



Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Kemijski odsjek

Janko Čivić

**Novi triazolni derivati maltola:  
sinteza i računalna analiza**

Zagreb, 2020.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za organsku kemiju Kemijskog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Vesne Petrović Peroković i neposrednim voditeljstvom dr. sc. Željke Car, te na Zavodu za fizikalnu kemiju Kemijskog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Branimira Bertoše i predan je na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2019./2020.

## Popis i objašnjenje kratica korištenih u radu

Ac – acetilna skupina

Bu – butilna skupina

CuAAC – bakrom katalizirana cikloadicija azida i alkina (engl. *Cu Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition*)

DMF – *N,N*-dimetilformamid

DMSO – dimetil-sulfoksid

DMSO-*d*<sub>6</sub> – deuterirani dimetil-sulfoksid

ESI-MS – spektrometrija masa uz ionizaciju elektroraspršenjem

Et – etilna skupina

Me – metilna skupina

MIF – polja molekularnih interakcija (engl. *Molecular Interaction Fields*)

Ms – mesilna skupina

NMR – nuklearna magnetna rezonancija (engl. *Nuclear Magnetic Resonance*)

Nu – nukleofil

PCA – analiza glavnih komponenta (engl. *Principal Component Analysis*)

Ph – fenilna skupina

QSAR – kvantitativni odnos strukture i reaktivnosti (engl. *Quantitative Structure-Activity Relationship*)

*R*<sub>f</sub> - retencijski faktor

SVD – dekompozicija po singularnim vrijednostima (engl. *Singular Value Decomposition*)

TMS – tetrametilsilan

TLC – tankoslojna kromatografija (engl. *Thin-Layer Chromatography*)

Ts – tosilna skupina

UV – ultraljubičasto (engl. *Ultraviolet*)

VEGF – vaskularni endotelni čimbenik rasta (engl. *Vascular Endothelial Growth Factor*)

# Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. LITERATURNI PREGLED</b> .....	<b>3</b>
2.1. AZIDI – PODJELA I SVOJSTVA .....	3
2.1.1. <i>Priprava organskih azida</i> .....	3
2.1.1.1. Nukleofilna aromatska supstitucija – adicijsko-eliminacijski mehanizam.....	4
2.1.1.2. Aromatski azidi iz diazonijevih soli.....	4
2.1.1.3. Ostale metode pripreme organskih azida .....	5
2.2. MALTOL .....	6
2.3. KLIK-KEMIJA .....	7
2.3.1 <i>Bakrom katalizirana cikloadicija azida i terminalnog alkina (CuAAC reakcija)</i> .....	8
2.3.1.1. Mehanizam CuAAC reakcije.....	9
2.3.1.2. Izvori bakra u CuAAC reakciji.....	10
2.3.2. <i>Klik-kemija i istraživanje lijekova</i> .....	11
2.4. 1,2,3-TRIAZOLI .....	11
2.5. ANALIZA GLAVNIH KOMPONENATA .....	12
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>14</b>
3.1. MATERIJALI I METODE.....	14
3.2. PRIPRAVA 2-METIL-3-(PROP-2-IN-1-ILOKSI)PIRAN-4-ONA (1) .....	14
3.3. PRIPRAVA AROMATSKIH AZIDA.....	15
3.3.1. <i>Općeniti postupak pripreme aromatskih azida</i> .....	15
3.3.1.1. Priprava 4-klorfenilazida (2); metoda A .....	16
3.3.1.2. Priprava 3-klorfenilazida (3); metoda A .....	16
3.3.1.3. Priprava 2-klorfenilazida (4); metoda A .....	17
3.3.1.4. Priprava 4-metilfenilazida (5); metoda A.....	18
3.3.1.5. Priprava 3-metilfenilazida (6); metoda B.....	18
3.3.1.6. Priprava 2-metilfenilazida (7); metoda B.....	19
3.3.1.7. Priprava 3-metoksifenilazida (8); metoda B.....	19
3.4. PRIPRAVA TRIAZOLA KLIK-REAKCIJAMA .....	20
3.4.1 <i>Općeniti postupak pripreme triazola klik-reakcijama</i> .....	20
3.4.1.1. Priprava 3-(1-(4-klorfenil)-1,2,3-triazol-4-ilmetoksi)-2-metilpiran-4-ona (9) .....	20
3.4.1.1. Priprava 3-(1-(3-klorfenil)-1,2,3-triazol-4-ilmetoksi)-2-metilpiran-4-ona (10) .....	21

3.4.1.1. Priprava 3-(1-(2-klorfenil)-1,2,3-triazol-4-ilmetoksi)-2-metilpiran-4-ona (11) .....	22
3.4.1.1. Priprava 3-(1-(4-metilfenil)-1,2,3-triazol-4-ilmetoksi)-2-metilpiran-4-ona (12).....	22
3.4.1.1. Priprava 3-(1-(3-metilfenil)-1,2,3-triazol-4-ilmetoksi)-2-metilpiran-4-ona (13).....	23
3.4.1.1. Priprava 3-(1-(2-metilfenil)-1,2,3-triazol-4-ilmetoksi)-2-metilpiran-4-ona (14).....	24
3.4.1.1. Priprava 3-(1-(3-metoksifenil)-1,2,3-triazol-4-ilmetoksi)-2-metilpiran-4-ona (15) ...	24
3.5. ANALIZA GLAVNIH KOMPONENATA .....	25
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA .....</b>	<b>27</b>
4.1. UVOD .....	27
4.2. PRIPRAVA PROPARGILIRANOG MALTOLA 1 .....	28
4.3. PRIPRAVA AROMATSKIH AZIDA 2-8.....	29
4.4. PRIPRAVA TRIAZOLNIH DERIVATA 9-15.....	31
4.5. ANALIZA GLAVNIH KOMPONENATA .....	32
4.5.1. Faktorska opterećenja.....	33
4.5.2. Faktorski bodovi .....	34
<b>5. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>36</b>
<b>6. ZAHVALE .....</b>	<b>37</b>
<b>7. POPIS LITERATURE .....</b>	<b>38</b>
<b>8. SAŽETAK.....</b>	<b>40</b>
<b>9. SUMMARY .....</b>	<b>41</b>
<b>10. DODATAK .....</b>	<b>42</b>
<b>11. ŽIVOTOPIS.....</b>	<b>57</b>

## 1. Uvod

Molekule koje u strukturi sadrže triazolni prsten pokazuju širok spektar bioloških aktivnosti, prije svega antitumorsko i antibakterijsko djelovanje. Ovaj strukturni motiv zanimljiv je u razvoju novih biološki aktivnih molekula zbog lakoće pripreme i iznimne stabilnosti u organizmu. Atomi dušika u prstenu mogu tvoriti vodikove veze što je povoljno za interakciju s biološkim molekulama.<sup>1</sup> Triazolni se prsten uobičajeno pripravlja iz terminalnih alkina i azida klik-reakcijom, bakrom(I) kataliziranom Huisgenovom reakcijom 1,3-dipolarne cikloadicije. Klik-kemija noviji je pristup sintezi koji započinje početkom 21. stoljeća s idejom da se nove molekule sintetiziraju modularnim, široko primjenjivim i stereospecifičnim reakcijama visokog prinosa. Polazni spojevi u klik-reakcijama trebali bi biti lako dostupni, a reakcijski uvjeti što jednostavniji. Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija jedan je od najboljih primjera klik-reakcija zbog izrazite selektivnosti reakcije terminalnih alkina i azida. Reakcija se ubrzava i usmjerava na razne načine, a bakrom(I) katalizirana 1,3-dipolarna cikloadicija regioselektivna je reakcija koja daje isključivo 1,4-disupstituirane triazole u visokim prinosima.<sup>2</sup>

Potragu za novim aktivnim molekulama mogu znatno ubrzati i olakšati razne statističke metode kao što su QSAR (engl. *Quantitative Structure to Activity Relationship*) i analiza glavnih komponenata (engl. *Principal Component Analysis*, PCA). QSAR korelira biološku aktivnost s raznim fizikalnim i kemijskim svojstvima molekula i omogućuje predviđanje biološke aktivnosti novih molekula. Analiza glavnih komponenata reducira skupove podataka s velikim brojem varijabli na manji broj novih varijabli bez značajnog gubitka informacija o varijanciji među objektima.

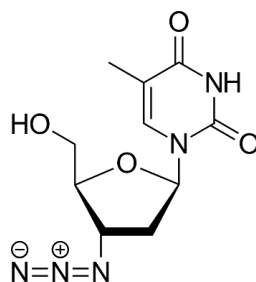
Cilj ovog rada jest sinteza sedam novih aromatskih 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazolnih derivata maltola i istraživanje njihovog biološkog učinka, prvenstveno antitumorskog. Pristup sintezi je konvergentan što znači da su odvojeno sintetizirani terminalni alkin i aromatski azidi koji su zatim povezani klik-reakcijom, bakrom(I) kataliziranom 1,3-dipolarnom cikloadicijom. Aromatski azidi lako se pripravlja iz derivata anilina njihovim prevođenjem u diazonijeve soli koje u reakciji s izvorom azidnog iona daju odgovarajuće azide. Alkinski supstrat u ovome radu dobiven je modifikacijom maltola, spoja iz skupine hidroksipiran-4-ona. Maltol je heterociklička nezasićena molekula koja nalazi široku primjenu u prehrambenoj industriji, ali posjeduje i biološku aktivnost. Pokazano je da inhibira rast nekih tumora i da se može koordinirati na razne ione metala.<sup>3,4</sup> Zbog navedenih svojstava i niske toksičnosti izvrsna je polazna molekule za sintezu novih molekula s biološkim djelovanjem. Ovaj rad predstavlja nastavak istraživanja koja se provode na Zavodu za organsku kemiju u kojima su dosad

pripravljene razni aromatski i alifatski 1,2,3-triazolni derivati kako maltola tako i kojične kiseline, također biološki aktivnog spoja iz skupine hidroksipiran-4-ona. Na njima i spojevima sintetiziranim u ovom radu provedena je analiza glavnih komponenata s ciljem proučavanja molekularnih svojstava istraživanih molekula. Pomoću nje moguće je dobiti uvid o tome koje molekule su slične, a koje se značajno razlikuju u svojstvima koja bi mogla imati važnu ulogu za biološku aktivnost te je moguće odrediti molekularna svojstva koja najviše doprinose varijaciji među promatranim molekulama. Može se pretpostaviti da su upravo razlike u tim svojstvima odgovorne za eventualne razlike u biološkim aktivnostima molekula.

## 2. Literaturni pregled

### 2.1. Azidi – podjela i svojstva

Njemački znanstvenik Petar Griess 1858. godine pripremio je prve aromatske diazonijeve soli, a samo par godina kasnije reakcijom diazonijevih soli i amonijaka sintetizirao je prve organske azide. Bio je to početak kemije organskih azida čije je istraživanje intenzivno nastavio Theodor Curtius uz čije ime vežemo Curtiusovu pregradnju acil-azida do izocijanata.<sup>5</sup> Danas organski azidi imaju široku primjenu u organskoj sintezi i stupaju u razne reakcije od kojih je najvažnija 1,3-dipolarna cikloadicija koja će biti detaljnije obrađena u kasnijim poglavljima. Pojedini azidi su i biološki aktivne molekule od kojih je najpoznatiji Zidovudin (AZT, slika 1) koji se koristi kao lijek u početnoj fazi liječenja AIDS-a.<sup>6</sup>



**Slika 1.** Strukturna formula molekule Zidovudina.

Osim organskih postoje i anorganski azidi koji su najčešće soli. Prije početka rada i s jednim i s drugima potrebno je uzeti u obzir njihove potencijalne opasnosti. Dodavanjem soli azida u kiselu sredinu dolazi do razvijanja eksplozivnog i toksičnog plina azidovodika,  $\text{HN}_3$ , čija je toksičnost usporediva s cijanovodikom,  $\text{HCN}$ . Azidi teških metala vrlo su eksplozivni i koriste se kao primarni eksplozivi u detonatorima.<sup>7</sup> Azidi alkalijskih metala, primjerice natrijev i kalijev azid, izloženi visokim temperaturama burno se raspadaju pri čemu se razvijaju velike količine dušika.<sup>8</sup> Eksplozivnost organskih azida ovisi o udjelu dušika u molekuli, ali generalno se burni raspadi mogu očekivati za spojeve koji imaju  $(\text{C}+\text{O})/\text{N}$  omjer manji od 3.

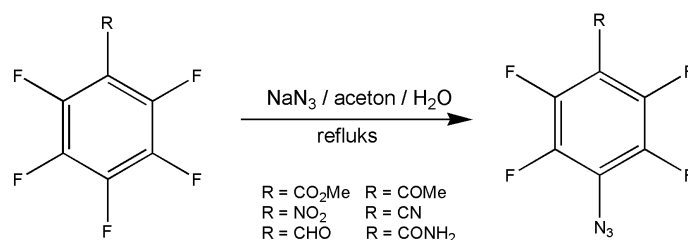
#### 2.1.1. Priprava organskih azida

Sinteza organskih azida može se podijeliti u tri skupine: sinteza aromatskih azida, sinteza alkilazida i sinteza acil-azida. Najčešći način dobivanja aromatskih azida jest iz diazonijevih soli, a alkil-azidi se najčešće dobivaju supstitucijskim reakcijama na zasićenom ugljikovom atomu.

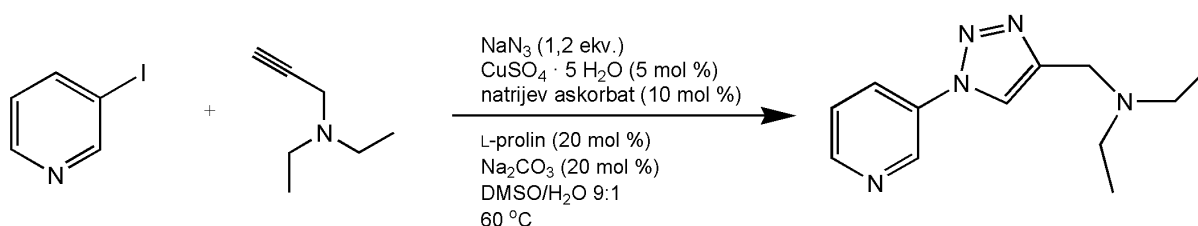


### 2.1.1.1. Nukleofilna aromatska supstitucija – adicijsko-eliminacijski mehanizam

Aromatske azide moguće je dobiti reakcijom nukleofilne aromatske supstitucije azidnim ionom iz halogeniranih aromatskih spojeva koji u *ortho* ili *para* položaju u odnosu na izlaznu skupinu imaju elektron-odvlačeću skupinu (slika 2).<sup>9</sup> Moguća je i *in situ* priprava određenih aromatskih azida iz odgovarajućih aromatskih halogenida pri čemu nastali azid bez prethodne izolacije reagira s prisutnim alkinom (tzv „one-pot“ sinteza) dajući 1,4-disupstituirane 1,2,3-triazole (slika 3).<sup>10</sup>



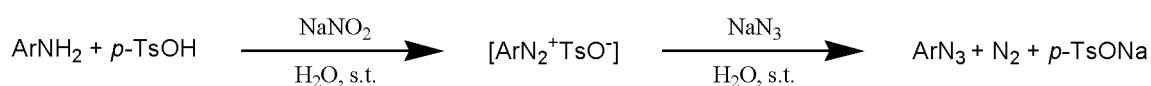
Slika 2. Shematski prikaz nukleofilne aromatske supstitucije.<sup>9</sup>



Slika 3. Shematski prikaz „one-pot“ pripreve 1,2,3-triazola.<sup>10</sup>

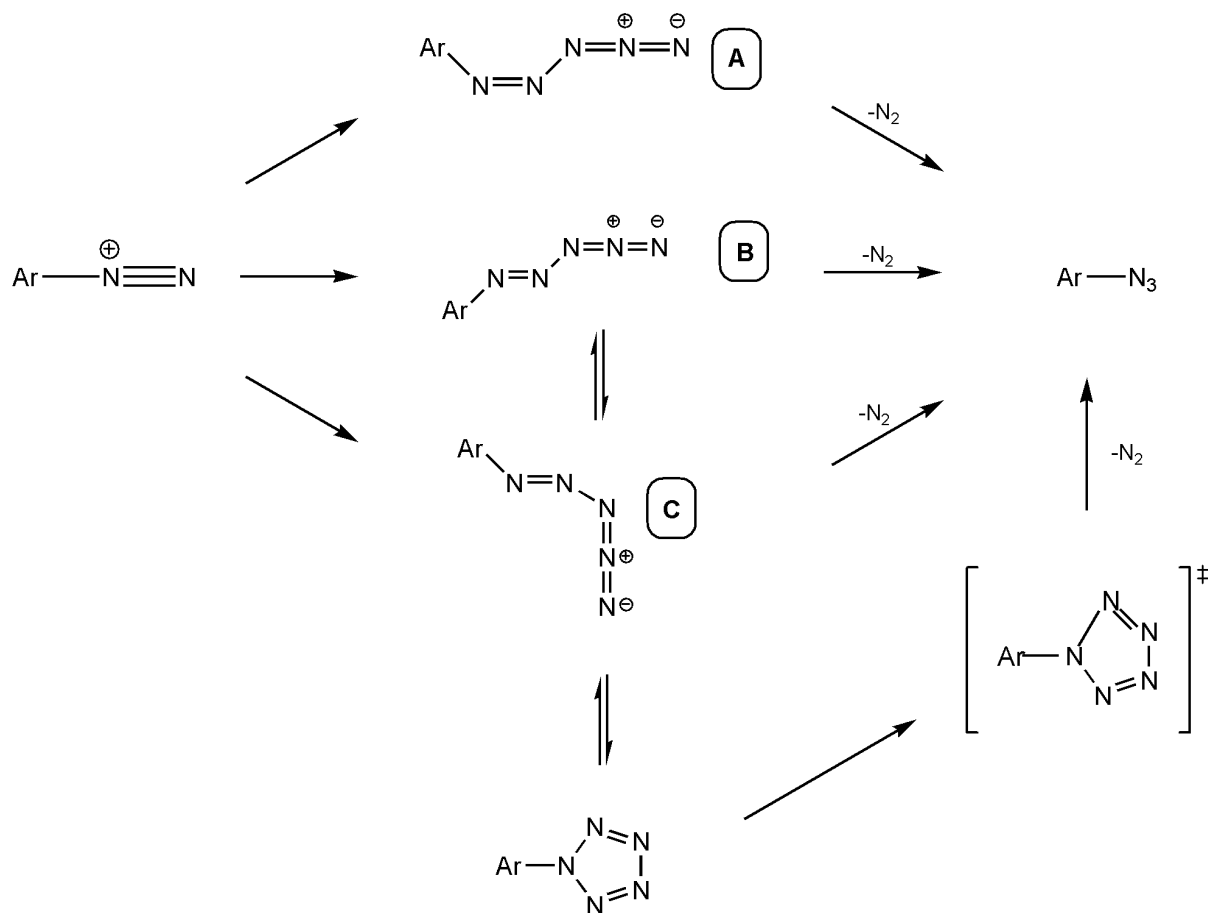
### 2.1.1.2. Aromatski azidi iz diazonijevih soli

Najpopularnija metoda pripreve aromatskih azida je iz diazonijevih soli. Diazonijeve soli pripravlja se u kiseloj sredini dodatkom natrijevog nitrita, NaNO<sub>2</sub>, nakon čega se tretiraju s izvorom azidnog iona, najčešće natrijevim azidom, NaN<sub>3</sub>. Kiseline koje se koriste u reakciji obično su sumporna kiselina, klorovodična kiselina ili *p*-toluensulfonska kiselina (*p*-TsOH). Metode se mogu razlikovati i prema načinu dodavanja natrijevog nitrita i natrijevog azida i prema temperaturi pri kojoj se reakcije provode (slika 4).<sup>11,12</sup>



Slika 4. Shematski prikaz pripreve aromatskih azida uz dodatak *p*-TsOH.

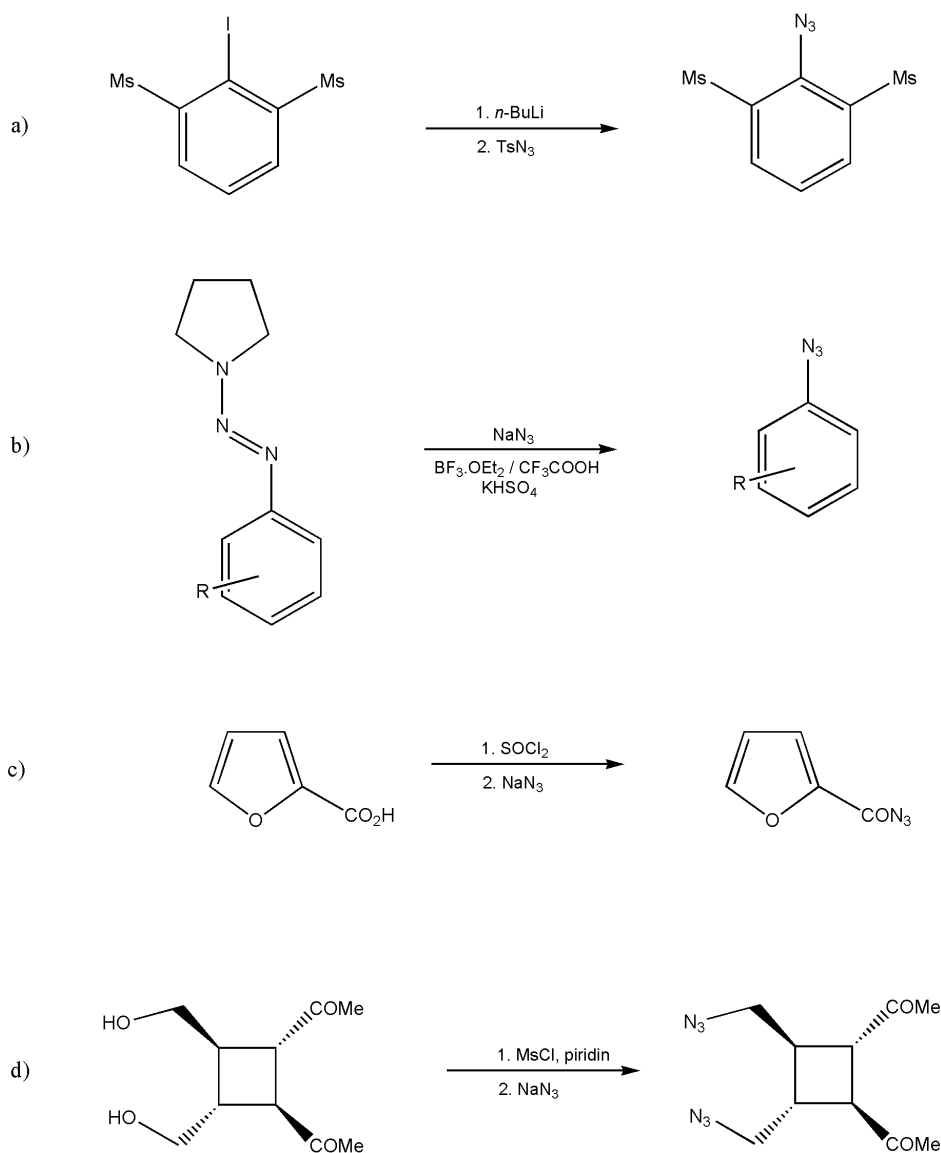
Prilikom reakcije ne dolazi do cijepanja veze ugljik-dušik anilinskog derivata što je potvrđeno izotopnim označavanjem atoma dušika vezanog za ugljik,<sup>13</sup> dakle nije riječ o tipičnom aril-kationskom mehanizmu. Azidni ion napada diazonijevu sol i nastaju tri pentazolna međuprodukta (slika 5). Energijska barijera za prelazak izomera **A** u **B** znatno je veća nego barijera za prelazak izomera **B** u izomer **C**. Samo **C** izomer može prijeći u spoj s peteročlanim prstenom. Svi navedeni pentazolni izomeri gubitkom dušika daju odgovarajući aromatski azid.<sup>14</sup>



**Slika 5.** Shematski prikaz mehanizam nastajanja organskog azida iz diazonijevih soli.<sup>14</sup>

### 2.1.1.3. Ostale metode priprave organskih azida

Od ostalih načina priprave aromatskih azida spomenut ćemo pripremu iz organometalnih spojeva<sup>15</sup> ili iz triazena (slika 6a i b).<sup>16</sup> Acil-azidi mogu se dobiti i iz kiselinskih halogenida<sup>17</sup> (slika 6c), a alkil-azide moguće je pripremiti supstitucijom na zasićenom ugljikovom atomu (slika 6d).<sup>18</sup>

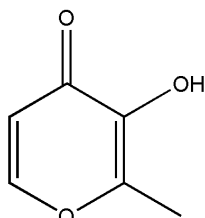


**Slika 6.** Shematski prikaz ostalih metoda priprave organskih azida.

## 2.2. Maltol

Maltol, sustavnog imena 3-hidroksi-2-metilpiran-4-on, polazni je spoj za pripremu novih triazolnih derivata pripremljenih u sklopu ovoga rada (slika 7). Maltol je bijela krutina koja se može pronaći i u prirodi u kori nekih vrsta drveća. U prehrambenoj se industriji koristi kao pojačivač okusa. Osim primjene u prehrambenoj industriji, maltol se pokazao i kao biološki aktivan spoj. Može kompleksirati ione nekih metala, pa tako primjerice njegovi kompleksi s vanadijem imaju sposobnost snižavanja razine glukoze u krvi.<sup>3</sup> U istraživanju provedenom na miševima pokazano je da maltol inhibira rast H22 tumora i produljuje životni vijek miševa s H22 tumorima povisujući razinu citokina TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-6 i TNF- $\gamma$  za koje je poznato da

pojačavaju imunološki odgovor organizma na tumore. Osim toga, maltol inducira apoptozu tumorskih stanica mijenjajući omjer Bax/Bcl-2, proteina koji određuju osjetljivost ili otpornost stanica na apoptotične stimulanse. Također, snizuje razinu vaskularnog endotelnog čimbenika rasta (engl. *Vascular Endothelial Growth Factor*, VEGF) koji je odgovoran za angiogenezu tumora.<sup>4</sup>

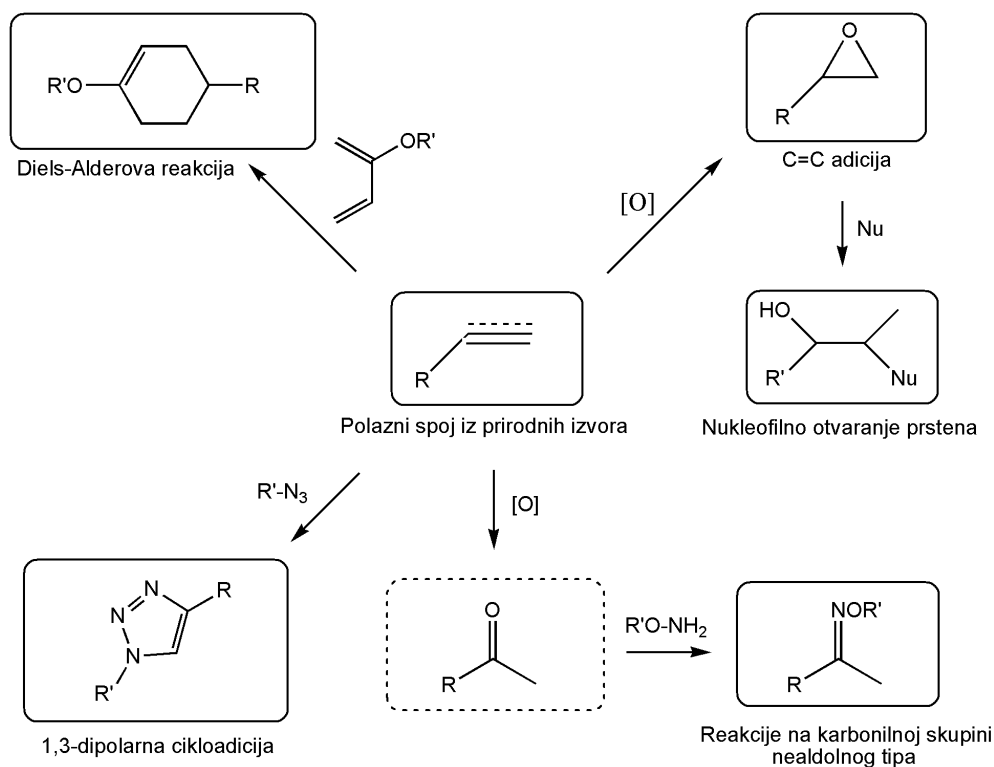


**Slika 7.** Strukturna formula molekule maltola.

### 2.3. Klik-kemija

Klik-kemija počiva na ideji da potraga za novim molekulama mora biti ograničena na one molekule koje je lako sintetizirati. Prvi su je definirali Kolb, Finn i Sharpless 2001. godine kao novi pristup organskoj sintezi koji se temelji na povezivanju gradivnih jedinica molekula nizom kemijskih reakcija koje moraju zadovoljavati određene uvjete. One moraju biti modularne, široko primjenjive, imati visoke prinose i moraju biti stereospecifične (ne nužno enantioselektivne). Reakcijski uvjeti trebali bi biti jednostavni, a polazni spojevi lako dostupni. Produkti se pročišćavaju nekromatografskim metodama i stabilni su u fiziološkim uvjetima. Pokretačka sila takvih reakcija je velika razlika u energiji između reaktanata i produkata. One se odvijaju brzo i selektivne su prema jednom produktu. Takve reakcije su primjerice reakcije cikloadicije, reakcije nukleofilne supstitucije u kojima dolazi do otvaranja napetih prstena, reakcije na karbonilnoj skupine koje nisu aldolnog tipa i adicije na višestruke ugljik-ugljik veze (slika 8).<sup>2,19</sup> Od svih klik-reakcija najviše se ističe bakrom(I) katalizirana Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija azida i terminalnih alkina zbog lakoće sinteze reaktanata i njihove velike tolerancije na razne funkcijske skupine i reakcijske uvjete. Reakcije klik-kemije našle su primjenu u raznim područjima znanosti. Pokazale su se kao dobar način označavanja bioloških molekula što omogućuje lakše praćenje bioloških procesa. Reakcije označavanja moraju biti vrlo učinkovite, specifične i primjenjive na razne molekule. Huisgenova dipolarna cikloadicija pokazala se kao izvrstan kandidat zbog lakoće uvođenja azidne i alkinske funkcionalnosti u molekule te njihove selektivnosti prilikom reakcije. Uspješno su provedene pretvorbe alkin-modificiranih DNA molekula u triazolne produkte putem Huisgenove dipolarne cikloadicije.

Metoda je primjenjiva i za duge fragmente DNA bez njihovog cijepanja.<sup>20</sup> Klik-reakcije učinkovit su način pripreme pravilno razgrananih polimera koji se nazivaju dendrimeri. U prošlosti je njihova sinteza bila problematična zbog zahtjevnih kromatografskih pročišćavanja složenih smjesa produkata, a danas su provedene sinteze koje ne zahtijevaju duga pročišćavanja.<sup>10</sup>

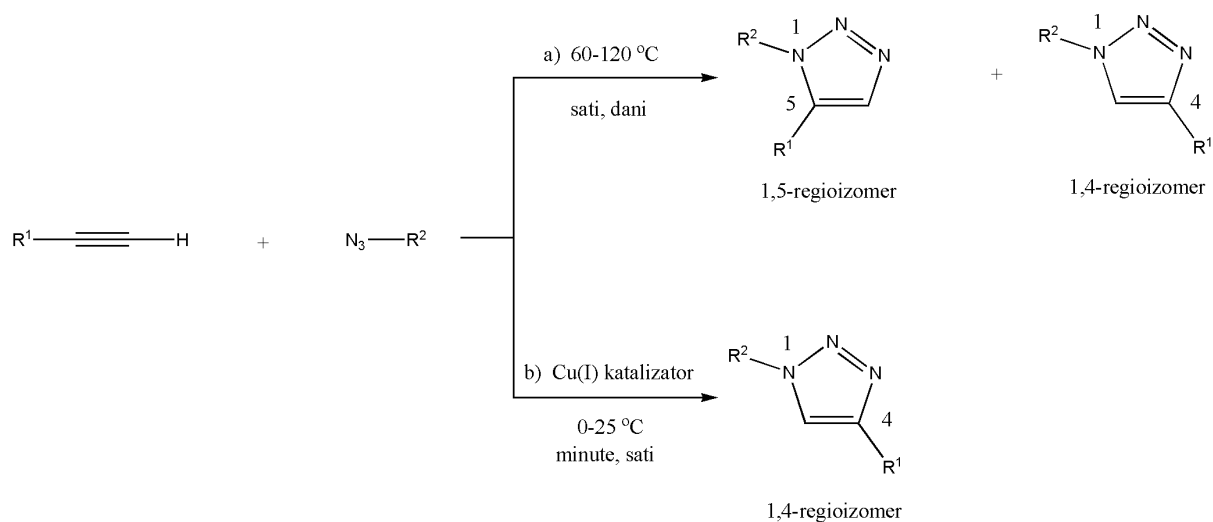


**Slika 8.** Shematski prikaz nekih klik-reakcija.<sup>21</sup>

### 2.3.1 Bakrom katalizirana cikloadicija azida i terminalnog alkina (CuAAC reakcija)

Originalno se Huisgenova cikloadicija azida i terminalnog alkina provodila pri povišenoj temperaturi bez dodatka katalizatora dajući smjesu dvaju regioizomera, 1,4- i 1,5-disupstituiranih triazola (slika 9) što je ograničavalo njenu primjenu u medicinskoj kemiji i kemiji materijala. Godine 2001. reakcija je provedena uz dodatak katalizatora bakra(I) pri sobnoj temperaturi dajući isključivo 1,4-disupstituirane triazole.<sup>22</sup> Kao takva postala je najbolji primjer klik-reakcije. Može se provoditi pri širokom rasponu temperatura u različitim otapalima i širokom rasponu pH-vrijednosti. Katalizator ubrzava reakciju do sedam redova veličine u usporedbi s nekataliziranom reakcijom, a nastajanje jednog produkta omogućuje laku izolaciju. Kao što je već spomenuto, prednost reakcije jest i lakoća uvođenja azida i alkina u molekule. Tolerancija na razne uvjete kao i stabilnost azida i alkina u fiziološkim uvjetima otvaraju mogućnost primjene reakcije i u živim organizmima, ali problem predstavlja bakar koji je toksičan za žive organizme. Zbog toga je došlo do razvoja metoda koje ne koriste metalne

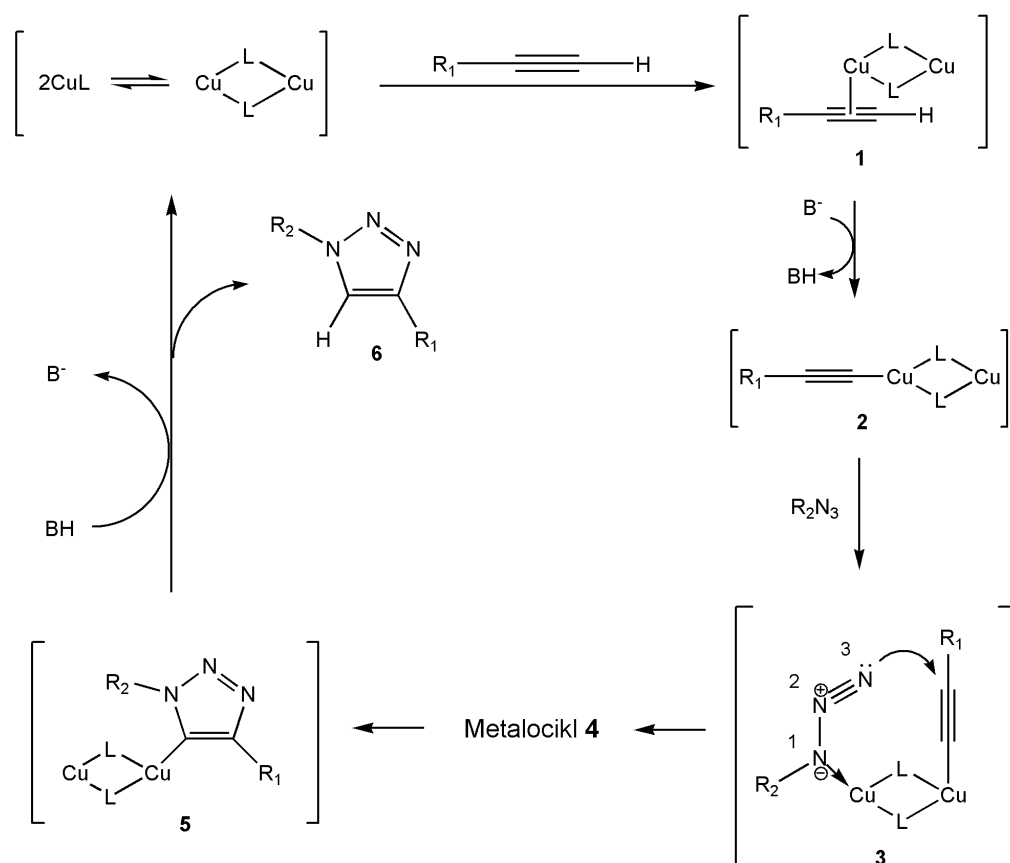
katalizatore. Cikloadiciju je potrebno ubrzati na neki drugi način što se može postići aktiviranjem alkina tako što se koriste ciklički alkini poput ciklooktina i uvođenjem elektron-odvlačećih skupina koje snižavaju energiju najniže neokupirane molekulske orbitale alkina. Metoda je uspješno primijenjena u živim organizmima.<sup>23</sup>



**Slika 9.** Shematski prikaz 1,3-dipolarne cikloadicije: a) nekatalizirana reakcija, b) katalizirana reakcija.

### 2.3.1.1. Mehanizam CuAAC reakcije

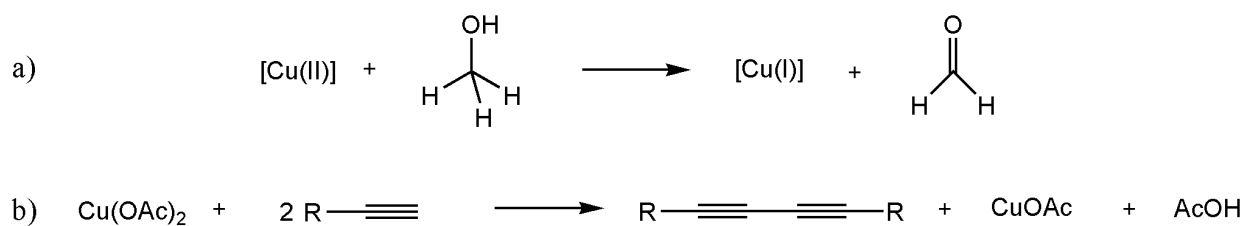
Termalne cikloadicije obično se odvijaju u jednom koraku. Izračuni za CuAAC reakciju govore da je mehanizam stupnjevit s energijom aktivacije za 11 kcal/mol nižom u usporedbi s nekataliziranom reakcijom. Prema izračunima, mehanizam reakcije koji se odvija u prisutnosti katalizatora u jednom koraku ima veću energiju aktivacije od mehanizma reakcije bez prisutnosti katalizatora.<sup>24</sup> Prvi predloženi mehanizmi previđali su da u reakciji sudjeluje jedan atom bakra koji kompleksira i terminalni alkin i azid, ali kasnija istraživanja ukazuju na to da u kompleksiranju sudjeluje više atoma bakra.<sup>25</sup> Prvi korak je nastajanje  $\pi$ -kompleksa terminalnog alkina i dimera bakra(I). Kompleksiranje bakra značajno snižava  $pK_a$  vrijednost alkina što omogućuje njegovo deprotoniranje u vodenom mediju bez dodatka baze (kompleks **2**). Sljedeći korak je kompleksiranje azida s drugim atomom bakra pri čemu nastaje kompleks **3** u kojem se atom N(3) nalazi u povoljnom položaju za napad alkina dajući metalocikl **4** (struktura izostavljena zbog jednostavnosti prikaza). Njegovom pregradnjom nastaje triazol **5** koji nakon protoniranja daje krajnji 1,2,3-triazol **6** uz regeneriranje katalizatora (slika 10).<sup>26</sup>



Slika 10. Shematski prikaz predloženog mehanizam CuAAC reakcije.<sup>26</sup>

### 2.3.1.2. Izvori bakra u CuAAC reakciji

Kao izvor bakra(I) koriste se razni reagensi. Ključno je održavanje dovoljne koncentracije Cu(I) kroz cijelu reakciju. Najčešće se koriste soli Cu(II) u prisutnosti redukcijskih sredstava poput natrijevog askorbata pri čemu se *in situ* generira Cu(I).<sup>27</sup> Prisutnost redukcijskog sredstva čini reakciju manje osjetljivom na kisik iz zraka. Cu(I) može se i izravno dodavati u otopinu u obliku soli bakra(I), poput CuBr i CuI, ali tada treba paziti na moguću oksidaciju bakra.<sup>22</sup> Moguće je koristiti i bakrov(II) acetat u metanolu bez dodatka dodatnog redukcijskog sredstva pri čemu se metanol oksidira do metanala i reducira Cu(II) do Cu(I) (slika 11a). Jedna od mogućnosti je i oksidativno povezivanje alkina pri čemu nastaje diin i generira se Cu(I) (slika 11b).<sup>28</sup> U ovome radu kao izvor bakra korišten je  $[\text{Cu}(\text{OAc})_2(\text{H}_2\text{O})]_2$  u metanolu.



**Slika 11.** Mogući načini generiranja katalizatora Cu(I) u klik-reakciji.<sup>28</sup>

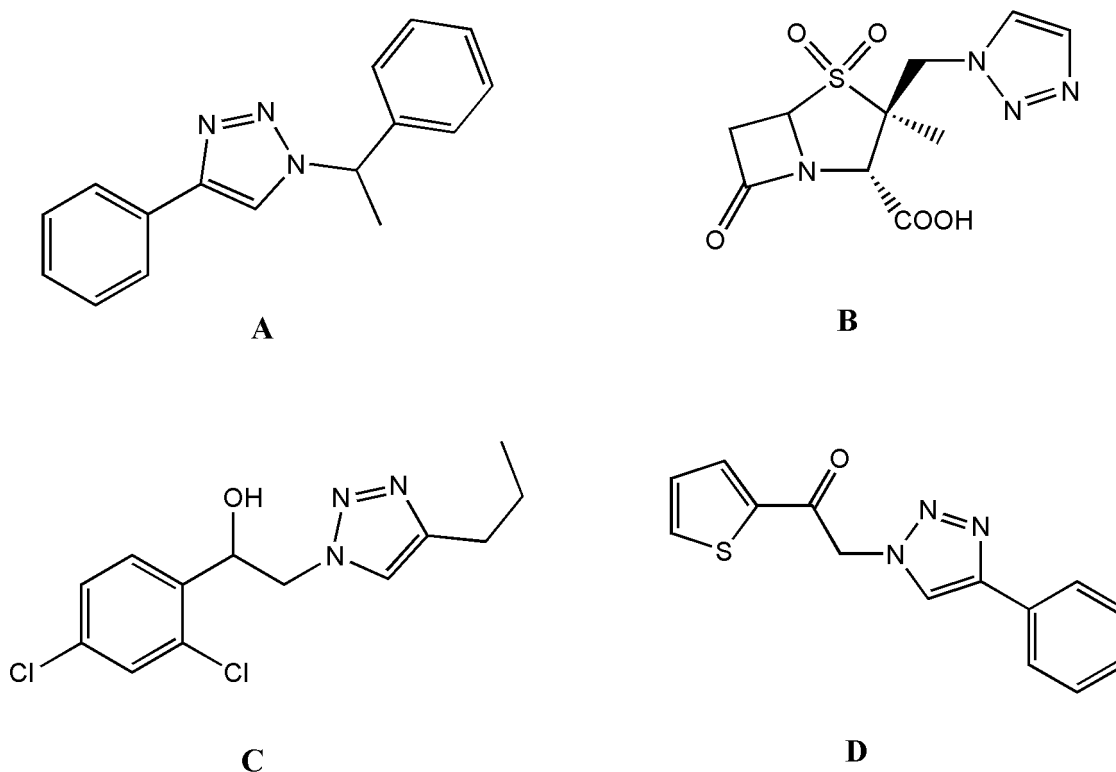
### 2.3.2. Klik-kemija i istraživanje lijekova

Otkrivanje novih lijekova često je ograničeno kompliciranim i sporim sintezama. Reakcije klik-kemije pojednostavljaju taj proces i omogućuju sintezu velikog broja spojeva, olakšavaju otkrivanje vodećih spojeva i njihovu optimizaciju. Korištenjem klik-reakcija uspješno je sintetiziran velik broj inhibitora različitih enzima koji imaju važnu ulogu u liječenju bolesti poput raka i tuberkuloze. Velika učinkovitost i mogućnost izvođenja klik-reakcija u vodenoj sredini omogućili su testiranje dobivenih spojeva izravno bez pročišćavanja. Tako je, primjerice, primjenom CuAAC reakcije sintetizirano 85 triazola kao potencijalnih inhibitora fukozil-transferaze (Fuc-T), enzima koji katalizira zadnji korak glikozilacije mnogih važnih oligosaharida. Reakcijska smjesa izravno je testirana i opažena su tri aktivna spoja. Nakon ponovne sinteze, pročišćavanja i testiranja najaktivniji spoj imao je konstantu inhibicije od 62 nM čime je postao prvi otkriveni nanomolarni inhibitor fukozil-transferaze.<sup>29</sup>

### 2.4. 1,2,3-triazoli

Biološka aktivnost derivata triazola poznata je i prije otkrića klik-kemije, ali CuAAC reakcija značajno je olakšala njihovu pripravu (slika 12). Osim lakoće priprave, triazoli imaju i povoljna fizikalno-kemijska svojstva. Iznimno su stabilni u organizmu i otporni na metaboličku razgradnju. Posjeduju veliki dipolni moment, a atomi dušika u prstenu akceptori su vodikove veze što je povoljno za interakciju s biološkim molekulama.<sup>1</sup> Pokazuju široki spektar biološke aktivnosti, poput antitumorskog, antibakterijskog i protuupalnog djelovanja.<sup>30</sup> Sintetizirani 4-aril-1,2,3-triazoli pokazali su potencijalnu antitumorsku aktivnost inhibirajući ljudsku metionin-aminopeptidazu tipa 2.<sup>31</sup>





**Slika 12.** Strukturne formule nekih biološki aktivnih triazola.

### 2.5. Analiza glavnih komponenta

Analiza glavnih komponenta (engl. *Principal Component Analysis* – PCA) je multivarijantna metoda kojoj je cilj izvući informacije iz početnog skupa podataka i reducirati ga tako da se zadrže samo važne informacije što olakšava njegovu interpretaciju. U kemiji su česti skupovi podataka s mnogo objekata koji su opisani s više stotina varijabli i interpretacija takvih podataka je zahtjevna bez dodatne obrade. U slučaju s tri ili manje varijabli moguće je objekte grafički prikazati u prostoru početnih varijabli i na taj način uočiti koliko se objekti međusobno razlikuju i dolazi li do formiranja grupa. Za više varijabli to nije moguće i moraju se primijeniti druge metode. Analiza glavnih komponenta transformira početne varijable u manji broj novih varijabli  $s$  koje su linearne kombinacije početnih (jednadžba 2.1.) pri čemu su  $x_j$  vrijednosti početnih varijabli, a koeficijenti  $v_j$  su faktorska opterećenja (engl. *PCA loadings*). Nove varijable nazivaju se i glavne komponente (engl. *PCA components*), a njihove vrijednosti nazivaju se faktorski bodovi (engl. *PCA scores*). Geometrijski se faktorski bodovi mogu interpretirati kao projekcije objekata iz vektorskog prostora početnih varijabli na vektore glavnih komponenta.

$$s_i = \sum_j v_j \cdot x_j \quad (2.1.)$$

Po definiciji, prva glavna komponenta je u smjeru najveće varijancije. Svaka sljedeća komponenta opisuje sve manje varijancije. Glavne komponente međusobno su ortogonalne. Na ovaj se način velik broj početnih varijabli može svesti na manji broj novih varijabli bez velikog gubitka informacija važnih za varijanciju među objektima. Matematički se metoda temelji na dekompoziciji po singularnim vrijednostima (engl. *Singular Value Decomposition* - SVD). Iz grafičkog prikaza faktorskih bodova u prostoru glavnih komponenata moguće je odrediti koji objekti su slični, a koji se razlikuju u prostoru glavnih komponenti. Prikazivanjem faktorskih opterećenja u prostoru glavnih komponenata moguće je odrediti koje početne varijable najviše doprinose varijanciji među objektima. S obzirom da pretpostavljamo da su razlike u aktivnosti spojeva iste klase posljedica razlika u njihovim molekularnim svojstvima (deskriptorima), iz prikaza faktorskih opterećenja moguće je identificirati ta svojstva (deskriptore).<sup>32,33</sup>

## 3. Eksperimentalni dio

### 3.1. Materijali i metode

Svi reagensi i kemikalije korišteni u izradi ovoga rada bili su analitičke čistoće. Sva otapala pročišćena su uobičajenim postupcima.

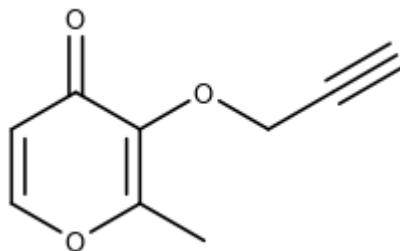
Napredovanje reakcija praćeno je tankoslojnom kromatografijom (engl. *Thin-Layer Chromatography*, TLC) na pločicama sa silikagelom kao stacionarnom fazom. Detekcija je izvršena s ultraljubičastim zračenjem valne duljine 254 nm i reverzibilnim vezanjem joda. Produkti reakcija čišćeni su kromatografijom na stupcu silikagela (0,063-0,200 mm, Sigma-Aldrich).

Svi spojevi okarakterizirani su spektroskopijom nuklearne magnetne rezonancije (NMR).  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektri snimljeni su na BrukerAdvance III HD spektrometru frekvencijama 400 MHz i 100 MHz u NMR cjevčicama promjera 5 mm pri  $T = 298$  K. Kemijski pomaci izraženi su prema tetrametilsilanu (TMS) kao unutarnjem standardu u ppm vrijednostima, a kao otapala korišteni su deuterirani dimetilsulfoksid (DMSO- $d_6$ ), deuterirani kloroform ( $\text{CDCl}_3$ ) te deuterirani metanol ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ). Signali su označeni kao singlet (s), dublet (d), triplet (t) i multiplet (m).

Maseni spektri (MS) snimljeni su pomoću uređaja Agilent 6410 uz ionizaciju elektroraspršenjem (ESI-MS).

### 3.2. Priprava 2-metil-3-(prop-2-in-1-iloksi)piran-4-ona (1)

U tikvicu s okruglim dnom uz miješanje na magnetskoj miješalici dodan je maltol (0,5 g; 3,96 mmol), suhi acetonitril (15 ml), kalijev karbonat (0,82 g; 5,93 mmol). Nakon par minuta dodan je propargil-bromid (541  $\mu\text{l}$ ; 5,93 mmol). Reakcijska smjesa miješa se uz refluks otapala ( $t = 82$  °C) do završetka reakcije. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom u etil-acetatu. Nakon 3 sata reakcijska smjesa profiltrirana je preko sinter-lijevka. Talog je ispran acetonitrilom i matičnica je uparena na rotacijskom uparivaču. Dobivena je smeđa tekućina koja je pročišćena kromatografijom na stupcu uz etil-acetat kao mobilnu fazu. Spojene čiste frakcije uparene su do suha na rotacijskom uparivaču i dobivena je blijedo-žuta krutina spoja **1** (0,52 g;  $\eta = 80$  %; slika 13).



**Slika 13.** Strukturna formula spoja **1**.

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  / ppm: 7,65 (d, 1H, H6,  $J = 5,7$  Hz), 6,36 (d, 1H, H6,  $J = 5,7$  Hz), 4,89 (d, 2H,  $\text{CH}_2$ ,  $J = 2,4$  Hz), 2,45 (t, 1H, CH, propargil,  $J = 2,4$  Hz), 2,39 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  / ppm: 174,67 (C=O), 160,68 (C2), 153,62 (C6), 142,81 (C3), 117,10 (C5), 78,99 (CH, propargil), 75,60 (C, propargil), 58,66 ( $\text{CH}_2$ ), 15,27 ( $\text{CH}_3$ ).

**ESI-MS:**  $m/z$  165,0  $[\text{M}+\text{H}]^+$

### 3.3. Priprava aromatskih azida

#### 3.3.1. Općeniti postupak priprave aromatskih azida

Za pripravu aromatskih azida korištene su dvije metode: metoda A i metoda B.

Metoda A:

U tikvicu s okruglim dnom uz miješanje na magnetskoj miješalici dodana je *p*-toluensulfonska kiselina monohidrat i voda. Nakon kraćeg miješanja dodan je odgovarajući anilinski derivat. Nakon 1 minute dodan je natrijev nitrit postepeno kroz 5 minuta. Reakcijska smjesa miješana je do nestanka anilinskog derivata što je praćeno tankoslojnom kromatografijom uz mobilnu fazu diklormetan/heksan (5:1,  $v/v$ ). Zatim je u reakcijsku smjesu dodan natrijev azid. Nakon 30 minuta reakcijska smjesa ekstrahirana je etil-acetatom ( $3 \times 20$  ml). Spojeni organski ekstrakti isprani su dva puta destiliranom vodom ( $2 \times 20$  ml) i sušeni na bezvodnom natrijevom sulfatu. Nakon filtriranja etil-acetat uparen je na rotacijskom uparivaču. Dobivena uljasta smjesa pročišćena je propuštanjem kroz sinter-lijevak napunjen silikagelom uz mobilnu fazu diklormetan/heksan (5:1,  $v/v$ ). Dobiveni uljasti produkti čuvaju se dobro začepjeni u hladnjaku.

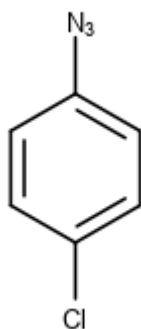
Metoda B:

U tikvicu s okruglim dnom uz miješanje na magnetskoj miješalici na 0 °C dodana je klorovodična kiselina ( $w = 15\%$ ) i odgovarajući anilinski derivat. Nakon kraćeg miješanja u reakcijsku smjesu dodan je kap po kap natrijev nitrit otopljen u vodi. Reakcijska smjesa

miješana je na 0 °C 30 minuta i zatim je dodan natrijev azid otopljen u vodi kap po kap. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom uz mobilnu fazu etil-acetat/metanol (5:1, v/v). Nakon jednog sata, reakcijska smjesa ekstrahirana je etil-acetatom (3×20 ml). Spojeni organski ekstrakti isprani su s destiliranom vodom (20 ml) do neutralnog pH i sušeni na bezvodnom natrijevom sulfatu. Nakon filtriranja etil-acetat uparen je na rotacijskom uparivaču i dobiveni su čisti uljasti spojevi koje nije potrebno dodatno pročišćavati.

#### 3.3.1.1. Priprava 4-klorfenilazida (**2**); metoda A

U tikvicu s okruglim dnom dodana je *p*-toluensulfonska kiselina monohidrat (2,68 g; 14,11 mmol), voda (13 ml) i 4-kloranilin (0,2 g; 1,57 mmol). Zatim je u reakcijsku smjesu dodan natrijev nitrit (0,97 g; 14,11 mmol) i nakon 30 minuta natrijev azid (0,16 g; 2,51 mmol). Nakon 30 minuta reakcijska smjesa obrađena je prema postupku opisanom u poglavlju 3.3.1. Dobivena je žuta uljasta tekućina spoja **2** (0,11 g;  $\eta = 46\%$ ; slika 14).



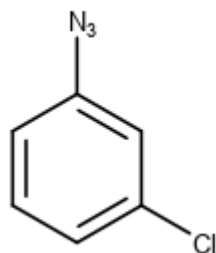
Slika 14. Strukturna formula spoja **2**.

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  / ppm: 7,33-7,30 (m, 2H, H3 i H5), 7,00-6,94 (m, 2H, H2 i H6).

$^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  / ppm: 138,63 (C- $\text{N}_3$ ), 130,20 (C-Cl), 129,83 (2 × CH, Ar), 120,26 (2 × CH, Ar).

#### 3.3.1.2. Priprava 3-klorfenilazida (**3**); metoda A

U tikvicu s okruglim dnom dodana je *p*-toluensulfonska kiselina monohidrat (2,68 g; 14,11 mmol), voda (13 ml) i 3-kloranilin (0,2 g; 1,57 mmol). Zatim je u reakcijsku smjesu dodan natrijev nitrit (0,97 g; 14,11 mmol) i nakon 30 minuta natrijev azid (0,16 g; 2,51 mmol). Nakon 30 minuta reakcijska smjesa obrađena je prema postupku opisanom u poglavlju 3.3.1. Dobivena je žuta uljasta tekućina spoja **3** (38 mg;  $\eta = 16\%$ ; slika 15).



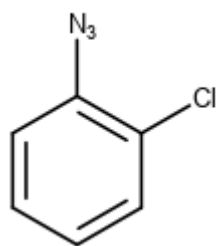
Slika 15. Strukturna formula spoja 3.

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  / ppm: 7,27 (t, 1H, H5,  $J = 8,1$  Hz), 7,12 (ddd, 1H, H4,  $J = 8,0$  Hz,  $J = 1,93$  Hz,  $J = 0,9$  Hz), 7,02 (t, 1H, H2,  $J = 2,1$  Hz), 6,92 (ddd, 1H, H6,  $J = 8,1$  Hz,  $J = 2,2$  Hz,  $J = 0,9$  Hz).

$^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  / ppm: 141,44 (C- $\text{N}_3$ ), 135,41 (C-Cl), 130,64, 125,05, 119,31, 117,24 (4  $\times$  CH, Ar).

#### 3.3.1.3. Priprava 2-klorfenilazida (4); metoda A

U tikvicu s okruglim dnom dodana je *p*-toluensulfonska kiselina monohidrat (2,68 g; 14,11 mmol), voda (13 ml) i 2-kloranilin (0,2 g; 1,57 mmol). Zatim je u reakcijsku smjesu dodan natrijev nitrit (0,97 g; 14,11 mmol) i nakon 30 minuta natrijev azid (0,16 g; 2,51 mmol). Nakon 30 minuta reakcijska smjesa obrađena je prema postupku opisanom u poglavlju 3.3.1. Dobivena je žuta uljasta tekućina spoja 4 (71 mg;  $\eta = 29$  %; slika 16).



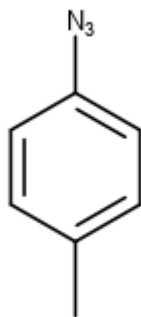
Slika 16. Strukturna formula spoja 4.

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  / ppm: 7,51-7,49 (m, 1H, H-Ar), 7,43-7,41 (m, 2H, H-Ar), 7,23-7,17 (m, 1H, H-Ar).

$^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  / ppm: 136,49 (C- $\text{N}_3$ ), 130,35, 128,53, 126,11 (3  $\times$  CH, Ar), 123,28 (C-Cl), 120,51 (CH, Ar).

#### 3.3.1.4. Priprava 4-metilfenilazida (5); metoda A

U tikvicu s okruglim dnom dodana je *p*-toluensulfonska kiselina monohidrat (2,68 g; 14,11 mmol), voda (13 ml) i 4-metilanolin (0,17 g; 1,57 mmol). Zatim je u reakcijsku smjesu dodan natrijev nitrit (0,97 g; 14,11 mmol) i nakon 30 minuta natrijev azid (0,16 g; 2,51 mmol). Nakon 30 minuta reakcijska smjesa obrađena je prema postupku opisanom u poglavlju 3.3.1. Dobivena je smeđa uljasta tekućina spoja **5** (0,11 g;  $\eta = 53\%$ ; slika 17).



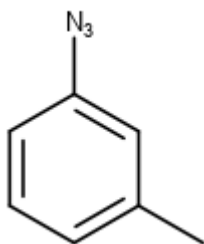
**Slika 17.** Strukturna formula spoja **5**.

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 7,23-7,21 (m, 1H, H3 i H5), 7,02-7,00 (m, 1H, H2 i H6), 2,28 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 136,35 (C-N<sub>3</sub>), 134,35 (C-Me), 130,35, 118,79 (4  $\times$  CH, Ar), 20,27 (CH<sub>3</sub>).

#### 3.3.1.5. Priprava 3-metilfenilazida (6); metoda B

U tikvicu s okruglim dnom dodana je klorovodična kiselina ( $w = 15\%$ ; 1,9 ml) i 3-metilanolin (0,2 g; 1,87 mmol). Zatim je dodan natrijev nitrit (0,16 g; 2,32 mmol) otopljen u vodi (4,7 ml). Nakon 30 minuta dodan je natrijev azid (0,18 g; 2,77 mmol) otopljen u vodi (0,7 ml). Reakcijska smjesa miješana je jedan sat i zatim obrađena prema postupku opisanom u poglavlju 3.3.1. Dobivena je smeđa uljasta tekućina spoja **6** (0,18 g;  $\eta = 72\%$ ; slika 18).



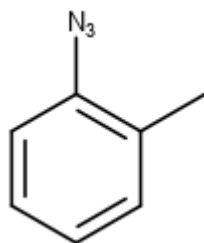
**Slika 18.** Strukturna formula spoja **6**.

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 7,29 (t, 1H, H5,  $J = 7,7$  Hz), 7,01 (dd, 1H, H4,  $J = 7,6$  Hz,  $J = 0,7$  Hz), 6,94-6,89 (m, 2H, H2 i H6).

$^{13}\text{C NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 139,62 (C-N<sub>3</sub>), 139,05 (C-Me), 129,68, 125,79, 119,32, 116,06 (4  $\times$  CH, Ar), 20,72 (CH<sub>3</sub>).

#### 3.3.1.6. Priprava 2-metilfenilazida (7); metoda B

U tikvicu s okruglim dnom dodana je klorovodična kiselina ( $w = 15\%$ ; 1,9 ml) i 2-metilanilin (0,2 g; 1,87 mmol). Zatim je dodan natrijev nitrit (0,16 g; 2,32 mmol) otopljen u 4,7 ml vodi (4,7 ml). Nakon 30 minuta dodan je natrijev azid (0,18 g; 2,77 mmol) otopljen u vodi (0,7 ml). Reakcijska smjesa miješana je jedan sat i zatim obrađena prema postupku opisanom u poglavlju 3.3.1. Dobivena je smeđa uljasta tekućina spoja **7** (0,17 g;  $\eta = 68\%$ ; slika 19).



Slika 19. Strukturna formula spoja **7**.

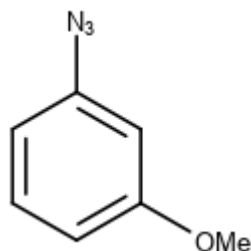
$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 7,31-7,22 (m, 3H, H-Ar), 7,11-7,07 (m, 1H, H-Ar), 2,16 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 137,54 (C-N<sub>3</sub>), 130,96 (CH, Ar), 128,67 (C-Me), 127,32, 124,73, 118,13 (3  $\times$  CH, Ar), 16,76 (CH, Ar).

#### 3.3.1.7. Priprava 3-metoksifenilazida (8); metoda B

U tikvicu s okruglim dnom dodana je klorovodična kiselina ( $w = 15\%$ ; 1,6 ml) i 3-metoksianilin (0,2 g; 1,62 mmol). Zatim je dodan natrijev nitrit (0,14 g; 2,03 mmol) otopljen u vodi (4,1 ml). Nakon 30 minuta dodan je natrijev azid (0,16 g; 2,46 mmol) otopljen u vodi (0,6 ml). Reakcijska smjesa miješana je jedan sat i zatim obrađena prema postupku opisanom u poglavlju 3.3.1. Dobivena je smeđa uljasta tekućina spoja **8** (0,23 g;  $\eta = 95\%$ ; slika 20).





**Slika 20.** Strukturna formula spoja **8**.

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 7,32 (t, 1H, H5,  $J = 8,1$  Hz), 6,77 (ddd, 1H, H6,  $J = 8,4$  Hz,  $J = 2,4$  Hz,  $J = 0,8$  Hz), 6,71 (ddd, 1H, H4,  $J = 8,4$  Hz,  $J = 2,4$  Hz,  $J = 0,80$  Hz), 6,63 (ddd, 1H, H2,  $J = 2,3$  Hz), 3,76 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 160,39 (C-OMe), 140,48 (C-N<sub>3</sub>), 130,68, 111,07, 110,97, 104,66 (4  $\times$  CH, Ar), 55,22 (CH<sub>3</sub>).

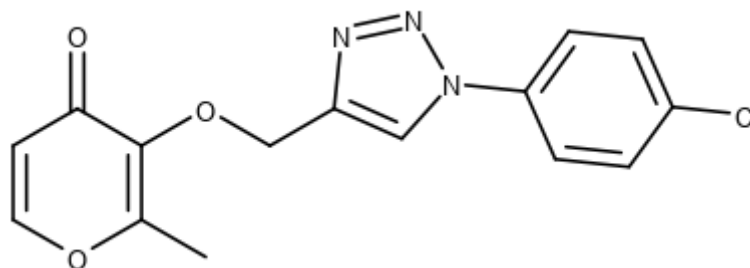
### 3.4. Priprava triazola klik-reakcijama

#### 3.4.1 Općeniti postupak priprave triazola klik-reakcijama

U tikvicu s okruglim dnom uz miješanje na magnetskoj miješalici dodan je metanol, propargilirani maltol (spoj **1**), odgovarajući azid (spojevi **2**, **3**, **4**, **5**, **6**, **7**, **8**) i [Cu(OAc)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)]<sub>2</sub>. Reakcijska smjesa miješana je preko noći na 60 °C uz refluks metanola. Napredovanje reakcije praćeno je tankoslojnom kromatografijom uz etil-acetat kao mobilnu fazu. Metanol je uparen na rotacijskom uparivaču, a dobivena kruta smjesa pročišćena je kromatografijom na stupcu. Za mobilnu fazu korištena je smjesa otapala etil-acetat/metanol 5:1 (v/v). Spojene čiste frakcije uparene su do suha na rotacijskom uparivaču. Dobiveni spojevi spremljeni su u tamne bočice.

##### 3.4.1.1. Priprava 3-(1-(4-klorfenil)-1,2,3-triazol-4-ylmetoksi)-2-metilpiran-4-ona (**9**)

U tikvicu s okruglim dnom dodan je metanol (12 ml), spoj **1** (0,12 g; 0,72 mmol), spoj **2** (0,11 g; 0,72 mmol) i katalizator [Cu(OAc)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)]<sub>2</sub> (7 mg; 0,04 mmol). Reakcijska smjesa obrađena je nakon 48 sati prema postupku opisanom u poglavlju 3.4.1. Dobivena je bijela krutina spoja **9** (0,19 g;  $\eta = 83$  %, slika 21).



**Slika 21.** Strukturna formula spoja **9**.

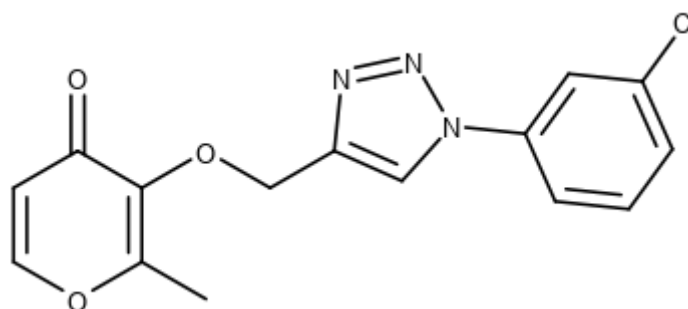
$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 8,94 (s, 1H, H-triazol), 8,06 (d, 1H, H6,  $J = 5,7$  Hz), 7,97-7,93 (m, 2H, H-Ar), 7,69-7,65 (m, 2H, H-Ar), 6,38 (d, 1H, H5), 5,22 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 2,12 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 173,77 (C=O), 159,46 (C2), 155,01 (C6), 143,94 (C, triazol), 142,66 (C3), 135,23 (C, fenil), 132,90 (C-Cl), 129,77 (CH, triazol), 122,97, 121,67 ( $2 \times$  CH, Ar), 116,38 (C5), 63,38 (CH<sub>2</sub>), 14,38 (CH<sub>3</sub>).

**ESI-MS:**  $m/z$  340,1 [M+Na]<sup>+</sup>

#### 3.4.1.1. Priprava 3-(1-(3-klorfenil)-1,2,3-triazol-4-ilmetoksi)-2-metilpiran-4-ona (**10**)

U tikvicu s okruglim dnom dodan je metanol (4 ml), spoj **1** (0,04 g; 0,25 mmol), spoj **3** (0,04 g; 0,25 mmol) i katalizator [Cu(OAc)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)]<sub>2</sub> (3 mg; 0,02 mmol). Reakcijska smjesa obrađena je nakon 24 sata prema postupku opisanom u poglavlju 3.4.1. Dobivena je bijela krutina spoja **10** (66 mg;  $\eta = 83$  %, slika 22).



**Slika 22.** Strukturna formula spoja **10**.

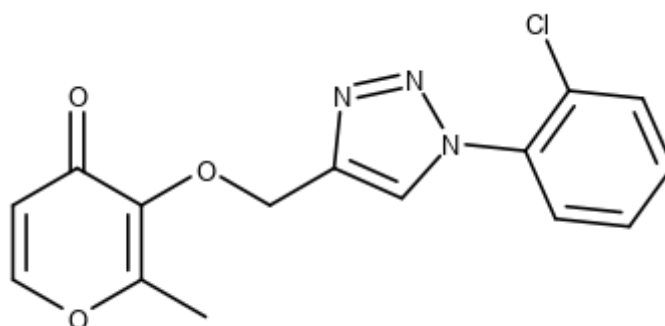
$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 8,99 (s, 1H, H-triazol), 8,07-8,05 (m, 2H, H6, H-Ar), 7,94-7,92 (m, 1H, H-Ar), 7,63 (t, 1H, H-Ar,  $J = 8,1$  Hz), 7,58-7,55 (m, 1H, H-Ar), 6,39 (d, 1H, H5,  $J = 5,7$  Hz), 5,22 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 2,12 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 173,77 (C=O), 159,50 (C2), 155,02 (C6), 143,93 (C, triazol), 142,62 (C3), 137,46 (C, fenil), 134,12 (C-Cl), 131,54 (CH, triazol), 128,44, 123,09, 119,77, 118,55 (4  $\times$  CH, Ar), 116,39 (C5), 63,34 (CH<sub>2</sub>), 14,39 (CH<sub>3</sub>).

**ESI-MS:**  $m/z$  340,2 [M+Na]<sup>+</sup>

#### 3.4.1.1. Priprava 3-(1-(2-klorfenil)-1,2,3-triazol-4-ilmetoksi)-2-metilpiran-4-ona (**11**)

U tikvicu s okruglim dnom dodan je metanol (6 ml), spoj **1** (59 mg; 0,36 mmol), spoj **4** (56 mg; 0,36 mmol) i katalizator [Cu(OAc)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)]<sub>2</sub> (4 mg; 0,02 mmol). Reakcijska smjesa obrađena je nakon 48 sati prema postupku opisanom u poglavlju 3.4.1. Dobivena je bijela krutina spoja **11** (64 mg;  $\eta$  = 56 %, slika 23).



**Slika 23.** Strukturna formula spoja **11**.

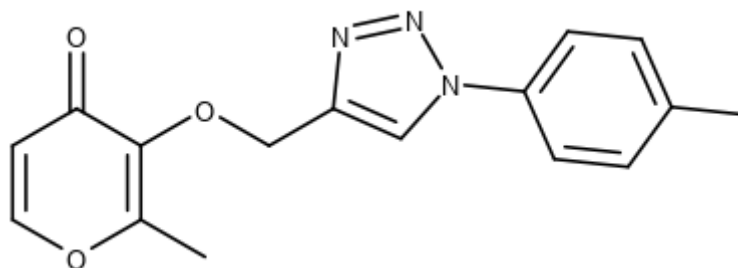
$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 8,63 (s, 1H, H-triazol), 8,06 (d, 1H, H6,  $J$  = 5,7 Hz), 7,79-7,77 (m, 1H, H-Ar), 7,69-7,57 (m, 3H, H-Ar), 6,38 (d, 1H, H5,  $J$  = 5,7 Hz), 5,25 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 2,08 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 173,80 (C=O), 159,60 (C2), 154,99 (C6), 142,61 (C, triazol), 142,40 (C3), 134,31 (C, fenil), 128,34 (C-Cl), 131,64 (CH, triazol), 130,41, 128,49, 128,39, 127,04 (4  $\times$  CH, Ar), 116,38 (C5), 63,14 (CH<sub>2</sub>), 14,37 (CH<sub>3</sub>).

**ESI-MS:**  $m/z$  340,3 [M+Na]<sup>+</sup>

#### 3.4.1.1. Priprava 3-(1-(4-metilfenil)-1,2,3-triazol-4-ilmetoksi)-2-metilpiran-4-ona (**12**)

U tikvicu s okruglim dnom dodan je metanol (10 ml), spoj **1** (0,11 g; 0,67 mmol), spoj **5** (87 mg; 0,67 mmol) i katalizator [Cu(OAc)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)]<sub>2</sub> (6 mg; 0,03 mmol). Reakcijska smjesa obrađena je nakon 24 sata prema postupku opisanom u poglavlju 3.4.1. Dobivena je bijela krutina spoja **12** (0,14 g;  $\eta$  = 70 %, slika 24).



**Slika 24.** Strukturna formula spoja **12**.

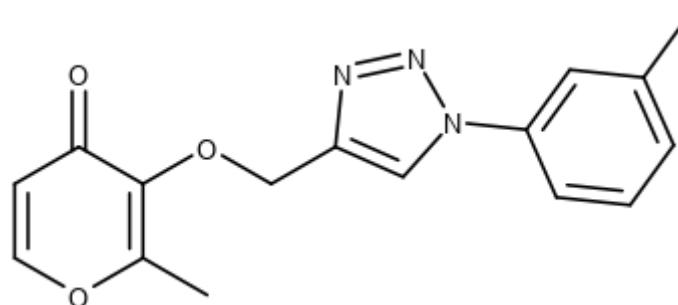
**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  / ppm: 8,85 (s, 1H, H-triazol), 8,05 (d, 1H, H<sub>6</sub>,  $J = 5,7$  Hz), 7,79-7,76 (m, 2H, H-Ar), 7,39 (d, 2H, H-Ar,  $J = 8,1$  Hz), 6,38 (d, 1H, H<sub>5</sub>,  $J = 5,7$  Hz), 5,21 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 2,37 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-Ar), 2,11 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  / ppm: 173,79 (C=O), 159,45 (C<sub>2</sub>), 154,99 (C<sub>6</sub>), 143,65 (C, triazol), 142,69 (C<sub>3</sub>), 138,25 (C, fenil), 134,20 (C-Me), 130,12 (CH, triazol), 122,73, 119,85 (2  $\times$  CH, Ar), 116,38 (C<sub>5</sub>), 63,47 (CH<sub>2</sub>), 20,46 (CH<sub>3</sub>, fenil), 14,37 (CH<sub>3</sub>).

**ESI-MS:**  $m/z$  320,1 [M+Na]<sup>+</sup>

#### 3.4.1.1. Priprava 3-(1-(3-metilfenil)-1,2,3-triazol-4-ilmetoksi)-2-metilpiran-4-ona (**13**)

U tikvicu s okruglim dnom dodan je metanol (10 ml), spoj **1** (0,11 mg; 0,67 mmol), spoj **6** (89 mg; 0,67 mmol) i katalizator [Cu(OAc)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)]<sub>2</sub> (6 mg; 0,03 mmol). Reakcijska smjesa obrađena je nakon 24 sata prema postupku opisanom u poglavlju 3.4.1. Dobivena je smeđi uljasti spoj **13** (0,14 g;  $\eta = 70$  %, slika 25).



**Slika 25.** Strukturna formula spoja **13**.

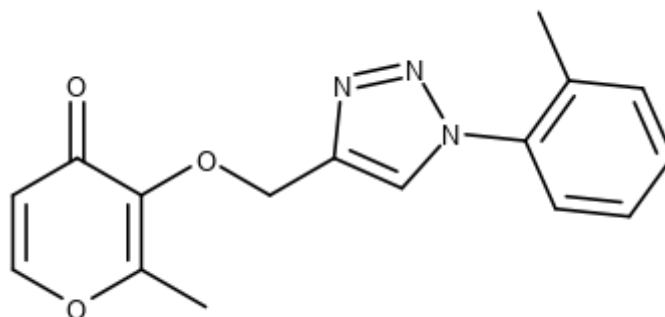
**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  / ppm: 8,87 (s, 1H, H-triazol), 8,06 (d, 1H, H<sub>6</sub>,  $J = 5,7$  Hz), 7,75 (s, 1H, H-Ar), 7,69 (d, 1H, H-Ar,  $J = 7,4$  Hz), 7,47 (t, 1H, H-Ar,  $J = 7,8$  Hz), 7,30 (d, 1H, H-Ar,  $J = 7,6$  Hz), 6,38 (d, 1H, H<sub>5</sub>,  $J = 5,7$  Hz), 5,21 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 2,41 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-Ar), 2,11 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 173,80 (C=O), 159,48 (C2), 155,01 (C6), 143,69 (C, triazol), 142,66 (C3), 139,58 (C, fenil), 136,40 (C-Me), 129,60 (CH, triazol), 129,21, 122,83, 120,39, 117,05 (4  $\times$  CH, Ar), 116,39 (C5), 63,43 (CH<sub>2</sub>), 20,81 (CH<sub>3</sub>, fenil), 14,38 (CH<sub>3</sub>).

**ESI-MS:**  $m/z$  320,3 [M+Na]<sup>+</sup>

#### 3.4.1.1. Priprava 3-(1-(2-metilfenil)-1,2,3-triazol-4-ilmetoksi)-2-metilpiran-4-ona (**14**)

U tikvicu s okruglim dnom dodan je metanol (13 ml), spoj **1** (0,13 g; 0,82 mmol), spoj **7** (0,11 g; 0,82 mmol) i katalizator [Cu(OAc)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)]<sub>2</sub> (8 mg; 0,04 mmol). Reakcijska smjesa obrađena je nakon 48 sati prema postupku opisanom u poglavlju 3.4.1. Dobiven je smeđi uljasti spoj **14** (0,22 mg;  $\eta$  = 90 %, slika 26).



**Slika 26.** Strukturna formula spoja **14**.

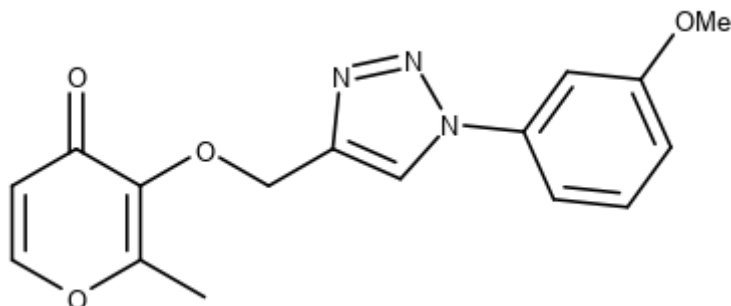
$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 8,55 (s, 1H, H-triazol), 8,06 (d, 1H, H6,  $J$  = 5,7 Hz), 7,50-7,48 (m, 2H, H-Ar), 7,42-7,40 (m, 2H, H-Ar), 6,38 (d, 1H, H5,  $J$  = 5,7 Hz), 5,23 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 2,11 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-Ar), 2,09 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 173,83 (C=O), 159,53 (C2), 154,99 (C6), 142,63 (C, triazol), 142,50 (C3), 136,08 (C, fenil), 131,23 (CH, triazol), 129,78, 126,92, 126,40, 125,95 (4  $\times$  CH, Ar), 125,95 (C-Me), 116,37 (C5), 63,29 (CH<sub>2</sub>), 17,15 (CH<sub>3</sub>, fenil), 14,35 (CH<sub>3</sub>).

**ESI-MS:**  $m/z$  320,3 [M+Na]<sup>+</sup>

#### 3.4.1.1. Priprava 3-(1-(3-metoksifenil)-1,2,3-triazol-4-ilmetoksi)-2-metilpiran-4-ona (**15**)

U tikvicu s okruglim dnom dodan je metanol (11 ml), spoj **1** (0,11 g; 0,67 mmol), spoj **8** (0,10 g; 0,67 mmol) i katalizator [Cu(OAc)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)]<sub>2</sub> (10 mg; 0,05 mmol). Reakcijska smjesa obrađena je nakon 24 sata prema postupku opisanom u poglavlju 3.4.1. Dobiven je smeđi uljasti spoj **15** (0,18 g;  $\eta$  = 88 %, slika 27).



Slika 27. Strukturna formula spoja 15.

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 8,94 (s, 1H, H-triazol), 8,06 (d, 1H, H6,  $J = 5,7$  Hz), 7,50-7,47 (m, 3H, H-Ar), 7,07-7,04 (m, 1H, H-Ar), 6,38 (d, 1H, H5,  $J = 5,7$  Hz), 5,21 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,85 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-OAr), 2,12 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

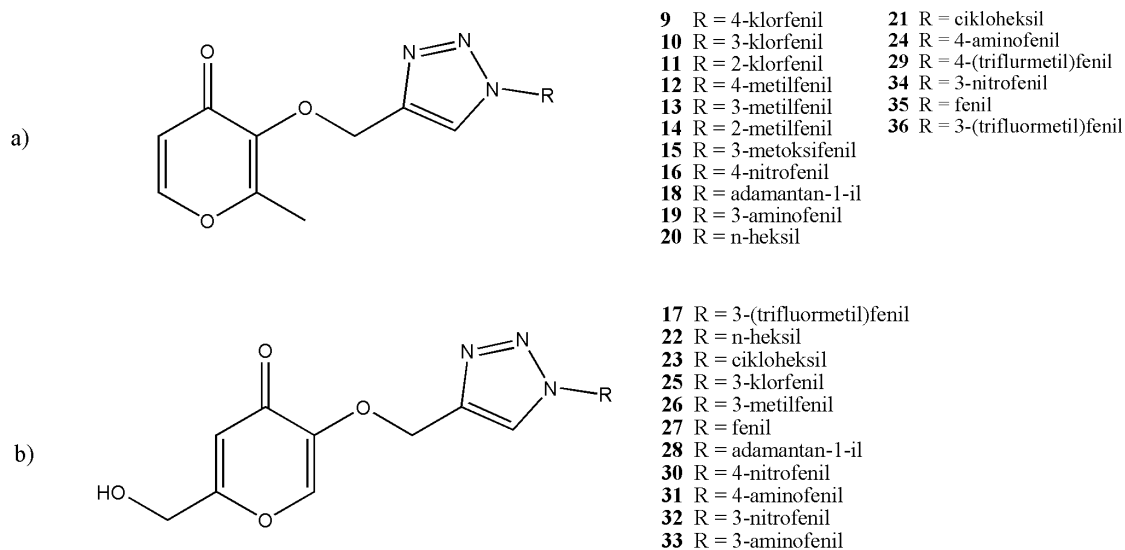
$^{13}\text{C NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 173,80 (C=O), 160,10 (C-OMe), 159,49 (C2), 155,02 (C6), 143,72 (C, triazol), 142,66 (C3), 137,47 (C, fenil), 130,76 (CH, triazol), 122,97 (CH, Ar), 116,40 (C5), 114,37, 111,89, 105,53 (3  $\times$  CH, Ar), 63,41 (CH<sub>2</sub>), 55,53 (O-CH<sub>3</sub>), 14,38 (CH<sub>3</sub>).

**ESI-MS:**  $m/z$  336,3 [M+Na]<sup>+</sup>

### 3.5. Analiza glavnih komponenata

Analiza glavnih komponenata provedena je na deskriptorima spojeva **9-36** (slika 28). Spojevi **9-15** sintetizirani su u ovome radu, a ostali spojevi su korišteni za analizu glavnih komponenata jer pripadaju istoj klasi spojeva i sintetizirani su u sklopu šireg istraživanja kojemu ovaj rad pripada, a na njima do sada nisu provedene nikakve statističke analize. Svim spojevima generirani su SMILES kodovi te su uneseni u program VolSurf+.<sup>34</sup> Program generira 3D strukture svih spojeva. S obzirom na mali broj rotabilnih veza, generator konformacija programa Volsurf smatran je dostatnim. Korištenjem programa GRID u sklopu programa VolSurf+ izračunata su polja molekularnih interakcija (engl. *Molecular Interaction Fields* - MIF) svih spojeva. Računanje MIF-ova odvija se tako da se molekula smješta u središte 3D mreže, a u točke 3D mreže se smješta kemijska proba te se računaju energije nekovalentnih interakcija molekule i kemijskih proba u točkama 3D mreže. Kemijske probe su molekule ili funkcijske skupine definiranih parametara koje omogućavaju istraživanje različitih svojstava i različitih interakcija molekule od interesa. U ovom radu, kao kemijske probe su korištene voda (hidrofilna proba, OH<sub>2</sub>), hidrofobna proba (DRY), karbonilni kisik (=O) kao akceptor vodikove veze i neutralna amidna skupina (N1) kao donor vodikove veze. Za svaku korištenu kemijsku

probu dobiva se po jedna 3D matrica, odnosno MIF-ovi, iz kojih program VolSurf+ generira 128 deskriptora koji imaju jasno fizikalno ili kemijsko značenje i opisuju danu molekulu.

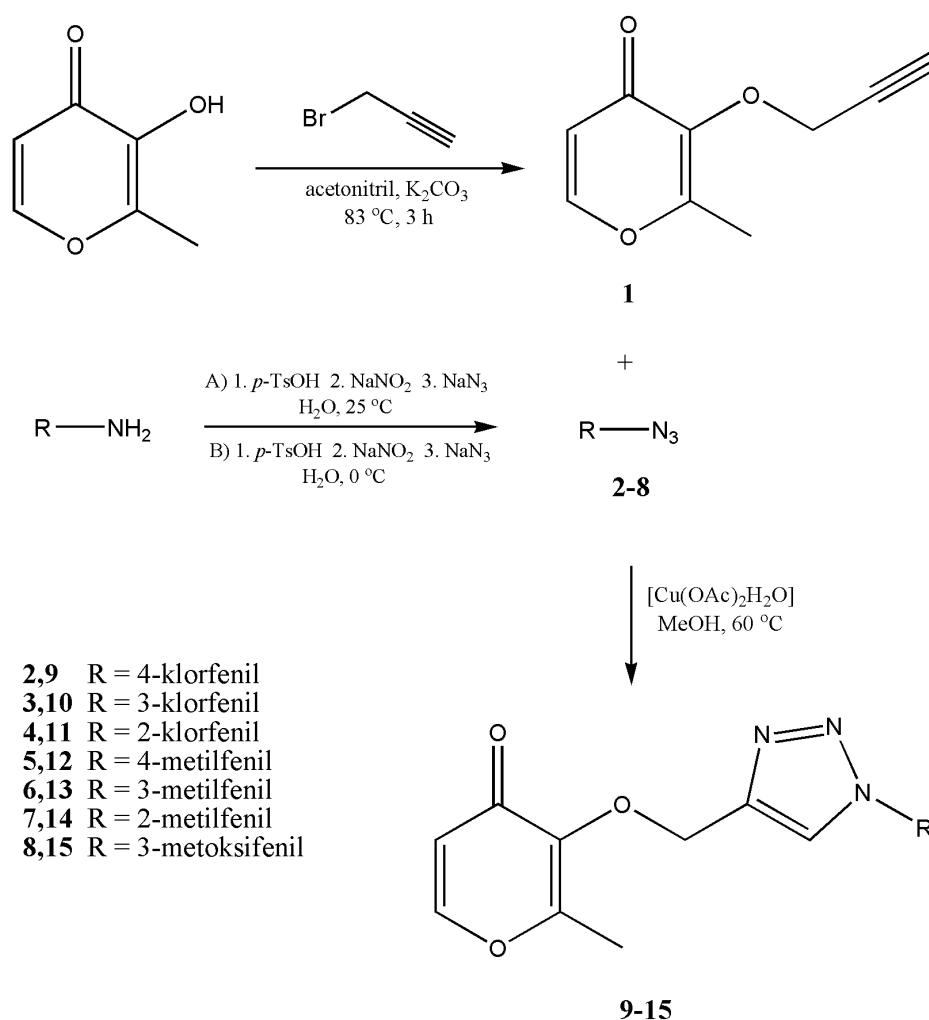


**Slika 28.** Strukturne formule spojeva korištenih za analizu glavnih komponenata.

## 4. Rezultati i rasprava

### 4.1. Uvod

U okviru ovog rada sintetizirano je 7 novih aromatskih 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazolnih derivata maltola (3-hidroksi-2-metilpiran-4-ona; spojevi **9-15**) koji se međusobno razlikuju prema vrsti i položaju supstituenata na aromatskom prstenu. Pripravljeni su u nekoliko koraka (slika 29). Prvi korak bilo je propargiliranje maltola pri čemu je dobiven spoj **1**. Reakcija je provedena uz prisutnost baze, u uvjetima Williamsonove sinteze etera. Odgovarajući anilinski derivati prevedeni su u diazonijeve soli korištenjem dvije metode. Dodatkom natrijevog azida bez prethodne izolacije diazonijevih soli (tzv. „one-pot“ sinteza) dobiveni su aromatski azidi **2-8**. Krajnji triazolni produkti **9-15** sintetizirani su klik-reakcijom, bakrom(I) kataliziranom 1,3-dipolarnom cikloadicijom, između alkina, propargiliranog maltola **1**, i aromatskih azida **2-8**.



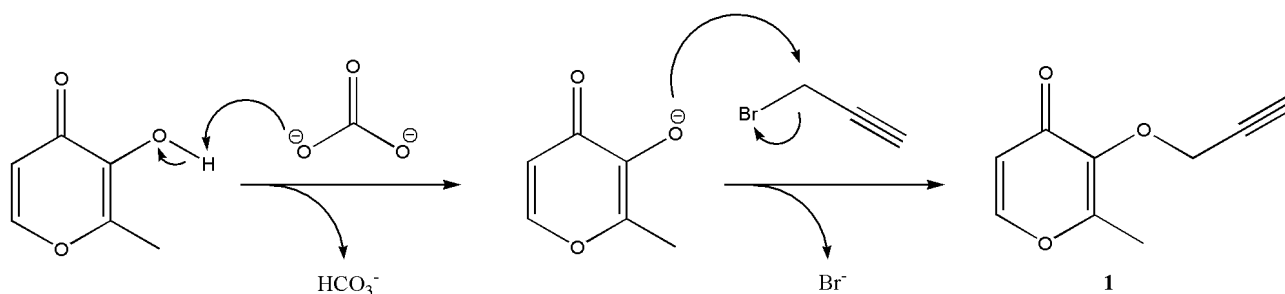
Slika 29. Shematski prikaz sinteze ciljnih molekula **9-15**.



Ovaj rad nastavak je istraživanja koja se provode u laboratoriju Zavoda za organsku kemiju u kojima su dosad pripremljeni različiti aromatski i alifatski 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazolni derivati hidropirana-4-ona, maltola i kojične kiseline, koji su pokazali biološku aktivnost.<sup>35,36</sup> Cilj ovoga rada bila je sinteza novih aromatskih triazolnih derivata maltola s varijacijom aromatskih skupina vezanih na položaj 1 triazolnog prstena, a u svrhu proučavanja utjecaja vrste supstituenta na biološki učinak, primarno antitumorski. Varirana je vrsta i položaj supstituenata na aromatskom prstenu, točnije položaj metilne skupine, metoksi-skupine i atoma klora na benzenskom prstenu.

#### 4.2. Priprava propargiliranog maltola **1**

Prvi korak u sintezi bila je priprava propargiliranog maltola **1** koji je dobiven Williamsonovom sintezom etera. To je usklađena S<sub>N</sub>2 reakcija u kojoj se djelovanjem baze iz alkohola generira alkoksidni ion koji ima ulogu nukleofila i napada supstrat koji je pogodan elektrofil za S<sub>N</sub>2 reakciju, najčešće primarni alkil-halogenid ili alkil-tosilat. U Williamsonovoj sintezi nije moguće koristiti sekundarne i tercijarne alkil-halogenide jer bi prevladala reakcija eliminacije. Kao baza najčešće se koristi natrijev hidrid, natrijev hidroksid ili kalijev karbonat. Protična i polarna otapala usporavaju reakciju pa se najčešće koriste acetonitril, DMF i aceton. U ovome radu reakcija je provedena u suhom acetonitrilu uz bazu kalijev karbonat. Baza deprotonira hidroksilnu skupinu maltola koji zatim napada propargil-bromid dajući spoj **1** što je praćeno izlaskom bromida kao izlazne skupine (slika 30). Reakcija se izvodi uz reflux pri 83 °C u trajanju od 3 sata. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom uz etil-acetat kao mobilnu fazu. Željeni produkt dobiven je u dobrom iskorištenju od 80 %. Struktura spoja **1** potvrđena je <sup>1</sup>H NMR i <sup>13</sup>C NMR spektroskopijom, te tankoslojnom kromatografijom usporedbom s uzorkom standarda.

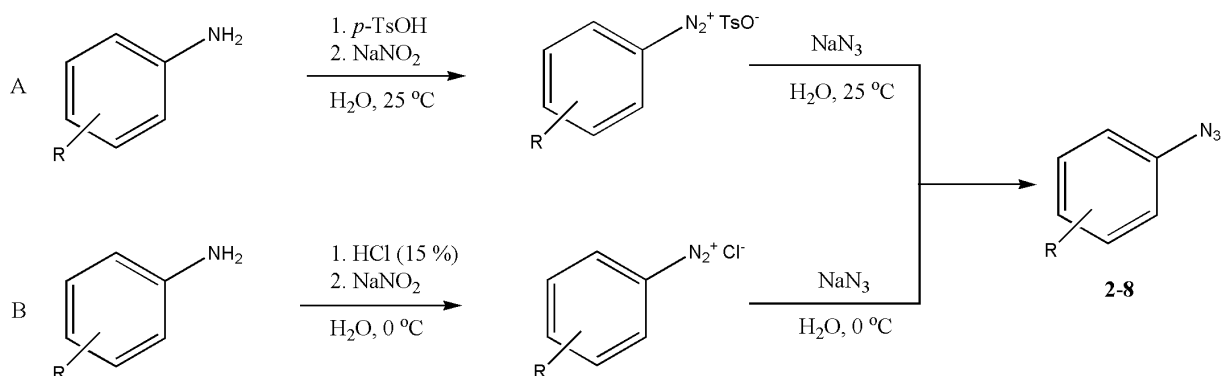


**Slika 30.** Shematski prikaz mehanizma Williamsonove sinteze etera na primjeru pripreve spoja **1**.

## 4.3. Priprava aromatskih azida 2-8

Aromatski azidi pripremljeni su dvjema metodama, od čega azidi **2-5** metodom A, a azidi **6-8** metodom B. U oba je slučaja riječ o reakciji nukleofilne aromatske supstitucije u kojoj je azid,  $\text{N}_3^-$ , nukleofil.

U prisutnosti natrijevog nitrita i velikog suviška *para*-toluensulfonske kiseline odgovarajući anilinski derivati, 4-kloranilin, 3-kloranilin, 2-kloranilin i 4-metilnilin, prevedeni su u aril-diazonijev tosilat. U reakcijsku je smjesu bez prethodne izolacije tosilata dodan natrijev azid. Po završetku reakcije reakcijska smjesa pročišćena je preko sinter-lijevka napunjenog silikagelom pri čemu su dobiveni azidi **2-5**. Prilikom reakcije nastajanja diazonijeve soli ne dolazi do cijepanja veze ugljik-dušik što je, kako je istaknuto u poglavlju 2.1.1.2., potvrđeno izotopnim označavanjem atoma dušika vezanog na aromatski prsten.<sup>13</sup> Azidni ion, nukleofil, napada diazonijevu sol i nastaju pentazolni međuproducti koji gubitkom dušika daju odgovarajuće azide **2-5** (slika 31). U ovome postupku natrijev nitrit i natrijev azid dodavani su u krutom obliku u reakcijsku smjesu, a oba koraka provode se u vodenoj otopini i pri sobnoj temperaturi bez izolacije aril-diazonijevih soli.

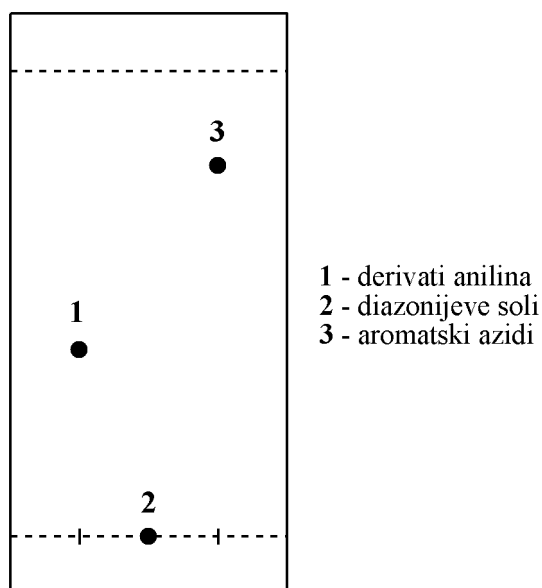


spoj	R	$\eta$ /% (metoda A)	$\eta$ /% (metoda B)
<b>2</b>	4-klorfenil	46	-
<b>3</b>	3-klorfenil	16	-
<b>4</b>	2-klorfenil	29	-
<b>5</b>	4-metilfenil	53	-
<b>6</b>	3-metilfenil	-	72
<b>7</b>	2-metilfenil	-	68
<b>8</b>	3-metoksifenil	-	95

Slika 31. Shematski prikaz priprave aromatskih azida **2-8**.

Pokušaj sinteze azida **6-8** iz odgovarajućih anilinskih derivata, 3-metilanilina, 2-metilanilina i 3-metoksianilina, metodom A nije bio uspješan i pojavila se potreba pronalaska nove metode. Azidi **6-8** sintetizirani su metodom B koja se razlikuje od metode A po tome što se umjesto *para*-toluensulfonske kiseline kao katalizator koristi klorovodična kiselina i svi se koraci provode pri 0 °C (slika 31). Razlika je i u načinu dodavanja natrijevog nitrita i natrijevog azida koji su u metodi B dodavani tako da su prethodno otopljeni u maloj količini vode. Novom metodom uspješno su pripremljeni azidi **6-8** u dobrom iskorištenju (68 % - 95 %) bez dodatnog pročišćavanja.

Neovisno o metodi pripreme azida, tijekom reakcija u oba slučaja jednostavno se prati tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala etil-acetat/metanol 5:1 (v/v). Početni anilinski derivati pokazuju  $R_f$  vrijednost od približno 0,4. Dodatkom natrijevog nitrita dolazi do nastajanja diazonijevih soli čije  $R_f$  vrijednosti zbog polarnosti u ovome sustavu otapala padaju na dno pločice. Kada sav anilinski derivat izreagira dodaje se natrijev azid, a nastajanje produkta, aromatskog azida, rezultira porastom  $R_f$  vrijednosti na približno 0,8 (slika 32).



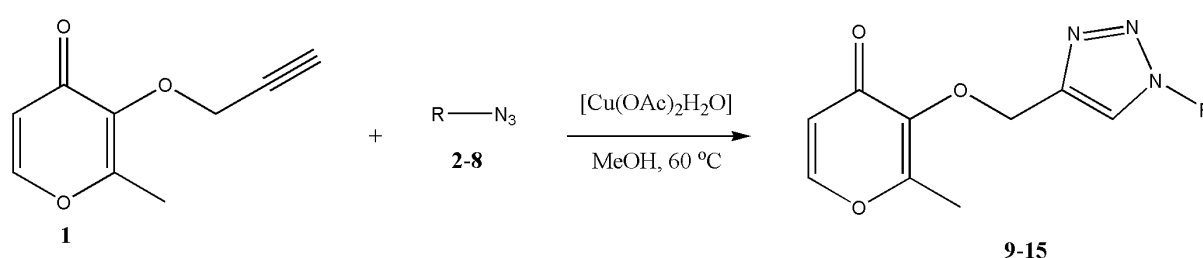
**Slika 32.** Shematski prikaz TLC pločice u sustavu otapala etil-acetat/metanol 5:1 (v/v) pri praćenju reakcije nastajanja aromatskih azida.

Prednost obje metode pripreve azida jest da izolacija nestabilne aril-diazonijske soli nije potrebna („one-pot“ sinteza) i da se svi koraci provode u vodenim otopinama pri blagim uvjetima. Prednost je i kratko vrijeme izvođenja pojedinih koraka. Usporedbom iskorištenja reakcija za pojedine metode može se uočiti značajno bolje iskorištenje za produkte dobivene metodom B. Iskorištenja za spojeve **2-5** dobivene metodom A su između 16 i 53 % dok su iskorištenja spojeva **6-8** dobivenih metodom B redom 72 %, 68 % i 95 %. Razlog tome može biti što se u metodi A koristio velik suvišak *para*-toluensulfonske kiseline koja zaostaje i nakon ekstrakcije s organskim otapalom zbog čega je nakon zadnjeg koraka potrebno pročišćavanje reakcijske smjese propuštanjem kroz sinter-lijevak sa silikagelom što utječe na iskorištenje. U metodi B koristi se mali suvišak klorovodične kiseline. Prevođenje anilinskih derivata u diazonijske soli dodatkom natrijevog nitrita burna je reakcija popraćena i mogućim sporednim reakcijama. U metodi B smanjena je mogućnost sporednih reakcija tako da se svi koraci provode pri sniženoj temperaturi. Dodatak natrijevog nitrita i natrijevog azida u obliku vodenih otopina također može smanjiti mogućnost sporednih reakcija. Strukture svih azida potvrđene su <sup>1</sup>H NMR i <sup>13</sup>C NMR spektroskopijom, te tankoslojnom kromatografijom usporedbom s uzorkom standarda.

#### 4.4. Priprava triazolnih derivata **9-15**

Završni korak u sintezi triazolnih derivata **9-15** su klik-reakcije između terminalnog alkina, propragiliranog maltola **1**, i aromatskih azida **2-8**. Reakcija je bakrom(I) katalizirana Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija kojom dolazi do formiranja 1,4-disupstituiranog 1,2,3-triazolnog prstena (slika 33). Provodi se u metanolu pri temperaturi od 60 °C. Za reakciju je ključna prisutnost bakra(I) koji je generiran *in situ* iz [Cu(OAc)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)]<sub>2</sub> u metanolu pri čemu dolazi do oksidacije metanola i redukcije Cu(II) u Cu(I) i nastajanja isključivo 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazola kao produkata. Svi triazolni produkti **9-15** pročišćeni su kolonskom kromatografijom kako bi se postigla što veća čistoća za njihova buduća biološka testiranja. Svi spojevi pripremljeni su u dobrom do umjerenom iskorištenju (56 % – 90 %). Trajanje reakcije za spojeve **10, 12, 13, 15** bilo je 24 sata, a za spojeve **9, 11 i 14** 48 sati jer su nakon 24 sata u ovim reakcijskim smjesama i dalje bili prisutni neizreagirani reaktanti što je praćeno tankoslojnom kromatografijom. Nije uočena povezanost između trajanja reakcije i njenog iskorištenja. Najniže iskorištenje od 56% dobiveno je u sintezi spoja **11** što se vjerojatno može pripisati gubitcima prilikom pročišćavanja kolonskom kromatografijom. Za mobilnu fazu korištena je smjesa otapala etil-acetat/metanol 5:1 (v/v). Ciljne molekule **9-15** snažno su se vezale za korištenu stacionarnu fazu pri kolonskoj kromatografiji, silikagel, i stoga je u cilju

poboljšanja prinosa potrebno optimirati postupak pročišćavanja triazolnih produkata kako bi se dobili još bolji rezultati. U tom je smislu moguće varirati sustave otapala za kromatografiju ili, idealno, izbjeći kromatografiju kao postupak pročišćavanja i zamijeniti je nekim drugim postupkom, primjerice prekrizacijom. U pojedinim reakcijama uočeno je zaostajanje početnih reaktanata stoga je u svrhu dodatnog poboljšanja prinosa potrebno istražiti i optimalan omjer i količinu početnih reaktanata kao i količinu dodanog katalizatora. Strukture svih ciljnih molekula **9-15** potvrđene su  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopijom, te spektrometrijom masa (MS).



spoj	R	$\eta/\%$	t/h
<b>9</b>	4-klorfenil	83	48
<b>10</b>	3-klorfenil	83	24
<b>11</b>	2-klorfenil	56	48
<b>12</b>	4-metilfenil	70	24
<b>13</b>	3-metilfenil	70	24
<b>14</b>	2-metilfenil	90	48
<b>15</b>	3-metoksifenil	88	24

**Slika 33.** Shematski prikaz pripreve triazolnih derivata maltola **9-15**.

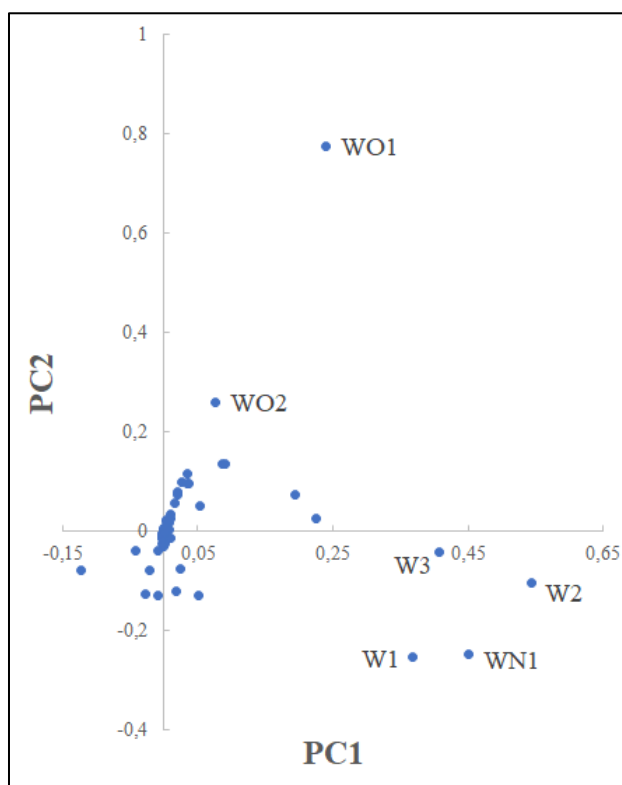
#### 4.5. Analiza glavnih komponenata

Analiza glavnih komponenata provedena je na uzorku od 28 spojeva **9-36** od kojih su spojevi **9-15** sintetizirani u ovome radu. Ostali spojevi pripadaju istoj klasi spojeva i sintetizirani su u sklopu šireg istraživanja kojemu ovaj rad pripada, a na njima prethodno nisu provedene nikakve statističke analize. Pomoću programa Volsurf+ za sve spojeve generirano je 128 deskriptora koji opisuju razna svojstva molekula poput veličine, oblika, hidrofilnosti, hidrofobnosti, sposobnosti doniranja ili primanja vodikove veze, itd. Popis i objašnjenje svih 128 deskriptora može se naći u dokumentaciji programa Volsurf+.<sup>34</sup> Na tom skupu podataka provedena je analiza glavnih komponenata kako bi se dobio uvid u strukturne razlike i sličnosti između molekula. Prve dvije glavne komponente opisuju 94 % ukupne varijancije među svim spojevima. Spojeve možemo podijeliti u dvije glavne skupine s obzirom na supstituent na položaju 1 triazolnog prstena koji potječe od terminalnog alkina koji stupa u reakciju 1,3-

dipolarne cikloadicije. Dio spojeva dobiven je iz propargiliranog maltola **1**, a ostali su dobiveni iz propargilirane kojične kiseline (2-(hidroksimetil)-5-(prop-2-in-1-iloksi)piran-4-ona). Strukturne formule svih spojeva prikazane su na slici 28.

#### 4.5.1. Faktorska opterećenja

Analizom grafičkog prikaza faktorskih opterećenja u prostoru prve dvije glavne komponente mogu se odrediti deskriptori koji najviše doprinose varijanciji među spojevima. Na slici 34 može se vidjeti da deskriptori W1, W2, W3 i WN1 najviše doprinose varijanciji opisanoj prvom glavnom komponentom, dok deskriptori WO1 i WO2 najviše doprinose varijanciji opisanoj drugom glavnom komponentom. Ostali deskriptori nemaju značajan utjecaj na ukupnu varijanciju. Shodno tome, može se pretpostaviti da su najznačajnije razlike između spojeva vezane uz navedene deskriptore (W1, W2, W3, WN1, WO1 i WO2) te da su upravo razlike u tim svojstvima odgovorne za eventualne razlike u (biološkoj) aktivnosti spojeva.



**Slika 34.** Grafički prikaz faktorskih opterećenja u prostoru prve dvije glavne komponente (PC1 i PC2).

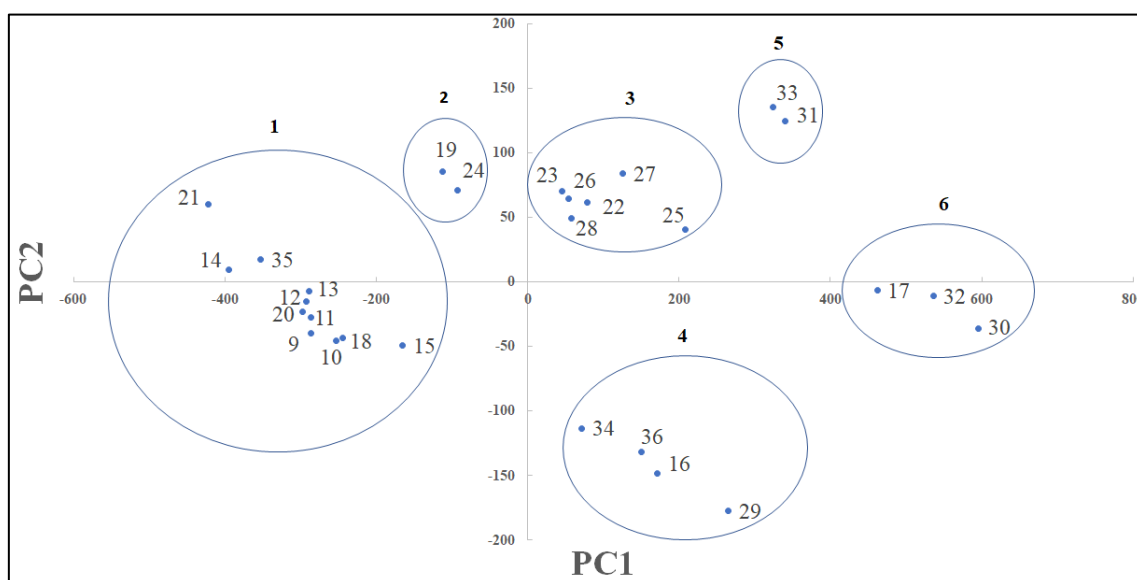
Deskriptori W1, W2 i W3 vezani su za hidrofilne regije molekule. Opisuju volumen koji je dostupan i koji stvara privlačne interakcije s molekulama vode pri molekularnim poljima od -0,2 do -1,0 kcal/mol što odgovara Londonovim disperznim silama. Deskriptori WO1 i WO2 generirani su korištenjem =O probe (karbonilni kisik) i opisuju volumen molekule koji djeluje

kao donor vodikove veze, odnosno opisuju mogućnost molekule da donira vodikovu vezu. Deskriptor WN1 generiran je N1 probom (amidni dušik) i opisuje volumen molekule koji djeluje kao akceptor vodikove veze, odnosno opisuju mogućnost molekule da primi vodikovu vezu.

Dakle, faktorska opterećenja upućuju da varijanciji proučavanih spojeva najviše pridonose razlike spojeva u mogućnosti stvaranja nekovalentnih interakcija (Londonovih disperznih sila i vodikovih veza).

#### 4.5.2. Faktorski bodovi

Iz prikaza faktorskih bodova u prostoru prve dvije glavne komponente može se odrediti koje molekule su slične, a koje se razlikuju s obzirom na generirane deskriptore (slika 35). Svi spojevi dobiveni iz propargilirane kojične kiseline imaju pozitivnu vrijednost prve glavne komponente (PC1) dok svi spojevi dobiveni iz propargiliranog maltola imaju negativnu vrijednost PC1. Izuzetak su spojevi **16**, **29**, **34** i **36** koji u svojoj strukturi imaju NO<sub>2</sub> ili CF<sub>3</sub> skupinu koje povećavaju hidrofilne regije (veća vrijednost deskriptora W1-W3) i akceptori su vodikovih veza (veća vrijednost deskriptora WN1). Kojična kiselina u usporedbi s maltolom ima dodatnu hidroksilnu skupinu koja povećava hidrofilne regije i može biti akceptor vodikove veze, a to su svojstva opisna deskriptorima koji značajno utječu na varijanciju opisanu prvom glavnom komponentom.



**Slika 35.** Grafički prikaz faktorskih bodova u prostoru prve dvije glavne komponente (PC1 i PC2).

Na prikazu (slika 35) se može uočiti formiranje nekoliko grupa u kojima se nalaze spojevi koji dijele određene strukturne karakteristike. Svi spojevi u grupi 1 dobiveni su iz propargiliranog maltola. Grupu 2 čine spojevi dobiveni iz propargiliranog maltola koji u položaju 4 triazolnog prstena imaju supstituent s amino-skupinom. U grupi 3 nalaze se spojevi dobiveni iz propargilirane kojične kiseline. Unutar te grupe ističe se spoj **25** koji jedini ima supstituent s heteroatomom. Spojevi u grupi 4 dobiveni su iz propargiliranog maltola i u položaju 4 triazolnog prstena imaju supstituent s NO<sub>2</sub> ili CF<sub>3</sub> skupinom. Spojevi dobiveni iz propargilirane kojične kiseline koji u svojoj strukturi imaju amino-skupinu čine grupu 5. Grupu 6 čine spojevi dobiveni iz propargilirane kojične kiseline koji u svojoj strukturi imaju NO<sub>2</sub> ili CF<sub>3</sub> skupinu.

Spojevi koji pripadaju istim grupama imaju slične vrijednosti deskriptora koji najviše doprinose varijanciji deskriptora između spojeva te se, stoga, očekuje da će (biološka) aktivnost spojeva iste grupe biti slična.



## 5. Zaključak

U sklopu ovog rada klik-reakcijom, bakrom(I) kataliziranom 1,3-dipolarnom cikloadicijom terminalnog alkina i azida, pripravljeno je sedam novih aromatskih 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazolnih derivata maltola. Primijenjen je konvergentni pristup sintezi, odnosno odvojeno su sintetizirani terminalni alkin i aromatski azidi potrebni za klik-reakciju.

U uvjetima Williamsonove sinteze etera uz bazu kalijev karbonat uspješno je pripremljen alkinski prekursor **1** iz maltola i propargil-bromida.

Primjenom dvije metode pripravljeno je sedam aromatskih azida. Reakcijom odgovarajućih anilinskih derivata (4-kloranilina, 3-kloranilina, 2-kloranilina, 4-metilanilina, 3-metilanilina, 2-metilanilina i 3-metoksianilina) i natrijevog nitrita nastaju diazonijeve soli koje u reakciji s natrijevim azidom daju aromatske azide **2-8**. Metoda u kojoj se koristi klorovodična kiselina i koja se provodi pri 0 °C pokazala se boljom od metode koja se provodi uz *para*-toluensulfonsku kiselinu i na sobnoj temperaturi.

Bakrom(I) kataliziranom 1,3-dipolarnom cikloadicijom pripremljenog terminalnog alkina **1** i aromatskih azida **2-8** dobiveni su ciljni triazolni derivati **9-15** u umjerenom do vrlo dobrom iskorištenju (56-90 %). Kao izvor bakra(I) korišten je  $[\text{Cu}(\text{OAc})_2(\text{H}_2\text{O})]_2$ . U cilju dodatnog poboljšanja iskorištenja nekih triazolnih produkata potrebno je istražiti optimalan omjer i količinu početnih reaktanata za klik-reakciju kao i količinu i vrstu dodanog katalizatora. Osim toga, za očekivati je da bi dodatno optimiranje koraka kromatografskog pročišćavanja produkata ili pronalaženje drugih nekromatografskih postupaka pročišćavanja dovelo do još boljih prinosa klik-reakcija.

Na skupu od 28 spojeva provedena je analiza glavnih komponenata. Analizom prikaza faktorskih opterećenja u prostoru glavnih komponenata određeni su deskriptori koji najviše doprinose varijanciji među spojevima. Najznačajniji su deskriptori koji opisuju mogućnosti stvaranja nekovalentnih interakcija (Londonovih disperznih sila i vodikovih veza). Analizom prikaza faktorskih bodova u prostoru glavnih komponenata uočeno je razlikovanje spojeva prema supstituentu koji potječe od alkinskog prekursora. Dolazi do formiranja grupa u kojima se nalaze spojevi koji dijele određene strukturne karakteristike.

Svih sedam sintetiziranih triazolnih derivata **9-15** u postupku su ispitivanja *in vitro* antiproliferativnog učinka. Dobiveni rezultati poslužit će za izgradnju QSAR (engl. *Quantitative Structure-Activity Relationship*) modela koji povezuje strukturne karakteristike spojeva s biološkom aktivnosti u cilju dizajna novih spojeva s boljim biološkim učinkom.

## 6. Zahvale

*Srdačno se zahvaljujem svojim mentorima izv. prof. dr. sc. Vesni Petrović Peroković i izv. prof. dr. sc. Branimiru Bertoši te dr. sc. Željki Car na iskazanom strpljenju, prenesenom znanju, ugodnoj atmosferi i uloženom trudu i vremenu.*

*Hvala obitelji i prijateljima na pruženoj potpori.*

## 7. Popis literature

1. H. C. Kolb, K. B. Sharpless, *Drug Discovery Today* **8** (2003) 1128-1137.
2. H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **40** (2001) 2004-2021.
3. J. H. McNeill, V. G. Yuen, H. R. Hoveyda, C. Orvig, *J. Med. Chem.* **35** (1992) 1489-1491.
4. W. Li, X. Su, Y. Han, Q. Xu, J. Zhang, Z. Wang, Y. Wang, *RSC Adv.* **5** (2015) 101850-101859.
5. S. Bräse, C. Gil, K. Knepper, V. Zimmermann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **44** (2005) 5188-5240.
6. C. Piantadosi, C. J. Marasco Jr., S. L. Morris-Natschke, K. L. Meyer, F. Gumus, J. R. Surles, K. S. Ishaq, L. S. Kucera, N. Iyer, *J. Med. Chem.* **34** (1991) 1408-1414.
7. S. Bräse, K. Banert, *Organic Azides: Synthesis and Applications*, John Wiley & Sons Ltd., Chichester, 2010, str. 3-28.
8. P. W. M. Jacobs, A. R. T. Kureishy, *J. Chem. Soc.* (1964) 4718-4723.
9. K. A. H. Chehade, H. P. Spielmann, *J. Org. Chem.* **65** (2000) 4949-4953.
10. P. Wu, A. K. Feldman, A. K. Nugent, C. J. Hawker, A. Scheel, B. Voit, J. Pyum, J. M. J. Frechet, K. B. Sharpless, V. V. Folkin, *Angew. Chem.* **116** (2004) 4018-4022.
11. M. Liu, Y. Hou, W. Yin, S. Zhou, P. Qian, Z. Guo, L. Xu, Z. Liying, Y. Zhao, *Eur. J. Med. Chem.* **119** (2016) 96-108.
12. K. V. Kutonova, M. E. Trusova, P. S. Postnikov, V. D. Filimonov, J. Parello, *Synthesis* **45** (2013) 2706- 2710.
13. S. M. Joshi, A. de Cozar, V. Gomez-Vallejo, J. Kozirowski, J. Llop, F. P. Cossio, *Chem. Commun.* **51** (2015) 8954-8957.
14. R. N. Butler, A. Fox, S. Collier, L. A. Burke, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* (1998) 2243-2247.
15. J. Gavenonis, T. D. Tilley, *Organometallics* **21** (2002) 5549-5563.
16. C. Y. Liu, P. Knochel, *J. Org. Chem.* **72** (2007) 7106-7115.
17. A. Padwa, K. R. Crawford, P. Rashatasakhlon, M. Rose, *J. Org. Chem.* **68** (2003) 2609-2617.
18. P. S. Baran, A. L. Zografos, D. P. O'Malley, *J. Am. Chem. Soc.* **126** (2004) 3726-3727.
19. P. Thiruumurugan, D. Matosiuk, K. Jozwiak, *Chem. Rev.* **113** (2013) 4905-4979.
20. J. Gierlich, G. A. Burley, M. E. Gramlich, D. M. Hammond, T. Carell, *Org. Lett.* **8** (2006) 3639-3642.
21. J. E. Moses, A. D. Moorhouse, *Chem. Soc. Rev.* **36** (2007) 1249-1262.

22. C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, **67** (2002) 3057-3064.
23. J. M. Baskin, J. A. Prescher, S. T. Laughlin, N. J. Agard, P. V. Chang, I. A. Miller, A. Lo, J. A. Codelli, C. R. Bertozzi, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **104** (2007) 16793-16797.
24. F. Himo, T. Lovell, R. Hilgraf, V. V. Rostovstev, L. Noodleman, K. B. Sharpless, V. V. Folkin, *J. Am. Chem. Soc.* **127** (2005) 210-216.
25. V. O. Rodionov, V. V. Folkin, M. G. Finn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **44** (2005) 2210-2215.
26. V. D. Bock, H. Hiemstra, J. H. van Maarseveen, *Eur. J. Org. Chem.* (2006) 51-68.
27. V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Folkin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **41** (2002) 2596-2599.
28. W. S. Brotherton, H. A. Michaels, J. T. Simons, R. J. Clark, N. S. Dalal, L. Zhu, *Org. Lett.* **11** (2009) 4954-4957.
29. L. V. Lee, M. L. Mitchell, S. Huang, V. V. Folkin, K. B. Sharpless, C. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **125** (2003) 9588-9589.
30. D. Dheer, V. Singh, R. Shankar, *Bioorg. Chem.* **71** (2017) 30-54.
31. L. S. Kallander, Q. Lu, W. Chen, T. Tomaszek, G. Yang, D. Tew, T. D. Meek, G. A. Hofmann, C. K. Shulz-Pritchard, W. W. Smith, C. A. Janson, M. D. Ryan, G. Zhang, K. O. Johanson, R. B. Kirkpatrick, T. F. Ho, P. W. Fischer, M. R. Mattern, R. K. Johnson, M. J. Hansbury, J. D. Winkler, K. W. Ward, D. F. Veber, S. K. Thompson, *J. Med. Chem.* **48** (2005) 5644-5647.
32. D. Vušak, *QSAR analiza i sinteza biološki aktivnih amino supstituiranih benzimidazo[1,2-a] kinolina*, Diplomski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2014. str. 19-21.
33. H. Abdi, L. J. Williams, *Wiley. Interdiscip. Rev.: Comput. Stat.* **2** (2010) 433-459.
34. G. Cruciani, P. Crivori, P.-A. Carrupt, B. Testa, *J. Mol. Struct. Theochem.* **503** (2000) 17-30.
35. I. Žepić, *Novi triazolni derivati hidrokspiran-4-ona: priprava i biološka aktivnost*, Diplomski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2019. str. 34-36.
36. L. Ozdanovac, *Priprava 1,2,3-triazolnih derivata piran-4-ona iz meta- i para-nitrofenilazida i njihov biološki učinak*, Diplomski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2018. str. 52-53.

## 8. Sažetak

### SAŽETAK

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Kemijski odsjek

### NOVI TRIAZOLNI DERIVATI MALTOLA: SINTEZA I RAČUNALNA ANALIZA

Janko Čivić

Zavod za organsku kemiju i Zavod za fizikalnu kemiju  
Horvatovac 102a, Zagreb, Hrvatska

U okviru ovog rada opisana je priprava sedam novih aromatskih 1,2,3-triazolnih derivata 3-hidroksi-2-metilpiran-4-ona (maltola). Triazolni prsten uveden je klik-reakcijom, bakrom(I) kataliziranom 1,3-dipolarnom cikloadicijom, terminalnog alkina i aromatskih azida. Terminalni alkin **1** za klik-reakciju priređen je iz maltola i propargil-bromida u uvjetima Williamsonove sinteze etera. Aromatski azidi pripremljeni su prevođenjem odgovarajućih anilinskih derivata u diazonijeve soli koje u reakciji s natrijevim azidom daju spojeve **2-8**. Klik-reakcijom alkinskih i azidnih prekursora uz bakar(I) kao katalizator regioselektivno su dobiveni 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazoli **9-15**. Na njima i još 21 prethodno pripremljenom 1,2,3-triazolnom derivatu provedena je analiza glavnih komponenata. Određeni su deskriptori koji najviše pridonose varijanciji navedenih spojeva kao i grupe spojeva sa sličnim strukturnim svojstvima.

(39 stranica, 35 slika, 36 literaturna navoda, izvornik na hrvatskom jeziku)

**Ključne riječi:** azidi, 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazoli, klik-kemija, analiza glavnih komponenata

**Mentori:** izv. prof. dr. sc. Vesna Petrović Peroković i izv. prof. dr. sc. Branimir Bertoša

## 9. Summary

### SUMMARY

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Chemistry

### NOVEL TRIAZOLE MALTOL DERIVATIVES: SYNTHESIS AND COMPUTATIONAL ANALYSIS

Janko Čivić

Division of Organic Chemistry and Division of Physical Chemistry  
Horvatovac 102a, Zagreb, Croatia

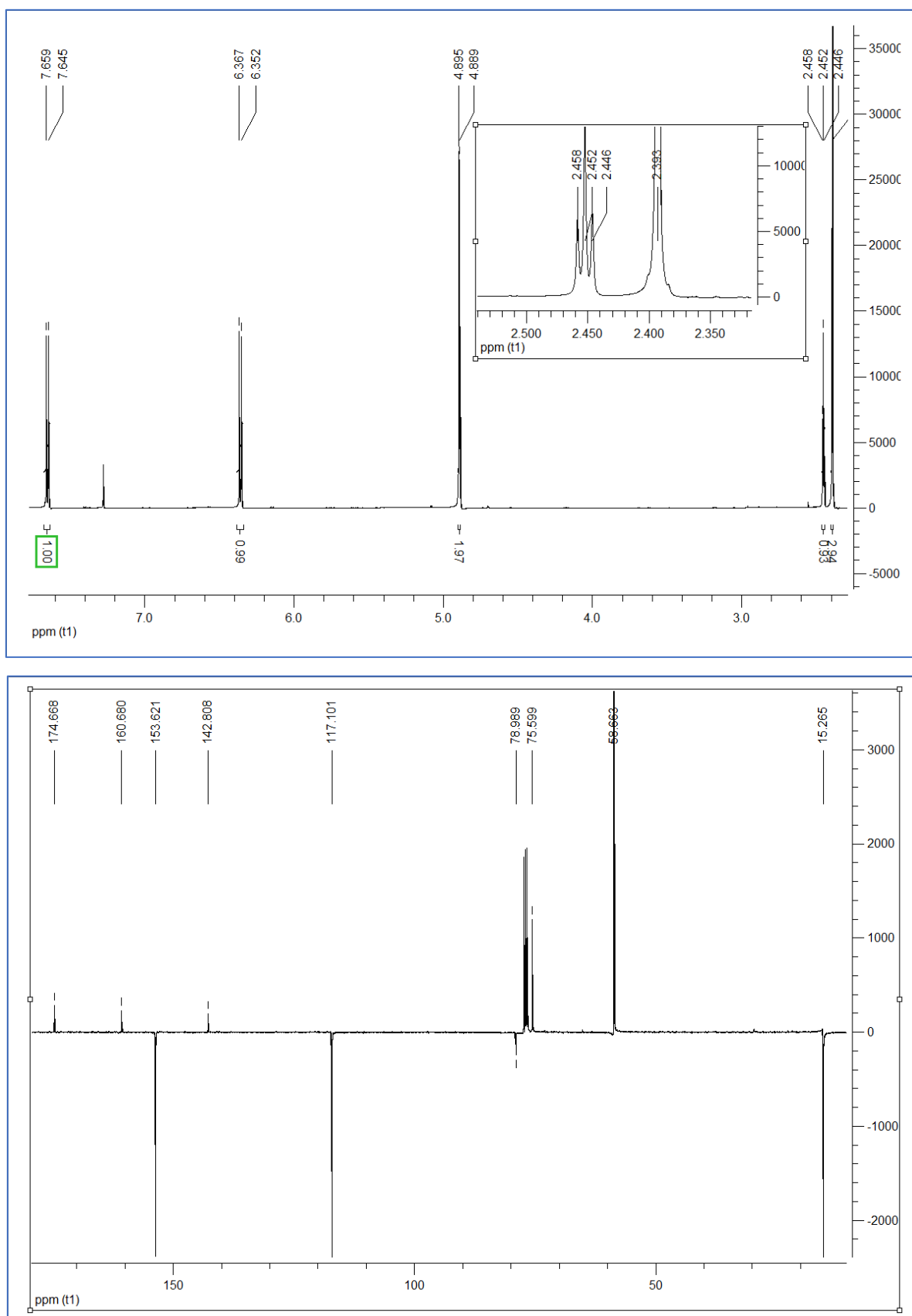
The preparation of seven novel maltol 1,2,3-triazole derivatives was described in the scope of this work. The triazole ring was introduced by click-reaction, copper catalyzed 1,3-dipolar cycloaddition, of a terminal alkyne and aromatic azides. Terminal alkyne **1** used for the click-reaction was synthesized from maltol and propargyl bromide in Williamson ether synthesis conditions. Aromatic azides were prepared by converting the appropriate aniline derivatives to diazonium salts which after reaction with sodium azide gave compounds **2-8**. Click-reactions of alkyne **1** and azide precursors **2-8** gave regioselectively the 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles **9-15**. Principal component analysis was conducted on them and 21 other 1,2,3-triazoles. Descriptors that have the greatest impact on the variance of the mentioned compounds were determined as well as groups of compounds with similar structural features.

(39 pages, 35 pictures, 36 references, original in Croatian)

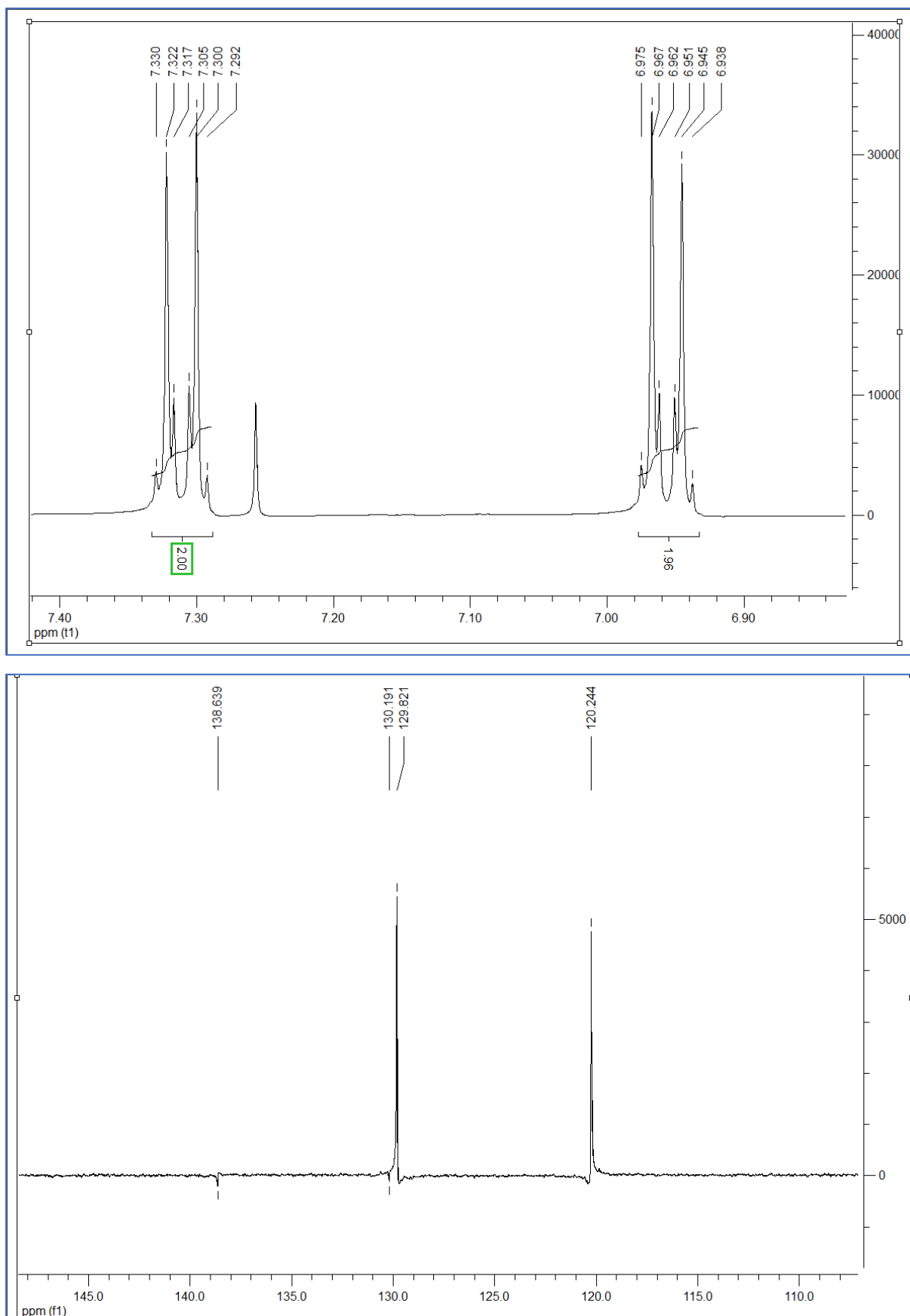
**Key words:** azides, 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles, click-chemistry, Principal Component Analysis

**Mentors:** Dr. Vesna Petrović Peroković, Associate Professor and Dr. Branimir Bertoša, Associate Professor

## 10. Dodatak

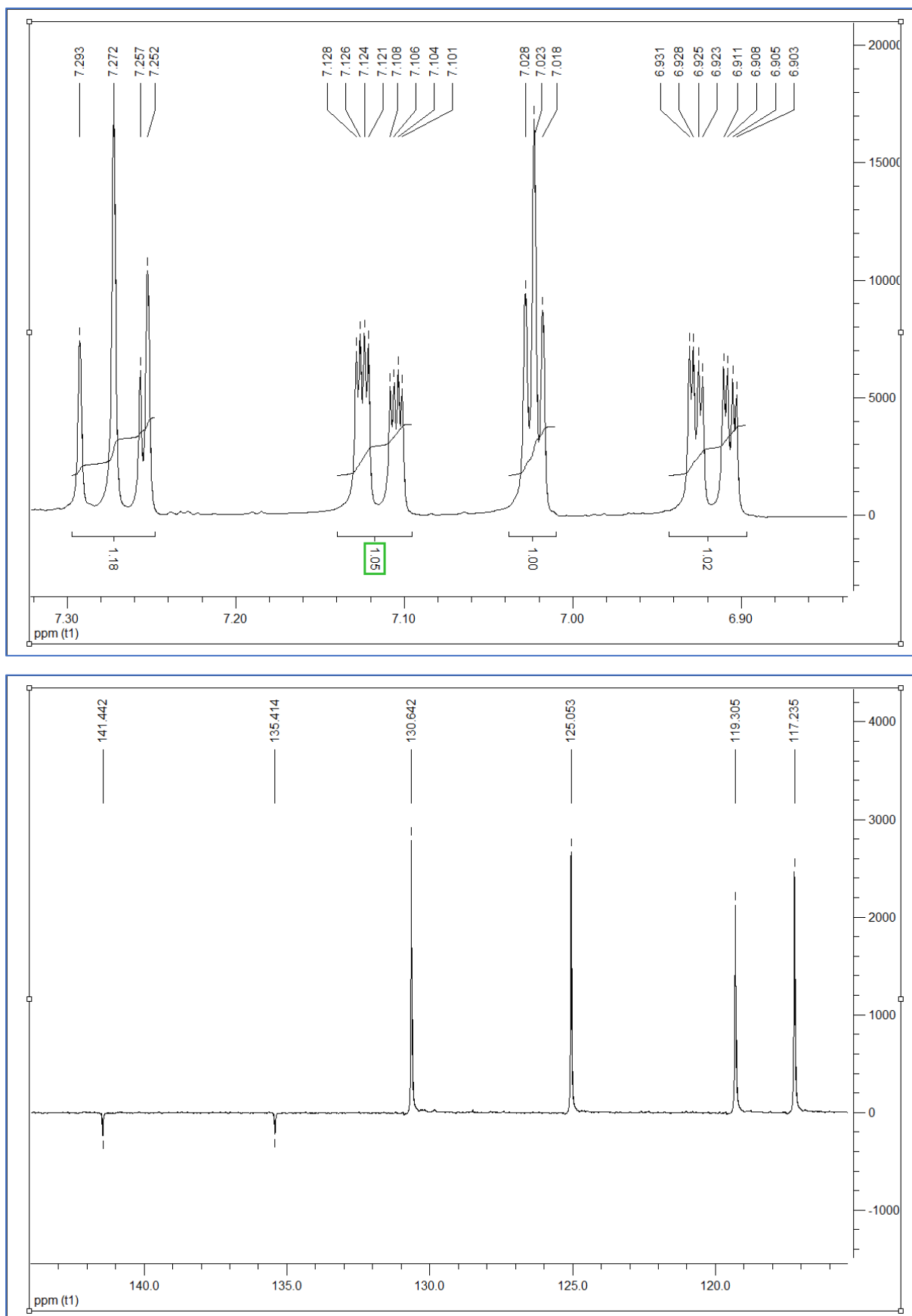


Slika D1. <sup>1</sup>H NMR i <sup>13</sup>C NMR (DEPTQ) spoja 1 snimljeni u CDCl<sub>3</sub>.

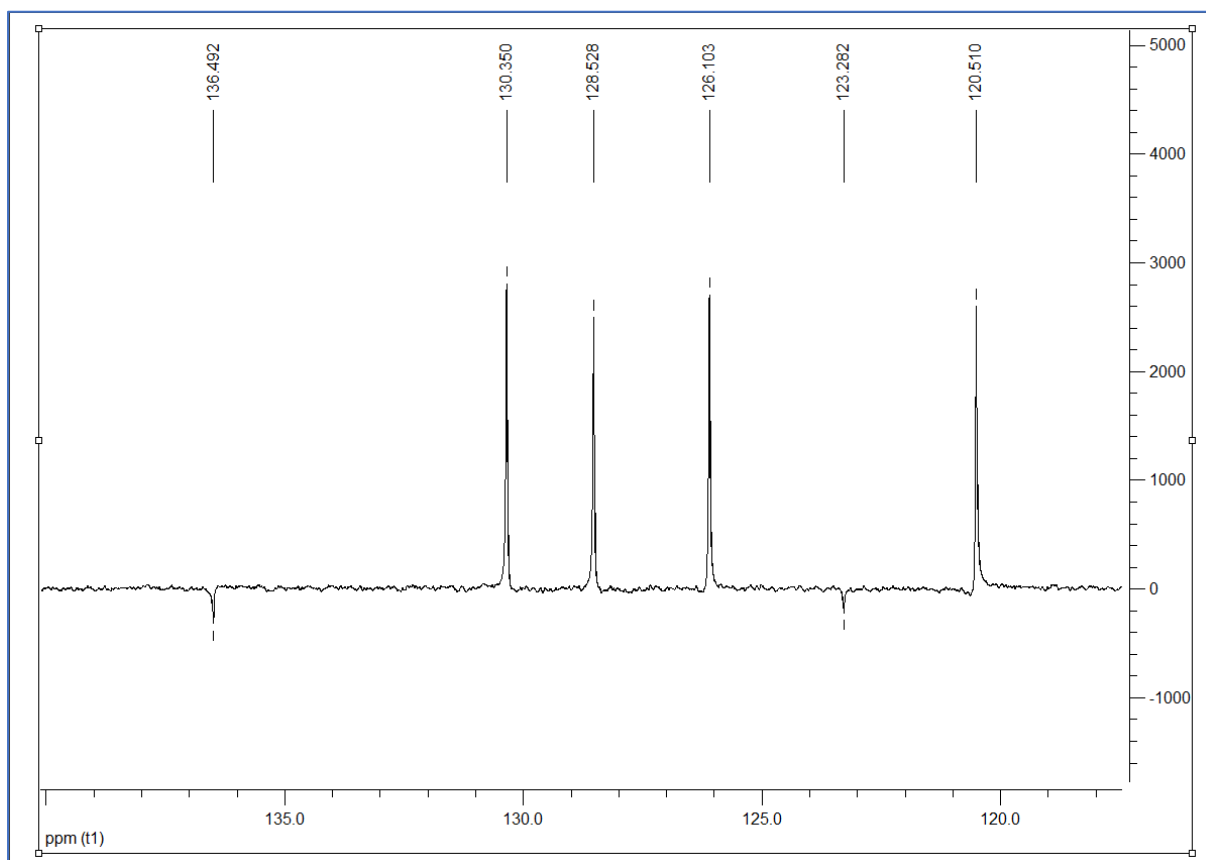
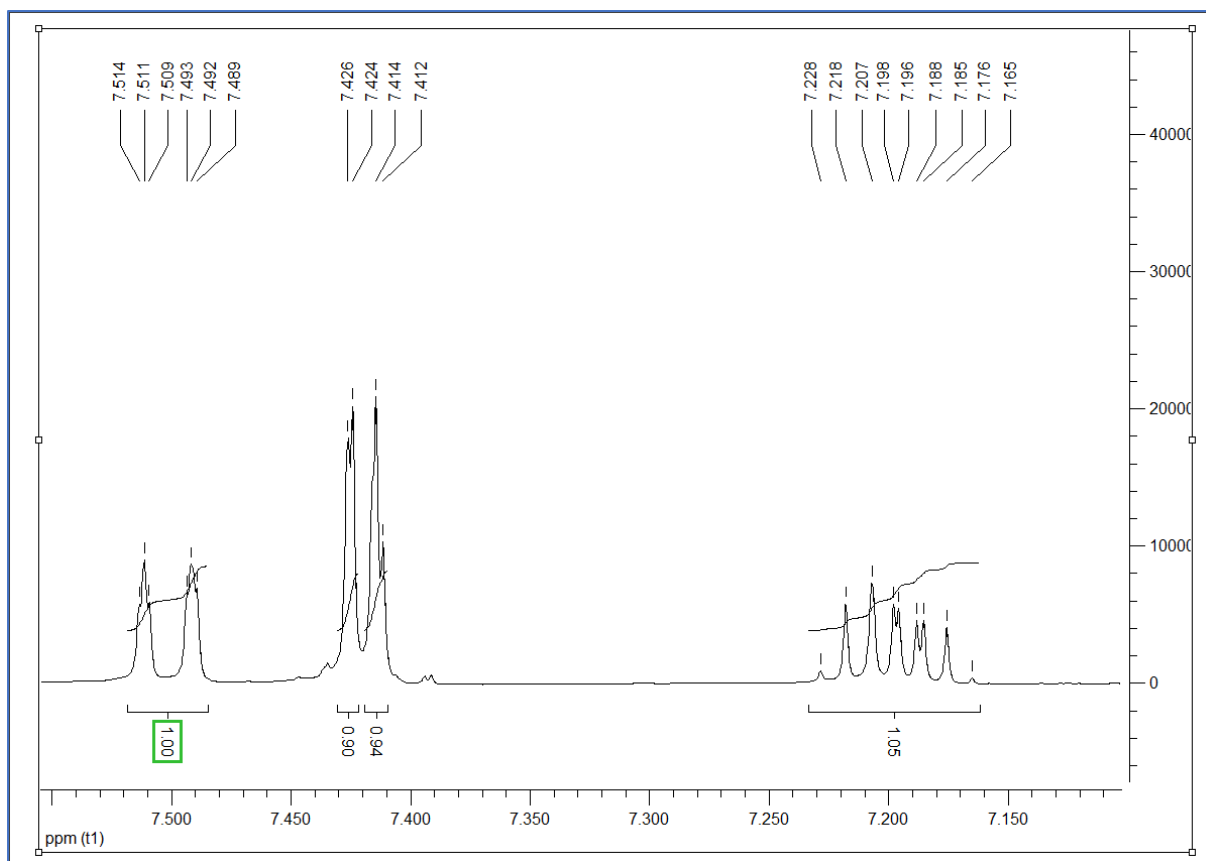


Slika D2.  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$  NMR (DEPTQ) spoja 2 snimljeni u  $\text{CDCl}_3$ .

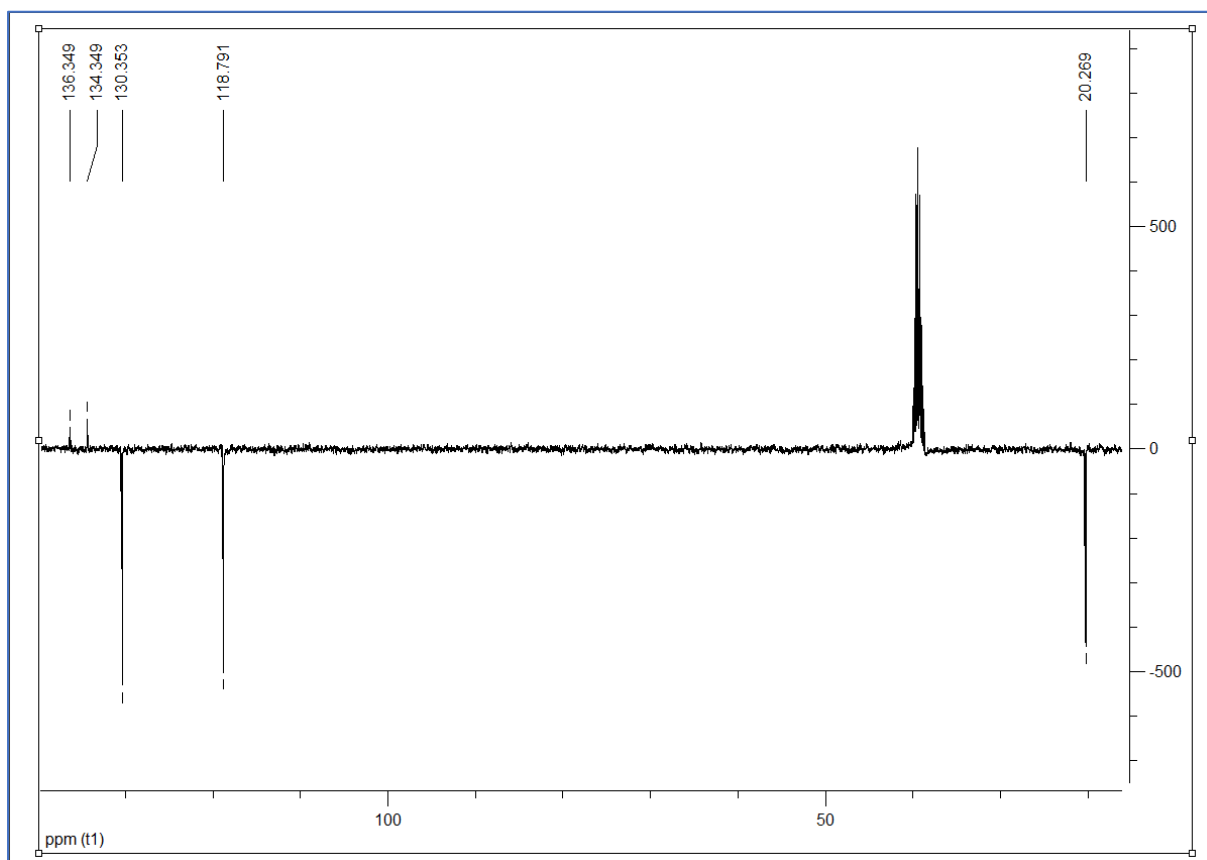
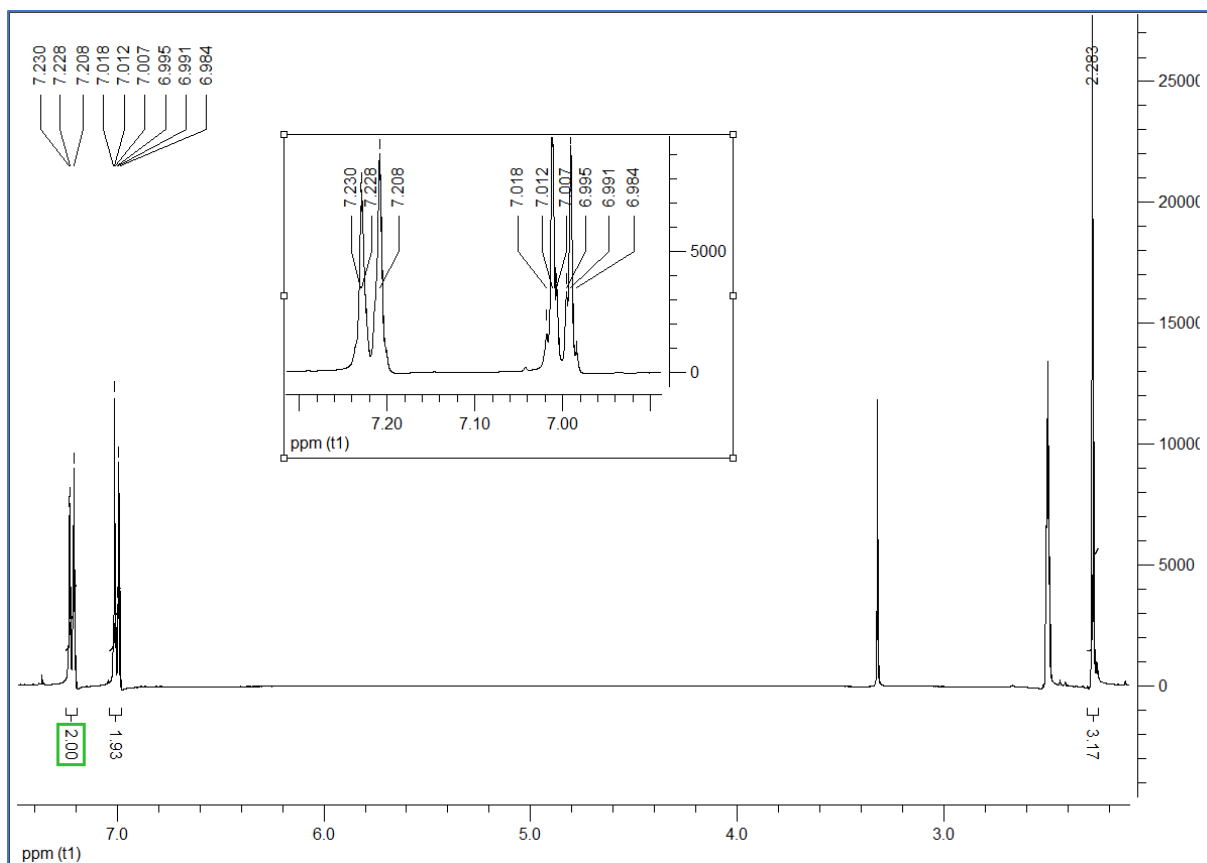




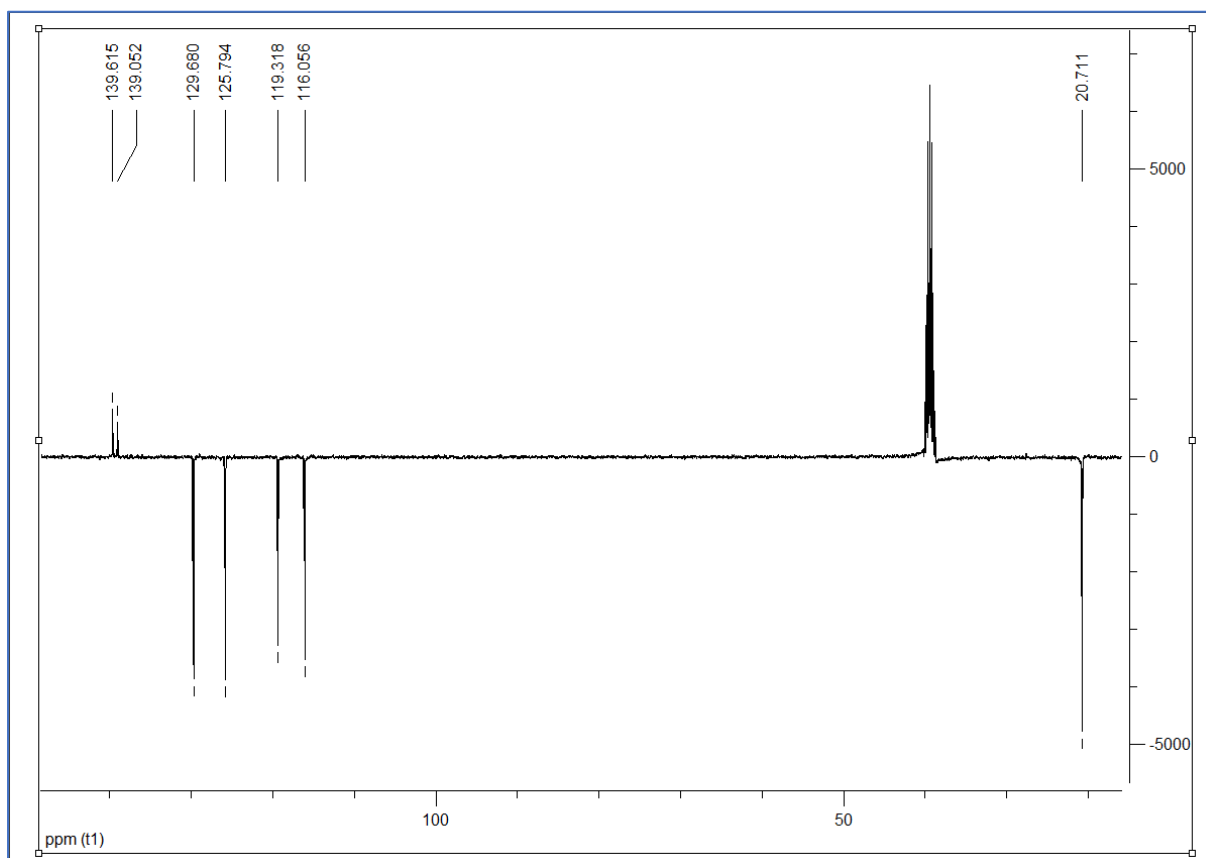
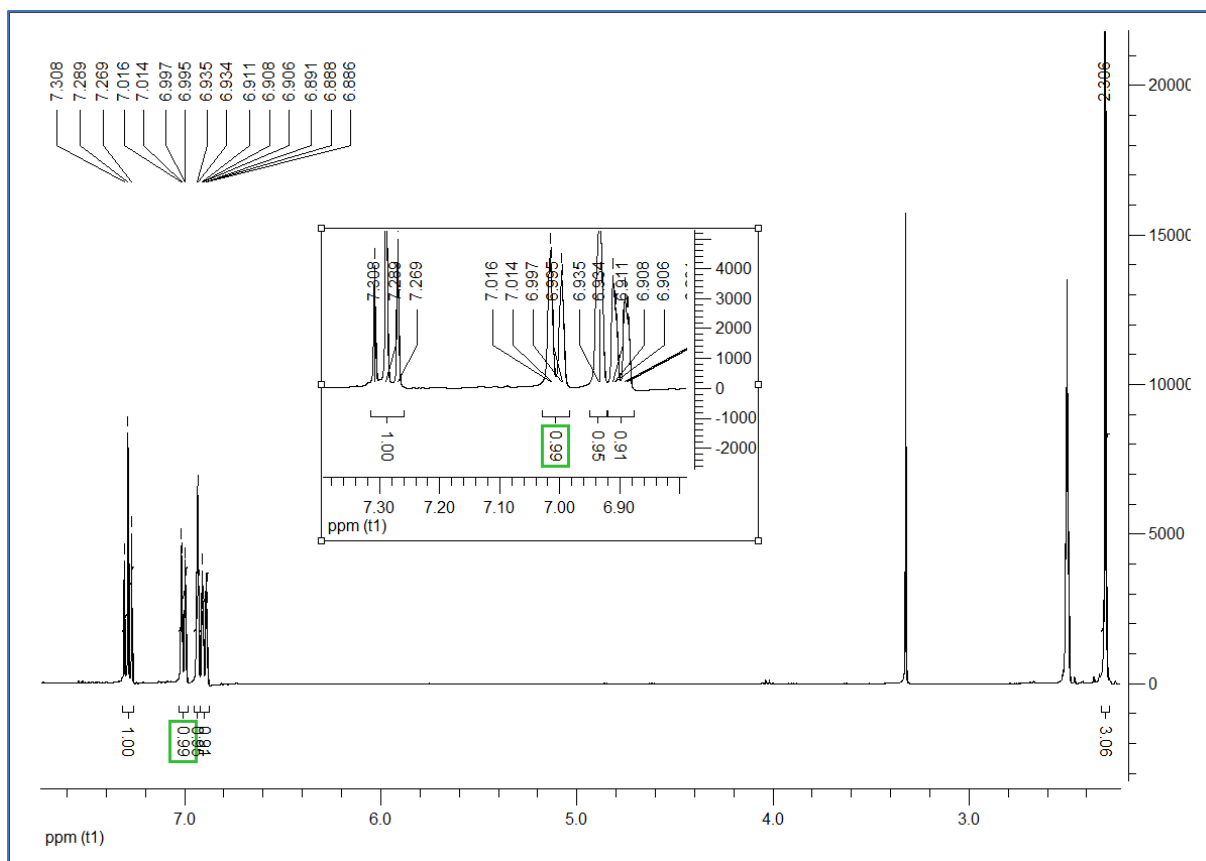
Slika D3. <sup>1</sup>H NMR i <sup>13</sup>C NMR (DEPTQ) spoja 3 snimljeni u CDCl<sub>3</sub>.



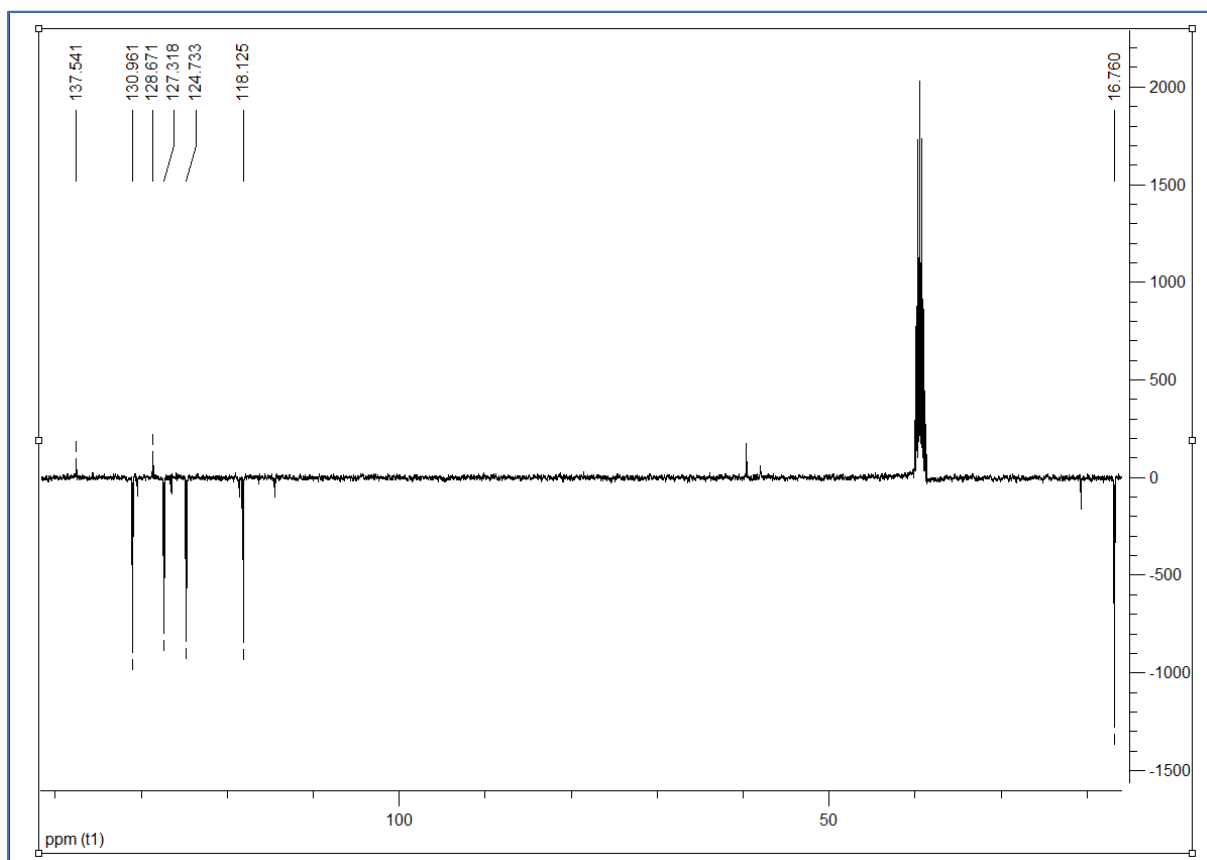
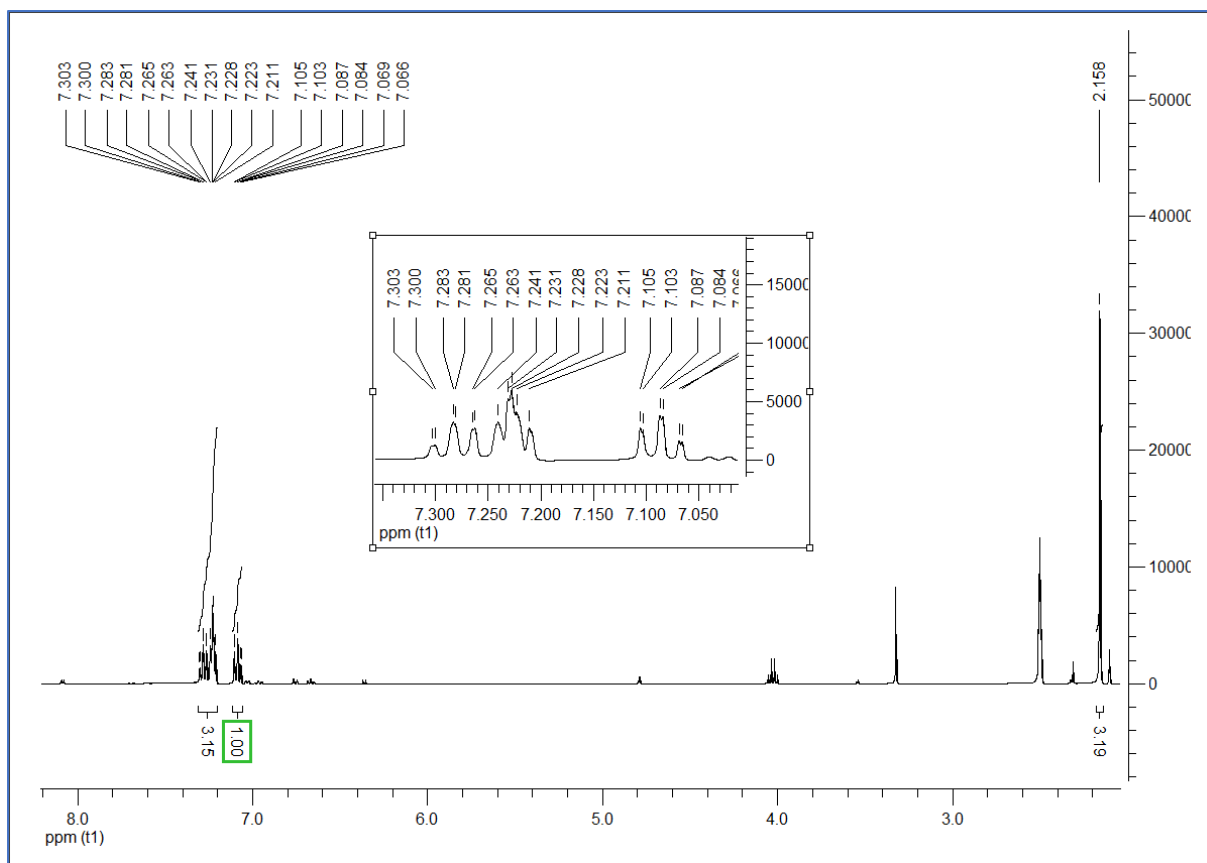
Slika D4. <sup>1</sup>H NMR i <sup>13</sup>C NMR (DEPTQ) spoja 4 snimljeni u DMSO-*d*<sub>6</sub>.



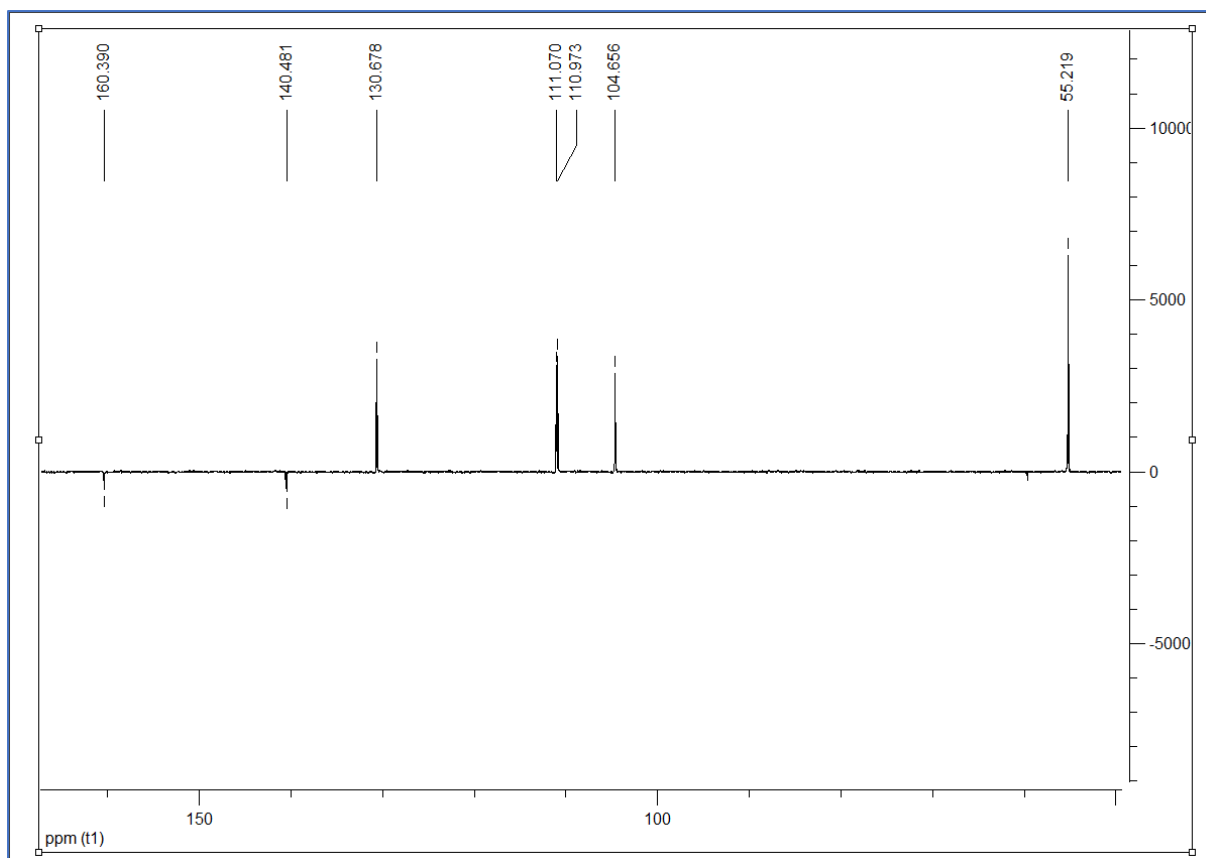
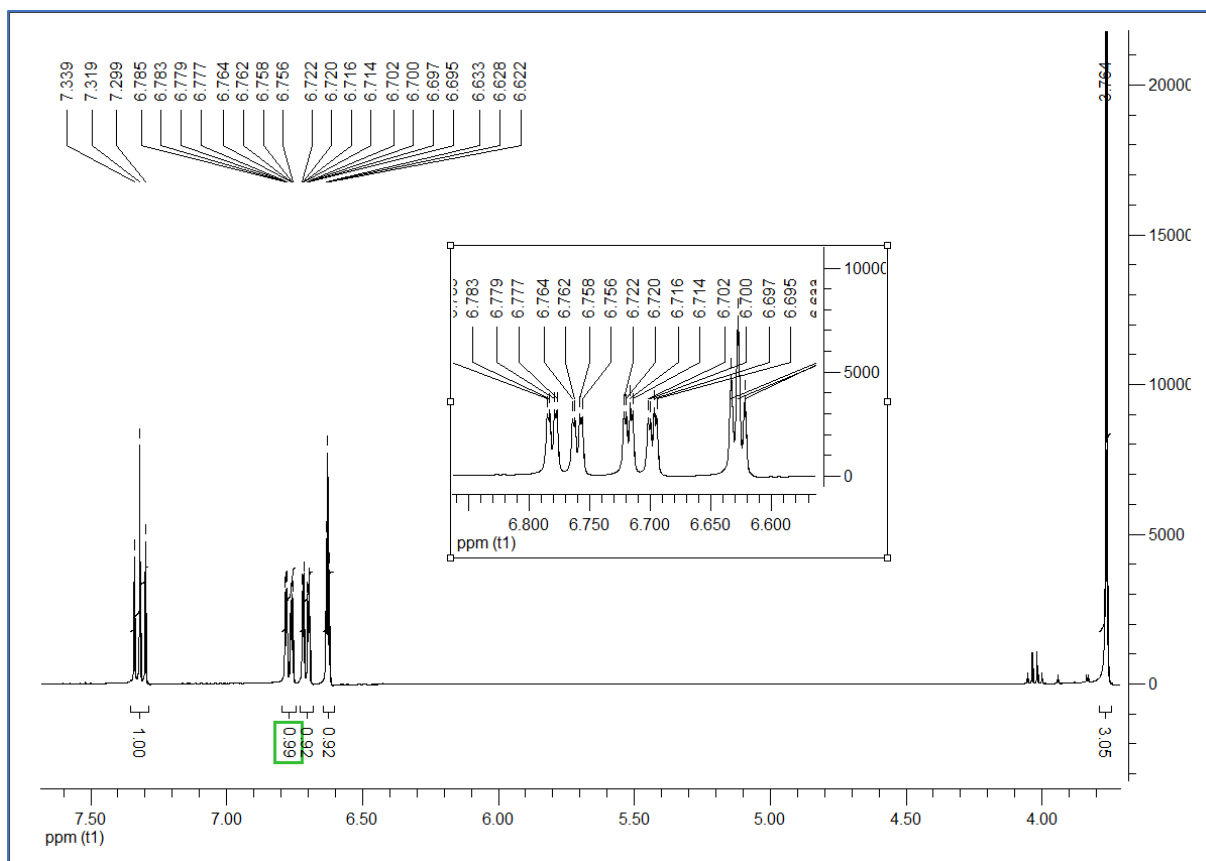
Slika D5.  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$  NMR (DEPTQ) spoja **5** snimljeni u  $\text{DMSO}-d_6$ .



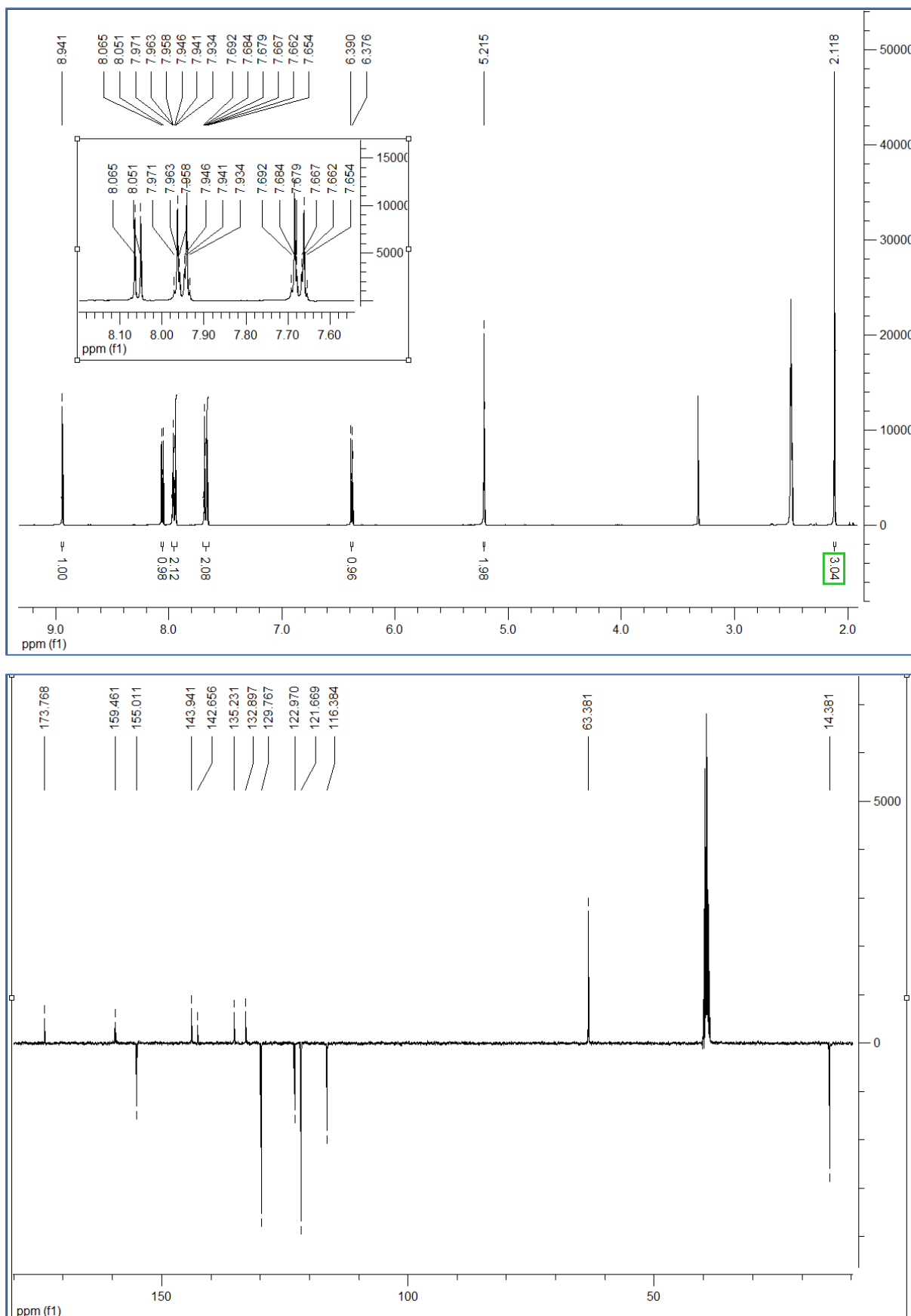
Slika D6. <sup>1</sup>H NMR i <sup>13</sup>C NMR (DEPTQ) spoja **6** snimljeni u DMSO-*d*<sub>6</sub>.



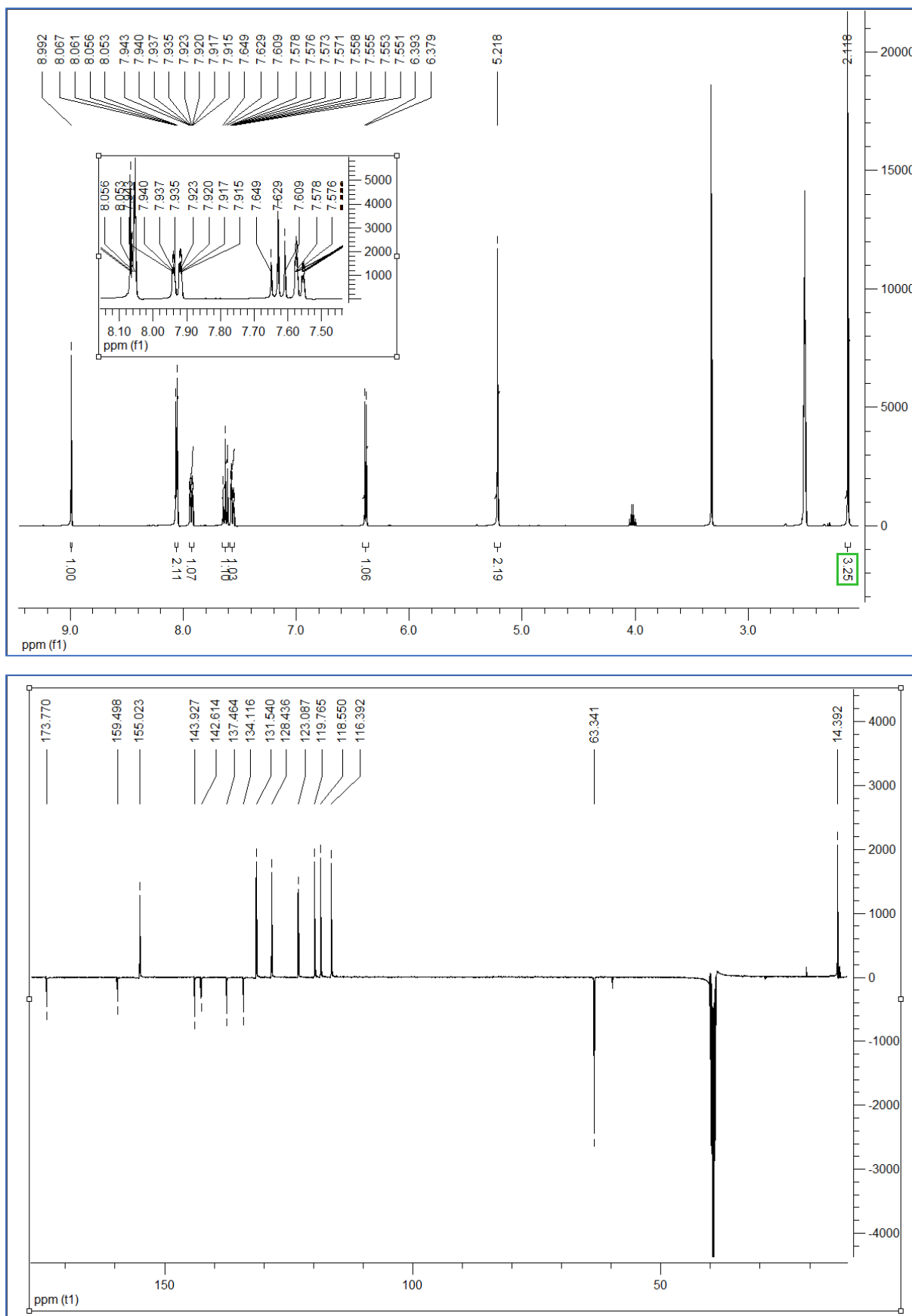
Slika D7.  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$  NMR (DEPTQ) spoja **7** snimljeni u  $\text{DMSO-}d_6$ .



Slika D8. <sup>1</sup>H NMR i <sup>13</sup>C NMR (DEPTQ) spoja **8** snimljeni u DMSO-*d*<sub>6</sub>.

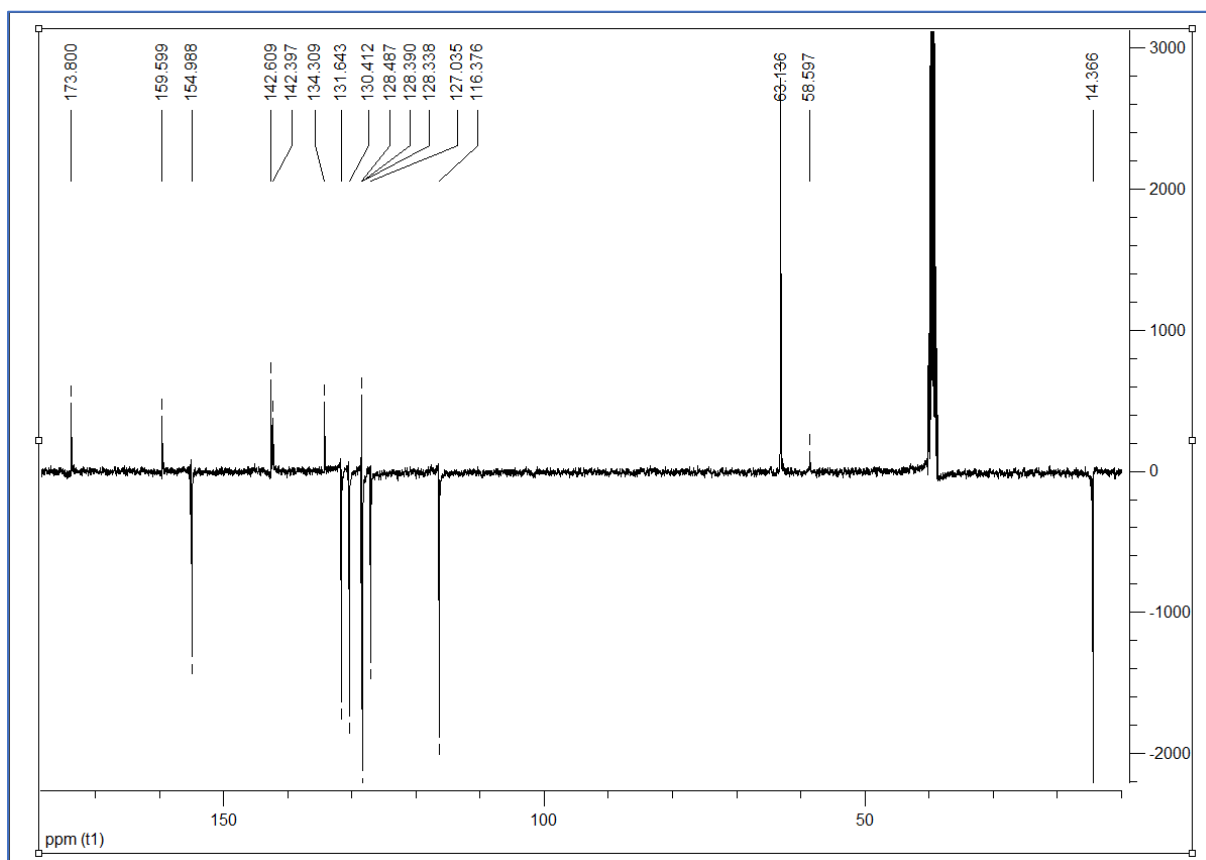
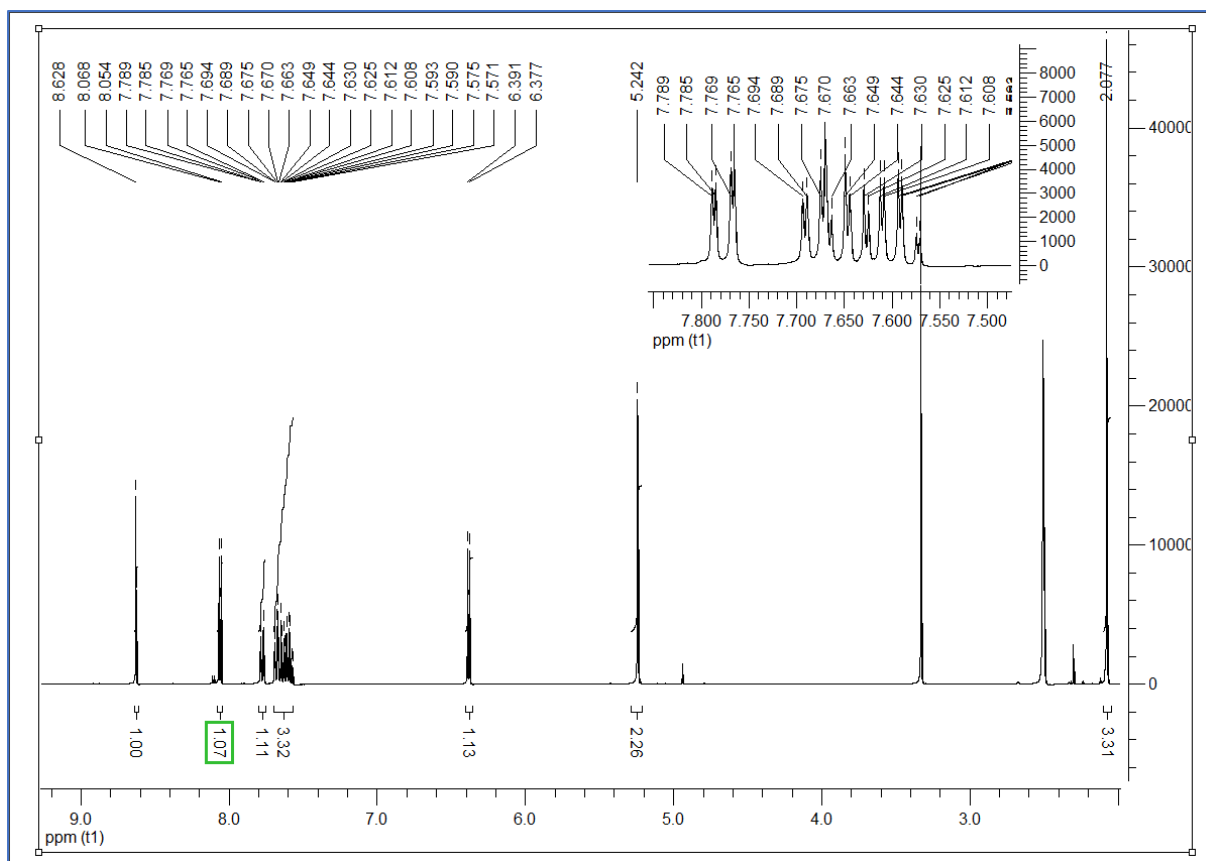


Slika D9.  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$  NMR (DEPTQ) spoja 9 snimljeni u  $\text{DMSO-}d_6$ .

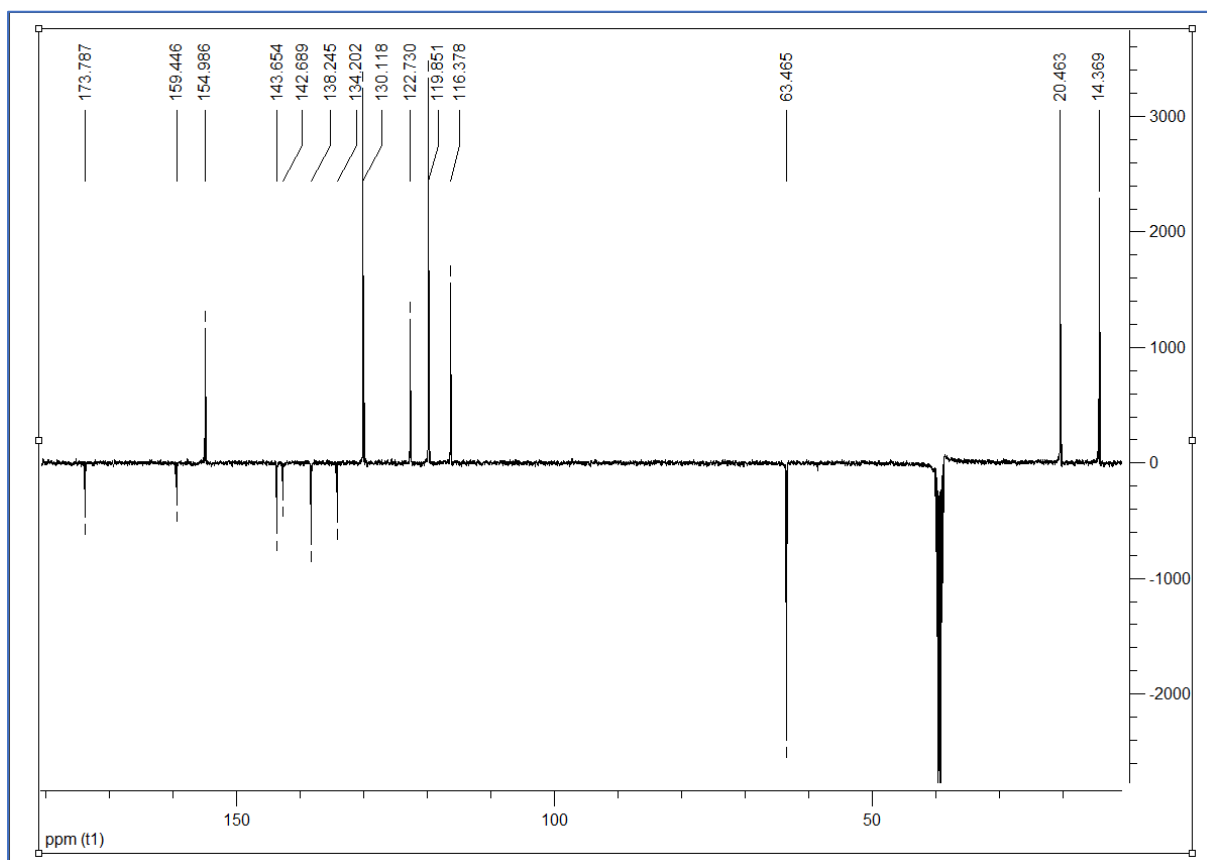
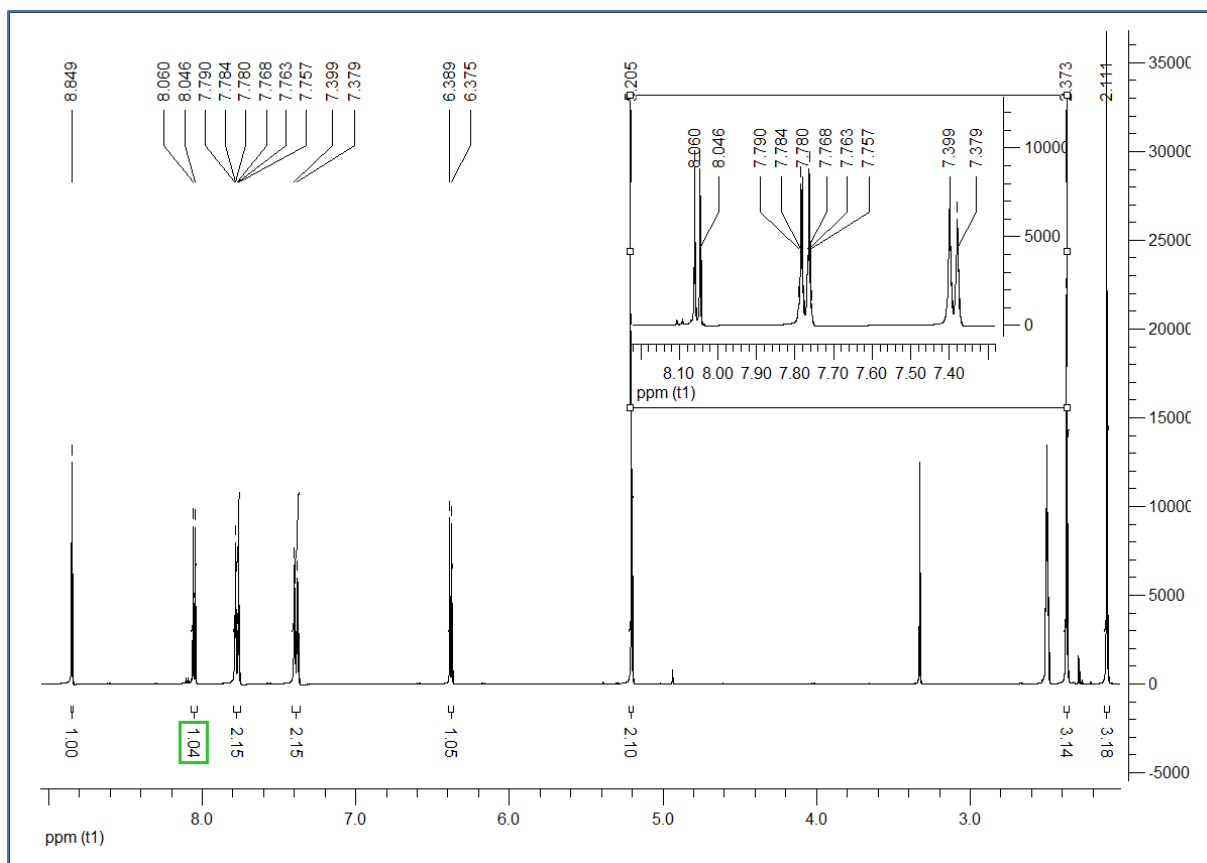


Slika D10.  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$  NMR (DEPTQ) spoja 10 snimljeni u  $\text{DMSO-}d_6$ .

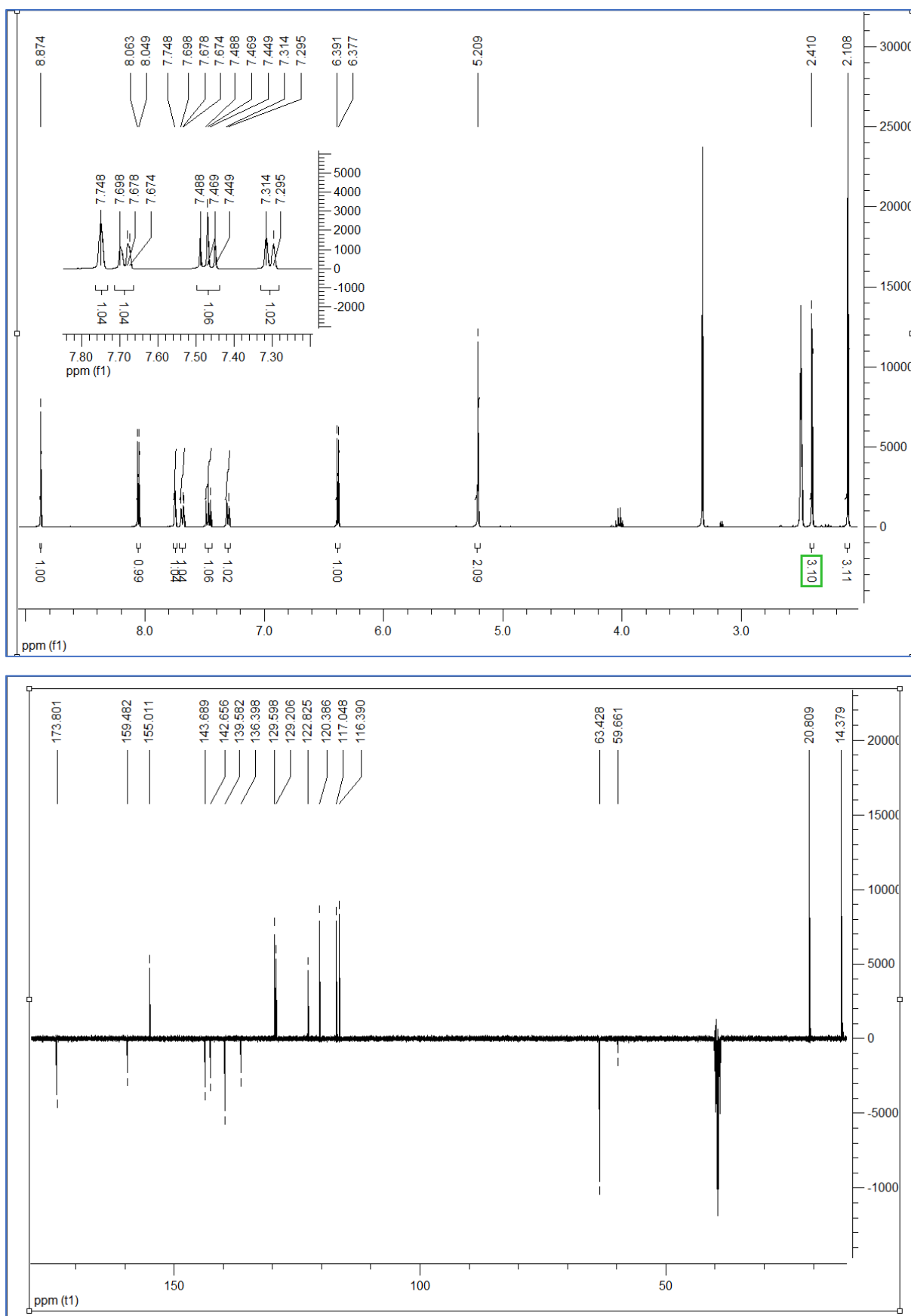




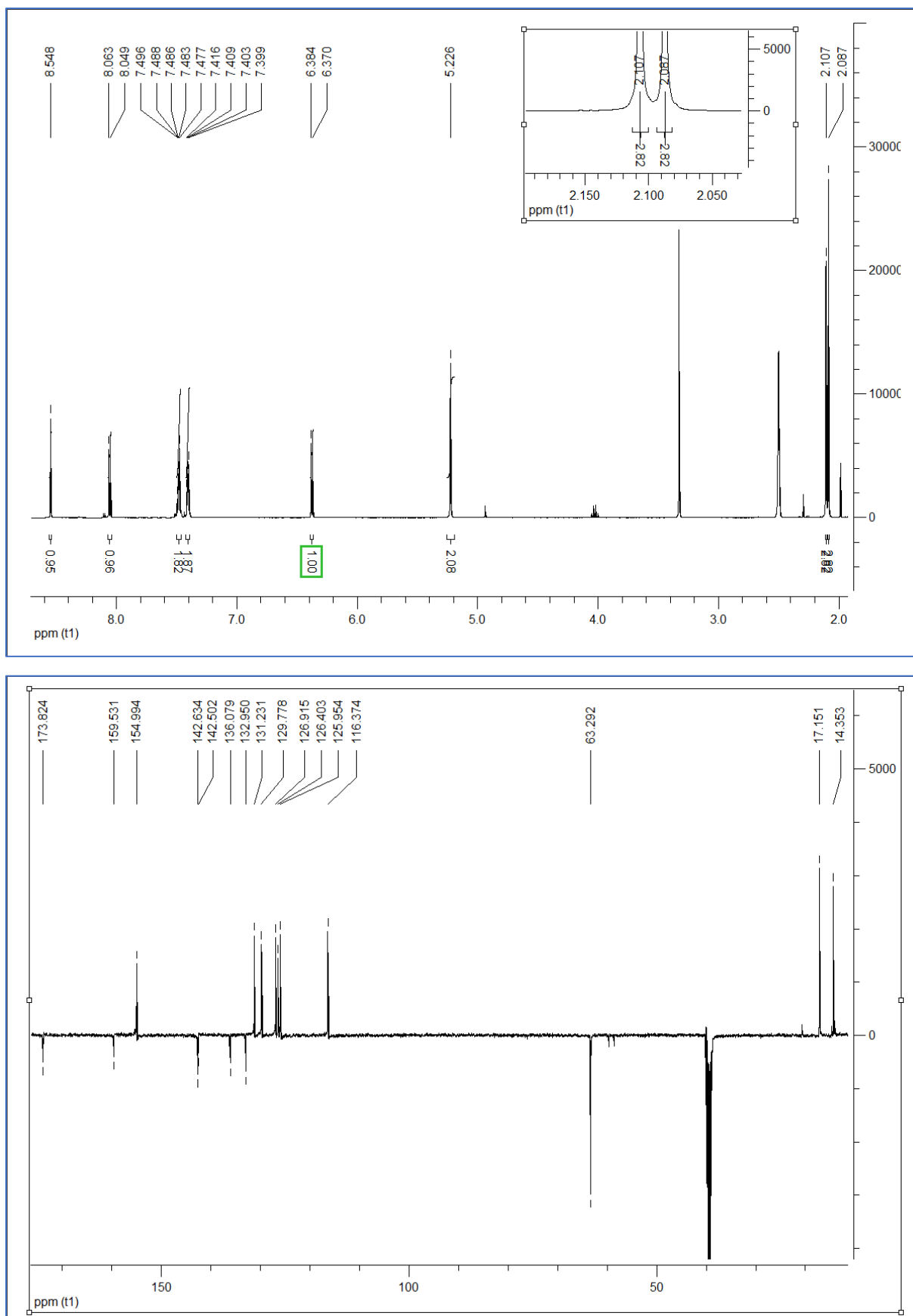
Slika D11.  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$  NMR (DEPTQ) spoja **11** snimljeni u  $\text{DMSO-}d_6$ .



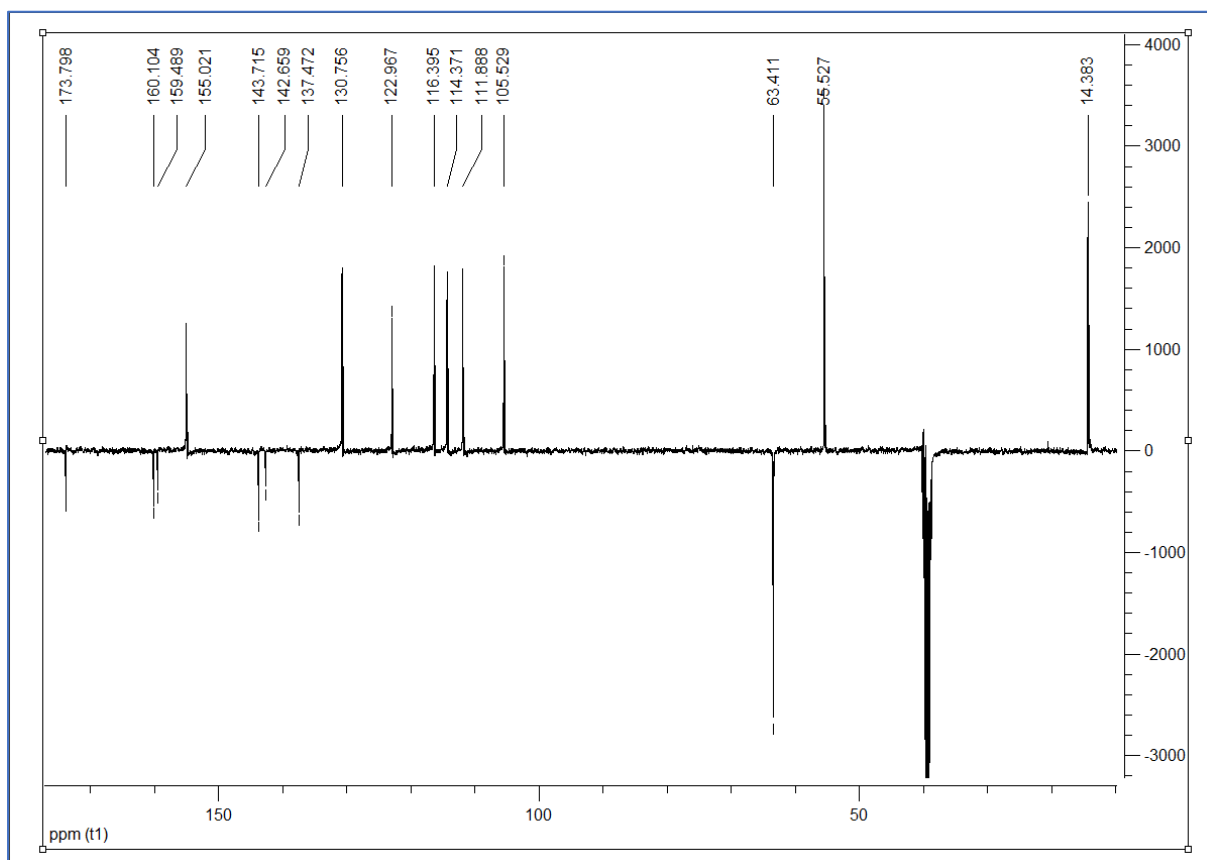
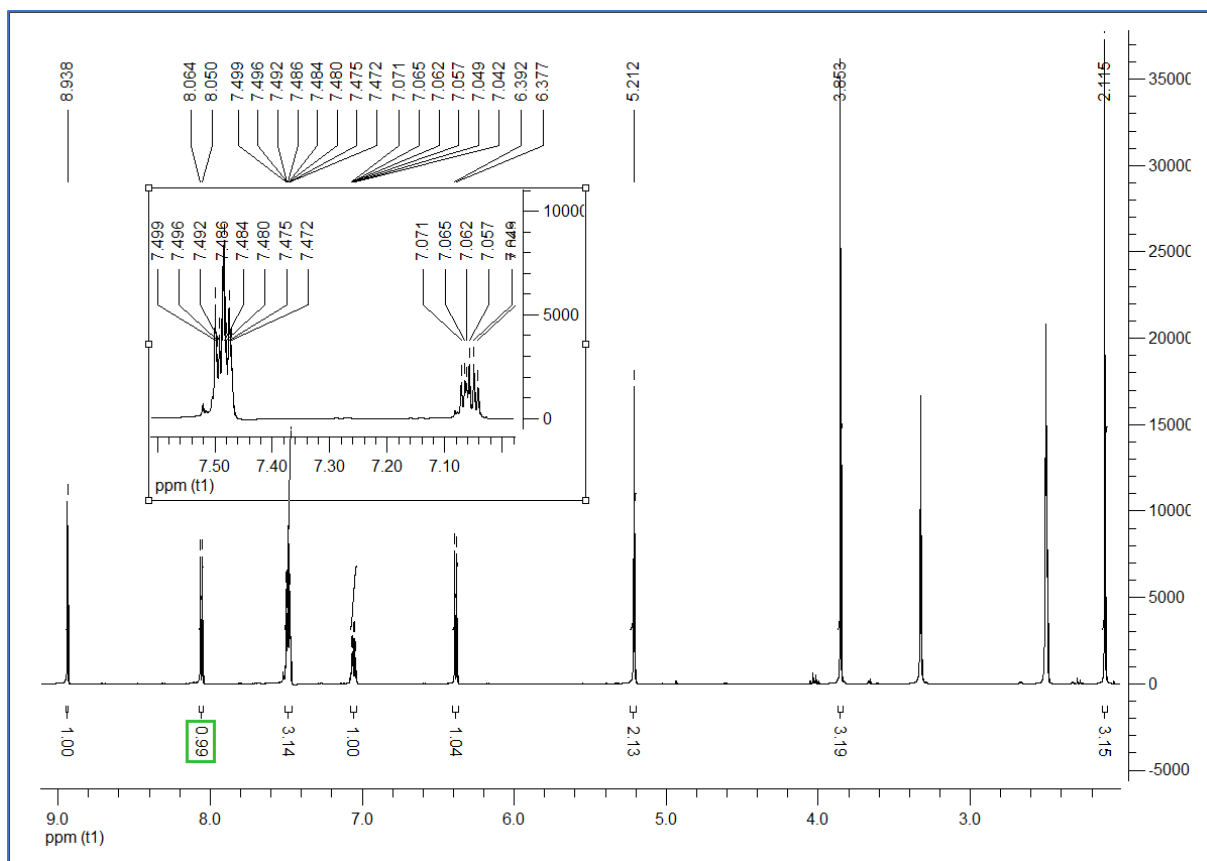
Slika D12.  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$  NMR (DEPTQ) spoja 12 snimljeni u  $\text{DMSO-}d_6$ .



Slika D13.  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$  NMR (DEPTQ) spoja 13 snimljeni u  $\text{DMSO-}d_6$ .



Slika D14.  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$  NMR (DEPTQ) spoja 14 snimljeni u  $\text{DMSO-}d_6$ .



Slika D15.  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$  NMR (DEPTQ) spoja **15** snimljeni u  $\text{DMSO-}d_6$ .

## 11. Životopis

### Osnovni podatci

Ime i prezime: Janko Čivić  
Datum rođenja: 18. studenog 1999.  
Mjesto rođenja: Slavonski Brod

### Obrazovanje

2006.-2014. Osnovna škola Mijat Stojanović, Babina Greda  
2014.-2018. III. Gimnazija Osijek, Osijek  
2018.- Preddiplomski studij kemije, Prirodoslovno-matematički fakultet,  
Sveučilište u Zagrebu

### Nagrade i priznanja

2016.-2017. Sudjelovanje na državnim natjecanjima iz kemije  
2018. 52. Međunarodna Mendeljejeva kemijska olimpijada (IMChO),  
Minsk, Bjelorusija  
2018. Srebrna medalja na 50. Međunarodnoj kemijskoj olimpijadi (IChO),  
Bratislava i Prag, Slovačka i Češka

### Ostale aktivnosti

2018. Jesenska škola kemije, Osijek  
2018.- Priprema učenika za olimpijade iz kemije  
2019.- Snimanje kemijskih pokusa za udžbenike iz kemije za srednju školu