

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

**IVANA KUZMAN**

**Modelna reakcija *N*-ferocenoiliranja uracila**

Zagreb, 2020.

Ovaj rad izrađen je u Laboratoriju za organsku kemiju na Zavodu za kemiju i biokemiju Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom izv.prof.dr.sc. Senke Djaković te uz pomoć doc. dr. sc. Jasmine Lapić i predan je na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2019./2020.

# Sadržaj

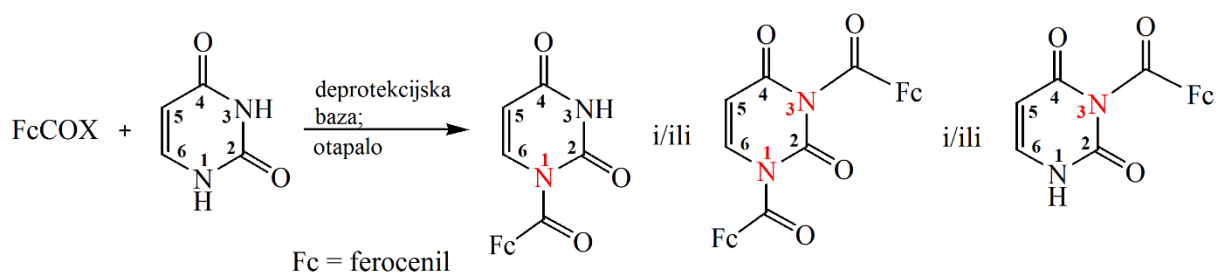
1.	UVOD.....	1
2.	TEORIJSKI DIO.....	2
2.1.	ORGANOMETALNA KEMIJA .....	2
2.1.1.	Svojstva organometalnih spojeva.....	2
2.1.2.	Primjena organometalnih spojeva.....	3
2.2.	NUKLEOZIDNE BAZE.....	4
2.2.1.	Pirimidin .....	6
2.3.	PIRIMIDINSKI DERIVATI I NJIHOVO BIOLOŠKO DJELOVANJE .....	8
2.3.1.	Uracil.....	12
2.4.	FEROCEN .....	14
2.4.1.	Derivati ferocena s biološkom aktivnošću .....	19
2.4.2.	Ferocenski derivati nukleobaza, nukleotida i nukleozida .....	21
3.	EKSPERIMENTALNI DIO .....	25
3.1.	MATERIJALI.....	25
3.2.	METODE RADA.....	26
3.3.	SHEME PRIPRAVE KOPULATA FEROCENA I DERIVATA PIRIMIDISKIH BAZA.....	29
3.4.	PROTOKOLI ZA PRIPRAVU SPOJEVA.....	30
3.4.1.	2-klorbenzoil-ferocen (1) .....	30
3.4.2.	Ferocenkarboksilna kiselina (2) .....	31
3.4.3.	Ferocenoil klorid (3) .....	31
3.4.4.	Ferocenoil etilkarbonat (4).....	32
3.4.5.	Benzotriazoil-ferocenkarboksilat (5) .....	32
3.4.6.	Ferocenoil-uracil konjugati (6-8) .....	33
4.	REZULTATI I RASPRAVA.....	36
4.1.	SINTEZA I SPEKTRALNA ANALIZA PREKURSORA.....	37
4.1.1.	Ferocenkarboksilna kiselina (2).....	37
4.1.2.	Ferocenoil klorid (3) .....	38
4.1.3.	Ferocenoil etil karbonat (4).....	39
4.1.4.	Benzotriazoil-ferocenkarboksilat (5) .....	40
4.2.	SINTEZA I SPEKTRALNA ANALIZA FEROCENOIL URACILA .....	40
4.2.1.	Sinteza i spektralna analiza: <i>Postupak A</i> .....	41
4.2.2.	Sinteza i spektralna analiza: <i>Postupak B i Postupak C</i> .....	46

5.	ZAKLJUČCI.....	48
6.	POPIS LITERATURE.....	49
7.	SAŽETAK.....	55
8.	SUMMARY.....	56
9.	ŽIVOTOPIS.....	57

# 1. UVOD

Ovaj rad prijavljen na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade 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 proveden je u Laboratoriju za organsku kemiju Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta u Zagrebu.

Biokonjugati ferocena i nukleobaza noviji su organometalni spojevi čiju strukturu čine elektrokemijski i biološki aktivne komponente. S obzirom na redukcijski potencijal i posebna elektrokemijska svojstva ferocena, očekuje se zanimljiva interakcija ferocenilnih supstituenata s aromatskim sustavom nukleobaze. Veliki broj supstituiranih analoga prirodnih nukleozida pokazuje snažna biološka djelovanja te postoji značajna potreba za novosintetiziranim nukleozidnim analogima. Međutim, purinske i pirimidinske nukleobaze nisu uobičajeni nukleofili koji mogu jednostavno reagirati s ugljikovim elektrofilima neovisno o uvjetima reakcije. Odstupanje u reaktivnosti nukleobaze često je posljedica smanjene nukleofilnosti i povećane kiselosti NH skupina, a reakcija *N*-aciliranja nukleobaza problematična je zbog njihove male topljivosti u uobičajenim organskim otapalima. Cilj ovoga rada je optimiranje reakcije *N*-ferocenoiliranja uracila kao modelne reakcije (Slika 1). U svrhu optimiranja sintetske procedure ispitani su različiti acilirajući agensi (ferocenoil klorid, ferocenoil etil karbonat i benzotriazoil-ferocenkarboksilat), zatim natrijev hidrid (NaH), kalijev karbonat (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) i trietilamin [(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>N] kao deprotekcijske baze, dimetilformamid (DMF) i acetonitril (CH<sub>3</sub>CN) kao otapala, te vrijeme aktivacije uracila. Za praćenje tijeka reakcije koristit će se NMR spektroskopija (<sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C), jer ona omogućuje analizu dinamike reakcije, te određuje strukturna svojstva produkata.

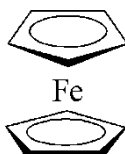


**Slika 1.** Modelna reakcija *N*-ferocenoiliranja uracila

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. ORGANOMETALNA KEMIJA

Organometalna kemija grana je kemije koja proučava spojeve koji sadrže izravnu vezu metal-ugljik. Nastala je na graničnom području organske i anorganske kemije, a već u 18. stoljeću opisani su spojevi za koje se kasnije uspostavilo da istodobno imaju organski i anorganski karakter. Organometalna se kemija snažnije počinje razvijati u 19. stoljeću, a nagli razvoj doživljava sredinom 20. stoljeća nakon otkrića ferocena, tipičnog organometalnog spoja (Slika 2) [1]. Definicija strukture i svojstava ferocena dovela je do sve veće primjene organometalnih spojeva u raznim znanstvenim i industrijskim područjima poput kemijske katalize i znanosti o materijalima, a danas prvenstveno u područjima poput farmakologije te medicinske kemije [2].



**Slika 2.** Ferocen [3]

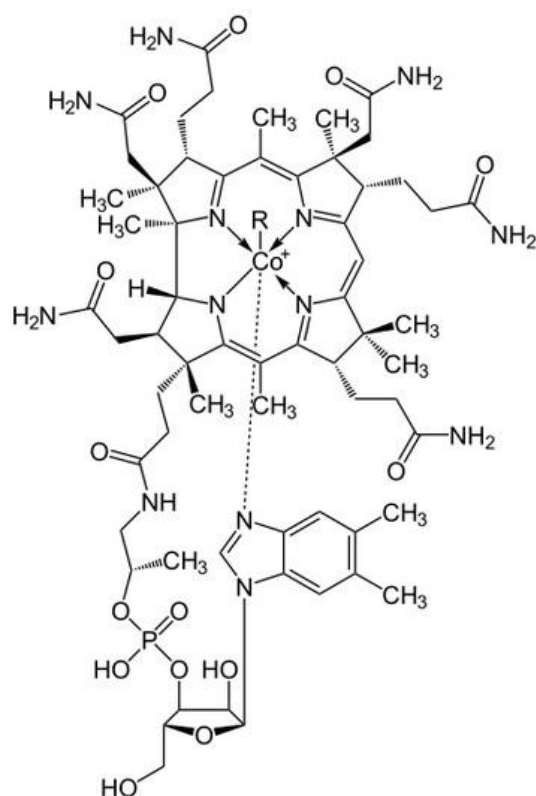
#### 2.1.1. Svojstva organometalnih spojeva

Organski dio u organometalnom spoju ponajviše utječe na njegova svojstva. Budući da taj dio može biti različite kemijske strukture, fizikalna svojstva spojeva s istim metalom mogu se poprilično razlikovati. Organometalni spojevi malih molekulskih masa su pri sobnoj temperaturi plinovi niskih temperatura vrelišta te lakohlapljive tekućine, a oni većih molekulskih masa imaju viša vrelišta te su pri sobnoj temperaturi u čvrstom agregatnom stanju. Organokositrene, organosilicijeve spojeve te  $\pi$ -komplekse prijelaznih metala odlikuje termička stabilnost, dok su  $\sigma$ -kompleksi prijelaznih metala postojani samo na niskoj temperaturi. Većina je ovih spojeva netopljiva u vodi, dok im je dobra topljivost u organskim otapalima poput benzena, petroletera i kloroforma. Organometalni spojevi kod kojih organski dio sadrži neku polarnu skupinu, poput hidroksilne ili karboksline, otapaju se i u eteru, alkoholu, acetonu i

sličnim otapalima. Pojedini su organometalni spojevi stabilni samo u bezvodnim uvjetima i atmosferi inertnog plina, dok je ferocen stabilan i u biološkim, odnosno vodenim uvjetima [4].

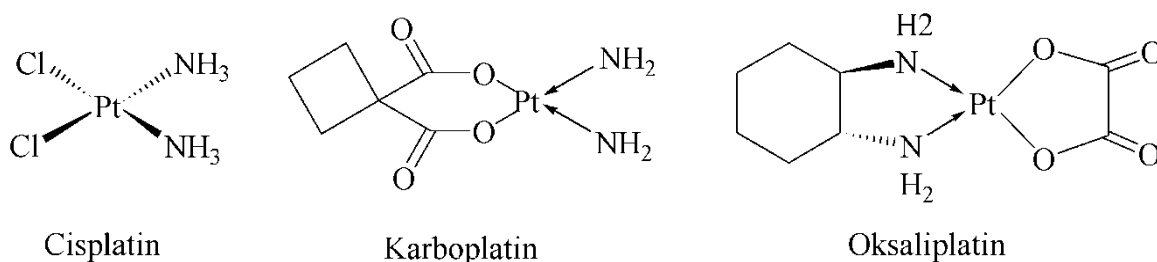
### 2.1.2. Primjena organometalnih spojeva

U početku su se organometalni spojevi pripremali prvenstveno za primjenu u kemijskoj industriji, a to je pripisano toksičnosti metala kao što su živa, olovo, kadmij, arsen koji su sastavni dio ovih spojeva, ali i samoj nestabilnosti ovih spojeva na djelovanje vode i kisika [4]. Međutim, otkrićem strukture kobalamina, poznatijeg kao vitamina B12 (Slika 3), te njegovih organometalnih derivata (cijanokobalamina, hidroksikobalamina, metilkobalamina, deoksiadenozilkobalamina) dovodi do njihove primjene u biologiji i medicini [5]. Važnost vitamina B12 proizlazi iz njegove bitne uloge u funkciji mozga i živčanog sustava, kao i uloge u proizvodnji krvi [6].



**Slika 3.** Kemijska struktura vitamina B12 [7]

Ispitivanje svojstava organometalnih spojeva u svrhu njihova korištenja kao potencijalnih lijekova proizlazi iz njihove široke strukturne raznolikosti u usporedbi s uobičajenim organskim spojevima [8]. Kao kemoterapeutici se koriste organometalni spojevi platine kao što su cisplatin, karboplatin te oksaliplatin (Slika 4). Cisplatin jedan je od najčešće korištenih kemoterapeutika, a djelotvoran je u liječenju karcinoma jajnika i testisa. Karboplatin pokazuje djelotvornost u liječenju nekih tipova karcinoma jajnika i pluća, dok je oksaliplatin djelotvoran u liječenju kolorektalnog karcinoma. Organometalni spojevi koriste se i u liječenju limfoma, dijabetesa, raznih trombotskih i neuroloških poremećaja te suzbijanju infekcija [9].



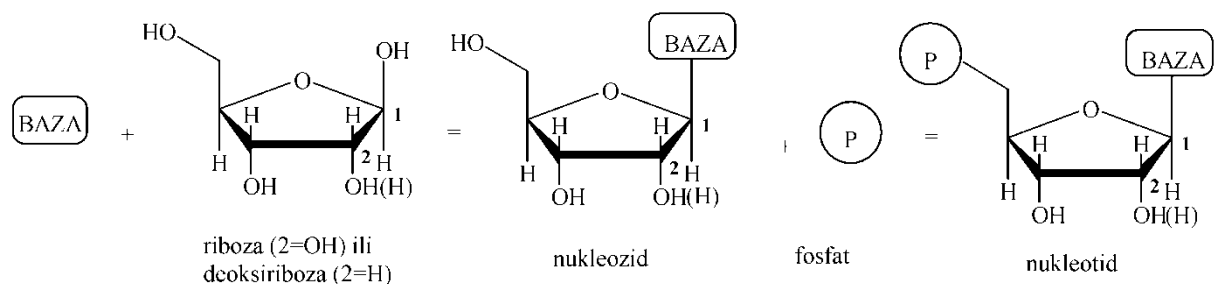
**Slika 4.** Organometalni spojevi platine [9]

Osim u medicini, organometalni spojevi primjenjuju se i u poljoprivredi te su često sastojci raznih fungicidnih sredstava. Koriste se i kao agrokemikalije, kao površinski aktivne tvari u sanaciji tla te kao selektivni kolorimetrijski i elektrokemijski kemosenzori za analizu uzoraka u poljoprivredi [10].

## 2.2. NUKLEOZIDNE BAZE

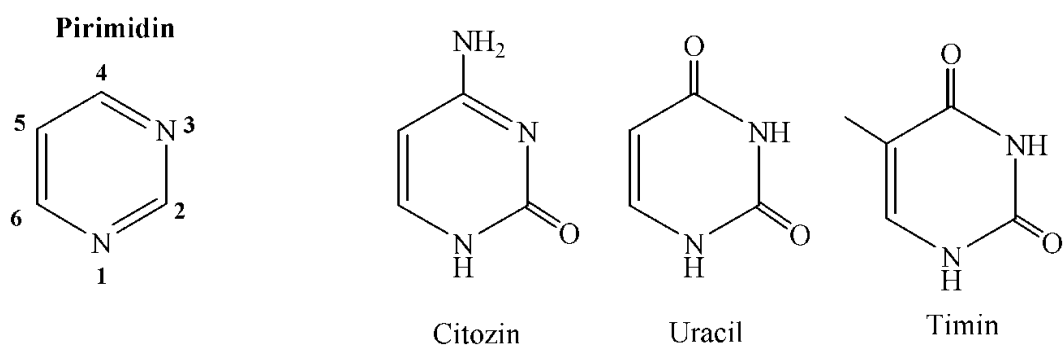
Deoksiribonukleinska kiselina (DNA) i ribonukleinska kiselina (RNA) linearni su polimeri koji nose informaciju u obliku koji se može prenositi s jedne generacije na drugu. Te se makromolekule sastoje od velikoga broja povezanih nukleotida, od kojih svaki sadržava šećer pentozu ( $\beta$ -D-ribozu ili  $\beta$ -D-2'-deoksiribozu), fosfat i nukleobazu. Defosforiliran oblik nukleotida naziva se nukleozid te se sastoji od nukleobaze koja je preko *N*-glikozidne veze vezana na šećer pentozu ( $\beta$ -D-ribozu ili  $\beta$ -D-2'-deoksiribozu) (Slika 5) [11].



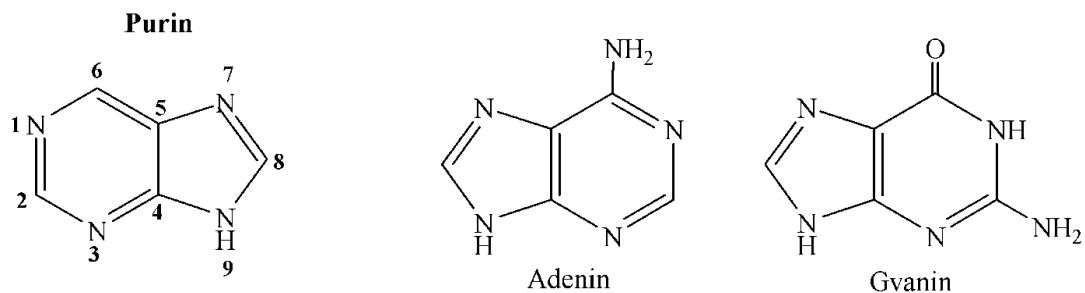


**Slika 5.** Građa nukleozida i nukleotida [11]

Šećeri povezani fosfatima u nukleotidu čine zajedničku okosnicu koja ima strukturnu ulogu, dok redosljed baza duž lanca nukleinske kiseline nosi genetičku informaciju. Nukleozidne ili dušične baze prstenaste su molekule aromatskog karaktera koje sadrže jedan ili više dušikovih atoma te su poznate kao derivati purina i pirimidina. Glavne pirimidinske baze su timin (T), citozin (C) te uracil (U). Citozin se nalazi u DNA i RNA, dok je timin prisutan samo u DNA, a uracil samo u RNA (Slika 6). Glavne purinske baze, prisutne i u DNA i RNA, su adenin (A) i gvanin (G) (Slika 7) [11].

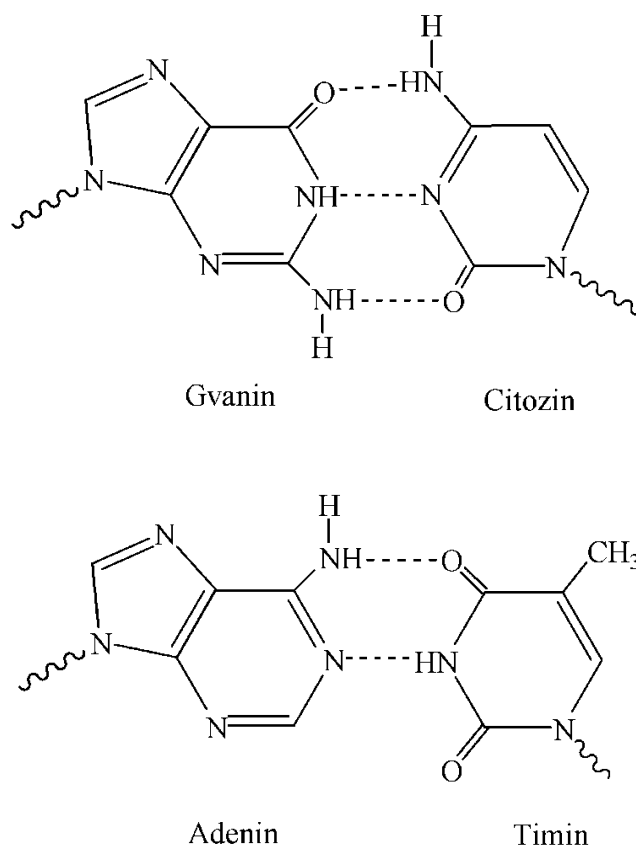


**Slika 6.** Pirimidin i glavne pirimidinske baze [11]



**Slika 7.** Purin i glavne purinske baze [11]

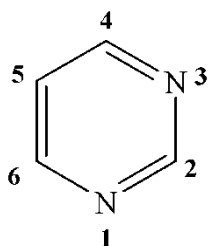
Nukleobaze se, zahvaljujući svojoj strukturi, mogu ponašati i kao proton donori i kao proton akceptori, a njihov aromatski karakter posljedica je prisustva konjugiranih veza, što ih svrstava među najstabilnije spojeve u prirodi [12]. Budući da imaju slična kemijska i fizikalna svojstva, jedina njihova izraženija razlika jest da pirimidin sadrži jedan prsten, dok purin u svojoj strukturi sadrži dva povezana prstena. Nasumična sekvencija purinskih i pirimidinskih baza u pravilnu strukturu nukleinskih kiselina može se smjestiti na način da se gvanin veže s citozinom pomoću tri vodikovih veza, a adenin je komplementaran s timinom te su vezani dvjema vodikovim vezama (Slika 8) [11].



**Slika 8.** Komplementarnost purinskih i pirimidinskih baza [11]

### 2.2.1. Pirimidin

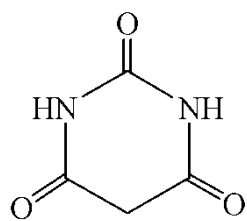
Pirimidin (Slika 9) je heterociklički aromatski organski spoj sličan benzenu i piridinu. Sadrži dva atoma dušika na položaju 1 i 3 unutar šesteročlanog prstena te ga poput svih spojeva ove skupine karakterizira aromatičnost [13].



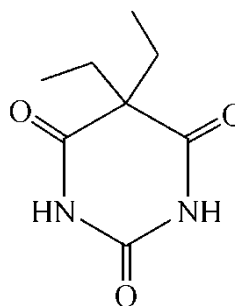
**Slika 9.** Pirimidin [13]

Svi organizmi živog svijeta prenose nasljedne osobine preko genetskog materijala temeljenog na nukleinskim kiselinama, a svaka živa stanica koristi pirimidinske derivate za spremanje i prijenos informacija za sintezu proteina [13].

Osim što je dio nukleinskih kiselina, pirimidinska struktura prisutna je i u drugim prirodnim spojevima kao što je vitamin B1 (tiamin), orotska kiselina [14] i alkosan [15] te sintetskim spojevima poput barbiturne kiseline te barbitala, koji se koriste kao hipnotici (Slika 10) [16].



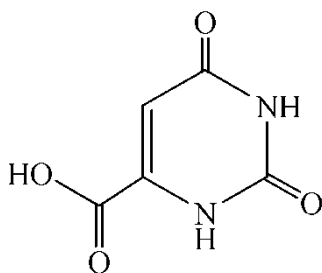
Barbiturna kiselina



Barbital

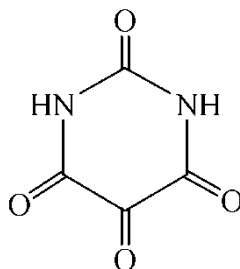
**Slika 10.** Spojevi pirimidinske strukture koji se koriste kao hipnotici [16]

Orotska kiselina (Slika 11) prekursor je za sintezu pirimidinskih derivata koji se javljaju u prirodi, a prisutnost ove kiseline dovodi do nastanka masne jetre u nekih životinja. Međutim, kod spojeva sintetiziranih iz orotske kiseline i njenih derivata, poput timina i uracila, nije uočeno takvo djelovanje [14].



**Slika 11.** Orotska kiselina [14]

Alkosan (Slika 12) je prirodni pirimidinski derivat koji uzrokuje nekrozu animalnih stanica gušterače te dijabetes kod štakora, zečeva, psa, majmuna i mački [15].



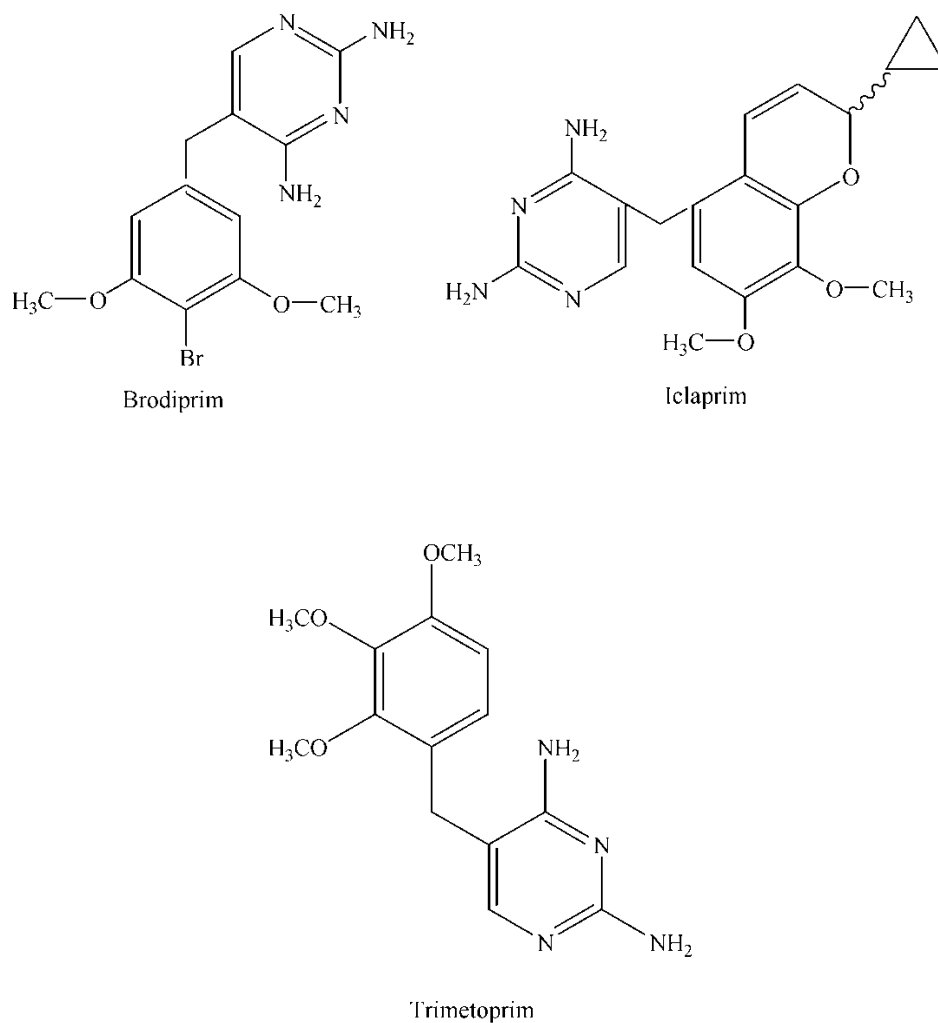
**Slika 12.** Aloksan [15]

Važnost ovih spojeva očituje se u njihovoj primjeni ponajprije u medicini i farmaciji, ali zbog antimikrobnih svojstava i u poljoprivredi [16].

### 2.3. PIRIMIDINSKI DERIVATI I NJIHOVO BIOLOŠKO DJELOVANJE

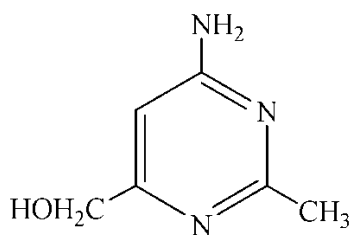
Derivati pirimidina predstavljaju skupinu spojeva koji imaju širok spektar bioloških aktivnosti poput antibakterijske, antivirusne, antitumorske aktivnosti [17], a djeluju i kao antidijabetski, antiupalni, antimalarijski te antiparkinson agensi [18].

Antifolati su derivati pirimidina koji se primjenjuju u medicini kao antibakterijski agensi. Prvenstvena uloga antifolata je inhibicija *dihidrofolat reduktaze* (DHFR), enzima koji katalizira sintezu 5,6,7,8-tetrahidrofolata. Neki od antifolata koji pokazuju antibakterijsko djelovanje su 2-amino-4-hidroksipirimidini i 2,4-diaminopirimidini. Antibakterijsko djelovanje pokazuju i trisupstituirani pirimidini, primjerice Brodiprim, Iclaprim, Trimetoprim te tetrasupstituirani pirimidini koje predstavlja Pirimetamin (Slika 13) [16].



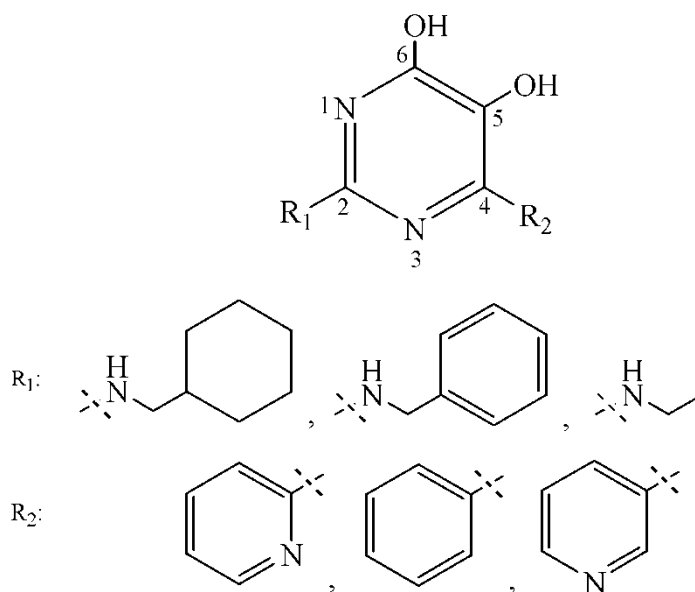
**Slika 13.** Antifolati koji sadrže trisupstituirane i tetrasupstituirane pirimidine [16]

Spojevi koji sadrže pirimidinski prsten često se koriste kao antibiotici. Disupstituirani pirimidinski antibiotik amicitin citozinski je derivat koji pokazuje izuzetnu aktivnost protiv Gram pozitivnih bakterija (Slika 14). Bleomicin je trisupstituirani pirimidinski antibiotik, a koristi se i u liječenju određenih vrsta tumora poput Hodgkinova limfoma te diseminiranog raka testisa [16].



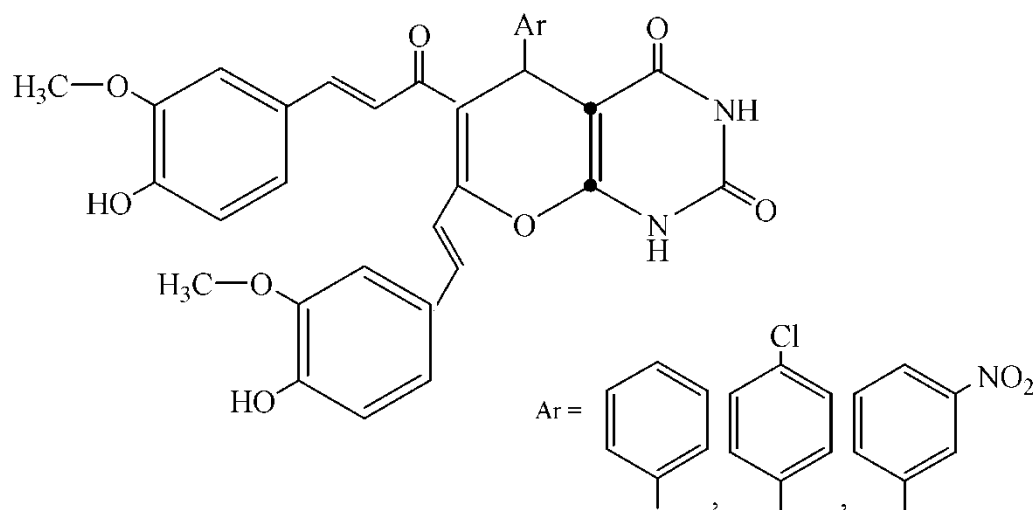
**Slika 14.** Amicetin [16]

Pirimidinski derivati pokazuju i snažno antivirusno djelovanje. Istraživanja pokazuju da 5,6-dihidroksipirimidini posjeduju značajnu anti-HIV aktivnost te se zbog visokog terapijskog indeksa mogu koristiti kao agensi u visoko aktivnoj antiretrovirusnoj terapiji (Slika 15) [19].



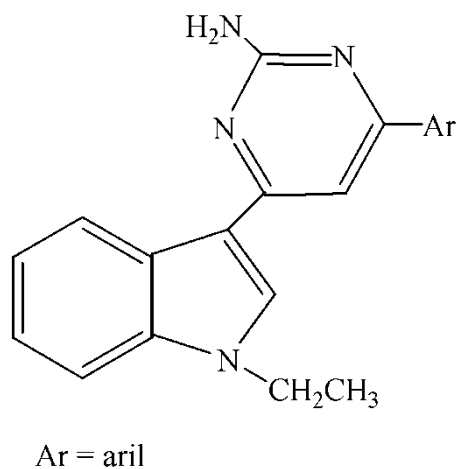
**Slika 15.** Derivati 5,6-dihidroksipirimidina s antivirusnim djelovanjem [19]

Derivati pirano[2,3-d]pirimidina na bazi kurkumina (Slika 16) pokazuju djelotvornost kod liječenja dijabetesa tipa II s obzirom da inhibiraju enzime  $\alpha$ -amilazu i  $\alpha$ -glukozidazu [20]. Postprandijalna hiperglikemija je višak vrijednosti glukoze u krvi nakon uobičajenog prosječnog unosa hrane, a smatra se jednom od kategorija predijabetesa [21]. S obzirom na loše kliničke ishode s dostupnim komercijalnim lijekovima za kontrolu postprandijalne hiperglikemije, znanstvenici su počeli proučavati nove potencijalne lijekove koji bi bili djelotvorniji. Istraživanja su ih dovela do novih terapijskih pristupa prema kojima bi lijekovi inhibirali enzime koji hidroliziraju ugljikohidrate u organizmu,  $\alpha$ -amilazu i  $\alpha$ -glukozidazu. Inhibicijom ovih enzima moguće je smanjiti pojavu postprandijalne hiperglikemije kod dijabetičara odgađajući probavu ugljikohidrata, što uzrokuje smanjenje brzine apsorpcije glukoze [20].



**Slika 16.** Derivati pirimidina s antidijabetskim djelovanjem [20]

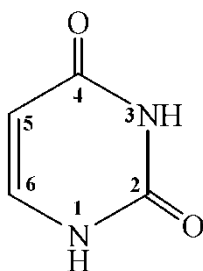
Kao djelotvorni kemoterapeutik u liječenju tumora crijeva, dojke i gastrointestinalnih vrsta tumora već se nekoliko desetljeća koristi 5-fluorouracil [22]. Danas se sve više sintetiziraju pirimidinski derivati u svrhu testiranja njihova antitumorskog djelovanja, a rezultati pokazuju da veliki broj sintetiziranih derivata posjeduje antiproliferativno djelovanje na određene vrste stanica karcinoma. Testirano je antitumorsko djelovanje *in vitro* derivata pirimidin-2(1H)-ona, pirimidin-2(1H)-iona i pirimidin-2-amina na stanične linije tumora jetre HEPG2, tumora dojke MCF7 i tumora debelog crijeva HCT-116. Najveću antitumorsku aktivnost na testirane stanice pokazao je konjugat 4-(*N*-etil-1H-indol-3-il)-6-(*p*-metoksifenil)-pirimidin-2-amin (Slika 17) [23].



**Slika 17.** Konjugat 4-(*N*-etil-1H-indol-3-il)-6-(*p*-metoksifenil)-pirimidin-2-amin [23]

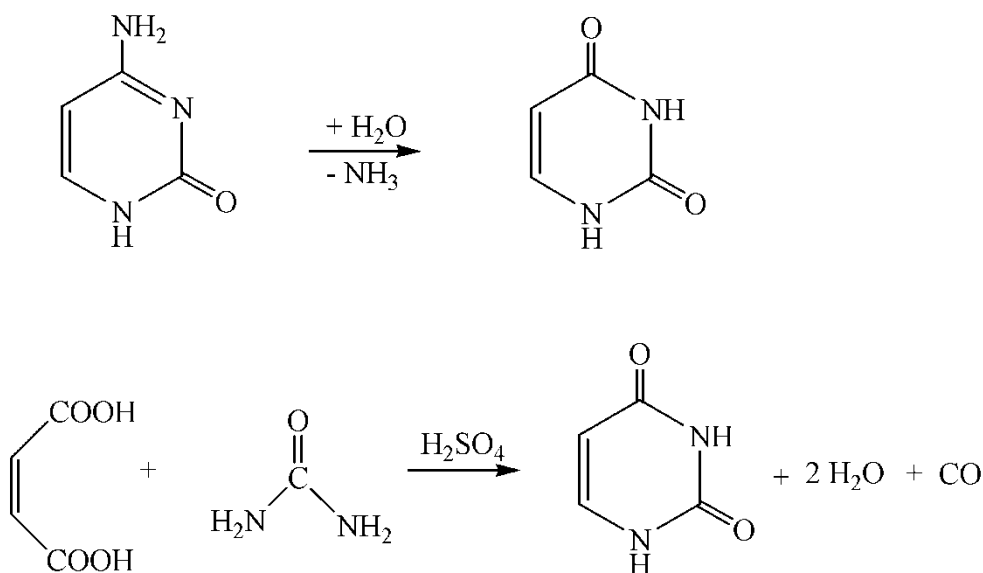
### 2.3.1. Uracil

Uracil je prirodni pirimidinski derivat najpoznatiji kao jedna od baza prisutnih u molekuli RNA (Slika 18). U toj molekuli uracil se veže za adenin s dvije vodikove veze, dok DNA molekula umjesto uracila sadrži timin. Za razliku od timina, uracil nema metilnu skupinu na položaju C-5 pa se može smatrati demetiliranim oblikom timina [24].



**Slika 18.** Kemijska struktura uracila [24]

Uracil se može sintetizirati na nekoliko načina, a najčešće se koristi priprava uracila dodatkom vode citozinu pri čemu nastaju uracil i amonijak. Još jedan od načina sinteze uracila je kondenzacija maleinske kiseline i uree u prisutnosti koncentrirane sumporne kiseline kao katalizatora (Shema 1) [25].



**Shema 1.** Sinteza uracila [25]



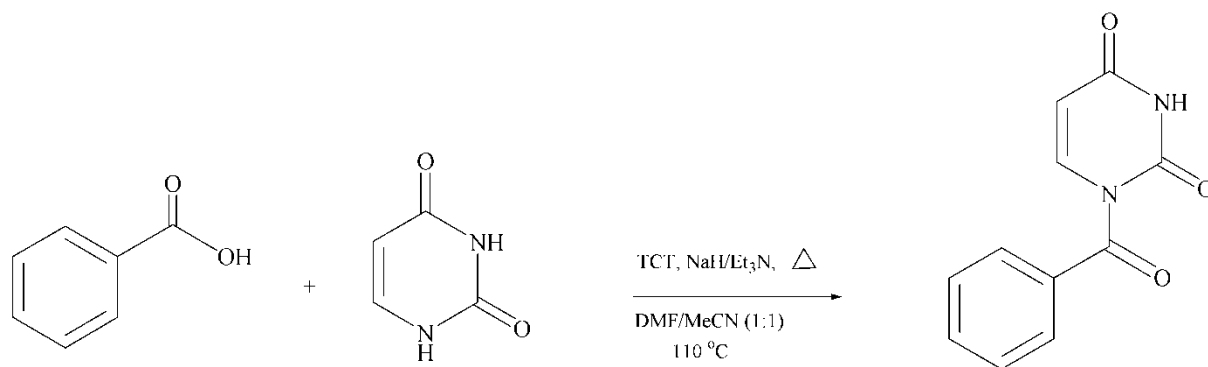
Uracil sudjeluje u reakcijama karakterističnim za pirimidine, ponajprije u aromatskim elektrofilnim i nukleofilnim supstitucijama. Usporedba kiselosti *N1* i *N3* položaja uracila u plinskoj fazi s kiselošću istih položaja uracila u otopini daje brojne vrijedne informacije o njegovoj reaktivnosti, kao i o ulozi otapala i utjecaju na reaktivnost ove nukleobaze. Mjerenja kiselosti protona na *N1* i *N3* položajima uracila ukazuju na veću kiselost protona na *N1* položaju uracila u plinskoj fazi od protona na *N3* položaju [26].

Na temelju ranijih istraživanja uočeno je da je kiselost *N1* i *N3* protona u otopini približno jednaka, stoga može lako doći do reakcije na oba položaja. S obzirom na mogućnost stvaranja kemijske veze i na *N1* i *N3* položaju, uracil karakterizira regioselektivnost, koja se ne može uvijek jednostavno objasniti. Većina reakcija nezaštićenih uracilnih derivata sa supstratima za aciliranje (acilkloridi, esteri, anhidridi) daje smjesu *N1*- i *N3*- produkata. Položaj supstitucije na dušikovom atomu ovisi o temperaturi reakcije, baznom katalizatoru i korištenom supstratu za aciliranje. Primjerice, korištenjem NaH kao deprotekcijske baze u otapalu DMF uočeno je dobivanje isključivo *N1*- benzenskih izomera u visokom iskorištenju jer je u toj reakciji struktura prijelaznog stanja za nastajanje *N1*-konjugata puno stabilnija od strukture prijelaznog stanja za dobivanje *N3*-produkta. Regioselektivnost ovih reakcija objašnjena je primjenom NMR spektroskopije te kvantno-kemijskih računa pri čemu je uočeno da je regioselektivnost uglavnom kinetički kontrolirana. Kako bi se objasnila regioselektivnosti provedenih reakcija, izračunate su slobodne Gibbsove energije reakcija deprotoniranog uracila i acilirajućih agenasa poput acetil-klorida, benzoil-klorida te ferocenoil-klorida. U reakciji u kojoj je acetil-klorid (CH<sub>3</sub>COCl) acilirajući agens *N1*-konjugat je stabilniji od *N3*-konjugata, dok je u reakcijama s benzoil-kloridom (PhCOCl) i ferocenoil-kloridom (FcCOCl) uočena vrlo slična stabilnost oba izomera. Te reakcije su izoenergetski procesi, pri čemu razlika slobodne Gibbsove energije ( $\Delta\Delta G_r$ ) iznosi 0.7 kJ/mol za reakcije s uracilom. Ova istraživanja ukazuju da izračunati termokemijski podaci za paralelne reakcije na *N1*- i *N3*- položajima uracila ne mogu uvijek objasniti eksperimentalno uočenu regioselektivnost [27].

*N*-aciliranje nukleobaza može se provoditi putem odgovarajućih karboksilnih kiselina, kiselinskih halogenida ili kiselinskih anhidrida. Za razliku od kiselinskih halogenida i anhidrida, koji su vrlo reaktivni, karboksilne kiseline su pogodnije u organskim reakcijama jer su manje toksične, korozivne i higroskopne.

U svrhu dobivanja *N*-aciliranog uracila [1-benzoilpirimidin-2,4(1H,3H)-diona] u dobrom iskorištenju ispitana je modelna reakcija nezaštićenog uracila s benzojevom kiselinom u prisutnosti TCT (2,4,6-triklor-1,3,5-triazin) i NaH, odnosno (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>N. Ispitane su različite baze za deprotekciju uracila te utjecaj različitih otapala i temperature na modelnu reakciju.

Optimalni uvjeti dobiveni su korištenjem smjese otapala DMF/CH<sub>3</sub>CN (v:v = 1:1), i to isključivo bezvodnih otapala, korištenjem ekvimolarne količine smjese NaH i Et<sub>3</sub>N kao deproteksijskih baza, dok je optimalna temperatura provođenja kemijske reakcije 110 °C. Najpovoljniji reakcijski uvjeti na ovoj modelnoj reakciji prikazani su na shemi 2 [28].

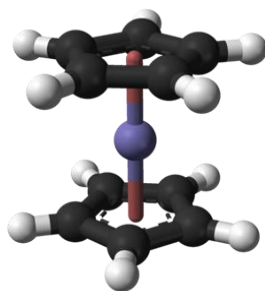


**Shema 2.** Najpovoljniji reakcijski uvjeti na modelnoj reakciji uracila [28]

Ovom su reakcijom pretežno dobiveni *N1*-acilirani konjugati uracila, dok su *N1/N3* konjugati dobiveni u tragovima, te je dokazano kako je s karboksilnim kiselinama postignuta veća regioselektivnost nego aciliranjem s odgovarajućim acil-halogenidom. Mehanizam aciliranja se kod modelne reakcije odvija preko karboksilat-CN estera koji je manje reaktivan, a više selektivan u reakciji nego odgovarajući acil-halogenid. Njegova veća selektivnost omogućava selektivnu deprotonaciju, dok acil-halogenid reagira istovremeno s oba položaja uracila (*N1* i *N3*) [28].

## 2.4. FEROCEN

Sredinom prošlog stoljeća, točnije krajem 1951. godine, otkriven je organometalni spoj strukture „sendviča“ koji se sastoji od jednog atoma željeza u centru te dva ciklopentadienilna prstena koji ga okružuju (Slika 19) [29].



**Slika 19.** Kemijska struktura ferocena [29]

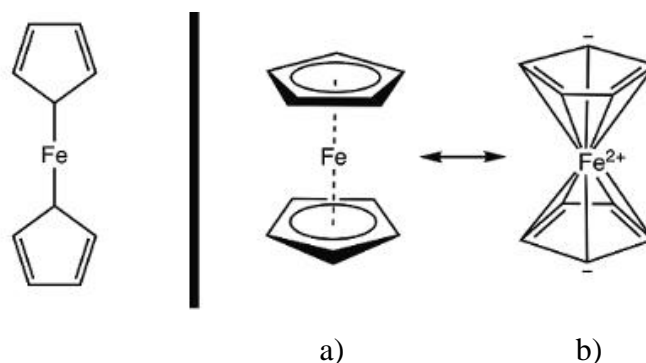
Ferocen je spoj narančaste boje, stabilan na zraku, na sobnoj je temperaturi u čvrstom stanju u obliku kristala (Slika 20), a sublimira iznad 100 °C [30]. Njegova molekulska masa iznosi 186,035 g mol<sup>-1</sup>, gustoća 1,11 g cm<sup>-3</sup>, temperatura vrelišta 249 °C, a temperatura tališta 172,5 °C [31].



**Slika 20.** Narančasti kristali ferocena

Ferocen je prvi put sintetiziran sasvim slučajno, od strane dvojice kemičara P. L. Pausona i T. J. Kellyja pri pokušaju sinteze fulvalena, spoja molekulske formule C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>. Bilo je pretpostavljeno da fulvalen ima aromatsku strukturu sličnu izomernom naftalenu, međutim, umjesto planiranog spoja sintetiziran je spoj molekulske formule FeC<sub>10</sub>H<sub>10</sub>, odnosno Fe(C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>. Spoj je nazvan ferocen, ali i dalje nije bila u potpunosti poznata njegova kemijska struktura. P. L. Pauson predložio je strukturu ferocena u kojoj je atom željeza  $\sigma$ -vezom vezan na jedan atom ugljika svakog ciklopentadienilnog prstena (Slika 21), a ubrzo su E. O. Fischer, R. B. Woodward i G. Wilkinson utvrdili da je takva definicija strukture ferocena netočna. Oni su predložili strukturu ferocena u kojoj se atom željeza nalazi između dva ciklopentadienilna

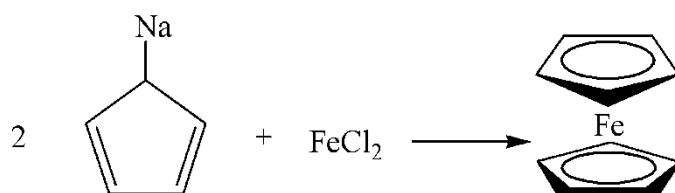
prstena i vezan je za svih 10 atoma ugljika (Slika 21) te je upravo ta struktura i prihvaćena kao točna struktura ferocena [32].



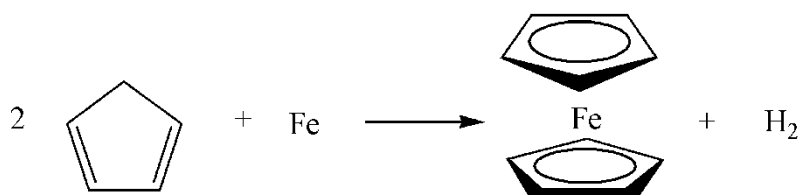
**Slika 21.** Predložene kemijske strukture ferocena: Pausona (a) te Woodwarda i Wilkinsonsa (b) [32]

Sinteza ferocena može se provesti na više načina, od kojih se najčešće koriste sljedeći opisani sintetski putovi.

1. Prvi put uključuje retro Diels-Alderovu reakciju, odnosno pucanje i otvaranje diciklopentadiena te deprotoniranje slabo kiselog ciklopentadiena s bazičnim metalom. Daljnjom reakcijom sa željezovim (II) kloridom nastaje ferocen [33]:



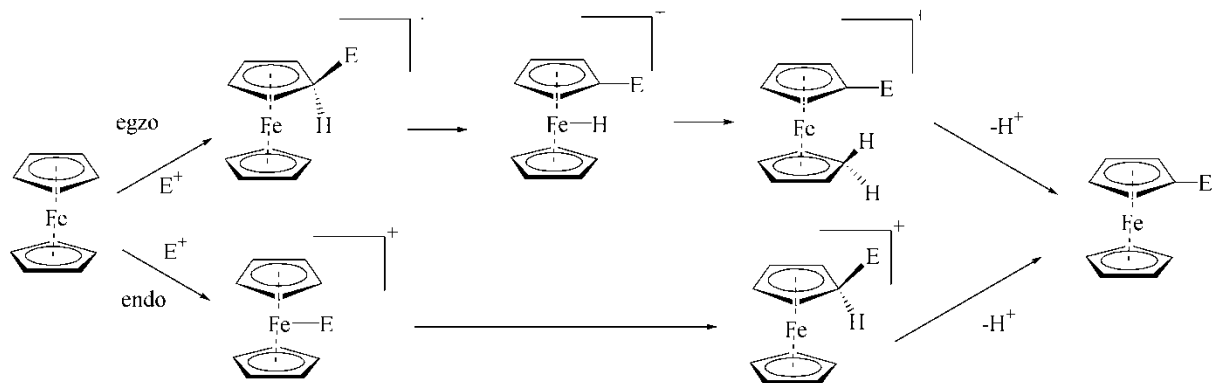
2. Drugi put sinteze uključuje zagrijavanje reaktanata na visoku temperaturu te zatim njihovo dovođenje na hladnu površinu. Tom reakcijom uz ferocen se oslobađa i vodik [33]:



U strukturi ferocena između centralnog atoma željeza i ciklopentadienilnih prstena radi se o delokaliziranoj vezi u kojoj sudjeluju svi atomi liganda, a u vezi sudjeluje 18 elektrona (6 iz svakog ciklopentadienilnog prstena te 6 iz Fe) što ukazuje na stabilnost ferocena [34].

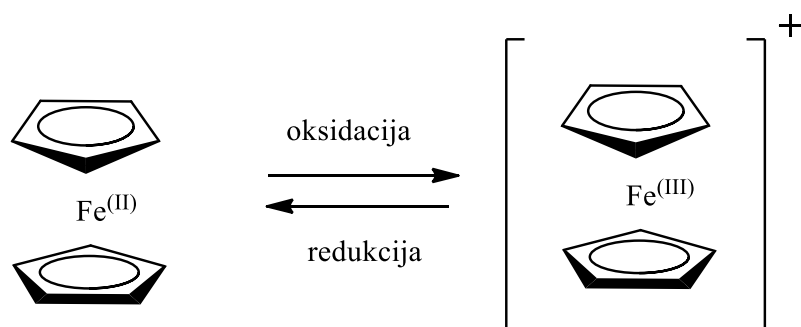
Zbog analogije s benzenom, ponajprije ga karakterizira sudjelovanje u reakcijama elektrofilne supstitucije, kao što je Friedel-Crafts-ovo aciliranje [34]. U Friedel-Crafts-ovom aciliranju u prvom koraku reakcije, generiranju elektrofila, formira se acilij ion iz acil-halida ili anhidrida tretiranjem Lewisovom kiselinom, koju uobičajeno predstavlja aluminij klorid [35]. Upotrebom fosforne kiseline kao katalizatora dolazi do protoniranja acetanhidrida pri čemu nastaje acilni ion, koji je elektrofil pogodan za ferocen [36].

Supstitucija elektrofila odvija se ili preko atoma željeza ili direktno na Cp-prsten [33], što uvelike ovisi o jakosti elektrofila. Primjerice, za jake se elektrofile očekuje *egzo* reakcijski put u kojem će se elektrofil vezati direktno na ciklopentadienilni prsten. Drugi mogući mehanizam je *endo* reakcijski put, karakterističan za slabije elektrofile, u kojem se supstitucija odvija preko atoma željeza pri čemu  $E^+$  stvara kompleks s atomom željeza, a tek nakon toga se veže na ciklopentadienilni prsten (Shema 3) [37].



**Shema 3.** Prikaz mehanizama elektrofilne supstitucije na ferocenu [37]

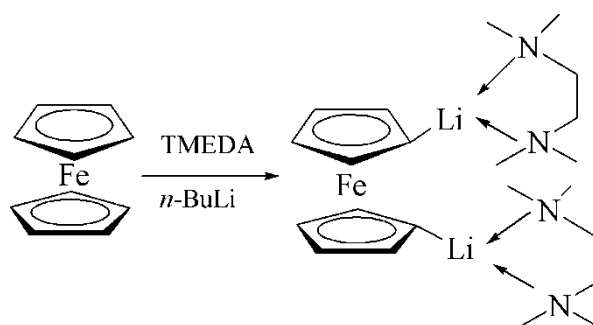
U reakciji aciliranja ferocen je  $10^6$  puta reaktivniji od benzena zbog sklonosti protoniranju i reakcijama s Lewisovim kiselinama te reverzibilne oksidacije željeza. Uklanjanjem jednog elektrona iz molekule ferocena atom željeza prelazi u više oksidacijsko stanje (+3), što dovodi do stvaranja soli koje sadrže fericinijev kation,  $(C_5H_5)_2 Fe^+$ , iz čega proizlazi da je ferocen idealan inertni standard u elektrokemiji (Slika 22) [31].



**Slika 22.** Reverzibilna oksidacija ferocena u fericinijev kation [31]

U reakcijama Friedel-Crafts-ovog alkiliranja s alkil-halidima ili olefinima ferocen je puno manje reaktivan naspram benzenu, što dovodi do niskih iskorištenja tih reakcija i teškog izdvajanja nus-produkata, stoga se takve reakcije provode rijetko, a kada se provode, odvijaju se u više koraka [38].

Reakcije specifične za ferocen su također i reakcije vezanja metala na ferocensku podjedinicu, a rezultiraju sintezom brojnih mono- i di-supstituiranih derivata ferocena [39]. Reakcijom litiranja ferocena *N*-butil-litijem sintetizirana je smjesa mono i dilitijferocena. Sintetizirani spojevi dalje su korišteni kao međuprodukti za sintezu karboksi-, trifenil- i amino-ferocenskih derivata [40]. U početku su stupnjevi iskorištenja provedenih reakcija bili vrlo niski, a kasnije se ustanovilo da se 1,1'-dilitijferocen može dobiti u iskorištenju reakcije preko 90 % uz *N*-BuLi i TMEDA (*N,N,N',N'*-tetrametiletilendiamin). Ovom reakcijom pripremljen je stabilan međuprodukt spreman za daljnje reakcije sinteze derivata ferocena (Slika 23) [39].

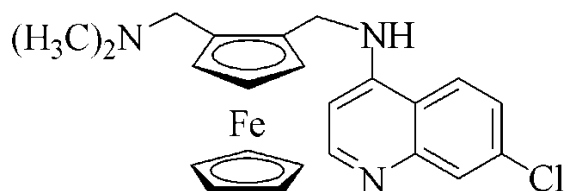


**Slika 23.** Litiranje ferocena uz TMEDA i BuLi [39]

### 2.4.1. Derivati ferocena s biološkom aktivnošću

Antitumorsko djelovanje organometalnih farmaceutika kao što su ferocenski derivati najviše je istraženo od svih djelovanja ovih spojeva. Međutim, u posljednjih nekoliko godina sve se više istražuju njihovi drugi terapijski učinci te je uočeno da derivati ferocena pokazuju i antibakterijsko, antifungalno te antiparazitsko djelovanje [41]. Najčešće se radi o konjugatima sa spojevima koji i inače ispoljavaju određene biološke učinke koje ferocen može pojačati ili modulirati [42]. Primjerice, medicinski važni spojevi koji u svojoj strukturi sadrže ferocen su ferokin, ferocifen i tamoksifen [43]. Za spojeve ferokin te ferocifen, koji su proučavani u različitim medicinskim istraživanjima, otkriveni su mehanizmi djelovanja. Feroceni dio u ta dva spoja sudjeluje u važnim metal-specifičnim mehanizmima koji pridonose ukupnoj terapijskoj učinkovitosti molekula [44].

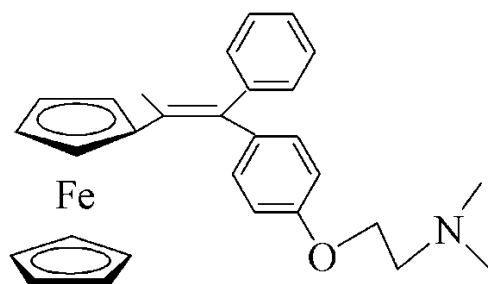
Ferokin je derivat klorokina i ferocena koji posjeduje antimalarijska svojstva, a poznat je kao prvi organometalni lijek u kojem je feroceni skupina kovalentno povezana s 4-aminokinolinom i alkilaminom (Slika 24). Prvi put je pripremljen 1994. godine na Sveučilištu u Lille-u, a danas se uspješno sintetizira ugradnjom ferocena u osnovni kostur klorokina. Pokazuje iznimnu učinkovitost protiv uzročnika malarije *Plasmodium falciparum* otpornog na klorokin bez vidljivih imunotoksičnih učinaka kod inficiranih štakora. Potvrđeno je da proizvodi značajne količine hidroksilnih radikala u probavnim vakuolama malarijskih parazita, a poznato je da slobodni hidroksilni radikali negativno djeluju na parazite. Mnoga istraživanja posvećena su razvoju derivata ferokina kao sigurne alternative antimalarijskoj kemoterapiji kako bi se povećala učinkovitost, smanjile nuspojave i premostio otpor malarijskih parazita [45].



**Slika 24.** Kemijska struktura ferokina [45]

Karcinom dojke najčešći je tumor kod žena te se može podijeliti u dvije skupine koje se razlikuju po prisutnosti estrogena, ER (+), ili odsutnosti estrogena, ER (-). Otprilike dvije trećine svih slučajeva pripadaju tipu ER (+), koji je osjetljiv na hormonsku terapiju selektivnim modulatorima estrogenih receptora (SERMs), a sadrži dva podtipa receptora u staničnim

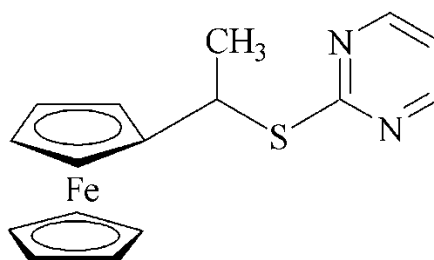
linijama,  $ER\alpha$  i  $ER\beta$ . Primarni lijek za liječenje ove vrste karcinoma je organski spoj tamoksifen. Antiproliferativno djelovanje tamoksifena proizlazi iz kompeticijskog vezanja za receptor  $ER\alpha$ , čime se potiskuje transkripcija DNA posredovanom estradiolom u tkivu tumora [46]. Medicinska važnost tamoksifena pokrenula je brojna istraživanja u vezi sinteze i testiranja biološkog djelovanja ferocenskih derivata tamoksifena. Najbolji primjer takvog derivata je ferocifen ili 1-[4-(2-dimetilaminoetoksi)]-1-(fenil-2-ferocenilbut-1-en) razvijen u potrazi za novim lijekom sličnom tamoksifenu (Slika 25). Biološke aktivnosti hidroksiferocifena su nakon njihove uspješne pripreve procijenjene u istraživanjima afiniteta relativnog vezanja (RBA) u kojima je proučavano vezanje ispitivanog spoja na estrogenski receptor u konkurenciji s estrogenom. Dokazano je da hidroksiferocifeni mogu inhibirati rast tumorskih stanica dojke iz stanične linije MCF-7 jer dovode do inhibicije djelovanja hormona estrogena te da pokazuju antiproliferativno ponašanje na staničnoj liniji MDA-MB-231 [47].



**Slika 25.** Kemijska struktura ferocifena [47]

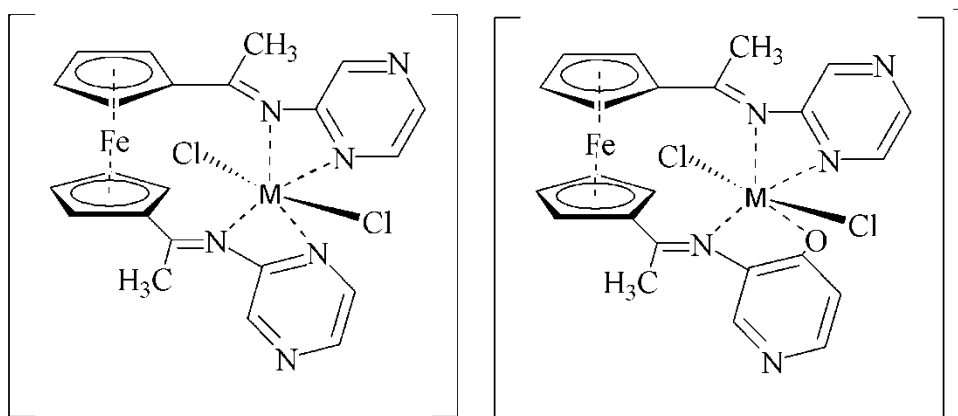
Ispitana je antitumorska aktivnost sintetiziranog *S*-(ferocenoiletil)-2-tiopirimidina na dvije vrste karcinoma u miševa, adenokarcinom 755 te Lewis karcinoma pluća (Slika 26). Indeks inhibicije rasta tumora mjereno je kada je antitumorska aktivnost spomenutog spoja bila najveća. Prema tome, indeks je mjereno nakon 14 dana za adenokarcinom 755 te nakon 22 dana za karcinom pluća. Inhibicija rasta karcinoma 755 *S*-(ferocenoiletil)-2-tiopirimidinom bila je 95 %, dok je kod karcinoma pluća inhibiran rast stanica u iznosu od 65 % od početnog broja stanica [48].





**Slika 26.** S-(ferocenoiletil)-2-tiopirimidin [48]

Ferocen može tvoriti konjugate i s raznim metalima poput kobalta, nikla, cinka te bakra, a važni su u medicini jer posjeduju antimikrobna svojstva te se mogu koristiti kao lijekovi. Za procjenu antibakterijskog djelovanja protiv mikroba kao što su *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* i *K. pneumoniae* sintetizirani su Co (II), Ni (II), Zn (II) i Cu (II) kompleksi simetričnih i asimetričnih 1,1'-ferocenskih Schiff-ovih baza (Slika 27). Istraživanja su pokazala da su kompleksi s Ni (II) aktivniji protiv *E. coli*, dok kompleksi s Co (II) pokazuju veću aktivnost od ostalih protiv *K. pneumoniae*. Na temelju raznih studija općenito je dokazano da veću antibakterijsku aktivnost posjeduju metalni kompleksi naspram slobodnih metalnih liganda [49].



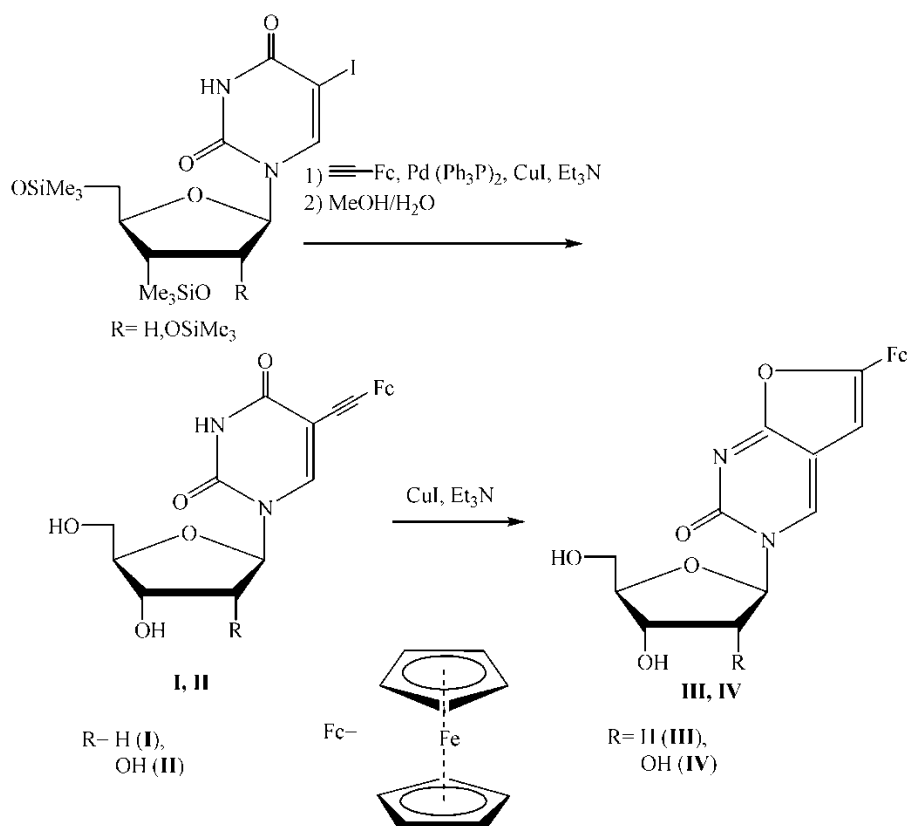
**Slika 27.** Metalni kompleksi simetričnih i asimetričnih 1,1'-ferocenskih Schiff-ovih baza [49]

#### 2.4.2. Ferocenski derivati nukleobaza, nukleotida i nukleozida

Istraživanja interakcije ferocena s drugim biomolekulama značajna su za razumijevanje mehanizama biološke aktivnosti tih spojeva [50]. Vezanje supstituenata na molekulu ferocena

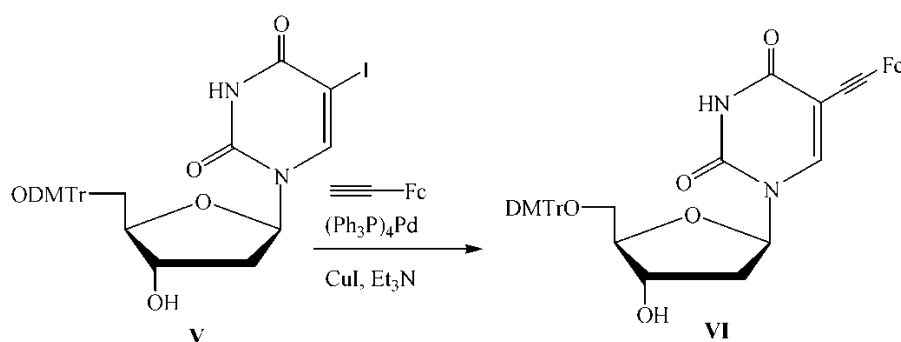
omogućeno je rotacijom ciklopentadienilnih prstenova ferocena koji poprima biološke karakteristike kada se na njega veže neka biološka molekula poput nukleobaze. Ta biološka aktivnost je sve češća tema istraživanja u kojima je prvi korak upravo sinteza biokonjugata. Ferocen se veže na dušičnu bazu kao *N*-supstituent, a mjesto na kojem se veže određuje biološka svojstva samog spoja [51].

Prvi sintetizirani ferocenski derivati nukleobaza bili su ferocen metilirani spojevi timidin monofosfata, deoksicitidin monofosfata, adenina i uridina poput 9-*N*-metilferocenoil adenina te *N*-metilferocenoil adenina. Ti konjugati su sintetizirani u uvjetima bliskim fiziološkim, međutim stupanj iskorištenja takvih reakcija sinteze bio je vrlo nizak, do 40 % [52]. Daljnjim istraživanjem razvijene su nove metode sinteze spomenutih konjugata, kao što je sintetska reakcija bazirana na 5-jodo-2-deoksiuridinu ili 5-jodouridinu s etilferocenom u posebnim uvjetima koji su uključivali miješanje reaktanata u trietilaminu uz prisutnost katalizatora bis-trifenilfosfinpaladij diklorida te bakrova(I) jodida na 40 °C. Međutim, stupanj iskorištenja ovih reakcija bio je još niži, iznosio je svega 15-20 %, a razlog tome bilo je spontano prevođenje nastalih produkata (**I**, **II**) u derivate ferocetil-fuopirimidona (**III**, **IV**) (Shema 4) [53].



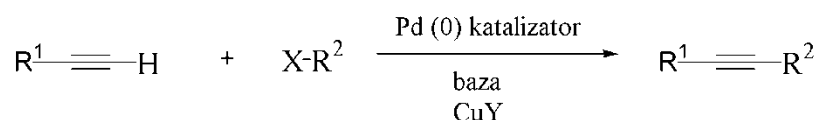
**Shema 4.** Sinteza ferocetil-nukleobaznih derivata u specifičnim uvjetima [53]

Proučavanjem prethodno spomenute reakcije (Shema 4) uočeno je da se upotrebom tetrakis-trifenilfosfin paladija na sobnoj temperaturi povećava topljivost početnog nukleozida **V** (Shema 5). Takva promjena eksperimentalnih uvjeta te prisutnost 5'-dimetoksitritilne grupe (ODMTr) dovodi do povećanja iskorištenja ove supstitucijske reakcije do 75 % [53].



**Shema 5.** Supstitucijska reakcija ferocenil-nukleozida u dobrom iskorištenju [53]

Time je dokazano da su reakcije potpomognute metalnim katalizatorima najefikasnije u stvaranju nove ugljik-ugljik veze, a reakcija je nazvana Sonogashira-inom reakcijom, prema kemičaru koji ju je prvi uočio. Upravo zbog njezine efikasnosti, i dan danas je najpopularnija reakcija za uvođenje ferocenskih jedinica u heterocikličke baze. Takav tip reakcije omogućuje sintezu supstituiranih alkena povezivanjem arilnih ili alkenilnih halogenida i terminalnih alkena u prisutnosti paladija kao katalizatora, nukleobaze te bakrovog halogenida kao kokatalizatora (Shema 6). Reakcija omogućuje nastanak  $sp^2$ - $sp$  veze ugljik-ugljik i dobivanje enin- i arilalkin-konjugiranih veza koje se često susreću u farmaceuticima i biološki važnim molekulama, a predstavljaju i važne sintetske intermedijare [54].



$R^1$  = aril, heteroaril, alkil

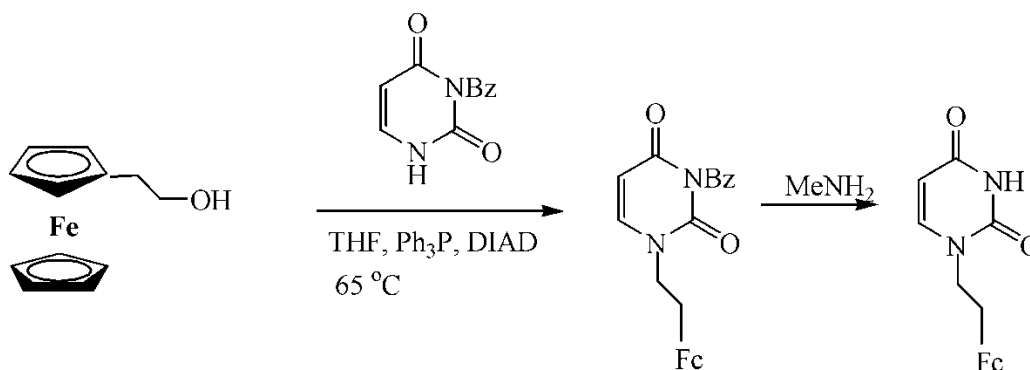
$R^2$  = aril, heteroaril, vinil

X = I, Br, Cl, OTf

Y = I, Br

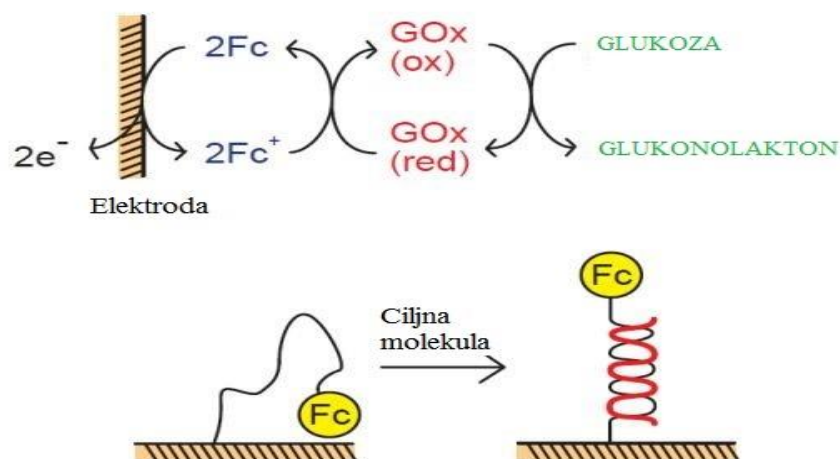
**Shema 6.** Općeniti prikaz Sonogashira-ine reakcije [54]

Daljnijim istraživanjima sintetizirani su ferocenski derivati nukleobaza dobiveni u visokim prinosima Mitsunobu-ovom reakcijom. Mitsunobu-ova reakcija supstitucija je primarnih ili sekundarnih alkohola nukleofilom, posredovana redoks reakcijom i kombinirana s trialkil- ili triarilfosfinom i dialkilazodikarboksilatom. U Mitsunobu reakciji dolazi do adicije između ferocetil alkohola i *N*-benzilirane nukleobaze, a onda i do deprotekcije s metilaminom (Shema 7) [55].



**Shema 7.** Shematski prikaz Mitsunobu reakcije ferocetil alkohola i *N*-benzilirane nukleobaze [55]

Zbog svojstava poput jednostavnosti modifikacije, stabilnosti, velike površine, električne vodljivosti te dobrih redoks svojstava kopulati ferocena i nukleobaza mogu se koristiti kao biosenzori za glukozu. Koriste se za odvijanje selektivne reakcije pri čemu služe kao bioelementi uz pretvornik signala koji pretvara kemijski signal u neki mjerljivi oblik signala [56]. Tipičan primjer biosenzora posredovanog ferocenom je amperometrijski senzor glukoze. Ti senzori konstruirani su imobilizacijom glukoza oksidaze (GOx) na površini metalnih ili ugljikovih elektroda, gdje je redoks reakcija ferocena povezana s oksidacijom glukoze kako bi se omogućio prijenos elektrona između aktivnog centra *glukoza oksidaze* i elektrode (Slika 28) [57].



**Slika 28.** Prijenos elektrona na ferocenil (Fc) u amperometrijskim sensorima glukoze [57]

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. MATERIJALI

Korištena otapala acetonitril ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ,  $t_v = 82\text{ }^\circ\text{C}$ ) i dimetilformamid (DMF,  $t_v = 153\text{ }^\circ\text{C}$ ) se destiliraju pod vakuumom te prebace u tikvicu s molekulskim sitima ( $4\text{ \AA}$ ) do upotrebe. Ostali kupovni reagensi i kemikalije su korišteni bez pročišćavanja. Nukleobaza korištena tijekom izvođenja eksperimenta je uracil, čije su karakteristike prikazane u Tablici 1. Sve kemikalije korištene za eksperimentalni dio rada prikazane su u Tablici 2.

**Tablica 1.** Karakteristike korištene nukleobaze tijekom izvođenja eksperimentalnog dijela rada

NAZIV	STRUKTURNA FORMULA	PROIZVOĐAČ
Uracil, 98 %		TCl, Japan

**Tablica 2.** Popis kemikalija korištenih prilikom izrade eksperimentalnog dijela rada

NAZIV	FORMULA
2-klorbenzoilchlorid	$C_7H_4Cl_2O$
aluminijev klorid	$AlCl_3$
kalijev tert-butoksid	$t-C_4H_9O^- K^+$
1,2-dimetoksietan	$CH_3OCH_2CH_2OCH_3$
acetonitril	$CH_3CN$
triethylamin ( $Et_3N$ )	$(C_2H_5)_3N$
diklorometan	$CH_2Cl_2$
aceton	$CH_3COCH_3$
piridin	$C_5H_5N$
oksalil klorid	$C_2Cl_2O_2$
natrijev hidrid	$NaH$
dimetilformamid	DMF
kalijev karbonat	$K_2CO_3$
kloretilformijat	$HCOOCH_2CH_2Cl$
1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) karbodiimid	EDC
hidroksibenzotriazol	HOBt

### 3.2. METODE RADA

Praćenje tijeka reakcija provedeno je pomoću metode tankoslojne kromatografije (Slika 29). Tankoslojna kromatografija je provedena na pločama 60F-254 presvučenim slojem silika gela (Merck) u odgovarajućem eluensu (čistom  $CH_2Cl_2$ , sustavu  $CH_2Cl_2 : CH_3COCH_3 = 10 : 0.1$  te sustavu  $CH_2Cl_2 : CH_3COCH_3 = 10 : 0.2$ ). Za detekciju izoliranih komponenata je korištena UV-svjetlost valne duljine 254 nm.



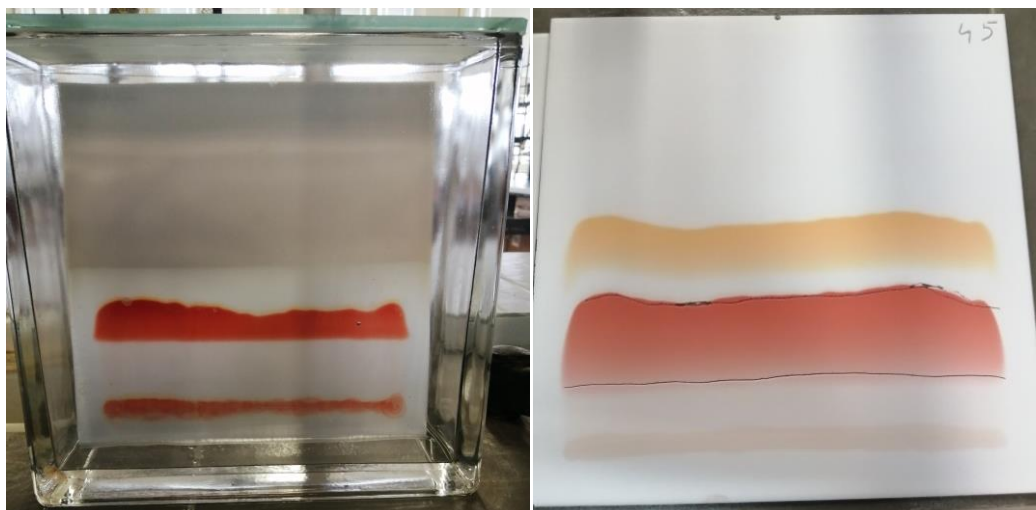
**Slika 29.** Primjer pločice presvučene silikagelom nakon provedene tankoslojne kromatografije

Kolonska kromatografija (Slika 30) je provedena na silika gelu (Fluka, 0.063–0.2 mm), dok su staklene kolone punjene pod utjecajem gravitacijske sile, a kao eluens je služio sustav  $\text{CH}_2\text{Cl}_2 : \text{CH}_3\text{COCH}_3 = 10 : 0.1$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2 : \text{CH}_3\text{COCH}_3 = 10 : 0.2$  te čisti  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .



**Slika 30.** Primjer kromatografske kolone na stupcu od silika gela pri pročišćavanju ferocenoil-uracil konjugata

Preparativna tankoslojna kromatografija (Slika 31) provedena je na staklenim pločama prevučanim silika gelom (Merk, Kisagel 60 HF254), a za mobilnu fazu korišten je eluens  $\text{CH}_2\text{Cl}_2 : \text{CH}_3\text{COCH}_3 = 10 : 0.1$ .



a)

b)

**Slika 31.** Primjer provođenja preparativne tankoslojne kromatografije (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  $\text{CDCl}_3$  (deuterirani kloroform) i  $\text{DMSO-}d_6$  (deuterirani dimetilsulfoksid), a mjereni su pri 298 K u NMR cjevčici od 5 do 18 mm. Kemijski pomaci ( $\delta$ ) u  $^1\text{H-NMR}$  i  $^{13}\text{C-NMR}$  spektrima su izraženi u ppm u odnosu prema tetrametilsilanu (TMS,  $\delta$  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:  $\nu$  = rastezanje (stretching),  $\delta$  = deformacije (bending), j = jaka vrpca, sr = srednja vrpca, š = široka vrpca.

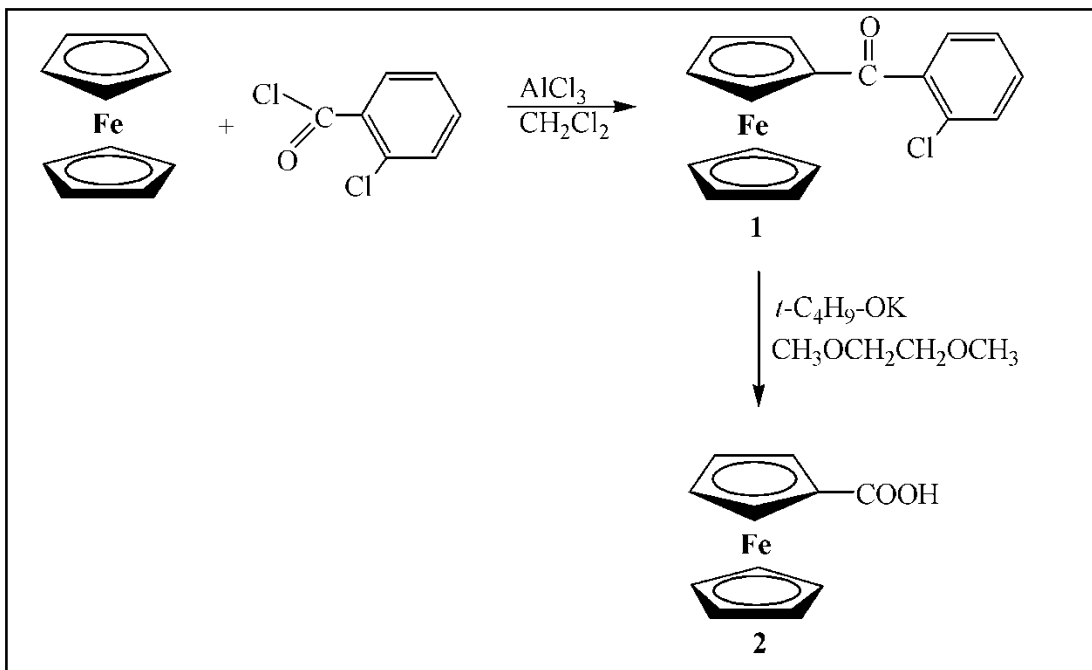
$^1\text{H-NMR}$ -spektri: s = singlet, d = dublet, t = triplet, q = kvartet, m = multiplet.

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

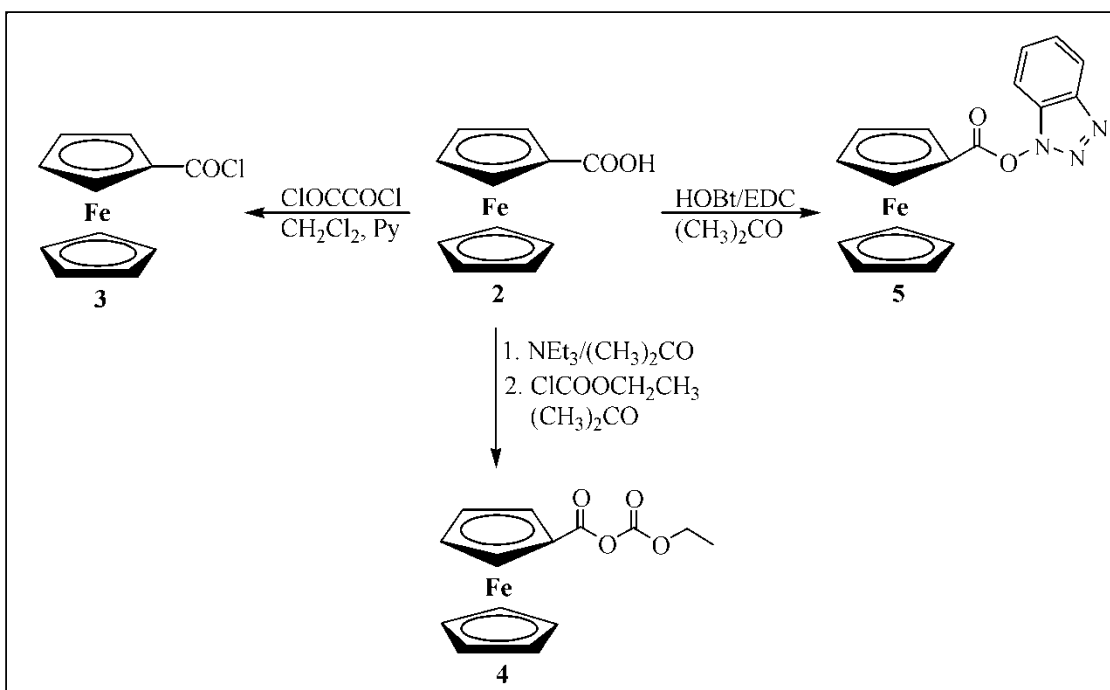


### 3.3. SCHEMA PRIPRAVE KOPULATA FEROCENA I DERIVATA PIRIMIDISKIH BAZA

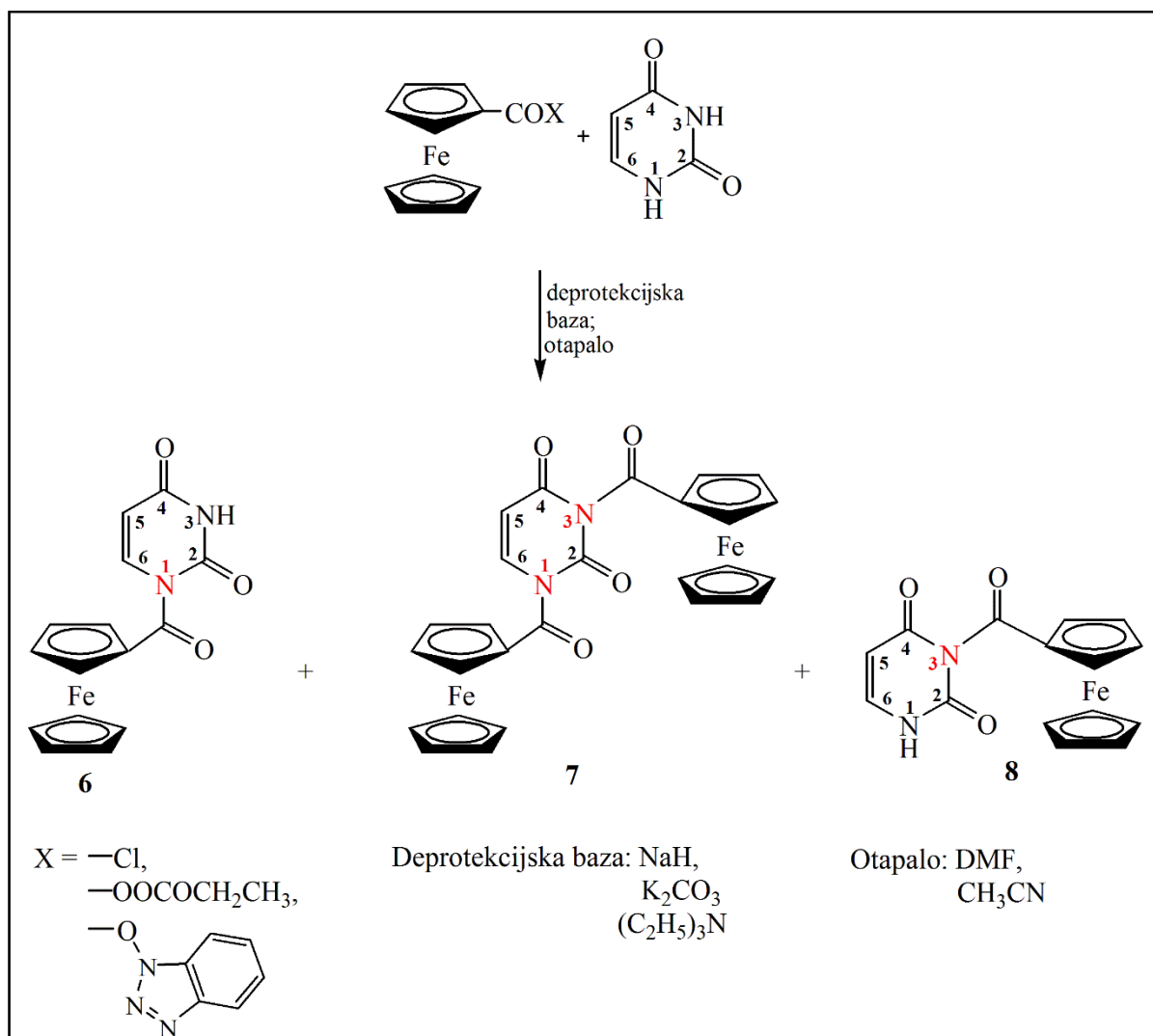
#### A. Priprava ferocenkarboksilne kiseline (2)



#### B. Priprava ferocenoil klorida (3), ferocenoil etilkarbonata (4) i benzotriazol-ferocenkarboksilata (5)



**C. Priprava mogućih nastalih produkata: *N1*-ferocenoil uracila (6), *N1/N3*-ferocenoil uracila (7) i *N3*-ferocenoil-uracila (8)**



**3.4. PROTOKOLI ZA PRIPRAVU SPOJEVA**

**3.4.1. 2-klorbenzoil-ferocen (1)**

Otopini ferocena (2.65 g, 0.014 mol) u suhom  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (25 mL), ohlađenoj na 0-5 °C pomoću leda doda se 2-klorbenzoil klorid (2 mL) te aluminijev klorid 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

diklormetanom. Organski sloj potrebno je isprati vodom, zatim 10 % otopinom NaOH te opet vodom, osušiti bezvodnim Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i upariti do suha pri čemu zaostaje sirovi produkt **1** (4.2 g, 92.43 %). Za snimanje IR- i NMR- spektra 200 mg sirovog produkta **1** pročišćeno je tankoslojnom preparativnom kromatografijom (eluens: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) pri čemu je dobiveno 120 mg (60 %) narančastih kristala 2-klorbenzoil-ferocena (**1**);  $t_r = 98-100$  °C [58].

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ : 1660 (j, C=O).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, 298 K, ppm)  $\delta/\text{ppm}$ : 7.37 (4H, m, *Ph*), 4.70 (d, 2H, H<sub>2</sub> H<sub>5</sub>, Fc), 4.54 (d, 2H, H<sub>3</sub> H<sub>4</sub>, Fc), 4.22 (s, 5H, Cp).

### 3.4.2. Ferocenkarboksilna kiselina (**2**)

Sirovi 2-klorbenzoil-ferocen **1** (3 g) se dodaje 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**);  $t_r = 193-200$  °C. Kristali su odsisani preko Büchnerovog lijevka, osušeni u eksikatoru te je dobiveno 1.89 g (89 %) kristala ferocenkarboksilne kiseline (**2**) [58].

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ : 3100-2700 (š, OH, COOH), 1657 (j, C=O).

### 3.4.3. Ferocenoil klorid (**3**)

Suspenziji ferocenkarboksilne kiseline (**2**) (480 mg, 2 mmol) u suhom diklormetanu (2 mL) dodaje 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 profiltrira 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**) [59].

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ : 2958 (sl., C-H, Fc), 1755 (j., C=O).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 25 °C)  $\delta$ /ppm: 4.9 (t,  $^3J_{\text{H,H}} = 1.9$  Hz, 2H,  $\text{H}^{\alpha}$ ), 4.6 (t,  $^3J_{\text{H,H}} = 1.9$  Hz, 2H,  $\text{H}^{\beta}$ ), 4.4 (s, 5H, Cp).

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 25 °C)  $\delta$ /ppm: 178.3 (CO), 73.3 (Ci), 71.7 (Cp), 71.2 ( $\text{C}^{\beta}$ ), 70.4 ( $\text{C}^{\alpha}$ ).

#### 3.4.4. Ferocenoil etilkarbonat (4)

Ferocenkarboksilna kiselina (500 mg, 2.175 mmol) otopi se dodatkom acetona (7.4 mL) i ohladi na 0 °C. Dokapava se trietilamin (7.4  $\mu\text{L}$ ) u acetonu (4.5 mL), a potom otopina etil-kloroformijata (5.8  $\mu\text{L}$ ) u acetonu (1.15 mL). Nakon 30 minuta miješanja, reakcijska se smjesa upari, čisti na koloni uz eluens  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  te je dobiveno 241.9 mg (37 %) produkta ferocenoil etil karbonata (4) u obliku narančaste krutine, koji se dalje koristi za kopulaciju s uracilom [60].

IR ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 2932 (sl., C–H, Fc), 1770 (j., C=O), 1713 (j., C=O), 1675 (j., C=O), 1047 (j, C–O).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 25 °C)  $\delta$ /ppm: 4.9 (t,  $^3J_{\text{H,H}} = 1.8$  Hz, 2H,  $\text{H}^{\alpha}$ ), 4.6 (t,  $^3J_{\text{H,H}} = 1.8$  Hz, 2H,  $\text{H}^{\beta}$ ), 4.4 (s, 5H, Cp), 4.3 (q,  $^3J_{\text{H,H}} = 7.2$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.4 (t,  $^3J_{\text{H,H}} = 7.2$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 25 °C)  $\delta$ /ppm: 167.7 (FcCO), 161.8 (CO), 72.7 ( $\text{C}^{\alpha}$ ), 70.8 ( $\text{C}^{\beta}$ ), 70.2 (Cp), 69.3 (Ci), 61.2 ( $\text{CH}_2$ ), 14.3 ( $\text{CH}_3$ ).

#### 3.4.5. Benzotriazoil-ferocenkarboksilat (5)

U ferocenkarboksilnu kiselinu (2) (200 mg, 0.869 mmol) suspendiranu u suhom diklormetanu dodaju se EDC (147.5 mg, 0.95 mmol) i HOBt (128.3 mg, 0.95 mmol) te se smjesa miješa 30 min. Nakon miješanja, reakcijska smjesa se upari, sirovi produkt (5) se otopi u smjesi otapala diklormetan : aceton = 5:1 te se čisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz eluens  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  čime je dobiveno 243.2 mg (84.5 %) benzotriazoil-ferocenkarboksilata (5) tamnocrvene boje u obliku krutine [61].

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO, 25 °C)  $\delta$ /ppm: 8.16 (m, 1H, Ph), 7.79 (m, 1H, Ph), 7.67 (m, 1H, Ph), 7.52 (m, 1H, Ph), 5.14 (pt, 2H, Fc-CH), 4.84 (pt, 2H, Fc-CH), 4.46 (s, 5H, Cp).

### 3.4.6. Ferocenoil-uracil konjugati (6-8)

*Postupak A:* Uracil (0.20 mmol) se suspendira u 1 mL DMF-a ili CH<sub>3</sub>CN i deprotonira dodatkom NaH (0.26 mmol, 6 mg), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.3 mmol, 41 g) ili (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>N (35 μL) kroz 30-90 minuta na sobnoj temperaturi uz konstantno miješanje. Reakcijskoj smjesi se potom dodaje prethodno pripremljeni ferocenoil klorid (**3**) (0.26 mmol, 60 mg). Nakon 15-30 minuta miješanja na sobnoj temperaturi reakcijska smjesa se neutralizira dodatkom 10 % otopine limunske kiseline te ekstrahira s CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Organski sloj zatim se ispere vodom do neutralnog, osuši dodatkom Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> te upari na rotavaporu do suha. Sirovi produkt otopi se u CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> te se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz eluens diklormetan : aceton = 10 : 0.2. Kolonskom kromatografijom dobiven je jedan produkt, *N1*-kopulat crvene boje, ili smjesa produkata, *N1*- i *N1/N3*- kopulata tamnocrvene boje. Pročišćeni produkti čiste se još jednom kromatografijom na ploči silikagela u sustavu diklormetan : aceton = 10 : 0.1.

**Tablica 3.** Rezultati provedenog eksperimenta *postupkom A*

			<i>Produkt</i>				
Baza	Otapalo	Vrijeme aktivacije baze /min	6		7		
			m (mg)	η (%)	m (mg)	η (%)	6:7
NaH	DMF	30	42.14	64.6	-	-	-
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>			28.70	44.5	-	-	-
(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub> N			19.35	30	-	-	-
NaH	CH <sub>3</sub> CN	30	26.32	40.8	-	-	-
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>			3.29	5.1	-	-	-
(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub> N			12.77	19.8	3.31	3.1	87:13
NaH	DMF	60	46.56	71.6	-	-	-
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>			31.80	49.3	-	-	-
(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub> N			15.61	24.2	-	-	-
NaH	CH <sub>3</sub> CN	60	38.76	60.1	4.16	3.9	94:6
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>			11.22	17.4	3.31	3.1	85:15
(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub> N			12.26	19	14.52	13.6	62:38
NaH	DMF	90	48.12	74	-	-	-
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>			43.86	68	-	-	-

(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub> N			33.54	52	-	-	-
NaH	CH <sub>3</sub> CN	90	29	45	7	6.5	87:13
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>			40	62	3	2.81	96:4
(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub> N			27.74	43	28.83	27	60:40

*Postupak B:* Uracil (0.20 mmol) se suspendira u 1 mL DMF-a ili CH<sub>3</sub>CN i deprotonira dodatkom (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>N (70 µL), NaH (0.26 mmol, 6 mg) ili K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.3 mmol, 41 mg) kroz 60 minuta na sobnoj temperaturi uz konstantno miješanje. Reakcijskoj smjesi se potom dodaje prethodno pripremljeni ferocenoil etil karbonat (**4**) (0.20 mmol, 60 mg). Nakon 15-30 minuta miješanja na sobnoj temperaturi reakcijska smjesa se neutralizira dodatkom 10 % otopine limunske kiseline te ekstrahira s CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Organski sloj zatim se ispere vodom do neutralnog, osuši dodatkom Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> te upari na rotavaporu do suha. Sirovi produkt otopi se u diklormetanu te se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz eluens diklormetan : aceton = 10 : 0.2, čime je dobiven jedan produkt, *NI*-kopulat crvene boje. Pročišćeni produkt čisti se još jednom kromatografijom na ploči silikagela u sustavu diklormetan : aceton = 10 : 0.1.

**Tablica 4.** Rezultati provedenog eksperimenta *postupkom B*

Baza	Otopalo	Vrijeme aktivacije baze /min	Produkt			
			6		7	
			m (mg)	η (%)	m (mg)	η (%)
NaH	DMF	60	5.031	7.8	-	-
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>			1.935	3.0	-	-
(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub> N			2.58	4.0	-	-
NaH	CH <sub>3</sub> CN	60	-	-	-	-
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>			2.58	4.0	-	-
(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub> N			2.064	3.2	-	-

*Postupak C:* Uracil (0.20 mmol) se suspendira u 1 mL DMF-a ili CH<sub>3</sub>CN i deprotonira dodatkom (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>N (70 µL), NaH (0.26 mmol, 6 mg) ili K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.3 mmol, 41 mg) kroz 30-60 minuta na sobnoj temperaturi uz konstantno miješanje. Reakcijskoj smjesi se potom dodaje prethodno pripremljeni benzotriazoil-ferocenkarboksilat (**5**) (0.20 mmol, 66 mg). Nakon 15-30

minuta miješanja na sobnoj temperaturi reakcijska smjesa se neutralizira dodatkom 10 % otopine limunske kiseline, te ekstrahira s  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Organski sloj zatim se ispere vodom do neutralanog, osuši dodatkom  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  te upari na rotavaporu do suha. Sirovi produkt otopi se u diklormetanu te se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz eluens diklormetan : aceton = 10 : 0.2. Kolonskom kromatografijom dobiven je jedan produkt, *N1*-kopulat crvene boje koji se zatim čisti još jednom kromatografijom na ploči silikagela u sustavu diklormetan : aceton = 10 : 0.1.

**Tablica 5.** Rezultati provedenog eksperimenta *postupkom C*

Baza	Otopalo	Vrijeme aktivacije baze /min	Produkt			
			6		7	
			m (mg)	$\eta$ (%)	m (mg)	$\eta$ (%)
NaH	DMF	30	9.03	14	-	-
$\text{K}_2\text{CO}_3$			10.97	17	-	-
$(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}$			-	-	-	-
NaH	$\text{CH}_3\text{CN}$	30	-	-	-	-
$\text{K}_2\text{CO}_3$			-	-	-	-
$(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}$			-	-	-	-
NaH	DMF	60	20	31	-	-
$\text{K}_2\text{CO}_3$			14.19	22	-	-
$(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}$			-	-	-	-
NaH	$\text{CH}_3\text{CN}$	60	3.03	4.7	-	-
$\text{K}_2\text{CO}_3$			-	-	-	-
$(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}$			-	-	-	-

Nakon tankoslojne kromatografije u sustavu diklormetan : aceton = 10 : 0.2 izmjerene su  $R_f$  vrijednosti produkata na pločicama silikagela.  $R_f$  vrijednost za kopulat **6** iznosi 0.469, dok vrijednost za kopulat **7** iznosi 0.493.

***N1*-ferocenoil-uracil (6):** IR ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3374, (sl., NH), 3099 (sl., CH aromatski), 1700 (j., C=O), 1633 (j., C=O, amid).

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 400 MHz, 298 K)  $\delta$ /ppm: 11.5 (1H, s, NH), 8.00 (1H, d, H6), 5.7 (1H, d, H5), 4.9 (2H, d, CH-Fc), 4.7 (2H, s, CH-Fc), 4.3 (5H, s, Fc-Cp).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 100 MHz, 25 °C)  $\delta$ /ppm: 173.6 (C=O), 163.8 (C4), 149.9 (C2), 141.3 (C6), 102.9 (C5), 74.1 (2CH-Fc), 72.6 (Cq, Fc), 71.9 (2CH-Fc), 71.1 (Fc-Cp).

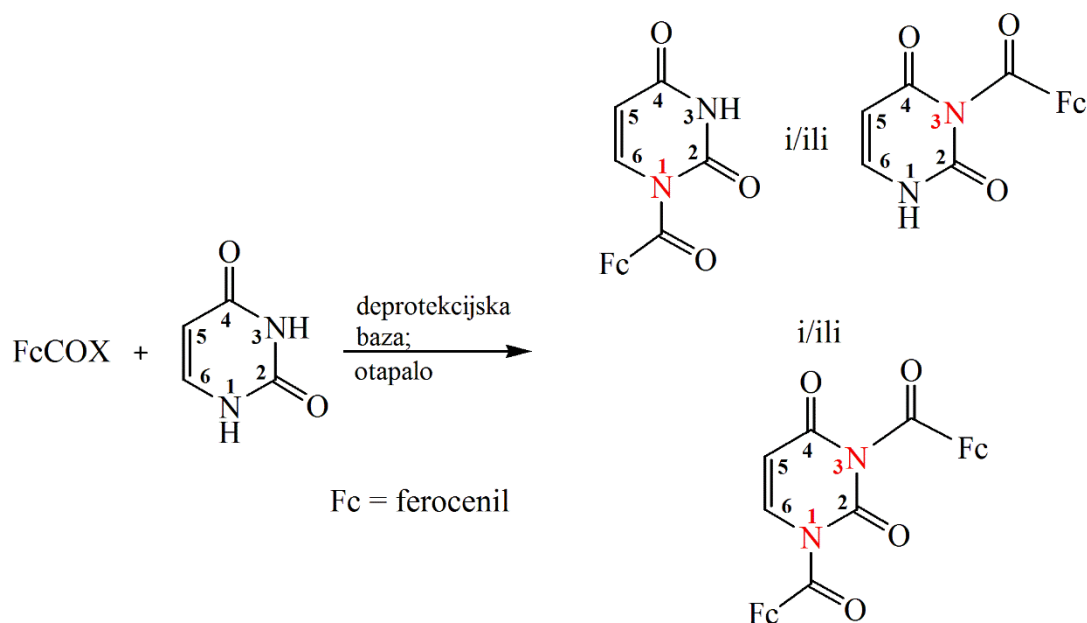
**N1, N3-bisferocenoil-uracil (7)**:  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 400 MHz, 298 K)  $\delta$ /ppm: 8.17 (1H, d, H6), 5.97 (1H, d, H5), 4.93 (4H, s, CH-Fc), 4.80 (2H, s, CH-Fc), 4.74 (2H, s, CH-Fc), 4.39 (5H, s, Fc-Cp), 4.36 (5H, s, Fc-Cp).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 100 MHz, 25 °C,  $\delta$ /ppm: 173.11 (C=O), 172.81 (C=O), 162.04 (C4), 148.38 (C2), 141.46 (C6), 102.59 (C5), 74.33 (2CH-Fc), 73.94 (Cq, Fc), 72.23 (2CH-Fc), 71.30 (Fc-Cp), 71.07 (Fc-Cp).

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

Cilj ovog rada je optimiranje reakcije *N*-ferocenoiliranja uracila kao modelne reakcije (Shema 8). Zbog nukleofilnih svojstava dušikovih atoma nukleobaza, moguće je vezivanje organometalnog dijela na različitim *N*-položajima, što može smanjiti udio željenog produkta u reakcijskoj smjesi. Nukleofilnost različitih dušikovih atoma nukleobaza se razlikuje pa će se promjenama otapala, acilirajućih agenasa, baza ili medija odabrati reakcijski uvjeti koji preferiraju kinetičku i/ili termodinamsku kontrolu reakcijskih smjerova. U većini reakcija na nezaštićenom uracilu sa supstratima za aciliranje (acilkloridi, esteri, anhidridi) nastaje smjesa *N1*- i *N3*- produkata, međutim može nastati i samo jedan od tih produkata, ili *N1*- ili *N3*-produkt. Stoga će se u ovom radu sustavnom promjenom organskih otapala (DMF, CH<sub>3</sub>CN) i različitih baza (NaH, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Et<sub>3</sub>N), moderirati relativna razlika nukleofilnosti *N*-položaja u nukleobazama. Prvi dio rada uključuje sintezu ključnih acilirajućih agenasa, ferocenoil klorida (**3**), ferocenoil etilkarbonata (**4**) i benzotriazoil-ferocenkarboksilata (**5**), koji se zatim kopuliraju s nezaštićenim uracilom. U drugom dijelu rada provedeno je ispitivanje uvjeta reakcije *N*-ferocenoiliranja uracila s posebnim osvrtom na regioselektivnost reakcije. Za praćenje tijeka reakcije, kao i potvrdu strukture pripremljenih spojeva, korištene su IR i NMR ( $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$ ) spektroskopija.





**Shema 8.** Modelna reakcija *N*-ferocenoiliranja uracila

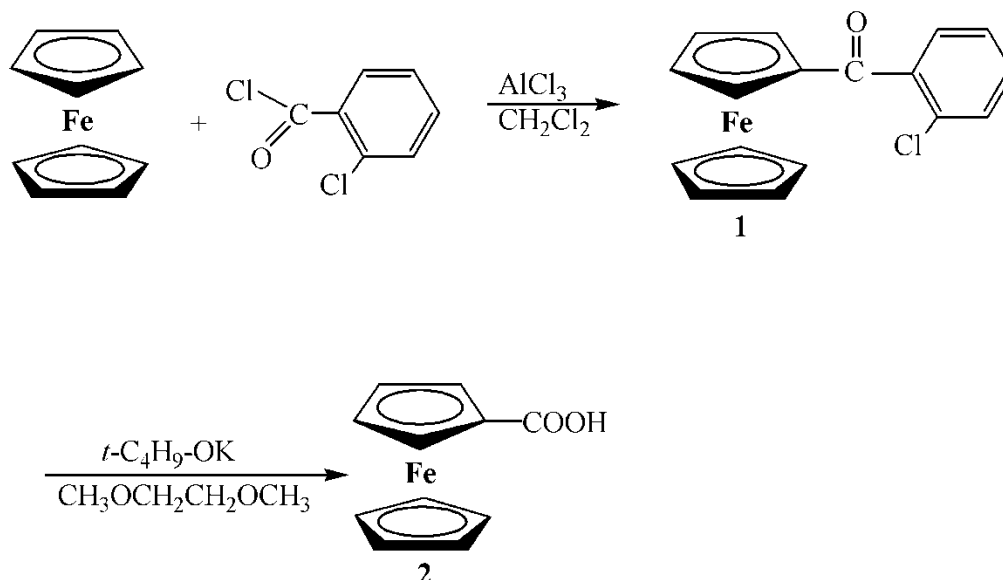
## 4.1. SINTEZA I SPEKTRALNA ANALIZA PREKURSORA

### 4.1.1. Ferocenkarboksilna kiselina (**2**)

Sinteza ključnih prekursora ferocenoil klorida (**3**), ferocenoil etilkarbonata (**4**) i benzotriazoil-ferocenkarboksilata (**5**) započinje pripremom ferocenkarboksilne kiseline (**2**). Spoj **2** pripravlja se u dva sintetska koraka pri čemu je Friedel-Craftsova reakcija aciliranja ferocena prvi stupanj. Ova reakcija se provodi uz 2-klorbenzoil klorid u prisutnosti aluminijeva klorida pri čemu nastaje (2-klorbenzoil)-ferocen (**1**) u visokom iskorištenju (92.43 %). Hidrolizom (2-klorbenzoil)-ferocena (**1**) u suspenziji kalijeva-*tert*-butoksida u 1,2-dimetoksietanu izolirana je ferocenkarboksilna kiselina (**2**) kao žutonaračasta krutina te uz iskorištenje od 88 % (Shema 9) [58].

Struktura dobivenih spojeva **1** i **2** potvrđena je IR i NMR spektroskopijom. U IR-spektru (2-klorbenzoil)-ferocena (**1**) vidljiva je vrpca pri  $1660\text{ cm}^{-1}$  koja se pripisuje karbonilnoj skupini ketona.  $^1\text{H}$  NMR spektar snimljen u  $\text{CDCl}_3$  sadrži kemijske pomake pri  $\delta 7.37\text{ ppm}$  koji se pripisuje fenilnim protonima i kemijske pomake karakteristične za ferocenske protone. U IR-spektru ferocenkarboksilne kiseline (**2**) vidljiva je široka apsorpcijska vrpca u području od 3100

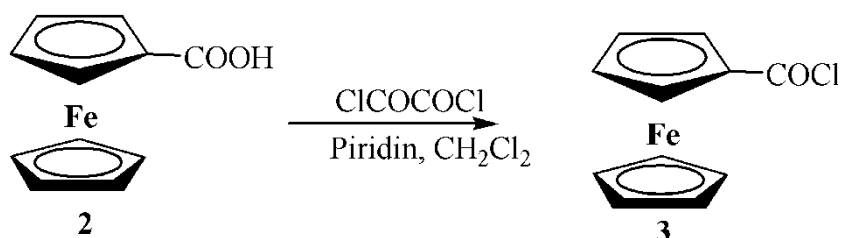
do  $2700\text{ cm}^{-1}$  koja odgovara frekvenciji istezanja hidroksilne skupine karboksilne kiseline te vrpca pri  $1676\text{ cm}^{-1}$  koja je karakteristična za karbonilnu skupinu karboksilne kiseline.



**Shema 9.** Priprema ferocenkarboksilne kiseline (2) [58]

#### 4.1.2. Ferocenoil klorid (3)

Ferocenoil klorid (3) pripravljen je reakcijom ferocenkarboksilne kiseline (2) i oksalil-klorida u suhom diklormetanu 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 79 % (Shema 10) [59].



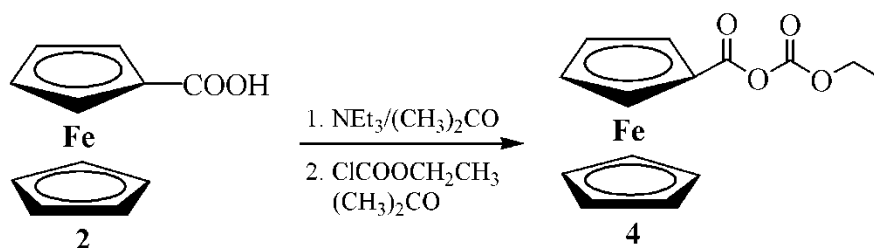
**Shema 10.** Priprema ferocenoil klorida (3) [59]

U IR spektru ferocenoil klorida (3) assignirana je apsorpcijska vrpca karakteristična za kiselinske kloride pri  $1755\text{ cm}^{-1}$ , a u  $^1\text{H}$  NMR spektru prisutni su kemijski pomaci

monosupstituiranog ferocena budući da su signali vidljivi u rasponu od  $\delta$  4.38 do 4.91 ppm i to kao jedan singlet i dva tripleta.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar uz kemijske pomake karakteristične za ferocenske ugljikove atome (područje od  $\delta$  70.4 do 73.3 ppm) sadrži i kemijski pomak karakterističan za ugljikov atom karbonilne skupine pri 178 ppm.

#### 4.1.3. Ferocenoil etilkarbonat (4)

Ferocenoil etilkarbonat (4) pripremljen je otapanjem ferocenkarboksilne kiseline (2) u acetonu nakon čega su dodane acetonske otopine trietilamina i etil-kloroformijat. Nakon 30 minuta miješanja, reakcijska se smjesa upari i dobiven je sirovi produkt ferocenoil etilkarbonat (4) u obliku narančaste krutine (Shema 11). Sirovi produkt čisti se na koloni uz eluens  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , pri čemu je dobiven produkt ferocenoil etilkarbonat (4) tamnonarančaste boje u obliku krutine, u iskorištenju 37 %. [60].

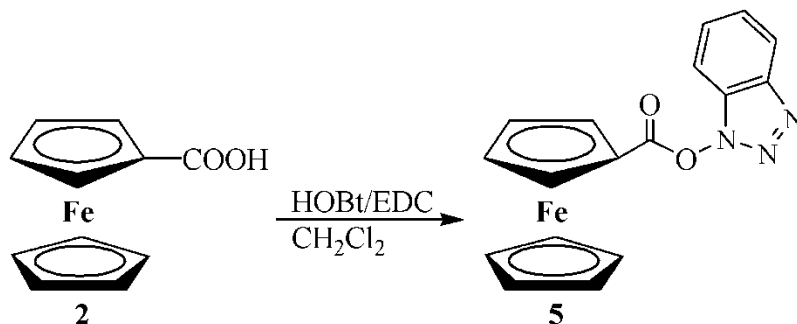


Shema 11. Priprema ferocenoil etilkarbonata (4) [60]

$^1\text{H}$  NMR spektar snimljen u  $\text{CDCl}_3$  sadrži signale u rasponu od  $\delta$  4.4 do 4.9 ppm karakteristične za ferocenske protone te kemijske pomake pri  $\delta$  4.3 i 1.4 ppm koji predstavljaju protone  $\text{CH}_2$  i  $\text{CH}_3$  skupina.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar uz kemijske pomake karakteristične za ferocenske ugljikove atome (područje od  $\delta$  69.3 do 72.7 ppm) sadrži i kemijske pomake karakteristične za ugljikove atome karbonilne skupine pri 161.8 te 167.7 ppm. U IR-spektru ferocenoil etil karbonata (4) asignirane su apsorpcijske vrpce karakteristične za karbonilne skupine 1675, 1713 i 1770  $\text{cm}^{-1}$ , a vidljiva je i vrpca pri 1047  $\text{cm}^{-1}$  koja se pripisuje C–O skupini.

#### 4.1.4. Benzotriazol-ferocenkarkoksilat (5)

Benzotriazol-ferocenkarkoksilat (5) pripremljen je reakcijom kiseline 2 suspendiranoj u suhom  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , te se doda smjesa EDC i HOBt. Dobiveni sirovi produkt se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz eluens  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  pri čemu je dobiven benzotriazol-ferocenkarkoksilat (5), tamnonarančaste boje u obliku krutine, u iskorištenju od 84.5 % (Shema 12) [61].



Shema 12. Priprema spoja (5) [61]

$^1\text{H}$  NMR spektar snimljen u DMSO sadrži kemijske pomake od  $\delta$  8.16 do 7.52 ppm koji se pripisuju protonima benzotriazolnog prstena i kemijski pomaci karakteristični za ferocenske protone.

#### 4.2. SINTEZA I SPEKTRALNA ANALIZA FEROCENOIL URACILA

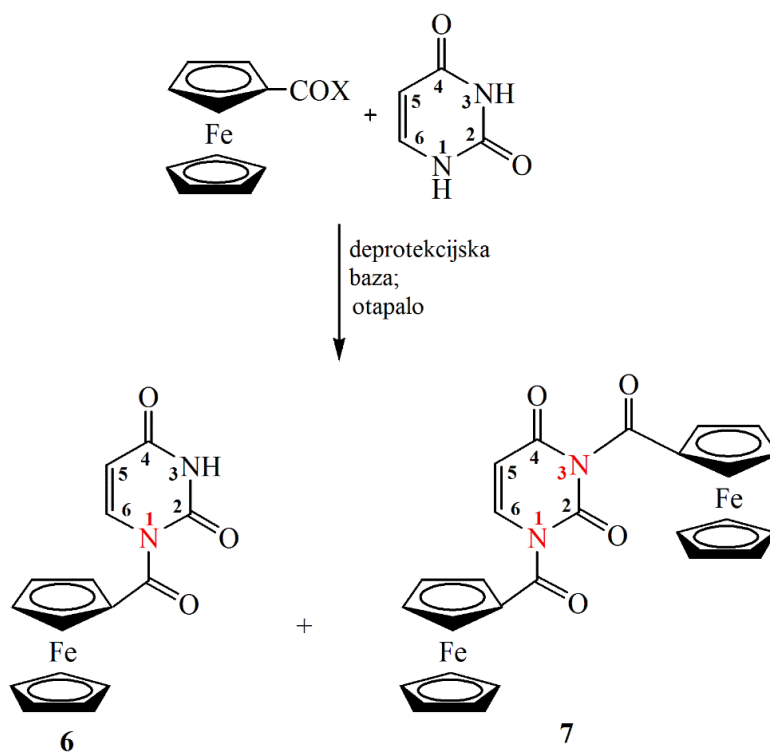
Nastavak istraživanja opisanih u ovom radu posvećen je ispitivanju uvjeta reakcije *N*-ferocenoiliranja uracila s posebnim osvrtom na regioselektivnost reakcije. Kao što je već navedeno, nukleobaza uracil posjeduje dva dušikova atoma (N1 i N3) koji mogu djelovati kao nukleofili i pri tome mogu nastati različiti produkti kopulacije. U našem je Laboratoriju provedena sinteza *N*1-ferocenoil-uracila (6) uz ferocenoil-klorid (3) korištenje natrijeva hidrida kao deprotonirajuće baze, a reakcija je provedena u suhom DMF. Vrijeme aktivacije baze u ovoj je reakciji bilo 30 minuta te je nastao isključivo *N*1-izomer ferocenoil-uracila. Regioselektivnost te reakcije potvrđena je korištenjem NMR spektroskopije te kvantno-kemijskim računom koji ukazuje da je prijelazno stanje u reakciji aciliranja na *N*1-položaju

stabilnije od odgovarajućeg prijelaznog stanja za nastajanje *N*3-izomera [27]. S obzirom da se nukleofilnost dušikovih atoma nukleobaza razlikuje cilj je bio ispitati kako će promjena otapala, baze ili vremena aktivacije utjecati na regioselektivnost modelne reakcije.

U ovom radu deprotekcija baze provedena je NaH, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Et<sub>3</sub>N u DMF ili CH<sub>3</sub>CN pri čemu nastaje sol pirimidinske baze, odnosno aktivirana nukleobaza. Slijedi kopulacija aktivirane nukleobaze i acilirajućih agenasa koja se odvija prilično brzo uz promjenu boje s obzirom na primijenjeni acilirajući agens. Sol baze, zbog pozitivnog naboja na natriju/kaliju i negativnog na dušikovom atomu, jak je nukleofil u reakciji kopulacije s acilirajućim agensima što upućuje na S<sub>N</sub>Ac mehanizam. Reakcije su praćene tankoslojnom kromatografijom na silika gel pločama uz eluens diklormetan/acetona.

#### 4.2.1. Sinteza i spektralna analiza: *Postupak A*

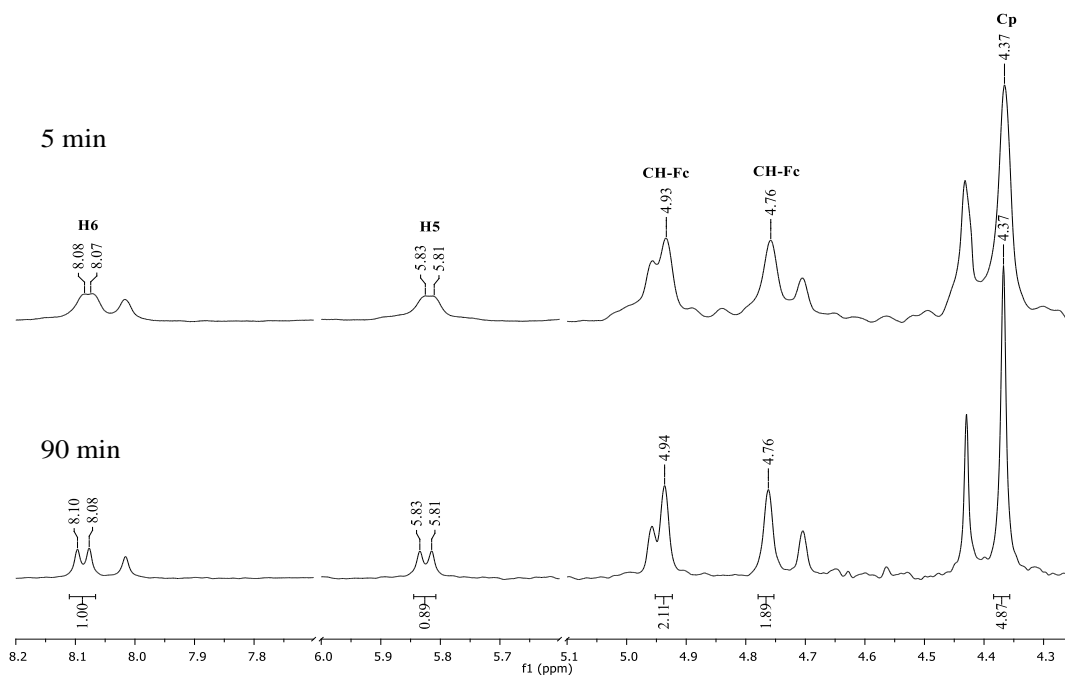
U *postupku A* kao acilirajući agens korišten je ferocenoil klorid (**3**), a kao deprotonirajuće baze NaH, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> i Et<sub>3</sub>N. Reakcije se provode u suhom dimetilformamidu (DMF) ili acetonitrilu (CH<sub>3</sub>CN), a usmjerenost reakcije ispituje se i primjenom različitog vremena deprotekcije nukleobaze (30, 60 i 90 minuta) (Shema 13).



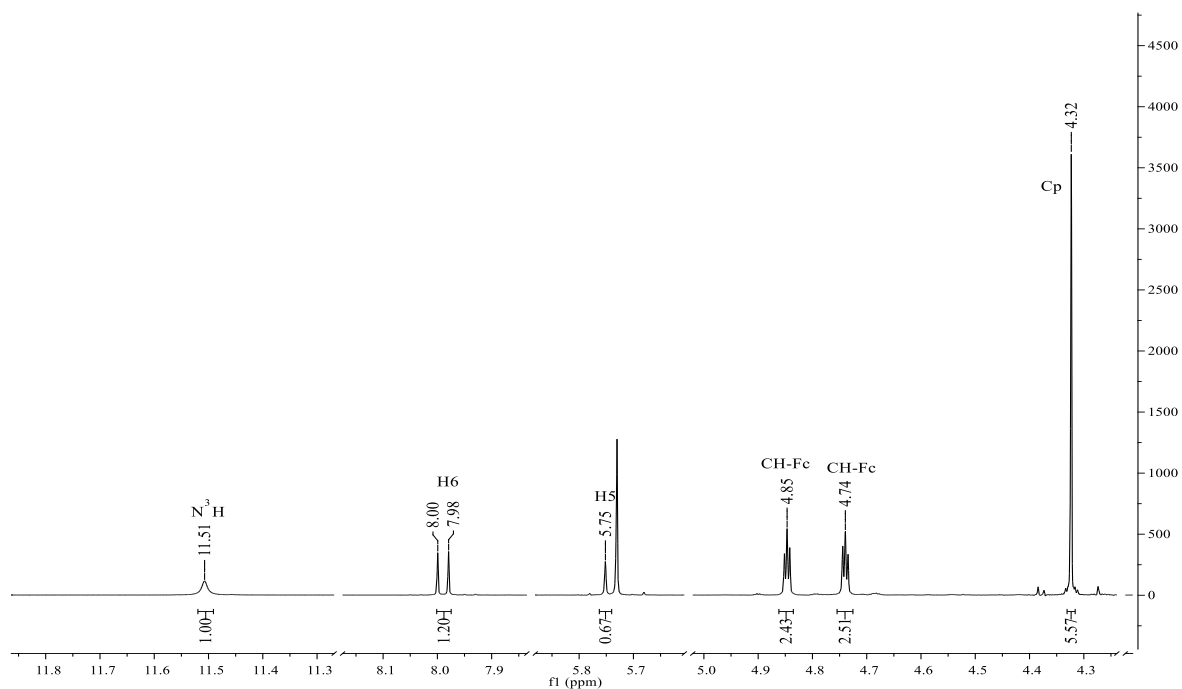
**Shema 13.** Priprava *N*1-kopulata ferocena i uracila

Nakon provedenih istraživanja uočeno je nastajanje isključivo *N1*-ferocenoil uracila (**6**) kada je kao otapalo korišten DMF. U svim reakcijama ispitanih deprotekcijских baza, kao i primjenom različitog vremena deprotekcije, nastaje isključivo kopolat **6**. Može se zaključiti da su reakcije regispecifične. U nastavku istraživanja korišten je suhi acetonitril kao otapalo te je uočeno nastajanje *N1/N3*-kopolata **7** uz *N1*-kopolat **6**. Tijekom ovog dijela istraživanja uočeno je da na nastajanje kopolata **7**, kao i na njegov udio, utječe korištena baza i vrijeme deprotekcije. Najveći udio bis-kopolata **7** dobiven je upotrebom trietilamina ( $\text{Et}_3\text{N}$ ) kao deprotekcijske baze, te produljenim vremenom aktivacije baze (90 minuta).

Tijek kopolacijskih reakcija praćen je i  $^1\text{H}$  NMR spektroskopijom *in situ* kako bi se ustvrdio udio pojedinih izomera. Eksperiment obuhvaća kontinuirano praćenje reakcije kopolacije od prve minute do konačne reakcije pri čemu se udio nastalih regioizomera dobiva iz odnosa integrala pikova pripisanih pojedinim izomerima. Sve reakcije su provedene pri sobnoj temperaturi, a spektri su snimani pri 25 °C. Reakcije su praćene pomoću kapilare u kojoj se nalazi deuterirani dimetisulfoksid ( $\text{DMSO-}d_6$ ) pri čemu se reakcijski uvjeti nisu promijenili. Za početak je praćen tijek reakcije kopolacije ferocenoil klorida (**3**) i uracila uz  $\text{NaH}$ , a reakcija je provedena u DMF. Tijekom ove reakcije uočeno je nastajanje isključivo *N1*-izomera (Slika 32) što je potvrđeno usporedbom s  $^1\text{H}$  NMR spektrom čistog *N1*-ferocenoil uracila (**6**) (Slika 33).

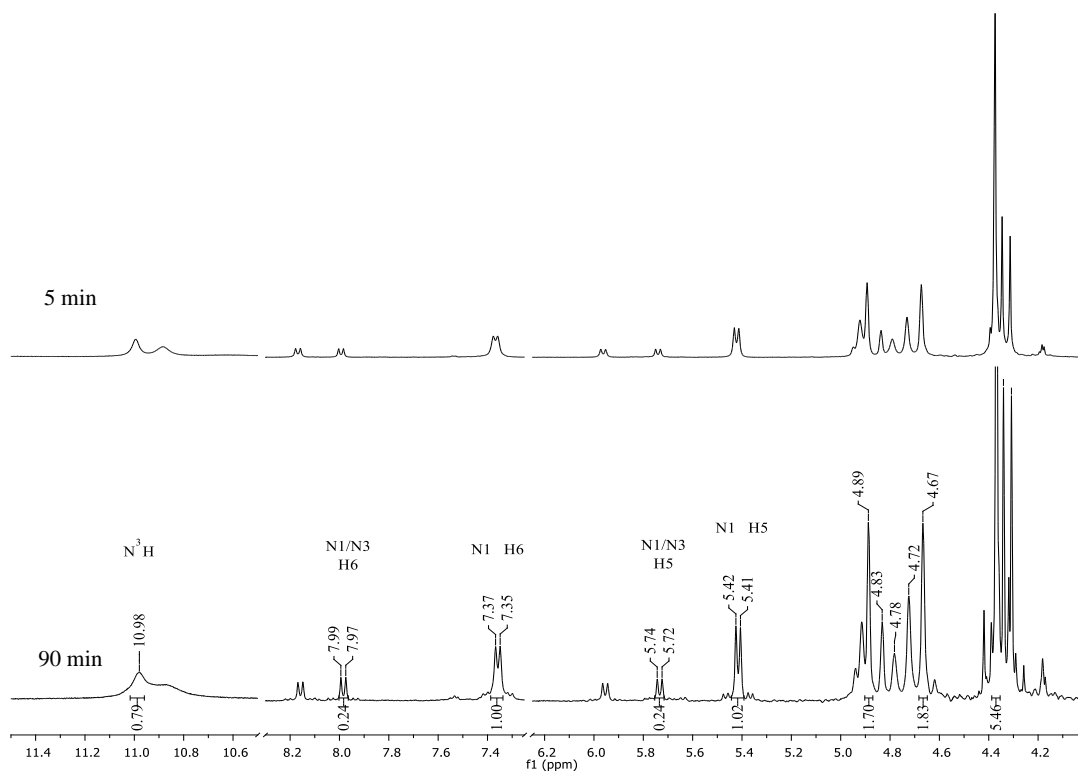


**Slika 32.**  $^1\text{H}$  NMR spektar reakcije kopolacije ferocenoil klorida (**3**) i uracila u DMF



**Slika 33.** N1-Ferocenoil uracil (**6**)

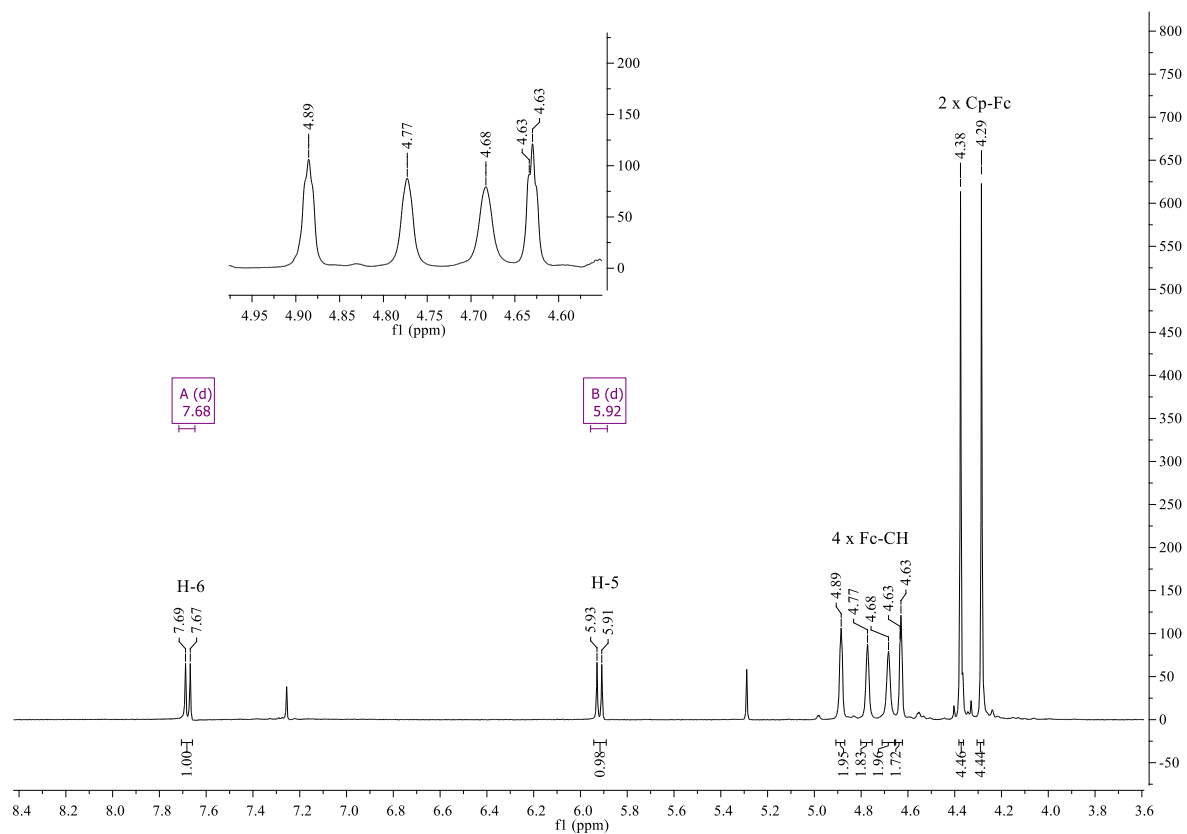
Kako bi se provjerili dobiveni sintetski rezultati, provedena je i reakcija praćen <sup>1</sup>H NMR spektroskopijom *in situ* reakcije u kojoj je korišten Et<sub>3</sub>N kao baza i CH<sub>3</sub>CN kao otapalo. Tijekom ove reakcije, odnosno već na samom početku reakcije u spektru su vidljivi kemijski pomaci oba izomera, N1 i N1/N3, te se njihov udio znatno ne mijenja tijekom nastavka reakcije (Slika 34). U spektru su vidljivi i kemijski pomaci karakteristični za nezaštićeni uracili. Ono što se također može vidjeti ovakvim NMR ispitivanjima, je da su ove kopolacijske reakcije vrlo brze i događaju se trenutno. Ovim eksperimentom su potvrđeni sintetski rezultati i udio pojedinih izomera u reakcijskoj smjesi. U svrhu usporedbe spektara izomera na slici 35. je spektar čistog kopolata **7**.



**Slika 34.**  $^1H$  NMR spektar reakcije kopulacije ferocenoil klorida (**3**) i uracila u  $CH_3CN$  uz  $Et_3N$  kao deprotekciju bazu

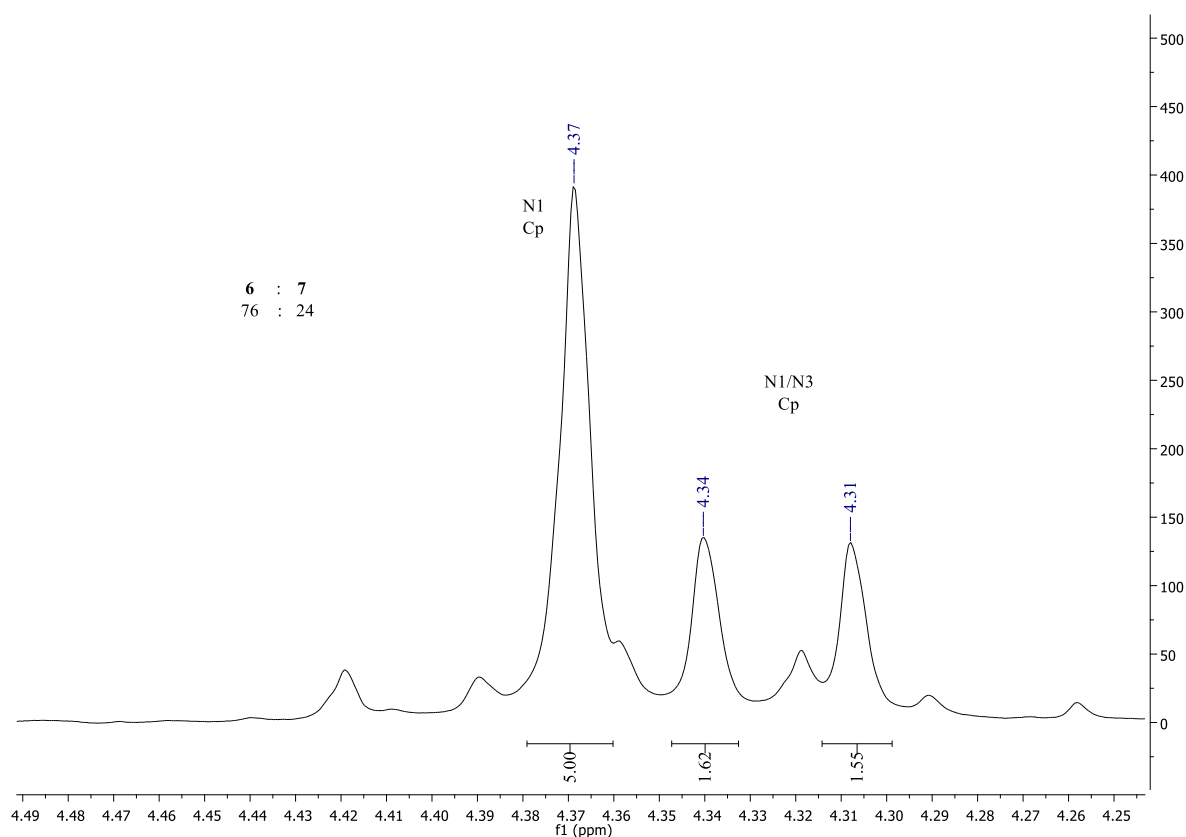
Nakon provedenih ispitivanja reakcija provedenih *postupkom A* može se zaključiti da su reakcije provedene u DMF, neovisno o drugim reakcijskim uvjetima, regiospecifične uz nastajanje  $N1$ -ferocenoil uracila (**6**). S druge strane tijek i regioselektivnost reakcije provedene u acetonitrilu ovisi o primjenjenim uvjetima. Najveći udio bis-produkta,  $N1,N3$ -bisferocenoil uracila **7**, dobiven je korištenjem  $Et_3N$  kao deprotekcije baze u  $CH_3CN$  kao otapalu i produljenim vremenom aktivacije baze (90 minuta).





**Slika 35.** *N1/N3*-bisferrocenil uracil (**7**)

Udio nastalih izomera može se izračunati iz  $^1\text{H}$  NMR spektra te je u slučaju reakcije prethodno opisane i prikazane na slici 36. utvrđeno da je u reakcijskoj smjesi nakon 90 minuta prisutno 76 % *N1*-ferrocenil uracila (**6**) i 24 % *N1/N3*-bisferrocenil uracila (**7**).



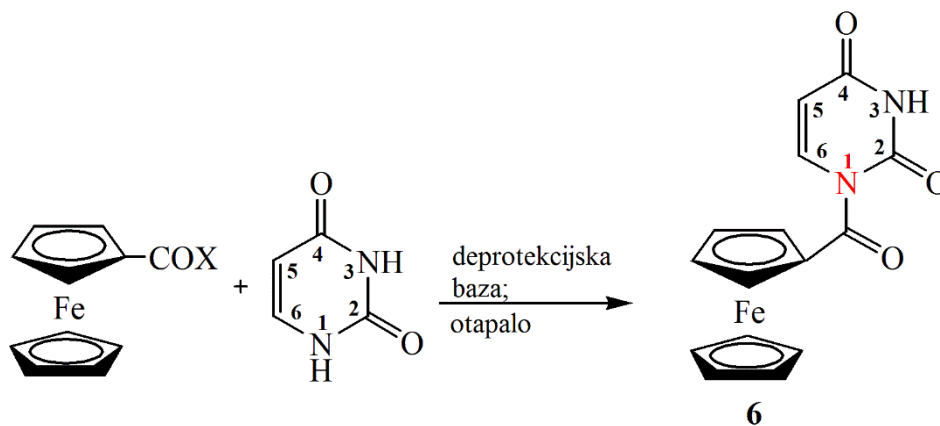
**Slika 36.** Udio nastalih *N1*- i *N1/N7*-produkata reakcije kopulacije ferocenoil klorida (**3**) i uracila u  $\text{CH}_3\text{CN}$  uz  $\text{Et}_3\text{N}$  kao deproteksijsku bazu i 90 minuta aktivacije baze

#### 4.2.2. Sinteza i spektralna analiza: *Postupak B* i *Postupak C*

U modelnoj reakciji na uracilu provedenoj *postupkom B* ispitani su uvjeti reakcije kao i *postupkom A* uz zamjenu acilirajućeg agensa te je korišten mješoviti anhidrid, ferocenoil etilkarbonat (**4**). Sve reakcije su provedene tijekom 60 minuta i dobiveni rezultati ukazuju na nastajanje isključivo *N1*-kopulata **6**, i to u vrlo niskom iskorištenju. Nakon provedenih ispitivanja može se zaključiti da ovaj acilirajući agens nije pogodan za provedbu kopulacijskih reakcija zbog niskog iskorištenja neovisno o bazi i otapalu.

*Postupak C* uključuje korištenje benzotriazol-ferocenkarboksilata (**5**) kao acilirajućeg agensa, a svi ostali uvjeti su kao i kod *postupka A*. Ispitano vrijeme aktivacije baze je 30 i 60 minuta. Nakon provedenih ispitivanja vidljivo je da u svim reakcijama nastaje samo *N1*-kopulat **6**, i to gotovo isključivo u DMF. Također se može zaključiti da je iskorištenje u svim reakcijama veće

nego kod reakcija ispitanih u *postupku B*. Time se može zaključiti da je acilirajući agens **5** pogodniji za ovaj tip koplacijskih reakcija od mješovitog anhidrida **4** korištenog u *postupku B*.



**Shema 14.** Priprava N1-ferocenoil-uracila (**6**) *postupkom B i C*

## 5. ZAKLJUČCI

1. Provedeno je ispitivanje reakcije kopulacije ferocena i uracila uz karbonilnu skupinu kao premosnicu. Istraživanja modelne reakcije su provedena uz različite acilirajuće agenase (ferocenoil klorida (**3**), ferocenoil etilkarbonata (**4**) i benzotriazoil-ferocenkarboksilata(**5**)), zatim natrijeva hidrida (NaH), kalijeva karbonata ( $K_2CO_3$ ) i trietilamina  $[(C_2H_5)_3N]$  kao deproteksijske baze te dimetilformamida (DMF) i acetonitrila ( $CH_3CN$ ) kao otapala.
2. Reakcije provedene u *N,N*-dimetilformamidu su regiospecifične uz nastajanje *N1*-ferocenoil-uracila (**6**), dok tijek i regiselektivnost reakcija provedenih u acetonitrilu ovise o primjenjenim uvjetima reakcije.
3. Najveći udio *N1/N3*-ferocenoil-uracila (**7**) (40 %) dobiven je reakcijom u acetonitrilu, upotrebom trietilamina ( $Et_3N$ ) kao deproteksijske baze te produljenim vremenom aktivacije baze (90 minuta).
4. Struktura svih dobivenih produkata kao i regioselektivnost provedenih reakcija potvrđeni su NMR spektroskopijom. Na osnovu kemijskih pomaka u  $^1H$  spektrima spojeva **6** potvrđena je supstitucija uracila na jednom ciklopentadienilnom prstenu ferocena, dok je kod kopulata **7** potvrđena supstitucija uracila s dvije ferocenske podjedinice. Signal u  $^{13}C$  spektru konjugata pri pomaku od  $\delta$  172.81 do 173.6 ppm ukazuje na prisutnost karbonilnog ugljikovog atoma koji služi kao razmaknica između ferocena i nukleobaze.

## 6. POPIS LITERATURE

- [1] 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.
- [2] Narváez-Pita, X., Rheingold, A. L., Meléndez, E. (2017) Ferrocene-steroid conjugates: Synthesis, structure and biological activity. *J. Organomet. Chem*, **846.**, 113-120.
- [3] Rausch, M., Vogel, M., Rosenberg, H. (1957) Ferrocene: A novel organometallic compound. *J. Chem. Educ.* **34**, 268-271.
- [4] Taboršak, D. (2018) Organizacija proizvodnje. *Studia lexicographica*. **23**, 701-716.
- [5] Kräutler, B. (2009) Organometallic Chemistry of B12 Coenzymes. U: *Metal-Carbon Bonds in Enzymes and Cofactors: Metal Ions in Life Sciences* (Sigel,A., Sigel,H., Sigel, R.K.O., ured.), De Gruyter, Berlin, 1-51.
- [6] Weir, D. G., Scott, J. M. (1999) Brain function in the elderly: role of vitamin B12 and folate. *Br. Med. Bull.* **55**, 669–671.
- [7] Anonymus (2008) <[https://www.wikilectures.eu/w/Vitamin\\_B12](https://www.wikilectures.eu/w/Vitamin_B12)>. Pristupljeno 1. srpnja 2020.
- [8] Gasser, G., Ott, I., & Metzler-Nolte, N. (2011). Organometallic Anticancer Compounds. *Jour. Med. Chem.* **54**, 3–25.
- [9] Mudi, S. Y., Usman, M. T., Ibrahim, S. (2015) Clinical and Industrial Application of Organometallic Compounds and Complexes: A Review. *Am. J. Chem.* **2**, 151-158.
- [10] Floris, B. (2015) Ferrocene in agriculture: from agrochemicals and soil remediation to selective chemosensors. *Chem. Biol. Technol. Agric.* **2**, 1-3.
- [11] Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Stryer, L. (2013) Biokemija, 6. izd. (preveli Weygand Đurašević, I., Jernej, B., Kućan, Ž.), Školska knjiga, Zagreb, 108-112.
- [12] Kumari, A. (2017) Sweet Biochemistry: Remembering Structures, Cycles, and Pathways by Mnemonics, Academic Press, Cambridge, 89-91.

- [13] Movassaghi, M., Hill, M. D. (2006) Single-step synthesis of pyrimidine derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 14254-14255.
- [14] Standerfer, S. B., Handler, P. (1955) Fatty liver induced by orotic acid feeding. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **90**, 270–271.
- [15] Kennepohl, D. (2009) Aromatic Heterocyclic Compounds. MCC Organic Chemistry. <<https://courses.lumenlearning.com/suny-mcc-organicchemistry/chapter/aromatic-heterocyclic-compounds/>>. Pristupljeno 15. svibnja 2020. (22:15)
- [16] 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.
- [17] Jain, K. S., Chitre, T. S., Miniyar, P. B., Kathiravan, M.K., Bendre, V. S., Veer, V. S., Shahane, S. R., Shishoo, C. J. (2006) Biological and medicinal significance of pyrimidines. *Curr. Sci.* **90**, 793-803.
- [18] Sahu, M., Siddiqui, N. (2016) A review on biological importance of pyrimidines in the new era. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **8**, 8-18.
- [19] Malancona, S., Mori, M., Fezzardi, P., Santoriello, M., Basta, A., Nibbio, M., Botta, M. (2020) 5,6-Dihydropyrimidine Scaffold to Target HIV-1 Nucleocapsid Protein. *ACS Med. Chem. Lett.* **11**, 766–772.
- [20] Kokić, S. (2009) Dijagnostika i liječenje šećerne bolesti tipa 2. *M E D I X.*, **15**, 96.
- [21] Yousefi, A., Yousefi, R., Panahi, F., Sarikhani, S., Zolghadr, A. R., Bahaoddini, A., Khalafi-Nezhad, A. (2015) Novel curcumin-based pyrano[2,3-d]pyrimidine anti-oxidant inhibitors for  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase: Implications for their pleiotropic effects against diabetes complications. *Int. J. Biol. Macromol.*, **78**, 46–47.
- [22] Anonymus (2002) Fluorouracil. <<http://chemocare.com/chemotherapy/drug-info/fluorouracil.aspx>>. Pristupljeno 22. svibnja 2020.
- [23] El-Sawy, E. R., Mandour, A. H., Mahmoud, K., Ezz-Eldin Islam, I., Abo-Salem, H. M. (2012) Synthesis, antimicrobial and anti-cancer activities of some new N-ethyl, N-benzyl and N-benzoyl-3-indolyl heterocycles. *Acta Pharm.* **62** (2), 157-179.

- [24] Pałasz, A., Cież, D. (2014) In search of uracil derivatives as bioactive agents. Uracils and fused uracils: Synthesis, biological activity and applications. *Eur. J. Med. Chem.* **97**, 582-611.
- [25] Pałasz, 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**, 588–589.
- [26] Kurinovich, A. M., Lee, J. K. (2000) The Acidity of Uracil from the Gas Phase to Solution: The Coalescence of the N1 and N3 Sites and Implications for Biological Glycosylation. *J. Am. Chem. Soc.* **122**, 6258-6262.
- [27] 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.
- [28] Soltani Rad, M. N., Behrouz, S., Asrari, Z., Khalafi-Nezhad, A. (2014). A simple and regioselective one-pot procedure for the direct N-acylation of some purine and pyrimidine nucleobases via carboxylic acids using cyanuric chloride. *Monatsh. Chem.* **145(12)**, 1933–1940.
- [29] Braga, S. S., Silva, A. M. S. (2013) A New Age for Iron: Antitumoral Ferrocenes. *Organometallics.* **32(20)**, 5626–5630.
- [30] Bhatt, V. (2016) Metal Carbonyls. U: *Essentials of Coordination Chemistry*, Academic Press, Cambridge, 191–236.
- [31] Togni, A., Hayashi, T. (1995) Ferrocene-Containing Charge-Transfer Complexes. Conducting and Magnetic Materials. U: *Ferrocenes: Homogeneous Catalysis, Organic Synthesis, Materials Science*, Wiley-VCH, Weinheim, 433–469.
- [32] Werner, H. (2012) At Least 60 Years of Ferrocene: The Discovery and Rediscovery of the Sandwich Complexes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **51(25)**, 6052–6058.
- [33] Stone D. L., Smith D. K. (2003) Anion binding at the core of branched ferrocene derivatives. *Polyhedron.* **22**, 763.
- [34] Rapić, V., Čakić Semenčić, M. (2010) I. Organometalna i bioorganometalna kemija ferocen i metalni karbonili. *Kem. Ind.* **60**, 61-67.

[35] McHale, M. (2007) Friedel-Crafts Reaction: Acetylation of Ferrocene

<<https://cnx.org/contents/ZZL8IVR8@1/Freidel-Crafts-Reaction-Acetylation-of-Ferrocene>>.

Pristupljeno 25. svibnja 2020.

[36] Rosenblum, M., Santer, J. O., Howells, W. G. (1963) The Chemistry and Structure of Ferrocene. VIII. Interannular Resonance and the Mechanism of Electrophilic Substitution. *J. Am. Chem. Soc.* **85**(10), 1450–1458.

[37] Cunningham, A. F. (1996) Mechanism of Mercuration of Ferrocene: General Treatment of Electrophilic Substitution of Ferrocene Derivatives. *Organometallics*. **16**, 1114-1122.

[38] Elias, A. J. (2002) A Collection of Interesting General Chemistry Experiments [online], Universities Press, Hyderabad, 115.

[39] Ahn, S., Song, Y.-S., Yoo, B. R., Jung, I. N. (2000) Lewis Acid-Catalyzed Friedel–Crafts Alkylation of Ferrocene with Allylchlorosilanes. *Organometallics*, **19**(14), 2777–2780.

[40] Slocum, D. W., Engelmann, T. R., Emrt, C., Jennings, C. A., Jones, W., Koonsvitsky, B., Lewis, J., Shenkin, P. (1969) Metalation of Metallocenes. *J. Chem. Educ.* **46**, 144-145.

[41] Dyson, P. J., Allardyce, C. S., Dorcier A., Scolaro C. (2005) Development of organometallic (organo-transition metal) pharmaceuticals. *Appl. Organometal. Chem.* **19**, 1–10.

[42] 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** (20), 5766–5773.

[43] Rausch, M., Vogel, M., Rosenberg, H. (1957) Derivatives of Ferrocene. I. The Metalation of Ferrocene. *J. Org. Chem.* **22**, 900–903.

[44] Patra, M., Gasser, G. (2017) The medicinal chemistry of ferrocene and its derivatives. *Nat. Rev. Chem.* **1**, 66.

[45] Wani, W. A., Jameel, E., Baig, U., Mumtazuddin, S., Hun, L. T. (2015) Ferroquine and its derivatives: New generation of antimalarial agents. *Eur. J. Med. Chem.* **101**, 534–551.

[46] Kedge, J. L., Nguyen, H. V., Khan, Z., Male, L., Hodges, M. K. I. H. V. R. N., Horswell, S. L., Tucker, J. H. R. (2016) Organometallic Nucleoside Analogues: Effect of Hydroxyalkyl Linker Length on Cancer Cell Line Toxicity. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2017**(2), 466–471.



- [47] Braga, S.S., Silva, A.M.S. (2013) A New Age for Iron: Antitumoral Ferrocenes. *Organometallics*. **32**, 5626–5639.
- [48] 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(1)**, 70–75.
- [49] Hassan, A.S., Hafez, T.S. (2018) Antimicrobial Activities of Ferrocenyl Complexes: A Review. *J. App. Pharm. Sci.* **8(05)**, 156-158.
- [50] Simenel, A. A., Morozova, E. A., Snegur, L. V., Zykova, S. I., Kachala, V. V., Ostrovskaya, L. A., Bluchterova, N. V. and Fomina, M. M. (2009) Simple route to ferrocenylalkyl nucleobases. Antitumor activity in vivo. *Appl. Organometal. Chem.* **23**, 219–224.
- [51] Kowalski, K., Koceva-Chyla, A., Pieniazek, A., Bernasinska, J., Skiba, J., Rybarczyk-Pirek, A. J., Jozwiak, Z. (2012) The synthesis, structure, electrochemistry and in vitro anticancer activity studies of ferrocenyl-thymine conjugates. *J. Organomet. Chem.* **700**, 58–68.
- [52] Kowalski, K. (2016) Ferrocenyl-nucleobase complexes: Synthesis, chemistry and applications. *Coord. Chem. Rev.* **317**, 132–134.
- [53] Simenel, A. A., Morozova, E. A., Snegur, L. V., Zykova, S. I., Kachala, V. V., Ostrovskaya, L. A., Fomina, M. M. (2009) Simple route to ferrocenylalkyl nucleobases. Antitumor activity in vivo. *Appl. Organomet. Chem.* **23(6)**, 219–224.
- [54] Samantaray, M. K., Shaikh, M. M., Ghosh, P. (2009) Copper-free and amine-free Sonogashira coupling in air in a mixed aqueous medium by palladium complexes of N/O-functionalized N-heterocyclic carbenes. *J. Organomet. Chem.* **694(21)**, 3477–3486.
- [55] Patwa, A.N., Gonnade, R.G., Kumar, V.A., Bhadbhade, M.M., Ganesh, K.N. (2010) Ferrocene–Bis(thymine/uracil) Conjugates: Base Pairing Directed, Spacer Dependent Self-Assembly and Supramolecular Packing. *J. Org. Chem.* **75**, 8705-8708.
- [56] Singh, P., Menrad-Moyon, C., Kumar, J., Fabre, B., Verma, S., Bianco, A. (2012) Nucleobase-pairing triggers the self-assembly of uracil-ferrocene on adenine functionalized multi-walled carbon nanotubes. *Carbon*. **50**, 3170-3177.

[57] Takahashi, S., Anzai, J. (2013) Recent Progress in Ferrocene-Modified Thin Films and Nanoparticles for Biosensors. *Materials*. **6**, 5742–5762.

[58] 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.

[59] Knobloch, F.W., Raucher, W. H. (1961) Condensation polymers of ferrocene derivatives. *J. Polym. Sci. A*. **54**, 651–656.

[60] Schlögl, K., Seiler, H. (1958) Ferrocenyl-isocyanat. *Naturwissenschaften*. **45**, 337.

[61] Chan, W. C., White, P. D. (2000) Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis, University press, Oxford, 52-59.

## 7. SAŽETAK

Ivana Kuzman

### MODELNA REAKCIJA *N*-FEROCENOILIRANJA URACILA

Nukleobaze supstituirane ferocenom novi su organometalni biokonjugati čija važnost proizlazi iz njihovih elektrokemijski i biološki aktivnih komponenta. Derivati pirimidinskih baza kao što je uracil i ferocena posjeduju značajno biološko djelovanje poput antitumorskog, antivirusnog, antibakterijskog te su sve više predmet mnogobrojnih istraživanja u području kemije. U ovom znanstvenom radu višestupanjskim sintezama pripremljeni su kopulati ferocena i uracila (**6**) i (**7**) s karbonilnom skupinom kao razmaknicom. Posebna pozornost posvećena je utjecaju deprotonirajućih agensa (NaH, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> i (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>N), korištenih otapala (DMF i CH<sub>3</sub>CN) i vremena aktivacije uracila na tijek kopulacije i prinos reakcija. Strukture pripremljenih spojeva potvrđene su IR i NMR spektroskopijom.

**Ključne riječi:** uracil, ferocen, nukleobaze, pirimidin, spektroskopska karakterizacija

## 8. SUMMARY

Ivana Kuzman

### MODEL REACTION OF *N*-FERROCENOYLATION OF URACIL

Ferrocene substituted nucleobases are new organometallic bioconjugates whose importance derives from their electrochemically and biologically active components. Derivatives of pyrimidine bases such as uracil and ferrocene have significant biological activity such as antitumor, antiviral, antibacterial and are increasingly the subject of numerous studies in the field of chemistry. Within this scientific work, multistage syntheses of copulates of ferrocene and uracil derivatives (**6**) and (**7**) were prepared, with a carbonyl group being used as a spacer. Special attention was paid to observing the effect of deprotonating agents (NaH, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> and Et<sub>3</sub>N), solvents used (DMF and CH<sub>3</sub>CN) and uracil activation time on the course of copulation reaction and yield. The structures of the prepared compounds were confirmed by IR and NMR spectroscopy.

**Keywords:** uracil, ferrocene, nucleobase, pyrimidine, spectroscopic characterization

## 9. ŽIVOTOPIS

Ivana Kuzman rođena je 6. svibnja 1996. godine u Zagrebu. Živi u Konjščini, u Hrvatskom zagorju, gdje je 2011. godine završila osnovnu školu. Zatim je upisala Gimnaziju Antuna Gustava Matoša u Zaboku, a 2015. godine je maturirala. Iste godine upisala je Prehrambeno – biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Na trećoj godini preddiplomskog studija Prehrambena tehnologija eksperimentalni dio završnog rada izradila je u Laboratoriju za Organsku kemiju Prehrambeno – biotehnološkog fakulteta pod vodstvom izv.prof.dr.sc. Senke Djaković, gdje je u slobodno vrijeme nastavila primjenjivati u praksi stečena znanja. U rujnu 2018. godine obranila je završni rad na temu „Priprava bisderivata ferocena i aminokiselina povezanih ureilenskom podjedinicom“ te je potom upisala diplomski studij Prehrambenog inženjerstva na istom fakultetu. S ciljem proširenja svojih kompetencija, u listopadu 2018. godine prisustvovala je predavanjima „Devetog međunarodnog kongresa prehrambenih tehnologa, biotehnologa i nutricionista“. Dio rezultata svog znanstvenog djelovanja prikazala je u poster sekciji na 1. Kongresu studenata biotehnologije na temu „Priprava bisderivata ferocena i aminokiselina povezanih ureilenskom podjedinicom“ (I. Kuzman, J. Lapić, M. Toma, S. Djaković, svibanj, 2018., Zagreb, Hrvatska), a sudjelovala je i na Festivalu znanosti u Tehničkom muzeju u Zagrebu u realizaciji radionice na temu „Što povezuje klavirski stolac i sendvič?“. Kao koautor sudjeluje na poster sekciji na Međunarodnom znanstveno-stručnom skupu 18. Ružičkini dani na temu „Reakcija kopulacije ferocena i C-5 supstituiranih derivata ferocena“ (S. Djaković, J. Lapić, I. Kuzman, M. Toma, V. Vrček, 16. – 20. rujna 2020., Vukovar, Hrvatska), a trenutno izrađuje diplomski rad pod mentorstvom izv.prof.dr.sc. Senke Djaković.