Sinteza i karakterizacija novih acilsemikarbazidnih derivata cimetne kiseline i primakina

Gilja, Petra

Master's thesis / Diplomski rad

2016

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:124368

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Petra Gilja

Sinteza i karakterizacija novih acilsemikarbazidnih derivata cimetne kiseline i primakina

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2016.

Ovaj diplomski rad izrađen je na kolegiju Farmaceutska kemija 2 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen je na Zavodu za farmaceutsku kemiju pod stručnim vodstvom doc. dr. sc. Ivane Perković.

Veliko hvala mentorici doc. dr. sc. Ivani Perković na pruženoj prilici i pomoći pri izradi ovog rada te na stručnom vodstvu već drugu godinu za redom.

Zahvaljujem prof. dr. sc. Branki Zorc na pruženoj prilici za sudjelovanjem u njenim znanstvenim projektima te na motivaciji.

Najljepša hvala Kristini Pavić, mag. pharm., na svoj pomoći u labosu, na savjetima, rješavanju spektara i podršci, a najviše na ugodnom društvu.

Hvala i kolegama Filipu Kozlini te Hrvoju Rimcu, mag. pharm., mag. ing. biotechn., na podršci i ugodnom društvu.

Zahvaljujem se svojoj obitelji i prijateljima na podršci i pomoći tijekom studiranja.

KRATICE

AKR1C3	aldo-keto reduktaza 1C3
BtH	benzotriazol
BtcCl	klorid 1-benzotriazol karboksilne kiseline
Caco-2	stanična linija humanog kolorektalnog adenokarcinoma
CAD	derivati cimetne kiseline (*cinnamic acid derivatives*)
DMF	dimetilformamid
DMSO	dimetilsulfoksid
FDA	Agencija za hranu i lijekove (*Food and Drug Administration*)
G6PD	glukoza-6-fosfat dehidrogenaza
HL-60	stanična linija humane akutne mijeloične leukemije
HT-29	stanična linija humanog adenokarcinoma debelog crijeva
IC_{50}	koncetracija koja inhibira rast 50 % stanica
INN	međunarodno nezaštićeno ime (*International Nonproprietary Name*)
IR	infracrveno elektromagnetsko zračenje (*infrared*)
MCF-7	stanična linija humanog adenokarcinoma dojke
MIC	minimalna inhibitorna koncentracija (*minimal inhibitory concentration*)
MS	masena spektrometrija
MW	mikrovalni reaktor
NMR	nuklearna magnetska rezonancija
PPE	polifosfatni ester
PQ	primakin
QSAR	kvantitativni odnos strukture i djelovanja (*quantitative stucture-activity relationship)*
s.t.	sobna temperatura
SW 620	stanična linija humanog karcinoma kolona
TBAB	tetrabutilamonijev bromid

TEA	trietilamin
TLC	tankoslojna kromatografija
TNF-α	tumor nekrotski faktor α
t_t	temperatura taljenja
WHO	Svjetska zdravstvena organizacija (*World Health Organization*)

SADRŽAJ

1.UVOD 1

1.1. Cimetna kiselina 3
1.1.1. Cimetna kiselina u prirodi 3
1.1.2. Fizikalno-kemijska svojstva cimetne kiseline 4
1.1.3. Sinteza cimetne kiseline 5
1.1.4. Upotreba cimetne kiseline i njenih derivata 6
1.1.5. Biološko djelovanje cimetne kiseline i njenih derivata 6

1.2. Primakin 11
1.2.1. Fizikalno-kemijska svojstva primakina 11
1.2.2. Upotreba primakina 12
1.2.3. Mehanizam djelovanja primakina 13
1.2.4. Biološko djelovanje derivata primakina 14

2. OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA 19

3. MATERIJALI I METODE 21

3.1. Sinteza klorida 1-benzotriazol karboksilne kiseline (BtcCl, **1**) 23

3.2. Sinteza *N*-(4-((6-metoksikinolin-8-il)amino)pentil)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-karboksamida (2) 23

3.3. Sinteza *N* -(4-((6-metoksikinolin-8-il)amino)pentil)hidrazinkarboksamida (3) 23

3.4. Sinteza CAD kiselinskih klorida (4a – f) 24

3.5. Sinteza CAD-primakin acilsemikarbazida (5a - f) 24

3.5.1 Sinteza *(2E)-N*-[({4-[(6-metokdikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-2-metil -3-fenilprop-2-enamida (5a) 24

3.5.2. Sinteza *(2E*)-3- (3,4-dimetoksifenil) -*N*-[({4-[(6-metoksikinolil–8-il)amino]pentil} karbamoil)amino]prop-2-enamida (5b) 25

3.5.3 Sinteza *(2E)*-3-(2H-1,3-benzodioksol-5-il)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il) amino] pentil}karbamoil)amino]prop-2-enamida (5c) 26

3.5.4. Sinteza *(2E)*-3-(2-fluorofenil)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil} karbamoil)amino]prop-2-enamida (5d) 27

3.5.5. Sinteza *(2E)-N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamool)amino]-3-[3-(trifluormetil)fenil]prop-2-enamida (5e) 28

3.5.6. Sinteza *(2E)-N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-3-[4-(trifluorometil)fenil]prop-2-enamida (5f) 29

4. REZULTATI I RASPRAVA 31

5. ZAKLJUČAK 42

6. LITERATURA 44

7. SAŽETAK/SUMMARY 49

8. PRILOZI 52

9. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/BASIC DOCUMENTATION CARD 66

1. UVOD

Unatoč poboljšanju antitumorske terapije, karcinom je i dalje po učestalosti drugi uzročnik smrtnosti u razvijenim zemljama. Produljenje životnog vijeka, povećanje osjetljivosti suvremenog čovjeka na karcinom, prevelika toksičnost i premala selektivnost postojećih citostatika te stvaranje rezistencije na postojeće citostatike rezultirali su potrebom za razvojem novih antitumorskih lijekova. Lijekovi koji se danas koriste u kemoterapiji uglavnom nisu dorasli ozbiljnim terapijskim problemima pa je istraživanje u potrazi za sigurnijim i učinkovitijim citostaticima i dalje veoma aktualno.

Mogućnost da se novi antitumorski lijekovi razviju iz antimalarika postala je vidljiva nakon otkrića da lijekovi koji se koriste u terapiji malarije (artemisinin, artezunat, tetraciklini, klorokin, primakin) posjeduju i antitumorsko djelovanje. Trenutno se na listi antimalarika nalazi dvadesetak lijekova, od kojih 14 posjeduje antitumorsko djelovanje, a čak 7 se nalazi u kliničkim ispitivanjima kao potencijalni citostatici (Duffy i sur., 2012; Solomon i sur., 2009).

U potrazi za novim antitumorskim lijekovima istraživanja na Zavodu za farmaceutsku kemiju fokusirana su na primakin, antimalarik s kinolinskom strukturom. Naime, u literaturi je opisano djelovanje derivata kinolina kao inhibitora brojnih enzima, poput protein kinaza, topoizomeraza, telomeraza, stoga se neki od njih smatraju potencijalnim vodećim spojevima u razvoju novih citostatika (Srivastava i sur., 2007).

U nekoliko znanstvenih radova koje je osmislila i publicirala istraživačka grupa na Zavodu za farmaceutsku kemiju pripravljeni su novi derivati primakina iz skupine urea i semikarbazida koji su u ispitivanjima *in vitro* pokazali značajno citostatsko djelovanje u mikromolarnim koncentracijama te veliku selektivnost prema staničnim linijama MCF-7 (stanična linija karcinoma dojke) ili SW 620 (stanična linija karcinoma kolona). Osim toga, u znanstvenoj literaturi opisano je citostatsko djelovanje derivata klorokina, također kinolinskog antimalarika, s cimetnom kiselinom (Pérez i sur., 2013). U literaturi je također opisano i antiproliferativno djelovanje cimetne kiseline i njenih derivata (CAD, *cinnamic acid derivatives*) (Kumar i sur., 2005).

Na temelju tih indikacija, u nastavku istraživanja na Zavodu planirana je sinteza derivata primakina koji u svojoj strukturi sadrže cimetnu kiselinu i njene derivate (CAD, *cinnamic acid derivatives*). Dio tih istraživanja proveden je u okviru ovog rada.

1.1. Cimetna kiselina

1.1.1. Cimetna kiselina u prirodi

Cimetna kiselina drugo je ime za 3-fenilprop-2-ensku, odnosno fenilakrilnu kiselinu. U značajnim je količinama prisutna u vrstama roda *Cinnamomum* iz porodice Lauraceae, prema kojemu je i dobila naziv. Cimetna kiselina i njeni derivati (*cinnamic acid derivatives*, CAD), prije svega esteri (cinamati), cinamaldehid te hidroksi i metoksi derivati cimetne kiseline široko su rasprostranjeni u biljnom svijetu. Nekoliko vrsta roda *Cinnamomum* komercijalno se uzgaja za dobivanje začina cimeta. Najvažnija među njima je vrsta *Cinnamomum verum*, J. Presl (Slike 1-3).



Slika 1. *Cinnamomum verum* J. Presl (Lauraceae)



Slika 2. List i cvat biljke *C. verum*

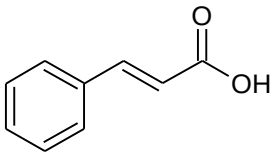


Slika 3. Kora biljke *C. verum*

Cimetna kiselina ključni je intermedijer u biosintezi važnih spojeva kao što su derivati šikimata, fenilpropanoida, stirena i stilbena. Šikiminska kiselina je prekursor u biosintezi mnogih alkaloida, aromatskih aminokiselina i derivata indola, a prisutna je i u različitim eteričnim uljima, gumama i balzamima kao slobodna kiselina ili u sklopu estera. Nadalje, cimetna kiselina je prekursor u sintezi komercijalno važnih derivata, prije svega estera, koji se koriste u farmaceutskoj, kozmetičkoj i prehrambenoj industriji. Za industrijske potrebe cimetna kiselina i njeni derivati ne izoliraju se iz prirodnih izvora nego se priređuju sintetskim putem, a njihova godišnja proizvodnja i potrošnja kreće se od 1 do 10 tisuća tona (Sharma, 2011).

1.1.2. Fizikalno – kemijska svojstva cimetne kiseline

Cimetna kiselina (Slika 4) nezasićena je aromatska kiselina. Može postojati kao *cis* i *trans* stereoizomer, a u prirodi je više zastupljen *trans* izomer. Bijela je kristalinična tvar slabo topljiva u vodi, a dobro topljiva u mnogim organskim otapalima. Miriše po medu. Njezina osnovna fizikalno-kemijska svojstva dana su u Tablici 1.



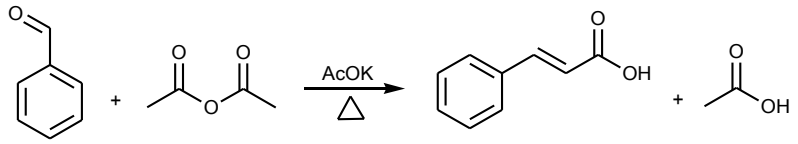
Slika 4. Cimetna kiselina

Tablica 1. Fizikalno-kemijska svojstva cimetne kiseline

Molekulska formula	$C_9H_8O_2$
Relativna molekulska masa	148,16
Kristalni sustav	monoklinski
Gustoća	1,2475 g cm^{-3}
Talište	133 ^oC
Vrelište	300 ^oC
Topljivost u vodi	500 mg L^{-1}
pK_a	4,44

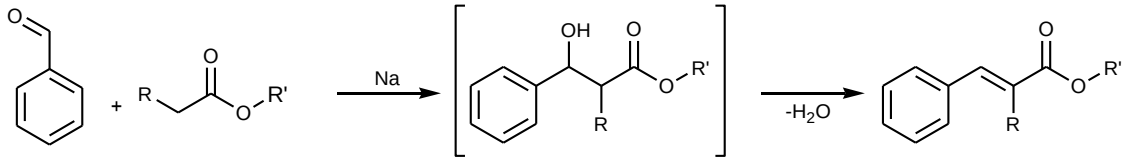
1.1.3. Sinteza cimetne kiseline

Prva opisana sinteza cimetne kiseline je Perkinova reakcija: bazno-katalizirana kondenzacija anhidrida octene kiseline i benzaldehida (Shema 1) (https://en.wikipedia.org/wiki/Cinnamic acid).



Shema 1

Claisen je opisao sintezu estera cimetne kiseline iz benzaldehida i odgovarajućih estera (Shema 2). Esteri cimetne kiseline mogu se pripraviti i Claisen-Schmidtovom kondenzacijom odgovarajućih aldehida i acetata te Wittigovom reakcijom aldehida s ilidima fosfora priređenih iz α-bromacetata (Hatsuda i sur., 2003).

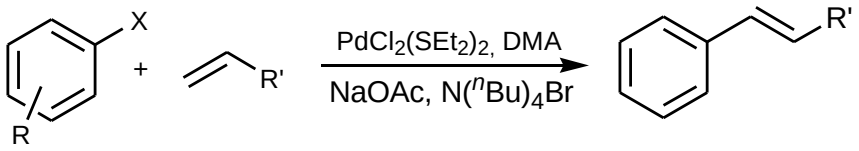


R = alkil ili aril
R' = CH_3 ili CH_2CH_3

Shema 2

Cimetna kiselina može se sintetizirati pomoću Knoevenagelove reakcije aldehida s malonskom kiselinom. Provodi se u mikrovalnom (MW) reaktoru bez otapala, uz prisutnost polifosfatnog estera (PPE) (Mobinikhaledi i sur., 2008) ili tetrabutilamonijevog bromida (TBAB) (Gupta i Wakhloo, 2007).

Heckova reakcija jedna je od novijih reakcija kojom se mogu pripremiri derivati cimetne kiseline. To je reakcija arilacije i vinilacije alkena, jedna od najviše ispitivanih C-C coupling reakcija posredovana kompleksima paladija (Shema 3) (Gruber i sur., 2001).



X = I, Br, Cl
R = H, OMe, Me, CN itd.
R' = Ph, $CO_2{}^nBu$
DMA = dimetilacetamid

Shema 3

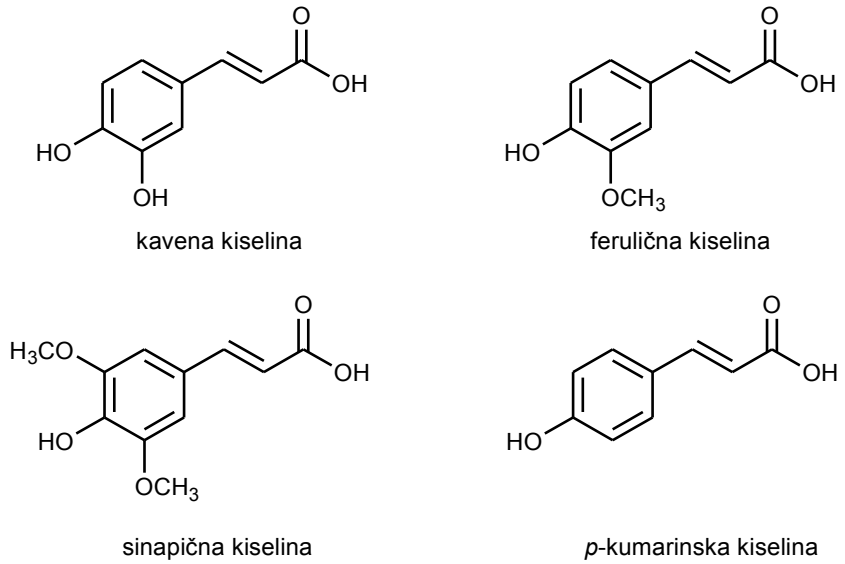
1.1.4. Upotreba cimetne kiseline i njenih derivata

Cimetna kiselina i njeni derivati u velikim se količinama koriste u prehrambenoj, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji. Sastojci su šampona, parfema, dekorativnih kozmetičkih proizvoda i sapuna. Sama cimetna kiselina nije nosilac mirisa, ali metil-cinamat jest. Zbog toga se dodaje različitim kozmetičkim i prehrambenim proizvodima, slično kao cinamaldehid. Cinamol i njegovi esteri poput cinamil-acetata koriste se u proizvodnji parfema. Cinamol je i polazni reaktant za pripravu fotosenzitivnih polimera i boja za pisače. Cimetna kiselina važna je sirovina za sintezu L-fenilalanina iz kojeg se zatim proizvodi sintetski dipeptidni zaslađivač aspartam. Esteri cimetne kiseline s dugolančanim alkoholima poput oktil-metoksicinamata koriste se u pripravcima za zaštitu od sunca i vjetra (Sharma, 2011).

1.1.5. Biološko djelovanje cimetne kiseline i njenih derivata

Derivati cimetne kiseline imaju izrazito široki farmakološki profil. U literaturi je opisano njihovo antimikrobno, antituberkulotsko, antioksidativno, antimikotsko, antidijabetičko, hepatoprotektivno, antidepresivno, hipolipemičko, antimalarijsko, antivirusno, anksiolitičko, protuupalno i citostatsko djelovanje. Publikacije autora Sharme (2011) te Lone i suradnika (2014) daju pregled bioloških djelovanja cimetne kiseline i njenih derivata.

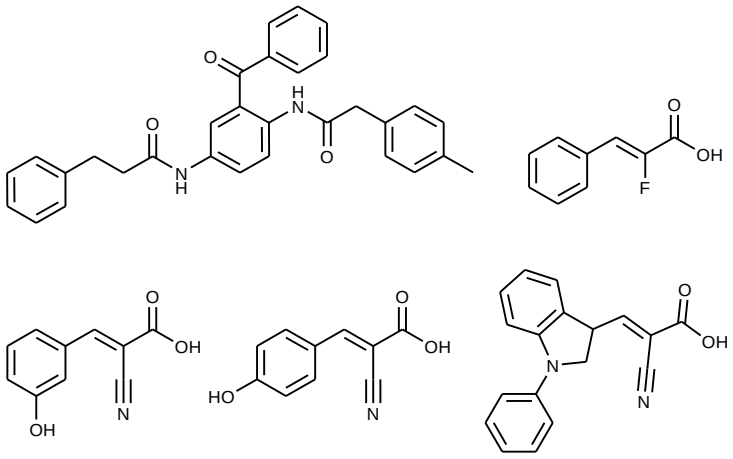
Prisutnost vinilne skupine smatra se odgovornom za antioksidativno djelovanje derivata cimetne kiseline. Dokazano je antioksidativno djelovanje feniletilnih estera kavene i ferulične kiseline te nekih derivata sinapične i *p*-kumarinske kiseline (Chen i Ho, 1997; Natella i sur., 1999). Strukturne formule navedenih kiselina, koje su prisutne i u prirodi, prikazane su na Slici 5.



Slika 5. Prirodni strukturni analozi cimetne kiseline

Dokazano je da metil-kafeat iz biljaka *Gaillardia pulchella, Gochnatra rusbyana, Notopterygium incisum i Linum usitatissimum* posjeduje antimikrobno djelovanje te antitumorsko djelovanje na staničnu liniju Sarcoma 180 (Nam i sur., 2001). Esterski i amidni derivati cimetne kiseline, posebice izobutil-cinamat, pokazali su značajno antimikrobno djelovanje na Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterije (Narasimhan i sur., 2004).

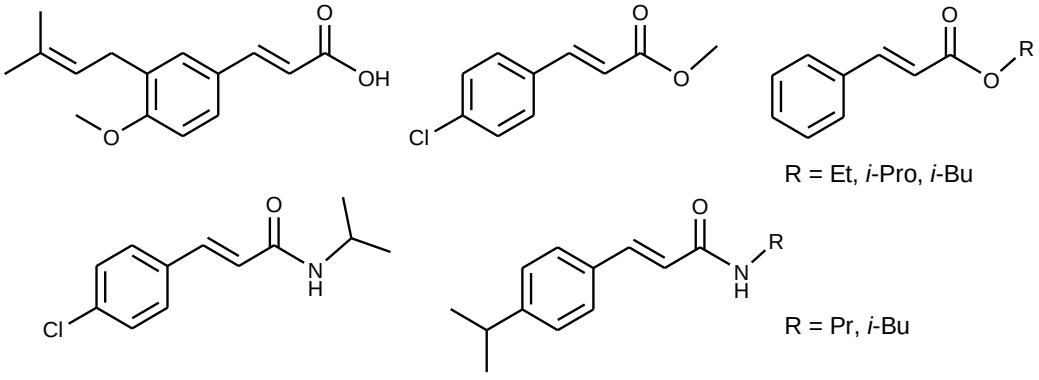
Nekoliko derivata cimetne kiseline pokazalo je učinkovito antimalarijsko djelovanje (Slika 6) (Kanaani i Ginsburg, 1992). Ti spojevi inhibiraju transport monokarboksilata kroz membrane eritrocita i mitohondrija te tako sprječavaju rast nezrelih i zrelih stadija parazita. Iako su opisani spojevi štetni i za stanicu domaćina, mogli bi poslužiti kao vodeći spojevi (*lead compounds*) za razvoj novih antimalarika.



Slika 6. Derivati cimetne kiseline s antimalarijskim djelovanjem

Bairwa i suradnici sintetizirali su fenilakrilamidne derivate cimetne kiseline i gvanilhidrazona te ispitali njihovo djelovanje na uzročnika tuberkuloze (*M. tuberculosis*). Neki od ispitanih spojeva pokazali su antituberkulotsko djelovanje (*MIC* 6,49 μmol L^{-1}) i dobar sigurnosni profil (Bairwa i sur., 2010).

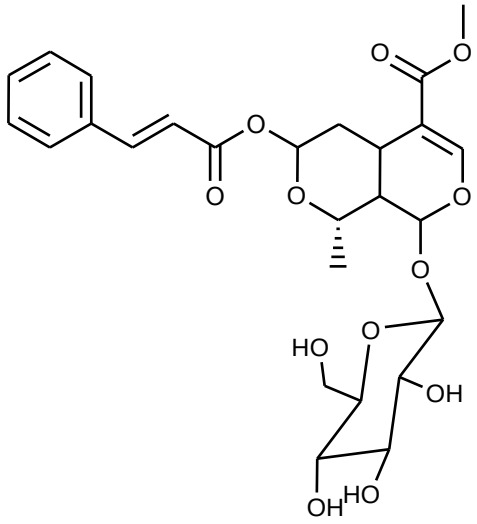
U nekoliko publikacija opisano je i antimikotsko djelovanje derivata cimetne kiseline (Kim i sur., 2004; Tawata i sur., 1996). Derivati s najjače izraženim inhibitornim djelovanjem na rast i razvoj gljivica prikazani su na Slici 7.



Slika 7. Derivati cimetne kiseline s izraženim antimikotskim djelovanjem

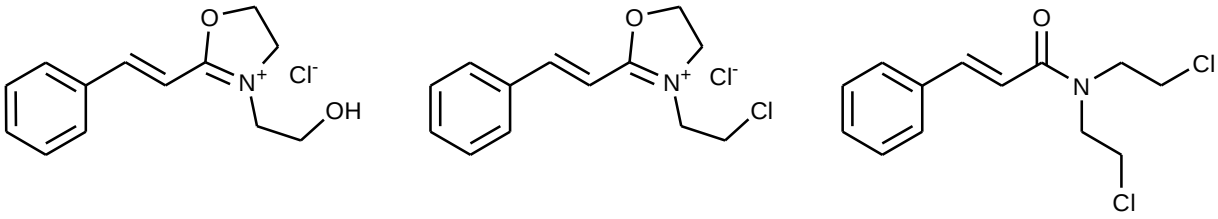
Konjugati cimetne kiseline i moronizida snažni su inhibitori TNF-α i potencijalni protuupalni agensi (Slika 8) (Takeda i sur., 2010). Također, metoksi supstituirani cinamati kao što je etil-

-3,4,5-trimetoksicinamat iz biljke *Piper longum* imaju važnu ulogu u kontroli inflamatornih bolesti zbog toga što blokiraju TNF-α induciranu ekspresiju adhezijskih molekula (npr. E-selektina) (Kumar i sur., 2005).



Slika 8. 7-*O*-cinamoil-moronizid s protuupalnim djelovanjem

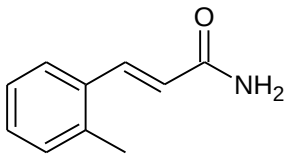
U literaturi su opisani i derivati cimetne kiseline koji pokazuju citotoksično djelovanje. Između ostalih, to su i derivati s oksazolinijem i dušikovim iperitom koji mogu poslužiti kao vodeći spojevi za razvoj citostatika (Slika 9) (Hedvati i sur., 2002).



Slika 9. Derivati cimetne kiseline s citotoksičnim učinkom

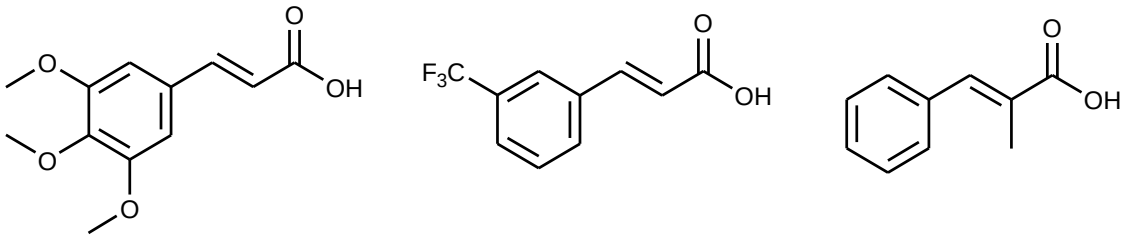
Prirodni hidroksi derivati cimetne kiseline posjeduju antitumorsko djelovanje. Dokazano je da kavena kiselina u uvjetima *in vitro* ima slabo citotoksično djelovanje na HL-60 (stanična linija akutne mijeloične leukemije) te nisku toksičnost zbog čega predstavlja zanimljivu molekulu za razvoj cistostatika (Nitzsche i sur., 2004). Antitumorsko djelovanje pokazuju i amidi cimetne kiseline, a osobito 2-metilcinamid (Slika 10), produkt fermentacije piva iz

Streptomyces griseoluteus, koji je pokazao značajno antiinvazivno i antimetastatsko djelovanje (Welch i sur., 1993).



Slika 10. 2-Metilcinamid – amidni derivat cimetne kiseline s citostatskim djelovanjem

Cimetna kiselina i njeni 3,4,5-trimetoksi, 3-trifluormetil i α-metil derivati (Slika 11) potentni su inhibitori enzima AKR1C3 (aldo-keto reduktaza 1C3) u mikromolarnim koncentracijama. Taj enzim je također poznat kao 17-hidroksisteroid-dehidrogenaza tip 5, a uloga mu je pretvorba androstendiona u testosteron te estrona u 17-estradiol te stoga predstavlja terapijsku metu u liječenju karcinoma ovisnih o hormonima, poput karcinoma prostate, dojke i endometrija (De i sur., 2011).

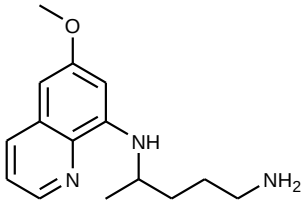


Slika 11. CAD – potentni inhibitori AKR1C3

1.2. Primakin

1.2.1. Fizikalno–kemijska svojstva primakina

Primakin (PQ) je međunarodno nezaštićeno ime (INN) za *N*-(6-metoksikinolin-8-il)pentan-1,4-diamin (Slika 12).



Slika 12. Primakin

Dostupan je kao generički lijek od različitih proizvođača, a upotrebljava se kao sol s fosfornom kiselinom. Iako ima kiralni atom ugljika, u upotrebi je njegova racemična smjesa. Osnovna fizikalno-kemijska svojstva primakina i primakin fosfata dana su u Tablici 2 (https://en.wikipedia.org/wiki/Primaquine).

Tablica 2. Fizikalno-kemijska svojstva primakina i primakin fosfata

Primakin baza	
Molekulska formula	$C_{15}H_{21}N_3O$
Relativna molekulska masa	259,35
Primakin fosfat	
Molekulska formula	$C_{15}H_{21}N_3O \times 2\ H_3PO_4$
Relativna molekulska masa	455,34
Talište	205–206 ^oC
Topljivost u vodi	50 g L^{-1}

1.2.2. Upotreba primakina

Primakin je u upotrebi kao antimalarik više od 60 godina. Prvi put je odobren od strane *Food and Drug Administration* (FDA) 1952. godine. Danas se nalazi na listi esencijalnih lijekova Svjetske zdravstvene organizacije (WHO).

Uspješnost liječenja primakinom uvelike ovisi o ukupnoj dozi i o vremenu trajanja terapije. Primakin se u terapiji malarije primjenjuje kao primarni profilaktik kod svih vrsta malarije zato što uništava uzročnika u jetri prije nego uđe u krvotok. Stoga terapija u dnevnoj dozi od 30 mg započinje dan prije rizika od ekspozicije (npr. putovanja u regiju u kojoj je prisutna malarija), a nastavlja se i do tjedan dana nakon odlaska iz regije (Vale i sur., 2009).

Nadalje, primakin se koristi za terminalnu profilaksu malarije kod pojedinaca koji su dulje vrijeme intenzivno izloženi vrstama *P. vivax i P. ovale*. Takav pristup uključuje korištenje drugog antimalarika kao primarnog profilaktika, a primakin se dodaje u terapiju na kraju perioda ekspozicije kako bi se spriječila odgođena klinička manifestacija malarije uzrokovane hipnozoitima *P. vivax* ili *P. ovale*. U tu svrhu koristi se u dozi od 15 mg dnevno kroz 14 dana (Hill i sur., 2006).

Primakin se koristi i u radikalnom liječenju infekcija *P. vivax* i *P. ovale* u dozi od 15 mg dnevno kroz 14 dana. Koristi se u kombinaciji s krvnim shizontocidom, npr. klorokinom ili artemisininom, zbog slabe aktivnosti prema nespolnim krvnim oblicima parazita u toj dozi. Primakin uništava dormantne stadije *P. vivax* i *P. ovale* i tako sprječava relaps bolesti (Recht i sur., 2014).

Vrlo je djelotvoran i protiv primarnih egzoeritrocitnih faza *P. falciparum*. Aktivan je i prema gametocitima svih vrsta ljudske malarije te tako onemogućava njezino širenje.

Najveća opasnost prilikom primjene primakina je pojava akutne hemolitičke anemije kod osoba s urođenom deficijencijom glukoza-6-fosfat dehidrogenaze (G6PD). To je X vezana deficijencija česta u regijama u kojima je prisutna malarija. G6PD je prvi enzim u putu pentoza fosfata i uključena je u produkciju NADPH neophodnog za opskrbu stanica reduciranim glutationom. NADPH je neophodan i za funkciju katalaze te za zaštitu stanica od oksidativnog stresa, koji je najjače izražen u eritrocitima jer oni nemaju mitohondrije, a time ni alternativni izvor NADPH. Pojedinci s G6PD deficijencijom koji su izloženi oksidativnom stresu uslijed infekcija ili primjene nekih lijekova, poput primakina, imaju povećan rizik od

akutne hemolitičke anemije. Hemoliza je često praćena anemijom, hemoglobinurijom i bubrežnim zatajenjem. Međutim, jačina hemolize ovisna je o dozi i trajanju terapije primakinom te o stupnju deficijencije G6PD. Smatra se da je rizik od smrtonosne hemolize kod jednokratne primjene primakina kod takvih pacijenata vrlo nizak, međutim, potrebno je provesti testiranje aktivnosti G6PD prije početka terapije (Recht i sur., 2014).

1.2.3. Mehanizam djelovanja primakina

Točan mehanizam kojim primakin djeluje na hipnozoite i gametocite *Plasmodium* vrsta još uvijek nije razjašnjen, ali pretpostavlja se da djeluje na metabolizam u mitohondriju parazita interferirajući s funkcijom ubikinona kao prenosioca elektrona u respiratornom lancu.

Drugi mogući mehanizam antimalarijskog djelovanja primakina je stvaranje visokoreaktivnih metabolita koji povećavaju oksidativni potencijal unutar stanice. Biotransformacija 8-aminokinolina je nužna i za njihovo antimalarijsko djelovanje i za njihovu toksičnost. Najvjerojatniji mehanizam toksičnosti i djelotvornosti 8-aminokinolina je stvaranje oksidativnog stresa unutar stanica parazita.

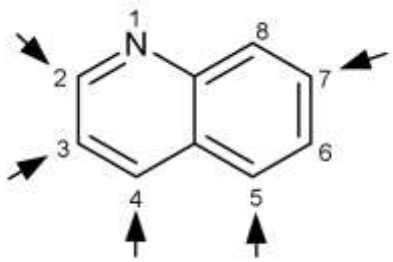
Primakin oštećuje Fe-S klastere enzima akonitaze i fumaraze uključenih u ciklus limunske kiseline pa time interferira s aerobnom respiracijom plazmodija, a djeluje i na proliferaciju mitohondrija te tako inhibira rast parazita u fazi koja zahtijeva funkcionalne mitohondrije (Lalève i sur., 2016).

Još uvijek je upitno zašto primakin djeluje samo na određene faze u životnom ciklusu parazita. Obično su gametociti u kasnijoj fazi rezistentniji na antimalarike od gametocita ranijih faza i aseksualnih forma parazita. Primakin je jedini lijek na koji su osjetljiviji gametociti kasnijih faza od nespolnih oblika (Vale i sur., 2009).

1.2.4. Biološko djelovanje derivata primakina

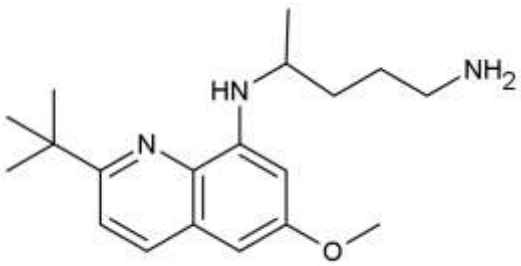
U literaturi su opisani mnogobrojni derivati primakina. Mogu se podijeliti u dvije skupine: derivate sa supstituentima na kinolinskim prstenu i derivate koji su nastali modifikacijom primarne amino skupine primakina. Neki od njih pokazali su veću djelotvornost i/ili manju toksičnost, veću selektivnost prema pojedinim vrstama iz roda *Plasmodium* ili povećanu aktivnost na shizonte.

Modifikacijama na kinolinskom prstenu primakina sitetizirani su brojni derivati od kojih su neki pokazali poboljšanu učinkovitost, a smanjenu toksičnost. Uvedeni su supstituenti na položaje 2, 3, 4, 5 i 7 kinolinskog prstena (Slika 13). Najbolje djelovanje pokazali su derivati s metilnom skupinom na položajima 2 i 4, *tert*-butilnom na položaju 2, etilnim supstituentom na položajima 2 i 4, pentiloksi supstituentom na položaju 5 i alkoksi, fluoro, 3- ili 4-supstituiranom fenoksi skupinom na položaju 5 (Vale i sur., 2009).



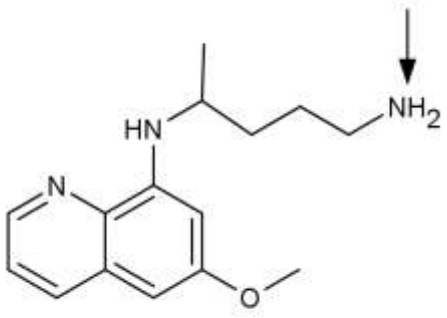
Slika 13. Modifikacije kinolinskog prstena

2-*tert*-Butilprimakin (Slika 14) prvi je 8-aminokinolin koji ne uzrokuje methemoglobinemiju, moguće zbog blokirane razgradnje na položaju 2 kinolinskog prstena (Vale i sur., 2009).



Slika 14. 2-*tert*-Butilprimakin

Modifikacije na terminalnoj primarnoj amino skupini primakina (Slika 15) pokazale su se jako učinkovite u povećanju bioraspoloživosti, smanjenju biorazgradnje lijeka u karboksiprimakin i povećanju aktivnosti (Vale i sur., 2009).



Slika 15. Terminalna primarna amino skupina primakina

Uvođenjem aminokiselina ili peptidnih ostataka na terminalnu primarnu amino skupinu dobiveni su derivati koji su pokazali snažnije antimalarijsko djelovanje od samog primakina: neki zbog smanjene metaboličke razgradnje, odnosno povećane stabilnosti, a drugi zbog toga što su djelovali kao prolijekovi primakina nakon hidrolize peptidazama (Vale i sur., 2009; Vangapandu i sur., 2004).

Farmakološka aktivnost primakina značajno se povećava ako je lijek vezan na lizosomotropne nosače kao što su poliakrilne škrobne mikročestice ili asialofetuin. Konjugati primakina s polimerima poliaspartamidnog tipa imaju bolju topljivost i produljeni učinak u odnosu na primakin, a djelotvorni su protiv krvnih shizontocida kod ekspermentalnih životinja (Rajić i sur., 2009).

Uvođenjem imidazolidin-4-ona na terminalnu amino skupinu primakina dobiveni su spojevi koji su, uz antimalarijsko, pokazali i djelovanje na HT-29 (stanična linija adenokarcinoma debelog crijeva), Caco-2 (stanična linija humanog kolorektalnog adenokarcinoma) i MCF-7 (stanična linija humanog adenokarcinoma dojke) (Fernandes i sur., 2009). Primakin i neki njegovi derivati imaju snažno i/ili specifično djelovanje na MCF-7 staničnu liniju pa se može očekivati da se među derivatima primakina pronađu lijekovi za terapiju karcinoma dojke (Fernandes i sur, 2009; Šimunović i sur., 2009; Pavić i sur., 2014; Perković i sur., 2013; Džimbeg i sur., 2008; Perković i sur., 2016).

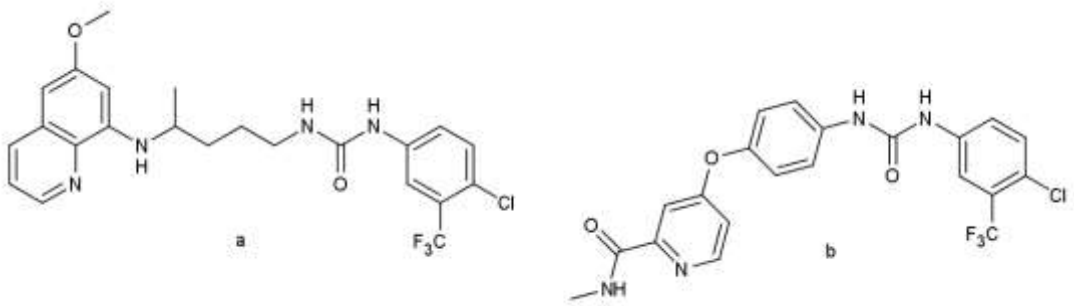
Istraživanja na Zavodu za farmaceutsku kemiju usmjerena su upravo na pronalaženje novih derivata primakina s pojačanim cistostatskim djelovanjem. Tijekom zadnjih nekoliko godina sintetizirano je stotinjak novih derivata primakina uvođenjem novih funkcionalnih skupina i supstituenata na njegovoj terminalnoj amino skupini. Neki od tih derivata su pokazali *in vitro* citostatsko djelovanje na cijelom nizu tumorskih staničnih linija u mikromolarnim koncentracijama (Šimunović i sur., 2009; Pavić i sur., 2014; Perković i sur., 2013; Džimbeg i sur., 2008; Perković i sur., 2016). Neki od ispitivanih spojeva pokazali su veliku selektivnost u djelovanju prema MCF-7 stanicama ili prema stanicama karcinoma kolona (SW 620).

Dosadašnja ispitivanja citostatskog djelovanja derivata primakina dovela su do zaključka da je za antiproliferativni učinak nužan kinolinski, tj. primakinski dio molekule. Dodatak lipofilnih ostataka vezanih za primarnu amino skupinu primakina preko mosta od nekoliko elektronegativnih atoma (npr. urea ili semikarbazidnom skupinom) predstavlja strukturnu modifikaciju koja potencira antiproliferativno djelovanje ili povećava selektivnost prema MCF-7, odnosno SW 620 staničnim linijama.

Sintetizirani su derivati s velikim arilnim (modificiranim benzhidrilnim, tritilnim ili fenilnim) supstituentima. Također su sintetizirani semikarbazidni analozi nekih ranije sintetiziranih urea s jednom ili više hidroksi skupina na supstituentu vezanom na N4 atom semikarbazida, budući da je primakinska urea s hidroksipentilnim ostatkom pokazala izuzetnu selektivnost prema SW 620 liniji (Šimunović i sur., 2009).

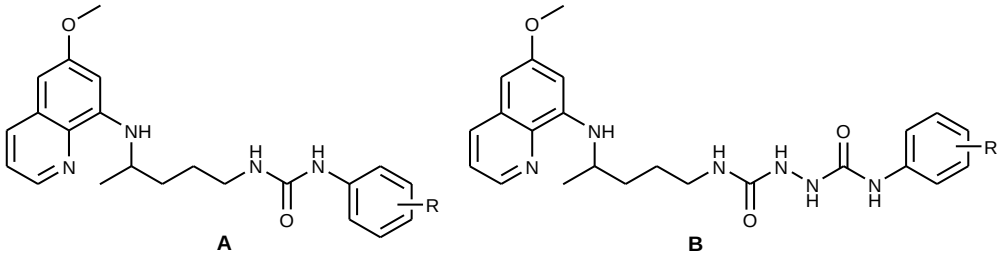
Modifikacije benzhidrilnog ostatka raznovrsnim supstituentima nisu povećale niti učinkovitost niti selektivnost. Općenito su semikarbazidni derivati imali izraženije citostatsko djelovanje od svojih urea analoga (Šimunović i sur., 2009; Pavić i sur., 2014; Perković i sur., 2013; Džimbeg i sur., 2008; Perković i sur., 2016).

Urea derivati bili su manje aktivni od semikarbazidnih analoga, ali još uvijek selektivni prema MCF-7 stanicama. Urea s fenilnim supstituentom koji se nalazi i u citostatiku sorafenibu je bila najaktivnija (Slika 16) (Pavić i sur., 2014).



Slika 16. Aktivni urea derivat primakina (a) i citostatik sorafenib (b)

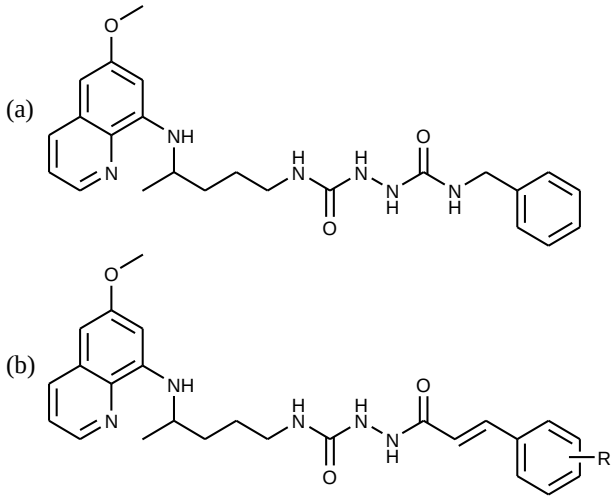
Nadalje, sintetizirani su derivati opće formule **A** i **B** (Slika 17) u kojima je primakin povezan sa supstituiranim benzenskim prstenom preko urea ili semikarbazidnog ostatka. Ti derivati su se pokazali posebno aktivni i/ili selektivni prema MCF-7 staničnoj liniji (Gilja i Palajsa, 2015; Perković i sur., 2016). Osobito su aktivni bili karbamoilsemikarbazidni derivati s 4-bromfenilnom, 4-fluorfenilnom i 3,5-*bis*-(trifluormetil)fenilnom skupinom. Ti spojevi mogu poslužiti kao spojevi uzori za razvoj novih citostatika.



R = H, OH, F, Cl, Br, CF_3 (*o*, *m* ili *p*)

Slika 17. Derivati primakina s izraženim citostatskim djelovanjem

Među karbamoilsemikarbazidnim derivatima koje su sintetizirali i biološki evaluirali Perković i suradnici (2016), potpuno selektivno i najsnažnije antiproliferativno djelovanje (IC_{50} 1,0±0,2 μM) rema MCF-7 pokazao je benzilni derivat čija je struktura srodna strukturi acilsemikarbazidnih derivata primakina i cimetne kiseline ili CAD (Slika 18). Taj spoj je pokazao potpunu selektivnost prema MCF-7 stanicama, dok prema ostalim ispitanim staničnim linijama nije pokazao djelovanje. Otkriće takvih spojeva od posebne je važnosti, jer upućuje na to da se antiproliferativno djelovanje tih tvari ne temelji na citotoksičnosti, već je posljedica specifičnih mehanizama djelovanja.



Slika 18. Karbamoilsemikarbazidni derivat primakina s benzilnim supstituentom posve selektivnog djelovanja (a) i opća formula PQ-CAD acilsemikarbazida (b)

2. OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA

Cilj ovog rada je sinteza i karakterizacija novih derivata primakina koji sadrže cimetnu kiselinu ili derivat cimetne kiseline u strukturi.

Dizajniranje novih derivata primakina i cimetne kiseline temelji se na pregledu literaturnih podataka te rezultata istraživanja na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu. U dosadašnjim publikacijama istraživačke skupine Zavoda za farmaceutsku kemiju (Šimunović i sur., 2009; Pavić i sur., 2014; Perković i sur., 2013; Džimbeg i sur., 2008; Perković i sur., 2016) dokazano je da je za antiproliferativni učinak derivata primakina nužan kinolinski dio molekule, odnosno sami primakin, a modifikacijama na terminalnoj primarnoj amino skupini, tj. uvođenjem elektronegativno supstituiranog lipofilnog ostatka preko mosta od nekoliko elektronegativnih atoma (urea ili semikarbazidna skupina) to se djelovanje dodatno potencira te se povećava selektivnost prema MCF-7, odnosno SW 620 staničnim linijama.

Među dosad sintetiziranim karbamoilsemikarbazidnim derivatima primakina, jedan od potentnijih je derivat s benzilnom skupinom, koji je pokazao potpunu selektivnost prema MCF-7 staničnoj liniji i izraženo antiproliferativno djelovanje. Struktura tog derivata srodna je strukturi acilsemikarbazidnih derivata primakina i cimetne kiseline, odnosno derivata cimetne kiseline.

Nadalje, u literaturi su opisani i hidroksi, metoksi te halogenirani derivati cimetne kiseline (CAD) s potencijalnim antitumorskim, antiinflamatornim i antimikrobnim učinkom.

U ovom radu opisana je sinteza i karakterizacija šest novih acilsemikarbazidnih derivata primakina i cimetne kiseline i to redom α-metilcimetne, 3,4-dimetoksicimetne, 3,4-metilendioksicimetne, 2-fluorcimetne te 3-(trifluormetil)cimetne i 4-(trifluormetil)cimetne kiseline. U daljnjim istraživanjima, koja prelaze okvir ovog rada, tim spojevima bit će ispitano biološko djelovanje.

3. MATERIJALI I METODE

Tališta (t_t) su određena na Stuart SMP3 instrumentu (Barloworld Scientific, UK) i nisu korigirana. Tijek reakcija i čistoća produkata praćeni su tankoslojnom kromatografijom (TLC). Za TLC su upotrijebljene silikagel ploče 60 F_{254} (Merck, Njemačka), te petroleter/etil-acetat/metanol (3:1:0,5), i diklormetan/metanol (95:5) kao pokretne faze. Za kromatografiju na koloni kao nepokretna faza korišten je silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm (Kemika, Hrvatska) i 0,040–0,063 mm (Merck, Njemačka), uz iste pokretne faze kao i u tankoslojnoj kromatografiji. Analizirani spojevi detektirani su UV zračenjem (λ = 254 nm) i parama joda.

IR spektri snimljeni su na Paragon FT-IR spektrometru (Perkin Elmer, UK). ^{1}H i ^{13}C NMR spektri snimljeni su na Bruker AV-600 (Bruker, SAD) kod 300,13, odnosno 600,13 MHz za ^{1}H i kod 75,47, odnosno 150,90 MHz za ^{13}C jezgru te na Varian Inova 400 spektrometru (Varian, SAD) kod 399,59 MHz za ^{1}H i 100,48 MHz za ^{13}C jezgru. Uzorci su mjereni u DMSO-d_6 otopinama na 20 °C u NMR cjevčicama od 5 mm. Kemijski pomaci dani su u ppm u odnosu na tetrametilsilan (TMS) kao unutarnji standard. Spektri masa snimljeni su na HPLC-MS/MS (Agilent Technologies Triple Quadripole 6420).

Primakin difosfat, benzotriazol (BtH), trifozgen, tionil-klorid, hidrazin hidrat, trietilamin (TEA), α-metilcimetna, 3,4-dimetoksicimetna, 3,4-metilendioksicimetna, 2-fluorcimetna te 3-(trifluormetil)cimetna i 4-(trifluormetil)cimetna kiselina nabavljeni su od tvrtke Sigma-Aldrich (SAD). Sve reakcije s primakinom izvođene su uz zaštitu od svjetlosti.

Bezvodna otapala dobivena su sljedećim postupcima. Bezvodni toluen: toluen je ekstrahiran vodom, zatim je osušen nad bezvodnim kalcijevim kloridom, destiliran i čuvan nad natrijem. Bezvodni dimetilformamid (DMF): smjesa 1 L DMF-a i 100 mL bezvodnog toluena destilirana je, pri čemu prvo destilira azeotropna smjesa toluena i vode, a zatim čisti DMF. Čuvan je nad aktiviranim molekulskim sitima. Bezvodni diklormetan: diklormetan je ekstrahiran vodom, sušen iznad kalcijeva klorida i predestiliran. Bezvodni dioksan: dioksan je 24 sata refluksiran na natriju; destiliran je i čuvan nad natrijem. Sve ostale kemikalije bile su *p. a*. čistoće.

3.1. Sinteza klorida 1-benzotriazolkarboksilne kiseline (BtcCl, 1) (Kalčić i sur., 2003)

Smjesa 0,596 g (0,005 mol) benzotriazola i 0,991 g (0,00334 mol) trifozgena u bezvodnom toluenu refluksirana je 3 sata na 115 °C. Otapalo je upareno, a dobiveni BtcCl (**1**) je bez čišćenja upotrijebljen u daljnjim reakcijama.

3.2. Sinteza *N*-(4-((6-metoksikinolin-8-il)amino)pentil)-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karboksamida (2) (Džimbeg i sur., 2008)

U ohlađenu otopinu (ledena kupelj) 0,908 g (0,005 mol) klorida **1** i 0,505 g (0,005 mol) TEA u 25 mL bezvodnog toluena dokapavana je otopina 1,297 g (0,005 mol) primakina u 20 mL bezvodnog toluena tijekom 10 minuta. Reakcijska smjesa je miješana na sobnoj temperaturi 2 h, zaštićena od svjetlosti. Istaloženi TEA × HCl je odsisan, ispran pomoću 3 mL toluena te kvantitativno uklonjen ekstrakcijom vodom (3 puta). Organski sloj je osušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom i uparen pod sniženim tlakom. Sirovi produkt je pročišćen kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm i pokretnu fazu sastava cikloheksan/etil-acetat/metanol (3:1:0,5) te rastrljavanjem u eteru. Iskorištenje: 1,655 g (95 %)

t_t 107–108 °C

IR (KBr): ν_{max} 3427, 3389, 3087, 3047, 2996, 2932, 2858, 1750, 1614, 1579, 1518, 1386, 1224, 1202, 1167, 1077, 1024, 829, 789, 748 cm^{-1}.

3.3. Sinteza *N*-(4-((6-metoksikinolin-8-il)amino)pentil)hidrazinkarboksamida (3) (Pavić i sur., 2014)

Otopina 0,809 g (0,002 mol) benzotriazolida primakina **2**, 0,200 g (0,004 mol) hidrazin hidrata i 2 mg natrijevog ditionita u 4 mL dioksana miješana je na s.t. 4 dana, zaštićena od svjetlosti. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom, ostatak je otopljen u 10 mL etil-acetata i ekstrahiran 5 %-tnom otopinom NaOH (3×10 mL) i vodom (3×15 mL), osušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom i uparen pod sniženim tlakom. Sirovi produkt je pročišćen kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm i pokretnu fazu sastava diklormetan/metanol (95:5) te rastrljavanjem u eteru.

Iskorištenje: 0,514 g (81 %)

t_t 109–110,5 °C

IR (KBr): ν_{max} 3370, 3328, 2960, 2930, 1618, 1570, 1524, 1456, 1388, 1294, 1275, 1208, 1170, 1054, 900, 820, 795, 680, 623 cm^{-1}.

3.4. Sinteza CAD kiselinskih klorida (4a – f)

Smjesa 0,001 mol cimetne kiseline ili odgovarajuće CAD, 0,595 g tionil-klorida (0,005 mol) i bezvodnog DMF-a (2 kapi) u bezvodnom toluenu (8 mL) miješana je na sobnoj temperaturi (s.t.) 3 sata. Tionil-klorid je uparen pod sniženim tlakom, ostatak je naparen bezvodnim toluenom i bez čišćenja upotrijebljen u daljnjim reakcijama.

3.5. Sinteza CAD–primakin semikarbazida (5a – f)

U otopinu 0,001 mol odgovarajućeg CAD kiselinskog klorida **4a-f** u bezvodnom diklormetanu (3 mL) dokapana je otopina 0,254 g (0,0008 mol) semikarbazida **3** i 0,081 g (0,0008 mol) TEA u bezvodnom diklormetanu (6 mL) kroz 10 min. Reakcijska smjesa miješana je 1,5 h do 3 dana na s.t., zaštićena od svjetlosti. Zatim je uparena pod sniženim tlakom te otopljena u smjesi etil-acetata i 5 % otopine NaOH (1:1, 20 mL). Organski sloj ekstrahiran je 5 % otopinom NaOH (3×20 mL), ispran vodom (2×20 mL) te osušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen pod sniženim tlakom.

3.5.1. Sinteza *(2E)*-*N*-[({4-[(6-metokdikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-2-metil -3-fenilprop-2-enamida (5a)

Količina klorida **4a**: 0,181 g

Vrijeme reakcije: 6 h.

Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,040–0,063 mm te pokretnu fazu sastava diklormetan/metanol (95:5). Dobiven je konačan produkt **5a** koji vrlo polako kristalizira nakon dužeg vremena.

Iskorištenje: 0,196 g (53 %)

t_t 65,5 °C (raspad)

MS/MS *m/z* 462,3 $(M+1)^+$

IR (KBr): ν_{max} 3265, 2961, 2935, 1652, 1617, 1576, 1520, 1454, 1423, 1387, 1336, 1258, 1239, 1220, 1203, 1158, 1051, 1031, 1004, 928, 910, 822, 791, 762, 709, 695, 625, 589, 515 cm^{-1}

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 9,67 (s, 1H, 2''); 8,54-8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,57; 4,15); 8,08-8,07 (dd, 1H, 13, *J* = 1,49; 8,28); 7,67 (s, 1H, 1''); 7,43-7,30 (m, 7H, 12, 2', 4'-8'); 6,48-6,45 (m, 2H, 2, 17); 6,28 (s, 1H, 15); 6,13-6,11 (d, 1H, 8, *J* = 8,75); 4,05-3,82 (s, 3H, 18); 3,65-3,63 (m, 1H, 6); 3,08-3,02 (m, 2H, 3); 2,02 (s, 3H, 9'); 1,66-1,47 (m, 4H, 4, 5); 1,22-1,21 (d 3H, 7, *J* = 6,29)

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 168,89 (3''); 159,00 (16); 158,36 (1); 144,63 (9); 144,24 (11); 135,83 (3'); 134,78 (13); 134,51 (10); 133,23 (2'); 130,74 (1'); 129,56 (14); 129,22 (5', 7'); 128,42 (4', 8'); 127,80 (6'); 122,08 (12); 96,10 (17); 91,61 (15); 54,97 (18); 47,02 (6); 39,02 (3); 33,43 (5); 26,73 (4); 20,21 (7); 14,15 (9')

3.5.2. Sinteza *(2E)*-3- (3,4-dimetoksifenil) -*N*-[({4-[(6-metoksikinolil–8-il)amino]pentil} karbamoil)amino]prop-2-enamida (5b)

Količina klorida **4b**: 0,227 g

Vrijeme reakcije: 1,5 h

Sirovi produkt je topljiv jedino u DMSO te je pročišćen rastrljavanjem redom u etil-acetatu, diklormetanu, vrućem acetonu, dva puta u eteru te u vrućem etanolu. Dobiven je konačan produkt **5b**.

Iskorištenje: 0,231 g (57 %)

t_t 200,5 – 201,5 °C (raspad)

MS/MS *m/z* 508,3 $(M+1)^+$

IR (KBr): ν_{max} 3375, 3213, 3084, 3003, 2937, 1668, 1628, 1596, 1559, 1515, 1456, 1421, 1387, 1356, 1293, 1262, 1235, 1202, 1171, 1138, 1052, 1022, 977, 939, 856, 816, 788, 767, 710, 679, 622, 594, 560, 460 cm^{-1}

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 9,62-9,61 (d, 1H, 2'', *J* = 1,73); 8,54-8,52 (dd, 1H, 11, *J* = 1,39; 4,06); 8,08-8,06 (dd, 1H, 13, *J* = 1,29; 8,29); 7,81 (s, 1H, 1''); 7,44-7,40 (m, 2H, 12, 2'); 7,15-7,12 (m, 2H, 4', 8'); 7,00-6,98 (d, 1H, 1', *J* = 8,28); 6,53-6,46 (m, 3H, 2, 17, 7'); 6,26 (s; 1H, 15); 6,11-6,09 (d, 1H, 8, *J* = 8,73); 3,81-3,78 (m, 9H, 18, 9', 10'); 3,62 (m, 1H, 6); 3,04-3,02 (m, 2H, 3); 1,54-1,51 (m, 4H, 4, 5); 1,21-1,19 (d, 3H, 7, *J* = 6,25)

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 165,27 (3''); 159,06 (16); 158,19 (1); 150,32 (5'); 148,93 (6'); 144,69 (9); 144,36 (11); 139,74 (2'); 134,91 (13); 134,57 (10); 129,66 (14); 127,55 (3'); 122,21 (12); 121,48 (8'); 117,64 (1'); 111,81 (7'); 110,20 (4'); 96,19 (17); 91,69 (15); 55,62 (9'); 55,52 (18); 55,08 (10'); 47,11 (6); 39,02 (3); 33,50 (5); 26,80 (4); 20,30 (7)

3.5.3. Sinteza *(2E)*-3-(2H-1,3-benzodioksol-5-il)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il) amino] pentil}karbamoil)amino]prop-2-enamida (5c)

Količina klorida **4c**: 0,211 g

Vrijeme reakcije: 3 h

Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu sastava diklormetan/metanol (95:5). Rastrljavanjem u smjesi etera i petroletera dobiven je konačan produkt **5c**.

Iskorištenje: 0,193 g (49 %)

t_t 75,5 °C (raspad)

MS/MS *m/z* 492,3 $(M+1)^+$

IR (KBr): ν_{max} 3250, 2335, 2361, 1654, 1618, 1577, 1560, 1521, 1490, 1448, 1388, 1252, 1202, 1158, 1100, 1037, 976, 929, 819, 791, 670, 625, 592, 518 cm^{-1}

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 9,64 (s, 1H, 2''); 8,53 (d, 1H, 11, J = 2,84); 8,08-8,06 (d, 1H, 13, J = 8,05); 7,82 (s, 1H, 1''); 7,43-7,39 (m, 2H, 12, 2'); 7,15 (s, 1H, 4'); 7,09-7,07 (d, 1H, 8', J = 8,05); 6,96-6,94 (d, 1H, 1', J = 7,96); 6,48-6,44 (m, 3H, 2, 17, 7'); 6,26 (s, 1H, 15); 6,11-6,09 (d, 1H, 8, J = 7,59); 6,06 (s, 3H, 9'); 3,82 (s, 3H, 18); 3,62 (m, 1H, 6); 3,04 (m, 2H, 3); 1,60-1,46 (m, 4H, 4, 5); 1,12-1,19 (d, 3H, 7, J = 6,13)

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 165,45 (3''); 159,43 (16); 158,49 (1); 149,08 (5'); 148,38 (6'); 145,05 (9); 144,69 (11); 139,84 (2'); 135,25 (13); 134,93 (10); 130,01 (14); 129,50 (3'); 123,83 (8'); 122,54 (12); 118,33 (1'); 109,05 (7'); 106,66 (4'); 101,92 (9'); 96,55 (17); 92,06 (15); 55,42 (18); 47,47 (6); 39,02 (3); 33,86 (5); 27,14 (4); 20,65 (7)

3.5.4. Sinteza *(2E)*-3-(2-fluorfenil)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil} karbamoil)amino]prop-2-enamida (5d)

Količina klorida **4d**: 0,185 g

Vrijeme reakcije: 20 h

Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,040–0,063 mm te pokretnu fazu sastava diklormetan/metanol (95:5). Rastrljavanjem u eteru dobiven je konačan produkt **5d**.

Iskorištenje: 0,331 g (89 %).

t_t 91,0 – 93,0 °C (raspad)

MS/MS *m/z* 466,1 $(M+1)^+$

IR (KBr): ν_{max} 3250, 2864, 1654, 1618, 1578, 1520, 1488, 1457, 1424, 1388, 1347, 1221, 1204, 1159, 1052, 1032, 982, 822, 791, 757 cm^{-1}

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 9,85 (s, 1H, 2''); 8,54-8,53 (dd, 1H, 11, J = 1,50; 4,10); 8,08-8,06 (dd, 1H, 13, J = 1,42; 8,22); 7,87 (s, 1H, 1''); 7,67-7,65 (t, 1H, 6', J = 7,22); 7,57-7,55 (d, 1H, 2', J = 16,02); 7,45-7,41 (m, 2H, 12, 4'); 7,30-7,26 (m, 2H, 5', 7'); 6,76-6,73 (d, 1H, 1', J = 16,03); 6,48 (s, 2H, 2, 17); 6,28 (s, 1H, 15); 6,12-6,11 (d, 1H, 8, J = 8,70); 3,83 (s, 3H, 18); 3,64 (m, 1H, 6); 3,07 (m, 2H, 3); 1,65-1,49 (m, 4H, 4, 5); 1,22-1,21 (d, 3H, 7, J = 6,28)

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 164,43 (3''); 161,30-159,64 (d, 8', J = 250,54); 158,99 (16); 157,86 (1); 144,62 (9); 144,21 (11); 134,74 (13); 134,50 (10); 131,90 (2'); 131,47-131,41 (d, 6', J = 8,67); 129,54 (14); 129,22-129,20 (d, 5', J = 2,69); 124,98 (1'); 122,90-122,86 (d, 4', J = 6,35); 122,35-122,28 (d, 3', J = 11,54); 122,04 (12); 116,13-115,99 (d, 7', J = 21,68); 96,09 (17); 91,04 (15), 54,95 (18); 47,03 (6); 39,02 (3); 33,43 (5); 26,64 (4); 20,19 (7)

3.5.5. Sinteza (2E)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamool)amino]-3-[3-(trifluormetil)fenil]prop-2-enamida (5e)

Količina klorida **4e**: 0,235 g

Vrijeme reakcije: 19 h

Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,040–0,063 mm te pokretnu fazu sastava diklormetan/metanol (95:5). Isparavanjem diklormetana pri sniženom tlaku dobiven je konačan produkt **5e**.

Iskorištenje: 0.305 g (74 %)

t_t 84,5 – 88,0 °C (raspad)

MS/MS *m/z* 516,1 $(M+1)^+$

IR (KBr): ν_{max} 3254, 2964, 1659, 1618, 1577, 1521, 1456, 1424, 1388, 1334, 1222, 1199, 1166, 1126, 1075, 976, 900, 822, 792, 694, 660, 625, 561, 514 cm^{-1}

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 9,77 (s, 1H, 2''); 8,54 (d, 1H, 11, J = 2,58); 8,08-8,06 (d, 1H, 13, J = 7,91); 7,92-7,88 (m, 3H, 6', 8', 1''); 7,75-7,73 (d, 1H, 4', J = 7,53); 7,68-7,65 (t, 1H, 5', J = 7,55); 7,61-7,59 (d, 1H, 2', J = 15,88); 7,43-7,41 (m, 1H, 12); 6,78-6,76 (d, 1H, 1', J = 15,89); 6,47 (s, 2H, 2, 17); 6,28 (s, 1H, 15); 6,12-6,11 (d, 1H, 8, J = 8,50); 3,83 (s, 3H, 18); 3,64 (m, 1H, 6); 3,07-3,06 (m, 2H, 3); 1,65-1,49 (m, 4H, 4, 5); 1,22-1,21 (d, 3H, 7, J = 6,00)

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 164,18 (3''); 158,99 (16); 157,81 (1); 144,62 (9); 144,20 (11); 137,75 (2'); 135,90 (3'); 134,74 (13); 134,50 (10); 132,14-127,87 (q, 11', J = 214,50); 131,15 (4'); 130,07-129,41 (q, 7', J = 30,02); 130,06 (5'); 129,53 (14); 125,84 (6'); 123,98 (8'); 122,11 (12); 122,03 (1'); 96,08 (17); 91,64 (15); 54,94 (18); 47,03 (6); 39,02 (3); 33,43 (5); 26,64 (4); 20,18 (7)

3.5.6. Sinteza *(2E)-N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-3-[4-(trifluorometil)fenil]prop-2-enamida (5f)

Količina klorida **4f**: 0,235 g

Vrijeme reakcije: 19 h

Talog iz reakcijske smjese je prije uparavanja odsisan i rastrljan u vodi. Dobiven čisti produkt **5f**. Matičnica uparena i otopljena u etil-acetatu te ekstrahirana dva puta 5% NaOH i dva puta destiliranom vodom. Organski sloj sušen nad bezvodnim Na_2SO_4, profiltriran i uparen. Dobiveno ulje pročišćeno je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,040–0,063 mm te pokretnu fazu sastava diklormetan/metanol (95:5). Rastrljavanjem u eteru i petroleteru dobiven je konačan produkt **5f**.

Iskorištenje: 0,276 g (67 %)

t_t 123,0 °C (raspad)

MS/MS m/z 516,2 $(M+1)^+$

IR (KBr): ν_{max} 3256, 1695, 1664, 1612, 1525, 1469, 1425, 1390, 1327, 1235, 1169, 1118, 1067, 1036, 834, 789, 728, 659, 631, 592, 504 cm^{-1}

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 9,85 (s, 1H, 2''); 8,54-8,53 (d, 1H, 11, J = 3,71); 8,08-8,06 (d, 1H, 13, J = 8,07); 7,90 (s, 1H, 1''); 7,78 (s, 4H, 4', 5', 7', 8'); 7,59-7,56 (d, 1H, 2', J = 15,92); 7,43-7,41 (m, 1H, 12); 6,77-6,74 (d, 1H, 1', J = 15,90); 6,47 (s, 2H, 2, 17); 6,28 (s, 1H, 15); 6,12-6,11 (d, 1H, 8, J = 8,58); 3,83 (s, 3H, 18); 3,64 (m, 1H, 6); 3,07-3,05 (m, 2H, 3); 1,65-1,47 (m, 4H, 4; 5); 1,22-1,21 (d, 3H, 7, J = 6,06)

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 164,10 (3''); 158,98 (16); 157,80 (1); 144,61 (9); 144,19 (11); 138,73 (3'); 137,75 (2'); 134,73 (10); 134,49 (13); 129,64-129,01 (q, 6', J = 31,19); 129,53 (14); 128,13 (4', 8'); 126,81-121,32 (q, 10', J = 271,67); 125,76 (5', 7'); 122,77 (1'); 122,02 (12); 96,07 (17); 91,63 (15); 54,93 (18); 47,01 (6); 39,02 (3); 33,42 (5); 26,63 (4); 20,17 (7)

4. REZULTATI I RASPRAVA

Primakin je antimalarik iz skupine 8-aminokinolina. Osim antimalarijskog, dokazano je i njegovo antitumorsko djelovanje. Stoga su sintetizirane serije spojeva s ciljem optimizacije strukture u svrhu povećanog antiproliferativnog učinka te povećanja selektivnosti prema određenim tumorskim linijama.

Na temelju literaturnih izvora i rezultata dosadašnjih istraživanja na Zavodu za farmaceutsku kemiju dokazano je da je za antiproliferativni učinak derivata primakina nužan kinolinski dio molekule. Uvođenjem elektronegativno supstituiranog lipofilnog ostatka preko mosta od nekoliko elektronegativnih atoma (urea ili semikarbazidna skupina) na terminalnu primarnu amino skupinu primakina antiproliferativno djelovanje se dodatno potencira te se povećava selektivnost prema MCF-7, odnosno SW 620 tumorskim staničnim linijama.

U ovom radu opisana je sinteza i karakterizacija šest novih, u literaturi dosad neopisanih acilsemikarbazidnih derivata primakina koji u strukturi sadrže cimetnu kiselinu ili derivat cimetne kiseline (**5a-f**). Riječ je o derivatima primakina i α-metilcimetne (**5a**), 3,4-dimetoksicimetne (**5b**), 3,4-metilendioksicimetne (**5c**), 2-fluorcimetne (**5d**) te 3-(trifluormetil)cimetne kiseline (**5e**) i 4-(trifluormetil)cimetne kiseline (**5f**).

Za sintezu tih derivata odabran je reakcijski put koji uključuje prevođenje primakina u benzotriazolid primakina (**2**), a zatim u primakinski semikarbazid (**3**), koji s kiselinskim kloridima derivata cimetne kiseline **4a-f** daje konačne acilsemikarbazidne primakin-CAD derivate **5a-f**.

Početni spoj u sintezi bio je klorid 1-benzotriazolkarboksilne kiseline, BtcCl (**1**) koji je dobiven reakcijom benzotriazola i trifozgena na 115 °C (Kalčić i sur., 2003) te je bez pročišćavanja upotrijebljen u sljedećoj reakciji.

Primakin komercijalno dolazi kao difosfatna sol pa se prije upotrebe u reakcijama sinteze treba prevesti u oblik slobodne baze. Vodena otopina primakin difosfata zalužena je otopinom 5%-tne NaOH i ekstrahirana diklormetanom u kojemu je primakin topljiv.

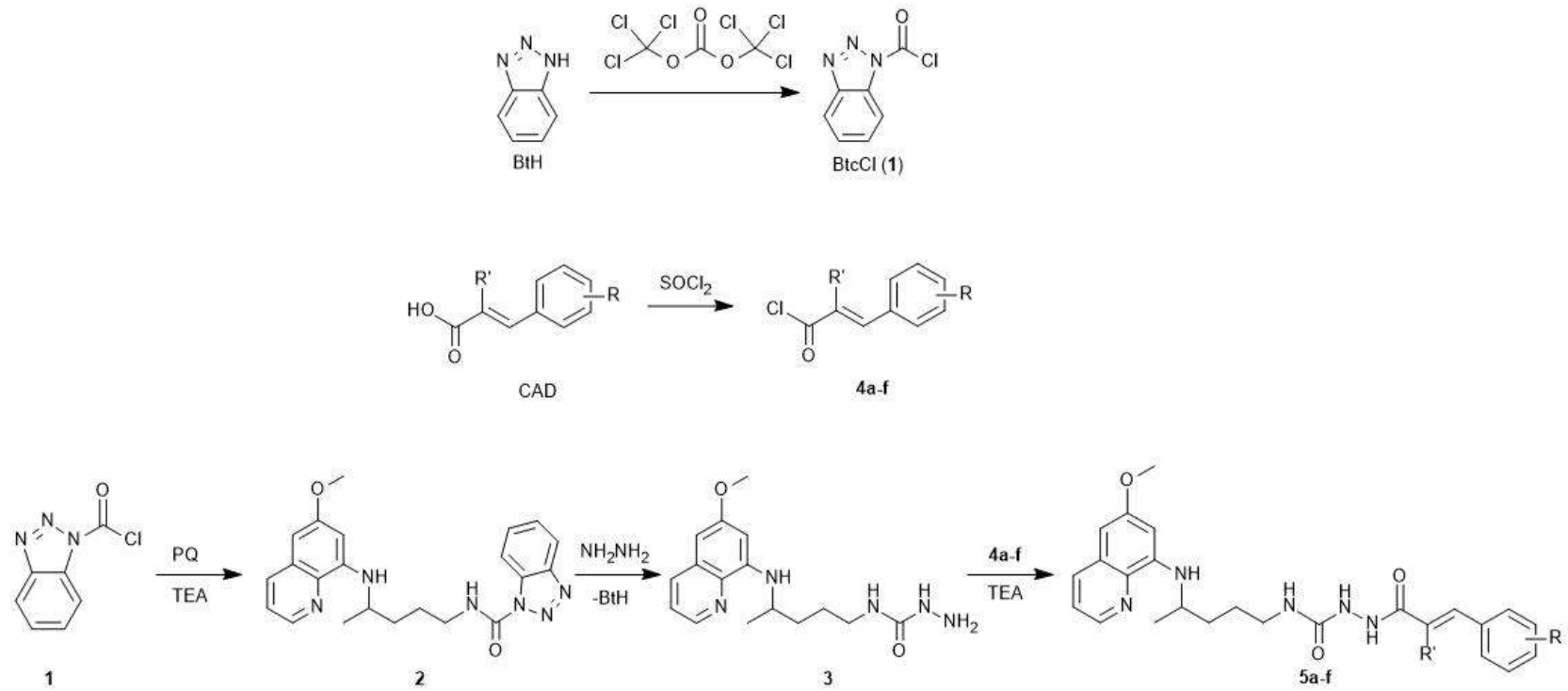
Nakon uparavanja diklormetana, dobiveni primakin u obliku slobodne baze reagirao je s kloridom BtcCl (**1**) te je dobiven primakinski benzotriazolid (**2**), spoj već opisan u literaturi (Džimbeg i sur., 2008).

Dobiveni primakinski benzotriazolid (**2**) je pomoću hidrazina preveden u primakinski semikarbazid (**3**) koji je, također, već opisan u literaturi (Pavić i sur., 2014).

Derivati cimetne kiseline prevedeni su u kiselinske kloride **4a-f** reakcijama s tionil-kloridom.

Reakcijom primakinskog semikarbazida (**3**) s kloridom odgovarajućeg derivata cimetne kiseline **4a-f** dobiveni su konačni produkti, acilsemikarbazidni derivati **5a-f** koji nisu do sad opisani u literaturi.

U reakcijama u kojima benzotriazol predstavlja izlaznu skupinu oslobođeni BtH uklonjen je po završetku reakcije ekstrakcijom s 5 %-tnom vodenom otopinom NaOH. Dodatkom otopine NaOH deprotonira se atom dušika na poziciji 1 benzotriazolskog prstena te nastaje natrijeva sol topljiva u vodi. Benzotriazol u tom obliku prelazi u vodeni sloj dok u organskom sloju zaostaju željeni produkti.



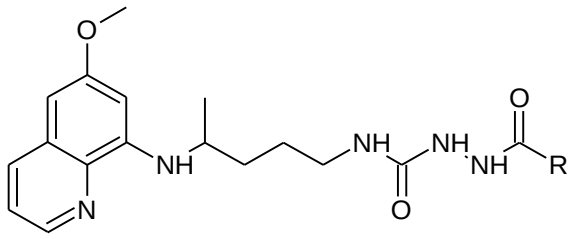
Spoj	**5a**	**5b**	**5c**	**5d**	**5e**	**5f**
R	H	3,5-$(OCH_3)_2$	3,4-metilendioksi	2-F	3-CF_3	4-CF_3
R'	CH_3	H	H	H	H	H

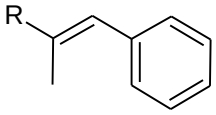
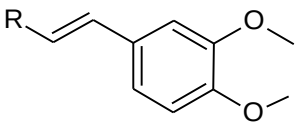
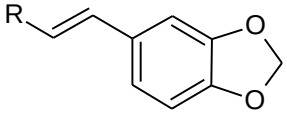
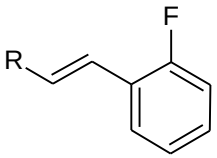
U pripravi acilsemikarbazida **5a-f** najveću poteškoću predstavljalo je pročišćavanje produkata. Kao najbolji način pročišćavanja pokazala se kromatografija na koloni (nepokretna faza silikagel, pokretna faza diklormetan/metanol 95:5 te petroleter/etil-acetat/metanol 3:1:0,5). Veličina čestica silikagela bitno je utjecala na uspješnost pročišćavanja produkata. Uz silikagel s krupnijim česticama veličine 0,063–0,200 mm pročišćavanje je bilo bitno manje uspješno nego uz silikagel veličine čestica 0,040–0,063 mm, a ukupne mase dobivenih čistih produkata bile su mnogo veće uz korištenje silikagela sitnijih čestica. Čisti produkti **5** dobiveni su prekristalizacijom iz smjese etera i petroletera

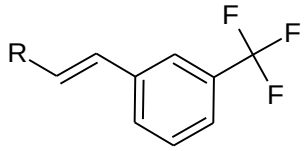
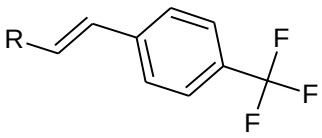
Strukture novih spojeva određene su uobičajenim analitičkim i spektroskopskim metodama (IR, ^{1}H i ^{13}C NMR, MS), dok su strukture ranije opisanih spojeva (**2** i **3**) potvrđene samo usporedbom IR spektara i R_f vrijednosti u odgovarajućem kromatografskom sustavu.

Novim spojevima određene su i temperature taljenja. Analitički i spektroskopski podaci prikazani su u Tablicama 1 i 2.

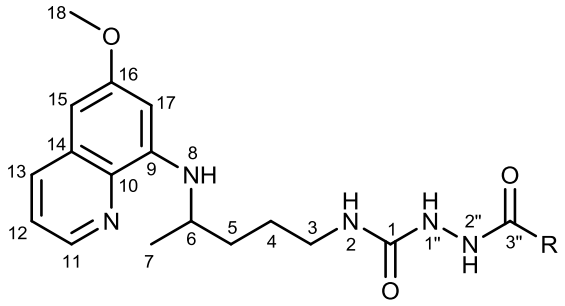
Tablica 1. Analitički podaci za acilsemikarbazidne derivate (**5a-f**) CAD-primakina



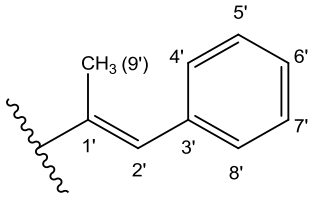
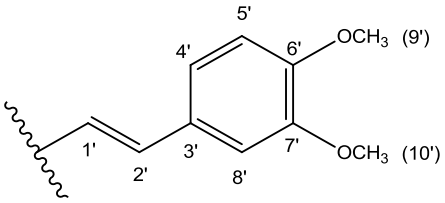
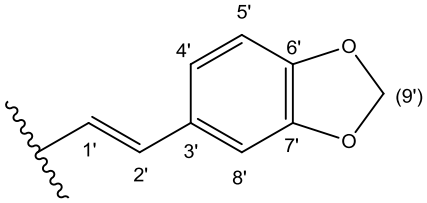
Spoj	R	t_t (°C)	Molekulska formula	M_r	MS (*m/z*)	IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1})
5a		65,5 °C (raspad)	$C_{26}H_{31}N_5O_3$	461,53	462,3 $(M+1)^+$	3265, 2961, 2935, 1652, 1617, 1576, 1520, 1454, 1423, 1387, 1336, 1258, 1239, 1220, 1203, 1158, 1051, 1031, 1004, 928, 910, 822, 791, 762, 709, 695, 625, 589, 515
5b		200,5 – 201,5 (raspad)	$C_{27}H_{33}N_5O_5$	507,58	508,3 $(M+1)^+$	3375, 3213, 3084, 3003, 2937, 1668, 1628, 1596, 1559, 1515, 1456, 1421, 1387, 1356, 1293, 1262, 1235, 1202, 1171, 1138, 1052, 1022, 977, 939, 856, 816, 788, 767, 710, 679, 622, 594, 560, 460
5c		75,5 (raspad)	$C_{26}H_{29}N_5O_5$	491,54	492,3 $(M+1)^+$	3250, 2335, 2361, 1654, 1618, 1577, 1560, 1521, 1490, 1448, 1388, 1252, 1202, 1158, 1100, 1037, 976, 929, 819, 791, 670, 625, 592, 518
5d		91,0 – 93,0 (raspad)	$C_{25}H_{28}FN_5O_3$	465,52	466,1 $(M+1)^+$	3250, 2864, 1654, 1618, 1578, 1520, 1488, 1457, 1424, 1388, 1347, 1221, 1204, 1159, 1052, 1032, 982, 822, 791, 757

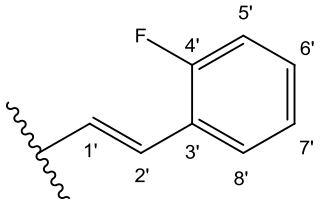
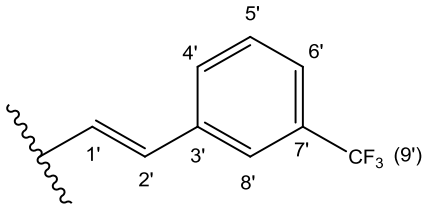
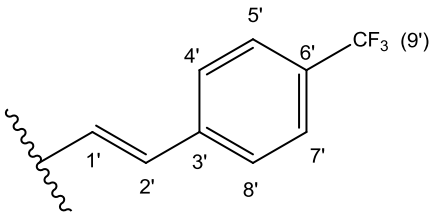
5e		84,5 – 88,0 (raspad)	$C_{26}H_{28}F_3N_5O_3$	515,53	516,1 $(M+1)^+$	3254, 2964, 1659, 1618, 1577, 1521, 1456, 1424, 1388, 1334, 1222, 1199, 1166, 1126, 1075, 976, 900, 822, 792, 694, 660, 625, 561, 514
5f		123,0 (raspad)	$C_{26}H_{28}F_3N_5O_3$	515,53	516,2 $(M+1)^+$	3256, 1695, 1664, 1612, 1525, 1469, 1425, 1390, 1327, 1235, 1169, 1118, 1067, 1036, 834, 789, 728, 659, 631, 592, 504

Tablica 2. ^{1}H NMR za acilsemikarbazidne derivate (**5a-f**) CAD-primakina

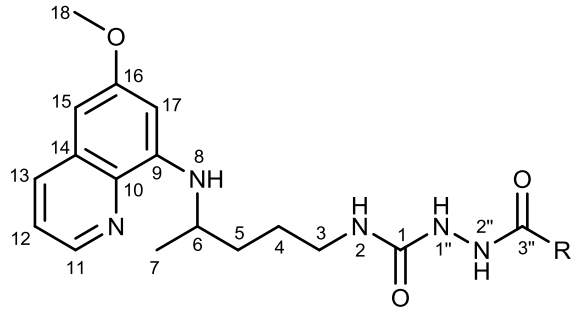


5a-f

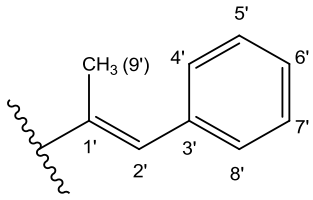
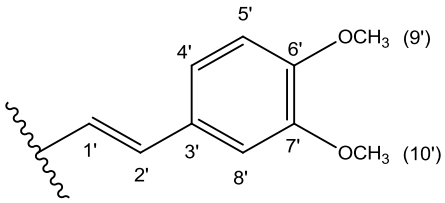
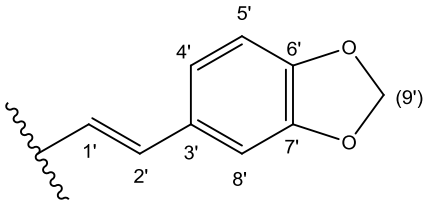
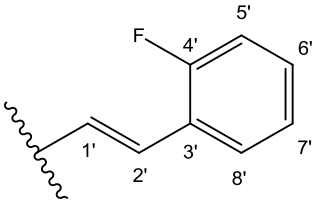
Spoj	R	^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm)
5a		9,67 (s, 1H, 2"); 8,54-8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,57; 4,15); 8,08-8,07 (dd, 1H, 13, *J* = 1,49; 8,28); 7,67 (s, 1H, 1"); 7,43-7,30 (m, 7H, 12, 2', 4'-8'); 6,48-6,45 (m, 2H, 2, 17); 6,28 (s, 1H, 15); 6,13-6,11 (d, 1H, 8, *J* = 8,75); 4,05-3,82 (s, 3H, 18); 3,65-3,63 (m, 1H, 6); 3,08-3,02 (m, 2H, 3); 2,02 (s, 3H, 9'); 1,66-1,47 (m, 4H, 4, 5); 1,22-1,21 (d 3H, 7, *J* = 6,29)
5b		9,62-9,61 (d, 1H, 2", *J* = 1,73); 8,54-8,52 (dd, 1H, 11, *J* = 1,39; 4,06); 8,08-8,06 (dd, 1H, 13, *J* = 1,29; 8,29); 7,81 (s, 1H, 1"); 7,44-7,40 (m, 2H, 12, 2'); 7,15-7,12 (m, 2H, 4', 8'); 7,00-6,98 (d, 1H, 1', *J* = 8,28); 6,53-6,46 (m, 3H, 2, 17, 7'); 6,26 (s; 1H, 15); 6,11-6,09 (d, 1H, 8, *J* = 8,73); 3,81-3,78 (m, 9H, 18, 9', 10'); 3,62 (m, 1H, 6); 3,04-3,02 (m, 2H, 3); 1,54-1,51 (m, 4H, 4, 5); 1,21-1,19 (d, 3H, 7, *J* = 6,25)
5c		9,64 (s, 1H, 2"); 8,53 (d, 1H, 11, *J* = 2,84); 8,08-8,06 (d, 1H, 13, *J* = 8,05); 7,82 (s, 1H, 1"); 7,43-7,39 (m, 2H, 12, 2'); 7,15 (s, 1H, 4'); 7,09-7,07 (d, 1H, 8', *J* = 8,05); 6,96-6,94 (d, 1H, 1', *J* = 7,96); 6,48-6,44 (m, 3H, 2, 17, 7'); 6,26 (s, 1H, 15); 6,11-6,09 (d, 1H, 8, *J* = 7,59); 6,06 (s, 3H, 9'); 3,82 (s, 3H, 18); 3,62 (m, 1H, 6); 3,04 (m, 2H, 3); 1,60-1,46 (m, 4H, 4, 5); 1,12-1,19 (d, 3H, 7, *J* = 6,13)

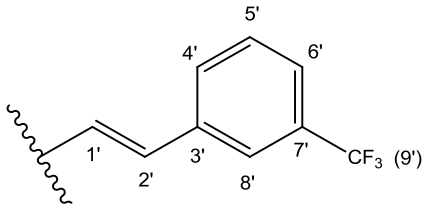
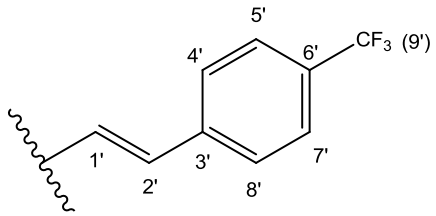
5d		9,85 (s, 1H, 2"); 8,54-8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,50; 4,10); 8,08-8,06 (dd, 1H, 13, *J* = 1,42; 8,22); 7,87 (s, 1H, 1"); 7,67-7,65 (t, 1H, 6', *J* = 7,22); 7,57-7,55 (d, 1H, 2', *J* = 16,02); 7,45-7,41 (m, 2H, 12, 4'); 7,30-7,26 (m, 2H, 5', 7'); 6,76-6,73 (d, 1H, 1', *J* = 16,03); 6,48 (s, 2H, 2, 17); 6,28 (s, 1H, 15); 6,12-6,11 (d, 1H, 8, *J* = 8,70); 3,83 (s, 3H, 18); 3,64 (m, 1H, 6); 3,07 (m, 2H, 3); 1,65-1,49 (m, 4H, 4, 5); 1,22-1,21 (d, 3H, 7, *J* = 6,28)
5e		9,77 (s, 1H, 2"); 8,54 (d, 1H, 11, *J* = 2,58); 8,08-8,06 (d, 1H, 13, *J* = 7,91); 7,92-7,88 (m, 3H, 6', 8', 1"); 7,75-7,73 (d, 1H, 4', *J* = 7,53); 7,68-7,65 (t, 1H, 5', *J* = 7,55); 7,61-7,59 (d, 1H, 2', *J* = 15,88); 7,43-7,41 (m, 1H, 12); 6,78-6,76 (d, 1H, 1', *J* = 15,89); 6,47 (s, 2H, 2, 17); 6,28 (s, 1H, 15); 6,12-6,11 (d, 1H, 8, *J* = 8,50); 3,83 (s, 3H, 18); 3,64 (m, 1H, 6); 3,07-3,06 (m, 2H, 3); 1,65-1,49 (m, 4H, 4, 5); 1,22-1,21 (d, 3H, 7, *J* = 6,00)
5f		9,85 (s, 1H, 2"); 8,54-8,53 (d, 1H, 11, *J* = 3,71); 8,08-8,06 (d, 1H, 13, *J* = 8,07); 7,90 (s, 1H, 1"); 7,78 (s, 4H, 4', 5', 7', 8'); 7,59-7,56 (d, 1H, 2', *J* = 15,92); 7,43-7,41 (m, 1H, 12); 6,77-6,74 (d, 1H, 1', *J* = 15,90); 6,47 (s, 2H, 2, 17); 6,28 (s, 1H, 15); 6,12-6,11 (d, 1H, 8, *J* = 8,58); 3,83 (s, 3H, 18); 3,64 (m, 1H, 6); 3,07-3,05 (m, 2H, 3); 1,65-1,47 (m, 4H, 4; 5); 1,22-1,21 (d, 3H, 7, *J* = 6,06)

Tablica 2. ^{13}C NMR za acilsemikarbazidne derivate (**5a-f**) CAD-primakina



5a-f

Spoj	R	^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm)
5a		168,89 (3''); 159,00 (16); 158,36 (1); 144,63 (9); 144,24 (11); 135,83 (3'); 134,78 (13); 134,51 (10); 133,23 (2'); 130,74 (1'); 129,56 (14); 129,22 (5', 7'); 128,42 (4', 8'); 127,80 (6'); 122,08 (12); 96,10 (17); 91,61 (15); 54,97 (18); 47,02 (6); 39,02 (3); 33,43 (5); 26,73 (4); 20,21 (7); 14,15 (9')
5b		165,27 (3''); 159,06 (16); 158,19 (1); 150,32 (5'); 148,93 (6'); 144,69 (9); 144,36 (11); 139,74 (2'); 134,91 (13); 134,57 (10); 129,66 (14); 127,55 (3'); 122,21 (12); 121,48 (8'); 117,64 (1'); 111,81 (7'); 110,20 (4'); 96,19 (17); 91,69 (15); 55,62 (9'); 55,52 (18); 55,08 (10'); 47,11 (6); 39,02 (3); 33,50 (5); 26,80 (4); 20,30 (7)
5c		165,45 (3''); 159,43 (16); 158,49 (1); 149,08 (5'); 148,38 (6'); 145,05 (9); 144,69 (11); 139,84 (2'); 135,25 (13); 134,93 (10); 130,01 (14); 129,50 (3'); 123,83 (8'); 122,54 (12); 118,33 (1'); 109,05 (7'); 106,66 (4'); 101,92 (9'); 96,55 (17); 92,06 (15); 55,42 (18); 47,47 (6); 39,02 (3); 33,86 (5); 27,14 (4); 20,65 (7)
5d		164,43 (3''); 161,30-159,64 (d, 8', *J* = 250,54); 158,99 (16); 157,86 (1); 144,62 (9); 144,21 (11); 134,74 (13); 134,50 (10); 131,90 (2'); 131,47-131,41 (d, 6', *J* = 8,67); 129,54 (14); 129,22-129,20 (d, 5', *J* = 2,69); 124,98 (1'); 122,90-122,86 (d, 4', *J* = 6,35); 122,35-122,28 (d, 3', *J* = 11,54); 122,04 (12);

		116,13-115,99 (d, 7', *J* = 21,68); 96,09 (17); 91,04 (15), 54,95 (18); 47,03 (6); 39,02 (3); 33,43 (5); 26,64 (4); 20,19 (7)
5e		164,18 (3''); 158,99 (16); 157,81 (1); 144,62 (9); 144,20 (11); 137,75 (2'); 135,90 (3'); 134,74 (13); 134,50 (10); 132,14-127,87 (q, 11', *J* = 214,50); 131,15 (4'); 130,07-129,41 (q, 7', *J* = 30,02); 130,06 (5'); 129,53 (14); 125,84 (6'); 123,98 (8'); 122,11 (12); 122,03 (1'); 96,08 (17); 91,64 (15); 54,94 (18); 47,03 (6); 39,02 (3); 33,43 (5); 26,64 (4); 20,18 (7)
5f		164,10 (3''); 158,98 (16); 157,80 (1); 144,61 (9); 144,19 (11); 138,73 (3'); 137,75 (2'); 134,73 (10); 134,49 (13); 129,64-129,01 (q, 6', *J* = 31,19); 129,53 (14); 128,13 (4', 8'); 126,81-121,32 (q, 10', *J* = 271,67); 125,76 (5', 7'); 122,77 (1'); 122,02 (12); 96,07 (17); 91,63 (15); 54,93 (18); 47,01 (6); 39,02 (3); 33,42 (5); 26,63 (4); 20,17 (7)

5. ZAKLJUČAK

U ovom radu opisana je sinteza novih acilsemikarbazidnih derivata primakina koji u svojoj strukturi sadrže derivate cimetne kiseline. Sinteza i karakterizacija provedena je u okviru nastavka istraživanja derivata primakina kao potencijalnih antitumorskih lijekova koje se na Zavodu za farmaceutsku kemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta provodi proteklih nekoliko godina.

Sintetizirani su i karakterizirani sljedeći spojevi koji se do sada nisu opisani u literaturi:

- *(2E)-N*-[({4-[(6-metokdikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-2-metil-3-fenilprop-2-enamid (**5a**)
- (*2E)-N*-3-(3,4-dimetoksifenil)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolil–8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]prop-2-enamid (**5b**)
- *(2E)*-3-(2H-1,3-benzodioksol-5-il)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]prop-2-enamid (**5c**)
- *(2E)*-3-(2-fluorofenil)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]prop-2-enamid (**5d**)
- *(2E)-N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamool)amino]-3-[3-(trifluormetil)fenil]prop-2-enamid (**5e**)
- *(2E)-N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-3-[4-(trifluorometil)fenil]prop-2-enamid (**5f**)

Opisana je i sinteza prekursorskih spojeva, klorida 1-benzotriazolkarboksilne kiseline (**1**), primakinskog benzotriazolida (**2**) i primakinskog semikarbazida (**3**), koji su već opisani u literaturi.

Svim novosintetiziranim spojevima struktura je potvrđena uobičajenim analitičkim i spektroskopskim metodama (IR, ^{1}H i ^{13}C NMR, MS) te im je određena temperatura tališta.

U daljnjim ispitivanjima, koja prelaze okvir ovog rada, sintetiziranim derivatima bit će ispitano antitumorsko, antimikrobno i antioksidativno djelovanje.

6. LITERATURA

Bairwa R, Kakwani M, Tawari NR, Lalchandani J, Ray MK, Rajan MG, Degani MS. Novel molecular hybrids of cinnamic acids and guanylhydrazones as potential antitubercular agents, *Bioorg Med Chem*, 2010, 20, 1623–1625.

Cimetna kiselina, https://en.wikipedia.org/wiki/Cinnamic acid, pristup 17.6.2016.

Chen JH, Ho CT. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds, *J Agric Food Chem*, 1997, 45, 2374–2378.

Claisen L, *Ber* 23, 1990, 976–978;
http://www.pmf.ukim.edu.mk/PMF/Chemistry/reactions/claisen2.htm, pristup 17.6.2016.

De P, Baltas M, Bedos-Belval F. Cinnamic acid derivatives as anticancer agents – a review, *Curr Med Chem*, 2011, 18, 1672–1703.

Duffy R, Wade C, Chang R. Discovery of anticancer drugs from antimalarial natural products – a MEDLINE literature review, *Drug Discov Today*, 2012, 17, 942–953.

Džimbeg G, Zorc B, Kralj M, Ester K, Pavelić K, Balzarini J, De Clercq E, Mintas M. The novel primaquine derivatives of *N*-alkyl, cycloalkyl or aryl urea: synthesis, cytostatic and antiviral activity evaluations, *Eur J Med Chem*, 2008, 43, 1180–1187.

Fernandes I, Vale N, de Freitas V, Moreira R, Mateus N, Gomes P. Anti-tumoral activity of imidazoquines, a new class of antimalarials derived from primaquine, *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19, 6914–6917.

Gilja P, Palajsa A. Sinteza i karakterizacija novih urea i semikarbazidnih derivata primakina, Rektorova nagrada akademske godine 2014./2015.

Gruber AS, Pozebon D, Monteiro AL, Dupont J. On the use of phosphine-free $PdCl_2(SEt_2)_2$ complex as catalyst precursor for the Heck reaction, *Tetrahedron Lett*, 2001, 42, 7345–7348.

Gupta M, Wakhloo BP. Tetrabutylammoniumbromide mediated Knoevenagel condensation in water: synthesis of cinnamic acids, *Arkivoc*, 2007, 94–98.

Guzman JD. Natural cinnamic acids, synthetic derivatives and hybrids with antimicrobial activity, *Molecules*, 2014, 19, 19292–19349.

Hatsuda M, Kuroda T, Seki M. An improved synthesis of (*E*)-cinnamic acid derivatives via the Claisen-Schmidt condensation, *Synthetic Commun*, 2003, 23, 427–434.

Hedvati L, Nudelman A, Falb E, Kraiz B, Zhuk R, Sprecher M. Cinnamic acid derived oxazolinium ions as novel cytotoxic agents, *Eur J Med Chem*, 2002, 37, 607–616.

Hill DR, Baird JK, Parise ME, Lewis LS, Ryan ET, Magill AJ. Primaquine: report from CDC expert meeting on malaria chemoprophylaxis *Am J Trop Med Hyg*, 2006, 75, 402–415.

Kalčić I, Zovko M, Jadrijević-Mladar Takač M, Zorc B, Butula I. Synthesis and reactions of some azolecarboxylic acid derivatives, *Croat Chem Acta*, 2003, 76, 217–228.

Kanaani J, Ginsburg H. Effects of cinnamic acid derivatives on *in vitro* growth of *Plasmodium falciparum* and on the permeability of the membrane of malaria-infected erythrocytes, *Antimicrob Agents Chemother*, 1992, 36, 1102–1108.

Kim JH, Campbell BC, Mahomey NE, Chan KL, Molyneux RJ. Identification of phenolics for control of *Aspergillus flavus* using *Saccharomyces cerevisiae* in a model target-gene bioassay, *J Agric Food Chem*, 2004, 52, 7814–7821.

Kumar S, Arya P, Mukherjee C, Singh BK, Singh N, Parmar VS, Prasad VS, Ghosh B. Novel aromatic ester from *Piper longum* and its analogues inhibit expression of cell adhesion molecules on endothelial cells, *Biochemistry*, 2005, 44, 15944–15952.

Lalève A, Vallières C, Golinelli-Cohem MP, Bouton C, Song Z, Pawlik G, Tindall SM, Avery SV, Clain J, Meunier B. The antimalarial drug primaquine targets Fe-S cluster proteins and yeast respiratory growth, *Redox biol*, 2016, 7, 21–29.

Lone R, Shuab R, Koul KK. Role of cinnamate and cinnamate derivatives in pharmacology, *Glob J Pharmacol*, 2014, 8, 328–335.

Mobinikhaledi A, Foroughifar N, Fathinejad Jirandehi H. Microwave-assisted synthesis of cinnamic acid derivatives in the presence of PPE and under solvent-free condition, *Synth React Inorg Met-Org Nan*, 2008, 38, 428–430.

Nam NH, You YJ, Kim Y, Hong DH, Kim HM, Ahn BZ. Syntheses of certain 3-aryl-2-propenoates and evaluation of their cytotoxicity, *Bioorg Med Chem Lett*, 2001, 11, 1173–1176.

Narasimhan B, Belsare D, Pharande D, Mourya V, Dhake A. Esters, amides and substituted derivatives of cinnamic acid: synthesis, antimicrobial activity and QSAR investigations, *Eur J Med Chem*, 2004, 39, 827–834.

Natella F, Nardini M, Di Felice M, Scaccini C. Benzoic and cinnamic acid derivatives as antioxidants: structure-activity relation *J Agric Food Chem*, 1999, 47, 1453–1459.

Nitzsche A, Tokolov SV, Gutzeit HO, Ludwig-Műller J. Chemical and biological characterization of cinnamic acid derivatives from cell cultures of lavander (*Lavandula officinalis*) induced by stress and jasmonic acid, *J Agric Food Chem*, 2004, 52, 2915–2923.

Pavić K, Perković I, Cindrić M, Pranjić M, Martin-Kleiner I, Kralj M, Schols D, Hadjipavlou-Litina D, Katsori AM, Zorc B. Novel semicarbazides and ureas of primaquine with bulky aryl or hydroxyalkyl substituents: Synthesis, cytostatic and antioxidative activity, *Eur J Med Chem*, 2014, 86, 502−514.

Pérez BC, Fernandes I, Mateus N, Teixeira C, Gomes P. Recycling antimalarial leads for cancer: Antiproliferative properties of *N*-cinnamoyl chloroquine analogues, *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23, 6769–6772.

Perković I, Pavić K, Ester K, Kralj M, Marijanović I, Schols D, Hadjipavlou-Litina D, Pontiki E, Zorc B. Novel urea and semicarbazide primaquine derivatives with hydroxyphenyl and halogenphenyl substituents as potential antitumor agents, *Eur J Med Chem*, 2016, 88, (*in press*)

Perković I, Tršinar S, Žanetić J, Kralj M, Martin-Kleiner I, Balzarini J, Hadjipavlou-Litina D, Katsori AM, Zorc B. Novel 1-acyl-4-substituted semicarbazide derivatives of primaquine – synthesis, cytostatic, antiviral and antioxidative studies, *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2013, 28, 601−610.

Primaquine, https://en.wikipedia.org/wiki/Primaquine, pristup 18.6.2016.

Rajić Z, Kos G, Zorc B, Singh PP, Singh S. Macromolecular prodrugs. XII. Primaquine conjugates: synthesis and antimalarial evaluation, *Acta Pharm*, 2009, 59, 107−115.

Recht J, Ashley E, White N. Safety of 8-aminoquinoline antimalarial medicines, WHO, Ženeva, 2014.

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

Solomon VR, Lee H. Chloroquine and its analogs: A new promise of an old drug for effective and safe cancer therapies, *Eur J Pharmacol*, 2009, 625, 220–233.

Srivastava SK, Jha A, Agarwal SK, Mukherjee R, Burman AC. Synthesis and structure-activity relationships of potent antitumor active quinoline and naphthyridine derivatives, *Anti-cancer Agents Med Chem,* 2007, 7, 685–709.

Šimunović M, Perković I, Zorc B, Ester K, Kralj M, Hadjipavlou-Litina D, E. Pontiki E. Urea and carbamate derivatives of primaquine: synthesis, cytostatic and antioxidant activities, *Bioorg Med Chem,* 2009, 17,5605–5613.

Takeda Y, Tanigawa N, Sunghwa F, Ninomiya M, Hagiwara M, Matsushita K, Koketsu M. Morroniside cinnamic acid conjugate as an anti-inflammatory agent, *Bioorg Med Chem Lett,* 2010, 20, 4855–4857.

Tawata S, Taira S, Kobamoto N, Zhu J, Ishihara M, Toyama S. Synthesis and antifungal activity of cinnamic acid esters, *Biosci Biotechnol Biochem,* 1996, 60, 909–910.

Vale N, Moreira R, Gomes P. Primaquine revisited six decades after its discovery, *Eur J Med Chem,* 2009, 44, 937–953.

Vangapandu S, Sachdeva S, Jain M, Singh S, Singh P, Lal Kaul C, Jain R. 8-quinolinamines conjugated with amino acids are exhibiting potent blood-schizontocidal antimalarial activities. *Bioorg Med Chem,* 2004, 12, 239–247.

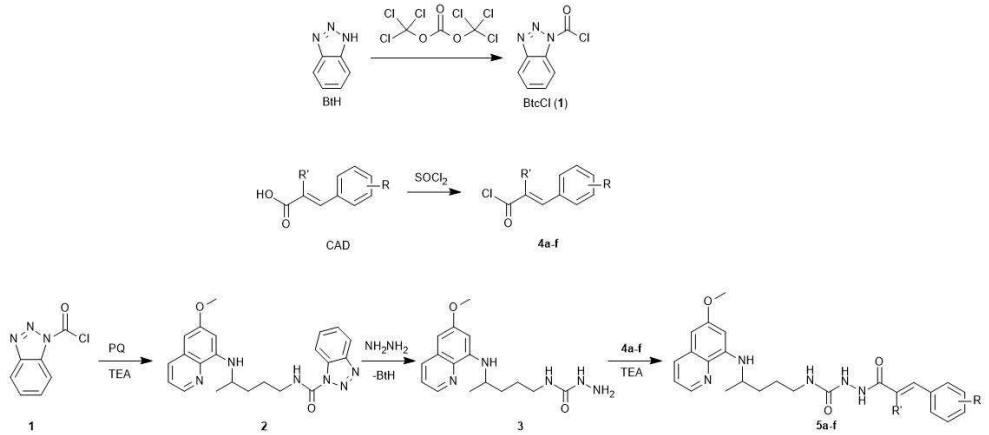
Welch DR, Harper DE, Yohem KH, U-77,863: A novel cinnamide isolated from *Streptomyces griseoluteus* that inhibits cancer invasion and metastasis, *Clin Exp Metastasis,* 1993, 11, 201–212.

7. SAŽETAK/SUMMARY

Petra Gilja

Sinteza i karakterizacija novih acilsemikarbazidnih derivata cimetne kiseline i primakina

Ovaj rad se nadovezuje na višegodišnja istraživanja provedena na Zavodu za farmaceutsku kemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu koja obuhvaćaju dizajniranje, sintezu i biološku evaluaciju derivata primakina s antiproliferativnim djelovanjem. Rezultati tih istraživanja, uz literaturne izvore o biološkim djelovanjima derivata cimetne kiseline, temelj su dizajniranja novih derivata primakina i cimetne kiseline kao potencijalnih citostatika. Cilj ovog rada bila je sinteza i karakterizacija šest novih acilsemikarbazidnih derivata primakina koji u svojoj strukturi sadrže derivate cimetne kiseline. Kao početni spoj u sintezi korišten je klorid 1-benzotriazolkarboksilne kiseline, BtcCl (**1**). Primakin je reakcijom s BtcCl preveden u primakinski benzotriazolid (**2**), a zatim pomoću hidrazina u primakinski semikarbazid (**3**). Derivati cimetne kiseline prevedeni su u kiselinske kloride **4a-f** reakcijom s tionil-kloridom. Reakcijom primakinskog semikarbazida (**3**) s kloridom odgovarajućeg derivata cimetne kiseline **4a-f** dobiveni su acilsemikarbazidni derivati **5a-f** koji nisu do sad opisani u literaturi.



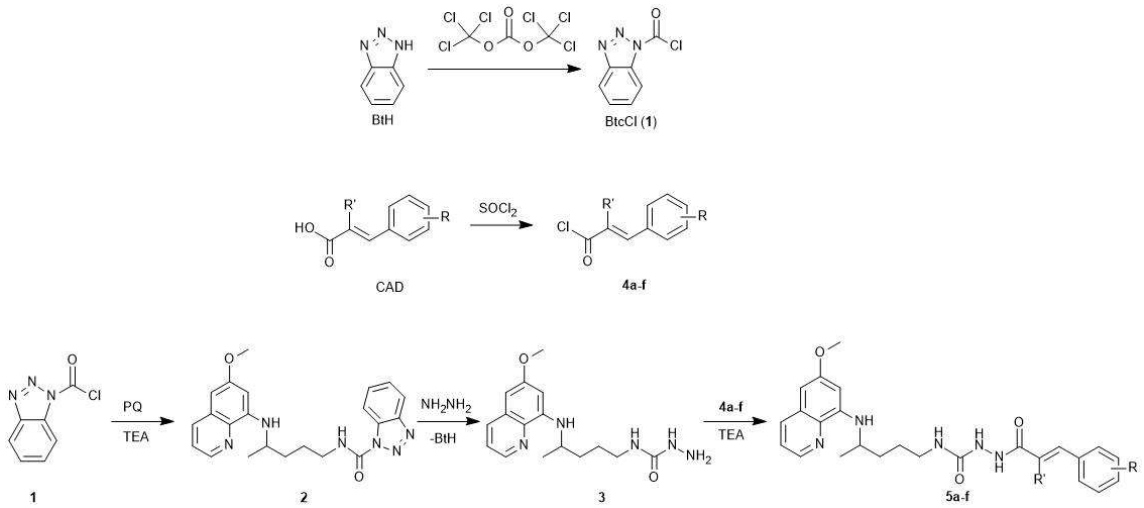
Strukture svih sintetiziranih spojeva potvrđene su uobičajenim spektroskopskim metodama (IR, ^{1}H i ^{13}C NMR, MS). Čvrstim produktima određeno je talište. Sintetiziranim derivatima će u daljnjim istraživanjima biti ispitano biološko djelovanje.

Ključne riječi: primakin, cimetna kiselina, acilsemikarbazid, sinteza

Petra Gilja

Synthesis and characterization of novel acylsemicarbazide cinnamic acid-primaquine derivatives

In the last few years, a research group at the Department of Medicinal Chemistry has focused on primaquine derivatization. This includes design, synthesis and biological evaluation of novel primaquine derivatives with antiproliferative activity. The purpose of this research was synthesis and characterization of six novel primaquine derivatives that include cinnamid acid derivatives (CADs) in their structure. The reaction of 1-benzotriazolecarboxylic acid chloride (BtcCl, **1**) with primaquine (PQ) gave primaquine benzotriazolide (**2**). Primaquine semicarbazide (**3**) was prepared in the reaction of primaquine benzotriazolide (**2**) with hydrazine. Cinnamic acid derivatives gave acyl chlorides **4a-f** in the reaction with thyonil chloride. Final products, acylsemicarbazide CAD-PQ derivatives **5a-f** were obtained in the reaction of primaquine semicarbazide (**3**) and corresponding acyl chlorides **4a-f**.



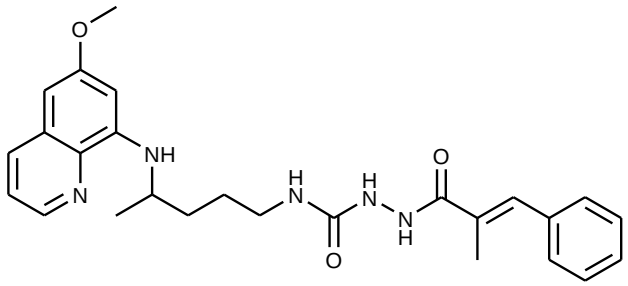
Structures of newly prepared primaquine derivatives were confirmed by IR, ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopy and MS. Melting point of solid compounds were also determined. Antiproliferative activity of synthesized primaquine derivatives will be tested in further analysis.

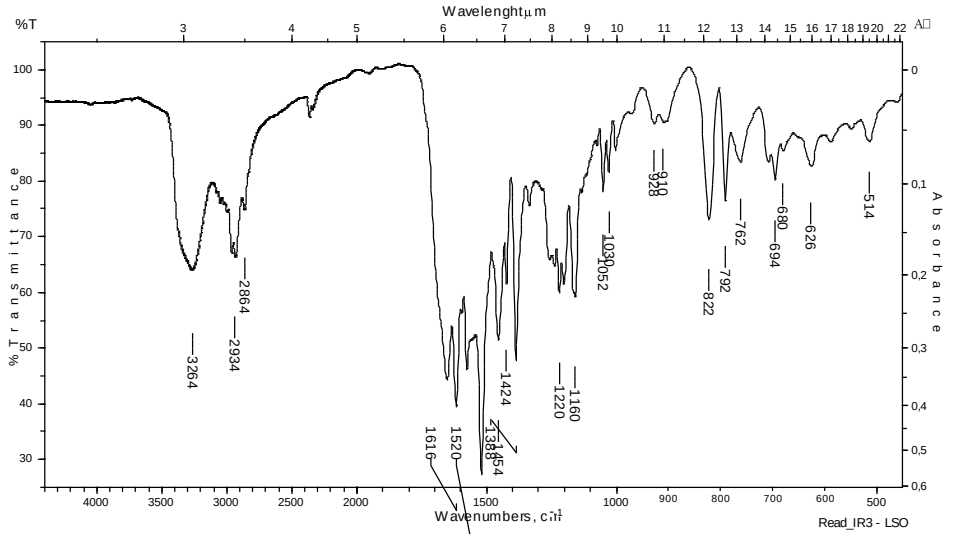
Keywords: primaquine, cinnamic acid, acylsemicarbazide, synthesis

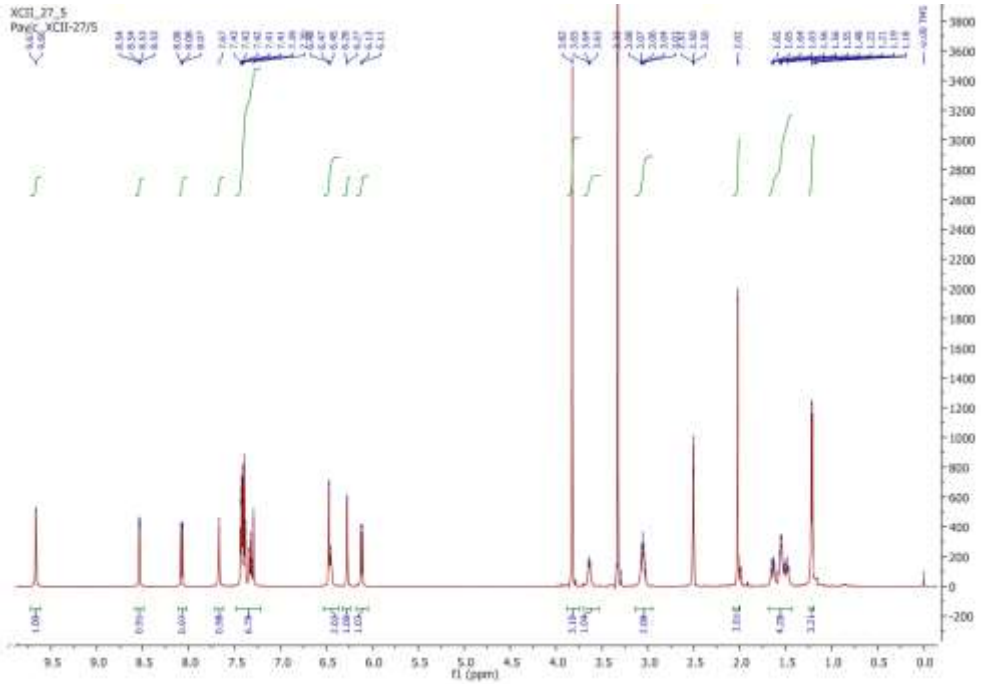
8. PRILOZI

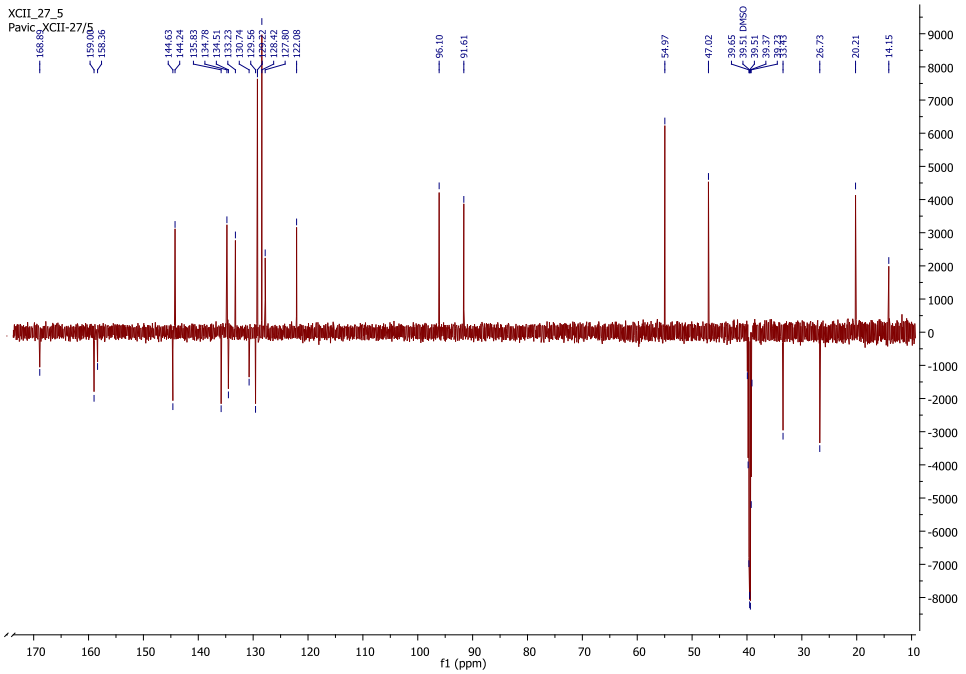
Prilozi sadrže IR, ^{1}H i ^{13}C-NMR te MS spektre novosintetiziranih spojeva

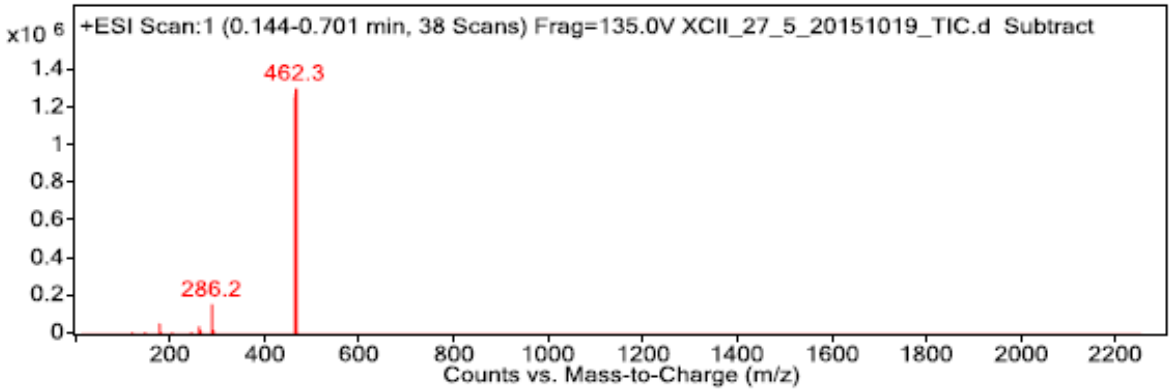
5a


O
NH
N
H
N
O
H
N
N
H
O

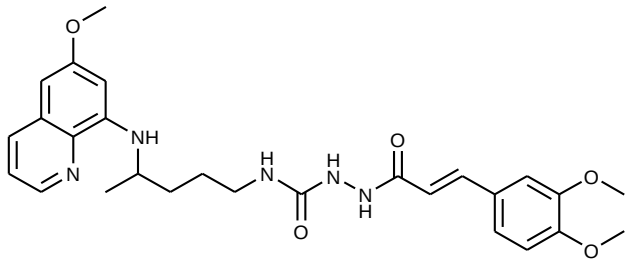

Wavelenght μm
%T
A
Transmittance %
Absorbance
Wavenumbers, cm-1
Read_IR3 - LSO
3264
2934
2864
1616
1520
1454
1424
1388
1220
1160
1052
1030
928
910
822
792
762
694
680
626
514

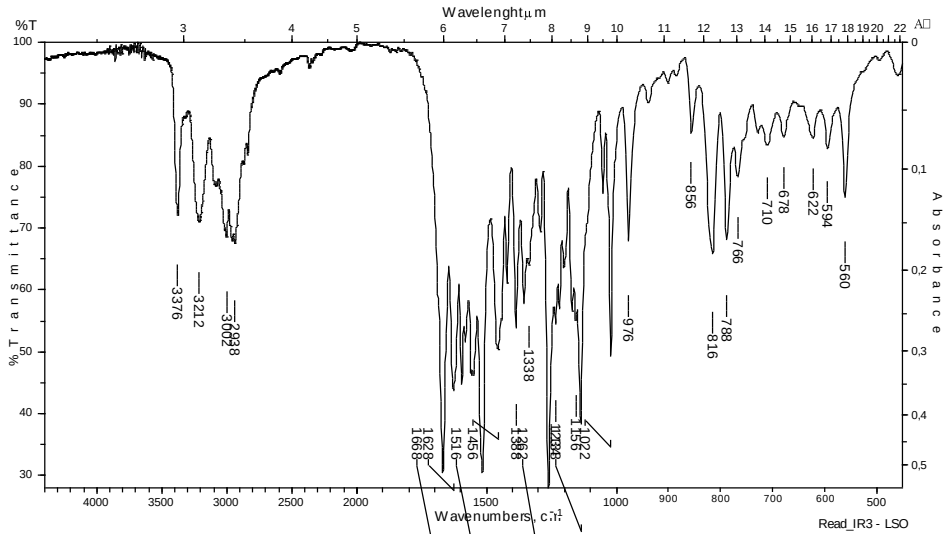

XCII_27_5
Pavic_XCII-27/5
f1 (ppm)

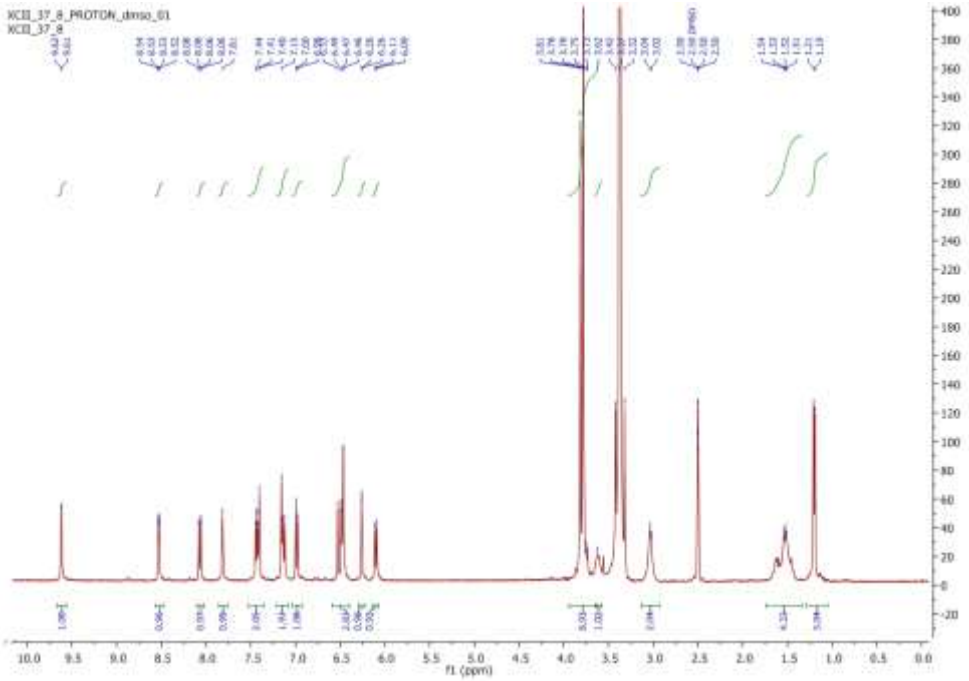

XCII_27_5
Pavic_XCII-27/5
168.89
159.06
158.36
144.63
144.24
135.83
134.76
134.51
133.23
130.74
129.55
129.22
128.42
127.80
122.08
96.10
91.61
54.97
47.02
39.65
39.51 DMSO
39.37
33.43
26.73
20.21
14.15
f1 (ppm)

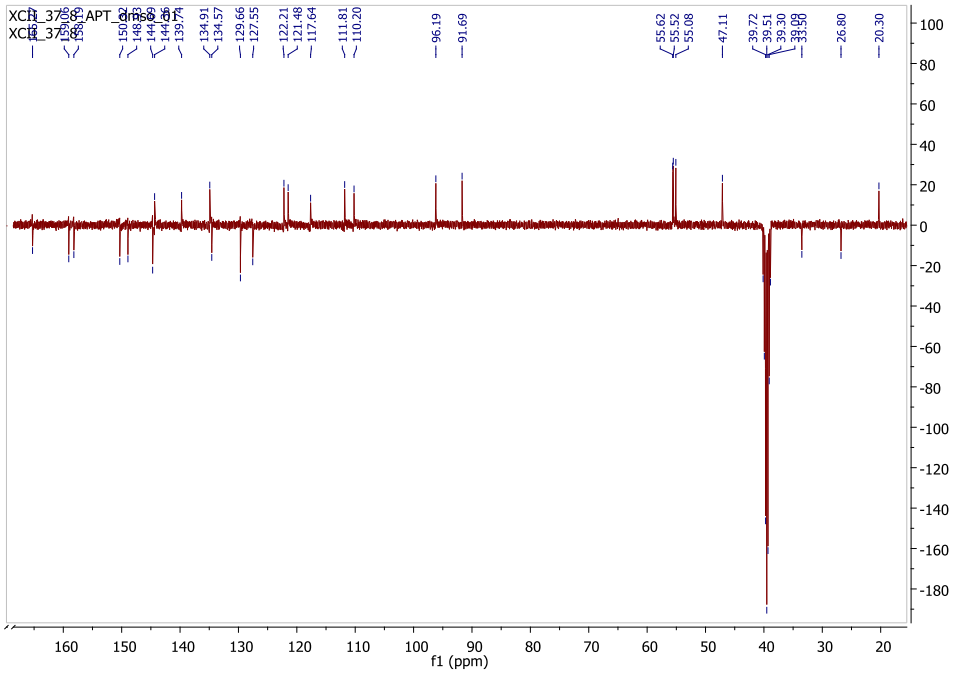

+ESI Scan:1 (0.144-0.701 min, 38 Scans) Frag=135.0V XCII_27_5_20151019_TIC.d Subtract
x10 6
462.3
286.2
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

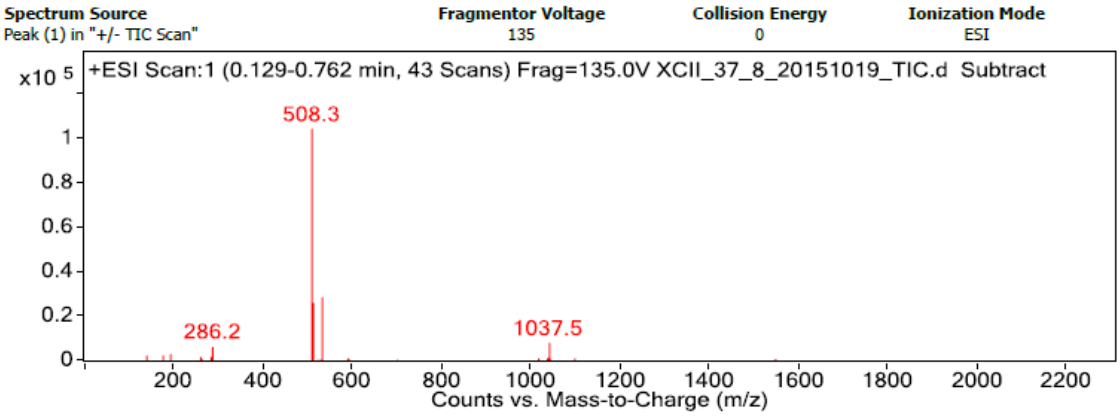
5b



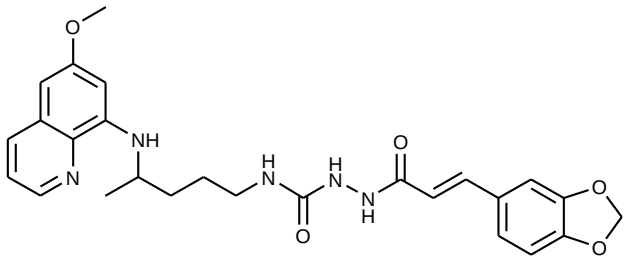

Wavelenght µm
%T
Absorbance
% Transmittance
Wavenumbers, cm-1
Read_IR3 - LSO
3376
3212
3028
3002
1628
1668
1516
1456
1388
1362
1338
1156
1102
976
856
816
788
766
710
678
622
594
560

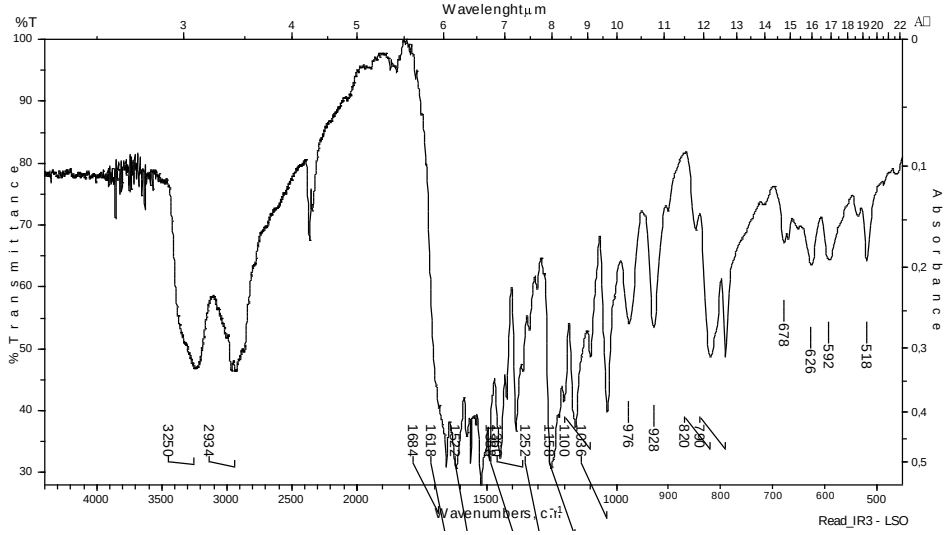

XCII_37_8_PROTON_dmso_01
XCII_37_8
f1 (ppm)

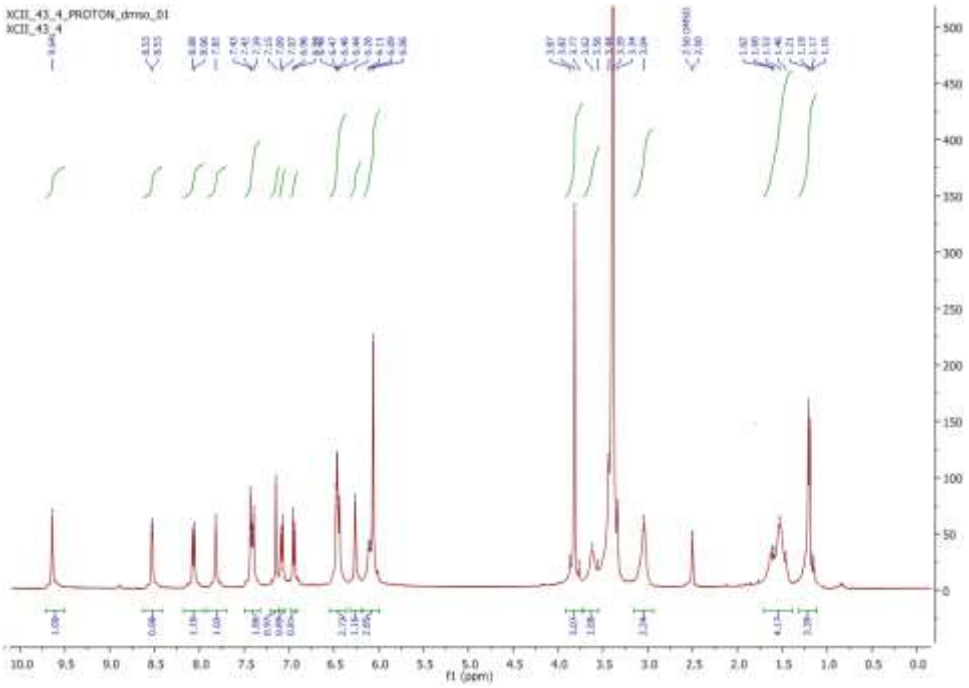

XCII_37_8_APT_dmso_d2
XCII_37_8
f1 (ppm)

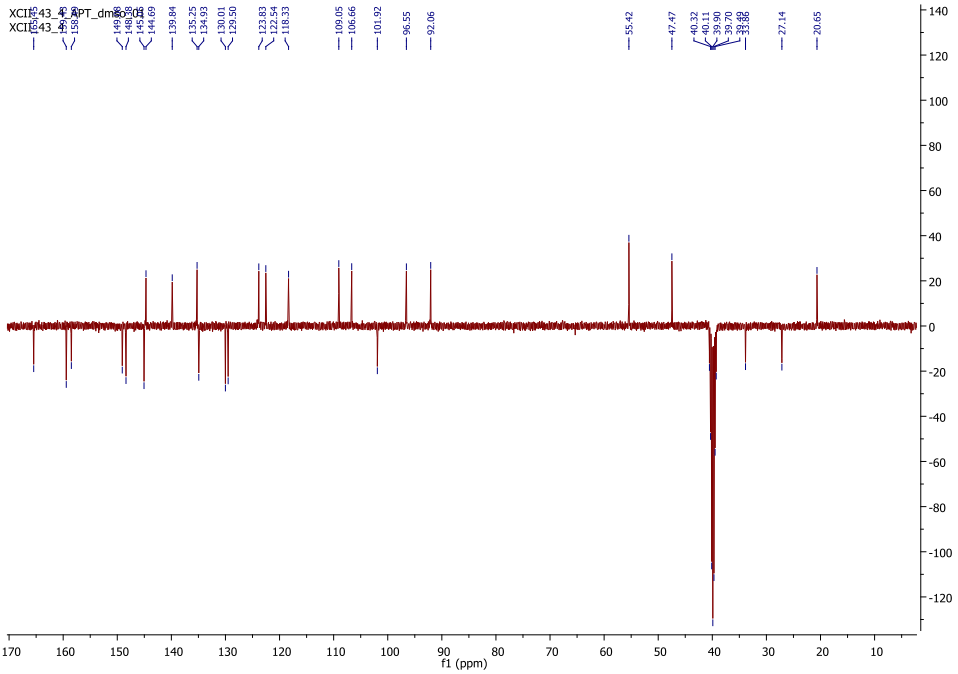

Spectrum Source
Peak (1) in "+/- TIC Scan"
Fragmentor Voltage
135
Collision Energy
0
Ionization Mode
ESI
+ESI Scan:1 (0.129-0.762 min, 43 Scans) Frag=135.0V XCII_37_8_20151019_TIC.d Subtract
x10 5
508.3
286.2
1037.5
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

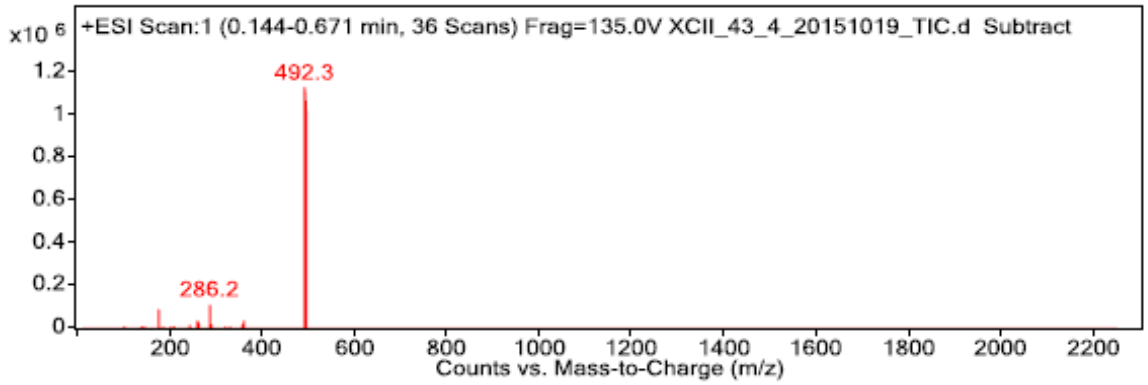
5c


O
NH
N
H
N
O
H
N
N
H
O
O
O

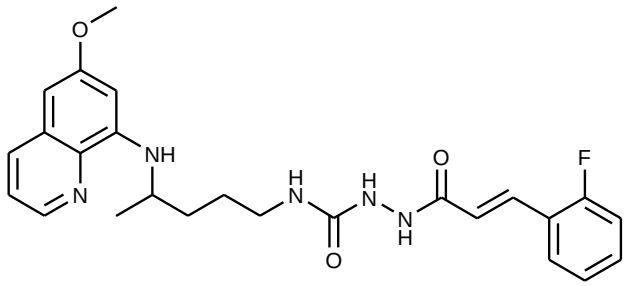

Wavelenght µm
%T
A
% T r a n s m i t t a n c e
A b s o r b a n c e
Wavenumbers c.m-1
Read_IR3 - LSO
3250
2934
1684
1618
1522
1252
1156
1100
1036
976
928
820
678
626
592
518

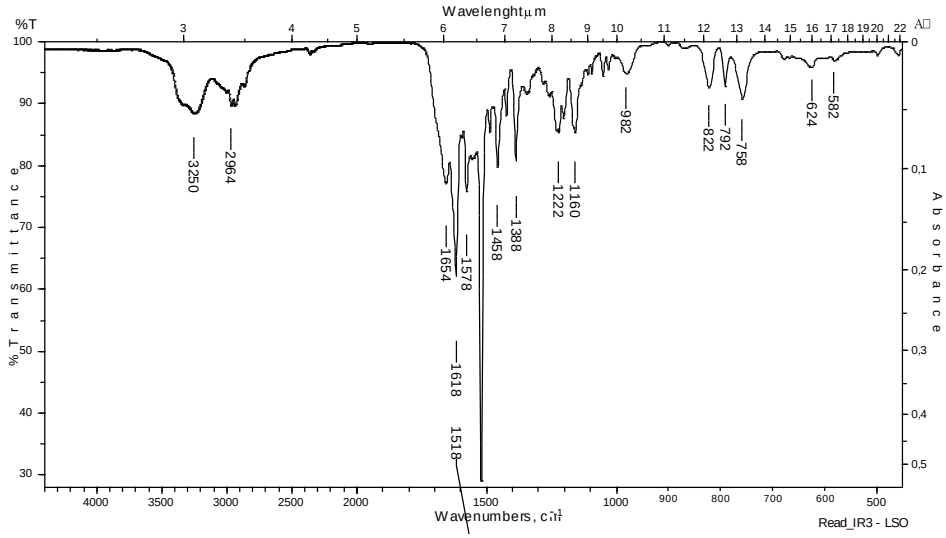

XCII_43_4_PROTON_dmso_01
XCII_43_4
f1 (ppm)

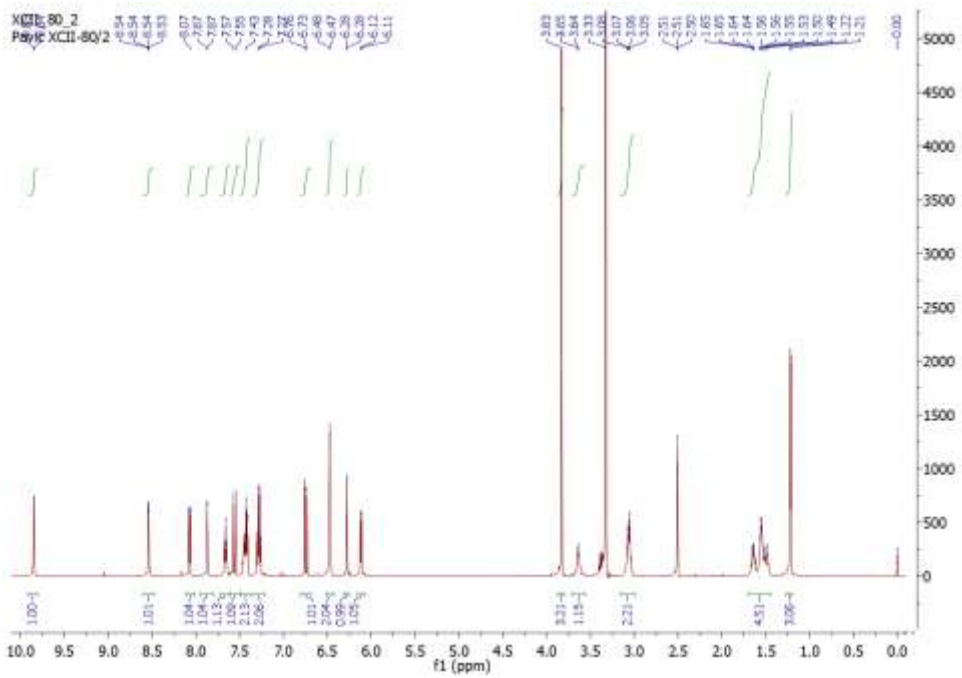

f1 (ppm)

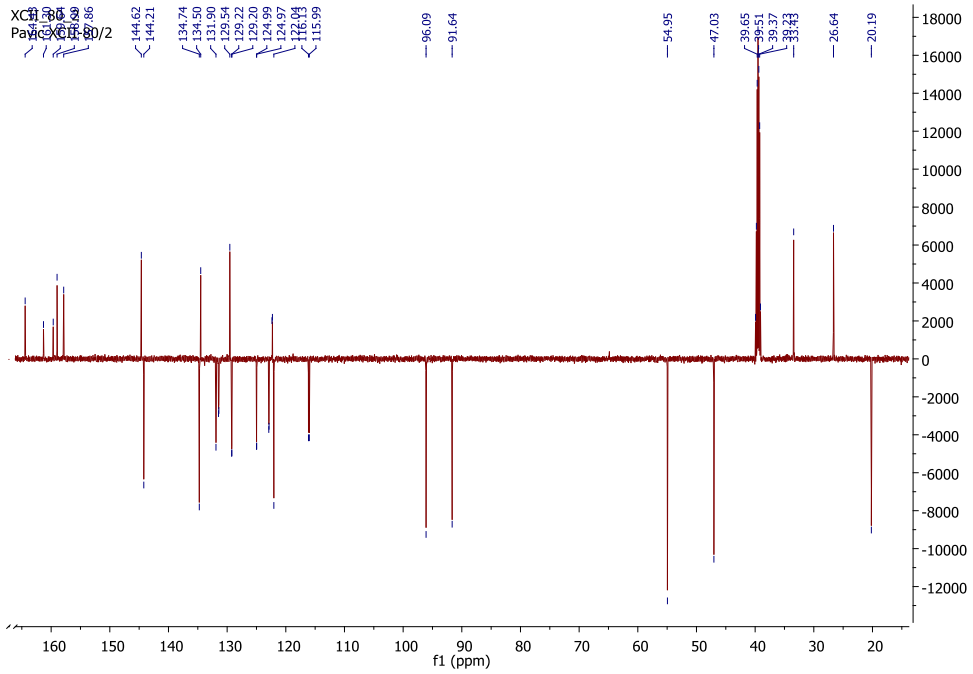

+ESI Scan:1 (0.144-0.671 min, 36 Scans) Frag=135.0V XCII_43_4_20151019_TIC.d Subtract
x10 6
492.3
286.2
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

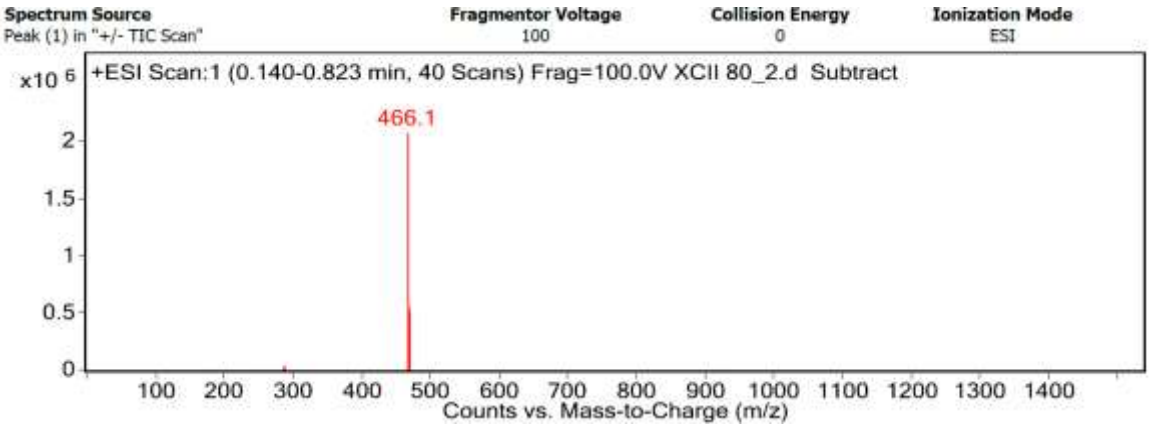
5d


O
NH
N
H
N
O
H
N
N
H
O
F

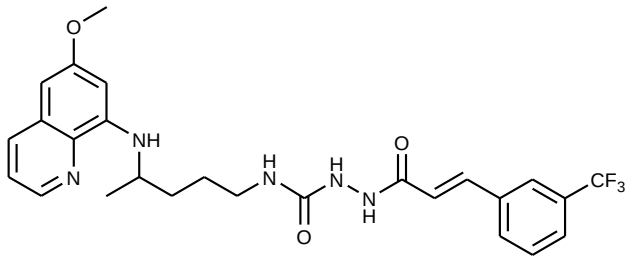

Wavelenght μm
%T
A
3250
2964
1654
1578
1618
1518
1458
1388
1222
1160
982
822
792
758
624
582
% Transmittance
Absorbance
Wavenumbers, cm-1
Read_IR3 - LSO

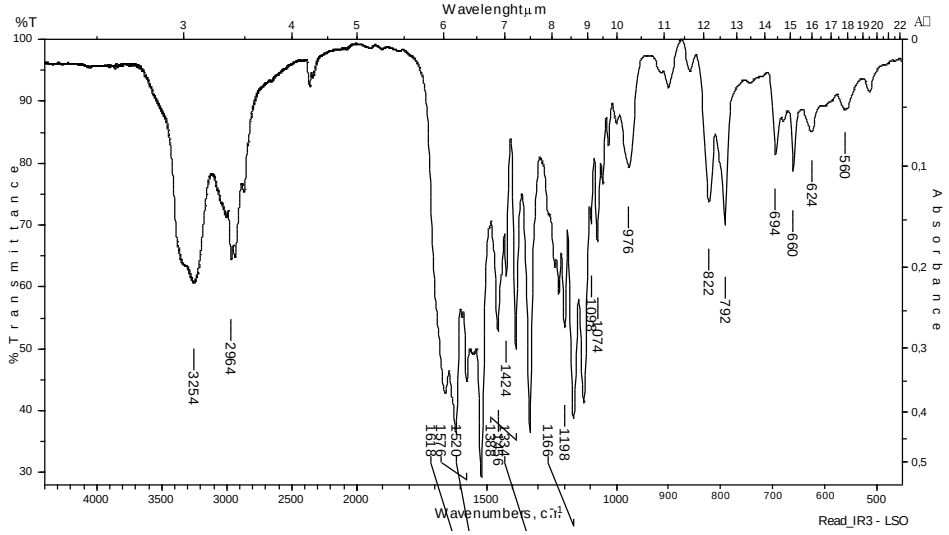

f1 (ppm)

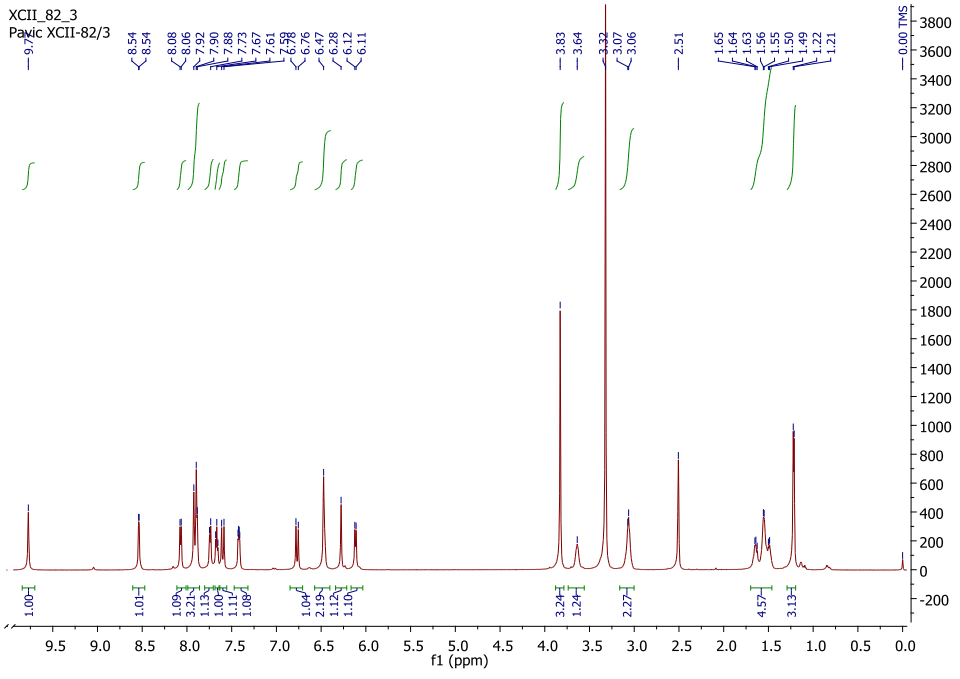

XCII 80_2
Pavic XCII-80/2
144.62
144.21
134.74
134.50
131.90
129.54
129.22
129.20
124.99
124.97
115.99
96.09
91.64
54.95
47.03
39.65
39.51
39.37
26.64
20.19
f1 (ppm)

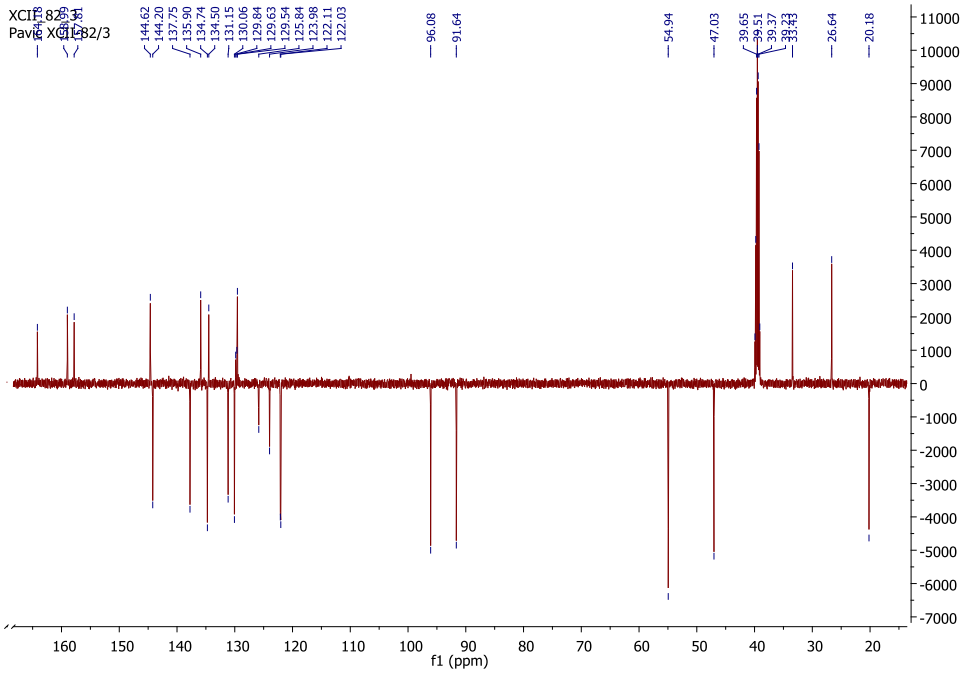

Spectrum Source
Peak (1) in "+/- TIC Scan"
Fragmentor Voltage
100
Collision Energy
0
Ionization Mode
ESI
x10 6
+ESI Scan:1 (0.140-0.823 min, 40 Scans) Frag=100.0V XCII 80_2.d Subtract
466.1
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

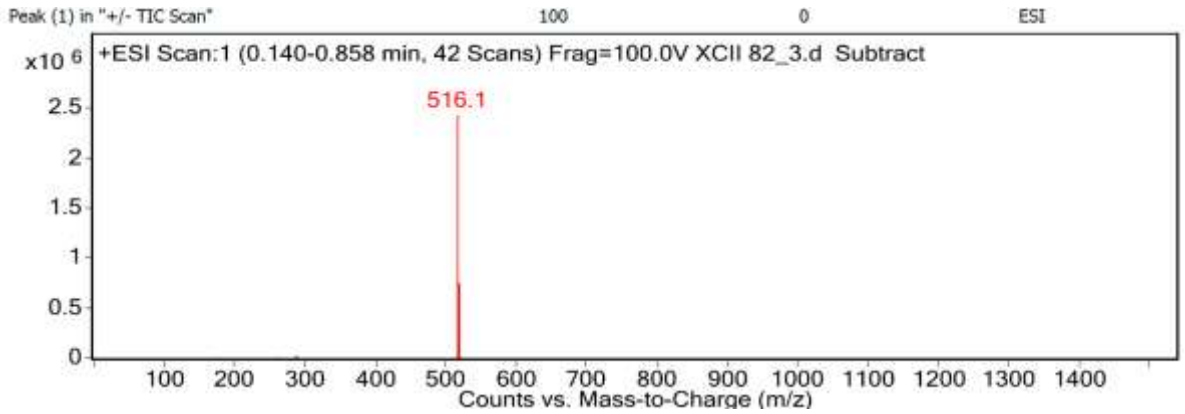
5e


O
NH
N
H
N
O
H
N
N
H
O
CF3

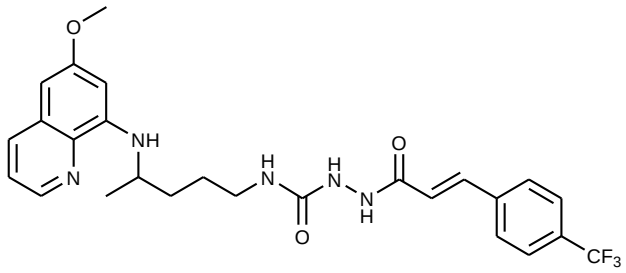

Wavelenght µm
%T
A
% Transmittance
Absorbance
3254
2964
1424
1198
1166
1074
976
822
792
694
660
624
560
Wavenumbers, c-1
Read_IR3 - LSO

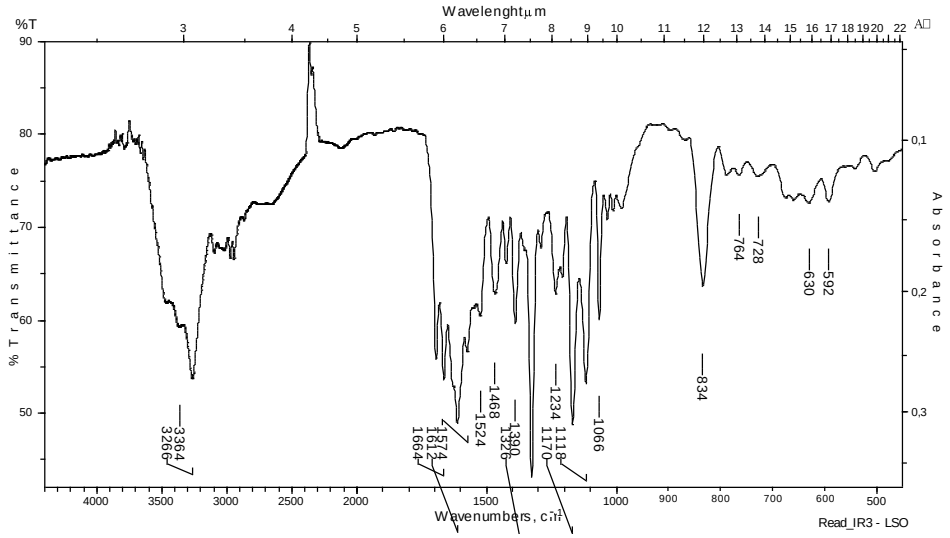

XCII_82_3
Pavic XCII-82/3
f1 (ppm)

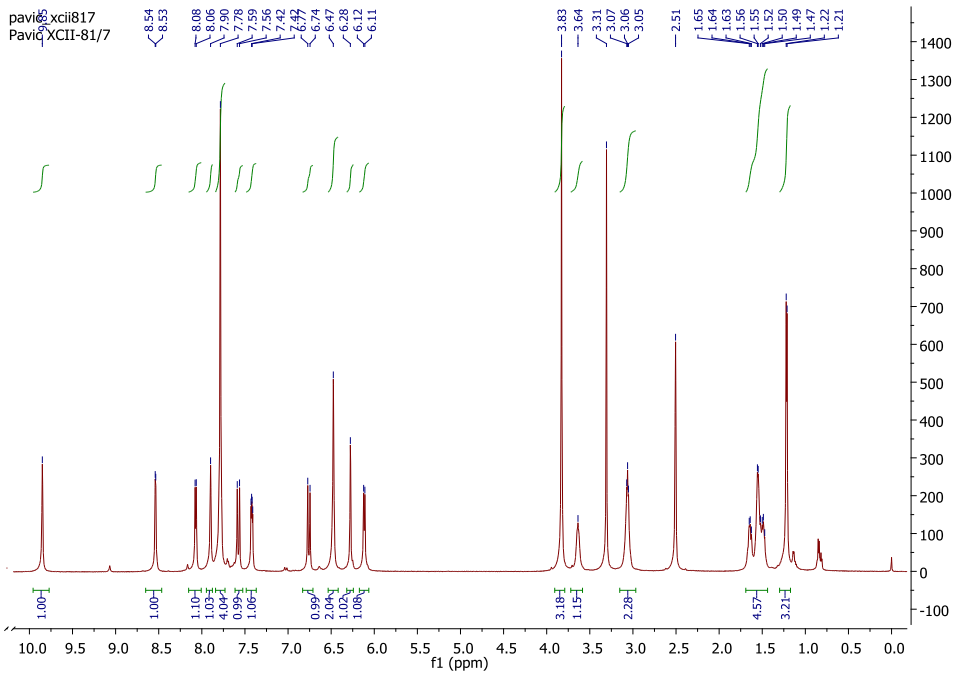

XCII_82_3
Pavia XCII-82/3
144.62
144.20
137.75
135.90
134.74
134.50
131.15
130.06
129.84
129.63
129.54
125.84
123.98
122.11
122.03
96.08
91.64
54.94
47.03
39.65
39.51
39.37
26.64
20.18
f1 (ppm)

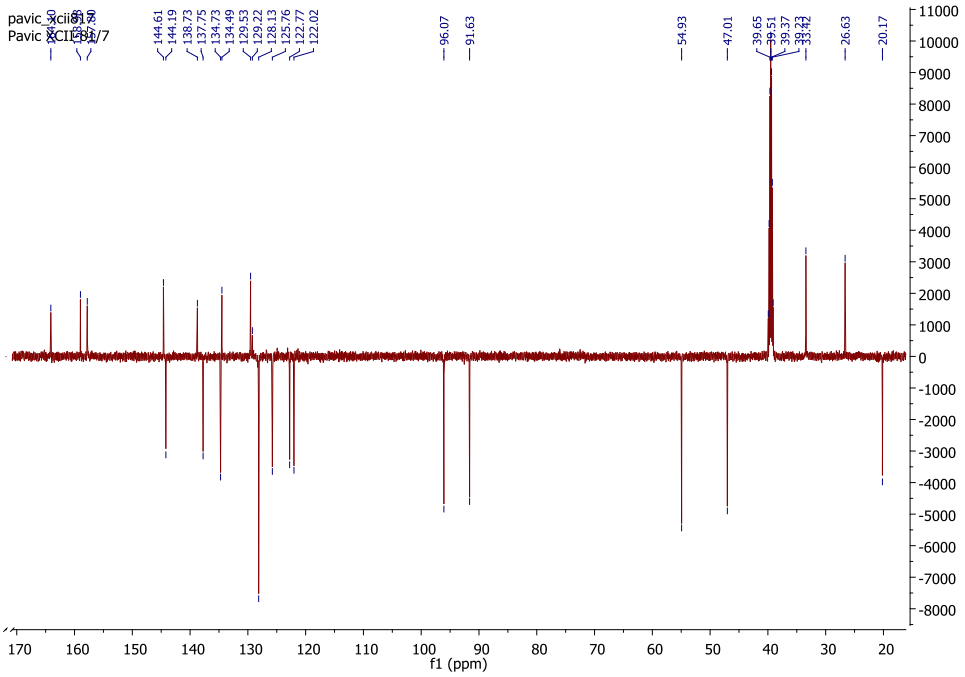

Peak (1) in "+/- TIC Scan"
100
0
ESI
x10 6
+ESI Scan:1 (0.140-0.858 min, 42 Scans) Frag=100.0V XCII 82_3.d Subtract
516.1
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

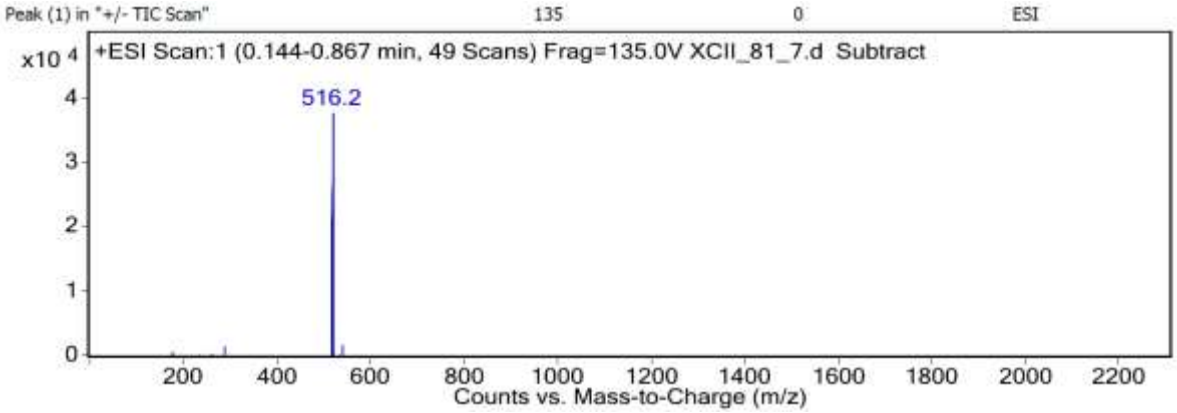
5f


O
NH
N
H
N
O
H
N
N
H
O
CF3


Wavelenght µm
%T
% T r a n s m i t t a n c e
A b s o r b a n c e
Wavenumbers, cm-1
Read_IR3 - LSO
3364
3266
1664
1612
1574
1524
1468
1390
1326
1234
1118
1170
1066
834
764
728
630
592


pavic xcii817
Pavic XCII-81/7
f1 (ppm)


pavic_xcii81_7
Pavic XCII-81-7
144.61
144.19
138.73
137.75
134.73
134.49
129.53
129.22
128.13
125.76
122.77
122.02
96.07
91.63
54.93
47.01
39.65
39.51
39.37
33.23
33.12
26.63
20.17
f1 (ppm)


Peak (1) in "+/- TIC Scan"
135
0
ESI
x10 4
+ESI Scan:1 (0.144-0.867 min, 49 Scans) Frag=135.0V XCII_81_7.d Subtract
516.2
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

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 NOVIH ACILSEMIKARBAZIDNIH DERIVATA CIMETNE KISELINE I PRIMAKINA

Petra Gilja

SAŽETAK

Ovaj rad se nadovezuje na višegodišnja istraživanja provedena na Zavodu za farmaceutsku kemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu koja obuhvaćaju dizajniranje, sintezu i biološku evaluaciju derivata primakina s antiproliferativnim djelovanjem. Rezultati tih istraživanja, uz literaturne izvore o biološkim djelovanjima derivata cimetne kiseline, temelj su dizajna novih derivata primakina i cimetne kiseline kao potencijalnih citostatika. Cilj ovog rada bila je sinteza i karakterizacija šest novih acilsemikarbazidnih derivata primakina koji u svojoj strukturi sadrže derivate cimetne kiseline. Kao početni spoj u sintezi korišten je klorid 1-benzotriazolkarboksilne kiseline, BtcCl (**1**). Primakin je reakcijom s BtcCl preveden u primakinski benzotriazolid (**2**), a zatim pomoću hidrazina u primakinski semikarbazid (**3**). Derivati cimetne kiseline prevedeni su u kiselinske kloride **4a-f** reakcijom s tionil-kloridom. Reakcijom primakinskog semikarbazida (**3**) s kloridom odgovarajućeg derivata cimetne kiseline **4a-f** dobiveni su acilsemikarbazidni derivati **5a-f** koji nisu do sad opisani u literaturi. Strukture svih sintetiziranih spojeva potvrđene su uobičajenim spektroskopskim metodama (IR, ^{1}H i ^{13}C NMR, MS). Čvrstim produktima određeno je talište. Sintetiziranim derivatima će u daljnjim istraživanjima biti ispitano biološko djelovanje.

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

Rad sadrži: 68 stranica, 24 grafičkih prikaza, 5 tablica i 42 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: primakin, cimetna kiselina, acilsemikarbazid, sinteza

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

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

Dr. sc. Branka Zorc, *redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Miranda Sertić, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: srpanj 2016.

Basic documentation card

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

Diploma thesis

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF NOVEL ACYLSEMICARBAZIDE CINNAMIC ACID-PRIMAQUINE DERIVATIVES

Petra Gilja

SUMMARY

In the last few years, a research group at the Department of Medicinal Chemistry has focused on primaquine derivatization. This includes design, synthesis and biological evaluation of novel primaquine derivatives with antiproliferative activity. The purpose of this research was synthesis and characterization of six novel primaquine derivatives that include cinnamid acid derivatives (CADs) in their structure. The reaction of 1-benzotriazolecarboxylic acid chloride (BtcCl, **1**) with primaquine (PQ) gave primaquine benzotriazolide (**2**). Primaquine semicarbazide (**3**) was prepared in the reaction of primaquine benzotriazolide (**2**) with hydrazine. Cinnamic acid derivatives (CAD) gave acyl chlorides 4a-f in the reaction with thyonil chloride. Final products, acylsemicarbazide CAD-PQ derivatives **5a-f** were finally obtained in the reaction of primaquine semicarbazide and corresponding acyl chlorides **4a-f**. Structures of newly prepared primaquine derivatives were confirmed by IR, ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopy and MS. Melting point of solid compounds were also determined. Antiproliferative activity of synthesized primaquine derivatives will be tested in further analysis.

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

Thesis includes: 68 pages, 24 figures, 5 tables and 42 references. Original is in Croatian language.

Keywords: primaquine, cinnamic acid, acylsemicarbazide, synthesis

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

Reviewers: **Ivana Perković**, **Ph.D.** *Assistant Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Branka Zorc, **Ph.D.** *Full Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Miranda Sertić, **Ph.D.** *Assistant Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: July 2016.