

# Priprava i karakterizacija biološki aktivnog derivata ferocena i uracila

---

**Ružić, Lucija**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2017**

*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:159:334552>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-04-02**



*Repository / Repozitorij:*

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



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij**  
**Prehrambena tehnologija**

**Lucija Ružić**

6913/PT

**PRIPRAVA I KARAKTERIZACIJA BIOLOŠKI AKTIVNOG  
DERIVATA FEROCENA I URACILA  
ZAVRŠNI RAD**

**Predmet:** Organska kemija

**Mentor:** Doc. dr. sc. Jasmina Lapić

**Zagreb, 2017.**

## DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Zavod za kemiju i biokemiju

Laboratorij za organsku kemiju

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

### Priprava i karakterizacija biološki aktivnog derivata ferocena i uracila

*Lucija Ružić, 0058204979*

**Sažetak:** Kopulati ferocena s nukleobazama jednako kao i sa triazolima postaju sve češći predmet istraživanja zbog svoje izuzetne biološke aktivnosti te su pronašli svoje mjesto u različitim granama kemije, posebice u medicinskoj kemiji gdje dolaze do izražaja upravo zbog svojih bioloških svojstava kao što su antioksidativno, antikancerogeno, antimalarijsko djelovanje. Cilj ovog rada je priprava potencijalno biološki aktivnog kopulata uracila i ferocena povezanih preko 1,2,3-triazolne poveznice. Triazolni prsten je uveden reakcijom "klik kemije", odnosno 1,3-dipolarnom cikloadicijom ferocenskog azida i *N*-1-propargil uracila u prisutnosti katalizatora bakra. Struktura svih priređenih spojeva potvrđena je IR i NMR spektroskopijom.

**Ključne riječi:** ferocen, N-alkil uracil, 1,2,3-triazol, "klik kemija"

**Rad sadrži:** 21 stranice, 18 slika, 3 shema, 21 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:** Doc. dr. sc. Jasmina Lapić

**Datum obrane:** rujan, 2017.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

**University of Zagreb**

**Faculty of Food Technology and Biotechnology**

**University Undergraduate study of Food Technology**

**Department of chemistry and biochemistry**

**Laboratory for organic chemistry**

**Scientific area: Biotechnical Sciences**

**Scientific field: Food Technology**

### **Preparation and characterization of biologically active ferrocene and uracil derivative**

*Lucija Ružić, 0058204979*

**Abstract:** Ferrocenoyl-nucleobase and ferrocenoyl-triazole derivatives are becoming more common subject of research due to their exceptional biological activity. They have functions in different areas of chemistry, especially in medicinal chemistry where their biological properties such as their antioxidative, anticancer, antimalarial activities can be used. The aim of this work is to prepare a potentially biologically active compound of uracil and ferrocene derivatives linked via 1,2,3-triazole linkage. The triazole ring was introduced by the reaction of "click chemistry", i.e. 1,3-dipolar cycloaddition between ferrocenoyl azide and *N*-1propargil uracil in the presence of copper catalyst. The structure of all prepared compounds was confirmed by IR and NMR spectroscopy.

**Keywords:** ferrocene, N-alkyne uracil, 1,2,3-triazole, "click chemistry"

**Thesis contains:** 21 pages, 18 figures, 3 schemes, 21 references

**Original in:** Croatian

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

**Mentor:** Ph.D. Jasmina Lapić, assistant professor

**Defence date:** September, 2017.

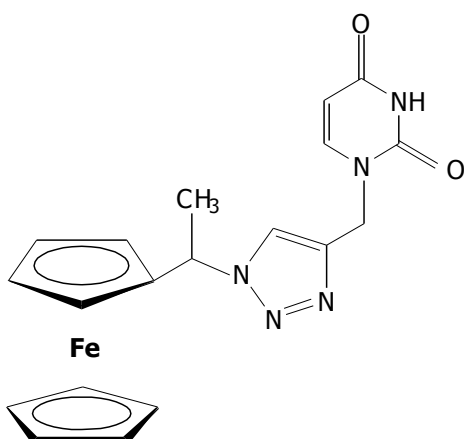
## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>2</b>
2.1. Ferocen .....	2
2.2. Nukleozidi.....	3
2.3. Pirimidin .....	4
2.4. Uracil .....	4
2.5. "Klik kemija" .....	6
2.6. Triazoli .....	7
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>10</b>
3.1. Materijali .....	10
3.2. Metode rada .....	10
3.3. Acetilferocen (1) .....	12
3.4. 1-Feroceniletanol (2) .....	12
3.5. 1-Azidoetilferocen (3) .....	12
3.6. 1-[4-(1-Feroceniletal-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil]uracil (4).....	13
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	<b>14</b>
4.1. Uvod .....	14
4.2. Sintaza i spektroskopska analiza prekursora.....	14
4.3. Sintaza i spektralna analiza 1-[4-(1-feroceniletal-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil]uracila (4)	
15	
4.3.1. Sintaza 1-[4-(1-feroceniletal-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil]uracila (4).....	15
4.3.2. Spektralna analiza .....	16
<b>5. ZAKLJUČAK</b> .....	<b>19</b>
<b>6. LITERATURA</b> .....	<b>20</b>

## 1. UVOD

Do 19. stoljeća kemija je bila podijeljena na organsku kemiju, odnosno kemiju spojeva koji se nalaze u živoj prirodi i anorgansku kemiju odnosno tvari koje pripadaju mineralnom svijetu. Upravo tih godina dolazi do zanimanja za spojeve koji sadrže vezu metal-ugljik te do razvitka organometalne kemije. U novije vrijeme sve je češća primjena i bioorganometalne kemije koja podrazumijeva sintezu i proučavanje konjugata organometalnih spojeva i biomolekula (steroida, šećera, aminokiselina, peptida, nukleobaza, vitamina i enzima). Glavna istraživačka polja ove grane postaju bioanaliza, terapija i molekularno prepoznavanje. Istraživanja su pokazala da metaloceni, organometalni spojevi, imaju široki spektar biološkog djelovanja. citostatičnu, antimalarijsku, antifungalnu te druge biološke aktivnosti.<sup>1</sup>

S obzirom da je dokazano da veliki broj supstituiranih analoga prirodnih nukleozida kao i triazolnih derivata pokazuju snažna biološka djelovanja, raste potreba za sintezu novih konjugata toga tipa. Cilj ovog završnog rada je priprava potencijalno biološki aktivnog spoja ferocena i uracila povezanih preko 1,2,3-triazolne poveznice (Slika 1.). Sinteza će biti provedena klasičnim primjerom reakcije "klik kemije", 1,3-dipolarnom cikloadicijom ferocenskog azida i terminalnog *N*-alkin uracila u prisutnosti katalizatora. Struktura svih priređenih spojeva biti će potvrđena IR i NMR spektroskopijom.

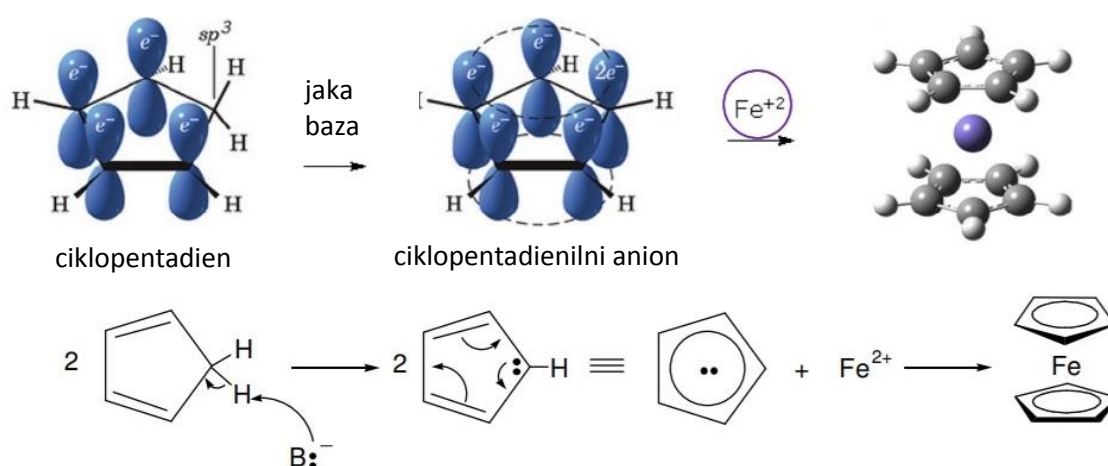


**Slika 1.** 1-[4-(1-Ferocenyletil-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil]uracil

## 2. TEORIJSKI DIO

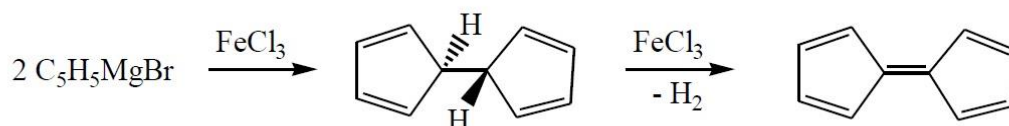
### 2.1. Ferocen

Ferocen je organometalni spoj koji se sastoji iz dvaju aniona ( $C_5H_5^-$ ) i kationa  $Fe^{2+}$  (Slika 2.). Nastaje interakcijom željeza i ugljika u nezasićenim cikličkim ugljikovodicima (Slika 2.). Svoju veliku stabilnost duguje prisutnosti 18 valentnih elektrona što mu daje konfiguraciju plemenitog plina i čini ga stabilnom molekulom. <sup>2</sup>



**Slika 2 .** Ferocen i njegov nastanak

Za otkriće ferocena zaslužni su Peter L. Pauson i njegov suradnik Thomas J. Kealy. Oni su 1951. pokušali pripraviti fulvalen ( $C_{10}H_8$ ) za koji su pretpostavljali da ima aromatska svojstva slična kao njegov izomer naftalen. Ideja je bila oksidirati Grignardov reagens ( $C_5H_5MgBr$ ) u ciklopentadienilni radikal  $C_5H_5\cdot$  uz nastajanje produkta kopulacije dihidrofulvalena, koji bi dehidrogeniranjem dao fulvalen (Slika 3.).



**Slika 3.** Dobivanje fulvalena. <sup>3</sup>

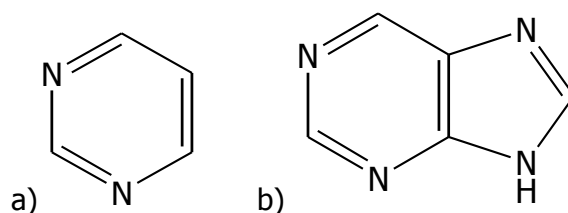
Međutim, navedenom reakcijom nastali su žuti kristali, čijom se mikroanalizom spoznalo da nemaju kemijsku strukturu fulvalena ( $C_{10}H_8$ ) već da su to bis(ciklopentadienil) željezovi kristali [ $Fe(C_5H_5)_2$ ].

Gotovo istovremeno Samuel A. Miller i njegovi suradnici John A. Tebboth i John F. Tremaine također su dobili ferocen. Oni su naime željeli pripremiti amine iz zasićenih i nezasićenih ugljikovodika i dušika. Kada su u reakciju stavili ciklopentadien i  $N_2$  pri temperaturi od  $300\text{ }^\circ\text{C}$  i atmosferskom tlaku kao produkt su dobili  $[\text{Fe}(\text{C}_5\text{H}_5)_2]$ .

Za ime samog spoja zaslužan je Woodward koji je predložio ime – ferocen, analogno benzenu, koje je ubrzo postalo općeprihvaćeno dok su slični spojevi prikazani općom formulom  $[\text{Me}(\text{C}_5\text{H}_5)_2]$  nazvani metaloceni. Također je sa svojim suradnicima potvrdio diamagnetičnost ferocena koju je prvi predložio Ernst Otto Fischer. <sup>3</sup>

## 2.2. Nukleozidi

Nukleozidi su strukturne podjedinice nukleinskih kiselina, makromolekula koje sadrže genetičku informaciju u živim stanicama. Kemijski gledano to su glukozamini koji se sastoje od heterocikličke dušične baze koja je preko N-glikozidne veze vezana na pentozu koja može biti D-riboza ili 2-deoksi-D-riboza. Prema bazama dijelimo ih na purine i pirimidine (Slika 4.). Purinske baze sastoje se od pirimidinskog i imidazalnog prstena.



**Slika 4.** Struktura: a) pirimidinskog prstena, b) purinskog prstena

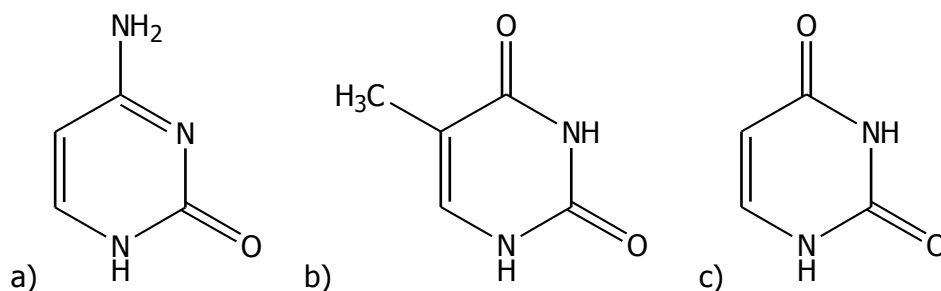
Nadalje, purinske baze se dijele na adenin i gvanin dok se pirimidinske baze dijele na citozin, uracil i timin.

U stanici su prisutni fosfatni esteri nukleozida, poznati kao nukleotidi, koji nastaju fosforilacijom uz djelovanje kinaza prilikom čega se fosforilira primarna hidroksilna skupina nukleozida. Nukleotidi su osnovne gradivne jedinice molekula DNA i RNA. Osim toga, jedan od najvažnijih primjera nukleotida u našem tijelu je molekula adenozin trifosfata (ATP-a) koja je poznata i kao molekula „goriva“ jer se cijepanjem visokoenergetske anhidridne veze između atoma fosfora oslobađa velika količina energije koju stanica onda upotrebljava ovisno o potrebama organizma. Adenozin je potreban i za izgradnju koenzima NADH, NADPH,  $\text{FADH}_2$  kao i CoA (koenzim A) koji također imaju iznimnu važnost u metaboličkim putevima jer sudjeluju u oksidacijsko/redukcijskim reakcijama u stanici te služe kao aktivirani nosači pojedinih skupina. <sup>4</sup>



### 2.3. Pirimidin

Pirimidin je heterociklički aromatski spoj sličan benzenu, od kojeg ga razlikuju dva dušikova atoma na položajima 1 i 3 šesteročlanog prstena. Slabo je bazičan pa podliježe reakcijama nukleofilne aromatske supstitucije što je posljedica dušikovih atoma koji utječu na smanjenje energije  $\pi$  elektrona u prstenu.<sup>5</sup> Pirimidin je osnovna gradivna jedinica nukleozidnih baza timina, citozina i uracila.<sup>4</sup> (Slika 5.)

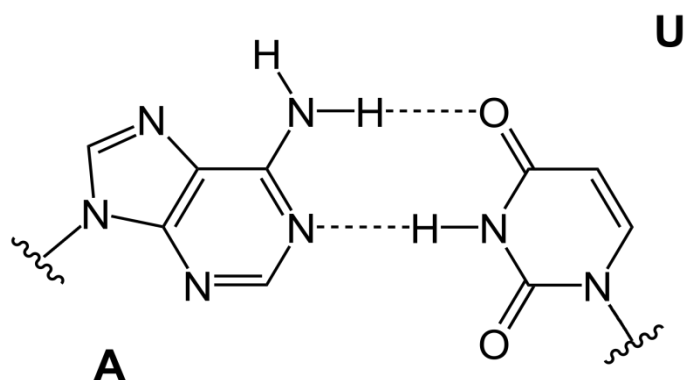


**Slika 5.** Pirimidinske baze : a) citozin, b) timin, c) uracil

Pirimidin je vrlo raširen među prirodnim spojevima od kojih su najvažniji vitamini B1 (tiamin), B2 (riboflavin), B9 (folna kiselina), B12, kao i biljne i purinske baze te proizvodi raspada nukleinskih kiselina.<sup>6</sup> Njegovi derivati uspješni su u borbi protiv različitih bolesti djelujući tako da inhibiraju enzime koji uzrokuju te bolesti. Tako je poznato da derivati pirimidina inhibiraju enzim dihidrofolat reduktazu (DHFR) na čemu se temelji djelovanje lijeka protiv malarije. Osim toga oni pokazuju i antitumorsko, protuupalno, analgetsko te antidijabetsko djelovanje. Najpoznatiji je 5-fluorouracil koji je postao jedan od najraširenijih agensa u borbi protiv tumora.<sup>7</sup>

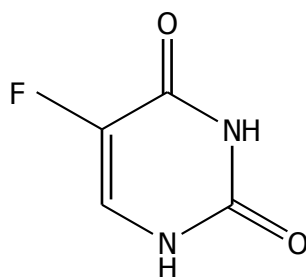
### 2.4. Uracil

Pirimidinska baza uracil se, kao i citozin i timin, pojavljuje u formiranju nukleotida nukleinskih kiselina. Razlika je u tome što je uracil svojstven samo za molekulu RNA, dok je u molekuli DNA prisutan timin. U procesu transkripcije DNA dolazi do zamjene timina uracilom. On s adeninom tvori bazni par povezujući se vodikovim vezama gdje može biti donor i akceptor vodika.<sup>4</sup> (Slika 6.)



**Slika 6.** Bazni par adenina (**A**) i uracila (**U**) pri čemu je uracil i donor i akceptor vodika

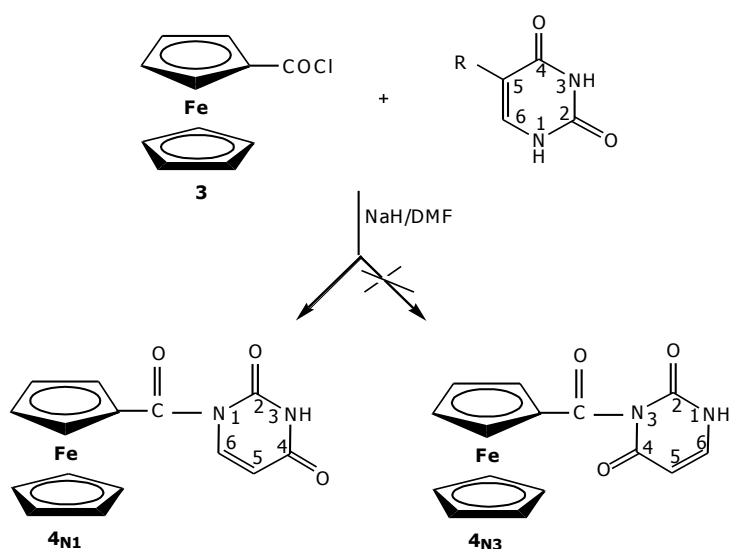
Prethodno spomenut 5-fluorouracil (5-FU) najpoznatiji je predstavnik ove baze, a odlikuje ga sposobnost vezanja halogenih elemenata koja pojačava elektron-donorski utjecaj molekule, što sprječava dijeljenje stanica raka. 5-FU je analog uracila koji ima atom fluora umjesto vodika na položaju C5 (Slika 7.). On brzo ulazi u stanične ćelije pomoću istog transportnog mehanizma kao i uracil.<sup>8</sup> Iako je sintetiziran prije više 30. godina, još uvijek je jedan od najraširenijih lijekova protiv raka. Pokazalo se da ima pozitivan utjecaj na rak dojke, rak gastrointestinalnog trakta (posebice raka debelog crijeva) i jajnika te da je koristan u liječenju neinvazivnih bazalnih stanica karcinoma.<sup>9</sup>



**Slika 7.** 5-fluorouracil

1961. – 1995. godine provedena su različita laboratorijska istraživanja na djelovanje 5-supstituiranog-2-tiouracila na rak. Upravo zato su se O. A. Fathalla i njegovi suradnici zainteresirali za tiouracile te su proveli istraživanje u kojem su promatrali utjecaj različitih derivata tiouracila na antitumorska svojstva. Istraživanje je pokazalo da njihovi derivati pokazuju antitumorsku aktivnost protiv raka jetre (HEPG2) ali različitim intenzitetima u odnosu na 5-fluorouracil i doksorubicin.<sup>7</sup>

Lapić i suradnici su prvi put sintetizirali biokonjugate ferocena s pirimidinskim nukleobazama timinom, uracilom i 5-florouracilom, pri čemu je razmaknica između ferocena i baze karbonilna skupina. Kopulacijom nukleobaza s ferocenoil kloridom (FcCOCl) uz deprotonirajuće agense NaH ferocen se regioselektivno vezao na N1-položaj pirimidinske nukleobaze bez zaštite N3-položaja u nukleobazi (Slika 8.). Položaj supstitucije i kemijska struktura dobivenih spojeva potvrđena je i  $^1\text{H}$ ,  $^{19}\text{F}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektrima, a kvantno-kemijskim računom je pretpostavljena kinetička sklonost za regioselektivnost reakcije. Preliminarna ispitivanja pripremljenih konjugata pokazuju potencijalnu biološku aktivnost.<sup>11</sup>



**Slika 8.** Regioselektivno N1-aciliranje pirimidinskih nukleobaza 1 (uracil, R = H; timin, R = Me; 5-florouracil, R = F) (X = Cl, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

## 2.5. "Klik kemija"

"Klik kemija" je relativno novi način provođenja reakcija koja sve više pronalazi svoje mjesto u organskoj kemiji. Prvi put su je definirali Sharpless, Kolb i Finn 2001. godine. Ona podrazumijeva brzo i pouzdano dobivanje produkata spajanjem više manjih jedinica s heteroatomima. Da bi se reakcija smatrala "klik reakcijom" ona mora biti široko primjenjiva reakcija koja daje neškodljive produkte, mora se provoditi pri jednostavnim reakcijskim uvjetima (idealno bi bilo kada na proces ne bi utjecali voda i kisik) uz lako dostupne polazne materijale i reagense, bez korištenja otapala ili s otapalima koji su benigni kao što je voda, odnosno otapala koji se jednostavno uklanjaju te moraju nastati stabilni produkti u velikom iskorištenju koji se mogu jednostavno izolirati nekromatografskim metodama kao što su kristalizacija i filtracija. Sharpless, Kolb i Finn navode da reakcije moraju biti jako termodinamički povoljne kako bi mogle ispuniti navedene uvjete ( $\Delta G$  veći od 20 kcal/mol) te

da su to reakcije cikloadicije nezasićenih spojeva, Diels-Alderove reakcije, reakcije nukleofilne supstitucije (reakcije epoksida), reakcije na C-C veze (dehidroksilacija, epoksidacija).<sup>12</sup>

## 2.6. Triazoli

Triazoli sadrže peteročlani triazolni prsten koji se sastoji od 2 atoma ugljika i 3 atoma dušika, molekulska formula mu je  $C_2H_3N_3$ . Razlikujemo dva izomerna oblika triazola: 1,2,3-triazol i 1,2,4-triazol koji se razlikuju u rasporedu dušikovih atoma unutar prstena ( Slika 9.).<sup>13</sup>



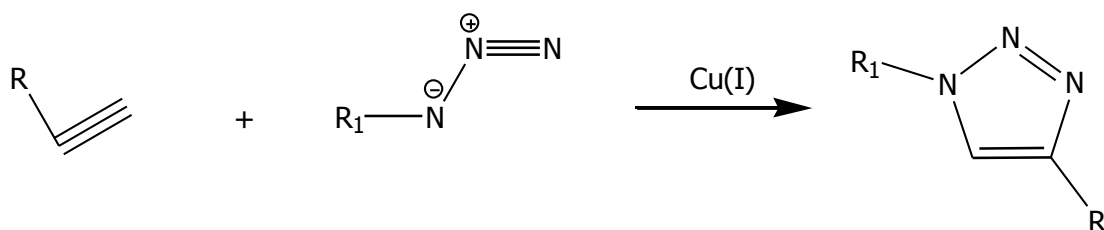
**Slika 9.** a) 1,2,3-triazol, b) 1,2,4-triazol

Svaki od izomera sadrži još 2 tautomera. (slika 10.)<sup>13</sup>



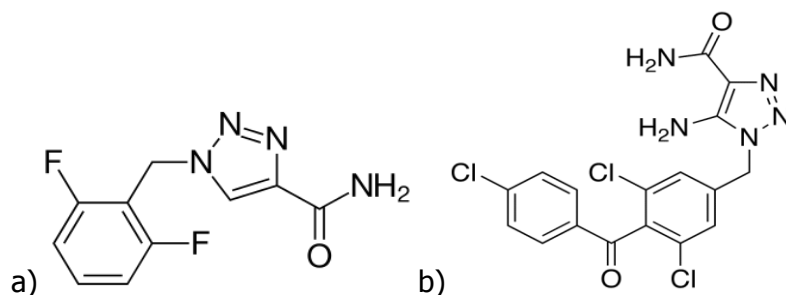
**Slika 10.** Strukture a) 1H-1,2,3-triazol i b) 2H-1,2,3-triazol

Najpoznatiji način dobivanja triazola je Huisgenova cikloadicija koja je ujedno i najzastupljenija od svih klik-reakcija. To je reakcija 1,3-dipolarne cikloadicije između azida i terminalnog alkina bez katalizatora pri čemu nastaje 1,2,3-triazol.<sup>14</sup> Danski kemičar Meldali i američki znanstvenik Sharpless otkrili su da 1,3-dipolarna cikloadicija katalizirana bakrom daje samo regioselektivne 1,4-disupstituirane 1,2,3-triazole (Slika 11.). Oni su upravo zbog velikog dipolnog karaktera, stabilnosti i sposobnosti vezanja vodika pogodni za vezanje sa drugim biološki važnim spojevima.<sup>15</sup>



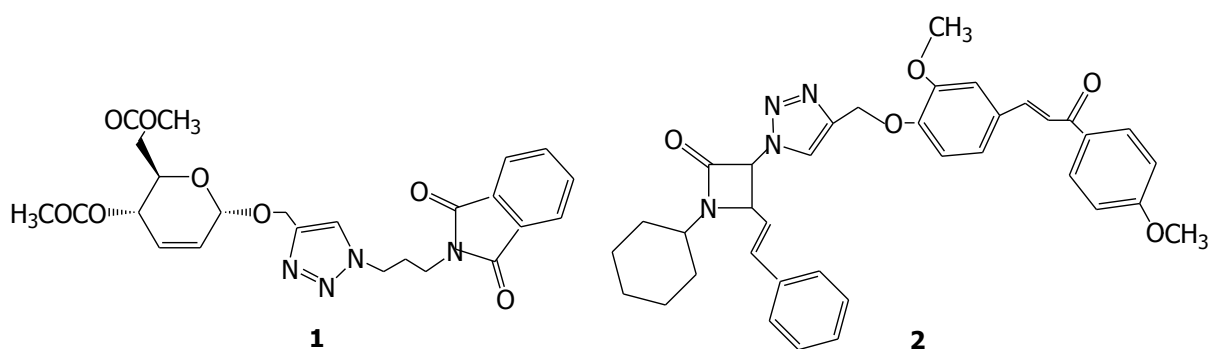
**Slika 11.** Bakrom katalizirana 1,3-dipolarna cikloadicija

Derivati 1,2,3-triazola pokazuju različite biološke aktivnosti kao što su antikancerogeno, antidijabetičko, antituberkulozno, protuupalno, antifungalno, antivirusno i antibakterijsko stoga nije ni čudno da ih možemo pronaći u različitim lijekovima. Jedan od primjera je rufinamid, 1-(2,6-difluorbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-karboksiamid, antiepileptički lijek, koji se koristi za liječenje parcijalnih napadaja (Slika 12.).<sup>15</sup> CAI, odnosno karboksiamidotriazol, je antikancerogeni spoj koji potiskuje metastatski potencijal malignih stanica (Slika 12.).<sup>16</sup>



**Slika 12.** Biološki aktivni spojevi: a) rufinamid, b) karboksiamidotriazol

Brojna istraživanja provedena na triazolu i njegovim derivatima pokazala su njihovu medicinsku važnost. Assis i suradnici su sintetizirali derivate 1,2,3-triazola pomoću 1,3-dipolarne cikloadicije u koju su kao reaktante stavili N-(azido-alkil)-ftalimid i terminalni alkin te su ih ispitali za protuupalnu aktivnost. Spoj **1** pokazao je snažno protuupalno djelovanje od 69% inhibicije u usporedbi s ibuprofenom koji je pokazao 73% inhibicije upale (Slika 13.).<sup>17</sup>

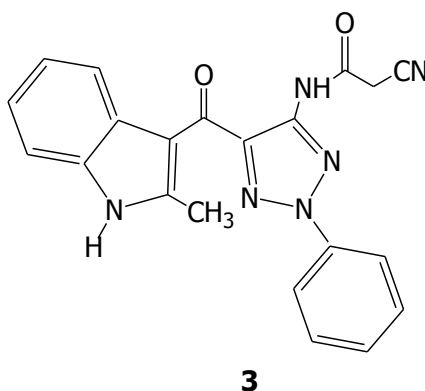


**Slika 13.** Konjugati **1** i **2**

2012. godine su Singh i suradnici sintetizirali seriju 1,2,3-triazolnih derivata temeljenih na  $\beta$ -laktam-kalkon bifunkcionalnim hibridima koristeći pristup "klik kemije". Sintetizirani spojevi ispitani su na četiri humane stanice karcinoma: A-549 (pluća), PC-3

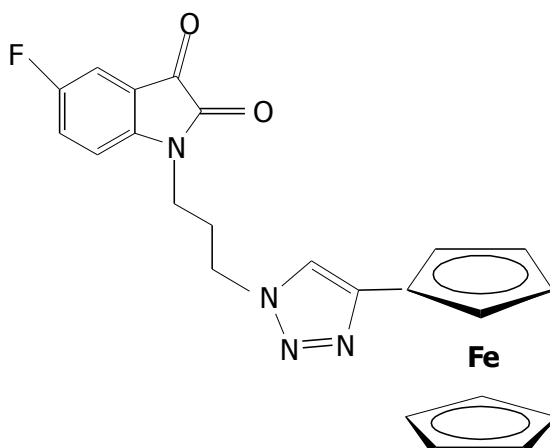
(prostata), THP-1 (leukemija) i Caco-2 (debelo crijevo). Spoj **2** bio je za 10 % aktivniji od 5-fluorouracila protiv stanica THP-1(Slika 13.).<sup>18</sup>

Behbehani i suradnici su sintetizirali niz novih indola koji sadrže 1,2,3-triazol, pirazol i pirazol-[1,5-A]-pirimidinske derivate i ispitali ih za antimikrobnu aktivnost protiv Gram negativnih bakterija, Gram pozitivnih bakterija i kvasca. Spoj **3** je pokazao zonu inhibicije od 9,3 mm za Gram pozitivnu bakteriju *B. Subtilis* (Slika 14.).<sup>19</sup>



**Slika 14.** Konjugat **3**

Kopulati ferocena i triazola su derivati ferocena koji imaju potencijalne primjene na poljima nanoznanosti, elektrokemijske detekcije i medicinske kemije gdje su vrlo popularni upravo zato jer su mali, kruti i lipofilni što im olakšava prodiranje u staničnu membranu.<sup>20</sup> Kumar i suradnici sintetizirali su konjugate ferocena, izatina i 1H-1, 2,3-triazolnog prstena i proučavali njihovu aktivnost za parazit *Plasmodium falciparum* koji je jedan od glavnih uzročnika malarije. Spojevi koji su sadržavali halogene elemente na C5 poziciji izatinskog prstena, i propilni lanac uveden kao poveznicu između izatina i ferocen-triazola pokazali su najveću aktivnost kao i necitotoksičnost (Slika 15.).<sup>21</sup>



**Slika 15.** Hibrid ferocena i triazoala

## 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. Materijali

Kupovni reagensi i kemikalije su korišteni bez pročišćavanja, dok su otapala sušena i pročišćavana prema preporučenom postupku sušenja agensima i/ili destiliranjem preko molekulskih sita veličine 3Å. Od laboratorijskih uređaja, korišteni su analitička vaga, IR spektrometar, <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, UV lampa.

### 3.2. Metode rada

Za praćenje tijeka reakcije je korištena metoda tankoslojne kromatografije. Tankoslojna kromatografija je provedena na pločama 60F-254 prevučeni slojem silika gela Merck u odgovarajućem sustavu otapala. Za detekciju izoliranih komponenata je korištena UV-svjetlost valne duljine 254 nm.

Kromatografija na koloni je provedena na silika gelu (Fluka, 0.063–0.2 nm), dok su staklene kolone punjene pod utjecajem gravitacijske sile uz eluens diklormetan/metanol. Preparativna tankoslojna kromatografija provedena je na staklenim pločama prevučeni silika gelom (Merk, Kisagel 60 HF<sub>254</sub>), dok je za mobilnu fazu korišten sustav otapala diklormetan/metanol. Temperature tališta sintetiziranih spojeva su određene na instrumentu Kofler (Reichert, Wien ) i nisu korigirane.

Spektri <sup>1</sup>H-NMR i <sup>13</sup>C-NMR su snimljeni na spektrometru Bruker Avance 300 i 600 MHz. Svi uzorci su otopljeni u CDCl<sub>3</sub> DMSO-*d*<sub>6</sub> i mjereni pri 298 K u NMR cjevčici od 5 mm. Kemijski pomaci (δ) u <sup>1</sup>H-NMR i <sup>13</sup>C-NMR spektrima su izraženi u ppm u odnosu prema tetrametilsilanu (TMS, δ 0,0 ppm), a konstante sprege (J) u hertzima (Hz). Pojedinačne rezonancije su asignirane na temelju njihovih kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta signala i konstanti sprega H-H.

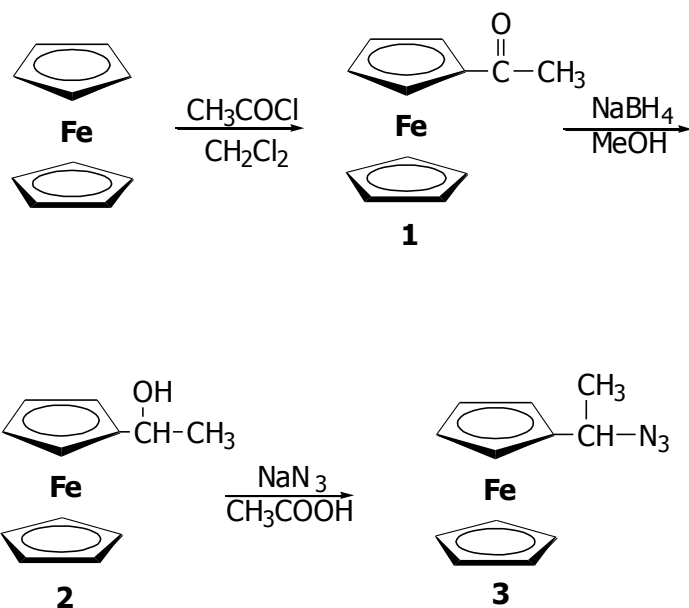
Tumačenje spektroskopskih oznaka i kratica:

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

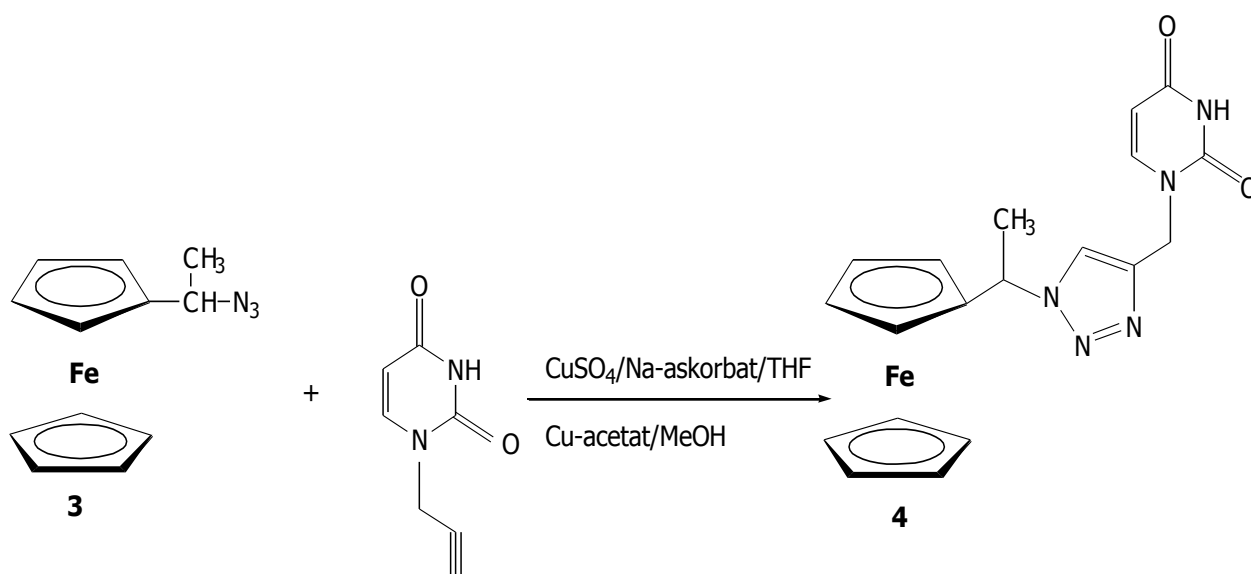
<sup>1</sup>H-NMR-spektri: s = singlet, d = dublet, t = triplet, q = kvartet, m = multiplet.

Najveći dio pokusa izveden je u atmosferi inertnog plina i u bezvodnoj sredini.

### A. Priprava prekursora 1-azidoetilferocena (3)



### B. Priprava 1-[4-(1-feroceniletil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil]uracila (4)





### 3.3. Acetilferocen (1)

U osušeni diklormetan (20 mL) doda se aluminijev klorid (1 eq., 26.4 mmol, 3.52 g) te se dokapa acetil-klorid (2 mL). Tako pripremljena reakcijska smjesa prebaci se u lijevak za dokapavanje i dokapa u otopinu ferocena (1 eq., 26.9 mmol, 5 g) u diklormetanu uz hlađenje ledom kroz 1 sat. Reakcijska smjesa se miješa 2 sata, prenese u čašu s ledom te ekstrahira diklormetanom. Organski se slojevi isperu vodenom otopinom natrijeva klorida i vodom do neutralne reakcije. Organski sloj se potom osuši bezvodnim natrijevim sulfatom i upari do suha. Dobiveni su narančasti kristali spoja u iskorištenju od 73 %. Talište dobivenog spoja odgovara talištu opisanom u literaturi.

### 3.4. 1-Feroceniletanol (2)

Otopini acetilferocena (1 eq., 1,0965 mmol, 250 mg) u metanolu (10 mL) u obrocima se dodaje NaBH<sub>4</sub> (4 eq., 5,820 mmol, 220 mg) uz miješanje. Nakon 2 sata reakcijska se smjesa prenese u čašu s ledom i ekstrahira diklormetanom (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Organski se sloj ispere zasićenom otopinom natrijeva klorida (NaCl), osuši bezvodnim natrijevim sulfatom (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) i upari do suha. Sirovi se produkt pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uporabom eluensa diklormetan:etil-acetat = 10:1 pri čemu je dobiveno 216,50 mg (86 %) žutih kristala 1-feroceniletanola (2)

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) v: 3592 (š., OH), 3096 (sl., =CH), 2929, 2967 (sl., CH).

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz, 298 K) δ: 4.32 (2H, pt, CH<sub>2</sub>, Fc), 4.23 (2H, pt, CH<sub>2</sub>, Fc), 4.17 (5H, s, Fc nesupst. prsten), 4.10 (1H, s, CH) 1.81(1H, s, OH), 1.21 (3H, d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.3 Hz, CH<sub>3</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 100 MHz, 298 K) δ: 94.4 (Fc<sub>q</sub>) 67,8 (Fc nesupst. prsten), 67.37 (C-Fc), 65.63 (C-Fc), 65.61 (CH), 23.22(CH<sub>3</sub>) ppm.

### 3.5. 1-Azidoetilferocen (3)

1-Feroceniletanol **2** (1 eq., 0.94 mmol, 216,50 mg) i natrijev azid (6 eq., 5,68 mmol, 369,55 mg) otope se u octenoj kiselini (5 mL) te se reakcijska smjesa uz miješanje zagrijava na 50°C . Nakon tri sata reakcijskoj smjesi ohlađenoj na sobnoj temperaturi doda se zasićena vodena otopina natrijeva hidrogenkarbonata i ekstrahira sa diklormetanom dva puta. Organski sloj ispire se vodom do neutralnog pH, osuši bezvodnim natrijevim sulfatom i

upari na rotacijskom vakuum uparivaču nakon čega zaostaje tekući spoj uljaste konzistencije žute boje, mase 189,6 mg u iskorištenju od 80 %.

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) v: 3109 (sl., =CH), 2927 (sl., CH), 2101 (j., N<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup>.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz, 298 K) δ: 4.19 (1H, q, CH), 4.19 (9H, s, CH, Fc, Fc nesupst. prsten), 1.56 (3H, d, CH<sub>3</sub>) ppm.

### 3.6. 1-[4-(1-Feroceniletil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil]uracil (4)

**Metoda A:** U otopini azida **3** (1 eq., 0.2 mmol, 51 mg) u metanolu (2 mL) doda se *N*-1-propargil uracil (1 eq., 0.2 mmol, 50.3 mg), bakar acetat (0,5 eq., 0.1 mmol) te se reakcijska smjesa miješa na sobnoj temperaturi. Za praćenje tijeka reakcije korištena je tankoslojna kromatografija na silikagelu u odgovarajućem sustavu otapala (diklormetan /metanol 10:0.6). Nakon 12 sati miješanja reakcijska se smjesa obradi na način da joj se doda voda i ekstrahira diklormetanom. Dobiveni organski sloj se ispere vodom te se upari na rotacijskom vakuum-uparivaču do suha. Sirovi produkt se pročisti preparativnom tankoslojnom kromatografijom uz eluens diklormetan:metanol, 10:0.6, pri čemu je dobiveno 26 mg (32 %) žutih kristala.

**Metoda B:** Azid **3** (1 eq., 0.2 mmol, 51 mg) se otopi u tetrahidrofuranu (THF) (2 mL), doda se *N*-1-propargil uracil (1 eq., 0.2 mmol, 50.3 mg), CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (0,05 eq., 0.1 mmol) i natrijev askorbat (0,5 eq., 0.1 mmol). Reakcijska se smjesa miješa 12 sati na sobnoj temperaturi te se obradi na način kako je opisano u metodi A. Nakon pročišćavanja preparativnom tankoslojnom kromatografijom dobiveno je 41,23 mg (50.75 %) žutih kristala.

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): v 3374 (sl., NH), 3099 (sl., CH, Fc), 1700 (j., CO), 1633 (sr., CO) cm<sup>-1</sup>.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, 298 K, ppm): δ 9.47 (1H, s, N1-H), 7.53 (1H, d, C6-H), 7.50 (1H, s, CH-triazolni prsten), 5.77 (1H, d, C5-*H*), 5.70 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 4.94 (1H, m, CH), 4.22 (1H, s, CH, Fc), 4.19 (1H, s, CH, Fc), 4.16 (1H, s, CH, Fc), 4.14 (1H, s, CH, Fc), 4.09 (5H, s, Cp-Fc), 1.95 (3H, d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.3 Hz, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, 298 K, ppm): δ 163.72 (C=O), 150.84 (C=O), 144.35 (C6), 141.5 (Cq-triazol), 121.35 (CH-triazol), 102.64 (C5), 86.76 (Cq-Fc), 69.05 (C-Fc), 68.44 (CH-Fc), 69.01 (Cp-Fc), 68.01 (CH-Fc), 66.08 (CH-Fc), 56.94 (CH), 42.95 (CH<sub>2</sub>), 21.24 (CH<sub>3</sub>) ppm.

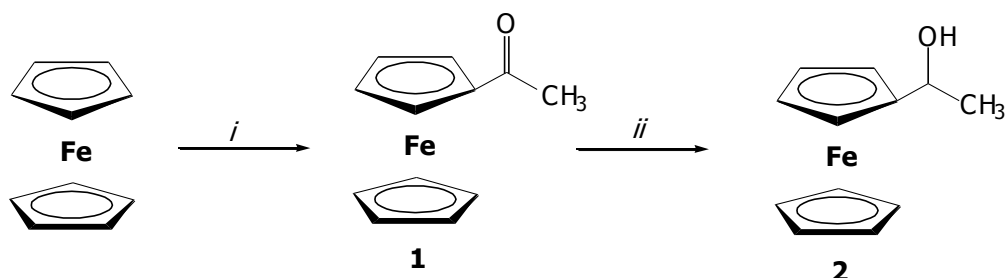
## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. Uvod

Cilj ovog rada je sinteza potencijalno biološki aktivnog kopolata 1-[4-(1-feroceniletil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil]uracila (**4**) gdje su ferocen i uracil povezani s 1,2,3-triazolnom poveznicom. Ovaj rad je podijeljen u dva dijela pri čemu se prvi dio odnosi na sintezu intermedijera 1-azidoetilferocena koji je zatim podvrgnut reakciji 1,3-dipolarne cikloadicije s terminalnim *N*-alkin uracilom u prisutnosti bakar acetata odnosno bakar sulfata kao izvora Cu(I) iona. *N*-1-propargil uracil dobiven je alkiliranjem uracila s propargil bromidom uz prisutnost K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> kao baze u acetonu na temperaturi refluksa u Laboratoriju za organsku kemiju, Fakulteta za kemijsku tehnologiju i inženjerstvo. U drugom dijelu su strukture sintetiziranih spojeva potvrđene korištenjem IR i NMR spektroskopije.

### 4.2. Sinteza i spektroskopska analiza prekursora

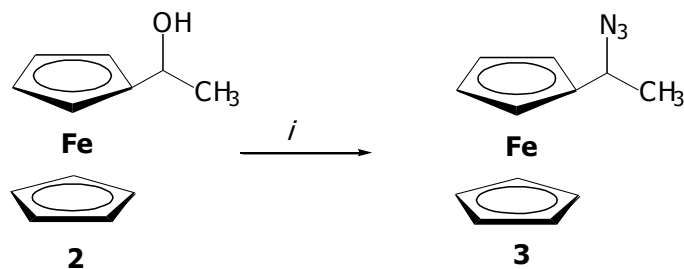
Ferocenski konjugat (**4**) pripremljen je višestupanjskom sintezom počevši od ferocena i acetil-klorida (CH<sub>3</sub>COCl) u prisutnosti aluminijskog klorida (AlCl<sub>3</sub>) pri čemu je dobiven acetilferocen (**1**) u 73 %-tnom iskorištenju. Redukcijom pripremljenog ketona **1** u metanolu s NaBH<sub>4</sub> nastaje 1-feroceniletanol (**2**) u iskorištenju od 86 % (shema 1).



**Shema 1.** Priprava 1-feroceniletanola (**2**); (i) acetil-klorid, AlCl<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; (ii) NaBH<sub>4</sub>, MeOH.

Prema očekivanju, IR-spektar acetilferocena sadrži signale pri 1642 cm<sup>-1</sup> koji odgovaraju karbonilnoj skupini ketona dok je u IR-spektru 1-feroceniletanola vidljiva apsorpcijska vrpca pri 3592 cm<sup>-1</sup> koja odgovara frekvenciji istezanja hidroksilne skupine. <sup>1</sup>H-NMR spektar alkohola **2** snimljen u CDCl<sub>3</sub> sadrži kemijske pomake na 4.32, 4.23 i 4.17 ppm koji se pripisuju ferocenskim protonima, dok se kemijski pomak na 1.81 ppm pripisuje protonu hidroksilne skupine. Kemijski pomaci na 4.10 i 1.21 ppm potvrđuju prisutnost metinske i metilne skupine 1-feroceniletanola.

U nastavku je pripremljen ključni intermedijar, 1-azidoetilferocen (**3**), reakcijom 1-feroceniletanola (**2**) i natrijeva azida u octenoj kiselini u iskorištenju od 80% (Shema 2.).



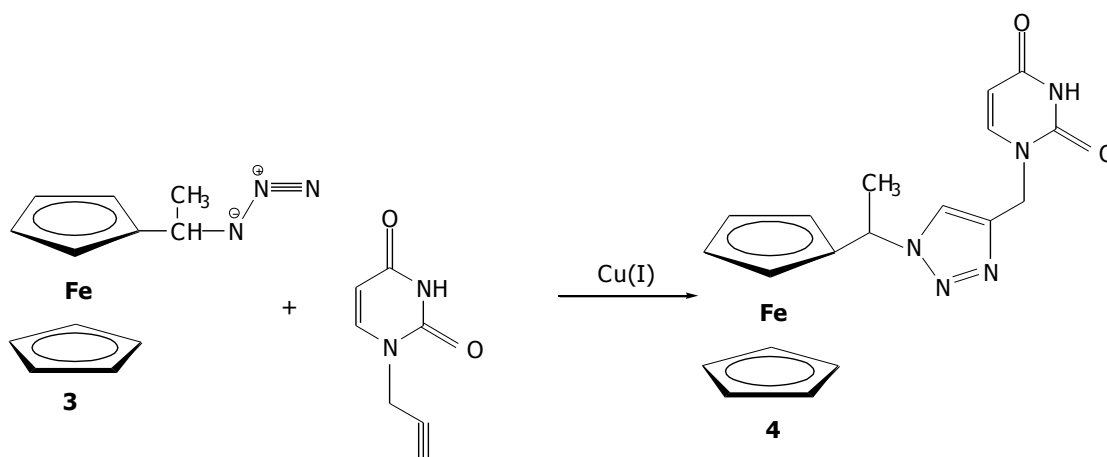
**Shema 2.** Priprava 1-azidoetilferocen (**3**); (*i*)  $\text{NaN}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{COOH}$ .

U IR spektru 1-azidoetilferocena (**3**) vidljiva je apsorpcijska vrpca karakteristična za azido skupinu pri  $2102\text{ cm}^{-1}$ , u  $^1\text{H}$  NMR spektru prisutni su kemijski pomaci monosupstituiranog ferocena te na 4.19 ppm kemijski pomak metinske skupine i na 1.56 ppm metilenske skupne.

### 4.3. Sinteza i spektralna analiza 1-[4-(1-feroceniletil-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil]uracila (**4**)

#### 4.3.1. Sinteza 1-[4-(1-feroceniletil-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil]uracila (**4**)

Ciljani konjugat 1-[4-(1-feroceniletil-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil]uracil (**4**) (Shema 3.) pripremljen je Cu(I) kataliziranom 1,3-dipolarnom cikloadicijom.

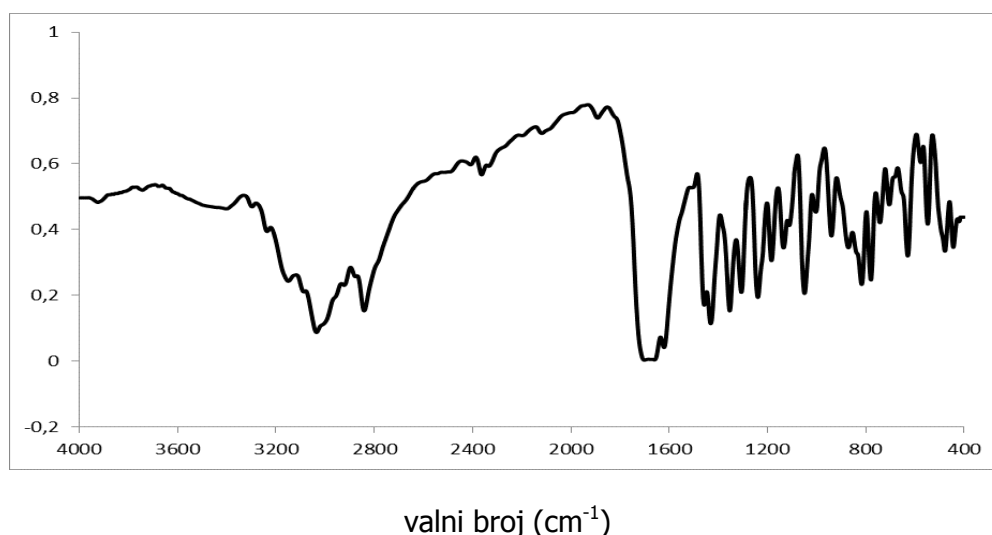


**Shema 3.** Priprava ferocenskog konjugata (**4**); (*i*) Cu-acetat, MeOH; ili  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ , Na-askorbat, THF, rt, 12 sati.

Ovim sintetskim putem, točnije 1,3-dipolarnom cikloadicijom 1-azidoetilferocena (**3**) i *N*-1-propargil uracila, u strukturu je uveden 1,2,3-triazolni prsten. Reakcija je katalizirana Cu(I) ionima, stoga je kao produkt dobiven isključivo 1,4-disupstituirani regioizomer. Reakcija je provedena na sobnoj temperaturi, a kao izvor Cu(I) iona koristio se bakar (II) acetat u metanolu te bakar (II) sulfat uz Na-askorbat kao reducens u tetrahidrofuranu. U reakciji koja je provedena s bakar (II) sulfatom kao katalizatorom u THF iskorištenje reakcije je povećano što možemo pripisati otapalu budući da metanol kao nukleofil reagira s 1-azidoetilferocenom dajući neželjeni produkt ferocenski eter.

#### 4.3.2. SPEKTRALNA ANALIZA

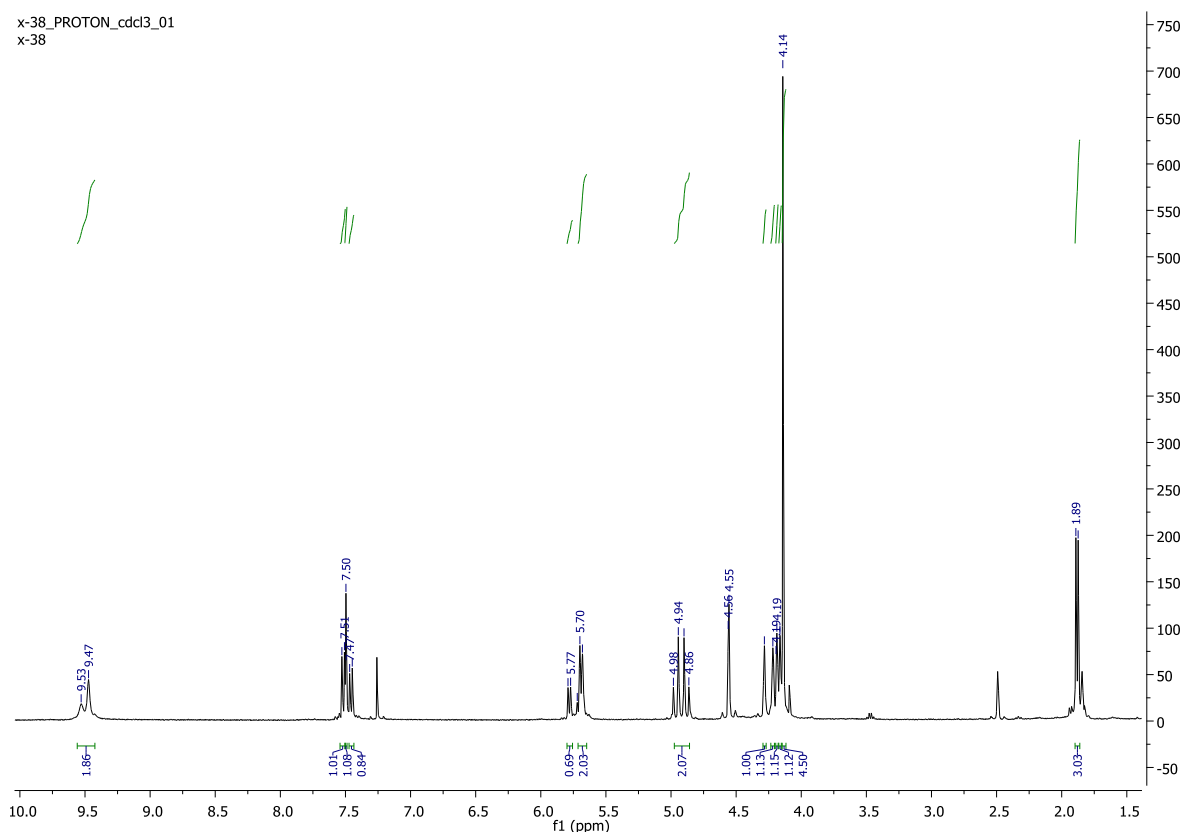
Struktura 1-[4-(1-feroceniletil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil]uracila (**4**) dokazana je IR i NMR spektroskopijom. U IR spektru (Slika 16.) vidljive su apsorpcijske vrpce pri 3103 i 3034  $\text{cm}^{-1}$  koje se pripisuju rasteznoj vibraciji aromatske i etenske =C–H veze, dok se apsorpcijska vrpca pri 2930  $\text{cm}^{-1}$  pripisuje rasteznoj frekvenciji veze C–H. Prisutnost C=C veze aromatskog sustava dodatno je potvrđena apsorpcijskim vrpcama jakog intenziteta pri 1571  $\text{cm}^{-1}$ . Jaka apsorpcijska vrpca pri 1698 i 1660  $\text{cm}^{-1}$  odgovara isteznim frekvencijama karbonilne skupine amida dok se apsorpcijska vrpca pri 3399  $\text{cm}^{-1}$  pripisuje NH amidnoj skupini što potvrđuje prisutnost baze u kopolatu.



**Slika 16.** IR spektar kopolata 4

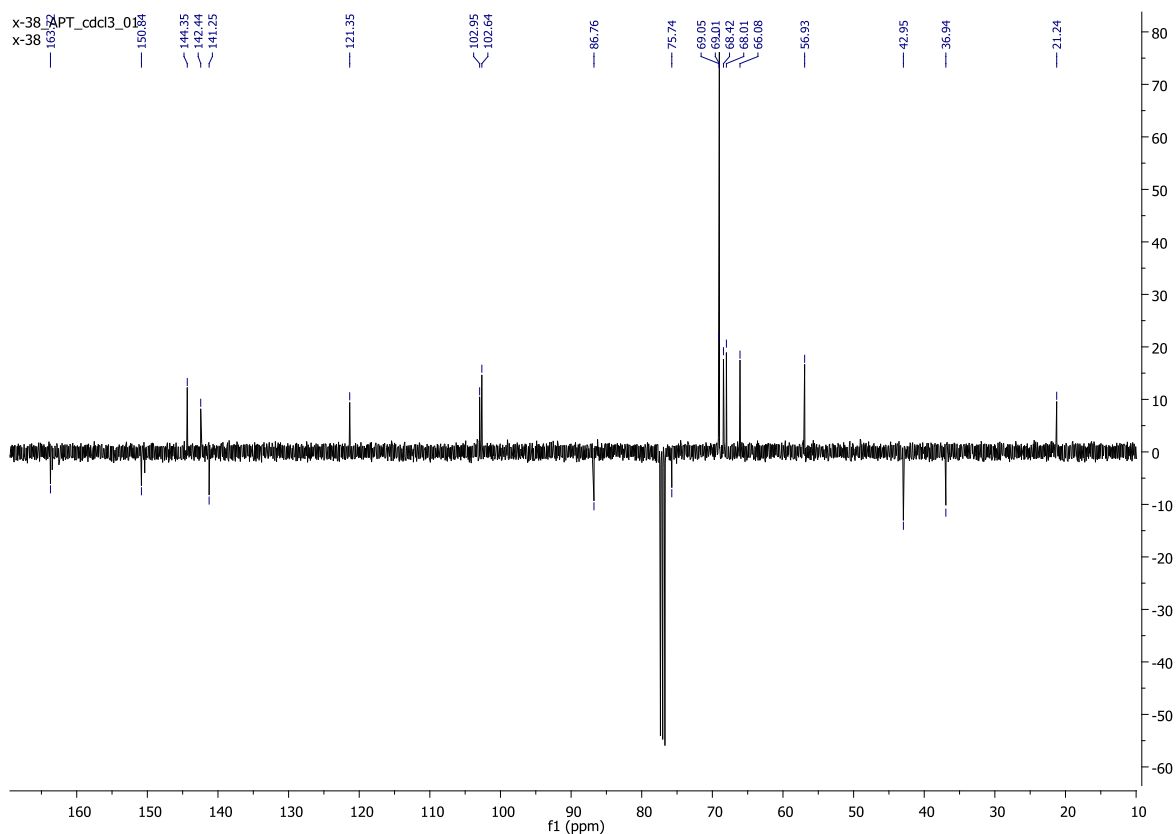
U <sup>1</sup>H-NMR spektru spoja **4** snimljenom u CDCl<sub>3</sub> (Slika 17.) vidljiv je signali pri δ 9.47 ppm koji se pripisuje protonu amidne skupine, dok se signali na 7.53 i 5.70 ppm pripisuju protonima pirimidinskog prstena što ukazuje da se supstituirala jedna amidna skupina uracila. U spektru su asignirana i 5 signala u području od δ 4.09 do 4.33 ppm i to kao jedan

singlet i četiri tripleta što potvrđuje prisutnost ferocenske podjedinice i to jednog monosupstituiranog i jednog nesupstituiranog ciklopentadienilnog prstena. Kemijski pomak pri  $\delta$  7.52 ppm odgovara kemijskom pomaku protona u triazolnom prstenu čime se potvrđuje da je 1,3-dipolarnom cikloadicijom, 1-azidoetilferocena (**3**) i *N*-1-propargil uracila, u strukturu uveden 1,2,3-triazolni prsten kao poveznica.



**Slika 17.**  $^1\text{H}$  NMR spoja **4**

U  $^{13}\text{C}$ -NMR spektru spoja **4** vidljivi su signali atoma ugljika pirimidinskog prstena (C-2, C-4, C-5, C-6) s time da se signali pri  $\delta$  163.7 i 150.84 ppm pripisuju dvjema karbonilnim skupinama baze, a signali pri  $\delta$  144.35 i 102.64 ppm ugljikovom atomu CH skupine uracila. Signali atoma ugljika ciklopentadienilnih prstena ferocena zabilježeni su u području od  $\delta$  69.05 do 66.08 ppm i to kao 5 signala što potvrđuje supstituciju na jednom prstenu ferocena (Slika 18.). Signali pri  $\delta$  141.25 i 121.35 ppm pripisani su ugljikovom atomu triazolnog prstena što potvrđuje da je u strukturu uveden 1,2,3-triazolni prsten, a s time je potvrđena i struktura ciljanog spoja **4**.



**Slika 18.**  $^{13}\text{C}$ -NMR spoja **4**

Temeljem spektralne analize može se potvrditi da je reakcijom 1,3-dipolarne cikloadicije ferocenskog azida i *M*-terminalnog alkina uracila uporabom Cu-(I) iona kao katalizatora nastao spoj 1-[4-(1-feroceniletil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil]uracil (**4**) u kojem je ferocenska podjedinica povezana s uracilom 1,2,3-triazolnom poveznicom.

## 5. ZAKLJUČAK

- Višestupanjskom sintezom sintetiziran je ključni prekursor 1-azidoetilferocen (**3**) u 80 %-tnom iskorištenju.
- Regioselektivnom 1,3-dipolarnom cikloadicijom azida i *N*-alkin uracila uz katalizator bakar (I) ion pripremljen je isključivo 1,4-disupstituirani regioizomer, 1-[4-(1-ferocenilet-1-*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil]uracil (**4**). Bolje iskorištenje reakcije dobiveno je kada je kao izvor Cu(I) iona korišten  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  uz Na-askorbat kao reducens u tetrahidrofuranu.
- Struktura dobivenog produkta potvrđena je IR i NMR spektroskopijom. Kemijski pomak u  $^1\text{H}$  NMR spektru pri  $\delta$  7.52 ppm i signali pri 141.5 i 122.6 ppm u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru potvrđuju da je ferocenska podjedinica povezana s uracilom 1,2,3-triazolnom poveznicom.
- U nastavku istraživanja ispitati će se biološka aktivnost sintetiziranog spoja.



## 6. LITERATURA

1. De Champdore M., Di Fabio G., Messere A., Montesarchio D., Piccialli G., Loddo R., La Colla M., La Colla P. (2004) In-water reactivity of nucleosides and nucleotides: one-step preparation and biological evaluation of novel ferrocenyl-derivatives. *Tetrahedron* **60**: 6555–6563.
2. Rapić V., Čakić Semenčić M. (2011) I. Organometalna i bioorganometalna kemija - ferocen i metalni karbonili. *Kemija u industriji* **60**: 61-79.
3. Werner H. (2012) At least 60 years of ferrocene: The discovery and rediscovery of the sandwich complexes. *Angewandte Chemie International Edition* **51**: 6052–6058.
4. Lubert Stryer (1991) Biokemija, 2. izd. , Školska knjiga, str. 449-465.
5. Gilchrist T. L. (1997) Heterocyclic chemistry, 3rd ed., Longman, New York, str.357.
6. Mishra R., Tomar I. (2011) Pyrimidine: the molecule of diverse biological and medicinal importance. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* **2**(4): 758.
7. Fathalla O. A., Zeid I. F., Haiba M. E., Soliman A. M., Abd-Elmoez S. I., El-Serwy W. S. (2009) Synthesis, antibacterial and anticancer evaluation of some pyrimidine derivatives. *World Journal of Chemistry* **4**(2): 127-132.
8. Longley D. B., Harkin D. P., Johnston P. G. (2003) 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nature reviews. Cancer* **3**(5): 330-338.
9. Diasio R. B., Harris B. E. (1989) Clinical pharmacology of 5-fluorouracil. *Clinical pharmacokinetics* **16**(4): 215-237.
10. Nguyen P., Oumata N., Soubigou F., Evrard J., Desban N., Lemoine P., Bouaziz S., Blondel M., Voisset C. (2014) Evaluation of the antiprion activity of 6-aminophenanthridines and related heterocycles. *European Journal of Medicinal Chemistry* **82**: 363-371.
11. Lapić J., Havaić V., Šakić D., Sanković K., Djaković S., Vrček 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**: 5424-5431.
12. Kolb H. C., Finn M. G., Sharpless K. B. (2001) Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions. *Angewandte Chemie International Edition* **40**(11): 2004-2021.

13. Agalave S. G., Maujan S. R., Pore V. S. (2011) Click Chemistry: 1, 2, 3-Triazoles as Pharmacophores. *Chemistry–An Asian Journal* **6**(10): 2696-2718.
14. Saftić D., Krstulović L., Bajić M., Žinić B. (2015) 1, 3-Dipolarna cikloadicija (I. dio): Dobivanje 1, 2, 3-triazolnih derivata u nukleozidnoj kemiji. *Kemija u industriji: Časopis kemičara i kemijskih inženjera Hrvatske* **64**(9-10): 481-498.
15. Jadhav R. P., Raundal H. N., Patil A. A., Bobade V. D. (2017) Synthesis and biological evaluation of a series of 1, 4-disubstituted 1, 2, 3-triazole derivatives as possible antimicrobial agents. *Journal of Saudi Chemical Society* **21**(2): 152-159.
16. Wasilenko W. J., Palad A. J., Somers K. D., Blackmore P. F., Kohn E. C., Rhim J. S., Wright G. L., Schellhammer P. F. (1996) Effects of the calcium influx inhibitor carboxyamido-triazole on the proliferation and invasiveness of human prostate tumor cell lines. *International Journal of Cancer* **68**: 259–264.
17. Assis S. P. D. O., Silva M. T. D., de Oliveira R. N., Lima V. L. D. M. (2012) Synthesis and anti-inflammatory activity of new alkyl-substituted phthalimide 1H-1, 2, 3-triazole derivatives. *The Scientific World Journal* **2012**
18. Singh P., Raj R., Kumar V., Mahajan M. P., Bedi P. M. S., Kaur T., Saxena A. K. (2012) 1, 2, 3-Triazole tethered  $\beta$ -lactam-chalcone bifunctional hybrids: synthesis and anticancer evaluation. *European journal of medicinal chemistry* **47**: 594-600.
19. Behbehani H., Ibrahim H. M., Makhseed S., Mahmoud H. (2011) Applications of 2-arylhydrazononitriles in synthesis: preparation of new indole containing 1, 2, 3-triazole, pyrazole and pyrazolo [1, 5-a] pyrimidine derivatives and evaluation of their antimicrobial activities. *European journal of medicinal chemistry* **46**(5): 1813-1820.
20. Ganesh V., Sudhir V. S., Kundu T., Chandrasekaran S. (2011) 10 Years of Click Chemistry: Synthesis and Applications of Ferrocene-Derived Triazoles. *Chemistry–An Asian Journal* **6**(10): 2670-2694.
21. Kumar K., Pradines B., Madamet M., Amalvict R., Benoit N., Kumar V. (2014) 1H-1, 2, 3-triazole tethered isatin-ferrocene conjugates: Synthesis and in vitro antimalarial evaluation. *European journal of medicinal chemistry* **87**: 801-804.

## Izjava o izvornosti

*Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.*

Lucija Ružić

ime i prezime studenta