

# Sinteza i karakterizacija harmicena amidnog tipa

---

**Bingula, Zvonimir**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:502547>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-05**



*Repository / Repozitorij:*

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



**Zvonimir Bingula**

**Sinteza i karakterizacija harmicena amidnog tipa**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2022.

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

*Prije svega zahvaljujem svojoj mentorici, prof. dr. sc. Zrinki Rajić, na stručnom vodstvu, na strpljenju i razumijevanju tijekom izrade diplomskog rada.*

*Posebno hvala Marini Marinović na svojoj pomoći, savjetima, uputama, izdvojenom vremenu i strpljenju. Također hvala i svim ostalim suradnicima u laboratoriju. Hvala što ste mi uljepšali izradu ovog diplomskog rada, uvijek ćete ostati u mom sjećanju.*

*Veliko hvala mojoj majci koja mi je omogućila da budem ovo što danas jesam te mojim prijateljima i kolegama koji su mi bili oslonac.*

*Najveća hvala dragom Bogu što mi je davao snage u najtežim trenucima!*

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



## **KRATICE**

ACT	kombinirana terapija koja uključuje artemizinin
ADMA	acetaldehid dimetil-acetal
ADMP	2-azido-1,3-dimetilimidazolinij heksafluorofosfat
CLK	ciklin-ovisna kinaza slična kinaza
COVID-19	bolest uzrokovana koronavirusom-19
CRP	C-reaktivni protein
CYP2C19	citokrom P450 2C19
DBU	1,8-diazabiciklo[5.4.0.]undek-7-en
DCM	diklormetan
DHFR	dihidrofolat-reduktaza
DIEA	<i>N,N</i> -diizopropiletilamin
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamid
DYRK1A	dvojno-specifična tirozin regulirana kinaza-1a
ER $\alpha$	alfa podjedinica estrogenog receptora
G6PD	glukoza-6-fosfat dehidrogenaza
HATU	1-[bis(dimetilamino)metilen]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolo [4,5- <i>b</i> ]piridinij 3-oksid heksafluorofosfat
HPLC	tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti
IR	infracrvena spektroskopija
MAO-AI	inhibitori monoamin oksidaze tipa A
MS	masena spektrometrija
MW	mikrovalno zračenje
NMR	nuklearna magnetska rezonanca
NO	dušikov(II) oksid
<i>p. a.</i>	<i>pro analysi</i>
ROS	reaktivni kisikovi spojevi (engl. <i>reactive oxygen species</i> )
s.t.	sobna temperatura
SZO	svjetska zdravstvena organizacija
TFA	trifluoroctena kiselina
THF	tetrahidrofuran
THH	tetrahidroharmin
TNF- $\alpha$	faktor nekroze tumora alfa
$t_t$	temperatura tališta

UV

ultraljubičasto zračenje

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1. Malaria</b> .....	<b>2</b>
1.1.1. Uzročnik malarije.....	2
1.1.2. Životni ciklus plazmodija.....	3
1.1.3. Klinička slika .....	4
1.1.4. Lijekovi u terapiji malarije.....	5
<b>1.2. Metaloceni</b> .....	<b>9</b>
1.2.1. Ferocen.....	9
1.2.2. Spojevi ferocena s antiproliferativnim djelovanjem .....	9
1.2.3. Spojevi ferocena s antimalarijskim djelovanjem .....	12
<b>1.3. Harmin</b> .....	<b>15</b>
<b>2. OBRAZLOŽENJE TEME</b> .....	<b>16</b>
<b>3. MATERIJALI I METODE</b> .....	<b>18</b>
<b>3.1. Sintaza derivata u položaju 1 <math>\beta</math>-karbolinskog prstena (1-6)</b> .....	<b>20</b>
3.1.1. Sintaza 1-(dimetoksimetil)-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indola (1) .....	20
3.1.2. Sintaza 9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indol-1-karbaldehida (2) .....	20
3.1.3. Sintaza (9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indol-1-il)metanola (3) .....	21
3.1.4. Sintaza 1-(azidometil)-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indola (4) .....	21
3.1.5. Sintaza (9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indol-1-il)metanamina (5) .....	22
3.1.6. Sintaza <i>N</i> -((9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indol-1-il)metil)-2-ferocenilacetamida (6) .....	22
<b>3.2. Sintaza derivata u položaju 3 <math>\beta</math>-karbolinskog prstena (7-11)</b> .....	<b>23</b>
3.2.1. Sintaza metil-1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indol-3-karboksilata (7).....	23
3.2.2. Sintaza (1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indol-3-il)metanola (8) .....	24
3.2.3. Sintaza 3-(azidometil)-1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indola (9).....	24
3.2.4. Sintaza (1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indol-3-il)metanamina (10).....	25
3.2.5. Sintaza <i>N</i> -((1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indol-3-il)metil)-2-ferocenilacetamida (11) .....	25
<b>3.3. Sintaza derivata u položaju 7 <math>\beta</math>-karbolinskog prstena (12-15)</b> .....	<b>26</b>
3.3.1. Sintaza 1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indol-7-ola (harmola) (12) .....	26
3.3.2. Sintaza <i>tert</i> -butil-(2-((1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indol-7-il)oksi)etil)karbamata (13).....	27
3.3.3. Sintaza 2-((1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indol-7-il)oksi)etan-1-amina (14) .....	27
3.3.4. Sintaza <i>N</i> -(2-((1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indol-7-il)oksi)etil)-2-ferocenilacetamida (15)..	28
<b>3.4. Sintaza derivata u položaju 9 <math>\beta</math>-karbolinskog prstena (16-18)</b> .....	<b>29</b>
3.4.1. Sintaza <i>tert</i> -butil-(2-(7-metoksi-1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indol-9-il)etil)karbamata (16). 29	
3.4.2. Sintaza 2-(7-metoksi-1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indol-9-il)etan-1-amina (17) .....	29
3.4.3. Sintaza <i>N</i> -(2-(7-metoksi-1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i> ]indol-9-il)etil)-2-ferocenilacetamida (18).....	30



<b>4. REZULTATI I RASPRAVA .....</b>	<b>32</b>
<b>4.1. Sinteza međuprodukata u položajima 1, 3, 7 i 9 <math>\beta</math>-karbolinskog prstena .....</b>	<b>33</b>
<b>4.2. Sinteza harmicena (6, 11, 15, 18).....</b>	<b>35</b>
<b>5. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>46</b>
<b>6. LITERATURA .....</b>	<b>48</b>
<b>7. SAŽETAK SUMMARY .....</b>	<b>54</b>
<b>8. PRILOZI.....</b>	<b>57</b>
<b>9. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/BASIC DOCUMENTATION CARD</b>	

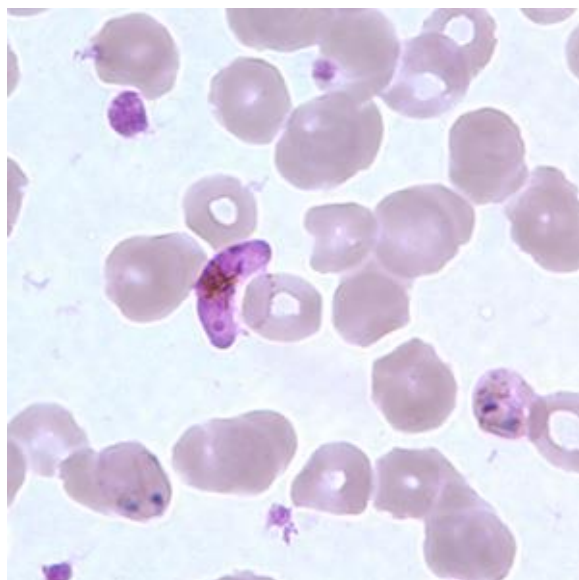
## **1. UVOD**

## 1.1. Malarija

Globalna procjena incidencije malarije u 85 zemalja s registriranom pojavom malarije u 2020. godini iznosi 241 milijun slučajeva, pri čemu Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) procjenjuje da Afrika snosi najveći broj slučajeva, čak 95 %. Smrtnost od malarije u 2020. godini porasla je za 12 % u odnosu na 2019. godinu (procijenjenih 627 000 u 2020. godini u odnosu na 558 000), pri čemu je otprilike 47 000 (68 %) od dodatnih 69 000 smrti uzrokovano poremećajem zdravstvene usluge zbog novonastale pandemije bolesti uzrokovane koronavirusom-19 (COVID-19) (SZO, Malaria Report, 2021).

### 1.1.1. Uzročnik malarije

Uzročnik malarije je parazit iz roda *Plasmodium*, jednostanični eukariot iz carstva Protozoa te koljena Apicomplexa. Bolest kod čovjeka uzrokuju vrste *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. vivax* i *P. knowlesi*. Najveći broj smrtnih slučajeva i težih kliničkih slika pripisuje se zarazi s *P. falciparum* (Slika 1), dok ostali uzročnici predstavljaju manje od 10 % slučajeva. Epidemiološki i geografski gledano, *P. falciparum* prevladava u subsaharskoj Africi, gdje je i većina smrtnih slučajeva, *P. vivax* u jugoistočnoj Aziji, Južnoj Americi te Etiopiji, dok je *P. ovale* rasprostranjen na području zapadne Afrike i Azije. *P. knowlesi* je prvotno bio parazit primata, a danas može izazvati i opasne komplikacije u ljudi (Phillips i sur., 2017; Kavunga-Membo i sur., 2018).



**Slika 1.** Gametocit *P. falciparum* u tankom razmazu krvi (preuzeto s [www.mcdinternational.org](http://www.mcdinternational.org))

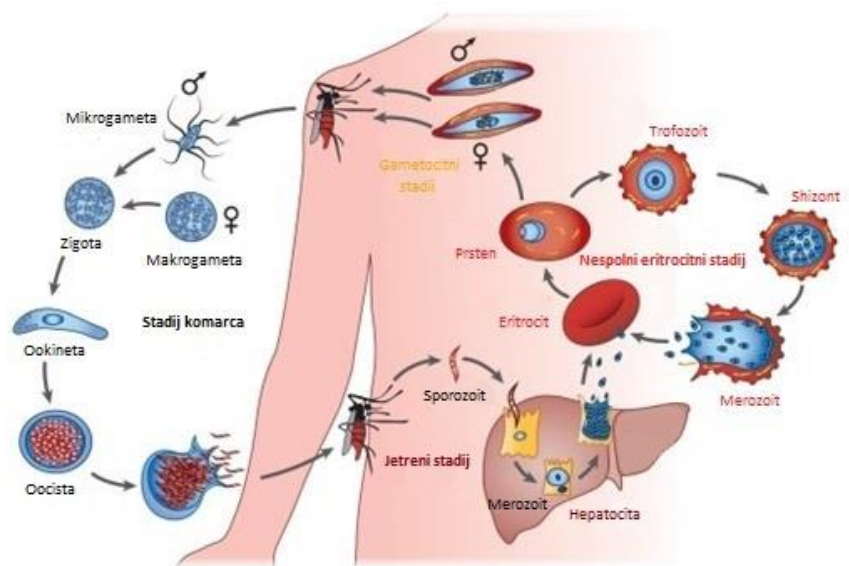
### 1.1.2. Životni ciklus plazmodija

Ciklus plazmodija može se podijeliti na dvije faze i sličan je kod svih vrsta plazmodija. Prva faza odnosi se na infekciju domadara, dok se druga odnosi na prijenos sa zaraženog domadara na novog domadara preko insekta vektora. U slučaju svih pet vrsta roda *Plasmodium* koji inficiraju čovjeka vektori su komarci iz roda *Anopheles* (Slika 2).



**Slika 2.** Komarac roda *Anopheles*, prijenosnik plazmodija (preuzeto s [www.scientistsagainstmalaria.net](http://www.scientistsagainstmalaria.net))

Životni ciklus plazmodija (Slika 3) započinje ubodom zaraženog komarca pri čemu sporozoiti iz komarca ulaze u krvotok domaćina te se deponiraju u dermis. Zatim vrlo brzo migriraju u jetru domaćina gdje se rapidno razmnožavaju u procesu shizogonije čime nastaju merozoiti (Sato, 2021).



**Slika 3.** Životni ciklus vrste *P. falciparum* (preuzeto i prilagođeno prema Alexander G. Maier i sur., (2018) uz dopuštenje izdavača)

Merozoiti nakon pucanja hepatocita izlaze iz jetre ponovno u krvotok i inficiraju crvene krvne stanice, čime započinje nespolni reproduktivni dio životnog ciklusa, koji se smatra simptomatskom fazom bolesti. Izuzetak su vrste *P. vivax* i *P. ovale* jer mogu u jetri tvoriti dormantnu fazu u formi hipnozoita, pri čemu se bolest može javiti i mjesecima nakon liječenja primarne infekcije. Od invazije eritrocita do hemolize treba proći najčešće 36-72 sata. U eritrocitu merozoiti prvo prelaze u trofozoit, a zatim u shizont koji uzrokuje pucanje eritrocita te dolazi do infekcije drugih crvenih krvnih stanica. Međutim, neki merozoiti mogu diferencirati u muške i ženske gametocite, koji se koncentriraju u kapilarama kože, a nakon uboda komarca prelaze u novog domaćina (Phillips i sur., 2017). U komarcu se spajanjem muške i ženske gametocite formiraju diploidne zigote. Zigota se transformira u pokretljivu i invazivnu ookinetu, koja putuje kroz stijenku probavnog sustava te se transformira u oocistu. Pucanjem oociste oslobađaju se sporozoiti koji sazrijevaju u žlijezdama slinovnicama komarca te nakon uboda prelaze u čovjeka i ciklus se ponavlja (Kori i sur., 2018).

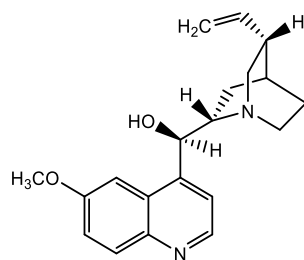
### 1.1.3. Klinička slika

Simptomi malarije mogu započeti već prvim pucanjem shizonta i otpuštanjem merozoita u perifernu cirkulaciju. Kako se ciklusi razmnožavanja ponavljaju, tako raste i razina parazitemije (dolazi do porasta tjelesne temperature te razina C-reaktivnog proteina (CRP-a) i faktora nekroze tumora  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )) (Milner, 2018). Najčešći simptomi malarije uključuju vrućicu, drhtanje, znojenje, mučninu i povraćanje, vrtoglavicu i glavobolje, proljev te bolove u abdomenu, kralježnici i zglobovima (Bria i sur., 2021). Lakši oblik malarije lako je liječiti za vrijeme svake simptomatske epizode pravilno usklađenom terapijom antimalaricima pa većina pacijenata lako preboli infekciju (Milner, 2018). Kod težeg oblika malarije povećane su razine hemozoina, TNF- $\alpha$ , dušikovog-(II) oksida (NO) i smanjena je razina eritropoetina te je prisutna hiperhepcidinemija, povećana razina hepcidina (hormona regulatora metabolizma željeza). Hiperhepcidinemija doprinosi smanjenoj eritropoezi (Balaji i sur., 2020). Teški oblik malarije najčešće uzrokuje *P. falciparum* endotelnom citoadherencijom kojom dolazi do nakupljanja inficiranih eritrocita u vitalnim organima poput mozga, jetre i slezene. Klinička slika teškog oblika malarije uključuje konvulzije, komu, respiratorne poteškoće, povraćanje, pulmonarni edem, hemoglobinuriju, dok su laboratorijski pokazatelji anemija, acidoza, hipoglikemija, žutica, oštećenje bubrega te hiperparazitemija. Koma, bubrežna disfunkcija te acidoza gotovo uvijek prethode smrti kod odraslih i djece (Plewes i sur., 2019).

#### 1.1.4. Lijekovi u terapiji malarije

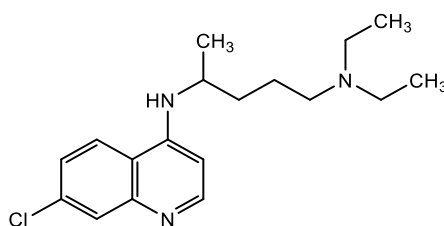
S obzirom na kemijsku strukturu lijekovi u terapiji malarije mogu se podijeliti u pet skupina. Prvu skupinu čine arilni amino-alkoholi (kinin) i 4-aminokinolini (klorokin), u drugu skupinu spadaju 8-aminokinolini (primakin), treću skupinu čine naftokinoni (atovakvon), u četvrtoj skupini se nalaze antifolati (pirimetamin, progvanil), dok se peta skupina sastoji od endoperoksida (artemizinin i njegovi derivati) (Sato, 2021). S obzirom na životni ciklus plazmodija na koji djeluju, antimalarike svrstavamo u četiri skupine: gametocide, krvne shizontocide, tkivne shizontocide te sporontocide. Gametocidi djeluju na gametocite parazita u krvi čime sprječavaju širenje malarije sa zaražene osobe na nezaraženu ženku komarca roda *Anopheles*, a najznačajniji predstavnici su artemizinin, atovakvon i primakin (Sevne i sur., 2010). Krvni shizontocidi djeluju na nespolne forme eritrocitne faze plazmodija i sprječavaju razvoj ranih simptoma malarije, pri čemu su najznačajniji lijekovi kinin, klorokin i artemizinin. Tkivni shizontocidi djeluju na parazita u jetri te služe u prevenciji relapsa kod vrsta *P. ovale* i *P. vivax* koji uzrokuju hipnozoiti u jetrenoj fazi životnog ciklusa plazmodija, a primjeri lijekova u praksi su tafenokin i primakin. Sporontocidni antimalarici sprječavaju razvoj oocita u komarcu, posljedično sprječavajući širenje zaraze. U sporontocidne antimalarike ubrajaju se primakin i pirimetamin. Zasebnu skupinu čine profilaktici koji služe u prevenciji infekcije malarije kod osoba koje putuju u rizične zemlje, pogotovo kod putnika sa slabijim imunitetom. U profilaksu spadaju antimalarici poput pirimetamina, progvanila te primakina (Alven i Aderibigbe, 2019; Belete, 2020; Baird, 2019; Llanos-Cuentas i sur., 2019).

Kinin (Slika 4) je alkaloid kininovca koji ubrajamo u skupinu arilnih amino-alkohola. Odlikuje se bazičnim svojstvima i koristi se u obliku soli. Ima rapidno shizontocidno djelovanje na eritrocitni stadij parazita malarije te gametocidno na vrstu *P. vivax*. Mehanizam djelovanja arilnih amino-alkohola nije potpuno razjašnjen poput mehanizma djelovanja 4-aminokinolina, ali smatra se da djelomično sprječavaju formiranje hemozoina pri čemu dolazi do pucanja probavnih vakuola i smrti stanice. Brzo se apsorbira nakon peroralne i parenteralne primjene, s vršnim koncentracijama u plazmi unutar 1-3 sata. Kinin prelazi placentu i nalazimo ga čak u cerebrospinalnoj tekućini. Niskog je terapijskog indeksa i ima nezanemarive nuspojave poput cinchonizma (zbir simptoma koji uključuje tinitus, probleme sa sluhom, glavobolju i mučninu), proljev, povraćanje te hipoglikemiju. Najčešće se koristi kao druga linija liječenja, u kombinaciji s doksiciklinom, tetraciklinom i/ili klindamicinom te u kombinaciji s klindamicinom za terapiju malarije u prvom tromjesječju trudnoće (Achan i sur., 2011; Wicht i sur., 2020).



**Slika 4.** Kemijska struktura kinina

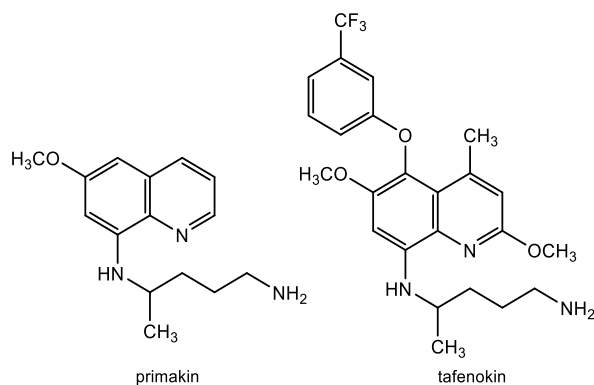
Klorokin (Slika 5) ubrajamo u 4-aminokinoline te najčešće dolazi u obliku fosfata. Djeluje jedino na eritrocitni stadij plazmodija. Na primjeru klorokina može se objasniti mehanizam djelovanja 4-aminokinolina. U probavnim vakuolama plazmodija razgrađuje se hemoglobin, pri čemu nastale aminokiseline koristi kao hranu, dok slobodni hem polimerizira u kristalni metabolit hemozoin. Klorokin djeluje na način da se veže visokim afinitetom za hem, tj. protoporfirin IX, te na taj način sprječava formiranje hemozoina, dolazi do nakupljanja toksičnog hema, što vodi do smrti parazita. Unatoč povećanoj rezistenciji, rabi se kao siguran lijek kod trudnica (prolazi placentu bez štetnih učinaka na fetus), dojilja te novorođenčadi i male djece. Od nuspojava se pojavljuju gastrointestinalne smetnje i svrbež, dok su rijetki neurološki i kardiološki simptomi (Biamonte i sur., 2013; Coban, 2020).



**Slika 5.** Kemijska struktura klorokina

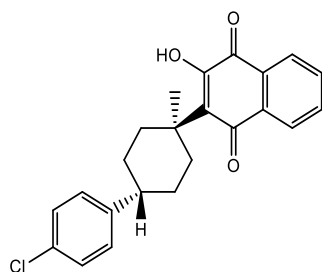
Primakin (Slika 6) predstavlja skupinu 8-aminokinolina, a sintetiziran je po uzoru na prvi dostupan sintetski antimalarik plazmokin. Primakin i ostali 8-aminokinolini djeluju kao tkivni shizontocidi, hipnozoitocidi i gametocidi (pri čemu primakin dodatno djeluje kao sporontocid), no posjeduju slab utjecaj na nespolnu fazu razmnožavanja. Potrebna je pažnja kod pacijenata s nedostatkom glukoza-6-fosfat dehidrogenaze (G6PD), što je često spolno vezano nasljedno svojstvo u tropskom području (Ashley i sur., 2014; Nqoro i sur., 2017). S obzirom da se gen za G6PD enzim nalazi na X kromosomu, muškarci s nedostatkom gena imat će potpuni nedostatak enzima, dok će žene imati pola somatskih stanica s prisutnim G6PD enzimom, a pola somatskih stanica neće imati prisutan enzim G6PD (Chu i sur., 2018). Osim toga, terapijski režim od 14 dana smanjuje adherentnost u pacijenata. Analog primakina tafenokin (Slika 6) također pokazuje aktivnost spram hipnozoita. Prate ga iste nuspojave kod

pacijenata s nedostatkom G6PD, no prednost tafenokina u odnosu na primakin je što se daje samo jedna doza lijeka (Biamonte i sur., 2013).



**Slika 6.** Kemijske strukture primakina i njegovog analoga tafenokina

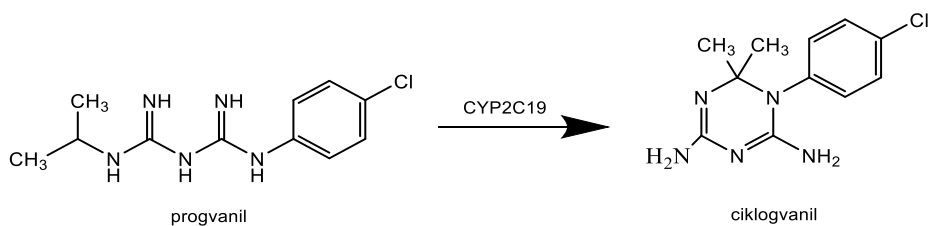
Atovakvon (Slika 7) ubrajamo u skupinu hidroksinaftokinona. Djeluje vežući se na mjesto ubikvinona na citokromskom bc<sub>1</sub> kompleksu, pri čemu inhibira mitohondrijski lanac prijenosa elektrona te dolazi do naglog narušavanja membranskog potencijala membrane mitohondrija (Schlitzer, 2008). Atovakvon je prvi odobreni antimalarik koji djeluje na mitohondrije plazmodija. Učinkovit je protiv spolnih oblika plazmodija u domaćinu i prijenosniku, odnosno sprječava prijenos malarije s komarca na čovjeka. Atovakvon u kombinaciji s progvanilom je učinkovit i siguran lijek za trudnice i djecu.



**Slika 7.** Kemijska struktura atovakvona

Progvanil je prvi antifolat koji je razvijen za liječenje malarije (Belete, 2020). Progvanil sam po sebi nema izravan učinak na parazita, ali pojačava djelovanje atovakvona. Smatra se da čini membrane mitohondrija osjetljivijima na pad membranskog potencijala koji izaziva atovakvon. Također, progvanil se pomoću enzima citokroma P450 2C19 (CYP2C19) u jetri pretvara u metabolit ciklogvanil (Slika 8) koji djeluje kao inhibitor dihidrofolat-reduktaze (DHFR), enzima ključnog u stvaranju folata i razmnožavanju parazita. Kombinacija atovakvona i progvanila u fiksnoj dozi koristi se kao prva linija liječenja infekcije *P. falciparum* izvan endemskih zemalja te kao prva linija profilakse kod putnika (Staines i sur., 2018).

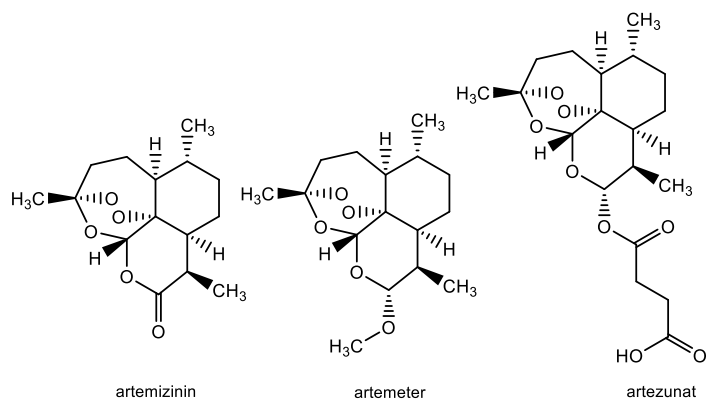




**Slika 8.** Aktivacija progvanila u ciklogvanil

Artemizinin (Slika 9) je spoj seskviterpenske strukture prisutan u nadzemnim dijelovima slatkog pelina (*Artemisia annua*). Posjeduje antimalarijsko, antitumorsko te antiinflamatorno djelovanje, a njegovi derivati djeluju i kao antihelmintici, fungicidi te sadrže antivirusna svojstva. U terapiji se koristi kao dio kombinirane terapije koja uključuje artemizinin (engl. *artemisinin-based combination therapy*, ACT), koja je dovela do značajnog smanjenja smrtnosti te ju SZO preporuča kao terapiju izbora kod teške i nekomplicirane *P. falciparum* malarije. Problem predstavlja kratko vrijeme polueliminacije, tako da se uvijek primjenjuje uz dugodjelujući lijek poput lumefrantina, amodiakina ili piperakina (Badshah i sur., 2018).

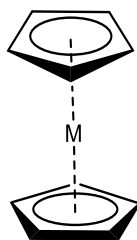
Mehanizam djelovanja artemizinina uključuje fero-ionima potaknutu redukciju endoperoksidne veze, pri čemu nastaju ugljikovi radikali koji reagiraju s određenim skupinama proteina i ostalim biomolekulama parazita. Izvor fero-iona za katalizu reakcije je hem koji se oslobađa prilikom razgradnje hemoglobina. Artemizininini su izrazito učinkoviti protiv intraeritrocitnih nespolnih oblika parazita te nezrelih gametocita (Tilley i sur., 2016; Abdulla i sur., 2016). Osim artemizinina, u terapiji malarije koriste se i njegovi derivati, artemeter te artezunat, koji posjeduju nešto bolja farmakokinetička svojstva. Toksični učinci artemizinina su rjeđi od ostalih antimalarika i uključuju mučninu, povraćanje, anoreksiju i vrtoglavice, no smatra se da su to više posljedice akutne malarije, nego primjene samog lijeka (Rosenthal, 2008).



**Slika 9.** Kemijska struktura artemizinina, artemetera i artezunata

## 1.2. Metaloceni

Metaloceni su spojevi koji sadrže dva  $\pi$ -vezana ciklopentadienilna liganda za metalni atom u oksidacijskom stanju +2 (Slika 10). Istraživanje ove vrste spojeva počelo je 1952. godine otkrićem ferocena. Često ih zbog oblika zovu „sendvič kompleksi“, dok se oni s jednim  $\pi$ -perimetrom zovu „polusendvič kompleksi“. Strukturno ih dijelimo na klasične metalocene s paralelnim ciklopentadienilnim prstenima te nagnute metalocene s dodatno vezanim ligandima na metal. Klasični metaloceni najčešće sadrže ione željeza, rutenija i kobalta, dok nagnuti metaloceni sadrže titanij, cirkonij, vanadij, niobij te molibden (Gasser i sur., 2011).



**Slika 10.** Kemijska struktura metalocena

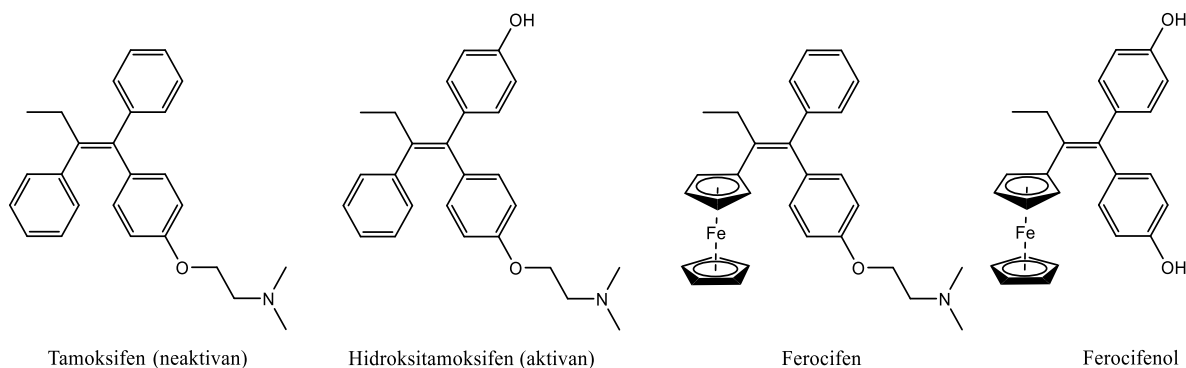
### 1.2.1. Ferocen

Ferocen je narančasta krutina otkrivena neuspješnom reakcijom u pripravi fulvalena (reakcija ciklopentadienovog bromida sa željezovim-(II) kloridom). Važan je spoj u organometalnoj kemiji jer je stabilan u vodi i na zraku, posjeduje oksidoredukcijska svojstva te je mala i rigidna lipofilna molekula koja lako prolazi staničnu membranu. Ferocen je slabo toksičan, podložan je kemijskoj modifikaciji te je komercijalno dostupan. Ferocenski se spojevi intenzivno istražuju u medicinske svrhe jer brojni derivati ferocena pokazuju antitumorsko, antimalarijsko, antifungalno i/ili antileišmanijsko djelovanje (Dive i Biot, 2008; Semencić i Barišić, 2017). Spojevi ferocena pokazuju oksidacijsko-redukcijsko djelovanje, pri čemu prelaze u kationske radikale značajne stabilnosti - fericenijeve ione, a reakcija pretvorbe je reverzibilna (Peter i Aderibigbe, 2019).

### 1.2.2. Spojevi ferocena s antiproliferativnim djelovanjem

Mnoštvo metalocena nalazi se u istraživanjima potencijalnih novih antitumorskih lijekova. Ferocifen i ferocifenol prvi put su sintetizirali Jaouen i sur. 1996. godine. Trenutno se u fazi istraživanja nalazi mnogo različitih derivata ferocifena i ferocifenola (Slika 11). Ti spojevi u svojoj strukturi sadrže tamoksifen vezan za ferocenski dio. Dodavanjem različitih metalocena nastojalo se pripremiti nove spojeve poboljšane biološke aktivnosti, pri čemu su od svih ispitanih metalocena ferocenski hibridi pokazivali najbolje rezultate. Ovi spojevi pokazuju

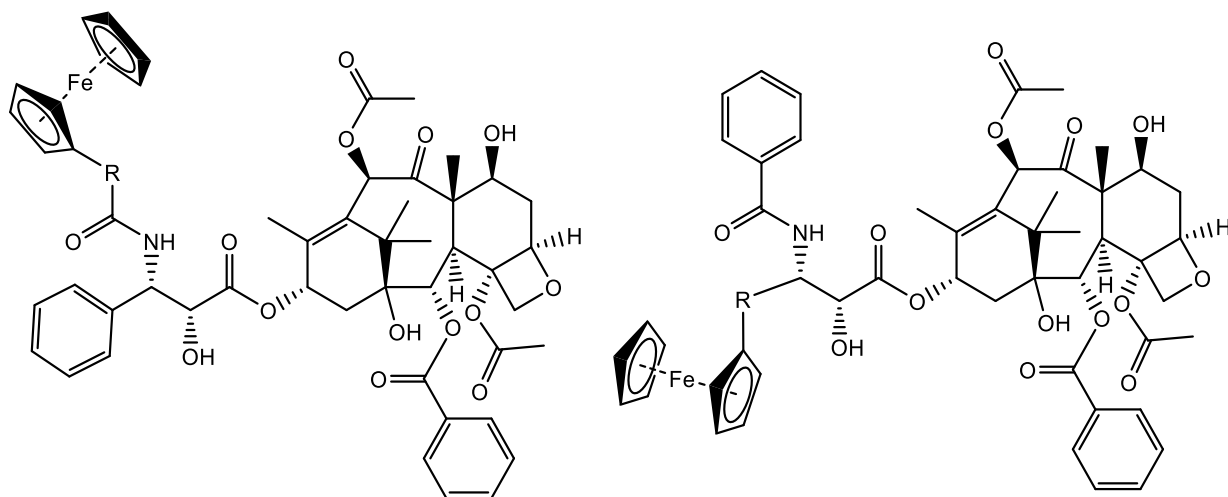
antiproliferativne učinke zbog antiestrogenog djelovanja, koje je posljedica kompetitivnog vezanja na  $\alpha$  podjedinicu estrogenog receptora ( $ER\alpha$ ), te citotoksične učinke, zbog reverzibilne oksidacije Fe(II) u Fe(III) i daljnjeg generiranja ROS-a (Fenton reakcija) te formiranja kinonmetida, elektrofilnog spoja koji Michaelovom adicijom reagira s raznim biomakromolekulama unutar stanice. Nastajanje adukta ferocifena i glutaciona ili dušičnih baza odgovorno je za opću toksičnost i mutageni potencijal tog spoja (Gasser i sur., 2011; Zhang i Sadler, 2017; Idlas i sur., 2021).



**Slika 11.** Kemijske strukture tamoksifena te pripadnih ferocenskih derivata

Wang i sur. uspjeli su poboljšati djelovanje hidroksitamoksifena modificiranjem spoja u ferocifenol. Hidroksitamoksifen, poznat po izraženom antagonistčkom učinku na MCF-7 hormonski ovisnu ( $ER\alpha+$ ) staničnu liniju humanog adenokarcinoma dojke te slabom učinku na hormonski neovisnu ( $ER\alpha-$ ) MDA-MB-231 staničnu liniju humanog karcinoma dojke, modifikacijom u ferocifenol počinje pokazivati izraziti antiproliferativan učinak na  $ER\alpha+$  i  $ER\alpha-$  stanice. Ovaj mehanizam predstavlja alternativu apoptozi u zaustavljanju proliferacije stanice i zaobilazi problem rezistencije karcinoma na proapoptotičko stimuliranje (Wang i sur., 2017).

Također je ispitano antiproliferativno djelovanje ferocenskih derivata paklitaksela na humane tumorske stanične linije poput adenokarcinoma alveolarnih bazalnih epitelnih stanica (A549), kolorektalnog adenokarcinoma (Colo 205 i HCT116) te adenokarcinoma dojke (MCF7). Učinkovitost je ovisila o položaju ferocena unutar strukture, pri čemu *N*-benzoi-supstituirani derivati (tip 1) pokazuju najbolji citostatski učinak (Slika 12). Također, poveznica između ferocena i paklitaksela utječe na aktivnost. Primijećeno je da najvišu aktivnost ima spoj bez aromatske poveznice, dok s aromatskom poveznicom aktivnost pada s promjenom položaja supstitucije benzena sljedećim nizom: *meta*-, *para*- te *orto*-supstituirani benzen koji pokazuje najmanju aktivnost (Chellan i Sadler, 2020).

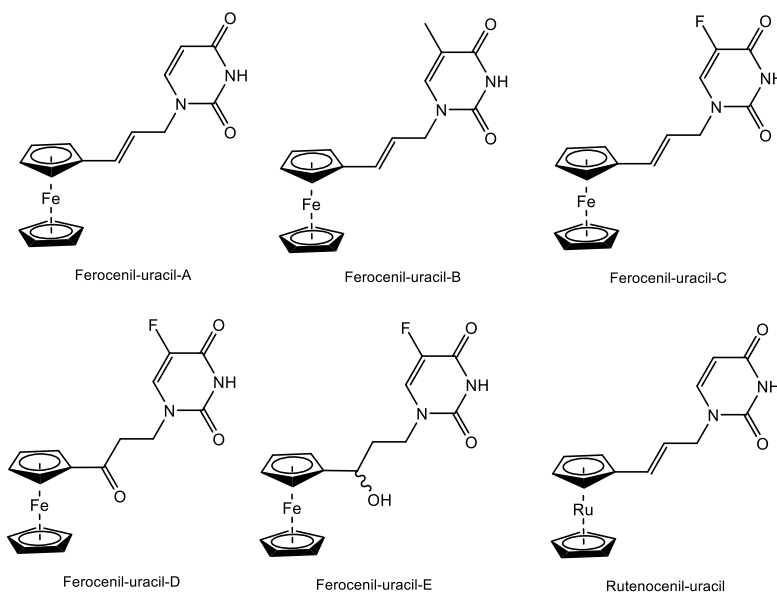


Tip 1 derivat feroceni-paklitaksela  
 R = bez poveznice, o-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, m-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, p-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>

Tip 2 derivat feroceni-paklitaksela  
 R = bez poveznice, o-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, m-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, p-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>

**Slika 12.** Kemijske strukture konjugata ferocena i paklitaksela

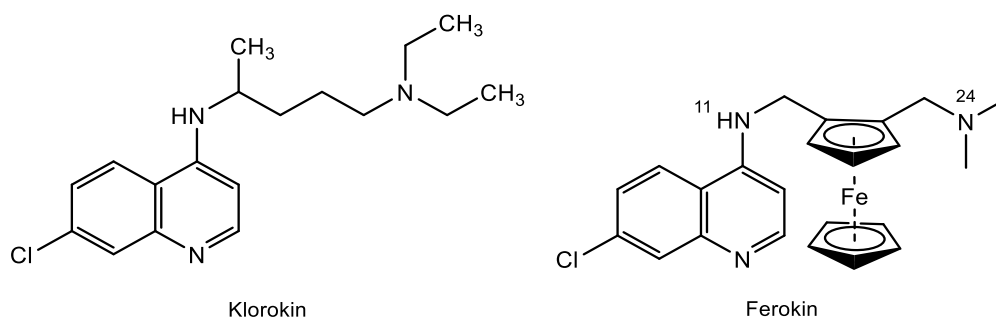
5-Fluorouracil se intravenski primjenjuje u terapiji karcinoma kolona, želuca i dojke te topikalno u terapiji karcinoma kože. Feroceni-uracil umjereno inhibira proliferaciju MCF-7, pri čemu je analizom odnosa strukture i aktivnosti utvrđeno da uvođenjem metilnog ili fluoro supstituenta na uracil feroceni-uracila-A rastu antiproliferativni učinci, pri čemu se feroceni-uracil-B pokazao kao najpotentniji spoj, dok rutenoceni-uracil nije pokazao prihvatljivu antiproliferativnu aktivnost (Slika 13) (Kowalski i sur., 2013).



**Slika 13.** Kemijske strukture ispitanih feroceni-uracila i rutenocil-uracila

### 1.2.3. Spojevi ferocena s antimalarijskim djelovanjem

Derivatizacijom klorokina nastao je ferokin, čija struktura se sastoji od ferocenilne skupine kovalentno vezane na 4-aminokinolin i bazični alkilamin (Slika 14).



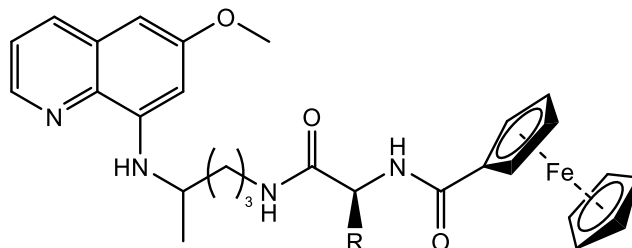
**Slika 14.** Kemijske strukture klorokina i ferokina

Ferokin se odlikuje snažnim antimalarijskim djelovanjem, a u biološkim ispitivanjima se koristi kao racemat, s time da nema značajnije razlike u djelovanju čistih enantiomera. Temelj stabilnosti je jaka intramolekulska veza između dušika na položaju 11 i dušika na položaju 24, u odnosu na klorokin koji ima puno fleksibilniji bočni ogranak (Wani i sur., 2015). Klinička ispitivanja druge faze pokazala su učinkovitost i sigurnost ferokina u eradikaciji polirezistentnih parazita i sojeva *P. falciparum* otpornih na klorokin, pri čemu se koristi sam ili u kombinaciji s artezunatom. Hrana nema utjecaja na apsorpciju i dobro se podnosi u jednoj dozi od 1600 mg ili u ponovljenoj dozi od 800 mg. Pri pH probavnih vakuola koncentracija ferokina 10 puta je viša pri istim uvjetima u odnosu na klorokin, odnosno 100 puta je lipofilniji u usporedbi s klorokinom. Mehanizam djelovanja mu je kombinacija dvaju mehanizama: inhibicije formiranja hemozoina, pri čemu ferokin stvara kompleks s  $\beta$ -hematinom, te sudjelovanje u reverzibilnoj redoks reakciji u kojoj nastaju sol ferokina i hidroksilni radikali. Stvaranje slobodnih radikala ne utječe na samu stabilnost ferokina te sinergizmom dvaju navedenih mehanizama dolazi do smrti parazita (Alven i Aderibigbe, 2019; Dubar i sur., 2008).



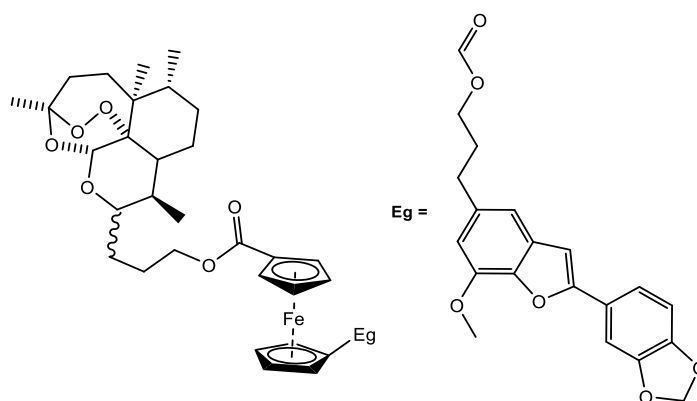
Konjugati primakina i ferocena su se, u vidu nove klase organometalnih spojeva, pojavili 2012. godine. Ispitano je *in vitro* antimalarijsko djelovanje primacena na eritrocitni i hepatocitni stadij životnog ciklusa plazmodija te *in vivo* djelovanje na transmisiju između čovjeka i komarca. Samo su primaceni s bazičnom alifatskom amino skupinom uspjeli zadržati inhibiciju transmisije i krvnu shizontocidnalnu aktivnost primakina. Za krvnu

shizontocidalnu aktivnost spram jetrenih stadija parazita bazična amino skupina nije bila potrebna i svi ispitivani metaloceni su pokazivali istu i/ili veću aktivnost od primakina. Zamjenom alifatskog lanca primakina heksil-ferocenom dolazi do porasta aktivnosti primacena na hepatocitnu fazu do čak 45 puta u odnosu na primakin (Zorc i sur., 2019).

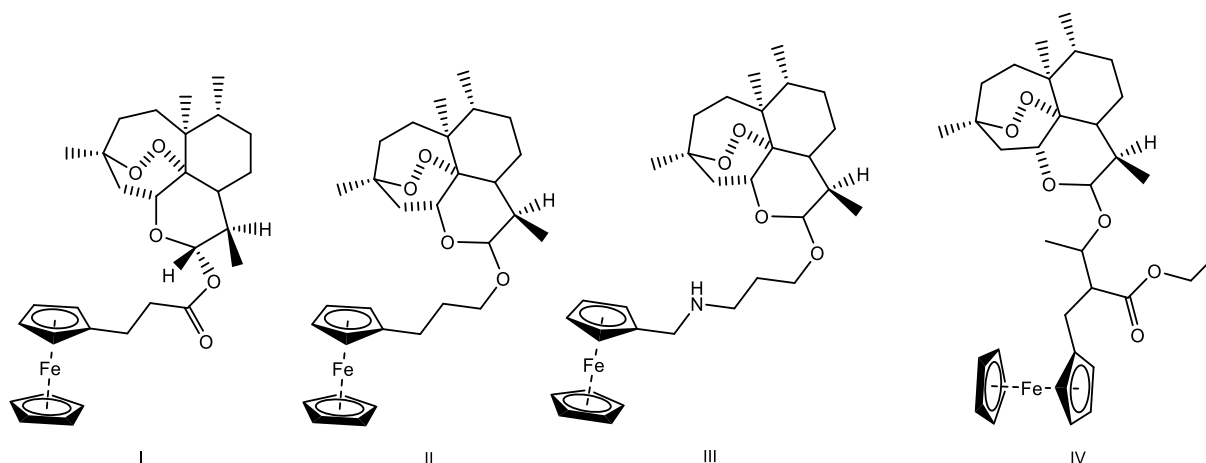


**Slika 15.** Kemijska struktura primacena

Reiter i sur. dokazali su u studiji da u *in vitro* uvjetima jedan od sedam ispitanih derivata artemizininina i ferocena pokazuje antimalarijsko djelovanje, pri čemu su ostali pokazali antitumorsko djelovanje. Ferocenski derivat artemizininina i egonola jedini je pokazao antimalarijsko djelovanje, pri čemu je djelovanje bilo izraženije u odnosu na sami egonol (Slika 16). Delhaes i sur. sintetizirali su hibridne spojeve ferocena i artemizininina (Slika 17) koji su u *in vitro* studijama pokazali pojačano antimalarijsko djelovanje u odnosu na sam artemizinin, s značajnim kapacitetom vezanja feroprotoporfirina IX i stvaranja adukta između derivata artemizininina i hema. Ispitivanje je pokazalo da spoj III (Slika 17) pokazuje najizraženije antimalarijsko djelovanje (Peter i Aderibigbe, 2019).

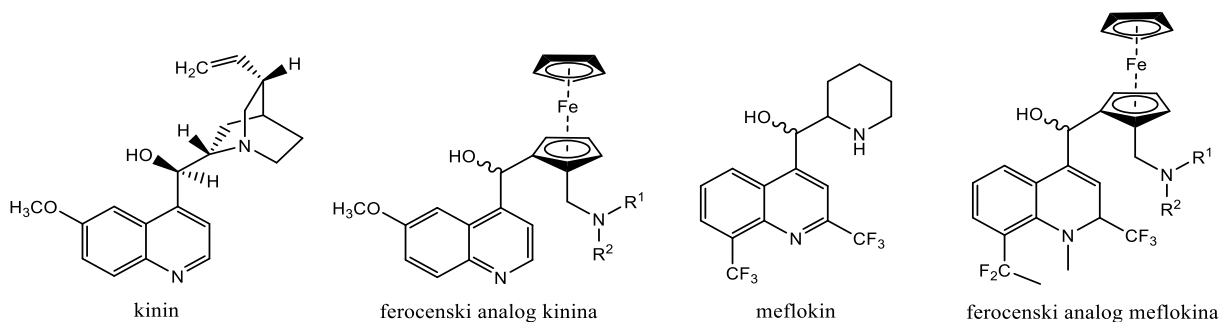


**Slika 16.** Kemijska struktura ferocenskog derivata artemizininina i egonola



**Slika 17.** Kemijske strukture ispitanih derivata dihidroartemizinina i ferocena

Budući da je sinteza ferokina rezultirala spojem aktivnim protiv sojeva parazita otpornih na klorokin, očekivano je da će spojevi, koji su pripremljeni tako da je zamjenjen kinuklidinski, odnosno piperidinski prsten kinina i meflokina ferocenom, pokazivati pojačano antimalarijsko djelovanje. Međutim, ti spojevi (Slika 18) pokazali su slabije djelovanje u odnosu na kinin i meflokin (Biot i sur., 2000).



**Slika 18.** Kemijske strukture kinina i meflokina te pripadnih ferocenskih analoga

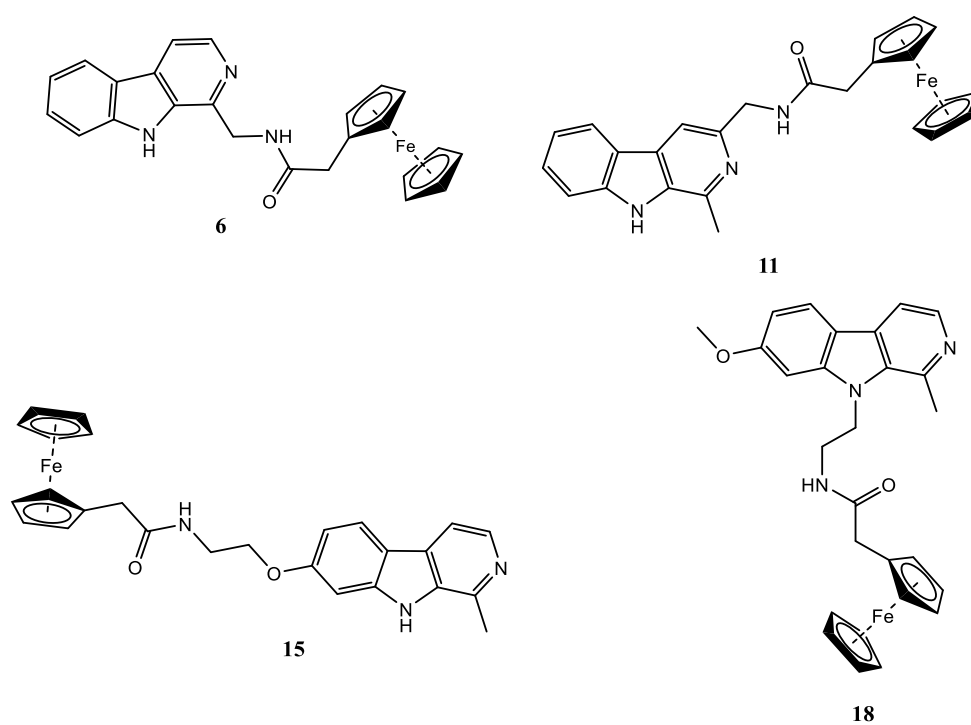
Različiti konjugati ferocena i atovakvona sintetizirani su i testirani na parazitima *Toxoplasma gondii* i *P. falciparum*, pri čemu su ferocenski spojevi s alifatskim lancem duljine 6-8 ugljikovih atoma (Slika 19) pokazali djelovanje na atovakvon otporne (ATO) klonove *T. gondii* s mutacijom u veznom mjestu ubikvina na citokromu b. Isti spojevi pokazali su djelovanje na klorokin osjetljive sojeve *P. falciparum* (3D7 i Dd2), no djelovanje je bilo slabije u odnosu na sam atovakvon (Dive i Biot, 2008).





## **2. OBRAZLOŽENJE TEME**

U Zavodu za farmaceutsku kemiju prethodno su pripremljeni hibridni spojevi harmina i: 1) derivata cimetine kiseline (harmicini) i 2) klorokina (harmikini), pri čemu je harmin derivatiziran u položajima 1, 3, 6, 7 i 9  $\beta$ -karbolinskog prstena. Gotovo svi novosintetizirani hibridi pokazali su jače antimalarijsko i/ili antitumorsko djelovanje u odnosu na početni spoj harmin. Glavna svrha ovog diplomskog rada je proširivanje knjižnice hibridnih spojeva harmina, odnosno sinteza novih hibrida harmina i ferocena (harmiceni). Ferocen je organometalni spoj koji povezivanjem s bioaktivnim molekulama pojačava njihovo djelovanje stoga je odabran kao partner harmina u sintezi harmicena. Ciljni harmiceni pripremljeni su u položajima 1, 3, 7 i 9  $\beta$ -karbolinskog prstena, a dvije strukturne jedinice međusobno su povezane amidnom vezom korištenjem reakcije povezivanja (engl. *coupling*), pri čemu su dobiveni hibridi **6**, **11**, **15** i **18**. Daljnjim ispitivanjima, koja izlaze iz okvira ovog diplomskog rada, ispitati će se biološko djelovanje sintetiziranih spojeva.



**Slika 21.** Kemijske strukture novosintetiziranih harmicena **6**, **11**, **15** i **18**

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

Čistoća produkata sinteze i tijekom kemijskih reakcija praćeni su tankoslojnom kromatografijom (TLC). Pri tankoslojnoj kromatografiji korištene su silikagel ploče 60 F254 (Merck, Njemačka) te sljedeće pokretne faze: diklormetan/metanol (8:1), diklormetan/metanol (10:1) + 5 % trietilamin, cikloheksan/etil-acetat/metanol (1:1:0,5) i etil-acetat/metanol (10:0,75). Iste pokretne faze korištene su i za kromatografiju na koloni, dok je kao nepokretna faza korišten silikagel veličine čestica 63-200  $\mu\text{m}$  (Sigma-Aldrich, SAD). Analizirani spojevi detektirani su UV zračenjem ( $\lambda = 254$  i  $366$  nm) te parama joda.

Mikrovalni reaktor CEM Discover korišten je za reakcije potpomognute mikrovalnim zračenjem (CEM, SAD).

NMR spektri snimljeni su na uređaju Bruker AV-600 (Bruker, SAD), pri čemu je frekvencija za  $^1\text{H}$  jezgre iznosila 400 i 600 MHz, dok je za  $^{13}\text{C}$  jezgre iznosila 101 i 151 MHz. Uzorci su mjereni u NMR cjevčicama promjera 5 mm u DMSO- $d_6$  otopinama pri 20 °C. Kemijski pomaci izraženi su u ppm u odnosu na tetrametilsilan (TMS) kao unutarnji standard u  $^1\text{H}$ , dok su kemijski pomaci u  $^{13}\text{C}$  spektru izraženi u odnosu na signal dimetilsulfoksida (DMSO).

IR spektri snimljeni su na FT-IR spektrometru (Fourier Transform Infrared Attenuated Total Reflection UATR Two, Perkin Elmer, SAD). Spektri masa snimljeni su na HPLC-MS/MS uređaju (Agilent Technologies Triple Quadripole 6420, SAD). Kao tehnika ionizacije korištena je ionizacija elektroraspršenjem (ESI) u pozitivnom modu i negativnom modu.

Stuart SMP3 uređaj (Barloworld Scientific, UK) je korišten za određivanje tališta ( $t_i$ ) u otvorenim kapilarama te tališta nisu korigirana.

2-Azido-1,3-dimetilimidazolinijev heksafluorofosfat (ADMP), 2-(*tert*-butoksikarbonil-amino)etil bromid, ferocenoctena kiselina, triptamin, (1-[bis(dimetilamino)metilen]-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]piridinij 3-oksid heksafluorofosfat (HATU), hidroklorid metilnog estera L-triptofana, cezijev karbonat, *N,N*-diizopropiletilamin (DIEA), *N,N*-dimetilformamid (DMF) i trifluoroctena kiselina nabavljeni su od tvrtke TCI Chemicals (Japan). 2,2-Dimetoksiacetaldehid, acetaldehid-dimetil acetal (ADMA), harmin, 1,8-diazabiciklo[5.4.0]undek-7-en (DBU), octena kiselina, 10 %-tni paladij na ugljiku (Pd/C) te litijev aluminijev hidrid nabavljeni su od tvrtke Sigma-Aldrich (SAD). Bezvodni natrijev sulfat, natrijev klorid, 96 % etanol, kalijev permanganat i amonijev klorid nabavljeni su od tvrtke Gram-Mol (Hrvatska), a tetrahidrofuran (THF) i bromovodična kiselina nabavljeni su od tvrtke Merck (Njemačka). Od tvrtke Honeywell Riedel-de Haën (Njemačka) nabavljeni su aceton, etil-acetat i metanol, a klorovodična kiselina od Honeywell Fluka (Švicarska). Petroleter je

nabavljen od tvrtke Carlo Erba Reagents (Francuska), diklormetan od tvrtke Kemika (Hrvatska), a dietil-eter od tvrtke Macron Fine Chemicals (SAD).

Sve korištene kemikalije bile su *p. a.* stupnja čistoće.

### 3.1. Sinteza derivata u položaju 1 $\beta$ -karbolinskog prstena (1-6)

#### 3.1.1. Sinteza 1-(dimetoksimetil)-9*H*-pirido[3,4-*b*]indola (1)

Suspenziji triptamina (1,0 g; 6,24 mmol) u diklormetanu (9 mL) dodana je 60 %-tna otopina 2,2-dimetoksiacetaldehida (1,13 mL; 7,49 mmol) te je dokapana trifluorocetna kiselina (0,654 mL; 8,80 mmol) u diklormetanu (2,18 mL). Reakcijska smjesa miješana je na sobnoj temperaturi 18 h, nakon čega je prekinuta dodavanjem 10 %-tne otopine natrijevog hidrogenkarbonata (40 mL). Potom je reakcijska smjesa zakiseljena do pH 7,54 pomoću 10 %-tne klorovodične kiseline te je dobivena otopina ekstrahirana diklormetanom (3  $\times$  30 mL). Organski slojevi su sakupljeni, sušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtrirani, a otapalo je iz filtrata uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom. Dobiveno smeđe ulje sirovog produkta (1,758 g; 7,14 mmol) otopljeno je u tetrahidrofuranu (5 mL) te mu je dodan kalijev permanganat (4,29 g; 27,13 mmol). Reakcijska smjesa miješana je na sobnoj temperaturi 18 h. Talog je uklonjen odsisavanjem kroz sloj celita te je ispran tetrahidrofuranom (30 mL), etil-acetatom (30 mL) i diklormetanom (30 mL). Otapalo je iz matičnice uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom te je dobiveno svjetlo-smeđe ulje. Dobiveni produkt je otopljen u 40 mL diklormetana te je otopina ekstrahirana vodom (2  $\times$  40 mL). Organski sloj sušen je nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtriran, a otapalo je uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom. Dobiven je spoj **1** svjetlo-smeđe boje koji je korišten u sljedećoj reakciji bez dodatnog pročišćivanja.

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

Otopina spoja **1** (0,897 g; 3,70 mmol) u smjesi octene kiseline (4,66 mL) i vode (6,99 mL) miješana je 1 h na temperaturi refluksa (100 °C). Nakon toga je reakcijska smjesa zaljučena do pH 8 5 % otopinom natrijevog hidroksida te ekstrahirana diklormetanom (2  $\times$  50 mL). Organski sloj sušen je nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtriran, a otapalo je uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom. Dobiveni talog crveno-ljubičaste boje otopljen je u

metanolu (30 mL) i diklormetanu (30 mL) i odsisan kroz sloj celita. Otapalo je iz matičnice uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom čime je dobiven čist spoj **2**.

Iskorištenje: 0,32 g (45 %).

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm,  $J/\text{Hz}$ )  $\delta$  12,09 (s, 1H, 10), 10,27 (s, 1H, 14), 8,62 (d, 1H, 7,  $J = 4,9$ ), 8,48 (d, 1H, 6,  $J = 4,9$ ), 8,33 (d, 1H, 3,  $J = 7,9$ ), 7,81 (dt, 1H, 12,  $J = 8,3, 0,9$ ), 7,67–7,58 (m, 1H, 1), 7,38–7,30 (m, 1H, 2).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm)  $\delta$  194,73 (13), 142,00 (8), 138,62 (7), 136,00 (11), 133,77 (9), 130,98 (5), 129,12 (1), 121,92 (3), 120,46 (2), 119,75 (6), 113,07 (12).

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

Suspenziji spoja **2** (0,392 g; 1,998 mmol) u suhom tetrahidrofuranu (5 mL) dodan je litijev aluminijev hidrid (0,114 g; 2,997 mmol). Reakcijska smjesa miješana je 1 h na sobnoj temperaturi u inertnoj atmosferi argona, nakon čega je u smjesu dodano 15 mL vode te je zaluzena do pH 8 5 %-tnom otopinom natrijevog hidroksida. Zatim je provedena ekstrakcija etil-acetatom (5 × 50 mL). Organski slojevi su sakupljeni, sušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtrirani te je otapalo uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom. Dobiveni talog žute boje rastrljan je u smjesi etera i petroletera čime je dobiven čist produkt **3**.

Iskorištenje: 0,354 g (89 %).

ESI-MS ( $m/z$ ): 199,1 ( $M+1$ )<sup>+</sup>.

IR (ATR):  $\nu_{\text{max}}$  3663, 3451, 3288, 3059, 2937, 2855, 2105, 1730, 1631, 1566, 1493, 1428, 1371, 1321, 1248, 1118, 1052, 971, 938, 873, 824, 751, 718, 620, 579, 432  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm,  $J/\text{Hz}$ )  $\delta$  11,39 (s, 1H, 10), 8,26 (d, 7, 1H,  $J = 5,3$ ), 8,22 (d, 1H, 3,  $J = 7,9$ ), 8,03 (d, 1H, 6,  $J = 5,3$ ), 7,73–7,63 (m, 1H, 12), 7,60–7,48 (m, 1H, 1), 7,29–7,18 (m, 1H, 2), 5,53 (t, 1H, 14,  $J = 5,7$ ), 4,98 (d, 2H, 13,  $J = 5,7$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm)  $\delta$  144,95 (8), 140,55 (11), 136,89 (7), 133,49 (9), 127,90 (1), 127,36 (5), 121,52 (3), 120,56 (4), 119,14 (2), 113,77 (6), 112,26 (12), 63,54 (13).

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

Otopini spoja **3** (0,344 g; 1,735 mmol) u suhom tetrahidrofuranu (4 mL) pri 0 °C dodani su DBU (0,713 g; 4,685 mmol) i ADMP (1,237 g; 4,338 mmol). Reakcijska smjesa miješana je 1 h na 0 °C nakon čega je dodano 40 mL zasićene otopine amonijevog klorida te je provedena ekstrakcija diklormetanom (2 × 30 mL). Organski slojevi su sakupljeni te ekstrahirani zasićenom otopinom natrijevog klorida (2 × 30 mL) i vodom (1 × 30 mL). Organski sloj sušen je nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtiran te je otapalo uklonjeno uparavanjem pod

snižanim tlakom. Dobiveno ulje smeđe boje pročišćeno je kromatografijom na koloni korištenjem pokretne faze cikloheksan:etil-acetat:metanol (1:1:0,5) čime je dobiven čist produkt **4**.

Iskorištenje reakcije: 0,290 g (75 %).

IR (ATR):  $\nu_{\max}$  3663, 3451, 3288, 3059, 2937, 2855, 2105, 1730, 1631, 1566, 1493, 1428, 1371, 1321, 1248, 1118, 1052, 971, 938, 873, 824, 751, 718, 620, 579, 432  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm,  $J/\text{Hz}$ )  $\delta$  11,78 (s, 1H, 10), 8,36 (d, 1H, 7,  $J = 5,2$ ), 8,28–8,24 (m, 1H, 3), 8,13 (d, 1H, 6,  $J = 5,2$ ), 7,64 (dt, 1H, 12,  $J = 8,3, 0,9$ ), 7,61–7,55 (m, 1H, 1), 7,30–7,25 (m, 1H, 2), 4,89 (s, 2H, 13).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm)  $\delta$  140,58 (8), 139,19 (11), 137,75 (7), 133,86 (9), 128,50(5), 128,44 (1), 121,87 (3), 120,74 (4), 119,57 (2), 114,77 (6), 112,02 (12), 51,60 (13).

### 3.1.5. Sinteza (9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-1-il)metanamina (**5**)

Otopini azida **4** (0,156 g; 0,699 mmol) u metanolu (5 mL) dodan je 10 %-tni paladij na ugljiku (0,032 g), nakon čega je reakcijska smjesa miješana 18 h na sobnoj temperaturi u atmosferi vodika. Potom je reakcijska smjesa profiltrirana kroz celit, a otapalo je iz filtrata uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom. Zaostatni talog je rastrljan u smjesi etera i petroletera čime je dobiven čist spoj **5**.

Iskorištenje reakcije: 0,110 g (80 %).

$t_{\text{f}}$  = 201,0–205,0 °C (raspad).

ESI-MS ( $m/z$ ): 196,0 ( $\text{M}+1$ )<sup>+</sup>.

IR (ATR):  $\nu_{\max}$  3347, 3282, 3120, 3051, 2955, 2856, 2776, 1625, 1600, 1562, 1501, 1477, 1460, 1430, 1355, 1327, 1316, 1240, 1212, 1163, 1127, 1108, 1071, 960, 896, 848, 829, 772, 747, 671, 595, 564, 516  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm,  $J/\text{Hz}$ )  $\delta$  8,26 (d, 1H, 7,  $J = 5,2$ ), 8,21 (dt, 1H, 3,  $J = 7,8, 1,0$ ), 7,97 (d, 1H, 6,  $J = 5,2$ ), 7,65–7,60 (m, 1H, 12), 7,56–7,50 (m, 1H, 1), 7,26–7,20 (m, 1H, 2), 4,19 (s, 2H, 13), 3,35 (s, 2H, 14).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm)  $\delta$  146,50 (8), 140,35 (11), 137,18 (7), 133,23 (9), 127,82 (1), 127,42 (5), 121,60 (3), 120,88 (4), 119,15 (2), 113,19 (6), 112,01 (12), 44,59 (13).

### 3.1.6. Sinteza *N*-((9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-1-il)metil)-2-ferocenilacetamida (**6**)

Suspenziji ferocenoctene kiseline (0,054 g; 0,223 mmol) u diklormetanu (2 mL) dodani su DIEA (0,058 g; 0,447 mmol) i HATU (0,085 g; 0,223 mmol). Nakon 20 minuta dodan je amin **5** (0,040 g; 0,203 mmol) te je reakcijska smjesa miješana 1 h na sobnoj temperaturi. Zatim

je novonastali talog odsisan te rastrljan u smjesi etera i petroletera. Prekristalizacijom iz etanola dobiven je čisti produkt **6**.

Iskorištenje: 0,029 g (34 %).

$t_f = 222,0\text{--}224,5$  °C (raspad).

ESI-MS ( $m/z$ ): 421,9 ( $M+1$ )<sup>+</sup>.

IR (ATR):  $\nu_{\max}$  3333, 3219, 3168, 3099, 2995, 2898, 1651, 1568, 1521, 1502, 1445, 1436, 1413, 1361, 1321, 1285, 1248, 1151, 1106, 1045, 1026, 999, 878, 820, 740, 677, 595, 564, 504  $\text{cm}^{-1}$ .

<sup>1</sup>H NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm,  $J/\text{Hz}$ )  $\delta$  11,50 (s, 1H, 10), 8,55 (t, 1H, 2',  $J = 5,4$ ), 8,29 (d, 1H, 7,  $J = 5,2$ ), 8,22 (d, 1H, 3,  $J = 7,8$ ), 8,04 (d, 1H, 6,  $J = 5,2$ ), 7,63 (d, 1H, 12,  $J = 8,2$ ), 7,55 (t, 1H, 1,  $J = 7,6$ ), 7,25 (t, 1H, 2,  $J = 7,4$ ), 4,76 (d, 2H, 1',  $J = 5,4$ ), 4,22 (t, 2H, 6', 9',  $J = 1,9$ ), 4,05 (s, 5H, 10'-14'), 4,05 (d, 2H, 7', 8',  $J = 2,0$ ), 3,26 (s, 2H, 4').

<sup>13</sup>C NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm)  $\delta$  170,47 (3'), 141,60 (8), 140,36 (11), 137,36 (7), 133,50 (9), 128,12 (1), 127,74 (5), 121,73 (3), 120,87 (4), 119,39 (2), 113,89 (6), 112,05 (12), 82,66 (5'), 68,58 (6', 9'), 68,41 (10'-14'), 67,11 (7', 8'), 41,52 (1'), 36,33 (4').

## 3.2. Sinteza derivata u položaju 3 $\beta$ -karbolinskog prstena (7-11)

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

U suspenziju hidroklorida metilnog estera L-triptofana (1,0 g; 3,926 mmol) u diklormetanu (8 mL) dodan je ADMA (0,525 mL; 4,711 mmol) te je dokapana otopina trifluoroctene kiseline (0,583 mL; 7,852 mmol) u vodi (2 mL). Reakcijska smjesa miješana je na sobnoj temperaturi preko noći, nakon čega je dodana 10 %-tna otopina natrijevog hidrogenkarbonata (50 mL). Dobivena otopina je zakiseljena 10 %-tnom klorovodičnom kiselinom do pH 7,5 te je ekstrahirana diklormetanom ( $3 \times 20$  mL). Organski slojevi su skupljeni i sušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtrirani, a otapalo uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom. Otopini dobivenog žutog ulja (1,749 g; 7,106 mmol) u tetrahidrofuranu (12 mL) dodan je kalijev permanganat (4,492 g; 28,424 mmol). Reakcijska smjesa miješana je 48 h na sobnoj temperaturi, profiltrirana kroz sloj celita, a talog je ispran diklormetanom (20 mL) i metanolom (20 mL). Otapalo je iz matičnice uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom. Ostatak nakon uparavanja otopljen je u diklormetanu (50 mL), a dobivena otopina ekstrahirana je vodom ( $2 \times 50$  mL). Organski slojevi su spojeni, sušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom te filtrirani, a otapalo je iz filtrata uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom čime je dobiven čist spoj **7**.



Iskorištenje: 0,625 g (37 %).

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm,  $J/\text{Hz}$ )  $\delta$  12,04 (s, 1H, 10), 8,78 (s, 1H, 6), 8,36 (d, 1H, 3,  $J = 7,9$ ), 7,66 (d, 1H, 12,  $J = 8,2$ ), 7,63–7,57 (m, 1H, 1), 7,31 (t, 1H, 2,  $J = 7,5$ ), 3,91 (s, 3H, 15), 2,83 (s, 3H, 13).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm)  $\delta$  166,15 (14), 142,18 (8), 140,73 (11), 136,17 (7), 135,93 (1), 128,36 (9), 126,78 (5), 122,11 (3), 121,34 (4), 120,15 (2), 115,96 (6), 112,30 (12), 51,84 (15), 20,37 (13).

### 3.2.2. Sinteza (1-metil-9H-pirido[3,4-*b*]indol-3-il)metanola (**8**)

Suspenciji estera **7** (0,625 g; 2,602 mmol) u tetrahidrofuranu (10 mL) dodan je litijev aluminijev hidrid (0,148 g; 3,903 mmol). Reakcijska smjesa miješana je 0,5 h na sobnoj temperaturi u inertnoj atmosferi argona, nakon čega je reakcija prekinuta dodavanjem vode (20 mL) i ekstrahirana etil-acetatom (5 × 40 mL). Organski slojevi su skupljeni, sušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtrirani, a otapalo uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom. Nakon rastrljavanja u eteru dobiven je žuti talog spoja **8**.

Iskorištenje: 0,374 g (68 %).

$t_f$ : 195–196 °C (raspad).

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

IR (ATR):  $\nu_{\text{max}}$  3663, 3451, 3288, 3059, 2937, 2855, 2105, 1730, 1631, 1566, 1493, 1428, 1371, 1321, 1248, 1118, 1052, 971, 938, 873, 824, 751, 718, 620, 579, 432  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm,  $J/\text{Hz}$ )  $\delta$  11,46 (s, 1H, 10), 8,19 (d, 1H, 3,  $J = 7,8$ ), 7,96 (s, 1H, 6), 7,56–7,59 (dt, 1H, 12,  $J = 8,3, 1,0$ ), 7,49–7,53 (m, 1H, 1), 7,19–7,23 (m, 1H, 2), 5,30 (t, 1H, 15,  $J = 5,8$ ), 4,69 (d, 2H, 14,  $J = 5,6$ ), 2,75 (s, 3H, 13).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm)  $\delta$  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 (14), 20,29 (13).

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

Suspenciji spoja **8** (0,374 g; 1,762 mmol) u suhom dimetilformamidu (2 mL) pri 0 °C dodani su ADMP (1,005 g; 3,524 mmol) i DBU (0,632 mL; 4,229 mmol). Reakcijska smjesa miješana je 1 h na 0 °C nakon čega je dodano 20 mL zasićene otopine amonijevog klorida te je provedena ekstrakcija diklormetanom (2 × 30 mL). Organski slojevi su sakupljeni te ekstrahirani zasićenom otopinom natrijevog klorida (2 × 30 mL) i vodom (1 × 30 mL). Organski sloj sušen je nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtriran te je otapalo uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom. Dobiveno ulje smeđe boje pročišćeno je kromatografijom na koloni

korištenjem pokretne faze cikloheksan:etil-acetat:metanol (1:1:0,5) čime je dobiven čist produkt **9**.

Iskorištenje: 0,312 g (76 %).

IR (ATR):  $\nu_{\max}$  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  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm,  $J/\text{Hz}$ )  $\delta$  11,42 (s, 1H, 10), 8,15 (d, 1H, 3,  $J = 8,1$ ), 7,92 (s, 1H, 6), 7,56 (d, 1H, 12,  $J = 8,0$ ), 7,50 (t, 1H, 1,  $J = 7,5$ ), 7,20 (t, 1H, 2,  $J = 7,4$ ), 3,90 (s, 2H, 14), 2,74 (s, 3H, 13).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm)  $\delta$  151,13 (7), 140,89 (11), 140,74 (11), 133,29 (9), 127,76 (2), 127,62 (1), 121,53 (4), 121,19 (2), 118,97 (3), 111,88 (6), 109,01 (12), 47,59 (14), 20,38 (13).

#### 3.2.4. Sinteza (1-metil-9H-pirido[3,4-*b*]indol-3-il)metanamina (**10**)

Suspenziji spoja **9** (0,319 g; 1,344 mmol) u metanolu (5 mL) dodan je 10 %-tni paladij na ugljiku (0,064 g), nakon čega je reakcijska smjesa miješana 1 h na sobnoj temperaturi u atmosferi vodika. Potom je reakcijska smjesa profiltrirana kroz celit, a otapalo je iz filtrata uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom. Zaostatni talog rastrljan je u smjesi etera i petroletera te je dobiven čisti spoj **10**.

Iskorištenje reakcije: 0,256 g (90 %).

$t_f$ : 176,0–178,5  $^{\circ}\text{C}$ .

ESI-MS ( $m/z$ ): 210,0 ( $\text{M}-1$ ).

IR (ATR):  $\nu_{\max}$  3338, 3239, 3130, 3057, 2978, 2940, 2914, 2882, 2850, 2783, 2737, 2690, 2637, 1626, 1606, 1566, 1503, 1453, 1401, 1374, 1344, 1317, 1284, 1250, 1176, 1147, 1102, 1083, 1009, 970, 945, 891, 838, 813, 775, 734, 643, 588, 545  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm,  $J/\text{Hz}$ )  $\delta$  11,66 (s, 1H, 10), 8,20 (dt, 1H, 3,  $J = 8,3, 1,0$ ), 8,00 (s, 1H, 6), 7,61 (dt, 1H, 12,  $J = 8,2, 1,0$ ), 7,58–7,50 (m, 1H, 1), 7,29–7,20 (m, 1H, 2), 4,57 (s, 2H, 14), 2,78 (s, 3H, 13).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm)  $\delta$  151,13 (7), 140,89 (11), 140,74 (8), 133,29 (9), 127,76 (5), 127,62 (1), 121,53 (3), 121,19 (4), 118,98 (2), 111,89 (12), 109,01 (6), 47,59 (14), 20,38 (13).

#### 3.2.5. Sinteza *N*-((1-metil-9H-pirido[3,4-*b*]indol-3-il)metil)-2-ferocenilacetamida (**11**)

Suspenziji ferocenoctene kiseline (0,051 g; 0,208 mmol) u diklormetanu (2 mL) dodani su DIEA (0,054 g; 0,416 mmol) i HATU (0,079 g; 0,208 mmol). Nakon 15 minuta dodan je amin **10** (0,040 g; 0,189 mmol) te je reakcijska smjesa miješana na sobnoj temperaturi 1 h. Zatim je novonastali talog odsisan, otopljen u smjesi otapala etil-acetat, metanol, cikloheksan i

aceton te profiliran. Otapalo je iz filtrata uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom, a dobiveni talog rastrljan je u smjesi etera i petroletera. Prekristalizacijom iz etanola dobiven je čisti produkt **11**.

Iskorištenje: 0,032 g (39 %).

$t_t = 254,4\text{--}256,2\text{ }^\circ\text{C}$  (raspad).

ESI-MS ( $m/z$ ): 438,0 (M+1)<sup>+</sup>.

IR (ATR):  $\nu_{\text{max}}$  3404, 3191, 3081, 2944, 1649, 1621, 1570, 1522, 1471, 1455, 1421, 1312, 1247, 1267, 1136, 1103, 1038, 1023, 997, 925, 826, 803, 753, 741, 693, 621, 584, 543, 500, 482  $\text{cm}^{-1}$ .

<sup>1</sup>H NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm,  $J/\text{Hz}$ )  $\delta$  11,48 (s, 1H, 10), 8,42 (t, 1H, 2',  $J = 5,9$ ), 8,10 (d, 1H, 3,  $J = 7,8$ ), 7,73 (s, 1H, 6), 7,56 (d, 1H, 12,  $J = 8,2$ ), 7,54–7,48 (m, 1H, 1), 7,21 (t, 1H, 2,  $J = 7,4$ ), 4,46 (d, 2H, 1',  $J = 5,8$ ), 4,27 (t, 2H, 6', 9',  $J = 1,8$ ), 4,12 (s, 5H, 10'-14'), 4,10 (t, 2H, 7', 8',  $J = 1,9$ ), 3,24 (s, 2H, 4'), 2,73 (s, 3H, 13).

<sup>13</sup>C NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm)  $\delta$  169,93 (3'), 146,33 (7), 141,16 (8), 140,72 (11), 133,44 (9), 127,78 (3), 127,66 (5), 121,50 (1), 120,98 (4), 119,12 (2), 111,94 (12), 109,54 (6), 83,05 (5'), 68,63 (6', 9'), 68,46 (10'-14'), 67,15 (7', 8'), 44,28 (1'), 36,72 (4'), 20,29 (13).

### 3.3. Sinteza derivata u položaju 7 $\beta$ -karbolinskog prstena (12-15)

#### 3.3.1. Sinteza 1-metil-9H-pirido[3,4-*b*]indol-7-ola (harmola) (**12**)

Suspenzija harmina (0,500 g; 2,356 mmol), ledene octene kiseline (6 mL) i 47%-tne bromovodične kiseline (3 mL) miješana je u mikrovalnom reaktoru 25 minuta pri 140 °C i 150 W. Reakcijska smjesa je zaluzena do pH 9 5 %-tnom otopinom natrijevog hidroksida te ekstrahirana etil-acetatom (5 × 50 mL). Organski slojevi su sakupljeni, sušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtrirani, a otapalo je uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom. Nakon rastrljavanja u dietil-eteru dobiven je svijetlo-žuti talog spoja **12**.

Iskorištenje: 0,431 g (93 %).

<sup>1</sup>H NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm,  $J/\text{Hz}$ )  $\delta$  11,21 (s, 1H, 10), 9,73 (s, 1H, 14), 8,12 (d, 1H, 7,  $J = 5,3$ ), 7,94 (d, 1H, 3,  $J = 8,5$ ), 7,73 (d, 1H, 6,  $J = 5,3$ ), 6,91 (d, 1H, 12,  $J = 2,1$ ), 6,71 (dd, 1H, 2,  $J = 8,5, 2,1$ ), 2,70 (s, 3H, 13).

<sup>13</sup>C NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm)  $\delta$  158,24 (1), 142,27 (11), 140,89 (8), 137,58 (7), 134,40 (9), 127,51 (5), 122,52 (3), 113,87 (4), 111,64 (2), 109,64 (6), 96,60 (12), 20,24 (13).

### 3.3.2. Sinteza *tert*-butil-(2-((1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-7-il)oksi)etil)karbamata (**13**)

Otopini harmola **12** (0,431 g; 2,174 mmol) u dimetilformamidu (4 mL) dodan je cezijev karbonat (0,992 g; 3,044 mmol). Reakcijska smjesa miješana je 10 minuta u inertnoj atmosferi dušika, nakon čega je dodan 2-(*tert*-butoksikarbonil-amino)etil bromid (1,169 g; 5,218 mmol) te je miješanje nastavljeno tijekom 24 h na 95 °C. Reakcijska smjesa je ohlađena na sobnu temperaturu, dodano je 40 mL vode te je dobivena otopina ekstrahirana etil-acetatom (3 × 40 mL). Organski slojevi su sakupljeni i isprani vodom (1 × 40 mL), sušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtrirani, a otapalo je uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom. Ostatak nakon uparavanja pročišćen je kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu diklormetan:metanol (8 : 1). Dobiveno je smeđe ulje koje je rastrljano u smjesi etera i petroletera te je odsisan talog spoja **13** prljavo bijele boje.

Iskorištenje: 0,581 g (78 %).

$t_t = 189,5\text{--}190,5$  °C.

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

IR (ATR):  $\nu_{\max}$  3380, 3134, 3052, 2978, 2944, 2872, 2764, 2726, 2582, 2406, 1692, 1634, 1568, 1530, 1480, 1448, 1394, 1368, 1334, 1296, 1260, 1174, 1114, 1052, 1010, 964, 872, 846, 820, 788, 720, 686, 634, 604, 522  $\text{cm}^{-1}$ .

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm,  $J/\text{Hz}$ )  $\delta$  11,42 (s, 1H, 10), 8,15 (d, 1H, 7,  $J = 5,3$ ), 8,06 (d, 1H, 3,  $J = 8,6$ ), 7,81 (d, 1H, 6,  $J = 5,3$ ), 7,07 (t, 1H, 3',  $J = 5,7$ ), 7,00 (d, 1H, 12,  $J = 2,2$ ), 6,84 (dd, 1H, 2,  $J = 8,7, 2,2$ ), 4,07 (t, 2H, 1',  $J = 5,8$ ), 3,40–3,36 (m, 2H, 2'), 2,73 (s, 3H, 13), 1,40 (s, 9H, 6'-8').

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

### 3.3.3. Sinteza 2-((1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-7-il)oksi)etan-1-amina (**14**)

Suspenciji spoja **13** (0,581 g; 1,702 mmol) u metanolu (4 mL) dodana je 4M klorovodična kiselina (4,255 mL; 17,02 mmol) te je reakcijska smjesa miješana 18 h na 50 °C. Potom je metanol uparen pod sniženim tlakom, a zaostatni talog otopljen u 15 mL vode te zalužen s 5 %-tnom otopinom natrijevog hidroksida do pH 11. Nastali talog je odsisan i ispran eterom te je dobiven spoj **14**.

Iskorištenje: 0,271 g (66 %).

$t_t = 172,5\text{--}173,0$  °C.

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

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

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

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

#### 3.3.4. Sinteza *N*-(2-((1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-7-il)oksi)etil)-2-ferocenilacetamida (15)

Suspenciji ferocenoctene kiseline (0,050 g; 0,205 mmol) u diklormetanu (2 mL) dodani su HATU (0,078 g; 0,205 mmol) i DIEA (0,052 g; 0,409 mmol). Nakon 15 minuta dodan je amin **14** (0,045 g; 0,186 mmol) te je reakcijska smjesa miješana na sobnoj temperaturi 1 h. Dobivena otopina je ekstrahirana zasićenom otopinom natrijevog klorida ( $2 \times 30$  mL) i vodom ( $1 \times 30$  mL). Organski slojevi sušeni su nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtrirani te je otapalo uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom. Ostatak nakon uparavanja rastrljan je u smjesi etera i petroletera, a talog je odsisan. Prekristalizacijom iz etanola dobiven je čisti produkt **15**.

Iskorištenje reakcije: 0,0195 g (22 %).

$t_f = 178,5\text{--}180,0$  °C.

ESI-MS ( $m/z$ ): 468,1 ( $M+1$ )<sup>+</sup>.

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm,  $J/\text{Hz}$ )  $\delta$  11,42 (s, 1H, 10), 8,19 (t, 1H, 3',  $J = 5,5$ ), 8,15 (d, 1H, 7,  $J = 5,2$ ), 8,05 (d, 1H, 3,  $J = 8,6$ ), 7,80 (d, 1H, 6,  $J = 5,3$ ), 7,02 (d, 1H, 12), 6,85 (d, 1H, 2,  $J = 8,6$ ), 4,20 (s, 2H, 1'), 4,12 (d, 2H, 1',  $J = 12,0$ ), 4,05 (s, 2H, 5'), 3,51 (q, 2H, 2',  $J = 5,5$ ), 3,16 (s, 2H, 8', 9'), 2,72 (s, 3H, 13).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm)  $\delta$  170,24 (4'), 159,16 (1), 141,84 (8), 141,29 (11), 137,75 (7), 134,56 (9), 127,15 (5), 122,62 (3), 115,00 (4), 111,92 (6), 109,29 (2), 95,40 (12), 82,72 (6'), 68,50 (7', 10'), 68,42 (11'-15'), 67,08 (8', 9'), 66,54 (1'), 38,40 (2'), 36,37 (5'), 20,35 (13).

### 3.4. Sinteza derivata u položaju 9 $\beta$ -karbolinskog prstena (16-18)

#### 3.4.1. Sinteza *tert*-butil-(2-(7-metoksi-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-9-il)etil)karbamata (16)

Otopini harmina (0,300 g; 1,413 mmol) u suhom dimetilformamidu (4 mL) u inertnoj atmosferi argona i pri 75 °C dodan je cezijev karbonat (2,072 g; 6,359 mmol) i 2-(*tert*-butoksikarbonil-amino)etil bromid (1,267 g; 5,652 mmol). Reakcijska smjesa miješana je tijekom 24 h na 90 °C, zatim je ohlađena na sobnu temperaturu, dodano je 40 mL vode te je dobivena otopina ekstrahirana etil-acetatom (3 × 40 mL). Organski slojevi su sakupljeni i isprani vodom (2 × 50 mL), sušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtrirani, a otapalo je uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom. Ostatak nakon uparavanja pročišćen je kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu diklormetan:metanol (8:1). Nakon rastrljavanja u smjesi etera i petroletera te odsisavanja dobiven je talog svijetlo smeđe boje spoja **16**.

Iskorištenje: 0,346 g (69 %).

$t_f = 197,5\text{--}199$  °C.

ESI-MS ( $m/z$ ): 356,2 ( $M+1$ )<sup>+</sup>.

IR (ATR):  $\nu_{\max}$  3183, 3065, 3013, 2993, 2969, 2937, 1701, 1623, 1567, 1502, 1447, 1409, 1366, 1343, 1313, 1278, 1247, 1195, 1166, 1146, 1124, 1092, 1048, 1018, 970, 944, 876, 841, 803, 768, 727, 684, 639, 598, 559, 534  $\text{cm}^{-1}$ .

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm,  $J/\text{Hz}$ )  $\delta$  8,15 (d, 1H, 7,  $J = 5,1$ ), 8,07 (d, 1H, 3,  $J = 5,2$ ), 7,98 (d, 1H, 6,  $J = 8,5$ ), 7,76 (d, 1H, 3,  $J = 5,2$ ), 7,13 (s, 1H, 12), 6,93 (t, 1H, 3',  $J = 5,9$ ), 6,78 (dd, 1H, 2,  $J = 8,7, 2,1$ ), 4,46 (t, 2H, 1',  $J = 6,7$ ), 3,83 (s, 3H, 14), 3,26–3,22 (m, 2H, 2'), 2,86 (s, 3H, 13), 1,21 (s, 9H, 6'-8').

<sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm)  $\delta$  160,45 (1), 155,62 (4'), 142,85 (8), 140,47 (11), 137,64 (7), 134,70 (9), 128,40 (4), 122,21 (3), 114,35 (5), 112,11 (6), 108,95 (2), 93,81 (12), 77,78 (5'), 55,48 (14), 43,99 (1'), 39,98 (2'), 28,02 (6'-8'), 23,00 (13).

#### 3.4.2. Sinteza 2-(7-metoksi-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-9-il)etan-1-amina (17)

Suspenziji spoja **16** (0,346 g; 0,974 mmol) u metanolu (5 mL) dodana je 4M klorovodična kiselina (2,435 mL; 9,74 mmol) te je reakcijska smjesa miješana na 50 °C 18 h. Ostatak otapala uklonjen je uparavanjem pod sniženim tlakom, a zaostali talog otopljen je u 30 mL destilirane vode, zalužen 5 %-tnom otopinom natrijevog hidroksida do pH 12 te ekstrahiran etil-acetatom (3 × 50 mL). Organski sloj sušen je nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtriran,

a otapalo je uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom. Nakon rastrljavanja u smjesi etera i petroletera te odsisavanja dobiven je talog svjetlo-smeđe boje spoja **17**.

Iskorištenje: 0,194 g (78 %).

$t_f = 133,5-135,5$  °C.

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

IR (ATR):  $\nu_{\max}$  3354, 3327, 3274, 3054, 3039, 2966, 2932, 2837, 1751, 1621, 1563, 1496, 1443, 1404, 1343, 1328, 1283, 1236, 1219, 1151, 1136, 1117, 1089, 1042, 1021, 973, 941, 887, 848, 815, 768, 723, 643, 599, 551, 528  $\text{cm}^{-1}$ .

<sup>1</sup>H NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm,  $J/\text{Hz}$ )  $\delta$  8,16 (d, 1H, 7,  $J = 5,2$ ), 8,07 (d, 1H, 3,  $J = 8,6$ ), 7,86 (d, 1H, 6,  $J = 5,1$ ), 7,24 (d, 1H, 12,  $J = 2,2$ ), 6,87 (dd, 1H, 2,  $J = 8,6, 2,2$ ), 4,54 (t, 2H, 1',  $J = 7,3$ ), 3,91 (s, 3H, 14), 2,97 (s, 3H, 13), 2,93 (t, 2H, 2',  $J = 7,3$ ).

<sup>13</sup>C NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm)  $\delta$  160,50 (1), 142,92 (11), 140,64 (8), 137,66 (7), 134,76 (9), 128,23 (4), 122,30 (3), 114,18 (5), 112,18 (6), 109,12 (2), 93,80 (12), 55,61 (14), 46,87 (1'), 41,94 (2'), 23,28 (13).

### 3.4.3. Sinteza *N*-(2-(7-metoksi-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-9-il)etil)-2-ferocenilacetamida (**18**)

Suspenziji ferocenoctene kiseline (0,043 g; 0,169 mmol) u diklormetanu (2 mL) dodani su HATU (0,071 g; 0,186 mmol) i DIEA (0,048 g; 0,372 mmol). Nakon 25 minuta dodan je amin **17** (0,043 g; 0,169 mmol) te je reakcijska smjesa miješana na sobnoj temperaturi 1 h. Ostatak otapala uklonjen je uparavanjem pod sniženim tlakom. U reakcijsku smjesu dodano je 10 mL etil-acetata i smjesa je stavljena na ultrazvučnu kupelj. Talog je odsisan, a ostatak otapala je uklonjen uparavanjem pod sniženim tlakom. Talog je otopljen u diklormetanu (50 mL) te ekstrahiran vodom (2 x 30 mL). Organski slojevi su potom sakupljeni, isprani vodom (30 mL), sušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtrirani te je ostatak otapala uklonjen uparavanjem pod sniženim tlakom. Dobiven je čisti produkt **18**.

Iskorištenje: 0,056 g (69 %).

$t_f = 170,5-172,0$  °C.

ESI-MS ( $m/z$ ): 482,2 (M+1)<sup>+</sup>.

IR (ATR):  $\nu_{\max}$  3341, 2931, 1655, 1624, 1566, 1503, 1451, 1439, 1410, 1347, 1330, 1300, 1251, 1195, 1172, 1141, 1104, 1048, 1024, 929, 835, 813, 794, 639, 567, 496, 482  $\text{cm}^{-1}$ .

<sup>1</sup>H NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm,  $J/\text{Hz}$ )  $\delta$  8,17 (d, 1H, 7,  $J = 5,1$ ), 8,09 (d, 1H, 3,  $J = 8,6$ ), 8,01 (t, 1H, 3',  $J = 6,0$ ), 7,88 (d, 1H, 6,  $J = 5,1$ ), 7,27 (d, 1H, 12,  $J = 2,2$ ), 6,89 (dd, 1H, 2,  $J = 8,6, 2,2$ ),

4,57 (t, 2H, 1',  $J = 7,1$ ), 4,13 (t, 2H, 7', 10',  $J = 1,9$ ), 4,11 (s, 5H, 11'-15'), 4,05 (t, 2H, 8', 9',  $J = 1,8$ ), 3,92 (s, 3H, 14), 3,45 (q, 2H, 2',  $J = 6,7$ ), 3,07 (s, 2H, 5'), 2,95 (s, 3H, 13).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm)  $\delta$  170,58 (4'), 160,52 (1), 142,86 (8), 140,61 (9), 137,80 (7), 134,64 (11), 128,43 (4), 122,40 (3), 114,31 (5), 112,25 (6), 109,24 (2), 93,64 (12), 82,12 (6'), 68,72 (7', 10'), 68,46 (11'-15'), 67,21 (8', 9'), 55,52 (14), 43,37 (1'), 38,73 (2'), 36,65 (5'), 23,08 (13).

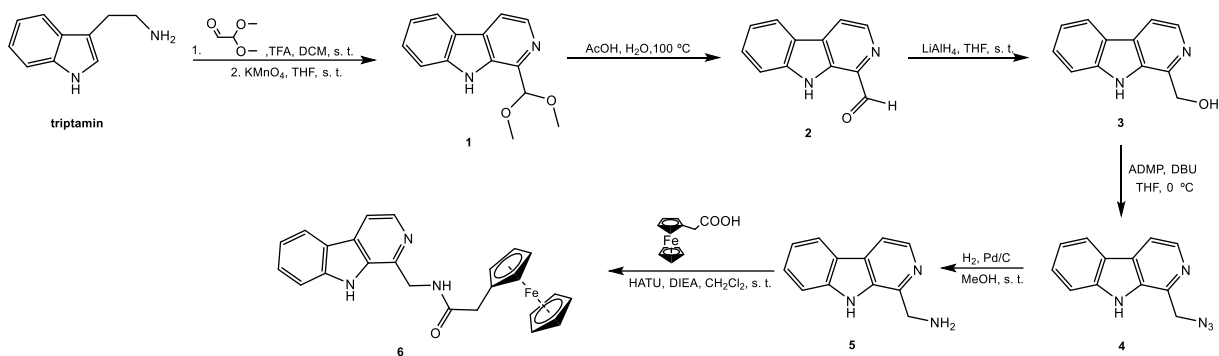


## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

#### 4.1. Sinteza međuprodukata u položajima 1, 3, 7 i 9 $\beta$ -karbolinskog prstena

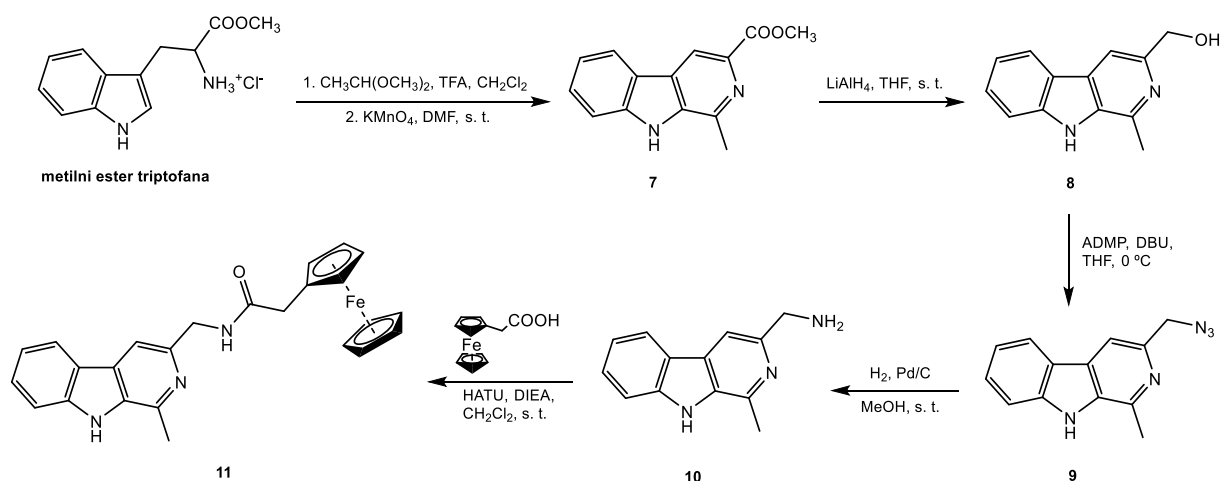
Cilj ovog diplomskog rada bila je sinteza harmicena amidnog tipa, hibridnih spojeva harmina i ferocena međusobno povezanih amidnom vezom. Uspješno su sintetizirana četiri harmicena u položajima 1, 3, 7 i 9  $\beta$ -karbolinskog prstena.

Prije sinteze harmicena bilo je potrebno pripremiti odgovarajuće amine  $\beta$ -karbolina. U sintezi harmicena amidnog tipa u položajima 1 i 3 bilo je potrebno sintetizirati odgovarajuće  $\beta$ -karboline, pri čemu je korištena Pictet-Spenglerova reakcija kondenzacije triptamina ili triptofana s aldehidom pomoću kiselog katalizatora. U sintezi harmicena amidnog tipa u položajima 7 i 9 ishodišna molekula je harmin. Konačna reakcija u sintezi svih harmicena bila je reakcija povezivanja (engl. *coupling*)  $\beta$ -karbolinskih amina i ferocenoctene kiseline korištenjem standardnih uvjeta (HATU/DIEA) u diklormetanu pri sobnoj temperaturi.



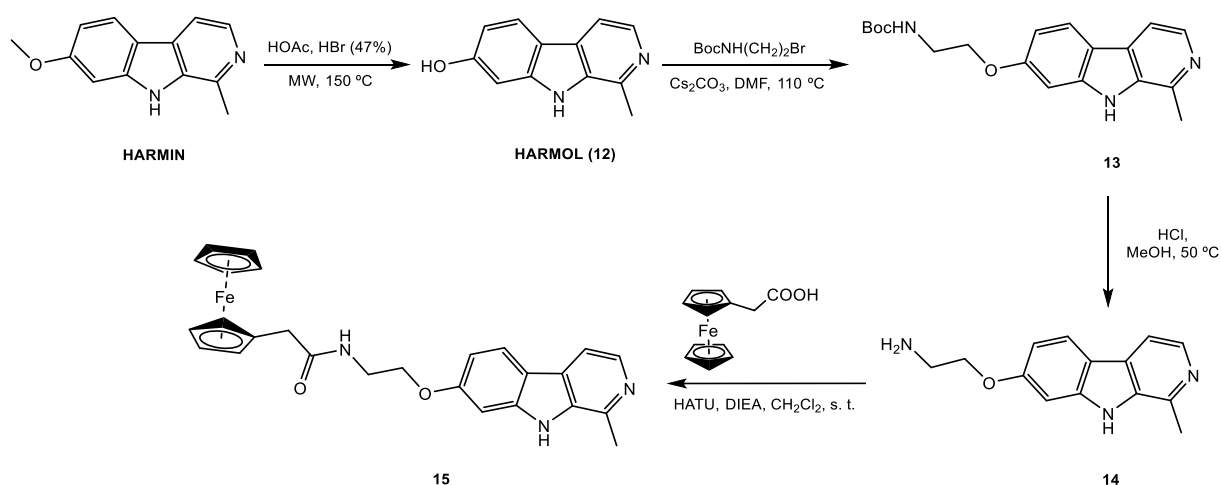
**Shema 1.** Sinteza harmicena amidnog tipa u položaju 1  $\beta$ -karbolinskog prstena

Sinteza harmicena amidnog tipa u položaju 1 i 3 započinje Pictet-Spenglerovom reakcijom u kojoj triptamin reagira s 2,2-dimetoksiacetaldehidom, odnosno metilni ester triptofana reagira s acetaldehid-dimetil acetalom, u prisutnosti trifluoroctene kiseline u diklormetanu (Shema 1 i 2). U reakciji amina i aldehida dolazi do stvaranja iminijevog iona te posljedično zatvaranja šesteročlanog prstena i nastanka tetrahidro- $\beta$ -karbolina, koji se potom oksidira uz kalijev permanganat i nastaje  $\beta$ -karbolin. U sljedećem reakcijskom koraku hidrolizom acetala u kiselim uvjetima (HBr/AcOH) pri 100 °C nastaje aldehid.



**Shema 2.** Sinteza harmicena amidnog tipa u položaju 3  $\beta$ -karbolinskog prstena

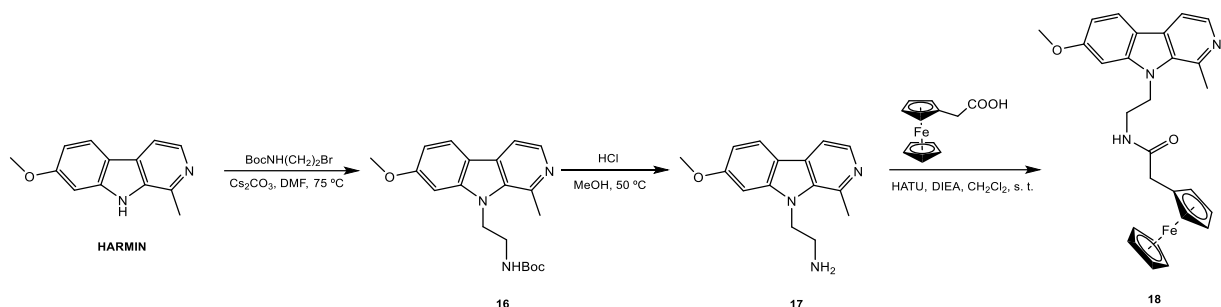
Sljedeći korak u sintezi uključuje redukciju aldehydne skupine spoja **2**, odnosno esterske skupine spoja **7** uz litijev aluminijev hidrid u alkoholnu skupinu te nastaju spojevi **3** i **8**. U sljedećoj reakciji dolazi do azidacije spoja **3** i **8**. ADMP u reakciji predstavlja donora azidne skupine, a reakcija se provodi pri 0 °C i u tetrahidrofuranu kao otapalu te nastaju spojevi **4** i **9**. Ovom tipu reakcije pogoduju bazični uvjeti pa je iz toga razloga reakcijskoj smjesi dodana baza DBU, koja ujedno služi kao katalizator. Zatim se azidne skupine spojeva **4** i **9** katalitičkom hidrogenacijom uz paladij na aktivnom ugljenu reduciraju u amino skupinu te nastaju spojevi **5** i **10**.



**Shema 3.** Sinteza harmicena amidnog tipa u položaju 7  $\beta$ -karbolinskog prstena

Ishodišna molekula u sintezi 7- i 9- supstituiranih derivata je harmin (Sheme 3 i 4). Prvi korak u sintezi 7-supstituiranog harmicena amidnog tipa je kisela hidroliza esterske skupine harmina uz octenu kiselinu i 47 %-tnu bromovodičnu kiselinu uz pomoć mikrovalova, čime se

dobiva harmol (spoj **12**). Daljnje reakcije u pripravi harmicena **15** i **18** uključuju alkiliranje harmina, odnosno harmola, reakcijom nukleofilne supstitucije s 2-(*tert*-butoksikarbonil-amino)etil bromidom u suhom dimetilformamidu pri povišenoj temperaturi uz cezijev karbonat kao bazu, pri čemu nastaju spojevi **13** i **16**. U sljedećem koraku se kiselim hidrolizom u metanolu pri 50 °C uklanja zaštitna skupina te nastaju primarni amini **14** i **17**.



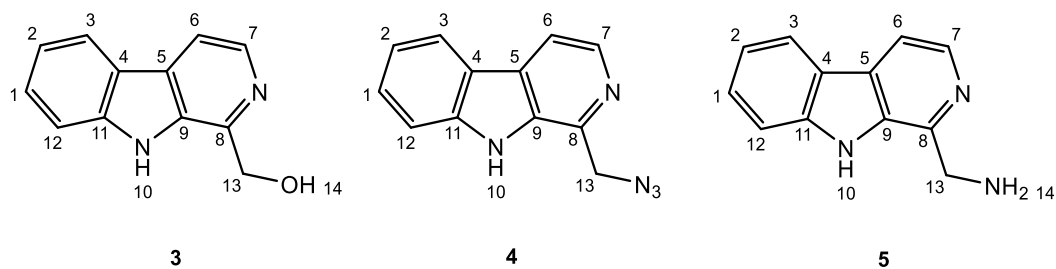
**Shema 4.** Sinteza harmicena amidnog tipa u položaju 9  $\beta$ -karbolinskog prstena

#### 4.2. Sinteza harmicena amidnog tipa (**6**, **11**, **15**, **18**)

Posljednja reakcija u sintezi harmicena predstavlja reakcija povezivanja ferocenoctene kiseline i amina **5**, **10**, **14** i **17** uz reagens HATU koji služi za aktivaciju karboksilne kiseline, odnosno čini karbonilni ugljik elektrofilnijim za nukleofilni napad amina te DIEA kao bazu. Dobiveni su i potpuno karakterizirani harmiceni amidnog tipa **6**, **11**, **15**, **18** u položajima 1, 3, 7 i 9.

Spojevi sintetizirani u okviru ovog diplomskog rada analitički su i strukturno analizirani (MS, IR te  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR) te se dobiveni podatci nalaze u tablicama 1-10.

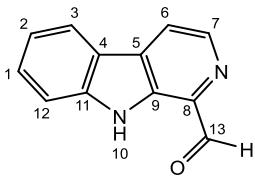
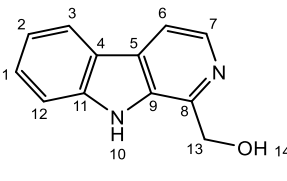
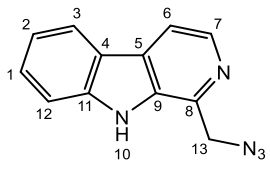
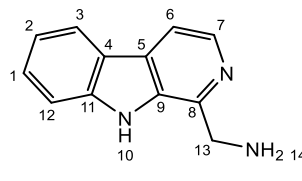
**Tablica 1.** Spektroskopski i analitički podaci za spojeve 3-5



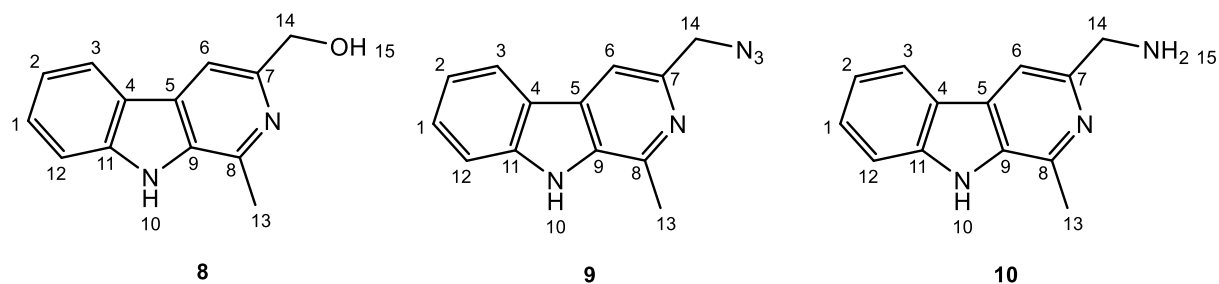
Spoj	$t_t$ (°C)	Molekulska formula	$M_r$	MS ( $m/z$ )	IR (ATR) $\nu_{\max}$ (cm <sup>-1</sup> )
3	n.o. <sup>a</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O	198,23	199,1	3663, 3451, 3288, 3059, 2937, 2855, 2105, 1730, 1631, 1566, 1493, 1428, 1371, 1321, 1248, 1118, 1052, 971, 938, 873, 824, 751, 718, 620, 579, 432
4	n.o.	C <sub>12</sub> H <sub>9</sub> N <sub>5</sub>	223,24	n.s. <sup>b</sup>	3663, 3451, 3288, 3059, 2937, 2855, 2105, 1730, 1631, 1566, 1493, 1428, 1371, 1321, 1248, 1118, 1052, 971, 938, 873, 824, 751, 718, 620, 579, 432
5	201,0–205,0	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub>	197,24	181,1	3347, 3282, 3120, 3051, 2955, 2856, 2776, 1625, 1600, 1562, 1501, 1477, 1460, 1430, 1355, 1327, 1316, 1240, 1212, 1163, 1127, 1108, 1071, 960, 896, 848, 829, 772, 747, 671, 595, 564, 516

<sup>a</sup>n.o. - nije određeno; <sup>b</sup>n.s. - nije snimljeno

**Tablica 2.** Spektroskopski podaci za spojeve 2-5

Spoj	<sup>1</sup> H NMR (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ ppm, <i>J</i> /Hz)	<sup>13</sup> C NMR (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ ppm)
 <p style="text-align: center;">2</p>	12,09 (s, 1H, 10), 10,27 (s, 1H, 14), 8,62 (d, 1H, 7, <i>J</i> = 4,9), 8,48 (d, 1H, 6, <i>J</i> = 4,9), 8,33 (d, 1H, 3, <i>J</i> = 7,9), 7,81 (dt, 1H, 12, <i>J</i> = 8,3, 0,9 ), 7,67– 7,58 (m, 1H, 1), 7,38–7,30 (m, 1H, 2)	194,73 (13), 142,00 (8), 138,62 (7), 136,00 (11), 133,77 (9), 130,98 (5), 129,12 (1), 121,92 (3), 120,46 (2), 119,75 (6), 113,07 (12)
 <p style="text-align: center;">3</p>	11,39 (s, 1H, 10), 8,26 (d, 7, 1H, <i>J</i> = 5,3), 8,22 (d, 1H, 3, <i>J</i> = 7,9), 8,03 (d, 1H, 6, <i>J</i> = 5,3), 7,73–7,63 (m, 1H, 12), 7,60–7,48 (m, 1H, 1), 7,29–7,18 (m, 1H, 2), 5,53 (t, 1H, 14, <i>J</i> = 5,7), 4,98 (d, 2H, 13, <i>J</i> = 5,7)	144,95 (8), 140,55 (11), 136,89 (7), 133,49 (9), 127,90 (1), 127,36 (5), 121,52 (3), 120,56 (4), 119,14 (2), 113,77 (6), 112,26 (12), 63,54 (13)
 <p style="text-align: center;">4</p>	11,78 (s, 1H, 10), 8,36 (d, 1H, 7, <i>J</i> = 5,2), 8,28–8,24 (m, 1H, 3), 8,13 (d, 1H, 6, <i>J</i> = 5,2), 7,64 (dt, 1H, 12, <i>J</i> = 8,3, 0,9), 7,61–7,55 (m, 1H, 1), 7,30– 7,25 (m, 1H, 2), 4,89 (s, 2H, 13)	140,58 (8), 139,19 (11), 137,75 (7), 133,86 (9), 128,50(5), 128,44 (1), 121,87 (3), 120,74 (4), 119,57 (2), 114,77 (6), 112,02 (12), 51,60 (13)
 <p style="text-align: center;">5</p>	8,26 (d, 1H, 7, <i>J</i> = 5,2), 8,21 (dt, 1H, 3, <i>J</i> = 7,8, 1,0), 7,97 (d, 1H, 6, <i>J</i> = 5,2), 7,65–7,60 (m, 1H, 12), 7,56– 7,50 (m, 1H, 1), 7,26–7,20 (m, 1H, 2), 4,19 (s, 2H, 13), 3,35 (s, 2H, 14)	146,50 (8), 140,35 (11), 137,18 (7), 133,23 (9), 127,82 (1), 127,42 (5), 121,60 (3), 120,88 (4), 119,15 (2), 113,19 (6), 112,01 (12), 44,59 (13)

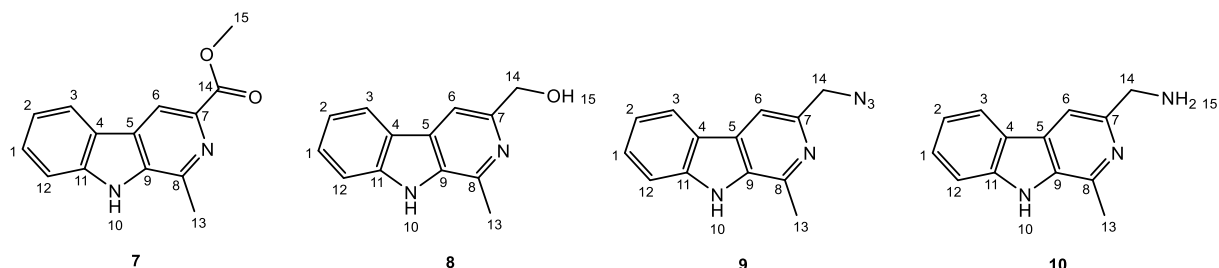
**Tablica 3.** Spektroskopski i analitički podaci za spojeve **8-10**



Spoj	$t_t$ (°C)	Molekulska formula	$M_r$	MS ( $m/z$ )	IR (ATR) $\nu_{\max}$ (cm <sup>-1</sup> )
<b>8</b>	195,0–196,0	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O	212,25	213,2	3663, 3451, 3288, 3059, 2937, 2855, 2105, 1730, 1631, 1566, 1493, 1428, 1371, 1321, 1248, 1118, 1052, 971, 938, 873, 824, 751, 718, 620, 579, 432
<b>9</b>	n.o. <sup>a</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub>	237,27	n.s. <sup>b</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
<b>10</b>	176,0–178,5	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub>	211,27	210,0	3338, 3239, 3130, 3057, 2978, 2940, 2914, 2882, 2850, 2783, 2737, 2690, 2637, 1626, 1606, 1566, 1503, 1453, 1401, 1374, 1344, 1317, 1284, 1250, 1176, 1147, 1102, 1083, 1009, 970, 945, 891, 838, 813, 775, 734, 643, 588, 545

<sup>a</sup>n.o. - nije određeno; <sup>b</sup>n.s. - nije snimljeno

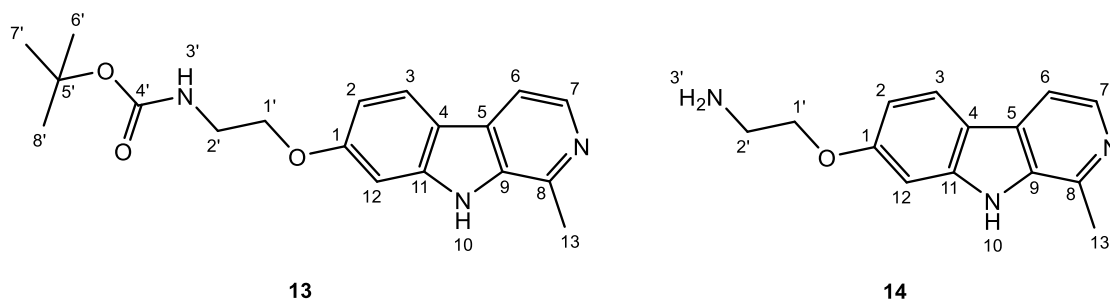
**Tablica 4.** Spektroskopski podaci za spojeve **7-10**



Spoj	$^1\text{H NMR}$ (DMSO- $d_6$ , $\delta$ ppm, $J/\text{Hz}$ )	$^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- $d_6$ , $\delta$ ppm)
<b>7</b>	12,04 (s, 1H, 10), 8,78 (s, 1H, 6), 8,36 (d, 1H, 3, $J = 7,9$ ), 7,66 (d, 1H, 12, $J = 8,2$ ), 7,63–7,57 (m, 1H, 1), 7,31 (t, 1H, 2, $J = 7,5$ ), 3,91 (s, 3H, 15), 2,83 (s, 3H, 13)	166,15 (14), 142,18 (8), 140,73 (11), 136,17 (7), 135,93 (1), 128,36 (9), 126,78 (5), 122,11 (3), 121,34 (4), 120,15 (2), 115,96 (6), 112,30 (12), 51,84 (15), 20,37 (13)
<b>8</b>	11,46 (s, 1H, 10), 8,19 (d, 1H, 3, $J = 7,8$ ), 7,96 (s, 1H, 6), 7,56–7,59 (dt, 1H, 12, $J = 8,3, 1,0$ ), 7,49–7,53 (m, 1H, 1), 7,19–7,23 (m, 1H, 2), 5,30 (t, 1H, 15, $J = 5,8$ ), 4,69 (d, 2H, 14, $J = 5,6$ ), 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 (14), 20,29 (13)
<b>9</b>	11,42 (s, 1H, 10), 8,15 (d, 1H, 3, $J = 8,1$ ), 7,92 (s, 1H, 6), 7,56 (d, 1H, 12, $J = 8,0$ ), 7,50 (t, 1H, 1, $J = 7,5$ ), 7,20 (t, 1H, 2, $J = 7,4$ ), 3,90 (s, 2H, 14), 2,74 (s, 3H, 13)	151,13 (7), 140,89 (11), 140,74 (11), 133,29 (9), 127,76 (2), 127,62 (1), 121,53 (4), 121,19 (2), 118,97 (3), 111,88 (6), 109,01 (12), 47,59 (14), 20,38 (13)
<b>10</b>	11,66 (s, 1H, 10), 8,20 (dt, 1H, 3, $J = 8,3, 1,0$ ), 8,00 (s, 1H, 6), 7,61 (dt, 1H, 12, $J = 8,2, 1,0$ ), 7,58–7,50 (m, 1H, 1), 7,29–7,20 (m, 1H, 2), 4,57 (s, 2H, 14), 2,78 (s, 3H, 13)	151,13 (7), 140,89 (11), 140,74 (8), 133,29 (9), 127,76 (5), 127,62 (1), 121,53 (3), 121,19 (4), 118,98 (2), 111,89 (12), 109,01 (6), 47,59 (14), 20,38 (13)

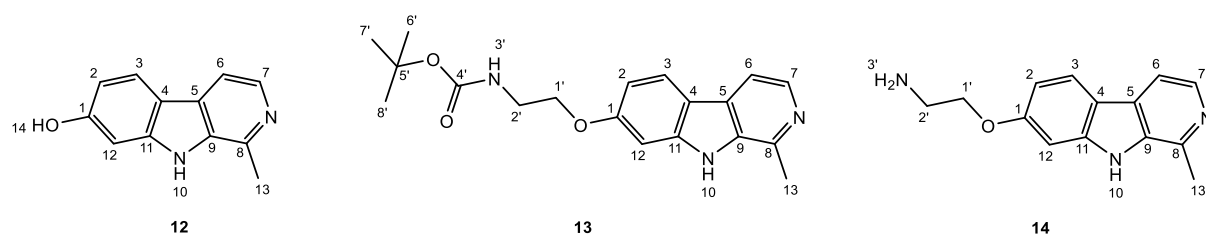


**Tablica 5.** Spektroskopski i analitički podaci za spojeve **13-14**



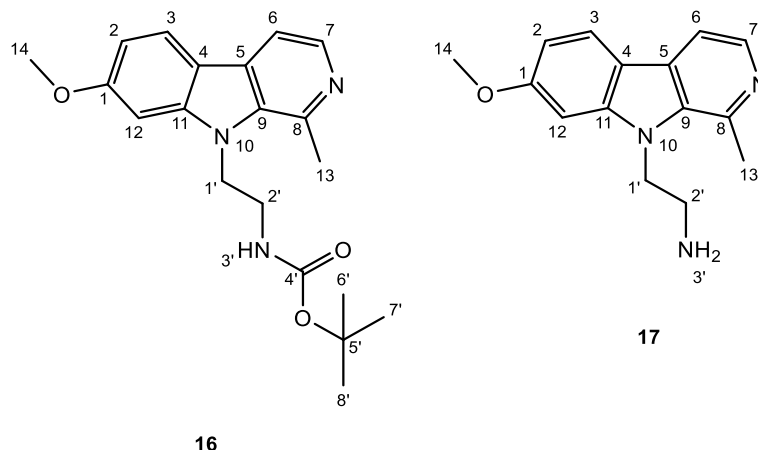
Spoj	$t_f$ (°C)	Molekulska formula	$M_r$	MS ( $m/z$ )	IR (ATR) $\nu_{max}$ (cm <sup>-1</sup> )
<b>13</b>	189,5–190,5	C <sub>19</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	341,41	342,3	3380, 3134, 3052, 2978, 2944, 2872, 2764, 2726, 2582, 2406, 1692, 1634, 1568, 1530, 1480, 1448, 1394, 1368, 1334, 1296, 1260, 1174, 1114, 1052, 1010, 964, 872, 846, 820, 788, 720, 686, 634, 604, 522
<b>14</b>	172,5–173,0	C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O	241,29	242,2	3984, 3954, 3908, 3838, 3786, 3716, 3656, 3530, 3394, 3332, 3250, 3156, 3068, 2930, 2864, 2774, 2372, 1892, 1756, 1720, 1628, 1568, 1486, 1444, 1326, 1284, 1238, 1180, 1104, 1028, 996, 908, 860, 812, 636, 590

**Tablica 6.** Spektroskopski podaci za spojeve 12-14



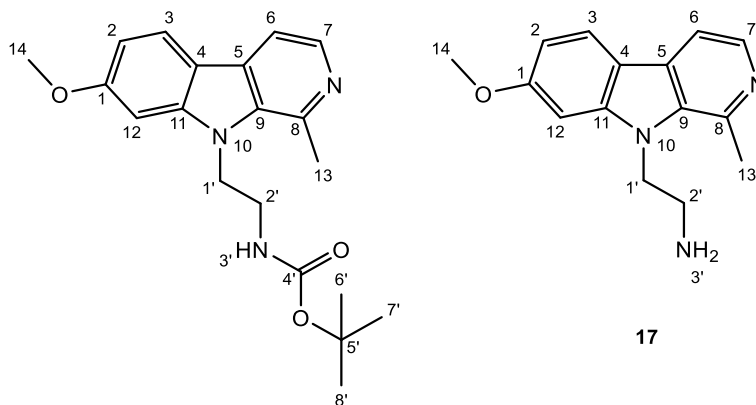
Spoj	<sup>1</sup> H NMR (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ ppm, <i>J</i> /Hz)	<sup>13</sup> C NMR (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ ppm)
<b>12</b>	11,21 (s, 1H, 10), 9,73 (s, 1H, 14), 8,12 (d, 1H, 7, <i>J</i> = 5,3), 7,94 (d, 1H, 3, <i>J</i> = 8,5), 7,73 (d, 1H, 6, <i>J</i> = 5,3), 6,91 (d, 1H, 12, <i>J</i> = 2,1), 6,71 (dd, 1H, 2, <i>J</i> = 8,5, 2,1), 2,70 (s, 3H, 13)	158,24 (1), 142,27 (11), 140,89 (8), 137,58 (7), 134,40 (9), 127,51 (5), 122,52 (3), 113,87 (4), 111,64 (2), 109,64 (6), 96,60 (12), 20,24 (13)
<b>13</b>	11,42 (s, 1H, 10), 8,15 (d, 1H, 7, <i>J</i> = 5,3), 8,06 (d, 1H, 3, <i>J</i> = 8,6), 7,81 (d, 1H, 6, <i>J</i> = 5,3), 7,07 (t, 1H, 3', <i>J</i> = 5,7), 7,00 (d, 1H, 12, <i>J</i> = 2,2), 6,84 (dd, 1H, 2, <i>J</i> = 8,7, 2,2), 4,07 (t, 2H, 1', <i>J</i> = 5,8), 3,40–3,36 (m, 2H, 2'), 2,73 (s, 3H, 13), 1,40 (s, 9H, 6'-8')	159,22 (4'), 155,74 (1), 141,92 (8), 141,23 (11), 137,61 (7), 134,55 (9), 127,26 (5), 122,68 (3), 114,96 (4), 111,98 (6), 109,34 (2), 95,38 (12), 77,82 (5'), 66,66 (1'), 28,25 (6'-8'), 20,29 (13)
<b>14</b>	11,38 (s, 1H, 10), 8,15 (d, 1H, 7, <i>J</i> = 5,2), 8,04 (d, 1H, 3, <i>J</i> = 8,6), 7,79 (d, 1H, 6, <i>J</i> = 5,2), 7,01 (d, 1H, 12, <i>J</i> = 2,2), 6,85 (dd, 1H, 2, <i>J</i> = 8,6, 2,2), 4,03 (t, 2H, 1', <i>J</i> = 5,7), 2,95 (t, 2H, 2', <i>J</i> = 5,7), 2,73 (s, 3H, 13), 1,58 (s, 2H, 3')	159,46 (1), 141,91 (8), 141,25 (11), 137,73 (7), 134,54 (9), 127,20 (5), 122,57 (3), 114,84 (4), 111,89 (6), 109,37 (2), 95,29 (12), 70,36 (1'), 40,98 (2'), 20,33 (13)

**Tablica 7.** Spektroskopski i analitički podaci za spojeve **16** i **17**



Spoj	$t_t$ (°C)	Molekulska formula	$M_r$	MS ( $m/z$ )	IR (ATR) $\nu_{\max}$ (cm <sup>-1</sup> )
<b>16</b>	197,5–199,0	C <sub>20</sub> H <sub>25</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	355,44	356,2	3183, 3065, 3013, 2993, 2969, 2937, 1701, 1623, 1567, 1502, 1447, 1409, 1366, 1343, 1313, 1278, 1247, 1195, 1166, 1146, 1124, 1092, 1048, 1018, 970, 944, 876, 841, 803, 768, 727, 684, 639, 598, 559, 534
<b>17</b>	133,5–135,5	C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O	255,32	256,3	3354, 3327, 3274, 3054, 3039, 2966, 2932, 2837, 1751, 1621, 1563, 1496, 1443, 1404, 1343, 1328, 1283, 1236, 1219, 1151, 1136, 1117, 1089, 1042, 1021, 973, 941, 887, 848, 815, 768, 723, 643, 599, 551, 528

**Tablica 8.** Spektroskopski podaci za spojeve **16** i **17**

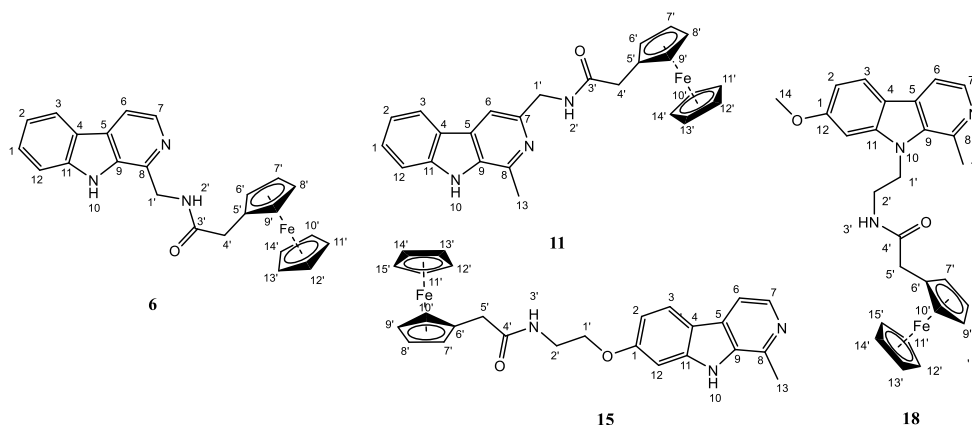


**16**

**17**

Spoj	<sup>1</sup> H NMR (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ ppm, <i>J</i> /Hz)	<sup>13</sup> C NMR (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ ppm)
<b>16</b>	8,15 (d, 1H, 7, <i>J</i> = 5,1), 8,07 (d, 1H, 3, <i>J</i> = 5,2), 7,98 (d, 1H, 6, <i>J</i> = 8,5), 7,76 (d, 1H, 3, <i>J</i> = 5,2), 7,13 (s, 1H, 12), 6,93 (t, 1H, 3', <i>J</i> = 5,9), 6,78 (dd, 1H, 2, <i>J</i> = 8,7, 2,1), 4,46 (t, 2H, 1', <i>J</i> = 6,7), 3,83 (s, 3H, 14), 3,26–3,22 (m, 2H, 2'), 2,86 (s, 3H, 13), 1,21 (s, 9H, 6'-8')	160,45 (1), 155,62 (4'), 142,85 (8), 140,47 (11), 137,64 (7), 134,70 (9), 128,40 (4), 122,21 (3), 114,35 (5), 112,11 (6), 108,95 (2), 93,81 (12), 77,78 (5'), 55,48 (14), 43,99 (1'), 39,98 (2'), 28,02 (6'-8'), 23,00 (13)
<b>17</b>	8,16 (d, 1H, 7, <i>J</i> = 5,2), 8,07 (d, 1H, 3, <i>J</i> = 8,6), 7,86 (d, 1H, 6, <i>J</i> = 5,1), 7,24 (d, 1H, 12, <i>J</i> = 2,2), 6,87 (dd, 1H, 2, <i>J</i> = 8,6, 2,2), 4,54 (t, 2H, 1', <i>J</i> = 7,3), 3,91 (s, 3H, 14), 2,97 (s, 3H, 13), 2,93 (t, 2H, 2', <i>J</i> = 7,3)	160,50 (1), 142,92 (11), 140,64 (8), 137,66 (7), 134,76 (9), 128,23 (4), 122,30 (3), 114,18 (5), 112,18 (6), 109,12 (2), 93,80 (12), 55,61 (14), 46,87 (1'), 41,94 (2'), 23,28 (13)

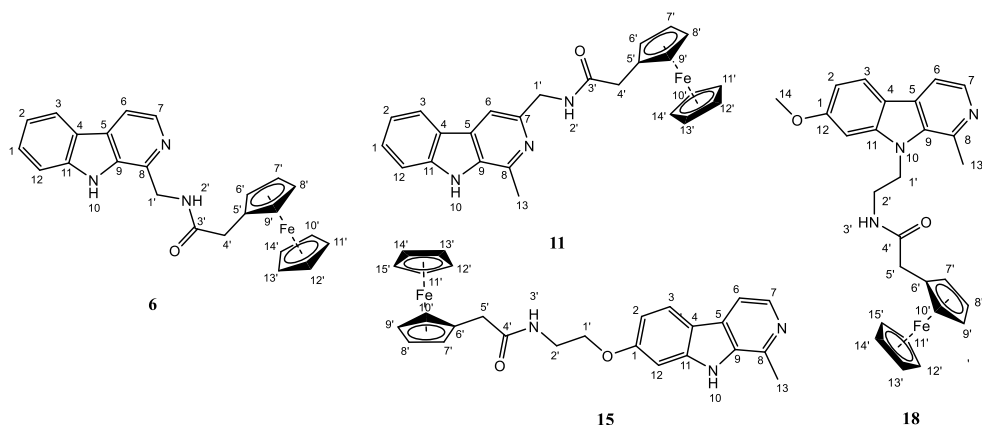
**Tablica 9.** Spektroskopski i analitički podaci za harmicene **6**, **11**, **15** i **18**



Spoj	$t_t$ (°C)	Molekulska formula	$M_r$	MS ( $m/z$ )	IR (ATR) $\nu_{\max}$ (cm <sup>-1</sup> )
<b>6</b>	222,0–224,5	C <sub>24</sub> H <sub>21</sub> FeN <sub>3</sub> O	423,30	421,9	3333, 3219, 3168, 3099, 2995, 2898, 1651, 1568, 1521, 1502, 1445, 1436, 1413, 1361, 1321, 1285, 1248, 1151, 1106, 1045, 1026, 999, 878, 820, 740, 677, 595, 564, 504
<b>11</b>	254,4–256,2	C <sub>25</sub> H <sub>23</sub> FeN <sub>3</sub> O	437,32	438,0	3404, 3191, 3081, 2944, 1649, 1621, 1570, 1522, 1471, 1455, 1421, 1312, 1247, 1267, 1136, 1103, 1038, 1023, 997, 925, 826, 803, 753, 741, 693, 621, 584, 543, 500, 482
<b>15</b>	178,5–180,0	C <sub>26</sub> H <sub>25</sub> FeN <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	467,35	468,1	n.s.
<b>18</b>	170,5–172,0	C <sub>27</sub> H <sub>27</sub> FeN <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	481,38	482,2	3341, 2931, 1655, 1624, 1566, 1503, 1451, 1439, 1410, 1347, 1330, 1300, 1251, 1195, 1172, 1141, 1104, 1048, 1024, 929, 835, 813, 794, 639, 567, 496, 482

n.s. - nije snimljeno

**Tablica 10.** Spektroskopski podaci za harmicene **6**, **11**, **15** i **18**



Spoj	$^1\text{H NMR}$ (DMSO- $d_6$ , $\delta$ ppm, $J/\text{Hz}$ )	$^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- $d_6$ , $\delta$ ppm)
<b>6</b>	11,50 (s, 1H, 10), 8,55 (t, 1H, 2', $J = 5,4$ ), 8,29 (d, 1H, 7, $J = 5,2$ ), 8,22 (d, 1H, 3, $J = 7,8$ ), 8,04 (d, 1H, 6, $J = 5,2$ ), 7,63 (d, 1H, 12, $J = 8,2$ ), 7,55 (t, 1H, 1, $J = 7,6$ ), 7,25 (t, 1H, 2, $J = 7,4$ ), 4,76 (d, 2H, 1', $J = 5,4$ ), 4,22 (t, 2H, 6', 9', $J = 1,9$ ), 4,05 (s, 5H, 10'-14'), 4,05 (d, 2H, 7', 8', $J = 2,0$ ), 3,26 (s, 2H, 4')	170,47 (3'), 141,60 (8), 140,36 (11), 137,36 (7), 133,50 (9), 128,12 (1), 127,74 (5), 121,73 (3), 120,87 (4), 119,39 (2), 113,89 (6), 112,05 (12), 82,66 (5'), 68,58 (6', 9'), 68,41 (10'-14'), 67,11 (7', 8'), 41,52 (1'), 36,33 (4')
<b>11</b>	11,48 (s, 1H, 10), 8,42 (t, 1H, 2', $J = 5,9$ ), 8,10 (d, 1H, 3, $J = 7,8$ ), 7,73 (s, 1H, 6), 7,56 (d, 1H, 12, $J = 8,2$ ), 7,54–7,48 (m, 1H, 1), 7,21 (t, 1H, 2, $J = 7,4$ ), 4,46 (d, 2H, 1', $J = 5,8$ ), 4,27 (t, 2H, 6', 9', $J = 1,8$ ), 4,12 (s, 5H, 10'-14'), 4,10 (t, 2H, 7', 8', $J = 1,9$ ), 3,24 (s, 2H, 4'), 2,73 (s, 3H, 13)	169,93 (3'), 146,33 (7), 141,16 (8), 140,72 (11), 133,44 (9), 127,78 (3), 127,66 (5), 121,50 (1), 120,98 (4), 119,12 (2), 111,94 (12), 109,54 (6), 83,05 (5'), 68,63 (6', 9'), 68,46 (10'-14'), 67,15 (7', 8'), 44,28 (1'), 36,72 (4'), 20,29 (13)
<b>15</b>	11,42 (s, 1H, 10), 8,19 (t, 1H, 3', $J = 5,5$ ), 8,15 (d, 1H, 7, $J = 5,2$ ), 8,05 (d, 1H, 3, $J = 8,6$ ), 7,80 (d, 1H, 6, $J = 5,3$ ), 7,02 (d, 1H, 12), 6,85 (d, 1H, 2, $J = 8,6$ ), 4,20 (s, 2H, 1'), 4,12 (d, 2H, 1', $J = 12,0$ ), 4,05 (s, 2H, 5'), 3,51 (q, 2H, 2', $J = 5,5$ ), 3,16 (s, 2H, 8', 9'), 2,72 (s, 3H, 13)	170,24 (4'), 159,16 (1), 141,84 (8), 141,29 (11), 137,75 (7), 134,56 (9), 127,15 (5), 122,62 (3), 115,00 (4), 111,92 (6), 109,29 (2), 95,40 (12), 82,72 (6'), 68,50 (7', 10'), 68,42 (11'-15'), 67,08 (8', 9'), 66,54 (1'), 38,40 (2'), 36,37 (5'), 20,35 (13)
<b>18</b>	8,17 (d, 1H, 7, $J = 5,1$ ), 8,09 (d, 1H, 3, $J = 8,6$ ), 8,01 (t, 1H, 3', $J = 6,0$ ), 7,88 (d, 1H, 6, $J = 5,1$ ), 7,27 (d, 1H, 12, $J = 2,2$ ), 6,89 (dd, 1H, 2, $J = 8,6, 2,2$ ), 4,57 (t, 2H, 1', $J = 7,1$ ), 4,13 (t, 2H, 7', 10', $J = 1,9$ ), 4,11 (s, 5H, 11'-15'), 4,05 (t, 2H, 8', 9', $J = 1,8$ ), 3,92 (s, 3H, 14), 3,45 (q, 2H, 2', $J = 6,7$ ), 3,07 (s, 2H, 5'), 2,95 (s, 3H, 13)	170,58 (4'), 160,52 (1), 142,86 (8), 140,61 (9), 137,80 (7), 134,64 (11), 128,43 (4), 122,40 (3), 114,31 (5), 112,25 (6), 109,24 (2), 93,64 (12), 82,12 (6'), 68,72 (7', 10'), 68,46 (11'-15'), 67,21 (8', 9'), 55,52 (14), 43,37 (1'), 38,73 (2'), 36,65 (5'), 23,08 (13)

## **5. ZAKLJUČAK**

U okviru ovoga diplomskoga rada sintetizirani su sljedeći harmiceni, hibridni spojevi harmina i ferocena:

- *N*-((9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-1-il)metil)-2-ferocenilacetamid (**6**)
- *N*-((1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-3-il)metil)-2-ferocenilacetamid (**11**)
- *N*-(2-((1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-7-il)oksi)etil)-2-ferocenilacetamid (**15**)
- *N*-(2-(7-metoksi-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-9-il)etil)-2-ferocenilacetamid (**18**)

U analizi i karakterizaciji spojeva korištene su standardne analitičke i spektroskopske metode (IR, <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR i MS), pomoću kojih je potvrđena struktura sintetiziranih spojeva te su im određena i tališta. U istraživanjima koja prelaze okvire ovog diplomskoga rada ispitat će se biološki učinak prethodno navedenih sintetiziranih spojeva.



## **6. LITERATURA**

Abdulla S, Achan J, Adam I. Gametocyte carriage in uncomplicated Plasmodium falciparum malaria following treatment with artemisinin combination therapy: A systematic review and meta-analysis of individual patient data. *BMC Medicine*, 2016, 14.

Achan J, Talisuna AO, Erhart A, Yeka A, Tibenderana JK, Baliraine FN, Rosenthal PJ, D'Alessandro U. Quinine, an old anti-malarial drug in a modern world: role in the treatment of malaria. *Malar J*, 2011, 10, 2-3.

Alven S, Aderibigbe B. Combination therapy strategies for the treatment of malaria. *Molecules*, 2019, 24, 2-14.

Ashley EA, Recht J, White NJ. Primaquine: The risks and the benefits. *Malar J*, 2014, 13, 1–7.

Badshah SL, Ullah A, Ahmad N, Almarhoon ZM, Mabkhot Y. Increasing the strength and production of artemisinin and its derivatives. *Molecules*, 2018, 23, 2.

Balaji S, Deshmukh R, Trivedi V. Severe malaria: Biology, clinical manifestation, pathogenesis and consequences. *J of Vector Borne Dis*, 2020, 57, 1–13.

Baird JK. 8-Aminoquinoline therapy for latent malaria. *Clin Microbiol Rev*, 32, 11-19.

Bayih AG, Folefoc A, Mohon AN, Eagon S, Anderson M, Pillai DR. In vitro and in vivo anti-malarial activity of novel harmine-analog heat shock protein 90 inhibitors: a possible partner for artemisinin. *Malar J*, 2016, 15, 579.

Belete TM. Recent progress in the development of new antimalarial drugs with novel targets. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14, 3875–3889.

Biamonte MA, Wanner J, Le Roch KG. Recent advances in malaria drug discovery. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23, 2829–2843.

Biot C, Delhaes L, Maciejewski LA, Mortuaire M, Camus D, Dive D, Brocard JS. Synthetic ferrocenic mefloquine and quinine analogues as potential antimalarial agents. *Eur J Med Chem*,

2000, 35, 707-714.

Bria YP, Yeh CH, Bedingfield S. Significant symptoms and nonsymptom-related factors for malaria diagnosis in endemic regions of Indonesia. *Int J Infect Dis*, 2021, 103, 194–200.

Cai HR, Xiang H, Xiao-Rong Z. Harmine suppresses bladder tumor growth by suppressing vascular endothelial growth factor receptor 2-mediated angiogenesis. *Biosci Rep*, 2019, 39.

Chellan P, Sadler PJ. Enhancing the Activity of Drugs by Conjugation to Organometallic Fragments. *Chem Eur J*, 2020, 26, 8676–8688.

Chu CS, Bancone G, Nosten F, White NJ, Luzzatto L. Primaquine-induced haemolysis in females heterozygous for G6PD deficiency. *Malar J*, 2018, 17, 1-2.

Coban C. The host targeting effect of chloroquine in malaria. *Curr Opin Immunol*, 2020, 66, 98–107.

Čakić Semenčić M, Barišić L. Ferrocene bioconjugates. *Croat Chem Acta*, 2017, 90, 537–569.

Dive D, Biot C. Ferrocene conjugates of chloroquine and other antimalarials: The development of ferroquine, a new antimalarial. *ChemMedChem*, 2008, 3, 383–391.

Dubar F, Khalife J, Brocard J, Dive D, Biot C. Ferroquine, an ingenious antimalarial drug: thoughts on the mechanism of action. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2008, 13, 2900–2907.

Gasser G, Ott I, Metzler-Nolte N. Organometallic anticancer compounds. *J Med Chem*, 2011, 54, 3–25.

Idlas P, Lepeltier E, Jaouen G, Passirani C. Ferrocifen Loaded Lipid Nanocapsules: A Promising Anticancer Medication against Multidrug Resistant Tumors. *J Cancers*, 2021, 13, 2291.

Kavunga-Membo H, Ilombe G, Masumu J, Matangila J, Imponge J, Manzambi E, Wastenga F,

Mumba Ngoyi D, Van Geetruyden JP, Muyembe JJ. Molecular identification of Plasmodium species in symptomatic children of Democratic Republic of Congo. *Malar J*, 2018, 17, 1–7.

Kori LD, Valecha N, Anvikar AR. Insights into the early liver stage biology of Plasmodium. *J of Vector Borne Dis*, 2018, 55, 9–13.

Kowalski K, Skiba J, Oehninger L, Ott I, Solecka J, Rajnisz A, Therrien B. Metallocene-Modified Uracils: Synthesis, Structure and Biological Activity. *Organometallics*, 2013, 32, 5766–5773.

Llanos-Cuentas A, Lacerda MVG, Hien TT, Vélez ID, Namaik-larp C, Chu CS, Villegas MF, Val F, Monteiro WM, Brito MAM, Costa MRF, Chuquiyaury R, Casapía M, Nguyen CH, Aruachan S, Papwijitsil R, Nosten FH, Bancone G, Angus B, Duparc S, Craig G, Rousell VM, Jones SW, Hardaker E, Clover DD, Kendall L, Mohamed K, Koh GCKW, Wilches VM, Breton JJ, Green JA. Tafenoquine versus Primaquine to Prevent Relapse of *Plasmodium vivax* Malaria. *N Engl J Med*, 2019, 380, 229-241.

Machado Brito-Da-Costa A, Dias-da-Silva D, Gomes NGM, Dinis-Oliveira RJ, Madureira-Carvalho A. Toxicokinetics and Toxicodynamics of Ayahuasca Alkaloids N,N-Dimethyltryptamine (DMT), Harmine, Harmaline and Tetrahydroharmine: Clinical and Forensic Impact. *Pharmaceuticals*, 2020, 13, 1-39.

Milner DA. Malaria pathogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2018, 8, 3.

Nqoro X, Tobeka N, Aderibigbe B. Quinoline-based hybrid compounds with antimalarial activity. *Molecules*, 2017, 22, 2268.

Peter S, Aderibigbe BA. Ferrocene-based compounds with antimalaria/anticancer activity. *Molecules*, 2019, 24.

Phillips MA, Burrows JN, Manyando C, Hooft van Huijsduijnen R, Van Voorhis WC, Wells TNC. Malaria. *Nat Rev Dis Primers*, 2017, 3, 1-3.

Plewes K, Leopold SJ, Kingston HWF, Dondorp AM. Malaria: What's New in the Management of Malaria. *Infectious Dis Clin North Am*, 2019, 33, 39–60.

Rosenthal PJ. Artesunate for the Treatment of Severe Falciparum Malaria. *N Engl J Med*, 2008, 358, 1829-1836.

Sato S. Plasmodium—a brief introduction to the parasites causing human malaria and their basic biology. *J Physiol Anthropol*, 2021, 40, 3-6.

Schlitzer M. Antimalarial drugs - What is in use and what is in the pipeline. *Arch Pharm*, 2008, 341, 149–163.

Sevene E, González R, Menéndez C. Current knowledge and challenges of antimalarial drugs for treatment and prevention in pregnancy. *Expert Opin on Pharmacother*, 2010, 11, 1277–1293.

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

Staines HM, Burrow R, Teo BHY, Ster IC, Kremsner PG, Krishna S. Clinical implications of Plasmodium resistance to atovaquone/proguanil: A systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*, 2018, 73, 581–595.

Tilley L, Straimer J, Gnädig NF, Ralph SA, Fidock DA. Artemisinin Action and Resistance in Plasmodium falciparum. *Trends Parasitol*, 2016, 32, 682–696.

Wang Y, Dansette PM, Pigeon P, Top S, McGlinchey MJ, Mansuy D, Jaouen G. A new generation of ferrociphenols leads to a great diversity of reactive metabolites, and exhibits remarkable antiproliferative properties. *Chem Sci*, 2018, 9, 70-78.

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

Wicht KJ, Mok S, Fidock DA. Molecular Mechanisms of Drug Resistance in Plasmodium falciparum Malaria. *Annu Rev Microbiol*, 2020, 74, 431–454.

WHO (2021), World malaria report 2021. Geneva: World Health Organization.

Zhang P, Sadler PJ. Advances in the design of organometallic anticancer complexes. *J Organomet Chem*, 2017, 839, 5–14.

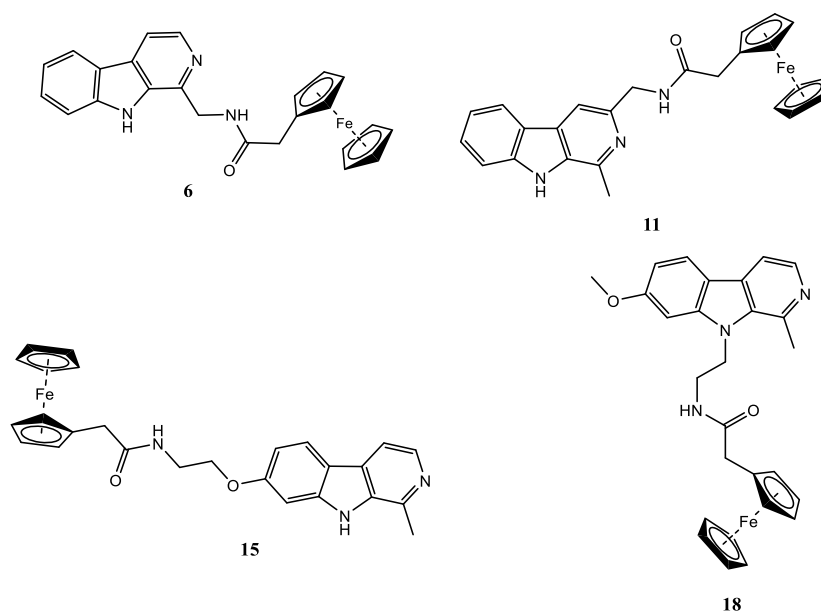
Zorc B, Perković I, Pavić K, Rajić Z, Beus M. Primaquine derivatives: Modifications of the terminal amino group. *Eur J Med Chem*, 2019, 182.

## **7. SAŽETAK / SUMMARY**

$\beta$ -karbolinski alkaloidi predstavljaju veliku skupinu prirodnih i sintetskih spojeva. Široko su rasprostranjeni u prirodi te pokazuju širok spektar farmakoloških učinaka poput antimalarijskog, antimikrobnog i citostatskog. S druge strane, ferocen zbog svoje stabilnosti, slabe toksičnosti i oksidoredukcijskih svojstava čini idealnog partnera  $\beta$ -karbolinima u sintezi novih hibridnih spojeva, s obzirom da je dokazano da derivati ferocena pokazuju antimalarijsko i citostatsko djelovanje.

U okviru ovog rada sintetizirana su četiri nova harmicena amidnog tipa, hibridna spoja  $\beta$ -karbolina harmina i ferocenoctene kiseline (**6**, **11**, **15**, **18**) koji se razlikuju po položaju derivatizacije  $\beta$ -karbolinskog prstena (1, 3, 7 i 9). Prije sinteze hibridnih spojeva, za sintezu derivata u položajima 1 i 3 bilo je potrebno sintetizirati  $\beta$ -karbolinske prstenove **1** i **7** pomoću Pictet-Spenglerove reakcije, dok je za sintezu derivata u položajima 7 i 9 početni spoj bio harmin. U idućim reakcijama u molekulu  $\beta$ -karbolina bilo je potrebno uvesti primarnu amino skupinu, koja u reakciji povezivanja s ferocenoctenom kiselinom daje konačne spojeve, harmicene amidnog tipa. U reakciji povezivanja korišteni su standardni reagensi i uvjeti (HATU/DIEA/sobna temperatura).

Sintetiziranim spojevima strukture su potvrđene standardnim analitičkim i spektroskopskim metodama ( $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR, IR te MS), a usto su im određena i tališta. Biološki učinak sintetiziranih spojeva ispitat će se u budućim istraživanjima.



**Slika.** Pripravljene harmiceni

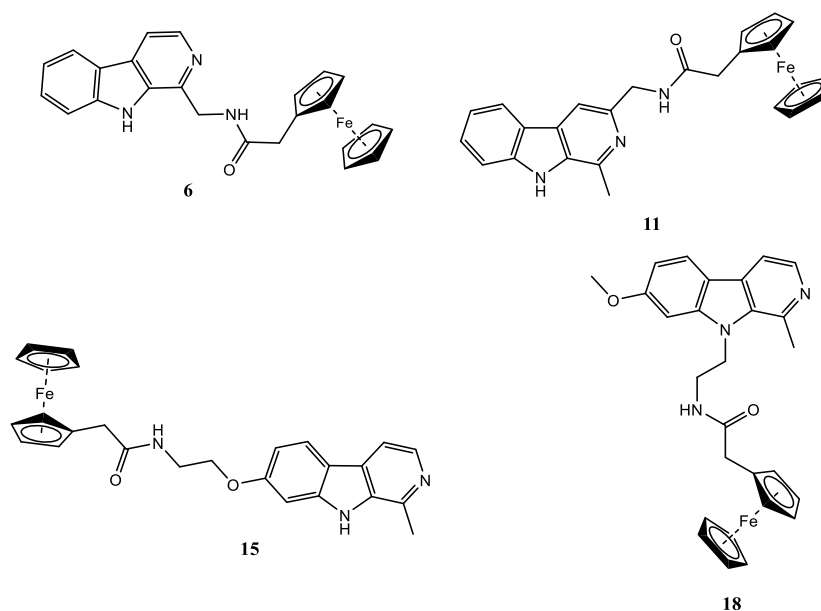
Ključne riječi: amid, reakcija povezivanja, ferocen, harmin, malarija.



Alkaloids of the  $\beta$ -carboline type represent a large group of natural and synthetic compounds. They are widely spread and display a wide array of pharmacological effects such as antimalarial, antimicrobial and cytostatic. On the other hand, ferrocene, owing to its stability, low toxicity and redox properties, is an ideal partner of  $\beta$ -carbolines in the synthesis of new hybrid compounds, since it has been shown that ferrocene derivatives exhibit antimalarial and cytostatic activities..

Here we present synthesis of four new harmicenes of the amide type, *i.e.* hybrid compounds composed of  $\beta$ -carboline and ferrocene moieties linked *via* amide bond, in four different positions of the  $\beta$ -carboline ring (1, 3, 7 i 9) (**6**, **11**, **15**, **18**). Before the synthesis of hybrid compounds in the positions 1 and 3,  $\beta$ -carbolines **1** and **7** were prepared by the means of Pictet-Spengler reaction, whereas harmine was the starting compound for the synthesis of harmicenes prepared in the positions 7 and 9 of the  $\beta$ -carboline ring. Further reactions included introduction of the primary amino group in the  $\beta$ -carboline moiety and coupling reaction with ferroceneacetic acid, by applying standard reagents and conditions (HATU/DIEA/room temperature).

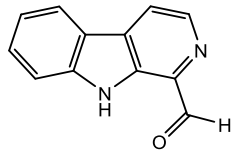
The structures of synthesized compounds were confirmed by standard analytical and spectroscopic methods ( $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR, IR and MS), also their melting points were determined. Their biological activities will be evaluated in the future studies.



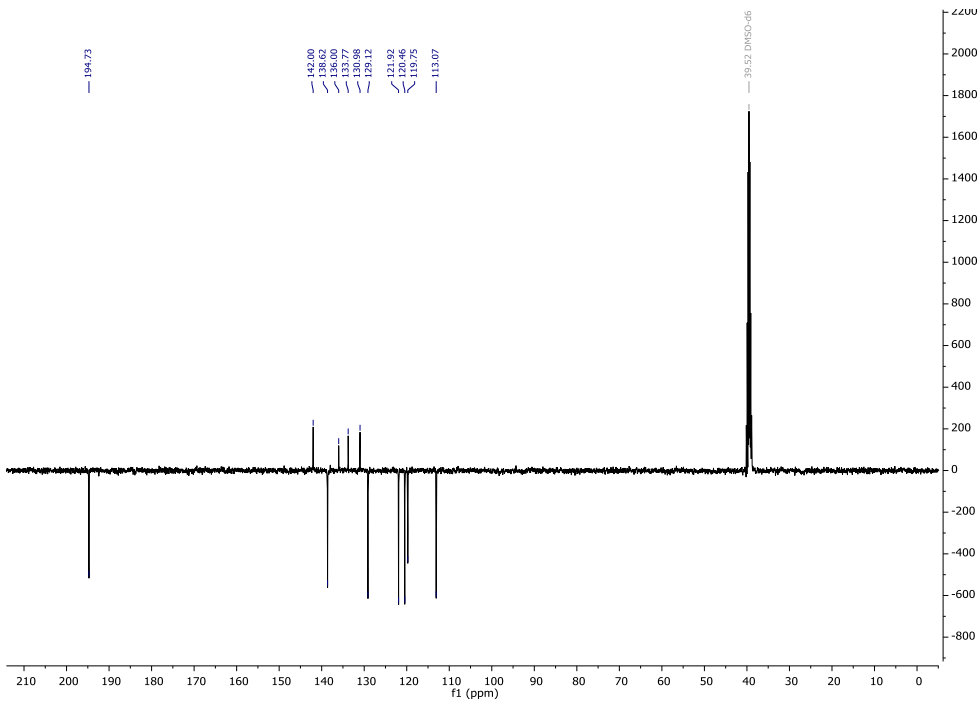
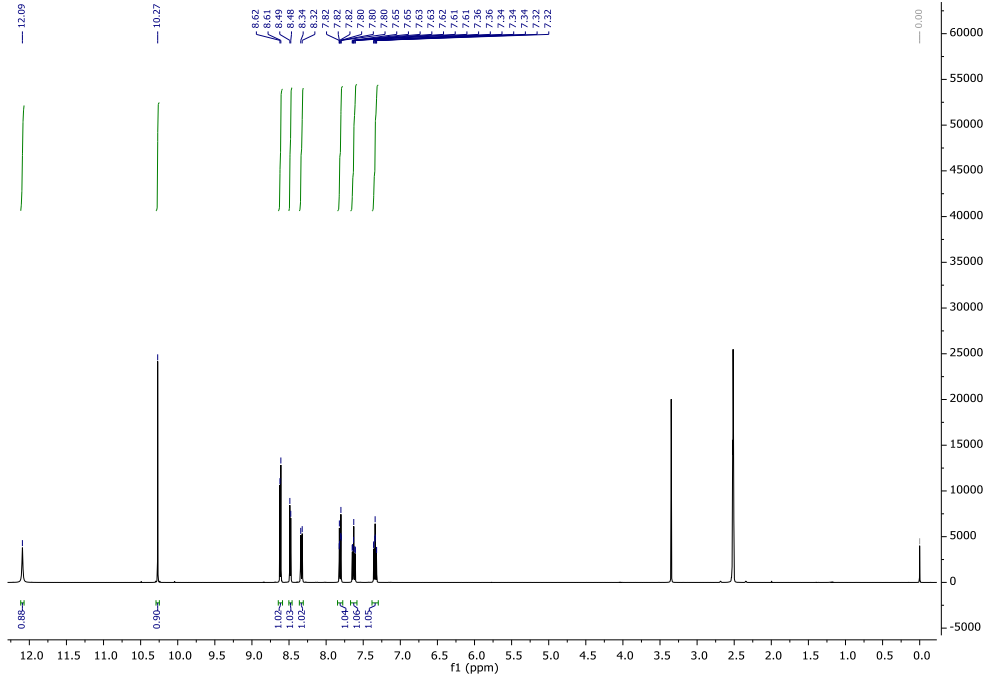
**Figure.** Structures of the prepared harmicenes

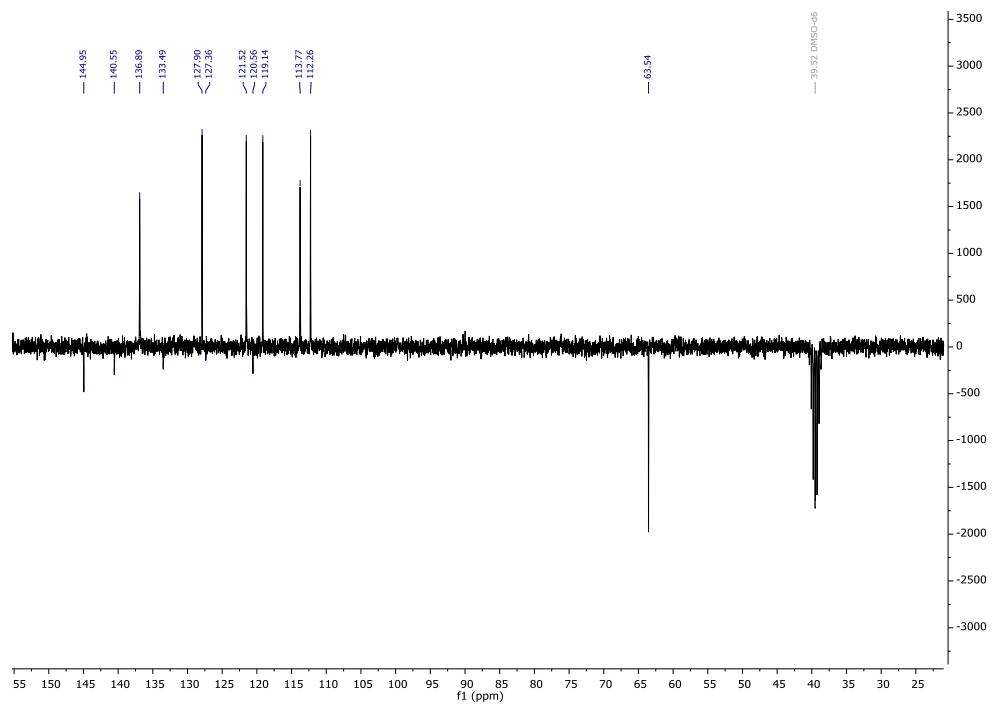
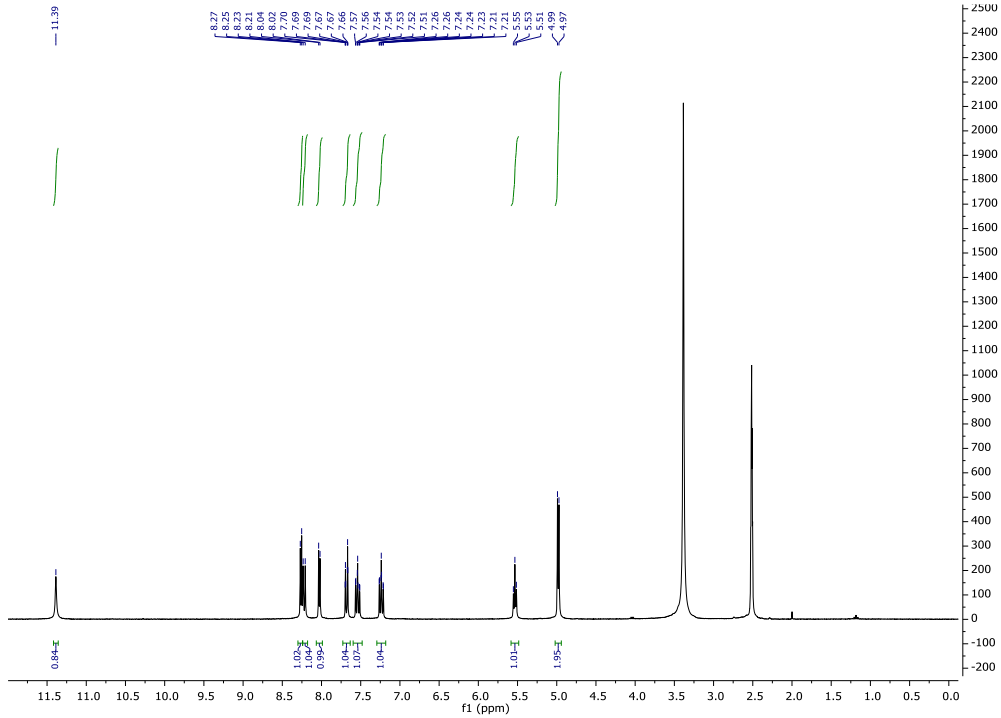
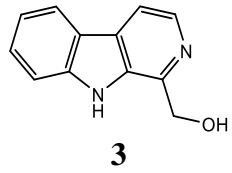
Keywords: amide, coupling, ferrocene, harmine, malaria.

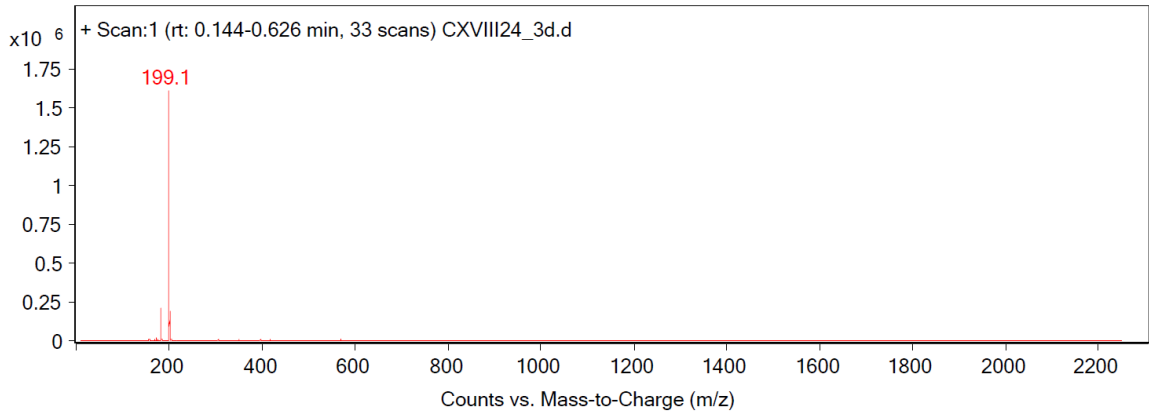
## **8. PRILOZI**

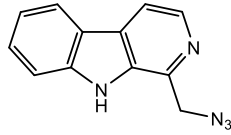


2

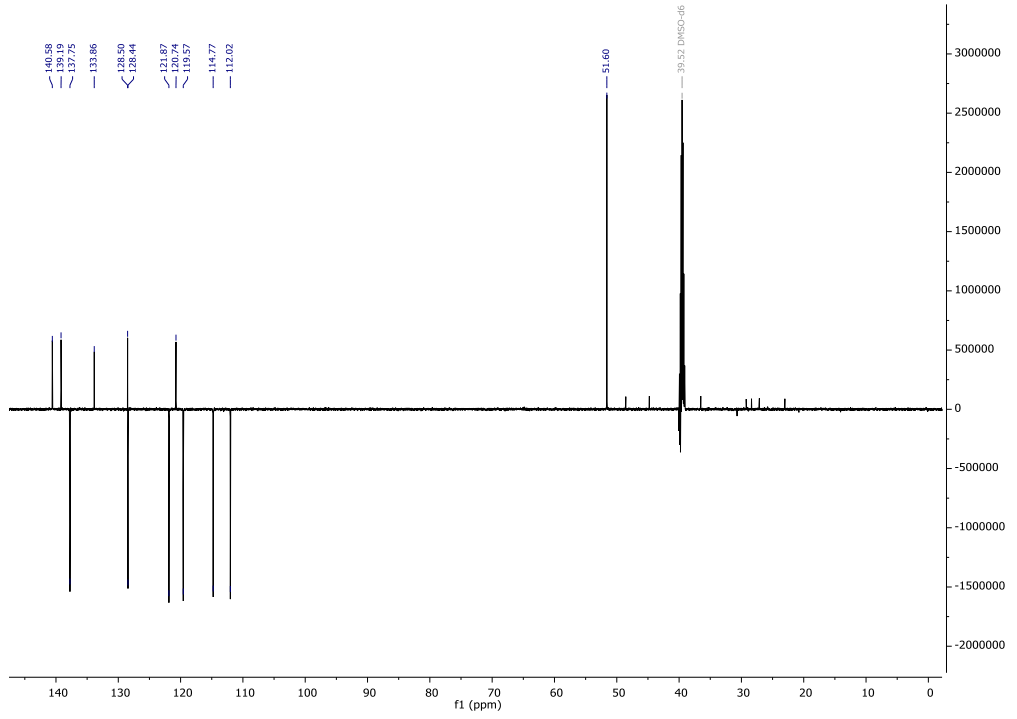
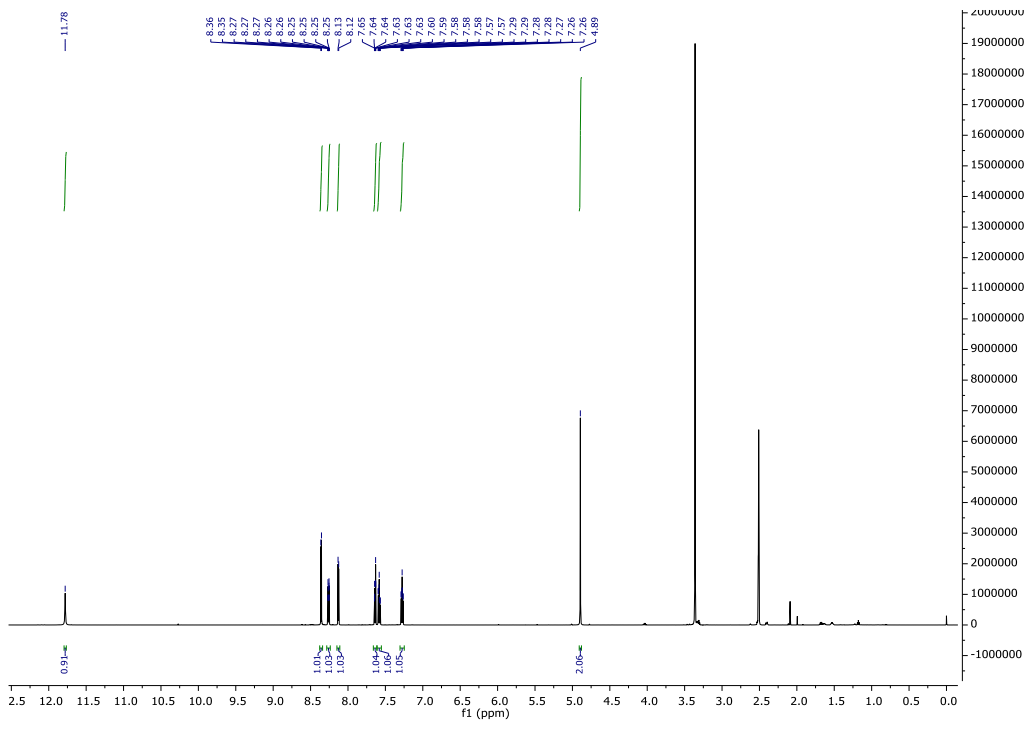


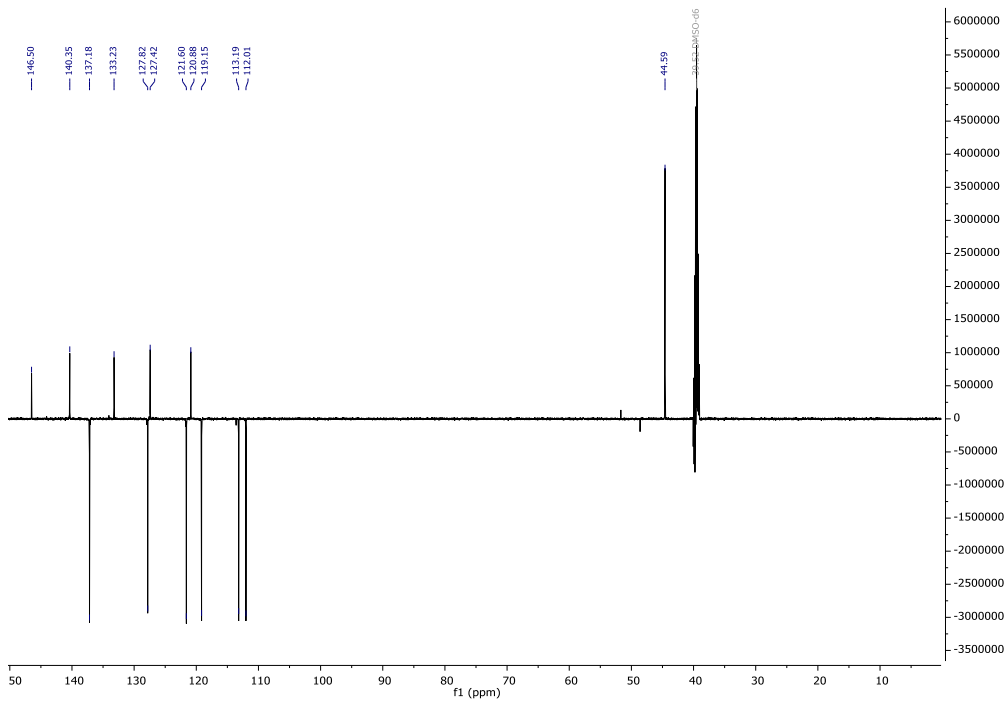
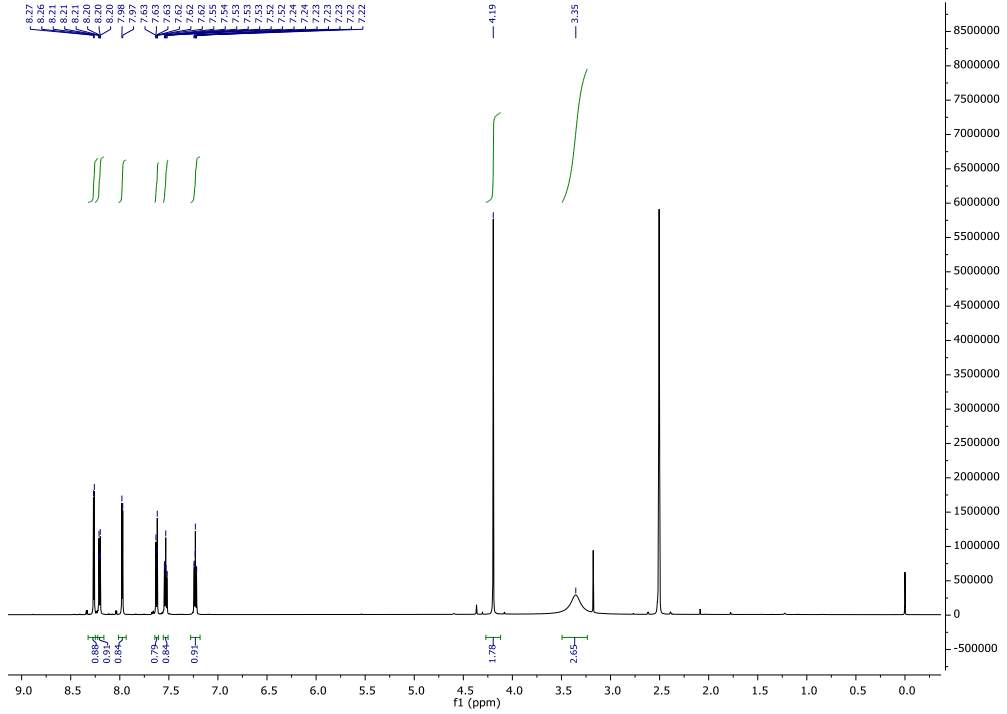
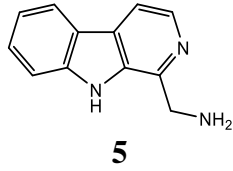


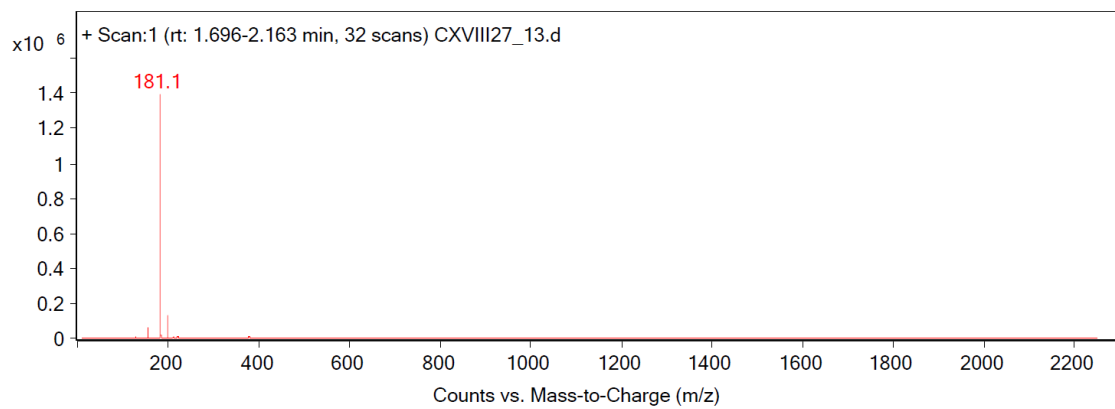




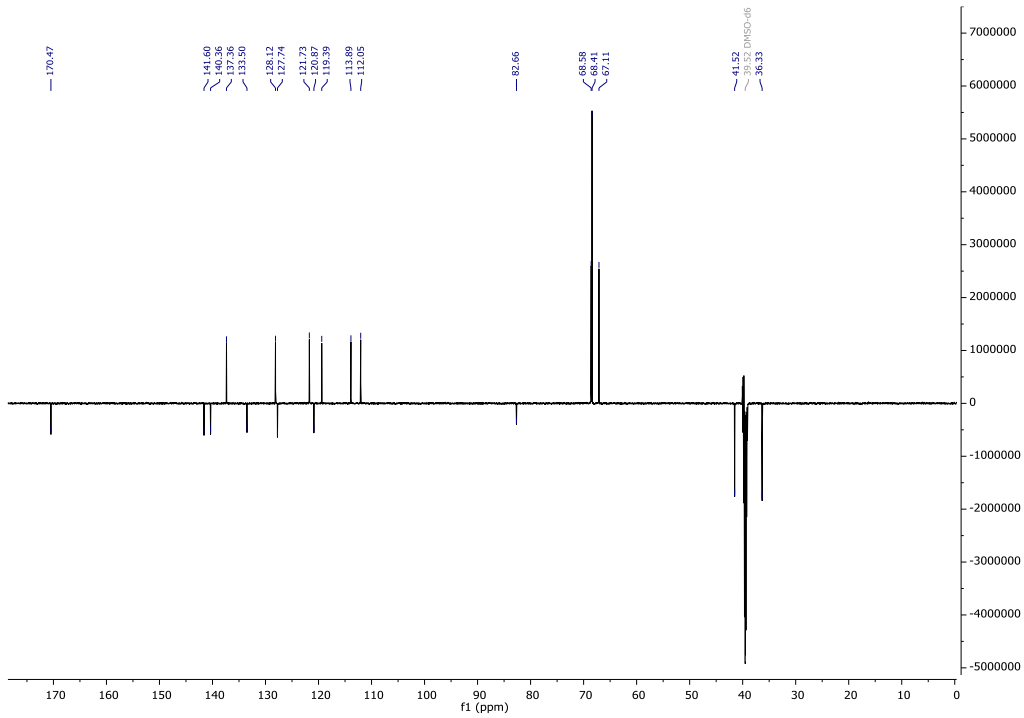
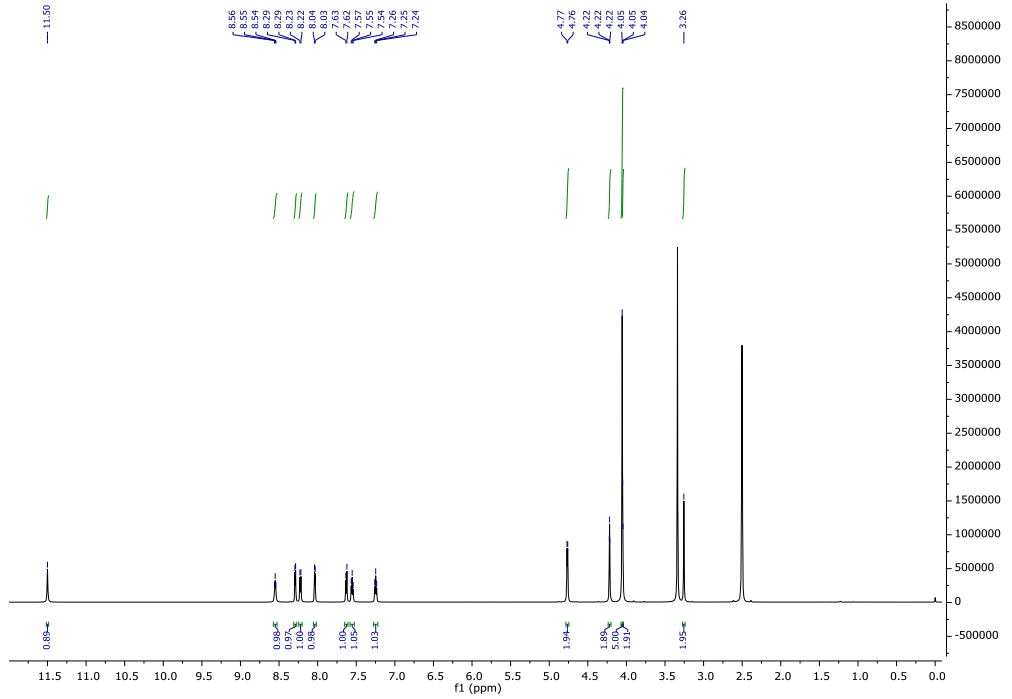
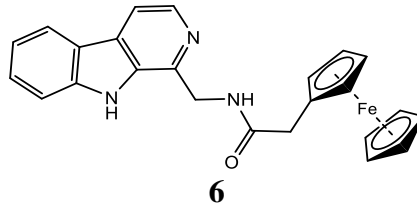
4

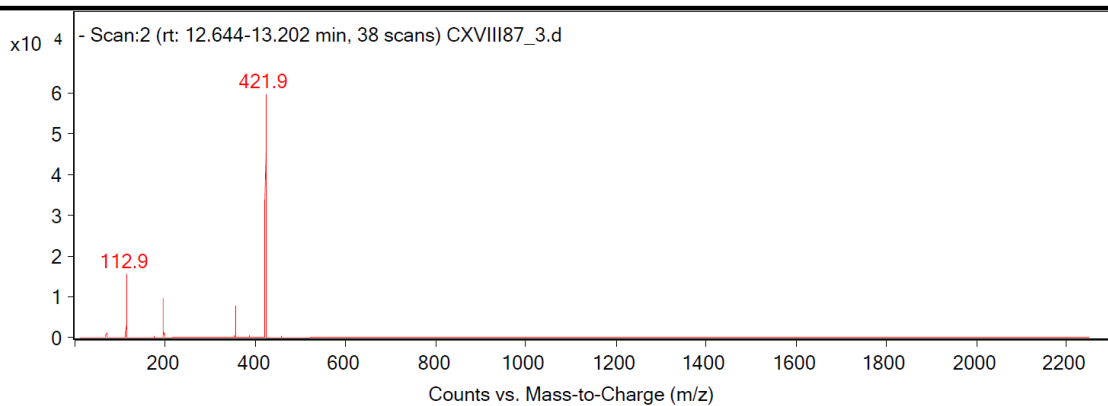


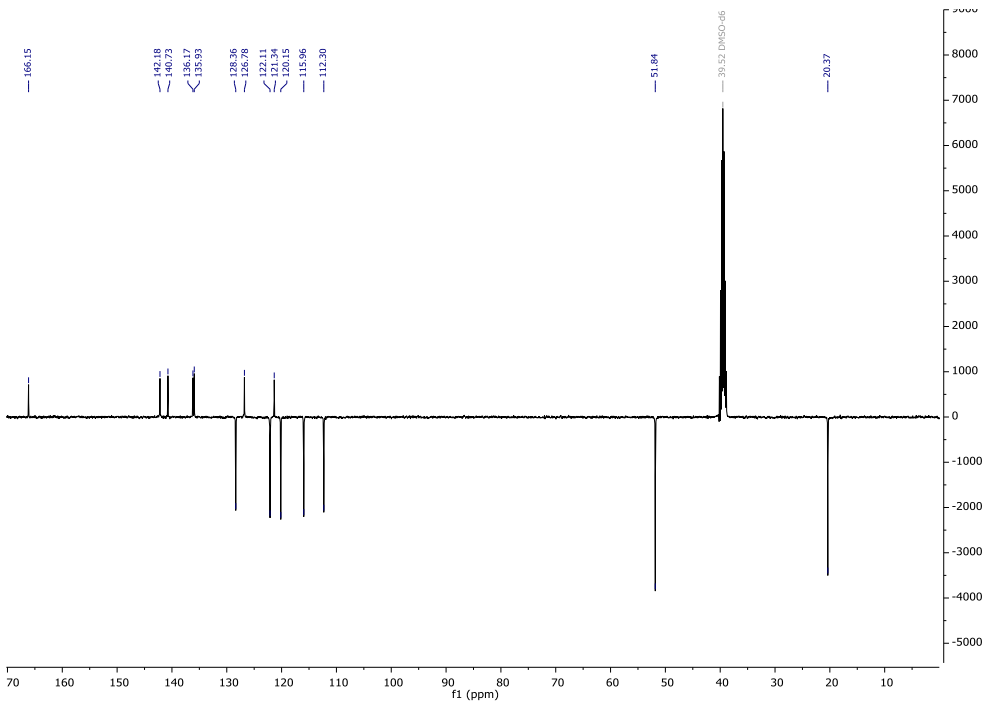
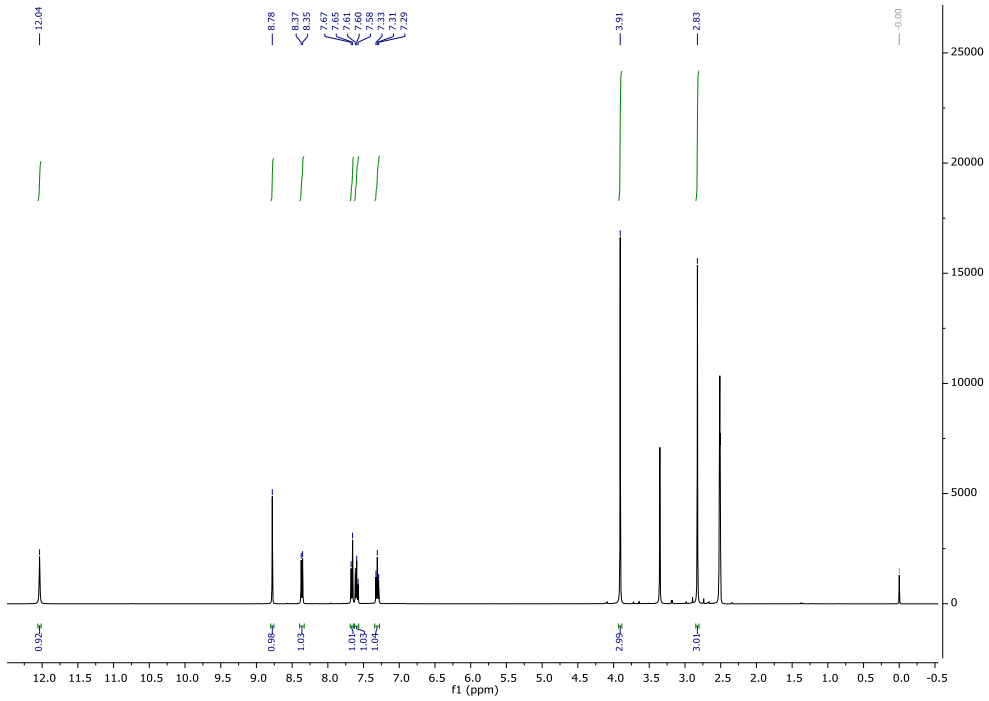
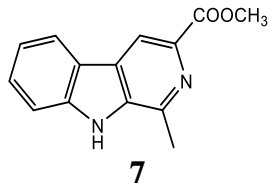


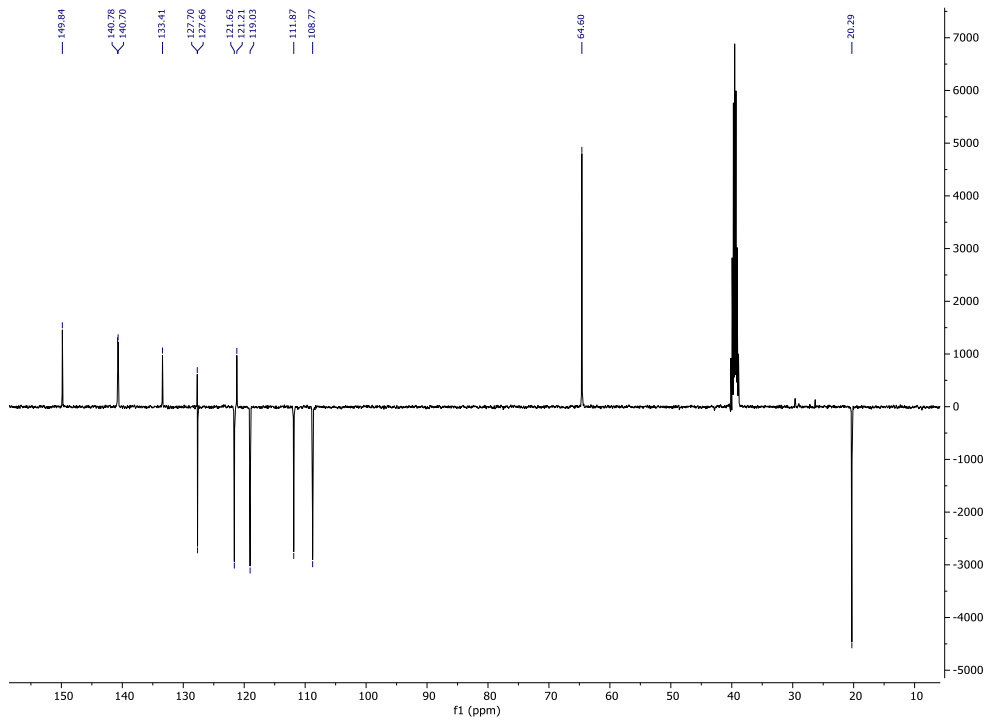
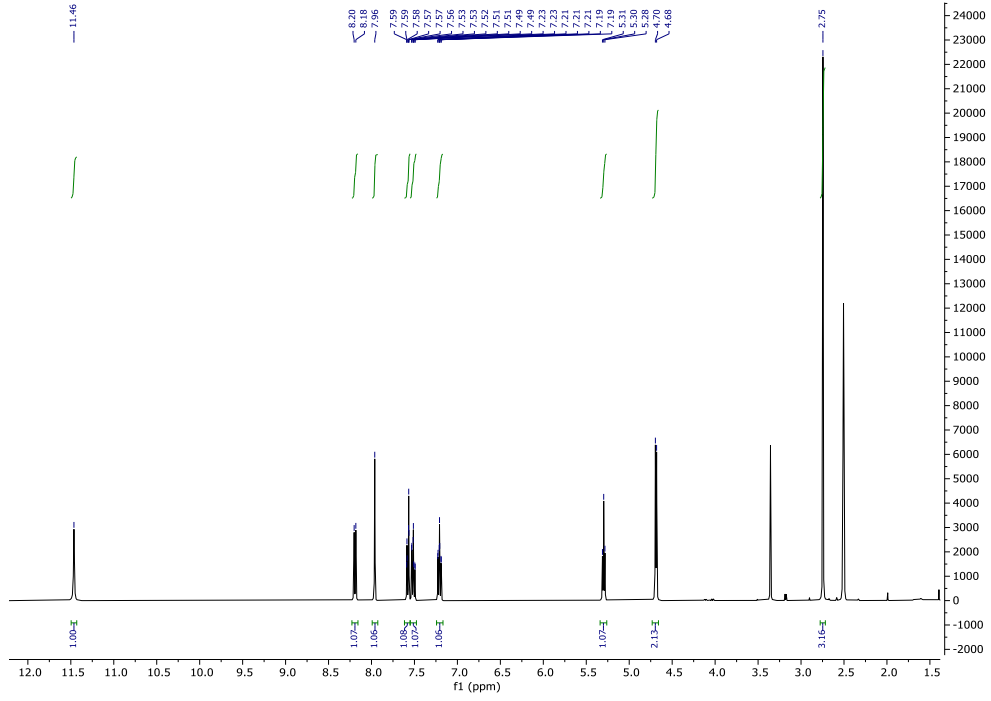
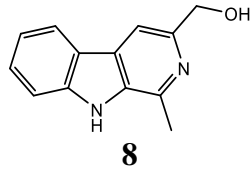


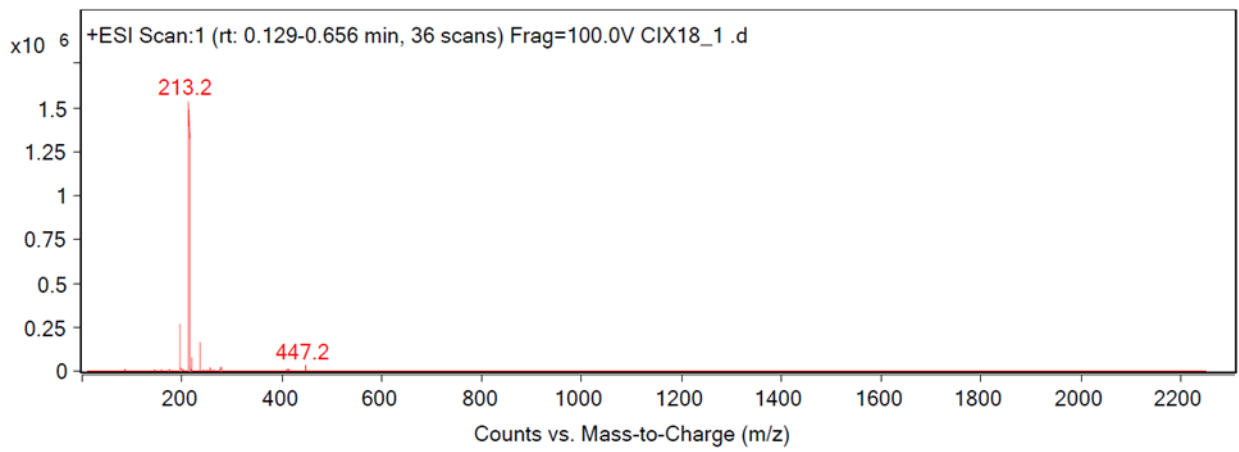
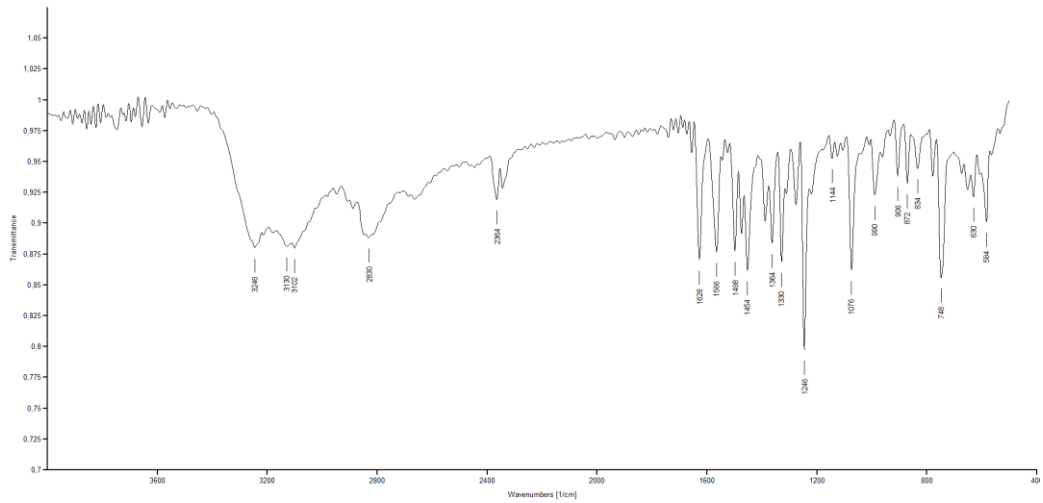


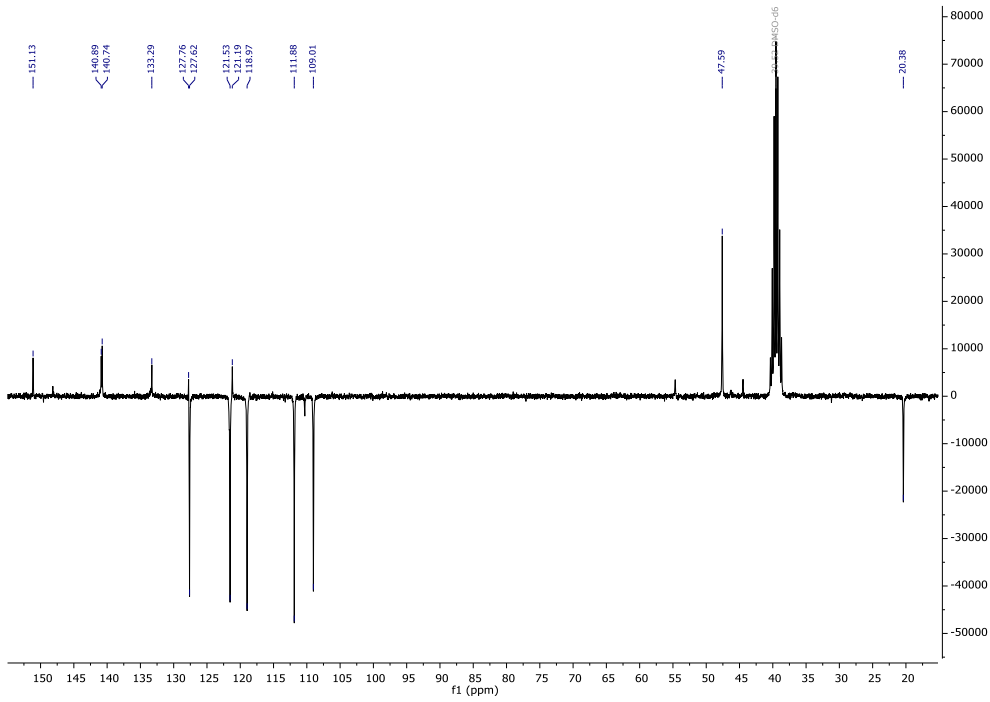
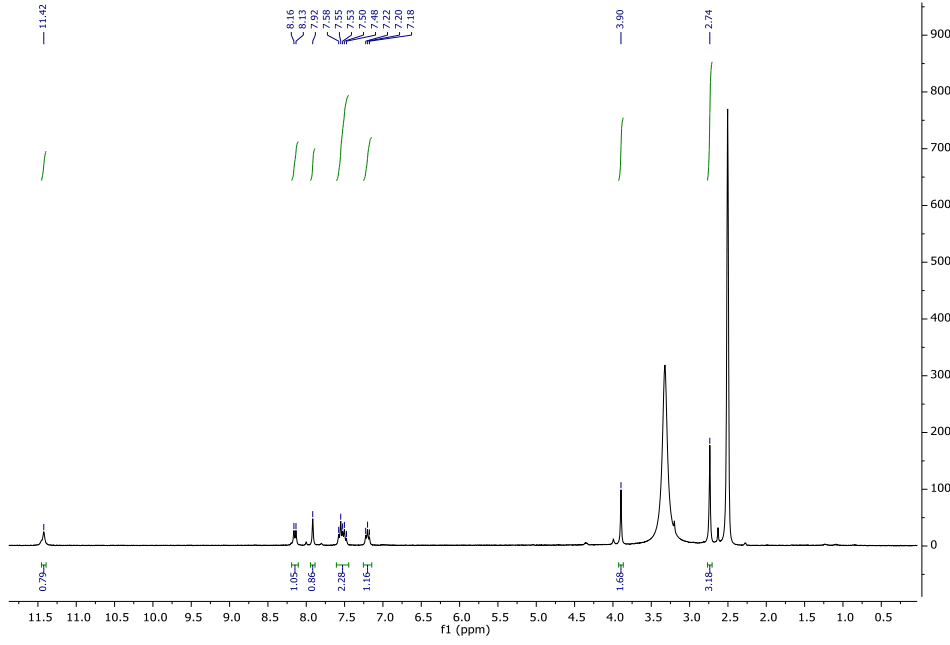
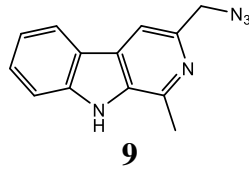


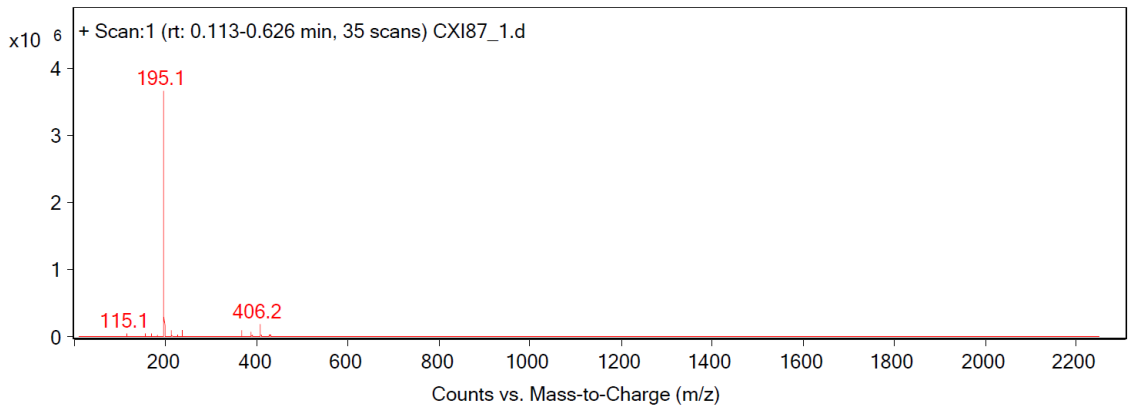


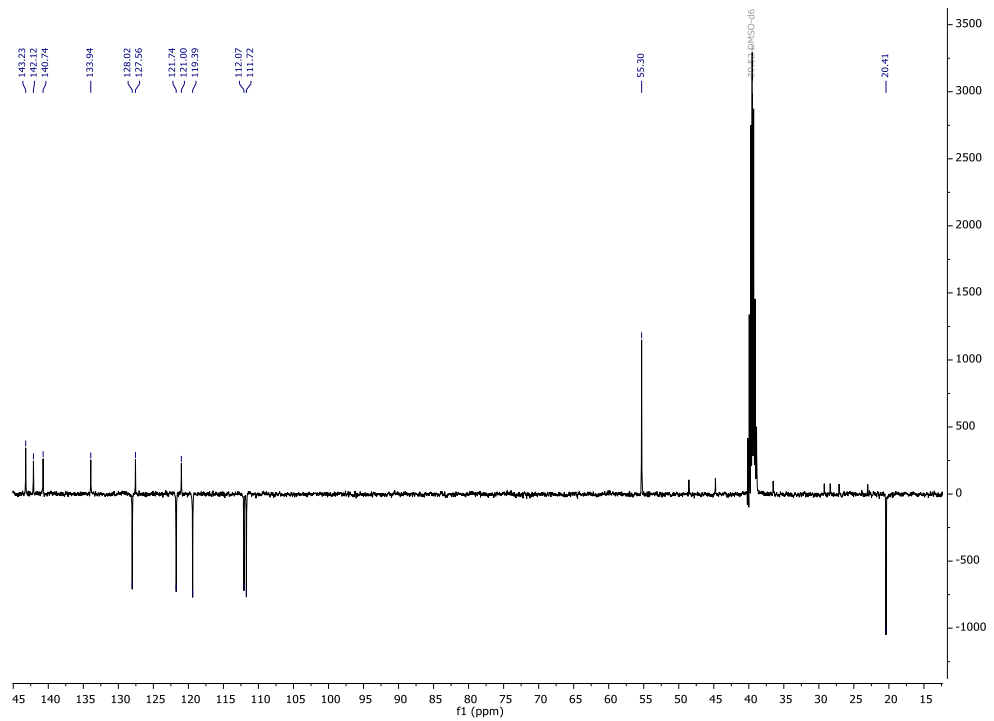
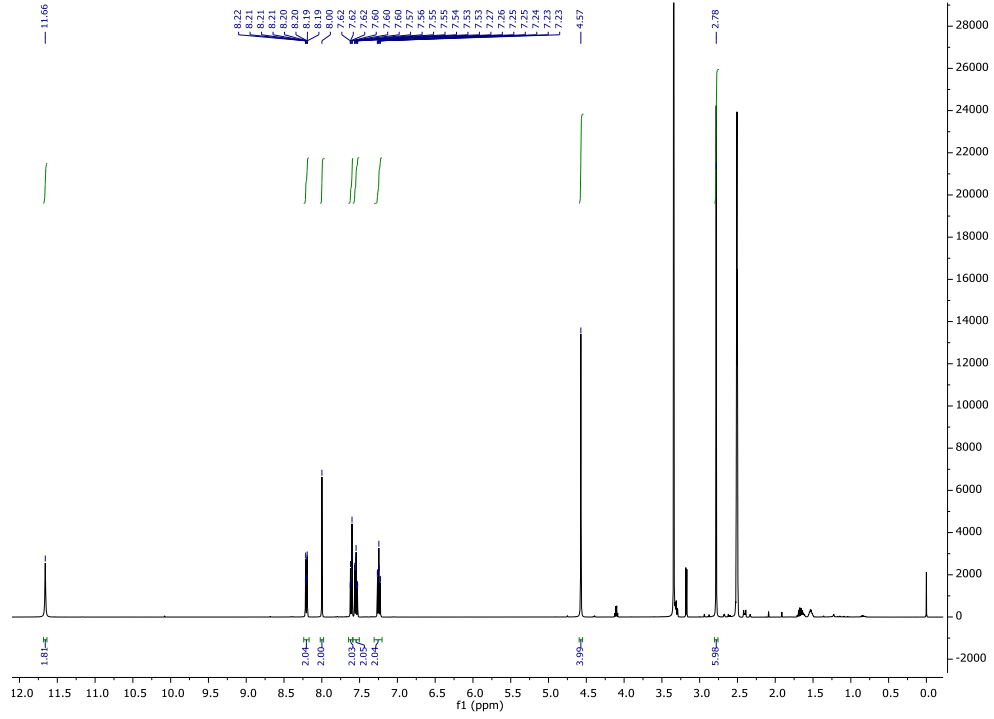
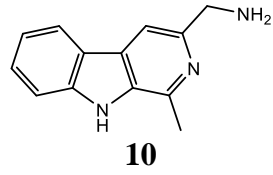




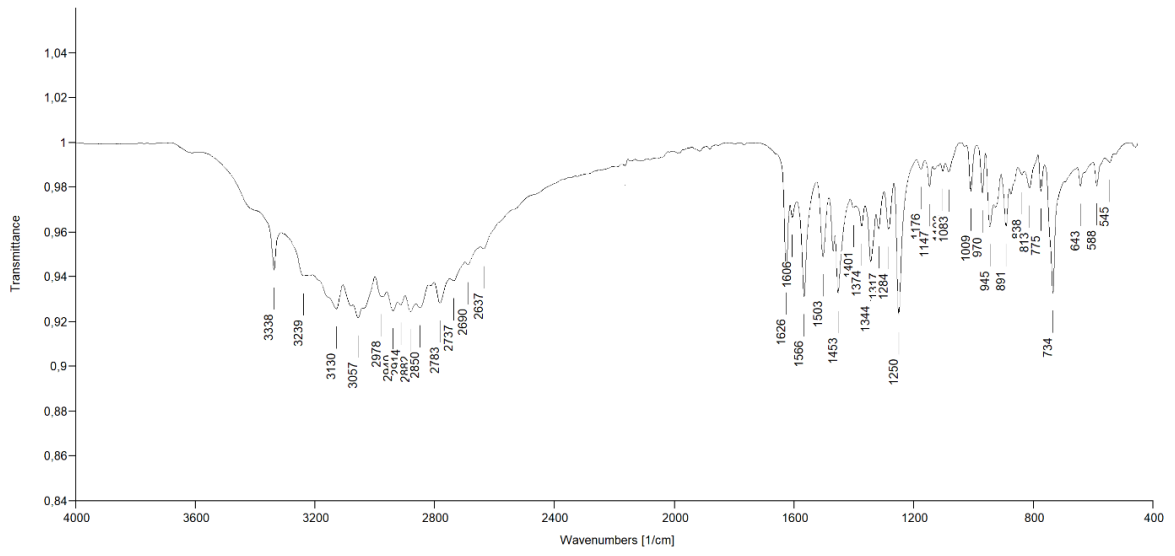


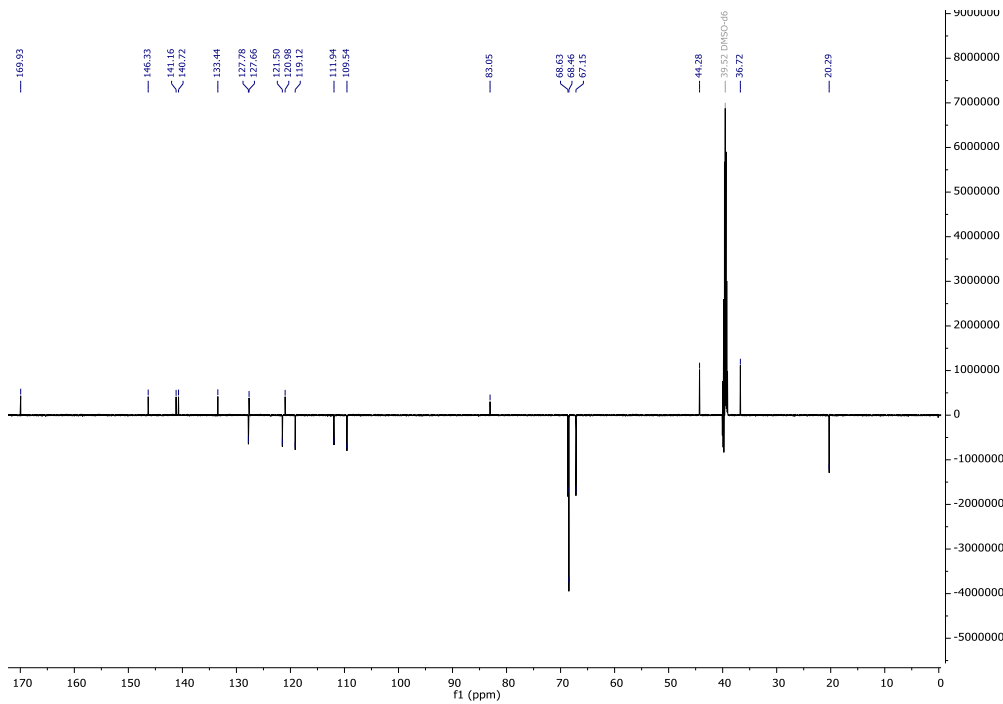
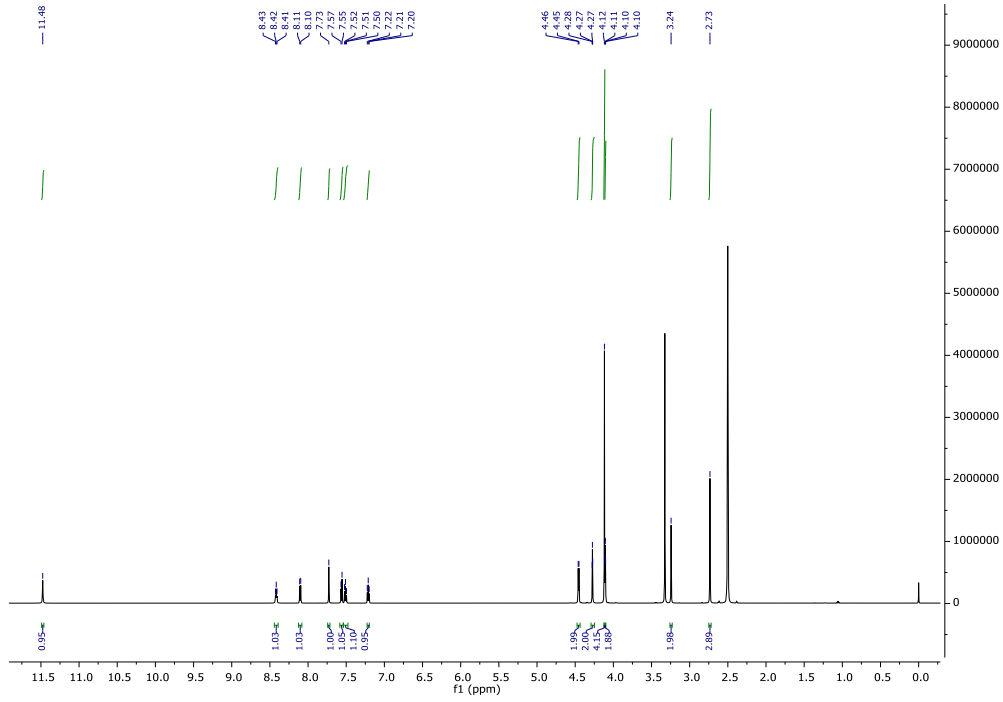
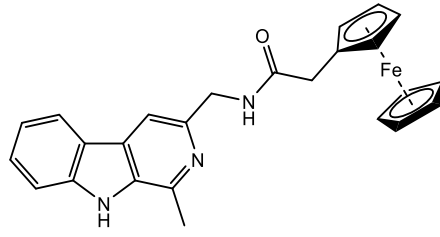


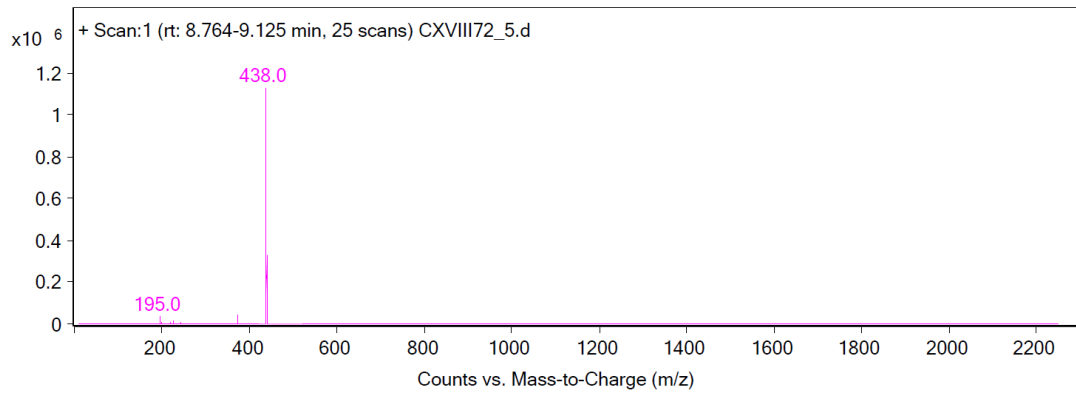


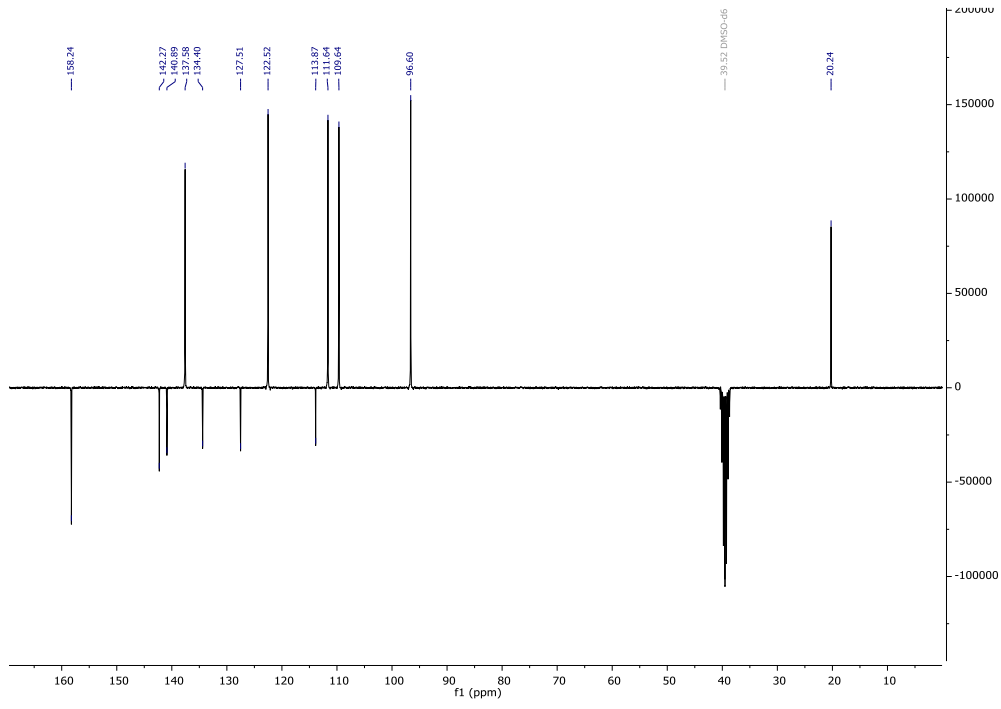
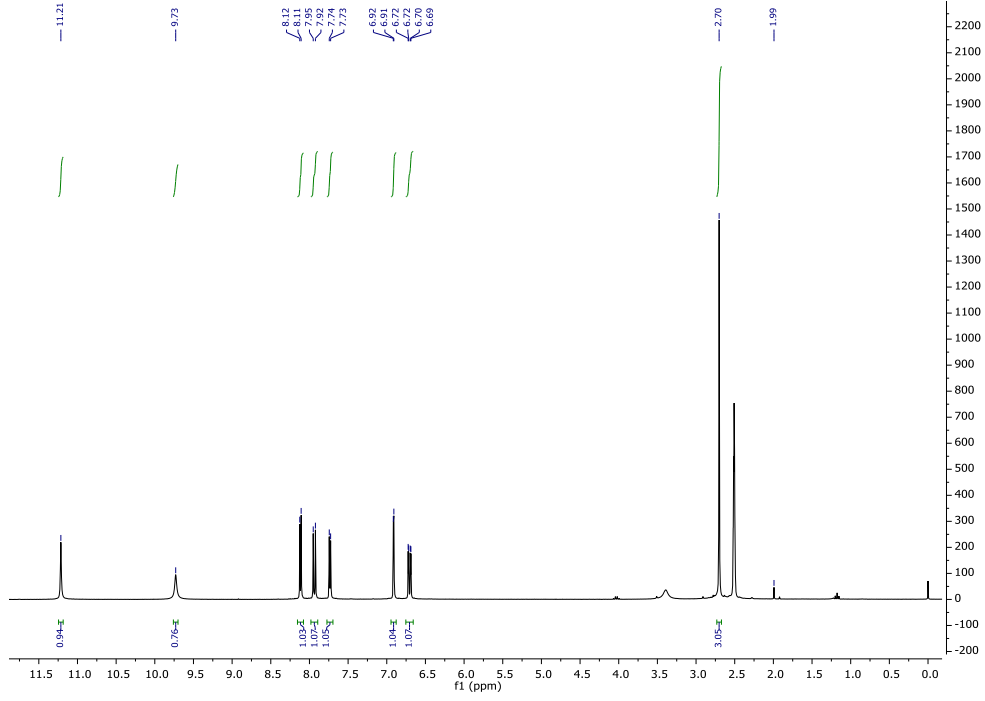
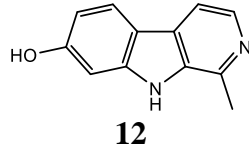


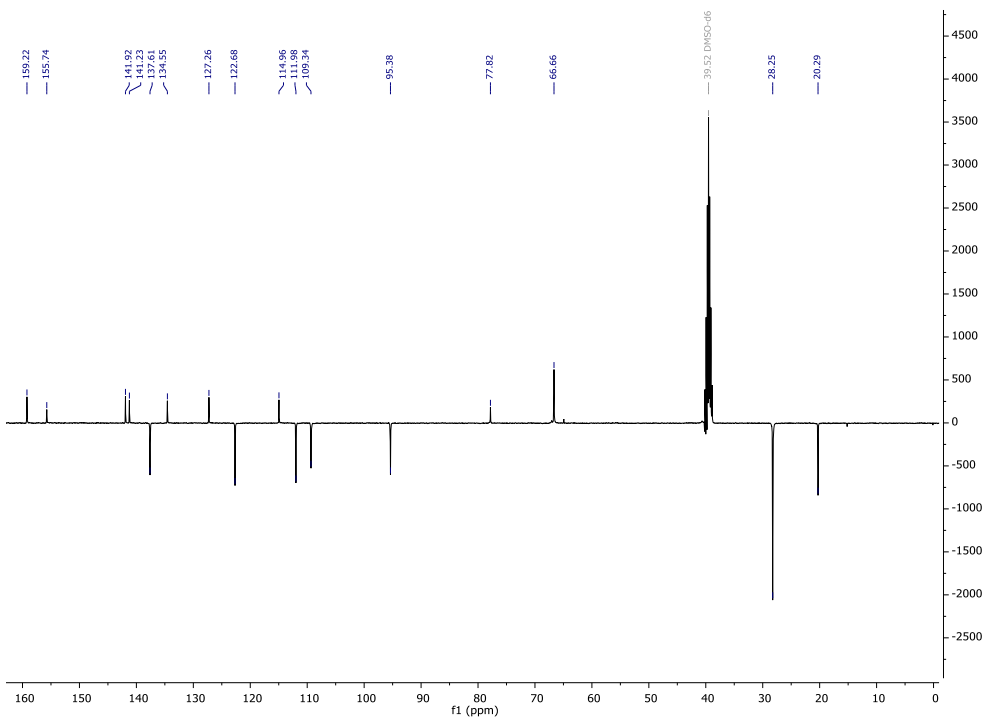
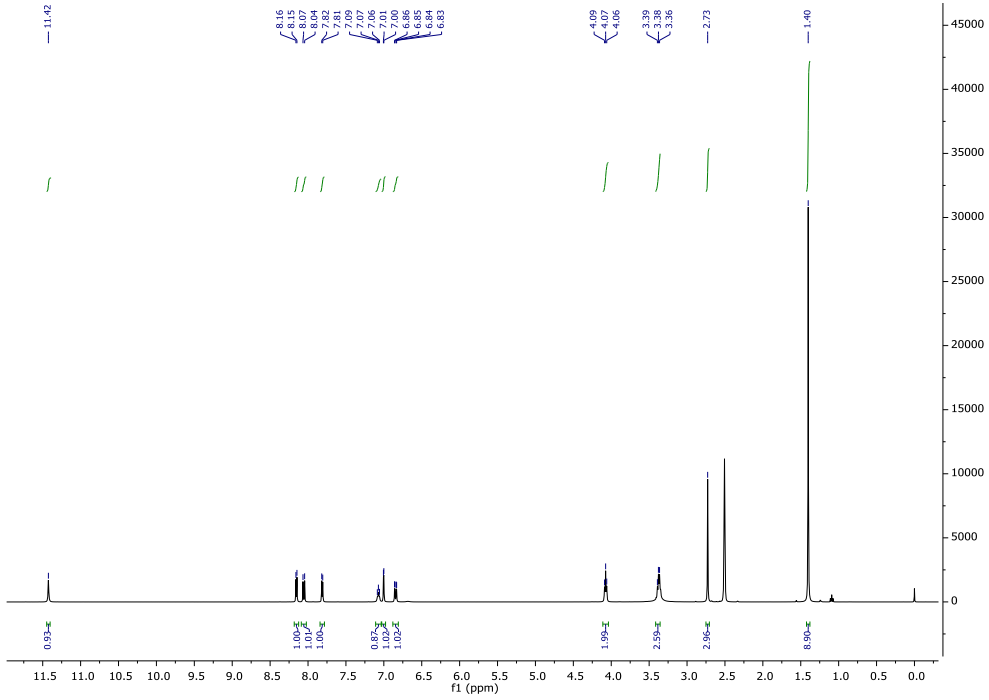
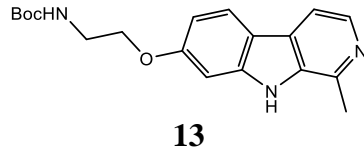


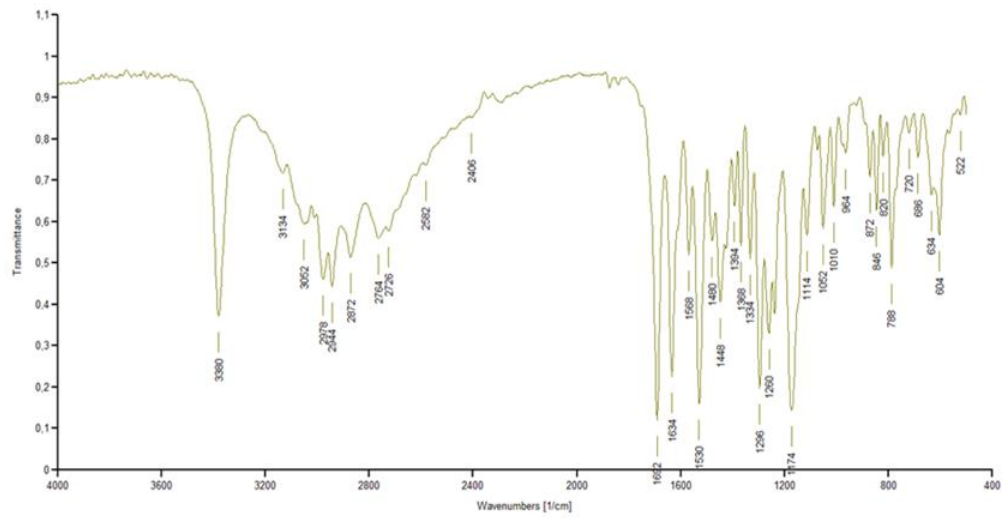
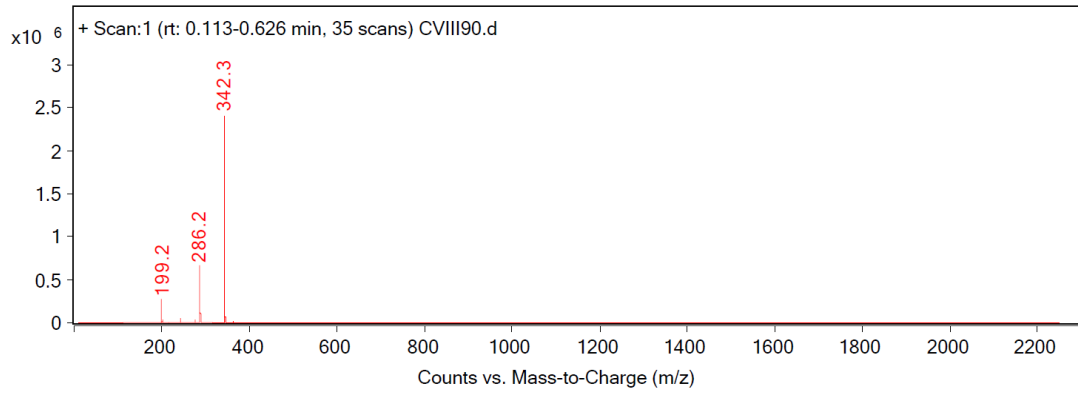


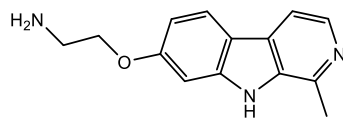




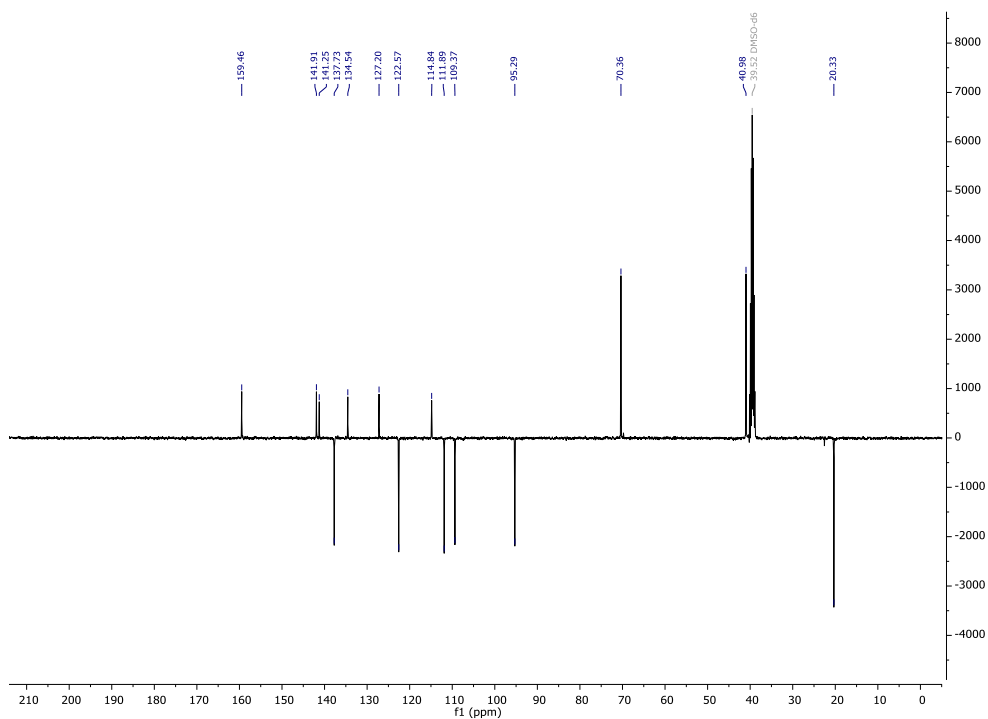
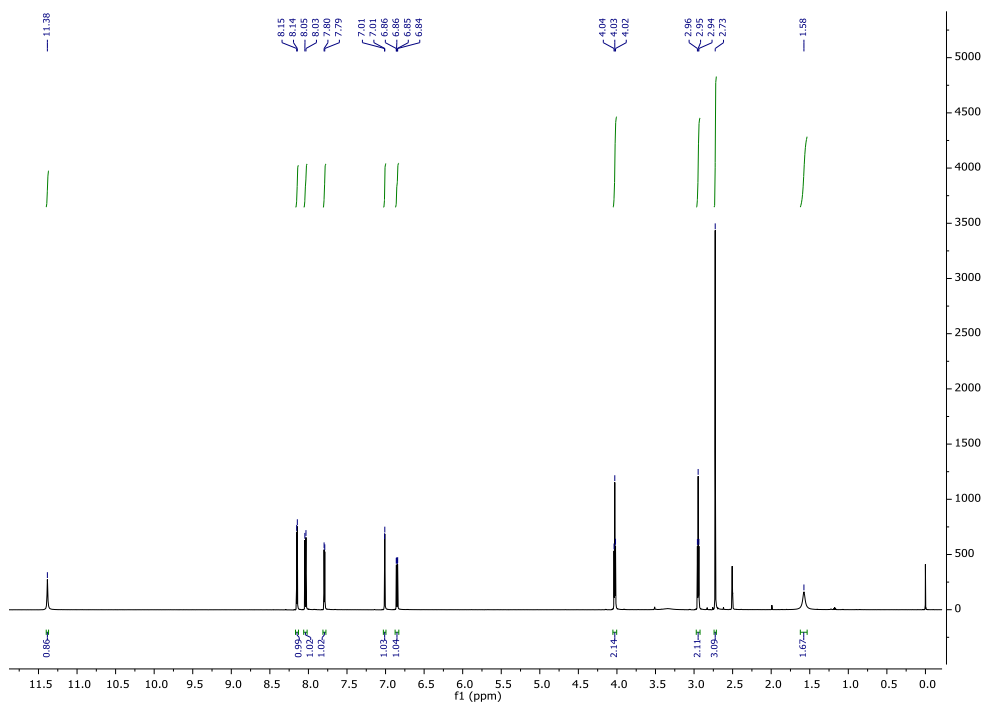


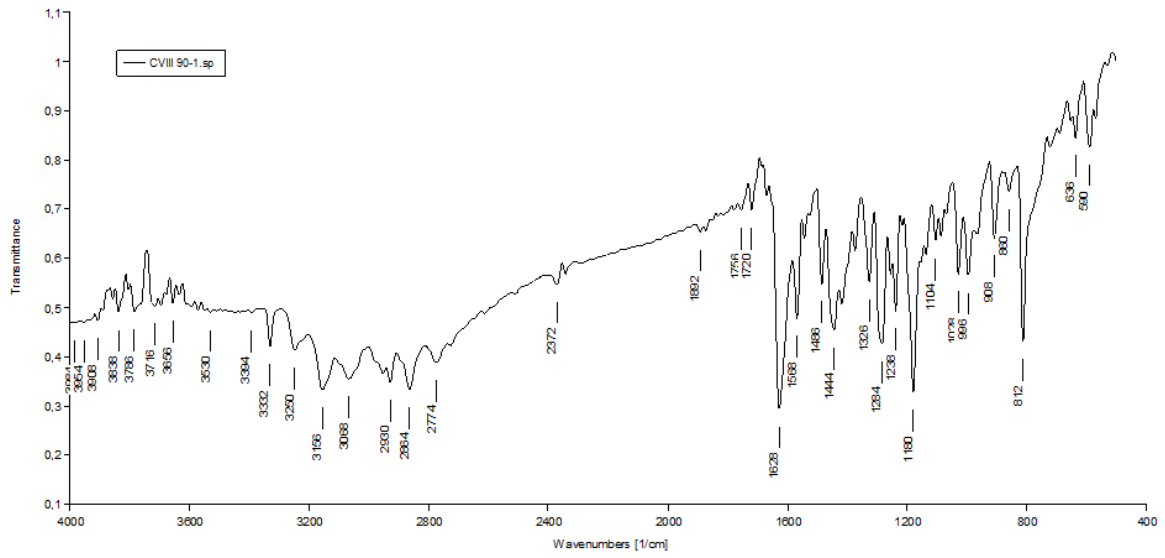
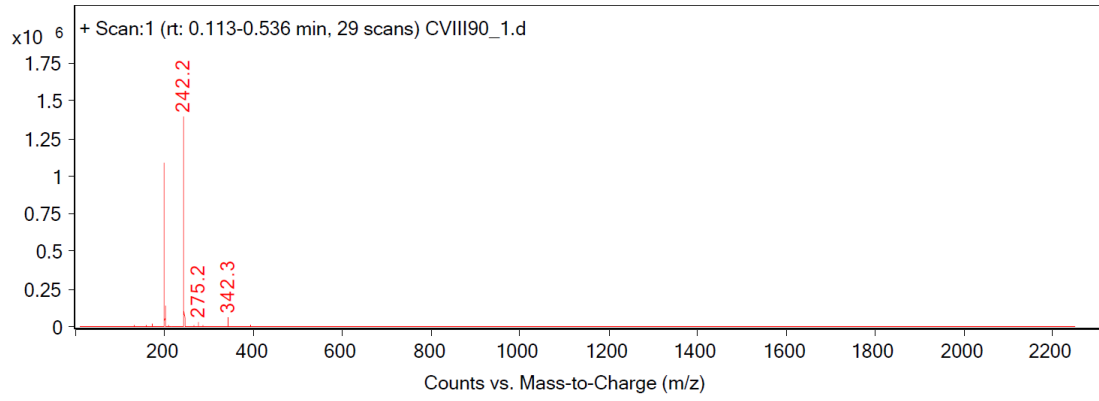




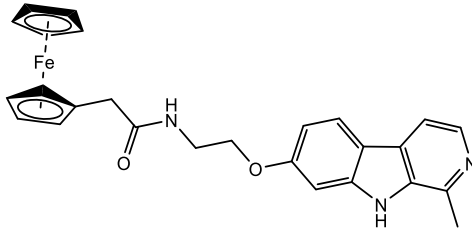


**14**

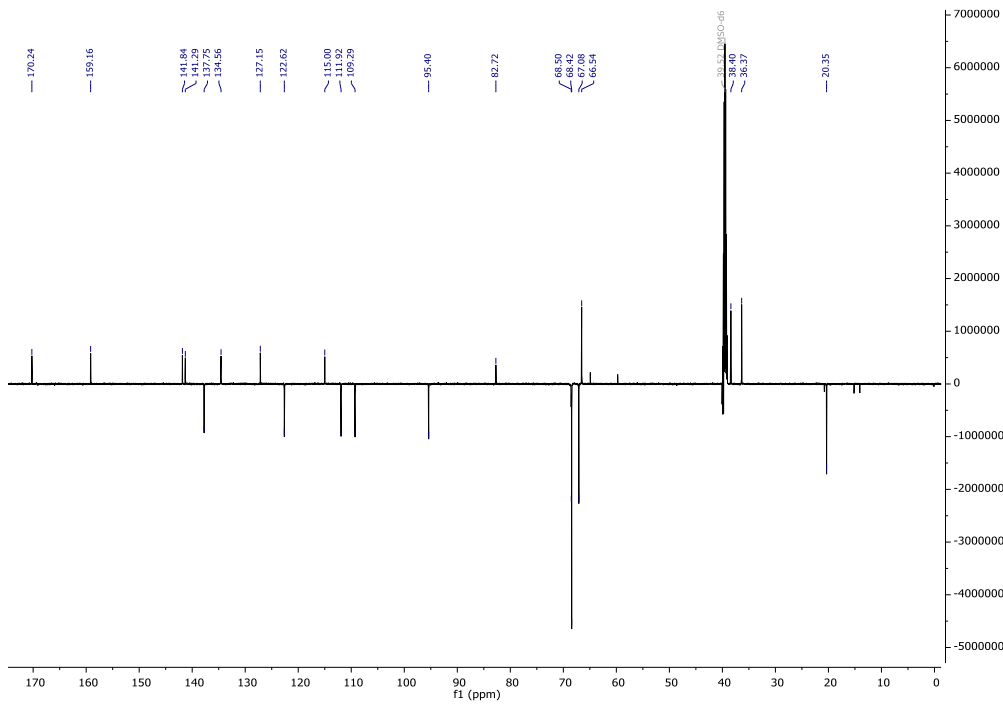
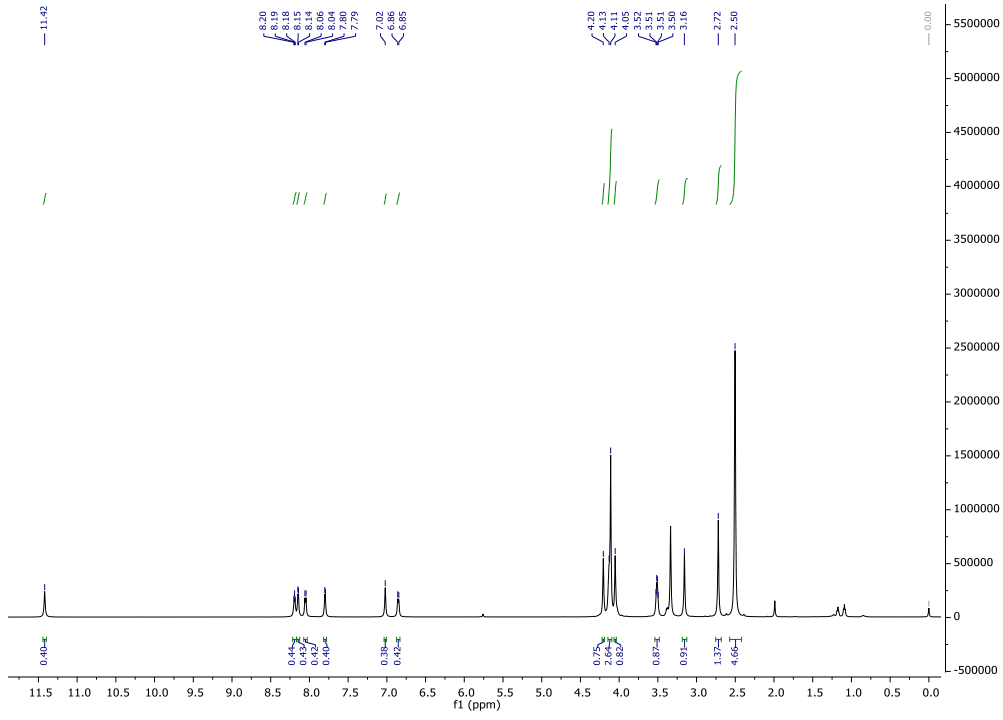


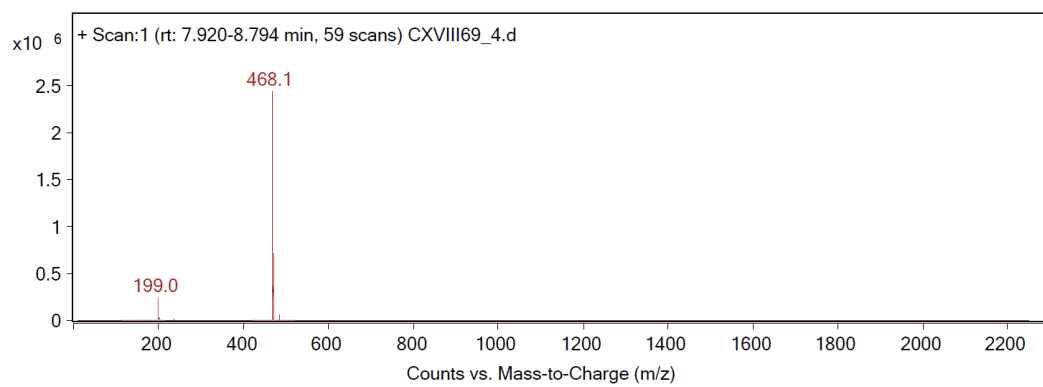


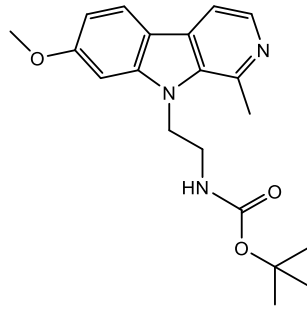




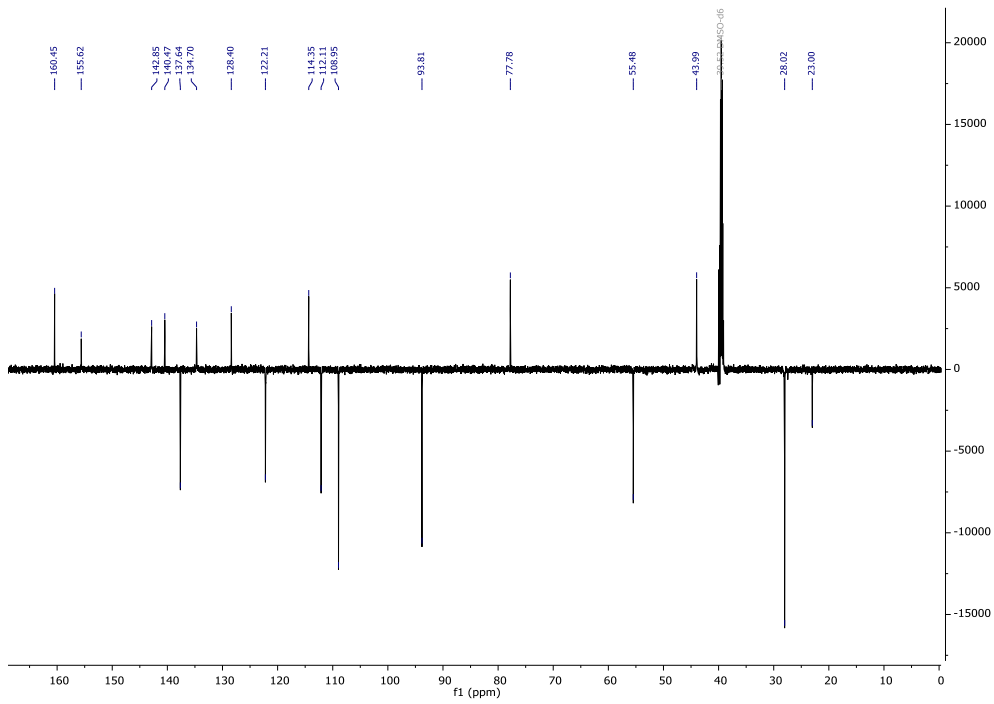
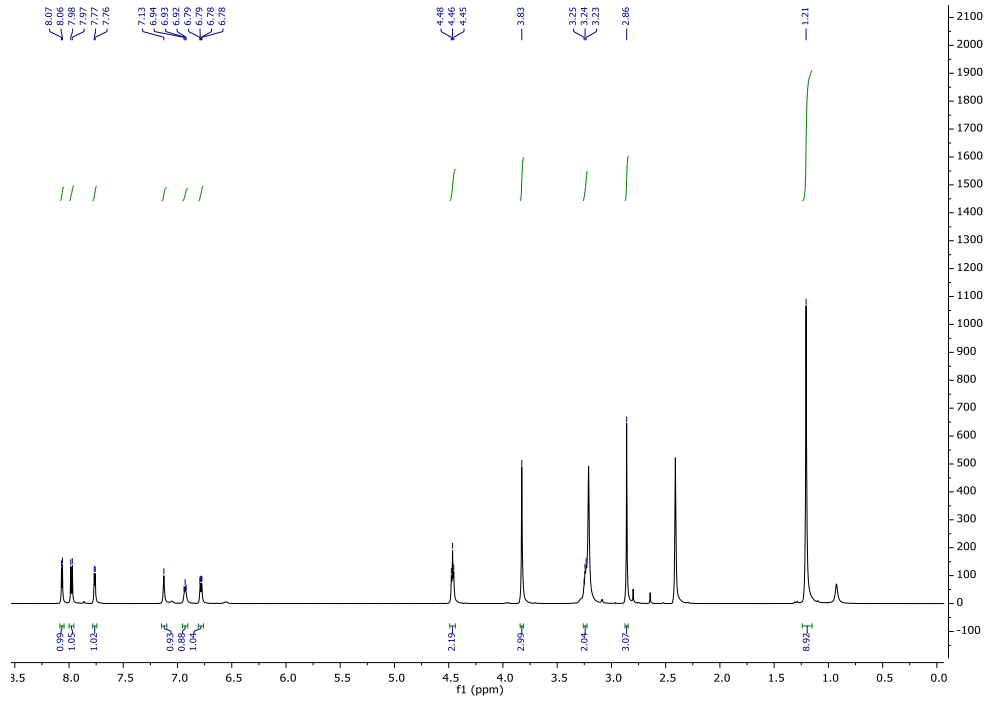
15

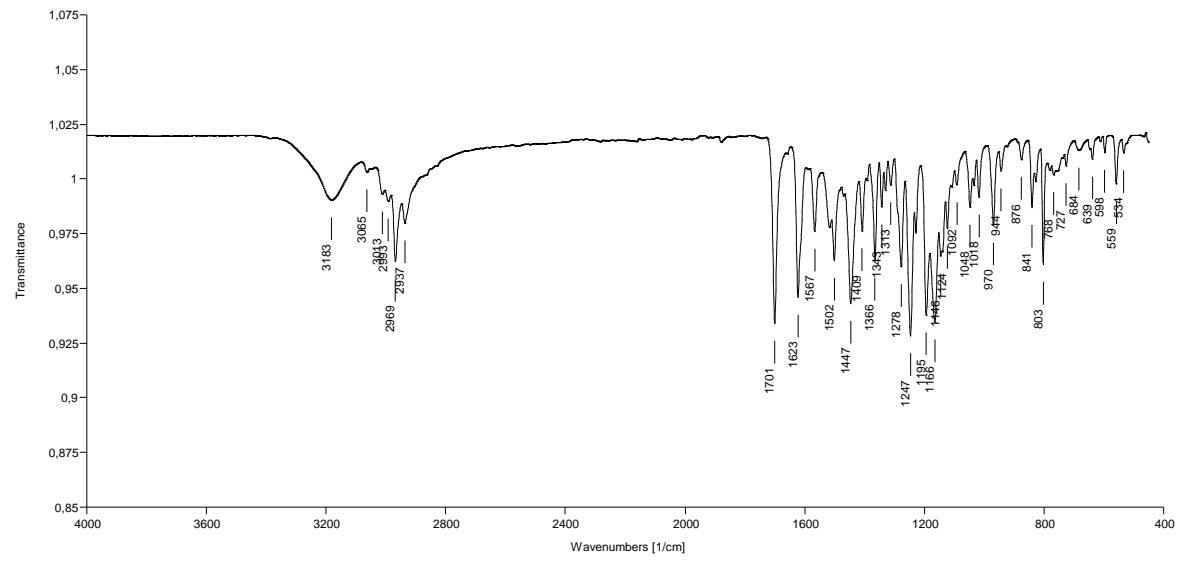
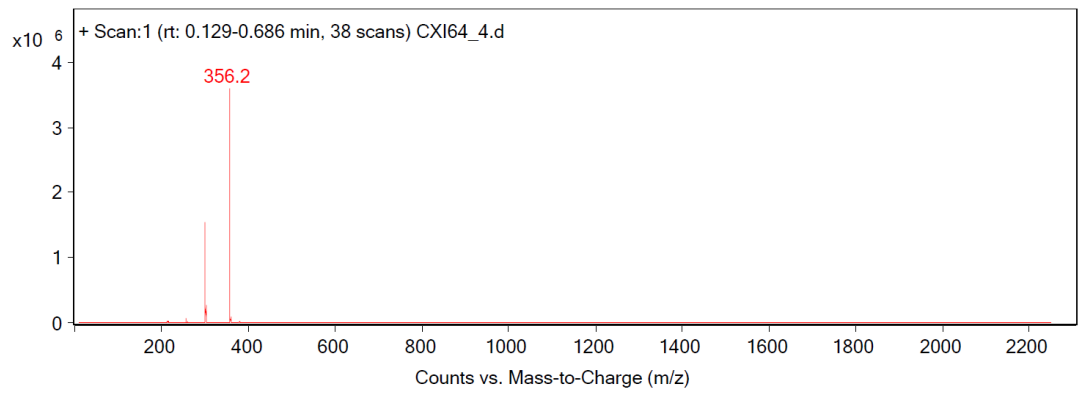


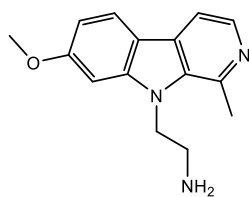




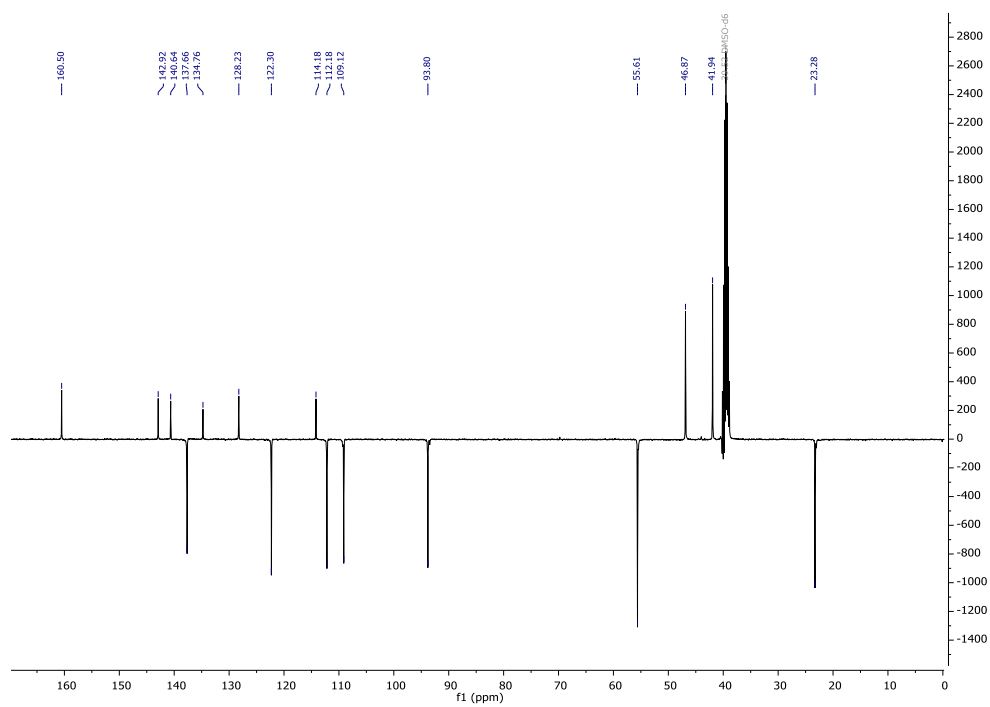
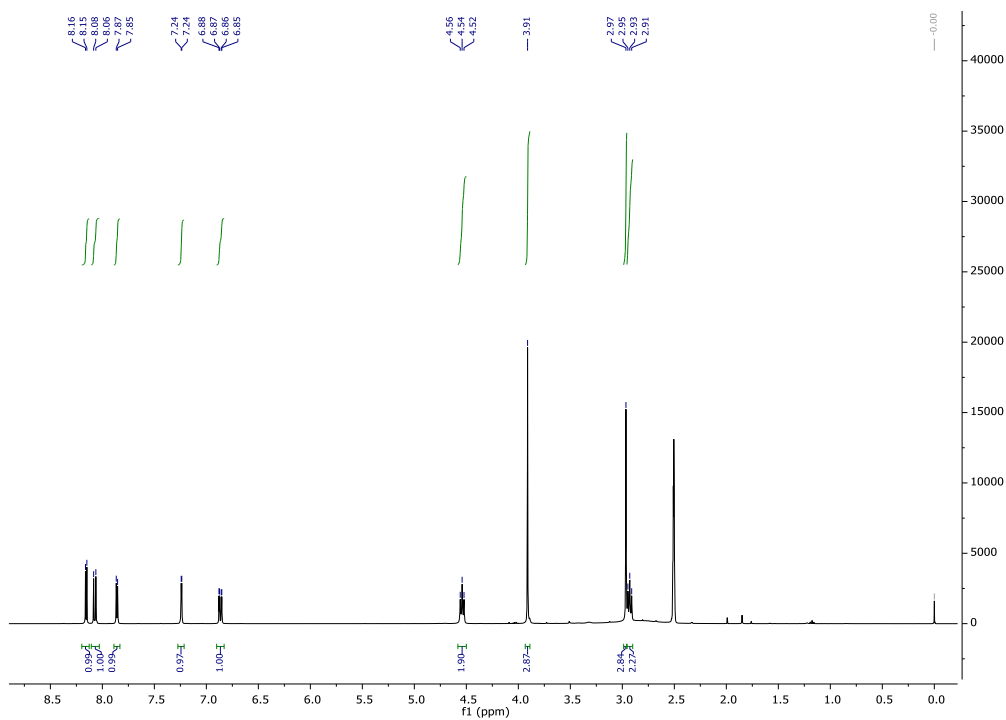
16

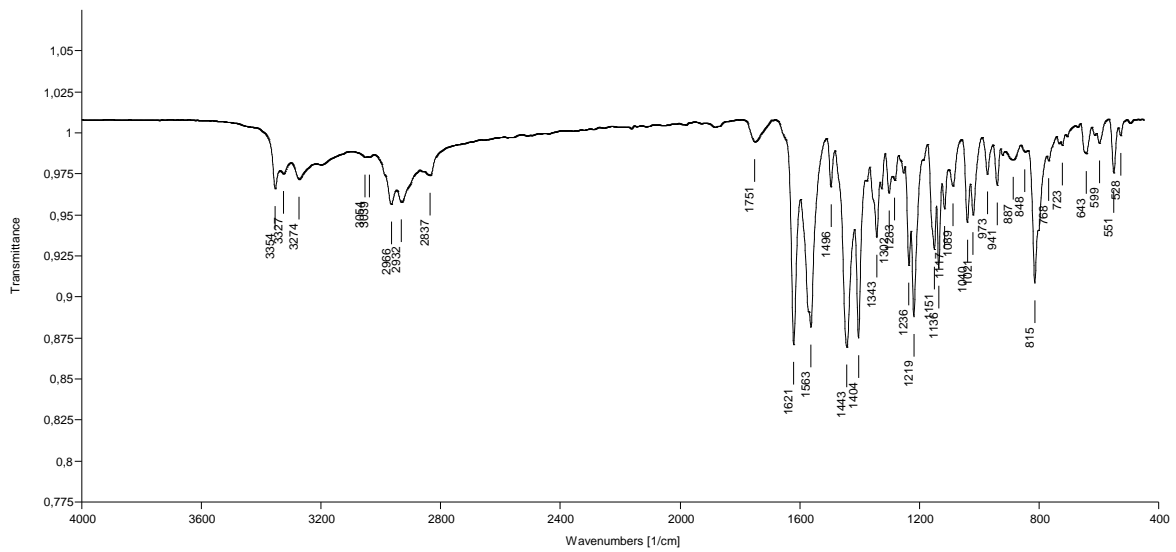
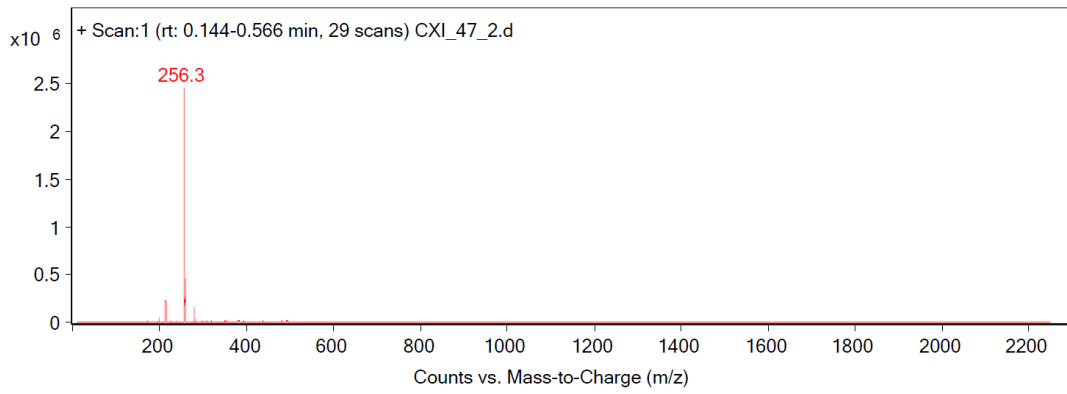


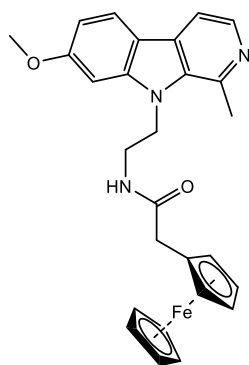




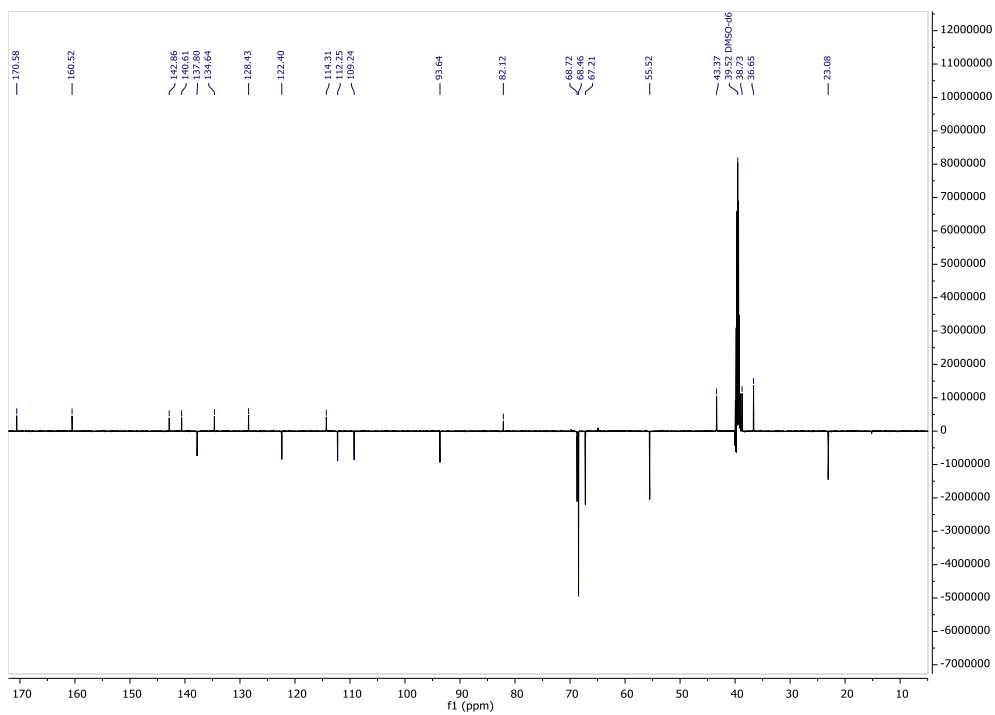
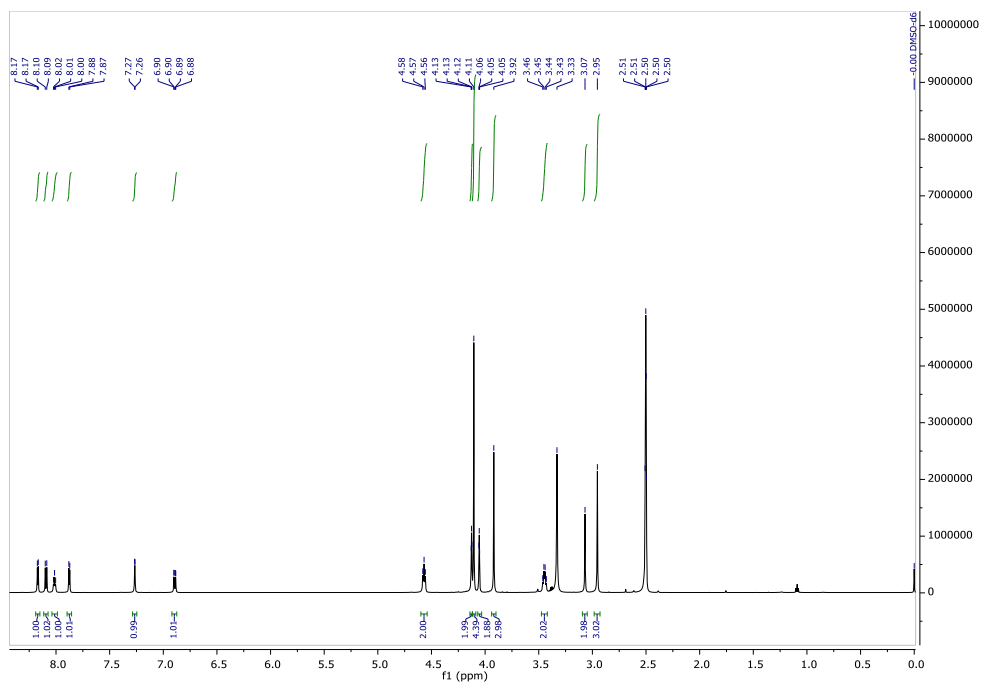
17

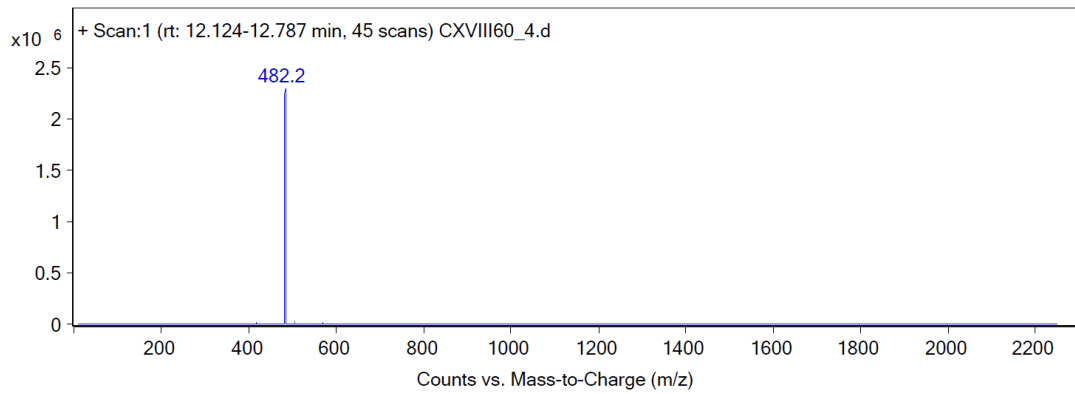






18







**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 harmicena amidnog tipa

Zvonimir Bingula

### SAŽETAK

$\beta$ -karbolinski alkaloidi predstavljaju veliku skupinu prirodnih i sintetskih spojeva. Široko su rasprostranjeni u prirodi te pokazuju širok spektar farmakoloških učinaka poput antimalarijskog, antimikrobnog i citostatskog. S druge strane, ferocen zbog svoje stabilnosti, slabe toksičnosti i oksidoredukcijskih svojstava čini idealnog partnera  $\beta$ -karbolinima u sintezi novih hibridnih spojeva, s obzirom da je dokazano da derivati ferocena pokazuju antimalarijsko i citostatsko djelovanje.

U okviru ovog rada sintetizirana su četiri nova harmicena amidnog tipa, hibridna spoja  $\beta$ -karbolina harmina i ferocenoctene kiseline (**6**, **11**, **15**, **18**) koji se razlikuju po položaju derivatizacije  $\beta$ -karbolinskog prstena (1, 3, 7 i 9). Prije sinteze hibridnih spojeva, za sintezu derivata u položajima 1 i 3 bilo je potrebno sintetizirati  $\beta$ -karbolinske prstenove **1** i **7** pomoću Pictet-Spenglerove reakcije, dok je za sintezu derivata u položajima 7 i 9 početni spoj bio harmin. U idućim reakcijama u molekulu  $\beta$ -karbolina bilo je potrebno uvesti primarnu amino skupinu, koja u reakciji povezivanja s ferocenoctenom kiselinom daje konačne spojeve, harmicene amidnog tipa. U reakciji povezivanja korišteni su standardni reagensi i uvjeti (HATU/DIEA/sobna temperatura).

Sintetiziranim spojevima strukture su potvrđene standardnim analitičkim i spektroskopskim metodama ( $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR, IR te MS), a usto su im određena i tališta. Biološki učinak sintetiziranih spojeva ispitat će se u budućim istraživanjima.

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

Rad sadrži: 87 stranica, 21 sliku, 4 sheme, 10 tablica i 44 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: amid, reakcija povezivanja, ferocen, harmin, malarija.

Mentor: **Dr. sc. Zrinka Rajić**, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Zrinka Rajić**, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Dr. sc. Anita Hafner**, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Dr. sc. Kristina Pavić**, poslijedoktorandica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: kolovoz 2022.

## Basic documentation card

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

Diploma thesis

### Synthesis and characterization of amide type harmicenes

Zvonimir Bingula

#### SUMMARY

Alkaloids of the  $\beta$ -carboline type represent a large group of natural and synthetic compounds. They are widely spread and display a wide array of pharmacological effects such as antimalarial, antimicrobial and cytostatic. On the other hand, ferrocene, owing to its stability, low toxicity and redox properties, is an ideal partner of  $\beta$ -carbolines in the synthesis of new hybrid compounds, since it has been shown that ferrocene derivatives exhibit antimalarial and cytostatic activities.

Here we present synthesis of four new harmicenes of the amide type, *i.e.* hybrid compounds composed of  $\beta$ -carboline and ferrocene moieties linked *via* amide bond, in four different positions of the  $\beta$ -carboline ring (1, 3, 7 i 9) (**6**, **11**, **15**, **18**). Before the synthesis of hybrid compounds in the positions 1 and 3,  $\beta$ -carbolines **1** and **7** were prepared by the means of Pictet-Spengler reaction, whereas harmine was the starting compound for the synthesis of harmicenes prepared in the positions 7 and 9 of the  $\beta$ -carboline ring. Further reactions included introduction of the primary amino group in the  $\beta$ -carboline moiety and coupling reaction with ferroceneacetic acid, by applying standard reagents and conditions (HATU/DIEA/room temperature).

The structures of synthesized compounds were confirmed by standard analytical and spectroscopic methods ( $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR, IR and MS), also their melting points were determined. Their biological activities will be evaluated in the future studies.

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

Thesis includes: 87 pages, 21 figures, 4 schemes, 10 tables and 44 references. Original is in Croatian language.

Keywords: amide, coupling, ferrocene, harmine, malaria.

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

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

**Ph.D. Anita Hafner**, *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

**Ph.D. Kristina Pavić**, *Postdoctoral Researcher*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: August 2022.