

# Sinteza konjugata kinolina i harmina s potencijalnim antimalarijskim djelovanjem

---

Štulić, Rebeka

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:667034>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-29**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE**  
**SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ**

**Rebeka Štulić**

**ZAVRŠNI RAD**

**Zagreb, rujan 2018.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE**  
**SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ**

**Rebeka Štulić**

**Sinteza konjugata kinolina i harmina s potencijalnim  
antimalarijskim djelovanjem**

**ZAVRŠNI RAD**

**Voditelj rada:** Prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić, FKIT

**Članovi ispitnog povjerenstva:**

Prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić, FKIT

Doc. dr. sc. Dragana Vuk, FKIT

Dr. sc. Lidija Furač, v. pred., FKIT

**Zagreb, rujan 2018.**

*Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Silvani Raić-Malić na predloženoj temi, pruženom povjerenju, strpljenju, stručnom vodstvu i prenesenom znanju prilikom izrade ovog završnog rada i trajanja preddiplomskog studija.*

*Posebno hvala asistenticama Petri Roškarić, mag. appl. chem. i Seni Jorgić, mag. appl. chem. na njihovoj izuzetnoj predanosti, uloženom trudu, motivaciji i susretljivosti. Bez njihovih stručnih savjeta i vodstva ne bi bilo moguće ostvarenje ovog rada.*

*Svim djelatnicima Zavoda za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije te kolegama studentima hvala na ugodnom i stimulativnom radnom okruženju.*

# SAŽETAK

## Sinteza konjugata kinolina i harmina s potencijalnim antimalarijskim djelovanjem

U okviru ovog rada provedena je sinteza novih potencijalno biološki aktivnih hibrida kinolina, kumarina i harmina regioselektivnom 1,3-dipolarnom cikloadicijom terminalnih alkina i organskih azida. Spojevi su priređeni konvencionalnom sintetskom metodom koja zadovoljava većinu uvjeta „klik“ kemije. Harmin **1** prevodi se u reakciji s propargil-bromidom u 9-(prop-2-inil)harmin **2** koji onda Huisgenovom cikloadicijom s kumarinskim **3** i kinolinskim azidom **4** kataliziranom bakrom(I) daje odgovarajuće 1,2,3-triazolne konjugate **5** i **6**. Polazni alkini **8** i **11** za sintezu kumarinskih i kinolinskih 1,2,3-triazola 7-(prop-2-iniloksi)harmina **9**, **10** i 9-(prop-2-inil)-7-(prop-2-iniloksi)harmina **12**, **13** dobivaju se iz harmola **7**. Priređenim spojevima **5**, **6**, **9**, **10**, **12** i **13** ispitat će se antimalarijska aktivnost.

**Ključne riječi:** 1,2,3-triazoli, "click" kemija, derivati harmina, kinolini, kumarini

## SUMMARY

### Synthesis of quinoline and harmine conjugates with potential antimalarial activity

The aim of this work was the synthesis of novel hybrids containing coumarine, quinoline and harmine moiety with potential biological activity, using regioselective 1,3-dipolar cycloaddition of terminal alkynes and organic azides. Novel compounds were prepared by conventional synthetic approach which fulfills most of „click“ chemistry requirements. Harmine **1** is converted with propargyl-bromide to 9-(prop-2-ynyl)harmine **2** which then in Huisgen copper(I) catalyzed cycloaddition with coumarine **3** and quinoline **4** azide gives corresponding 1,2,3-triazole conjugates **5** and **6**. Alkynes **8** and **11** needed for the synthesis of coumarine and quinoline 1,2,3-triazoles 7-(prop-2-ynyloxy)harmine **9**, **10** and 9-(prop-2-ynyl)-7-(prop-2-ynyloxy)harmine **12**, **13** are synthesized starting from harmine **7**. Antimalarial activity of prepared compounds **5**, **6**, **9**, **10**, **12** and **13** will be performed.

**Keywords:** 1,2,3-triazoles, "click" chemistry, harmine derivatives, quinoline, coumarine

# SADRŽAJ

|   |    |
|---|----|
| <b>1. Uvod</b> .....  | 1  |
| <b>2. Opći dio</b> .....  | 3  |
| <b>2.1. Kinolini</b> .....  | 4  |
| 2.1.1. Biološka aktivnost kinolina i derivata kinolina .....  | 5  |
| <b>2.2. Kumarini</b> .....  | 12 |
| 2.2.1. Biološka aktivnost kumarina i derivata kumarina .....  | 14 |
| <b>2.3. Harmini</b> .....   | 19 |
| 2.3.1. Biološka aktivnost harmina i derivata harmina .....  | 21 |
| <b>2.4. Molekulska hibridizacija</b> .....  | 24 |
| <b>2.5. 1,2,3-Triazolni prsten</b> .....  | 25 |
| <b>2.6. „Klik“ kemija</b> .....   | 26 |
| 2.6.1. Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija katalizirana Cu(I) .....                                       | 26 |
| 2.6.2. Mehanizam azid-alkin cikloadicije katalizirane Cu(I) .....   | 27 |
| <b>3. Eksperimentalni dio</b> .....   | 28 |
| <b>3.1. Opće napomene</b> .....   | 29 |
| <b>3.2. Pregled sintetskih puteva do ciljanih spojeva</b> .....   | 30 |
| <b>3.3. Sinteza 1,2,3-triazolnih derivata iz 9-(prop-2-inil)harmina</b> .....                               | 31 |
| 3.3.1. Priprava 1-metil-7-metoksi-9-(prop-2-inil)-9H-pirido[3,4-b]indola 2 .....                            | 32 |
| 3.3.2. Opći postupak pripreme 1,2,3-triazolnih derivata iz 9-(prop-2-inil)harmina .....                     | 32 |
| <b>3.4. Sinteza 1,2,3-triazolnih derivata iz 7-(prop-2-iniloksi)harmina</b> .....                           | 33 |
| 3.4.1. Opći postupak pripreme 1,2,3-triazolnih derivata iz 7-(prop-2-iniloksi)harmina ..                    | 34 |
| <b>3.5. Sinteza 1,2,3-triazolnih derivata iz 9-(prop-2-inil)-7-(prop-2-iniloksi)harmina</b> ..              | 35 |
| 3.5.1. Priprava 1-metil-9-(prop-2-inil)-7-(prop-2-iniloksi)-9H-pirido[3,4-b]indola 1136                     |    |
| 3.5.2. Opći postupak pripreme 1,2,3-triazolnih derivata iz 9-(prop-2-inil)-7-(prop-2-iniloksi)harmina ..... | 36 |
| <b>4. Rezultati i rasprava</b> .....  | 38 |
| <b>4.1. Cilj rada</b> .....   | 39 |
| <b>4.2. Sinteza ciljanih spojeva</b> .....  | 40 |
| <b>5. Zaključak</b> .....   | 47 |
| <b>6. Literatura</b> .....  | 49 |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>7. Životopis.....</b>               | <b>53</b> |
| <b>8. Prilozi.....</b>                 | <b>55</b> |
| <b>9. Popis simbola i kratice.....</b> | <b>62</b> |



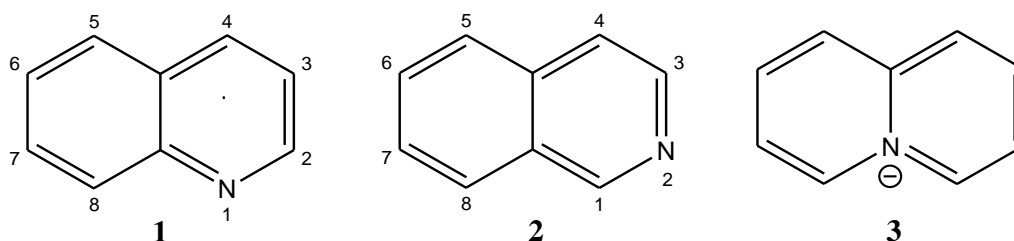
# 1. Uvod

Lijekovi korišteni u ljudskoj medicini pokrivaju širok raspon tipova kemijskih struktura, ipak većina njih jesu male heterocikličke molekule ili spojevi s heterocikličkim strukturnim jedinicama. Heterociklički alkaloidi aktivni su sastojci mnogih tradicionalnih prirodnih pripravaka, prije razvoja suvremene medicinske kemije, a neki od njih koriste se i danas. Ovoj skupini pripadaju kumarinski i kinolinski prsten te  $\beta$ -karbolinske jezgre poput harmina koji su tijekom godina pokazali mnoštvo bioloških svojstava. Njihovi prirodni i sintetski derivati povezani su s antimalarijskom, antimikrobnom, antibakterijskom, antiproliferacijskom, antioksidativnom, protuupalnom, antitumorskom, antiviralnom i nizom drugih bioloških aktivnosti. Novi koncept u dizajnu i razvoju lijekova oslanja se na sintezu hibridnih spojeva, odgovarajućem povezivanju farmakofora koji zadržavaju unaprijed odabrane karakteristike roditeljskih spojeva. Strategija molekulske hibridizacije rješava probleme kombinirane terapije jer dizajnirani hibridi smanjuju rizik od razvijanja rezistencije i interakcije među lijekovima, a posebno je važna kod multifaktorijskih bolesti zbog djelovanja lijeka na više bioloških važnih meta. Kao poveznica farmakofornih molekula ističe se 1,2,3-triazolni prsten, bioizoster amidne veze, čija sinteza 1,3-dipolarnom cikloadicijom zadovoljava uvjete „klik“ reakcija.

## **2. Opći dio**

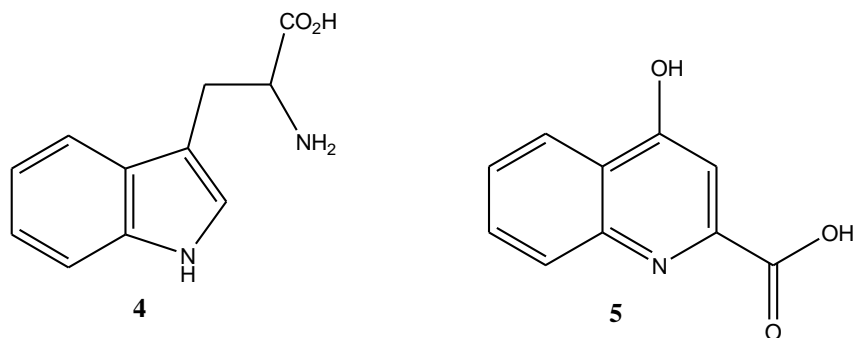
## 2.1. Kinolini

Tri su benzenska derivata izvedena iz strukture najjednostavnijeg heterocikla azinskog tipa, piridina : kinolin ( **1**, benzo[b]piridin), izokinolin ( **2**, benzo[c]piridin) i kinolizinijev kation ( **3**, benzo[a]piridinijev ion). Postojanje ovih aromatskih spojeva, formalno povezanih sa klasičnim aromatskim ugljikovodicima zamjenom jedne CH skupine dušikovim atomom, prepoznato je prije više od 100 godina. Kinolin, bezbojna tekućina visokog vrelišta, prvi je put izolirana iz katrana 1834. godine<sup>1</sup>, a 1885. godine iz istog izvora dobivena je krutina niskog tališta, izokinolin<sup>2</sup>. Nekoliko godina nakon izolacije iz katrana, kinolin je dobiven kao produkt pirolitičke degradacije kinina, strihnina i kinkonina<sup>3</sup> i dano mu je ime *Chinoilin* ili *Chinolein*. Riječ kinin dolazi od *quina*, španjolske verzije lokalnog južnoameričkog imena za biljke *Cinchona* koje u svojoj kori sadrže taj ljekoviti alkaloid. Prva sinteza kinolizinijeva iona, kod kojeg je ugljik na položaju 4a naftalenske jezgre zamijenjen kvaternim dušikom, je pak objavljena tek 1954. godine<sup>4</sup>.

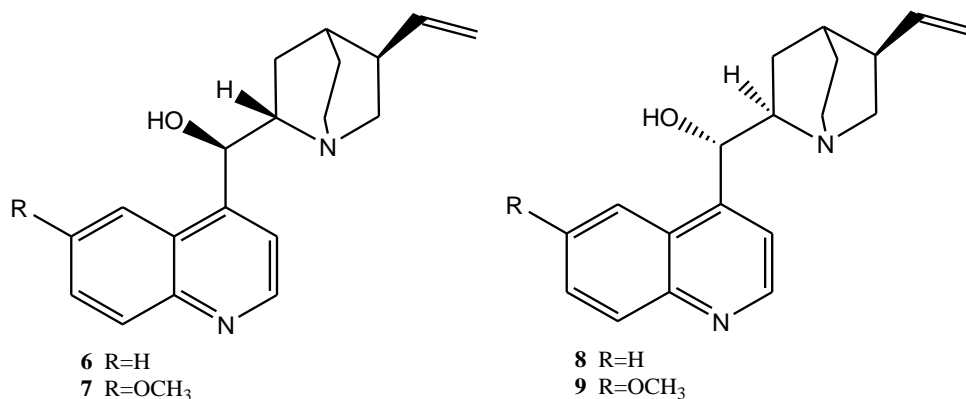


Slika 1. Strukture kinolina **1**, izokinolina **2** i kinolizinijeva kationa **3**

Kinolin (1-azanaftalen) je aromatski heterociklički sustav s dušikom kao heteroatomom, karakteristične strukture koja sadrži kondenzirani benzenski i piridinski prsten, a strukturno spada u benzopiridine. Kada se uzorci ove higroskopne tekućine snažna mirisa izlože svjetlu postanu žute, a kasnije smeđe boje. Slabo je topljiv u hladnoj vodi, ali se otapa u vrućoj vodi, alkoholu, eteru, ugljikovom disulfidu i većini organskih otapala. Osim u katranu, prisutan je u duhanskom dimu, u emisijama rafinerija nafte te prilikom prerade ugljena i nafte iz škrljevca. Derivati kinolina predmet su intenzivnog istraživanja već niz godina; kinolinski skelet se široko primjenjuje kao roditeljski spoj za sintezu molekula sa medicinskim beneficijama posebice s antimalarijskom i antimikrobnom aktivnošću, zatim fungicida, biocida, alkaloida, boja, u industriji parfema i pojačivača okusa. Široki spektar biološke aktivnosti poput antibakterijske, antifungalne, protuupalne, antipiretske, antitumorske i mnogih drugih povezan je upravo s kinolinima. Primjenjuju se i kao korozijski inhibitori, otapala za organske reakcije, katalizatori, konzervansi, pH indikatori, koriste se prilikom katalize polimerizacije kompleksima prijelaznih metala i u kemiji luminiscencije. Stoga nije začuđujući velik broj metoda za konstrukciju kinolinskog prstena, a među njima su konvencionalne Skraupova, Doebner-von Millerova, Friedländerova, Pfitzingerova, Combesova i Conrad-Limpachova reakcija.<sup>5</sup> Biološki prekursor kinolina je aminokiselina triptofan **4**. Njen metabolički produkt 4-hidroksikinolin-2-karboksilna kiselina ili kinurenska kiselina **5** izoliran je iz urina psa (Liebig 1853. godine). Prisutnost kinolinskih derivata u prirodi je vrlo česta, ne samo u biljkama već i životinjama.



Slika 2. Strukture aminokiseline triptofana **4** i njezinog metaboličkog produkta **5**

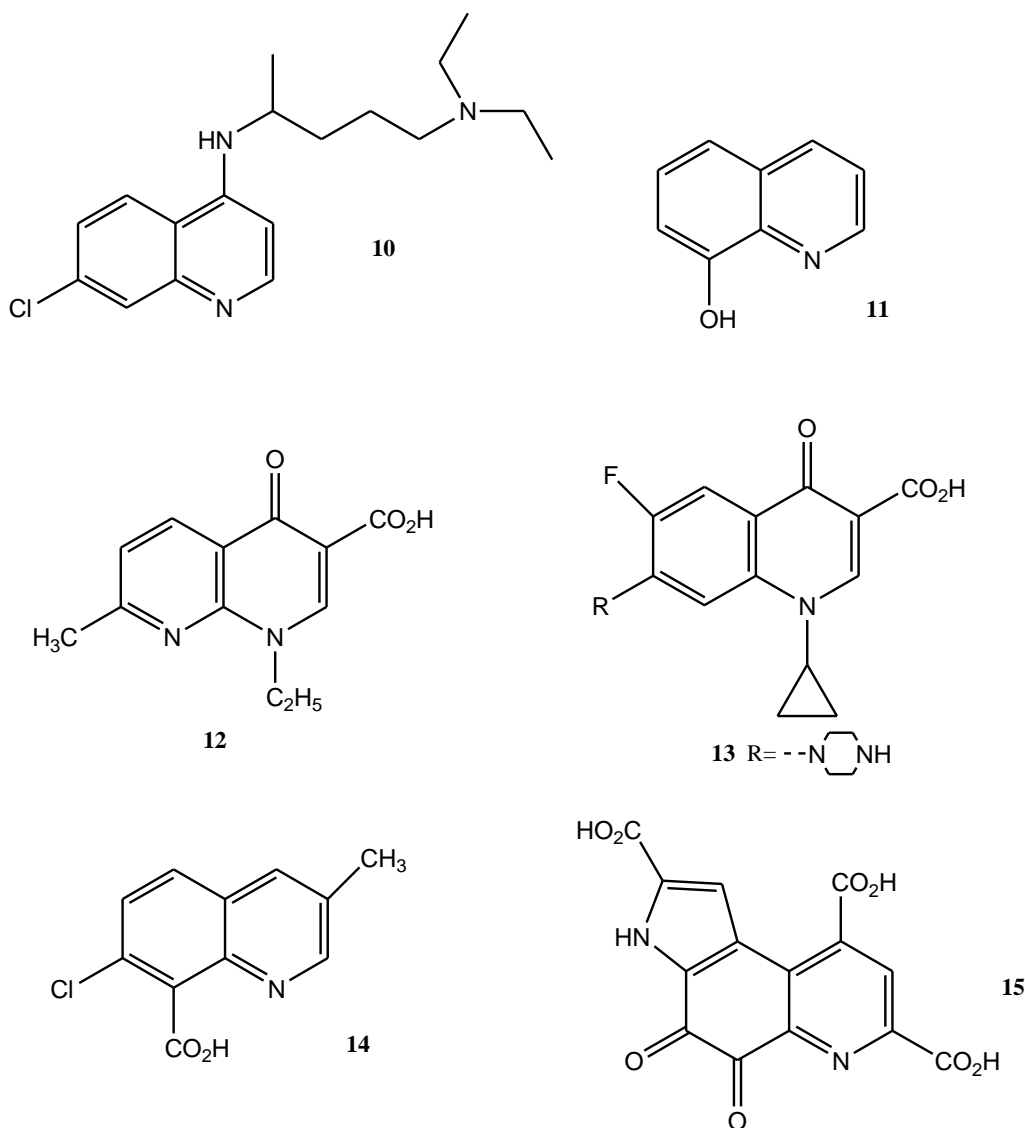


Slika 3. Strukture kinkonidina **6**, kinina **7**, kinkonina **8** i kinidina **9**

Derivati kinolina dolaze u strukturama raznih važnih prirodnih alkaloida koje možemo pronaći u biljkama iz porodica *Berberidaceae*, *Fumariaceae*, *Papavaraceae* i *Rutaceae*. Neki od alkaloida kore drveća roda *Cinchona* jesu diastereomerni parovi kinkonidin **6**/kinkonin **8** i kinin **7**/kinidin **9** u kojima je 4-metilkinolinska jedinica vezana za vinil-supstituirani sustav 1-azabicyklo[2.2.2]oktana. Bez sumnje, jedan od najvažnijih kinolin-sadržavajućih prirodnih produkata je kinin koji je već stoljećima poznat zbog antimalarijskog djelovanja. Nekolicina sintetičkih antimalarijskih lijekova, kao što je klorokin (CQ) **10**, temelje se na njegovoj strukturi. Drugi kinolinski derivati poput 8-hidroksikinolina **11** i njegovih halogeniranih analoga koriste se kao antiseptici. N-alkil-4-kinolon-3-karboksilna kiselina i slični sustavi konstituenti su antibiotika poput nalidiksodne kiseline **12** i ciprofloksacina **13**. Derivat kinolin-8-karboksilne kiseline **14** koristi se kao herbicid za *Galium aparine* i druge zeljaste biljke. Metoksatin **15**, odnosno pirolokinolin kinon ili koenzim PQQ, je kofaktor lizil-oksidaze i dopamin  $\beta$ -hidroksilaze.<sup>6</sup>

### 2.1.1. Biološka aktivnost kinolina i derivata kinolina

Kinolinska jezgra je od velike važnosti ne samo kemičarima nego i biologima jer se nalazi u velikom broju prirodnih produkata, a isto tako kemijskih spojeva raznolike biološke aktivnosti.



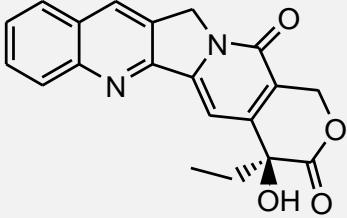
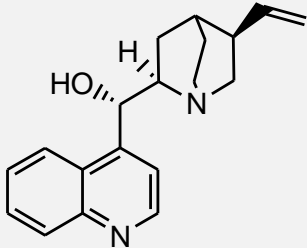
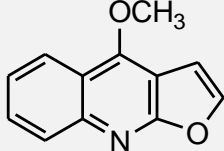
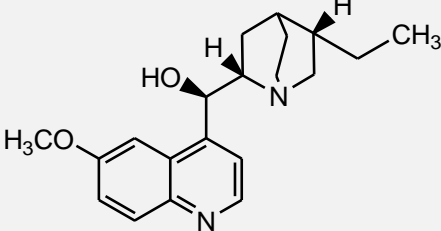
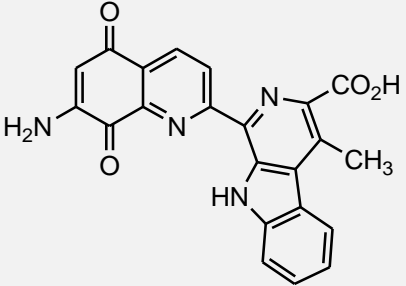
Slika 4. Strukture klorokina **10**, 8-hidroksikinolina **11**, nalidiksodne kiseline **12**, ciprofloksacina **13**, derivata kinolin-8-karboksilne kiseline **14** i metoksatina **15**

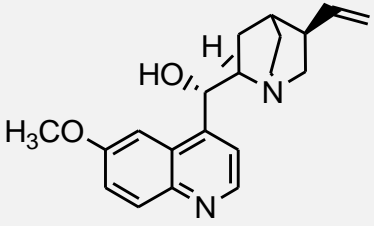
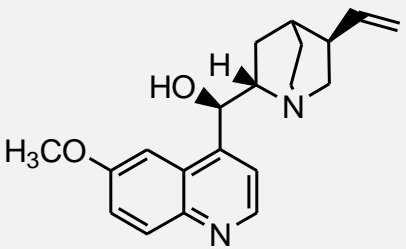
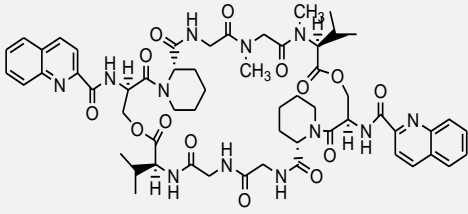
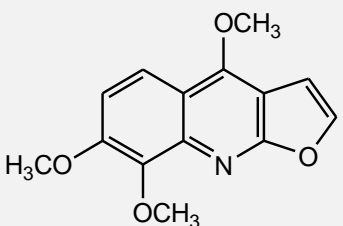
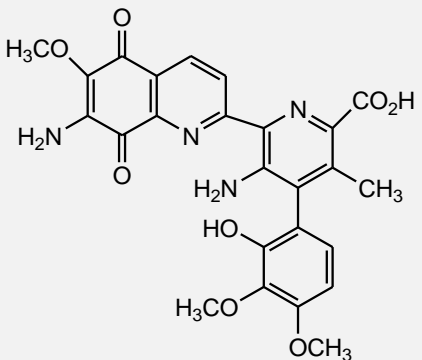
Prirodni i sintetski kinolini pokazuju brojne farmakološke aktivnosti poput antimalarijske, protuupalne, antitumorske, antibakterijske, antimikrobne, anti-HIV aktivnosti, a mogu djelovati i kao antioksidanti, antihipertenzivi, vazodilatatori ili sedativi. U tablici 1. prikazani su odabrani kinolinski alkaloidi s odgovarajućom biološkom aktivnošću.<sup>7</sup>

### 2.1.1.1. Antimalarijska aktivnost

Kinolinski spojevi poznati su po svom antimalarijskom djelovanju zahvaljujući kininu, aktivnom sastojku kore *Cinchona*. Ovisnost o sirovom materijalu za ekstrakciju i mogućnosti modifikacije strukture ovog alkaloida potaknuli su razvoj sintetskih 4-aminokinolinskih antimalarika poput klorokina (CQ) **10** i amodiakina (AQ) **23** te povezanih arilnih aminoalkohola.<sup>8</sup> Klorokin, visoko učinkovit i općenito dobro toleriran, i danas predstavlja najčešće korišten antimalarijski lijek zbog niskih troškova proizvodnje. Upotreba amodiakina

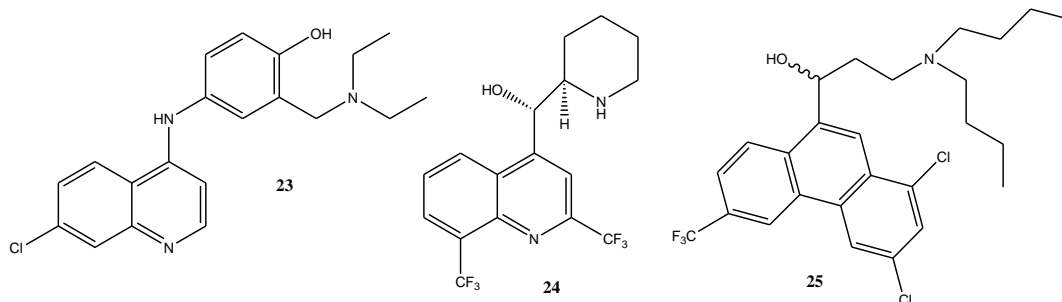
Tablica 1. Kinolinski alkaloidi s biološkom aktivnošću

| Oznaka | Struktura   | Trivijalno ime | Izvor   | Biološka aktivnost                           |
|--------|---|----------------|---|--|
| 16     |    | Kamptotekin    | <i>Camptotheca acuminata</i>                            | Inhibitor topoizomeraze (antitumorski agens) |
| 8      |    | Kinkonin       | <i>Cinchona</i> (tropska biljka roda <i>Rubiaceae</i> ) | Antimalarijsko                               |
| 17     |  | Diktamnin      | <i>Rubiaceae</i>  | Emetik, Anti-amebno                          |
| 18     |  | Hidrokinin     | <i>Cinchona</i>   | Depigmentacijsko                             |
| 19     |  | Lavendamicin   | <i>Streptomyces levendulae</i>                          | Antitumorski antibiotik                      |

|    |   |               |   |  |
|----|---|---------------|---|--|
| 9  |    | Kinidin       | <i>Cinchona</i>                           | Antiaritmik skupine I., Antimalarijsko |
| 7  |    | Kinin         | <i>Cinchona</i>                           | Antimalarijsko, Mišićni relaksant      |
| 20 |   | Sandramicin   | <i>Norcardioides sp. (mikroorganizmi)</i> | Antitumorski antibiotik                |
| 21 |  | Skimianin     | <i>Skimmia japonica</i>                   | Sedativ, Antikonvulzant                |
| 22 |  | Streptonigrin | <i>Streptomyces flocculus</i>             | Antitumorski antibiotik                |



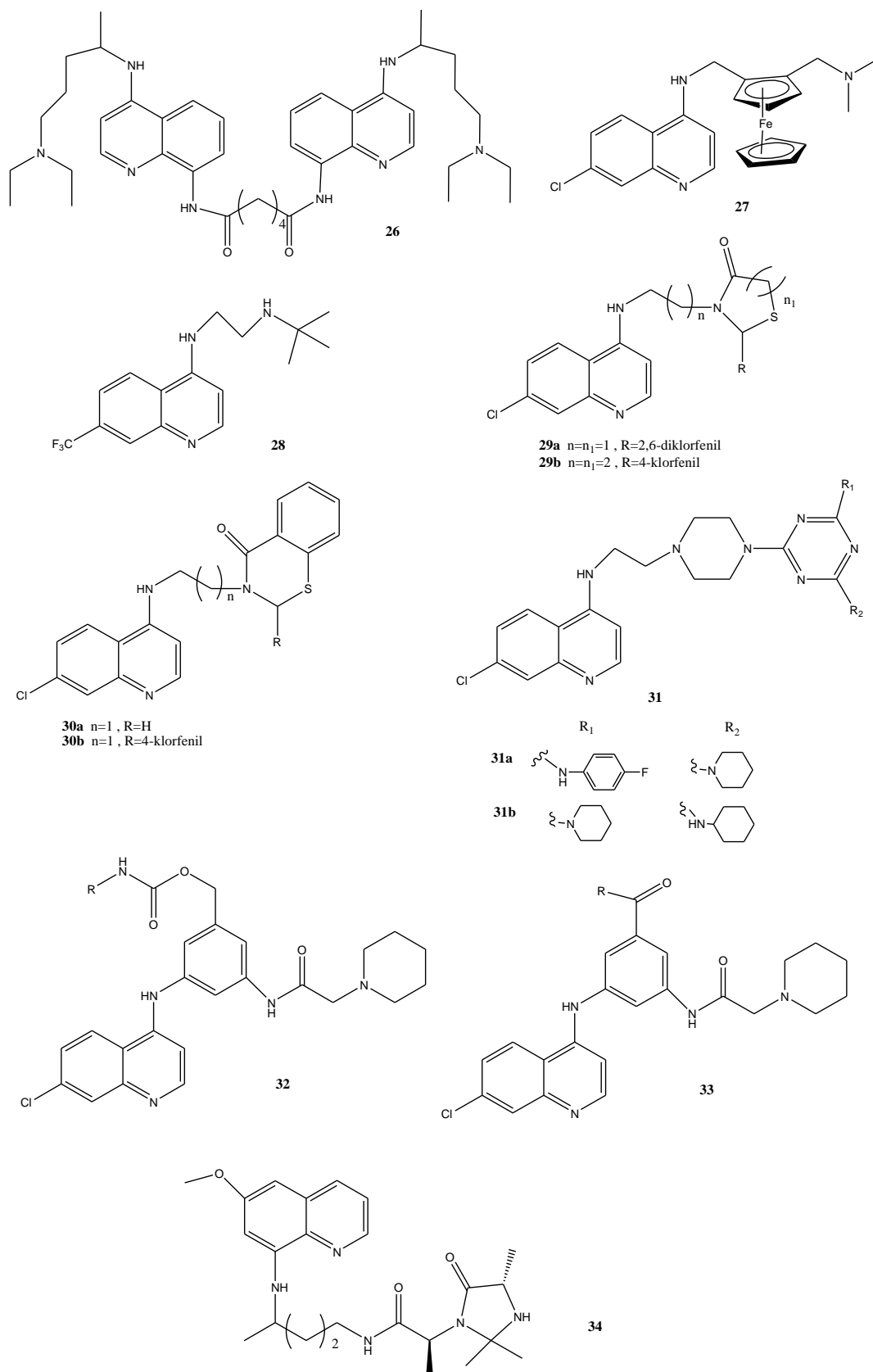
ograničena je 1980-tih godina nakon što je njegovo uzimanje povezano s pojavom agranulocitoze i hepatitisa. Meflokin **24** i halofantrin **25**, arilni aminoalkoholi slični kininu, pripremljeni su iz nužnosti uslijed otpornosti svjetske populacije na klorokin. Meflokin se, unatoč visokim troškovima i pojave neuropsihijatrijskih nuspojava, smatra standardnom terapijom za klorokin-otpornu malariju.<sup>9</sup> Znanstvenici diljem svijeta sintetizirali su velik broj analoga klorokina u nadi da će nadvladati CQ-otporne parazite. Istraživanja su usmjerena ka biskinolinima, 4-aminokinolinima s bočnim lancima te, u novije vrijeme, hibridima 4-aminokinolina.



Slika 5. Strukture antimalarika amodiakina **23**, meflokina **24**, halofantrina **25**

Serijski bis-kinolini, kod kojih su dvije aminokinolinske jedinice združene bis-amidnom vezom, sintetizirana je i testirana na CQS i CQR parazitima soja *P. falciparum in vitro*.<sup>10</sup> Položaj supstitucije i duljina veznog lanca imala su najveći utjecaj na aktivnost spojeva. Spoj **26** pokazao se najaktivnijim, sa  $IC_{50}$  od 120 nM/g protiv FAC8 soja. Studije povezanosti strukture i aktivnosti 4-aminokinolinskih antimalarika predložile su da je 7-klor supstituent zaslužan za antiplazmodijsko djelovanje.<sup>11</sup> Kod aaminskih i urea analoga feroklorokina (FQ, **27**) s antimalarijskom aktivnošću koje su sintetizirali Chibale i suradnici<sup>12</sup>, ugljični lanac klorokina zamijenjen je hidrofobnom ferocenilnom skupinom. Ovaj organometalni antimalarik se pokazao superiornijim od CQ u *in vivo* i *in vitro* testovima. Stocks i suradnici<sup>13</sup> pokazali su da zamjena dietilaminskog dijela CQ sa stabilnom *t*-Bu skupinom ili heterocikličkim prstenom (piperidil, pirolidinil, morfolinil) u kratkolančanim analogima dovodi do značajne antimalarijske aktivnosti. Najviše obećavajući analog **28**, pokazao je dvadeseterostruko povećanje u djelovanju protiv CQR soja sa  $IC_{50}$  vrijednošću od 9,8 nM. Nadalje, provedena su istraživanja efekta uklanjanja potpune bazičnosti tercijarnog dušikova atoma na antimalarijsku aktivnost 4-aminokinolina izmjenom amino skupine malim heterocikličkim sustavima kao što su tiazolidin-4-on (**29**,  $n_1=1$ ), [1,3]tiazinan-4-on (**29**,  $n_1=2$ ) i 2,3-dihidro-benzo[e][1,3]-tiazin-4-on (**30**).<sup>14</sup> Spojevi **29a**, **29b**, **30a** i **30b** su, u odnosu na CQ, pokazali bolju *in vitro* aktivnost s  $IC_{50}$  između 0,013 i 0,065  $\mu$ M. S ciljem stvaranja učinkovitijih antimalarijskih supstanci, na bočni lanac 4-aminokinolina je preko piperazinskog prstena pripojen triazin.<sup>15</sup> Najboljim su se protiv CQS *P. falciparum* pokazali 4-aminokinolintriazini **31a** ( $IC_{50} = 7,15$  ng/mL) i **31b** ( $IC_{50} = 4,43$  ng/mL) sa preko 99% supresije na dan 4 i dan 6 nakon tretmana, *in vivo*, dok je 99,11% protiv CQR *P. yoelii* N-67 postigao spoj **31b**. Sergheraert<sup>16</sup> je objavio antimalarijsku aktivnost na *P. berghei* karbamata **32** i amida **33** serije 4-anilinkinolina, u čiju klasu spojeva spada i prethodno spomenuti amodiakin. Novija ispitivanja<sup>17</sup> *in vitro* antimalarijskog djelovanja 4-amino-7-klorokinolil sulfonamida, urea, tiourea i amida dala su ohrabrujuće rezultate ka prevladavanju CQ otpornosti parazita. Kao potencijalni pro-lijek za sprječavanje prijenosa malarije 2009. godine istraživači<sup>18</sup> su sintetizirali dipeptidne derivate 8-aminokinolina s

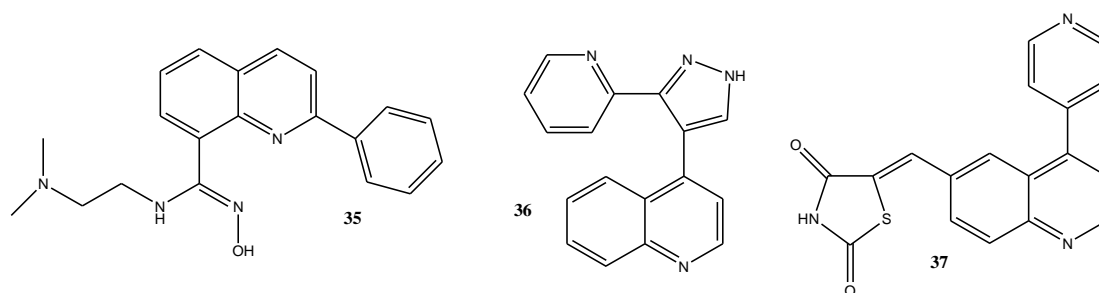
imidazolidin-4-on dijelom, među kojima i spoj **34** koji je na 50  $\mu\text{mol/kg}$  gotovo u potpunosti inhibirao stvaranje oocista parazita.<sup>19</sup>



Slika 6. Strukture derivata kinolina s antimalarijskom aktivnošću

### 2.1.1.2. Antineoplastična aktivnost

Kinolin i njegovi analozi proteklih godina našli su se u središtu istraživanja i razvoja lijekova zbog njihove uloge u inhibiciji tirozin kinaze, proteasoma, tubulin polimerizacije i popravka DNK. Opsežna studija<sup>20</sup> izomernih fenilkinolin-8-karboksamida je pokazala antitumorsku aktivnost nekih spojeva iz serije interkalacijom sa DNK, koja je ovisila o supstituiranom fenilnom prstenu. Naime, 2-izomer N-[(2-dimetilamino)etil]-2-fenilkinolin-8-karboksamid posjedovao je iznimnu aktivnost protiv široka raspona malignih staničnih linija. Nadovezavši se na ovo istraživanje, Atwell i suradnici<sup>21</sup> sintetizirali su niz sličnih spojeva varirajući supstituente na fenilu među kojima se istaknuo spoj **35** sa približno 50%-tnom stopom izlječenja leukemije i solidnih tumora. Atraktivna meta protutumorskih lijekova je tip I TGF- $\beta$  receptora (ALK5) čije ATP-vezno mjesto mogu blokirati male molekule. Da bi identificirao takve molekule, Singh<sup>22</sup> je pregledao preko 200 000 komercijalno dostupnih spojeva u *in silico* bazi. Među 87 spojeva, 4-[3-piridin-2-il-1*H*-pirazol-4-il]-kinolin **36** bio je najefektivniji ALK5 inhibitor ( $IC_{50}$  = 27 nM). Zbog iznimno važne uloge P13K-PKB/Akt puta u biologiji ljudskih tumora, neke komponente ove signalne kaskade poslužile su za sintezu novih lijekova. Primjenom pristupa modeliranja na temelju strukture sintetiziran je spoj **37**, P13K inhibitor zasnovan na kinolinu koji ulazi u interakciju sa katalitičkim lizinom u ATP-veznom mjestu enzima.<sup>23</sup> Velik broj prirodnih kinolinskih alkaloida<sup>24</sup> pokazao je citostatsku aktivnost inhibiranjem topoizomeraze II. Osim već spomenutog antimalarijskog učinka, pojedini analozi klorokina imaju efekta i u protutumorskoj terapiji.<sup>25</sup> Za nekoliko receptora tirozin kinaze poznato je da su aktivirani u tumorskim stanicama, što može pokrenuti rast i progresiju samog tumora. Klasa malih molekula koje se specifično vezuju na EGF receptor i prekidaju signalni put unutar zloćudnih stanica uključuje 4-anilinkinazoline, anilinkinoline i pirololpirimidine.<sup>26</sup> DNK usmjerena alkilirajuća sredstva imaju vrlo bitnu ulogu u kemoterapiji, no zbog nedovoljne selektivnosti i visoke kemijske reaktivnosti, danas se alkilirajući farmakofori povezuju s molekulama visokog afiniteta za DNK. Serija novih N-iperit-kinolin konjugata<sup>27</sup> kod kojih se kinolinski dio molekule veže za mali utor DNK, pokazali su visoku citotoksičnost prema solidnim tumorima, posebice H1299 (rak pluća), CL 1-0 i CL 1-5 (plućni adenokarcinom), PC-3 (rak prostate) i MCF7 (rak dojke).<sup>28</sup>

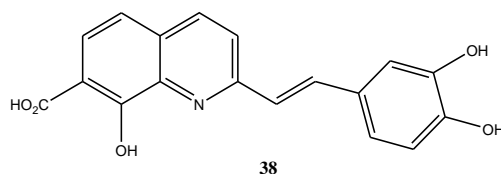


Slika 7. Strukture kinolinskih derivata (**35**, **36**, **37**) s antineoplastičnim djelovanjem

### 2.1.1.3. Antiviralna aktivnost

Iako je kombinacijska terapija s inhibitorima reverzne transkriptaze i proteaze omogućila supresiju replikacije HIV-1 zaraženih osoba tako da se gotovo ne može detektirati u plazmi više od dvije godine, virus i dalje postoji u rezervoarima poput mirujućih T-limfocita ili periferalnih krvnih mononuklearnih stanica. To znači da se AIDS može privremeno kontrolirati, ali ne i

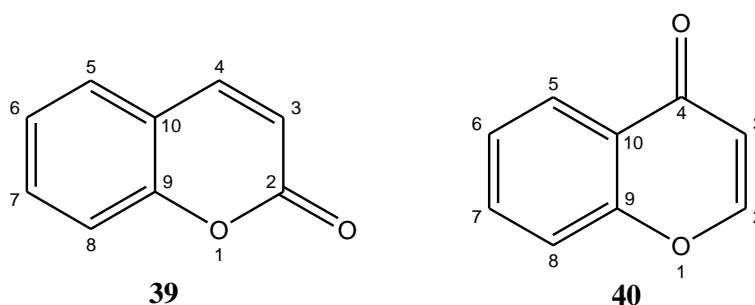
iskorijeniti sadašnjim tretmanom. Nedavno je objavljeno da polihidroksilirani stirilkinolini, npr. spoj **38**, mikromolarni inhibitori trećeg esencijalnog enzima HIV-1 integraze, blokiraju replikaciju virusa u staničnoj kulturi i lišeni su citotoksičnosti.<sup>29</sup> Novo sintetizirani spojevi ove klase s dodatnom kiselinskom grupom ili propanskom kiselinom na položaju 5 kinolina pokazali su poboljšanu anti-integraznu aktivnost i značajnu antimalarijsku aktivnost.<sup>30</sup> Istraživanja kinolinskih tricikličkih derivata dobivenih kondenzacijom kinolina s 1,2,3-triazolom, imidazolom i pirazinom ukazala su na aktivnost protiv RNA virusa HCV i BVDV.<sup>31</sup>



Slika 8. Struktura kinolina (**38**) s antiviralnom aktivnošću

## 2.2. Kumarini

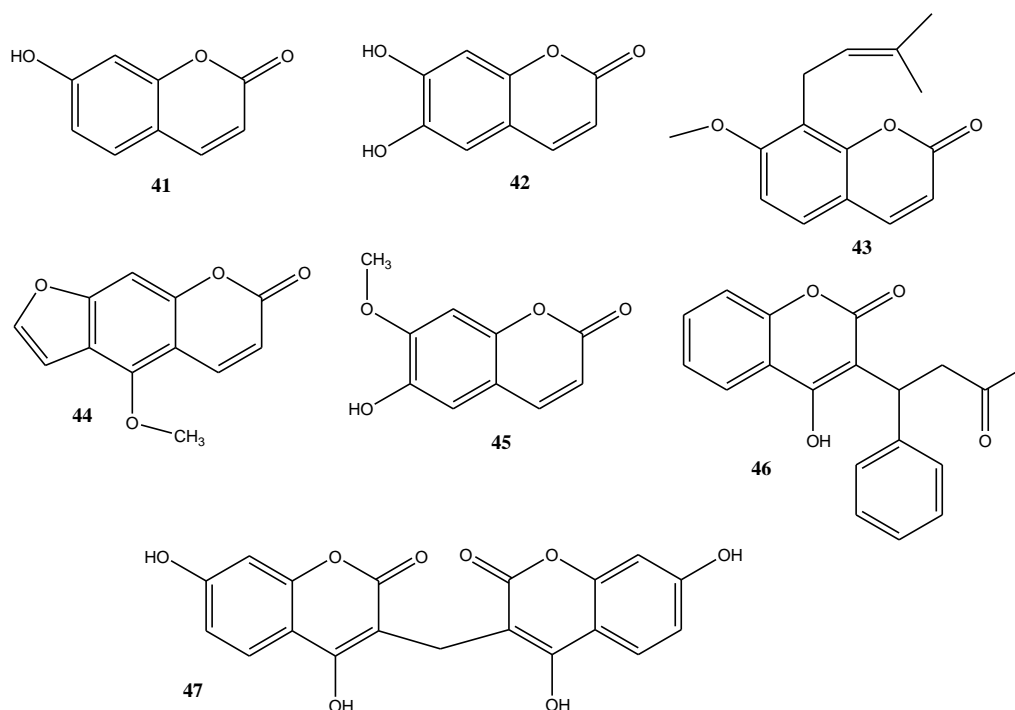
Kumarini (2H-1-benzopiran-2-on, **39**) se svrstavaju u klasu heterocikličkih spojeva benzopirona, a sastoje se od kondenziranog piroanskog i benzenskog prstena te sadrže dva kisikova atoma kao heteroatome. Spajanjem piroanskog prstena s benzenskom jezgrom osim benzo- $\alpha$ -pirona, odnosno kumarina, mogu nastati i benzo- $\gamma$ -pironi poznati kao kromoni (4H-1-benzopiran-4-on, **40**). Jedina razlika u strukturi ovih spojeva jest položaj karbonilne skupine heterocikličkog dijela molekule. Kumarini posjeduju konjugirani sustav bogat elektronima i dobra svojstva prijenosa naboja, a potrebno je napomenuti da su dijelom značajne skupine  $\alpha,\beta$ -nezasićenih karbonilnih spojeva.



Slika 9. Strukture kumarina **39** i kromona **40**

Prije više od dva stoljeća započelo je proučavanje kumarina i njegovih derivata. Jedan od izvora iz kojih je prvi put izoliran kao prirodni produkt, je biljka *Coumarouna odorata* Aube (*Dypteryx odorata*) čije su tonka sjemenke, na francuskom jeziku *coumarou*, zaslužne za imenovanje spoja. Kumarin ima ugodan miris koji podsjeća na vaniliju, no neki autori ga povezuju i s mirisom svježeg pokošenog sijena.<sup>32</sup> Od prve sinteze i identifikacije kumarina 1820. godine započela je i njegova proizvodnja, a koristi se u industriji parfema i aroma od 1868. Kumarini sačinjavaju veliku klasu fenolnih derivata nađenih u biljkama, a preko 1300 kumarina je identificirano kao sekundarnih metabolita u zelenim biljkama, nekim mikroorganizmima i

životinjama. Također, smatraju se fitoaleksinima jer ih biljke proizvode kao obrambene supstance u slučaju napada grabežljivaca. Na molekuli kumarina šest je mjesta raspoloživo za odvijanje supstitucije, stoga je poznat veliki broj derivata kumarina, bilo prirodnih ili sintetičkih, koji pokazuju širok spektar biološke aktivnosti.<sup>33</sup> Obitelj kumarinskih spojeva dijeli se na jednostavne kumarine i policikličke furanokumarine, dihidrofuranokumarine, piranokumarine, fenilkumarine i bikumarine.<sup>34</sup> Biosinteza kumarina polazi od cimetine kiseline, a u laboratoriju je moguće koristiti neku od mnogih sintetskih metoda: Perkinovu, Knoevenagelovu, Pechmannovu i druge.<sup>6</sup> Njegova jednostavnost i prilagodljivost učinila ga je zanimljivom polaznom točkom u nizu aplikacija. Kumarine tako pronalazimo u kozmetici, parfemima, aditivima te pojačivačima arome u duhanu i određenim alkoholnim pićima.<sup>33</sup> Optički uređaji, fluorescentni izbjeljivači i solarni kolektori na neki su način povezani s kumarinima i intenzivno se istražuju. Vrste kumarina izolirane iz mikrobnih izvora, novobiocin iz *Streptomycina* i aflatoksin iz *Aspergillus* vrste, koriste se u sapunima, pasti za zube, parfemima, bojama te kao neutralizatori za gumene i plastične materijale.<sup>35</sup> Međutim, njegova najznačajnija uloga je u prirodnim spojevima, organskoj kemiji i medicinskoj kemiji. Prisutnost kumarinskih derivata je česta u prirodi, gdje ih nalazimo slobodne ili u obliku heterozida. Nalaze se u sjemenkama, nekim eteričnim uljima, voću, povrću, orašastim plodovima, kavi, čaju i vinu.<sup>32</sup> Neki od bitnijih kumarina u biljnom svijetu su umbeliferon **41**, eskuletin **42**, ostol **43**, bergapten **44** i skopoletin **45** koji pokazuju znatnu biološku aktivnost. Velik broj kumarinskih spojeva aktivno je proučavan kao kandidat za lijekove sa snažnim farmakološkim djelovanjem, niskom toksičnošću, visoke bioraspoloživosti, manjom vjerojatnosti od otpornosti, širokog spektra i blagih nuspojava, kao i za njihovu primjenu u pogledu bioaktivnih i dijagnostičkih agenata te supramolekulskih medicinskih lijekova.<sup>32</sup> Neki su kumarinski derivati poput varfarina **46** i dikumarola **47** korišteni kao antikoagulansi zbog sličnosti sa strukturom vitamina K. Tijekom godina, kumarini su prepoznati i prema antioksidativnim, antiviralnim, antimikrobnim, antibakterijskim, protuupalnim, neuroprotektivnim i najznačajnijim antikancerogenim svojstvima.

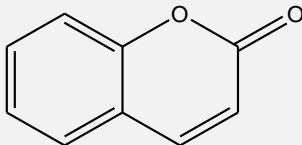
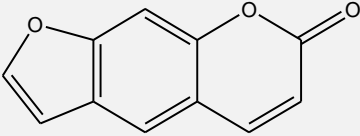


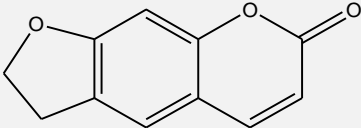
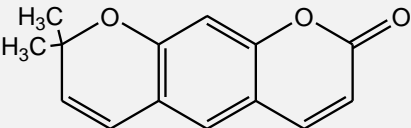
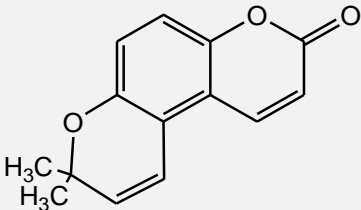
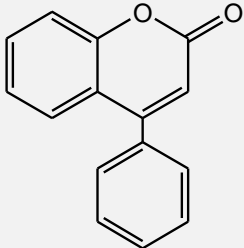
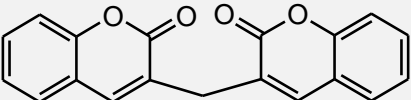
Slika 10. Strukture značajnih kumarinskih derivata

### 2.2.1. Biološka aktivnost kumarina i derivata kumarina

Derivati kumarina pokazuju mnoštvo bioloških aktivnosti, uključujući antikoagulacijsku, protuupalnu, antibakterijsku, antigljivičnu, estrogenu, dermalno fotosenzitirajuću, antimikrobnu, vazodilatacijsku, moluskicidnu aktivnost (ubijanje mekušaca), djeluju kao antihelmintici (najčešće u probavnom sustavu), sedativi i hipnotici, a pokazuju i analgetsko i hipotermičko djelovanje. Ostale biološke aktivnosti uključuju inhibiciju agregacije krvnih pločica, antikancerogenu i anti- HIV aktivnost. Od važnosti je i prevencija bolesti, modulacija rasta, antioksidacijska svojstva dok određeni kumarini mogu uzrokovati značajne promjene u regulaciji imunološkog odgovora, rastu stanica i diferencijaciji.<sup>36</sup> U tablici 2. prikazana su farmakološka svojstva nekih prirodnih kumarina s obzirom na skupinu kojoj pripadaju. Fizikalno-kemijska svojstva kao i terapijska primjena kumarina ovise o vrsti supstituenta i položaju supstitucije.<sup>34</sup>

Tablica 2. Šest skupina prirodnih kumarina i njihova farmakološka svojstva<sup>34</sup>

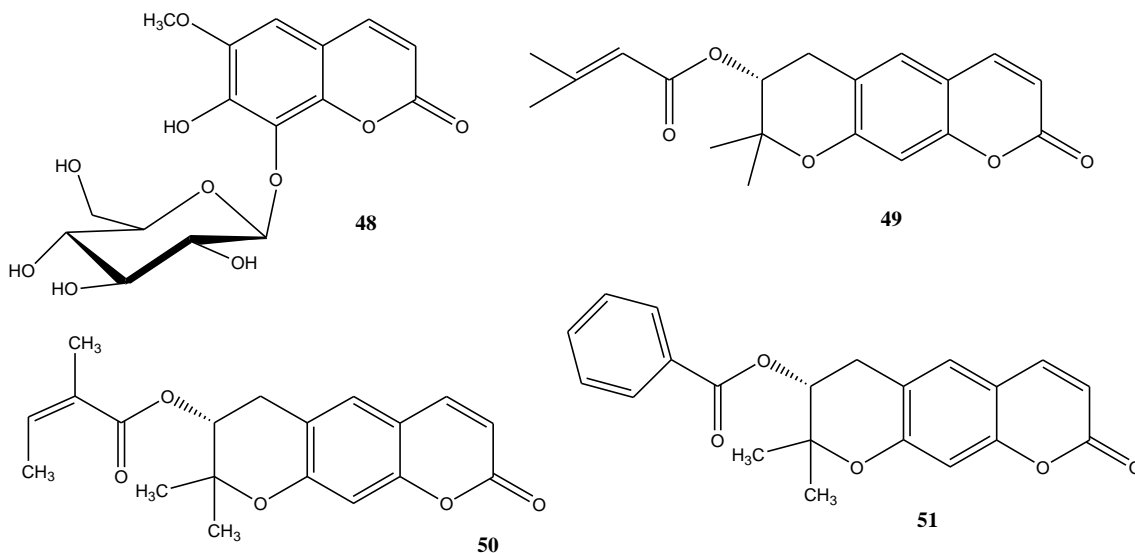
| Ime skupine                 | Općenita struktura  | Primjeri sa farmakološkim svojstvima   |
|-----------------------------|---|--|
| <b>Jednostavni kumarini</b> |  | Kumarin - protuupalna<br>Eskuletin – protuupalna, antikancerogena, antioksidativna, neuroprotektivna<br>Amorezinol – antibakterijska<br>Ostrutin – antibakterijska, antifungalna<br>Ostol – antibakterijska, antifungalna, antikancerogena, antioksidativna, antikonvulzijska<br>Novobiocin – antibakterijska<br>Kumermicin – antibakterijska<br>Kartreuzin – antibakterijska, antitumorska<br>Fraksin – antikancerogena, antioksidativna<br>Umberliferon – antituberkulozna<br>Fraksidin – antihyperglikemična<br>Felodenol A – anti-TB<br>Eskulin, fraksetin - antiadipogenska |
| <b>Furanokumarini</b>       |  | Imperatorin – protuupalna, antibakterijska, antifungalna, antiviralna, antikancerogena, antikonvulzijska<br>Psoralen – antifungalna, anti-TB<br>Bergapten – anti-TB<br>Metoksalen – citokrom P450 inhibitor<br>Marmald, marmelozin   |

|                                       |   |   |
|---------------------------------------|---|---|
| <b>Dihidrofurano - kumarini</b>       |    | Antogenol – antibakterijska<br>Felamidin – antibakterijska, anti-TB<br>Marmezin, rutaretin – anti-TB  |
| <b>Piranokumarini – linearni tip</b>  |    | Grandivitin – antibakterijska<br>Agazilin – antibakterijska<br>Agelinol benzoat - antibakterijska<br>Ksantiletin – anti-TB  |
| <b>Piranokumarini – angularni tip</b> |    | Inofilum A, B, C, E, P, G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub> – antiviralna<br>Kalanolid A, B, F – antiviralna<br>(+)-Dihidrokalanolid A, B – antiviralna<br>Pseudokordatolid C - antiviralna |
| <b>Fenilkumarini</b>                  |   | Izodispar B – antitumorska<br>Disparidiol B – antitumorska  |
| <b>Bikumarini</b>                     |  | Dikumarol - antikoagulacijska   |

### 2.2.1.1. Antioksidativna aktivnost

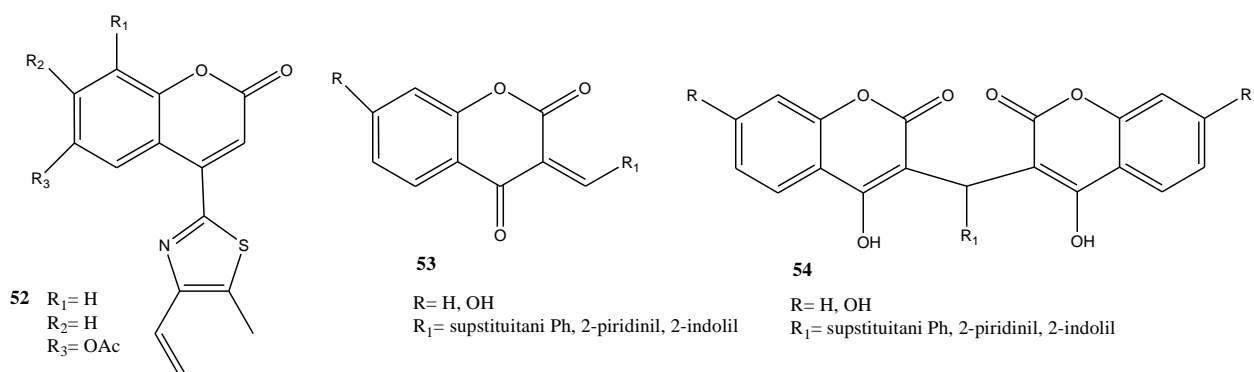
Slobodni radikali različitih spojeva konstantno se oslobađaju u našem tijelu uslijed specifičnih metaboličkih procesa i bivaju uhvaćeni zahvaljujući učinkovitom antioksidativnom sustavu. Međutim, kada količina oslobođenih radikala prekorači sposobnost antioksidativnog mehanizma, dolazi do oksidativnog oštećenja na tkivima i biomolekulama te u konačnici pojave raznih bolesti, a posebice degenerativnih.<sup>37</sup> Mnogi kumarini i njihovi derivati imaju sposobnost "hvatanja" slobodnih radikala (eng. *radical scavenging*), osobito reaktivnih kisikovih čestica (ROS) i reaktivnih dušikovih čestica (RNS), i na taj način ih uklanjaju iz organizma. Reaktivne kisikove čestice su male molekule ili ioni koji se formiraju nepotpunom redukcijom kisika i uključuju slobodne radikale kao što su superoksidni anion ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroksilni radikal ( $OH^{\cdot}$ ), peroksidni radikal ( $RO_2^{\cdot}$ ) i alkoksilni radikal ( $RO^{\cdot}$ ), zatim neradikalne čestice koje su oksidacijska sredstva i/ili lako prelaze u radikale poput vodikova peroksida ( $H_2O_2$ ), hipokloraste kiseline ( $HOCl$ ), ozona ( $O_3$ ) i singletnog kisika ( $^1O_2$ ). Ukoliko se nespareni elektron nalazi na atomu dušika, govori se o reaktivnim dušikovim česticama među kojima su

dušični oksid ( $\text{NO}^-$ ) ili dušični dioksid ( $\text{NO}_2^-$ ).<sup>38</sup> Eksperimentalni podaci potvrđuju da tumorske stanice pokazuju povišene količine ROS-a i da imaju dokazano važnu ulogu u inicijaciji staničnog umnažanja, metastaziranja, angiogeneze, genetske modifikacije i otpornosti na apoptozu tumorskih stanica. Fraksin **48** pokazuje sposobnost hvatanja slobodnih radikala pri visokim koncentracijama (0,5 mM) i efekt zaštite stanica od  $\text{H}_2\text{O}_2$ -posredovanog oksidativnog stresa.<sup>39</sup> Eskuletin **42** također pokazuje antioksidativna svojstva.<sup>40</sup> Antioksidativna aktivnost grandivitina **49**, agazilina **50**, agelinol benzoata **51** i ostola **43** procijenjene su prema njihovom učinku na leukocitima u krvi čovjeka.<sup>41</sup>



Slika 11. Strukture prirodnih kumarina s antioksidativnom aktivnošću

Choudhary i suradnici<sup>42</sup> sintetizirali su seriju novih benzotiazolnih derivata kumarina. Spoj **52** pokazao je dobru sposobnost hvatanja 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikala pa je ispitan njegov učinak na stanice Ehrlich Ascites karcinoma (EAC) u miševa. Budući da oksidativni stres dovodi do oštećenja makromolekula poput lipida, može uzrokovati *in vivo* lipidnu preoksidaciju. U EAC induciranim miševima spoj **52** smanjio je povišenu razinu lipidne preoksidacije kao i povećao sadržaj enzima GST. Kumarinski derivati (**53**) sa snažnim antioksidativnim svojstvima (aktivnost hvatanja radikala  $\text{EC}_{50}=0,75-1,74$  mmol/l) dodani su duhanu u cigaretama kako bi se smanjio štetan utjecaj pušenja na ljudsko tijelo, a za istu primjenu naknadno su sintetizirani spojevi **54** ( $\text{EC}_{50}=0,21-1,65$  mmol/l).<sup>43</sup>

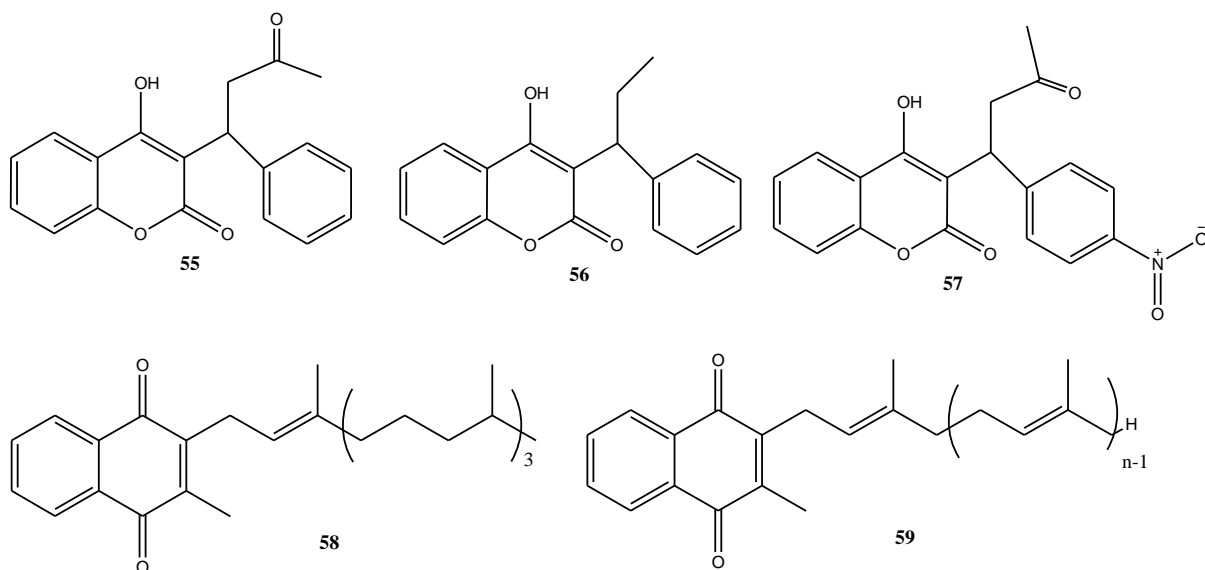


Slika 12. Strukture spojeva **52**, **53** i **54** s antioksidativnom aktivnošću



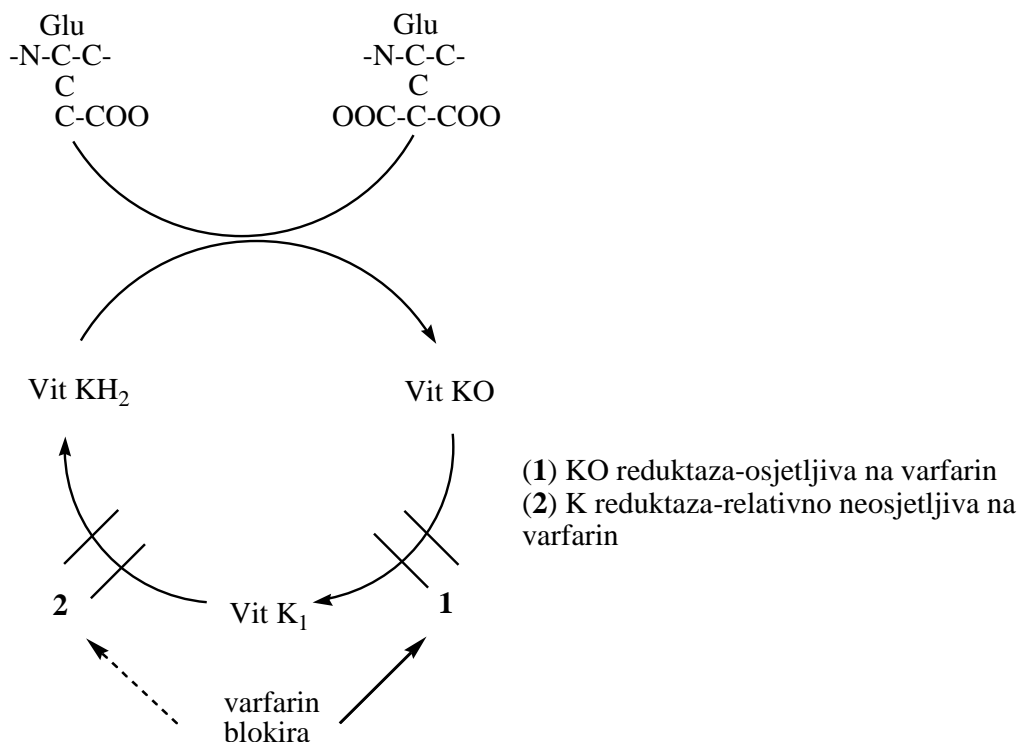
### 2.2.1.2. Antikoagulacijska aktivnost

Antikoagulacijski lijekovi smanjuju moć zgrušavanja krvi zbog čega su iznimno važni za sprječavanje tromboemboličkih događaja poput moždanog udara i srčanog infarkta.<sup>44</sup> Glavna su potpora u kardiovaskularnoj terapiji, a sve do nedavno jedini dostupni oralni antikoagulansi bili su antagonisti vitamina K, VKA, koji su se radi jedinstvenog mehanizma i dugog vremena poluživota pokazali prikladnim za produljenu uporabu. Najčešće korišteni VKA danas su 4-hidroksikumarini, što uključuje varfarin **55**, fenprokumon **56** i acenokumarol **57**. Kao prototip za njihovu sintezu poslužio je dikumarol **47**, bikumarin otkriven u slatkoj djetelini sa značajnom antikoagulacijskom aktivnošću.<sup>45</sup>



Slika 13. Vitamini K<sub>1</sub> **58** i K<sub>2</sub> **59** sa 4-hidroksikumarinskim derivatima antikoagulacijske aktivnosti varfarinom **55**, fenprokumonom **56** i acenokumarolom **57**

Kumarini su antagonisti vitamina K koji izazivaju antikoagulacijski efekt interferencijom sa cikličkom interkonverzijom vitamina K i njegovih 2,3 epoksida. Vitamin K je kofaktor za posttranslatornu karboksilaciju ostataka glutamata u  $\gamma$ -karboksiglutamate na N-terminalnim regijama vitamin K-zavisnih proteina. Za biološku aktivnost tih koagulacijskih faktora (faktori II, VII, IX i X) nužna je  $\gamma$ -karboksilacija. Inhibicijom ciklusa pretvorbe vitamina K, čime nastaju jetreni produkti djelomično karboksilnih i dekarboksilnih proteina sa smanjenom prokoagulacijskom aktivnosti, kumarini stvaraju svoj antikoagulacijski efekt. Reakcija koagulacije zahtijeva reduciranu formu vitamina K (KH<sub>2</sub>), molekularni kisik i ugljikov dioksid, a povezana je s oksidacijom KH<sub>2</sub> vitamina u epoksid vitamina K. Reduktaza će u dva koraka prevesti epoksid vitamina K u vitamin KH<sub>2</sub>. Prvi, osjetljiv na antagoniste vitamina K, reducira epoksid vitamina K u vitamin K<sub>1</sub> **58** dok drugi reducira vitamin K<sub>1</sub> u vitamin KH<sub>2</sub> i relativno je neosjetljiv na VKA. Tretman antagonistima vitamina K, kao što je kumarinski derivat varfarin čiji je mehanizam djelovanja prikazan na slici 13., dovodi do iscrpljivanja količine vitamina KH<sub>2</sub> i time limitira proces  $\gamma$ -karboksilacije vitamin K-ovisnih koagulacijskih proteina.<sup>34</sup>

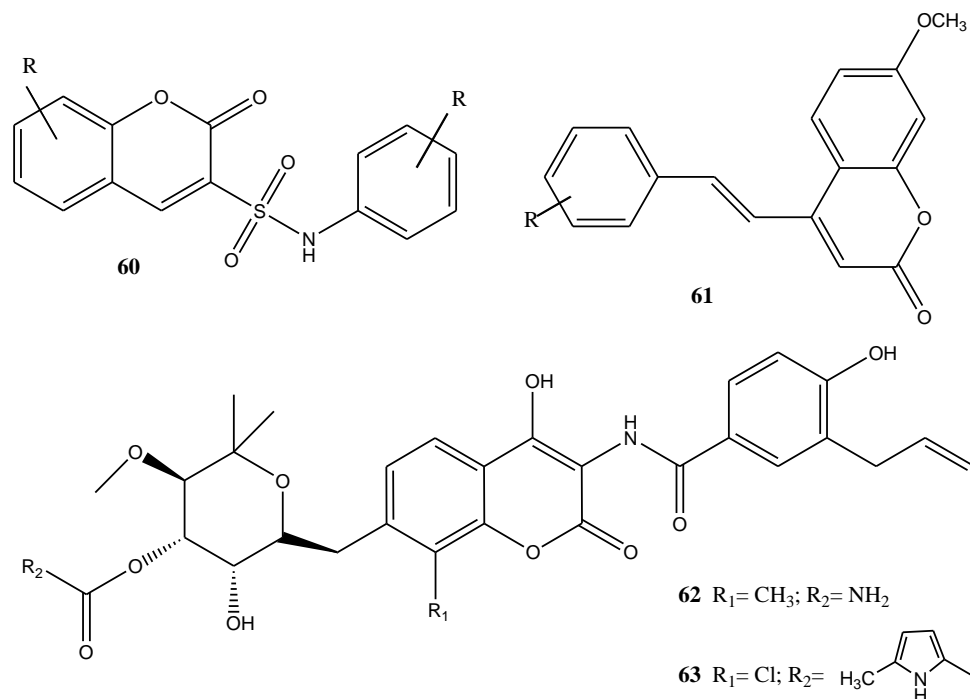


Slika 14. Djelovanje varfarina na ciklus pretvorbe vitamina K

### 2.2.1.3. Ostale biološke aktivnosti

Brojna istraživanja su provedena na spojevima s kumarinskom okosnicom čija je potencijalna antitumorska aktivnost povezana s njihovom ulogom kao antimitotičkih agenata, inhibitora proteinskih kinaza i karboanhidraze, zaustavljača staničnog ciklusa, inhibitora angiogeneze, inhibitora telomeraze ili specifičnih tumorskih enzima poput aromataze i sulfataze.<sup>46</sup> Kumarin i njegovi metaboliti 7-hidroksikumarin, 3-(N-aril)sulfonamidkumarin **60**, stilben-kumarini **61** zaustavljaju proliferaciju mnoštva staničnih linija porijeklom iz čovjeka *in vitro*, a već je dokazana aktivnost kumarina protiv raka prostate, malignog melanoma i metastatskog renalnog staničnog karcinoma. Druge studije su pokazale da konzumacija namirnica koje sadrže kumarin pruža određenu zaštitu od inicijacije hepatokarcinogeneze u štakora uzrokovane aflatoxinom B1, još jednim heterociklom koji sadrži kumarinsku jezgru. Klasa aflatoksina općenito je fiziološki vrlo aktivna te dokazano djeluje kancerogeno na jetru. Osim u liječenju raka, kumarini se mogu koristiti u tretmanima ublažavanja nuspojava izazvanih radioterapijom. Protuupalna svojstva kumarina povezana su pak sa njihovom sposobnosti aktivacije makrofaga, što otvara mogućnost upotrebe u tretmanima edema, osobito jer se kumarin pokazao dobrim u smanjenju oteklina nakon različitih trauma i bolesti, kako kod ljudi, tako i kod životinja. Kumarin smanjuje razinu glukoze u krvi te ne samo da inducira izoenzim aldo-ketoreduktaze (aflatoxin B1-aldehid reduktaza) koji sudjeluje u metabolizmu aflatoksina, nego GSTA5 (glutation S-transferaza alfa 5) i druge enzime koji metaboliziraju lijekove. Ostol **43** sprječava progresiju hepatitisa C u hepatokarcinomu kod ljudi, a njegovi derivati s većom topivosti u vodi nedavno su predloženi za upotrebu kao hepatoprotektivni lijekovi. Ostolu slična svojstva inhibicije agregacije krvnih pločica ima sintetički kumarin, klorikromen, koji inhibira agregaciju *in vivo* i *in vitro* te izaziva vazodilataciju. Određeni dikumarini, posebice oni sa hidrofobnim skupinama, potentni su inhibitori HIV-1 integraze dok 5,7,4'-trihidroksi-4-

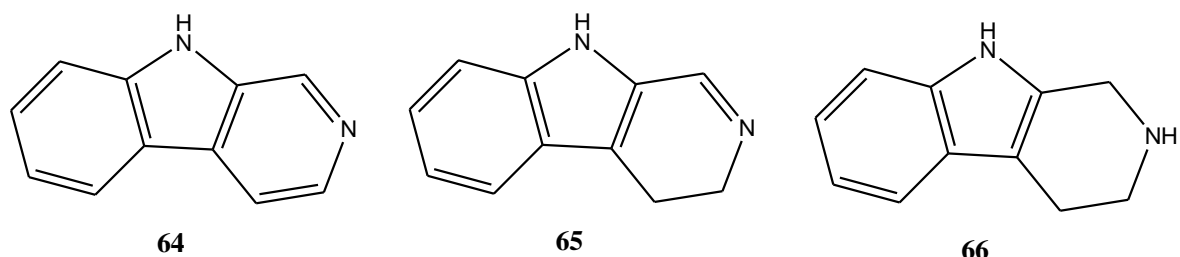
stirilkumarin pokazuje značajnu antivirusnu aktivnost prema *Herpes simplex* tipu. Geiparvarin pokazuje značajnu *in vitro* citostatsku aktivnost. Djelovanje nekih prirodnih i sintetičkih kumarina kao inhibitora kolinesteraze od interesa je u liječenju Alzheimerove i Parkinsonove bolesti. Novobiocin **62** i klorobiocin **63** su antibiotici prirodnog porijekla koji se ubrajaju u hidroksilirane kumarine, a inhibiraju DNK girazu i pokazuju široki spektar aktivnosti prema Gram-pozitivnim bakterijama.<sup>36</sup>



Slika 15. Strukture kumarina s antitumorskim djelovanjem 3-(N-aril)sulfonamidkumarina **60** i stilben-kumarina **61** te prirodnih antibiotika novobiocina **62** i klorobiocina **63**

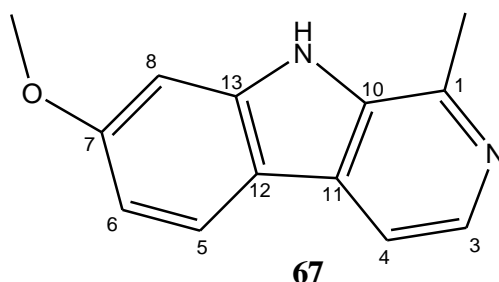
### 2.3. Harmini

*B*-karbolinski alkaloidi sačinjavaju veliku skupinu prirodnih i sintetskih indolnih alkaloida koji posjeduju tricikličku pirido[3,4-b]indolnu strukturu. Proteklih godina, ova klasa fluorescirajućih molekula s afinitetom vezivanja na lijekove i neobičnih fotofizikalnih svojstava, pokazala se od velikog interesa. Fotofizikalna svojstva  $\beta$ -karbolina pod snažnim su utjecajem dvaju prisutnih dušikovih atoma; piridinskog i pirolnog.<sup>47</sup> S obzirom na zasićenost dušikova atoma šesteročlanog prstena, razlikuju se nezasićeni  $\beta$ -karbolini pod imenom potpuno aromatskih-karbolina **64**,  $\beta$ C, i djelomično ili potpuno zasićeni članovi poznati kao dihidro- $\beta$ -karbolini **65**, DH $\beta$ C, odnosno tetrahidro- $\beta$ -karbolini **66**, TH $\beta$ C. Mnogi jednostavni i složeni  $\beta$ -karbolini sa zasićenim ili nezasićenim tricikličkim prstenastim sustavom izolirani su i identificirani iz raznih kopnenih biljaka kao značajni bioaktivni konstituenti. Njihova prisutnost je, osim u pojedinim morskim beskralježnjacima i plaštenjacima, potvrđena u tkivima i tjelesnim tekućinama sisavaca.<sup>48</sup> Strukturna jednostavnost ove klase alkaloida krije mnoštvo *in vitro* i *in vivo* efekata na ljude i životinje zbog čega su od biokemijske i farmakološke važnosti.<sup>49</sup>



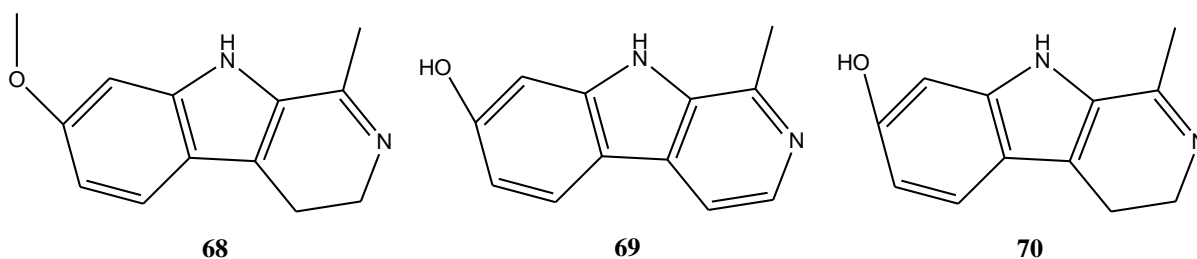
Slika 16. Strukture  $\beta$ -karbolina (norharmana) **64**, 3,4-dihidro- $\beta$ -karbolina **65** i TH $\beta$ C **66**

Harmin **67** (1-metil-7-metoksi-9H-pirido[3,4-b]indol) je najpoznatiji alkaloid iz reda  $\beta$ -karbolinskih spojeva. Prvotno je izoliran iz sirijske rutvice (*Peganum harmala*) rasprostranjene u područjima Srednjeg Istoka i Sjeverne Afrike te ondje korištene kao tradicionalni biljni pripravak za izazivanje menstruacije.<sup>50</sup> U Sjeverozapadnoj Kini ekstrakt sjemenki *Peganum harmala*, već se stotinama godina koristi za liječenje malarije, ali i različitih vrsta raka probavnog sustava.<sup>51</sup>



Slika 17. Harmin **67**

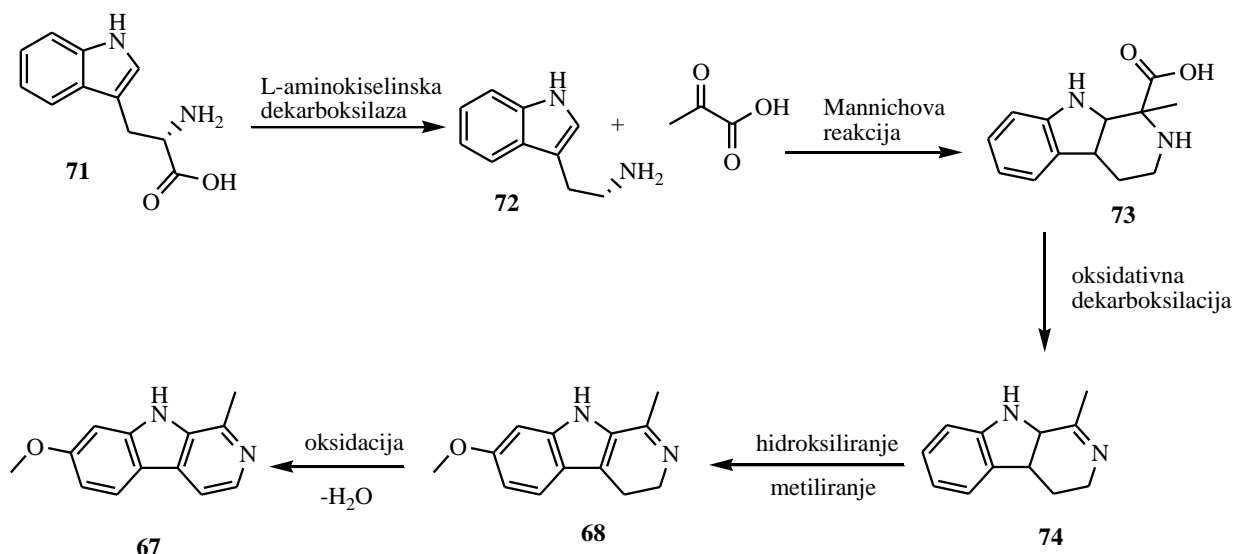
Brojni autori povezali su *P. harmala* s antibakterijskom, antimutagenom, antioksidativnom i antivirusnom aktivnošću, a istraživanja potaknuta uporabom u orijentalnoj medicini pokazala su njihov učinak *in vitro* i *in vivo* protiv različitih tumorskih staničnih linija. Biološki aktivne komponente, ekstrahirane uglavnom iz korijena i sjemena ove biljke, su  $\beta$ -karbolini: najaktivniji harmin **67**, zatim harmalin **68**, harmol **69** i harmalol **70**. Uz *P. harmala*, harmin je izoliran i iz *P. nigellastrum*<sup>52</sup> i *P. multiseicum*.<sup>53</sup>



Slika 18. Strukture derivata harmina prisutnih u sjemenkama *P. harmala*

$\beta$ -karbolinski alkaloidi, harmin i harmalin pokazuju visoku citotoksičnost prema nekoliko tipova tumorskih linija *in vitro* te antitumorski efekt u *in vivo* modelu inhibicijom DNA

topoizomeraza i interferencijom DNK sinteze.<sup>54</sup> Harmin i drugi, njemu slični,  $\beta$ -karbolini od potencijalnog su djelovanja i u tretiranju poremećaja poput depresije i Alzheimerove bolesti.<sup>55</sup> Biološka aktivnost harmina obuhvaća ne samo interakciju sa DNK, već i selektivno djelovanje na specifične enzimске sustave i receptore što rezultira u raznovrsnosti farmakoloških aktivnosti. Njegova biosinteza provodi se tzv. Pictet-Spenglerovom kondenzacijskom reakcijom indoletilamina ili triptofana sa aldehidima ili  $\alpha$ -keto kiselinama, što se pokazalo kao najučinkovitiji put do tetrahidro- $\beta$ -karbolina koji se zatim oksidira (dehidrogenira) dajući odgovarajući  $\beta$ -karbolin. Na slici 18. prikazana je biosinteza harmina iz L-triptofana.<sup>56</sup>



Slika 19. Shematski prikaz biosinteze harmina

L-triptofan **71** uz djelovanje enzima L-aminokiselinske dekarboksilaze prelazi u triptamin **72** koji podliježe Mannichovoj reakciji sa acetil-karboksilnom kiselinom. Kao produkt dobiva se heksahidro- $\beta$ -karbolinski prsten s karboksilnom skupinom u položaju 1 **73**. Oksidativnom dekarboksilacijom se uklanja karboksilna skupina i nastaje tetrahidro- $\beta$ -karbolin **74**. Hidroksiliranjem i metiliranjem spoja **74** dobiva se harmalin **68** čijom oksidacijom u konačnici nastaje harmin **67**.

### 2.3.1. Biološka aktivnost harmina i derivata harmina

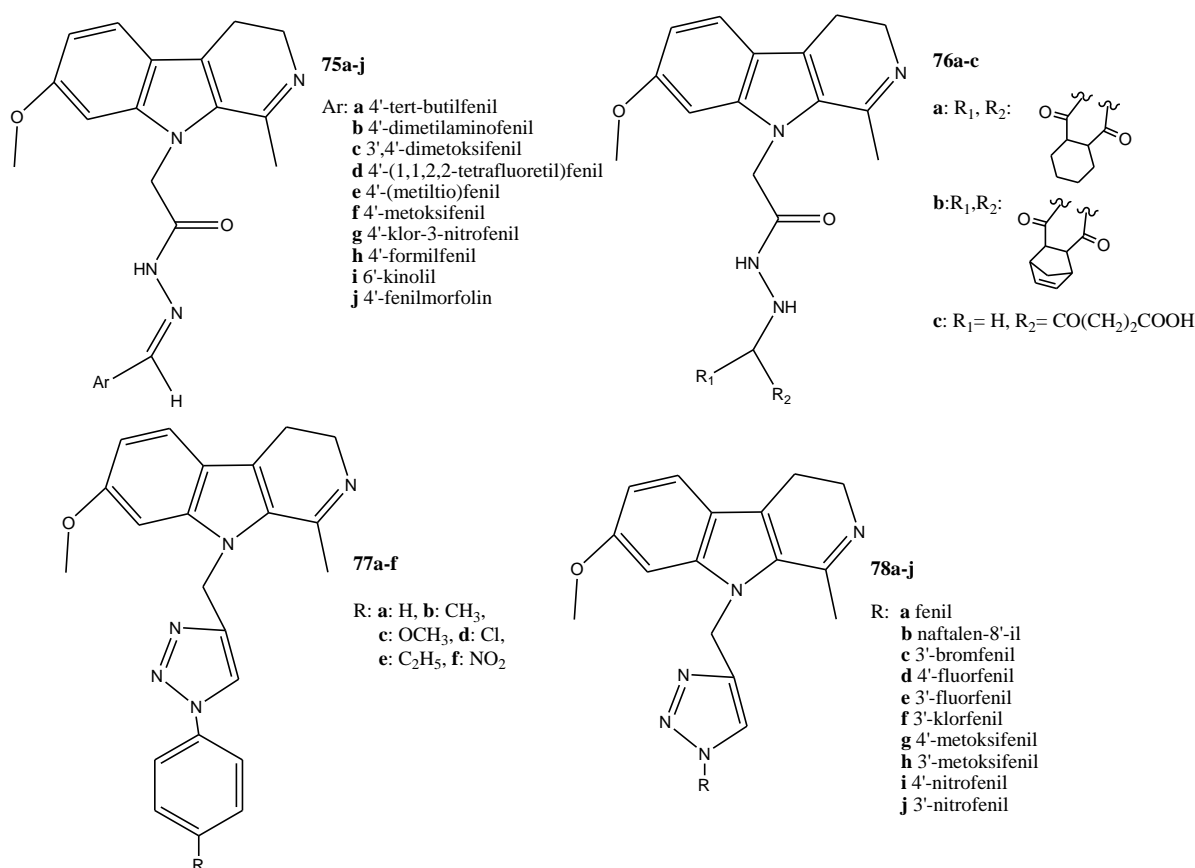
Niz dosadašnjih istraživanja pokazao je da harmin i njegovi derivati posjeduju opsežan raspon biokemijske aktivnosti koja uključuje interakciju s DNK heliksom, specifičnim enzimskim i raznim receptorskim sustavima. Biološki i farmakološki učinci  $\beta$ -karbolina u prokariotskim i eukariotskim stanicama dijelom se pripisuju sposobnosti DNK interkalacije koja prouzrokuje promjene u DNK replikaciji ili utječe na enzimске aktivnosti procesa popravka DNK. Među različitim  $\beta$ -karbolinima koji djeluju na aktivnost važnih enzima, harmin je poznat kao inhibitor enzima topoizomeraze I, specifičnih ciklin-zavisnih kinaza (CDK1, CDK2, CDK5) i monoamin oksidaze A (MAO-A), a potentni je inhibitor 5-hidroksitriptamin-inducirane agregacije ljudskih trombocita. Receptorski sustavi također su važne proteinske mete antagonista  $\beta$ -karbolina. Za dio značajne biološke aktivnosti ovih alkaloida, zaslužan je visok afinitet prema 5-

hidroksitriptaminskim (5-HT), dopaminskim (DA), benzodiazepinskim (BZ) i imidazolinskim receptorima. Mnogobrojni farmakološki efekti harmina poput antimikrobne, antivirusne, antiparazitske, protugljivične i antioksidativne aktivnosti već su potvrđeni, kao i njegov halucinogeni, antianksiozni, i antikonvulzijski utjecaj na centralni živčani sustav. Danas harmin postaje sve zanimljiviji zbog svog antitumorskog potencijala *in vitro* i *in vivo*.<sup>48</sup>

### 2.3.1. Antitumorska aktivnost

Utjecaj različitih supstituenata u položajima 1, 2, 6, 7 i 9 strukture harmina na njegovu biološku aktivnost kao antitumorskih agenata proučavali su Ishida i suradnici.<sup>57</sup> Studije odnosa strukture i aktivnosti (SAR) provedene na harminu dovele su do sljedećih zaključaka: (1) uvođenje alkoksi supstituenta u položaj 7 povećava citotoksičnu aktivnost; (2) duljina alkoksi lanca utječe na citotoksičnost, ali i na specifikaciju staničnih linija; (3) N<sup>9</sup>-alkilirani derivati harmina pokazali su snažan citotoksični učinak; (4) N<sup>2</sup>-alkilirani β-karbolini posjeduju specifičnu citotoksičnu aktivnost. Sukladno tome, sintetizirani su N<sup>9</sup>-alkil i aril alkil supstituirani harmini čija je evaluacija biološke aktivnosti ukazala na značajni antitumorski učinak u miševa sa Lewis plućnim karcinomom i sarkomom 180.<sup>58</sup> U eksperimentalnom su životinjskom modelu, nažalost, uočeni i neurotoksični efekti vrijedni pažnje poput trzanja i tremora. Na temelju SAR studija, utvrđeno je da prikladni 9-supstituenti značajno poboljšavaju antitumorsku aktivnost *in vitro* i *in vivo* dok bi metoksi skupina u položaju 7 mogla imati krucijalnu ulogu u određivanju neurotoksičnosti. Isti su autori<sup>49</sup>, evaluacijom harmina i 9-supstituiranih analoga, došli do rezultata koji govore o korelaciji citotoksičnosti i inhibicije topoizomeraze I ili kapaciteta vezivanja na DNK. Drugim riječima, sposobnost sintetiziranih spojeva da se ponašaju kao interkalatori i Topo I inhibitori povezana je s njihovom antitumorskom aktivnošću. Ispitivanja su također potvrdila očekivano; veći afinitet 9-supstituiranih derivata harmina prema DNK i izvanredni inhibicijski efekt Topo I enzima. Novije, sintezom harminskih derivata sa raznovrsnim supstituentima u položaju 2, 7 i 9 β-karbolinske jezgre, otkriveno je da N<sup>2</sup>-benzilni supstituent ima važnu funkciju u podešavanju citotoksičnosti.<sup>59</sup> Harmin može inhibirati protein raka dojke BCRP zbog čega je korišten za prevladavanje otpornosti prema nekim lijekovima<sup>60</sup>, a u više navrata pripisana mu je inhibicija proteinske dvojno–specifične tirozin fosforilacijom-regulirane kinaze 1A (DYRK1A). Prekomjerna ekspresija ovog enzima umiješana je u nekontroliranu staničnu proliferaciju i tumorogenezu.<sup>61</sup> Harmin-posredovana inhibicija DYRK1A inducira aktivaciju kaspaze-9 (citoplazmatske cisteinil-aspartatno-specifične endoproteaze) što dovodi do masivne apoptoze u različitim tipovima stanica čovjeka.<sup>62</sup> Apoptoza, programirana stanična smrt, prirodni je proces nužan za razvoj organizma i održavanje stanične homeostaze odnosno ravnoteže između gubitka i stvaranja stanica normalnog tkiva. Otprilike svi antikancerogeni agensi stimuliraju apoptozu kako bi se uklonile maligne stanice. Bez obzira na antiproliferativna i citotoksična svojstva, razvoj kliničke aplikacije harmina otežan je zbog znatnih neurotoksičnih efekata u životinjskom modelu. Kako bi se pronašle nove vodeće molekule s boljim antitumorskim učinkom i reducirane neurotoksičnosti te rasvijetlila veza strukture i antitumorske aktivnosti derivata harmina, 2013. godine sintetizirana je serija spojeva s β-karbolinskom jezgrom modificiranom alkoksi lancem u 7, benzilnom skupinom u 2 i alkilnim supstituentom u položaju 9.<sup>63</sup> Zaključeno je da neurotoksičnost potječe od 7-metoksi farmakofora i njegovom zamjenom sa velikim alkoksi skupinama moguće je eliminirati taj nepoželjni efekt. Modifikacija metoksi supstituenta na položaju 7 s oksimskim derivatima kod spojeva 2DG-Har-01 i MET-Har-02 dodatno je povećala antitumorsku aktivnost i staničnu sigurnost u usporedbi sa harminom.<sup>64</sup> Filali i suradnici<sup>65</sup> sintetizirali su nove hidrazone **75a-j** i dihidrazide **76a-c** iz harmina, koristeći seriju

aromatskih aldehida i cikličkih anhidrida, a pripremljeni su i novi 1,2,3-triazolni derivati **77a-f** reakcijom Cu(I) katalizirane 1,3-dipolarne cikloadicije prethodno propargiliranog harmina. Većina hidrazonskih derivata **75a-j** pokazala je dobru citotoksičnu aktivnost prema MCF-7 (rak dojke), HCT-116 (rak crijeva) i OVCAR-3 (rak jajnika) staničnim linijama, posebice **75a** kod kojeg je *p*-tert-butilfenil vezan za hidrazonsku funkciju. Spoj **75a**, čije je djelovanje protiv OVCAR-3 linije ( $IC_{50} = 2,5$  mM) nadmašilo ostale hidrazonske analoge, čak 7 puta je aktivniji od harmina ( $IC_{50} = 18$  mM). Međutim, serija hidrazona neaktivna je prema AChE enzimima (acetilkolinesteraze) dok umjerena aktivnost koju su neki derivati pokazali prema 5-lipoksigenazi (5-LOX) ovisi o prirodni supstituirane arilne skupine. Niti konverzija hidrazida u dihidrazide **76a-c** nije poboljšala anti-AChE i anti-5-LOX aktivnost. Među triazolima, spoj **77a**, na čiji je triazolni prsten vezan fenilni supstituent, pokazao je zanimljiv citotoksični učinak ( $IC_{50} = 6,3$  mM) prema MCF-7 staničnoj liniji. Najizraženiju aktivnost protiv acetilkolinesteraze i 5-lipoksigenaze nisu imali triazolni derivati harmina već njihov prekursor  $N^9$ -propargilirani harmin ( $IC_{50} = 1,9$  mM).



Slika 20. Strukture novih derivata harmina: hidrazona **75a-j**, dihidrazida **76a-c**, 1,2,3-triazola **77a-f** i **78a-j**

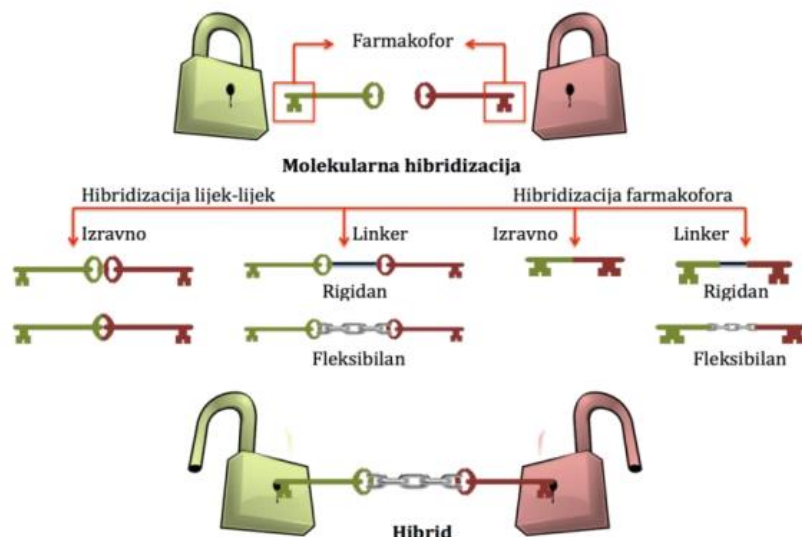
Novo istraživanje<sup>66</sup> antiproliferativne aktivnosti harmina i njegovih 1,2,3-triazolnih analoga **78a-j** prema malignim staničnim linijama dojke (HBL-100), pluća (A549), crijeva (HT-29 & HCT-116) i cerviksa (HELA) polučilo je dobre rezultate. Harmin je pokazao najveću citotoksičnost s  $IC_{50}$  vrijednostima od 32, 106, 45, 33 i 61 mM prema spomenutim linijama u

danom redoslijedu. Prema malignim stanicama raka dojke selektivnu citotoksičnost pokazao je *m*-fluorfenil-1,2,3-triazolil harmin **78e** s  $IC_{50}$  od samo 16 mM. Kod *p*-fluorfenil i *p*-metoksifenil triazolnih derivata citotoksičnost je znatno poboljšana. *p*-Fluorfenil-1,2,3-triazolil harmin **78d** posjeduje širok spektar citotoksičnih efekata protiv svih testiranih kancerogenih stanica s  $IC_{50}$  od 17, 19, 29 i 17 mM protiv A-549, HT-29, HELA i HCT-116 dok je *p*-metoksifenil-1,2,3-triazolilni analog selektivan prema raku pluća ( $IC_{50}$ = 27 mM) i crijeva ( $IC_{50}$ = 18 mM; HT-29,  $IC_{50}$ = 17 mM; HCT-116).

## 2.4. Molekulska hibridizacija

Proteklih godina, broj registriranih farmaceutika za tretman novih patologija ili inovacija u tretmanu postojećih bolesti, većinom zaraznih i visoka socijalno-ekonomskog utjecaja poput neurodegenerativnih bolesti i karcinoma, kontinuirano opada. S druge strane, tehnološka i znanstvena dostignuća u polju kvalitete života pokazuju znatan porast. Tuberkuloza, male boginje, infektivne bolesti asocirane s otpornim mikroorganizmima poput malarije, neizlječive nove virusne i tropske bolesti, rak, neurodegenerativni i autoimuni poremećaji još uvijek predstavljaju veliki izazov za farmaceutski sektor i zahtijevaju nove napore za razvoj učinkovitijih, selektivnijih i dostupnijih terapijskih alata. Liječenje nekih od spomenutih bolesti čiji mehanizam podrazumijeva interferenciju sa samo jednom biomolekulom ili bioputom uspješno su korištene. Međutim, problem otpornosti prema lijekovima i opće mišljenje da bi agensi koji moduliraju više od jedne biološki važne mete mogli imati superiornu efikasnost u usporedbi s lijekovima čije je djelovanje ograničeno, potaknuli su nova istraživanja. Istodobno djelovanje na više metaboličkih i/ili strukturnih procesa može se postići kombinacijom lijekova s različitim mehanizmima (koktelima lijekova) ili jednim kemijskim entitetom. Molekulska hibridizacija (MH) strategija je racionalnog dizajna lijekova temeljena na prepoznatoj farmakološkoj aktivnosti podjedinica u strukturi dva ili više poznatih bioaktivnih derivata. Adekvatnom fuzijom ovih podjedinica izravno ili preko linkera dobivaju se nove hibridne strukture koje zadržavaju prethodno odabrane karakteristike originalnih spojeva.<sup>67</sup> Riječ je o novom konceptu razvoja i istraživanja lijekova s ciljem proizvodnje hibridnih molekula poboljšana afiniteta i učinkovitosti u odnosu na roditeljske lijekove. Odabir farmakofora za hibridizaciju obično se zasniva na opaženim, odnosno očekivanim, sinergističkim ili aditivnim aktivnostima. Hibridni lijekovi zapravo su razvijeni kao protuteža poznatih nuspojava povezanih sa određenim hibridnih dijelom ili za proširenje njegova djelovanja, smanjujući rizik interakcija među lijekovima i minimizirajući otpornost.<sup>68</sup> Molekulska hibridizacija zadobila je stoga važnu ulogu u liječenju multifaktorijalnih bolesti poput malarije, metaboličkih poremećaja, upala i ishemije koje su promjenjive i uključuju više sustava organa. Do sada su sintetizirani molekulske hibridi s antitumorskom, protuupalnom, antitrombotičkom, antidijabetičkom, antimikrobnom i nizom drugih aktivnosti.

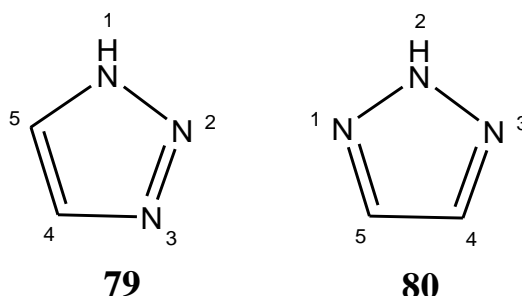




Slika 21. Prikaz vrsta molekulske hibridizacije<sup>69</sup>

## 2.5. 1,2,3-Triazolni prsten

1,2,3-Triazoli pripadaju aromatskim heterocikličkim spojevima, a sadrže tri dušikova atoma u položajima 1, 2 i 3 (**79** i **80**). Atomi koji sačinjavaju peteročlani prsten  $sp^2$  su hibridizirani te je 6 elektrona delokalizirano u  $\pi$  sustavu molekulskih orbitala.<sup>5</sup> Za razliku od drugih aza-heterocikala, 1,2,3-triazol nije protoniran pri fiziološkom pH zbog slabe bazičnosti. Aromatska stabilnost i veliki dipolni moment (5.2-5.6 Debye) omogućuju mu sudjelovanje u formiranju vodikovih veza, i dipol-dipol interakcija. Dva atoma dušika N-2 i N-3 u strukturi triazola mogu stvarati vodikove veze s donorima vodikovih veza ili koordinirati s metalnim ionima.<sup>70</sup> Povoljna fizikalno-kemijska svojstva 1,2,3-triazola uključuju stabilnost i inertnost pri oksidacijskim i redukcijским uvjetima, hidrolitičkim uvjetima, čak i visokim temperaturama.<sup>71</sup>



Slika 22. Strukture 1H-1,2,3-triazola **79** i 2H-1,2,3-triazola **80**

1,2,3-Triazolna struktura atraktivna je u procesu razvoja lijekova kao poveznica (linker) zbog stabilnosti na metaboličku i kemijsku degradaciju te sposobnosti stvaranja vodikovih veza što je bitno kod vezivanja na biomolekularne mete i povećanje topljivosti.<sup>72</sup> Nije pronađen u

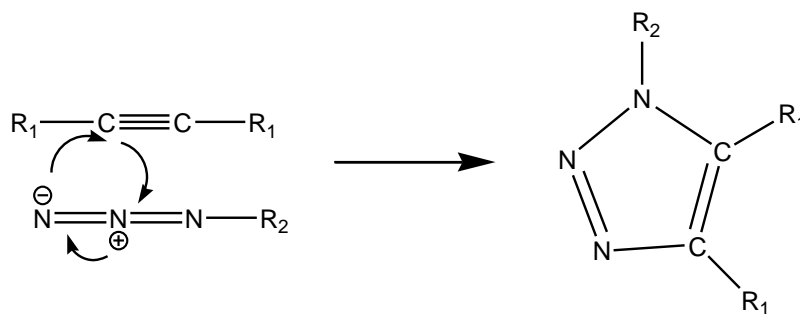
prirodi, no sintetske molekule koje sadrže 1,2,3-triazolnu jedinicu pokazuju raznoliku biološku aktivnost poput antitumorske, antimikrobne i protuupalne. 1,2,3-triazolni prsten bioizoster je amidne veze. Njegova važnost u medicinskoj kemiji stoga je neporeciva, a sve značajniju primjenu ima u različitim područjima suvremene kemije, razvoju biokonjugata, polimera i materijala.<sup>73</sup>

## 2.6. „Klik“ kemija

Pojam „klik“ kemije uveden je 2001. godine kada je K. Barry Sharpless<sup>74</sup> uspješno proveo sintezu samo 1,4-disupstituiranog 1,2,3-triazolnog prstena uz bakar(I) kao katalizator. Prvotna Huisgenova reakcija<sup>75</sup> iz 1967. godine između organskih azida i alkina dala je smjesu 1,4 i 1,5-disupstituiranih regioizomera. Sharplessovo rješenje je time postavilo osnove za niz jednostavnih i selektivnih kemijskih transformacija kojima se pripravlja samo jedan određeni produkt. Za „klik“ reakcije, osim jednostavne izvedbe i stereoselektivnosti, karakteristični su blagi reakcijski uvjeti, visoko iskorištenje, dostupnost reagensa, lako uklonjiva i ekološki prihvatljiva otapala, neosjetljivost na kisik i vodu te široka primjena. Prema tome, mogli bismo „klik“ kemiju svrstati u „zelenu kemiju“. Iako se „klik“ kemija najčešće veže uz sintezu triazolnog prstena Huisgenovom 1,3-dipolarnom cikloadicijom, mnogo više reakcija zadovoljava njene kriterije. Cikloadicije nezasićenih vrsta i Diels-Alderove transformacije, nukleofilno otvaranje prstena epoksida i aziridina, nealdolni tipovi karbonilnih reakcija kao što je stvaranje hidrazona i heterocikla te adicije na C-C višestruke veze koje uključuju epoksidaciju i Michaelovu adiciju samo su dio današnje „klik“ kemije. Koncept „klik“ kemije omogućuje brzu pripravu biblioteke spojeva i snažno je sredstvo u razvoju lijekova, posebice u ranoj fazi otkrivanja i optimiranja. Za medicinsku kemiju, od važnosti je njen potencijal za kraće i učinkovitije identifikacijske i optimizacijske procedure.<sup>76</sup>

### 2.6.1. Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija katalizirana Cu(I)

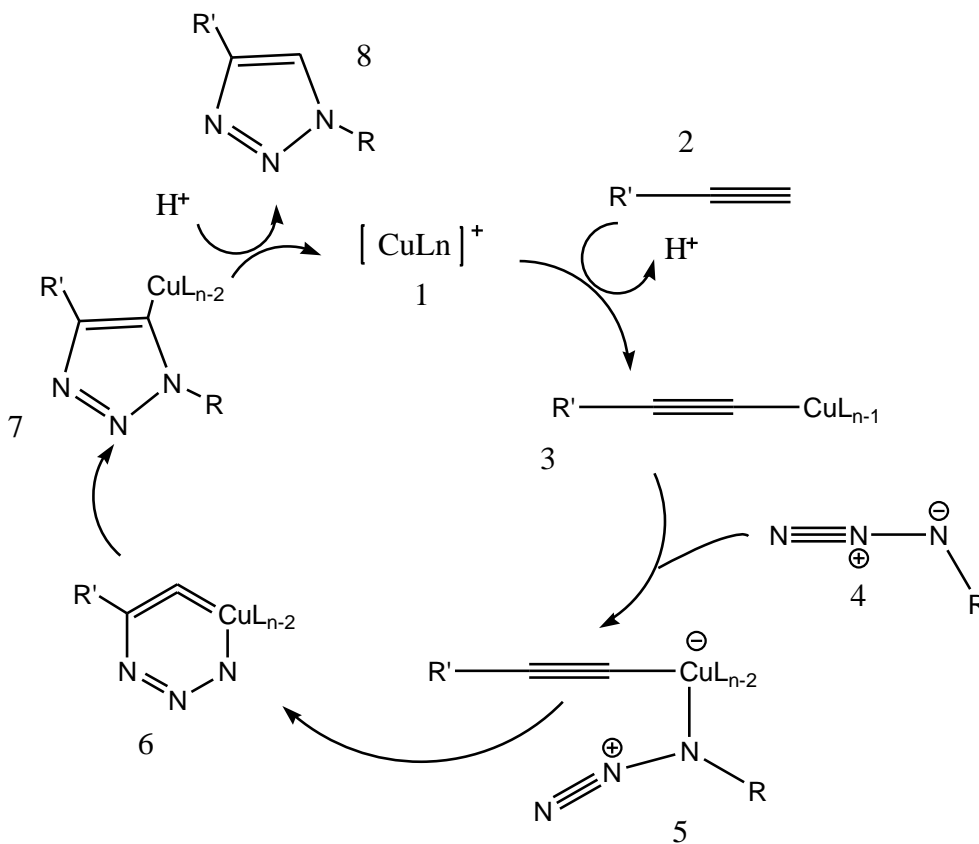
Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija je reakcija terminalnih alkina i azida koja pripada klasi „klik“ reakcija. Tolerira širok spektar funkcionalnih skupina poput nezaštićene hidroksilne, karboksilne i amino skupine, upotrebu vode kao medija za provođenje reakcije i uvjete sobne temperature.<sup>77</sup> Za regioselektivno dobivanje 1,4-disupstituiranog triazolnog prstena CuAAC reakcijom kao izvor bakra (I) koriste se njegove Cu(I) soli kao i Cu(II) soli koje redukcijom prelaze u Cu(I), a najčešće se kao reducens koristi natrijev askorbat. Moguća je i upotreba bakrova (II) acetata u metanolu. *In situ* priprava Cu(I) iona je pogodnija jer ne zahtijeva inertnu atmosferu. Priprava triazola potpomognuta mikrovalovima u mikrovalnom reaktoru pokazala se još učinkovitijom i uspješnijom.<sup>78</sup>



Slika 23. Općeniti prikaz Huisgenove ciklizacije

### 2.6.2. Mehanizam azid-alkin cikloadicije katalizirane Cu(I)

Pretpostavljeni mehanizam azid-alkin cikloadicije katalizirane Cu(I) prikazan je na slici 23. U prvom koraku koordinacije alkina na Cu(I) katalizator, uz izdvajanje jednog liganda, nastaje bakrov acetilid (3). U sljedećem stupnju, azid zamjenjuje jedan od liganada tako da bakrov kompleks veže dušikov atom sa R supstituentom formirajući intermedijer (5). Napadom terminalnog dušika u intermedijaru (5) na C-2 acetilida dobiva se neobičan šesteročlani Cu(III) kompleks (6). Preuređivanjem kompleksa (6) nastaje peteročlani prsten (7) koji proteolizom daje konačni produkt (8).<sup>79</sup>



Slika 24. Mehanizam CuAAC reakcije

## **3. Eksperimentalni dio**

### 3.1. Opće napomene

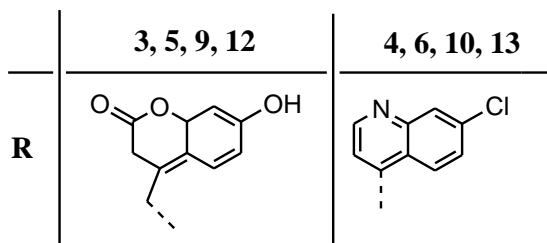
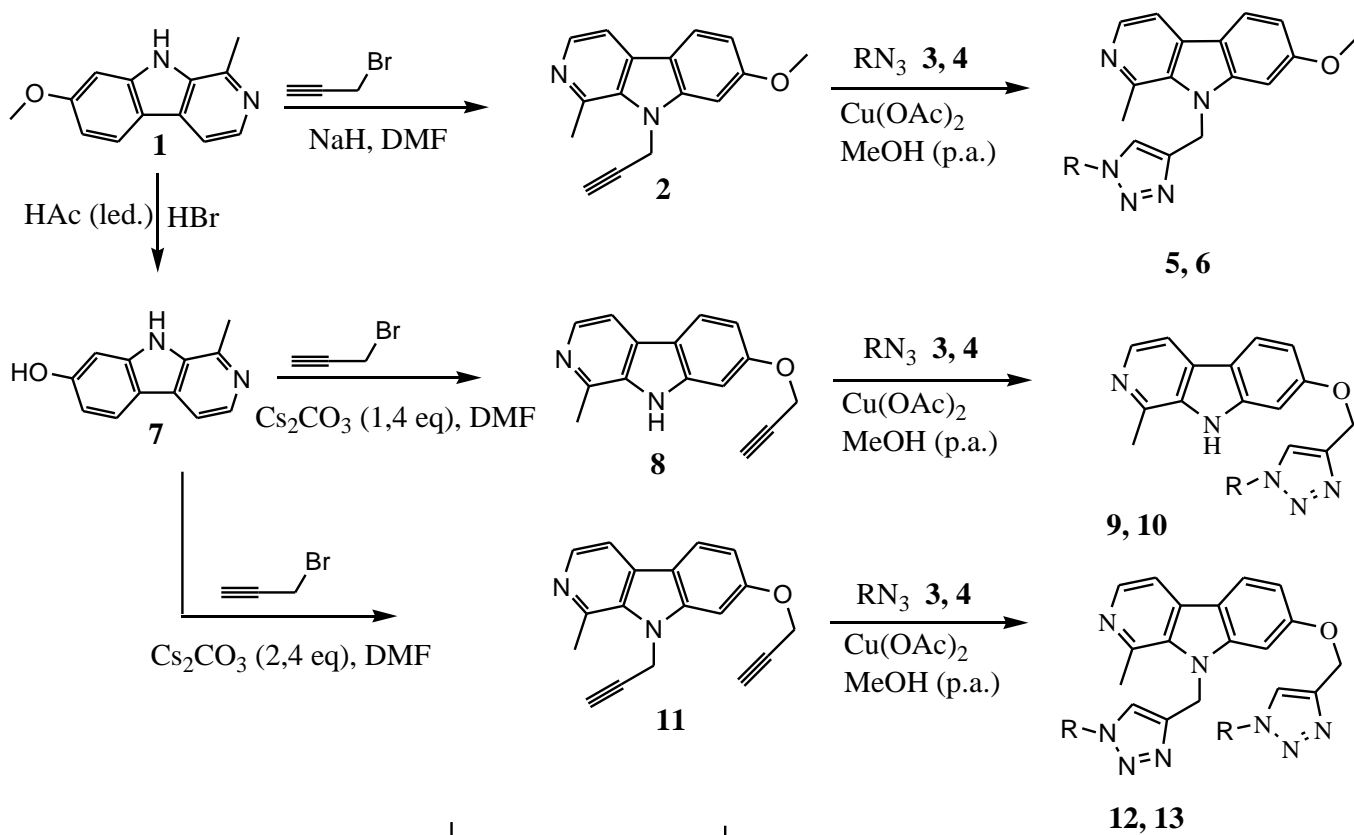
Reakcije su provedene uobičajenim sintetskim metodama. Svi su spojevi rutinski provjeravani tankoslojnom kromatografijom (TLC) koristeći pločice presvučene silikagelom Merck 60F-254 te detektirani pod UV svjetlom (254 nm).

Tališta priređenih spojeva određena su na Kofler Mikroheiztisch aparatu i nisu korigirana.

Kromatografska odjeljivanja provedena su na kolonama punjenim silikagelom 0,063 – 0,2 nm (Kemika, Merck). Staklene kolone punjene su pod utjecajem gravitacije, a kao eluens je korištena odgovarajuća smjesa  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ .

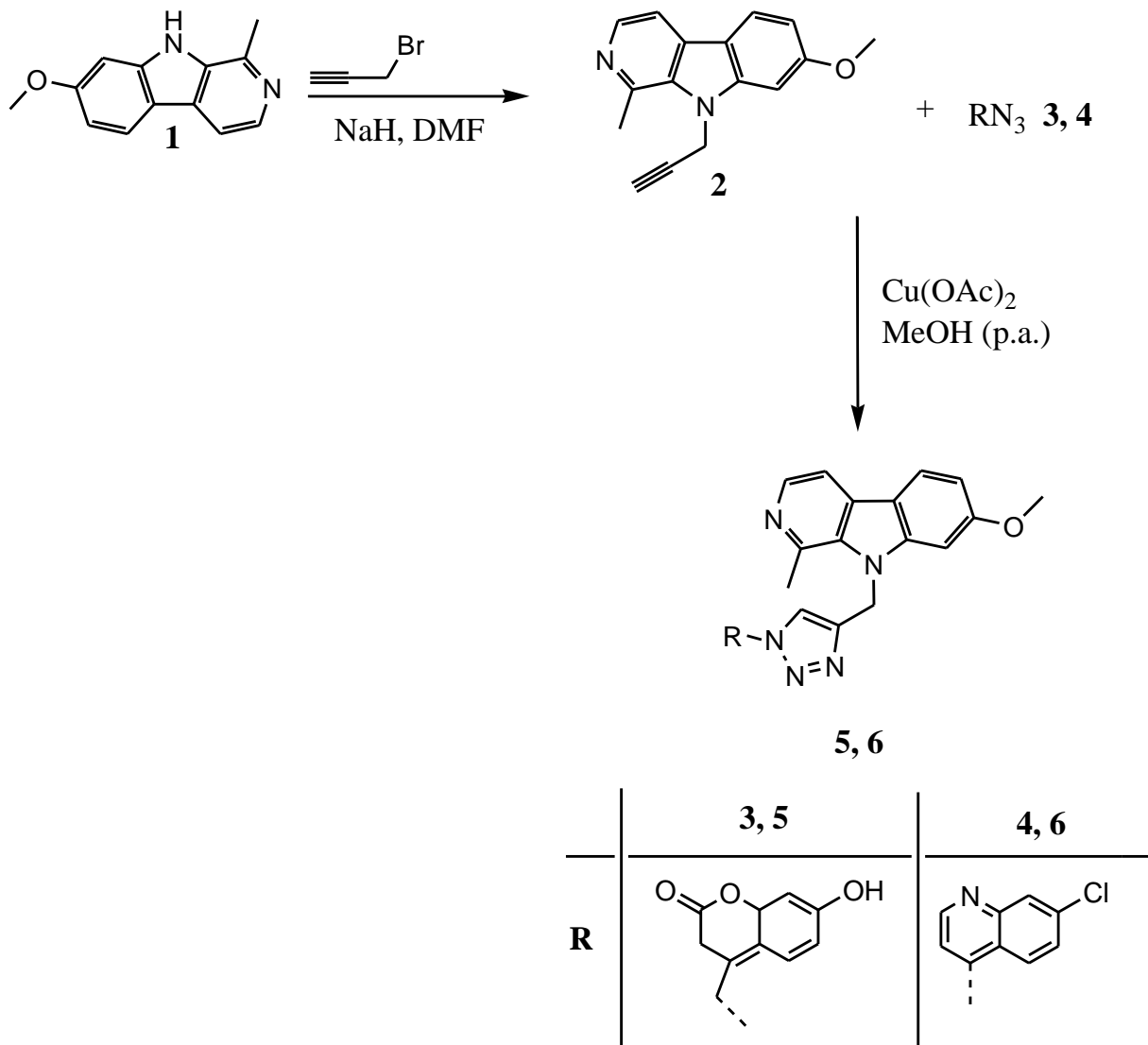
Spektri  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR snimljeni su na spektrometrima Bruker AV600 i Bruker V300.  $^1\text{H}$  NMR spektri snimani su pri 300 i 600 MHz, dok su  $^{13}\text{C}$  spektri snimani pri 75 i 150 MHz. Svi NMR spektri snimani su u  $\text{DMSO-}d_6$  kao otapalu, koristeći tetrametilsilan kao interni standard. Kemijski pomaci ( $\delta$ ) izraženi su u ppm vrijednostima, a konstante sprege ( $J$ ) u Hz.

## 3.2. Pregled sintetskih puteva do ciljanih spojeva



Shema 1.

## 3.3. Sinteza 1,2,3-triazolnih derivata iz 9-(prop-2-inil)harmina



Shema 2.

### 3.3.1. Priprava 1-metil-7-metoksi-9-(prop-2-inil)-9H-pirido[3,4-b]indola **2**

Harmin **1** (0,200 g, 0,94 mmol) otopi se u dimetilformamidu (DMF, 5,0 ml) i zagrijava vodenom kupelji 10 minuta na temperaturi 70-80 °C. U otopinu se 45 minuta upuhuje argon, a zatim doda 0,060 g NaH (1,51 mmol). Reakcijska smjesa miješa se 1 h na sobnoj temperaturi, nakon čega se dokapava 0,32 ml propargil-bromida (3,00 mmol) i miješa još 2 h na sobnoj temperaturi. Otapalo se upari pri sniženom tlaku, a ostatak pročišćava kolonskom kromatografijom uz eluens CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : CH<sub>3</sub>OH. Dobiveno je 0,179 g (75,73%) tamno-smeđeg praškastog produkta.

### 3.3.2. Opći postupak priprave 1,2,3-triazolnih derivata iz 9-(prop-2-inil)harmina

Otopini 9-(prop-2-inil)harmina **2** u metanolu doda se bakar(II) acetat i odgovarajući azid. Reakcijska smjesa zagrijava se na temperaturi vrenja 3 sata i miješa na sobnoj temperaturi preko noći. Otapalo se upari pri sniženom tlaku, a ostatak nakon uparavanja pročisti kolonskom kromatografijom uz eluens CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : CH<sub>3</sub>OH.

### Priprava 7-hidroksi-4-((4-((1-metil-7-metoksi-9H-pirido[3,4-b]indol-9-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)kroman-2-ona **5**

Iz 0,080 g (0,32 mmol) **2**, 0,070 g (0,32 mmol) **3** i 0,003 g (0,002 mmol) bakrova(II) acetata u metanolu (7,0 ml) nakon uparavanja i pročišćavanja kolonskom kromatografijom dobiveno je 0,059 g (39,09%) žutog praškastog produkta. T.t. >288 °C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 10,69 (s, 1H), 8,18 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 8,14 – 8,05 (m, 2H), 7,89 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 7,59 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,34 (d, *J* = 1,9 Hz, 1H), 6,89 (dd, *J* = 8,6, 2,1 Hz, 1H), 6,81 – 6,70 (m, 2H), 5,93 (s, 2H), 5,81 (s, 2H), 5,46 (s, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,02 (s, 3H);

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) (δ/ppm): 162,08 (2C), 161,14, 160,35, 155,49, 151,09 (2C), 144,95, 143,27, 129,19, 126,41, 124,60, 122,91 (2C), 114,88, 113,58 (2C), 110,05 (2C), 109,76, 109,45, 102,96, 94,46, 56,08, 49,58(2C).

### Priprava 9-((1-(7-klorkinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1-metil-7-metoksi-9H-pirido[3,4-b]indola **6**

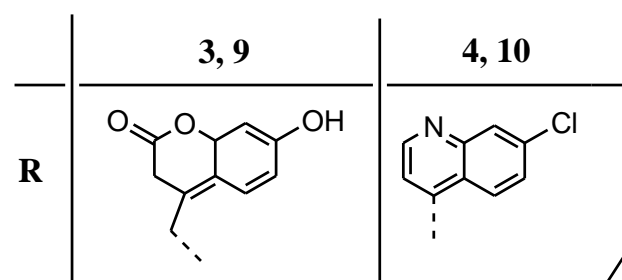
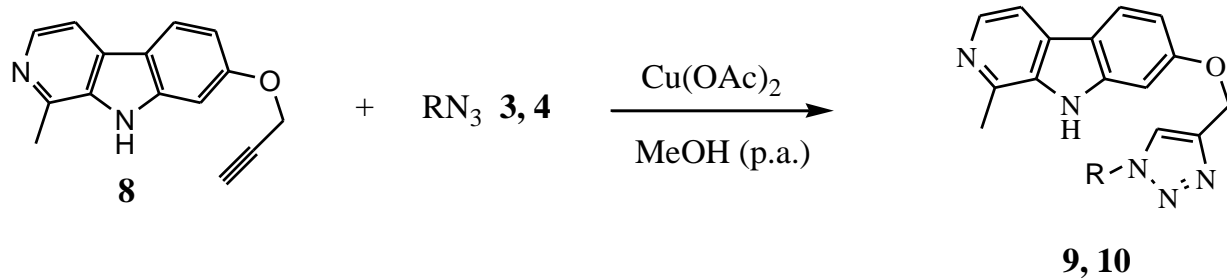
Iz 0,073 g (0,29 mmol) **2**, 0,060 g (0,29 mmol) **4** i 0,003 g (0,002 mmol) bakrova(II) acetata u metanolu (3,0 ml) nakon uparavanja i pročišćavanja kolonskom kromatografijom dobiveno je 0,099 g (74,52%) bijelog produkta. T.t. 240-242 °C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 9,09 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 8,83 (s, 1H), 8,26 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 8,21 (s, 1H), 8,12 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,96 – 7,88 (m, 2H), 7,78 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 7,74 (dd, *J* = 9,1, 2,1 Hz, 1H), 7,42 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 6,91 (dd, *J* = 8,6, 2,1 Hz, 1H), 6,06 (s, 2H), 3,92 (s, 3H), 3,14 (s, 3H);

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) (δ/ppm): 161,17 8(2C), 152,75, 149,77, 145,22 (2C), 143,31, 141,55, 140,69, 135,77, 129,37 (2C), 129,23, 128,56, 125,79 (2C), 122,93 (2C), 120,77, 117,66, 114,94, 110,05 (2C), 94,60, 56,14, 40,80, 40,52, 40,24, 39,96, 39,68, 39,40, 39,13, 23,62.



## 3.4 Sinteza 1,2,3-triazolnih derivata iz 7-(prop-2-iniloksi)harmina



Shema 3.

### 3.4.1. Opći postupak pripreve 1,2,3-triazolnih derivata iz 7-(prop-2-iniloksi)harmina

Otopini 1-metil-7-(prop-2-iniloksi)-9H-pirido[3,4-b]indola **8** u metanolu doda se bakar(II) acetat i odgovarajući azid. Reakcijska smjesa miješa na sobnoj temperaturi preko noći. Otapalo se upari pri sniženom tlaku, a ostatak nakon uparavanja pročisti kolonskom kromatografijom uz eluens CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : CH<sub>3</sub>OH.

#### Priprava 7-hidroksi-4-((4-((1-metil-9H-pirido[3,4-b]indol-7-iloksi)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)kroman-2-ona **9**

Iz 0,109 g (0,46 mmol) **8**, 0,100 g (0,46 mmol) **3** i 0,004 g (0,002 mmol) bakrova(II) acetata u metanolu (5,0 ml) nakon uparavanja i pročišćavanja kolonskom kromatografijom dobiveno je 0,069 g (33,10%) žutog praškastog produkta. T.t. >282 °C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 11,47 (s, 1H), 8,42 (s, 1H), 8,15 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 8,06 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,81 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 7,71 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,18 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 6,90 (dd, *J* = 8,7, 2,2 Hz, 1H), 6,84 (dd, *J* = 8,7, 2,3 Hz, 1H), 6,77 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 5,94 (s, 2H), 5,59 (s, 1H), 5,31 (s, 2H), 3,17 (s, 1H), 2,72 (s, 3H);

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) (δ/ppm): 162,20, 160,41, 159,19, 155,59, 150,96, 144,15, 143,81, 142,24, 141,85, 127,61, 126,54, 123,13(2C), 115,63, 113,69 (2C), 109,94 (2C), 109,81, 109,76, 103,02, 96,32, 61,88, 49,70.

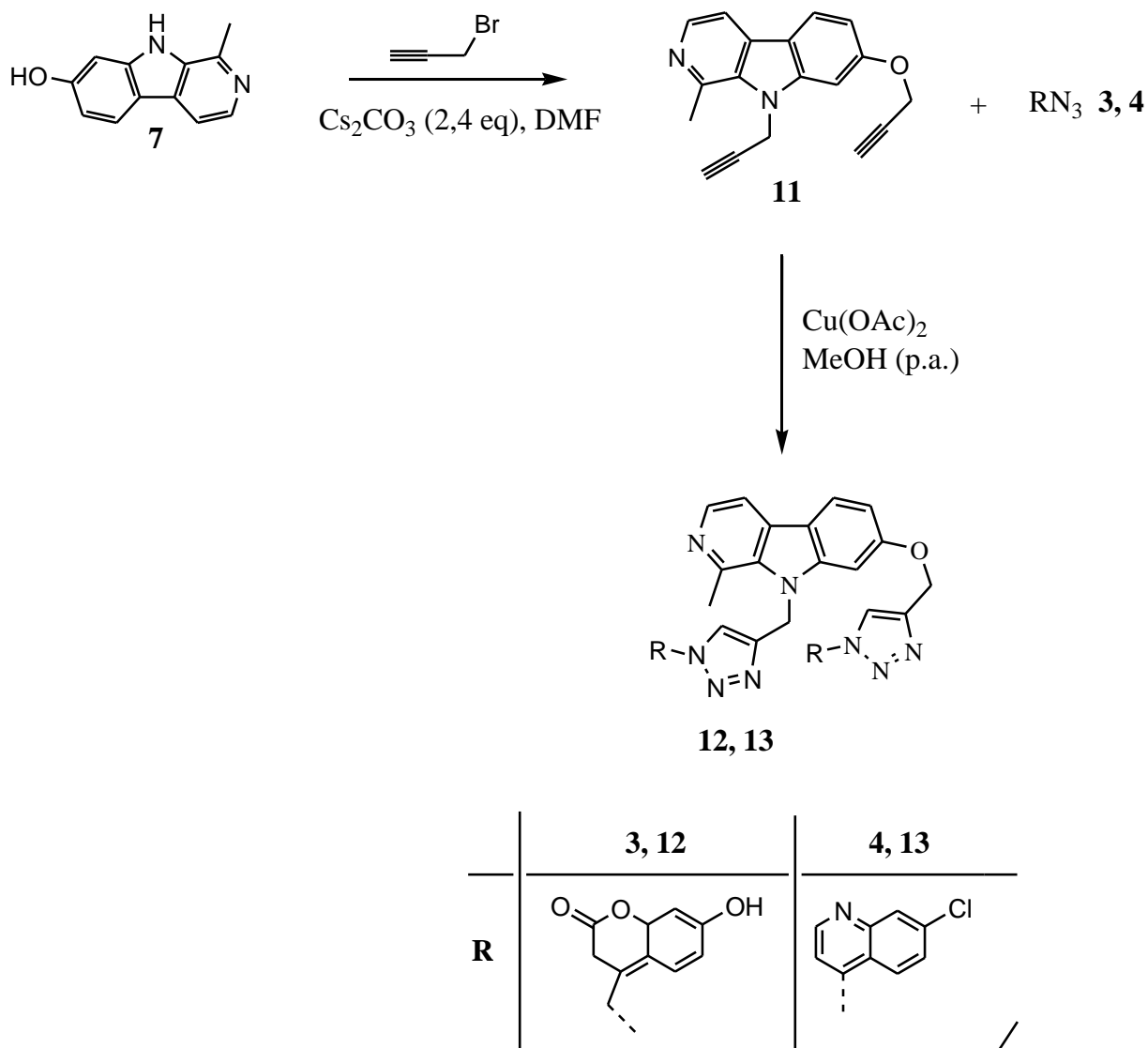
#### Priprava 7-((1-(7-klorkinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-1-metil-9H-pirido[3,4-b]indola **10**

Iz 0,040 g (0,17 mmol) **8**, 0,035 g (0,17 mmol) **4** i 0,002 g (0,001 mmol) bakrova(II) acetata u metanolu (4,0 ml) nakon uparavanja i pročišćavanja kolonskom kromatografijom dobiveno je 0,029 g (38,18%) bež praškastog produkta. T.t. 229-231 °C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 11,75 (s, 1H), 9,18 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 9,03 (s, 1H), 8,31 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 8,21 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 8,16 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 8,01 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,95 (d, *J* = 5,3 Hz, 1H), 7,90 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 7,80 (dd, *J* = 9,1, 2,2 Hz, 1H), 7,29 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 7,02 (dd, *J* = 8,7, 2,2 Hz, 1H), 5,48 (s, 2H), 2,78 (s, 3H);

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) (δ/ppm): 159,17, 152,36, 149,34, 143,61, 142,41, 140,62, 140,34, 136,08, 135,40, 134,46, 129,01, 128,10, 128,05, 126,96, 125,28, 123,07, 120,32, 117,15, 115,07, 112,38, 110,07, 96,04, 61,30.

### 3.5. Sinteza 1,2,3-triazolnih derivata iz 9-(prop-2-inil)-7-(prop-2-iniloksi)harmina



Shema 4.

### 3.5.1. Priprava 1-metil-9-(prop-2-inil)-7-(prop-2-iniloksi)-9H-pirido[3,4-b]indola 11

Harmol **7** (0,187 g, 0,95 mmol) otopi se u dimetilformamidu (DMF, 4,0 ml). U otopinu se 45 minuta upuhuje argon, a zatim doda 0,865 g Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2,66 mmol). Reakcijska smjesa miješa se 1 h na sobnoj temperaturi, nakon čega se dokapava 0,23 ml propargil-bromida (2,09 mmol) i miješa još 2 h na sobnoj temperaturi. Otapalo se upari pri sniženom tlaku, a ostatak pročišćava kolonskom kromatografijom uz eluens CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : CH<sub>3</sub>OH. Dobiveno je 0,222 g (85,14%) svijetlog praškastog produkta.

### 3.5.2. Opći postupak pripreve 1,2,3-triazolnih derivata iz 9-(prop-2-inil)-7-(prop-2-iniloksi)harmina

Otopini 9-(prop-2-inil)-7-(prop-2-iniloksi)harmina **11** u metanolu doda se bakar(II) acetat i odgovarajući azid. Reakcijska smjesa miješa na sobnoj temperaturi preko noći. Otapalo se upari pri sniženom tlaku, a ostatak nakon uparavanja pročisti kolonskom kromatografijom uz eluens CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : CH<sub>3</sub>OH.

#### Priprava 7-((1-(7-hidroksikroman-2-on-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-9-((1-(7-hidroksikroman-2-on-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1-metil-9H-pirido[3,4-b]indola 12

Iz 0,050 g (0,18 mmol) **11**, 0,087 g (0,40 mmol) **3** i 0,002 g (0,001 mmol) bakrova(II) acetata u metanolu (5,0 ml) nakon uparavanja i pročišćavanja kolonskom kromatografijom dobiveno je 0,065 g (50,01%) žutog praškastog produkta. T.t. 240-245 °C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 10,70 (s, 2H), 8,46 (s, 1H), 8,23 (s, 1H), 8,20 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 8,12 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,92 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 7,69 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,61 – 7,56 (m, *J* = 5,4, 3,3 Hz, 2H), 6,95 (dd, *J* = 8,6, 2,1 Hz, 1H), 6,82 (dd, *J* = 8,7, 2,4 Hz, 1H), 6,78 – 6,74 (m, *J* = 4,9, 2,4 Hz, 2H), 6,72 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 5,93 (d, *J* = 4,3 Hz, 4H), 5,81 (s, 2H), 5,56 (s, 1H), 5,44 (s, 1H), 5,35 (s, 2H), 3,6 (s, 3H);

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) (δ/ppm): 162,17, 162,11, 160,41, 160,36, 159,66, 155,57, 155,47, 151,11, 150,95, 144,87, 143,64, 143,09, 141,59, 138,45, 135,12, 129,11, 126,48, 126,37, 124,83, 123,01, 115,22, 113,68, 113,59, 11,84, 110,45, 109,80, 109,74, 109,70, 109,32, 103,02, 102,97, 95,60, 61,88, 49,71, 49,61, 23,58.

#### Priprava 7-((1-(7-klorkinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-9-((1-(7-klorkinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1-metil-9H-pirido[3,4-b]indola 13

Iz 0,050 g (0,18 mmol) **11**, 0,082 g (0,40 mmol) **4** i 0,002 g (0,001 mmol) bakrova(II) acetata u metanolu (5,0 ml) nakon uparavanja i pročišćavanja kolonskom kromatografijom dobiveno je 0,027 g (21,83%) svijetlo-žutog praškastog produkta. T.t. 181-186 °C

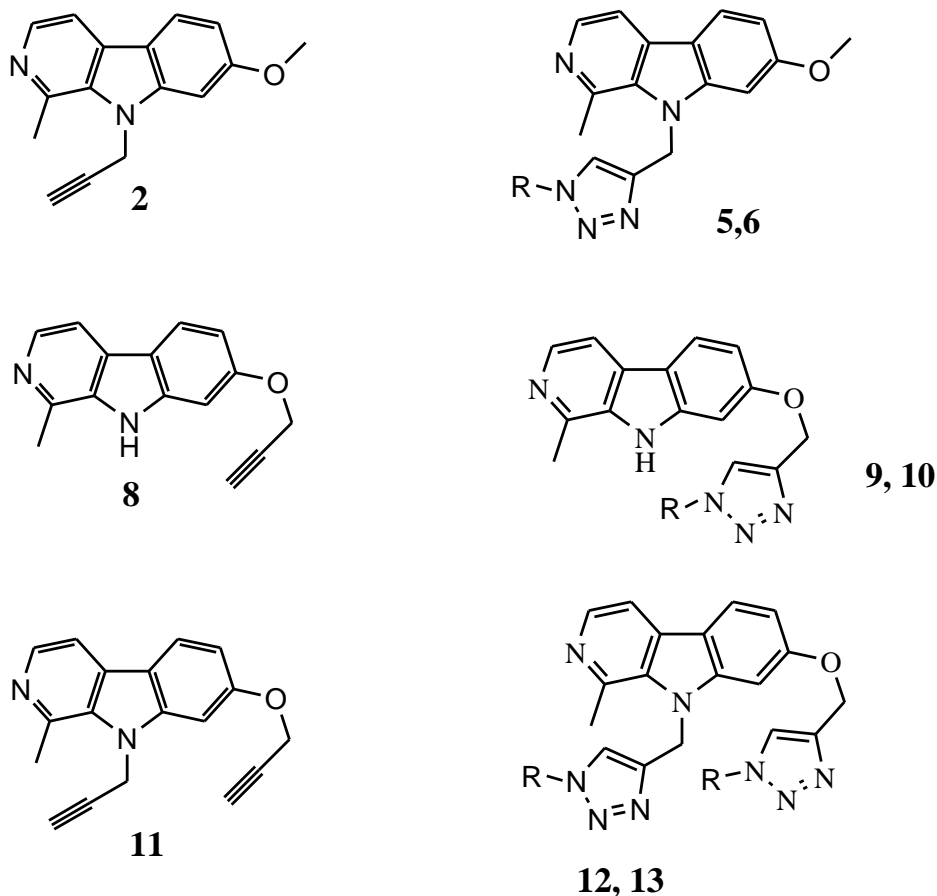
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 9,09 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 9,01 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 9,00 (s, 1H), 8,87 (s, 1H), 8,23 (dd, *J* = 3,7, 1,4 Hz, 2H), 8,18 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 7,94 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 7,87 (t, *J* = 9,3 Hz, 2H), 7,79 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 7,73 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 7,71 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 7,66 (dd, *J* = 3,6, 2,2 Hz, 1H), 7,03 (dd, *J* = 8,6, 2,1 Hz, 1H), 6,10 (s, 2H), 5,54 (s, 2H), 3,16 (s, 3H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO) ( $\delta/\text{ppm}$ ): 159,60 (2C), 152,60 (2C), 149,77 (2C), 149,71 (2C), 145,15 (2C), 144,08 (2C), 143,08 (2C), 141,73 (2C), 140,68 (2C), 140,60 (2C), 135,79 (2C), 135,68 (2C), 135,26 (2C), 129,06 (2C), 120,66 (2C), 115,36 (2C).

## **4. Rezultati i rasprava**

## 4.1. Cilj rada

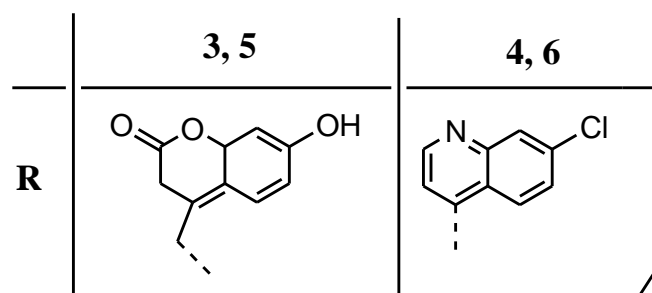
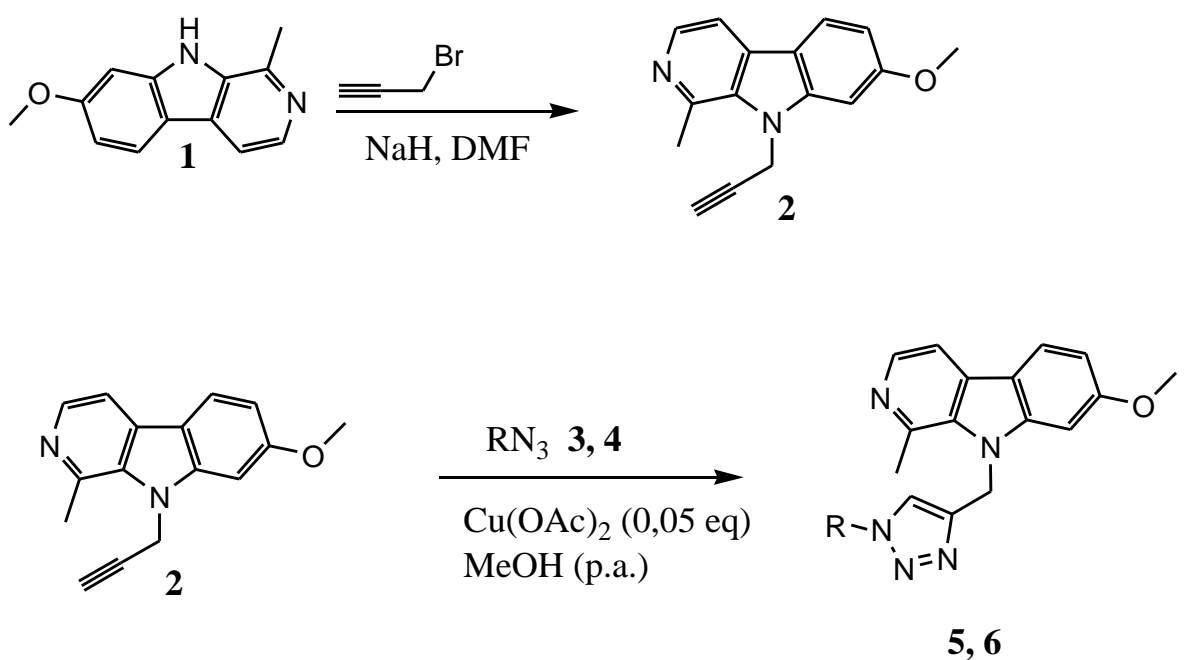
U ovom radu su priređeni potencijalno biološki aktivni konjugati harmina i 7-hidroksikumarina **5**, **9**, **12** te harmina i 7-klorkinolina **6**, **10**, **13** preko 1,2,3-triazolne poveznice. Strukture dobivenih molekula prikazane na slici 24., potvrđene su primjenom  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopije. Predloženi sintetski put uključuje „klik“ reakciju terminalnih alkina i odgovarajućih organskih azida kataliziranu bakar(II) acetatom u metanolu kao otapalu.



Slika 25. Strukture ciljnih molekula i njihovih prekursora

## 4.2. Sinteza ciljanih spojeva

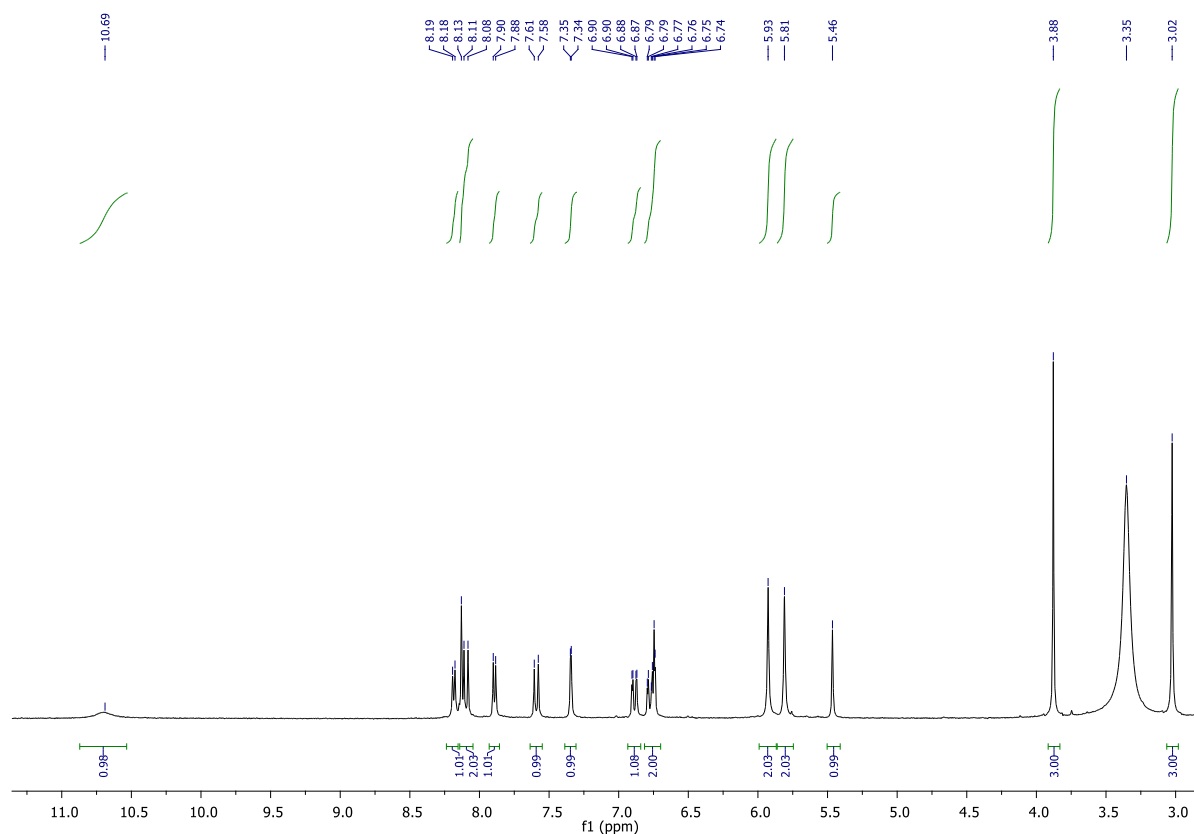
Harmin **1** poslužio je kao prekursor za sintezu *N*-propargiliranog harmina **2** (75,73%). *N*-alkilacijski proces  $\beta$ -karbolinskog prstena, koji se odvija u dimetilformamidu (DMF) i sa suviškom propargil-bromida, omogućava prisutnost baze natrijeva hidrida. 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazolni hibridi kumarina **5** odnosno kinolina **6** nastaju „klik“ reakcijom 9-(prop-2-inil)harmina **2** i odgovarajuće strukture azida **3** ili **4** prema shemi 2. Katalitički Cu(I) ion generira se *in situ*, redukcijom bakar(II) acetata u metanolu bez dodatnih redukcijskih sredstava. Nakon zagrijavanja smjese nekoliko sati na temperaturi refluksa i zatim miješanja na sobnoj temperaturi 24 sata, spojevi su dobiveni u iskorištenju od 39,09% (**5**) i 74,52% (**6**).



Shema 2.



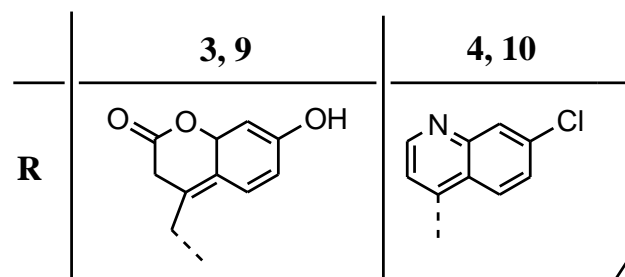
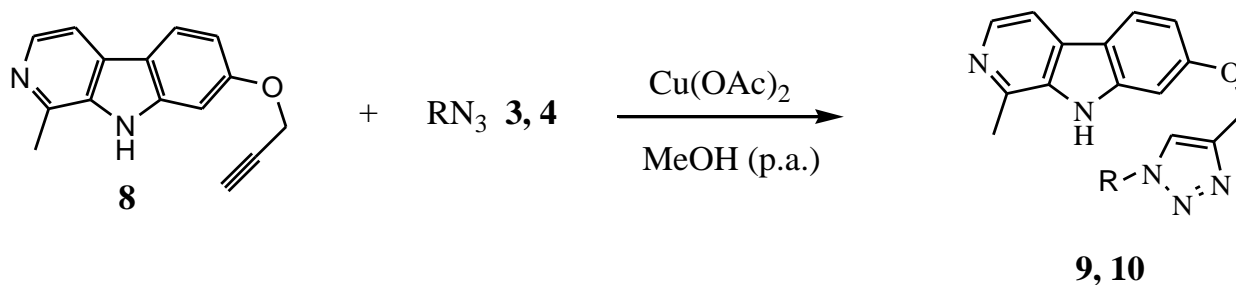
Na slici 26. prikazan je  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 7-hidroksi-4-((4-((1-metil-7-metoksi-9H-pirido[3,4-b]indol-9-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)kroman-2-ona **5**. Spektar sadrži karakteristične signale za aromatske protone kumarinskog prstena, signal za OH-skupinu te metilensku premosnicu prisutne i kod drugih sintetiziranih spojeva s kumarinskom okosnicom **9** i **12**. U nezasjenjenom dijelu spektra na 10,69 ppm vidimo signal 7-hidroksi skupine kumarina. U aromatskog području ( $\sim 8$  ppm) nalazi se, osim odgovarajućeg broja protona kinolinskog i kumarinskog prstena, signal protona triazolnog prstena čime je potvrđena njegova prisutnost u molekuli.



Slika 26.  $^1\text{H}$  NMR spektar 7-hidroksi-4-((4-((1-metil-7-metoksi-9H-pirido[3,4-b]indol-9-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)kroman-2-ona **5**

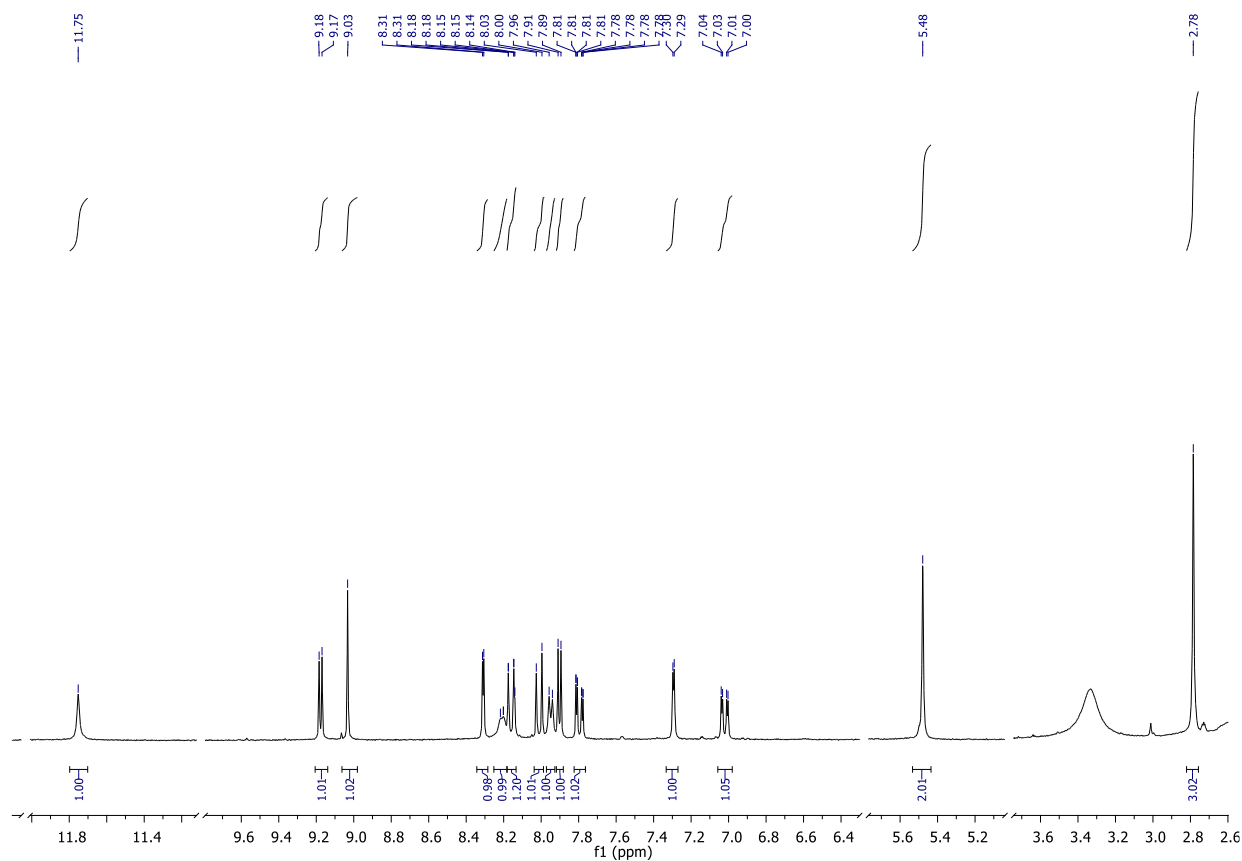
Kako bi se priredili *O*-propargilirani harmin **8** i bisalkin 9-(prop-2-inil)-7-(prop-2-iniloksi)harmin **11**, harmol **7** je otopljen u DMF-u, propuhivan argonom i dodan mu je cezijev karbonat kao katalizator. Uz miješanje na sobnoj temperaturi postupno je dokapavan propargilbromid, kao i kod sinteze spoja **2**.

U sljedećem koraku kod sinteze konjugata **9** i **10**, 7-(prop-2-iniloksi)harmin **8** ulazi u reakciju s kumarinskim **3** tj. kinolinskim **4** azidom kako bi se stvorila 1,2,3-triazolna poveznica. „Klik“ reakcija provedena je na isti način kao i za pripremu spojeva **5** i **6** uz iznimku da reakcijska smjesa nije zagrijavana na temperaturi vrenja već je ostavljena na sobnoj temperaturi (Shema 3). Iskorištenja ovih hibrida bila su 33,10% za spoj **9** i 38,18% za spoj **10**.



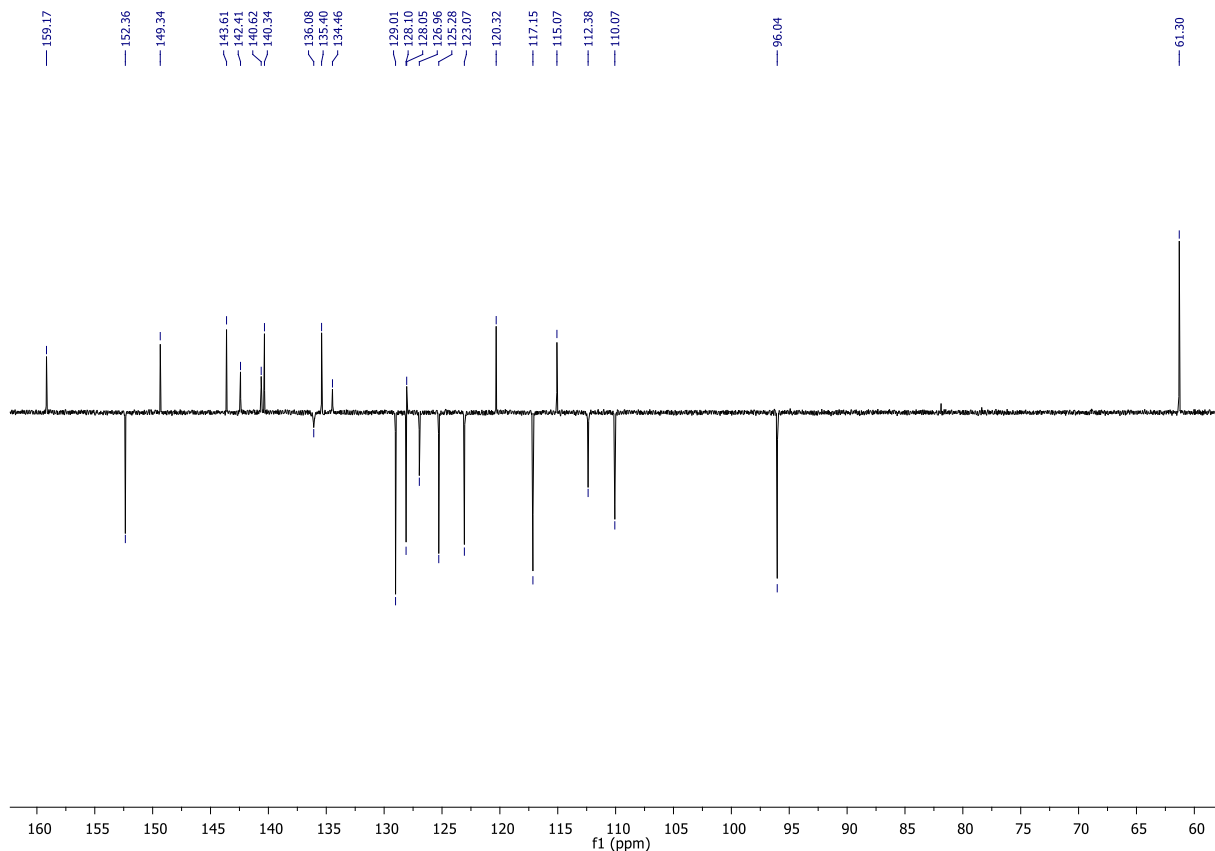
Shema 3.

$^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR potvrdili su očekivane strukture. Slika 27. prikazuje  $^1\text{H}$  NMR spektar 7-((1-(7-klorkinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-1-metil-9H-pirido[3,4-b]indola **10**. Singlet koji odgovara metilnoj skupini na harminu nalazi se na 2,78 ppm dok je singlet metoksi protona pomaknut u lijevo zbog uvođenja triazolnog prstena. U aromatskom području od 9,18 ppm pa do 7,02 ppm nalazi se odgovarajuć broj signala aromatskih protona.



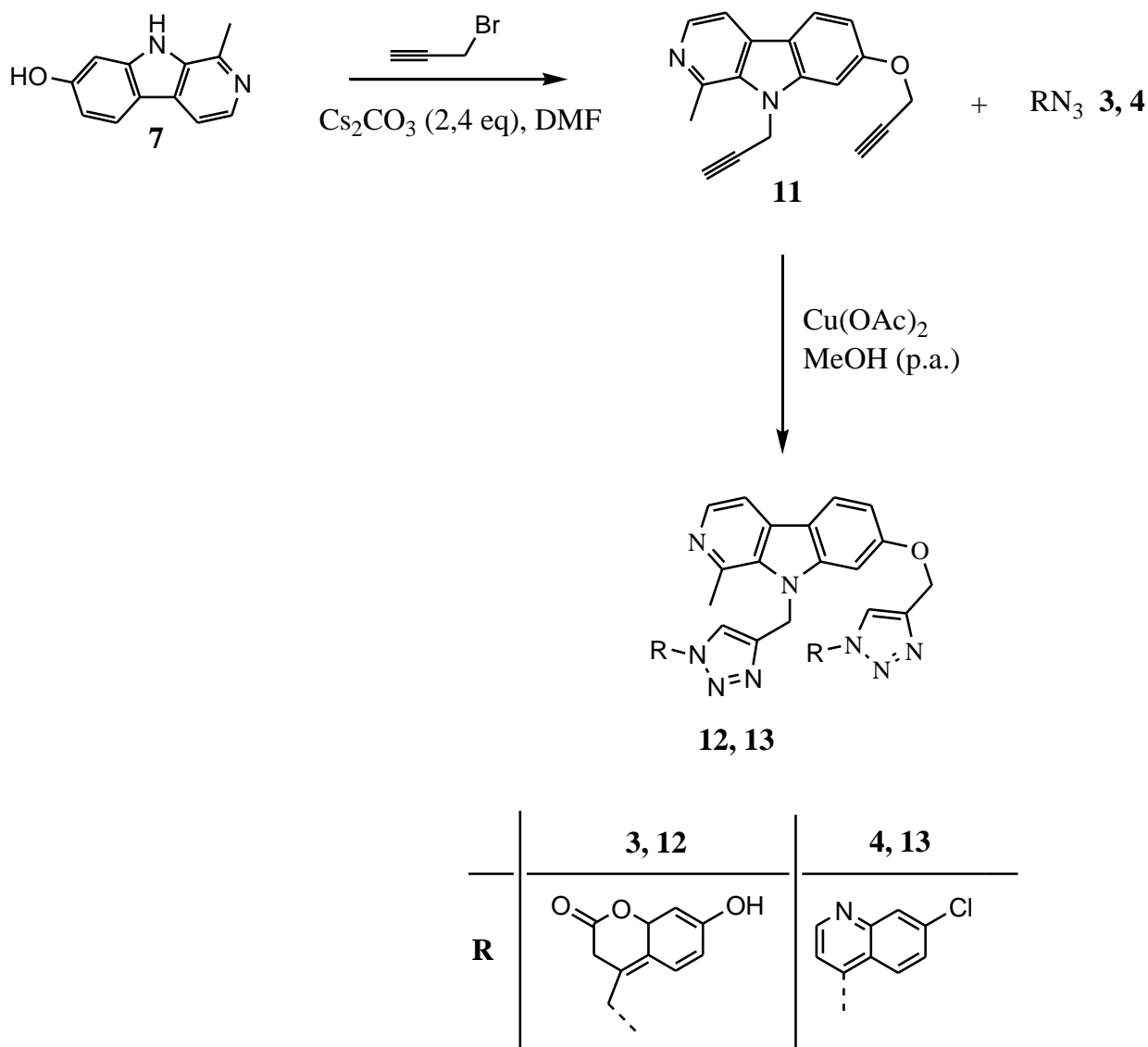
Slika 27.  $^1\text{H}$  NMR spektar 7-((1-(7-klorkinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-1-metil-9H-pirido[3,4-b]indola **10**

Dodatnu potvrdu strukture spoja **10** dala je analiza  $^{13}\text{C}$  NMR spektra prikazanog na slici 28. Signal na 61,30 ppm pripada metilnoj skupini, signal na 96,04 ppm metoksi protonima. Ostali uočeni signali u skladu su s brojem aromatskih CH i kvaternih ugljikovih atoma.

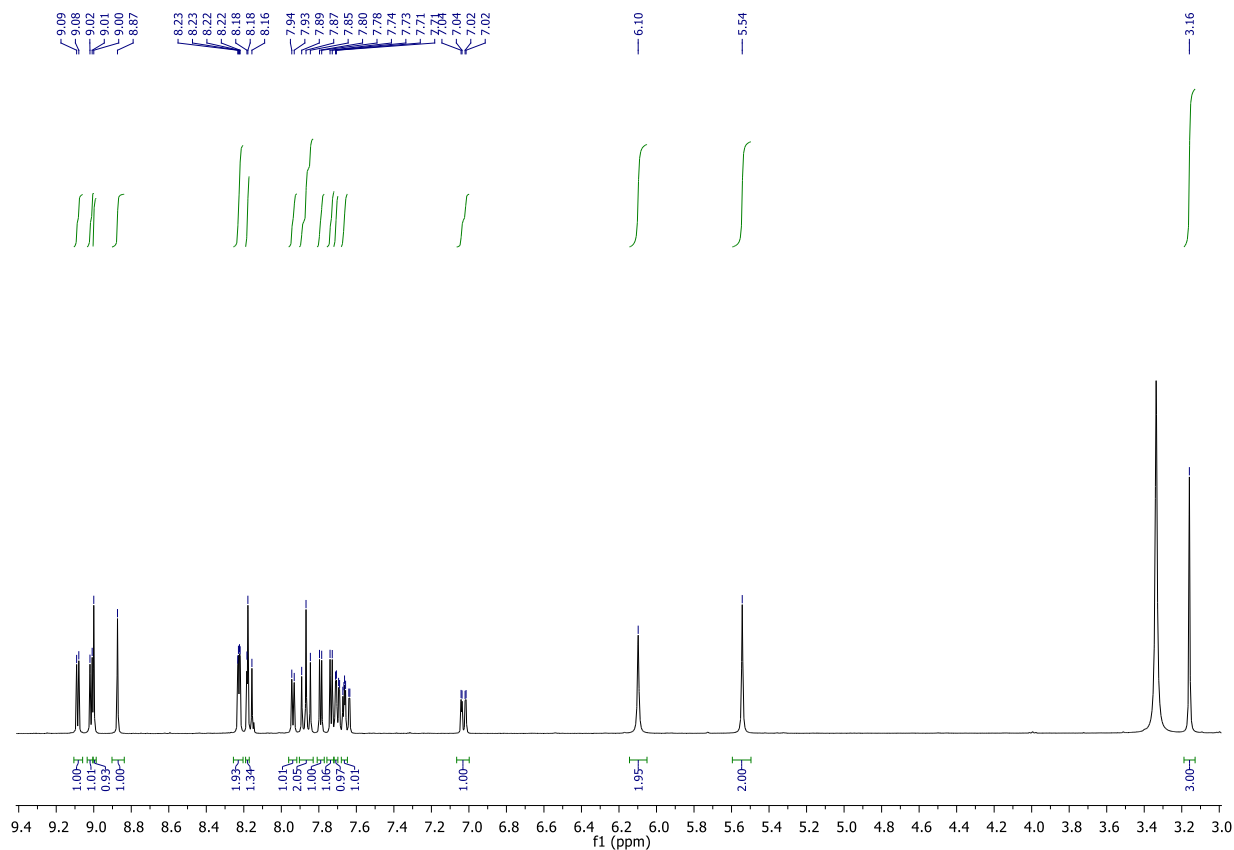


Slika 28.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar 7-((1-(7-klorkinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-1-metil-9H-pirido[3,4-b]indola **10**

Shema 4. prikazuje pripravu konjugata **12** i **13**, polazeći od sinteze prekursora 9-(prop-2-inil)-7-(prop-2-iniloksi)harmina **11** (85,14%), koji je poslužio u 1,3-dipolarnoj cikloadiciji kao dipolarofil, do same „klik“ reakcije. Sintaza konjugata **12** i **13** provedena je na isti način kao i priprava konjugata **9** i **10**. Spoj **12** dobiven je u iskorištenju od 50,01%, a spoj **13** od 21,83%.



Shema 4.



Slika 29.  $^1\text{H}$  NMR spektar 7-((1-(7-klorkinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-9-((1-(7-klorkinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1-metil-9H-pirido[3,4-b]indola **13**

Na  $^1\text{H}$  NMR spektru sintetiziranog spoja **13** u alifatskom dijelu mogu se uočiti protoni metilne skupine (3,16 ppm) i metilenskih poveznica (5,54 i 6,10 ppm). U području od 7,03 ppm do 9,09 ppm nalazi se odgovarajuć broj signala aromatskih protona kinolinske jezgre, harmina i protona 1,2,3-triazolnog prstena.

## **5. Zaključak**

- 
- U ovom radu priređeni su sljedeći mono-alkini *N*-propargilni derivat harmina **2** i *O*-propargilni derivat harmina **8**, bisalkin 9-(prop-2-inil)-7-(prop-2-iniloksi)harmin **11** konjugati harmina i 7-hidroksikumarina **5**, **9** i **12** kao i konjugati harmina i 7-klorkinolina **6**, **10** i **13** premošteni 1,2,3-triazolnim prstenom.
  - Sintezi konjugata harmina s kumarinom i kinolinom prethodio je sintetski put kojim su priređeni derivati harmina s terminalnom azidnom skupinom **2**, **8** i **11**. Kao prekursor za priređivanje 9-(prop-2-inil)harmina upotrebljen je harmin **1**, a za 7-(prop-2-iniloksi)harmin i 9-(prop-2-inil)-7-(prop-2-iniloksi)harmin harmol **7**.
  - Ciljani 1,4-disuptituirani derivati 1,2,3-triazola uspješno su dobiveni regioselektivnom 1,3-dipolarnom cikloadicijom, „klik“ reakcijom, uz bakar(II) acetat kao katalizator u metanolu, s odogovarajućim iskorištenjima 21,83-74,52%.
  - Svim novopriređenim spojevima struktura je potvrđena korištenjem <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektroskopije.
  - Potrebna su biološka ispitivanja spojeva **5**, **6**, **9**, **10**, **12** i **13** kako bi se utvrdila aktivnost, posebice antimalarijska.



## **6. Literatura**

1. F.F. Runde, *Annalen der Physik und Chemie*, **31** (1834) 65.
2. S. Hoogewerf, W. A. van Dorp, *Rec. Trav. Chim.*, **6** (1885) 305.
3. C. Gerhardt, *Annalen der Chemie und Pharmacie*, **42** (1842) 310.
4. V. Boekelheide, W. G. Gall, *J. Am. Chem. Soc.*, **76** (1954) 1832.
5. J. A. Joule, K. Mills, *Heterocyclic Chemistry*, Wiley-VCH, 5th Ed, 2010, 187.
6. T. Eicher, S. Hauptmann, A. Speicher, *The chemistry of heterocycles*, Wiley-VCH 3th Ed, 2012, 405.
7. K. C. Majumdar, S. K. Chattopadhyay, *Heterocycles in Natural Products Synthesis*, Wiley-VCH, 2011, 299.
8. R.G. Ridley, *Nature*, **415** (2002) 686-693.
9. J. Wiesner, R. Ortmann, H. Jomaa, M. Schlitzer, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **42** (2003) 5274.
10. K. Raynes, D. Galatis, A. F. Cowman, L. Tilley, L. J. Deady, *J. Med. Chem.*, **38** (1995) 204.
11. T.J. Egan, R. Hunter, C.H. Kaschula, H.M. Marques, A. Misplon, J.C. Walden, *J. Med. Chem.* **43** (2000) 283.
12. K. Chibale, J.R. Moss, M. Blackie, D. van Schalkwyk, P.J. Smith, *Tetrahedron Lett.* **41** (2000) 6231.
13. P.A. Stocks, K.J. Raynes, P.G. Bray, B.K. Park, P.M. O'Neill, S.A. Ward, *J. Med. Chem.* **45** (2002) 4975.
14. V.J. Solomon, W. Haq, K. Srivastava, S.K. Puri, S.B. Katti, *J. Med. Chem.* **50** (2007) 394.
15. A. Kumar, K. Srivastava, S.R. Kumar, S.K. Puri, P.M.S. Chauhan, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **18** (2008) 6530.
16. S. Delarue-Cochin, P. Grellier, L. Maes, E. Mouray, C. Sergheraert, P. Melnyk, *Eur. J. Med. Chem.* **43** (2008) 2045.
17. K. Ekoue-Kovi, K. Yearick, D.P. Iwaniuk, J.K. Natarajan, J. Alumasa, A.C. de Dios, P.D. Roepe, C. Wolf, *Bioorg. Med. Chem.* **17** (2009) 270.
18. N. Vale, F. Nogueira, V.E. do Rosário, P. Gomes, R. Moreira, *Eur. J. Med. Chem.* (2009) 1.
19. K. Kaur, M. Jain, R. P. Reddy, R. Jain, *Eur. J. Med. Chem.*, **45** (2010) 3245.
20. G. J. Atwell, C. D. Bos, B. C. Baguley, W. A. Denny, *J. Med. Chem.* **31** (1998) 1048.
21. G. J. Atwell, B. C. Baguley, W. A. Denny, *J. Med. Chem.* **32** (1989) 396.
22. J. Singh, C. E. Chuaqui, P. A. Boriack-Sjodin, W. C. Lee, T. Pontz, M. J. Corbley, H. K. Cheung, R. M. Arduini, J. N. Mead, M. N. Newman, J. L. Papadatos, S. Bowes, S. Josiah, L. E. Ling, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **13** (2003) 4355.
23. K. R. Auger, L. Luo, S. D. Knight, G. Van Aller, P. J. Tummino, R. A. Copeland, M. Diamond, D. Sutton, H. Lu, K. Oleykowski, V. Sudakin, D. Dhanak, J. R. Jackson, GSK1059615: A novel inhibitor of phosphoinositide 3-kinase for the treatment of cancer, EORTC-NCI-AACR international conference on molecular targets and cancer, Geneva Palexpo, Švicarska 2008.
24. K. G. Byler, C. Wang, W. N. Setzer, *J. Mol. Model.* **15** (2009) 1417.
25. V. R. Solomon, H. Lee, *Eur. J. Pharmacol.* **25** (2009) 220.
26. V. G. Pawar, M. L. Sos, H. B. Rode, M. Rabiller, S. Heynck, W. A. van Otterlo, R. K. Thomas, D. Rauh, *J. Med. Chem.* **53** (2010) 2892.
27. R. Kakadiya, H. Dong, A. Kumar, D. Narsinh, X. Zhang, T. C. Chou, T. C. Lee, A. Shah T. L. Su, *Bioorg. Med. Chem.* **18** (2010) 2285.
28. V. R. Solomon, H. Lee, *Cur. Med. J.* **18** (2011) 1488.
29. C. Benard, F. Zouhiri, M. Normand-Bayle, M. Danet, D. Desmaele, H. Leh, J. Mouscadet, G. Mbemba, C. Thomas, S. Bonnenfant, M. Le Bretc, J. d'Angelo, *Bioorg. Med. Chem.* **14** (2004) 2473.
30. F. Zouhiri, M. le Danet, C. Benard, M. Normand-Bayle, J. Mouscadet, H. Leh, C. M. Thomas, G. Mbemba, J. d'Angelo, D. Desmaele, *Tetrahedron Lett.* **46** (2005) 2201.

31. A. Carta, I. Briguglio, S. Piras, P. Corona, G. Boatto, M. Nieddu, P. Giunchedi, M. E. Marongiu, G. Giliberti, F. Iuliano, S. Blois, C. Ibba, B. Busonera, P. La Colla, *Bioorg. Med. Chem.* **19** (2011) 7070.
32. M. J. Matos, L. Santana, E. Uriarte, O. A. Abreu, E. Molina, E. G. Yordi, *Phytochemicals - Isolation, Characterisation and Role in Human Health*, **1** (2015) 113.
33. C. Kontogiorgis, A. Detsi, D. Hadjipavlou-Litina, *Expert Opin. Ther. Patents*, **22** (2012) 1744.
34. K. N. Venugopala, V. Rashmi, B. Odhav, *BioMed. Res. Int.*, **1** (2013) 1.
35. K. Ajay Kumar, N. Renuka, G. Pavithra, G. V. Kumar, *J. Chem. Pharm. Res.*, **7** (2015) 67.
36. M. Molnar, M. Čačić, *Croat. J. Food Sci. Technol.*, **3** (2011) 55.
37. M. Patel Rajesh, J. Patel Natvar, *J. Adv. Pharm. Edu.*, **1** (2011) 52.
38. P. Roškarić, Diplomski rad: Sinteza, spektroskopska karakterizacija i antioksidativna aktivnost novih metoksi- i hidroksi-supstituiranih heteroaromatskih derivata, Zagreb 2017.
39. W. K. Whang, H. S. Park, I. Ham, *Exp. Mol. Med.*, **37** (2005) 436.
40. S. H. Kim, K. A. Kang, R. Zhang, *Ac. Pharm. Sin.*, **29** (2008) 1319.
41. A. Basile, S. Sorbo, V. Spadaro, *Molecules*, **14** (2009) 939.
42. S. Choudhary, S.G. Kini, M. Mubeen, *Der Pharma Chemica*, **5**(2013) 213.
43. A.-M. Kotsori, D. Hadjipavlou-Litina, *Expert Opin. Ther. Patents*, **24** (2014) 1323.
44. K. Kasperkiewicz, M. B. Ponczek, E. Budzisz, A biological, fluorescence and computational examination of synthetic coumarin derivatives with antithrombotic potential, *Pharm. Rep.* (2018).
45. R. D. Caterina, S. Husted, L. Wallentin, F. Andreotti, H. Arnesen, F. Bachmann, C. Baigent, K. Huber, J. Jaspersen, S. D. Kristensen, G. Y. H. Lip, J. Morais, L. H. Rasmussen, A. Siegbahn, F. Verheugt, J. I. Weitz, *Thr. Hae.*, **110** (2013) 1087.
46. M. Krnić, Diplomski rad Novi 1,2,3-triazolni derivati kumarina: sinteza Pd-kataliziranim i „klik” reakcijama, spektroskopska svojstva i antitumorska aktivnost Zagreb, 2016.
47. C. Carmona, M. Galan, G. Angulo, M. A. Munoz, P. Guardado, M. Balon, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2** (2000) 5076.
48. R. Cao, W. Peng, Z. Wang, A. Xu, *Curr. Med. Chem.*, **14** (2007) 479.
49. R. Cao, W. Peng, H. Chen, Y. Ma, X. Liu, X. Hou, H. Guan, A. Xu, *Biochem. Biophys. Res. Com.*, **338** (2005) 1557.
50. M. Mahmoudian, H. Jalilpour, P. Salehian, *J. Pharmacol. Ther.*, **1** (2002) 1.
51. Q. Chen, R. Chao, H. Chen, X. Hou, H. Yan, S. Zhou, W. Peng, A. Xu, *Int. J. Cancer*, **114** (2004) 675.
52. Z. Ma, Y. Hano, T. Nomura, Y. Chen, *Phytochemistry*, **53** (2000) 1075.
53. B. Liu, *Zhong Yao Cai*, **34** (2011) 1719.
54. F. Jahaniani, S. A. Ebrahimi, N. Rahbar-Roshandel, M. Mahmoudian, *Phytochemistry*, **66** (2005) 1581.
55. D. Frost, B. Meechoovet, T. Wang, S. Gately, M. Giorgetti, I. Shcherbakova, T. Dunckley, *PLoS ONE*, **6** (2011) 19264.
56. H. Rommelspacher, C. Wernicke, J. Lehmann,  $\beta$ -Carbolines: Occurrence, biosynthesis, and biodegradation. *Curr. Top. Neurotox.*, **1** (2012) 105.
57. J. Ishida, H. K. Wang, K. F. Bastow, C. Q. Hu, K.H. Lee, *Biorg. Med. Chem. Lett.*, **9** (1999) 3319.
58. R. Cao, Q. Chen, X. Hou, H. Chen, H. Guan, Y. Ma, W. Peng, A. Xu, *Bioorg. Med. Chem.*, **12** (2004) 4613.
59. R. Cao, X. Guan, B. Shi, Z. Chen, Z. Ren, W. Peng, H. Song, *Eur. J. Med. Chem.*, **45** (2010) 2503.
60. Y. Ma, M. Wink, *Phytother. Res.*, **24** (2010) 146.

61. A. Laguna, S. Aranda, M. J. Barallobre, R. Barhoum, E. Fernandez, V. Fotaki, J. M. Delabar, S. de la Luna, P. de la Villa, M. L. Arbones, *Dev. Cell*, **15** (2008) 841.
62. A. Seifert, L. A. Allan, P. R. Clarke, *FEBS J.*, **275** (2008) 6268.
63. R. Cao, W. Fan, L. Guo, Q. Ma, G. Zhang, J. Li, X. Chen, Z. Ren, L. Qiu, *Eur. J. Med. Chem.*, **60** (2013) 135.
64. S. Li, A. Wang, F. Gu, Z. Wang, C. Tian, Z. Qian, L. Tang, Y. Gu, *Ontotarget*, **6** (2015) 8988.
65. I. Filali, M. A. Belkacem, A. Ben Nejma, J. P. Souchard, H. Ben Jannet, J. Bouajila, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 2016 1.
66. I. Ayoob, Y. M. Hazari, S. H. Lone, Shakeel-u-Rehman, M. A. Khuroo, K. M. Fazili, K. A. Bhat, *ChemistrySelect*, **2** (2017) 2965.
67. C. Viegas-Junior, A. Danuello, B.V. da Silva, E.J. Barreiro, C. A. Manssour Fraga, *Curr. Med. Chem.*, **14** (2007) 1829.
68. K. Nepali, S. Sharma, M. Sharma, P.M. S. Bedi, K. L. Dhar, *Eur. J. Med. Chem.*, **77** (2014) 422.
69. T. Gregorić, Diplomski rad: Regioselektivna sinteza 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazola, Zagreb 2016.
70. E. H. Da Cruz, C. M. Hussene, G. G. Dias, E. B. Diogo, I. M. de Melo, B. L. Rodrigues, M. G. da Silva, W. O. Valença, C. A. Camara, R. N. de Oliveira, Y. G. de Paiva, M. O. Goulart, B. C. Cavalcanti, C. Pessoa, Júnior E.N da Silva, *Bioorg. Med. Chem.*, **22** (2014) 1608.
71. A. H. Kategaonkar, P. V. Shinde, S. K. Pasale, B. B. Shingate, M. S. Shingare, *Eur. J. Med. Chem.*, **45** (2010) 3142.
72. W. S. Horne, M. K. Yadav, C. D. Stout, M. R. Ghadiri, *J. Am. Chem. Soc.*, **126** (2004) 1536.
73. S. G. Agalave, S. R. Maujan, V. S. Pore, *Chem. Asian J.*, **6** (2011) 2696.
74. H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **40** (2001), 2004.
75. R. Husigen, G. Szeimies, L. Mobius, *Chem. Ber.* **100** (1967) 2494.
76. J. Hou, X. Liu, J. Shen, G. Zhao, P. G. Wang, *Exper. Opin. Drug Discov.*, **7** (2011) 489.
77. B. Lee, H. Bae Jeon, K. Kwan Soo, *Tet. Lett.*, **47** (2006) 5105.
78. V. D. Bock, H. Hiemstra, H. J. van Maarseveen, *Eur. J. Org. Chem.*, **1** (2006) 51.
79. A. Dog, H. Durman, V. Kirmizi, G. Hizal, V. Tunca, *Polym. Chem.*, **1** (2010) 621.

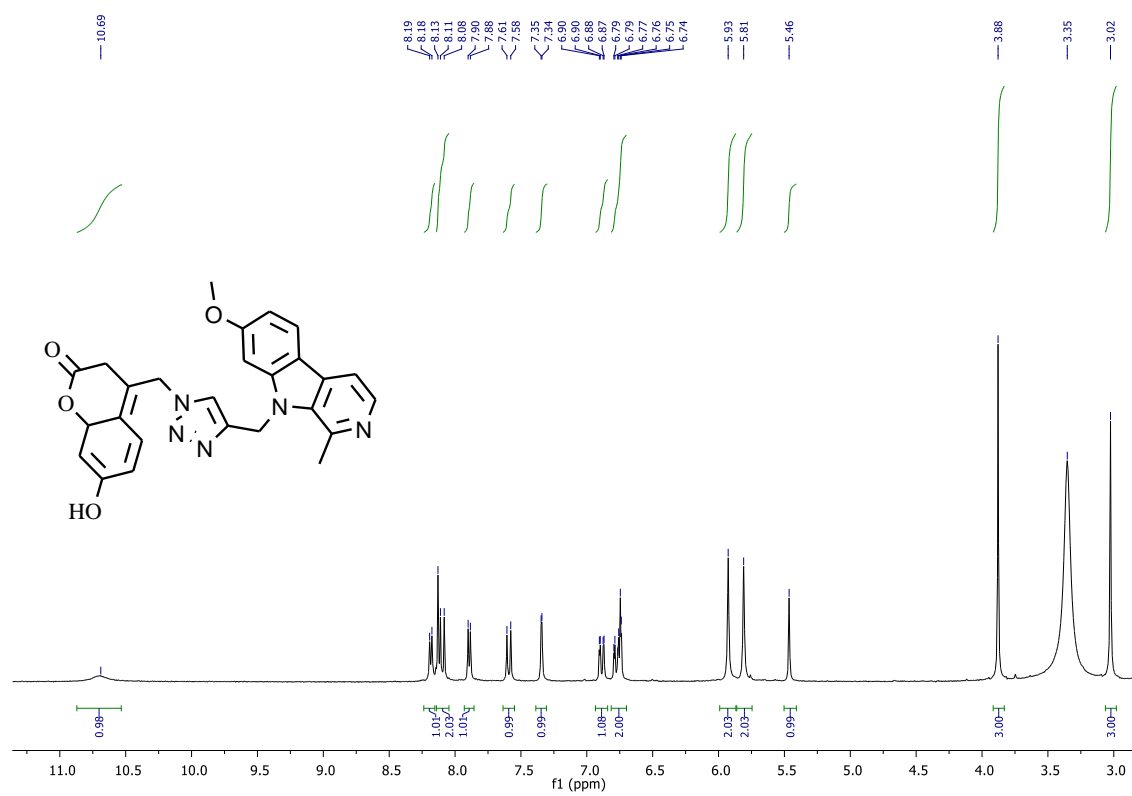
## **7. Životopis**

**Rebeka Štulić** [REDACTED] Osnovnu školu završila je u Ninu, a 2011. godine upisala opći smjer Gimnazije Jurja Barakovića, Zadar. S odličnim uspjehom maturira 2015. godine i upisuje preddiplomski studij Primijenjene kemije na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu kao redovna studentica. Za vrijeme preddiplomskog studija odradila je stručnu praksu u Zavodu za javno zdravstvo Zadar u Službi za zdravstvenu ekologiju i zaštitu okoliša.

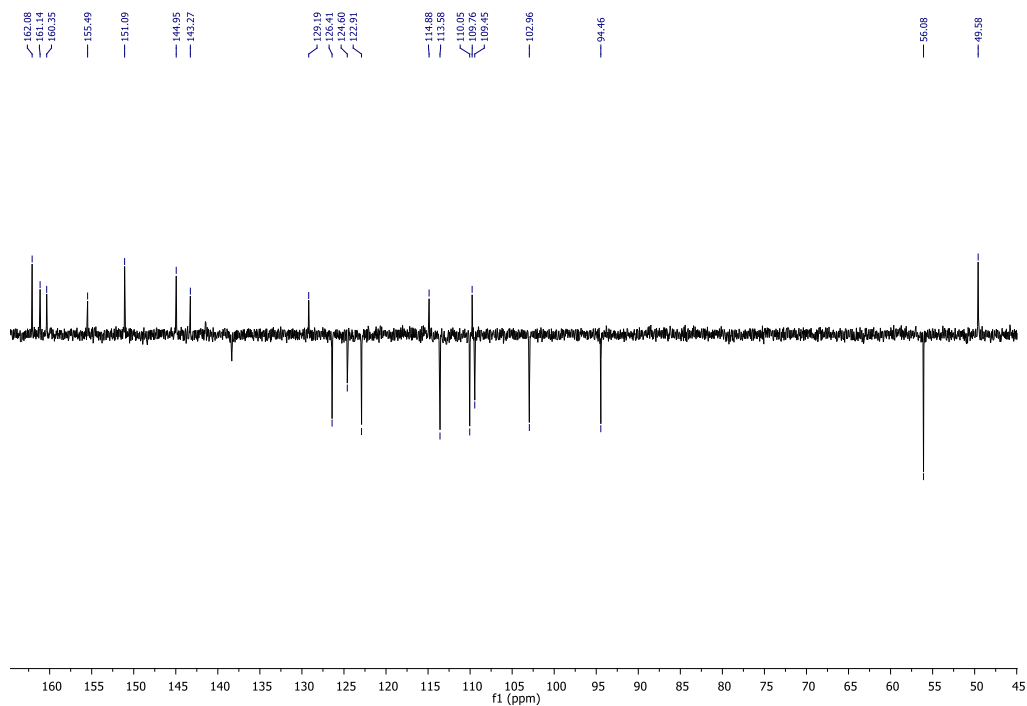
## **8. Prilozi**

## Prilog 1

- a)  $^1\text{H}$  NMR spektar **7-hidroksi-4-((4-((1-metil-7-metoksi-9H-pirido[3,4-b]indol-9-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)kroman-2-ona 5**



- b)  $^{13}\text{C}$  NMR spektar **7-hidroksi-4-((4-((1-metil-7-metoksi-9H-pirido[3,4-b]indol-9-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)kroman-2-ona 5**



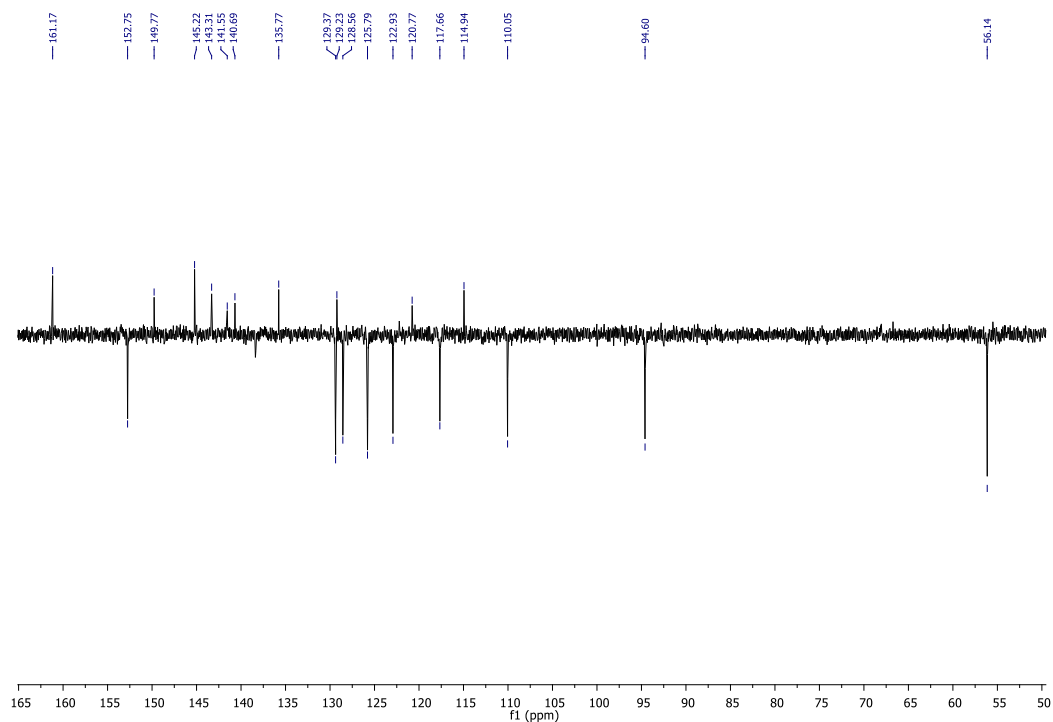


## Prilog 2

- a)  $^1\text{H}$  NMR spektar **9-((1-(7-klorkinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1-metil-7-metoksi-9H-pirido[3,4-b]indola 6**

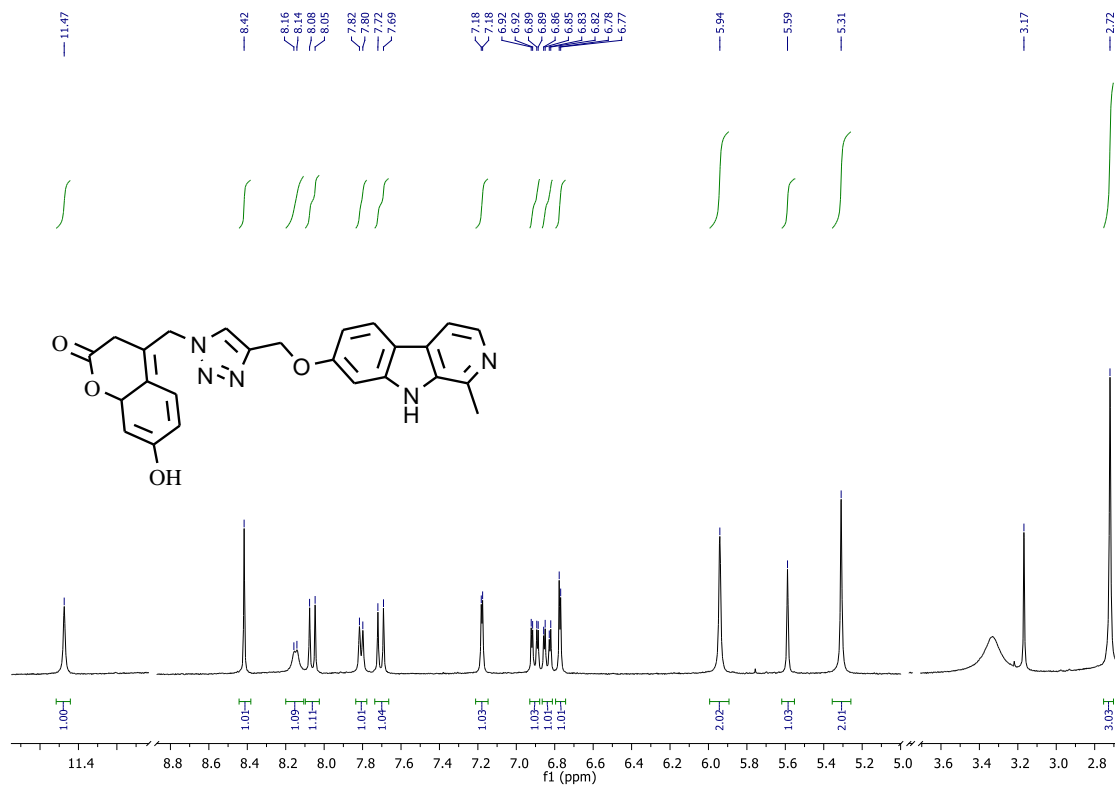


- b)  $^{13}\text{C}$  NMR spektar **9-((1-(7-klorkinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1-metil-7-metoksi-9H-pirido[3,4-b]indola 6**

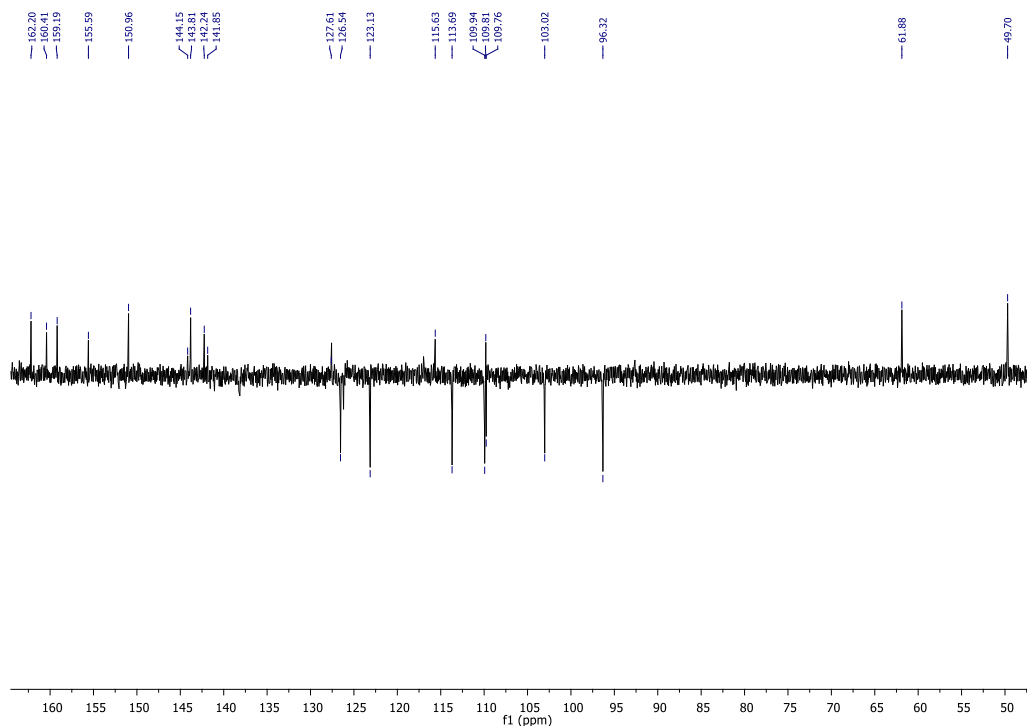


## Prilog 3

- a)  $^1\text{H}$  NMR spektar **7-hidroksi-4-((4-((1-metil-9H-pirido[3,4-b]indol-7-iloksi)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)kroman-2-ona 9**

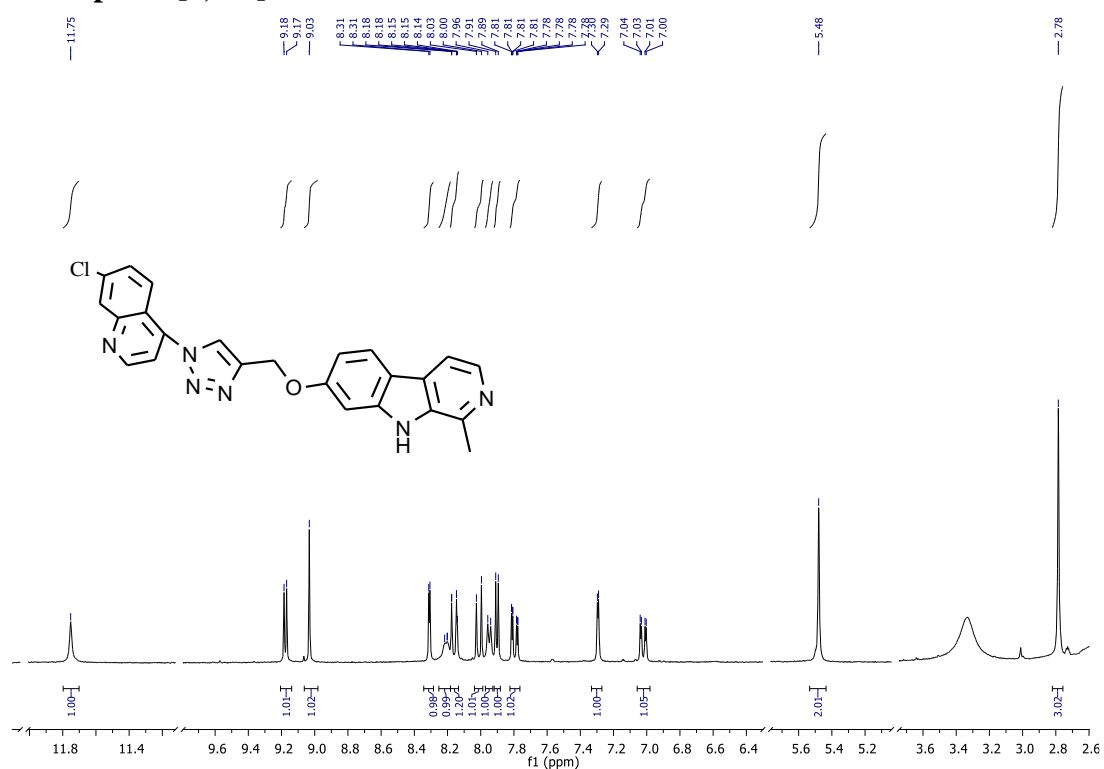


- b)  $^{13}\text{C}$  NMR spektar **7-hidroksi-4-((4-((1-metil-9H-pirido[3,4-b]indol-7-iloksi)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)kroman-2-ona 9**

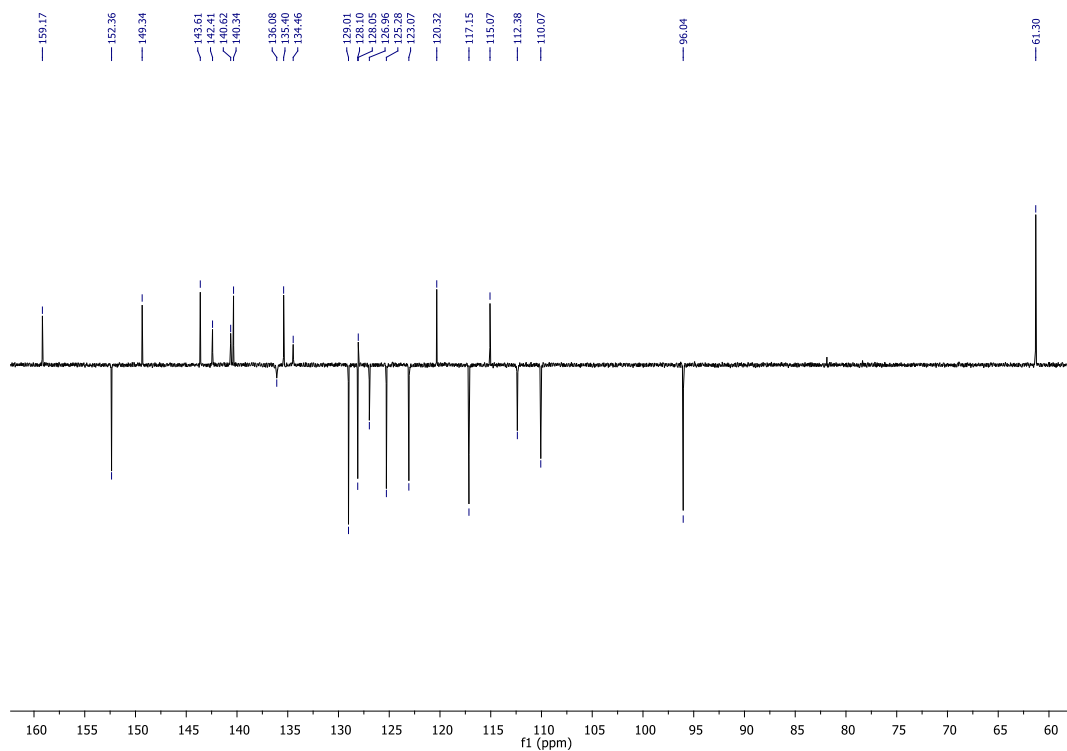


## Prilog 4

- a)  $^1\text{H}$  NMR spektar 7-((1-(7-klorkinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-1-metil-9H-pirido[3,4-b]indola 10

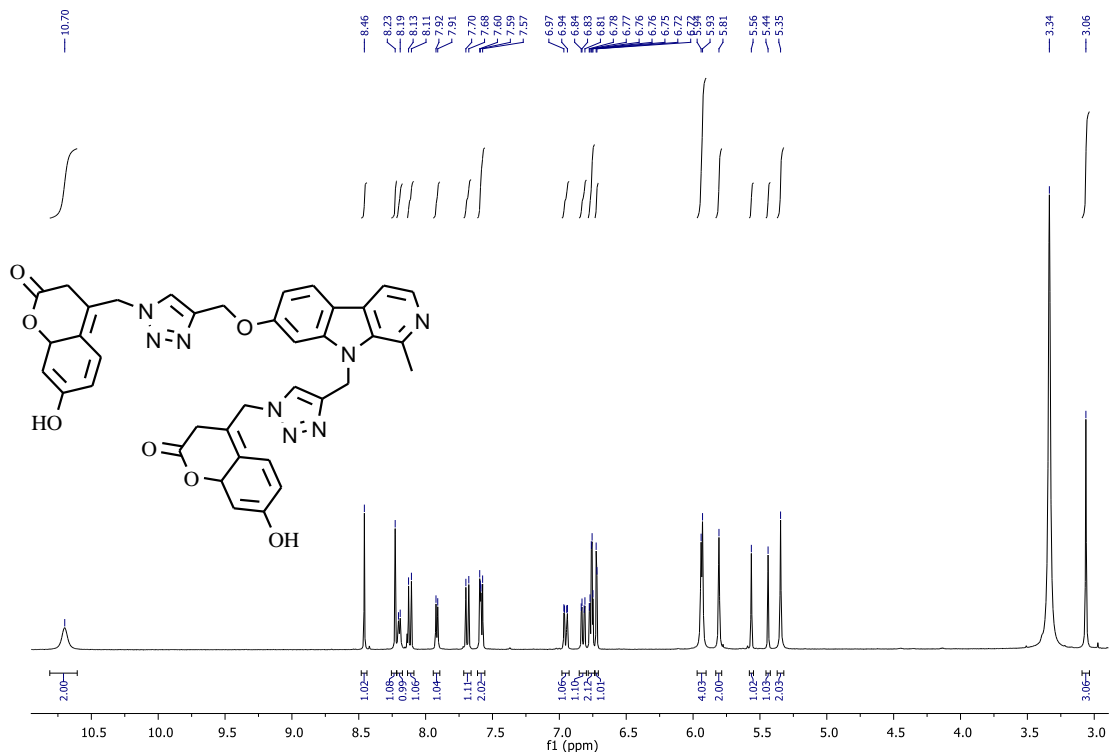


- b)  $^{13}\text{C}$  NMR spektar 7-((1-(7-klorkinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-1-metil-9H-pirido[3,4-b]indola 10

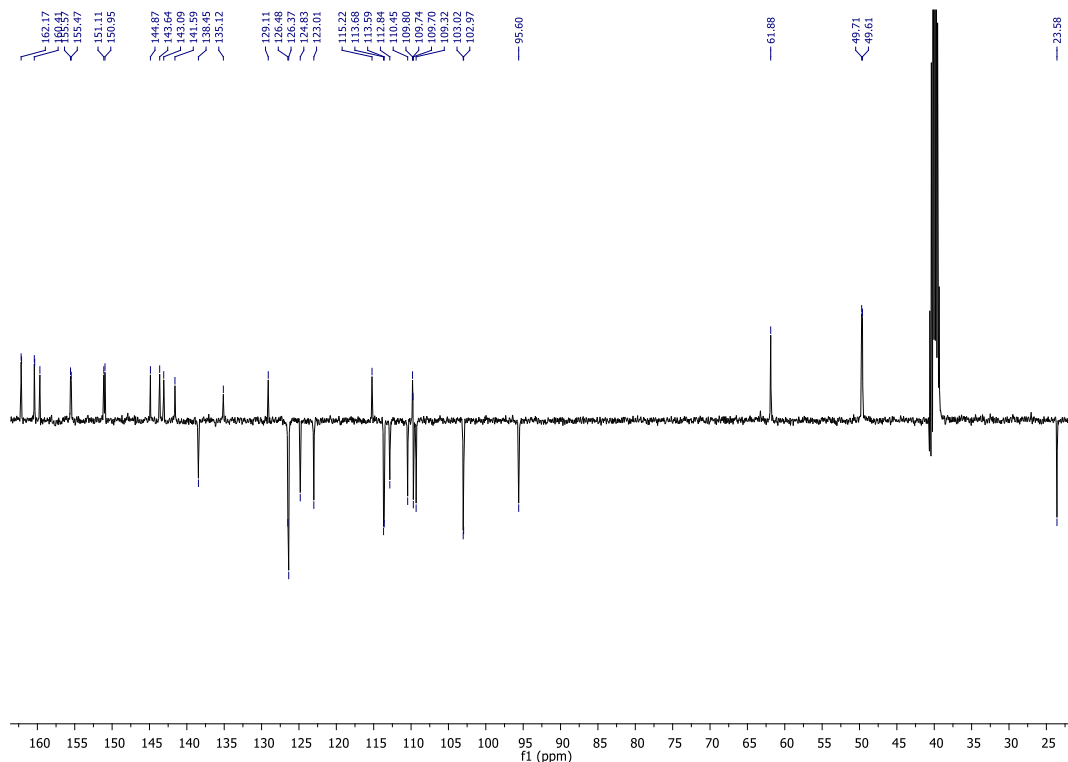


## Prilog 5

- a)  $^1\text{H}$  NMR spektar 7-((1-(7-hidroksikroman-2-on-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-9-((1-(7-hidroksikroman-2-on-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1-metil-9H-pirido[3,4-b]indola 12

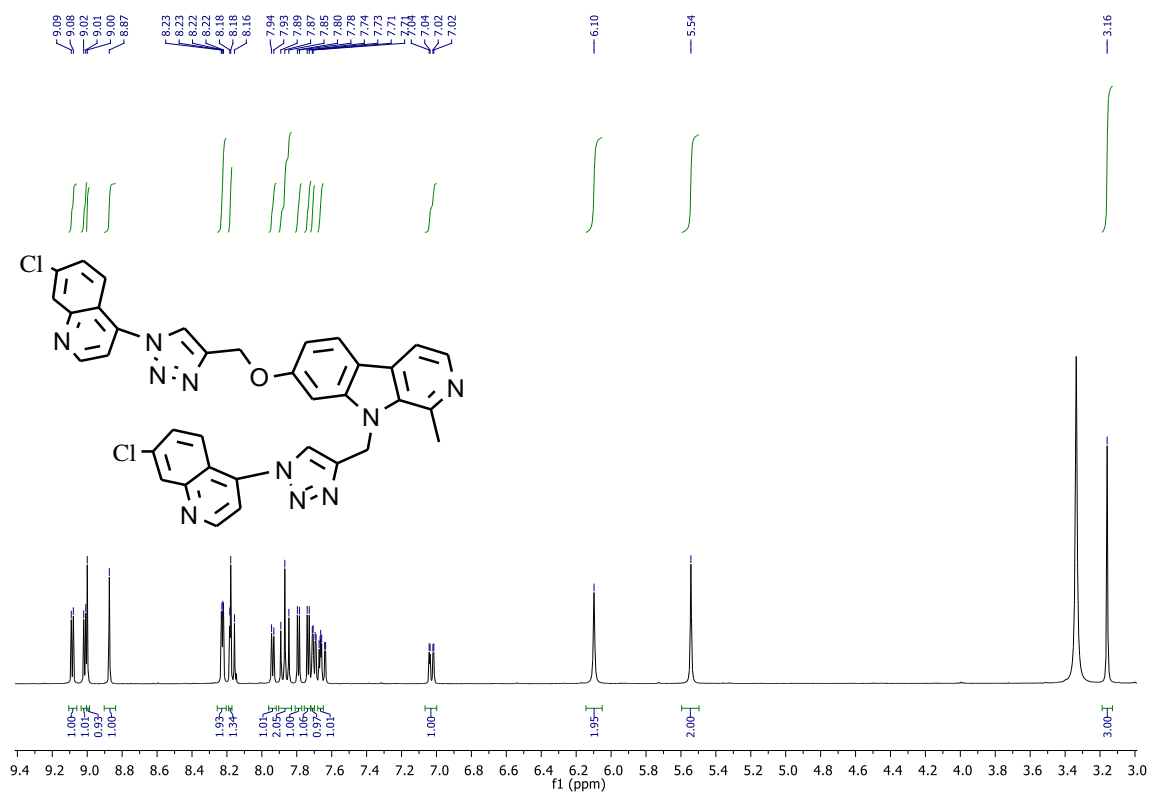


- b)  $^{13}\text{C}$  NMR spektar 7-((1-(7-hidroksikroman-2-on-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-9-((1-(7-hidroksikroman-2-on-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1-metil-9H-pirido[3,4-b]indola 12

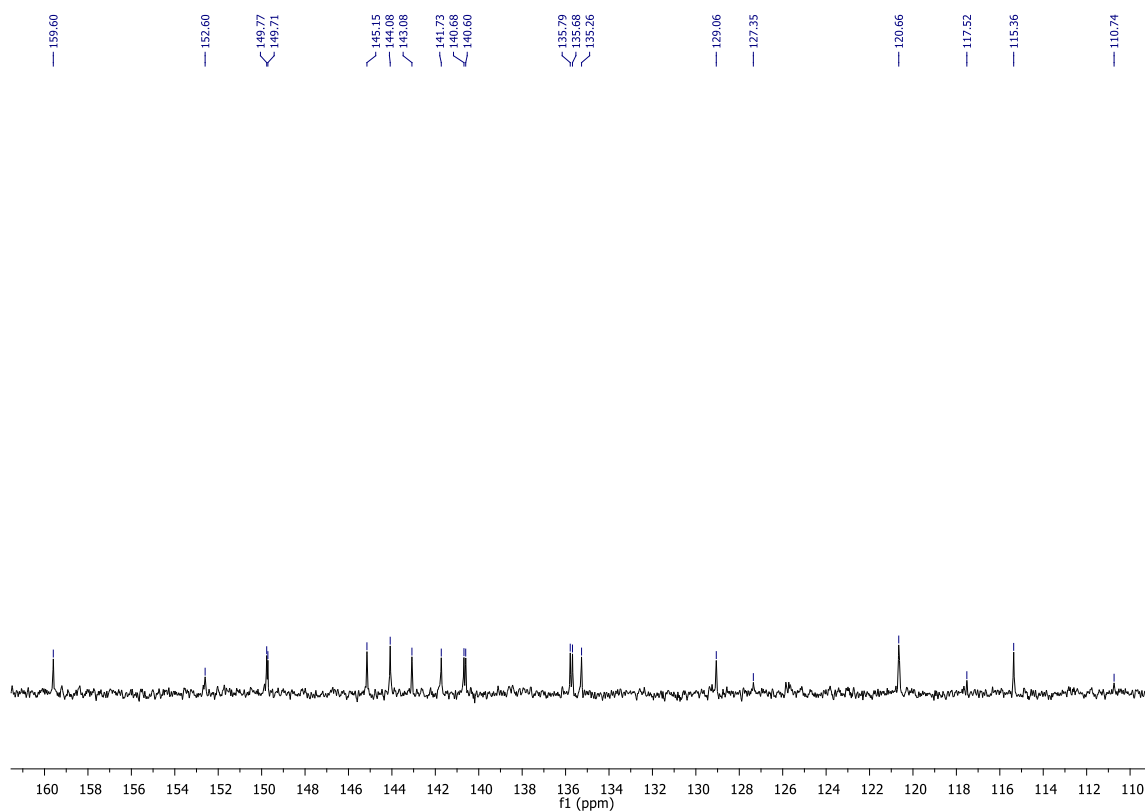


## Prilog 6

- a)  $^1\text{H}$  NMR spektr 7-((1-(7-klorkinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-9-((1-(7-klorkinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1-metil-9H-pirido[3,4-b]indola 13



- b)  $^{13}\text{C}$  NMR spektr 7-((1-(7-klorkinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-9-((1-(7-klorkinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1-metil-9H-pirido[3,4-b]indola 13



## **9. Popis simbola i kratice**

AChE - acetilkolinesteraza

AQ – amodiakin (eng. *amodiaquine*)

$\beta$ C –  $\beta$ -karbolinski spojevi

BCRP – protein raka dojke

BZ - benzodiazepin

CDK – ciklin-zavisna kinaza

CQ – klorokin (eng. *chloroquine*)

CQR paraziti – klorokin-otporni paraziti (eng. *chloroquine-resistant parasites*)

CQS paraziti – klorokin-osjetljivi paraziti (eng. *chloroquine-sensitive parasites*)

CuAAC - azid-alkin cikloadicija katalizirana Cu(I)

DA - dopamin

DH $\beta$ C – dihidro- $\beta$ -karbolinski spojevi

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

DPPH – 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil

DYRK1A - dvojno–specifična tirozin fosforilacijom-regulirane kinaza 1A

EAC - Ehrlich Ascites karcinom

EC<sub>50</sub> – polovina maksimalne efektivne koncentracije

EGF – epidermalni faktor rasta (eng. *epidermal growth factor*)

FQ – feroklorokin (eng. *ferrochloroquine*)

GST – Glutation S-transferaza

5-HT – 5-hidroksitriptamin

IC<sub>50</sub> – mjera inhibitorske moći, koncentracija potrebna za 50%-tnu inhibiciju aktivnosti

MAO-A – monoamin oksidaza A

MH – molekulska hibridizacija

NMR – nuklearna magnetska rezonancija

NO $\cdot$  – dušični oksid

NO<sub>2</sub> $\cdot$  – dušični dioksid

O<sub>2</sub> $\cdot^-$  – superoksidni anion

O<sub>3</sub> – ozon

OH $\cdot$  – hidroksilni radikal

PQQ – pirolokinolin kinon (eng. *pyrroloquinoline quinone*)

RO $\cdot$  – alkoksilni radikal

RO $_2\cdot$  – peroksidni radikal

RNS – reaktivne dušikove čestice (eng. *reactive nitrogen species*)

ROS – reaktivne kisikove čestice (eng. *reactive oxygen species*)

SAR – odnos strukture i aktivnosti (eng. *structure-activity relationship*)

TB – tuberkuloza

TGF – transformirajući faktor rasta (eng. *transforming growth factor*)

TH $\beta$ C – tetrahidro- $\beta$ -karbolinski spojevi

Topo I – enzim topoizomeraza I

VKA – antagonisti vitamina K (eng. *vitamin K antagonists*)