

Sinteza i spektroskopska karakterizacija novih derivata indena

Baričević, Nikica

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

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:149:805967>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-11**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Nikica Baričević

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2023.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Nikica Baričević

**SINTEZA I SPEKTROSKOPSKA KARAKTERIZACIJA NOVIH DERIVATA
INDENA**

ZAVRŠNI RAD

Mentor: doc. dr. sc. Dragana Vuk, FKIT

Članovi ispitnog povjerenstva:

1. doc. dr. sc. Dragana Vuk
2. prof. dr. sc. Irena Škorić
3. prof. dr. sc. Danijela Ašperger

Zagreb, rujan 2023.

SAŽETAK:

Glavni cilj ovog rada je istraživanje i optimizacija sintetskog puta za nove indenske derivate koji će biti predmet budućih bioloških ispitivanja. Sintetski put derivata odvijao se u dvije glavne reakcije. U početnoj reakciji dobiveni su produkti **1-3** koji igraju ulogu prekursora za daljne korake. Produkti **4-6** formirani su putem redukcijske reakcije spojeva **1-3** uz uporabu litijevog aluminijevog hidrida kao reducensa. Nakon svakog koraka, produkti su izolirani uz pomoć kolonske kromatografije te su u potpunosti spektroskopski okarakterizirani.

Ključne riječi: indenski derivati, sinteza, optimizacija, biološka aktivnost.

ABSTRACT:

The main objective of this study is the exploration and optimization of a synthetic pathway for new indene derivatives that will be the subject of future biological investigations. The synthetic pathway involves two primary reactions. In the initial reaction, products **1-3** are obtained, which serve as precursors for further steps. Products **4-6** are formed through the reduction reaction of compounds **1-3**, using lithium aluminum hydride as a reducing agent. After each step, the products are isolated through column chromatography and spectroscopically characterized.

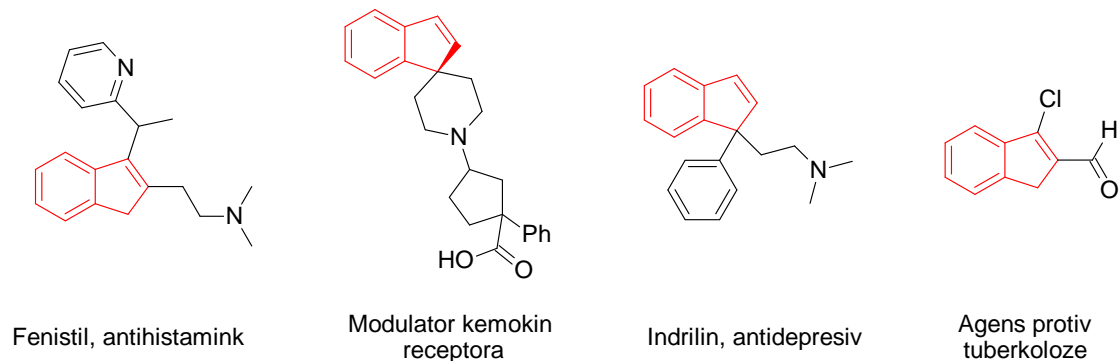
Keywords: indene derivatives, synthesis, optimization, biological activity.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	2
2.1. Struktura indana i indena	2
2.2. Biološka aktivnost derivata indana i indena	2
2.3. Antikancerogena svojstva derivata indana i indena.....	3
2.3.1. Konjugati indanona kao potencijalni farmakofori za antikancerogenu primjenu	3
2.3.2. Antikancerogeni potencijal spirocikličkih derivata indena	4
2.3.3. Antikancerogena svojstva organo-metalnih spojeva temeljenih na derivatima indana	7
2.3.4. Antikancerogena svojstva indanskog karbocikličkog nukleozida	9
2.4. Protuupalna svojstva derivata indana i indena.....	11
2.4.1. Protuupalni derivati indena s profilom inhibicije ciklooksigenaze	11
2.4.2. Protuupalni indenski derivati s profilom inhibicije fosfolipaze.....	14
2.5. Neuroprotektivna svojstva derivata indana i indena	17
2.5.1. Farmakofori usmjereni protiv Alzheimerove bolesti temeljeni na okviru indana i indena	17
3. REZULTATI I RASPRAVA	22
3.1. Uvod	22
3.2. Sinteza i spektroskopska karakterizacija spojeva 1-3	23
3.3. Sinteza i spektroskopska karakterizacija spojeva 4-6	26
4. EKSPERIMENTALNI DIO	28
4.1. Opće napomene	28
4.2. Sinteza indenskih derivata 1-3	28
4.3. Sinteza indenskih derivata 4-6	29
5. ZAKLJUČAK.....	31
6. LITERATURA.....	32

1. UVOD

Indanski i indenski derivati izdvajaju se kao značajna skupina organskih spojeva s raznovrsnim biološkim primjenama. Njihova funkcija kao farmakofori, uz mogućnost pružanja temeljnih struktura za razvoj novih terapijskih spojeva, izdvaja ih kao predmet istraživanja koji je od ključne važnosti. Bioaktivni profil derivata izazvao je intenzivna istraživanja usmjerena prema razvoju klinički značajnih lijekova, te prepoznavanje vodećih spojeva ključnih za brz razvoj terapijski važnih molekula. Ova grupa spojeva predstavlja raznolike biološke efekte, uključujući antibakterijsko, antivirusno, antitumorsko, antioksidativno, protuupalno i antidepresivno djelovanje. Strukturni okvir indana i indena te njihovih derivata omogućuje specifične modifikacije koje prilagođavaju međudjelovanje s biološkim metama, čime se stvara mogućnost prilagodbe svojstava za specifične kliničke primjene. Iznimno je bitno istaknuti sposobnost derivata indana i indena da istovremeno djeluju na različite biološke mete, stvarajući tako izvanredne prilike za razvoj višenamjenskih terapijskih pristupa. Ova značajka čini ih perspektivnim kandidatima za stvaranje novih lijekova koji ciljaju kompleksne metaboličke puteve i interakcije u organizmu. [1]



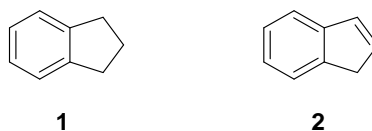
Slika 1. Neki primjeri farmaceutskih spojeva na bazi indena

U okviru ovog rada, detaljno će se istražiti sintetski put za dobivanje novih derivata indena, koji će biti potpuno podvrgnuti spektroskopskoj karakterizaciji. Nadalje, istraživanje će obuhvatiti analizu njihove moguće primjene kao fungicidnih agenasa.

2. OPĆI DIO

2.1. Struktura indana i indena

Indan (C_9H_{10}) **1** i inden (C_9H_8) **2** su zanimljivi organski spojevi s jedinstvenim strukturama koje obuhvaćaju kombinaciju šesteročlanog i peteročlanog prstena. Oba spoja dijele sličnosti, ali i razlike u svojoj kemijskoj strukturi, što ih čini intrigantnim predmetima istraživanja. Šesteročlani prsten u oba spoja donosi aromatičnost, dok dodatna nezasićenost u peteročlanom prstenu indenu daje posebnu reaktivnost i svojstva. I indan i inden imaju značajnu ulogu u organskoj kemiji te se koriste kao osnova za razne sintetičke procese. Njihove strukture omogućuju stvaranje raznovrsnih spojeva s različitim svojstvima i primjenama, te se područje primjene njihovih derivata proteže široko i kroz razne grane znanosti. [2]



Slika 2. Strukture indana i indena

2.2. Biološka aktivnost derivata indana i indena

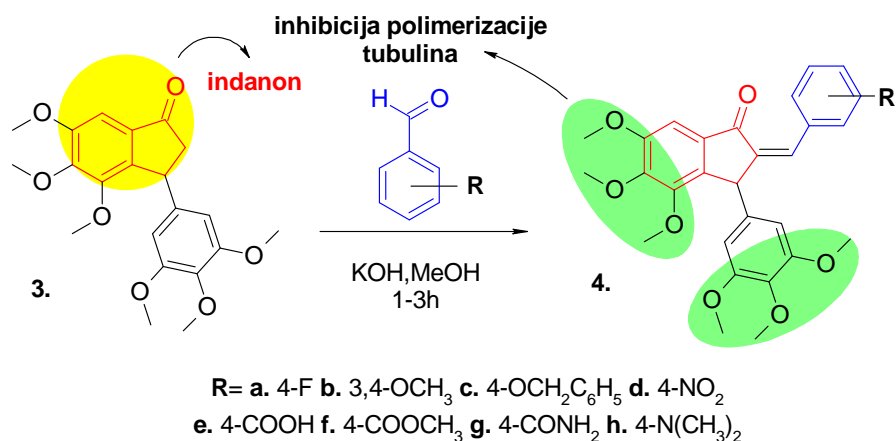
Biološka aktivnost derivata indana i indena privlači značajnu pažnju u području farmakologije i biomedicinskih istraživanja. Ovi spojevi demonstriraju raznolike biološke efekte kao što su protuupalni, antikancerogeni i neuroprotektivni. Njihova sposobnost interakcije s biološkim sustavima kao što su enzimi, receptori i druge biološke mete omogućuje raznolike farmakološke efekte, čineći ih iznimno intrigantnima za istraživanje i razvoj novih terapija. Derivati indana i indena predstavljaju ključne prekursore u sintezi biološki važnih okvira, koji se nadalje koriste u farmaceutskoj industriji i drugim područjima. Njihova sposobnost da ciljaju specifične biološke procese čini ih obećavajućim izvorom za razvoj inovativnih načina liječenja i potencijalno revolucionarnih terapija, otvarajući put prema novim i unaprijeđenim zdravstvenim rješenjima. [3]

2.3. Antikancerogena svojstva derivata indana i indena

U suvremenom farmaceutskom svijetu, istraživanje potencijalnih agensa za suzbijanje rasta kancerogenih stanica iznimno je važno. Derivati indana i indena, strukturne jedinice prisutne u različitim organskim spojevima, privlače pažnju zbog mogućeg antikancerogenog djelovanja. U tom smislu, različiti organski i organometalni spojevi temeljeni na derivatima indana i indena podvrgavaju se temeljitoj analizi kako bi se procijenila njihova sposobnost za inhibiranje rasta stanica raka. Laboratorijski eksperimenti istražuju interakcije ovih spojeva s važnim biološkim ciljevima poput enzima topoizomeraza, ključnih za procese replikacije i transkripcije DNK, te receptora kao što su somatostatinski receptori i anaplastična limfomska kinaza. U ovom istraživanju razmatramo različite kemijske varijacije derivata indana i indena kako bismo bolje razumjeli njihov odnos između strukture i aktivnosti te istražili potencijal za razvoj novih antikancerogenih terapija. [1]

2.3.1. Konjugati indanona kao potencijalni farmakofori za antikancerogenu primjenu

Mreža mikrotubula, kompleksna unutarstanična struktura, ima ključnu ulogu u održavanju oblika stanice, reguliranju intracelularnog transporta te podržavanju njezine pokretljivosti, igrajući značajnu ulogu u brojnim biološkim procesima.[4] Tijekom mitoze, mreža mikrotubula reorganizira se kako bi formirala mitotsko vreteno, koje osigurava ispravnu segregaciju kromosoma na dvije nove stanice. Zbog svoje uloge u staničnoj diobi, mikrotubule predstavljaju potencijalnu metu za kemoterapijske lijekove u svrhu liječenja malignih tumora. Naime, ovi lijekovi mogu inhibirati normalnu funkciju mikrotubula i time zaustaviti daljnje širenje i razmnožavanje stanica raka.[5] Razvoj antikancerogenih konjugata temeljenih na benziliden i indanon strukturama rezultirao je sintezom molekula **3**, **4 a-h** (Shema 1) s ciljem inhibicije polimerizacije tubulina, protein koji predstavlja osnovni građevnu jedinicu mikrotubula.[6] Ovi spojevi su očitovali izrazito citotoksično djelovanje prema različitim staničnim linijama raka, rezultirajući značajnim smanjenjem rasta malignih tumora. Specifično, stanice raka kolona (HCT), colorektalni rak (DLD1), rak prostate (DU145), hipofaringealni rak (FaDu), rak dojke (MCF-7/MDA-MB-231), leukemija (THP-1) i rak pluća (A549) izrazito su reagirale na djelovanje ovih spojeva. Izražena selektivnost prema tumorskim stanicama i sposobnost oštećenja mikrotubula otvaraju mogućnost za smanjenje nuspojava na zdrave stanice. [7]



Shema 1. Derivati indana s antikancerogenim svojstvima^[6,7]

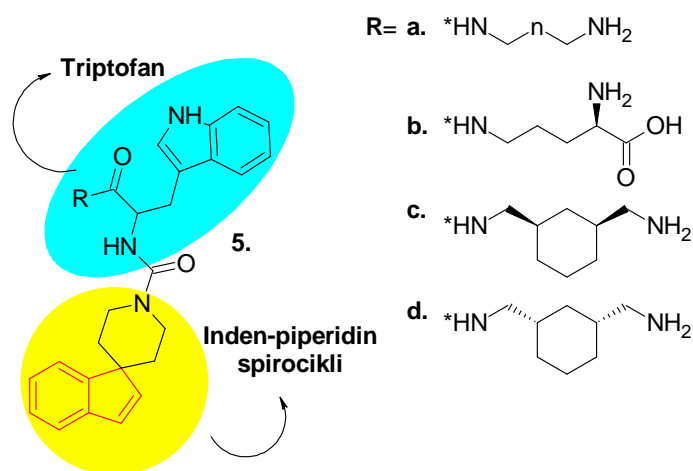
Rezultati istraživanja na životinjama pokazali su da su derivati indanon spojeva postigli inhibiciju rasta tumora od 45,48% kada su primijenjeni u dozi od 20 mg/kg. Tijekom 28-dnevnog razdoblja primjene, nisu zabilježeni značajni toksični učinci pri dozi od 100 mg/kg. Nadalje, testirani derivati, konkretno spojevi 4, pokazali su čak 220 puta snažniju antikancerogenu aktivnost u usporedbi sa spojem 3. Ovi nalazi podržavaju i ističu značaj benzilidenskog supstituenta povezanog s indanskim okvirom u procesu razvoja kemoterapijskih spojeva. Analiza provedena *in vitro* i *in vivo* uspješno je potvrdila rezultate *in silico* istraživanja molekularnog vezivanja ispitivanih spojeva u aktivnom mjestu tubulinske polimeraze. Ovi spojevi su uglavnom ostvarili interakcije putem značajnih vodikovih veza, što je na kraju rezultiralo deaktivacijom ciljnog enzima. [8]

2.3.2. Antikancerogeni potencijal spirocikličkih derivata indena

Somatostatin je peptidni hormon koji ima ključnu ulogu u regulaciji različitih bioloških procesa, uključujući kontrolu rasta stanica. Njegovi G-proteinom spojeni receptori, koji se nalaze na periferiji tumora, prenose unutarstanične signale koji usporavaju proces umnožavanja stanica. Ova svojstva čine somatostatin i njegove receptore obećavajućim metama za razvoj terapija protiv malignih tumora. [9,10] Seglitid i oktreetid su vrste peptidnih spojeva koji dijele slična svojstva sa somatostatinom. Glavna svrha ovih spojeva je smanjiti oslobađanje hormona rasta, poznatog kao somatotropin. Unatoč tome, njihova učinkovitost je ograničena zbog niske sposobnosti apsorpcije u tijelu kada se uzimaju oralno. Navedeni nedostatak smanjuje mogućnost praktične primjene peptidnih spojeva u kliničkom okruženju. Ova situacija je inicirala istraživanje i razvoj novih kategorija spojeva koji nisu peptidnog porijekla. Fokus je usmjeren na pronalaženje spojeva koji bi mogli stimulirati iste receptore kao seglitid i oktreetid, ali s poboljšanim svojstvima apsorpcije i distribucije unutar

tijela. Ovakav pristup ima potencijal unaprijediti farmakokinetički profil ovih tvari. [11] Razvijeni su novi spojevi koji inkorporiraju triptofan i lizin kao vezne elemente u strukturi koja podsjeća na cikličke peptide. Ovi inovativni spojevi nose potencijal za unaprjeđenje strategija dizajna nepeptidnih molekula s efektima sličnim peptidima. Na ovaj način, doprinose stvaranju molekula koji optimiziraju biološke interakcije i funkcionalnosti. [12,13]

U istraživanju koje su proveli Yang i suradnici 1998. godine, proučavali su specifične spojeve poznate kao inden-piperidin spirocikli **5 a–d** (Slika 3), kako bi istražili njihov potencijal kao aktivatori bioloških reakcija unutar stanica koje su povezane sa signalizacijom somatostatina. Ovi ispitni spojevi su demonstrirali svoju sposobnost da se selektivno vežu za klonirane ljudske receptore somatostatina koji su bili izraženi u stanicama CHO-K1. Ovaj vezni proces omogućava aktiviranje ključnih bioloških procesa unutar ovih stanica. Na temelju ovog vezanja, ti spojevi su pokrenuli interakciju koja je potrebna za inicijaciju važnih bioloških reakcija unutar stanica. Pretežno, spoj **5b** koji sadrži aminokiseline triptofan i lizin povezane s hidrofobnom spiroindenskom strukturom pokazao je optimalno vezanje unutar aktivnog mjesta ljudskog somatostatinskog receptora.

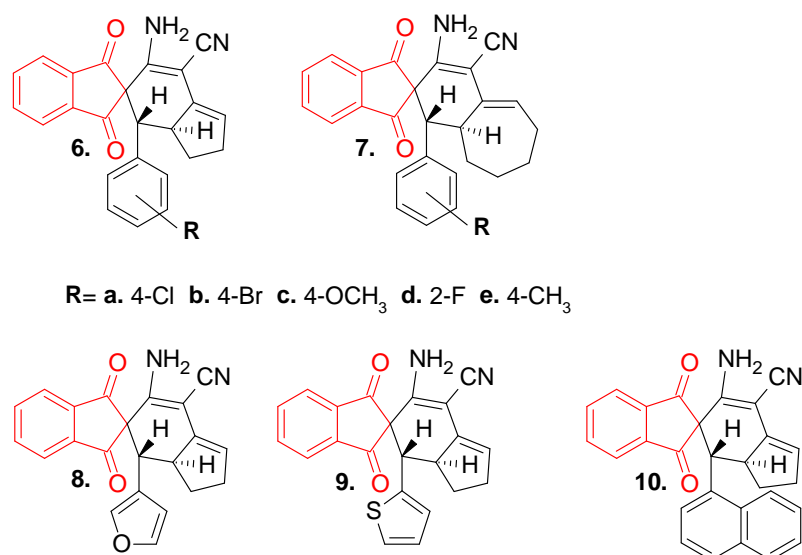


Slika 3. Antikancerogeni spojevi temeljeni na inden spirociklima^[14]

Izrazita selektivnost ovih spojeva proizlazi većinom iz stabilne konformacije indenskog prstena. Ta konformacija usklađuje fleksibilnost koju donose lizinski ostaci, dijelovi molekule sadržavaju aminokiselinu lizin. Ova uravnotežena konformacija prati potrebu za istovremeno proširenim i ograničenim bočnim lancima aminokiselina, što rezultira optimalnim profilom veza ovih spojeva s ciljanim receptorima. [14]

Anaplastična limfomna kinaza (ALK) predstavlja skupinu receptorskih tirozinskih kinaza koje igraju ključnu ulogu u kontroliranju procesa razmnožavanja stanica, njihove

diferencijacije te u konačnici smrti stanice. Prilikom mutacije gena koji kodiraju anaplastičnu limfomnu kinazu može doći do pojave neuroblastoma, anaplastičnog limfoma velikih stanica i karcinoma malih stanica pluća.[15] Uključenost anaplastične limfomne kinaze u onkogenezi čini je privlačnom metom u terapiji protiv raka. U istraživanju provedenom 2014. godine, Sudhapriya i suradnici detaljno su opisali spojeve temeljene na 1,3-indandionu. Ovi spojevi formiraju strukture poznate kao spirokarbocikli. Spojevi **6–7 a–e** i **8–10** (Slika 4) pokazali su snažno vezanje za receptor anaplastične limfomne kinaze. Nakon provedenih *in vitro* eksperimenata u kontroliranim laboratorijskim uvjetima, prikazani spojevi su pokazali značajnu antikancerogenu aktivnost, s posebnim naglaskom na učinkovitost protiv stanica adenokarcinoma pluća tipa A549. Bitno je istaknuti da je prisutnost *para*-supstituenta igrala ključnu ulogu u određivanju antikancerogene aktivnosti tih spojeva, pri čemu su skupine koje doniraju elektrone pokazale visoku potentnost.



Slika 4. Antikancerogeni spojevi temeljeni na 1,3-indandion spirociklima^[15]

Ove skupine povećavaju gustoću naboja na spojenom prstenu, što olakšava interakcije s aktivnim mjestima receptora anaplastične limfomne kinaze. Zamjenom šesteročlanog prstena s peteročlanim heterociklima (kao što su spojevi **8** i **9** na slici 4) ili spojevima s povezanim prstenovima, u konkretnom slučaju naftalenom (spoj **10** na slici 4), primijećeno je značajno smanjenje antikancerogene aktivnosti ispitivanih spojeva. Osim toga, veličina spojenih prstenova prisutnih u sustavu 1,3-indandion-spirocikla imala je važan utjecaj na antikancerogenu aktivnost.

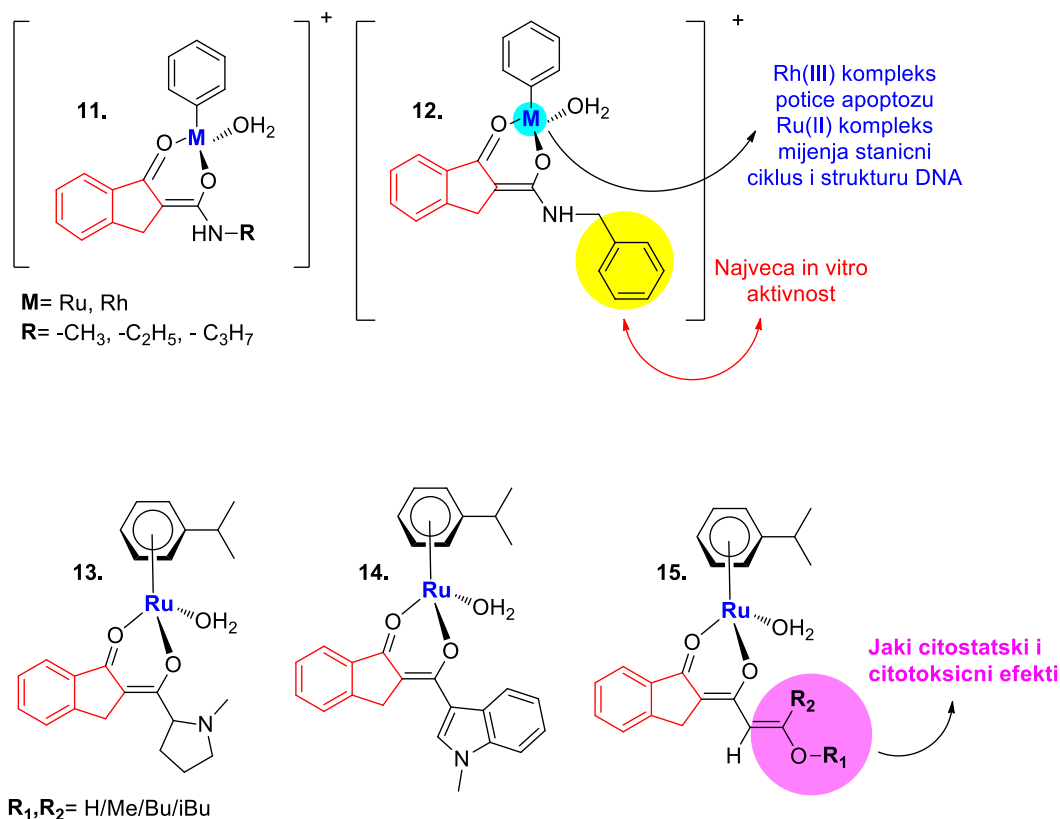
Povećanje veličine spojenih prstenova, spojevi **7a–e** (Slika 4), pružilo je strukturalnu stabilnost i dodatno poboljšalo biološku aktivnost ispitivanih spojeva. Određena geometrijska

konfiguracija 1,3-indandion-spirocikla omogućila je optimalno prilagođavanje testnih spojeva unutar aktivnog mjesta ciljnog enzima ALK, doprinoseći njihovoj potencijalnoj terapijskoj djelotvornosti. Ovi zaključci podržavaju važnost precizne modifikacije prstenastih struktura u dizajniranju spojeva s ciljem povećanja njihove biološke učinkovitosti. [16]

2.3.3. Antikancerogena svojstva organo-metalnih spojeva temeljenih na derivatima indana

Topoizomeraza I i II su enzimi od iznimne važnosti u procesima replikacije i transkripcije DNK, omogućavajući osnivanje i čuvanje genetske informacije unutar stanice. Osim toga, ovi enzimi djeluju kao posrednici u kontroliranom stvaranju prekida u jednom ili oba lanca molekule DNK. Ova sposobnost je izrazito ključna za različite biološke sustave te funkcije unutar stanice.[17] Izoforma topoizomerase II α ima posebno značajnu ulogu u mitozu, procesu diobe stanica, gdje igra ključnu ulogu u održavanju integriteta i pravilnosti staničnih replikacija. Zbog svoje ključne uloge u tim vitalnim procesima, topoizomeraza II α postaje privlačna meta za razvoj kemoterapijskih tretmana protiv raka. [31]

U znanstvenom radu objavljenom 2015. godine, Mokesch i njegovi suradnici istraživali su organometalne komplekse metala rodija(III) i rutenija(II), označene kao **11-12** (Slika 5). kompleksima[19,20] Ovi kompleksi su demonstrirali svoju sposobnost inhibiranja enzima topoizomerase II α , što ima potencijal za zaustavljanje rasta i distribucije stanica malignih tumora. Organometalni kompleksi prolaze kroz brzu fiziološku hidrolizu koja dovodi do stvaranja visoko stabilnih vodenih kompleksa. Ovi kompleksi organskih spojeva i metala pokazuju sposobnost selektivnog vezanja za određene skupine u molekulama, što može biti ključno za njihovu biološku aktivnost. U ovom slučaju, Ru(II) kompleks selektivno se veže za dGTP, dok Rh(III) kompleks veže specifične dijelove dATP molekule. Ova selektivna interakcija omogućava tim kompleksima da utječu na aktivnost topoizomerase II α . Ispitivani organometalni kompleksi, posebno spoj **12** (Slika 5) koji sadrži benzilnu skupinu unutar svoje strukture, demonstrirali su značajnu biološku aktivnost protiv različitih ljudskih staničnih linija raka, pri čemu su IC₅₀ vrijednosti bile u nižem mikromolarnom rasponu. IC₅₀ vrijednost predstavlja koncentraciju lijeka ili spoja koja je potrebna da bi se postigao 50 % inhibicije biološkog procesa, obično rasta stanica ili enzimske aktivnosti.



Slika 5. Antikancerogeni spojevi temeljeni na indan/ 1,3-indandion organo-metalnim kompleksima^[19,20]

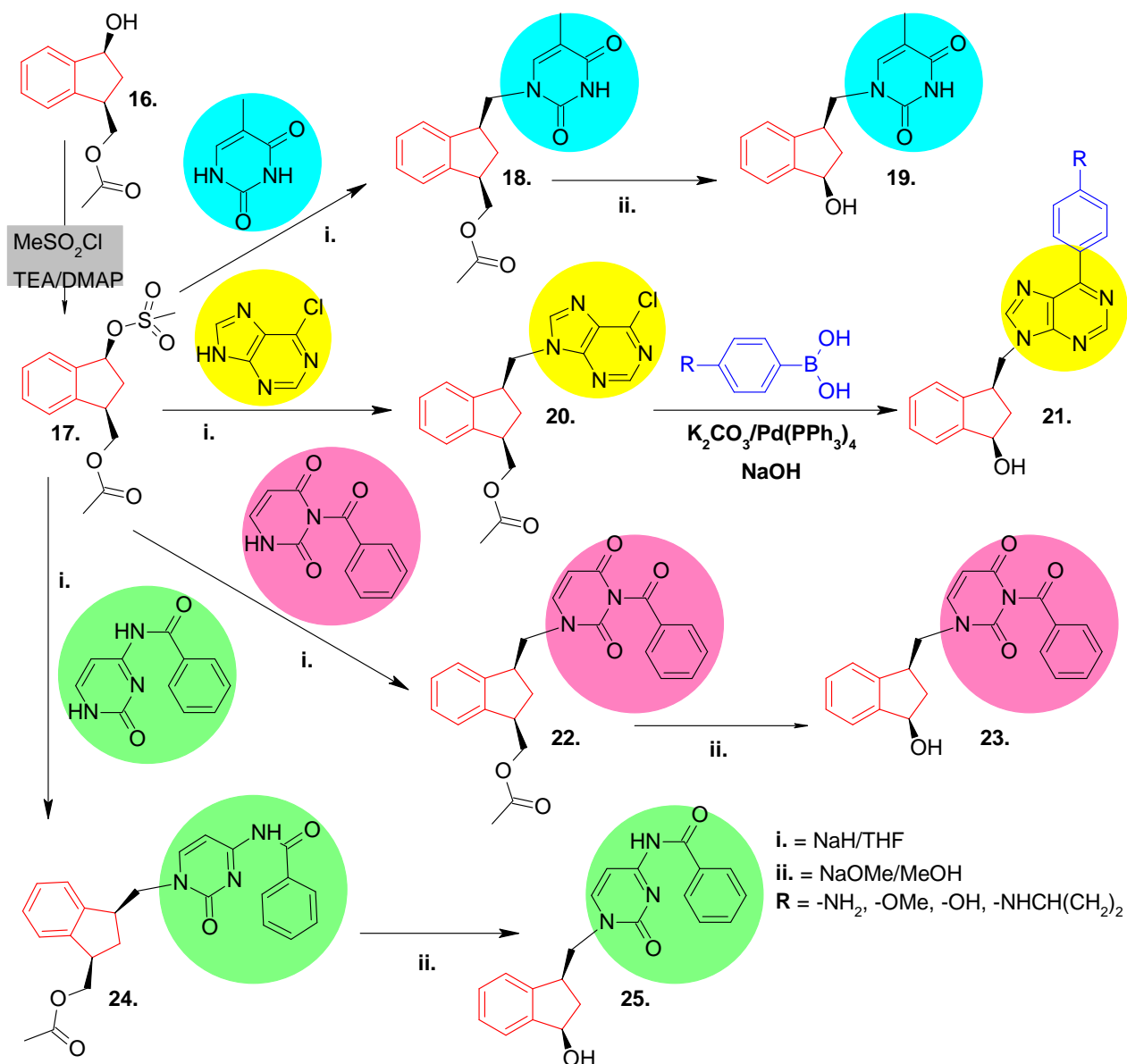
U našem slučaju IC_{50} vrijednost je koncentracija pri kojoj ispitivani organometalni spoj postiže 50 % inhibiciju aktivnosti topoizomeraze $\text{II}\alpha$, što znači da je polovica enzimske aktivnosti zaustavljena na toj koncentraciji. Ovo ukazuje na visoku učinkovitost i istaknuti profil aktivnosti ispitivanih kompleksa. [19]

Daljnja analiza sposobnosti metalnih kompleksa temeljenih na 1,3-indandionu za suzbijanje rasta i razvoja raka otkrila je specifične organometalne komplekse koji koriste metal Ru(II) . Ovi kompleksi, označeni kao **13–15** (Slika 5), pokazali su značajan učinak u zaustavljanju podjele stanica te izraženu toksičnost prema staničnim linijama jajnika oboljelih od raka. Rezultati su ukazali na veću učinkovitost ispitivanih organsko-metalnih kompleksa u suzbijanju rasta raka u usporedbi s uobičajenim antikancerogenim spojem cisplatinom, posebno kada su analizirani na stanicama SKOV3 ljudskih jajnika oboljelih od raka. [20]

2.3.4. Antikancerogena svojstva indanskog karbocikličkog nukleozida

Karbociklički analozi nukleozida, dobiveni zamjenom peteročlanog furanovog prstena nukleozida s aromatičnim ili alifatičnim prstenastim strukturama, istaknuli su se zbog izuzetne sposobnosti da ostanu stabilni i ne podliježu utjecaju hidrolaza, enzima odgovornih za razgradnju nukleozida . U kontekstu biokemije, nukleozidi su temeljne jedinice nukleinskih kiselina poput DNA i RNA. Taj izuzetan otpor omogućava produženi boravak analoga u biološkom okruženju, istovremeno ne narušavajući važan proces enzimske pretvorbe nukleotidnih analoga. [21] Karbociklički analozi nukleozida djeluju usporavajući sintezu DNA putem terminacije lanca nakon što se inkorporiraju u rastući lanac DNA. Ovo sprječavanje produženja lanca DNA putem karbocikličkih analoga nukleozida rezultira antineoplastičnim svojstvima, tj. sposobnošću da inhibiraju rast kancerogenih stanica.[22]

Yao i njegovi suradnici (2003) razvili su karbocikličke analoge nukleozida **18–25** (vidljivo na shemi 2), temeljene na indanskom strukturnom okviru. Ovi spojevi su se istaknuli zbog izrazito snažnog potencijala u suzbijanju rasta stanica mišje leukemije i ljudskih T-limfocita. Sinteza ispitivanih spojeva započinje s reaktantom **16** gdje se sulfonilacijom prelazi u spoj **17** koji djeluje kao prekursor za sintezu karbocikličkih analoga nukleozida **18-25** temeljenih na indanskom okviru. U okviru istraživanja, detaljno su analizirani testni analozi s ciljem temeljite evaluacije njihove sposobnosti za suzbijanje proliferacije stanica. Konkretno, ispitivanja su provedena na mišjim leukemijskim stanicama L1210/0 te humanim T-limfocitnim stanicama Molt4/C8 i CEM/0. Primijenjena je metoda analize kvantitativne strukture-aktivnosti (QSAR) kako bi se razumjela veza između kemijske strukture spojeva i njihove biološke aktivnosti. Dobiveni rezultati QSAR analize ukazuju na ključnu ulogu energetskih svojstava vanjske orbitale, elektronegativnosti prisutnih substituenata te hidrofobnosti testiranih spojeva u određivanju njihove sposobnosti za inhibiranje rasta stanica.



Shema 2. Antikancerogeni spojevi temeljeni na indanskim karbocikličkim nukleozidima^[23]

Konkretno, identificirana je klasa spojeva označena kao **21** (Shema 2), čija izražena antiproliferativna aktivnost proizlazi iz prisutnosti fenilnog substituenta te veće hidrofobne kontribucije koju ovaj substituent donosi. Zanimljivo je napomenuti da je apsolutna hidrofobna površina otapala, koja je dostupna za interakciju, imala značajan doprinos u aktivnosti testnih analoga. Ovaj doprinos se dodatno poboljšavao kako se povećavala hidrofobna površina tih analoga. [23]

2.4. Protuupalna svojstva derivata indana i indena

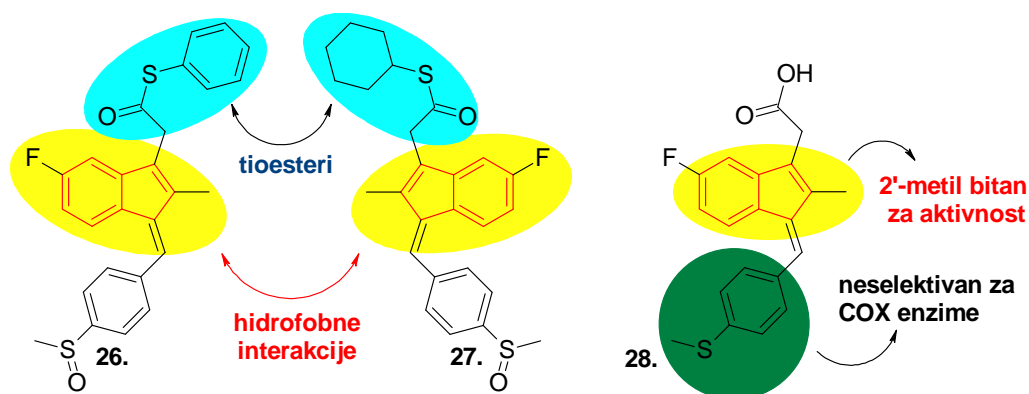
Razvoj novih terapija za suzbijanje upalnih stanja postao je ključan aspekt u farmaceutskom istraživanju. Protuupalna aktivnost derivata indana i indena, zajedno sa njihovim interakcijama s enzimima ciklooksigenazama (COX) i fosfolipazom, privukla je značajnu pažnju istraživačke zajednice. Analize ovih spojeva ukazuju na njihov potencijal kao selektivnih inhibitora COX enzima, ključnih sudionika u procesu upale, čime otvaraju nove puteve za razvoj učinkovitih protuupalnih agensa. Strukturne modifikacije derivata indana pokazale su se kao uspješan pristup u optimizaciji farmakoloških svojstava ovih spojeva. U ovom radu, detaljno ćemo istražiti rezultate različitih studija koje su pridonijele razumijevanju protuupalnih učinaka derivata indana i indena te mehanizama njihove biološke aktivnosti. [1]

2.4.1. Protuupalni derivati indena s profilom inhibicije ciklooksigenaze

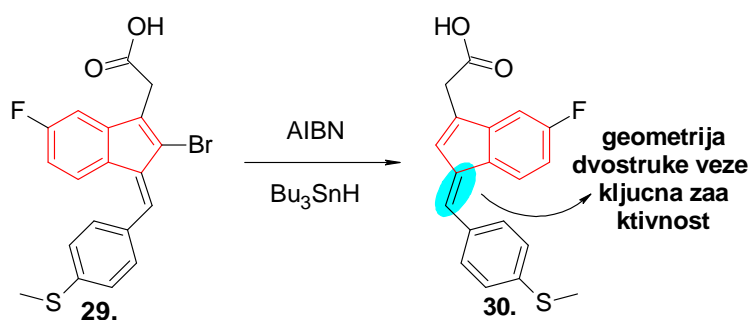
Suvremeni protuupalni lijekovi imaju za cilj suzbiti upalne procese tako da usmjere svoju aktivnost prema smanjenju metabolita poput leukotriena i prostaglandina, te prema regulaciji enzima kao što su ciklooksigenaze, lipooksigenaze i fosfolipaze koji su povezani s arahidonskom kiselinom [24]. Ovi metabolički putevi igraju ključnu ulogu u izazivanju i održavanju upalnih odgovora organizma. Kroz svoju aktivnost, oni potiču oslobađanje tvari koje pokreću upalne reakcije i uzrokuju upalno stanje. Ključna svrha ciljanja ovih metaboličkih putova suvremenim protuupalnim lijekovima je ublažiti simptome upale i olakšati stanja poput artritisa, astme, alergija i drugih upalnih bolesti. Nekoliko nesteroidnih protuupalnih lijekova već se koristi za tretiranje kroničnih upalnih stanja. Međutim, važno je napomenuti da ovi lijekovi često dolaze s rizikom značajnih nuspojava kao što su razvoj čira u gastrointestinalnom traktu, disfunkcije srca te povećana sklonost prema aterosklerozi [25]. Kako bi se prevladale ove komplikacije, istraživanja su usmjerena na strukturalne i kemijske modifikacije postojećih protuupalnih lijekova kako bi se poboljšala njihova učinkovitost i smanjile nuspojave.

El-Azab i suradnici (2018) razvili su nove derivate Sulindaka **26-27** (Slika 6), nesteroidnog protuupalnog lijeka, s visokom selektivnošću prema inhibiciji COX-2 enzima. COX-2 enzim zaslužan je za izazivanje kronične upale u tijelu te je uključen u biosintezu prostaglandina. Istraživanje je pokazalo visoku selektivnost inhibiranja COX-2 enzima u odnosu na COX-1 enzim, koji ima važnu ulogu u održavanju zdravlja gastrointestinalnog

sustava. Selektivnost testnih spojeva prema COX-2 izoformi proizlazi uglavnom iz interakcija fenil i cikloheksil grupa spojenih na tioestersku skupinu, s bočnim džepom koji prati aktivno mjesto COX-2 enzima. Također supstituirani indenski prsten pruža hidrofobne interakcije s aktivnim mjestom enzima COX-2 što omogućuje optimalnu inhibiciju. [26]



Slika 6. Protuupalni spojevi temeljeni na farmakoforu Sulindaka^[26]

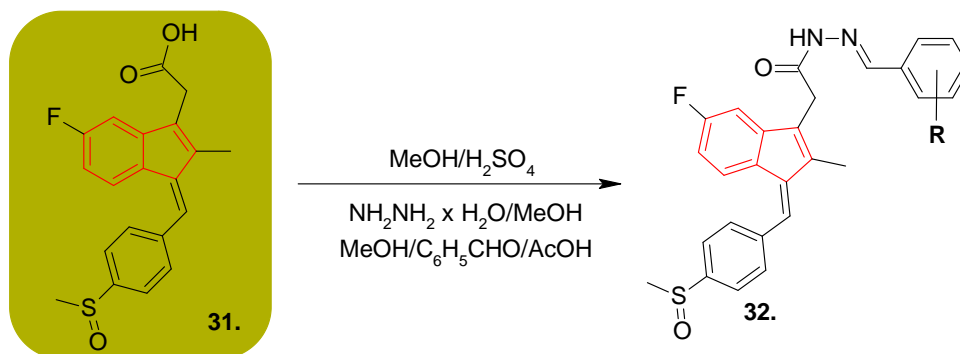


Shema 3. Protuupalni agensi temeljeni na strukturi Sulindaka^[27]

Walters i njegovi suradnici izveli su istraživanje 2009. godine usredotočeno na utjecaj geometrije dvostruke veze u molekulama spojeva **29-30** (Shema 3) na njihove biološke osobine. Konkretno, ispitivali su kako strukturalne promjene utječu na inhibicijsku sposobnost ovih spojeva prema enzimima COX-1 i COX-2. U eksperimentima su analizirali spojeve analogne Sulindak sulfidu **28** (Slika 6), no s varijacijama u njihovoj strukturi. Posebno su istraživali utjecaj uklanjanja 2'-metilnog supstituenta sa indenskog okvira spoja **28** kako bi dobili derivate **29-30** (Shema 3). Uočeno je da konformacija dvostruke veze prisutne u benzilidenskom segmentu molekule ima znatno važan efekt na efikasnost inhibicije. *Z*-izomer konačnog spoja **30** postignut je putem reduktivne reakcije prekursora **29** uz sudjelovanje bromindenskog supstituenta. Ovaj kemijski proces omogućio je dobivanje *Z*-izomera koji je pokazao značajnu sposobnost djelovanja kao inhibitor oba enzima COX-1 i COX-2, no s manjom potencijom u odnosu na Sulindak sulfid **28**. S druge strane, *E*-izomer je pokazivao značajno manju sposobnost inhibicije COX-1 enzima, te gotovo zanemarivu

inhibiciju COX-2 enzima. Ovakav analitički pristup razotkriva da konkretna konfiguracija molekule, posebno tip dvostrukog veza prisutan u molekularnoj strukturi, duboko utječe na djelotvornost inhibicije enzima COX-1 i COX-2. [27]

U 2020. godini, istraživački tim predvođen Bhatom i njegovim kolegama razvio je seriju derivata Sulindak acetohidrazida, označenih kao **32a–p** (prikazani na shemi 4), kao potencijalna protuupalna sredstva inspirirana osnovnom strukturom Sulindaka **31** (Shema 4). Ovi novi derivati su se istaknuli selektivnom sposobnošću inhibiranja enzima COX-2 uz istodobno značajno smanjenje potencijala za stvaranje čireva u želudcu. Posebno, spoj **32b** koji sadrži *p*-dimetilaminofenil, istaknuo se kao najmoćniji antioksidans među testiranim spojevima. Suprotno tome, derivati koji su uključivali -OH supstituente na fenilnom prstenu pokazali su se manje efikasnim kao antioksidansi. Slično tome, supstitucija elektron-odvlačućim -NO₂ skupinama rezultirala je nižim antioksidativnim potencijalom, dok su elektron-donirajuće -OCH₃ skupine povećale antioksidativnu aktivnost testiranih spojeva. Dodatna istraživanja provedena na životinjama potvrdila su sposobnost acetohidrazidnih derivata Sulindaka da imaju protuupalno i analgetsko djelovanje. Ova istraživanja su koristila različite metode kako bi procijenila učinkovitost derivata. Metode su uključivale mjerenje reakcija kao što su repni preklop, reakcija na vruću ploču, izazivanje uvijanja uz primjenu octene kiseline, stvaranje povišene tjelesne temperature pomoću kvasca te izazivanje otekline šape uz pomoć karagenana, prirodna polisaharidna tvar koja se često koristi u istraživanjima i eksperimentima kako bi se izazvao upalni odgovor u tkivima. Sveukupno gledano, rezultati su pokazali da se derivat **32b** istaknuo kao najdjelotvorniji inhibitor simptoma upale. Rezultati analize akutne toksičnosti ukazuju na to da su testirani spojevi pokazali manje oštećenje želučane sluznice u životinjskim modelima. Također, primijećeno je da su ovi spojevi mogli umanjiti aktivnost enzima COX-2 u jetri životinjskih modela. [28]



- R=
- | | | | |
|---------------------------------------|----------------------|---------------|--------------|
| a. 4-Cl | e. 3-OMe | i. 2,4-OMe | m. 2,3,4-OH |
| b. 4-N(CH ₃) ₂ | f. 4-OMe | j. 3,4-OMe | n. 2,3,4-OMe |
| c. 3-OH | g. 3-NO ₂ | k. 2-OH,3-OMe | o. 2,4,6-OMe |
| d. 4-OH | h. 4-NO ₂ | l. 3-OH,4-OMe | p. 3,4,5-OMe |

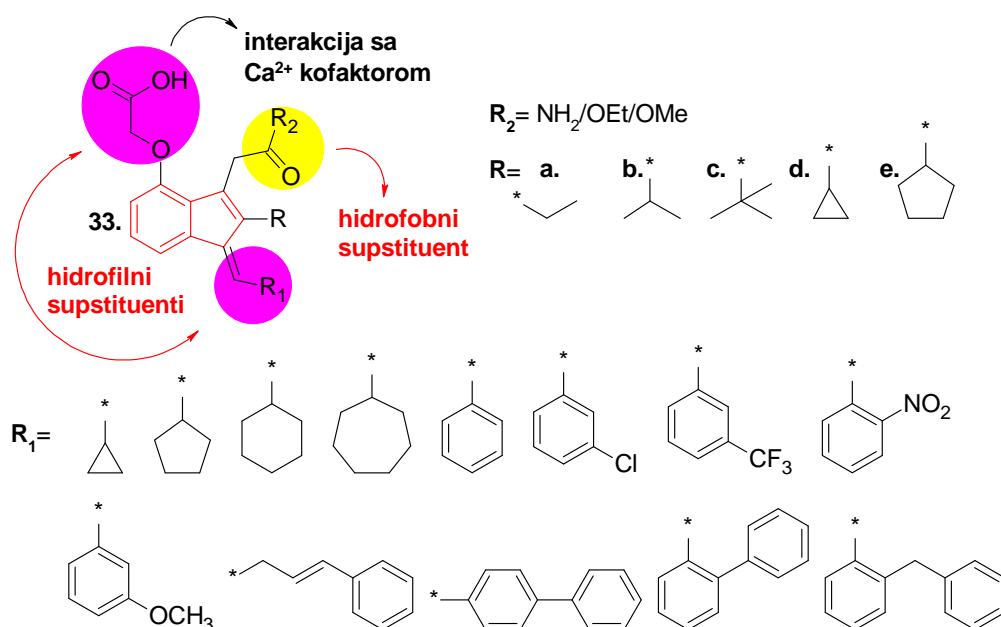
Shema 4. Protuupalni analozi Sulindaka^[28]

2.4.2. Protuupalni indenski derivati s profilom inhibicije fosfolipaze

Fosfolipaza je skupina enzima koji kataliziraju hidrolizu (razgradnju) fosfolipida. Fosfolipidi su ključni sastojci staničnih membrana, te svojom razgradnjom oslobađaju arahidonsku kiselinu i lizofosfolipide.[29] Oslobađanjem arahidonske kiseline iz membranskih fosfolipida stvaraju se prekursori prozapaljenskih metabolita, koji aktiviraju upalne procese u tijelu. [30] Zbog njihove uloge u poticanju upalnih procesa, fosfolipaze predstavljaju zanimljive mete za protuupalne terapije.

Razvijeni su spojevi **33** (Slika 7) na temelju indenske strukture od strane Hagishita i suradnika (1996) s ciljem inhibicije enzima fosfolipaze A2 (sPLA2), koji djeluju na aktivno mjesto enzima pomoću hidrofobnih i hidrofilnih dodataka povezanih na položajima C1 i C3. Indenski prsten s elektronski bogatim karakterom i kombinacijom spojenih aromatičnih i alifatskih prstenova pokazao se iznimno učinkovitim u inhibiciji enzima sPLA2. Enzimi sPLA2 su ovisni o prisutnosti kalcijevih iona za njihovu katalitičku aktivnost. Ca²⁺ ioni se veže na specifično mjesto (aktivno mjesto) u strukturi sPLA2 enzima, što mijenja njegovu konformaciju i omogućava mu da veže fosfolipide i katalizira njihovu hidrolizu. Interakcija s enzimskim koaktivatorom Ca²⁺ događa se putem karboksilne skupine dodane na C8 položaj, što pruža temelj za inhibiciju sPLA2 enzima. Prisustvo različitih supstituenata na položaju R1 nije značajno utjecalo na njihovu inhibicijsku aktivnost, što ukazuje da je ta karakteristika imala minimalan utjecaj na sposobnost spojeva da djeluju kao inhibitori međutim, prisutnost

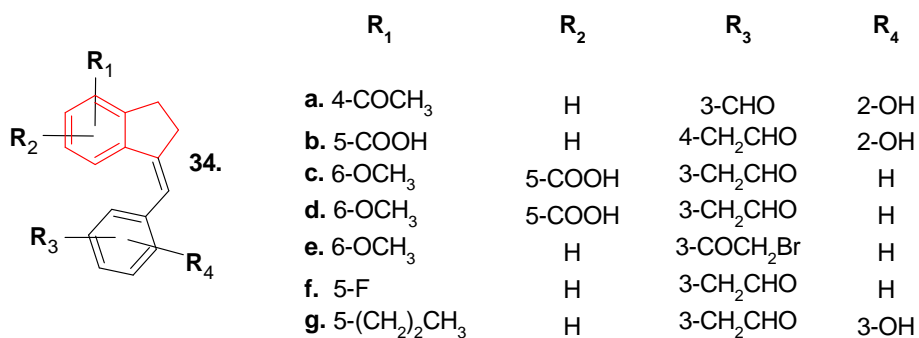
benzilog supstituenta pokazala je poboljšanu biološku aktivnost. Prisutnost hidrofobnih supstitenata na položaju C1 poboljšava biološku aktivnost ispitivanih spojeva, a alifatski hidrofobni supstituenti pokazuju najveći učinak u poboljšanju te aktivnosti. To sugerira da je ova regija molekule važna za stvaranje stabilnih i povoljnih interakcija s ciljnim enzimom, što dovodi do bolje inhibicije njegove aktivnosti.[31]



Slika 7. Indenski farmakofor za inhibiciju sekretorne fosfolipaze A2 (sPLA2) ^[31]

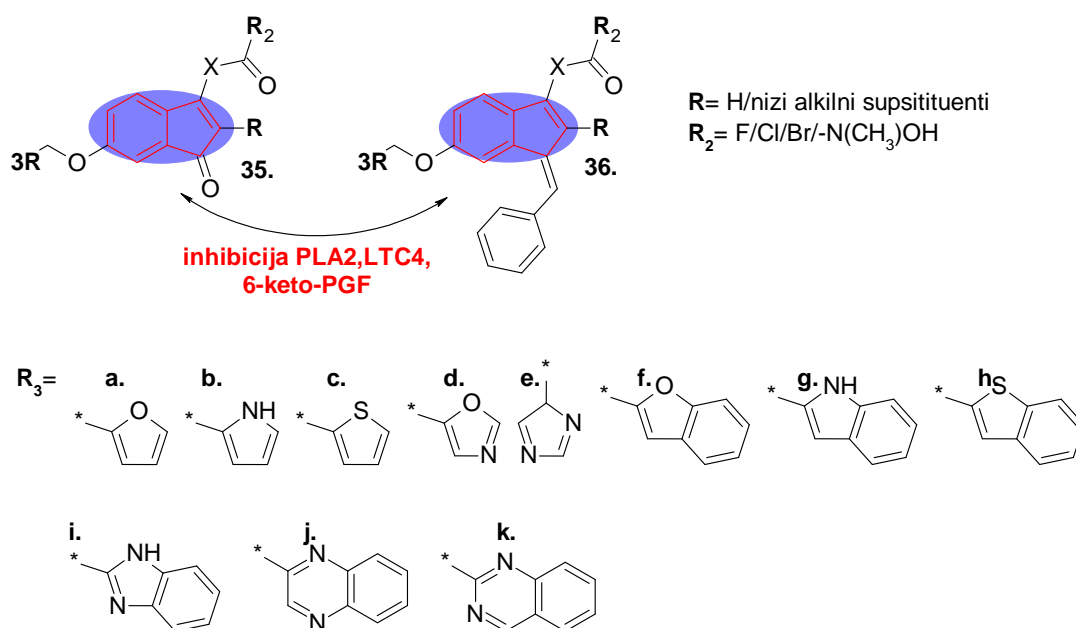
Najviše istraživani farmakofor indena u suvremenom otkriću lijekova je okvir benzilindena, koji pokazuje značajan biološki profil. Petraitis i suradnici (1994) razmatrali su supstituirani benzilindenski okvir za inhibiciju enzima PLA2. Sintetizirani spojevi **34a-g** (Slika 8) učinkovito su liječili upalne i alergijske uvjete kao što su reumatoidni artritis, bronhospazmi i kronične opstruktivne plućne bolesti, uključujući astmu i bronhitis. Različiti oralni oblici doziranja, uključujući tablete, kapsule, prah, sirupe, suspenzije i eliksire, su se pokazali izuzetno korisnima. Upotreba nosača lijekova poput želatine, saharoze, škroba, manitola i stearinske kiseline omogućuje kontrolirano otpuštanje inkapsuliranog terapeuta, čime se osigurava stabilna i kontrolirana dostupnost lijeka tijekom vremena. Ovakav način otpuštanja pruža izvrsnu gastrointestinalnu sigurnost jer smanjuje rizik od nuspojava povezanih s brzim otpuštanjem uobičajenih protuupalnih lijekova koji mogu izazvati želučane čireve ili druga oštećenja probavnog sustava. Nositelji kao što su propilen glikol, vodena dekstroza i polietilen glikol koriste se kao stabilizatori parenteralnih otopina testnih spojeva. Otopine za parenteralnu primjenu testnih molekula obično sadrže antioksidante i konzervanse za povećanje stabilnosti. Testni spojevi su pokazali protuupalni potencijal u *in*

in vitro enzimskom imunotestu PLA2 i *in vivo* modelu edema šape izazvanog karagenanom. Potvrđena je njihova sposobnost inhibicije enzima PLA2 i smanjenja edema, ukazujući na moguću primjenu u liječenju upalnih i alergijskih stanja. Ovi obećavajući rezultati potiču daljnje istraživanje i razvoj ovih spojeva kao potencijalnih protuupalnih terapija. [32]



Slika 8. Protuupalni spojevi temeljeni na benzilidenskom farmakoforu^[33]

Istraživanje koje su proveli Musser i njegovi suradnici 1993. godine rezultiralo je patentiranjem spojeva temeljenih na strukturi indena **35–36** (Slika 9), kao molekularnih inhibitora enzima fosfolipaze A2 i lipooksigenaze. U istraživanju provedenom u laboratorijskom okruženju, testirani spojevi su bili podvrgnuti analizi na izoliranom testu fosfolipaze A2. Dobiveni rezultati ukazali su na učinkovito suzbijanje oslobađanja arahidonske kiseline iz supstrata, putem interakcije s enzimom cPLA2 koji je izoliran iz različitih izvora, uključujući ne-ljudske i ljudske izvore. Dodatno, istraživači su ispitivali sposobnost testiranih spojeva da suzbiju napredovanje edema šape kod miševa uzrokovano djelovanjem enzima cPLA2. Rezultati ovog *in vivo* ispitivanja potvrdili su protuupalnu učinkovitost tih spojeva. Pri dozama od 10–100 mg/kg, testirani spojevi su značajno smanjili edem šape izazvan primjenom karagenana unutar samo 1 sata nakon primjene. Važno je napomenuti da su testirani spojevi značajno smanjili prisutnost leukotriena LTC₄ i prostaglandina 6-keto-PGF u organizmu pri dozama od 10–50 mg/kg, što ukazuje na izuzetno visok potencijal tih spojeva za suzbijanje upalnih procesa.[33]



Slika 9. Indenski farmakofor za inhibiciju sekretorne fosfolipaze A2 i leukotriena^[33]

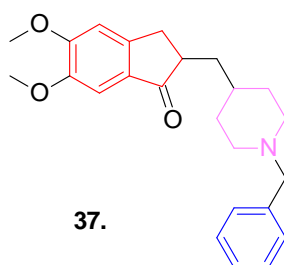
2.5. Neuroprotektivna svojstva derivata indana i indena

Istraživanja u području neuroprotekcije sve više privlače pažnju zbog potencijalne sposobnosti očuvanja neuronske funkcije i smanjenja oštećenja u raznim neurološkim bolestima. Derivati indana i indena su postali predmet intenzivnih istraživanja u potrazi za molekulima koji mogu pružiti neuroprotektivne učinke. Indenska struktura pokazuje obećavajuće farmakološke osobine, uključujući mogućnost interakcije s biološkim ciljevima. Ova svojstva sugeriraju da bi derivati indana i indena mogli imati potencijalnu sposobnost zaštite živčanog sustava od oksidativnog stresa, upale i drugih patoloških procesa povezanih s neurodegenerativnim bolestima. U ovom radu će se detaljnije istražiti neuroprotektivna svojstva derivata indana i indena, istražujući njihovu sposobnost zaštite neurona od štetnih faktora te njihovu ulogu u mogućem prevenciji ili tretmanu neuroloških bolesti. [1]

2.5.1. Farmakofori usmjereni protiv Alzheimerove bolesti temeljeni na okviru indana i indena

Acetilkolinesteraza (AChE) razgrađuje neurotransmiter acetilkolin (ACh), koji se nalazi u velikim količinama u crvenim krvnim stanicama i neuromišićnim spojevima mozga. Acetilkolin predstavlja neurotransmiter, tvari koje prenose živčane impulse, te igra ključnu ulogu u pamćenju i kognitivnim funkcijama. [34] Butirilkinesteraza (BuChE)

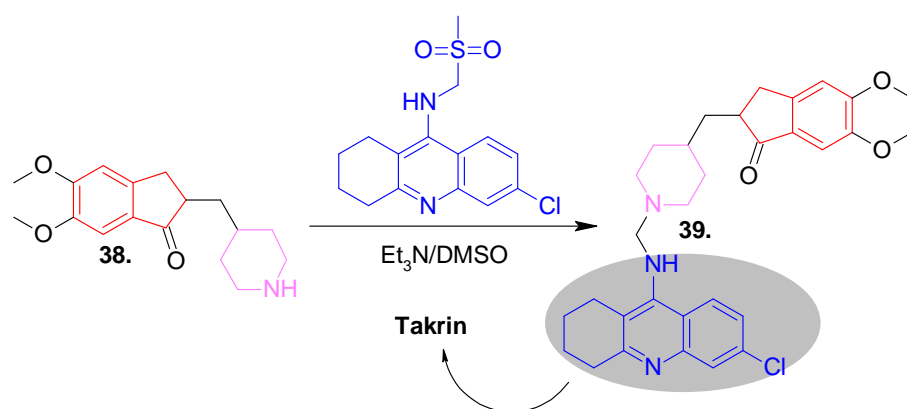
hidrolizira različite vrste estera kolinovih spojeva i uglavnom se nalazi u ljudskoj jetri, gušterači i središnjem živčanom sustavu.[35] Ova dva enzima imaju različite uloge u mozgu. AChE-pozitivni neuroni projektiraju prema korteksu mozga i reguliraju način na koji neuroni u korteksu obrađuju informacije. S druge strane, BuChE-pozitivni neuroni projiciraju prema frontalnom korteksu i igraju ključnu ulogu u emocionalnoj memoriji, ponašanju i pažnji.[36] Ovi enzimi su posebno važni za razumijevanje Alzheimerove bolesti. U Alzheimerovoj bolesti, koja uzrokuje neurodegeneraciju i gubitak kognitivnih funkcija, dolazi do promjena u aktivnostima ovih enzima. [37] Prvenstveno, aktivnost AChE opada s razvojem Alzheimerove bolesti, dok aktivnost BuChE raste pod istim uvjetima[38]. Osim toga, ovi enzimi imaju ulogu u reguliranju protoka krvi u mozgu te uključeni su u stvaranje amiloidnih- β ($A\beta$) peptida. $A\beta$ peptidi su povezani s Alzheimerovom bolešću i formiraju se iz prekursora amiloida (APP) pod utjecajem enzima BACE1. [39] Kako bi se suprotstavili ovom deficitu, koriste se lijekovi poznati kao inhibitori AChE u liječenju Alzheimerove bolesti. Ovi lijekovi inhibiraju razgradnju acetilkolina, povećavajući njegovu dostupnost u mozgu i privremeno poboljšavajući kognitivne funkcije kod nekih pacijenata.[40] Donepezil **37** (Slika 10) je ključni lijek za Alzheimerovu bolest koji selektivno i reverzibilno inhibira aktivnost enzima AChE i BuChE. [41] Budući da igra ključnu ulogu u suprotstavljanju razvoju Alzheimerove bolesti, donepezilov farmakofor, uključujući indan-1-on povezan s substituiranim benzilom preko piperidinskog veznika, koristi se kao osnovni model proučavanja u stvaranju molekularnih inhibitora enzima AChE, BuChE i BACE1. [42]



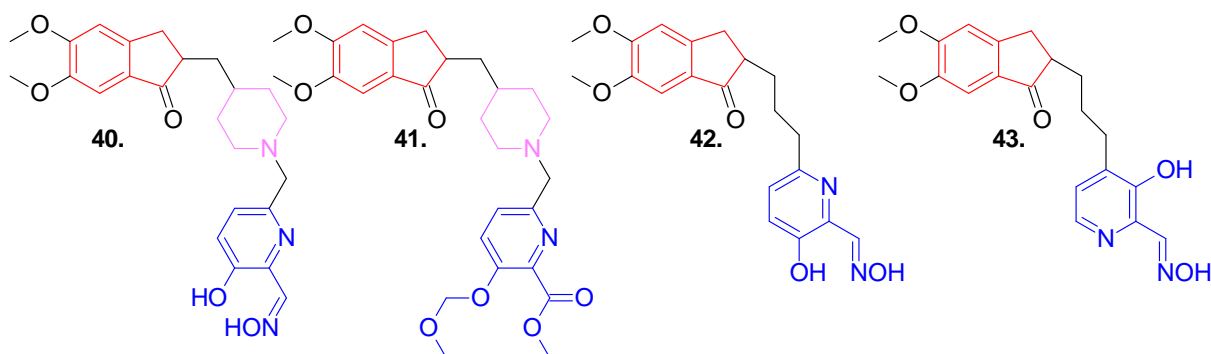
Slika 10. Struktura inhibitora AChE Donepezila ^[41]

Camps i suradnici 2008. godine izvršili su modifikaciju donepezila zamjenjujući njegov benzilni dio molekule drugim farmakoforom za Alzheimerovu bolest, takrinom. Kombinacija ovih molekula rezultirala je stvaranjem hibrida **39** (Shema 5), izvedenih iz početne molekule **38**. Hibridi su pokazali efikasno inhibirajuće djelovanje na enzime AChE, BuChE te na stvaranje $A\beta$ agregata, što je bitno za Alzheimerovu bolest. Ovo ukazuje na njihov potencijal da djeluju na više načina kako bi se usporilo propadanje kognitivnih funkcija i formiranje štetnih plakova u mozgu, ključnih obilježja bolesti. Jedan aspekt

pristupa je uključivao postavljanje dijela molekule takrina koji sadrži klor na specifično mjesto u enzimu AChE, s ciljem da se to mjesto veže na način sličan onome kod nesubstituiranog takrina. Također, provedeno je povećanje udaljenosti između dvaju dijelova molekule, odnosno između takrina i donepezila. Ova promjena udaljenosti rezultirala je orijentacijom drugog dijela molekule, konkretno piperidinskog prstena, prema specifičnom dijelu enzima. Taj drugi dio molekule uspostavlja poseban oblik interakcije s određenim dijelom enzima, čime se izbjegavaju manje važne interakcije s ostalim dijelovima enzima. Testirani hibridi su pokazali snažan inhibicijski profil protiv ciljanih enzima u sub-nanomolarnom rasponu. Također, ispitivani hibridi pokazali su anti-agregacijsku aktivnost protiv Aβ proteina, nadmašujući učinkovitost donepezila. [43]



Shema 5. Hibridni derivati donepezila i takrina kao potencijalni agensi za terapiju Alzheimerove bolesti^[43]

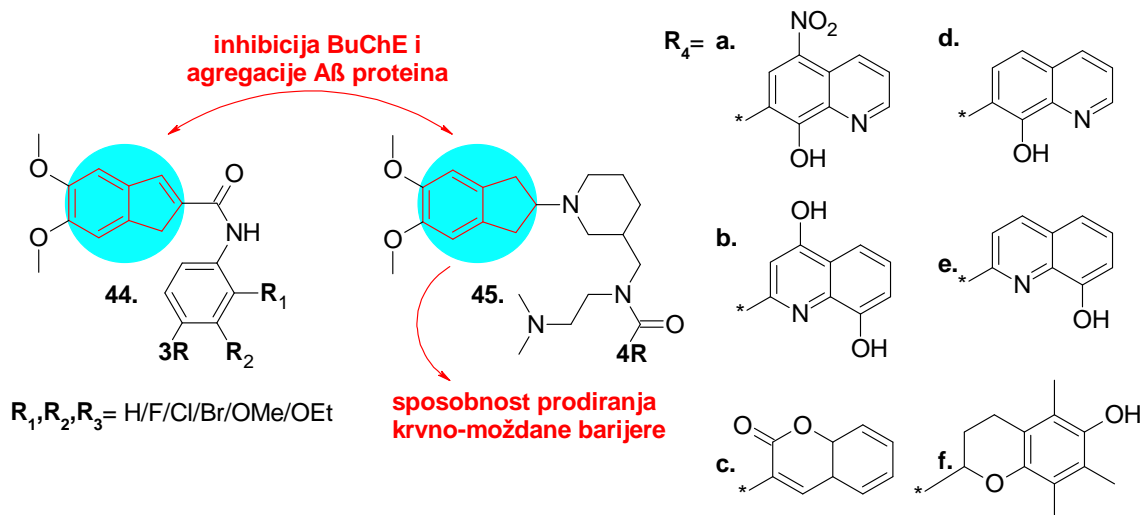


Slika 11. Analози donepezila kao farmakofori usmjereni protiv Alzheimerove bolesti^[44]

Dodatna zamjena benzilnog prstena u donepezilu s piridinskim oksimima rezultirala je stvaranjem spojeva **40–43** (Slika 11). Oksimi su se istaknuli zbog svoje iznimne sposobnosti da ponovno aktiviraju enzim VX-AChE. Ta sposobnost bila je posebno istaknuta jer je snaga njihove reaktivacije bila čak osam puta veća u usporedbi s donepezilom. Prisutnost C=O

skupine u indanonu omogućuje da se spoj veže za inhibirani enzim AChE. Međutim, testirani derivati koji nisu sadržavali piperidinski prsten pokazali su smanjenu sposobnost vezanja za aktivno mjesto enzima AChE. Unatoč tome, učinkovitost ovih spojeva nije bila narušena, uglavnom zahvaljujući ubrzanom procesu ponovne aktivacije enzima.[44]

Derivati indena **44** (Slika 12) također su privukli pažnju kao potencijalni agensi u borbi protiv Alzheimerove bolesti. Istraživanje koje su proveli Koca i suradnici 2016. godine pokazalo je da ovi spojevi imaju izuzetno povoljne karakteristike u kontekstu Alzheimerove bolesti. Specifično, derivati **44** su se istaknuli kao snažni inhibitori enzima BuChE u usporedbi s AChE. Ovaj nalaz je značajan jer enzim BuChE doprinosi formiranju A β agregata, ključnih čimbenika u razvoju Alzheimerove bolesti. Daljnja analiza ustvrdila je da derivati **44** smanjuju agregaciju amiloidnih peptida A β . Interesantno je da su *in silico* istraživanja sugerirala da derivati **44** uspostavljaju interakcije s aktivnim mjestom ciljnih enzima putem vodikovih veza i π - π interakcija, što dalje potvrđuje njihovu sposobnost da ciljaju ključne komponente patologije Alzheimerove bolesti.[45] Kasnije su provedene daljnje modifikacije koje su rezultirale razvojem derivata **45a-f** (Slika 12) kao multifunkcionalnih liganda usmjerenih na Alzheimerovu bolest. Ovi testirani spojevi su se istaknuli po svojim snažnim antioksidativnim i neuroprotektivnim učincima, uspješno suzbijajući enzim BuChE. Dodatno, spojevi **45a-f** su demonstrirali sposobnost vezanja i reguliranja ionskog keliranja Cu⁺² iona, što se odnosi na proces vezanja metalnih iona za specifične molekule. Ovo je značajno jer igraju važnu ulogu u održavanju ravnoteže oksidativnih procesa u mozgu. Značajno je napomenuti da su ispitivani derivati **45a-f** imali sposobnost prodiranja krvno-moždane barijere bez da budu izlučeni iz mozga, što dodatno potvrđuje njihovu potencijalnu učinkovitost u liječenju Alzheimerove bolesti.[46]



Slika 12. Indanski i indenski derivati kao neuroprotektivni agensi^[45,46]

3. REZULTATI I RASPRAVA

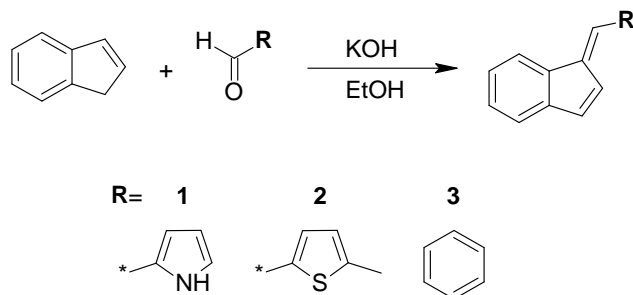
3.1. Uvod

Interes za razvijanjem novih metoda sinteze derivata indena oduvijek je bio velik i dalje ostaje visok zbog njihove široke primjene u proizvodnji farmaceutski djelotvornih spojeva, funkcionalnih molekula i liganda za metalne komplekse.[47] Osim svojih važnih bioloških primjena, prirodni i sintetski derivati indena pokazuju svojstva koja ih čine iznimno korisnima u različitim područjima. U području istraživanja novih materijala, derivati indena imaju izvanredne osobine zbog svoje strukture koja omogućava slabo vezane π -elektrone. Zbog ovih svojstava, oni se koriste u nekoliko značajnih primjena. Primjerice, u fotonaponskim solarnim ćelijama, derivati indena igraju ključnu ulogu jer doprinose efikasnijem prikupljanju i transportu sunčeve energije, što rezultira povećanom učinkovitošću solarnih ćelija.[48] Također, derivati indena su važni u razvoju novih fluorescentnih materijala. Njihova struktura omogućava stvaranje materijala s visokom fluorescentnošću, što ih čini korisnima u različitim svjetlosnim aplikacijama, kao što su svjetleće ekrani, svjetiljke i indikatori.[49] S druge strane, kompleksi metalnih indena koriste se zbog svojih jedinstvenih svojstava za ubrzanje katalitičkih reakcija u sintezi malih organskih molekula te reakcija polimerizacije.[50]

Sintetičke metode za pripremu derivata indena su značajno napredovale tijekom posljednjih pet godina, a većina tih novih sintetičkih pristupa može se sistematizirati u dvije osnovne kategorije. Prva kategorija obuhvaća kationske procese koji se temelje na intramolekularnoj Friedel-Craftsovoj reakciji kao glavnom koraku u sintezi derivata indena. Ovu reakciju karakterizira formiranje kationa kao međuproizvoda, što omogućava povezivanje različitih molekularnih komponenti kako bi se stvorila osnovna indenova struktura. Intramolekularni karakter ove reakcije naglašava unutarnje interakcije u molekuli, što može rezultirati stereo-specifičnom formiranjem indenskog skeleta. Druga značajna kategorija obuhvaća postupke koji koriste katalizu prijelaznim metalima, pri čemu su prijelazni metali ključni za oblikovanje strukture indena. Ovi katalitički procesi omogućuju preciznu i selektivnu sintezu derivata indena, često putem složenih koordinacijskih reakcija s prijelaznim metalima kao katalizatorima. [51]

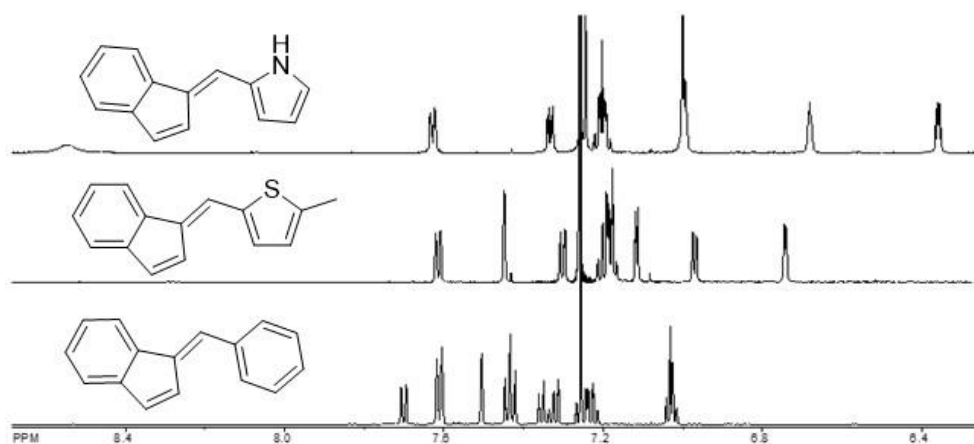
3.2. Sinteza i spektroskopska karakterizacija spojeva 1-3

Prvi korak sinteze derivata indena je reakcija indena s različitim aldehidima (pirol-2-karbaldehid, 5-metiltiofen-2-karbaldehid, benzaldehid), koji su zagrijavani u 1%-tnoj otopini KOH-EtOH, pri čemu su dobiveni spojevi 1-3 (Shema 6). Dobiveni spojevi pročišćeni su kolonskom kromatografijom, te u potpunosti spektroskopski okarakterizirani.

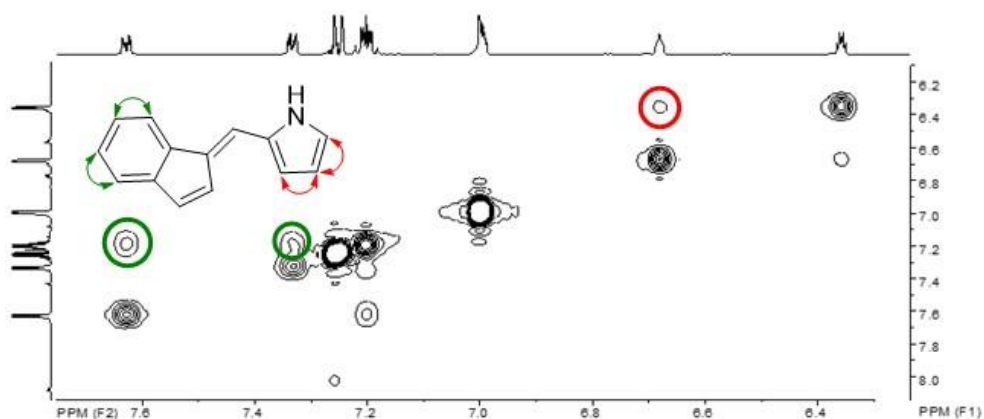


Shema 6. Sinteza produkata 1-3

Na Slici 13. vidljivi su ^1H NMR spektri početnih spojeva 1-3. Signali aromatskih protona u sva tri slučaja nalaze se u njihovom karakterističnom području (7-8 ppm) te nije uočen značajan utjecaj supstituenata na pomake signala u spektru. Signali protona heterocikličke jezgre pojavljuju se u višem magnetskom polju u odnosu na aromatske signale. Također, uočljiv je signal u obliku širokog singleta na $\sim 8,5$ ppm koji predstavlja signal -NH protona spoja 1.

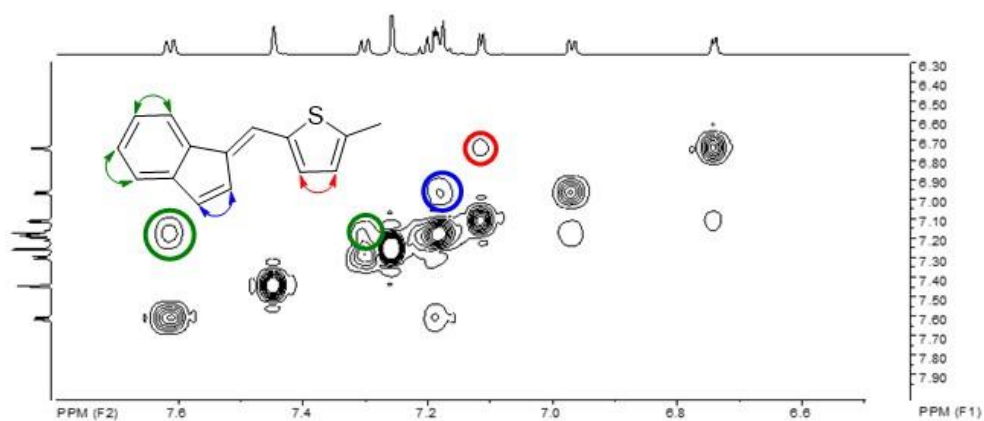


Slika 13. ^1H NMR (CDCl_3 ; 600 MHz) spektar spojeva 1-3



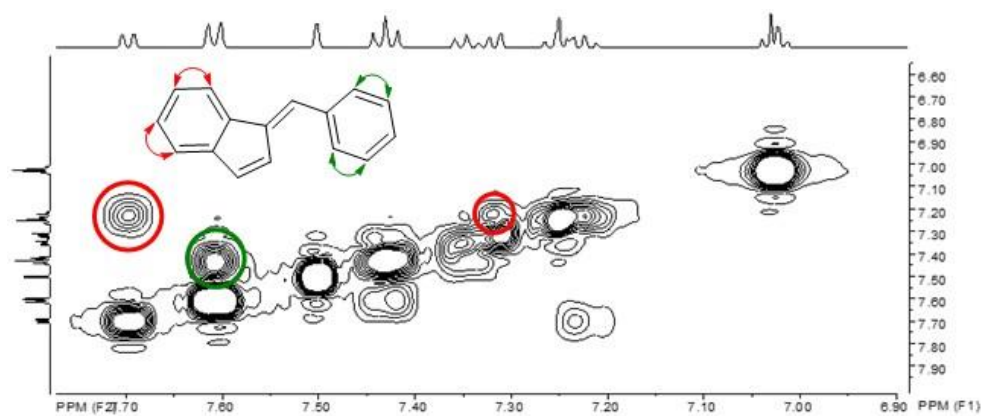
Slika 14. 2D-¹H-¹H-COSY NMR (CDCl₃; 600 MHz) spektar spoja 1

Slika 14 prikazuje dvodimenzijski COSY NMR spektar spoja **1**. Na spektru su vidljive interakcije između susjednih protona u benzenskom prstenu, kao i interakcije među protonima na pirolskoj heterocikličkoj jezgri.



Slika 15. 2D-¹H-¹H-COSY NMR (CDCl₃; 600 MHz) spektar spoja 2

Na Slici 15. prikazan je dvodimenzijski COSY NMR spektar spoja **2**. Analizom ovog spektra uočene su interakcije između susjednih protona u benzenskoj jezgri, kao i interakcije između susjednih protona u peteročlanom prstenu indenske strukture. Također, označene su interakcije susjednih protona u tiofenskoj heterocikličkoj jezgri.

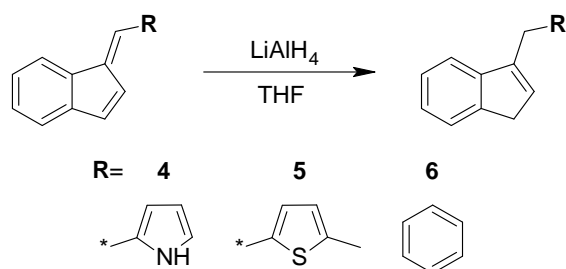


Slika 16. 2D-¹H-¹H-COSY NMR (CDCl₃; 600 MHz) spektar spoja 3

Slika 16. prikazuje dvodimenzijski COSY NMR spektar spoja **3**, na kojem se može uočiti interakcija susjednih protona u šesteročlanom benzenskom prstenu indenske jezgre. Također, mogu se primijetiti interakcije između susjednih protona na benzenskom prstenu benzilidenskog supstituenta .

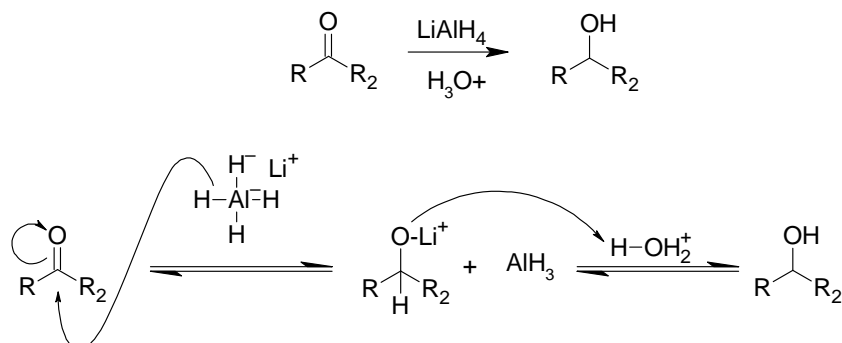
3.3. Sinteza i spektroskopska karakterizacija spojeva 4-6

U drugom koraku sinteze indenskih derivata, spojevi **1-3** služe kao prekursori, te se reduciraju se uz uporabu LiAlH_4 u prisutnosti otapala tetrahidrofurana (THF). Time su uspješno sintetizirani spojevi **4-6** koji su pročišćeni kolonskom kromatografijom, te u potpunosti spektroskopski okarakterizirani.

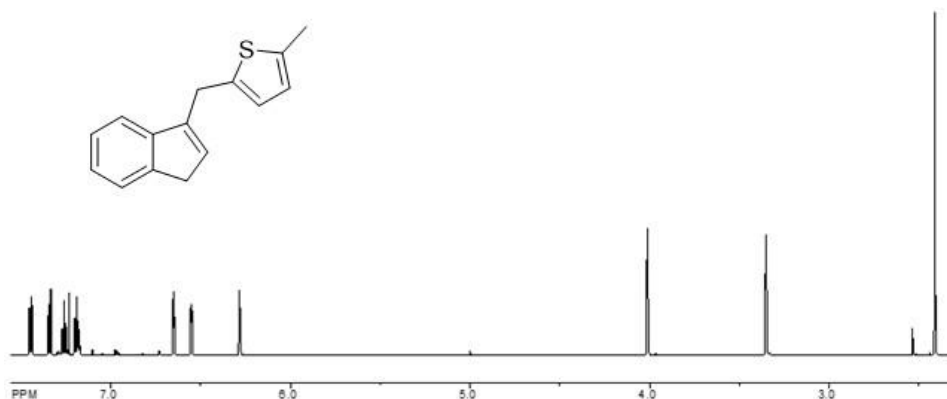


Shema 7. Sinteza produkata 4-6

LiAlH_4 (litijev aluminij-hidrid) predstavlja iznimno snažno redukcijsko sredstvo koje ima ključnu ulogu u organskoj kemiji. Njegova osnovna funkcija leži u procesu redukcije, pri čemu dodaje vodikove atome na različite funkcionalne grupe prisutne u organskim molekulama. Ovaj postupak rezultira smanjenjem oksidacijskog stanja molekule. Na primjer, ketoni i aldehidi, koji u svom sastavu sadrže karbonilnu grupu, podložni su redukciji s LiAlH_4 . Ovaj reagens donosi vodikove atome na kisik što rezultira transformacijom ketona i aldehida u primarne alkohole. Slično tome, esteri i laktoni, koji također sadrže karbonilne grupe, podložni su sličnom postupku redukcije. Ovaj reagens također se koristi za redukciju drugih funkcionalnih grupa, uključujući amide, nitrile i epoksidge.



Shema 8. Mehanizam redukcije karbonilnih spojeva sa LiAlH_4



Slika 17. ^1H NMR (CDCl_3 ; 600 MHz) spektar spoja **5**

Slika 17. prikazuje ^1H NMR spektar indenskog derivata **5**. U spektru su vidljivi signali aromatskih protona u karakterističnom području kemijskih pomaka od 7-7,5 ppm. Također, uočljivi su signali protona tiofenske heterocikličke jezgre, koji su očekivano pomaknuti prema višem magnetskom polju (6,2-6,8 ppm), gdje se može zamijetiti signal protona -CH skupine iz peteročlanog prstena indenske jezgre u obliku tripleta. Dodatno, u spektru su prisutni signali CH_2 skupina koje su rezultat reakcije redukcije. CH_2 skupina povezana s indenskom jezgrom nalazi se na 3,35 ppm i prikazuje se kao dublet, dok se druga CH_2 skupina, koja se nalazi na 4,01 ppm, prikazuje se kao singlet. Konačno, primjetan je signal metilne skupine - CH_3 na tiofenskoj jezgri, koji se pojavljuje na 2,41 ppm i ima oblik oštrog singleta.

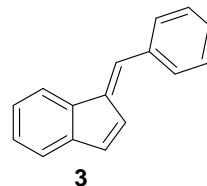
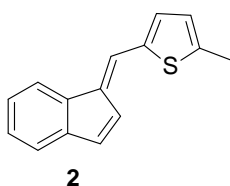
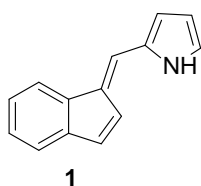
4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. Opće napomene

Kromatografska odjeljivanja provedena su na kolonama punjenim silika-gelom i na pločama presvučenim tankim slojem silika-gela. Kao eluensi, u različitim omjerima, koristili su se petroleter i diklormetan. ^1H i ^{13}C NMR spektri snimljeni su na instrumentu Bruker AV-600 te AV-300 spektrometru, koji rade na frekvenciji od 600 MHz i 300 MHz za ^1H jezgre i frekvenciji od 150 MHz te 75 MHz za ^{13}C jezgre. Svi NMR spektri snimani su u CDCl_3 kao otapalu, koristeći tetrametilsilan kao referencu. Općenito, asignacije signala rađene su na osnovu 2D- ^1H - ^1H -COSY eksperimenata.

4.2. Sinteza indenskih derivata 1-3

U okrugloj tikvici (50 mL) pripremljena je 1%-tna otopina KOH-EtOH (18 mL) u koju je dodano 0,50 g (4,304 mmol) indena te odgovarajuća količina aldehida (**1**: 1,0 eq pirol-2-karbaldehida; **2**: 1,0 eq 5-metiltiofen-2-karbaldehida; **3**: 1,0 eq benzaldehida). Reakcija je miješana 3 dana na temperaturi refluksa otapala. Dobivena smjesa koncentrirana je pod smanjenim tlakom, razrijeđena diklormetanom te isprana destiliranom vodom. Organski sloj je sušen uz pomoć MgSO_4 , filtriran te je otapalo otpareno. Dobiveni produkti **1-3** su pročišćeni uz pomoć kolonske kromatografije koristeći petroleter te smjesu petroleter/diklormetan kao eluens.



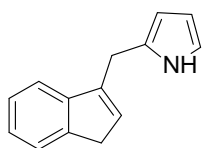
(E)-2-((1H-inden-1-iliden)metil)-1H-pirol (1): 37,18%; ^1H NMR (CDCl_3 ; 600 MHz) δ/ppm : 8,55 (s, 1H, -NH), 7,65-7,61 (m, 1H), 7,35-7,32 (m, 1H), 7,24 (s, 1H), 7,22-7,18 (m, 2H), 7,01-6,98 (m, 3H), 6,68 (s, 1H), 6,36 (dd, $J = 6,2 \text{ Hz}; 2,5 \text{ Hz}$, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 ; 150 MHz) δ/ppm : 141,2, 137,8, 133,8, 132,9, 130,3, 126,5, 124,9, 124,8, 122,2, 121,1, 118,6, 118,0, 114,9, 111,4.

(E)-2-((1H-inden-1-iliden)metil)-5-metiltiofen (2): 30,91%; ^1H NMR (CDCl_3 ; 600 MHz) δ/ppm : 7,61 (dd, $J=6,9$ Hz; 1,4 Hz, 1H), 7,45(s, 1H), 7,30(dd, $J=6,9$ Hz; 1,4 Hz, 1H), 7,22-7,16 (m, 3H), 7,12(d, $J=3,6$ Hz, 1H), 6,97 (dd, $J=5,9$ Hz; 1,1 Hz, 1H), 6,75-6,73 (m, 1H), 2,55 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 ; 150 MHz) δ/ppm : 144,8, 141,8, 138,8, 137,7, 136,0, 133,4, 132,3, 126,9, 126,1, 125,7, 124,9, 121,6, 121,1, 118,8, 15,8.

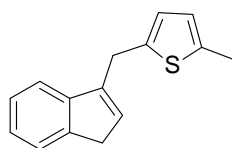
(E)-1-benziliden-1H-inden (3): 12,12%; ^1H NMR (CDCl_3 ; 600 MHz) δ/ppm : 7,70 (dd, $J=7,7$ Hz; 0,7 Hz, 1H), 7,61 (d, $J=7,7$ Hz, 2H), 7,50 (s, 1H), 7,43 (t, $J=7,7$ Hz, 2H), 7,35 (dt, $J=7,7$ Hz; 1,1 Hz, 1H), 7,32 (dd, $J=7,7$ Hz; 1,1 Hz, 1H), 7,26 (dt, $J=7,7$ Hz; 1,1 Hz, 1H), 7,23 (dt, $J=7,7$ Hz; 1,1 Hz, 1H), 7,05-7,01 (m, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3 ; 150 MHz) δ/ppm : 142,1, 140,1, 137,5, 137,0, 134,6, 130,3, 128,7, 128,7, 128,3, 127,6, 126,1, 125,2, 121,0, 119,2.

4.3. Sinteza indenskih derivata 4-6

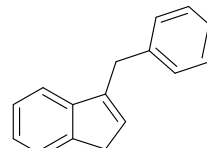
U okrugloj dvogrloj tikvici dodana je odgovarajuća količina prethodno sintetiziranih derivata indena (**1** – 1,592 mmol; **2** – 1,130 mmol; **3** – 0,521 mmol) koji su otopljeni u THF-u. Nakon toga, u reakcijsku smjesu je dodana suspenzija 2 eq LiAlH_4 u THF-u. Reakcija se provodi 2 sata u ledenoj kupelji u atmosferi dušika. Zatim je dodana odgovarajuća količina destilirane vode (**4** – 120 μL ; **5** – 84 μL ; **6** – 40 μL), ista količina 4 M otopine NaOH, dvije kapaljke EtOAc te ponovno 3 obroka destilirane vode. Takva smjesa ostavljena je da se miješa 20 minuta pri sobnoj temperaturi kako bi suvišak LiAlH_4 izreagirao. Nakon toga, smjesa je filtrirana preko Büchnerovg lijevka te je matičnica uparena.



4.



5.



6.

2-((1H-inden-3-il)metil)-1H-pirol (4): 8,4%; ¹H NMR (CDCl₃; 600 MHz) δ/ppm: 7,93 (s, 1H), 7,46 (d, *J*=7,2 Hz, 1H), 7,32 (d, *J*=7,2 Hz, 1H), 7,25 (dt, *J*=7,2 Hz; 1,2 Hz, 1H), 7,20 (dt, *J*=7,2 Hz; 1,2 Hz, 1H), 6,66-6,64 (m, 1H), 6,28-6,25 (m, 1H), 6,15 (dd, *J*=5,8 Hz; 2,9 Hz, 1H), 6,08-6,06 (m, 1H), 3,92 (s, 2H), 3,36 (d, *J*=1,6 Hz, 2H)

2-((1H-inden-3-il)metil)-5-metiltiofen (5): 10,12%; ¹H NMR (CDCl₃; 600 MHz) δ/ppm: 7,45 (d, *J*= 7,6 Hz, 1H), 7,34 (d, *J*= 7,6 Hz, 1H), 7,26 (dt, *J*=7,6 Hz; 0,7 Hz, 1H), 7,19 (dt, *J*=7,6 Hz; 1,1 Hz, 1H), 6,65 (d, *J*=3,2 Hz, 1H), 6,56-6,54 (m, 1H), 6,29-6,27 (m, 1H), 4,01 (s, 2H), 3,35 (d, *J*=1,9 Hz, 2H), 2,41 (s, 3H)

5. ZAKLJUČAK

U sklopu izrade ovog završnog rada uspješno je provedena sinteza novih derivata indena. Produkti su pripremljeni kroz dvije glavne reakcije. U prvoj reakciji dobiveni su produkti **1** (E)-2-((1H-inden-1-iliden)metil)-1H-pirol (37,18 %), **2** (E)-2-((1H-inden-1-iliden)metil)-5-metiltiofen (30,91 %) te **3** (E)-1-benziliden-1H-inden (12,12 %). Ovi spojevi su djelovali kao prekursori u reakciji redukcije, pri čemu je LiAlH₄ (litijev aluminij-hidrid) služio kao reducens. Reakcijom redukcije sintetizirani su spojevi **4** 2-((1H-inden-3-il)metil)-1H-pirol (8,4 %), **5** 2-((1H-inden-3-il)metil)-5-metiltiofen (10,12 %) te spoj **6** 3-benzil-1H-inden. Svi produkti su izolirani i u potpunosti spektroskopski okarakterizirani.

6. LITERATURA

- [1] Prasher, P., Sharma, M., Medicinal Chemistry of Indane and Its Analogues, *ChemistrySelect*, **6** (2021) 2658-2677.
- [2] Gabriele, B., Mancuso, R., Veltri, L., Recent Advances in the Synthesis of Indanes and Indenes, *Chem. Eur. J.*, **22** (2016) 5056 – 5094.
- [3] R.D. Barry, *Chem. Rev.*, **64** (1964) 229 – 260.
- [4] Borys, F., Joachimiak, E., Krawczyk, E., Fabczak, H., Intrinsic and Extrinsic Factors Affecting Microtubule Dynamics in Normal and Cancer Cells, *Molecules*, **25** (2020) 3705.
- [5] Cermak, V., Dostal, V., Jelinek, M., Libusova, L., Kovar, J., Rosel, D., Brabek, J., Microtubule-targeting agents and their impact on cancer treatment. *Eur. J. Cell Biol.*, **99** (2020) 151075.
- [6] Prakasham, A. P., Saxena, A. K., Luqman, S., Chanda, D., Kaur, T., Gupta, A., Yadav, D. K., Chanotiya, C. S., Shanker, K., Khan, F., Negi A. S., Synthesis and anticancer activity of 2-benzylidene indanones through inhibiting tubulin polymerization, *Bioorg. Med. Chem.*, **20** (2012) 3049–3057.
- [7] Singh, A., Fatima, K., Singh, A., Behl, A., Mintoo, M. J., Hasanain, M., Ashraf, R., Luqman, S., Shanker, K., Mondhe, D. M., Sarkar, J., Chanda, D., Negi, A. S., Anticancer activity and toxicity profiles of 2-benzylidene indanone lead molecule, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **76** (2015) 57–67.
- [8] Singh, A., Fatima, K., Srivastava, A., Khwaja, S., Priya, D., Singh, A., Mahajan, G., Alam, S., Saxena, A. K., Mondhe, D. M., Luqman, S., Chanda, D., Khan, F., Negi, A. S., Anticancer activity and toxicity profiles of 2-benzylidene indanone lead molecule, *Chem. Biol. Drug Des.*, **88** (2016) 625–634.
- [9] Klomp, M. J., Dalm, S. U., Jong, M., Feelders, R. A., Hofland, J., Hofland, L. J., Epigenetic regulation of somatostatin and somatostatin receptors in neuroendocrine tumors and other types of cancer, *Rev. Endocr. Metab. Disord.*, **22** (2020) 495-510.
- [10] Cantone, M. C., Dicitore, A., Vitale, G., Epigenetic regulation of somatostatin and somatostatin receptors in neuroendocrine tumors and other types of cancer, *J. Clin. Med.*, **10** (2020) 495-510.

- [11] Beckwecker, G., Lewis, I., Albert, R., Schmid, H. A., Hoyer, D., Bruns, C., Opportunities in somatostatin research: biological, chemical and therapeutic aspects, *Nat. Rev.*, **2** (2003) 999–1017.
- [12] Hirschmann, R., Nicolaou, K. C., Pietranico, S., Salvino, J., Leahy, E. M., Sprengeler, P. A., Furst, G., Strader, C. D., Smith, A. B., Pyrrolinone-Based Peptidomimetics, *J. Am. Chem. Soc.*, **114** (1992) 9217–9218.
- [13] Ankersen, M., Crider, M., Liu, S., Ho, B., Andersen, H. S., Stidsen, C., Discovery of a Novel Non-Peptide Somatostatin Agonist with SST₄ Selectivity, *J. Am. Chem. Soc.*, **120** (1998) 1368–1373.
- [14] Yang, L., Guo, L., Pasternak, A., Mosley, R., Rohrer, S., Birzin, E., Foor, F., Cheng, K., Schaeffer, J., Patchett, A. A., Spiro[1H-indene-1,4'-piperidine] derivatives as potent and selective non-peptide human somatostatin receptor, *J. Med. Chem.*, **41** (1998) 2175–2179.
- [15] Webb, T. R., Slavish, J., George, R. E., Look, A. T., Xue, L., Jiang, Q., Cui, X., Rentrop, W. B., Morris, S. W., Discovery of a Potent Inhibitor of Anaplastic Lymphoma Kinase with in Vivo Antitumor Activity, *Expert Rev. Anticancer Ther.*, **9** (2009) 331–356
- [16] Sudhapriya, N., Perumal, P. T., Balachandran, C., Ignacimuthu, S., Sangeetha, M., Doble, M., Synthesis of new class of spirocarbocycle derivatives by multicomponent domino reaction, *Eur. J. Med. Chem.*, **83** (2014) 190–207.
- [17] Bjornsti, M.A., Kaufmann, S.H., Topoisomerases and cancer chemotherapy: recent advances and unanswered questions, *F1000Res.*, **8** (2019) 1704.
- [18] Barrios, V. M. M., Radaeva, M., Song, Y., Alperstein, Z., Lee, A. R., Schmitt, V., Lee, J., Ban, F., Xie, N., Qi, J., Lallous, N., Gleave, M. E., Cherkasov, A., Dong, X., The Implication of Topoisomerase II Inhibitors in Synthetic Lethality for Cancer Therapy, *Front. Oncol.*, **10** (2021).
- [19] Mokesch, S., Novak, M. S., Roller, A., Jakupec, M. A., Kandioller, W., Keppler, B. K., Fine-Tuning the Activation Mode of an 1,3-Indandione-Based Ruthenium(II)-Cymene Half-Sandwich Complex by Variation of Its Leaving Group, *Molecules*, **3** (2015) 2373.
- [20] Tsovaltzi, E., Xenikaki, E. M., Dalezis, P., Hatzidimitriou, A., Lazarides, T., Trafalis, D., Sarli, V., Synthesis and analysis of the anticancer activity of Ru(ii) complexes incorporating 2-hydroxymethylidene-indene-1,3-dione ligands, *New J. Chem.*, **41** (2017) 10438-10446.

- [21] Mirza A. Z., Advancement in the development of heterocyclic nucleosides for the treatment of cancer, *Nucleotide and Nucleic acids.*, **38** (2019) 836–857
- [22] Guinan, M., Benckendorff, C., Smith, M., Miller, G. J., Recent Advances in the Chemical Synthesis and Evaluation of Anticancer Nucleoside Analogues, *Molecules.*, **25** (2020) 2050.
- [23] Yao, S. W., Lopez, V. H. C., Fernandez, F., Mera, X. G., Morales, M., Borges, J. E. R., Cordeiro, M. N. D., Recent Advances in the Chemical Synthesis and Evaluation of Anticancer Nucleoside Analogues, *Bioorg. Med. Chem.*, **11** (2003) 4999–5006.
- [24] Hanna, V. S., Hafez, E. A. Z., Synopsis of arachidonic acid metabolism: A review, *J. Adv. Res.*, **11** (2018) 23–32.
- [25] Prasher, P., Mudila, H., Sharma, M., Khati, B., Developmental perspectives of the drugs targeting enzyme-instigated inflammation, *Med. Chem. Res.*, **28** (2019) 417–449.
- [26] El-Azab, A. S., Aziz, A. A. M. A., Zeid, L. A. A., EL-Husseiny, W. M., El-Morsy, A. M., El Gendy, M. A., El-Sayed, M. A. A., *J. Enz. Inhib. Med. Chem.*, **33** (2018) 989–998.
- [27] Walters, M. J., Blobaum, A. L., Kingsley, P. J., Felts, A. S., Sulikowski, G. A., Marnett, L. J., Cyclooxygenase-1-Selective Inhibitors Based on the (E)-2'-Des-methyl-sulindac Sulfide Scaffold, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **19** (2009) 3271–3274.
- [28] Bhat, M. A., Al-Omar, M. A., Alsaif, N. A., Almehezia, A. A., Naglah, A. M., Razak, S., Khan, A. A., Ashraf, N. M., Novel sulindac derivatives: synthesis, characterisation, evaluation of antioxidant, analgesic, anti-inflammatory, ulcerogenic and COX-2 inhibition activity, *J. Enz. Inhib. Med. Chem.*, **35** (2020) 921–934.
- [29] Lehr M., Phospholipase A2 inhibitors in inflammation, *Expert Opin. Ther. Pat.*, **11** (2001) 1123–1136.
- [30] Samuelsson B., Arachidonic acid metabolism: role in inflammation, *Z Rheumatol.*, **50** (1991) 3-6
- [31] Hagishita, S., Yamada, M., Shirahase, K., Okada, T., Murakami, Y., Ito, Y., Matsuura, T., Wada, M., Kato, T., Ueno, M., Chikazawa, Y., Yamada, K., Ono, T., Teshirogi, I., Ohtani, M., Potent inhibitors of secretory phospholipase A2: synthesis and inhibitory activities of indolizine and indene derivatives, *J. Med. Chem.*, **39** (1996) 3636–3658.

- [32] J. J. Petraitis, US005290817
- [33] J. H. Musser, A. F. Kreft, A. A. Failli, C. A. Demerson, U. S. Shah, J. A. Nelson US005229516 A.
- [34] Cavalcante S. F. A., Simas A. B. C., Barcellos M. C., Oliveira V. G. M., Sousa R. B., Cabral P. A. M., Kuca K., Franca T. C. C., Crystal structures of acetylcholinesterase in complex with organophosphorus compounds, *Biomolecules*, **10** (2020) 8708–8724.
- [35] Ha, Z. Y., Mathew, S., Yeong, K. Y., Butyrylcholinesterase: A Multifaceted Pharmacological Target and Tool, *Curr. Protein Pept. Sci.*, **21** (2020) 99–109.
- [36] Cacabelos R., Pharmacogenetic considerations when prescribing cholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease, *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, **16** (2020) 673–701.
- [37] Marucci, G., Buccioni, M., Ben, D. D., Lambertucci, C., Volpini, R., Amenta, F., Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease, *Neuropharmacology*, **190** (2021) 108352.
- [38] Caton, M., Ochoa, E. L. M., Barrantes, F. J., Clinical and Structural Differences in Delusions Across Diagnoses: A Systematic Review, *Frontiers in integrative neuroscience*, **15** (2020) 726321.
- [39] Matsuzaki S., A β -ganglioside interactions in the pathogenesis of Alzheimer's disease, *Biochimica et biophysica acta*, **1862** (2020) 183233.
- [40] Hampel, H., Vassar, R., Strooper, B. D., Hardy, J., Willem, M., Singh, N., Zhou, J., Yan, R., Vanmechelen, E., Vos, A. D., Nistico, R., Corbo, M., Imbimbo, B. P., Streffer, J., Voytyuk, I., Timmers, M., Monfared, A. A. T., Irizarry, M., Albala, B., Koyama, A., Watanabe, N., Kimura, T., Yarenis, L., Lista, S., Kramer, L., Vergallo, A., The β -Secretase BACE1 in Alzheimer's Disease, *Biol. Psychiatry*, **89** (2020) 745–756.
- [41] Silva, M. A., Kiametis, A. S., Cacabelos, R., Potential acetylcholinesterase inhibitors: molecular docking, molecular dynamics, and in silico prediction, *Neuropsychiatr. Dis. Treat.*, **3** (2007) 303–333.
- [42] Piemontese, L., Tomas, D., Hiremathad, A., Capriati, V., Candeias, E., Cardoso, S. M., Chaves, S., Santos, M. A., Hydroxypyridinone Derivatives: A Fascinating Class of Chelators with Therapeutic Applications - An Update, *J. Enz. Inhib. Med. Chem.*, **33** (2018) 1212–1224

- [43] Camps, P., Formosa, X., Galdeano, C., Gomez, T., Torrero, D. M., Scarpellini, M., Viayna, E., Badia, A., Clos, M. V., Camins, A., Pallas, M., Bartolini, M., Mancini, F., Andrisano, V., Estelrich, J., Lizondo, M., Chanal, A. B., Luque, F. J., Novel donepezil-based inhibitors of acetyl- and butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase-induced beta-amyloid aggregation, *J. Med. Chem.*, **51** (2008) 3588–3598.
- [44] Renou, J., Dias, J., Mercey, G., Verdelet, T., Rousseau, C., Gastellier, A.-J., Arboleas, M., Loiodice, M. T., Baati, R., Jean, L., Nachon, F., Renard, P.-Y., Reactivators of acetylcholinesterase inhibited by organophosphorus nerve agents, *RSC Adv.*, **6** (2016) 17929–17940.
- [45] Koca, M., Yerdelen, K. O., Anil, B., Kasap, Z., Sevindik, H., Ozyurek, I., Gunesacar, G., Turkeydin, K., Development of indanones and isatins as non-cytotoxic inhibitors of cholinesterases, *J. Enz. Inhib. Med. Chem.*, **31** (2016) 13–23.
- [46] Knez, D., Coquelle, N., Pisljar, A., Zakeji, S., Jukic, M., Sova, M., Mravljak, J., Nachon, F., Brazzolotto, X., Kos, J., Colletier, J.-P., Gobec, S., Multi-target-directed ligands for treating Alzheimer's disease: Butyrylcholinesterase inhibitors displaying antioxidant and neuroprotective activities, *Eur. J. Med. Chem.*, **156** (2018) 598–617.
- [47] Majetich, G., Shimkus, J. M., Synthesis of multi-substituted indene derivatives from aryl, vinyl, and alkyl/aryl carbinols, *J. Nat. Prod.*, **73** (2010) 284–298.
- [48] Cao, T., Chen, N., Liu, G., Wang, Y., Perea, J. D., Xia, Y., Wang, Z., Song, B., Li, N., Li, X., Zhou, Y., Brabec, C. J., Li, Y., Improving Photovoltaic Properties of P3HT:IC60BA through the Incorporation of Small Molecules, *Mater. Chem.*, **5** (2017) 10206–10219.
- [49] Westcott, S. A., Kakkar, A. K., Stringer, G., Taylor, N. J., Marder, T. B., Synthesis, characterisation and structure of a strained ring-tilted bis(indenyl)iron complex, *Organomet. Chem.*, **394** (1990) 777–794.
- [50] a) Trost, B. M., Ryan, M. C., *Angew., Indenylmetal Catalysis in Organic Synthesis, Chem. Int. Ed.*, **56** (2017) 2862–2879.
- b) Rojo, B., Peris, E., Cyclopentadienyl-, Indenyl- and Fluorenyl-Functionalized N-Heterocyclic Carbene Metal Complexes: Synthesis and Catalytic Applications *Eur. J. Inorg. Chem.*, (2012) **29** 1309–1318.

[51] Rinaldi, A., Scarpi, D., Occhiato, E. G., Recent Advances in the Synthesis of Indenes, *Eur. J. Org. Chem.*, **45** (2019) 7401-7419.