Sinteza derivata harmina s potencijalnim antimalarijskim djelovanjem

Beriša, Arben

Master's thesis / Diplomski 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:149:522657

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-25**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Arben Beriša

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Arben Beriša

Sinteza derivata harmina s potencijalnim antimalarijskim djelovanjem

DIPLOMSKI RAD

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

Članovi ispitnog povjerenstva:

1. Prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić
2. Izv. prof. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević
3. Dr. sc. Lidija Furač, viši predavač

Zagreb, rujan 2018.

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Silvani Raić-Malić što mi je omogućila i povjerila izradu ovog diplomskog rada te što me je svojim velikim iskustvom i znanjem dodatno obogatila saznanjima iz područja medicinske kemije, koje je meni oduvijek bilo iznimno interesantno.

Također, zahvaljujem se doc. dr. sc. Ivani Perković i njezinom timu sa Zavoda za farmaceutsku kemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, na odličnoj suradnji prilikom sinteze azidnih derivata cimetne kiseline koji su neophodni za pripravu ciljanih triazolnih spojeva.

Vrlo sam zahvalan kolegama sa Zavoda za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu na ugodnoj radnoj atmosferi, tijekom izrade eksperimentalnog dijela rada. Imam potrebu istaknuti mag. appl. chem. Petru Roškarić i dr. sc. Andreu Bistrović, da im se zahvalim na velikoj potpori i brojnim korisnim savjetima koji su uvelike pridonijeli izradi ovog rada.

Naposljetku se posebno zahvaljujem svojim roditeljima što su mi omogućili ovaj studij te svim članovima šire obitelji i prijateljima, koji su mi velika životna podrška.

SAŽETAK

U ovom radu provedena je sinteza novih biološki aktivnih 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazolnih derivata harmina i cimetne kiseline. Kako bi se pripravili različito supstituirani propargilirani derivati prvotno se provelo prevođenje metoksi skupine harmina u hidroksilnu skupinu (**1**). Slijedi reakcija s propargil bromidom u suvišku cezijeva karbonata, pri čemu su izolirani 7-propargilirani (**2**) i 7,9-dipropargilirani harmin (**3**). Propargiliranje u položaju 9 (**4**) provedeno je izravno iz harmina uz natrijev hidrid. 7-propargilirani (**2**) i 7,9-dipropargilirani harmin (**3**) dalje podliježu bakrom(I) kataliziranoj reakciji Huisgenove 1,3-dipolarne cikloadicije s različito supstituiranim azidima cimetne kiseline i njezinim derivatima (**9a-9h, 10**), čime su sintetizirani 1,2,3-triazolni hibridi harmina i derivata cimetne kiseline (**5, 6a-6h, 7**).

Strukture svih priređenih spojeva karakterizirane su ^{1}H i ^{13}C NMR spektroskopijom.

Ispitivanje antimalarijske aktivnosti na novosintetiziranim triazolnim derivatima harmina je u tijeku.

Ključne riječi: harmin, azidni derivati cimetne kiseline, 1,2,3-triazoli, antimalarijska aktivnost

SUMMARY

The purpose of this diploma work was to synthesize novel biologically active 1,4-disubstituted 1,2,3-triazole derivatives of harmine and cinnamic acid. In order to prepare variety of propargyl derivatives, methoxy group of the harmine has been converted into the hydroxyl group (**1**). The reaction of **1** with propargyl bromide is followed by the excess of cesium carbonate, whereby 7-propargyl (**2**) and 7,9-dipropargyl harmine (**3**) derivatives were isolated. The propargylation at position 9 (**4**) was performed directly from the harmine in the presence of sodium hydride. 7-Propargyl (**2**) and 7,9-dipropargyl harmine are subjected to copper(I) catalysed Huisgen's 1,3-dipolar cycloaddition reaction with differently substituted azides of cinnamic acid and their derivatives (**9a-9h, 10**) to synthesize 1,2,3-triazole hybrid of harmine and cinnamic acid derivatives (**5, 6a-6h, 7**).

The structures of all prepared compounds were characterized by the ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopy.

Evaluation of antimalarial activity on the novel synthesized triazole derivatives of harmine is ongoing.

Keywords: harmine, azide derivatives of cinnamic acid azide, 1,2,3-triazoles, antimalarial activity

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. TEORIJSKI DIO 2
2.1. Malarija 4
2.2. Antimalarijski lijekovi 5
2.2.1. 4-supstituirani aminokinolin 6
2.2.2. 8-supstituirani aminokinolin 6
2.2.3. Bigvanid 7
2.2.4. Diaminopirimidin i sulfonamid 7
2.2.5. Sulfon 8
2.3. Dizajn lijekova 8
2.3.1. Molekulsko povezivanje kao strategija racionalnog pristupa dizajniranju lijekova 9
2.4. Harmala alkaloidi 10
2.4.1. Biološka aktivnost harmala alkaloida 10
2.4.2. Harmin 11
2.4.3. Biološka aktivnost harmina 11
2.4.4. Ostali predstavnici harmala alkaloida 12
2.5. Cimetna kiselina 13
2.6. Kemija triazola 14
2.7. Klik kemija 15
2.7.1. 1,3-dipolarna Huisgenova cikloadicija 16
3. EKSPERIMENTALNI DIO 18
3.1. Opće napomene 19
3.2. Pregled sintetiziranih spojeva 20
3.3. Priprema spojeva 22
4. REZULTATI I RASPRAVA 30
4.1. Sinteza spojeva 31
4.2. Strukturna karakterizacija sintetiziranih spojeva 34
5. ZAKLJUČAK 38
6. POPIS LITERATURE 40
7. PRILOZI 45
8. ŽIVOTOPIS 58

1. UVOD

U razvijenijim dijelovima svijeta malarija ne predstavlja opasnost dok u nerazvijenijim državama, posebice u područjima južne i središnje Afrike, predstavlja veliki zdravstveni problem. Procjenjuje se[1] da godišnje od malarije umire oko 429 000 osoba, pri čemu se 90% svih smrtnih slučajeva zabilježi upravo u Africi, a tek 7% u dijelovima jugoistočne Azije.

Antimalarijska i druga farmakološka svojstva harmina poznata još od davnina potvrđena su brojim istraživanjima kroz proteklih nekoliko desetljeća[2,10]. Međutim, kako bi se pospješilo djelovanje harmina kao potencijalnog antimalarijskog agensa sintetizirano je nekoliko njegovih derivata. Konkretno, u ovom radu je konceptom molekulske hibridizacije provedena sinteza hibrida harmina i derivata cimetne kiseline premoštenih triazolnom poveznicom s ciljem priprave spoja sa zadovoljavajućim antimalarijskim djelovanjem. Povezivanje navedenih farmakofora u jednu cjelinu, provedeno je bakar(I) kataliziranom reakcijom Huisgenove 1,3-dipolarne cikloadicije kojom nastaju 1,4-disupstituirani triazoli. Reakcija je regioselektivna[3], visokih iskorištenja te ne zahtjeva uporabu otapala štetnih za okoliš.

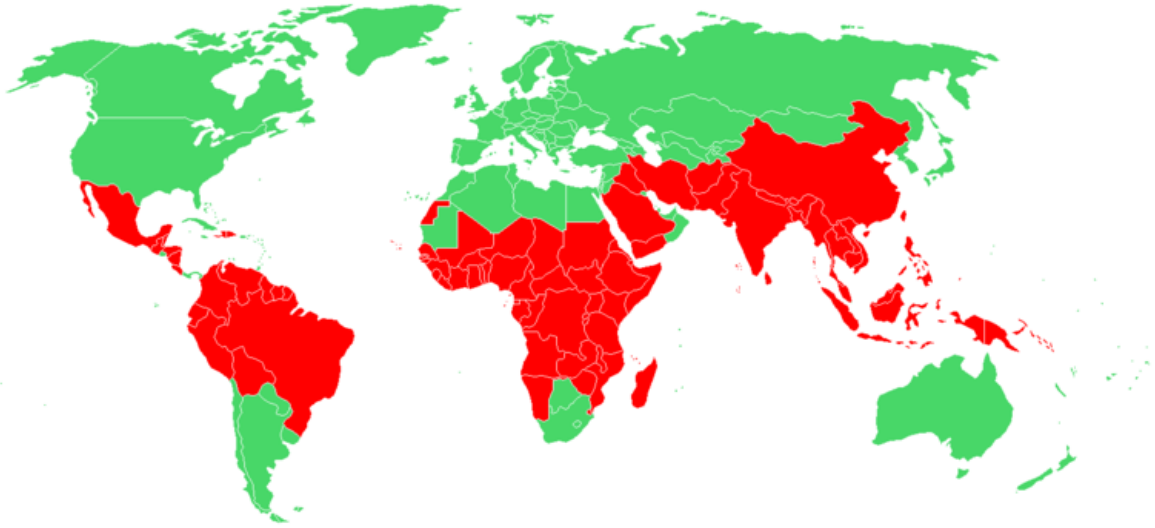
Premda je do danas sintetiziran velik broj antimalarijskih agenasa, glavni uzrok rastućeg broja oboljelih od malarije jest svakako posljedica porasta rezistencije[4] parazita na postojeće lijekove. Stoga je neophodno otkrivati nove spojeve s antimalarijskim djelovanjem kako bi se riješio problem rezistencije.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Malarija

Malarija je zarazna bolest čiji je uzročnik parazit[5] iz roda *Plasmodium*, a na čovjeka se prenosi ubodom ženke zaraženog komarca iz roda *Anophelesa*. Također, najraširenija je bolest od svih koje uzrokuju paraziti[6], a karakterizirana je kratkotrajnim periodičnim napadajem groznice i povišenom tjelesnom temperaturom. Četiri vrste plazmodija opasne za čovjeka su: *P. vivax, P. ovale, P. falciparum* i *P. malarie*. Kada ubodom dospiju u organizam, paraziti se najprije umnožavaju u jetri (egzoeritrocitna faza), a zatim razaraju crvene krvne stanice hraneći se hemoglobinom (eritrocitna faza), pri čemu stvaraju sitna zrna crno-zlatnog pigmenta. Ako se pravovremeno ne liječi, bolest može uzrokovati ozbiljne komplikacije, pa čak i smrt.

Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije[1] tijekom 2015. godine od malarije je oboljelo oko 212 milijuna ljudi, a umrlo oko 429 000 među kojima je značajan udio djece u dobi do pet godina. Malarija je uglavnom iskorijenjena u razvijenijim državama (**Slika 1.**), ali je gorući problem u jugoistočnoj Aziji i Oceaniji, Srednjoj i Južnoj Americi te posebno u Subsaharskoj Africi. U Hrvatskoj[7] je malarija suzbijena 1964. godine, a danas se bilježe samo tzv. importirani slučajevi, nastali u brojnim endemskim područjima malarije u svijetu, kamo ljudi odlaze zbog poslovnih, turističkih ili nekih drugih razloga.

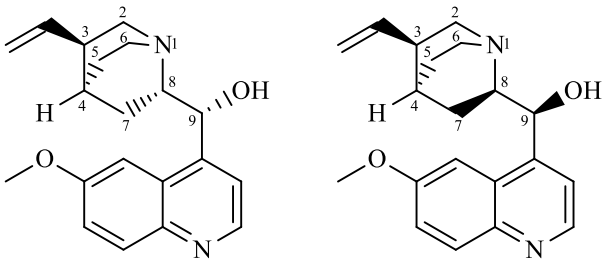


Slika 1. Epidemiološka karta malarije. Zeleno: područja u kojima je malarija iskorijenjena; crveno: područja u kojima je malarija prisutna.

2.2. Antimalarijski lijekovi

Najbolji način borbe protiv malarije je sprječavanje uboda insekata. To se može postići izbjegavanjem malaričnih područja, nošenjem duge odjeće, uporabom sredstva za odbijanje insekata te primjenom mreža za krevete impregniranih insekticidima. Zaraza se može prenijeti i transfuzijom, kogenitalno ili slučajno putem igle. Međutim, vrlo rijetko se prenosi sa zaraženog[8] na zdravog pojedinca.

Razvoj antimalarijskih lijekova bio je potaknut otkrićem dvaju alkaloida (**Slika 2.**) izoliranih iz kore drva kinonovca; kinina i kinidina. Riječ je o dijasteroizomerima, pri čemu kinidin pokazuje bolju antimalarijsku aktivnost, ali uzrokuje kardijalnu aritmiju pa je njegova primjena ograničena. Danas je upotreba kinina zamijenjena djelotvornijim i manje toksičnim tvarima. Jedino se još upotrebljava u slučajevima rezistencije *P. falciparum* na klorokin, u kombinaciji s pirimetaminom ili nekim sulfonamidom[8].



a (3*R*, 4*S*, 8*S*, 9*R*) **b** (3*R*, 4*S*, 8*R*, 9*S*)

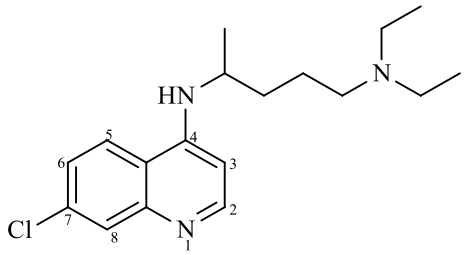
Slika 2. Struktura kinina (**a**) i kinidina (**b**).

Antimalarijski kemoterapeutici se uglavnom dijele prema učinku na životni ciklus plazmodija. Međutim, u terminologiji medicinske kemije[9] antimalarike obično klasificiramo s obzirom na njihovu kemijsku strukturu, pa tako najznačajniju skupinu čine:

1. 4-supstituirani aminokinolini (kinin, klorokin),
2. 8-supstituirani aminokinolini (primakin),
3. bigvanidi (progvanil),
4. diaminopirimidini (pirimetamin),
5. sulfonamidi (sulfadoksin),
6. sulfoni (dapson).

2.2.1. 4-supstituirani aminokinolin

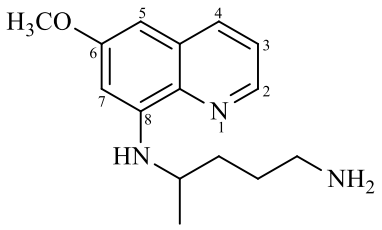
Još za vrijeme drugog svjetskog rata istražena su antimalarijska svojstva 4-, 6- i 8-supstituiranih aminokinolina. QSAR studijima otkriveno je da se najbolja antimalarijska aktivnost 4-supstituiranih aminokinolina postiže uvođenjem atoma klora u položaju C-7. Najpoznatiji predstavnik 4-supstituiranih kinolina je klorokin[9]. Ako se ne razvije rezistencija, klorokin (**Slika 3.**) je prvi lijek izbora u terapiji malarije. Mehanizam djelovanja klorokina nije u potpunosti razjašnjen, ali pretpostavlja se da inhibira sintezu DNA i RNA u stanicama plazmodija ili da stvara komplekse s DNA te tako sprječava replikaciju i transkripciju. Međutim, poznato je da klorokin djeluje samo u eritrocitnoj fazi zaraze malarijom.



Slika 3. Struktura klorokina.

2.2.2. 8-supstituirani aminokinolin

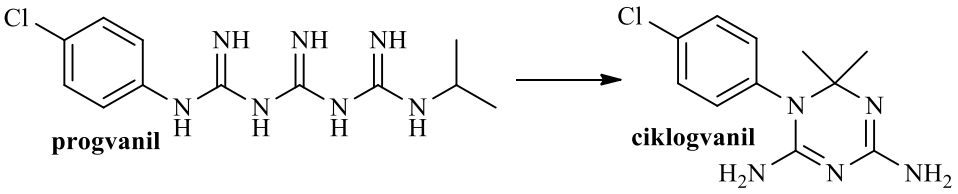
Iako se 8-supstituirani aminokinolini najčešće koriste za liječenje malarije u egzoeritrocitnoj fazi, toksičniji su od 4-supstituiranih analoga aminokinolina. Za antimalarijsku aktivnost vrlo je važna prisutnost metoksi skupine u položaju C-6[9], te pobočni lanac u položaju C-8 koji se sastoji od 4 do 6 ugljikovih atoma. Najpoznatiji predstavnik 8-supstituiranih aminokinolina (**Slika 4.**) je svakako primakin. Vrlo je djelotvoran protiv primarnih egzoeritrocitnih faza *P. falciparum.* U toksičnim koncentracijama učinkovit je protiv plazmodija u eritrocitnoj fazi. Može se koristiti zajedno s klorokinom u težim slučajevima oboljenja. Pretpostavlja se da primakin djeluje tako da razara mitohondrije parazita ili se veže za nativnu DNA parazita.



Slika 4. Struktura primakina.

2.2.3. Bigvanid

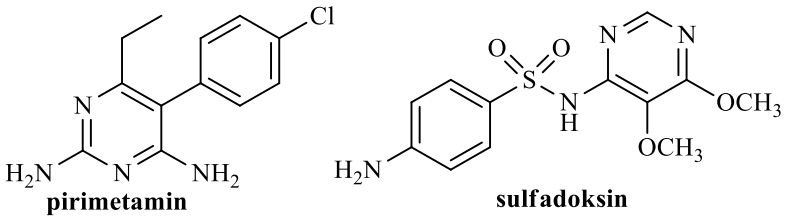
Progvanil (**Shema 1.**) je derivat bigvanida. Djeluje kao prolijek, odnosno u čistom stanju ne pokazuje biološku aktivnost[8]. Međutim, kad dospije u organizam različitim se metaboličkim putevima pretvara u biološki aktivan ciklogvanil. Taj metabolit selektivno inhibira dihidrofolat reduktazu plazmodija te sprječava redukciju dihidrofolne kiseline u tetrahidrofolnu kiselinu, što ima za posljedicu inhibiciju sinteze DNA. Najčešće se koristi u kombinaciji s klorokinom kao profilaktik. Važno je naglasiti da je progvanil najmanje toksičan antimalarik i tek u velikim dozama uzrokuje probavne smetnje.



Shema 1. Prevođenje progvanila u biološki aktivan ciklogvanil.

2.2.4. Diaminopirimidin i sulfonamid

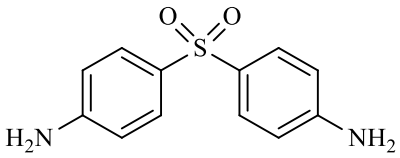
Pirimetamin i sulfadoksin (**Slika 5.**) kao najznačajniji predstavnici diaminopirimidina, odnosno sulfonamida, najvažniji su lijekovi iz skupine antagonista folne kiseline. Mehanizam djelovanja temelji se na selektivnoj inhibiciji dihidrofolat-6-reduktaze parazita. Uz uobičajene doze pirimetamina, humani enzim ostaje aktivan pa se ne javlja nedostatak folne kiseline. Nakon velikih doza može uzrokovati megaloblastičnu anemiju. No, kao njegov najvažniji nedostatak navodi se brzi razvoj rezistencije, stoga se najčešće koristi u kombinaciji sa sulfadoksinom[8].



Slika 5. Najvažniji predstavnici antagonista folne kiseline; pirimetamin i sulfadoksin.

2.2.5. Sulfon

Veliki broj difenilsulfonskih analoga razvijeno je za liječenje infekcija uzrokovanih leprozom. Međutim, otkriveno je da (**Slika 6.**) se 4,4'-sulfonildianilin (dapson) u kombinaciji s pirimetaminom može uspješno koristiti za liječenje[9] i prevenciju od malarije zbog rezistencije klorokina prema *P. falciparum* parazitima. Također djeluje kao antagonist folne kiseline.



Slika 6. Struktura dapsona.

2.3. Dizajn lijekova

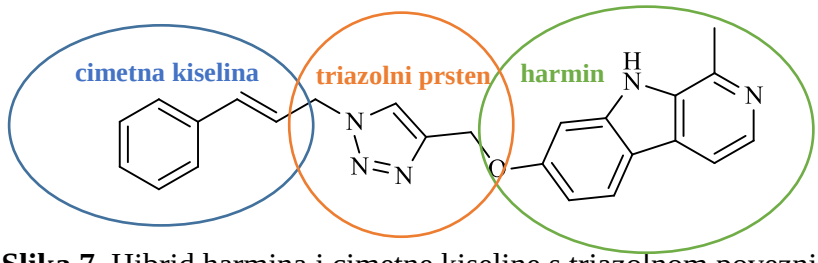
Dizajn lijekova ima za cilj razvijati lijek s visokim stupnjem kemoterapijskog indeksa i specifičnim djelovanjem. Možemo reći da dizajn lijekova nastoji objasniti utjecaj bioloških spojeva na osnovu interakcije molekulske strukture[9] ili s obzirom na fizikalno-kemijska svojstva molekula. Tradicionalni pristup dizajnu lijekova podrazumijeva izolaciju spoja iz ljekovite biljke i njezinim strukturnim modifikacijama poboljšati svojstva molekule. No, takvi postupci obično traju nekoliko desetaka godina, stoga se danas tzv. racionalnim pristupom dizajnu lijekova nastoje izbjeći metode pokušaja i pogreške kojima se vodi tradicionalni pristup.

2.3.1. Molekulsko povezivanje kao strategija racionalnog pristupa dizajniranju lijekova

Uvriježeno je mišljenje da biološki aktivnim spojem smatramo cijelu molekulu, međutim iz perspektive medicinske kemije, vrlo je često samo jedan dio molekule biološki aktivan, a nazivamo ga farmakoforom. Kombiniranjem različitih farmakofora, mogu se stvarati novi hibridi s potencijalnim biološkim djelovanjem[10]. Koncept molekulskog povezivanja[11] temelji se na povezivanju dva ili više farmakofora u jednu cjelinu, odnosno u novu strukturu s poboljšanim djelovanjem u odnosu na početne spojeve.

Molekule se međusobno mogu izravno spajati kovalentnom vezom ili preko poveznice (**Slika 7.**) tzv. „linker“ (npr. triazol). Novonastali hibrid može imati svojstva obje molekule ili neka dodatna druga svojstva. Jedan od najpoznatijih primjera molekulskog povezivanja je sinteza kinin-acetilsalicilata. Acetilsalicilna kiselina je antipiretski agens, dok kinin posjeduje snažno antimalarijsko djelovanje. Njihovom hibdriziacijom dobiven je lijek koji ima antimalarijsko, antipiretsko i analgetsko djelovanje. Na istom su principu sintetizirani lijekovi novije generacije inhibitora tirozin kinaze, poput sunitiniba i lapatiniba.

Za razliku od tradicionalnog pristupa dizajnu lijekova, molekulsko povezivanje pripada racionalnom dizajnu lijekova jer se prije sinteze uz pomoć različitih računalnih programa predviđaju svojstva buduće molekule što štedi novac i vrijeme uz smanjenje broja sintetskih koraka.



Slika 7. Hibrid harmina i cimetne kiseline s triazolnom poveznicom.

Postoje još dvije važne skupine racionalnog dizajniranja[9] lijekova:

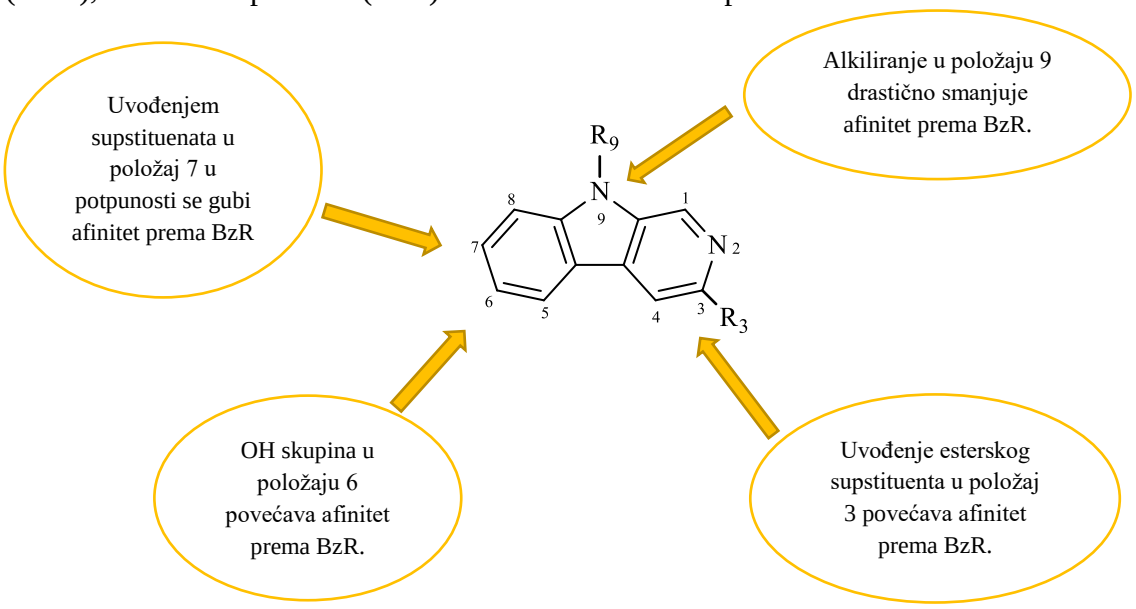
1. kvantno-mehanički pristup koji uz pomoć kvantno mehaničkih proračuna uzima elektronske značajke odgovorne za kemijske promjene i
2. molekulsko orbitalni pristup koji uzima u obzir ovisnost elektronskog naboja i molekulske građe.

2.4. Harmala alkaloidi

Harmala alkaloidi pripadaju skupini prirodnih spojeva koji u svojoj strukturi sadrže karakterističan *β*-karbolinski prsten (9*H*-pirido[3,4-*b*]indol). U najvećim koncentracijama se nalaze u sjemenu Sirijske rutvice[12] (lat. *Peganum harmala)* koja je široko rasprostranjena u područjima Bliskog istoka i Sjeverne Afrike, gdje se koristi kao biljni pripravak za izazivanje menstruacije. Međutim, u sjeverozapadnoj Kini ekstrakti sjemena *P. harmala* su se koristili za liječenje različitih vrsta raka[13] probavnog sustava, ali i protiv malarije. Postoje zapisi da je Sirijska rutvica ljekovita biljka još iz antičkog doba[14], gdje su je Grci cijenili kao svetu biljku.

2.4.1. Biološka aktivnost harmala alkaloida

Brojna istraživanja su pokazala da *β*-karbolinski alkaloidi (**Slika 8.**) posjeduju široki spektar biološke aktivnosti. Tijekom posljednja dva desetljeća otkriveno je da harmala alkaloidi posjeduju snažan afinitet[15] prema 5-hidroksitriptaminskim (5-HT), dopaminskim (DOP), benzodiazepinskim (BzR) i imidazolinskim receptorima.

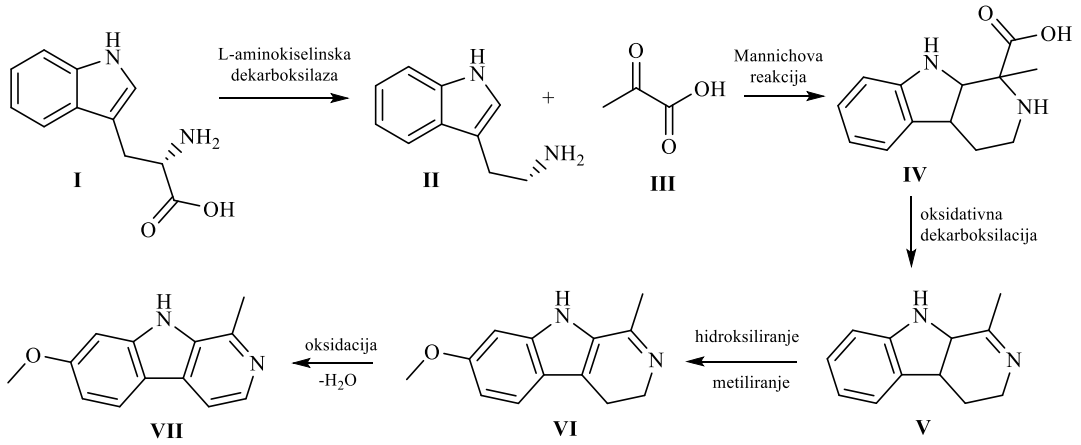


Slika 8. Odnos između strukture i aktivnosti harmala alkaloida prema BzR.

Različiti *β*-karbolinski alkaloidi se vežu za BzR, te tako mogu djelovati kao antagonisti ili agonisti za postizanje sedativnog, anksiolitičkog, ili konvulzivnog učinka. QSAR studijima je potvrđeno da se uvođenjem esterskog supstituenta u položaj C-3 dodatno poboljšava afinitet prema BzR.

2.4.2. Harmin

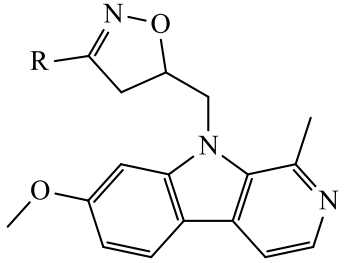
Harmin je najpoznatiji predstavnik harmala alkaloida. Biosintetizira se (**Shema 2.**) iz L-triptofana (**I**) koji uz djelovanje enzima L-aminokiselinske dekarboksilaze prelazi u triptamin (**II**). Zatim triptamin i acetil-karboksilna kiselina (**III**) podliježu Mannichovoj reakciji[16], pri čemu nastaje heksahidro-*β*-karbolinski prsten s karboksilnom skupinom u položaju 1 (**IV**). Oksidativnom dekarboksilacijom se uklanja karboksilna skupina i nastaje tetrahidro-*β*-karbolin (**V**). Hidroksiliranjem i metiliranjem spoja (**V**) dobiva se harmalin (**VI**) koji se dalje oksidira do harmina (**VII**).



Shema 2. Biosinteza harmina.

2.4.3. Biološka aktivnost harmina

Najnovija istraživanja pokazala su da harmin može inhibirati protein rezistentan na rak dojke (BCRP), stoga se danas ispituje njegova primjena kao lijeka protiv raka dojke. Također je zabilježeno da harmin[17] i njegovi derivati inhibiraju djelovanje proteina DYRK1A koji inicira nastajanje neurofibrilarnih čvorova u sporadičnoj Alzheimerovoj bolesti. Insaf F. i suradnici su sintetizirali nove hibride harmina i izoksazola (**Slika 9.**) s ciljem priprave spojeva s antitumorskim i anti-Alzheimer djelovanjem.

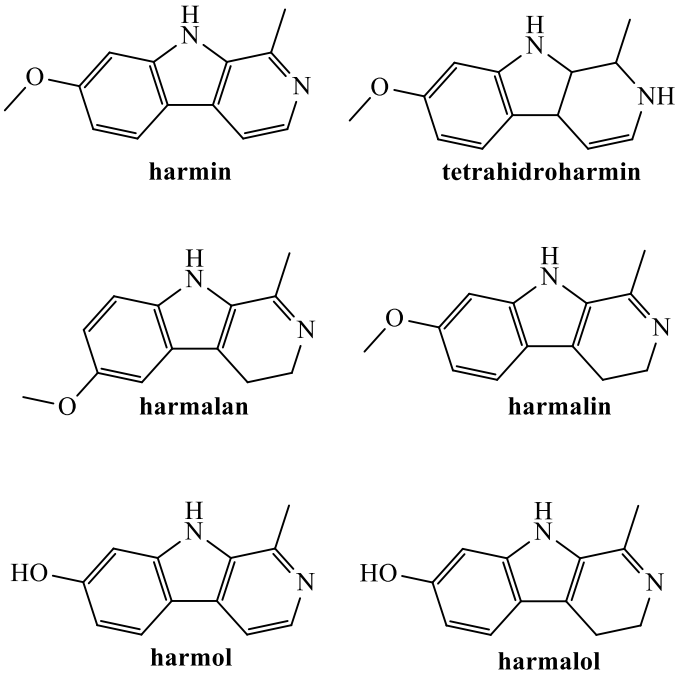


Slika 9. Hibrid harmina i izoksazola.

Rezultati bioloških ispitivanja pokazuju da tako pripremljeni hibridi harmina posjeduju snažno citotoksično djelovanje prema stanicama raka dojke i debelog crijeva. Isto tako zabilježeno je inhibitorno djelovanje prema acetilkolinsterazi za koju se smatra da potiče nastanak Alzheimerove bolesti. Nadalje, za harmin je potvrđeno da može djelovati i kao DNA interkalator[18], inhibitor topoizomeraze I[19], inhibitor ciklin-ovisne kinaze[20], inhibitor monoaminoksidaze[21], te inhibitor 5-hidroksitriptamina[22]. Osim antitumorskog i anti-Alzheimer djelovanja, potvrđeni su i drugi farmakološki učinci harmina, to jest da pokazuje halucinogeno[23], antivirusno[24] i antimalarijsko[25] djelovanje.

2.4.4. Ostali predstavnici harmala alkaloida

Osim harmina, u grupu (**Slika 10.**) *β*-karbolinskih alkaloida spadaju i harmol, harmalol, harmalan, harmalin i tetrahidroharmin[15]. Harmalin[12] je gotovo dvostruko toksičniji od harmina koji već u manjim dozama uzrokuje podrhtavanje i toničko-kloničke konvulzije. Harmalol pokazuje antitumorska svojstva, ali je i neurotoksičan[26]. Farmakološko djelovanje harmalana[27] vezano je uz njegov afinitet prema benzodiazepinskim receptorima zbog čega posjeduje potencijalna anksiolitička svojstva.



Slika 10. *β*-karbolinski alkaloidi.

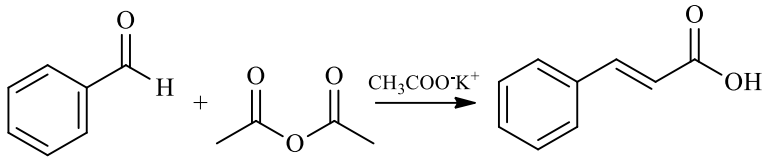
2.5. Cimetna kiselina

Cimetna kiselina (3-fenilprop-2-enska kiselina) je bijela kristalna tvar s talištem 34°C, topljiva u vrućoj vodi i alkoholu. Naziv je dobila po biljnim vrstama iz roda *Cinnamomum* iz porodice Lauraceae u kojima je prisutna u značajnim količinama. Spada u skupinu nezasićenih karboksilnih kiselina, a postoji u *cis*- i *trans*-konfiguraciji (**Slika 11.**), pri čemu je zastupljenija i stabilnija *trans*-konfiguracija cimetne kiseline[28]. U prirodi se najčešće javlja u obliku estera (npr. metil-cinemat, benzil-cinemat), ali je široko rasprostranjena i kao kiselina. Cimetna kiselina je ključni intermedijar u biosintezi različitih derivata flavanoida i kumarina. Zajedno s cimetnim alkoholom se nalazi u nekim balzamima i smolama, dok je s cinamaldehidom[29] glavni sastojak cimetnoga eteričnog ulja.

***cis*-3-fenilprop-2-enska kiselina** ***trans*-3-fenilprop-2-enska kiselina**

Slika 11. *Cis*- i *trans*-konfiguracija cimetne kiseline.

Vrlo jednostavno se može sintetizirati iz benzaldehida i anhidrida octene kiseline, aldolnom, odnosno Perkinovom kondenzacijom[28]. U toj reakciji (**Shema 3.**) sudjeluje aldehid koji nema α-vodik (benzaldehid) i anhidrid koji sadrži α-vodik. Anhidrid ocetene kiseline uz prisutnost baze (npr. kalijev acetat) prelazi u enolat-anion te nukleofilno napada karbonilnu skupinu, pri čemu eliminacijom vode nastaje dvostruka veza.



Shema 3. Sinteza cimetne kiseline.

Unatoč tomu što najveću primjenu nalaze kao jedni od glavnih sastojaka parfema i eteričnih ulja, za cimetnu kiselinu i njezine derivate nađeno je da posjeduju respektabilan opseg biološkog djelovanja. Naime, dokazano je da imaju antimalarijska[30] i antioksidativna[31] svojstva, dok poneki radovi potvrđuju njihovo antifungalno[32], anti-HIV[33] i antikancerogeno[34] djelovanje.

2.6. Kemija triazola

Triazoli su skupina heterocikličkih spojeva s peteročlanim prstenom koji u svojoj strukturi sadrže tri dušikova i dva ugljikova atoma. Svi atomi koji sačinjavaju peteročlani prsten su sp^2 hibridizirani, te je 6 elektrona delokalizirano u π molekulske orbitale. Najjednostavniji primjer triazolnog spoja je sam triazol. To je blijedožuta kristalinična tvar[35] karakteristično slabog mirisa, topljiva u vodi i alkoholu. Nalazi se u obliku dva izomera: 1,2,3- i 1,2,4-triazola koji su skloni tautomerizaciji. 1,2,3-triazol se pojavljuje u dva tautomerna (**Slika 12.**) oblika; 1*H*- i 2*H*-oblik, od kojih je u otopinama stabilniji 2*H*-oblik, dok 1,2,4-triazol postoji u 1*H*- i 4*H*-obliku, pri čemu je stabilniji 4*H*-oblik.[36] Triazolni prsten je vrlo stabilan na sobnoj temperaturi, dok pirolizom pri 500°C dolazi do gubitka dva atoma dušika te nastaje 2*H*-azirin[37]. Triazoli su slabe baze, te podliježu reakciji s elektrofilnim reagensima.

1*H*-1,2,3-triazol **2*H*-1,2,3-triazol** **1*H*-1,2,4-triazol** **4*H*-1,2,4-triazol**

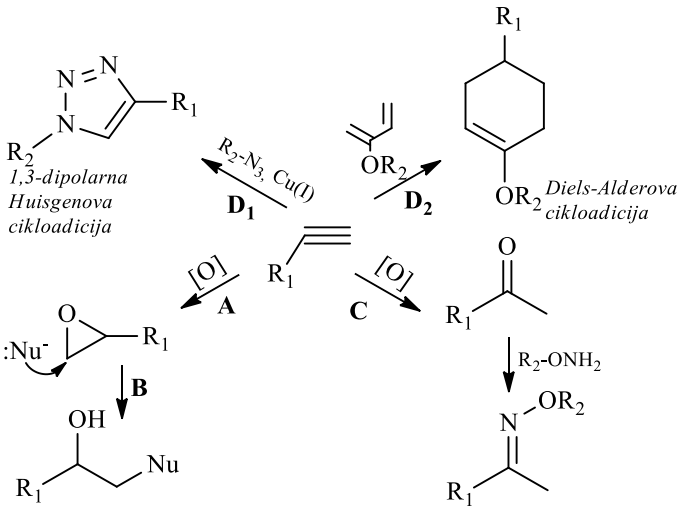
Slika 12. Tautomerizacija triazola.

1,2,3-triazolni prsten može stvarati π-π interakcije s aromatskim prstenovima, primjerice s benzenom, piridinom i sl. Dva atoma dušika N-2 i N-3 u strukturi 1*H*-1,2,3-triazola mogu stvarati vodikove veze s donorima vodikovih veza[38] ili koordinirati s metalnim ionima. Vodikove veze i dipolne interakcije s triazolom mogu pogodovati njihovom vezivanju na biološke mete i povećati njihovu topljivost. Nadalje, 1,2,3-triazoli su izuzetno otporni na kemijsku i metaboličku razgradnju, te inertni pri hidrolitičkim, oksidacijskim i redukcijskim uvjetima. Triazol i njegovi derivati pokazuju izrazitu termostabilnost[39].

Iako nisu zastupljeni u prirodi, triazoli nailaze na veliku primjenu u medicinskoj kemiji kao vrlo važni farmakofori. Naime, triazoli su bioizosteri amidne veze[40] te je dokazano da posjeduju široki spektar biološke aktivnosti[36] poput antimikrobnog, antifungalnog, protuupalnog, analgetskog, antiepileptičkog, antivirusnog, anatimalarijskog, antitumorskog, antiturbekuloznog i antioksidativnog djelovanja.

2.7. Klik kemija

Pojam klik kemije prvi je uveo K. Barry Sharpless 2001. godine, a nedvojbeno predstavlja jedan od najpopularnijih pristupa u suvremenoj organskoj sintezi[41]. Njime je objedinio velik broj kemijskih reakcija nastajanja veze ugljik-heteroatom, u kojima se brzo i pouzdano dolazi do konačnog produkta spajanjem više manjih jedinica. Da bi se neka reakcija smatrala dijelom klik kemije, moraju se zadovoljiti određeni kriteriji[42]. Neki od njih su: široka primjenjivost, stereospefičnost, jednostavni reakcijski uvjeti, uporaba pristupačnih reagenasa, neosjetljivost na vodu i kisik, te nastanak stabilnog produkta u velikom iskorištenju uz jednostavnu izolaciju.

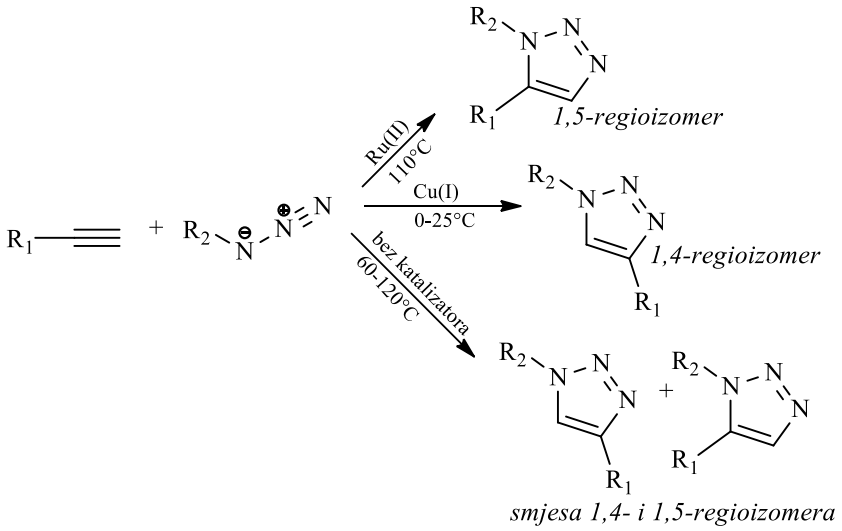


Shema 4. Klik reakcije.

Iako je vrlo teško ispuniti sve kriterije koje nalaže klik kemija, postoje nekoliko vrsta (**Shema 4.**) reakcija koje ih zadovoljavaju[41] među kojima su; adicija na nezasićenu vezu ugljik-ugljik (**A**), reakcija nukleofilnog otvaranja prstena (**B**), karbonilna kemija nealdolnog tipa (**C**) te cikloadicijske reakcije (**D1**, **D2**). Najzastupljenija od svih klik reakcija je svakako Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija azida i terminalnog alkina, pri čemu nastaje 1,2,3-triazol.

2.7.1. 1,3-dipolarna Huisgenova cikloadicija

Iako su tek u zadnjih dvadesetak godina istražena farmakološka svojstva triazola, prvi pokušaji sinteze triazola[43] datiraju još iz 1893. godine, kada je grupa njemačkih znanstvenika uspješno sintetizirala 1,2,3-triazolni prsten iz fenil-azida i acetilendikarboksilata. Međutim, pedesetih godina prošlog stoljeća, Rolf Huisgen pročuavao[44] je reakcije 1,3-dipolarne cikloadicije. Proveo je reakciju između terminalnog alkina i azida pri povišenoj temperaturi te izolirao dva produkta, 1,4 i 1,5-disupstituirani triazolni prsten u omjeru 1:1. Tako nekatalizirana sinteza 1,2,3-triazolnog prstena popraćena je visokim vrijednostima energije aktivacije, što objašnjava nereaktivnost reaktanata pri sobnoj temperaturi. Alkin i azid vrlo su selektivni u reaktivnosti, inertni su prema većini funkcionalnih skupina i stabilni u velikom broju otapala, pri različitim temperaturama i vrijednostima pH[41]. Zbog toga nekatalizirana reakcija zahtijeva visoku temperaturu što sugerira nastajanje smjese dvaju regioizomera.

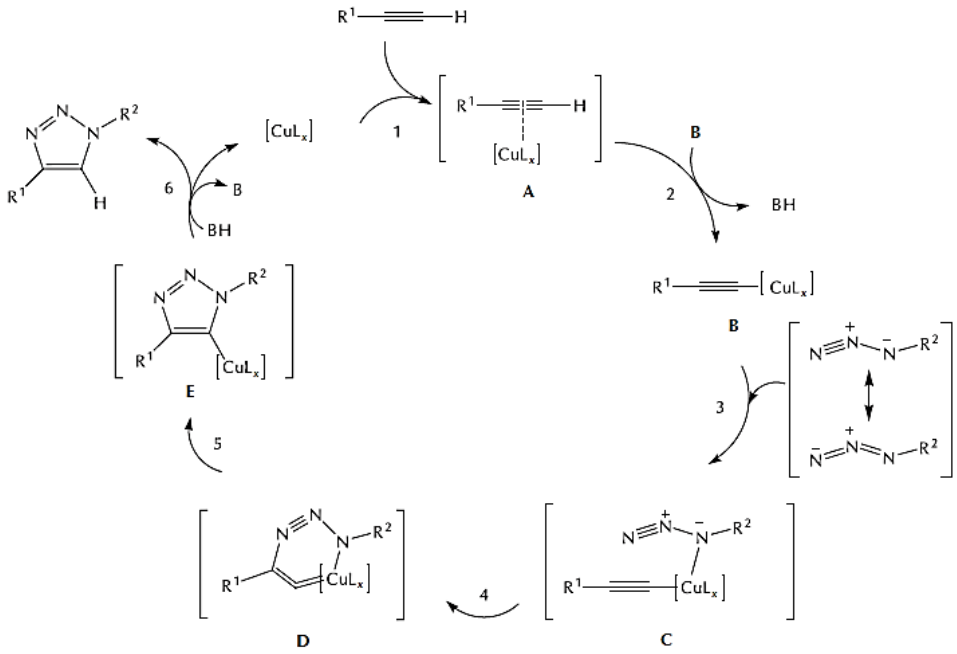


Shema 5. Regioselektivnost sinteze 1,2,3-triazolnog prstena.

K.B. Sharpless i suradnici[42] su 2001. godine uspješno proveli regioselektivnu sintezu 1,4-disupstiranog 1,2,3-triazola uz Cu(I) kao katalizator (**Shema 5.**). Energija aktivacije tako katalizirane reakcije je daleko manja u odnosu na nekataliziranu reakciju, što omogućava sintezu 1,4-regioizomera već i pri sobnoj temperaturi. Stoga je ta reakcija postala sinonim klik kemije. Kasnije je grupa znanstvenika koje je predvodio L. Kyhn Rasmussen[45], regioselektivno sintetizirali 1,5-disupstituirani 1,2,3-triazol primjenom različitih kompleksa Ru(II).

Od većeg značaja je bakrom(I) katalizirana reakcija 1,3-dipolarna Husigenova cikloadicija. Kao izvor Cu(I) iona potrebnih za reakciju koriste se Cu(I) soli, primjerice bakrov(I) jodid. Međutim, Cu(I) je termodinamički nestabilan[41] te relativno lako oksidira u Cu(II) koji je katalitički neaktivan. Zbog toga se najčešće koriste Cu(II) soli koje redukcijom prelaze u Cu(I).

U ovom je radu sinteza 1,4-disupstituirang 1,2,3-triazola provedena primjenom bakrovog(II) acetata otopljenog u metanolu gdje se reducira do bakrovog(I) acetata. Pretpostavljeni mehanizam reakcije prikazan je na **shemi 6.**



Shema 6. Mehanizam reakcije katalizirane Cu(I) 1,3-Husigenove cikloadicije.

Oznaka [CuL] predstavlja bilo koji bakrov katalizator koji može sudjelovati u reakciji. U Cu(I)-kataliziranim[41] klik-reakcijama sudjeluje isključivo terminalni alkin te u prvom koraku reakcije Cu^+ koordinira π-elektrone alkina i nastaje π-kompleks bakra i alkina (**A**). Koordinacijom Cu^+ na trostruku vezu ugljik-ugljik dolazi do nastajanja bakrovog acetilida (**B**). Kompleks bakrovog acetilida koordinira azid, pri čemu nastaje intermedijar (**C**), a njegovom pregradnjom nastaje šesteročlani prsten (**D**), u koji je uključen i bakar iz kojeg dalje nastaje triazolil (**E**). Protoniranjem triazolila **E** oslobađa se bakar i nastaje 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazol.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

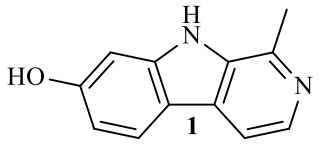
3.1. Opće napomene

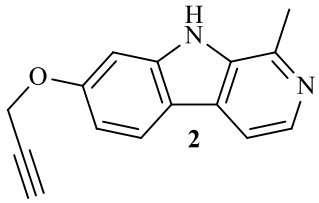
Sva otapala su sušena/pročišćivana prema preporučenom postupku sušenja agensima i/ili destiliranjem preko molekulskih sita veličine 3Å. Za tankoslojnu kromatografiju (TLC) korištene su pločice 60F-254 prevučene slojem silikagela Merck, a za detekciju izoliranih komponenata korištena je UV svjetlost valne duljine 254 nm.

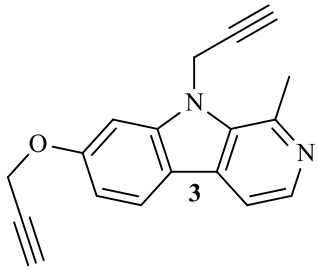
Kromatografija na koloni provedena je na silikagelu (Fluka, 0,063-0,2 mm), staklene kolone su punjene pod utjecajem gravitacije, a kao eluens korištene su odgovarajuće smjese CH_2Cl_2/CH_3OH. Točke tališta sintetiziranih spojeva su određene na instrumentu Kofler (Reichert, Wien) i nisu korigirane.

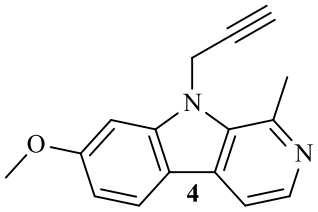
Spektri ^1H i ^{13}C NMR snimljeni su na spektrometru Bruker 300 i 600 MHz. Svi uzorci otopljeni su u DMSO-d_6 i mjereni pri 298 K. Kemijski pomaci (δ) u ^1H NMR spektrima izraženi su u ppm u odnosu prema DMSO na δ = 2,50 ppm i prema signalu DMSO na δ = 39,50 ppm za ^{13}C NMR spektre. Pojedine rezonancije su pridružene na temelju kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta signala i H-H konstanti sprege.

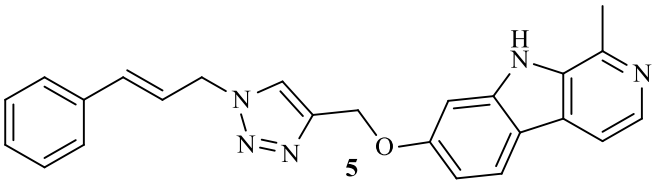
3.2. Pregled sintetiziranih spojeva

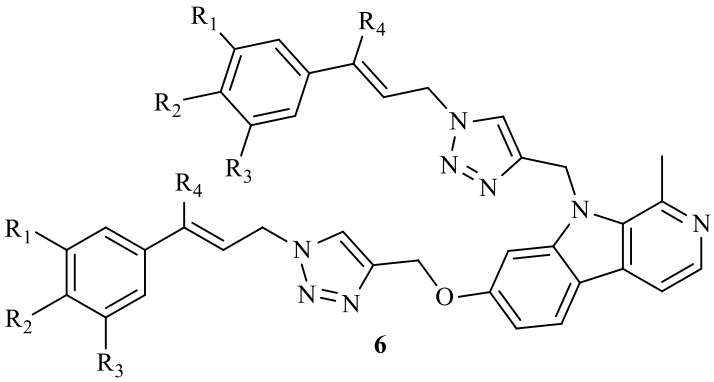




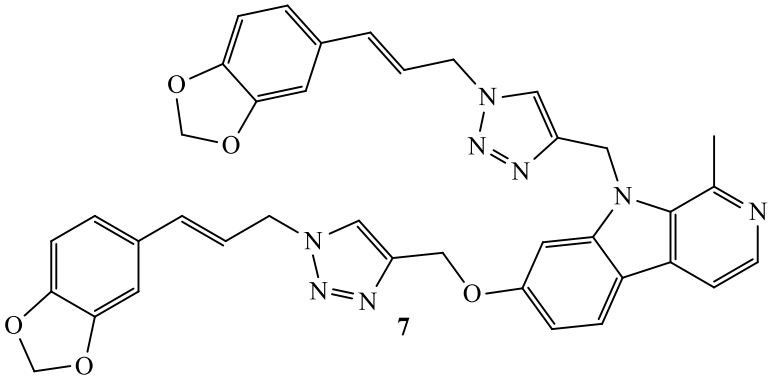




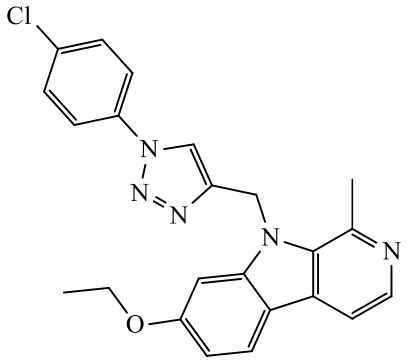




	R_1	R_2	R_3	R_4
6a	H	H	H	H
6b	H	CF_3	H	H
6c	H	H	H	CH_3
6d	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H
6e	H	OCH_3	H	H
6f	H	F	H	H
6g	F	H	H	H
6h	H	Cl	H	H



7



8

3.3. Priprema spojeva

1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-7-ol (1)

Harmin (500,0 mg; 2,35 mmol) se otopi u ledenoj octenoj kiselini (10 mL) te se otopini dodaje 47%-tna vodena otopina bromovodične kiseline (10 mL). Sve zajedno se miješa 15h na temperaturi refluksa. Reakcijska smjesa se izlije u 100 mL vode, te se neutralizira s koncentriranom vodenom otopinom natrijevog hidroksida. Dobiveni produkt se ostavi u hladnjaku da iskristalizira preko noći. Produkt se zatim filtrira kroz Büchnerov lijevak i osuši na uljnoj pumpi. Izoliran je žuti praškasti spoj **1** (428,4 mg; 91,97%; T.t. = 253-255°C).

^{1}H NMR (600 MHz, DMSO) (δ/ppm): 12,49 (1H, s, NH), 10,44 (1H, s, OH), 8,39 (1H, d, J = 6,3 Hz, H-3_{aromat}), 8,36 (1H, d, J = 6,3 Hz, H-4_{aromat}), 8,26 (1H, d, J = 8,7 Hz, H-6_{aromat}), 7,04 (1H, d, J = 1,8 Hz, H-5_{aromat}), 6,92 (1H, dd, J_1 = 8,7 Hz, J_2 = 2,0 Hz, H-8_{aromat}), 2,96 (3H, s, CH_3).

1-metil-7-(prop-2-in-1-iloksi)-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (2)

Spoj **1** (180,0 mg, 0,91 mmol) se otopi u bezvodnom DMF-u (4 mL), te se otopini dodaje cezijev karbonat (414,2 mg; 1,27 mmol) i propargil bromid (80%-tna otopina u toluenu; 0,11 mL; 0,99 mmol). Sve zajedno se miješa 2h na sobnoj temperaturi u inertnoj atmosferi uz propuhivanje argonom. Reakcijska smjesa se izlije u 50 mL vode, te se ekstrahira diklormetanom. Organski sloj se suši iznad bezvodnog magnezijevog sulfata te filtrira. Filtrat se upari pri sniženom tlaku, a nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom uz eluens diklormetan-metanol. Izoliran je smeđi praškasti spoj **2** (172,5 mg; 80,23%; T.t. = 159-161°C).

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 11,55 (1H, s, NH), 8,17 (1H, d, J = 5,3 Hz, H-3_{aromat}), 8,10 (1H, d, J = 8,7 Hz, H-4_{aromat}), 7,85 (1H, d, J = 5,3 Hz, H-6_{aromat}), 7,13 (1H, d, J = 2,1 Hz, H-5_{aromat}), 6,89 (1H, dd, J_1 = 8,7 Hz, J_2 = 2,3 Hz, H-8_{aromat}), 4,93 (2H, d, J = 2,3 Hz, CH_2), 3,64 (1H, t, J = 2,3 Hz, CH), 2,74 (3H, s, CH_3).

1-metil-9-(prop-2-in-1-iloksi)-7-(prop-2-in-1-iloksi)-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (3)

Spoj **1** (400,0 mg, 2,02 mmol) se otopi u bezvodnom DMF-u (8 mL), te se otopini dodaje cezijev karbonat (1,84 g; 5,65 mmol) i propargil bromid (80%-tna otopina u toluenu; 0,50 mL; 4,44 mmol). Sve zajedno se miješa 2h na sobnoj temperaturi u inertnoj atmosferi uz propuhivanje argonom. Reakcijska smjesa se izlije u 100 mL vode, te se ekstrahira diklormetanom. Organski sloj se suši iznad bezvodnog magnezijevog sulfata te filtrira. Filtrat se upari pri sniženom tlaku, a nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom uz eluens diklormetan-metanol. Izoliran je smeđi praškasti spoj **3** (337,4 mg; 60,88%; T.t. = 164-165°C).

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8,22 (1H, d, J = 5,2 Hz, H-3$_{aromat}$), 8,14 (1H, d, J = 8,6 Hz, H-4$_{aromat}$), 7,91 (1H, d, J = 5,2 Hz, H-6$_{aromat}$), 7,41 (1H, d, J = 2,0 Hz, H-5$_{aromat}$), 6,97 (1H, dd, J_1 = 8,6 Hz, J_2 = 2,1 Hz, H-8$_{aromat}$), 5,43 (2H, d, J = 2,2 Hz, CH_2), 4,97 (2H, d, J = 2,3 Hz, CH_2), 3,61 (1H, t, J = 2,3 Hz, CH), 3,37 (1H, t, J = 2,2 Hz, CH), 3,06 (3H, s, CH_3).

7-metoksi-1-metil-9-(prop-2-in-1-iloksi)-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (4)

Harmin (200,0 mg, 0,94 mmol) se otopi u bezvodnom DMF-u (5 mL), te se otopini dodaju natrijev hidrid (60% dispergiran u mineralnom ulju; 60,0 mg; 2,5 mmol) i propargil bromid (80%-tna otopina u toluenu; 0,3 mL; 2,82 mmol). Sve zajedno se miješa 2h na sobnoj temperaturi u inertnoj atmosferi uz propuhivanje argonom. Reakcijska smjesa se izlije u 50 mL vode, te se ekstrahra diklormetanom. Organski sloj se suši iznad bezvodnog magnezijevog sulfata te filtrira. Filtrat se upari pri sniženom tlaku, a nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom uz eluens diklormetan-metanol. Izoliran je tamno smeđi praškasti spoj **4** (211,8 mg; 90,02%; T.t. = 147-149°C).

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8,20 (1H, d, J = 5,2 Hz, H-3$_{aromat}$), 8,10 (1H, d, J = 8,6 Hz, H-4$_{aromat}$), 7,88 (1H, d, J = 5,2 Hz, H-6$_{aromat}$), 7,33 (1H, d, J = 2,1 Hz, H-5$_{aromat}$), 6,90 (1H, dd, J_1 = 8,6 Hz, J_2 = 2,1 Hz, H-8$_{aromat}$), 5,45 (2H, d, J = 2,3 Hz, CH_2), 3,91 (3H, s, OCH_3), 3,37 (1H, t, J = 2,3 Hz, CH), 3,05 (3H, s, CH_3).

Opći postupak za sintezu 1,2,3-triazolnih derivata harmina (5-8)

Odgovarajući azid (**9a-9h, 10, 11**) se otopi u metanolu, te se otopini dodaje prikladan terminalni alkini (**2-4**) i bakrov(II) acetat (0,05 eq). Reakcijska smjesa se miješa 2h na sobnoj temperaturi. Po završetku reakcije, otapalo se otpari pri sniženom tlaku, a nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom uz eluens diklormetan-metanol.

7-((1-cinamil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (5)

Prema gore navedenom postupku iz spoja **2** (50,0 mg, 0,22 mmol) i (3-azidoprop-2-en-1-il)benzena (**9a**) (33,68 mg, 0,22 mmol), $Cu(OAc)_2$ (1,99 mg, 0,011 mmol), i metanola (5 mL) izoliran je smeđi praškasti spoj **5** (19,2 mg, 37,35%, T.t. = 132-135°C).

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 11,47 (1H, s, NH), 8,30 (1H, s, H-5'$_{triazol}$), 8,15 (1H, d, *J* = 4,4 Hz, H-3$_{aromat}$), 8,06 (1H, d, *J* = 8,7 Hz, H-4$_{aromat}$), 7,80 (1H, d, *J* = 5,1 Hz, H-6$_{aromat}$), 7,48-7,37 (2H, m, H8'-H10'$_{cimetna}$), 7,35-7,23 (3H, m, H8'-H10'$_{cimetna}$), 7,18 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-5$_{aromat}$), 6,90 (1H, dd, J_1 = 8,7 Hz, J_2 = 2,2 Hz, H-8$_{aromat}$), 6,64-6,44 (2H, m, H6'-H7'$_{vinil}$), 5,29 (2H, s, CH_2), 5,21 (2H, d, *J* = 5,7 Hz, CH_2), 2,72 (3H, s, CH_3).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) (δ/ppm): 137,72 (C-3$_{aromat}$), 133,58 (C-7'$_{vinil}$), 128,61 (2C-8'$_{cimetna}$), 128,08 (C-10'$_{cimetna}$), 126,51 (2C-9'$_{cimetna}$), 124,42 (C-5$_{aromat}$) , 123,64 (C-6'$_{vinil}$) , 122,56 (C-5'$_{triazol}$), 111,89 (C-4$_{aromat}$), 109,46 (C-6$_{aromat}$), 95,93 (C-8$_{aromat}$), 61,51 (2CH_2), 51,30 (2CH_2), 20,27 (CH_3).

7-((1-cinamil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-9-((1-cinamil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (6a)

Prema gore navedenom postupku iz spoja **3** (50,0 mg, 0,18 mmol) i (3-azidoprop-2-en-1-il)benzena (**9a**) (57,3 mg, 0,37 mmol), $Cu(OAc)_2$ (1,63 mg, 0,009 mmol), i metanola (5 mL) izoliran je smeđi praškasti spoj **6a** (55,9 mg, 52,39%, T.t. = 138-139°C).

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8,32 (1H, s, H-5'$_{triazol}$), 8,19 (1H, s, H-3$_{aromat}$), 8,08 (1H, d, *J* = 3,2 Hz, H-4$_{aromat}$, 1H, s, H-5'$_{triazol}$), 7,89 (1H, d, *J* = 3,2 Hz, H-6$_{aromat}$), 7,55 (1H, d, *J* = 1,8 Hz, H-5$_{aromat}$), 7,46-7,15 (10H, m, H8'-H10'$_{cimetna}$), 6,94 (1H, dd, J_1 = 8,6, J_2 = 1,9 Hz, H-8$_{aromat}$), 6,72-6,34 (4H, m, H6'-H7'$_{vinil}$), 5,89 (2H, s, CH_2), 5,32 (2H, s, CH_2), 5,20 (2H, d, *J* = 6,0 Hz, CH_2), 5,09 (2H, d, *J* = 5,7 Hz, CH_2), 3,07 (3H, s, CH_3).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) (δ/ppm): 137,91 (C-3$_{aromat}$), 133,67-133,33 (2C-7'$_{vinil}$), 128,63 (4C-8'$_{cimetna}$), 128,11 (2C-10'$_{cimetna}$), 126,51 (4C-9'$_{cimetna}$), 124,61 (C-5$_{aromat}$), 123,69 (2C-6'$_{vinil}$), 123,01-122,43 (2C-5'$_{triazol}$), 109,85 (C-6$_{aromat}$), 95,05 (C-8$_{aromat}$), 61,43 (2CH$_2$), 51,33 (2CH$_2$).

1-metil-7-((1-3-(4-(trifluormetil)fenil)alil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi-9-((1-3-(4-(trifluormetil)fenil)alil)-1*H*-1,2,3- triazol-4-il)metil)-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (6b)

Prema gore navedenom postupku iz spoja **3** (40,0 mg, 0,15 mmol) i (3-azidoprop-2-en-1-il)-4-(trifluormetil)benzena (**9b**) (79,7 mg, 0,35 mmol), Cu(OAc)$_2$ (1,36 mg, 0,008 mmol), i metanola (5 mL) izoliran je tamno smeđi praškasti spoj **6b** (78,6 mg, 71,91%, T.t. = 98-100°C).

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8,33 (1H, s, H-5'$_{triazol}$), 8,19 (1H, s, H-3$_{aromat}$), 8,08 (1H, d, *J* = 5,5 Hz, H-4$_{aromat}$, 1H, s, H-5'$_{triazol}$), 7,88 (1H, d, *J* = 2,9 Hz, H-6$_{aromat}$), 7,67-7,50 (8H, m, H8'-H9'$_{cimetna}$), 7,34 (1H, dd, J_1 = 20,2 Hz, J_2 = 7,3 Hz, H-7'$_{vinil}$), 7,37 (1H, dd, J_1 = 19,4, J_2 = 8,2 Hz, H-5$_{aromat}$), 6,92 (1H, dd, J_1 = 8,6, J_2 = 1,9 Hz, H-8$_{aromat}$), 6,70-6,52 (3H, m, H-6'$_{vinil}$), 5,89 (2H, s, CH$_2$), 5,33 (2H, s, CH$_2$) 5,23 (2H, d, *J* = 4,5 Hz, CH$_2$), 5,12 (2H, d, *J* = 4,4 Hz, CH$_2$), 3,06 (3H, s, CH$_3$).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) (δ/ppm): 138,26 (C-3$_{aromat}$), 132,40 (2C-7'$_{vinil}$), 129,90-129,09 (4C-8'$_{cimetna}$, 4C-9'$_{cimetna}$), 125,94 (2C-6'$_{vinil}$), 125,31 (C-5$_{aromat}$), 123,74 (C-5'$_{triazol}$), 123,01 (C-5'$_{triazol}$), 110,54 (C-6$_{aromat}$), 95,60 (C-8$_{aromat}$), 61,90 (2CH$_2$), 51,64 (2CH$_2$), 23,59 (CH$_3$).

1-metil-7-((1-(3-fenillbut-2-en-1-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-9-((1-(3-fenillbut-2-en-1-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (6c)

Prema gore navedenom postupku iz spoja **3** (40,0 mg, 0,15 mmol) i (4-azidobut-2-en-2-il)benzena (**9c**) (60,8 mg, 0,35 mmol), Cu(OAc)$_2$ (1,36 mg, 0,008 mmol), i metanola (5 mL) izoliran je tamno smeđi praškasti spoj **6c** (71,4 mg, 76,69%, T.t. = 87-88°C).

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8,32 (1H, s, H5'$_{triazol}$)**,** 8,19 (1H, d, *J* = 5,2 Hz, H3$_{aromat}$), 8,10 (1H, d, *J* = 4,3 Hz, H4$_{aromat}$, 1H, s, H5'$_{triazol}$), 7,89 (1H, d, *J* = 5,2 Hz, H6$_{aromat}$), 7,58 (1H, d, *J* = 1,8 Hz, H5$_{aromat}$), 7,42-7,12 (10H, m, H8'-H10'$_{cimetna}$), 6,95 (1H, dd, J_1 = 8,6, J_2 = 1,9 Hz, H8$_{aromat}$), 6,47 (1H, s, H6'$_{vinil}$), 6,31 (1H, s, H6'$_{vinil}$), 5,91 (2H, s, CH$_2$), 5,33 (2H,

s, CH_2), 5,13 (2H, s, CH_2), 5,02 (2H, s, CH_2), 3,07 (3H, s, CH_3), 1,75 (3H, s, CH_3), 1,68 (3H, s, CH_3).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) (δ/ppm): 137,98 (C-3_{aromat}), 128,66-128,23 (4C-$8'_{cimetna}$, 4C-$9'_{cimetna}$, 2C-$10'_{cimetna}$), 126,93 (2C-$6'_{vinil}$), 124,93 (C-5_{aromat}), 123,48 (C-$5'_{triazol}$), 122,59 (C-$5'_{triazol}$), 112,17 (C-4_{aromat}), 110,01 (C-6_{aromat}), 95,22 (C-8_{aromat}), 61,55 (2CH_2), 57,7 (2CH_2), 23,03 (CH_3), 15,65 (2CH_3).

1-metil-7-((1-(-3-(3,4,5-trimetoksifenil)alil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-9-((1-(-3-(3,4,5-trimetoksifenil)alil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (6d)

Prema gore navedenom postupku iz spoja **3** (40,0 mg, 0,15 mmol) i (3-azidoprop-1-en-1-il)-1,2,3-trimetoksibenzena (**9d**) (89,4 mg, 0,35 mmol), $Cu(OAc)_2$ (1,36 mg, 0,008 mmol), i metanola (5 mL) izoliran je svjetlo smeđi kristaliničan spoj **6d** (74,0 mg, 63,85%, T.t. = 103-104°C).

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8,31 (1H, s, H-$5'_{triazol}$), 8,18 (1H, d, J = 5,2 Hz, H-3_{aromat}), 8,14-8,04 (2H, m, H-4_{aromat}, H-$5'_{triazol}$), 7,88 (1H, d, J = 5,1 Hz, H-6_{aromat}), 7,55 (1H, d, J = 1,2 Hz, H-5_{aromat}), 6,94 (1H, dd, J_1 = 8,5 Hz, J_2 = 2,0 Hz, H-8_{aromat}), 6,77 (2H, s, H-$7'_{cimetna}$), 6,69 (2H, s, H-$7'_{cimetna}$), 6,46-6,38 (4H, m, H-$6'_{vinil}$) 5,90 (2H, s, CH_2), 5,32 (2H, s, CH_2), 5,19 (2H, d, J = 5,8 Hz, CH_2), 5,08 (2H, d, J = 4,5 Hz, CH_2), 3,74 (18H, s, $OCH3_3$), 3,07 (3H, s, CH_3).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) (δ/ppm): 138,52 (C-3_{aromat}), 134,34-133,93 (2C-$7'_{vinil}$), 125,06 (C-5_{aromat}), 123,63-123,50 (2C-$5'_{triazol}$), 122,96 (2C-$6'_{vinil}$) , 122,96 (C-5_{aromat}), 112,79 (C-4_{aromat}), 110,35 (C-6_{aromat}), 104,34 (4C-$8'_{cimetna}$), 95,49 (C-8_{aromat}), 61,93 (2CH_2), 60,50-56,15 (6OCH_3), 51,33 (2CH_2), 23,70 (CH_3).

7-((1-(-3-(4-metoksifenil)alil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-9-((1-(-3-(4-metoksifenil)alil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (6e)

Prema gore navedenom postupku iz spoja **3** (40,0 mg, 0,15 mmol) i (3-azidoprop-1-en-1-il)-4-metoksibenzena (**9e**) (66,2 mg, 0,35 mmol), $Cu(OAc)_2$ (1,36 mg, 0,008 mmol), i metanola (5 mL) izoliran je svjetlo smeđi praškasti spoj **6e** (55,25 mg, 56,44%, T.t. = 114-117°C).

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8,31 (1H, s, H-5'$_{triazol}$), 8,19 (1H, d, *J* = 5,2 Hz, H-3$_{aromat}$), 8,10 (1H, d, *J* = 10,1 Hz, H-4$_{aromat}$, 1H, s, H-5'$_{triazol}$), 7,89 (1H, d, *J* = 5,2 Hz, H-6$_{aromat}$), 7,56 (1H, d, *J* = 1,8 Hz, H-5$_{aromat}$), 7,42-7,24 (4H, m, H-9'$_{cimetna}$), 6,94 (1H, dd, J_1 = 8,6, J_2 = 1,9 Hz, H-8$_{aromat}$), 6,90-6,79 (4H, m,H-8'$_{cimetna}$), 6,62-6,43 (2H, m, H-6'$_{vinil}$), 6,40-6,21 (2H, m, H-7'$_{vinil}$), 5,89 (2H, s, CH_2), 5,33 (2H, s, CH_2), 5,16 (2H, d, *J* = 6,3 Hz, CH_2), 5,05 (2H, d, *J* = 6,3 Hz, CH_2), 3,75 (6H, d, *J* = 4,0 Hz, OCH_3), 3,08 (3H, s, CH_3).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) (δ/ppm): 137,64 (C-3$_{aromat}$), 133,40-133,15 (2C-7'$_{vinil}$), 127,79 (2C-H8'$_{cimetna}$), 124,50 (C-5$_{aromat}$), 122,88-122,45 (2C-5'$_{triazol}$), 121,06 (2C-6'$_{vinil}$), 114,03 (4C-9'$_{cimetna}$), 112,35 (C-4$_{aromat}$) 109,98 (C-6$_{aromat}$), 95,27(C-8$_{aromat}$), 61,48 (2CH_2), 55,08 (4OCH_3), 51,47 (2CH_2), 23,02 (CH_3).

7-((1-(-3-(4-fluorfenil)alil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-9-((1-3-(4-fluorfenil)alil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (6f)

Prema gore navedenom postupku iz spoja **3** (66,85 mg, 0,24 mmol) i (3-azidoprop-2-en-2-il)-4-fluorbenzena (**9f**) (95,0 mg, 0,53 mmol), $Cu(OAc)_2$ (2,17 mg, 0,012 mmol), i metanola (5 mL) izoliran je bijeli praškasti spoj **6f** (55,9 mg, 36,55%, T.t. = 209-210°C).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8,34 (1H, s, H-5'$_{triazol}$), 8,19 (1H, d, *J* = 5.2 Hz, H-3$_{aromat}$), 8,11 (2H, m, H4$_{aromat}$, H-5'$_{triazol}$), 7,91 (1H, d, *J* = 5,2 Hz, H-6$_{aromat}$), 7,56 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-5$_{aromat}$), 7,49-7,31 (8H, m, H8'-H9'$_{cimetna}$), 6,95 (1H, dd, J_1 = 8,6, J_2 = 2,1 Hz, H-8$_{aromat}$), 6,66-6,42 (4H, m, *J* = 36,5, 11,3 Hz, H6'-H7'$_{vinil}$), 5,90 (2H, s, CH_2), 5,34 (2H, s, CH_2), 5,21 (2H, d, *J* = 5,4 Hz, CH_2), 5,10 (2H, d, *J* = 5,0 Hz, CH_2), 3,09 (3H, s, CH_3).

^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) (δ/ppm): 135,12 (C-3$_{aromat}$), 132,94 (C-7'$_{vinil}$), 129,12 (C-8'$_{cimetna}$), 125,33 (C-5$_{aromat}$), 124,83 (C-6'$_{vinil}$), 122,56 (C-5'$_{triazol}$), 115,15 (C-9'$_{cimetna}$), 112,34 (C-4$_{aromat}$), 109,37 (C-6$_{aromat}$), 94,74 (C-8$_{aromat}$), 62,05 (2CH_2), 51,13 (2CH_2), 22,45 (CH_3).

7-((1-(-3-(3-fluorfenil)alil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-9-((1-3-(3-fluorfenil)alil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (6g)

Prema gore navedenom postupku iz spoja **3** (59,1 mg, 0,21 mmol) i (3-azidoprop-2-en-2-il)-4-fluorbenzena (**9g**) (84,0 mg, 0,46 mmol), $Cu(OAc)_2$ (1,90 mg, 0,011 mmol), i metanola (5 mL) izoliran je žuti praškasti spoj **6g** (51,0 mg, 37,64%, T.t. = 162-164°C).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8.34 (1H, s, H-5'$_{triazol}$), 8,19 (1H, d, *J* = 5,2 Hz, H-3$_{aromat}$), 8,13-8,08 (2H, m, H4$_{aromat}$, H-5'$_{triazol}$), 7,90 (1H, d, *J* = 5,2 Hz, H-6$_{aromat}$), 7,57 (1H, d, *J* = 1,9 Hz, H-5$_{aromat}$), 7,42-7,03 (8H, m, H8'-H9'$_{cimetna}$), 6,95 (1H, dd, J_1 = 8,6, J_2 = 2,1 Hz, H-8$_{aromat}$), 6,69-6,46 (4H, m, H6'-H7'$_{vinil}$), 5,91 (2H, s, CH_2), 5,33 (2H, s, CH_2), 5,22 (2H, d, *J* = 4,5 Hz, CH_2), 5,11 (2H, d, *J* = 4,6 Hz, CH_2), 3,08 (3H, s, CH_3).

^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) (δ/ppm): 138,80 (C-3$_{aromat}$), 133,04 (2C-7'$_{vinil}$), 129,00 (4C-8'$_{cimetna}$), 125,17 (C-5$_{aromat}$), 124,40 (2C-6'$_{vinil}$), 123,15 (2C-5'$_{triazol}$), 115,18 (4C-9'$_{cimetna}$), 112,46 (C-4$_{aromat}$), 110,39 (C-6$_{aromat}$), 95,30 (C-8$_{aromat}$), 62,12 (2CH_2), 51,64 (2CH_2), 21,19 (2CH_3).

7-((1-(-3-(4-klorfenil)alil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-9-((1-3-(4-klorfenil)alil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (6h)

Prema gore navedenom postupku iz spoja **3** (50,0 mg, 0,18 mmol) i (3-azidoprop-1-en-1-il)-4-klorbenzena (**9g**) (78,0 mg, 0,40 mmol), $Cu(OAc)_2$ (1,63 mg, 0,009 mmol), i metanola (5 mL) izoliran je blijedo žuti praškasti spoj **6g** (44,3 mg, 36,57%, T.t. = 188-191°C).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8,32 (1H, s, H-5'$_{triazol}$), 8,19 (1H, d, *J* = 4,3 Hz, H-3$_{aromat}$), 8,12-8,06 (2H, m, H4$_{aromat}$, H-5'$_{triazol}$), 7,89 (1H, d, *J* = 5,1 Hz, H-6$_{aromat}$), 7,55 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-5$_{aromat}$), 7,51-7,40 (4H, m, H-8'$_{cimetna}$), 7,17-7,08 (4H, m, H-9'$_{cimetna}$), 6,94 (1H, dd, J_1 = 8,6, J_2 = 2,1 Hz, H-8$_{aromat}$), 6,67-6,33 (4H, m, H6'-H7'$_{vinil}$), 5,89 (2H, s, CH_2), 5,32 (2H, s, CH_2), 5,19 (2H, d, *J* = 6,1 Hz, CH_2), 5,08 (2H, d, *J* = 6,1 Hz, CH_2), 3,07 (3H, s, CH_3).

^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) (δ/ppm): 138,43 (C-3$_{aromat}$), 133,02 (2C-7'$_{vinil}$), 129,06-128,91 (4C-8'$_{cimetna}$), 125,13 (C-5$_{aromat}$), 124,08 (2C-6'$_{vinil}$), 123,51-122,98 (2C-5'$_{triazol}$), 116,10-115,89 (4C-9'$_{cimetna}$), 112,83 (C-4$_{aromat}$), 110,42 (C-6$_{aromat}$), 95,58 (C-8$_{aromat}$), 61,94 (2CH_2), 51,81 (2CH_2), 23,68 (CH_3).

7-((1-(-3-(benzo[*d*][1,3]dioksol-5-il)alil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-9-((1-(-3-(benzo[*d*][1,3]dioksol-5-il)alil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (7)

Prema gore navedenom postupku iz spoja **3** (40,0 mg, 0,15 mmol) i (3-azidoprop-1-en-1-il)-4-klorbenzena (**10**) (71,2 mg, 0,35 mmol), $Cu(OAc)_2$ (1,36 mg, 0,008 mmol), i metanola (5 mL) izoliran je svjetlo smeđi praškasti spoj **7** (97,5 mg; 95,48%; T.t. = 126-127°C).

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8,30 (1H, s, H-5'$_{triazol}$), 8,18 (1H, d, *J* = 5,1 Hz, H-3$_{aromat}$), 8,07 (1H, d, *J* = 6,8 Hz, H-4$_{aromat}$, 1H, s, H-5'$_{triazol}$), 7,88 (1H, d, *J* = 5,2 Hz, H-6$_{aromat}$), 7,55 (1H, d, *J* = 1,8 Hz, H-5$_{aromat}$), 7,14 (1H, s, H-9'$_{cimetna}$), 7,06 (1H, s, H-9'$_{cimetna}$), 6,93 (1H, dd, J_1 = 8,6, J_2 = 2,0 Hz, H-8$_{aromat}$), 6,81-6,70 (4H, m, H-8'$_{cimetna}$), 6,61-6,31 (4H, m, H6'-H7'$_{vinil}$), 6,00 (4H, d, *J* = 6,2 Hz, OCH_2), 5,89 (2H, s, CH_2), 5,32 (2H, s, CH_2), 5,15 (2H, d, *J* = 6,4 Hz, CH_2), 5,04 (2H, d, *J* = 6,1 Hz, CH_2), 3,07 (3H, s, CH_3).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) (δ/ppm): 138,43 (C-3$_{aromat}$), 134,08-133,76 (2C-7'$_{vinil}$), 132,35-132,15 (2C-9'$_{cimetna}$), 124,55 (C-5$_{aromat}$), 123,40 (2C-6'$_{vinil}$), 122,98 (2C-5'$_{triazol}$), 112,81 (C-4$_{aromat}$), 109,45 (C-6$_{aromat}$), 108,86-108,71 (4C-8'$_{cimetna}$) 106,24-106,00 (2OCH_2), 95,64 (C-8$_{aromatl}$), 61,88 (2CH_2), 51,89 (2CH_2), 23,60 (CH_3).

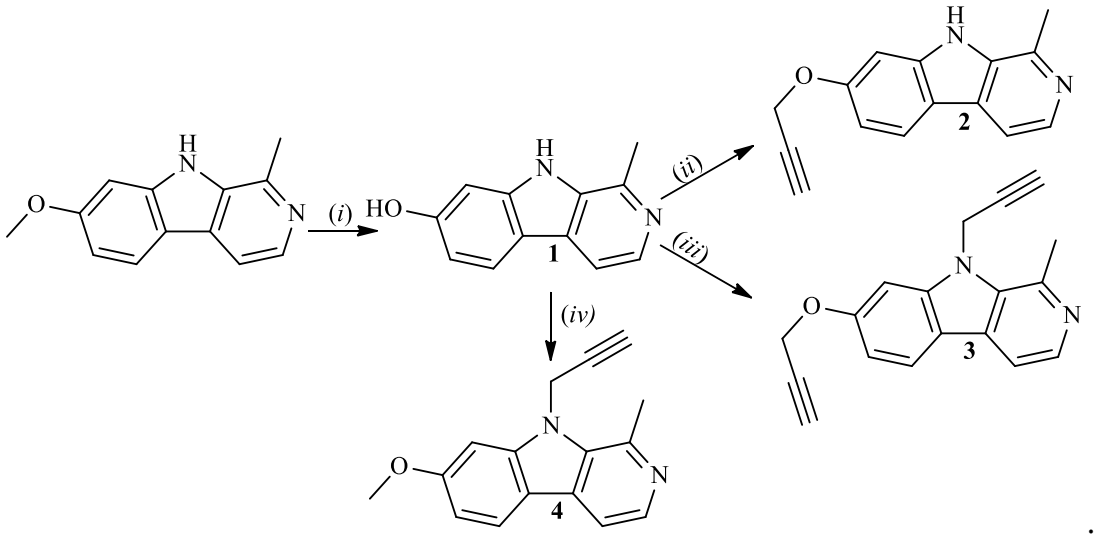
9-((1-(4-klorfenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-7-etoksi-1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol (8)

Spoj **4** (90,0 mg, 0,36 mmol) se otopi u metanolu (5mL), te se otopini dodaje $Cu(OAc)_2$ (3,26 mg, 0,018 mmol) i *p*-azidoklorbenzen (**11**) (0,9 mL, 0,43 mmol). Sve zajedno se miješa preko noći na sobnoj temperaturi. Reakcija pri tim uvjetima nije bila uspješna.

4. REZULTATI I RASPRAVA

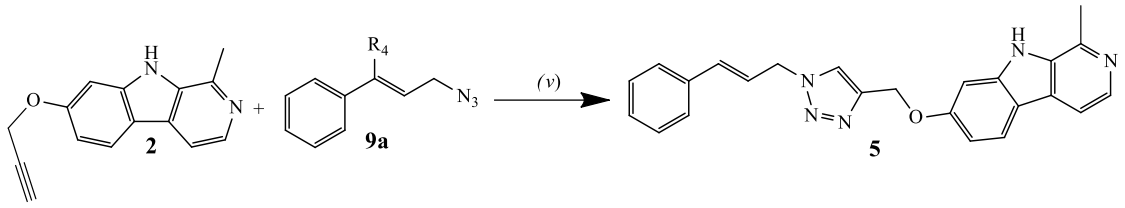
4.1. Sinteza spojeva

U ovom radu pripravljeni su potencijalni biološki aktivni 1,2,3-triazolni hibridi harmina i cimetne kiseline (**5-14**). Prvotno je provedeno uklanjanje metoksi skupine harmina uz HBr pri čemu je sintetiziran hidroksilni derivat harmina, harmol (**1**). U toj reakciji bromovodična kiselina protonira metoksi kisik, čime ono postaje bolja izlazeća skupina. Zatim, bromidni ion u S_N2 reakciji nukleofilno napada metoksi ugljik što rezultira stvaranjem hidroksilne skupine u položaju 7, te metil bromida kao nusprodukt. Harminski derivati s propargilnim supstituentima u položaju 7 (**2**) ili 7 i 9 (**3**) *β*-karbolinskog prstena, priređeni su reakcijom nukleofilne aromatske supstitucije harmola (**1**) s propargil bromidom. U reakciji učestvuje cezijev karbonat koji služi za deprotoniranje hidroksilne skupine u položaju 7. Veće količine cezijevog karbonata (**Shema 7.**) iniciraju deprotoniranje i amino skupine u položaju 9, što ima za posljedicu nastajanje bis-propargiliranog derivata harmina, odnosno omogućuje uvođenje propargilne skupine u položajima 7 i 9. Propargiliranje u položaju 9 (**4**) ostvareno je uz prisustvo natrijevog hidrida.



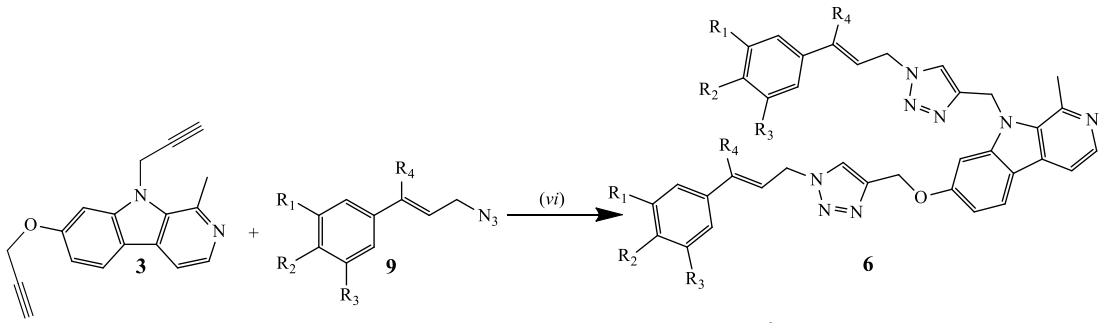
Shema 7. Reagensi i uvjeti: (*i*) HAc, HBr, refluks, 15h; (*ii*) Cs_2CO_3 (1,2 eq), C_3H_3Br (1,1 eq), DMF, Ar, r.t., 2h; (*iii*) Cs_2CO_3 (2,4 eq), C_3H_3Br (2,2 eq), DMF, Ar, r.t., 2h; (*iv*) NaH, C_3H_3Br, DMF, Ar, r.t., 2h

Triazolni hibridi harmina (**5-8**) sintetizirani su reakcijom iz odgovarajućih propargilnih derivata harmina (**2-4**) i azida cimetne kiseline prema mehanizmu 1,3-dipolarne Huisgenove cikloadicije (**9-10**). Bakrov(II) acetat u metanolu služi kao katalizator. Reakcijom metanola i Cu(II) iona dolazi do redukcije u Cu(I) ione koji pritom služi kao poveznica između terminalnog alkina i azida prema već prethodno opisanom mehanizmu reakcije. Reakcije su provedene pri sobnoj temperaturi, te je prosječno trajanje reakcije bilo 2h.



Shema 8. Reagensi i uvjeti: (*v*) $Cu(OAc)_2$, azid cimetne kiseline (1,1 eq), MeOH, r.t., 2h;

Klik reakcijom između 7-propargiliranog (**Shema 8.)** harmina (**2**) i odgovarajućeg azida cimetne kiseline (**9a**) dobiven je monotriazolni hibrid harmina (**5**) i cimetne kiseline. Iskorištenje reakcije je nešto slabije u odnosu na neke bis-triazolne derivate dobivenih iz spoja **3**, te iznosi svega 37,35%.

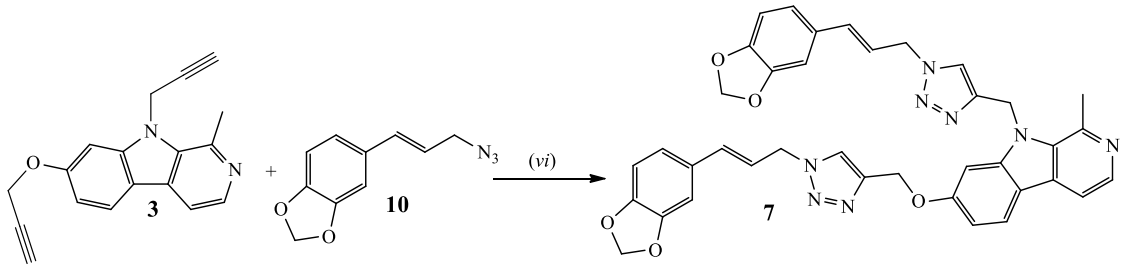


9a $R_1=R_2=R_3=R_4=H$
9b $R_2=CF_3$, $R_1=R_3=R_4=H$
9c $R_4=CH_3$, $R_1=R_2=R_3=H$
9d $R_1=R_2=R_3=OCH_3$, $R_4=H$
9e $R_2=OCH_3$, $R_1=R_3=R_4=H$
9f $R_2=F$, $R_1=R_3=R_4=H$
9g $R_1=F$, $R_2=R_3=R_4=H$
9h $R_2=Cl$, $R_1=R_3=R_4=H$

6a $R_1=R_2=R_3=R_4=H$
6b $R_2=CF_3$, $R_1=R_3=R_4=H$
6c $R_4=CH_3$, $R_1=R_2=R_3=H$
6d $R_1=R_2=R_3=OCH_3$, $R_4=H$
6e $R_2=OCH_3$, $R_1=R_3=R_4=H$
6f $R_2=F$, $R_1=R_3=R_4=H$
6g $R_1=F$, $R_2=R_3=R_4=H$
6h $R_2=Cl$, $R_1=R_3=R_4=H$

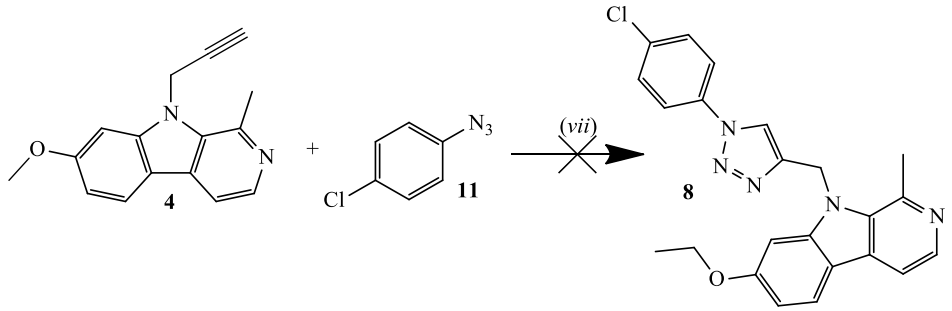
Shema 9. Reagensi i uvjeti; (*vi*) $Cu(OAc)_2$, azid cimetne kiseline (2,2 eq), MeOH, r.t., 2

Bis-triazolni hibridi harmina (**6a-6h**) su priređeni iz 7,9-dipropargiliranog harmina (**3**) i odgovarajućih azida (**Shema 9.**) cimetne kiseline i njezinih derivata (**9a-9h**). Reakcijski uvjeti su istovjetni sintezi monotriazolnog hibrida (**5**) uz jedinu razliku u količini potrebnih ekvivalenata azida cimetne kiseline i njezinih derivata.



Shema 10. Reagensi i uvjeti: (*vi*) $Cu(OAc)_2$, azid cimetne kiseline (2,2 eq), MeOH, r.t., 2h

Prosječna iskorištenja za reakcije 1,3-dipolarne cikloadicije u sintezi spojeva **6b**-**6d** su 70%, odnosno 95% za spoj **7** (**Shema 10.**). Iskorištenja reakcije za spojeve **6a**, **6e**, **6f**, **6g**, **6h** iznose kako slijedi: 52,39%, 56,44%, 36,55%, 37,64%, 36,57%. Možemo zaključiti da sinteze spojeva **6b**-**6d** i **7** odgovaraju konceptu klik kemije jer u potpunosti zadovoljavaju sve kriterije, a to su: vrlo brza sinteza, visoko iskorištenje i jednostavna izolacija.



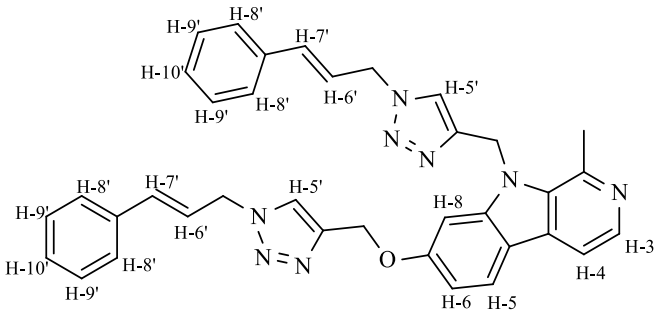
Shema 11. Reagensi i uvjeti: (*vii*) $Cu(OAc)_2$, *p*-azidoklorbenzen (2,2 eq), MeOH, r.t., 2h

Reakcijom 1,3-dipolarne Huisgenove cikloadicije između *N*-propargiliranog derivata harmina (**4**) i *p*-azidoklorbenzena (**11**) uz Cu(II) otopljenog u metanolu (**Shema 11.)** nastojao se sintetizirati spoj **8**. Međutim, reakcija pri tim uvjetima nije bila uspješna, te željeni spoj nije izoliran.

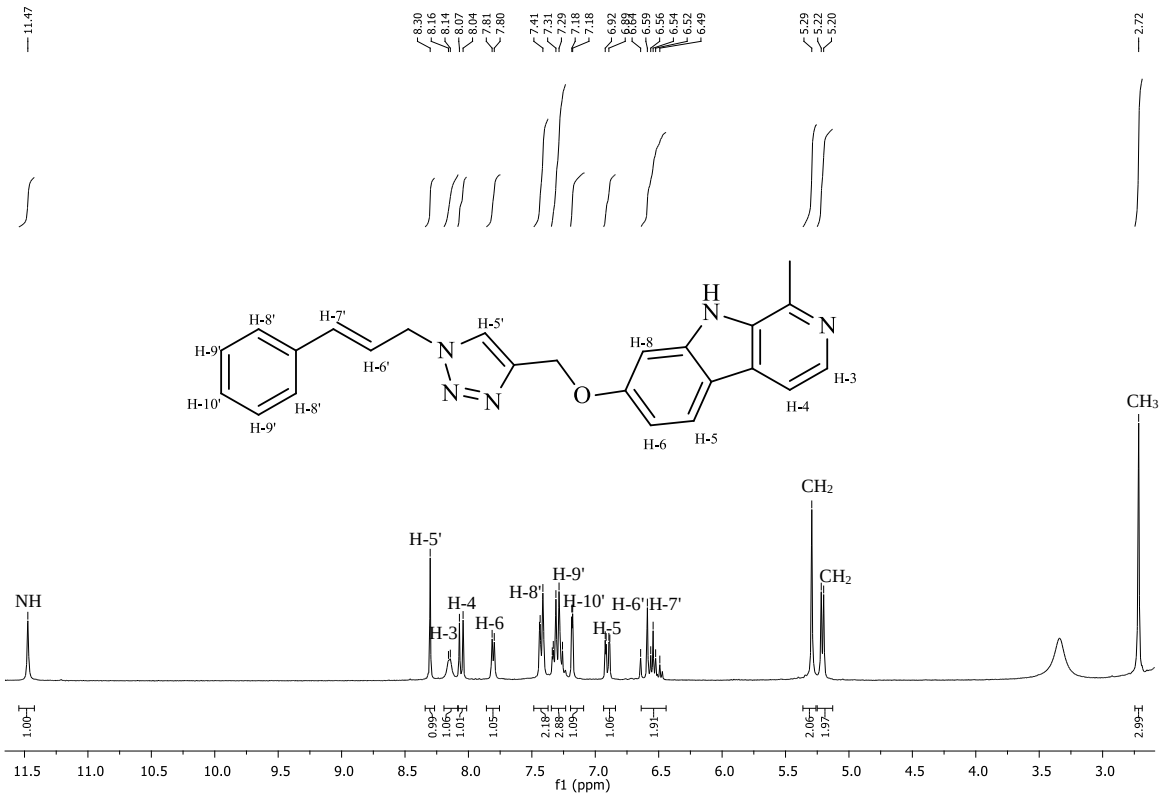
4.2. Strukturna karakterizacija sintetiziranih spojeva

Strukture sintetiziranih spojeva određene su uz pomoć spektroskopskih metoda ^{1}H i ^{13}C NMR na temelju kemijskih pomaka, veličine i multipliciteta rezonancije. Osnovna karakteristika ^{1}H NMR spektara spojeva **5, 6a-6h** i **7** jest da sadrže karakteristične signale za protone *β*-karbolinskog prstena H-3, H-4, H-5, H-6 i H-8, signale H-6' i H-7' koji odgovaraju vinilnim protonima, te signale metilenske premosnice (~5,10 ppm). Prisutnost triazolnog prstena potvrđena je karakterističnim signalom za proton H5' (~8,20 ppm). Odgovarajući protoni cimetne kiseline prisutni su u aromatskom području spektra, H-8', H-9' i H-10' (~7,40 ppm), a pomaknuti su prema višim ili nižim poljima ovisno o položaju supstituenta na benzenskom prstenu.

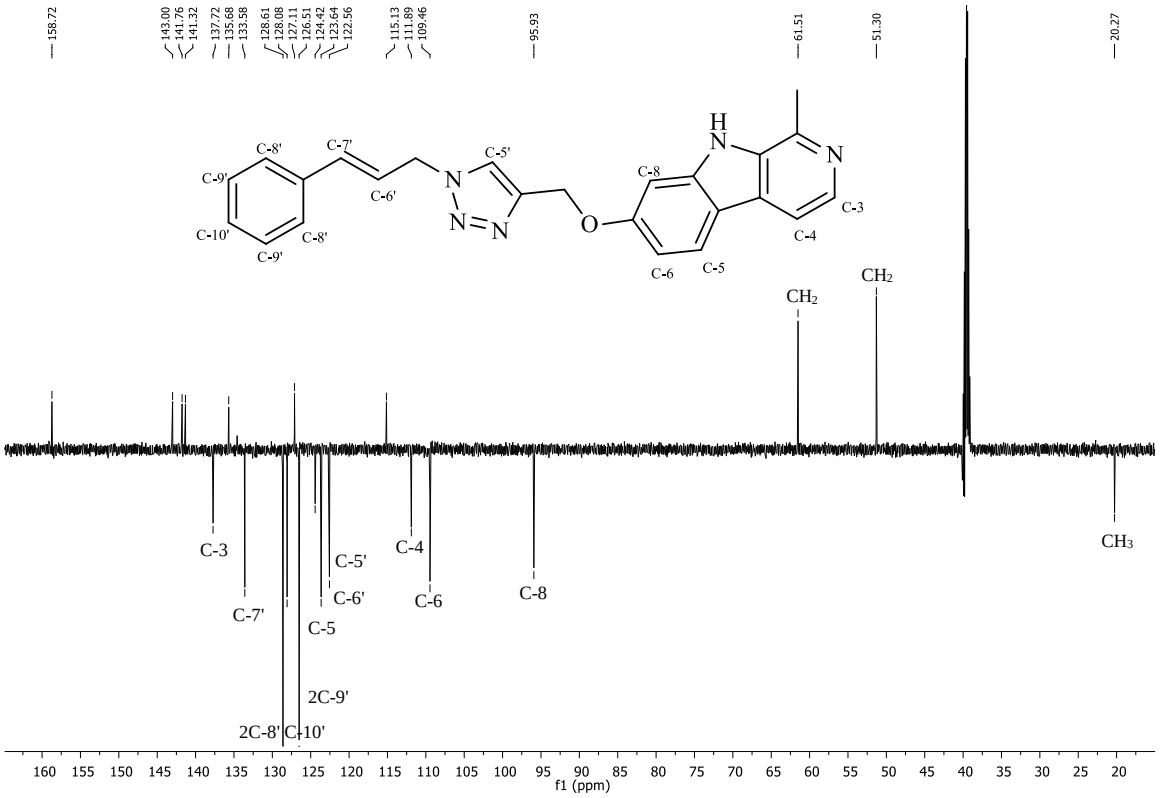
Primjer asignacije 1,2,3-triazolnih derivata harmina:



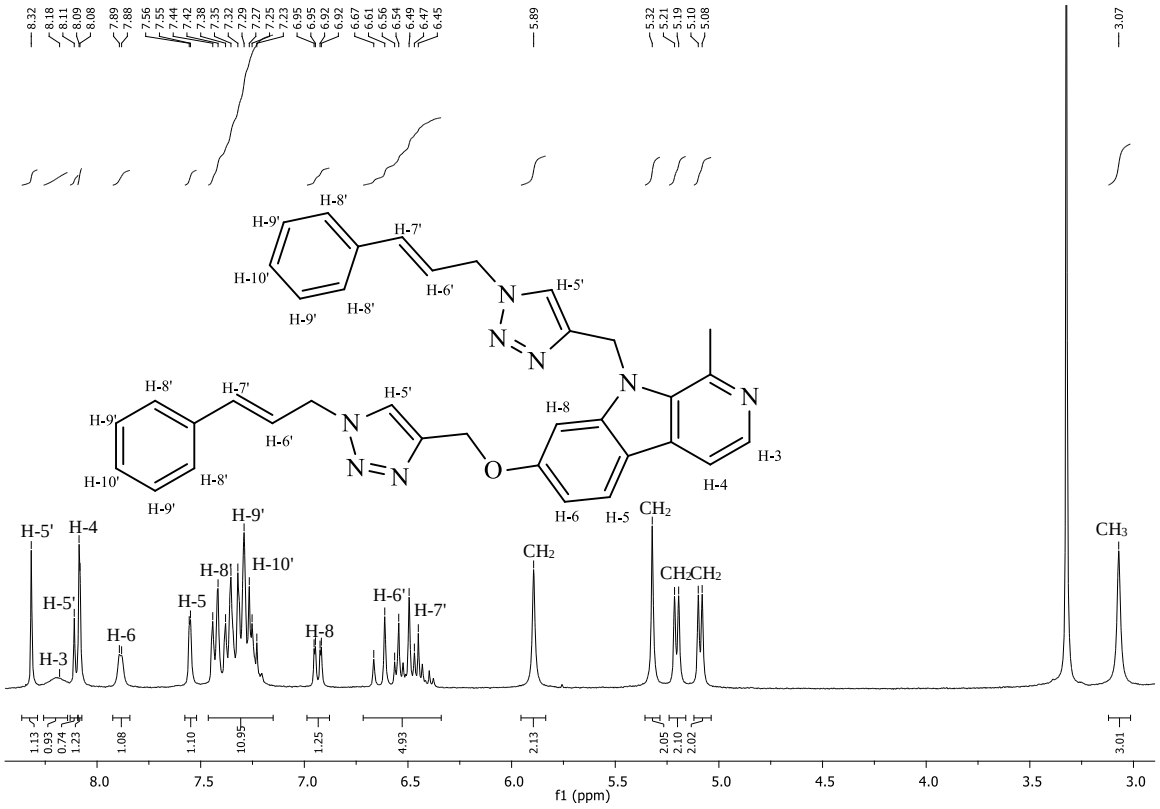
U nastavku (**Slika 13.-18.**) su priloženi ^{1}H i ^{13}C NMR spektri spojeva **5**, **6a** i **7**. Usporedbom navedenih spektara uočavaju se karakteristični pomaci *β*-karbolinskog prstena koji se u sva tri slučaja javljaju u područjima istih kemijskih pomaka. Tako je prisutnost harminskog djela molekule potvrđeno signalima H-3, H-4, H-6, H-5 i H-8 koji se nalaze na sljedećim kemijskim pomacima, δ_H/ppm: 8,15, 8,05, 7,80, 7,18 i 6,90. Nadalje, spektri spojeva **5** i **6a** su gotovo istovjetni, no uočavaju se i neke bitne razlike. Najuočljivija razlika se vidi kod ^{1}H NMR spektara **6a** i **7** gdje nije prisutan NH (11,47 ppm) signal koji se nalazi u spoju **5**. To ukazuje da je kod spoja **5** dobiven monotriazolni hibrid harmina i cimetne kiseline, dok su u spojevima **6a** i **7** potvrđene njihove bis-triazolne strukture. Dobivenu bis-triazolnu strukturu kod spojeva **6a** i **7** neosporno dokazuje prisutnost dvaju signala triazolnog prstena H5'. Jedan od signala H-5' pada u istom polju kao i signal H-4. Prisutnost 1,3-benzdioksolnog prstena u spoju **7** u usporedbi sa spektrima spoja **6a**, snažno pomiče signale H-8' i H-9', odnosno C-8' i C-9' prema višim poljima u ^{1}H i ^{13}C NMR spektrima.



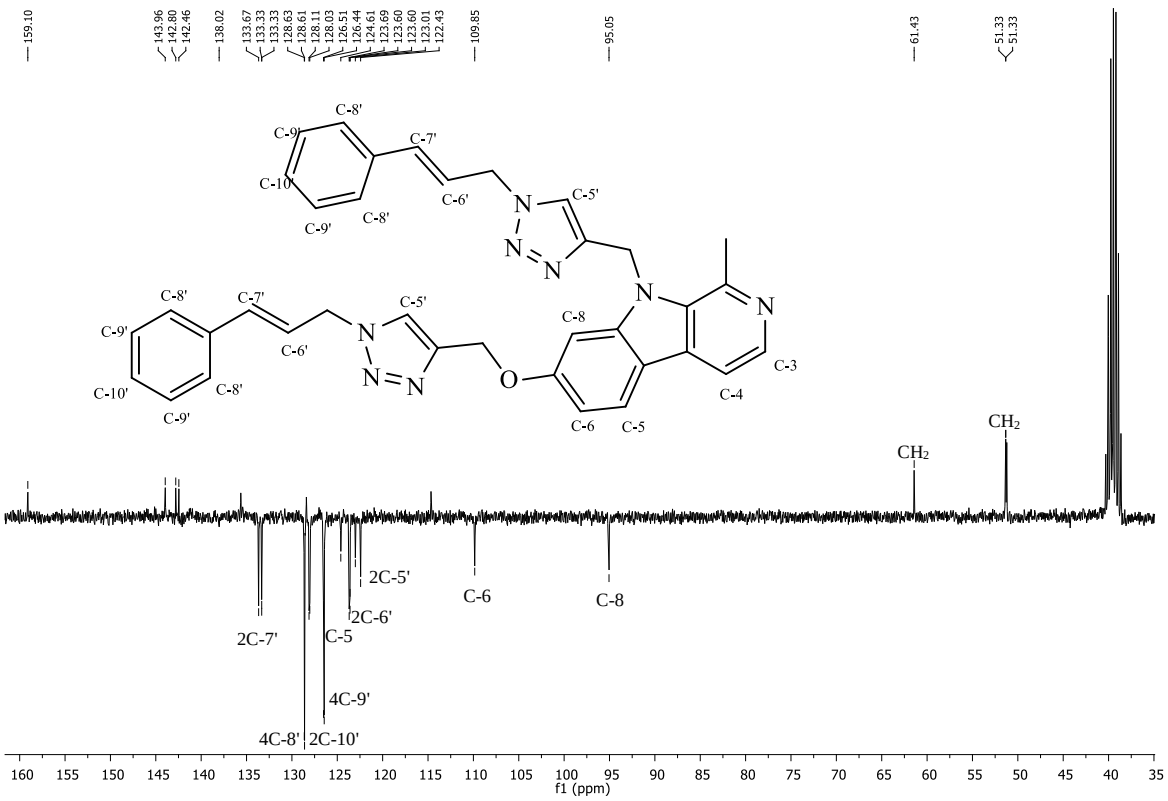
Slika 13. ^{1}H NMR spektar spoja **5**.



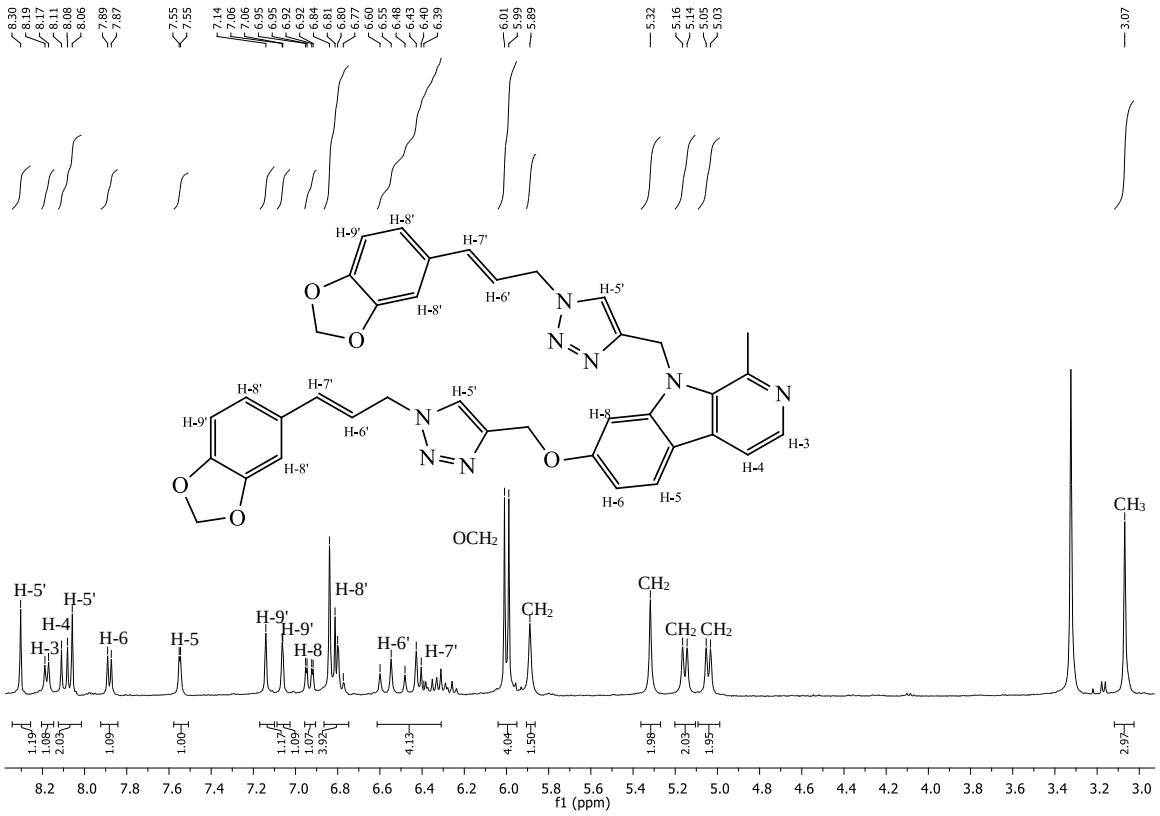
Slika 14. ^{13}C NMR spektar spoja **5**.



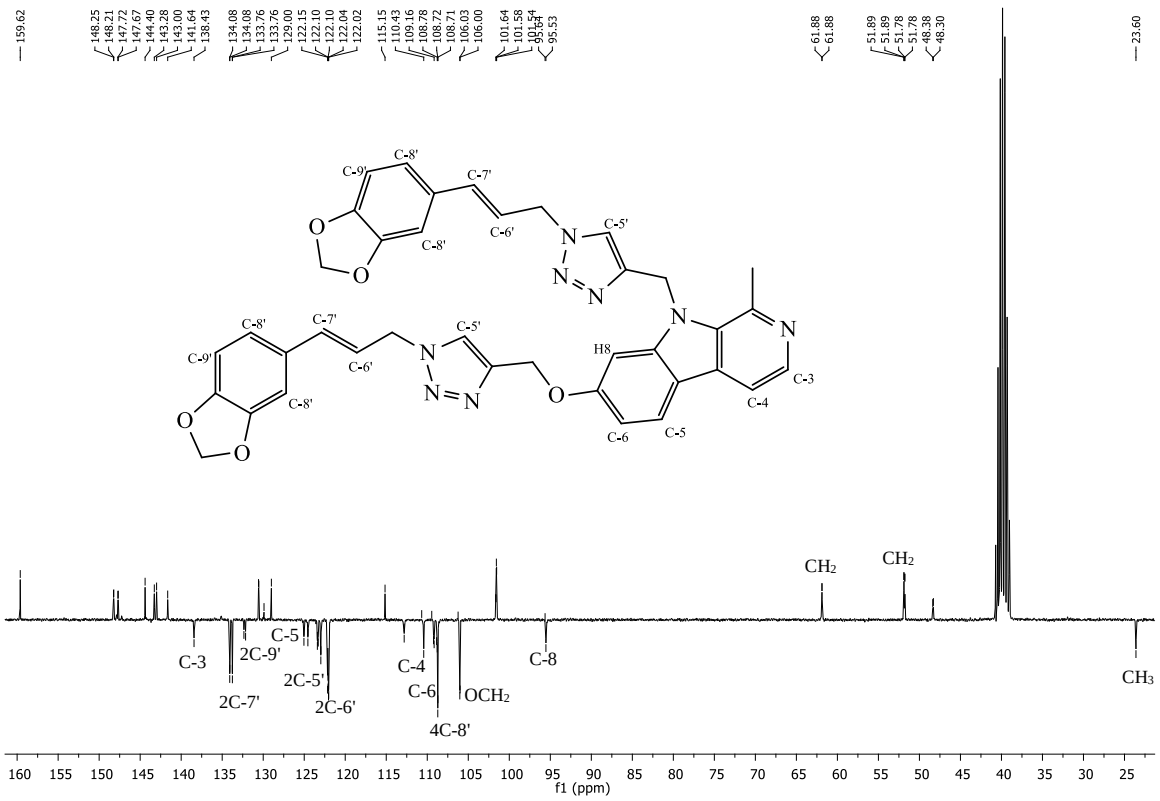
Slika 15. ^{1}H NMR spektar spoja **6a**.



Slika 16. ^{13}C NMR spektar spoja **6a**.



Slika 17. ^{1}H NMR spektar spoja **7**.



Slika 18. ^{13}C NMR spektar spoja **7**.

5. ZAKLJUČAK

- U ovom radu uspješno je provedena sinteza novih potencijalno biološki aktivnih hibrida harmina i cimetne kiseline premoštenih 1,2,3-triazolnom poveznicom (**5**, **6a-6h**, **7**).

- Prvotno je iz harmina sintetiziran harmol (**1**) koji je zatim poslužio kao prekursor za sintezu odgovarajućih propargiliranih derivata harmina (**2-4**).

- Regioselektivnom Huisgenovom 1,3-dipolarnom cikloadicijom između terminalnih alkina harmina (**2**, **3**) i azida cimetne kiseline, priređeni su ciljani 1,4-disupstituirani derivati mono- (**5**) i bis-1,2,3-triazola i harmina (**6a-6h**, **7**).

- Najbolja iskorištenja reakcije su postignuta kod spojeva **6b-6d** (~70%) i spoja **7** (~95%) iz čega slijedi da provedene sinteze spojeva zadovoljavaju sve kriterije koji se pripisuju klik kemiji.

- Novopripravljenim spojevima potvrđena je struktura primjenom ^{1}H i ^{13}C NMR spektroskopije.

- Antimalarijska ispitivanja na sintetiziranim triazolnim derivatima harmina su u tijeku.

6. POPIS LITERATURE

[1] World Malaria Report 2016: Summary, World Health Organization

[2] Liu, F. et al. Harmine produces antidepressant-like effects via restoration of astrocytic functions, *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, (2017), 1-38.

[3] Zhou, D.G. Mechanisms of cascade reactions between N-methylindole andsulfonylazides via Huisgen cycloaddition: A theoretical investigationDa, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, **417** (2016), 19-27.

[4] Bloland, P.B. Drug resistance in malaria, World Health Organization, (2001), 12-15.

[5] Carter, R., Mendis, K.M. Evolutionary and Historical Aspects of the Burden of Malaria, *Clinical Microbiology Reviews*, **15** (2002), 565-566.

[6] Zofou, D. et al. Control of malaria and other vector-borne protozoan diseases in the tropics: enduring challenges despite considerable progress and achievements, *Infectious Diseases of poverty*, **3** (2014), 1-2.

[7] Perić, D., Škrobonja, I., Škrobonja, A. Malarija u Hrvatskoj u razdoblju od 1987. do 2006., *Liječnički vjesnik*, **131** (2009), 192-195.

[8] Vuk, I., Rajić, Z., Zorc, B. Malarija i antimalarici, *Farmaceutski glasnik*, **64** (2008), 51-58.

[9] Ashutosh, K. Medicinal Chemistry, *New Age International (P) Ltd. Publishers*, 4th ED (2007), 1-18., 613-648.

[10] Gregorić, T. Regioselektivna sinteza 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazola, *Diplomski rad*, (2016), Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu

[11] Nepali, K. et al. Rational approaches, design strategies, structure activity relationship and mechanistic insights for anticancer hybrids, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **77** (2014), 422-487.

[12] Mahmoudian, M., Jalilpour, H., Salehian, P. Toxicity of Peganum harmala: Review and a Case Report, *Iranian Journal Of Pharmacology & Therapeutics*, (2002), 1-4.

[13] Rihui, C., Wenxi F. et al. Synthesis and structure-activity relationships of harmine derivatives as potential antitumor agents, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **60** (2013), 135-143.

[14] Syrian Rue (Peganum harmala) azarius encyclopedia, https://azarius.net/encyclopedia/106/Syrian_Rue_Peganum_harmala/ (pristup 04.03.2018.)

[15] Rihui, C. et al. *β*-Carboline Alkaloids: Biochemical and Pharmacological Functions, *Current Medicinal Chemistry*, (2007), 479-500.

[16] Alkaloids Derived from Tryptophan, Pharmacognosy, http://www.epharmacognosy.com/2012/07/alkaloids-derived-from-tryptophan.html (pristup 07.03.2018.)

[17] Insaf, F., Synthesis of new isoxazoline derivatives from harmine and evaluation of their anti-Alzheimer, anti-cancer and anti-inflammatory activities, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **30** (2015), 371-376

[18] Rihui, C., Wenline, P. et al. DNA binding properties of 9-substituted harmine derivatives, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **338** (2005), 1557-1563.

[19] Meester, C. Genotoxic potential of *β*-carbolines: a review, *Mutation Research*, **339** (1995), 139-153.

[20] Song, Y., Wang, J. et al. *β*-Carbolines as Specific Inhibitors of Cyclin-Dependent Kinases, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **12** (2002), 1129-1132.

[21] Kim, H., Sablin, S.O., Ramsay, R.R. Inhibition of Monoamine Oxidase A by *β*-Carboline Derivatives, *Archives Of Biochemistry And Biophysics*, **337** (1997), 137-142.

[22] Manabe, S., Kanai Y., Ishikawa, S., Wada, O. Carcinogenic Tryptophan Pyrolysis Products Potent Inhibitors of Type A Monoamine Oxidase and the Platelet Response to 5-Hydroxytryptamine, *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, **26** (1988), 265-270.

[23] Santos, R.G., Hallak J.E.C. Effects of the Natural β-Carboline Alkaloid Harmine, a Main Constituent of Ayahuasca, in Memory and in the Hippocampus: A Systematic Literature Review of Preclinical Studies, *Journal of Psychoactive Drugs*, (2016), 1-8.

[24] Benzekri, R. et al. Anti HSV-2 activity of Peganum harmala (L.) and isolation of the active compound, *Microbial Pathogenesis*, (2018), 1-8

[25] Liew, L.P.P., Fleming J.M. et al. Synthesis of 1-indolyl substituted *β*-carboline natural products and discovery of antimalarial and cytotoxic activities, *Tetrahedron*, (2014), 1-11.

[26] Sarkar, S., Bhattacharjee, P., Bhadra, K. DNA binding and apoptotic induction ability of harmalol in HepG2: Biophysical and biochemical approaches, *Chemico-Biological Interactions*, (2016), 142-152.

[27] Rommelspacher, H. et al. Pharmacology of Harmalan, *European Journal of Pharmacology*, **109** (1985), 363-371.

[28] Garbe, D. Cinnamic Acid, *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, **9** (2012), 193-195.

[29] Elierman, R.G. Cinnamic acid, Cinnamaldehyde and cinnamyl alcohol, *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, (2014), 1-8.

[30] Wiesner, J., Mitsch, A. et al. Structure-Activity Relationships of Novel Anti-Malarial Agents. Part 2: Cinnamic Acid Derivatives, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **11** (2011), 423-424.

[31] Natella, F. et al. Benzoic and Cinnamic Acid Derivatives as Antioxidants: Structure-Activity Relation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47** (1999), 1453-1459.

[32] Tawata, S. et al. Synthesis and Antifungal Activity of Cinnamic Acid Esters, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **60** (1996), 909-910.

[33] Adisakwattana, S. et al. Structure–activity relationships of trans-cinnamic acid derivatives on α-glucosidase inhibition, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **14** (2004), 2893-2896

[34] Liu, L. et al. Cinnamic Acid: A Natural Product With Potential Use in Cancer Intervention, *International Journal of Cancer*, **62** (1996), 345-350.

[35] Kharb, R., Sharma, P.C., Yar, M.S. Pharmacological significance of triazole scaffold, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **26** (2001), 1-21.

[36] Eicher, T., Hauptmann, S. The Chemistry of Heterocycles, *Wiley-VCH Veriag GmbH & Co. KgaA*, 2th ED (2003), 408-415.

[37] Joule, J.A., Mills, K. Heterocyclic Chemistry, *A John Wiley & Sons, Ltd., Publication*, 5th ED (2010), 557-561.

[38] Ramondo F., Bencivenni, L., Portalone, G., Domenicano, A. Effect of Intermolecular Hydrogen Bonding on the Molecular Structures of Imidazole and 1,2,4-Triazole: A Study by ab initio Molecular Orbital Calculations, *Structural Chemistry*, **5** (1994), 1-5.

[39] Rao, K.S. et al. Thermal stability study of nitro-rich triazole derivatives using temperature dependent time resolved pulsed photoacoustic (PA) technique, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, (2014), 1-8.

[40] Bonadi, E. et al. (2017) The 1,2,3-triazole ring as a bioisostere in medicinal chemistry, *Drug Discovery Today*, (2017), 1-15.

[41] Saftić, D., Krstulović, L., Bajić, M., Žinić, B. 1,3-Dipolarna cikloadicija (I. dio): Dobivanje 1,2,3-triazolnih derivata u nukleozidnoj kemiji, *Kemija u industriji,* **64** (2015), 481-498.

[42] Kolb, H.C., Fin, M.G., Sharpless, F.B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions, *Angewandte Chemie International Edition,* **40** (2001), 2004-2021.

[43] Michael, A. Ueber die Einwirkung von Diazobenzolimid auf Acetylendicarbonsäuremethylester, *Journal fur praktische Chemie,* **48** (1893), 94-95.

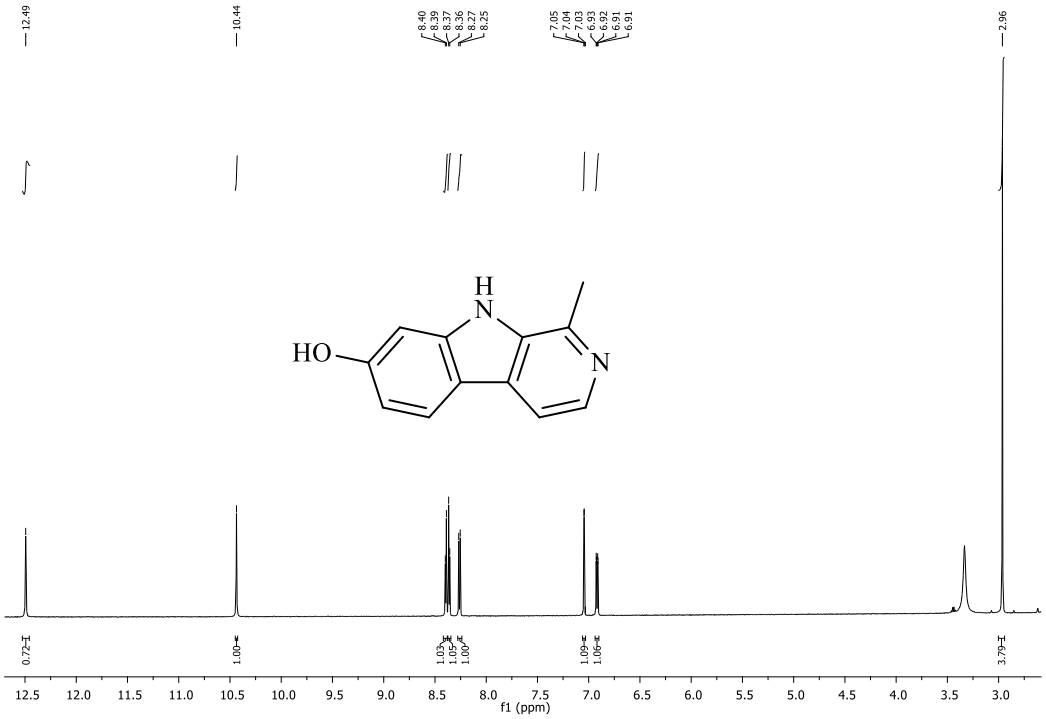
[44] Huisgen, R. et al. Einige Beobachtungen zur Addition organischer Azide an CC-Dreifachbindungen, *Aus dem Institut fur Organische Chemie der Universitilt Miinchen,* (1965), 4014-4020.

[45] Rasmussen, L.R., Boren, B.C., Fokin, V.V. Ruthenium-Catalyzed Cycloaddition of Aryl Azides and Alkynes, *Organic Letters,* **9** (2007), 5337-5339.

7. PRILOZI

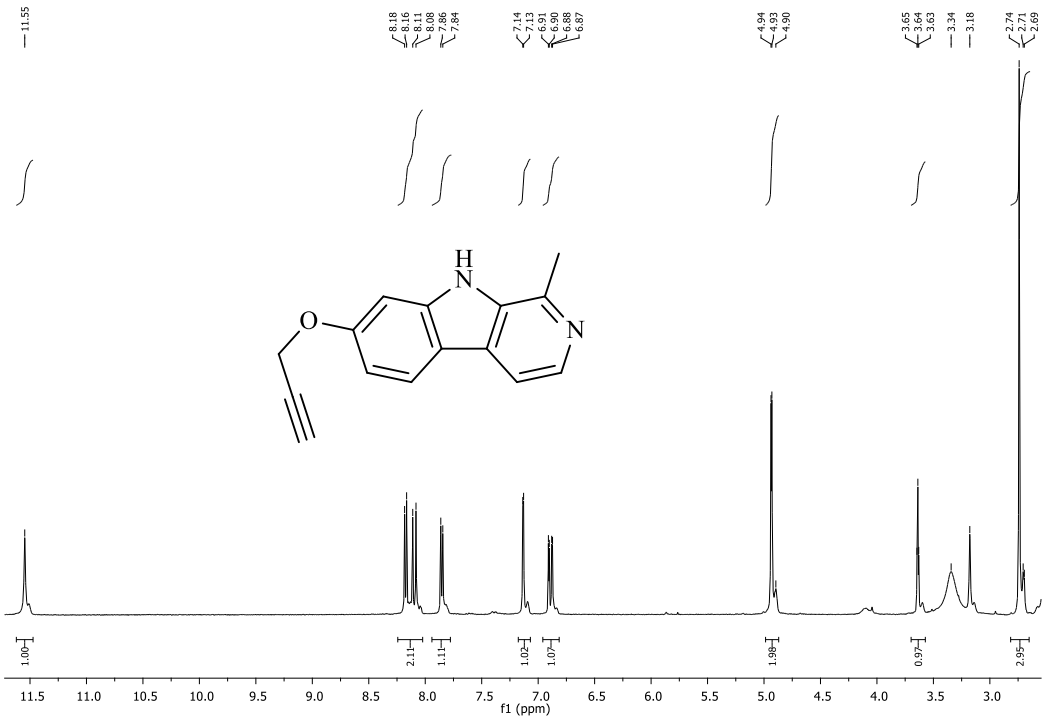
Prilog 1.

a) ^{1}H NMR spektar spoja **1**.



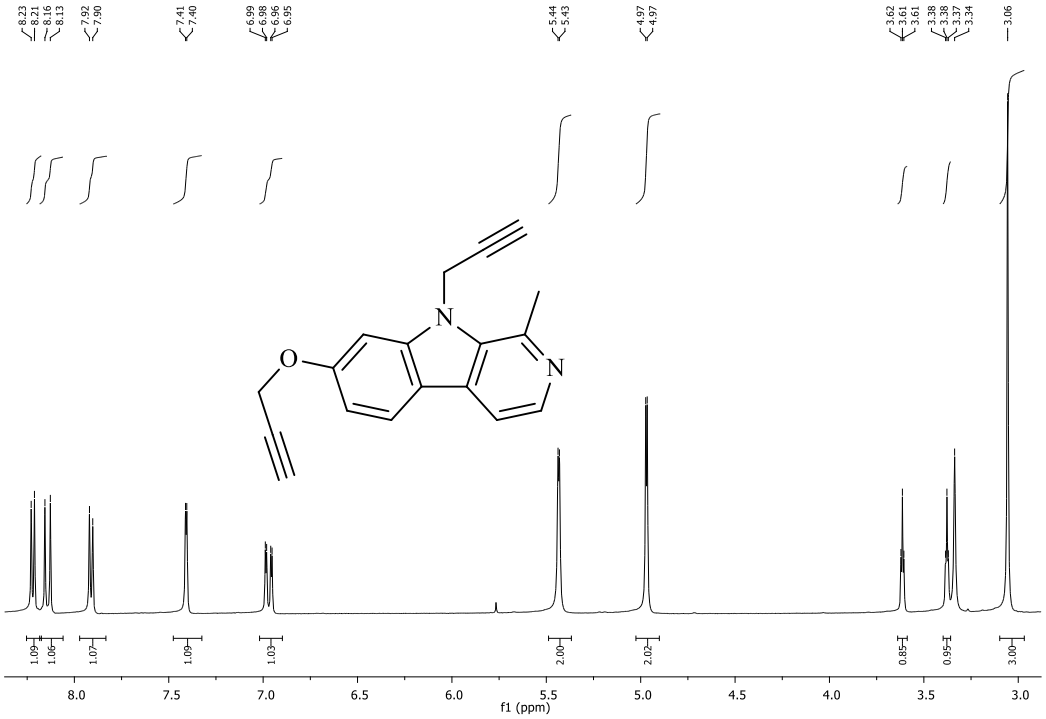
Prilog 2.

a) ^{1}H NMR spektar spoja **2**.



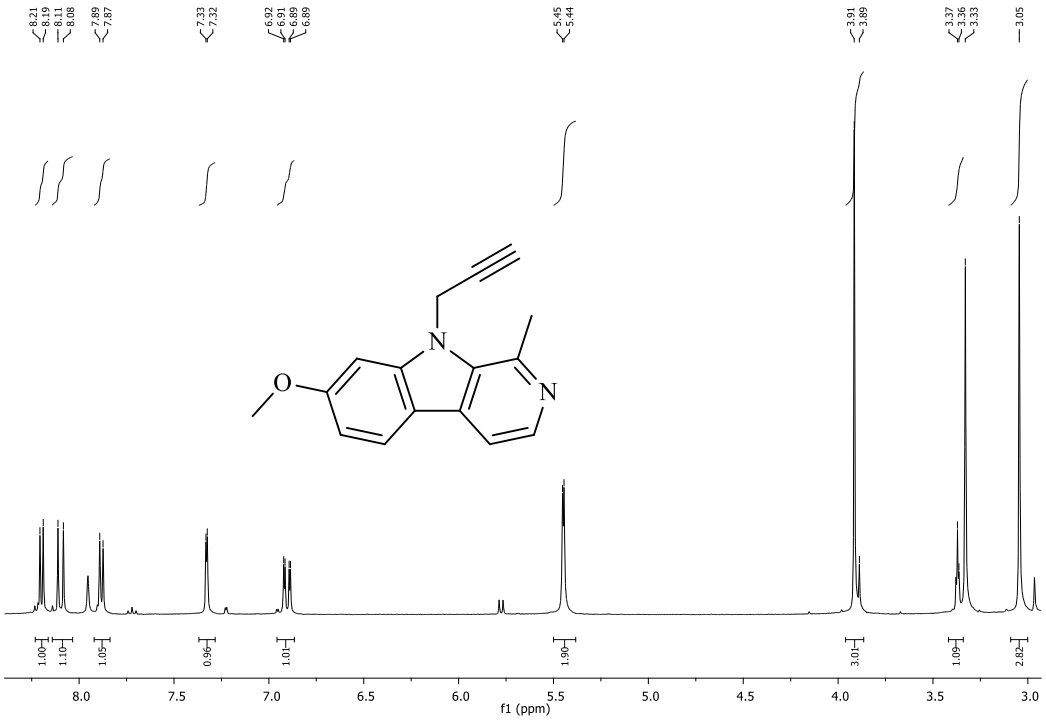
Prilog 3.

a) ^{1}H NMR spektar spoja **3**.



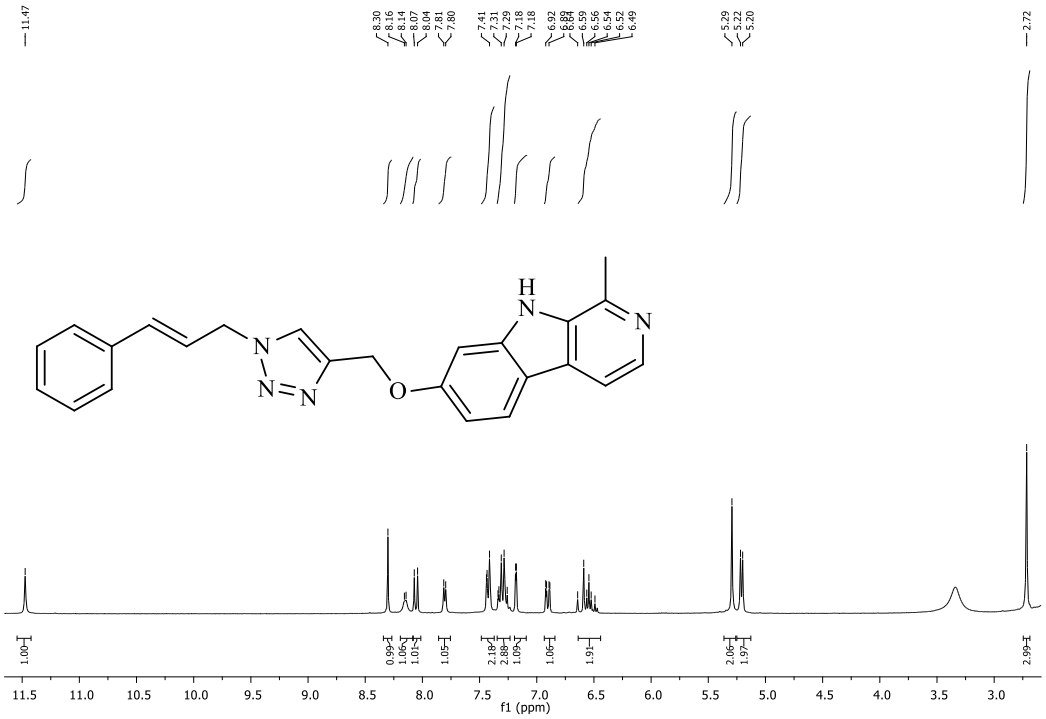
Prilog 4.

a) ^{1}H NMR spektar spoja **4**.

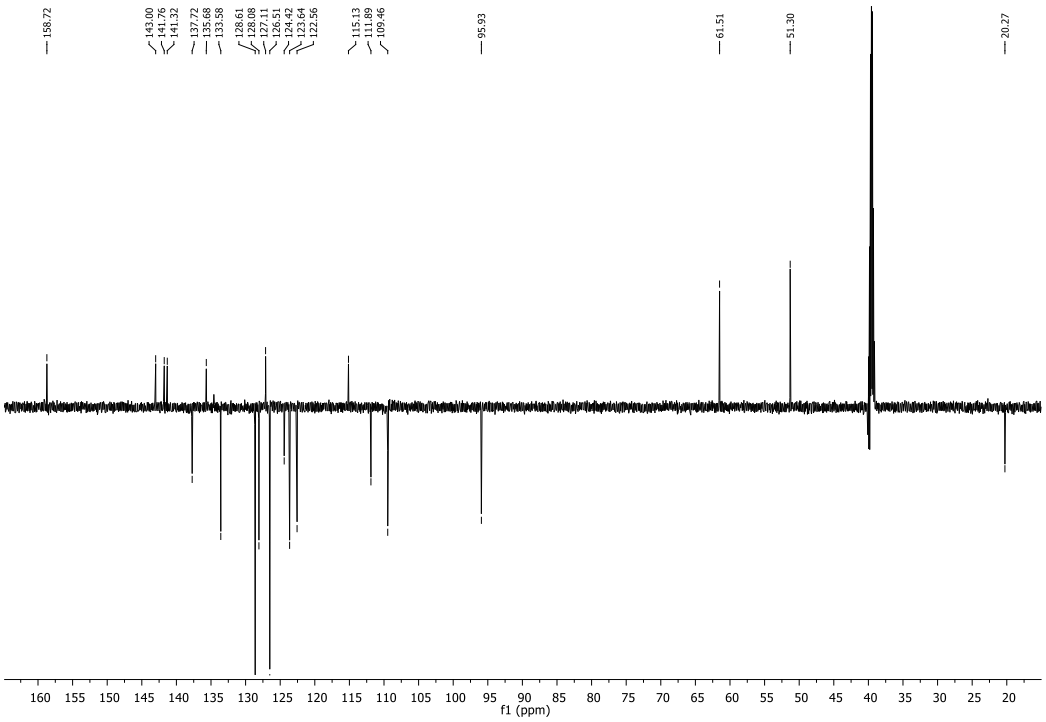


Prilog 5.

a) ^{1}H NMR spektar spoja **5**.

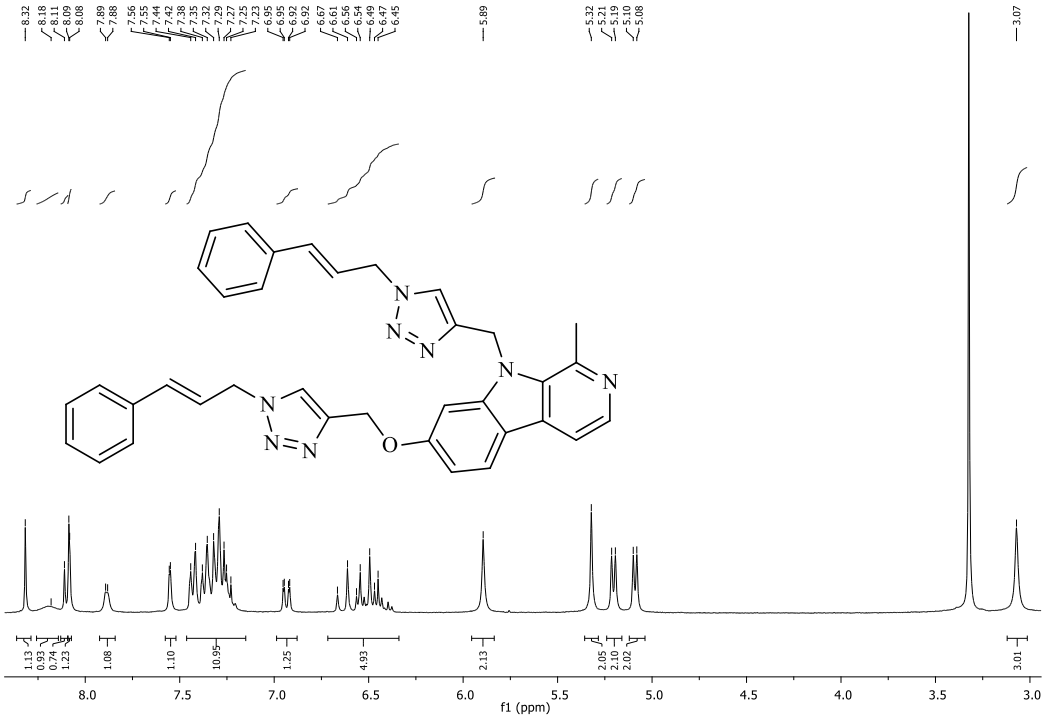


b) ^{13}C NMR spektar spoja **5**.

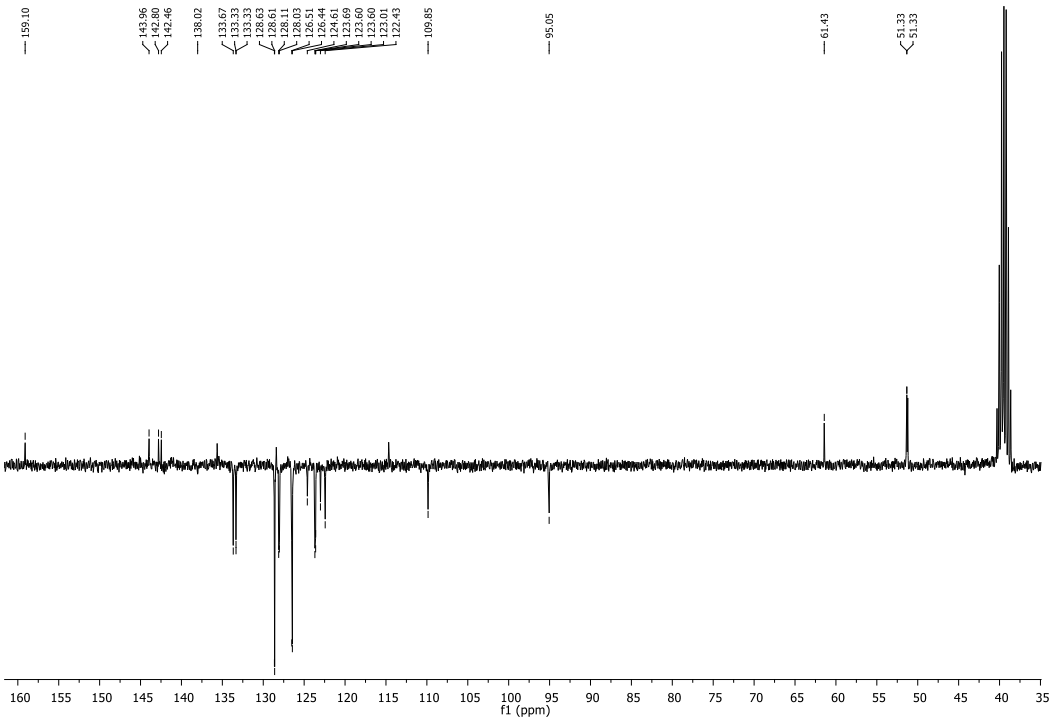


Prilog 6.

a) ^{1}H NMR spektar spoja **6a**.

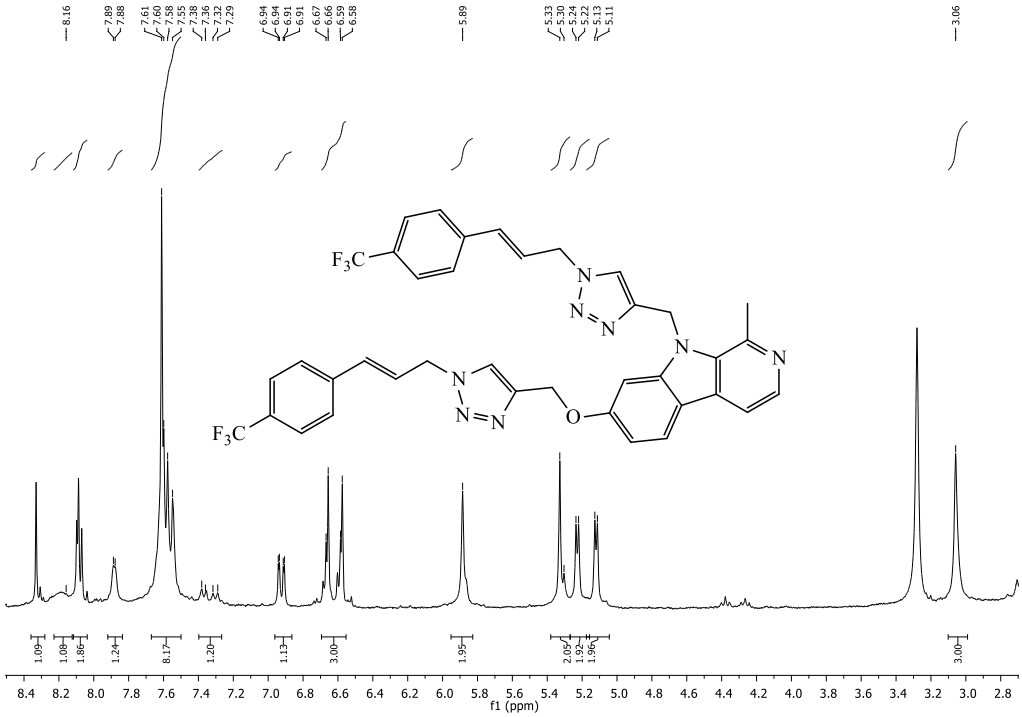


a) ^{13}C NMR spektar spoja **6a**.

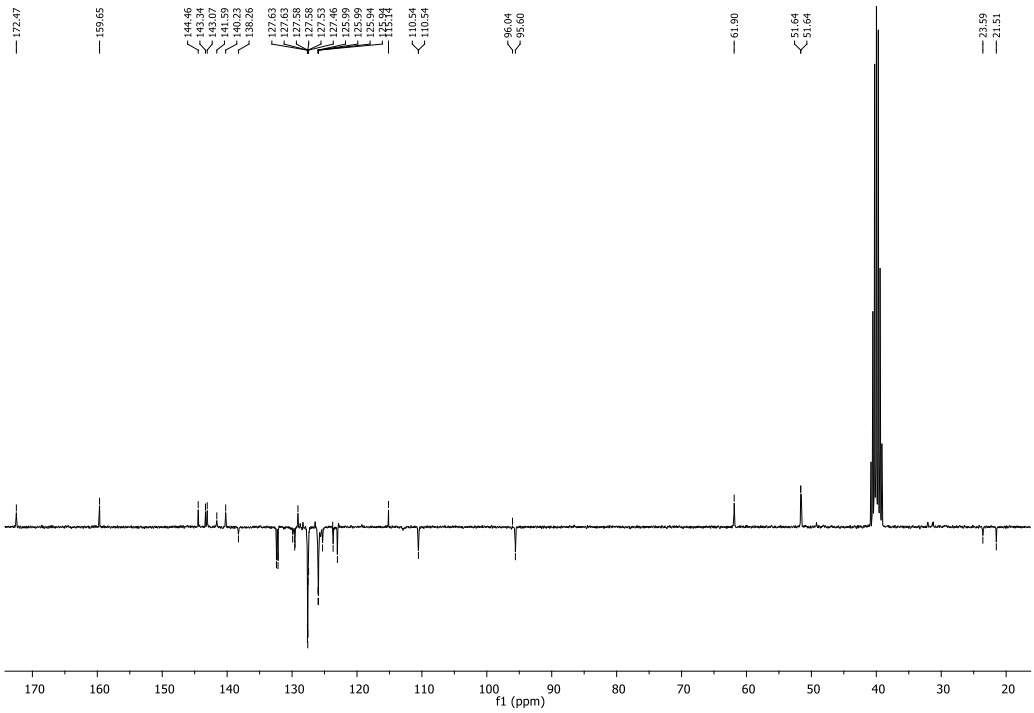


Prilog 7.

a) ^{1}H NMR spektar spoja **6b**.

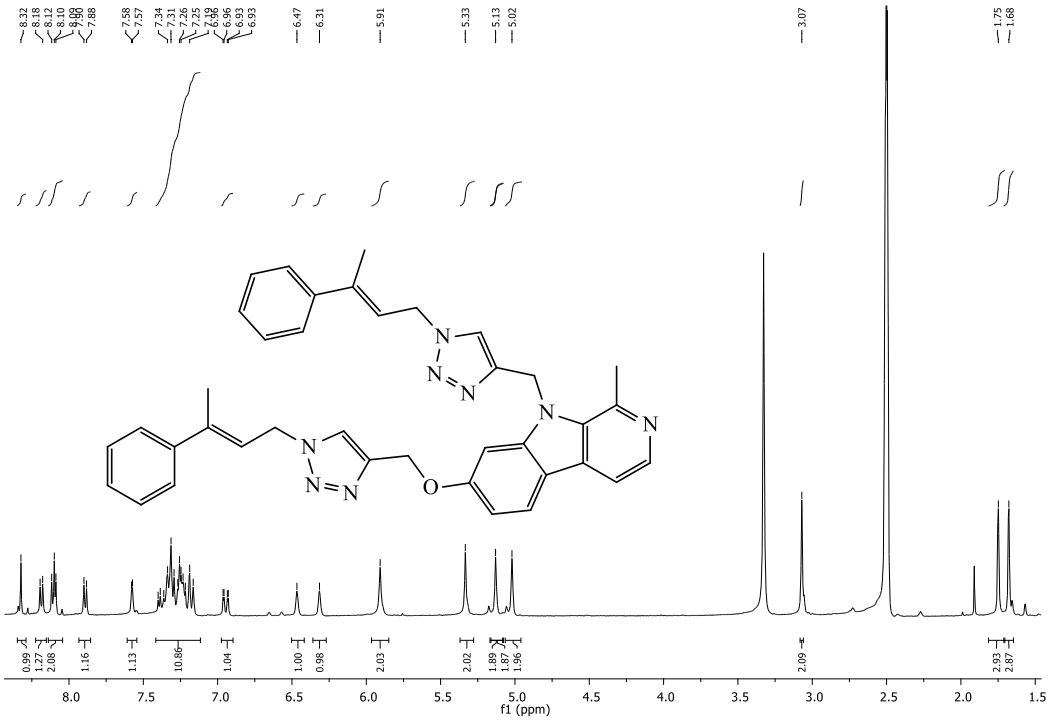


b) ^{13}C NMR spektar spoja **6b**.

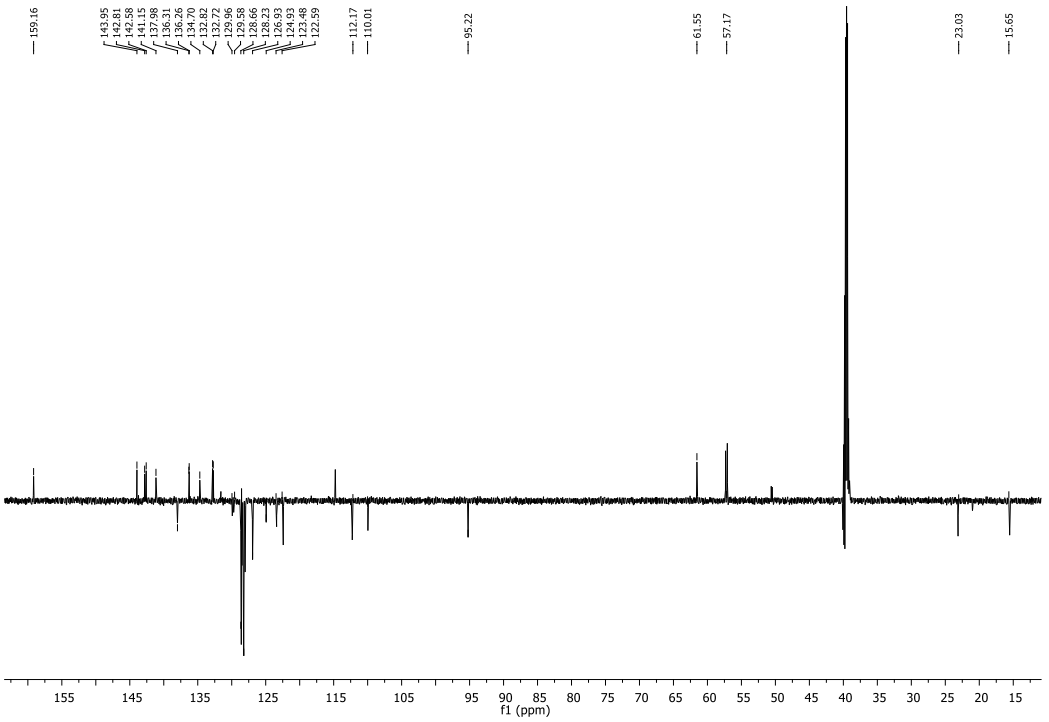


Prilog 8.

a) ^{1}H NMR spektar spoja **6c**.

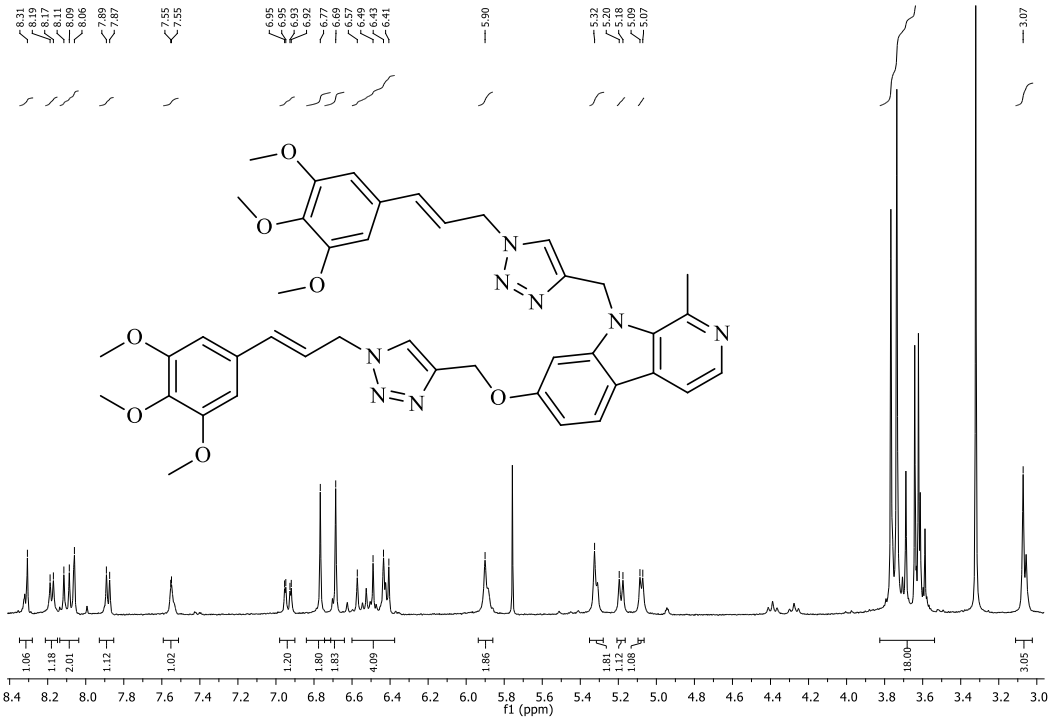


b) ^{13}C NMR spektar spoja **6c**.

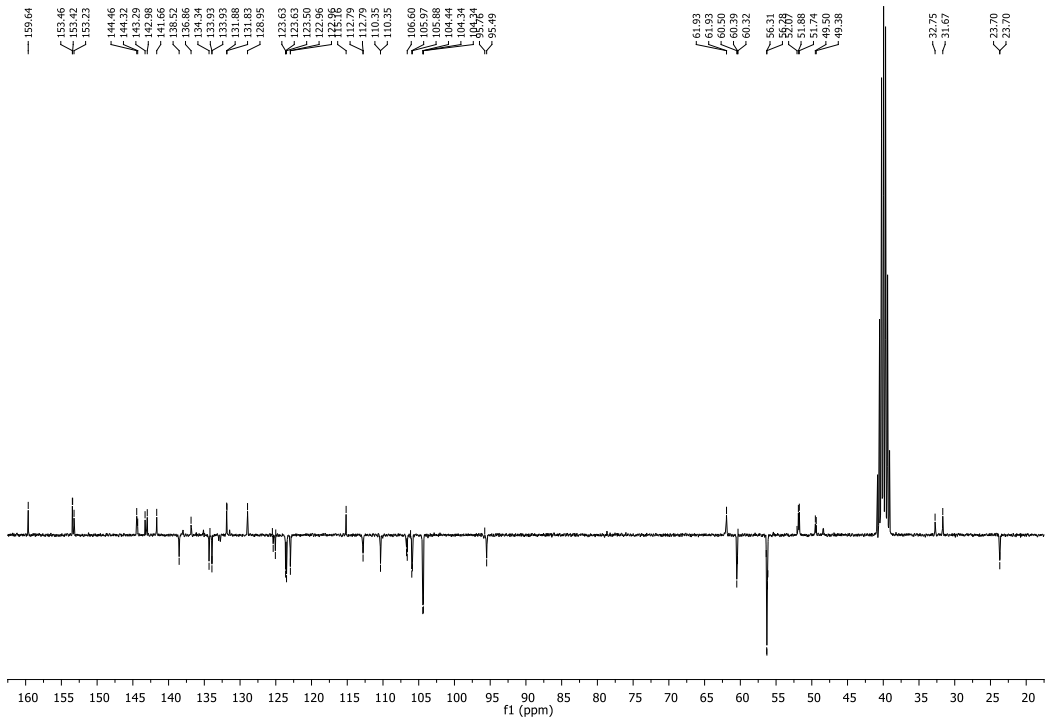


Prilog 9.

a) ^{1}H NMR spektar spoja **6d**.

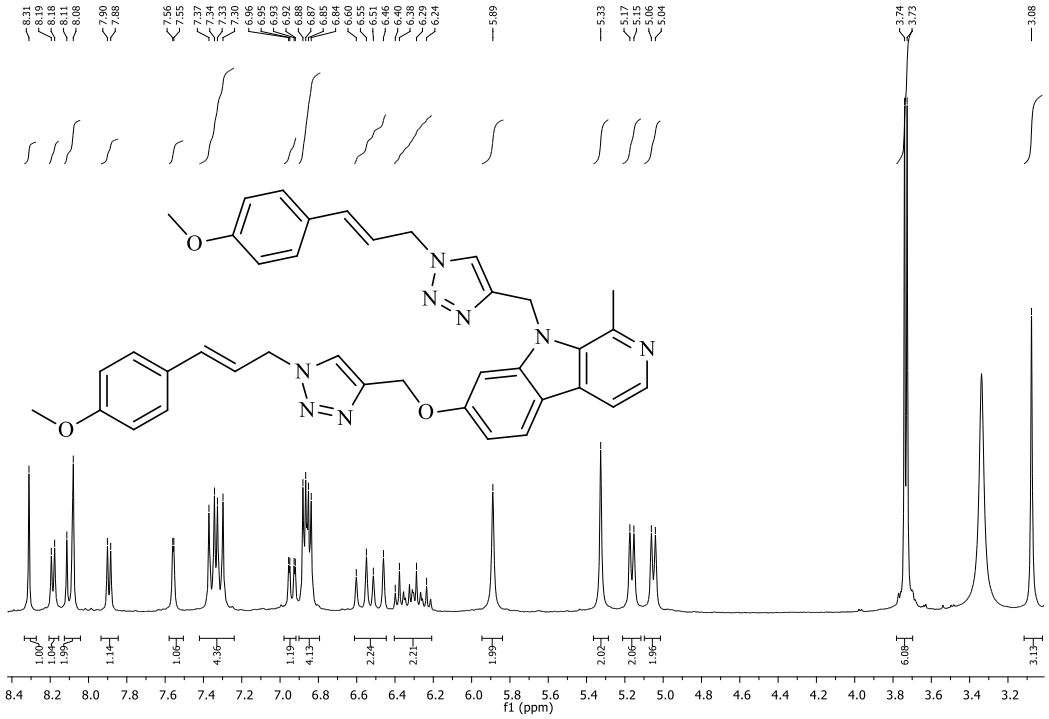


b) ^{13}C NMR spektar spoja **6d**.

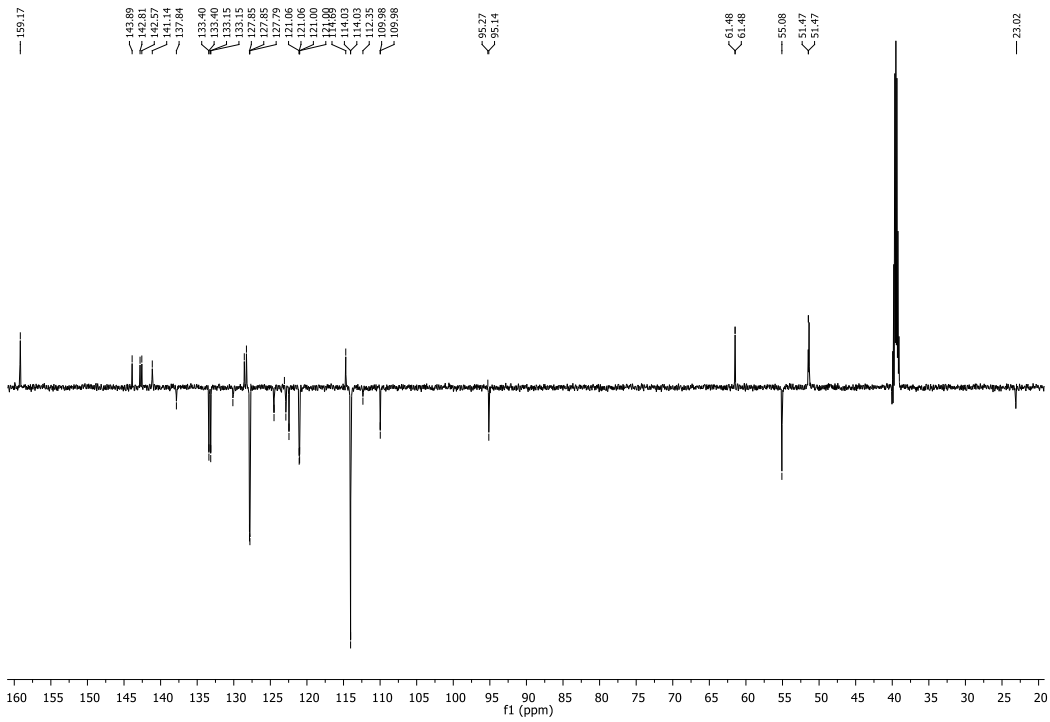


Prilog 10.

a) ^{1}H NMR spektar spoja **6e**.

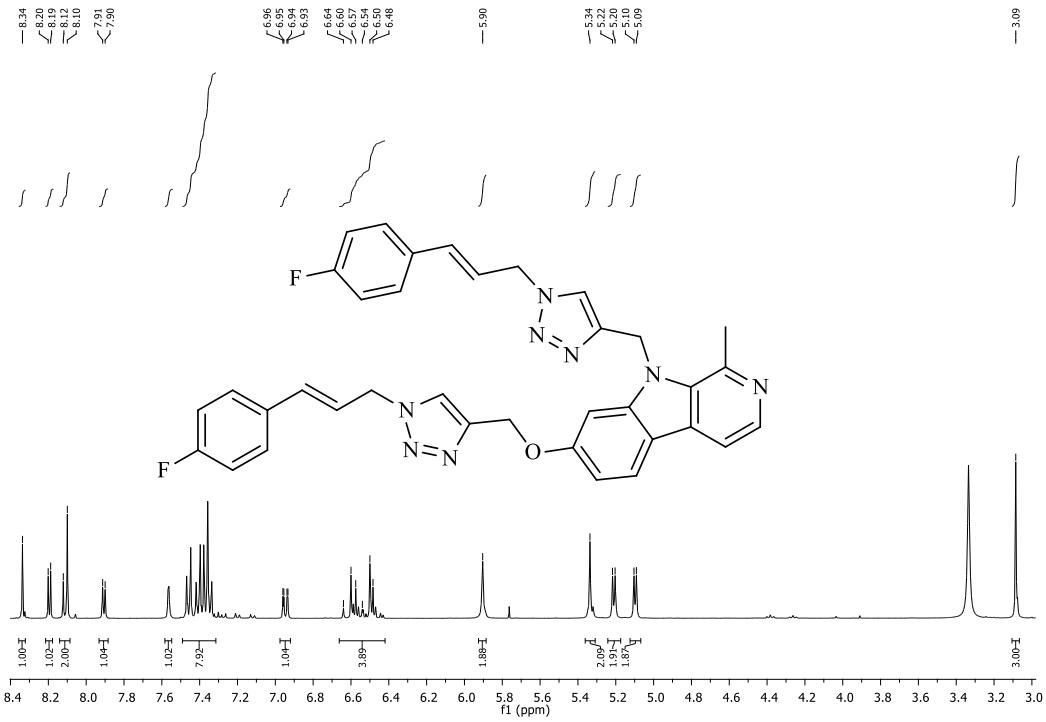


b) ^{13}C NMR spektar spoja **6e**.

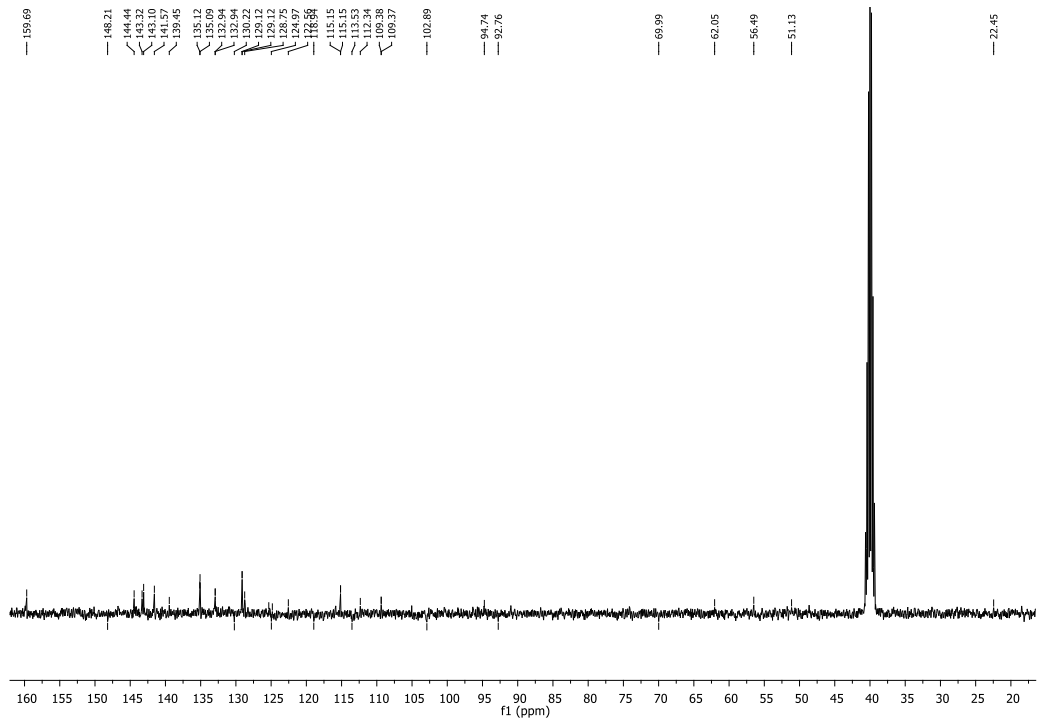


Prilog 11.

a) ^{1}H NMR spektar spoja **6f**.

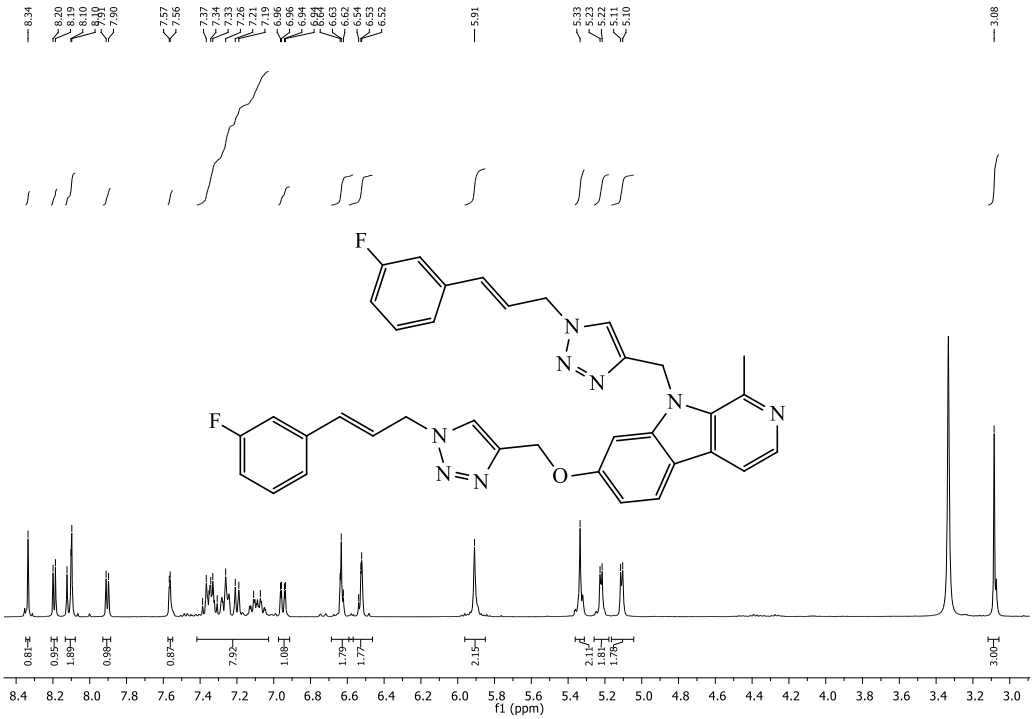


b) ^{13}C NMR spektar spoja **6f**.

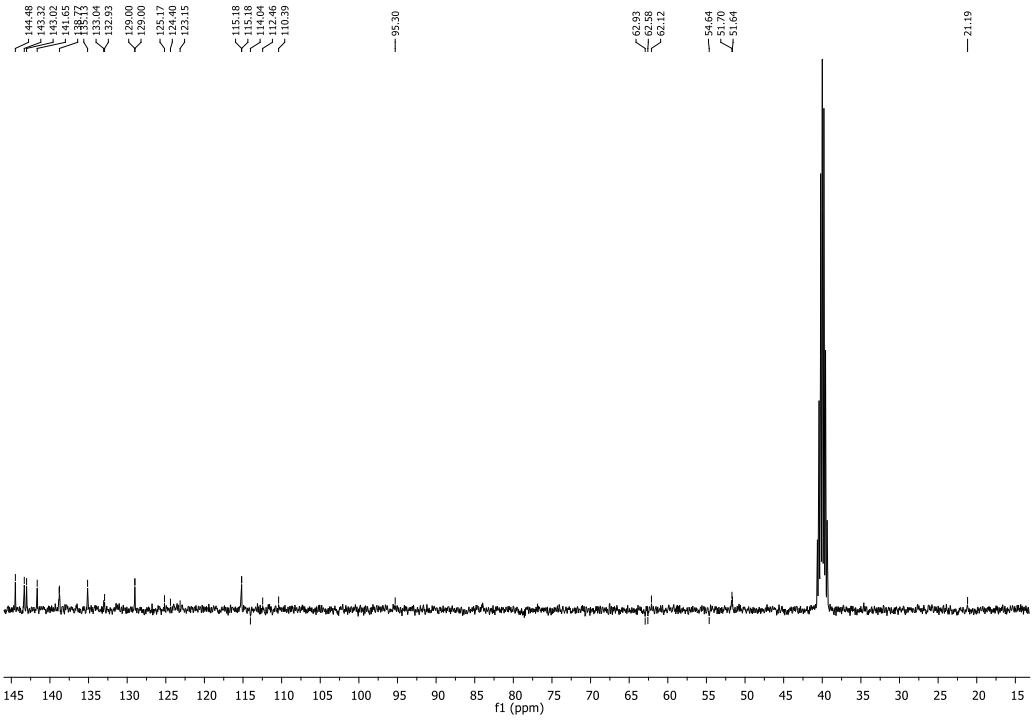


Prilog 12.

a) ^{1}H NMR spektar spoja **6g**.

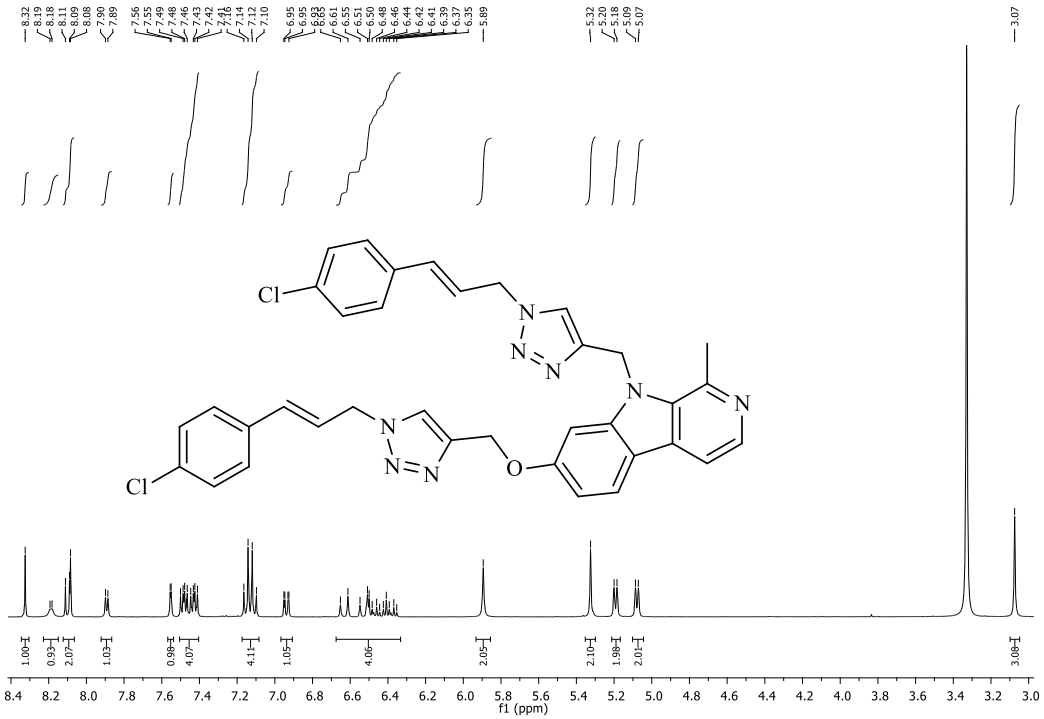


b) ^{13}C NMR spektar spoja **6g**.

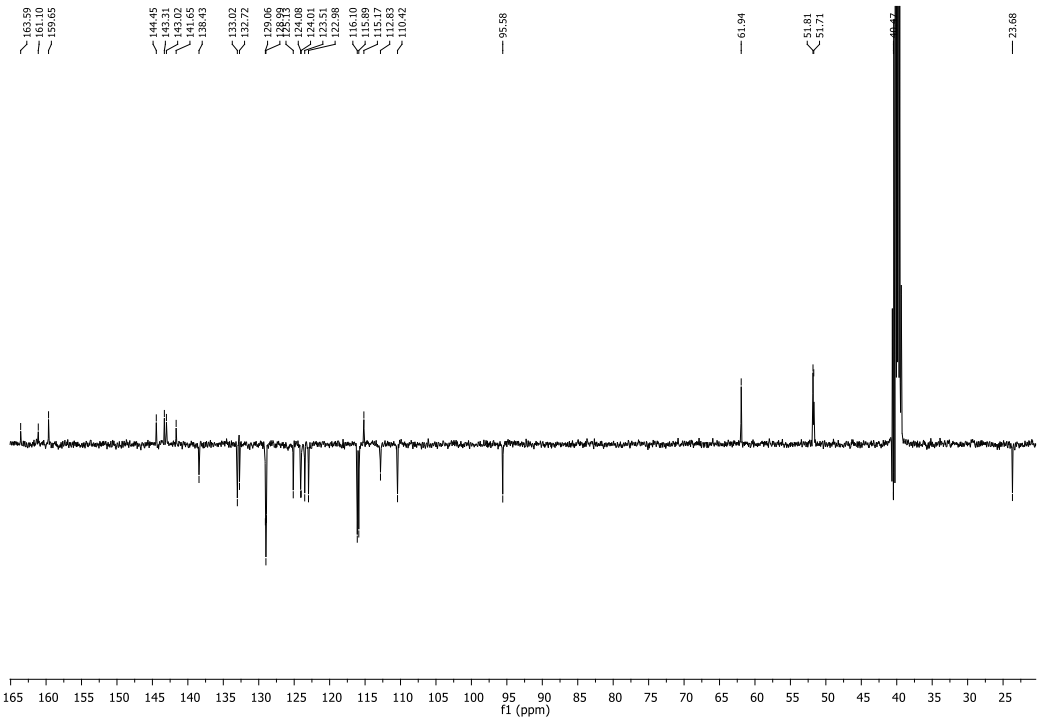


Prilog 13.

a) ^{1}H NMR spektar spoja **6h**.

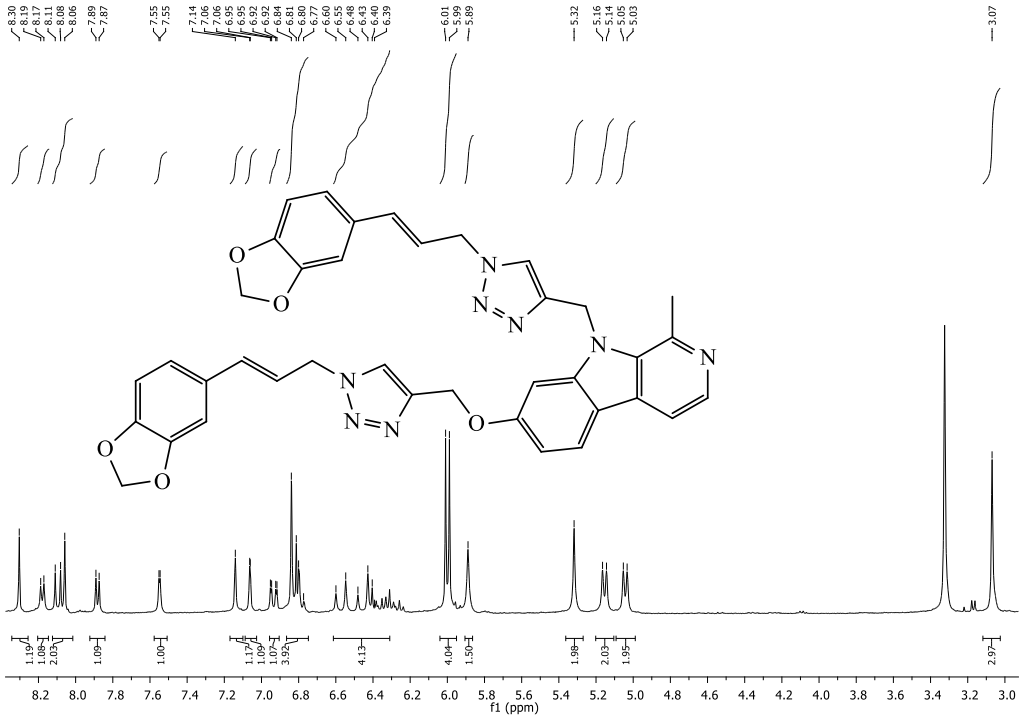


b) ^{13}C NMR spektar spoja **6h**.

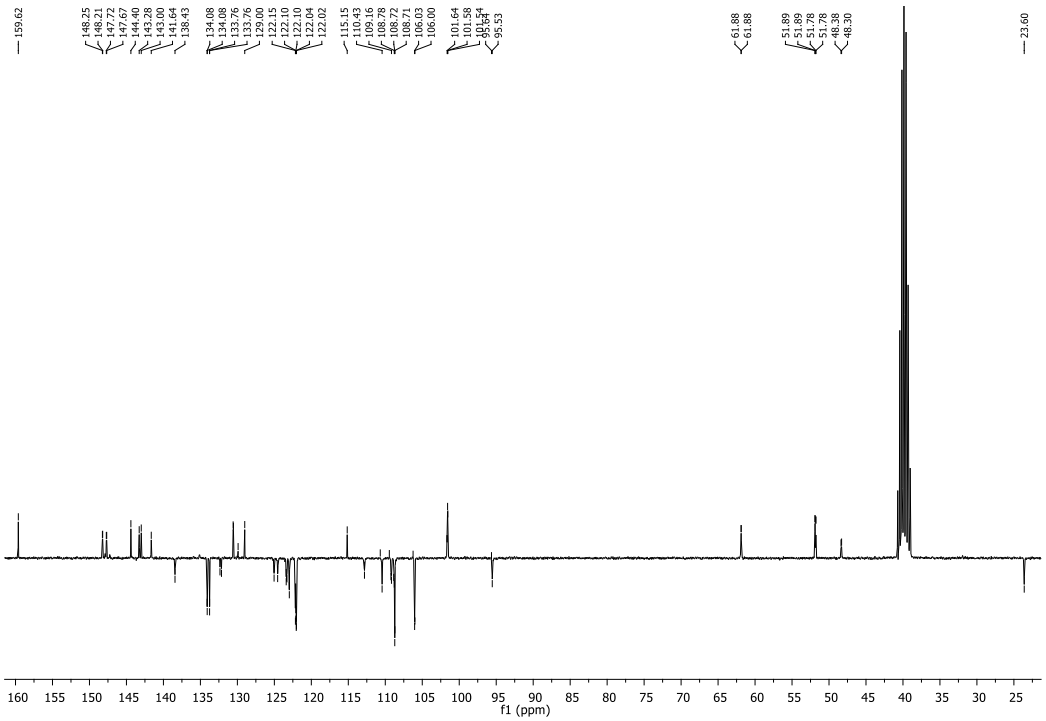


Prilog 14.

a) ^{1}H NMR spektar spoja **7**.



b) ^{13}C NMR spektar spoja **7**.



8. ŽIVOTOPIS

ARBEN BERIŠA[redacted] Osnovnu školu je završio 2008. godine, a potom upisao Prirodoslovnu školu Vladimira Preloga, smjer kemijski tehničar. Maturirao je 2012. godine i iste godine upisao Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu kao redoviti student na sveučilišnom preddiplomskom studiju Primijenjena kemija. Sudjelovao je u izvođenju laboratorijskih vježbi na Zavodu za analitičku kemiju kao demonstrator u zimskom semestru akademske godine 2014./2015. Završni rad izradio je na Zavodu za opću i anorgansku kemiju uz mentorstvo izv. prof. dr. sc. Stjepana Milardovića s temom *Određivanje konstante disocijacije površinski samoformiranih alkantiola terminiranih karboksilnim ili aminskim skupinama elektrokemijskom impedancijskom spektroskopijom*. 2016. godine kao redoviti student upisuje sveučilišni diplomski studij Primijenjena kemija, modul: Primijenjena organska kemija, na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije. U sklopu organizacije *Board of European Students of Technology* sudjeluje na seminaru pod nazivom *There is Cash in Trash* koji se održavao na Tehničkom sveučilištu u Rigi, gdje je stekao dodatan 1 ECTS bod. Tijekom ljetnog semestra druge godine diplomskog studija u sklopu Erasmus+ programa, odradio je stručnu praksu na Prirodoslovnom fakultetu Sveučilišta u Lisabonu. Za vrijeme stručne prakse pod vodstvom dr. sc. Nuno Manuel Xaviera sudjelovao je u projektu pod nazivom *Synthesis of new nucleos(t)ide analogues and evaluation of their cholinesterase inhibitory activities* koji je bio predstavljen u Lisabonu na 29. međunarodnom simpoziju o ugljikohidratima. Do sada je sve ispite diplomskog studija položio s prosjekom 4,56.