

N-ferrocenoliranje C-5 derivata uracila

Kuzman, Ivana

Master's thesis / Diplomski rad

2020

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:497645>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-06-30**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2020.

Ivana Kuzman

1236/PI

***N*-FEROCENOILIRANJE C-5
DERIVATA URACILA**

Rad je izrađen u Laboratoriju za organsku kemiju na Zavodu za kemiju i biokemiju Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom izv.prof.dr.sc. Senke Djaković te uz pomoć doc. dr. sc. Jasmine Lapić.

ZAHVALA

Najprije se iskreno želim zahvaliti svojoj dragoj mentorici, izv. prof. dr. sc. Senki Djaković, na strpljenju, trudu, velikoj pomoći, volji i želji da mi prenese što više svog znanja, a također i na predanosti te stručnom vodstvu prilikom izrade ovog diplomskog rada. Zahvaljujem joj se što je znala cijeliti moje sposobnosti i trud te na svim pruženim prilikama učenja i stjecanja iskustava koje mi je omogućila uključivanjem u razne znanstvene projekte. Veliko hvala na svim stručnim, ali i životnim savjetima koje ću sa zadovoljstvom primijeniti u budućnosti.

Zatim se iskreno zahvaljujem dragoj doc. dr. sc. Jasmini Lapić na velikoj pomoći, strpljenju, trudu, savjetima i prenesenom znanju prilikom izrade eksperimentalnog dijela ovog rada. Zahvaljujem joj se na veoma ugodnoj i prijateljskoj atmosferi u laboratoriju zbog čega mi je bio gušt raditi i kada nije sve išlo po planu.

Zahvaljujem se i svim djelatnicama u Laboratoriju za organsku kemiju našeg Fakulteta na pristupačnosti, pruženoj pomoći i ugodnoj atmosferi.

Najveća zahvala ide mojoj obitelji, mojim roditeljima, baki, djedu, sestri Lari i bratu Karlu, što su mi sve u životu omogućili te najboljem dečku Anti. Zahvaljujem im se na bezuvjetnoj ljubavi i podršci, što su bili uz mene puni razumijevanja i strpljenja te što su uvijek vjerovali u moj uspjeh.

Veliko hvala svim mojim prijateljicama i kolegama što su učinili moje studiranje lakšim, ljepšim te bezbrižnijim. Obilježili su jedno vrlo važno, ali i najljepše razdoblje mog života.

Veliko hvala svima od srca!

Ivana

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za kemiju i biokemiju
Laboratorij za organsku kemiju

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

N-FEROCENOILIRANJE C-5 DERIVATA URACILA

Ivana Kuzman, 1236/PI

Sažetak: *Konjugati ferocena i nukleobaza važna su skupina novijih organometalnih spojeva čije komponente posjeduju iznimnu biološku i elektrokemijsku aktivnost. Fizikalno-kemijska svojstva ferocena odgovorna su za njegovu stabilnost u biološkim uvjetima i netoksičnost, stoga su njegovi derivati od sve veće važnosti u medicinskoj kemiji te farmaciji. Ovaj diplomski rad odnosi se na pripremu N-ferocenoiliranja C-5 derivata uracila te regioselektivnost njihovih reakcija. Ferocenoilirajući agens u ovim kopulacijama je ferocenoil-klorid, kao deprotonirajuća baza koristi se natrijev hidrid ili trietilamin, a kao otapalo koristi se DMF ili CH₃CN. Kao produkt ovih kopulacija može nastati N1-izomer ili smjesa N1- i N1/N3-izomera, a njihovo nastajanje uvjetovano je reakcijskim uvjetima.*

Ključne riječi: ferocen, C-5 derivati uracila, N1-kopulat, N1/N3-kopulat, regioselektivnost

Rad sadrži: 63 stranice, 51 sliku, 9 shema, 3 tablice, 64 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: *Izv.prof.dr.sc. Senka Djaković*

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. Doc. dr. sc. *Jasmina Lapić*
2. Izv. prof. dr. sc. *Senka Djaković*
3. Prof. dr. sc. *Valerije Vrček*
4. Doc. dr. sc. *Antonela Ninčević Grassino*

Datum obrane: 22. rujna 2020.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Chemistry and Biochemistry
Laboratory for Organic chemistry

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

N-FERROCENOYLATION OF C-5 URACIL DERIVATIVES

Ivana Kuzman, 1236/PI

Abstract: *Ferrocene-nucleobase conjugates are an important group of organometallic compounds whose components possess exceptional biological and electrochemical activity. Physicochemical properties of ferrocene are responsible for its stability in biological medium and non-toxicity, therefore its derivatives play an important role in medicinal chemistry and pharmacy. This graduate thesis refers to the preparation of N-ferrocenoylated C-5 uracil derivatives and the regioselectivity of their reactions. The ferrocenoylating agent in these copulations is ferrocenoyl chloride, sodium hydride or triethylamine is used as a base, and DMF or CH₃CN is used as the solvent. Product of these copulations is N1-isomer or a mixture of N1- and N1/N3-isomers, and their formation is tuned by the reaction conditions.*

Keywords: ferrocene, C-5 derivatives of uracil, N1-copulate, N1 / N3-copulate, regioselectivity

Thesis contains: 63 pages, 51 figures, 9 schemes, 3 tables, 64 references

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: *PhD. Senka Djaković, Associate professor*

Reviewers:

1. PhD. *Jasmina Lapić*, Assistant professor
2. PhD. *Senka Djaković*, Associate professor
3. PhD. *Valerije Vrček*, Full professor
4. PhD. *Antonela Ninčević Grassino*, Assistant professor

Thesis defended: 22 September 2020

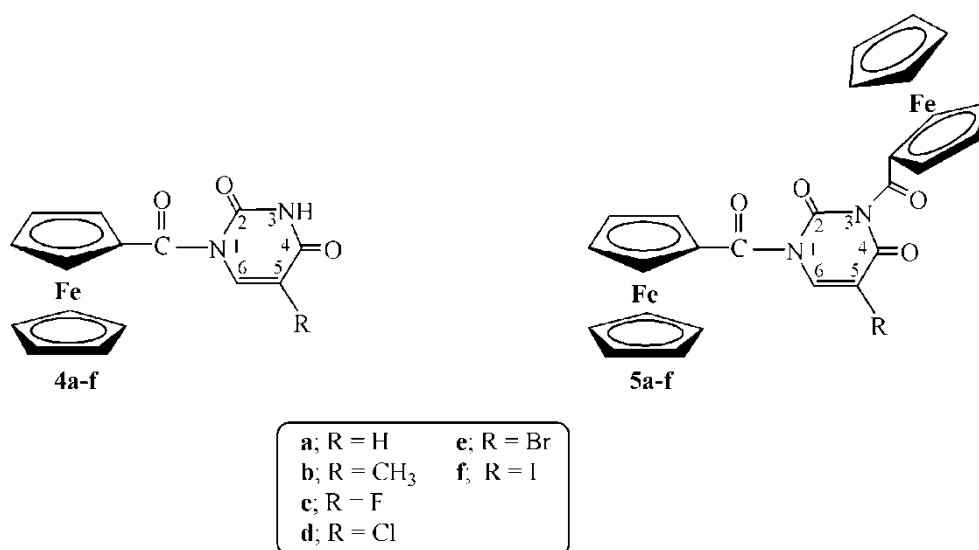
Sadržaj

1.	UVOD	1
2.	TEORIJSKI DIO.....	2
2.1.	ORGANOMETALNA KEMIJA.....	2
2.1.1.	<i>Razvoj organometalne kemija</i>	3
2.2.	FEROCEN	5
2.2.1.	<i>Ferocenski derivati s biološkim djelovanjem</i>	9
2.3.	HETEROCIKLIČKI AROMATSKI SPOJEVI	11
2.3.1.	<i>Pirimidin</i>	12
2.3.2.	<i>Kemija pirimidina</i>	14
2.4.	PIRIMIDINSKI DERIVATI S BIOLOŠKIM DJELOVANJEM.....	15
2.4.1.	<i>Uracil</i>	19
2.4.2.	<i>Timin</i>	23
3.	EKSPERIMENTALNI DIO	27
3.1.	MATERIJALI	27
3.2.	METODE RADA	28
3.3.	HEME PRIPRAVE KOPULATA FEROCENA I DERIVATA PIRIMIDINSKIH BAZA	30
3.4.	PROTOKOLI ZA PRIPRAVU SPOJEVA	32
3.4.1.	<i>2-klorbenzoil-ferocen (1).....</i>	32
3.4.2.	<i>Ferocenkarboksilna kiselina (2).....</i>	32
3.4.3.	<i>Ferocenoil klorid (3).....</i>	33
3.4.4.	<i>Ferocenoil - uracil derivati (4a-f i 5a -f)</i>	33
4.	REZULTATI I RASPRAVA.....	37
4.1.	SINTEZA I SPEKTRALNA ANALIZA PREKURSORA.....	39
4.1.1.	<i>Ferocenkarboksilna kiselina (2).....</i>	39
4.1.2.	<i>Ferocenoil klorid (3).....</i>	40
4.2.	SINTEZA I SPEKTRALNA ANALIZA BOKONJUGATA FEROCENA I DERIVATA URACILA	41
4.2.1.	<i>Reakcije kopulacije provedene postupkom A</i>	41
4.2.2.	<i>Reakcije kopulacije provedene postupkom B</i>	43
5.	ZAKLJUČCI.....	57
6.	LITERATURA	58

1. UVOD

Ovaj diplomski rad uklapa se u istraživanje na području bioorganometalnih spojeva pod naslovom: „Kvantno-kemijski dizajn, priprava i biološka svojstva organometalnih derivata nukleobaza” koje je u sklopu projekta Hrvatske zaklade za znanost, HRZZ-IP-2016-06-1137, a izvodi se u Laboratoriju za organsku kemiju Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta u Zagrebu.

Nukleozidi i njihovi analozi, među kojima i kopolati nukleobaza s ferocenskim derivatima, poznati su po širokom spektru biološkog djelovanja. Ferocen se u tim biokonjugatima veže na dušičnu bazu kao *N*-supstituent, a mjesto na kojem se veže određuje biološka svojstva samog spoja. Zahvaljujući tome, konjugati pokazuju brojna terapijska svojstva te je sve veća potreba za sintezom novih spojeva u svrhu testiranja njihovog biološkog djelovanja. Cilj ovog diplomskog rada sinteza je te spektroskopska karakterizacija kopolata ferocena i *C*-5 supstituiranih derivata uracila (Slika 1). Svrha ovog rada je ispitati utjecaj korištenja ferocenoil klorida kao acilirajućeg reagensa, natrijeva hidrida (NaH) i trietilamina [(C₂H₅)₃N] kao baza te acetonitrila (CH₃CN) i dimetilformamida (DMF) kao otapala na iskorištenje i regioselektivnost provedenih reakcija. Za praćenje tijeka reakcije koristit će se ¹H i ¹³C NMR spektroskopija, jer ona omogućuje analizu dinamike reakcije, te opisuju strukturalna svojstva produkata.

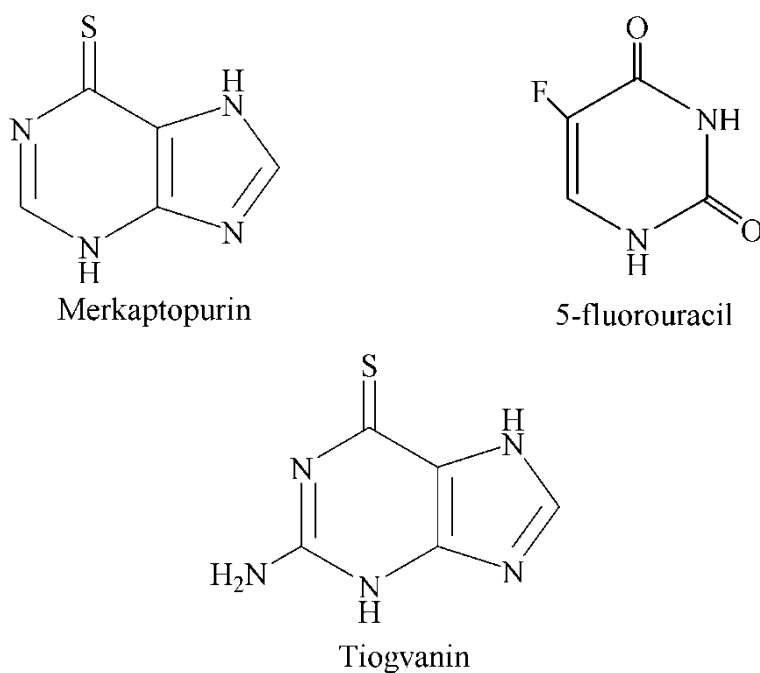


Slika 1. Biokonjugati ferocenoila i *C*-5 derivata uracila

2. TEORIJSKI DIO

2.1. ORGANOMETALNA KEMIJA

Organometalna kemija grana je kemije koja se bavi proučavanjem spojeva koji sadrže izravnu vezu metal-ugljik pri čemu ugljik potječe iz organske molekule. Nastala je na graničnom području organske i anorganske kemije, a nagli razvoj doživljava sredinom 20. stoljeća. Općenito kemičari organometalne spojeve smatraju neotpornima na djelovanje vode i zraka, međutim, mnogi od njih održivi su i u biološkim uvjetima. To je uvelike važan preduvjet za primjenu tih spojeva u farmakologiji te brojnim drugim područjima poput kemijske industrije, toksikologije te bioanalitike [1]. Zbog široke strukturne raznolikosti organometalnih spojeva u usporedbi s uobičajenim organskim spojevima, ispitana je njihova primjena kao potencijalnih lijekova [2]. Intenzivna istraživanja na području organometalne kemije tijekom 60-ih te 70-ih godina prošlog stoljeća dovela su farmaceutsko tržište do razvoja novih lijekova kao što su merkaptopurin, tiogvanin te fluorouracil (Slika 2) [3].

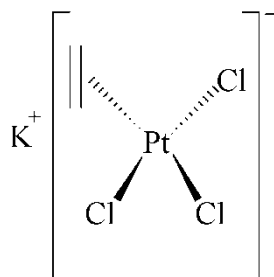


Slika 2. Kemijske strukture važnih farmaceutika [3]

2.1.1. Razvoj organometalne kemija

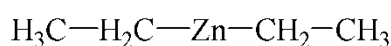
Organometalna kemija počinje se polako razvijati već 1760. godine, kada je francuski kemičar Louis Claude Cadet de Gassicourt proučavao tintu koja sadrži kobalt. Kako bi sintetizirao tintu, koristio je kobaltove soli s arsenom te je uočio tekućinu neugodna mirisa koja je sadržavala smjesu kakodil oksida i tetrametildiarsina. Budući da se ovdje radi o prvoj sintezi organometalnog spoja, kasnije je ustanovljeno da se L. C. Cadet može smatrati ocem organometalne kemije [4].

Jedan od ključnih događaja za razvoj organometalne kemije bio je otkriće prvog π -kompleksa nazvanog Zeisova sol, koji je ujedno i prvi kompleks s prijelaznim metalom (Slika 3) [4].



Slika 3. Zeisova sol [4]

Pri pokušaju pripreve i izolacije etilnog radikala, E. Frankland izolirao je organometalne spojeve dietilcink i etilcinkov jodid (Slika 4) [5].



Dietilcink



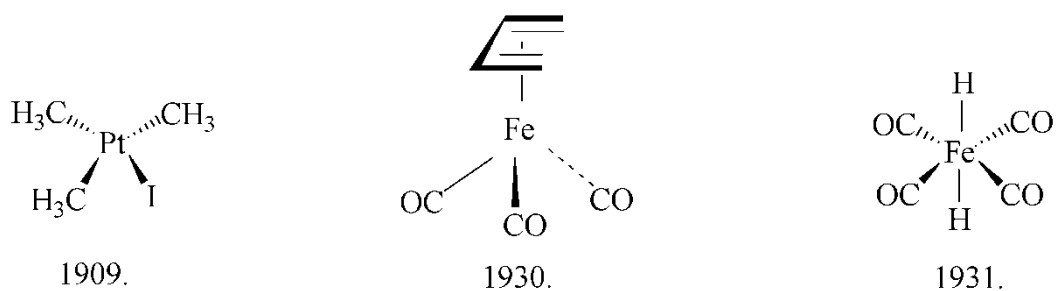
Etilcinkov jodid

Slika 4. Prvi organometalni spojevi [5]

Victor Grignard je 1912. godine dobio Nobelovu nagradu za kemiju na području organometalne kemije prijelaznih metala, odnosno za sintezu organomagnezijevih halogenida poznatih pod imenom Grignardovi reagensi (RMgX). Upotreba ovog reagensa vrlo je

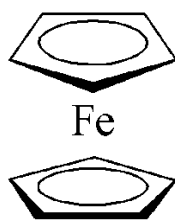
značajna u sintezi različitih organskih i organometalnih spojeva, primjerice u adicijskim reakcijama na karbonilne spojeve [6].

C. Friedel i J. Crafts 1877. godine postavili su temelje razvoja elektrofilnih aromatskih supstitucija [7]. Definirali su ulogu bezvodnog alumijeva klorida kao katalizatora za alkilaciju aromata [8] te su spomenuto katalitičko djelovanje proširili na različite organske reakcije. Na temelju tih istraživanja objašnjene su reakcije alkil i acil halogenida i nezasićenih spojeva s aromatskim i alifatskim ugljikovodicima; reakcije kiselih anhidrida s aromatskim ugljikovodicima; reakcije kisika, sumpora, sumporovog dioksida, ugljikovog dioksida i fosgena s aromatskim ugljikovodicima; pucanje alifatskih i aromatskih ugljikovodika te polimerizacija nezasićenih ugljikovodika [9]. Daljnji razvoj organometalne kemije obilježila je sinteza novih kompleksa metala i organskog spoja. Primjerice, 1909. godine sintetiziran je prvi σ -alkil-metal kompleks, dok su 1930.-ih godina pripremljeni prvi dien-kompleksi te prvi metal-hidrid kompleksi (Slika 5) [4].



Slika 5. Prvi kompleksi metala i organskog spoja [4]

Organometalna kemija doživljava nagli razvoj sredinom 20. stoljeća prvenstveno otkrićem postojanja i strukture ferocena (Slika 6) [10]. Otkrićem ferocena, poznatog kao organometalnog spoja iznimne stabilnosti, otvorilo se novo područje istraživanja [11]. Iznimna stabilnost te fizikalna i kemijska svojstva ferocena zadužena su za njegovu primjenu u različitim područjima znanosti, a time i za daljnji razvoj organometalne kemije. Primjena ferocena vidljiva je u području katalize, znanosti o materijalima, medicinske kemije i dijagnostike [12].

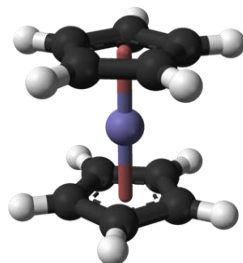


Slika 6. Ferocen [10]

Naglom razvoju organometalne kemije u industrijskoj primjeni doprinijela su istraživanja dvojice znanstvenika, K. Zieglera i G. Natta, dobitnika Nobelove nagrade za kemiju. Karl Ziegler razvio je prve organometalne katalizatore na temelju titanijevog tetraklorida i dietilaluminijevog klorida te ih je upotrijebio za polimerizaciju etilena pod normalnim tlakom u visokomolekularni polietilen (PE) linearnih makromolekula. Poboljšanjem tog katalitičkog sustava Giulio Natta uspješno je proveo polimerizaciju propilena u izotaktni propilen, a zatim i polimerizaciju drugih monomera kao što su α -alken te stiren. Njihova otkrića zajedno su poznata pod nazivom Ziegler-Nattini katalizatori te Ziegler-Nattine stereospecifične polimerizacije [13].

2.2. FEROCEN

Ferocen je najpoznatiji organometalni spoj, poznat po strukturi „sendviča“, u kojoj je centralni atom željeza u molekuli ferocena okružen s dva ciklopentadienilna prstena (Slika 7). Centralni atom željeza najčešće je u +2 oksidacijskom stanju, dok se svaki ciklopentadienilni prsten sastoji od 6π -elektrona, što uvelike doprinosi stabilnosti ferocena [14].



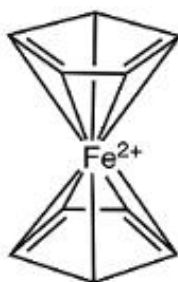
Slika 7. "Sendvič" struktura ferocena [15]

Prikazuje se kemijskom formulom $\text{Fe}(\text{C}_5\text{H}_5)_2$ te pripada skupini metalocena. Netopljiv je u vodi, a topljiv u većini organskih otapala, netoksičan i zapaljiv, a javlja se u obliku narančastih kristala ili praha karakterističnog mirisa sličnog kamforu (Slika 8). Molekulska masa ferocena iznosi $186,035 \text{ g mol}^{-1}$, temperatura vrelišta $249 \text{ }^\circ\text{C}$ ($522,15 \text{ K}$), a temperatura tališta $172,5 \text{ }^\circ\text{C}$ ($445,65 \text{ K}$) [14].



Slika 8. Narančasti kristali ferocena

Prvi put je sintetiziran sredinom 20. stoljeća, 1951. godine, reakcijom natrijevog ciklopentadienida sa željezovim (II) kloridom od strane dvojice kemičara P. L. Pausona i T. J. Kellyja [16]. Strukturno je okarakteriziran 1952. godine, a prihvaćenu strukturu ferocena predložili su R. B. Woodward i G. Wilkinson (Slika 9) [17].

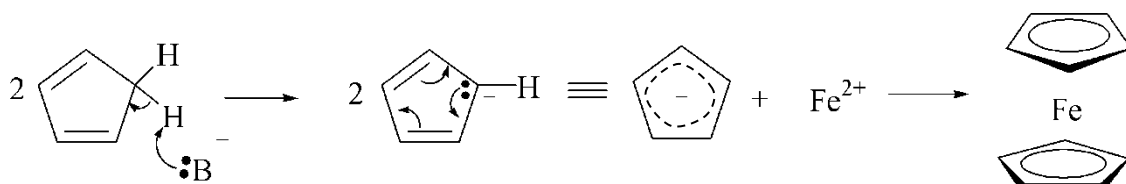


Slika 9. Predložena kemijska struktura ferocena od strane Woodwarda i Wilkinsona [17]

Ferocen je vrlo fleksibilna molekula zbog mogućnosti rotacije veze između ciklopentadienilnih prstenova i atoma željeza. To je posebno uočljivo u heteroanularno

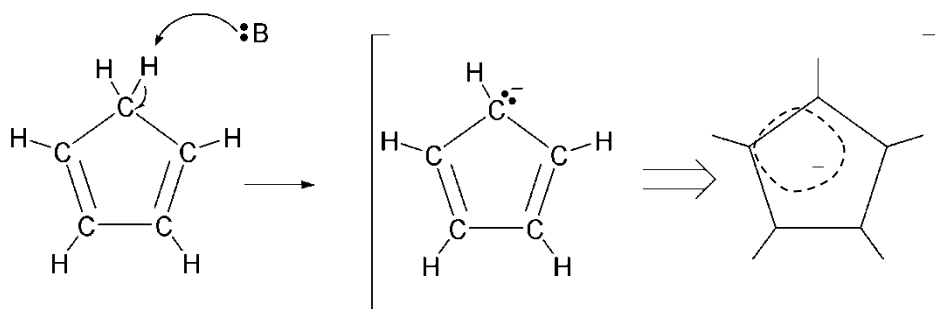
premoštenim sustavima koji se nazivaju ferocenofani zato što u njima može doći do znatne „iskrivljenosti“ ferocenske jezgre [18]. Za razliku od ferocena, u ferocenofanima ne postoji slobodna rotacija Cp-prstenova, a ovisno o duljini i zasićenosti mostova te njegovim članovima (C, heteroatomi, metali) javljaju se konformeri karakterizirani različitim diedarskim kutovima [1].

Ferocen se može pripraviti na nekoliko načina: reakcijom željezovog klorida s ciklopentadienilmagnezijevim bromidom, izravnom interakcijom ciklopentadiena sa željezovim karbonilom, reakcijom željezovog oksida i ciklopentadiena u prisutnosti kromovog oksida, a najčešće se koristi izravna termička reakcija ciklopentadiena s metalom željeza (Shema 1) [19].



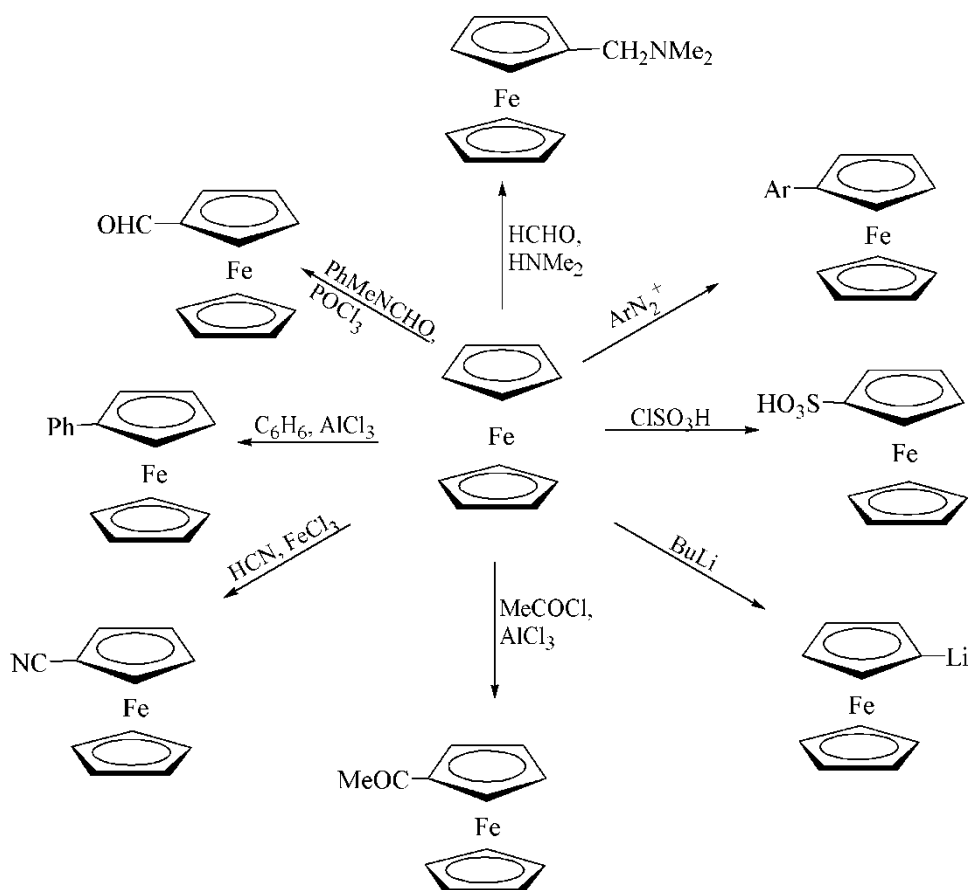
Shema 1. Sinteza ferocena [19]

Ferocen u mnogim reakcijama pokazuje analogiju s benzenom zbog toga što obje molekule sudjeluju u supstitucijskim reakcijama poput Friedel-Crafts-ovog aciliranja [20]. Aromatičnost ferocena važno je svojstvo za sintezu derivata ferocena mehanizmima elektrofilne supstitucije [21]. Kada se ciklopentadienilni prsten deprotonira jakom bazom, proton (H^+) odlazi s jedinog sp^3 -hibridiziranog ugljika. Tada se slobodni elektronski par pridružuje elektronima u prstenu koji postaje aromatičan (Shema 2). Ovo je razlog zašto ferocen podliježe reakcijama elektrofilne supstitucije [20].



Shema 2. Prikaz aromatičnosti ferocena [20]

Ferocen je stabilan pri različitim reakcijskim uvjetima što omogućuje, ne samo njegovo sudjelovanje u Friedel-Crafts-ovim reakcijama, već i sudjelovanje u brojnim drugim organskim reakcijama prikazanim na shemi 3. [22].

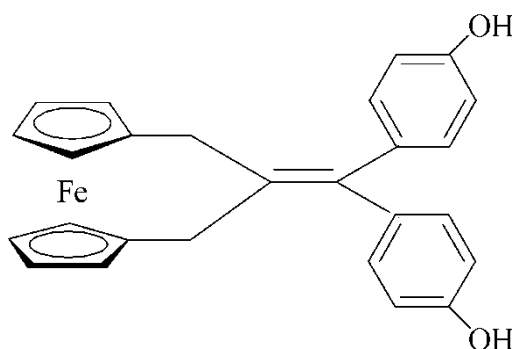


Shema 3. Prikaz organskih reakcija u kojima sudjeluje ferocen [22]

2.2.1. Ferocenski derivati s biološkim djelovanjem

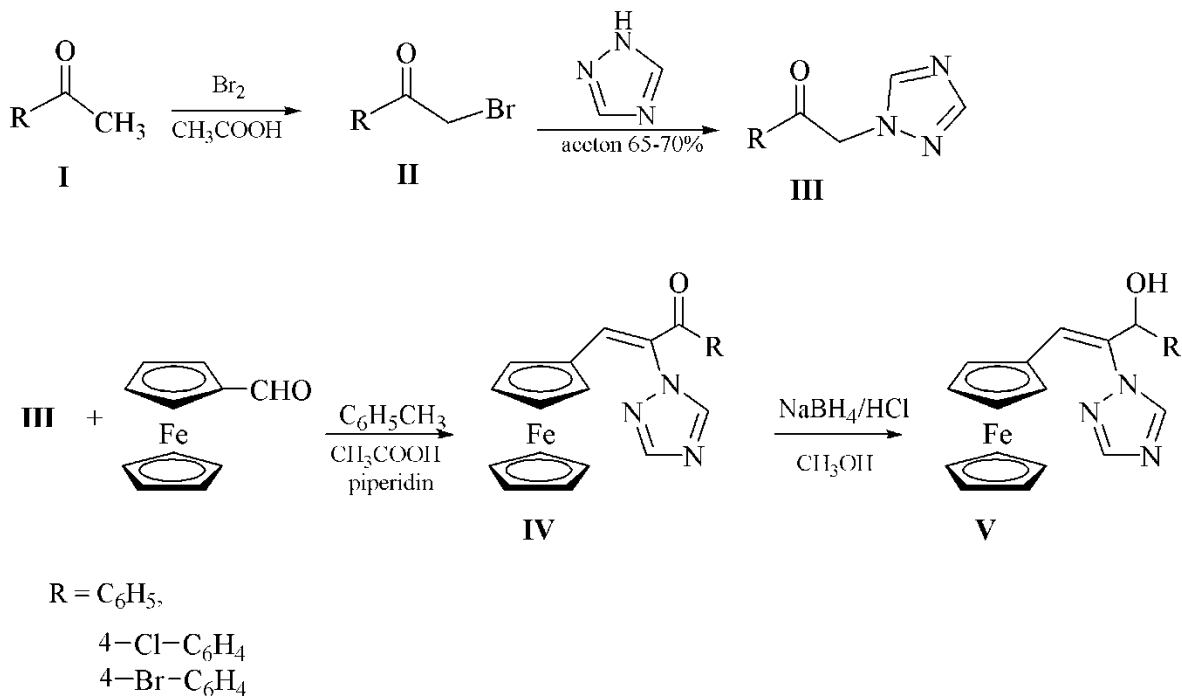
Ferocenski derivati zahvaljujući svojoj strukturi i stabilnosti u biološkim uvjetima posjeduju brojna biološka djelovanja od kojih se najviše istražuje antitumorsko djelovanje. Međutim, uočeno je da konjugati ferocena posjeduju i antibakterijsko, antivirusno te antifungalno djelovanje [23]. Značajni ferocenski derivati s brojnim terapijskim djelovanjem su ferocenski derivati purinskih i pirimidinskih baza, derivati etorfina, derivati dihidropirazola, derivati herbicida, ferocenski konjugati s manozom kao inhibitori hemaglutinacije *E.coli* i brojni drugi. Derivati ferocena i nukleobaza često se pripremaju u svrhu testiranja njihova antivirusnog djelovanja, posebice na HIV-1, hepatitis B te virus žute groznice [24]. Ferocenski derivati etorfina inhibiraju proliferaciju stanica karcinoma dojke, dok su derivati dihidropirazola poznati po antimikrobnoj, antikancerogenoj te antidepresivnoj aktivnosti [25]. *N*-arilaminoferocenoilmetilfosfonati posjeduju antivirusna i antifungalna svojstva te, ovisno o primjenjenoj dozi, djeluju umjereno toksično na razne biljke i korove [26].

Na temelju provedenih dosadašnjih istraživanja antitumorskog djelovanja ferocenskih derivata, dokazano je da 3-ferocenofan fenol pokazuje 7 puta veći efekt djelovanja na neke vrste tumora naspram necikličkih spojeva (Slika 10). Posjeduje snažno antiproliferativno djelovanje na MCF-7 i MDA-MB-231 stanične linije hormonski neovisnog karcinoma dojke te MC-3 stanične linije karcinoma prostate [27].



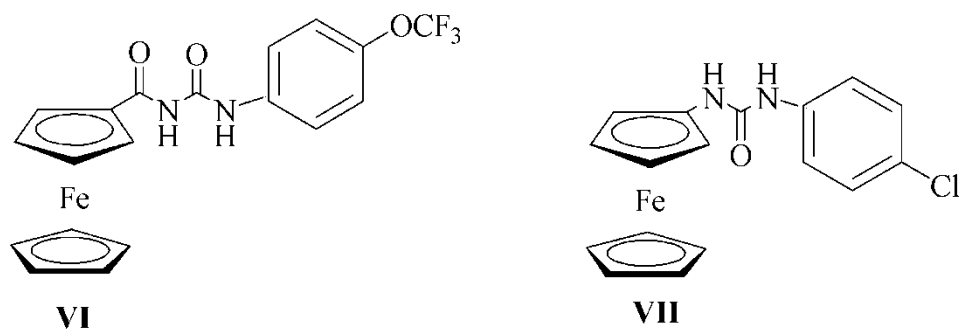
Slika 10. 3-ferocenofan fenol [27]

U svrhu biološkog testiranja sintetizirani su derivati 1*H*-1,2,4-triazola (Shema 4). Testiranja su pokazala da većina derivata pokazuje nisku antifungalnu aktivnost, dok derivat **V** 100 % inhibira rast mikroorganizama *P. oryzae*, *C. cucumerinum* te *S. sclerotiorum* [28].



Shema 4. Sinteza derivata 1-*H*-1,2,4-triazola [28]

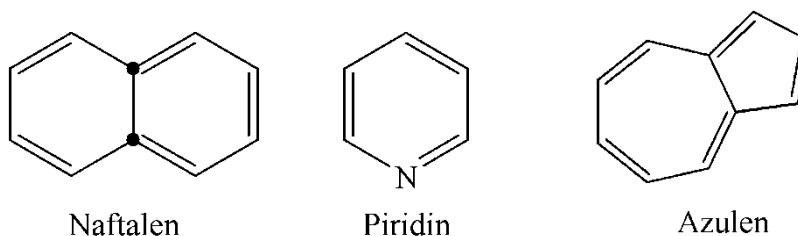
Derivat 3-ferocenil-1-(4-trifluorometoksifenil)urea (**VI**) pokazuje *in vitro* antitumorsku aktivnost na stanice karcinoma cerviksa, dok derivat 1-(4-klorofenil)-3-ferocenilurea (**VII**) djeluje kao anti-HIV agens (Slika 11) [28].



Slika 11. Derivati s antitumorskim i anti-HIV djelovanjem [28]

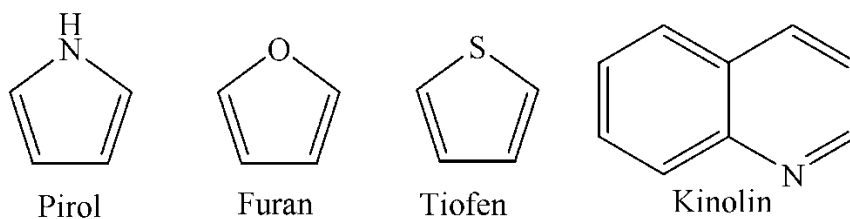
2.3. HETEROCIKLIČKI AROMATSKI SPOJEVI

Aromatski ugljikovodici posebna su skupina cikličkih spojeva koji obično imaju šesteročlane prstene i prikazuju se naizmjeničnim jednostrukim i dvostrukim vezama. Kemijska svojstva aromatskih spojeva posljedica su posebnog načina konjugacije, poznatijeg kao aromatičnost [29]. Aromatičnost je svojstvo nekih cikličkih konjugiranih poliena izražena iznimnom kemijskom stabilnošću u odnosu na necikličke spojeve, a posljedica je delokalizacije elektrona iz dvostrukih veza preko cijelog prstena. Aromatski spojevi mogu biti benzenoidni (benzen, naftalen, fenantren), heterociklički (pirol, piridin, tiofen) te nebenzoidni (ferocen, azulen) (Slika 12) [30].



Slika 12. Najpoznatiji aromatski spojevi [30]

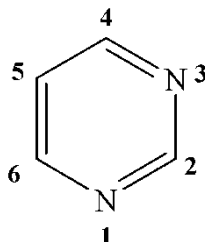
Heterociklički aromatski spojevi organski su ciklički spojevi koji u prstenu osim ugljikova atoma imaju i jedan ili više atoma drugih elemenata. Najčešće se dijele na peteročlane, šesteročlane i kondenzirane heteroatomske spojeve. Tipični predstavnici heteroatomskih spojeva s peteročlanim prstenom su pirol, furan i tiofen, dok je najvažniji predstavnik kondenziranih heterocikličkih aromatskih spojeva kinolin (Slika 13). Najpoznatiji predstavnik heteroatomskih šesteročlanih aromatskih spojeva je piridin koji je prekursor za sintezu vrlo važnih derivata kao što je pirimidin [31].



Slika 13. Peteročlani i kondenzirani heteroatomske spojevi [31]

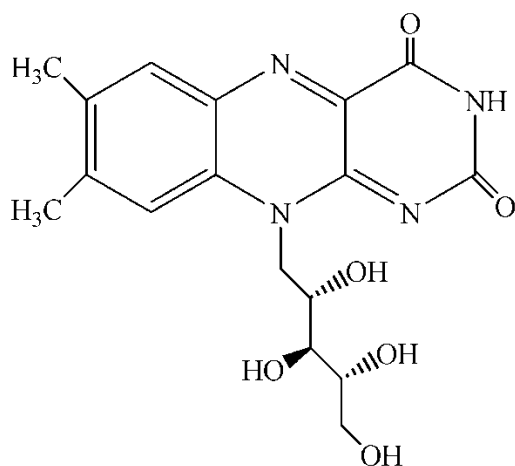
2.3.1. Pirimidin

Pirimidin je heterociklički aromatski organski spoj, a njegova osnovna struktura sastoji se od četiri atoma ugljika i dva atoma dušika koji se nalaze na položaju 1 i 3 unutar šesteročlanog prstena (Slika 14). Zahvaljujući svojoj strukturi, pirimidin se može ponašati i kao proton donor i kao proton akceptor, a karakterizira ga i aromatičnost kao posljedica prisustva konjugiranih veza [30].



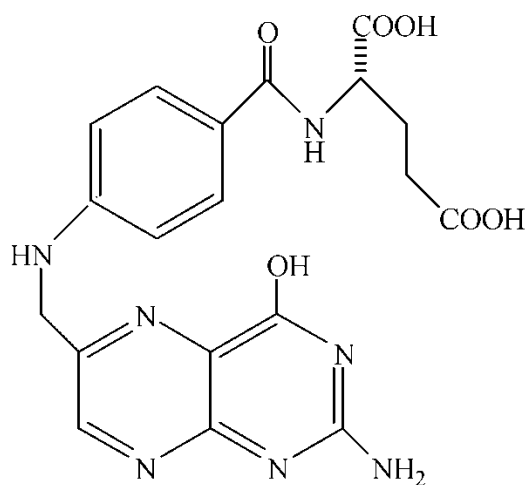
Slika 14. Pirimidin [30]

Pirimidinska struktura prisutna je prvenstveno u nukleinskim kiselinama, međutim, osnova je i brojnih drugih spojeva poput vitamina B skupine kao što su riboflavin (B2) te folna kiselina (B9). Važnost riboflavina, poznatijeg kao vitamina B2, proizlazi iz uloge stvaranja energije pomoću metabolizma ugljikohidrata, proteina i masti (Slika 15) [32].



Slika 15. Kemijska struktura vitamina B2 [33]

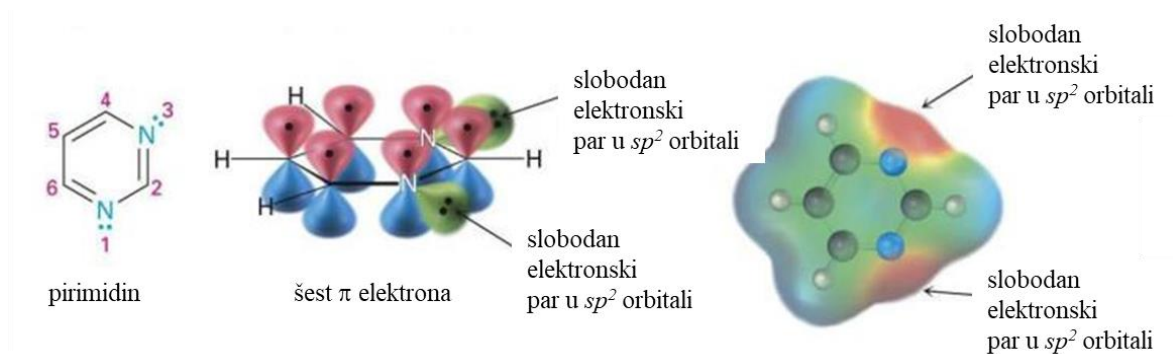
Folna kiselina, poznatija kao vitamin B9, nužna je za diobu stanica, posebno u procesima diferencijacije te rasta stanica embrija (Slika 16) [34].



Slika 16. Kemijska struktura vitamina B9 [34]

2.3.2. Kemija pirimidina

Kemijska svojstva pirimidina te njegovih derivata posljedica su njihove strukture i posebnog načina njihove konjugacije, odnosno aromatičnosti. Budući da pirimidin zadovoljava sve uvjete aromatičnosti poput prstenaste strukture, planarnosti te Hückelovog pravila, pripada skupini heterocikličkih aromatskih spojeva. Svaki ugljikov atom unutar strukture je sp^2 -hibridiziran, vezni kut iznosi 120° , a π -orbitale zauzete su sa 6 delokaliziranih elektrona, što je posljedica preklapanja spomenutih orbitala (Slika 17) [35].



Slika 17. Pirimidin [35]

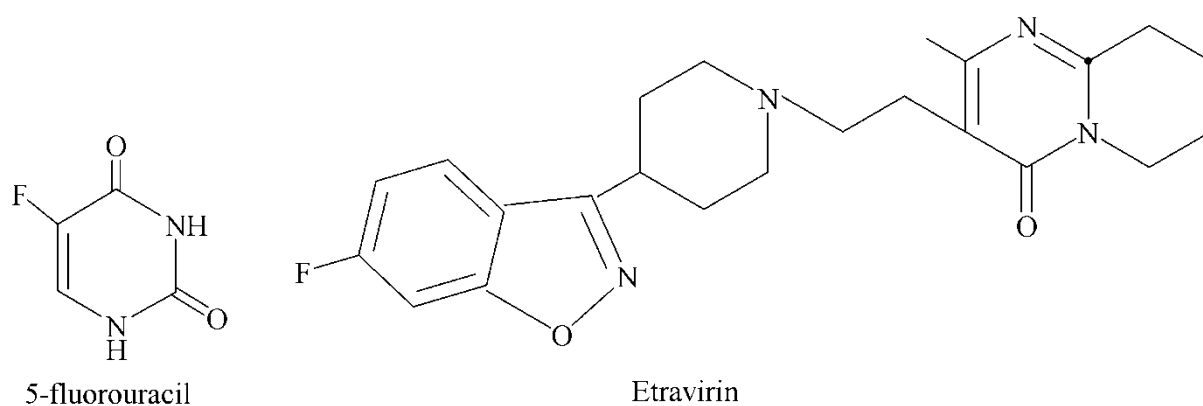
Oba dušikova atoma pirimidina su slična dušikovu atomu u piridinu. Oba su u ravnini aromatskog prstena i imaju nevezni par elektrona u sp^2 -hibridnoj orbitali. Ovi nevezni elektronski parovi nisu bitni za aromatski skelet, pa je pirimidin bazičan kao i piridin. Ono što je još karakteristično za ove spojeve je da svih 6 π -elektrona popunjava vezne molekulske orbitale [35]. Kao posljedica delokalizacije elektrona dušikova atoma u prstenu na položaju *N*-3, reaktivnost ugljikovih atoma na 2-, 4- i 6- položaju pirimidina je veća [36].

Kemijske reakcije karakteristične za pirimidin su, prvenstveno, reakcije elektrofilne aromatske supstitucije te nukleofilne aromatske supstitucije. Pirimidin je slabo bazičnog karaktera, a zbog prisutnosti dušikovih atoma smanjuje se energija π -elektrona u prstenu što za posljedicu ima otežanu elektrofilnu aromatsku supstituciju, ali olakšanu nukleofilnu aromatsku supstituciju. Zato se reakcije elektrofilne supstitucije puno teže provode na pirimidinu nego na piridinu, a to je vidljivo i time što se molekula mora aktivirati kako bi stupila u kemijsku reakciju [37].

Na pirimidinu se najčešće provode reakcije halogeniranja, nitriranja, sulfoniranja te Friedel-Crafts-ovog aciliranja. Friedel-Crafts-ove reakcije alkiliranja nisu česte u kemiji pirimidina, kao što su kod benzena. Direktno elektrofilno alkiliranje može se provesti na C-5 položaju pirimidina ako ta molekula pirimidina sadrži najmanje dvije snažne elektrondonorske skupine. Pri tome se α -halogenketoni te α -bromokarboksilni ester mogu koristiti za izravno alkiliranje 6-aminouracila [38].

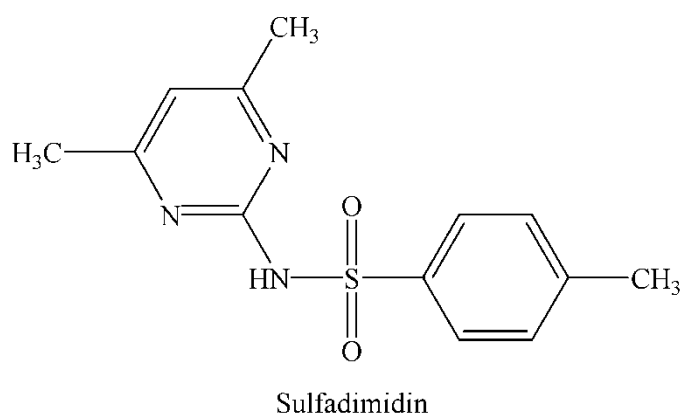
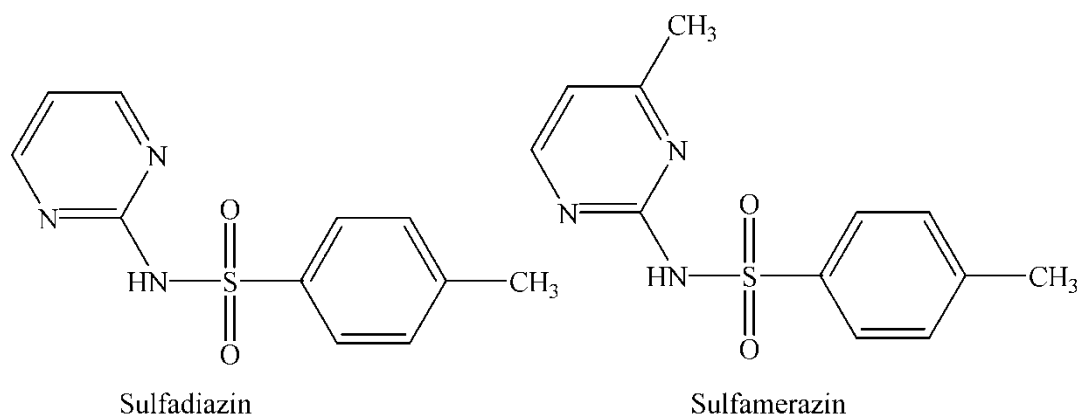
2.4. PIRIMIDINSKI DERIVATI S BIOLOŠKIM DJELOVANJEM

Derivati pirimidina predstavljaju skupinu spojeva koji imaju širok spektar bioloških aktivnosti poput antivirusne, antibakterijske, antitumorske aktivnosti [39] i djeluju kao antikonvulzijski, antidijabetički, antiupalni, antimalarijski te antiparkinson agensi. Pirimidinska jezgra osnova je vrlo važnih lijekova poput 5-fluorouracila, Etravirina, Risperidona, Avanafila te Rosuvastatina (Slika 18) [40].



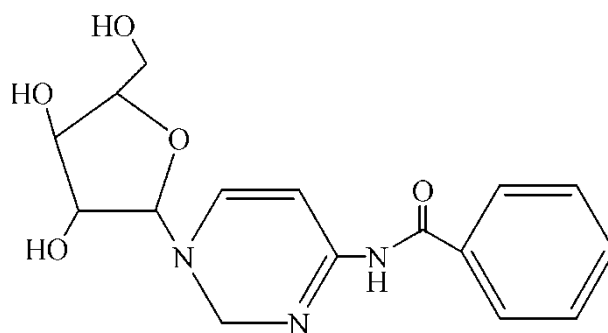
Slika 18. Pirimidinski derivati kao lijekovi [40]

Sulfonamidi derivati su pirimidina koji se primjenjuju u medicini kao antibakterijski agensi od kojih su najznačajniji sulfadiazin, sulfamerazin te sulfadimidin, koji se koriste za liječenje akutnih bakterijskih infekcija, cerebrospinalnog meningitisa te kod alergija na penicilin (Slika 19) [39].



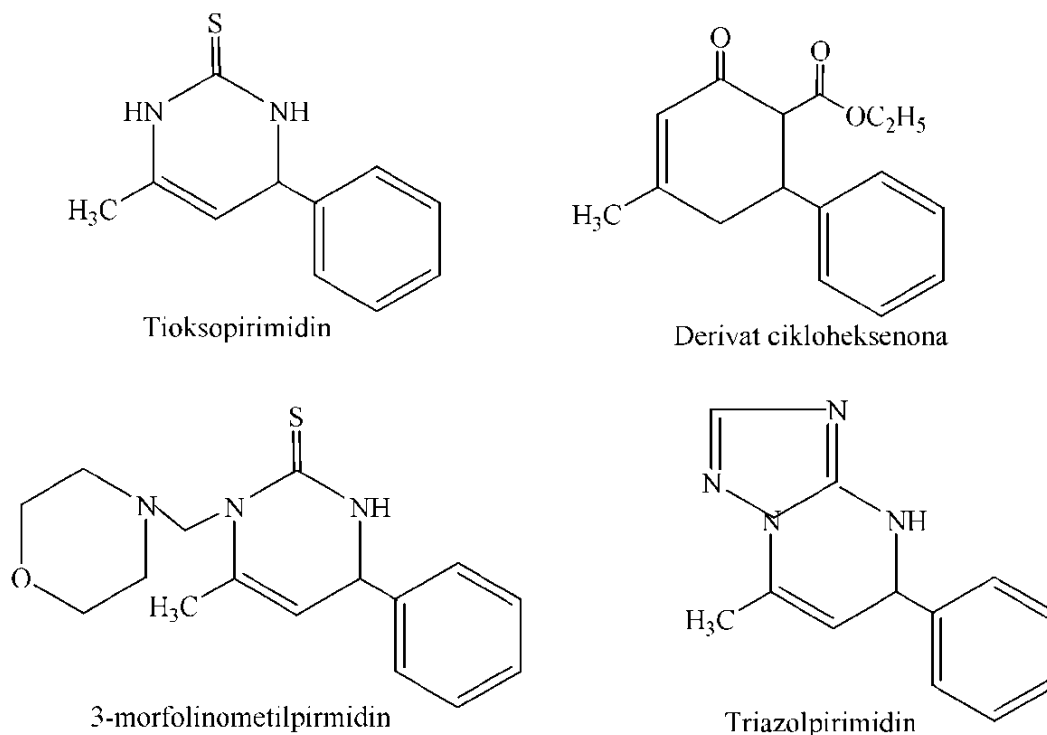
Slika 19. Sulfonamidi [39]

Spojevi koji sadrže pirimidinsku jezgru sve se češće koriste kao antibiotici. Najjednostavniji antibiotik od svih pirimidina je Bacimetrin (5-hidroksi-2-metoksi-pirimidin-4-amin), koji djeluje protiv stafilokoknih infekcija (Slika 20). Gourgetin je trisupstituirani pirimidinski antibiotik te citozinski derivat koji je djelotvoran protiv mikobakterija, nekih vrsta Gram-pozitivnih te Gram-negativnih bakterija [39].



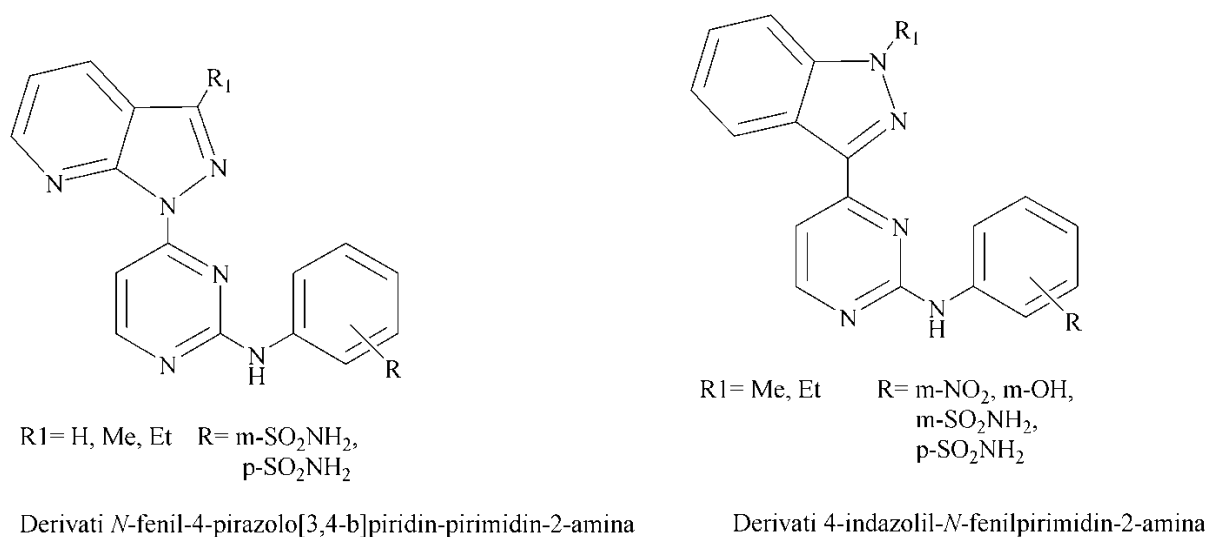
Slika 20. Bacimetrin [39]

Četiri novosintetizirana pirimidinska spoja, tioksopirimidin, derivat cikloheksenona, 3-morfolinometilpirimidin i triazolpirimidin, pokazuju potencijal za liječenje epilepsije. Antikonvulzivni potencijal faktor je prema kojem se određuje antikonvulzivna aktivnost neke tvari, odnosno potencijal te tvari za korištenje kao lijeka za epilepsiju. Potencijal korištenja neke tvari kao lijeka veći je što pokazuje veći antikonvulzivni potencijal. Novosintetizirani pirimidinski spojevi prikazani na slici 21. pokazuju antikonvulzivnu aktivnost u rangu s aktivnošću klasičnog lijeka za epilepsiju, karbamazepina, čiji antikonvulzivni potencijal iznosi 1. Jedan od potencijalnih pirimidinskih antikonvulziva je tioksopirimidin, čiji antikonvulzivni potencijal iznosi 1, dok je drugi derivat cikloheksenona, čiji potencijal iznosi 0.68. Antikonvulzivnu aktivnost veću od karbamazepina posjeduju i 3-morfolinometilpirimidin te triazolpirimidin, čiji potencijali iznosi više od 2 [41].



Slika 21. Spojevi s antikonvulzivnom aktivnošću [41]

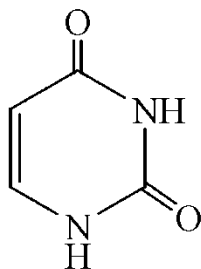
Novosintetizirani derivati 4-indazolil-*N*-fenilpirimidin-2-amina i *N*-fenil-4-pirazolo[3,4-*b*]piridin-pirimidin-2-amina pokazuju antiproliferativnu aktivnost na stanične linije HCT-116 humanog karcinoma debelog crijeva (Slika 22) [42].



Slika 22. Konjugati s antiproliferativnom aktivnošću [42]

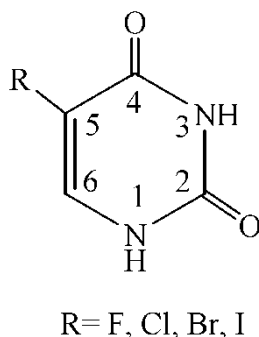
2.4.1. Uracil

Uracil je pirimidinski derivat prisutan u molekuli RNA (Slika 23), gdje se veže za adenin s dvije vodikove veze. DNA molekula umjesto uracila sadrži timin, koji za razliku od uracila sadrži metilnu skupinu na položaju C-5, pa se uracil može smatrati demetiliranim oblikom timina [43].



Slika 23. Kemijska struktura uracila [43]

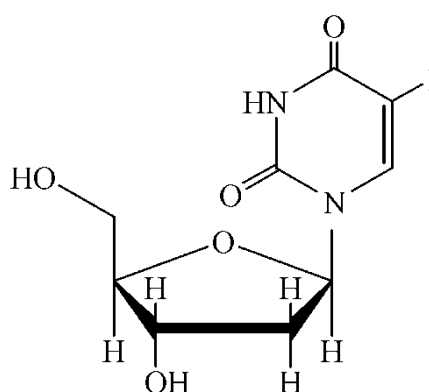
Derivati uracila imaju brojna funkcionalna svojstva te su vrlo važni kao potencijali lijekovi širokog spektra biološke aktivnosti i sintetske dostupnosti. Istraživanja uracilnih derivata kao biološki aktivnih agenasa su povezana s modifikacijama supstituenata na N1, N3, C5 i C6 pozicijama pirimidinskog prstena [44]. Uracilni analozi s halogenim supstituentom na C5-poziciji (Slika 24) predstavljaju važnu skupinu spojeva s obzirom na svoja mutagena svojstva [45]. Takvi analozi prvi puta su sintetizirani 1950-ih godina kao potencijalni antitumorski agensi nakon otkrića da neki tumori preferiraju inkorporiranje uracila umjesto timina u DNA [46].



Slika 24. Uracilni analozi s halogenim supstituentom na C5-poziciji [45]

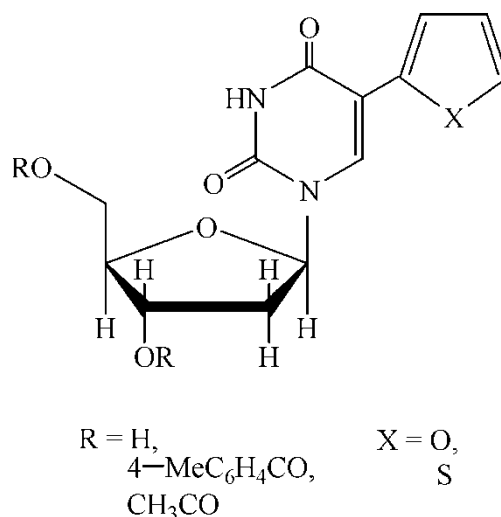
Jedan od najpoznatijih antitumorskih spojeva uracila je 5-fluorouracil [44], poznatiji pod nazivom Adrucil, koji se od kraja prošlog stoljeća koristi se kao djelotvorni kemoterapeutik. 5-fluorouracil inhibira *timidilat sintetazu* i stvaranje deoksimidin trifosfata, jednog od četiri potrebna prethodnika sinteze DNA, što uzrokuje smrt svih stanica koje se ubrzano dijele [47]. Adrucil se ponajviše koristi u liječenju tumora crijeva, dojke, gastrointestinalnih i neuroendokrinih vrsta tumora [48].

Otkrićem antivirusnog djelovanja 5-jod-2'-deoksiuridina u slučaju *Herpes simplex* i *Varicella zoster* početak je istraživanja antivirusnog djelovanja derivata uracila (Slika 25) [49].



Slika 25. Kemijska struktura 5-jod-2'-deoksiuridina [49]

Nukleozidi i nukleotidi koji u strukturi sadrže uracil, kao što su derivati 5-dien-2-il-deoksiuridina i 5-furan-2-il-2'-deoksiuridina, posjeduju antivirusno djelovanje (Slika 26) [44]. Njihovo antivirusno djelovanje uključuje inhibiciju širenja virusa te su vrlo djelotvorni protiv virusa HIV, hepatitisa B i C, herpesa te njima sličnih virusa [50].



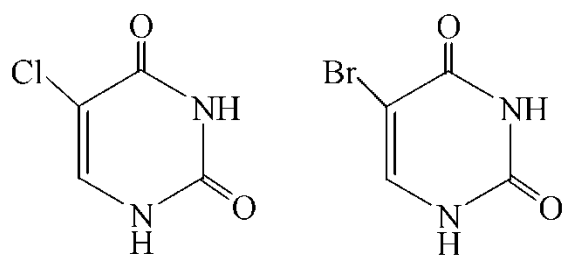
Slika 26. Derivati deoksiuridina s antivirusnim djelovanjem [44]

Ferocenski derivati timina i uracila imaju jako antiproliferativno djelovanje na stanične linije MCF-7 hormonski ovisnog karcinoma dojke te na HT-29 stanične linije karcinoma debelog crijeva [51].

Biokonjugati ferocena i rutenocena te ureilenske podjedinice posjeduju antibakterijsku aktivnost na rast bakterije *Staphylococcus aureus*. Njihova antibakterijska aktivnost vidljiva je smanjenjem vrijednosti minimalne inhibicijske koncentracije, vrijednosti kojom se izražava potrebna doza antibiotika s obzirom na inhibiciju rasta mikroorganizama, a samim time i odgodom rasta bakterije za 4-5 sati [52].

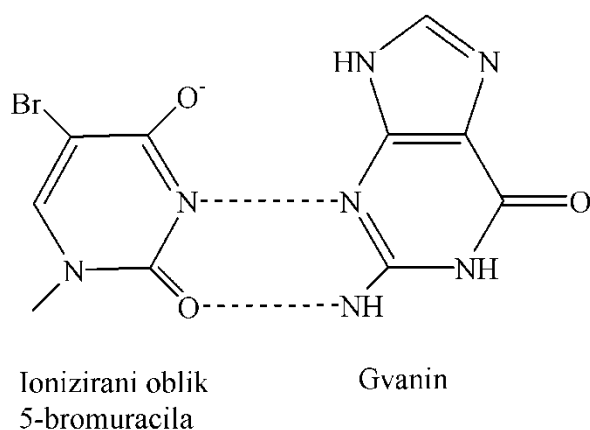
Jedan od najvećih problema uracila jest njegova toksičnost za zdrave stanice, stoga se pristupilo sintezi modificiranih derivata uracila poput ferocenskih derivata uracila u svrhu poboljšanja njihovih svojstava [50].

In vitro i *in vivo* studije pokazale su da se 5-klorouracil (5-CIU) i 5-bromuracil (5-BrU) (Slika 27) mogu naći u ljudskom tkivu tijekom upalnih procesa kao rezultat aktivnosti enzima mijeloperoksidaze i eozinofilne peroksidaze. Zbog toga ovi uracilni derivati pokazuju mutagene i citotoksične učinke [53].



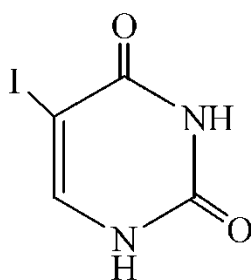
Slika 27. Strukture 5-klorouracila te 5-bromuracila [53]

Tijekom kronične upale, klorirani nukleozidi mogu biti generirani i inkorporirani u DNA proliferiranih tkiva što može dovesti do akumulacije kloriranih baza prisutnih u DNA. Akumulacija 5-CIU u DNA inducira izmjenu sestrinske kromatide i mutacije. Prema tome, akumulacija modificiranih baza uzrokovana kroničnom upalom može biti važna u razvoju raka [54]. Prisutnost atoma broma na 5-položaju baze značajno mijenja distribuciju elektrona u prstenu baze, a njegova mutagenska aktivnost bazira se na enolizaciji i ionizaciji. Mutacije su rezultat grešaka u sparivanju baza tijekom DNA duplikacije, a greške su posljedica tautomerizacije. 5-BrU postoji u tri tautomerna oblika koja imaju drugačija svojstva sparivanja. Keto oblik je komplementaran s adeninom pa može biti inkorporiran u DNA. Enolni i ionizirani oblik su komplementarni gvaninu (Slika 28). 5-BrU uzrokuje tranziciju gvanin (G) – citozin (C) → adenin (A) – timin (T) ili adenin (A) – timin (T) → gvanin (G) – citozin (C) tranziciju u tijeku replikacije, ovisno je li 5-BrU enoliziran ili ioniziran unutar DNA molekule [55].



Slika 28. Komplementarnost ioniziranog oblika 5-bromuracila s gvaninom [55]

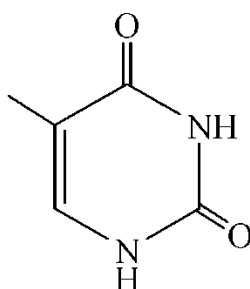
5-jodouracil (5-IU) jedan je od važnih farmaceutskih intermedijera, koji su korišteni kako bi se razvili antikancerogeni, antimikrobni i antiviralni lijekovi (Slika 29). Pokazalo se da ima letalne i mutagenske učinke na bakteriofag T4 [56]. 5-jodouracil (5-IU) može se integrirati u DNA i djeluje kao UV osjetljivi kromofor prikladan za ispitivanje strukture DNA i interakcija DNA proteina na temelju fotokemijskih reakcija [57].



Slika 29. Kemijska struktura 5-jodouracila [57]

2.4.2. *Timin*

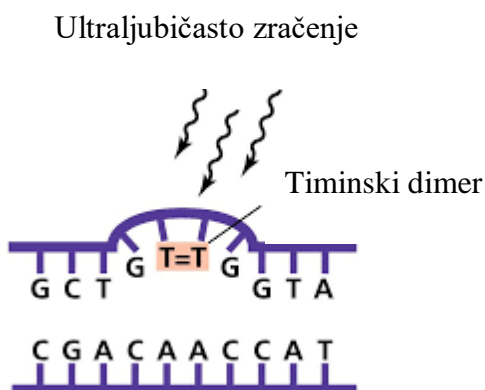
Timin je pirimidinski derivat te jedna od baza prisutnih u DNA molekuli gdje se veže za adenin s dvije vodikove veze. Timin je zapravo uracil koji na C5 položaju sadrži kovalentno vezanu metilnu skupinu, stoga se može reći da je metilirani oblik uracila, odnosno 5-metiluracil (Slika 30) [44].



Slika 30. Kemijska struktura timina [44]

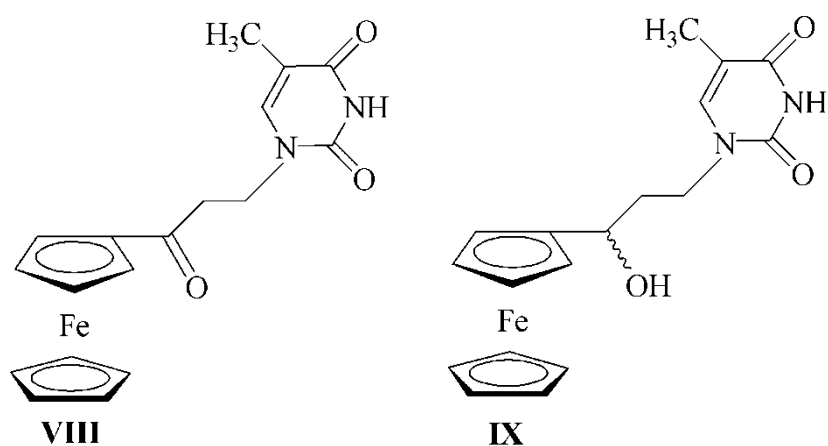
Ultraljubičasto zračenje uzrokuje oštećenje molekule DNA budući da nukleobaze apsorbiraju fotone (260 nm) te to dovodi do stvaranja timinskih dimera, odnosno kovalentnog

povezivanja susjednih pirimidina koji se nalaze u istom lancu (Slika 31). Stvaranje dimera negativno utječe na strukturu DNA, otežava njezinu replikaciju, narušava komplementarno sparivanje nukleobaza i utječe na vezanje proteina na molekulu DNA [58].



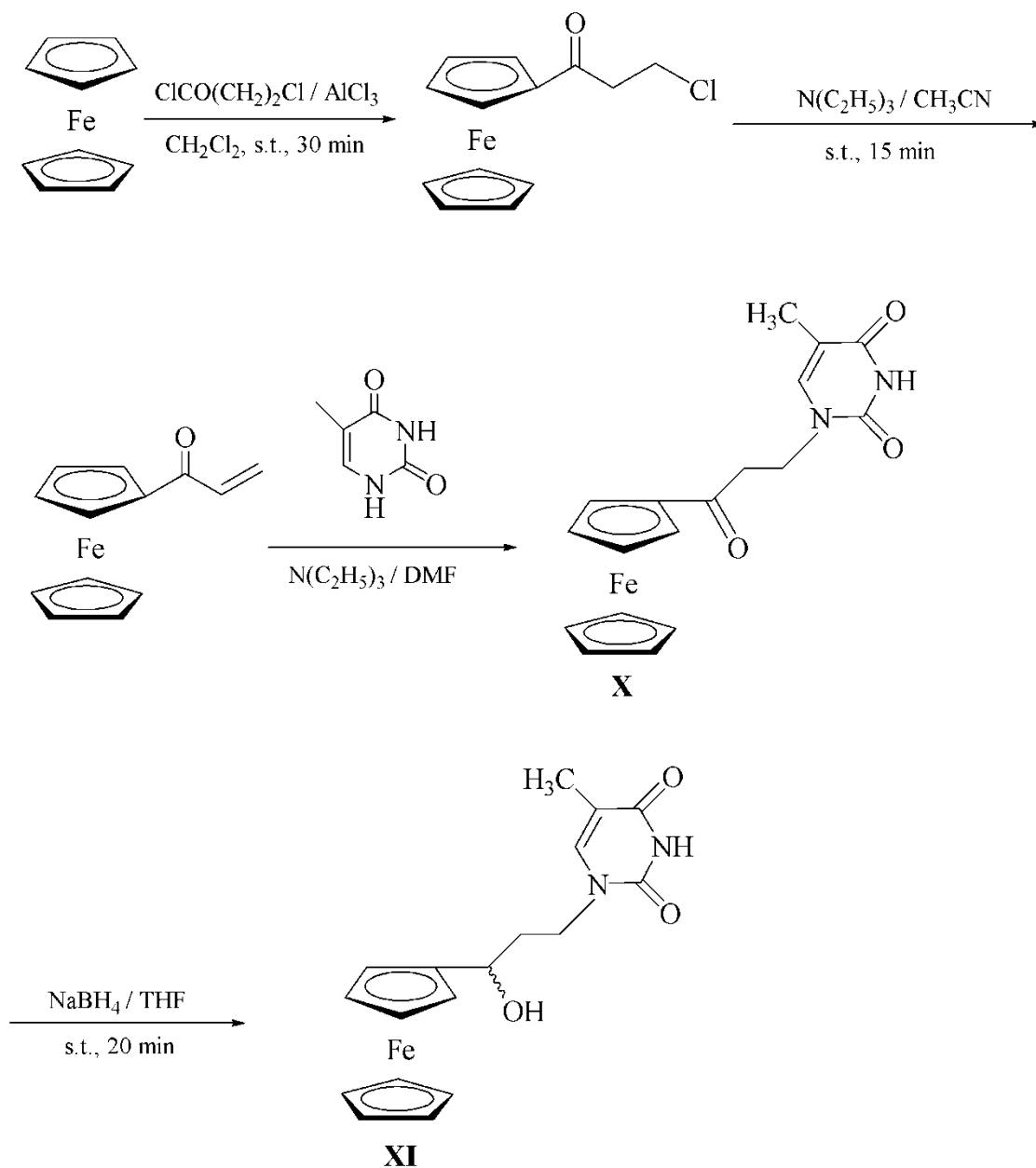
Slika 31. Stvaranje timinskih dimera [58]

Poput uracila, timin tvori brojne derivate koji imaju razna funkcionalna svojstva i važni su kao potencijalni lijekovi u medicini i farmaciji. Upravo radi istraživanja njihovih funkcionalnih svojstava, sintetizirani su ferocen-timinski konjugati (**VIII** i **IX**) prikazani na slici 32. [54].



Slika 32. Ferocen-timinski konjugati **VIII** i **IX** [54]

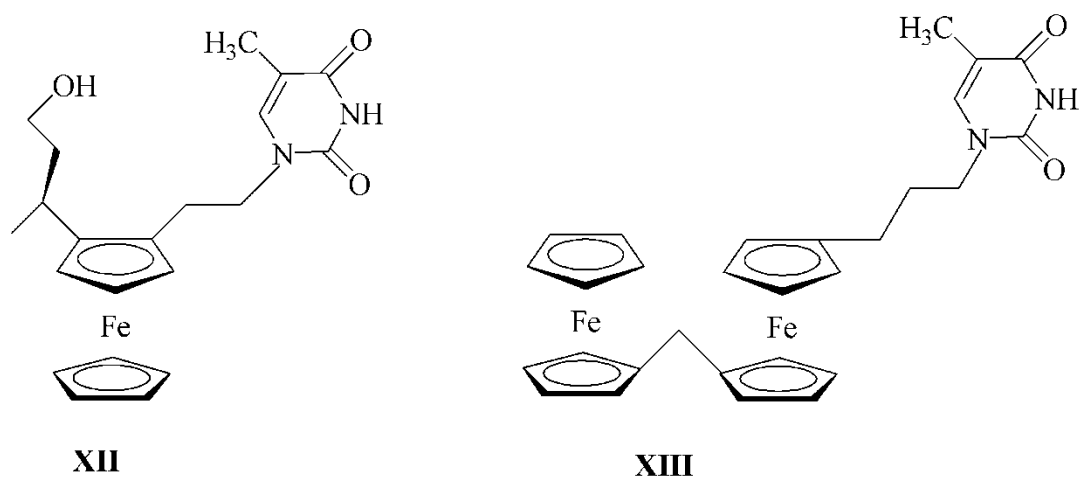
Ključni korak ove sinteze je reakcija Michaelove adicije. Reakcija je provedena u dimetilformamidu u prisutnosti trietilamina pri 70 °C tijekom 5 sati, a dobiven je ferocen-timinski konjugat **X** narančaste boje u obliku kristala. Daljnjom redukcijom karbonilne skupine dobivenog derivata s NaBH₄ dobiven je ferocen-timinski aciklonukleozid **XI** (Shema 5) [59].



Shema 5. Sinteza ferocen-timinskih konjugata [59]

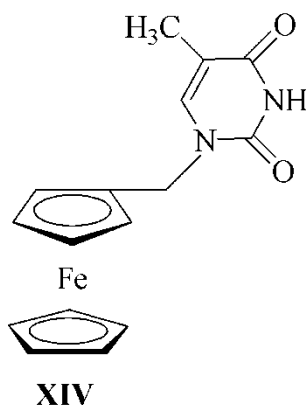
Sintetiziranim derivatima testirana je biološka aktivnost te je uočeno da prvi sintetizirani derivat **X**, prekursor aciklonukleozida, pokazuje antiproliferativnu aktivnost na stanice linije MCF-7 estrogen-ovisnog karcinoma dojke te na CCRF-CEM stanične linije T-limfoblasta izolirane iz periferne krvi u stanju akutne limfoblastične leukemije [59].

Sa svrhom testiranja antitumorske aktivnosti ferocen-timinskih konjugata na stanice akutne monocitne leukemije MonoMac6, HL-60 stanice akutne promijelocitne leukemije te MDA-MB-231 stanice karcinoma dojke, sintetizirana su dva derivata ferocenil-3,6-dihidro-2H-tiopirana. Uočeno je da derivat **XII** posjeduje jaku antitumorsku aktivnost na stanice akutne monocitne leukemije MonoMac6, dok derivat **XIII** posjeduje jaku antitumorsku aktivnost na HL-60 stanice akutne promijelocitne leukemije te MDA-MB-231 stanice karcinoma dojke (Slika 33) [60].



Slika 33. Derivati ferocenil-3,6-dihidro-2H-tiopirana [60]

Reakcijom timina i α -ferocenilkarbinola kao produkt nastaje *N*1-ferocenilmetil timin (**XIV**) (Slika 34). Testirana antitumorska aktivnost pripremljenog konjugata **XIV** ukazuje na jaku aktivnost na adenokarcinom 775 kod miševa. Zanimljivo je da je uočena 70 % inhibicija rasta tumora dajući miševima doze derivata **XIV** od 2.5 mg kg⁻¹, dok veće doze (5 mg kg⁻¹) inhibiraju rast tumora samo za 40 % [61].



Slika 34. N1-ferocenilmetil timin (**XIV**) [61]

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

Kupovni reagensi i kemikalije su korišteni bez pročišćavanja, a otapala acetonitril (CH_3CN , $t_v = 82\text{ }^\circ\text{C}$) i dimetilformamid (DMF, $t_v = 153\text{ }^\circ\text{C}$) se destiliraju pod vakuumom te prebace u tikvicu s molekulskim sitima (4Å) do upotrebe. Nukleobaze korištene tijekom izvođenja eksperimenta su uracil, timin i C5-supstituirani derivati uracila koji su prikazani u Tablici 1, a kemikalije korištene za eksperimentalni dio rada prikazane su u Tablici 2.

Tablica 1. Popis C5-supstituiranih derivata uracila korištenih prilikom izvođenja

NAZIV	MOLEKULSKA FORMULA	PROIZVOĐAČ
5-klorouracil, 98 %	$\text{C}_4\text{H}_3\text{ClN}_2\text{O}_2$	TCI, Japan
5-jodouracil, 97 %	$\text{C}_4\text{H}_3\text{IN}_2\text{O}_2$	Alfa Aesar, SAD
5-bromouracil, 98 %	$\text{C}_4\text{H}_3\text{BrN}_2\text{O}_2$	Alfa Aesar, SAD
5-fluorouracil, 97 %	$\text{C}_4\text{H}_3\text{FN}_2\text{O}_2$	TCI, Japan

Tablica 2. Popis kemikalija korištenih prilikom izrade eksperimentalnog dijela rada

NAZIV	FORMULA
2-klorbenzoilklorid	$C_7H_4Cl_2O$
aluminijev klorid	$AlCl_3$
kalijev <i>tert</i> -butoksid	$t-C_4H_9O^- K^+$
1,2-dimetoksietan	$CH_3OCH_2CH_2OCH_3$
Acetonitril	CH_3CN
Trietilamin	$(C_2H_5)_3N$
Diklormetan	CH_2Cl_2
Aceton	CH_3COCH_3
Piridin	C_5H_5N
oksalil klorid	$C_2Cl_2O_2$

3.2.METODE RADA

Za praćenje tijeka reakcija korištena je metoda tankoslojne kromatografije (Slika 35). Tankoslojna kromatografija je provedena na pločama 60F-254 presvučenim slojem silika gela (Merck) u odgovarajućem eluensu (čistom diklormetanu, sustavu diklormetan : aceton = 10 : 0.1 te sustavu diklormetan : aceton = 10 : 0.2). Za detekciju izoliranih komponenata je korištena UV-svjetlost valne duljine 254 nm.



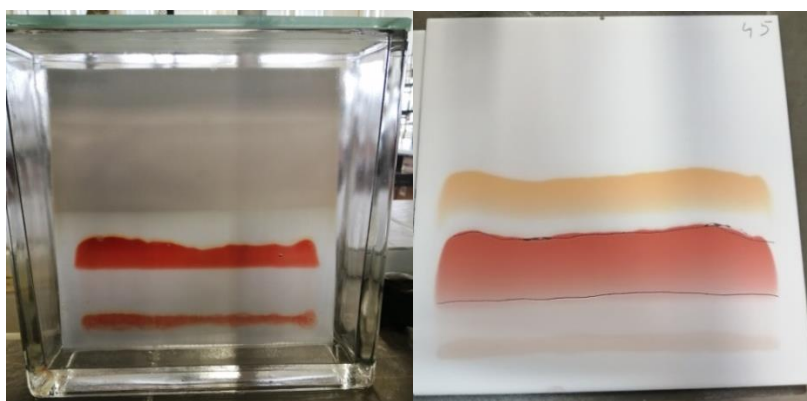
Slika 35. Primjer pločice presvučene silikagelom nakon provedene tankoslojne kromatografije

Kromatografija na koloni (Slika 36) je provedena na silika gelu (Fluka, 0.063–0.2 mm), dok su staklene kolone punjene pod utjecajem gravitacijske sile, a kao eluens je korišten sustav diklormetan : aceton = 10 : 0.1, dikormetan : aceton = 10 : 0.2 te čisti diklormetan.



Slika 36. Primjer kromatografske kolone na stupcu od silika gela pri pročišćavanju *N1*-ferocenoil uracilnih derivata

Preparativna tankoslojna kromatografija (Slika 37) provedena je na staklenim pločama prevučeni silika gelom (Merk, Kisagel 60 HF254), a kao mobilna faza je korišten eluens diklormetan : aceton = 10: 0.1.



a)

b)

Slika 37. Primjer provođenja preparativne tankoslojne kromatografije u kromatografskoj kadici a) te prikaz razdvojenih komponenata nakon kromatografije b)

Spektri $^1\text{H-NMR}$ i $^{13}\text{C-NMR}$ 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 $^1\text{H-NMR}$ i $^{13}\text{C-NMR}$ 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 sprege H-H.

Tumačenje spektroskopskih oznaka i kratica:

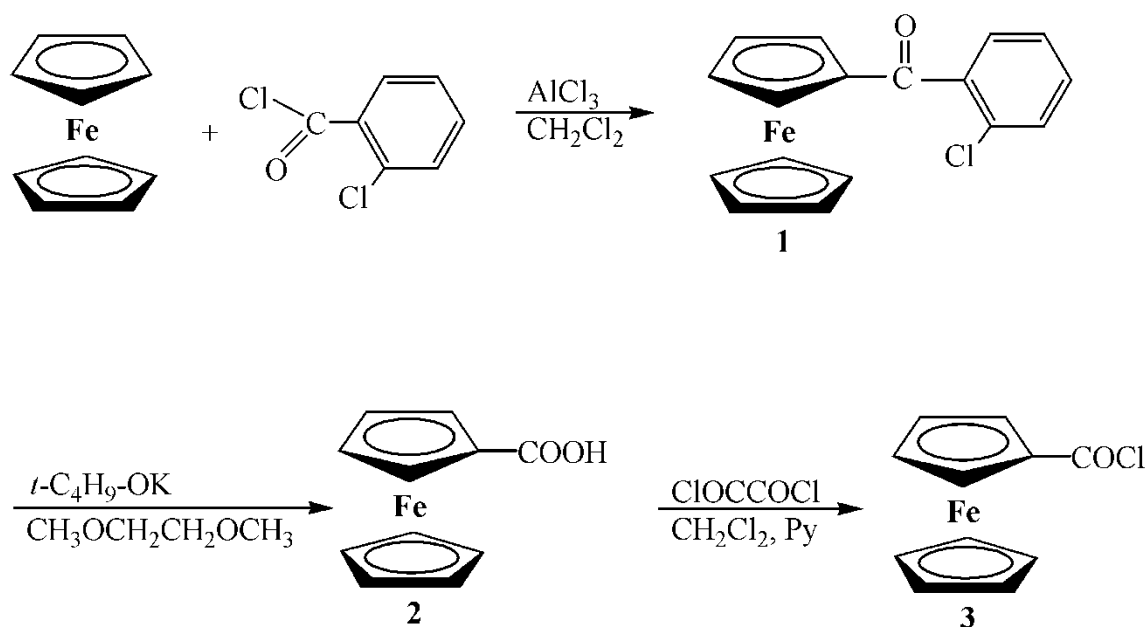
IR-spektri: ν = rastezanje (stretching), δ = deformacije (bending), j = jaka vrpca, sr = srednja vrpca, \check{s} = široka vrpca.

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

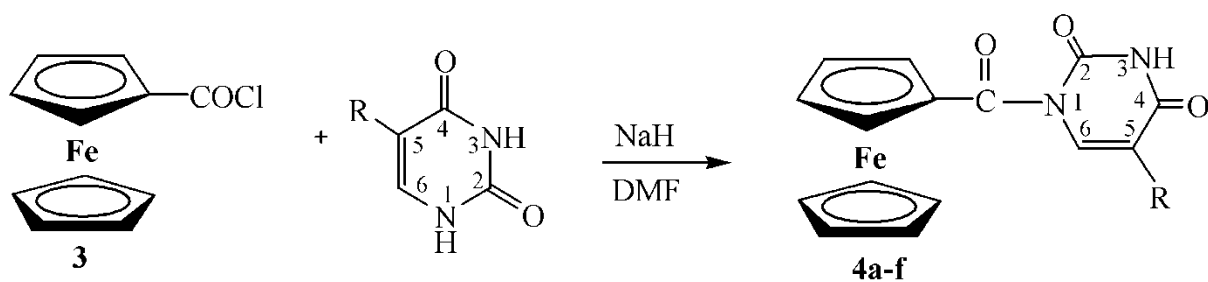
Najveći dio pokusa izveden je u atmosferi inertnog plina (Ar) i u bezvodnoj sredini.

3.3. SHEME PRIPRAVE KOPULATA FEROCENA I DERIVATA PIRIMIDINSKIH BAZA

A. Priprava ferocenkarkoboksilne kiseline (2) i ferocenoil klorida (3)

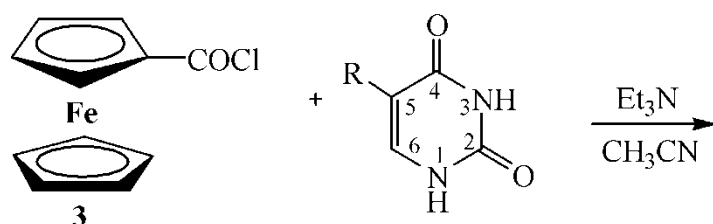


B. Priprava N1-ferocenoil-uracilnih derivata (4a-f)

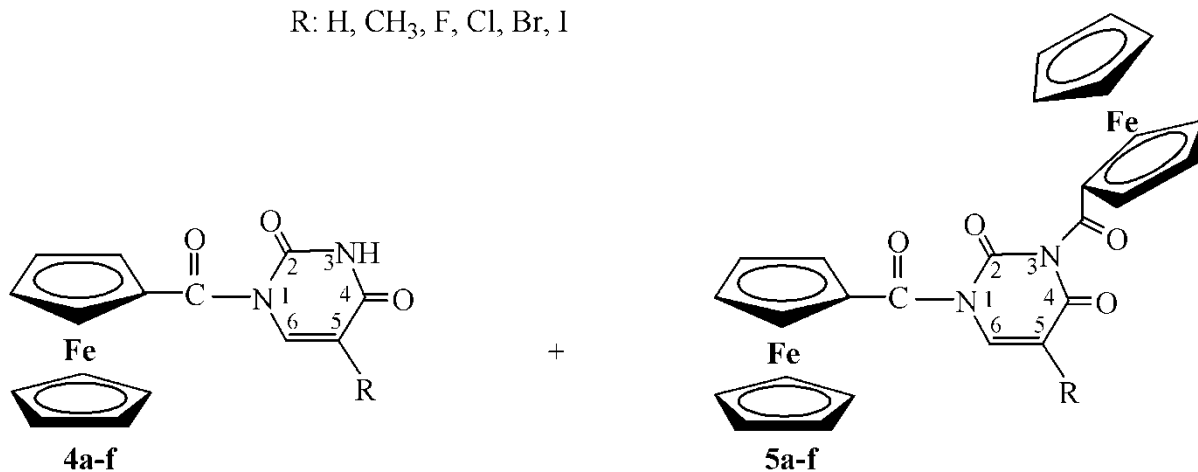


a; R = H e; R = Br
b; R = CH₃ f; R = I
c; R = F
d; R = Cl

C. Priprava N1 i N1/N3 ferocenoil-uracilnih derivata (4a-f i 5a-f)



R: H, CH₃, F, Cl, Br, I



a; R = H e; R = Br
b; R = CH₃ f; R = I
c; R = F
d; R = Cl

3.4. PROTOKOLI ZA PRIPRAVU SPOJEVA

3.4.1. 2-klorbenzoil-ferocen (1)

Otopini ferocena (2.65 g, 0.014 mol) u suhom CH₂Cl₂ (25 mL), ohlađenoj na 0 - 5 °C pomoću leda doda se 2-klorbenzoil klorid (2 mL) te AlCl₃ u obrocima (2 g, 0.015 mol). Reakcijska smjesa se miješa na temperaturi 0 - 5 °C 45 minuta te 75 minuta na sobnoj temperaturi. Potom se reakcijska smjesa prenese u posudu s ledom te ekstrahira s CH₂Cl₂. Organski sloj potrebno je isprati vodom, zatim 10 % otopinom NaOH te opet vodom, osušiti bezvodnim Na₂SO₄ i upariti do suha pri čemu zaostaje sirovi produkt **1** (4.2 g, 92 %). Za snimanje IR- i NMR- spektra 200 mg sirovog produkta **1** pročišćeno je tankoslojnom preparativnom kromatografijom (eluens: CH₂Cl₂) pri čemu je dobiveno 120 mg (60 %) narančastih kristala 2-klorbenzoil-ferocena (**1**); $t_f = 98 - 100$ °C [62].

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. Ferocenkarboksilna kiselina (2)

Sirovi 2-klorbenzoil-ferocen **1** (3 g) se doda suspenziji kalij-*tert*-butoksida (10 g, 0,06 mol) u 1,2-dimetoksietanu (67.5 mL) i vodi (0.4 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 1.89 g (89 %) kristala ferocenkarboksilne kiseline (**2**) [62].

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

3.4.3. Ferocenoil klorid (3)

Suspenciji ferocenkarkoboksilne kiseline (2) (480 mg, 2 mmol) u suhom diklormetanu (2 mL) doda se svježe destilirani oksalil-klorid (3.2 mL, 6 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 filtrira preko vate te se upari do suha. Postupak se ponovi još dva puta pri čemu je dobiveno 395.6 mg (77 %) crvenih kristala ferocenoil klorida (3) [63].

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 derivati (4a-f i 5a -f)

Postupak A: Uracil i C-5 supstituirani derivati uracila (0.20 mmol) se suspendiraju u 1 mL DMF-a i deprotoniraju dodatkom NaH (6 mg, 0.26 mmol) kroz 60 minuta na sobnoj temperaturi uz konstantno miješanje. Reakcijskoj smjesi se potom dodaje prethodno pripremljeni ferocenoil klorid (3) (60 mg, 0.26 mmol). Nakon 60 minuta miješanja na sobnoj temperaturi reakcijska smjesa se neutralizira dodatkom 10 % otopine limunske kiseline te ekstrahira s CH₂Cl₂. Organski sloj zatim se ispere vodom do neutralanog, osuši dodatkom Na₂SO₄ te upari na rotavaporu do suha. Sirovi produkt otopi se u CH₂Cl₂ te se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz eluens CH₂Cl₂ : CH₃COCH₃ = 10 : 0.2. Kolonskom kromatografijom dobiven je jedan produkt, N1-kopulat crvene boje. Pročišćeni produkt čisti se još jednom kromatografijom na ploči silikagela uz eluens CH₂Cl₂ : CH₃COCH₃ = 10 : 0.1.

Postupak B: Uracil i C-5 supstituirani derivati uracila (0.20 mmol) se suspendiraju u 1 mL CH₃CN i deprotoniraju dodatkom (C₂H₅)₃N (70 μ L) kroz 90 minuta na sobnoj

temperaturi uz konstantno miješanje. Reakcijskoj smjesi se potom dodaje prethodno pripremljeni ferocenoil klorid (**3**) (100 mg, 0.42 mmol). Nakon 30 minuta miješanja na sobnoj temperaturi reakcijska smjesa se neutralizira dodatkom 10 % otopine limunske kiseline, te ekstrahira s CH₂Cl₂. Organski sloj zatim se ispere vodom do neutralanog, osuši dodatkom Na₂SO₄ te upari na rotavaporu do suha. Sirovi produkt otopi se u CH₂Cl₂ te se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz eluens CH₂Cl₂ : CH₃COCH₃ = 10 : 0.2. Kolonskom kromatografijom dobivena su dva produkta; *N1/N3*-kopolat i *N1*-kopolat. Pročišćeni produkti čiste se još jednom svaki zasebno kromatografijom na ploči silikagela u sustavu CH₂Cl₂ : CH₃COCH₃ = 10 : 0.1.

Tablica 3. Eksperimentalno dobivena masa produkata, iskorištenje reakcije te R_f vrijednost u sustavu otapala CH₂Cl₂ : CH₃COCH₃ = 10 : 0.1

	Spoj	m (mg)	η (%)	R_f	Spoj	m (mg)	η (%)	R_f	Odnos kopolata (4:5)
Postupak A	4a	48.18	72 %	0.482	5a	-	-	-	-
	4b	27.6	41%	0.485	5b	-	-	-	-
	4c	51.22	75 %	0.475	5c	-	-	-	-
	4d	54.42	76 %	0.478	5d	-	-	-	-
	4e	54.74	68 %	0.514	5e	-	-	-	-
	4f	58.18	65 %	0.496	5f	-	-	-	-
Postupak B	4a	27.68	43 %	0.481	5a	28.78	27 %	0.611	60:40
	4b	39.46	59 %	0.480	5b	24.08	22 %	0.523	74:26
	4c	32.52	48 %	0.473	5c	35.12	32 %	0.587	59:41
	4d	16.46	23 %	0.475	5d	39.46	35 %	0.583	50:50
	4e	28.18	35 %	0.518	5e	36.66	30 %	0.568	52:48
	4f	30.56	34 %	0.491	5f	41.1	32 %	0.632	54:46

N1-ferocenoil uracil (**4a**, R=H): 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, ppm): δ 11.5 (s, 1 H, NH), 8.00 (d, 1H, H6), 5.7 (d, 1H, H5), 4.9 (t, 2H, CH-Fc), 4.7 (t, 2H, CH-Fc), 4.3 (s, 5H, Fc-Cp).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz, 25 °C, ppm): δ 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-ferrocenoil timin (4b, R=CH₃): IR (CH₂Cl₂) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3375, (sl., NH), 2927 (sl., CH aromatski), 1730 (j., C=O), 1700 (j., C=O, amid).

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 298 K, ppm): δ 11.50 (s, 1H, NH), 7.90 (s, 1H, H6), 4.80 (d, 2H, CH-Fc), 4.70 (d, 2H, CH-Fc), 4.30 (s, 5H, Fc-Cp), 1.8 (d, 3H, CH₃).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz, 25 °C, ppm): δ 173.70 (C=O), 164.60 (C4), 149.90 (C2), 136.60 (C6), 111.60 (C5), 73.80 (2CH-Fc), 72.90 (Cq, Fc), 71.90 (2CH-Fc), 71.10 (Fc-Cp), 12.3 (CH₃).

N1-ferrocenoil 5-fluorouracil (4c, R=F): IR (CH₂Cl₂) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3366, (sl., NH), 2924 (sl., CH aromatski), 1720 (j., C=O), 1648 (j., C=O, amid).

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 298 K, ppm): δ 12.00 (s, 1H, NH), 8.40 (d, 1H, H6), 4.90 (t, 2H, CH-Fc), 4.70 (t, 2H, CH-Fc), 4.30 (s, 5H, Fc-Cp).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz, 25 °C, ppm): δ 172.70 (C=O), 158.10 (C4), 148.60 (C2), 125.70 (C6), 140.90 (C5), 73.90 (2CH-Fc), 72.50 (Cq, Fc), 71.90 (2CH-Fc), 71.10 (Fc-Cp).

N1-ferrocenoil 5-kloruracil (4d, R=Cl): IR (CH₂Cl₂) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3363, (sl., NH), 3023 (sl., CH aromatski), 1710 (j., C=O), 1678 (j., C=O, amid).

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 298 K, ppm): δ 11.99 (s, 1H, NH), 8.46 (s, 1H, H6), 4.89 (s, 2H, CH-Fc), 4.74 (s, 2H, CH-Fc), 4.35 (s, 5H, Fc-Cp).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz, 25 °C, ppm): δ 171.94 (C=O), 159.28 (C4), 148.56 (C2), 137.59 (C6), 108.75 (C5), 73.63 (CH-Fc), 71.96 (Cq, Fc), 71.51 (CH-Fc), 70.71 (Fc-Cp).

N1-ferrocenoil 5-bromuracil (4e, R=Br): IR (CH₂Cl₂) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3363, (sl., NH), 3024 (sl., CH aromatski), 1730, 1706 (j., C=O), 1628 (j., C=O, amid).

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 298 K, ppm): δ 11.60 (s, 1H, NH), 8.40 (s, 1H, H6), 4.87 (d, 2H, CH-Fc), 4.73 (d, 2H, CH-Fc), 4.34 (s, 5H, Fc-Cp).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz, 25 °C, ppm): δ 172.24 (C=O), 159.79 (C4), 149.62 (C2), 140.24 (C6), 97.88 (C5), 74.08 (2CH-Fc), 72.59 (Cq, Fc), 72.00 (2CH-Fc), 71.19 (Fc-Cp).

N1-ferrocenol 5-joduracil (4f, R=I): IR (CH₂Cl₂) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3363, (sl., NH), 3017 (sl., CH aromatski), 1733, 1700 (j., C=O), 1616 (j., C=O, amid).

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 298 K, ppm): δ 11.75 (s, 1H, NH), 8.46 (s, 1H, H6), 4.88 (t, 2H, CH-Fc), 4.76 (t, 2H, CH-Fc), 4.37 (s, 5H, Fc-Cp).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz, 25 °C, ppm): δ 172.47 (C=O), 161.32 (C4), 149.62 (C2), 144.89 (C6), 67.35 (C5), 74.14 (CH-Fc), 71.83 (Cq, Fc), 71.97 (CH-Fc), 71.18 (Fc-Cp).

N1/N3-bisferrocenol uracil (5a, R=H): ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 298 K, ppm): δ 8.17 (d, 1H, H6), 5.97 (d, 1H, H5), 4.93 (s, 4H, CH-Fc), 4.80 (s, 2H, CH-Fc), 4.74 (s, 2H, CH-Fc), 4.39 (s, 5H, Fc-Cp), 4.36 (s, 5H, Fc-Cp).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz, 25 °C, ppm): δ 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).

N1/N3-bisferrocenol timin (5b, R=CH₃): ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 298 K, ppm): δ 7.54 (1H, q, H6), 4.89 (2H, t, CH-Fc), 4.76 (2H, t, CH-Fc), 4.62 (2H, t, CH-Fc), 4.55 (t, 1H, CH-Fc), 4.51 (t, 1H, CH-Fc), 4.37 (s, 5H, Fc-Cp), 4.28 (s, 5H, Fc-Cp), 2.05 (d, 3H, CH₃).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz, 25 °C, ppm): δ 172.60 (C=O), 172.59 (C=O), 161.75 (C4), 147.99 (C2), 134.75 (C6), 111.46 (C5), 73.61 (2CH-Fc), 73.34 (2CH-Fc), 72.55 (2CH-Fc), 72.31 (2CH-Fc), 71.97 (Cq, Fc), 70.94 (Fc-Cp), 70.93 (Fc-Cp), 12.69 (CH₃).

N1/N3-bisferrocenol 5-fluorouracil (5c, R=F): ^1H NMR (CDCl₃, 400 MHz, 298 K, ppm): δ 7.81 (s, 1H, H6), 4.89 (t, 2H, CH-Fc), 4.78 (s, 4H, CH-Fc), 4.67 (s, 2H, CH-Fc), 4.65 (s, 2H, CH-Fc), 4.39 (s, 5H, Fc-Cp), 4.29 (s, 5H, Fc-Cp).

^{13}C NMR (CDCl₃, 100 MHz, 25 °C, ppm): δ 170.99 (C=O), 170.44 (C=O), 155.26 (C4), 146.11 (C2), 123.1 (C6), 53.3 (C5), 73.44 (2CH-Fc), 73.31 (2CH-Fc), 72.58 (Cq, Fc), 71.57 (2CH-Fc), 70.62 (Fc-Cp), 70.61 (Fc-Cp).

N1/N3-bisferocenoil 5-kloruracil (5d, R=Cl): ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 298 K, ppm): δ 8.66 (s, 1H, NH), 5.04 (s, 2H, CH-Fc), 4.98 (d, 2H, CH-Fc), 4.80 (s, 2H, CH-Fc), 4.77 (d, 2H, CH-Fc), 4.41 (s, 5H, Fc-Cp), 4.36 (s, 5H, Fc-Cp).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz, 25 °C, ppm): δ 172.16 (C=O), 171.70 (C=O), 158.25 (C4), 147.64 (C2), 138.39 (C6), 108.98 (C5), 74.28 (2CH-Fc), 73.85 (2CH-Fc), 72.13 (Cq, Fc), 71.36 (Fc-Cp), 71.14 (Fc-Cp), 70.45 (2CH-Fc), 69.92 (2CH-Fc).

N1/N3-bisferocenoil 5-bromuracil (5e, R=Br): ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 298 K, ppm): δ 8.03 (s, 1H, H6), 4.87 (t, 2H, CH-Fc), 4.77 (s, 2H, CH-Fc), 4.70 (s, 2H, CH-Fc), 4.65 (s, 2H, CH-Fc), 4.38 (s, 5H, Fc-Cp), 4.30 (s, 5H, Fc-Cp).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz, 25 °C, ppm): δ 171.29 (C=O), 171.19 (C=O), 157.51 (C4), 147.26 (C2), 138.34 (C6), 98.14 (C5), 74.08 (2CH-Fc), 73.65 (2CH-Fc), 73.14 (Cq, Fc), 72.00 (2CH-Fc), 71.12 (Fc-Cp), 71.08 (Fc-Cp).

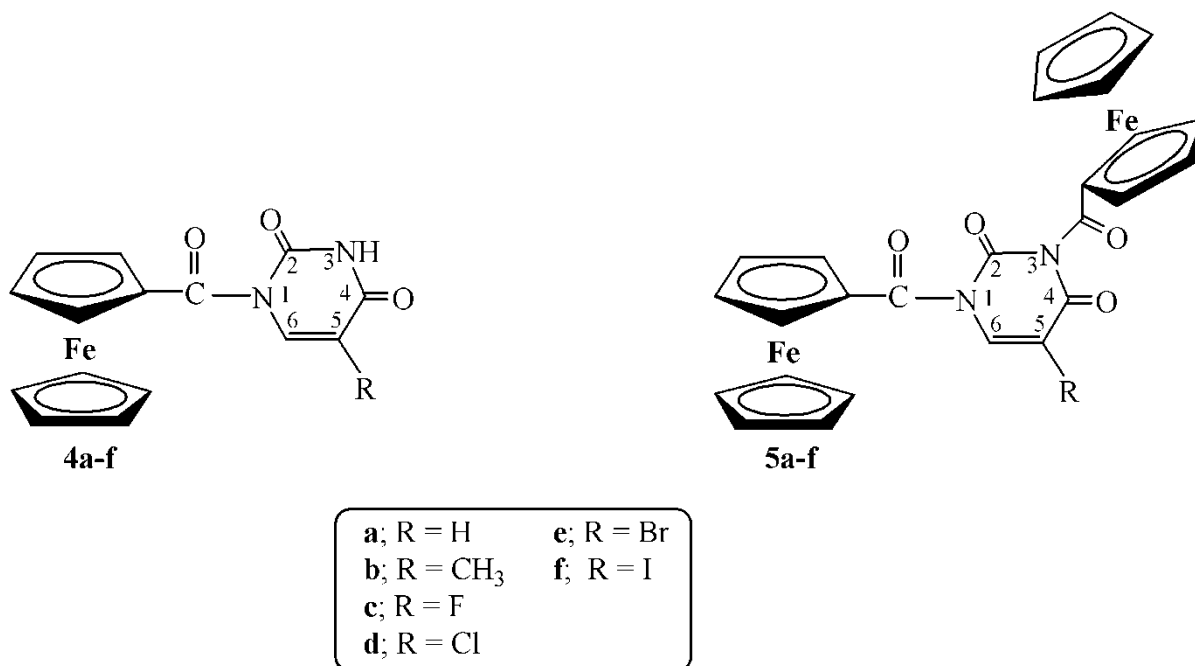
N1/N3-bisferocenoil 5-joduracil (5f, R=I): ^1H NMR (CDCl $_3$, 400 MHz, 298 K, ppm): δ 8.13 (s, 1H, H6), 4.88 (s, 2H, CH-Fc), 4.76 (s, 2H, CH-Fc), 4.71 (s, 2H, CH-Fc), 4.65 (s, 2H, CH-Fc), 4.38 (s, 5H, Fc-Cp), 4.31 (s, 5H, Fc-Cp).

^{13}C NMR (CDCl $_3$, 100 MHz, 25 °C, ppm): δ 171.07 (C=O), 170.74 (C=O), 157.94 (C4), 147.13 (C2), 142.96 (C6), 69.33 (C5), 73.18 (CH-Fc), 72.62 (Cq, Fc), 71.52 (CH-Fc), 70.64 (Fc-Cp).

4. REZULTATI I RASPRAVA

Cilj ovog diplomskog rada je priprava te spektroskopska karakterizacija organometalnih derivata nukleobaza (OrDeN), biokonjugata ferocena i uracila, odnosno C-5 supstituiranih derivata uracila **4a-f** te **5a-f** s karbonilnom skupinom kao razmaknicom (Slika 38). Pirimidinske nukleobaze i njihovi derivati supstituirani u položaju C-5 pirimidinskog prstena ističu se snažnim biološkim djelovanjem te su proučavani kao antivirusna sredstva, neradioaktivni fluorescentni markeri za DNA i antitumorski lijekovi [44]. Uz svoje biološko djelovanje, analozi također pokazuju i zanimljiva elektrokemijska svojstva. Kako bi se oponašala prirodna struktura nukleozida i očuvala potencijalna biološka aktivnost pripremljenih spojeva, ferocenski dio mora biti selektivno supstituiran na N1 položaju baze

umjesto šećernog dijela. Novi sintetizirani spojevi koju povezuju ferocensku podjedinicu i nukleobazu u položaju *N3* ili *N1/N3* mogu biti zanimljivi za biološka testiranja. Položaj supstitucije na dušikovom atomu i udio izomera ovisi o temperaturi reakcije, baznom katalizatoru i korištenom supstratu za aciliranje. U našem je Laboratoriju provedeno ispitivanje reakcija *N*-ferocenoiliranja uracila kao modelne reakcije. Ispitivanja su potvrdila da reakcije kopulacije ferocenoila i nezaštićene pirimidinske baze uracila, u *N,N*-dimetilformamidu vode isključivo do nastajanja *N1*-konjugata. Reakcije su regispecifične neovisno o ispitanoj bazi (NaH, K₂CO₃ i Et₃N), acilirajućem agensu (ferocenoil klorid, ferocenoil etil karbonat i benzotriazol-ferocenkarboksilat) i vremenu baze. U nastavku su ispitane reakcije provedene u acetonitrilu te istovjetnim uvjetima kao reakcije u DMF. Rezultati ukazuju na nastajanje i *N1/N3*-biskopulata uz *N1*-izomer, a njegov je udio ovisio o uvjetima reakcije. Najveći udio *N1/N3*-ferocenoil-uracila (40 %) dobiven je reakcijom u acetonitrilu, upotrebom trietilamina (Et₃N) kao baze te produljenim vremenom aktivacije baze (90 minuta). Svrha ovog rada je primijeniti uvjete modelne reakcije na *C5*-derivate uracila i ispitati regioselektivnost tih reakcija. U svrhu tih istraživanja provest će se dvije reakcije: *postupak A* uporaba ferocenoil klorida kao acilirajućeg agensa te NaH kao deprotonirajuće baze u DMF; *postupak B* uporaba ferocenoil klorida kao acilirajućeg reagensa te Et₃N kao deprotonirajuće baze u CH₃CN. Usmjerenost ovih istraživanja je na regioselektivnost provedenih reakcija. Ovaj rad u prvom dijelu obuhvaća sintezu ferocenoil klorida (**3**) te njegovu kopulaciju s *C-5* supstituiranim derivatima uracila. U drugom dijelu rada ispitana je regioselektivnost reakcija i potvrđene su strukture pripremljenih spojeva korištenjem IR i NMR spektroskopije.

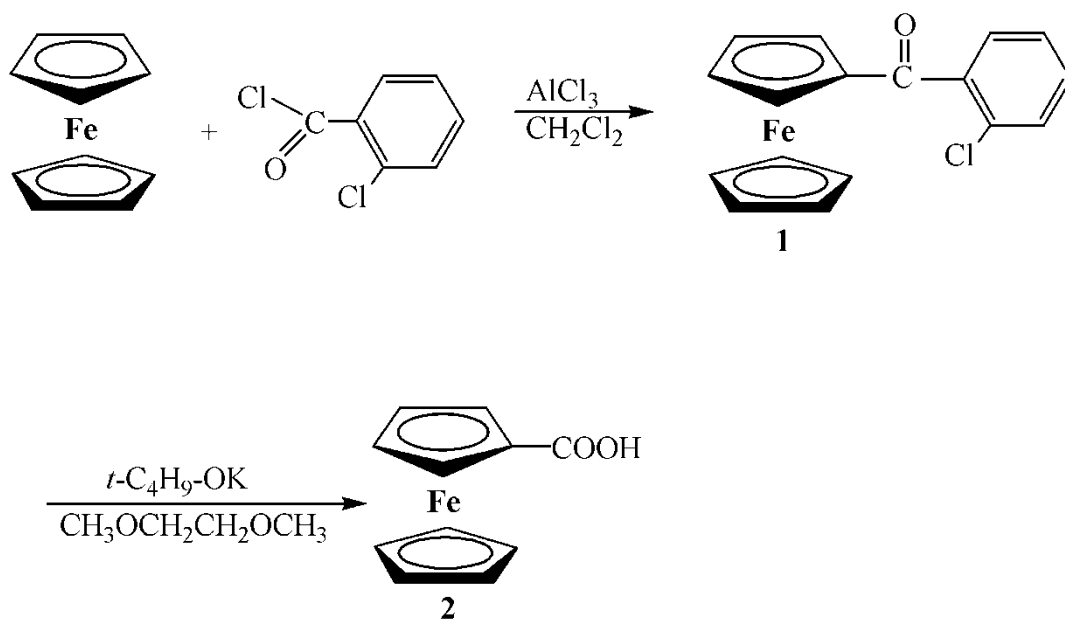


Slika 38. 5-supstituirani ferocenoil-uracili **4a-f** i **5a-f**

4.1.SINTEZA I SPEKTRALNA ANALIZA PREKURSORA

4.1.1. Ferocenkarboksilna kiselina (2)

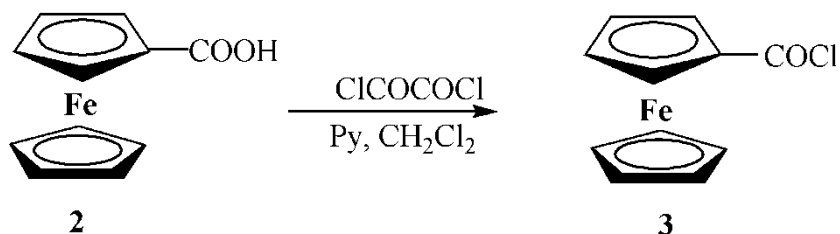
Ferocenkarboksilna kiselina (2) pripravljena je u dva stupnja. U prvom stupnju provedena je reakcija ferocena s 2-klorbenzoil kloridom u prisutnosti AlCl₃ pri čemu nastaje 2-klorbenzoil-ferocen (1) u visokom iskorištenju (92 %). U drugom koraku provedena je reakcija hidrolize 2-klorbenzoil-ferocena (1) uz *t*-C₄H₉O⁻ K⁺ pri čemu nastaje tamnožuta kristalinična tvar, ferocenkarboksilna kiselina (2) uz iskorištenje od 89 % (Shema 6) [62]. Jedan dio sirovog produkta 1 pročišćen je tankoslojnom preparativnom kromatografijom u svrhu IR i NMR snimanja. IR-spektar 2-klorbenzoil-ferocena (1) sadrži signale pri 1660 cm⁻¹ koji se pripisuju keto-skupini. U IR-spektaru ferocenkarboksilne kiseline (2) vidljiva je široka apsorpcijska vrpca pri 3389 cm⁻¹ koja odgovara frekvenciji istezanja hidroksilne skupine asocirane intermolekulskim vodikovim vezama te vrpca pri 1676 cm⁻¹ koja je karakteristična za karbonilnu skupinu.



Shema 6. Priprema ferocenkarkobosilne kiseline (2) [62]

4.1.2. Ferocenoil klorid (3)

U nastavku je pripremljen ključni intermedijar, ferocenoil-klorid (3), reakcijom ferocenkarkobosilne kiseline (2) i oksalil-klorida u suhom CH_2Cl_2 uz prisutnost piridina. Reakcija se završava višestrukim zagrijavanjem sirovog produkta u petroleteru te uparavanjem filtriranog produkta. Ferocenoil klorid (3), crvena kruta tvar, dobiven je u iskorištenju od 77 % (Shema 7) [63].



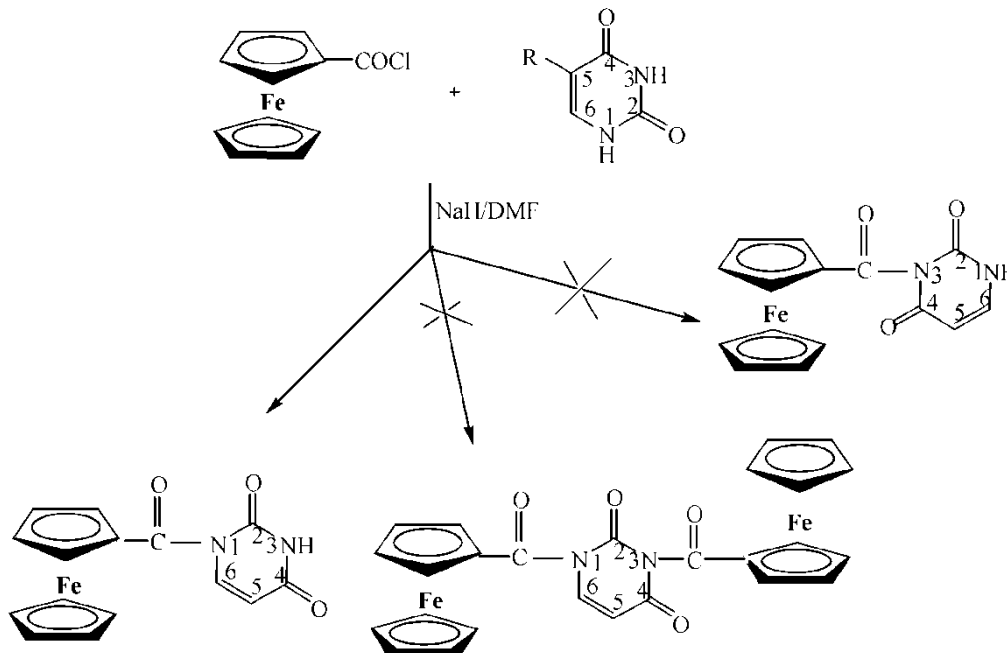
Shema 7. Priprema ferocenoil klorida (3) [63]

U IR spektru klorida **3** asignirana je apsorpcijska vrpca karakteristična za kiselinske kloride pri 1755 cm^{-1} , a u ^1H NMR spektru prisutni su kemijski pomaci monosupstituiranog ferocena budući da su signali vidljivi u rasponu od δ 4.38 do 4.91 ppm i to kao jedan singlet i dva tripleta. U ^{13}C NMR spektru uz ferocenske ugljikove atome prisutan je i kemijski pomak karakterističan za karbonilnu skupinu pri 178.3 ppm. Kemijski pomaci za ugljikove atoma ferocenske podjedinice asignirani su u području od δ 70.4 do 73.3 ppm.

4.2.SINTEZA I SPEKTRALNA ANALIZA BOKONJUGATA FEROCENA I DERIVATA URACILA

4.2.1. Reakcije kopulacije provedene postupkom A

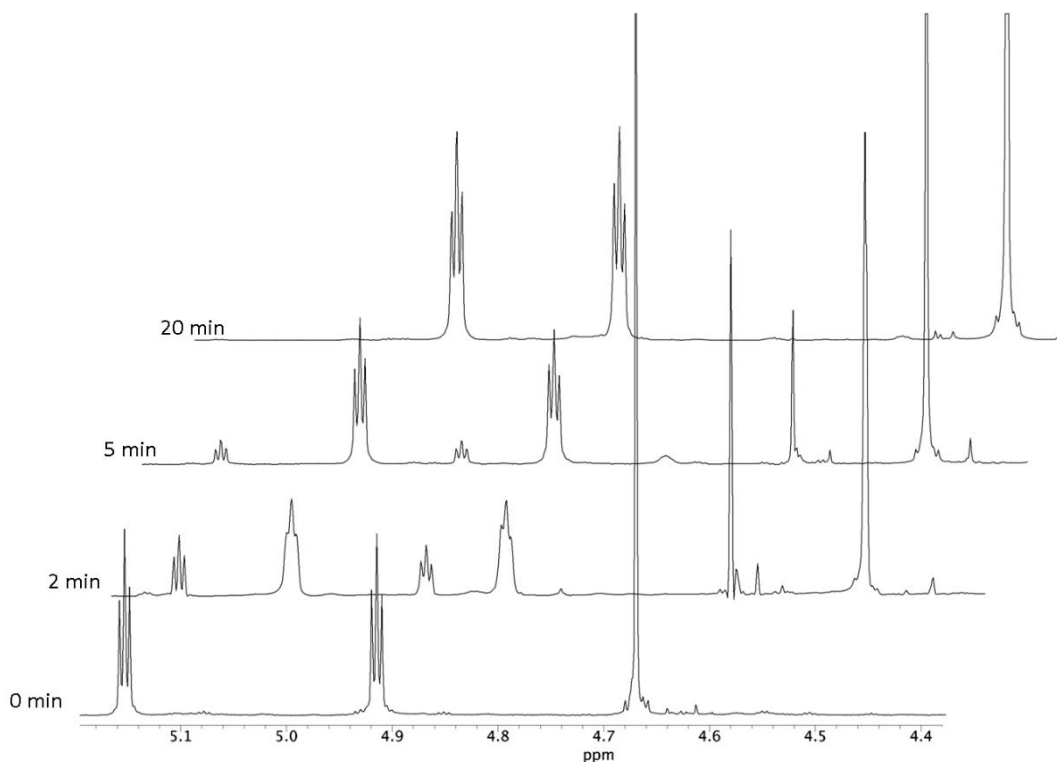
Prvi dio istraživanja ovog rada posvećen je pripravi ferocenoil-uracilnih derivata. Reakcije kopulacije provedene su uz korištenje natrij hidrida kao deprotonirajućeg agensa i DMF kao otapala prema postupku opisanom u našem prethodnom radu [64], pri čemu su dobiveni isključivo N1-izomeri (Shema 8).



Shema 8. Shematski prikaz regioselektivnog N1-aciliranja pirimidinskih nukleobaza (R = H; CH₃; F; Cl; Br; I) [64]

Deprotekcija pirimidinske baze provedena je s natrijevim hidridom u dimetilformamidu kroz 60 minuta pri čemu nastaje natrijeva sol baze. Slijedi kopulacija aktivirane nukleobaze i ferocenoil klorida (**3**), a sam tijekom reakcije se prati tankoslojnom kromatografijom. Pripravljena sol baze, zbog pozitivnog naboja na natriju i negativnog na dušikovom atomu, jak je nukleofil u reakciji kopulacije s ferocenoil-kloridom (**3**) što upućuje da se reakcija odvija S_NAc mehanizmom. Izolacija željenog produkta je provedena na način da se upari dimetilformamid, ekstrahira i dobiveni sirovi produkt pročisti kolonskom kromatografijom na silika gelu uz eluens $CH_2Cl_2 : CH_3COCH_3 = 10 : 0.2$. Nakon provedene kolonske kromatografije, pročišćeni produkt čisti se još jednom kromatografijom na ploči silikagela u sustavu $CH_2Cl_2 : CH_3COCH_3 = 10 : 0.2$ te su dobiveni crveni kristali produkata **4a-f** u iskorištenju 41-76 % (Tablica 3).

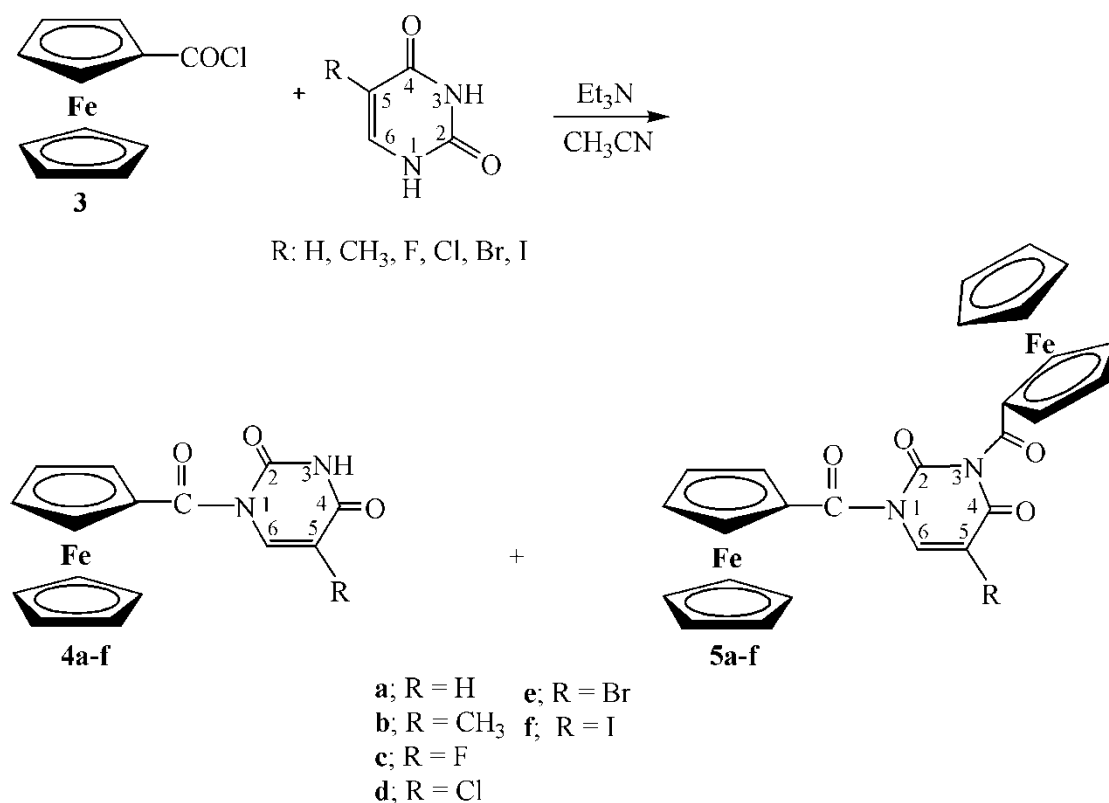
Provedenim reakcijama dokazana je regispecifičnost reakcija kopulacije provedenih u DMF kod svih C5-derivata uracila. Odnosno, u svim ispitanim reakcijama nastaje isključivo N1-konjugat (**4a-f**) što je potvrđeno i NMR ispitivanjima (Slika 39). Ustvrdeno je da produljeno vrijeme deaktivacije baze ne utječe na iskorištenje i tijekom reakcija.



Slika 39. NMR reakcija *in situ*: timin/NaH + FcCOCl u DMF

4.2.2. Reakcije kopulacije provedene postupkom B

Kao što je navedno u uvodnom dijelu *Rezultata i rasprave*, provedena modelna reakcija ferocenoiliranja uracila pokazala je da korištenjem acetonitrila kao otapala nastaju N1- i N1/N3-kopulati, a njihov udio ovisi o uvjetima reakcije. Najveći udio N1/N3-bisferocenoil-uracila (40 %) dobiven je upotrebom trietilamina (Et_3N) kao baze te produljenim vremenom aktivacije baze (90 minuta). Ovi reakcijski uvjeti primjenjeni su na kopulacijske reakcije C5-derivata uracila kako bi se ispitala regiselektivnost ovih reakcija. (Shema 9).



Shema 9. Priprava N1- te N1/N3-ferocenoil uracilnih derivata

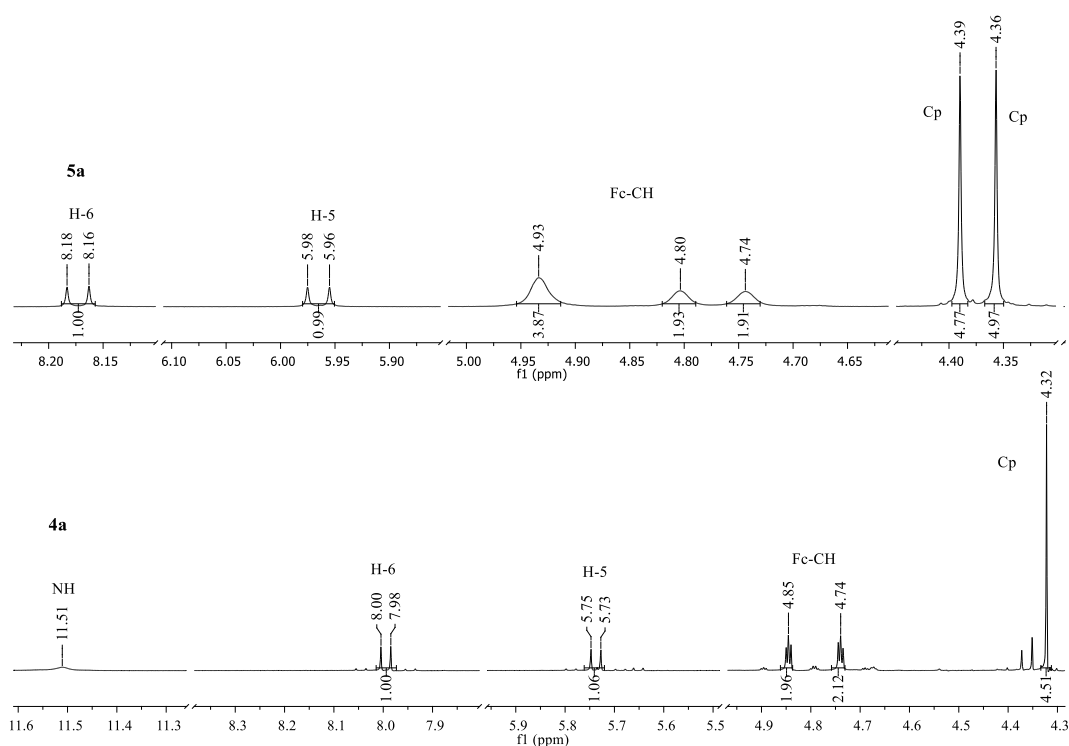
Deprotekcija baze provedena je trietilaminom u acetonitrilu tijekom 90 minuta, slijedi kopulacija aktivirane nukleobaze i ferocenoil-klorida (**3**), koja se odvija prilično brzo uz jasnu promjenu boje iz crvene u tamnocrvenu. Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom

na silika gel pločama uz eluens $\text{CH}_2\text{Cl}_2 : \text{CH}_3\text{COCH}_3 = 10 : 0.1$. Na ovaj je način, s obzirom da su svi spojevi u ovim reakcijama obojeni, vrlo lako pratiti tijek reakcije promjenama boje komponenata prisutnih na TLC-pločici (Slika 35).

Nakon obrade reakcijske smjese, sirovi produkt se pročišćava kolonskom kromatografijom uz SiO_2 kao adsorbens (stacionarna faza). Sirovi produkt, radi vrlo slabe topljivosti, nanešen je na sloj adsorbensa u koloni kao homogena smjesa baze i silikagela te je provedena elucija s različitim otapalima od slabo polarnih (CH_2Cl_2) do polarnih (smjesa CH_2Cl_2 i CH_3COCH_3 kojem se povećavao volumi udio tijekom elucije). Nakon provedene kolonske kromatografije izolirana su dva kopulata pri čemu su kopulati **4a-f**, *N1*-izomeri ferocenoil-uracila, iz kolone izolirani prvi, a zatim su izolirani kopulati **5a-f**, *N1/N3*-izomeri ferocenoil-uracila. U svrhu dobivanja čistih pojedinih kopulata pročišćavanje je provedeno još jednom preparativnom tankoslojnom kromatografijom u sustavu $\text{CH}_2\text{Cl}_2 : \text{CH}_3\text{COCH}_3 = 10 : 0.1$. Kopulati **4a-f** dobiveni su u iskorištenju 23-59 % kao crveni kristali, a kopulati **5a-f** u iskorištenju 15-35 % kao tamnocrveni kristali (Tablica 3).

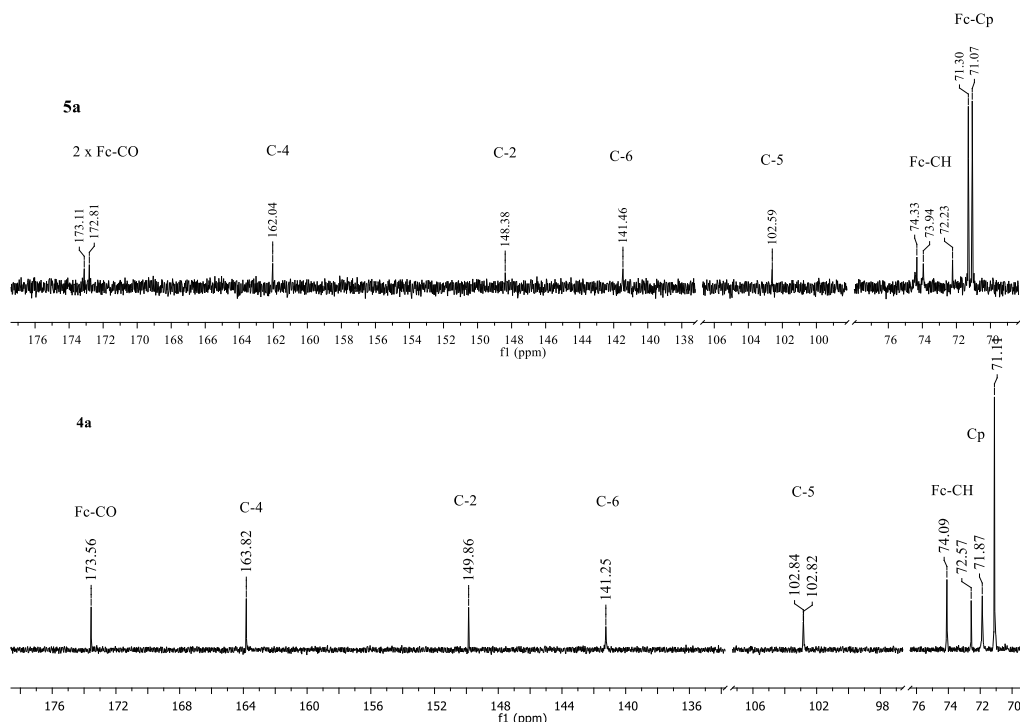
N1-ferocenoil uracil (4a) i N1/N3-bisferocenoil uracil (5a)

Nakon pročišćavanja dobiveni su crveni kristali *N1*-ferocenoil-uracila (**4a**) u 43 % iskorištenju i kristali *N1/N3*-bisferocenoil-uracila (**5a**) u 27 % iskorištenju. Pročišćenim je kopulatima **4a** i **5a** struktura potvrđena ^1H i ^{13}C -NMR spektroskopijom (Slika 40 i 41). U ^1H -NMR spektru spoja **4a** snimljenom u DMSO 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 C-6 pirimidinskog prstena i signal pri 5.7 ppm koji odgovara kemijskom pomaku protona na položaju C-5 pirimidinskog prstena. U ^1H -NMR spektrima iz kemijskih je pomaka potvrđena prisutnost ferocenske podjedinice, jedan monosupstituirani (tripleti pri δ 4.9 i 4.7 ppm) i jedan nesupstituirani (singlet pri δ 4.3 ppm) ciklopentadienilni prsten. U ^1H -NMR spektru biskopulata **5a** snimljenom u DMSO vidljiv je signal pri δ 8.17 ppm koji odgovara kemijskom pomaku protona na položaju C-6 pirimidinskog prstena i δ 5.94 ppm koji odgovara kemijskom pomaku protona na položaju C-5 pirimidinskog prstena. U ^1H -NMR spektrima iz kemijskih je pomaka 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 40. ¹H NMR spektar *N1*-ferocenoil uracila (**4a**) i *N1/N3*-bisferocenoil uracila (**5a**)

U ¹³C-NMR spektru spoja **4a** vidljiv je signal pri δ 173.6 ppm koji se pripisuje ugljikovom atomu karbonilne skupine koji je poveznica ferocenske i uracilne podjedinice. Signali pri δ 163.8 i 149.9 ppm pripisani su karbonilnim ugljikovim atomima pirimidinskog prstena, a pri δ 141.3 i 102.9 ppm ugljikovim atomima uracilne podjedinice (C-5 i C-6). Ferocenskim ugljikovim atomima, supstituirani ciklopentadienilni prsten C- α' , Ci i C- β' , 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 ¹³C-NMR spektru spoja **5a** vidljiva su dva signala koji se pripisuju ugljikovom 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 (C-5 i C-6). Ferocenski ugljikovi atomi koji se pripisuju ugljikovim atomima nesupstituiranog ciklopentadienilnog prstena nalaze se pri δ 71.3 i 71.1 ppm.

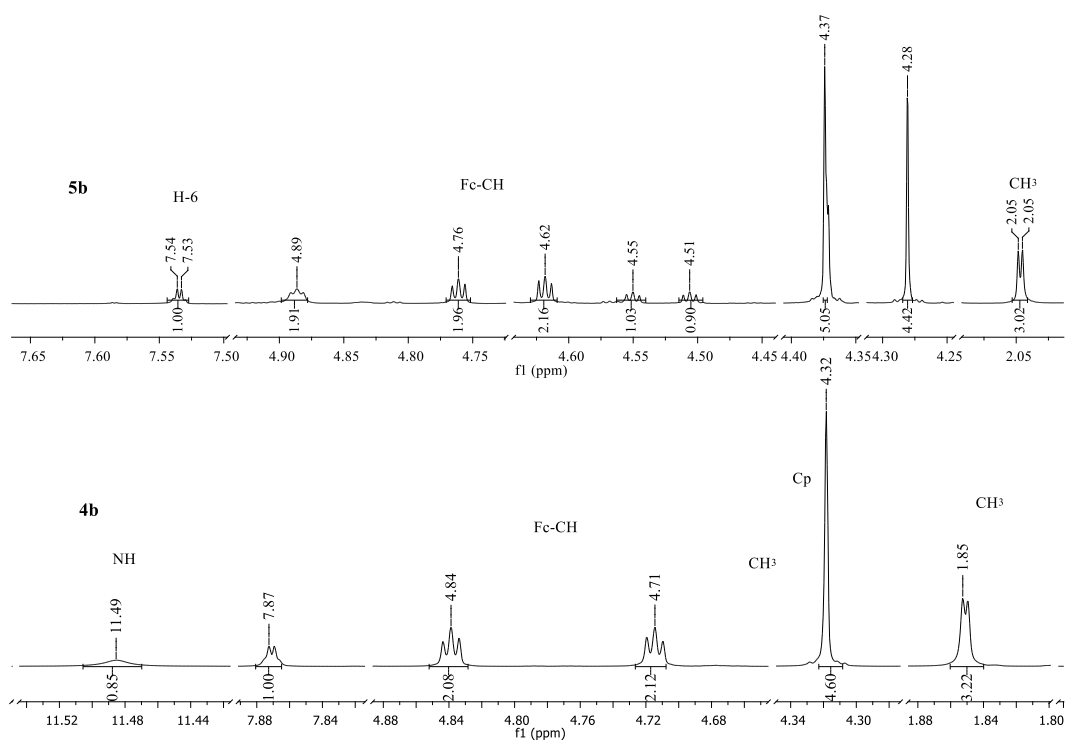


Slika 41. ^{13}C NMR spektar *N1*-ferocenoil uracila (**4a**) i *N1/N3*-bisferocenoil uracila (**5a**)

N1-ferocenoil timin (**4b**) i *N1/N3*-bisferocenoil timin (**5b**)

Nakon pročišćavanja dobiveni su crveni kristali *N1*-ferocenoil-timina (**4b**) u 59 % iskorištenju i kristali *N1/N3*-bisferocenoil-timina (**5b**) u 22 % iskorištenju. Pročišćenim je kopolatima **4b** i **5b** struktura potvrđena ^1H i ^{13}C -NMR spektroskopijom (Slika 42 i 43). U ^1H -NMR spektru *N1*-kopolata **4b** snimljenom u DMSO signal pri δ 11.5 ppm ukazuje na prisutnost protona NH amidne skupine uracila, signal pri δ 7.9 ppm odgovara kemijskom pomaku protona na položaju C-6 pirimidinskog prstena i tri protona metilne skupine timina pri δ 1.8 ppm. U spektru je potvrđena prisutnost ferocenske podjedinice kemijskim pomakom jednog ciklopentadienilnog prstena pri δ 4.8 i 4.7 ppm i nesupstituiranog prstena pri δ 4.3. U ^1H -NMR spektru biskopolata **5b** snimljenom u DMSO vidljiv je signal pri δ 7.54 ppm koji odgovara kemijskom pomaku protona na položaju C-6 pirimidinskog prstena i dublet pri δ 2.05 ppm protonima metilne skupine. U ^1H -NMR spektrima vidljiva su četiri tripleta pri δ 4.89, 4.76, 4.62 i 4.55 ppm koji su pripisani dvama monosupstituiranim ciklopentadienilnim

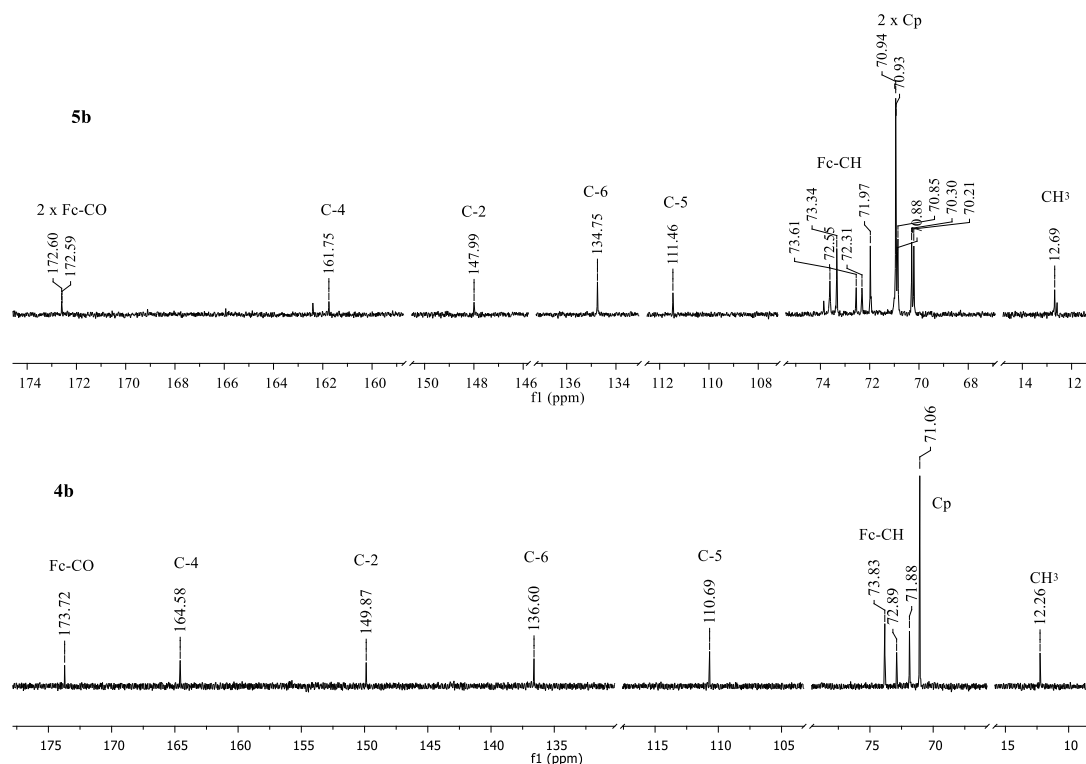
jezgrama, a dva kemijska pomaka vidljivi kao singleti pri δ 4.37 i 4.28 ppm potvrdili su prisutnost dva nesupstituirana ciklopentadienilna prstena.



Slika 42. ¹H NMR spektar N1-ferocenoil timina (**4b**) i N1/N3-bisferocenoil timina (**5b**)

U ¹³C-NMR spektru spoja **4b** vidljiv je signal pri δ 173.7 ppm koji je pripisan ugljikovom atomu karbonilne skupine uz ferocensku podjedinicu, signali pri δ 164.6 i 149.9 ppm pripisani su karbonilnim ugljikovim atomima pirimidinskog prstena, a pri δ 136.6 i 111.6 ppm ugljikovim atomima uracilne podjedinice (C-5 i C-6). U spektru su također vidljivi i kemijski pomaci metilne skupine u C5-poziciji uracila pri δ 12.3 ppm. Ferocenskim ugljikovim atomima supstituiranog ciklopentadienilnog prstena odgovaraju kemijski pomaci pri δ 73.8, 72.9 (Cq) i 71.9 ppm, dok kemijski pomak pri δ 71.1 ppm odgovara ugljikovim atomima nesupstituiranog ciklopentadienilnog prstena. U ¹³C-NMR spektru spoja **5b** vidljiva su dva signala koji se pripisuju ugljikovom atomu karbonilne skupine pri δ 172.6 i 172.59 ppm. Signali pri δ 161.75 i 147.99 ppm pripisani su karbonilnim ugljikovim atomima (C-4 i C-2) pirimidinskog prstena, pri δ 134.75 i 111.46 ppm ugljikovim atomima uracilne podjedinice (C-6 i C-5), a signali pri δ 12.69 ppm pripisani su ugljikovim atomima metilne

skupine. Ferocenski ugljikovi atomi koji se pripisuju ugljikovim atomima nesupstituiranog ciklopentadienilnog prstena nalaze se pri δ 70.94 i 70.93 ppm.

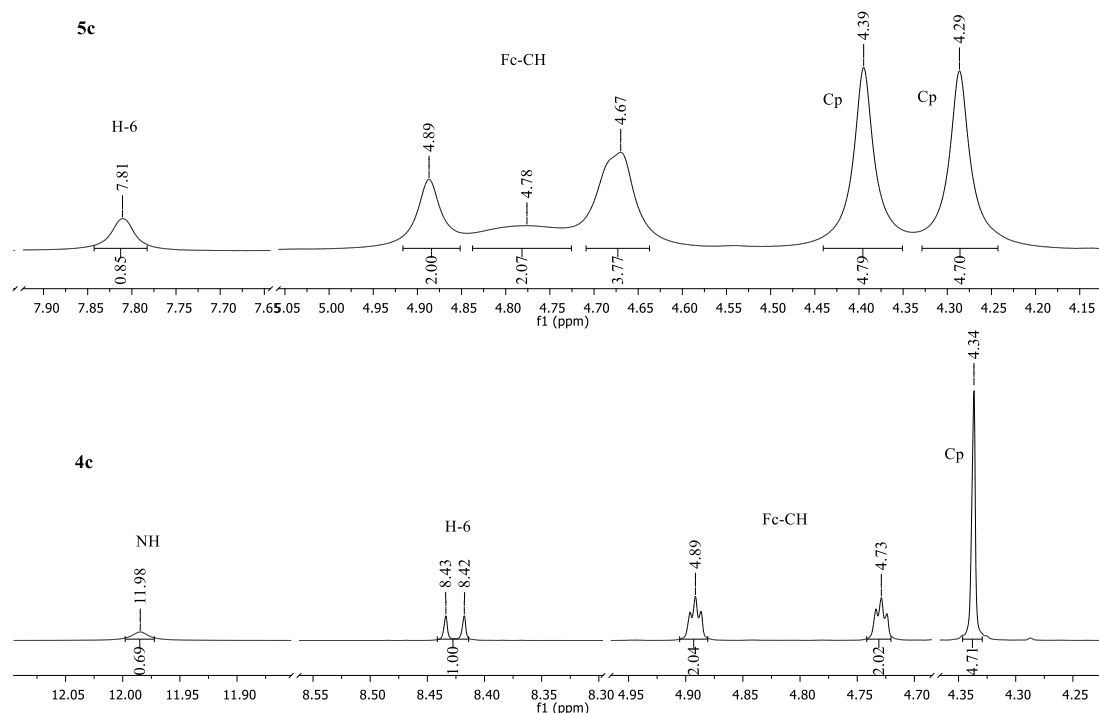


Slika 43. ^{13}C NMR spektar *N1*-ferocenoil timina (**4b**) i *N1/N3*-bisferocenoil timina (**5b**)

N1-ferocenoil 5-fluorouracil (4c) i N1/N3-bisferocenoil 5-fluorouracil (5c)

Nakon pročišćavanja dobiveni su crveni kristali *N1*-ferocenoil-5-fluorouracila (**4c**) u 48 % iskorištenju i kristali *N1/N3*-bisferocenoil-5-fluorouracila (**5c**) u 32 % iskorištenju. Pročišćenim je kopolatima **4c** i **5c** struktura potvrđena ^1H i ^{13}C -NMR spektroskopijom (Slika 44 i 45). ^1H -NMR spektar *N1*-kopolata **4c**, snimljen u DMSO, sadrži signal pri δ 12 ppm koji se pripisuje protonu amidne skupine 5-fluorouracila, a signal pri δ 8.40 ppm pripisan je protonu na položaju C-6 pirimidinskog prstena. U spektru su vidljivi i protoni karakteristični za ferocenske podjedinice i to protoni supstituiranog ciklopentadienilnog prstena pri δ 4.9 i 4.7 ppm i nesupstituiranog prstena pri δ 4.3. U ^1H -NMR spektru biskopolata **5c** snimljenom u DMSO vidljiv je signal pri δ 7.81 ppm pripisan kemijskom pomaku protona na položaju C-6

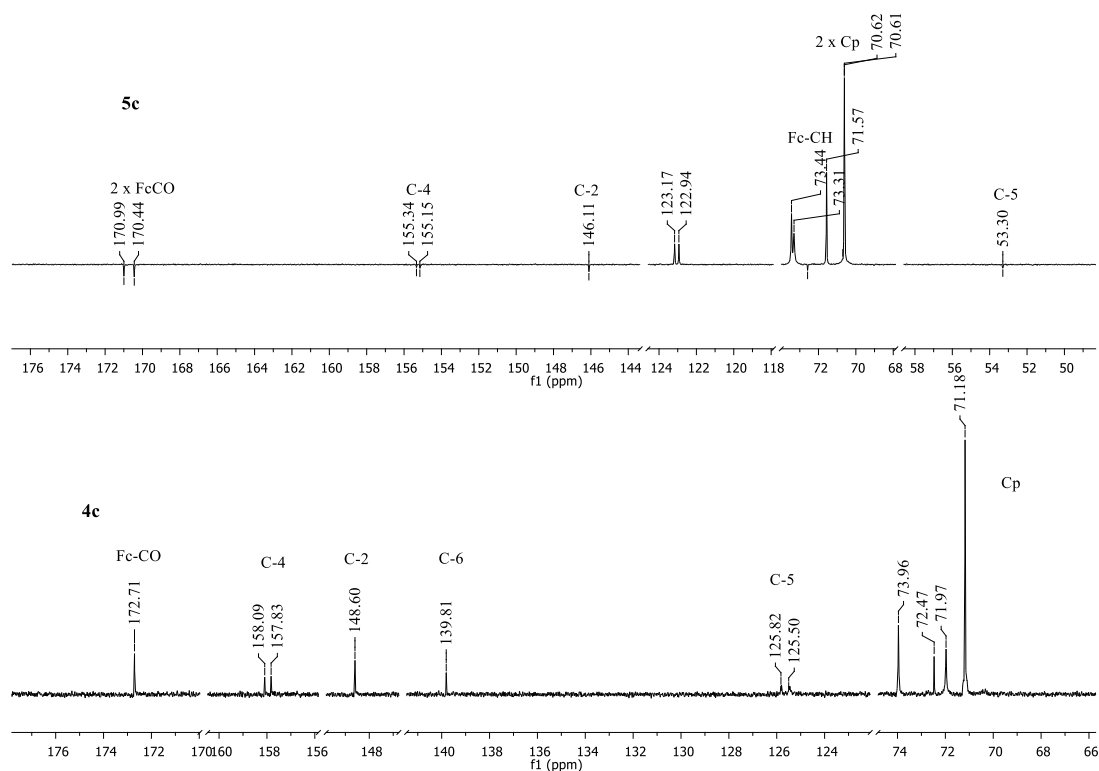
pirimidinskog prstena. U $^1\text{H-NMR}$ spektrima vidljivi su kemijski pomaci pri δ 4.89, 4.78, 4.67 i 4.65 ppm koji su pripisani dvama monosupstituiranim ciklopentadienilnim jezgrama, a dva kemijska pomaka vidljivi kao singleti pri δ 4.39 i 4.29 ppm potvrdili su prisutnost dva nesupstituirana ciklopentadienilna prstena.



Slika 44. $^1\text{H NMR}$ spektar *N1*-ferocenoil 5-fluorouracil (**4c**) i *N1/N3*-bisferocenoil 5-fluorouracil (**5c**)

U $^{13}\text{C-NMR}$ spektru spoja **4c** vidljiv je signal pri δ 172.7 ppm koji je pripisan ugljikovom atomu karbonilne skupine uz ferocensku podjedinicu. Kemijski pomaci pri δ 158.1 i 148.6 ppm pripisani su karbonilnim ugljikovim atomima pirimidinskog prstena, a pri δ 125.7 ppm C-5 i 140.9 ppm C-6 ugljikovim atomima uracilne podjedinice. Ferocenskim ugljikovim atomima supstituiranog ciklopentadienilnog prstena odgovaraju kemijski pomaci pri δ 73.9, 72.5 (Cq) i 71.9 ppm, dok kemijski pomak pri δ 71.1 ppm odgovara ugljikovim atomima nesupstituiranog ciklopentadienilnog prstena. U $^{13}\text{C-NMR}$ spektru spoja **5c** vidljiva su dva signala koji se pripisuju ugljikovom atomu karbonilne skupine pri δ 170.99 i 170.44

ppm. Signali pri δ 155.26 i 146.11 ppm pripisani su karbonilnim ugljikovim atomima (C-4 i C-2) pirimidinskog prstena, pri δ 123.1 i 52.3 ppm ugljikovim atomima uracilne podjedinice (C-6 i C-5). Ferocenski ugljikovi atomi koji se pripisuju ugljikovim atomima nesupstituiranog ciklopentadienilnog prstena nalaze se pri δ 70.62 i 70.61 ppm.

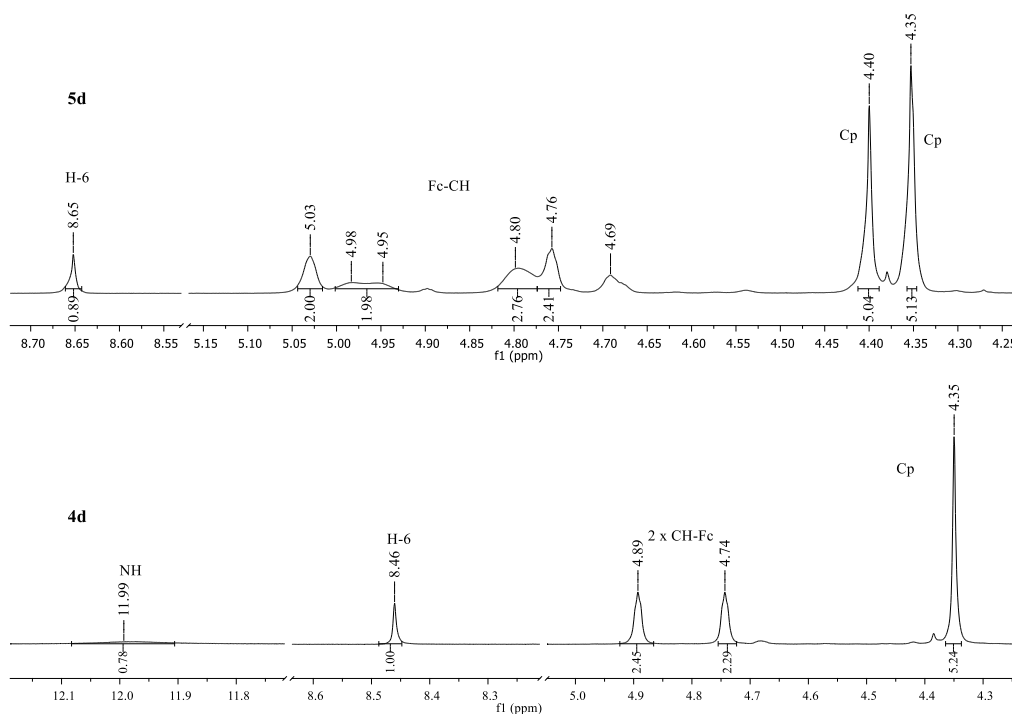


Slika 45. ^{13}C NMR spektar *N1*-ferocenoil 5-fluorouracil (**4c**) i *N1/N3*-bisferocenoil 5-fluorouracil (**5c**)

N1-ferocenoil 5-kloruracil (**4d**) i *N1/N3*-bisferocenoil 5-kloruracil (**5d**)

Nakon pročišćavanja dobiveni su crveni kristali *N1*-ferocenoil-5-kloruracila (**4d**) u 23 % iskorištenju i kristali *N1/N3*-bisferocenoil-5-kloruracila (**5b**) u 35 % iskorištenju. Pročišćenim je kopolatima **4d** i **5d** struktura potvrđena ^1H i ^{13}C -NMR spektroskopijom (Slika 46 i 47). U ^1H -NMR spektru *N1*-kopolata **4d** snimljenom u DMSO signal pri δ 11.5 ppm ukazuje na prisutnost protona NH amidne skupine uracila, signal pri δ 7.9 ppm odgovara kemijskom pomaku protona na položaju C-6 pirimidinskog prstena. U spektru je potvrđena prisutnost ferocenske podjedinice kemijskim pomakom jednog ciklopentadienilnog prstena pri δ 4.8 i

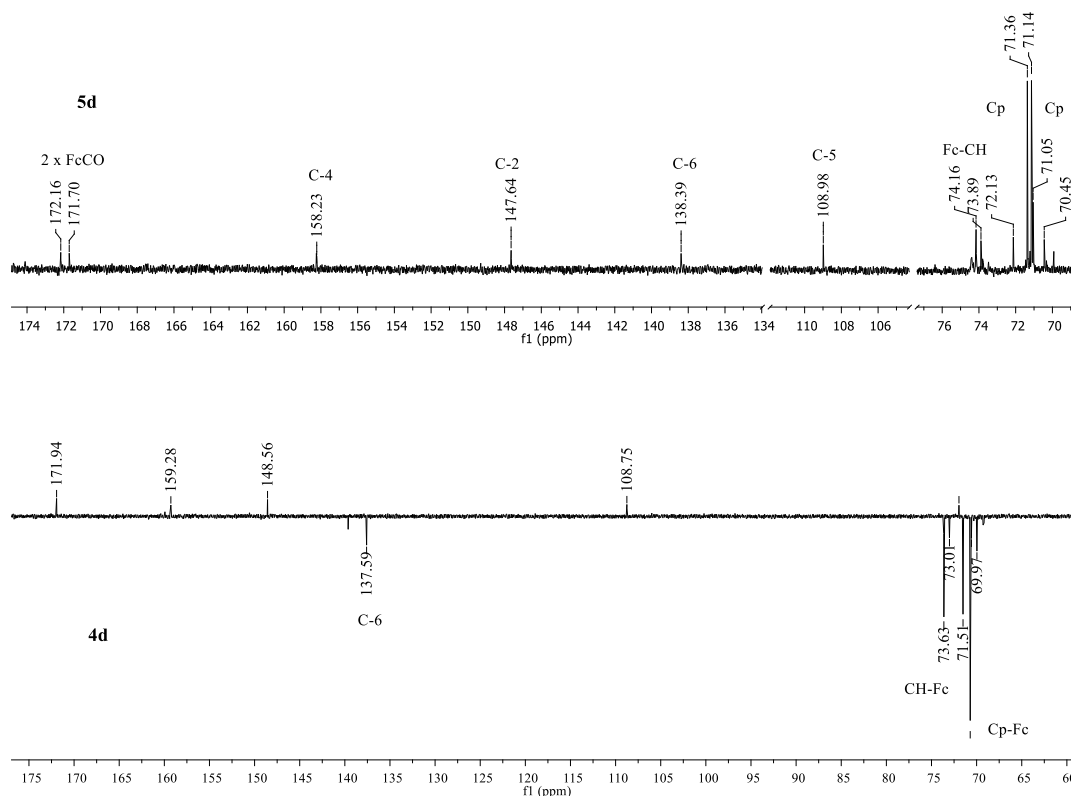
4.7 ppm i nesupstituiranog prstena pri δ 4.3. $^1\text{H-NMR}$ spektar biskopulata **5d** u DMSO uključuje signal pri δ 7.54 ppm koji odgovara kemijskom pomaku protona na položaju C-6 pirimidinskog prstena. U $^1\text{H-NMR}$ spektrima vidljivi su signali pri δ 4.89, 4.76, 4.62 i 4.55 ppm koji su pripisani dvama monosupstituiranim ciklopentadienilnim jezgrama, a dva kemijska pomaka vidljivi kao singleti pri δ 4.37 i 4.28 ppm potvrdili su prisutnost dva nesupstituirana ciklopentadienilna prstena.



Slika 46. $^1\text{H-NMR}$ spektar *N1*-ferocenoil 5-kloruracil (**4d**) i *N1/N3*-bisferocenoil 5-kloruracil (**5d**)

U $^{13}\text{C-NMR}$ spektru spoja **4d** vidljiv je signal pri δ 171.94 ppm koji je pripisan ugljikovom atomu karbonilne skupine uz ferocensku podjedinicu, signali pri δ 159.28 i 148.56 ppm pripisani su karbonilnim ugljikovim atomima pirimidinskog prstena, a pri δ 108.75 i 137.59 ppm ugljikovim atomima uracilne podjedinice (C-5 i C-6). Ferocenskim ugljikovim atomima supstituiranog ciklopentadienilnog prstena odgovaraju kemijski pomaci pri δ 73.63, 71.96 (Cq) i 71.51 ppm, dok kemijski pomak pri δ 70.71 ppm odgovara ugljikovim atomima nesupstituiranog ciklopentadienilnog prstena. U $^{13}\text{C-NMR}$ spektru spoja

5d vidljiva su dva signala koji se pripisuju ugljikovim atomu karbonilne skupine pri δ 172.16 i 171.7 ppm. Signali pri δ 158.25 i 147.64 ppm pripisani su karbonilnim ugljikovim atomima (C-4 i C-2) pirimidinskog prstena, pri δ 138.39 i 108.98 ppm ugljikovim atomima uracilne podjedinice (C-6 i C-5). Ferocenski ugljikovi atomi koji se pripisuju ugljikovim atomima nesupstituiranog ciklopentadienilnog prstena nalaze se pri δ 71.36 i 71.14 ppm.

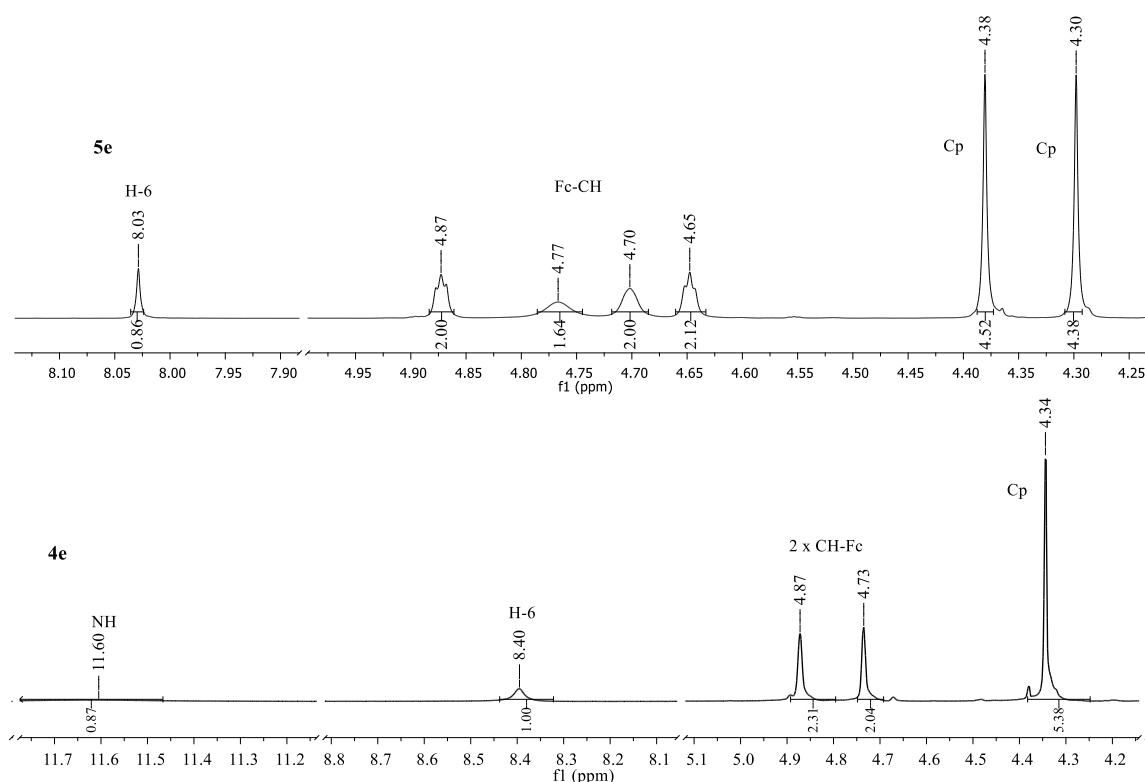


Slika 47. ^{13}C NMR spektar *N1*-ferocenoil 5-kloruracil (**4d**) i *N1/N3*-bisferocenoil 5-kloruracil (**5d**)

N1-ferocenoil 5-bromuracil (**4e**) i *N1/N3*-bisferocenoil 5-bromuracil (**5e**)

Nakon pročišćavanja dobiveni su crveni kristali *N1*-ferocenoil-5-bromuracila (**4e**) u 35 % iskorištenju i kristali *N1/N3*-bisferocenoil-5-bromuracila (**5e**) u 30 % iskorištenju. Pročišćenim je kopulatima **4e** i **5e** struktura potvrđena ^1H i ^{13}C -NMR spektroskopijom (Slika 48 i 49). U ^1H -NMR spektru *N1*-kopulata **4e** snimljenom u DMSO signal pri δ 11.6 ppm ukazuje na prisutnost protona NH amidne skupine uracila, signal pri δ 8.4 ppm odgovara

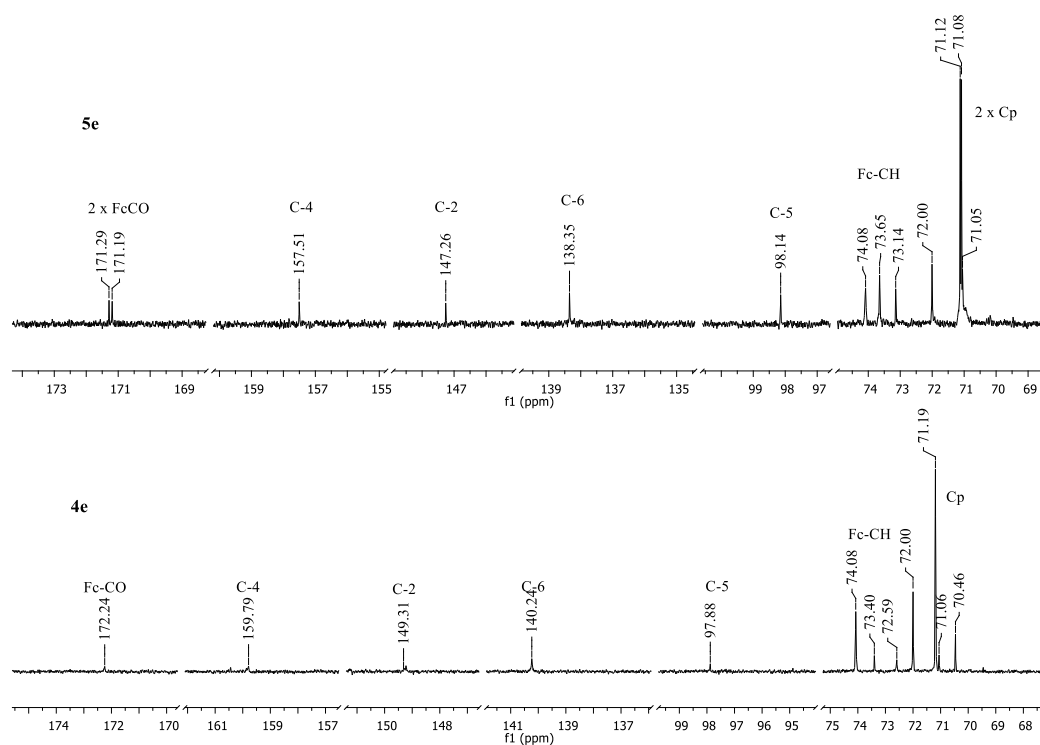
kemijskom pomaku protona na položaju C-6 pirimidinskog prstena. U spektru je potvrđena prisutnost ferocenske podjedinice kemijskim pomakom jednog ciklopentadienilnog prstena pri δ 4.87 i 4.73 ppm i nesupstituiranog prstena pri δ 4.34 ppm. U $^1\text{H-NMR}$ spektru biskopolata **5e** snimljenom u DMSO vidljiv je signal pri δ 8.03 ppm koji odgovara kemijskom pomaku protona na položaju C-6 pirimidinskog prstena. U $^1\text{H-NMR}$ spektrima vidljiva su četiri tripleta pri δ 4.87, 4.77, 4.70 i 4.65 ppm koji su pripisani dvama monosupstituiranim ciklopentadienilnim jezgrama, a dva kemijska pomaka vidljivi kao singleti pri δ 4.38 i 4.30 ppm potvrdili su prisutnost dva nesupstituirana ciklopentadienilna prstena.



Slika 48. $^1\text{H-NMR}$ spektar *N1*-ferocenoil 5-bromuracila (**4e**) i *N1/N3*-bisferocenoil 5-bromuracila (**5e**)

U $^{13}\text{C-NMR}$ spektru spoja **4e** vidljiv je signal pri δ 172.24 ppm koji je pripisan ugljikovom atomu karbonilne skupine uz ferocensku podjedinicu, signali pri δ 159.79 i 149.62 ppm pripisani su karbonilnim ugljikovim atomima pirimidinskog prstena, a pri δ 97.88 i 140.24 ppm ugljikovim atomima uracilne podjedinice (C-5 i C-6). Ferocenskim ugljikovim atomima supstituiranog ciklopentadienilnog prstena odgovaraju kemijski pomaci pri δ 74.08,

72.59 (Cq) i 72 ppm, dok kemijski pomak pri δ 71.19 ppm odgovara ugljikovim atomima nesupstituiranog ciklopentadienilnog prstena. U ^{13}C -NMR spektru spoja **5e** vidljiva su dva signala koji se pripisuju ugljikovim atomu karbonilne skupine pri δ 171.29 i 171.19 ppm. Signali pri δ 157.51 i 147.26 ppm pripisani su karbonilnim ugljikovim atomima (C-4 i C-2) pirimidinskog prstena, pri δ 138.34 i 98.14 ppm ugljikovim atomima uracilne podjedinice (C-6 i C-5). Ferocenski ugljikovi atomi koji se pripisuju ugljikovim atomima nesupstituiranog ciklopentadienilnog prstena nalaze se pri δ 71.12 i 71.08 ppm.

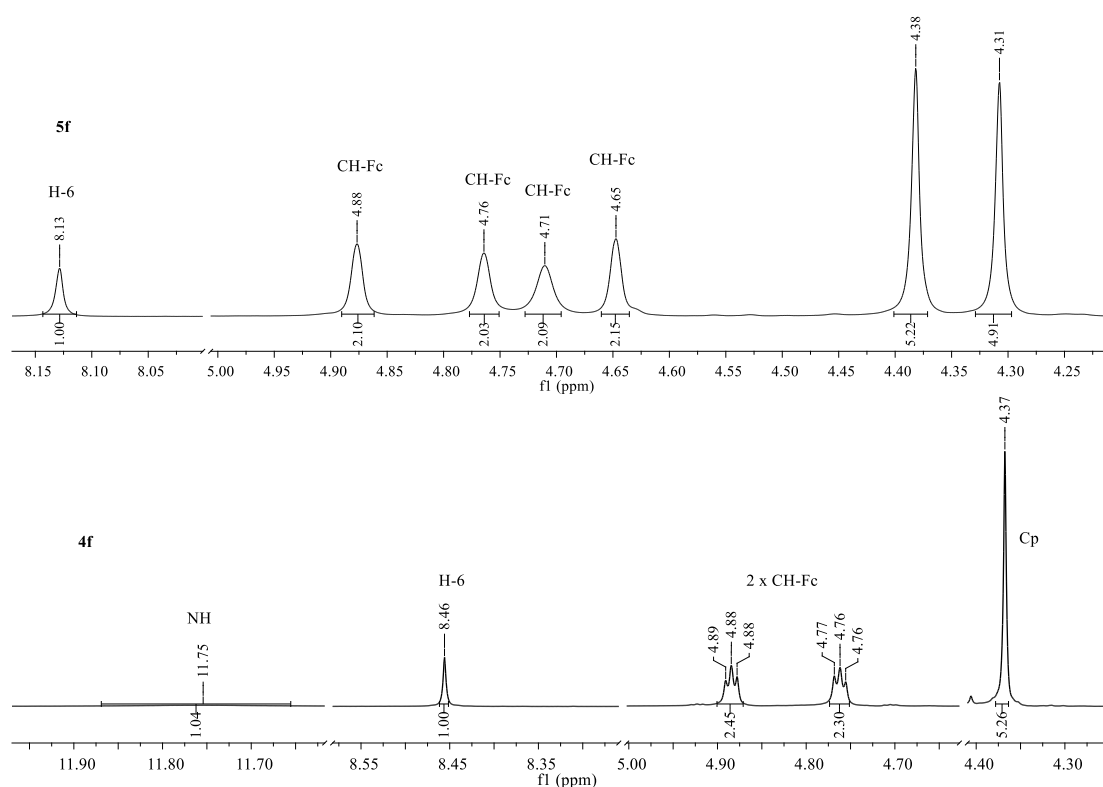


Slika 49. ^{13}C NMR spektar *N*1-ferocenoil 5-bromuracila (**4e**) i *N*1/*N*3-bisferocenoil 5-bromuracila (**5e**)

*N*1-ferocenoil 5-joduracil (**4f**) i *N*1/*N*3-bisferocenoil 5-joduracil (**5f**)

Nakon pročišćavanja dobiveni su crveni kristali *N*1-ferocenoil-5-joduracila (**4f**) u 34 % iskorištenju i kristali *N*1/*N*3-bisferocenoil-5-joduracila (**5f**) u 32 % iskorištenju. Pročišćenim je kopulatima **4f** i **5f** struktura potvrđena ^1H i ^{13}C -NMR spektroskopijom (Slika 50 i 51). U ^1H -NMR spektru *N*1-kopulata **4f** snimljenom u DMSO signal pri δ 11.75 ppm ukazuje na prisutnost protona NH amidne skupine uracila, signal pri δ 8.46 ppm odgovara kemijskom

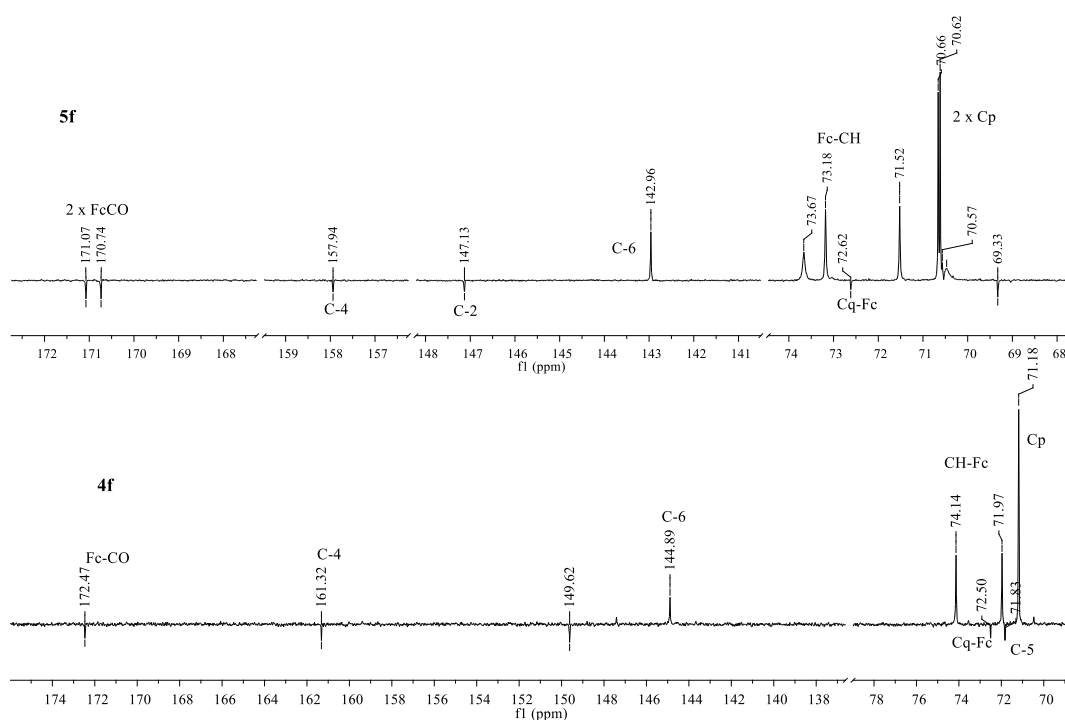
pomaku protona na položaju C-6 pirimidinskog prstena. U spektru je potvrđena prisutnost ferocenske podjedinice kemijskim pomakom jednog ciklopentadienilnog prstena pri δ 4.88 i 4.76 ppm i nesupstituiranog prstena pri δ 4.37 ppm. U $^1\text{H-NMR}$ spektru biskopulata **5f** snimljenom u DMSO vidljiv je signal pri δ 8.13 ppm koji odgovara kemijskom pomaku protona na položaju C-6 pirimidinskog prstena. U $^1\text{H-NMR}$ spektrima vidljiva su četiri tripleta pri δ 4.88, 4.76, 4.71 i 4.65 ppm koji su pripisani dvama monosupstituiranim ciklopentadienilnim jezgrama, a dva kemijska pomaka vidljivi kao singleti pri δ 4.38 i 4.31 ppm potvrdili su prisutnost dva nesupstituirana ciklopentadienilna prstena.



Slika 50. $^1\text{H-NMR}$ spektar *N1*-ferocenoil 5-joduracila (**4f**) i *N1/N3*-bisferocenoil 5-joduracila (**5f**)

U $^{13}\text{C-NMR}$ spektru spoja **4f** vidljiv je signal pri δ 172.47 ppm koji je pripisan ugljikovom atomu karbonilne skupine uz ferocensku podjedinicu, signali pri δ 161.32 i 149.62 ppm pripisani su karbonilnim ugljikovim atomima pirimidinskog prstena, a pri δ 67.35 i 144.89 ppm ugljikovim atomima uracilne podjedinice (C-5 i C-6). Ferocenskim ugljikovim

atomima supstituiranog ciklopentadienilnog prstena odgovaraju kemijski pomaci pri δ 74.14, 71.83 (Cq) i 71.97 ppm, dok kemijski pomak pri δ 71.18 ppm odgovara ugljikovim atomima nesupstituiranog ciklopentadienilnog prstena. U ^{13}C -NMR spektru spoja **5f** vidljiva su dva signala koji se pripisuju ugljikovim atomu karbonilne skupine pri δ 171.07 i 170.74 ppm. Signali pri δ 157.94 i 147.13 ppm pripisani su karbonilnim ugljikovim atomima (C-4 i C-2) pirimidinskog prstena, pri δ 142.96 i 69.33 ppm ugljikovim atomima uracilne podjedinice (C-6 i C-5). Ferocenski ugljikovi atomi koji se pripisuju ugljikovim atomima nesupstituiranog ciklopentadienilnog prstena nalaze se pri δ 70.66 i 70.62 ppm.



Slika 51. ^{13}C NMR spektar *N1*-ferocenoil 5-joduracila (**4f**) i *N1/N3*-bisferocenoil 5-joduracila (**5f**)

5. ZAKLJUČCI

1. Uspješno su provedene reakcije kopulacije ferocenoila i C-5 supstituiranih derivata uracila te su dobiveni N1-izomeri **4a-f** i N1/N3-konjugati **5a-f** ovisno o primijenjenim uvjetima.
2. Reakcije provedene *postupkom A* jednoznačno daju N1-konjugate, te se može zaključiti da su te reakcije regiospecifične.
3. U reakcijama provedenim *postupkom B* uz N1-kopulate, nastaju i N1/N3-spojevi, a na regioselektivnost i iskorištenje ovih reakcija utječe i supstituent u položaju 5.
4. Struktura svih dobivenih produkata kao i regioselektivnost provedenih reakcija potvrđeni su NMR spektroskopijom. Na osnovu kemijskih pomaka u ^1H spektrima spojeva **4a-f** potvrđena je supstitucija pirimidinske baze jednom ferocenoilnom skupinom, dok je kod spojeva **5a-f** heterociklička jezgra supstituirana s dvije ferocenoilne skupine.

6. LITERATURA

- [1] Rapić, V., Čakić Semenčić, M. (2010) I. Organometalna i bioorganometalna kemija ferocen i metalni karbonili. *Kem. Ind.* **60**, 61-67.
- [2] Gasser, G., Ott, I., Metzler-Nolte, N. (2011) Organometallic Anticancer Compounds. *J. Med. Chem.* **54**, 3–25.
- [3] Simenel, A. A., Dokuchaeva, G. A., Snegur, L. V., Rodionov, A. N., Ilyin, M. M., Zykova, S. I., Rikova, V. A. (2010) Ferrocene-modified thiopyrimidines: synthesis, enantiomeric resolution, antitumor activity. *Appl. Organomet. Chem.*, **25**, 70–75.
- [4] Didier, A. (2007) Organometallic Chemistry and Catalysis [online], Springer, Berlin, 5-20. <<https://link.springer.com/book/10.1007%2F978-3-540-46129-6>>. Pristupljeno 29. travnja 2020.
- [5] Eisch, J. J. (2002) Henry Gilman: American Pioneer in the Rise of Organometallic Chemistry in Modern Science and Technology. *Organometallics*. **21**, 5439–5463.
- [6] Powell, P. (1988) Principles of Organometallic Chemistry [online], Springer, New York, 1.<https://books.google.hr/books?hl=hr&lr=&id=MG3sCAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR9&dq=organometalli+chemistry&ots=iPDhxCsMBQ&sig=VavWspbfGuoxCYEN2bPPOBLJws&redir_esc=y#v=onepage&q=organometallic%20chemistry&f=false>. Pristupljeno 29. travnja 2020.
- [7] Lewis, D. (2018) Charles Friedel (1832–1899) and James Mason Crafts (1839–1917): The Friedel–Crafts Alkylation and Acylation Reactions. *Synform*. **4**, A49-A52.
- [8] Brihta, I. (2018) Alkilacija. *Studia lexicographica*. **23**, 210-213.
- [9] Olah, G. A., Reddy, V. P., Prakash, G. K. S. (2000) Friedel-Crafts Reactions. U: *Encyclopedia of Chemical Technology* (Kirk-Othmer, ured.), John Wiley & Sons, Hoboken, 159-193.
- [10] Cantrill, S. (2014) An iron-clad structure. *Nature*. **511**, 11.
- [11] Rausch, M., Vogel, M., Rosenberg, H. (1957) Ferrocene: A novel organometallic compound. *J. Chem. Educ.* **34**, 268-271.

- [12] Narváez-Pita, X., Rheingold, A. L., Meléndez, E. (2017) Ferrocene-steroid conjugates: Synthesis, structure and biological activity. *J. Organomet. Chem.*, **846**, 113-120.
- [13] Janović, Z., Veksli, Z. (2015) Šezdesetgodišnjica Ziegler-Nattinih katalizatora i stereospecifičnih polimerizacija. *Kem. Ind.* **64**, 363-379.
- [14] Kealy, T. J., Pauson, P. L. (1951) A New Type of Organo-Iron Compound. *Nature*. **168**, 1039-1040.
- [15] ChemSpider (2020) Ferrocene, <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.7329.html>>. Pristupljeno 15. rujna 2020.
- [16] Patra, M., Gasser, G. (2017) The medicinal chemistry of ferrocene and its derivatives. *Nat. Rev. Chem.* **1**, 66.
- [17] Werner, H. (2012) At Least 60 Years of Ferrocene: The Discovery and Rediscovery of the Sandwich Complexes. *Angew. Chem.* **51(25)**, 6052–6058.
- [18] Grdenić, D. (1987) Molekule i kristali, 3. izd., Školska knjiga, Zagreb, 172.
- [19] Organic Syntheses, Inc. (2014) Ferrocene, <<http://www.orgsyn.org/demo.aspx?prep=CV4P0473>>. Pristupljeno 5. svibnja 2020.
- [20] Elias, A. J. (2002) A Collection of Interesting General Chemistry Experiments [online], Universities Press, Hyderabad, 115.
- [21] Cunningham, A.F. (1996) Mechanism of Mercuration of Ferrocene: General Treatment of Electrophilic Substitution of Ferrocene Derivatives. *Organometallics*. **16**, 1114-1122.
- [22] Stone D. L., Smith D. K. (2003) Anion binding at the core of branched ferrocene derivatives. *Polyhedron*. **22**, 763.
- [23] Dyson, P. J., Allardyce, C. S., Dorcier, A., Scolaro, C. (2005) Development of organometallic (organo-transition metal) pharmaceuticals. *Appl. Organomet. Chem.* **19**, 1–10.
- [24] Sokol, I., Majić, M., Belovari, M., Gazivoda Kraljević, T. (2018) Sinteza i strukturna karakterizacija novih 1, 2, 3-triazolnih derivata kumarina i kinolina. XII. susret mladih kemijskih inženjera, Zagreb.

- [25] Barišić, L. (2012) Ferrocene conjugates with mannose: synthesis and influence of ferrocene aglycon on mannose-mediated adhesion of *E. coli*. *Appl. Organomet. Chem.* **26**, 74.
- [26] Liu, M., Zhang, J. (2016) Synthesis and fluorescence of pyrazolines substituted with pyrimidine and ferrocene subunits. *Heterocycl. Commun.* **22**, 31-34.
- [27] Plažuk, D., Vessières, A., Hillard, E. A., Buriez, O., Labbé, E., Pigeon, P., Jaouen, G. (2009) A 3-Ferrocenophane Polyphenol Showing a Remarkable Antiproliferative Activity on Breast and Prostate Cancer Cell Lines. *J. Med. Chem.* **52**, 4964–4967.
- [28] Liu, J., Li, L., Dai, H., Liu, Z., Fang, J. (2006) Synthesis and biological activities of new 1H-1,2,4-triazole derivatives containing ferrocenyl moiety. *J. Organomet. Chem.* **691**, 2686–2690.
- [29] Pine, S. H. (1994) *Organska kemija*, 3. izd. (preveli Bregovec, I., Rapić, V.), Školska knjiga, Zagreb, 49., 62., 609.-616.
- [30] Movassaghi, M., Hill, M. D. (2006) Single-step synthesis of pyrimidine derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 14254-14255.
- [31] Škare, D. (1999) Tendencije razvoja novih eksploziva. Heterociklički, benzenoidni aromatski i aciklički spojevi. *Kem. Ind.* **48**, 97-102.
- [32] Powers, H. J. (2003) Riboflavin (vitamin B-2) and health. *Am. J. Clin. Nutr.* **77**, 1352–1360.
- [33] Vandamme, E. J. (2012) Natural colors ... but of course!, <https://www.researchgate.net/publication/232219383_SIM-News-BioColors>. Pristupljeno 15. rujna 2020.
- [34] Sobczyńska-Malefora, A., Harrington, D. J. (2018) Laboratory assessment of folate (vitamin B9) status. *J. Clin. Pathol.* **71**, 949-956.
- [35] Humski, K. (1979) Heterociklički spojevi. *Tehnička enciklopedija.* **23**, 353-362
- [36] Brown, D. J. (1994) *The Chemistry of Heterocyclic Compounds*, John Wiley & Sons, New York, 30-34.
- [37] D'Auria, M. (2005) Electrophilic Substitution In Azines. *Lett. Org. Chem.* **2**, 659.

- [38] Katritzky, A. R., Ramsden, C. A., Joule, J. A., Zhdankin, V. V. (2010). Reactivity of Six-membered Rings. U: *Handbook of Heterocyclic Chemistry*, 3.izd., Elsevier, Edinburgh, 242–382.
- [39] Sharma, V., Chitranshi, N., Agarwal, A. K. (2014) Significance and Biological Importance of Pyrimidine in the Microbial World. *Int. J. Med. Chem.* **2014**, 1–31.
- [40] Sahu, M., Siddiqui, N. (2016) A review on biological importance of pyrimidines in the new era. *Int.. J. Pharm. Pharm. Sci.* **8**, 8-18.
- [41] Said, S. A., Amr, A. E. E., Sabry, N. M., Abdalla, M. M. (2009) Analgesic, anticonvulsant and anti-inflammatory activities of some synthesized benzodiazepine, triazolopyrimidine and bis-imide derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **44**, 4787–4792.
- [42] Lukasik, P. M., Elabar, S., Lam, F., Shao, H., Liu, X., Abbas, A. Y., Wang, S. (2012) Synthesis and biological evaluation of imidazo[4,5-b]pyridine and 4-heteroaryl-pyrimidine derivatives as anti-cancer agents. *Eur. J. Med. Chem.* **57**, 311–322.
- [43] Becker, R. S., Kogan, G. (1980) Photophysical properties of nucleic acid components—1. The pyrimidines: thymine, uracil, n, n-dimethyl derivatives and thymidine. *Photochem. Photobiol.* **31**, 5–13.
- [44] Palasz, A., Cież, D. (2015) In search of uracil derivatives as bioactive agents. Uracils and fused uracils: Synthesis, biological activity and applications. *Eur. J. Med. Chem.* **97**, 582-611.
- [45] Lindahl, T. (1993) Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature.* **297**, 39-51.
- [46] Morris, S. M. (1993) The genetic toxicology of 5-fluoropyrimidines and 5-chlorouracil. *Mutat. Res.* **362**, 709-715.
- [47] Kopjar, N., Želježić, D., Kašuba, V., Rozgaj, R. (2010) Antineoplastic Drugs as a Potential Risk Factor in Occupational Settings: Mechanisms of Action at the Cell Level, Genotoxic Effects, and Their Detection Using Different Biomarkers. *Arh. Hig. Rada Toksiko.* **61**, 121-128.
- [48] Anonymus (2002) Fluorouracil,

<<http://chemocare.com/chemotherapy/drug-info/fluorouracil.aspx>>. Pristupljeno 22. svibnja 2020.

[49] Brulikova, L., Hlavac, J. (2011) Synthesis, reactivity and biological activity of 5-alkoxymethyluracil analogues. *Beilstein J. Org. Chem.* **7**, 678–698.

[50] Abdel-Mottaleb, Y., Abdel-Mottaleb, M. S. A. (2016) Molecular Modeling Studies of Some Uracil and New Deoxyuridine Derivatives. *J. Chem.* **2016**, 1–12.

[51] Kowalski, K., Skiba, J., Oehninger, L., Ott, I., Solecka, J., Rajnisz, A., Therrien, B. (2013) Metallocene-Modified Uracils: Synthesis, Structure, and Biological Activity. *Organometallics*. **32**, 5766–5773.

[52] Skiba, J., Kowalski, K., Prochnicka, A., Ott, I., Solecka, J., Rajnisz, A., Therrien, B. (2015) Metallocene-uracil conjugates: Synthesis and biological evaluation of novel mono-, di- and tri-nuclear systems. *J. Organomet. Chem.* **782**, 56-57.

[53] Abdrakhimova, G. S., Ovchinnikov, M. Y., Lobov, A. N., Spirikhin, L. V., Khursan, S. L., Ivanov, S. P. (2018) 5-Chlorouracil and 5-bromouracil acid-base equilibrium study in water and DMSO by NMR spectroscopy. *J. Mol. Struct.* **1158**, 51-56.

[54] Jiang, Q., Blount, B. C., Ames, B. M. (2003) 5-Chlorouracil, a marker of DNA damage from hypochlorous acid during inflammation. A gas chromatography-mass spectrometry assay. *J. Biol. Chem.* **278**, 32834-32840.

[55] Griffiths, A. J. F., Wessler, S. R., Lewontin, R. C., Gelbart, W. M., Suzuki, D. T., Miller, J. H. (2005) *An Introduction to Genetic Analysis.*, 8.izd., W. H. Freeman and Company, New York, 687.

[56] Byrd, D. M., Prusoff, W. H. (1975) Multiplicity reactivation of 5 iodouracil substituted, nonviable bacteriophage T4td8. *Antimicrob. Agents. Ch.* **8**, 558-563.

[57] Dai, X., Song, D., Liu, K., Su, H. (2017) Photoinduced C—I bond homolysis of 5-iodouracil: A singlet predissociation pathway. *J. Chem. Phys.* **146**, 1-7.

[58] Setlow, R. B., Swenson, P. A., & Carrier, W. L. (1963) Thymine Dimers and Inhibition of DNA Synthesis by Ultraviolet Irradiation of Cells. *Science*. **142**, 1464–1466.

- [59] Kowalski, K., Koceva-Chyła, A., Pieniążek, A., Bernasińska, J., Skiba, J., Rybarczyk-Pirek, A. J., & Józwiak, Z. (2012) The synthesis, structure, electrochemistry and in vitro anticancer activity studies of ferrocenyl-thymine conjugates. *J. Organomet. Chem.* **700**, 58–68.
- [60] Skiba, J., Karpowicz, R., Szabó, I., Therrien, B., & Kowalski, K. (2015) Synthesis and anticancer activity studies of ferrocenyl-thymine-3,6-dihydro-2H-thiopyranes – A new class of metallocene-nucleobase derivatives. *J. Organomet. Chem.* **794**, 216–222.
- [61] Kowalski, K. (2016). Ferrocenyl-nucleobase complexes: Synthesis, chemistry and applications. *Coord. Chem. Rev.* **317**, 132–156.
- [62] Biehl, E. R., Reeves, P. C. (1973) A Convenient, High-Yield Synthesis of the Carboxylic Acid Derivatives of Ferrocene and Cyclopentadienylmanganese Tricarbonyl. *Synthesis.* **6**, 360–361.
- [63] Knobloch, F.W., Raucher, W. H. (1961) Condensation polymers of ferrocene derivatives. *J. Polym. Sci. A.* **54**, 651–656.
- [64] Lapić, J., Havaić, V., Šakić, D., Sanković, K., Djaković, S., Vrček, V. (2015). Ferrocenyl-Substituted Pyrimidine Nucleobases: An Experimental and Computational Study of Regioselective Acylation of Uracil, Thymine, and 5-Fluorouracil. *Eur. J. Org. Chem.* **24**, 5424–5428.

IZJAVA O IZVORNOSTI

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

Ime i prezime studenta