Novi derivati 5-azacitozina i 6-azauracila: sinteza i strukturna karakterizacija

Ostrički, Robert

Undergraduate thesis / Završni rad

2015

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:489147

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**



Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Robert Ostrički

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, srpanj 2015.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Robert Ostrički

Novi derivati 5-azacitozina i 6-azauracila:

Sinteza i strukturna karakterizacija

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: Doc. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević

Članovi povjerenstva:

1. Doc. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije
2. Prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije
3. Doc. dr. sc. Svjetlana Krištafor, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

Zagreb, srpanj 2015.

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

Zahvaljujem se mentorici doc. dr. sc. Tatjani Gazivoda Kraljević na pruženoj pomoći pri odabiru teme i na prilici za izradu ovog rada. Zahvaljujem se dr. sc. Maji Stipković Babić na pruženoj pomoći pri izradi eksperimentalnog i pismenog dijela završnog rada te ostalim djelatnicima i kolegama sa Zavoda za organsku kemiju na stručnim savjetima i na ugodnoj radnoj atmosferi.

Posebno se zahvaljujem svojoj obitelji, djevojci i prijateljima na pruženoj podršci tijekom dosadašnjeg studiranja.

SAŽETAK

U ovom radu prikazana je sinteza i strukturna karakterizacija novih derivata 5-azacitozina i 6-azauracila u svrhu ispitivanja njihovog biološkog djelovanja protiv tumorskih staničnih linija porijeklom iz čovjeka. *N*-3 propargilirani derivat 5-azacitozina (**1**) te *N*-1 propargilirani (**5**) i *N*,*N*-1,3 dipropargilirani derivati 6-azauracila (**6**) sintetizirani su reakcijom *N*-alkiliranja 5-azacitozina i 6-azauracila uz NaH kao bazu i propargil-bromid kao alkilirajući reagens. Reakcijom propargiliranih pirimidinskih derivata **1**, **5** i **6** u uvjetima Huisgenove 1,3-dipolarne cikloadicije potpomognute mikrovalnim zračenjem s odgovarajućim aromatskim azidima uz bakar sintetizirani su 1,2,3-triazolilni derivati 5-azacitozina (**2**–**4**) i 6-azauracila (**7** i **8**). Reakcijom jodiranja *N*-1 propargiliranog derivata 6-azauracila (**5**) sintetiziran je *N*-1-(2-jod-prop-2-en)-6-azauracil (**9**). Strukture novosintetiziranih spojeva potvrđene su ^{1}H NMR spektroskopijom.

Ključne riječi: 5-azacitozin, 6-azauracil, *N*-alkiliranje, Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija

SUMMARY

In this work the synthesis and structural characterization of new 5-azacytosine and 6-azauracil derivatives is described in order to determine their activities against human malignant tumor cell lines. *N*-3 propargylated 5-azacytosine derivative (**1**), *N*-1 propargylated (**5**) and *N*,*N*-3 dipropargylated 6-azauracil derivatives (**6**) were synthesized by *N*-alkylation of 5-azacytosine and 6-azauracil using propargyl bromide as alkylating reagent and NaH as base. Reaction of propargylated pyrimidine derivatives **1**, **5** and **6** with corresponding azides by using microwave assisted Huisgen 1,3-dipolar cycloaddition conditions gave 1,2,3-triazole derivatives of 5-azacytosine (**2-4**) and 6-azauracil (**7** and **8**). *N*-1-(2-iodo-prop-2-ene)-6-azauracil (**9**) was sythesized by reaction of iodination of *N*-1 propargylated 6-azauracil derivative (**5**). The structures of newly synthesized compounds were confirmed by ^{1}H NMR spectroscopy.

Keywords: 5-azacytosine, 6-azauracil, *N*-alkylation, Huisgen 1,3-dipolar cycloaddition

SADRŽAJ

1. UVOD.....1

2. OPĆI DIO.....3

2.1. Pirimidin.....4

2.2. Citozin.....5

2.2.1. 5- azacitozinski derivati i njihova biološka aktivnost.....6

2.3. Uracil.....8

2.3.1. 6- azauracilni derivati i njihova biološka aktivnost..... 9

2.4. Reakcija *N*- alkiliranja pirimidina.....11

2.5. "Klik" kemija.....12

2.5.1. Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija (CuAAC).....13

2.5.1.1. Mehanizam CuAAC reakcije.....14

3. EKSPERIMENTALNI DIO.....15

3.1. Opće napomene.....16

3.2. Priprava spojeva.....17

4. REZULTATI I RASPRAVA.....21

4.1. Pregled sintetiziranih spojeva.....22

4.2. Sinteze spojeva.....24

4.3. Analiza ^{1}H NMR spektara.....27

4.3.1. Analiza ^{1}H NMR spektara 5-azacitozinskih derivata.....27

4.3.2. Analiza ^{1}H NMR spektara 6-azauracilnih derivata.....31

5. ZAKLJUČAK.....36

6. LITERATURA.....38

1. UVOD

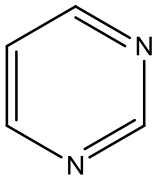
Zloćudne su bolesti jedan od najvećih zdravstvenih problema današnjice. Posljednjih nekoliko desetljeća postignut je velik napredak u područjima razumijevanja mehanizama nastanka zloćudnih bolesti. Nadalje, znatno su poboljšane dijagnostičke tehnike, posebno u primjeni suvremenih oblika liječenja. Unatoč tome, postoji još velik prostor za napredak. Smrtnost od zloćudnih bolesti u svijetu i u Hrvatskoj stalno je u porastu. Jedna od zloćudnih bolesti sa najvećim brojem smrtnosti je rak (karcinom), od kojeg u svijetu svake godine oboli 11 milijuna, a umre 7 milijuna ljudi, dok u Hrvatskoj godišnje oboli 25 000, a umre 12 500 ljudi.[1]

Normalne stanice u tijelu rastu, dijele se i umiru pod kontrolom. Kad organizam izgubi tu kontrolu, stanice se nastavljaju nekontrolirano dijeliti i stvaraju nove stanice te u konačnici tumor. Citostatici uništavaju zloćudne stanice sprječavajući njihov rast i diobu. Ti lijekovi ne djeluju selektivno, dakle ne isključivo samo na zloćudne stanice, nego mogu oštetiti i zdrave stanice u tijelu, naročito one koje se brzo dijele: krvne stanice, sluznicu probavnoga trakta, spolne stanice, folikul kose. Upravo oštećenje zdravih stanica uzrokuje popratne neželjene pojave kemoterapije. Zbog toga se danas istraživanja okreću prema sintezi selektivnih antitumorskih lijekova. Kao dobri kemoterapijski agensi pokazali su se pirimidinski derivati, koji još posjeduju i različita djelovanja kao što su analgetska i protuupalna, što ih čini iznimno značajnim u modernoj medicini.[2] Neki od često primjenjivanih 5-azacitozinskih derivata su 5-azacitidin te 2'-deoksi-5-azacitidin, koji se koriste pri liječenju mijelodiplastičnog sindroma. Od 6-azauracilnih derivata treba istaknuti 1-benzil-6-azauracil koji je pokazao antimikrobno djelovanje protiv kokcidoze, parazitarne bolesti crijevnog sustava kod životinja i čovjeka.

2. OPĆI DIO

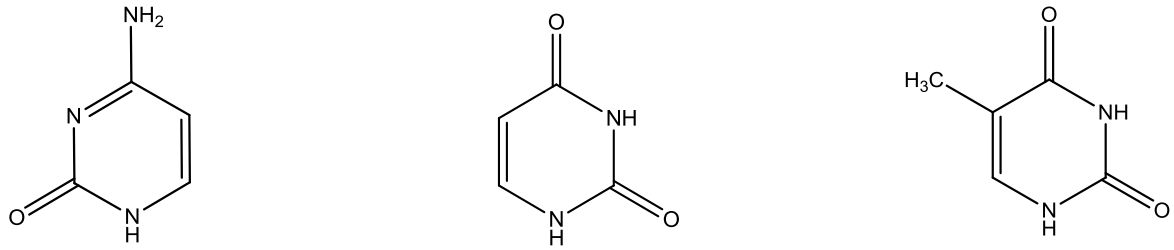
2.1. PIRIMIDIN

Pirimidin (slika 1) je heterociklički aromatski prsten sličan piridinu koji sadrži dva atoma dušika na položajima 1 i 3. Heterociklički spojevi koji sadrže pirimidin od posebne su važnosti, jer mnogo tih spojeva pokazuje značajnu biološku aktivnost. Ime pirimidina proizlazi iz kombinacije riječi piridin i amidin zbog strukturnih sličnosti.[3]



Slika 1. Pirimidin

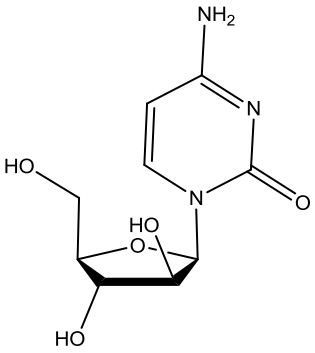
Pirimidin, za razliku od piridina ima dva atoma dušika što dovodi do smanjenja energije π elektrona. Posljedica toga je otežana elektrofilna aromatska supstitucija i olakšana nukleofilna aromatska supstitucija. U usporedbi s piridinom, *N*-oksidacija i *N*-alkiliranje se teže provode kod pirimidina. Reaktivnost pirimidina leži i u mogućnosti stvaranja vodikovih veza, što je slučaj u DNK i RNK molekulama,[4] gdje su pirimidinski derivati citozin i timin (DNK) te citozin i uracil (RNK) (slika 2).



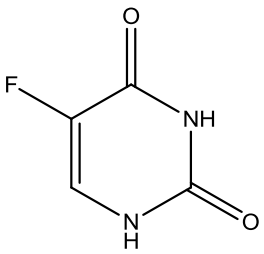
Citozin Uracil Timin

Slika 2. Pirimidinske baze u DNK i RNK molekulama

Pirimidinski derivati spadaju u jedne od biološki najaktivnijih spojeva, koji pokazuju antivirusna, antitumorska i razna druga biološka djelovanja, a pomažu i kod kardiovaskularnih oboljenja.[5] Jedni od najznačajnijih analoga pirimidina su citarabin i 5-fluoruracil (slika 3) koji sprječavaju sintezu DNA.[6]



Citarabin

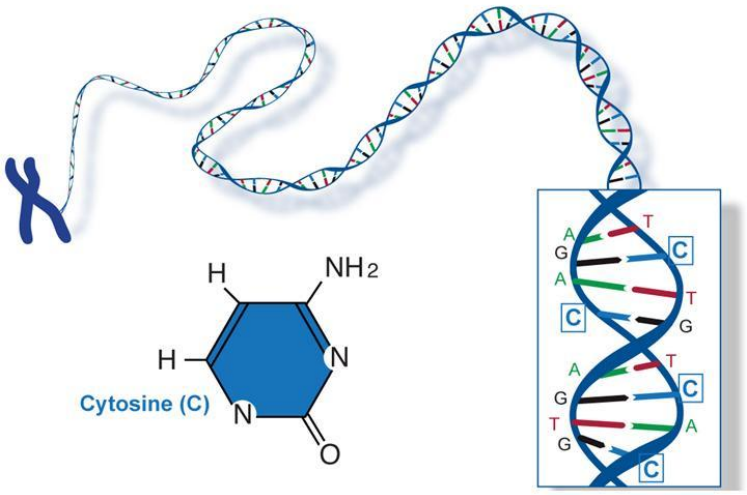


5-fluoruracil

Slika 3. Strukture citarabina i 5-fluorouracila

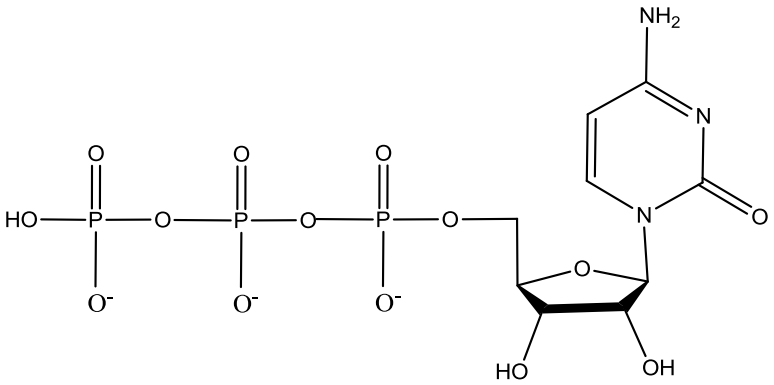
2.2. CITOZIN

Citozin je pirimidinska baza prisutna u DNK i RNK molekulama. Otkrili su ga njemački znanstvenici Albrecht Kossel i Albert Neumann 1894. godine.[7] Strukturu citozina čini pirimidinski prsten supstituiran sa 2 supstituenta, keto skupinom u položaju 2 i amino skupinom u položaju 4 (slika 4).



Slika 4. Struktura citozinske baze u DNK i RNK molekulama

Citozinski derivati pokazali su širok spektar bioloških aktivnosti. Tako na primjer, citidin trifosfat (slika 5) prenosi fosfatnu skupinu i služi kao koenzim u pretvorbi adenozin difosfata (ADP) u adenozin trifosfat (ATP).



Slika 5. Struktura citidin-trifosfata

Derivati citozina pokazuju potencijal za liječenje nekih od najtežih bolesti. Primjer toga je već spomenuti citarabin koji se koristi u liječenju akutne leukemije. Još jedan dokaz potencijala citozinskih derivata je i (*S*)-1-(3-hidroksi-2-fosfonilmetoksipropil)citozin (*S*)-HPMPC, selektivan inhibitor replikacije humanog citomegalovirusa (CMV). Uspoređujući (*S*)-HPMPC sa srodnim adeninskim inhibitorom (*S*)-HPMPA, pokazalo se da (*S*)-HPMPC inhibira replikaciju CMV-a pri manjim koncentracijama.[8]

2.2.1. 5- AZACITOZINSKI DERIVATI I NJIHOVA BIOLOŠKA AKTIVNOST

5-azacitozin (slika 6) je derivat citozina (slika 6) koji na položaju 5 umjesto ugljikovog atoma ima atom dušika.

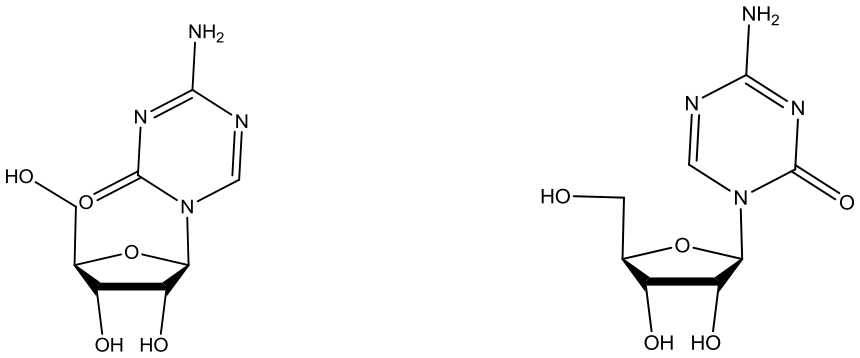


Citozin 5-azacitozin

Slika 6. Strukture citozina i 5-azacitozina

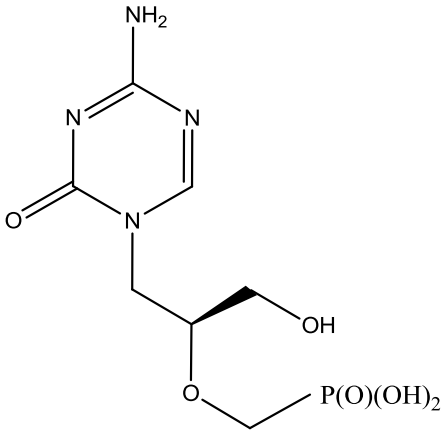
Derivati 5-azacitozina pokazali su iznimno dobru primjenjljivost u medicinskoj kemiji. Tako su neki 5-azacitozinski nukleotidi pokazali antileukemijsko djelovanje kao na primjer 5-

azacitidin (azacitidin, Vidaza™) i 2'-deoksi-5-azacitidin (decitabin, Dacogen™), koji se koriste pri liječenju mijelodisplastičnog sindroma (slika 7).[9] Još jedan biološki aktivan derivat 5-azacitozina je (*S*)-1-[3-hidroksi-2-(fosfonometoksi)propil]-5-azacitozin koji pokazuje antivirusno djelovanje (slika 8).



5-azacitidin Decitabin

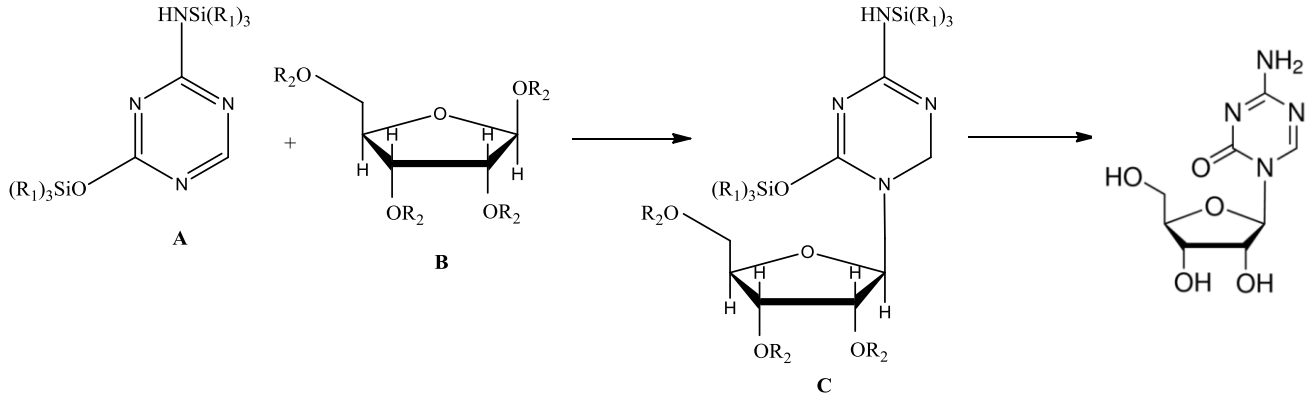
Slika 7. Strukture 5-azacitidina i decitabina



Slika 8. Struktura (*S*)-1-[3-hidroksi-2-(fosfonometoksi)propil]-5-azacitozina

5-azacitidin je sintetiziran prije gotovo 40 godina. Pokazalo se da 5-azacitidin ima širok raspon antitumorskog djelovanja i da bi mogao postati učinkovit kemoterapijski agens, međutim, zbog opće toksičnosti, preferirani su drugi agensi. Tek kada je 5-azacitidin ugrađen u DNK molekulu, otkriveno je da inhibira metiliranje DNA. Nakon tog otkrića, 5-azacitidin i decitabin dobili su na važnosti i počeli su se češće upotrebljavati.[10]

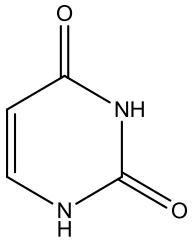
Na slici 9 prikazana je sinteza u dva stupnja 5-azacitidina. Prvi korak u sintezi je reakcija 5-azacitozina sa silirajućim agensom kako bi nastao spoj **A**. Spoj **C** dobiven je reakcijom spoja **A** i spoja **B** u prisutstvu trimetilsilil-trifluormetansulfonata (TMS-triflat). Konačno, uklanjanjem $Si(R_1)_3$ te R_2 skupina dobiven je 5-azacitidin.[11]



Slika 9. Sinteza 5-azacitidina

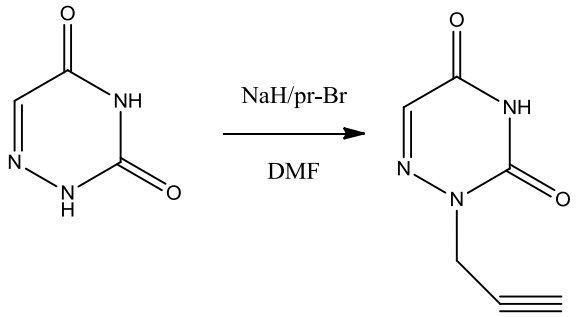
2.3. URACIL

Uracil (slika 10) je derivat pirimidina. Jedna je od četiri nukleozidne baze RNK koja zamjenjuje timin koji se nalazi u DNK. Otkrio ga je Alberto Ascoli 1900. godine.[12] Pošto je uracil jedan od sastavnih djelova RNK molekule, njegovi analozi imaju sposobnost inhibicije replikacije RNK molekule.



Slika 10. Struktura uracila

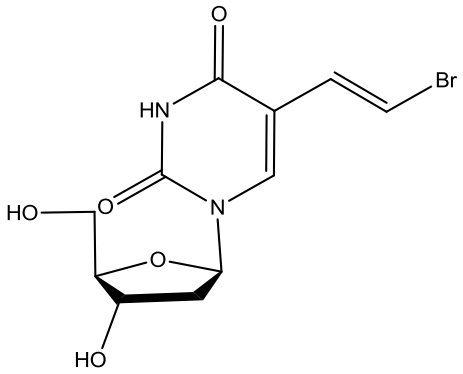
Uracil i njegovi derivati podložni su različitim kemijskim reakcijama kao što su oksidacija, alkiliranje te nitriranje. Na slici 11 prikazan je primjer *N*-alkiliranja 6-azauracila u dimetilformamidu (DMF) sa natrijevim hidridom (NaH) kao bazom.



Slika 11. *N*-alkiliranje 6-azauracila

Uracil je važna komponenta u sintezi brojnih enzima važnih za funkcioniranje stanica. Također, služi i kao koenzim i regulator biokemijskih reakcija u stanicama ljudi, biljaka i životinja, a koristi se i za dokazivanje kontaminacije voća mikroorganizmima.[13]

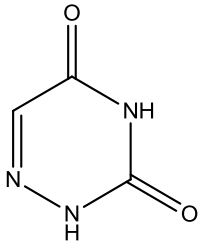
Analozi uracila našli su važnu primjenu i u medicinskoj kemiji. Jedan od najpoznatijih derivata uracila, 5-fluorouracil, koristi se kao kemoterapijski lijek u liječenju malignih bolesti. Nadalje, (*E*)-5-(2-bromvinil)-2'-deoksiuridin (slika 12), poznatiji kao brivudin (BVDU), snažan je i selektivan inhibitor replikacije virusa herpesa tipa 1 (HSV-1).[14]



Slika 12. Struktura brivudina

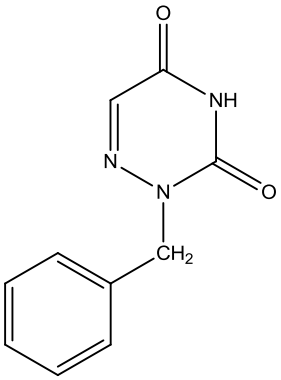
2.3.1. 6-AZAURACILNI DERIVATI I NJIHOVA BIOLOŠKA AKTIVNOST

6-azauracil (slika 13) derivat je uracila koji na položaju 6 umjesto ugljikovog atoma ima dušikov atom.

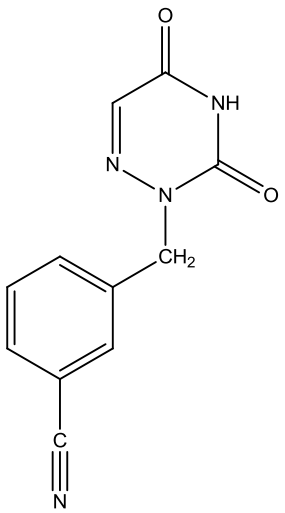


Slika 13. Struktura 6-azauracila

Derivati 6-azauracila pokazali su dobru primjenljivost u medicinskoj kemiji. Uvođenjem benzilne skupine u *N*-1 položaj 6-azauracila dobiven je 1-benzil-6-azauracil (slika 14) koji ima četiri puta jače antimikrobno djelovanje od 6-azauracila, koje je dodatno poboljšano uvođenjem malih, elektron-odvlačećih supstituenata u meta i/ili para položaj benzilne skupine. Jedan od najaktivnijih derivata, 1-(3-cijanobenzil)-6-azauracil (slika 15), 16 puta je aktivniji od 6-azauracila.[15]

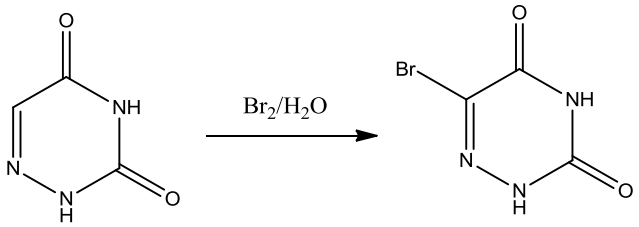


Slika 14. Struktura 1-benzil-6-azauracila



Slika 15. Struktura 1-(3-cijanobenzil)-6-azauracila

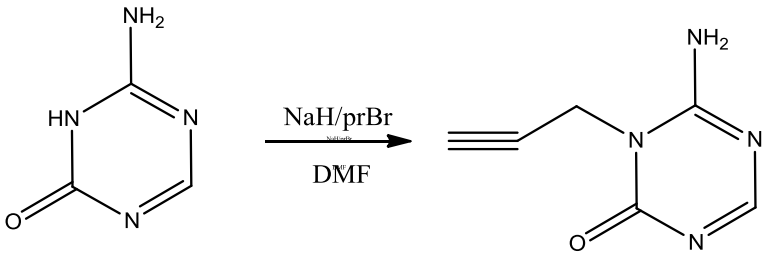
Osim u medicinske svrhe, derivati 6-azauracila našli su primjenu i u drugim područjima. Tako se npr. 5-brom-6-azauracil koristi za usporavanje rasta stanica kvasca. 5-brom-6-azauracil dobiva se direktnim bromiranjem 6-azauracila u vodenom mediju na sobnoj temperaturi (slika 16).[16]



Slika 16. Sinteza 5-brom-6-azauracila

2.4. REAKCIJA *N*-ALKILIRANJA PIRIMIDINA

Pirimidini imaju dugu povijest biološkog djelovanja i primjene u različitim područjima, od farmaceutske industrije do poljoprivrede.[17] *N*-alkiliranje jedan je od načina kojim se postiže željena fizikalna i biološka aktivnost pirimidinskog prstena. Primjer toga su *N*-alkilirane baze nukleinskih kiselina koje su poznate kao jedan od najučinkovitijih antivirusnih[18] i antitumorskih agensa,[19] a uz to pokazuju i protuupalna[20] te herbicidna svojstva.[21] Nadalje, *N*-alkilirani pirimidini sintetizirani korištenjem alkilirajućih agensa kao što su diazoalkani,[22] alkilhalogenidi[23] i alkilsulfati[24], važni su spojevi za mutagena i karcinogena ispitivanja koja se provode u živim sustavima.



Slika 17. Propargiliranje 5-azacitozina

Alkiliranje pirimidina temelji se na supstituciji dobro odlazeće skupine prisutne u alkilirajućem reagensu sa aktiviranom molekulom pirimidina. Najčešće se kao alkilirajući reagensi koriste alkil halogenidi. Pirimidinski derivati često su slabi nukleofili koje je potrebno aktivirati deprotoniranjem korištenjem deprotonirajućih reagensa kao što su natrijev hidrid (NaH) i sl.[25] Na slici 17 je prikazan primjer reakcije propargiliranja 5-azacitozina korištenjem propargil bromida kao alkilirajućeg reagensa.

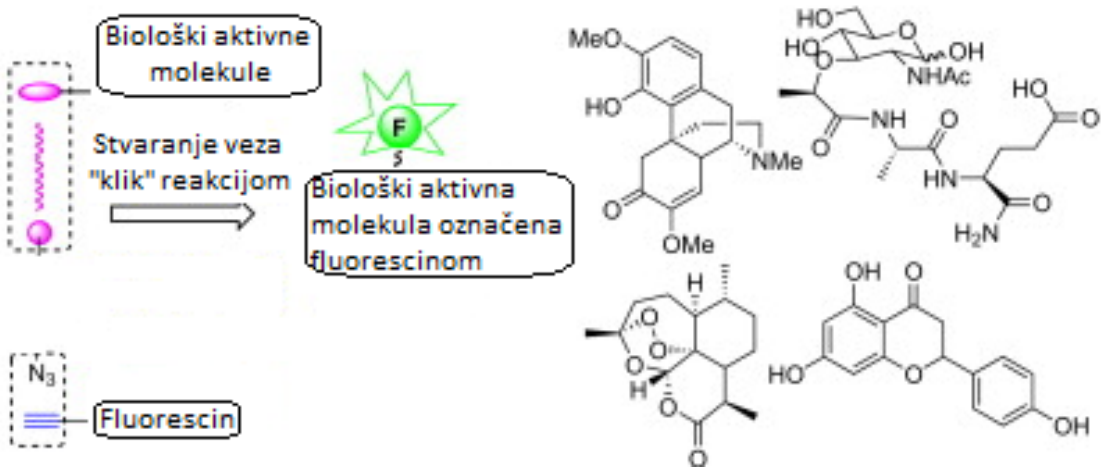
2.5."KLIK" KEMIJA

"Klik" kemija je pojam koji je uveo K. B. Sharpless 2001. godine. Tim je pojmom opisao reakcije s visokim iskorištenjem, u kojima nastaju nusprodukti koji se mogu ukloniti bez kromatografije, koje su stereospecifične, jednostavne za provođenje i mogu se provoditi u otapalima koja se lako uklanjaju. U idealnim uvjetima, reakcija bi trebala biti neosjetljiva na kisik i vodu. Taj koncept razvijen je paralelno sa interesom farmaceutskih tvrtki kojima je bio potreban jednostavan način za sintetiziranje biblioteka spojeva.

Reakcije koje zadovoljavaju kriterije "klik" reakcije su:

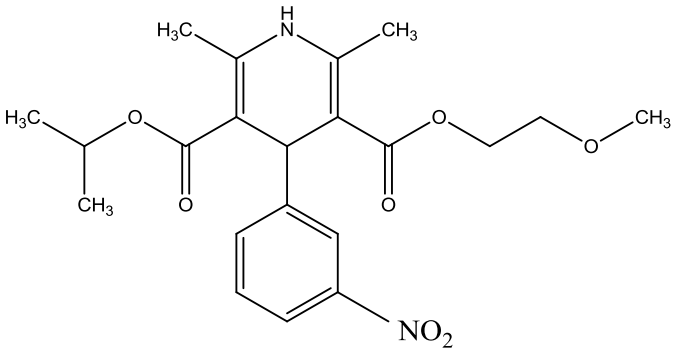
- cikloadicije nezasićenih spojeva,
- nukleofilne supstitucije (posebno reakcije u kojima dolazi do otvaranja epoksidnih prstenova),
- reakcije oksidacije kao što su epoksidacija i dehidroksiranje

"Klik" reakcije danas imaju široku upotrebu. Jedan primjer njihove primjene je obilježavanja biološki aktivnih molekula organskim bojama (slika 18). Koristeći jeftin i lako pripremljiv derivat fluorescina i Cu-kataliziranu Huisgenovu reakciju, razvijena je učinkovita metoda obilježavanja malih biološki aktivnih molekula. Prednosti ovakvog načina obilježavanja su korištenje jeftinih kemikalija, jednostavnost provedbe procesa i mogućnost obilježavanja različitih biološki aktivnih molekula.[26]



Slika 18 . Prikaz obilježavanja biološki aktivnih molekula organskim bojama

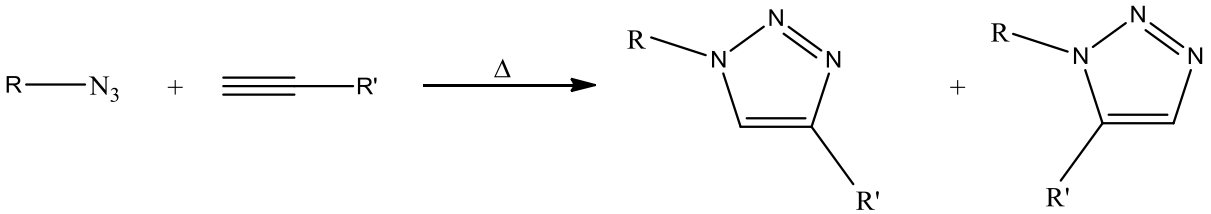
Još jedan primjer primjene "klik" kemije je sinteza nanonosača. Nimodipin (NIM) (slika 19) je biološki aktivan spoj, slabo topiv u vodi, koji utječe na protok kalcija u tijelu. Koristi se za smanjenje krvnog tlaka, suženja krvnih žila i dr. Zbog smanjene topljivosti u vodi te potrebom za otapalom, primjena nimodipina može imat nuspojave. Primjenom CuAAC reakcije sintetiziran je polimer tipa AB_2 (A = polikaprolakton; B = polietilen-glikol). Polimer je organiziran u micelarnim nakupinama, u koje je ubrizgan NIM. Topljivost NIM-a u vodi time je povećana približno 200 puta.[27]



Slika 19. Struktura nimodipina

2.5.1 HUISGEN-OVA 1,3-DIPOLARNA CIKLOADICIJA (CuAAC)

Reakciju između terminalnih alkina i azida bez katalizatora izveo je R.Huisgen šezdesetih godina prošlog stoljeća (slika 20).

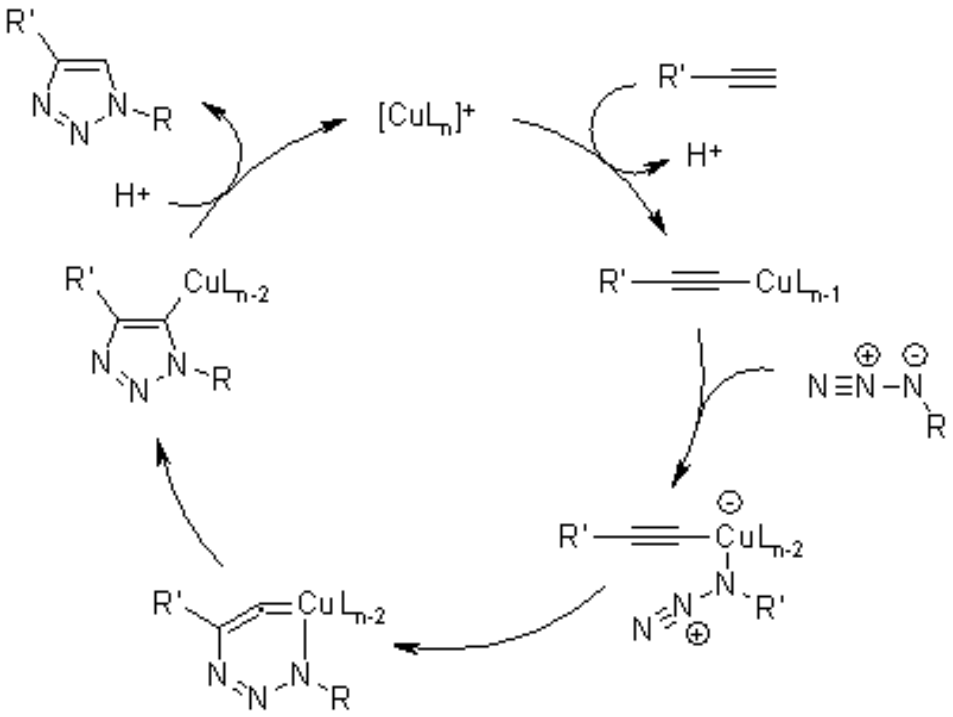


Slika 20. Huisgen-ova 1,3-dipolarna cikloadicija

Kod ove reakcije potrebne su visoke temperature i dolazi do nastajanja smjese 1,4 i 1,5-regioizomera. Sharpless i Medal su upotrebom Cu^+ iona kao katalizatora u Huisgen-ovoj reakciji dobili samo 1,4-regioizomer. Nadalje, ova reakcija može se provoditi na sobnoj temperaturi u vodenim uvjetima. Kasnije je razvijena reakcija katalizirana rutenijem čiji je produkt 1,5-regioizomer. Zbog navedenih svojstava, ove reakcije se smatraju sinonimom za "klik" kemiju.[28]

2.5.1.1. MEHANIZAM CuAAC REAKCIJE

Bakrom katalizirana CuAAC (slika 21) reakcija počinje stvaranjem kompleksa između iona bakra Cu^+ i terminalnog alkina čime dolazi do snižavanja pK_a C-H u alkinu, što omogućuje deprotoniranje u vodenim otapalima bez dodatne baze. Drugi ion bakra služi kao poveznica između azida i alkina i omogućuje nukleofilni napad ugljikovog atoma alkina na dušikov atom azida. Kinetika ove reakcije je drugog reda.[29]



Slika 21. Mehanizam CuAAC reakcije

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. OPĆE NAPOMENE

Tijek reakcija praćen je tankoslojnom kromatografijom. Kao nepokretna faza korištene su pločice 60F-254 prevučene tankim slojem silikagela Merck, a kao eluens je korištena smjesa otapala diklormetan : 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 smjesa otapala diklormetan : metanol (CH_2Cl_2 : CH_3OH).

Struktura dobivenih spojeva potvrđena je ^1H NMR spektroskopijom, a spektri su snimljeni na spektrometru Bruker 300 i 600 MHz (Institut "Ruđer Bošković"). Kemijski pomaci (δ) u spektrima izraženi su u ppm (*parts per million*).

Tališta dobivenih spojeva u krutom stanju određene su na instrumentu Kofler (Reichert, Wien) i nisu korigirane.

3.2. PRIPRAVA SPOJEVA

N-1-propargil-5-azacitozin (1)

5-azacitozin (500,0 mg; 4,46 mmol) otopljen je u dimetilformamidu (DMF) (15,0 ml) te je otopina miješana na sobnoj temperaturi. Dodatkom natrijevog hidrida (NaH) (107,0 mg; 4,46 mmol) došlo je do razvijanja vodika praćeno pojavom mjehurića. Otopina je miješana 1 sat na sobnoj temperaturi kako bi se razvio sav vodik. U otopinu je dodan propargil-bromid (PrBr) (4,90 mmol, 0,37 ml) te je reakcijska smjesa miješana preko noći na sobnoj temperaturi. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom. Reakcijska smjesa uparena je pri sniženom tlaku, a dobiveni produkt je iz reakcijske smjese izoliran pročišćavanjem kolonskom kromatografijom (CH_2Cl_2 : CH_3OH = 30 : 1; CH_2Cl_2 : CH_3OH = 10 : 1). Dobiven je bijeli prah spoja **1** (122,4 mg; 18,27 %; T.t.= 140–143°C).

^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 3,39 (t, 1H, *J* = 2,5 Hz, H-3'), 4,49 (d, 2H, *J* = 2,5 Hz, H-1'), 7,51 (d, 2H, *J* = 4,6 Hz, NH_2-4), 8,35 (s, 1H, H-6) ppm.

N-1-[(1-benzil-1,2,3-triazol-4-il)metil]-5-azacitozin (2)

Spoj **1** (122,4 mg; 0,815 mmol) otopljen je u DMF-u (10,0 ml), dodan je bakrov(II) sulfat pentahidrat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) (32,0 mg; 0,13 mmol), *tert*-butanol (*t*-BuOH) (5,6 ml), H_2O (5,6 ml), Cu(0) (50,0 mg; 0,79 mmol) i benzil-azid (0,978 mmol, 1,96 ml). Reakcijska smjesa je miješana 1 sat u mikrovalnom reaktoru na 80 °C i 300 W. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom. Iz reakcijske smjese izdvojen je Cu(0), a ostatak je uparen pri sniženom tlaku. Nastali produkt iz reakcijske smjese izoliran je kolonskom kromatografijom (CH_2Cl_2 : CH_3OH = 20 : 1; CH_2Cl_2 : CH_3OH = 1 : 1). Dobiven je bijeli prah spoja **2** (36,0 mg; 15,58 %; T.t.= 268–270°C).

^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 4,90 (s, 2H, H-1'), 5,54 (s, 2H, CH_2-Bz), 7,28–7,35 (m, 5H, $C_6\underline{H_5}$), 7,39 (s, 2H, NH_2-4), 8,08 (s, 1H, H-3'), 8,41 (s, 1H, H-6) ppm.

N-1-[(1-*p*-fluorfenil-1,2,3-triazol-4-il)metil]-5-azacitozin (3)

Spoj **1** (100,6 mg; 0,67 mmol) otopljen je u DMF-u (10,0 ml), dodan je $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (26,2 mg; 0,11 mmol), *t*-BuOH (4,6 ml), H_2O (4,6 ml), Cu(0) (42,2 mg; 0,664 mmol) i 1-azid-4-

fluorbenzen (0,804 mmol, 1,61 ml). Reakcijska smjesa miješana je 1 sat u mikrovalnom reaktoru na 80°C i 300 W. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom. Iz reakcijske smjese izdvojen je Cu(0), a ostatak je uparen pri sniženom tlaku. Nastali produkt iz reakcijske smjese izoliran je kolonskom kromatografijom (CH_2Cl_2 : CH_3OH = 20 : 1; CH_2Cl_2 : CH_3OH = 10 : 1). Dobiven je bijeli prah spoja **3** (25,4 mg; 13,19 %; T.t.= 280–282°C).

^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 5,03 (s, 2H, H-1'), 7,41–7,47 (m, 4H, $C_6\underline{H}_5$, NH_2-4), 7,91–7,96 (m, 2H, $C_6\underline{H}_5$), 8,49 (s, 1H, H-6), 8,74 (s, 1H, H-3') ppm.

***N*-1-[(1-*p*-jodfenil-1,2,3-triazol-4-il)metil]-5-azacitozin (4)**

Spoj **1** (100,6 mg; 0,670 mmol) otopljen je u DMF-u (10,0 ml), dodan je $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (26,2 mg; 0,11 mmol), *t*-BuOH (4,6 ml), H_2O (4,6 ml), Cu(0) (42,2 mg; 0,664 mmol) i 1-azid-4-jodbenzen (0,804 mmol, 1,61 ml). Reakcijska smjesa je miješana 1 sat u mikrovalnom reaktoru na 80°C i 300 W. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom. Iz reakcijske smjese izdvojen je Cu(0), a ostatak je uparen pri sniženom tlaku. Nastali produkt iz reakcijske smjese izoliran je kolonskom kromatografijom (CH_2Cl_2 : CH_3OH = 20 : 1; CH_2Cl_2 : CH_3OH = 10 : 1). Dobiven je žućkasti prah spoja **4** (19,0 mg; 7,18 %; T.t.= 270–272°C).

^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 4,99 (s, 2H, H-1'), 7,42 (s, 2H, NH_2-4), 7,68 (d, 2H, $C_6\underline{H}_5$), 7,90 (d, 2H, $C_6\underline{H}_5$), 8,45 (s, 1H, H-6), 8,75 (s, 1H, H-3') ppm.

***N*-1-propargil-6-azauracil (5)**

6-azauracil (1,0 g; 8,84 mmol) otopljen je u DMF-u (23,0 ml) te je otopina miješana na sobnoj temperaturi. Dodatkom NaH (254,7 mg; 10,6 mmol) došlo je do razvijanja vodika praćeno pojavom mjehurića. Otopina je miješana 1 sat na sobnoj temperaturi kako bi se razvio sav vodik. U otopinu je dodan propargil-bromid (PrBr) (9,72 mmol, 0,94 ml) te se reakcijska smjesa miješala preko noći na sobnoj temperaturi. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom. Reakcijska smjesa uparena je pri sniženom tlaku, a dobiveni produkt je iz reakcijske smjese izoliran kolonskom kromatografijom (CH_2Cl_2 : CH_3OH = 50 : 1). Dobiven je žućkasti prah spoja **5** (466,0 mg; 34,9 %; T.t.= 107–109°C).

^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 3,20 (t, 1H, *J* = 2,5 Hz, H-3'), 4,47 (d, 2H, *J* = 2,5 Hz, H-1'), 7,56 (s, 1H, H-5), 12,71 (1H, bs, NH-3) ppm.

***N*,*N*-1,3-dipropargil-6-azauracil (6)**

6-azauracil (1,0 g; 8,84 mmol) otopljen je u DMF-u (23,0 ml) te je otopina miješana na sobnoj temperaturi. Dodatkom NaH (254,7 mg; 10,6 mmol) došlo je do razvijanja vodika praćeno pojavom mjehurića. Otopina je miješana 1 sat na sobnoj temperaturi kako bi se razvio sav vodik. U otopinu je dodan propargil-bromid (9,72 mmol, 0,94 ml) te se reakcijska smjesa miješala preko noći na sobnoj temperaturi. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom. Reakcijska smjesa uparena je pri sniženom tlaku, a dobiveni produkt je iz reakcijske smjese izoliran kolonskom kromatografijom (CH_2Cl_2 : CH_3OH = 50 : 1). Dobiven je bijeli prah spoja **6** (100,0 mg; 5,98 %; T.t.=130–132°C).

^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 3,23 (t, 1H, *J* = 2,5 Hz, H-3'), 3,41 (t, 1H, *J* = 2,5 Hz, H-3''), 4,51 (d, 2H, *J* = 2,5 Hz, H-1'), 4,72 (d, 2H, *J* = 2,5 Hz, H-1''), 7,70 (s, 1H, H-5) ppm.

***N*-1-[(1-*p*-klorfenil-1,2,3-triazol-4-il)metil]-6-azauracil (7)**

Spoj **5** (183,0 mg; 2,42 mmol) otopljen je u dimetilformamidu (DMF) (5 ml) i reakcijskoj smjesi je dodan $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (47,6 mg; 0,19 mmol), *t*-BuOH (8,4 ml), H_2O (8,4 ml), Cu(0) (76,2 mg; 0,66 mmol) i 1-azid-4-klorbenzen (2,90 mmol, 2,91 ml). Reakcijska smjesa je miješana 1 sat u mikrovalnom reaktoru na 80 °C i 300 W. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom. Iz reakcijske smjese izdvojen je Cu(0), a ostatak je uparen pri sniženom tlaku. Nastali produkt iz reakcijske smjese izoliran je kolonskom kromatografijom (CH_2Cl_2 : CH_3OH = 30 : 1; CH_2Cl_2 : CH_3OH = 10 : 1). Dobiven je bijeli prah spoja **7** (26,5 mg; 3,2 %; T.t.= 269–271°C).

^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 5,05 (s, 2H, H-1'), 7,57 (s, 1H, H-5), 7,65 (m, 2H, $C_6\underline{H}_5$), 7,90 (m, 2H, $C_6\underline{H}_5$), 8,73 (s, 1H, H-3'), 12,67 (1H, bs, NH-3) ppm.

***N*,*N*-1,3-di-[(1-*p*-klorfenil-1,2,3-triazol-4-il)metil]-6-azauracil (8)**

Spoj **6** (124,6 mg; 0,659 mmol) otopljen je u DMF-u (10 ml), te je reakcijskoj smjesi dodan $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (25,9 mg; 0,11 mmol), *t*-BuOH (4,5 ml), H_2O (4,5 ml), Cu(0) (41,5 mg; 0,65 mmol) i 1-azid-4-klorbenzen (1,58 ml). Reakcijska smjesa je miješana 1 sat u mikrovalnom reaktoru na 80°C i 300 W. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom. Iz reakcijske smjese izdvojen je Cu(0), a ostatak je uparen pri sniženom tlaku. Nastali produkt iz reakcijske smjese izoliran je kolonskom kromatografijom (CH_2Cl_2 : CH_3OH= 70 : 1; CH_2Cl_2 : CH_3OH= 30 : 1). Dobiven je bijeli prah spoja **8** (9,5 mg; 2,9 %; T.t.= 168–170°C).

^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 5,14 (s, 2H, H-1'), 5,27 (s, 2H, H-1''), 7,62-7,70 (m, 4H, $C_6\underline{H}_5$, $C_6\underline{H}_5$''), 7,73 (s, 1H, H-5), 7,87–7,92 (m, 4H, $C_6\underline{H}_5$, $C_6\underline{H}_5$''), 7,90 (m, 2H, $C_6\underline{H}_5$), 8,72 (s, 1H, H-3'), 8,80 (s, 1H, H-3'') ppm.

***N*-1-(2-jod-prop-2-en)-6-azauracil (9)**

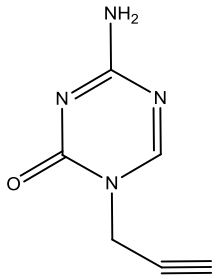
Spoj **5** (100 mg; 0,66 mmol) otopljen je u acetonitrilu (CH_3CN) (5,0 ml) te je u reakcijsku smjesu dodan jod (I_2) (63,0 mg; 0,50 mmol) i cerij(IV) amonijev nitrat (CAN) (274,0 mg; 0,50 mmol). Reakcijska smjesa zagrijana je na temperaturu refluksa 2 sata i miješana preko noći na sobnoj temperaturi. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom. Organski i vodeni slojevi odvojeni su u lijevku za odjeljivanje. Organski sloj uparen je do suha, a dobiveni produkt izoliran kolonskom kromatografijom (CH_2Cl_2 : CH_3OH = 200 : 1; CH_2Cl_2 : CH_3OH = 100 : 1; CH_2Cl_2 : CH_3OH = 30 : 1; CH_2Cl_2 : CH_3OH = 5 : 1). Dobiven je žuti prah spoja **9** (3,7 mg; 2,0 %; T.t.=100–103 °C).

^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 4,24 (s, 2H, H-3'), 4,90 (s, 2H, H-1'), 7,59 (s, 1H, H-5), 12,75 (s, 1H, NH-3) ppm.

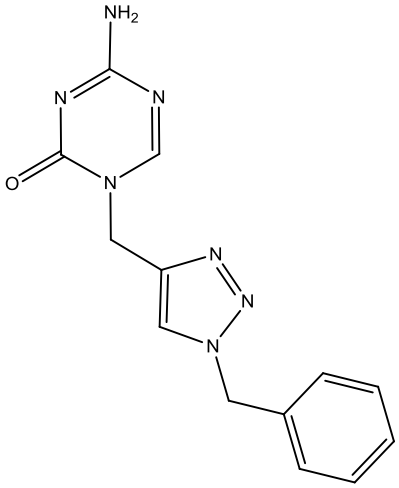
4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. PREGLED SINTETIZIRANIH SPOJEVA

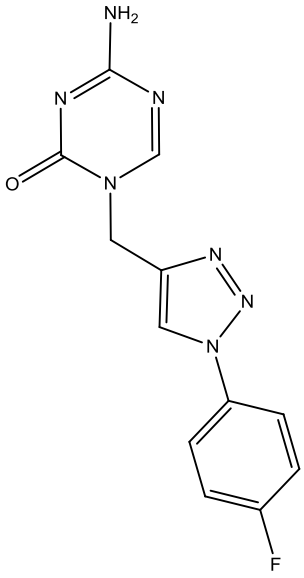
5-azacitozinski derivati (1-4):



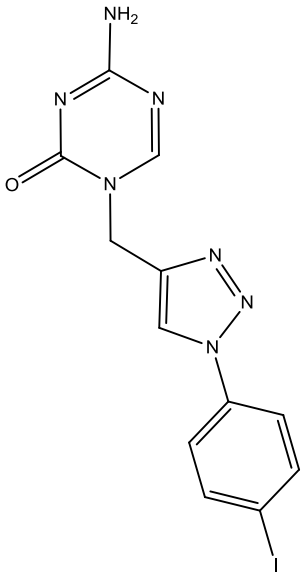
1



2

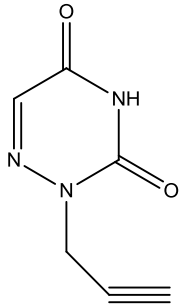


3

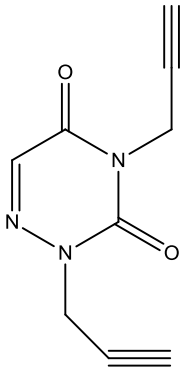


4

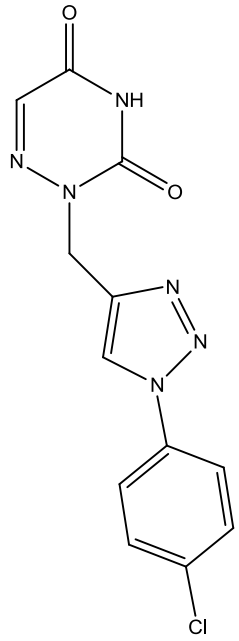
6-azauracilni derivati (5-9):



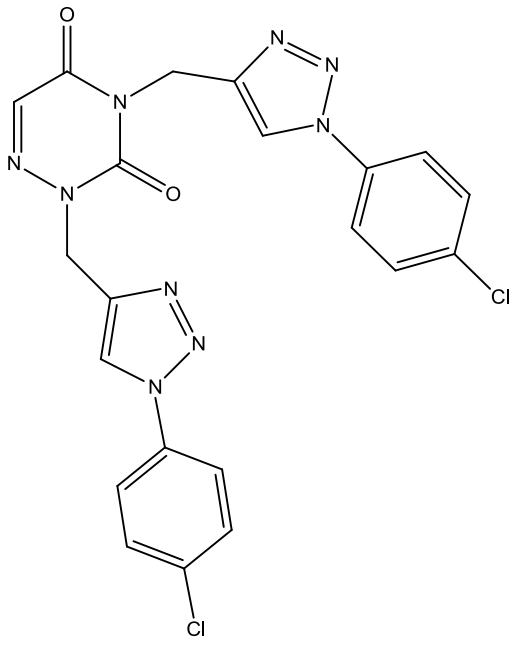
5



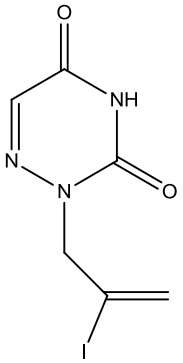
6



7



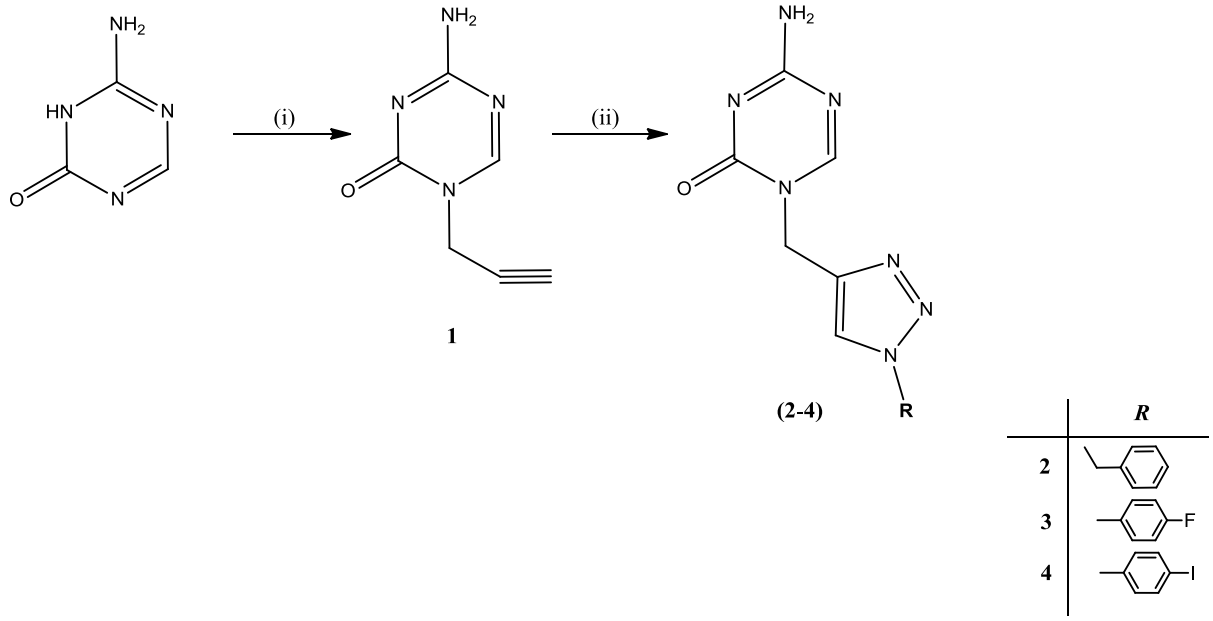
8



9

4.2. SINTEZE SPOJEVA

Cilj ovog rada bio je sintetizirati nove *N*-alkilirane derivate 5-azacitozina i 6-azauracila. *N*-alkiliranje 5-azacitozina i 6-azauracila provedeno je uz prisustvo jake baze (NaH) koja deprotonira pirimidinski prsten čime je omogućena nukleofilna supstitucija s propargil-bromidom.



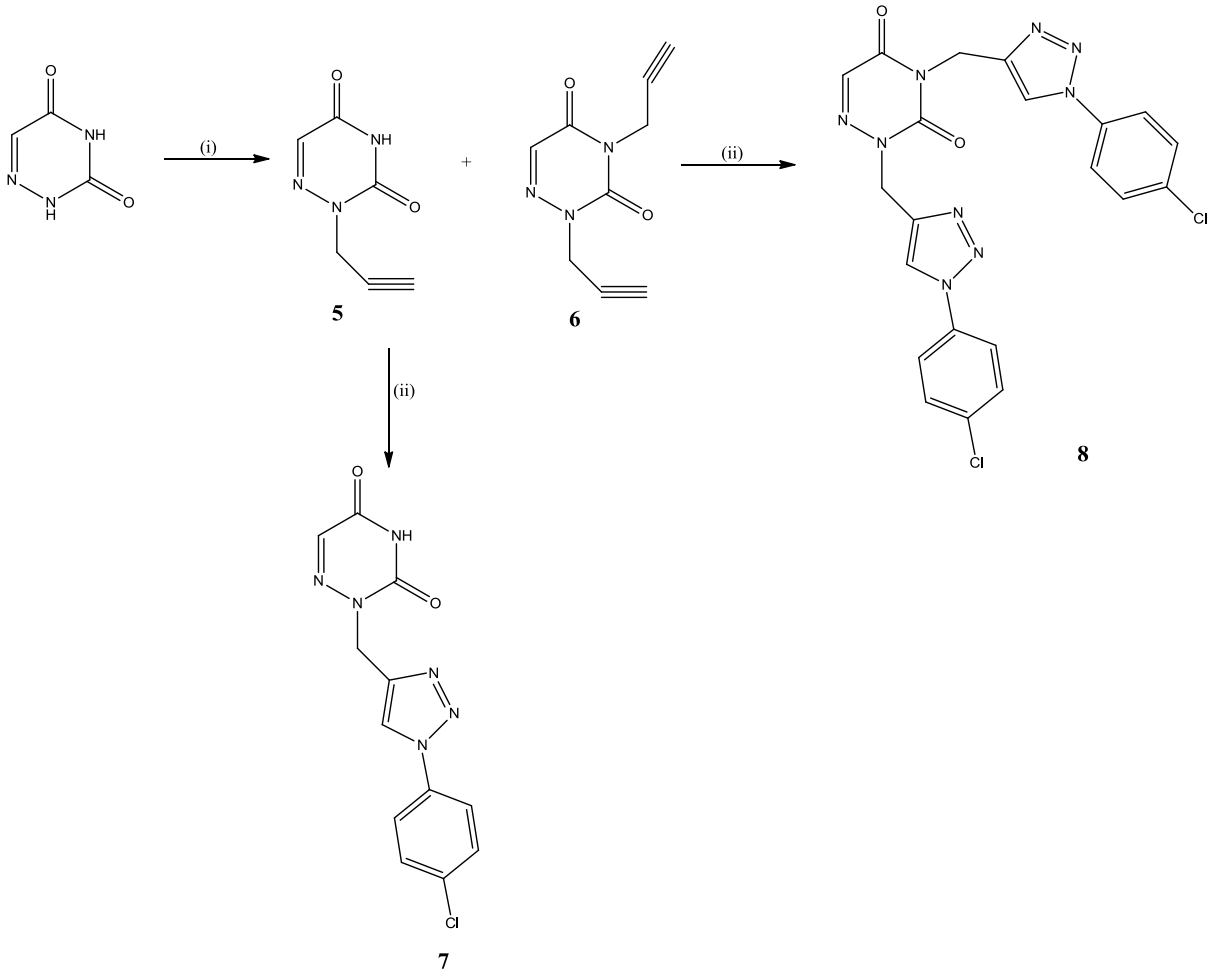
Shema 1. Sinteza 5-azacitozinskih derivata (**1**-**4**)

Reakcijski uvjeti: (i) NaH/ PrBr/ s.t./ preko noći,

(ii) N_3-R/ Cu(0)/ $CuSO_4 \cdot 5H_2O$/ *t*-BuOH/ H_2O/ DMF/ MW/ 45 min.

Tako je reakcijom alkiliranja 5-azacitozina uz NaH pripravljen *N*-1-propargilirani derivat **1** (shema 1). 5-azacitozinski derivati s 1,2,3-triazolnim supstituentima (**2**-**4**) sintetizirani su reakcijom Huisgenove 1,3-dipolarne cikloadicije potpomognute mikrovalovima *N*-1-propargiliranog derivata 5-azacitozina (**1**) i odgovarajućih azida uz $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, *tert*-butanol (*t*-BuOH), vodu te dimetilformamid (DMF) i bakar Cu(0) (shema 1).

Reakcijom alkiliranja 6-azauracila s propargil-bromidom uz NaH kao bazu pripravljeni su *N*-1-propargilirani, (**5**) i *N*,*N*-1,3-dipropargilirani derivati (**6**) (shema 2).



Shema 2. Sinteza 6-azauracilnih derivata (**5**-**8**)

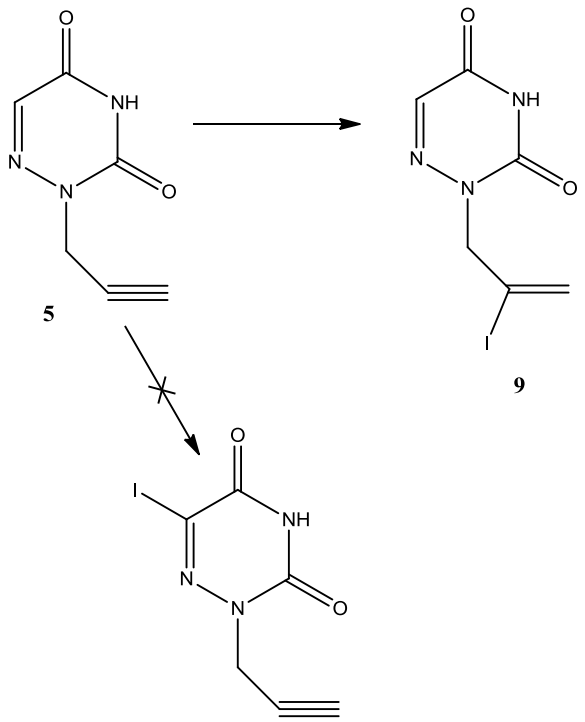
Reakcijski uvjeti: (i) NaH/ PrBr/ DMF/ s.t/ preko noći,

(ii) N_3-R/ Cu(0)/ $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$/ *t*-BuOH/ H_2O/ DMF/ MW/ 45 min,

(iii) CH_3CN/ CAN/ I_2/ refluks/ 2h/ s.t/ preko noći.

"Klik" reakcijom potpomognute mikrovalovima *N*-1-propargil-6-azauracila i *p*-klorfenil azida uz $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, *tert*-butanol (*t*-BuOH), vodu te dimetilformamid (DMF) i bakar Cu(0) sintetiziran je 1,4-disupstituirani konjugat 1,2,3-triazola i 6-azauracila (**7**). *N*,*N*-1,3-disupstituirani derivat 6-azauracila (**8**) pripravljen je Huisgenovom 1,3-dipolarnom cikloadicijom *N*,*N*-1,3-dipropargiliranog derivata **6** uz $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, *tert*-butanol (*t*-BuOH), vodu te dimetilformamid (DMF) i bakar Cu(0) (shema 2).

Spoj **9** sintetiziran je reakcijom jodiranja s jodom, cerijevim(IV)amonijevim nitratom (CAN) u acetonitrilu (CH_3CN). U reakciji jodiranja nije dobiven očekivani 5-jod-*N*-1-propargil-6-azauracil, već je izoliran *N*-1-(2-jod-prop-2-en)-6-azauracil (shema 3).



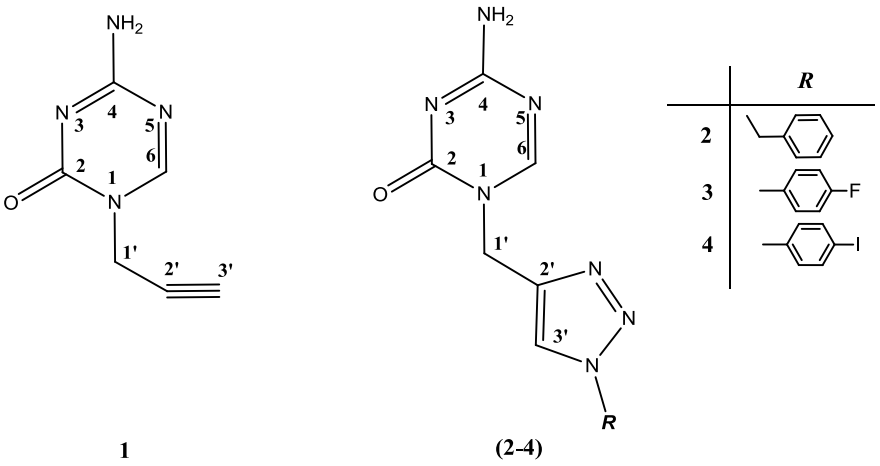
Shema 3. Reakcija jodiranja spoja **5**

Reakcijski uvjeti: CH_3CN/ CAN/ I_2/ refluks/ 2h/ s.t./ preko noći.

4.3. ANALIZA ^{1}H NMR SPEKTARA

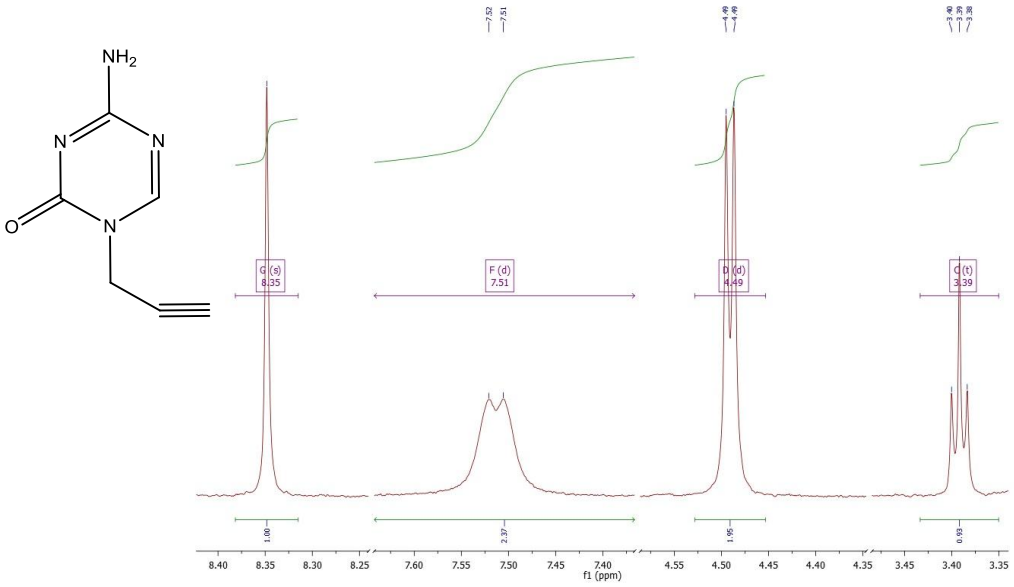
4.3.1. Analiza ^{1}H NMR spektara 5-azacitozinskih derivata

Strukture novosintetiziranih 5-azacitozinskih derivata (**1**–**4**) potvrđene su ^{1}H NMR spektroskopijom (slika 1).



Slika 1. Prikaz struktura 5-azacitozinskih derivata **1**–**4**

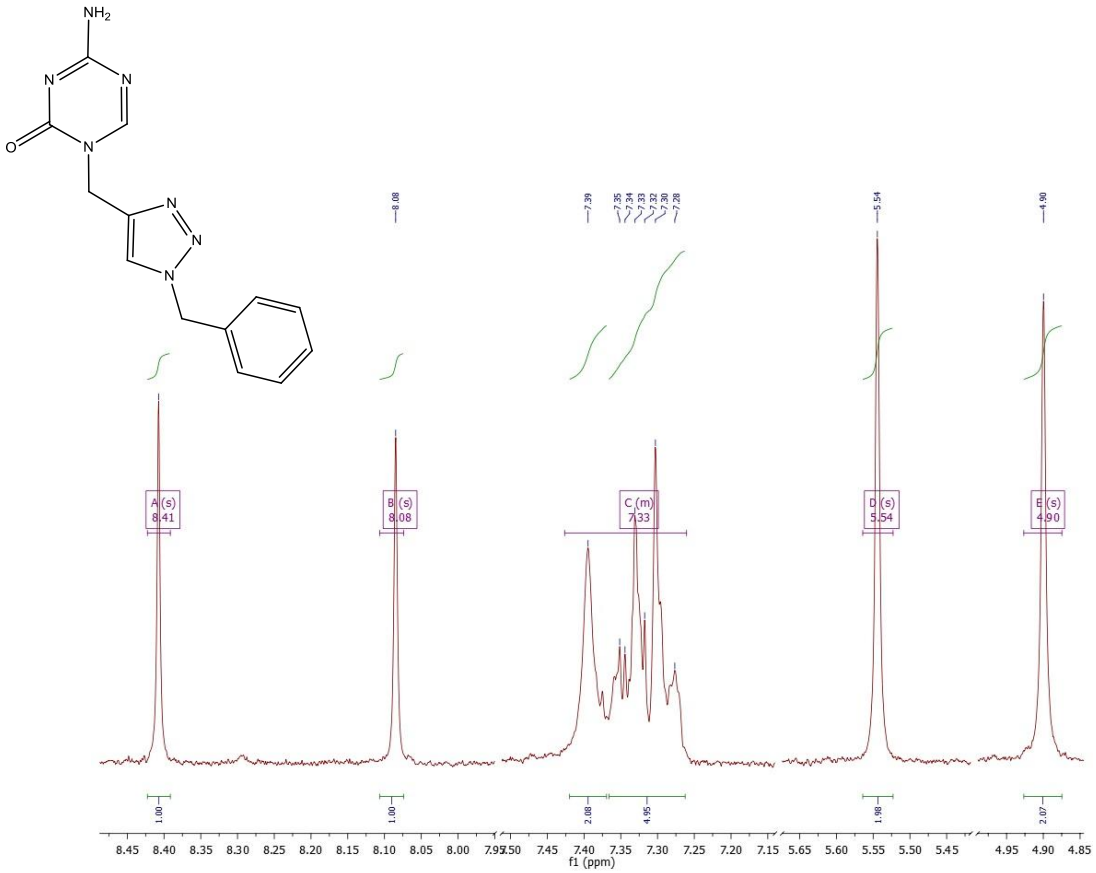
U ^{1}H NMR spektru (slika 2) *N*-1-propargil-5-azacitozina (**1**) prisutni su signali 5-azacitozinskog prstena: dublet na 7,51 ppm intenziteta 2H za protone amino skupine i singlet na 8,85 ppm intenziteta 1H za proton H6; signali propargilnog supstituenta na položaju *N*-1: triplet na 3,39 ppm intenziteta 1H za proton H-3' i dublet na 4,49 ppm intenziteta 2H za protone H-1'.



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

U ^{1}H NMR spektrima spojeva **2**-**4** (slike 3-5) uvođenje 1,2,3-triazolnog prstena u položaj *N*-1 5-azacitozina potvrđeno je na temelju signala za proton triazolnog prstena H-3' na ~ 8 ppm intenziteta 1H uz istovremeni izostanak tripleta za H-3' polaznog spoja **1** na ~ 3,5 ppm, čime je dokazano nastajanje triazolnog prstena 1,3-dipolarnom cikloadicijom. Signali za metilenske protone H-1' u ^{1}H NMR spektrima spojeva **2**-**4** pomaknuti su u niža polja u usporedbi sa signalima za protone H-1' početnog spoja **1**.

U ^{1}H NMR spektru spoja **2** prisutni su signali: singlet na 4,90 ppm intenziteta 2H za metilenske protone H-1', singlet na 5,54 ppm intenziteta 2H za metilenske protone benzilne skupine, multiplet intenziteta 5H na 7,28-7,35 ppm za fenilne protone benzilne skupine, singlet na 7,39 ppm intenziteta 2H za protone amino skupine, singlet intenziteta 1H na 8,08 ppm za proton triazolnog prstena H-3' i signal na 8,41 ppm intenziteta 1H za proton H-6 5-azacitozinskog prstena. U usporedbi sa ^{1}H NMR spektrom polaznog spoja **1**, može se uočiti da su signali za protone H-1' i H-6 u ^{1}H NMR spektru spoja **2** pomaknuti u niža polja.

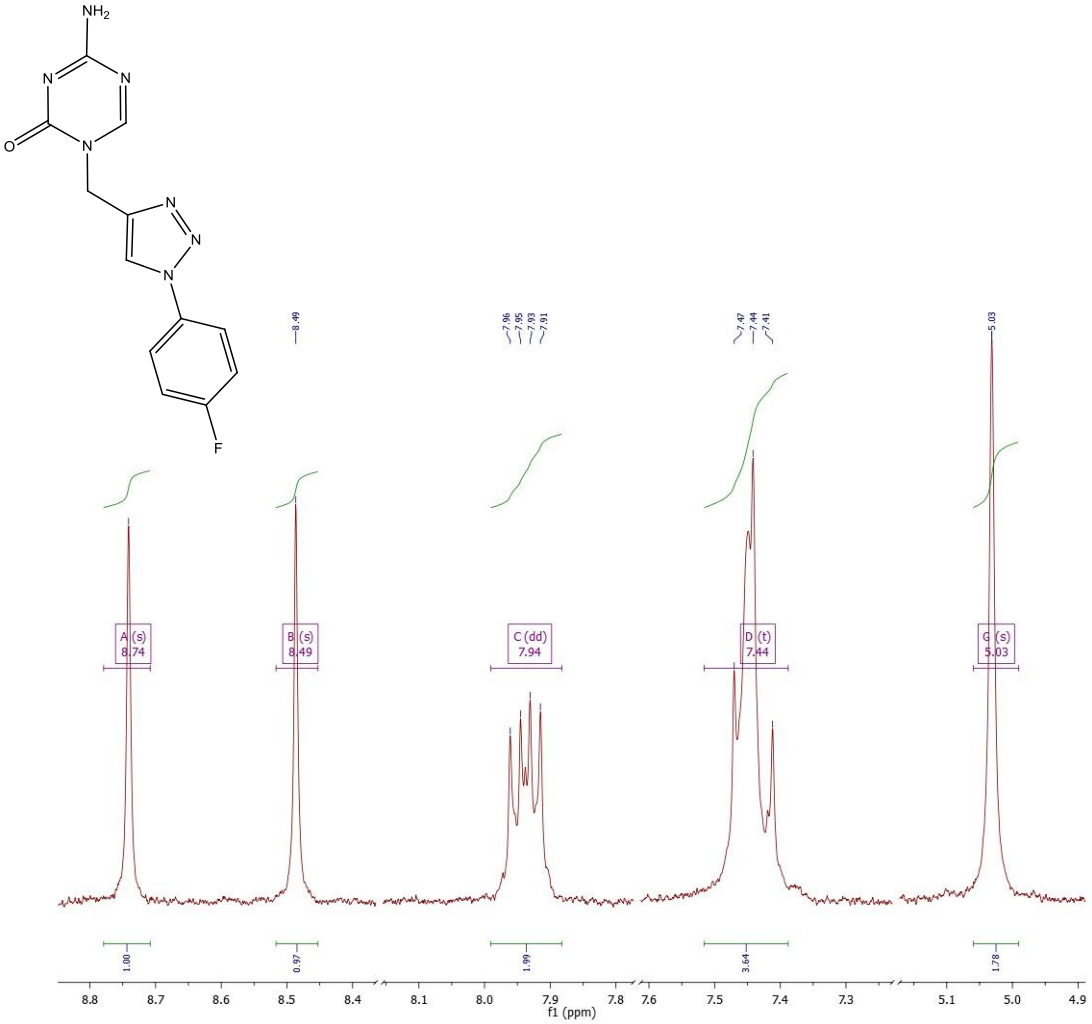


Slika 3. ^{1}H NMR spektar spoja **2**

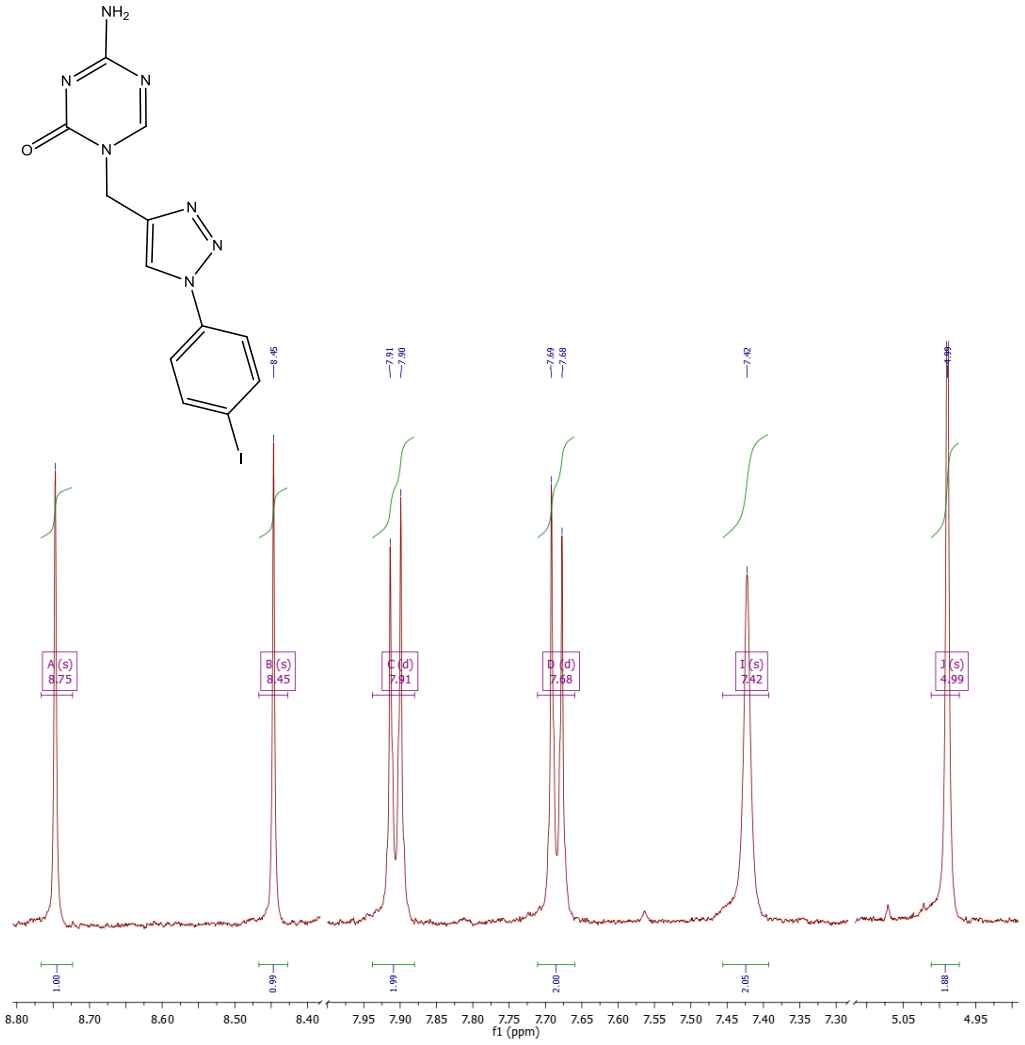
Na slikama 4 i 5 su prikazani ^{1}H NMR spektri spojeva **3** i **4**, koji sadrže sve signale za protone 5-azacitozinskog prstena i supstituiranog 1,2,3-triazolnog prstena na položaju *N*-1: H-1', H-3', H-6, NH_2-4 i fenilne protone.

U ^{1}H NMR spektru spoja **3** prisutni su singlet na 5,03 ppm intenziteta 2H za metilenske protone H-1', triplet na 7,44 ppm intenziteta 2H za H-5' fenilne protone i dublet dubleta na 7,94 ppm intenziteta 2H za fenilne protone H-4', te singleti na 8,94 i 8,74 ppm intenziteta 1H za H-3' i H-6'

^{1}H NMR spektar spoja **4** u usporedbi sa spektrom spoja **3** razlikuje se za signal na 7,42 ppm koji je singlet i dublet dubleta za H-4' fenilne protone s većom konstantom sprege.



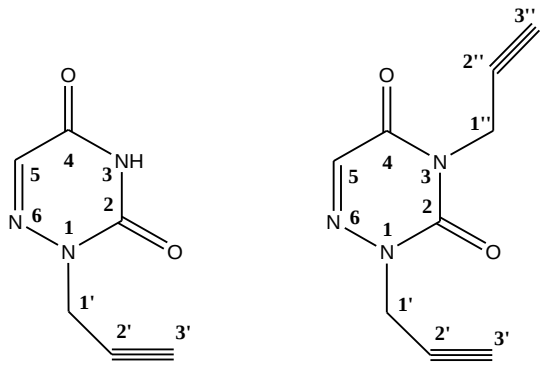
Slika 4. ^{1}H NMR spektar spoja **3**



Slika 5. ^{1}H NMR spektar spoja **4**

4.3.2. Analiza ^{1}H NMR spektara 6-azauracilnih derivata

Strukture novosintetiziranih 6-azauracilnih derivata (**5**–**9**) potvrđene su ^{1}H NMR spektroskopijom.

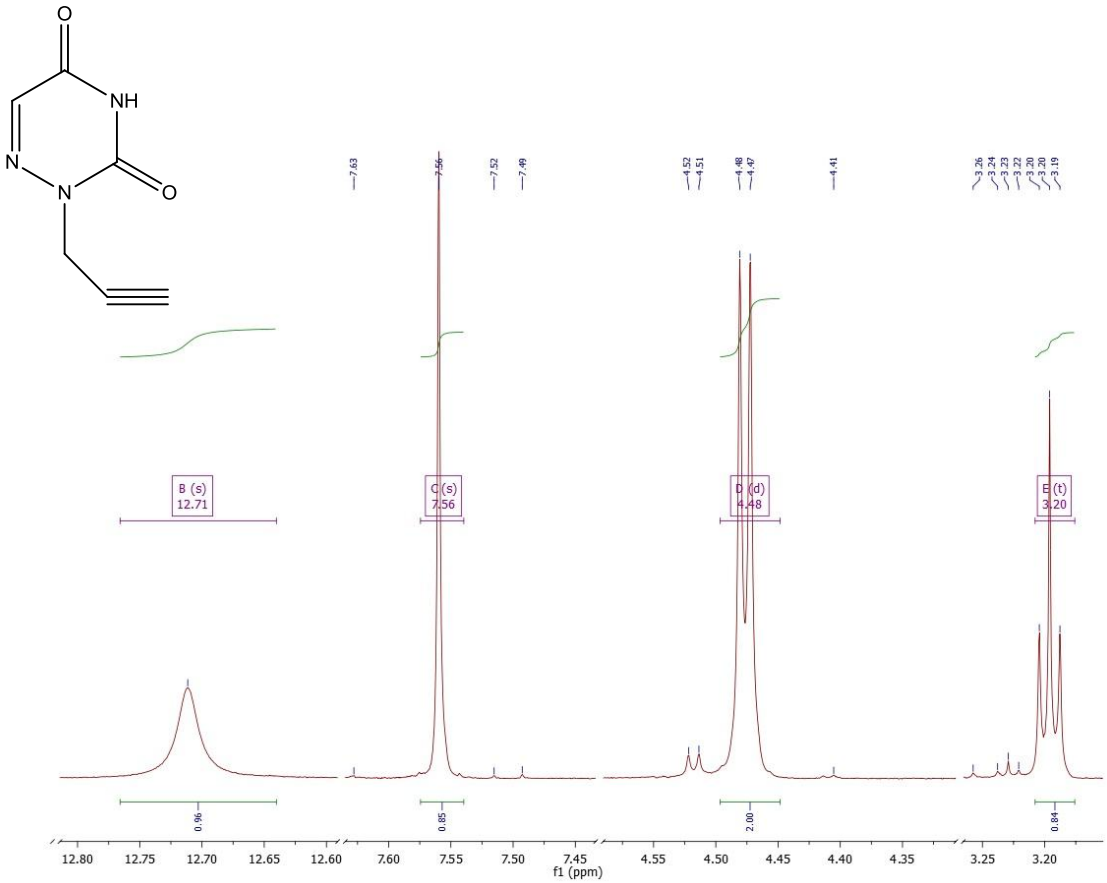


5 **6**

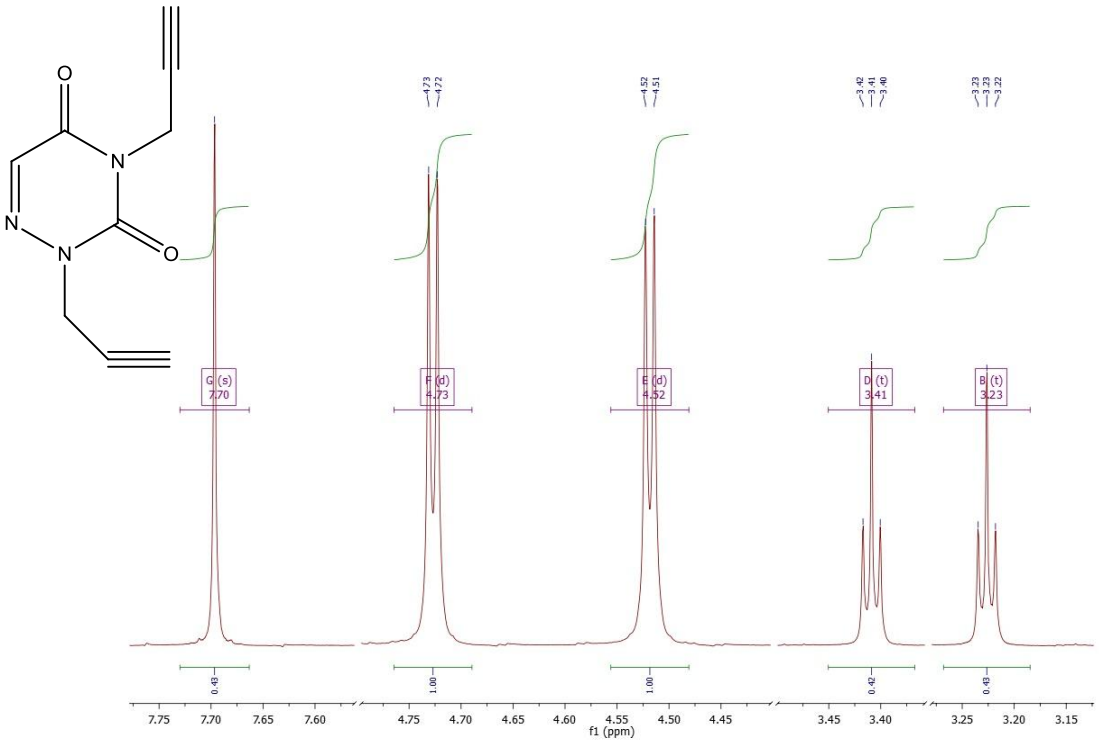
Slika 6. Prikaz struktura 5-azauracilnih derivata **5** i **6**

U ^{1}H NMR spektrima spojeva **5** i **6** (slike 7 i 8) tako se mogu vidjeti kemijski pomaci protona H-3' kod oba spektra na ~3,20 ppm-a kao dubleti, kemijski pomaci H-1' protona na ~4,50 ppm-a kao dubleti i kemijski pomak protona H-5 na 7,56, odnosno 7,70 ppm-a kao singleti. Osim navedenih pomaka, u ^{1}H NMR spektru spoja **5** vidljiv je i kemijski pomak NH-3 protona na 12,71 ppm-a, dok su u ^{1}H NMR spektru spoja **6** vidljivi i kemijski pomaci H-1'' i H-3'' protona što potvrđuje strukturu spojeva.

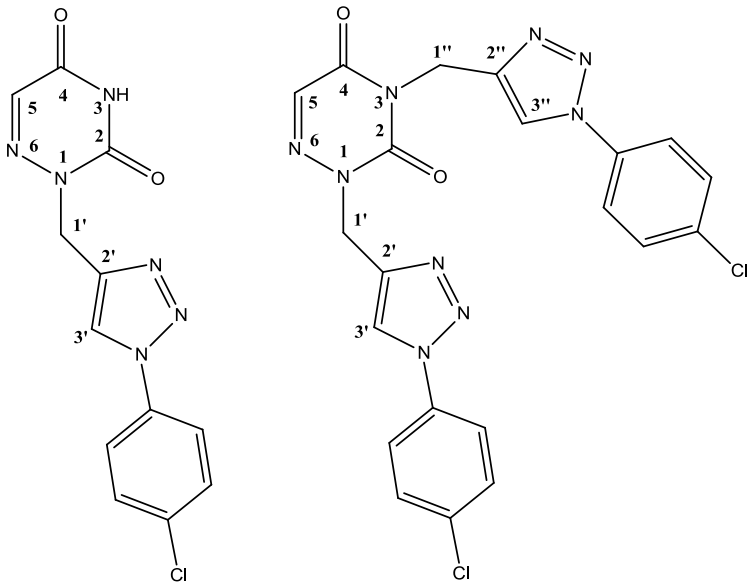
U ^{1}H NMR spektru spoja **5** (slika 7) prisutni su signali 6-azauracilnog prstena i *N*-1 propargilnog supstituenta: široki singlet na 12,71 ppm intenziteta 1H za NH i singlet na 7,56 ppm za H-5, triplet intenziteta 1H na 3,20 ppm za H-3' i dublet intenziteta 2H na 4,47 ppm za metilenske protone H-1'. U ^{1}H NMR spektru spoja **6** (slika 8) u usporedbi sa spektrom spoja **5** prisutni su dodatni signali za propargilnog supstituenta na položaju *N*-3 (triplet na 3,41 ppm za H-3'' i dublet na 4,73 ppm za H-1'') uz istovremeni izostanak signala za proton NH-3 6-azauracilnog prstena



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



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



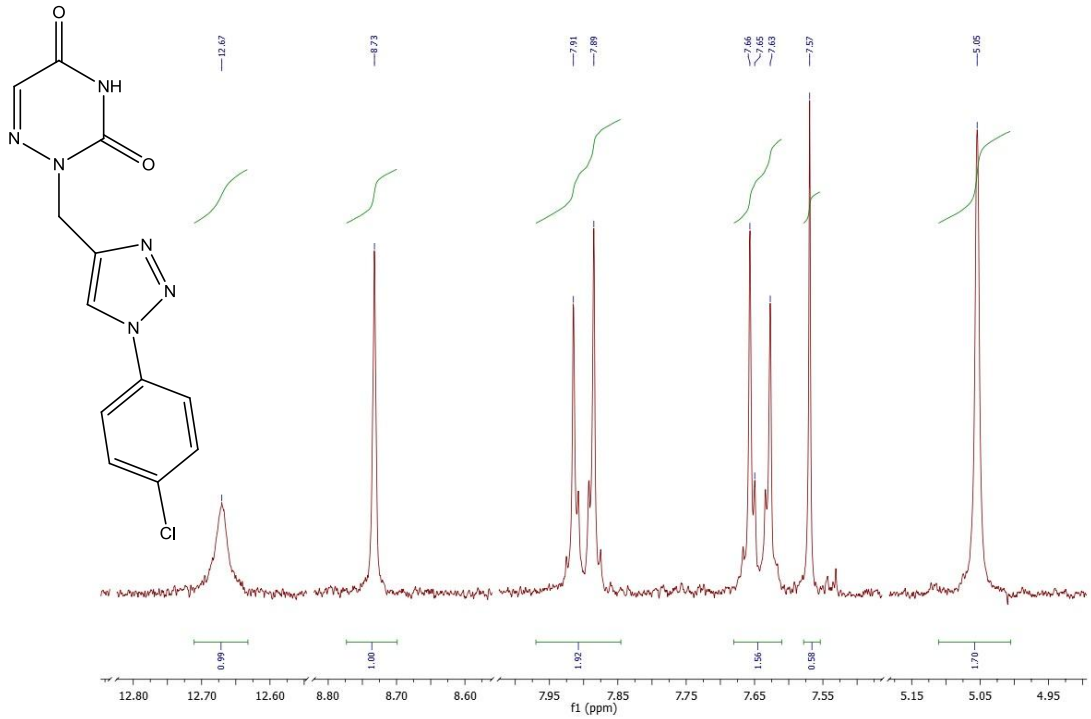
7 **8**

Slika 9. Prikaz struktura 6-azauracilnih derivata **7** i **8**

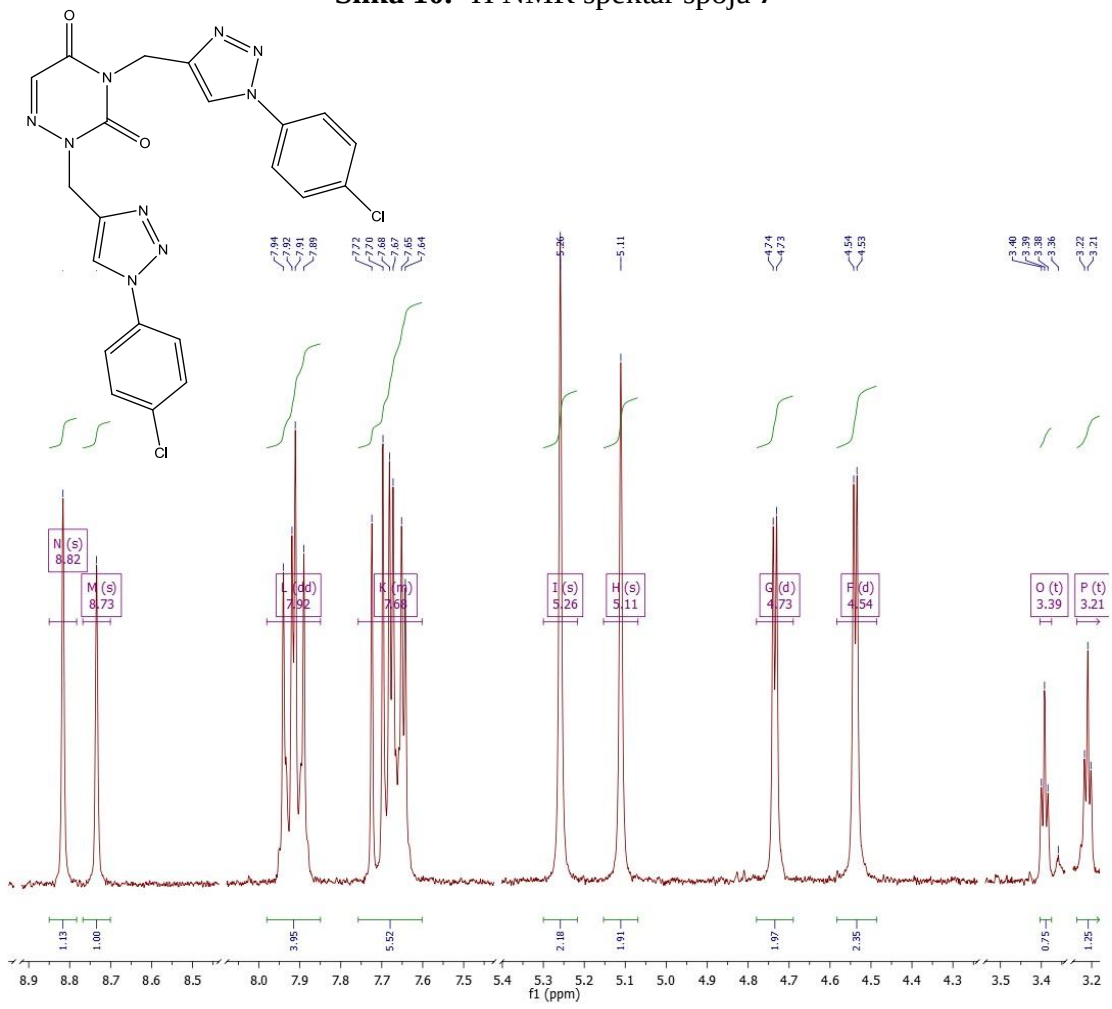
U ^{1}H NMR spektrima 6-azauracilnih derivata **7** i **8** (slike 10 i 11) prisutni su signali za proton triazolnog prstena u aromatskom području (~ 8,7 ppm) uz istovremeni izostanak signala za metilenski proton H-3' (triplet na ~ 3,3 ppm).

^{1}H NMR spektar *N*-1 triazolilnog derivata 6-azauracila **7** (slika 10) pokazuje signale za protone 6-azauracilnog prstena (singlet intenziteta 1H na 12,67 ppm za NH i singlet intenziteta 1H na 12,67 ppm za NH i singlet intenziteta 1H na 7,57 ppm za H-5) i 4-supstituirani triazolni prsten (singlet na 8,73 ppm za H-3', dva dubleta na 7,90 i 7,65 ppm za fenilne protone) te singlet na 5,05 ppm intenziteta 2H za metilenske protone H-1'.

^{1}H NMR spektar spoja **8** (slika 11) pored signala navedenih za spoj **7** sadrži dodatne signale za supstituirani triazolni prsten na položaju *N*-3, čime je potvrđeno nastajanje *N*,*N*-1,3-ditriazolilnog derivata "klik" reakcijom.



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



Slika 11. ^{1}H NMR spektar spoja **8**

^{1}H NMR spektar spoja **9** sadrži signale svih protona kao i spektar spoja **5**. Jedina razlika je u intenzitetu signala H-3' protona koji je kod spoja **9** 2H, iz čega se može zaključiti da je do adicije joda došlo na ugljikovom atomu C-2'.

5. ZAKLJUČAK

- Reakcijom *N*-alkiliranja 5-azacitozina i 6-azauracila sintetizirani su *N*-3 propargilirani derivat 5-azacitozina (**1**) te *N*-1 propargilirani (**5**) i *N*,*N*-1,3 dipropargilirani derivat 6-azauracila (**6**).

- Regioselektivnom 1,3-dipolarnom cikloadicijom potpomognutom mikrovalnim zračenjem *N*-3-propargil-5-azacitozina (**1**) i odgovarajućih azida dobiveni su *N*-3-[(1-benzil-1,2,3-triazol-4-il)metil]-5-azacitozin (**2**), *N*-3-[(1-*p*-fluorfenil-1,2,3-triazol-4-il)metil]-5-azacitozin (**3**) te *N*-3-[(1-*p*-jodfenil-1,2,3-triazol-4-il)metil]-5-azacitozin (**4**).

- *N*-1-[(1-*p*-klorfenil-1,2,3-triazol-4-il)metil]-6-azauracil (**7**) pripravljen je "klik" reakcijom potpomognutom mikrovalovima *N*-1-propargil-6-azauracila (**5**) i *p*-klorfenil azida.

- *N*,*N*-1,3-di-[(1-*p*-klorfenil-1,2,3-triazol-4-il)metil]-6-azauracil (**8**) je sintetiziran mikrovalovima potpomognutom "klik" reakcijom *N*,*N*-1,3-dipropargil-6-azauracila (**6**) i *p*-klorfenil azida.

- Reakcijom jodiranja *N*-1 propargiliranog derivata 6-azauracila (**5**) sintetiziran je *N*-1-(2-jod-prop-2-en)-6-azauracil (**9**).

- Strukture sintetiziranih spojeva potvrđene su ^{1}H NMR spektroskopijom.

6. LITERATURA

1. http://hlpr.hr/informacije-zdravka/vijest/pojavnost-i-smrtnost-od-zlocudnih-bolesti,(pristup 24.svibanj.2015.)

2. T. Gazivoda Kraljević, M. Petrović, S. Krištafor, D. Makuc, J. Plavec, T. L. Ross, S. M. Ametamey, S. Raić-Malić, *Molecules* 2011 (**16**) 5113.

3. A. Pinner, Bec. Dtsch. Cham. Ger. 1885.

4. J. A. Joule, K.Mills, Heterocyclic chemistry 5th ed. 250.

5. C. O. Kappe, *Tetrahedron*, 1993 (**49**) 6937.

6. D. Lee, S. Shapourifar-Tehrani, S. Kitada, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1990 (**9**) 1848.

7. A. Kossel, A. Neumann, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 1894 (**27**) 2215.

8. R. Snoeck, T. Sakuma, E. De Clercq, I. Rosenberg, A. Holy, *Antimicrob. Agents. Chemother.* 1988 (**32**) 1839.

9. M. Krecmerova, M. Masojidkova, A. Holy, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2010 (**18**) 387.

10. J. K. Christman, *Oncogene* , 2002 (**21**) 5483.

11. U.S. Pat.12, 973, 701 (Nov.15,2011), D. Ionescu, P. Blumbergs (to Pharmion Llc)

12. A. Ascoli, *Z. Phys. Chem.*, 1900 (**31**) 161.

13. A. Hildalgo, *J. Agric. Food. Chem.* 2005 (**1**) 349.

14. R. K. Wilhelmus, *Cochrane Database Syst Rev*, 2010 (**12)** 2898.

15. B. Mylari, M. Miller, H. Howes Jr, S. Figdor, J. Lynch, R. Koch, *J. Med. Chem.* 1977 (**4**) 75.

16 . R. A. Mitran, C. Dragichi, S. Tomas, *Rev. Chim. Bucharest*, 2010 (**12**) 1147.

17. A. Charvet , M. Camplo , P. Faury, *J. Med. Chem*. 1994 (**37**) 2216.

18. F. Amblard, S.Nolan, R. Schinazi, L. Agrofoglio, *Tetrahedron* 2005 (**61**) 537.

19. J. Bronson, I. Ghazzouli, M. Hitchcock, R. Webb, J. Martin, *J. Med. Chem*. 1989 (**32**) 1457.

20. H. Hattori, E. Nozawa, T. Iino, *J. Med. Chem*. 1998 (**41**) 2892.

21. S. Senda, K. Hirota, K. Banno, *J. Med. Chem*. 1972 (**15**) 471.

22. J. Wong, D. Fuchs, *J. Org. Chem*. 1971 (**36**) 848.

23. K. Danel, E. Larsen, B. Pedersen, B.Vestergaard, C. Nielsen, *J. Med. Chem.* 1996 (**39**) 2427.

24. K. Ogilive, S. Beaucage, *Tetrahedron Lett.*1987 (**19**) 3203.

25. K. Ogilvie, S. Beaucage, *Tetrahedron Lett*. 1978 (**19**) 1663.

26. H.Yan, Z. Zhang, Z. Gao, C. L. Zhong, H. B. Zhou, L.Chen, W. M. Wu, X. Peng, Z. J. Yao, *Tetrahedron* 2007 (**63**) 6813.

27. G. Soliman, R. Sharma, A. Choi, S. Varshney, F. Winnik, A. Kakkar, D. Maysinger, *Biomaterials* 2010 (**32**) 8382.

28. N. Akeroyd , B. Klumperman, *Eur. Polym. J.*, 2011 (**47**) 1207.

29. F. Himo , T. Lovell , R. Hilgraf , V. V. Rostovtsev , L. Noodleman , K. B. Sharpless, V. V Fokin, *J.Am.Chem.Soc.*, 2005 (**127**) 210.

ŽIVOTOPIS

Moje ime je Robert Ostrički. Rođen sam 27. rujna 1993. godine u Varaždinu. Osnovnu i srednju školu završio sam u Varaždinu, te sam 2012. godine upisao Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, smjer Ekoinženjerstvo.