

1,3-Dipolarna cikloadicija (I. dio): Dobivanje 1,2,3-triazolnih derivata u nukleozidnoj kemiji

DOI: 10.15255/KUI.2014.020
KUI-29/2015
Pregledni rad
Prispjelo 8. srpnja 2014.
Prihvaćeno 2. rujna 2014.

D. Saftić,^{a*} L. Krstulović,^b M. Bajić^b i B. Žinić^a

^a Zavod za organsku kemiju i biokemiju, Institut Ruđer Bošković, Bijenička cesta 54, 10 000 Zagreb, Hrvatska

^b Zavod za kemiju i biokemiju, Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu Heinzelova 55, 10 000 Zagreb, Hrvatska

|| Sažetak

Bakrom katalizirana Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija azida i terminalnih alkina kojom regioselektivno nastaju 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazoli često je primjenjivana metoda sintetske organske kemije. Zahvaljujući jednostavnim reakcijskim uvjetima, zauzela je značajno mjesto i u području nukleozidne kemije jer omogućuje dobivanje velikog broja potencijalno biološki aktivnih spojeva s nizom zanimljivih dodatnih svojstava induciranih uvođenjem 1,2,3-triazolnog strukturnog motiva u molekulu.

|| Ključne riječi

Klik-kemija, nukleozidi, 1,2,3-triazolni nukleozidni analozi

Uvod

Kada je 1953. godine obznanjen model DNA s dvostrukom uzvojnicom te objašnjen princip genetskog koda i uloga nukleinskih kiselina u stanicama, ispitivanje biološke aktivnosti nukleozida i njihovih fosforiliranih derivata postalo je fundamentalno i neiscrpno područje znanstvenog interesa. Prvi radovi iz ovog područja bili su usredotočeni na transformaciju nukleobaze vezane na neki šećer ili je transformacija provedena samo na šećernoj komponenti prirodnog nukleozida. Tek 1974. godine otkrićem prvog primjenjivog antivirusnog lijeka aciklovira¹ interes se proširio i na spojeve u kojima se nukleobaza i šećerna komponenta značajno razlikuju od prirodnih struktura te je otkriveno da neki od njih imaju antitumorsku, antivirusnu i/ili antibakterijsku aktivnost.

U potrazi za novim biološki aktivnim nukleozidnim derivatima razvijene su brojne metode njihove sinteze. Tako je posljednjih godina intenzivno razvijeno područje primjene paladijem kataliziranih reakcija adicija i supstitucija (Richard F. Heck, Ei-ichi Negishi i Akira Suzuki; Nobelova nagrada za kemiju 2010. godine). Još šezdesetih godina prošlog stoljeća otkrivena je Heckova reakcija^{2,3,4} stvaranja veze ugljik-ugljik, ali je njezina primjena intenzivirana tek osamdesetih godina kada su *Bergstrom i sur.* objavili nekoliko radova u kojima opisuju reakcije povezivanja nukleozida s alilnim halogenidima,⁵ olefinskim spojevima,⁶ alkoholima i acetatima.⁷ Druga metoda Pd(0)-katalizirane reakcije alkiliranja, tzv. Tsuji-Trostova reakcija, također je

pokazala velik potencijal zbog široke primjene i relativno jednostavnih reakcijskih uvjeta.³

Paladijem katalizirane reakcije mogu se provoditi i s različitim organometalnim spojevima kao što su organokositrovi (Stille),^{3,8} organocinkovi (Negishi),⁹ organosilicijevi (Hiyama)¹⁰ ili organoborovi spojevi (Suzuki).³

Osnovni razlog za veliku upotrebu paladija u sintezi je to što se stvaranjem nove veze ugljik-ugljik pruža mogućnost novih strukturnih transformacija molekule. U tablici 1 prikazane su najčešće paladijem katalizirane reakcije povezivanja primijenjene u kemiji nukleozida.

Osim što su primjenom paladijem kataliziranih reakcija pripremljeni mnogi biološki aktivni derivati nukleobaza/nukleozida, takvi spojevi mogu biti i prekursori drugih interesantnih derivata u brojnim reakcijama. U ovom radu bit će prikazane primjene različitih alkinilnih derivata nukleobaza/nukleozida (pripremljenih paladijem kataliziranim reakcijama) u 1,3-dipolarnoj cikloadicijskoj reakciji s azidima u reakcijskim uvjetima koji omogućuju dobivanje 1,2,3-triazolnih specija.

Klik-kemija

Pojam klik-kemije prvi su put upotrijebili *Sharpless i sur.* 2001. godine,¹¹ a nedvojbeno predstavlja jedan od najpopularnijih pristupa u suvremenoj organskoj sintezi.¹² Njime su objedinili široku paletu kemijskih reakcija nastajanja veze ugljik-heteroatom u kojima se brzo i pouzdano dolazi do produkata spajanjem više manjih jedinica. Postoji ne-

* Autor za dopisivanje: Dr. sc. Dijana Saftić
e-pošta: dsaftic@irb.hr

Tablica 1 – Pregled najvažnijih Pd-kataliziranih reakcija povezivanja u nukleozidnoj kemiji

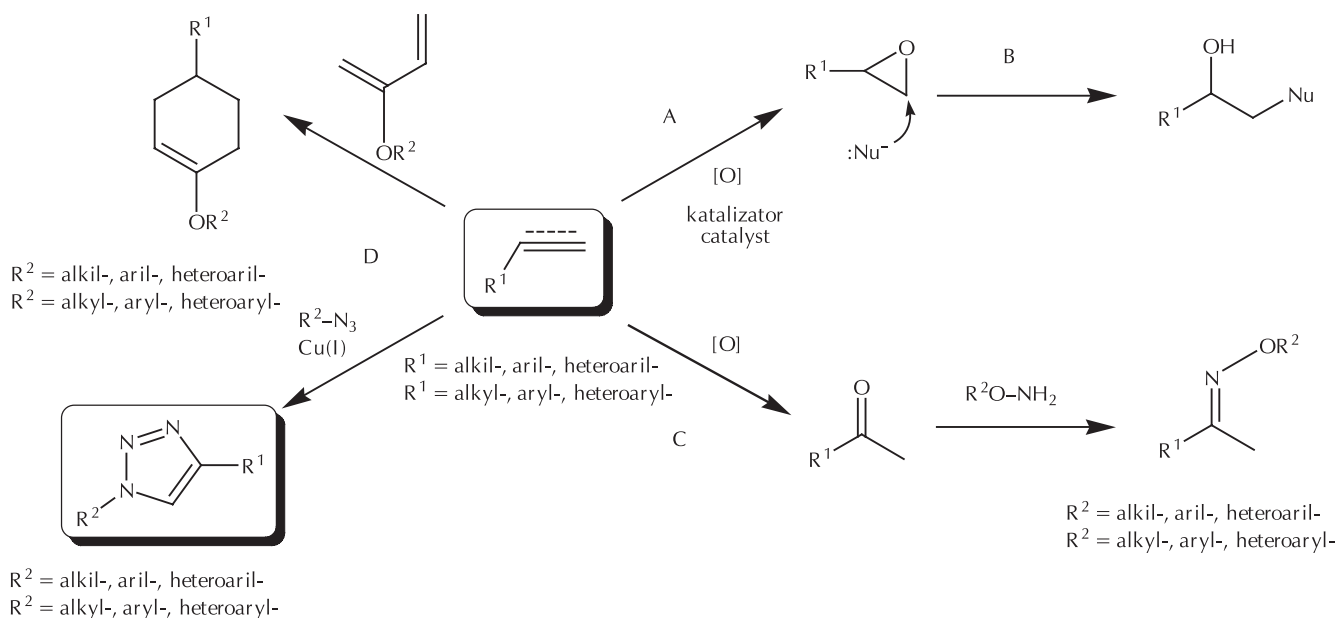
Table 1 – Overview of the most important Pd-catalyzed cross-coupling reactions in nucleoside chemistry

Reakcijska shema / Reaction scheme	Vrsta transformacije / Type of transformation	Naziv reakcije / Reaction name
$\text{RPdX} + \text{C}\equiv\text{C} \rightarrow \text{R}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{PdX}$	Umetanje / Insertion (karbopaladiranje / carbopalladation)	Heckova reakcija Heck reaction
$\text{RPdX} + \text{CO} \rightarrow \text{R}-\text{C}(=\text{O})-\text{PdX}$	Umetanje Insertion	Karboniliranje Carbonylation
$\text{RPdX} + \text{R}'\text{M} \rightarrow \text{R}-\text{R}'$ (X = I, Br, Cl, OTf, F, CN, OTs, OMs,...)	Transmetaliranje Transmetalation	M = -SnR ₃ → Stilleova reakcija M = -SnR ₃ → Stille reaction M = -BX ₂ → Suzuki-Miyaurina reakcija M = -BX ₂ → Suzuki-Miyaura reaction M = -ZnX → Negishijeva reakcija M = -ZnX → Negishi reaction M = -SiR ₃ → Hiyamina reakcija M = -SiR ₃ → Hiyama reaction
$\text{R}'-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H} + \text{R}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H} \xrightarrow[\text{CuI}]{\text{Pd(0)}} \text{R}'-\text{C}\equiv\text{C}-\text{R}$	Transmetaliranje Transmetalation Cu → Pd	Sonogashirina reakcija Sonogashira reaction
$\text{R}'-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H} \xrightarrow{\text{Pd(0)}} \text{R}'-\text{C}(\text{PdX})=\text{C}=\text{C}-\text{H} \xrightarrow{\text{Nu}^-} \text{R}'-\text{C}(\text{Nu})=\text{C}=\text{C}-\text{H}$	π -alilni kompleks π -allyl complex	Tsuji-Trostova reakcija Tsuji-Trost reaction

koliko tipova reakcija koje možemo smatrati reakcijama “klik-tipa” (shema 1).¹¹

Najzastupljenija od svih reakcija “klik-tipa” upravo je Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija azida i terminalnog alkina, pri čemu nastaje 1,2,3-triazol. Jedna od prvih sin-

teza koja je uključivala reakciju terminalnog ili internog alkina i azida poznata je više od stotinu godina. Naime, prvi 1,2,3-triazol sintetiziran je 1893. godine iz fenil-azida i acetilendikarboksilata.¹³ Rolf Huisgen i sur. detaljno su istražili reakcije 1,3-dipolarne cikloadicije pedesetih godina prošlog stoljeća¹⁴ te zaključili da je, u termodina-



Shema 1 – Primjeri reakcija koje udovoljavaju kriterijima klik-reakcija: A) adicije na nezasićenu vezu ugljik-ugljik; B) reakcije nukleofilnog otvaranja prstena; C) karbonilna kemija nealdolnog tipa; D) cikloadicijske reakcije.

Scheme 1 – Examples of reactions which comply with the criteria of click reactions: A) additions to carbon-carbon multiple bond; B) nucleophilic ring opening reactions; C) non-aldol carbonyl chemistry; D) cycloaddition reactions.

mičkom smislu, ovaj postupak egzoterman ($\Delta H^\circ = -45$ do -55 kcal mol⁻¹), ali s relativno visokom energijom aktivacije ($E_a = 26$ kcal mol⁻¹ za reakciju metil-azida i propina).¹⁵ To značajno utječe na brzinu reakcije, te je ona za neaktivirane reaktante na sobnoj temperaturi vrlo spora. Alkin i azid vrlo su selektivni u reaktivnosti: inertni su prema većini funkcionalnih skupina i stabilni u velikom broju otapala, pri različitim temperaturama i vrijednostima pH. Nekatalizirana reakcija zahtijeva visoku temperaturu i pri tom nastaje smjesa dvaju regioizomera; 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazol **A** i 1,5-disupstituirani 1,2,3-triazol **B** (shema 2).¹⁶

Cu(I)-katalizirana azid-alkinska 1,3-dipolarna cikloadicija (CuAAC)

U posljednjih desetak godina Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija dolazi u žarište interesa sintetske organske kemije od kada su *Tornøe* i *Meldal* 2002. godine upotrijebili bakar(I) kao katalizator. Ova reakcija je od tada poznata kao Cu(I)-katalizirana azid-alkinska cikloadicija (krat. CuAAC, engl. *Copper Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition*).^{16,17} Cu(I)-katalizirana 1,3-cikloadicija je do 10⁷ puta brža od nekatalizirane reakcije,¹⁸ odvija se pri temperaturi 0 – 25 °C, a sterička i elektronska svojstva supstituenata ne utječu bitno na tijek katalizirane reakcije. Reakcijom regioselektivno nastaju 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazoli (shema 2) koji su stabilni u hidrolitičkim i oksidoredukcijskim uvjetima te pri visokim temperaturama.

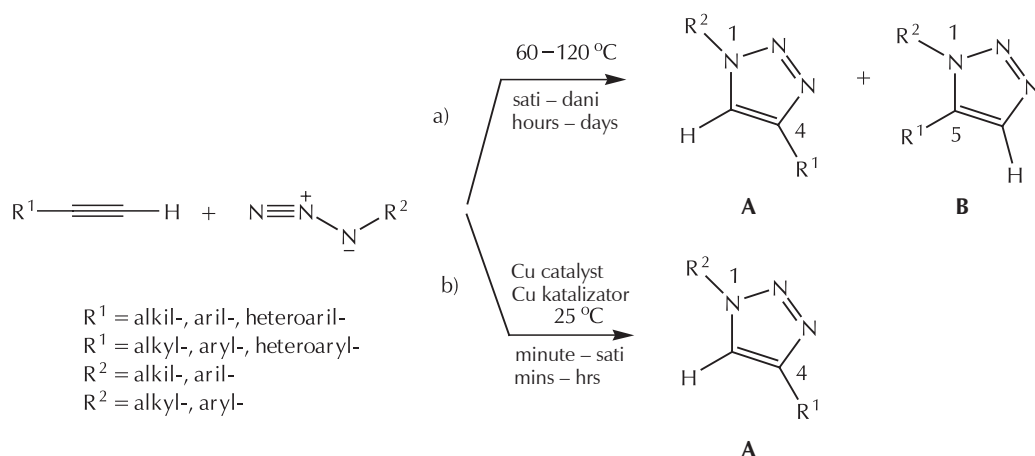
Izvori bakra u CuAAC reakcijama

Bakar(I) se u reakciju uvodi izravno ili se može pripremiti *in situ*. Ovisno o reakcijskim uvjetima izabire se i odgovarajući bakrov katalizator. U slučaju polarnih supstrata najčešće se primjenjuje vodeni medij te CuSO₄ uz odgovarajuće redukcijsko sredstvo (npr. natrijev askorbat) koje će *in situ* generirati potrebni Cu(I). Neposredna primjena katalizatora Cu(I) najčešće uključuje primjenu soli Cu(I) (CuI ili CuBr) ili kompleksa Cu(I) ([Cu(CH₃CN)₄]PF₆, (EtO)₃P · CuI,

[Cu(PPh₃)₃]Br). Kompleksi su se pokazali kao dobro rješenje kod reakcija u organskim otapalima gdje je topljivost Cu(I) soli ograničena. Osim Cu(I) i Cu(II) kao izvora bakra poznate su i primjene katalizatora Cu(0) (bakrena žica ili bakreni prah)¹⁹ te nanočestica bakra.²⁰ Cu(I) je termodinamički nestabilan te se relativno lako oksidira u Cu(II) koji je katalitički inaktivan. Cu(II) kao oksidacijsko sredstvo može uzrokovati nastanak neželjenih nusprodukata, a da bi se to spriječilo, reakcije sa solima Cu(I) treba voditi bez prisutnosti kisika. Kao alternativno rješenje strogo suhim reakcijskim uvjetima u reakcijama CuAAC mogu se upotrijebiti i kompleksi Cu(I) s različitim ligandima. Ligandi štite Cu(I) od oksidacije, pa nije nužno voditi reakciju bez prisustva kisika, a mogu i poboljšati katalitička svojstva soli Cu(I). Osim toga, ligandi mogu djelovati i kao akceptori protona, pa nije potrebna upotreba baza. Najčešće upotrebljavan ligand u organskoj sintezi i biokonjugaciji molekula je TBTA (tris[(1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil]amin), a batofenantrolin i PMEDTA (*N*¹-(2-(dimetilamino)etil)-*N*²,*N*²-trimetiletan-1,2-diamin) se upotrebljavaju u kemiji polimera.^{21a}

U reakcijama CuAAC upotrebljava se niz nepolarnih te polarnih aprotičnih i protičnih otapala (toluen, 1,4-dioksan, CHCl₃, CH₂Cl₂, THF, DMF, CH₃CN, DMSO, NMP, *t*BuOH, EtOH, MeOH), a moguća je i upotreba vode u smjesi s nekim organskim otapalom (najčešće s EtOH ili *t*BuOH).^{21a} Kao baze se najčešće upotrebljavaju diizopropiletilamin (DIPEA), *N,N'*-dimetiletilendiamin (DMEDA) i Et₃N, a nešto rjeđe 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undek-7-en (DBU), piperidin i 2,6-lutidin.^{21a}

Opći uvjeti za reakciju CuAAC u nukleozidnoj kemiji podrazumijevaju temperaturu 0 – 25 °C te 10 mol% bakrovog katalizatora, 5 mol % redukcijskog sredstva (npr. natrijeva askorbata) i 15 mol % baze, sve u odnosu na mjerodavni reaktant koji može biti alkin odnosno azid. Postupak obrade reakcije i izolacija produkta uglavnom su vrlo jednostavni te podrazumijevaju filtraciju i prekrizalizaciju. S obzirom na to da se radi o potencijalno biološki aktivnim spojevima koji se pripremaju u svrhu bioloških testiranja, posebnu pažnju treba obratiti na kontaminaciju spojeva



Shema 2 – 1,3-Dipolarna azid-alkinska cikloadicija: a) nekatalizirana i b) Cu(I)-katalizirana
Scheme 2 – 1,3-Dipolar azide-alkyne cycloaddition: a) uncatalysed, and b) Cu(I) catalyzed

bakrovim solima. To je iznimno važan stupanj izolacije, a najuspješniji postupci uklanjanja bakra su filtracija kroz stupac *Cellita* ili kroz kratki stupac $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ odnosno tretiranje reakcijske smjese aktivnim ugljenom.^{21b}

Mehanizam reakcije CuAAC

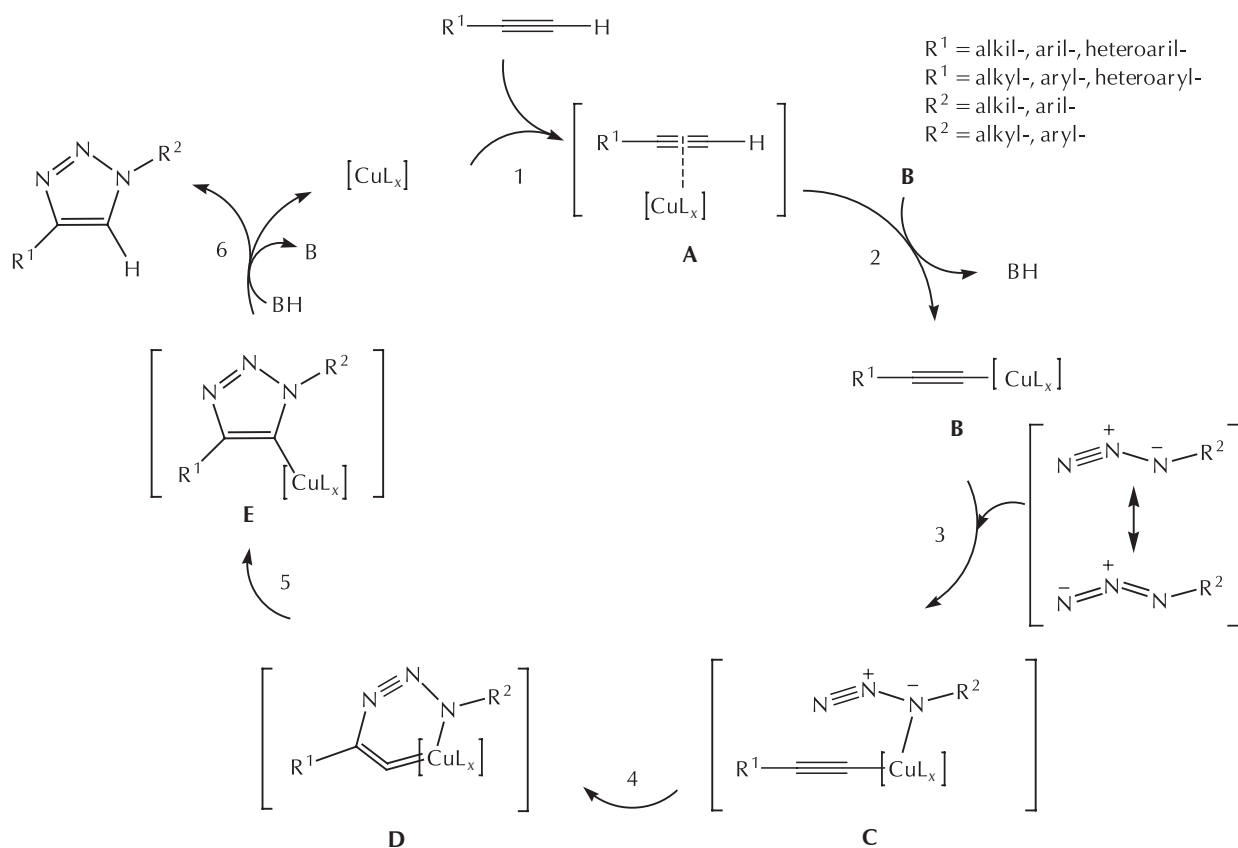
Na shemi 3 prikazan je pretpostavljeni mehanizam Cu(I)-katalizirane azid-alkinske 1,3-dipolarne cikloadicije.^{21a} Oznaka [CuL] podrazumijeva bilo koji bakrov katalizator koji može sudjelovati u reakciji. U Cu(I)-kataliziranim klik-reakcijama sudjeluje isključivo terminalni alkin te u prvom koraku reakcije Cu^+ koordinira π -elektrone alkina i nastaje π -kompleks bakra i alkina (**A**). Koordinacijom Cu^+ na trostruku vezu ugljik-ugljik smanjuje se $\text{p}K_a$ terminalnog protona alkina, što omogućuje deprotonaciju i nastanak bakrovog acetilida (**B**). Kompleks bakrovog acetilida koordinira azid, pri čemu nastaje intermedijar (**C**), a njegovom pregradnjom nastaje šesteročlani prsten (**D**), u koji je uključen i bakar (Cu-prsten). Taj korak ima računski dobivenu energijsku barijeru 18,7 kcal mol⁻¹, što je znatno manje od 23,7 kcal mol⁻¹, koliko iznosi teorijska barijera nekatalizirane reakcije. Energijska barijera za nastajanje triazolila (**E**) (triazola supstituiranog bakrom) je niska; 3,2 kcal mol⁻¹. Protoniranjem triazolila **E** oslobađa se bakar i nastaje produkt 1,4-supstituirani 1,2,3-triazol.

Zbog činjenice da se radi o reakciji drugog reda s obzirom na Cu(I)^{22} te da acetilidi najčešće koordiniraju barem dva bakrova atoma, pretpostavlja se da azid i alkin nisu koordinirani istim bakrovim atomom i da u reakciji sudjeluju barem dva bakrova atoma. Proračun DFT (engl. *Density Functional Theory*) pokazuje da se uz dva bakrova atoma energijska barijera cikloadicije smanjuje za 4 kcal mol⁻¹ (17 kcal mol⁻¹ u slučaju jednog bakrovog atoma i 13 kcal mol⁻¹ u slučaju dva bakrova atoma).²³

Reakcije CuAAC u nukleozidnoj kemiji

Strukturna raznolikost biološki aktivnih nukleozidnih derivata sintetiziranih u posljednjih 50-ak godina evidentno pokazuje da nukleozidni analozi ne moraju nužno biti u uskoj strukturnoj povezanosti s prirodnim nukleozidima, a da bi istodobno bili biološki zanimljivi. Stoga se čini logičnim kako su od otkrića reakcije CuAAC njezine brojne prednosti primijenjene i u ovom neiscrpnom području kemije u sintezi potencijalnih biološki aktivnih nukleozidnih derivata.

U prethodnom poglavlju spomenute su samo neke najčešće primjenjivane metode sinteze terminalnih alkina supstitucijom nukleobaza/nukleozida u paladijem kataliziranim reakcijama. S druge strane, azidnu funkcijsku sku-



Shema 3 – Pretpostavljeni mehanizam Cu(I)-katalizirane azid-alkinske 1,3-dipolarne cikloadicije^{21a}
 Scheme 3 – Proposed mechanism of the Cu(I) catalyzed azide-alkyne 1,3-dipolar cycloaddition^{21a}

pinu također je moguće generirati na više načina,²⁴ a metoda pripreme azida često ovisi o tome radi li se o alkil- ili aril-azidu. Najčešći polazni spoj za pripremu azida je neki primarni, sekundarni ili tercijarni halogenid.²⁵ Opsežan pregledni rad o pripremi azidonukleozida s karakterističnim reakcijama i biološkim svojstvima objavio je Pathak 2002. godine,²⁶ a Andersen *i sur.*²⁷ objavili su iskustva istraživanja utjecaja različitih liganada i otapala u sintezi aril-azida Ullmannovom metodom uz Cu(I) katalizator.

Zbog izrazite opasnosti pri rukovanju organskim azidima male molekulske mase²⁴ razvijene su metode sinteze 1,2,3-triazola reakcijom terminalnih alkina i organskih azida pripremljenih *in situ* (engl. *one-pot* reakcije).^{28,29,30} Tako su Andersen *i sur.*³¹ potaknuli metodom koju su razvili Fokin *i sur.*²⁹ objavili učinkovitu metodu sinteze 1-aril-1,2,3-triazola iz aril-halogenida i terminalnih alkina uz prisutnost NaN_3 . Kumar *i sur.*³² objavili su trokomponentnu metodu pripreme 1,2,3-triazolnih derivata klik-reakcijom aromatskih, heterocikličkih i alifatskih terminalnih alkina s azidima pripremljenim *in situ* iz odgovarajućih α -tosiloksiketona.

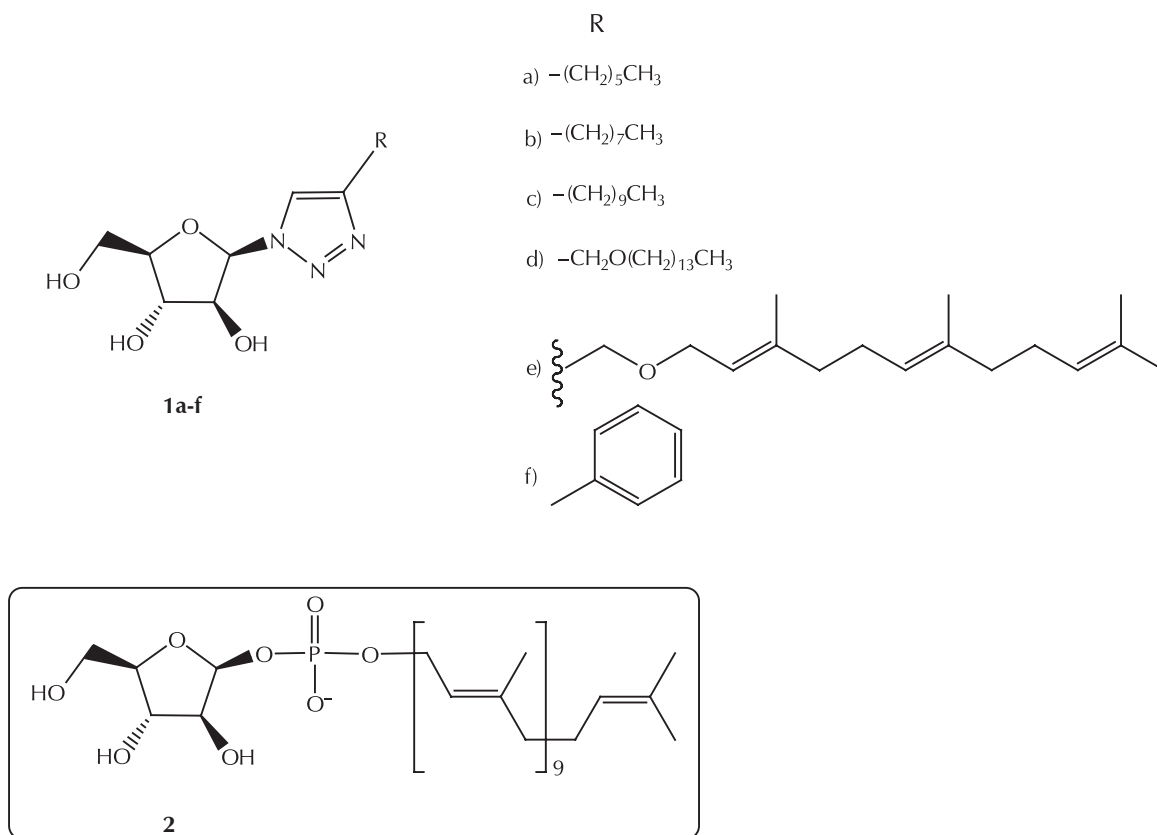
Kao reagensi trokomponentnih reakcija *in situ* generiranja azida supstitucijom s NaN_3 osim alkil- ili aril-halogenida i tosilnih derivata mogu se upotrijebiti epoksidi³³ i Baylis-Hillmanovi adukti.³⁴ Najčešće upotrebljavani reagensi za diazo-transfer na dušik amina su trifluorometansulfonilni azid (triflatni azid, TfN_3) i trimetilsililni azid (TMSN_3).^{35,36} Tim reakcijama mogu se sintetizirati α -azidokiseline te alkilni i

arilni azidi. Zbog eksplozivne prirode i nestabilnosti TfN_3 u sintezi se kao reagens za transfer azida često upotrebljava imidazol-1-sulfonil-azid hidroklorid.³⁷

Modifikacije nukleozida u domeni nukleobaze

S obzirom na izvanrednu stabilnost triazolnog prstena u kiselim, bazičnim i oksidativnim odnosno reduktivnim uvjetima kao i činjenica da aromatski karakter ovog heterocikličkog sustava omogućuje stvaranje dipol-dipolnih i π -interakcija, a dušikovi atomi stvaranje vodikovih veza, ovaj strukturni motiv postao je inspiracija za sintezu brojnih klinički primjenjivih nukleozidnih analoga. Poseban doprinos razvoju novih potencijalno biološki aktivnih derivata s ugrađenom strukturom peteročlanog heterocikličkog motiva dala su otkrića danas dobro poznatog ribavirina, koji ima primjenu u terapiji hepatitisa C (krat. **HCV**, engl. **Hepatitis C Virus**)³⁸ i mizoribina³⁹ kao imunosupresivnog agensa te niza sličnih struktura.

U dizajnu novih struktura do izražaja je došla primjena 1,3-dipolarne cikloadicije koja je rezultirala sintezom niza nukleozidnih analoga.⁴⁰ Primjenom klik-kemije Wilkinson *i sur.*⁴¹ objavili su sintezu serije β -arabinoglikozil-triazola **1a-f** supstituiranih različitim hidrofobnim lancima kao strukturnih analoga poznatog mikobakterijskog inhibitora biosinteze stanične stijenke; dekaprenolfosfoarabinoze **2** (slika 1).



Slika 1 – Strukturni analozi dekaprenolfosfoarabinoze **2**

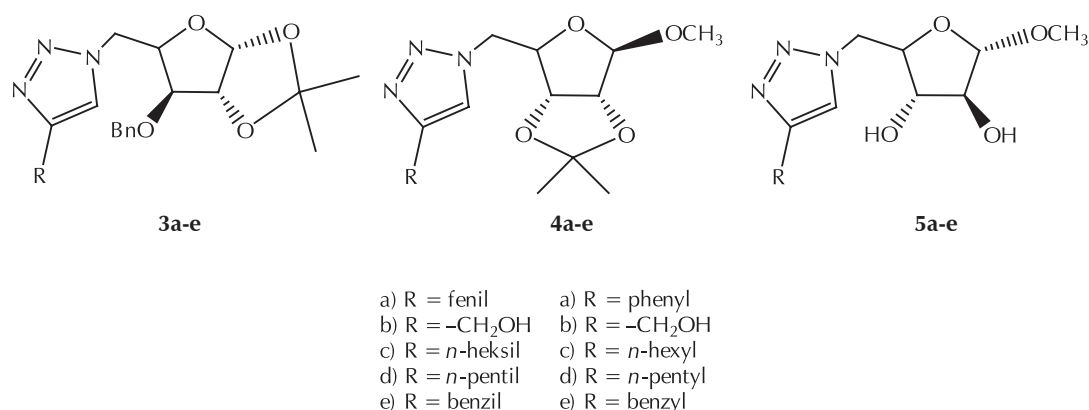
Fig. 1 – Structural analogs of dekaprenolphosphoarabinoz **2**

Istraživanjima utjecaja strukturnih analoga nukleozida na inhibiciju rasta mikobakterija bavili su se i Singh i sur.⁴² Sintetizirali su seriju α -D-ksilo-, β -D-ribo- i α -D-arabino-furanozidnih triazolnih derivata (slika 2) iz odgovarajućih 5'-azidošećera i niza terminalnih alkinata te su testirali njihova biološka svojstva na staničnoj liniji *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv.

Kako bi izbjegli primjenu bakra u katalitičkoj reakciji 1,3-dipolarne cikloadicije, Youcef i sur.⁴³ istražili su mogućnosti primjene surfaktanata (površinski aktivnih tvari) i tzv. micelarnu katalizu.⁴⁴ Prema prije objavljenim radovima pretpostavili su kako bi ta vrsta katalize mogla ubrzati kemijsku reakciju i kontrolirati regioselektivnost 1,3-dipolarne cikloadicije. Zaključili su da je bakar moguće zamijeniti nekim surfaktantom u reakciji 1,3-dipolarne cikloadicije mono- i disupstituiranih ribozil-alkina s benzil-azidom

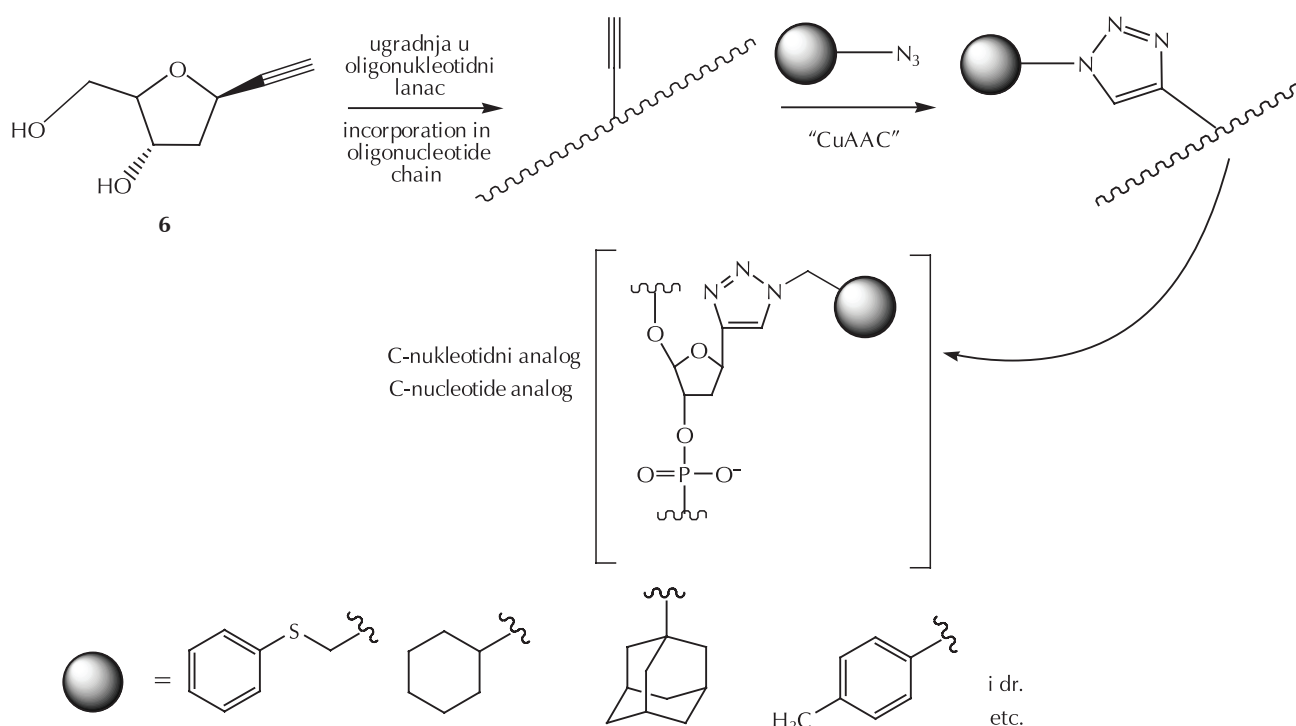
prilikom sinteze analoga ribavirina. Odabir odgovarajućeg surfaktanta ovisi o tome sudjeluje li u reakciji mono- ili disupstituirani ribozil-alkin.

Zbog sve veće važnosti kemijski promijenjenih oligonukleotida u svrhu povećanja stupnja selektivnog prepoznavanja i mogućnosti primjene ovih lanaca kao biološkog "alata" molekularne biologije i dijagnostike Nakahara i sur.⁴⁵ primijenili su klik-kemiju. U tu svrhu ugradili su 1-etinil-2-deoksi- β -D-ribofuranozu (**6**) (shema 4) u oligonukleotidni lanac. Reakcijom CuAAC modificiranog oligonukleotida s različitim primarnim, sekundarnim, tercijarnim i aromatskim azidima dobili su oligonukleotide supstituirane s 1,2,3-triazolnim prstenom (shema 4). Oni u svojoj strukturi sadržavaju C-nukleotidne analoge u kojima je umjesto nukleobaze vezan triazolni prsten na anomernom centru 2-deoksiriboze.



Slika 2 – α -D-ksilo- **3a-e**, β -D-ribo- **4a-e** i α -D-arabinofuranozidni triazolni derivati **5a-e**

Fig. 2 – α -D-xylo- **3a-e**, β -D-ribo- **4a-e**, and α -D-arabinofuranose triazole derivatives **5a-e**



Shema 4 – Sinteza oligonukleotidnih lanaca modificiranih 1,2,3-triazolnim nukleotidnim analogima^a

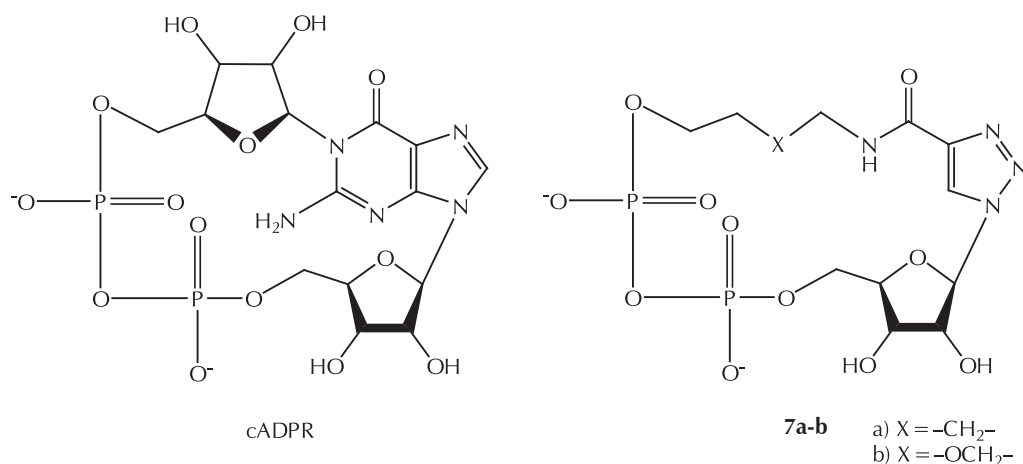
Scheme 4 – Synthesis of oligonucleotide chains modified with 1,2,3-triazole nucleotide analogs

Kako bi se poboljšalo iskorištenje i skratilo vrijeme reakcija, sve je češće u primjeni mikrovalno zračenje kao alternativni izvor energije.⁴⁶ Taj nekonvencionalni izvor zračenja našao je svoju primjenu u klik-kemiji.⁴⁷ Sa stajališta tzv. "zelene kemije" značajnu primjenu ima mikrovalnim zračenjem potpomognuta sinteza bez prisutnosti otapala.⁴⁸ Tako su Guezguez *i sur.*⁴⁹ objavili Cu(I)-kataliziranu regioselektivnu sintezu funkcionaliziranih α - ili β -1,2,3-triazolil-nukleozidnih analoga primjenom reakcije CuAAC između α - ili β -2-deoksiriboze s različitim terminalnim alkinima. Reakcije su provedene u mikrovalnom reaktoru bez prisutnosti otapala i pri atmosferskom tlaku. Optimiziranjem reakcijskih uvjeta trajanje reakcije je skraćeno s 24 h na samo 1,5 – 3 min.

*Li i sur.*⁵⁰ također su proveli modifikaciju nukleozida u domeni nukleobaze u potrazi za novim analogima cADPR. Poznato je da ciklička adenzin-difosfat-riboza (krat. **cADPR**

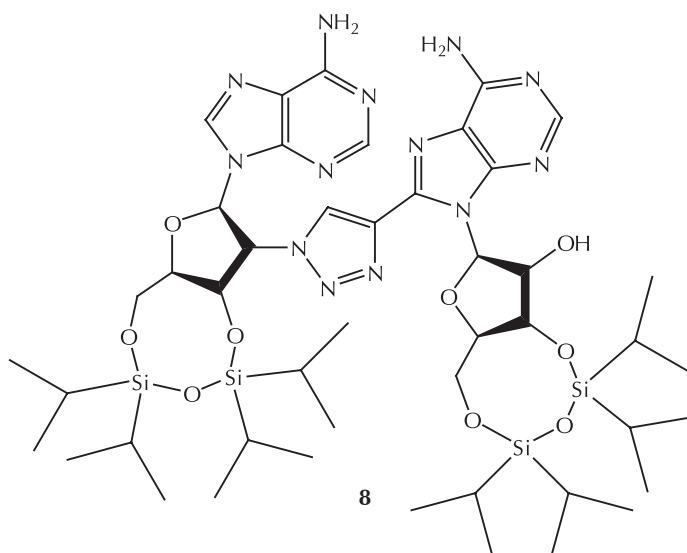
PR, engl. *Cyclic ADP Ribose*) kontrolira Cu^{2+} -ovisni stanični odgovor brojnih sustava, a strukturni derivati te molekule mogli bi pomoći u objašnjavanju mehanizma posredovanja cADPR-a u Cu^{2+} -ovisnoj staničnoj signalizaciji. *Li i sur.*⁵⁰ su sintetizirali 4-amido-1,2,3-triazolne nukleozidne analoge **7a-b** (slika 3). Preliminarna farmakološka ispitivanja pokazala su da sintetizirani derivati induciraju otpuštanje iona Cu^{2+} u intaktnim humanim stanicama Jurkat.

*Xia i sur.*⁵¹ sintetizirali su bistriazolil-nukleozidne analoge kao potencijalne agense za liječenje virusa mozaične bolesti duhana (krat. **TMV**, engl. *Tobacco Mosaic Virus*) primjenom reakcije CuAAC, a *O'Mahony i sur.*⁵² su sintezom adenzinskih dimera povezanih 1,2,3-triazolnim prstenom pokazali da je reakcija CuAAC izvediva i na elektronima siromašnim heterocikličkim sustavima kao što su primjericice purini (slika 4). Oni su u reakciji 8-etiniladenozina s 2'-azidoadenozinom izolirali adenzinski dimer **8**.



Slika 3 – Struktura cADPR i strukturnih analoga **7a-b**

Fig. 3 – Structure of cADPR and its structural analogs **7a-b**

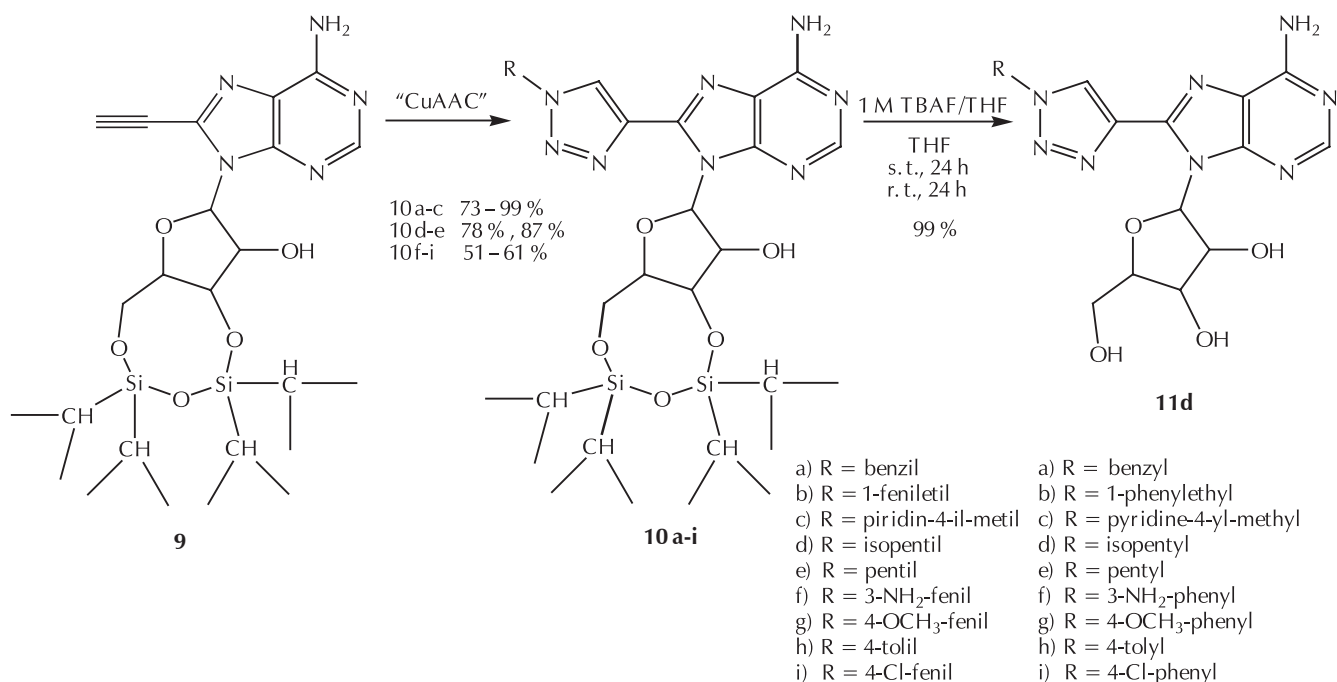


Slika 4 – Struktura adenzinskog dimera **8**

Fig. 4 – Structure of adenosine dimer **8**

Posljednjih godina veliku ekspanziju doživjelo je područje fluorescentnih nukleozidnih analoga u okviru studija struktura nukleinskih kiselina i proučavanju bioloških svojstava kao što su replikacija, transkripcija, rekombinacija i mehanizmi popravka.⁵³ Najčešći nukleozidni fluorescentni analozi uglavnom su derivati purina. Najviše se upotrebljava 2-aminopurin, a komercijalno su dostupni i derivati pterina i pteridina.

O'Mahony i sur.^{52,54} opisali su funkcionalizaciju C8 položaja adenzina koja je rezultirala sintezom derivata s fluorescentnim svojstvima. Isti sustav upotrijebila je Dyrager sa sur.⁵⁵ te su primjenom reakcije CuAAC u mikrovalnom reaktoru uz prethodnu funkcionalizaciju položaja C8 adenzina pripravili 8-(1*H*-1,2,3-triazol-4-il) adenzinske analoge **10a-i** Sonogashirinom metodom (shema 5).



Shema 5
Scheme 5

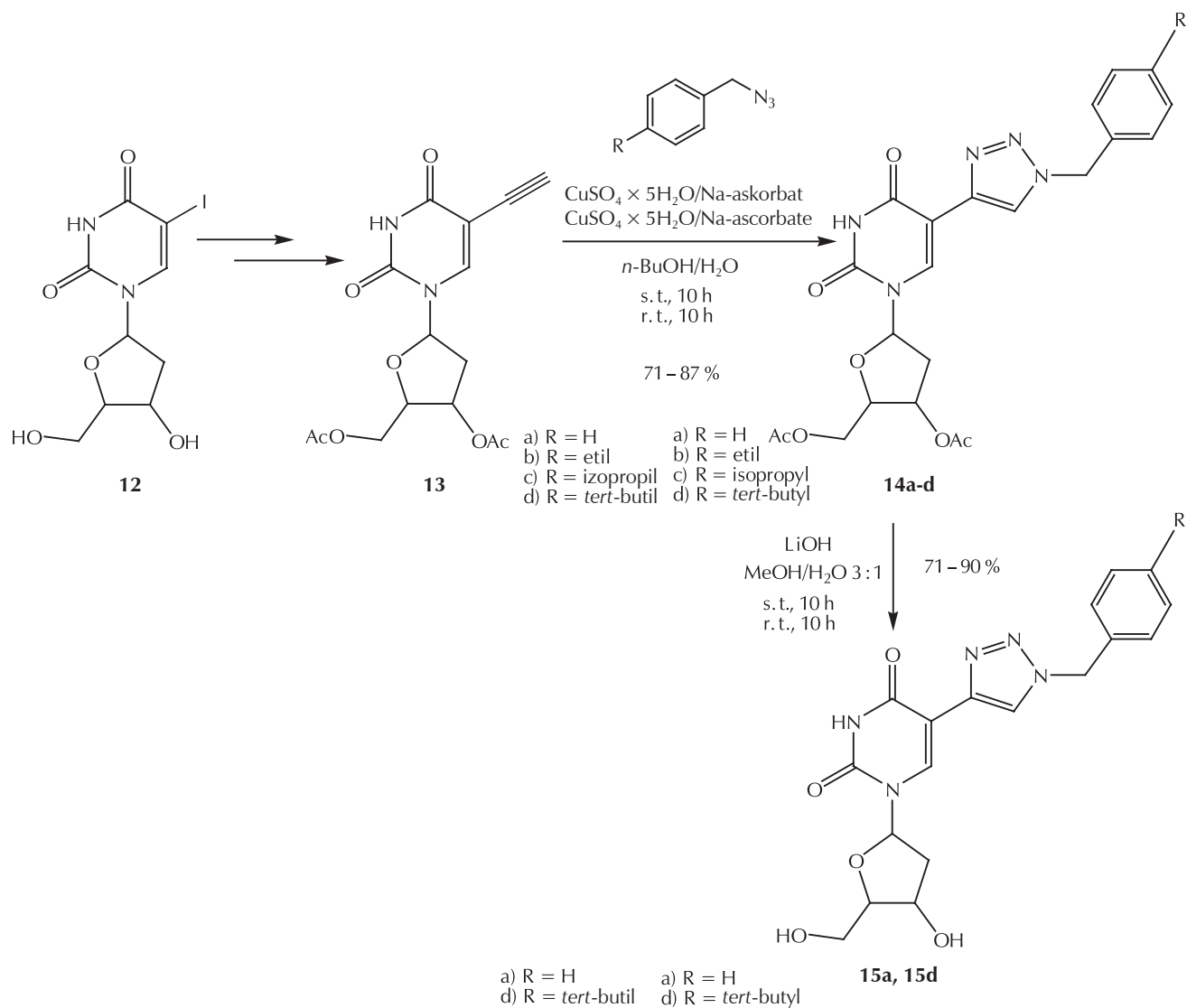
Pripravljene spojevi pokazali su veliku sposobnost apsorpcije (ekstinkcijski koeficijenti, $\epsilon > 24000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), visoku efikasnost emisije apsorbiranog zračenja (kvantni prinos fluorescencije, *engl. quantum yield*, $\Phi_F > 64 \%$) te visok faktor osvjjetljenja ($\epsilon \cdot \Phi_F$) kao i usklađene i usporedive valne duljine emisije u ovisnosti o vrsti supstituenta na triazolnom prstenu.

Prema statistici Svjetske zdravstvene organizacije (krat. **WHO**, *engl. World Health Organization*) godišnje umre 7,6 milijuna ljudi od posljedica tumorskog oboljenja.⁵⁶ Iako rizik oboljenja raste s godinama, njima su sve više pogođene i mlade populacije. Pet najčešćih organa koje zahvaća karcinom su pluća, jetra, crijeva, želudac i dojke, a sve učestalija smrtnost posljedica je i raka grlića

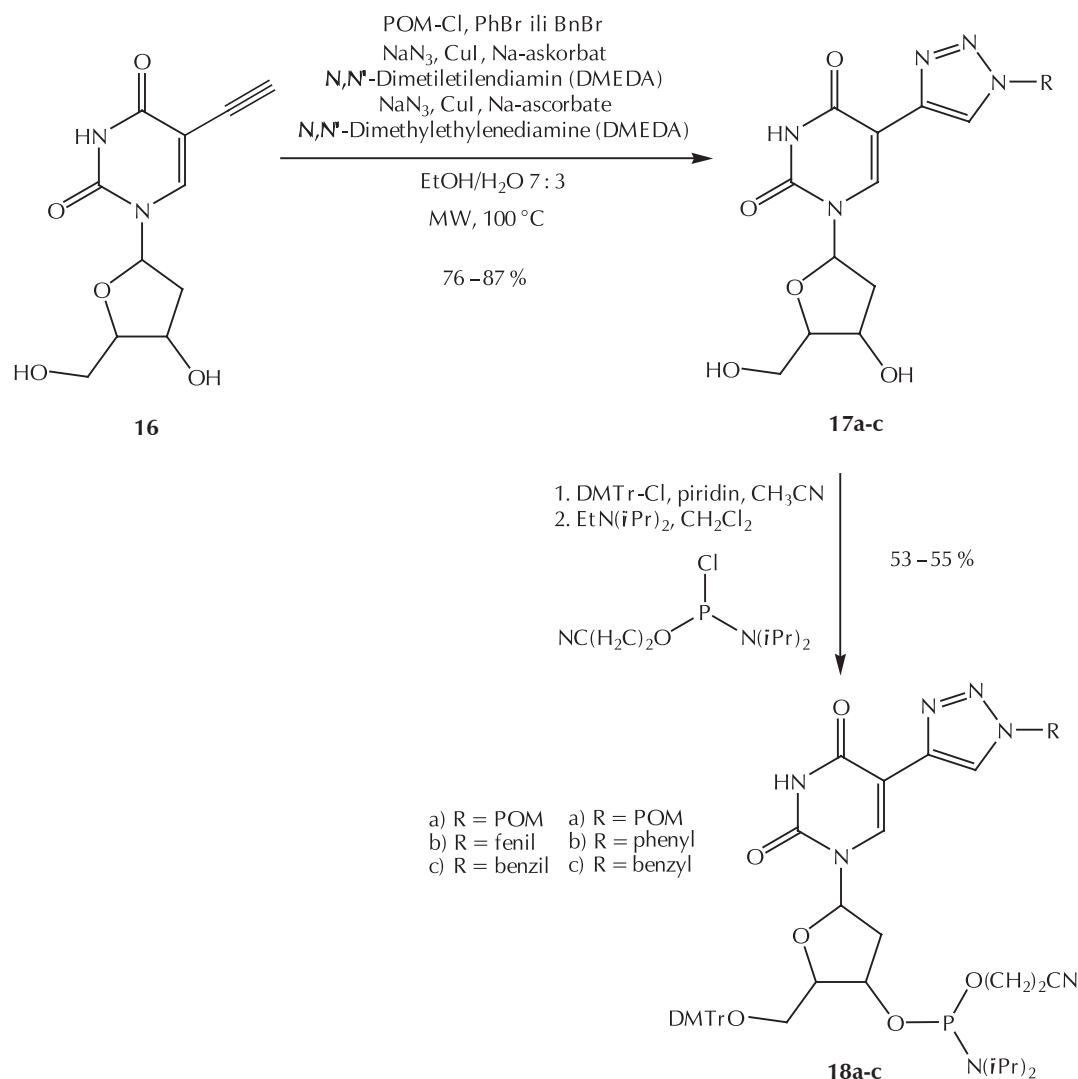
vrata maternice i karcinoma prostate. Među prvim otkrivenim onkološki primjenjivim terapeutima upravo su nukleozidni analozi (kladribin, klofarabin, kapecitabin, citarabin, fludarabin, gemcitabin, decitabin, floksuridin i dr.).⁵⁷ Meneni i sur.⁵⁸ su 2007. godine objavili sintezu serije 5-etinil-2'-deoksiuridinskih analoga s protutumor-

skom aktivnošću, a Lee i sur.⁵⁹ upotrijebili 5-etinil-2'-deoksiuridinski derivat u reakciji CuAAC pripreme triazola **14a-d** (shema 6).

Sintezom C5-triazolil-2'-deoksiuridinskih derivata te antivirusnim⁶⁰ i protutumorskim⁶¹ testiranjima pripremljenih spojeva bavili su se i drugi autori.



Shema 6
 Scheme 6



Shema 7
Scheme 7

Osim bioloških testiranja brojni radovi govore i o ugradnji C5-modificiranih pirimidinskih analoga unutar dvostruke uzvojnice RNA/DNA te njihovom utjecaju na stabilnost. Dobiveni rezultati potvrdili su da upravo supstitucija nekim heterocikličkim peteročlanim prstenom povećava stabilnost dvostruke uzvojnice.⁶² Kočalka i sur.^{62c} su u dvostruku uzvojnici DNA:RNA ugradili C5-triazolil-2'-deoksiuridinske analoge **18a-c** (shema 7).

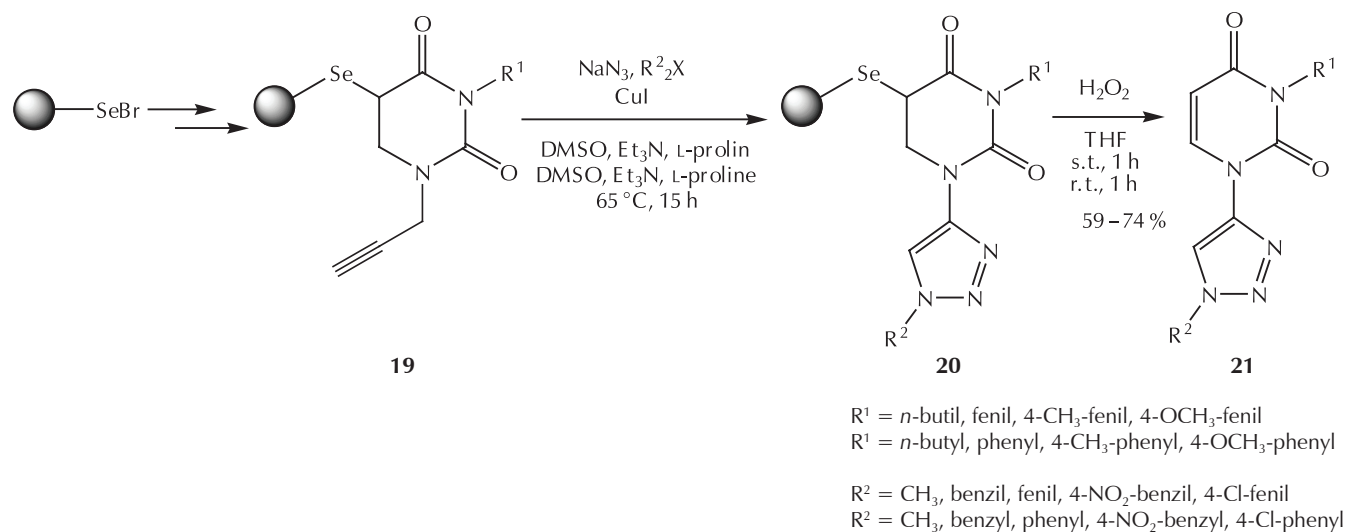
Iz dobivenih rezultata utjecaja ugrađenih triazolnih struktura u veliki utor dvostruke uzvojnice zaključili su općenito da jedan ugrađeni triazolni derivat unutar oligonukleotidnog lanca destabilizira dvostruku uzvojnici, dok četiri uzastopno povezana analoga imaju suprotan efekt. Vrsta supstituenta na triazolnom prstenu dodatno može (de)stabilizirati sustav. Andersen i sur.⁶³ proveli su stoga sustavnu studiju utjecaja fenilnog i *p*-supstituiranog fenilnog supstituenta na triazolnom prstenu 2'-deoksiuridina na jakost π - π interakcija unutar lanaca dvostruke uzvojnice. Nakon provedenih hibridizacijskih studija UV spektroskopijom (određivanje T_m) te studija utjecaja π - π interakcija u ovisnosti o stupnju (broju ugrađenih modificiranih monomera) i

vrsti ugrađenih monomera primjenom cirkularnog dikroizma (krat. **CD**, engl. **Circular Dichroism**) autori su zaključili da se modifikacijom oligonukleotidnog lanca stabilnost dvostruke uzvojnice DNA:RNA povećava. Nadalje, najjače π - π interakcije i stoga najstabilniju dvostruku uzvojnici omogućile su modifikacije oligonukleotidnog lanca ugradnjom monomera sa sulfonamidnim supstituentom.

Modifikacije nukleozida u domeni šećera i nukleozidni biokonjugati

Osim strukturnih modifikacija nukleozida u domeni nukleobaze, s ciljem pronalaska novih potencijalno biološki aktivnih derivata, provedene su i strukturne promjene u domeni šećera. I u ovom području značajnu primjenu nalazi reakcija CuAAC u sintezi različitih pirimidinskih⁶⁴ i purinskih⁶⁵ nukleozidnih analoga.

Osim modifikacija šećernog dijela molekule nukleozida, furanozni prsten moguće je i potpuno zamijeniti nekim heterocikličkim ili čak acikličkim supstituentom. Tako su

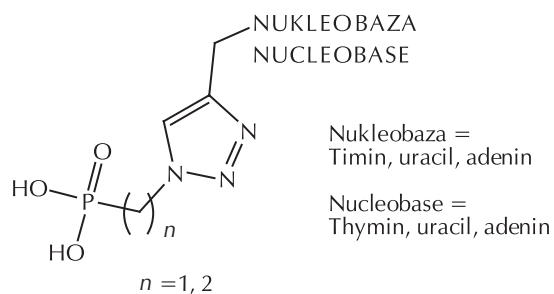


Shema 8
Scheme 8

Cao i Huang⁶⁶ objavili paralelnu sintezu serije uridinskih analoga na čvrstom nosaču selenidne smole primjenom reakcije CuAAC kao ključnog reakcijskog stupnja (shema 8).

Poznati antivirusni agens tenofovir te njegovi strukturni analozi cidofovir i adefovir primjeri su acikličkih nukleozidnih derivata.⁶⁷ Prije 25 godina koncept zamjene šećernog dijela molekule nukleozida acikličkim supstutentom postao je temeljem razvoja derivata s potencijalnim antivirusnim djelovanjem.

S bogatim ranije stečenim iskustvom pripreme modificiranih 1,2,3-triazolilnih aciklonukleozida Elayadi i sur.⁶⁸ objavili su sintezu modificiranih struktura poznatih antivirusnih spojeva primjenom 1,3-dipolarne cikloadicije. Autori su unutar acikličkog supstutenta ugradili triazolni prsten, čime su fleksibilnost strukture dodatno ograničili (slika 5). Osim toga, variranjem duljine lanca pripremljenih acikličkih nukleozidnih triazolil-fosfonata pratili su utjecaj na biološku aktivnost testiranih spojeva na HCV i HIV (engl. *Human Immunodeficiency Virus*). Pronašli su da duljina lanca nema dramatičan utjecaj na aktivnosti i citotoksičnost u slučaju pirimidinskih derivata, dok u slučaju purinskih analoga duljina lanca utječe na aktivnost.



Slika 5 – Strukturni motiv acikličkih nukleozidnih triazolil-fosfonatnih analoga

Fig. 5 – Structure motive of acyclic nucleoside triazolyl-phosphonate analogs

Trakossas i sur.⁶⁹ pripravili su slične triazolom modificirane nukleozide s jednom ili dvjema nukleobazama u svrhu biološke evaluacije antioksidativne aktivnosti. Preliminarna biološka istraživanja pokazala su da neki derivati timina i adenina s triazolom sprječavaju lipidnu peroksidaciju i time mogu imati značajan utjecaj na bolesti starenja, uključujući aterosklerozu, mrenu, reumatoidni artritis i neurodegenerativne poremećaje.

Osim u sintezi nukleozidnih mono-derivata modificiranih u domeni šećera, reakcija CuAAC primjenjivana je i u dizajnu nukleozidnih biokonjugata⁷⁰ i modificiranih oligonukleotida.^{71,72}

Primjena triazolnih nukleozidnih derivata

Od otkrića i adaptacije Huisgenove 1,3-dipolarne [3 + 2] azid-alkinske cikloadicije uvođenjem Cu(I) katalizatora reakcija CuAAC nije dobila samo naziv "klik" nego je općenito postala sinonimom brze, svestrane i jednostavne sintetske metode sa širokim područjem primjene. Upravo je stoga značajno utjecala na razvoj velikih klastera spojeva s potencijalnom primjenom u biološkim sustavima. Osim toga, veoma široka primjena CuAAC reakcije očituje se u iznimno velikom broju radova iz različitih područja; dizajn novih lijekova,⁷³ biokonjugacija,⁷⁴ kemija polimera i razvoj novih materijala,⁷⁵ supramolekularna kemija,⁷⁶ označavanje DNA⁷⁷ i sinteze oligonukleotida,⁷⁸ povezivanja glikozidnih klastera⁷⁹ i dendrimera,⁸⁰ pripremi stacionarnih faza za kolone⁸¹ za HPLC i dr.

Kao veliko područje primjene reakcije CuAAC posebno se izdvajaju modifikacije nukleinskih kiselina i njihovih oligomera. Kako je dano u dosadašnjem pregledu literature, nukleinske kiseline moguće je modificirati na tri karakteristična položaja: nukleobazi, šećeru ili fosfodieterskoj internukleotidnoj vezi. Ipak, najčešća je modifikacija upravo ona na nukleobazi zbog prisutnosti reaktivnih mjesta, relativno kratkih sintetskih putova i široke primjene tako

derivatiziranih produkata. Prednosti modifikacija nukleobaze u odnosu na šećer ili fosfatnu okosnicu su što takve modifikacije još uvijek ne ometaju produljenje polinukleotidnog lanca,⁸² a očuvana je i komplementarnost dvostruke uzvojnice jer nisu narušene Watson–Crickove interakcije.⁸³ Pozicije modifikacija nukleobaza su različite i kod purina uglavnom obuhvaćaju položaj N7 (7-aza i 7-deaza-derivati), položaj N9 te supstitucije egzocikličkih amino-skupina adenina i gvanina. Kod pirimidina je najčešća modifikacija na položaju C5 nukleobaze, zatim supstitucija egzocikličke amino-skupine citozina te položaj N1 pirimidina. Ipak, kako bi se izbjegla modifikacija Watson–Crickove regije i omogućila ugradnja modificiranih nukleotida upravo u veliki utor dvostruke uzvojnice DNA/RNA, najčešće se modificiraju položaj C5 kod pirimidinskih te položaji N7 i C8 purinskih nukleobaza.

Triazolni purinski odnosno pirimidinski analozi specifično označeni radikalnim supstituentima našli su primjenu i u proučavanju struktura i konformacija oligomera DNA i RNA elektronskom paramagnetskom rezonancijom/spektroskopijom elektronske spinske rezonancije (krat. **EPR/ESR**, engl. **Electron Paramagnetic Resonance/Electron Spin Resonance**),⁸⁴ a specifično obilježeni derivati, najčešće radioaktivnim fluorom (¹⁸F), upotrebljavaju se u praćenju distribucije i ponašanja bioaktivnih molekula u uvjetima *in vivo* pozitronskom emisijskom tomografijom (krat. **PET**, engl. **Positron Emission Tomography**).⁸⁵

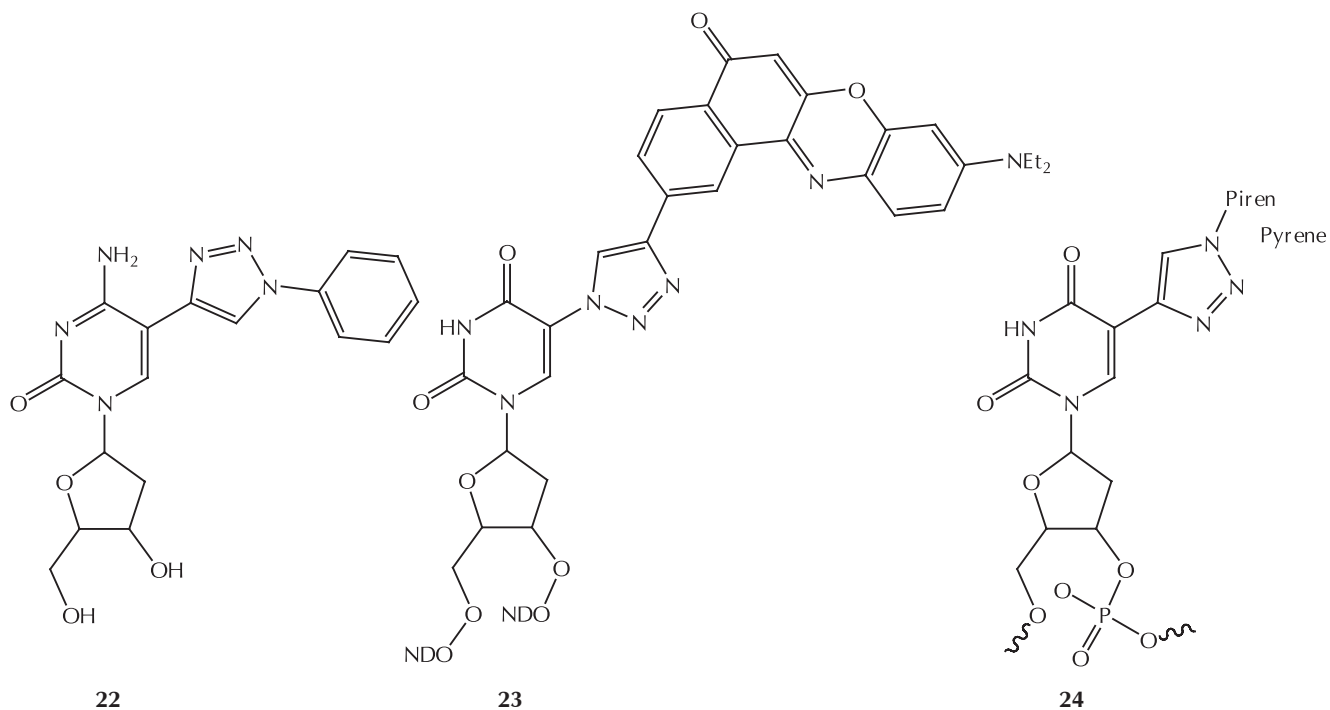
Doprinos reakcije CuAAC očituje se i u vezanju različitih fluorescentnih markera na nukleobaze, a nerijetko je fluorescencija posljedica samog generiranja triazolnog prstena (npr. položaj C8 adenzina).^{55,86} Prvi primjer fluorescencije

inducirane uvođenjem triazolnog prstena u sustav primjenom reakcije CuAAC bez vezanja dodatnog fluorofora bila je sinteza citidinskog analoga **22**,⁸⁷ a iste godine sintetiziran je i uridinski analog **23** klik-konjugacijom fluorofora Nile Red (slika 6).⁸⁸

Primjenom klik-kemije *Ostergaard i sur.*⁵³ vezali su pirenski fluorofor na položaj C5 uridina te tako priredili analog **24** (slika 6). On se pokazao iznimno uspješnim u detekciji polimorfizma pojedinačnog nukleotida (krat. **SNP**, engl. **Single-Nucleotide Polymorphism**) zbog smanjenja efikasnosti emisije apsorbiranog zračenja (Φ_F) u prisutnosti pogrešno sparenih sekvencija (engl. *mismatched sequences*).

Fluorescentni oligonukleotidni sustavi predstavljaju značajan biološki alat za vizualizaciju specifičnih svojstava nastalih njihovim povezivanjem s ciljanim oligonukleotidima ili proteinima, a također mogu dati i brojne informacije o odnosu strukture i reaktivnosti (krat. **SAR**, engl. **Structure-Activity Relationship**).

O prisutnosti 1,2,3-triazolnog prstena kao ključnog farmakofora biološki aktivnih molekula⁸⁹ svjedoči nekoliko potencijalnih farmaceutika u posljednjem stadiju kliničkih ispitivanja, koji u svojoj strukturi sadrže upravo ovaj prsten.⁹⁰ Pored brojnih primjera prisutnosti 1,2,3-triazola kao strukturnog motiva molekula s biološkom aktivnošću, 1,2,3-triazolni heterocikli pronašli su i širu industrijsku primjenu. Tako se danas upotrebljavaju kao boje i fotostabilizatori u industriji optičkih vlakana,⁹¹ inhibitori korozije metala i legura,⁹² svjetlosni stabilizatori organskih materijala i polimera te u agronomiji kao insekticidi,⁹³ fungicidi,⁹⁴ herbicidi i regulatori rasta.⁹⁵



Slika 6 – Primjeri fluorescentnih pirimidinskih derivata

Fig. 6 – Examples of fluorescent pyrimidine derivatives

Zaključak

Posljednjih petnaest godina značajno mjesto u sintetskoj kemiji zauzima 1,3-dipolarna cikloadicijska reakcija azida i terminalnih alkina. Razlog tome su ponajprije jednostavni reakcijski uvjeti i iznimno širok spektar primjene različitih supstrata. Upravo zato ova sintetska metoda ima veliku primjenu i u području nukleozidne kemije gdje je transformacijama u domeni nukleobaze odnosno šećerne komponente pripremljen niz biološki aktivnih spojeva. U ovom preglednom radu prikazani su primjeri cikloadicijskih reakcija terminalnih alkina s azidima u području nukleozidne kemije s naglaskom na različite ciljeve provedenih modifikacija. Osim studija utjecaja 1,2,3-triazolnog prstena, kao novog strukturnog motiva, na biološka svojstva, brojni radovi govore o nizu drugih primjena tako modificiranih nukleozidnih derivata. Stoga je klik-kemija kao sintetski pristup moćan alat u postupku razvoja novih nukleozidnih derivata na relativno brz i jednostavan način.

Popis kratica i simbola

List of abbreviations and symbols

cADPR	– ciklička adenozin-difosfat-riboza – Cyclic ADP R ibose
CD	– cirkularni dikroizam – Circular D ichroism
CuAAC	– Bakrom(I) katalizirana azid-alkinska cikloadicija – Copper(I) C atalysed A zide- A lkyne C ycloaddition
DBU	– 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en – 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene
DFT	– teorija funkcionalne gustoće – D ensity F unctional T heory
DIPEA	– diizopropiletilamin – diisopropylethylamine
DNA	– deoksiribonukleinska kiselina – deoxyribonucleic acid
DMEDA	– <i>N,N'</i> -dimetiletilendiamin – <i>N,N'</i> -dimethylethylenediamine
DMF	– <i>N,N</i> -dimetilformamid – <i>N,N</i> -dimethylformamide
DMSO	– dimetil-sulfoksid – dimethyl sulfoxide
EPR/ESR	– elektronska paramagnetska rezonancija / elektronska spinska rezonancija – E lectron P aramagnetic R esonance / E lectron S pin R esonance
Et ₃ N	– trietilamin – triethylamine
HCV	– virus hepatitisa C – H epatitis C V irus
HIV	– virus humane imunodeficijencije – H uman I mmunodeficiency V irus
HPLC	– tekućinska kromatografija visoke učinkovitosti – H igh P erformance L iquid C hromatography
NMP	– 1-metil-2-pirolidon – 1-methyl-2-pyrrolidone

ODN	– oligodeoksinukleotidi – oligodeoxynucleotides
PET	– pozitronska emisijska tomografija – P ositron E mission T omography
POM	– pivaloiloksimetil – pivaloyloxymethyl
RNA	– ribonukleinska kiselina – ribonucleic acid
SAR	– odnos struktura- aktivnost – S tructure- A ctivity R elationship
SNP	– polimorfizam pojedinačnog nukleotida – S ingle N ucleotide P olymorphism
THF	– tetrahidrofuran – tetrahydrofuran
TMV	– virus mozaične bolesti duhana – T obacco M osaic V irus
UV	– ultraljubičasto – U ltraviolet
WHO	– Svjetska zdravstvena organizacija – W orld H ealth O rganization
<i>T_m</i>	– temperatura mekšanja, °C – melting temperature, °C

Literatura

References

1. *E. De Clercq, H. J. Field*, Antiviral prodrugs – The development of successful prodrug strategies for antiviral chemotherapy, *Br. J. Pharmacol.* **147** (2006) 1–11, doi: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjp.0706446>.
2. *R. F. Heck*, Mechanism of arylation and carbomethoxylation of olefins with organopalladium compounds, *J. Am. Chem. Soc.* **91** (1969) 6707–6714, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/ja01052a029>.
3. *L. A. Agrofoglio, I. Gillaizeau, Y. Saito*, Palladium-assisted routes to nucleosides, *Chem. Rev.* **103** (2003) 1875–1916, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/cr010374q>.
4. *R. Kobetić, N. Biliškov*, Heckova reakcija – moćno oruđe suvremene organske kemije, *Kem. Ind.* **56** (7-8) (2007) 391–402.
5. *J. L. Ruth, D. E. Bergstrom*, C-5 substituted pyrimidine nucleosides. 1. Synthesis of C-5 allyl, propyl, and propenyl uracil and cytosine nucleosides via organopalladium intermediates, *J. Org. Chem.* **43** (1978) 2870–2876, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/jo00408a026>.
6. *D. E. Bergstrom, J. L. Ruth*, Synthesis of C-5 substituted pyrimidine nucleosides via organopalladium intermediates, *J. Am. Chem. Soc.* **98** (1976) 1587–1589, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/ja00422a056>.
7. *D. E. Bergstrom, J. L. Ruth, P. Warwick*, C-5-Substituted pyrimidine nucleosides. 3. Reaction of allylic chlorides, alcohols, and acetates with pyrimidine nucleoside derived organopalladium intermediates, *J. Org. Chem.* **46** (1981) 1432–1441, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/jo00320a039>.
8. *P. Espinet, A. M. Echavarren*, The Mechanisms of the Stille reaction, *Angew. Chem. Int. Ed.* **43** (2004) 4704–4734.
9. *A. O. King, N. Okukado, E. Negishi*, Highly general stereo-, regio-, and chemo-selective synthesis of terminal and internal conjugated enynes by the Pd-catalysed reaction of alkynylzinc reagents with alkenyl halides, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **19** (1977) 683–684, doi: <http://dx.doi.org/10.1039/c39770000683>.

10. Y. Hatanaka, T. Hiyama, Cross-coupling of organosilanes with organic halides mediated by a palladium catalyst and tris(diethylamino)sulfonium difluorotrimethylsilicate, *J. Org. Chem.* **53** (1988) 918-920, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/jo00239a056>.
11. H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions, *Angew. Chem. Int. Ed.* **40** (2001) 2004-2021, doi: [http://dx.doi.org/10.1002/1521-3773\(20010601\)40:11<2004::AID-ANIE2004>3.3.CO;2-X](http://dx.doi.org/10.1002/1521-3773(20010601)40:11<2004::AID-ANIE2004>3.3.CO;2-X).
12. J. F. Lutz, 1,3-Dipolar cycloadditions of azides and alkynes: A universal ligation tool in polymer and materials science, *Angew. Chem. Int. Ed.* **46** (2007) 1018-1025, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/anie.200604050>.
13. A. Michael, Ueber die Einwirkung von Diazobenzolimid auf Acetylcendicarbonsäuremethylester, *J. Prakt. Chem./Chem.-Ztg.* **48** (1893) 94-95, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/prac.18930480114>.
14. R. Huisgen, 1,3-Dipolar cycloaddition chemistry, u A. Padwa (ur.), *General heterocyclic chemistry Series Vol. 1*, John Wiley & Sons, New York, 1984, str. 1-176.
15. F. Himo, T. Lovell, R. Hilgraf, V. V. Rostovtsev, L. Noodleman, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, Copper(I)-catalyzed synthesis of azoles. DFT study predicts unprecedented reactivity and intermediates, *J. Am. Chem. Soc.* **127** (2005) 210-216, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/ja0471525>.
16. V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, A stepwise Huisgen cycloaddition process: Copper(I)-catalyzed regioselective "ligation" of azides and terminal alkynes, *Angew. Chem. Int. Ed.* **41** (2002) 2596-2599, doi: [http://dx.doi.org/10.1002/1521-3773\(20020715\)41:14<2596::AID-ANIE2596>3.0.CO;2-4](http://dx.doi.org/10.1002/1521-3773(20020715)41:14<2596::AID-ANIE2596>3.0.CO;2-4).
17. a) C. W. Tornøe, M. Meldal, Peptides 2001, u M. Lebl, R. A. Houghten (ur.), *Proc. Am. Pept. Symp., Peptidotriazoles: Copper(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions on solid-phase*, American Peptide Society and Kluwer Academic Publishers, San Diego, 2001, str. 263-264.; b) C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, Peptidotriazoles on solid phase: [1,2,3]-triazoles by regioselective copper(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides, *J. Org. Chem.* **67** (2002) 3057-3064, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/jo011148j>.
18. R. K. Smith, S. M. Reed, P. A. Lewis, J. D. Monnell, R. S. Clegg, K. F. Kelly, L. A. Bumm, J. E. Hutchison, P. S. Weiss, Phase separation within a binary self-assembled monolayer on Au{111} driven by an amide-containing alkanethiol, *J. Phys. Chem. B* **105** (2001) 1119-1122, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/jp0035129>.
19. a) L. D. Pachón, J. H. Van Maarseveen, G. Rothenberg, Click chemistry: Copper clusters catalyse the cycloaddition of azides with terminal alkynes, *Adv. Synth. Catal.* **347** (2005) 811-815, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/adsc.200404383>; b) Q. Wan, J. Chen, G. Chen, S. J. Danishefsky, A potentially valuable advance in the synthesis of carbohydrate-based anticancer vaccines through extended cycloaddition chemistry, *J. Org. Chem.* **71** (2006) 8244-8249, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/jo061406i>.
20. F. Alonso, Y. Moglie, G. Radivoy, M. Yus, Copper nanoparticles in click chemistry: an alternative catalytic system for the cycloaddition of terminal alkynes and azides, *Tetrahedron Lett.* **50** (2009) 2358-2362, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2009.02.220>.
21. a) M. Meldal, C. W. Tornøe, Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition, *Chem. Rev.* **108** (2008) 2952-3015, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/cr0783479>; b) S. J. Hwang, S. H. Cho, S. Chang, Evaluation of catalytic activity of copper salts and their removal processes in the three-component coupling reactions, *Pure Appl. Chem.* **80** (2008) 873-879, doi: <http://dx.doi.org/10.1351/pac200880050873>.
22. V. O. Rodionov, V. V. Fokin, M. G. Finn, Mechanism of the ligand-free Cu^I-catalyzed azide-alkyne cycloaddition reaction, *Angew. Chem. Int. Ed.* **44** (2005) 2210-2215, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/anie.200461496>.
23. M. Ahlquist, V. V. Fokin, Enhanced reactivity of dinuclear copper(I) acetylides in dipolar cycloadditions, *Organometallics* **26** (2007) 4389-4391, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/om700669v>.
24. E. F. V. Scriven, K. Turnbull, Azides: their preparation and synthetic uses, *Chem. Rev.* **88** (1988) 297-368, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/cr00084a001>.
25. M. Ito, K. Koyakumar, T. Ohta, H. Takaya, A simple and convenient synthesis of alkyl azides under mild conditions, *Synthesis* **4** (1995) 376-378, doi: <http://dx.doi.org/10.1055/s-1995-3928>.
26. T. Pathak, Azidonucleosides: Synthesis, reactions, and biological properties, *Chem. Rev.* **102** (2002) 1623-1668, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/cr0104532>.
27. J. Andersen, U. Madsen, F. Björkling, X. Liang, Rapid synthesis of aryl azides from aryl halides under mild conditions, *Synlett* **14** (2005) 2209-2213.
28. K. Kacprzak, Efficient one-pot synthesis of 1,2,3-triazoles from benzyl and alkyl halides, *Synlett* **6** (2005) 943-946, doi: <http://dx.doi.org/10.1055/s-2005-864809>.
29. P. Appukkuttan, W. Dehaen, V. V. Fokin, E. Van der Eycken, A microwave-assisted click chemistry synthesis of 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles via a copper(I)-catalyzed three-component reaction, *Org. Lett.* **6** (2004) 4223-4225, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/ol048341v>.
30. A. K. Feldman, B. Colasson, V. V. Fokin, One-pot synthesis of 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles from in situ generated azides, *Org. Lett.* **6** (2004) 3897-3899, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/ol048859z>.
31. J. Andersen, S. Bolvig, X. Liang, Efficient one-pot synthesis of 1-aryl 1,2,3-triazoles from aryl halides and terminal alkynes in the presence of sodium azide, *Synlett* **19** (2005) 2941-2947.
32. D. Kumar, V. Buchi Reddy, R. S. Varma, A facile and regioselective synthesis of 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles using click chemistry, *Tetrahedron Lett.* **50** (2009) 2065-2068, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2009.02.107>.
33. J. S. Yadav, B. V. Subba Reddy, G. Madhusudham Reddy, D. Narasimha Chary, Three component, regioselective, one-pot synthesis of β-hydroxytriazoles from epoxides via "click reactions", *Tetrahedron Lett.* **9** (2007) 8773-8776, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2007.09.160>.
34. S. Chandrasekhar, D. Basu, C. Rambabu, Three-component coupling of alkynes, Baylis-Hillman adducts and sodium azide: a new synthesis of substituted triazoles, *Tetrahedron Lett.* **47** (2006) 3059-3063, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2006.03.037>.
35. H. S. G. Beckmann, V. Wittmann, One-pot procedure for diazo transfer and azide-alkyne cycloaddition: Triazole linkages from amines, *Org. Lett.* **9** (2007) 1-4, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/ol0621506>.
36. a) K. Barral, A. D. Moorhouse, J. E. Moses, Efficient conversion of aromatic amines into azides: A one-pot synthesis of triazole linkages, *Org. Lett.* **9** (2007) 1809-1811, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/ol070527h>; b) A. D. Moorhouse, J. E. Moses, Microwave enhancement of a "one-pot" tandem azidation-"click" cycloaddition of anilines, *Synlett* **14** (2008) 2089-2092, doi: <http://dx.doi.org/10.1055/s-2008-1078019>.
37. N. M. Smith, M. J. Greaves, R. Jewell, M. W. D. Perry, M. J. Stocks, J. P. Stonehouse, One-pot, three-component copper-catalyzed "click" triazole synthesis utilising the inexpensive, shelf-stable diazotransfer reagent imidazole-1-sulfonyl azide hydrochloride, *Synlett* **9** (2009) 1391-1394, doi: <http://dx.doi.org/10.1055/s-0029-1217175>.
38. J. Y. Lau, R. C. Tam, T. J. Liang, Z. Hong, Mechanism of ac-

- tion of ribavirin in the combination treatment of chronic HCV infection, *Hepatology* **35** (2002) 1002–1009 i reference tamo citirane, doi: <http://dx.doi.org/10.1053/jhep.2002.32672>.
39. Y. Mizushima, A. Matsukage, K. Sakaguchi, The biochemical inhibition mode of bredinin-5'-monophosphate on DNA polymerase beta, *Biochim. Biophys. Acta* **1403** (1998) 5–11 i reference tamo citirane, doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0167-4889\(98\)00027-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-4889(98)00027-5).
40. a) I. Perez-Castro, O. Caamano, F. Fernandez, M. D. Garcia, C. Lopez, E. De Clercq, Synthesis of 4-substituted-1,2,3-triazole carbanucleoside analogues of ribavirin via click chemistry, *Org. Biomol. Chem.* **5** (2007) 3805–3813, doi: <http://dx.doi.org/10.1039/b710348d>; b) J. H. Cho, D. L. Bernard, R. W. Sidwell, E. R. Kern, C. K. Chu, Synthesis of cyclopentenyl carbocyclic nucleosides as potential antiviral agents against orthopoxviruses and SARS, *J. Med. Chem.* **49** (2006) 1140–1148, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/jm0509750>; c) A. Goeminne, M. McNaughton, G. Bal, G. Surpateanu, P. Van der Veken, S. De Prol, W. Versees, J. Steyaert, S. Apers, A. Haemers, K. Augustyns, 1,2,3-Triazolylalkylribitol derivatives as nucleoside hydrolase inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **17** (2007) 2523–2526, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.02.017>; d) J. Broggi, S. Diez-Gonzalez, J. L. Petersen, S. Berteina-Raboin, S. P. Nolan, L. A. Agrofoglio, Study of copper(I) catalysts for the synthesis of carbanucleosides via azide-alkyne 1,3-dipolar cycloaddition, *Synthesis* **1** (2008) 141–148.
41. B. L. Wilkinson, H. Long, E. Sim, A. J. Fairbanks, Synthesis of arabino glycosyl triazoles as potential inhibitors of mycobacterial cell wall biosynthesis, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **18** (2008) 6265–6267, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2008.09.082>.
42. B. K. Singh, A. K. Yadav, B. Kumar, A. Gaikwad, S. K. Sinha, V. Chaturvedi, R. P. Tripathi, Preparation and reactions of sugar azides with alkynes: synthesis of sugar triazoles as antitubercular agents, *Carbohydr. Res.* **343** (2008) 1153–1162, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carres.2008.02.013>.
43. R. A. Youcef, M. D. Santos, S. Roussel, J.-P. Baltaze, N. Lubin-Germain, J. Uziel, Huisgen cycloaddition reaction of C-alkynyl ribosides under micellar catalysis: Synthesis of ribavirin analogues, *J. Org. Chem.* **74** (2009) 4318–4323, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/jo900594x>.
44. G. R. Lorello, M. Legault, B. Rakić, K. Bisgaard, J.-P. Pezacki, Synthesis and bioorthogonal coupling chemistry of a novel cyclopentenone-containing unnatural tyrosine analogue, *Bioorg. Chem.* **36** (2008) 105–111, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bioorg.2007.12.006>.
45. M. Nakahara, T. Kuboyama, A. Izawa, Y. Hari, T. Imanishi, S. Obika, Synthesis and base-pairing properties of C-nucleotides having 1-substituted 1*H*-1,2,3-triazoles, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **19** (2009) 3316–3319, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.04.063>.
46. A. De La Hoz, A. Diaz-Ortiz, F. Langa, *Microwaves in organic synthesis*, u A. Loupy (ur.), Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 2002, str. 295–343.
47. a) C. O. Kappe, E. Van der Eycken, Click chemistry under non-classical reaction conditions, *Chem. Soc. Rev.* **39** (2010) 1280–1290, doi: <http://dx.doi.org/10.1039/b901973c>; b) D. Margetić, *Microwave assisted cycloaddition reactions*, Nova Science Publishers, Inc., New York, 2011.
48. a) K. Bougrin, A. Loupy, M. Soufiaoui, Microwave-assisted solvent-free heterocyclic synthesis, *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev.* **6** (2005) 139–167, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotochemrev.2005.07.001>; b) R. Thorwirth, A. Stolle, B. Ondruschka, A. Wild, U. S. Schubert, Fast, ligand- and solvent-free copper-catalyzed click reactions in a ball mill, *Chem. Commun.* **47** (2011) 4370–4372, doi: <http://dx.doi.org/10.1039/c0cc05657j>.
49. R. Guezguez, K. Bougrin, K. El Akri, R. Benhida, A highly efficient microwave-assisted solvent-free synthesis of α - and β -2'-deoxy-1,2,3-triazolyl-nucleosides, *Tetrahedron Lett.* **47** (2006) 4807–4811, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2006.05.050>.
50. L. Li, B. Lin, Z. Yang, L. Zhang, L. Zhang, A concise route for the preparation of nucleobase-simplified cADPR mimics by click chemistry, *Tetrahedron Lett.* **49** (2008) 4491–4493, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2008.05.076>.
51. W. Li, Y. Xia, Z. Fan, F. Qu, Q. Wu, L. Peng, Bitriazolyl acyclonucleosides with antiviral activity against tobacco mosaic virus, *Tetrahedron Lett.* **49** (2008) 2804–2809, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2008.02.139>.
52. G. O'Mahony, E. Ehrman, M. Grøtli, Synthesis of adenosine-based fluorosides containing a novel heterocyclic ring system, *Tetrahedron Lett.* **46** (2005) 6745–6748, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2005.07.115>.
53. M. E. Ostergaard, D. C. Guenther, P. Kumar, B. Baral, L. Deobald, A. J. Paszczyński, P. K. Sharma, P. J. Hrdlicka, Pyrene-functionalized triazole-linked 2'-deoxyuridines-probes for discrimination of single nucleotide polymorphisms (SNPs), *Chem. Commun.* **46** (2010) 4929–4931, doi: <http://dx.doi.org/10.1039/c0cc01133a>.
54. G. O'Mahony, E. Ehrman, M. Grøtli, Synthesis and photophysical properties of novel cyclonucleosides-substituent effects on fluorescence emission, *Tetrahedron* **64** (2008) 7151–7158, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tet.2008.05.098>.
55. C. Dyrager, K. Börjesson, P. Dinér, A. Elf, B. Albinsson, L. M. Wilhelmsson, M. Grøtli, Synthesis and photophysical characterisation of fluorescent 8-(1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)adenosine derivatives, *Eur. J. Org. Chem.* **10** (2009) 1515–1521, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/ejoc.200900018>.
56. URL: <http://www.who.int/en/> (15.06.2014.)
57. M. C. Perry, *The Chemotherapy Source Book*, u J. W. Pine, Jr. (ur.), Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2012.
58. S. Meneni, I. Ott, C. D. Sergeant, A. Sniady, R. Gust, R. Dembinski, 5-Alkynyl-2'-deoxyuridines: chromatography-free synthesis and cytotoxicity evaluation against human breast cancer cells, *Bioorg. Med. Chem.* **15** (2007) 3082–3088, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2007.01.048>.
59. Y.-S. Lee, S. M. Park, H. M. Kim, S.-K. Park, K. Lee, C. W. Lee, B. H. Kim, C5-Modified nucleosides exhibiting anticancer activity, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **19** (2009) 4688–4691, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.06.072>.
60. A. Montagu, V. Roy, J. Balzarini, R. Snoeck, G. Andrei, L. A. Agrofoglio, Synthesis of new C5-(1-substituted-1,2,3-triazol-4 or 5-yl)-2'-deoxyuridines and their antiviral evaluation, *Eur. J. Med. Chem.* **46** (2011) 778–786, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.12.017>.
61. S. M. Park, H. Yang, S.-K. Park, H. M. Kim, B. H. Kim, Design, synthesis, and anticancer activities of novel perfluoroalkyltriazole-appended 2'-deoxyuridines, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **20** (2010) 5831–5834, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.07.126>.
62. a) A. J. Gutierrez, M. D. Matteucci, D. Grant, S. Matsumura, R. W. Wagner, B. C. Froehler, Antisense gene inhibition by C-5-substituted deoxyuridine-containing oligodeoxynucleotides, *Biochemistry* **36** (1997) 743–748, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/bi9620971>; b) A. J. Gutierrez, T. J. Terhorst, M. D. Matteucci, B. C. Froehler, 5-Heteroaryl-2'-deoxyuridine analogs. Synthesis and incorporation into high-affinity oligonucleotides, *J. Am. Chem. Soc.* **116** (1994) 5540–5544, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/ja00092a003>; c) P. Kočalka, N. K. Andersen, F. Jensen, P. Nielsen, Synthesis of 5-(1,2,3-tri-

- azol-4-yl)-2'-deoxyuridines by a click chemistry approach: Stacking of triazoles in the major groove gives increased nucleic acid duplex stability, *ChemBioChem* **8** (2007) 2106–2116, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/cbic.200700410>; d) R. W. Sinkeldam, N. J. Greco, Y. Tor, Polarity of major grooves explored by using an isosteric emissive nucleoside, *ChemBioChem* **9** (2008) 706–709, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/cbic.200700714>.
63. N. K. Andersen, N. Chandak, L. Brulíková, P. Kumar, M. D. Jensen, F. Jensen, P. K. Sharma, P. Nielsen, Efficient RNA-targeting by the introduction of aromatic stacking in the duplex major groove via 5-(1-phenyl-1,2,3-triazol-4-yl)-2'-deoxyuridines, *Med. Chem.* **18** (2010) 4702–4710, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2010.05.019>.
64. a) P. M. Chaudhary, S. R. Chavan, F. Shirazi, M. Razdan, P. Nimkar, S. P. Maybhathe, A. P. Likhite, R. Gonnade, B. G. Hazara, M. V. Deshpande, S. R. Deshpande, Exploration of click reaction for the synthesis of modified nucleosides as chitin synthase inhibitors, *Bioorg. Med. Chem.* **17** (2009) 2433–2440, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2009.02.019>; b) K. K. Yeoh, T. D. Butters, B. L. Wilkinson, A. J. Fairbanks, Probing replacement of pyrophosphate via click chemistry; synthesis of UDP-sugar analogues as potential glycosyl transferase inhibitors, *Carbohydr. Res.* **344** (2009) 586–591, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carres.2009.01.001>; c) H. Ding, R. Yang, Y. Song, Q. Xiao, J. Wu, A highly efficient and selective synthesis of 1,2,3-triazole linked saccharide nucleosides via “click chemistry”, *Nucleos. Nucleot. Nucl.* **27** (2008) 368–375, doi: <http://dx.doi.org/10.1080/15257770801944055>; d) Y. Byun, S. R. Vogel, A. J. Phipps, C. Carnrot, S. Eriksson, R. Tiwari, W. Tjarks, Synthesis and biological evaluation of inhibitors of thymidine kinase and thymidine monophosphate kinase from *Bacillus anthracis*, *Nucleos. Nucleot. Nucl.* **27** (2008) 244–260, doi: <http://dx.doi.org/10.1080/15257770701845238>.
65. G. O'Mahony, S. Svensson, A. Sundgreen, M. Grøtli, Synthesis of 2'-([1,2,3]triazol-1-yl)-2'-deoxyadenosine derivatives, *Nucleos. Nucleot. Nucl.* **27** (2008) 449–459, doi: <http://dx.doi.org/10.1080/15257770802086880>.
66. J. Cao, X. Huang, Solid-phase synthesis of heterocyclic nucleoside analogues: Substituted uracils tethered to isoxazoles, isoxazolines, and triazoles from a selenopolystyrene resin, *J. Comb. Chem.* **10** (2008) 526–533, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/cc800034v>.
67. a) E. De Clercq, The acyclic nucleoside phosphonates from inception to clinical use: Historical perspective, *Antiviral Res.* **75** (2007) 1–13, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2006.10.006>; b) E. De Clercq, A. Holy, Acyclic nucleoside phosphonates: a key class of antiviral drugs, *Nat. Rev. Drug Disc.* **4** (2005) 928–940, doi: <http://dx.doi.org/10.1038/nrd1877>; c) A. Holy, Antiviral acyclic nucleoside phosphonates structure activity studies, *Antiviral Res.* **71** (2006) 248–253, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2006.06.002>; d) W. A. Lee, J. C. Martin, Perspectives on the development of acyclic nucleotide analogs as antiviral drugs, *Antiviral Res.* **71** (2006) 254–259, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2006.05.020>.
68. H. Elayadi, M. Smietana, C. Pannecouque, P. Leyssen, J. Neyts, J.-J. Vasseur, H. B. Lazrek, Straightforward synthesis of triazoloacyclonucleotide phosphonates as potential HCV inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **20** (2010) 7365–7368, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.10.046>.
69. S. Trakossas, E. Coutouli-Argyropoulou, D. J. Hadjipavlou-Litina, Synthesis of modified triazole nucleosides possessing one or two base moieties via a click chemistry approach, *Tetrahedron Lett.* **52** (2011) 1673–1676, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2011.01.145>.
70. X. Jin, R. Yang, P. Jin, Q. Xiao, Y. Ju, *Synthesis* **19** (2007) 2967–2972.
71. F. Seela, V. R. Sirivolu, *Helv. Chim. Acta* **90** (2007) 535–552, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/hlca.200790055>.
72. R. Lucas, R. Zerrouki, R. Granet, P. Krausz, Y. Champaviner, *Tetrahedron* **64** (2008) 5467–5471, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tet.2008.04.006>.
73. a) S. Röper, H. C. Kolb, Fragment-based approaches in drug discovery; methods and principles in medicinal chemistry, Vol. 34, u R. Mannhold, H. Kubinyi, G. Folkers (ur.), *Click chemistry for drug discovery*, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 2006, str. 313–339; b) K. B. Sharpless, R. Manetsch, In situ click chemistry: a powerful means for lead discovery, *Expert Opin. Drug Discovery* **1** (2006) 525–538, doi: <http://dx.doi.org/10.1517/17460441.1.6.525>; c) G. C. Tron, T. Piralí, R. A. Billington, P. L. Canonico, G. Sorba, A. A. Genazzani, Click chemistry reactions in medicinal chemistry: applications of the 1,3-dipolar cycloaddition between azides and alkynes, *Med. Res. Rev.* **28** (2008) 278–308, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/med.20107>.
74. a) R. J. Pieters, D. T. S. Rijkers, R. M. J. Liskamp, Application of the 1,3-dipolar cycloaddition reaction in chemical biology: Approaches toward multivalent carbohydrates and peptides and peptide-based polymers, *QSAR Comb. Sci.* **26** (2007) 1181–1190, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/qsar.200740075>; b) A. J. Dirks, J. Cornelissen, F. L. van Delft, J. C. M. van Hest, R. J. M. Nolte, A. E. Rowan, F. Rutjes, From (bio)molecules to biohybrid materials with the click chemistry approach, *QSAR Comb. Sci.* **26** (2007) 1200–1210, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/qsar.200740085>; c) C. M. Salisbury, B. F. Cravatt, Click chemistry-led advances in high content functional proteomics, *QSAR Comb. Sci.* **26** (2007) 1229–1238, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/qsar.200740090>; d) J. M. Baskin, C. R. Bertozzi, Bioorthogonal click chemistry: Covalent labeling in living systems, *QSAR Comb. Sci.* **26** (2007) 1211–1219, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/qsar.200740086>; e) J. F. Lutz, Copper-free azide–alkyne cycloadditions: New insights and perspectives, *Angew. Chem. Int. Ed.* **47** (2008) 2182–2184, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/anie.200705365>; f) J. F. Lutz, H. G. Börner, Modern trends in polymer bioconjugates design, *Prog. Polym. Sci.* **33** (2008) 1–39, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2007.07.005>; g) J.-F. Lutz, Z. Zarfshani, Efficient construction of therapeutics, bioconjugates, biomaterials and bioactive surfaces using azide–alkyne “click” chemistry, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **60** (2008) 958–970, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2008.02.004>.
75. a) W. H. Binder, C. Kluger, Azide/alkyne–“click” reactions: Applications in material science and organic synthesis, *Curr. Org. Chem.* **10** (2006) 1791–1815, doi: <http://dx.doi.org/10.2174/138527206778249838>; b) H. Nandivada, X. W. Jiang, J. Lahann, Click chemistry: Versatility and control in the hands of materials scientists, *Adv. Mater.* **19** (2007) 2197–2208, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/adma.200602739>; c) D. Fournier, R. Hoogenboom, U. S. Schubert, Clicking polymers: a straightforward approach to novel macromolecular architectures, *Chem. Soc. Rev.* **36** (2007) 1369–1380, doi: <http://dx.doi.org/10.1039/b700809k>; d) P. L. Golas, K. Matyjaszewski, Click chemistry and ATRP: A beneficial union for the preparation of functional materials, *QSAR Comb. Sci.* **26** (2007) 1116–1134, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/qsar.200740059>.
76. a) O. S. Miljanic, W. R. Dichtel, I. Aprahamian, R. D. Rohde, H. D. Agnew, J. R. Heath, J. F. Stoddart, Rotaxanes and catenanes by click chemistry, *QSAR Comb. Sci.* **26** (2007) 1165–1174, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/qsar.200740070>; b) D. D. Diaz, K. Rajagopal, E. Strable, J. Schneider, M. G. Finn, “Click” chemistry in a supramolecular environment: Stabi-

- lization of organogels by copper(I)-catalyzed azide-alkyne [3+2] cycloaddition, *J. Am. Chem. Soc.* **128** (2006) 6056–6057, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/ja061251w>; c) D. W. Dodd, N. D. Jones, R. H. E. Hudson, Hydrogelation abilities of nucleobase-modified cytidines possessing substituted triazoles, *Artif. DNA PNA XNA* **1** (2010) 90–95, doi: <http://dx.doi.org/10.4161/adna.1.2.13975>.
77. J. Gierlich, G. A. Burley, P. M. E. Gramlich, D. M. Hammond, T. Carell, Click chemistry as a reliable method for the high-density postsynthetic functionalization of alkyne-modified DNA, *Org. Lett.* **8** (2006) 3639–3642, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/ol0610946>.
78. A. Nuzzi, A. Massi, A. Dondoni, Model studies toward the synthesis of thymidine oligonucleotides with triazole internucleosidic linkages via iterative Cu(I)-promoted azide-alkyne ligation chemistry, *QSAR Comb. Sci.* **26** (2007) 1191–1199, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/qsar.200740079>.
79. A. Dondoni, A. Marra, C-glycoside clustering on calix[4]arene, adamantane, and benzene scaffolds through 1,2,3-triazole linkers, *J. Org. Chem.* **71** (2006) 7546–7557, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/jo0607156>.
80. a) J. A. F. Joosten, N. T. H. Tholen, F. Ait El Maate, A. J. Brouwer, G. W. van Esse, D. T. S. Rijkers, R. M. J. Liskamp, R. J. Pieters, High-yielding microwave-assisted synthesis of triazole-linked glycodendrimers by copper-catalyzed [3+2] cycloaddition, *Eur. J. Org. Chem.* **15** (2005) 3182–3185, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/ejoc.200500216>; b) E. Fernandez-Megia, J. Correa, I. Rodríguez-Meizoso, R. Riguera, A click approach to unprotected glycodendrimers, *Macromolecules* **39** (2006) 2113–2120, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/ma052448w>.
81. Z. Guo, A. Lei, X. Liang, Q. Xu, Click chemistry: a new facile and efficient strategy for preparation of functionalized HPLC packings, *Chem. Commun.* (2006) 4512–4514, doi: <http://dx.doi.org/10.1039/b610733h>.
82. J. N. Wilson, E. T. Kool, Fluorescent DNA base replacements: reporters and sensors for biological systems, *Org. Biomol. Chem.* **4** (2006) 4265–4274, doi: <http://dx.doi.org/10.1039/b612284c>.
83. a) H. Peacock, O. Maydanovych, P. A. Beal, N²-Modified 2-aminopurine ribonucleosides as minor-groove-modulating adenosine replacements in duplex RNA, *Org. Lett.* **12** (2010) 1044–1047, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/ol100019r>; b) A. Okamoto, Y. Saito, I. Saito, Design of base-discriminating fluorescent nucleosides, *J. Photoch. Photobio. C* **6** (2005) 108–122, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotochemrev.2005.07.002>.
84. P. Ding, D. Wunnicke, H.-J. Steinhoff, F. Seela, Site-directed spin-labeling of DNA by the azide-alkyne “click” reaction: Nanometer distance measurements on 7-deaza-2'-deoxyadenosine and 2'-deoxyuridine nitroxide conjugates spatially separated or linked to a “dA-dT” base pair, *Chem. Eur. J.* **16** (2010) 14385–14396, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/chem.201001572>.
85. T. Kuboyama, M. Nakahara, M. Yoshino, Y. Cui, T. Sako, Y. Wada, T. Imanishi, S. Obika, Y. Watanabe, M. Suzuki, H. Doi, Stoichiometry-focused ¹⁸F-labeling of alkyne-substituted oligodeoxynucleotides using azido([¹⁸F]fluoromethyl)benzenes by Cu-catalyzed Huisgen reaction, *Bioorg. Med. Chem.* **19** (2011) 249–255, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2010.11.033>.
86. A. Dierckx, P. Diner, A. H. El-Sagheer, J. D. Kumar, T. Brown, M. Grøtli, L. M. Wilhelmsson, Characterization of photophysical and base-mimicking properties of a novel fluorescent adenine analogue in DNA, *Nucleic Acids Res.* **39** (2011) 4513–4524, doi: <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkr010>.
87. D. W. Dodd, K. N. Swanick, J. T. Price, A. L. Brazeau, M. J. Ferguson, N. D. Jones, R. H. E. Hudson, Blue fluorescent deoxycytidine analogues: convergent synthesis, solid-state and electronic structure, and solvatochromism, *Org. Biomol. Chem.* **8** (2010) 663–666, doi: <http://dx.doi.org/10.1039/b919921g>.
88. C. Beyer, H.-A. Wagenknecht, In situ azide formation and “click” reaction of Nile Red with DNA as an alternative post-synthetic route, *Chem. Commun.* **46** (2010) 2230–2231, doi: <http://dx.doi.org/10.1039/b924471a>.
89. Y. Bourne, H. C. Kolb, Z. Radić, K. B. Sharpless, P. Taylor, P. Marchot, Freeze-frame inhibitor captures acetylcholinesterase in a unique conformation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101** (2004) 1449–1454, doi: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0308206100>.
90. S. G. Agalave, S. R. Maujan, V. S. Pore, Click Chemistry: 1,2,3-Triazoles as pharmacophores, *Chem. Asian J.* **6** (2011) 2696–2718, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/asia.201100432>.
91. J. Rody, M. Slongo, *Eur. Pat.* 80-810394, 1981 (*Chem. Abstr.*, 1981, **95**, 187267).
92. a) A. M. S. Abdennabi, A. I. Abdulhadi, S. T. Abu-Orabi, H. Saricimen, The inhibition action of 1(benzyl) 1-H-4,5-dibenzoyl-1, 2,3-triazole on mild steel in hydrochloric acid media, *Corrosion Sci.* **38** (1996) 1791–1800, doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0010-938X\(96\)00087-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0010-938X(96)00087-X); b) K. K. Nippon Kasei Kogyo, Japan Jpn. Pat. 5610882, 1981 (*Chem. Abstr.*, 1981, **96**, 56298).
93. I. K. Boddy, G. G. Briggs, R. P. Harrison, T. H. Jones, M. J. O'Mahony, I. D. Marlow, B. G. Roberts, R. J. Willis, R. Bardsley, The synthesis and insecticidal activity of a series of 2-aryl-1,2,3-triazoles, *J. Reid. Pestic. Sci.* **48** (1996) 189–196, doi: [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9063\(199610\)48:2<189::AID-PS461>3.3.CO;2-R](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1096-9063(199610)48:2<189::AID-PS461>3.3.CO;2-R).
94. K. H. Buechel, H. Gold, P. E. Frohberger, H. Kaspers, *Ger. Pat.* 2407305, 1975 (*Chem. Abstr.*, 1975, **83**, 206290).
95. a) F. Reisser, *British. Pat.* 8101239, 1981 (*Chem. Abstr.*, 1981, **96**, 69006); b) H. R. Krueger, U. Schroeder, D. Baumert, H. Joppien, *Ger. Pat.* 2936951, 1981 (*Chem. Abstr.*, 1981, **96**, 52509).

SUMMARY

1,3-Dipolar Cycloaddition (Part I): Synthesis of 1,2,3-Triazole Derivatives in Nucleoside Chemistry

Dijana Saftić,^a Luka Krstulović,^b Miroslav Bajić,^b and Biserka Žinić^a

Copper catalysed Huisgen 1,3-dipolar cycloaddition of azides and alkynes which leads to 1,4-disubstituted-1,2,3-triazoles is a frequently used method in synthetic organic chemistry. Due to the simple reaction conditions, it has occupied an important place in the field of nucleoside chemistry since it enables preparation of a large number of potentially biologically active compounds with a number of interesting additional properties induced by the presence of 1,2,3-triazole structural motif in the molecule.

Keywords

Click chemistry, nucleosides, 1,2,3-triazole nucleoside analogs

^a *Division of Organic Chemistry and Biochemistry, Ruder Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10 000 Zagreb, Croatia*

^b *Department of Chemistry and Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Heinzelova 55, 10 000 Zagreb, Croatia*

Review
Received July 8, 2014
Accepted September 2, 2014