

Sinteza i karakterizacija hibrida 6-, 7- i 9-supstituiranih derivata beta-karbolina i ferocena amidnog tipa

Urek, Petra

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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:163:057690>

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](#)



Petra Urek

**Sinteza i karakterizacija hibrida 6-, 7- i 9-
supstituiranih derivata β -karbolina i ferocena
amidnog tipa**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2021.

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

Zahvaljujem svojoj mentorici, doc. dr. sc. Ivani Perković, na stručnoj vodstvu i svojoj pomoći prilikom izrade diplomskog rada.

Jedno veliko hvala Marini Marinović na svojoj pomoći, uputama, savjetima i strpljenju, kao i ostalim suradnicima u laboratoriju. Hvala što ste mi uljepšali izradu eksperimentalnog dijela ovog diplomskog rada, vaša kolegijalnost i ugodno radno okruženje ostat će mi u lijepom sjećanju.

Najveće hvala dugujem svojim roditeljima, koji su mi omogućili da budem danas ovo što jesam te mojim prijateljicama i dečku koji su mi bili veliki oslonac. Hvala Vam!

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



KRATICE

| | |
|----------------------|---|
| 5-HT _{2A} | 5-hidroksitriptamin receptor 2A |
| ¹³ C NMR | ¹³ C nuklearna magnetska rezonanca |
| ¹ H NMR | ¹ H nuklearna magnetska rezonanca |
| DMF | <i>N,N</i> -dimetilformamid |
| DNA | deoksiribonukleinska kiselina |
| DMSO | dimetilsulfoksid |
| IR | infracrvena spektroskopija |
| ISA × HCl | imidazol-1-sulfonil azid hidroklorid |
| MAO | monoaminooksidaza |
| MS | masena spektrometrija |
| MW | mikrovalno zračenje |
| <i>p.a.</i> | pro analisi |
| Pd/C | paladij na ugljenu |
| <i>q.s.</i> | količina koja je dovoljna (lat. <i>quantum satis</i>) |
| ROS | reaktivni kisikovi spojevi |
| st | sobna temperatura |
| TLC | tankoslojna kromatografija (eng. <i>thin layer chromatography</i>) |
| TMS | tetrametilsilan |
| IC ₅₀ | koncentracija koja izaziva 50 %-tnu inhibiciju rasta stanica |
| <i>t_t</i> | temperatura tališta |

UV

ultraljubičasto zračenje (eng. *ultraviolet*)

SADRŽAJ

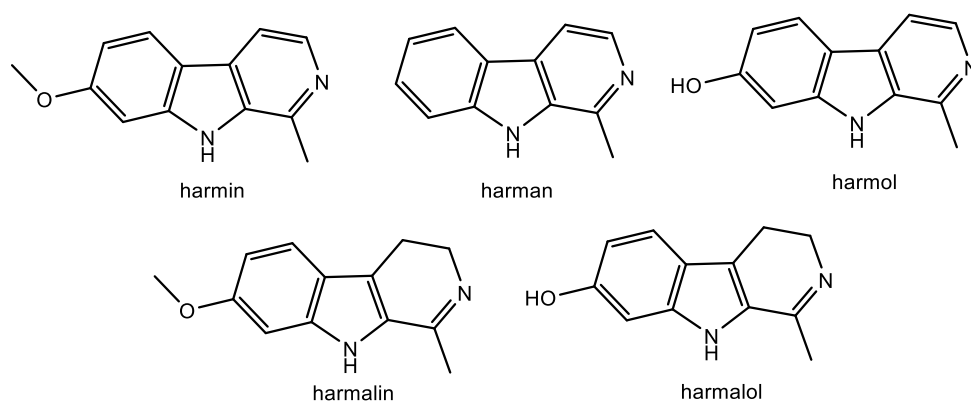
| | |
|---|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 1.1. Harmin i derivati harmina..... | 2 |
| 1.1.1. Rasprostranjenost u prirodi | 2 |
| 1.1.2. Biološka djelovanja harmina i njegovih derivata | 3 |
| 1.2. Zaštitne skupine u sintezi | 3 |
| 1.2.1. Zaštita amino skupine..... | 5 |
| 1.2.2. Zaštitne skupine za karboksilne kiseline | 7 |
| 1.2.3. Primjeri ostalih zaštitnih skupina | 7 |
| 1.3. Triazolski derivati ferocena | 8 |
| 1.3.1. Ferocen | 8 |
| 1.3.2. Derivati 1,2,3-triazola | 8 |
| 1.3.3. Antimalarijsko djelovanje triazolskih derivata ferocena, konjugati 1,2,3-triazola i izatin-ferocena | 10 |
| 2. OBRAZLOŽENJE TEME | 14 |
| 3. MATERIJALI I METODE | 16 |
| 3.1. Sinteza prekursora za derivate na položaju 6 β -karbolinskog prstena (1-4)..... | 18 |
| 3.1.1. Sinteza 6-metoksi-1-metil-2,3,4,9-tetrahidro-1 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol-2-ijevo trifluoracetata (1) | 18 |
| 3.1.2. Sinteza 6-metoksi-1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indola (2) | 18 |
| 3.1.3. Sinteza 1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol-6-ola (3)..... | 19 |
| 3.1.4. Sinteza <i>tert</i> -butil (2-((1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol-6-il)oksi)etil)karbamata (4) 19 | |
| 3.2. Sinteza prekursora za derivate na položaju 7 β -karbolinskog prstena (harmol, 8).... | 20 |
| 3.2.1. Sinteza harmola (1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol-7-ola)..... | 20 |
| 3.2.2. Sinteza <i>tert</i> -butil (2-((1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol-7-il)oksi)etil)karbamata (8) 20 | |
| 3.3. Sinteza prekursora za derivate na položaju 9 β -karbolinskog prstena (12)..... | 21 |
| 3.3.1. Sinteza <i>tert</i> -butil (2-(7-metoksi-1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol-9-il)etil) karbamata (12)..... | 21 |

| | | |
|--------|---|----|
| 3.4. | Sinteza amina na položaju 6, 7 i 9 β -karbolinskog prstena (5, 9, 13)..... | 22 |
| 3.4.1. | Sinteza 2-((1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol-6-il)oksi)etan-1-amina (5)..... | 22 |
| 3.4.2. | Sinteza 2-((1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol-7-il)oksi)etan-1-amina (9)..... | 23 |
| 3.4.3. | Sinteza 2-(7-metoksi-1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol-9-il)etan-1-amina (13)..... | 23 |
| 3.5. | Sinteza imidazol-1-sulfonil azid hidroklorida | 24 |
| 3.6. | Sinteza β -karbolinskih azida na položaju 6, 7 i 9 (6, 10, 14) | 24 |
| 3.6.1. | Sinteza 6-(2-azidoetoksi)-1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indola (6)..... | 25 |
| 3.6.2. | Sinteza 7-(2-azidoetoksi)-1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indola (10)..... | 25 |
| 3.6.3. | Sinteza 9-(2-azidoetil)-7-metoksi-1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indola (14)..... | 25 |
| 3.7. | Sinteza 6-, 7- i 9-supstituiranih β -karbolinskih i ferocenskih hibrida s triazolskim poveznicom (7, 11, 15) | 25 |
| 3.7.1. | Sinteza 1-metil-6-(2-(4-ferocetil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)etoksi)-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indola (7)..... | 26 |
| 3.7.2. | Sinteza 1-metil-7-(2-(4-ferocetil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)etoksi)-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indola (11)..... | 26 |
| 3.7.3. | Sinteza 7-metoksi-1-metil-9-(2-(4-ferocetil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)etil)-9 <i>H</i> - pirido[3,4- <i>b</i>]indola (15) | 27 |
| 4. | REZULTATI I RASPRAVA | 28 |
| 5. | ZAKLJUČCI..... | 40 |
| 6. | LITERATURA | 42 |
| 7. | SAŽETAK/SUMMARY..... | 46 |
| 8. | PRILOZI | 51 |
| 9. | TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/BASIC DOCUMENTATION CARD | |

1. UVOD

1.1. Harmin i derivati harmina

Harmin (7-metoksi-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]-indol) i njegovi derivati (harman, harmol, harmalin, harmalol) (Slika 1) pripadnici su β -karbolinskih alkaloida. β -Karbolini su skupina prirodnih alkaloida i njihovih sintetskih derivata s karakterističnim tricikličkim pirido[3,4-*b*]-indolskim prstenom (Filali i sur., 2014).



Slika 1. Harmin i njegovi derivati

1.1.1. Rasprostranjenost u prirodi

β -Karbolini alkaloidi široko su rasprostranjeni u prirodi. Prisutni su u raznim biljkama, morskim životinjama, insektima, sisavcima, ljudskom tkivu i tjelesnim tekućinama. Zbog svojih strukturnih značajki pokazuju raznolike farmakološke i biokemijske učinke te učinke na ponašanje životinja i ljudi (Patel i sur., 2012).

Harmin je prvi put izoliran iz sjemenki biljke sirijske rutvice 1847. godine (*Peganum harmala*, Nitrariaceae). Sirijska rutvica je rasprostranjena na području Bliskog Istoka, središnje Azije i Južne Amerike, gdje je stanovnicima služila u antitumorskoj terapiji (Patel i sur., 2012). Harmin i njegove derivate nalaze se još u dušnoj lozi (*Banisteriopsis caapi*) te u biljnoj vrsti *Eurycoma longifolia* (Kuo i sur., 2003).



Slika 2. Biljne vrste *Peganum harmala* i *Banisteriopsis caapi* (preuzeto iz <https://en.wikipedia.org>)

1.1.2. Biološka djelovanja harmina i njegovih derivata

Provedena istraživanja utvrdila su antimikrobni, antibakterijski, antiplazmodijalni, antioksidativni, protuupalni i citostatski učinak harmina (Filali i sur., 2014). Citostatski učinak harmina i njegovih derivata dokazan je *in vivo* i *in vitro*, a postiže se ugradnjom u dvostruku uzvojnici DNA te inhibicijom njene sinteze (Cao i sur., 2007). U istraživanju Yonezava i suradnika (2011) utvrđeno je da harmin inhibira diferencijaciju osteoklasta i resorpciju kosti. Dokazano je da inhibiraju enzim acetilkolinesterazu u *in vitro* uvjetima, što ih čini zanimljivima u istraživanju novih lijekova za liječenje Alzheimerove bolesti (Jiang i sur., 2019). β -Karbolski alkaloidi djeluju kao inverzni agonisti benzodiazepinskih receptora, inhibiraju enzim MAO-a i serotoninski receptor 5-HT_{2A}, zbog čega se ispituje i njihovo antidepresivno djelovanje. Određene studije pokazale su da se vežu na dopaminske receptore (D₁ i D₂) i aktiviraju ih, što bi moglo biti korisno u liječenju Parkinsonove bolesti (Patel i sur., 2012).

1.2. Zaštitne skupine u sintezi

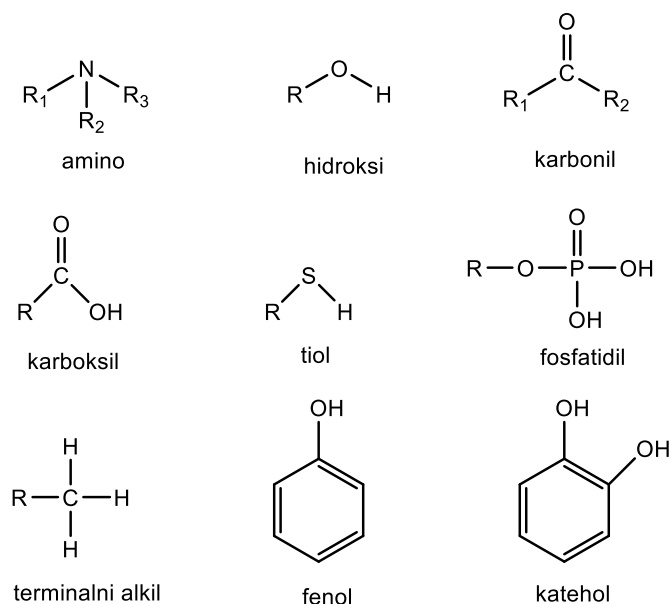
Tijekom organskih sinteza često je potrebno provesti reakciju s funkcionalnom skupinom koja je manje reaktivna od ostalih funkcionalnih skupina prisutnih u strukturi, čime je onemogućena kemoselektivnost reakcije. U tu svrhu se koriste zaštitne skupine.

Zaštitna skupina je naziv za privremeno sintetiziran derivat određene funkcionalne skupine u molekuli. Djeluje tako da se privremeno veže na funkcionalnu skupinu s ciljem smanjenja njene reaktivnosti te povećanja kemoselektivnosti reakcije (www.organicchemistry.org).

Zaštitne skupine moraju zadovoljavati određene uvjete. Primarno, moraju se selektivno vezati na određenu funkcionalnu skupinu u blagim uvjetima reakcije te stvoriti stabilan produkt. Također, zaštitne skupine se moraju ukloniti selektivno, dostupnim i netoksičnim reagensima, koji će biti kemijski inertni prema ostatku molekule. Na kraju, dobiveni produkt mora se lako odvojiti od ostalih nusprodukata reakcije (Wuts i Green, 2007).

Tijek sinteze i reagensi određuju hoće li primjena zaštitnih skupina biti potrebna. Ukoliko dvije ili više funkcionalnih skupina reagiraju s istim reagensom, zaštitna skupina je neizbježna. Funkcionalne skupine kod kojih je proton vezan na heteroatom (alkoholi, tioli, amini) te aldehidi, ketoni i esteri sadrže proton koji se lako ukloni primjenom jakih baznih i nukleofilnih reagensa te ih je stoga potrebno zaštititi. Sekundarni alkoholi, aldehidi i tioli lako se oksidiraju te ih je potrebno zaštititi kod primjene oksidirajućih reagensa. Ukoliko se u sintezi koriste elektrofilni reagensi poželjno je zaštititi amino skupine (Graham, 2015).

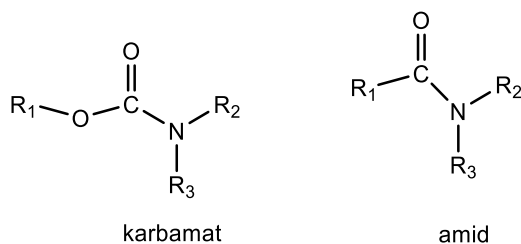
Poznate su brojne zaštitne skupine, a prema skupini koja se zaštićuje klasificiraju se u devet skupina: zaštita amino, hidroksi, karbonil, karboksil, tiolnih i fosfatnih skupina te terminalnih alkila, fenola i katehola (Slika 3).



Slika 3. Skupine koje se zaštićuju tijekom sinteze

1.2.1. Zaštita amino skupine

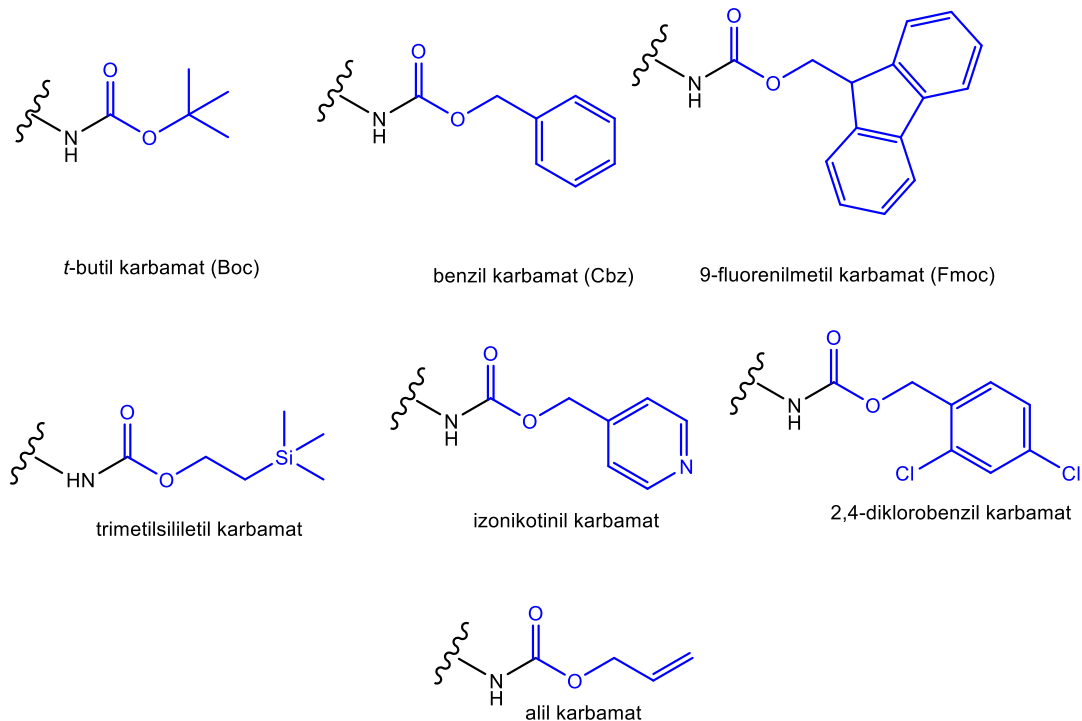
Amino zaštitne skupine dijele se u dvije podskupine, karbamate i amide (Slika 4).



Slika 4. Strukture karbamata i amida

1.2.1.1. Karbamati

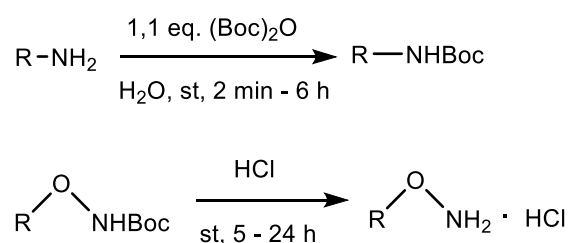
Karbamati se u sintezama peptida i proteina koriste za sprječavanje racemizacije aminokiselina. Najčešće su korišteni *t*-butil karbamat (Boc), benzil karbamat (Cbz), 9-fluorenilmetil karbamat (Fmoc), 2,4-diklorobenzil karbamat, izonikotinil karbamat, alil karbamat, trimetilsililetil karbamat (Slika 5).



Slika 5. Strukture karbamatnih zaštitnih skupina

U izradi ovog diplomskog rada korištena je *t*-butil karbamat (Boc) zaštitna skupina (Slika 5). Boc zaštitna skupina vrlo je često korištena za zaštitu amino skupine u sintezi proteina. Otporna je na hidrolizu u kiselim uvjetima i ne reagira s nukleofilima. Stabilnost skupine u kiselim uvjetima može se povećati zamjenom metilne skupine s fluorometilnom (CH₂F) ili trifluorometilnom skupinom (CF₃) (Wuts, 2014).

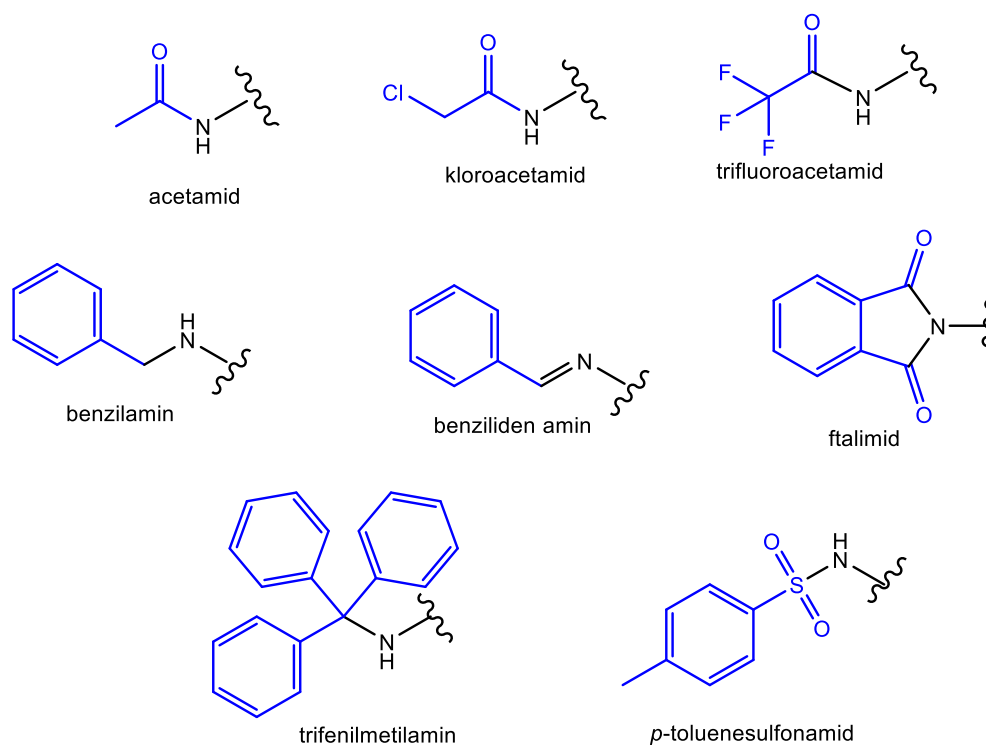
Reakcija zaštite amino skupine izvodi se na sobnoj temperaturi ili u blago zagrijanim uvjetima (40° C) u vodi, DMF-u, metanolu ili acetonitrilu uz prisutnost baze (natrijev bikarbonat, natrijev hidroksid). Zaštitna skupina uklanja se jakom kiselinom u etil-acetatu čime nastaju amin, *t*-butil hidroksid ili izobutilen te ugljikov dioksid kao produkti (Wuts, 2014). Dana su dva primjera vezanja i uklanjanja Boc zaštitne skupine (Slika 6).



Slika 6. Primjer vezanja i uklanjanja Boc skupine (www.organicchemistry.org)

1.2.1.2. Amidi i ostale zaštitne skupine za amine

Druga zaštitna podskupina su amidi koji se koriste u sintezama alkaloida i nukleotida. Amidi su izrazito stabilni na kiselu i bazičnu hidrolizu. Hidroliziraju se tek zagrijavanjem u jako kiselim i bazičnim otopinama, što ih čini pogodnom zaštitnom skupinom, no zbog visoke stabilnosti se teško uklanjaju, zbog čega rjeđe koriste (Wuts, 2014). Primjeri amidnih i ostalih zaštitnih skupina za amine su acetamid, trifluoroacetamid, kloroacetamid ftalimid, benzilamin, trifenilmetilamin, benzilideneamin, *p*-toluensulfonamid (Ts) (Slika 7).



Slika 7. Strukture amidnih i ostalih zaštitnih skupina za amine

1.2.2. Zaštitne skupine za karboksilne kiseline

Zaštitne skupine za karboksilne kiseline koriste se iz više razloga. Karboksilne skupine sadrže izrazito kiseli proton, koji može reagirati s bazom u bazno-kataliziranim reakcijama, što se sprječava njegovim maskiranjem. Također, zaštitom karboksilne skupine sprječava se napad nukleofila te se poboljšavaju svojstva molekule (topljivost, hlapljivost). Neke od skupina su: metilni ester, *t*-butil ester, benzilni ester, *S*-*t*-butil ester, 2-alkil-1,3-oksazolin (Wuts, 2014).

1.2.3. Primjeri ostalih zaštitnih skupina

U Tablici 1 prikazani su nazivi i primjeri ostalih zaštitnih skupina koje se koriste u organskim sintezama.

Tablica 1. Nazivi i primjeri ostalih zaštitnih skupina (preuzeto i adaptirano prema Wuts, 2014).

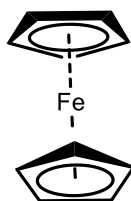
| | |
|---------------------------------------|--|
| zaštitne skupine za aldehide i ketone | ciklički i aciklički acetali i ketali te njihovi tio derivati (npr. dimetilacetal, 1,3-dioksan, 1,3-ditian, <i>N,N</i> -dimetilhidrazon) |
|---------------------------------------|--|

| | |
|---------------------------------------|---|
| zaštitne skupine za alkohole | eteri i esteri (npr. metoksimetil eter, tetrahidrapirani eter, <i>t</i> -butil eter, alil eter, benzil eter, ester octene kiseline) |
| zaštita fosfatne skupine | 2-cijanoetil, metil, 2-metilfenil, <i>t</i> -butil, 4-metiltio-1-butil |
| zaštita tiolne skupine | <i>S</i> -2-metoksiizobutiril, <i>S</i> -difenilmetil, <i>S</i> -trifenilmetil tioeter, <i>S</i> -2-tetrahidropirani, <i>S</i> -izobutoksimetil hemitioacetal |
| zaštitne skupine za fenole i katehole | metoksimetil, 1-etoksietil, fenil, <i>t</i> -butil, trimetilsilil |
| terminalne alkilne zaštitne skupine | propargil, trimetilsilil, <i>t</i> -butiltrimetilsilil, hidroksimetil |

1.3. Triazolski derivati ferocena

1.3.1. Ferocen

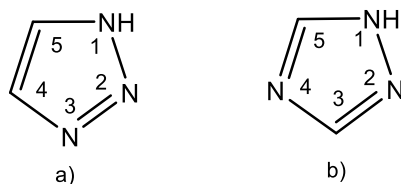
Ferocen (Slika 8) je organometalni spoj građen od atoma željeza i dva ciklopentadienilna liganda. Derivati ferocena istražuju se zbog njihovog citostatskog (stvaranje ROS), antibakterijskog, antifugalnog, antiparazitskog te antimalarijskog djelovanja (Patra i Gilles, 2017).



Slika 8. Ferocen

1.3.2. Derivati 1,2,3-triazola

Triazol je heterociklički prsten, građen od dva atoma ugljika i tri atoma dušika, molekulske formule $C_2H_3N_3$. Razlikuju se dva izomera triazola, 1,2,3-triazol i 1,2,4-triazol (Slika 9).



Slika 9. a) 1,2,3-triazol, b) 1,2,4-triazol

Triazoli su se pokazali izrazito korisnim strukturama u sintezama lijekova. Triazoli posjeduju jak dipolni moment te djeluju kao proton akseptori, tj. lako tvore vodikove veze, zbog čega se koriste kao poveznice različitih dijelova molekule lijeka te za njihovo proširenje. Triazoli se široko koriste i kao bioizosteri amida, estera i karboksilnih kiselina (Malik i sur., 2020). Li i suradnici su 2016. godine istraživali kako zamjena amida njegovim bioizosterom triazolom u strukturi citostatika imatiniba utječe na njegovo *in vitro* djelovanje na K562, HL60 i KG1a stanične linije leukemije. Rezultati istraživanja nisu bili jednoznačni. Zamjena amida triazolom rezultirala je slabijim citostatskim djelovanjem na K562 i HL60 stanične linije leukemije, ali jačim djelovanjem na KG1a stanične linije. Može se zaključiti da zamjena amida njegovim bioizosterom triazolom može poboljšati biološko djelovanje potencijalnih lijekova.

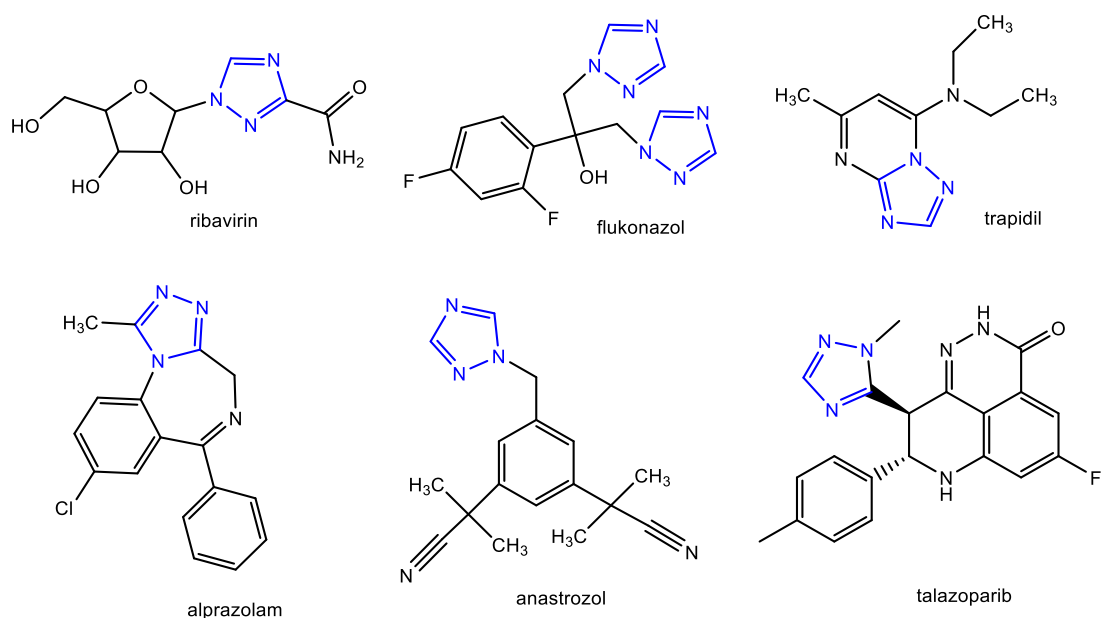
Do sada je sintetizirano mnogo derivata triazola koji su pokazali raznolik spektar biološke aktivnosti te su ispitivani na citostatsko, antimikrobno, antifungalno, antituberkulotsko, antivirusno, antidijabetičko, antimalarijsko, protuupalno i antioksidativno djelovanje (Bozorov i sur., 2019). Triazoli su se prvotno ugrađivali u strukturu antifungalnih lijekova, kao npr. flukonazola, itrakonazola i isavukonazola (Malik i sur., 2020). Otkrićem njihovih povoljnih svojstava postali su dijelovi struktura mnogih spojeva uzora, kao i nekih lijekova (Tablica 2).

Tablica 2. Popis lijekova s triazolom u strukturi (preuzeto i adaptirano sa stranice DrugBank, www.go.drugbank.com te Malik i sur., 2020).

| Lijek | Terapijska skupina |
|--------------|---------------------------|
| flukonazol | antimikotik |
| vorikonazol | antimikotik |
| itrakonazol | antimikotik |
| isavukonazol | antimikotik |
| talazoparib | citostatik |
| rufinamid | antiepileptik |
| tazobaktam | antibiotik |
| lesinurad | inhibitor prijenosa urata |
| tikagrelor | antiagregacijski lijek |
| sitagliptin | antidijabetik |

| | |
|--------------|------------------------|
| trapidil | vazodilatator |
| letrozol | inhibitor aromataze |
| vorozol | inhibitor aromataze |
| anastrozol | inhibitor aromataze |
| deferasiroks | kelator željeza |
| maravirok | antiretrovirusni lijek |
| ribavirin | antivirusni lijek |
| alprazolam | anksiolitik |
| estrazolam | anksiolitik |

Na Slici 10 prikazane su strukture lijekova koje sadrže triazolski prsten.

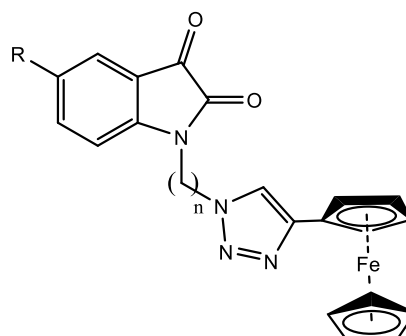


Slika 10. Strukture lijekova koje sadrže triazolski prsten

1.3.3. Antimalarijsko djelovanje triazolskih derivata ferocena, konjugati 1,2,3-triazola i izatin-ferocena

Izatin (1*H*-indol-2,3-dion) je derivat indola. Izatin je endogena molekula prisutna u organizmu čovjeka koja pokazuje antitumorsko, antifugalno, antivirusno, antikonvulzivno djelovanje (Kumar i sur., 2014). U istraživanjima Chibalea i suradnika (2011) te Ravala i suradnika (2012) otkriveno je antimalarijsko djelovanje mnogih njegovih konjugata. Kumar i suradnici su 2014. godine sintetizirali konjugate 1,2,3-triazola i izatin-ferocena te ispitali njihovo antimalarijsko djelovanje *in vivo* na klorokin osjetljiv (3D7) i klorokin rezistentan (W2) soj *P. falciparum*. Struktura konjugata prikazana je na Slici 11, a dobiveni rezultati u Tablici 3.

| Konjugat | n | R |
|----------|---|-----------------|
| a | 2 | H |
| b | 2 | F |
| c | 2 | CH ₃ |
| d | 2 | Cl |
| e | 3 | H |
| f | 3 | F |
| g | 3 | CH ₃ |
| h | 3 | Cl |



Slika 11. Konjugati 1,2,3-triazola i izatin-ferocena

Tablica 3. Antimalarijska aktivnost protiv 3D7 i W2 soja *P. falciparum* (preuzeto i adaptirano od Kumar i sur., 2014).

| Konjugat | R | n | <i>P. falciparum</i> | |
|----------|-----------------|---|----------------------|-------|
| | | | 3D7 | W2 |
| | | | IC_{50}^1 | |
| a | H | 2 | 24,43 | 26,50 |
| b | F | 2 | >100 | >100 |
| c | CH ₃ | 2 | >100 | >100 |
| d | Cl | 2 | >100 | >100 |
| e | H | 3 | 6,35 | 7,41 |
| f | F | 3 | 3,76 | 5,97 |
| g | CH ₃ | 3 | 16,20 | 9,68 |
| h | Cl | 3 | 8,49 | 4,58 |

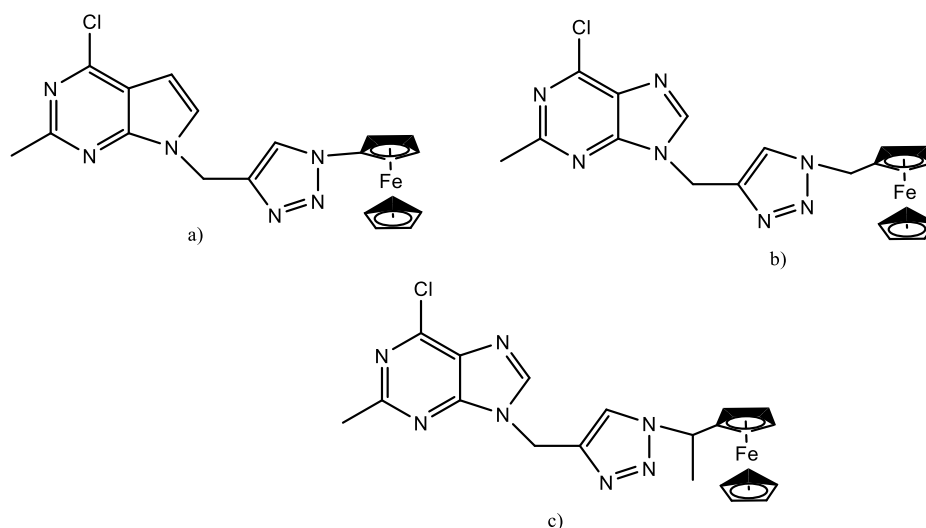
¹ IC_{50} - koncentracija koja izaziva 50 %-tnu inhibiciju rasta stanica

U istraživanju je pokazano da derivati **b-d** s etilnim lancem ne uspjevaju inhibirati rast 3D7 i W2 *P. falciparum*, dok su derivati **a** s etilnim te **e-h** s propilnim lancem to uspjeli. Istraživani konjugat s propilnim lancem potencijalni je antimalarijski lijek (Kumar i sur., 2014).

1.3.4. Citostatsko djelovanje triazolskih derivata ferocena

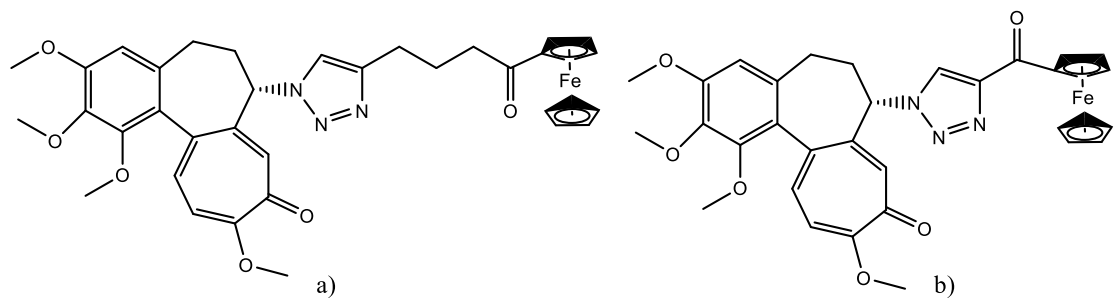
Triazolski derivati ferocena su u brojnim istraživanjima, uz antimalarijsko djelovanje, pokazali i citostatsko djelovanje. Citostatsko djelovanje temelji se na interakciji derivata sa staničnim komponentama, najčešće s enzimima kinazama, reduktazama i polimerazama te na produkciji reaktivnih kisikovih spojeva koji uništavaju tumorske stanice.

Rep i suradnici su u istraživanju 2020. godine sintetizirali purinske i pirimidinske izostere koji u strukturi sadrže triazolske derivate ferocena te ispitivali njihovo antitumorsko djelovanje na stanicama kolorektalnog karcinoma (SW620). Najpotentnijim su se pokazala tri spoja, derivati 6-kloro-7-deazapurina ($IC_{50} = 9,07 \mu\text{M}$), 6-kloropurina ($IC_{50} = 14,38 \mu\text{M}$) i ferocetilalkila ($IC_{50} = 15,50 \mu\text{M}$) (Slika 12 a), 10 b) i 10 c)).



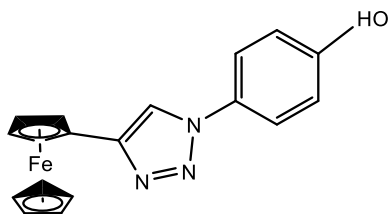
Slika 12. Purinski i pirimidinski derivati ferocena

Citostatsko djelovanje triazolskih derivata ferocena također je tema istraživanja Kowalczyk i suradnika (2017). U istraživanju su sintetizirani ferocenski i rutenocenski derivati kolhicina s 1,2,3-triazolom. Kolhicin djeluje tako da se veže za β -tubulin, čime destabilizira mikrotubule što uzrokuje apoptozu stanice (Kowalczyk i sur., 2017). Povezivanje kolhicina i ferocena s triazolskom poveznicom rezultiralo je jačanjem citostatskog djelovanja. Derivati a) ($IC_{50} = 0,006 \mu\text{M}$) i b) ($IC_{50} = 0,009 \mu\text{M}$) (Slika 13) pokazali su čak dvostruko jače citostatsko djelovanje na HCT116 stanice kolorektalnog adenokarcinoma od samog kolhicina te su daljnja *in vitro* ispitivanja mehanizma citostatskog djelovanja pokazala da iniduciraju apoptozu.



Slika 13. Derivati ispitivani na citostatsko djelovanje u istraživanju Kowalczyk i sur.

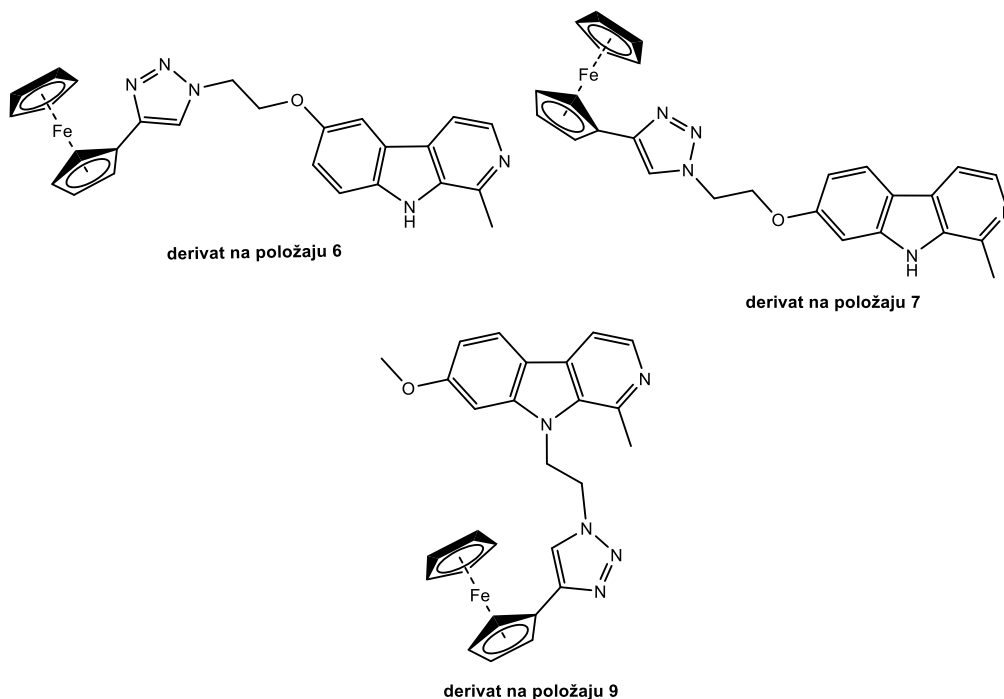
Plažuk i suradnici su 2012. godine istraživali ferocenilne spojeve građene od ferocifenola i 1,2,3-triazola te njihov citostatski učinak na stanice raka dojke (HCC38 i MCF-7). Najveću aktivnost pokazao je spoj s *p*-hidroksifenilnom skupinom ($IC_{50} = 15,3 \mu\text{M}$) (Slika 14).



Slika 14. *p*-Hidroksifenilni derivat ferocena

2. OBRAZLOŽENJE TEME

U okviru ranijih istraživanja u Zavodu za farmaceutsku kemiju, u nazad nekoliko godina istražuju se različiti derivati harmina i β -karbolina kao potencijalni antimalarici. Brojna istraživanja dokazuju antimalarijsko djelovanje spojeva koji sadrže β -karbolinski prsten u strukturi. S druge strane ferocen je organometalni spoj koji se često koristi za hibridizaciju s drugim bioaktivnim spojevima u svrhu pojačanja njihovog biološkog djelovanja, osobito antimalarijskog i antitumorskog. Variranje strukture novih derivata postiže se promjenom položaja na kojoj se u harminskoj okosnici uvodi novi supstituent. Do sada su sintetizirani brojni hibridi harmina i cimetine kiseline (ili analoga klorokina) povezani triazolom ili amidnom vezom. Cilj ovog rada je sinteza i karakterizacija novih hibridnih molekula koje se sastoje od β -karbolina koji je na položajima 6, 7 i 9 povezan s ferocenom preko triazolske poveznice. Dva farmakofora povezani su u jednu molekulu u reakciji bakrom (I) katalizirane azid-alkin cikloadicije („click“ kemija). Triazoli su osobito zanimljivi zbog svojih povoljnih svojstava; 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazoli stabilni su pri visokim temperaturama te u hidrolitičkim i oksidoredukcijskim uvjetima (Saftić i sur., 2014). Ispitivanje antimalarijskog djelovanja novosintetiziranih spojeva izlazi iz okvira ovog rada.



3. MATERIJALI I METODE

Tijek kemijskih reakcija i čistoća produkata praćeni su tankoslojnom kromatografijom (TLC) na silikagel ploćama 60 F₂₅₄ (Merck, Njemaćka) koje su korištene kao nepokretna faza uz diklormetan:metanol (8:1, 7,5:2,5), cikloheksan:etil-acetat:metanol (1:1:0,5) kao pokretnu fazu. Za proćišćavanje spojeva korištena je kromatografija na koloni pri ćemu je kao nepokretna faza korišten silikagel velićine ćestica 0,063–0,200 mm (Sigma Aldrich, SAD) uz iste pokretne faze kao u tankoslojnoj kromatografiji. Analizirani spojevi detektirani su UV zraćenjem ($\lambda = 254$ i 366 nm) te parama joda.

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

¹H i ¹³C NMR spektri snimljeni su na Bruker AV-600 (Bruker, SAD) pri 400 i 600 MHz za ¹H i 75, 101, 151 MHz za ¹³C jezgru. Uzorci su mjereni u DMSO-*d*₆ otopinama na 20 °C u NMR cjevćicama promjera 5 mm. Kemijski pomaci izraćeni su u ppm u odnosu na tetrametilsilan (TMS) kao unutarnji standard u ¹H, odnosno signal dimetilsulfoksida (DMSO) pri 39,52 ppm u ¹³C spektru, a konstante sprezanja (*J*) izraćene su u Hz. Spektri masa snimljeni su na HPLC-MS/MS (Agilent Technologies Triple Quadripole 6420). Kao tehnika ionizacije korištena je ionizacija elektroraspršenjem (ESI) u pozitivnom modu. FTIR-ATR spektri snimljeni su na UATR Two spektrometru (Perkin Elmer, SAD).

Za reakcije potpomognute mikrovalnim zraćenjem korišten je mikrovalni reaktor CEM discover reaktor (CEM GmbH, Njemaćka).

N,N-dimetilformamid, cezijev karbonat, tetrabutilamonij hidrogen sulfat, 5-metoksitriptamin i 2(*tert*-butoksikarbonilamino)etil bromid nabavljeni su od tvrtke TCI Chemicals (Japan), natrijev hidroksid, etil-acetat, diklormetan i kalijev karbonat od tvrtke Kemika (Hrvatska). Petroleter, klorovodićna kiselina (37 %) i cikloheksan nabavljeni su od tvrtke Carlo Erba Reagents (Francuska), metanol od tvrtke Honeywell Riedel de Haën (Njemaćka), natrijev sulfat od tvrtke Gram-Mol (Hrvatska). Dietil-eter nabavljen je od tvrtke Macron Fine Chemicals (SAD), bezvodni metanol, harmin, etinil ferocen, octena kiselina i paladij na ugljenu od tvrtke Sigma Aldrich (SAD), bakrov (II) sulfat pentahidrat od tvrtke Zorka Šabac (Srbija). Natrijeva sol L-askorbinske kiseline nabavljena je od tvrtke Acros Organics (Belgija), a bromovodićna kiselina (47 %) i aluminijev oksid od tvrtke Merck (Njemaćka).

Sve kemikalije bile su *p.a.* stupnja ćistoće.

3.1. Sinteza prekursora za derivate na položaju 6 β -karbolinskog prstena (1-4)

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

U otopinu 5-metoksitriptamina (0,200 g, 1,051 mmol) u acetonitrilu (4 mL) dodani su acetaldehid-dimetil-acetal (0,189 g, 0,222 mL, 2,102 mmol) i trifluoroctena kiselina (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 žuta krutina spoja **1** korištena je u sljedećem reakcijskom koraku bez pročišćavanja.

3.1.2. Sinteza 6-metoksi-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indola (2)

Suspenzija spoja **1** (0,200 g, 0,602 mmol), litijevog karbonata (0,89 g, 1,204 mmol) i 10 % Pd/C (0,023 g, 0,245 mmol) u etanolu (3,5 mL) miješana je u mikrovalnom reaktoru 25 minuta na 150 °C (150 W). Po završetku reakcije, reakcijska smjesa je ohlađena na sobnu temperaturu, filtrirana kroz sloj Celita te isprana metanolom. Filtrat je uparen pod sniženim tlakom, a ostatak nakon uparavanja rastrljan u 20 %-tnoj vodenoj otopini natrijevog klorida i dietil-etera. Dobiven je talog produkta **2** svjetlo žute boje.

Iskorištenje: 0,082 g (62 %).

t_r : 207,0 °C (raspad).

ESI-MS (m/z) 213,1 ($M+1$)⁺.

IR (ATR) ν_{\max} 3986, 3824, 3746, 3522, 3452, 3344, 3140, 3078, 2962, 2886, 2788, 2612, 2360, 2278, 2040, 1882, 1778, 1698, 1634, 1600, 1568, 1498, 1462, 1438, 1396, 1338, 1292, 1216, 1178, 1122, 1070, 1024, 982, 942, 880, 830, 744, 694, 622, 576 cm^{-1} .

¹H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz) δ 11,36 (s, 1H, 10), 8,16 (d, 1H, 7, $J = 5,3$ Hz), 7,90 (d, 1H, 6, $J = 5,3$ Hz), 7,74 (d, 1H, 3, $J = 2,5$ Hz), 7,50 (d, 1H, 12, $J = 8,8$ Hz), 7,18 (dd, 1H, 1, $J = 8,9, 2,6$ Hz), 3,86 (s, 3H, 1'), 2,74 (s, 3H, 13).

¹³C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm) δ 153,16 (2), 142,07 (8), 136,79 (7), 135,08 (11), 134,95 (9), 126,58 (4), 121,26 (5), 117,71 (6), 112,62 (1), 112,54 (12), 103,38 (3), 55,46 (1'), 20,29 (13).

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

Smjesa spoja **2** (0,100 g, 0,471 mmol), 47 % bromovodične kiseline (0,6 mL) i koncentrirane octene kiseline (1,2 mL) miješana je u mikrovalnom reaktoru 25 minuta na 140 °C (75 W). Reakcijska smjesa je nakon završetka ohlađena na sobnu temperaturu te je ekstrahirana etil-acetatom (3 × 40 mL) pri pH 8-9. Organski slojevi su sakupljeni, sušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtrirani te upareni pod sniženim tlakom. Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu cikloheksan:etil-acetat:metanol (1:1:0,5). Nakon rastrljavanja u eter/petroleter smjesi dobiven je žuti talog spoja **3**.

Iskorištenje: 0,077 g (83 %).

t_r : 212,0–213,5 °C.

ESI-MS (m/z): 199,3 (M+1)⁺.

IR (ATR): ν_{\max} 3970, 3866, 3798, 3646, 3376, 3062, 3032, 2924, 2850, 2680, 2366, 1880, 1732, 1642, 1578, 1518, 1460, 1426, 1376, 1298, 1272, 1246, 1194, 1128, 1064, 1030, 982, 952, 926, 868, 804, 704, 624, 594, 548, 506 cm⁻¹.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm, J /Hz) δ 11,25 (s, 1H, 10), 9,13 (s, 1H, 14), 8,12 (d, 1H, 7, J = 5,3 Hz), 7,82 (d, 1H, 6, J = 5,3 Hz), 7,48 (d, 1H, 3, J = 2,4 Hz), 7,42 (d, 1H, 12, J = 8,7 Hz), 7,07 (dd, 1H, 1, J = 8,7, 2,4 Hz), 2,73 (s, 3H, 13).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm) δ 150,93 (2), 141,95 (8), 136,49 (7), 135,15 (11), 134,63 (9), 126,68 (4), 121,76 (5), 118,08 (1), 112,73 (6), 112,53 (12), 105,69 (3), 20,32 (13).

3.1.4. Sinteza *tert*-butil (2-((1-metil-9H-pirido[3,4-b]indol-6-il)oksi)etil)karbamata (4)

Spoj **3** (0,375 g, 1,892 mmol) otopljen je u 4 mL suhog DMF-a te su dodani cezijev karbonat (1,726 g, 5,298 mmol), tetrabutilamonij hidrogen sulfat (0,514 g, 1,514 mmol) te 2(*tert*-butoksikarbonilamino)etil bromid (1,696 g, 7,568 mmol). Reakcijska smjesa miješana je 24 sata na sobnoj temperaturi u atmosferi dušika. Po završetku reakcije, dodano je 40 mL destilirane vode te je ekstrahirano etil-acetatom (3 × 50 mL). Sakupljeni organski slojevi su sušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtrirani te upareni pod sniženim tlakom. Dobiveni produkt pročišćen je kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu diklormetan:metanol (8:1). Dobiveni pročišćeni produkt **4** je žuto ulje.

Iskorištenje: 0,548 g (85 %).

ESI-MS (m/z): 342,4 ($M+1$)⁺.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm, J /Hz) δ 11,41 (s, 1H, 10), 8,16 (d, 1H, 7, $J = 5,4$ Hz), 7,92 (d, 1H, 6 $J = 5,4$ Hz), 7,77 (d, 1H, 3, $J = 2,5$ Hz), 7,51 (d, 1H, 12, $J = 8,8$ Hz), 7,18 (dd, 1H, 1, $J = 8,8$, 2,5 Hz), 7,06 (t, 1H, 3', $J = 5,0$ Hz), 4,05 (t, 2H, 1', $J = 5,9$ Hz), 3,39–3,34 (m, 2H, 2'), 2,75 (s, 3H, 13), 1,40 (s, 9H, 6', 7', 8').

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm) δ 155,73 (4'), 152,39 (2), 142,04 (8), 136,56 (7), 135,41 (11), 135,03 (9), 126,88 (4), 121,35 (5), 118,42 (1), 112,78 (6), 112,75 (12), 104,67 (3), 77,76 (5'), 67,19 (1'), 39,61 (2'), 28,24 (6', 7', 8'), 20,23 (13).

3.2. Sinteza prekursora za derivate na položaju 7 β -karbolinskog prstena (harmol, 8)

3.2.1. Sinteza harmola (1-metil-9H-pirido[3,4-*b*]indol-7-ola)

Reakcijska smjesa harmina (0,250 g, 1,178 mmol), octene kiseline (3 mL) i 47 % bromovodične kiseline (1,5 mL) miješana je u mikrovalnom reaktoru 25 minuta na 140 °C (150 W). Po završetku reakcije pH je namješten na 9 te je reakcijska smjesa ekstrahirana etil-acetatom (3 \times 40 mL). Organski slojevi su sakupljeni, sušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtrirani te upareni pod sniženim tlakom. Nakon rastrljavanja u eteru i odsisavanja dobiven je žuti talog harmola (Perković i sur, 2019).

Iskorištenje: 0,214 g (92 %).

3.2.2. Sinteza *tert*-butil (2-((1-metil-9H-pirido[3,4-*b*]indol-7-il)oksi)etil)karbamata (8)

Otopini harmola (0,431 g, 2,174 mmol) u suhom DMF-u (4 mL) dodani su cezijev karbonat (0,992 g, 3,044 mmol) te 2(*tert*-butoksikarbonilamino)etil bromid (1,169 g, 5,218 mmol). Reakcijska smjesa je grijana 24 sata na 95 °C pod atmosferom dušika. Nakon završetka, reakcijska smjesa je ohlađena te joj je dodano 50 mL destilirane vode. Potom je provedena ekstrakcija etil-acetatom (3 \times 40 mL). Organski slojevi su sakupljeni, sušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtrirani te upareni pod sniženim tlakom. Dobiveni spoj pročišćen je kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu diklormetan:metanol (8:1), a nakon rastrljavanja u smjesi eter/petroleter dobiven je talog prljavo bijele boje produkta 8.

Iskorištenje: 0,581 g (78 %).

t_r : 189,5–190,5 °C.

ESI-MS (m/z): 342,3 (M+1)⁺.

IR (ATR): ν_{\max} 3390, 3134, 3052, 2978, 2944, 2872, 2764, 2726, 2582, 2406, 1692, 1634, 1568, 1530, 1480, 1448, 1394, 1368, 1334, 1296, 1260, 1174, 1114, 1052, 1010, 964, 872, 846, 820, 768, 720, 686, 634, 604, 522 cm^{-1} .

¹H NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm, J/Hz) δ 11,42 (s, 1H, 10), 8,15 (d, 1H, 7, $J = 5,3$ Hz), 8,06 (d, 1H, 3, $J = 8,6$ Hz), 7,81 (d, 1H, 6, $J = 5,3$ Hz), 7,07 (t, 1H, 2, $J = 5,7$ Hz), 7,00 (d, 1H, 12, $J = 2,2$ Hz), 6,84 (dd, 1H, 3', $J = 8,7, 2,2$ Hz), 4,07 (t, 2H, 1', $J = 5,7$ Hz), 3,35–3,39 (m, 2H, 2'), 2,73 (s, 3H, 13), 1,40 (s, 9H, 6', 7', 8').

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm) δ 159,22 (4'), 155,74 (1), 141,92 (8), 141,23 (11), 137,61 (7), 134,55 (9), 127,26 (5), 122,68 (3), 114,96 (4), 111,98 (6), 109,34 (2), 95,38 (12), 77,82 (5'), 66,66 (1'), 28,25 (6', 7', 8'), 20,29 (13).

3.3. Sinteza prekursora za derivate na položaju 9 β -karbolinskog prstena (12)

3.3.1. Sinteza *tert*-butil (2-(7-metoksi-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-9-il)etil) karbamata (12)

Harmin (0,300 g, 1,413 mmol) je pri 85 °C otopljen u 4 mL suhog DMF-a. Reakcijska smjesa je propuhana argonom te su dodani cezijev karbonat (2,072 g, 6,359 mmol) i 2(*tert*-butoksikarbonilamino)etil bromid (1,267 g, 5,652 mmol). Reakcija je miješana na 90 °C te je sljedeći dan, po završetku reakcije i nakon hlađenja na sobnu temperaturu, reakcijskoj smjesi dodano 40 mL destilirane vode te je smjesa ekstrahirana etil-acetatom (3 × 40 mL). Organski slojevi su sakupljeni i isprani destiliranom vodom (1 × 50 mL), sušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtrirani te upareni pod sniženim tlakom. Dobiveni talog crno smeđe boje pročišćen je kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu diklormetan:metanol (8:1) te rastrljan u smjesi etera i petroletera.

Iskorištenje: 0,249 g (50 %).

t_r : 197,5–199 °C.

ESI-MS (m/z): 356,2 (M+1)⁺.

IR (ATR): ν_{\max} 3183, 3065, 2993, 2969, 2937, 1701, 1623, 1567, 1502, 1447, 1409, 1366, 1343, 1313, 1278, 1247, 1185, 1166, 1146, 1124, 1092, 10481018, 970, 944, 876, 841, 803, 768, 727, 684, 639, 596, 559, 534 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz) δ 8,15 (d, 1H, 7, $J = 5,1$ Hz), 8,07 (d, 1H, 3, $J = 8,5$ Hz), 7,85 (d, 1H, 6, $J = 5,0$ Hz), 7,22 (s, 1H, 12), 7,02 (t, 1H, 3', $J = 5,2$ Hz), 6,87 (dd, 1H, 2, $J = 8,4, 1,6$ Hz), 4,55 (t, 2H, 1', $J = 6,6$ Hz), 3,92 (s, 3H, 14), 3,33–3,31 (m, 2H, 2'), 2,95 (s, 3H, 13), 1,29 (s, 8H, 6', 7', 8'), 1,01 (s, 1H, 6', 7', 8').

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm) δ 160,45 (4'), 155,63 (1), 142,85 (8), 140,47 (9), 137,64 (7), 134,70 (11), 128,40 (4), 122,21 (3), 114,35 (5), 112,11 (6), 108,95 (2), 93,81 (12), 77,78 (5'), 55,48 (14), 43,99 (1'), 39,94 (2'), 28,02 (6',7', 8'), 23,00 (13).

3.4. Sinteza amina na položaju 6, 7 i 9 β -karbolinskog prstena (5, 9, 13)

Opći postupak:

Suspenziji odgovarajućeg β -karbolinskog derivata (**4**, **8** ili **12**) (1,605 mmol) u metanolu (5 mL) dodana je 4M klorovorična kiselina (4,013 mL, 16,05 mmol). Suspenzija je miješana na 50 °C preko noći. Nakon završetka reakcije metanol je uparen pod sniženim tlakom, talog otopljen u 15 mL destilirane vode, zalužen 5 %-tnom otopinom natrijevog hidroksida na pH = 11 te ekstrahiran etil-acetatom (3 \times 40 mL). Sakupljeni organski slojevi sušeni su nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtrirani te upareni pod sniženim tlakom. Nakon rastrljavanja u eter/petroleter, odsisan je talog odgovarajućeg produkta.

3.4.1. Sinteza 2-((1-metil-9H-pirido[3,4-*b*]indol-6-il)oksi)etan-1-amina (5)

Količina reaktanta: 0,548 g spoja **4**.

Iskorištenje: 0,267 g (69 %).

ESI-MS (m/z): 242,2 (M+1) $^+$.

IR (ATR): ν_{\max} 3645, 3359, 3241, 3065, 2925, 2869, 1605, 1581, 1566, 1500, 1478, 1458, 1401, 1288, 1234, 1211, 1126, 1071, 1059, 992, 905, 884, 847, 825, 816, 741, 703, 632 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz) δ 11,36 (s, 1H, 10), 8,15 (d, 1H, 7, $J = 5,3$ Hz), 7,90 (d, 1H, 6, $J = 5,3$ Hz), 7,74 (d, 1H, 3, $J = 2,3$ Hz), 7,50 (d, 1H, 12, $J = 8,8$ Hz), 7,19 (dd, 1H, 1, $J = 8,8, 2,5$ Hz), 4,02 (t, 2H, 1', $J = 5,8$ Hz), 2,94 (t, 2H, 2', $J = 5,7$ Hz), 2,74 (s, 3H, 13).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm) δ 152,47 (2), 141,87 (8), 136,70 (7), 135,19 (11), 134,93 (9), 126,54 (4), 121,29 (5), 117,98 (6), 112,34 (1), 112,18 (12), 104,86 (3), 71,06 (1'), 40,87 (2'), 19,97 (13).

3.4.2. Sinteza 2-((1-metil-9H-pirido[3,4-*b*]indol-7-il)oksi)etan-1-amina (9)

Količina reaktanta: 0,548 g spoja **8**.

Iskorištenje: 0,310 g (80 %).

t_f : 197,5–199 °C.

ESI-MS (m/z): 342,3 (M+1) $^+$.

IR (ATR): ν_{\max} 3984, 3954, 3908, 3838, 3786, 3716, 3656, 3530, 3394, 3332, 3250, 3156, 3068, 2930, 2864, 2774, 2372, 1892, 1756, 1720, 1628, 1568, 1486, 1444, 1326, 1284, 1238, 1180, 1104, 1028, 996, 908, 860, 812, 636, 590 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz) δ 11,38 (s, 1H, 10), 8,15 (d, 1H, 7, $J = 5,2$ Hz), 8,04 (d, 1H, 3, $J = 8,6$ Hz), 7,79 (d, 1H, 6, $J = 5,2$ Hz), 7,01 (d, 1H, 2, $J = 2,2$ Hz), 6,85 (dd, 1H, 12, $J = 8,6$, 2,3 Hz), 4,03 (t, 2H, 1', $J = 5,7$ Hz), 2,95 (t, 2H, 2', $J = 5,7$ Hz), 2,73 (s, 3H, 13), 1,58 (s, 2H, 3').

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm) δ 159,46 (1), 141,91 (8), 141,25 (11), 137,73 (7), 134,54 (9), 127,20 (5), 122,57 (3), 114,84 (4), 111,89 (6), 109,37 (2), 95,29 (12), 70,36 (1'), 40,98 (2'), 20,33 (13).

3.4.3. Sinteza 2-(7-metoksi-1-metil-9H-pirido[3,4-*b*]indol-9-il)etan-1-amina (13)

Količina reaktanta: 0,570 g spoja **12**.

Iskorištenje: 0,242 g (59 %).

t_f : 133,5–135,5 °C.

ESI-MS (m/z): 256,3 (M+1) $^+$.

IR (ATR): ν_{\max} 3354, 3327, 3274, 3039, 2966, 2932, 2837, 1751, 1621, 1563, 1496, 1443, 1404, 1343, 1302, 1283, 1236, 1219, 1151, 1136, 1117, 1089, 1040, 1021, 973, 941, 887, 848, 815, 768, 723, 643, 599, 551, 528 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz) δ 8,16 (d, 1H, 7, $J = 5,2$ Hz), 8,07 (d, 1H, 3, $J = 8,6$ Hz), 7,86 (d, 1H, 6, $J = 5,1$ Hz), 7,24 (d, 1H, 12, $J = 2,2$ Hz), 6,87 (dd, 1H, 2, $J = 8,6$, 2,2 Hz), 4,54 (t, 2H, 1', $J = 7,3$ Hz), 3,91 (s, 3H, 1'), 2,97 (s, 3H, 13), 2,93 (t, 2H, 2', $J = 7,3$ Hz).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm) δ 160,50 (1), 142,91 (8), 140,63 (9), 137,65 (7), 134,76 (11), 128,23 (4), 122,29 (3), 114,17 (5), 112,18 (6), 109,11 (2), 93,79 (12), 55,61 (14), 46,87 (1'), 41,93 (2'), 23,28 (13).

3.5. Sinteza imidazol-1-sulfonil azid hidroklorida

Ohlađenoj suspenziji natrijevog nitrata (0,960 g, 14,767 mmol) u ACN-u (10 mL) dodan je sulfuril-klorid (1,2 mL, 14,767 mmol) te je miješana tijekom noći na sobnoj temperaturi. Sljedeći dan dodan je imidazol (2,040 g, 29,534 mmol). Nakon 48 sati miješanja na sobnoj temperaturi, reakcijskoj smjesi je dodan etil-acetat (20 mL). Smjesa je ekstrahirana zasićenom vodenom otopinom natrijevog hidrogenkarbonata (2×30 mL) i natrijevog klorida (2×30 mL). Organski slojevi su sakupljeni, sušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom te filtrirani. Dobiveni filtrat ohlađen je u ledenoj kupelji te je uz miješanje dokapavana smjesa klorovodične kiseline i etil-acetata (1M) do prestanka taloženja. Dobiveni bijeli talog je uparen pod sniženim tlakom (Goddard-Borger i Stick, 2007).

Iskorištenje: 1,117 g (44 %).

3.6. Sinteza β -karbolinskih azida na položaju 6, 7 i 9 (6, 10, 14)

Opći postupak:

Suspenzija odgovarajućeg amina (**5**, **9** ili **13**) (0,746 mmol), kalijevog karbonata (0,258 g, 1,865 mmol), bakrovog (II) sulfata pentahidrata (*q.s.* vrh špatule) i ISA \times HCl (0,187 g, 0,865 mmol) u apsolutnom metanolu (2 mL) miješana je na sobnoj temperaturi 90 minuta. Nakon završetka reakcije metanol je uparen, a reakcijskoj smjesi je dodana destilirana voda (15 mL). Smjesa je ekstrahirana etil-acetatom (2×40 mL). Organski slojevi su sakupljeni, sušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtrirani te upareni pod sniženim tlakom. Dobiveni sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu cikloheksan:etil-acetat:metanol (1:1:0,5).

Navedeni azidi upotrebljeni su u daljnjem reakcijskom koraku bez prethodne karakterizacije zbog nestabilnosti.

3.6.1. Sinteza 6-(2-azidoetoksi)-1-metil-9H-pirido[3,4-*b*]indola (6)

Količina reaktanta: 0,180 g spoja 5.

Iskorištenje: 0,185 g (93 %).

3.6.2. Sinteza 7-(2-azidoetoksi)-1-metil-9H-pirido[3,4-*b*]indola (10)

Količina reaktanta: 0,180 g spoja 9.

Iskorištenje: 0,158 g (79 %).

3.6.3. Sinteza 9-(2-azidoetil)-7-metoksi-1-metil-9H-pirido[3,4-*b*]indola (14)

Količina reaktanta: 0,190 g spoja 13.

Iskorištenje: 0,111 g (53 %).

3.7. Sinteza 6-, 7- i 9-supstituiranih β -karbolinskih i ferocenskih hibrida s triazolskim poveznicom (7, 11, 15)

Opći postupak:

Suspenziji odgovarajućeg β -karbolinskog azida (6, 10 ili 14) (0,209 mmol) i etinil ferocena (0,040 g, 0,190 mmol) u suhom DMF-u (1,5 mL) dodana je vodena otopina natrijevog aksorbata (0,040 g, 0,227 mmol) i 20 μ L vodene otopine bakrova sulfata pentahidrata. Reakcijska smjesa miješana je na sobnoj temperaturi 24 sata. Novonastali talog je odsisan, a pročišćavanje produkta provedeno je metodom A ili B.

Metoda pročišćavanja A: Sadržaj matičnice ekstrahiran je etil-acetatom (2 \times 30 mL). Organski slojevi su sakupljeni, sušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtrirani te upareni pod sniženim tlakom. Dobiveni produkt pročišćen je kromatografijom na koloni uz dodatak Al₂O₃ i pokretnu fazu cikloheksan:etil-acetat:metanol (1:1:0,5) te rastrljan u eter/petroleter smjesi.

Metoda pročišćavanja B: Talog je pročišćen kromatografijom na koloni uz dodatak Al₂O₃ i pokretnu fazu cikloheksan:etil-acetat:metanol (1:1:0,5) te rastrljan u smjesi etera i petroletera.

3.7.1. Sinteza 1-metil-6-(2-(4-feroceni-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)etoksi)-9*H*-pirido[3,4-*b*]indola (7)

Količina reaktanta: 0,056 g spoja **6**.

Metoda pročišćavanja: A.

Iskorištenje: 0,037 g (37 %).

ESI-MS (*m/z*): 477,9 (M+1)⁺.

*t*_f: 201,5–204 °C.

IR (ATR): ν_{\max} 3133, 2949, 2872, 1583, 1567, 1496, 1457, 1285, 1209, 1105, 1041, 988, 877, 817, 704, 621, 503 cm⁻¹.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm, *J*/Hz) δ 11,39 (s, 1H, 10), 8,29 (s, 1H, 3'), 8,15 (d, 1H, 7, *J* = 5,3 Hz), 7,87 (d, 1H, 6, *J* = 5,3 Hz, 9), 7,78 (d, 1H, 3, *J* = 2,5 Hz), 7,48 (d, 1H, 12, *J* = 8,8 Hz), 7,16 (dd, 1H, 1, *J* = 8,8, 2,5 Hz), 4,82 (t, 2H, 1', *J* = 5,1 Hz), 4,73 (t, 2H, 6', 9', *J* = 1,9 Hz), 4,53 (t, 2H, 2', *J* = 5,2 Hz), 4,30 (t, 2H, 7', 8', *J* = 1,8 Hz), 4,01 (s, 5H, 10'–14'), 2,72 (s, 3H, 13).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm) δ 151,85 (2), 145,24 (8), 142,24 (4'), 136,98 (7), 135,51 (11), 135,10 (9), 126,63 (4), 121,35 (5), 121,28 (3'), 118,14 (1), 112,77 (6), 112,64 (12), 105,13 (3), 76,05 (5'), 69,22 (10'-14'), 68,21 (6', 9'), 67,14 (1'), 66,34 (7', 8'), 49,24 (2'), 20,40 (13).

3.7.2. Sinteza 1-metil-7-(2-(4-feroceni-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)etoksi)-9*H*-pirido[3,4-*b*]indola (11)

Količina reagensa: 0,056 g spoja **10**.

Metoda pročišćavanja: B.

Iskorištenje: 0,077 g (77 %).

*t*_f: 228–230 °C (raspad).

ESI-MS (*m/z*): 477,9 (M+1)⁺.

IR (ATR): ν_{\max} 3124, 3076, 2958, 2849, 2772, 1623, 1565, 1443, 1425, 1301, 1277, 1239, 1185, 1107, 1053, 1041, 976, 874, 821, 809, 742, 719, 692, 637, 586, 570, 521, 512, 495, 482 cm⁻¹.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm, *J*/Hz) δ 11,44 (s, 1H, 10), 8,30 (s, 1H, 3'), 8,14 (d, 1H, 7, *J* = 5,3 Hz), 8,05 (d, 1H, 3, *J* = 8,6 Hz), 7,79 (d, 1H, 6, *J* = 5,3 Hz), 7,03 (d, 1H, 12, *J* = 2,2 Hz), 6,85 (dd, 1H, 2, *J* = 8,6, 2,2 Hz), 4,83 (t, 2H, 1', *J* = 5,1 Hz), 4,73 (t, 2H, 6', 9', *J* = 1,9 Hz), 4,55 (t, 2H, 2', *J* = 5,1 Hz), 4,30 (t, 2H, 7', 8', *J* = 1,8 Hz), 2,72 (s, 3H, 13).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm) δ 158,62 (1), 145,25 (8), 141,72 (4'), 141,35 (11), 137,76 (7), 134,59 (9), 127,07 (5), 122,71 (3'), 121,34 (3), 115,33 (4), 111,98 (6), 109,17 (2), 95,73 (12), 76,01 (5'), 69,23 (10'-14'), 68,22 (6', 9'), 66,57 (1'), 66,35 (7', 8'), 49,09 (2'), 26,33 (4'), 20,36 (13).

3.7.3. Sinteza 7-metoksi-1-metil-9-(2-(4-ferocenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)etil)-9*H*-pirido[3,4-*b*]indola (15)

Količina reagensa: 0,059 g spoja **14**.

Metoda pročišćavanja: B.

Iskorištenje: 0,066 g (64 %).

t_f : 218–220 °C.

ESI-MS (m/z): 491,9 ($M+1$)⁺.

IR (ATR): ν_{max} 2967, 1620, 1565, 1444, 1403, 1338, 1252, 1221, 1182, 1157, 1136, 1096, 1040, 1020, 970, 928, 876, 820, 806, 876, 806, 640, 589, 544, 500, 475 cm^{-1} .

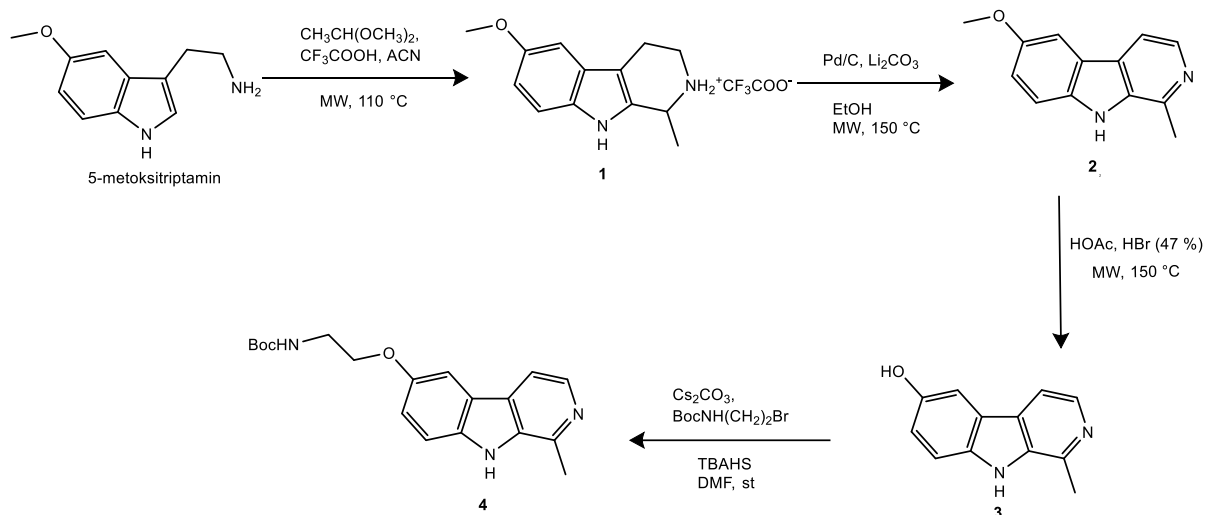
^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz) δ 8,17 (d, 1H, 7, $J = 5,2$ Hz), 8,04 (d, 1H, 3, $J = 8,5$ Hz), 7,88 (d, 1H, 6, $J = 5,2$ Hz), 7,80 (s, 1H, 3'), 6,84 (d, 1H, 12, $J = 2,1$ Hz), 6,80 (dd, 1H, 2, $J = 8,6, 2,1$ Hz), 5,08 (t, 2H, 1', $J = 5,6$ Hz), 4,88 (t, 2H, 2', $J = 5,6$ Hz), 4,49 (t, 2H, 6', 9', $J = 1,9$ Hz), 4,22 (t, 2H, 7', 8', $J = 1,9$ Hz), 3,86-3,85 (m, 8H, 14, 10'-14'), 2,90 (s, 3H, 13).

^{13}C NMR ((DMSO- d_6 , δ ppm) δ 160,51 (1), 145,15 (4'), 142,76 (8), 140,67 (9), 138,12 (7), 134,68 (11), 128,73 (4), 122,23 (3'), 121,79 (3), 114,10 (5), 112,26 (6), 109,81 (2), 92,93 (12), 75,78 (5'), 68,09 (10'-14'), 68,06 (6', 9'), 66,26 (7', 8'), 55,37 (14), 49,71 (1'), 44,47, (2'), 23,18 (13).

4. REZULTATI I RASPRAVA

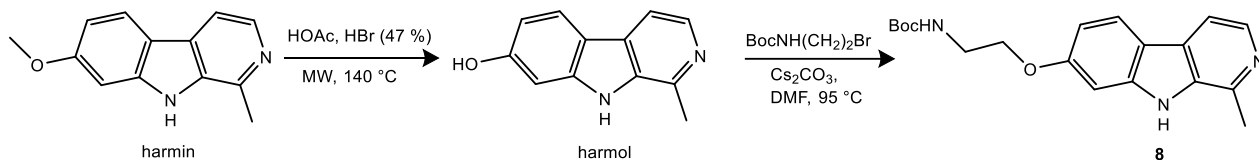
U ovom radu sintetizirana su tri nova derivata harmina: **7**, **11**, **15**, koji u položajima 6, 7 i 9 β -karbolinskog prstena imaju vezan ferocenski prsten pomoću triazola kao poveznice. Od β -karbolinske osnovice sintetizirani su azidi (**6**, **10**, **14**) u nekoliko reakcijskih koraka ovisno o položaju supstitucije na prstenu.

Sinteza 6-supstituiranog β -karbolinskog derivata (**7**) provedena je u sedam reakcijskih koraka. U prvom reakcijskom koraku dolazi do kondenzacije amina i acetaldehid-dimetil-acetala uz trifluorocetnu kiselinu u acetonitrilu, čime se zatvara šesteročlani prsten te nastaje spoj **1**. Navedena reakcija poznata je kao Pictet-Spenglerova kondenzacija. Spoj **1** se dalje oksidira uz Pd/C u etanolu čime nastaje spoj **2**. U sljedećem koraku dolazi do kisele hidrolize etera s bromovodičnom kiselinom i koncentriranom octenom kiselinom te nastaje fenol, spoj **3**, koji zatim u reakciji s 2(*tert*-butoksikarbonilamino)etil bromidom u suhom DMF-u korištenjem cezijeveg karbonata kao baze i tetrabutilamonij hidrogen sulfata kao katalizatora faznog prijelaza daje spoj **4** (Shema 1).



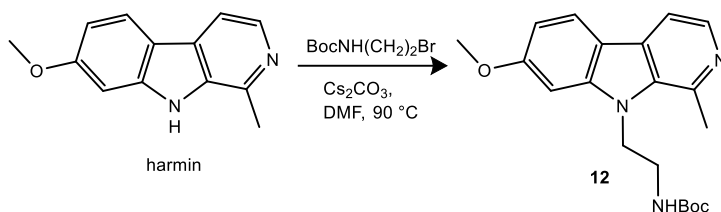
Shema 1. Sinteza **1-4** spoja derivata harmina na položaju 6

Sinteza 7- i 9- supstituiranih β -karbolinskih derivata započinje od molekule harmina. Derivat na položaju 7 (**11**) sintetiziran je u pet reakcijskih koraka. U prvom koraku reakcijom harmina, octene i bromovodične kiseline po uzoru na reakciju nastajanja spoja **3**, nastaje harmol. U drugom koraku harmol u suhom DMF-u uz cezijev karbonat kao bazu, u reakciji nukleofilne supstitucije s 2(*tert*-butoksikarbonilamino)etil bromidom daje eterski produkt, spoj **8** (Shema 2).



Shema 2. Sinteza Boc-zaštićenog amino-derivata harmina na položaju 7

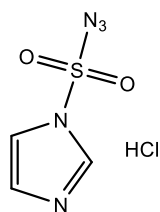
Sinteza derivata na položaju 9 započinje reakcijom harmina s 2(*tert*-butoksikarbonilamino)etil bromidom u suhom DMF-u pod atmosferom argona, uz bazu cezijev karbonat, čime je sintetiziran spoj **12** (Shema 3).



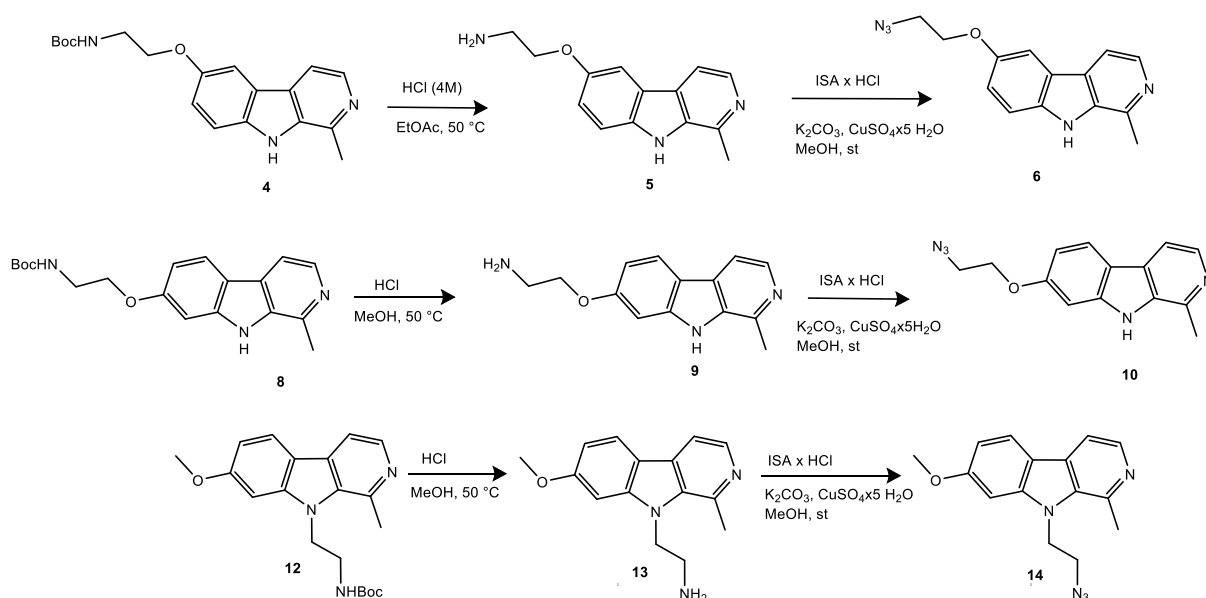
Shema 3. Sinteza Boc-zaštićenog amino-derivata harmina na položaju 9

Daljnji koraci sinteze uključuju skidanje zaštitne Boc skupine sa spojeva **4**, **8** i **12**, čime su dobiveni odgovarajući amini **5**, **9** i **13**. Iz navedenih amina su zatim sintetizirani azidi, koji su poslužili kao građevni elementi u sintezi konačnih produkata.

Spojevima **4**, **8** i **12** se u kiselim uvjetima, uz klorovodičnu kiselinu u metanolu, uklanja Boc zaštitna skupina (hidroliza karbamata) te nastaju odgovarajući amini **5**, **9** i **13**. U sljedećem koraku sinteze reakcijom amina s kalijevim karbonatom, bakrovim (II) sulfatom pentahidratom i $\text{ISA} \times \text{HCl}$ u apsolutnom metanolu dolazi do njihove oksidacije te nastaju azidi **6**, **10** i **14** (Shema 4). Reagens $\text{ISA} \times \text{HCl}$ sintetiziran je tako da su natrijevom nitratu u ACN-u dodani sulfuril-klorid, imidazol te etil-acetat (Slika 16).

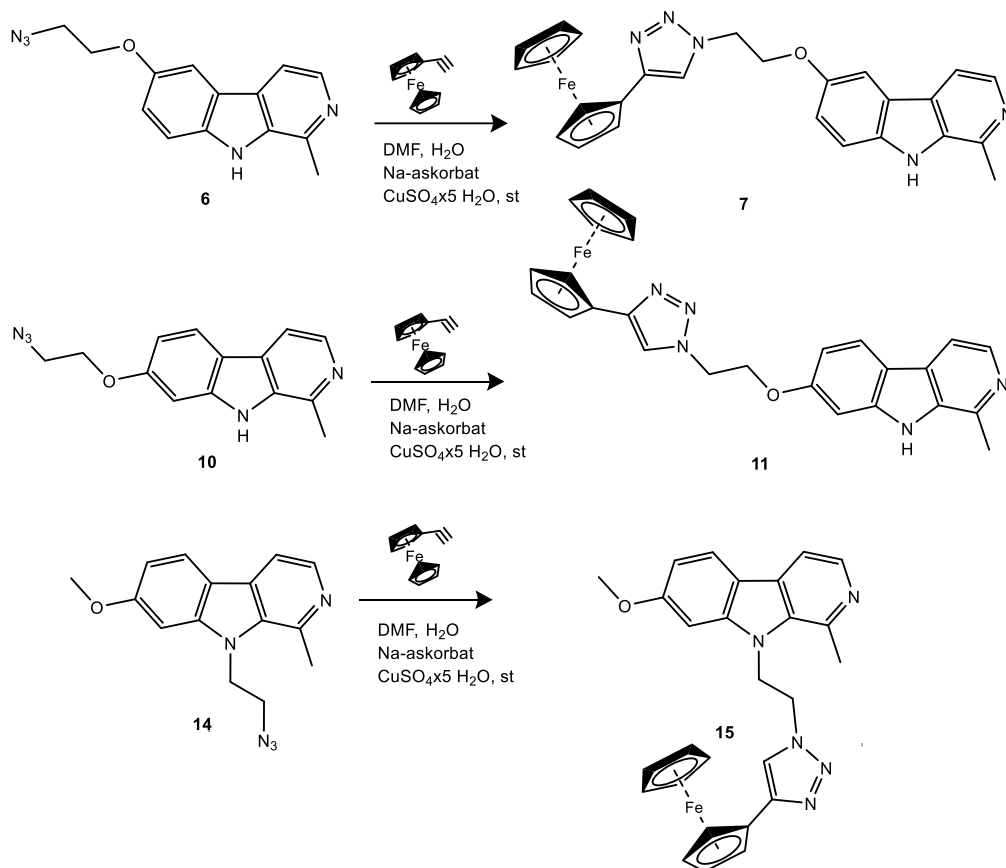


Slika 16. Struktura imidazol-1-sulfonil azid hidroklorida (ISA × HCl)



Shema 4. Sinteza azida harmina na položajima 6, 7 i 9

U zadnjem koraku sinteze azidi u suhom DMF-u reagiraju s etinil ferocenom uz vodenu otopinu natrijevog askrobata i bakrova (II) sulfata pentahidrata, čime nastaju konačni derivati harmina s ferocenom vezanim pomoću triazolskog prstena (Shema 5). Za povezivanje derivata harmina i ferocenskog prstena u hibridne spojeve korištena je „click“ kemija, odn. bakrom (I) katalizirana azid-alkin cikloadicija, čime je sintetizirana njihova poveznica, triazolski prsten.



Shema 5. Sinteza konačnih produkata **7**, **11** i **15**

Pripravljenim spojevima određena su tališta te su analitički i spektroskopski karakterizirani (IR, MS, ¹H i ¹³C NMR). Dobiveni podaci dani su u Tablicama 4-9, a spektri su dani u prilogu.

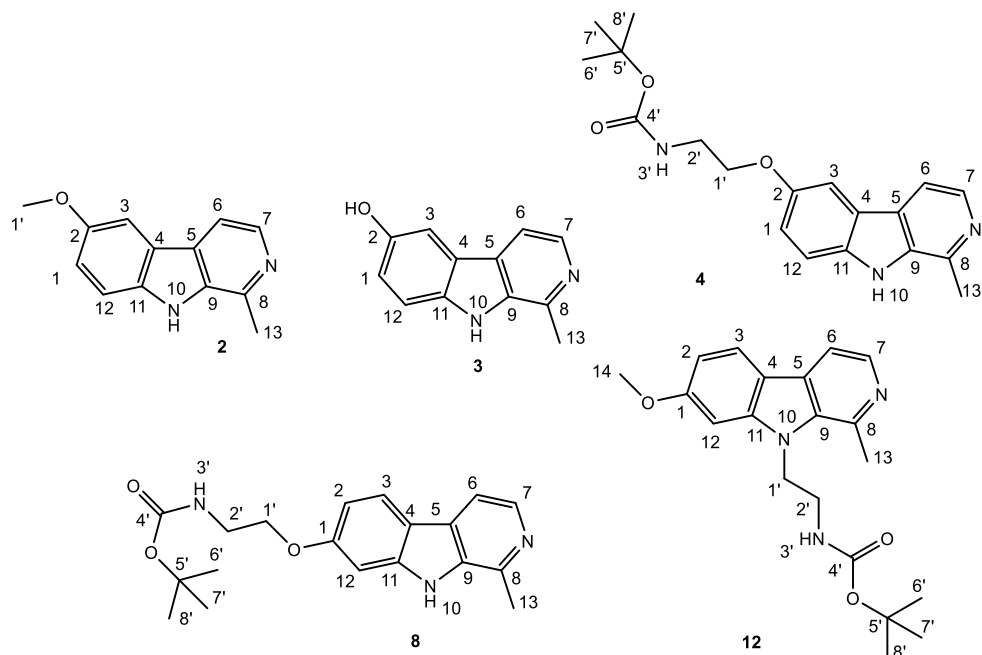
Tablica 4. Spektroskopski i analitički podaci za spojeve **1-4**, **8** i **12**.

| Spoj | t_f (°C) | Molekulska formula | M_r (g/mol) | MS (m/z) | IR (ATR) ν_{\max} (cm ⁻¹) |
|----------|-------------------|---|---------------|-------------------|---|
| 1 | n.o. ¹ | C ₁₅ H ₁₇ N ₂ O ₃ | 273,13 | n.s. ² | n.s. ² |
| 2 | 207,0 | C ₁₁ H ₁₄ N ₂ O | 190,24 | 213,1 | 3986, 3824, 3746, 3522, 3452, 3344, 3140, 3078, 2962, 2886, 2788, 2612, 2360, 2278, 2040, 1882, 1778, 1698, 1634, 1600, 1568, 1498, 1462, 1438, 1396, 1338, 1292, 1216, 1178, 1122, |

| | | | | | |
|-----------|-------------------|---|--------|-------|--|
| | | | | | 1070, 1024, 982, 942, 880, 830, 744, 694, 622, 576 |
| 3 | 212,0–213,5 | C ₁₃ H ₁₂ N ₂ O | 212,25 | 199,3 | 3970, 3866, 3798, 3646, 3376, 3062, 3032, 2924, 2850, 2680, 2366, 1880, 1732, 1642, 1578, 1518, 1460, 1426, 1376, 1298, 1272, 1246, 1194, 1128, 1064, 1030, 982, 952, 926, 868, 804, 704, 624, 594, 548, 506 |
| 4 | n.o. ¹ | C ₁₉ H ₂₃ N ₃ O ₃ | 341,40 | 342,4 | n.s. ² |
| 8 | 189,5–190,5 | C ₁₉ H ₂₃ N ₃ O ₃ | 341,40 | 342,3 | 3390, 3134, 3052, 2978, 2944, 2872, 2764, 2726, 2582, 2406, 1692, 1634, 1568, 1530, 1480, 1448, 1394, 1368, 1334, 1296, 1260, 1174, 1114, 1052, 1010, 964, 872, 846, 820, 768, 720, 686, 634, 604, 522 |
| 12 | 197,5–199 | C ₂₀ H ₂₅ N ₃ O ₃ | 355,43 | 356,2 | 3183, 3065, 2993, 2969, 2937, 1701, 1623, 1567, 1502, 1447, 1409, 1366, 1343, 1313, 1278, 1247, 1185, 1166, 1146, 1124, 1092, 10481018, 970, 944, 876, 841, 803, 768, 727, 684, 639, 596, 559, 534 |

¹ n.o. – nije određeno; ² n.s. – nije snimljen.

Tablica 5. ^1H i ^{13}C NMR spektroskopski podaci podaci za spojeve **1-4**, **8** i **12**.



| Spoj | ^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz) | ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm) |
|----------|--|--|
| 1 | n.s. ¹ | n.s. ¹ |
| 2 | 11,36 (s, 1H, 10), 8,16 (d, 1H, 7, $J = 5,3$ Hz), 7,90 (d, 1H, 6, $J = 5,3$ Hz), 7,74 (d, 1H, 3, $J = 2,5$ Hz), 7,50 (d, 1H, 12, $J = 8,8$ Hz), 7,18 (dd, 1H, 1, $J = 8,9, 2,6$ Hz), 3,86 (s, 3H, 1'), 2,74 (s, 3H, 13) | 153,16 (2), 142,07 (8), 136,79 (7), 135,08 (11), 134,95 (9), 126,58 (4), 121,26 (5), 117,71 (6) 112,62 (1), 112,54 (12), 103,38 (3), 55,46 (1'), 20,29 (13) |
| 3 | 811,25 (s, 1H, 10), 9,13 (s, 1H, 14), 8,12 (d, 1H, 7, $J = 5,3$ Hz), 7,82 (d, 1H, 6, $J = 5,3$ Hz), 7,48 (d, 1H, 3, $J = 2,4$ Hz) , 7,42 (d, 1H, 12, $J = 8,7$ Hz), 7,07 (dd, 1H, 1, $J = 8,7, 2,4$ Hz), 2,73 (s, 3H, 13) | 150,93 (2), 141,95 (8), 136,49 (7), 135,15 (11), 134,63 (9), 126,68 (4), 121,76 (5), 118,08 (1), 112,73 (6), 112,53 (12), 105,69 (3), 20,32 (13) |
| 4 | 11,41 (s, 1H, 10), 8,16 (d, 1H, 7, $J = 5,4$ Hz), 7,92 (d, 1H, 6 $J = 5,4$ Hz), 7,77 (d, 1H, 3, $J = 2,5$ Hz), 7,51 (d, 1H, 12, $J = 8,8$ Hz), 7,18 (dd, 1H, 1, $J = 8,8, 2,5$ Hz), 7,06 (t, 1H, 3', $J = 5,0$ | 155,73 (4'), 152,39 (2), 142,04 (8), 136,56 (7), 135,41 (11), 135,03 (9), 126,88 (4), 121,35 (5), 118,42 (1), 112,78 (6), 112,75 |

| | | |
|-----------|---|--|
| | Hz), 4,05 (t, 2H, 1', $J = 5.9$ Hz), 3.39–3.34 (m, 2H, 2'), 2,75 (s, 3H, 13), 1,40 (s, 9H, 6', 7', 8') | (12), 104,67 (3), 77,76 (5'), 67,19 (1'), 39,61 (2'), 28,24 (6', 7', 8'), 20,23 (13) |
| 8 | 11,42 (s, 1H, 10), 8,15 (d, 1H, 7, $J = 5,3$ Hz), 8,06 (d, 1H, 3, $J = 8,6$ Hz), 7,81 (d, 1H, 6, $J = 5,3$ Hz), 7,07 (t, 1H, 2, $J = 5,7$ Hz), 7,00 (d, 1H, 12, $J = 2,2$ Hz), 6,84 (dd, 1H, 3', $J = 8,7, 2,2$ Hz), 4,07 (t, 2H, 1', $J = 5,7$ Hz), 3,35–3,39 (m, 2H, 2'), 2,73 (s, 3H, 13), 1,40 (s, 9H, 6', 7', 8') | 159,22 (4'), 155,74 (1), 141,92 (8), 141,23 (11), 137,61 (7), 134,55 (9), 127,26 (5), 122,68 (3), 114,96 (4), 111,98 (6), 109,34 (2), 95,38 (12), 77,82 (5'), 66,66 (1'), 28,25 (6', 7', 8'), 20,29 (13) |
| 12 | 8,15 (d, 1H, 7, $J = 5,1$ Hz), 8,07 (d, 1H, 3, $J = 8,5$ Hz), 7,85 (d, 1H, 6, $J = 5,0$ Hz), 7,22 (s, 1H, 12), 7,02 (t, 1H, 3', $J = 5,2$ Hz), 6,87 (dd, 1H, 2, $J = 8,4, 1,6$ Hz), 4,55 (t, 2H, 1', $J = 6,6$ Hz), 3,92 (s, 3H, 14), 3,33–3,31 (m, 2H, 2'), 2,95 (s, 3H, 13), 1,29 (s, 8H, 6', 7', 8'), 1,01 (s, 1H, 6', 7', 8') | 160,45 (4'), 155,63 (1), 142,85 (8), 140,47 (9), 137,64 (7), 134,70 (11), 128,40 (4), 122,21 (3), 114,35 (5), 112,11 (6), 108,95 (2), 93,81 (12), 77,78 (5'), 55,48 (14), 43,99 (1'), 39,94 (2'), 28,02 (6', 7', 8'), 23,00 (13) |

¹ n.s. – nije snimljen.

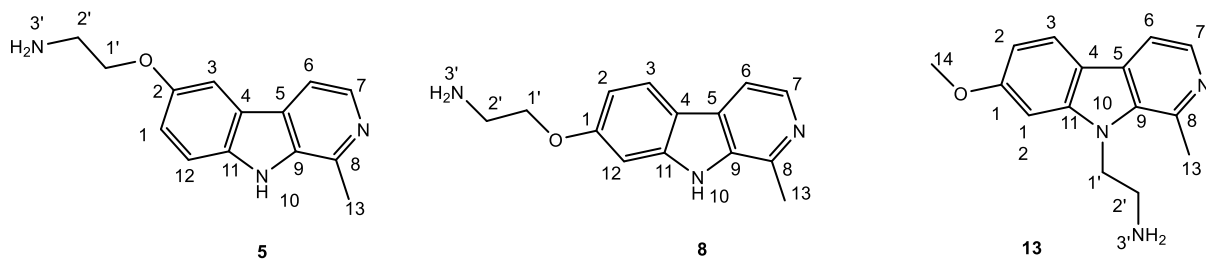
Tablica 6. Spektroskopski i analitički podaci za amine, spojeve **5**, **9** i **13**.

| Spoj | t_f (°C) | Molekulska formula | M_r (g/mol) | MS (m/z) | IR (ATR) ν_{max} (cm ⁻¹) |
|-----------|-------------------|--|---------------|--------------|--|
| 5 | n.o. ¹ | C ₁₄ H ₁₅ N ₃ O | 241,29 | 242,2 | n.s. ² |
| 9 | 197,5–199 | C ₁₄ H ₁₅ N ₃ O | 241,29 | 342,3 | 3984, 3954, 3908, 3838, 3786, 3716, 3656, 3530, 3394, 3332, 3250, 3156, 3068, 2930, 2864, 2774, 2372, 1892, 1756, 1720, 1628, 1568, 1486, 1444, 1326, 1284, 1238, 1180, 1104, 1028, 996, 908, 860, 812, 636, 590 |
| 13 | 133,5–135,5 | C ₁₅ H ₁₇ N ₃ O | 255,31 | 256,3 | 3354, 3327, 3274, 3039, 2966, 2932, 2837, 1751, 1621, 1563, 1496, 1443, 1404, 1343, 1302, |

1283, 1236, 1219, 1151, 1136,
1117, 1089, 1040, 1021, 973, 941,
887, 848, 815, 768, 723, 643, 599,
551, 528

¹n.o. – nije određeno; ²n.s. – nije snimljen.

Tablica 7. ¹H i ¹³C NMR spektroskopski podaci za spojeve **5**, **9** i **13**.

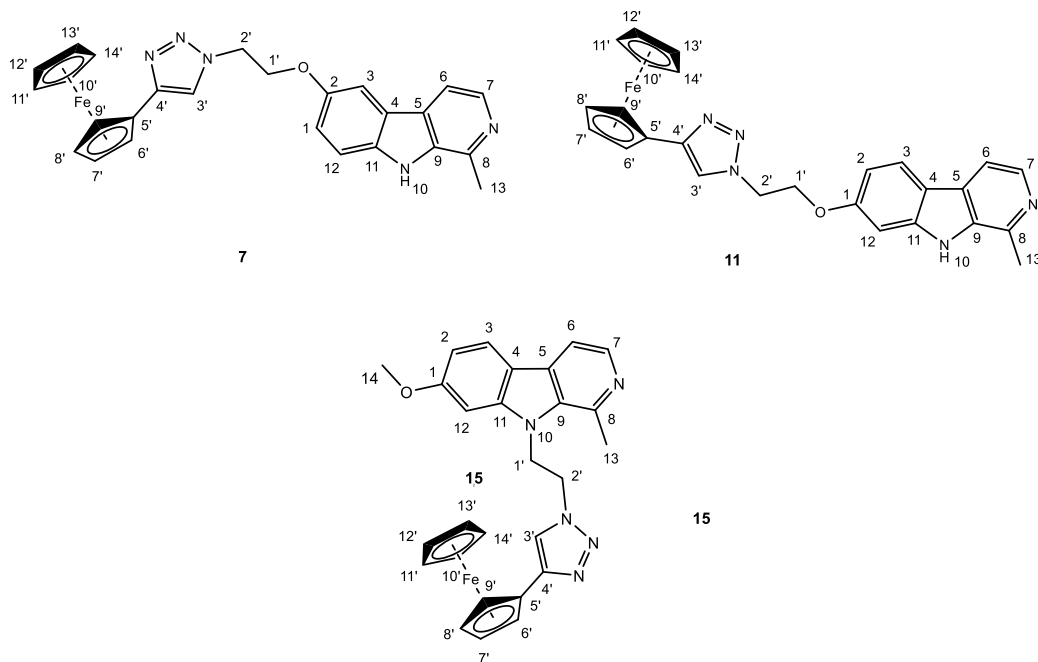


| Spoj | ¹ H NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , δ ppm, <i>J</i> /Hz) | ¹³ C NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , δ ppm) |
|-----------|--|---|
| 5 | 11,36 (s, 1H, 10), 8,15 (d, 1H, 7, <i>J</i> = 5,3 Hz), 7,90 (d, 1H, 6, <i>J</i> = 5,3 Hz), 7,74 (d, 1H, 3, <i>J</i> = 2,3 Hz), 7,50 (d, 1H, 12, <i>J</i> = 8,8 Hz), 7,19 (dd, 1H, 1, <i>J</i> = 8,8, 2,5 Hz), 4,02 (t, 2H, 1', <i>J</i> = 5,8 Hz), 2,94 (t, 2H, 2', <i>J</i> = 5,7 Hz), 2,74 (s, 3H, 13) | 152,47 (2), 141,87 (8), 136,70 (7), 135,19 (11), 134,93 (9), 126,54 (4), 121,29 (5), 117,98 (6), 112,34 (1), 112,18 (12), 104,86 (3), 71,06 (1'), 40,87 (2'), 19,97 (13) |
| 9 | 11,38 (s, 1H, 10), 8,15 (d, 1H, 7, <i>J</i> = 5,2 Hz), 8,04 (d, 1H, 3, <i>J</i> = 8,6 Hz), 7,79 (d, 1H, 6, <i>J</i> = 5,2 Hz), 7,01 (d, 1H, 2, <i>J</i> = 2,2 Hz), 6,85 (dd, 1H, 12, <i>J</i> = 8,6, 2,3 Hz), 4,03 (t, 2H, 1', <i>J</i> = 5,7 Hz), 2,95 (t, 2H, 2', <i>J</i> = 5,7 Hz), 2,73 (s, 3H, 13), 1,58 (s, 2H, 3') | 159,46 (1), 141,91 (8), 141,25 (11), 137,73 (7), 134,54 (9), 127,20 (5), 122,57 (3), 114,84 (4), 111,89 (6), 109,37 (2), 95,29 (12), 70,36 (1'), 40,98 (2'), 20,33 (13) |
| 13 | 8,16 (d, 1H, 7, <i>J</i> = 5,2 Hz), 8,07 (d, 1H, 3, <i>J</i> = 8,6 Hz), 7,86 (d, 1H, 6, <i>J</i> = 5,1 Hz), 7,24 (d, 1H, 12, <i>J</i> = 2,2 Hz), 6,87 (dd, 1H, 2, <i>J</i> = 8,6, 2,2 Hz), 4,54 (t, 2H, 1', <i>J</i> = 7,3 Hz), 3,91 (s, 3H, 1'), 2,97 (s, 3H, 13), 2,93 (t, 2H, 2', <i>J</i> = 7,3 Hz) | 160,50 (1), 142,91 (8), 140,63 (9), 137,65 (7), 134,76 (11), 128,23 (4), 122,29 (3), 114,17 (5), 112,18 (6), 109,11 (2), 93,79 (12), 55,61 (14), 46,87 (1'), 41,93 (2'), 23,28 (13) |

Tablica 8. Spektroskopski i analitički podaci za konačne produkte **7**, **11** i **15**

| Spoj | t_f (°C) | Molekulska formula | M_r (g/mol) | MS (m/z) | IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) |
|-------------|------------|--|---------------|---------------------|--|
| 7 | 201,5–204 | C ₂₆ H ₂₄ N ₅ OFe | 478,35 | 477,9 | 3133, 2949, 2872, 1583, 1567, 1496, 1457, 1285, 1209, 1105, 1041, 988, 877, 817, 704, 621, 503 |
| 11 | 228–230 | C ₂₆ H ₂₄ N ₅ OFe | 478,35 | 477,9 | 3124, 3076, 2958, 2849, 2772, 1623, 1565, 1443, 1425, 1301, 1277, 1239, 1185, 1107, 1053, 1041, 976, 874, 821, 809, 742, 719, 692, 637, 586, 570, 521, 512, 495, 482 |
| 15 | 218–220 | C ₂₇ H ₂₅ N ₅ OFe | 491,37 | 491,9 | 2967, 1620, 1565, 1444, 1403, 1338, 1252, 1221, 1182, 1157, 1136, 1096, 1040, 1020, 970, 928, 876, 820, 806, 876, 806, 640, 589, 544, 500, 475 |

Tablica 9. ^1H i ^{13}C NMR spektroskopski podaci za konačne produkte **7**, **11** i **15**



| Spoj | ^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz) | ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm) |
|-----------|---|--|
| 7 | 11,39 (s, 1H, 10), 8,29 (s, 1H, 3'), 8,15 (d, 1H, 7, $J = 5,3$ Hz), 7,87 (d, 1H, 6, $J = 5,3$ Hz, 9), 7,78 (d, 1H, 3, $J = 2,5$ Hz), 7,48 (d, 1H, 12, $J = 8,8$ Hz), 7,16 (dd, 1H, 1, $J = 8,8, 2,5$ Hz), 4,82 (t, 2H, 1', $J = 5,1$ Hz), 4,73 (t, 2H, 6', 9', $J = 1,9$ Hz), 4,53 (t, 2H, 2', $J = 5,2$ Hz), 4,30 (t, 2H, 7', 8', $J = 1,8$ Hz), 4,01 (s, 5H, 10'-14'), 2,72 (s, 3H, 13) | 151,85 (2), 145,24 (8), 142,24 (4'), 136,98 (7), 135,51 (11), 135,10 (9), 126,63 (4), 121,35 (5), 121,28 (3'), 118,14 (1), 112,77 (6), 112,64 (12), 105,13 (3), 76,05 (5'), 69,22 (10'-14'), 68,21 (6', 9'), 67,14 (1'), 66,34 (7', 8'), 49,24 (2'), 20,40 (13) |
| 11 | 11,44 (s, 1H, 10), 8,30 (s, 1H, 3'), 8,14 (d, 1H, 7, $J = 5,3$ Hz), 8,05 (d, 1H, 3, $J = 8,6$ Hz), 7,79 (d, 1H, 6, $J = 5,3$ Hz), 7,03 (d, 1H, 12, $J = 2,2$ Hz), 6,85 (dd, 1H, 2, $J = 8,6, 2,2$ Hz), 4,83 (t, 2H, 1', $J = 5,1$ Hz), 4,73 (t, 2H, 6', 9', $J = 1,9$ Hz), 4,55 (t, 2H, 2', $J = 5,1$ Hz), 4,30 (t, 2H, 7', 8', $J = 1,8$ Hz), 2,72 (s, 3H, 13) | 158,62 (1), 145,25 (8), 141,72 (4'), 141,35 (11), 137,76 (7), 134,59 (9), 127,07 (5), 122,71 (3'), 121,34 (3), 115,33 (4), 111,98 (6), 109,17 (2), 95,73 (12), 76,01 (5'), 69,23 (10'-14'), 68,22 (6', 9'), 66,57 (1'), 66,35 (7', 8'), 49,09 (2'), 26,33 (4'), 20,36 (13) |

15

| | |
|---|---------------------------------------|
| 8,17 (d, 1H, 7, $J = 5,2$ Hz), 8,04 (d, 1H, 3, $J =$ | 160,51 (1), 145,15 (4'), 142,76 (8), |
| 8,5 Hz), 7,88 (d, 1H, 6, $J = 5,2$ Hz), 7,80 (s, | 140,67 (9), 138,12 (7), 134,68 (11), |
| 1H, 3'), 6,84 (d, 1H, 12, $J = 2,1$ Hz), 6,80 (dd, | 128,73 (4), 122,23 (3'), 121,79 (3), |
| 1H, 2, $J = 8,6, 2,1$ Hz), 5,08 (t, 2H, 1', $J = 5,6$ | 114,10 (5), 112,26 (6), 109,81 (2), |
| Hz), 4,88 (t, 2H, 2', $J = 5,6$ Hz), 4,49 (t, 2H, | 92,93 (12), 75,78 (5'), 68,09 (10'- |
| 6', 9', $J = 1,9$ Hz), 4,22 (t, 2H, 7', 8', $J = 1,9$ | 14'), 68,06 (6', 9'), 66,26 (7', 8'), |
| Hz), 3,86-3,85 (m, 8H, 14, 10'-14'), 2,90 (s, | 55,37 (14), 49,71 (1'), 44,47, (2'), |
| 3H, 13) | 23,18 (13) |

5. ZAKLJUČCI

U sklopu ovog diplomskog rada sintetizirana su i strukturno okarakterizirana tri nova produkta 6-,7- i 9- supstituirani derivati harmina i ferocena povezani 1,2,3-triazolskom poveznicom:

- 1-metil-6-(2-(4-ferocetil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)etoksi)-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (**7**)
- 1-metil-7-(2-(4-ferocetil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)etoksi)-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (**11**)
- 7-metoksi-1-metil-9-(2-(4-ferocetil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)etil)-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (**15**)

Sintetizirani su i svi prekursori za njihovu sintezu. Spojevi su pripremljeni standardnim postupcima sintetske organske kemije. Sinteza nekih međuprodukata provedena je u mikrovalnom reaktoru.

Pripremljenim spojevima određena su tališta te su korištenjem standardnih analitičkih i spektroskopskih metoda (IR, MS, ¹H i ¹³C NMR) potvrđene njihove strukture. U daljnjim istraživanjima, koja prelaze okvire ovoga diplomskog rada, bit će ispitan biološki učinak pripremljenih spojeva.

6. LITERATURA

Bozorov K, Zhao J, Aisa HA. 1,2,3-Triazole-containing hybrids as leads in medicinal chemistry: A recent overview. *Bioorg Med Chem*, 2019, 27, 3511–3531.

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

Filali I, Bouajila J, Znati M, Bousejra-El Garah F, Jannet HB. Synthesis of new isoxazoline derivatives from harmine and evaluation of their anti-Alzheimer, anti-cancer and anti-inflammatory activities. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2015, 30, 3, 371–376.

Goddard-Borger ED, Stick RV. An Efficient, Inexpensive, and Shelf-Stable Diazotransfer Reagent: Imidazole-1-sulfonyl Azide Hydrochloride. *Org Lett*, 2007, 9, 3797–3800.

Graham LP. An introduction to drug synthesis. Oxford, Oxford University Press, 2015, str. 46–54.

Jiang B, Meng L, Zou N, Wang H, Li S, Huang L, Cheng X, Wang Z, Chen W, Wang C. Mechanism-based pharmacokinetics-pharmacodynamics studies of harmine and harmaline on neurotransmitters regulatory effects in healthy rats: Challenge on monoamine oxidase and acetylcholinesterase inhibition. *Phytomed*, 2019, 62, 152967.

Kolb HC, Sharpless KB. The growing impact of click chemistry on drug discovery. *Drug Discov Today*, 2003, 8, 1128–1137.

Kowalczyk K, Błaż A, Ciszewski WM, Wieczorek A, Rychlik B, Plażuk D. Colchicine metallocenyl bioconjugates showing high antiproliferative activities against cancer cell lines. *Dalton Trans*, 2017, 46, 17041–17052.

Kumar K, Pradines B, Madamet M, Amalvict R, Benoit N, Kumar V. 1H-1,2,3-triazole tethered isatin-ferrocene conjugates: Synthesis and in vitro antimalarial evaluation. *Eur J Med Chem*, 2014, 87, 801–804.

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, 1324–1327.

Li YT, Wang JH, Pan CW, Meng FF, Chu XQ, Ding Y, Qu WZ, Li Hy, Yang C, Zhang Q, Bai CG, Chen Y. Syntheses and Biological Evaluation of 1,2,3-triazole and 1,3,4-oxadiazole Derivatives of Imatinib. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26, 1419–1427.

Malik MS, Ahmed SA, Althagafi II, Ansari MA, Kamal A. Application of triazoles as bioisosteres and linkers in the development of microtubule targeting agents. *RSC Med Chem*, 2020, 11, 327–348.

Organic Chemistry Portal, <https://www.organic-chemistry.org>, pristupljeno 20.01.2021.

Patel K, Gadewar M, Tripathi R, Prasad SK, Patel KD. A review on medicinal importance, pharmacological activity and bioanalytical aspects of beta-carboline alkaloid “Harmine”. *Asian Pac J Trop Biomed*, 2012, 660–664.

Patra M, Gasser G. The medicinal chemistry of ferrocene and its derivatives. *Nat Rev Chem*, 2017, 1, 1–12.

Perković I, Raić-Malić S, Fontinha D, Prudêncio M, Pessanha de Carvalhod 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*, 2019, 187, 1–45.

Plažuk D, Rychlik B, Błaż A, Domagała S. Synthesis, electrochemistry and anticancer activity of novel ferrocenyl phenols prepared via azide-alkyne 1,3-cycloaddition reaction. *J Organomet Chem*, 2012, 715, 102–112.

Rep V, Piškor M, Šimek H, Mišetić P, Grbčić P, Padovan J, Gabelica Marković V, Jadreško D, Pavelić K, Kraljević Pavelić S, Raić-Malić S. Purine and Purine Isostere Derivatives of Ferrocene: An Evaluation of ADME, Antitumor and Electrochemical Properties. *Molecules*, 2020, 25, 1–24.

Saftić D, Krstulović L, Bajić M, Žinić B. 1,3-Dipolarna cikloadicija (I. dio): Dobivanje 1,2,3-triazolnih derivata u nukleozidnoj kemiji, *Kem Ind*, 2015, 64, 481–498.

Sijongesonke P, Aderibigbe AB. Ferrocene-Based Compounds with Antimalaria/Anticancer Activity. *Molecules*, 2019, 24, 1–27.

Wuts PGM, Green WT. Green's protective groups in organic synthesis, Fifth edition. New Jersey, John Wiley & Sons, 2014, str. 1, 2, 26, 475, 557–558, 691, 840, 907, 930–941, 990, 1194, 1206.

Xiao J, Sun Z, Kong F, Gao F. Current scenario of ferrocene-containing hybrids for antimalarial activity. *Eur J Med Chem*, 2019, 185, 1–26.

Yonezawa T, Lee JW, Hibino A, Asai M, Hojo H, Cha BY, Teruya T, Nagai K, Chung UI, Yagasaki K, Woo JT. Harmine promotes osteoblast differentiation through bone morphogenetic protein signaling. *Biochem Biophys Res Com*, 2011, 409, 260–265.

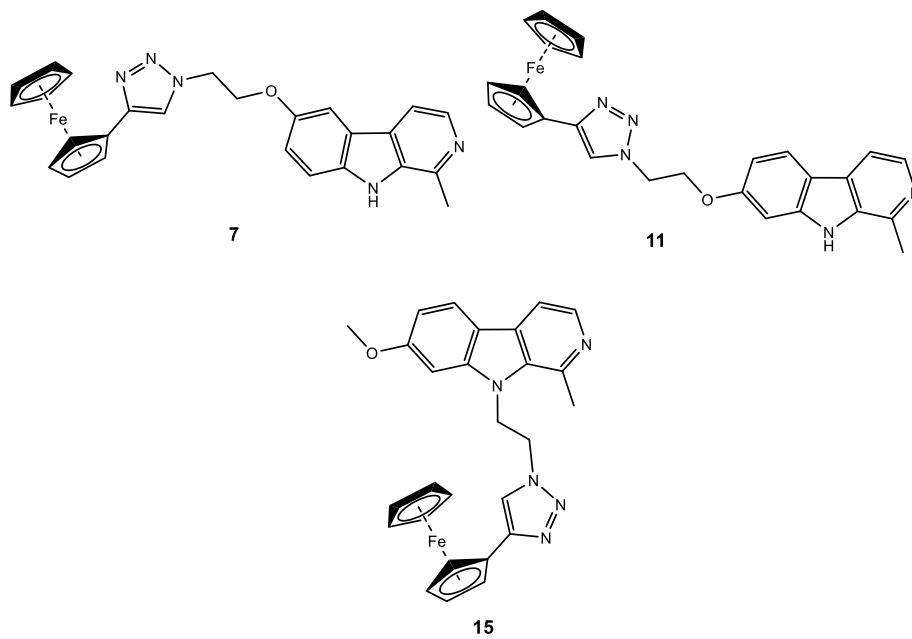
7. SAŽETAK/SUMMARY

U ovom radu sintetizirana su tri nova hibridna derivata β -karbolina i ferocena (**7**, **11**, **15**), kao i prekursori za njihovu sintezu (**1-4**, **8**, **9**, **10**, **12-14**). Broj reakcijskih koraka za pojedini derivat razlikuje se ovisno o položaju supstitucije β -karbolina. Sinteza 6-supstituiranog derivata **7** odvija se u sedam koraka. Pictet-Spenglerovom reakcijom dolazi do zatvaranja šesteročlanog prstena te nakon oksidacije nastaje derivat s β -karbolinskim prstenom (**2**). Slijedi kisela hidroliza metilnog etera čime nastaje fenol **3**, kojemu je u četvrtom koraku vezana Boc-zaštićena amino skupina preko etilenske poveznice (**4**).

Ishodišna molekula u sintezi derivata β -karbolina na položaju 7 i 9 je harmin. Derivat na položaju 7 (**11**) sintetiziran je u pet, a derivat na položaju 9 (**15**) u četiri reakcijska koraka. U prvom koraku sinteze 7-supstituiranog derivata, kiselom hidrolizom metilnog etera nastaje harmol. Boc-zaštićena aminoetilna skupina povezana je u slučaju harmola preko fenolne skupine (**8**) a u slučaju harmina preko amino skupine (**12**). Reagens za navedene sinteze je u oba slučaja 2(*tert*-butoksikarbonilamino)etil bromidom te se reakcije provode uz cezijev karbonat.

Sljedeći koraci jednaki su za sve produkte. Nakon hidrolize zaštitne Boc-skupine sa spojeva **4**, **8** i **12** uz klorovodičnu kiselinu, nastali amini **5**, **9** i **13** se oksidiraju u odgovarajuće azide **6**, **10** i **14**. U zadnjem koraku sinteze dobiveni azidi **6**, **10** i **14** reagiraju s etinil ferocenom u reakciji bakrom (I) katalizirane azid-alkin cikloadicije u kojoj dolazi do zatvaranja triazolskog prstena između dva farmakofora te nastaju konačni produkti **7**, **11** i **15**.

Pripravljenim spojevima potvrđene su strukture korištenjem standardnih analitičkih i spektroskopskih metoda (IR, MS, ^1H i ^{13}C NMR) te su im određena tališta. Njihov biološki učinak bit će ispitan u daljnjim istraživanjima koji prelaze okvire ovog rada.



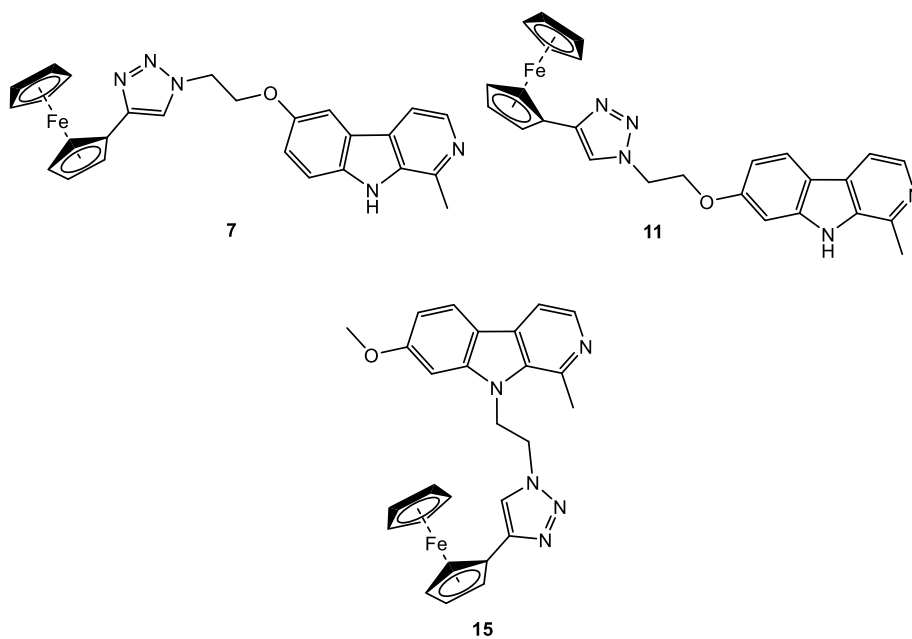
Ključne riječi: 1*H*-1,2,3-triazol, ferocen, harmin, hibrid, malarija.

In this paper three new β -carboline derivatives (**7**, **11**, **15**) have been synthesized, as well as their precursors (**1-4**, **8**, **9**, **10**, **12-14**). The number of reaction steps differs depending on the β -carboline derivatization position. 6-substituted derivative **7** was synthesized in a seven step procedure. Firstly, the six-membered ring was closed using the Pictet-Spengler reaction and, after oxidation, a β -carboline ring was formed (**2**). This was followed by acidic hydrolysis of the methyl ether, yielding phenol **3**, which was then linked to a Boc-protected amino group using ethylene as a spacer (**4**).

In the synthesis of 7- and 9-substituted derivatives of β -carboline, harmine was used as a starting compound. Derivatives at position 7 (**11**) and 9 (**15**) were synthesized in a five and four step procedure. In the first step of the synthesis of harmol was performed by acidic hydrolysis of methyl ether. The Boc-protected aminoethyl group was linked *via* phenol group in harmol (**8**) and *via* amino group in harmine (**12**). The reagent for both reactions was 2(tert-butoxycarbonylamino)ethyl bromide and the reactions were carried out in the presence of cesium carbonate.

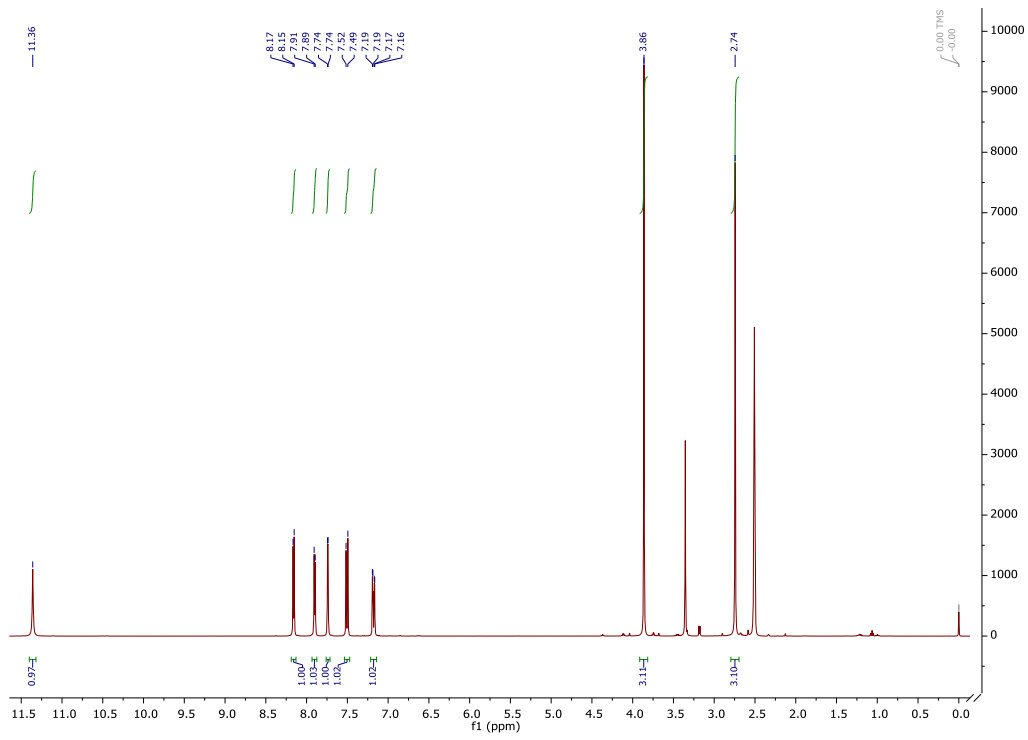
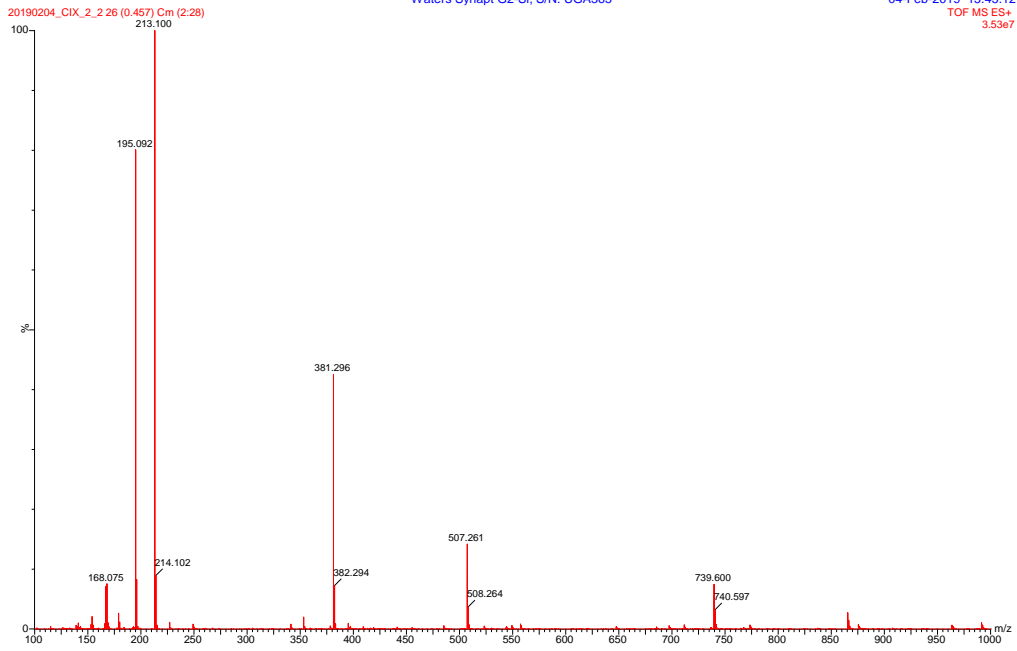
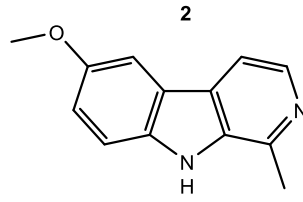
The following steps were equal to all three derivatives. After hydrolysis of the Boc-protecting group from compounds **4**, **8** and **12** with hydrochloric acid, the resulting amines **5**, **9** and **13** were then oxidized to azides **6**, **10** and **14**. Finally, azides **6**, **10** and **14** reacted with ethynyl ferrocene in a copper (I) catalyzed azide-alkyne cycloaddition reaction, and a triazole ring connecting the two pharmacophores was formed (**7**, **11** and **15**).

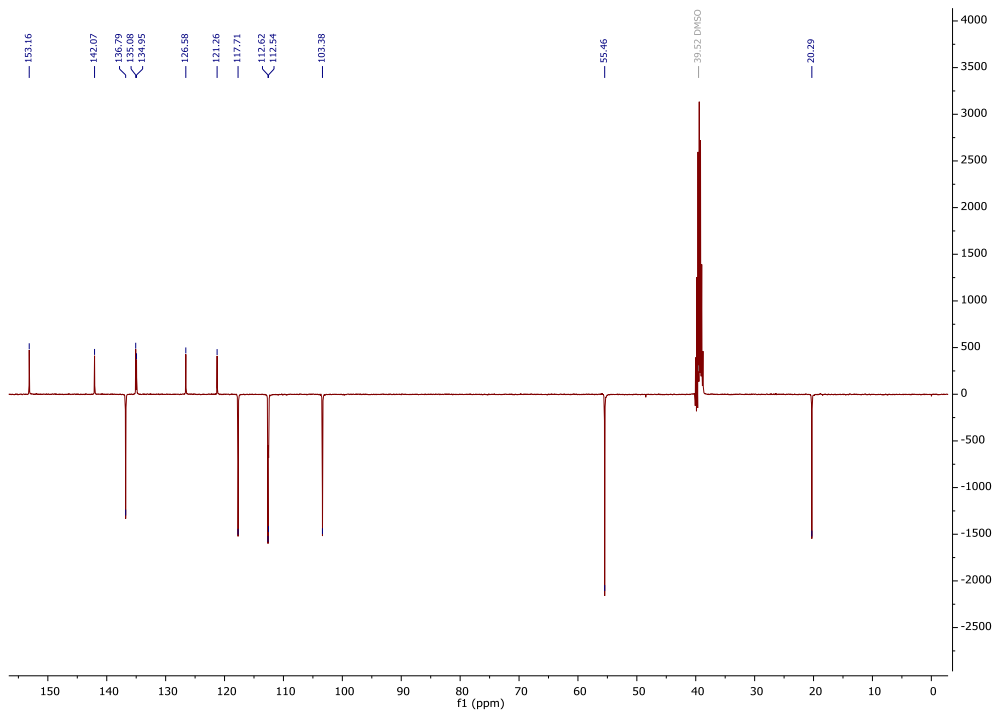
Structures of the newly prepared compounds were confirmed using conventional analytical and spectroscopic methods (IR, MS, ^1H and ^{13}C NMR) and melting points of the compounds were determined. The biological activity of the synthesized hybrid compounds will be investigated in further research.

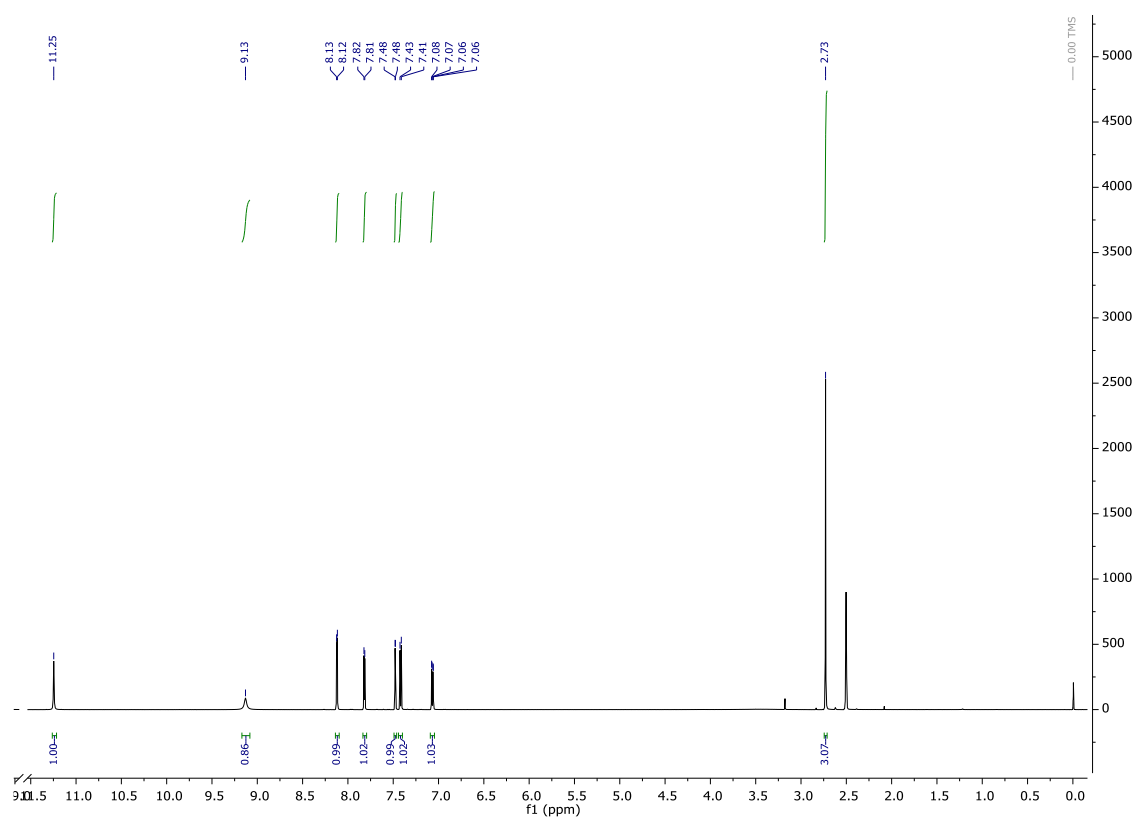
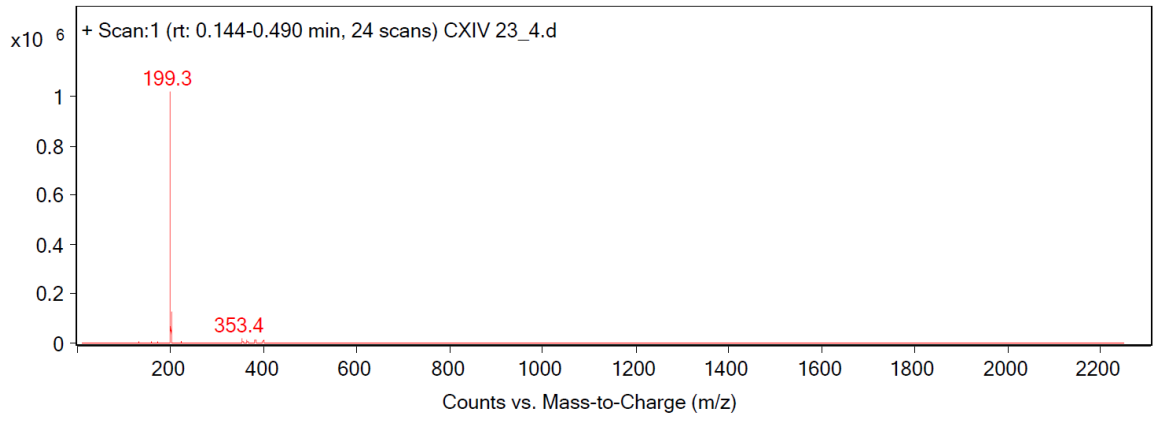
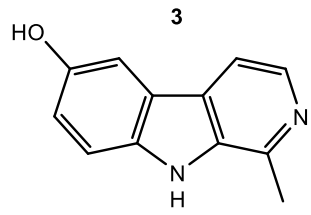


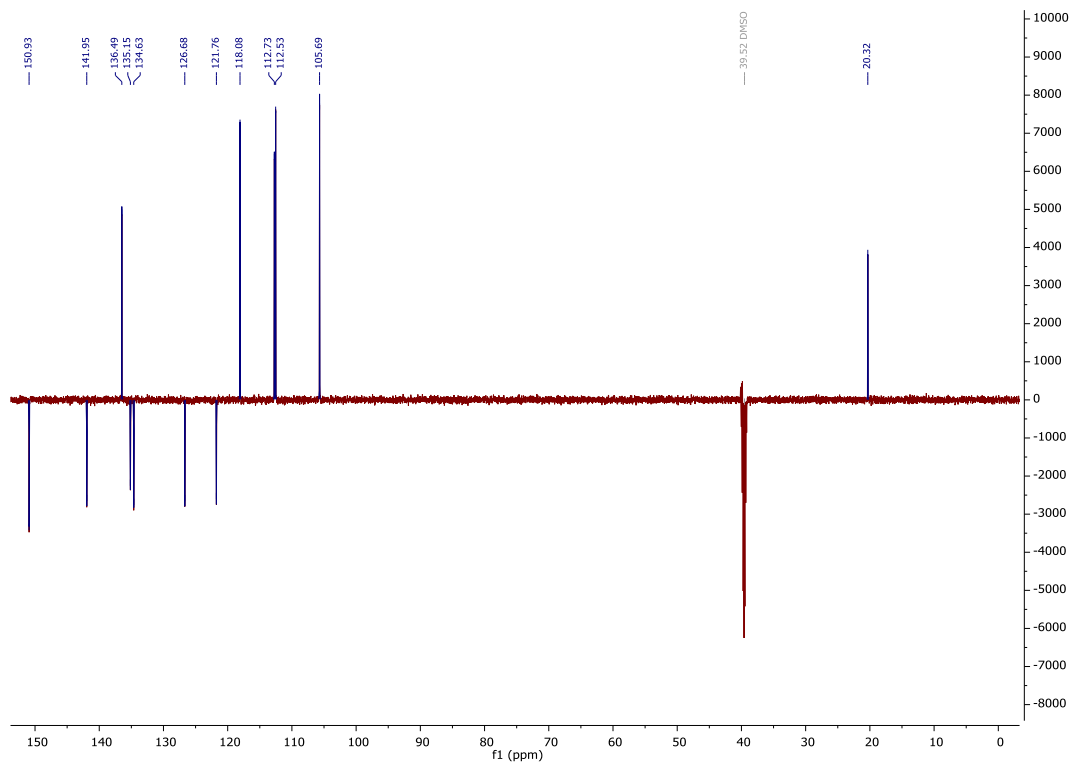
Keywords: 1*H*-1,2,3-triazole, ferrocene, harmine, hybrid, malaria.

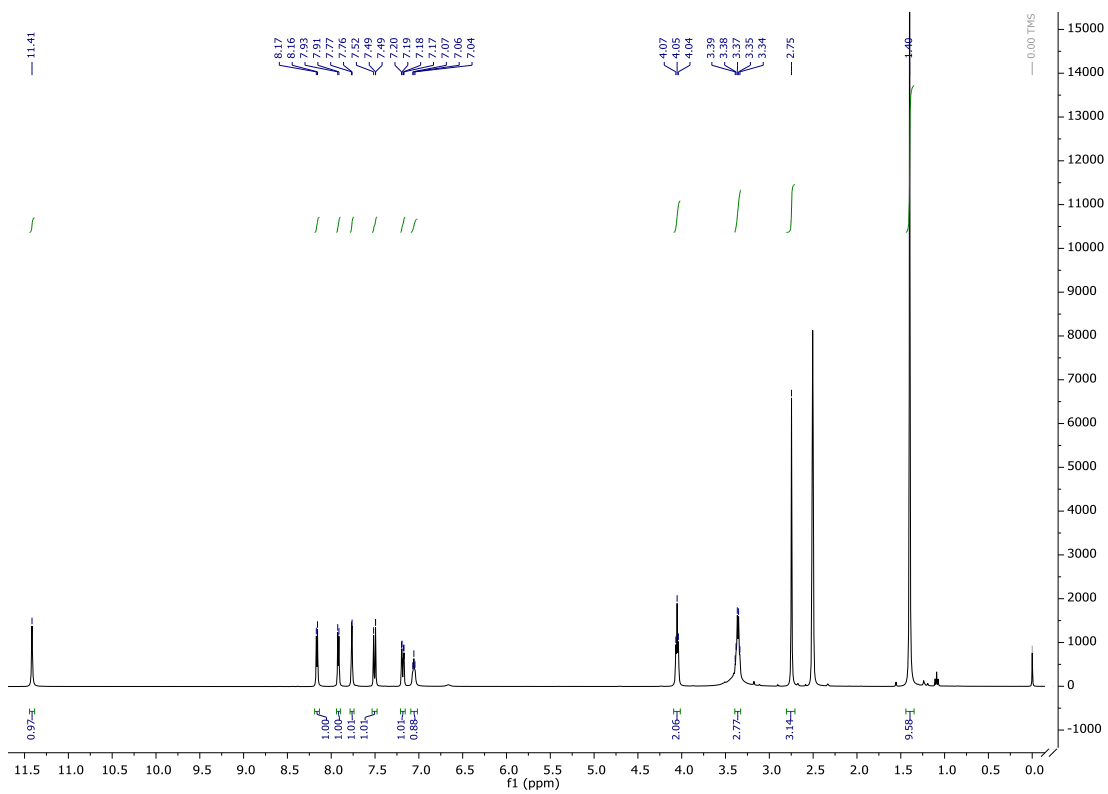
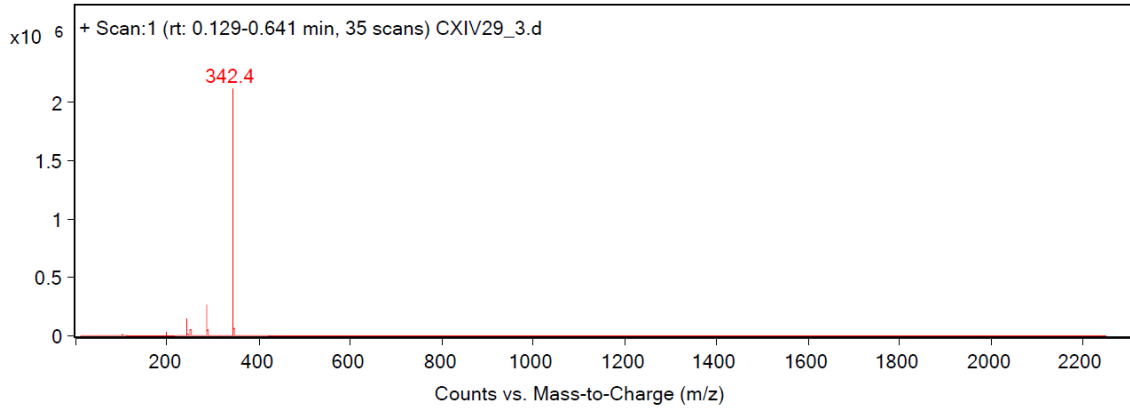
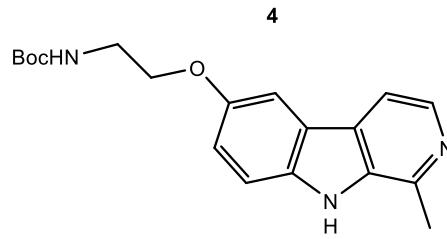
8. PRILOZI

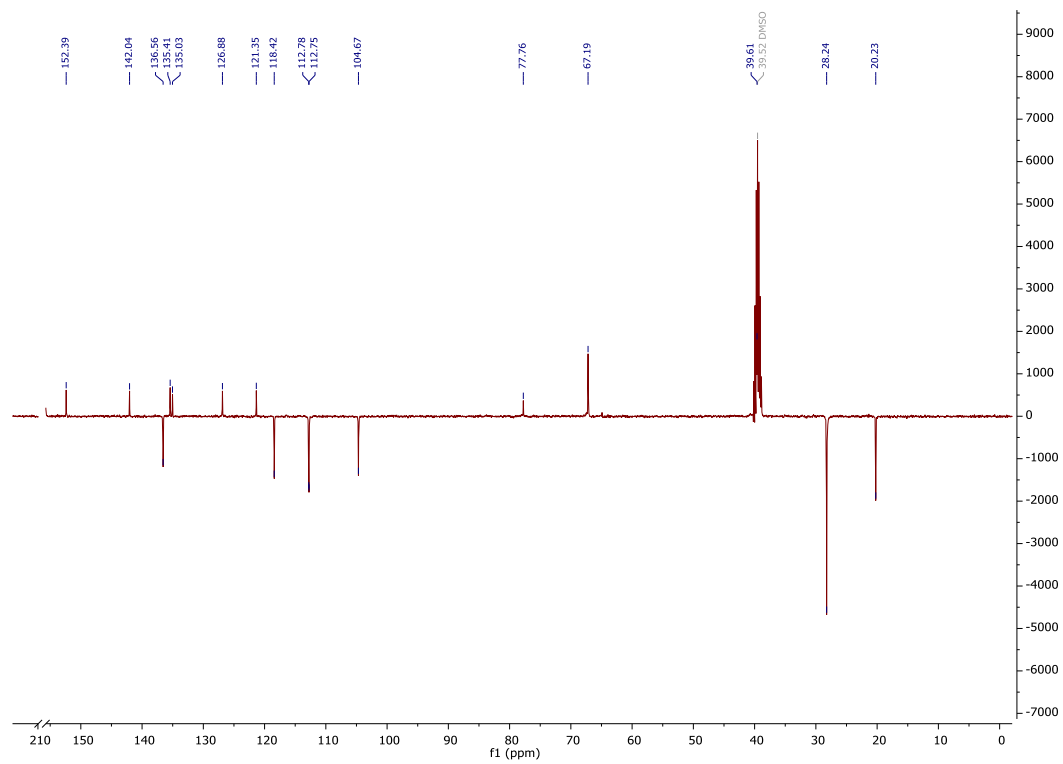


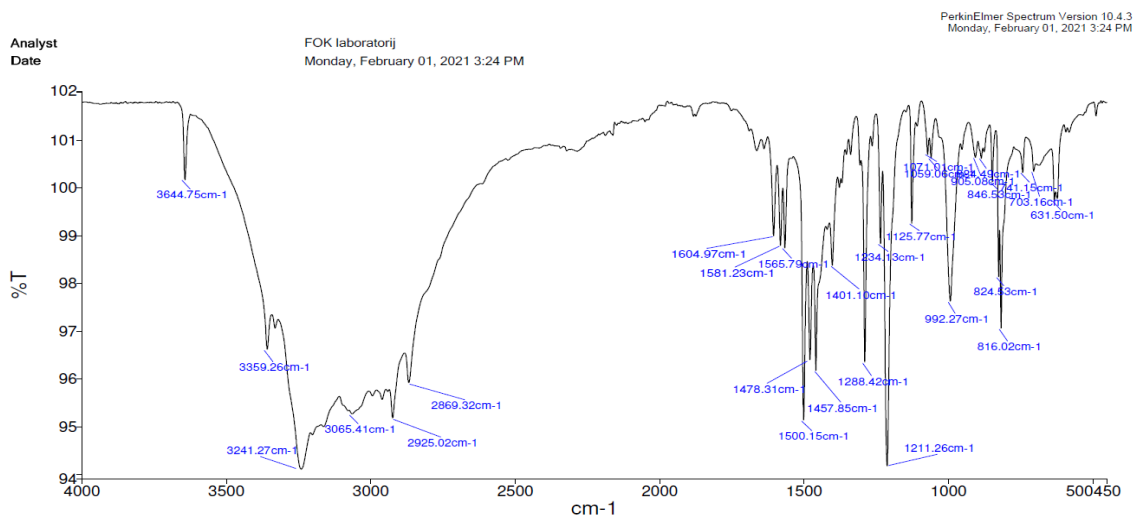
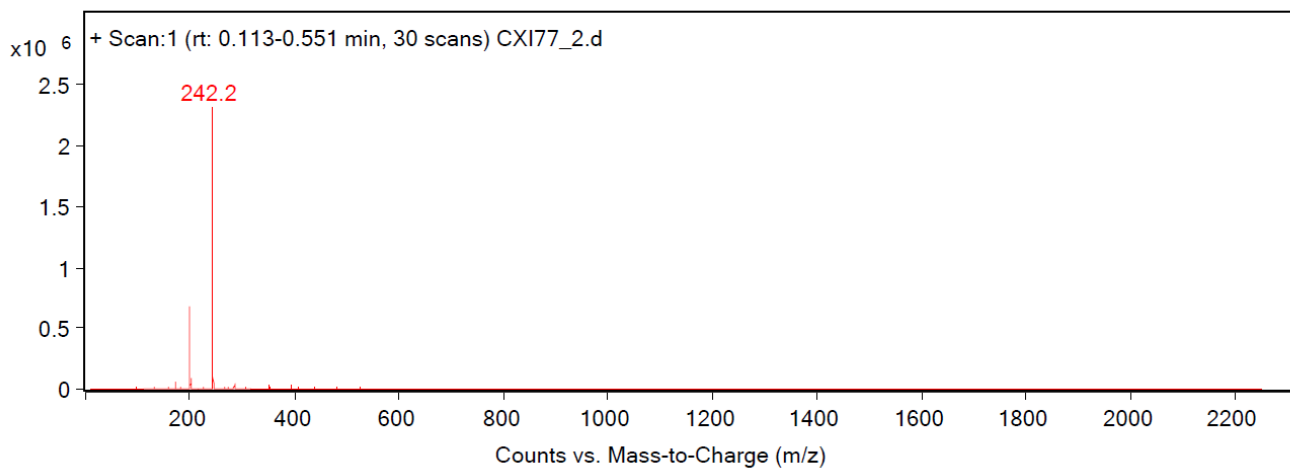
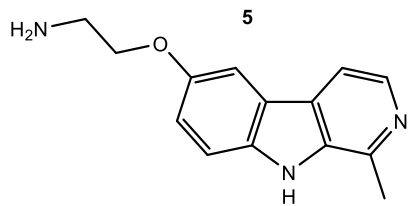


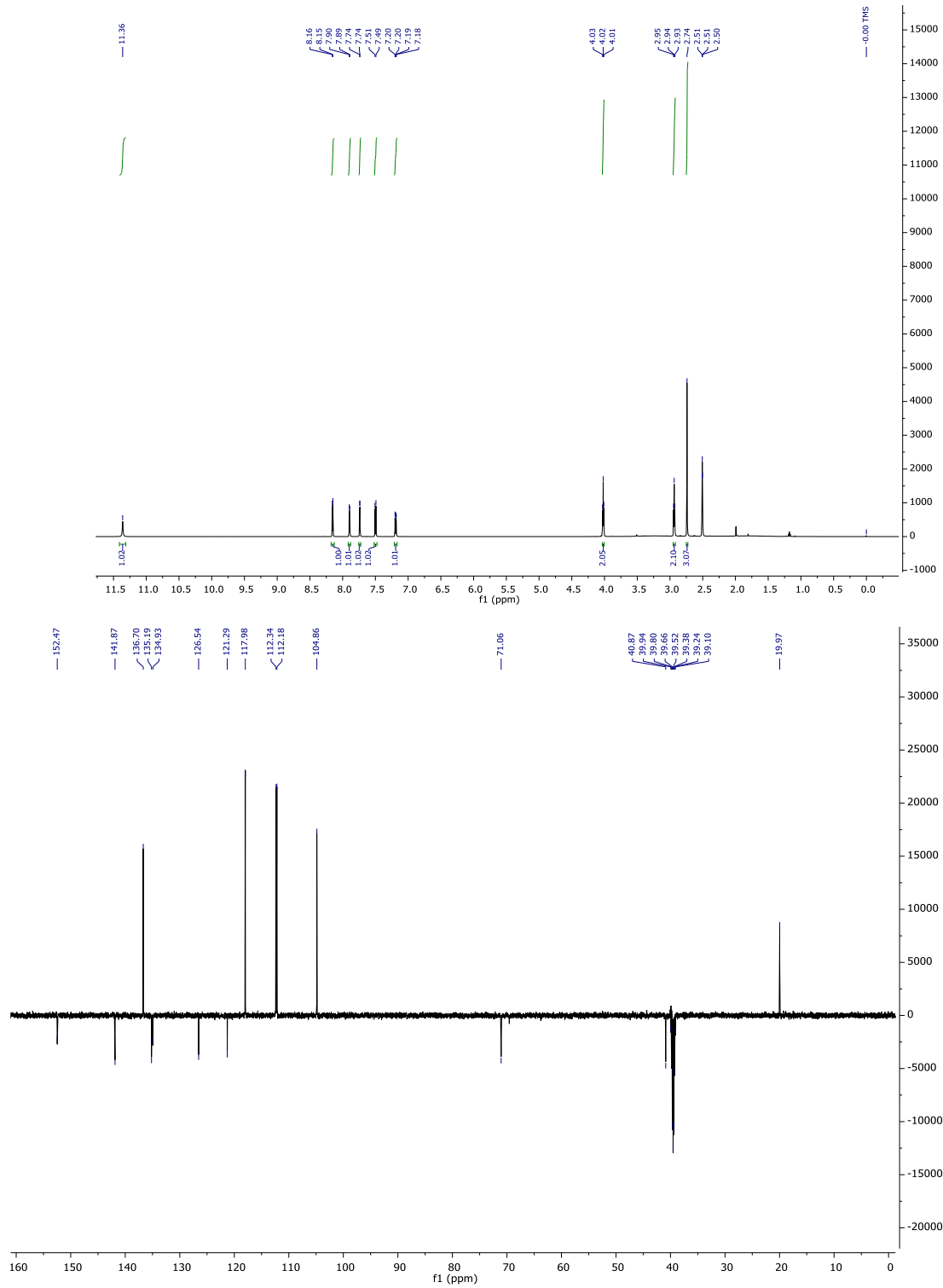


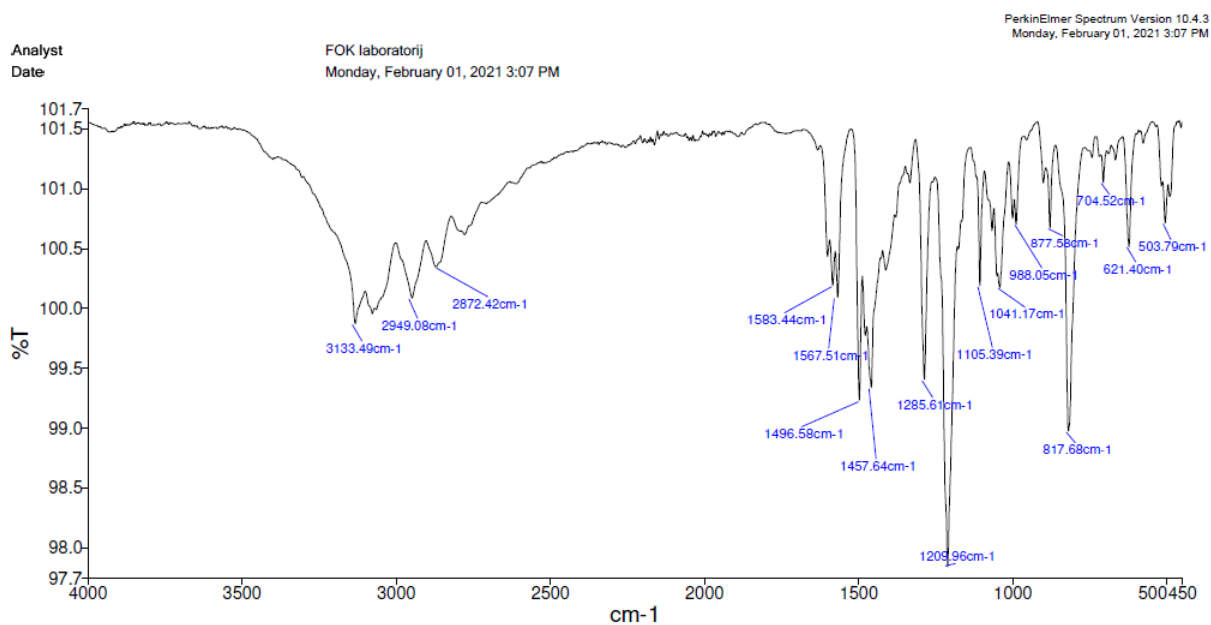
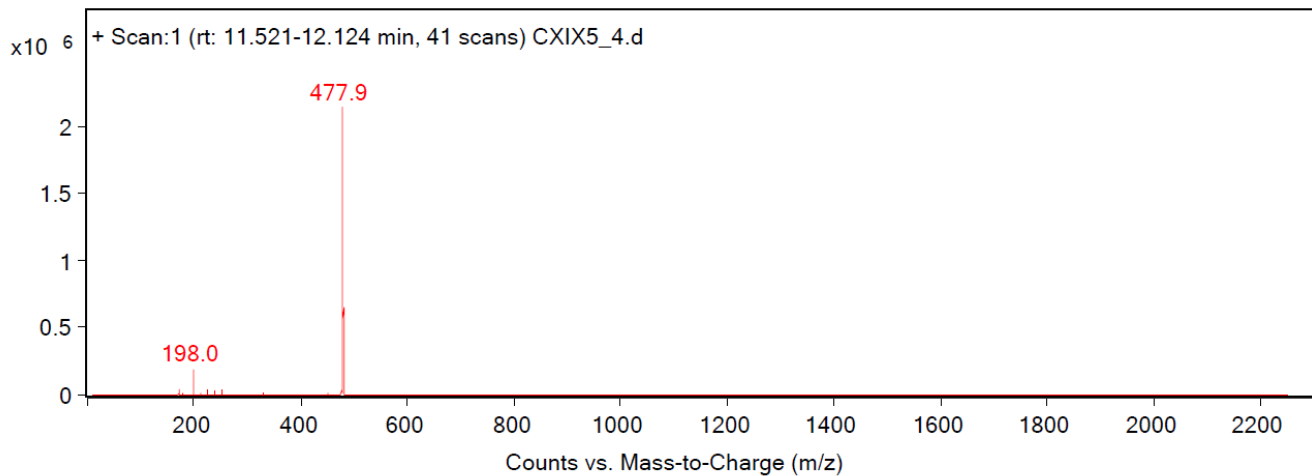
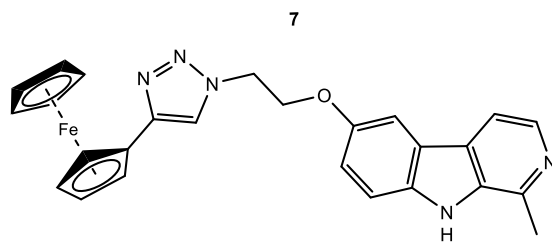


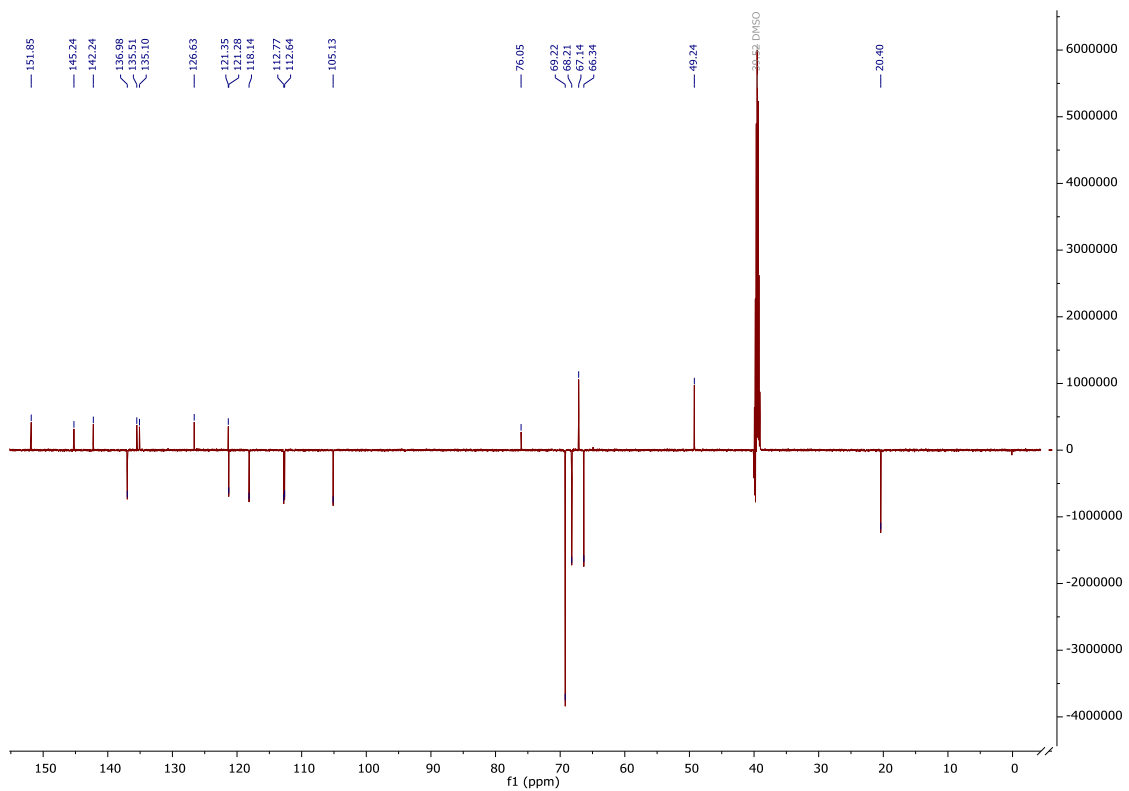
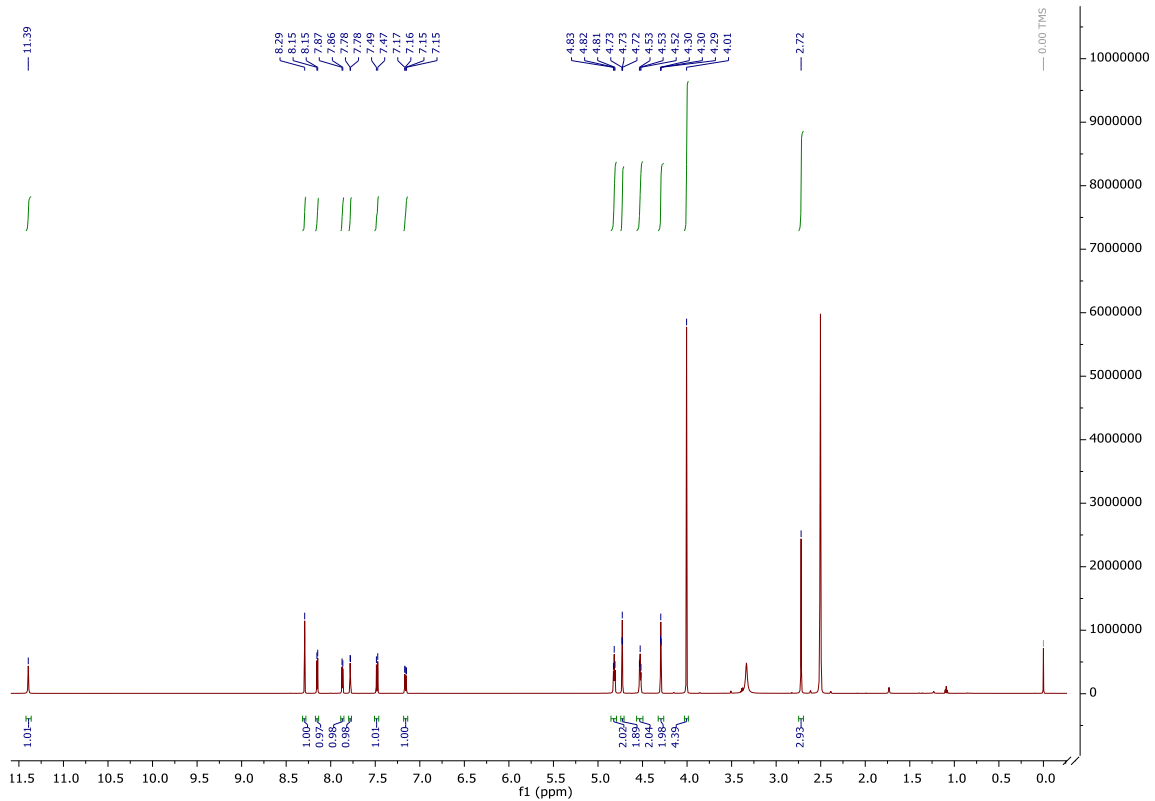




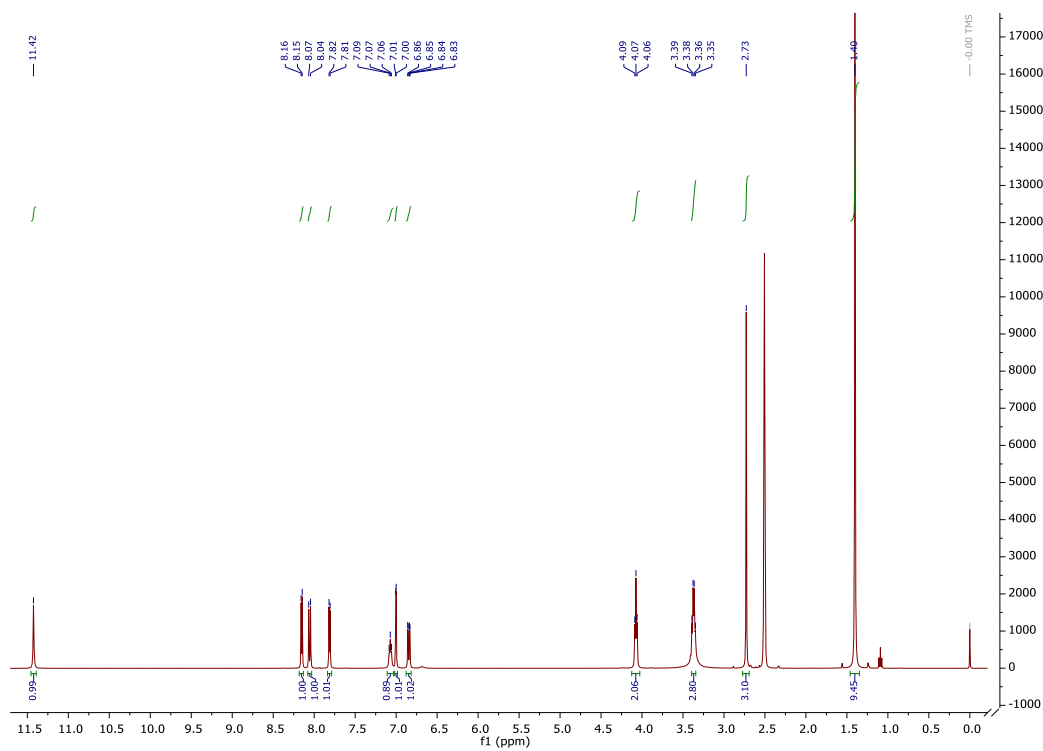
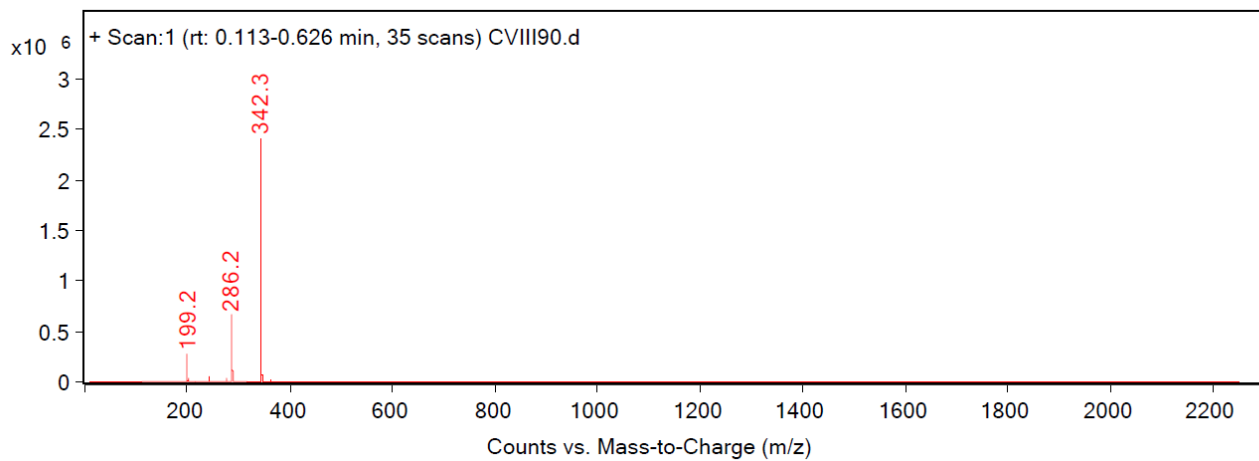
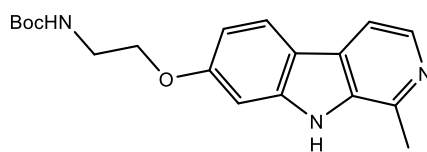


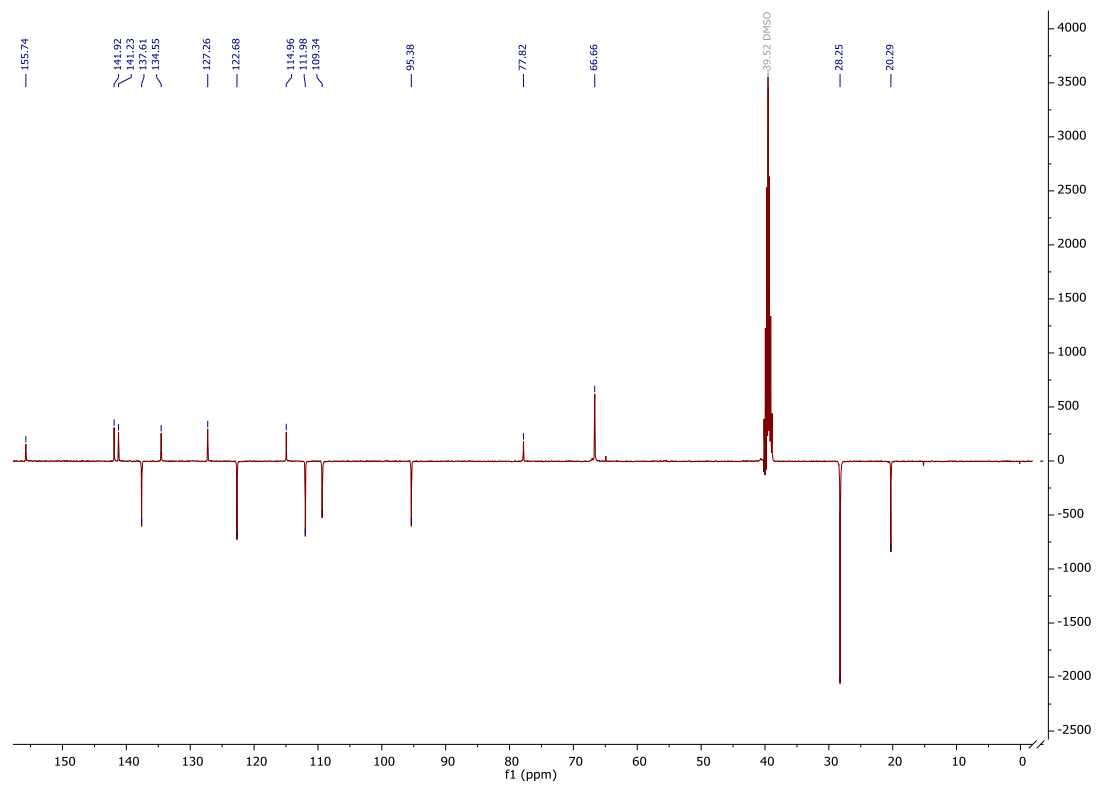




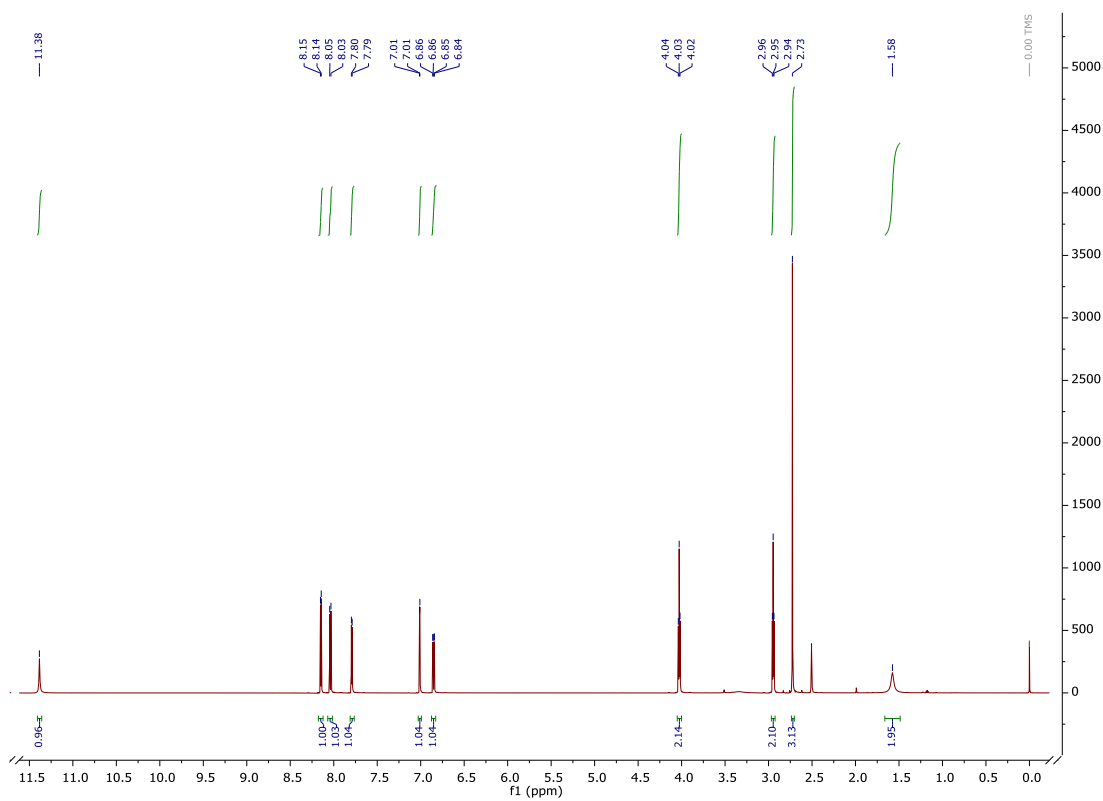
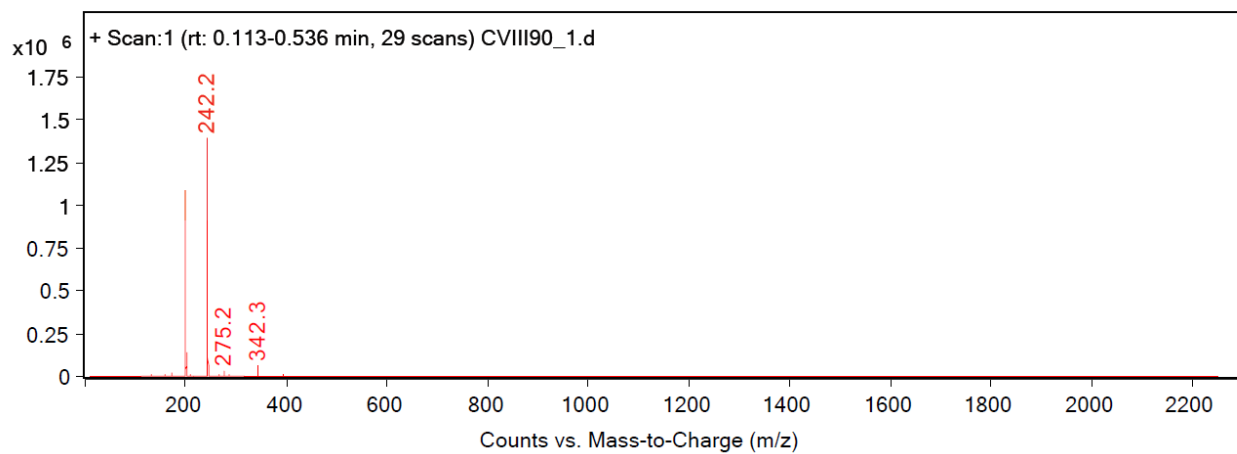
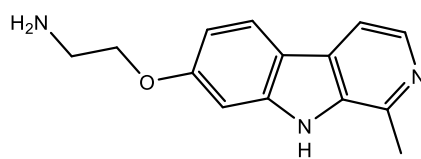


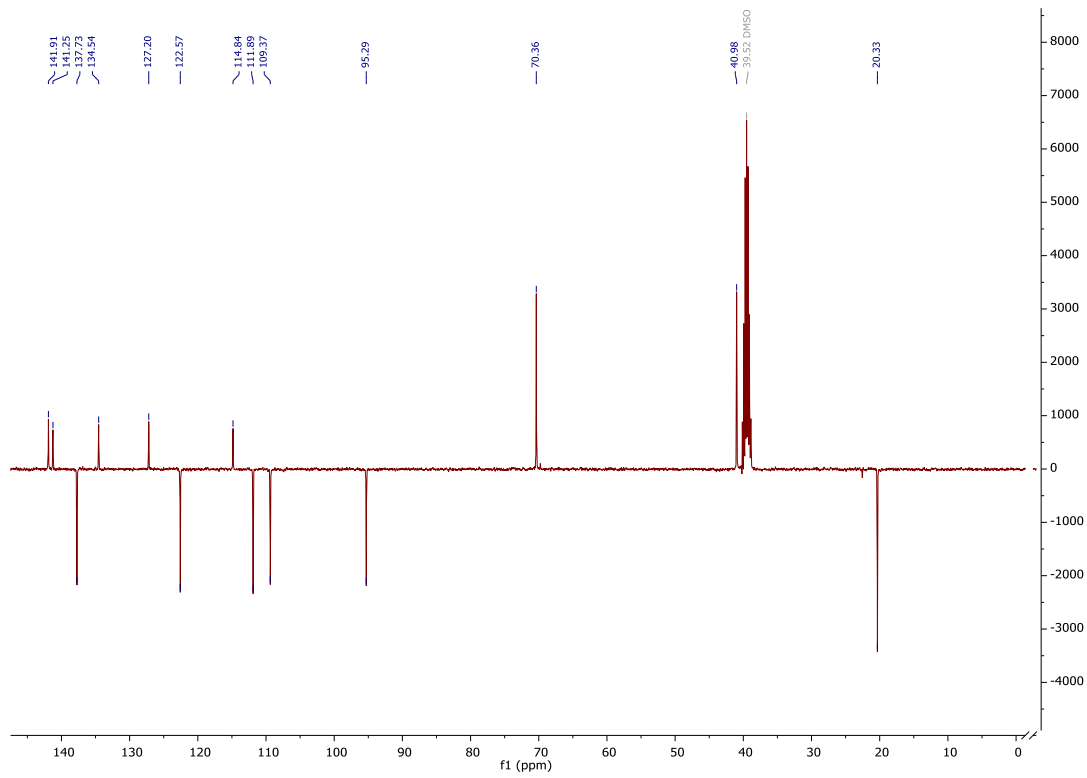
8



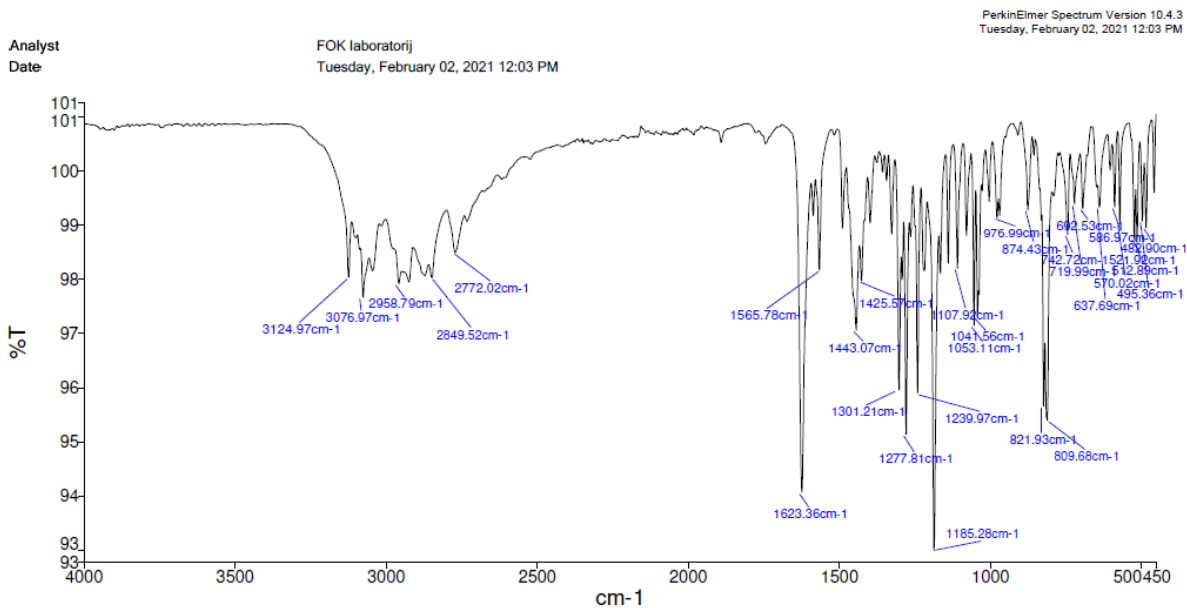
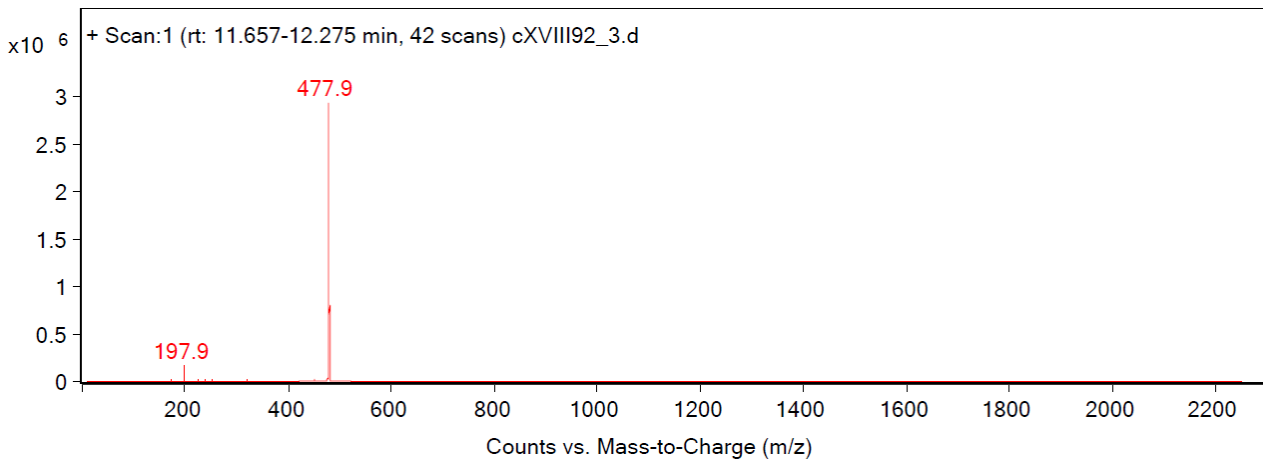
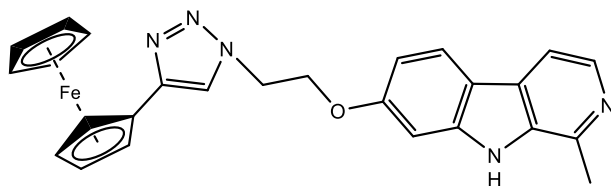


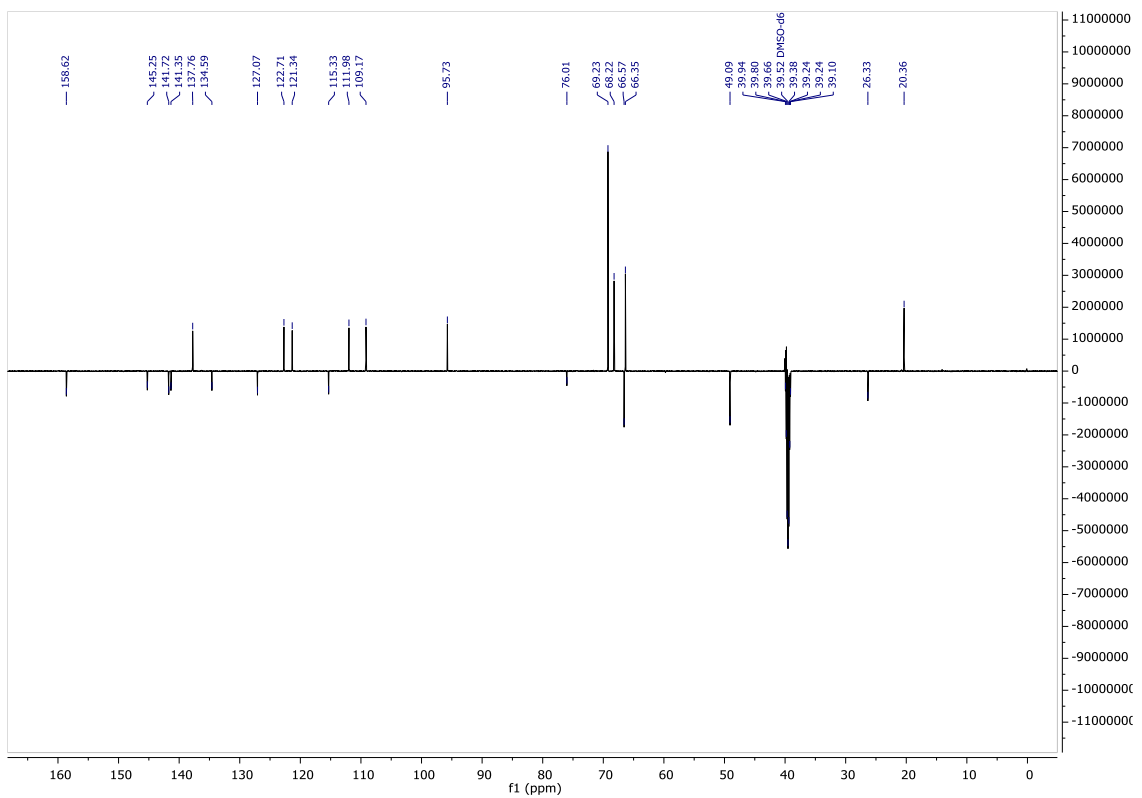
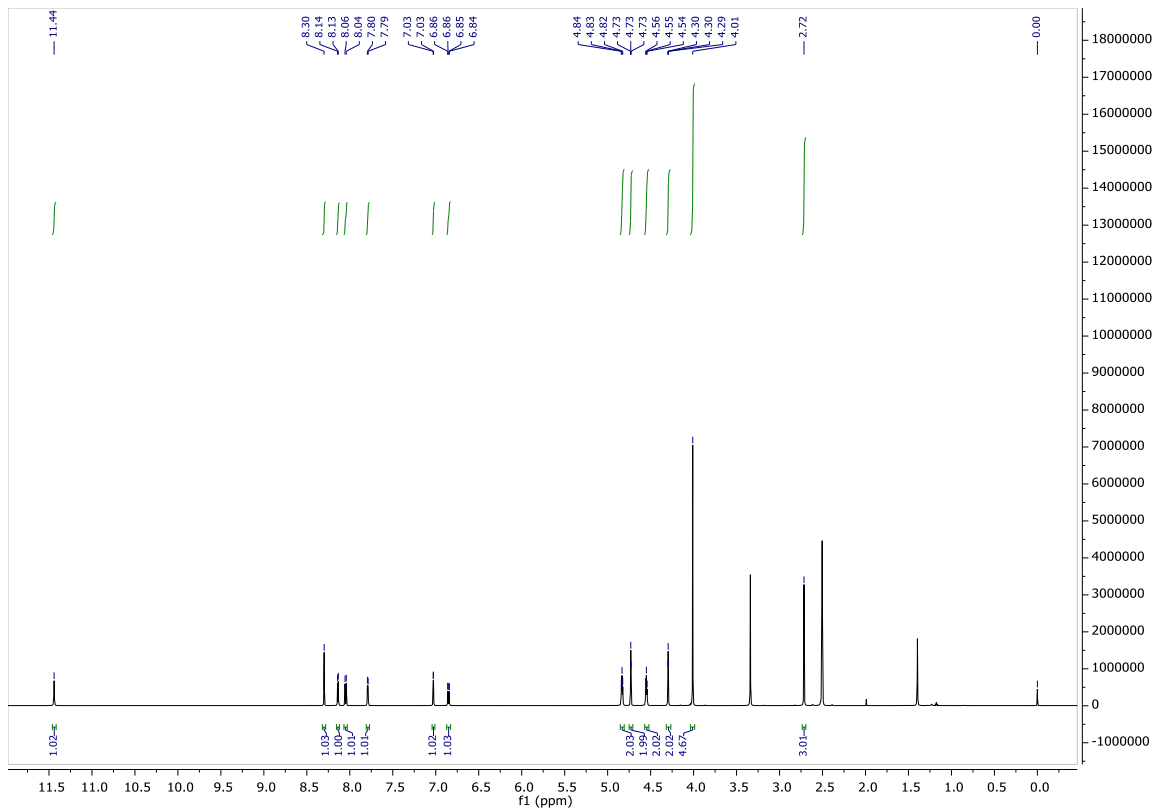
9



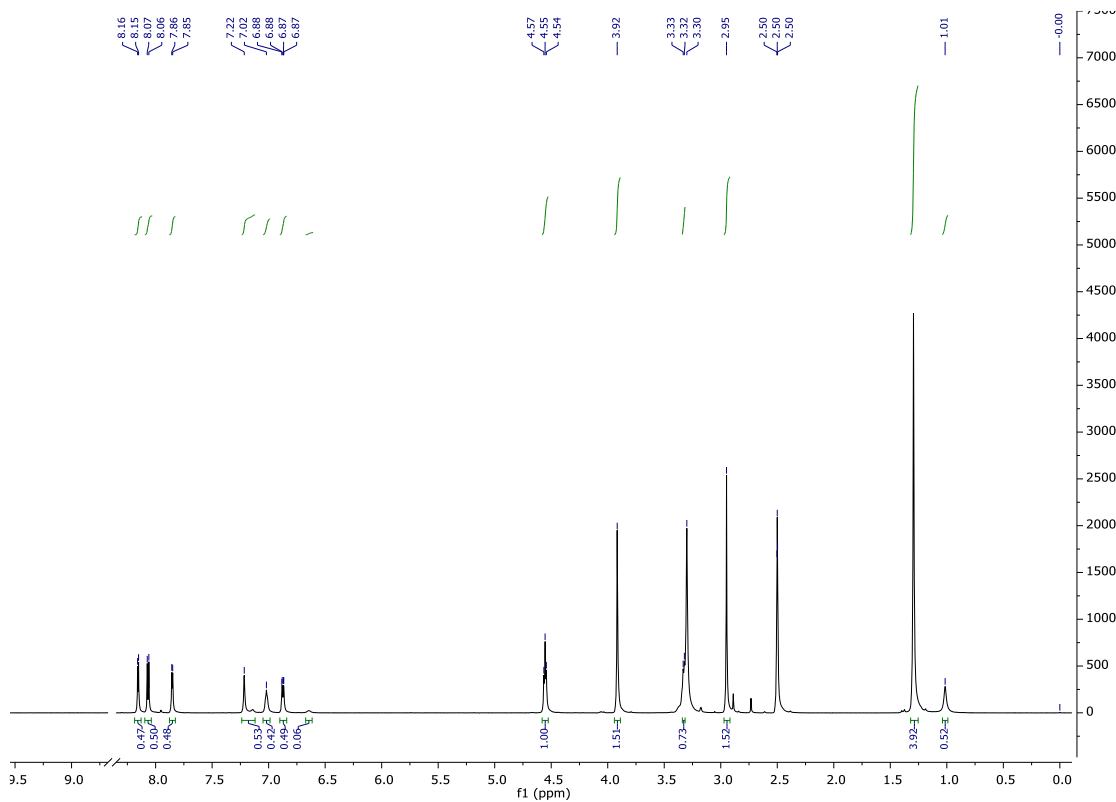
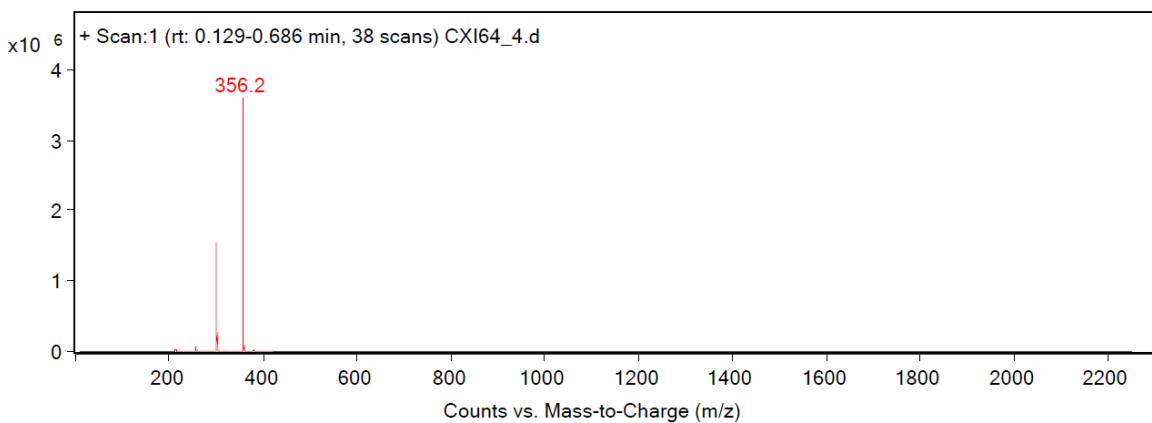
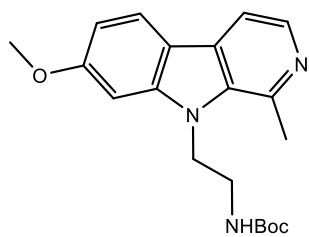


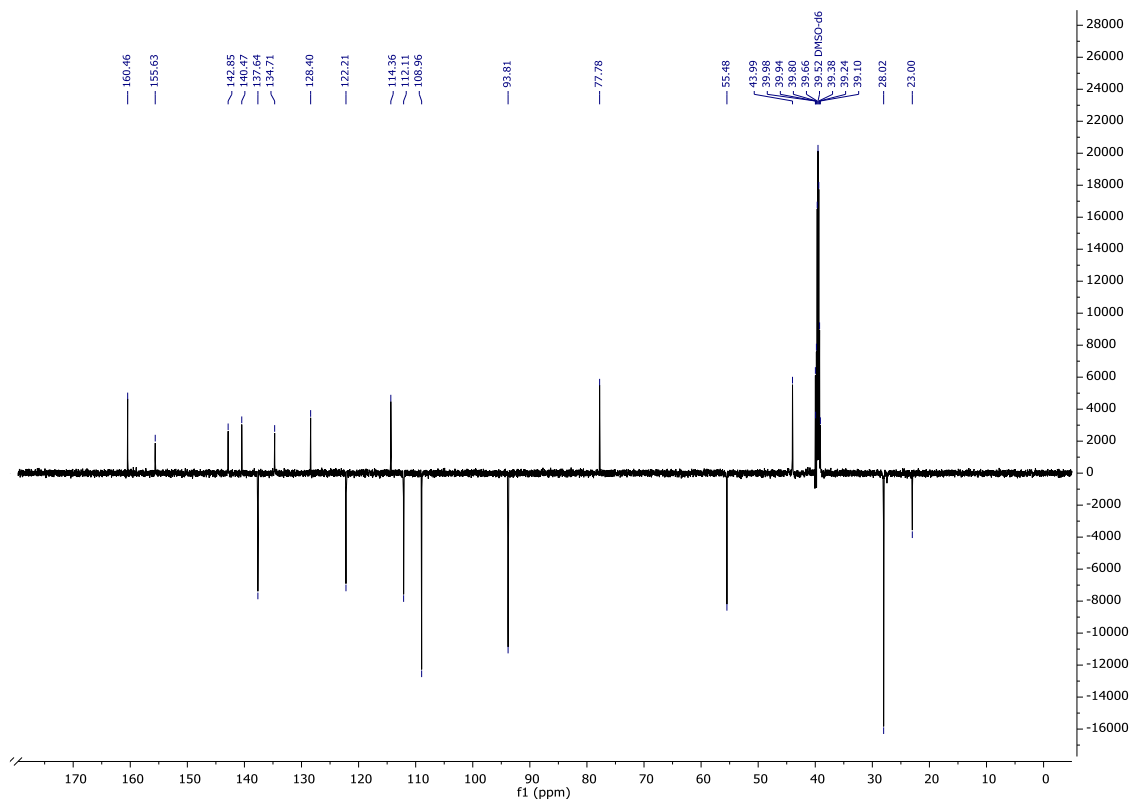
11



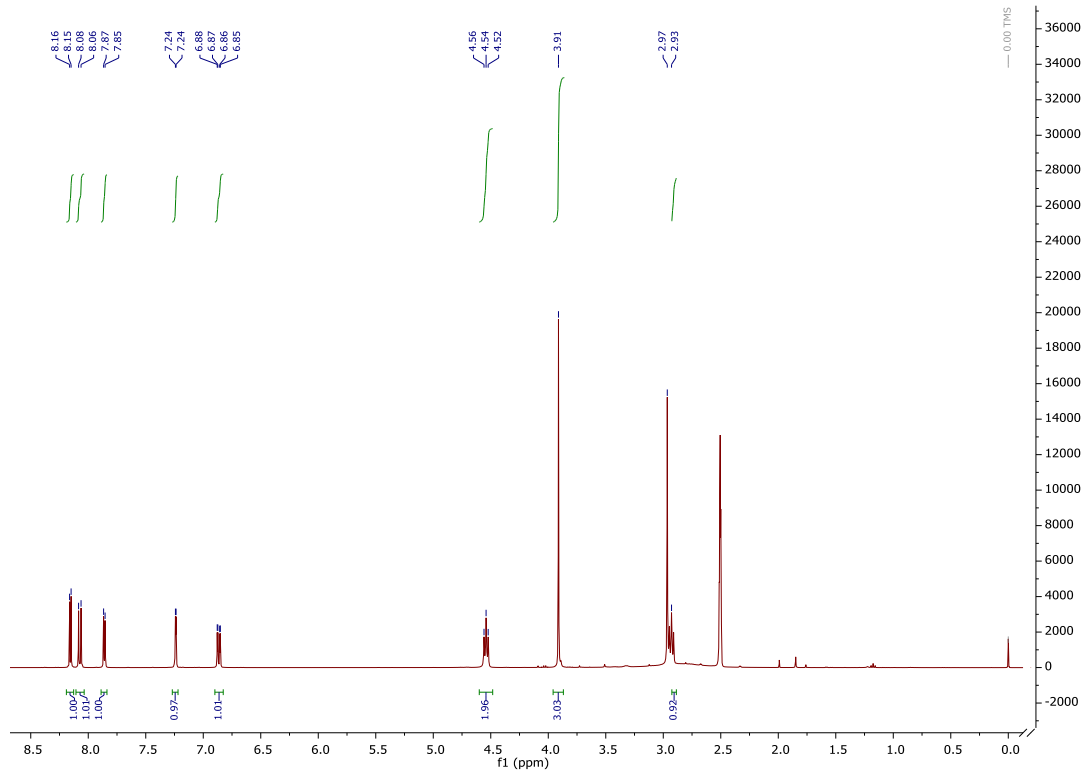
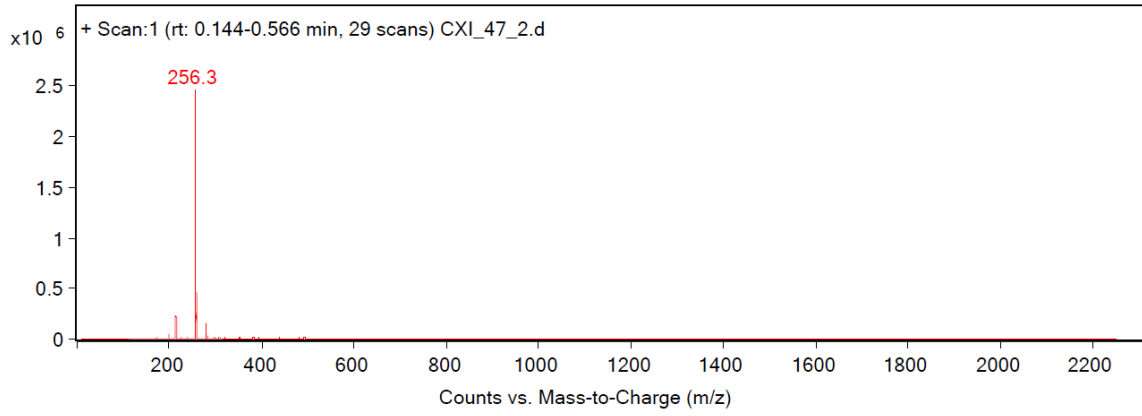
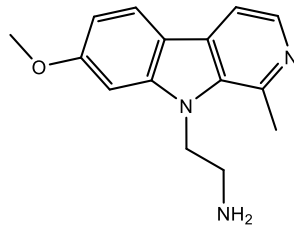


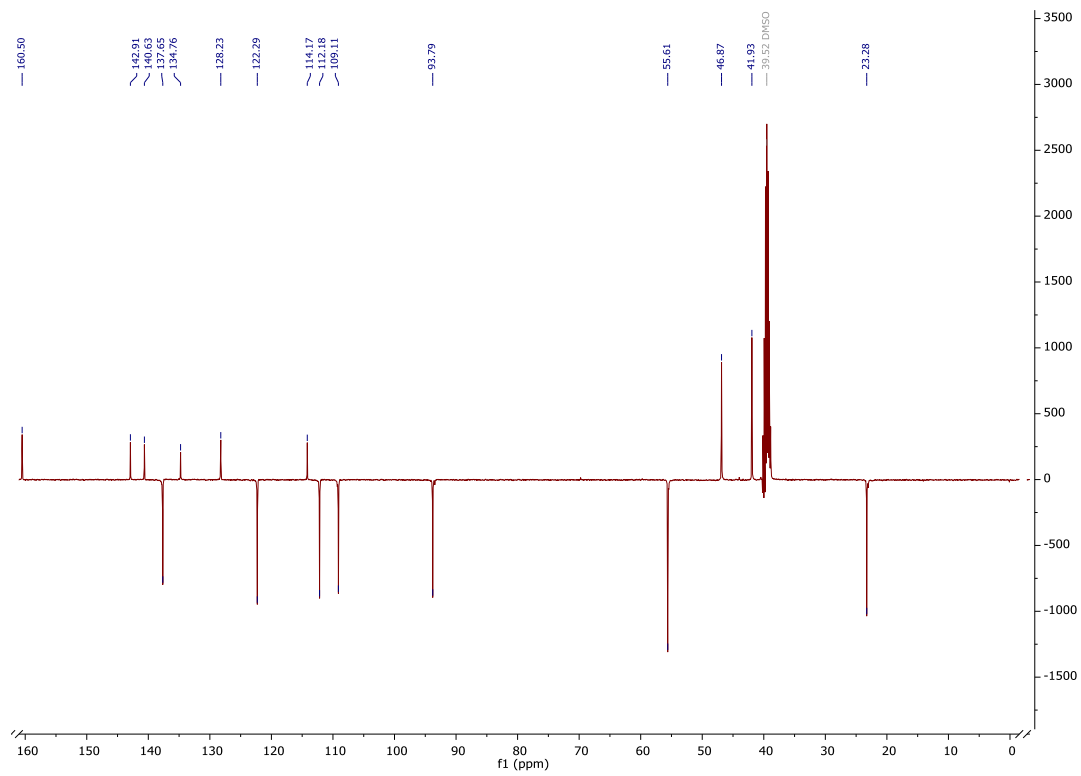
12



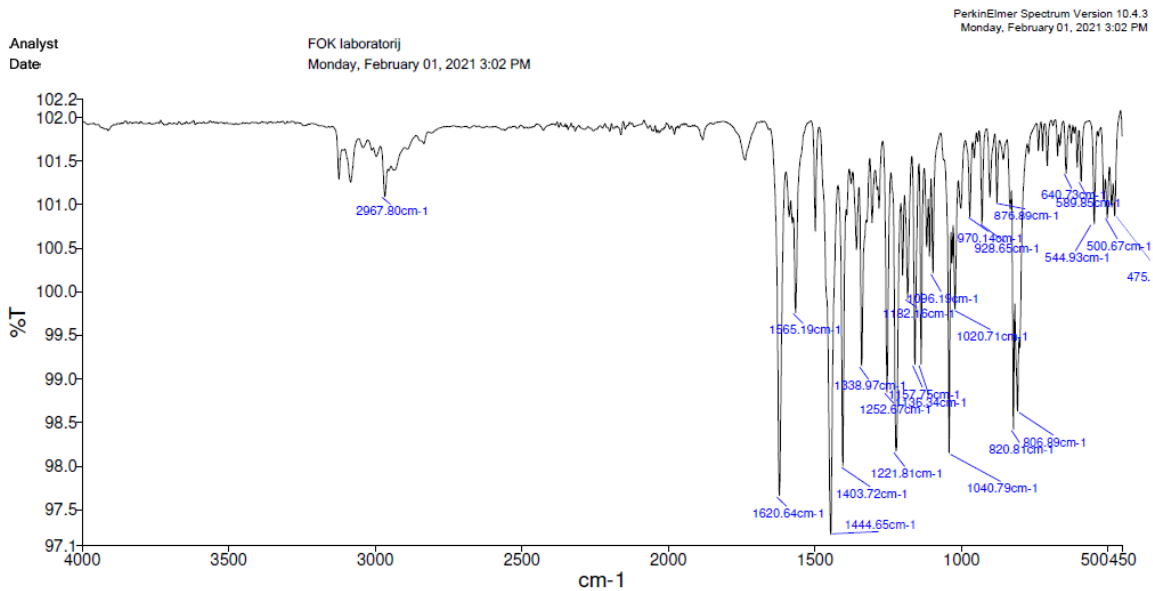
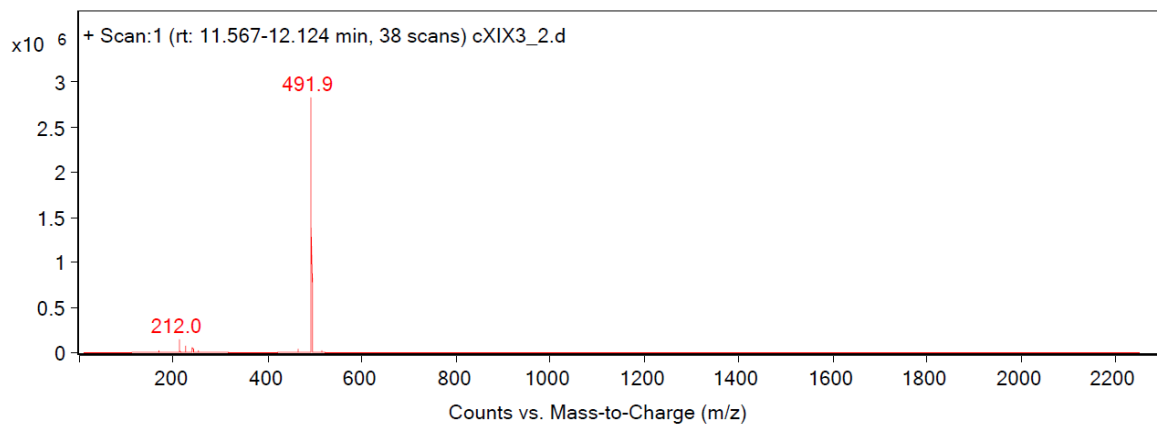
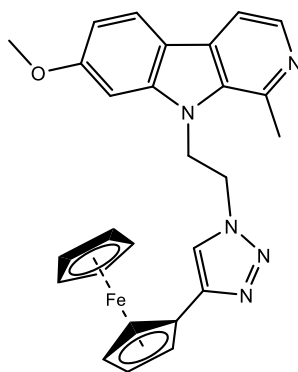


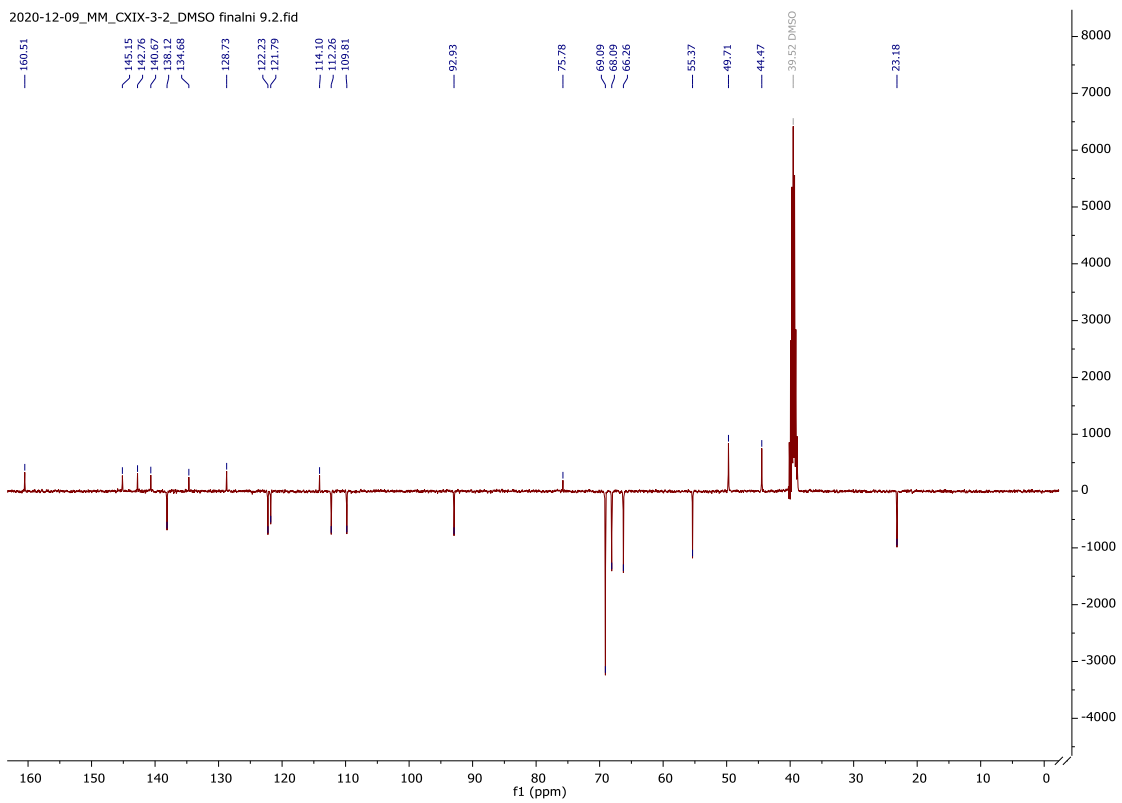
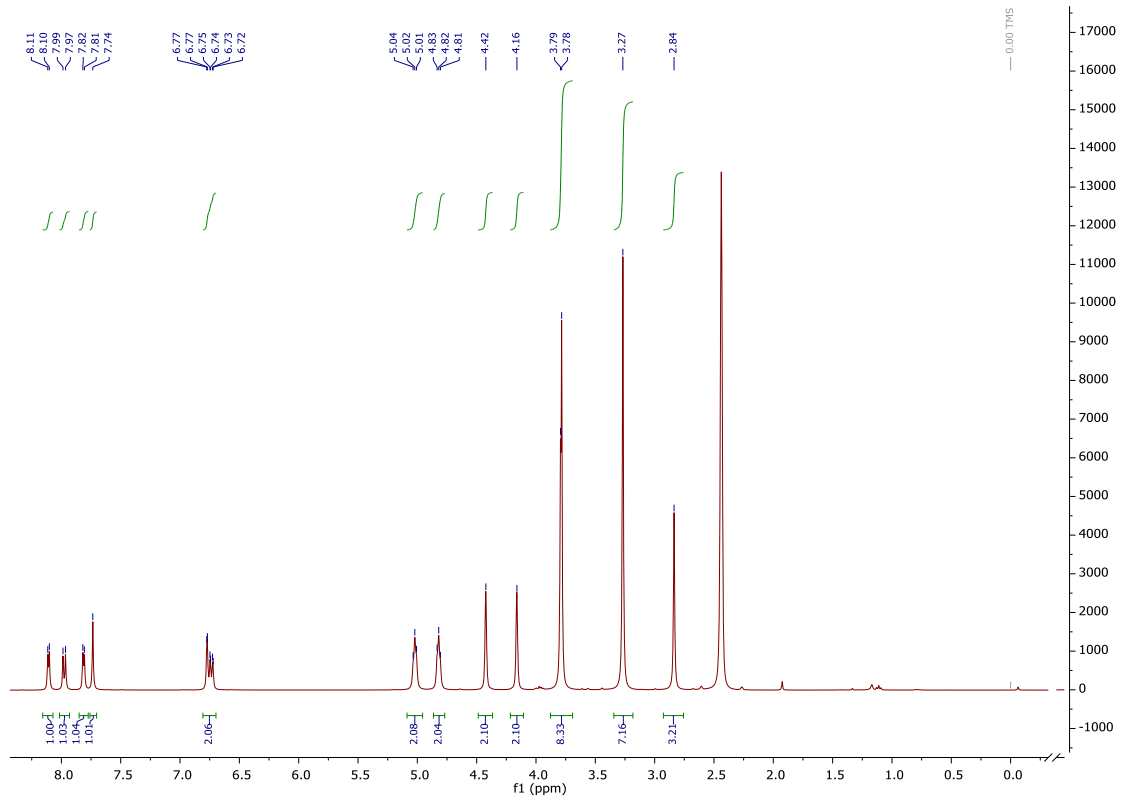
13





15





**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 hibrida 6-, 7- i 9-supstituiranih derivata β -karbolina i ferocena amidnog tipa

Petra Urek

SAŽETAK

U ovom radu sintetizirana su tri nova hibridna derivata β -karbolina i ferocena (**7**, **11**, **15**), kao i prekursori za njihovu sintezu (**1-4**, **8**, **9**, **10**, **12-14**). Broj reakcijskih koraka za pojedini derivat razlikuje se ovisno o položaju supstitucije β -karbolina. Sinteza 6-supstituiranog derivata **7** odvija se u sedam koraka. Pictet-Spenglerovom reakcijom dolazi do zatvaranja šesteročlanog prstena te nakon oksidacije nastaje derivat s β -karbolinskim prstenom (**2**). Slijedi kisela hidroliza metilnog etera čime nastaje fenol **3**, kojemu je u četvrtom koraku vezana Boc-zaštićena amino skupina preko etilenske poveznice (**4**).

Ishodišna molekula u sintezi derivata β -karbolina na položaju **7** i **9** je harmin. Derivat na položaju **7** (**11**) sintetiziran je u pet, a derivat na položaju **9** (**15**) u četiri reakcijska koraka. U prvom koraku sinteze 7-supstituiranog derivata, kiselom hidrolizom metilnog etera nastaje harmol. Boc-zaštićena aminoetilna skupina povezana je u slučaju harmola preko fenolne skupine (**8**) a u slučaju harmina preko amino skupine (**12**). Reagens za navedene sinteze je u oba slučaja 2(*tert*-butoksikarbonilamino)etil bromidom te se reakcije provode uz cezijev karbonat.

Sljedeći koraci jednaki su za sve produkte. Nakon hidrolize zaštitne Boc-skupine sa spojeva **4**, **8** i **12** uz klorovodičnu kiselinu, nastali amini **5**, **9** i **13** se oksidiraju u odgovarajuće azide **6**, **10** i **14**. U zadnjem koraku sinteze dobiveni azidi **6**, **10** i **14** reagiraju s etinil ferocenom u reakciji bakrom (I) katalizirane azid-alkin cikloadicije u kojoj dolazi do zatvaranja triazolskog prstena između dva farmakofora te nastaju konačni produkti **7**, **11** i **15**.

Pripremljenim spojevima potvrđene su strukture korištenjem standardnih analitičkih i spektroskopskih metoda (IR, MS, ^1H i ^{13}C NMR) te su im određena tališta. Njihov biološki učinak bit će ispitan u daljnjim istraživanjima koji prelaze okvire ovog rada.

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

Rad sadrži: 83 stranice, 37 grafičkih prikaza, 9 tablica i 23 literaturna navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: 1*H*-1,2,3-triazol, ferocen, harmin, hibrid, malarija.

Mentor: **Dr. sc. Ivana Perković**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Ivana Perković**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Zrinka Rajić, *izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Daniela Amidžić Klarić, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: srpanj 2021.

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 amide type hybrid compounds composed of 6-,7- and 9- substituted β -carboline and ferrocene derivatives

Petra Urek

SUMMARY

In this paper three new β -carboline derivatives (**7**, **11**, **15**) have been synthesized, as well as their precursors (**1-4**, **8**, **9**, **10**, **12-14**). The number of reaction steps differs depending on the β -carboline derivatization position. 6-substituted derivative **7** was synthesized in a seven step procedure. Firstly, the six-membered ring was closed using the Pictet-Spengler reaction and, after oxidation, a β -carboline ring was formed (**2**). This was followed by acidic hydrolysis of the methyl ether, yielding phenol **3**, which was then linked to a Boc-protected amino group using ethylene as a spacer (**4**).

In the synthesis of 7- and 9-substituted derivatives of β -carboline, harmine was used as a starting compound. Derivatives at position 7 (**11**) and 9 (**15**) were synthesized in a five and four step procedure. In the first step of the synthesis of harmol was performed by acidic hydrolysis of methyl ether. The Boc-protected aminoethyl group was linked *via* phenol group in harmol (**8**) and *via* amino group in harmine (**12**). The reagent for both reactions was 2(tert-butoxycarbonylamino)ethyl bromide and the reactions were carried out in the presence of cesium carbonate.

The following steps were equal to all three derivatives. After hydrolysis of the Boc-protecting group from compounds **4**, **8** and **12** with hydrochloric acid, the resulting amines **5**, **9** and **13** were then oxidized to azides **6**, **10** and **14**. Finally, azides **6**, **10** and **14** reacted with ethynyl ferrocene in a copper (I) catalyzed azide-alkyne cycloaddition reaction, and a triazole ring connecting the two pharmacophores was formed (**7**, **11** and **15**).

Structures of the newly prepared compounds were confirmed using conventional analytical and spectroscopic methods (IR, MS, ^1H and ^{13}C NMR) and melting points of the compounds were determined. The biological activity of the compounds will be investigated.

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

Thesis includes: 83 pages, 37 figures, 9 tables and 23 references. Original is in Croatian language.

Keywords: 1H-1,2,3-triazole, ferrocene, harmine, hybrid, malaria.

Mentor: **Ivana Perković, Ph.D.** Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Reviewers: **Ivana Perković, Ph.D.** Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

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

Daniela Amidžić Klarić, Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

The thesis was accepted: July 2021.