

Sinteza i karakterizacija harmicina, hibrida beta-karbolina u položaju 6 i derivata cimetnih kiselina

Ranogajec, Daniela

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:910696>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Daniela Ranogajec

**Sinteza i karakterizacija harmicina, hibrida
 β -karbolina u položaju 6 i derivata cimernih
kiselina**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2020.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Farmaceutska kemija 1 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen u Zavodu za farmaceutsku kemiju pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Zrinke Rajić.

Zahvaljujem svojoj mentorici, izv. prof. dr. sc. Zrinki Rajić na stručnom vodstvu i pomoći prilikom izrade mog diplomskog rada.

Mnogo hvala Goranu Poje na svim uputama i savjetima, kao i svim ostalim suradnicima u laboratoriju zbog kojih će mi izrada eksperimentalnog dijela ovog rada ostati zauvijek u lijepom sjećanju.

Najveću zahvalu dugujem svojim roditeljima, sestri, bakama i djedu. U riječi ne mogu pretočiti koliko mi je vaša podrška tijekom cijelog studiranja značila. Sve što jesam i sve što vjerujem da mogu postati, dugujem vama. Mnogo zahvaljujem svom dečku što je vjerovao u mene, ohrabrivao me i bio mi oslonac.

Posebno zahvaljujem svim svojim prijateljicama koje su mi obilježile studentske dane i učinile ih najljepšim periodom mog života.

Bez svih vas i vaše podrške ne bih bila ovdje gdje jesam, zato je ovaj rad vaš koliko i moj. Hvala vam!

Rad je financiran sredstvima uspostavnog istraživačkog projekta *Derivati harmina kao potencijalni antimalarici* (UIP-2017-05-5160) Hrvatske zaklade za znanost.



KRATICE

^{13}C NMR	^{13}C nuklearna magnetska rezonancija
^1H NMR	^1H nuklearna magnetska rezonancija
ADMA	acetaldehid-dimetil-acetal
ADMP	2-azido-1,3-dimetilimidazolinijev heksafluorofosfat
ATP	adenozin-trifosfat
CuAAC	bakrom(I) katalizirana azid-alkin cikloadicija
CAD	derivati cimetine kiseline (eng. <i>cinnamic acid derivatives</i>)
CNS	središnji živčani sustav (eng. <i>central nervous system</i>)
CYP	citokrom P450
DBU	1,8-diazabicyklo[5.4.0]undek-7-en
DNA	deoksiribonukleinska kiselina
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamid
DMSO	dimetilsulfoksid
FDA	Agencija za hranu i lijekove (eng. <i>Food and Drug Administration</i>)
GABA	γ -aminomaslačna kiselina
IR	infracrvena spektroskopija
MS	masena spektrometrija
<i>q.s.</i>	količina koja je dovoljna (lat. <i>quantum satis</i>)
rRNA	ribosomalna ribonukleinska kiselina
s.t.	sobna temperatura
TEA	triethylamin
TFA	trifluoroctena kiselina
THF	tetrahidrofuran
TLC	tankoslojna kromatografija (eng. <i>thin layer chromatography</i>)
$t_{1/2}$	vrijeme polueliminacije
TMS	tetrametilsilan
TPSA	topološka polarna površina
TS	timidilat sintaza
IC_{50}	koncentracija koja izaziva 50 %-tnu inhibiciju rasta stanica
t_i	temperatura tališta

UV ultraljubičasto zračenje
MW mikrovalno zračenje

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Organohalogeni spojevi.....	2
1.1.1. Halogena veza	3
1.1.2. Klasifikacija halogeniranih lijekova s obzirom na vrstu halogena	3
1.1.3. Rasprostranjenost u prirodi	4
1.1.4. Fiziološka aktivnost prirodnih organohalogenata	4
1.2. Fluor u strukturi lijekova	6
1.2.1. Utjecaj na jačinu djelovanja, permeabilnost, metabolizam i farmakokinetiku lijekova	6
1.2.2. Kinoloni i fluorokinoloni	6
1.2.3. 5-Fluorouracil	7
1.2.4. Fludrokortizon i triamcinolon	8
1.2.5. Lijekovi s fluorom iz različitih terapijskih skupina	9
1.3. Klor u strukturi lijekova	10
1.3.1. Zastupljenost kloriranih lijekova prema terapijskim područjima	11
1.3.2. Uloga klora u strukturi klindamicina	11
1.3.3. Derivati dušikovog iperita.....	12
1.3.4. Lijekovi s klorom iz različitih terapijskih skupina	13
1.4. Brom u strukturi lijekova	14
1.4.1. Mete lijekova s bromom u strukturi	15
1.4.2. Lijekovi različitih terapijskih skupina koji sadrže brom u strukturi	16
1.5. β-Karbolini.....	17
1.6. Biološka djelovanja cimetne kiseline i derivata.....	17
2. OBRAZLOŽENJE TEME	19
3. MATERIJALI I METODE	22
3.1. Sinteza cimetnih estera (1-3)	24
3.1.1. Sinteza etil-(<i>E</i>)-3-(3-bromfenil)prop-2-enoata (1)	24
3.1.2. Sinteza etil-(<i>E</i>)-3-(3-fluorfenil)prop-2-enoata (2)	25
3.1.3. Sinteza etil-(<i>E</i>)-3-(4-klorfenil)prop-2-enoata (3)	25
3.2. Sinteza cimetnih alkohola (4-6)	25

3.2.1. Sinteza (<i>E</i>)-3-(3-bromfenil)prop-2-en-1-ola (4)	25
3.2.2. Sinteza (<i>E</i>)-3-(3-fluorfenil)prop-2-en-1-ola (5)	25
3.2.3. Sinteza (<i>E</i>)-3-(4-klorfenil)prop-2-en-1-ola (6)	26
3.3. Sinteza cimetnih azida (7-10).....	26
3.3.1. Sinteza [(1 <i>E</i>)-3-azidoprop-1-en-1-il]benzena (7)	26
3.3.2. Sinteza 1-[(1 <i>E</i>)-3-azidoprop-1-en-1-il]-3-brombenzena (8).....	27
3.3.3. Sinteza 1-[(1 <i>E</i>)-3-azidoprop-1-en-1-il]-3-fluorbenzena (9)	27
3.3.4. Sinteza 1-[(1 <i>E</i>)-3-azidoprop-1-en-1-il]-4-klorbenzena (10).....	27
3.4. Sinteza 6-metoksi-1-metil-2,3,4,9-tetrahidro-1<i>H</i>-pirido[3,4-<i>b</i>]indol-2-ijevog trifluoracetata (11)	28
3.5. Sinteza 6-metoksi-1-metil-9<i>H</i>-pirido[3,4-<i>b</i>]indola (12).....	29
3.6. Sinteza 1-metil-9<i>H</i>-pirido[3,4-<i>b</i>]indol-6-ola (13)	29
3.7. Sinteza 1- metil-6-(prop-2-in-1-iloksi)-9<i>H</i>-pirido[3,4-<i>b</i>]indola (14)	30
3.8. Sinteza harmicina (15-18)	31
3.8.1. (<i>E</i>)-6-((1-cinamil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol (15)	31
3.8.2. (<i>E</i>)-6-((1-(3-(3-bromofenil)alil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-1-metil-9 <i>H</i> - pirido[3,4- <i>b</i>]indol (16).....	32
3.8.3. (<i>E</i>)-6-((1-(3-(3-fluorofenil)alil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-1-metil-9 <i>H</i> - pirido[3,4- <i>b</i>]indol (17)	32
3.8.4. (<i>E</i>)-6-((1-(3-(4-klorofenil)alil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-1-metil-9 <i>H</i> - pirido[3,4- <i>b</i>]indol (18).....	33
4. REZULTATI I RASPRAVA	34
4.1. Sinteza harmicina 15-18.....	35
4.2. Procjena svojstava sličnih lijekima (engl. „ <i>drug-like</i> “).....	38
5. ZAKLJUČAK	45
6. LITERATURA	47
7. SAŽETAK/SUMMARY	53
8. PRILOZI	58
9. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/BASIC DOCUMENTATION CARD	

1. UVOD

1.1. Organohalogeni spojevi

Organohalogeni spojevi predstavljaju kemijske entitete u kojima su jedan ili više ugljikovih atoma kovalentno povezani s jednim ili više atoma halogena – fluorom, klorom, bromom ili jodom, pri čemu nastaju organofluoridi, organokloridi, organobromidi i organojodidi (Sasson, 2009). Naziv „halogen“ proizlazi iz grčkih riječi koje opisuju sposobnost tih elemenata da formiraju soli. Fluor i klor, kao najučestaliji halogeni, u prirodi su prisutni gotovo isključivo u obliku iona, a slična je situacija s bromom i jodom. U elementarnom stanju halogeni tvore dvoatomske molekule (F_2 , Cl_2 , Br_2 , I_2) od kojih su F_2 i Cl_2 pri sobnoj temperaturi plinovi, Br_2 tekućina, a I_2 krutina (Slika 1) (Halka i Nordstrom, 2010).

Supstitucija atoma vodika atomom fluora jedna je od najučestalijih monovalentnih izosteričkih supstitucija. Atomi vodika i fluora sterički su vrlo slični, van der Waalsovih polumjera 1,2 i 1,35 Å. Fluor je najelektronegativniji element periodnog sustava elemenata pa se promjene biološke aktivnosti nastale zamjenom vodika fluorom mogu pripisati tom svojstvu. Klasičan primjer supstitucije vodika fluorom predstavlja razvoj citostatika 5-fluorouracila iz uracila (Lemke i sur., 2011).

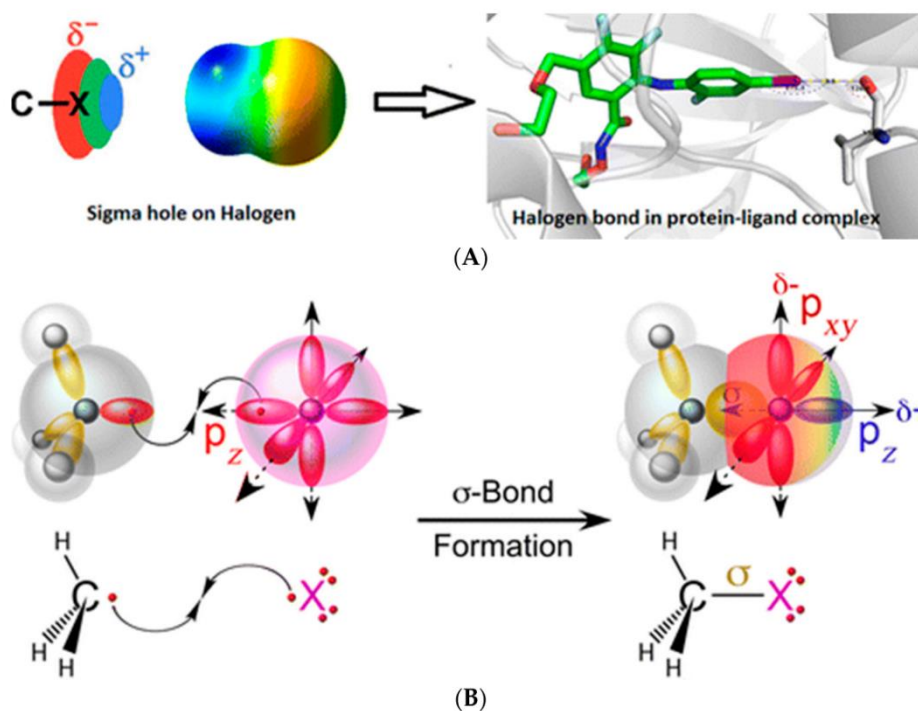


Slika 1. Klor, brom i jod pri sobnoj temperaturi (www.edu.rsc.org)

Od ukupnog broja registriranih lijekova, 20 % ih je halogenirano. U isto vrijeme, ti lijekovi ostvaruju 50 % ukupnog bruto dohotka od svih lijekova na tržištu. Donedavno su samo klasična svojstva halogena, kao što su reaktivnost, lipofilnost i elektronegativnost, korištena u razvoju potencijalnih lijekova, no danas je jasno da halogeni uvelike doprinose specifičnosti mnogih agonista i antagonista prema njihovim fiziološkim metama kroz interakciju definiranu kao halogena veza (XB) (Desiraju i sur., 2013).

1.1.1. Halogena veza

Razmotrimo vezu tipa R-C-X (alternativno C-X) gdje je C ugljik, a X atom halogena (Slika 2A). R predstavlja dio molekule koji odvlači elektrone (npr. aromatska skupina). Zajednički elektronski par (vezni par) između C i X jače je privučen prema atomu ugljika što rezultira anizotropnom raspodjelom elektronske gustoće oko atoma halogena i stvaranjem relativno pozitivno nabijene regije zvane „ σ -hole“ (sigma rupa). Prisutnost elektropozitivne sigma rupe omogućuje atomu halogena ulazak u interakciju s osamljenim elektronskim parovima drugih elektronegativnih atoma u blizini (Slika 2B). Na primjer, atom halogena može se nekovalentno vezati s atomom kisika, dušika, sumpora ili drugim atomom halogena. Takvom interakcijom nastaje halogena ($X\cdots$) veza (Murray i sur., 2007 i 2009; Clark i sur., 2007; Ford i sur., 2016).

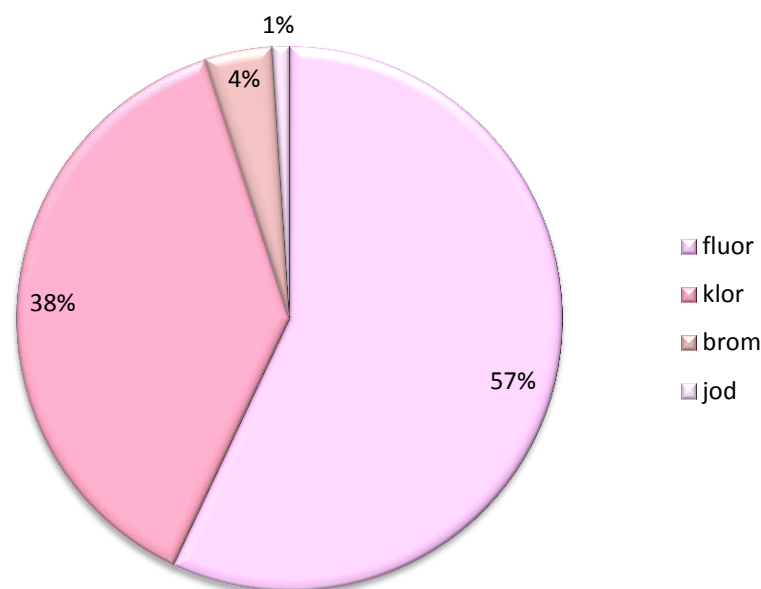


Slika 2. A) Stvaranje „ σ -rupe“ B) Tvorba halogene veze (Mendez i sur., 2017)

1.1.2. Klasifikacija halogeniranih lijekova s obzirom na vrstu halogena

Većina halogeniranih lijekova sadrži fluor (57 %), zatim slijede lijekovi s klorom (38 %), dok je brom u strukturi lijekova rijedak (4 %) (Slika 3). Spojevi s jodom relativno su nestabilni

zbog visoko polarizirane C-I veze, a zbog opsežne sinteze, farmaceutska industrija ih uglavnom izbjegava (Hernandes i sur., 2010).



Slika 3. Klasifikacija halogeniranih lijekova s obzirom na vrstu halogena (Hernandes i sur., 2010)

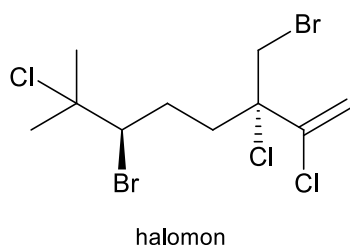
1.1.3. Rasprostranjenost u prirodi

Organski spojevi supstituirani halogenima široko su rasprostranjeni u prirodi, te je više od 3800 različitih spojeva pronađeno u algama i drugim morskim organizmima. Nađeni su u biljkama, gljivicama, lišajevima, bakterijama, nekim višim životinjama, ali i u ljudima. Otkriće mnogih od njih posljedica je povećanog interesa za prirodne produkte kao potencijalne izvore novih lijekova. Poboljšane metode prikupljanja prirodnog materijala, selektivna biološka ispitivanja za identifikaciju biološki aktivnih spojeva te nove tehnike odvajanja i pročišćavanja uvelike su zaslužne za uspjeh istraživanja prirodnih organohalogenata (Gribble, 2003).

1.1.4. Fiziološka aktivnost prirodnih organohalogenata

Od jednostavnog spoja poput klormetana, pa sve do iznimno kompleksnog vankomicina, širok spektar organohalogenih spojeva ima značajnu fiziološku aktivnost. Primjerice,

pentahalogenirani alken halomon (Slika 4A) izoliran je iz crvene alge *Portieria hornemannii* (Slika 4B). Otkriveno je njegovo antitumorsko djelovanje na nekoliko humanih tumorskih staničnih linija (McMurry, 2011).

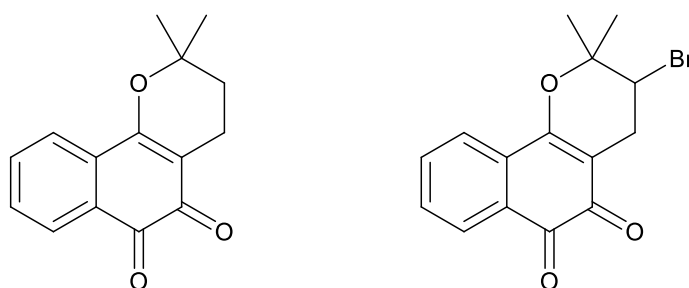


4A

4B

Slika 4. A) Struktura halomona, pentahalogeniranog alkena koji posjeduje antitumorski učinak; **B)** Crvena alga *Portieria hornemannii* (www.alchetron.com/Portieria)

Na Slici 5 prikazan je β -lapakon, prirodni produkt prisutan u kori *lapacho* drveta koje pretežno raste u Brazilu. Iskazuje široki spektar farmakoloških učinaka, uključujući antibakterijski, antifungalni i antimalarijski učinak, a pokazuje potencijal i u terapiji karcinoma prostate i nemalih stanica pluća. Prilikom ispitivanja analoga β -lapakona, otkriveno je da uvođenje broma na položaj C3 uvelike pridonosi antiplazmodijskoj aktivnosti (IC_{50} 2,7 μ M naspram 4,1 μ M za *Plasmodium falciparum*, soj F32) i citotoksičnosti (IC_{50} 0,13 μ M naspram 0,27 μ M za HL-60 stanične linije promijelocitne leukemije) (Gál i sur., 2016).



Slika 5. Strukture β -lapakona i njegovog aktivnijeg analoga, 3-brom- β -lapakona

1.2. Fluor u strukturi lijekova

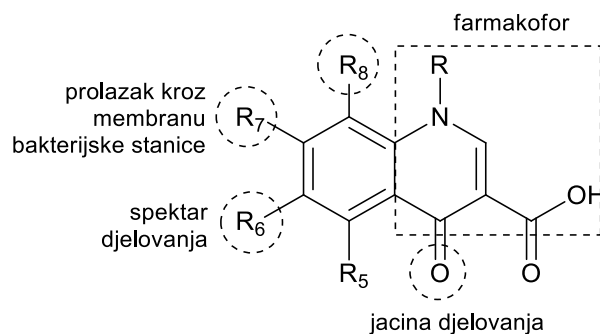
Fluor je najelektronegativniji atom u periodnom sustavu elemenata s malim atomskim polumjerom i niskom polarizabilnošću (Schlosser i Michel, 1996). Ove kemijske karakteristike podrazumijevaju da fluoriranje novih bioaktivnih kemijskih entiteta mijenja fizikalne, kemijske i elektroničke konformacijske parametre, što bi na kraju moglo rezultirati lijekovima s optimiziranim farmakološkim svojstvima (Biffinger i sur., 2004).

1.2.1. Utjecaj fluora na jačinu djelovanja, permeabilnost, metabolizam i farmakokinetiku lijekova

Uvođenje fluora u strukturu lijeka može dovesti do pojačanog djelovanja lijeka i utjecati na selektivnost prema meti promjenom pK_a vrijednosti te moduliranjem konformacije, hidrofobnih interakcija i lipofilnosti. Izravna supstitucija labilnih vodikovih atoma (npr. $Ar-H \rightarrow Ar-F$, $CH_3 \rightarrow CF_3$) može smanjiti metabolizam lijeka (Gillis i sur., 2015). Fluor se najčešće uvodi na mjesto podložno enzimskoj hidroksilaciji. Na primjer, citokrom P-450 lako hidroksilira *o*- i *p*-položaj benzenskog prstena pa mnogi lijekovi aromatske strukture na toj poziciji imaju atom fluora. Na taj način je povećana metabolička stabilnost ezetimiba i linezolida (Zorc i Pavić, 2018).

1.2.2. Kinoloni i fluorokinoloni

Kinoloni su skupina sintetskih antimikrobnih lijekova koji, inhibicijom bakterijskih enzima DNA giraze i topoizomeraze IV, djeluju baktericidno. U strukturi sadrže *N*-1-alkil-3-karboksipirid-4-on kondenziran s drugim supstituiranim aromatskim prstenom (Slika 6). Ti su spojevi bili od malog kliničkog značaja sve do otkrića da supstitucija fluora u položaju C6 uvelike povećava biološku aktivnost. 1986. godine odobren je norfloksacin, prvi predstavnik 2. generacije kinolona nazvane fluorokinoloni. Nakon toga sintetizirano je preko tisuću analoga druge, treće i četvrte generacije kinolona (Lemke i sur., 2011).

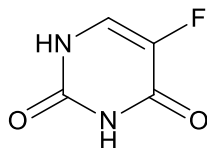


Slika 6. Odnos strukture i aktivnosti kinolona (eng. *structure-activity relationship, SAR*)

Uvođenjem fluora na položaj C6 uvelike se poboljšava antimikrobna aktivnost zbog povećanja lipofilnosti molekule, što lijeku omogućava bolju penetraciju kroz staničnu membranu bakterije. Uz to, fluor na položaju C6 djeluje i na pojačanu inhibiciju bakterijske DNA giraze. Dodatan atom fluora na položaju C8 poboljšava apsorpciju lijeka i produljuje $t_{1/2}$, no isto tako može dovesti do povećane fotosjetljivosti na lijek (Lemke i sur., 2011).

1.2.3. 5-Fluorouracil

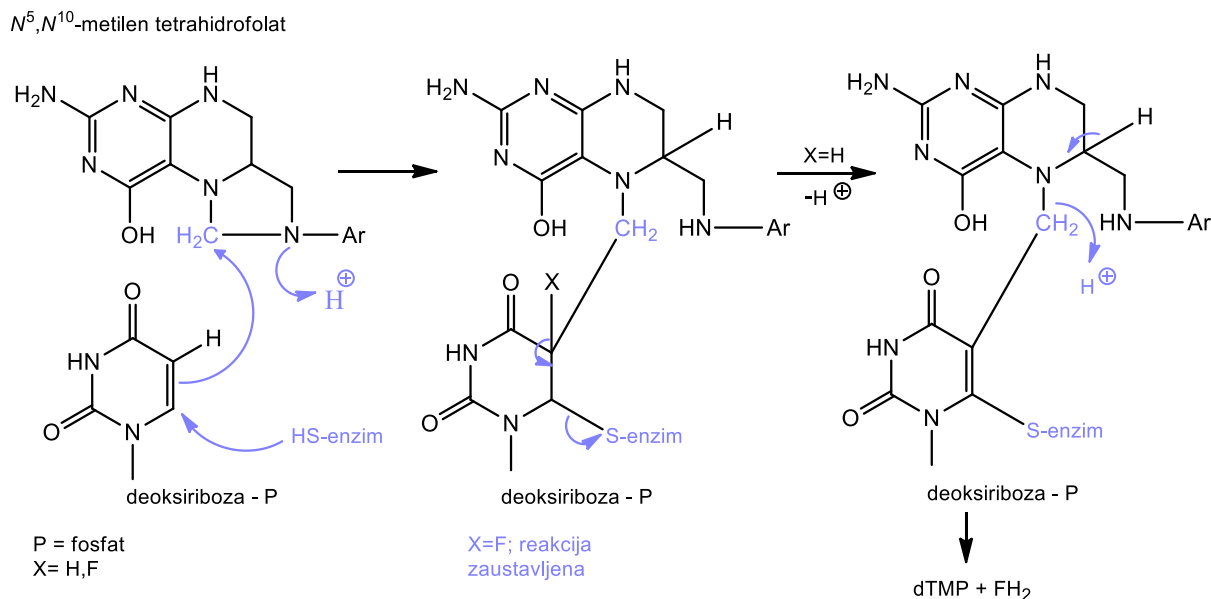
Derivat pirimidina, 5-fluorouracil (5-FU) (Slika 7) dizajniran je na način da blokira pretvorbu uridina u timidin inhibicijom enzima timidilat sintaze (TS). Normalna biosinteza timidina uključuje metilaciju C5 položaja pirimidinskog prstena uridina. Zamjenom vodika na poziciji C5 fluorom nastaje 5-FU, protutumorski lijek iz skupine antimetabolita. Pritom dolazi do stvaranja stabilnog kovalentnog ternarnog kompleksa sastavljenog od 5-FU, enzima timidilat sintaze (TS) i kofaktora (N^5, N^{10} -metilentetrahidrofolata) (Beale i Block, 2011).



Slika 7. Struktura 5-fluorouracila

Da bi se vezao na timidilat sintazu, ovaj fluorirani pirimidinski prolijek mora proći konverziju u deoksiribonukleotidnu formu. Aktivni oblik 5-fluorouracila razlikuje se od endogenog supstrata timidilat sintaze samo po prisutnosti atoma fluora na položaju C5 (Lemke i sur., 2011). Kofaktor N^5, N^{10} -metilentetrahidrofolat tvori kovalentnu vezu s uracilom preko

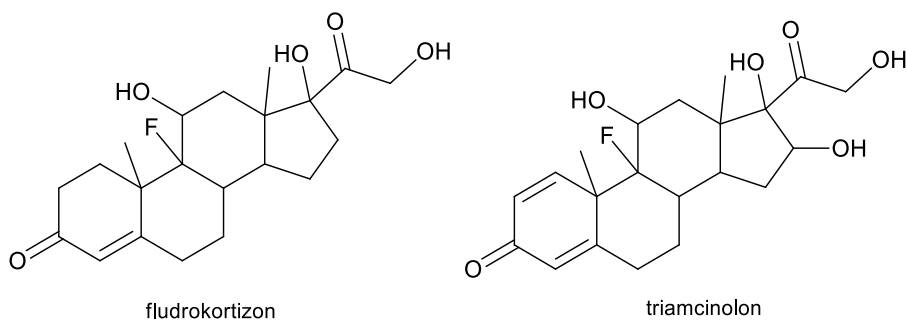
metilenske jedinice koja se kasnije premješta na uracil uz eliminaciju protona s položaja C5. Kod 5-fluorouracila, atom fluora na položaju 5 onemogućava daljnje odvijanje reakcije jer bi se fluor trebao eliminirati kao pozitivan ion (F^+). Fluor je najelektronegativniji ion i ionizira u obliku fluoridnog iona (F^-) što rezultira kovalentnim i ireverzibilnim vezanjem 5-fluorouracila u aktivno mjesto enzima. Time je onemogućena sinteza timidina, što blokira sintezu DNA, a samim time i replikaciju i diobu stanica (Slika 8) (Patrick, 2013).



Slika 8. Aktivni oblik 5-fluorouracila kao suicidalni supstrat timidilat sintaze (Patrick, 2013)

1.2.4. Fludrokortizon i triamcinolon

Fludrokortizon je analog kortizona s atomom fluora na položaju 9α , koji ima 11 puta veću glukokortikoidnu i 300 do 800 puta veću mineralokortikoidnu aktivnost od samog kortizona (Slika 9). Fludrokortizon se primjenjuje oralno za nadomjesnu terapiju mineralokortikoidima u bolesnika s adrenokortikalnom insuficijencijom (primjerice Addisonova bolest). Ovaj lijek, uveden 1954. godine, pružio je poticaj za sintezu i biološku evaluaciju novijih halogeniranih analoga. Prisustvo 9α -fluora u strukturi triamcinolona povećava njegovo protuupalno i mineralokortikoidno djelovanje (Lemke i sur., 2011).



Slika 9. Primjer glukokortikoida s flourom u položaju 9 α

1.2.5. Lijekovi s fluorom iz različitih terapijskih skupina

U Tablici 1. dan je prikaz registriranih lijekova koji u svojoj strukturi sadrže atom fluora.

Tablica 1. Lijekovi s fluorom iz različitih terapijskih skupina (Zorc i Pavić, 2018)

Lijek	Terapijska skupina	Lijek	Terapijska skupina
fluoksimesteron	androgeno-anabolički steroid	abemaciclib	citostatici
enfluran	anestetici	afatinib	
halotan		bikalutamid	
izofluran		dabrafenib	
metoksifluran		enzalutamid	
sevofluran		fludarabin	
midazolam	anksiolitici	fluoksimesteron	
flurazepam		5-fluorouracil	
fenfluramin	anoreksik	flutamid	
ciprofloksacin	antibakterijski lijekovi	fulvestrant	
floximoksef		gefitinib	
flukloksacilin		gemcitabin	
fluritromicin		idelalisib	
levofloksacin		kapecitabin	
linezolid		klofarabin	
moksifloksacin		krizotinib	
norfloksacin		lapatinib	
ofloksacin		nilotinib	
tedizolid		nilutamid	
citalopram	antidepresivi	olaparib	
escitalopram		ponatinib	
fluoksetin		regorafenib	
fluvoksamin		rukaparib	
paroksetin		sorafenib	
		sunitinib	

sitagliptin kanagliflozin	antidijabetici	tegafur trametinib vandetanib vemurafenib	
aprepitant fosaprepitant	antiemetici	diflukorton deksametazon	
fluorofelbamat	antiepileptik	flumetazon	
diflunisal	antiflogistik	fluocinolacetonid fluorometolon	glukokortikoidi
atorvastatin ezetimib fluvastatin rosuvastatin ezetimin	antihiperlipemici	flutikazon triamcinolon	
flucitozin flukonazol posakonazol vorikonazol	antimikotici	triflunisal prasugrel tikagrelor	inhibitori agregacije trombocita
eflornitin halofantrin meflokin	antiparazitici	fludrokortizon	mineralokortikoidi
delamanid	antituberkulotici	celekoksib roflumilast	nesteroidni protuupalni lijekovi
dekslansoprazol lansoprazol pantoprazol revaprazan	antiulkusni lijekovi	flufenazin haloperidol paliperidon risperidon sertindol	neuroleptici
dolutegravir efavirenz elvitegravir ledipasvir maravirok raltegravir sofosbuvir tipranavir trifluridin	antivirolici	lubiproston tafluprost	prostaciklin (laksativ) prostaciklin (oftalmološki antihipertenziv)
		silodozin	simpatolitik (α - blokator)
		nebivolol	simpatolitik (β - blokator)

1.3. Klor u strukturi lijekova

Klor je, nakon fluora, najučestaliji halogen u organohalogenim spojevima. Umjereni je akceptor halogene veze i većeg je atomskog radijusa od fluora. C-Cl veza je dovoljno stabilna, što omogućava uvođenje klora na različite farmakološki važne heterocikle. Zamjena vodika klorom omogućava značajne modifikacije volumena i oblika molekule lijeka.

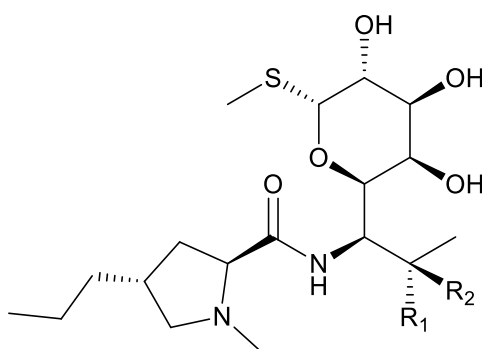
S obzirom navedeno, kloriranje novih bioloških entiteta moglo bi rezultirati njihovim povećanim interakcijama s biološkim metama (Siegal i sur., 2007).

1.3.1. Zastupljenost kloriranih lijekova prema terapijskim područjima

Najveći broj kloriranih lijekova koristi se u liječenju bolesti živčanog (18%) i kardiovaskularnog sustava (17%), onkoloških (14%) i dermatoloških bolesti (10%). Iako atom klora u tim lijekovima nije nužno dio farmakofora, često je korišten u svrhu podešavanja drugih parametara, kao što je lipofilnost. Usto, halogeniranje poboljšava prolazak lijeka kroz krvno-moždanu barijeru, što je važno za lijekove koji djeluju na središnji živčani sustav (Kosjek i Heath, 2012).

1.3.2. Uloga klora u strukturi klindamicina

Klindamicin je antibiotik širokog spektra djelovanja, dobiven polusintetski iz prirodnog produkta linkomicina. Koristi se u liječenju raznih bakterijskih infekcija, uključujući infekcije kostiju i zglobova, upale pluća i endokarditisa (Gál i sur., 2016). Slično kao i makrolidni antibiotici, linkomicin i klindamicin inhibiraju sintezu proteina vezanjem na 50S podjedinicu ribosoma te zaustavljaju translokaciju (Gale i sur., 1981). U usporedbi s linkomicinom, klindamicin pokazuje veću aktivnost i manju toksičnost. Rezultati provedenih istraživanja pokazuju da supstitucija hidrofilne hidroksilne skupine na poziciji C7 linkomicina klorom ili bromom rezultira jačim *in vivo* djelovanjem lijeka (Slika 10) (Le Goffic, 1985).



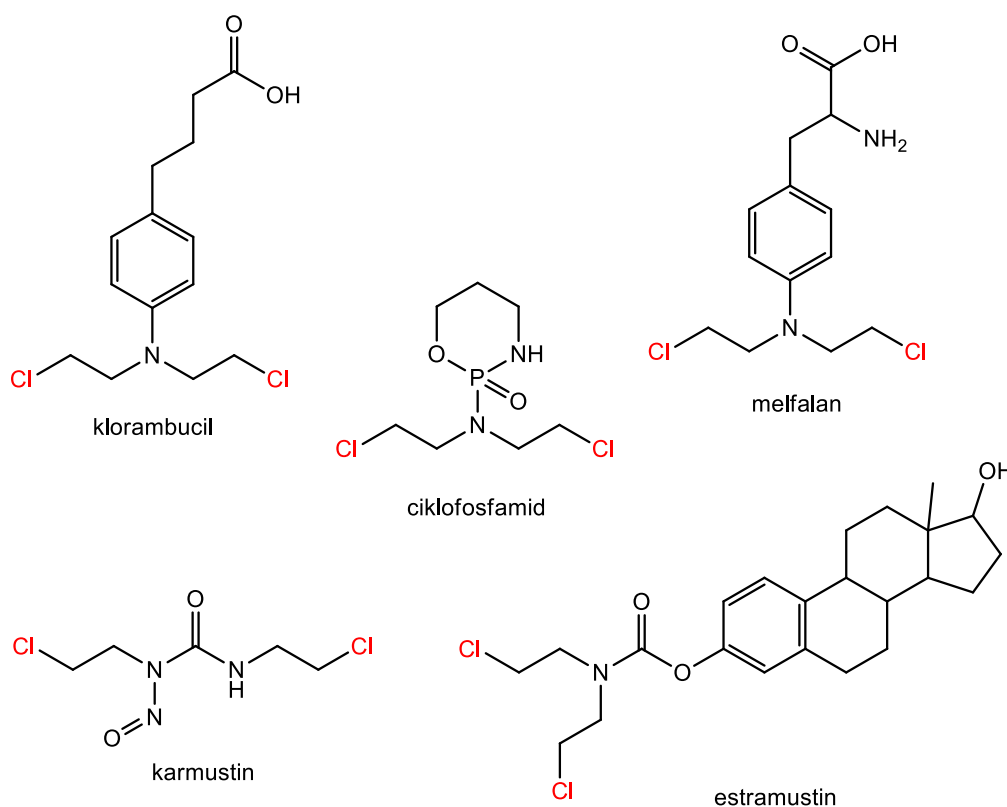
Klindamicin: R₁=H, R₂=Cl
Linkomicin: R₁=OH, R₂=H

Slika 10. Struktura klindamicina i linkomicina

1.3.3. Derivati dušikovog iperita

Derivati dušikovog iperita čine skupinu lijekova s klorom, koji je u ovom slučaju zaslužan za visoku reaktivnost molekule (Slika 11). Povijest i porijeklo derivata dušikovog iperita kao bojnih otrova i kasnije kao kemoterapijskih sredstava dobro su dokumentirani (Saha i sur., 2013). Spadaju u skupinu alkilirajućih agensa koji *in vivo* tvore snažne elektrofile, koji mogu reagirati s nukleofilnim skupinama biomakromolekula tvoreći kovalentne veze što rezultira njihovom inaktivacijom. Dokazano je da alkilacija DNA dovodi do zaustavljanja staničnog ciklusa (usporavanjem G2 faze staničnog ciklusa) i apoptoze (prirodno programirane stanične smrti) (O'Connor i sur., 1993).

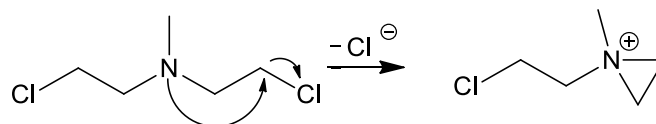
S obzirom na slabu selektivnost prilikom vezanja na N^7 atome dušika gvaninskih baza DNA, derivati dušikovog iperita toksični su i za tumorske i za normalne stanice (Kohn i sur., 1987; Bank i sur., 1989; Povirk i Shuker, 1994; Di Antonio i sur., 2014).



Slika 11. Visokoreaktivni klorirani lijekovi - derivati dušikova iperita (Smith i sur., 2014)

Derivati dušikovog iperita su prolijekovi što znači da postaju aktivni tek nakon pregradnje i nastanka visokoreaktivnih cikličkih aziridinijevih iona (AZ^+). Iz jedne molekule prolijeka nastaju dva aziridinijeva iona koji alkiliraju nukleofilne skupine proteina i nukleinskih

kiselina. Tvorba aziridinijevog iona postiže se reakcijom nukleofilne supstitucije pri čemu nukleofilni tercijarni dušik napada elektrofilni ugljikov atom s vezanim atomom klor (Slika 12). Konačni produkti reakcije su aziridinijev ion i anion klor (Mann, 2010).



Slika 12. Tvorba aziridinijevog iona (AZ^+) na primjeru klormetina

1.3.4. Lijekovi iz različitih terapijskih skupina koji sadrže klor u strukturi

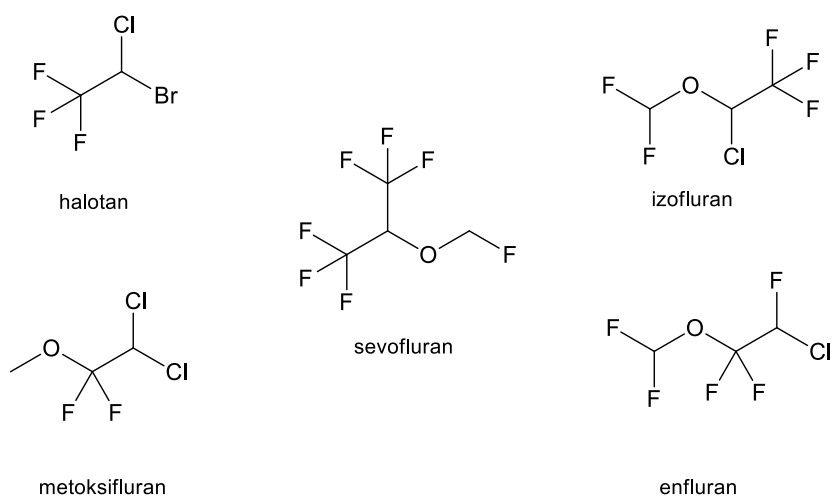
U Tablici 2. dan je prikaz registriranih lijekova koji u svojoj strukturi sadrže atom klor.

Tablica 2. Lijekovi iz različitih terapijskih skupina koji sadrže klor u strukturi

Lijek	Terapijska skupina	Lijek	Terapijska skupina
brimonidin	simpatomimetici (terapija glaukoma)	diklofenak	nesteroidni protuupalni lijekovi
klotrimazol	antimikotici	kloropiramin	antihistaminici
pralidoksim	antidoti organofosfata	kloramfenikol	bakteriostatici
tropsijev klorid	urirarni spazmolitici	klorpromazin	antipsihotici
kalijev klorid	nadomjesci za plazmu	diazepam klorazepat	anksiolitici
cisplatin karboplatin melfalan	citostatici	klozapin	psiholeptici
		niklozamid	antiparazitici
furosemid	sulfonamidski diuretici	azimilid	antiaritmici
klindamicin	antibiotici	verlukast	bronhodilatatori
ketamin	anestetici	loperamid	antipropulzivi

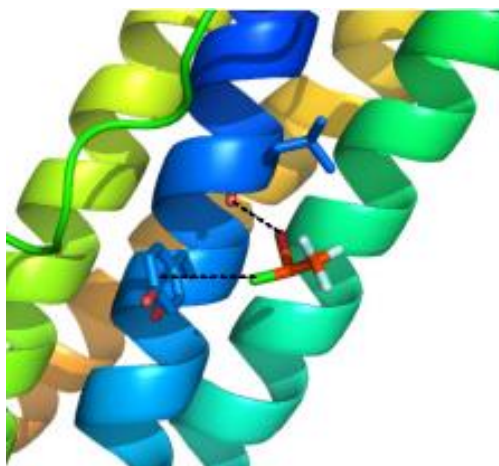
1.4. Brom u strukturi lijekova

Brom je deveti najkorišteniji element u strukturi lijekova. Prvi bromirani lijek bio je anestetik halotan, odobren 1956. godine. Halotan je dio velike obitelji halogeniranih anestetika koja prvenstveno sadrži fluor i klor u strukturi, dok je halotan jedini bromirani predstavnik (Slika 13) (Smith i sur., 2014). Atom broma doprinosi jačini djelovanja, a tri atoma fluora isparljivosti tog inhalacijskog anestetika i povećanoj stabilnosti ugljikovodičnog skeleta molekule (Lemke i sur., 2011).



Slika 13. Halotan kao jedini bromirani predstavnik skupine općih anestetika

Dokazano je da halogenirani anestetici ulaze u interakciju s feritinom, velikim proteinom građenim od 4 α -uzvojnice (Slika 14). Halotan se veže u hidrofobnu šupljinu između dva monomera, a zbog hidrofobne okoline, najsnažniji doprinos vezanju daju interakcije koje ostvaruje halogena veza. Brom iz halotana ulazi u interakciju s feritinskim karbonilnim kisikom u Leu24, dok atom klora ostvaruje vezu s aromatskim prstenom iz Tyr28 (Gál i sur., 2016).

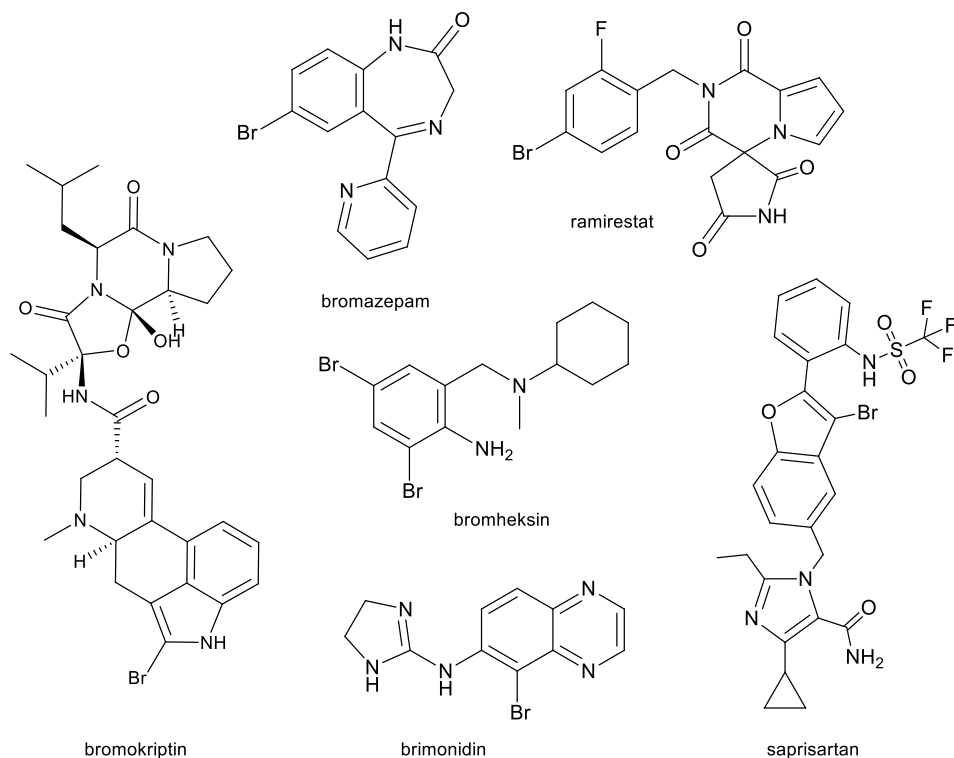


Slika 14. Kompleks halotana s apoferitinom (Gál i sur., 2016)

1.4.1. Mete lijekova s bromom u strukturi

Lijekovi koji sadrže brom imaju širok raspon meta i indikacija. Neke od meta tih lijekova su histaminski H_1 receptor (bromodifenhidramin), α_1 adrenergički receptor (nicergolin), dopaminski receptor D2 (bromokriptin), α_2 adrenergički receptor (brimonidin), AT1 receptor (sapisartan), GABA-A receptor (bromazepam) i ciklooksigenaze COX 1/2 (bromfenak) (Wilcken i sur., 2012).

Pipobroman je jedan od starijih citostatika, a sadrži dvije reaktivne primarne β -bromoamidne skupine. Nicergolin i bromokriptin, između ostalog odobreni i za liječenje demencije i Parkinsonove bolesti, slični su ergot alkaloidima, ali imaju različite bočne lance pa djeluju i na različite receptore. Remoksipirid, odobren za liječenje shizofrenije, djeluje na dopaminske D2 receptore (Smith i sur., 2014). Grafički prikaz registriranih lijekova s bromom dan je na Slici 15.



Slika 15. Strukture lijekova iz različitih terapijskih skupina koji sadrže atom broma

1.4.2. Lijekovi različitih terapijskih skupina koji sadrže brom u strukturi

U Tablici 3. dan je prikaz registriranih lijekova koji u svojoj strukturi sadrže atom broma.

Tablica 3. Pregled bromiranih lijekova iz različitih terapijskih skupina

Lijek	Terapijska skupina	Lijek	Terapijska skupina
bromazepam	anksiolitici	pinaverij bromid vekuronij bromid pankuronij bromid	miorelaksansi
sapisartan	antihipertenzivi	ambroksol bromheksin	mukolitici
tiotropij bromid ipratropij bromid propantelinij bromid	antikolinergici	bromfenak	nesteroidni protuupalni lijekovi (oftalmik)
bromokriptin	antiparkinsonici (agonist dopamina)	piridostigminijev bromid	parasimpatomimetici
dekstrometorfan bromid	antitusici	brimonidin	simpatomimetici (liječenje glaukoma)
ranirestat	inhibitor aldoza reduktaze	nicergolin	vazodilatator

1.5. β -Karbolini

β -karbolini čine veliki grupu prirodnih i sintetskih alkaloida s karakterističnom tricikličkom strukturom pirido[3,4-*b*]indola. Prisutni su u sirijskoj rutvici (*Peganum harmala*), biljnoj vrsti rasprostranjenoj na području Bliskog Istoka, te u južnoameričkoj dušnoj lozi (*Banisteriopsis caapi*) (Slika 16). Literaturni podaci pokazuju njihov antimikrobni i citostatski učinak putem interkalacije u dvostruku uzvojnici DNA te djelovanjem na enzime nužne za popravak oštećene DNA (Cao i sur., 2007). Neki derivati β -karbolina izolirani iz biljne vrste *Eurycoma longifolia*, pokazali su dobar antimalarijski učinak na *Plasmodium falciparum*, najsmrtonosniju vrstu plazmodija koja uzrokuje malariju u ljudi. (Kuo i sur., 2003). Potencijalni antimalarijski učinak čini β -karboline zanimljivim za istraživanje i razvoj novih lijekova.



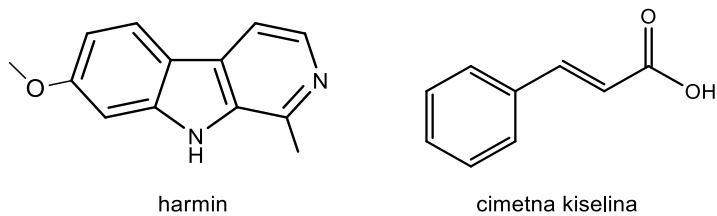
Slika 16. Biljne vrste *Peganum harmala* i *Banisteriopsis caapi* (<https://en.wikipedia.org>)

1.6. Biološka djelovanja cimetne kiseline i derivata

Cimetna kiselina (3-fenilprop-2-enska ili fenilakrilna kiselina) i njeni derivati široko su rašireni u biljnom svijetu. Naziv je dobila po biljnim vrstama iz roda *Cinnamomum* iz porodice *Lauraceae* u kojima je prisutna u značajnim količinama. Cimetna kiselina ispoljava brojna biološka djelovanja, a njeni prirodni i sintetski derivati (CAD, engl. *cinnamic acid derivatives*) imaju izražene citostatske, antimikrobne, antituberkulotske, antioksidativne, antivirusne, anksiolitičke i antimalarijske učinke (Pavić i Zorc, 2018). Derivati koji sadrže vinilnu skupinu iskazuju snažan antioksidativni učinak što ih čini pogodnim za terapiju bolesti povezanih s lipidnom peroksidacijom staničnih membrana. Antimikrobna svojstva izražena su kod derivata s esterskim i amidnim skupinama. Izobutil-cinamat i dibromocimetna kiselina

imaju snažan antibakterijski učinak na Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterije kao i dobra antifungalna svojstva (Sharma, 2011).

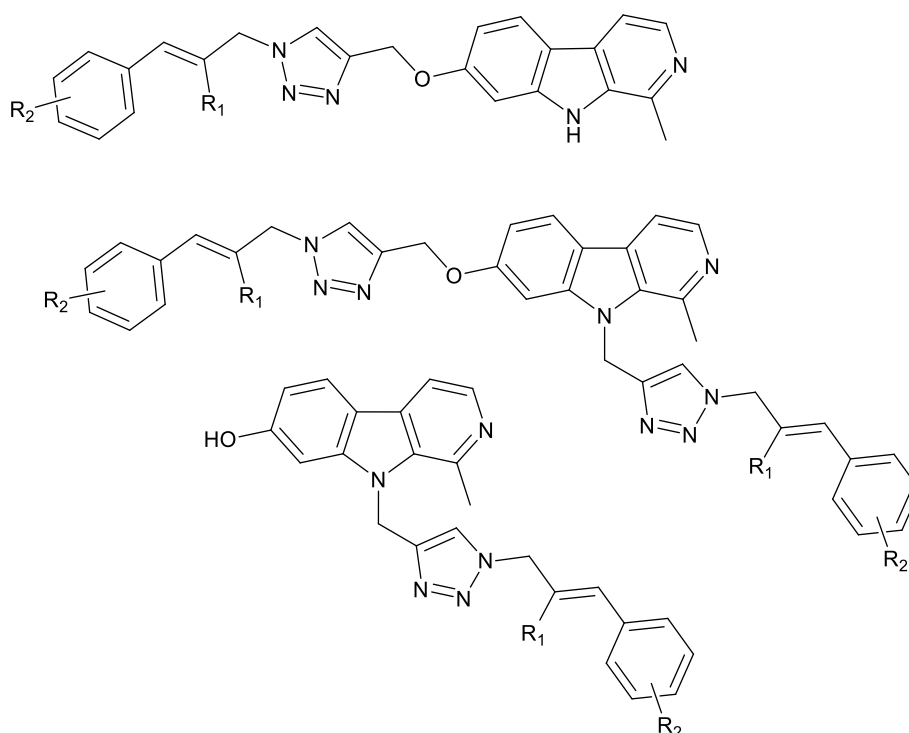
Brojne studije pokazuju da kovalentno povezivanje cimetne kiseline ili CAD na 4- ili 8-aminokinolinske antimalarike dovodi do poboljšanja njihovog djelovanja (Pérez i sur., 2012).



Slika 17. Strukture harmina i cimetne kiseline

2. OBRAZLOŽENJE TEME

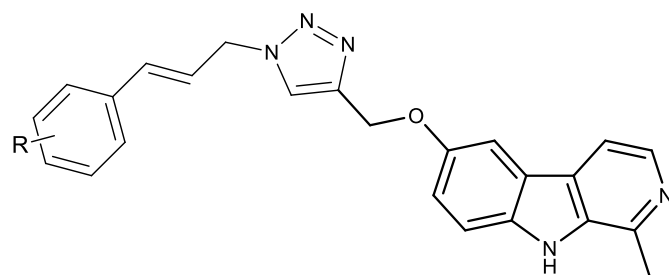
U okviru ranijih istraživanja u Zavodu za farmaceutsku kemiju pripravljeno je 26 hibridnih spojeva, harmicina, derivata harmina i CAD (Slika 18). Harmin je derivatiziran u položajima 7 i 9 β -karbolinskog prstena. Kao metoda povezivanja građevnih jedinica u jednu molekulu korištena je bakrom(I) katalizirana azid-alkin cikloadicija, tzv. *click* kemija, koja je široko primjenjiva, stereospecifična te se produkti dobivaju u visokim iskorištenjima (Pokorski i Smith, 2018). Reakcijski uvjeti su blagi, reakcije je moguće provoditi bez otapala ili u vodi, a konačni produkti se jednostavno pročišćavaju (Raić-Malić i Mešćić, 2015).



Slika 18. Pripravljene harmicini, hibridi harmina i CAD

Ispitano je antiplazmodijsko djelovanje pripremljenih harmicina na eritrocitnu i hepatocitnu fazu životnog ciklusa plazmodija, uzročnika malarije, te su harmicini pokazali vrlo dobro djelovanje.

Na temelju tih istraživanja, odlučili smo proširiti knjižnicu harmicina, na način da pripravimo hibride CAD i β -karbolina u položaju 6 β -karbolinskog prstena (Slika 19). U daljnjim istraživanjima, koja nadilaze okvire ovoga rada, bit će ispitano biološko djelovanje pripremljenih spojeva.



Slika 19. Opća formula harmicina sintetiziranih u ovome radu

3. MATERIJALI I METODE

Tijek kemijskih reakcija i čistoća produkata praćeni su tankoslojnom kromatografijom (TLC). Za TLC su upotrijebljene silikagel ploče 60 F254 (Merck, Njemačka) te diklormetan/metanol (10:1) + 15 % trietilamin, diklormetan/metanol (9.7:0.3, 9.5:0.5, 9:1 i 7.5:2.5), cikloheksan/etil-acetat (9:1 i 2:1) i cikloheksan/etil-acetat/metanol (3:1:0.75, 3:1:0.5, 1:1:0.5) kao pokretne faze. Za kromatografiju na koloni kao nepokretna faza korišten je silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm (Sigma Aldrich, SAD) uz iste pokretne faze kao u tankoslojnoj kromatografiji. Analizirani spojevi detektirani su UV zračenjem ($\lambda = 254$ i 366 nm) te parama joda.

Tališta (t_r) su određena na Stuart SMP3 instrumentu (Barloworld Scientific, UK) u otvorenim kapilarama i nisu korigirana.

^1H i ^{13}C NMR spektri snimljeni su na Bruker AV-600 (Bruker, SAD) kod 400 MHz za ^1H i kod 101 MHz za ^{13}C jezgru. Uzorci su mjereni u DMSO- d_6 otopinama na 20 °C u NMR cjevčicama promjera 5 mm. Kemijski pomaci dani su u ppm u odnosu na tetrametilsilan (TMS) kao unutarnji standard u ^1H , odnosno signal dimetilsulfoksida (DMSO) u ^{13}C spektru. Spektri masa snimljeni su na HPLC-MS/MS (Agilent Technologies Triple Quadripole 6420). Kao tehnika ionizacije korištena je ionizacija elektroraspršenjem (ESI) u pozitivnom modu. IR spektri snimljeni su na Paragon FT-IR spektrometru (Perkin Elmer, UK).

Za reakcije potpomognute mikrovalnim zračenjem korišten je mikrovalni reaktor CEM discover reaktor (CEM GmbH, Njemačka).

U svrhu predviđanja fizikalno-kemijskih svojstava, a time i farmakokinetičkih parametara, korišteni su računalni programi SwissADME (Swiss Institute of Bioinformatics, Švicarska) i Chemicalize (ChemAxon, SAD).

5-Metoksitriptamin, *m*-bromcimetna kiselina i 2-azido-1,3-dimetilimidazolinijev heksafluorofosfat (ADMP) nabavljeni su od tvrtke TCI Chemicals (Japan), acetonitril, metanol, etanol i aceton od tvrtke Honeywell Riedel de Haën (Njemačka). Acetalhid-dimetil-acetal (ADMA), litijev karbonat, cezijev karbonat, koncentrirana octena kiselina, paladij na ugljiku (Pd/C), toluen, 1,8-diazabiciklo[5.4.0]undek-7-en, litijev aluminijski hidrid, propargil bromid, cimetna kiselina, *m*-fluorcimetna kiselina i *p*-klorcimetna kiselina nabavljeni su od tvrtke Sigma-Aldrich (SAD). Trietilamin (TEA) i bakrov(II) acetat

nabavljeni su od tvrtke Alfa Aesar (SAD), trifluoroctena kiselina (TFA) od tvrtke Acros Organics (Belgija), bezvodni eter od tvrtke PanReac AppliChem (Španjolska), a diklormetan od tvrtke Fischer Chemical (SAD). *N,N*-dimetilformamid (DMF) i natrijev hidroksid nabavljeni su od tvrtke Kemika (Hrvatska), bezvodni natrijev sulfat i natrijev klorid od tvrtke Gram-Mol d.o.o. (Hrvatska), bromovodična kiselina (47%-tna HBr) i suhi THF od tvrtke Merck (Njemačka), a apsolutni etanol od tvrtke Carlo Erba Reagents (Francuska). Korišten je i tionil klorid (SOCl₂) nabavljen od tvrtke Fluka (Švicarska).

Sve kemikalije bile su p.a. stupnja čistoće.

3.1. Sinteza cimernih estera (1-3)

Opća metoda:

Suspenziji odgovarajućeg CAD (1,101 mmol) u suhom toluenu (10 mL) dodan je suhi DMF (3 kapi) i tionil klorid (0,4 mL, 5,505 mmol) te je reakcijska smjesa miješana na s.t. 1 h, nakon čega su toluen i tionil-klorid uklonjeni uparavanjem pod sniženim tlakom. Ostatak nakon uparavanja je naparen dva puta suhim toluenom. Dobiveni kiselinski klorid korišten je u sljedećem reakcijskom koraku bez pročišćavanja.

Otopina odgovarajućeg kiselinskog klorida u suhom diklormetanu (10 mL) dokapana je u otopinu TEA (0,153 mL, 1,101 mmol) u apsolutnom etanolu (5 mL) na s.t. 2 h, nakon čega je otapalo uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom, a ostatak nakon uparavanja otopljen u etil-acetatu (20 mL) te ekstrahiran vodom (2 × 20 mL). Organski sloj je sušen nad bezvodnim Na₂SO₄, filtriran i uparen pod sniženim tlakom.

3.1.1. Sinteza etil-(*E*)-3-(3-bromfenil)prop-2-enoata (1)

Količina reaktanta: 0,250 g *m*-bromcimene kiseline.

Iskorištenje: 0,505 g (90 %).

3.1.2. Sinteza etil-(*E*)-3-(3-fluorfenil)prop-2-enoata (2)

Količina reaktanta: 0,183 g *m*-fluorcimetne kiseline.

Iskorištenje: 0,512 g (55 %).

3.1.3. Sinteza etil-(*E*)-3-(4-klorfenil)prop-2-enoata (3)

Količina reaktanta: 0,201 g *p*-klorcimetne kiseline.

Iskorištenje: 0,734 g (91 %).

3.2. Sinteza cimernih alkohola (4-6)

Opća metoda:

Otopina odgovarajućeg estera **1-3** (1,876 mmol) u suhom dietil-eteru (10 mL) ohlađena je na -5 °C i propuhana argonom. Otopini je dodan LiAlH₄ (0,142 g, 3,745 mmol) u malim obrocima. Reakcijska smjesa je miješana na -5 °C pod atmosferom argona 2 h, nakon čega je dodana voda (20 mL). Reakcijska smjesa je zakiseljena s nekoliko kapi 10 % klorovodične kiseline do prestanka pjenjenja. Potom je dodan dietil-eter (10 mL) te je smjesa ekstrahirana 1%-tnom klorovodičnom kiselinom (2 × 20 mL). Organski sloj je ekstrahiran vodom (2 × 20 mL), sušen nad bezvodnim Na₂SO₄, filtriran i uparen pod sniženim tlakom. Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat (2:1) te je dobiven uljasti produkt.

3.2.1. Sinteza (*E*)-3-(3-bromfenil)prop-2-en-1-ola (4)

Količina reaktanta: 0,505 g estera **1**.

Iskorištenje: 0,191 g (48 %).

3.2.2. Sinteza (*E*)-3-(3-fluorfenil)prop-2-en-1-ola (5)

Količina reaktanta: 0,364 g estera **2**.

Iskorištenje: 0,133 g (33 %).

3.2.3. Sinteza (*E*)-3-(4-klorfenil)prop-2-en-1-ola (6)

Količina reaktanta: 0,395 g estera 3.

Iskorištenje: 0,269 g (46 %).

3.3. Sinteza cimernih azida (7-10)

Cimerni azidi sintetizirani su prema ranije utvrđenoj metodi (Perković i sur., 2020).

Opća metoda:

U otopinu cimernog alkohola ili cimernih alkohola **4-6** (1,491 mmol) u suhom THF-u (5 mL) na 0 °C dodani su ADMP (0,510 g, 1,789 mmol) i DBU (0,289 mL, 1,938 mmol). Reakcijska smjesa miješana je 15 minuta na 0 °C. Reakcija je prekinuta dodatkom zasićene otopine NH₄Cl (20 mL) te je smjesa ekstrahirana diklormetanom (2 × 20 mL). Organski slojevi su sakupljeni i ekstrahirani zasićenom vodenom otopinom NaCl (2 × 20 mL), sušeni nad bezvodnim Na₂SO₄, filtrirani i upareni pod sniženim tlakom. Sirovi produkt je pročišćen kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat (9:1) te je dobiven čisti, uljasti produkt.

3.3.1. Sinteza [(1*E*)-3-azidoprop-1-en-1-il]benzena (7)

Količina reaktanta: 0,200 g cimernog alkohola.

Iskorištenje: 0,136 g (57 %).

IR (KBr): ν_{\max} 3027, 2926, 2100, 1493, 1448, 1351, 1236, 967, 883, 746, 693 cm⁻¹.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm, *J*/Hz): δ 7,51-7,28 (m, 5H), 6,71 (d, 1H, *J* = 15,8 Hz), 6,44-6,34 (m, 1H), 4,04 (d, 2H, *J* = 6,5 Hz).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm, *J*/Hz): δ 136,31, 134,24, 129,16, 128,53, 127,00, 123,56, 52,60.

3.3.2. Sinteza 1-[(1E)-3-azidoprop-1-en-1-il]-3-brombenzena (8)

Količina reaktanta: 0,318 g alkohola 4.

Iskorištenje: 0,117 g (55 %).

IR (KBr): ν_{\max} 3062, 3034, 2926, 2868, 2100, 1595, 1563, 1472, 1348, 1267, 1237, 1072, 996, 964, 878, 774, 679 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): δ 7,72 (t, 1H, $J = 1,8$ Hz), 7,55-7,42 (m, 2H), 7,32 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz), 6,68 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz), 6,53-6,45 (m, 1H), 4,06 (dd, 2H, $J = 6,4, 1,1$ Hz).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): δ 138,46, 131,90, 130,79, 130,65, 129,05, 125,58, 125,22, 122,18, 51,95.

3.3.3. Sinteza 1-[(1E)-3-azidoprop-1-en-1-il]-3-fluorbenzena (9)

Količina reaktanta: 0,227 g alkohola 5.

Iskorištenje: 0,105 g (68 %).

IR (KBr): ν_{\max} 2958, 2928, 2870, 2102, 1611, 1584, 1490, 1446, 1350, 1269, 1250, 1146, 965, 871, 779, 682 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): δ 7,45-7,29 (m, 3H), 7,18-7,04 (m, 1H), 6,71 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz), 6,52-6,44 (m, 1H), 4,06 (dd, 2H, $J = 6,4, 1,1$ Hz).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): δ 162,53 (d, $J = 243,0$ Hz), 138,54 (d, $J = 8,0$ Hz), 132,27, 130,61 (d, $J = 8,5$ Hz), 125,04, 122,94, 114,72 (d, $J = 21,3$ Hz), 112,78 (d, $J = 22,0$ Hz), 51,94.

3.3.4. Sinteza 1-[(1E)-3-azidoprop-1-en-1-il]-4-klorbenzena (10)

Količina reaktanta: 0,251 g alkohola 6.

Iskorištenje: 0,215 g (70 %).

IR (KBr): ν_{\max} 3034, 2927, 2855, 2100, 1594, 1492, 1255, 1091, 1013, 968, 844, 796 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): δ 7,56-7,50 (m, 2H), 7,45-7,39 (m, 2H), 6,70 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz), 6,46-6,39 (m, 1H), 4,05 (dd, 2H, $J = 6,5, 1,2$ Hz).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): δ 134,84, 132,43, 132,27, 128,68, 128,27, 124,23, 52,02.

3.4. Sinteza 6-metoksi-1-metil-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-pirido[3,4-*b*]indol-2-ijevog trifluoracetata (11)

U otopinu 5-metoksitriptamina (0,200 g, 1,051 mmol) u acetonitrilu (4,5 mL) dodani su acetaldehid-dimetil-acetal (0,234 mL, 2,102 mmol) i TFA (0,161 mL, 2,102 mmol). Reakcijska smjesa miješana je u mikrovalnom reaktoru 10 minuta na 110 °C (150 W). Po završetku reakcije, reakcijska smjesa je ohlađena na sobnu temperaturu te je dodan dietil-eter (40 mL). Nastali talog je odsisan i ispran dietil-eterom (2×10 mL). Dobivena je svijetlo smeđa krutina koja je iskorištena u sljedećem reakcijskom koraku bez pročišćavanja.

Iskorištenje: 0,229 g (66 %).

t_t 212 °C (raspad).

ESI-MS (m/z) raspad spoja.

IR (KBr): ν_{max} 3900, 3850, 3798, 3752, 3646, 3286, 3044, 2920, 2840, 2750, 2712, 2494, 2354, 1864, 1788, 1676, 1632, 1598, 1488, 1440, 1384, 1328, 1286, 1204, 1136, 1060, 1026, 956, 914, 880, 834, 800, 724, 632, 558, 510 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): δ 11,01 (s, 1H, 11), 9,34 (d, 2H, 8, $J = 110,5$ Hz), 7,25 (d, 1H, 13, $J = 8,7$ Hz), 6,95 (d, 1H, 3, $J = 2,4$ Hz), 6,75 (dd, 1H, 1, $J = 8,7, 2,5$ Hz), 3,75 (s, 3H, 15), 3,60 (dt, 1H, 9, $J = 12,7, 5,0$ Hz), 3,01 – 2,78 (m, 2H, 6), 2,96-2,83 (m, 2H, 7), 1,60 (d, 3H, 14, $J = 6,8$ Hz).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): δ 153,91 (2), 132,17 (10), 131,62 (12), 126,69 (4), 112,52 (1), 112,11 (13), 105,52 (5), 100,57 (3), 55,83 (9), 48,94 (15), 40,96 (7), 18,79 (14), 17,60 (6).

3.5. Sinteza 6-metoksi-1-metil-9H-pirido[3,4-b]indola (12)

Suspencija spoja **11** (0,100 g, 0,303 mmol), litijevo karbonata (0,045 g, 0,606 mmol) i 10 % Pd/C (0,012 g, 0,602 mmol) u EtOH (4 mL) miješana je u mikrovalnom reaktoru 20 minuta na 150 °C (150 W). Po završetku reakcije, reakcijska smjesa je ohlađena na sobnu temperaturu te filtrirana kroz sloj Celita. Filtrat je uparen pod sniženim tlakom, a ostatak nakon uparavanja rastrljan u 20 % vodenoj otopini NaCl. Nastali svijetlo žuti talog je odsisan, ispran vodom (2 × 10 mL) te prekrizaliziran iz dietil-etera.

Iskorištenje: 0,063 g (95 %).

t_f 207 °C (raspad).

ESI-MS (m/z) 213,1 (M+1)⁺.

IR (KBr): ν_{\max} 3746, 3454, 3142, 3078, 2960, 2884, 2786, 2608, 2516, 2434, 2362, 2280, 2040, 1882, 1778, 1696, 1632, 1598, 1566, 1496, 1464, 1436, 1398, 1338, 1290, 1214, 1176, 1120, 1068, 1022, 980, 946, 880, 826, 746, 692, 620, 572 cm⁻¹.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm, *J*/Hz): δ 11,35 (s, 1H, 10), 8,15 (d, 1H, 7, *J* = 5,4 Hz), 7,89 (d, 1H, 6, *J* = 5,3 Hz), 7,73 (d, 1H, 3, *J* = 2,5 Hz), 7,50 (d, 1H, 12, *J* = 8,8 Hz), 7,17 (dd, 1H, 1, *J* = 8,9, 2,6 Hz), 3,85 (s, 3H, 14), 2,74 (s, 3H, 13).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm, *J*/Hz): δ 153,25 (2), 142,17 (8), 136,89 (7), 135,18 (11), 135,04 (9), 126,68 (4), 121,36 (5), 117,81 (6), 112,72 (1), 112,64 (12), 103,48 (3), 55,56 (14), 20,39 (13).

3.6. Sinteza 1-metil-9H-pirido[3,4-b]indol-6-ola (13)

Smjesa spoja **12** (0,100 g, 0,471 mmol), 47 % bromovodične kiseline (2 mL) i koncentrirane octene kiseline (2,5 mL) miješana je u mikrovalnom reaktoru 30 minuta na 150 °C (150 W). Po završetku reakcije, reakcijska smjesa je ohlađena na sobnu temperaturu te je ekstrahirana etil-acetatom (3 × 40 mL) pri pH ≈ 12. Organski slojevi su sakupljeni, sušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtrirani te upareni pod sniženim tlakom. Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na koloni uz mobilnu fazu diklormetan/metanol (7,5:2,5). Rastrljavanjem u eteru dobiven je žuti talog spoja **13**.

Iskorištenje: 0,080 g (86 %).

t_r 213 °C (raspad).

ESI-MS (m/z): 199,2 (M+1)⁺.

IR (KBr): ν_{\max} 3796, 3728, 3676, 3380, 3062, 3026, 2924, 2850, 2680, 2602, 2506, 2364, 2330, 1878, 1848, 1762, 1734, 1640, 1576, 1516, 1458, 1428, 1376, 1296, 1264, 1192, 1128, 1030, 982, 952, 866, 806, 702, 622, 594 cm⁻¹.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm, *J*/Hz): δ 11,28 (s, 1H, 10), 9,15 (s, 1H, 14), 8,12 (d, 1H, 7, *J* = 5,4 Hz), 7,82 (d, 1H, 6, *J* = 5,4 Hz), 7,48 (d, 1H, 3, *J* = 2,4 Hz), 7,42 (d, 1H, 12, *J* = 8,7 Hz), 7,07 (dd, 1H, 11, *J* = 8,8, 2,4 Hz), 2,73 (s, 3H, 13).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm, *J*/Hz): δ 150,86 (2), 141,83 (8), 136,30 (7), 135,05 (11), 134,57 (9), 126,63 (4), 121,65 (5), 118,04 (6), 112,67 (1), 112,46 (12), 105,61 (3), 20,21 (13).

3.7. Sinteza 1- metil-6-(prop-2-in-1-iloksi)-9H-pirido[3,4-*b*]indola (14)

Otopini spoja **13** (0,2 g, 1,009 mmol) u bezvodnom DMF-u (5 mL) dodan je cezijev karbonat (0,460 g, 1,413 mmol) te je miješana 15 min pod atmosferom argona. Zatim je suspenziji dodana 80% otopina propargil-bromida u toluenu (0,144 mL, 1,211 mmol). Reakcijska smjesa miješana je 3 h na s.t. pod atmosferom argona, a potom dodana u vodu (50 mL). Smjesa je ekstrahirana etil-acetatom (3 × 30 mL), organski spojevi sakupljeni, isprani vodom (2 × 30 mL), sušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom te upareni pod sniženim tlakom. Nakon pročišćavanja kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu diklormetan/metanol (9,7:0,3 i 9,5:0,5) te rastrljavanja u eteru dobiven je sivo-zeleni talog spoja **14**.

Iskorištenje: 0,121 g (50,9 %).

t_r 175,5 – 177,5 °C.

ESI-MS (m/z) 137,1 (M+1)⁺.

IR (KBr): ν_{\max} 3292, 3122, 3054, 2950, 2860, 2766, 2716, 2366, 2330, 2128, 2058, 1866, 1764, 1736, 1606, 1570, 1506, 1476, 1448, 1412, 1380, 1334, 1292, 1260, 1200, 1120, 1068, 1030, 986, 944, 914, 866, 818,758, 646, 524 cm⁻¹.

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): δ 11,41 (s, 1H, 10), 8,17 (d, 1H, 7, $J = 5,4$ Hz), 7,87 (d, 1H, 6, $J = 5,3$ Hz), 7,81 (d, 1H, 3, $J = 2,5$ Hz), 7,52 (d, 1H, 12, $J = 8,9$ Hz), 7,23 (dd, 1H, 1, $J = 8,8, 2,5$ Hz), 4,87 (d, 2H, 1', $J = 2,4$ Hz), 3,56 (t, 1H, 3', $J = 2,4$ Hz), 2,75 (s, 3H, 13).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): δ 151,08 (2), 142,25 (8), 137,02 (7), 135,66 (11), 135,11 (9), 126,62 (4), 121,26 (5), 118,33 (6), 112,71 (1), 112,61 (12), 105,61 (3), 79,68 (3'), 78,03 (2'), 56,25 (1'), 20,39 (13).

3.8. Sinteza harmicina (15-18)

Opća metoda:

Spoj **14** (0,050 g, 0,212 mmol) otopljen je u metanolu (5 mL) te je dodan bakrov (II) acetat (*q.s.*, vrh špatule). Reakcijska je smjesa miješana na s.t. te je nakon 15 minuta dodana otopina odgovarajućeg azida **7-10** u metanolu (0,254 mmol). Reakcijska smjesa je miješana preko noći na s.t. nakon čega je uparena do suha. Nakon pročišćavanja kromatografijom na koloni uz dodatak Al_2O_3 te rastrljavanja u eteru dobiveni su derivati **15-18**.

3.8.1. (*E*)-6-((1-cinamil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (15)

Količina spoja **7**: 0,040 g.

Iskorištenje: 0,059 g (70 %).

t_t 205-206,5 °C.

ESI-MS (m/z) 396,3 (M+1).

IR (KBr) ν_{max} 3992, 3950, 3898, 3776, 3734, 3442, 3332, 3220, 3136, 3060, 3032, 2986, 2948, 2860, 2778, 2706, 2368, 2332, 1604, 1574, 1500, 1462, 1410, 1334, 1288, 1202, 1126, 1060, 1004, 970, 858, 816, 756, 726, 696, 624 cm^{-1} .

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,39 (s, 1H, 10), 8,30 (s, 1H, 3'), 8,16 (d, 1H, 7, $J = 5,3$ Hz), 7,90 (d, 2H, 6, 3, $J = 7,2$ Hz), 7,51 (d, 1H, 12, $J = 8,8$ Hz), 7,43 (d, 2H, 8', 12', $J = 7,5$ Hz), 7,37 – 7,19 (m, 4H, 1, 9', 10', 11'), 6,63 (d, 1H, 6', $J = 15,9$ Hz), 6,56-6,50 (m, 1H, 5'), 5,26 (s, 2H, 1'), 5,21 (d, 2H, 4', $J = 6,2$ Hz), 2,74 (s, 3H, 13).

^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ 151,93 (2), 143,25 (2'), 142,21 (8), 136,97 (7), 135,69 (11), 135,41 (7'), 135,09 (9), 133,61(5'), 128,67 (8', 9'), 128,13 (10'), 126,69 (4), 126,55 (11', 12'), 124,42 (3'), 123,71 (6'), 121,35 (5), 118,34 (6), 112,75 (1), 112,68 (12), 105,11(3), 61,88 (1'), 51,33 (4'), 20,41 (13).

3.8.2. (E)-6-((1-(3-(3-bromofenil)alil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-1-metil-9H-pirido[3,4-b]indol (16)

Količina spoja **8**: 0,060 g.

Iskorištenje: 0,051 g (50 %).

t_r 181,5-183 °C.

ESI-MS (m/z) 474,4 (M+1), 476,2 (M+1).

IR (KBr) ν_{max} 3970, 3936, 3880, 3816, 3770, 3692, 3580, 3246, 3124, 3060, 3018, 2958, 2614, 2584, 2520, 2394, 2052, 1690, 1580, 1472, 1402, 1330, 1288, 1202, 1126, 1056, 1008, 978, 854, 808, 734, 674, 622, 514 cm^{-1} .

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,40 (s, 1H, 10), 8,31 (s, 1H, 3'), 8,16 (d, 1H, 7, $J = 5,4$ Hz), 7,90 (m, 2H, 6, 3), 7,70 (d, 1H, 8', $J = 2,0$ Hz), 7,51 (d, 1H, 12, $J = 8,8$ Hz), 7,49 – 7,41 (m, 2H, 10', 12'), 7,29 (t, 1H, 11', $J = 7,9$ Hz), 7,24 (dd, 1H, 1, $J = 8,8, 2,5$ Hz), 6,62 (d, 2H, 6', 5', $J = 3,6$ Hz), 5,25 (s, 2H, 1'), 5,21 (d, 2H, 4', $J = 4,6$ Hz), 2,74 (s, 3H, 13).

^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ 151,97 (2), 143,27 (2'), 142,19 (8), 138,29 (7'), 136,88 (7), 135,45 (11), 135,08 (9), 132,02 (5'), 130,76 (8', 10'), 129,04 (11'), 126,74 (4), 125,66 (12'), 124,46 (3'), 122,16 (9'), 121,35 (5), 118,39 (6), 112,77 (1), 112,70 (12), 105,09 (3), 61,90 (1'), 51,19 (4'), 20,36 (13).

3.8.3. (E)-6-((1-(3-(3-fluorofenil)alil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-1-metil-9H-pirido[3,4-b]indol (17)

Količina spoja **9**: 0,045 g.

Iskorištenje: 0,039 g (44 %).

t_r 145-147 °C.

ESI-MS (m/z) 414,2 (M+1).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,41 (s, 1H, 10), 8,31 (s, 1H, 3'), 8,16 (d, 1H, 7, $J = 5,4$ Hz), 7,92 – 7,90 (m, 2H, 6, 3), 7,51 (d, 1H, 12, $J = 8,8$ Hz), 7,39 – 7,33 (m, 2H, 11', 12'), 7,27 – 7,23 (m, 2H, 1, 10'), 7,13 – 7,08 (m, 1H, 8'), 6,63 – 6,62 (m, 2H, 5', 6'), 5,26 (s, 2H, 1'), 5,22 (dd, 2H, 4', $J = 3,4, 1,5$ Hz), 2,75 (s, 3H, 13).

^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ 163,69, 161,27 (d, 9', $J = 243,1$ Hz), 151,96 (2), 143,25 (2'), 142,15 (8), 138,39, 138,31 (d, 7', $J = 7,9$ Hz), 136,79 (7), 135,47 (11), 135,06 (9), 132,33 (5'), 130,61, 130,52 (d, 11', $J = 8,5$ Hz), 126,77 (4), 125,49 (12'), 124,45 (3'), 122,99 (6'), 121,33 (5), 118,41 (6), 114,90, 114,69 (d, 10', $J = 21,3$ Hz), 112,87, 112,86 (d, 8', $J = 22,2$ Hz), 112,76 (1), 112,70 (12), 105,10 (3), 64,90 (1'), 51,15 (4'), 20,31 (13).

3.8.4. (*E*)-6-((1-(3-(4-klorofenil)alil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (18)

Količina spoja **10**: 0,049 g.

Iskorištenje: 0,046 g (51 %).

t_f 195-196,5 °C.

ESI-MS (m/z) 430,4 (M+1).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,39 (s, 1H, 10), 8,30 (s, 1H, 3'), 8,16 (d, 1H, 7, $J = 5,3$ Hz), 7,91 – 7,89 (m, 2H, 6, 3), 7,51 (d, 1H, 12, $J = 8,8$ Hz), 7,47 – 7,36 (m, 4H, 8', 9', 11', 12'), 7,24 (dd, 1H, 1, $J = 8,9, 2,5$ Hz), 6,64 – 6,53 (m, 2H, 5', 6'), 5,26 (s, 2H, 1'), 5,21 (d, 2H, 4', $J = 5,1$ Hz), 2,74 (s, 3H, 13).

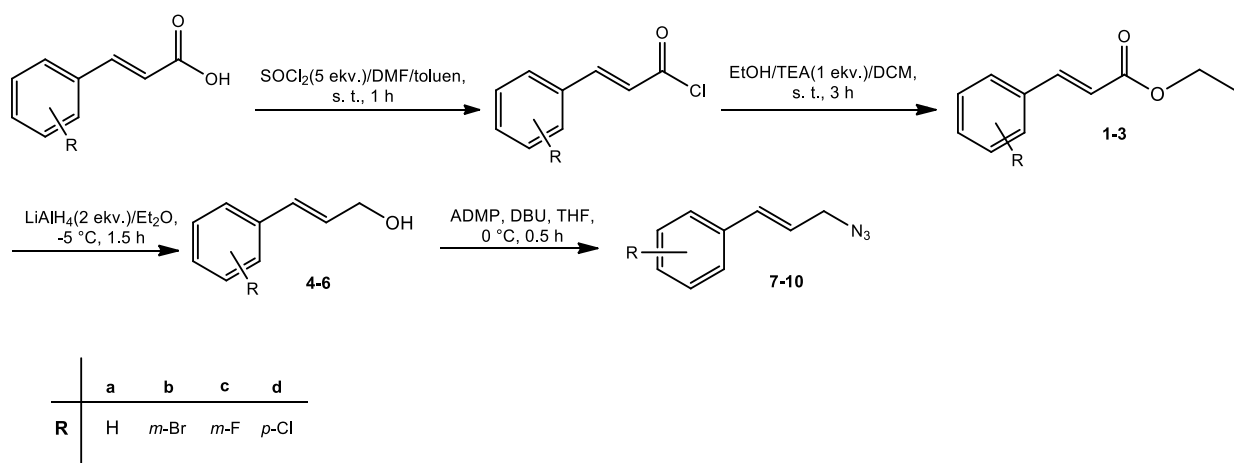
^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ 151,92 (2), 143,26 (2'), 142,21 (8), 136,97 (7), 135,43 (11), 135,09 (9), 134,67 (7'), 132,50 (10'), 132,22 (5'), 128,64 (8', 12'), 128,27 (9', 11'), 126,70 (4), 124,76 (3'), 124,47 (6'), 121,35 (5), 118,37 (6), 112,75 (1), 112,72 (12), 105,14 (3), 61,88 (1'), 51,22 (4'), 20,40 (13).

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Sinteza harmicina 15-18

U ovom radu sintetizirana su 4 nova hibridna spoja β -karbolina i CAD, povezana 1,2,3-*H*-triazolom, kao i prekursori potrebni za njihovu sintezu, cimetni azidi **7-10** i alkin β -karbolina **14**.

Cimetni azidi sintetizirani su u 4 reakcijska koraka (Shema 1). U prvom koraku reakcijom odgovarajućeg CAD i tionil-klorida uz DMF kao katalizator u suhom toluenu nastaju kiselinški kloridi, koji potom u reakciji s etanolom uz TEA u diklormetanu daju etilne estere **1-3**. Redukcijom estera s LiAlH_4 u suhom dietil-eteru nastaju primarni alkoholi **4-6**. Cimetni alkohol i pripravljeni alkoholi iskorišteni su za pripravu cimetnih azida **7-10**, u reakciji s ADMP uz DBU u THF-u.

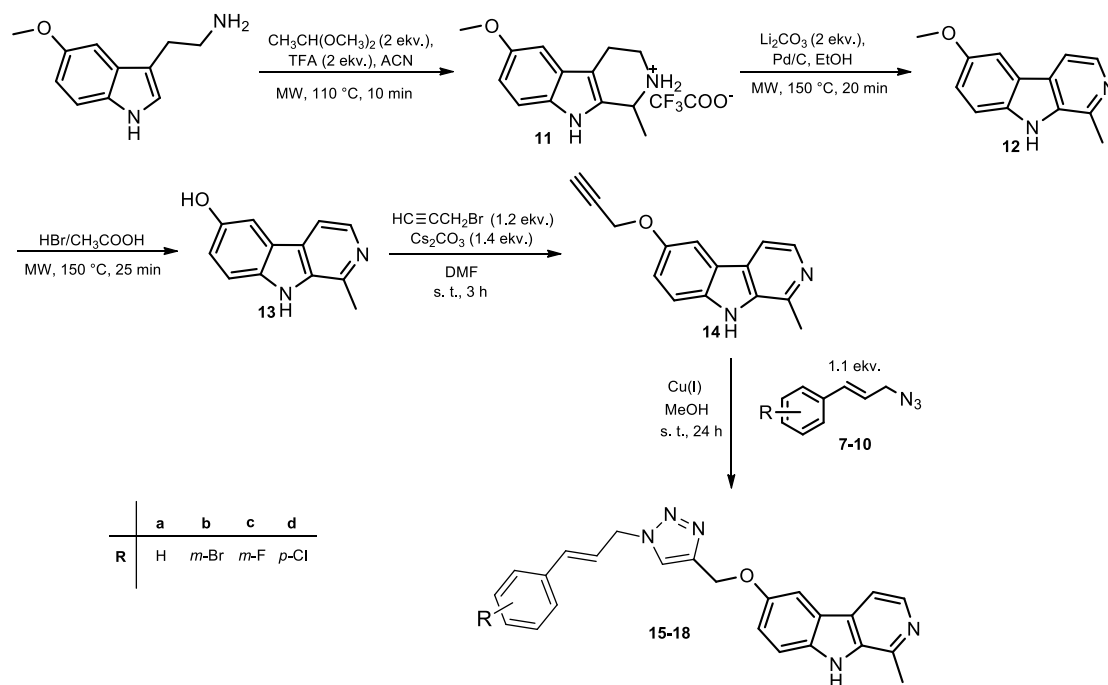


Shema 1. Sinteza cimetnih azida

Sinteza alkina u položaju C6 β -karbolinskog prstena započinje iz komercijalno dostupnog 5-metoksitriptamina. U prvom koraku dolazi do kondenzacije amina i acetaldehid-dimetil-acetala uz trifluoroctenu kiselinu u acetonitrilu te zatvaranja šesteročlanog prstena. Reakcija je poznata kao Pictet-Spenglerova kondenzacija. Nastali tetrahidro- β -karbolin se oksidira (aromatizira) uz Pd/C u EtOH, pri čemu nastaje odgovarajući β -karbolin. Slijedi kiselna hidroliza etera u položaju 6, što rezultira fenolom. U idućoj reakciji dolazi do alkiliranja fenola propargil bromidom uz bazu Cs_2CO_3 u suhom DMF-u pod atmosferom argona te nastaje željeni alkin.

Za povezivanje cimetnih azida **7-10** i β -karbolinskog alkina **14** u hibridne spojeve, harmicine **15-18**, korištena je bakrom(I) katalizirana azid-alkin cikloadicija, poznata kao „click“ kemija,

koja rezultira uvođenjem triazolskog prstena, bioizostera amidne skupine, u strukturu hibridnog spoja (Shema 2).



Shema 2. Sinteza harmicina **15-18**

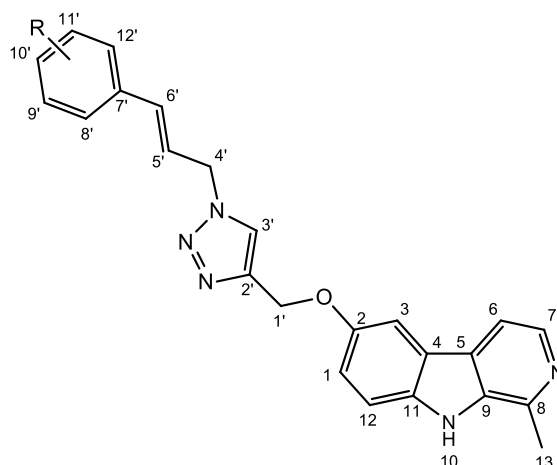
Pripremljeni harmicini **15-18** su u potpunosti analitički i spektroskopski karakterizirani (t_t , IR, ^1H i ^{13}C NMR). Dobiveni podaci dani su u Tablicama 5 i 6.

Tablica 5. Analitički i spektroskopski podaci za spojeve **15-18**.

Spoj	t_t (°C)	Molekulska formula	M_r	MS (m/z)	IR(KBr) ν_{\max} (cm $^{-1}$)
15	205-206,5	C ₂₄ H ₂₁ N ₅ O	395,46	396,3	3992, 3950, 3898, 3776, 3734, 3442, 3332, 3220, 3136, 3060, 3032, 2986, 2948, 2860, 2778, 2706, 2368, 2332, 1604, 1574, 1500, 1462, 1410, 1334, 1288, 1202, 1126, 1060, 1004, 970, 858, 816, 756, 726, 696, 624

16	181,5-183	C ₂₄ H ₂₀ BrN ₅ O	474,35	474,2 476,2	3970, 3936, 3880, 3816, 3770, 3692, 3580, 3246, 3124, 3060, 3018, 2958, 2614, 2584, 2520, 2394, 2052, 1690, 1580, 1472, 1402, 1330, 1288, 1202, 1126, 1056, 1008, 978, 854, 808, 734, 674, 622, 514
17	145-147	C ₂₄ H ₂₀ FN ₅ O	413,45	414,2	/
18	195-196,5	C ₂₄ H ₂₀ ClN ₅ O	429,91	430,4	/

Tablica 6. ¹H i ¹³C NMR spektroskopski podaci za spojeve **15-18**.



Spoj	R	¹ H NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , δ / ppm)	¹³ C NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , δ / ppm)
15	H	11,39 (s, 1H, 10), 8,30 (s, 1H, 3'), 8,16 (d, 1H, 7, <i>J</i> = 5,3 Hz), 7,90 (d, 2H, 6, 3, <i>J</i> = 7,2 Hz), 7,51 (d, 1H, 12, <i>J</i> = 8,8 Hz), 7,43 (d, 2H, 8', 12', <i>J</i> = 7,5 Hz), 7,37 – 7,19 (m, 4H, 1, 9', 10', 11'), 6,63 (d, 1H, 6', <i>J</i> = 15,9 Hz), 6,56-6,50 (m, 1H, 5'), 5,26 (s, 2H, 1'), 5,21 (d, 2H, 4', <i>J</i> = 6,2 Hz), 2,74 (s, 3H, 13)	151,93 (2), 143,25 (2'), 142,21 (8), 136,97 (7), 135,69 (11), 135,41 (7'), 135,09 (9), 133,61(5'), 128,67 (8', 9'), 128,13 (10'), 126,69 (4), 126,55 (11', 12'), 124,42 (3'), 123,71 (6'), 121,35 (5), 118,34 (6), 112,75 (1), 112,68 (12), 105,11(3), 61,88 (1'), 51,33 (4'), 20,41 (13)
16	<i>m</i> -Br	11,40 (s, 1H, 10), 8,31 (s, 1H, 3'), 8,16 (d, 1H, 7, <i>J</i> = 5,4 Hz), 7,90 (m, 2H, 6, 3), 7,70 (d, 1H, 8', <i>J</i> = 2,0 Hz), 7,51 (d, 1H, 12, <i>J</i> = 8,8	151,97 (2), 143,27 (2'), 142,19 (8), 138,29 (7'), 136,88 (7), 135,45 (11), 135,08 (9), 132,02 (5'), 130,76 (8', 10'), 129,04 (11'),

		Hz), 7,49 – 7,41 (m, 2H, 10', 12'), 7,29 (t, 1H, 11', $J = 7,9$ Hz), 7,24 (dd, 1H, 1, $J = 8,8, 2,5$ Hz), 6,62 (d, 2H, 6', 5', $J = 3,6$ Hz), 5,25 (s, 2H, 1'), 5,21 (d, 2H, 4', $J = 4,6$ Hz), 2,74 (s, 3H, 13)	126,74 (4), 125,66 (12'), 124,46 (3'), 122,16 (9'), 121,35 (5), 118,39 (6), 112,77 (1), 112,70 (12), 105,09 (3), 61,90 (1'), 51,19 (4'), 20,36 (13)
17	<i>m</i> -F	11,41 (s, 1H, 10), 8,31 (s, 1H, 3'), 8,16 (d, 1H, 7, $J = 5,4$ Hz), 7,92 – 7,90 (m, 2H, 6, 3), 7,51 (d, 1H, 12, $J = 8,8$ Hz), 7,39 – 7,33 (m, 2H, 11', 12'), 7,27 – 7,23 (m, 2H, 1, 10'), 7,13 – 7,08 (m, 1H, 8'), 6,63 – 6,62 (m, 2H, 5', 6'), 5,26 (s, 2H, 1'), 5,22 (dd, 2H, 4', $J = 3,4, 1,5$ Hz), 2,75 (s, 3H, 13)	163,69, 161,27 (d, 9', $J = 243,1$ Hz), 151,96 (2), 143,25 (2'), 142,15 (8), 138,39, 138,31 (d, 7', $J = 7,9$ Hz), 136,79 (7), 135,47 (11), 135,06 (9), 132,33 (5'), 130,61, 130,52 (d, 11', $J = 8,5$ Hz), 126,77 (4), 125,49 (12'), 124,45 (3'), 122,99 (6'), 121,33 (5), 118,41 (6), 114,90, 114,69 (d, 10', $J = 21,3$ Hz), 112,87, 112,86 (d, 8', $J = 22,2$ Hz), 112,76 (1), 112,70 (12), 105,10 (3), 64,90 (1'), 51,15 (4'), 20,31 (13)
18	<i>p</i> -Cl	11,39 (s, 1H, 10), 8,30 (s, 1H, 3'), 8,16 (d, 1H, 7, $J = 5,3$ Hz), 7,91 – 7,89 (m, 2H, 6, 3), 7,51 (d, 1H, 12, $J = 8,8$ Hz), 7,47 – 7,36 (m, 4H, 8', 9', 11', 12'), 7,24 (dd, 1H, 1, $J = 8,9, 2,5$ Hz), 6,64 – 6,53 (m, 2H, 5', 6'), 5,26 (s, 2H, 1'), 5,21 (d, 2H, 4', $J = 5,1$ Hz), 2,74 (s, 3H, 13)	151,92 (2), 143,26 (2'), 142,21 (8), 136,97 (7), 135,43 (11), 135,09 (9), 134,67 (7'), 132,50 (10'), 132,22 (5'), 128,64 (8', 12'), 128,27 (9', 11'), 126,70 (4), 124,76 (3'), 124,47 (6'), 121,35 (5), 118,37 (6), 112,75 (1), 112,72 (12), 105,14 (3), 61,88 (1'), 51,22 (4'), 20,40 (13)

4.2. Procjena svojstava sličnih lijekū (engl. „*drug-like*“)

Lijek djeluje na biološki sustav i *vice versa*. Djelovanjem na biološki sustav lijek može ostvariti farmakološki i/ili toksični učinak. Djelovanje biološkog sustava na lijek proučava farmakokinetika. Farmakokinetički procesi su apsorpcija, distribucija, metabolizam i eliminacija (ADME). Bez obzira na aktivnost ili specifičnost djelovanja koju neka tvar posjeduje, ne možemo je smatrati lijekom ukoliko se ona ne može apsorbirati te distribuirati do ciljnog mjesta djelovanja u organizmu, metabolizirati na način da se njena aktivnost odmah ne izgubi te izlučiti iz organizma (Hodgson, 2001.).

Većina novootkrivenih molekulskih entiteta su lipofilni spojevi velike molekulske mase koji spadaju u klasu II biofarmaceutskog sustava klasifikacije (BCS). BCS klasa II obuhvaća slabo topljive i dobro permeabilne lijekove. Da bi lijek bio klinički koristan, on mora ispoljavati

farmakološko djelovanje na ciljne mete u organizmu i imati zadovoljavajući farmakokinetički profil. Zbog toga su razvijeni različiti modeli za procjenu tzv. svojstava sličnih lijekova u svrhu predviđanja oralne bioraspoloživosti molekule na temelju njene strukture i fizikalno-kemijskih svojstava. Među najpoznatijim pravilima je tzv. Lipinskijevo pravilo pet (engl. „*Lipinski's rule of five*“) (Lipinski, 2004, 2000; Lipinski i sur., 1997). Luzina i Popov predložili su 2012. godine Gelovanijeva pravila (Luzina i Popov, 2012), a Veber i suradnici pravila koja uzimaju u obzir fleksibilnost i polarnost molekule (Veber i sur., 2002)

Lipinskijeva pravila zahtijevaju da molekula ima $M_r \leq 500$, $\log P \leq 5$, broj donora vodikove veze ≤ 5 , broj akceptora vodikove veze ≤ 10 (Lipinski, 2004, 2000; Lipinski i sur., 1997). Gelovanijeva pravila postavljaju zahtjev da topološka polarna površina (TPSA) bude manja od 140 \AA^2 , moralna refraktivnost (MR) između 40 i $130 \text{ cm}^3/\text{mol}$ te broj atoma u molekuli od 20 do 70 (Luzina i Popov, 2012).

Veberova pravila zahtijevaju da molekula ima polarnu površinu manju od 140 \AA^2 i 10 ili manje veza koje mogu slobodno rotirati ili manje od 12 donora i akceptora vodikove veze te polarnu površinu manju od 140 \AA^2 (Veber i sur., 2002).

Sintetizirani spojevi **15-18** u potpunosti odgovaraju Lipinskijevim, Gelovanijevim i Veberovim pravilima što ih čini dobrim kandidatima za daljnji razvoj novih antimalarika (Tablice 7 i 8).

Tablica 7. Parametri uključeni u Lipinskijeva pravila za spojeve **15-18**

Spoj	Molekulska formula	M_r	$\log P^a$	donori H-veze	akceptori H-veze	Lipinski ^b
15	$\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}$	395,46	3,91	1	4	4/4
16	$\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{BrN}_5\text{O}$	474,35	4,60	1	4	4/4
17	$\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{FN}_5\text{O}$	413,45	4,25	1	5	4/4
18	$\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{ClN}_5\text{O}$	429,91	4,46	1	4	4/4

^a $\log P$ – srednja vrijednost $\log P_{o/w}$ izračunata programom *SwissAdme*;

^b Lipinski – broj parametara (od ukupno 4) koji odgovaraju Lipinskijevim pravilima

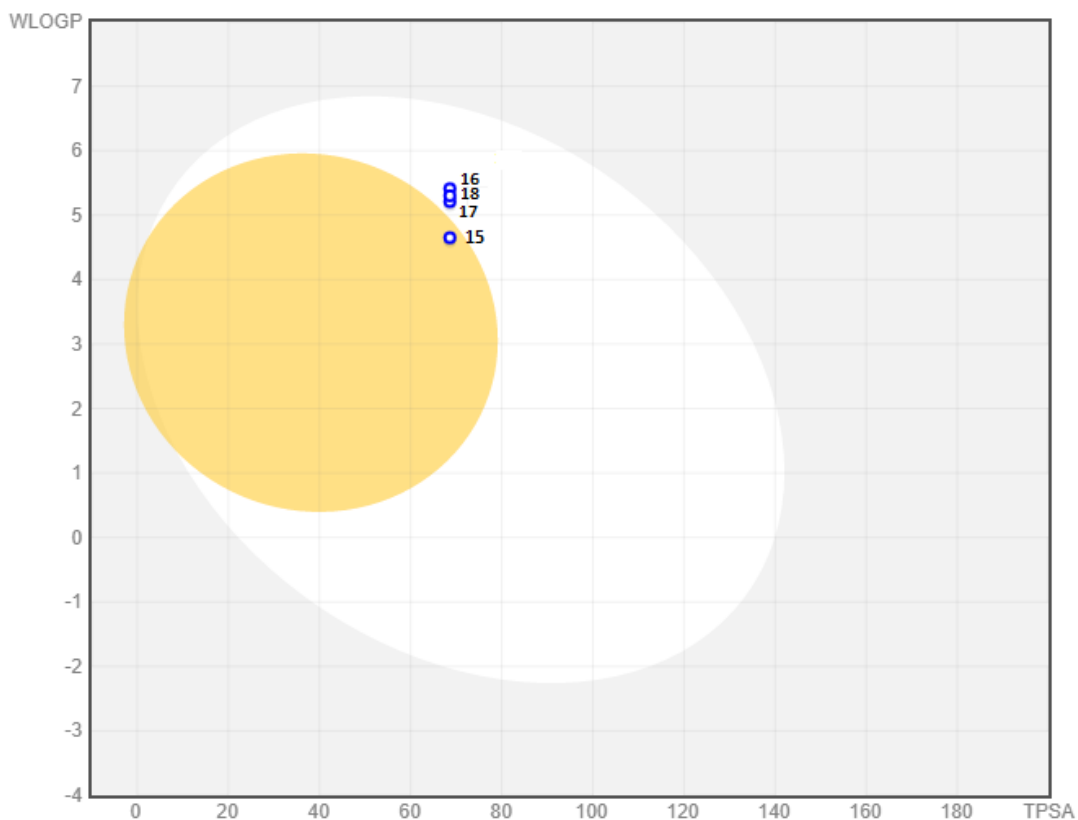
Tablica 8. Parametri uključeni u Gelovanijeva i Veberova pravila za spojeve **15-18**

Spoj	15	16	17	18
Molekulska formula	C ₂₄ H ₂₁ N ₅ O	C ₂₄ H ₂₁ BrN ₅ O	C ₂₄ H ₂₁ FN ₅ O	C ₂₄ H ₂₁ ClN ₅ O
<i>M_r</i>	395,46	474,35	413,45	429,90
MR^a (cm³/mol)	128,65	136,27	128,87	133,46
TPSA^b (Å²)	68,62	68,62	68,62	68,62
broj donora i akceptora H-veze	5	5	5	5
broj rotirajućih veza	6	6	6	6
Gelovani^c	+	+	+	+
Veber^d	+	+	+	+

^a MR – molekularna refraktivnost; ^b TPSA – topološka polarna površina; ^c slaganje s Gelovanijevim pravilima; ^d slaganje s Veberovim pravilima

Alatom *SwissAdme* kreiran je tzv. *Boiled-Egg* dijagram. Njime se istovremeno predviđaju dva ključna ADME parametra, a to su pasivna apsorpcija u gastrointestinalnom traktu i prolazak krvno moždane barijere. Žuto obojena zona predstavlja „žumanjak jajeta“ i obuhvaća molekule koje pasivno prelaze krvno-moždanu barijeru. Bijela zona simbolizira „bjelanjak“ i obuhvaća molekule koje se pasivno apsorbiraju iz probavnog trakta. Vanjska siva regija označava molekule kojima se predviđa niska apsorpcija i ograničen prelazak krvno moždane barijere. Dodatno, molekule označene plavim krugom su supstrati P-glikoproteina, dok one označene crvenim krugom nisu podložne efluksu od strane P-glikoproteina (Slika 20) (Daina i sur., 2017).

Spojevi **16, 17 i 18** pasivno se apsorbiraju u gastrointestinalnom traktu, a spoj **15** pasivno prelazi krvno moždanu barijeru. Spojevi **15-18** su potencijalni supstrati P-glikoproteina zaslužnog za eliminaciju lijekova iz središnjeg živčanog sustava.



Slika 20. *Boiled-Egg* dijagram za spojeve **15-18** kreiran alatom *SwissAdme* (Daina i sur., 2017)

Uz *Boiled-Egg* dijagram, alatom *SwissAdme* (<http://www.swissadme.ch/>) kreiran je i *Bioavailability radar* za procjenu oralne bioraspodivnosti molekule, koji uzima u obzir šest parametara:

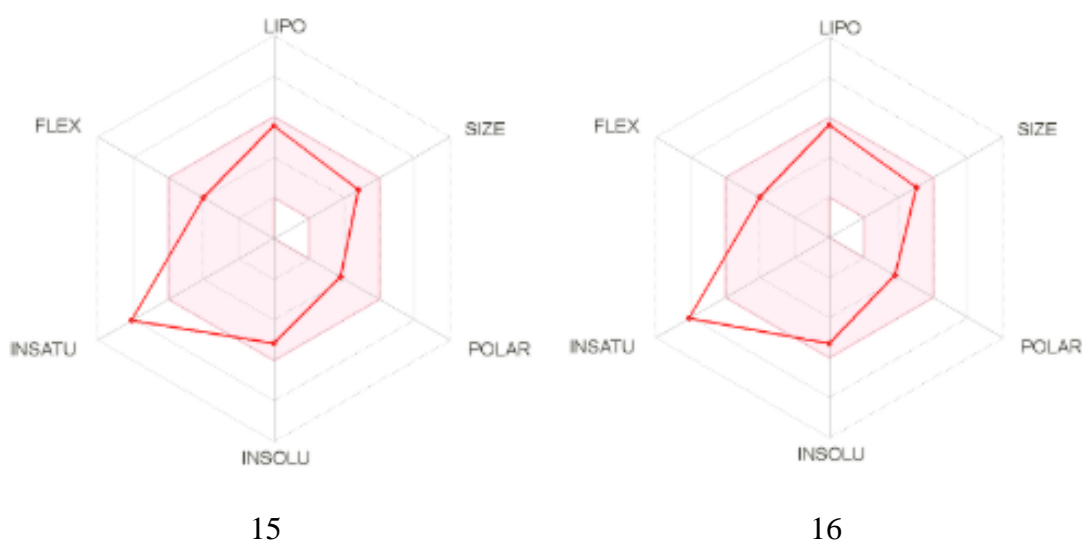
- I. veličina, izražena kao molekulska masa, mora biti između 150 i 500
- II. lipofilnost, izražena kao XLOGP329, mora biti između -0,7 i +5,0
- III. polarnost, izražena kao TPSA, mora biti između 20 \AA^2 i 140 \AA^2
- IV. netopljivost, izražena kao $\log S$ (ESOL), mora biti između 0 i 6
- V. nezasićenost, izražena kao udio sp^3 hibridiziranih atoma, mora biti između 0,25 i 1
- VI. fleksibilnost, izražena kao broj veza koje mogu rotirati, mora biti između 0 i 9

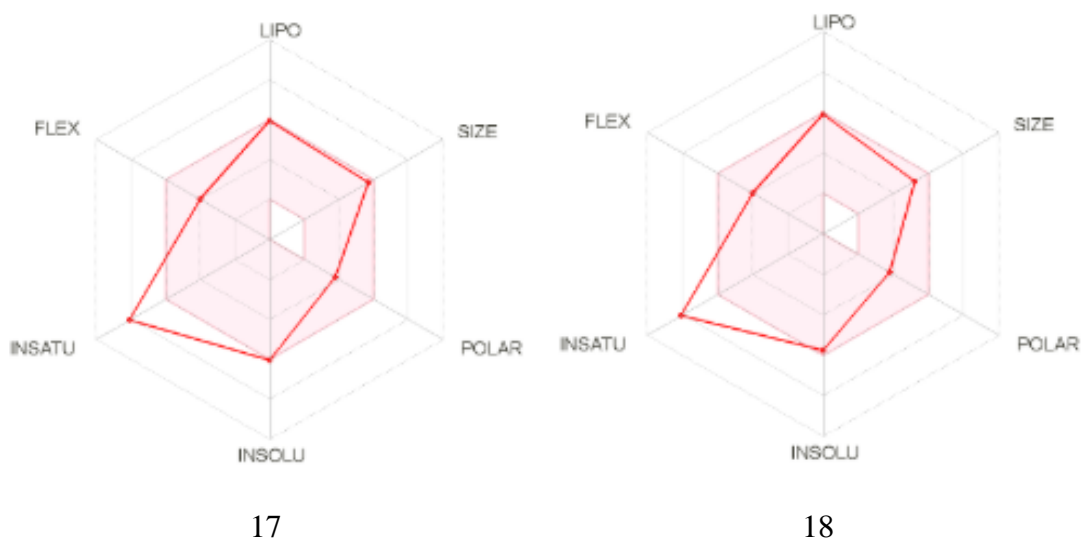
Vrijednosti parametara za sintetizirane spojeve **15-18** dane su u Tablici 9, a grafički prikaz alata *Bioavailability radar* na Slici 21.

Tablica 9. Vrijednosti parametara za *Bioavailability radar* za spojeve **15-18** izračunatih alatom *SwissAdme* (<http://www.swissadme.ch/>)

Spoj	XLOGP ^a	M_r	TPSA	$\log S^b$	FCsp3 ^c	Broj rotirajućih veza
15	4,22	395,46	68,62	-5,15	0,12	6
16	4,91	474,35	68,62	-6,05	0,12	6
17	4,32	413,45	68,62	-5,30	0,12	6
18	4,85	420,90	68,62	-5,74	0,12	6

^a XLOGP3 – $\log P$ izračunat računalnim programom XLOGP (verzija 3.2.2); ^b $\log S$ – logaritam topljivosti u vodi izračunat računalno ESOL metodom; ^c FCsp3 – udio *sp*3 hibridiziranih C atoma u molekuli





Slika 21. Grafički prikaz rezultata *Bioavailability Radar* alata za spojeve **15-18**

Da bi svojstva novosintetiziranih spojeva bila karakterizirana kao svojstva slična lijeku, crvena linija na grafičkom prikazu *Bioavailability Radar* alata mora biti u potpunosti smještena unutar ružičastog područja. Bilo kakva devijacija predstavlja suboptimalno fizikalno-kemijsko svojstvo za oralnu bioraspoloživost (Daina i sur., 2017). Sintetizirani spojevi pokazuju odstupanje parametra nezasićenosti. Dakle, udio sp^3 hibridiziranih atoma je manji od zahtjeva, što znači da bi povećanjem udjela zasićenih veza u molekuli postigli optimalna svojstva lijeka prema alatu *Bioavailability Radar*. Lipofilnost, veličina, polarnost, netopljivost i fleksibilnost spojeva **15-18** su unutar granica.

Osim što predviđa oralnu bioraspoloživost potencijalnog lijeka, distribuciju prelaskom krvno moždane barijere i eliminaciju putem P-glikoproteina, program *SwissAdme* služi i kao prediktor metabolizma novosintetiziranih spojeva na način da ukazuje na potencijalnu inhibiciju različitih CYP enzima. Predviđena farmakokinetička svojstva spojeva **15-18** dana su u Tablici 10.

Tablica 10. Predviđena farmakokinetička svojstva spojeva **15-18** dobivena pomoću računalnog programa *SwissAdme* (<http://www.swissadme.ch/>)

Spoj	15	16	17	18
GI ^a	visoka	visoka	visoka	visoka
KMB prolazak	+	-	-	-
P-gp ^b	+	+	+	+
CYP1A2 inhibitor	+	+	-	+
CYP2C19 inhibitor	+	+	+	+
CYP2C9 inhibitor	+	+	+	+
CYP2D6 inhibitor	+	+	+	+
CYP3A4 inhibitor	+	+	+	+
$\log K_p$ (cm/s) ^c	-5,75	-5,71	-5,72	-5,48

^a GI – apsorpcija u gastrointestinalnom traktu na temelju *Boiled Egg* dijagrama; ^b P-gp – P-glikoprotein;

^c $\log K_p$ – mjera permeabilnosti kroz kožu izračunata prema QSPR

Na temelju podataka dobivenih programom *SwissAdme* zaključujemo kako spojevi **15-18** imaju visoki potencijal gastrointestinalne apsorpcije te su potencijalni supstrati P-glikoproteina. Krvno-moždanu barijeru prelazi samo spoj **15**. Spojevi **16-18** potencijalno inhibiraju CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 i CYP3A4 enzime. Iznimka je spoj **16** koji inhibira sve navedene enzime osim CYP1A2.

5. ZAKLJUČAK

U okviru ovog diplomskog rada provedena je sinteza i karakterizacija hibridnih derivata β -karbolina i CAD. Sintetizirani su sljedeći spojevi:

- (E)-6-((1-cinamil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (**15**)
- (E)-6-((1-(3-(3-bromofenil)alil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (**16**)
- (E)-6-((1-(3-(3-fluorofenil)alil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (**17**)
- (E)-6-((1-(3-(4-klorofenil)alil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (**18**)

Standardnim analitičkim i spektroskopskim metodama (IR, ^1H i ^{13}C NMR, MS) potvrđena je struktura sintetiziranih spojeva te su im određena tališta. Utvrđeno je da svi spojevi (**15-18**) zadovoljavaju Lipinskijeva, Gelovanijeva i Veberova pravila i stoga predstavljaju dobre kandidate za razvoj novih vodećih spojeva u borbi protiv malarije. Računalnim alatom *SwissAdme* provedena je predikcija farmakokinetičkih svojstava, prema kojoj su svi novosintetizirani spojevi dobre oralne biorasploživosti. Spoj **15** pasivno prelazi KMB, dok su spojevi **15-18** potencijalni supstrati P-glikoproteina. U daljnjim istraživanjima, koja prelaze okvire ovoga diplomskog rada, bit će ispitan biološki učinak pripremljenih spojeva.

6. LITERATURA

Bank BB, Kanganis D, Liebes LF, Silber R. Chlorambucil pharmacokinetics and DNA binding in chronic lymphocytic leukemia lymphocytes. *Cancer Res*, 1989, 49, 554-559.

Banisteriopsis caapi, https://en.wikipedia.org/wiki/Banisteriopsis_caapi, pristupljeno 17.03.2020.

Beale JM, Block JH. Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry 12th Edition. Lippincott Williams & Wilkins, 2011, 372.

Biffinger JC, King HW, DiMugno SG. The Polar Hydrophobicity of Fluorinated Compounds. *ChemBioChem*, 2004, 5, 622-627.

Cao R, Peng W, Wang Z, Xu A. Beta-Carboline Alkaloids: Biochemical and Pharmacological Functions. *Curr Med Chem*, 2007, 14, 479-500.

Chemicalize, <https://chemicalize.com/#/calculation>, pristupljeno 12.01.2020.

Clark T, Hennemann M, Murray JS, Politzer P. Halogen Bonding: The σ -Hole. *J Mol Model*, 2007, 13, 291-296.

Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep*, 2017, 7, 3-8.

Desiraju GR, Ho PS, Kloo L, Legon AC, Marquardt R, Metrangolo P, Politzer P, Resnati G, Rissanen K. Definition of the halogen bond (IUPAC Recommendations 2013). *Pure Appl Chem*, 2013, 85, 1711-1713.

Di Antonio M, McLuckie KIE, Balasubramanian S. Reprogramming the mechanism of action of chlorambucil by coupling to a G-Quadruplex ligand. *J Am Chem Soc* 2014, 136, 5860-5863.

Ford MC, Ho PS. Computational tools to model halogen bonds in medicinal chemistry. *J Med Chem*, 2016, 59, 1655-1670.

Gál B, Bucher C, Burns NZ. Chiral Alkyl Halides: Underexplored Motifs in Medicine. *Mar Drugs*, 2016, 1-11.

Gale EF, Cundliffe E, Reynolds PE, Richmond MH, Waring MJ. The Molecular Basis of Antibiotic Action, 2nd Edition. John Wiley & Sons: New York, 1981, 478-480.

Gillis EP, Eastman KJ, Hill MD, Donnelly DJ, Meanwell NA. Applications of Fluorine in Medicinal Chemistry. *J Med Chem*, 2015, 8328.

Gribble GW. The Diversity of Naturally Produced Organohalogens. *Chemosphere*, 2003, 52, 289-297.

Hernandes MZ, Calvacanti SMT, Moreira DRM, Filgueira de Azevedo Junior W, Lina Leite AC. Halogen Atoms in the Modern Medicinal Chemistry: Hints for the Drug Design. *Current Drug Targets*, 2010, 303-314.

Halka M, Nordstrom B. Halogens and Noble Gases. *Facts On File*, 2010, 1-4.

Hodgson J. ADMET - Turning Chemicals into Drugs. *Nat Biotechnol*, 2001, 722-724.

Kohn KW, Hartley JA, Mattes WB. Mechanisms of DNA sequence selective alkylation of guanine-N7 positions by nitrogen mustards. *Nucleic Acids Res*, 1987, 15, 10531-10549.

Kosjek T, Heath E. Halogenated Heterocycles as Pharmaceuticals. Springer, 2012, 27, 219-246.

Kuo PC, Shi LS, Damu AG, Su CR, Huang CH, Ke CH, Wu JB, Lin AJ, Bastow KF, Lee KH, Wu TS. Cytotoxic and Antimalarial β -Carboline Alkaloids from the Roots of *Eurycoma longifolia*. *J Nat Products*, 2003, 66 (10), 1324-1327.

Le Goffic F. Structure Activity Relationships in Lincosamide and Streptogramin Antibiotics. *J Antimicrob Chemother*, 1985, 16, 13-21.

Lemke TL, Williams DA, Roche VF. Foye's Principles of Medicinal Chemistry 6th Edition. Lippincott Williams & Wilkins, 2011, 96, 722, 1578, 1811, 1326-1329.

Lipinski CA. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discov Today Technol*, 2004, 1, 337-341.

Lipinski CA. Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2000, 44, 235-49.

Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev*, 1997, 23, 3-25.

Luzina EL, Popov AV. Synthesis, evaluation of anticancer activity and COMPARE analysis of N-bis(trifluoromethyl)alkyl-N'-substituted ureas with pharmacophoric moieties. *Eur J Med Chem*, 2012, 53, 364-373.

Mann DJ. Aziridinium Ion Ring Formation from Nitrogen Mustards: Mechanistic Insights from Ab Initio Dynamics. *J Phys Chem A*, 2010, 114(13), 4486-4493.

Mendez L, Henriquez G, Sirimulla S, Narayan M. Looking Back, Looking Forward at Halogen Bonding in Drug Discovery. *Molecules*, 2017, 1-15.

McMurry J. Fundamentals of Organic Chemistry, 7th Edition. Brooks/Cole, Cengage Learning, 2011, 244.

Murray JS, Lane P, Politzer P. A Predicted New Type of Directional Noncovalent Interaction. *Int J Quantum Chem*, 2007, 107, 2286-2292.

Murray JS, Lane P, Politzer P. Expansion of the σ -Hole Concept. *J Mol Model*, 2009, 15, 723-729.

O'Connor PM, Ferris DK, Pagano M, Draetta G, Pines J, Hunter T, Longo DL, Kohn KW. *J Biol. Chem.*, 1993, 268, 8298.

Patrick GL. An Introduction to Medicinal Chemistry 5th Edition. Oxford University Press, 2013, 533.

Peganum harmala, https://en.wikipedia.org/wiki/Peganum_harmala, pristupljeno 17.03.2020.

Pérez BC, Teixeira C, Figueiras M, Gut J, Rosenthal PJ, Gomes JRB, Gomes P. Novel cinnamic acid/4-aminoquinoline conjugates bearing non-proteinogenic amino acids: Towards the development of potential dual action antimalarials. *Eur J Med Chem*, 2012, 54, 887-899.

Perković I, Raić-Malić S, Fontinha D, Prudencio M, Pessanha de Carvalho L, Held J, Tandarić T, Vianello R, Zorc B, Rajić Z. Harmicines - harmine and cinnamic acid hybrids as novel antiplasmodial hits. *Eur J Med Chem*, 2020, 187: 111927-111943.

Pokorski JK, Smith LE. „Click“ Chemistry for Medicine and Biology. *Mol Pharmaceutics*, 2018 15 (8), 2891-2891.

Portieria hornemannii, <https://alchetron.com/Portieria>, pristupljeno 17.03.2020.

Povirk LF, Shuker DE. DNA damage and mutagenesis induced by nitrogen mustards. *Mutat Res* 1994, 318, 205-226.

Raić-Malić S, Mešćić A. Recent Trends in 1,2,3-Triazolo-nucleosides as Promising Anti-Infective and Anticancer Agents. *Curr Med Chem*, 2015, 22 (12), 1462-99.

Saha P, Debnath, C, Berube G. Steroid-Linked Nitrogen Mustards as Potential Anticancer Therapeutics: A Review. *J Steroid Biochem*, 2013, 137, 271-300.

Sasson Y. Formation of Carbon-Halogen Bonds (Cl,Br,I). Wiley, VCH, 2009, 1-12.

Schlosser M, Michel M. About the "physiological size" of fluorine substituents: comparison of sensorially active compounds with fluorine and methyl substituted analogues. *Tetrahedron* 1996, 52, 99-108.

Sharma P. Cinnamic acid derivatives: A new chapter of various pharmacological activities. *J Chem Pharm Res*, 2011, 3(2), 403-423.

Siegal G, Ab E, Schultz J. Integration of fragment screening and library design. *Drug Discovery Today*, 2007, 12, 1032-9.

Smith BR, Eastman CM, Njardarson JT. Beyond C, H, O, and N! Analysis of the Elemental Composition of U.S. FDA Approved Drug Architectures. *J Med Chem*, 2014, 57, 9764-9773.

SwissADME, 2019, <http://www.swissadme.ch>, pristupljeno 10.04.2020.

Veber DF, Johnson SR, Cheng HY, Smith BR, Ward KW, Kopple KD. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *J Med Chem*, 2002, 2615-2623.

Wilcken R, Zimmermann MO, Lange A, Joerger AC, Boeckler FM. Principles and Applications of Halogen Bonding in Medicinal Chemistry and Chemical Biology. *J Med Chem*, 2012, 1381.

Zorc B, Pavić K. Lijekovi s fluorom. *Farmaceutski glasnik* 74, 2018, 351-356.

Zorc B, Pavić K. Cimetna kiselina i njeni derivati. *Farmaceutski glasnik* 74, 2018, 418-419.

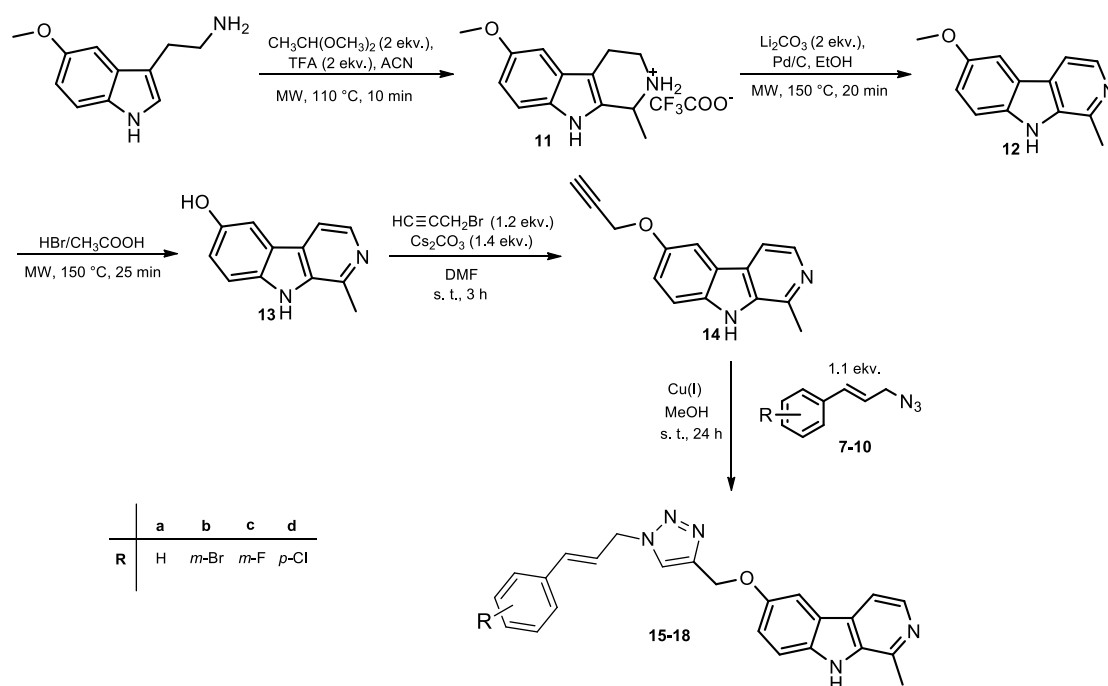
7. SAŽETAK/SUMMARY

U ovom radu sintetizirana su i strukturno karakterizirana četiri nova harmicina **15-18**, hibridna spoja β -karbolina i derivata cimetnih kiselina, povezana 1,2,3-*H*-triazolom, kao i prekursori potrebni za njihovu sintezu, cimetni azidi **7-10** i alkin β -karbolina **14**.

Cimetni azidi sintetizirani su iz odgovarajućeg CAD u 4 reakcijska koraka. U reakciji s tionil-kloridom nastali su kiselinski kloridi. Slijede esterifikacija i redukcija estera. Nastali primarni alkoholi s ADMP uz DBU u THF-u daju cimetne azide **7-10**.

Sinteza alkina u položaju C6 β -karbolinskog prstena započinje iz 5-metoksitriptamina Pictet-Spenglerovom kondenzacijom, nakon koje slijedi aromatizacija tetrahidro- β -karbolina. Nastali β -karbolin podvrgnut je kiseljoj hidrolozi uz nastanak fenola koji s propargil-bromidom daje alkin **14**.

Za povezivanje cimetnih azida **7-10** i β -karbolinskog alkina **14** u hibridne spojeve, harmicine **15-18**, korištena je bakrom(I) katalizirana azid-alkin cikloadicija koja rezultira uvođenjem triazolskog prstena, bioizostera amidne skupine, u strukturu hibridnog spoja.



Strukture sintetiziranih spojeva potvrđene su uobičajenim spektroskopskim/spektrometrijskim metodama (^1H i ^{13}C NMR, MS, IR). Sva četiri spoja zadovoljavaju Lipinskijeva i Veberova pravila, a dobru oralnu bioraspoloživost predviđa im i alat SwissADME. Sintetiziranim derivatima će u daljnjim istraživanjima biti ispitano biološko djelovanje.

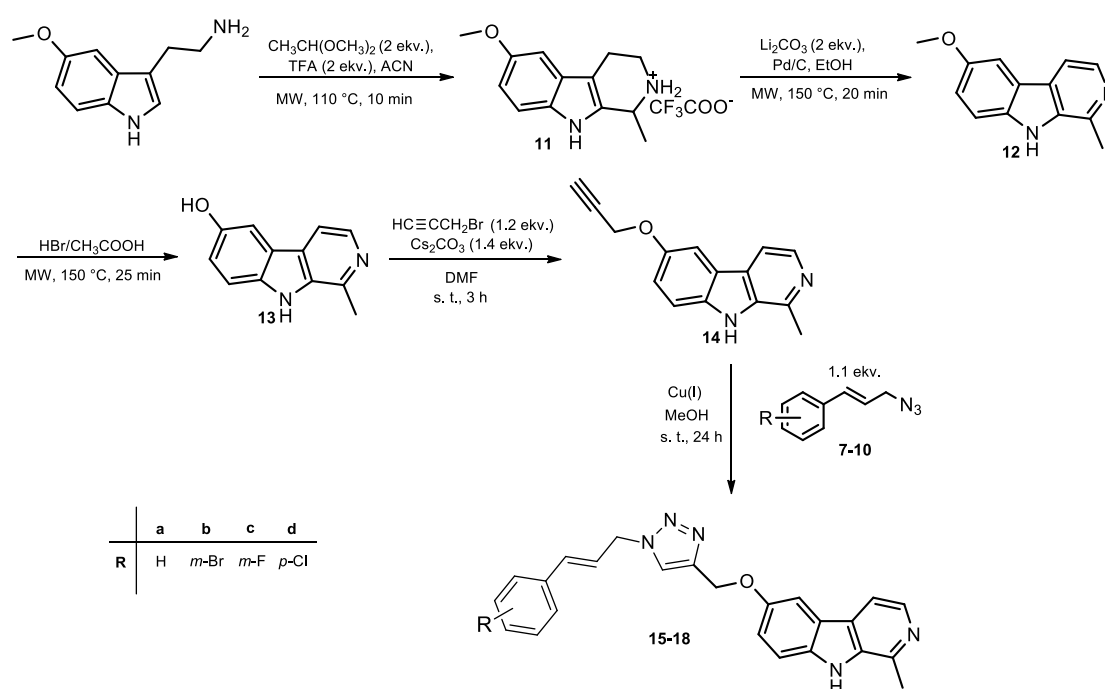
Ključne riječi: cimetna kiselina, harmin, 1,2,3-triazol, sinteza.

Four novel harminines **15-18**, hybrid compounds consisting of β -carboline and cinnamic acid derivative, linked *via* 1,2,3-triazole, have been synthesized and structurally characterized, as well as their precursors, cinnamic acid azides **7-10** and β -carboline alkyne **14**.

Cinnamyl azides **7-10** were synthesized from corresponding CAD in a four step procedure. Reaction with thionyl chloride, followed by esterification and ester reduction led to formation of alcohols. In the final step, alcohols and ADMP formed cinnamic acid azides **7-10**.

Synthesis of alkyne **14** started from 5-methoxytryptamine by Pictet-Spengler condensation, followed by aromatization of tetrahydro- β -carboline ring. Generated β -carboline was exposed to acid hydrolysis resulting in the formation of a phenol, which was alkylated with propargyl bromide, to form an alkyne **14**.

The copper(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition was used to link alkyne **14** and cinnamyl azides **7-10** into novel hybrid compounds, harmicines **15-18**. As a result, triazole ring was formed, which is a bioisostere of the amide group.

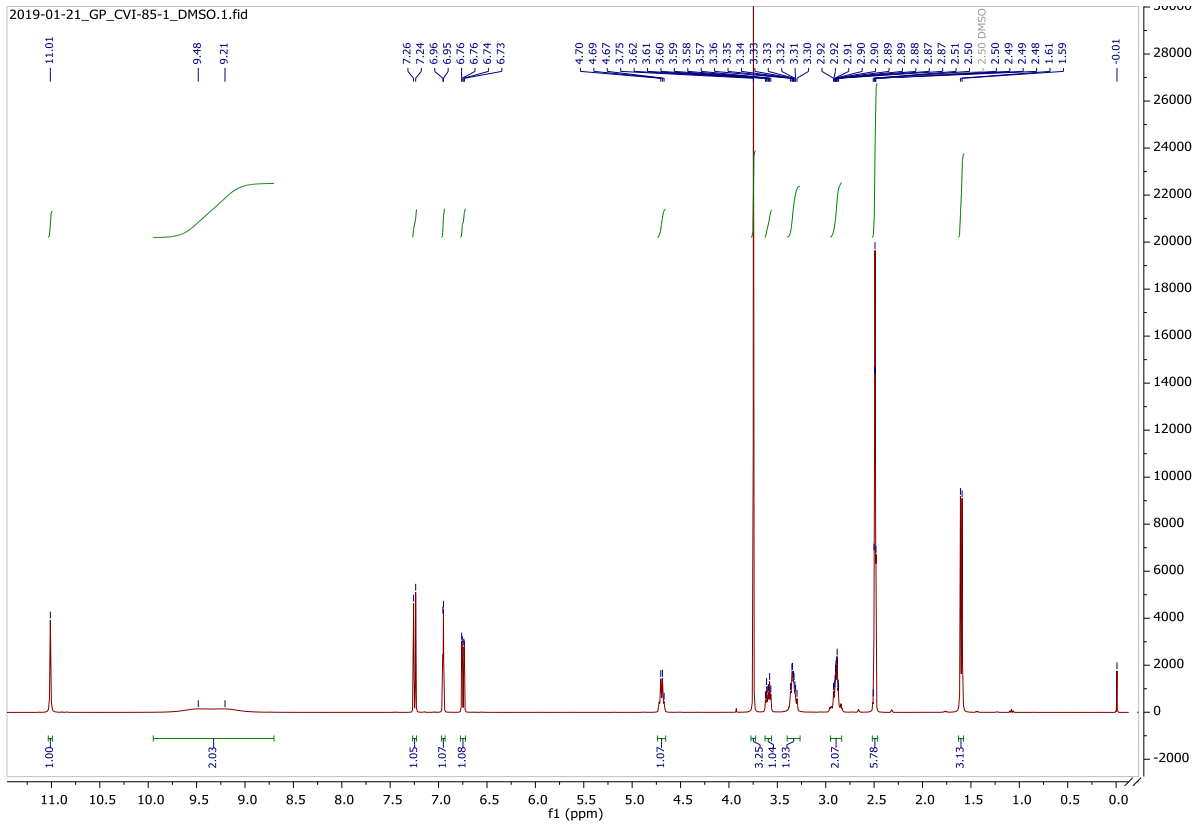
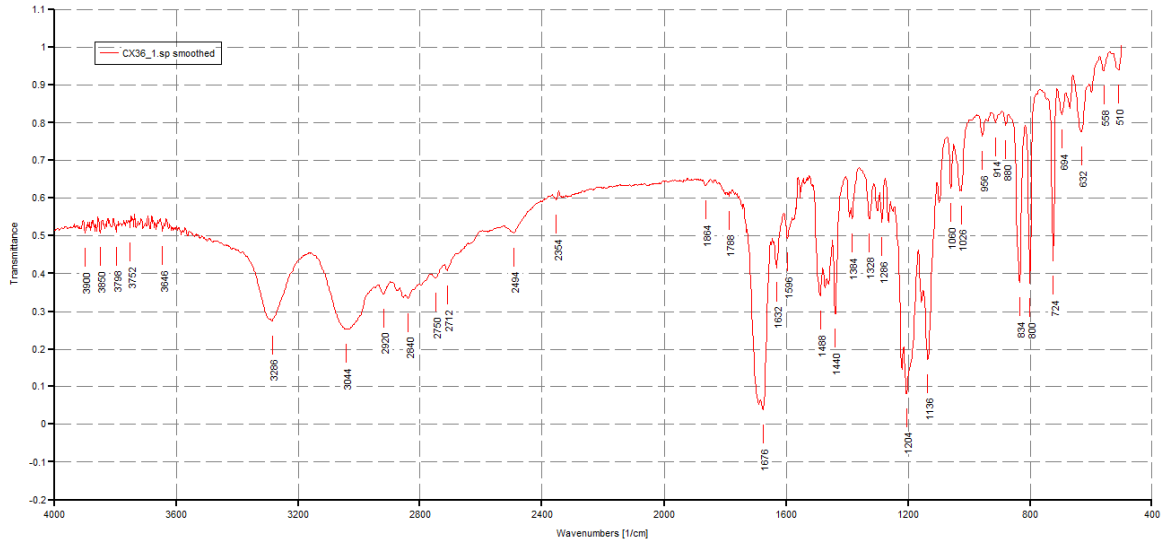
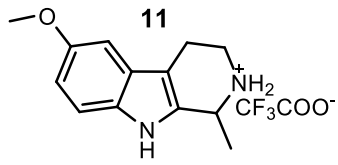


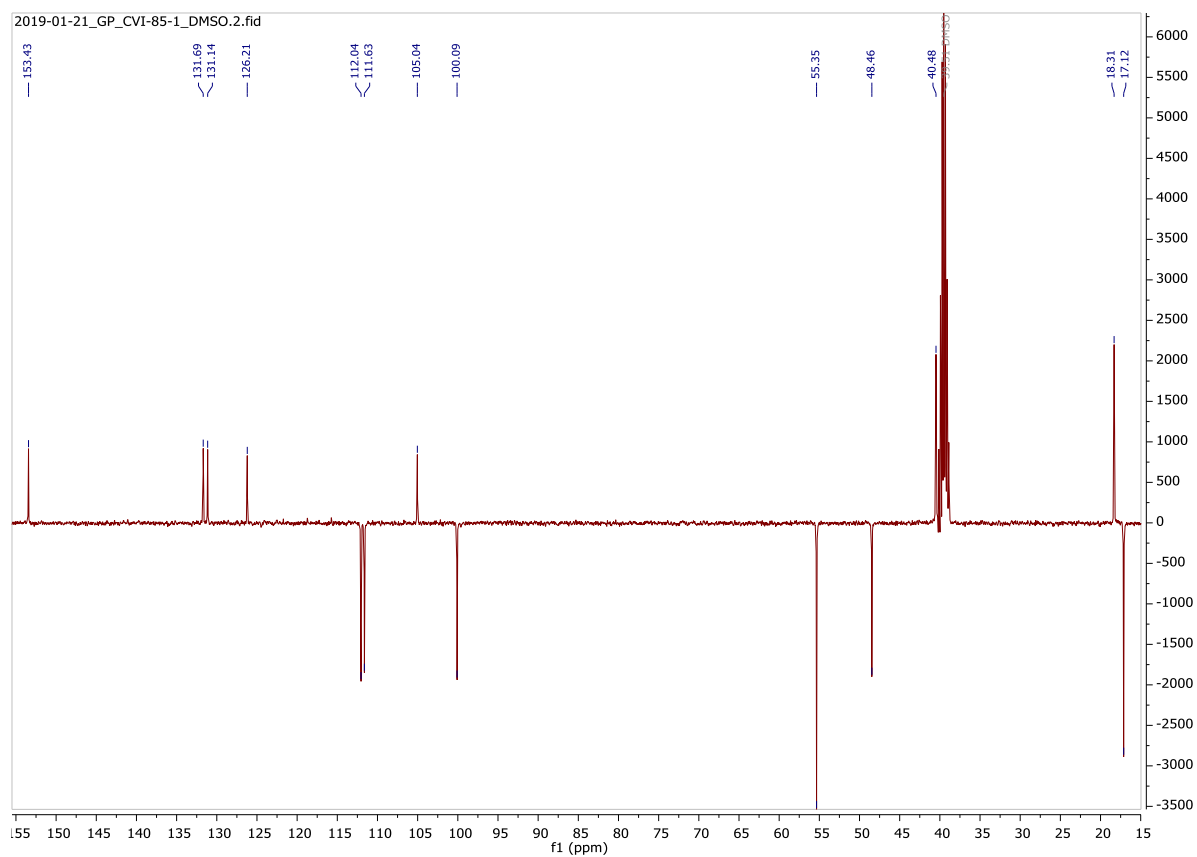
Structures of the newly prepared compounds were confirmed using conventional analytical and spectroscopic methods (^1H i ^{13}C NMR, MS, IR). All four novel derivatives meet all of the Lipinski's and Veber's criteria for good oral bioavailability of potential drugs. SwissADME tool predicts good oral bioavailability of all four derivatives. Further studies will investigate

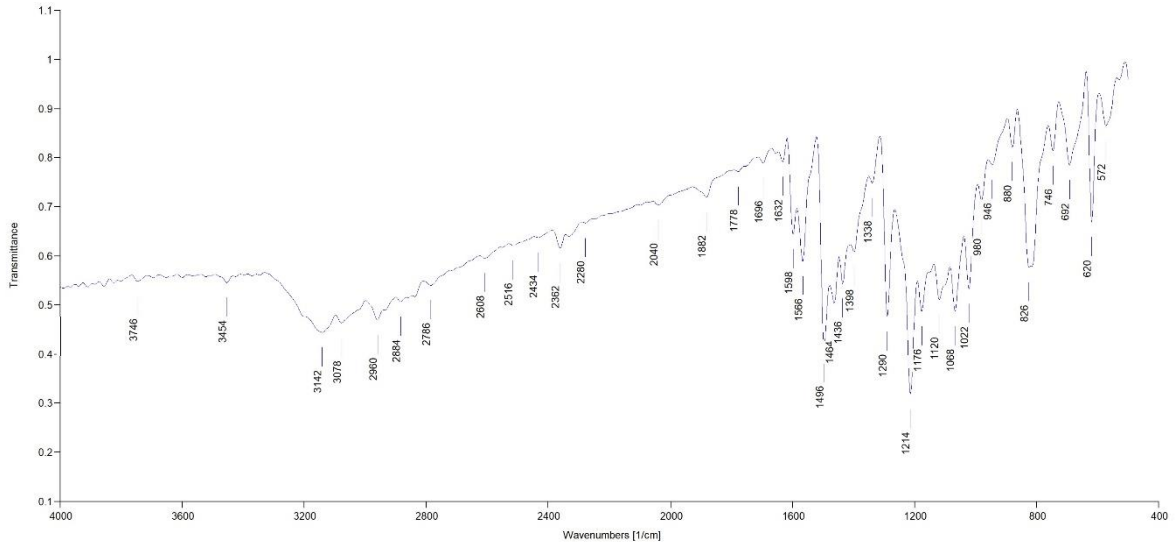
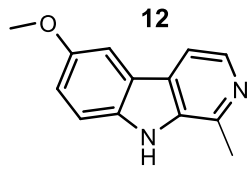
biological activity of the prepared harmicines.

Keywords: cinnamic acid, harmine, 1,2,3-triazoles, synthesis.

8. PRILOZI







20190204_CVI_88_3 28 (0.490) Cm (2:28)

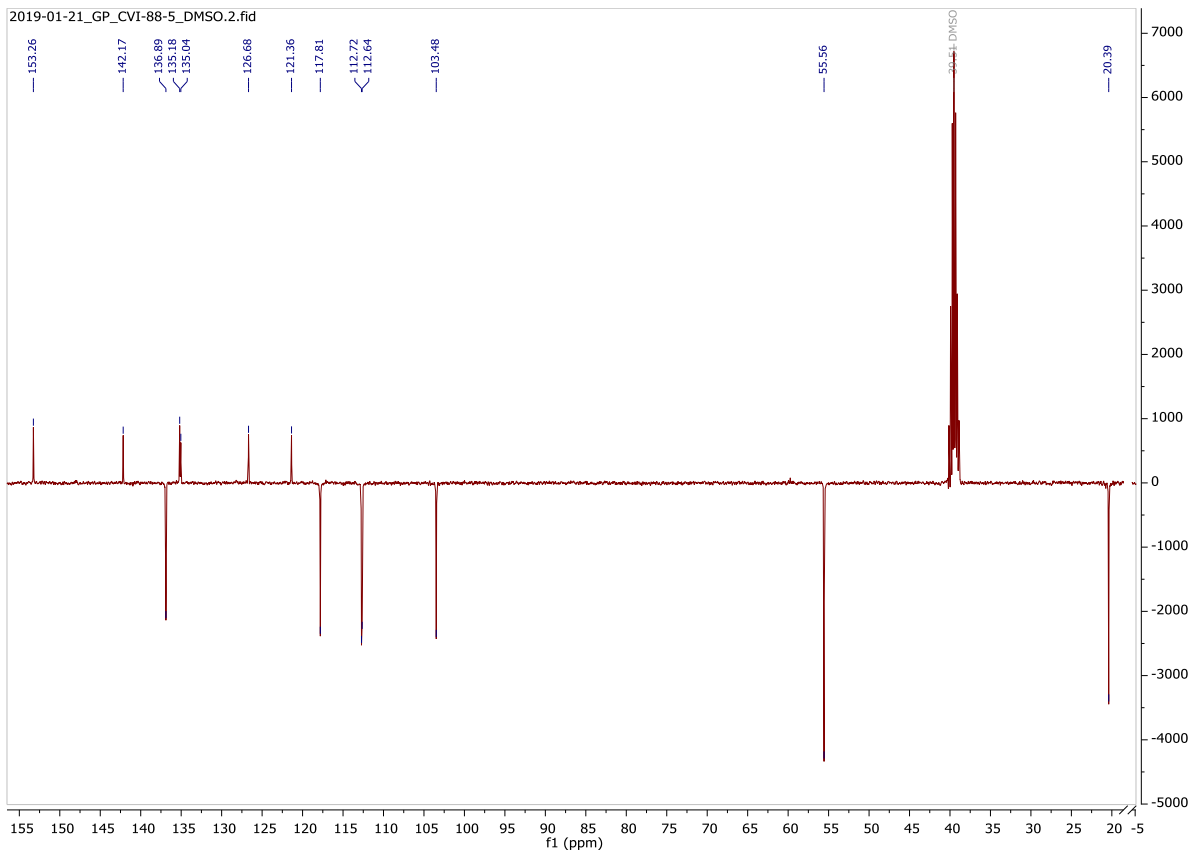
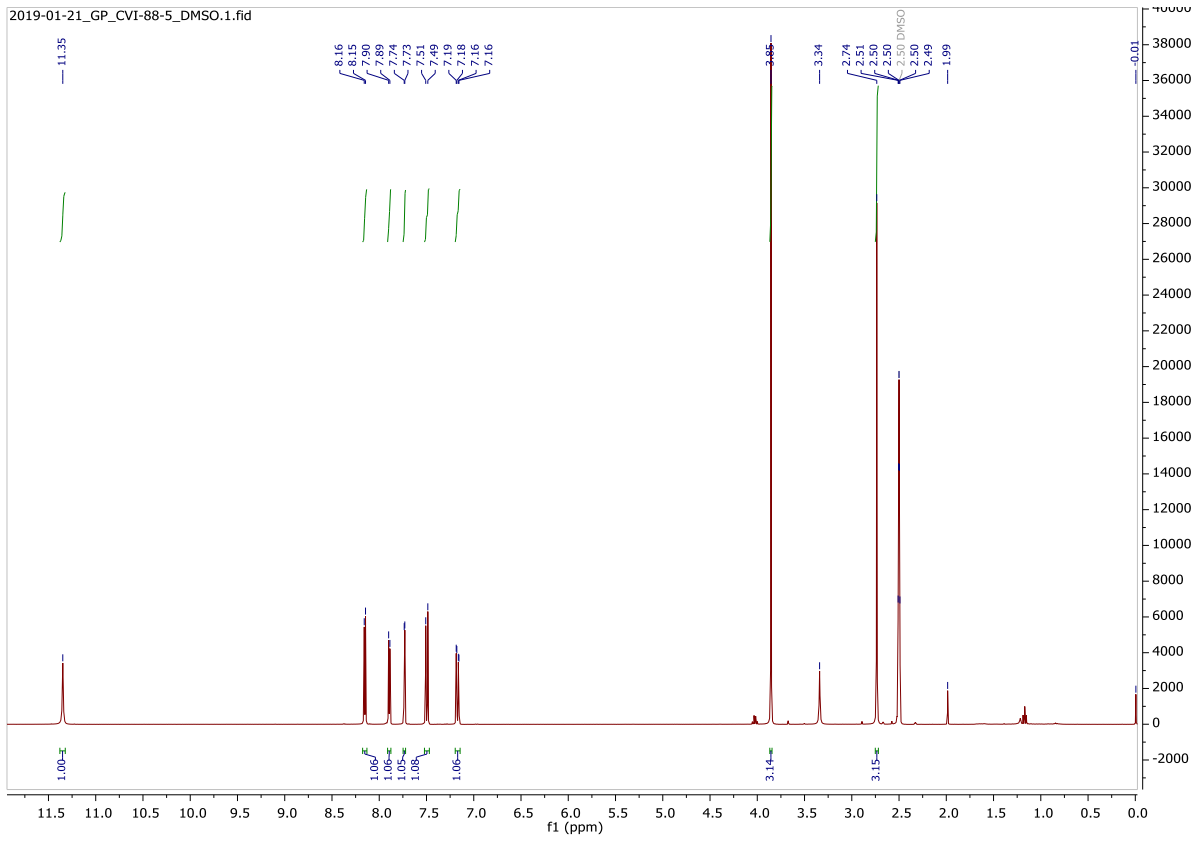
Waters Synapt G2-Si, S/N: UGA365

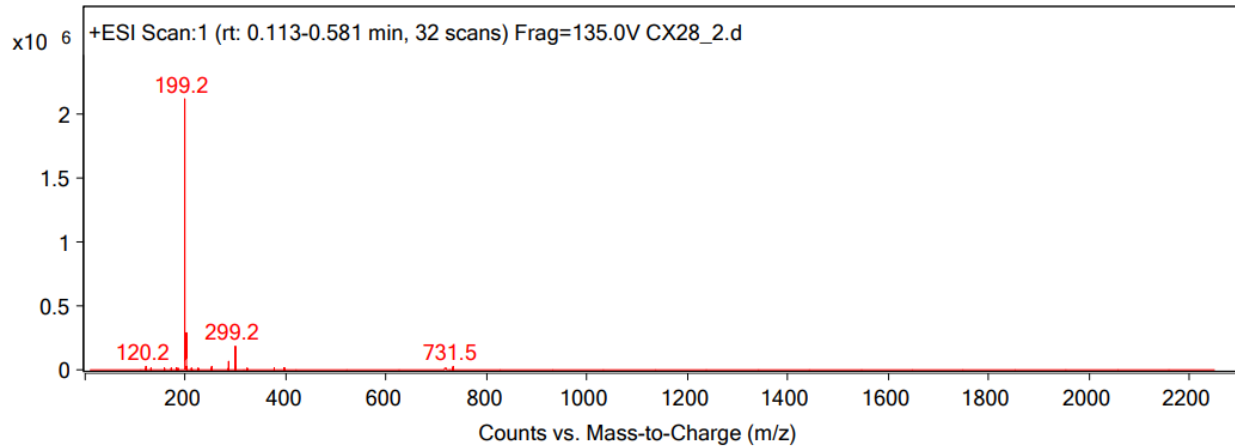
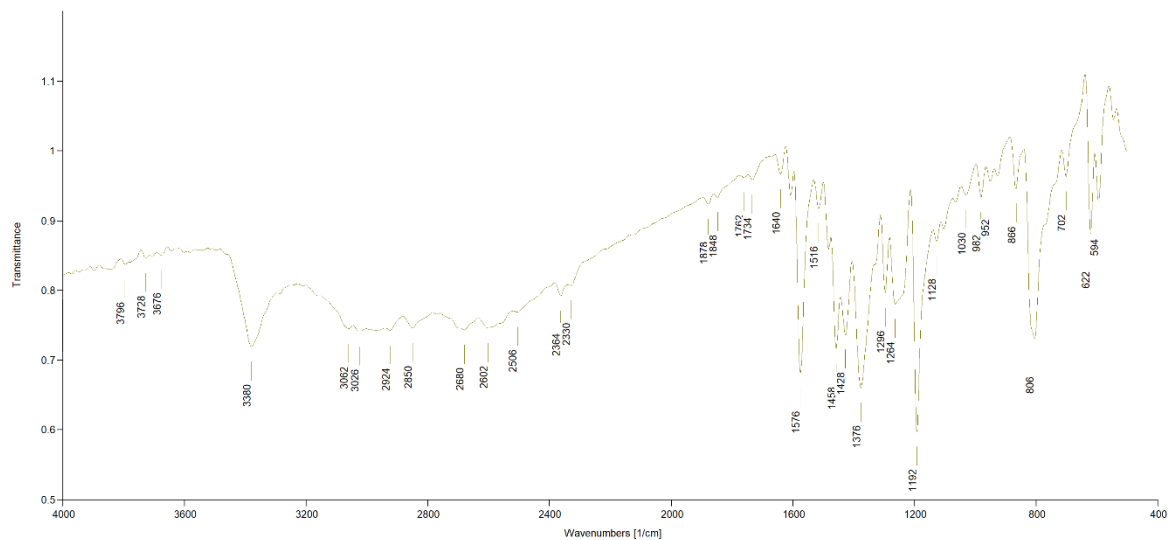
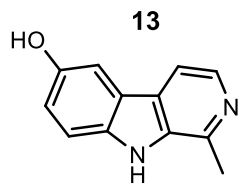
04-Feb-2019 13:56:54

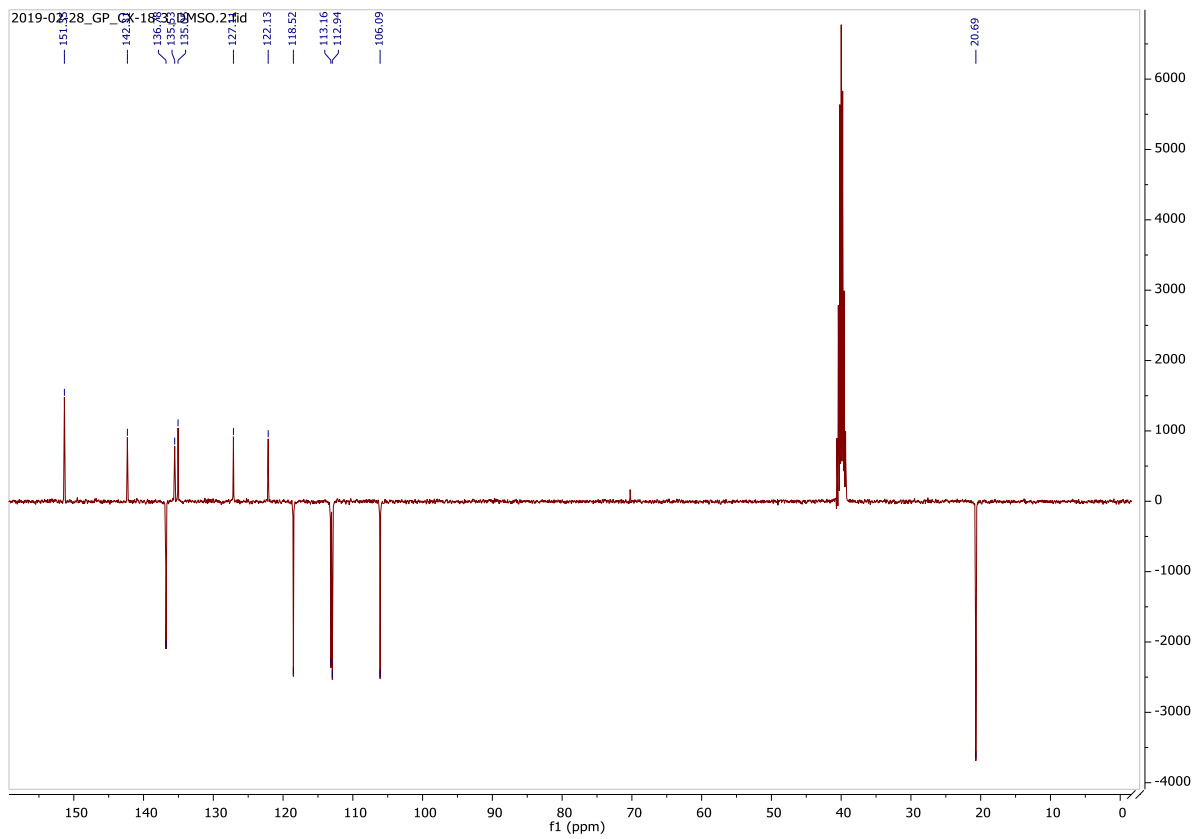
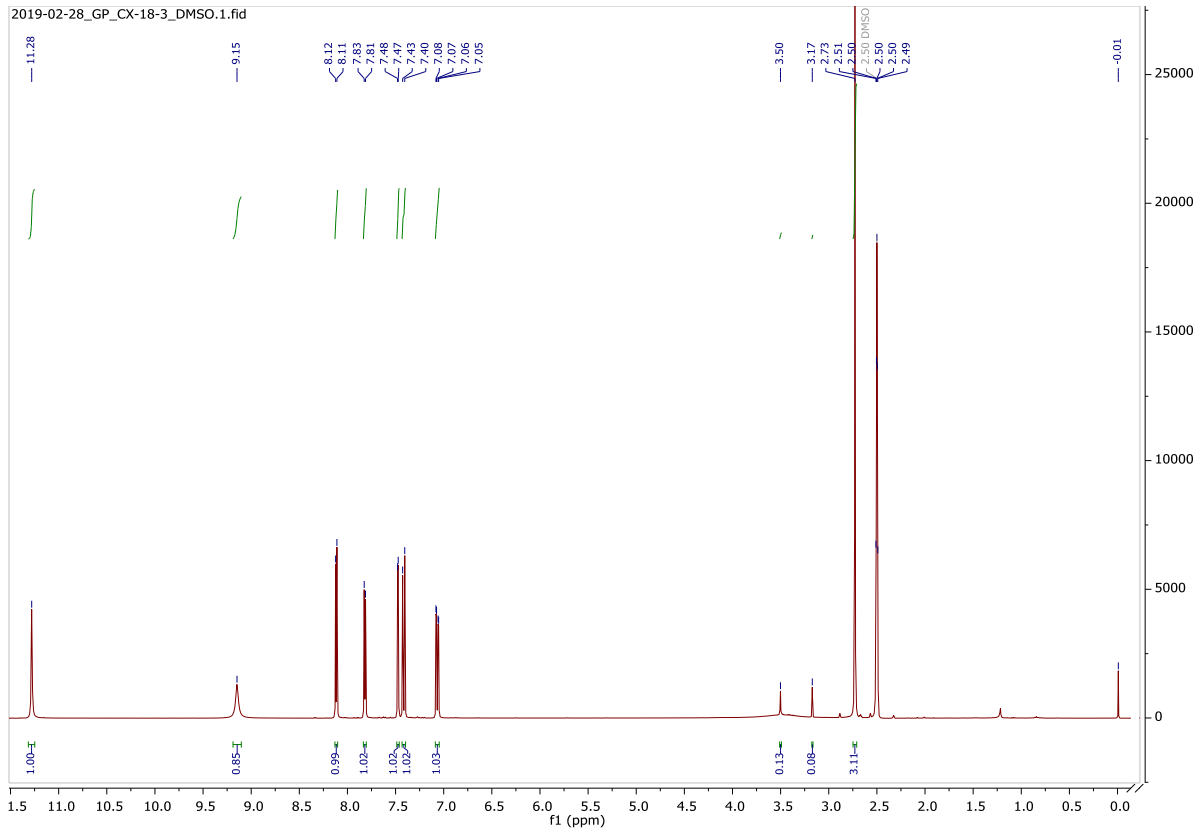
TOF MS ES+

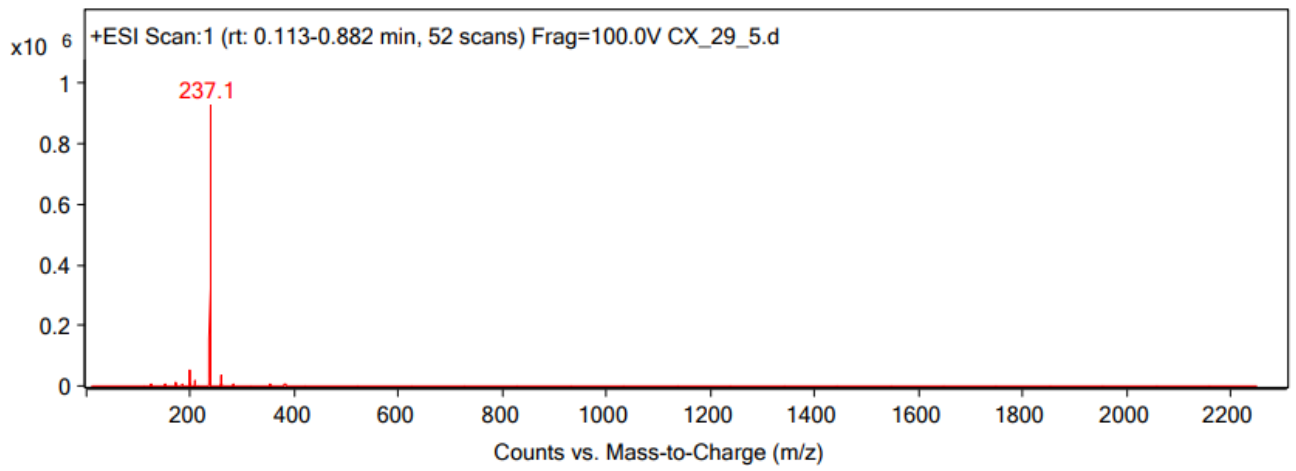
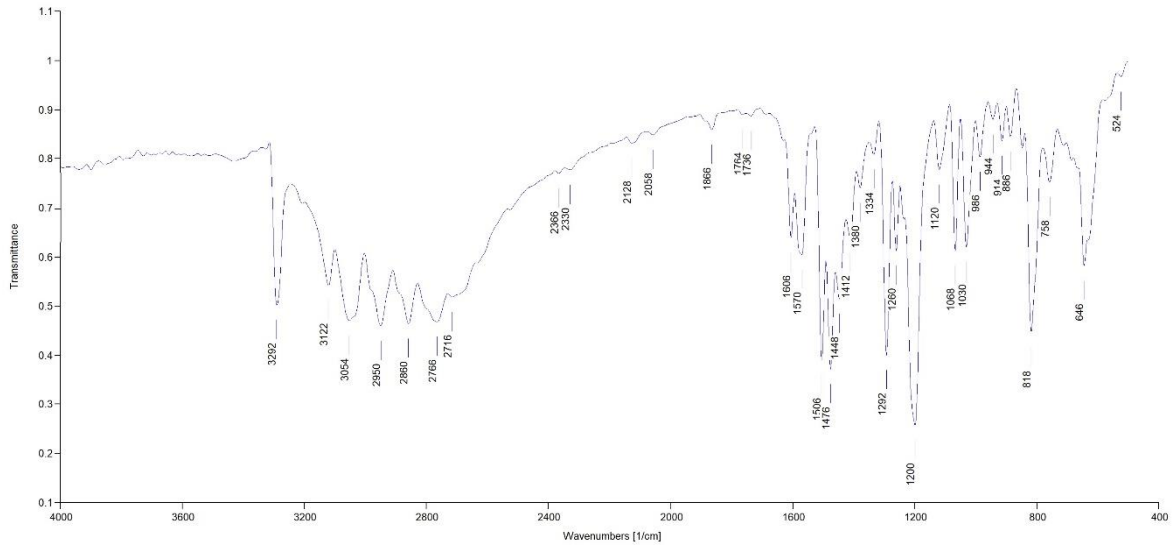
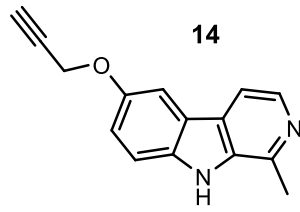
1.76e8

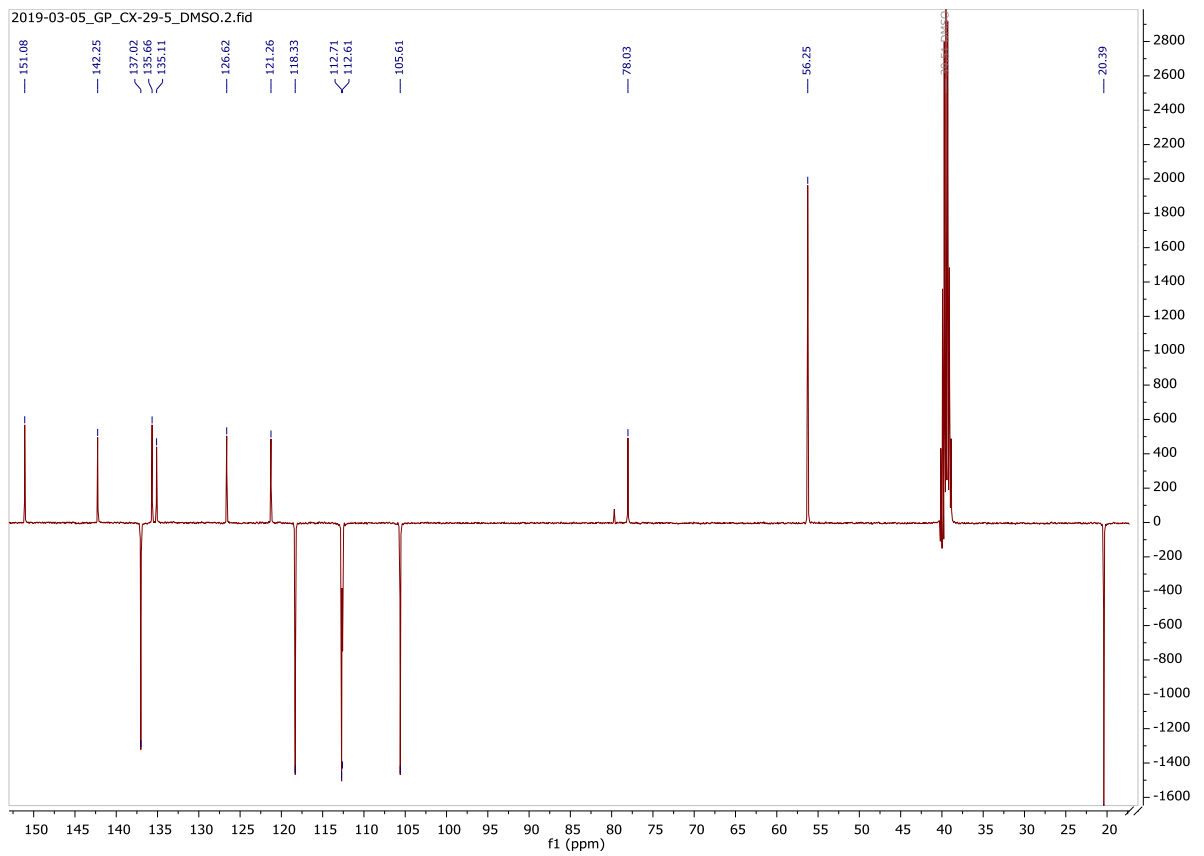
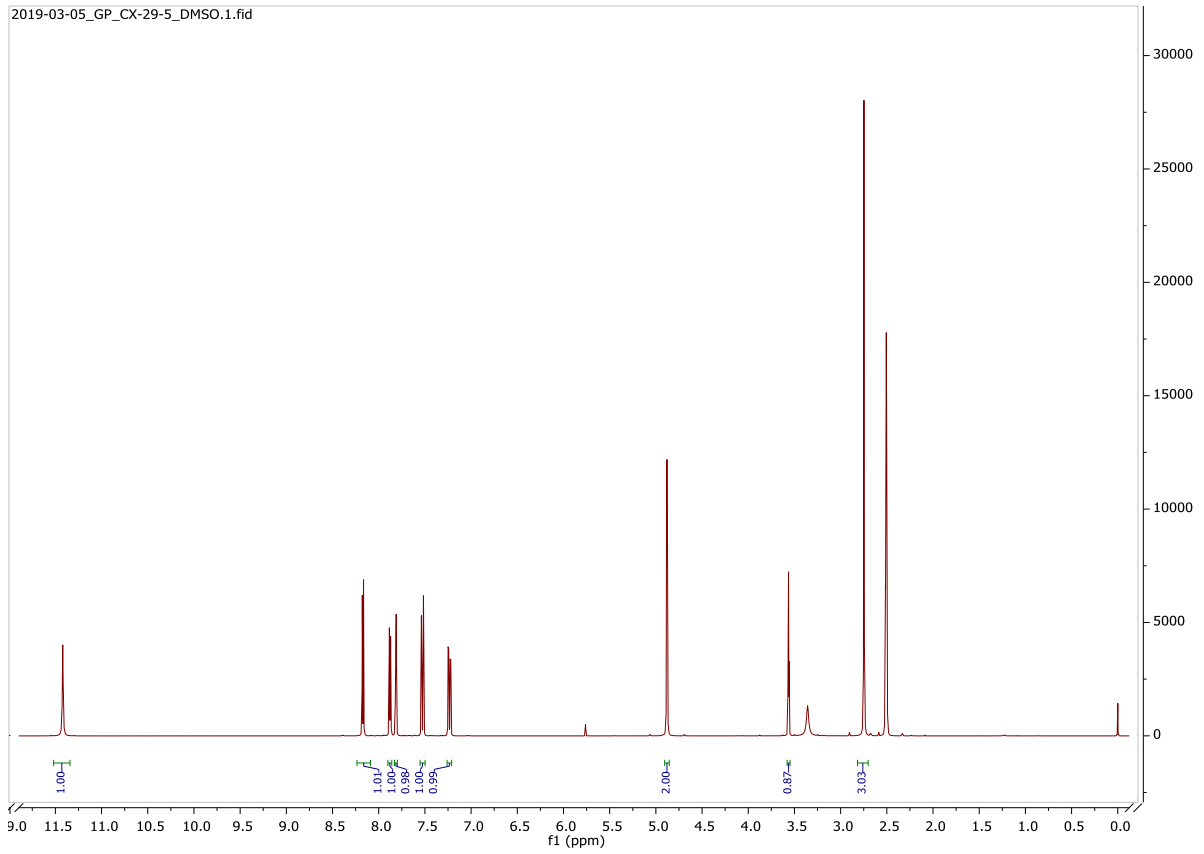


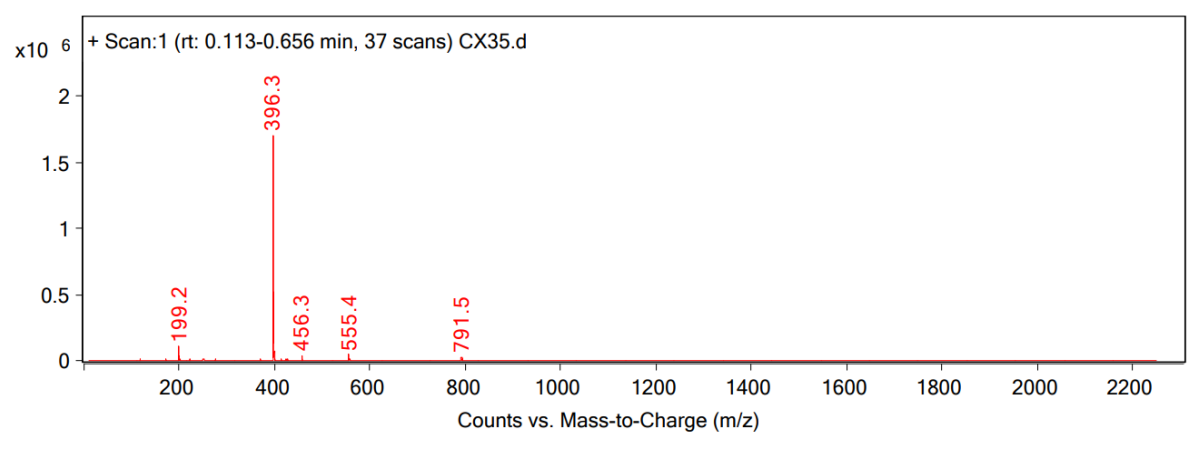
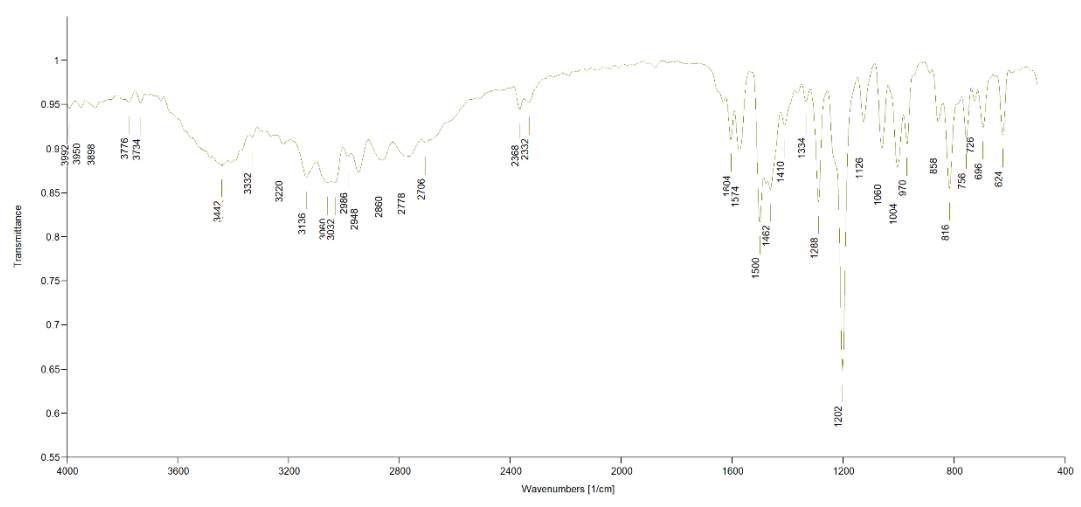
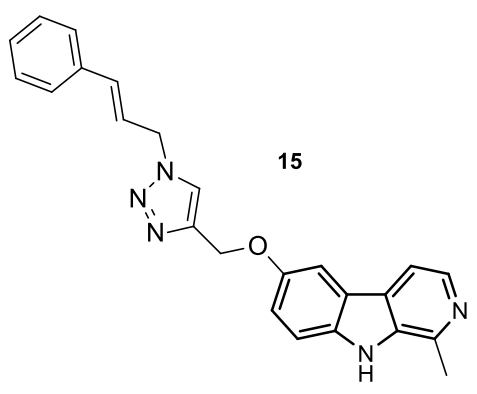


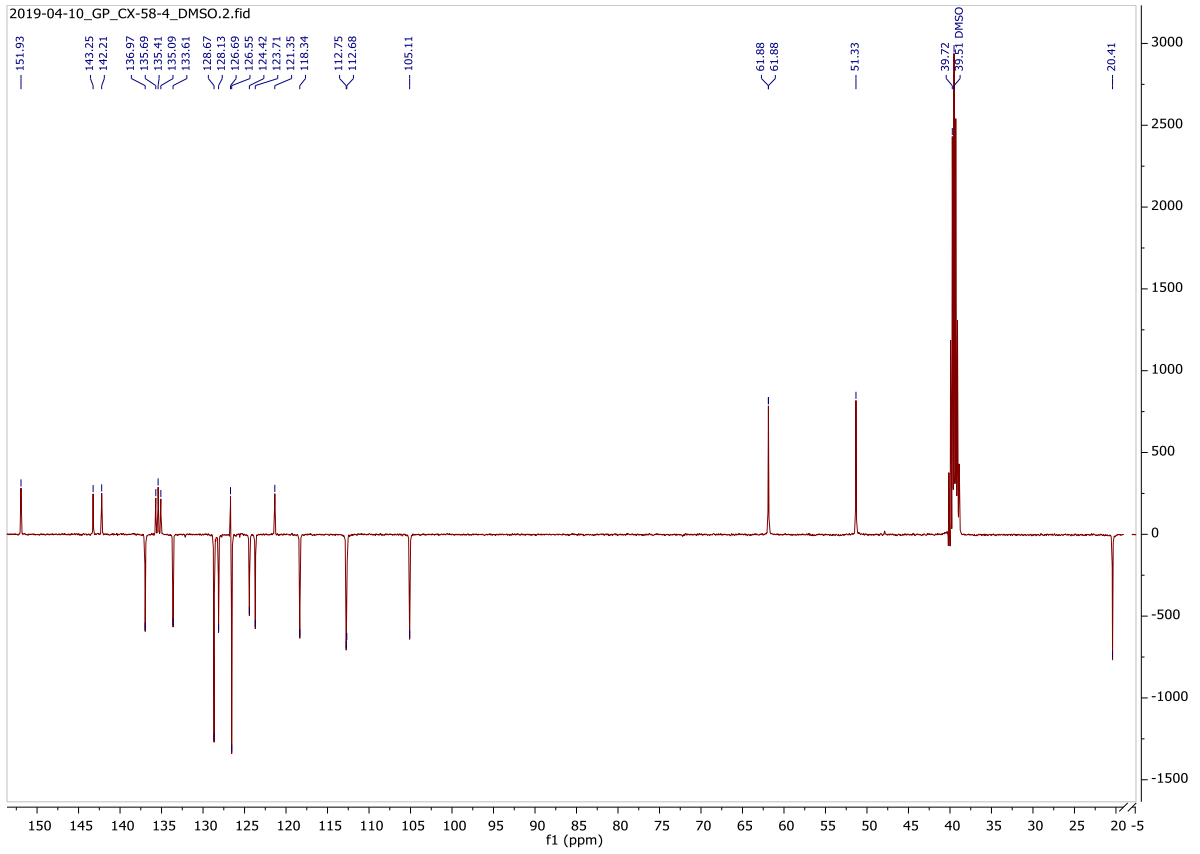
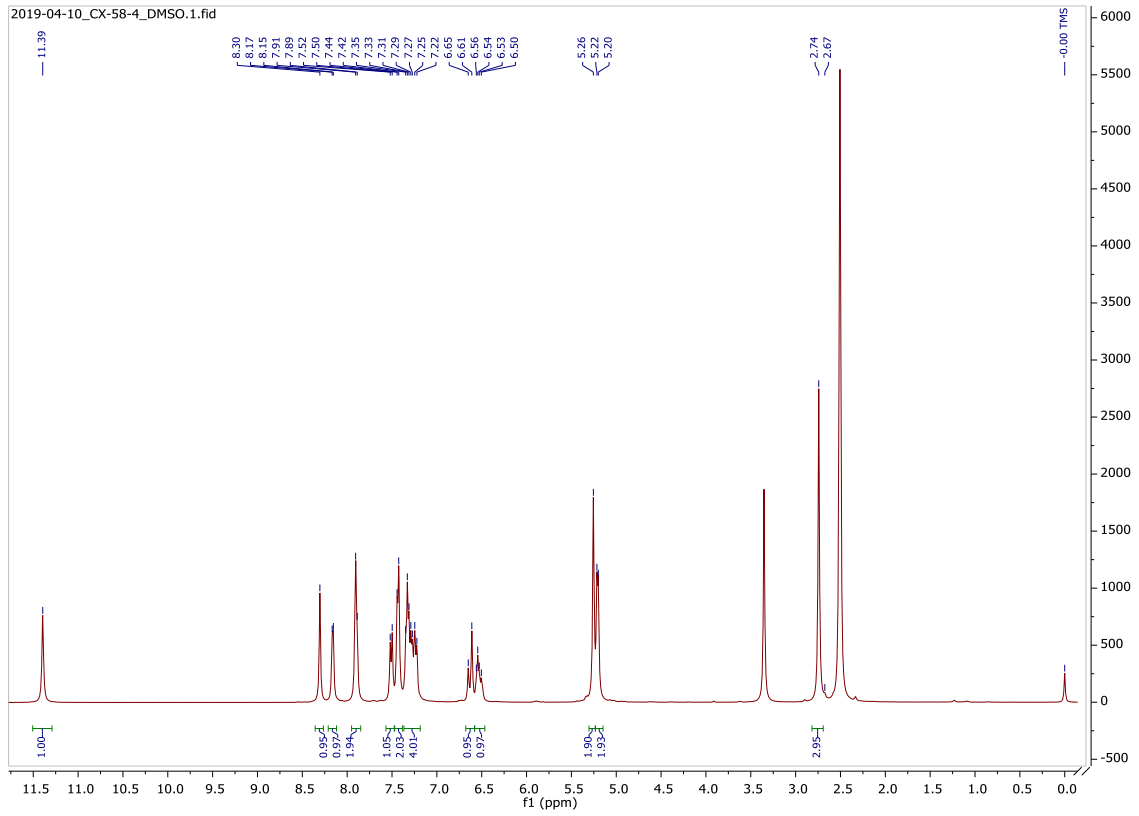


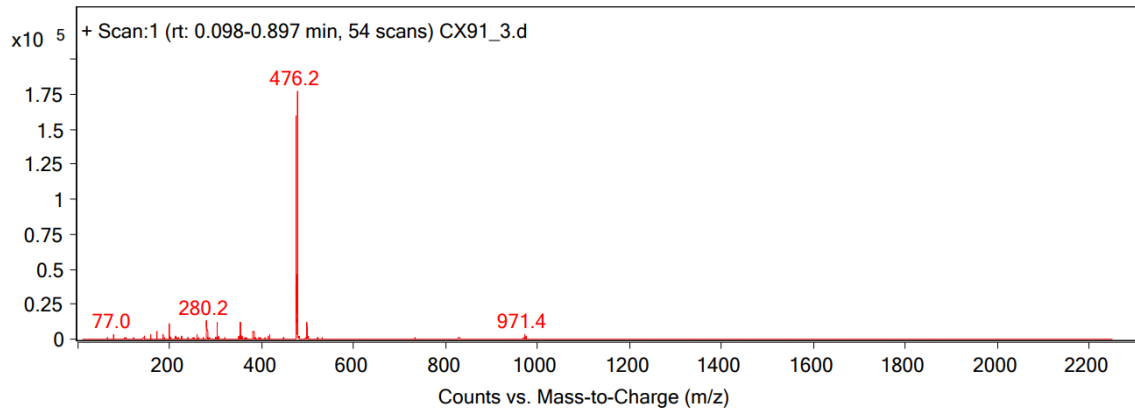
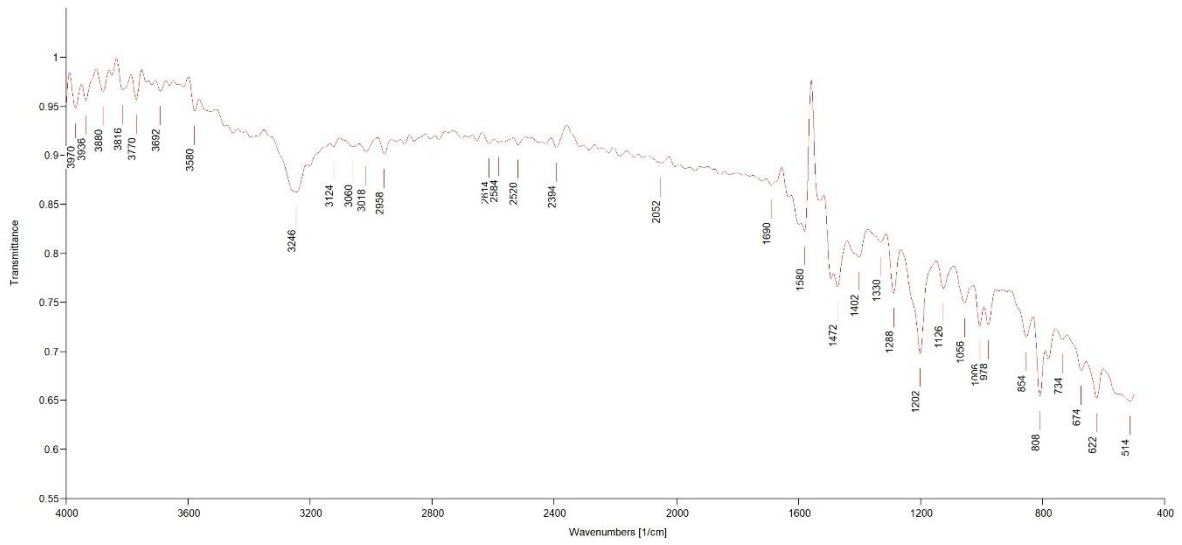
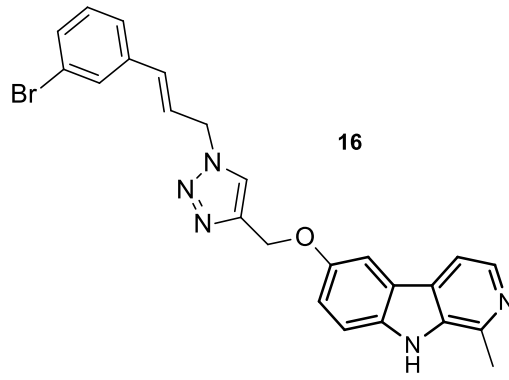


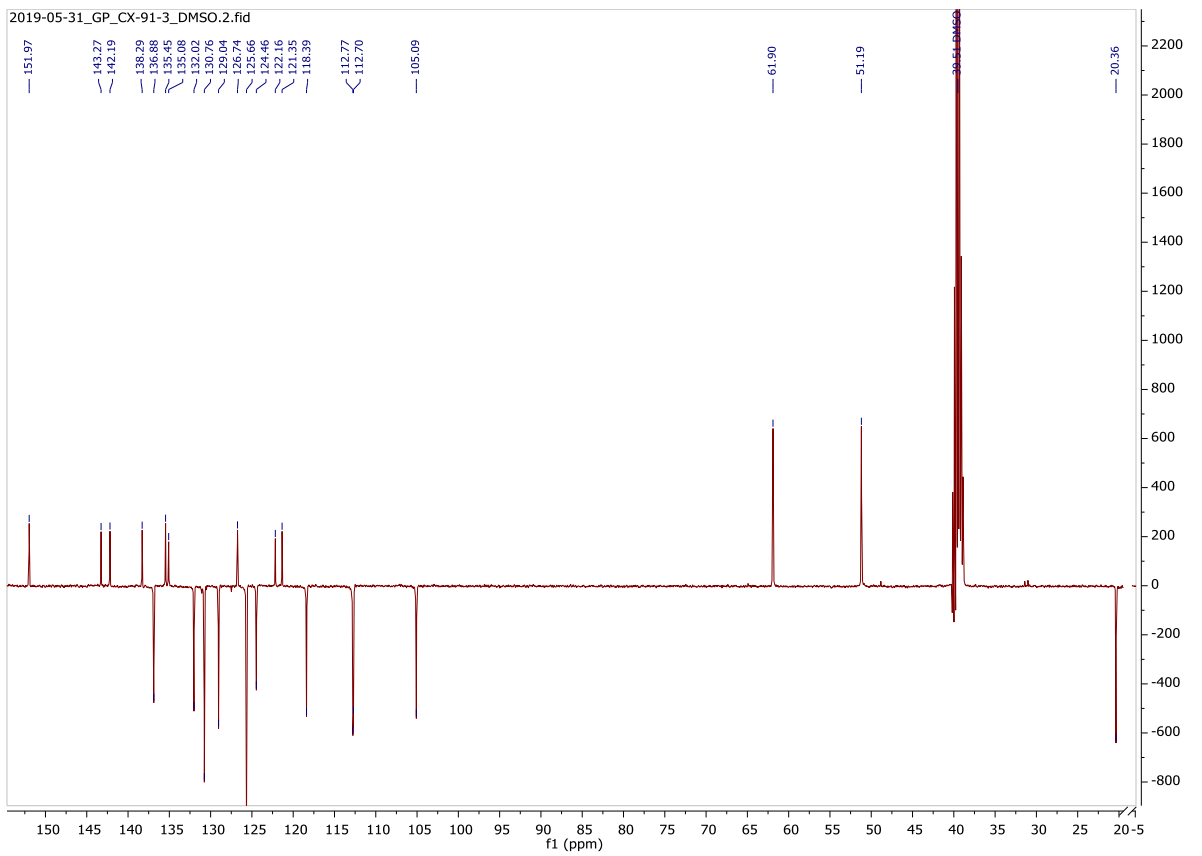
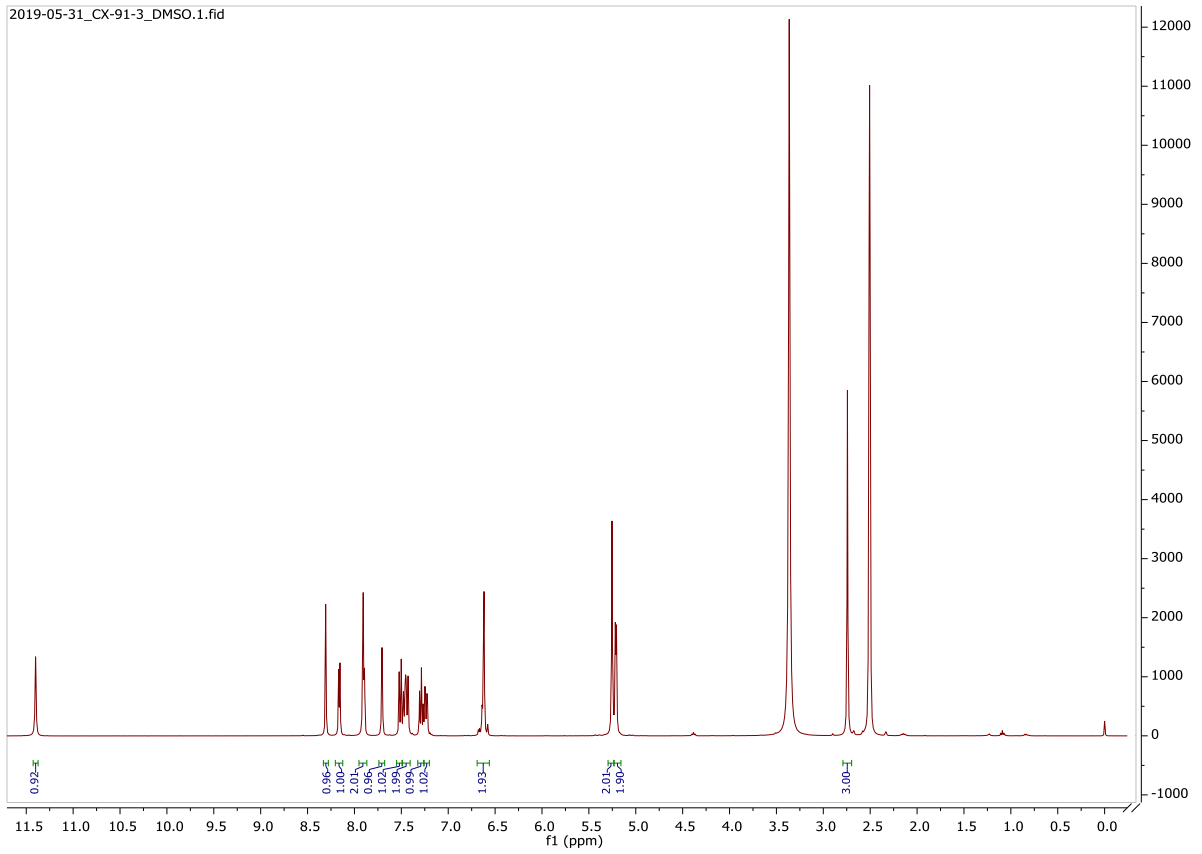


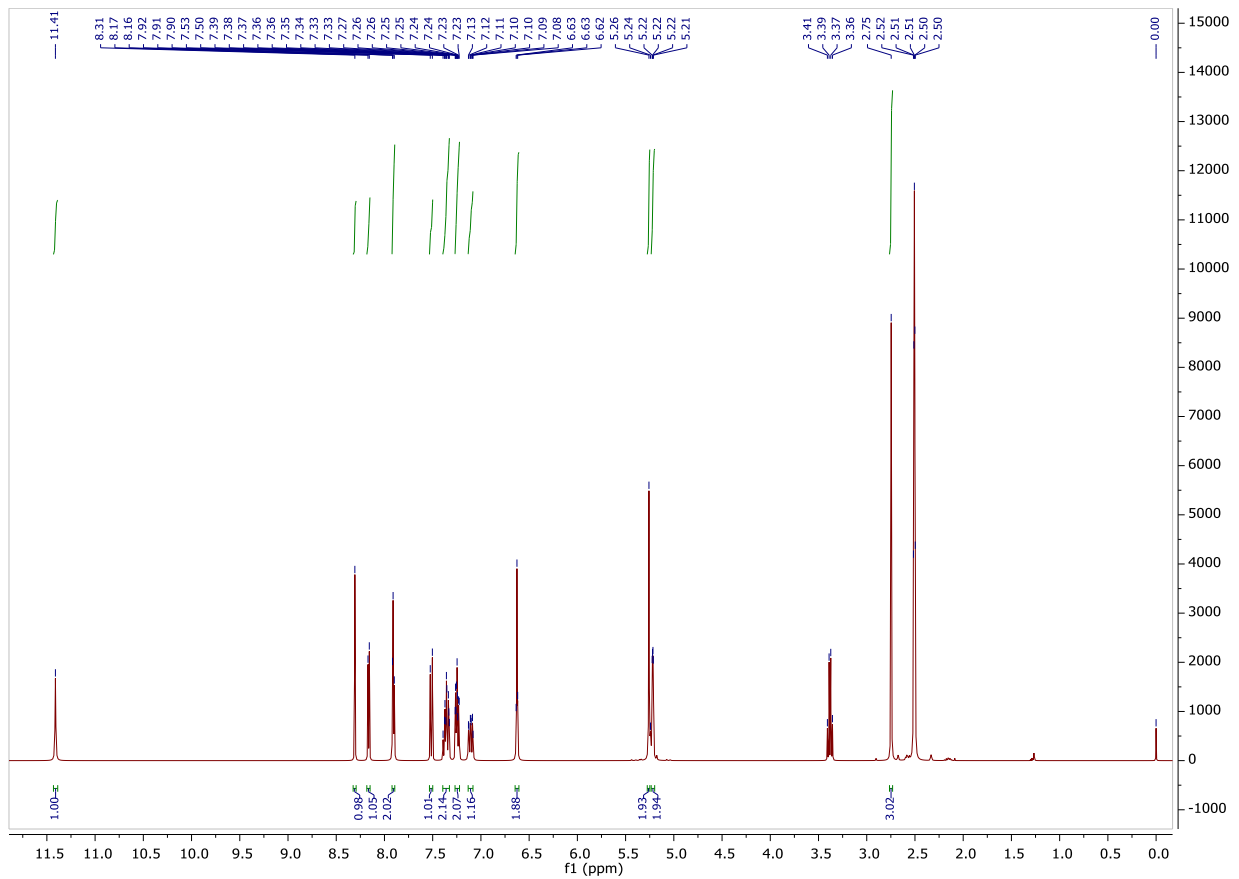
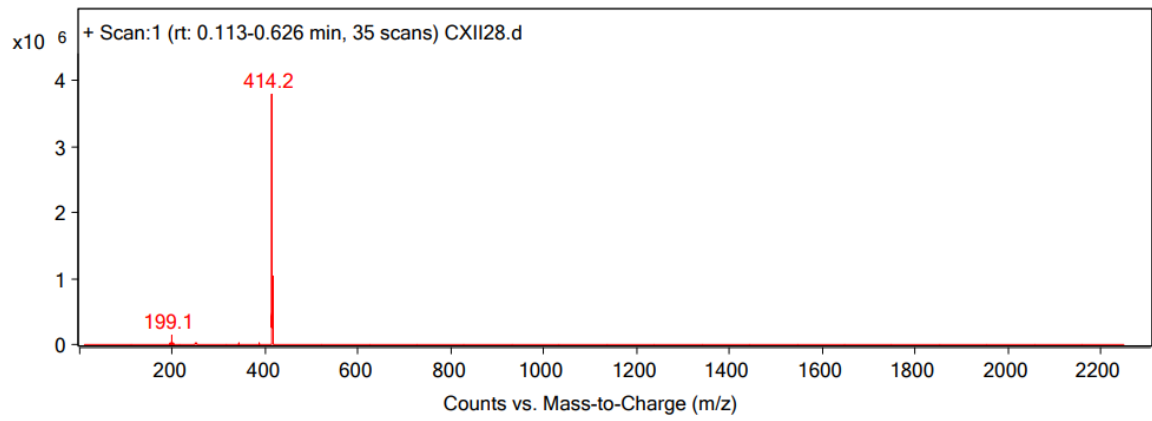
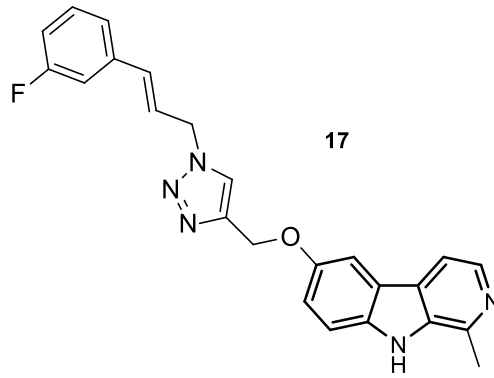


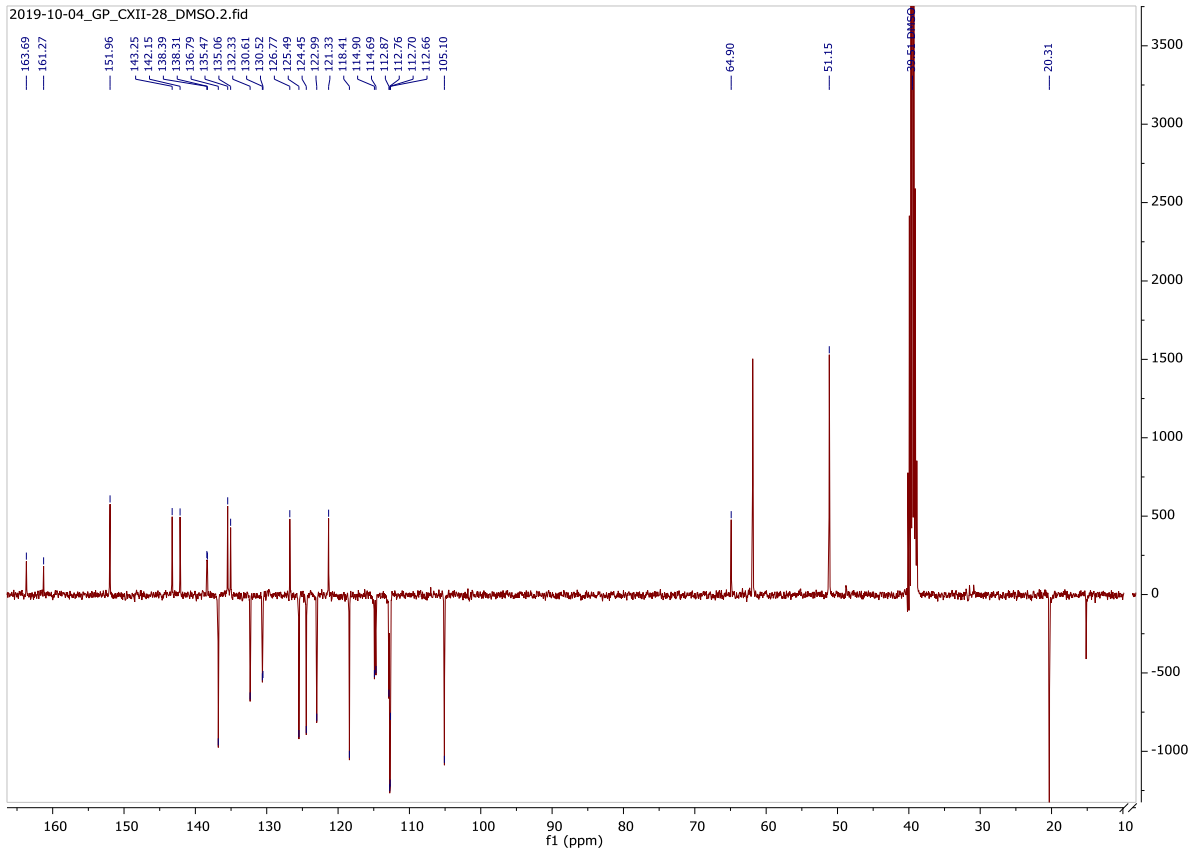


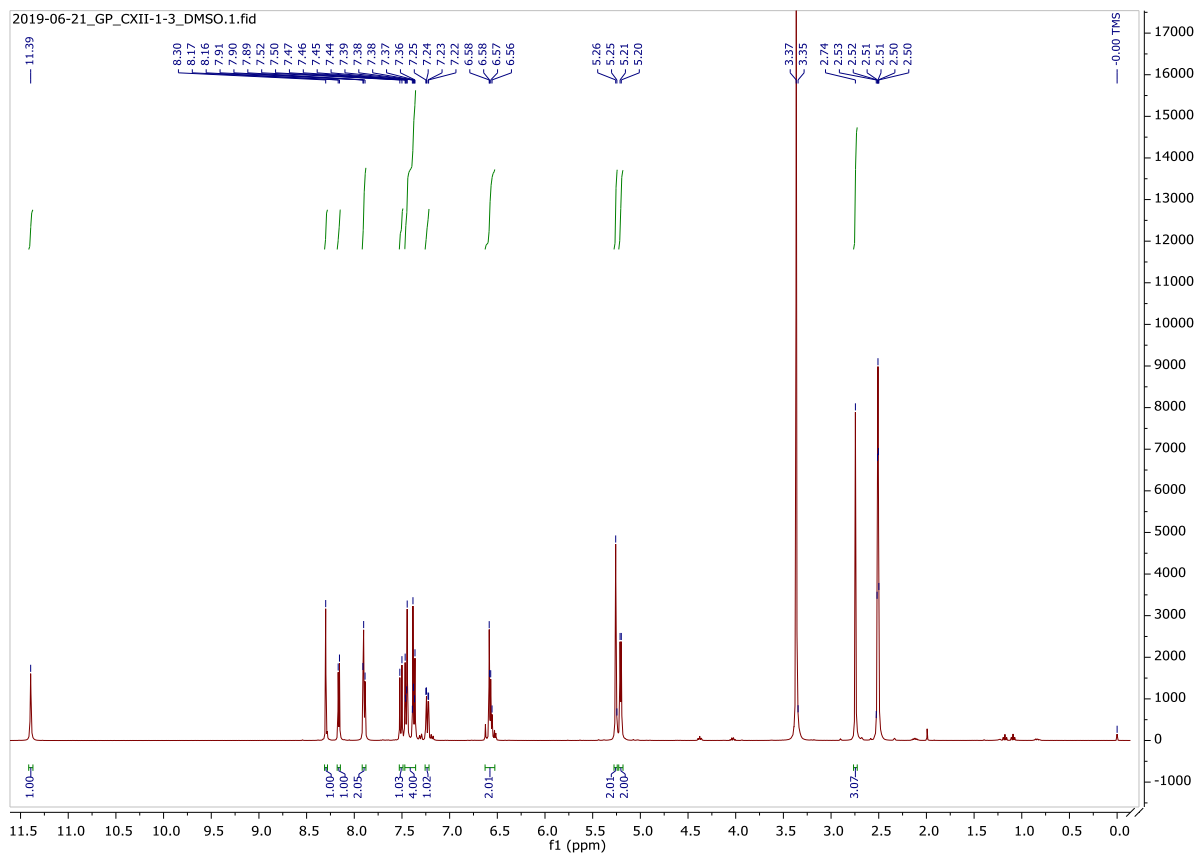
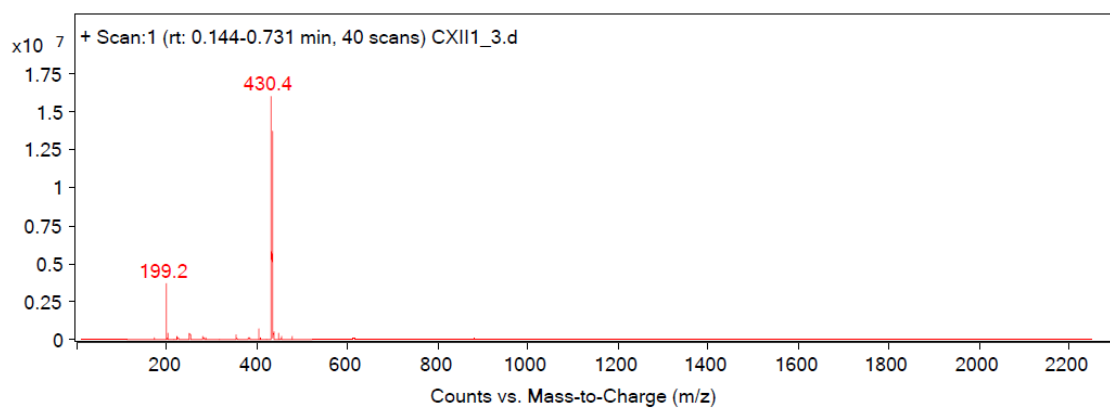
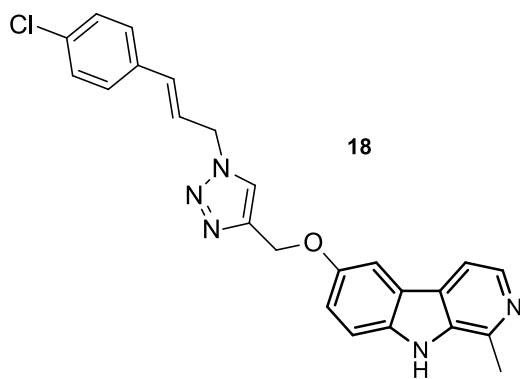


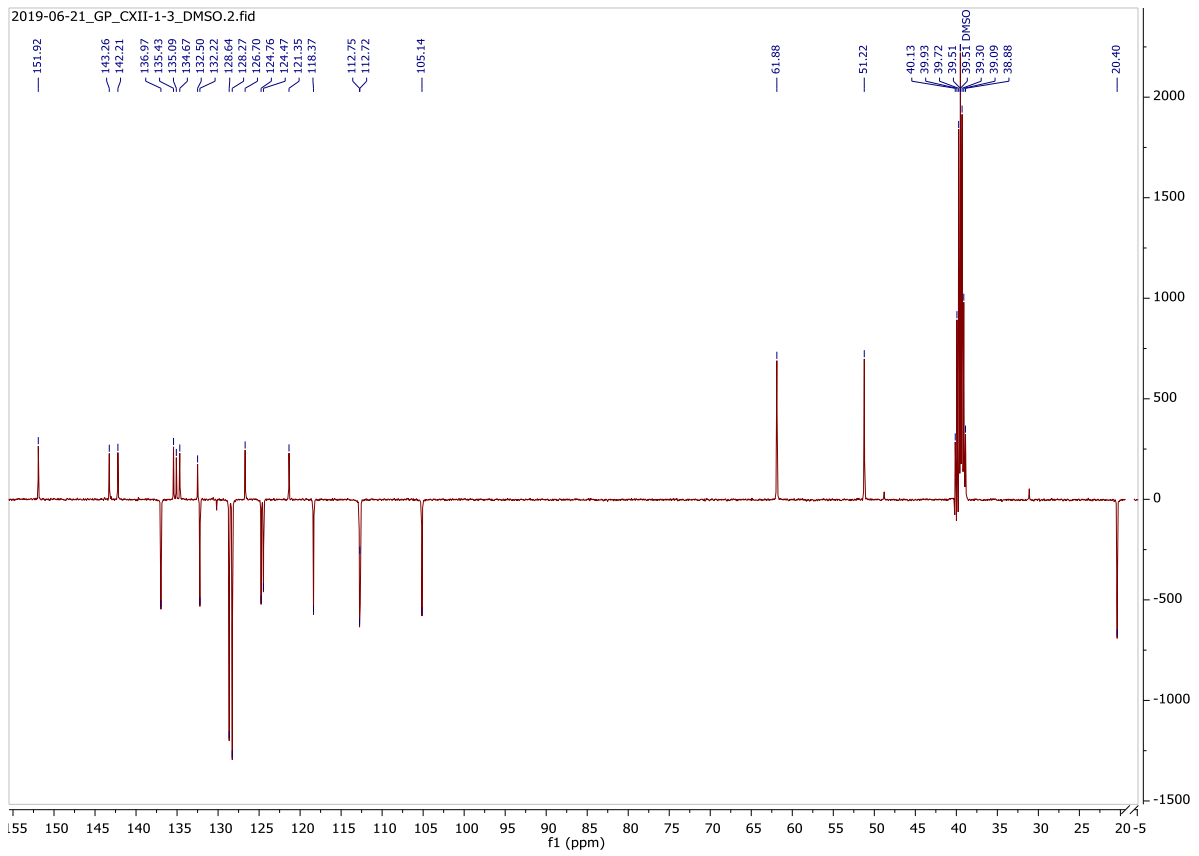












**9. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/BASIC
DOCUMENTATION CARD**

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za farmaceutsku kemiju
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

Sinteza i karakterizacija harmicina, hibrida β -karbolina u položaju 6 i derivata cimetnih kiselina

Daniela Ranogajec

SAŽETAK

U ovom radu sintetizirana su i strukturno karakterizirana četiri nova harmicina **15-18**, hibridna spoja β -karbolina i derivata cimetnih kiselina, povezana 1,2,3-1*H*-triazolom, kao i prekursori potrebni za njihovu sintezu, cimetni azidi **7-10** i alkin β -karbolina **14**. Cimetni azidi sintetizirani su iz odgovarajućeg CAD u 4 reakcijska koraka. U reakciji s tionil-kloridom nastali su kiselinski kloridi. Slijede esterifikacija i redukcija estera. Nastali primarni alkoholi s ADMP uz DBU u THF-u daju cimetne azide **7-10**. Sinteza alkina u položaju C6 β -karbolinskog prstena započinje iz 5-metoksitriptamina Pictet-Spenglerovom kondenzacijom, nakon koje slijedi aromatizacija tetrahidro- β -karbolina. Nastali β -karbolin podvrgnut je kiseljoj hidrolizi uz nastanak fenola koji s propargil-bromidom daje alkin **14**. Za povezivanje cimetnih azida **7-10** i β -karbolinskog alkina **14** u hibridne spojeve, harmicine **15-18**, korištena je bakrom(I) katalizirana azid-alkin cikloadicija koja rezultira uvođenjem triazolskog prstena, bioizostera amidne skupine, u strukturu hibridnog spoja. Strukture sintetiziranih spojeva potvrđene su uobičajenim spektroskopskim metodama (^1H i ^{13}C NMR, MS, IR). Sva četiri spoja zadovoljavaju Lipinskijeva i Veberova pravila, a dobru oralnu bioraspoloživost predviđa im i alat SwissADME. Sintetiziranim derivatima će u daljnjim istraživanjima biti ispitano biološko djelovanje.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 73 stranice, 21 grafički prikaz, 10 tablica i 51 literaturni navod. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: cimetna kiselina, harmin, 1,2,3-triazol, sinteza

Mentor: **Dr. sc. Zrinka Rajić** *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Zrinka Rajić**, *izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Ivana Perković, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Miranda Sertić, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: srpanj 2020.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of medicinal chemistry
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

Synthesis and characterization of harmicines, hybrids of β -carbolines in position 6 and cinnamic acid derivates.

Daniela Ranogajec

SUMMARY

Four novel harmicines **15-18**, hybrid compounds consisting of β -carboline and cinnamic acid derivative, linked *via* 1,2,3-triazole, have been synthesized and structurally characterized, as well as their precursors, cinnamic acid azides **7-10** and β -carboline alkyne **14**. Cinnamyl azides **7-10** were synthesized from corresponding CAD in a four step procedure. Reaction with thionyl chloride, followed by esterification and ester reduction led to formation of alcohols. In the final step, alcohols and ADMP formed cinnamic acid azides **7-10**. Synthesis of alkyne **14** started from 5-methoxytryptamine by Pictet-Spengler condensation, followed by aromatization of tetrahydro- β -carboline ring. Generated β -carboline was exposed to acid hydrolysis resulting in the formation of a phenol, which was alkylated with propargyl bromide, to form an alkyne **14**. The copper(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition was used to link alkyne **14** and cinnamyl azides **7-10** into novel hybrid compounds, harmicines **15-18**. As a result, triazole ring was formed, which is a bioisostere of the amide group. Structures of the newly prepared compounds were confirmed using conventional analytical and spectroscopic methods (^1H i ^{13}C NMR, MS, IR). All four novel derivatives meet all of the Lipinski's and Veber's criteria for good oral bioavailability of potential drugs. SwissADME tool predicts good oral bioavailability of all four derivatives. Further studies will investigate biological activity of the prepared harmicines.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 73 pages, 21 figures, 10 tables and 51 references. Original is in Croatian language.

Keywords: cinnamic acid, harmine, 1,2,3-triazoles, synthesis

Mentor: **Zrinka Rajić, Ph.D.** Associate Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Zrinka Rajić, Ph.D.** Associate Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Ivana Perković, Ph.D. Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Miranda Sertić, Ph.D. Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: July 2020.