Novi derivati 7-deazapurina: organometalna sinteza i strukturna karakterizacija

Orehovački, Petra

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:149:701141

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

FKITMCMXIX

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Petra Orehovački

Novi derivati 7-deazapurina:organometalna sinteza i strukturna karakterizacija

ZAVRŠNI RAD

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

Članovi povjerenstva:

1. Doc. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević
2. Dr.sc. Maja Stipković Babić, poslijedoktorand
3. Dr.sc. Lidija Furač, viši predavač

Zagreb, rujan 2015.

Završni 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.

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

Zahvaljujem se dr. sc. Maji Stipković Babić na motiviranju i susretljivosti te pruženoj pomoći pri eksperimentalnom i pisanom dijelu rada.

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

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

SAŽETAK

Cilj ovog rada bio je sintetizirati nove *N*-1 triazolilne i C-5 alkinilne derivate citozina i 7-deazapurina, u svrhu ispitivanja njihove antitumorske aktivnosti protiv tumorskih staničnih linija porijeklom iz čovjeka (Raji, K564, HeLa, CaCo-2). Reakcijom jodiranja *N*-4-benzoilcitozina pripravljen je *N*-4-benzoil-5-jodcitozin (**1**) koji je podvrgnut reakciji *N*-alkiliranja s propargil-bromidom i NaH kao bazom te je dobiven *N*-1 alkinilni derivat citozina **2**. „*Click*“ reakcijom kataliziranom bakrom *N*-1 propargiliranog citozinskog derivata **2** s različito supstituiranim azidima dobiveni su *N*-1-triazolilni derivati *N*-4-benzoil-5-jodcitozina (**3**–**5**). Sonogashira-inom reakcijom unakrsnog spajanja spojeva **4** i **5** s odgovarajućim terminalnim alkinima, sintetizirani su C-5 alkinilni derivati *N*-4-benzoil-*N*-1-triazolilcitozina **6** i **8**. 5-*endo-dig* ciklizacijom *in situ* spojeva **6** i **8** pripravljeni su C-6 supstituirani derivati 7-deazapurina **7** i **9**.

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

Ključne riječi: citozin,7-deazapurin, *N*-alkiliranje, „*click*“ reakcija, Sonogashira-ina reakcija.

SUMMARY

The aim of this study was to synthesize the novel *N*-1 triazolyl and C-5 alkynylated pyrimidine and 7-deazapurine derivatives in order to evaluate their antitumor activities against human malignant tumor cell lines (Raji, K562, HeLa, CaCo-2). *N*-4-benzoyl-5-iodocytosine (**1**) was prepared by iodination reaction of *N*-4-benzoylcytosine which was then subjected to *N*-alkylation reaction with propargylbromide in the presence of NaH as base to give *N*-alkynylated cytosine derivative **2**. *N*-1-triazolyl derivatives of *N*-4-benzoyl-5-iodocytosine (**3**–**5**) were obtained *via* copper catalysed „click“ reaction of *N*-1-propargylcytosine derivative **2** with corresponding azides. Sonogashira cross-coupling reaction of compounds **4** and **5** with corresponding terminal alkynes gave C-5 alkynylated derivates of *N*-4-benzoyl-*N*-1-triazolylcytosine **6** and **8**. 7-deazapurine derivatives **7** and **9** were prepared by *in situ* 5-*endo*-*dig* cyclization of the compounds **6** and **8**, respectively.

The structures of newly synthesized compounds were determined by ^{1}H NMR spectroscopy.

Keywords: cytosine, 7-deazapurine, *N*-alkylation, „click“ reaction, Sonogashira reaction.

SADRŽAJ

1.UVOD 1

2. OPĆI DIO 3

2.1. Nukleotidi i nukleozidi 4

2.1.1. Pirimidini i purini 5

2.1.2. Purinski i pirimidinski derivati i njihov biološki značaj 6

2.1.3. Citozinski derivati i njihov biološki značaj 9

2.1.4. 7-deazapurini i njihov biološki značaj 11

2.2.*N*-alkiliranje pirimidina 13

2.3. „Click“ reakcije 14

2.3.1. Huisgen-ova 1,3-dipolarna cikloadicija 15

2.4. Sonogashira-ina reakcija 16

3. EKSPERIMENTALNI DIO 19

3.1. Opće napomene 20

3.2. Pregled sintetiziranih spojeva 21

3.3. Priprava spojeva 23

4. REZULTATI I RASPRAVA 26

4.1. Sinteze spojeva 27

4.2. Analiza spektara ^{1}H NMR 29

5.ZAKLJUČCI 30

6. LITERATURA 307

ŽIVOTOPIS 40

1. UVOD

Hrvatska je među vodećim zemljama po porastu stope smrtnosti radi tumorskih oboljenja, te u nas godišnje od raka umire gotovo 13000 osoba. U razvijenim zemljama svijeta posljednjih se desetljeća bitno smanjila stopa smrtnosti od raka, a razlog tom uspjehu je bolja prevencija, bolje dijagnostičke metode te moderna terapija raka.[1] Osnovni učinak sustavne terapije zloćudnih bolesti je uništavanje tumorskih stanica. Budući da su biološke razlike između tumorskih i normalnih stanica razmjerno male, lijekovi koji se koriste za sustavno liječenje zloćudnih bolesti (citostatici) često imaju velik broj nuspojava. Većina citostatika jače djeluje na stanice koje se dijele, te se zbog toga nuspojave najčešće javljaju na hematopoetskom i probavnom te na zametnom epitelu.[2] Liječenje tumorskih oboljenja već desetljećima predstavlja veliki izazov, a mnogobrojnim pristupima i pokušajima liječenja još uvijek nije pronađen potpuno djelotvoran lijek.

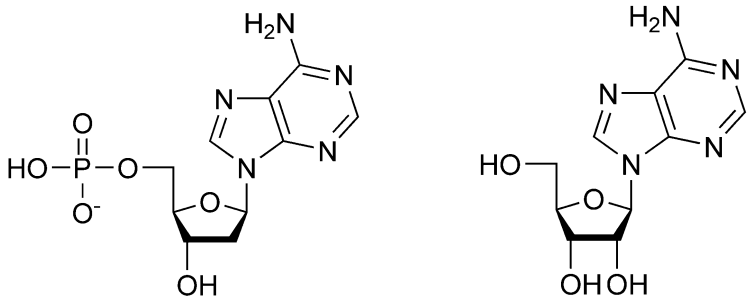
Nukleozidi, samostalni ili kao dio nukleotida, su važni elementi živih sustava te pokazuju različite farmakološke učinke (antitumorske, antivirusne i antibiotske).[3,4] Pirimidinski i purinski nukleozidi se trenutno koriste kao antimetaboliti. Jedan od prvih antitumorskih pirimidinskih nukleozida je citarabin, analog deoksicitidina (1-β-D-arabinofuranosilcitozin, araC).[5]

U posljednja dva desetljeća liječenje virusnih infekcija je također značajno napredovalo zahvaljujući velikom zalaganju kemičara i farmaceuta te omogućilo brz napredak molekularne virologije kao i cjelokupnog znanja o detaljnijem mehanizmu djelovanja antivirusnih lijekova. Među najuspješnijim antivirusnim lijekovima su analozi nukleozida koji se primjenjuju u liječenju brojnih bolesti. Od 1980. god. otkriven je velik broj biološki zanimljivih i obećavajućih nukleozida od kojih se neki koriste i danas, dok drugi prolaze kroz pretklinička ili klinička ispitivanja. Unatoč ovim uspjesima, potrebna su daljnja otkrića novih, biološki aktivnih nukleozida kako bi se uklonili česti problemi u antivirusnoj terapiji kao što su toksičnost, metabolička nestabilnost te pojava otpornih virusnih sojeva na postojeće lijekove, kao i potpuno novih virusnih bolesti.[6]

2. OPĆI DIO

2.1. Nukleotidi i nukleozidi

Nukleinske kiseline, DNK (deoksiribonukleinska kiselina) i RNK (ribonukleinska kiselina) su biološki polimeri koji su kemijski nosioci genetskih informacija organizma.[7] To su nerazgranati polimeri ponavljajućih monomernih jedinica nukleotida. Svaki nukleotid ima tri komponente: bazu, šećer pentozu (2-deoksiribozu ili ribozu) i fosfatnu skupinu (slika 1). DNK molekula može sadržavati nekoliko milijuna nukleotida, dok manja RNK molekula može sadržavati do nekoliko tisuća nukleotida.[8]



Nukleotid Nukleozid

Slika 1. Struktura adeninskog nukleotida i nukleozida

Nukleozidi se sastoje od šećera i pirimidinske ili purinske dušične baze (slika 2), a nastaju kada dušikov atom purina ili pirimidina stvara *N*-glikozidnu vezu sa ugljikovim atomom na položaju C-1 šećera, riboze ili 2-deoksiriboze (slika 1).[8]



Pirimidin Purin

Slika 2. Dušične baze

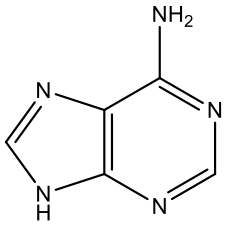
Fizička i strukturna svojstva nukleotida i nukleozida:[9,10]

- nukleotidi su topljivi u vodi
- nukleotidi su topljiviji od nukleozida
- nukleozidi su topljiviji od dušičnih baza
- pri pH 5–9 nukleozidi su neutralni
- pri nižem pH, amino skupine adenina, gvanina, citozina su protonirane
- nukleozidi i nukleotidi su stabilni unutar šireg pH područja; kod izrazito lužnatih uvjeta događa se hidroliza fosfatnih estera
- *N*-glikozidna veza nestabilna je u kiselom području.

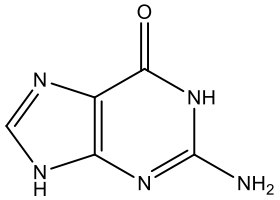
Jedan od pristupa inhibicije malignih stanica je inhibicija *de novo* sinteze DNK pomoću sintetskih analoga nukleozida koji su dobiveni strukturnim modifikacijama prirodnih nukleozida. U *de novo* sintezi, nukleozidne baze nastaju od jednostavnijih prekursora. Pirimidinski derivati se sintetiziraju tako da se na pirimidinsku bazu dodaju supstituenti, dok se purinski derivati sintetiziraju tako da se purinska baza gradi na samoj ribozi. Ovi putevi sinteze sastoje se od malog broja elementarnih reakcija koje se ponavljaju s varijacijama, kako bi se stvorili različiti nukleozidi. Kao rezultat takvih izmjena, nukleozidni analozi pokazali su učinkovito djelovanje. Krajnji ishod takvih promjena u strukturi molekule DNA je smrt oboljele stanice.[9,10]

2.1.1. Pirimidini i purini

DNK sadrži četiri različite baze, dva supstituirana purina (adenin i gvanin, slika 3) i dva supstituirana pirimidina (citozin i timin, slika 4). Adenin, gvanin i citozin također se pojavljuju u RNK, ali je kod RNK timin zamijenjen s pirimidinskom bazom uracilom (slika 4).[7]

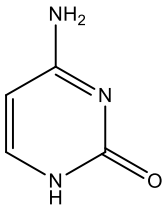


Adenin

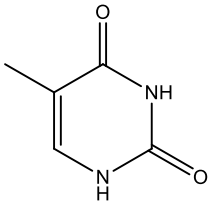


Gvanin

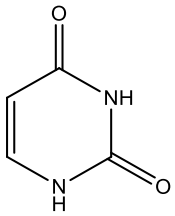
Slika 3. Purinske baze



Citozin



Timin



Uracil

Slika 4. Pirimidinske baze

Neka od svojstva purina i pirimidina su apsorpcija UV zračenja, pa tako purini i njihovi derivati imaju viši molarni apsorpcijski koeficijent u odnosu na pirimidinske derivate, a maksimum apsorpcije za purine i pirimidine je na 260 nm. Proteini i druge stanične komponente ne apsorbiraju u tom području, pa mjereći apsorbanciju kod 260 nm može se vrlo točno procijeniti koncentracija nukleinskih kiselina.[9,10]

2.1.2. Purinski i pirimidinski derivati i njihov biološki značaj

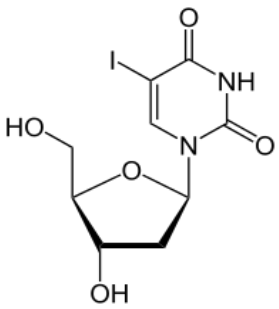
Pirimidin je heterociklička jedinica koja se nalazi u nekoliko biološki aktivnih prirodnih spojeva, kao i značajnih i biološki aktivnih sintetskih farmakofora.[11] Nukleozidni analozi su sintetski spojevi koji su strukturno slični prirodnim nukleozidima.[12] Sinteza derivata purina je privukla značajnu pozornost kemičara posljednjih nekoliko desetaka godina zbog širokog raspona bioloških i farmaceutskih svojstava, kao što su antivirusna, antibakterijska, antitumorska i protuupalna svojstva. Oni pokazuju i agrokemijsku aktivnost uključujući herbicidna i fungicidna djelovanja, zbog čega se koriste i kao pesticidi i

insekticidi.[11] Tako su, primjerice, biološki aktivni pirimidinski analozi pripravljeni reakcijom supstitucije u C-5 položaju pirimidinskog prstena. Nadalje, uočeno je da su funkcionalizirani alkini važni gradivni blokovi u sintezi biološki aktivnih pirimidinskih derivata.[13]

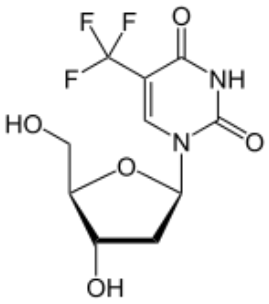
Biološki aktivni nukleozidni analozi djeluju ili kao inhibitori staničnih i virusnih DNK- i RNK-polimeraza ili prekidaju rast lanca ugrađujući se u rastuću DNK ili RNK. Prirodni nukleozidi su uključeni u gotovo sve stanične procese i imaju glavnu ulogu u strukturnim, energetskim, regulatornim i metaboličkim funkcijama. Stanična citotoksičnost nukleozidnih analoga se pripisuje njihovom biokemijskom djelovanju protiv bakterija, gljivica, kvasaca, virusa ili neoplastičnih tkiva.[12]

Analozi nukleozida su lijekovi koji se koriste u terapiji mnogih bolesti kao što su tumorska oboljenja, sindrom stečene imunodeficijencije (AIDS), te oboljenja uzrokovana virusima hepatitisa i herpesa.[14] Od ukupno 40-ak antivirusnih lijekova službeno odobrenih za uporabu, polovica su analozi nukleozida ili nukleotida.[15] Analozi nukleozida i dalje dominiraju područjem antivirusne terapije, a čine i značajan doprinos kod liječenja raka kemoterapijom.[13]

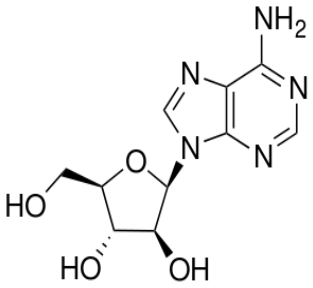
Doba terapije antivirusnim lijekovima započelo je otkrićem joddeoksiuridina (IDU) i trifluoruridina (TFT) (slika 5). IDU je najprije sintetiziran kao potencijalni antitumorski lijek, a 1961. godine uočeno je njegovo djelovanje protiv herpes simpleks virusa (HSV) i *vaccinia* virusa. Dvije godine kasnije, sintetiziran je trifluoruridin (TFT) za lokalno liječenje herpesa keratitisa. Godine 1960. god. arabinosiladenin (ara-A), prvobitno sintetiziran kao potencijalni antitumorski agens, pokazao se aktivnim protiv HSV-a i *vaccinia* virusa. Ara-A se više klinički ne koristi, zbog niske topljivosti u vodi. Otkriće aciklovira 1980. godine je bilo od presudne važnosti u liječenju virusa herpesa (HSV) i *varicella* zoster virusa (VZV) jer je bilo prvo specifično antivirusno sredstvo (slika 5). Prvi 2',3'-dideoksinukleozid (DDN) koji je pokazivao inhibitorni učinak na replikaciju HIV-a je azidotimidin (AZT), a nakon njega, sličnu aktivnost pokazali su i drugi analozi DDN-a, uključujući dideoksiinozin (DDI), dideoksicitidin (DDC), dok je četvrti analog stavudin (d4T) postao jedan od korištenijih anti-HIV lijekova (slika 6).[16]



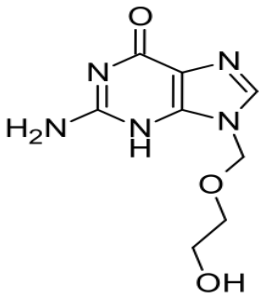
joddeoksiuridin



trifluoruridin

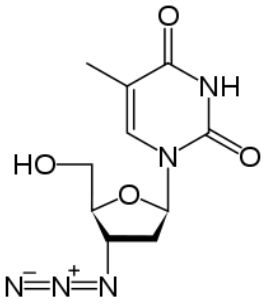


arabinosiladenin

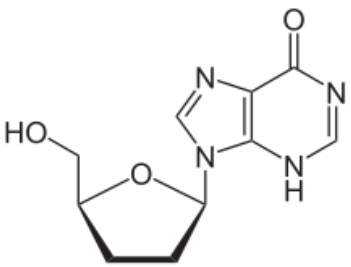


aciklovir

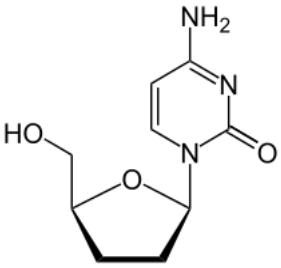
Slika 5. Antivirusni nukleozidni analozi



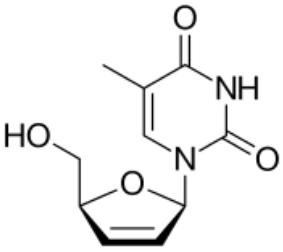
azidotimidin



dideoksiinozin



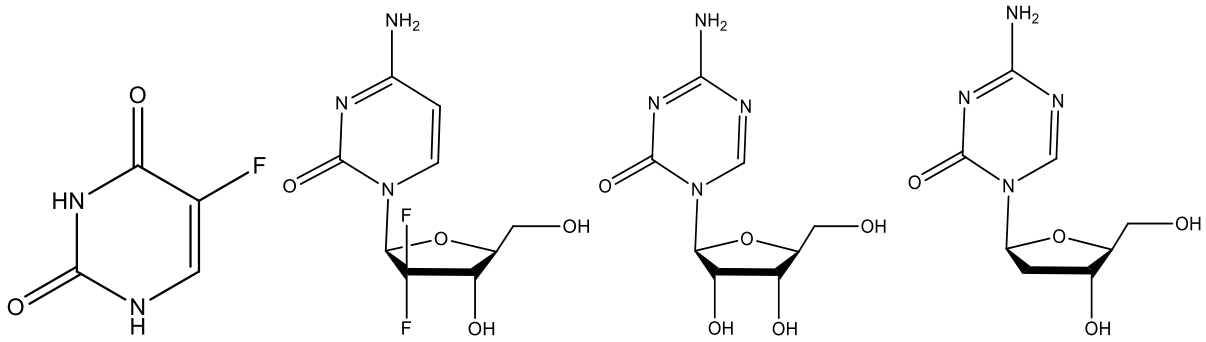
dideoksicitidin



stavudin

Slika 6. Nukleozidni analozi u antivirusnoj terapiji

Kada govorimo o antitumorskim nukleozidima, 5-fluoruracil ima široku primjenu u liječenju tumora (želudac, gušterača, jajnici, jetra, mozak i dr.) upravo zbog svoje citotoksične aktivnosti prema metabolizmu nukleozida u DNK i RNK što u konačnici dovodi do smrti stanice.[17] Gemcitabin (2',2'-difluordeoksicitidin) se koristi kod liječenja tumora gušterače, pluća i mokraćnog mjehura,[18] dok se analozi 5-azacitidin (azacitidin) i 5-aza-2'-deoksicitidin (decitabin) koriste u liječenju sindroma mijelodisplazije te akutne mijeloične leukemije (slika 7).[19]



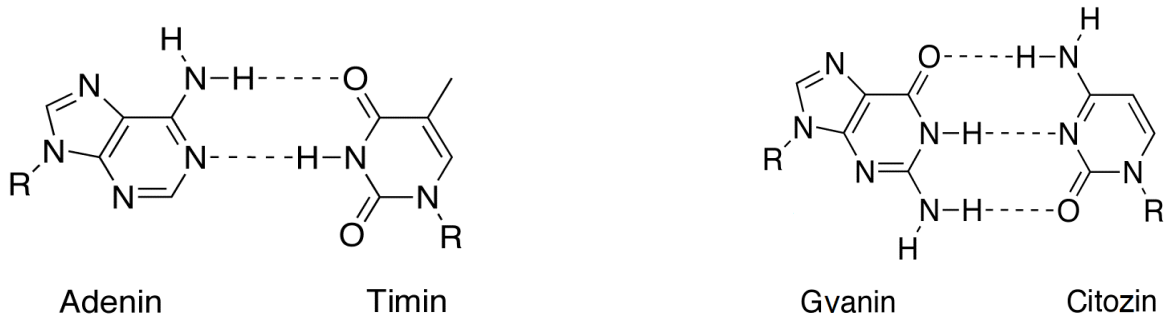
5-fluoruracil gemcitabin azacitidin 5-aza-2'-deoksicitidin

Slika 7. Antitumorski nuleozidni analozi

2.1.3. Citozinski derivati i njihov biološki značaj

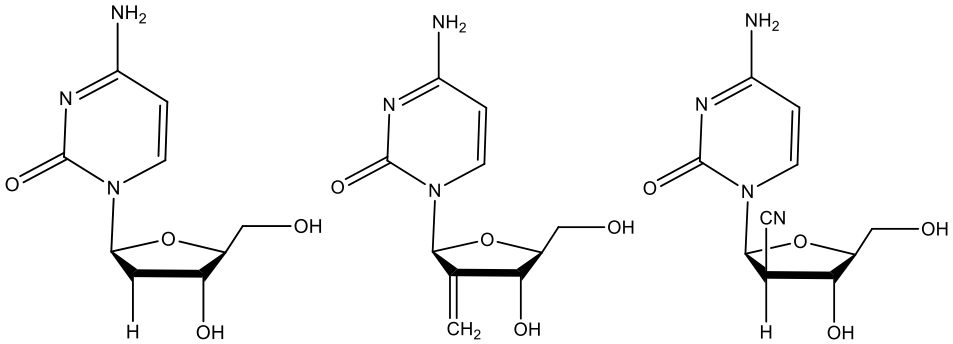
Citozin je biološki važan spoj zahvaljujući svom prirodnom nastanku kao komponente nukleinskih kiselina. Igra ključnu ulogu kod DNK i RNK sparivanja baza pomoću vodikovih veza te kontrolira bitne značajke života jer je uključen u genetski kodon 17 aminokiselina.[20]

Citozin tvori vodikovu vezu samo s gvaninom, a timin vodikovu vezu samo s adeninom (slika 8). Postoje tri vodikove veze između C i G, čime je ukupna veza jača od A i T, koji imaju samo dvije vodikove veze. Vodikove veze i fizička konformacija daje stabilnost DNK, tako da se ne disocira spontano osim kod pH<3 ili pH>10 ili kod temperature veće od 100°C.[21]

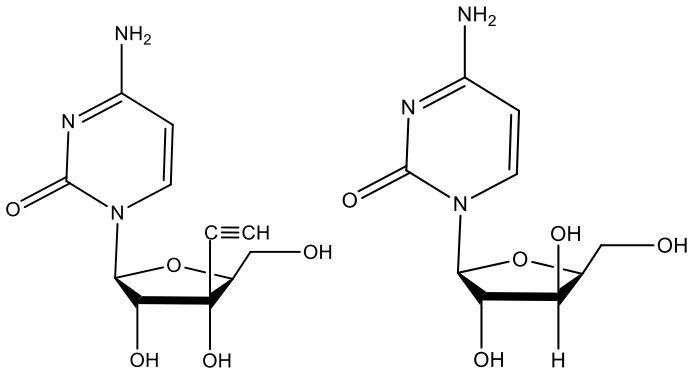


Slika 8. Vodikove veze između pirimidinskih i purinskih baza

Nukleozidni antimetaboliti se naširoko koriste kao antitumorska sredstva.[21] Neki od citozinskih derivata su: SMDC [(2′*S*)-2′-deoksi-2′-C-metilcitidin], DMDC [1-(2-deoksi-2-metilen-*β*-D-eritro-pentofuranozil)citozin], CNDAC [1-(2-C-cijano-2-deoksi-1-*β*-D-arabino-pentofuranozil)citozin], ECyd [1-(3-C-etinil-*β*-D-ribo-pentofuranozil)citozin], araC (1-*β*-D-arabinofuranozilcitozin) (slika 9). Citozinski derivat araC se koristi u liječenju akutne mijeloblastične leukemije kod odraslih, pri čemu je derivat SMDC jednako moćan kao i araC. DMDC je pokazao visoku učinkovitost u liječenju različitih vrsta tumora, primjerice rak pluća, te kao inhibitor rasta stanica koje uzrokuju akutnu mijeloičnu leukemiju (AML). Iako se CNDAC razlikuje od araC u citotoksičnom liječenju, nema puno bolje djelovanje od DMDC-a, no implantacijom CNDAC-a u DNK, dolazi do pucanja veza između baza A-T i C-G. ECyd posjeduje snažnu antitumorsku aktivnost prema mnogim ljudskim ksenograftima implantiranima u miševe ili štakore, pri čemu, kod liječenja, nisu zabilježene nuspojave poput dijareje ili gubitka tjelesne težine.[22]



SMDC DMDC CNDAC

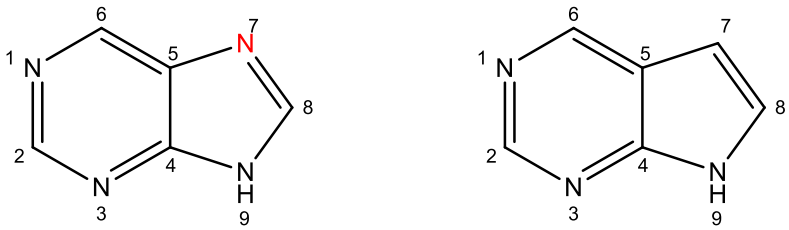


Ecyd araC

Slika 9. Biološki aktivni citozinski derivati

2.1.4. 7-deazapurini i njihov biološki značaj

Pirolo[2,3-*d*]pirimidini su analozi purina u kojima je na položaju 7 purinskog prstena dušikov atom zamijenjen ugljikovim atomom, te se naziva i 7-deazapurin (slika 10).[23]

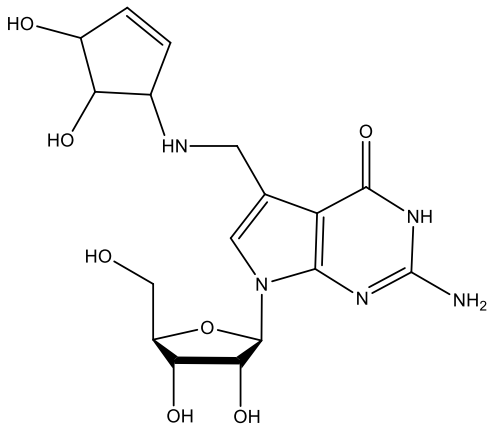


Slika 10. Struktura purina i 7-deazapurina

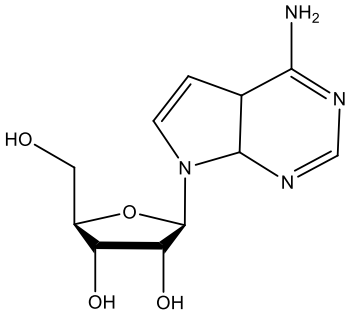
7-deazapurin (pirolo[2,3-*d*]pirimidin) je važna strukturna okosnica koju nalazimo u nukleinskim kiselinama ili kao dio monomernih ribonukleotida.[24] Zbog velike strukturne

sličnosti između nukleozida purina i prirodnih antibiotika tubericidina, tojokamicina, sangivamicina i kadeguomicina (slika 12), pokušava se razviti sintetski postupak za pripravu nukleozidnih derivata pirolo[2,3-*d*]pirimidinskih prstena. 7-deazapurini pokazuju širok spektar biološke aktivnosti, uključujući i antitumorsku aktivnost. Također posjeduju antioksidativna svojstva, zbog čega imaju aktivnost i protiv zračenja. Osim toga, imaju istaknuta svojstva kao antimetaboliti u biokemijskim reakcijama purina. Djeluju kao inhibitori: dihidrofolat-reduktaze, tirozinkinaze c-Src ili Lck, CDK te kao antagonisti receptora adenozina.[25] Analog adenozina tubericidin pokazuje citotoksičnost prema brojnim stanicama sisavaca *in vitro*, te antitumorsku aktivnost *in vivo*. Također, tubericidin utječe na umnažanje DNK i RNK kod virusa, te inhibira rast različitih mikroorganizama. Sangivamicin pokazuje snažno djelovanje protiv L1210 luekemije kod miševa i citotoksičnosti HeLa stanica. Iako je antitumorska aktivnost tojokamicina vrlo značajna, klinički je zabranjen zbog teške toksičnosti.[26] Kadeguomicin pokazuje inhibitorni učinak na transplantiranim životinjskim tumorima, ali nema bitnu antimikrobnu aktivnost protiv bakterija i gljivica.[27] Također, snažno potencira citotoksičnost 1-*β*-D-arabinofuranozilcitozina (ara-C) i drugih citotoksičnih analoga citozina protiv K562 stanica.[28]

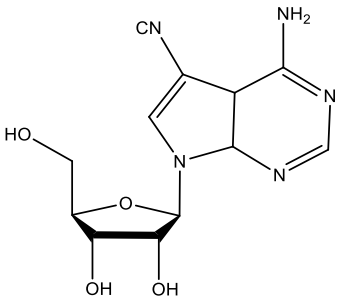
Pirolo[2,3-*d*]pirimidin se nalazi i u tRNA eukariota i prokariota u obliku hipermodificiranog nukleozida "Quenosine" (2-amino-5-(4,5-dihidroksi-2-ciklopenten-1-il)amino)metil)-7-(*β*-D-ribofuranozil)-1,7-dihidro-pirolo[2,3-*d*]pirimidin-4-on) (slika 11).[29] Otkrićem nukleozida „Q“ u bakteriji *Escherichia coli*, pojavila su se nagađanja da bi strukturna izmjena baze mogla uzrokovati promjene u tripletu nukleinske kiseline.[30]



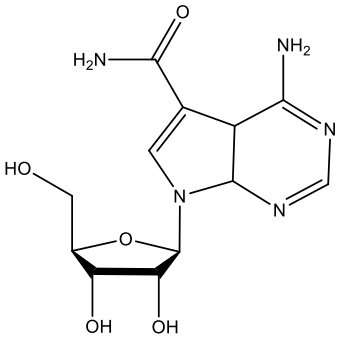
Slika 11. Nukleozid „Quenosine“



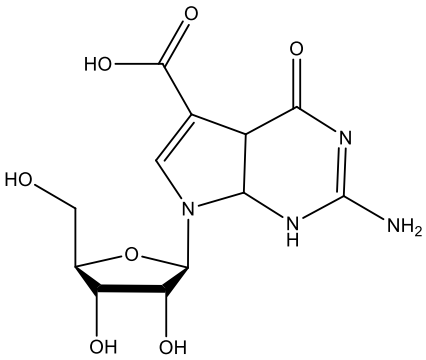
tubercidin



tojokamicin



sangivamicin

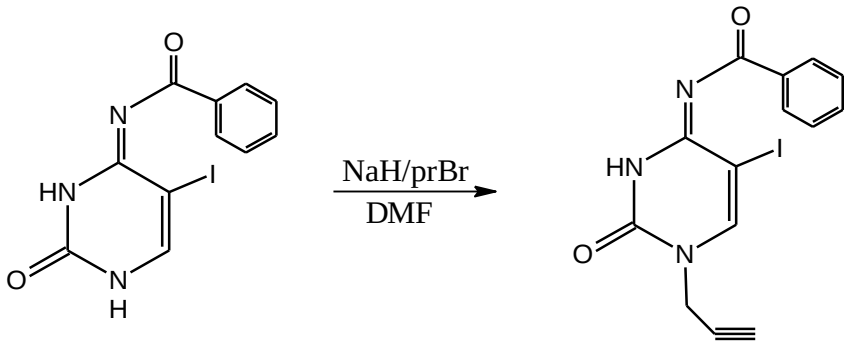


kadeguomicin

Slika 12. Analozi 7-deazapurina

2.2.*N*-alkiliranje pirimidina

N-1- i *N*-3-alkilirani pirimidinski derivati imaju veliku primjenu kao nukleozidni analozi koji pokazuju antivirusno i protuupalno djelovanje.[31,32] Alkiliranje pirimidina (shema 1) temelji se na supstituciji dobro odlazeće skupine prisutne u alkilirajućem reagensu sa aktiviranom molekulom pirimidina. Kao alkilirajući reagensi najčešće se koriste alkil-halogenidi. Pirimidinski derivati često su slabi nukleofili koje je potrebno aktivirati deprotoniranjem pomoću jakih baza kao što su natrij-hidrid (NaH), kalij-karbonat (K_2CO_3) i sl.[33]



Shema 1. Propargiliranje *N*-4-benzoil-5-jodcitozina

Iako su jedna od najjednostavnijih funkcionalnih skupina sa samo dva ugljikova atoma, alkini su izuzetno korisni u organskoj kemiji zbog reaktivnosti trostruke veze, a njihova elektronska svojstva dovela su do rasprostranjene primjene u organskim materijalima i bojama. Alkini koji su izravno supstituirani heteroatomom imaju reaktivniju trostruku vezu, omogućujući nove kemijske transformacije.[34]

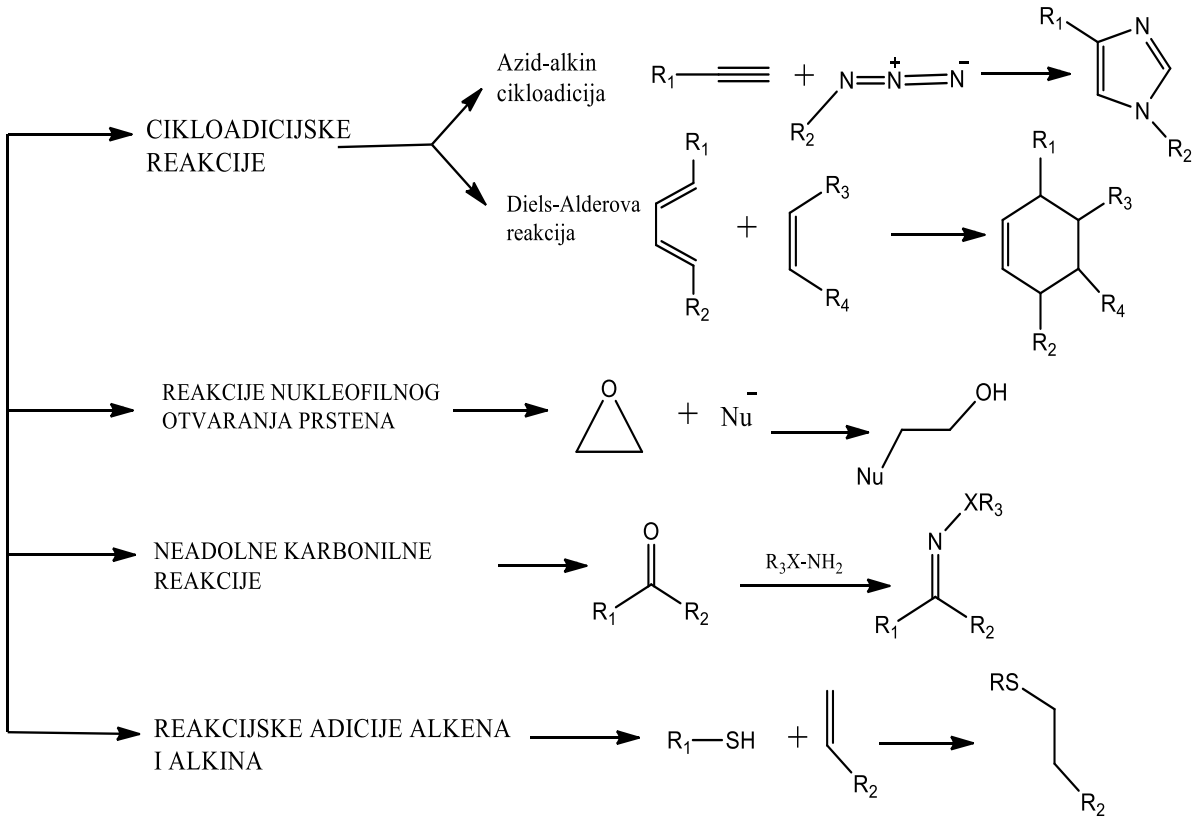
Konjugirane baze supstrata reagiraju s elektrofilima (alkil-fosfati, halidi, diazoalkeni) u polarnom otapalu. S obzirom na nukleofilnu prirodu intermedijara konjugiranih baza, ove reakcije su karakterizirane niskom kemoselektivnošću i vode do smjese *N*-1 monoalkiliranih i *N*,*N*-1,3-dialkiliranih produkata.[32]

2.3. „*Click*“ reakcije

„*Click*“ kemija je termin koji je uveo K.B. Sharpless 2001. godine, kako bi opisao reakcije visokog iskorištenja, širokog opsega u kojima nastaju nusprodukti koji se mogu ukloniti bez kromatografije. One su stereospecifične, jednostavno izvedive, a mogu se provoditi u otapalima koja se lako uklanjaju, te su neosjetljive na kisik i vodu. Nekoliko tipova reakcija je identificirano da ispunjavaju navedene kriterije, a te termodinamički zadovoljene reakcije dovode do jednog produkta (slika 13):

- reakcije nukleofilnog otvaranja prstena kod epoksida i aziridina
- nealdolne karbonilne reakcije (sinteza hidrazona i heterocikla)
- adicijske reakcije na C=C dvostruku vezu

- Michaelova adicija
- cikloadicijske reakcije.[35]



Slika 13. Vrste „*click*“ reakcija

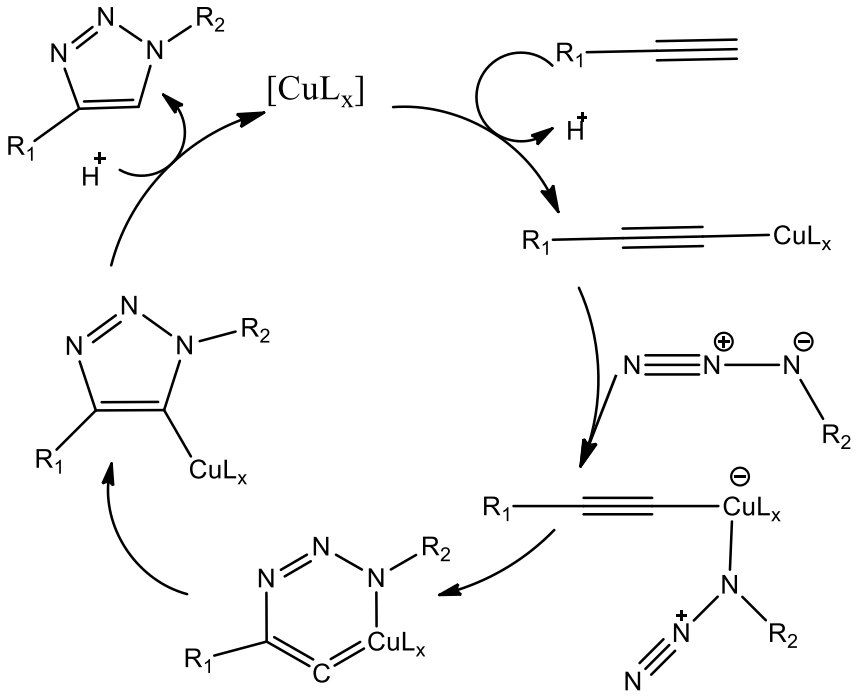
2.3.1. Huisgen-ova 1,3-dipolarna cikloadicija

Nakon što ju je Huisgen razvio 1960. godine, 1,3-dipolarna cikloadicija između acetilena i azida ponovno je stavljena u prvi plan kada su Sharpless i suradnici utemeljili koncept „*click*“ kemije. Ovaj pristup, baziran na spajanju malih čestica, oponaša prirodni pristup za generiranje supstanci. Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija se na početku nije smatrala „*click*“ reakcijom ali Medalovo i Sharplessovo otkriće Cu(I) soli koja katalizira reakciju omogućilo je da se reakcija razvije iz prvotne reakcije u otežanim uvjetima, a koje su vodile do smjese 1,4- i 1,5-regioizomera, u regioselektivnu reakciju koja se izvodi na sobnoj temperaturi i to u vrlo kratkom reakcijskom vremenu. Bakrom katalizirana alkin-azid cikloadicija (CuAAC) (slika 14) vrlo dobro se uklapa u navedene definicije, pa je i sama postala sinonim za „*click*“ reakcije. CuAAC se odvija u različitim otapalima, uključujući i vodu koja ih u kombinaciji s mnogim neškodljivim reaktantima čini biokompatibilnima. U

usporedbi s drugim reakcijama kataliziranih metalom, uporaba Cu(I) ima veliku prednost zbog niske cijene i lakog rukovanja.

Sva navedena pozitivna svojstva povezana s favoriziranim fizikalnim svojstvima rezultirajućeg triazola, postavili su Cu(I)-kataliziranu Huisgen-ovu cikloadiciju kao jednu od najpopularnijih i najučinkovitijih reakcija koncepta „click“ kemije.[36]

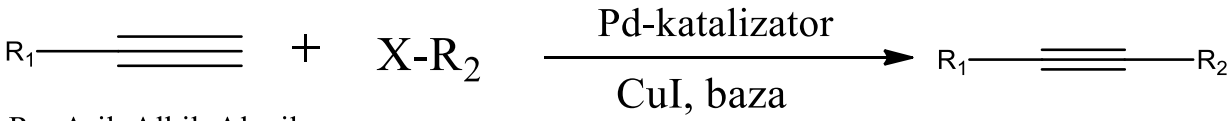
Mnogi od polaznih monosupstituiranih alkina i organskih azida su komercijalno dostupni, dok je druge lako sintetizirati, a njihova cikloadicija selektivno daje 1,2,3-triazole.[35]



Slika 14. Mehanizam Huisgen-ove 1,3-dipolarne cikloadicije (CuAAC reakcije)

2.4. Sonogashira-ina reakcija

Sonogashira-ina reakcija je reakcija unakrsnog spajanja u organskoj sintezi u kojoj se stvara veza ugljik-ugljik. Paladij se koristi kao katalizator za dobivanje C-C veze između terminalnog alkina i arila ili vinil-halida (shema 2).

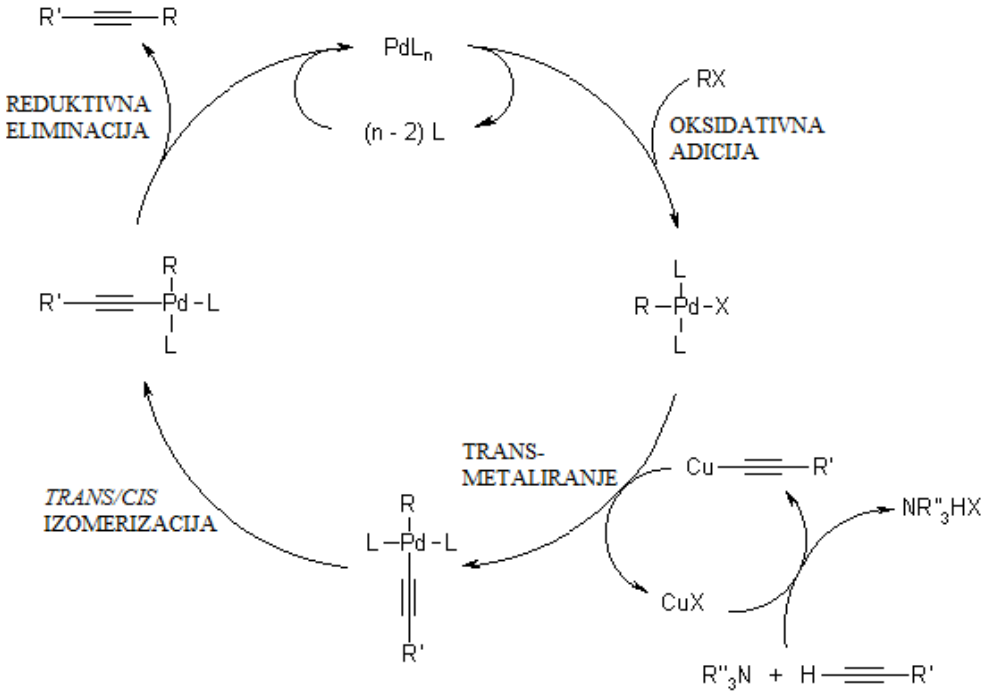


R_1=Aril, Alkil, Alenil
R_2=Aril, Vinil, Alkil
X=Br, I, OTf

Shema 2. Sonogashira-ina reakcija

Sonogashira-ina reakcija unakrsnog povezivanja je korištena u raznim područjima sinteze zbog svoje uloge u stvaranju veze ugljik-ugljik, a može se provesti u blagim uvjetima, na sobnoj temperaturi, u vodenom mediju, sa blagom bazom, pa se zato koristi u sintezi složenih molekula. Primjenjuje se u sintezi lijekova, prirodnih proizvoda, organskih tvari i nanomaterijala.[37]

Potpuni mehanizam Sonogashira-ine reakcije još nije potpuno razjašnjen zbog poteškoća u izolaciji i analizi organometalnih spojeva koji su prisutni kao intermedijari u reakciji[35], međutim predviđa se da je mehanizam reakcije sličan drugim paladijem kataliziranim reakcijama, a sastoji se od oksidativne adicije, transmetaliranja, *trans*/*cis* izomerizacije i reduktivne eliminacije (slika 15).[39] Najčešće upotrebljavani Pd(0) kompleksi su tris(dibenzildenaceton)dipaladij [$Pd_2(dba)_3$] i tetrakis(trifenilfosfin)paladij [$(PPh_3)_4Pd$] koji je i komercijalno najkorišteniji Pd(0) kompleks. Najkorištenije halogene soli bakra su bakar-jodid (CuI) i bakar-bromid (CuBr). Kao baza se najčešće koristi trietilamin (Et_3N), dietilamin (Et_2NH), diizopropilamin (iPr_2NH) i morfolin ($O(CH_2CH_2)_2NH$), dok se kao otapala koriste DMF, DMSO, THF i *N*-metilpirolidon. Odabir odgovarajućih kemikalija prvenstveno ovisi o prirodi supstrata i produkta, kao i željenom tijeku reakcije.[23]



Slika 15. Mehanizam Sonogashira-ine reakcije[36]

Sonogashira-ina reakcija je bila vrlo pozitivno prihvaćena među sintetskim kemičarima kada je prvi put objavljena, jer je predstavila rješenja za nekoliko pitanja s kojima su se znanstvenici borili pokušavajući sintetizirati određene alkinilne spojeve. Reakcija je uvela koncept korištenja bakrovog jodida kao ko-katalizatora. Ovaj novi reagens, kada je u paru s paladijevim katalizatorom, omogućio je konjugaciju arilnih alkina pri sobnoj temperaturi. Neke druge reakcije i postupci potrebni za ovu reakciju koji su se ranije koristili, izvodili su se na temperaturama do 100 °C.[40]

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Opće napomene

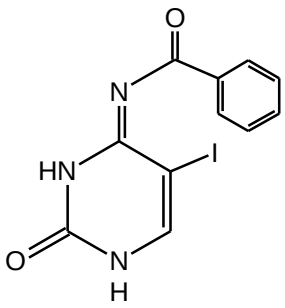
Sva korištena otapala sušena su i pročišćavana prema preporučenom postupku sušenja agensima i/ili destiliranjem preko molekulskih sita veličine 3Å. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom (TLC), koja je provođena na pločama 60F-254 presvučenim slojem silikagela Merck u odgovarajućem sustavu otapala. Za detekciju izoliranih komponenata korištena je UV-svjetlost valne duljine 254nm. Točke tališta novosintetiziranih spojeva određene su na instrumentu Kofler (Reichert, Wien) i nisu korigirane.

Kromatografija na koloni provedena je na silikagelu Fluka (0,063–0,2 mm) uz eluens diklormetan ili diklormetan/metanol (CH_2Cl_2/MeOH) u odgovarajućem omjeru.

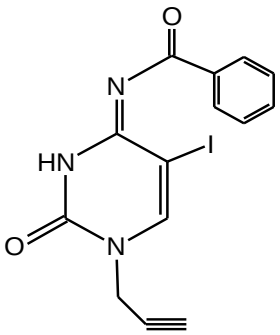
Spektri ^{1}H snimljeni su na spektrometru Bruker Avance 300 i 600 MHz. Svi uzorci otopljeni su u DMSO-d_6 i mjereni pri 298 K u NMR cjevčici od 5 mm. Kemijski pomaci (δ) u ^{1}H NMR spektrima izraženi su u jedinicama ppm (*parts per million*) u odnosu na tetrametilsilan (TMS, δ=0,0 ppm), a konstante sprege (*J*) u hercima (Hz). Pojedinačne rezonancije asignirane su na temelju njihovih kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta signala i konstanti sprega H-H.

Mikrovalna sinteza (MW) provedena je u Milestone start S mikrovalnom reaktoru u kvarcnoj kiveti.

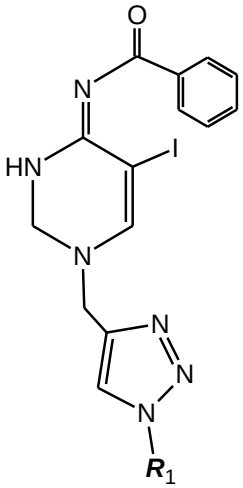
3.2. Pregled sintetiziranih spojeva



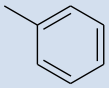
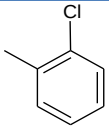
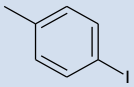
1

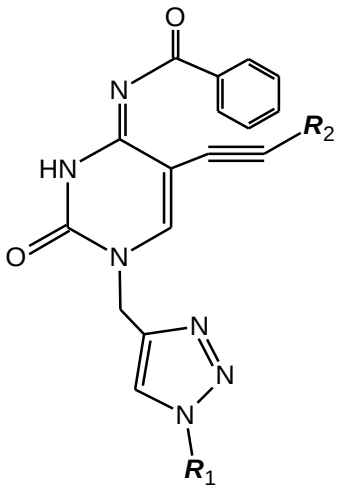


2

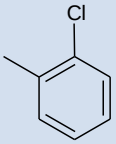
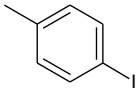
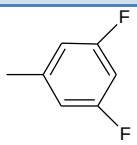


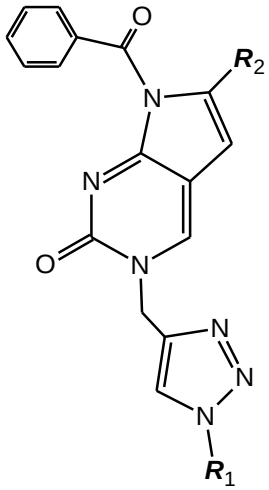
3–5

	R_1
3	
4	
5	

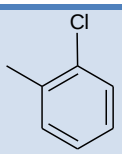
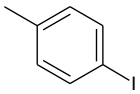
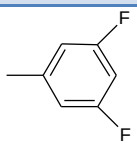


6,8

	R1	**R2**
6		-$(CH_2)_7CH_3$
8		



7,9

	R1	**R2**
7		-$(CH_2)_7CH_3$
9		

3.3. Priprava spojeva

3.3.1. *N*-4-benzoil-5-jodcitozin (1)

N-4-benzoilcitozin (3,00 g; 13,95 mmol) otopljen je u acetonitrilu (150 ml). Reakcijska smjesa miješana je 30 minuta na magnetskoj miješalici nakon čega su dodani jod (I_2) (1,890 g; 7,44 mmol) i amonijevcerijev(IV)nitrat (CAN) 8,2233 g; 15mmol). Zatim je reakcijska smjesa zagrijavana na temperaturi refluksa 2 sata te ostavljena na sobnoj temperaturi preko noći uz miješanje. Otapalo je upareno, a sirova smjesa pročišćena kolonskom kromatografijom (CH_2Cl_2, zatim CH_2Cl_2 : MeOH = 30:1 i 10:1). Izolirani su bijeli pahuljasti kristali spoja **1** (998,2 mg; 21,00%, T.t.=210–212°C).

^{1}H NMR (DMSO-d_6): 7,53 (2H, t, *J* = 7,5 Hz, H-2''), 7,61 (1H, t, *J* = 7,2 Hz, H-3''), 8,26 (2H, d, *J* = 7,2 Hz, H-1''), 8,18 (s, 1H, H-6), 11,94 (s, 1H, NH-3), 12,87 (s, 1H, NH-1) ppm.

3.3.2. *N*-4-benzoil-5-jod-*N*-1-propargilcitozin(2)

Spoj **1** (998,2 mg; 2,93 mmol) otopljen je u dimetilformamidu (DMF) (30 ml) i u reakcijsku smjesu dodan je NaH (70,00 mg, 2,93 mmol). Reakcijska smjesa miješana je 60 minuta, nakon čega je dodan propargil-bromid (0,24 ml; 3,22 mmol), a tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom (TLC-om). Otapalo je upareno, a sirova smjesa pročišćena kolonskom kromatografijom (CH_2Cl_2 : MeOH = 40:1). Izolirani su bijeli praškasti kristali spoja **2** (418,4 mg; 11,6%; T.t. = 178–180°C).

^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ3,44 (t, 1H, *J* = 2,5 Hz, H-3'), 4,50 (d, 2H, *J* = 2,5 Hz, H-1'), 7,53 (2H, t, *J* = 7,5 Hz, H-2''), 7,62 (1H, t, *J* = 7,2 Hz, H-3''), 8,22 (2H, d, *J* = 7,2 Hz, H-1''), 8,23 (s, 1H, H-6), 11,75 (s, 1H, NH-3) ppm.

3.3.3. *N*-4-benzoil-(*N*-1(1-fenil-1,2,3-triazol-4-il)metil)-5-jodpirimidin-2-on (3)

Spoj **2** (129,1 mg; 0,34 mmol) otopljen je u DMF-u (3 ml) te je dodan fenil-azid (PhN_3) (0,816 ml, 0,408 mmol), 1M $CuSO_4$(0,5 ml), Cu(0) (22,0 mg; 0,34 mmol) i *t*-BuOH i H_2O u omjeru 1:1 (2,35 ml : 2,35 ml). Reakcijska smjesa je miješana 90 minuta na 80°C pod utjecajem mikrovalnog zračenja (300W). Otapalo je upareno i sirova smjesa pročišćena kolonskom kromatografijom (CH_2Cl_2 : MeOH = 200 : 1 i 100: 1). Izolirani su bijeli kristali spoja **3** (36,6 mg; 23,37%, T.t. = 215–218 °C).

^{1}HNMR (DMSO-d_6): δ 4,75 (s, 2H, H-1'), 7,48–7,62 (m, 6H, Ph_{Bz}/ Ph_{tr}), 7,85–7,93 (m, 2H, Ph_{Bz}/ Ph_{tr}), 8,19–8,24 (m, 2H, Ph_{Bz}-H-1''), 8,45 (s, 1H, H-6), 8,81 (s, 1H, H-3'), 12,88 (s, 1H, NH-3) ppm.

3.3.4. *N*-4-benzoil-(*N*-1-(1-(2-klorfenil)-1,2,3-triazol-4-il)metil)-5-jodpirimidin-2-on (4)

Spoj **2** (143,1 mg; 0,378 mmol) otopljen je u DMF-u (3 ml) te je dodan *o*-klorazid(*o*-Cl-N_3) (0,91 ml; 0,454 mmol), 1M $CuSO_4$ (0,4 ml), Cu(0) (24,0 mg; 0,378 mmol) i *t*-BuOH i H_2O u omjeru 1:1 (2,61 ml : 2,61 ml). Reakcijska smjesa je miješana 90 minuta na 80°C pod utjecajem mikrovalnog zračenja (300W). Otapalo je upareno i sirova smjesa pročišćena kolonskom kromatografijom (CH_2Cl_2 : MeOH = 200 : 1 i 100: 1). Izolirani su bijeli kristali spoja **4** (39,6 mg; 19,66%, T.t. = 217–220 °C).

^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 5,19 (s, 2H, H-1'), 7,47–7,80 (m, 8H, Ph_{Bz}/ Ph_{tr}), 8,23 (d, 2H, *J* = 7,2 Hz, Ph_{Bz}-H-1''), 8,61 (s, 1H, H-6), 8,65 (s, 1H, H-3'), 12,99 (s, 1H, NH-3) ppm.

3.3.5. *N*-4-benzoil-(*N*-1-(1-p-jodfenil-1,2,3-triazol-4-il)metil)-5-jodpirimidin-2-on (5)

Spoj **2**(418,4 mg; 1,104 mmol) otopljen je u DMF-u (10 ml) te je dodan *p*-jodazid (*p*-I-N_3) (2,64 ml; 1,325 mmol), 1M $CuSO_4$ (0,164 ml), Cu(0) (69,0 mg, 1,104 mmol) i *t*-BuOH i H_2O u omjeru 1:1 (7,6 ml : 7,6 ml). Reakcijska smjesa je miješana 60 minuta na 80°C pod utjecajem mikrovalnog zračenja (300W). Otapalo je upareno i sirova smjesa pročišćena kolonskom kromatografijom (CH_2Cl_2 : MeOH = 200 : 1 i 100: 1). Izolirani su bijeli kristali spoja **5** (313,5 mg; 92,1%; T.t. = 80–82°C).

^{1}HNMR (DMSO-d_6): δ 5,16 (s, 2H, H-1'), 7,52 (t, 2H, *J* = 7,6 Hz, Ph_{Bz}-H-2''), 7,61 (t, 1H, *J* = 7,1 Hz, Ph_{Bz}-H-3''), 7,72 (d, 2H, *J* = 8,8 Hz, Ph_{tr}), 7,95 (d, 2H, *J* = 8,8 Hz, Ph_{tr}), 8,20 (s, 2H, Ph_{Bz}-H-1''), 8,61 (s, 1H, H-6), 8,85 (s, 1H, H-3'), 12,95 (s, 1H, NH-3) ppm.

3.3.6. *N*-4-benzoil-5-dekinil-5-(*N*-1-(1-(2-klorfenil)-1,2,3-triazol-4-il)metil)pirimidin-2-on (6) i 7-benzoil-3-((1-(2-klorfenil)-1,2,3-triazol-4-il)metil)-6-oktil-pirolo[2,3-*d*]pirimidin-2-on(7)

Spoj **4** (39,6 mg, 0,075 mmol) otopljen je u DMF-u (5 ml), te je dodan dekin (0,02 ml, 0,111 mmol), CuI (2,84 mg, 0,015 mmol), diizopropiletilamin (*iso*-Pr_2EtN) (0,02 ml, 0,15 mmol) i katalizator tetrakis(trifenilfosfin)paladij [$(PPh_3)_4Pd$] (8,66 mg; 0,0075 mmol). Reakcija je miješana na sobnoj temperaturi preko noći u struji argona, a tijek reakcije je

praćen TLC-om. Zatim je smjesa zagrijavana 90 minuta na 70°C. Nakon završetka reakcije, smjesa je uparena i pročišćena kolonskom kromatografijom (CH_2Cl_2, zatim CH_2Cl_2 : MeOH= 200 : 1, 150 : 1, 50 : 1). Izolirani su žuti kristali spoja **6** (4,8 mg; 11,5%; T.t. = 202–205°C) i žuti kristali spoja **7** (10,06 mg; 24,70%; T.t. = 246–248°C).

6: ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 0,84 (s, 3H, CH_3), 1,23 (s, 12H, H-6"-H-11"),1,51 (s, 2H, H-5"), 5,19 (s, 2H, H-1'), 7,51–7,78 (m, 7H, Ph_{Bz}/ Ph_{tr}), 7,82 (m, 2H, Ph_{Bz}-H-1"), 8,61 (s, 1H, H-6), 8,66 (s, 1H, H-3'), 13,01 (s, 1H, NH-3) ppm.

7: ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 0,84 (s, 3H, CH_3), 1,23 (s, 12H, H-6"-H-11"), 1,51 (s, 2H, H-5"), 5,19 (s, 2H, H-1'), 7,35 (s, 1H, H-1"), 7,31–7,76 (m, 7H, Ph_{Bz}/ Ph_{tr}), 8,24 (s, 1H, H-6), 8,48 (s, 1H, H-3') ppm.

3.3.7. *N*-4-benzoil-5-(3,5-difluor)fenil-(*N*-1-(1-(4-jodfenil)-1,2,3-triazol-4-il)metil)pirimidin-2-on(8) i 7-benzoil-6-(3,5-difluorfenil)-3-((1-(4-jodfenil)-1,2,3-triazol-4-il)metil)pirolo[2,3-*d*]pirimidin-2-on (9)

Spoj **5** (155,0 mg; 0,503 mmol) otopljen je u DMF-u (20 ml), te je dodan 3,5-difluorfenil (0,045 ml; 0,755 mmol), CuI (9,5 mg, 0,1 mmol), *iso*-Pr_2EtN (0,07 ml;0,785 mmol) i katalizator [$(PPh_3)_4Pd$] (29,0 mg; 0,050 mmol). Reakcija je miješana na sobnoj temperaturi preko noći u struji argona, a tijek reakcije je praćen TLC-om. Zatim je dodano još 0,2 ml *iso*-Pr_2EtN te je smjesa zagrijavana 60 minuta na 90°C. Nakon završetka reakcije, smjesa je uparena i pročišćena kolonskom kromatografijom (CH_2Cl_2, zatim CH_2Cl_2 : MeOH= 200 : 1, 100 : 1). Izoliran je bijeli praškasti spoj **8** (40,0 mg; 12,54%; T.t. = 78–80°C) i žuti kristali spoja **9** (10,0 mg; 3,13%; T.t. = 149–151°C).

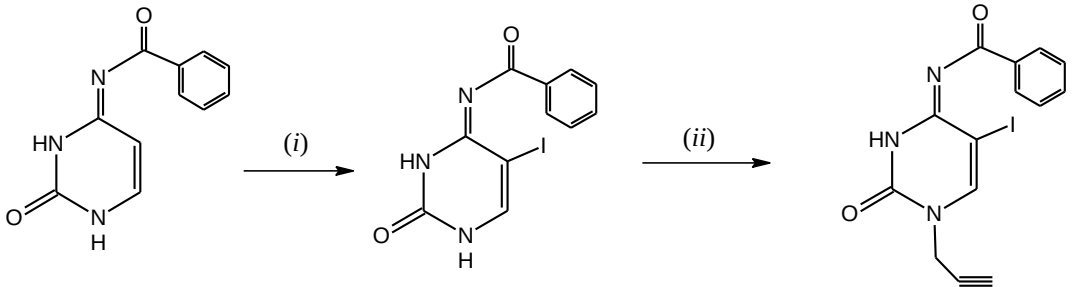
8: ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 5,20 (s, 2H, H-1'), 7,36-7,73 (m, 3H, Ph_{Bz}-H-1", H-2"), 7,81 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz, Ph_{tr}), 8,01–8,06 (m, 6H, Ph_{Bz}/ Ph_{tr}/ Ph-3'"), 8,48 (s, 1H, H-6), 8,79 (m, 1H, Ph-3'"), 8,95 (s, 1H, H-3'), 12,56 (s, 1H, NH-3) ppm.

9: ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 5,33 (s, 2H, H-1'), 7,03 (s, 1H, H-1"), 7,39–7,80 (m, 3H, Ph_{Bz}), 7,81 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz, Ph_{tr}), 8,02(m, 4H, Ph_{Bz}-H-1"), 8,73–8,99 (m, 3H, Ph-3'"), 8,81 (s, 1H, H-6), 8,86 (s, 1H, H-3'), 11,88 (s, 1H, NH-3) ppm.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Sinteze spojeva

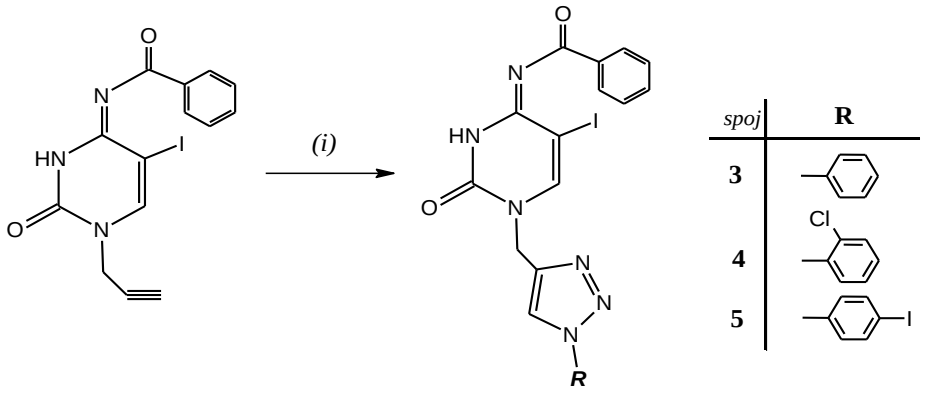
Reakcijom jodiranja *N*-4-benzoilcitozina s jodom (I_2) uz cerijev(IV)amonijev nitrat (CAN) u acetonitrilu (AcN) sintetiziran je *N*-4-benzoil-5-jodcitozin (**1**). *N*-alkiliranjem spoja **1** s propargil-bromidom i NaH kao bazom, pripravljen je *N*-4-benzoil-5-jod-*N*-1-propargilcitozin (**2**) (shema 1).



1 **2**

Shema 1.Sinteza *N*-4-benzoil-5-jodcitozina (**1**) i *N*-4-benzoil-5-jod-*N*-1-propargilcitozina(**2**)

Reagensi i reakcijski uvjeti: (*i*) I_2/ CAN/ AcN/24 h/sobna temperatura; (*ii*) NaH/ DMF/ propargil-bromid/sobna temperatura/ 24 h.



spoj	**R**
3	
4	
5	

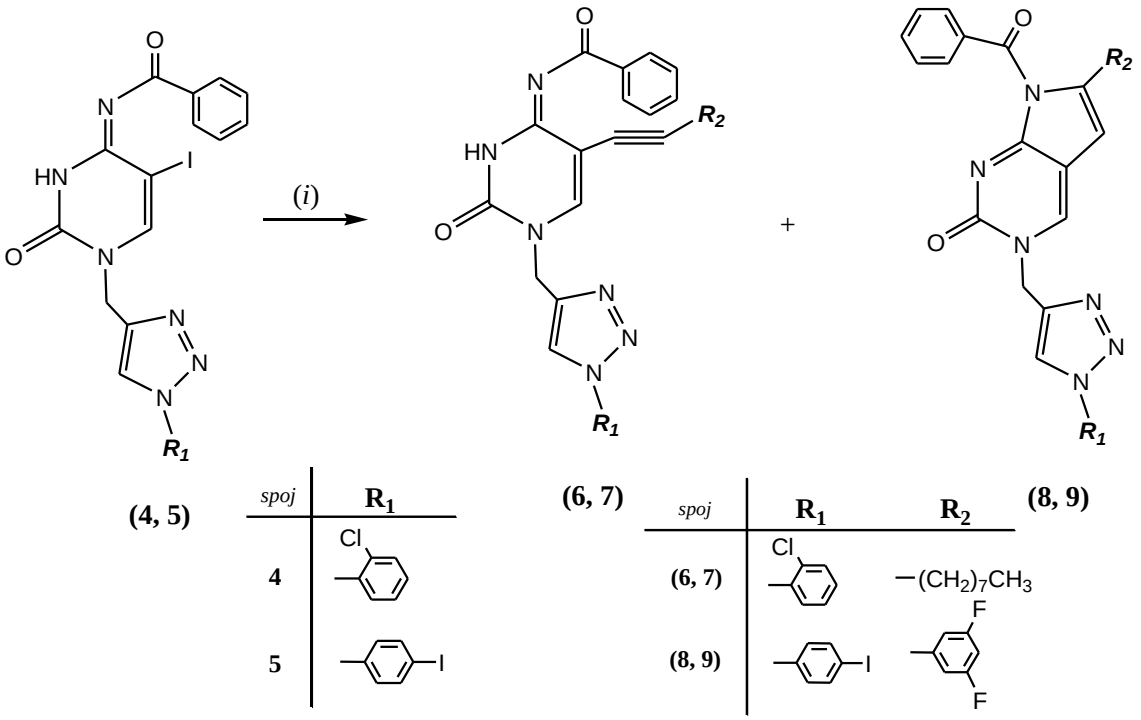
2 (**3**-**5**)

Shema 2.Sinteza *N*-1 triazolilnih derivata citozina (**3**–**5**)

Reagensi i reakcijski uvjeti: (*i*) DMF/ R-N_3/ Cu(0)/ $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$/*t*-BuOH/ H_2O/ MW /90 min/ 80°C.

N-1 propargilirani *N*-4-benzoil-5-jodcitozinski derivat **2** je potom u uvjetima „*click*“ reakcije, Huisgenove 1,3-dipolarne cikloadicije s različito supstituiranim azidima (R-N_3)

preveden u odgovarajuće citozinske derivate supstituirane u položaju *N*-1 citozina s 1,2,3-triazolnom jezgrom (**3**–**5**) (shema 2).



Shema 3. Sinteza spojeva **6**–**9**

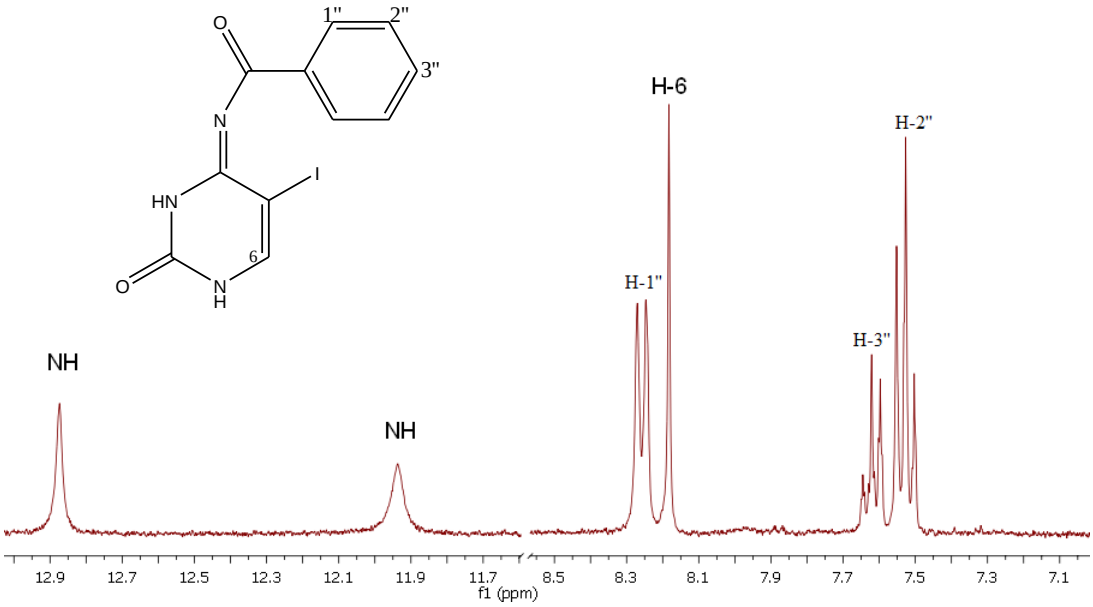
Reagensi i uvjeti: (*i*) CuI/ *iso*-Pr_2EtN/ $(PPh_3)_4Pd$/ a) decin b) 3,5-difluorfeniletin/ sobna temperatura/24 h.

Sonogashira-inom reakcijom *N*-4-benzoil-(*N*-1-(1-(2-klorfenil)-1,2,3-triazol-4-il)metil)-5-jod-pirimidin2-ona (**4**) s dekinom uz tetrakis(trifenilfosfin)paladij [$(PPh_3)_4Pd$], bakrov(I) jodid (CuI) i diizopropiletilamin (*iso*-Pr_2EtN) izolirani su *N*-4-benzoil-5-dekinil-(*N*-1-(1-(2-klorfenil)-1,2,3-triazol-4-il)metil)pirimidin-2-on (**6**) i 7-benzoil-3-((1-(2-klorfenil)-1,2,3-triazol-4-il)metil)-6-oktil-pirolo[2,3-*d*]pirimidin-2-on (**7**) (shema 3). Pirolo[2,3-*d*]pirimidinski derivat **7** dobiven je *in situ* 5-*endo*-*dig*-ciklizacijom spoja **6**.

Pd-kataliziranom Sonogashira-inom reakcijom *N*-4-benzoil-(*N*-1-(1-4-jodfenil-1,2,3-triazol-4-il)metil)-5-jod-pirimidin-2-ona (**5**) s 3,5-difluorfeniletinom dobiveni su *N*-4-benzoil-5-(3,5-difluor)fenil-(*N*-1-(1-(4-jodfenil)-1,2,3-triazol-4-il)metil)pirimidin-2-on (**8**) i 7-benzoil-6-(3,5-difluorfenil)-3-((1-(4-jodfenil)-1,2,3-triazol-4-il)metil)-pirolo[2,3-*d*]pirimidin-on (**9**) pri čemu je spoj **9** također dobiven *in situ* 5-*endo*-*dig*-ciklizacijom spoja **8** (shema 3).

4.2. Analiza spektara ^{1}H NMR

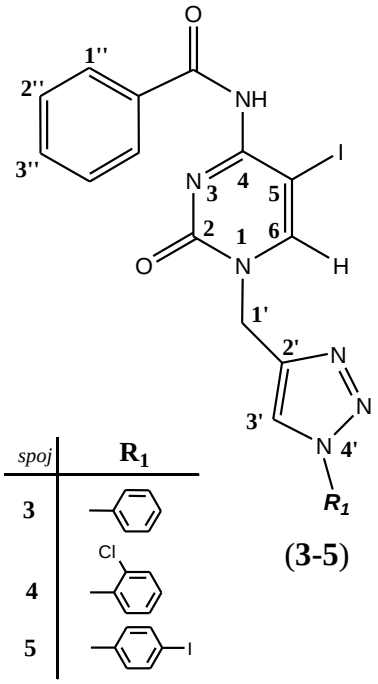
Asigniranje ^{1}H NMR spektara provedeno je na osnovu kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta rezonancija te H-H konstanti sprega (*J*/ Hz).



Slika 1. ^{1}HNMRspektar*N*-4-benzoil-5-jodcitozina (**1**)

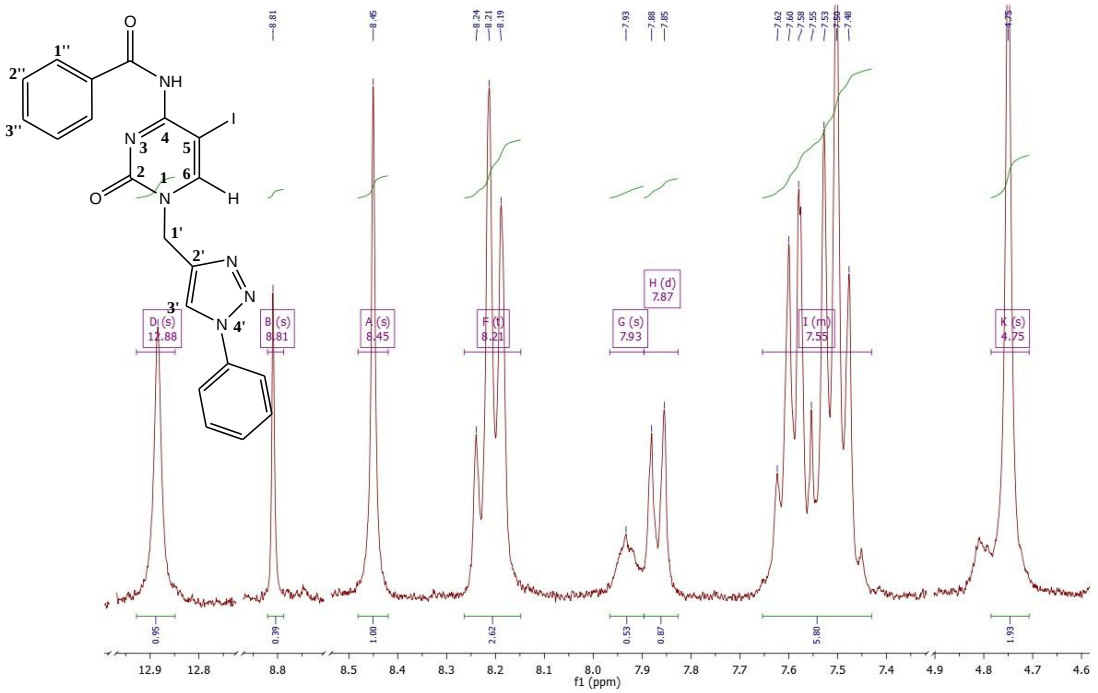
U ^{1}H NMRspektru *N*-4-benzoil-5-jodcitozina (**1**) prisutni su signali za protone pirimidinskog prstena (NH-1, NH-3 iH-6) i fenilne protone benzoilne skupine, uz istovremeni izostanak signala za H-5 proton (5,58 ppm) pirimidinskog prstena što je potvrda jodiranja položaja C-5 *N*-4-benzoilcitozina (slika 1).

U ^{1}H NMR spektru spoja **2** uočeni su novi signali za protone propargilne skupine: dublet za metilenske protone (H-1') na ~4,5 ppm i triplet za metinski proton na ~3,4 ppm uz istovremeni izostanak signala za proton NH-1 .

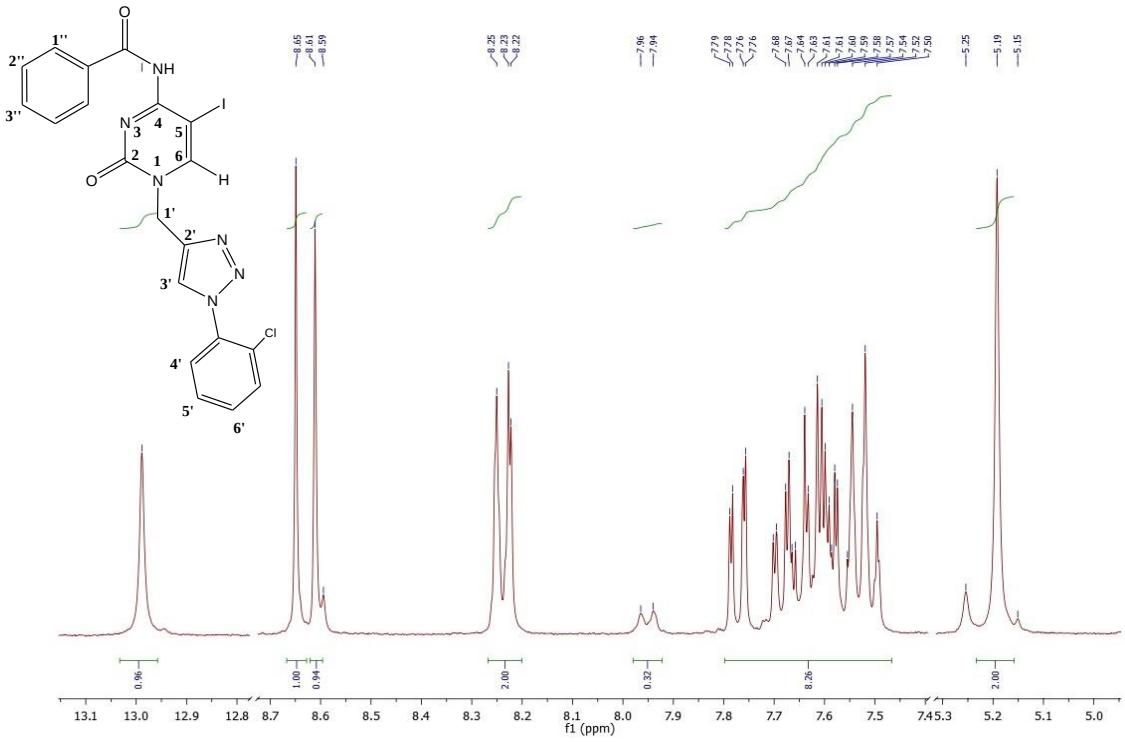


Slika 2. Prikaz struktura *N*-1 triazolilnih *N*-4-benzoilcitozinskih derivata (**3**–**5**)

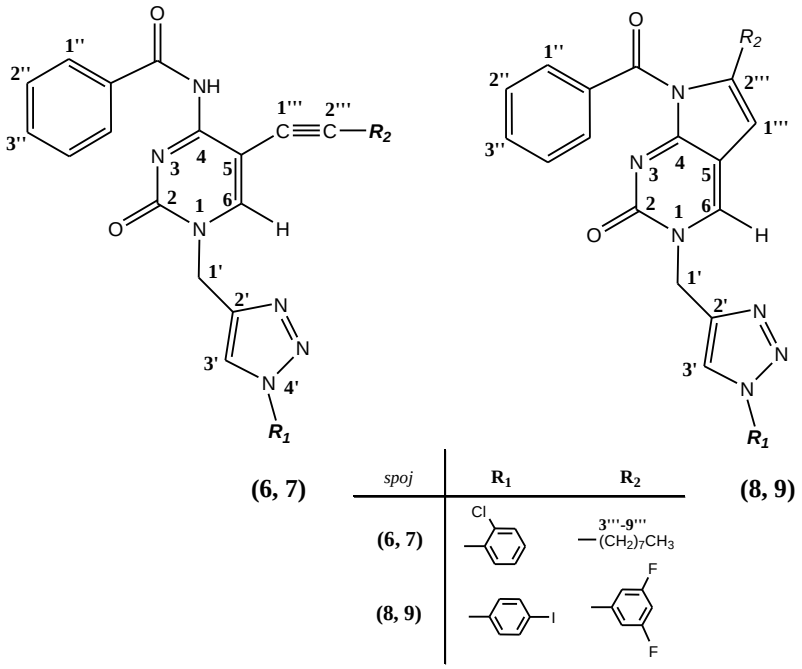
U ^{1}H NMR spektrima *N*-1-triazolilnih derivata citozina **3**–**5** (slika 2), pored signala pirimidinskog prstena prisutan je signal za proton triazolnog prstena na ~8,7 ppm (H-3'), te signali za fenilne protone (dubleti ili multipleti na 7,99–8,23 ppm), uz izostanak metinskog protona H-3' kao neosporni dokazi predložene strukture navedenih spojeva i uvođenje 1,2,3-triazolnog prstena na položaju *N*-1 citozina. Na slikama 3 i 4 prikazani su ^{1}H NMR spektri *N*-4-benzoil-(*N*-1(1-fenil-1,2,3-triazol-4-il)metil)-5-jod-pirimidin-2-ona (**3**) i *N*-4-benzoil-(*N*-1-(1-(2-klorfenil)-1,2,3-triazol-4-il)metil)-5-jod-pirimidin-2-ona (**4).**



Slika 3. ^{1}H NMR spektar *N*-4-benzoil-(*N*-1(1-fenil-1,2,3-triazol-4-il)metil)-5-jodpirimidin-2-ona (**3**)



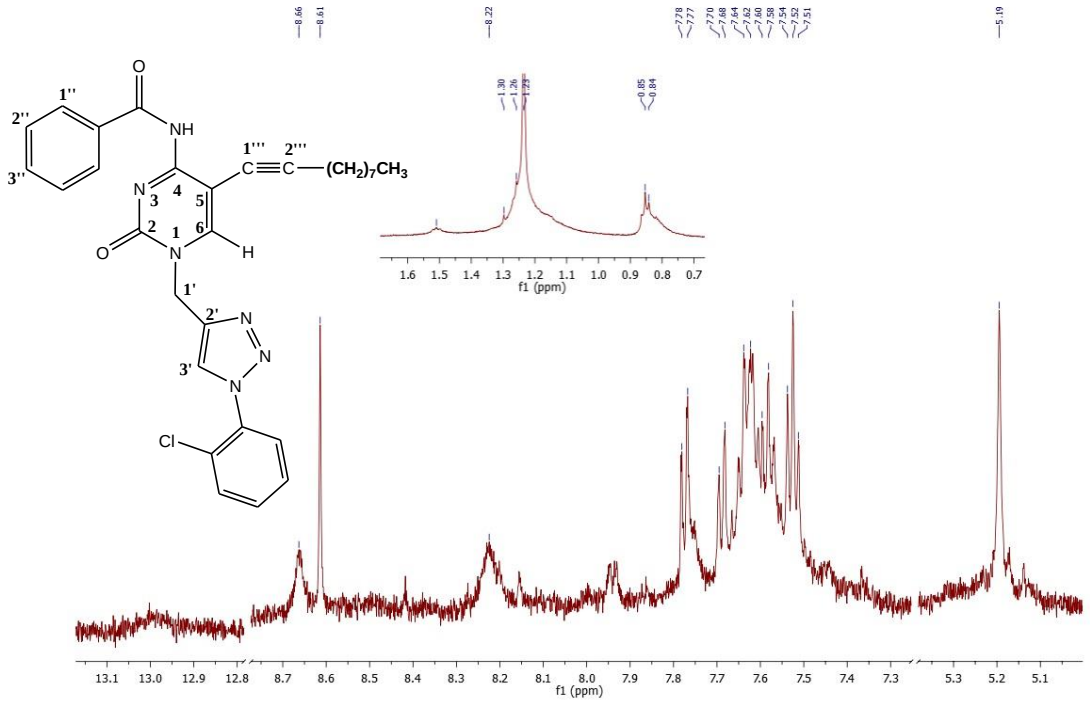
Slika 4. ^{1}H NMR spektar*N*-4-benzoil-(*N*-1-(1-(2-klorfenil)-1,2,3-triazol-4-il)metil)-5-jodpirimidin-2-ona (**4**)



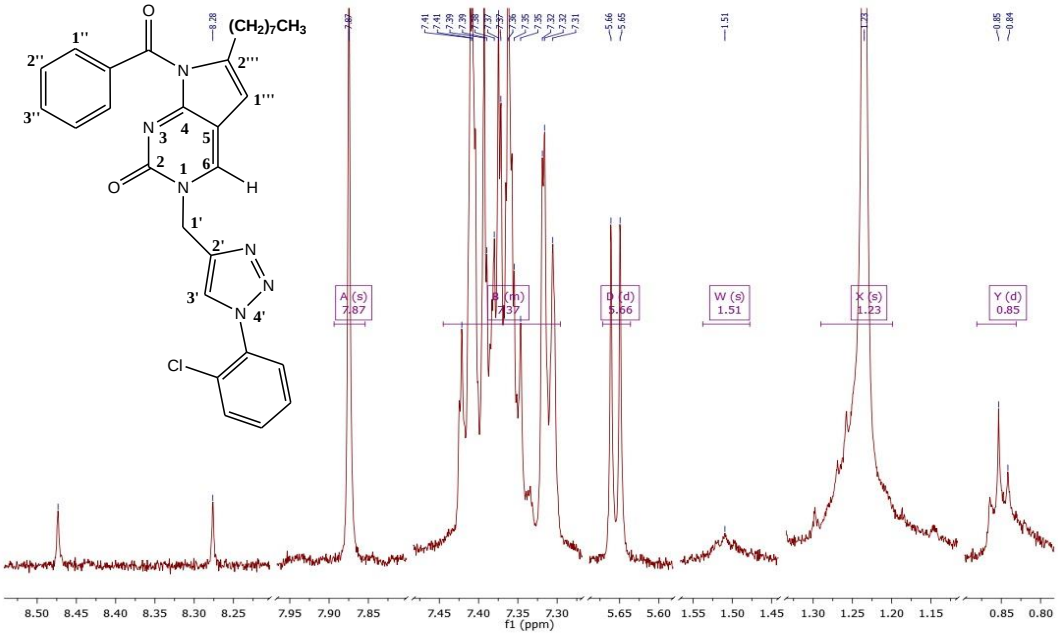
Slika 5. Prikaz struktura *N*-1-triazolilnih, C-5 alkinilnih *N*-4-benzoilcitozinskih derivata **6** i **7**, te *N*-1-triazolilnih pirolo[2,3-*d*]pirimidinskih derivata **8** i **9**

Analizom spektara ^{1}H NMR na temelju kemijskih pomaka, veličine signala i multipliciteta sprega spin-spin između jezgara H i H potvrđene su strukture C-5-alkinilnih *N*-1-triazolilnih derivata *N*-4-benzoilcitozina **6** i **7** (slika 5), kao i njihova ciklizacija i nastajanje pirolo[2,3-*d*]pirimidinskih derivata **8** i **9**(slika 5). Na slikama 6 i 7 prikazani su ^{1}H NMR spektri spojeva **6** i **7**, dok su na slikama 8 i 9 prikazani ^{1}H NMR spektri spojeva **8** i **9**.

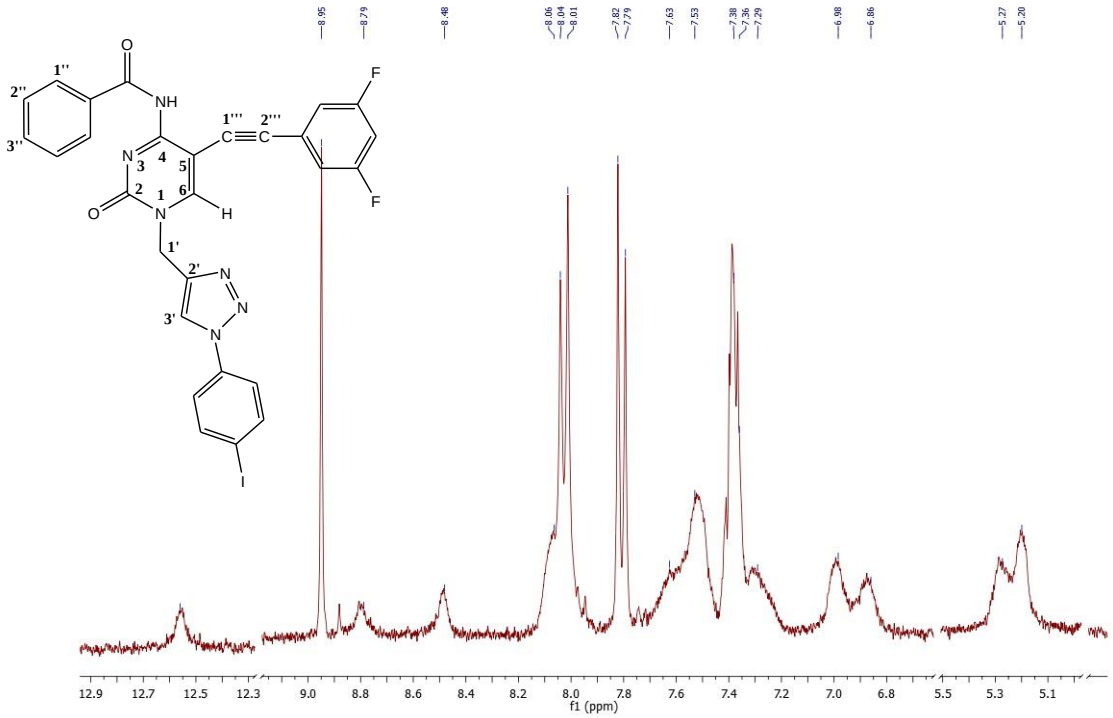
U spektrima^{1}H NMR spojeva **8** i **9** prisutni su signali protona NH, H-4 i H-5 pirolo[2,3-*d*]pirimidinskog prstena, uz izostanak signala za proton NH-3 (ili NH-4) pirimidinskog prstena, za razliku od C-5 alkinilnih citozinskih derivata **6** i **7**. Također je uočen i novi signal za vinilni proton (H-1''') na 7,31 ppm-a, odnosno 7,03 ppm-a, koji dokazuje ciklizaciju C-5 alkinilnih *N*-1-triazolilnih derivata **6** i **7** u pirolo[2,3-*d*]pirimidinske derivate **8** i **9**. Osim toga, prisutni su i ostali odgovarajući signali protona alifatskih i aromatskih skupina u ^{1}H NMR spektrima spojeva **6**–**9**, čime su potvrđene pretpostavljene strukture navedenih spojeva.



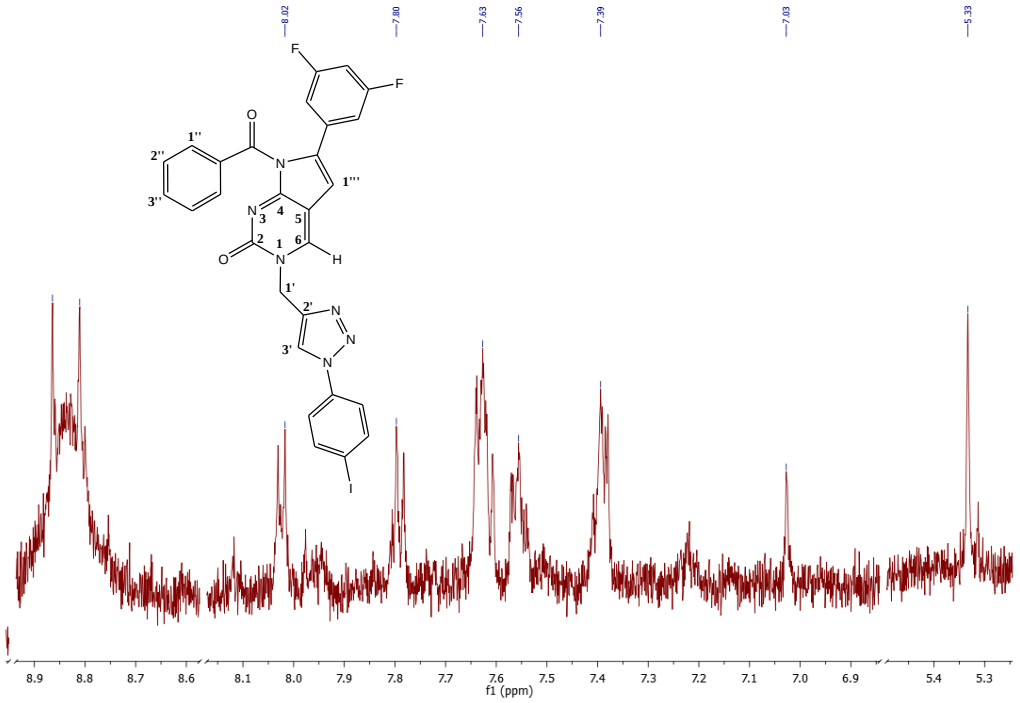
Slika 6. ^{1}H NMR spektar *N*-4-benzoil-5-dekinil-(*N*-1-(1-(2-klorfenil)-1,2,3-triazol-4-il)metil)pirimidin-2-ona (**6**)



Slika 7. ^{1}H NMR spektar 7-benzoil-3-((1-(2-klorfenil)-1,2,3-triazol-4-il)metil)-6-oktil-pirolo[2,3-*d*]pirimidin-2-ona (**7**)



Slika 8. ^{1}H NMR spektar *N*-4-benzoil-5-(3,5-difluor)fenil-(*N*-1-(1-(4-jodfenil)-1,2,3-triazol-4-il)metil)pirimidin-2-ona (**8**)



Slika 9. ^{1}H NMR spektar 7-benzoil-6-(3,5-difluorfenil)-3-((1-(4-jodfenil)-1,2,3-triazol-4-il)metil)-pirolo[2,3-*d*]pirimidin-2-ona (**9**)

5.ZAKLJUČCI

- Reakcijom jodiranja *N*-4-benzoilcitozina sintetiziran je *N*-4-benzoil-5-jodcitozin (**1**).

- Reakcijom *N*-alkiliranja spoja **1** s propargil-bromidom i NaH kao bazom, sintetiziran je *N*-4-benzoil-5-jod-*N*-1-propargilcitozin (**2**).

- Pirimidinski derivat **2** je Huisgen-ovom 1,3-dipolarnom cikloadicijom s različito supstituiranim terminalnim azidima preveden u citozinske derivate supstituirane 1,2,3-triazolnom jezgrom u položaju *N*-1(**3**–**5**).

- Sonogashira-inom reakcijom *N*-4-benzoil-(*N*-1-(1-(2-klorfenil)-1,2,3-triazol-4-il)metil)-5-jodpirimidin-2-ona(**4**) s dek-1-inom kao terminalnim alkinom pripravljen je C-5 alkinilni citozinski derivat **6**.

- Pd-kataliziranom Sonogashira-inom reakcijom derivata citozina **5** s 3,5-difluorfeniletinom kao terminalnim alkinom, pripravljen je *N*-4-benzoil-5-(3,5-difluor)fenil-(*N*-1-(1-(4-jodfenil)-1,2,3-triazol-4-il)metil)pirimidin-2-on (**8**).

- C-6 supstituirani derivati 7-deazapurina **7** i **9** dobiveni su 5-*endo-dig* ciklizacijom *in situ* C-5 alkinilnih citozinskih derivata **6** i **8**.

- Strukturna karakterizacija novopripravljenih spojeva provedena je ^{1}H NMR spektroskopijom.

6. LITERATURA

1. http://www.zzjzpgz.hr/nzl/27/kemo.htm, 11.7.2015.

2. Aurer, I.; *Učinci sustavne terapije*, 2010.

3. Mallikarjunaswamy, C.; Bhadregowda, D. G.; Mallesha, L.; *J. Saudi Chem. Soc*., 2013.

4. Schwarz, S.; Siewert, B.; Csuk, R.; Rauter, A.P.; *E. J. Med. Chem.* 2015 (**90**) 595.

5. Damaraju, V. L.; Damaraju, S.; Young, J. D.; Baldwin, S. A.; Mackey, J.; Sawyer, M. B.; Cass, C. E.;*Oncogene* 2003 (**22**) 7528.

6. Chu, C.K.; *Antiviral Nucleosides: Chiral Synthesis and Chemotherapy,* 1st edition,Elsevier, Amsterdam, Boston,2003.

7. McMurry, J.;*Organic chemistry*, 8th edition, Brooks/Cole, Belmont, USA, 2012.

8. Timberlake, K.C.;*Introduction to General, Organic and Biological Chemistry*, 12th Edition, Pearson Education Inc., USA, 2014.

9. Raven, P.H.; Johnson, G.B.;*Biology*, McGraw Hill, 2002.

10. Berg, J.M.; Tymoczko J.L.; Stryer L.;*Biochemistry*, W. H. Freeman and Company, 2002.

11. Maddila, S.; Momin, M.; Lavanya, P.; Rao C.V.;*J. Saudi Chem. Soc*., 2012.

12. Balimae, P.V.; Sinko, P.J.;*Adv. Drug Deliv. Rev.*, 1999 (**39**) 183.

13. Gazivoda Kraljević, T.; Bistrović, A.; Dedić, M.; Kraljević Pavelić, S.; Sedić, M.; Raić-Malić, S.; *Tetrahedron Lett.*, 2012 (**53**) 5144.

14. Lalanne, M.; Andrieux, K.; Couvreur, P.; *Curr. Med. Chem.*, 2009 (**16**) 1392.

15. De Clercq, E.;*J. Clin. Virol*, 2004 (**30**) 115.

16.De Clercq, E.; *Acta. Pharm. Sin. B*; 2012 (**2**) 536.,537.,539.

17. Tummala, S.; Setish Kumar, M. N.; Prakash, A.; *Saudi. Pharm. J.* , 2015 (**23**) 308.

18. Minami, K.; Shinsato, Y.; Yamamoto, M.; Takahashi, H.; Zhang, S.; Nishizawa, Y.; Tabata, S.; Ikeda, R.; Kawahara, K.; Tsujikawa, K.; Chijiiwa, K.; Yamada, K.; Akiyama, S.; Pérez-Torras, S.; Pastor-Anglada, M.; Furukawa, T.; Yasuo, T.; *J. Pharm. Sci.*, 2015 (**127**) 319.

19. Qu, Y.; Dang, S.; Hou, P.; *Clin. Chim. Acta*, 2013 (**424**) 61.

20. Portalone, G.;*Chem. Cent. J.*, 2011 (**5**) 51.

21. Mosier, N.S.; Ladisch, M.R.;*Modern Biotechnology:Connecting Innovations in Microbiology and Biochemistry to Engineering Fundamentals;* John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2009. 332.

22. Matsuda, A.; Sasaki, T.;*Cancer Sci.*, 2004 (**95**) 105.

23. Ratković, A.; Diplomski rad, 2014.

24. Dasari, R.; Kornienko, A.; *Chem. Heterocycl. Compd*., 2014 (**50**) 139.

25. Dalal A.; Ella A.E.; Ghorab M.M.; Noaman E.; Helmy I. H.; Khalil I. A.; Bioorg. Med. Chem. Lett.,2008 (**16**) 2391

26. Kazimierczuk Z.; Revankar, G.; Robins, R.; *Nucleic Acids Res.*, 1984 (**12**) 1179.,1180.

27. Tanaka, N.; Tsun Wu, R.; Okabe, T.; Yamashita, H.; Shimazu, A.; Nishimura, T.; *J. Antibiot*., 1982 (5) 272.

28. Hee Kim, S.; Okazaki, K.; Okabe, T.; Nishimura, T.; Kondo, T.; Tanaka, N.; Suzuki, H.; *J. Antibiot*., 1991 (**44**) 659.

29. Rosemeyer, H.; *Molbank*, 2009 (**1**) 1.,2.

30. Seela, F; Tran-Thi, Q.; Mentzel, H.; Erdmann, V.; *Biochem*., 1981 (**20**) 2559.

31. Gazivoda Kraljević, T.; Petrović, M.; Krištafor, S.; Makuc, D.; Plavec, J.; L. Ross, T.; M. Ametamey, S.; Raić-Malić, S.; *Molecules*, 2011 (**16**) 5114.

32. Gambacorta, A.; Tofani, D.; Loreto, N.A.; Gasperi, T.; Bernini, R.; *Tetrahedon*, 2006 (**62**) 6848.

33. Ogilvie, K.; Beaucage, S.;*Tetrahedron Lett.*, 1978 (**19**) 1664.

34.Frei, R.; D. Wodrich, M.; Prasad Hari, D.; Borin, P.; Chauvier, C.; Waser, J.; *J. Am. Chem. Soc*., 2014 (**136**) 16563.

35. Rostovtsev V.V.; Green L.G.; Fokin V.V.; Sharpless K.B.; *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2002. (**41**) 2596.

36. Amblard, F.; Cho, J.H.; Schinazi, R.F.; *Chem. Rev*., 2009 (**109**) 420.

37. Sonogashira, K.; *J. Organomet. Chem.*, 2002(**653**) 46.

38.Chinchilla, R.; Nájera, C.; *Chem. Rev.*, 2007 (**107**) 874.

39. Sikk, L.; Tammiku-Taul, J.; Burk, P.;*Proc. Estonian Acad. Sci. Biol. Ecol.*, 2013 (**62**) 133.

40. Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N.; *Tetrahedron Lett.*, 1975 (**50**) 4467.

ŽIVOTOPIS

Zovem se Petra Orehovački. Rođena sam 08. studenog 1993. godine u Zagrebu. Osnovnoškolsko obrazovanje završila sam u OŠ „Vladimir Nazor“, a srednju školu u Gimnaziji Ivana Zakmardija Dijankovečkoga u Križevcima. Maturirala sam 2012. godine s odličnim uspjehom, te sam iste godine upisala studij Ekoinženjerstva na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.