

# Sinteza i karakterizacija hibrida 3-supstituiranih beta-karbolina i ferocena povezanih 1,2,3-triazolskim prstenom

---

Šutalo, Tina

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:163:934647>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-13**



Repository / Repozitorij:

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



Tina Šutalo

**Sinteza i karakterizacija hibrida 3-  
supstituiranih  $\beta$ -karbolina i ferocena povezanih  
1,2,3-triazolskim prstenom**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2021.

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 doc. dr. sc. Ivane Perković.

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

*Od srca hvala Goranu Poje na svim savjetima, uputama i velikom strpljenju. Zahvaljujem se i ostalim suradnicima u laboratoriju koji su mi također olakšali izradu eksperimentalnog dijela ovog diplomskog rada.*

*Posebno se zahvaljujem svojoj obitelji. Hvala mom tati na strpljenju, mami na ohrabrenju, bratu na vjeri, teti na molitvi, te mom Renatu što je nemoguće činio mogućim. Također veliko hvala mojim prijateljicama što su vjerovala u mene onda kad ja nisam.*

*Svi ste vi zaslužni za ovo što ja danas jesam.*

*Hvala vam!*

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



## KRATICE

|                     |  |
|---------------------|--|
| $^{13}\text{C}$ NMR | $^{13}\text{C}$ nuklearna magnetska rezonancija                      |
| $^1\text{H}$ NMR    | $^1\text{H}$ nuklearna magnetska rezonancija                         |
| ADMA                | acetaldehid-dimetil-acetal   |
| ADMP                | 2-azido-1,3-dimetilimidazolinijev heksafluorofosfat                  |
| ATP                 | adenozin-trifosfat   |
| CQ                  | klorokin   |
| DBU                 | 1,8-diazabiciklo[5.4.0]undek-7-en                                    |
| DNA                 | deoksiribonukleinska kiselina  |
| DMF                 | <i>N,N</i> -dimetilformamid  |
| DMSO                | dimetilsulfoksid   |
| ER                  | estrogenski receptor   |
| Fc                  | ferocen  |
| FQ                  | ferokin  |
| IR                  | infracrvena spektroskopija   |
| MOD                 | molekularno orbitalni dijagram                                       |
| MS                  | masena spektrometrija  |
| OH-TAM              | hidroksitamoksifen   |
| ROS                 | reaktivne kisikove vrste   |
| <i>q.s.</i>         | količina koja je dovoljna (lat. <i>quantum satis</i> )               |
| <i>s.t.</i>         | sobna temperatura  |
| SERM                | selektivni modulator estrogenskih receptora                          |
| TAM                 | tamoksifen   |
| TFA                 | trifluoroctena kiselina  |
| THF                 | tetrahidrofuran  |
| TLC                 | tankoslojna kromatografija (engl. <i>thin layer chromatography</i> ) |
| $t_{1/2}$           | vrijeme polueliminacije  |
| TMS                 | tetrametilsilan  |
| $t_t$               | temperatura tališta  |
| UV                  | ultraljubičasto zračenje   |
| MW                  | mikrovalno zračenje  |

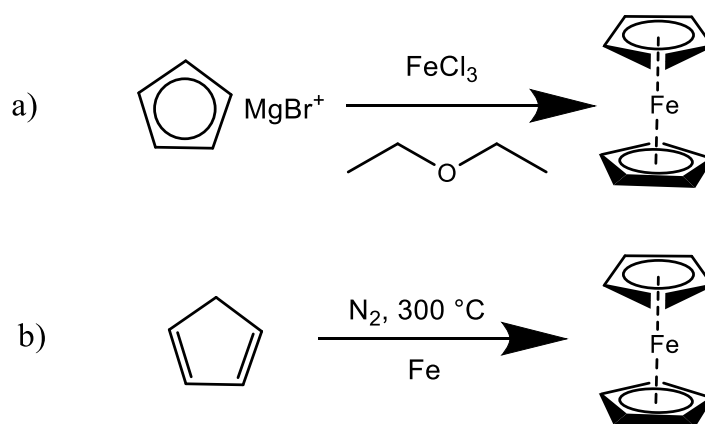
## SADRŽAJ

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. UVOD</b> .....  | <b>1</b>  |
| <b>1.1. Povijest ferocena</b> .....   | <b>2</b>  |
| 1.1.1. Svojstva ferocena.....   | 3         |
| 1.1.2. Primjena ferocena i njihovih derivata.....   | 4         |
| 1.1.3. Početak primjene ferocena i njihovih derivata u medicini.....  | 5         |
| 1.1.4. Antitumorska aktivnost ferocena.....   | 6         |
| 1.1.5. Ferocifeni.....  | 8         |
| 1.1.6. Feroceni s antimalarijskim učinkom.....  | 10        |
| 1.1.7. Antitumorsko djelovanje ferokina.....  | 13        |
| <b>1.2. <math>\beta</math>-Karbolini i njihovo biološko djelovanje</b> .....  | <b>14</b> |
| <b>2. OBRAZLOŽENJE TEME</b> .....   | <b>15</b> |
| <b>3. MATERIJALI I METODE</b> .....   | <b>17</b> |
| <b>3.1. Sinteza alkina i azida u položaju C-3 <math>\beta</math>-karbolinskog prstena</b> .....                                       | <b>19</b> |
| 3.1.1. Sinteza metil-1-metil-2,3,4,9-tetrahidro-1 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indol-3-karboksilata (1).....                       | 19        |
| 3.1.2. Sinteza etil-1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indol-3-karboksilata (2).....   | 19        |
| 3.1.3. Sinteza (1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indol-3-il)metanola (3).....  | 19        |
| 3.1.4. Sinteza 3-(azidometil)-1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indola (4).....   | 20        |
| 3.1.5. Sinteza 1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indol-3-karbaldehid (5).....   | 21        |
| 3.1.6. Sinteza 3-etinil-1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indola (6).....   | 21        |
| <b>3.2. Sinteza ferocenzida (7)</b> .....   | <b>22</b> |
| <b>3.3. Sinteza triazolskih hibrida <math>\beta</math>-karbolina i ferocena</b> .....   | <b>22</b> |
| <b>3.3.1.</b> Sinteza 3-(1-(ferocenilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)-1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indola (8)..... | 23        |
| <b>3.3.2.</b> Sinteza 3-((4-ferocenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)metil)-1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indola (9)..... | 24        |
| <b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....  | <b>25</b> |
| <b>5. ZAKLJUČCI</b> .....   | <b>34</b> |
| <b>6. LITERATURA</b> .....  | <b>36</b> |
| <b>7. SAŽETAK/SUMMARY</b> .....   | <b>40</b> |
| <b>8. PRILOZI</b> .....   | <b>45</b> |
| <b>9. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/BASIC DOCUMENTATION CARD</b>   |           |

# 1. UVOD

## 1.1. Povijest ferocena

Ferocen (Fc) je dobro poznat organometalni spoj koji je prvi put pripremljen 1951. te strukturno okarakteriziran 1952. godine. Njegovo sustavno ime je bis( $\eta^5$ -ciklopentadienil)željezo(II). Riječ je o kompleksu oblika sendviča koji ima zanimljivu povijest (Group Theory for Chemists, 2013). Godine 1951. znanstvenici Peter L. Pauson i Thomas J. Kealy pokušali su pripremiti fulvalen pomoću oksidativne dimerizacije ciklopentadiena. Međutim ovom reakcijom su dobili stabilni svjetlonarančasti prah odnosno ferocen (Slika 1). Godinu dana ranije znanstvenici S. Miller, J. Tebboth i J. Tremaine su tijekom sinteze amina u prilagođenom Haber-Boschovom procesu također dobili ferocen, međutim on nije bio njihov željeni produkt pa ga nisu dalje istraživali (Slika 1). Iz tog razloga 1950. nije zabilježena kao godina otkrića ferocena. Osim ove dvije, zabilježena je i treća sinteza ferocena, ali znanstvenik nije poznat. Naime ferocen je u ovom slučaju nastao propuštanjem vrućeg ciklopentadiena kroz unutrašnju stranu željezne cijevi (Atkins i sur., 2010).



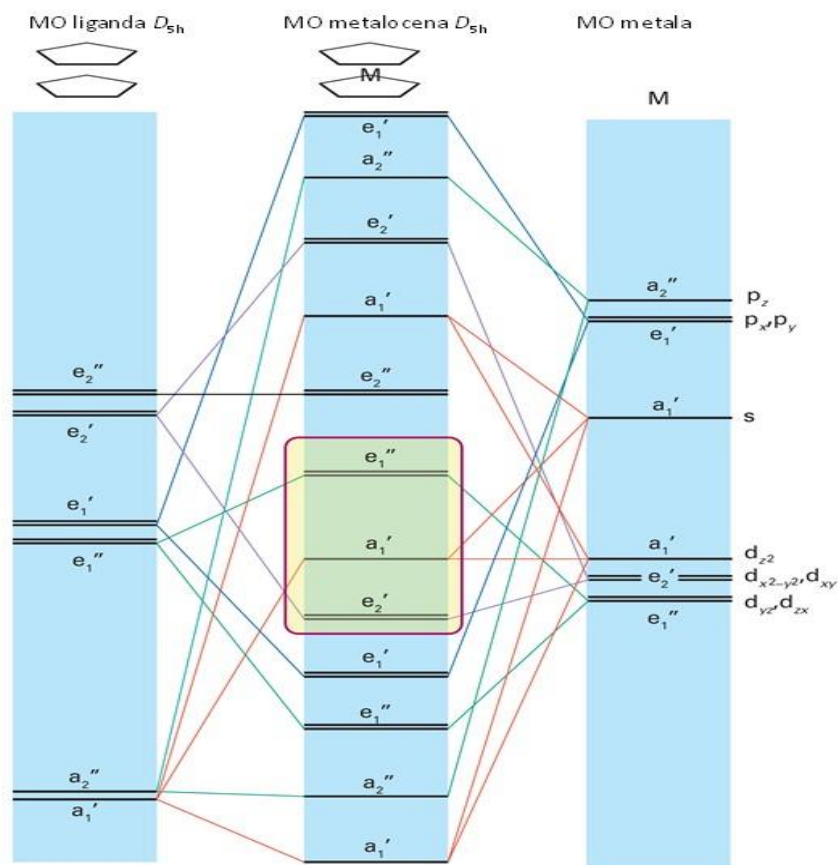
**Slika 1. a)** Sinteza ferocena 1951. godine (Peter L. Pauson i Thomas J. Kealy);

**b)** Sinteza ferocena 1950. godine (S. Miller, J. Tebboth i J. Tremaine).



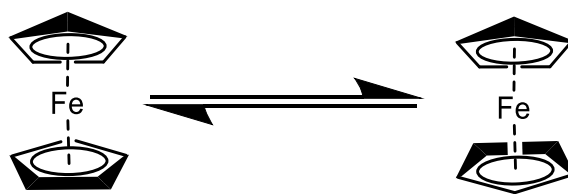
### 1.1.1. Svojstva ferocena

Ferocen (Fc) je stabilan na zraku i u vodi, te podliježe reverzibilnoj oksidaciji do  $\text{Fc}^+$  zbog čega je idealan unutarnji standard u elektrokemiji. Robusnost ferocena omogućuje njegovim prstenovima derivatizaciju korištenjem uobičajenih reakcija u organskoj kemiji. Fizičko-kemijska svojstva ferocena omogućuje njegovu primjenu u različitim znanstvenim područjima, primjerice u farmaceutskoj kemiji. Veliku stabilnost može zahvaliti organometalnoj vezi između metalnog središta, odnosno željezovog(II) kationa, te dva vezana ciklopentadienilna prstena. Naime detalji te veze nisu u potpunosti objašnjeni, ali se velik broj eksperimentalnih opažanja može objasniti molekularno orbitalnim dijagramom (MOD) (Slika 2); (Atkins i sur., 2010; Group Theory for Chemists, 2013).



**Slika 2.** Molekularno orbitalni dijagram s  $D_{5h}$  simetrijom (Atkins i sur., 2010).

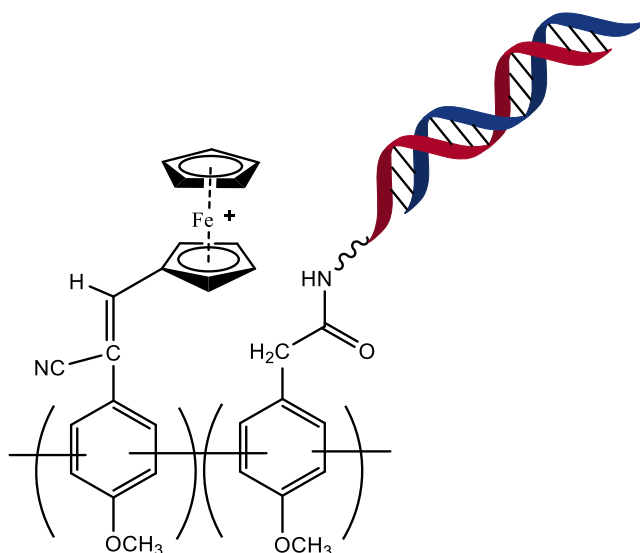
Naime, ferocen je 18-elektronski sustav s takozvanom „sendvič-strukturom“, a na temelju MOD-a može se uočiti kako  $e_1''$  orbitale imaju istu simetriju kao  $d_{xz}$  i  $d_{yz}$  orbitale metalnog kationa, dok orbitala  $a_1'$  koja je niže energije ima pripadajuću  $d_{z^2}$  simetriju. Osim toga, ferocen ima popunjenu  $a_1'$  orbitalu kao i ostale orbitale niže energije, a to dovodi do nastanka relativno snažne veze (duljina M–C veze u ferocenu iznosi 206 pm). Osim stabilnosti, druga važna svojstva ferocena su oksidacijsko-redukcijska svojstva, zbog čega se primjenjuje u elektrokemiji. Koristi se i kao katalizator u enantioselektivnim reakcijama. Također, ferocen pokazuje rotaciju ciklopentadienilnih prstenova oko osi koja ih povezuje i prolazi metalnim središtem. Za ovu unutarnju rotaciju nije potrebna velika energija ( $\Delta G^\circ = 4 \text{ kJ mol}^{-1}$ ; Slika 3) (Atkins i sur., 2010).



**Slika 3.** Rotacija ferocenskih prstenova.

### 1.1.2. Primjena ferocena i njihovih derivata

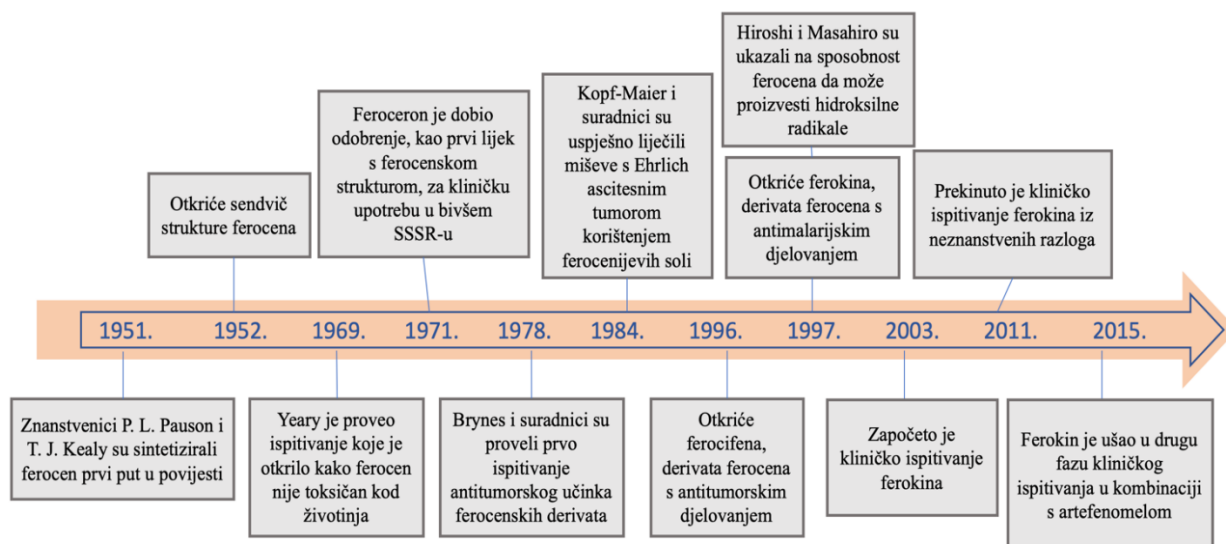
Zbog svojih zanimljivih svojstava ferocen i njegovi derivati pronalaze primjenu u različitim poljima. Jedna od važnijih primjena su bioanalitička istraživanja. Naime ferocen može stvarati konjugate s biomolekulama pa se derivati ferocena upotrebljavaju kao biosonde (Slika 4), primjerice za određivanje DNA (Yu i sur., 2001; Bizid i sur., 2017).



**Slika 4.** DNA biosonda (Bizid i sur., 2017).

### 1.1.3. Početak primjene ferocena i njihovih derivata u medicini

Također je važna primjena ferocena i njihovih derivata u medicini. Važno je napomenuti da ferocen sam po sebi nije vrlo toksičan. Ispitivanje na psima, koje je provedeno 1969. godine, otkrilo je da je svakodnevno oralno uzimanje  $300 \text{ mg kg}^{-1}$  Fc tijekom 6 mjeseci, ili  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$  tijekom 3 mjeseca, rezultiralo hemosiderozom, odnosno neobično velikim preopterećenjem željezom, koje je ovisno o dozi. Međutim nisu primijećeni latentni štetni učinci takvog kroničnog preopterećenja željezom kod pasa koji su promatrani 12–26 mjeseci nakon šestomjesečnog tretmana (Patra i Gasser, 2017).



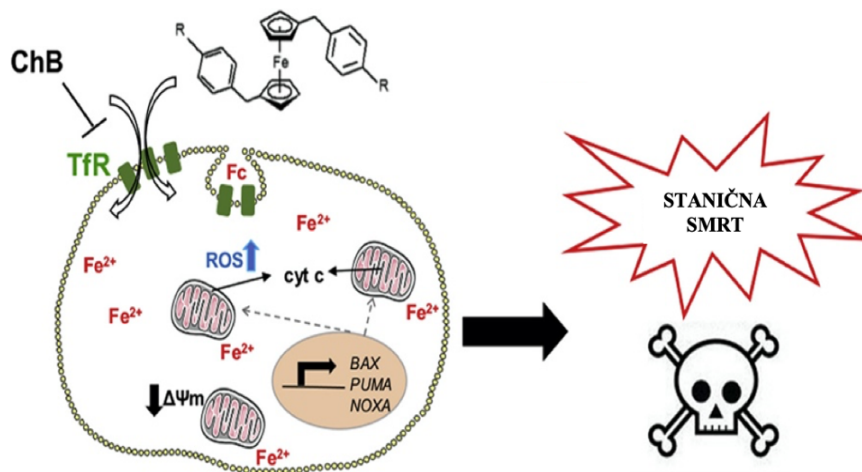
**Slika 5.** Povijest ferocena i njegovih derivata (Patra i Gasser, 2017).

Od ferocenskih derivata, feroceron se koristio za liječenje anemije u bivšem SSSR-u 1970-ih. Prema dosadašnjim saznanjima, feroceron je bio prvi, a možda i jedini ferocenični lijek koji je bio odobren za medicinsku uporabu, međutim više nije dostupan na tržištu. Lipofilnost feroceničnih skupina omogućuje oralnu primjenu ferocerona za liječenje bolesti desni. Ovakva stanja nisu slučaj za primjenu uobičajenih Fe(II) soli, ali zato feroceron predstavlja zanimljivu alternativu (Patra i Gasser, 2017).

#### 1.1.4. Antitumorska aktivnost ferocena

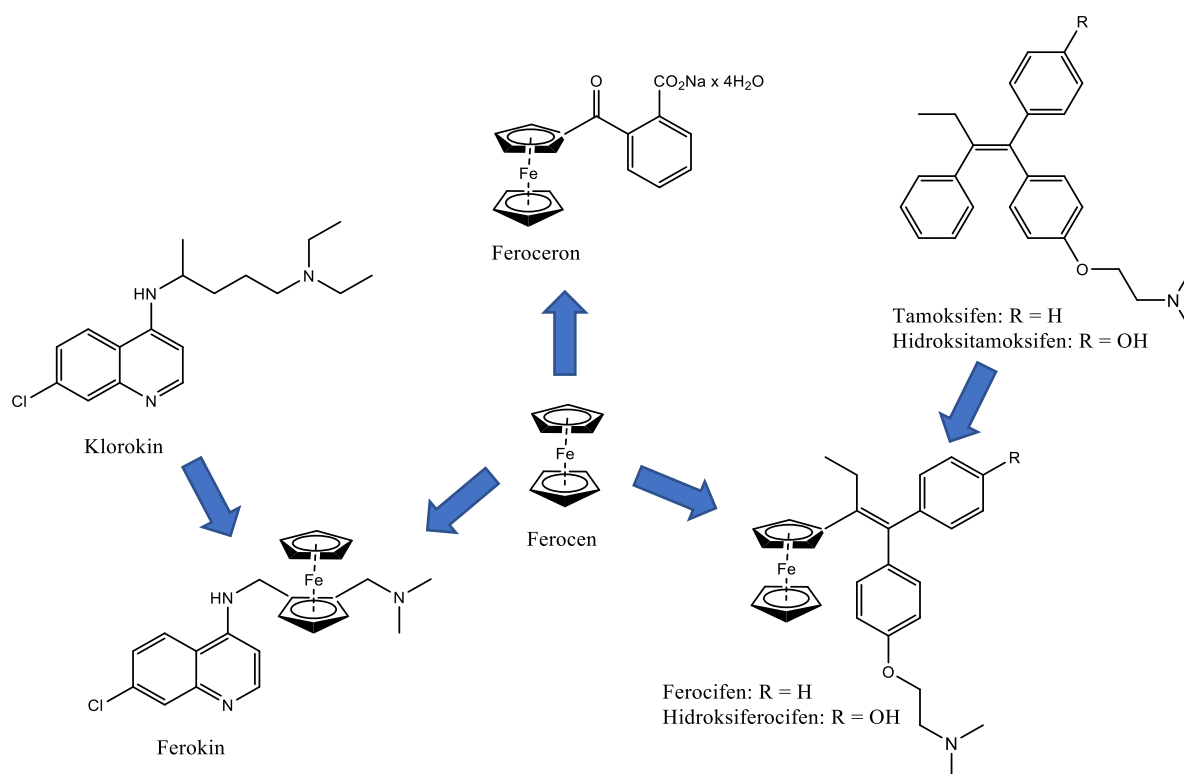
Prvo ispitivanje antitumorske aktivnosti spojeva koji sadrže ferocen provedeno je 1978. godine *in vivo* na miševima koji su imali limfocitnu leukemiju P-388. Ovo ispitivanje je uključivalo pripremu novih spojeva koji su sadržavali antigeni dio koji se snažno veže na nukleinske kiseline. Odabrani hapteni bili su poliamini, poput putrescina, spermidina i spermina, koji postoje i u fiziološkim uvjetima u protoniranom obliku koji ima visok afinitet za polianione poput DNA. Osim toga, ovi amini su prirodnog podrijetla, te nije bilo opasnosti od moguće toksičnosti. Ferocenična skupina izabrana je kao antigeni dio, na temelju ispitivanja koje je pokazalo da ferocenični polipeptidi izazivaju snažan antigeni odgovor. Međutim, ferocenični poliamini nisu produžili život oboljelim miševima. Inicijalna prekretnica u procjeni antitumorskog djelovanja feroceničnih derivata dogodila se 1984. godine kada su objavljeni rezultati ispitivanja aktivnosti ferocenijskih soli. Pokazalo se da su soli  $[Fc] [CCl_3CO_2] \cdot$

$2\text{CCl}_3\text{CO}_2\text{H}$ ,  $[\text{Fc}][\text{FeCl}_4]$  i  $[\text{Fc}][\text{pikrat}]$  učinkovite u suzbijanju Ehrlichovog ascitesnog tumora kad se intraperitonealno ubrizgaju s fiziološkom otopinom u oboljele ženke miševa CF1. Postignute su stope preživljavanja do 100 %, ovisno o dozi i primjenjenoj  $\text{Fc}^+$  soli (Patra i Gasser, 2017). Pretpostavlja se da se derivati ferocena podvrgavaju oksidaciji u biološkom okruženju dajući toksični  $\text{Fc}^+$  kompleks koji posjeduje antitumorsko djelovanje (Slika 6). Međutim, neutralni oblik je poželjniji s obzirom na bolja farmakokinetička svojstva zbog čega je nastala ideja da se derivati Fc mogu koristiti kao prolijekovi (Fouda i sur., 2007).



**Slika 6.** Antitumorsko djelovanje ferocena (učinak na signale puteve (BAX, PUMA, NOXA) koji dovode do apoptoze; preuzeto i prilagođeno iz Skoupilova i sur., 2020).

Značajno otkriće se dogodilo 1997. godine. Naime pokazalo se da spojevi ferocena mogu dovesti do cijepanja DNA *in vitro*, stvaranjem hidroksilnih radikala ( $\bullet\text{OH}$ ), za koje se smatralo da nastaju putem Fentonovog mehanizma. Upravo su zbog toga postali ciljna meta za razvoj antitumorskih lijekova. Danas znamo da ferocenilni spojevi ostvaruju antitumorsko djelovanje putem redoks mehanizma (Perez i sur., 2015).

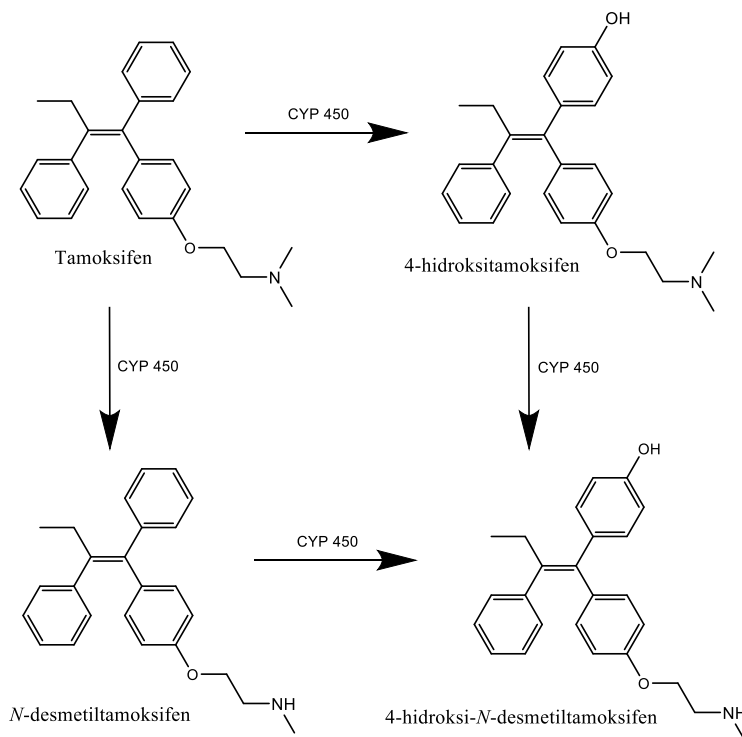


**Slika 7.** Derivati ferocena i tamoksifena/klorokina.

### 1.1.5. Ferocifeni

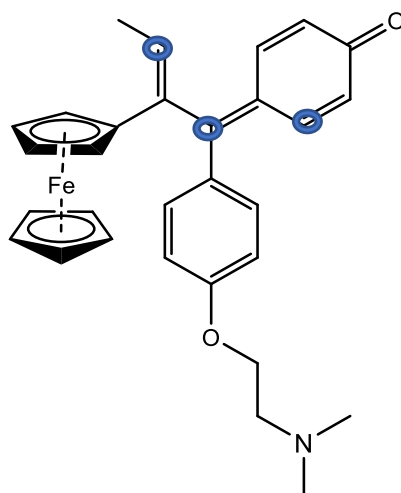
Paralelno s otkrićem ferokinona 1996., započelo je ispitivanje djelovanja ferocenskih analoga tamoksifena (TAM) kao antitumorskih spojeva. Tamoksifen je prva linija liječenja kod pacijentica koje imaju rak dojke ovisan o estrogenu, odnosno koji ekspirira estrogenski receptor  $ER\alpha$  ( $ER\alpha^+$ ). U organizmu TAM prolazi kroz oksidaciju do metaboličkog produkta hidroksitamoksifena (OH-TAM, Slika 8), koji se natječe s endogenim ligandima (estradiolom) za vezivanje na  $ER\alpha$  (Patra i Gasser, 2017). Na taj način OH-TAM blokira transkripciju DNA posredovanu estradiolom u tkivu tumora, dovodeći do stanične smrti. Ubrzo je postalo jasno da bi zamjena fenilne skupine u TAM-u s ferocenilnom stvorila boljeg kandidata za lijek (Zhao i sur., 2011). Ferocenilni analozi TAM, poput ferocifena i hidroksiferocifena, su visoko aktivni protiv  $ER\alpha^+$ , ali i protiv hormon neovisnih ( $ER\alpha^-$ ) stanica raka dojke, za razliku od OH-TAM, koji je aktivan samo protiv  $ER\alpha^+$  stanica. Ovo otkriće je jako značajno jer otprilike jedna trećina svih karcinoma dojke pripada tipu  $ER\alpha^-$ , te se oni ne mogu liječiti selektivnim modulatorima

estrogenskih receptora (SERM), poput tamoksifena (Cazares-Marinero i sur., 2014; Fouda i sur., 2007).



**Slika 8.** Metabolizam tamoksifena u organizmu (preuzeto i prilagođeno iz Fonesca i sur., 2019).

Ispitivanja odnosa strukture i aktivnosti, povezana s elektrokemijskom karakterizacijom, uvelike su pridonijela razumijevanju načina djelovanja ferocifena. Analize *in vitro*, pokazale su da se *Z* izomer veže jače na ER $\alpha$  od *E* izomera (Cazares-Marinero i sur., 2014). Razlika u biološkoj aktivnosti, koju pokazuju TAM i ferocifen, je u tome da hidroksiferocifen (Fc-OH-TAM) gubi 2e<sup>-</sup> i 2H<sup>+</sup> da bi nastao intermedijerni kinon-metid koji je stabilan satima u fiziološkim uvjetima. Ovaj intermedijarni spoj se ponaša kao Michael-ov akceptor koji je osjetljiv na napad endogenih nukleofila, poput glutationa ili nukleobaza (Slika 9) (Hagen i sur., 2012; Zhao i sur., 2011; Patra i Gasser, 2017; Škalamera i sur., 2017).



**Slika 9.** Intermedijarni kinon-metid hidroksiferocifena (položaji označeni plavom bojom osjetljivi su na napad endogenih nukleofila).

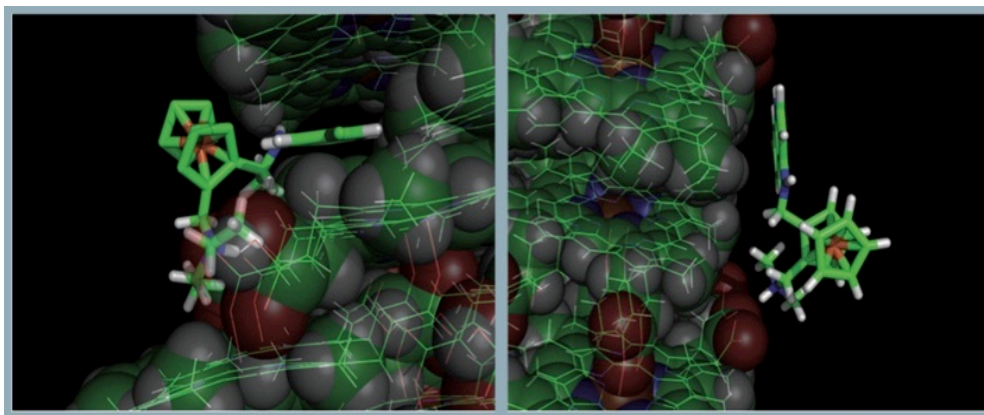
Ovaj drugi način djelovanja, pored uobičajenog kompetitivnog vezanja na  $ER\alpha$ , pretpostavlja se da je odgovoran za aktivnost Fc-OH-TAM protiv  $ER\alpha^-$  stanica raka dojke (Zhao i sur., 2011). Kao što je uočeno za ferokin, reaktivne kisikove vrste (ROS) mogu se pronaći u određenim staničnim linijama koje su tretirane ferocifenom. Suprotno tome, derivati OH-TAM ne proizvode ROS *in vivo*. Osim toga, ferocifen pokazuje i selektivno djelovanje. Naime, ferocifeni imaju 110–200 puta veću antitumorsku aktivnost prema stanicama raka nego zdravim stanicama. Još jedna velika prednost ferocifena je njihova sposobnost da induciraju staničnu smrt putem koji nije apoptotski ili pro-apoptotski. Ova otkrića su važna jer trenutno u ponudi nema dovoljno učinkovitih tretmana protiv primarnih karcinoma otpornih na apoptozu (Patra i Gasser, 2017).

### 1.1.6. Feroceni s antimalarijskim učinkom

Najveći problem u liječenju malarije je pojava rezistencije koju razvija uzročnik malarije, parazit *Plasmodium* spp., što značajno smanjuje učinkovitost antimalarika. Ferokin (FQ) je bio prvi u nizu derivata ferocenil-klorokina koji je pripremljen. Glavne karakteristike FQ su niska cijena, visoka učinkovitost i nedostatak značajnih nuspojava (iako velike doze mogu biti smrtonosne) (Roux i Biot, 2012). Ohrabrujući rezultati druge faze kliničkih ispitivanja

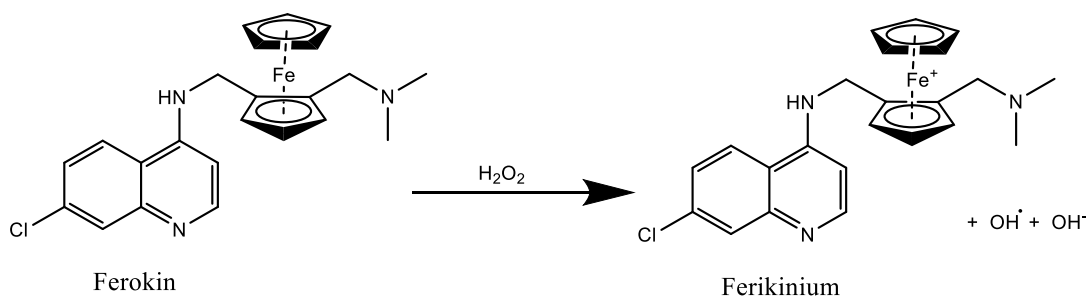


pokazuju da je FQ siguran i učinkovit protiv sojeva parazita otpornih na klorokin (CQ) i multirezistentnih sojeva, kao monoterapija i u kombinaciji s artesunatom. FQ je jedini kandidat u drugoj fazi kliničkog ispitivanja koji ima  $t_{1/2}$  duže od 20 dana. Osim toga, na njegovu apsorpciju hrana ne utječe (Kondratskyi i sur., 2017). Struktura neutralnog oblika FQ je rigidna zbog intramolekularne vodikove veze između dušika tercijarnog amina i vodika iz dušika sekundarnog amina direktno vezanog na kinolin. U usporedbi s fleksibilnijim bočnim lancem klorokina, intramolekularna vodikova veza jača je u FQ-u. Proučavana je uloga ove nekovalentne interakcije na antimalarijsko djelovanje, te je utvrđeno da ona dovodi do jačanja aktivnosti (Wani i sur., 2015). Razumijevanje mehanizma djelovanja FQ-a još je uvijek aktivno područje istraživanja, ali utvrđeno je da FQ stvara kompleks s hemozoinom pri čemu dolazi do akumulacije toksičnog hema. Naime, tijekom eritrocitne faze plazmodija dolazi do razgradnje hemoglobina i oslobađanja velike količine toksičnog hema koji se detoksicira kristalizacijom pri čemu nastaje hemozoin. FQ snažnije inhibira nastajanje hemozoina od klorokina (Gupta i sur., 2019; Xiao i sur., 2019, Herraiz i sur., 2019). Za razliku od klorokina, interakcije između FQ i hemozoina učinkovitije su zbog različite pojave (di)protoniranih oblika (Slika 10); (Roux i Biot, 2012).



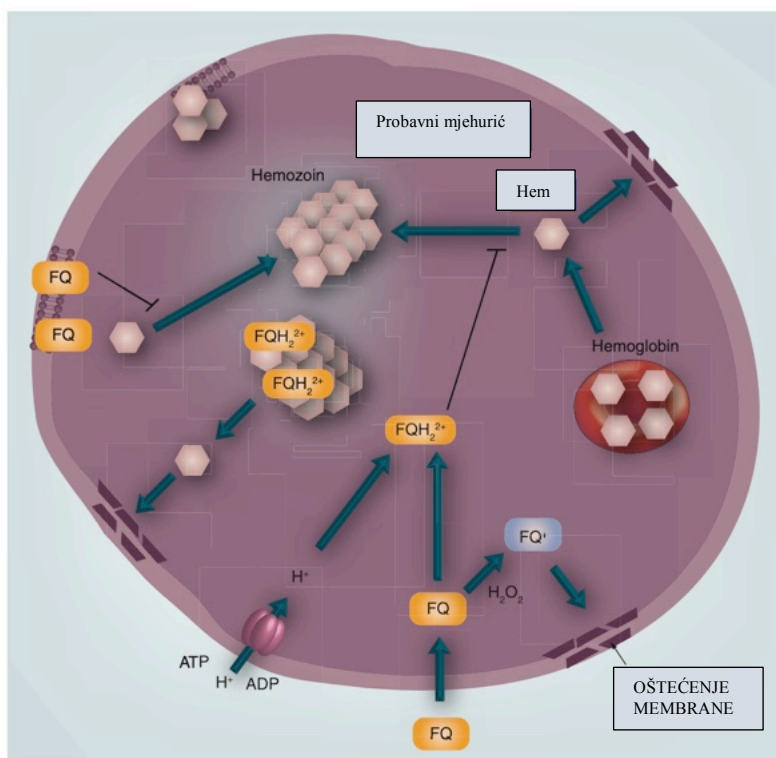
**Slika 10.** Intermolekulska interakcija između ferokina i sintetskog hemozoina (Roux i Biot, 2012).

Još jedan doprinos antimalarijskoj aktivnosti FQ-a proizlazi iz njegovih redoks svojstava. Zapravo, FQ je sposoban generirati male količine hidroksilnih radikala iz  $H_2O_2$  putem reakcije slične Fentonu (Slika 11); (Roux i Biot, 2012).



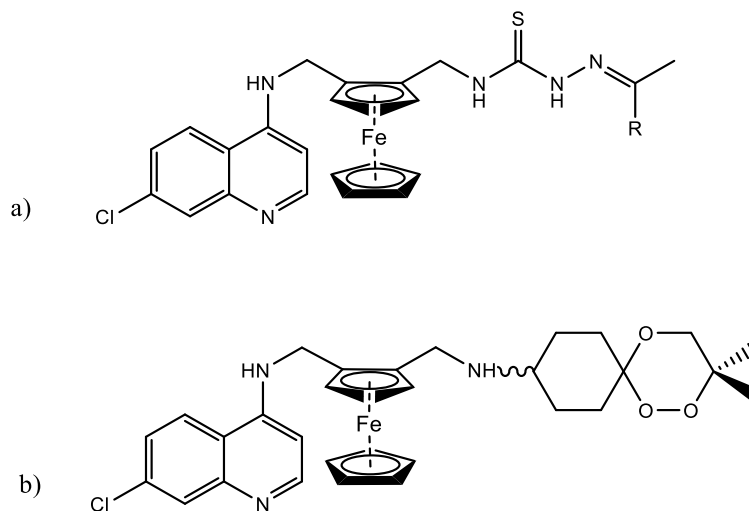
**Slika 11.** Interkonverzija između ferokina i ferikiniuma s nastankom hidroksilnih radikala.

Zanimljivo je da ova proizvodnja reaktivnih kisikovih vrsti nije dovoljna da utječe na stabilnost FQ-a, ali bi trebala biti dovoljna za uzrokovanje značajnog oštećenja na membrani parazita (Slika 12); (Roux i Biot, 2012). Osim svega navedenog, FQ bi trebao imati smanjeni afinitet prema transportnom proteinu koji je povezan s rezistencijom na klorokin (CQ), što bi opravdalo njegovu izvanrednu aktivnost protiv CQ-rezistentnih sojeva (Wani i sur., 2015).



**Slika 12.** Pretpostavljeni model mehanizma djelovanja ferokina (preuzeto i prilagođeno iz Roux i Biot, 2012).

Po uzoru na FQ sintetizirani su brojni spojevi s ferocenilnom skupinom koji pokazuju antimalarijsko djelovanje, primjerice ferokin tiosemikarbazon i trioksaferokin (Slika 13); (Roux i Biot, 2012; Wani i sur., 2015).



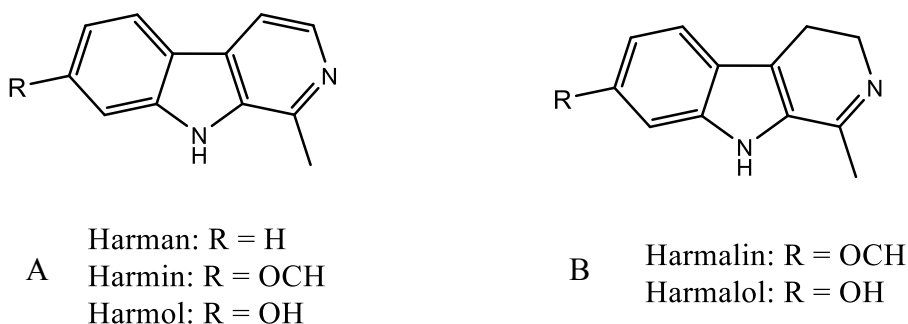
**Slika 13.** a) ferokin tiosemikarbazon; b) trioksaferokin.

### 1.1.7. Antitumorsko djelovanje ferokina

Osim antimalarijske aktivnosti, ferokin je pokazao i antitumorsku aktivnost koja se očituje na različite načine. Predklinička ispitivanja pokazuju kako FQ snažno inhibira autofagiju, narušava lizosomsku funkciju te smanjuje rast tumora prostate *in vivo*. Osim toga FQ negativno regulira Akt kinazu i faktor indukcije hipoksije-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ), a posebno je učinkovit u hipoksičnim stanjima koja se često opažaju kod uznapredovalog solidnog karcinoma. Opaženo je kako FQ pojačava antitumorsko djelovanje nekoliko kemoterapeutika što ga čini potencijalnim kandidatom za pomoćno sredstvo postojećoj terapiji protiv raka (Kondratskyi i sur., 2017).

## 1.2. $\beta$ -Karbolini i njihovo biološko djelovanje

$\beta$ -karbolini čine skupinu prirodnih i sintetičkih alkaloida koji se sastoje od tricikličke pirido[3,4-b]indolske prstenaste strukture, različitog stupnja aromatičnosti (Slika 15). Neki od ovih spojeva su široko rasprostranjeni u prirodi, uključujući razne biljke, hranu, morska bića, insekte, sisavce, kao i ljudska tkiva, te tjelesne tekućine. Nalaze se u nekoliko biljnih porodica, kao što su *Apocynaceae*, *Elaeagnaceae*, *Leguminosae*, *Passifloraceae* i *Zygophyllaceae*. Osim toga, ovi spojevi su od velikog interesa zbog svojih raznolikih bioloških aktivnosti. Pokazalo se kako  $\beta$ -karbolini interkaliraju u DNA, inhibiraju kinazu ovisnu o ciklinima, topoizomerazu i monoaminooksidazu, te ulaze u interakciju s benzodiazepinskim receptorima i 5-hidroksiseroninskim receptorima. Također, ovi su spojevi pokazali širok spektar farmakološkog djelovanja, uključujući sedativni, anksiolitički, hipnotički, antikonvulzivni, antitumorski, antivirusni, antiparazitski i antimikrobni (Cao i sur., 2007).



**Slika 14.** Kemijska struktura  $\beta$ -karbolinskih alkaloida. (A) Aromatski  $\beta$ -karbolini. (B) Dihidro- $\beta$ -karbolini.

Brojne bolesti u svojoj patogenezi imaju oksidativni stres, stoga su se mnoga istraživanja usredotočila na antioksidanse i njihove mehanizme djelovanja.  $\beta$ -karbolini, osim navedenih farmakoloških djelovanja, pokazuju i antioksidativno djelovanje. Ispitivanja provedena na stanicama kvasca *Saccharomyces cerevisiae* pokazuju njihovu sposobnost uklanjanja hidroksilnih radikala što pridonosi njihovom antimutagenom i antigenotoksičnom djelovanju. Harman, harmalin i harmalol pokazali su antioksidativni učinak inhibiranjem lipidne peroksidacije u mikrosomalnom hepatičnom pripravku. Zbog svega navedenog,  $\beta$ -karbolini su postali zanimljiva meta za sintezu potencijalnih lijekova s različitim spektrom djelovanja (Moura i sur., 2007).

## **2. OBRAZLOŽENJE TEME**

U okviru ranijih istraživanja u Zavodu za farmaceutsku kemiju pripremljeni su različiti derivati harmina – hibridnih molekula u kojima je harmin, povezan preko preko 1*H*-1,2,3-triazolske ili amidne poveznice s derivatima cimetine kiseline i klorokinskim analogima. U ovom radu cilj je bio sintetizirati hibridne molekule u kojima je harmin povezan s organometalnim spojem, ferocenom preko 1*H*-1,2,3-triazolske poveznice.

Harmin je  $\beta$ -karbolinski alkaloid, prirodni produkt izoliran iz biljaka *Peganum harmala* i *Eurycoma longifolia* koje su se koristile u orijentalnoj medicini za liječenje malarije. Pretpostavlja se da je mehanizam antimalarijskog djelovanja harmina inhibicija Hsp90 (protein toplinskog šoka) plazmodija. Ferocen je organometalni spoj koji se zbog svojih povoljnih fizičko-kemijskih svojstava danas intenzivno istražuje kao farmakofor u farmaceutskoj kemiji. Ferrokin, antimalarik koji je trenutno u drugoj fazi kliničkih ispitivanja, primjer je rezultata takvih istraživanja. Navedeni spojevi biti će pripremljeni korištenjem cikloadicije katalizirane bakrom (I) („click“ reakcija), kojom nastaje 1*H*-1,2,3-triazolski prsten, poveznica između harminske i ferocenske komponente.

Na temelju ovih spoznaja razvila se ideja o povezivanju harmina i ferocena u jednu cjelinu s potencijalnim antimalarijskim djelovanjem. U sklopu ovog diplomskog rada harmin je derivatiziran u položaju 3  $\beta$ -karbolinskog prstena te povezan s ferocenom.

U daljnjim istraživanjima, koja nadilaze okvire ovoga rada, bit će ispitano biološko djelovanje pripremljenih hibrida.

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

Tijek kemijskih reakcija i čistoća produkata praćeni su tankoslojnom kromatografijom (TLC). Za TLC su upotrijebljene silikagel ploče 60 F<sub>254</sub> (Merck, Njemačka) te diklormetan/metanol (9:1, 9,5:0,5) i cikloheksan/etil-acetat/metanol (1:1:0,5, 1:1:0,1) kao pokretne faze. Za kromatografiju na koloni kao nepokretna faza korišten je silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm (Sigma Aldrich, SAD) uz cikloheksan/etil-acetat/metanol (1:1:0,5, 1:1:0,1) kao pokretnu fazu. 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.

<sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektri snimljeni su na Bruker AV-600 (Bruker, SAD) kod 400 MHz za <sup>1</sup>H i kod 101 MHz za <sup>13</sup>C jezgru. Uzorci su mjereni u DMSO-*d*<sub>6</sub> 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 <sup>1</sup>H, odnosno signal dimetilsulfoksida (DMSO) u <sup>13</sup>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 i negativnom modu. FTIR-ATR spektri snimljeni su na UATR Two spektrometru (Perkin Elmer, UK).

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

Natrijev askorbat i trifluoroctena kiselina (TFA) nabavljeni su od tvrtke Acros Organics (Belgija), 2-azido-1,3-dimetilimidazolinijev heksafluorofosfat (ADMP), metilni ester L-triptofana i dimetil-(1-diazo-2-oksopropil) fosfonat nabavljeni su od tvrtke TCI Chemicals (Japan), metanol, etanol, aceton, etil-acetat te cikloheksan od tvrtke Honeywell Riedel de Haën (Njemačka). Acetaldehid-dimetil-acetal, paladij na ugljenu (Pd/C), klorovodična kiselina, litij aluminijev hidrid, 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undek-7-en, manganov(IV) oksid, ferocenmetanol i etinilferocen nabavljeni su od tvrtke Sigma-Aldrich (SAD), a diklormetan od tvrtke Fischer Chemical (SAD). *N,N*-dimetilformamid (DMF), kalijev karbonat, natrijev hidrogenkarbonat te natrijev hidroksid nabavljeni su od tvrtke Kemika (Hrvatska), a bezvodni natrijev sulfat od tvrtke Gram-Mol d.o.o. (Hrvatska). THF je nabavljen od tvrtke Merck (Njemačka). Dietil-eter nabavljen je od tvrtke ITW Reagents (Njemačka), a bakrov(II) sulfat pentahidrat od Zorka Šabac (Srbija). Sve kemikalije bile su *p.a.* stupnja čistoće.



### 3.1. Sinteza alkina i azida u položaju C-3 $\beta$ -karbolinskog prstena

#### 3.1.1. Sinteza metil-1-metil-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-pirido[3,4-*b*]indol-3-karboksilata (1)

U suspenziju metilnog estera triptofana hidroklorida (1,000 g, 3,926 mmol) u diklormetanu (5 mL) dodani su ADMA (0,525 mL, 4,711 mmol) i otopina TFA u H<sub>2</sub>O (0,583 mL, 7,852 mmol, u 2 mL H<sub>2</sub>O). Nastala emulzija miješana je 18 h na s.t. Po završetku reakcije, reakcijska smjesa je izlivena u 50 mL 10 %-tne vodene otopine NaHCO<sub>3</sub>. Smjesa je zakiseljena do pH 7,5 korištenjem 1 %-tne klorovodične kiseline te ekstrahirana diklormetanom (3 × 50 mL). Organski slojevi su sakupljeni, sušeni nad bezvodnim Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrirani te upareni pod sniženim tlakom. Sirovi produkt (žuto ulje) je korišten u idućem reakcijskom koraku bez pročišćavanja (Eagon i sur., 2014).

Iskorištenje: 0,732 g (76,3 %)

#### 3.1.2. Sinteza etil-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-3-karboksilata (2)

Suspenzija spoja **1** (0,200 g, 0,819 mmol) i 10 % Pd/C (0,045 g) u etanolu (4 mL) miješana je u mikrovalnom reaktoru 25 minuta na 150 °C (75 W). Po završetku reakcije, reakcijska smjesa je ohlađena na sobnu temperaturu te filtrirana kroz sloj Celita. Filtrat je uparen pod sniženim tlakom, rastrljan u dietil-eteru te odsisan. Dobiven je bijeli talog produkta **2** (Eagon i sur., 2014).

Iskorištenje: 0,535 g (74,3 %)

#### 3.1.3. Sinteza (1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-3-il)metanola (3)

Otopini metilnog estera **2** (0,535 g, 2,227 mmol) u bezvodnom THF-u (10 mL) dodan je LiAlH<sub>4</sub> (0,127 g, 3,341 mmol) u malim oborcima. Reakcijska smjesa miješana je 30 minuta na s.t. nakon čega je dodana voda (10 mL). Zatim je u smjesu dokapavana 5%-tna klorovodična kiselina do pH  $\approx$  9. Smjesa je ekstrahirana etil-acetatom (3 × 50 mL). Organski slojevi su sakupljeni, sušeni nad bezvodnim Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrirani te upareni pod sniženim tlakom. Ostatak nakon uparavanja rastrljan je u dietil-eteru te je dobiven bijeli talog spoja **3**.

Iskorištenje: 0,341 g (72,2 %)

$t_r$  195,0-196,0 °C.

ESI-MS ( $m/z$ ): 213,2 (M+1)<sup>+</sup>.

IR (KBr):  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup> 3246, 3130, 3102, 2830, 2364, 1628, 1566, 1498, 1454, 1364, 1330, 1246, 1144, 1076, 990, 906, 872, 834, 748, 630.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm,  $J$ /Hz):  $\delta$  11,46 (s, 1H), 8,19 (d, 1H,  $J = 7,8$  Hz), 7,96 (s, 1H), 7,59-7,56 (dt, 1H,  $J = 8,3, 1,0$  Hz), 7,53-7,49 (m, 1H), 7,23-7,19 (m, 1H), 5,30 (t, 1H,  $J = 5,8$  Hz), 4,69 (d, 2H,  $J = 5,6$  Hz), 2,75 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):  $\delta$  149,84, 140,78, 140,70, 133,41, 127,70, 127,66, 121,62, 121,21, 119,03, 111,87, 108,77, 64,60, 20,29.

#### 3.1.4. Sinteza 3-(azidometil)-1-metil-9H-pirido[3,4-*b*]indola (4)

Otopini alkohola **3** (0,515 g, 2,426 mmol) u bezvodnom THF (10 mL) na 0 °C dodani su ADMP (1,728 g, 6,063 mmol) i DBU (1,125 mL, 7,520 mmol). Reakcija je miješana 30 minuta na 0°C, a potom prekinuta dodatkom zasićene vodene otopine NH<sub>4</sub>Cl (30 mL) te je smjesa ekstrahirana diklormetanom (2 × 50 mL). Organski slojevi su sakupljeni, ekstrahirani zasićenom vodenom otopinom NaCl (2 × 100 mL) i sušeni nad bezvodnim Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Nakon filtriranja, upareni su pod sniženim tlakom. Sirovi produkt je pročišćen kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat/metanol (1:1:0,5) te je dobiveno smeđe ulje **4**.

Iskorištenje: 0,387 g (67,2 %)

ESI-MS ( $m/z$ ): raspad

IR (KBr):  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup> 3671, 3451, 3239, 3051, 2937, 2863, 2447, 2325, 2104, 1689, 1631, 1566, 1509, 1452, 1403, 1354, 1264, 1085, 1036, 971, 848, 759, 718, 644, 579, 431.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm,  $J$ /Hz):  $\delta$  11,66 (s, 1H), 8,20 (d, 1H,  $J = 7,9$  Hz), 8,00 (s, 1H), 7,62-7,60 (m, 1H), 7,57-7,53 (m, 1H), 7,27-7,23 (m, 1H), 4,57 (s, 2H), 2,78 (s, 3H)

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm):  $\delta$  143,23, 142,12, 140,74, 133,94, 128,02, 127,56, 121,74, 121,00, 119,39, 112,07, 111,72, 55,30, 20,41.

### 3.1.5. Sinteza 1-metil-9H-pirido[3,4-b]indol-3-karbaldehid (5)

Suspenciji alkohola **3** (0,100 g, 0,471 mmol) u diklormetanu (5 mL) dodan je  $\text{MnO}_2$  (0,205 g, 2,355 mmol). Reakcijska smjesa je miješana na s.t. tijekom 48 h. Po završetku reakcije, reakcijska smjesa je filtrirana kroz sloj Celita, a filtrat uparen pod sniženim tlakom. Ostatak nakon uparavanja pročišćen je kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat/metanol (1:1:0,5) te je dobiven prljavo-bijeli talog aldehida **5**.

Iskorištenje: 0,049 g (49,5 %)

ESI-MS ( $m/z$ ): 209,0 (M-1) $^-$ .

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm,  $J/\text{Hz}$ )  $\delta$  12,15 (s, 1H), 10,08 (s, 1H), 8,67 (s, 1H), 8,38 (d, 1H,  $J = 7,9$  Hz), 7,69 (d, 1H,  $J = 8,2$  Hz), 7,62 (t, 1H,  $J = 7,6$  Hz), 7,33 (t, 1H,  $J = 7,4$  Hz), 2,87 (s, 3H).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm):  $\delta$  192,91, 142,81, 140,88, 137,01, 128,59, 126,87, 122,26, 121,59, 120,41, 113,44, 112,47, 20,34.

### 3.1.6. Sinteza 3-etinil-1-metil-9H-pirido[3,4-b]indola (6)

Suspencija aldehida **5** (0,100 g, 0,476 mmol) i kalijevog karbonata (0,132 g, 0,952 mmol) u bezvodnom metanolu (7,186 mL) propuhana je dušikom te je dodan dimetil (1-diazo-2-oksopropil) fosfonat (0,086 mL, 0,109 g, 0,571 mmol). Reakcijska smjesa je miješana na s.t. tijekom 18 h. Po završetku reakcije, metanol je uparen pod sniženim tlakom, a ostatku nakon uparavanja je, uz soniciranje u ultrazvučnoj kupelji, dokapana 10% vodena otopina  $\text{NaHCO}_3$  do pojave smeđeg taloga. Sirovi talog je prekrizaliziran iz smjese aceton/voda te je dobiven bijeli talog  $\beta$ -karbolinskog alkina **6**.

Iskorištenje: 0,049 g (50 %)

ESI-MS ( $m/z$ ): 207,6 ( $M+1$ )<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm,  $J$ /Hz)  $\delta$  11,83 (s, 1H), 8,23 (dt, 1H,  $J = 7,9, 1,1$  Hz), 8,21 (s, 1H), 7,61 (dt, 1H,  $J = 8,3, 1,1$  Hz), 7,57-7,53 (m, 1H), 7,27-7,23 (m, 1H), 4,01 (s, 1H), 2,72 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):  $\delta$  142,83, 140,70, 134,06, 129,54, 128,30, 127,01, 122,02, 120,74, 119,78, 117,22, 112,15, 84,86, 76,72, 20,33.

### 3.2. Sinteza ferocenzida (7)

Suspenciji ferocenmetanola (0,250 g, 1,157 mmol) u suhom THF-u (5 mL) na 0 °C dodani su ADMP (2,893 mmol) i DBU (3,124 mmol). Reakcija je miješana 2,5 h na 0 °C, a potom prekinuta dodatkom zasićene vodene otopine NH<sub>4</sub>Cl (30 mL) te je smjesa ekstrahirana diklormetanom (2 × 50 mL). Organski slojevi su sakupljeni i ekstrahirani zasićenom vodenom otopinom NaCl (2 × 100 mL), sušeni nad bezvodnim Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrirani i upareni pod sniženim tlakom. Sirovi produkt je pročišćen kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat/metanol (1:1:0,5) te je dobiven azid **7** u obliku smeđeg ulja.

Iskorištenje: 0,210 g (75,3 %).

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm,  $J$ /Hz)  $\delta$  4,29 (t, 2H,  $J = 1,8$  Hz), 4,21 (t, 2H,  $J = 1,9$  Hz), 4,20 (s, 2H), 4,20 (s, 5H).

<sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):  $\delta$  81,78, 68,62, 68,58, 68,44, 50,02.

### 3.3. Sinteza triazolskih hibrida $\beta$ -karbolina i ferocena

#### Opća metoda:

U otopinu odgovarajućeg alkina (0,194 mmol) i azida (0,213 mmol) u DMF-u (2 mL) dodana je vodena otopina natrijevog askorbata (0,040 g u 2 mL H<sub>2</sub>O). Potom je dodana 1 M vodena otopina CuSO<sub>4</sub> × 5H<sub>2</sub>O (20  $\mu$ L). Reakcijska smjesa je miješana na s.t. tijekom 18 h. Po završetku reakcije, u reakcijsku smjesu dodano je 3 mL ledene vode. Nastali žuti talog je

filtriran te ispran s H<sub>2</sub>O (2 mL). Sirovi produkt je pročišćen kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat/metanol.

### 3.3.1. Sinteza 3-(1-(ferocenilmetil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indola (8)

Količina reaktanata: 0,040 g alkina 6 i 0,051 g ferocenzida 7.

Pokretna faza: cikloheksan/etil-acetat/metanol (1:1:0,5)

Iskorištenje: 0,020 g (23 %).

*t*<sub>r</sub> 170,0-175,0 °C.

ESI-MS (*m/z*): 447,9 (M+1)<sup>+</sup>.

IR (KBr):  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup> 3361, 2920, 2851, 1734, 1626, 1574, 1496, 1455, 1431, 1373, 1339, 1303, 1277, 1234, 1172, 1104, 1049, 1024, 1000, 924, 889, 818, 788, 775, 704, 631, 584, 558, 503, 478.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm, *J*/Hz)  $\delta$  11,69 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,41 (s, 1H), 8,29 (d, 1H, *J* = 7,9 Hz), 7,60 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz), 7,54 (t, 1H, *J* = 7,6 Hz), 7,24 (t, 1H, *J* = 7,4 Hz), 5,39 (s, 2H), 4,45 (t, 2H, *J* = 1,9 Hz), 4,23 (s, 5H), 4,21 (t, 2H, *J* = 1,9 Hz), 2,80 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):  $\delta$  148,6, 141,93, 140,82, 138,95, 133,96, 128,02, 127,73, 121,97, 121,27, 121,25, 119,36, 112,01, 108,31, 82,45, 68,86, 68,68, 68,44, 49,05, 20,48.

### 3.3.2. Sinteza 3-((4-ferocenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil)-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (9)

Količina reaktanta: 0,041 g etinilferocena i 0,051 g azida 4.

Pokretna faza: cikloheksan/etil-acetat/metanol (1:1:0,1)

Iskorištenje: 0,013 g (15 %).

$t_r$  238,0-239,0 °C.

ESI-MS ( $m/z$ ): 445,9 (M-1)<sup>-</sup>.

IR (KBr):  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup> 3148, 3101, 2993, 2891, 1737, 1627, 1566, 1506, 1456, 1443, 1351, 1328, 1251, 1219, 1086, 1057, 1019, 1000, 874, 815, 729, 680, 587, 506, 487.

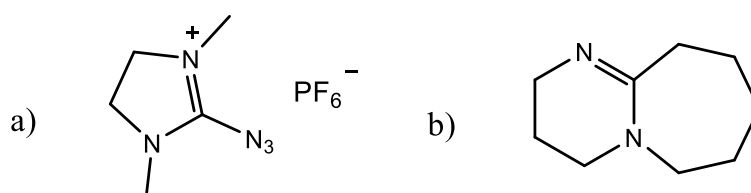
<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm,  $J$ /Hz):  $\delta$  11,66 (s, 1H), 8,23 (s, 1H), 8,16 (d, 1H,  $J = 7,9$  Hz), 7,90 (s, 1H), 7,61-7,59 (m, 1H), 7,55-7,52 (m, 1H), 7,24-7,21 (m, 1H), 5,76 (s, 2H), 4,74 (t, 2H,  $J = 1,9$  Hz), 4,29 (t, 2H,  $J = 1,9$  Hz), 4,03 (s, 5H), 2,76 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):  $\delta$  145,37, 142,95, 142,05, 140,77, 133,94, 128,08, 127,63, 121,64, 121,06, 120,91, 119,44, 112,09, 111,42, 76,09, 69,26, 68,21, 66,32, 55,10, 20,38.

## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

U ovom radu sintetizirana su dva nova hibridna spoja  $\beta$ -karbolina i ferocena, povezana 1*H*-1,2,3-triazolom, kao i prekursori potrebni za njihovu pripravu,  $\beta$ -karbolinski azid **4** i  $\beta$ -karbolinski alkin **6**, te ferocenazid **7**, dok je etinilferocen nabavljen iz komercijalnih izvora.

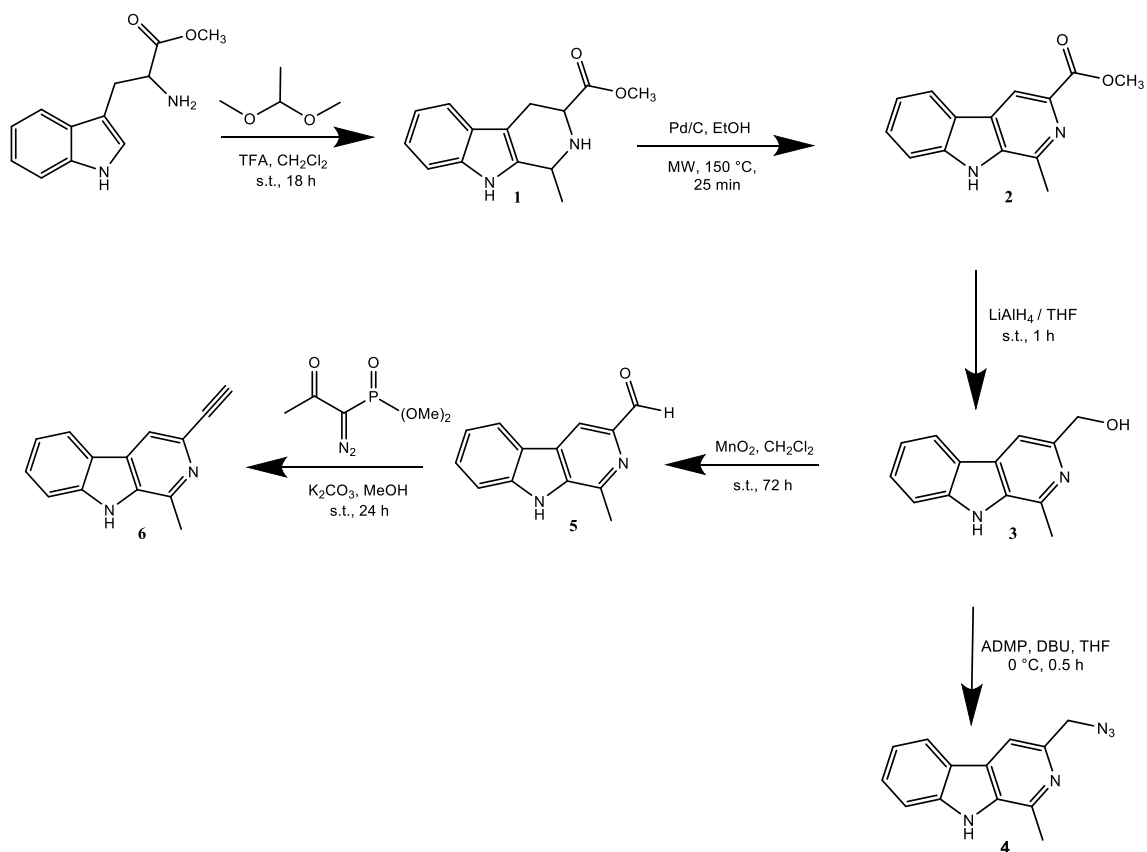
$\beta$ -karbolinski azid **4** sintetiziran je u četiri reakcijska koraka (Shema 1). U prvom koraku, reakcijom komercijalno dostupnog metilnog estera L-triptofana i acetaldehida-dimetil-acetala uz TFA kao katalizator, u diklormetanu, dolazi do Pictet-Spenglerove kondenzacije, te nastaje tetrahidro- $\beta$ -karbolin **1**, koji se potom oksidira uz paladij na ugljenu u odgovarajući  $\beta$ -karbolin s metilnim esterom na položaju 3 (**2**). Reakcija se provodi u mikrovalnom reaktoru na 150 °C u etanolu. Slijedi redukcija dobivenog estera **2** s LiAlH<sub>4</sub> u THF-u pri čemu nastaje primarni alkohol **3**. Pripravljeni alkohol **3** iskorišten je za pripravu  $\beta$ -karbolinskog azida **4**, u reakciji s 2-azido-1,3-dimetilimidazolinijevim heksafluorofosfatom kao donorom azidne skupine, u THF-u (Slika 15). Reakciji pogoduju bazični uvjeti, zbog čega je dodana baza 1,8-diazabiciklo[5.4.0]undek-7-en (Slika 15) (Kitamura i sur., 2012).



**Slika 15.** a) 2-azido-1,3-dimetilimidazolinijev heksafluorofosfat;  
b) 1,8-diazabiciklo[5.4.0]undek-7-en

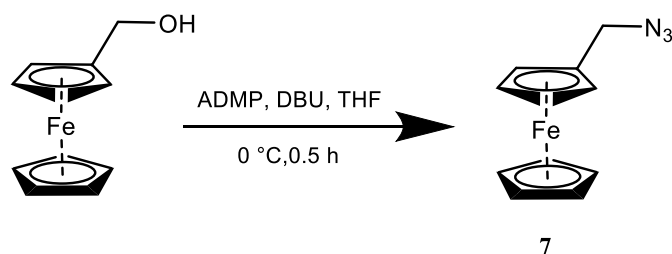
Sinteza alkina u položaju 3  $\beta$ -karbolinskog prstena nastavlja se od odgovarajućeg primarnog alkohola **3**. Oksidacijom alkohola manganovim(IV) oksidom u diklormetanu, nastaje aldehyd **5** koji se u reakciji s dimetil (1-diazo-2-oksopropil) fosfonatom (Bestmann-Ohira reagens), uz K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, u bezvodnom metanolu pod atmosferom dušika, prevodi u željeni  $\beta$ -karbolinski alkin **6** u reakciji homologacije (Shema 1) (Muller i sur., 1996).





**Shema 1.** Sinteza  $\beta$ -karbolinskog azida (**4**) i alkina (**6**).

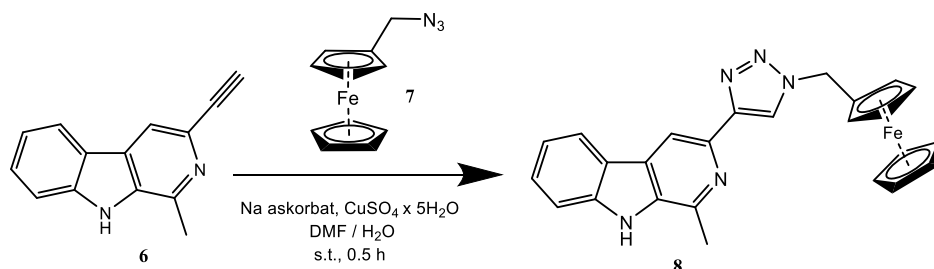
Ferocenazid **7** je sintetiziran u jednom reakcijskom koraku. Alkoholna skupina ferocenmetanola se prevodi u azido uz reagens ADMP i bazu DBU u THF-u (Shema 2).



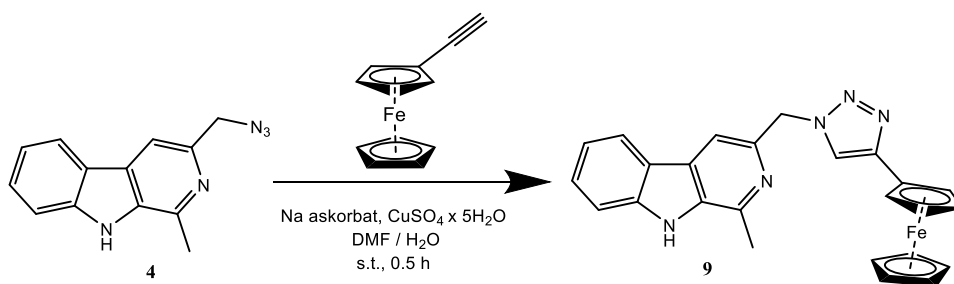
**Shema 2.** Sinteza ferocenazida.

Za povezivanje  $\beta$ -karbolinskog azida **4** i etinilferocena, te  $\beta$ -karbolinskog alkina **6** i ferocenazida **7** u konačne produkte **8** i **9**, korištena je bakrom (I) katalizirana azid-alkin

cikloadicija („click-kemija“) kojom u relativno blagim reakcijskim uvjetima nastaje triazolski prsten, koji u ovim spojevima predstavlja poveznicu između dva farmakofora,  $\beta$ -karbolina i ferocena (Shema 3 i 4).



**Shema 3.** Povezivanje  $\beta$ -karbolinskog alkina i ferocenzida.



**Shema 4.** Povezivanje  $\beta$ -karbolinskog azida i etinilferocena.

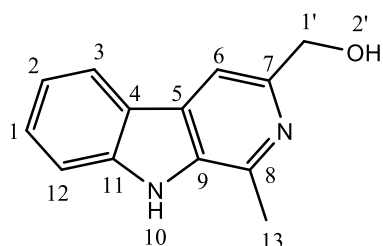
Prilavljani hibridni spojevi **8** i **9** karakterizirani su uobičajenim metodama ( $t_r$ , IR,  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR). Dobiveni podaci dani su u Tablicama 5-7. Na temelju snimljenih  $^1\text{H}$  NMR spektara, zatvaranje triazolskog prstena može se potvrditi pojavom novog signala pri 8,58 ppm za spoj **8**, te pri 8,23 ppm za spoj **9**. Taj singlet pripada jedinom vodik u triazolskom prstenu. Također, u  $^1\text{H}$  NMR spektru za spoj **8** nestaje signal koji pripada terminalnom vodik u  $\beta$ -karbolinskog alkina **6** koji se nalazio pri 4,01 ppm. Nastanak  $\beta$ -karbolinskog azida **4** iz primarnog alkohola u  $^1\text{H}$  NMR spektru se pokazao kao gubitak signala pri 5,30 ppm koji pripada hidroksilnoj skupini. Također, nastanak  $\beta$ -karbolinskog alkina **6** iz aldehida u  $^1\text{H}$  NMR spektru se pokazao kao gubitak signala pri 12,15 ppm koji pripada aldehidnoj skupini, te se pojavljuje novi signal pri 4,01 ppm koji pripada terminalnom vodik u dobivenog alkina. Za ferocen su karakteristična tri signala. Jedan je signal singlet kojem je integral  $\approx 4,5 - 4,6$  ppm, za pet vodika na

nesupstituiranom ciklopentadienilnom prstenu. Ostala dva signala su tripleti s integralom  $\approx 2$ , a svaki od njih za dva vodika u supstituiranom ciklopentadienilnom prstenu. Triazolski prsten kao supstituent na metilenskoj skupini ferocenskih derivata dovodi do povećanja kemijskih pomaka signala karakterističnih za ferocen, u odnosu na azidnu skupinu u samom ferocenazidu.

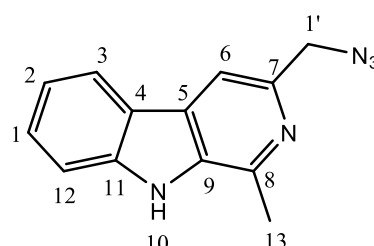
**Tablica 1.** Analitički i spektroskopski podaci za spojeve **3** i **4**.

| Spoj     | $t_f$ (°C)  | Molekulska formula                               | $M_r$  | MS ( $m/z$ ) | IR(KBr) $\nu_{\max}$ (cm <sup>-1</sup> )  |
|----------|-------------|--|--------|--------------|---|
| <b>3</b> | 195,0-196,0 | C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O | 212,25 | 213,2        | 3246, 3130, 3102, 2830, 2364, 1628, 1566, 1498, 1454, 1364, 1330, 1246, 1144, 1076, 990, 906, 872, 834, 748, 630                                    |
| <b>4</b> | ulje        | C <sub>13</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub>   | 237,27 | raspad       | 3671, 3451, 3239, 3051, 2937, 2863, 2447, 2325, 2104, 1689, 1631, 1566, 1509, 1452, 1403, 1354, 1264, 1085, 1036, 971, 848, 759, 718, 644, 579, 431 |

**Tablica 2.** <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektroskopski podaci za spojeve **3** i **4**.



**3**



**4**

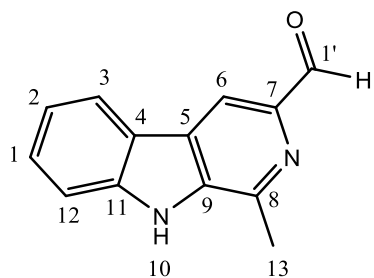
| Spoj | <sup>1</sup> H NMR (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ / ppm)   | <sup>13</sup> C NMR (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ / ppm)  |
|------|--|--|
| 3    | 11,46 (s, 1H, 10), 8,19 (d, 1H, 3, <i>J</i> = 7,8 Hz), 7,96 (s, 1H, 6), 7,59-7,56 (dt, 1H, 12, <i>J</i> = 8,3, 1,0 Hz), 7,53-7,49 (m, 1H, 1), 7,23-7,19 (m, 1H, 2), 5,30 (t, 1H, 2', <i>J</i> = 5,8 Hz), 4,69 (d, 2H, 1', <i>J</i> = 5,6 Hz), 2,75 (s, 3H, 13) | 149,84 (11), 140,78 (8), 140,70 (7), 133,41 (9), 127,70 (5), 127,66 (1), 121,62 (3), 121,21 (4), 119,03 (2), 111,87 (12), 108,77 (6), 64,60 (1'), 20,29 (13) |
| 4    | 11,66 (s, 1H, 10), 8,20 (d, 1H, 3, <i>J</i> = 7,9 Hz), 8,00 (s, 1H, 6), 7,62-7,60 (m, 1H, 12), 7,57-7,53 (m, 1H, 1), 7,27-7,23 (m, 1H, 2), 4,57 (s, 2H, 1'), 2,78 (s, 3H, 13)  | 143,23 (7), 142,12 (11), 140,74 (8), 133,94 (9), 128,02 (1), 127,56 (5), 121,74 (3), 121,00 (4), 119,39 (2), 112,07 (12), 111,72 (6), 55,30 (1'), 20,41 (13) |

**Tablica 3.** Analitički i spektroskopski podaci za spojeve 5, 6 i 7.

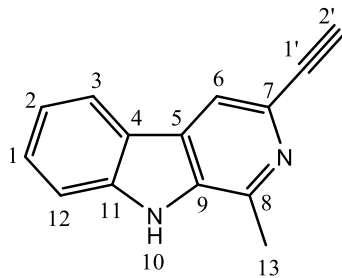
| Spoj | <i>t</i> <sub>f</sub> (°C) | Molekulska formula                                | <i>M</i> <sub>r</sub> | MS ( <i>m/z</i> )        | IR(KBr) <i>v</i> <sub>max</sub> (cm <sup>-1</sup> ) |
|------|----------------------------|---|-----------------------|--------------------------|---|
| 5    | n.o. <sup>1</sup>          | C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O  | 210,24                | 209,0 (M-1) <sup>-</sup> | n.s. <sup>2</sup>                                   |
| 6    | n.o. <sup>1</sup>          | C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub>    | 206,25                | 207,6 (M+1) <sup>+</sup> | n.s. <sup>2</sup>                                   |
| 7    | ulje                       | C <sub>11</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> Fe | 241,08                | n.s. <sup>2</sup>        | n.s. <sup>2</sup>                                   |

<sup>1</sup> n.o. – nije određeno; <sup>2</sup> n.s. – nije snimljen.

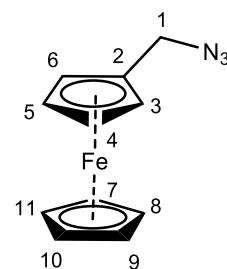
**Tablica 4.**  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopski podaci za spojeve **5**, **6** i **7**.



**5**



**6**



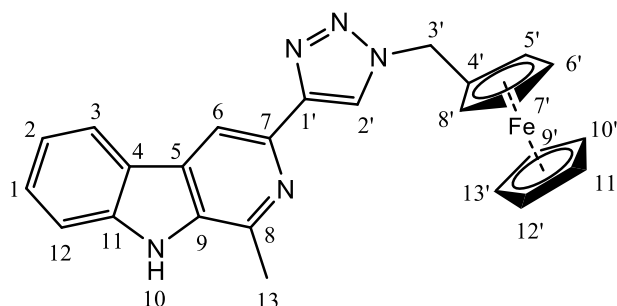
**7**

| Spoj     | $^1\text{H}$ NMR (DMSO- $d_6$ , $\delta$ / ppm)  | $^{13}\text{C}$ NMR (DMSO- $d_6$ , $\delta$ / ppm)   |
|----------|--|--|
| <b>5</b> | 12,15 (s, 1H, 1'), 10,08 (s, 1H, 10), 8,67 (s, 1H, 6), 8,38 (d, 1H, 3, $J = 7,9$ Hz), 7,69 (d, 1H, 12, $J = 8,2$ Hz), 7,62 (t, 1H, 1, $J = 7,6$ Hz), 7,33 (t, 1H, 2, $J = 7,4$ Hz), 2,87 (s, 3H, 13) | 192,91 (1'), 142,81 (7, 11), 140,88 (8), 137,01 (9), 128,59 (1), 126,87 (5), 122,26 (3), 121,59 (4), 120,41 (2), 113,44 (6), 112,47 (12), 20,34 (13)                     |
| <b>6</b> | 11,83 (s, 1H, 10), 8,23 (dt, 1H, 3, $J = 7,9, 1,1$ Hz), 8,21 (s, 1H, 6), 7,61 (dt, 1H, 12, $J = 8,3, 1,1$ Hz), 7,57-7,53 (m, 1H, 1), 7,27-7,23 (m, 1H, 2), 4,01 (s, 1H, 2'), 2,72 (s, 3H, 13)        | 142,83 (11), 140,70 (7), 134,06 (8), 129,54 (9), 128,30 (6), 127,01 (4), 122,02 (1), 120,74 (3), 119,78 (2), 117,22 (12), 112,15 (5), 84,86 (1'), 76,72 (2'), 20,33 (13) |
| <b>7</b> | 4,29 (t, 2H, 3, 6, $J = 1,8$ Hz), 4,21 (t, 2H, 4, 5, $J = 1,9$ Hz), 4,20 (s, 2H, 1), 4,20 (s, 5H, 7, 8, 9, 10, 11).  | 81,78 (2), 68,62 (3, 6), 68,58 (7, 8, 9, 10, 11), 68,44 (4, 5), 50,02 (1).   |

**Tablica 5.** Analitički i spektroskopski podaci za spojeve **8** i **9**.

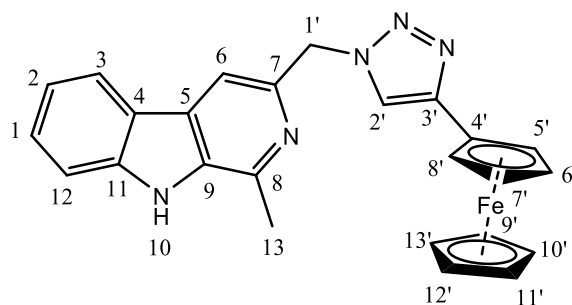
| Spoj     | $t_f$ (°C)  | Molekulska formula                                | $M_r$  | MS ( $m/z$ )                | IR(KBr) $\nu_{\max}$ (cm <sup>-1</sup> )   |
|----------|-------------|---|--------|-----------------------------|--|
| <b>8</b> | 170,0-175,0 | C <sub>25</sub> H <sub>21</sub> N <sub>5</sub> Fe | 447,32 | 447,9<br>(M+1) <sup>+</sup> | 3361, 2920, 2851, 1734, 1626, 1574, 1496, 1455, 1431, 1373, 1339, 1303, 1277, 1234, 1172, 1104, 1049, 1024, 1000, 924, 889, 818, 788, 775, 704, 631, 584, 558, 503, 478. |
| <b>9</b> | 238,0-239,0 | C <sub>25</sub> H <sub>21</sub> N <sub>5</sub> Fe | 447,32 | 445,9<br>(M-1) <sup>-</sup> | 3148, 3101, 2993, 2891, 1737, 1627, 1566, 1506, 1456, 1443, 1351, 1328, 1251, 1219, 1086, 1057, 1019, 1000, 874, 815, 729, 680, 587, 506, 487                            |

**Tablica 6.** <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektroskopski podaci za spoj **8**.



| Spoj | $^1\text{H}$ NMR (DMSO- $d_6$ , $\delta$ / ppm)   | $^{13}\text{C}$ NMR (DMSO- $d_6$ , $\delta$ / ppm)   |
|------|---|--|
| 8    | 11,69 (s, 1H, 10), 8,58 (s, 1H, 2'), 8,41 (s, 1H, 6), 8,29 (d, 1H, 3, $J = 7,9$ Hz), 7,60 (d, 1H, 12, $J = 8,1$ Hz), 7,54 (t, 1H, 1, $J = 7,6$ Hz), 7,24 (t, 1H, 2, $J = 7,4$ Hz), 5,39 (s, 2H, 3'), 4,45 (t, 2H, 5', 8', $J = 1,9$ Hz), 4,23 (s, 5H, 9', 10', 11', 12', 13'), 4,21 (t, 2H, 6', 7', $J = 1,9$ Hz), 2,80 (s, 3H, 13) | 148,61 (7), 141,93 (11), 140,82 (8), 138,95 (9), 133,96 (1'), 128,02 (2'), 127,73 (4), 121,97 (1), 121,27 (5), 121,25 (3), 119,36 (6), 112,01 (2), 108,31 (12), 82,45 (4'), 68,86 (5', 8'), 68,68 (9', 10', 11', 12', 13'), 68,44 (6', 7'), 49,05 (3'), 20,48 (13) |

Tablica 7.  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopski podaci za spoj 9.



| Spoj | $^1\text{H}$ NMR (DMSO- $d_6$ , $\delta$ / ppm)  | $^{13}\text{C}$ NMR (DMSO- $d_6$ , $\delta$ / ppm)   |
|------|--|--|
| 9    | 11,66 (s, 1H, 10), 8,23 (s, 1H, 2'), 8,16 (d, 1H, 3, $J = 7,9$ Hz), 7,90 (s, 1H, 6), 7,61-7,59 (m, 1H, 12), 7,55-7,52 (m, 1H, 1), 7,24-7,21 (m, 1H, 2), 5,76 (s, 2H, 1'), 4,74 (t, 2H, 5', 8', $J = 1,9$ Hz), 4,29 (t, 2H, 6', 7', $J = 1,9$ Hz), 4,03 (s, 5H, 9', 10', 11', 12', 13'), 2,76 (s, 3H, 13) | 145,37 (7), 142,95 (3'), 142,05 (11), 140,77 (8), 133,94 (9), 128,08 (2'), 127,63 (5), 121,64 (1), 121,06 (3), 120,91 (4), 119,44 (2), 112,09 (12), 111,42 (6), 76,09 (4'), 69,26 (9', 10', 11', 12', 13'), 68,21 (5', 8'), 66,32 (6', 7'), 55,10 (1'), 20,38 (13) |

## **5. ZAKLJUČCI**



U okviru ovog diplomskog rada provedena je sinteza i karakterizacija novih hibridnih derivata koji u svojoj strukturi sadrže  $\beta$ -karbolinski prsten i ferocen. Sintetizirani su sljedeći spojevi:

- (Z)-3-(1-(ferocenilmetil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (**8**)
- (Z)-3-((4-ferocenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil)-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (**9**)

Sintetizirani su i prekursori potrebni za pripravu navedenih spojeva, odnosno  $\beta$ -karbolinski azid **4** i  $\beta$ -karbolinski alkin **6**, te ferocenazid **7**, dok je etinilferocen nabavljen iz komercijalnih izvora. Spojevima su određena tališta, a njihove strukture su potvrđene standardnim spektrometrijskim i spektroskopskim tehnikama (MS, IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR). U daljnjim istraživanjima, koja prelaze okvire ovoga diplomskog rada, bit će ispitano biološko djelovanje pripremljenih spojeva.

## **6. LITERATURA**

Atkins P, Overton T, Rourke J, Weller M, Armstrong F, Hagerman M. Shriver & Atkins' Inorganic Chemistry. *Oxford University Press*, Oxford, 2010, 560–564.

Bizid S, Blili S, Mlika R, Haj A, Korri-Youssoufi SH. Direct Electrochemical DNA Sensor based on a new redox oligomer modified with ferrocene and carboxylic acid. *Analy Chimica Acta*, 2017, 994, 10-18.

Cao R, Peng W, Wang Z, Xu A. Beta-Carboline alkaloids: biochemical and pharmacological functions. *Curr Med Chem*, 2007, 14, 479-500.

Cazares-Marinero J. de J, Top S, Vessieres A, Jaouen G. Synthesis and antiproliferative activity of hydroxyferrocifen hybrids against triple-negative breast cancer cells. *Dalton Trans*, 2014, 43, 817-830.

Eagon S, Anderson MO. Microwave-assisted synthesis of tetrahydro- $\beta$ -carbolines and  $\beta$ -carbolines. *Eur J Org Chem*, 2014, 2014, 1653-1665.

Ferrocene. *G Theor Chem*, 2013, 109-118.

Fonseca TG, Carrico T, Fernandes E, Abessa DMS, Tavares A, Bebianno MJ. Impacts of *in vivo* and *in vitro* exposures to tamoxifen: Comparative effects on human cells and marine organisms. *Environ Inter*, 2019, 129, 256-272.

Fouda MFR, Abd-Elzaher MM, Abdelsamaia RA, Labib AA. Medicinal Chemistry of Ferrocene. *Applied Organo Chem*, 2007, 21, 613-625.

Gupta P, Singh L, Singh K. The hybrid antimalarial approach. *Eur J Med Chem*, 2019, 61, 73-105.

Hagen H, Marzenell P, Jentzsch E, Wenz F, Veldwijk MR, Mokhir A. Aminoferrocene-based prodrugs activated by reactive oxygen species. *J Med Chem*, 2012, 55, 924-934.

Herraiz T, Guillen H, Gonzalez-Pena D i Aran VJ. Antimalarial Quinoline Drugs Inhibit  $\beta$ -Hematin and Increase Free Hemin Catalyzing Peroxidative Reactions and Inhibition of Cysteine Proteases. *Sci Rep*, 2019, 9, 1-16.

Kitamura M, Koga T, Yano M i Okauchi T. Direct Synthesis of Organic Azides from Alcohols Using 2-Azido-1,3-dimethylimidazolium Hexafluorophosphate. *Synlett*, 2012, 23, 1335-1338.

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

Kondratskyi A, Kondratska K, Abeele Vanden F, Gordienko D, Dubois C, Toillon R, Slomianny, Lemiere S, Delcourt S, Dewailly E, Skryma R, Biot C, Prevarskaya N. Ferroquine, the next generation antimalarial drug, has antitumor activity. *Sci Rep*, 2017, 7, 1-15.

Moura DJ, Richter MF, Boeira JM, Peagas Henriques JA, Saffi J. Antioxidant properties of  $\beta$ -carboline alkaloids are related to their antimutagenic and antigenotoxic activities. *Mutagenesis*, 2007, 22, 293-302.

Muller S, Liepold B, Roth GJ i Bestmann HJ. *Synlett*, 1996, 521-522.

Muregi F, Ishih A. Next generation antimalarial drugs: hybrid molecules as a new strategy in drug design. *Drug Dev Res*, 2009, 71, 20-32.

Oliveira R, Miranda D, Magalhaes J, Capela R, Perry MJ, O'Neill PM i Lopes F. From hybrid compounds to targeted drug delivery in antimalarial therapy. *Bioorg Med Chem*, 2015, 23, 5120-5130.

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

Perez WI, Soto Y, Ortiz C, Matta J, Melendez E. Ferrocenes as potential chemotherapeutic drugs: Synthesis, cytotoxic activity, reactive oxygen species production and micronucleus assay. *Bioorg Med Chem*, 2015, 23, 471-479.

Roux C, Biot C. Ferrocene-based antimalarials. *Future Med Chem*, 2012, 4, 783–797.

Shahinas D, MacMullin G, Benedict C, Crandall I i Pillai DR. Harmine Is a Potent Antimalarial Targeting Hsp90 and Synergizes with Chloroquine and Artemisinin. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56, 4207-4213.

Skoupilova H, Bartosik M, Sommerova L, Pinkas J, Vaculovic T, Kanicky V, Karban J, Hrstka R. Ferrocenes as new anticancer drug candidates: Determination of the mechanism of action. *Eur J Pharm*, 2020, 867, 867.

Škalamera Đ, Šumanovac Ramljak T i Husak A. Kinon-metidi: Reaktivni međuprodukti u kemiji fenola i njihova primjena u organskoj sintezi. *Kem Ind*, 2017, 66, 353-372.

Yu CJ, Wan Y, Yowanto H, Li Y, Tao C, James MD, Tan CL, Blackburn GF, Meade TJ. Electronic detection of single-base mismatches in DNA with ferrocene-modified probes. *J Am Chem Soc*, 2001, 123, 11155–11161.

Wani WA, Jameel E, Baig U, Mumtazuddin S, Hun LT. Ferroquine and its derivatives: New generation of antimalarial agents. *Eur J Med Chem*, 2015, 101, 534-551.

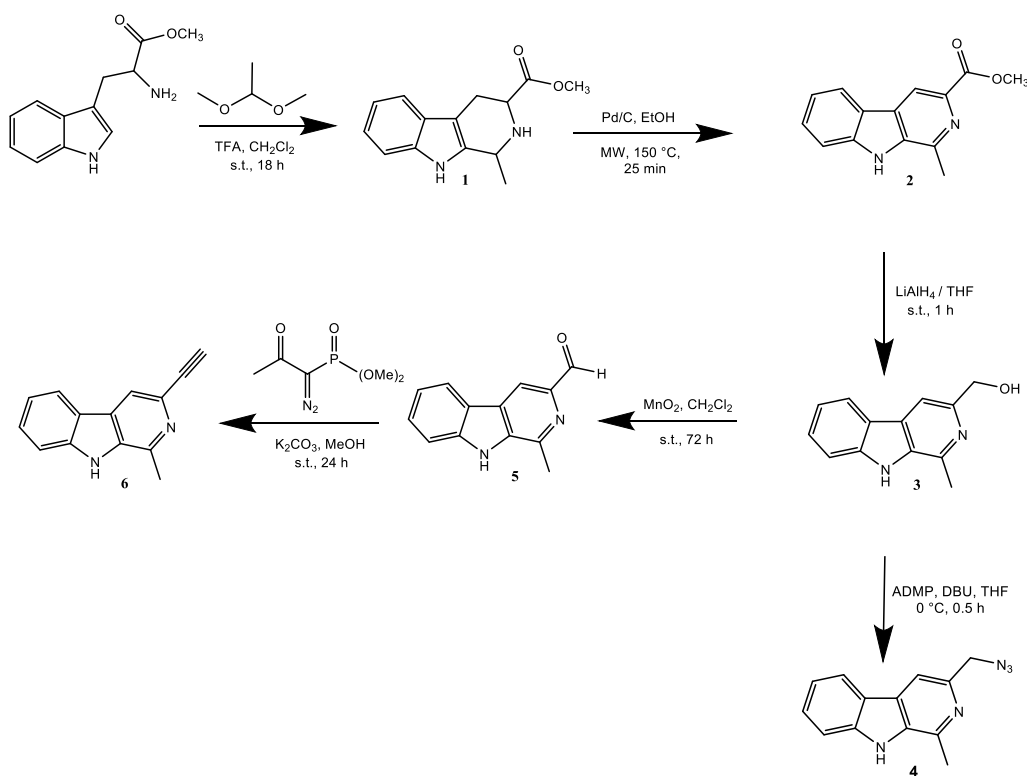
Xiao J, Sun Z, Kong F, Gao F. Current scenario of ferrocene-containing hybrids for antimalarial activity. *Eur J Med Chem*, 2019, 185, 1-26.

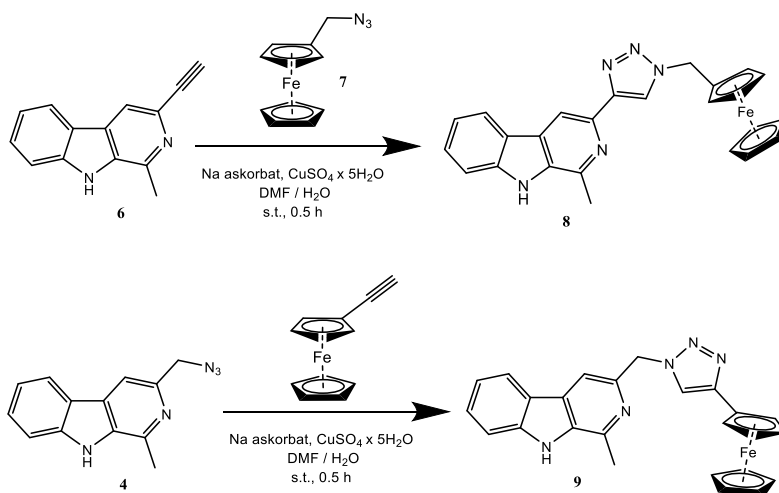
Zhao F, Zhao C, Liu ZQ. Synthesis of hydroxyferrocifen and its abilities to protect DNA and to scavenge radicals. *J Bio Inorganic Chem*, 2011, 16, 1169-1176.

## **7. SAŽETAK/SUMMARY**

U ovom radu sintetizirana su i strukturno karakterizirana 2 nova hibridna spoja koji u svojoj strukturi sadrže  $\beta$ -karbolinski prsten i ferocen, povezane 1*H*-1,2,3-triazolom, kao i prekursori potrebni za njihovu sintezu,  $\beta$ -karbolinski azid **4** i  $\beta$ -karbolinski alkin **6**, te ferocenazid **7**, dok je etinilferocen nabavljen iz komercijalnih izvora.  $\beta$ -karbolinski azid sintetiziran je u četiri reakcijska koraka. Pictet-Spenglerovom kondenzacijom metilnog estera L-triptofana i acetaldehid-dimetil-acetala nastaje tetrahidro- $\beta$ -karbolinski međuprodukt **1** koji je oksidiran (aromatiziran) u odgovarajući  $\beta$ -karbolin s esterskom skupinom na položaju 3. Redukcijom estera nastaje primarni alkohol koji je uz pomoć ADMP-a kao donora azidne skupine uz DBU preveden u  $\beta$ -karbolinski azid **4**. Sinteza alkina u položaju C3  $\beta$ -karbolinskog prstena nastavlja se od primarnog alkohola **3**. Oksidacijom alkohola te reakcijom nastalog aldehida i Bestmann-Ohirinovog reagensa nastaje  $\beta$ -karbolinski alkin **6**. Ferocenazid **7** je sintetiziran u jednom reakcijskom koraku. Alkololna skupina ferocenmetanola se prevodi u azido uz ADMP u bazičnim uvjetima.

Za povezivanje  $\beta$ -karbolinskog azida **4** i etinilferocena, te  $\beta$ -karbolinskog alkina **6** i ferocenazida **7** u hibridne spojeve **8** i **9**, korištena je bakrom (I) katalizirana azid-alkin cikloadicija koja rezultira stvaranjem triazolskog prstena, poveznice između  $\beta$ -karbolinskog prstena i ferocena.





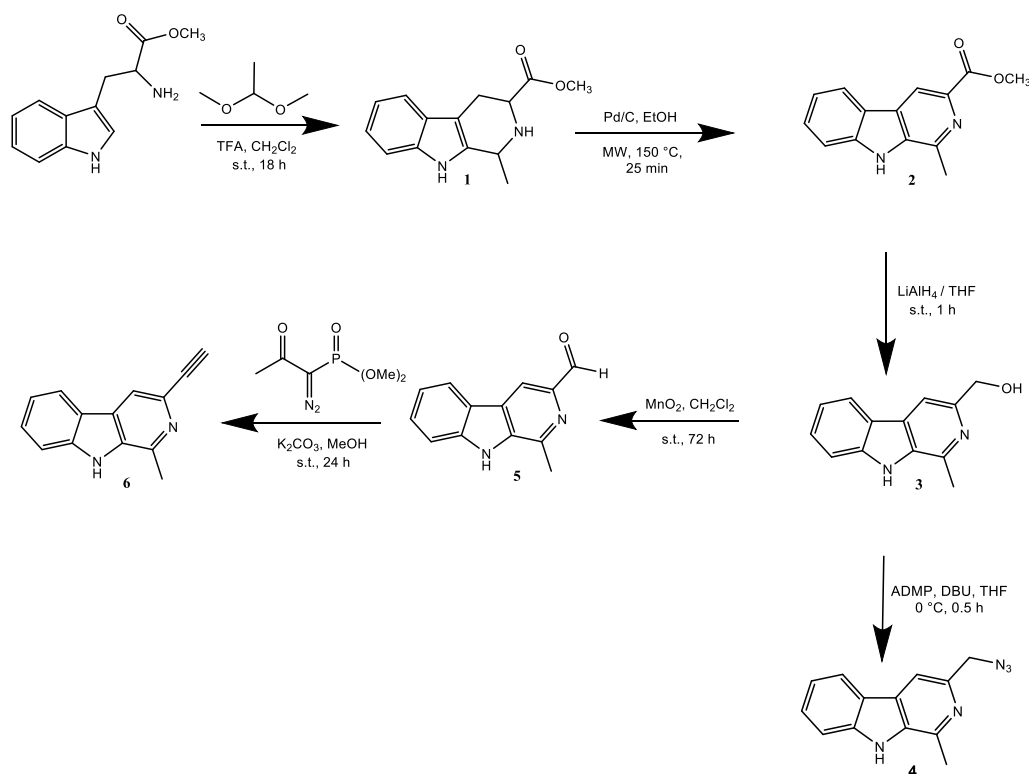
Strukture sintetiziranih spojeva potvrđene su spektroskopskim i spektrometrijskim metodama ( $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR, IR, MS). U daljnjim istraživanjima bit će ispitano biološko djelovanje sintetiziranih hibridnih spojeva.

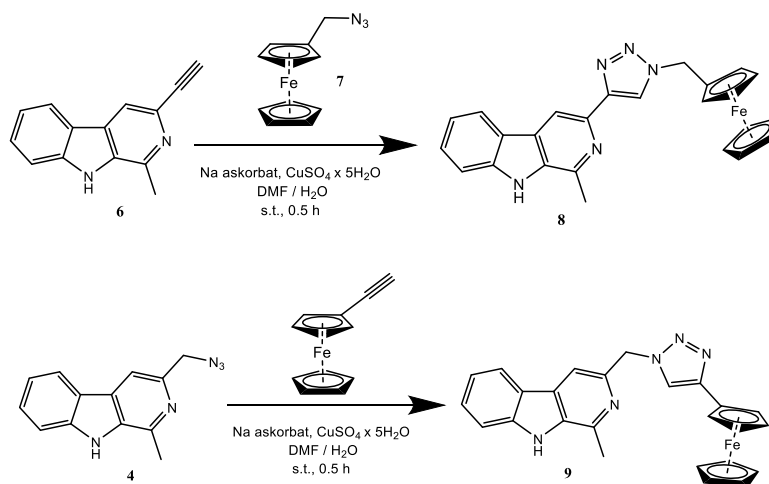
Ključne riječi:  $\beta$ -karbolin, ferocen, hibridni spoj, 1*H*-1,2,3-triazol, sinteza.



Two new hybrid compounds, **8** and **9**, consisting of  $\beta$ -carboline and ferrocene moieties, connected *via* 1*H*-1,2,3-triazole, have been synthesized and structurally characterized, as well as precursors required for their synthesis,  $\beta$ -carboline azide **4**,  $\beta$ -carboline alkyne **6**, and ferrocenazide **7**, while ethynylferrocene was obtained from commercial sources.

$\beta$ -carboline azide has been synthesized in a four steps procedure. Pictet-Spengler condensation of L-tryptophan with ADMA generated tetrahydro- $\beta$ -carboline intermediate **1** which was subsequently oxidized to corresponding  $\beta$ -carboline ester **2**. Reduction of the ester gave the corresponding alcohol **3** which was converted to  $\beta$ -carboline alkyne **6** by using ADMP under basic conditions (DBU). The synthesis of alkyne at the C3 position of the  $\beta$ -carboline ring involves oxidation of the alcohol **3** to the aldehyde **5**. Homologation of aldehyde with dimethyl (1-diazo-2-oxopropyl) phosphonate in the presence of  $K_2CO_3$  resulted in  $\beta$ -carboline alkyne **6**. Ferrocenazide **7** was synthesized in a one reaction step. The alcohol group of ferrocenmethanol was converted to the azido using ADMP in the presence of DBU. The copper(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition was used as a method of choice for linking  $\beta$ -carboline azide **4** and ethynylferrocene or  $\beta$ -carboline alkyne **6** and ferrocenazide **7**, into hybrid compounds **8** and **9**, respectively. As a result, a triazole ring was formed.



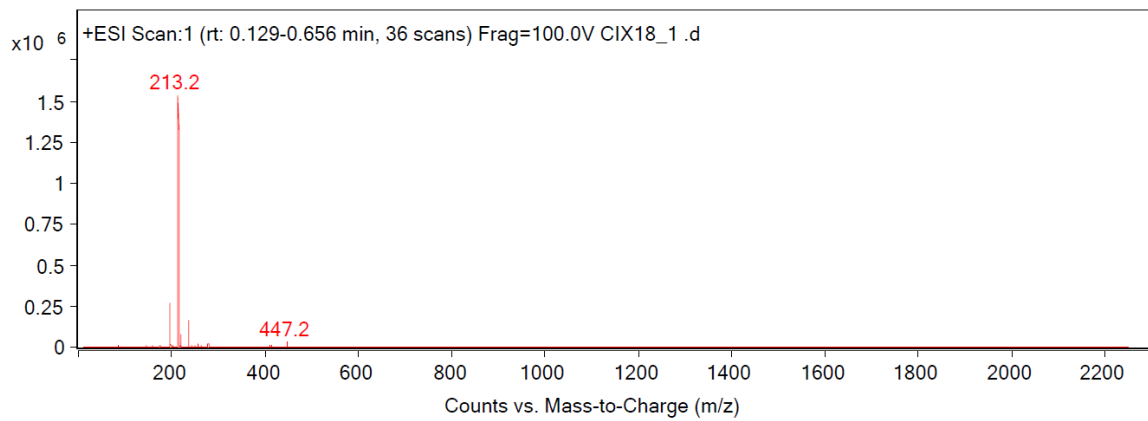
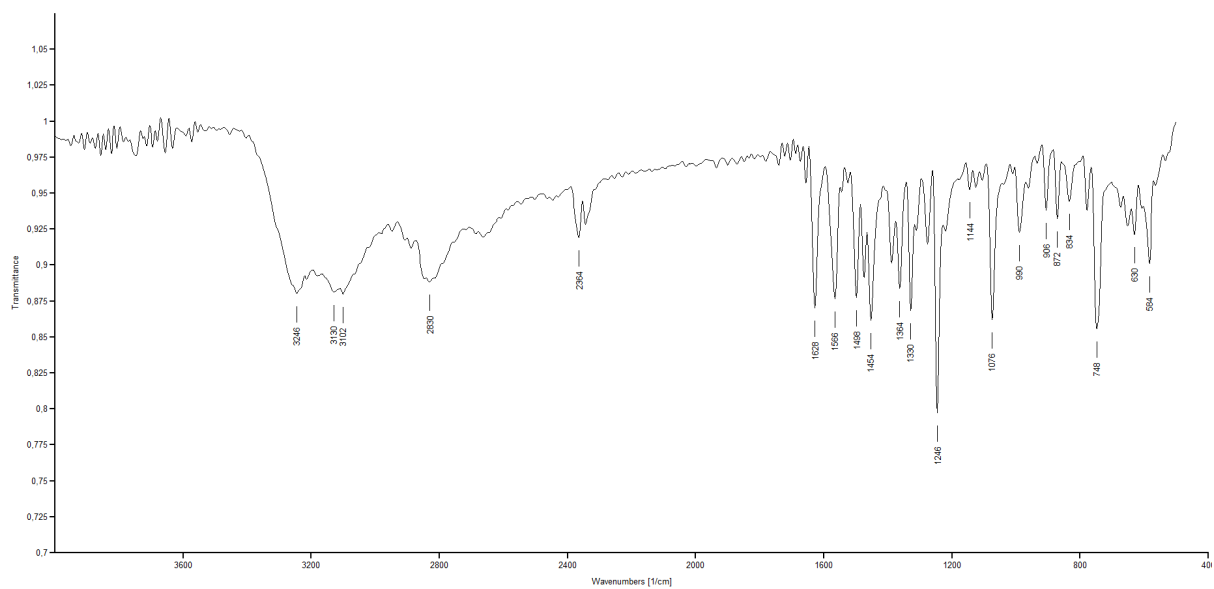
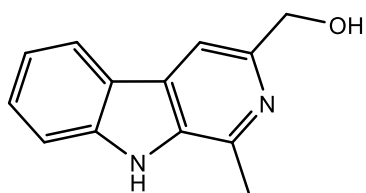


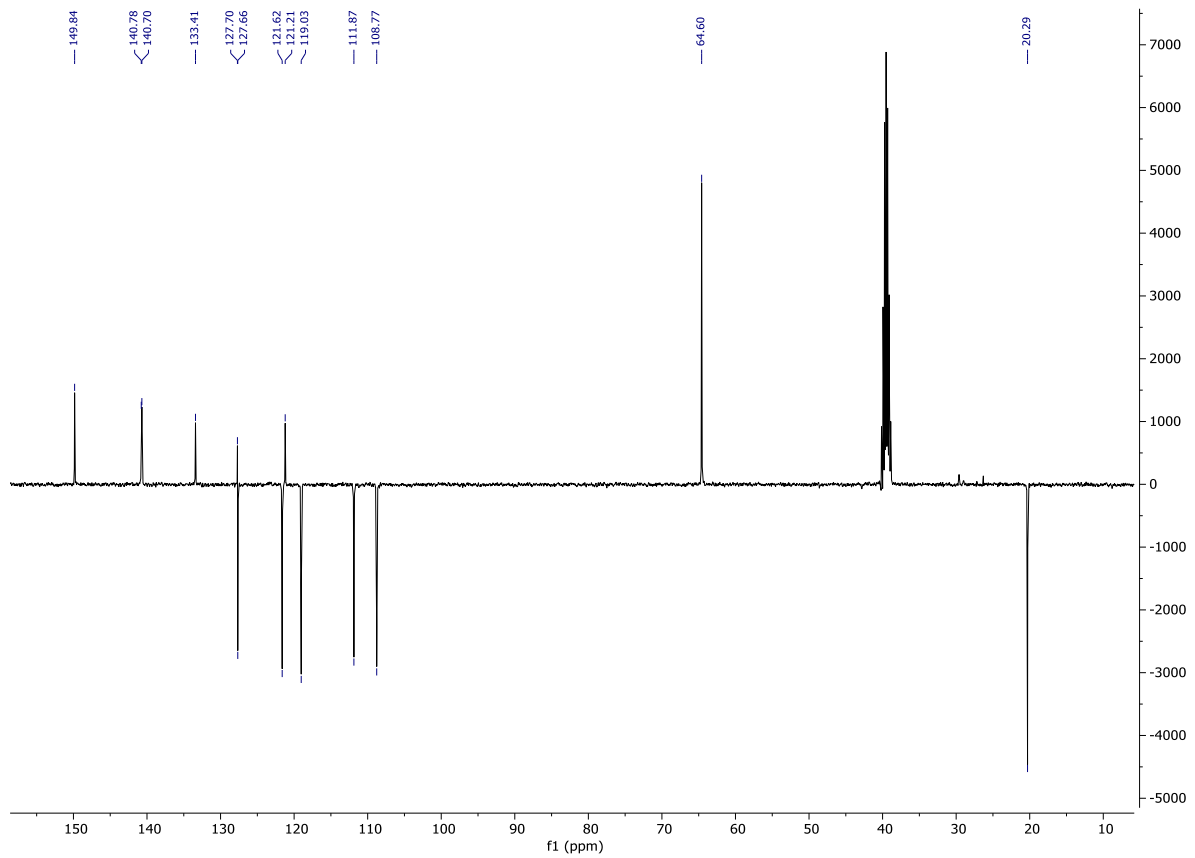
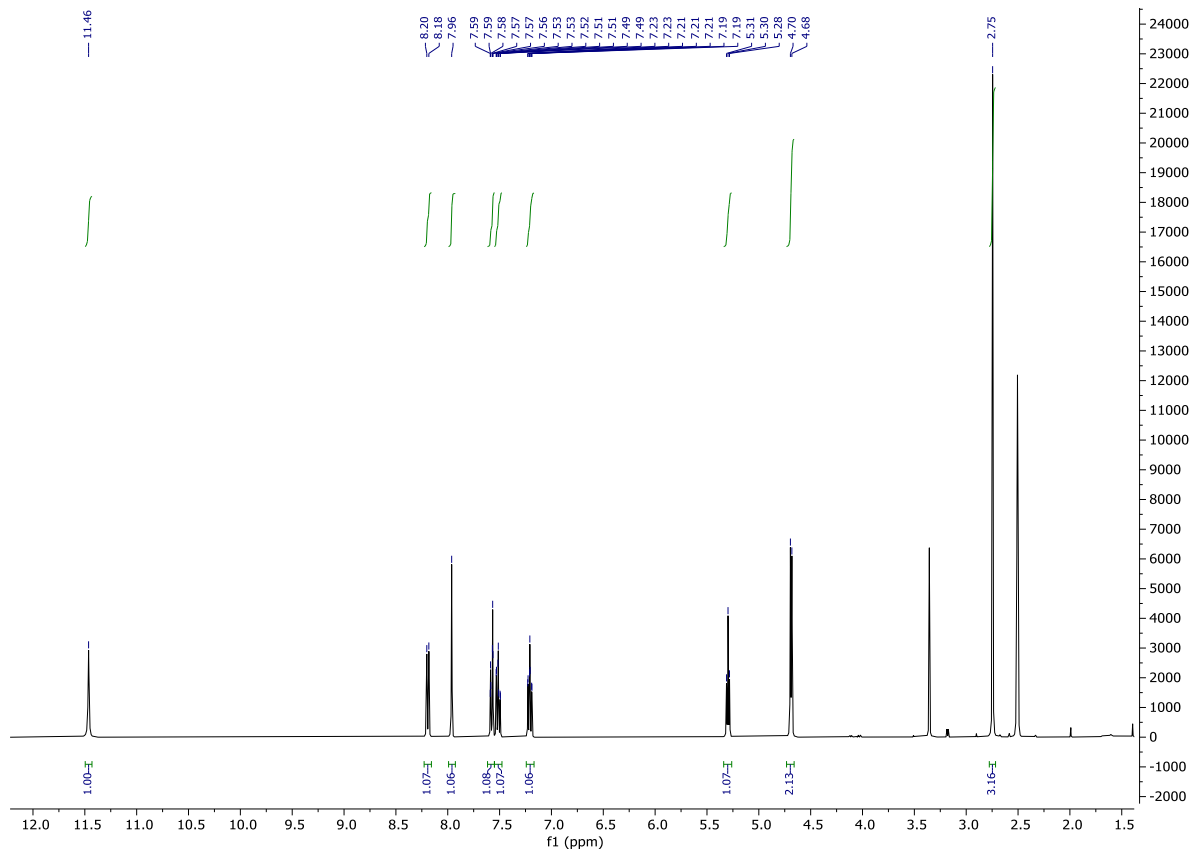
The structures of the prepared compounds were confirmed by analytical and spectroscopic methods (<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR, IR, MS). In further studies, the biological activity of the synthesized hybrid compounds, will be investigated.

Keywords: β-carboline, ferrocene, hybrid compounds, 1,2,3-triazole, synthesis.

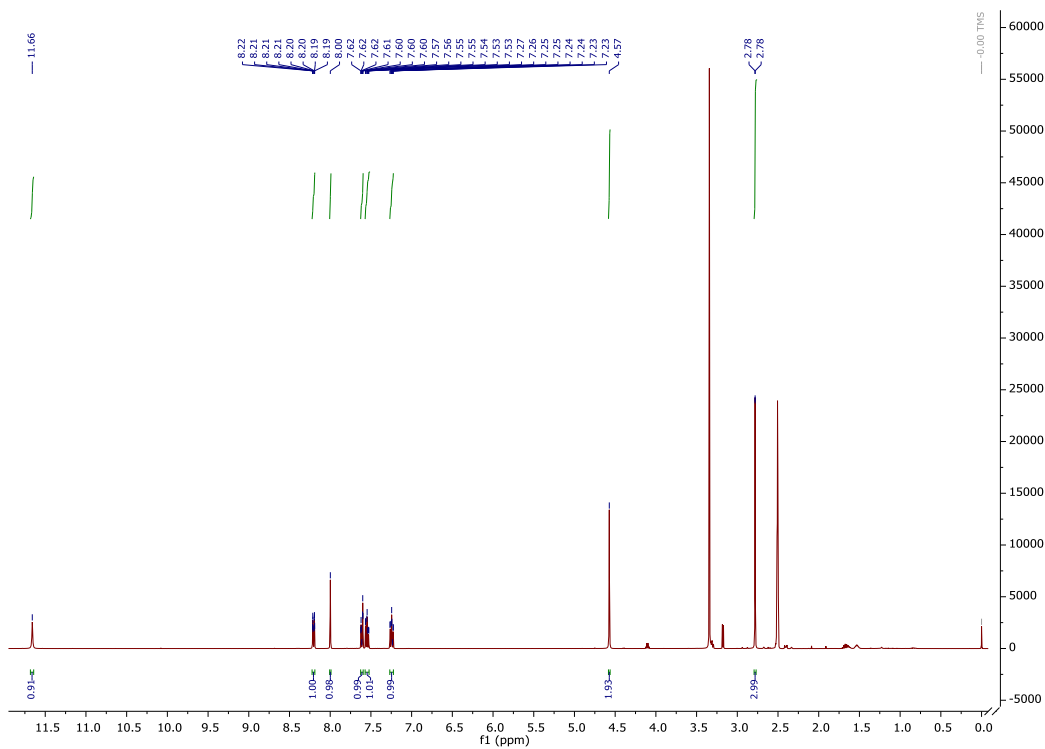
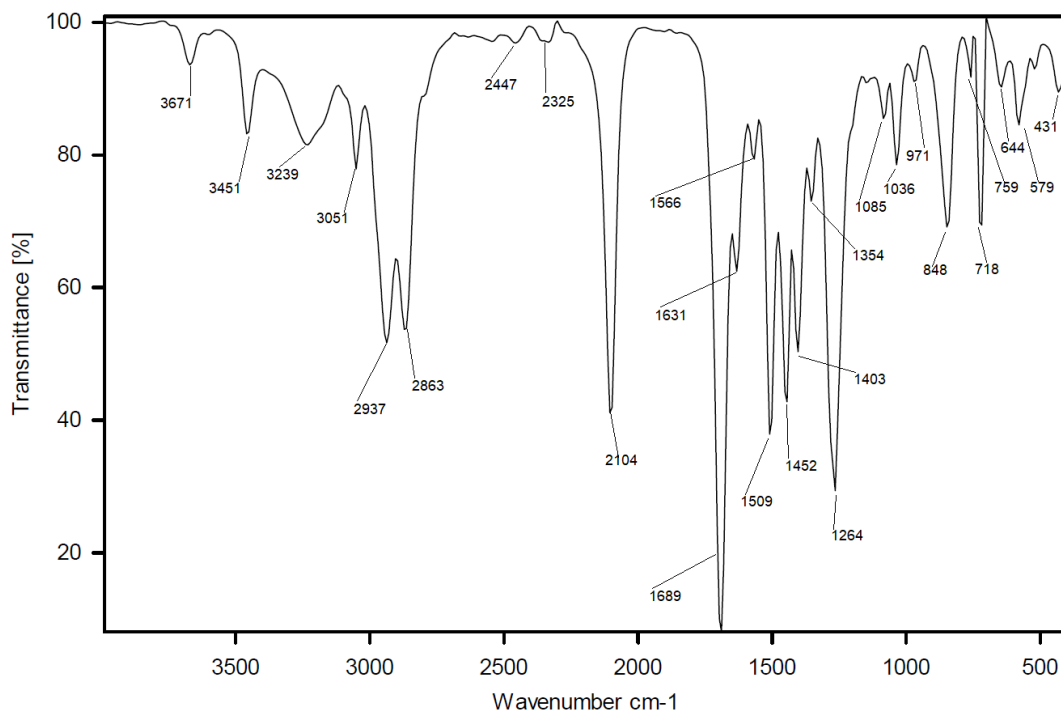
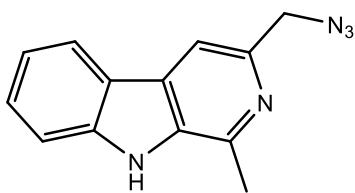
## **8. PRILOZI**

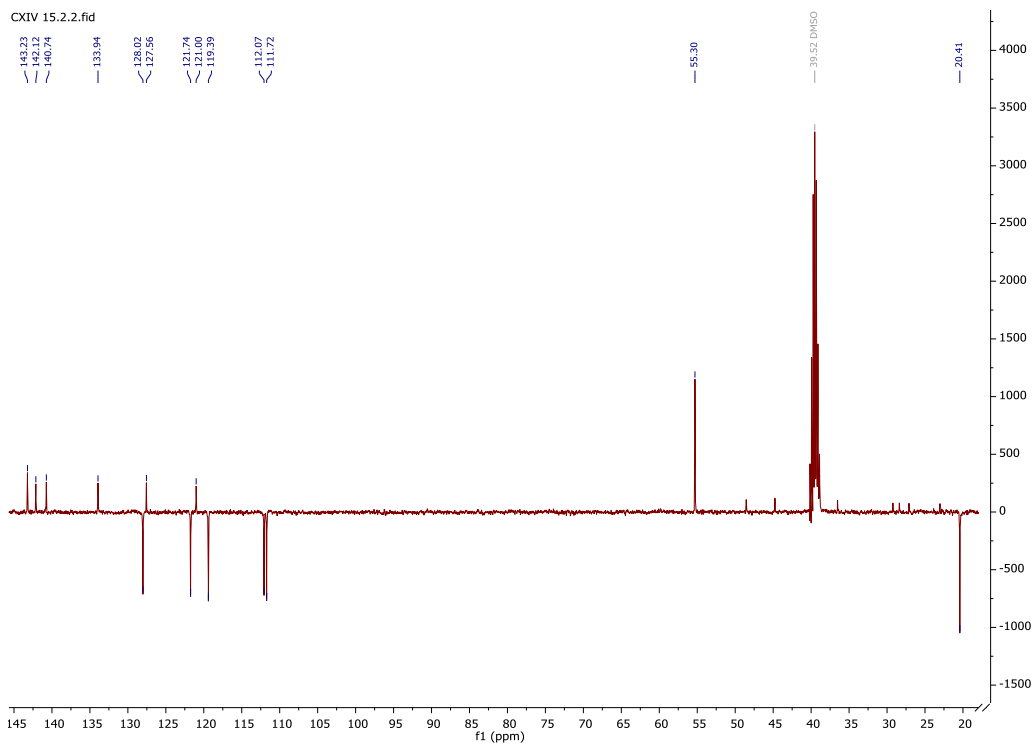
3

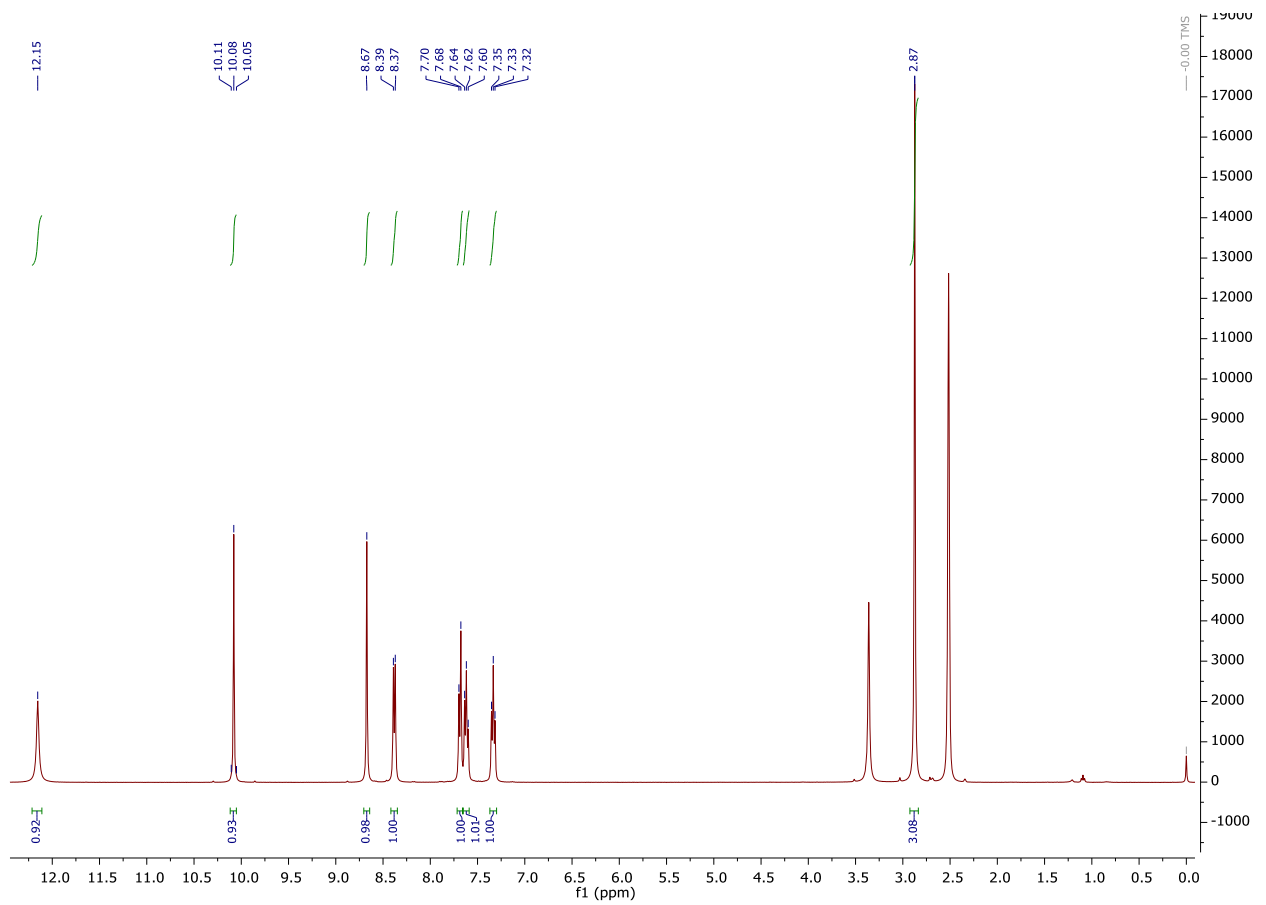
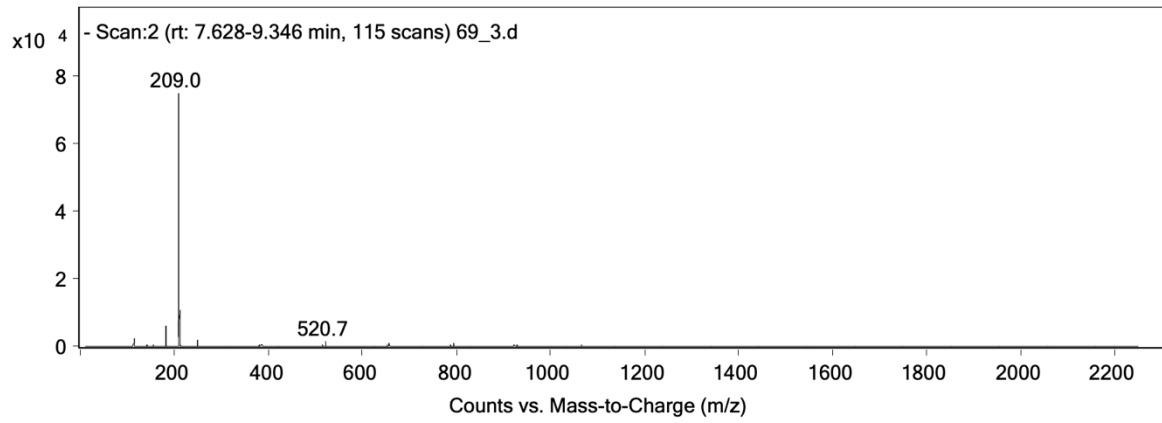
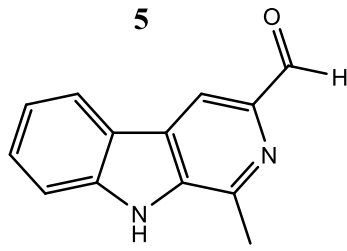




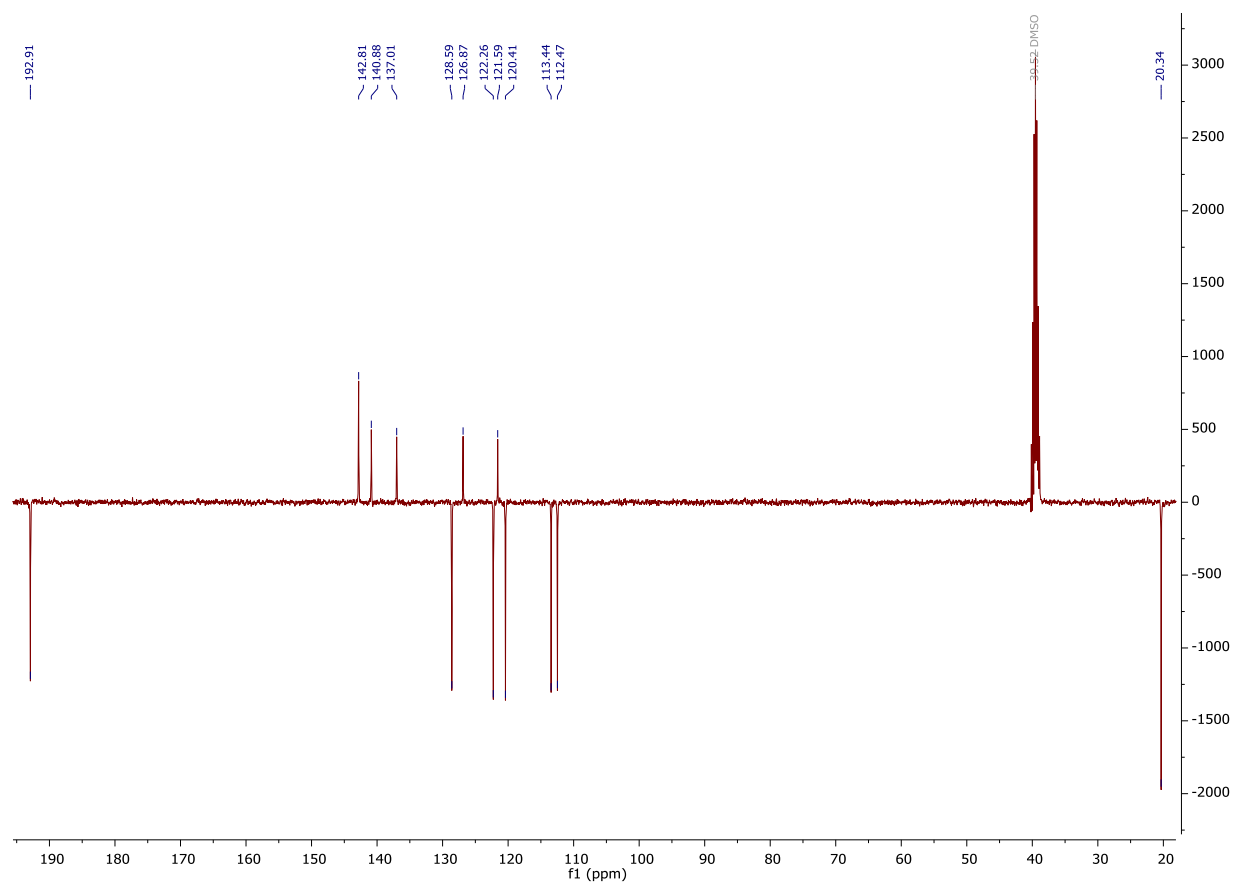
4

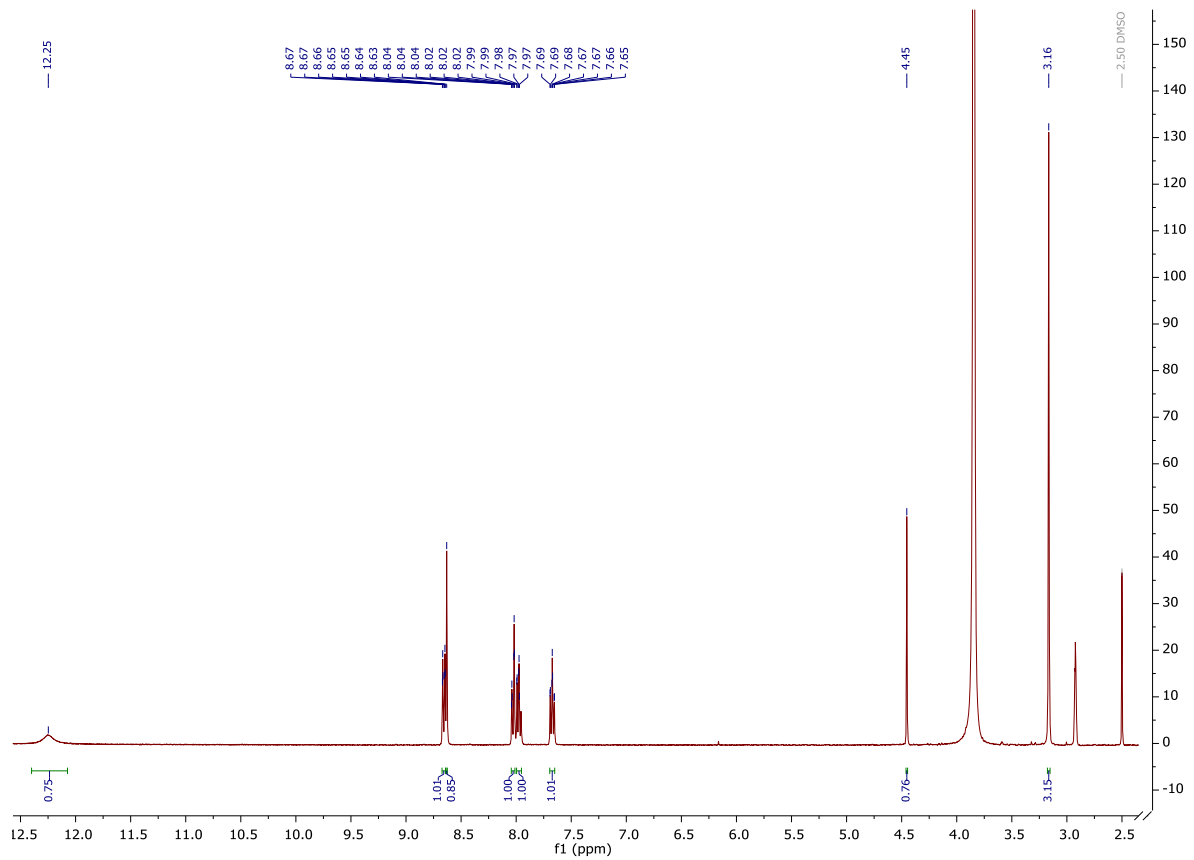
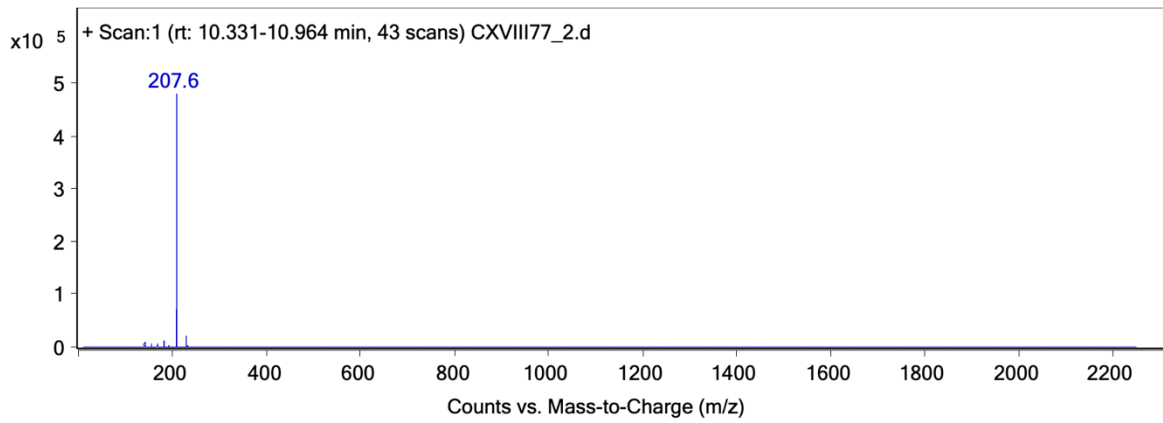
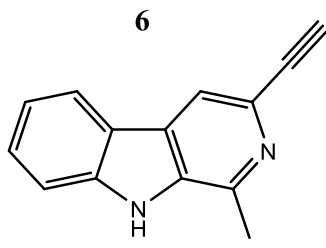


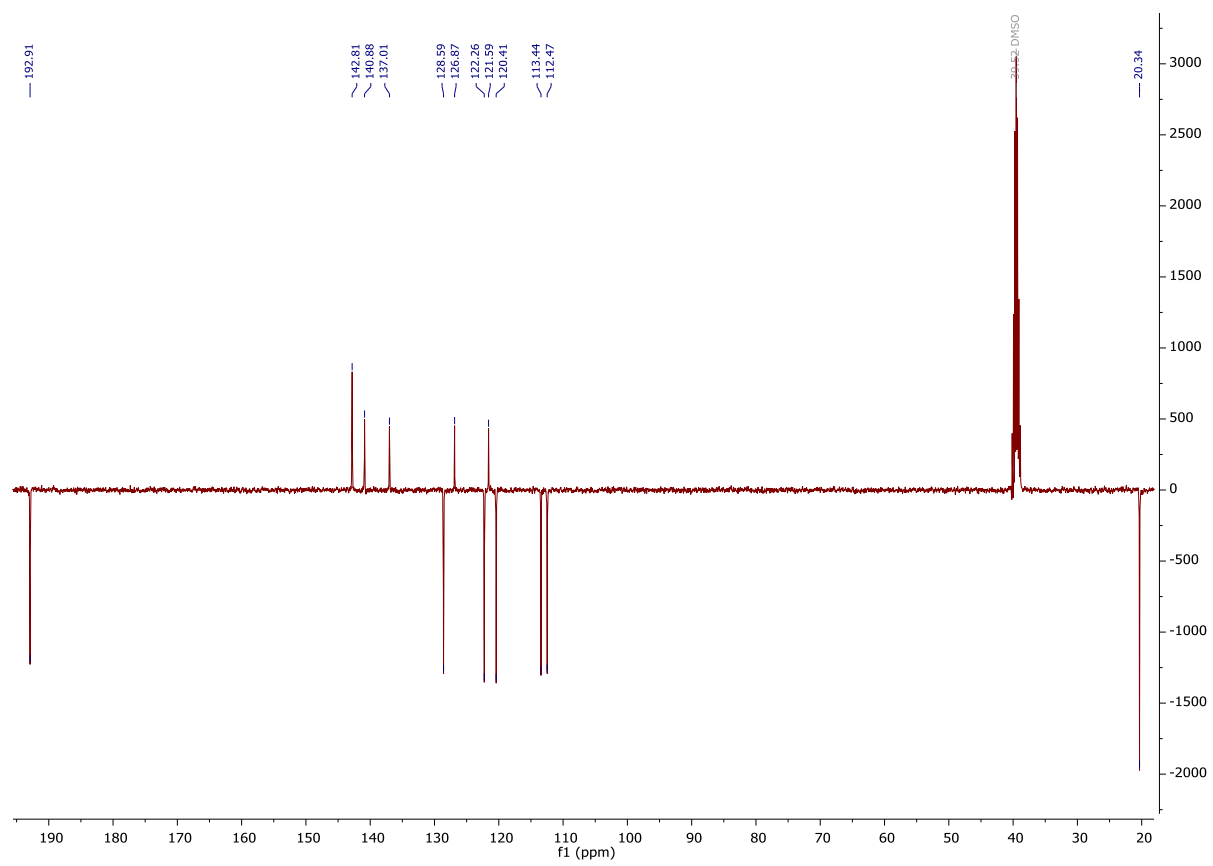


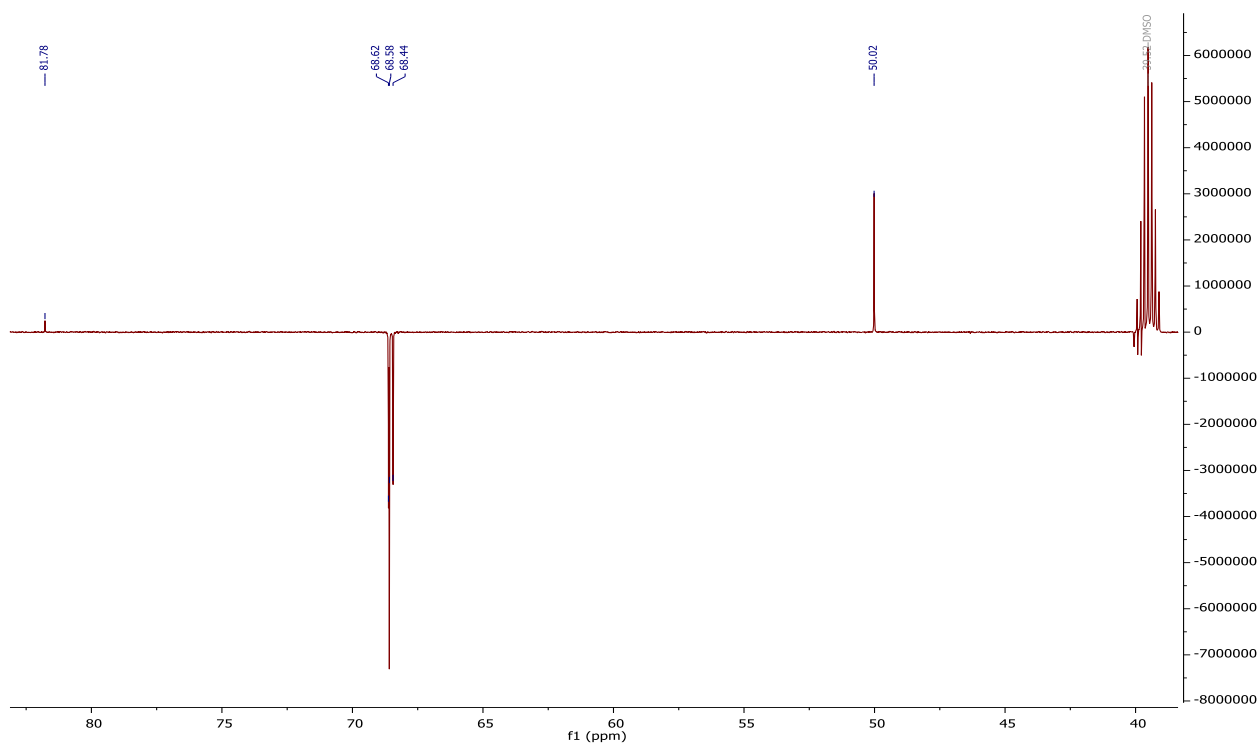
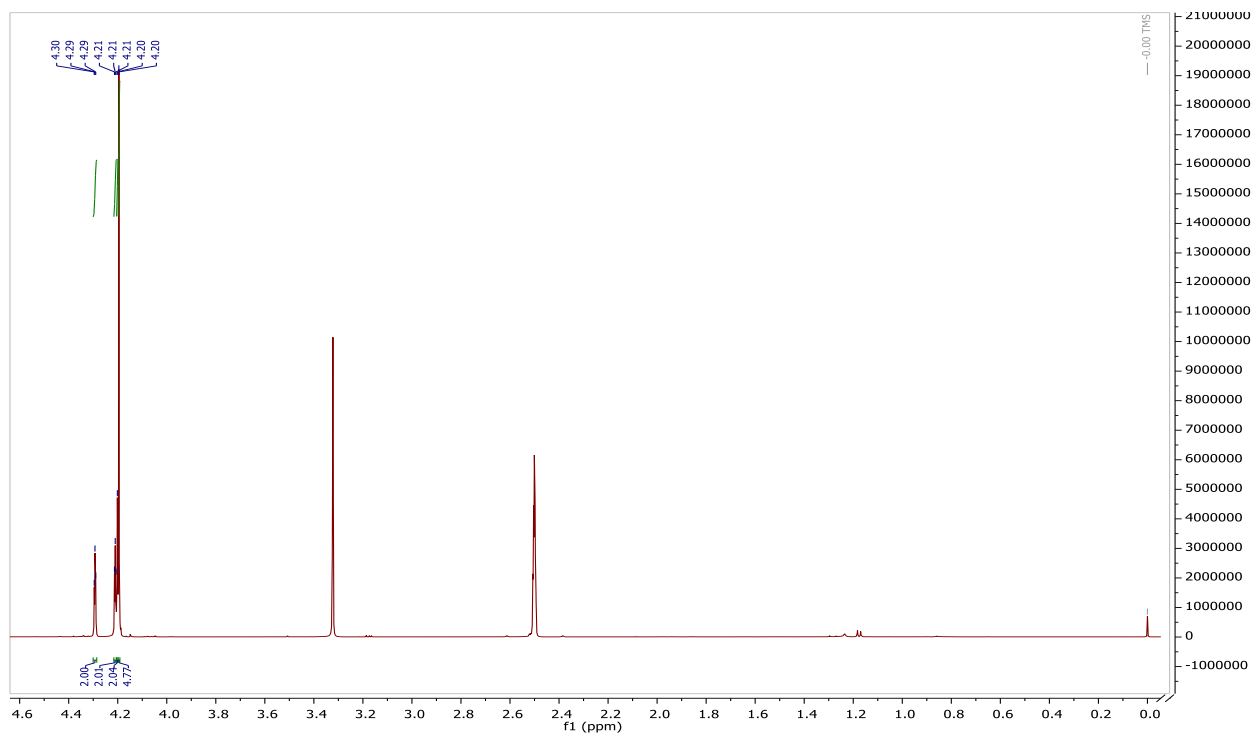
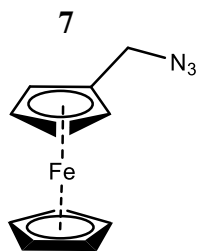


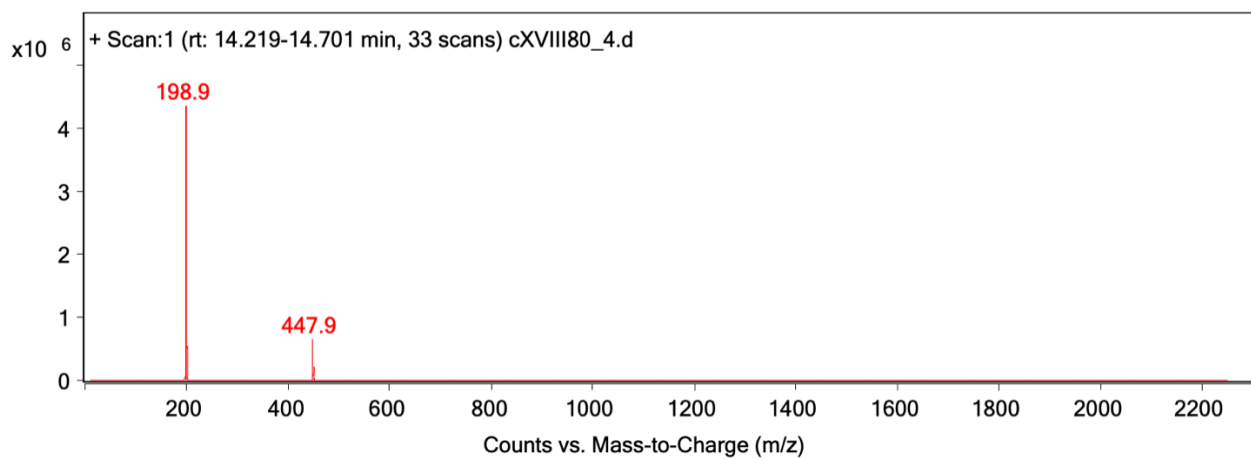
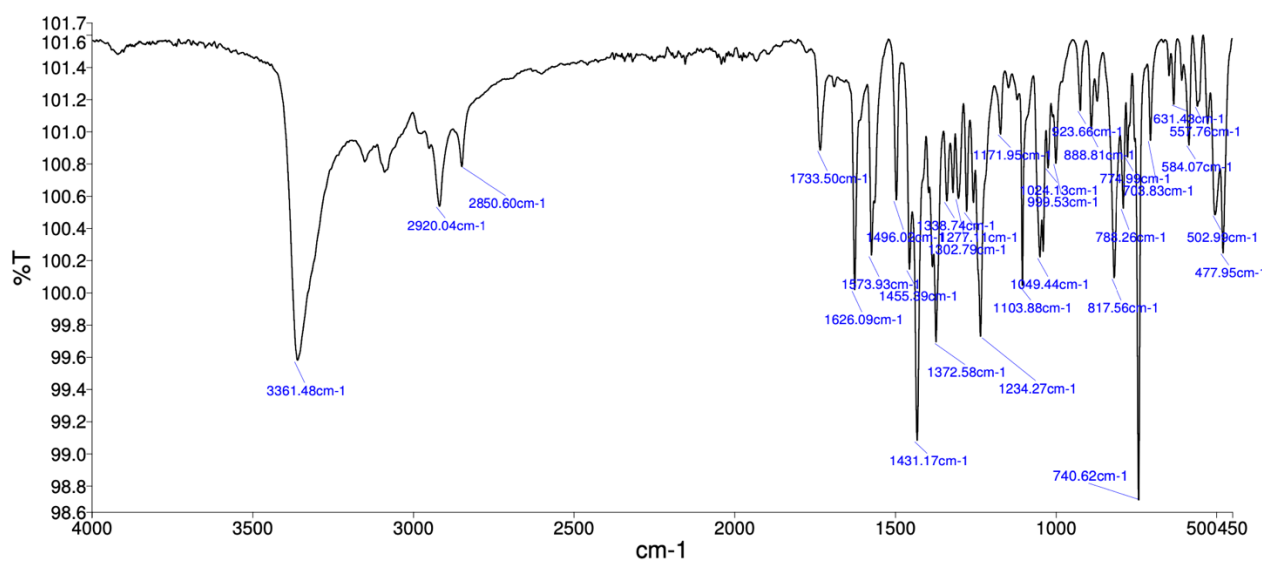
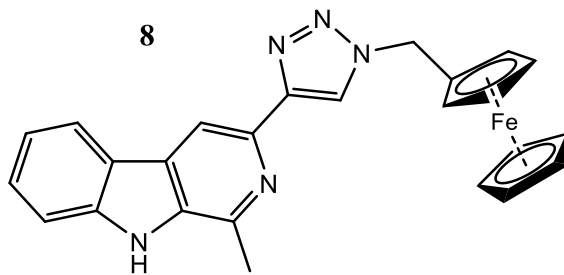


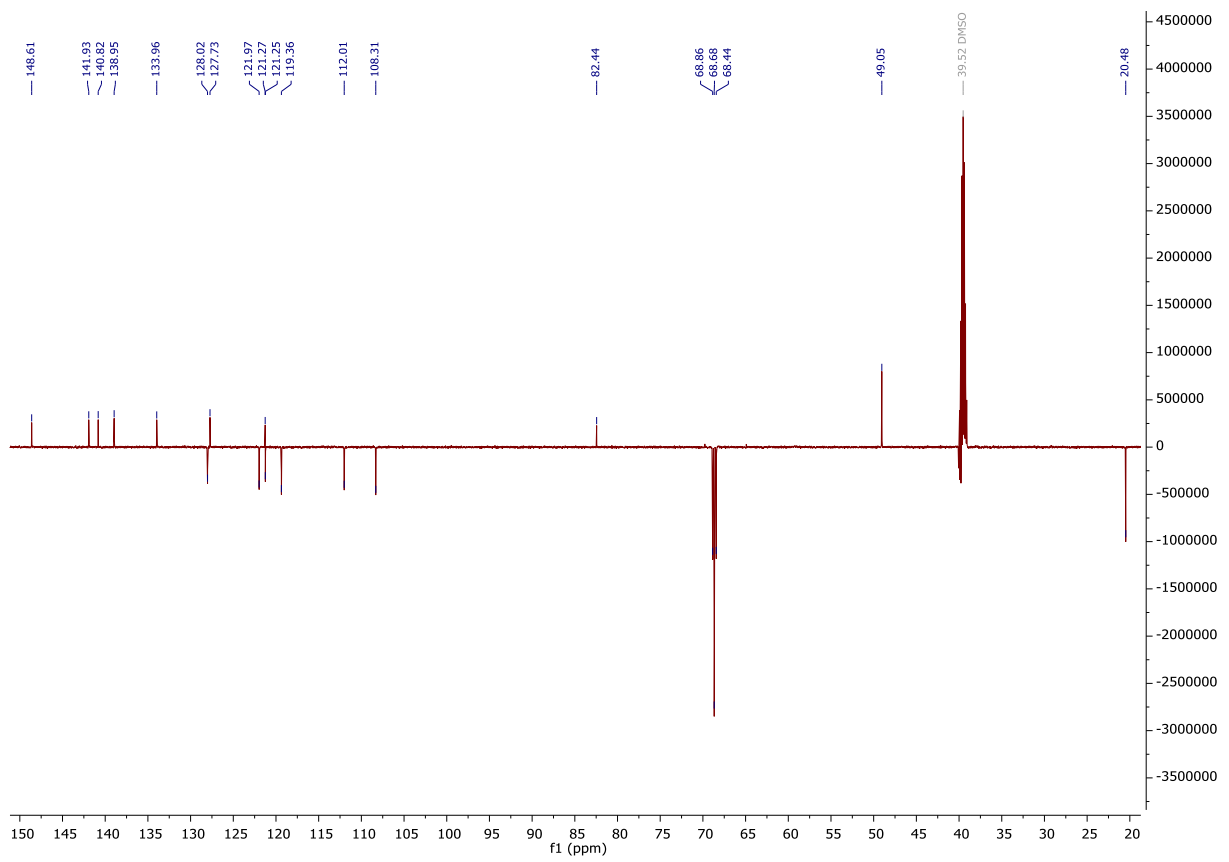
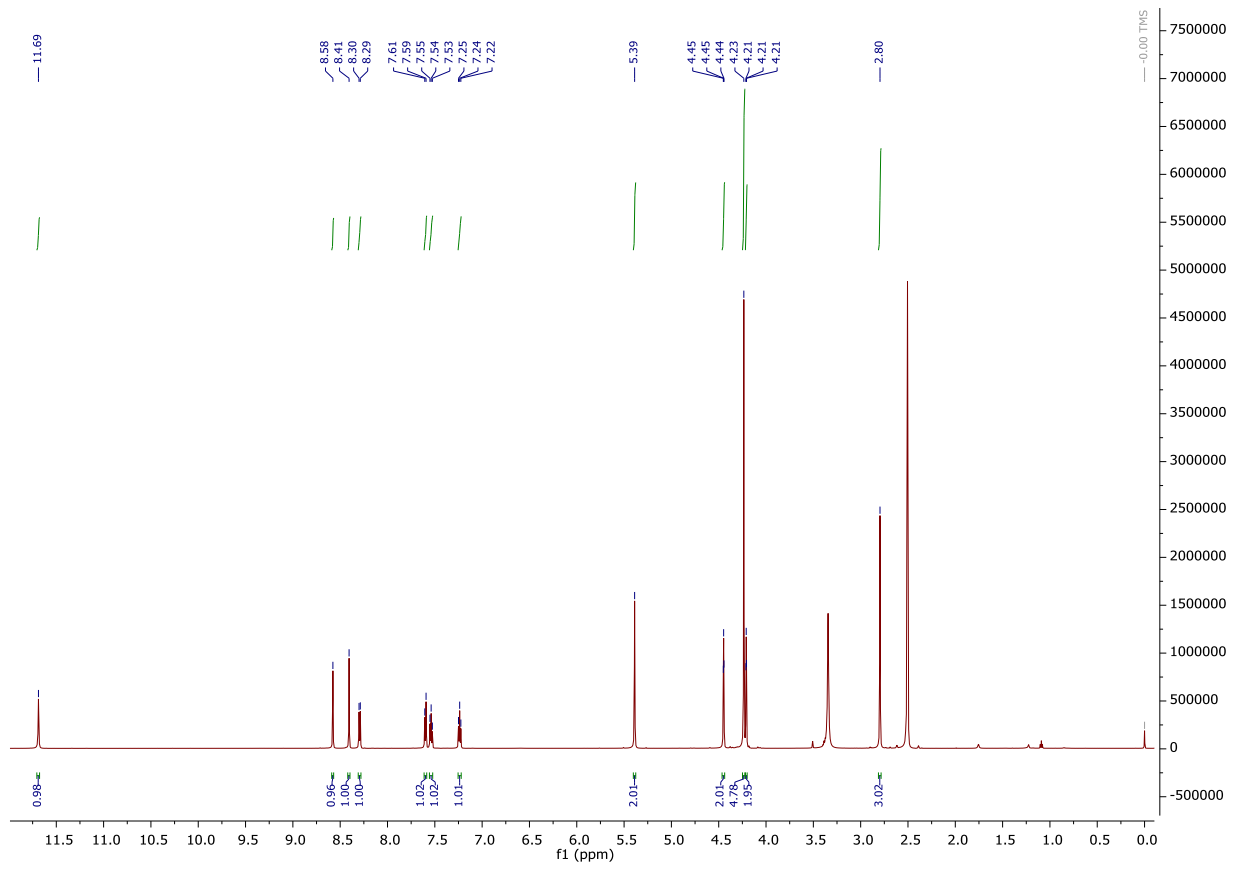




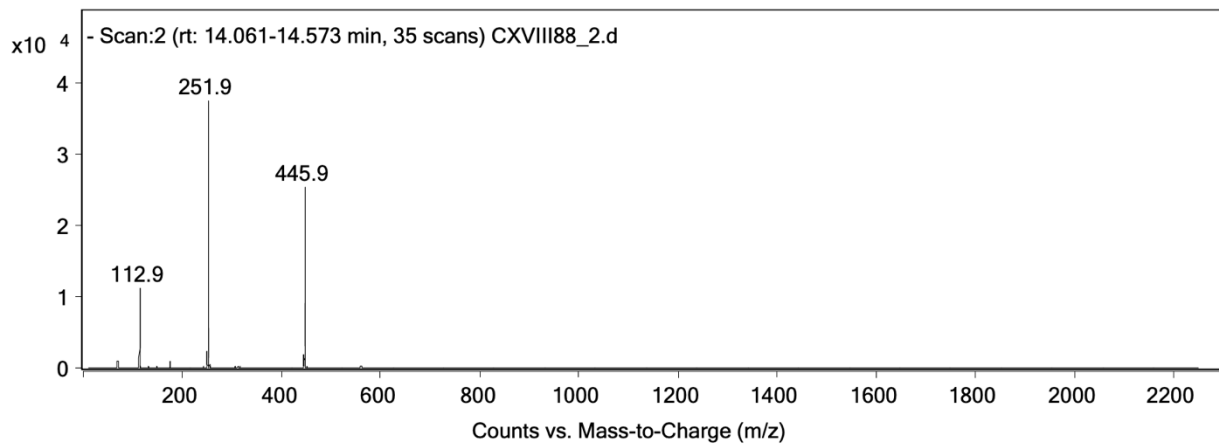
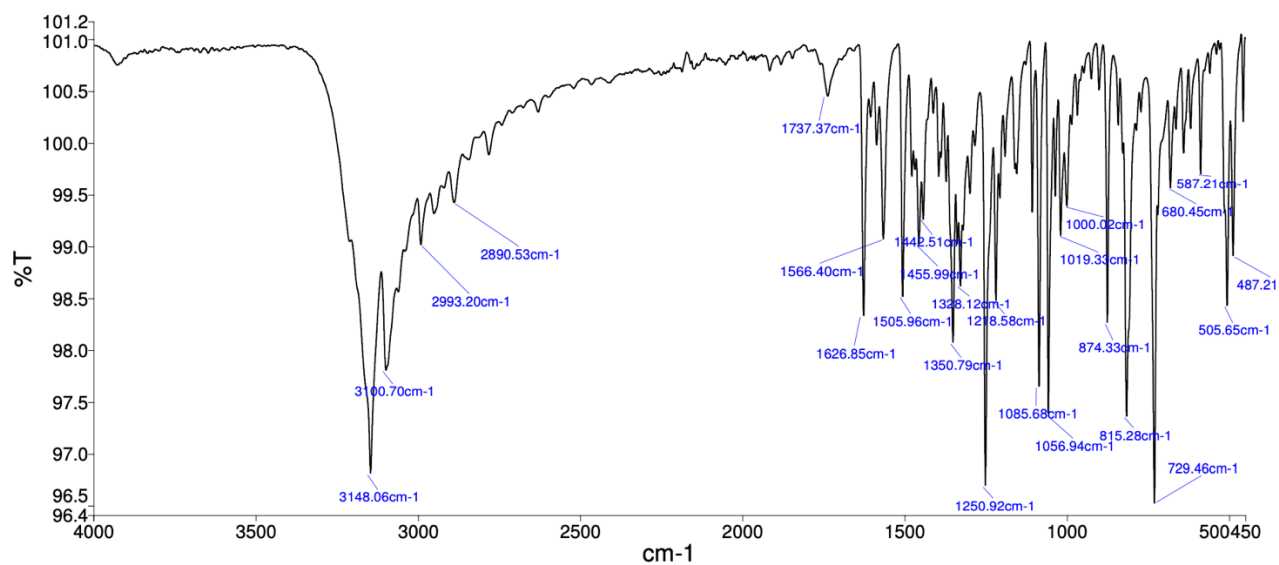
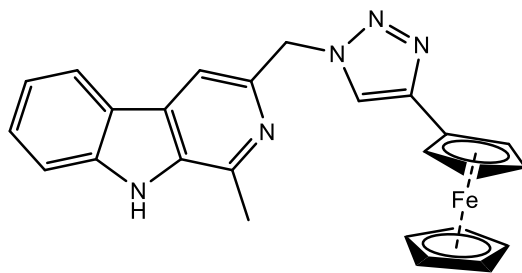


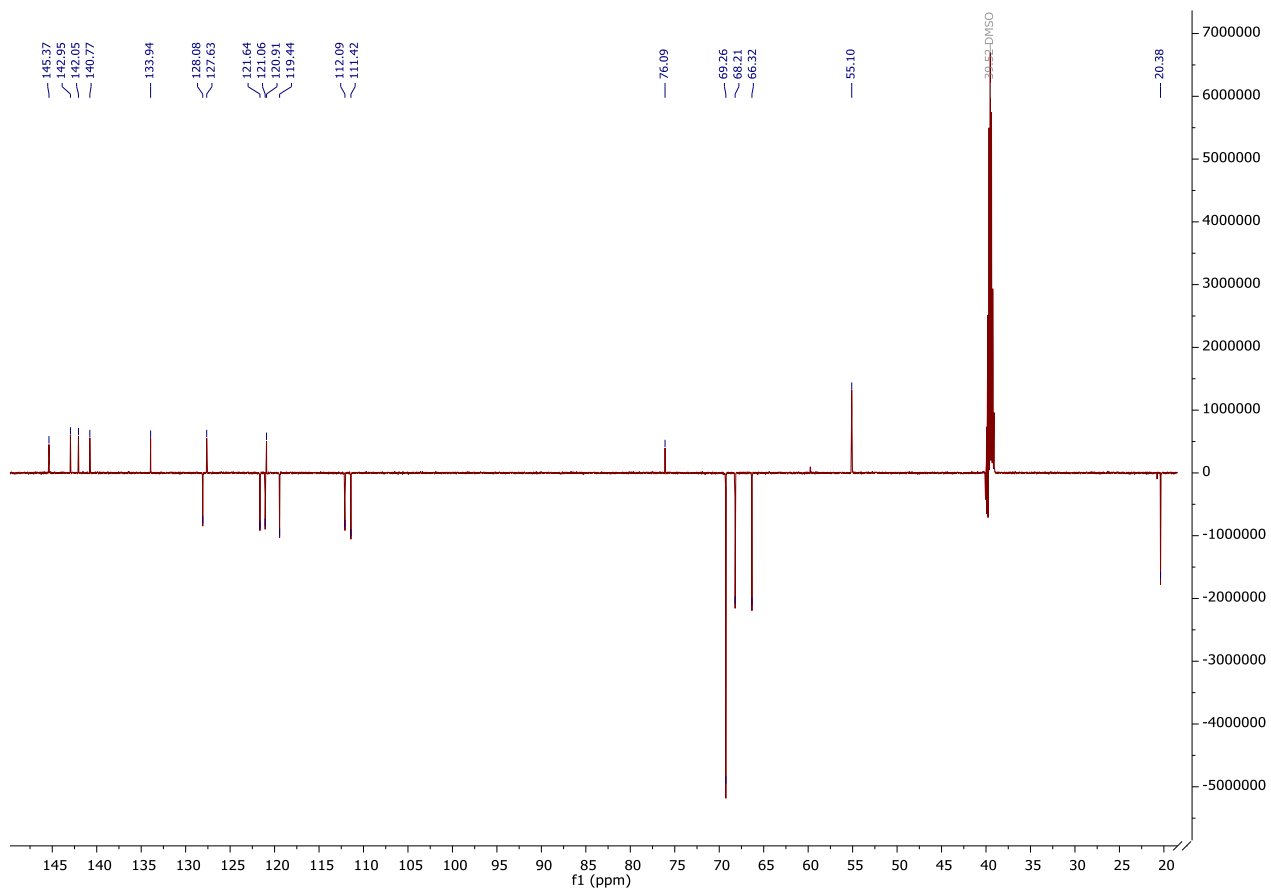
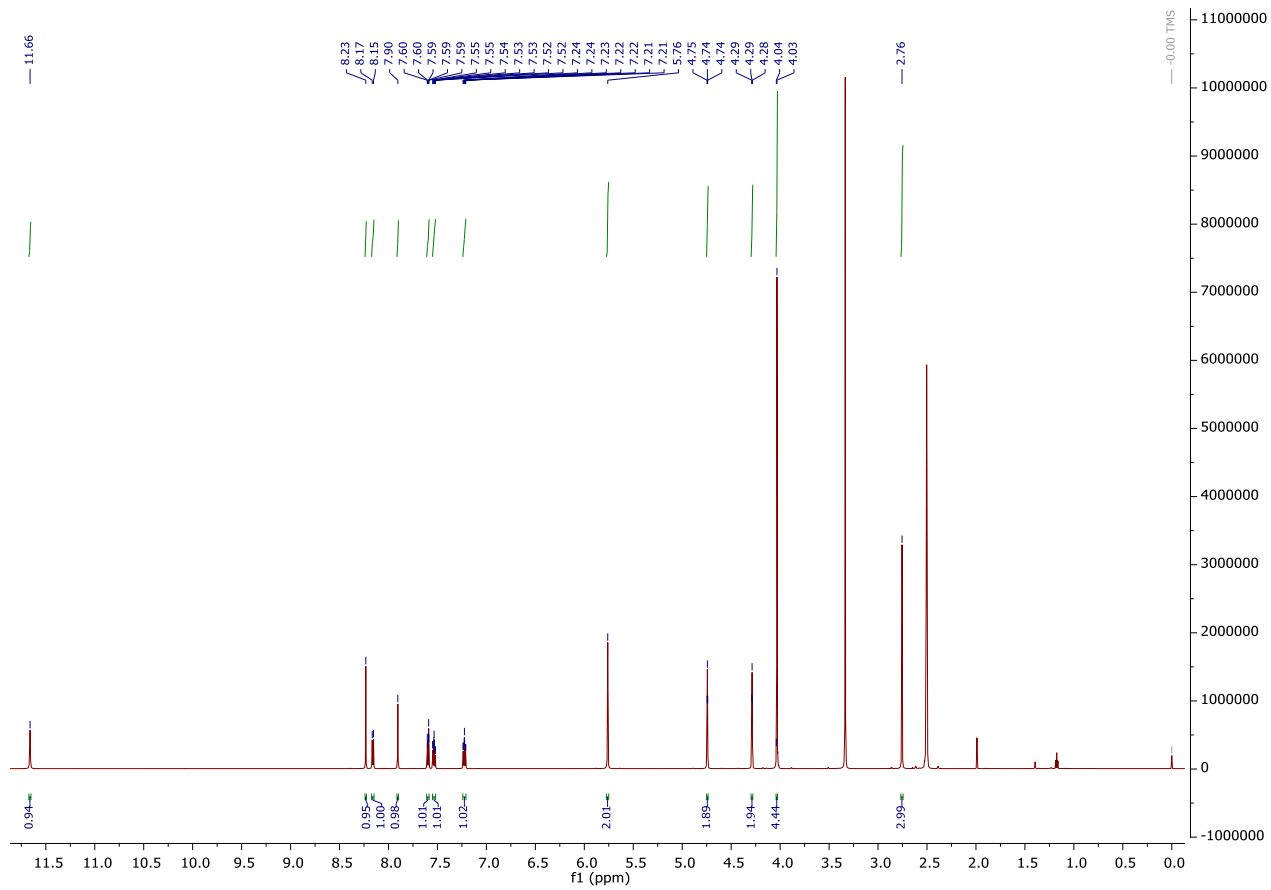






9







**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 3-supstituiranih $\beta$ -karbolina i ferocena povezanih 1,2,3-triazolskim prstenom

Tina Šutalo

#### SAŽETAK

U ovom radu sintetizirana su i strukturno karakterizirana 2 nova hibridna spoja koji u svojoj strukturi sadrže  $\beta$ -karbolinski prsten i ferocen, povezane 1*H*-1,2,3-triazolom, kao i prekursori potrebni za njihovu sintezu,  $\beta$ -karbolinski azid **4** i  $\beta$ -karbolinski alkin **6**, te ferocenzid **7**, dok je etinilferocen nabavljen iz komercijalnih izvora.  $\beta$ -karbolinski azid sintetiziran je u četiri reakcijska koraka. Pictet-Spenglerovom kondenzacijom metilnog estera L-triptofana i acetaldehid-dimetil-acetala nastaje tetrahidro- $\beta$ -karbolinski međuprodukt **1** koji je oksidiran (aromatiziran) u odgovarajući  $\beta$ -karbolin s esterskom skupinom na položaju 3. Redukcijom estera nastaje primarni alkohol koji je uz pomoć ADMP-a kao donora azidne skupine uz DBU preveden u  $\beta$ -karbolinski azid **4**. Sinteza alkina u položaju C3  $\beta$ -karbolinskog prstena nastavlja se od primarnog alkohola **3**. Oksidacijom alkohola te reakcijom nastalog aldehida i Bestmann-Ohrinog reagensa nastaje  $\beta$ -karbolinski alkin **6**. Ferocenzid **7** je sintetiziran u jednom reakcijskom koraku. Alkoholna skupina ferocenzidmetanola se prevodi u azido uz ADMP u bazičnim uvjetima. Za povezivanje  $\beta$ -karbolinskog azida **4** i etinilferocena, te  $\beta$ -karbolinskog alkina **6** i ferocenzida **7** u hibridne spojeve **8** i **9**, korištena je bakrom (I) katalizirana azid-alkin cikloadicija koja rezultira stvaranjem triazolskog prstena, poveznice između  $\beta$ -karbolinskog prstena i ferocena. Strukture sintetiziranih spojeva potvrđene su spektroskopskim i spektrometrijskim metodama ( $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR, IR, MS). U daljnjim istraživanjima bit će ispitano biološko djelovanje sintetiziranih hibridnih spojeva.

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

Rad sadrži: 66 stranica, 15 grafičkih prikaza, 7 tablica i 28 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi:  $\beta$ -karbolin, ferocen, hibridni spoj, 1*H*-1,2,3-triazol, sinteza.

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. Miranda Sertić**, *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 hybrids of 3-substituted $\beta$ -carbolines and ferrocenes linked by 1,2,3-triazole ring

Tina Šutalo

#### SUMMARY

Two new hybrid compounds, **8** and **9**, consisting of  $\beta$ -carboline and ferrocene moieties, connected *via* 1*H*-1,2,3-triazole, have been synthesized and structurally characterized, as well as precursors required for their synthesis,  $\beta$ -carboline azide **4**,  $\beta$ -carboline alkyne **6**, and ferrocenazide **7**, while ethynylferrocene was obtained from commercial sources.  $\beta$ -carboline azide has been synthesized in a four steps procedure. Pictet-Spengler condensation of L-tryptophan with ADMA generated tetrahydro- $\beta$ -carboline intermediate **1** which was subsequently oxidized to corresponding  $\beta$ -carboline ester **2**. Reduction of the ester gave the corresponding alcohol **3** which was converted to  $\beta$ -carboline azide **4** by using ADMP under basic conditions (DBU). The synthesis of alkyne at the C3 position of the  $\beta$ -carboline ring involves oxidation of the alcohol **3** to the aldehyde **5**. Homologation of aldehyde with dimethyl (1-diazo-2-oxopropyl) phosphonate in the presence of  $K_2CO_3$  resulted in  $\beta$ -carboline alkyne **6**. Ferrocenazide **7** was synthesized in a one reaction step. The alcohol group of ferrocenemethanol was converted to the azido using ADMP in the presence of DBU. The copper(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition was used as a method of choice for linking  $\beta$ -carboline azide **4** and ethynylferrocene or  $\beta$ -carboline alkyne **6** and ferrocenazide **7**, into hybrid compounds **8** and **9**, respectively. As a result, a triazole ring was formed. The structures of the prepared compounds were confirmed by analytical and spectroscopic methods ( $^1H$  and  $^{13}C$  NMR, IR, MS). In further studies, the biological activity of the synthesized hybrid compounds, will be investigated.

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

Thesis includes: 66 pages, 15 figures, 7 tables and 28 references. Original is in Croatian language.

Keywords:  $\beta$ -carboline, ferrocene, hybrid compounds, 1,2,3-triazole, synthesis.

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.  
**Miranda Sertić, Ph.D.** Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

The thesis was accepted: July 2021.