

Priprava i spektralna karakterizacija derivata ferocena i ciprofloksacina povezanih triazolnom poveznicom

Smrekar, Karla

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:845199>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International](#)/[Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-07**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Biotehnologija**

Karla Smrekar
0058216903

**PRIPRAVA I SPEKTRALNA KARAKTERIZACIJA DERIVATA FEROCENA I
CIPROFLOKSACINA POVEZANIH TRIAZOLNOM POVEZNICOM**

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Organska kemija

Mentor: izv. prof. dr. sc. Jasmina Lapić

Zagreb, 2024.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Biotehnologija

Zavod za kemiju i biokemiju
Laboratorij za organsku kemiju

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Biotehnologija

Priprava i spektralna karakterizacija derivata ferocena i ciprofloksacina povezanih triazolnom poveznicom

Karla Smrekar, 0058216903

Sažetak: Zbog povećanja bakterijske rezistencije i borbe protiv bolesti koje i dalje nisu izlječive, velika je potreba za novim lijekovima koji imaju širi spektar djelovanja, veću efikasnost i manju toksičnost. Cilj ovog rada je sintetizirati spoj koji sadrži tri različite biološki aktivne komponente – ciprofloksacin, ferocen i triazol. Sintetizirani su intermedijeri, 1-azidoetilferocen (**3**) i metil-*N*-propagil-1-ciklopropil-6-fluoro-4-okso-7-(4-prop-2-inil-piperazin-1-il)-1,4-dihidrokinolin-3-karboksilat (**5**), uz iskorištenje reakcija oko 80 %. Triazolni prsten je uveden reakcijom "klik-kemije", odnosno 1,3-dipolarnom cikloadicijom ferocenskog azida **3** i metilnog estera propargiliranog ciprofloksacina **5** u prisutnosti katalizatora bakra pri čemu je dobiven 1-[4-(1-feroceniletil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil]-metil-1-ciklopropil-6-fluoro-4-okso-7-(4-prop-2-inil-piperazin-il)1,4-di-hidrokinolin-3-karboksilata (**6**). Iskorištenje ove reakcije je iznosilo 63 %. Struktura svih priređenih spojeva potvrđena je IR i NMR spektroskopijom.

Ključne riječi: ferocen, ciprofloksacin, 1,2,3-triazol, klik-kemija

Rad sadrži: 24 stranice, 8 slika, 1 tablicu, 7 shema, 17 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkoga fakulteta, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: izv. prof. dr. sc. Jasmina Lapić

Datum obrane: 10. srpnja 2024.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Biotechnology

Department of chemistry and biochemistry
Laboratory for organic chemistry

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Biotechnology

Synthesis and spectral characterization of ferrocene and ciprofloxacin derivatives connected by a triazole linker

Karla Smrekar, 0058216903

Abstract: Due to the increase in bacterial resistance and the fight against still incurable diseases, there is a great need for new broad-spectrum drugs that have greater efficiency and are less toxic. The aim of this thesis is to synthesize a compound containing three different biologically active components – ciprofloxacin, ferrocene and triazole. The intermediates, 1-azidoethylferrocene (**3**) and methyl-*N*-propargyl-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(4-prop-2-ynyl-piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate (**5**), were synthesized in a reaction yield of about 80 %. The triazole ring was imported by a "click-chemistry" reaction, i.e. 1,3-dipolar cycloaddition of ferrocene azide **3** and methyl ester of propargylated ciprofloxacin **5** in the presence of a copper catalyst, whereby 1-[4-(1-Ferrocenylethyl-1*H*-1,2,3-triazole-1-yl)methyl]-methyl-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(4-prop-2-ynyl-piperazin-yl)1,4-dihydroquinolin-3-carboxylate (**6**) was synthesized. The yield of this reaction was 63 %. The structure of all prepared compounds was confirmed by IR and NMR spectroscopy.

Keywords: ferrocene, ciprofloxacin, 1,2,3-triazole, click-chemistry

Thesis contains: 24 pages, 8 figures, 1 table, 7 schemes, 17 references

Original in: Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the Library of the University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Jasmina Lapić, PhD, Associate Professor

Thesis defended: July 10, 2024

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. FEROCEN.....	2
2.2. CIPROFLOKSACIN.....	3
2.3. KLIK-KEMIJA	4
2.4. TRIAZOLI.....	5
2.5. DERIVATI CIPROFLOKSACINA I TRIAZOLA	7
3. EKSPERIMENTALNI DIO	9
3.1. MATERIJALI	9
3.2. METODE	10
3.3. SCHEME PRIPRAVE DERIVATA FEROCENA I CIPROFLOKSACINA POVEZANIH TRIAZOLNOM PRSTENOM	11
3.4. ACETILFEROCEN (1)	13
3.5. 1-FEROCENILETANOL (2)	13
3.6. 1-AZIDOETILFEROCEN (3)	13
3.7. <i>N</i> -PROPARGIL-1-CIKLOPROPIL-6-FLUORO-4-OKSO-7-PIPERAZIN-1-ILKINOLIN-3-KARBOKSILNA KISELINA (4)	14
3.8. METIL- <i>N</i> -PROPARGIL-1-CIKLOPROPIL-6-FLUORO-4-OKSO-7-(4-PROP-2-IL-PIPERAZIN-1-IL)-1,4-DIHIDROKINOLIN-3-KARBOKSILAT (5)	14
3.9. 1-[4-(1-FEROCENILETIL-1 <i>H</i> -1,2,3-TRIAZOL-1-IL)METIL]-METIL-1-CIKLOPROPIL-6-FLUORO-4-OKSO-7-(4-PROP-2-IL-PIPERAZIN-IL)1,4-DIHIDRO-KINOLIN-3-KARBOKSILAT (6)	15
4. REZULTATI I RASPRAVA	16
4.1. UVOD	16

4.2. SINTEZA I SPEKTROSKOPSKA ANALIZA PREKURSORA	16
4.3. SINTEZA I SPEKTRALNA ANALIZA 1-[4-(1-FEROCENILETIL-1<i>H</i>-1,2,3-TRIAZOL-1-IL)METIL]- METIL-1-CIKLOPROPIL-6-FLUORO-4-OKSO-7-(4-PROP-2-ILIL-PIPERAZIN-IL)1,4-DIHIDRO-KINOLIN- 3-KARBOKSILATA (6).....	19
4.3.1. SINTEZA	19
4.3.2. SPEKTRALNA ANALIZA.....	20
5. ZAKLJUČCI	22
6. POPIS LITERATURE	23

1. UVOD

Zabrinjavajuće visoke stope bakterijske rezistencije, koje svakim danom imaju sve veći porast, predstavljaju ozbiljan izazov za medicinu i javno zdravstvo. Ovakvi trendovi zahtijevaju razvoj novih lijekova koji su učinkovitiji, manje toksični i sadrže sigurne antimikrobne agense. Nova klasa takvih antibiotika treba imati drugačije mehanizme djelovanja i strukturne modifikacije čime se postiže veći afinitet vezanja i širi spektar djelovanja. Ciprofloksacin je široko rasprostranjen antibiotik koji se zbog svojih dobrih farmakokinetičkih karakteristika koristi za liječenje različitih bakterijskih infekcija. Mnogi se znanstvenici bave sintezom derivata ciprofloksacina kako bi taj lijek bio djelotvoran prema specifičnim patogenima (1).

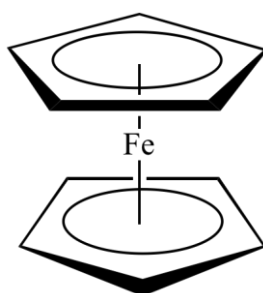
Ideja ovog rada je sinteza potencijalno biološki aktivnog spoja ferocena i ciprofloksacina povezanih preko 1,2,3-triazolne poveznice koji u svojoj strukturi sadrži čak tri različite komponente koje pokazuju biološku aktivnost, a to su ciprofloksacin, ferocen i triazol. Sinteza će biti provedena klasičnim primjerom reakcije "klik-kemije", 1,3-dipolarnom cikloadicijom ferocenskog azida i terminalnog *N*-alkina metilnog estera ciprofloksacina u prisutnosti katalizatora. Struktura svih priređenih spojeva bit će potvrđena IR i NMR spektroskopijom.

Sintetizirani konjugat može imati različite potencijalne primjene zbog unaprijeđenog terapijskog učinka. Naime, konjugacija ciprofloksacina s ferocenom može poboljšati antimikrobnu aktivnost ciprofloksacina protiv nekih bakterijskih sojeva. Ferocen može služiti i kao nosač pri čemu se poboljšava distribucija ciprofloksacina u tijelu i povećava koncentracija lijeka na mjestu infekcije. Također se stvaranjem takvog kompleksa može dobiti spoj boljih farmakokinetičkih svojstava kao što je produženo zadržavanje u organizmu i bolja stabilnost (2). 1,2,3-Triazol, koji je također ključan dio ovog spoja, posjeduje važna svojstva poput jakog dipolnog momenta, veliku sklonost stvaranju vodikovih veza i dobru topljivost. To mu omogućuje interakciju s različitim proteinima i receptorima, zbog čega i on ima određenu ulogu u novo sintetiziranom spoju (3).

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Ferocen

Ferocen je otkriven 1951. godine za što su zaslužni Kealy i Pauson. Oni su, naime, pokušali sintetizirati fulvalen reakcijom ciklopentadienilnog Grignardovog reagensa sa željezovim (III) kloridom. Dobili su narančaste kristale i utvrđeno je da se radi o bis (ciklopentadienil) željezovim kristalima ($\text{FeC}_{10}\text{H}_{10}$), a ne o ferocenu. Nedugo nakon toga su Miller, Tebboth i Tremaine izveli potpuno drugačiju reakciju ciklopentadiena i dušika uz prisutnost željeza pri povišenoj temperaturi pri čemu je dobiven isti spoj. Pravu strukturu ferocena uspjeli su odrediti Wilkinson i Fischer i tim otkrićem je značajno ubrzan razvitak organometalne kemije (4).



Slika 1. Struktura ferocena (Wilkinson i Fischer, 1952.)

Ova molekula ima karakterističnu „sendvič“ strukturu i sastoji se od dva ciklopentadienilna prstena koja su koordinirana na atom željeza (Fe^{2+}) što je prikazano na slici 1. Ima širok spektar primjene pa se koristi u obliku elektrokemijskih senzora koji detektiraju prisutnost različitih molekula ili iona u otopini, a može se koristiti i kao katalizator u organskim reakcijama te čak i u medicini kao antivirusni, antimikrobni te antitumorski lijek. Ferocenski derivati koriste se za sintezu nanočestica, tekućih kristala i polimera (5).

Struktura je vrlo fascinantna i omogućuje ovom spoju tri važne funkcije koje ga čine posebnim. Naime, stabilan je pri temperaturama do $400\text{ }^{\circ}\text{C}$, reaktivan je budući da je aromatski elektrofil i svojstvo oksidacije je blago i reverzibilno pri iznosu od $+0,4\text{ V}$ u odnosu na kalomelnu elektrodu. Ova ga svojstva, uz dobru topljivost u svim uobičajenim organskim otapalima i stabilnost na zraku, čine ikonom organometalne kemije. Iz tog razloga postoji jako velik broj publikacija o derivatima ferocena i materijalima koji sadrže ferocen (6).

Ferocen pokazuje bogatu kemiju derivata koja se vrlo često uspoređuje s benzenom. Tako se primjerice on može acilirati pod Friedel-Crafts-ovim uvjetima, a time se pokazuje njegova sposobnost podvrgavanja aromatskim elektrofilnim supstitucijama. Prvi korak ove reakcije je nastajanje elektrofila pri čemu reagiraju Lewisova baza i Lewisova kiselina te nastaje acilijon. Zatim slijedi aciliranje pri čemu se prsten dezaktivira za daljnje supstitucije. Kod smjese

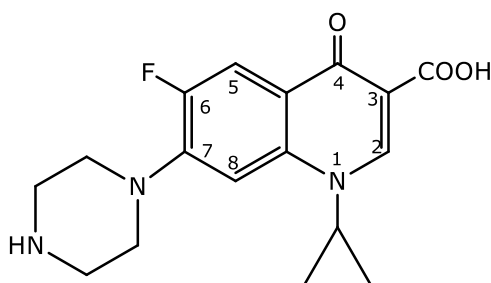
izomera koji nastaje prevladava para-supstitucija (4).

Ferocen je okarakteriziran kao vrlo stabilna, fleksibilna, netoksična i biološki aktivna molekula što je vrlo važno za reakcije kemijske sinteze koje su se provodile u ovome radu. Često se uvodi u već klinički odobrene lijekove čime se mogu dobiti lijekovi drugačijeg djelovanja. Prvi lijek na bazi ferocena odobren je 1971. godine pod nazivom feroceron, a koristio se u liječenju deficijencije željeza. Važnim se pokazao i ferokin, ferocenski derivat klorokina, koji djeluje kao antimalarik, a u kombinaciji s kemoterapeutcima pokazuje i antitumorsku aktivnost (7).

Spojevi koji u svojoj strukturi sadrže ferocen počeli su se istraživati kao lijekovi za tumor već 1978. godine. Tada se taj rad bazirao na pripremi novih spojeva koji sadrže antigen koji se snažno veže na nukleinske kiseline. Međutim, tu nisu dobiveni povoljni rezultati. Prva prekretnica bila je tek 1984. godine, kada je prilikom eksperimenta na miševima dokazano da ferocenijske soli pokazuju antitumorsko djelovanje. Tri godine nakon se desilo značajno otkriće, kada je prikazano da spojevi ferocenijske mogu utjecati na cijepanje DNA *in vitro* i to stvaranjem hidroksilnih radikala. Ove su studije utrle put sintezi antimalarijskih i antitumorskih komponenti koje sadrže ferocen (8).

2.2. Ciprofloksacin

Kemijska formula ciprofloksacina je $C_{17}H_{18}FN_3O_3$, a njegov puni naziv glasi 1-ciklopropil-6-fluoro-4-okso-7-(piperazin-1-il)-kinolin-3-karboksilna kiselina. Ova svijetlo žuta krutina sadrži atom fluora na poziciji C-6, a piperazin na C-7 što povećava spektar antimikrobnog djelovanja ove molekule (slika 2). Dok piperazin povećava aktivnost prema bakterijama roda *Pseudomonas*, ciklopropilna grupa općenito povećava antibakterijsku aktivnost cikloprofloksacina (9).



Slika 2. Struktura ciprofloksacina (Shariati i sur., 2022.)

Ciprofloksacin spada u grupu kinolona, a to je klasa antibakterijskih sintetičkih lijekova koji se primjenjuju za liječenje raznih bakterijskih infekcija. On točnije pripada skupini fluorokinona koji imaju širi spektar djelovanja zbog čega su učinkoviti i protiv onih bakterija koje su razvile

rezistenciju na starije kinolone. Djeluju na način da inhibiraju DNA girazu i topoizomerazu IV, a to su ključni enzimi odgovorni za replikaciju, transkripciju i popravak bakterijske DNA. Onesposobljavanjem ovih enzima dolazi do smrti bakterijske stanice (10).

DNA giraza spada u skupinu topoizomeraza tipa II, a sadrži podjedinicu A i B. Kinoloni, poput ciprofloksacina, sprječavaju da podjedinica A ponovno spoji dvostruki lanac DNA. Rezultat tome je egzonukleazna razgradnja jednolančane DNA. Osim ovog djelovanja, ciprofloksacin može izazvati i smanjenu količinu galaktoze, arabinoze, glukozamina, RNA, DNA, proteina i fosfolipida (9).

Ciprofloksacin je dostupan u različitim oblicima za oralnu i intravenoznu primjenu, a terapijska koncentracija se postiže u većini tkiva i tjelesnih tekućina uz malo nuspojava. Dobro se i brzo apsorbira te nakon oralne primjene vrlo brzo prodire do tkiva. Odobren je od strane FDA za liječenje infekcija probavnog i donjeg respiratornog trakta, kuge, antraksa, salmoneloze, prostatitisa, infekcija kostiju, kože i zglobova te nekih spolno prenosivih bolesti poput gonoreje. Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) ga je preporučila za liječenje tuberkuloze, a može imati ulogu i u liječenju malarije (9).

Prekomjerna upotreba ovog antibiotika dovela je do bakterijske rezistencije. Pronađena su čak tri mehanizma rezistencije na ciprofloksacin, a to su mutacije koje ograničavaju nakupljanje lijeka, ciljne mutacije lijeka (mutacije kod enzima DNA giraze i topoizomeraze IV) i postojanje plazmida koji stanicu štite od smrtonosnog učinka ovog antibiotika (9).

Da bi se ovi mehanizmi prevladali, nužno je pronaći lijekove s visokom efikasnošću i neznatnom toksičnošću koji su istovremeno i isplativi. Razvijeni su neki kompleksi kinolona s metalima koji poboljšavaju njihovu biološku aktivnost na način da je povećana liposolubilnost, odnosno topljivost određene tvari u lipidima, a time dolazi do povećane intracelularne akumulacije. Najčešća modifikacija ciprofloksacina je na položaju C-7. Velika grupa atoma i molekula dodana na taj položaj modificira njegovu čvrstoću i spektar djelovanja, a istovremeno ne utječe na propusnost lijeka kroz bakterijsku membranu. Na taj način se mogu konstruirati derivati koji sadrže polietilen-glikol, nitroimidazol, karboksamid i 1,2,3-triazol (10).

2.3. Klik-kemija

Klik-kemiju su definirali Kolb, Finn i Sharpless 2001. godine i koristi se kao nova metoda u području kemije. Klik reakcije imaju širok opseg djelovanja te se njima ostvaruju visoki prinosi. Zastupaju lako dostupne reagense, otapala koja se mogu lako ukloniti i jednostavne reakcijske uvjete koji nisu osjetljivi na vodu i kisik. Supstrati za ovakve reakcije moraju biti lako dostupni, a produkti dobiveni klik-kemijom mogu se lako izolirati uz nekromatografske tehnike odnosno pomoću filtracije ili kristalizacije. Nusprodukti koji nastaju nisu štetni i jednostavno se uklanjaju (11).

Klik-kemija je vrlo jednostavan i efikasan način povezivanja dviju molekula u blagim reakcijskim uvjetima. Temelji se na formiranju ugljik-heteroatom veze. Riječ „klik“ označava laku izvedbu ove reakcije, a često se uspoređuje s jednostavnošću povezivanja sigurnosnog pojasa. Koristi se kao metoda za razvoj novih lijekova, a najveću primjenu, u području biokemije i medicinske kemije, ima pri formiranju 1,2,3-triazolnih jedinica pomoću azida i alkina (12).

Važan tip reakcije koji pripada u ovu skupinu je Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija koja se koristi za proizvodnju farmakološki aktivnih spojeva s jednim ili više peteročlanih heterocikličkih prstena. Na taj se način mogu sintetizirati 1,2,3-triazoli koji su sastavni dio nekih često korištenih antibakterijskih lijekova (10).

2.4. Triazoli

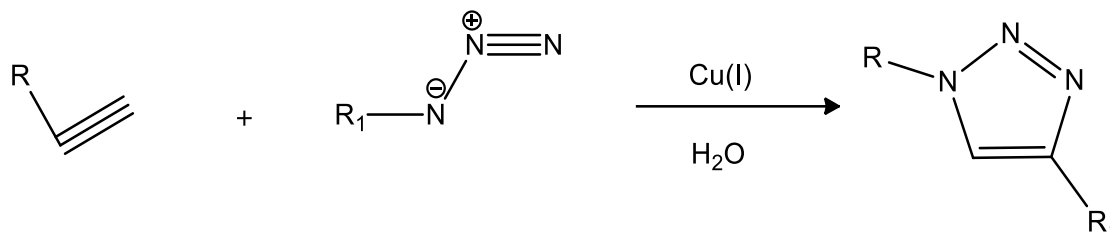
Triazoli su heterociklički organski aromatski spojevi koji sadrže peteročlani prsten u kojem se nalaze tri atoma dušika te dva atoma ugljika. Njihova je molekulska formula $C_2H_3N_3$, a razlikujemo dva izomerna oblika ovisno o položaju dušikovog atoma unutar prstena: 1,2,3-triazoli i 1,2,4-triazoli koji su prikazani na slici 3. Zahvaljujući takvoj strukturi, triazoli su izrazito stabilni u odnosu na druge organske spojeve (13).



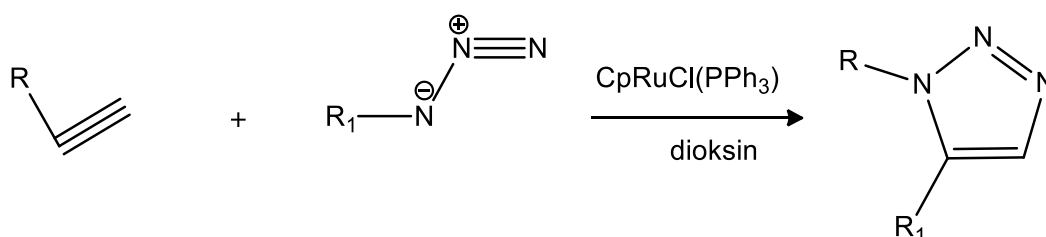
Slika 3. Strukture triazola: a) 1,2,3-triazol i b) 1,2,4-triazol (Shalini i sur., 2011.)

Izrazito važnu ulogu u klik kemiji imaju 1,2,3-triazoli koji su mnogo više od obične poveznice između dviju molekula. Posjeduju različita fizikalno-kemijska svojstva koja im daju određene prednosti. 1,2,3-triazolni prsten sadrži veliki dipolni moment, dok njegova jezgra može stvarati π - π interakciju s aromatskim prstenima kao što je primjerice fenilni prsten. Dva atoma dušika, koji se nalaze u ovoj molekuli, mogu koordinirati s metalnim ionima ili formirati vodikove veze s donorima vodikovih veza. Važno je istaknuti i da su stabilni u fiziološkim uvjetima za razliku od benzenoida, amida i nekih drugih srodnih aromatskih prstena. Nisu skloni degradaciji čak ni u nekim ekstremnim uvjetima poput visoke temperature i jakim oksidacijskim, redukcijskim i hidrolitičkim uvjetima (14).

Supstituirani 1,2,3-triazoli mogu se sintetizirati na različite načine. Najvažniji od njih je Huisgenova cikloadicija u kojoj azidi i alkinu podliježu 1,3-dipolarnoj cikloadiciji uz neki katalizator poput bakra (slika 4) ili rutenija (slika 5) (13).



Slika 4. Azid-alkil cikloadicija katalizirana bakrom (prema Shalini i sur., 2011.)



Slika 5. Azid-alkil cikloadicija katalizirana rutenijem (Shalini i sur., 2011.)

Reakcije 1,3-dipolarne cikloadicije azida s alkinima, katalizirane Cu (I) i Ru (II) ionima, koriste se za sintezu 1,4- i 1,5-disupstituiranih triazola. Kako bi se dobili 1,4,5-trisupstituirani triazoli, potrebno je u reakciju uvesti haloalkine ili aril-halogenide. Njihova je funkcija zarobiti međuprodukt bakrov triazolid čime se postiže reakcija kaskadnog spajanja. Međutim, moguće je i koristiti ligand koji koordinira s prijelaznim metalom kako bi nastalo čim manje 1,4-disupstituiranih nusproizvoda (15).

Velika važnost 1,3-dipolarnih cikloadicija je istaknuta u proteklih nekoliko godina. Naime, sve više pažnje se posvećuje ekološkoj održivosti u sintetskim protokolima. Iz tog se razloga koriste nekonvencionalna otapala, novi Lewisovi katalizatori i ekološki prihvatljivi materijali. Doprinos tome daju i ove reakcije jer omogućuju upotrebu novih tehnologija uključenih u modernu zelenu kemiju poput reakcija potpomognutih mikrovalovima ili ultrazvukom (16).

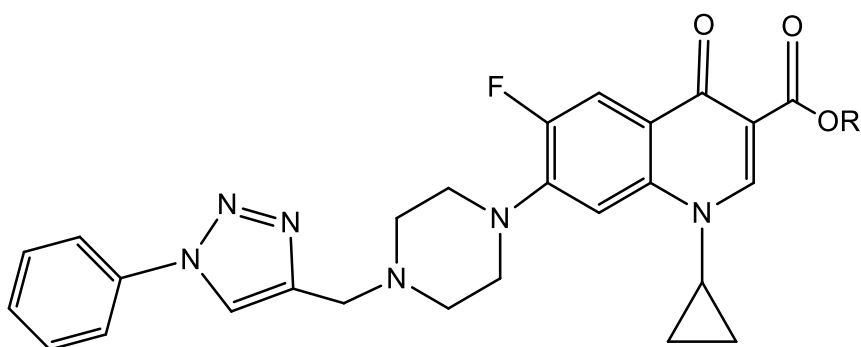
Spojevi koji sadrže 1,2,4-triazole u svojoj strukturi se koriste kao bioaktivni nosači, a čak je i 9 takvih različitih spojeva odobreno od strane FDA za primjenu kao lijekovi. S druge strane, 1,2,3-triazoli su se počeli intenzivno istraživati tek otkrićem klik-kemije 2001. godine. Taj je trenutak u povijesti izazvao veliki napredak u kemiji triazola pri čemu je velik broj

regioselektivnih derivata 1,2,3-triazola postao dostupan. Iz ovog je razloga 1,2,3-triazolni prsten obogatio svoju strukturu raznim bioaktivnim spojevima pri čemu je postignuta njegova aktivnost poput antitumorske, antivirusne, antidijabetičke, antimikrobne, antikonvulzivne i antimalarijske. Unatoč tome, samo je nekoliko lijekova u medicinskoj primjeni kao što su cefatrizin, rufinamid i tazobaktam (17).

2.5. Derivati ciprofloksacina i triazola

Kako bi se sintetizirao lijek s pojačanom biološkom aktivnošću, u mnogim su radovima prikazani različiti derivati koji sadrže ciprofloksacin povezan s triazolom. U jednom takvom radu je sintetizirano čak 21 različitih spojeva. Oni sadrže ciprofloksacin koji je povezan sa 1,2,3-triazolom na jednoj strani, dok je na drugoj strani ester s različitim alkilnim skupinama. Takva je molekula nastala reakcijama propargilacije, esterifikacije i azid-alkin cikloadicijom kataliziranom s Cu (I) ionom.

Svakome od ovih 21 spojeva je procijenjena antibakterijska aktivnost i minimalna inhibicijska koncentracija prema širokom spektru bakterijskih sojeva. Za potrebe ove studije su korištena čak tri različita soja gram pozitivnih bakterija i osam sojeva gram negativnih bakterija. Podaci, koji su dobiveni izračunom minimalne inhibicijske koncentracije ovih konjugata, dokazuju da priroda i sami položaj supstituenta, kao i izomerni učinak na fenilnom prstenu, imaju znatan utjecaj na antibakterijsku aktivnost ovih komponenti. Na slici 6 je prikazana struktura spoja koji je dobiven te je naznačeno da je esterska skupina varijabilna.



Slika 6. Struktura ciprofloksacin-triazol konjugata (Agarval i sur., 2022.)

Rezultati ove studije pokazuju da neki spojevi posjeduju manju, sličnu ili čak istu minimalnu inhibicijsku koncentraciju, prema određenim bakterijskim sojevima, u odnosu na ciprofloksacin. Najbolje rezultate daje spoj koji sadrži metilni ester i para-acetilnu skupinu na

triazolu. S druge strane, spojevi, koji su sadržavali 3,5-dimetil benzenski prsten i etilne i propilne estere, nisu pokazali nikakvu aktivnost ni prema jednome od testiranih bakterijskih sojeva.

Ovim je istraživanjem dokazano da funkcionalne skupine, poput trifluormetoksi, nitro i acetilnih, koje privlače elektrone na poziciji 4 u benzenskom prstenu, imaju velik utjecaj na antibakterijsku aktivnost. Nadalje, esterska skupina, koja se nalazi na suprotnoj strani fenilnog prstena, također ima važnu ulogu u aktivnosti.

Došlo je i do nekih zaključaka na temelju osjetljivosti određenih bakterijskih sojeva. Naime, *Salmonella typhi* je pokazala veću osjetljivost na skoro sve sintetizirane komponente u odnosu na ciprofloksacin. Ta osjetljivost nije bila veća samo u slučaju ako je konjugat sadržavao elektron donorsku grupu.

Dokazano je da nijedna sintetizirana komponenta nije toksična. Odlučeno je da je potrebno provesti daljnja istraživanja i sintetizirati drugu generaciju lijekova. Ti bi se lijekovi konstruirali na način da se uzmu u obzir svi zaključci ove studije te koriste komponente s najboljim rezultatima. Na taj način može doći do otkrića novog lijeka koji će biti djelotvoran prema nekim rezistentnim bakterijama (10).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

Otapala su sušena i pročišćavana prema preporučenom postupku sušenja korištenjem različitih agensa ili destilacijom preko molekulskih sita veličine 3 Å, dok su kupovne kemikalije te reagensi korišteni bez pročišćavanja. Za izvedbu ovog rada također su bili potrebni i laboratorijski uređaji, a od njih su korišteni analitička vaga, UV lampa, IR spektrometar Bruker Alpha i NMR spektrometar Bruker Avance.

Tablica 1. Popis kemikalija korištenih prilikom izrade eksperimentalnog dijela rada

NAZIV	FORMULA	PROIZVOĐAČ
Aluminijev klorid	AlCl_3	Sigma-Aldrich, SAD
Diklormetan	CH_2Cl_2	Kemika, Hrvatska
Acetil-klorid	CH_3COCl	Sigma-Aldrich, SAD
Ferocen	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{Fe}$	Sigma-Aldrich, SAD
Natrijev hidrogenkarbonat	NaHCO_3	Kemika, Hrvatska
Kalijev hidroksid	KOH	Kemika, Hrvatska
Natrijev klorid	NaCl	Kemika, Hrvatska
Metanol	CH_3OH	Kemika, Hrvatska
Natrijev tetrahidroborat	NaBH_4	Kemika, Hrvatska
Natrijev sulfat	Na_2SO_4	Kemika, Hrvatska
Etil-acetat	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$	Kemika, Hrvatska
Octena kiselina	CH_3COOH	Kemika, Hrvatska
Ciprofloksacin	$\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3$	Sigma-Aldrich, SAD
Dimetilformamid	$\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}$	Kemika, Hrvatska
Propagil bromid	$\text{C}_3\text{H}_3\text{Br}$	Fluka, SAD
Sumporna kiselina	H_2SO_4	Kemika, Hrvatska
Natrijev askorbat	$\text{C}_6\text{H}_7\text{NaO}_6$	Thermo Fisher Scientific, SAD
Bakrov (II) sulfat pentahidrat	$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	Kemika, Hrvatska

3.2. Metode

Kako bi se pratio tijek reakcije, korištena je metoda tankoslojne kromatografije. Ova je vrsta kromatografije provedena na pločama 60F-254 koje su presvučene slojem silika gela Merck u odgovarajućem sustavu otapala. Izolirane komponente su detektirane pomoću UV-svjetlosti valne duljine 254 nm.

Kolonska kromatografija provedena je na silika gelu (Fluka; 0,063–0,2 mm), dok su staklene kolone punjene pod utjecajem gravitacijske sile uz eulens diklormetan/metanol. Preparativna tankoslojna kromatografija provedena je na staklenim pločama presvučenim silika gelom (Merk, Kisagel 60 HF₂₅₄), a za mobilnu fazu je korišten sustav otapala diklormetan/metanol. Temperature tališta sintetiziranih spojeva određene su na instrumentu Kofler (Reichert, Wien) te nisu korigirane.

Spektri ¹H NMR i ¹³C NMR snimljeni su na spektrometru Bruker Avance 300 i 600 MHz. Svi uzorci su otopljeni u CDCl₃ DMSO-*d*₆ i mjereni pri 298 K u NMR cjevčici od 5 mm. Kemijski pomaci (δ) u ¹H NMR i ¹³C NMR spektrima su izraženi u ppm u odnosu prema tetrametilsilanu (TMS; δ 0,0 ppm), a konstante sprege (J) u hercima (Hz). Pojedinačne rezonancije su asignirane na temelju njihovih kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta signala i konstanti sprege H-H.

Tumačenje spektroskopskih oznaka i kratica:

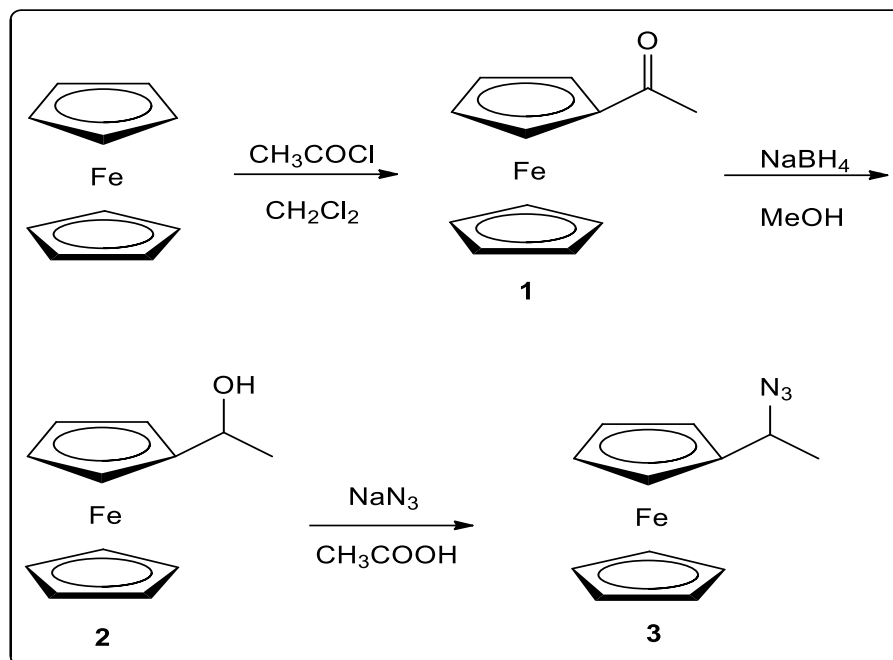
IR-spektri: v = rastezanje (stretching), δ = deformacije (bending), j = jaka vrpca, sr = srednja vrpca, š = široka vrpca.

¹H NMR-spektri: s = singlet, d = dublet, t = triplet, q = kvartet, m = multiplet.

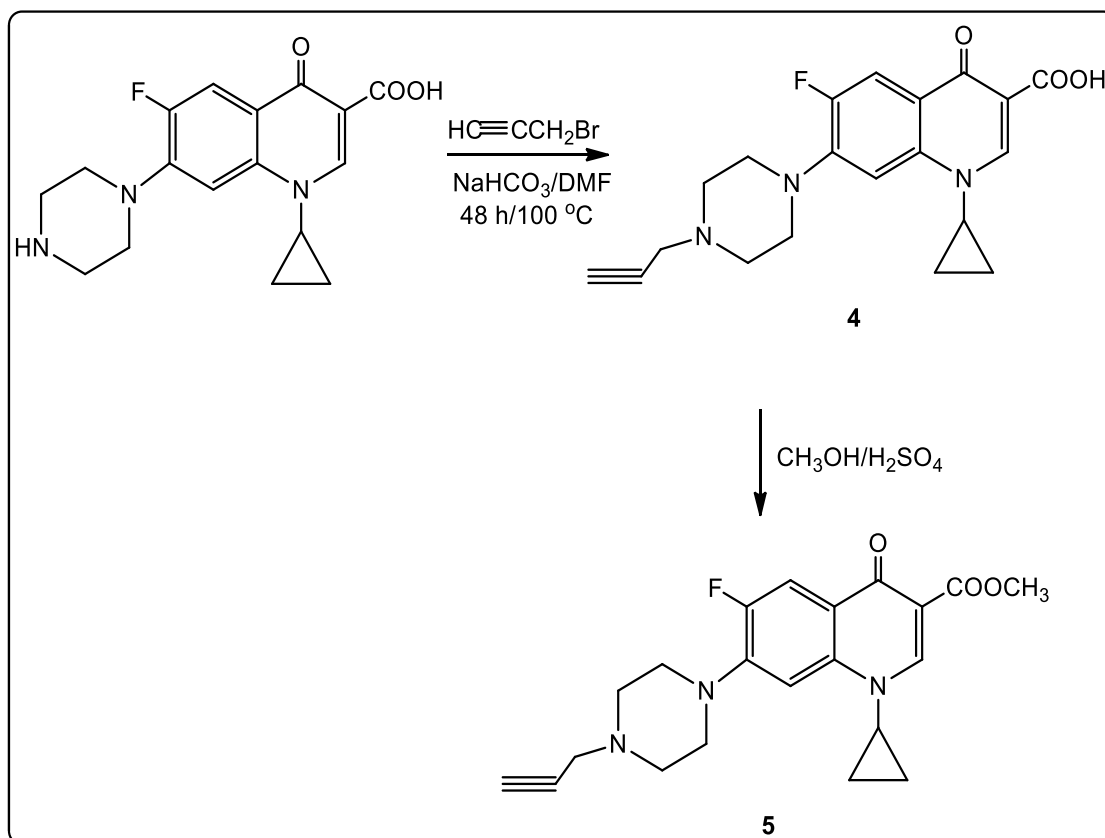
Najveći dio pokusa izveden je u atmosferi inertnog plina i u bezvodnoj sredini.

3.3. Sheme priprave derivata ferocena i ciprofloksacina povezanih triazolnom prstenom

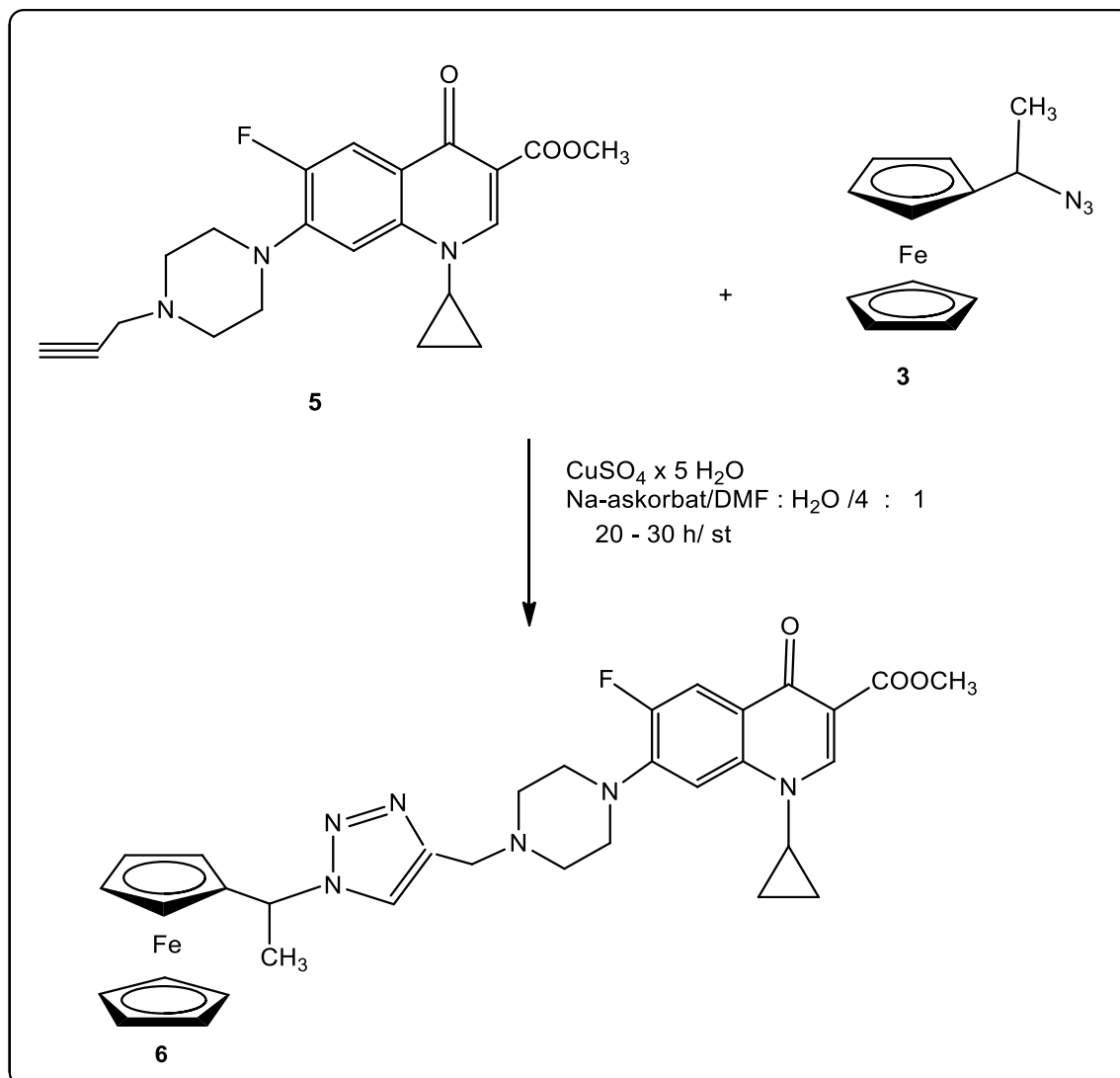
1. Priprava ferocenskog azida



2. Priprava estera propagiranog ciprofloksacina



3. Priprava derivata ferocena i ciprofloksacina povezanih triazolnom poveznicom



3.4. Acetilferocen (1)

Aluminijev klorid (1 eq.; 26,4 mmol; 3,52 g) se suspendira u suhom diklormetanu (20 mL), te se dokapa acetil-klorid (2 mL) otopljen u istom otapalu (10 mL). Na taj način pripravljen Perrierov kompleks prenese se u lijevak za dokapavanje te se polagano dokapava u otopinu ferocena (1 eq.; 26,9 mmol; 5 g) otopljenog u diklormetanu (CH_2Cl_2) uz hlađenje ledom tijekom jednog sata. Reakcijska smjesa se nastavi miješati još 2 sata nakon čega se prebaci u čašu s ledom i provede ekstrakcija diklormetanom. Organski se sloj dobro ispere 5 %-tnom otopinom NaHCO_3 , 5 %-tnom otopinom KOH i zasićenom otopinom NaCl-a do neutralnog te se osuši bezvodnim natrijevim sulfatom i upari do suha. Ovim je postupkom iskorištenje reakcije iznosilo 73 %, a dobiveni su narančasti kristali spoja. Talište takvog dobivenog spoja odgovara onome opisanom u literaturi kristala $t_f = 116\text{-}125\text{ }^\circ\text{C}$.

3.5. 1-Feroceniletanol (2)

U otopinu acetilferocena (1 eq.; 1,0965 mmol; 250 mg) u metanolu (10 mL) postupno se dodaje NaBH_4 (4 eq.; 5,820 mmol; 220 mg) uz miješanje pri sobnoj temperaturi. Reakcijska smjesa se nakon 2 sata prenese u čašu s ledom te se provede ekstrakcija diklormetanom. Organski sloj se ispere zasićenom otopinom natrijeva klorida (NaCl) nakon čega se osuši bezvodnim natrijevim sulfatom te upari do suha. Zatim se koristi kolonska kromatografija kako bi pročistili sirovi produkt na silika gelu pomoću eluensa diklormetan:etil-acetat = 10:1. Ovim je postupkom iskorištenje bilo 86 % te je dobiveno 216,50 mg žutih kristala 1-feroceniletanola (2).

IR (CH_2Cl_2) v: 3592 (š.; OH); 3096 (sl.; =CH); 2929; 2967 (sl.; CH).

^1H NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz; 298 K) δ : 4,32 (2H; pt; CH-Fc); 4,23 (2H; pt; CH-Fc); 4,17 (5H; s; Fc nesupst. prsten); 4,10 (1H; s; CH); 1,81 (1H; s; OH); 1,21 (3H; d; $^3J_{\text{HH}} = 1,3$ Hz; CH_3) ppm.

^{13}C NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz; 298 K) δ : 94,4 (Fc_q); 67,8 (Fc nesupst. prsten); 67,37 (C-Fc); 65,63 (C-Fc); 65,61 (CH); 23,22 (CH_3) ppm.

3.6. 1-Azidoetilferocen (3)

Dobiveni spoj, 1-feroceniletanol (2) (1 eq.; 0,94 mmol; 216,50 mg), se pomiješa s natrijevim azidom (6 eq.; 5,68 mmol; 369,55 mg) i otopi u octenoj kiselini (5 mL). Takva se reakcijska smjesa zagrijava na $50\text{ }^\circ\text{C}$ uz miješanje tijekom 3 sata. Zatim se reakcijska smjesa ohladi na sobnoj temperaturi nakon čega se doda zasićena vodena otopina natrijevog hidrogenkarbonata te se dva puta provede ekstrakcija s diklormetanom. Organski sloj se do

neutralnog pH ispere s vodom i osuši pomoću bezvodnog natrijevog sulfata. Zatim se provede uparavanje na rotacijskom vakuum uparivaču pri čemu zaostaje žuti tekući spoj uljaste konzistencije mase 189,6 mg, a iskorištenje reakcije iznosi 80 %.

IR (CH₂Cl₂) v: 3109 (sl.; =CH); 2927 (sl.; CH); 2101 (j.; N₃) cm⁻¹.

¹H NMR (DMSO-d₆; 400 MHz; 298 K) δ: 4,19 (1H; q; CH); 4,19 (9H; s; CH-Fc; Fc nesupst. prsten); 1,56 (3H; d; CH₃) ppm.

3.7. N-propargil-1-ciklopropil-6-fluoro-4-okso-7-piperazin-1-ilkinolin-3-karboksilna kiselina (4)

Otopini ciprofloksacina (1 eq.; 0,91 mmol; 300 mg) u dimetilformamidu (12 mL) doda se natrijev hidrogenkarbonat (1,2 eq.; 1,09 mmol; 91,22 mg) i propagil bromid (1,2 eq.; 1,09 mmol; 129,2 mg). Reakcijska smjesa se miješa pomoću magnetne miješalice 48 h pri 100 °C. Tijek reakcije se prati pomoću tankoslojne kromatografije. Nakon što je reakcija završila, otapalo se upari, a sirovi produkt se pročisti kolonskom kromatografijom uz korištenje CH₂Cl₂ : CH₃OH, u omjeru 98 : 2, kao eluensa. Nakon pročišćavanja je dobivena svijetlo žuta krutina **4** u iskorištenju od 73 % (1,9 g).

¹H NMR (DMSO-d₆; 400 MHz; 298 K) δ: 15,1 (1H; s; COOH); 8,63 (1H; s; H-2); 7,85 (1H; d; H-5; *J* = 7,83 Hz); 7,56 (1H; H-8; s); 3,82 (s; 1H; CH; H-9); 3,35 (d; 6H; CH₂; piperizin, *J* = 3,71 Hz); 3,21 (1H; s; propagil); 2,68 (s; 2H; CH₂; piperizin; 2H; CH₂; propagil); 1,53-1,1 (4H; CH₂; H-10; H-11) ppm.

¹³C NMR (DMSO-d₆; 400 MHz; 298 K) δ: 173,2 (C=O); 166,5 (C=O); 154,6; 148,3; 144,5; 138,0; 113,4; 110,4; 104,7; 73,6; 52,1; 51,5; 49,8; 46,8; 34,4; 8,1.

3.8. Metil-N-propagil-1-ciklopropil-6-fluoro-4-okso-7-(4-prop-2-inil-piperazin-1-il)-1,4-dihidrokinolin-3-karboksilat (5)

Prethodno dobiveni propagilirani ciprofloksacin (0,41 mmol; 150 mg) otopi se u metanolu (5 mL) te se doda koncentrirana sumporna kiselina (1 mL). Ova se reakcijska smjesa refluxirala 7 h, a tijekom reakcije se prati TLC. Nakon završetka reakcije, dodan je led kako bi se reakcijska smjesa ohladila te dodatkom vodene otopine natrijevog bikarbonata neutralizirala. Nakon neutralizacije provodi se ekstrakcija pomoću diklormetana. Organski se slojevi spoje, isperu s vodom, osuše bezvodnim natrijevim sulfatom te upare do suha. Masa dobivenog sirovog produkta je 155 mg koji je pročišćen kolonskom kromatografijom uz korištenje eluensa CH₂Cl₂ : CH₃OH u međusobnom omjeru 96 : 4. Nakon pročišćavanja dobiveno je 125 mg produkta bijelo-smeđe boje uz iskorištenje koje iznosi 80,53 %, *t*_f =

208–210 °C.

^1H NMR (DMSO- d_6 ; 400 MHz; 298 K) δ : 8,43 (1H; s; H-2); 7,75 (1H; d; H-5; $J = 7,83$ Hz); 7,44 (1H; H-8; s); 3,73 (s; 3H; OCH₃); 3,37 (s; 1H; CH; H-9); 3,35 (d; 6H; CH₂; piperizin); 3,21 (1H; s; propagil); 2,61 (s; 2H; CH₂; piperizin; 2H; CH₂; propagil); 1,26 (2H; CH₂; H-10); 1,09 (2H; CH₂; H-11) ppm.

^{13}C NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz; 298 K) δ : 171,2 (C=O); 165,20 (C=O); 148,2; 143,6; 138,3; 121,9; 111,9; 108,7; 106,8; 78,7; 75,9; 51,2 (OCH₃); 49,4; 45,8; 34,7; 7,3 ppm.

3.9. 1-[4-(1-Feroceniletil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil]-metil-1-ciklopropil-6-fluoro-4-okso-7-(4-prop-2-inil-piperazin-il)1,4-dihidro-kinolin-3-karboksilat (6)

Metilni ester propagil-*N*-ciprofloksacina **5** dobiven u prethodnom koraku (1 eq.; 0,24 mmol; 90 mg) suspendiran je u dimetilformamidu (4 mL) i vodi (1 mL). Nakon toga u otopinu se doda natrijev askorbat (0,2 eq.; 0,05 mol; 9,62 mg) i bakrov (II) sulfat pentahidrat (0,2 eq.; 0,05 mmol; 12,10 mg). Heterogena smjesa se intenzivno miješa 10 minuta na sobnoj temperaturi te se doda 1-azidoetilferocen (**3**) (1,2 eq.; 0,29 mmol; 70,37 mg). Reakcijska smjesa se nastavi miješati na sobnoj temperaturi kroz 24 h nakon čega se prenese u lijevak za odjeljivanje te provede ekstrakcija uporabom etil-acetata. Organski sloj se upari do suha na rotacijskom vakuum uparivaču. Sirovi produkt prvo se pročišćava na kolonskoj kromatografiji uz eluens CH₂Cl₂ : CH₃OH (9 : 2), nakon čega se primijenila preparativna tankoslojna kromatografija uz eluens CH₂Cl₂ : CH₃OH (10 : 1). Dobiveni su žuti kristali mase 94 mg uz iskorištenje od 62,56 %.

^1H NMR (CDCl₃; 400 MHz; 298 K) δ : 8,52 (1H; s; H-2); 8,02 (1H; d; H-5; $J = 7,83$ Hz); 7,33 (1H; s; CH; triazolni prsten); 7,44 (1H; H-8; s); 5,74 (1H; m; CH); 4,32 (1H; s; CH-Fc); 4,23 (1H; s; CH-Fc); 4,19 (2H; s; CH-Fc); 4,17 (5H; s; Fc nesupst. prsten); 3,90 (s; 3H; OCH₃); 3,71 (2H; s; CH₂); 3,40 (s; 1H; CH; H-9); 3,28 (d; 4H; CH₂; piperizin); 2,73 (s; 4H; CH₂; piperizin); 1,91 (3H; d; CH₃); 1,29 (2H; CH₂; H-10); 1,12 (2H; CH₂; H-11) ppm.

^{13}C NMR (DMSO- d_6 ; 100 MHz; 298 K) δ : 172,2 (C=O); 165,20 (C=O); 148,3; 143,8; 143,2 (Cq-triazol); 138,1; 120,9 (CH-triazol); 113,9; 110,7; 104,8; 87,2 (Cq; Fc); 69,1 (C-Fc; nesupstituirani), 68,9; 68,4; 66,1; 65,4 (C-Fc; supstituirani); 56,2 (CH); 52,2 (OCH₃); 49,7 (CH₂); 34,7; 21,4 (CH₃); 8,12 ppm.

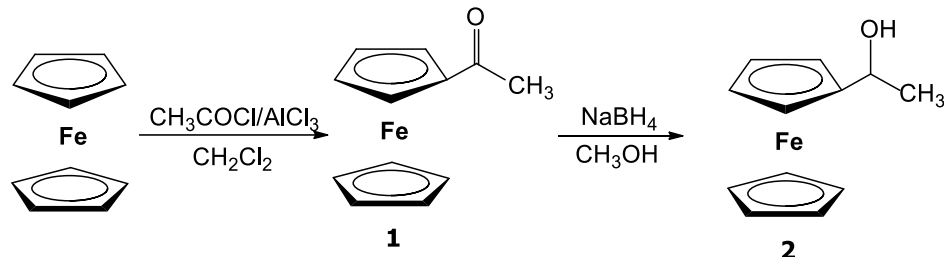
4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Uvod

Cilj ovog rada je sinteza potencijalno biološki aktivnog kopulata 1-[4-(1-feroceniletil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil]-metil-1-ciklopropil-6-fluoro-4-okso-7-(4-prop-2-inil-piperazin-il)1,4-dihidrokinolin-3-karboksilat (**6**) pri čemu su ferocen i metilni ester ciprofloksacina povezani s 1,2,3-triazolnim prstenom. Ovaj rad je podijeljen u dva dijela pri čemu se prvi dio odnosi na sintezu intermedijera 1-azidoetilferocena koji je zatim podvrgnut reakciji 1,3-dipolarne cikloadicije s terminalnim *N*-alkin ciprofloksacinom u prisutnosti bakrovog (II) sulfata pentahidrata kao izvor Cu (I). *N*-propargil ciprofloksacin dobiven je alkiliranjem ciprofloksacina s propargil bromidom uz prisutnost NaHCO₃ i dimetilformamida na temperaturi refluksa te je preveden, u reakciji esterifikacije s metanolom, u odgovarajući ester **5**. U drugom dijelu su strukture sintetiziranih spojeva potvrđene korištenjem IR i NMR spektroskopije.

4.2. Sinteza i spektroskopska analiza prekursora

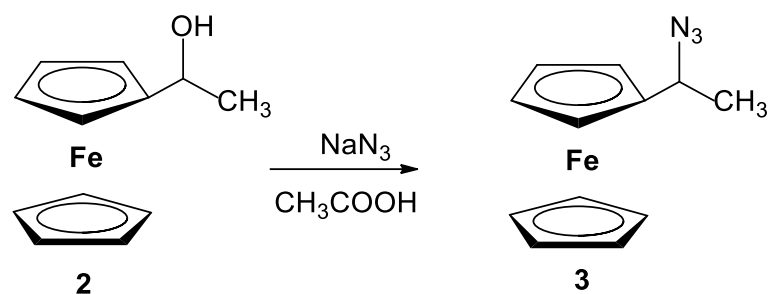
Ferocenski konjugat **6** pripremljen je višestupanjskom sintezom počevši od ferocena i acetil-klorida (CH₃COCl) u prisutnosti aluminijeva klorida (AlCl₃) pri čemu je dobiven acetilferocen (**1**) u 73 %-tnom iskorištenju. Redukcijom pripremljenog ketona **1** u metanolu s NaBH₄ nastaje 1-feroceniletanol (**2**) u iskorištenju od 86 % (shema 4).



Shema 4. Priprava 1-feroceniletanola (**2**)

Prema očekivanju, IR-spektar acetilferocena sadrži signale pri 1642 cm⁻¹, koji odgovaraju karbonilnoj skupini ketona, dok je u IR-spekttru 1-feroceniletanola (**2**) vidljiva apsorpcijska vrpca pri 3592 cm⁻¹ koja odgovara frekvenciji istezanja hidroksilne skupine. ¹H-NMR spektar alkohola **2** snimljen u CDCl₃ sadrži kemijske pomake na 4,32; 4,23 i 4,17 ppm koji se pripisuju ferocenskim protonima, dok se kemijski pomak na 1,81 ppm pripisuje protonu hidroksilne skupine. Kemijski pomaci na 4,10 i 1,21 ppm potvrđuju prisutnost metinske i metilne skupine 1-feroceniletanola.

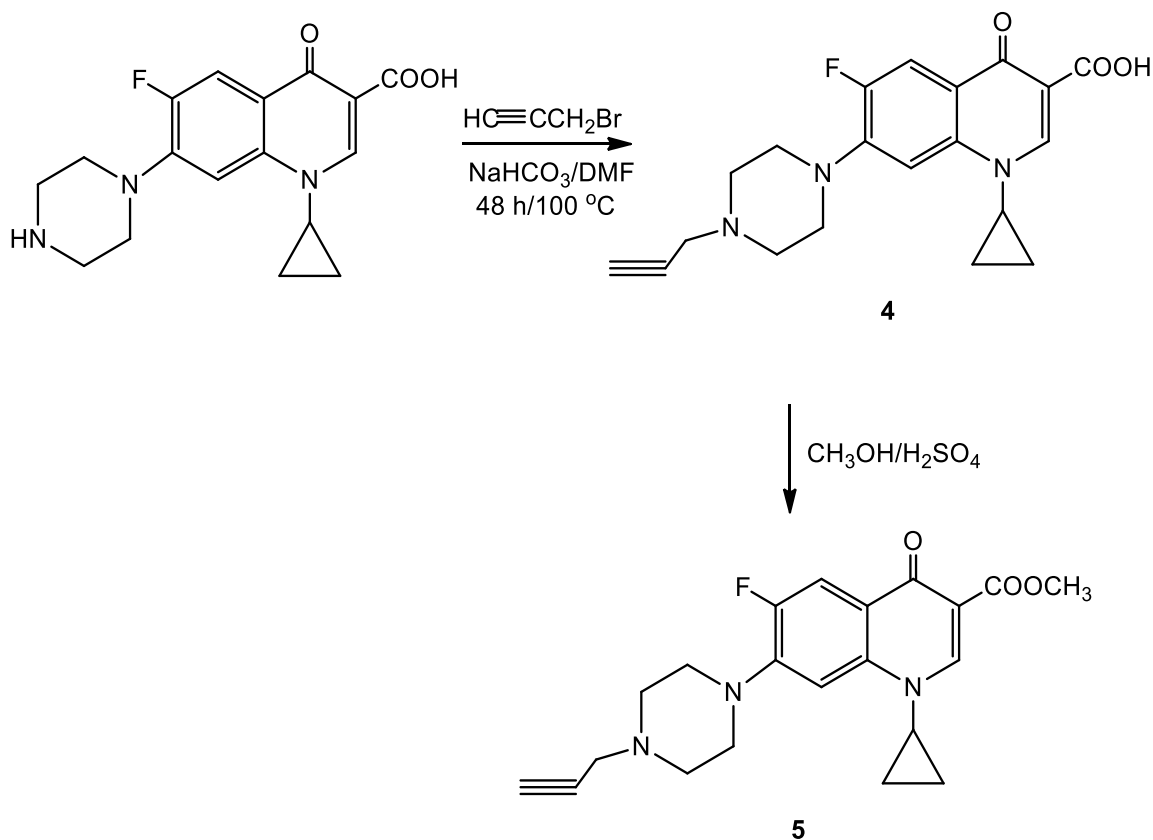
U nastavku je pripremljen ferocenski intermedijer, 1-azidoetilferocen (**3**), reakcijom 1-feroceniletanola (**2**) i natrijeva azida u octenoj kiselini u iskorištenju od 80 % (shema 5).



Shema 5. Priprava 1-azidoetilferocena (**3**)

U IR spektru 1-azidoetilferocena (**3**) vidljiva je apsorpcijska vrpca karakteristična za azido skupinu pri 2102 cm^{-1} . U ^1H NMR spektru prisutni su kemijski pomaci monosupstituiranog ferocena te na 4,19 ppm kemijski pomak metinske skupine i na 1,56 ppm metilenske skupine.

U reakciji alkiliranja ciprofloksacina s propargil bromidom, uz prisutnost natrijevog hidrogenkarbonata u dimetilformamidu, dobiven je *N*-propargil ciprofloksacin **4**, spoj u iskorištenju od 73 %. On je zatim preveden, u reakciji s metanolom, u metil-*N*-propargil-1-ciklopropil-6-fluoro-4-okso-7-(4-prop-2-inil-piperazin-1-il)-1,4-dihidrokinolin-3-karboksilat (**5**) (shema 6).



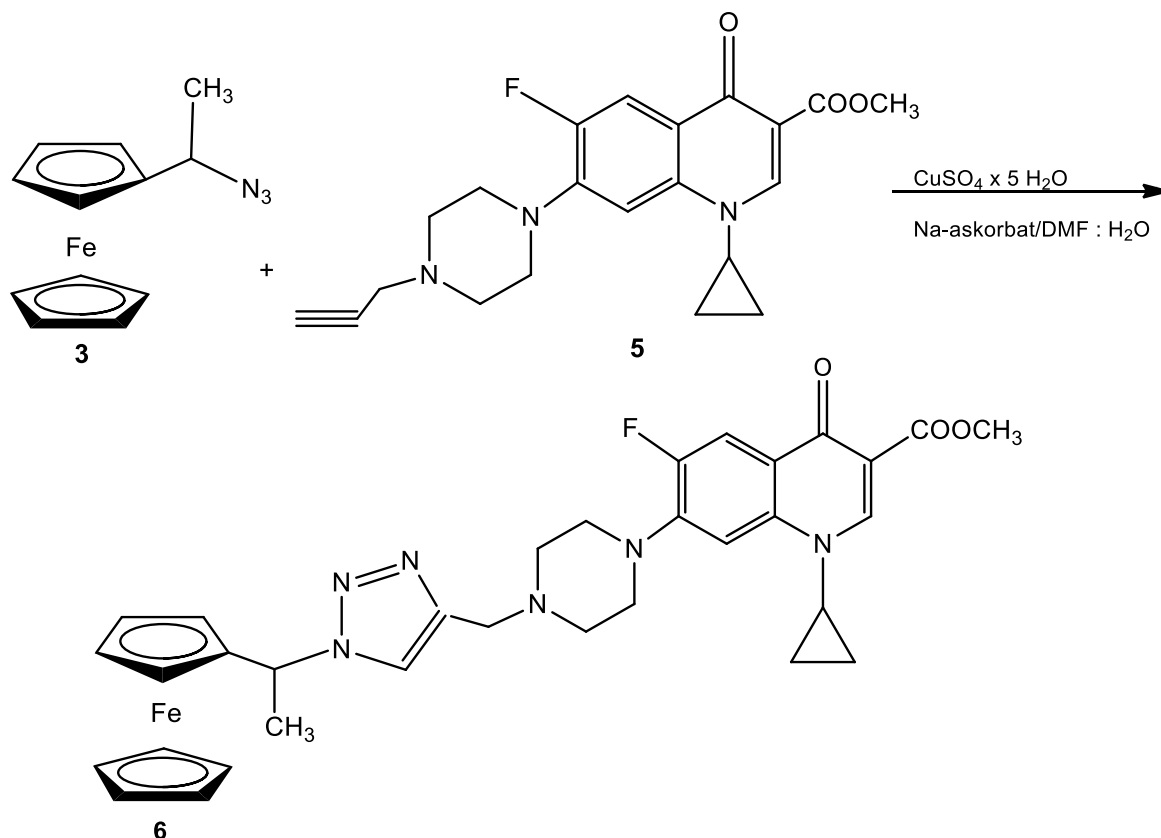
Shema 6. Priprava metilnog estera *N*-propargil ciprofoksacina **5**

U ^1H NMR spektru spoja **4**, snimljenog u DMSO, vidljivi su karakteristični kemijski signali za ciprofloksacin te dodatni signali koji ukazuju na supstituciju propargila na *N*-poziciji CIP-a. Kemijski pomaci za protone aromatskog dijela ciprofloksacina zabilježeni su pri δ 8,64 ppm za H-2, pri 7,82 ppm za H-5 i za H-8 pri 7,57 ppm. Metilenski protoni piperazinskog prstena asignirani su pri δ 3,38 i 2,68 ppm kao dubleti, dok su kemijski pomaci protona ciklopropilnog prstena zabilježeni pri δ 3,82 ppm za H-9, te u području od δ 1,18 i 1,18 ppm za H-10 i H-11. U spektru su asignirani dodatni signali i to pri δ 3,21 ppm za CH proton uvedenog propargila, dok je signal za metilnu skupinu zabilježen pri δ 2,68 ppm. Kemijski pomak za proton hidroksilne skupine kiseline potvrđen je signalom pri 15,1 ppm kao singlet. U ^{13}C NMR spektru, uz signale koji se pripisuju ugljikovim atomima ciprofloksacina, vidljivi su i signali pri δ 78,9 i 45,9 ppm za CH i CH_2 ugljikov atom uvedene propargilne skupine. Slijedom toga se može zaključiti da je na temelju analize spektara potvrđena struktura sintetiziranog spoja N-propargil-1-ciklopropil-6-fluor-7-[4-(2-metilpentanoil)-piperazin-1-il]-4-okso-1,4-dihidrokinolin-3-karboksilne kiseline (**4**). U ^1H NMR spektru pripremljenog estera **5** izostaje signal protona karboksilne skupine, dok je u spektru asigniran novi signal pri 3,73 ppm, kao singlet, što potvrđuje nastajanje metilnog estera spoja **4**. Također i u ^{13}C NMR spektru signal pri 51,2, koji se pripisuje ugljiku $-\text{OCH}_3$ skupine, potvrđuje strukturu sintetiziranog estera **5**.

4.3. Sinteza i spektralna analiza 1-[4-(1-feroceniletil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil]-metil-1-ciklopropil-6-fluoro-4-okso-7-(4-prop-2-inil-piperazin-il)1,4-dihidrokinolin-3-karboksilata (**6**)

4.3.1. Sinteza

Ciljani ferocenski konjugat **6** (shema 7) pripremljen je Cu (I) kataliziranom 1,3-dipolarnom cikloadicijom.

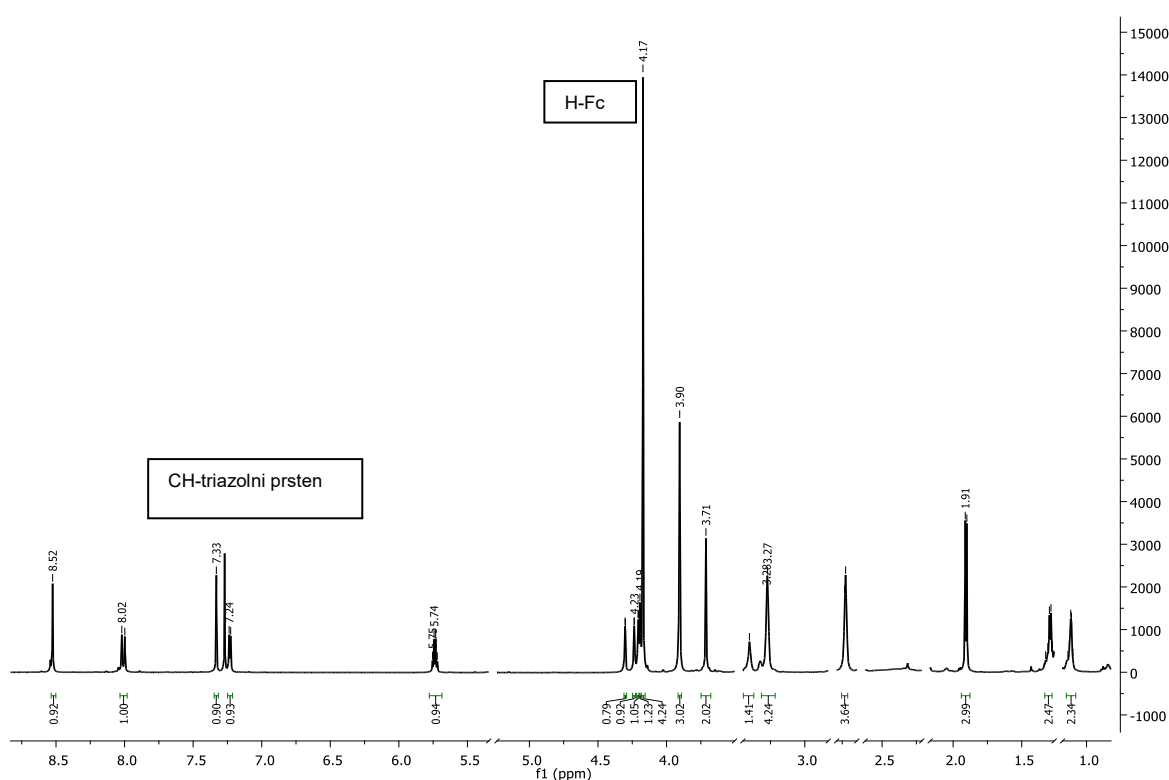


Shema 7. Priprava ferocenskog konjugata **6**

Ovim sintetskim putem, točnije 1,3-dipolarnom cikloadicijom 1-azidoetilferocena (**3**) i *N*1-propargil estera ciprofloksacina **5**, u strukturu je uveden 1,2,3-triazolni prsten. Provedena reakcija je katalizirana Cu (I) ionima, stoga je kao produkt dobiven isključivo 1,4-disupstituirani regioizomer. Reakcija je provedena na sobnoj temperaturi, a kao izvor Cu (I) iona koristio se bakrov (II) sulfat pentahidrat uz Na-askorbat kao reducens. Dobiveni produkt su žuti kristali koji su nastali u iskorištenju od 62,56 %.

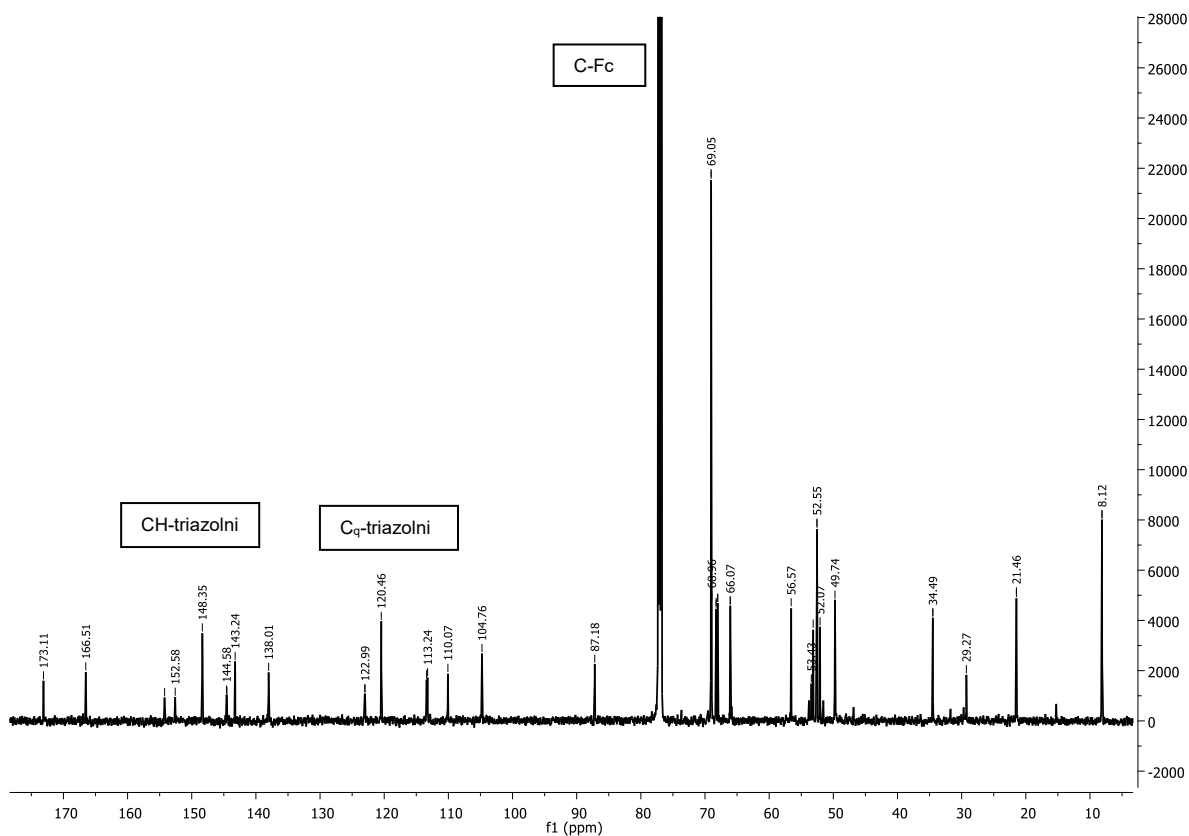
4.3.2. Spektralna analiza

U ^1H NMR spektru spoja **6** snimljenom u CDCl_3 (slika 7) asignirano je 5 signala, u području od δ 4,09 do 4,33 ppm, kao jedan singlet i četiri singleta što potvrđuje prisutnost ferocenske podjedinice i to jednog monosupstituiranog i jednog nesupstituiranog ciklopentadienilnog prstena. Kemijski pomak pri δ 7,27 ppm odgovara kemijskom pomaku protona u triazolnom prstenu čime se potvrđuje da je 1,3-dipolarnom cikloadicijom 1-azidoetilferocena (**3**) i *N*-propargil metilnog estera ciprofloksacina **5** u strukturu uveden 1,2,3-triazolni prsten kao poveznica. Također su u spektru vidljivi signali koji odgovaraju protonima ciprofloksacina te signal pri δ 3,91 ppm koji potvrđuje prisutnost metoksi karbonilne skupine.



Slika 7. ^1H NMR ferocenskog derivata i ciprofloksacina povezanih triazolnim prstenom **6**

U ^{13}C NMR spektru spoja **6** vidljivi su signali atoma ugljika ciprofloksacina, dok signal pri δ 152,55 ppm pripada ugljikovom atomu metilne skupine vezane na samom ciprofloksacinu. Signali atoma ugljika ciklopentadienilnih prstena ferocena zabilježeni su u području od δ 69,05 do 66,07 ppm i to kao 5 signala što potvrđuje supstituciju na jednom prstenu ferocena (slika 8). Signali pri δ 143,25 i 120,46 ppm pripisani su ugljikovim atomima triazolnog prstena.



Slika 8. ^{13}C NMR ferocenskog derivata i ciprofloksacina povezanih triazolnim prstenom **6**

Temeljem spektralne analize može se potvrditi da je reakcijom 1,3-dipolarne cikloadicije ferocenskog azida i *N*-terminalnog alkina metilnog estera ciprofloksacina, uporabom Cu (I) iona kao katalizatora, nastao spoj 1-[4-(1-feroceniletil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil]-metil-1-ciklopropil-6-fluoro-4-okso-7-(4-prop-2-inil-piperazin-il)1,4-dihidrokinolin-3-karboksilat (**6**) u kojem je ferocenska podjedinica povezana s ciprofloksacinom 1,2,3-triazolnom poveznicom.

5. ZAKLJUČCI

1. Višestupanjskom sintezom sintetizirani su ključni prekursor 1-azidoetilferocen (**3**) i metil-*N*-propargil-1-ciklopropil-6-fluoro-4-okso-7-(4-prop-2-inil-piperazin-1-il)-1,4-dihidrokinolin-3-karboksilat (**5**) u iskorištenju od 80 %.
2. Regioselektivnom 1,3-dipolarnom cikloadicijom ferocenskog azida i metilnog estera *N*-propargil ciprofloksacina, uz katalizator bakar (I) ion i Na-askorbat kao reducens u dimetilformamidu, pripremljen je isključivo 1,4-disupstituirani regioizomer, 1-[4-(1-feroceniletil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil]-metil-1-ciklopropil-6-fluoro-4-okso-7-(4-prop-2-inil-piperazin-il)1,4-dihidrokinolin-3-karboksilat (**6**).
3. Struktura dobivenog produkta potvrđena je NMR spektroskopijom. Kemijski pomak u ¹H NMR spektru pri δ 7,27 ppm i signali pri 143,25 i 120,46 ppm u ¹³C NMR spektru potvrđuju da je ferocenska podjedinica povezana s metilnim esterom ciprofloksacina 1,2,3-triazolnom poveznicom.
4. U nastavku istraživanja ispitat će se biološka aktivnost sintetiziranog spoja.

6. POPIS LITERATURE

1. Khwaza V, Mlala S, Aderibigbe BA (2024) Advancements in Synthetic Strategies and Biological Effects of Ciprofloxacin Derivatives: A Review, *Int J Mol Sci.*, **25**, 1-3, <https://doi.org/10.3390/ijms25094919>
2. Ornelas C, Astruc D (2023) Ferrocene-Based Drugs, Delivery Nanomaterials and Fenton Mechanism: State of the Art, Recent Developments and Prospects, *Pharmaceutics*, **15**, 1-6, <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15082044>
3. Al-Taweel S, Al-Saraireh Y, Al-Trawneh S, Alshahateet S, Al-Tarawneh R, Ayed N, i sur. (2023) Synthesis and biological evaluation of ciprofloxacin - 1,2,3-triazole hybrids as antitumor, antibacterial, and antioxidant agents, *Heliyon*, **9**, 1-3, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22592>
4. Togni A (2021) 70 Years Ferrocene, *Chimia*, **9**, 805-806, <https://doi.org/10.2533/chimia.2021.805>
5. Rauf U, Shabir G, Bukhari S, Albericio F, Saeed A (2023) Contemporary Developments in Ferrocene Chemistry: Physical, Chemical, Biological and Industrial Aspects. *Molecules*, **28**, 1-2, <https://doi.org/10.3390/molecules28155765>
6. Astruc D (2017) Why is Ferrocene so Exceptional?, *European Journal of Inorganic Chemistry*, **1**, 6-10, <https://doi.org/10.1002/ejic.201600983>
7. Toma M, Vrček V (2020) Redoks-svojstva ferocenom supstituiranih nukleobaza, *Kem. Ind.* **13**, 21-22, <https://doi.org/10.15255/KUI.2020.025>
8. Patra M, Gasser G (2017) The medicinal chemistry of ferrocene and its derivatives, *Nature Reviews Chemistry*, **1**, 1-2, <http://dx.doi.org/10.1038/s41570-017-0066>
9. Shariati A, Arshadi M, Khosrjerdi MA, Abedinzadeh M, Ganjalishahi M, Maleki A, i sur. (2022) The resistance mechanisms of bacteria against ciprofloxacin and new approaches for enhancing the efficacy of this antibiotic, *Frontiers in Public Health*, **10**, 1-5, <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.1025633>
10. Agarwal A, Singh P, Maurya A, Kumar Patel U, Singh A, Nath G (2022) Ciprofloxacin-Tethered 1,2,3-Triazole Conjugates: New Quinolone Family Compounds to Upgrade Our Antiquated Approach against Bacterial Infections, *ACS Omega*, **7**, 2725-2736, <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c05303>
11. Dudchak R, Podolak M, Holota S, Szewczyk-Roszczenko O, Roszczenko P, Bielawska A i sur. (2024) Click chemistry in the synthesis of antibody-drug conjugates, *Bioorganic chemistry* **143**, 2, <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2023.106982>

12. Buchanan D, Pham AM, Singh SK, Panda SS (2023) Molecular Hybridization of Alcaloids Using 1,2,3-Triazole Based Click Chemistry, *Molecules*, **28**, 2-3, <https://doi.org/10.3390/molecules28227593>
13. Shalini K, Kumar N, Drabu S, Kumar Sharma P (2011) Advances in synthetic approach to and antifungal activity of triazoles, *Beilstein journal of organic chemistry*, **7**, 668-671, <https://doi.org/10.3762/bjoc.7.79>
14. Hou J, Liu X, Shen J, Zhao G, Wang PG (2012) The impact of click chemistry in medicinal chemistry, *Expert Opinion on Drug Discovery*, **7**, 489-498, <https://doi.org/10.1517/17460441.2012.682725>
15. Chi TC, Yang PC, Hung SK, Wu HW, Wang HC, Liu HK, i sur. (2024) Synthesis of Multisubstituted 1,2,3-Triazoles: Regioselective Formationa and Reaction Mechanism, *The Journal of Organic Chemistry*, **89**, 5041, <https://doi.org/10.1021/acs.joc.3c02836>
16. De Nino A, Maiuolo L, Costanzo P, Algieri V, Jiritano A, Olivito F, i sur. (2021) Recent Progress in Catalytic Synthesis of 1,2,3-Triazoles, *Catalysts*, **11**, 1-2, <https://doi.org/10.3390/catal11091120>
17. Lengerli D, Ibis K, Nural Y, Banoglu E (2022) The 1,2,3-triazole 'all-in-one' ring system in drug discovery: a good bioisostere, a good pharmacophore, a good linker, and a versatile synthetic tool, *Expert Opinion on Drug Discovery*, **17**, 1-12, <https://doi.org/10.1080/17460441.2022.2129613>

Izjava o izvornosti

Ja Karla Smrekar izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Vlastoručni potpis