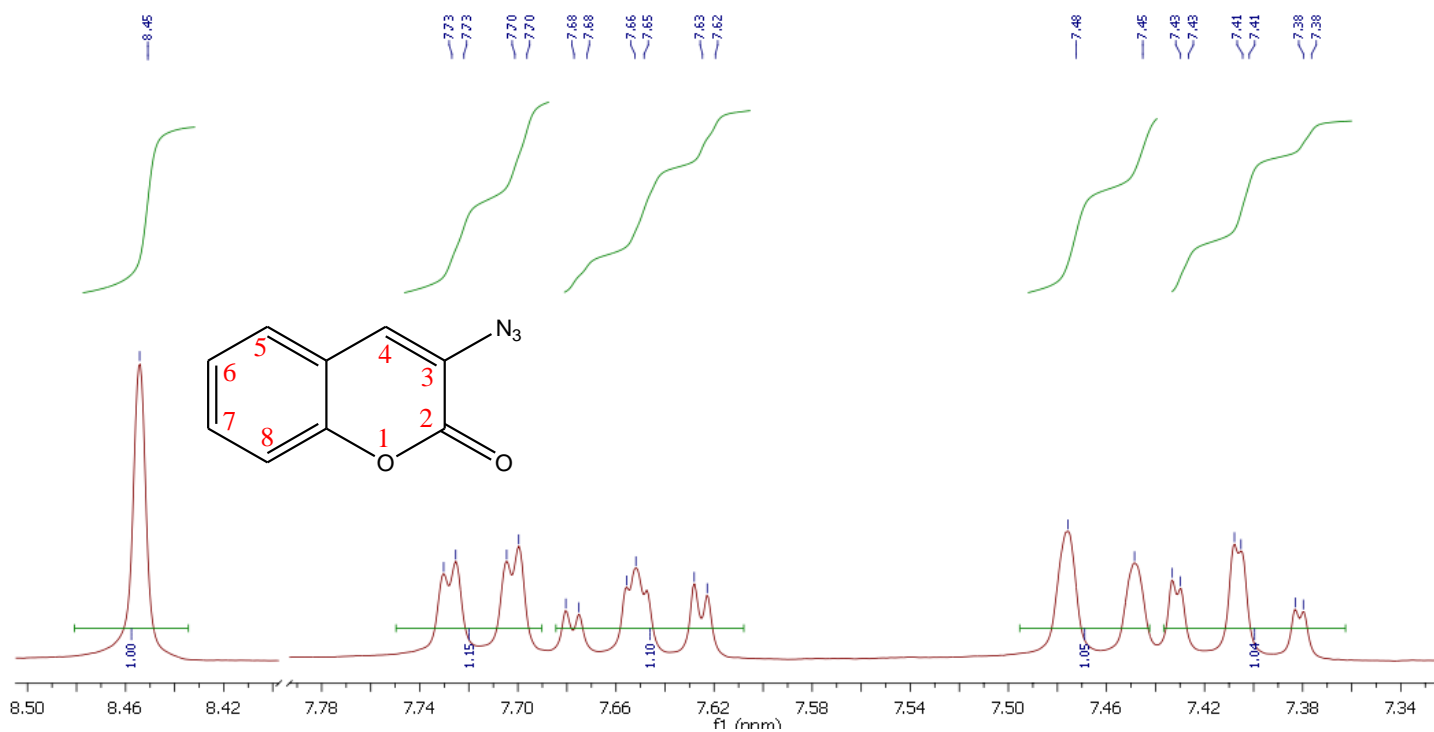
Slika 8. ^1H NMR spektar spoja **7**

U ^1H NMR spektru spoja **8** mogu se uočiti pored signala za protone kumarinskog prstena i novi signali za protone propargilnog supstituenta uvedenog u položaj 7 kumarina: triplet intenziteta 1H na 3,6 ppm za metinski proton H-3' i dublet intenziteta 2H na 4,52 ppm za metilenske protone H-1'. ^1H NMR spektar spoja **9** sadrži u usporedbi sa spektrom spoja **8** dodatne signale za proton triazolnog prstena i za protone ferocena na 4,6-4,8 ppm (slika 9.).



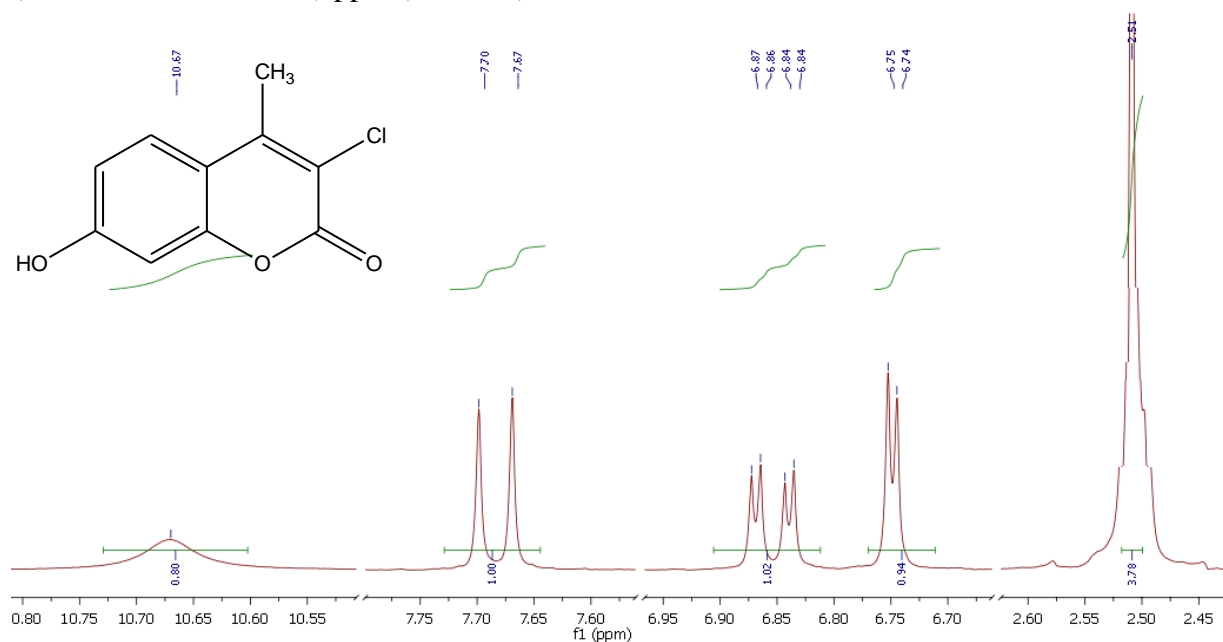
Slika 9. ^1H NMR spektar spoja **9**

^1H NMR spektar 3-azidokumarina (**11**) pokazuje sljedeće signale: 8.45 (s, 1H), 7.71 (dt, $J = 5.8, 2.9$ Hz, 1H), 7.65 (ddd, $J = 8.7, 7.4, 1.6$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.41 (td, $J = 7.6, 1.0$ Hz, 1H) ppm (slika 10.).

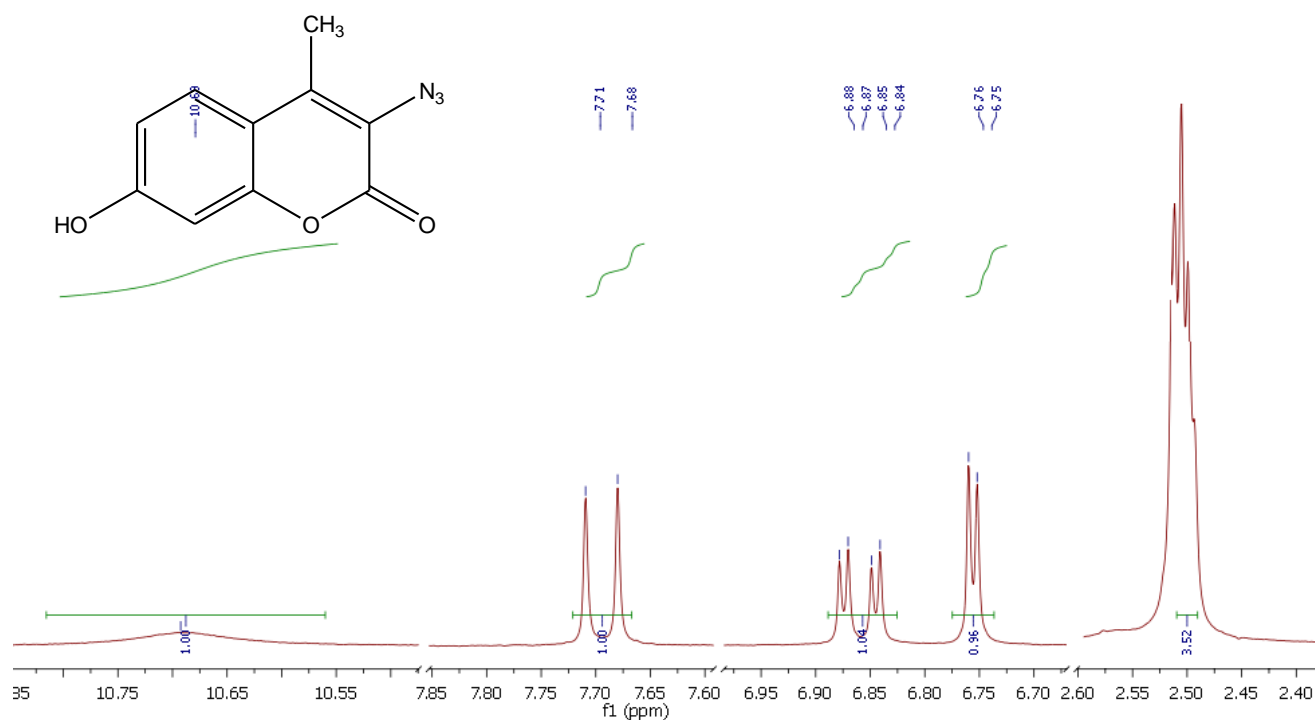


Slika 10. ^1H NMR spektar spoja **11**

U ^1H NMR spektru 7-hidroksi-3-klor-4-metilumarina (slika 11.) prisutni su sljedeći signali: 10.67 (s, 1H), 7.68 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.85 (dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz, 1H), 6.75 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 2.51 (s, 5H) ppm, dok su u spektru njegovog azido derivata **12** prisutni signali: 10.69 (s, 1H), 7.69 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.86 (dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz, 1H), 6.76 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 2.50 (dd, $J = 3.6, 1.8$ Hz, 6H) ppm (slika 12.).



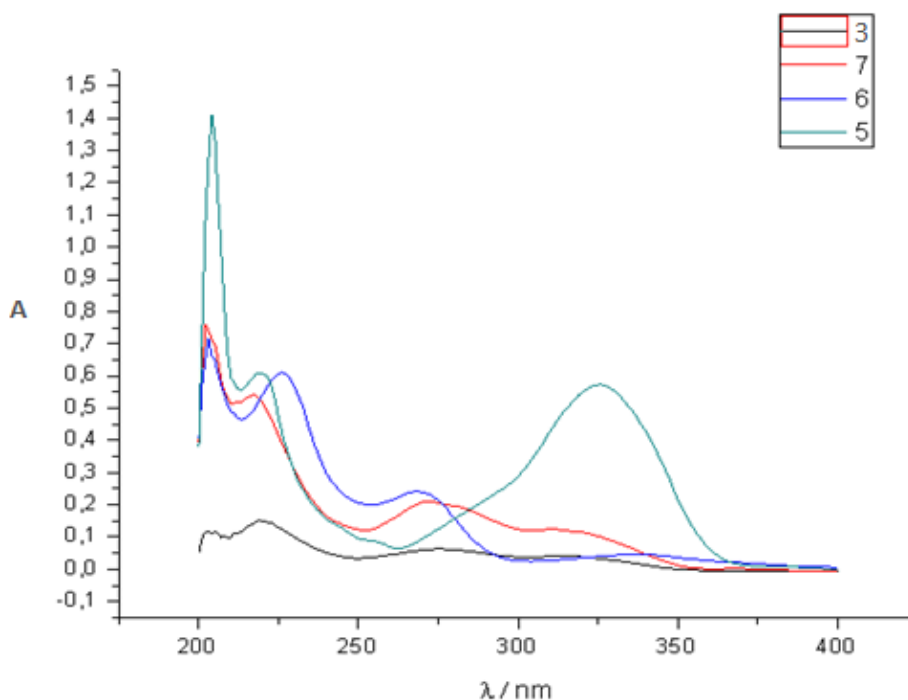
Slika 11. ^1H NMR spektar 7-hidroksi-3-klor-4-metilumarina



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

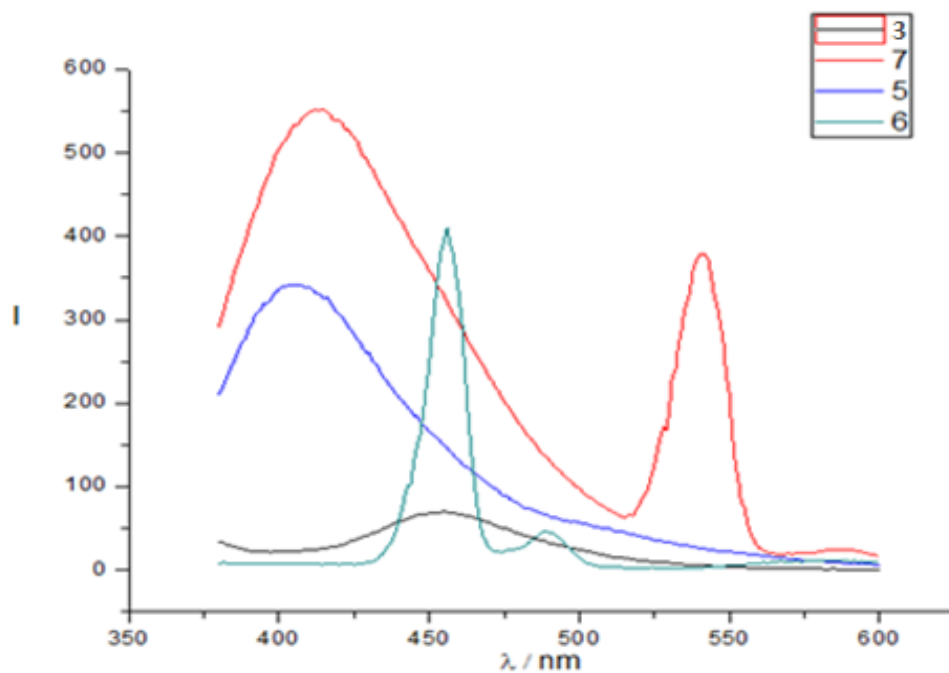
4.3. Spektroskopska karakterizacija spojeva UV/Visi fluorimetrijskom spektroskopijom

UV/Vis spektroskopska ispitivanja provedena su zbog osjetljivosti metode pri koncentraciji $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. Maksimum apsorpcije ispitivani spojevi pokazuju između 200-220 nm valne duljine (slika 13.). Iz apsorpcijskih spektara ispitivanih spojeva vidljivo je da 3-azidokumarin **5** ima dva izražena maksimuma apsorpcije na 330 i 220 nm, dok ostali ferocenski derivati (**3**, **6** i **7**) pokazuju tri maksimuma apsorpcije pri ~ 315 , 275 i 225 nm,



Slika 13. UV/Vis spektri spojeva **3**, **5**, **6** i **7** ($c = 2,0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$)

Fluorimetrijska ispitivanja provedena su pri koncentraciji $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ u metanolu. Otopine pripremljenih spojeva pobuđene su svjetlošću valne duljine ekscitacije (λ_{ex}) koja odgovara valnoj duljini maksimuma apsorpcije (λ_{max}). Na slici 14. su prikazani emisijski spektri spojeva snimani pri danoj valnoj duljini u metanolu. 3-Azidokumarinski derivat **5** pokazuje maksimum intenziteta fluorescencije pri 405 nm, dok triazolni derivati kumarina s ferocenskim supstituentom (**3**, **6** i **7**) pokazuju maksimume emisije pri različitim valnim duljinama. Iz emisijskog spektra spoja **3** vidljiva je slaba emisija pri 455 nm, dok ferocenski derivat **7** pokazuje dva maksimuma pri 545 i 405 nm.



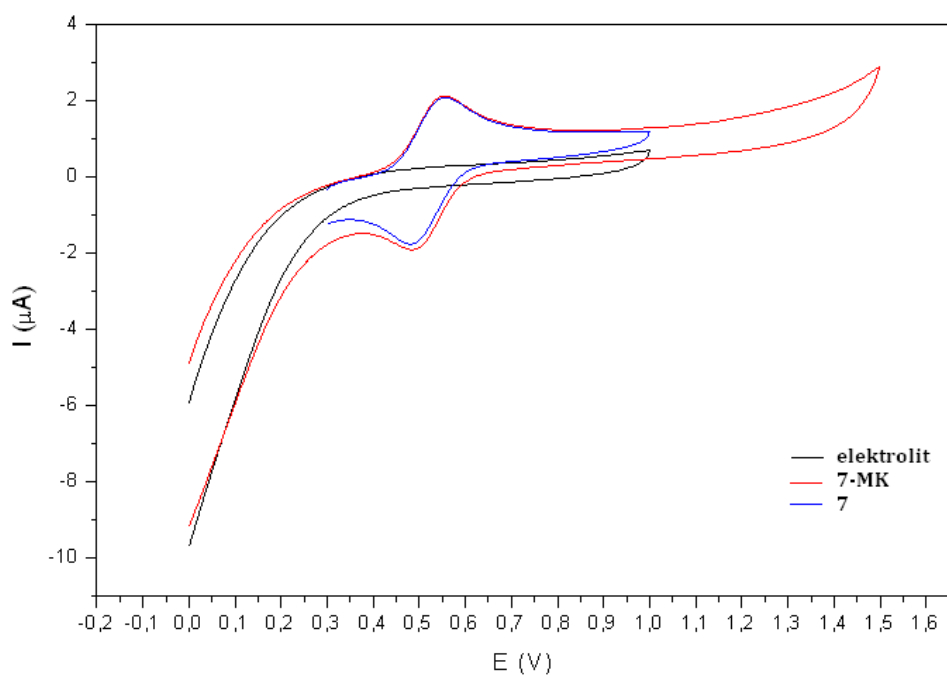
Slika 14. Emisijski spektri spojeva **3**, **5**, **6** i **7** ($c = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$)

Tablica 2. UV/Vis i fluorimetrijski podaci spektroskopskih ispitivanja spojeva

| $\lambda_{\text{max}}(\text{nm})$ | Abs | $\epsilon_{\text{max}}(\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1})$ | $\lambda_{\text{ex}}(\text{nm})$ | $\lambda_{\text{ab}}(\text{nm})$ | Stokes-ov pomak (nm) |
|-----------------------------------|---------|--|----------------------------------|----------------------------------|----------------------|
| 340 | 0,74522 | 745220 | 455 | 204 | 251 |
| 325 | 1,4115 | 1411500 | 406 | 204 | 202 |
| 225 270 | 0,71826 | 718260 | 406 541 | 203 | 203 |
| 270 320 | 0,15197 | 151970 | 414 552 | 219 | 195 |

4.4. Analiza cikličkih voltamograma

Cikličkom voltametrijom ispitana su elektrokemijska svojstva spojeva 4-azidometil-7-metil-kumarina (**7-MK**) i ferocenskog derivata 3-(4-ferocenil-1,2,3-triazol-1-il)metil-7-metilkumarina (**7**), a odziv je prikazan na slici 15. Iz cikličkog voltamograma ferocenskog derivata (**7**) i polaznog spoja (**7-MK**) u 0,1 mol dm⁻³ LiBF₄ u acetonitrilu vidljivo je da se strujni vrhovi spojeva **7-MK** i **7** u polaznom dijelu cikličkog voltamograma nalaze na 0,55 V, a povratni strujni vrh na 0,48 V, čime su potvrđena njihova dobra oksido-redukcijska svojstva te da uvođenje ferocenskog supstituenta značajno ne utječe na oksido-redukcijska svojstva u odnosu na polazni spoj **7-MK**.



Slika 15. Ciklički voltamogram spoja 4-azidometil-7-metil-kumarina (**7-MK**) i ferocenskog derivata 3-(4-ferocenil-1,2,3-triazol-1-il)metil-7-metilkumarina (**7**)

5. ZAKLJUČCI

- Perkinovom reakcijom sintetiziran je derivat kumarina 3-acetamido-2-okso-2*H*-kromen-7-il acetat (**1**)
- 7-Hidroksi-4-klormetilkumarin (**4**) sintetiziran je Knoevenagel-ovom reakcijom.
- 3-Azidokumarini **2** i **5** pripremljeni su reakcijama spojeva **1** i **4** s NaN_3 .
- *O*-alkiliranjem spoja **2** s propargil-bromidom uz K_2CO_3 sintetiziran je 3-azido-7-*O*-propargilkumarin (**8**).
- Ferocenski derivati kumarina s 1,2,3-triazolnom premostnicom (**3**, **6**, **7** i **9**) dobiveni su Cu kataliziranom klik reakcijom potpomognutom mikrovalnim zračenjem iz odgovarajućih kumarinskih azida (**2**, **5**, **MK-7** i **8**) s etinilferocenom.
- Strukturna i spektroskopska karakterizacija novosintetiziranih spojeva provedena je ^1H NMR spektroskopijom, te UV/Vis i fluorimetrijskom.
- Elektrokemijska ispitivanja provedena cikličkom voltametrijom pokazuju da novosintetizirani spoj **7**, hibrid kumarina i ferocena pokazuje dobra oksido-redukcijska svojstva.

6. LITERATURA

1. F. Borges, F. Roleira, N. Milhazes, L. Santana, E. Uriarte, *Current Medicinal Chemistry* **12** (2005) 887-916.
2. <http://www.tandfonline.com/loi/ietp20> 15.9. (1:05).
3. D. Mandal, A. Thakur, S. Ghosh, *Polyhedron* **52** (2013) 1109-1117.
4. I. R. Butler, *Inorganic Chemistry Communications* **11** (2008) 15-19.
5. M. J. Matos, L. Santana, E. Uriarte, O. A. Abreu, E. Molina, E. G. Yordi, [Agricultural and Biological Sciences](#) » "Phytochemicals - Isolation, Characterisation and Role in Human Health", 2015.
6. N. S. Dighe, S. R. Pattan, S. S. Dengale, D. S. Musmade, M. Shelar, V. Tambe, M. B. Hole, *Archives of Applied Science Research* **2** (2010) 65-71.
7. K. A. Kumar, N. Renuka, G. Pavithra, G. V. Kumar, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* **7** (2015) 67-81.
8. I. Kostova, *Current Medicinal Chemistry – Anti Cancer Agents* **5** (2005) 29-46.
9. P. K. Jain, H. Joshi, *Journal of Applied Pharmaceutical Science* **2** (2012) 236-240.
10. B. Nikhil, B. Shikha, P. Anil, N. B. Prakash, *International Research Journal of Pharmacy* **3** (2012) 24-29.
11. K. N. Venugopala, V. Rashmi, B. Odhav, *BioMed Research International*, **2013** (2013) 1-14.
12. J. M. Casas-Solvas, A. Vargas-Berenguel, L. F. Capitan-Vallvey, F. Santoyo-Gonzalez, *Organic Letters* **6** (2004) 3687-3690.
13. A. Lauria, R. Delisi, F. Mingoia, A. Terenzi, A. Martorana, G. Barone, A. M. Almerico, *European Journal of Organic Chemistry* **2014** (2014) 3289-3306.
14. S. Haider, M. Sarwar Alam, H. Hamid, *Inflammation & Cell Signaling* **1** (2014) 1-10.
15. G. C. Tron, T. Pirali, R. A. Billington, P. L. Canoncio, G. Sorba, A. A. Genazzani, *Medicinal Research Reviews* **28** (2008) 278-308.
16. P. Thirumurugan, D. Matosiuk, K. Jozwiak, *Chemical Reviews* **113** (2003) 4905-4979.
17. https://chem.libretexts.org/Core/Analytical_Chemistry/Instrumental_Analysis/Cyclic_Voltammetry 9.9.2017. (17:31)
18. https://www.fkit.unizg.hr/download/repository/VP7_2.pdf, 15.9.2017. (1:05)
19. S. R. Bhatta, V. Bheemireddy, A. Thakur, *Organometallics*, **35** (2016) 3775-3780.

7. ŽIVOTOPIS

████████████████████ Osnovnu školu Stjepana Radića kao i osnovnu glazbenu školu Metković pohađala sam u rodnom gradu Metkoviću. Nakon završenog osnovnoškolskog obrazovanja upisala sam Gimnaziju Metković, prirodoslovno-matematički smjer. Maturirala sam 2014. godine i iste godine upisala Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu, preddiplomski studij Primijenjena kemija.