



Sveučilište u Zagrebu

Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

**Tomislav Gregorić**

**SINTEZA I MOLEKULSKO MODELIRANJE  
NOVIH HIBRIDA 1,2,3-TRIAZOLA I PIRIMIDINA S  
POTENCIJALNIM PROTUTUMORSKIM  
DJELOVANJEM**

Zagreb, 2015.

Ovaj rad izrađen je na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, na Zavodu za organsku kemiju pod vodstvom prof. dr. sc. Silvine Raić-Malić i predan je na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2014./2015.

## SADRŽAJ

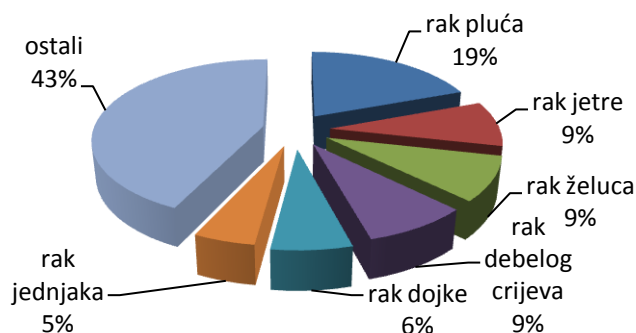
1. UVOD.....	1
1.1. OSNOVNE SPOZNAJE .....	2
1.2. NUKLEOZIDI I NUKLEOZIDNI ANALOZI KOJI OPONAŠAJU PRIRODNE NUKLEOZIDE.....	3
1.3. „KLIK“ KEMIJA.....	6
1.3.1. 1,2,3-TRIAZOLNI PRSTEN.....	7
1.3.2. HUISGENOVA 1,3-DIPOLARNA CIKLOADICIJA TERMINALNIH ALKINA I AZIDA S BAKAR(I) KAO KATALIZATOROM.....	9
1.3.3. REAKCIJSKI MEHANIZAM 1,3-DIPOLARNE CIKLOADICIJE .....	9
1.3.4. SINTEZA POTPOMOGNUTA MIKROVALOVIMA .....	10
1.4. SONOGASHIRA-INA REAKCIJA.....	11
1.5. TIMIDILAT-SINTETAZA .....	13
2. CILJ RADA.....	15
2.1. CILJ RADA.....	16
3. MATERIJALI I METODE.....	17
3.1. OPĆE NAPOMENE .....	18
3.2. PRIKAZ SINTEZE SPOJEVA.....	19
3.2.1. PREGLED SINTETIZIRANIH HIBRIDA 1,2,3-TRIAZOLNIH DERIVATA I URACILA I PREKURSORA ZA NJIHOVU SINTEZU (1–16) .....	19
3.2.2. PREGLED SINTETIZIRANIH HIBRIDA 4-BENZILTRIAZOLNOG DERIVATA I FURO[2,3- <i>d</i> ]PIRIMIDINA (17–21).....	28
3.2.3. PREGLED SINTETIZIRANIH HIBRIDA 4-(4-KLORFENIL)TRIAZOLNIH DERIVATA I FURO[2,3- <i>d</i> ]PIRIMIDINA (22–25) .....	34
3.2.4. PREGLED SINTETIZIRANIH HIBRIDA 4-(2-FLUORFENIL)TRIAZOLNIH DERIVATA FURO[2,3- <i>d</i> ]PIRIMIDINA (26–29).....	38
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	42
4.1. SINTEZA SPOJEVA .....	43
4.1.1. SINTEZA HIBRIDA 1,2,3-TRIAZOLNIH DERIVATA I URACILA .....	43
4.1.2. SINTEZA HIBRIDA 1,2,3-TRIAZOLNIH DERIVATA I FURO[2,3- <i>d</i> ]PIRIMIDINA .....	46

4.2. KRISTALOGRAFSKA STRUKTURA SPOJA <b>17a</b> .....	49
4.3. ISPITIVANJE ANTITUMORSKOG DJELOVANJA <i>IN VITRO</i> .....	51
4.4. MOLEKULSKO MODELIRANJE .....	53
5. ZAKLJUČAK .....	61
6. ZAHVALA .....	64
7. LITERATURA .....	66
8. SAŽETAK .....	70
9. SUMMARY .....	72
10. ŽIVOTOPIS .....	74
11. PRILOZI .....	76

## **1. UVOD**

## 1.1. OSNOVNE SPOZNAJE

Medicinska kemija kao interdisciplinarna znanost objedinjuje znanja iz kemije, biokemije, farmakologije i medicine radi pronalazaženja, identifikacije i načina djelovanja bioloških aktivnih tvari<sup>1</sup>. Biološki aktivne tvari su sve tvari koje djeluju određenim mehanizmom na živa bića pritom uzrokujući pozitivne i/ili negativne posljedice na živi organizam. Medicinska kemija kao globalni cilj ima poboljšanje zdravlja i života čovjeka i životinja. Jedan od načina poboljšanja kvalitete života čovjeka je nemilosrdna borba protiv svih bolesti i stanja koja prate čovjeka tijekom života. Danas jedna od tih borba, je borba protiv malignih bolesti. Tumor je opći naziv za veliku skupinu bolesti koje mogu utjecati na bilo koji dio tijela, a nastaje kao posljedica brzog stvaranja abnormalnih stanica koje rastu izvan svojih uobičajenih granica, a koje se onda mogu proširiti na susjedne dijelove tijela i širiti na druge organe. Taj proces se naziva metastaziranje i glavni je uzrok smrti od tumora. U 2012. godini maligne bolesti su odgovorne za gubitak 8,2 milijuna ljudskih života i time se tumori nalaze pri vrhu ljestvice uzročnika smrtnosti. Najčešći uzroci smrtnosti od raka u 2012. godini su rak pluća (1,59 milijuna), jetre (745 000 smrti), želuca (723 000), debelog crijeva (694 000), dojke (521 000) i jednjaka (400 000 smrtnih slučajeva)<sup>2</sup>.

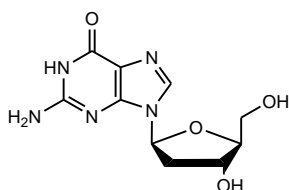


**Slika 1.** Statistički podaci oboljelih od karcinoma u 2012. godini.

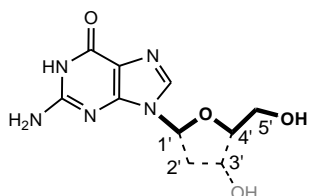
Promatrajući statističke podatke (slika 1) možemo zaključiti da je potrebno preventivom i liječenjem smanjiti prikazane brojeve radi poboljšanja kvalitete života. Važan doprinos u borbi protiv raka je razvoj novih potencijalnih antitumorskih lijekova koji će selektivno inhibirati rast tumorskih stanica. Po definiciji antitumorski lijek nije svaki sintetizirani lijek nego onaj kojim se uništavaju tumorske stanice bez štete za domaćina<sup>3</sup>. To zahtijeva djelovanje lijekova na specifične, dobro definirane enzime, koji su često mete djelovanja protutumorskih agenasa. Međutim, u složenom biokemijskom mehanizmu stanica nije jednostavno odabrati mete na koju će djelovati potencijalni lijek<sup>1</sup>.

## 1.2. NUKLEOZIDI I NUKLEOZIDNI ANALOZI KOJI OPONAŠAJU PRIRODNE NUKLEOZIDE

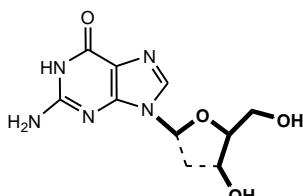
Nukleozidne baze su organske molekule koje su sastavni dio nukleotida koji grade za život važne nukleinske kiseline ribonukleinska kiselina (RNK) i deoksiribonukleinska kiselina (DNK). Nukleozidne baze koje izgrađuju nukleinske kiseline podijeljene su u dvije skupine, purinske baze (adenin i gvanozin) i pirimidinske baze (uracil, citozin i timin).



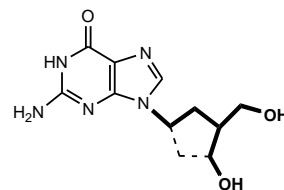
2'-deoksigvanozin  
(dG)



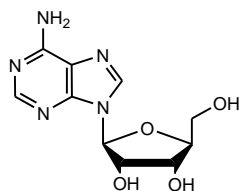
aciklovir; ACV



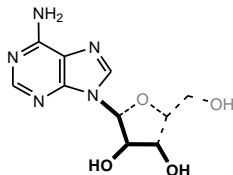
ganciklovir; GCV



penciklovir; PCV



adenozin

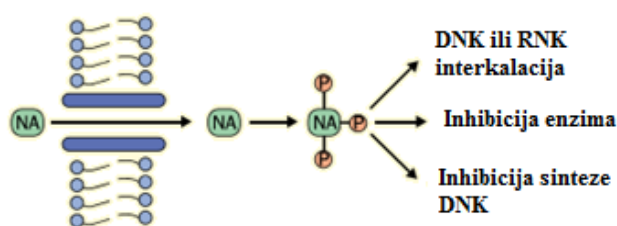


(S)-DHPA

**Slika 2.** Strukture odabranih acikličkih nukleozidnih mimetika. Radi usporedbe s prirodnim nukleozidima 2'-deoksigvanozinom i adenzinom s isprekidanim linijama je označen dio šećera koji nije dio strukture acikličkih nukleozidnih analoga.

U ljudskom organizmu nukleozidne baze se sintetiziraju *de novo* sintezom u jetri te se nakon sinteze prevode u odgovarajuće aktivne oblike koje se zatim ugrađuju u nukleinske kiseline. Zbog toga nukleozidne baze postaju supstrati mnogih enzima u organizmu koji ih transformiraju do završnih derivata. To su nukleotidi koji se sastoje od odgovarajuće baze

vezane glikozidnom vezom na šećernu komponentu (deoksiriboza i riboza), a na šećerni prsten esterskom vezom su povezane fosfatne skupine<sup>4</sup> (slika 2). Purinske i pirimidinske nukleozidne baze su supstrati enzima, pa tako nukleozidni analozi koji svojom strukturom oponašaju prirodne nukleozide mogu djelovati kao inhibitori enzima u tumorskim stanicama<sup>5</sup>. To nam omogućuje da sintezom takvih spojeva, odnosno molekula s odgovarajućim farmakofornim skupinama razvijamo potencijalno biološki aktivne molekule. Pristup pripravi novih nukleozidnih baza odnosno nukleozidnih analoga može krenuti iz više smjerova kao što su intuitivni pristup i pristup uz pomoć raznih preliminarnih metoda Heuristički pristup koji koristi QSAR metode pomoću koje se odabrano strukturno svojstvo molekule dovodi u kvantitativnu korelaciju s biološkom aktivnošću. Povezanost se pokazuje pomoću deskriptora koji mogu biti fizikalno-kemijski, topološki i geometrijski deskriptori. Pored toga, u dizajniranju aktivnih spojeva, primjenjuje se pristup molekularnog modeliranja primjenom odgovarajućih računalnih programa. U molekularskom modeliranju izravno se simulira interakcija aktivne komponente lijeka s odgovarajućem enzimom (receptorom). Navedeni pristup se još naziva „*docking*“<sup>6</sup>. Međutim, najpouzdanija metoda je testiranje sintetiziranih spojeva *in vitro* i *in vivo* na kulturu stanica tumora i na taj su način optimirani mnogi nukleozidni analozi koji imaju vrlo učinkovito djelovanje na stanice tumora<sup>7</sup>. Purinski i pirimidinski nukleozidni analozi su među prvim citotoksičnim kemoterapeuticima koji su se upotrebljavali za liječenje tumora. Tjekom godina spojevi su razvijani na temelju djelovanja na pojedine tumorske stanice<sup>8</sup>. Djelotvornost nukleozidnih analoga temelji se na međudjelovanju s metabolitima koji sudjeluju u sintezi nukleinskih kiselina, jer DNA i RNA su važne makromolekule za rast normalnih stanica pa tako i tumorskih stanica.



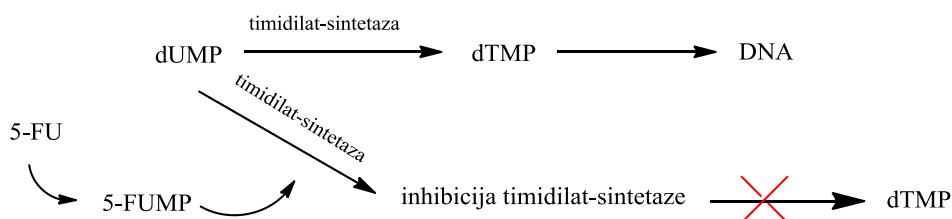
**Slika 3.** Prikaz općenitog mehanizma djelovanja nukleozidnog analoga<sup>8</sup>

Iz grafičkog prikaza uočava se da nukleozidni analog kao djelotvorna komponenta mora prvo ući u stanicu preko stanične membrane. Barijera često nije propusna za nukleozidne analoge jer su analozi više hidrofobne nego hidrofilne molekule pa se prijenos



molekula kroz selektivnu staničnu membranu odvija pomoću posebnih transportnih proteina<sup>8</sup>. Nakon ulaska u stanicu, djelovanjem enzima nukleozidne fosforilaze (npr. timidin-kinaze), potencijalni lijek se prevodi u aktivni oblik<sup>9</sup>, to jest u fosforilirani derivat. Kada se nukleozid prevede u aktivni oblik njegovo djelovanje uzrokuje inhibiciju sinteze gradivnih blokova DNK i time smrt stanice. Djelovanje spoja se može odvijati na tri načina: inhibicijom enzima, interkalacijom na DNK i RNK te direktnom inhibicijom sinteze DNK<sup>10</sup>. Potencijalni lijek može djelovati izravno na ciljane enzime ili receptore bez prevođenja u aktivni oblik. Na temelju navedenih mehanizama koji su općenite prirode, treba uočiti da dizajn novih lijekova, a time i dizajn potencijalnih antitumorskih lijekova nije jednostavan i zahtijeva zadovoljavanje mnogih uvjeta da bi sintetizirana molekula postala aktivna molekula koja specifično djeluje na tumorske stanice. U nastavku je ukratko prikazan mehanizam djelovanja najpoznatijeg pirimidinskog nukleozidnog analoga 5-fluorouracila otkrivenog davne 1957. godine radom američkog znanstvenika Charles Heidelbergera<sup>11</sup>.

Još prije sinteze 5-fluoruracila radom znanstvenika Seymour S. Cohena i njegovih suradnika 1954. godine objavljen je rad u kojem je pokazano da nedostatak nukleozidne baze timina utječe na normalan rast bakterija<sup>12</sup>. Zatim je i sintetiziran 5-fluoruracil koji je potvrdio prethodne tvrdnje o važnosti timina za rast stanica, u ovom slučaju mišjih tumorskih stanica<sup>11</sup>. Nakon brojnih ispitivanja 5-fluoruracil je postao lijek za različite vrste tumora kao što su tumor dojke, glave i vrata te tumor debelog crijeva<sup>13</sup>. Mehanizam djelovanja 5-fluoruracila temelji se na inhibiciji enzima timidilat-sintetaze koja pretvara deoksiuridin-monofosfat (dUMP) u deoksitimidin-monofosfat (dTMP) pomoću kofaktora 5,10-metilentetrahidrofolat. Nakon što 5-fluoruracil (5-FU) uđe u stanicu prevodi se u aktivni oblik 5-fluoruracil-monofosfat (5-FUMP) i potom u 5-fluorouracil-trifosfat. Vežanje 5-fluoruracila i kofaktora za enzim stvara se stabilan kompleks koji onemogućava djelovanje enzima za sintezu dTMP i u konačnici DNK molekule<sup>10</sup> (slika 4). Ovim mehanizmom osigurava se selektivnost djelovanja spoja na tumorske stanice koje se brzo dijele, znatno brže nego normalne ljudske stanice pa time tumorske stanice imaju veliku potrebu za sintezom DNK, odnosno dTMP-a.



**Slika 4.** Mehanizam djelovanja 5-FUMP.

Pored toga, mehanizam djelovanja 5-fluoruracila je njegovo inkorporiranje u lanac RNK ili DNK i zaustavljanje transkripcije i translacije što uzrokuje umiranje stanica. Molekula 5-fluoruracila se bolje veže na lanac makromolekule RNK nego DNK<sup>14</sup> jer RNK u svojoj strukturi sadrži bazu uracil koju je lakše zamijeni analogom 5-fluoruracila. Djelovanje 5-fluoruracila ovisi o njegovoj koncentraciji u stanici i metabolizmu spoja, a neka istraživanja su pokazala da se inhibicijom enzima dehidropirimidin-dehidrogenaze, koji je glavni enzim za pokretanje metabolizama 5-fluoruracila, povećava djelovanje lijeka u odnosu na pacijente bez inhibicije enzima dehidropirimidin-dehidrogenaze<sup>15</sup>.

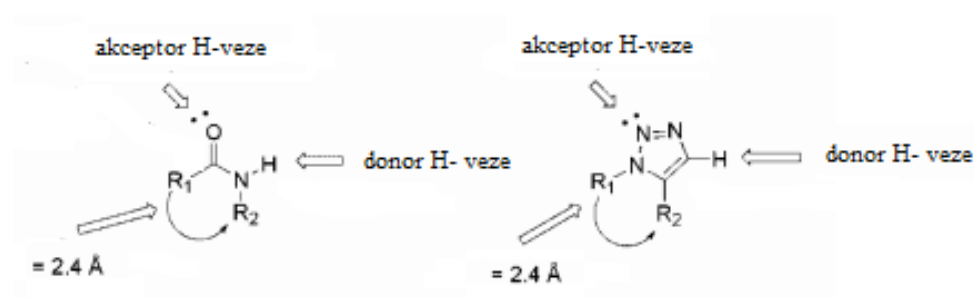
### 1.3. „KLIK“ KEMIJA

Razvoj „klik kemije“ započinje početkom 21. stoljeća (2001. godine) kada je američki znanstvenik K. Barry Sharpless proveo sintezu 1,2,3-triazolnog prstena uz bakar(I) kao katalizator i time postavio osnove za provođenje regioselektivnih „klik“ reakcija. Definirano je da reakcije koje se mogu svrstati u „klik“ kemiju moraju biti široko primjenjive, stereospecifične, visokog iskorištenja i davati vrlo malo nusprodukata. Dio reakcija koje zadovoljavaju ove uvjete su: cikloadicije nezasićenih spojeva (posebice 1,3-dipolarna cikloadicija), Diels-Alderove reakcije, nukleofilne supstitucije (npr. reakcije epoksida), adicije na C-C višestruke veze (epoksidiranje, dehidroksiliranje, Michaelova adicija). Reakcijski uvjeti u kojima bi se trebale provoditi „klik“ reakcije zahtijevaju dostupne početne tvari i reagense, korištenje otapala koja nisu veliki zagađivači, jednostavna izolacija i pročišćavanje produkata (npr. prekrizacijom, ekstrakcijom)<sup>16</sup>. „Klik“ kemija ima široku primjenu u području medicinske kemije, kao djelotvorna sintetska metoda u pripravi biblioteke novih spojeva s biološkim djelovanjem. Koncept „klik“ kemije kojim nastaje 1,2,3-triazolni prsten primjenjuje se u razvoju lijekova, posebice u ranoj fazi otkrivanja lijekova i procesu optimiranja dobivenih predvodnih struktura<sup>17</sup>.

Reakcija nastajanja 1,2,3- triazolnog omogućila primjenu „klik“ kemije u različitim znanstvenim područjima i u različitim konceptima jer zadovoljava navedene reakcijske uvjete. U drugim znanstvenim područjima kao što su polimeri također se razvija koncept „klik“ kemije gdje je triazolni prsten poveznica između polimera i biološki aktivnog spoja pa će omogućiti dostavu lijekova samo do bolesnih stanica<sup>18</sup>. U pripravi različitih polimera, triazolni prsten se upotrebljava kao poveznica između različitih građevnih jedinica polimera<sup>19</sup>. U području biokemije uz pomoć „klik kemije“ poboljšana je metoda označavanja proteina jer je smanjena granica detekcije. Ta metoda se već razvila u uvjetima *in vivo*<sup>20</sup>.

### 1.3.1. 1,2,3-TRIAZOLNI PRSTEN

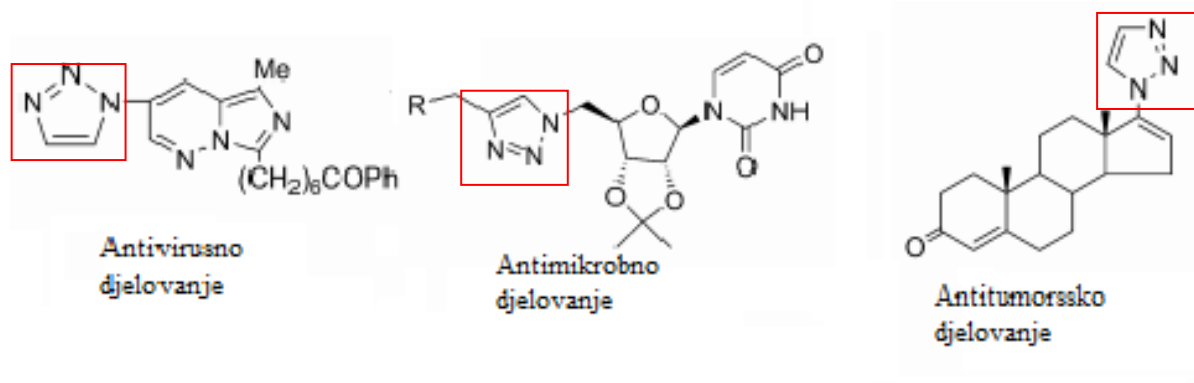
1,2,3-triazolni derivati imaju sve značajniju primjenu u različitim područjima suvremene kemije, razvoju lijekova, biokonjugata, polimera i materijala. 1,2,3-triazolni prsten se često u procesu razvoja lijekova koristi kao poveznica između dva spoja koja imaju farmakološko djelovanje. Taj prsten ne predstavlja samo pasivnu poveznicu nego on ima vrlo zadovoljavajuća fizikalno-kemijska svojstva. 1,2,3-triazolni prstenovi mogu stvarati  $\pi$ - $\pi$  interakcije s aromatskim prstenovima kao što je benzenski prsten. Triazolni prsten posjeduje i dipolnim moment (5,2–5,6 Debye). Dva atoma dušika N-2 i N-3 u strukturi triazola mogu formirati vodikove veze s donorima vodikovih veza ili kordinirati s metalnim ionima. Nedavna istraživanja na 1,2,3-triazolima potvrdila su da vodikove veze i dipolne interakcije s triazolom mogu pogodovati njihovom vezivanju na biomolekularne mete i povećati njihovu topljivost<sup>21</sup>. Nadalje, 1,2,3-triazoli su vrlo stabilni na metaboličku i kemijsku razgradnju, te inertni pri hidrolitičkim, oksidacijskim i redukcijским uvjetima, čak i pri visokim temperaturama.



**Slika 5.** Triazolni prsten kao bioizoster amidne veze<sup>17</sup>.

1,4-disupstituirani triazolni prsten se nalazi u biološkim aktivnim molekulama kao bioizoster amidne veze (slika 5) te pokazuje različita biološka djelovanja, poput antitumorskog<sup>22</sup>, antimikrobnog<sup>23</sup>, antituberkularno<sup>24</sup> i antivirusno djelovanje<sup>25</sup>. Bioizosterija je jedan od

racionalnih pristupa u sintezi potencijalnih biološki aktivnih molekula kojim se zamjenjuju funkcionalne skupine koje su odgovorne za biološku aktivnost novopripremljenih spojeva (tablica 1). Bez obzira na strukturne razlike, meta njihovog djelovanja, enzim, ih prepoznaje kao supstrat. Promjenom skupina u molekuli moguće je postići različita farmakološka djelovanja i poboljšana farmakodinamička svojstva spojeva.



Slika 6. Različita biološka djelovanja molekula s triazolnim prstenom<sup>26</sup>.

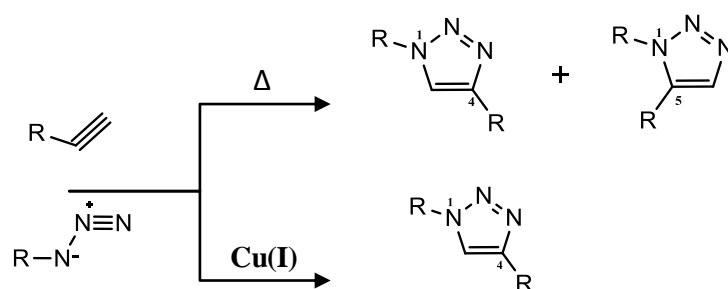
Tablica 1. Prikaz aktivnih skupina i njihovih bioizostera<sup>1</sup>.

Aktivne skupine	Bioizosterne skupine
-OH	-NHCOR, -NH <sub>2</sub> SO <sub>2</sub> R, -CH <sub>2</sub> OH, -NHCN, -CH(CN) <sub>2</sub>
-NR <sub>2</sub>	-C(=NR)NR <sub>2</sub> , -NRC(=NR)NR, NR <sub>3</sub> <sup>+</sup>
-aril	
-COOH	-PO(OH) <sub>2</sub> , -SO <sub>2</sub> NHCOR, -CONHCN 
-COOR	

Nadalje, budući da 1,2,3- triazolni prsten pripada skupini aromatskih heterocikličkih spojeva, oni su pogodni izosteri aromatskog prstena, posebice heteroaromatskih prstenova<sup>21</sup>. 1,2,3 - triazoli su pored toga našli primjenu kao izosteri dvostruke veze<sup>27</sup>.

### 1.3.2. HUISGENOVA 1,3-DIPOLARNA CIKLOADICIJA TERMINALNIH ALKINA I AZIDA S BAKAR(I) KAO KATALIZATOROM

Reakcija 1,3-dipolarne cikloadicije terminalnih alkina i azida s bakar(I) kao katalizatorom (CuAAC) je reakcija za dobivanje 1,4-disupstituiranog triazolnog prstena. 1,3-dipolarna cikloadicija, izvedena od strane njemačkog kemičara R. Huisgen oko 1960. godine, koji je zagrijavanjem alkina i azida izolirao dva produkta 1,4 i 1,5-disupstituirani triazolni prsten u približnom omjera 1:1<sup>28</sup> (slika 7). U istoj reakciji 1,3-dipolarne cikloadicije K. B. Sharpless i Meldal<sup>29</sup> upotrebom bakar(I) kao katalizatora dobili su samo 1,4-disupstituirani triazolni prsten kao produkt reakcije.



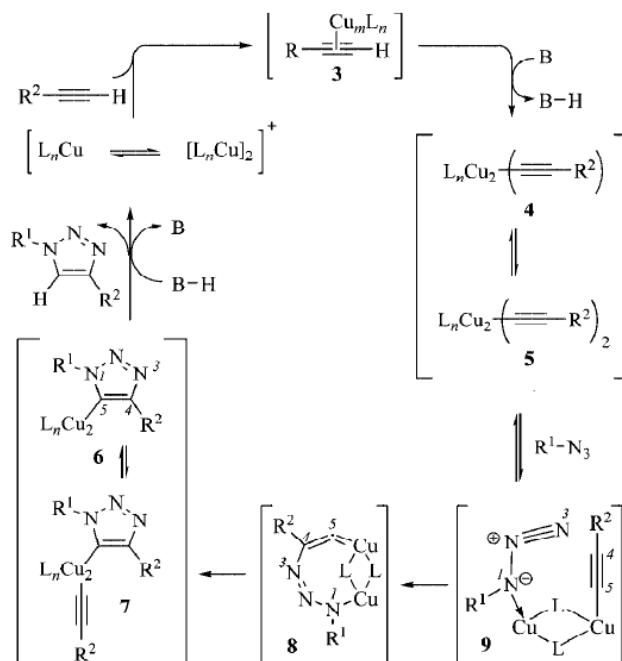
**Slika 7.** Usporedba nekatalizirane i katalizirane 1,3-dipolarne cikloadicije.

Reakcijski uvjeti zahtijevaju izvor Cu(I) iona, otapalo ili smjesu otapala, i dostupnost terminalnog alkina i azida. 1,3-dipolarna cikloadicija tolerira širok spektar funkcionalnih skupina, uključujući nezaštićene hidroksilne, karboksilne i amino skupine<sup>30</sup> i omogućava upotrebu vode kao otapalo što pogoduje primjeni reakcije u industrijskom mjerilu te time smanjuje zagađivanje okoliša. Reakcije u laboratoriju se provode u smjesi otapala kao npr. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : H<sub>2</sub>O, DMF : H<sub>2</sub>O te *tert*-butilni alkohol : H<sub>2</sub>O u različitim omjerima<sup>31</sup>. Izvor bakra, kao katalizatora, mogu biti soli Cu(I) kao na primjer CuI, dok je sve češće izvor Cu(I) posljedica oksido-redukcijskih reakcija. Razlog upotrebe oksido-redukcijskih reakcija je što upotrebom soli Cu(I) ion podliježe redukcijskim procesima pri normalnoj atmosferi, pa je potrebno osigurati inertnu atmosferu, dok *in situ* priprava Cu(I) iona iz oksido-redukcijskih procesa ne zahtjeva inertnu atmosferu. Soli koje se primjenjuju za pripremu Cu(I) su CuSO<sub>4</sub>/Na-askorbat i 1M CuSO<sub>4</sub>/Cu(0). Metoda koja se također pokazala uspješnom je sinteza triazolnog prstena uz pomoću mikrovalova.

### 1.3.3. REAKCIJSKI MEHANIZAM 1,3-DIPOLARNE CIKLOADICIJE

Reakcija koju je provodio R. Huisgen provedena je pri povišenoj temperaturi, dok je K. B. Sharpless proveo istu reakciju upotrebom Cu(I), kao katalizatora, pri sobnoj

temperaturi. Navedena modifikacija reakcijskih uvjeta uzrokovala je regioselektivnost 1,3-dipolarne cikloadicijske reakcije. Jer katalizator je tvar koja snižava aktivacijsku energiju, pa je tako u reakciji 1,3-dipolarne cikloadicije uz Cu(I) aktivacijska energija niža za oko 11 kcal/mol<sup>30</sup>.



Slika 8. Pretpostavljen mehanizam reakcije<sup>30</sup>.

Prema pretpostavljenom mehanizmu reakcije vidimo da prvi stupanj u katalitičkom procesu stvaranje  $\pi$ -kompleksa **3** između Cu(I) i  $\pi$ -elektrona trostruke veze (slika 8). Vežanje bakra u  $\pi$ -kompleks omogućava sniženje  $pK_a$  vodikovog atoma alkina ( $\equiv CH$ ) do 9,8 što omogućava deprotoniranje sa slabima bazama kao što je voda<sup>34</sup>. Time se omogućava upotreba vode kao otapala. Cu(I) služi kao poveznica, odnosno most između alkina i azida, i omogućava nukleofilni napad **9** (slika 8) ugljikovog atoma C-4 na dušikov atom N-3 i time zatvara triazolni prsten. Reakcijska kinetika usko je vezana uz reakcijske uvjete i time nastajanje različitih Cu(I)-acetilena ( $\pi$ -kompleksa). Prema istraživanjima kinetika reakcija je drugog reda prema koncentraciji Cu(I), ali povećavanjem koncentracije Cu(I) reakcija je između prvoga i drugoga kinetičkog reda<sup>30</sup>.

#### 1.3.4. SINTEZA POTPOMOGNUTA MIKROVALOVIMA

Mikrovalno zračenje je elektromagnetsko zračenje valne duljine od 1 mm do 1 m, što odgovara frekvenciji 0.3 do 300 GHz. Uzevši u obzir da se radi o elektromagnetskom

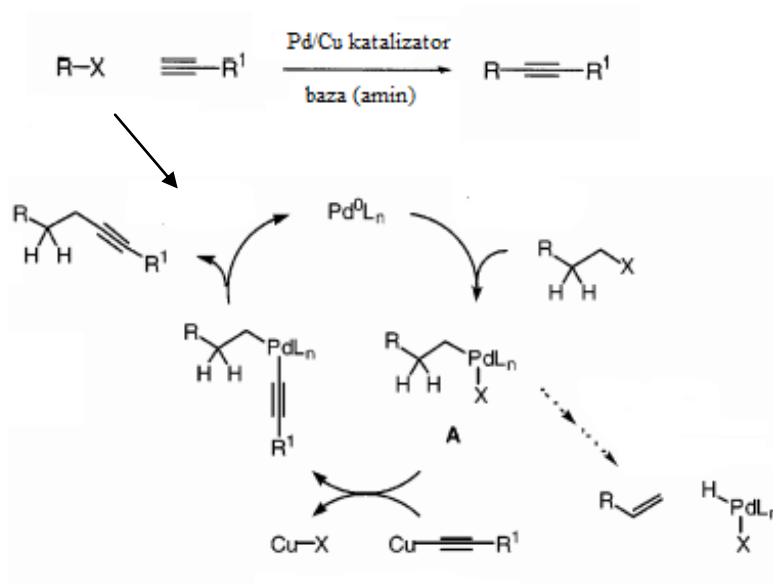
zračenju, moguće ga je u svrhu jednostavnijeg razumijevanja podijeliti na električnu i magnetsku komponentu. Električna komponenta mikrovalnog zračenja je odgovorna za interakciju s materijom, pri čemu električno polje uzrokuje zagrijavanje dipolnom polarizacijom (rotacija dipola) ili kondukcijskim mehanizmom (ionska vodljivost), odnosno inducira polarizaciju unutar materije<sup>32</sup>. Prva publikacija zasnovana na uporabi mikrovalnog zračenja u kemiji je objavljena 1986. godine. Prvi eksperimenti su se provodili u kućnim mikrovalnim pećnicama kod kojih nije bilo moguće uspostaviti kontrolirane uvjete, što je ponekad rezultiralo neželjenim ishodom reakcije. U današnje vrijeme se kemijske reakcije potpomognute mikrovalovima provode u mikrovalnim reaktorima. Za razliku od kućnih mikrovalnih pećnica, mikrovalni reaktori omogućuju provođenje reakcija u potpuno kontroliranim uvjetima.

Primjena mikrovalnog zračenja u organskoj kemiji omogućuje brže provođenje kemijskih reakcija uz veće iskorištenje nastalog produkta. Osnovni mehanizam je temeljen na homogenom zagrijavanju reakcijske smjese što smanjuje mogućnost nastanka neželjenih nusprodukata, odnosno raspad nastalog produkta. Mikrovalnu sintezu je jedino moguće provesti kada se u reakcijskoj smjesi nalazi komponenta sa stalnim dipolnim momentom. Iz tog razloga proizlazi važnost odabira otapala koje se koristi u mikrovalnoj sintezi. Polarna otapala dobro apsorbiraju mikrovalno zračenje, što kao posljedicu uzrokuje njihovo zagrijavanje kao i zagrijavanje cijele reakcijske smjese. Najučestalija otapala koja se koriste u mikrovalnim sintezama su metanol, etanol, dimetilformamid (DMF), acetonitril, etil-acetat i dimetil sulfoksid (DMSO)<sup>33</sup>.

Sinteze potpomognute mikrovalovima omogućuju kraće vrijeme reakcije, veće iskorištenje, manji udio nusprodukata kao i veću selektivnost. Njihova primjena u organskoj kemiji se zbog navedenih prednosti u posljednjih dvadeset godina znatno povećala. Iako u današnje vrijeme mikrovalna sinteza i dalje predstavlja alternativni pristup provođenju reakcija, velik broj objavljenih publikacija ukazuje na njenu važnost u organskoj kemiji.

#### 1.4. SONOGASHIRA-INA REAKCIJA

Sonogashira-ina reakcija otkrivena je od strane Japanskog znanstvenika Kenkichi Sonogashira<sup>35</sup> 1975. godine i nalazi primjenu u sintezi antimikrobnih, antitumorskih spojeva, tekućih kirstala, polimera i otkrivanju novih optičkih i elektroničkih materijala<sup>36</sup>. Reakcija se odvija između terminalnog alkina i alkil-halogenom uz Pd, kao katalizator, i Cu, kao ko-katalizator, uz prisutnost baze, najčešće nekih organskih amida.



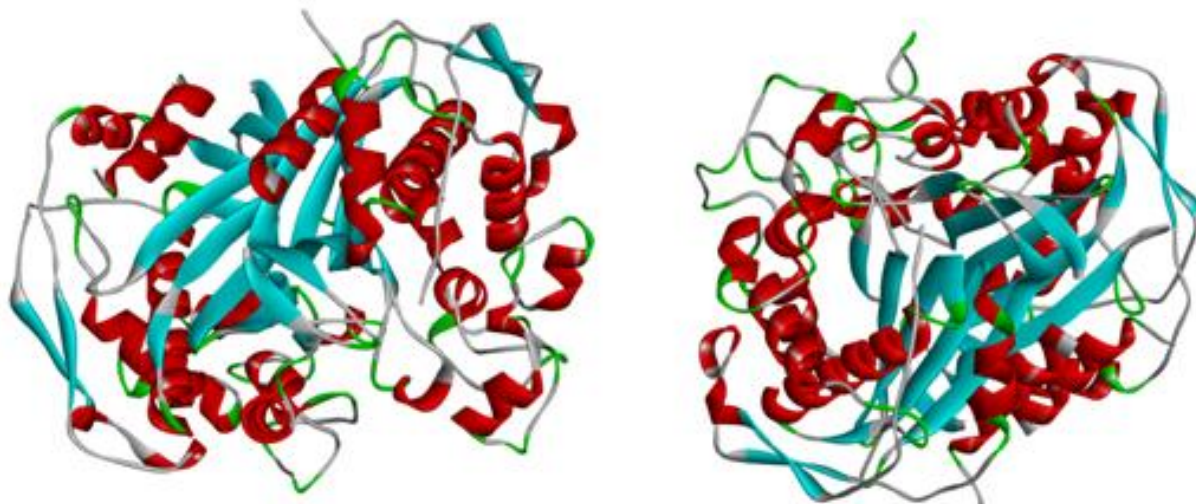
**Slika 9.** Prikaz Sonogashira-ine reakcije i pretpostavljenog reakcijskog mehanizma<sup>37</sup>.

Najčešće se upotrebljavaju tetrakis(trifenilfosfin)paladij(0)  $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$  i  $\text{CuI}$  kao ko-katalizatori te se upotrebljavaju i druge halogene soli bakra. Zagrijavanjem se poboljšava iskorištenje reakcije odnosno pogoduje stvaranju nove C-C veze kao što je i prikazano u ovom radu. Važno je napomenuti da zbog upotrebe bakra(I) kao ko-katalizatora reakcijski uvjeti moraju biti bez prisutnosti zraka (u atmosferi  $\text{Ar}$  ili  $\text{N}_2$ ). Izlaganjem reakcije zraku dolazi samo do reakcije između alkina, a ne s alkil-halogenom<sup>38</sup>. Tako je primjenu našla i Sonogashira-ina reakcija u odsutnošću bakra uz piridolin<sup>39</sup>. Kako ove reakcije nalaze primjenu u područje medicinske kemije i općenito se sve više upotrebljavaju zbog ekoloških razloga, razvijaju se Sonogashira-ine reakcije koje ne upotrebljavaju organske amine kao baze<sup>38</sup>.



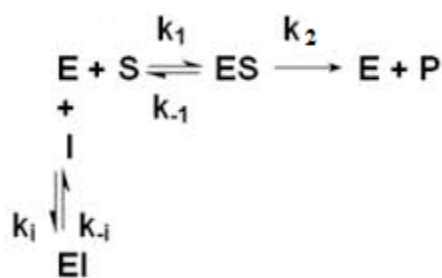
### 1.5. TIMIDILAT-SINTETAZA

Timidilat-sintetaza je homodimerni enzim s četiri homologne podjedinice molekulske mase oko 63 kDa i česta je biološka meta kemoterapeutika (slika 10)<sup>40</sup>.



Slika 10. Rendgenska kristalna struktura enzima timidilat sintetate.

U ljudskom organizmu katalizira reakciju pretvaranja deoksiuracil-monofosfata (dUMP) do deoksitimin-monofosfata (dTMP) uz 5,10-metilentetrahidrofolat kao kofaktor. Ta reakcija je vrlo važna za sintezu DNK i RNK molekula. Inhibicijom enzima dolazi do nemogućnosti stvaranja DNK i RNK jer je blokirana sinteza gradivnih blokova tih važnih makromolekula. Kako je meta djelovanja 5-fluoruracila enzim timidilat sintetaza tako je i u ovom radu ispitana energija vezanja i način vezanja *in silico* za sintetizirane spojeve ali kao antifolatni lijekovi. Pretpostavljeno je da će sintetizirani spojevi djelovati kao kompeticijski inhibitori gdje se inhibitor natječe za aktivno mjesto sa supstratom. Najčešće su ti inhibitori strukturno slični supstratu. Kinetika kompeticijske inhibicije je prikazana na slici 11



$$K_i = \frac{IC_{50}}{\left(\frac{I}{K_m} + 1\right)}$$

I- koncentracija inhibitora

K<sub>m</sub>- Mihaelis-Menten konstanta disocijacije

IC<sub>50</sub>- koncentracija koja uzrokuje 50 % inhibicije konc. enzima

K<sub>i</sub>- konstanta disocijacije kompleksa enzim- inhibitor

Slika 11. Kinetika kompeticijske inhibicije.

Kompetitivna inhibicija ovisi o mnogim čimbenicima kao što se može vidjeti prema formuli. Ovisi o koncentraciji samog supstrata, koncentraciji inhibitora i o aktivnosti enzima. Također treba uzeti u obzir da potencijalni inhibitor (lijek) mora ući u stanicu odgovarajućim mehanizmom kako bi se postigla koncentracija spoja u stanici što ovisi o fizikalno- kemijskim svojstvima lijeka. Uz kompetitivnu inhibiciju način djelovanja inhibitora na enzim je i nekompetitivna inhibicija. Ona ne ovisi o koncentraciji enzima te se inhibitor ne veže na aktivno mjesto nego na mjesto udaljeno od mjesta vezanja. Potencijalni inhibitor najčešće je strukturno sličan supstratu. Od mogućih inhibitora timidilat- sintetaze, najpoznatiji su već spomenuti 5-fluoruracil i lijek ZD 1694 (Tomudex), a sam lijek djeluje na način da kompetitivnom inhibicijom inhibira kompleks enzima s dUMP-om i time blokira daljnju katalizu u dTMP.

## **2. CILJ RADA**

## 2.1. Cilj rada

- Cilj ovog rada bio je sinteza novih hibrida 1,2,3-triazola i pirimidina kao potencijalnih biološki aktivnih spojeva. Predstavnici prve klase spojeva su 1,4-disupstituirani triazolni derivati 5-bromuracila i 5-joduracila. Druga klasa potencijalnih biološki aktivnih spojeva su predstavnici bicikličkih furo[2,3-*d*]pirimidina.
- Potom je cilj provesti strukturnu karakterizaciju novih spojeva primjenom spektroskopije  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR i rendgenske strukturne analize za uspješno izolirane monokristale.
- U nastavku će se provesti antitumorska ispitivanja na šest staničnih linija: HeLa (karcinom vrata maternice), SW620 (karcinom debelog crijeva), Hep-G2 (karcinom jetre), CFPAC-1 (karcinom gušterače), A549 (karcinom pluća) i 3T3 (normalne fibroblaste porijeklom iz miša).
- Radi ispitivanja mogućeg mehanizma djelovanja provest će se također ispitivanje vezanja ispitanih spojeva u aktivno mjesto enzima timidilat-sintetaze primjenom molekuskog modeliranja.

### **3. MATERIJALI I METODE**

### 3.1. OPĆE NAPOMENE

Sva otapala su sušena/pročišćavana prema preporučenom postupku sušenja agensima i/ili destiliranjem preko molekulskih sita veličine 3 Å. Za tankoslojnu kromatografiju (TLC) korištene su ploče 60F-254 prevučene slojem silikagela *Merck*, a za detekciju izoliranih komponenata korištena je UV svjetlost valne duljine 254 nm.

Kromatografija na koloni provedena je na silikagelu (*Fluka*, 0,063-0,2 mm). Staklene kolone su punjene pod utjecajem gravitacije, a kao eluens je korištena odgovarajuća smjesa CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH te n-heksan/etil-acetat.

Točke tališta sintetiziranih spojeva određene su na instrumentu Kofler (*Reichert*, Wien) i nisu korigirane.

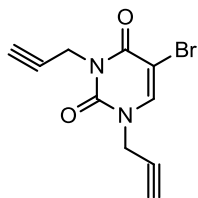
Spektri <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR snimljeni su na spektrometru Bruker 300 i 600 MHz. Svi uzorci su otopljeni u DMSO-*d*<sub>6</sub> i mjereni pri 298 K. Kemijski pomaci (δ) u <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektrima izraženi su u ppm u odnosu prema signalu tetrametilsilana na δ 0,0 ppm za <sup>1</sup>H i prema signalu DMSO δ39.50 ppm za <sup>13</sup>C. Pojedine rezonancije su pridružene na temelju kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta signala i H-H konstante sprege.

Jedinični kristal spoja **17a** dobiven je pri sobnoj temperaturi iz otopine etanola. Podaci su prikupljeni pri 295 K pomoću Oxford Diffraction Xcalibur Nova R difraktometra na Institutu Ruđer Bošković uz monokromatsko CuK<sub>α</sub> zračenje (λ = 1.54184 Å). Prikupljanje podataka i njihova redukcija provedena je *CrysAlisPro* programom. Struktura je riješena direktnim metodama primjenom programa *SIR-2004* i utočnjena metodom najmanjih kvadrata na temelju vrijednosti *F*<sup>2</sup> programom *SHELXL-2014*. Grafički prikazi molekulskih i kristalnih struktura načinjeni su programima *PLATON* i *Mercury*.

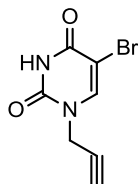
Antitumorska ispitivanja spojeva **3–11** *in vitro* na šest staničnih linija provedena su na Zavodu za biotehnologiju, Sveučilišta u Rijeci.

3.2. PRIKAZ SINTEZE SPOJEVA

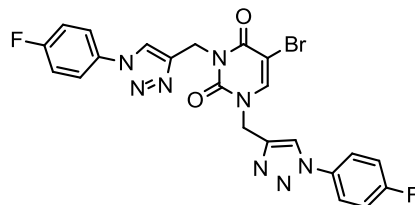
3.2.1. PREGLED SINTETIZIRANIH HIBRIDA 1,2,3-TRIAZOLNIH DERIVATA I URACILA I PREKURSORA ZA NJHOVU SINTEZU (1–16)



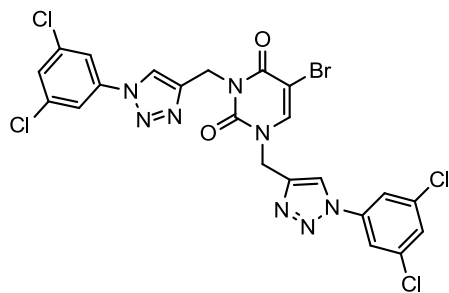
1



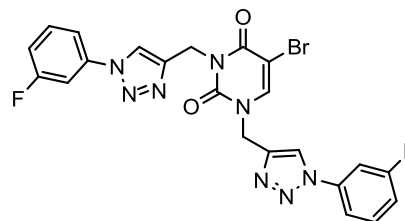
2



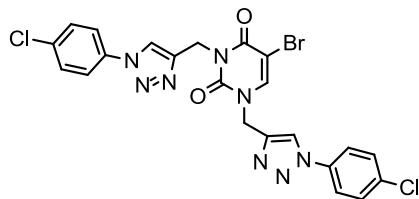
3



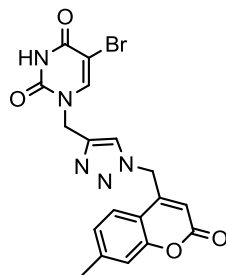
4



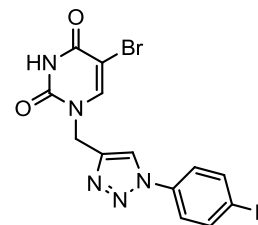
5



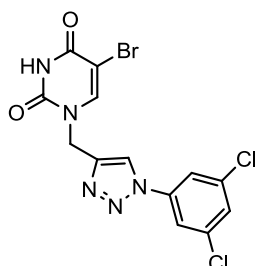
6



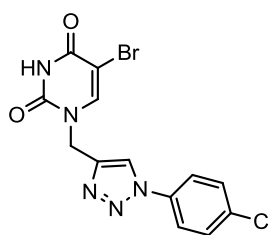
7



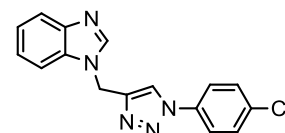
8



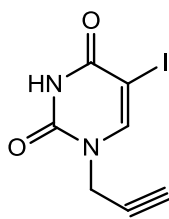
9



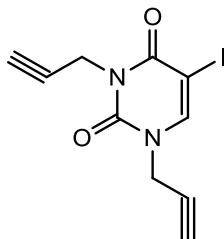
10



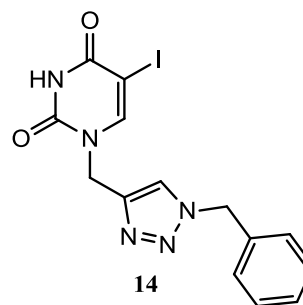
11



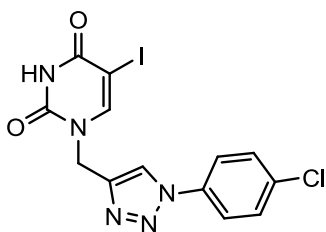
12



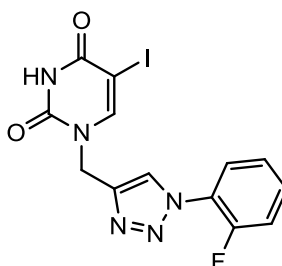
13



14



15



16

## POSTUPCI ZA PRIPRAVU SPOJEVA OD 1–16

### 5-brom-N-1, N-3-di(prop-2-in-1-il)pirimidin-2,4-dion (1) i 5-brom-N-1-(prop-2-in-1-il)pirimidin-2,4-dion (2)

Otopini 5-bromuracila (1,0 g, 5,2 mmol) u dimetilformamidu (DMF, 20 ml) se doda NaH (125,6 mg, 5,2 mmol) i reakcijska smjesa se miješa 1,5 h. Potom se u reakcijsku smjesu doda propargil-bromid (747,4 mg, 6,3 mmol). Napredak reakcije praćen je TLC-om i miješanje je nastavljeno tijekom 24 h. Otapalo je upareno uz sniženi tlak, a sirovi produkt je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  : MeOH (150 : 1). Dobiveni su bijeli kristalinički spojevi **1** (214,7 mg, 15,4 %, t.t. = 129-130 °C) i **2** (453,3 mg, 37,8 %, t.t. = 199-200 °C).

**1:**  $^1\text{H}$ -NMR  $\delta$ : 8,39 (1H, s, H-6), 4,58 (4H, dd, H-1',  $J = 5,1$  Hz,  $J = 2,4$  Hz), 3,49 (1H, t, H-3',  $J = 2,5$  Hz), 3,17 (1H, dd, H-3',  $J = 5,4$  Hz,  $J = 3,0$  Hz) ppm.

$^{13}\text{C}$ -NMR  $\delta$ : 158,4 (C-4), 149,6 (C-2), 143,8 (C-6), 94,9 (C-5), 78,9 (C-2'), 78,4 (C-2''), 77,0 (C-3'), 74,0 (C-3''), 38,9 (C-1'), 31,9 (C-1'') ppm.

**2:**  $^1\text{H}$ -NMR  $\delta$ : 11,90 (1H, s, N-H), 8,26 (1H, s, H-6), 4,50 (2H, d, H-1',  $J = 2,7$  Hz), 3,45 (1H, t, H-3',  $J = 2,5$  Hz), 3,32 (1H, s, H-3'') ppm.



<sup>13</sup>C-NMR δ: 158,3 (C-4), 149,6 (C-2), 143,8 (C-6), 94,8 (C-5), 78,9 (C-2'), 78,4 (C-2''), 77,0 (C-3'), 74,1 (C-3''), 38,9 (C-1'), 31,9 (C-1'') ppm.

**5-brom-N-1, N-3-di[(4-(4-fluorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil]pirimidin-2,4-dion (3)**

U otopinu spoja **1** (39,8 mg; 0,15 mmol) i *p*-fluorfenil-azida (40,9 mg; 0,30 mmol) u DMF-u (4 ml) doda se bakrov(II) sulfat-pentahidrat (1,12 mg; 4,469 x 10<sup>-3</sup> mmol) otopljen u vodi (1 ml) te natrijev askorbat (8,85 mg; 0,05 mmol) otopljen u vodi (1 ml). Reakcijska smjesa je miješana preko noći. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH (120 : 1). Izoliran je žuti praškasti spoj **3** (27,7 mg; 34,3 %; t.t. = 180-181 °C).

<sup>1</sup>H-NMR δ: 8,60 (1H, s, H-6), 8,50 (2H, d, H-3', *J* = 7,1 Hz), 7,89–7,82 (4H, m, Ph-H), 7,51–7,30 (4H, m, Ph-H), 5,24–5,04 (4H, m, H-1'), 4,56 (2H, d, H-1'', *J* = 2,5 Hz) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR δ: 162,5 (C-4), 160,8 (C-7', dd, *J* = 232,54 Hz, C-F), 150,1 (C-2), 144,2 (C-6), 143,5 (C-2'), 133,1 (C-4', d, *J* = 2,7 Hz, C-F), 122,2 (C-5', d, *J* = 9,2 Hz, C-F), 121,8 (C-3'), 116,7 (C-6', d, *J* = 24,16 Hz, C-F), 94,5 (C-5), 44,0 (C-1'), 31,3 (C-1'') ppm.

**5-brom-N-1, N-3-di[(4-(3,5-diklorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil]pirimidin-2,4-dion (4)**

U otopinu spoja **1** (100,0 mg; 0,37 mmol) i 3,5-diklorfenil-azida (140,8 mg; 0,75 mmol) u DMF-u (6 ml) doda se bakrov(II) sulfat-pentahidrat (2,8 mg; 0,01 mmol) otopljen u vodi (1 ml) te natrijev askorbat (22,3 mg; 0,11 mmol) otopljen u vodi (1 ml). Reakcijska smjesa je miješana preko noći. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens *n*-heksan : etil-acetat (5 : 4). Izoliran je žuti praškasti spoj **4** (35,3 mg; 15,2 %; t.t. = 109-110 °C).

<sup>1</sup>H-NMR δ: 8,92 (1H, s, H-6), 8,48 (1H, s, H-3'), 8,09 (2H, d, H-5', *J* = 1,8 Hz), 7,75 (1H, t, H-7', *J* = 1,8 Hz), 4,57 (2H, t, H-1', *J* = 2,8 Hz) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR δ: 158,5 (C-4), 150,0 (C-2), 144,8 (C-6), 144,0 (C-2'), 138,5 (C-4'), 135,7 (C-6'), 128,6 (C-7'), 122,8 (C-5'), 119,2 (C-3'), 94,7 (C-5), 44,6 (C-1'), 31,9 (C-1'') ppm.

**5-brom-N-1, N-3-di[(4-(3-fluorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil]pirimidin-2,4-dion (5)**

U otopinu spoja **1** (70,0 mg; 0,26 mmol) i *m*-fluorfenil-azida (71,8 mg; 0,52 mmol) u DMF-u (5 ml) doda se bakrov(II) sulfat-pentahidrat (1,9 mg; 7,9 x 10<sup>-3</sup> mmol) otopljen u vodi (1 ml) te natrijev askorbat (15,6 mg; 0,08 mmol) otopljen u vodi (1 ml). Reakcijska smjesa je

miješana preko noći. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatak nakon uparavanjaje pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH (70 : 1). Izoliran je žuti praškasti spoj **5** (54,6 mg; 38,5 %; t.t. = 165-166 °C).

<sup>1</sup>H-NMR δ: 8,84 (1H, d, H-3', *J* = 8,2 Hz), 8,55 (1H, s, H-3'), 8,55 (1H, s, H-6), 7,89–7,70 (5H, m, Ph-H), 7,70–7,56 (3H, m, Ph-H), 7,43–7,23 (2H, m, Ph-H), 5,16 (5H, dd, H-1', *J* = 10 Hz) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR δ: 162,9 (C-6', d, *J* = 243,75 Hz, C-F), 159,1 (C-4), 150,6 (C-2), 144,6 (C-6), 144,2 (C-2'), 138,2 (C-4', dd, *J* = 10,5 Hz, *J* = 4,6 Hz), 132,3 (C-4', dd, *J* = 9,2 Hz, *J* = 5,7 Hz, C-F), 122,3 (C-9'), 116,4 (C-3'), 115,9 (C-7', d, *J* = 21,0 Hz, *J* = 11,4 Hz, C-F), 107,9 (C-5' dd, *J* = 26,6 Hz, *J* = 4,1 Hz, C-F), 95,0 (C-5), 44,7 (C-1'), 37,7 (C-1'') ppm.

#### **5-brom-*N*-1, *N*-3-di[(4-(4-klorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil]pirimidin-2,4-dion (6)**

U otopinu spoja **1** (70,0 mg; 0,26 mmol) i *p*-klorfenil-azida (80,4 mg; 0,52 mmol) u DMF-u (5 ml) doda se bakrov(II) sulfat-pentahidrat (1,9 mg; 7,7 x 10<sup>-3</sup> mmol) otopljen u vodi (1 ml) te natrijev askorbat (15,6 mg; 0,08 mmol) otopljen u vodi (1 ml). Reakcijska smjesa je miješana preko noći. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatak nakon uparavanjaje pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH (80 : 1). Izoliran je žuti praškasti spoj **6** (63,7 mg; 42,3 %; t.t. = >200 °C).

<sup>1</sup>H-NMR δ: 8,84 (1H, d, H-3', *J* = 7,7 Hz), 8,68 (1H, s, H-3'), 8,55 (1H, s, H-6), 7,89 (4H, ddd, H-6', *J* = 6,7 Hz, *J* = 6,0 Hz, *J* = 2,5 Hz), 7,74–7,56 (4H, m, H-5'), 5,19 (4H, dd, H-1', *J* = 10,6 Hz, *J* = 4,9 Hz) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR δ: 159,1 (C-4), 150,5 (C-2), 144,6 (C-6), 144,2 (C-2'), 144,0 (C-2''), 135,8 (C-4'), 135,7 (C-4'), 133,5 (C-7'), 133,3 (C-7''), 130,3 (C-6'), 130,2 (C-8'), 122,4 (C-3'), 122,2 (C-5'), 122,1 (C-9'), 95,0 (C-5), 44,7 (C-1'), 37,8 (C-1'') ppm.

#### **5-brom-*N*-1-[(4-(4-metil-7-metilkumarin)-1,2,3-triazol-1-il)metil]pirimidin-2,4-dion (7)**

U kivetu otopi se spoj **2** (50,0 mg, 0,22 mmol) i 4-(azidometil)-7-metil-kumarin (56,3 mg, 0,26 mmol) u smjesi otapala *tert*-butilni alkohol : voda 1 : 1 (7 ml). Otopini se potom doda Cu žica (12,0 mg, 0,18 mmol) i 1 M otopina CuSO<sub>4</sub> x 5H<sub>2</sub>O (0,05 ml). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 45 min na 80 °C (300 W). Nakon završetka reakcije (provjera tankoslojnom kromatografijom), otapalo se upari pod sniženim tlakom, a

ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom uz eluens CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH (30 : 1). Dobiven je spoj **7** kao žuti prah (34,5 mg, 35,6 %, t.t. = >200 °C).

<sup>1</sup>H-NMR δ: 11,81 (1H, s, NH), 8,35 (1H, s, H-3'), 8,27 (1H, s, H-6), 7,73 (1H, d, H-7', *J* = 8,1 Hz), 7,40–7,06 (2H, m, H-11', H-8'), 5,94 (2H, s, H-4'), 5,81 (1H, s, H-15'), 4,99 (2H, s, H-1') ppm.

<sup>13</sup>C-NMR δ: 160,1 (C-13'), 160,0 (C-4), 153,6 (C-2), 150,6 (C-12'), 150,5 (C-5'), 145,7 (C-6), 144,3 (C-9'), 143,2 (C-2'), 126,1 (C-8'), 125,2 (C-7'), 124,9 (C-3'), 117,3 (C-11'), 115,1 (C-6'), 113,3 (C-14'), 95,4 (C-5), 49,6 (C-4'), 43,4 (C-1'), 21,5 (C-10) ppm.

#### **5-brom-N-1-[(4-(4-fluorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil]pirimidin-2,4-dion (8)**

U kivetu otopi se spoj **2** (50,0 mg, 0,22 mmol) i *p*-fluorfenil-azid (35,9 mg, 0,26 mmol) u smjesi otapala *tert*-butilni alkohol : voda 1 : 1 (7 ml). Otopini se potom doda Cu žica (12,0 mg, 0,18 mmol) i 1 M otopina CuSO<sub>4</sub> x 5H<sub>2</sub>O (0,05 ml). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 45 min na 80 °C (300 W). Smjesa je ostavljena mješajući preko noći, nakon toga dodano je još 14,9 mg *p*-fluorfenil-azida i 0,04 ml 1 M otopine CuSO<sub>4</sub> x 5H<sub>2</sub>O te je stavljeno je 45 minuta u mikrovalni reaktor pod istim uvjetima. Nakon završetka reakcije (provjera tankoslojnom kromatografijom), otapalo se upari pod sniženim tlakom, a ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom uz eluens CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH (70 : 1). Dobiven je spoj **8** kao žuti prah (18,9 mg, 54,0 %, t.t. = >200 °C).

<sup>1</sup>H-NMR δ: 11,84 (1H, s, NH), 8,77 (1H, s, H-3'), 8,37 (1H, s, H-6), 8,05–7,80 (2H, m, H-5'), 7,60–7,21 (2H, m, H-6'), 5,06 (2H, s, H-1') ppm.

<sup>13</sup>C-NMR δ: 162,4 (C-7', d, *J* = 246,13 Hz, C-F), 160,5 (C-4), 150,9 (C-2), 145,9 (C-6), 144,3 (C-2'), 133,8 (C-4'), 123,2 (C-5', d, *J* = 9,06 Hz, C-F), 122,7 (C-3'), 117,5 (C-6', d, *J* = 22,65, C-F), 95,9 (C-5), 43,7 (C-1') ppm.

#### **5-brom-N-1-[(4-(3,5-diklorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil]pirimidin-2,4-dion (9)**

U kivetu otopi se spoj **2** (50,0 mg, 0,22 mmol) i 3,5-diklorfenil-azid (82,1 mg, 0,44 mmol) u smjesi otapala *tert*-butilni alkohol : voda 1 : 1 (8 ml). Otopini se potom doda Cu žica (12,0 mg, 0,18 mmol) i 1 M otopina CuSO<sub>4</sub> x 5H<sub>2</sub>O (0,05 ml). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 45 min na 80 °C (300 W). Zatim smjesa je ostavljena preko noći, nakon toga dodano je još 20,0 mg 3,5-diklorfenil-azida i 0,04 ml 1 M otopine CuSO<sub>4</sub> x 5H<sub>2</sub>O te je stavljeno je 45 minuta u mikrovalni reaktor pod istim uvjetima. Nakon završetka

reakcije (provjera tankoslojnom kromatografijom), otapalo se upari pod sniženim tlakom, a ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom uz eluens CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH (70 : 1). Dobiven je spoj **9** kao bijeli prašak (5,2 mg, 33,4 %, t.t. = >200 °C).

<sup>1</sup>H- NMR δ: 11,89 (1H, s, NH), 8,92 (1H, s, H-3'), 8,37 (1H, s, H-6), 8,06 (2H, d, H-5',9', J= 1,8 Hz), 7,77 (1H, t, H-7', J=1,8 Hz), 5,06 (2H, s, H-1') ppm.

<sup>13</sup>C-NMR δ: 159,6 (C-4), 150,1 (C-2), 145,0 (C-6), 143,9 (C-2'), 138,1 (C-6', 8'), 135,2 (C-4'), 128,1 (C-7'), 122,1 (C-3'), 118,7 (C-5', 9'), 95,2 (C-5), 42,9 (C-1') ppm.

### **5-brom-N-1-[(4-(4-klorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil]pirimidin-2,4-dion (10)**

U kiveti otopi se spoj **2** (50,0 mg, 0,22 mmol) i *p*-klorfenil-azid (40,2 mg, 0,26 mmol) u smjesi otapala *tert*-butilni alkohol : voda 1 : 1 (8 ml). Otopini se potom doda Cu žica (12,0 mg, 0,18 mmol) i 1 M otopina CuSO<sub>4</sub> x 5H<sub>2</sub>O (0,05 ml). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 45 min na 80 °C (300 W). Zatim je dodano još po 20,0 mg *p*-klorfenil- azida i stavljeno je u mikrovalni reaktor pod istim uvjetima. Nakon završetka reakcije (provjera tankoslojnom kromatografijom), otapalo se upari pod sniženim tlakom, a ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom uz eluens CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH (70 : 1). Dobiven je spoj **10** kao žuti prah (2,3 mg, 56,0 %, t.t. = >200 °C).

<sup>1</sup>H- NMR δ: 11,84 (1H, s, NH), 8,82 (1H, s, H-3'), 8,37 (1H, s, H-6), 7,94 (2H, d, H-5', J= 9,0 Hz), 7,67(2H, d, H-6', J= 9,0 Hz), 5,06 (2H, s, H-1') ppm.

<sup>13</sup>C-NMR δ: 160,2 (C-4), 150,6 (C-2), 145,6 (C-6), 144,2 (C-2'), 135,8 (C-4'), 133,5 (C-7'), 130,3 (C-5'), 122,3 (C-3'), 122,2 (C-6'), 95,6 (C-5), 43,4 (C-1') ppm.

### **1-[(4-(4-klorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil]benzo[d]imidazol (11)**

U otopinu spoja N-1-(prop-2-in-1-il)benzo[d]imidazol (70,0 mg; 0,30 mmol) i *p*-klorfenil-azida (55,5 mg; 0,36 mmol) u DMF-u (4,5 ml) doda se bakrov(II) sulfat-pentahidrat (1,7 mg; 0,01 mmol) otopljen u vodi (1 ml) te natrijev askorbat (21,9 mg; 0,1 mmol) otopljen u vodi (1 ml). Reakcijska smjesa je miješana preko noći. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH (20 : 1). Izoliran je bijeli praškasti spoj **11** (22,5 mg; 24,1 %; t.t. = 183-184 °C).

<sup>1</sup>H-NMR δ: 8,91 (1H, s, H-2), 8,41 (1H, s, H-3'), 7,97–7,86 (2H, m, H-5,8), 7,77–7,55 (4H, m, H-5', 9', 6', 7'), 7,37–7,08 (2H, m, H-6,7), 5,67 (2H, s, H-1') ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 143,8 (C-2'), 135,2 (C-7'), 133,0 (C-4, 9), 129,8 (C-6', 8'), 122,4 (C-2), 122,1 (C-6, 7), 121,8 (C-5', 9'), 121,6 (C-5), 119,5 (C-3'), 110,8 (C-8), 39,3 (C-1'). ppm.

**5-jod-N-1-(prop-2-in-1-il)pirimidin-2,4-dion (12) i N-1, N-3-di(prop-2-in-1-il)-5-jodpirimidin-2,4-dion (13)**

Otopini 5-joduracila (4,0 g, 16,8 mmol) u DMF (35 ml) se doda NaH (403,4 mg, 16,8 mmol) i reakcijska smjesa se miješa 2 h. Potom se u reakcijsku smjesu doda propargil-bromid (2,4 mg, 20,2 mmol). Napredak reakcije praćen je TLC-om i miješanje je nastavljeno tijekom 24 h. Otapalo je upareno uz sniženi tlak, a sirovi produkt je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  : MeOH (60 : 1). Dobiveni su bijeli kristalini spojevi **12** (2,6 g 56,0 %, t.t. 198-199 °C) i **13** (796,0 mg, 15,1 %, t.t. 134-135 °C).

**12:**  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 11,74 (1H, s, NH), 8,23 (1H, s, H-6), 4,50 (2H, d, H-1',  $J = 2,4$  Hz), 3,42 (1H, t, H-3',  $J = 2,4$  Hz) ppm.

**13:**  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 8,35 (1H, s, H-6), 4,58 (4H, t, H-1',  $J = 1,8$  Hz), 3,46 (1H, t, H-3'',  $J = 2,4$  Hz), 3,15 (1H, t, H-3',  $J = 2,4$  Hz) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 158,9 (C-4), 149,5 (C-2), 147,8 (C-6), 78,6 (C-2'), 78,1 (C-2''), 76,3 (C-3'), 73,4 (C-3''), 67,5 (C-5), 38,2 (C-1'), 31,4 (C-1') ppm.

**N-1-[(4-benzil-1,2,3-triazol-1-il)metil]-5-jodpirimidin-2,4-dion (14)**

U dvije kivete otopi se spoj **12** (200,0 mg, 0,72 mmol) i benzil-azid (1,73 ml, 0,87 mmol) u smjesi otapala *tert*-butilni alkohol : voda 1 : 1 (8 ml). Otopini se potom doda Cu žica (46,2 mg, 0,73 mmol) i 1 M otopina  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  (0,2 ml). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 45 min na 80 °C (300 W). Nakon završetka reakcije (provjera tankoslojnom kromatografijom), otapalo se upari pod sniženim tlakom, a ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom uz eluens  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  : MeOH (70 : 1). Dobiven je spoj **14** kao bijeli prašak (317,1 mg, 54,5 %, t.t.  $>200$  °C).

$^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 11,64 (1H, s, NH), 8,26 (1H, s, H-3'), 8,10 (1H, s, H-6), 7.36–7.25 (5H, m, Ph-H), 5,53 (2H, s, H-5'), 4,89 (2H, s, H-1') ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 161,0 (C-4), 150,4 (C-2), 149,7 (C-6). 142,5 (C-6'), 135,9 (C-2'), 128,7 (C-8'), 128,1 (C-7'), 127,9 (C-9'), 123,7 (C-3') 68,4 (C-5), 53,8 (C-5'), 42,7(C-1') ppm.

**5-jod-N-1-[(4-(4-klorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil]pirimidin-2,4-dion (15)**

U dvije kivete otopi se spoj **12** (200,0 mg, 0,72 mmol) i *p*-klorfenil-azid (1,73 ml, 0,87 mmol) u smjesi otapala *tert*-butilni alkohol : voda 1 : 1 (8 ml). Otopini se potom doda Cu žica (46,2 mg, 0,73 mmol) i 1 M otopina CuSO<sub>4</sub> x 5H<sub>2</sub>O (0,2 ml). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 45 min na 80 °C (300 W). Nakon završetka reakcije (provjera tankoslojnom kromatografijom), otapalo se upari pod sniženim tlakom, a ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom uz eluens CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH (70 : 1). Dobiven je spoj **15** kao bijeli prašak (391,1 mg, 62,9 %, t.t. = >200 °C).

<sup>1</sup>H-NMR δ: 11,70 (1H, s, NH), 8,80 (1H, s, H-3'), 8,35 (1H, s, H-6), 7,94 (2H, dd, H-5', *J* = 6,9 Hz, *J* = 2,1 Hz), 7,67 (2H, dd, H-5', *J* = 6,9 Hz, *J* = 2,1 Hz), 5,05 (2H, s, H-1') ppm.

<sup>13</sup>C-NMR δ: 161,6 (C-4), 151,0 (C-2), 150,1 (C-6), 144,3 (C-2'), 135,8 (C-4'), 133,5 (C-7'), 130,3 (C-5'), 122,5 (C-3), 122,2 (C-6'), 69,2 (C-5), 43,2 (C-1') ppm.

**5-jod-N-1-[(4-(2-fluorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil]pirimidin-2,4-dion (16)****Metoda A**

U dvije kivete otopi se spoj **12** (200,0 mg, 0,72 mmol) i *o*-fluorfenil-azid (1,73 ml, 0,87 mmol) u smjesi otapala *tert*-butilni alkohol : voda 1 : 1 (8 ml). Otopini se potom doda Cu žica (46,2 mg, 0,73 mmol) i 1 M otopina CuSO<sub>4</sub> x 5H<sub>2</sub>O (0,2 ml). Reakcijska smjesa se miješa i zagrijava u mikrovalnom reaktoru 45 min na 80 °C (300 W). Nakon završetka reakcije (provjera tankoslojnom kromatografijom), otapalo se upari pod sniženim tlakom, a ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom uz eluens CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH (70 : 1). Dobiven je spoj **16** kao bijeli prašak (62,9 mg, 9,8 %, t.t. = >200 °C).

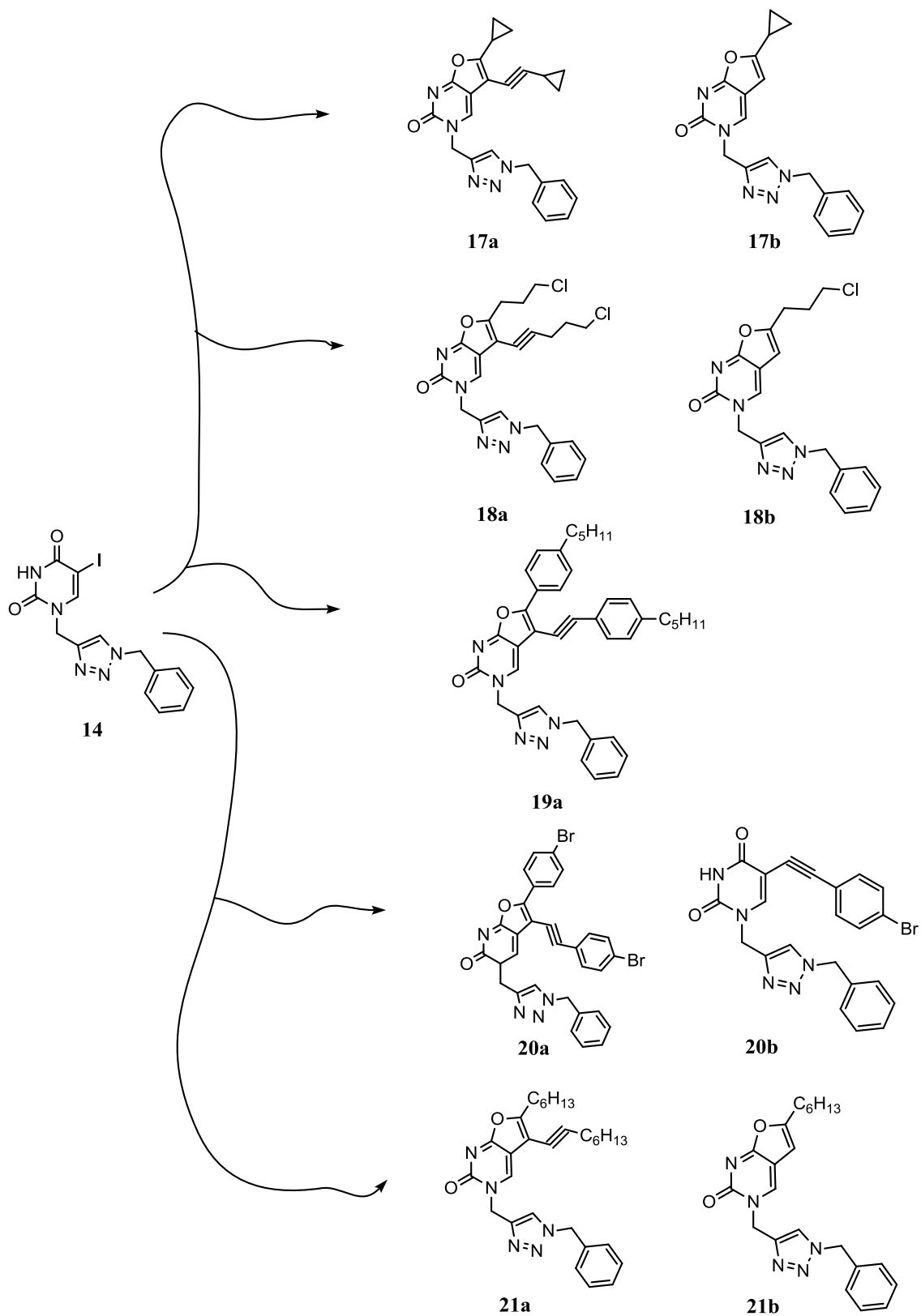
**Metoda B**

U dvije kivete otopi se spoj **12** (150,0 mg, 0,54 mmol) i *o*-fluorfenil-azid (1,3 ml, 0,65 mmol) u smjesi otapala *tert*-butilni alkohol : voda 1 : 1 (8 ml). Otopini se potom doda Cu žica (35,0 mg, 0,55 mmol) i 1 M otopina CuSO<sub>4</sub> x 5H<sub>2</sub>O (0,1 ml). Reakcijska smjesa se ostavi miješati 36 h. Nakon završetka reakcije (provjera tankoslojnom kromatografijom), otapalo se upari pod sniženim tlakom, a ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom uz eluens CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH (60 : 1). Dobiven je spoj **16** kao bijeli prašak (70 mg, 31,0 %, t.t. = >200 °C).

$^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 11,71 (1H, s, NH), 8,60 (1H, s, H-3'), 8,39 (1H, s, H-6), 7,63 (1H, td, Ph-H,  $J=1,5$  Hz,  $J=8,0$  Hz), 7,63–7,54 (2H, m, Ph-H), 7,46–7,41 (1H, m, Ph-H), 5,07 (2H, s, H-1') ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 161,0 (C-4), 157,6 (C-5', d,  $J=271,2$  Hz, C-F), 150,5 (C-2), 149,4 (C-6), 142,9 (C-2'), 136,3 (C-9'), 131,3 (C-7', d,  $J=7,72$  Hz, C-F), 125,9 (C-4'), 125,8 (C-8', d,  $J=3,67$  Hz, C-F), 125,0 (C-3'), 117,0 (C-6', d,  $J=19,27$  Hz, C-F), 68,6 (C-5), 42,90 (C-1') ppm.

### 3.2.2. PREGLED SINTETIZIRANIH HIBRIDA 4-BENZIL TRIAZOLNOG DERIVATA I FURO[2,3-*d*]PIRIMIDINA (17–21)





## POSTUPCI ZA PRIPRAVU SPOJEVA 17–21

*N*-1-[(4-benzil-1,2,3-triazol-1-il)metil]-5-(ciklopropil-etin-1-il)-6-ciklopropil-furo[2,3-*d*]pirimidin-2-on (**17a**) i *N*-1-[(4-benzil-1,2,3-triazol-1-il)metil]-6-ciklopropil-furo[2,3-*d*]pirimidin-2-on (**17b**)

Nakon sušenja spoj **14** (70,0 mg; 0,17 mmol) se otopi u bezvodnom toluenu (8 ml) i dodani su CuI (9,8 mg; 0,05 mmol), tetrakis(trifenilfosfin)paladij(0) (PPH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Pd (19,8 mg; 0,02 mmol), *N,N*-diizopropiletilamin (0,2 ml; 1,15 mmol) u atmosferi argona. Potom je dokapan 2-ciklopropiletin (0,05 ml; 0,59 mmol). Reakcijska smjesa se zagrije na temperaturu od 80° C i ostavi se miješati preko noći te je potom dodan aktivni ugljen i Amberlit IRA-400. Reakcijska smjesa je odfiltrirana, a filtrat uparen. Ostatak je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH) i izoliran je spoj **17a** kao žuti prašak (25,5 mg; 36,2 %; t.t.= >200 °C) i spoj **17b** kao žuti prašak (6,1 mg; 10,3 %; t.t.= >200 °C)

**17a:** <sup>1</sup>H-NMR δ: 8,67 (1H, s, H-3'), 8,14 (1H, s, H-8), 7,40–7,28 (5H, m, Ph-H), 5,56 (2H, s, H-4'), 5,20 (2H, s, H-1'), 2,14–2,09 (1H, m, H-3''), 1,61–1,57 (1H, m, H-3'''), 1,10–0,91 (8H, m, H-4''', 4'', 5''', 5'') ppm.

<sup>13</sup>C-NMR δ: 169,5 (C-6), 161,0 (C-4), 154,1 (C-2), 142,3 (C-5'), 141,1 (C-8), 135,9 (C-2'), 128,7 (C-7'), 128,1 (C-6'), 127,9 (C-8'), 123,9 (C-3'), 106,8 (C-7), 100,4 (C-5), 95,7 (C-2''), 63,3 (C-1''), 52,8 (C-4'), 45,8 (C-1'), 8,9 (C-3''), 8,6 (C-5''', C-4'''), 7,5 (C-5'', C-4''), 0,1 (C-3'') ppm.

**17b:** <sup>1</sup>H-NMR δ: 8,55 (1H, s, H-3'), 8,14 (1H, s, H-8), 7,40–7,29 (5H, m, Ph-H), 6,43 (1H, s, H-5) 5,56 (2H, s, H-4'), 5,17 (2H, s, H-1'), 2,01 (1H, ddd, H-3'', *J*= 12,0 Hz, *J*= 6,0 Hz, *J*= 3,0 Hz), 0,99–0,96 (2H, m, H-4''), 0,86–0,83 (2H, m, H-5'') ppm.

<sup>13</sup>C-NMR δ: 171,1 (C-6), 159,2 (C-4), 154,2 (C-2), 142,4 (C-5'), 141,2 (C-8), 135,9 (C-2'), 128,7 (C-7'), 128,1 (C-6'), 127,9 (C-8'), 123,9 (C-3'), 106,8 (C-7), 97,6 (C-5), 52,8 (C-4'), 46,0 (C-1'), 8,7 (C-3'), 6,8 (C-4', 5') ppm.

***N*-1-[(4-benzil-1,2,3-triazol-1-il)metil]-5-[(3-klorprop-1-il)etin-1-il]-6-(3-klorprop-1-il)furo[2,3-*d*]pirimidin-2-on (18a) i *N*-1-[(4-benzil-1,2,3-triazol-1-il)metil]-6-(3-klorprop-1-il)furo[2,3-*d*]pirimidin-2-on (18b)**

Nakon sušenja spoj **14** (70,0 mg; 0,17 mmol) se otopi u bezvodnom toluenu (8 ml) i dodani su CuI (9,8 mg; 0,05 mmol), (PPH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Pd (19,8 mg; 0,02 mmol), *N,N*-diizopropiletilamin (0,2 ml; 1,15 mmol) u atmosferi argona. Potom je dokapan 5-klorpent-1-in (0,05 ml; 0,47 mmol). Reakcijska smjesa se zagrije na temperaturu od 80° C i ostavi se miješati preko noći te je potom dodan aktivni ugljen i Amberlit IRA-400. Reakcijska smjesa je odfiltrirana, a filtrat uparen. Ostatak je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH) i izoliran je spoj **18a** kao ulje (50,0 mg; 60,3 %) i spoj **18b** kao crveno-smeđi prašak (14,6 mg; 22,2 %; t.t. = >200 °C)

**18a:** <sup>1</sup>H-NMR δ: 8,78 (1H, s, H-3'), 8,16 (1H, s, H-8), 7,39–7,29 (5H, m, Ph-H), 5,56 (2H, s, H-1'), 5,23 (H-4'), 3,78 (2H, t, H-5''', *J* = 6,0 Hz), 3,69 (2H, t, H-5'', *J* = 6,0 Hz), 2,89 (2H, t, H-3''', *J* = 6,0 Hz), 2,64 (2H, t, H-3'', *J* = 6,0 Hz), 2,11–1,97 (4H, m, H-4''', 4'') ppm.

<sup>13</sup>C-NMR δ: 170,0 (C-6) 159,4 (C-4), 154,11 (C-2), 142,4 (C-8), 142,3 (C-5'), 135,9 (C-2'), 128,7 (C-7'), 128,1 (C-6'), 128,0 (C-8'), 124,0 (C-3'), 106,2 (C-7), 97,9 (C-5), 95,9 (C-2''), 68,9 (C-1''), 52,8 (C-4'), 44,2(C-1'), 44,1 (C-5''', 5''), 30,8 (C-4'''), 29,5 (C-4''), 23,9 (C-3'''), 16,5 (C-3'') ppm.

**18b:** <sup>1</sup>H-NMR δ: 8,62 (1H, s, H-3'), 8,16 (1H, s, H-8), 7,40–7,30 (5H, m, Ph-H), 6,51 (1H, s, H-5), 5,56 (2H, s, H-4'), 5,19 (2H, s, H-1'), 3,70 (2H, t, H-5'', *J* = 6,0 Hz), 2,79 (2H, t, H-3'', *J* = 6 Hz), 2,06 (2H, dt, H-4'', *J* = 15,0 Hz, *J* = 9,0 Hz) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR δ: 171,5 (C-6), 156,7 (C-4), 154,2 (C-2), 142,4 (C-5'), 142,1 (C-8), 135,9 (C-2'), 128,7 (C-7'), 128,1 (C-6'), 127,9 (C-8'), 124,0 (C-3'), 106,5 (C-7), 100,1 (C-5), 52,8 (C-4'), 45,7 (C-1'), 44,3 (C-5), 29,3 (C-3), 24,8 (C-4) ppm.

***N*-1-[(4-benzil-1,2,3-triazol-1-il)metil]-5-(4-pentilfenil)etin-1-il)-6-(4-pentilfenil)furo[2,3-*d*]pirimidin-2-on (19a)**

Nakon sušenja spoj **14** (70,0 mg; 0,17 mmol) se otopi u bezvodnom toluenu (8 ml) i dodani su CuI (9,8 mg; 0,05 mmol), (PPH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Pd (19,8 mg; 0,02 mmol), *N,N*-diizopropiletilamin (0,2 ml; 1,15 mmol) u atmosferi argona. Potom je dokapan 1-etinil-4-pentilbenzen (0,06 ml; 0,42 mmol). Reakcijska smjesa se zagrije na temperaturu od 80° C i ostavi se miješati preko noći te

je potom dodan aktivni ugljen i Amberlit IRA-400. Reakcijska smjesa je odfiltrirana, a filtrat uparen. Ostatak je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ ) i izoliran je spoj **19a** kao žuti prašak (48,2 mg; 71,9 %, t.t. = > 200 °C)

$^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 9,04 (1H, s, H-3'), 8,20 (1H, s, H-8), 8,06 (2H, d, Ph-H,  $J=12,0$  Hz), 7,60 (2H, d, Ph-H,  $J=12,0$  Hz), 7,43 (2H, d, Ph-H,  $J=6,0$  Hz), 7,37–7,35 (2H, m, Ph-H), 7,32–7,31 (5H, m, Ph-H), 5,58 (2H, s, H-4'), 5,28 (2H, s, H-1'), 2,64 (4H, dd, H-5'',  $J=6,0$  Hz,  $J=18,0$  Hz), 1,60 (4H, dd, H-8'',  $J=6,0$  Hz,  $J=12,0$  Hz), 1,34–1,27 (8H, m, H-6''', 7'', 6'', 7''), 0,87 (6H, dt, H-9''', 9'',  $J=2,4$  Hz,  $J=7,2$  Hz) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 169,7 (C-6), 154,3 (C-4), 154,1 (C-2), 145,2 (C-12'''), 144,2 (C-12''), 143,4 (C-8), 142,2 (C-5'), 135,9 (C-2'), 131,4 (C-Ph), 129,2 (C-Ph), 128,8 (C-Ph), 128,7 (C-7'), 128,1 (C-6'), 127,9 (C-8'), 125,3 (C-Ph), 124,0 (C-3'), 107,3 (C-7), 98,1 (C-5), 95,2 (C-2''), 78,3 (C-1'''), 52,8 (C-4'), 46,2 (C-1'), 34,9 (C-5'', 5'''), 30,8 (C-7'', 7'''), 30,3 (C-6''), 30,2 (C-6'''), 21,9 (C-8'', C-8'''), 13,9 (C-9''), 18,8 (C-9''') ppm.

***N*-1-[(4-benzil-1,2,3-triazol-1-il)metil]-5-(4-bromfenil)etin-1-il)-6-(4-bromfenil)furo[2,3-d]pirimidin-2-on (20a)** i ***N*-1-[(4-benzil-1,2,3-triazol-1-il)metil]-6-(4-bromfenil-etin-1-il)pirimidin-2,4-dion (20b)**

Nakon sušenja spoj **14** (70,0 mg; 0,17 mmol) se otopi u bezvodnom toluenu (8 ml) i dodani su CuI (9,8 mg; 0,05 mmol),  $(\text{PPH}_3)_4\text{Pd}$  (19,8 mg; 0,02 mmol), *N,N*-diizopropiletilamin (0,2 ml; 1,15 mmol) u atmosferi argona. Potom je dokapan 4-brom-1-etinilbenzen (70,0 mg; 0,39 mmol). Reakcijska smjesa se zagrije na temperaturu od 80° C i ostavi se miješati preko noći te je potom dodan aktivni ugljen i Amberlit IRA-400. Reakcijska smjesa je odfiltrirana, a filtrat uparen. Ostatak je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ ) i izoliran je spoj **20a** kao žuti prašak (3,0 mg; 2,7 %, t.t. = > 200 °C) i spoj **20b** kao crveni prašak (11,0 mg; 13,9 %, t.t. = > 200 °C)

**20a:**  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 9,15 (H, s, H-3'), 8,19 (H, s, H-8), 8,06 (1H, d, Ph-H,  $J=8,4$  Hz), 7,83 (1H, d, Ph-H,  $J=8,4$  Hz), 7,70 (2H, dd, Ph-H,  $J=8,4$  Hz,  $J=23,4$  Hz), 7,37–7,31 (5H, m, Ph-Bz), 5,57 (2H, s, H-4'), 5,28 (2H, s, H-1') ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 170,1 (C-6), 162,2 (C-4), 154,7 (C-2), 144,8 (C-8), 142,6 (C-5'), 136,3 (C-2'), 133,9 (Ph-Br), 132,9 (Ph-Br), 132,4 (Ph-Br), 129,2 (C-7'), 128,6 (C-6'), 128,5 (C-8'), 124,6

(C-3'), 127,4 (C-4'''), 123,6 (C-4''), 121,1 (C-7'', 7'''), 107,4 (C-7), 98,0 (C-5), 96,9 (C-2''), 80,2 (C-1''), 53,3 (C-4'), 46,9 (C-1') ppm.

**20b:**  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 11,74 (1H, s, NH), 8,33 (1H, s, H-3), 8,18 (1H, s, H-6), 7,61 (2H, d, Ph-Br,  $J= 8,4$  Hz), 7,42–7,31 (5H, m, Ph-H), 5,58 (2H, s, H-4'), 4,98 (2H, s, H-1') ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 161,7 (C-4), 149,6 (C-2), 149,1 (C-6), 142,3 (C-2'), 132,9 (Ph-Br), 131,8 (Ph-Br), 128,7 (C-7'), 128,1 (C-6'), 127,9 (C-8'), 123,7 (C-3'), 121,9 (C-9''), 121,6 (C-12''), 97,4 (C-5), 90,8 (C-8''), 83,5 (C-7''), 52,8 (C-4'), 43,0 (C-1') ppm.

***N*-1-[(4-benzil-1,2,3-triazol-1-il)metil]-5-(heksiletin-1-il)-6-heksil-furo[2,3-d]pirimidin-2-on (21a) i *N*-1-[(4-benzil-1,2,3-triazol-1-il)metil]-6-heksil-furo[2,3-d]pirimidin-2-on (21b)**

Nakon sušenja spoj **14** (40,0 mg; 0,09 mmol) se otopi u bezvodnom toluenu (8 ml) i dodani su CuI (5,6 mg; 0,03 mmol),  $(\text{PPH}_3)_4\text{Pd}$  (11,3 mg; 0,01 mmol), *N,N*-diizopropiletilamin (0,1 ml; 0,57 mmol) u atmosferi argona. Potom je dokapan 1-oktin (0,05 ml; 0,34 mmol). Reakcijska smjesa se zagrije na temperaturu od 80° C i ostavi se miješati preko noći te je potom dodan aktivni ugljen i Amberlit IRA-400. Reakcijska smjesa je odfiltrirana, a filtrat uparen. Ostatak je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ ) i izoliran je spoj **21a** kao ulje (26,5 mg; 54,3 %) i spoj **21b** kao smeđi prašak (3,5 mg; 9,2 %, t.t.= > 200 °C)

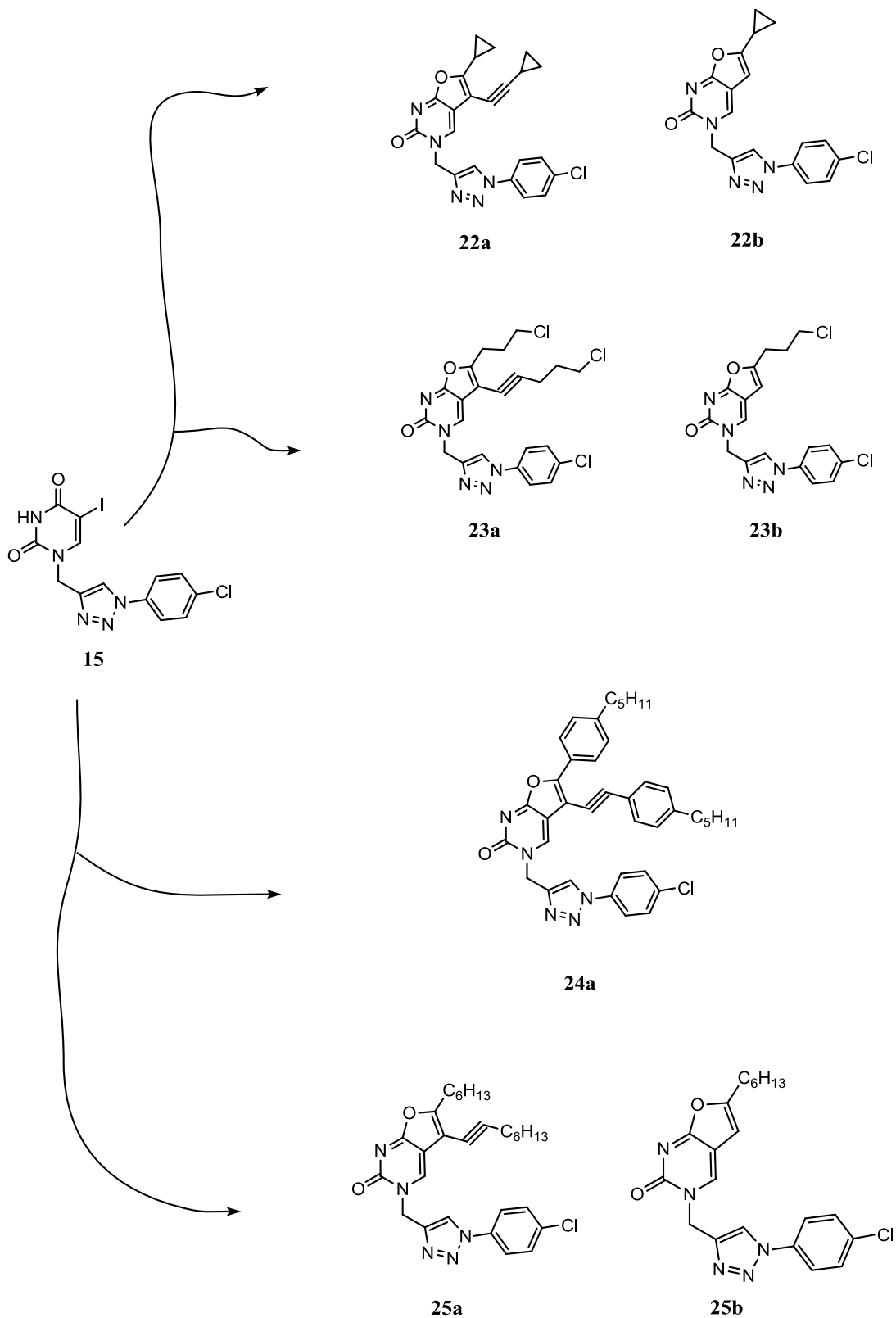
**21a:**  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 8,70 (1H, s, H-3'), 8,15 (1H, s, H-8), 7,37–7,30 (H, m, Ph-H), 5,56 (2H, s, H-4'), 5,22 (2H, s, H-1'), 2,72 (2H, t, H-3'',  $J= 7,2$  Hz), 2,47 (2H, t, H-3''',  $J= 6,6$  Hz), 1,66–1,61 (2H, m, H-4''), 1,58–1,52 (2H, m, H-4'''), 1,43 (2H, dt,  $\text{CH}_2$ -,  $J= 7,2$  Hz  $J= 14,6$  Hz), 1,31–1,25 (10H, m,  $\text{CH}_2$ -), 0,88–0,84 (6H, m, H-8'', 8''') ppm

$^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 170,5 (C-6), 161,2 (C-4), 154,2 (C-2), 142,8 (C-5'), 142,6 (C-8), 136,4 (C-2'), 129,2 (C-7'), 128,6 (C-6'), 128,5 (C-8'), 124,4 (C-3'), 106,7 (C-7), 98,0 (C-5), 97,8 (C-2''), 68,9 (C-1''), 53,3 (C-4'), 46,3 (C-1'), 31,2 (C-5'', 5'''), 28,4 (C-6'', 6'''), 26,9 (C-4'', 4'''), 22,5 (C-7'', 7'''), 19,3 (C-3'', 3'''), 14,3 (C-8'', 8''') ppm

**21b:**  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 8,58 (1H, s, H-3'), 8,5 (H, s, H-8), 7,37–7,30 (5H, m, Ph-H), 6,44 (1H, s, H-5), 5,6 (2H, s, H-4'), 5,18 (2H, s, H-1'), 2,63 (2H, t, H-3',  $J= 7,2$  Hz), 1,61–1,59 (2H, m, H-4), 1,34–1,24 (6H, m,  $\text{CH}_2$ -), 0,87–0,84 (3H, m, H-8'') ppm

$^{13}\text{C-NMR } \delta$ : 169,1 (C-6), 164,4 (C-4), 153,7 (C-2), 142,9 (C-5'), 142,3 (C-8), 136,4 (C-2'), 129,2 (C-7'), 128,6 (C-6'), 128,5 (C-8'), 124,5 (C-3'), 107,1 (C-7), 99,9 (C-5), 53,3 (C-4'), 46,3 (C-1'), 35,4 (C-3''), 31,3 (C-5''), 28,4 (C-6''), 26,8 (C-4''), 22,4 (C-7''), 14,4 (C-8'') ppm

### 3.2.3. PREGLED SINTETIZIRANIH HIBRIDA 4-(4-KLORFENIL)TRIAZOLNIH DERIVATA I FURO[2,3-*d*]PIRIMIDINA (22–25)



## POSTUPCI ZA PRIPRAVU SPOJEVA (22–25)

**5-(ciklopropil-1-etin-1-il)-6-ciklopropil-*N*-1-[(4-(4-klorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil]furo[2,3-*d*]pirimidin-2-on (22a) i 6-ciklopropil-*N*-1-[(4-(4-klorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil]furo[2,3-*d*]pirimidin-2-on (22b)**

Nakon sušenja spoj **15** (100,0 mg; 0,23 mmol) se otopi u bezvodnom toluenu (10 ml) i dodani su CuI (8,9 mg; 0,04 mmol), (PPH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Pd (26,9 mg; 0,02 mmol), *N,N*-diizopropiletilamin (0,2 ml; 1,15 mmol) u atmosferi argona. Potom je dokapan ciklopropiletin (0,08 ml; 0,94 mmol). Reakcijska smjesa se zagrije na temperaturu od 80° C i ostavi se miješati preko noći te je potom dodan aktivni ugljen i Amberlit IRA-400. Reakcijska smjesa je odfiltrirana, a filtrat uparen. Ostatak je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH) i izoliran je spoj **22a** kao žuti prašak (37,7 mg; 34,0 %, t.t. = > 200 °C) i spoj **22b** kao smeđi prašak (5,6 mg; 6,5 %, t.t. = > 200 °C)

**22a:** <sup>1</sup>H-NMR δ: 8,77 (1H, s, H-3'), 8,72 (1H, s, H-8), 7,95–7,91 (2H, m, H-6'), 7,68–7,63 (2H, m, H-5'), 5,32 (2H, s, H-1'), 2,14 (1H, tt, H-3''', *J* = 5,1 Hz, *J* = 8,1 Hz), 1,61 (1H, tt, H-3'', *J* = 5,1 Hz, *J* = 8,1 Hz), 1,14–1,02 (4H, m, CH<sub>2</sub>-), 0,97–0,91 (2H, m, CH<sub>2</sub>-), 0,83–0,77 (2H, m, CH<sub>2</sub>-) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR δ: 170,1 (C-6), 161,6 (C-4), 154,7 (C-2), 144,2 (C-2'), 141,8 (C-8'), 135,8 (C-7'), 133,4 (C-4'), 130,3 (C-5'), 122,3 (C-6'), 122,2 (C-3'), 107,5 (C-7), 100,9 (C-5), 96,3 (C-2''), 63,9 (C-1'''), 46,3 (C-1'), 9,4 (C-3'''), 9,1 (C-4'', 5''), 8,0 (C-4''', 5'''), 0,4 (C-3'') ppm.

**22b:** <sup>1</sup>H-NMR δ: 8,76 (1H, s, H-3'), 8,56 (1H, s, H-8), 7,91 (2H, d, H-6', *J* = 9,0 Hz), 7,66–7,61 (2H, m, H-5'), 6,43 (1H, s, H-5), 5,27 (2H, s, H-1'), 2,00–1,97 (1H, m, H-3'''), 0,97 (2H, dt, CH<sub>2</sub>-, *J* = 4,8 Hz, *J* = 10,8 Hz), 0,84 (2H, dt, CH<sub>2</sub>-, *J* = 4,2 Hz, *J* = 7,2 Hz) ppm.

***N*-1-[(4-(4-klorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil]-5-[(3-klorpropil)etin-1-il]-6-(3-klorprop-1-il)furo[2,3-*d*]pirimidin-2-on (23a) i *N*-1-[(4-(4-klorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil]-6-(3-klorpropil)furo[2,3-*d*]pirimidin-2-on (23b)**

Nakon sušenja spoj **15** (70,0 mg; 0,17 mmol) se otopi u bezvodnom toluenu (8 ml) i dodani su CuI (9,8 mg; 0,05 mmol), (PPH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Pd (19,8 mg; 0,02 mmol), *N,N*-diizopropiletilamin (0,2 ml; 1,15 mmol) u atmosferi argona. Potom je dokapan 5-klor-pen-1-in (0,05 ml; 0,49 mmol). Reakcijska smjesa se zagrije na temperaturu od 80° C i ostavi se miješati preko noći te je potom dodan aktivni ugljen i Amberlit IRA-400. Reakcijska smjesa je odfiltrirana, a filtrat

uparen. Ostatak je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH) i izoliran je spoj **23a** kao bijeli prašak (32,3 mg; 39,3 %, t.t. = > 200 °C) i spoj **23b** kao smeđi prašak (13,3 mg; 20,2 %, t.t. = > 200 °C)

**23a:** <sup>1</sup>H-NMR δ: 8,83 (1H, s, H-3'), 8,80 (1H, s, H-6), 7,93 (2H, d, H-6', *J* = 8,4 Hz), 7,66 (2H, d, H-5', *J* = 9 Hz), 5,34 (2H, s, H-1'), 3,79 (2H, t, H-5''', *J* = 6,0 Hz), 3,70 (2H, t, H-5'', *J* = 6,0 Hz), 2,91 (2H, t, H-3''', *J* = 7,2 Hz), 2,65 (2H, t, H-3'', *J* = 6,6 Hz), 2,12–2,08 (2H, m, H-4'''), 2,05–2,01 (2H, m, H-4'') ppm.

<sup>13</sup>C-NMR δ: 170,1 (C-6), 159,5 (C-4), 154,2 (C-2), 143,6 (C-2'), 142,1 (C-8), 135,2 (C-7'), 132,9 (C-4'), 129,8 (C-5'), 121,9 (C-6'), 121,7 (C-3'), 106,3 (C-7), 97,9 (C-5), 96,0 (C-2''), 68,9 (C-1'''), 40,0 (C-5'''), 39,7 (C-5''), 30,8 (C-4'''), 29,5 (C-4''), 23,9 (C-3'''), 16,5 (C-3'') ppm.

**23b:** <sup>1</sup>H-NMR δ: 8,81 (1H, s, H-3'), 8,66 (H, s, H-8), 7,93 (2H, d, H-6', *J* = 9,0 Hz), 7,66 (2H, d, H-5', *J* = 8,4 Hz), 6,54 (1H, s, H-5), 5,30 (2H, s, H-1'), 3,70 (2H, t, H-5'', *J* = 6,0 Hz), 2,80 (2H, t, H-3'', *J* = 7,8 Hz), 2,10–2,06 (2H, m, H-4'') ppm.

<sup>13</sup>C-NMR δ: 171,9 (C-6), 157,1 (C-4), 154,7 (C-2), 144,1 (C-2'), 142,6 (C-8), 135,8 (C-7'), 133,4 (C-4'), 130,3 (C-5'), 122,6 (C-3'), 122,2 (C-6'), 107,0 (C-7), 100,7 (C-5), 46,1 (C-1'), 44,8 (C-5''), 29,8 (C-3''), 25,3 (C-4'') ppm.

***N*-1-[(4-(4-klorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil]-5-(4-pentilfenil)etin-1-il)-6-(4-pentilfenil)furo[2,3-*d*]pirimidin-2-on (24a)**

Nakon sušenja spoj **15** (70,0 mg; 0,17 mmol) se otopi u bezvodnom toluenu (8 ml) i dodani su CuI (9,8 mg; 0,05 mmol), (PPH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Pd (19,8 mg; 0,02 mmol), *N,N*-diizopropiletilamin (0,2 ml; 1,15 mmol) u atmosferi argona. Potom je dokapan 1-etinil-4-pentilbenzen (0,06 ml; 0,31 mmol). Reakcijska smjesa se zagrije na temperaturu od 80° C i ostavi se miješati preko noći te je potom dodan aktivni ugljen i Amberlit IRA-400. Reakcijska smjesa je odfiltrirana, a filtrat uparen. Ostatak je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH) i izoliran je spoj **24a** kao žuti prašak (20,9 mg; 19,9 %, t.t. = > 200 °C)

<sup>1</sup>H-NMR δ: 9,10 (1H, s, H-3'), 8,83 (1H, s, H-8), 8,08 (2H, d, H-6', *J* = 8,4 Hz), 7,84 (2H, d, H-5', *J* = 9,0 Hz), 7,63 (4H, dd, H-5'',5''', *J* = 9,0 Hz, *J* = 27,6 Hz), 7,44 (2H, d, H-4''', *J* = 8,4 Hz), 7,32 (2H, d, H-4'', *J* = 7,8 Hz), 5,39 (2H, s, H-1'), 1,64–1,57 (4H, m, H-7'',7'''), 2,67–2,62 (4H, m, H-8'',8'''), 1,33–1,28 (8H, m, H-9'',9''', 10'', 10'''), 0,87 (6H, t, H-11'',11''', *J* = 7,2 Hz) ppm.



$^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 169,8 (C-6), 154,3 (C-4), 154,2 (C-2), 145,2 (C-6'''), 144,2 (C-6''), 143,6 (C-2'), 143,4 (C-8), 135,3 (C-7'), 132,9 (C-4'), 131,4 (C-4'', 4'''), 129,9 (C-5'',5'''), 128,8 (C-5') 125,4 (C-3'), 121,6 (C-6'), 118,8 (C-3'',3'''), 107,4 (C-7), 98,2 (C-5), 95,3 (C-2''), 78,3 (C-1''), 46,2 (C-1'), 34,9 (C-7'', 7'''), 30,8 (C-9''), 30,7 (C-9'''), 30,3 (C-8''), 30,2 (C-8'''), 21,8 (C-10'', 10'''), 13,6 (C-11'', 11''') ppm.

***N-1-[(4-(4-klorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil]-5-(heksiletin-1-il)-6-heksil-furo[2,3-*d*]pirimidin-2-on (25a) i N-1-[(4-(4-klorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil]-6-heksil-furo[2,3-*d*]pirimidin-2-on (25b)***

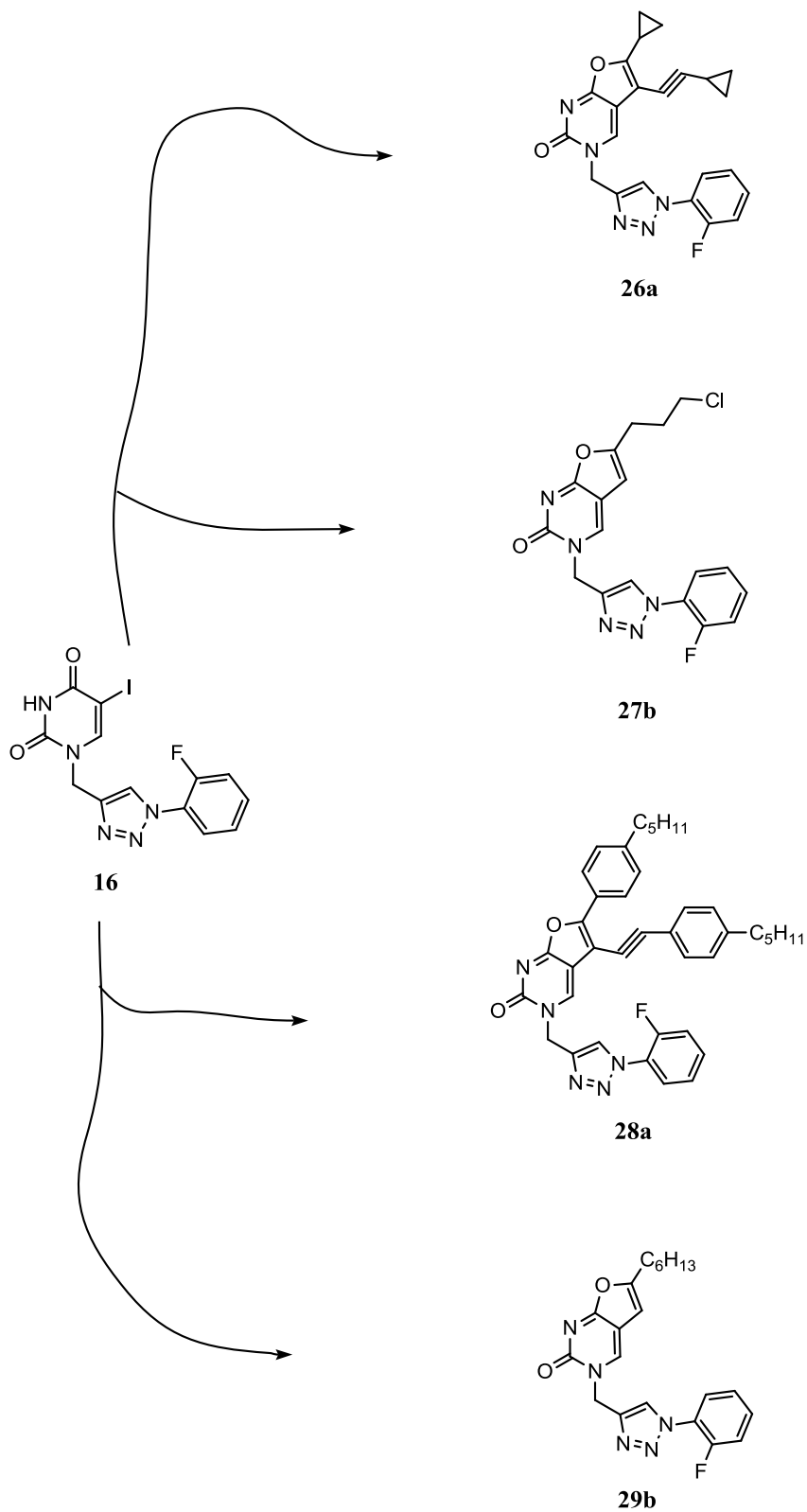
Nakon sušenja spoj **15** (70,0 mg; 0,17 mmol) se otopi u bezvodnom toluenu (8 ml) i dodani su CuI (9,8 mg; 0,05 mmol),  $(\text{PPH}_3)_4\text{Pd}$  (19,8 mg; 0,02 mmol), *N,N*-diizopropiletilamin (0,2 ml; 1,15 mmol) u atmosferi argona. Potom je dokapan okt-1-in (0,07 ml; 0,47 mmol). Reakcijska smjesa se zagrije na temperaturu od 80° C i ostavi se miješati preko noći te je potom dodan aktivni ugljen i Amberlit IRA-400. Reakcijska smjesa je odfiltrirana, a filtrat uparen. Ostatak je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ ) i izoliran je spoj **25a** kao žuti prašak (26,1 mg; 30,8 %, t.t. = > 200 °C) i spoj **25b** kao smeđi prašak (24,3 mg; 36,2 %, t.t. = > 200 °C)

**25a:**  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 8,79 (1H, s, H-3'), 8,76 (1H, s, H-6), 7,93 (2H, d, H-6',  $J=9,0$  Hz), 7,66 (2H, d, H-5',  $J=9,0$  Hz), 5,33 (2H, s, H-1'), 2,74 (2H, t, H-3''',  $J=7,2$  Hz), 2,61 (1H, s, H-3'), 2,38 (1H, s, H-3'), 1,65 (2H, dt, H-4''',  $J=6,6$  Hz  $J=13,8$  Hz), 1,56 (2H, dt, H-4''',  $J=7,2$  Hz  $J=15$  Hz), 1,43–1,28 (12H, m, H-5''',5''', 6''', 6'', 7'', 7'''), 0,88–0,84 (6H, m, H-8''', 8'') ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 170,6 (C-6), 161,2 (C-4), 154,7 (C-2), 144,2 (C-2'), 142,5 (C-8), 135,7 (C-7'), 133,4 (C-4'), 130,3 (C-5'), 122,4 (C-3'), 122,2 (C-6'), 106,9 (C-7), 98,1 (C-5), 97,8 (C-2''), 69,0 (C-1'''), 46,3 (C-1'), 31,2 (C-4'', 4'''), 28,4 (C-3'', 3'''), 26,9 (C-5'', 5'''), 22,4 (C-6'', 6'''), 19,3 (C-7'', 7'''), 14,3 (C-8'', 8''') ppm.

**25b:**  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 8,81 (1H, s, H-3'), 8,63 (1H, s, H-8), 7,63 (2H, d, H-6',  $J=9,0$  Hz), 7,59 (2H, d, H-5',  $J=9,0$  Hz), 6,47 (1H, s, H-5), 5,30 (2H, s, H-1'), 2,65 (2H, t, H-3'',  $J=7,8$  Hz), 1,62–1,60 (2H, m, H-7''), 1,29–1,23 (6H, m, H-4'', 5'', 6''), 0,87–0,85 (3H, m, H-8'') ppm.

### 3.2.4. PREGLED SINTETIZIRANIH HIBRIDA 4-(2-FLUORFENIL)TRIAZOLNIH DERIVATA FURO[2,3-*d*]PIRIMIDINA (26–29)



## POSTUPCI ZA PRIPRAVU SPOJEVA (26–29)

***N*-1-[(4-(2-fluorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil]-5-(ciklopropi1-etin-1-il)-6-ciklopropilfuro[2,3-*d*]pirimidin-2-on (26a)**

Nakon sušenja spoj **16** (70,0 mg; 0,17 mmol) se otopi u bezvodnom toluenu (8 ml) i dodani su CuI (9,8 mg; 0,05 mmol), (PPH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Pd (19,8 mg; 0,02 mmol), *N,N*-diizopropiletilamin (0,2 ml; 1,15 mmol) u atmosferi argona. Potom je dokapan ciklopropi1-etin (0,05 ml; 0,59 mmol). Reakcijska smjesa se zagrije na temperaturu od 80° C i ostavi se miješati preko noći te je potom dodan aktivni ugljen i Amberlit IRA-400. Reakcijska smjesa je odfiltrirana, a filtrat uparen. Ostatak je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH) i izoliran je spoj **26a** kao žuti prašak (25,3 mg; 35,9 %, t.t.= 105-106 °C).

<sup>1</sup>H-NMR δ: 8,75 (1H, s, H-3'), 8,57 (1H, s, H-8), 7,80 (1H, t, Ph-H, *J*= 6,3 Hz), 7,62–7,59 (2H, m, Ph-H), 7,43 (1H, t, Ph-H, *J*= 7,8 Hz), 5,33 (2H, s, H-1'), 2,16–2,10 (1H, m, H-3''), 1,64–1,57 (1H, m, H-3''), 1,13–0,78 (8H, m, H-5''', 5'', 4'', 4'') ppm.

<sup>13</sup>C-NMR δ: 169,6 (C-6) 161,1 (C-4), 154,2 (C-2), 153,8 (C-5', d, *J*= 250,66 Hz, C-F), 142,9 (C-2'), 141,3 (C-8), 131,3 (C-9', d, *J*= 3,55 Hz, C-F), 125,9 (C-3'), 125,5 (C-7', d, *J*= 4,53 Hz, C-F), 125,2 (C-8'), 124,6 (C-4', d, *J*= 10,57 Hz, C-F), 117,1 (C-6', d, *J*= 19,63 Hz, C-F), 106,9 (C-7), 100,4 (C-5), 95,7 (C-2''), 63,4 (C-1''), 45,6 (C-1'), 8,9 (C-3'''), 8,6 (C-4''', 5'''), 7,5 (C-4'', 5''), -0,1 (C-3'') ppm.

***N*-1-[(4-(2-fluorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil]-6-(3-klorpropil)furo[2,3-*d*]pirimidin-2-on (27b)**

Nakon sušenja spoj **16** (20,0 mg; 0,05 mmol) se otopi u bezvodnom toluenu (5 ml) i dodani su CuI (2,3 mg; 0,01 mmol), (PPH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Pd (5,6 mg; 0,01 mmol), *N,N*-diizopropiletilamin (0,1 ml; 0,57 mmol) u atmosferi argona. Potom je dokapan 5-klorpen-1-in (0,01 ml; 0,12 mmol). Reakcijska smjesa se zagrije na temperaturu od 80° C i ostavi se miješati preko noći te je potom dodan aktivni ugljen i Amberlit IRA-400. Reakcijska smjesa je odfiltrirana, a filtrat uparen. Ostatak je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH) i izoliran je spoj **27b** kao žuti prašak (10,2 mg; 54,1 %, t.t.= 170-171 °C).

<sup>1</sup>H-NMR δ: 8,71 (1H, s, H-3'), 8,60 (1H, s, H-8), 7,82 (1H, td, Ph-H, *J*= 1,5 Hz, *J*= 7,8 Hz), 7,66–7,53 (2H, m, Ph-H), 7,46–7,51 (1H, m, Ph-H), 6,56 (1H, s, H-5), 5,34 (2H, s, H-1'), 3,72 (2H, t, H-5'', *J*= 6,3 Hz), 2,81 (2H, t, H-3'', *J*= 7,2 Hz), 2,13–2,04 (2H, m, H-4'') ppm.

***N-1-[(4-(2-fluorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil]-5-(4-pentilfenil)etin-1-il)-6-(4-pentilfenil)furo[2,3-*d*]pirimidin-2-on (28a)***

Nakon sušenja spoj **16** (20,0 mg; 0,05 mmol) se otopi u bezvodnom toluenu (8 ml) i dodani su CuI (2,3 mg; 0,01 mmol), (PPH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Pd (5,6 mg; 0,01 mmol), *N,N*-diizopropiletilamin (0,1 ml; 0,57 mmol) u atmosferi argona. Potom je dokapan 1-etinil-4-pentilbenzen (0,06 ml; 0,31 mmol). Reakcijska smjesa se zagrije na temperaturu od 80° C i ostavi se miješati preko noći te je potom dodan aktivni ugljen i Amberlit IRA-400. Reakcijska smjesa je odfiltrirana, a filtrat uparen. Ostatak je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH) i izoliran je spoj **28a** kao žuti prašak (15,0 mg; 49,34 %, t.t.= 165-166 °C).

<sup>1</sup>H-NMR δ: 9,13 (1H, s, H-3'), 8,63 (1H, s, H-8), 8,08 (2H, d, H-4'', *J*= 8,4 Hz), 7,94–7,79 (2H, m, H-4'), 7,63–7,56 (4H, m, H-9', 8', 7', 6'), 7,44 (2H, d, H-5''', *J*= 8,4 Hz), 7,33 (2H, d, H-5'', *J*= 8,4 Hz), 5,41 (2H, s, H-1'), 2,66–2,61 (4H, m, H-7''', 7''), 1,67–1,50 (4H, m, H-8''', 8''), 1,31–1,03 (8H, m, H-9''', 9'', 10''', 10''), 0,87 (6H, t, H-11''', 11'', *J*= 6,0 Hz) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR δ: 170,3 (C-6), 164,6 (C-4), 155,9 (C-2), 153,8 (C-5'), 145,7 (C-6'''), 144,7 (C-6''), 143,9 (C-8), 143,3 (C-2'), 131,9 (C-9'), 131,9 (C-5''', 5''), 129,7 (C-4''', 4''), 129,3 (C-7'), 127,3 (C-3''', 3''), 126,4 (C-3'), 126,0 (C-8'), 125,9 (C-4'), 117,7 (C-6'), 107,9 (C-7), 98,6 (C-5), 93,8 (C-2''), 78,8 (C-1''), 46,5 (C-1'), 31,3 (C-7''', 7''), 30,8 (C-9''', 9''), 29,1 (C-8''', 8''), 22,4 (C-10''', 10''), 14,4 (C-11''', 11'') ppm.

***N-1-[(4-(2-fluorfenil)-1,2,3-triazol-1-il)metil]-6-heksil-furo[2,3-*d*]pirimidin-2-on (29b)***

Nakon sušenja spoj **16** (20,0 mg; 0,05 mmol) se otopi u bezvodnom toluenu (5 ml) i dodani su CuI (2,3 mg; 0,01 mmol), (PPH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Pd (5,6 mg; 0,01 mmol), *N,N*-diizopropiletilamin (0,1 ml; 0,57 mmol) u atmosferi argona. Potom je dokapan 1-oktin (0,01 ml; 0,07 mmol). Reakcijska smjesa se zagrije na temperaturu od 80° C i ostavi se miješati preko noći te je potom dodan aktivni ugljen i Amberlit IRA-400. Reakcijska smjesa je odfiltrirana, a filtrat uparen. Ostatak je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH) i izoliran je spoj **29b** kao žuti prašak (14,9 mg; 77,9 %, t.t.= 145-144 °C).

<sup>1</sup>H-NMR δ: 8,68 (1H, s, H-3'), 8,60 (1H, s, H-8), 7,82 (1H, td, Ph-H, *J*=1,5 Hz, *J*= 7,8 Hz), 7,67–7,57 (2H, m, Ph-H), 7,47–7,41 (1H, m, Ph-H), 6,48 (1H, s, H-5), 5,33 (2H, s, H-1'), 2,66 (2H, t, H-3'', *J*= 1,5 Hz), 1,66–1,57 (2H, m, H-7''), 1,36–1,24 (6H, m, H-4'', 5'', 6''), 0,87 (3H, t, H-8'', *J*= 6,8 Hz) ppm.

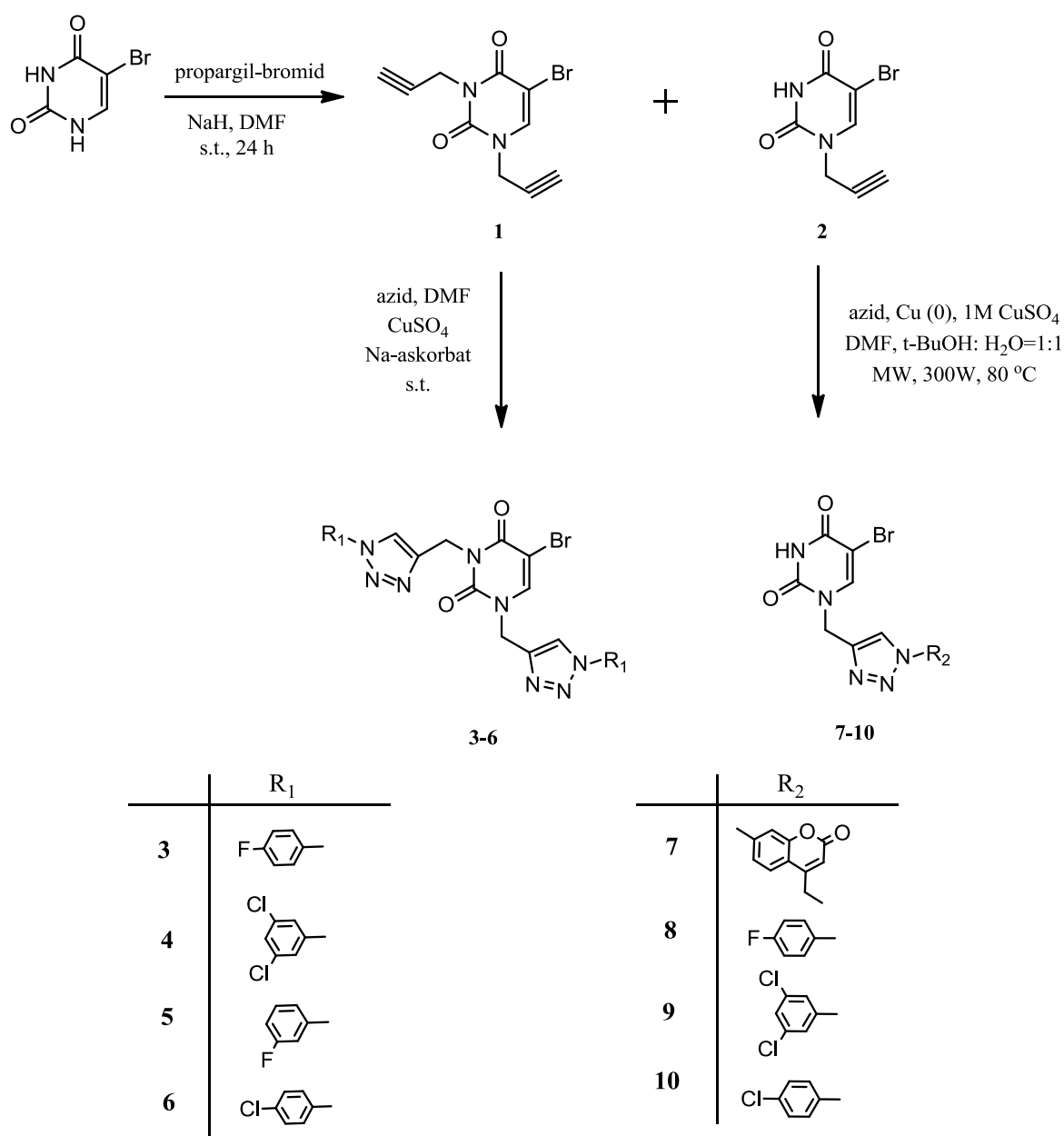
$^{13}\text{C}$ -NMR  $\delta$ : 171,6 (C-6), 164,5 (C-4), 158,4 (C-2), 153,8 (C-5', d,  $J= 250,30$  Hz, C-F), 142,8 (C-2''), 141,5 (C-8), 131,9 (C-9', d,  $J= 2,5$  Hz, C-F), 125,5 (C-7', d,  $J= 3,78$  Hz, C-F) 125,9 (C-3'), 125,5 (C-8'), 124,6 (C-4', d,  $J= 10,70$  Hz, C-F), 117,1 (C-6', d,  $J= 19,48$  Hz, C-F), 106,7 (C-7), 99,5 (C-5) 45,6 (C-1'), 30,8 (C-3''), 27,9 (C-6''), 27,3 (C-5''), 26,3 (C-4''), 21,9 (C-7''), 13,8 (C-8'') ppm.

## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

#### 4.1. SINTEZA SPOJEVA

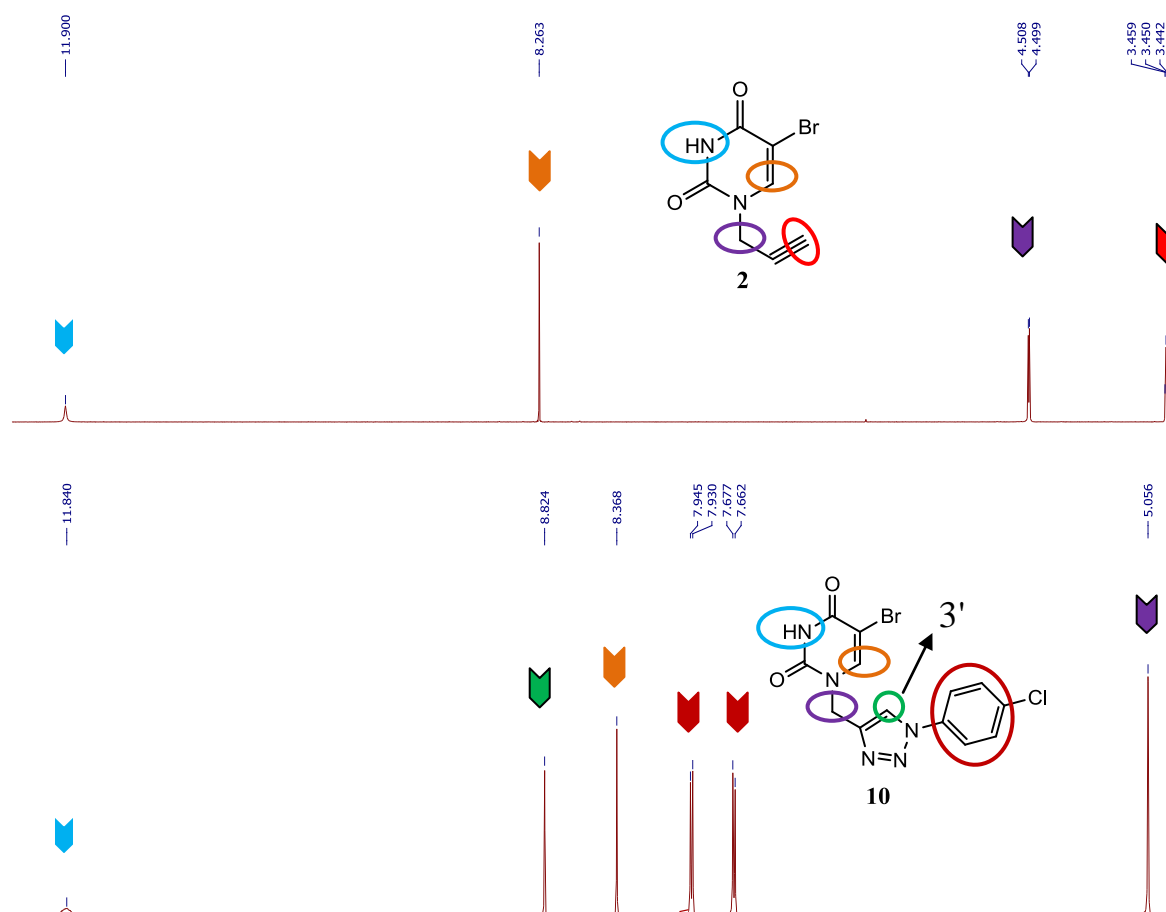
##### 4.1.1. SINTEZA HIBRIDA 1,2,3-TRIAZOLNIH DERIVATA I URACILA

Sinteza N-1 monosupstituiranih i N-1,N-3 disupstituiranih triazolnih derivata<sup>41</sup> 5-bromuracila provedena je reakcijom propargil-bromida i 5-bromuracil koji je prethodno preveden u anion pomoću jake baze NaH. U reakciji su izolirana dva produkta, N-1,N-3-dipropargilni derivat 5-bromuracila (**1**) i N-1-propargilni derivat (**2**) uz pretežito nastajanje monosupstituiranog derivata (**1**).



Slika 11. Reakcijska shema za sintezu triazolnih derivata 5-bromuracila.

Nakon sinteze terminalnih alkina (**1**) i (**2**) potrebnih za sintezu 1,4-disupstituiranih triazolnih derivata, odabrani su odgovarajući aromatski azidi *p*-flourfenil-azid, 3,5-diklorfenil-azid, *m*-flourfenil-azid, *p*-klorfenil-azid i kumarinski azid, prikazani na slici 11. Priprava N-1 i N-3 disupstituiranih hibrida 1,2,3-triazola i pirimidina **3–6** provedena je pomoću odgovarajućeg aromatskog azida, natrijeva askorbata, bakrovog (II) sulfata pentahidrata, pri sobnoj temperaturi. Spojevi **3–6** su sintetizirani s iskorištenjem reakcije između 20,0–40,0%. Sinteza N-1 monosupstituiranih hibrida 1,2,3-triazola i pirimidina (**7–10**) odvijala se je u mikrovalnom reaktoru pri temperaturi od 80 °C i 300 W uz katalizatore Cu(0), 1M CuSO<sub>4</sub> u smjesi otapala DMF, voda i *tert*-butilni alkohol u omjeru 1:1. Spojevi **7–10** su dobiveni u nešto većem iskorištenju (30,0–55,0%) u odnosu na disupstituirane 1,2,3-triazolne derivate (**3–6**). Uspoređujući ove dvije sintetske metode možemo zaključiti da je sinteza uz pomoć mikrovalova povoljniji sintetski put što potvrđuje kraće vrijeme reakcije, bolje iskorištenje i okolišu prihvatljiv izbor smjese otapala vode i organskih otapala.

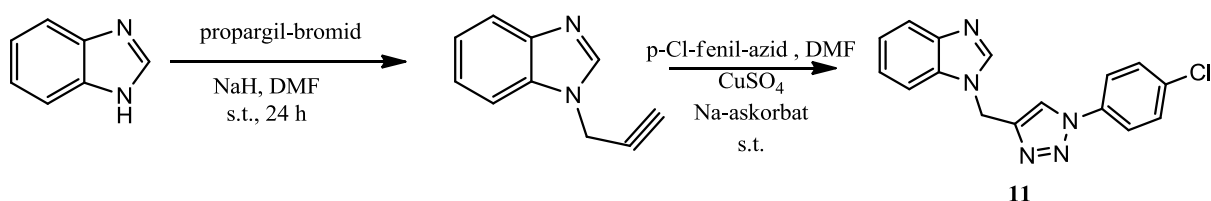


Slika 12. Spektar <sup>1</sup>H-NMR spojeva **2** i **10**.

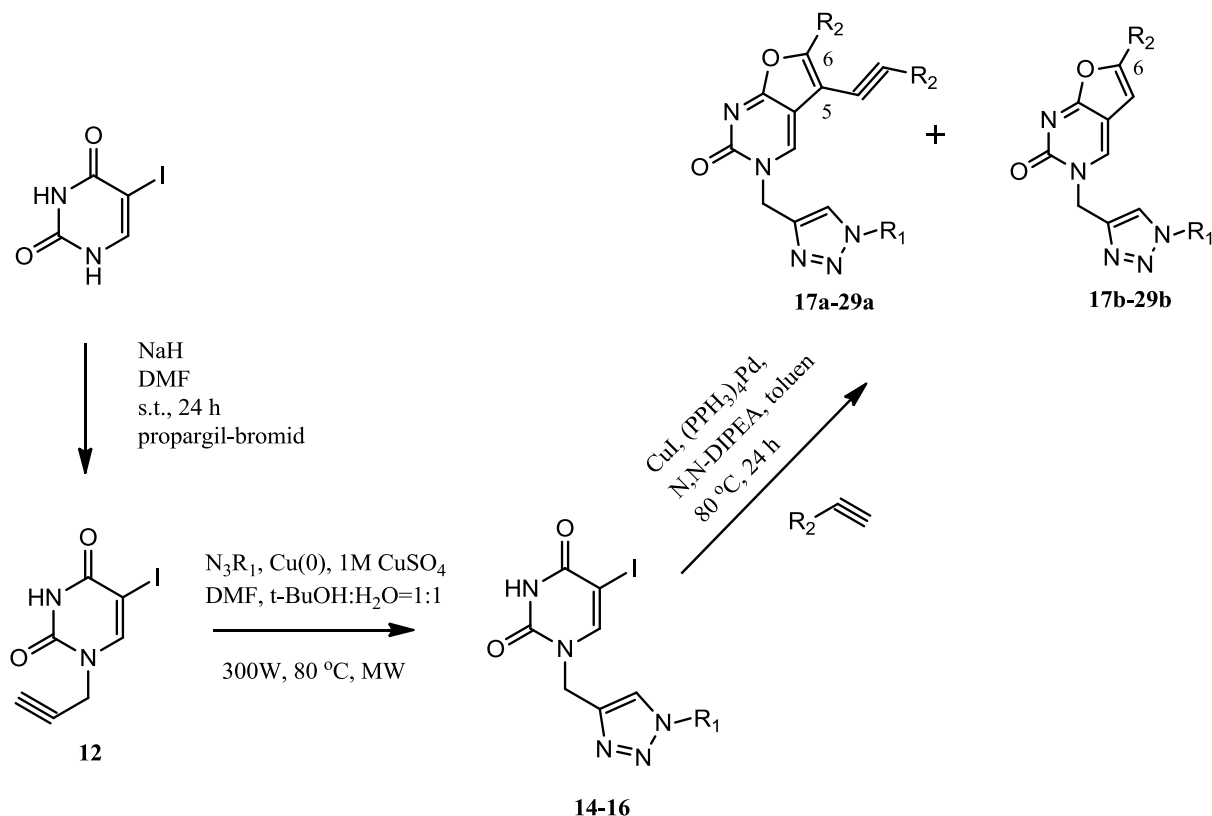


Provedena je strukturna karakterizacija spojeva primjenom spektroskopije  $^1\text{H}$ - i  $^{13}\text{C}$ -NMR. Tako je u  $^1\text{H}$ -NMR spektrima novih 1,4-disupstituiranih triazola vidljiv signal protona u području nižih polja oko 8,8 ppm koji je pripisan protonu H-3' 1,2,3-triazolnog prstena (slika 12). Također su u spektrima prisutni su protoni fenilnog prstena (7,95 i 7,67 ppm). Metilenski protoni vezani na N-1 spoja **10** su u odnosu na polazni propargilni derivat **2** (4,50 ppm) pomaknuti prema višim poljima (5,06 ppm).

Nadalje, hibrid benzimidazola i 1,2,3-triazola supstituiranog s *p*-klorfenilom **11** pripremljen je primjenom katalizatora  $\text{CuSO}_4$  i Na-askorbata preko noći uz iskorištenje 24,0 %.



Slika 13. Reakcijska shema za sintezu hibrida benzimidazola i 1,2,3-triazola.

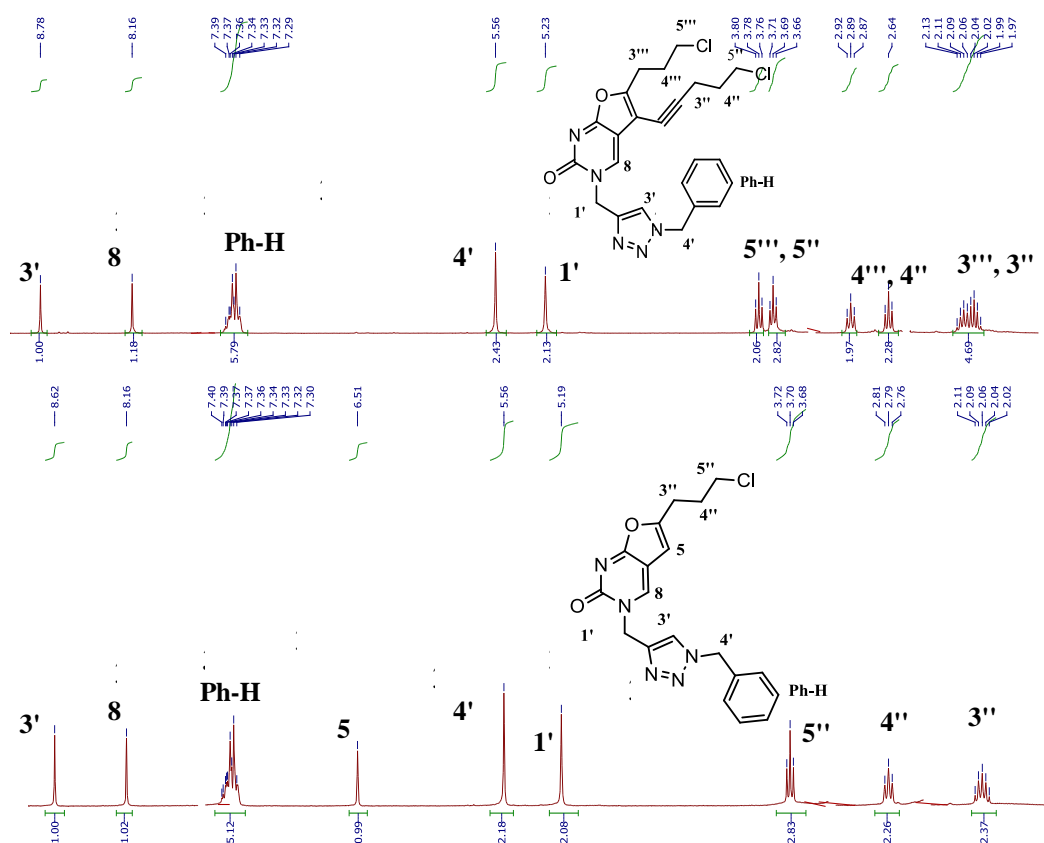
4.1.2. SINTEZA HIBRIDA 1,2,3-TRIAZOLNIH DERIVATA I FURO[2,3-*d*]PIRIMIDINA


	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	14	15	16
14			17a / 17b	22a / 22b	26a
15			18a / 18b	23a / 23b	27b
16			19a / 19b	24a	28a
			20a / 20b	-	-
			21a / 21 b	25a / 25b	29 b

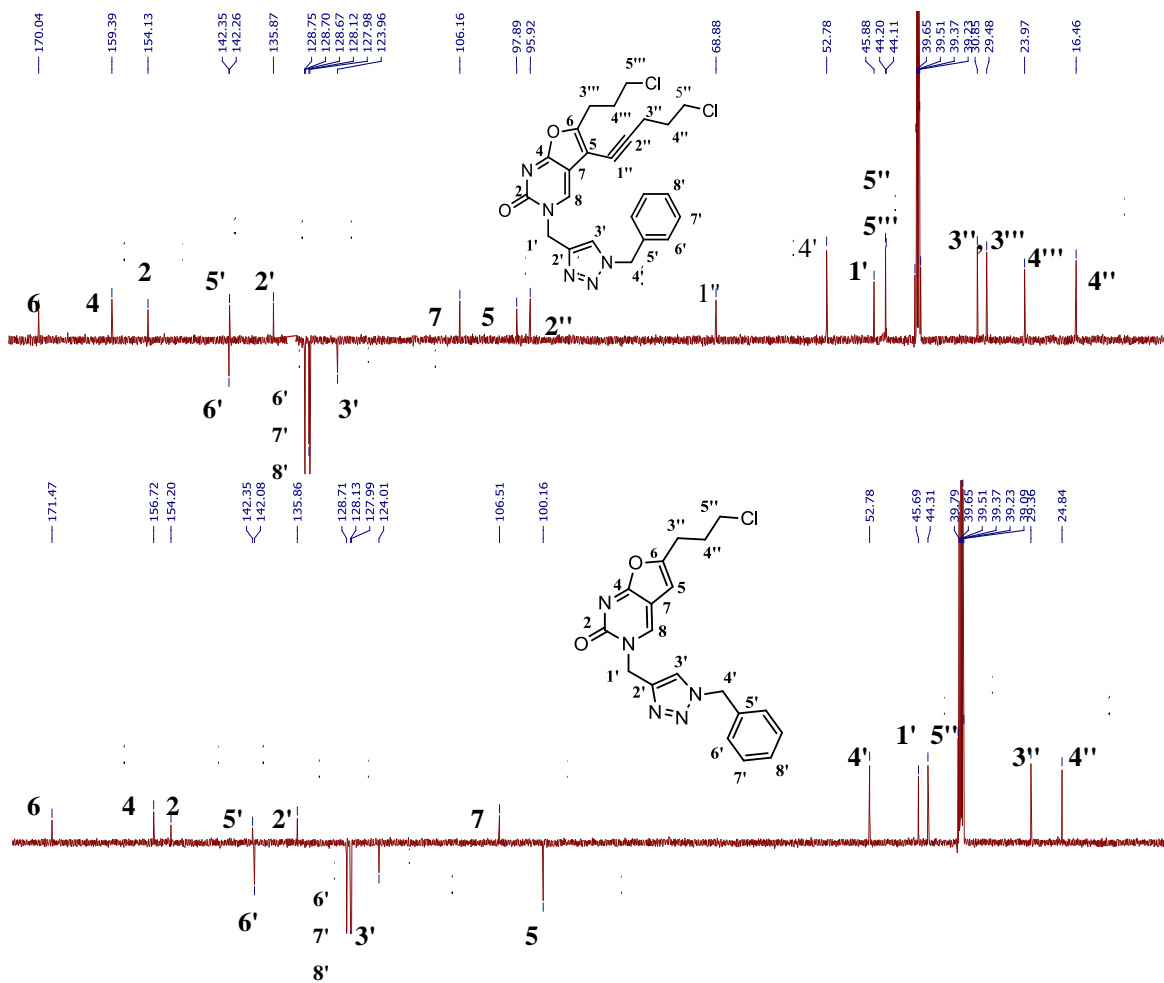
**Slika 14.** Reakcijska shema za sintezu hibrida 1,2,3-triazolnih derivata furo[2,3-*d*]pirimidina.

N-1 triazolni derivati 5-joduracila (**14–16**) pripravljeni su „klik“ reakcijom, potpomognutom mikrovalovima, propargilnog derivata 5-joduracila i odgovarajućih azida bezil-azid, *p*-klorfenil-azid i *o*-flourfenil-azid (slika 14). Triazolni derivati 5-joduracila koji sadrže benzilni i *p*-klorfenilni supstituent na položaju N-1 triazola sintetizirani su u vrlo

dobrom iskorištenju (54,5 % i 62,8 %), dok je iskorištenje u sintezi triazolnog derivata 5-joduracila s *o*-fluorfenilnim supstituentom bilo nisko (10,0 %). Potom je provedena Sonogashira-ina reakcija<sup>6</sup> spojeva **14–16** uz paladij kao katalizator (Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>), CuI kao ko-katalizator i *N,N*-diizopropiletilamin. U reakciji su izabrani sljedeći alkinini: ciklopropiletin, 5-klorpent-1-in, 1-etinil-4-pentilbenzen, 1-etinil-4-brombenzen i 1-oktin. Uvjeti Sonogashira-ine reakcije su nešto izmijenjeni jer je reakcija provedena pri temperaturi od 80 °C. U navedenoj su reakciji sintetizirani biciklički furo[2,3-*d*]pirimidinski derivati. Uz 6-supstituirane furo[2,3-*d*]pirimidine **17b–29b**, kao očekivane produkte reakcije, izolirani su i 5,6-disupstituirani furo[2,3-*d*]pirimidinski derivati **17a–29a** koji su nastali kao posljedica naknadnog uvođenja alkinilnih supstituenata u položaju C-5 furanskog prstena. Iskorištenja za spojeve (**17a–29a**) su u rasponu 20,0–70,0 %, a za spojeve (**17b–29b**) 10,0–50,0 % pa možemo zaključiti da su u Sonogashira-inim reakcijama glavni produkti C-5 i C-6 disupstituirani derivati furo[2,3-*d*]pirimidina (**17a–29a**).



Slika 15. Usporedba spektara <sup>1</sup>H-NMR spojeva **18a** i **18b**.



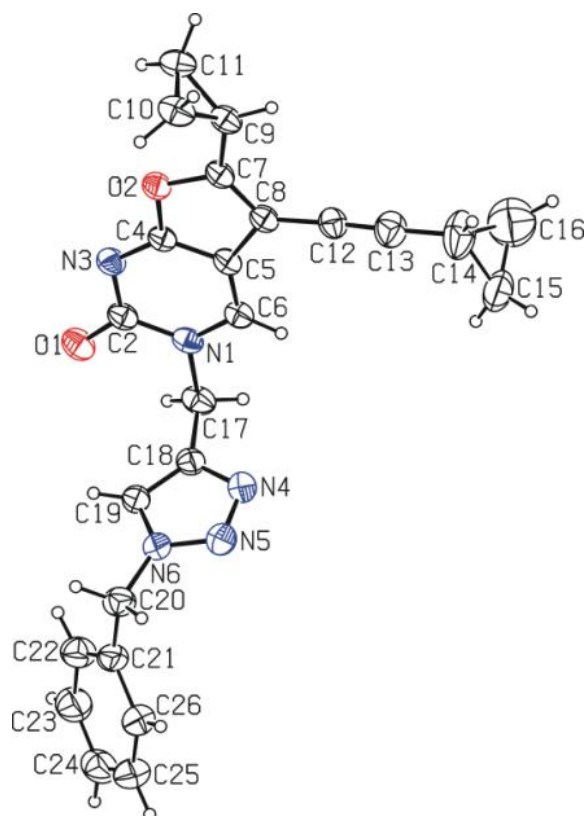
Slika 16. Usporedba spektara  $^{13}\text{C}$ -NMR spojeva **18a** i **18b**.

Strukturna karakterizacija produkata dobivenih Sonogashira-inom reakcijom može se objasniti na primjeru spojeva **18a** i **18b** (slike 15 i 16). Na spektrima NMR-a, uočeni su svi signali koji odgovaraju pretpostavljenoj strukturi. Važno je uočiti signal za proton H-3' triazolnog prstena oko 8,8 ppm (slika 15). Također, u spektru  $^1\text{H}$ -NMR 6-supstituiranog pirimidinskog derivata **18b**, vidljivi su i signali za vodikove atome alkilnih grupa (H-3'''–5''' i H-3''–5'') u području viših polja između 0–4 ppm (slika 15). U spektru koji odgovara 5,6-disupstituiranom derivatu **18a**, signali koji odgovaraju alkinilnom pobočnom lancu su udvostručeni. Nadalje, potvrda da dolazi do zatvaranja furanskog prstena kod C-6 derivata furo[2,3-*d*]pirimidina je pojavljivanje signala za proton H-5 oko 6,5 ppm.

U spektru  $^{13}\text{C}$ -NMR spoja **18b**, jasno su vidljivi signali koji odgovaraju ugljikovim atomima etina na C-1'' (68,9 ppm) i C-2'' (95,9 ppm). Spomenuti signali nisu vidljivi u spektru  $^{13}\text{C}$ -NMR 6-supstituiranog furopirimidinskog derivata **18a**. S obzirom na neočekivanost nastalih 5,6-disupstituiranih produkata, uz spektre NMR, konačna potvrda strukture dobivena je snimanjem kristalografske strukture spoja **17a**.

#### 4.2. KRISTALOGRAFSKA STRUKTURA SPOJA 17a

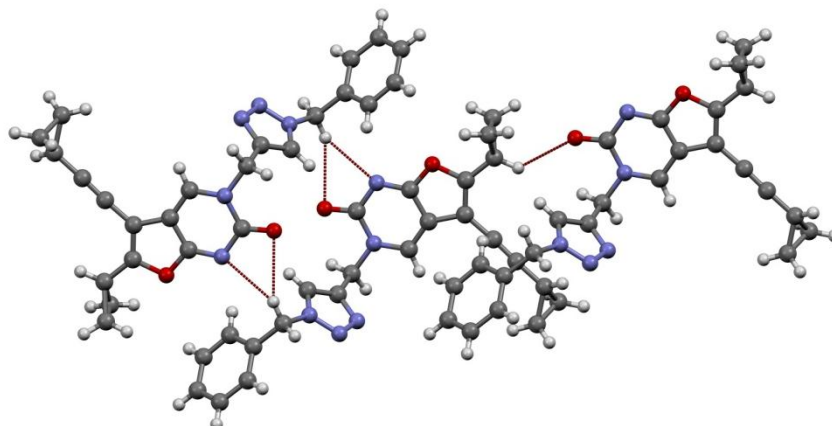
Kristalna struktura spoja **17a** određena je rendgenskom strukturnom analizom, a njegova molekulska struktura prikazana je na slici 17. U spoju **17a**, na atom C7 bicikličkog furo[2,3-*d*]pirimidina izravno je vezan ciklopropanski prsten C9–C11, na atom C8 etinilciklopropanski lanac, a na dušikov atom N1 vezan je 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazolni prsten. Ciklopropanski prsten C9–C11 i peteročlani prsten O2/C4/C5/C7/C8 na kojem je ciklopropanski prsten vezan međusobno su okomiti. Diedarski kut između ravnina prstenova iznosi  $84,7(2)^\circ$ . Također, okomiti su i šesteročlani prsten N1/N3/C2/C4/C5/C6 i triazolni prsten N4/N5/N6/C18/C19, no vrijednost diedarskog kuta odstupa nešto više od idealne vrijednosti koja iznosi  $90^\circ$  [iznosi  $73,24(14)^\circ$ ]. Zbog stvaranja bicikličkog prstena vezni kut N3–C4–C5 u šesteročlanom prstenu N1/C2/N3/C4/C5/C6 je značajno proširen i iznosi  $128,97(19)^\circ$ . Ipak, zbroj svih endocikličkih veznih kuteva u prstenu iznosi  $720^\circ$ , kao što se i očekuje za aromatski šesteročlani prsten.



Slika 17. Molekulska struktura spoja **17a**

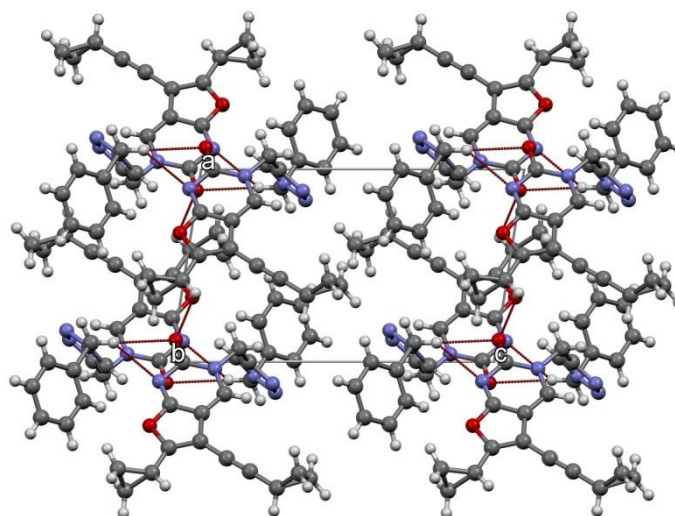
Molekule spoja **17a** međusobno su povezane dvjema C–H···O i jednom C–H···N vodikovom vezom (slika 18). Dvije od navednih interakcija, jedna C–H···N vodikova veza [C20···N3;  $3,421(3)$  Å] i jedna C–H···O vodikova veza [C20···O1;  $3,563(3)$  Å] stvaraju dimere. Kako je atom C20 donor protona za obje navedene veze, ovo je ujedno i primjer trocentrične vodikove

veze. Dimeri su dalje povezani jednom dodatnom C–H···O vodikovom vezom [C9···O1; 3,221(3) Å] u jednodimenzijske lance.



**Slika 18.** Dio kristalne strukture spoja **17a**, koji prikazuje jednodimenzijski lanac stvoren dvjema C–H···O i jednom C–H···N vodikovom vezom.

Atom O1 akceptor je dviju C–H···O vodikovih veza te na taj način od lanaca nastaju dvodimenzijske vrpce (slika 18). Slika kristalnog pakiranja također otkriva da ciklopropanski i fenilni prstenovi stvaraju hidrofobne slojeve između vrpca.



**Slika 19.** Kristalno pakiranje spoja **17a**, prikazano duž kristalografske osi *b*, koje prikazuje dvodimenzijske vrpce nastale vodikovim vezama te hidrofobne slojeve između njih.

### 4.3. Ispitivanje antitumorskog djelovanja *in vitro*

Antitumorsko djelovanje spojeva **3–11** ispitivalo se na šest staničnih linija: HeLa (karcinom vrata maternice), SW620 (karcinom debelog crijeva), Hep-G2 (karcinom jetre), CFPAC-1 (karcinom gušterače), A549 (karcinom pluća) i 3T3 (normalne fibroblaste porijeklom iz miša) (tablica 2).

**Tablica 2:** Rezultati antitumorskih ispitivanja za spojeve od **3–11**.

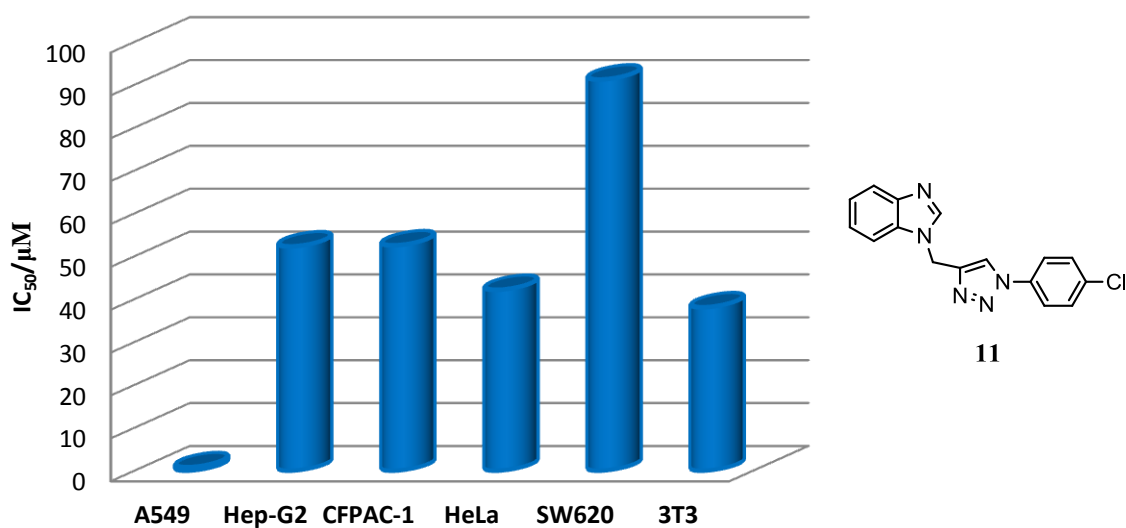
uzorak	IC <sub>50</sub> (μM)					
	Stanične linije					
	A549	Hep-G2	CFPAC-1	HeLa	SW620	3T3
<b>3</b>	25,49	4,47	6,87	12,58	9,82	<b>0,07</b>
<b>4</b>	95,79	42,73	>100	>100	>100	<b>4,3</b>
<b>5</b>	<b>5,33</b>	<b>7,11</b>	<b>4,53</b>	<b>1,64</b>	<b>7,86</b>	<b>0,59</b>
<b>6</b>	<b>7,41</b>	<b>3,62</b>	<b>5,92</b>	<b>6,13</b>	<b>5,63</b>	<b>0,37</b>
<b>7</b>	70,27	40,75	62,74	56,36	89,58	<0,01
<b>8</b>	64	68,93	>100	72,9	>100	50,79
<b>9</b>	80,68	<b>7,66</b>	<b>5,51</b>	<b>8,42</b>	<b>9,87</b>	<b>1,16</b>
<b>10</b>	40,93	19,14	39,54	33,28	>100	<b>6,7</b>
<b>11</b>	<b>0,79</b>	52,31	52,55	42,17	91,23	38,1

IC<sub>50</sub>, koncentracija spoja koja inhibira 50% tumorskih stanica.

Rezultati antitumorskih ispitivanja pokazali su da je benzimidazolni derivat (**11**) imao najučinkovitije djelovanje na karcinom pluća (A549) (IC<sub>50</sub> = 0,79 μM). Spoj **11** je pored toga pokazao i selektivno djelovanje. Spojevi **5**, **6** i **9** imali su također snažno inhibitorno djelovanje na tumorske stanice (IC<sub>50</sub> = 1,64–9,87 μM). N-1,N-3 disupstituirani 5-bromuracil **3** koji sadrži *p*-fluorfenilni supstituent na triazolnom prstenu znatno je inhibirao karcinom

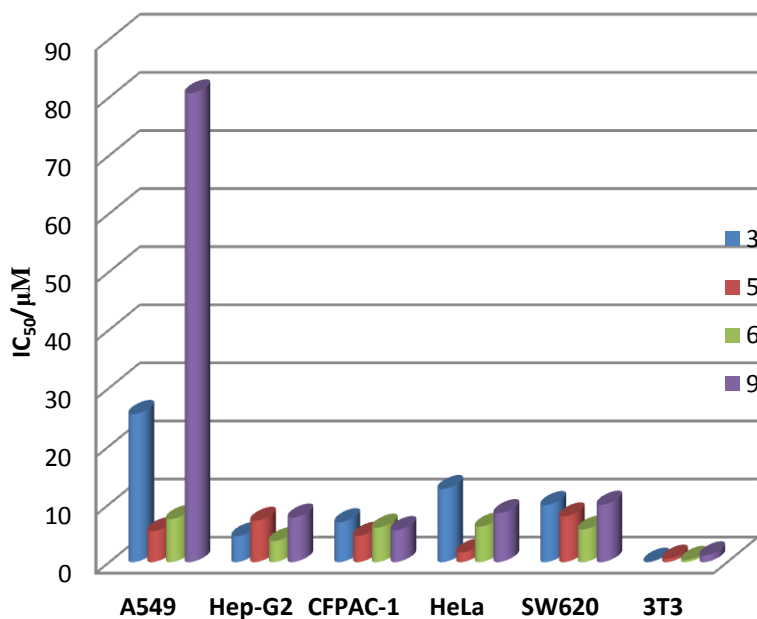
debelog crijeva ( $IC_{50} = 9,82 \mu M$ ), karcinom jetre ( $IC_{50} = 4,47 \mu M$ ) i karcinom gušterače ( $IC_{50} = 6,87 \mu M$ ). Međutim spojevi **3**, **5**, **6** i **9** su inhibirali i normalne mišje stanice (T3T).

Korelacija između strukture i biološke aktivnosti ukazala je da su N-1,N-3 disupstituirani derivati 5-bromuracila (**3**, **5** i **6**) aktivniji u odnosu na N-1 monosupstituirane derivate 5-bromuracila. Strukturno različit spoj **11**, koji umjesto pirimidina sadrži benzimidazol, odabran je za daljnje optimiranje strukture.

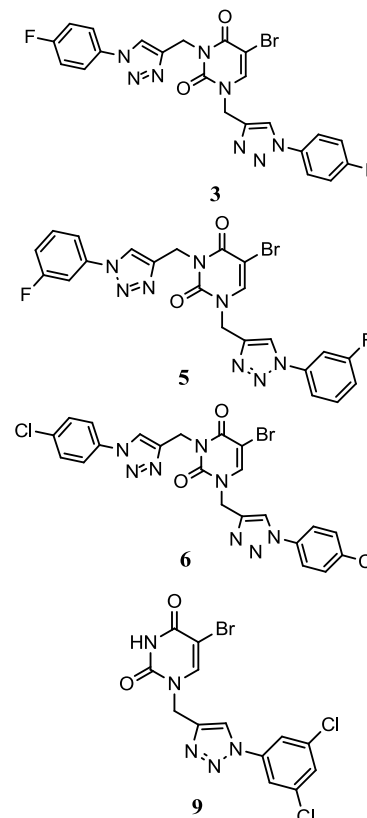


**Slika 18** : Antitumorsko djelovanje spoja **11** na odabrane tumorske stanice i normalne mišje stanice





**Slika 19:** Antitumorsko djelovanje spojeva **3**, **5**, **6** i **9**



Nadalje, u tijeku je antiproliferativno ispitivanje preostalih spojeva **17a–29a** i **17b–29b**.

#### 4.4. Molekulsko modeliranje

Budući da novosintetizirani spojevi (slika 21) pripadaju klasi dušikovih heterocikla skupine hibrida 1,2,3-triazola i 5-bromuracila, kao moguću ciljnu biološku molekulu odabrao sam timidilat-sintetazu (TS) je su strukturno oponašaju prirodne nukleozide. Poznati inhibitori tog enzima: tomudeks, nolatreks, pemetreks i metotreksat (slika 20), su također iz skupine dušikovih heterocikla i upotrebljavaju se kao kemoterapeutici u liječenju karcinoma<sup>40</sup>. Oni pripadaju u skupinu antifolata jer se vežu na mjesto ko-faktora enzima TS pri čemu nastaje kompleks 5,10-metilentetrahidrofolat s enzimom i supstratom dUMP (deoksiuridin-monofosfat) te time zaustavljaju sintezu dTMP (deoksitimidin-monofosfat). Ta enzimski katalizirana reakcija važna je za sintezu građevnih blokova DNK i RNK, a inhibiranjem enzimske reakcije u tumorskim stanicama onemogućena je progresivna dioba stanica .

Kao prvi stupanj u testiranju te pretpostavke primijenjeno je molekulsko modeliranje, koje je znatno jeftinije od primjene *in vitro* bioloških testiranja i jedan je od temeljnih pristupa u racionalnom dizajnu novih inhibitora. Molekulsko modeliranje obuhvaća primjenu raznih teorijskih pristupa i računalnih tehnika s ciljem da se opiše i razumije ponašanje molekula. U ovom radu primijenio sam računsku tehniku molekuskog uklapanja (engl. molecular

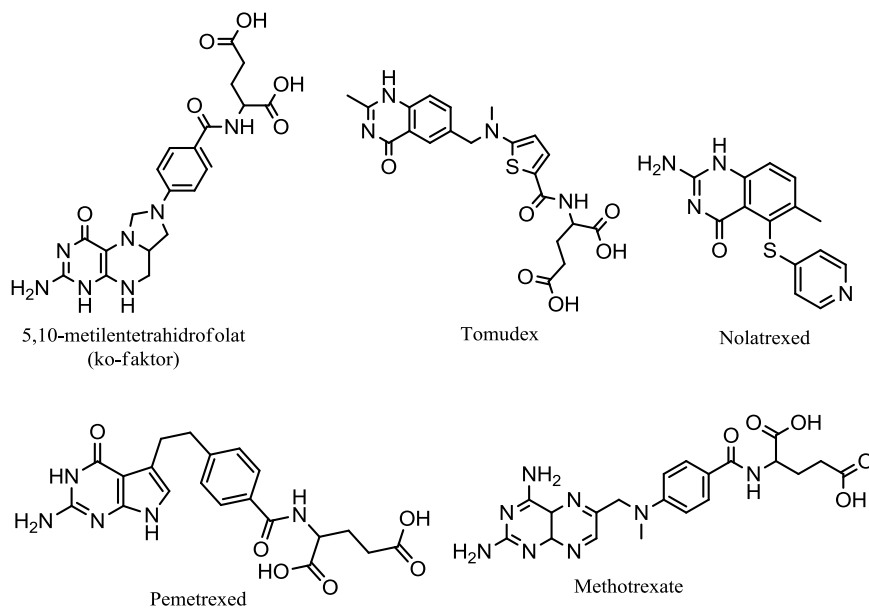
docking) pomoću programa AutoDock 4<sup>42</sup>. Molekulsko uklapanje zahtijeva poznavanje 3D strukture proteina kao i mehanizam djelovanja enzima i njegovih inhibitora.

Iz baze RCSB Protein Data Bank (PDB, <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>) preuzeta je kristalna struktura 1HVY TS-e u kompleksu sa supstratom dUMP i inhibitorom tomudeskom (raltitreksetom). Kao referentne molekule za procjenu načina i jačine vezanja uzeti su 5,10-metilentetrahidrofolat i komercijalni inhibitori TS-e prikazani na slici 20. Za testiranje moguće aktivnosti novosintetiziranih spojeva na TS-u, odabrani su spojevi koji su pokazali citotoksičnu aktivnost na razne vrste staničnih linija (tablica 2).

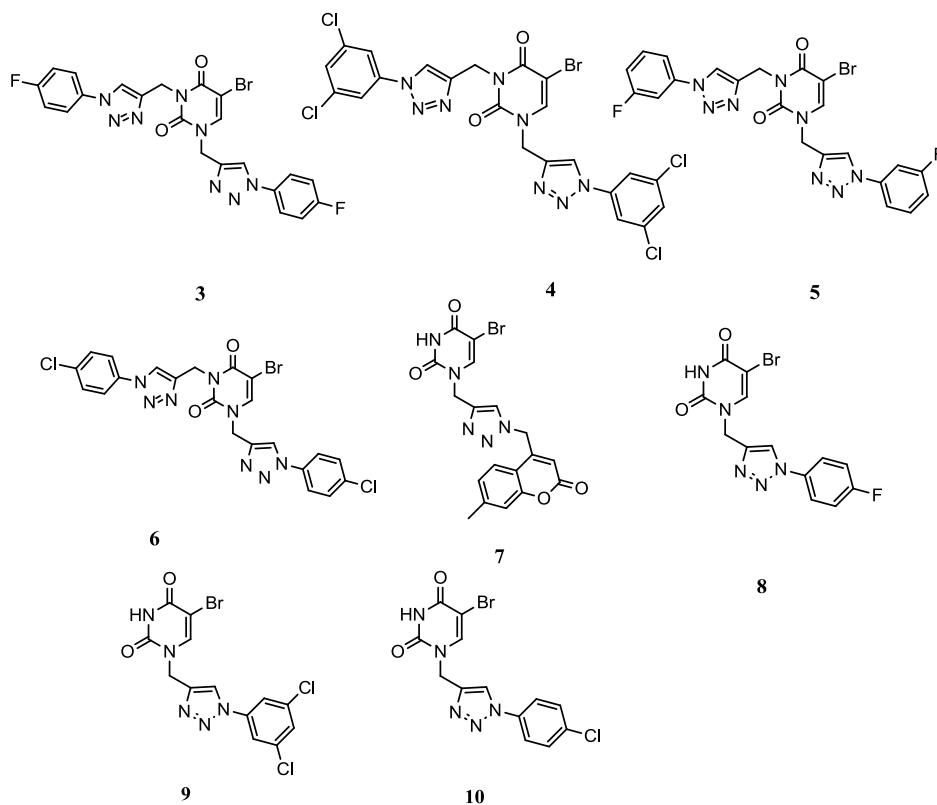
**Tablica 3.** Izračunate vrijednosti relativne molekulske mase ( $M_r$ ), oktanol-voda particijskog koeficijenta (logP) i energija vezanja za poznate inhibitore TS i ko-faktor TS-e i 8 novih spojeva.

<b>Spoj</b>	<b>Mr</b>	<b>logP</b>	<b>Energija vezanja (kcal)</b>
<b>tomudeks</b>	458,496	-0,671	-10,93
<b>5,10-metilentetrahidrofolat</b>	457,447	-2,326	-10,54
<b>nolatreks</b>	284,344	1,819	-8,62
<b>pemereks</b>	427,417	-1,529	-10,35
<b>metotreksat</b>	456,463	-3,061	-8,94
<b>Novosintetizirani spojevi</b>			
<b>3</b>	541,316	2,569	-10,2
<b>4</b>	643,116	5,655	-11,04
<b>5</b>	541,316	2,944	-10,08
<b>6</b>	574,226	3,597	-10,6
<b>7</b>	444,245	1,899	-9,27
<b>8</b>	366,150	1,314	-8,4
<b>9</b>	417,050	2,857	-8,39
<b>10</b>	382,605	1,828	-8,65

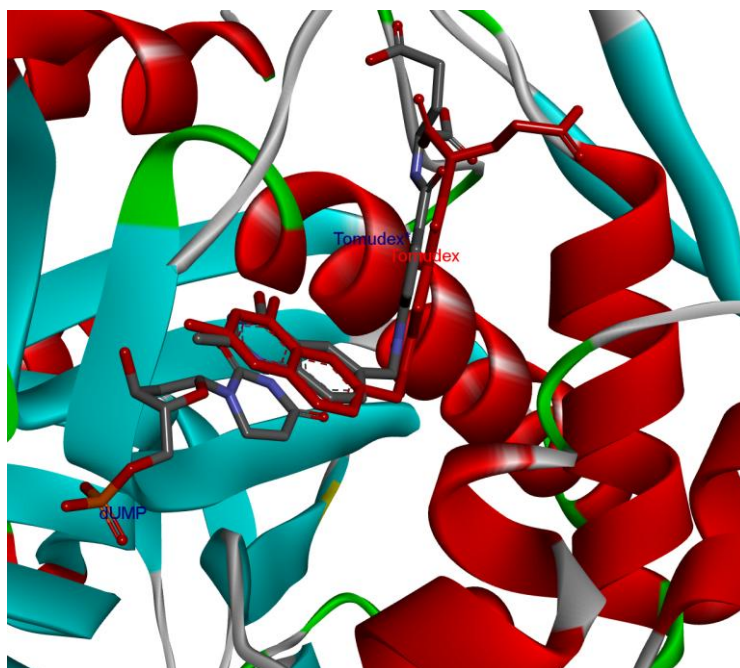
\*Vrijednosti logP izračunate su pomoću web programa Molinspiration (<http://www.molinspiration.com/>).



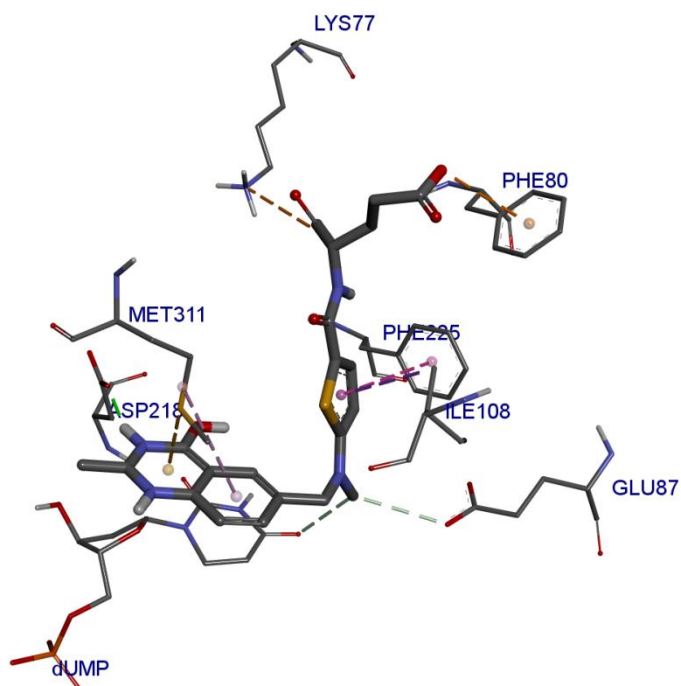
**Slika 20.** Kofaktor i inhibitori TS upotrebljeni kao referentne molekule za procjenu načina i jakosti vezanja novosintetiziranih derivata u vezno mjesto koenzima TS-e.



**Slika 21.** Osam novosintetiziranih spojeva odabranih za *in silico* analizu vezanja na TS.

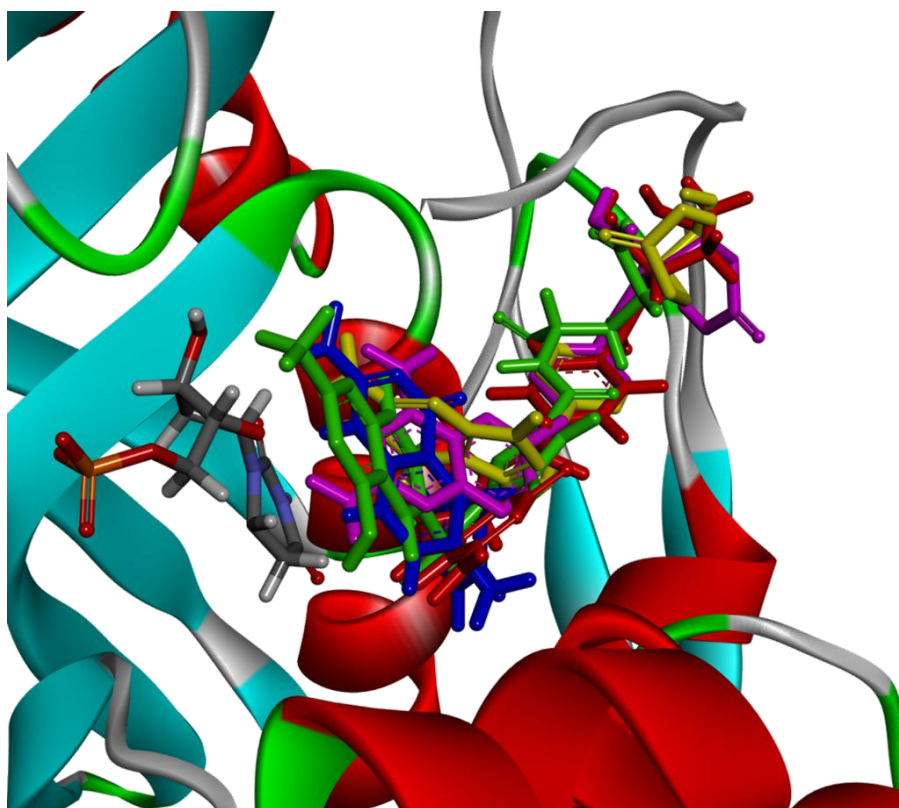


**Slika 22.** Usporedba mjesta vezanja tomudeksa iz kristalne strukture 1HVY i mjesta vezivanja predviđenim postupkom molekuskog uklapanja (označen crvenom bojom).



**Slika 23.** Interakcije enzima i inhibitora tomudeksa u aktivnom mjestu.

Molekulsko uklapanje je ispravno predvidjelo način vezanja tomudeksa u kofaktorsko mjesto enzima u skladu s kristalnom strukturom 1HVY (slika 22). Aktivno mjesto je karakterizirano s aminokiselinama koje sudjeluju u ostvarivanju interakcija sa supstratom. Uzimajući tomudeks kao referentni supstrat uočavamo da vrlo važna interakcija koja se ostvaruje u veznom mjestu kofaktora je ona s molekulom supstratom dUMP-om (slika 23). Tomudeks tvori i vodikove veze s aminokiselinama Gly 222, i Phe 80, te vrlo jake ionske veze s aminokiselinskim ostacima Lys 77 i Val 79 (slika 23). Od hidrofobnih interakcija treba spomenuti interakcije sa Leu 221, Phe 225, Tyr 258, Met 311 i Ala 312. Slični načini vezanja dobiveni su i za ostala tri inhibitora kao i za kofaktor kao što se vidi na grafičkom prikazu (slika 24).

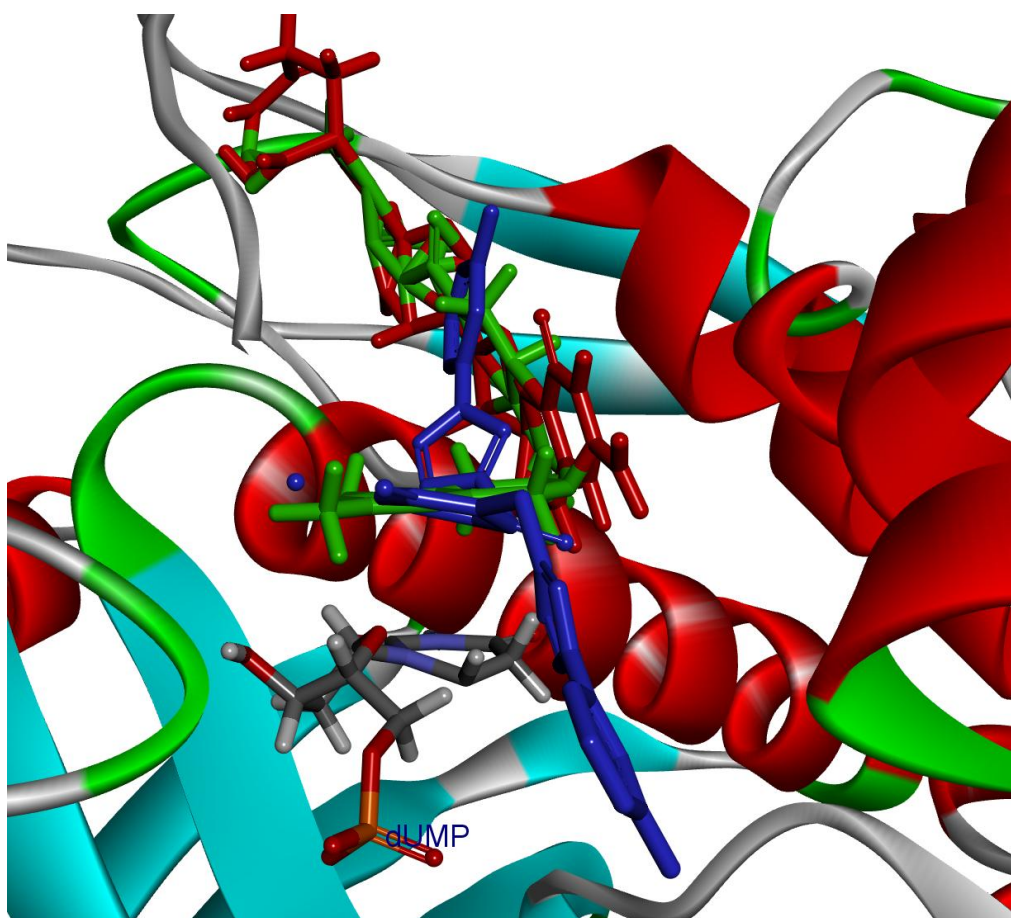


**Slika 24.** Uklapanje poznatih inhibitora u vezno mjesto ko-faktora od TS (crvenom bojom prikazan 5,10-metilentetrahidrofolat, zelenom tomudex, plavom bojom nolatreks, cijano bojom pemetreks, žutom bojom metoreksat).

Predviđene energije vezanja su prikazane u tablici 3. Prema izračunatim vrijednostima energije vezanja, najbolje vezanje za enzim pokazuje inhibitor tomudeks u usporedbi s 5,10-metilentetrahidrofolatom, prirodnim kofaktorom enzima TS. Poznati inhibitori pokazuju sličnosti prilikom načina vezanja na aktivno mjesto enzima. Predviđene energije vezanja za inhibitore kreću se od -9 kcal/mol do -11 kcal/mol, a tomudeks kao referentni spoj ima energiju

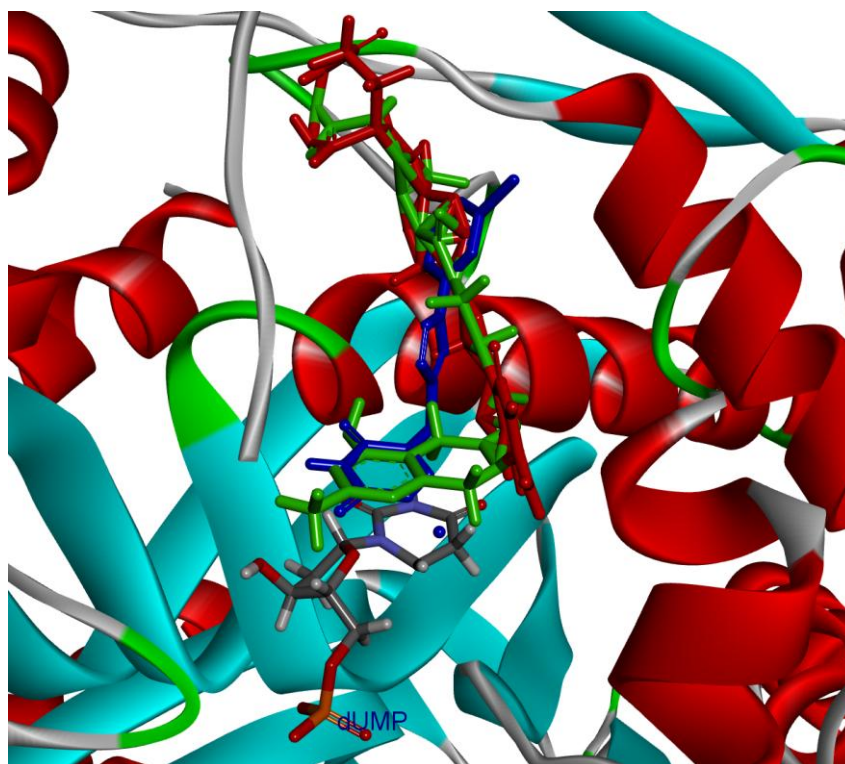
vezanja -10,93 kcal/mol. Analogan postupak primijenjen je i za novosintetizirane spojeve **3–6** i **7–10**.

Izabrani potencijalni inhibitori **3–6** i **7–10** podijeljeni su u dvije skupine prema strukturnim značajkama: N-1,N-3-disupstituirane (**3–6**) i N-1-monosupstituirane (**7–10**) triazolne derivate 5-bromuracila. Za te dvije skupine predviđeni su drugačiji načini vezanja. Zbog veličine prva skupina disupstituiranih spojeva (**3–6**) ne ulazi u vezno mjesto nego ostvaruje interakcije s aminokiselinskim ostacima na ulazu u njega. Osim spoja **5**, spojevi ove skupine ne ostvaruju interakciju s molekulom dUMP-om (slike 33–36). Spoj **5** jedini pokazuje interakciju s dUMP jer ulazi dublje u vezno mjesto te se time izdvaja od ostalih spojeva iz prve skupine kao potencijalnog inhibitora timidilat-sintetaze. Spojevi **3**, **4** i **6** poput tomudeksa ostvaruju interakcije s aminokiselinskim ostacima Lys 77, Leu 221, Met 311, Phe 225.

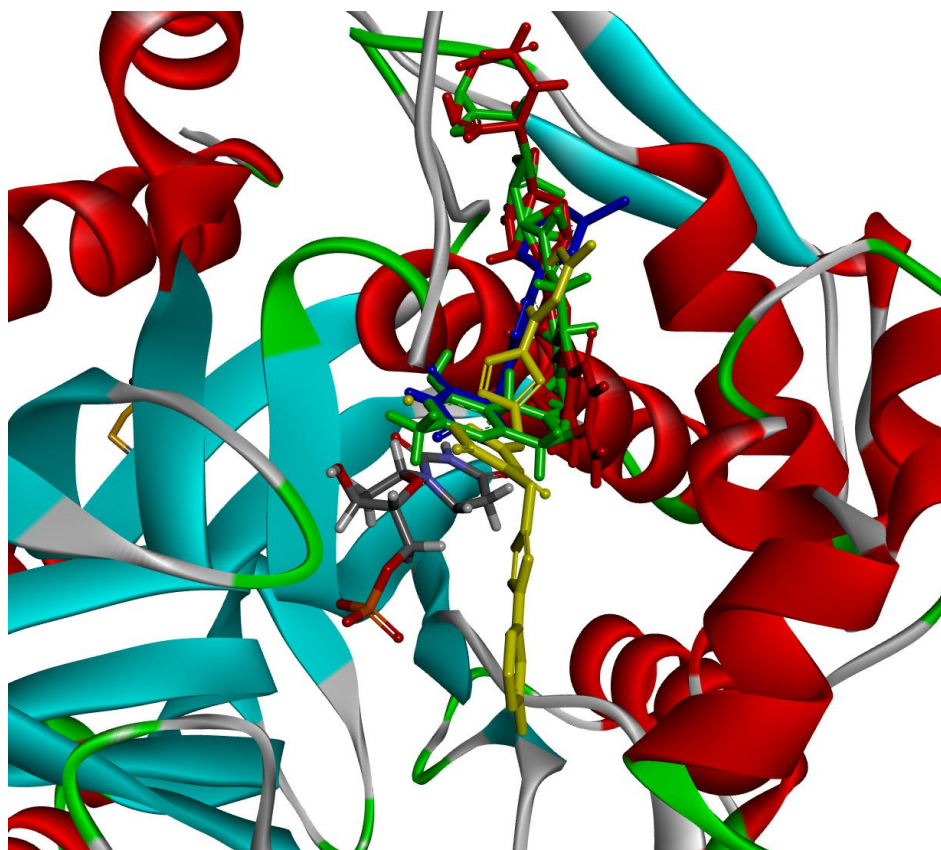


**Slika 25:** Prikaz energijski najboljih načina vezanja za spoj **10** (zelenom bojom označen tomudeks, crvenom bojom prikazan ko-faktor, a plavom spoj **10**)

Druga skupina spojeva **7–10** (slike 37–40) također pokazuju vezivne razlike od poznatih inhibitora. Spoj **9** se izdvaja načinom vezanja i njegov način vezanja se najviše poklapa s onim od kofaktorom i referentnih inhibitora (slika 26). On također ostvaruje vodikove veze s aminokiselinama Ile 307, Val 79, Lys 77 kao i tomudeks, kao i istaknutije hidrofobne interakcije s Phe 225 i Met 311. Valja naglasiti da svi spojevi druge skupine **7–10** ulaze u aktivno mjesto i ostvaruju interakciju s dUMP. U svim slučajevima fragment odgovoran za interakciju s dUMP je pirimidinski prsten (slika 27). Predviđene energije vezanja za novosintetizirane spojeve su uglavnom unutar raspona predviđenog za komercijalne inhibitore ili nešto niže (Tablica 3). Veće energije vezanja za spojeve **3–6** u odnosu na spojeve **7–10** su primarno rezultat njihove veće molekulske mase i lipofilnosti logP (tablica 3) što ne znače nužno da su oni potencijalno bolji inhibitor TS-e. Na temelju dobivenih prikazanih preliminarnih rezultata molekuskog uklapanja mogu se predložiti daljnje kemijske transformacije 1,2,3-triazolnog prstena vezanog na N-1 položaj pirimidinskog prstenu s ciljem dobivanja jačeg vezivanja ispitanog spoja. Pored navedenog, možemo zaključiti da N-1 monosupstituirani triazolni derivati pirimidina pokazuju potencijal inhibiranja na analogan način kao i poznati antifolatni inhibitori. Konačnu potvrdu inhibitornog djelovanja na enzim TS provest će se testiranjem *in vitro* inhibicije enzima.



**Slika 26:** Prikaz energijski najboljih načina vezanja za spoj **9** (zelenom bojom označen tomudeks, crvenom bojom prikazan ko-faktor, a plavom spoj **9**)



**Slika 27.** Prikaz energijski najboljih načina vezanja za spoj **5** i **9** (zelenom bojom označen tomudeks, crvenom bojom prikazan ko-faktor, žutom bojom spoj **5** i plavom spoj **9**).



## **5. ZAKLJUČAK**

- Pripravljene su *N*-1,*N*-3-dipropargilni derivati 5-bromuracila (**1–2**), *N*-1-propargilni derivat benzimidazola (**11**) i *N*-1-propargilni derivati 5-joduracila (**12–13**) kao prekursori za sintezu hibrida 1,2,3-triazola i pirimidina.
- Regioselektivnom 1,3-dipolarnom cikloadicijom, nazvanom „klik“ reakcijom, uspješno su sintetizirani ciljani 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazolni derivati 5-bromuracila. Priprava *N*-1 i *N*-3 disupstituiranih hibrida 1,2,3-triazola i pirimidina **3–6** provedena je pomoću odgovarajućeg aromatskog azida, Na-askorbata, CuSO<sub>4</sub>, pri sobnoj temperaturi, dok se sinteza *N*-1 monosupstituiranih hibrida 1,2,3-triazola i pirimidina (**7–10**) odvijala primjenom mikrovalova pri temperaturi od 80 °C i 300 W uz katalizatore Cu(0), 1M CuSO<sub>4</sub> u smjesi vode i organskih otapala. Možemo zaključiti da je usporedbom dviju sintetskih metoda priprava spojeva **7–10** prihvatljivija za okoliš jer se odvijala znatno kraće vrijeme (45 min), uz bolje iskorištenje reakcije i manje toksičan izbor otapala. Također je primjenom „klik“ kemije sintetiziran hibrid purinskog izostera, benzimidazola i 1,2,3-triazola (**11**) supstituiranim s *p*-klorfenilnim prstenom.
- Sonogarshira-inom reakcijom *N*-1 triazolnih derivata 5-joduracila (**14–16**) i izabranih alkina pomoću paladija kao katalizatora, CuI kao ko-katalizator i *N,N*-dizopropiletanilamina sintetizirani su biciklički 6-supstituirani (**17b–29b**) i 5,6-disupstituirani furo[2,3-*d*]pirimidinski (**17a–29a**) derivati.
- Novopripremljenim spojevima potvrđena je struktura primjenom spektroskopije <sup>1</sup>H- i <sup>13</sup>C-NMR. Određena je rendgenska strukturalna analiza furo[2,3-*d*]pirimidinskog derivata **17a** kojom je potvrđeno naknadno vezivanje etinilciklopropanskog lanca u položaju C-5 furanskog prstena.
- Rezultati ispitivanja antitumorskog djelovanja na stanične linije HeLa (karcinom vrata maternice), SW620 (karcinom debelog crijeva), Hep-G2 (karcinom jetre), CFPAC-1 (karcinom gušterače), A549 (karcinom pluća) i 3T3 (normalne fibroblaste porijeklom iz miša) za spojeve **3–11** pokazali su da je spoj **11** imao najučinkovitije i selektivno protutumorsko djelovanje na karcinom pluća. Spojevi **5**, **6** i **9** imali su inhibitorno djelovanje

na sve ispitane stanične linije. Spoj **3** imao je najveću djelotvornost na karcinom debelog crijeva, karcinom jetre i karcinom gušterače.

- Molekulsko modeliranje spojeva **3–10** na enzim timidilat-sintetazu pokazalo je da ispitani spojevi imaju potencijal inhibitornog djelovanja navedenog enzima. Spojevi **5** i **9** pokazali su najbolje preklapanje veznih mjesta s poznatim inhibitorima također i sa molekulom dUMP, dok su spojevi **7, 8, 10** ostvaruju važnu interakciju s dUMP-om u aktivnom mjestu enzima.

## **6. ZAHVALA**

*Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Silvani Raić-Malić na stručnom vođenju i sugestijama prilikom izrade rada te na podršci, strpljenu i povjerenju tijekom dvogodišnje suradnje koja je stvorila mnoge uspomene.*

*Zahvala svim djelatnicima posebno dr.sc Andrijani Meščić i dr.sc. Maji Stipković Babić te kolegama studentima iz Zavoda za organsku kemiju na pomoći i ugodnoj atmosferi.*

*Također hvala i dr. sc. Višnji Stepanić na velikoj pomoći prilikom ulasku u svijet molekuskog modeliranja.*

*Zahvaljujem se i izv. prof. dr. sc. Mariu Cetini na provedenoj kristalografskoj analizi.*

*Zahvaljujem doc. dr. sc. Sandri Kraljević Pavelić i njezinoj istraživačkoj grupi na Odjelu za biotehnologiju Sveučilišta u Rijeci na ispitivanju antitumorske aktivnosti priređenih spojeva.*

*Posebno hvala djevojci Jurji i obitelji na pruženoj ljubavi i podršci tijekom svih ovih lijepih godina.*

## **7. LITERATURA**

1. Mintas, M.; Raić-Malić, S. Medicinska kemija, Medicinska naklada, 2009.
2. [www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/)
3. Nordqvist, C. Medical News Today, 26.11.2014
4. Stryer, L. Biokemija , hrvatski prijevod, Školska knjiga, 1991
5. Rao, P.S.; Kurumurthy, C.; Veeraswamy, B.; Kumar, G.S.; Poornachandra, Y.; Kumar, G.C.; Vasamsetti, S.B.; Kotamraju, S.; Narsaiah, B. Eur. J. Med. Chem., 80 (2014), 184–191.
6. Mintas, M.; Raić-Malić, S.; Raos, N. Načela dizajniranja lijekova, Hinus, 2000.
7. Meščić, A. Doktorski rad, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb 2014
8. Galmarini, C.M.; Mackey, J.R.; Dumontet, C. Lancet Oncology; 3 (2002) 415–424
9. Plunkett W.; Liliemark J.O; Estery E.; Keating, M.J. Oncol. 14 (1987) 159–166
10. Galmarini, C.M.; Mackey, J.R.; Dumontet. Leukemia; 15 (2001) 875–890
11. Heidelberger, C.; Chaudhuri, N.K; Dunneberg, P.; Mooren, D.; Griebbach Dushinsky, R.; Nature, 179 (1957) 663–666
12. Cohen, S.; Flaks, J.G.; Barner, H.; Loeb, M.R.; Lichtenstein, J.; Proc. Nati. Acad. Sci USA; 44(10) (1958) 1004–1012
13. Naguib, Y.; Kumar, A.; Zhengrong, C.; Acta Pharm. Sinica B; 4(1) (2014) 94–99
14. Mandel, H.G.; Cancer Treat. Rep.; 65(suppl 3) (1981) 63–71
15. Etienne, M.C.; Cheradame, S.; Fischel, J.L.; et al.; J.Clin.Oncol.; 13 (1995) 1663–1670
16. Kolb, H.C.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B.; Angew. Chem. Int. Ed. Eng; 40 (2001) 2004–2021
17. Tron, G.C.; Pirali, T.; Billington, R.A.; Canonico, P.L.; Giovanni Sorba, G.; Genazzani, A.A.; Medic. Research Rewives; 28 No.2 (2008) 278–298
18. Duncan, R.; Nat. Rew. Drug Discov.; 2 (2003) 247–306

19. Van Camu, W.; Germonipre, V.; Mespouille, L.; Duois, P.; Goethals, E.J.; Du Prez, E.F.; *React. Funct. Polym.* 67 (2007) 1168–1180
20. Speers, A.E.; Adam, G.C.; Cravatt, B.F. *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003) 4686–4687
21. Da Cruz, E.H.; Hussene, C.M.; Dias, G.G.; Diogo, E.B.; de Melo, I.M.; Rodrigues, B.L.; da Silva, M.G.; Valença, W.O.; Camara, C.A.; de Oliveira, R.N.; de Paiva, Y.G.; Goulart, M.O.; Cavalcanti, B.C.; Pessoa, C.; da Silva, Júnior E.N. *Bioorg. Med. Chem.*, 22(5) (2014), 1608–1619.
22. Kategaonkar, A.H.; Shinde, P.V.; Pasale, S.K.; Shingate, B.B.; Shingare, M.S. *Eur. J. Med. Chem.*, 45(7), (2010) 3142–3146.
23. Wang, X.-L.; Wan, K.; Zhou, C.-H. *Eur. J. Med. Chem.*, , 45(10), (2010), 4631–4639.
24. Tripathi, R.P.; Yadav, A.K.; Ajay, A.; Bisht, S.S.; Chaturvedi, V.; Sinha, S.K. *Eur. J. Med. Chem.*, 45(1), (2010), 142–148.
25. Whiting, M.; Tripp, J.C.; Lin, Y.-C.; Lindstrom, W.; Olson, A.J.; Elder, J.H.; Sharpless, K.B.; Fokin, V.V. *J. Med. Chem.*, 49(26) (2006) 7697–7710.
26. Sandip, G.A.; Suleman, R.M.; Pore, V.S. *Chem. Asian. Jou.* 6 (2011) 2696–2718
27. Bakunov, S.A.; Bakunova, S.M.; Wenzler, T.; Ghebru, M.; Werbovets, K.A.; Brun, R.; Tidwell, R.R. *J. Med. Chem.* 53(1) (2010), 254–272.
28. Husigen, R.; Szeimies, G.; Mobius, L. *Chem. Ber.* 100 (1967) 2494
29. Tornøe, C.W.; Christensen, C.; Meldal, M.; *J. Org. Chem.* 67 (2002) 3057–3064
30. Bock, V.D.; Hiemstra, H.; van Maarseveen, J.H. *Eur. J. Org. Chem.*, 1 (2006) 51–58
31. Lee, B. Park, S.; Bae Jeon, H.; Kwan Soo, K. *Tet. Lett.* 47 (2006) 5105–5109
32. Himo, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V.V.; Noodleman L.; Sharpless, K.B.; Fokin, V.V. *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 210–216
33. S. Caddick, R. Fitzmaurice, *Tetrahedron Lett.*, 65 (2009) 3325
34. A. Loupy, L. Perreux, M. Liagre, K. Burle, M. Moneuse, *Pure Appl. Chem.*, 73, 2001, 161



35. Sonogashira, K. *J. Org. Chem.* 653 (2002) 46–49
36. Kollhofer, A.; Pullmann, T.; Plenio, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* 42 No.9 (2003) 1056–1058
37. Eckhardt, M.; Fu, G.C.; *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003) 13642–13643
38. Liang, Y.; Xie, Y.; Li, J. *J. Org. Chem.* 71 (2006) 379–381
39. Liang, B.; Dai, M.; Chen, J.; Yang, Z.; *J. Org. Chem.* 70 (2005) 391–393
40. Touroutoglou, N.; Pazdaur, R.; *Clinical Cancer Research*, 32 (1996) 227–243
41. Korunda, S.; Krištafor, S.; Cetina, M.; Raić-Malić, S. *Current organic chemistry.* 17 (2013) , 1114–1124
42. Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S. and Olson, A. J. *J. Computational Chemistry* 16 (2009) 2785–2791.

## **8. SAŽETAK**

TOMISLAV GREGORIĆ

**SINTEZA I MOLEKULSKO MODELIRANJE NOVIH HIBRIDA 1,2,3-TRIAZOLA I PIRIMIDINA S POTENCIJALNIM PROTUTUMORSKIM DJELOVANJEM**

Regioselektivnom 1,3-dipolarnom cikloadicijom, nazvanom „klik“ reakcijom, sintetizirani su ciljani 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazolni derivati 5-bromuracila (**3–10**) i 5-joduracila (**14–16**). Priprava N-1,N-3-disupstituiranih hibrida 1,2,3-triazola i pirimidina (**3–6**) provedena je pomoću odgovarajućih aromatskih azida, Na-askorbata, CuSO<sub>4</sub> pri sobnoj temperaturi. Sinteza N-1 monosupstituiranih hibrida 1,2,3-triazola i pirimidina (**7–10**) odvijala se je primjenom mikrovalova pri temperaturi od 80 °C i 300 W uz katalizatore Cu(0), 1M CuSO<sub>4</sub>. Nadalje, Sonogashira-inom reakcijom N-1 triazolnih derivata 5-joduracila (**14–16**) i izabranih alkina pomoću paladija kao katalizatora, CuI kao ko-katalizatora i *N,N*-diizopropiletilamina sintetizirani su 5,6-disupstituirani (**17a–29a**) i 6-supstituirani biciklički furo[2,3-*d*]pirimidinski (**17b–29b**) derivati. Novopripremljenim spojevima potvrđena je struktura primjenom spektroskopije <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR. Za furo[2,3-*d*]pirimidinski derivat **17a** određena je rendgenska strukturna analiza. Rezultati antitumorskih ispitivanja za spojeve **3–11** pokazali su da je spoj **11** imao najučinkovitije i selektivno protutumorsko djelovanje na karcinom pluća (A549) (IC<sub>50</sub> = 0,79 μM). Spojevi **3**, **5**, **6** i **9** imali su snažno, ali i neselektivno inhibitorno djelovanje na karcinom vrata maternice (HeLa), karcinom debelog crijeva (SW620), karcinom jetre (Hep-G2) i karcinom gušterače (CFPAC-1). Rezultati molekuskog modeliranja novosintetiziranih pirimidinskih 1,2,3-triazolnih derivata (**3–10**) na enzim timidilat-sintetazu pokazali su moguće načine vezivanja i interakcije ispitanih spojevi u aktivnom mjestu enzima te su postavili osnove za daljnja istraživanja mehanizma protutumorskih djelovanja pirimidinskih spojeva koji su strukturno srodni prirodnim nukleozidima.

Ključne riječi: klik kemija, 1,3-dipolarna cikloadicija, hibridi 1,2,3-triazola i pirimidina, furo[2,3-*d*]pirimidini, timidilat-sintetaza.

**9. SUMMARY**

TOMISLAV GREGORIĆ

**SYNTHESIS AND MOLECULAR MODELING OF NOVEL 1,2,3-TRIAZOLE AND PYRIMIDINE HYBRIDS WITH POTENTIAL ANTICANCER ACTIVITY**

Regioselective 1,3-dipolar cycloaddition, known as the "click" reaction was performed in order to synthesize the target 1,4-disubstituted 1,2,3-triazole derivatives of 5-bromouracil (**3-10**) and 5-iodouracil (**14-16**). N-1,N-3-disubstituted 1,2,3-triazole and pyrimidine hybrids (**3-6**) were prepared using the corresponding aromatic azide, Na-ascorbate and CuSO<sub>4</sub> at room temperature. N-1 monosubstituted 1,2,3-triazole and pyrimidine hybrids (**7-10**) were synthesized under microwave irradiation using Cu(0) and 1 M CuSO<sub>4</sub> as catalysts, at 80 °C and 300 W. Furthermore, Sonogashira reaction of 5-iodouracil N-1 triazole derivatives (**14-16**) and selected alkynes using Pd, as a catalyst, CuI, as co-catalyst, and *N,N*-diisopropylethylamine, yielded the novel 5,6-disubstituted (**17a-29a**) and 6-substituted bicyclic furo[2,3-*d*]pyrimidine (**17b-29b**) derivatives. The structures of the prepared compounds were confirmed using <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectroscopic analysis. The structure of the furo[2,3-*d*]pyrimidine derivative **17a** was unambiguously confirmed by X-ray crystal structure analysis. Antitumoral evaluations of compounds **3-11** showed that the compound **11** exhibited marked and selective antitumor activity against lung cancer (A549) (IC<sub>50</sub> = 0.79 μM). Also, compounds **3**, **5**, **6** and **9** showed pronounced, but nonselective inhibitory effects against cervical cancer (HeLa), colon carcinoma (SW620), liver cancer (Hep G2) and pancreatic cancer (CFPAC-1). Molecular modeling of novel pyrimidine 1,2,3-triazole derivatives (**3-10**) with the enzyme thymidylate synthetase showed possible ways of binding interactions in the active site of the enzyme which can be used as basis for further studies of the mechanism of antitumor activity of pyrimidine analogs structurally related to natural nucleosides.

Keywords: click chemistry, 1,3-dipolar cycloaddition, hybrids of 1,2,3-triazole and pyrimidine, furo[2,3-*d*]pyrimidines, thymidylate synthase

## **10. ŽIVOTOPIS**

Dolazim iz malog mjesta Gornji Desinec pokraj Jastrebarskog. Rođen sam 26.08.1992 u Zagrebu. Pohađao sam osnovnu školu u Jastrebarskom, a srednju strukovnu školu završio sam na Zdravstvenom učilištu u Zagrebu, smjer farmaceutski tehničar. Nakon maturiranja 2011. godine upisao sam preddiplomski studij Primijenjena kemija na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilišta u Zagrebu, a 2014. godine upisao sam i diplomski studij na istom fakultetu smjer Primijenjena organska kemija. S profesoricom Silvanom Raić-Malić znanstveno surađujem od 2013. godine pa sve do danas. U privatnom životu želio bih navesti da sam operativni član dobrovoljnog vatrogasnog društva Gornji Desinec sa činom vatrogasac I.klase i također pripadnik sam Državne intervencijske postrojbe civilne zaštite za spašavanje iz ruševina.

Popis priopćenja:

1.

Tomislav Gregorić, Matej Perković, Silvija Petković, Tatjana Gazivoda Kraljević i Silvana Raić- Malić. Sinteza bioloških interesantnih konjugata 1,2,3-triazola i heterocikla. // X. Susret mladih kemijskih inženjera, 2014. 148-148 (poster, domaća recenzija, sažetak)

2.

Tomislav Gregorić, Silvana Raić-Malić Sinteza 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazola na položaju N-1 i N-3 5-bromuracila // 1. Simpozij studenata kemičara, 2014. (usmeno izlaganje, sažetak)

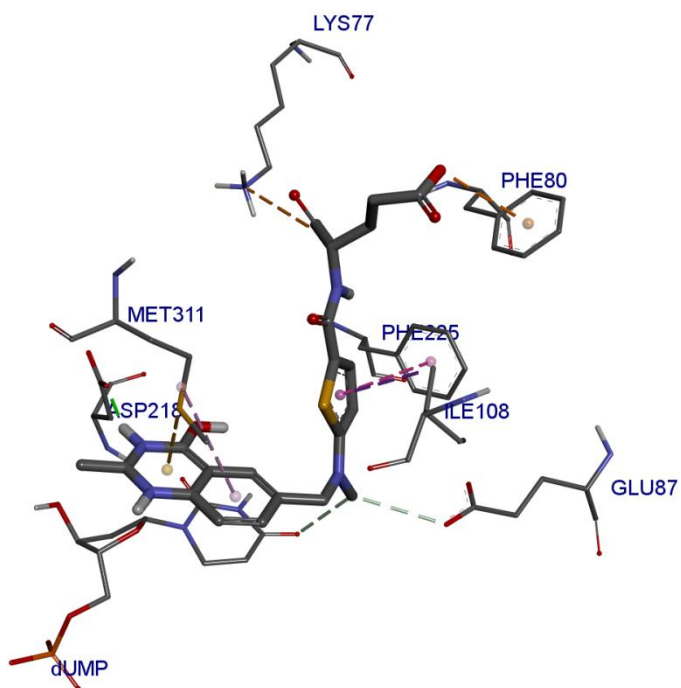
3.

T. Gregorić, A. Bistrović, A. Tomljenović Paravić, M. Sedić, S. Kraljević Pavelić, V. Stepanić, T. Gazivoda-Kraljević, S. Raić-Malić. Derivati purinskih bioizostera i pirimidina s 1,2,3-triazolom kao farmakoforum // 24. Hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera, Zagreb, 21.-24.4.2015. (poster)

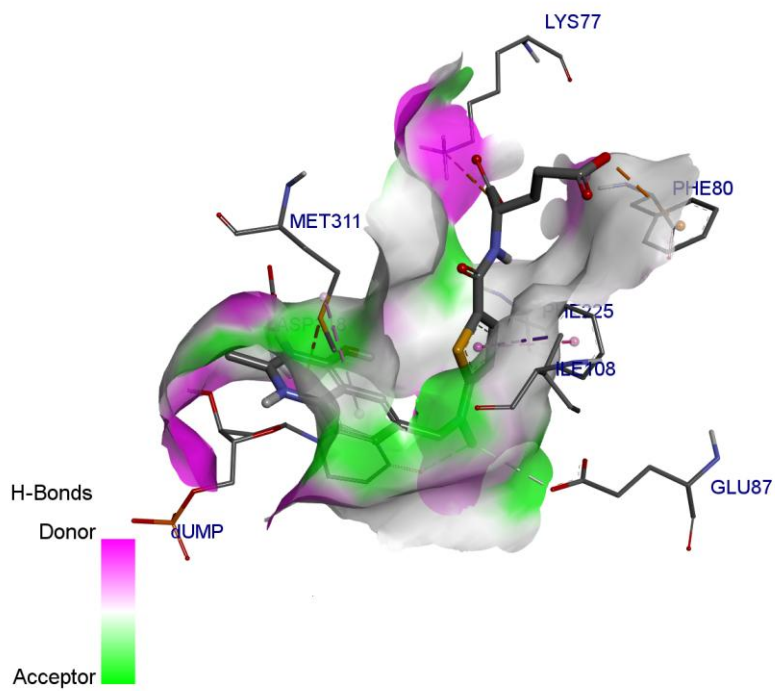
**11. PRILOZI**



**Slika 28.** Kompleksa timidilat-sintetaze i tomudeksa s prikazom: (a) važne interakcije između tomudeksa i TS-e; (b) površina TS-e koja sudjeluje u interakciji s tomudeksom.

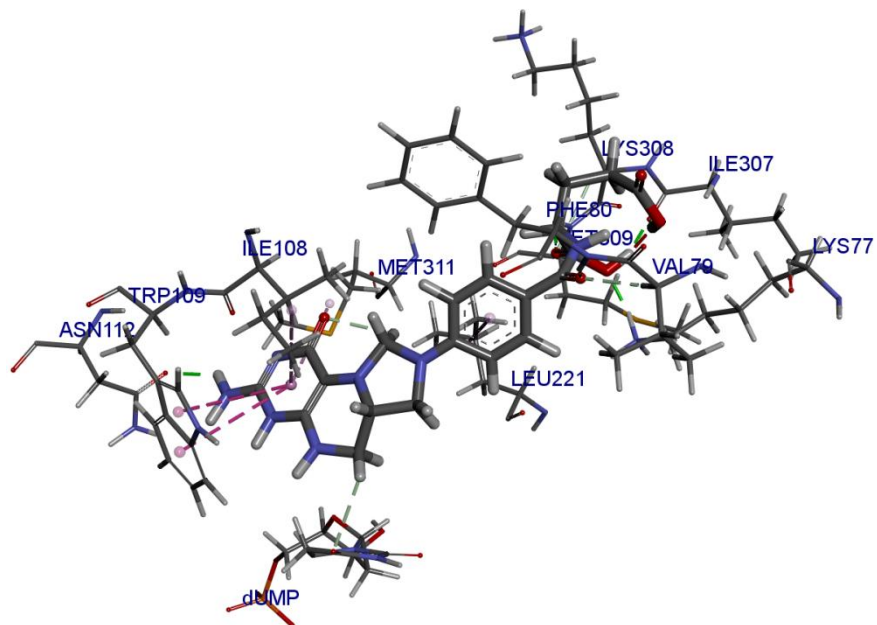


a)

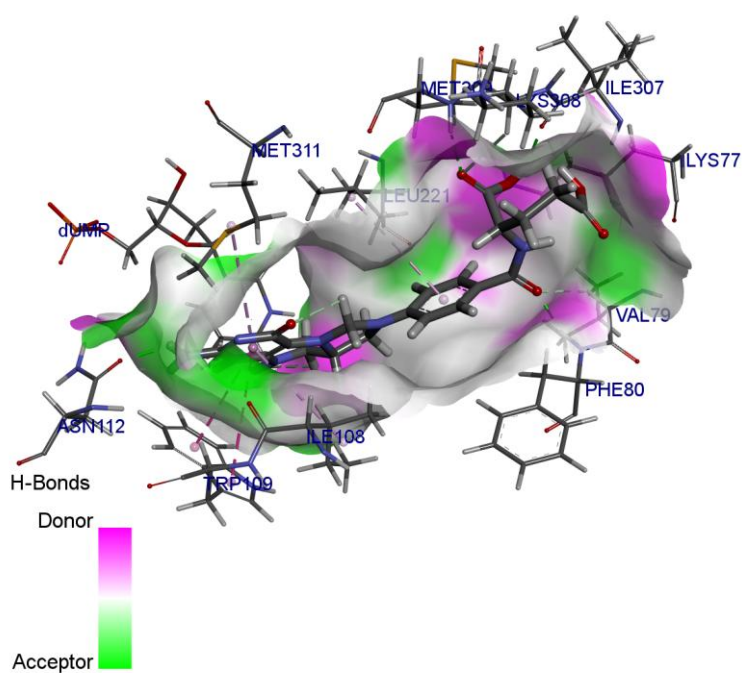


b)

**Slika 29.** Kompleks proteina i 5,10-metilentetrahidrofolata s prikazom: (a) važne interakcije između 5,10-metilentetrahidrofolata i TS-e; (b) površina TSe koja sudjeluje u interakciji s 5,10-metilentetrahidrofolatom.

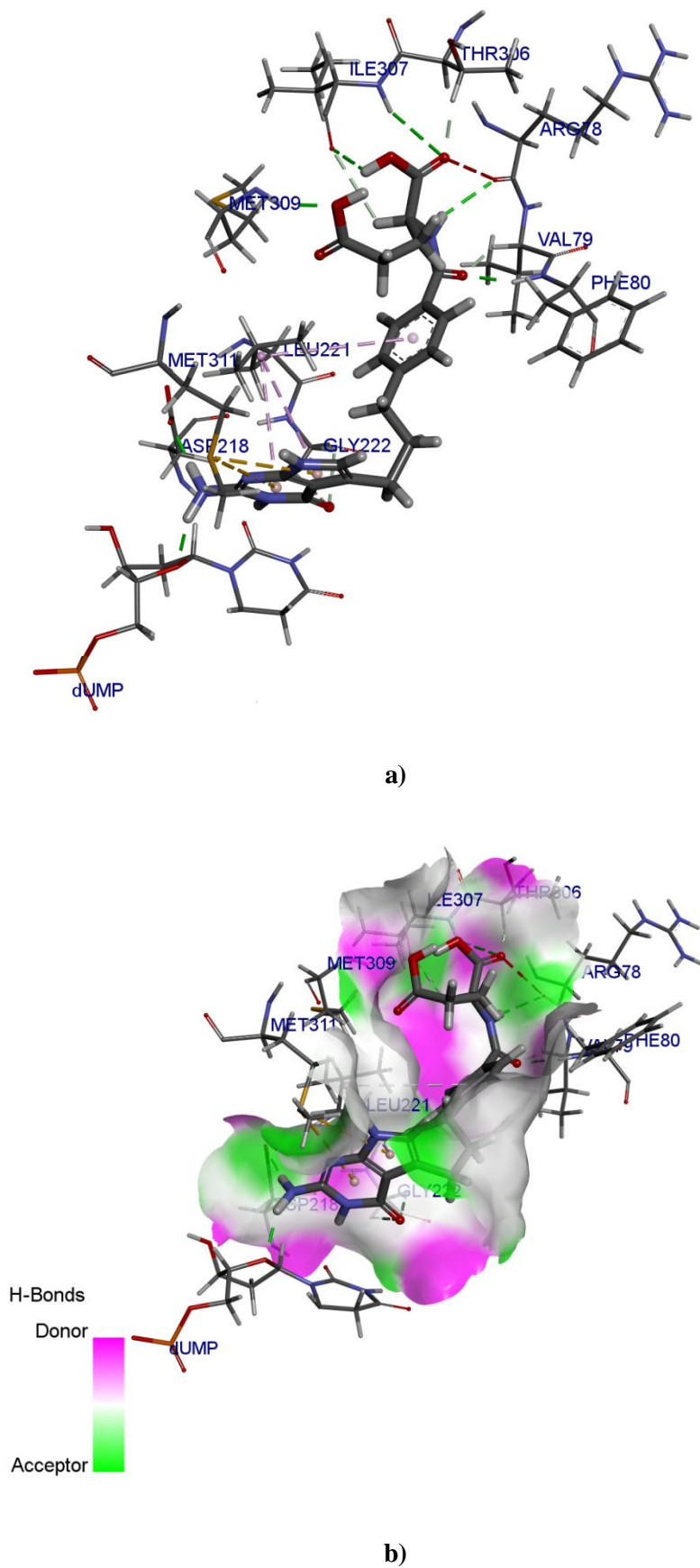


a)

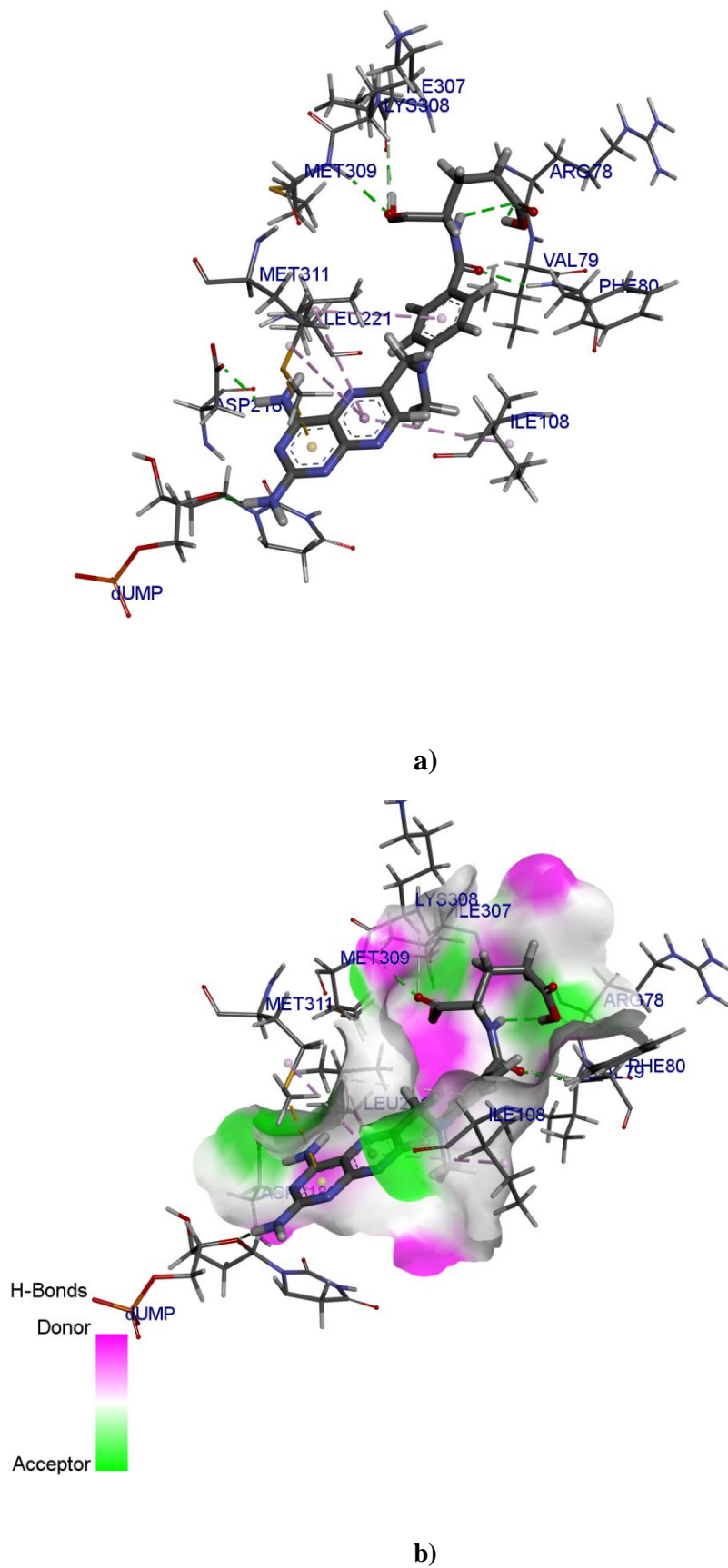


b)

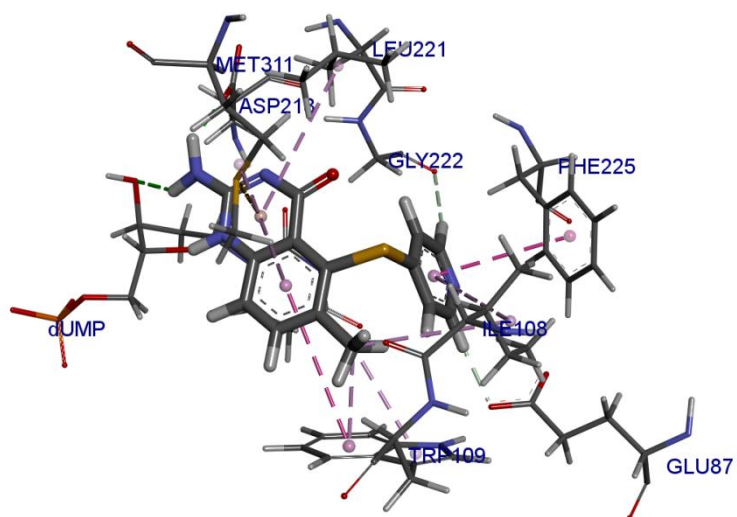
**Slika 30.** Kompleks proteina i permetreksa s prikazom: (a) važne interakcije između permetreksa i TS-e; (b) površina TS-e koja sudjeluje u interakciji s permetreksom.



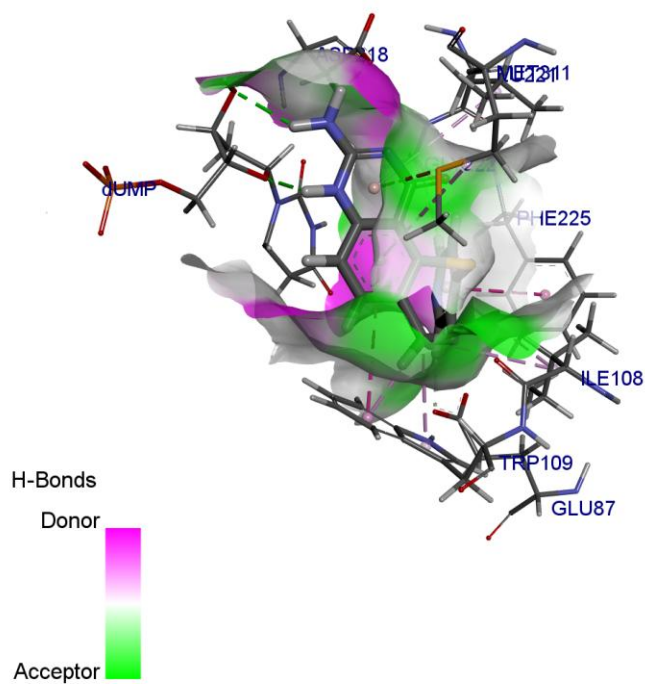
**Slika 31.** Kompleks proteina i metotreksa s prikazom: (a) važne interakcije između metotreksa i TS-e; (b) površina TS-e koja sudjeluje u interakciji s metotreksom.



**Slika 32.** Kompleks proteina i noraroteksa s prikazom: (a) važne interakcije između noraroteksa i TS-e; (b) površina TS-e koja sudjeluje u interakciji s noraroteksom.

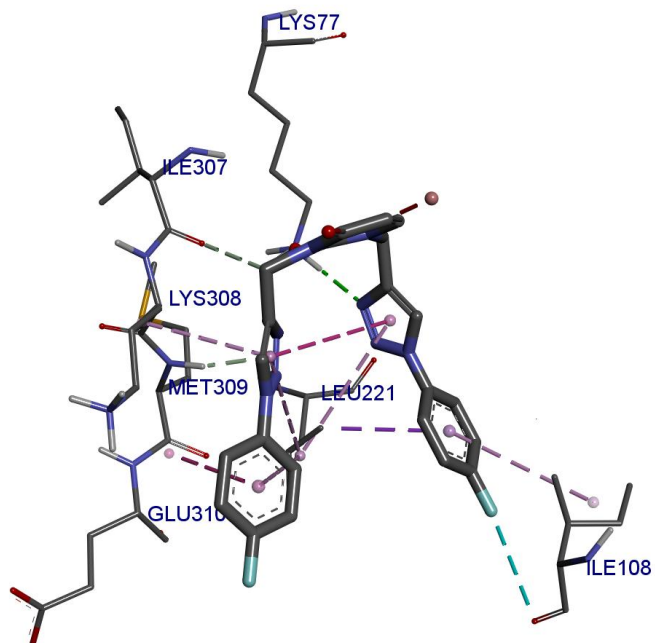


a)

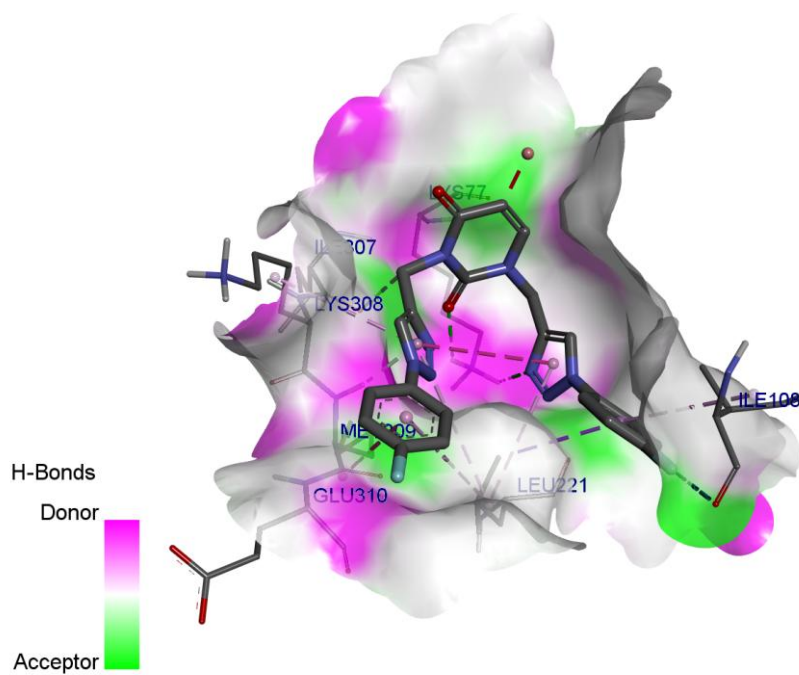


b)

**Slika 33.** Kompleks proteina i spoja **3** s prikazom: (a) važne interakcije između spoja **3** i TS-e; (b) površina TS-e koja sudjeluje u interakciji s spojem **3**.

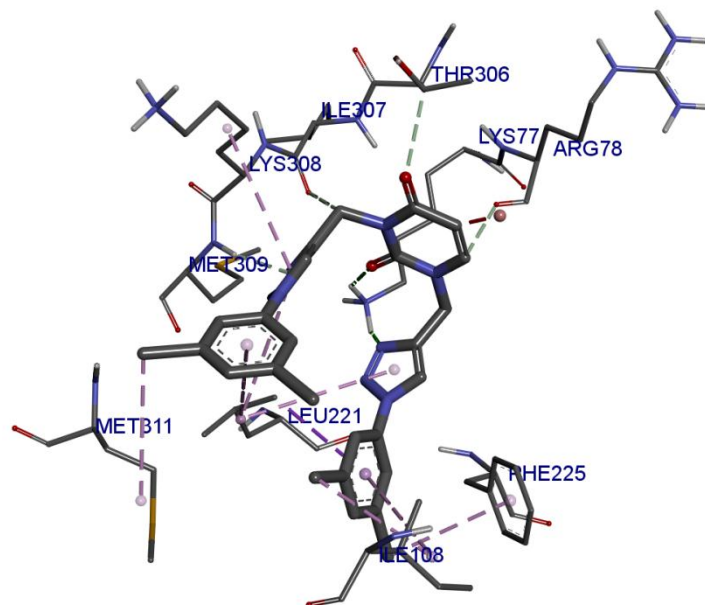


a)

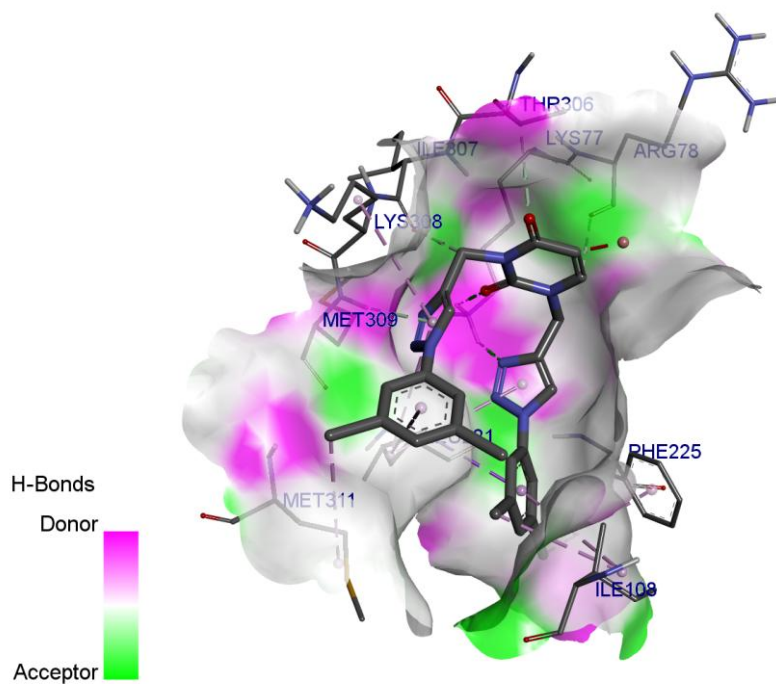


b)

**Slika 34.** Kompleks proteina i spoja **4** s prikazom: (a) važne interakcije između spoja **4** i TS-e; (b) površina TS-e koja sudjeluje u interakciji s spojem **4**.

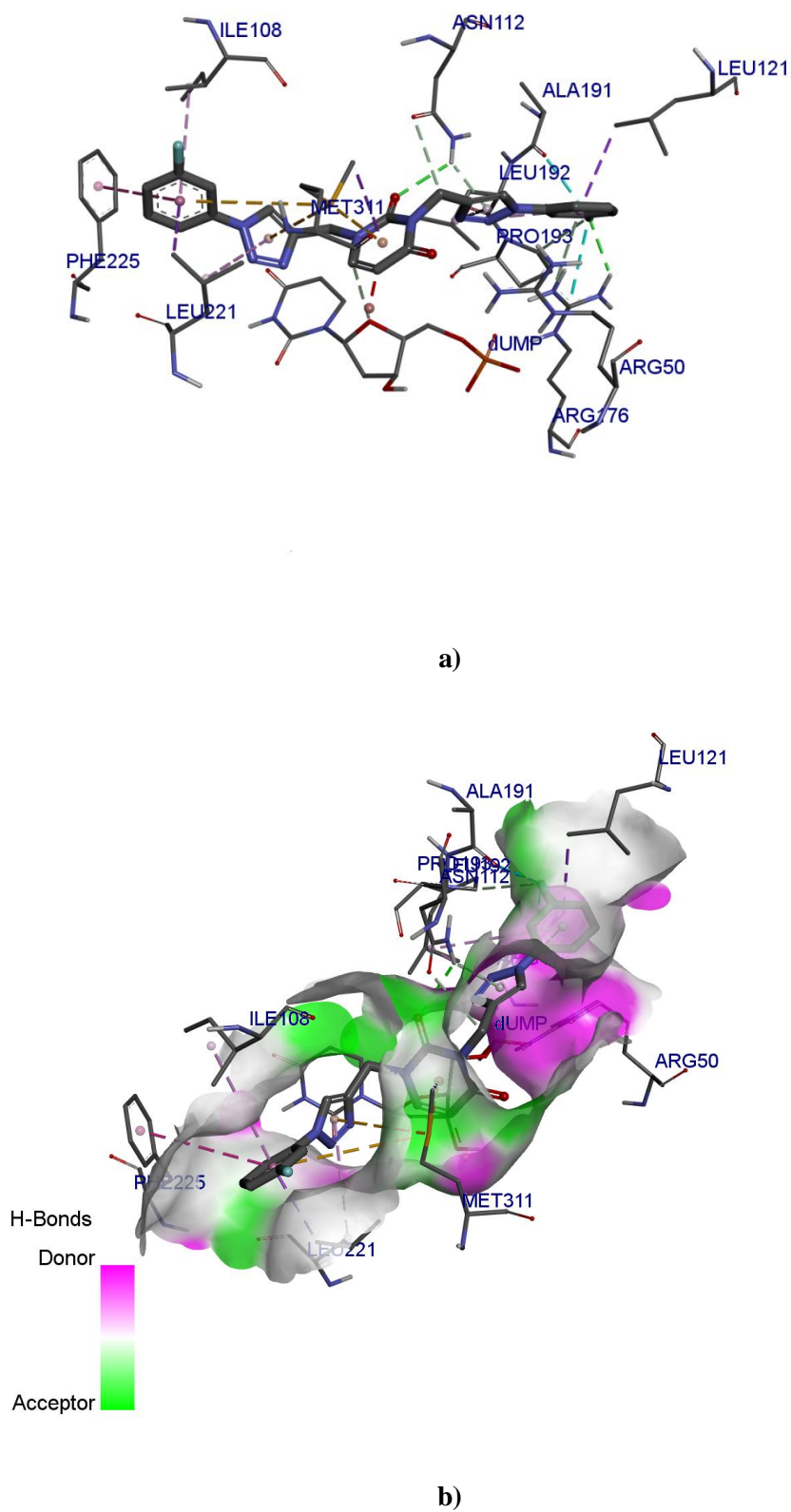


a)



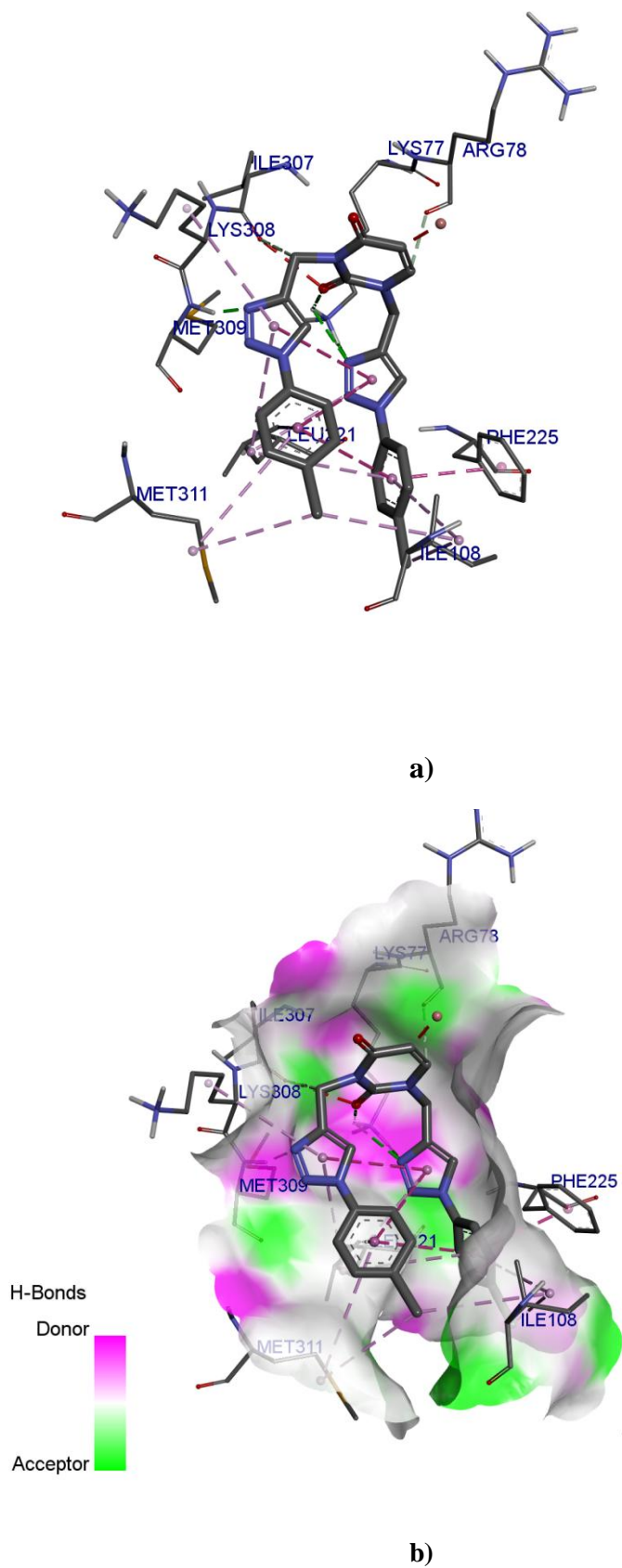
b)

**Slika 35.** Kompleks proteina i spoja **5** s prikazom: (a) važne interakcije između spoja **5** i TS-e; (b) površina TS-e koja sudjeluje u interakciji s spojem **5**.

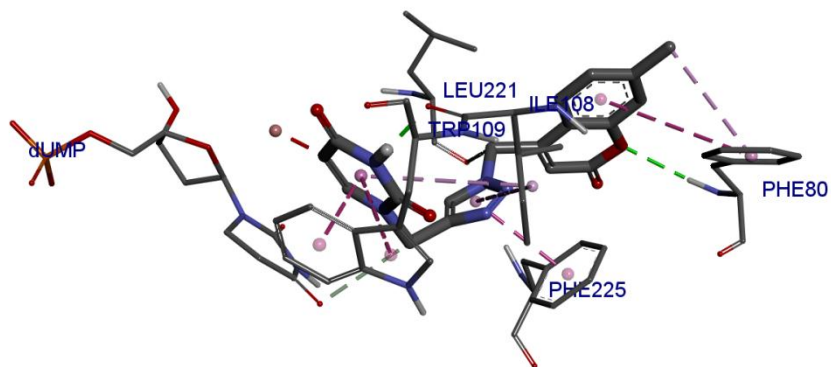




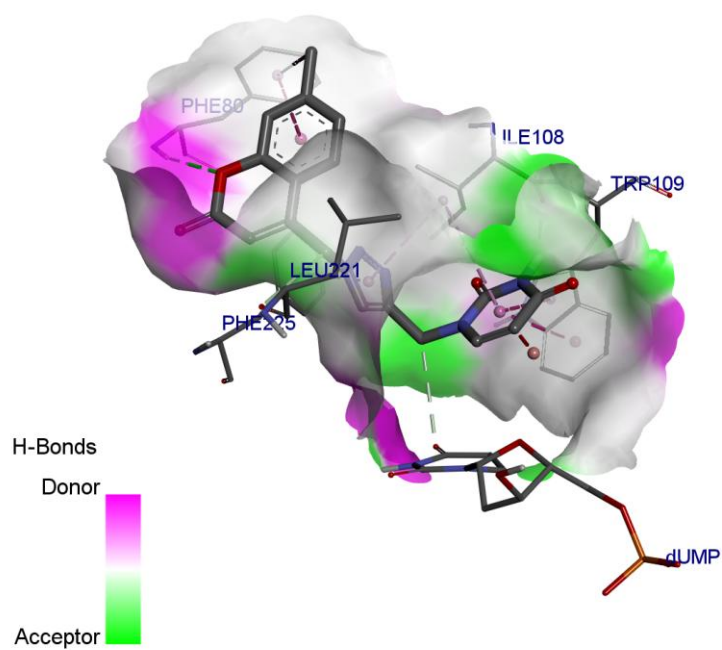
**Slika 36.** Kompleks proteina i spoja **6** s prikazom: (a) važne interakcije između spoja **6** i TS-e; (b) površina TS-e koja sudjeluje u interakciji s spojem **6**.



**Slika 37.** Kompleks proteina i spoja **7** s prikazom: (a) važne interakcije između spoja **7** i TS-e; (b) površina TS-e koja sudjeluje u interakciji s spojem **7**.

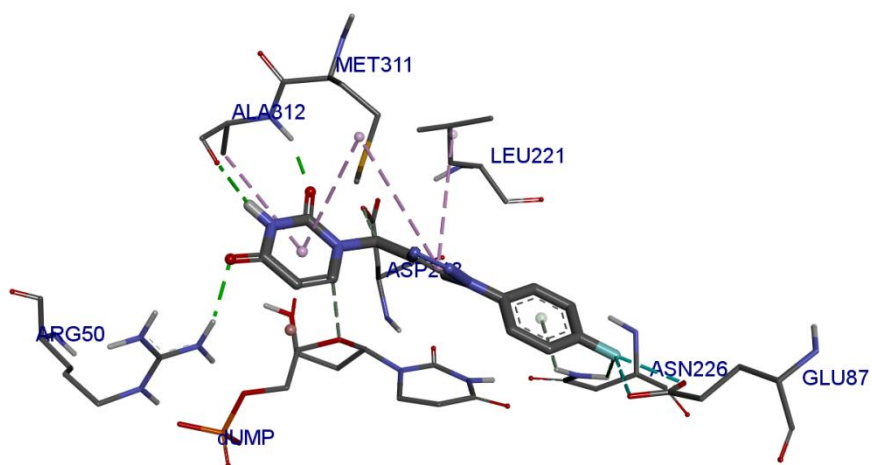


a)

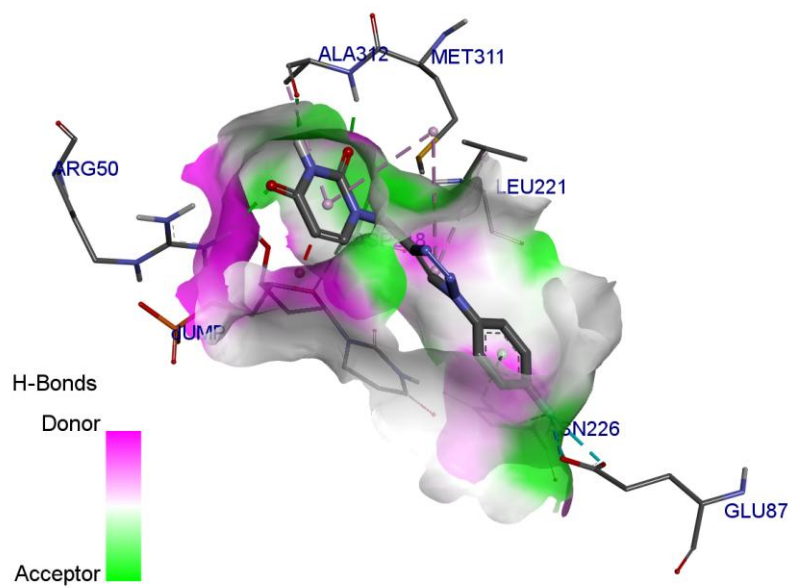


b)

**Slika 38.** Kompleks proteina i spoja **8** s prikazom: (a) važne interakcije između spoja **8** i TS-e; (b) površina TS-e koja sudjeluje u interakciji s spojem **8**.

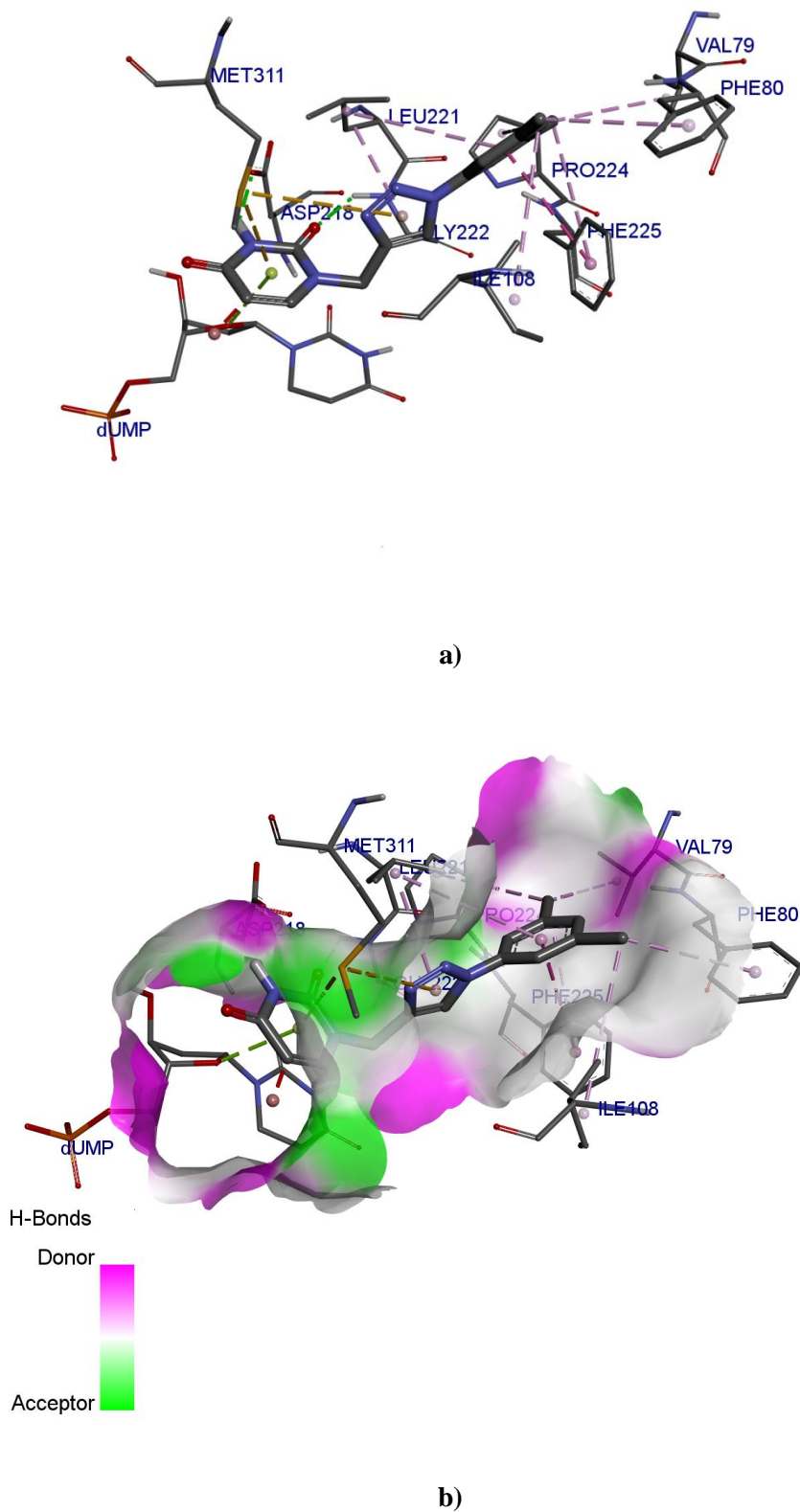


a)



b)

**Slika 39.** Kompleks proteina i spoja **9** s prikazom: (a) važne interakcije između spoja **9** i TS-e; (b) površina TS-e koja sudjeluje u interakciji s spojem **9**.



**Slika 40.** Kompleks proteina i spoja **10** s prikazom: (a) važne interakcije između spoja **10** i TS-e; (b) površina TS-e koja sudjeluje u interakciji s spojem **10**.

