

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Helena Šimek

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, srpanj 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Helena Šimek

SINTEZA *O*-ALKILIRANIH DERIVATA 4-KINOLINONA

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić

Članovi povjerenstva:

1. prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić
2. dr. sc. Andrijana Meščić
3. doc. dr. sc. Šime Ukić

Zagreb, srpanj 2017.

Zahvaljujem se svojoj mentorici dr. sc. Silvani Raić Malić na predloženoj temi i pomoći pri izradi ovog rada. Posebno se zahvaljujem Silviji Maračić, dipl. ing., na edukaciji i brojnim savjetima, susretljivosti i stručnom vodstvu, bez kojih izrada ovog rada ne bi bila moguća. Zahvaljujem se svim članovima Zavoda za organsku kemiju na ugodnom radnom okruženju, zbog kojeg je rad u laboratoriju bio opušteniji, lakši i produktivniji.

SAŽETAK

Cilj ovoga rada bio je sintetizirati nove spojeve bazirane na konjugatima 4-kinolinona i ferocena povezanih 1,2,3-triazolnom poveznicom, s potencijalnim antimikrobnim i citostatskim djelovanjem. 6-Supstituirani-4-(2-brometoksi)kinolinoni (**2a-2d**) dobiveni su reakcijom *O*-alkiliranja s dibrometanom u prisustvu baze. Bakrom(I) kataliziranom 1,3-dipolarnom cikloadicijom etinil-ferocena i azidnih derivata kinolinona (**3a-3d**) sintetizirani su ciljani ferocetil-kinolinon hibridi (**4a-4d**).

Strukture spojeva potvrđene su ^1H - i ^{13}C - NMR spektroskopijom.

Ključne riječi: kinolinoni, feroceni, 1,2,3-triazoli, bakrom katalizirana 1,3-dipolarna cikloadicija

SUMMARY

The aim of this work was to synthesize novel 1,2,3-triazolyl tethered 4-quinolone-ferrocene conjugates as potential new antimicrobial and cytostatic agents. 6-Substituted-4-(2-(bromoethoxy)quinolones (**2a-2d**) were synthesized by *O*-alkylation reaction with dibromoethane in the presence of a base. The targeted ferrocenyl–quinolone hybrids (**4a-4d**) were prepared *via* copper(I) catalyzed 1,3-dipolar cycloaddition of ethynyl ferrocene and azido quinolone derivatives (**3a-3d**).

The structures of synthesized compounds have been confirmed by ¹H- and ¹³C-NMR spectroscopy.

Key words: quinolones, ferrocenes, 1,2,3-triazoles, copper(I) catalyzed 1,3-dipolar cycloaddition

Sadržaj

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	4
2.1. Kinolinoni	5
2.1.1. Povijest i primjena	5
2.1.2. Antibakterijsko djelovanje	5
2.1.3. Struktura i svojstva 4-kinolinona.	6
2.1.4. Sinteza 4-hidroksikinolinona.	8
2.2. Klik kemija	10
2.2.1. Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija azida i alkina	11
2.2.2. Azid-alkin cikloadicija katalizirana bakrom (CuAAC).	12
2.3. Triazoli	13
2.3.1. Struktura i svojstva	13
2.3.2. Biološka aktivnost	14
2.4. Feroceni	16
3. EKSPERIMENTALNI DIO	18
3.1. Opće napomene	19
3.2. Priprava spojeva	20
3.2.1. Sinteza brometilnih derivata 4-kinolinona	20
3.2.2. Sinteza azido-etilnih derivata 4-kinolinona	21
3.2.3. Sinteza triazolnih derivata 4-kinolinona	22
3.3. Pregled sintetiziranih spojeva.....	25
4. REZULTATI I RASPRAVA	28
4.1. Sinteza spojeva.....	29
4.2. Rezultati bioloških ispitivanja	30
5. ZAKLJUČCI	31
6. LITERATURA	33
7. ŽIVOTOPIS	37

1. UVOD

Sve veći broj infekcija izazvan brzim razvojem otpornosti bakterija prema većini poznatih antibiotika predstavlja ozbiljan zdravstveni problem današnjice, pa se kao posljedica toga javlja potreba za razvojem novih vrsta antimikrobnih tvari koje uništavaju njihove jedinstvene metabolizme.¹

Jedan od najozbiljnijih problema koji najviše pogađa zemlje u razvoju predstavlja tuberkuloza, infektivna bolest pluća uzrokovana bakterijom *Mycobacterium Tuberculosis*. Iako se radi o epidemijskoj bolesti koja se može liječiti, statistika pokazuje da oko 2 milijuna ljudi diljem svijeta godišnje umire od nje. Ona je, također, najveći uzročnik smrti među ljudima zaraženima HIV-virusom: godišnje oko 0,2 milijuna ljudi oboljelih od HIV-a umire zbog tuberkuloze. Kao i kod drugih vrsta infektivnih bolesti, problem u kontroli i liječenju tuberkuloze predstavlja prilagodba njenog uzročnika i razvoj otpornosti prema lijekovima iz prve linije. Sve navedene činjenice pokazuju da postoji potreba za razvojem novih lijekova drugačije i jedinstvene strukture, te po mogućnosti s drugačijim mehanizmom djelovanja od dosadašnjih lijekova.²

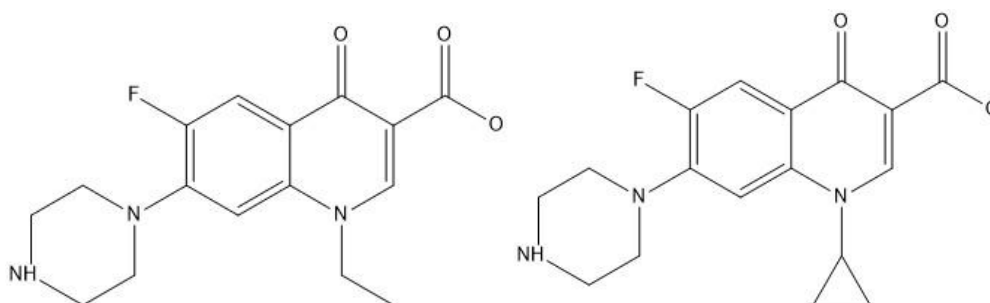
Drugi veliki problem je malarija koja nastavlja svoj razarajući utjecaj na zdravlje ljudi u tropskim regijama. Godišnje 243 milijuna ljudi oboli od malarije, a umire ih gotovo 1 milijun. Ovom bolešću najviše su pogođeni ljudi u subsaharskoj Africi koja bilježi 85% od ukupnog broja smrtnih slučajeva, većinom djece mlađe od 5 godina. Postoji 5 uzročnika malarije, od kojih su dvije najrasprostranjenije vrste *Plasmodium Falciparum* i *Plasmodium Vivax*. Problem u liječenju i kontroli širenja bolesti čini nedostatak preventivnih lijekova za najugroženije, djecu i trudnice, te brz razvoj otpornosti na lijekove - tijekom posljednja 3 desetljeća, *P. Falciparum* je razvio otpornost prema svakom korištenom antimalarijskom lijeku, što je drastično omelo uspješno liječenje pacijenata. Povijest je pokazala da se otpornost na lijek, jednom kad se pojavi, jako brzo širi unutar cijele vrste, pa je identifikacija i razvoj novih potencijalnih lijekova od izrazitog značaja.³

Jednu od mogućnosti u sintezi novih, boljih lijekova predstavlja grupa spojeva pod nazivom kinolinoni. Oni su važni kako kemičarima, tako i biologima, obzirom na to da su pronađeni u mnoštvu prirodnih tvari koje posjeduju različite vrste biološke aktivnosti. Osim antituberkuloznog i antimalarijskog, pokazuju protuupalno, antitumorsko, antibiotsko i anti-HIV djelovanje.¹

Ono što spojeve s kinolinonskom jezgrom čini predmetom mnogih važnih istraživanja su poželjne farmakokinetičke karakteristike, širok spektar antibakterijskog djelovanja te

činjenica da ih ljudski organizam općenito lako podnosi.² Bakterije i gljivice mogu razviti otpornost prema lijekovima na čak tri načina: proizvodnjom metaboličkih enzima za razgradnju lijeka, modifikacijom svojih meta kako bi lijek učinile neučinkovitim te posjedovanjem visoke razine proteina koji lijek izbacuju van iz organizma da bi mu smanjili koncentraciju.¹ Kako je poznato da kinolinoni uzrokuju smrt stanica bakterija na način da blokiraju replikaciju njihove DNA, mnoga istraživanja vezana za sintezu novih antimikrobnih tvari u velikoj su mjeri usmjerena prema njima.⁴

Nakon što je 1960.-ih godina otkriveno da bi se kinolinoni mogli koristiti kao sastojci lijekova, 4 generacije ove grupe spojeva korištene su u kliničkoj praksi.⁵ Danas postoji mnoštvo lijekova baziranih na kinolinonima, a neki od njih su poznati fluorkinolinoni *Ciprofloksacin*, *Levofloksacin*, *Gatifloksacin* i *Norfloksacin*, a upravo mnoštvo opisanih pozitivnih svojstava i djelovanja čini spojeve s kinolinonskom jezgrom jednom od najčešće propisivanih skupina antimikrobnih tvari.⁴



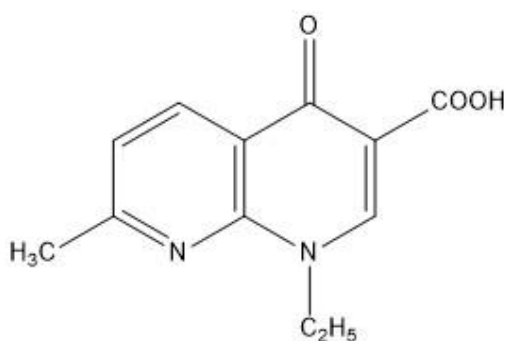
Slika 1. Derivati kinolinona s antibakterijskim djelovanjem: a) norfloksacin, b) ciprofloksacin

2. OPĆI DIO

2.1. Kinolinoni

2.1.1. Povijest i primjena

Povijest kinolinona seže u šezdesete godine prošlog stoljeća, točnije u 1962. godinu kad su G.Y. Leshner i suradnici sintetizirali prvi derivat kinolinona, nalidiksičnu kiselinu, koja je imala umjereno djelovanje protiv Gram-negativnih organizama i koristila se za liječenje infekcija urinarnog trakta. U godinama koje su slijedile sintetiziran je ogroman broj derivata koji su klasificirani kao prva generacija biološki aktivnih derivata sa strukturom kinolinona. Njih su karakterizirala 2 važna svojstva: uzak antibakterijski spektar i pogodna farmakokinetika koji su omogućavali njihovo korištenje kao urinarnih antiseptika.



*Slika 2. Nalidiksična kiselina*⁶

Uspjeh prve generacije kinolinona potakao je brojna istraživanja u ovom području, što je dovelo do velikih postignuća u sintezi nove serije spojeva s jačim antibakterijskim svojstvima i širim spektrom antibakterijskog djelovanja, uključujući kako Gram-pozitivne tako i Gram-negativne organizme, anaerobe, klamidiju i mikoplazmu. To je rezultiralo upotrebom novih spojeva koji se klasificiraju kao treća i četvrta generacija organskih kinolinona, uvelike djelotvornih protiv *Staphylococcus Aureus*.

Do sada je velik broj antibakterijskih spojeva koje pripadaju skupini kinolinona korišten u medicini. Oni se koriste u liječenju infekcija urinarnog i respiratornog trakta, crijevnih infekcija, infekcija uha, grla i nosa, spolnih bolesti, kožnih infekcija te infekcija jetara i žuči, meningitisa, endokarditisa te pacijenata s oslabljenim imunološkim sustavom.⁶

2.1.2. Antibakterijsko djelovanje

Za preživljavanje eukariotskih stanica ključni su enzimi pod nazivom topoizomeraze II, a njihovi funkcionalni analozi kod bakterija su enzimi DNA-giraze i topoizomeraze IV.⁷

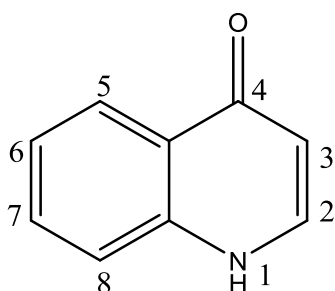
Mehanizam djelovanja kinolinona kao antibakterijskih spojeva uključuje inhibiciju DNA giraze što dovodi do blokiranja replikacije DNA i smrti bakterijskih stanica.⁴

Antibakterijsko djelovanje kinolinona ne ovisi samo o njihovoj osnovnoj strukturi, već i o prirodi perifernih supstituenata i njihovim prostornim odnosima. Ti supstituenti utječu na antibakterijsku aktivnost na način da pružaju dodatan afinitet prema bakterijskim enzimima, unaprijeđuju prodiranje u bakterijske stanice ili poboljšavaju farmakokinetiku.⁶

Velika se pažnja u medicinsko-kemijskim programima posvetila korištenju 4-kinolinona kao privilegirane grupe, jer osim što se oni uvelike koriste kao antibakterijski spojevi, oni su također poznati i kao sekundarni lijekovi za tuberkulozu. Neke manje poznate biološke aktivnosti 4-kinolinona su antitumorska, antivirusna i antimalarijska, što upućuje na svestranost ovih struktura s naglaskom na razvoj biološki aktivnih komponenata.⁸

2.1.3. Struktura i svojstva 4-kinolinona

4-kinolinoni su spojevi bicikličke strukture koji se u osnovi sastoje od benzenskog prstena povezanog sa 4-piridinonom dvama zajedničkim ugljikovim atomima, odnosno jednom zajedničkom vezom. Na bilo kojem položaju u molekuli na koji je vezan vodik moguća je supstitucija tog vodika nekom drugom skupinom, stoga postoji jako velik broj derivata 4-kinolinona koji pokazuju različitu biološku aktivnost. Primjerice, kako je već rečeno, derivati kinolinona važna su skupina antibakterijskih tvari širokog spektra djelovanja.



Slika 3. Općenita struktura 4-kinolinona

Položaj 1 prstena

Istraživanja pokazuju da *N*-1 pozicija zahtijeva supstituent kako bi sintetizirani spoj pokazao antibakterijsko djelovanje. Najčešći supstituenti na toj poziciji su etil, fluoretil, vinil, kloretil, trifluoretil, ciklopropil, tert-butil i dr.

Položaj 2 prstena

Zamjena vodika nekim drugim atomom ili skupinom općenito se pokazala lošom, međutim nedavno je dokazano da neki spojevi koji sadrže odgovarajući supstituent na ovoj poziciji posjeduju biološku aktivnost. Jedan od poželjnih supstituenata je trifluormetilna grupa.⁶

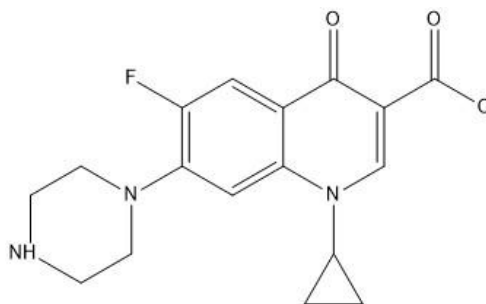
Supstitucija vodika trifluormetilnom grupom na položaju 2 mogla bi rezultirati povećanjem terapijske učinkovitosti. U tom slučaju, volumen supstituenta je mnogo veći što doprinosi hidrofobnosti. Dokazano je da se trifluormetil kinolinoni mogu koristiti kao herbicidi, fungicidi, analgetici i antipiretici. Imajući na umu važnost trifluormetilne grupe, znanstvenici su predložili sintezu potencijalnih antimikrobnih tvari koje bi u svojoj strukturi sadržavale kinolinonsku jezgru i trifluormetil na položaju 2 te neki drugi supstituent na položaju 6. Sintetizirani spojevi pokazali su povećano djelovanje protiv Gram-pozitivnih bakterija te je zaključeno da je jak lipofilan karakter molekule ključan za antimikrobnu aktivnost.¹

Položaj 6 prstena

Priroda supstituenta na ovoj poziciji ima velik utjecaj na inhibitorску aktivnost protiv DNA-giraze i na prodor u stanice bakterija. Najčešći supstituenti su fluor i klor te amino i nitro skupina.⁶

Različite studije unutar medicinsko-kemijskih istraživanja pokazale su da prisutnost halogena u organskim molekulama često poboljšava njihovu biološku aktivnost. Do danas je poznato puno raznih halogeniranih spojeva s različitom biološkom aktivnošću koja može biti antitumorska, antivirusna, antituberkulozna, antimalarijska i antifungalna.⁸

Prisutnost fluora kao visokoelektronegativnog centra povećava lipofilnost i može značajno utjecati na fizikalno-kemijska svojstva molekule. To rezultira povećanjem stabilnosti, smanjenjem toksičnosti prema eukariotskim stanicama te poboljšanjem antibakterijske aktivnosti, čime se poboljšava ukupni terapijski učinak.⁸ Govoreći o postignućima u uvođenju fluoridnog iona na poziciju C-6 valja spomenuti *Ciprofloksacin*, jedan od najčešće propisivanih antibiotika.⁵



Slika 4. Ciprofloksacin

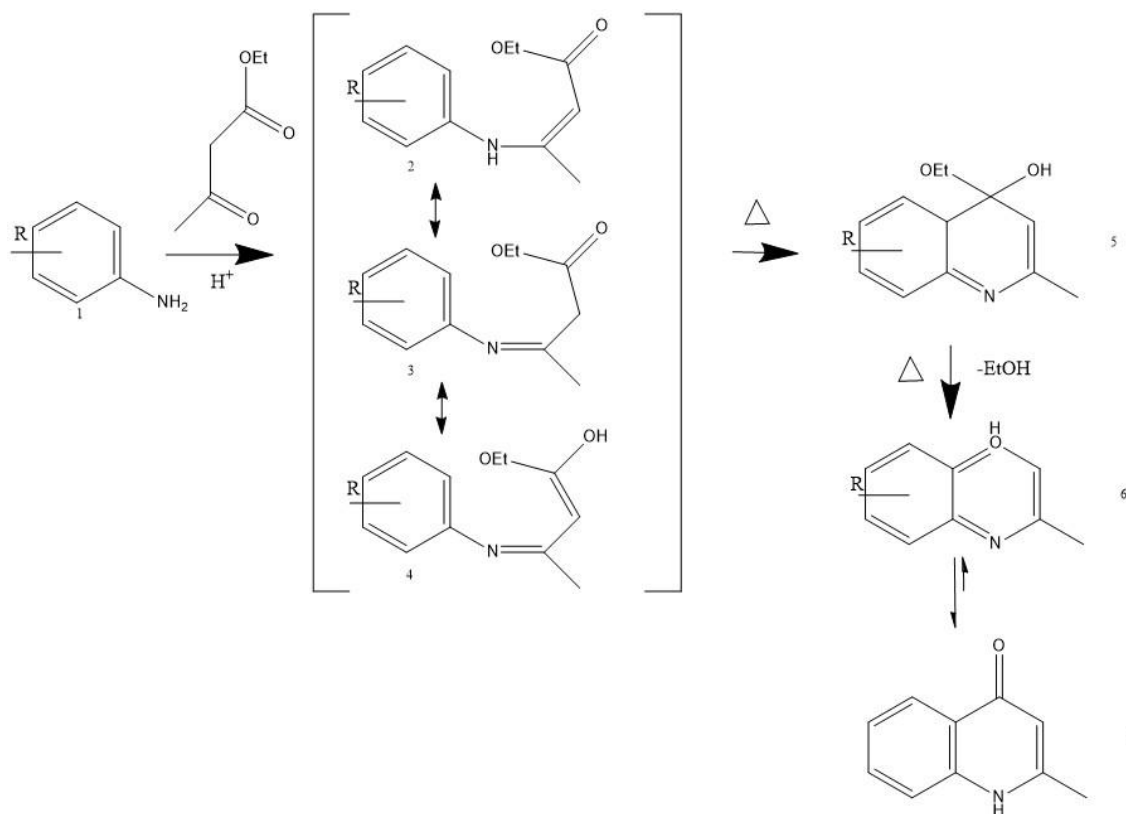
Položaj 8 prstena

Na ovoj se poziciji najčešće nalaze vodik ili dušik, ali lipofilne grupe poput fluora, klora i trifluormetila povećavaju antibakterijsku aktivnost.⁶

Intenzivna primjena derivata kinolinona, njihovo relativno usko antibakterijsko djelovanje i niska aktivnost protiv Gram-pozitivnih patogena kao što su stafilokok, streptokok i enterokok uvelike su utjecali na njihovu djelotvornost. Njihovu primjenu ograničavaju i mane kao što su fototoksičnost, fotokemoliza i loša topljivost u vodi. Ta situacija zahtijeva daljnje strukturne modifikacije i istraživanja na području kinolinona. Pozicija *N*-1 i benzenski prsten adaptivna su mjesta za regulaciju fizikalno-kemijskih svojstava i utjecaj na antimikrobnu moć i spektar djelovanja.⁴

2.1.4. Sinteza 4-hidroksikinolinona

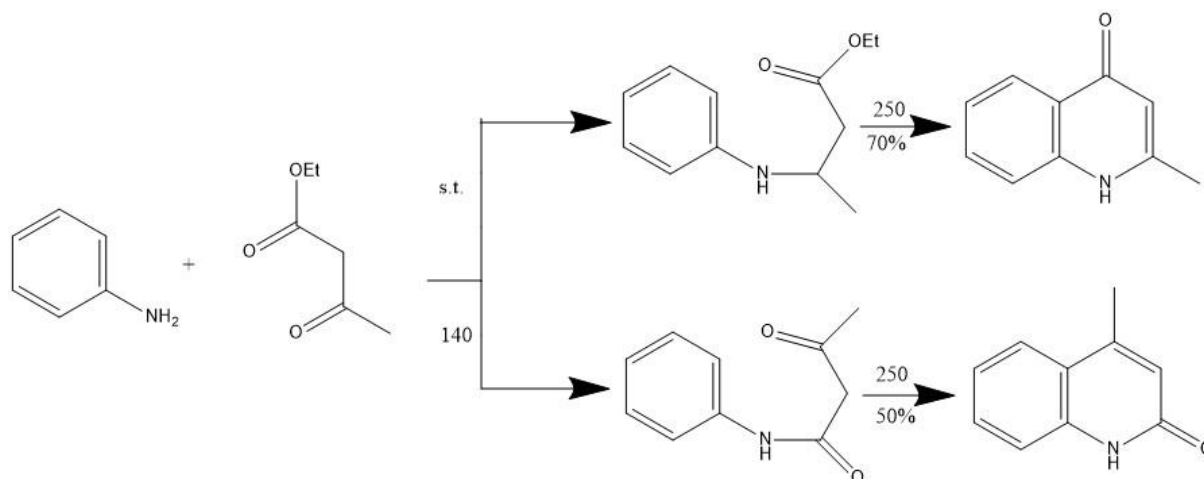
Važnost sinteze kinolinona veže se uz njihovu značajnu biološku aktivnost, pa joj se tijekom više od jednog stoljeća pridavala velika pažnja. Razvijene su mnoge klasične metode sinteze među kojima su Skraup, Friedlaner i Combes sinteza, a jednako važna je i Conrad-Limpachova metoda koja se najčešće koristi u pripravi 4-kinolinona. Reakcija se provodi u nekoliko koraka, kako je prikazano na Shemi 1.⁹



Shema 1. Conrad-Limpachova metoda sinteze 4-kinolinona

U prvom stupnju kondenziraju se primarni aromatski amin i β -ketoester te nastaju imin-enolni tautomeri visoke energije kao intermedijari, nakon čega slijedi njihova ciklizacija u poluketal uz prisutnost Schiffovih baza, iz kojeg potom nastaje 4-hidroksikinolin, a onda i konačni produkt.¹⁰

Međutim, tijekom kondenzacije primarnih aromatskih amina s β -ketoesterima, amino skupina može reagirati s esterskom skupinom dajući kao intermedijar β -ketoacetamid koji ciklizira u 2-hidroksikinolin. Ovu vrstu pretvorbe otkrio je Knorr pa se metoda često naziva Conrad-Limpach-Knorrova metoda, iako između tih dviju reakcija postoji nekoliko bitnih razlika. Naime, u Conrad-Limpachovoj sintezi najčešće se koriste β -ketoesteri, dok se u Knorrovj uglavnom koristi etil-acetoacetat, posljedica čega je da veće temperature kondenzacije rezultiraju Knorrovim produktom, a niže temperature Conrad-Limpachovim produktom. Također, prisutnost joda ili kiselog katalizatora često je nužna za Conrad-Limpachovu reakciju.¹⁰



Shema 2. Conrad-Limpach-Knorrova metoda sinteze

Važan utjecaj na iskorištenje reakcije sinteze 4-kinolinona ima i izbor otapala. Obzirom da supstrat za ciklizaciju mora biti imin-enol tautomer visoke energije, i jer ciklizacija u poluketal narušava aromatičnost fenilnog prstena, za ovu reakciju koriste se otapala visokih točki vrelišta, od kojih su najčešće korišteni mineralno ulje, difenil-eter te Dowterm A. Mineralno ulje je jeftino, ali nepovoljno za korištenje zbog svojih fizikalnih karakteristika; difenil-eter također nije skup, ali je na sobnoj temperaturi krutina i ima neugodan miris, dok je Dowterm A (eutektička smjesa difenil-etera i bifenila) pogodniji jer je na sobnoj temperaturi kapljevina, ali je skuplji i ima neugodan miris.⁹

Otkriveno je da adekvatna zamjena za navedena otapala može biti etil-benzoat koji nije skup, može se lako odvojiti od produkata reakcije i nema neugodan miris. Osim njega, pronađeno je još nekoliko alternativnih otapala uključujući 1,2,4-triklorbenzen, 2-nitrotoluen i 2,6-di-tert-butilfenol.⁹

2.2 'Klik' kemija

Većina velikih znanstvenih izazova današnjice zahtijeva nanomaterijale s visokim stupnjem strukturne uređenosti i definiranim svojstvima. Da bi se ispunila ova visoka razina kompleksnosti, često je potrebno dizajnirati nove organske ili anorganske molekule korištenjem sofisticiranih eksperimentalnih procedura u više koraka. U tom kontekstu, otkriće i selekcija jednostavnijih i univerzalnih metoda je od velikog značaja. Zaista, spektar kemijskih reakcija koje su otkrivene posljednjih stotinjak godina izuzetno je širok! Međutim, mnoge od njih pokazuju značajna ograničenja unutar suvremenog znanstvenog konteksta.¹¹

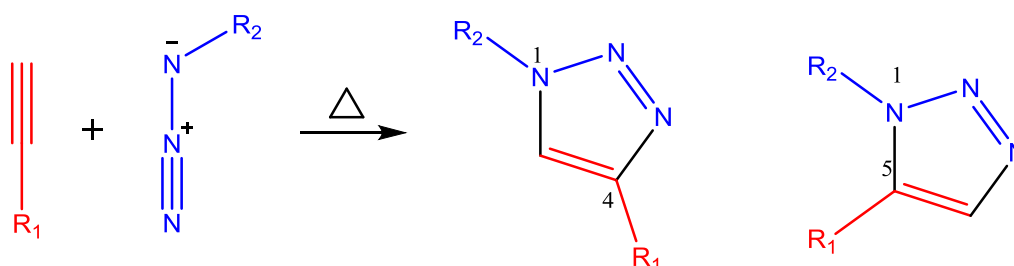
Klik kemija izronila je kao brz i jednostavan pristup sintezi novih tvari, osobito lijekova, korištenjem 'gotovo savršenih' reakcija.¹² Ona opisuje niz moćnih, visokopouzdanih i selektivnih reakcija za generaciju tvari brzo i djelotvorno spajanjem manjih jedinica u veću cjelinu preko heteroatomnih veza (C–X–C).¹³ Shodno tomu, cilj klik kemije je otkriti idealni set neposrednih i visokoselektivnih reakcija u kemiji sinteze. Osim u organskoj sintezi, klik kemija ima ogroman potencijal u kemiji materijala.¹¹

Reakcije definirane kao 'klik' moraju biti široko primjenjive, stereospecifične i davati visoka iskorištenja sa različitim početnim spojevima. Produkti se moraju moći jednostavno pročistiti bez potrebe za korištenjem kromatografskih metoda. Tražene karakteristike procesa uključuju blage reakcijske uvjete bez osjetljivosti na kisik ili vodu, lako dostupne polazne spojeve i reagense, provođenje reakcije bez otapala ili korištenjem zelenih otapala (poput vode).¹⁴

2.2.1. Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija azida i alkina

1,3-dipolarna cikloadicija između terminalnih alkina i azida otkrivena je već početkom 20. stoljeća, ali njen je mehanizam opisao njemački znanstvenik Huisgen tek početkom 1960.-ih godina, stoga je nama danas poznata kao Huisgenova reakcija.¹⁵

Ova je reakcija korisna i poželjna zbog lakoće kojom se azidi i alkini povezuju u molekulu te njihove relativne stabilnosti u različitim uvjetima. Azidi i alkini su u osnovi inertni prema molekularnom kisiku, vodi i većini uobičajenih reakcijskih uvjeta u organskoj sintezi.¹¹⁶ Međutim, ova nekatalizirana reakcija rezultira smjesom 1,4- i 1,5- regioizomera¹⁷ (slika 5) i u početku nije spadala u definiciju klik kemije.¹⁴



Slika 5. Općeniti prikaz Huisgenove reakcije u kojoj nastaje smjesa 1,4- i 1,5- regioizomera

Otkriće mogućnosti korištenja bakra(I) kao katalizatora ove reakcije dovelo je do evolucije iz oštrijih reakcijskih uvjeta i nastajanja smjese 1,4- i 1,5- regioizomera do

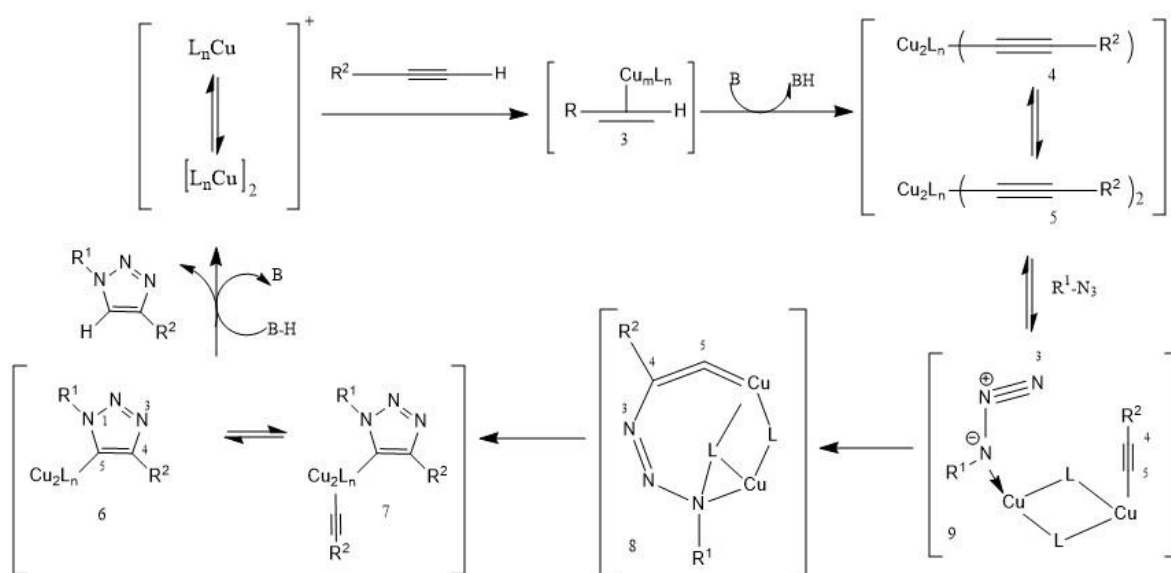
regioselektivne reakcije koja se može odvijati pri sobnoj temperaturi u vrlo kratkom vremenu.¹⁴

2.2.2. Azid-alkin cikloadicija katalizirana bakrom (CuAAC)

Reakcija 1,3-dipolarne cikloadicije alkinu i azida ponovno je vraćena u fokus kad su Sharpless i suradnici razvili koncept klik kemije početkom 21. stoljeća.³ Otkrili su pristup sintezi 1,2,3-triazola koji koristi Cu(I) kao katalizator, a koji rezultira stvaranjem 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazola s visokim iskorištenjima.

Bakrom katalizirana cikloadicija azida i alkinu široko je primijenjivan pristup u različitim sferama znanosti poput biokonjugacije, sinteze oligonukleotida, otkrića lijekova i mnogih drugih.¹⁵ Također se uvelike primjenjuje kao moćan alat za selektivno modificiranje enzima, virusa i stanica, a dokumentirano je i da visoko regioselektivni triazoli koji nastaju ovom reakcijom mogu povezati najrazličitije molekularne fragmente u jednu cjelinu, što je i više nego poželjno u sintezi novih lijekova. Drugim riječima, ona je postala zlatni standard klik kemije zbog svoje pouzdanosti, specifičnosti i biokompatibilnosti¹⁷, odnosno gotovo je sinonim za istu.¹⁴

U mehanizmu koji je predložio Sharpless za ovu reakciju, bakar(I) ion se spaja s terminalnim alkinom u bakar(I) acetilid, koji dalje reagira s organskim azidom dajući konačni produkt. Zbog nastajanja bakar(I) acetilida kao međuprodukta, reakcija je regiospecifična i nastaju samo 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazoli.¹⁸



Shema 3. Mehanizam CuAAC reakcije¹³

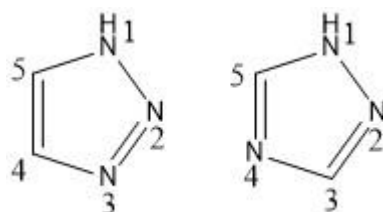
Cikloadicija azida i alkina se obično odvija u uvjetima refluksa toluena, ali je moguće da molekule budu nestabilne u ovim uvjetima. Isto tako, iako su organski azidi generalno sigurne tvari, oni male molekulske mase mogu biti nestabilni i teški za rukovanje. Zbog toga je poželjna metodologija koja izbjegava izolaciju organskih azida, što je moguće ako se organski azid pripravi *in situ*.¹⁸ Prvi korak u ovakvoj sintezi triazola je, dakle, *in situ* formiranje organskog azida reakcijom natrijevog azida i alkil bromida u vodenoj otopini pri sobnoj temperaturi.

Izvori bakar(I) iona mogu biti bakar(I) soli, od kojih se najčešće koristi bakrov jodid, zatim bakar(II) soli, najčešće bakrov sulfat, koje se reduciraju *in situ* u prisutstvu nekog reducensa, te bakar(0) i bakar(II) koji disproporcioniranjem daju bakar(I) ione. Bakrom katalizirana klik reakcija može se odvijati u različitim otapalima, tolerira širok raspon pH i odvija se dobro u širokom rasponu temperatura.¹³

2.3. Triazoli

2.3.1. Struktura i svojstva

Triazoli su jedna od klasa organskih heterocikličkih spojeva koji se sastoje od peteročlanog prstena s 2 nezasićene veze i dva ugljikova te 3 dušikova atoma. Najjednostavniji oblik triazolnih spojeva je sam triazol. On je bijela do blijedožuta kristalinična sol slabog, karakterističnog mirisa. Postoji u 2 izomerna oblika : 1,2,3- i 1,2,4-triazol.



Slika 6. Izomerni oblici triazola: a) 1,2,3-triazol b) 1,2,4-triazol

1,2,3-triazoli su bazični aromatski heterociklički spojevi. Mogu služiti kao međuprodukti u različitim reakcijama, ali oni nisu samo pasivan prekursor, već imaju i neka poželjna fizikalno kemijska svojstva.¹⁴ Imaju velik dipolni moment i mogu aktivno sudjelovati u stvaranju vodikovih veza, kao i u dipol-dipol i π interakcijama.¹⁵ Nedavna istraživanja na 1,2,3-triazolima pokazuju da vodikove veze i dipolne interakcije triazolne jezgre pomažu njihovom vezanju s biomolekularnim metama i poboljšavaju njihovu

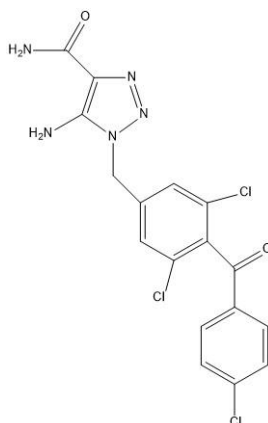
topljivost. Nadalje, oni su jako stabilni prema metaboličkoj i kemijskoj degradaciji, inertni prema oksidativnim i reduktivnim uvjetima i hidrolizi, čak i na visokim temperaturama. Iz navedenih razloga, umetanje triazolnih prstena u nukleozide radi poboljšanja njihove bioaktivnosti za antitumorsku i antivirusnu primjenu široko je rasprostranjeno u praksi sinteze lijekova.¹⁴

2.3.2. Biološka aktivnost

Medicinski kemičari smatraju sintezu heterocikala baziranih na 1,2,3-triazolima kamenom temeljcem medicinske kemije zbog njihovih važnih bioloških aktivnosti. To potvrđuje činjenica da su čak početkom 20.stoljeća istraživači počeli raditi na mogućnosti korištenja 1,2,3-triazolo[4,5-d] pirimidina (8-azapurina) za liječenje raka i malignih tumora. 1,2,3-triazoli uzrokuju, primjerice, inhibiciju tirozinaze, enzima koji uzrokuje bolesti kože i tamljenje (bruniranje) namirnica na biljnoj bazi.¹⁵

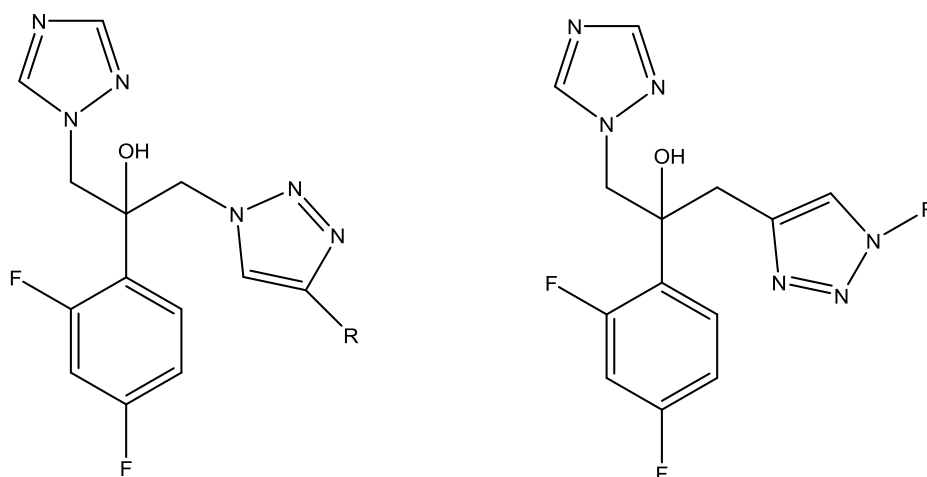
Posljednjih godina, spojevi koji sadrže triazolni prsten u strukturi dobivaju posebnu pozornost zbog mogućnosti široke primjene u organskoj i medicinskoj kemiji. 1,2,3-triazoli koriste se u farmaceuticima, agrokemikalijama, bojilima, fotografskim materijalima i tvarima za inhibiciju korozije.¹⁸ Pokazuju različitu biološku aktivnost poput antimikrobne, antimalarijske, anti-HIV, antitumorske, antialergijske¹⁹, protuupalne, antivirusne, antioksidativne, antidijabetičke.²⁰

Do danas je sintetiziran cijeli niz nukleozidnih analoga za tretiranje HIV-a, virusa hepatitisa B, virusa hepatitisa C, virusa herpesa itd. Isto tako, nukleozidni analozi su jedni od prvih onkoloških lijekova ikad otkrivenih.¹⁴ Potencijalni farmaceutici bazirani na 1,2,3-triazolima uključuju citostatik karboksiamidotriazol (CAI) i mnoge druge.¹⁶



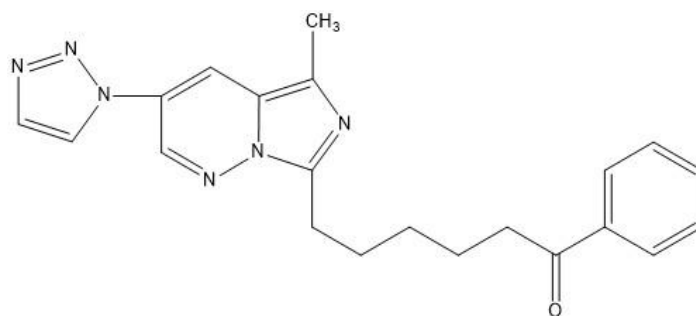
Slika 7. Karboksiamidotriazol, CAI

Opasnost za život od opasnih gljivičnih infekcija značajno je porasla u zadnja 2 desetljeća zbog povećanog korištenja imunosupresivnih lijekova, prolongiranog korištenja antibiotika širokog spektra itd. Antifungalni i antibakterijski lijekovi koji su trenutno na tržištu su ili jako toksični, ili postaju nedjelotvorni zbog razvijanja otpornosti bakterija. To zahtijeva nastavak potrage za novim klasama antimikrobnih lijekova, a jedna od tih klasa su upravo derivati 1,2,3-triazola (slika 8).¹⁶

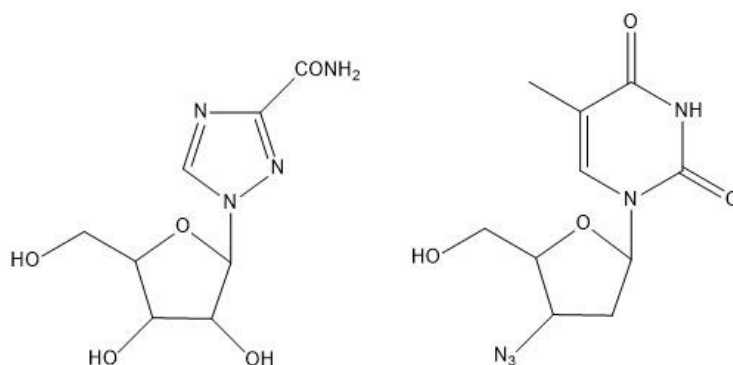


Slika 8. Derivati 1,2,3-triazola koji pokazuju odličnu aktivnost protiv gljivice Candida Albicans

Epidemija AIDS-a je uzela živote više od 20 milijuna ljudi od 1981. HIV-1 proteaza je prepoznata kao važna meta za inhibiciju viralne replikacije. Alarmanтна brzina kojom HIV-1 kulture postaju otporne na trenutno dostupne lijekove i njihove kombinacije zahtijeva brzu potragu za novim inhibitorima proteaza širokog spektra koji su djelotvorni protiv novih virusa divljeg tipa.¹⁶



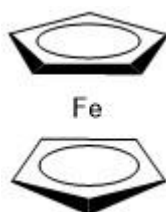
*Slika 9. Derivat 1,2,3-triazola koji pokazuje dobru aktivnost protiv virusa HIV-a*¹⁵



Slika 10. Spojevi koji se koriste kao antivirusni lijekovi a) ribavirin i b) zidovudin¹⁴

2.4. Feroceni

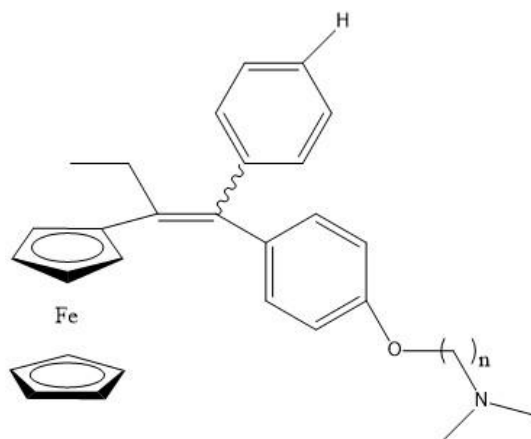
Feroceni su spojevi jedinstvene strukture koji se sastoje od Fe^{2+} iona uglavljenog između dva ciklopentadienska prstena čiji atomi čine trodimenzionalni sustav, a njihova pojava 1951. godine rasvijetlila je put značajnim interdisciplinarnim istraživanjima.



Slika 11. Struktura ferocena

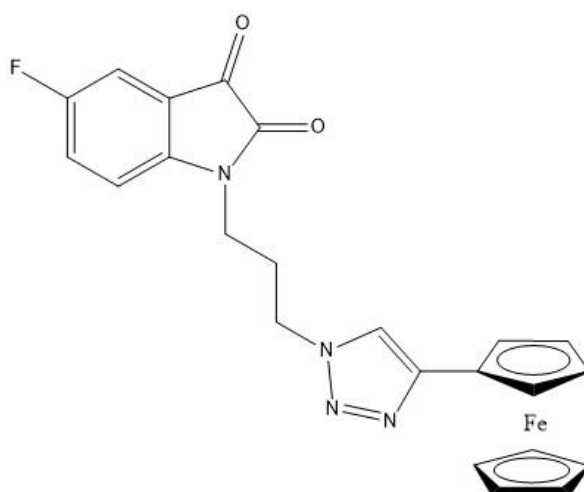
Zahvaljujući svojoj geometriji, podesivim redoks svojstvima i visokoj reaktivnosti, feroceni spojevi imaju široku primjenu u različitim područjima kao što su kataliza, kemija materijala, analitički senzori, nelinearna optika, bioorganometalna kemija i biokemija, organska sinteza i elektrokemija. Relativna stabilnost ferocena u biološkom mediju i niske razine *in vivo* toksičnosti njihovih derivata doveli su do značajnog interesa u razvoju spojeva baziranih na ferocenima kao lijekova za rak. Metode uvođenja ferocena u sastav antitumorskih lijekova doživjele su poriv kad se došlo do saznanja o aktivnosti ferocenilnog analoga tamoksifena, ferocifena (slika 12). Naime, radovi o *in vitro* citotoksičnosti otkrivaju da je ferocifen djelotvorniji od tamoksifena u borbi protiv raka dojke. Ova saznanja potakla su

ogromno zanimanje za dizajn i sintezu novih struktura koje sadrže ferocetil u programima čiji je cilj razvoj potencijalnih antitumorskih tvari.²¹



Slika 12. Ferocifen

Osim antitumorskog djelovanja, spojevi koji u svojoj strukturi sadrže ferocetil pokazuju i razna druga djelovanja, od kojih je jedno i antimalarijsko. Isatin je spoj sa širokim rasponom bioloških i farmakoloških aktivnosti, a njegovi derivati, tetrahidropirimidin-isatin hibridi pokazuju odlično djelovanje protiv protozoe *Plasmodium Falciparum* koja je najopasniji uzročnik malarije.²²



Slika 13. Hibrid ferocena koji pokazuje odlično antimalarijsko djelovanje⁴

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1 Opće napomene

Sva korištena otapala pročišćavana su prema preporučenom postupku sušenja agensima i/ili destiliranjem preko molekulskih sita veličina 3 Å. Za tankoslojnu kromatografiju (TLC) korištene su ploče 60F-254 presvučene slojem silikagela *Merck*, a za detekciju izoliranih komponenti korištena je UV svjetlost valne duljine 254 nm.

Kromatografija na koloni provedena je na silikagelu (*Fluka*, 0,063-0,2 mm). Staklene kolone punjene su pod utjecajem gravitacije, a kao eluens je korišten čisti diklormetan ili odgovarajuća smjesa diklormetan/metanol.

Točke tališta sintetiziranih spojeva određene su na instrumentu Kofler (*Reichert, Wien*) i nisu korigirane.

Spektri ^1H i ^{13}C NMR snimljeni su na spektrometru Bruker 300 i 600 MHz. Svi uzorci otopljeni su u DMSO- d_6 i mjereni pri 298 K. Kemijski pomaci (δ) u ^1H i ^{13}C NMR spektrima izraženi su u ppm u odnosu prema signalu tetrametilsilana na δ 0,0 ppm za ^1H i prema signalu DMSO δ 39,50 ppm za ^{13}C . Pojedine rezonancije su pridružene na temelju kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta signala i H-H konstante sprege.

3.2 Priprava spojeva

3.2.1 Sinteza brometilnih derivata 4-kinolinona (2a-2d)

Općeniti postupak

U suspenziju odgovarajućeg 2-(trifluormetil)kinolin-4-ona u DMF-u dodan je K_2CO_3 (1,1 eq) za pripravu spojeva **2a-2c**, te NaH (1,1 eq) za pripravu spoja **2d**. Nakon 30 minuta miješanja, dodan je dibrometan (1,1 eq) i miješanje je nastavljeno preko noći na sobnoj temperaturi. Otapalo je uklonjeno uparavanjem pri sniženom tlaku, a kruti ostatak pročišćen je kolonskom kromatografijom uz diklormetan kao eluens.

4-(2-Brometoksi)-2-(trifluormetil)kinolin-4-on (2a)

Spoj **2a** pripremljen je prema gore navedenom postupku iz 2-(trifluormetil)kinolin-4-ona (1,0 g; 4,69 mmol) i dibrometana (0,45 mL). Pročišćavanjem kromatografijom na koloni dobiven je bijeli prah spoja **2a** (548,6 mg; 36,46 %; $T_f=136-143^\circ C$).

1H -NMR (600 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8.26 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, H-5), 8.09 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H-8), 7.86 – 7.94 (m, 1H, H-7), 7.76 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, H-6), 7.45 (s, 1H, H-3), 4.56 – 4.88 (m, 2H, CH_2), 3.91 – 4.04 (m, 2H, CH_2). ^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO) (δ/ppm): 162.72 (C-4), 148.42 (C-2, q, $J = 34.0$ Hz), 147.85 (C-8a), 132.02 (C-7), 129.62 (C-8), 128.70 (C-6), 122.19 (C-5), 121.51 (C-4a), 98.45 (C-3), 69.57 (C-1'), 31.36 (C-2').

4-(2-Brometoksi)-6-metil-2-(trifluormetil)kinolin-4-on (2b)

Spoj **2b** pripremljen je prema navedenom postupku iz 6-metil-2-(trifluormetil)kinolin-4-ona (500 mg; 2,20 mmol) i dibrometana (0,2mL). Pročišćavanjem na koloni dobiven je bijeli prah spoja **2b** (210 mg; 28,64 %; $T_f=132-137^\circ C$).

1H -NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 7.96 – 8.07 (m, 2H, H-5, H-8), 7.75 (dd, $J = 8.7, 1.9$ Hz, 1H, H-7), 7.42 (s, 1H, H-3), 4.53– 4.80 (m, 1H, CH_2), 4.03 – 3.97 (m, 1H, CH_2), 2.56 (s, 1H, CH_3).

4-(2-Brometoksi)-6-klor-2-(trifluormetil)kinolin-4-on (2c)

Spoj **2c** pripremljen je prema navedenom postupku iz 6-klor-2-(trifluormetil)kinolin-4-ona (500 mg; 2,02 mmol) i dibrometana (0,2 mL). Pročišćavanjem kromatografijom na koloni dobiven je bijeli prah spoja **2c** (186 mg; 26,23%; $T_f=132-135^\circ C$).

¹H-NMR (600 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8.20 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, H-5), 8.12 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-8), 7.92 (dd, *J* = 9.0, 2.4 Hz, 1H, H-7), 7.52 (s, 1H, H-3), 4.63 – 4.80 (m, 2H), 4.04 – 3.93 (m, 2H, CH₂). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO) (δ/ppm): 162.01 (C-4), 148.90 (C-2, q, *J* = 34.1 Hz), 146.33 (C-8a), 133.36 (C-6), 132.56 (C-7), 131.94 (C-8), 122.34 (C-4a), 121.09 (C-5), 99.50 (C-3), 69.87 (C-1'), 31.23 (C-2').

4-(2-Brometoksi)-6-fenil-2-(trifluormetil)kinolin-4-on (2d)

Spoj **2d** pripremljen je prema navedenom postupku iz 6-fenil-2-(trifluormetil)kinolin-4-ona (2,787 g; 8,52 mmol) i dibrometana (0,81mL). Pročišćavanjem kromatografijom na koloni dobiven je bijeli prah spoja **2d** (350 mg; 10,4%; *T*_f=72-75°C).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8.47 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H, H-5), 8.07 – 8.32 (m, 2H, H-7, H-8), 7.82 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H, Ph), 7.52 (m, 4H, H-3, Ph), 4.67 – 4.90 (m, 2H, CH₂), 3.89 – 4.14 (m, 2H, CH₂).

3.2.2 Sinteza azido-etilnih derivata 4-kinolinona (3a-3d)

Općeniti postupak

Sintetizirani spojevi **2a-2d** otopljeni su u acetonu te im je dodana vodena otopina natrijeva azida (4 eq). Reakcijska smjesa je miješana 24 sata na temperaturi refluksa. Potom je otapalo uklonjeno uparavanjem pri sniženom tlaku, a ostatak je ekstrahiran etil acetatom i zasićenom vodenom otopinom NaCl.

4-(2-Azidoetoksi)-2-(trifluormetil)kinolin-4-on (3a)

Spoj **3a** pripremljen je prema gore navedenom postupku iz spoja **2a** (385,3 mg; 0,89 mmol) i natrijeva azida (231,7 mg; 0,36 mmol). Pročišćavanjem ekstrakcijom dobiveni su bijeli kristali spoja **3a** (157,7 mg; 62,81%; *T*_f=83-89°C).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8.26 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-5), 8.12 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, H-8), 7.92 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H, H-7), 7.77 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, H-6), 7.47 (s, 1H, H-3), 4.53 – 4.80 (m, 2H, CH₂), 3.77 – 3.99 (m, 2H, CH₂). ¹³C-NMR (151 MHz, DMSO) (δ/ppm): 162.40 (C-4), 147.38 (C-8a), 147.90 (C-2, q, *J* = 33.8 Hz), 131.48 (C-7), 129.16 (C-8), 128.16 (C-6), 121.60 (C-5), 120.98 (C-4a), 97.84 (C-3), 68.68 (CH₂), 49.42 (CH₂).

4-(2-Azidoetoksi)-6-metil-2-(trifluormetil)kinolin-4-on (3b)

Spoj **3b** pripremljen je prema navedenom postupku iz spoja **2b** (188,6 mg; 0,56 mmol) i natrijeva azida (146,8 mg; 0,23 mmol). Pročišćavanjem ekstrakcijom dobiven je bijeli prah spoja **3b** (164 mg; 98,00%; $T_f=117-120^\circ\text{C}$).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 7.89 – 8.17 (m, 2H, H-5, H-8), 7.75 (dd, $J = 8.6, 2.0$ Hz, 1H, H-7), 7.42 (s, 1H, H-3), 4.56 – 4.70 (m, 2H, CH_2), 3.76 – 3.99 (m, 2H, CH_2), 2.54 (s, 3H, CH_3).

4-(2-Azidoetoksi)- 6-klor-2-(trifluormetil)kinolin-4-on (3c)

Spoj **3c** pripremljen je prema navedenom postupku iz spoja **2c** (185 mg; 0,52 mmol) i natrijeva azida (135,7 mg; 0,21 mmol). Pročišćavanjem ekstrakcijom dobiveni su bijeli kristali spoja **3c** (165 mg; 80%; $T_f=75-79^\circ\text{C}$).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8.23 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, H-5), 8.15 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, H-8), 7.94 (dd, $J = 9.0, 2.4$ Hz, 1H, H-7), 7.54 (s, 1H, H-3), 4.54 – 4.69 (m, 2H, CH_2), 3.81 – 3.95 (m, 2H, CH_2). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO) (δ/ppm): 162.22 (C-4), 146.34 (C-8a), 148.90 (C-2, q, $J = 34.1$ Hz), 133.40 (C-6), 132.55 (C-7), 131.94 (C-8), 122.32 (C-4a), 121.19 (C-5), 99.33 (C-3), 69.59 (CH_2), 49.80 (CH_2).

4-(2-Azidoetoksi)-6-fenil-2-(trifluormetil)kinolin-4-on (3d)

Spoj **3d** dobiven je prema navedenom postupku iz spoja **2d** (350 mg; 0,88 mmol) i natrij azida (102,2 mg; 0,16 mmol). Pročišćavanjem ekstrakcijom dobiveni su bijeli kristali **3d** (310 mg; 98,00%; $T_f=127-130^\circ\text{C}$).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8.49 (s, 1H, H-5), 8.12 – 8.32 (m, 2H, H-7, H-8), 7.84 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H, Ph), 7.38 – 7.61 (m, 4H, H-3, Ph), 4.48 – 4.81 (m, 2H, CH_2), 3.78 – 3.96 (m, 2H, CH_2).

3.2.3 Sinteza triazolnih derivata 4-kinolinona (4a-4d)**Općeniti postupak**

U otopinu azido derivata (**3a-3d**) u metanolu dodani su bakrov acetat (0,05 eq) i etinil-ferocen (1 eq). Reakcijska smjesa je miješana 6 h na 60°C , nakon čega je otapalo uklonjeno

uparavanjem pri sniženom tlaku, a ostatak pročišćen kromatografijom na koloni sa diklormetanom kao eluensom.

4-[2-(4-Ferocetil-1,2,3-triazol-1-il)etoksi]-2-(trifluormetil)kinolin-4-on (4a)

Spoj **4a** pripremljen je prema gore navedenom postupku iz spoja **3a** (80 mg; 0,28 mmol), bakrova acetata (2,0 mg) i etinil ferocena (46,9 mg; 0,022 mmol). Pročišćavanjem kromatografijom na koloni dobiveni su narančasti kristali spoja **4a** (93 mg; 67%; $T_f=180-183^\circ\text{C}$).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8.39 (s, 1H, H-triazole), 8.22 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H-5), 8.07 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H-8), 7.88 (t, $J = 7.0$ Hz, 1H, H-7), 7.74 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, H-6), 7.49 (s, 1H, H-3), 4.97 (t, $J = 4.5$ Hz, 2H, CH_2), 4.86 (t, $J = 4.5$ Hz, 2H, CH_2), 4.69 (t, $J = 1.8$ Hz, 2H, Fc), 4.32 – 4.21 (m, 2H, Fc), 3.91 (s, 5H, Fc). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO) (δ/ppm): 162.71 (C-4), 148.37 (C-2, q, $J = 33.8$ Hz), 147.80 (C-8), 145.80 (C-triazole), 131.99 (C-6), 129.58 (C-7), 128.64 (C-8), 122.19 (C-4a), 121.92 (CF_3 , q, $J = 275.4$ Hz), 121.85 (C-triazole), 121.44 (C-5), 98.35 (C-3), 76.34 (CH_2), 69.60 (C-Fc), 68.69 (C-Fc), 68.27 (C-Fc), 66.74 (C-Fc), 49.14 (CH_2).

6-Metil-4-[2-(4-ferocetil-1,2,3-triazol-1-il)etoksi]-2-(trifluormetil)kinolin-4-on (4b)

Spoj **4b** dobiven je prema navedenom postupku iz spoja **3b** (80 mg; 0,27 mmol), bakrova acetata (2,5 mg) i etinil ferocena (56,7 mg; 0,027 mmol). Pročišćavanjem na koloni dobiveni su narančasti kristali spoja **4b** (65,2 mg; 65,00%; $T_f > 270^\circ\text{C}$).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8.43 (s, 1H, H-triazole), 7.87 – 8.34 (m, 2H, H-5, H-8), 7.71 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, H-7), 7.44 (s, 1H, H-3), 4.96 (t, $J = 4.5$ Hz, 2H, CH_2), 4.84 (t, $J = 4.8$ Hz, 2H, CH_2), 4.69 (t, $J = 1.7$ Hz, 2H, Fc), 4.30 – 4.27 (m, 2H, Fc), 3.91 (s, 5H, Fc), 2.53 (s, 1H, CH_3). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO) (δ/ppm): 161.95 (C-4), 146.39 (C-8a), 145.92 (C-triazole), 138.55 (C-6), 134.02 (C-7), 129.37 (C-8), 121.36 (C-triazole), 120.82 (C-5), 98.31 (C-3), 76.30 (CH_2), 69.60 (C-Fc), 68.72 (C-Fc), 66.76 (C-Fc), 49.14 (CH_2), 20.15 (CH_3).

6-Kloro-4-[2-(4-ferocetil-1,2,3-triazol-1-il)etoksi]-2-(trifluormetil)kinolin-4-on (4c)

Spoj **4c** pripremljen je prema navedenom postupku iz spoja **3c** (80 mg; 0,25 mmol), bakar acetata (2,3 mg) i etinil ferocena (53,1 mg; 0,025 mmol). Pročišćavanjem na koloni dobiveni su narančasti kristali spoja **4c** (112 mg; 84,00%; $T_f=188-190^\circ\text{C}$).

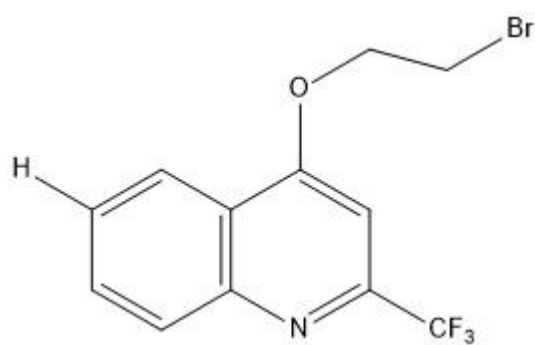
¹H-NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8.44 (s, 1H, H-triazole), 8.20 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, H-5), 8.10 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-8), 7.89 (dd, *J* = 9.0, 2.4 Hz, 1H, H-7), 7.55 (s, 1H, H-3), 4.98 (t, *J* = 4.4 Hz, 2H, CH₂), 4.87 (t, *J* = 4.5 Hz, 2H, CH₂), 4.68 (t, *J* = 1.8 Hz, 2H, Fc), 4.32 – 4.26 (m, 2H, Fc), 3.91 (s, 5H, Fc). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO) (δ/ppm): 162.02 (C-4), 148.82 (C-2, q, *J* = 34.5 Hz), 146.29 (C-8), 145.78 (C-triazole), 133.45 (C-6), 132.59 (C-7), 131.86 (C-8), 121.77 (CF₃, q, *J* = 275.7 Hz), 122.30 (C-4a), 121.96 (C-triazole), 121.16 (C-5), 99.37 (C-3), 76.30 (CH₂), 69.59 (Fc), 68.71 (Fc), 68.63 (Fc), 66.75 (Fc), 49.01 (CH₂).

6-Fenil-4-[2-(4-ferocenil-1,2,3-triazol-1-il)etoksi]-2-(trifluormetil)kinolin-4-on (4d)

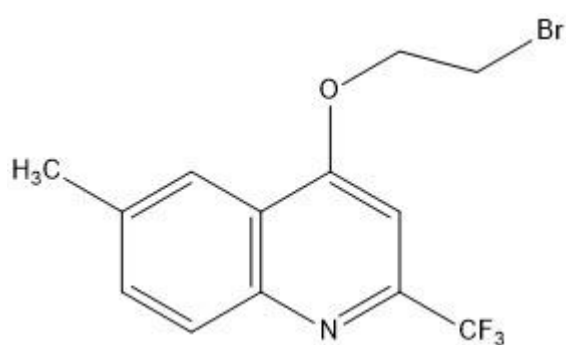
Spoj **4d** pripravljen je prema navedenom postupku iz spoja **3d** (310 mg; 0,87 mmol), bakar acetata (7,7 mg) i etinil ferocena (181,9 mg; 0,087 mmol). Pročišćavanjem na koloni dobiveni su narančasti kristali spoja **4d** (232,4 mg; 38,6%; *T*_f=141-144°C).

¹H-NMR (600 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8.43 (s, 1H, H-triazole), 8.36 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H, H-5), 8.11 – 8.24 (m, 2H, H-7, H-8), 7.86 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H, Ph), 7.45 – 7.60 (m, 4H, H-3, Ph), 4.95 – 5.06 (m, 2H, CH₂), 4.88 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H, CH₂), 4.60 (s, 2H, Fc), 4.23 (s, 2H, Fc), 3.80 (s, 5H, Fc).

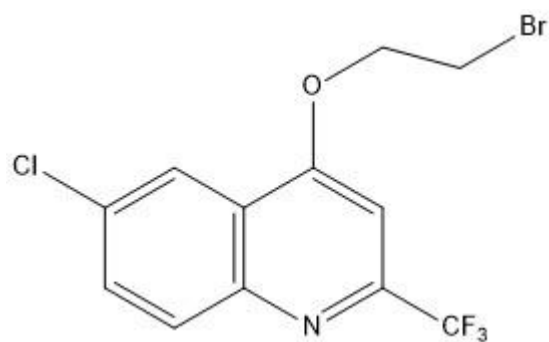
3.3 Pregled sintetiziranih spojeva



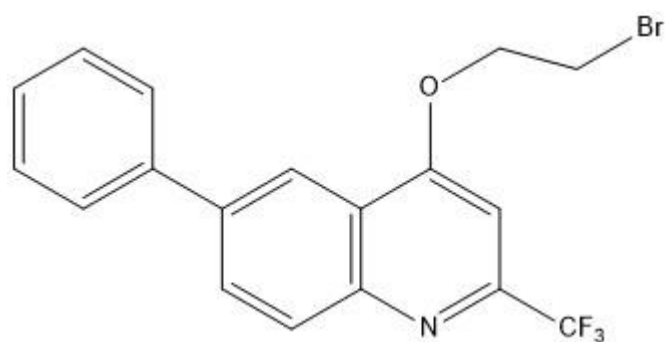
2a



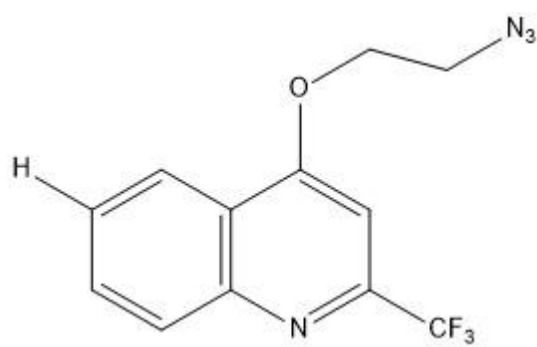
2b



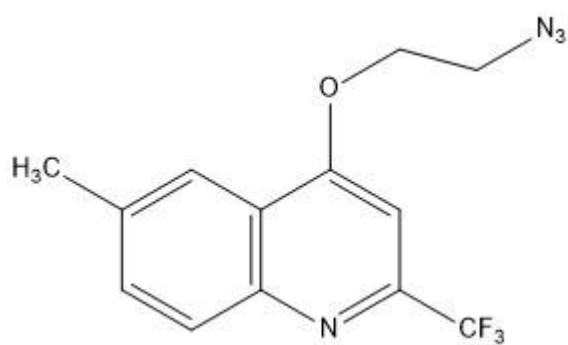
2c



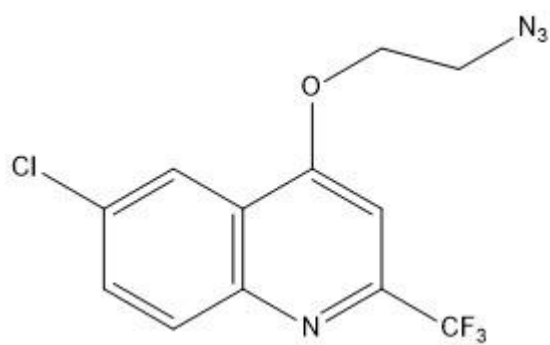
2d



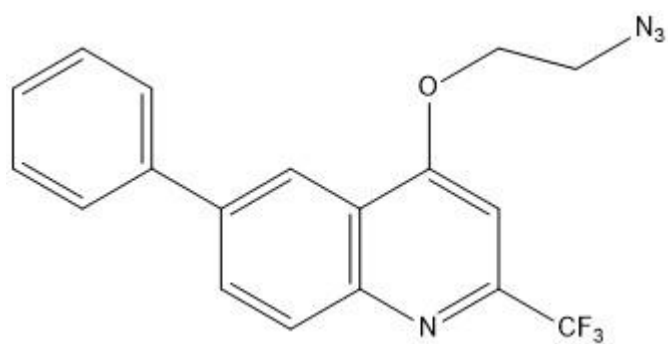
3a



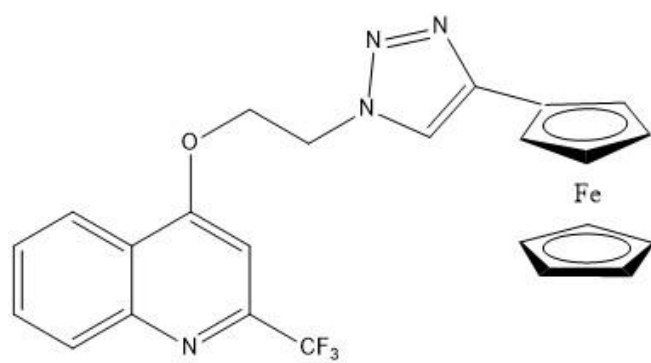
3b



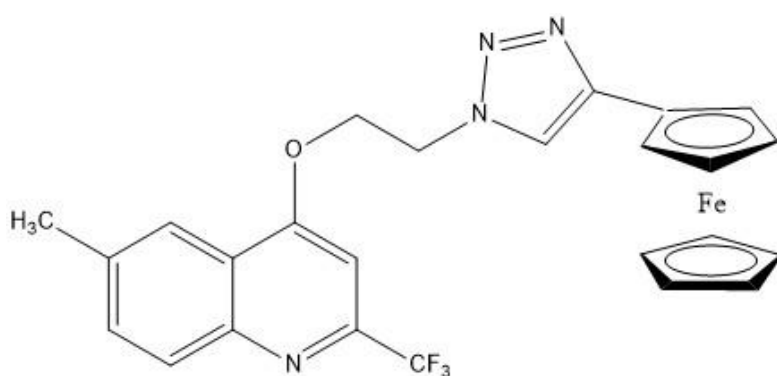
3c



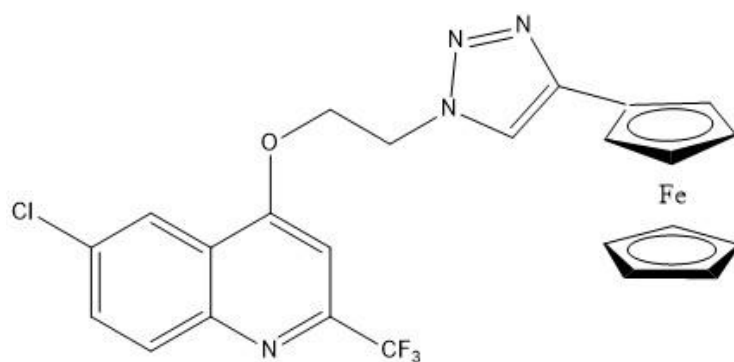
3d



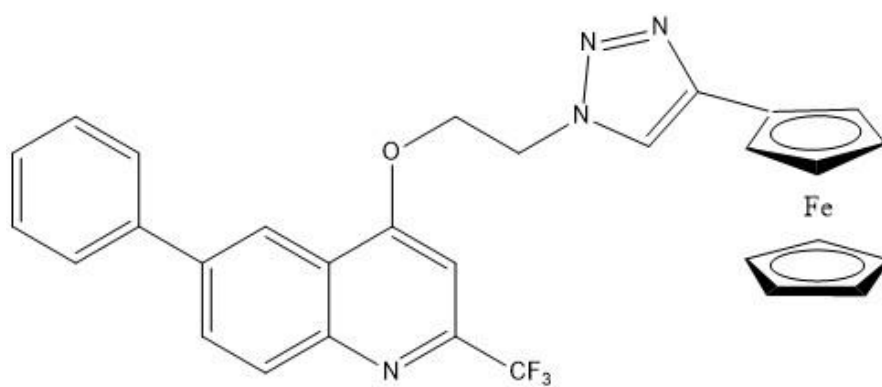
4a



4b



4c



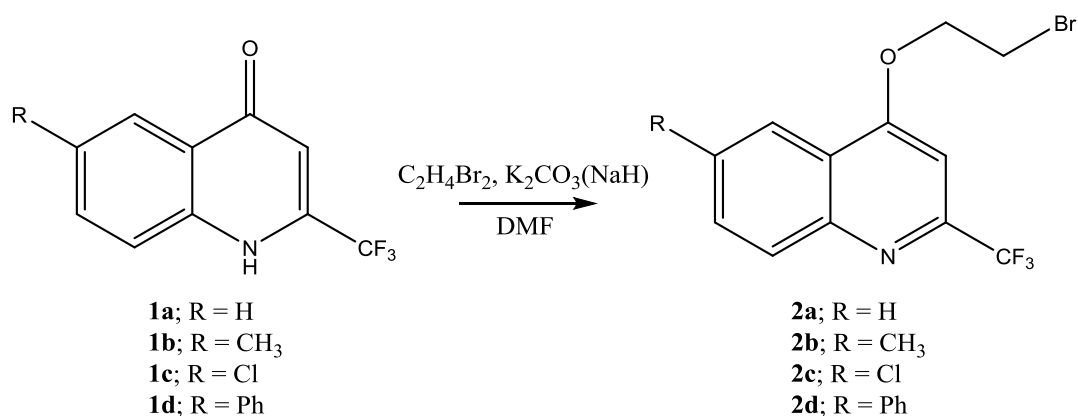
4d

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Sinteza spojeva

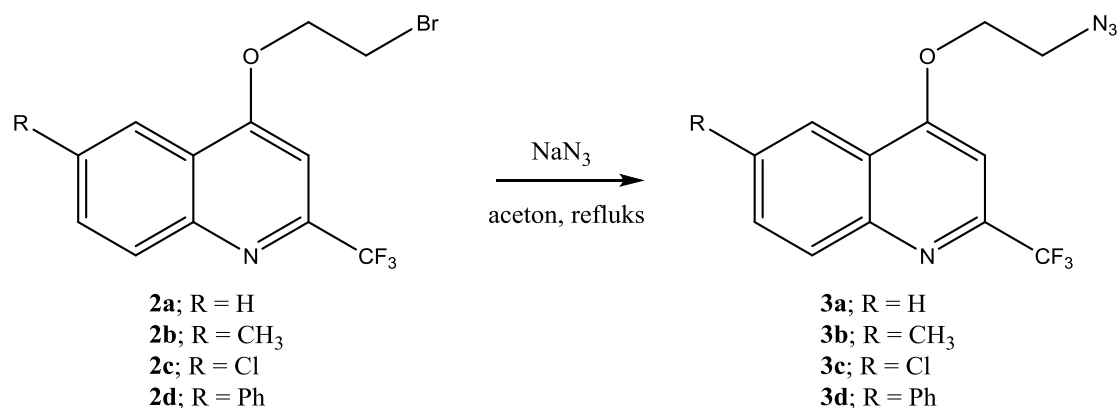
Cilj ovoga rada bio je sintetizirati potencijalno biološki aktivne konjugate 6-supstituiranih-2-trifluormetil-4-kinolinona i ferocena povezanih 1,2,3-triazolnom poveznicom.

Sinteza je provedena u tri stupnja, a kreće reakcijom 6-supstituiranih-2-(trifluormetil)kinolin-4-ona (**1a-1d**) s dibrometanom u prisutstvu baze čime su dobiveni odgovarajući *O*-alkilirani derivati (**2a-2d**). Reakcije su provedene uz kalijev karbonat, dok je kod sinteze spoja **2d** korišten natrijev hidrid.



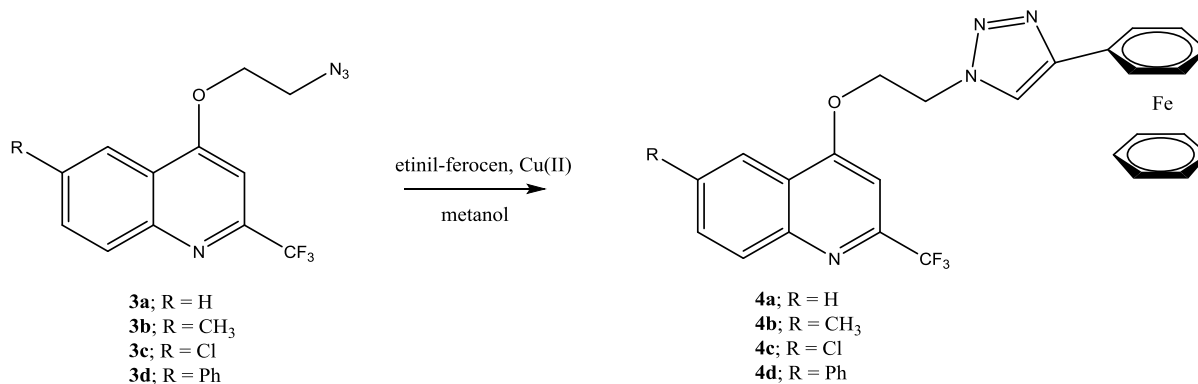
Shema 4. Sinteza brometilnih derivata 4-kinolinona (**2a-2d**)

Reakcijom nukleofilne supstitucije dobivenih brometilnih derivata 4-kinolinona (**2a-2d**) s natrijevim azidom sintetizirani su azidni derivati kinolinona (**3a-3d**), koji su poslužili kao prekursori za sintezu konačnih konjugata 6-supstituiranih-2-(trifluormetil)kinolin-4-ona i ferocena.



Shema 5. Sinteza azidnih derivata 4-kinolinona (**3a-3d**)

Ciljani konjugati 6-supstituiranih 2-trifluormetil-4-kinolinona i ferocena **4a-4d** pripremljeni Cu(I) kataliziranom 1,3-dipolarnom cikloadicijom azida **3a-3d** i etinil-ferocena. Na taj je način u strukturu ciljanih spojeva uveden 1,2,3-triazolni prsten koji je povezoao kinolinonsku jezgru sa ferocenom. Reakcije su katalizirane Cu(I) ionima kako bi se dobili isključivo 1,4-disupstituirani regioizomeri.



Shema 6. Sinteza ciljanih konjugata 6-supstituiranih 2-trifluormetil-4-kinolinona i ferocena (**4a-4d**)

4.2. Rezultati bioloških ispitivanja

Ispitano je antiproliferativno djelovanje spojeva **4a-4d** na tri stanične linije zloćudnih tumora porijeklom iz čovjeka: adenokarcinom debelog crijeva (CaCo-2), karcinom vrata maternice (HeLa) i kronična mijeloidna leukemija (K562) (tablica 1.) 6-Klorosupstituirani derivat kinolinona i ferocena **4c** pokazao je umjerenu antiproliferativnu aktivnost na stanice K562, dok ostali derivati ne pokazuju izraženu antiproliferativnu aktivnost.

Tablica 1. Antiproliferativna aktivnost spojeva **4a-4d**

Spoj	IC ₅₀ ^a (μM)		
	CaCo-2	K562	HeLa
4a	>100	90.62	70.18
4b	>100	85.16	88.61
4c	>100	60.26	99.81
4d	>100	80.22	>100

^a IC₅₀; koncentracija spoja koja inhibira rast stanica za 50 %

5. ZAKLJUČCI

- Pripravljene su *O*-alkilirani derivati 6-supstituiranih-2-trifluormetil-4-kinolinona (**2a-2d**) uvođenjem brometilnog lanca u položaj 4 kinolinona.
- *O*-Brometilni derivati prevedeni su, nadalje, u azidne kinolinonske derivate (**3a-3d**) koji su poslužili kao prekursori za daljnju sintezu ciljanih spojeva.
- Reakcijom 1,3-dipolarne cikloadicije azida **3a-3d** i etinil-ferocena katalizirane bakrom(I) sintetizirani su novi konjugati 4-kinolinona i ferocena povezani 1,2,3-triazolilnom poveznicom (**4a-4d**).
- U klik reakcijama između azidnih kinolinonskih derivata i etinil ferocena korišten je bakar(I) kao katalizator, pri čemu su dobiveni isključivo 1,4-disupstituirani regioizomeri.
- Strukture novopripremljenih spojeva potvrđene su ¹H- i ¹³C- NMR spektroskopijom.
- Novosintetiziranim spojevima ispitana je antiproliferativna aktivnost.

6.LITERATURA

1. Panda S.S., Jain S.C., New trifluoromethyl quinolone derivatives: Synthesis and investigation of antimicrobial properties, *Med. Chem. Let.*, 2013, **23**, 3225–3229.
2. Eswaran S., Adhikari A.V., Chowdhury I.H., Pal N.K., Thomas K.D., New quinoline derivatives: Synthesis and investigation of antibacterial and antituberculosis properties, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**, 3374–3383.
3. Cross R.M., Monastyrskyi A., Mutka T.S., Burrows J.N., Kyle D.E., Manetsch R., Endochin Optimization: Structure-Activity and Structure-Property Relationship Studies of 3-Substituted 2-Methyl-4(1H)-quinolones with Antimalarial Activity, *J. Med. Chem.*, 2010, **53**, 7076–7094.
4. Cui S.F., Ren Y., Zhang S.L., Peng X.M., Damu G.L.V., Geng R.X., Zhou C.H., Synthesis and biological evaluation of a class of quinolone triazoles as potential antimicrobial agents and their interactions with calf thymus DNA, *Med. Chem. Let.*, 2013, **23**, 3267–3272.
5. Sissi C., Palumbo M., The Quinolone Family: From Antibacterial to Anticancer Agents, *Curr. Med. Chem – Anti-Cancer agents*, 2003, **3**, 439–450.
6. Pintilie L., *Quinolones: Synthesis and Antibacterial Activity. Antimicrobial Agents*, CC BY 3.0 license, 2012.
7. Hawtin R.E., Stockett D.E., Byl J.A.W., McDowwel R.S., Tan N., Arkin M.R., Conroy A., Yang W., Osheroff N., Fox J.A., Voreloxin Is an Anticancer Quinolone Derivative that Intercalates DNA and Poisons Topoisomerase II, *Plos ONE*, 2010, **5**, e10186.
8. Vandekerckhove S., Desmet T., Tran H.G., de Kock C., Smith P.J., Chibale K., D'hooghe M., Synthesis of halogenated 4-quinolones and evaluation of their antiplasmodial activity, *Med. Chem. Let.*, 2014, **24**, 1214–1217.
9. Brouet J.-C., Gu S., Peet N.P., Williams J.D., Survey of Solvents for the conrad-Limpach Synthesis of 4-Hydroxyquinolones, *Synth. Commun.*, 2009, **39**, 1563–1569.

10. Wang, Z., *Conrad-Limpach Quinoline Synthesis. Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*, 2010, **152**, 692–696.
11. Lutz J.F : 1,3-Dipolar Cycloadditions of Azides and Alkynes: A Universal Ligation Tool in Polymer and Materials Science, *Angew. Chem. Int. Ed*, 2007,**46**,1018–1025.
12. Appukkuttan P., Dehean W., Fokin V.V., Van der Eycken E., A Microwave-Assisted Click Chemistry Synthesis of 1,4-Disubstituted 1,2,3-Triazoles via a Copper(I)-Catalyzed Three-Component Reaction, *Org. Lett.*, 2004, **6**, 4223–4225.
13. Bock V.D, Hiemstra H., van Maarseveen J.H., Cu(I)-Catalyzed Alkyne–Azide “Click” Cycloadditions from a Mechanistic and Synthetic Perspective, *Eur. J. Org. Chem*, 2006, 51–68.
14. Raić-Malić S., Meščić A, Recent Trends in 1,2,3-Triazolo-Nucleosides as Promising Anti-Infective and Anticancer Agents, *Curr. Med. Chem.*, 2015, **22**, 1462–1499.
15. Haider S., Sarwar Alam M., Hamid H., 1, 2, 3-Triazoles: scaffold with medicinal significance, *Inflamm. Cell. Signal*, 2014, **1**, e95.
16. Agalave S.G., Maujan S.R., Pore V.S., Click Chemistry: 1,2,3-Triazoles as Pharmacophores, *Chem. Asian J.*, 2011,**6**,2696–2718.
17. Rostovtsev V.V., Green L.G., Fokin V.V., Sharpless K.B., A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective "Ligation" of Azides and Terminal Alkynes, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2014, **41**, 2596–2599.
18. Sarmiento-Sanchez J.I, Ochoa-Teran A., Rivero I.A, Conventional and microwave assisted synthesis of 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles from Huisgen cycloaddition, *Arkivoc*, 2011, **9**, 177–188.
19. Kaushik C.P., Kumar K., Lal K., Narasimhan B., Kumar A., Synthesis and antimicrobial evaluation of 1,4-disubstituted 1,2,3- triazoles containing benzofused N-heteroaromatic moieties, *Monatsh. Chem.*, 2016, **147**, 817–828 .

20. Kharb R., Sharma P.C., Shahar Yar M., Pharmacological significance of triazole scaffold, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 2011, **26**, 1–21.
21. J.Jadhav, A.Juvekar, R.Kurane, S.Khanapure, R.Salunkhe, G.Rashinkar, Remarkable anti-breast cancer activity of ferrocene tagged multi-functionalized 1,4-dihydropyrimidines, *Eur. J. Med. Chem.*, 2013, **65**, 232–239.
22. 19.T.N.Akhaja, J.P.Raval, Design, synthesis and *in vitro* evaluation of tetrahydropyrimidine–isatin hybrids as potential antitubercular and antimalarial agents, *Chin. Chem. Lett.*, 2012, **23**, 785–788.
23. K.Kumar, B.Pradines, M.Madamet, R.Amalvict, N.Benoit, V.Kumar, 1H-1,2,3-triazole tethered isatin-ferrocene conjugates: Synthesis and *in vitro* antimalarial evaluation, *Eur. J. Med. Chem.*, 2014, **87**, 801–804.

7.ŽIVOTOPIS

Moje ime je Helena Šimek, rođena sam 20.05.1995.godine u Virovitici. Osnovnu školu završila sam u Novoj Bukovici, a Opću gimnaziju u Slatini. Sve sam razrede osnovne i srednje škole prošla s odličnim uspjehom, a nakon položene državne mature 2014. godine upisala sam Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, smjer Kemijsko inženjerstvo.

Tijekom fakultetskog obrazovanja odradila sam stručnu studentsku praksu u tvrtki M-SAN Eko u ljeto 2016.godine, sudjelovala na radionici o NMR spektroskopiji koju je održao profesor Tomislav Portada, te volontirala na projektu prof.Raić Malić.

Sudjelovanje na skupovima :

1. Maračić, Silvija; Šimek, Helena; Grbčić, Petra; Sedić, Mirela; Stolić, Ivana; Kraljević Pavelić, Sandra; Raić-Malić, Silvana.

Biological evaluations of amidine and amidoxime substituted heterocycles with 1, 2, 3-triazolyl spacer // The 10th Joint Meeting on Medicinal Chemistry, Book of abstracts / Zagreb: Croatian Chemical Society, 2017.

88-88 (poster, sažetak, znanstveni).