

Utjecaj dioksana na regioselektivnost ferocenoiliranja uracila

Hruškar, Anja

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:662916>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-10**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Biotehnologija

Anja Hruškar
0058218315

**Utjecaj dioksana na regioselektivnost ferocenoiliranja
uracila**

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Organska kemija
Mentor: prof. dr. sc. Senka Djaković

Zagreb, 2023. godina.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Biotehnologija

Zavod za kemiju i biokemiju
Laboratorij za organsku kemiju

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Biotehnologija

Utjecaj dioksana na regioselektivnost ferocenoiliranja uracila

Anja Hruškar, 0058218315

Sažetak:

Kopulati nukleobaza s ferocenskim derivatima česta su tema istraživanja zbog svoje izrazite biološke aktivnosti kao i zanimljivih elektrokemijskih svojstava što ih čini važnim područjem istraživanja. U svrhu ovog završnog rada ispitana je regioselektivnost reakcije ferocenoiliranja uracila korištenjem dioksana kao otapala i natrijevog hidrida, kalijevog karbonata te trietilamina kao deprotonirajućih agensa. FTIR i NMR spektroskopijom potvrđen je sastav reakcijske smjese, odnosno udio pojedinih izomera.

Ključne riječi: biokonjugati, ferocen, uracil, dioksan, spektralna analiza

Rad sadrži: 26 stranica, 19 slika, 3 tablice, 3 sheme, 19 literaturnih navoda,

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: prof. dr. sc. Senka Djaković

Pomoć pri izradi:

Datum obrane: 11. rujan 2023.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Biotechnology

Department of Chemistry and Biochemistry
Laboratory for Organic Chemistry

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Biotechnology

Influence of dioxane on regioselectivity of uracil ferrocenylation

Anja Hruškar, 0058218315

Abstract:

Copolates of nucleobases with ferrocene derivatives are a frequent research topic due to their pronounced biological activity as well as their interesting electrochemical properties, which makes them an important area of research. In this undergraduate thesis, the regioselectivity of ferrocenylation of uracil was investigated using dioxane as solvent and sodium hydride, potassium carbonate and triethylamine as deprotonating agents. FTIR and NMR spectroscopy confirmed the composition of the reaction mixture, i.e., the proportion of each isomer.

Keywords: bioconjugates, ferrocene, dioxane, spectral analysis

Thesis contains: 26 pages, 19 figures, 3 tables, 3 schemes, 19 references

Original in: Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Senka Djaković, PhD, Full professor

Technical support and assistance:

Thesis defended: September 11, 2023

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. NUKLEOBAZE, NUKLEOZIDI I NUKLEOTIDI.....	2
2.2. HETEROCIKLIČNI AROMATSKI SPOJEVI.....	3
2.2.1. URACIL.....	4
2.3. FEROCEN.....	5
2.3.1. (BIO)KONJUGATI FEROCENA.....	6
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	10
3.1. MATERJALI.....	10
3.2. METODE.....	12
3.3. SHEME PRIPRAVE KOPULATA FEROCENA I URACILA.....	14
3.4. PROTOKLI ZA PRIPRAVU SPOJEVA.....	15
3.4.1. SINTEZA 2-KLORBENZOILFEROCENA (1).....	15
3.4.2. SINTEZA FEROCENKARBOKSILNE KISELINE (2).....	15
3.4.3. SINTEZA FEROCENIL KLORIDA (3).....	16
3.4.4. FEROCENOIL-URACIL BIKONJUGATI (4 I 5).....	16
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	18
4.1. UVOD.....	18
4.2. SINTEZA PREKURSORA.....	19
4.2.1. FEROCENKARBOKSILNA KISELINA (2).....	19
4.2.2. FEROCENOIL KLORID (3).....	19
4.3. SINTEZA BIKONJUGATA URACILA I FEROCENOIL KLORIDA (3).....	20
4.3.1. REAKCIJA KOPULACIJE UZ NaH KAO DEPROTONIRAJUĆI AGENS.....	21
4.3.3. REAKCIJA KOPULACIJE UZ $[(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}]$ KAO DEPROTONIRAJUĆI AGENS.....	21

4.4. SPEKTRALNA ANALIZA N1-FEROCEOIL URACIL (4) I N1/N3-BISFEROCENOIL URACIL (5)	22
5. ZAKLJUČCI.....	25
6. POPIS LITERATURE	26

1. UVOD

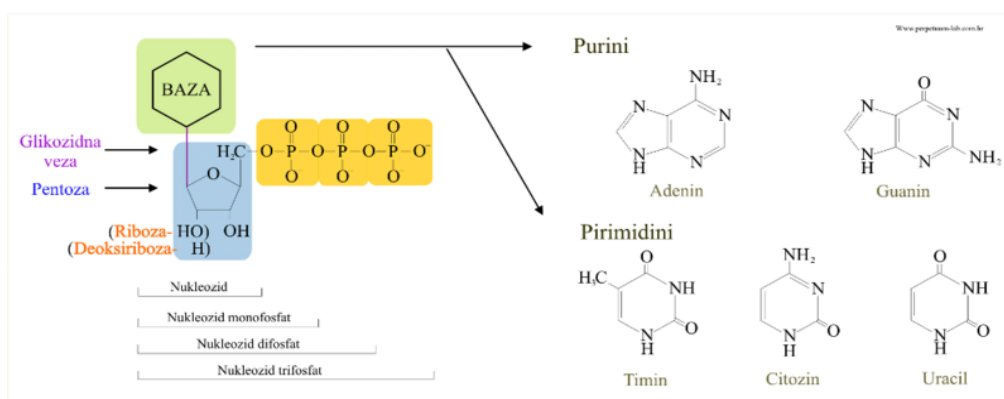
Biokonjugati ferocena i nukleobaza posebno su zanimljivi jer su nedovoljno ispitani derivati, a njihove strukture sadrže biološki i elektrokemijski aktivne komponente. Prije svega zanimljiva je interakcija ferocenilnih supstituenata s aromatskim sustavom nukleobaze uzimajući u obzir redukcijski potencijal i posebna elektrokemijska svojstva ferocena. Ferocen se u tim biokonjugatima veže kao *N*-supstituent, a mjesto na kojem se veže određuje njihovu biološku aktivnost.

U ovom završnom radu pripremit će se i okarakterizirati produkti reakcije kopulacije pirimidinske nukleobaze uracila i ferocenoil klorida (**3**) te ispitati utjecaj dioksana kao otapala na navedenu reakciju. Sintetska procedura uključivat će i uporabu natrijeva hidrida (NaH), kalijeva karbonata (K₂CO₃) i trietilamina [(C₂H₅)₃N] kao deproteksijskih baza, te različit odnos ferocenoil klorida (**3**) i nukleobaze. Cilj je ovog rada ispitati utjecaj dioksana kao otapala na regioselektivnost reakcije *N*-ferocenoiliranja uracila. Karakterizacija spojeva provest će se FTIR, ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom.

2. TEORIJSKI DIO

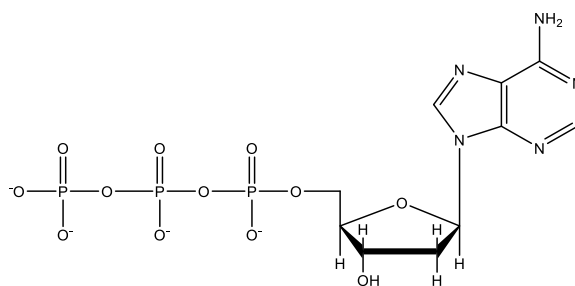
2.1. NUKLEOBAZE, NUKLEOZIDI I NUKLEOTIDI

Nukleobaze su organske molekule podijeljene u dvije skupine: purinske i pirimidinske. Purinske baze su adenin i gvanin, a sastoje se od primidinskog i imidazolnog prstena. Pirimidinske baze su citozin, timin i uracil, a u svojoj strukturi sadrže samo pirimidinski prsten. Nukleozid je organska molekula sastavljena od purinske ili pirimidinske baze povezane sa šećerom putem *N*-glikozidne veze. Fosforilacijom nukleozida dobiva se osnovna gradivna jedinica deoksiribonukleinskih kiselina (DNA), a to je nukleotid (slika 1). [1]



Slika 1. Struktura nukleozida, nukleotida i nukleinskih baza [1]

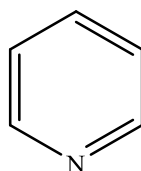
Osim što imaju ulogu nosica genetičke informacije, nukleotidi i nukleozidi imaju važnu ulogu u reguliranju i prenošenju energije u stanici te kao nosači aktivnih grupa u biokemijskim reakcijama. Među najvažnijim spojevima u stanici je adenzin-trifosfat (ATP) (slika 2) kao osnovna energijska valuta u stanici, gdje se prilikom cijepanja anhidridne veze između atoma fosfora oslobađa velika količina energije. Adenin je također sastavni dio strukture koenzima nikotinamid-adenin dinukleotida (NAD^+), flavin-adenin dinukleotida (FAD) i koenzima A (CoA), odnosno koenzima važnih za odvijanje biokemijskih reakcija u organizmu. U životinjskim i ljudskim stanicama važnu ulogu ima i uridin-difosfat (UDP) i uridin-trifosfat (UTP) u sintezi glikogena.[1]



Slika 2. Adenozin-trifosfat (ATP) [1]

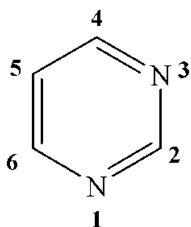
2.2. HETEROCIKLIČNI AROMATSKI SPOJEVI

Heterociklični aromatski spojevi su ciklični spojevi koji u svom prstenu imaju najmanje jedan atom koji nije ugljikov te spadaju u najrasprostranjeniju skupinu organskih spojeva.[2] Općenito se dijele na peteročlane, šesteročlane i policiklične spojeve. Najpoznatiji predstavnici peteročlanih heterocikličkih sustava su pirol, furan i tiofen, a piridin je predstavnik šesteročlanih heterocikličkih aromatskih spojeva. Piridin (slika 3) se smatra prekursorom u pripravi pirimidina.[2]



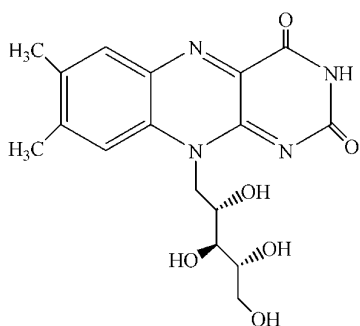
Slika 3. Piridin [2]

Pirimidin (slika 4) je heterociklički aromatski spoj koji sadrži dušikove atome na 1. i 3. položaju u šesteročlanom prstenu. Zahvaljujući svojoj strukturi i fizikalno-kemijskim svojstvima pirimidin podliježe različitim kemijskim reakcijama od kojih su najčešće nukleofilna i elektrofilna aromatska supstitucija.[2] Derivati pirimidina imaju široki spektar biološkog djelovanja poput antivirusnih (Zidovudin) [3], antibakterijskih (Bacimetrin)[4] i antikancerogenih (Adrucil).[5]

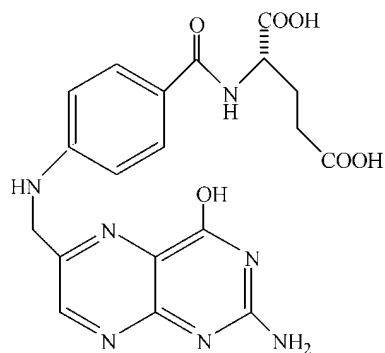


Slika 4. Pirimidin [2]

Pirimidinska struktura sastavni je dio primarno nukleinskih baza uracila, timina i citozina, međutim osnova je i za druge spojeve poput riboflavina (vitamina B2) (slika 5) i folne kiseline (vitamin B9) (slika 6) i lijekova.[6]



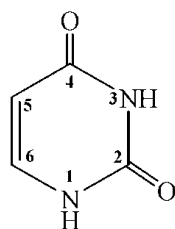
Slika 5. Riboflavin (vitamin B2) [6]



Slika 6. Folna kiselina (vitamin B9) [6]

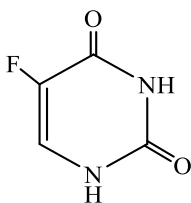
2.2.1. Uracil

Uracil (slika 7) je derivat primidina koji se nalazi u strukturi ribonukleinske kiseline (RNA) te je povezan s dvije vodikove veze s komplementarnom bazom, adeninom. Derivati uracila pokazuju veliku biološku aktivnost te pokazuju veliki potencijal za primjenu kao novih lijekova. Iako neki derivati uracila već postoje na tržištu, u tijeku su istraživanja kako bi se proširio spektar alternativnih lijekova protiv virusa, tumora ali i dugih bolesti poput dijabetesa. Zidovudin (AZT) i Stavudin (d4T) komercijalni su lijekovi koji u svojoj strukturi sadrže nukleobazu timin te učinkovito djeluju na virus humano imunodeficijencije (HIV). Ti lijekovi spadaju u grupu nukleozidnih inhibitora reverzne transkriptaze (NRTI) odnosno ugrađuju se u RNA kalup za sintezu DNA umjesto nukleobaza te se tako terminira sinteza DNA. [7]



Slika 7. Uracil [2]

Posebice važna skupina derivata uracila su spojevi koji imaju na C5 poziciji u pirimidinskom prstenu supstituiran halogeni element. Ti derivati posjeduju jaka antitumorska svojstva te je jedan od najvažnijih spojeva 5-fluorouracil (5-FU) (slika 8) koji se već godinama koristi u medicini kao efikasan kemoterapeutik. Njegovo antitumorsko djelovanje temelji se na stvaranju kompleksa s enzimom *timidilat sintazom* umjesto uracila, čime se inhibira sinteza DNA.[8]

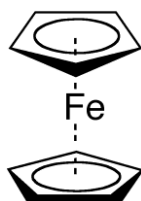


Slika 8. 5-fluorouracil [2]

2.3. FEROCEN

Otkrićem ferocena počinje se razvijati nova grana kemije, a to je kemija metallocena. Metalloceni su spojevi u kojima je atom metala sastavni dio strukture spoja te sudjeluje u kemijskim reakcijama. Ferocen je organometalni spoj „sendvič“ strukture (slika 9). Sastoji se od dva paralelna ciklopentadienilna prstena s atomom željeza u sredini.[9] Dolazi u obliku narančastih kristala ili praha mirisa slična kamforu. Biološki je inertan i netoksičan, ali pokazuje elektrokemijsku aktivnost te je zapaljiv. Molekulska masa iznosi 186,035 g mol⁻¹, temperatura vrelišta 249 °C (522,15 K), temperatura tališta 172,5 °C (445,65 K), a stabilan je do temperature od 400 °C (673,15 K). Gotovo je netopljiv u vodi (0,1 mg mL⁻¹), ali je dobro topljiv u organskim otapalima poput dimetilsulfoksida (DMSO) (100 mg mL⁻¹) i acetonu (50

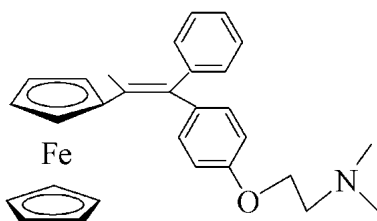
mg mL⁻¹). [10] Zbog svoje strukture i elektrokemijskih svojstava ferocen podliježe velikom broju reakcija poput alkiliranja, aciliranja i sulfoniranja te u mnogim reakcijama pokazuje analogiju s benzenom. Jedna od najistraživanijih reakcija je aciliranje ferocena, te se prilikom brojnih sinteza zaključilo da mehanizam slijedi mehanizam Friedel-Craftsovog aciliranja. Kao primjer jedne takve sinteze može se uzeti reakcija ferocena s acetil kloridom uz prisustvo aluminijevog klorida (AlCl₃).[9]



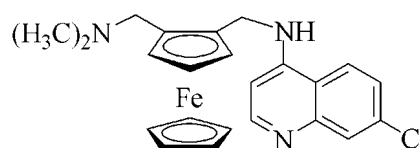
Slika 9. "Sendvič" struktura ferocena [10]

2.3.1. (Bio)konjugati ferocena

Iako je sam po sebi ferocen biološki inertan, njegovi derivati s raznim organskim spojevima, zbog svoje strukture i stabilnosti u biološkim uvjetima, posjeduju brojna biološka djelovanja. Među istraživanim derivatima ferocena su ferocifen i ferokin. Ferocifen (slika 10) ili 1-[4-(2-dimetilaminoetoksi)]-1-(fenil-2-ferocenilbut-1-en) organska je molekula koja pokazuje antikancerogeno djelovanje prema hormon-ovisnom karcinomu dojke te se njegova učinkovitost temelji na kompetitivnom vezanju na receptor čime se inhibira transkripcija DNA. Ferokin (slika 11) je derivat klorokina i ferocena koji pokazuje antimalarijsko djelovanje. Klorokin je antimalarik koji se koristi u kliničke svrhe, a djeluje na principu inhibicije transportnih enzima uslijed kojih dolazi do nakupljanja toksičnih spojeva u stanici. Za razliku od klorokina ferokin ima dva mehanizma djelovanja na stanicu. Prvi mehanizam je isti kao i kod klorokina, a drugim mehanizmom ferokin generira hidroksilne radikale za koje je poznato da negativno utječu na uzročnika malarije.[11]



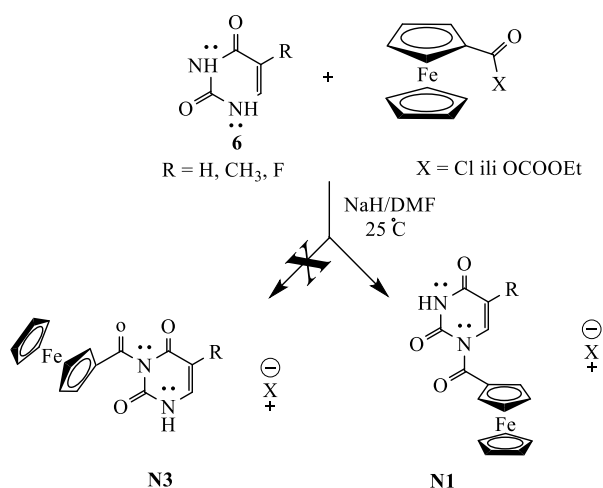
Slika 10. Ferocifen [11]



Slika 11. Ferokin [11]

Zbog sve učestalije pojave rezistencije bakterija, virusa i tumora na postojeće lijekove postoji potreba za stalnim pronalaskom novih lijekova te su tu mjesto našli i biokopulati nukleozida i ferocena. Ferocenski nukleozidi su organski spojevi u kojima ferocen zamjenjuje šećernu komponentu nukleozida. Zbog svojih redoks i bioaktivnih svojstava, ovi konjugati imaju uporabu u bioanalitičkoj i medicinskoj kemiji. Razumijevanje utjecaja biomolekule konjugirane s ferocenom na elektrokemijska i biološka svojstva od velike je važnosti u dizajnu novih molekula temeljene na ferocenu. Elektronska struktura metallocena, skupine u molekulskom mostu i položaj supstitucije na heteroaromatskom prstenu utječu na redoks potencijal i elektrokemijsko ponašanje spojeva što ima za posljedicu i različitu biološku aktivnost i mehanizam te aktivnost.[12].

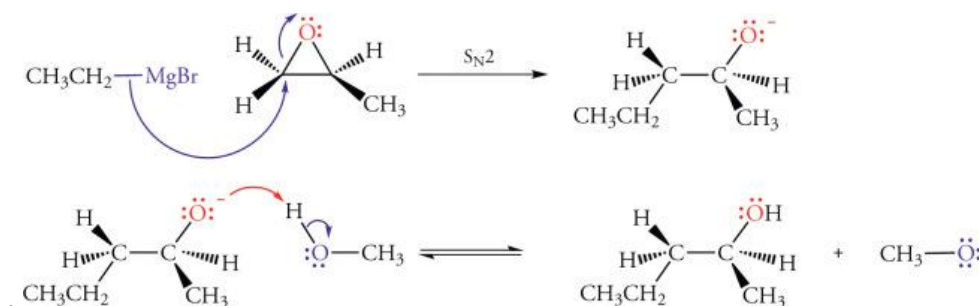
Iako postaju sve češća tema istraživanja, kopulati derivata ferocena s derivatima pirimidinskih baza i dalje su relativno neistražena skupina spojeva te su stoga provedene reakcije vezanja derivata ferocena s karbonilnom razmaknicom na uracil, timin i 5-fluorouracil. Sinteza ferocenskih nukleozida zahtjeva regiospecifičnu reakciju vezanja derivata ferocena na *N1*-poziciju te su razvijeni protokoli za sintezu *N1*-produkta. Sinteza se odvija u dva koraka. U prvom koraku se uracil, timin i 5-fluorouracil deprotoniraju s NaH te u drugom koraku nastali anion reagira s derivatom ferocena. Kao otapalo u ovim je reakcijama korišten dimetilformamid (DMF) (slika 12).[13]



Slika 12. Shema reakcije derivata ferocena s derivatima uracila [13]

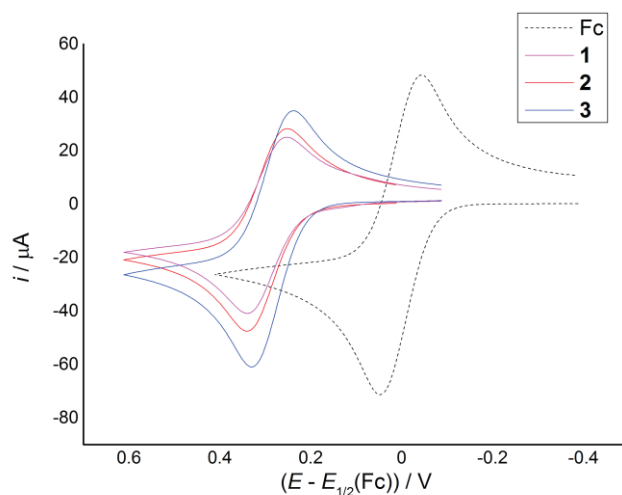
Ovim postupkom kao jedini produkt sinteze nastaje *N1*-produkt. Daljnjim istraživanjem utvrđeno je da za provedbu regiospecifične reakcije na *N1*-poziciji nije potrebno zaštititi *N3*

poziciju jer je otkriveno da regioselektivnost ove reakcije ovisi o kinetičkim parametrima tj. ovisi o temperaturi reakcije, korištenoj bazi, katalizatoru i acilirajućem agensu. Proučavanjem mehanizma reakcije uočeno je da aciliranje baze slijedi S_N2 -sličan mehanizam bez nastanka karakterističnog tetraedarskog međuprodukta, odnosno stvaranje N–C veze i pucanje C–Cl veze odvija se simultano. U slučajevima kada je loša izlazeća skupina dio acilirajućeg agensa, uočava se nastajanje tetraedarskog međuprodukta te reakcija slijedi klasični dvostupanjski mehanizam kao što je prikazano na slici 13.[13]



Slika 13. Primjer reakcije koja se odvija S_N2 - mehanizmom [14]

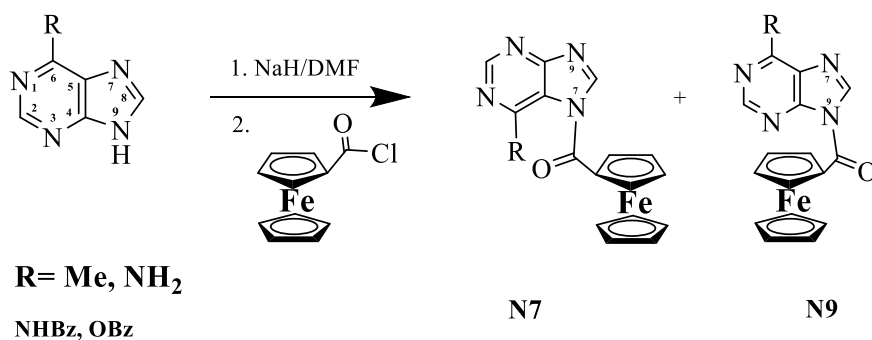
U nastavku istraživanja određivali su se redoks potencijali kopulata računski i eksperimentalno korištenjem kvantno-kemijskih računa i cikličke voltametrije. U kopulatima derivata ferocena i derivata uracila otkrivena je redoks aktivnost jednog elektrona. Mjerenjem redoks potencijala kopulata vidljivo je da se redoks potencijal nalazi za 281-296 mV iznad referentne vrijednosti redoks potencijala para Fc^+/Fc (slika 14) što u konačnici rezultira da se ferocenska jedinica u kopulatu puno teže oksidira od samog ferocena.[15]



Slika 14. Ciklički voltamogram kopulata derivata ferocena i derivata uracila [15]

Kako bi se ustvrdilo da li je karbonilna skupina kao supstituent u ferocenskoj podjedinici utjecala na promjenu redoks potencijala ispitaio se redoks potencijal kopulata s ferocenskom jedinicom koja sadrži metilensku skupinu kao supstituent. Rezultati mjerenja redoks potencijala kopulata koji sadrži metilensku skupinu pokazuju sličan redoks potencijal kao i referentni par. Mijenjanjem supstituenta na C5 poziciji u pirimidinskom prstenu uočeno je da supstituent nema veliki utjecaj na redoks potencijal kopulata.[15]

U svrhu upoznavanja mehanizma reakcije, kao temelj za daljnja istraživanja, provedene su reakcije kopulacije derivata ferocena (slika 15) s purinskim bazama. Sinteza kopulata odvija se u dva koraka. U prvom koraku se nukleobaza aktivira jakim deprotonirajućim agensom (NaH) te u drugom koraku dolazi do reakcije purinskog aniona s derivatom ferocena. Sintezom kopulata u svim slučajevima uočeno je nastajanje dva produkta te se detaljnom 2D NOESY analizom ustvrdilo da derivati ferocena reagiraju s dušikovim atomima na N7 i N9 poziciji u prstenu. Kao i u reakciji benziliranja purina, nisu nastali produkti kojima su derivati ferocena vezani na dušikove atome na N1- i N3- poziciji u prstenu.[16]



Slika 15. Shema reakcije derivata ferrocena s purinom [16]

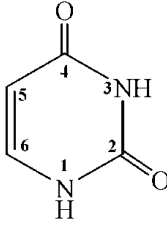
Korištenjem C6 supstituiranih derivata purina primjećen je utjecaj supstituenta na regioselektivnost reakcije te je daljnjim istraživanjem potvrđeno da C6 supstituent utječe na omjer nastajanja *N7* i *N9* produkata. Tako se korištenjem određenih supstituenata ova, inače regioselektivna, reakcija kopulacije može usmjeriti prema nastajanju samo *N9* produkta čime ova reakcija postaje regiospecifična.[16]

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERJALI

Za provedbu reakcija korišteni su kupovni reagensi i kemikalije bez pročišćavanja. Najveći dio reakcija izvedene su u atmosferi argona i bezvodnoj okolini. Od laboratorijskih uređaja, korišteni su analitička vaga, FTIR spektrometar, ¹H-NMR, ¹³C-NMR i UV lampa.

Tablica 1. Nukleobaza uracil

NAZIV	STRUKTURNA FORMULA	PROIZVOĐAČ
Uracil, 98 %		TCI, Japan

Tablica 2. Popis kemikalija korištenih prilikom izrade eksperimentalnog dijela rada

Naziv	Formula	Molekulska masa (g mol ⁻¹)
Ferocen	Fe(C ₅ H ₅) ₂	186,04
2-klorbenzoil klorid	C ₇ H ₄ Cl ₂ O	174,94
Aluminijev klorid	AlCl ₃	133,33
Diklormetan	CH ₂ Cl ₂	84,92
Natrijev hidroksid	NaOH	40,01
Natrijev sulfat	Na ₂ SO ₄	142,06
Kalijev <i>tert</i> -butoksid	<i>t</i> -C ₄ H ₉ O ⁻ K ⁺	112,21
1,2-dimetoksietan	C ₄ H ₁₀ O ₂	90,1
Klorovodična kiselina	HCl	36,46
Oksalil klorid	C ₂ Cl ₂ O ₂	126,9
Piridin	C ₅ H ₅ N	79,05
Uracil	C ₄ H ₄ N ₂ O ₂	112,09
Dioksan	C ₄ H ₈ O ₂	88,01
Natrijev hidrid	NaH	29,998
Trietilamid	[(C ₂ H ₅) ₃ N]	101,2
Kalcijev karbonat	K ₂ CO ₃	138,205
Aceton	CH ₃ COCH ₃	58,06

3.2. METODE

Praćenje tijeka reakcija provedeno je pomoću metode tankoslojne kromatografije. Tankoslojna kromatografija (TLC) (slika 16) je provedena na pločama 60F-254 presvučenim slojem silika gela (Merck) u odgovarajućem eluensu. Za detekciju izoliranih komponenata je korištena UV-svjetlost valne duljine 254 nm.



Slika 16. Primjer pločice presvučene silikagelom nakon provedene tankoslojne kromatografije (vlastita fotografija)

Kromatografija na koloni (slika 17) je provedena na silika gelu (Fluka, 0.063–0.2 mm), dok su staklene kolone punjene pod utjecajem gravitacijske sile, a kao eluens je služio čisti diklormetan ili sustav otapala diklormetan/acetone. Preparativna tankoslojna kromatografija provedena je na staklenim pločama prevučeni silika gelom (Merk, Kisagel 60 HF₂₅₄), a za mobilnu fazu je korišten sustav otapala diklormetan/acetone.



Slika 17 Primjer kromatografske kolone na stupcu od silika gela (vlastita fotografija)

Spektri ^1H - i ^{13}C -NMR su snimljeni na spektrometru Bruker Avance 300 i 600 MHz. Svi uzorci su otopljeni u CDCl_3 (deuterirani kloroform), $\text{DMSO-}d_6$ (deuterirani dimetilsulfoksid) i mjereni pri 298 K u NMR cjevčici od 5 do 18 mm. Kemijski pomaci (δ) u ^1H -NMR i ^{13}C -NMR spektrima su izraženi u ppm u odnosu prema tetrametilsilanu (TMS, δ 0,0 ppm), a konstante sprege (J) u Hercima (Hz). Pojedinačne rezonancije su asignirane na temelju njihovih kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta signala i konstanti sprega H-H.

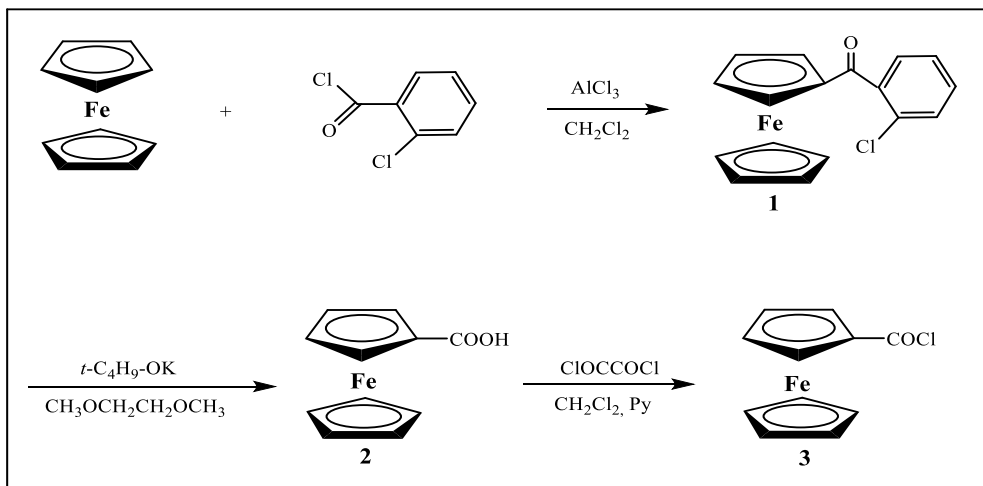
Tumačenje spektroskopskih oznaka i kratica:

IR-spektri: ν = rastezanje (stretching), δ = deformacije (bending), j = jaka vrpca, sr = srednja vrpca, š = široka vrpca.

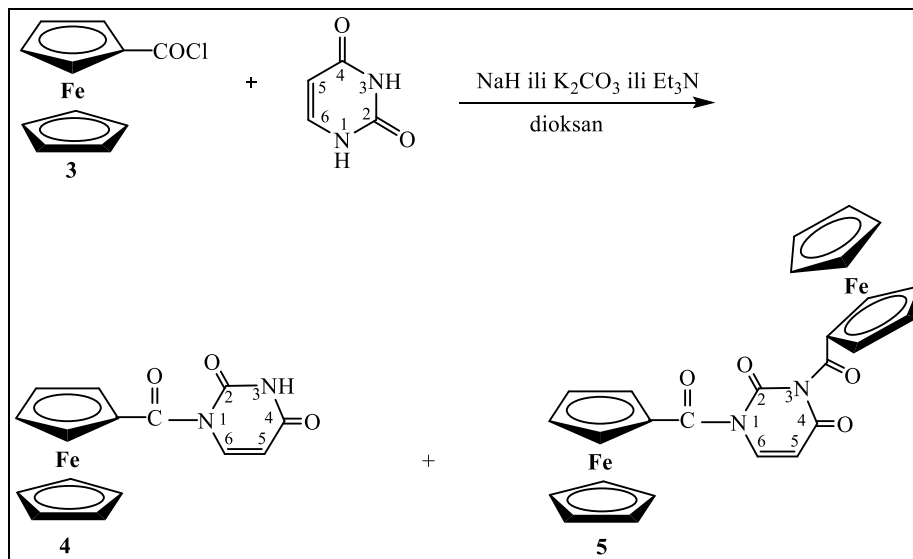
^1H -NMR-spektri: s = singlet, d = dublet, t = triplet, q = kvartet, m = multiplet.

3.3. SHEME PRIPRAVE KOPULATA FEROCENA I URACILA

1. Priprava ferocenkarboksilne kiseline (2) i ferocenoil klorida (3)



2. Priprava N1-ferocenoil uracila (4), N1/N3-ferocenoil uracila (5)



3.4. PROTOKLI ZA PRIPRAVU SPOJEVA

3.4.1. Sinteza 2-klorbenzoil ferocena (1)

U suhom diklormetanu (30 mL) otopi se 3,38 g (0,018 mol) ferocena u atmosferi argona te se otopina ohladi na 0-5 °C. Nakon hlađenja dodaje se 2,45 mL (0,019 mol) 2-benzoilklorid i AlCl₃ (2,53 g, 0,019 mol) u obrocima te se smjesa miješa 45 minuta pri temperaturi od 0-5 °C, a potom 75 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon miješanja reakcijska smjesa se ohladi hladnom vodom te se vodena faza ekstrahira diklormetanom. Organska faza se potom ekstrahira sa 10 % NaOH i ispire vodom do neutralne reakcije. Nakon ekstrahiranja smjesa se osuši bezvodnim Na₂SO₄ i upari do suha pri čemu nam ostaje sirovi 2-klorbenzoil ferocen (**1**) (6,34, 92 %).

IR (CH₂Cl₂) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 1660 j (C=O).

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz, 298 K, ppm) δ/ppm : 7.37 (4H, m, *Ph*), 4.70 (d, 2H, H² H⁵, Fc), 4.54 (d, 2H, H³ H⁴, Fc), 4.22 (s, 5H, Cp).

3.4.2. Sinteza ferocenkarboksilne kiseline (2)

Dobiveni 2-klorbenzoil ferocen (**1**) (6 g, 0,0185 mol) se doda suspenziji kalijev *tert*-butoksida (25 g, 0,2228 mol) u 1,2-dimetoksietanu (135 mL) i vodi (1 mL). Reakcijska se smjesa grije u povrat 60 min nakon čega se prebaci u posudu s ledom i vodom te ekstrahira diklormetanom kako bi se izdvojio neizreagirani spoj **1**. Zakiseljavanjem vodene faze koncentriranom HCl istalože se žutonarančasti kristali ferocenkarboksilne kiseline (**2**); $t_f = 193-200$ °C. Kristali su odsisani preko Büchnerovog lijevka, osušeni u eksikatoru te je dobiveno 1,7 g (48,75 %) kristala ferocenkarboksilne kiseline (**2**)

IR (CH₂Cl₂) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3100-2700 (š, OH, COOH), 1657 (j, C=O)

3.4.3. Sinteza ferocenil klorida (3)

Suspenziji ferocenkarkoboksilne kiseline (2) (300 mg, 1,33 mmol) u suhom diklormetanu (3 mL) doda se svježe destilirani oksalil-klorid (0,34 mL, 3,91 mmol) te piridin (1 kap). Reakcijska smjesa se grije u povrat 3 sata. Nakon 3 sata reakcijska smjesa se upari do suha te je dobiven tamno smeđi talog. Sirovi produkt zagrijava se u petroleteru na 80 °C tijekom 10 minuta. Zatim se organski sloj profiltrira preko vate te se upari do suha. Postupak se ponovi još dva puta pri čemu je dobiveno 247,25 mg (77 %) crvenih kristala ferocenoil klorida (3).

IR (CH₂Cl₂) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 2958 (sl., C–H, Fc), 1755 (j., C=O).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 25 °C) δ/ppm : 4.9 (t, ³J_{H,H} = 1.9 Hz, 2H, H^α), 4.6 (t, ³J_{H,H} = 1.9 Hz, 2H, H^β), 4.4 (s, 5H, Cp).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, 25 °C) δ/ppm : 178.3 (CO), 73.3 (Ci), 71.7 (Cp), 71.2 (C^β), 70.4 (C^α)

3.4.4. Ferocenoil uracil biokonjugati 4 i 5

Uracil (0,16 mmol ili 0,096 mmol) se otopi u 1 ml dioksana, a zatim se u otopinu doda (0,208 mmol ili 0,125 mmol) baze NaH, K₂CO₃ ili [(C₂H₅)₃N] te se reakcijska smjesa miješa 1 sat na sobnoj temperaturi u atmosferi argona. Nakon 1 sata u reakcijsku smjesu se doda (0,24 mmol) ferocenil klorida(3) te se reakcijska smjesa miješa 30 minuta. Nakon 30 minuta reakcijska smjesa se upari do suha te se sirovi produkt nanese na kolonu gdje se kromatografija provodi prvo čistim diklormetanom, a zatim uz postupno povećanje polarnosti eluensa dodavanjem acetona do omjera 10:0,5.

Tablica 3. Rezultati provedenih eksperimenata u dioksanu

			Produkt				
Deprotonirajući agens	Omjer ferocenoil klorida i uracila	Vrijeme aktivacije baze /min	4		5		Omjer produkta 4 i 5
			m (mg)	η (%)	m (mg)	η (%)	
NaH	1,5 : 1	60	-	-	-	-	-
	2,5 : 1		-	-	-	-	-
K ₂ CO ₃	1,5 : 1		-	-	-	-	-
	2,5 : 1		10,3	19,7	-	-	-
[(C ₂ H ₅) ₃ N]	1,5 : 1		19	36	4,3	5	87:13
	2,5 : 1		11,8	38	7,9	16	71:29

Nakon tankoslojne kromatografije u sustavu diklormetan : aceton = 10 : 0.2 izmjerene su R_f vrijednosti produkata na pločicama silikagela. R_f vrijednost za kopulat **4** iznosi 0.469, dok vrijednost za kopulat **5** iznosi 0.493.

N1-ferocenoil uracil (4): IR (CH₂Cl₂) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3374, (sl., NH), 3099 (sl., CH aromatski), 1700 (j., C=O), 1633 (j., C=O, amid).

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz, 298 K) δ/ppm : 11.5 (1H, s, NH), 8.00 (1H, d, H6), 5.7 (1H, d, H5), 4.9 (2H, d, CH-Fc), 4.7 (2H, s, CH-Fc), 4.3 (5H, s, Fc-Cp).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz, 25 °C) δ/ppm : 173.6 (C=O), 163.8 (C4), 149.9 (C2), 141.3 (C6), 102.9 (C5), 74.1 (2CH-Fc), 72.6 (Cq, Fc), 71.9 (2CH-Fc), 71.1 (Fc-Cp).

N1, N3-bisferocenoil uracil (5): ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz, 298 K) δ/ppm : 8.17 (1H, d, H6), 5.97 (1H, d, H5), 4.93 (4H, s, CH-Fc), 4.80 (2H, s, CH-Fc), 4.74 (2H, s, CH-Fc), 4.39 (5H, s, Fc-Cp), 4.36 (5H, s, Fc-Cp).

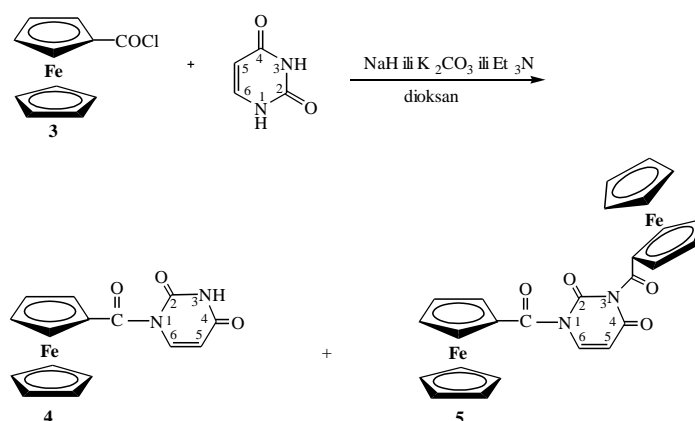
¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz, 25 °C, δ/ppm : 173.11 (C=O), 172.81 (C=O), 162.04 (C4), 148.38 (C2), 141.46 (C6), 102.59 (C5), 74.33 (2CH-Fc), 73.94 (Cq, Fc), 72.23 (2CH-Fc), 71.30 (Fc-Cp), 71.07 (Fc-Cp).

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Uvod

Cilj je ovog rada bio ispitati utjecaj dioksana kao otapala na regioselektivnost reakcije *N*-ferocenoiliranja uracila. Nukleofilna svojstva dušikovih atoma nukleobaza omogućuju vezanje organometalnog dijela na različitim *N*-atomima, što može utjecati na tijek i regioselektivnost reakcije. U većini reakcija na nezaštićenom uracilu sa supstratima za aciliranje, u našem slučaju ferocenoil klorid (**3**), nastaje smjesa *N*1- i *N*3- produkata, međutim može nastati i samo jedan od tih produkata, ili bioskopulat *N*1/*N*3. Stoga će se u ovom radu korištenjem dioksana kao otapala i različitih baza (NaH, K₂CO₃, [(C₂H₅)₃N]), moderirati relativna razlika nukleofilnosti *N*-položaja u nukleobazama. Kao još jedan parametar kojim se može utjecati na tijek ovih reakcija je različiti omjer ferocenoil klorida (**3**) i nukleobaze.

Prvi dio rada uključuje sintezu ključnog intermedijera ferocenoil klorida (**3**) koji se zatim kopulira s aktiviranim uracilom. U drugom dijelu rada provedeno je ispitivanje uvjeta reakcije *N*-ferocenoiliranja uracila (shema 1) s posebnim osvrtom na regioselektivnost reakcije. Za potvrdu strukture pripremljenih spojeva korištene je FTIR i NMR spektroskopija. U ovom radu korišten je dioksan kao otapalo u reakcijama *N*-ferocenoiliranja uracila, a korištene su i već navedene baze za deprotekciju. Dioksan je nepolaro aprotično otapalo te ne stvara vodikove veze s anionima čime ih čini nukleofilnijima i reaktivnijima. Reakcijom aktiviranog uracila i ferocenoil klorida (**3**) (u različitim omjerima), reakcije mogu biti ili regioselektivne ili regiospecifične. Reakcije su praćene TLC-om uz eluens diklormetan/acetone.



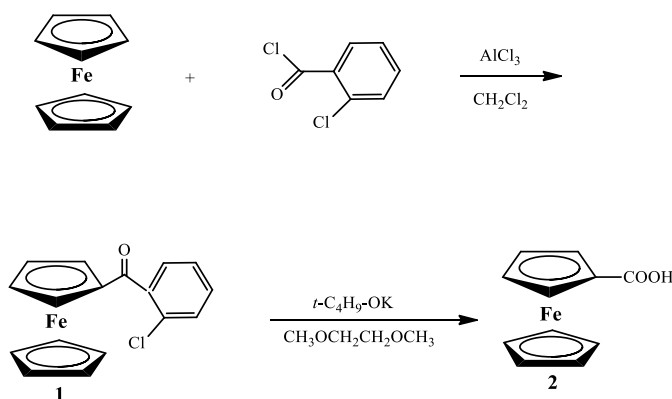
Shema 1. Priprava *N*1-ferocenoil uracila (**4**), *N*1/*N*3-ferocenoil uracila (**5**)

4.2. SINTEZA PREKURSORA

4.2.1. Ferocenkarboksilna kiselina (2)

Reakcijom ferocena s 2-klorbenzoil kloridom uz prisustvo AlCl_3 nastaje 2-klorbenzoil ferocen (1) uz iskorištenje od 94 %. Potom slijedi hidroliza 2-klorbenzoil ferocena (1) uz prisustvo $t\text{-C}_4\text{H}_9\text{O}^- \text{K}^+$ te nastaju tamnožuti kristalići ferocenkarboksilne kiseline (2) uz iskorištenje od 92 %. (Shema 3).[17]

U IR-spektru (2-klorbenzoil) ferocena (1) vidljiva je vrpca pri 1660 cm^{-1} koja se pripisuje karbonilnoj kupini. U IR-spektru ferocenkarboksilne kiseline (2) vidljiva je široka apsorpcijska vrpca u području od 3100 do 2700 cm^{-1} koja odgovara frekvenciji istezanja hidroksilne skupine karboksilne kiseline te vrpca pri 1676 cm^{-1} koja je karakteristična za karbonilnu skupinu karboksilne kiseline.

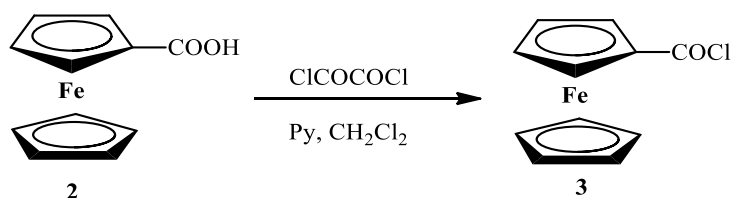


Shema 2. Priprava ferocenkarboksilne kiseline (2)

4.2.2. Ferocenoil klorid (3)

Reakcijom ferocenkarboksilne kiseline (2) i oksalil-klorida u suhom diklormetanu uz prisutnost piridina sintetiziran je ključni intermedijar ferocenoil klorid (3). Reakcija se završava višestrukim zagrijavanjem sirovog produkta u petroleteru te uparavanjem filtriranog produkta. Ferocenoil klorid (3) je crvena tvar u obliku krutine, a dobiven je iskorištenju od 48,8 % (Shema 4). [18]

U IR spektru ferocenoil klorida (3) vidljiva je apsorpcijska vrpca karakteristična za kiselinske kloride pri 1755 cm^{-1} .



Shema 3. Priprava ferocenoil klorida (**3**)

4.3. SINTEZA BIODONJUGATA URACILA I FEROCENOIL KLOORIDA (**3**)

Nastavak istraživanja opisanih u ovom radu posvećen je ispitivanju uvjeta reakcije *N*-ferocenoiliranja uracila s posebnim osvrtom na regioselektivnost reakcije. Kao što je već navedeno, nukleobaza uracil posjeduje dva dušikova atoma (*N1* i *N3*) koji mogu djelovati kao nukleofili i pri tome mogu nastati različiti produkti kopulacije. Prijašnja istraživanja provedena u našem Laboratoriju uključila su sintezu *N1*-ferocenoil uracila (**4**) uz ferocenoil klorid (**3**) korištenjem natrijeva hidrida kao deprotonirajuće baze, a reakcija je provedena u suhom DMF. Vrijeme aktivacije baze u ovoj je reakciji bilo 30 minuta te je nastao isključivo *N1*-izomer ferocenoil uracila (**4**). Regioselektivnost te reakcije potvrđena je korištenjem NMR spektroskopije te kvantno-kemijskim računom koji ukazuje da je prijelazno stanje u reakciji aciliranja na *N1*-položaju stabilnije od odgovarajućeg prijelaznog stanja za nastajanje *N3*-izomera. [11] S obzirom da se nukleofilnost dušikovitih atoma uracila razlikuje, u nastavku istraživanja ispitano je kako promjena otapala, baze ili vremena aktivacije utječe na regioselektivnost modelne reakcije.[19] Nakon provedenih istraživanja uočeno je nastajanje isključivo *N1*-ferocenoil uracila (**4**) kada je kao otapalo korišten DMF, neovisno o drugim ispitanim uvjetima reakcije. Zaključeno je da su reakcije provedene u DMF-u regispecifične. U nastavku istraživanja korišten je suhi acetonitril kao otapalo te je uočeno nastajanje *N1/N3*-kopulata **5** uz *N1*-kopulat **4**. Tijekom ovog dijela istraživanja uočeno je da na nastajanje kopulata **5**, kao i na njegov udio, utječe korištena baza i vrijeme deprotekcije. Najveći udio bis-kopulata **5** dobiven je upotrebom trietilamina ($[(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}]$) kao deprotekcije baze, te produljenim vremenom aktivacije baze (120 minuta).[19]

U ovom završnom radu korišten je dioksan kao otapalo u reakcijama *N*-ferocenoiliranja uracila, a korištene su i već navedene baze za deprotekciju. Reakcijom aktiviranog uracila i ferocenoil

klorida (**3**) (u različitim omjerima) reakcije mogu biti ili regioselektivne ili regiospecifične. Reakcije su praćene TLC-om uz eluens diklormetan/acetona.

4.3.1. Reakcija kopulacije uz NaH kao deprotonirajući agens

Kao prva reakcija koja je provedena uključuje aktivaciju uracila provedenu natrijevim hidridom (NaH) u dioksanu tijekom 60 minuta. Ferocenoil klorid (**3**) dodan je u suvišku u odnosu na uracil i to 1,5:1 i 2,5:1, te je u reakcijskoj smjesi zamijećen crveni ili tamnocrveni talog, no TLC je dokazano da nije došlo do nastajanja ciljanih produkata. U prijašnjim ispitivanjima dokazana je regiospecifičnost reakcije provedene u DMF, a u CH₃CN je primjećeno nastajanje oba kopolata pri čemu je bis-kopulat **5** nastao u vrlo niskom iskorištenju.[19] Možemo zaključiti da dioksan uz NaH nije pogodno otapalo jer nije došlo do reakcije kopulacije.

4.3.2. Reakcija kopulacije uz K₂CO₃ kao deprotonirajući agens

U nastavku istraživanja korišten je K₂CO₃ kao deproteksijska baza, te je uočeno da na tijek reakcije utječe veći suvišak ferocenoil klorida (**3**). Naime, kada je reakcija provedena uz manji suvišak spoja **3** nije došlo do reakcije kopulacije. Dodatkom većeg suviška ferocenoil klorida (**3**) u reakciji je nastao *N*1-produkt **4**. Nakon pročišćavanja reakcije smjese kolonskom kromatografijom dobiveno je 19,7 % produkta **4**. U prijašnjim ispitivanjima dokazano je nastajanje isključivo *N*1-produkta **4** kada je kao otapalo korišten DMF, dok su upotrebom CH₃CN nastala oba produkta i to u omjeru **4:5** 85:15.[19] Izvodi se zaključak da je reakcija regiospecifična korištenjem DMF-a i dioksana, dok je regioselektivna kada se koristi CH₃CN. Reakcije provedene u dioksanu su u znatno nižem iskorištenju od reakcija provedenih u DMF.

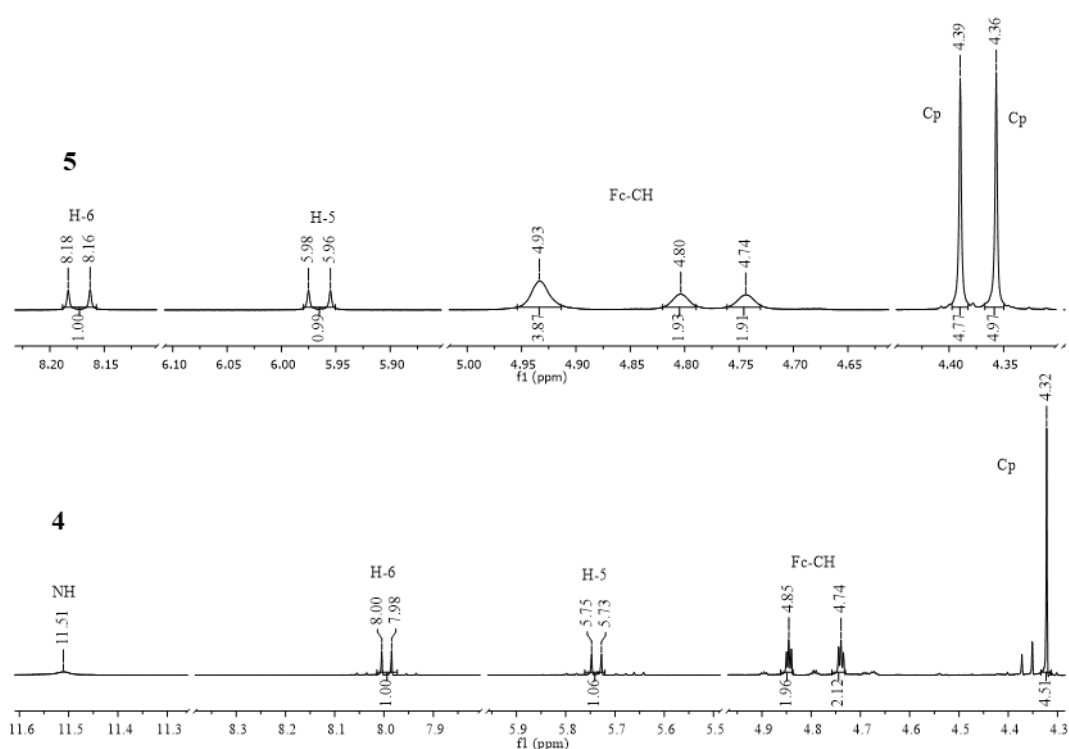
4.3.3. Reakcija kopulacije uz [(C₂H₅)₃N] kao deprotonirajući agens

Reakcija *N*-ferocenoiliranja uracila provedena uz trietilamin kao deproteksijske baze, neovisno o omjeru ferocenoil klorida (**3**) i baze, vodi do nastajanja oba produkta. Kada je suvišak spoja **3** u odnosu na uracil 1,5 :1 nastaju oba produkta te je nakon pročišćavanja kolonskom kromatografijom dobiveno 36 % *N*1-kopolata **4** i 5 % *N*1/*N*3-biskopolata **5**. Omjer nastalih produkata *N*1: *N*1/*N*3 iznosi 87:13. U nastavku je provedena reakcija uz veći suvišak spoja **3** od 2,5 mola te je odnos dobivenih produkata promijenjen i to uz povećanje udjela spoja **5**.

Nakon pročišćavanja je dobiveno 38 % *N1*-produkta **4** i 16 % *N1/N3*-kopulata **5**, odnosno omjer nastalih produkata *N1*: *N1/N3* iznosi 71:29. Prijašnja istraživanja provedena u našem Laboratoriju ukazala su da se korištenjem DMF-a i dalje provode regispecifične reakcije uz nastanak samo *N1*-kopulata **4**, dok upotrebom CH₃CN nastaju oba kopulata u omjeru **4:5** 62:38. [19] Temeljem provedenih ispitivanja možemo zaključiti da su reakcije provedene u dioksanu regioselektivne, odnosno nastaju oba produkta, ali u nižem omjeru kopulata **5** nego korištenjem CH₃CN kao otapala

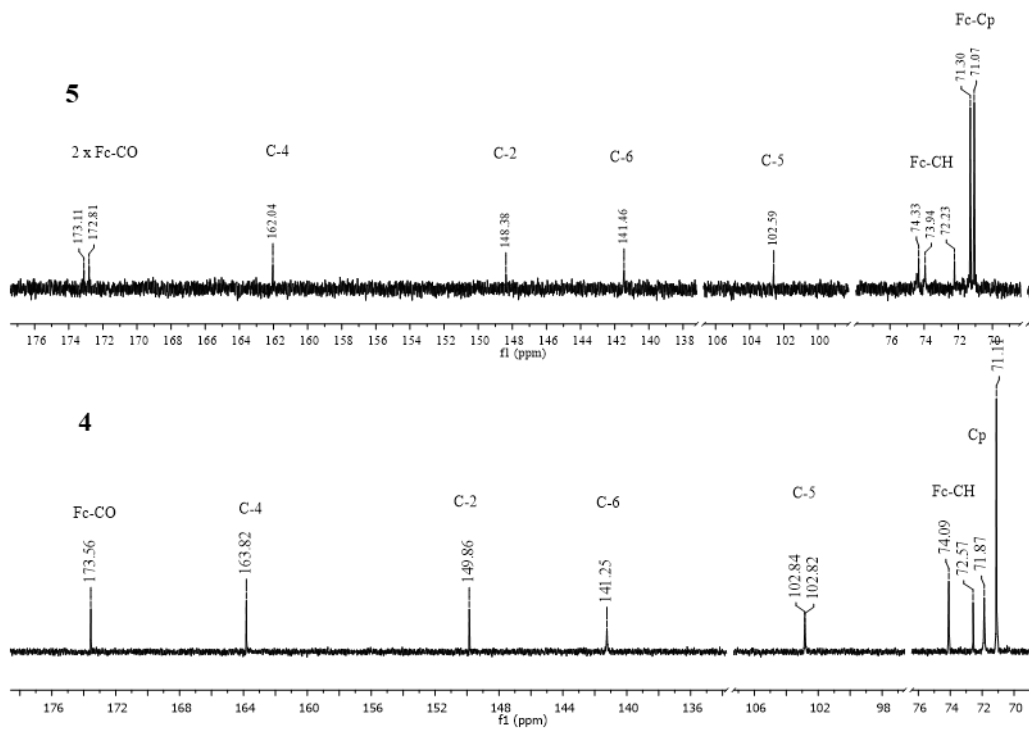
4.4. SPEKTRALNA ANALIZA *N1*-FEROCEOIL URACIL (4**) I *N1/N3*-BISFEROCENOIL URACIL (**5**)**

Pročišćenim je kopulatima **4** i **5** struktura potvrđena ¹H i ¹³C-NMR spektroskopijom (Slika 18 i 19). U ¹H NMR spektru spoja **4** snimljenom u DMSO slijedom kemijskih je pomaka potvrđena prisutnost ferocenske podjedinice, odnosno jedan monosupstituirani (tripleti pri δ 4.9 i 4.7 ppm) i jedna nesupstituirani (singlet pri δ 4.3 ppm) ciklopentadienilni prsten. Nadalje, vidljiv je signal pri δ 11.5 ppm koji potvrđuje prisutnost protona nesupstituirane amidne skupine uracila, signal pri δ 8.0 ppm koji odgovara kemijskom pomaku protona na položaju C6 pirimidinskog prstena i signal pri 5.7 ppm koji odgovara kemijskom pomaku protona na položaju C5 pirimidinskog prstena. U ¹H-NMR spektru biskopulata **5** snimljenom u DMSO signal pri δ 8.17 ppm odgovara kemijskom pomaku protona na položaju C6 pirimidinskog prstena i δ 5.94 ppm koji se pripisuje kemijskom pomaku protona na položaju C5 pirimidinskog prstena. Također je potvrđena prisutnost dviju ferocenskih podjedinica, dva nesupstituirana prstena (Cp) pri δ 4.39 i 4.36 ppm, te pomaci koji karakteriziraju CH skupine monosupstituiranog Cp prstena.



Slika 18 ^1H NMR spektr *N1*-ferocenoil uracila (**4**) i *N1/N3*-bisferocenoil uracila (**5**)

U ^{13}C -NMR spektru spoja **4** signal pri δ 173.6 ppm pripisuje se ugljikovom atomu karbonilne skupine koji je poveznica ferocenske i uracilne podjedinice. Signali pri δ 163.8 i 149.9 ppm odgovarju karbonilnim ugljikovim atomima pirimidinskog prstena, a pri δ 141.3 i 102.9 ppm ugljikovim atomima uracilne podjedinice (C5 i C6). Ferocenskim ugljikovim atomima, supstituirani ciklopentadienilni prsten C $^{\alpha}$, C i i C $^{\beta}$, pripisani su kemijski pomaci pri δ 74.1, 72.6 i 71.9 ppm, dok kemijski pomak pri δ 71.1 ppm odgovara ugljikovim atomima nesupstituiranog ciklopentadienilnog prstena. U ^{13}C -NMR spektru spoja **5** uočena su dva signala koji se pripisuju ugljikovim atomu karbonilne skupine pri δ 173.1 i 172.8 ppm. Signali pri δ 162.0 i 148.4 ppm pripisani su karbonilnim ugljikovim atomima pirimidinskog prstena, a pri δ 141.5 i 102.6 ppm ugljikovim atomima uracilne podjedinice (C5 i C6). Ferocenski ugljikovi atomi koji se pripisuju ugljikovim atomima nesupstituiranog ciklopentadienilnog prstena nalaze se pri δ 71.3 i 71.1 ppm.



Slika 19 ^{13}C NMR spektar *N*1-ferocenoil uracila (4) i *N*1/*N*3-bisferocenoil uracila (5)

5. ZAKLJUČCI

1. Uspješno su provedene reakcije kopulacije ferocenoil klorida (**3**) kao acilirajućeg agensa te natrijeva hidrida (NaH), kalijeva karbonata (K₂CO₃) i trietilamina [(C₂H₅)₃N] kao deprotonirajućih agenasa u dioksanu.
2. Provedbom reakcije u dioksanu uz natrijev hidrid za deprotoniranje, nije došlo do reakcije kopulacije neovisno o povećanom udjelu acilirajućeg agensa. Kada je kao baza korišten kalijev karbonat, nastaje isključivo *N1*-produkt **4**, no u slabijem iskorištenju od reakcija provedenih u DMF-u. Korištenjem trietilamina kao deproteksijske baze u reakciji nastaju oba produkta, odnosno *N1*-produkt **4** i *N1/N3*-biskopulat **5**, ali kopulata **5** nastaje u nižem omjeru nego korištenjem CH₃CN kao otapala.
3. Reakcije provedene u dioksanu uz K₂CO₃ su regiospecifične, dok uporabom [(C₂H₅)₃N] regioselektivne.
4. Struktura svih dobivenih produkata potvrđena je FTIR i NMR spektroskopijom. Na osnovu kemijskih pomaka u ¹H spektrima *N1*-produkta **4** potvrđena je supstitucija pirimidinske baze na jednom ciklopentadienilnom prstenu ferocena, dok je kod *N1/N7*-biskopulata **5** potvrđena supstitucija baze s dvije ferocenske podjedinice.

6. POPIS LITERATURE

- [1] Stryer L (1991) Biokemija, 6. izd., (preveli Weygand-Đurašević I, Jernej B, i Kućan Ž), Školska knjiga
- [2] Pine H S (1994) Organska kemija, 3. izd., (preveo Bregovec I), Školska knjiga, Zagreb, str. 703-715
- [3] Butanda-Ochoa A, D R Hernández-Espinosa, M Olguin-Martínez, L Sánchez-Sevilla, M R Rodríguez, B Chávez-Rentería, i suradnici (2017) Administration Delays Hepatic Cell Proliferation by Altering Oxidative State in the Regenereting Rat Liver. *Oxidative medicine amd cellular longevity* **2017**, 8356175. doi:10.1155/2017/8356175
- [4] Sharma V, Citranshi N, Agarwal A K (2014) Significance and biological importance of pyrimidine in the microbial world. *International journal of medical chemistry*, **2014**, 202784. <https://doi.org/10.1155/2014/>
- [5] Goel S, Bulgaru A, Hochster H, Wadler S, Zamboni W, Egorin M (2003) Phase I clinical study of infusional 5-fluorouracil with oxaliplatin and gemcitabine (FOG regimen) in patients with solid tumors. *Annals of oncology: offical journal of the European Society for Medical Oncology* **14**, 1682-1687. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdg453>
- [6] Cerecedo L (1940) Physiology of Pyrimidines, *Nature* **146**, 274. <https://doi.org/10.1038/146274a0>
- [7] Ramesh D, Vijayakumar B G, Kannan T (2020) Therapeutic potential of uracil and its derivate sin countering phatogenic and physiological disorders. *European Journal of Medicinal Chemistry* **207**, 112801. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.20202112801>
- [8] Miura K, Kinouchi M, Ishida K, Fujibuchi W, Naitoh T, Ogawa H, Ando T, Yazaki N, Watanabe K, Haneda S, Shibata C, Sasaki I (2010) 5-FU metabolism in cancer and orally-administrable 5-FU drugs. *Cancers* **2**, 1717-1730. <https://doi.org/10.3390/cancers2031717>
- [9] Rausch M (2011) Metallocene chemistry – a decade of progress. *Canadian Journal of Chemistry* **41**, 1289-1314. doi:10.1139/v63-182
- [10] Chemist Note (2022) Ferrocene: Preparation, properties, structure, uses. <https://chemistnotes.com/inorganic/ferrocene-properties-structure-uses/>. Pristupljeno 20. kolovoza 2023

- [11] Huang X-F, Wang L-Z, Tang L, Lu Y-X, Wang F, Song G-Q, Ruan B-F (2014) Synthesis, characterization and antitumor activity of novel ferrocene derivatives containing pyrazolyl-moiety. *Journal of Organometallic Chemistry* **749**, 157-162. doi: 10.1016/j.jorganchem.2013.08.043
- [12] Toma M, Vrčec V (2020) Redoks-svojstva ferocenom supstituiranih nukleobaza. *Kemija u industriji: časopis kemičara i tehnologa Hrvatske* **69**, str 21-29. <https://doi.org/10.15255/KUI.2020.025>
- [13] Lapić J, Havaić V, Šakić D, Sanković K, Djaković S, Vrčec V (2015) Ferrocenoyl-substituted pyrimidine nucleobases: An experimental and computational study of regioselective acylation of uracil, thymine, and 5-fluorouracil. *European Journal of Organic Chemistry* **24**, 5424-31. doi: 10.1002/ejoc.201500647
- [14] Quелlette R J, Rawn D J (2015) Principles of Organic Chemistry- Science Direct. <https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/sn2-mechanism>. Pristupljeno 4. rujna 2023.
- [15] Havaić V, Djaković S, Lapić J, Weitner T, Šakić D, Vrčec V (2017) Reduction Potential of Ferrocenoyl-Substituted Nucleobases. Experimental and Computational Study. *Croatica chemica acta* **90**, 589 – 594. <https://doi.org/10.5562/cca3229>
- [16] Lapić J, Havaić V, Šakić D, Sanković K, Djaković S, Vrčec V (2015) Ferrocenoyl-substituted pyrimidine nucleobases: An experimental and computational study of regioselective acylation of uracil, thymine, and 5-fluorouracil. *European Journal of Organic Chemistry* **24**, 5424-31. doi: 10.1002/ejoc.201500647
- [17] Biehl E R, Reeves P C (1973) A Convenient, High-Yield Synthesis of the Carboxylic Acid Derivates of Ferrocene and Cyclopentadienylmanganese Tricarbonyl. *Synthesis* **1973**, 360-361. doi:10.1055/S-1973-22216
- [18] Knobloch F W, Raucher W H (1961) Condensation polymers of ferrocene derivatives. *Journal of Polymer Science* **54**. 651-656. <https://doi.org/10.1002/pol.1961.1205416029>
- [19] Kuzman I (2020) Modelna reakcija N-ferocenoiliranja uracila (rektorov rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

Izjava o izvornosti

Ja Anja Hruškar izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.



Vlastoručni potpis