

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Barbara Rubinić i Luca Udovičić

**Sinteza i karakterizacija novih derivata cimetine
kiseline i harmina**

Zagreb, 2019.

Ovaj rad izrađen je u Zavodu za farmaceutsku kemiju Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Zrinke Rajić i predan je na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2018./2019.

Rad je financiran sredstvima uspostavnog istraživačkog projekta *Derivati harmina kao potencijalni antimalarici* (UIP-2017-05-5160) Hrvatske zaklade za znanost.



KRATICE

ATP	adenozin trifosfat
Boc	<i>tert</i> -butiloksikarbonil
CAD	derivati cimetine kiseline (<i>cinnamic acid derivatives</i>)
DIEA	<i>N</i> -etil- <i>N</i> -(propan-2-il)propan-2-amin (<i>N,N</i> -diizopropiletilamin)
DMF	dimetilformamid
DMSO	dimetilsulfoksid
HATU	1-(<i>bis</i> (dimetilamino)metilen)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolo(4,5- <i>b</i>)piridinijev 3-oksid heksafluorfosfat
HDAC	histonska deacilaza
HRP-2	protein bogat histidinom 2 (<i>histidine rich protein</i>)
Hsp90	protein toplinskog šoka 90 (<i>heat shock protein</i>)
IR	infracrveno elektromagnetsko zračenje (<i>infrared</i>)
LDH	laktat dehidrogenaza
MAO-A	monoaminooksigenaza A
MS	masena spektrometrija
NMR	nuklearna magnetska rezonancija
PCR	lančana reakcija polimerizacije (<i>polimerise chain reaction</i>)
pfprt	transportni protein iz <i>Plasmodium falciparuma</i> rezistentan na klorokin
S _N 2	nukleofilna supstitucija 2. reda
TLC	tankoslojna kromatografija (<i>thin layer chromatography</i>)
TMS	tetrametilsilan
<i>t</i> _i	temperatura taljenja
UV	ultraljubičasto zračenje (<i>ultraviolet</i>)

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Malaria i potreba za razvojem novih antimalarika	2
1.2. Harmin	6
1.3. Cimetna kiselina	7
2. OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA	8
3. MATERIJALI I METODE.....	10
3.1. Sinteza 1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol-7-ola (harmola) (1)	12
3.2. Sinteza <i>tert</i> -butil(2-((1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol-7-il)oksi)etil)karbamata (2)	12
3.3. Sinteza 2-((1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol-7-il)oksi)etan-1-amina (3).....	13
3.4. Sinteza amidnih derivata cimetne kiseline i harmina (4).....	13
3.4.1. <i>N</i> -(2-((1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol-7-il)oksi)etil)cinamid (4a).....	14
3.4.2. (<i>E</i>)-2-metil- <i>N</i> -(2-((1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol-7-il)oksi)etil)-3-fenilakrilamid (4b)	14
3.4.3. (<i>E</i>)-3-(4-metoksifenil)- <i>N</i> -(2-((1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol-7-il)oksi)etil)akrilamid (4c).....	15
3.4.4. (<i>E</i>)-3-(2-fluorofenil)- <i>N</i> -(2-((1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol-7-il)oksi)etil)akrilamid (4d)	15
3.4.5. (<i>E</i>)-3-(3-fluorofenil)- <i>N</i> -(2-((1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol-7-il)oksi)etil)akrilamid (4e).....	16
3.4.6. (<i>E</i>)-3-(4-fluorofenil)- <i>N</i> -(2-((1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol-7-il)oksi)etil)akrilamid (4f)	17
3.4.7. (<i>E</i>)-3-(4-klorofenil)- <i>N</i> -(2-((1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol-7-il)oksi)etil)akrilamid (4g)	17
3.4.8. (<i>E</i>)-3-(3-bromofenil)- <i>N</i> -(2-((1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol-7-il)oksi)etil)akrilamid (4h)	18
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	19

5. ZAKLJUČCI.....	30
6. ZAHVALE	32
7. POPIS LITERATURE	34
8. SAŽETAK	38
9. SUMMARY	40
PRILOZI.....	42
ŽIVOTOPISI	64

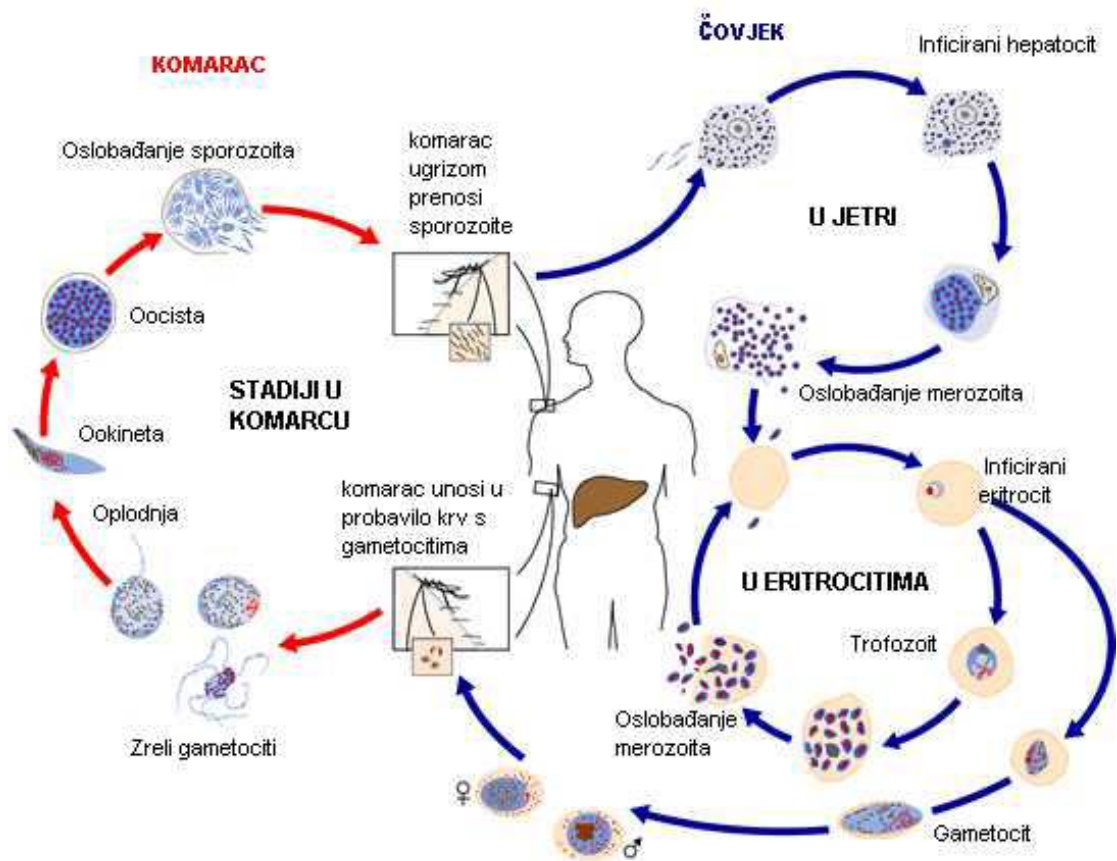
1. UVOD

1.1. Malarija i potreba za razvojem novih antimalarika

Malarija je zarazna bolest uglavnom rasprostranjena u tropskim i subtropskim krajevima svijeta. Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije od navedene je bolesti u 2017.-oj godini oboljelo oko 219 milijuna ljudi, a broj povezanih smrtnih slučajeva procjenjuje se na više od 400 000 [1]. Sve ovo svrstava malariju na 6. mjesto uzroka smrti u zemljama u razvoju [2].

Malariju uzrokuju tkivno-krvne protozoe roda *Plasmodium*, a prenose ju komarci roda *Anopheles*. Bolest kod ljudi uzrokuje pet vrsta: *P. knowlesi*, *P. falciparum*, *P. ovale*, *P. vivax* i *P. malariae*, od kojih je najopasniji *P. falciparum* [3].

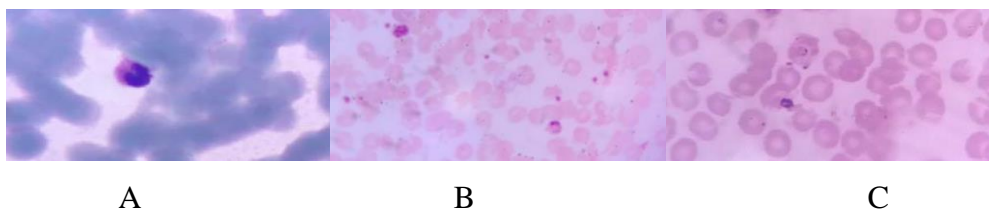
Životni ciklus plazmodija vrlo je složen. U žlijezdama slinovnicama ženke komarca roda *Anopheles* plazmodij je u obliku sporozoita. Ugrizom zaraženog komarca, sporozoiti, ulaze u krvotok čovjeka te dopijevaju do jetre, gdje aktivno ulaze u jetrene stanice – hepatocite. S obzirom na mjesto sazrijevanja i razmnožavanja životni ciklus plazmodija kod čovjeka dijeli se na dvije faze - hepatocitnu i eritrocitnu fazu [3]. Nespolna faza razvoja plazmodija odvija se u dva dijela. Prvi dio se događa u jetrenim stanicama čovjeka, gdje se razmnožavaju shizogonijom. Nastali shizont dozrijeva, nakon čega dolazi do rupture i oslobađanja velikog broja merozoita, koji odlaze u krvotok, ulaze u eritrocite i nastavljaju s rastom i razvojem. Merozoiti prvo prelaze u mlade trofozoite, iz kojih maturacijom nastaju zreli trofozoiti. Tijekom eritrocitne faze također dolazi do nespolnog razmnožavanja, odnosno eritrocitne shizogonije. Neki merozoiti koji su ušli u eritrocit diferenciraju se u mikrogametocite i makrogametocite. Ukoliko u toj fazi dođe do ugriza ženke komarca, u njenom želucu dolazi do razvoja mikrogameta i makrogameta, koje oplodnjom stvaraju zigotu (ookinetu). Ookineta prolazi epitel želuca, razvija se u oocistu u kojoj rastu sporozoiti. Nakon razdoblja maturacije oocista puca te dolazi do rasapa sporozoita, koji na poslijetku ulaze u slinovnice komarca te se cijeli ciklus ponavlja. Cijeli ciklus prikazan je na Slici 1 [4].



Slika 1. Ilustracija životnog ciklusa plazmodija u komarcu roda *Anopheles* i u čovjeku, gdje se odvija u dvije faze - eritocitnoj i hepatocitnoj [4].

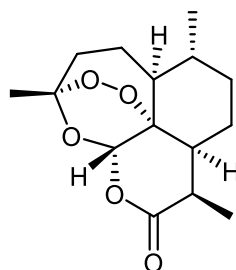
Klinička slika malarije pojavljuje se nakon inkubacije od 9 do 40 dana, ovisno o vrsti plazmodija [20]. Bolesnik se obično žali na jake glavobolje, kašalj, umor, artralgijske i mijalgije. Specifičan znak su paroksizmalne intermitentne vrućice, koje se javljaju svakih 48 h (*malaria tertiana*) ili svaka 72 h (*malaria quartana*). *Malariju tertianu* uzrokuju *P. vivax* i *P. ovale*, dok *malariju quartanu* uzrokuje *P. malariae* [5]. Kod djece često dolazi do hipoglikemije, konvulzija, teške anemije i iznenadne smrti, dok se kod odraslih infekcija najčešće očituje kao respiratorni distres, teška anemija, cerebralna malarija te zatajenje bubrega [6]. Najtežu kliničku sliku i najčešći smrtni ishod uzrokuje *P. falciparum*.

Etiološka dijagnoza malarije postavlja se mikroskopiranjem razmaza krvi ili guste kapi bojene po Giemsi (Slika 2) . Osim toga, postoje i brzi testovi iz krvi. *P. falciparum* može se dijagnosticirati određivanjem prisutnosti HRP-2 u krvi i plazmodijske LDH. Razvijena je i suvremena PCR metoda, ali ona nije dostupna u svim laboratorijima [7].



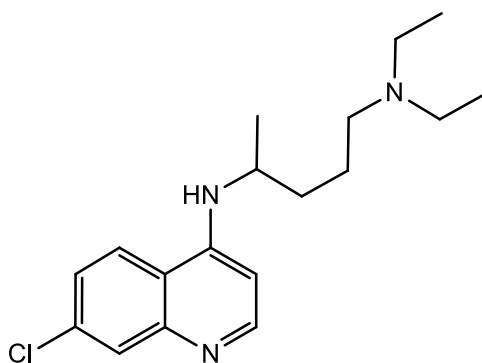
Slika 2. Mikroskopski prikaz razmaza krvi bojenog po Giemsi. A – mladi tofozoit u obliku prstena; B – shizont, C – zreli trofozoit (ameboidni oblik) plazmodija.

Liječenje malarije provodi se antimalaricima. Neki od najznačajnijih antimalarika su artemisinin, primakin i klorokin. Artemisinin (Slika 3) je seskviterpenski lakton s peroksidnim mostom koji se koristi u slučajevima nekomplikirane malarije. Dobiva se ekstrakcijom iz listova biljke *Artemisia annua* L. [21]. Djeluje na mlade trofozoite u obliku prstena (Slika 2.A) u eritrocitnoj fazi. Slobodni željezovi (II) ioni kataliziraju redukciju i pucanje endoperoksida te nastaju ugljikovi radikali, koji reagiraju s proteinima i drugim makromolekulama plazmodija [8]. Artemisinin je slabo topljiv u vodi što utječe na njegova farmakokinetička svojstva. Peroralnu bioraspoloživost je niska te podliježe metabolizmu prvog prolaska kroz jetru [22]. Najčešće nuspojave artemisinina su anoreksija, mučnina, povraćanje, alergijske reakcije i hepatotoksičnost u visokim dozama [23].



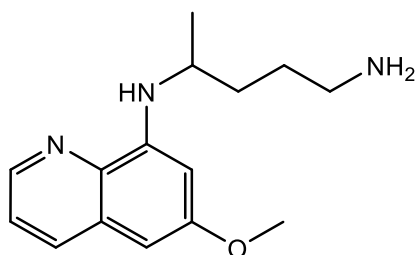
Slika 3. Struktura artemisinina.

Klorokin (Slika 4) pripada skupini 4-aminokinolina. Pretpostavljeni je mehanizam djelovanja inhibicija detoksikacije plazmodija. Naime, parazit u svojoj eritrocitnoj fazi koristi hemoglobin kao izvor aminokiselina. Razgradnjom globina, nakuplja se toksični hem koji se u vakuoli parazita prvo oksidira do feriprotoporfirina IX, a zatim polimerizira u netoksični hemozoin. Klorokin se u vakuoli plazmodija veže na hemozoin i onemogućuje proces biokristalizacije [10]. Apsorpcija klorokina iz gastrointestinalnog trakta nakon peroralne primjene je gotovo 100%-tna te se djelomično metabolizira u jetri, a izlučuje se urinom [24]. Najčešće nuspojave klorokina su poremećaji vida, svrbež i nesаница [25].



Slika 4. Struktura klorokina.

Primakin je derivat 8-aminokinolina i jedini antimalarik koji djeluje na hepatocitnu fazu razvoja plazmodija (Slika 5). Mehanizam djelovanja primakina nije u potpunosti razjašnjen, no pretpostavlja se da djeluje na ubikvinon, čime onemogućuje prijenos elektrona u respiratornom lancu i stvara radikale kislika [26]. Primakin se apsorbira iz gastrointestinalnog trakta te izlučuje putem žuči [27]. Najčešće nuspojave su tamno obojenje urina, slabost i anoreksija [25].



Slika 5. Struktura primakina.

U terapiji malarije primjenjuju se kombinacije lijekova, radi potpune eliminacije parazita, kao i zbog sprječavanja razvoja rezistencije. Unatoč tome, u pojedinim dijelovima svijeta došlo je do razvoja rezistencije na sve poznate lijekove. Upravo je zbog toga potrebno istraživati nove molekule s potencijalnim antimalarijskim djelovanjem.

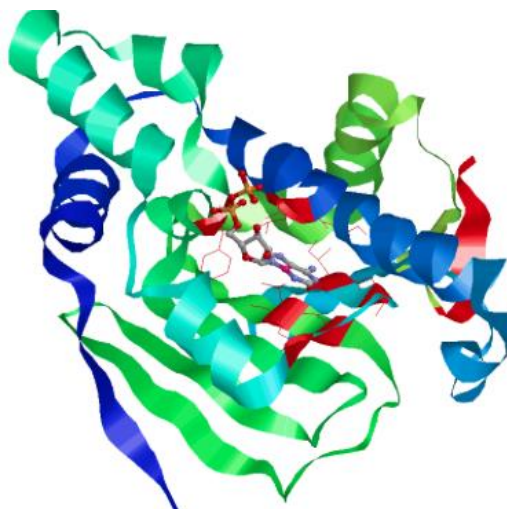
1.2. Harmin

Harmin je β -karbolinski alkaloid (Slika 6). U prirodi se javlja u mnogim biljkama, a neke od njih su *Peganum harmala* i *Banisteriopsis caapi*.



Slika 6. Stuktura harmina i prirodni izvori: *Peganum harmala* [28] i *Banisteriopsis caapi* [29].

Harmin ima visok afinitet vezanja na protein toplinskog šoka 90 iz *P. falciparum* (*PfHsp90*). Hsp 90 pripada skupini chaperona te pomaže u pravilnom smatanju proteina njihovom stabilizacijom. Molekulsko modeliranje pokazalo je interakciju metoksi skupine harmina i gvanidinija aminokiseline arginina na 98. mjestu u veznom mjestu za ATP *PfHsp90*. Rezultati dobiveni računalnim modelima potvrđeni su i biokemijskim pokusima [13].

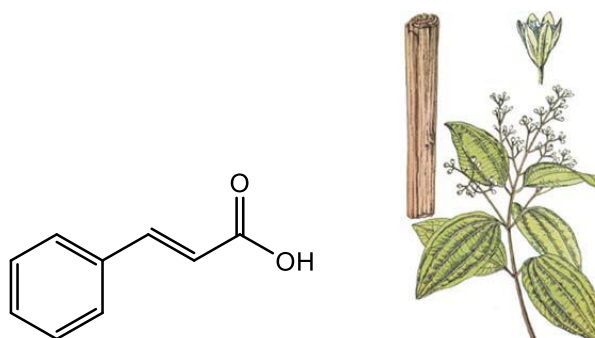


Slika 7. Prikaz ATP domene *PfHsp90* i vezanog harmina [17].

In vitro i *in vivo* studije dokazale su da harmin posjeduje antimalarijsko djelovanje, kao i sinergistički učinak s klorokinom [30].

1.3. Cimetna kiselina

Cimetna kiselina (Slika 8) se u prirodi nalazi u biljkama roda *Cinnamomum*, od kojih je najvažniji predstavnik *Cinnamomum verum* (Slika 8) [14]. Ona djeluje kao biljni hormon koji regulira rast i diferencijaciju stanica. Biosinteza polazi iz aminokiseline *L*-fenilalanina. Može postojati u *cis* i *trans* konfiguraciji. Pri sobnoj temperaturi je krutina koja kristalizira u monoklinskom kristalnom sustavu [18]. Temperatura tališta iznosi 132-136°C [19]. Slaba je kiselina, njen pK_a iznosi 4,44 [18].



Slika 8. Struktura cimetne kiseline i prirodni izvor *Cinnamomum verum* [18].

Cimetna kiselina koristi se u prehrambenoj, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji. U prehrambenoj industriji služi kao polazni spoj za pripremu umjetnog zaslađivača aspartama. Osim toga, esteri cinamola se primjenjuju u kozmetičkoj industriji u proizvodnji parfema [39].

Derivati cimetne kiseline (CAD) imaju širok spektar farmakološkog djelovanja te ispoljuju antimikrobno, antituberkulotsko, antioksidativno, citostatsko, protuupalno i antimalarijsko djelovanje [18]. Derivati cimetne kiseline s hidroksamskom skupinom djeluju kao inhibitori histonske deacetylaze (HDAC) [34] te se koriste u liječenju hematoloških malignih bolesti [35, 36]. Hibridni lijekovi cimetne kiseline i primakina, odnosno 4-aminokinolina inhibiraju HDAC te pokazuju antimalarijsko djelovanje [37-42]. Derivati cimetne kiseline, kao što su α -cijano-3-hidroksicimetna kiselina, α -cijano-4-hidroksicimetna kiselina i α -fluorocimetna kiselina, djeluju na eritrocitnu fazu plazmodija, inhibicijom nastanka ATP-a i povećanjem količine laktata djelujući na transmembranski prijenos [15].

2. OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA

Hibridni lijekovi pripremaju se povezivanjem dva različita farmakofora kovalentnom vezom u jednu molekulu, s ciljem pojačavanja njihovog djelovanja. Hibridi građeni od poznatih antimalarika već su pripremljeni te su pokazali poboljšano djelovanje u odnosu na ishodne lijekove [31-33].

Imajući u vidu antimalarijsko djelovanje harmina i derivata cimetne kiseline, opisano u Uvodu ovoga rada, dizajnirali smo nove hibridne spojeve harmina i derivata cimetne kiseline amidnog tipa. Cilj ovoga rada bila je njihova sinteza i karakterizacija korištenjem uobičajenim analitičkih i spektroskopskih metoda. U daljnjim istraživanjima, koja nadilaze okvire ovoga rada, bit će ispitano njihovo antimalarijsko djelovanje na hepatocitnu i eritrocitnu fazu plazmodija.

3. MATERIJALI I METODE

Tališta novosintetiziranih spojeva (t_r) određena su na Stuart SMP3 instrumentu (Barloworld Scientific, UK) u otvorenim kapilarama i nisu korigirana. Tijek reakcija i čistoća produkata praćeni su tankoslojnom kromatografijom (TLC) na silikagel pločama 60 F₂₅₄ (Merck, Njemačka) uz diklormetan i metanol, u različitim volumnim omjerima (85:15, 8:1), kao pokretnom fazom. Za pročišćavanje produkata korištena je kromatografija na koloni; kao nepokretna faza korišten je silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm (Sigma-Aldrich (SAD)), a kao pokretna faza korišteni su diklormetan i metanol u istim omjerima kao i u tankoslojnoj kromatografiji. Analizirani spojevi detektirani su UV zračenjem ($\lambda = 254$ nm) i parama joda.

IR spektri snimljeni su na Paragon FT-IR spektrometru (Perkin Elmer, UK). ¹H i ¹³C NMR spektri snimljeni su na NMR spektrometru Bruker Avance III HD 400 MHz/54 mm Ascend (Bruker, SAD). Uzorci su mjereni u DMSO-*d*₆ otopinama na 20 °C u NMR cijevčicama promjera 5 mm. Kemijski pomaci izraženi su u ppm u odnosu na tetrametilsilan (TMS) kao unutarnji standard u ¹H, odnosno signal DMSO u ¹³C spektru (39,51 ppm). Konstante sprezanja (*J*) izražene su u Hz. Spektri masa snimljeni su na HPLC-MS/MS instrumentu (Agilent Technologies 1200, Triple Quadripole 6420, SAD). Ionizacija elektroraspršenjem (ESI) u pozitivnom i negativnom modu korištena je kao tehnika ionizacije. Reakcija potpomognuta mikrovalnim zračenjem provedena je u CEM Discover (CEM, SAD) mikrovalnom reaktoru u staklenim kivetama.

Harmin, octena kiselina, 2-(Boc-amino)etil bromid, cimetna kiselina, α -metilcimetna kiselina, 4-klorcimetna kiselina, 2-fluorcimetna kiselina, 3-fluorcimetna kiselina, 4-fluorcimetna kiselina, 4-metoksicimetna kiselina i cezijev karbonat nabavljeni su od tvrtke Sigma-Aldrich (SAD), diklormetan od tvrtke Fisher Scientific (UK), a dietil-eter od tvrtke ITW Reagents (Njemačka). 1-(*bis*(dimetilamino)metilen)-1*H*-1,2,3-triazolo(4,5-*b*)piridinijev 3-oksid heksafluorofosfat (HATU) i 3-bromcimetna kiselina nabavljene su od Tokyo Chemical Industry (Japan), a bezvodni natrijev sulfat nabavljen je od Gram-Mol (Hrvatska). Bromovodična kiselina nabavljena je od tvrtke Merck (Njemačka), *N*-etil-*N*-(propan-2-il)propan-2-amin (*N,N*-diizopropiletilamin) (DIEA) od Alfa Aesar (SAD), a DMF od tvrtke Kemika (Hrvatska). Cimetna kiselina i svi CAD nabavljeni su kao *trans* stereoizomeri (≥ 99 %).

U eksperimentalnom dijelu korišten je bezvodni DMF, čuvan nad aktiviranim molekulskim sitima. Sve ostale kemikalije bile su *p. a.* čistoće.

3.1. Sinteza 1-metil-9H-pirido[3,4-b]indol-7-ola (harmola) (1)

Smjesa 0,150 g (0,707 mmol) harmina, 3,0 mL koncentrirane octene kiseline i 3,0 mL bromovodične kiseline (47 %) grijana je 25 minuta na 150 °C u mikrovalnom reaktoru, uz snagu mikrovalova 150 W. Reakcijska smjesa razrijeđena je vodom (30 mL), zaljučena do pH 11 s 5 % otopinom NaOH, te ekstrahirana etil-acetatom (3 × 30 mL). Organski sloj ispran je vodom (2 × 20 mL), te sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran, a otapalo uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom. Čisti produkt **1** dobiven je rastrljavanjem dietil-eterom.

Iskorištenje: 0,122 g (87 %)

3.2. Sinteza tert-butil(2-((1-metil-9H-pirido[3,4-b]indol-7-il)oksi)etil)karbamata (2)

Suspencija 0,257 g (1,298 mmol) harmola **1** i 0,571 g (1,752 mmol) cezijeveg karbonata u 2 mL DMF-a miješana je 15 minuta na sobnoj temperaturi u inertnoj atmosferi argona, nakon čega je dodano 0,727 g (3,245 mmol) 2-(Boc-amino)etil bromida. Dobivena reakcijska smjesa zagrijavana je 4 sata na 110 °C. Reakcijska smjesa razrijeđena je vodom (30 mL), a vodeni sloj ekstrahiran je etil-acetatom (3 × 30 mL). Sakupljeni organski slojevi prani su vodom (2 × 20 mL). Organski sloj sušen je nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran, a otapalo uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom. Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na koloni uz diklormetan/metanol (8:1). Čisti produkt **2** dobiven je rastrljavanjem dietil-eterom.

Iskorištenje: 0,278 g (63 %)

t_r 189,7-190,4 °C.

ESI-MS m/z 342,3 (M+1)⁺.

IR (KBr): ν_{\max} 3380, 3134, 3052, 2978, 2944, 2872, 2764, 2584, 2406, 1692, 1634, 1568, 1530, 1480, 1448, 1394, 1368, 1334, 1296, 1262, 1174, 1114, 1052, 1010, 964, 872, 846, 788, 720, 686, 634, 604, 524 cm⁻¹.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm, J /Hz): 11,42 (s, 1H, 1), 8,15 (d, 1H, 10, $J = 5,3$), 8,05 (d, 1H, 6, $J = 8,6$), 7,81 (d, 1H, 9, $J = 5,3$), 7,06 (t, 1H, 16, $J = 5,4$), 7,00 (d, 1H, 3, $J = 2,1$), 6,85 (dd, 1H, 5, $J = 8,7, 2,2$), 4,08 (t, 2H, 14, $J = 5,8$), 3,43 – 3,31 (m, 2H, 15), 2,73 (s, 3H, 13), 1,40 (s, 9H, 19-21).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 159,21 (17), 155,72 (4), 141,91 (11), 141,20 (2), 137,58 (10), 134,54 (12), 127,25 (8), 122,65 (6), 114,95 (7), 111,95 (9), 109,13 (5), 95,38 (3), 77,79 (18), 66,65 (14), 40,90 (15), 28,22 (19-21), 20,25 (13).

3.3. Sinteza 2-((1-metil-9H-pirido[3,4-b]indol-7-il)oksi)etan-1-amina (3)

Otopina 0,158 g (0,463 mmol) spoja **2** i 0,926 mL 4 M HCl (3,704 mmol) u 4 mL metanola miješana je dva sata na 60 °C. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a ostatak nakon uparavanja otopljen u vodi. Dobivena otopina zaluzena je 5 % otopinom NaOH do pH 10 te ekstrahirana etil-acetatom (5 × 30 mL). Spojeni organski slojevi prani su vodom (2 × 20 mL), sušeni je nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltrirani, a otapalo uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom. Čisti produkt **3** dobiven je rastrljavanjem dietil-eterom.

Iskorištenje: 0,079 g (71 %)

t_f 172,4-173,1°C.

ESI-MS m/z 242,2 (M+1)⁺.

IR (KBr): ν_{\max} 3332, 3250, 3156, 3068, 2930, 2864, 2774, 2372, 1628, 1568, 1486, 1444, 1326, 1284, 1238, 1180, 1104, 1028, 996, 908, 860, 812, 636, 590 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): 11,40 (s, 1H, 1), 8,15 (d, 1H, 10, $J = 5,3$), 8,04 (d, 1H, 6, $J = 8,6$), 7,79 (d, 1H, 9, $J = 5,37$), 01 (d, 1H, 3, $J = 2,1$), 6,85 (dd, 1H, 5, $J = 8,6, 2,2$), 4,03 (t, 2H, 14, $J = 5,7$), 2,95 (t, 2H, 15, $J = 5,7$), 2,72 (s, 3H, 13).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 159,47 (4), 141,90 (11), 141,23 (2), 137,73 (10), 134,53 (12), 127,19 (8), 122,57 (6), 114,82 (7), 111,89 (9), 109,37 (5), 95,27 (3), 70,46 (14), 41,02 (15), 20,32 (13).

3.4. Sinteza amidnih derivata cimetine kiseline i harmina (4)

Opći postupak: Suspenzija CAD (0,202 mmol), 0,070 mL DIEA (0,404 mmol) i 0,077 g HATU (0,202 mmol) u diklormetanu (4 mL) miješana je 15 minuta na sobnoj temperaturi. Zatim je dodano 0,054 g amina **3** (0,222 mmol), nakon čega je reakcijska smjesa miješana na sobnoj temperaturi 1 h. Nastali talog je odsisan, te ispran diklormetanom. Dobiveni sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na koloni, te rastrljan dietil-eterom.

3.4.1. *N*-(2-((1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-7-il)oksi)etil)cinamid (4a)

Količina reaktanta: 0,030 g *trans*-cimetne kiseline.

Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu diklormetan/metanol (8:1).

Iskorištenje: 0,045 g (60 %).

t_r 151,6 °C (raspad).

ESI-MS m/z 372,2 (M+1)⁺.

IR (KBr): ν_{\max} 3424, 3220, 3060, 2972, 2932, 2874, 2768, 2372, 1720, 1574, 1544, 1486, 1450, 1392, 1332, 1280, 1234, 1174, 1110, 1056, 974, 812, 764, 684, 596, 528 cm⁻¹.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm, J /Hz): 11,66 (s, 1H, 1), 8,47 (t, 1H, 16, $J = 5,3$), 8,19 (d, 1H, 10, $J = 5,4$), 8,11 (d, 1H, 6, $J = 8,7$ Hz), 7,90 (d, 1H, 9, $J = 5,4$), 7,57 (d, 2H, 21, 25, $J = 7,0$), 7,48 (d, 1H, 19, $J = 15,8$), 7,44 – 7,35 (m, 3H, 22, 23, 24), 7,07 (d, 1H, 3, $J = 1,8$), 6,91 (dd, 1H, 5, $J = 8,7, 2,0$), 6,73 (d, 1H, 18, $J = 15,8$), 4,20 (t, 2H, 14, $J = 5,4$), 3,65 (dd, 2H, 15, $J = 10,7, 5,3$), 2,77 (s, 3H, 13).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm): 165,29 (17), 159,92 (4), 142,38 (11), 140,70 (2), 138,87 (19), 136,37 (10), 134,87 (12), 134,45 (20), 129,46 (23), 128,92 (22, 24), 127,89 (8), 127,52 (21, 25), 122,95 (6), 122,02 (18), 114,84 (7), 112,25 (9), 109,80 (5), 95,39 (3), 66,68 (14), 38,51 (15), 19,66 (13).

3.4.2. (*E*)-2-metil-*N*-(2-((1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-7-il)oksi)etil)-3-fenilakrilamid (4b)

Količina reaktanta: 0,034 g α -metilcimetne kiseline.

Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu diklormetan/metanol (85:15).

Iskorištenje: 0,049 g (61 %).

t_r 221,5-222,3 °C.

ESI-MS m/z 386,3 (M+1)⁺.

IR (KBr): ν_{\max} 3432, 3202, 3024, 2940, 2880, 2370, 2342, 1720, 1630, 1570, 1538, 1484, 1446, 1324, 1276, 1236, 1174, 1106, 1068, 972, 926, 850, 814, 760, 698, 662, 634, 588, 516 cm⁻¹.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm, J /Hz): 11,52 (s, 1H, 1), 8,33 (s, 1H, 16), 8,17 (d, 1H, 10, $J = 5,2$), 8,09 (d, 1H, 6, $J = 8,6$), 7,85 (d, 1H, 9, $J = 5,1$), 7,43 – 7,29 (m, 5H, 21-25), 7,26 (s, 1H,

19), 7,07 (s, 1H, 3), 6,90 (d, 1H, 5, $J = 8,4$), 4,22 (t, 2H, 14, $J = 5,2$), 3,63 (d, 2H, 15, $J = 5,3$), 2,75 (s, 3H, 13), 2,04 (s, 3H, 26).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 169,15 (17), 159,42 (4), 142,12 (11), 141,01 (2), 137,10 (19), 136,02 (12), 134,52 (20), 132,50 (10), 132,28 (18), 129,21 (22, 24), 128,40 (21, 25), 127,70 (23), 127,53 (8), 122,79 (6), 114,93 (7), 112,08 (9), 109,56 (5), 95,47 (3), 66,28 (14), 38,89 (15), 20,03 (13), 14,29 (26).

3.4.3. (*E*)-3-(4-metoksifenil)-*N*-(2-((1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-7-il)oksi)etil)akrilamid (4c)

Količina reaktanta: 0,035 g *p*-metoksicimetne kiseline.

Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu diklormetan/metanol (85:15).

Iskorištenje: 0,050 g (63 %).

t_r 191,0-194,3 °C.

ESI-MS m/z 402,2 ($M+1$)⁺.

IR (KBr): ν_{\max} 3430, 3258, 3070, 2938, 2842, 2770, 2368, 1720, 1628, 1602, 1546, 1514, 1486, 1450, 1328, 1280, 1258, 1174, 1108, 1060, 1030, 984, 872, 828, 744, 714, 674, 588, 554, 518 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): 11,46 (s, 1H, 1), 8,35 (t, 1H, 16, $J = 5,5$), 8,16 (d, 1H, 10, $J = 5,3$), 8,07 (d, 1H, 6, $J = 8,7$), 7,83 (d, 1H, 9, $J = 5,3$), 7,52 (d, 2H, 21, 25, $J = 8,8$), 7,43 (d, 1H, 19, $J = 15,8$), 7,05 (d, 1H, 3, $J = 2,1$), 6,98 (d, 2H, 22, 24, $J = 8,8$), 6,89 (dd, 1H, 5, $J = 8,7, 2,2$), 6,58 (d, 1H, 18, $J = 15,8$), 4,18 (t, 2H, 14, $J = 5,5$), 3,79 (s, 3H, 26), 3,64 (q, 2H, 15, $J = 5,4$), 2,73 (s, 3H, 13). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 165,60 (17), 160,33 (23), 159,23 (4), 141,96 (11), 141,18 (2), 138,58 (19), 137,48 (10), 134,54 (12), 129,10 (21, 25), 127,43 (20), 127,31 (8), 122,71 (6), 119,52 (18), 114,99 (7), 114,38 (22, 24), 112,00 (9), 109,41 (5), 95,41 (3), 66,70 (14), 55,24 (26), 38,50 (15), 20,21 (13).

3.4.4. (*E*)-3-(2-fluorofenil)-*N*-(2-((1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-7-il)oksi)etil)akrilamid (4d)

Količina reaktanta: 0,033 g *o*-fluorcimetne kiseline.

Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu diklormetan/metanol (85:15).

Iskorištenje: 0,059 g (77 %).

t_r 241,6 °C.

ESI-MS m/z 390,3 (M+1)⁺.

IR (KBr): ν_{\max} 3252, 3066, 2942, 2864, 2818, 1668, 1630, 1576, 1486, 1454, 1344, 1278, 1234, 1180, 1100, 1060, 1022, 964, 850, 810, 750, 676, 626, 594, 516 cm⁻¹.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm, J /Hz): 11,47 (s, 1H, 1), 8,60 (t, 1H, 16, $J = 5,4$), 8,15 (d, 1H, 10, $J = 5,3$), 8,07 (d, 1H, 6, $J = 8,6$), 7,81 (d, 1H, 9, $J = 5,3$), 7,67 (dd, 1H, 22, $J = 7,9, 6,6$), 7,55 (d, 1H, 19, $J = 16,0$), 7,48 – 7,39 (m, 1H, 23), 7,28 (dd, 2H, 24, 25, $J = 15,7, 8,3$), 7,06 (d, 1H, 3, $J = 2,0$), 6,88 (dd, 1H, 5, $J = 8,7, 2,1$), 6,84 (d, 1H, 18, $J = 16,0$), 4,19 (t, 2H, 14, $J = 5,4$), 3,65 (q, 2H, 15, $J = 5,4$), 2,73 (s, 3H, 13).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm): δ 165,05 (17), 160,45 (d, 21, $J = 250,4$), 159,12 (4), 141,87 (11), 141,31 (2), 137,72 (19), 134,57 (12), 131,35 (6), 131, 23 (10), 129,09 (23), 127,15 (8), 124,97 (25), 124,85 (d, 24, $J = 5,9$), 122,65 (18), 122,49 (d, 20, $J = 11,5$), 116,08 (d, 22, $J = 21,8$ Hz), 115,03 (7), 111,93 (9), 109,30 (5), 95,44 (3), 66,57 (14), 38,61 (15), 20,35 (13).

3.4.5. (*E*)-3-(3-fluorofenil)-*N*-(2-((1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-7-il)oksi)etil)akrilamid (4e)

Količina reaktanta: 0,033 g *m*-fluorcimetne kiseline.

Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu diklormetan/metanol (85:15).

Iskorištenje: 0,051 g (67 %).

t_r 209,7-212,9 °C.

ESI-MS m/z 390,2 (M+1)⁺.

IR (KBr): ν_{\max} 3256, 3070, 2940, 2866, 2812, 2370, 1872, 1778, 1720, 1670, 1630, 1580, 1486, 1444, 1344, 1250, 1178, 1110, 1060, 1028, 964, 852, 784, 670, 624, 594, 528 cm⁻¹.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm, J /Hz): 11,47 (s, 1H, 1), 8,47 (t, 1H, 16, $J = 5,5$), 8,16 (d, 1H, 10, $J = 5,3$), 8,08 (d, 1H, 6, $J = 8,7$), 7,83 (d, 1H, 9, $J = 5,3$), 7,48 (d, 1H, 19, $J = 10,4$), 7,46 – 7,39 (m, 3H, 21, 23, 25), 7,21 (ddd, 1H, 24, $J = 9,9, 3,9, 2,0$), 7,05 (d, 1H, 3, $J = 2,1$), 6,89 (dd, 1H, 5, $J = 8,7, 2,2$), 6,77 (d, 1H, 18, $J = 15,8$), 4,19 (t, 2H, 14, $J = 5,4$), 3,65 (q, 2H, 15, $J = 5,4$), 2,74 (s, 3H, 13).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm): 165,00 (17), 162,44 ($J = 243,8$ Hz, 22), 159,22 (4), 141,97 (11), 141,16 (2), 137,59 (19), 137,47 (20), 137,42 (10), 134,54 (12), 130,88 ($J = 8,4$, 25), 127,33 (8), 123,65 (25), 123,60 (6), 122,72 (18), 116,12 ($J = 21,3$, 23), 115,00 (7), 113,92 ($J = 21,8$, 21), 112,01 (9), 109,42 (5), 95,42 (3), 66,62 (14), 38,58 (15), 20,17 (13).

3.4.6. (E)-3-(4-fluorofenil)-N-(2-((1-metil-9H-pirido[3,4-b]indol-7-il)oksi)etil)akrilamid (4f)

Količina reaktanta: 0,033 g *p*-fluorcimetne kiseline.

Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu diklormetan/metanol (85:15).

Iskorištenje: 0,056 g (73 %).

t_r 199,9-200,3 °C.

ESI-MS m/z 390,3 (M+1)⁺.

IR (KBr): ν_{max} 3430, 3248, 3072, 2940, 2860, 2810, 2366, 1720, 1668, 1630, 1576, 1508, 1456, 1342, 1278, 1230, 1178, 1110, 1060, 1030, 964, 876, 818, 796, 740, 714, 674, 626, 594, 506 cm⁻¹.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm, J /Hz): 11,47 (s, 1H, 1), 8,44 (t, 1H, 16, $J = 5,5$), 8,16 (d, 1H, 10, $J = 5,3$), 8,08 (d, 1H, 6, $J = 8,7$), 7,83 (d, 1H, 9, $J = 5,3$), 7,67 – 7,59 (m, 2H, 21, 25), 7,48 (d, 1H, 19, $J = 15,8$), 7,32 – 7,19 (m, 2H, 22, 24), 7,05 (d, 1H, 3, $J = 2,1$), 6,89 (dd, 1H, 5, $J = 8,7, 2,2$), 6,68 (d, 1H, 18, $J = 15,8$), 4,19 (t, 2H, 14, $J = 5,5$), 3,65 (q, 2H, 15, $J = 5,4$), 2,74 (s, 3H, 13).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm): 165,23 (17), 162,69 (d, 23, $J = 247,1$), 159,23 (4), 141,98 (11), 141,16 (2), 137,69 (19), 137,43 (10), 134,54 (12), 131,51 (d, 20, $J = 2,7$ Hz), 129,68 (d, 21, 25, $J = 8,4$), 127,34 (8), 122,73 (6), 121,92 (18), 115,90 (d, 22, 24, $J = 21,7$), 114,99 (7), 112,01 (9), 109,43 (5), 95,42 (3), 66,66 (14), 38,55 (15), 20,18 (13).

3.4.7. (E)-3-(4-klorofenil)-N-(2-((1-metil-9H-pirido[3,4-b]indol-7-il)oksi)etil)akrilamid (4g)

Količina reaktanta: 0,034 g *p*-klorcimetne kiseline.

Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te uz pokretnu fazu diklormetan/metanol (85:15).

Iskorištenje: 0,048 g (64 %).

t_r 230,2-234,5 °C.

ESI-MS m/z 406,2 (M+1)⁺.

IR (KBr): ν_{max} 3268, 3044, 2940, 2880, 2774, 2372, 1720, 1662, 1626, 1562, 1488, 1450, 1330, 1284, 1234, 1168, 1102, 982, 874, 820, 688, 654, 588, 526 cm⁻¹.

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): 11,68 (s, 1H, 1), 8,49 (t, 1H, 16, $J = 5,5$), 8,19 (d, 1H, 10, $J = 5,5$), 8,11 (d, 1H, 6, $J = 8,7$), 7,91 (d, 1H, 9, $J = 5,4$), 7,60 (d, 2H, 22, 24, $J = 8,5$), 7,51 – 7,37 (m, 3H, 19, 21, 25), 7,07 (d, 1H, 3, $J = 2,1$), 6,91 (dd, 1H, 5, $J = 8,7, 2,2$), 6,74 (d, 1H, 18, $J = 15,8$), 4,20 (t, 2H, 14, $J = 5,4$), 3,65 (q, 2H, 15, $J = 5,4$), 2,77 (s, 3H, 13).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 165,09 (17), 159,53 (4), 142,40 (11), 140,66 (2), 137,51 (19), 136,29 (10), 134,44 (12), 133,87 (23), 133,74 (20), 129,22 (22, 24), 128,95 (21, 25), 127,92 (8), 122,96 (6), 122,83 (18), 114,84 (7), 112,26 (9), 109,81 (5), 95,38 (3), 66,66 (14), 38,53 (15), 19,63 (13).

3.4.8. (*E*)-3-(3-bromofenil)-*N*-(2-((1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-7-il)oksi)etil)akrilamid (4h)

Količina reaktanta: 0,034g *m*-bromocimetne kiseline.

Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu diklormetan/metanol (85:15).

Iskorištenje: 0,032 g (48 %).

t_r 134,8-137,6 °C.

ESI-MS m/z 450,1 ($M+1$) $^+$.

IR (KBr): ν_{max} 3424, 3206, 3056, 2932, 2872, 2774, 2374, 1720, 1664, 1630, 1572, 1480, 1450, 1336, 1282, 1234, 1168, 1110, 1054, 972, 846, 786, 738, 668, 634, 600 cm^{-1} .

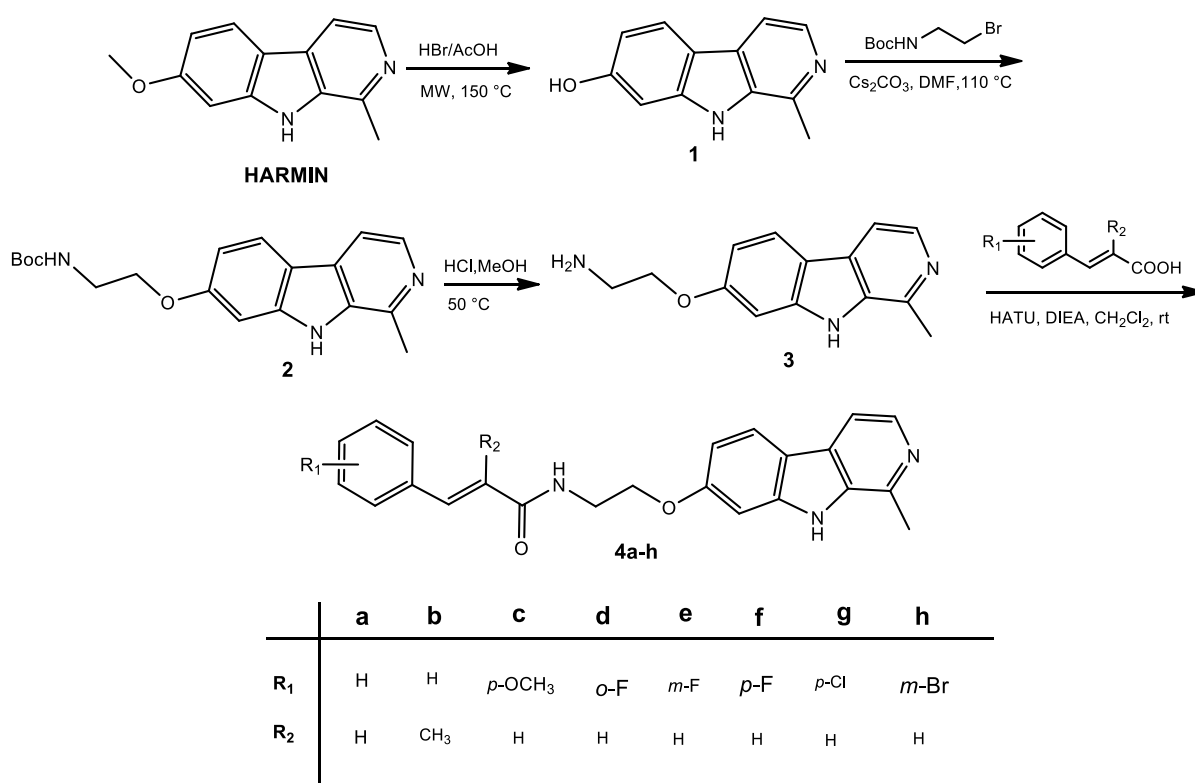
^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): 11,48 (s, 1H, 1), 8,44 (t, 1H, 16, $J = 5,5$), 8,16 (d, 1H, 10, $J = 5,3$), 8,08 (d, 1H, 6, $J = 8,7$), 7,83 (d, 1H, 9, $J = 5,3$), 7,78 (d, 1H, 23, $J = 1,6$), 7,61 – 7,54 (m, 2H, 21, 25), 7,45 (d, 1H, 19, $J = 15,8$), 7,38 (t, 1H, 24, $J = 7,9$), 7,05 (d, 1H, 3, $J = 2,1$), 6,89 (dd, 1H, 5, $J = 8,7, 2,2$), 6,78 (d, 1H, 18, $J = 15,8$), 4,19 (t, 2H, 14, $J = 5,4$), 3,65 (q, 2H, 15, $J = 5,4$), 2,74 (s, 3H, 13).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 164,92 (17), 159,21 (4), 141,97 (11), 141,14 (2), 137,47 (20), 137,39 (19), 137,22 (10), 134,53 (12), 131,97 (21), 131,01 (23), 130,04 (24), 127,34 (8), 126,40 (25), 123,72 (6), 122,72 (18), 122,24 (22), 114,99 (7), 112,01 (9), 109,42 (5), 95,42 (3), 66,62 (14), 38,57 (15), 20,16 (13).

4. REZULTATI I RASPRAVA

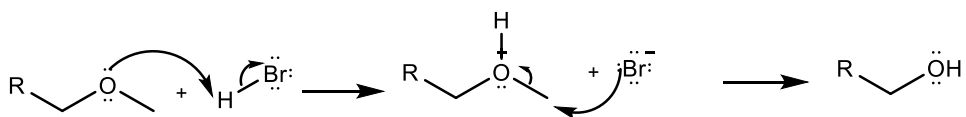
Cilj ovog rada bila je sinteza novih hibrida harmina i derivata cimetne kiseline s potencijalnim antimalarijskim djelovanjem. Harmin je prirodni β -karbolinski alkaloid dokazanog antimalarijskog djelovanja. Pretpostavljeni mehanizam djelovanja harmina je inhibicija PfHsp90 [13]. Cimetna kiselina (3-fenilprop-2-enska kiselina) i njeni derivati spojevi su široko rasprostranjeni u biljnom svijetu. Mnoga znanstvena istraživanja dokazala su široki spektar njihovog biološkog djelovanja, uključujući antimalarijsko djelovanje [15, 35-42].

U ovom radu opisana je sinteza 8 novih amidnih derivata harmina i cimetne kiseline **4a-h** (Shema 1).



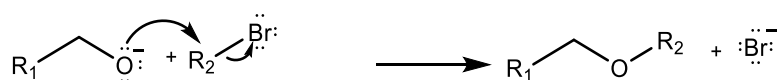
Shema 1. Sinteza spojeva **4a-h**.

Početni spoj u sintezi željenih produkata **4a-h** bio je harmin, koji je u prvom koraku preveden u harmol (**1**), odnosno eter u položaju 7 β -karbolinskog prstena harmina hidroliziran je u kiselim uvjetima (HBr/CH₃COOH). Reakcija je provedena u mikrovalnom reaktoru, tijekom 25 minuta na 150 °C. Kisela hidroliza etera odvija se prema mehanizmu prikazanom na Shemi 2, u dva koraka. Prvo dolazi do protoniranja kisika etera, pri čemu kisik dobiva pozitivan naboj, a zatim se odvija nukleofilna supstitucija S_N2.



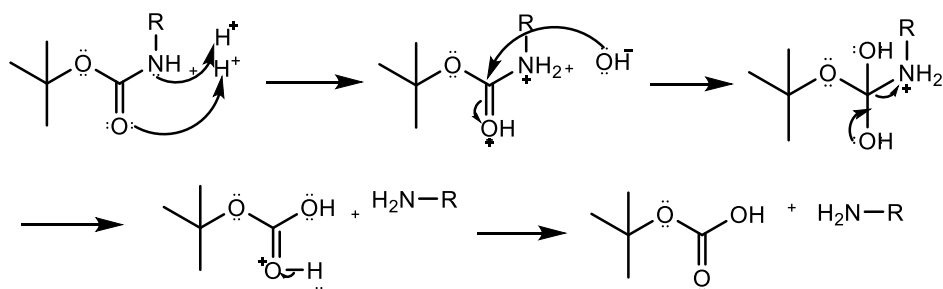
Shema 2. Mehanizam kisele hidrolize etera.

O-alkilirani produkt **2** dobiven je u reakciji s 2-(Boc-amino)etil bromidom u bazičnim uvjetima (Cs_2CO_3) u DMF-u, a reakcija je provedena kroz 4 h na 110 °C. Reakcijski uvjeti su analogni uvjetima Williamsonove sinteze etera, a mehanizam sinteze prikazan je na Shemi 3. Alkoksid, nastao prethodnom deprotonacijom alkohola, izvrstan je nukleofil te dolazi do nukleofilne supstitucije drugog reda s 2-metil-2-propanil (2-bromoetil)karbamatom (R_2).



Shema 3. Mehanizam Williamsonove sinteze etera.

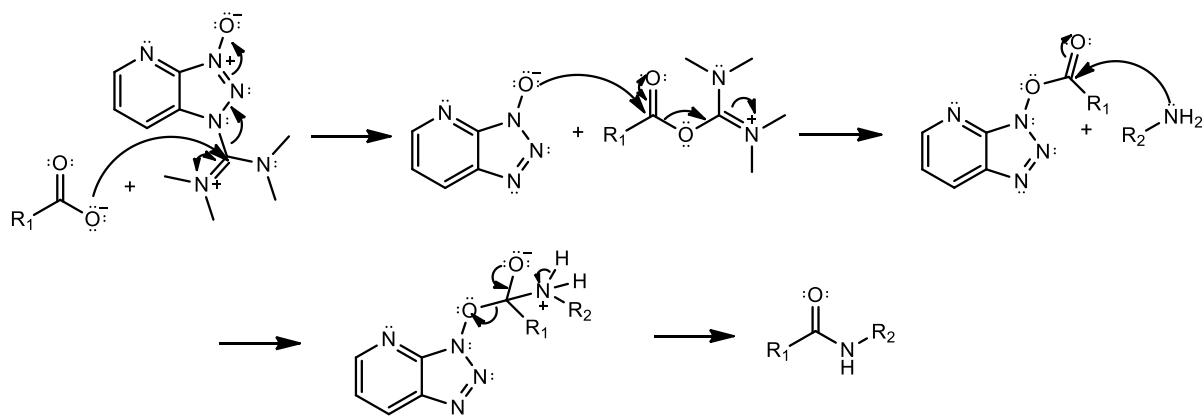
U idućem reakcijskom koraku *tert*-butiloksikarbonilna zaštitna skupina primarne amino skupine produkta **2** uklonjena je u kiselim uvjetima (HCl/MeOH) te je dobiven primarni amin **3**. Mehanizam skidanja zaštitne skupine prikazan je na Shemi 4.



Shema 4. Mehanizam uklanjanja Boc zaštitne skupine u kiselim uvjetima.

U posljednjem koraku u reakcijskom nizu pripravljeni su amidi **4a-h**, hibridi spoja **3** i derivata cimetine kiseline korištenjem *coupling* reagensa u bazičnim uvjetima (HATU/DIEA). Amid se sintetizira predaktivacijom karboksilne kiseline s HATU *coupling* reagensom. Hidroksilna skupina karboksilne kiseline u bazičnim uvjetima je deprotonirana, te nukleofilno koji napada gvanidijevu skupinu *coupling* reagensa (HATU). Negativno nabijen

kisik oksima, koji nastaje nakon odcjepljenja gvanidijeve skupine, djeluje kao nukleofil koji napada elektrofilni karboksilni ugljikov atom, pri čemu izlazi *N,N,N',N'*-tetrametilurea i nastaje aktivni ester. Dušik iz amina djeluje kao nukleofil te napada elektrofilni karboksilni ugljikov atom. Nastali kvarterni međuprodukt nestabilan je te izlazi esterska skupina oksima. Mehanizam je prikazan na Shemi 5.



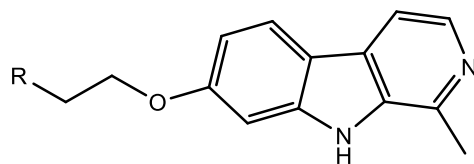
Shema 5. Shematski prikaz sinteze amida pomoću HATU-a

Pripremljeni su i karakterizirani sljedeći novi spojevi koji do sada nisu opisani u literaturi:

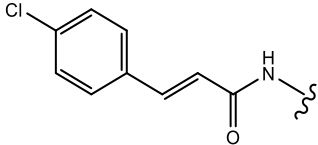
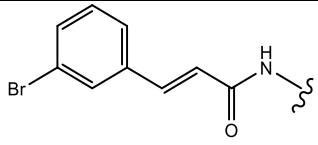
- *N*-(2-((1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-7-il)oksi)etil)cinamid (**4a**)
- (*E*)-2-metil-*N*-(2-((1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-7-il)oksi)etil)-3-fenilakrilamid (**4b**)
- (*E*)-3-(4-metoksifenil)-*N*-(2-((1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-7-il)oksi)etil)akrilamid (**4c**)
- (*E*)-3-(2-fluorofenil)-*N*-(2-((1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-7-il)oksi)etil)akrilamid (**4d**)
- (*E*)-3-(3-fluorofenil)-*N*-(2-((1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-7-il)oksi)etil)akrilamid (**4e**)
- (*E*)-3-(4-fluorofenil)-*N*-(2-((1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-7-il)oksi)etil)akrilamid (**4f**)
- (*E*)-3-(4-klorofenil)-*N*-(2-((1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-7-il)oksi)etil)akrilamid (**4g**)
- (*E*)-3-(3-bromofenil)-*N*-(2-((1-metil-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol-7-il)oksi)etil)akrilamid (**4h**).

Svi sintetizirani spojevi su pročišćeni kromatografijom na koloni, prekrystalizirani i dobiveni u srednjim do visokim iskorištenjima (48-77%). Strukture novih spojeva potvrđene su uobičajenim analitičkim i spektroskopskim metodama (^1H i ^{13}C NMR, IR, MS). U Tablicama 1 i 2 dani su njihovi analitički i spektroskopski podatci, dok se spektri nalaze u Prilogu.

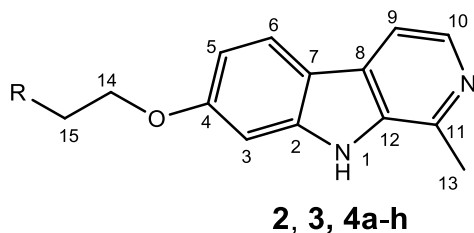
Tablica 1. Analitički i MS podaci za novosintetizirane spojeve (**2**, **3**) i amidne derivate harmina i CAD-a (**4a-h**).



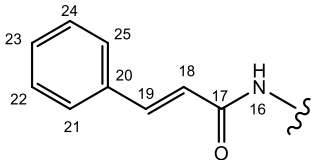
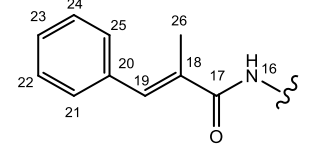
Spoj	R	Iskorištenje (%)	t_r (°C)	Molekulska formula	M_r	ESI-MS (m/z)
2		63	189,7- 190,4	C ₁₉ H ₂₃ N ₃ O ₃	341,17	342,3 (M+1) ⁺
3		71	172,4- 173,1	C ₁₄ H ₁₅ N ₃ O	241,12	242,2 (M+1) ⁺
4a		60	151,6 (raspad)	C ₂₃ H ₂₁ N ₃ O ₂	371,16	372,2 (M+1) ⁺
4b		61	221,5- 222,3	C ₂₄ H ₂₃ N ₃ O ₂	385,18	386,3 (M+1) ⁺
4c		63	191,0- 194,3	C ₂₄ H ₂₃ N ₃ O ₃	401,17	402,2 (M+1) ⁺
4d		77	241,6 (raspad)	C ₂₃ H ₂₀ FN ₃ O ₂	389,15	390,3 (M+1) ⁺
4e		67	209,7- 212,9	C ₂₃ H ₂₀ FN ₃ O ₂	389,15	390,2 (M+1) ⁺
4f		73	199,9- 200,3	C ₂₃ H ₂₀ FN ₃ O ₂	389,15	390,3 (M+1) ⁺

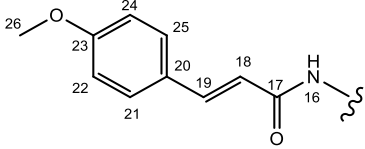
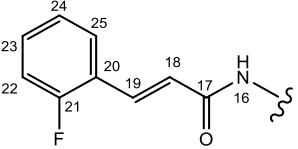
4g		64	230,2- 234,5	$C_{23}H_{20}ClN_3O_2$	405,12	406,2 (M+1) ⁺
4h		48	134,8- 137,6	$C_{23}H_{20}BrN_3O_2$	449,07	450,1 (M+1) ⁺

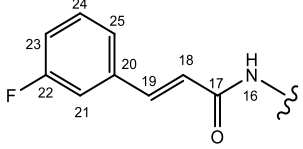
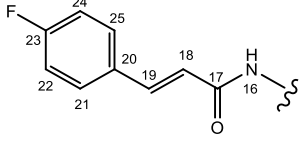
Tablica 2. IR, ¹H i ¹³C NMR spektroskopski podatki novosintetizirane spojeve **2** i **3**, te amide **4a-h**.

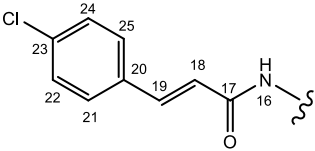
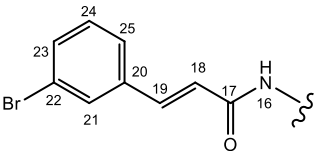


Spoj	R	IR (KBr) ν_{\max} (cm ⁻¹)	¹ H NMR	¹³ C NMR
			(DMSO- <i>d</i> ₆ , δ ppm, <i>J</i> /Hz)	(DMSO- <i>d</i> ₆ , δ ppm, <i>J</i> /Hz)
2		3380, 3134, 3052, 2978, 2944, 2872, 2764, 2584, 2406, 1692, 1634, 1568, 1530, 1480, 1448, 1394, 1368, 1334, 1296, 1262, 1174, 1114, 1052, 1010, 964, 872, 846, 788, 720, 686, 634, 604, 524	11,42 (s, 1H, 1), 8.15 (d, 1H, 10, <i>J</i> = 5,3), 8.05 (d, 1H, 6, <i>J</i> = 8,6), 7,81 (d, 1H, 9, <i>J</i> = 5,3), 7,06 (t, 1H, 16, <i>J</i> = 5,4), 7,00 (d, 1H, 3, <i>J</i> = 2,1), 6,85 (dd, 1H, 5 , <i>J</i> = 8,7, 2,2), 4,08 (t, 2H, 14, <i>J</i> = 5,8), 3,43 – 3,31 (m, 2H, 15), 2,73 (s, 3H, 13), 1,40 (s, 9H, 19-21)	159,21 (17), 155,72 (4), 141,91 (11), 141,20 (2), 137,58 (10), 134,54 (12), 127,25 (8), 122,65 (6), 114,95 (7), 111,95 (9), 109,13 (5), 95,38 (3), 77,79 (18), 66,65 (14), 40,90 (15), 28,22 (19- 21), 20,25 (13)
3^a		3332, 3250, 3156, 3068, 2930, 2864, 2774, 2372, 1628, 1568, 1486, 1444, 1326, 1284, 1238, 1180, 1104, 1028, 996, 908, 860, 812, 636, 590	11,40 (s, 1H, 1), 8,15 (d, 1H, 10, <i>J</i> = 5,3), 8,04 (d, 1H, 6, <i>J</i> = 8,6), 7,79 (d, 1H, 9, <i>J</i> = 5,37), 7,01 (d, 1H, 3, <i>J</i> = 2,1), 6,85 (dd, 1H, 5, <i>J</i> = 8,6, 2,2), 4,03 (t, 2H, 14, <i>J</i> = 5,7), 2,95 (t, 2H, 15, <i>J</i> = 5,7), 2,72 (s, 3H, 13)	159,47 (4), 141,90 (11), 141,23 (2), 137,73 (10), 134,53 (12), 127,19 (8), 122,57 (6), 114,82 (7), 111,89 (9), 109,37 (5), 95,27 (3), 70,46 (14), 41,02 (15), 20,32 (13)

<p>4a</p> 	<p>3424, 3220, 3060, 2972, 2932, 2874, 2768, 2372, 1720, 1574, 1544, 1486, 1450, 1392, 1332, 1280, 1234, 1174, 1110, 1056, 974, 812, 764, 684, 596, 528</p>	<p>11,66 (s, 1H, 1), 8,47 (t, 1H, 16, $J = 5,3$), 8,19 (d, 1H, 10, $J = 5,4$), 8,11 (d, 1H, 6, $J = 8,7$ Hz), 7,90 (d, 1H, 9, $J = 5,4$), 7,57 (d, 2H, 21, 25, $J = 7,0$), 7,48 (d, 1H, 19, $J = 15,8$), 7,44 – 7,35 (m, 3H, 22, 23, 24), 7,07 (d, 1H, 3, $J = 1,8$), 6,91 (dd, 1H, 5, $J = 8,7, 2,0$), 6,73 (d, 1H, 18, $J = 15,8$), 4,20 (t, 2H, 14, $J = 5,4$), 3,65 (dd, 2H, 15, $J = 10,7, 5,3$), 2,77 (s, 3H, 13)</p>	<p>165,29 (17), 159,92 (4), 142,38 (11), 140,70 (2), 138,87 (19), 136,37 (10), 134,87 (12), 134,45 (20), 129,46 (23), 128,92 (22, 24), 127,89 (8), 127,52 (21, 25), 122,95 (6), 122,02 (18), 114,84 (7), 112,25 (9), 109,80 (5), 95,39 (3), 66,68 (14), 38,51 (15), 19,66 (13)</p>
<p>4b</p> 	<p>3432, 3202, 3024, 2940, 2880, 2370, 2342, 1720, 1630, 1570, 1538, 1484, 1446, 1324, 1276, 1236, 1174, 1106, 1068, 972, 926, 850, 814, 760, 698, 662, 634, 588, 516</p>	<p>11,52 (s, 1H, 1), 8,33 (s, 1H, 16), 8,17 (d, 1H, 10, $J = 5,2$), 8,09 (d, 1H, 6, $J = 8,6$), 7,85 (d, 1H, 9, $J = 5,1$), 7,43 – 7,29 (m, 5H, 21-25), 7,26 (s, 1H, 19), 7,07 (s, 1H, 3), 6,90 (d, 1H, 5, $J = 8,4$), 4,22 (t, 2H, 14, $J = 5,2$), 3,63 (d, 2H, 15, $J = 5,3$), 2,75 (s, 3H, 13), 2,04 (s, 3H, 26)</p>	<p>169,15 (17), 159,42 (4), 142,12 (11), 141,01 (2), 137,10 (19), 136,02 (12), 134,52 (20), 132,50 (10), 132,28 (18), 129,21 (22, 24), 128,40 (21, 25), 127,70 (23), 127,53 (8), 122,79 (6), 114,93 (7), 112,08 (9), 109,56 (5), 95,47 (3), 66,28 (14), 38,89 (15), 20,03 (13), 14,29 (26)</p>

<p>4c</p> 	<p>3430, 3258, 3070, 2938, 2842, 2770, 2368, 1720, 1628, 1602, 1546, 1514, 1486, 1450, 1328, 1280, 1258, 1174, 1108, 1060, 1030, 984, 872, 828, 744, 714, 674, 588, 554, 518</p>	<p>11,46 (s, 1H, 1), 8,35 (t, 1H, 16, $J = 5,5$), 8,16 (d, 1H, 10, $J = 5,3$), 8,07 (d, 1H, 6, $J = 8,7$), 7,83 (d, 1H, 9, $J = 5,3$), 7,52 (d, 2H, 21, 25, $J = 8,8$), 7,43 (d, 1H, 19, $J = 15,8$), 7,05 (d, 1H, 3, $J = 2,1$), 6,98 (d, 2H, 22, 24, $J = 8,8$), 6,89 (dd, 1H, 5, $J = 8,7, 2,2$), 6,58 (d, 1H, 18, $J = 15,8$), 4,18 (t, 2H, 14, $J = 5,5$), 3,79 (s, 3H, 26), 3,64 (q, 2H, 15, $J = 5,4$), 2,73 (s, 3H, 13)</p>	<p>165,60 (17), 160,33 (23), 159,23 (4), 141,96 (11), 141,18 (2), 138,58 (19), 137,48 (10), 134,54 (12), 129,10 (21, 25), 127,43 (20), 127,31 (8), 122,71 (6), 119,52 (18), 114,99 (7), 114,38 (22, 24), 112,00 (9), 109,41 (5), 95,41 (3), 66,70 (14), 55,24 (26), 38,50 (15), 20,21 (13)</p>
<p>4d</p> 	<p>3252, 3066, 2942, 2864, 2818, 1668, 1630, 1576, 1486, 1454, 1344, 1278, 1234, 1180, 1100, 1060, 1022, 964, 850, 810, 750, 676, 626, 594, 516</p>	<p>11,47 (s, 1H, 1), 8,60 (t, 1H, 16, $J = 5,4$), 8,15 (d, 1H, 10, $J = 5,3$), 8,07 (d, 1H, 6, $J = 8,6$), 7,81 (d, 1H, 9, $J = 5,3$), 7,67 (dd, 1H, 22, $J = 7,9, 6,6$), 7,55 (d, 1H, 19, $J = 16,0$), 7,48 – 7,39 (m, 1H, 23), 7,28 (dd, 2H, 24, 25, $J = 15,7, 8,3$), 7,06 (d, 1H, 3, $J = 2,0$), 6,88 (dd, 1H, 5, $J = 8,7, 2,1$), 6,84 (d, 1H, 18, $J = 16,0$), 4,19 (t, 2H, 14, $J = 5,4$), 3,65 (q, 2H, 15, $J = 5,4$), 2,73 (s, 3H, 13)</p>	<p>165,05 (17), 160,45 (d, 21, $J = 250,4$), 159,12 (4), 141,87 (11), 141,31 (2), 137,72 (19), 134,57 (12), 131,35 (6), 131, 23 (10), 129,09 (23), 127,15 (8), 124,97 (25), 124,85 (d, 24, $J = 5,9$), 122,65 (18), 122,49 (d, 20, $J = 11,5$), 116,08 (d, 22, $J = 21,8$ Hz), 115,03 (7), 111,93 (9), 109,30 (5), 95,44 (3), 66,57 (14), 38,61 (15), 20,35 (13)</p>

<p>4e</p> 	<p>3256, 3070, 2940, 2866, 2812, 2370, 1872, 1778, 1720, 1670, 1630, 1580, 1486, 1444, 1344, 1250, 1178, 1110, 1060, 1028, 964, 852, 784, 670, 624, 594, 528</p>	<p>11,47 (s, 1H, 1), 8,47 (t, 1H, 16, $J = 5,5$), 8,16 (d, 1H, 10, $J = 5,3$), 8,08 (d, 1H, 6, $J = 8,7$), 7,83 (d, 1H, 9, $J = 5,3$), 7,48 (d, 1H, 19, $J = 10,4$), 7,46 – 7,39 (m, 3H, 21, 23, 25), 7,21 (ddd, 1H, 24, $J = 9,9, 3,9, 2,0$), 7,05 (d, 1H, 3, $J = 2,1$), 6,89 (dd, 1H, 5, $J = 8,7, 2,2$), 6,77 (d, 1H, 18, $J = 15,8$), 4,19 (t, 2H, 14, $J = 5,4$), 3,65 (q, 2H, 15, $J = 5,4$), 2,74 (s, 3H, 13)</p>	<p>165,00 (17), 162,44 ($J = 243,8$ Hz, 22), 159,22 (4), 141,97 (11), 141,16 (2), 137,59 (19), 137,47 (20), 137,42 (10), 134,54 (12) 130,88 ($J = 8,4$, 25), 127,33 (8), 123,65 (25), 123,60 (6), 122,72 (18), 116,12 ($J = 21,3, 23$), 115,00 (7), 113,92 ($J = 21,8, 21$), 112,01 (9), 109,42 (5), 95,42 (3), 66,62 (14), 38,58 (15), 20,17 (13)</p>
<p>4f</p> 	<p>3430, 3248, 3072, 2940, 2860, 2810, 2366, 1720, 1668, 1630, 1576, 1508, 1456, 1342, 1278, 1230, 1178, 1110, 1060, 1030, 964, 876, 818, 796, 740, 714, 674, 626, 594, 506</p>	<p>11,47 (s, 1H, 1), 8,44 (t, 1H, 16, $J = 5,5$), 8,16 (d, 1H, 10, $J = 5,3$), 8,08 (d, 1H, 6, $J = 8,7$), 7,83 (d, 1H, 9, $J = 5,3$), 7,67 – 7,59 (m, 2H, 21, 25), 7,48 (d, 1H, 19, $J = 15,8$), 7,32 – 7,19 (m, 2H, 22, 24), 7,05 (d, 1H, 3, $J = 2,1$), 6,89 (dd, 1H, 5, $J = 8,7, 2,2$), 6,68 (d, 1H, 18, $J = 15,8$), 4,19 (t, 2H, 14, $J = 5,5$), 3,65 (q, 2H, 15, $J = 5,4$), 2,74 (s, 3H, 13)</p>	<p>165,23 (17), 162,69 (d, 23, $J = 247,1$), 159,23 (4), 141,98 (11), 141,16 (2), 137,69 (19), 137,43 (10), 134,54 (12), 131,51 (d, 20, $J = 2,7$ Hz), 129,68 (d, 21, 25, $J = 8,4$), 127,34 (8), 122,73 (6), 121,92 (18), 115,90 (d, 22, 24, $J = 21,7$), 114,99 (7), 112,01 (9), 109,43 (5), 95,42 (3), 66,66 (14), 38,55 (15), 20,18 (13)</p>

<p>4g</p> 	<p>3268, 3044, 2940, 2880, 2774, 2372, 1720, 1662, 1626, 1562, 1488, 1450, 1330, 1284, 1234, 1168, 1102, 982, 874, 820, 688, 654, 588, 526</p>	<p>11,68 (s, 1H, 1), 8,49 (t, 1H, 16, $J = 5,5$), 8,19 (d, 1H, 10, $J = 5,5$), 8,11 (d, 1H, 6, $J = 8,7$), 7,91 (d, 1H, 9, $J = 5,4$), 7,60 (d, 2H, 22, 24, $J = 8,5$), 7,51 – 7,37 (m, 3H, 19, 21, 25), 7,07 (d, 1H, 3, $J = 2,1$), 6,91 (dd, 1H, 5, $J = 8,7, 2,2$), 6,74 (d, 1H, 18, $J = 15,8$), 4,20 (t, 2H, 14, $J = 5,4$), 3,65 (q, 2H, 15, $J = 5,4$), 2,77 (s, 3H, 13)</p>	<p>165,09 (17), 159,53 (4), 142,40 (11), 140,66 (2), 137,51 (19), 136,29 (10), 134,44 (12), 133,87 (23), 133,74 (20), 129,22 (22, 24), 128,95 (21, 25), 127,92 (8), 122,96 (6), 122,83 (18), 114,84 (7), 112,26 (9), 109,81 (5), 95,38 (3), 66,66 (14), 38,53 (15), 19,63 (13)</p>
<p>4h</p> 	<p>3424, 3206, 3056, 2932, 2872, 2774, 2374, 1720, 1664, 1630, 1572, 1480, 1450, 1336, 1282, 1234, 1168, 1110, 1054, 972, 846, 786, 738, 668, 634, 600</p>	<p>11,48 (s, 1H, 1), 8,44 (t, 1H, 16, $J = 5,5$), 8,16 (d, 1H, 10, $J = 5,3$), 8,08 (d, 1H, 6, $J = 8,7$), 7,83 (d, 1H, 9, $J = 5,3$), 7,78 (d, 1H, 23, $J = 1,6$), 7,61 – 7,54 (m, 2H, 21, 25), 7,45 (d, 1H, 19, $J = 15,8$), 7,38 (t, 1H, 24, $J = 7,9$), 7,05 (d, 1H, 3, $J = 2,1$), 6,89 (dd, 1H, 5, $J = 8,7, 2,2$), 6,78 (d, 1H, 18, $J = 15,8$), 4,19 (t, 2H, 14, $J = 5,4$), 3,65 (q, 2H, 15, $J = 5,4$), 2,74 (s, 3H, 13)</p>	<p>164,92 (17), 159,21 (4), 141,97 (11), 141,14 (2), 137,47 (20), 137,39 (19), 137,22 (10), 134,53 (12), 131,97 (21), 131,01 (23), 130,04 (24), 127,34 (8), 126,40 (25), 123,72 (6), 122,72 (18), 122,24 (22), 114,99 (7), 112,01 (9), 109,42 (5), 95,42 (3), 66,62 (14), 38,57 (15), 20,16 (13)</p>

^a Zbog prisutnosti deuterirane vode u DMSO-u, došlo je do zamjene protona primarne amino skupine s deuterijem, zbog čega njihovi signali nisu prisutni u ¹H NMR spektru.

5. ZAKLJUČCI

U okviru ovog rada sintetizirani su i karakterizirani novi hibridi harmina i derivata cimetine kiseline amidnog tipa **4a-h**. Svi pripremljeni spojevi su novi, do sada neopisani u literaturi. Strukture svih sintetiziranih spojeva potvrđene su uobičajenim metodama (^1H i ^{13}C NMR, IR, MS). U daljnjim istraživanjima, koja prelaze okvire ovog rada, ispitat će se njihovo antimalarijsko djelovanje na eritrocitnu i hepatocitnu fazu plazmodija.

6. ZAHVALE

Zahvaljujemo se svim članovima Zavoda za farmaceutsku kemiju, a prije svega izv. prof.dr.sc. Zrinki Rajić na vodstvu pri u izradi ovog rada i velikom razumijevanju.

Veliko hvala Marini Marinović, mag.appl.chem., što nas je naučila radu u laboratoriju, osnovama pisanja znanstvenog rada te motivirala za rad u znanosti.

Hvala Goranu Poje, mag. pharm. i Maji Beus, mag. pharm. na ugodnom društvu u laboratoriju te svim savjetima, podršci i pomoći.

Također, hvala prof. dr. sc. Branki Zorc, za njen predani rad s učenicima srednjih škola te pripreme i vodstvo na Međunarodnoj olimpijadi iz kemije. Bez njene podrške i vodstva ne bismo bile ovdje.

7. POPIS LITERATURE

1. <https://www.who.int/malaria/en/> (datum pristupa 6. travnja 2019.)
2. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (datum pristupa 6. travnja 2019.).
3. S. Kalenić i sur., *Medicinska mikrobiologija*, Medicinska naklada, Zagreb, 2013, str. 604-607
4. J. Puhović, *Polimorfizmi crvenih krvnih stanica i adaptacija na malariju*, Seminarski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2009. str. 3..
5. <https://emedicine.medscape.com/article/221134-clinical> (datum pristupa 13. travnja 2019).
6. <https://emedicine.medscape.com/article/221134-clinical#b3> (datum pristupa 13. travnja 2019.).
7. S. Kalenić i sur., *Medicinska mikrobiologija*, Medicinska naklada, Zagreb, 2013, str. 608-609.
8. N. Klonis, D. J. Creek, L. Tilley, *Curr. Opin. Microbiol.* **16** (2013) 722–727.
9. E. A. Winzeler, M. J. Manary, *Genome Biology.* **15** (2014) 544.
10. E. Hempelmann, *Parasitol Research.* **100** (2007) 671–676.
11. D. A. Fidock, T. Nomura, A.K. Talley, R. A. Cooper, S. M. Dzekunov, M. T. Ferdig, L. M. Ursos, A. B. Sidhu, B. Naudé, K. W. Deltsch, X. Z. Su, J. C. Wootton, R. D. Roepe, T. E. Wellems, *Mol. Cell* **6** (2000) 861.-871.
12. <https://en.wikipedia.org/wiki/Harmine> (datum pristupa 13. travnja 2019.).
13. D. Shahinas, G. MacMullin, C. Benedict, I. Crandall, D. R. Pillai, *Antimicrob Agents Chemother.* **56** (2012) 4207–4213.
14. https://en.wikipedia.org/wiki/Cinnamic_acid (datum pristupa 13. travnja 2019.).
15. J. Kanaani, H. Ginsburg, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **36** (1992) 1102-1108.
16. J. J. Walsh, A. Bell, *Drug Dev Res.* **71** (2010) 20–32.
17. <https://www.ucl.ac.uk/~zcbtfi4/domainn.html> (datum pristupa 13. travnja 2019.).
18. K. Pavić, B. Zorc, *Farmaceutski glasnik*, **74** (2018) 415-428.
19. <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.392447.html?rid=1c57b003-97af-4cf6-aea3-2076e689e6a3> (datum pristupa 24. travnja 2019.).
20. J. Oliveira-Ferreira, M. V. G. Lacerda, P. Brasil, J. L. B. Ladislau, P. L. Tauil, C. T. Daniel-Ribeiro, *Malaria Journal*, **10** (2011) 122-126.
21. A. A. Lapkin, M. Peters, L. Greiner, S. Chemat, K. Leonhard, M. A. Liauw, W. Leitner, *Green Chem.* **12** (2010) 241–251.
22. J. W. Wong, K. H. Yuen, *Int J Pharm.* **227** (2001) 177-185.
23. W. R. Taylor, N. J. White, *Drug Saf.* **27** (2004) 25–61.

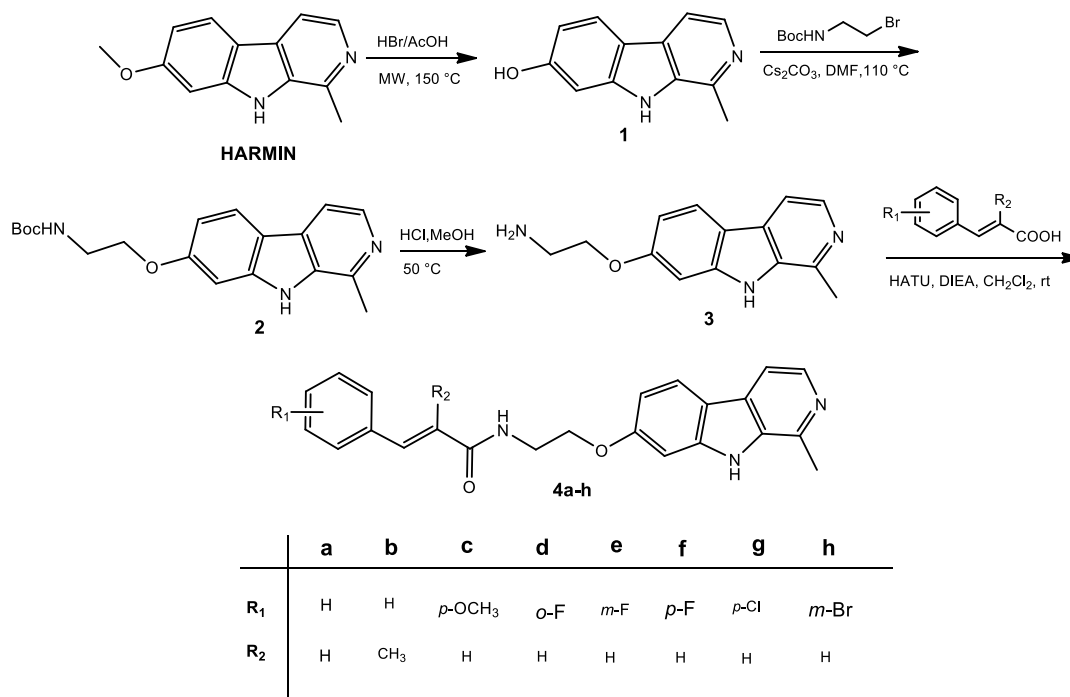
24. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00608> (datum pristupa 28. travnja 2019.)
25. C. B. Braga, A. C. Martins, A. D. Cayotopa, W. W. Klein, A. R. Schlosser, A. F. da Silva, M. N. de Souza, B. W. Andrade, J. A. Filgueira-Júnior, J. Pinto Wde, M. da Silva-Nunes, *Interdiscip Perspect Infect Dis*, 2015 (2015) 346853-346849.
26. D. R. Hill, J. K. Baird, M. E. Parise, L. S. Lewis, E. T. Ryan, A. J. Magill, *Am. J. Trop. Med. Hygiene*, **75** (2006) 402–415.
27. K. A. Fletcher, D. A. Price Evans, H. M. Gilles, J. Greaves, D. Bunnag, T. Harinasuta, *Bulletin of the World Health Organisation*, **59** (1981) 407-412.
28. https://en.wikipedia.org/wiki/Peganum_harmala (datum pristupa 28. travnja 2019.)
29. <http://www.entheology.org/edoto/anmviewer.asp?a=29> (datum pristupa 28. travnja 2019.)
30. R. Cao, W. Fan, L. Guo, Q. Mac, G. Zhang, J. Li, X. Chen, Z. Ren, L. Qiu, *J Med Chem*. **60** (2013) 135-143.
31. D. Agrawal, R. D. Gupta, S. K. Awasthi, *Antimicrob. Agents Chemother.* **61** (2017), 1-5.
32. F. W. Muregi, A. Ishih, *Drug Develop. Res.* **71** (2010) 20-32.
33. R. Oliveira, D. Miranda, J. Magalhaes, R. Capela, M. J. Perry, P. M. O'Neill, R. Moreir, F. Lopes, *Bioorg. Med. Chem.* **23** (2015) 5120-5130.
34. P. De, M. Baltas, F. Bedos-Belval, *Curr. Med. Chem.* **18** (2011) 1672–1703.
35. H. Z. Lee, V. E. Kwitkowski, P. L. Del Valle, M. S. Ricci, H. Saber, B. A. Habtemariam, J. Bullock, E. Bloomquist, Y. Li Shen, X. H. Chen, J. Brown, N. Mehrotra, S. Dorff, R. Charlab, R. C. Kane, E. Kaminskas, R. Justice, A. T. Farrell, R. Pazdur, *Clin. Cancer Res.* **21** (2015) 2666–2670.
36. J. P. Laubach, P. Moreau, J. F. San-Miguel, P. G. Richardson, *Clin. Cancer Res* **21**. (2015) 4767–4773.
37. N. C. Wheatley, K. T. Andrews, T. L. Tran, A. J. Lucke, R. C. Reid, D. P. Fairlie, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **20** (2010) 7080–7084.
38. P. Mukherjee, A. Pradhan, F. Shah, B. L. Tekwani, M. A. Avery, *Bioorg. Med. Chem.* **16** (2008) 5254–5265.
39. B. C. Pérez, C. Teixeira, I. S. Albuquerque, J. Gut, P. J. Rosenthal, M. Prudencio, P. Gomes, *Med. Chem. Commun.* **3** (2012) 1170–1172.
40. B. C. Pérez, C. Teixeira, A. S. Gomes, I. S. Albuquerque, J. Gut, P. J. Rosenthal, M. Prudencio, P. Gomes, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **23** (2013) 610–613.
41. B. C. Pérez, C. Teixeira, M. Figueiras, J. Gut, P. J. Rosenthal, J. R. B. Gomes, P. Gomes, *Eur. J. Med. Chem.* **54** (2012) 887–899.

42. B. C. Pérez, C. Teixeira, I. S. Albuquerque, J. Gut, P. J. Rosenthal, J. R. B. Gomes, M. Prudencio, P. Gomes, *J. Med. Chem.* **56** (2013) 556–567.

8. SAŽETAK

Sinteza i karakterizacija novih derivata cimetne kiseline i harmina

Malarija je zarazna bolest koja se javlja u tropskim i subtropskim krajevima svijeta. Uzročnik malarije je parazit roda *Plasmodium*, a prijenosnici parazita ženke su komarca roda *Anopheles*. Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije, broj oboljelih od malarije u 2017. godini procjenjuje se na 219 milijuna ljudi. Jedan od novijih pristupa u istraživanju novih potencijalnih antimalarika temelji se na dizajniraju hibridnih spojeva, odnosno na kovalentnom povezivanju dva farmakofora u jednu molekulu, s ciljem sinergističkog djelovanja te smanjenja rezistencije. Harmin je β -karbolinski alkaloid dokazanog *in vitro* i *in vivo* antimalarijskog djelovanja, dok su cimetna kiselina i njeni derivati prirodni spojevi širokog spektra aktivnosti, uključujući antimalarijsko djelovanje. U ovom radu dizajnirani su i sintetizirani hibridni derivati cimetne kiseline i harmina amidnog tipa **4a-h** (Shema).



Shema. Sintetski put priprave hibrida **4a-h**.

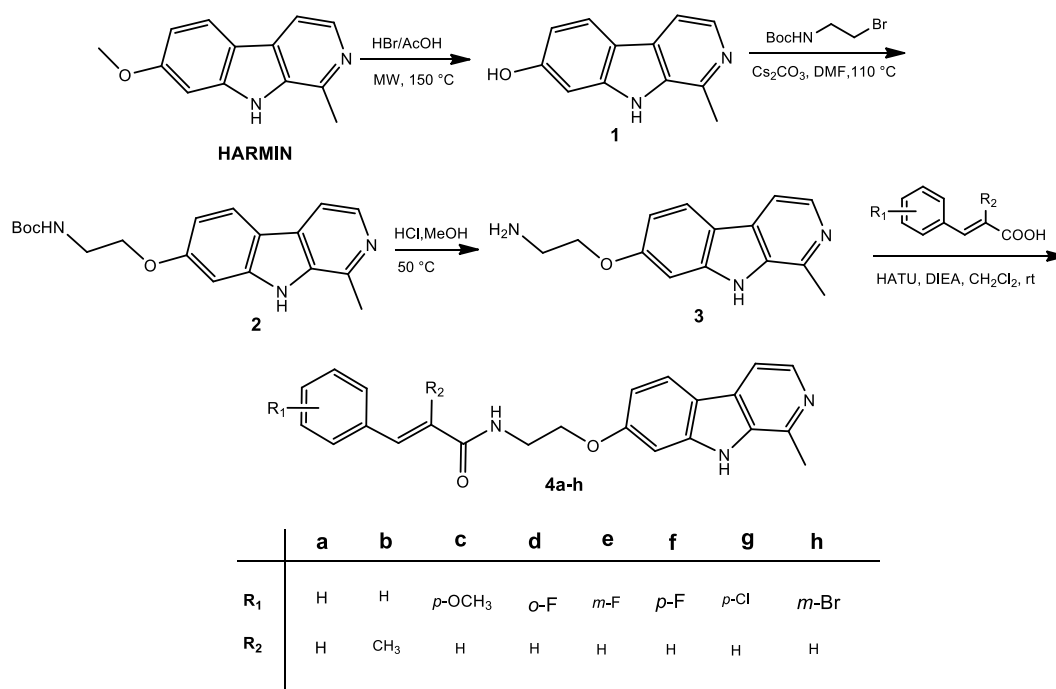
Strukture svih sintetiziranih spojeva potvrđene su uobičajenim metodama (¹H i ¹³C NMR, IR, MS). U daljnjim istraživanjima, koja prelaze okvire ovog rada, ispitat će se njihovo antimalarijsko djelovanje na eritrocitnu i hepatocitnu fazu plazmodija.

Ključne riječi: malarija, hibridni lijekovi, cimetna kiselina, harmin

9. SUMMARY

Synthesis and characterization of novel ocinnamic acid-harmine derivatives

Malaria is an infectious disease prevalent in tropical and subtropical regions. The disease is caused by the protozoan of the genus *Plasmodium*, which is transmitted by the female mosquito *Anopheles*. According to the World Health Organisation, the number of people affected by malaria in 2017 was around 219 million. One of the methods for finding new drug entities is to covalently combine two pharmacophores in one molecule, i.e. to prepare hybrid drugs, with the aim of synergistic action and to overcome the resistance issues. Harmine is a naturally occurring β -carboline alkaloid which possesses *in vitro* and *in vivo* antimalarial activity. On the other hand, cinnamic acid and its derivatives are natural products with various pharmacological activities, including antimalarial activity. Here we report design, synthesis and characterisation of novel hybrids **4a-h**, comprised of harmine and cinnamic acid derivatives linked *via* amide bond (Scheme).



Scheme. Synthetic pathway towards hybrids **4a-h**.

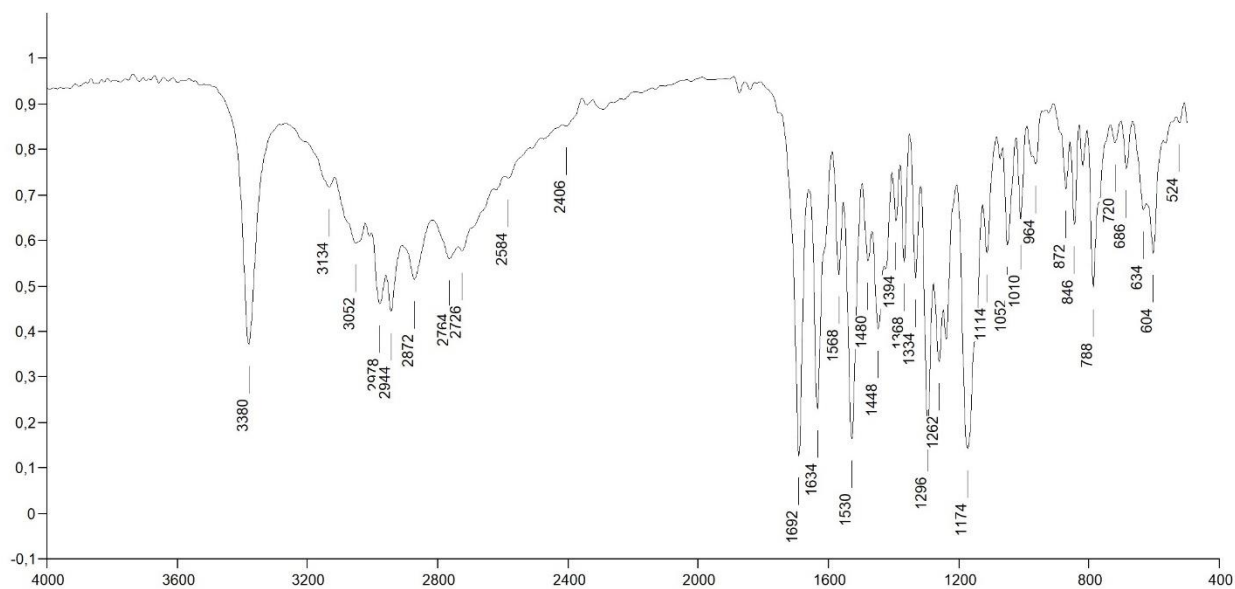
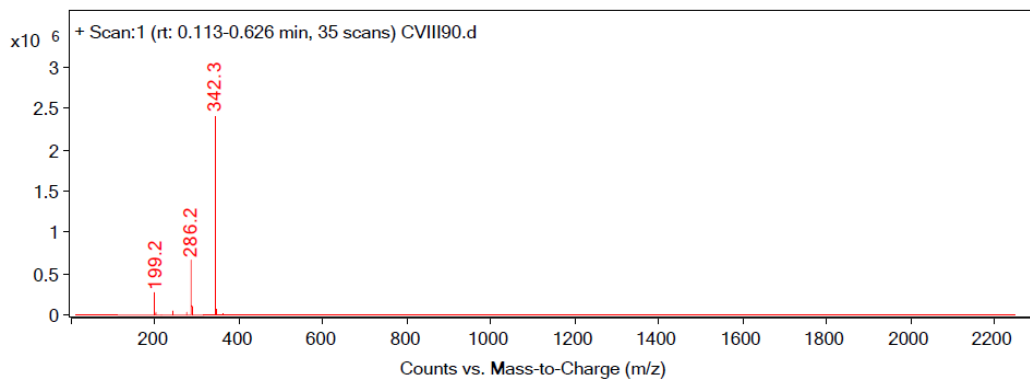
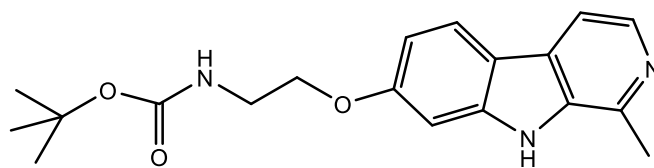
Newly synthesized compounds were characterized using classical analytical and spectroscopic methods (IR, MS, ¹H and ¹³C NMR). In further investigations, their antimalarial activity will be evaluated *in vitro* on both erythrocytic and hepatic stages of the *Plasmodium*.

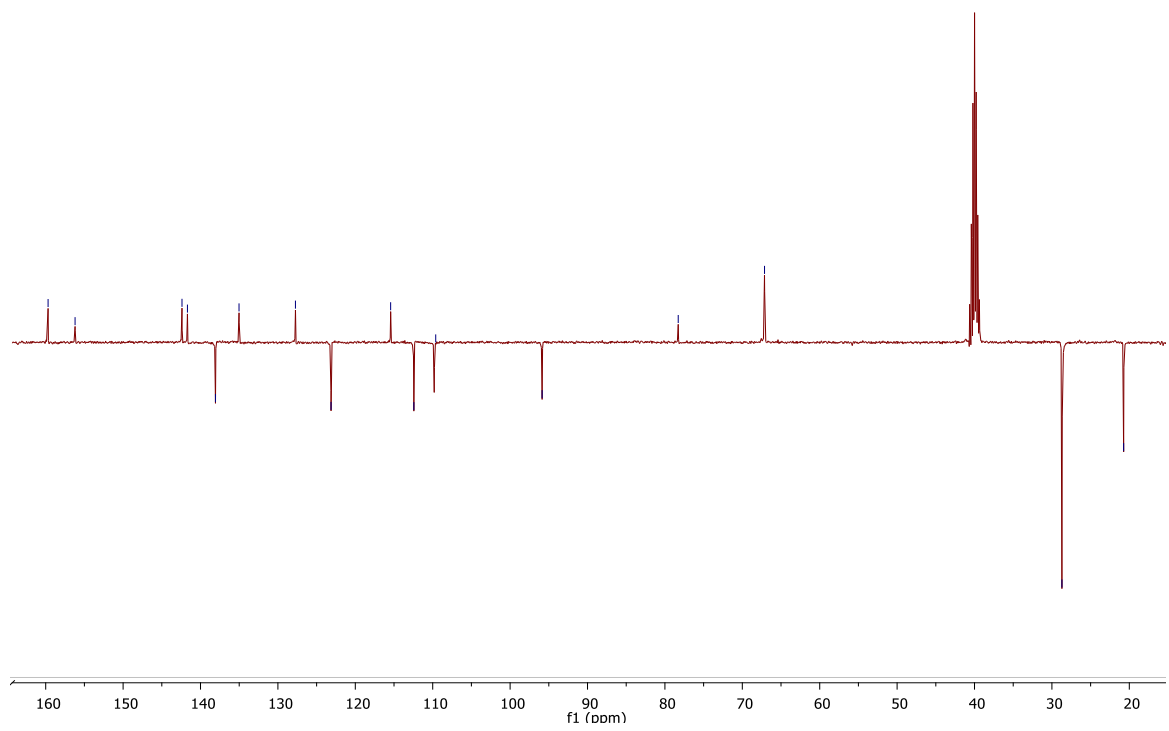
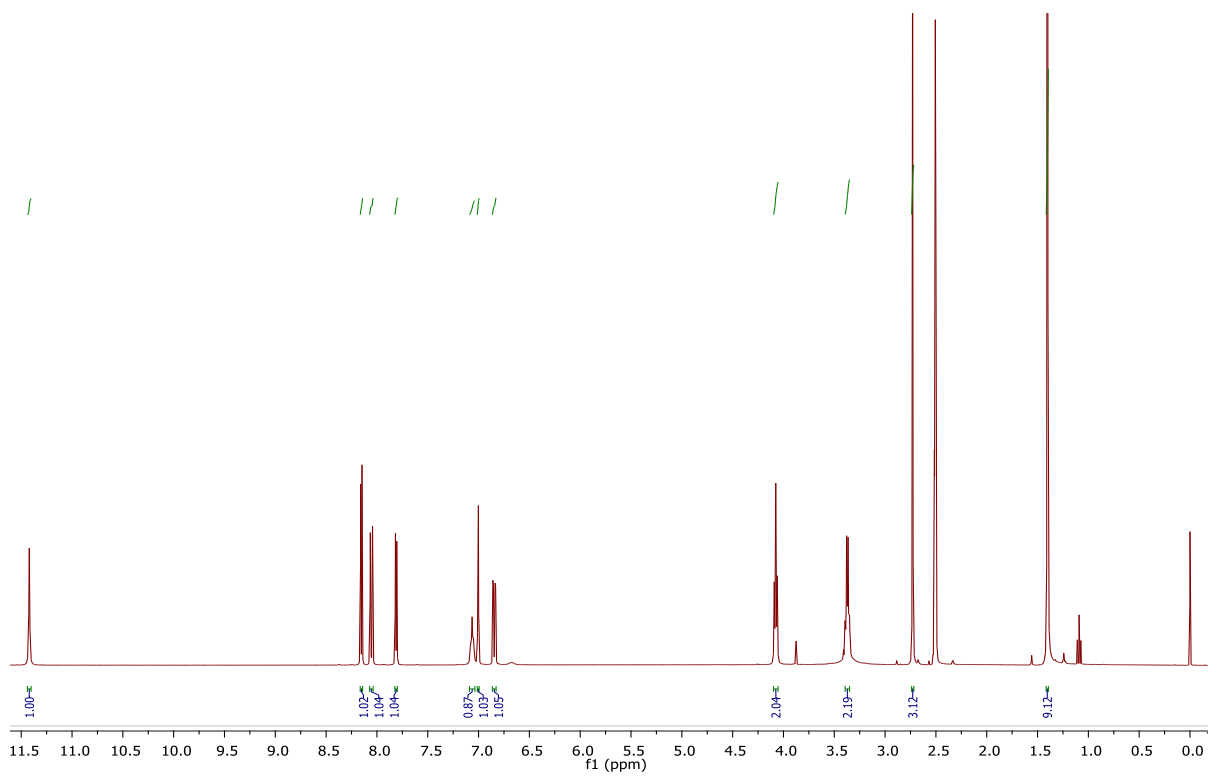
Key words: malaria, hybrid compounds, cinnamic acid, harmine

PRILOZI

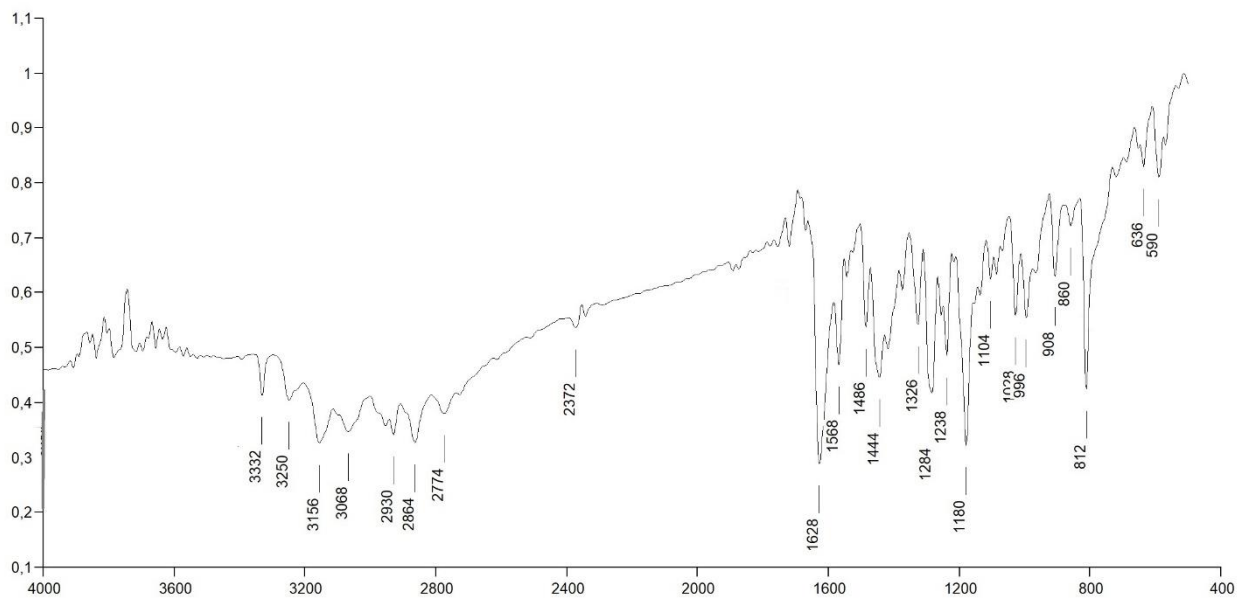
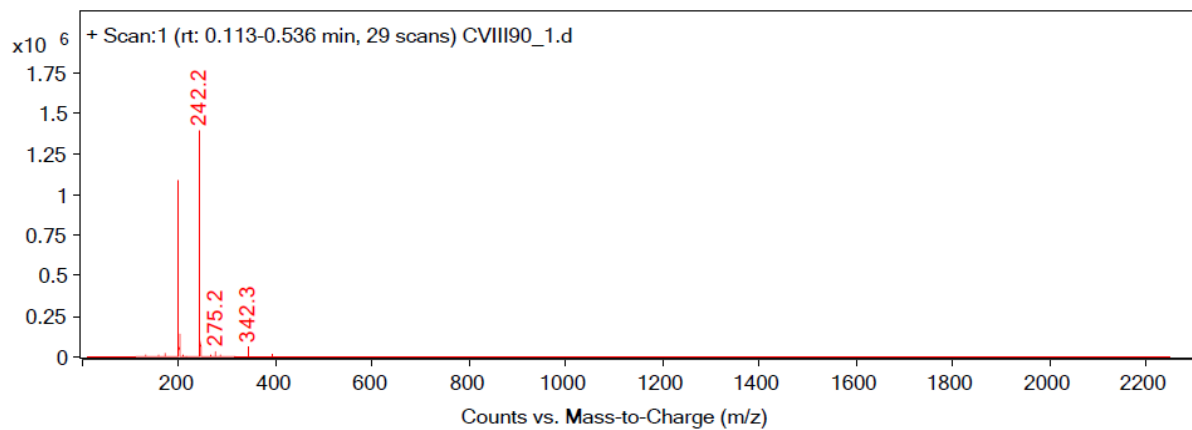
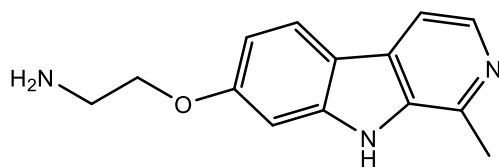
Prilozi sadrže MS, IR, ^1H NMR i ^{13}C NMR spektre spojeva sintetiziranih u ovom radu.

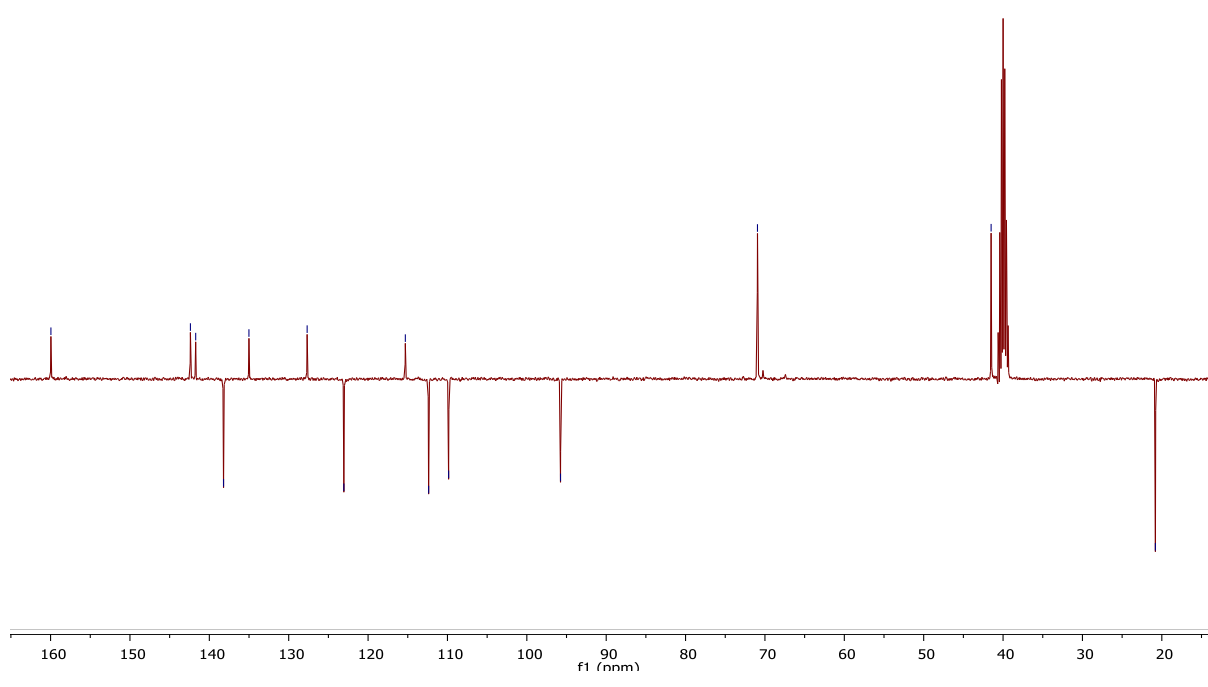
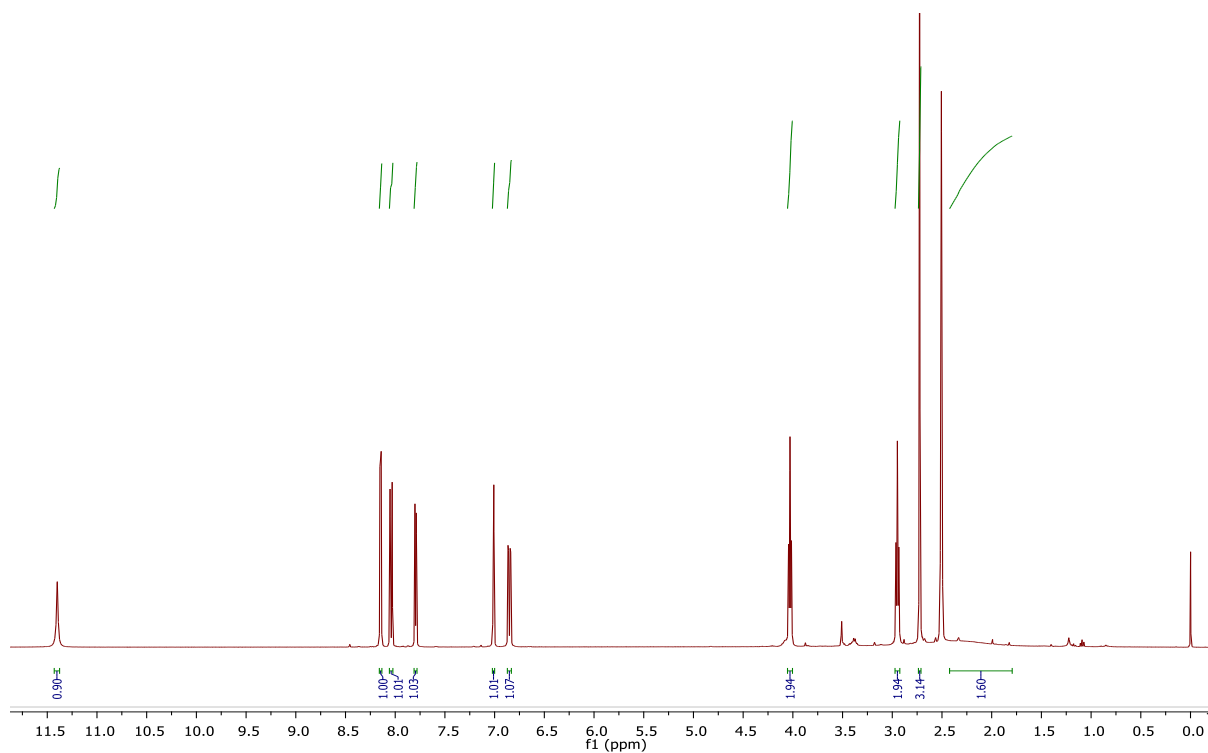
2



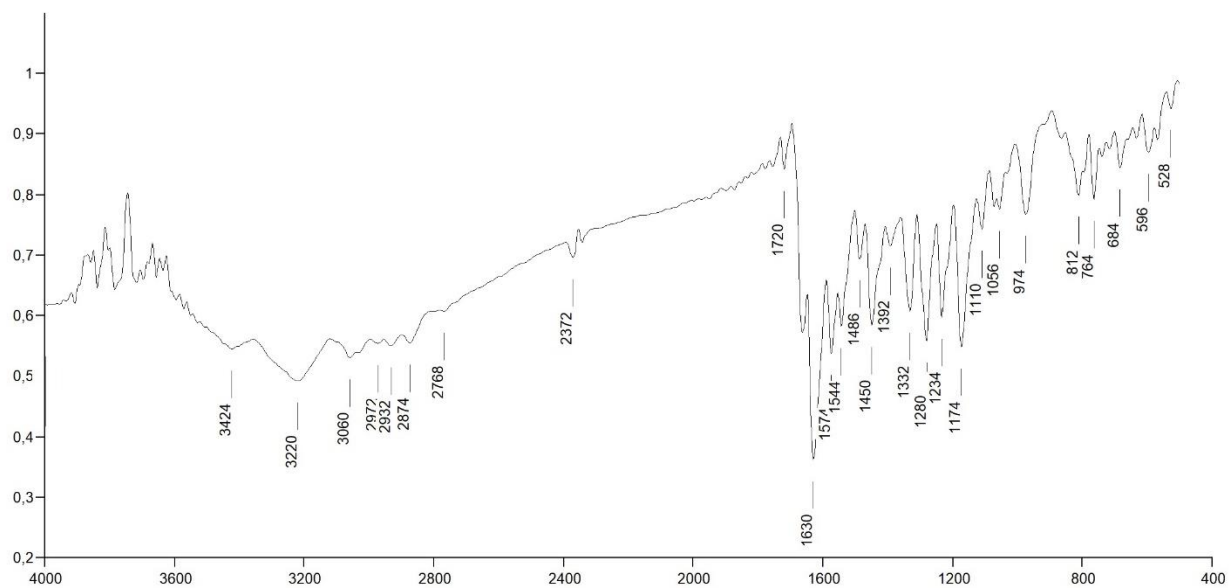
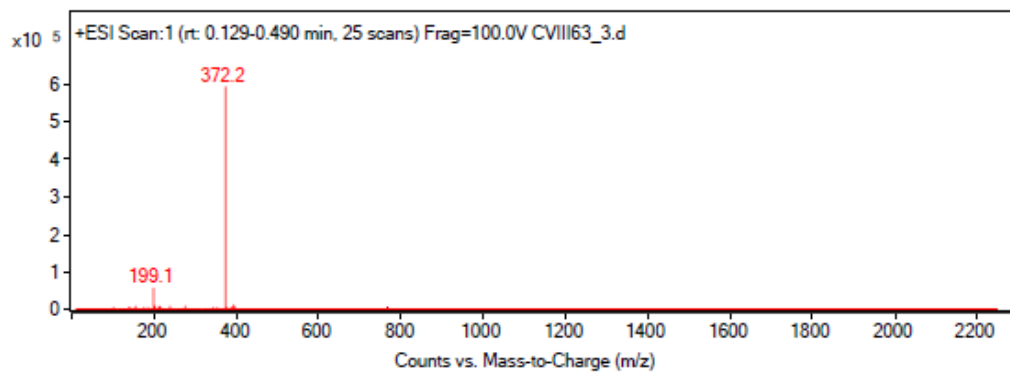
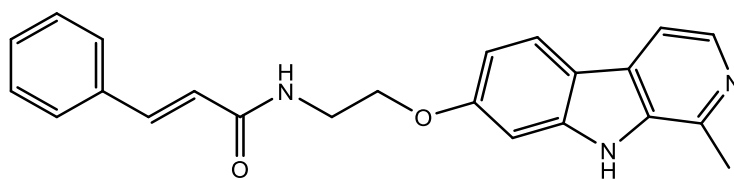


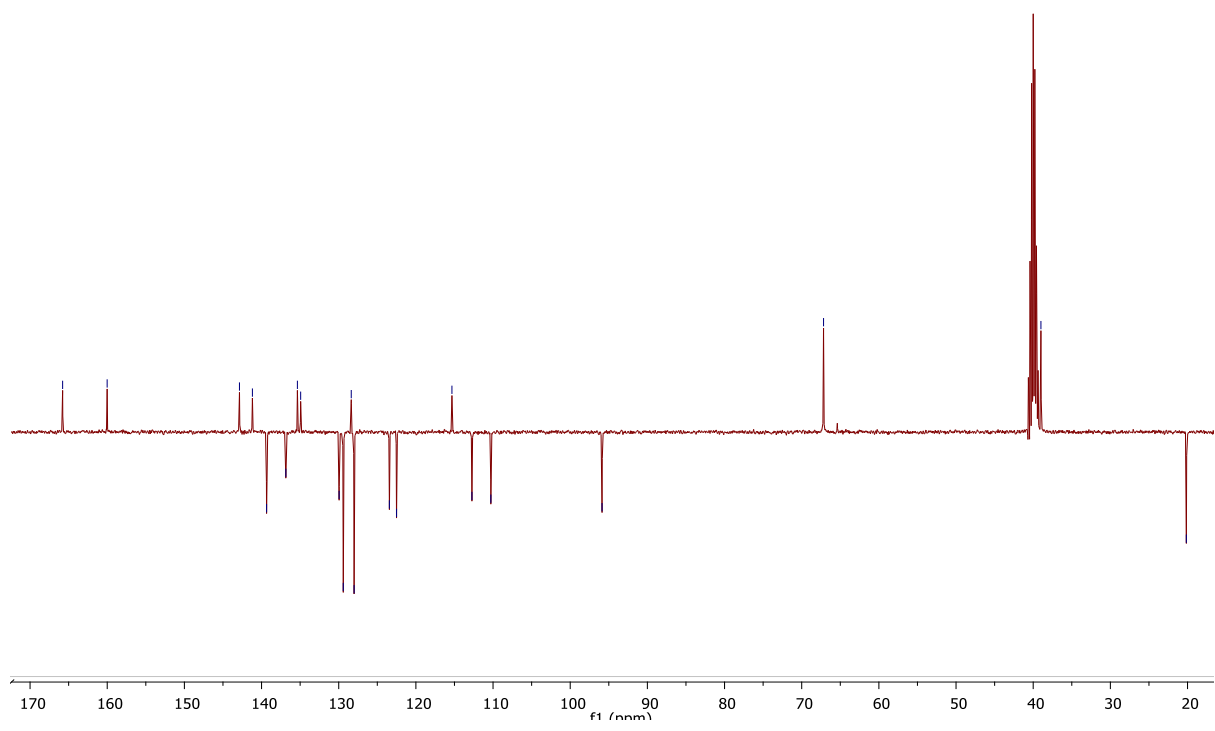
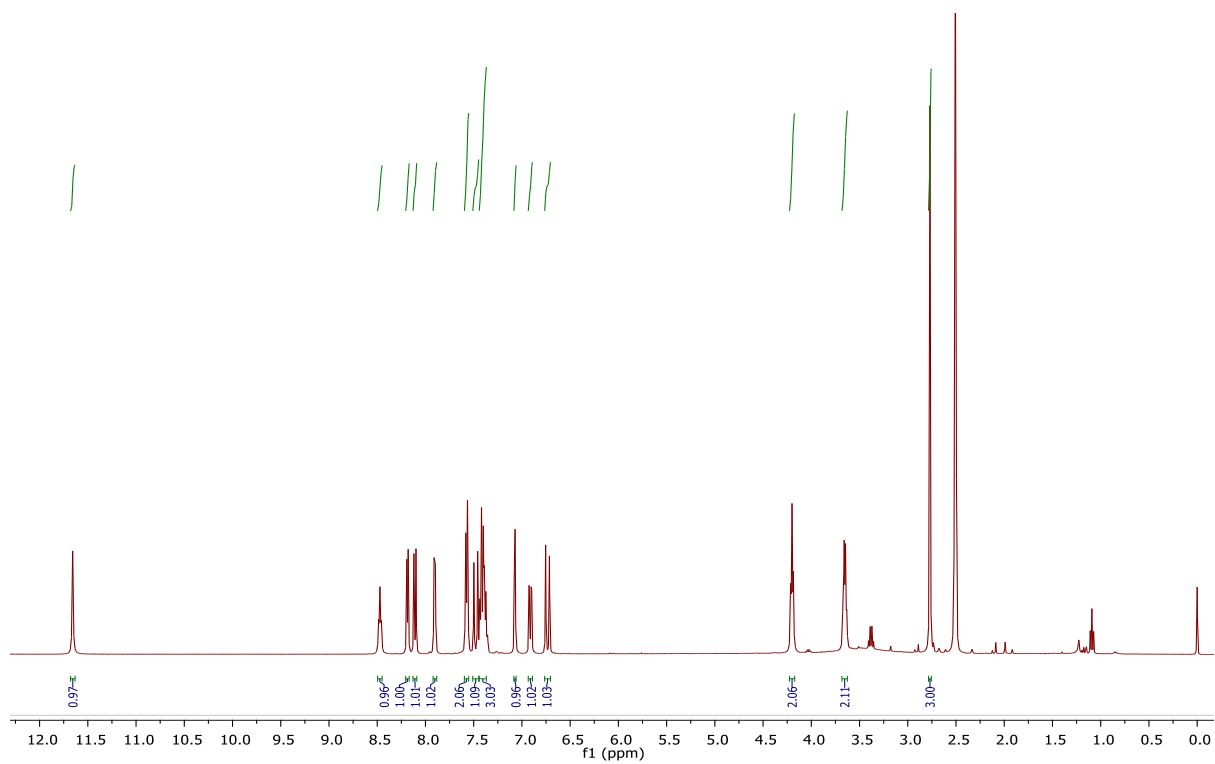
3



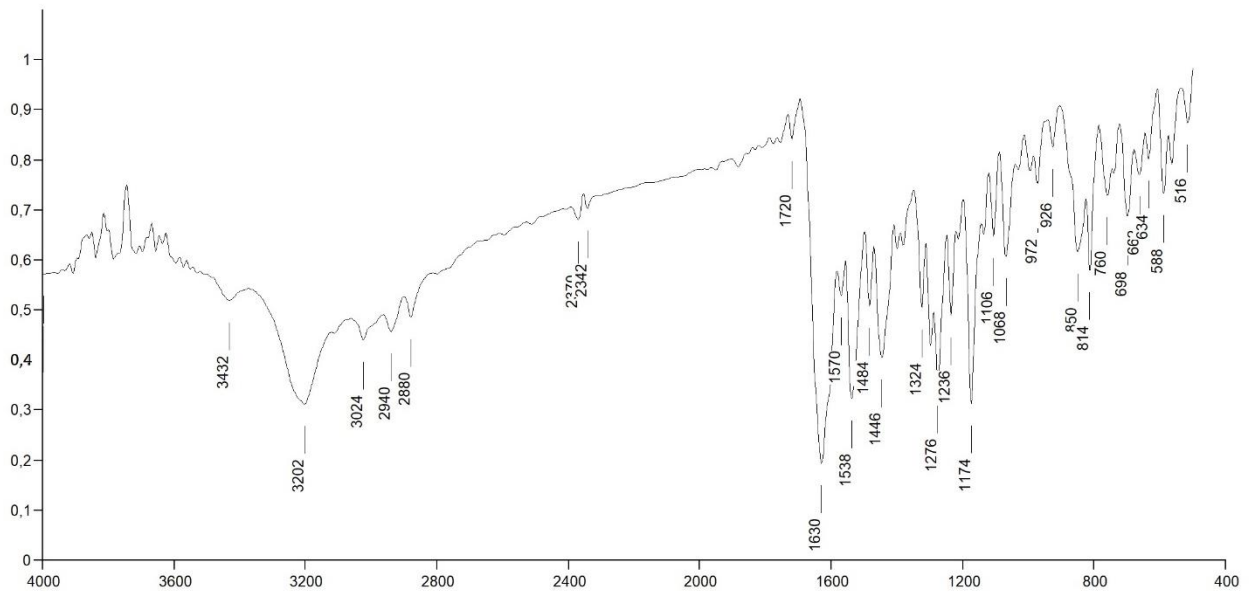
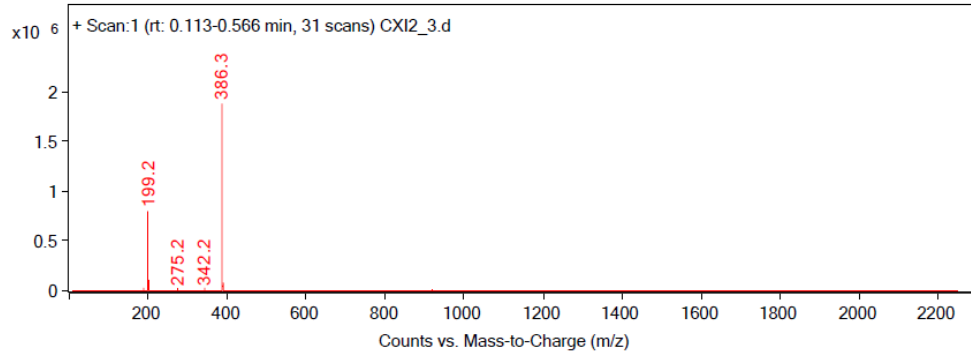
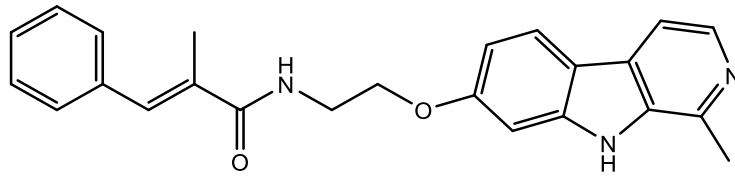


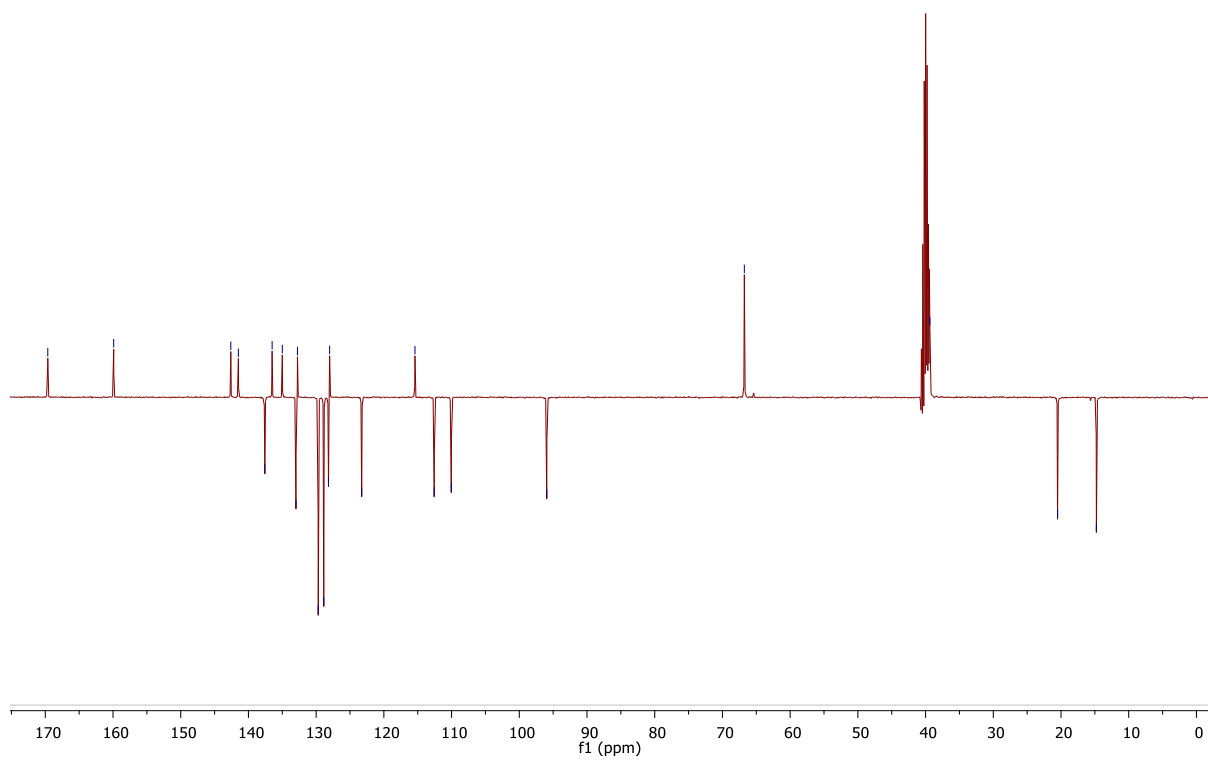
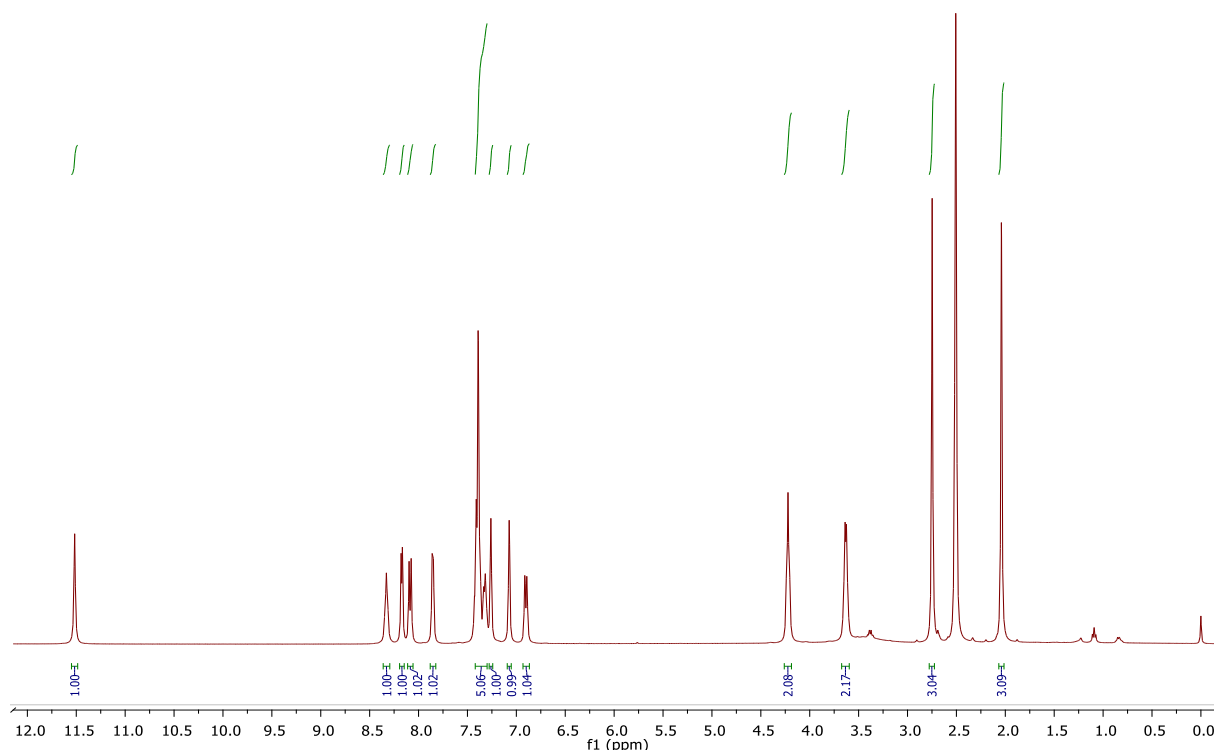
4a



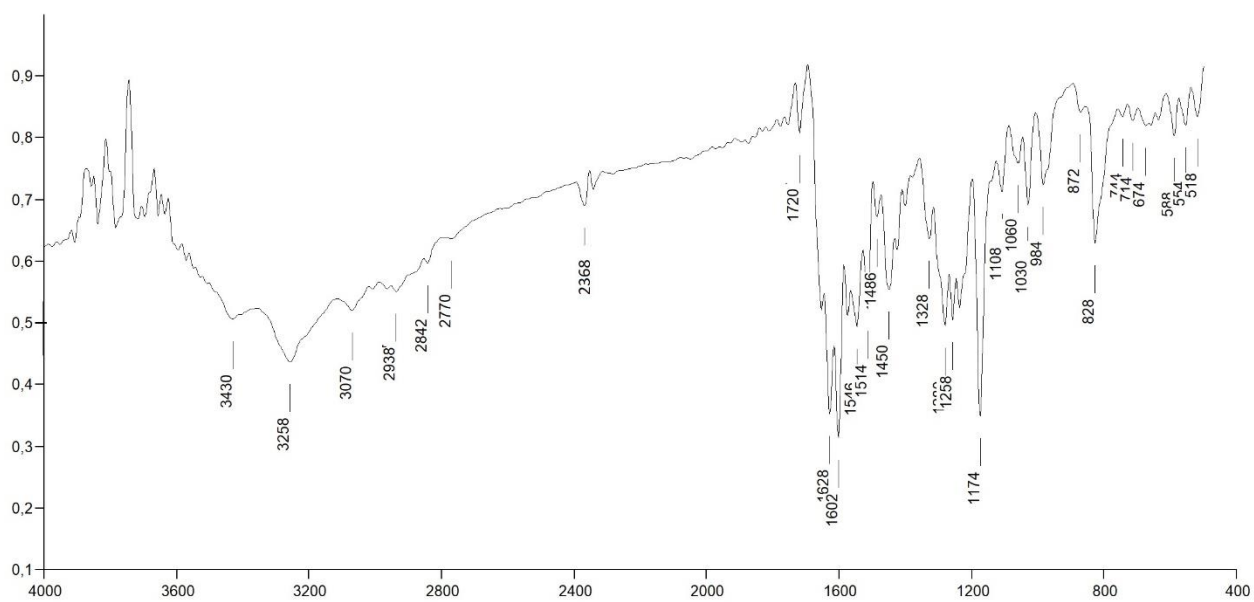
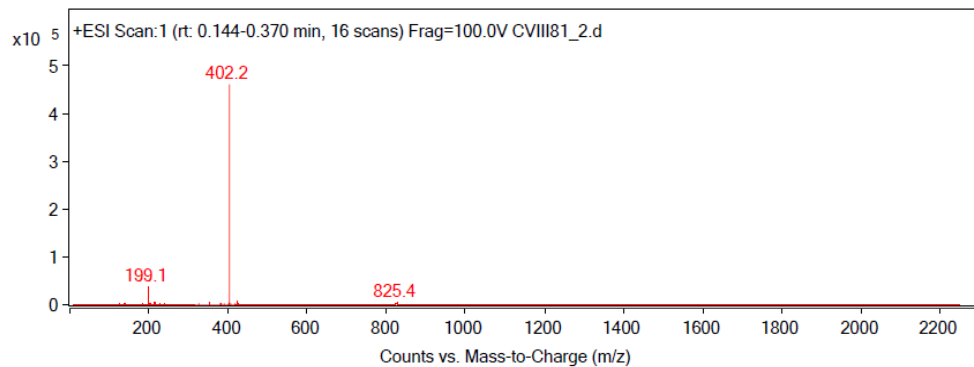
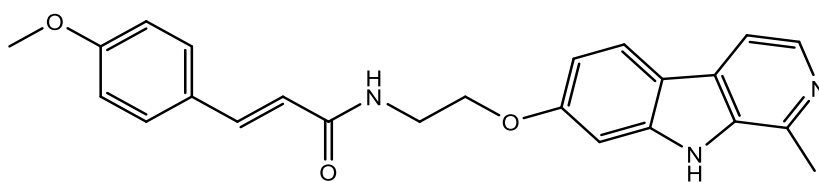


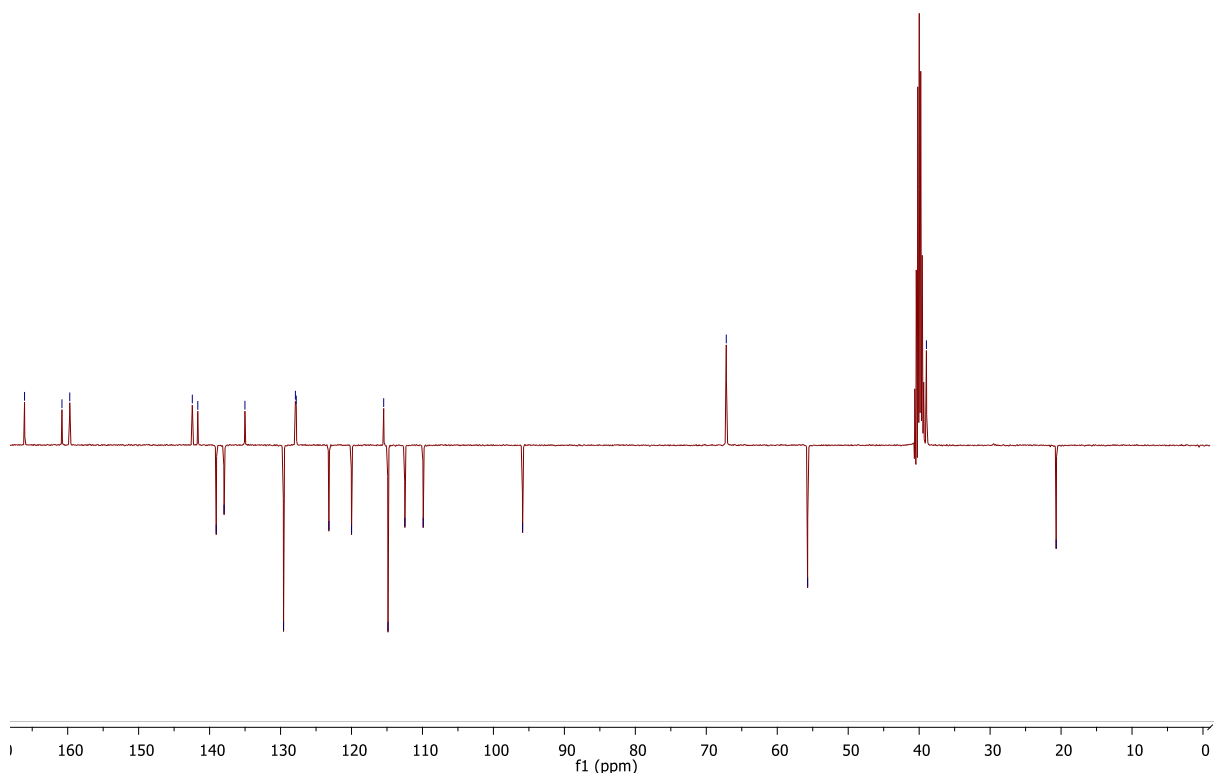
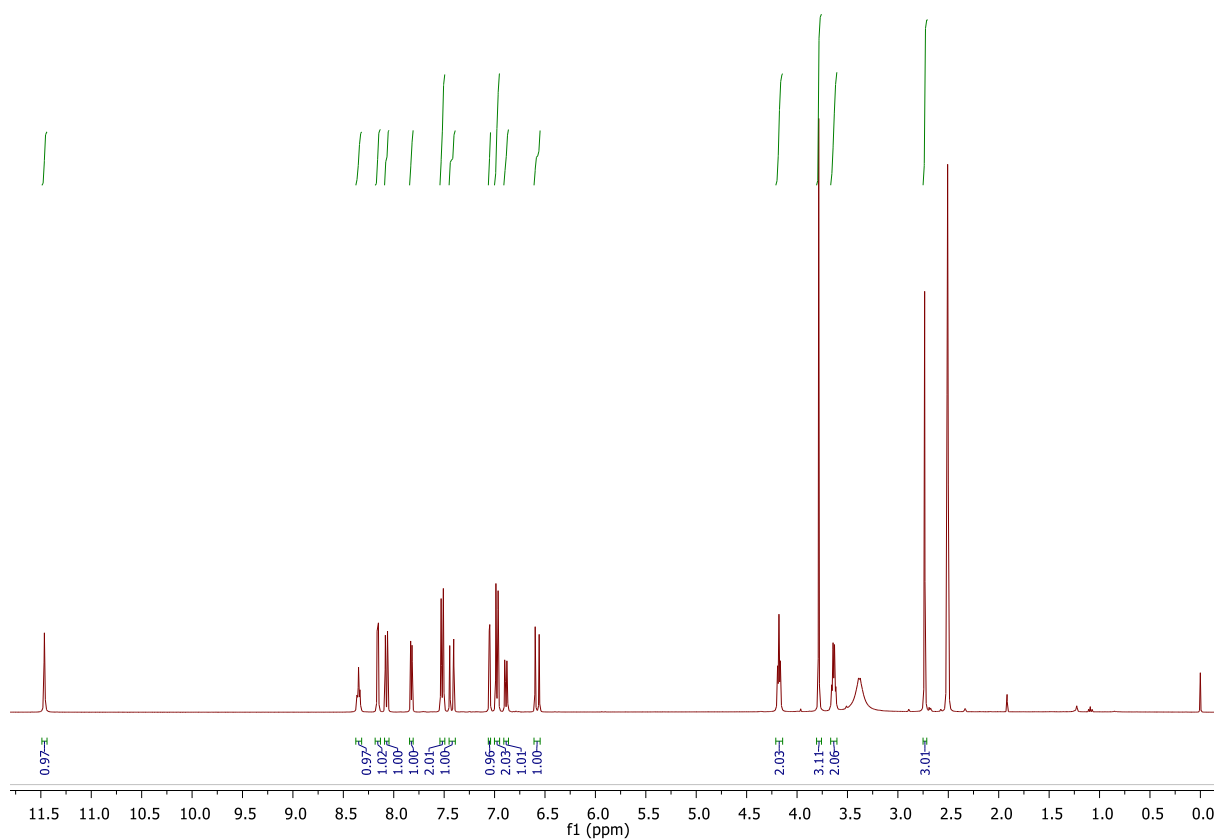
4b



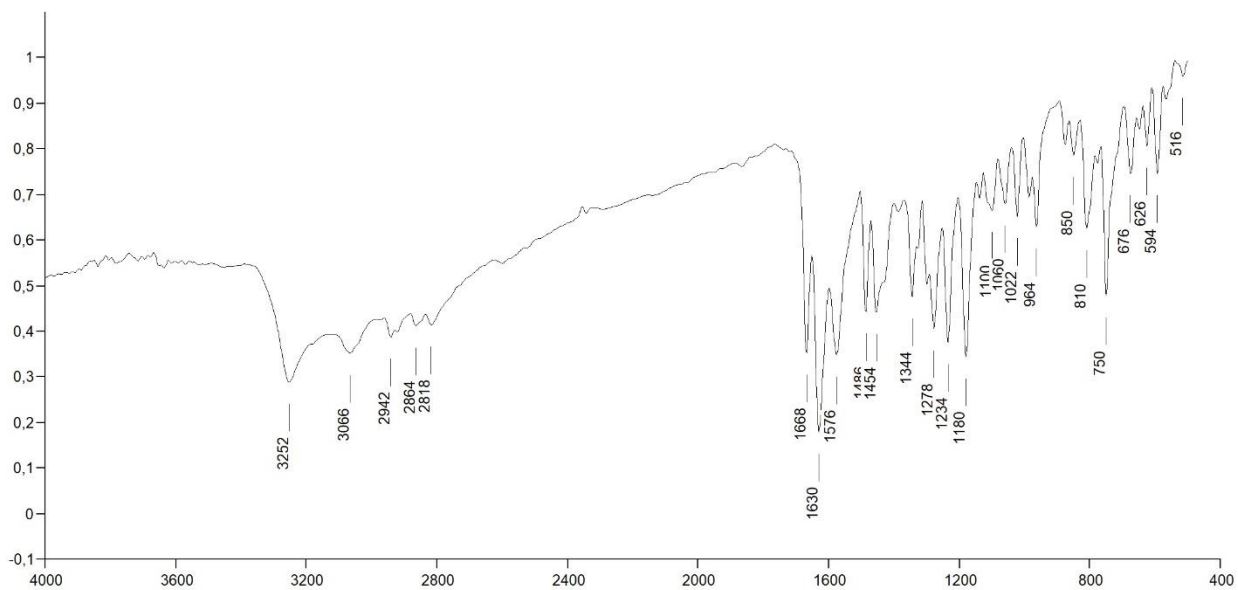
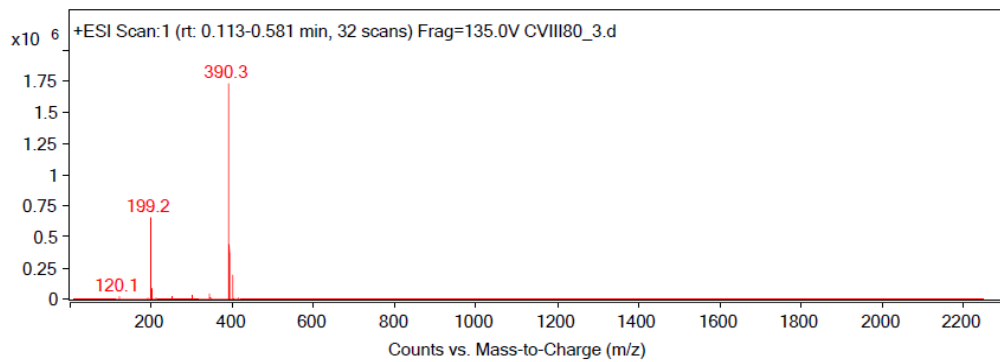
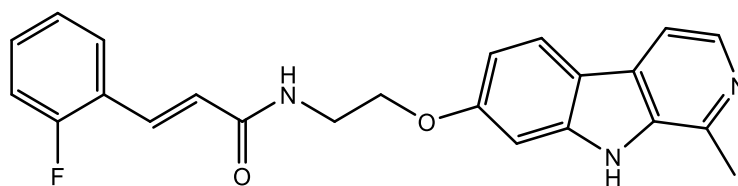


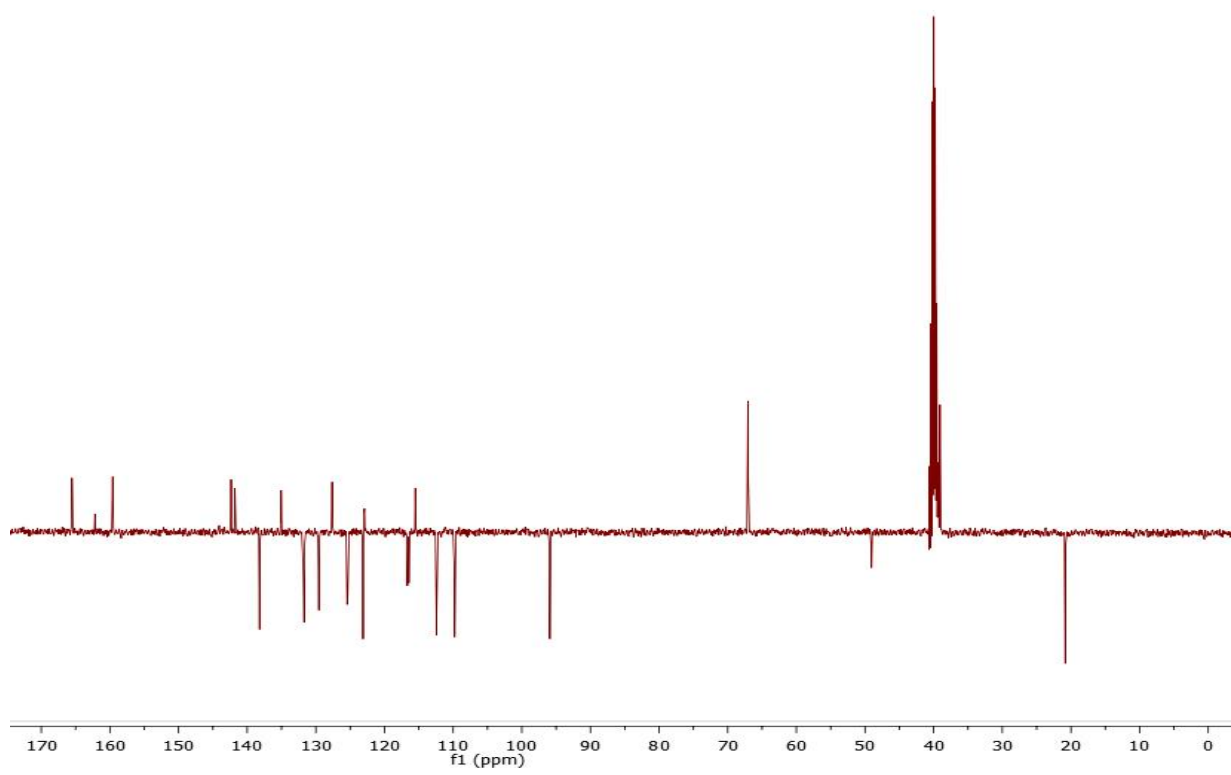
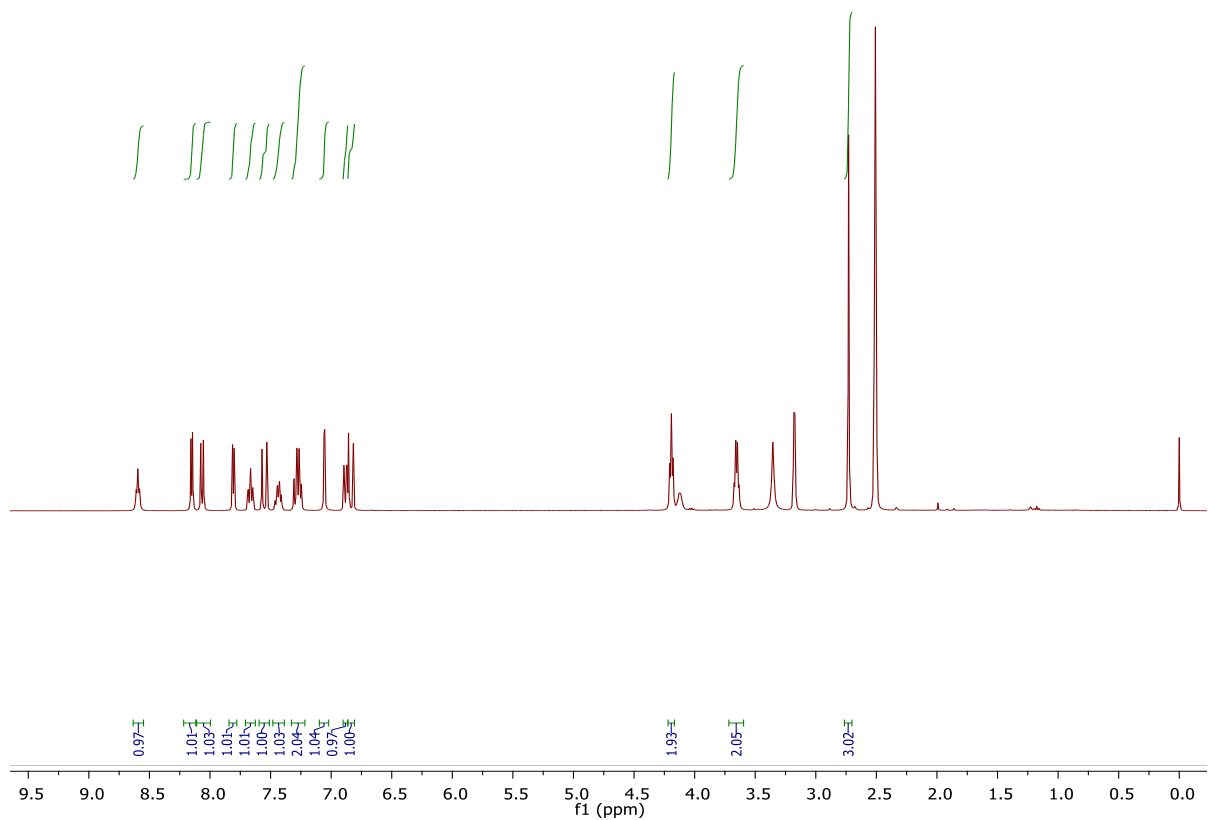
4c



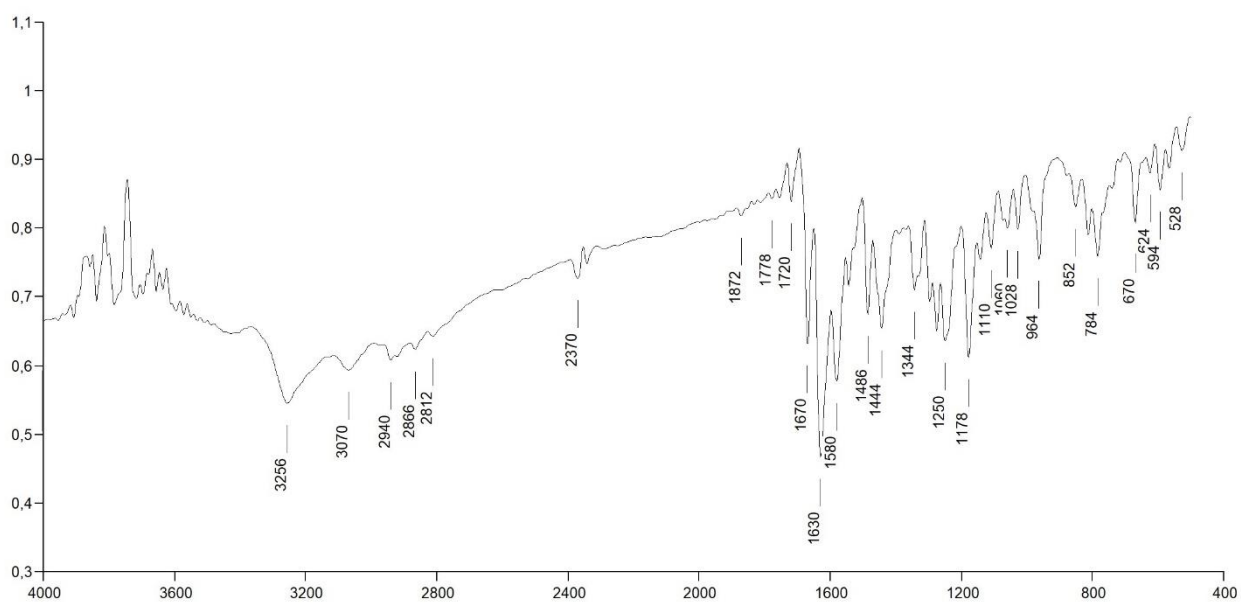
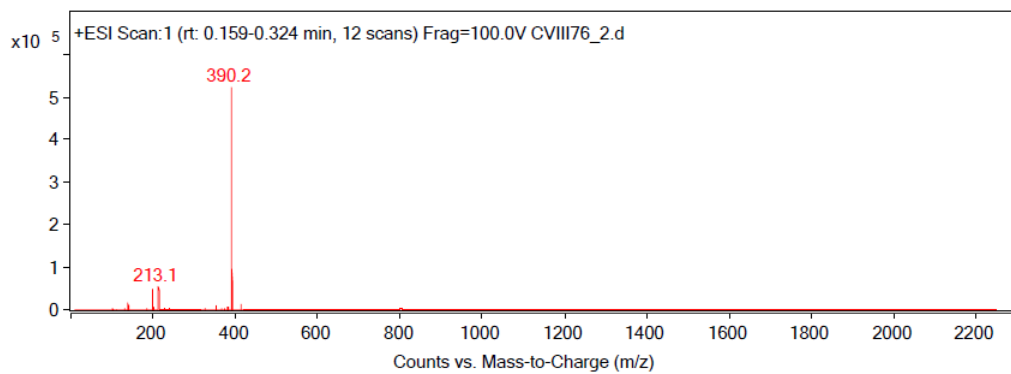
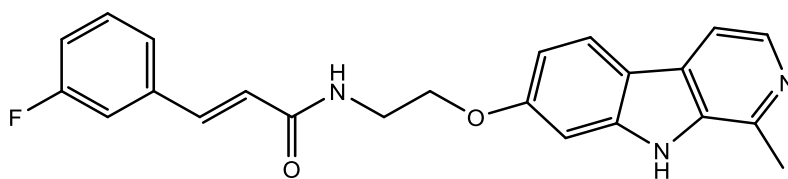


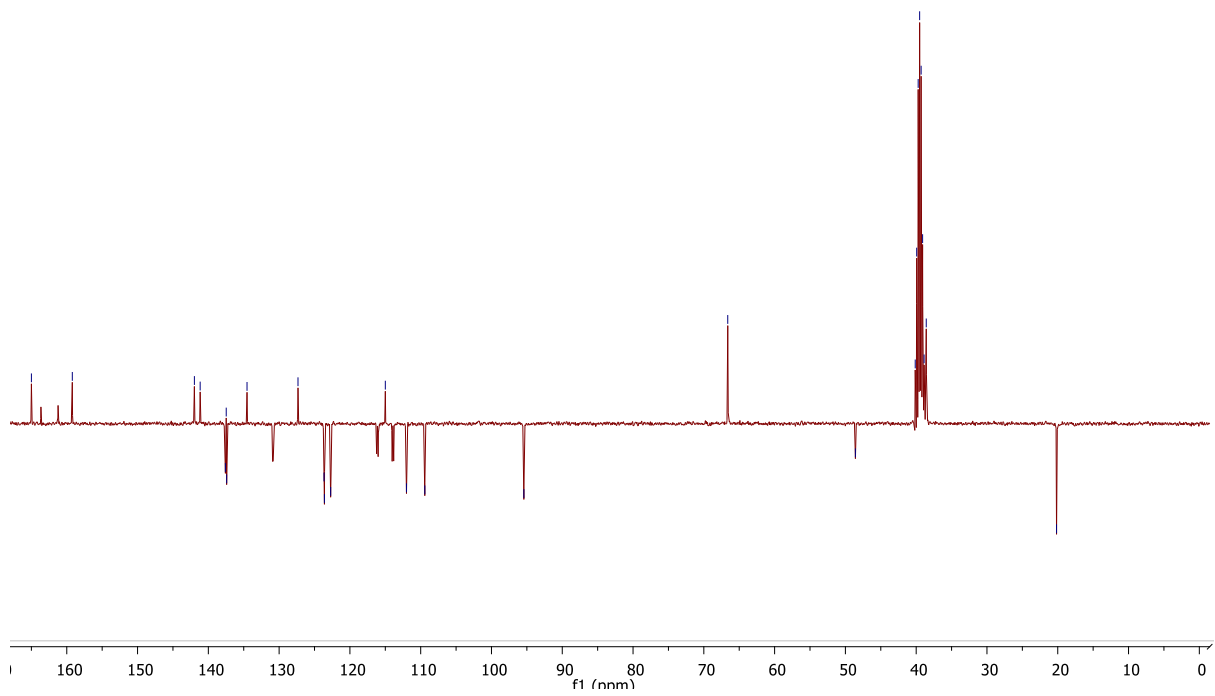
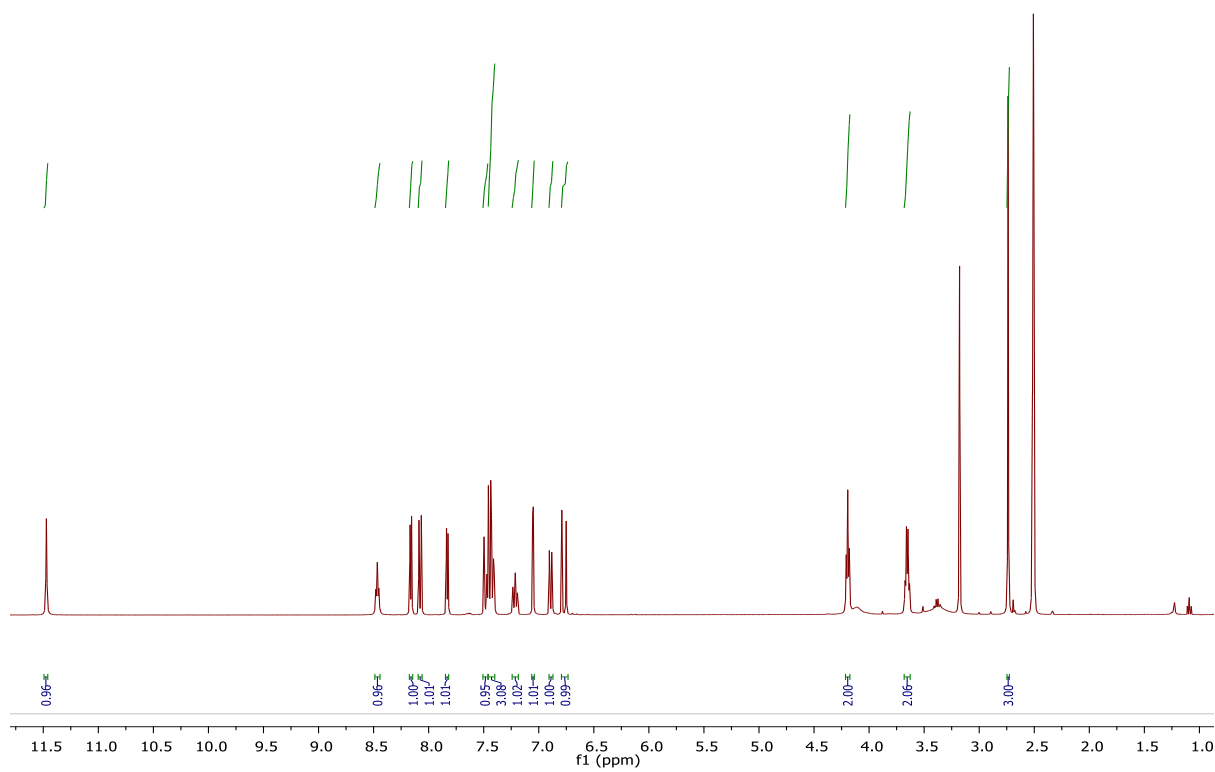
4d



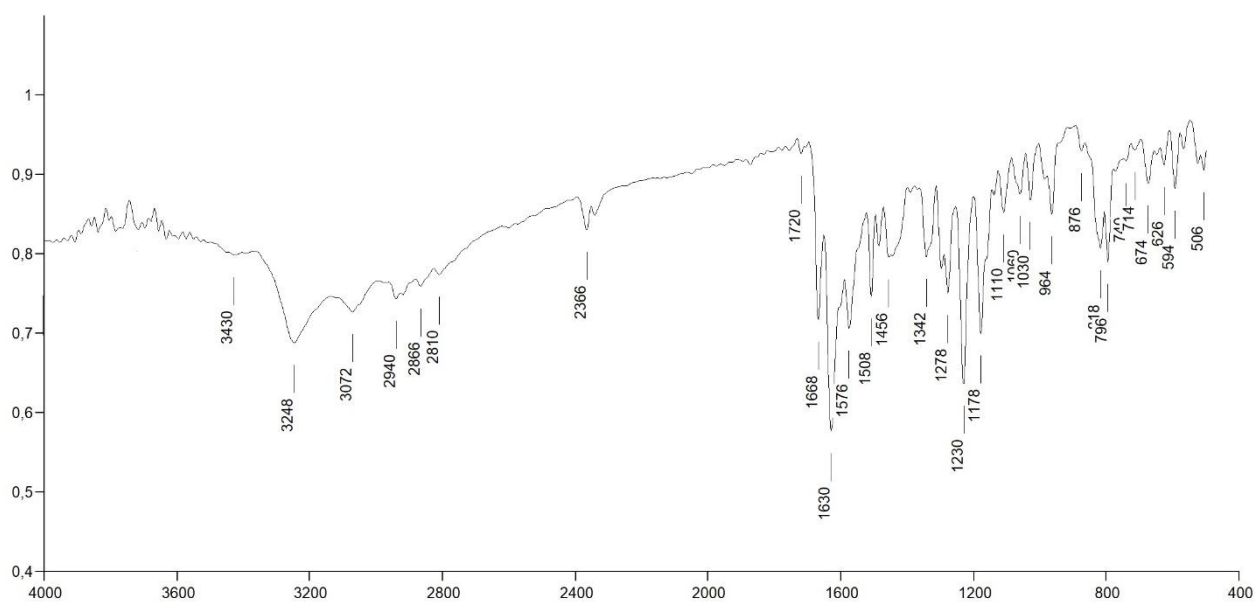
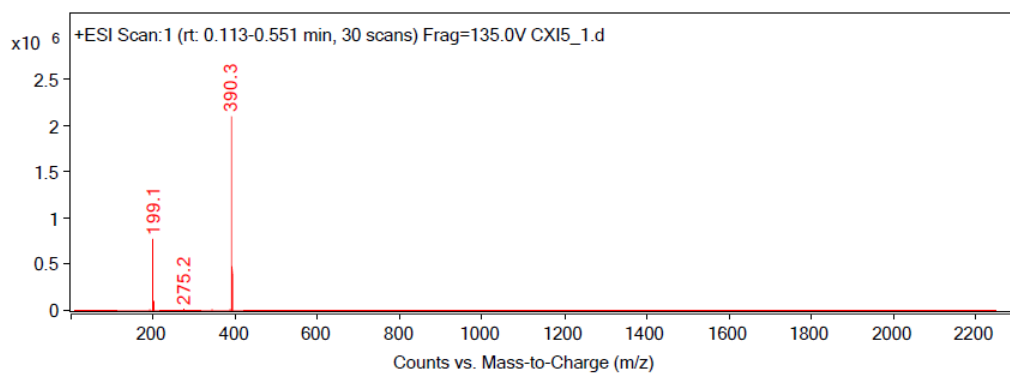
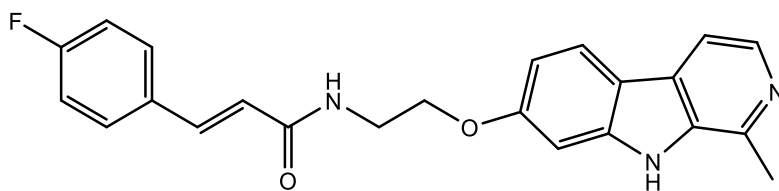


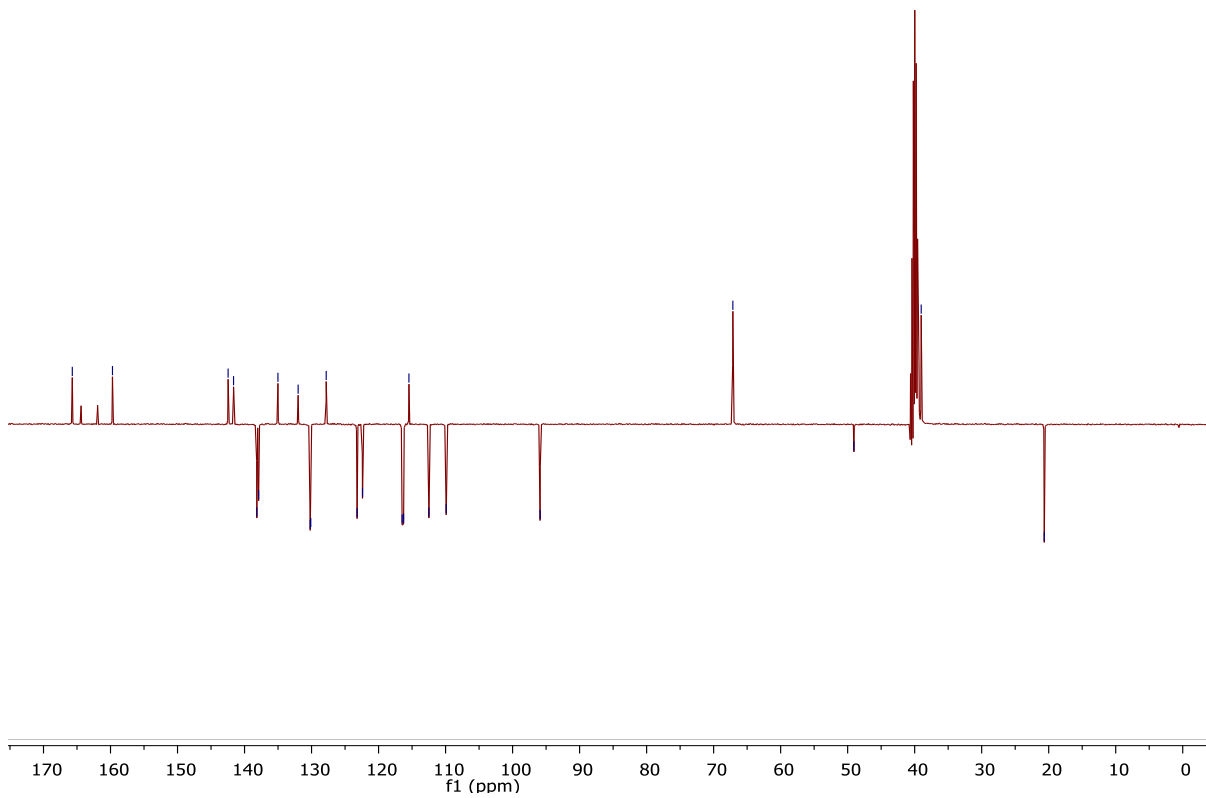
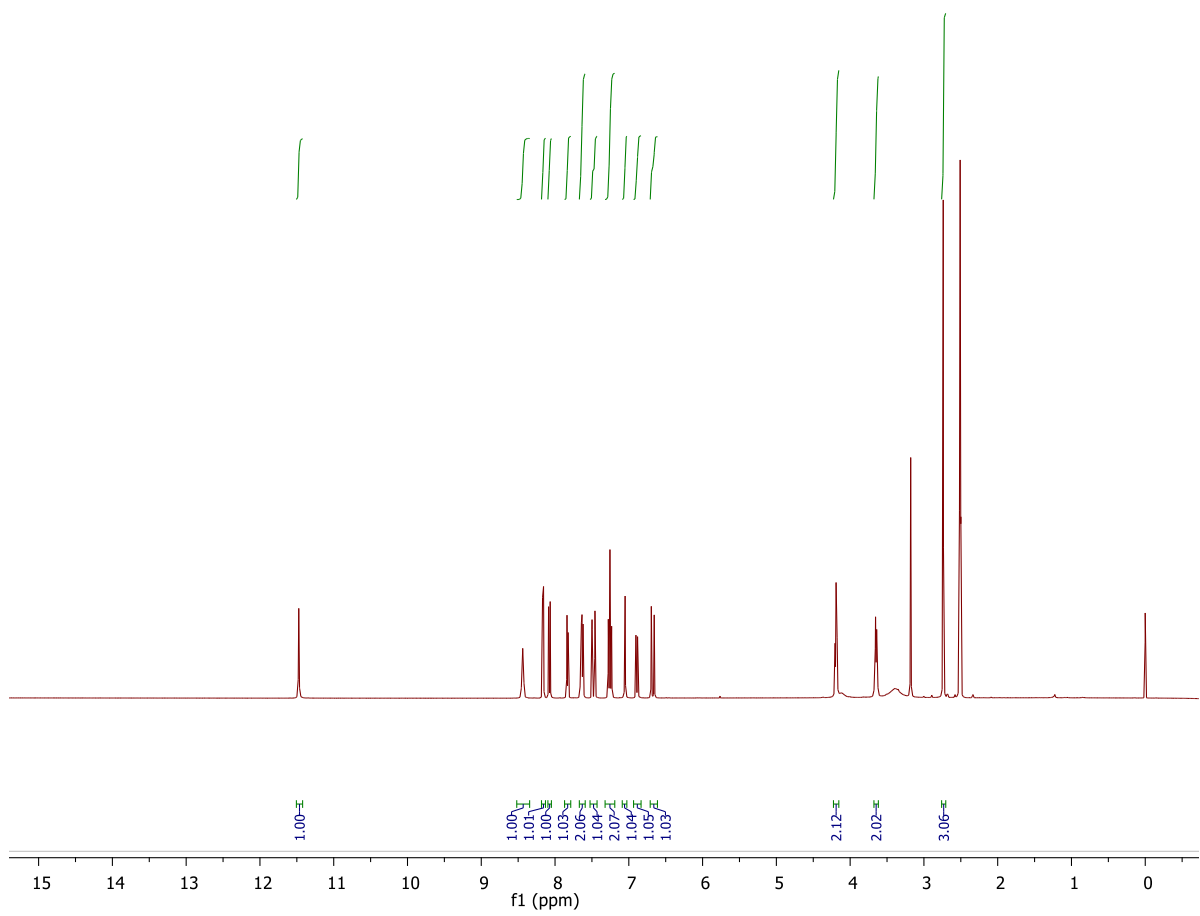
4e



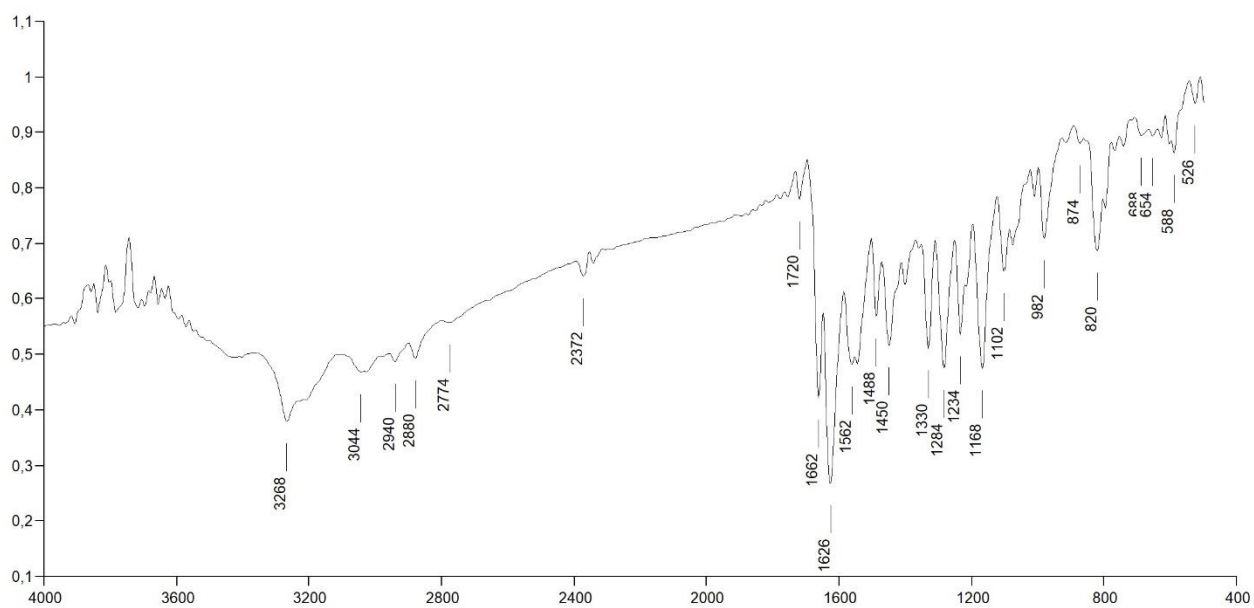
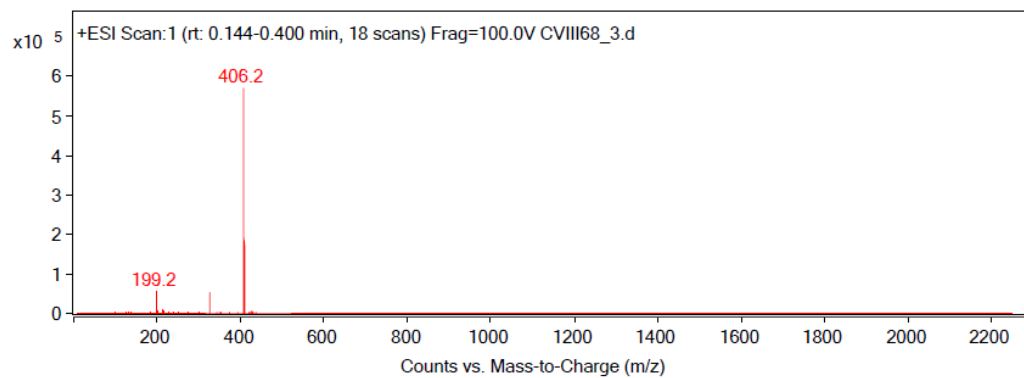
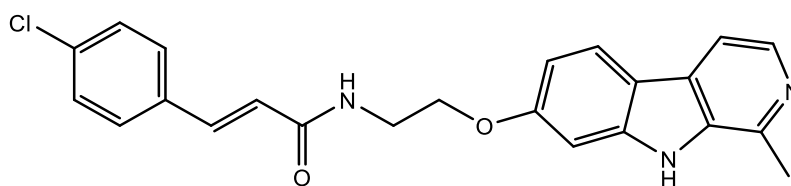


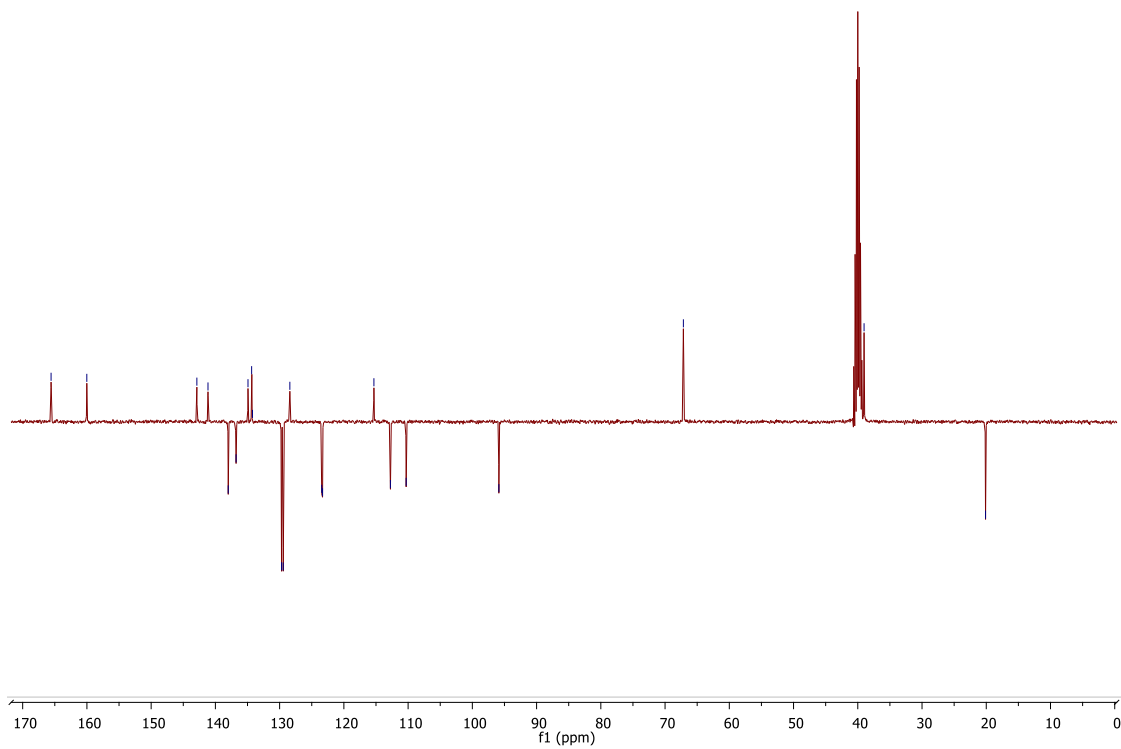
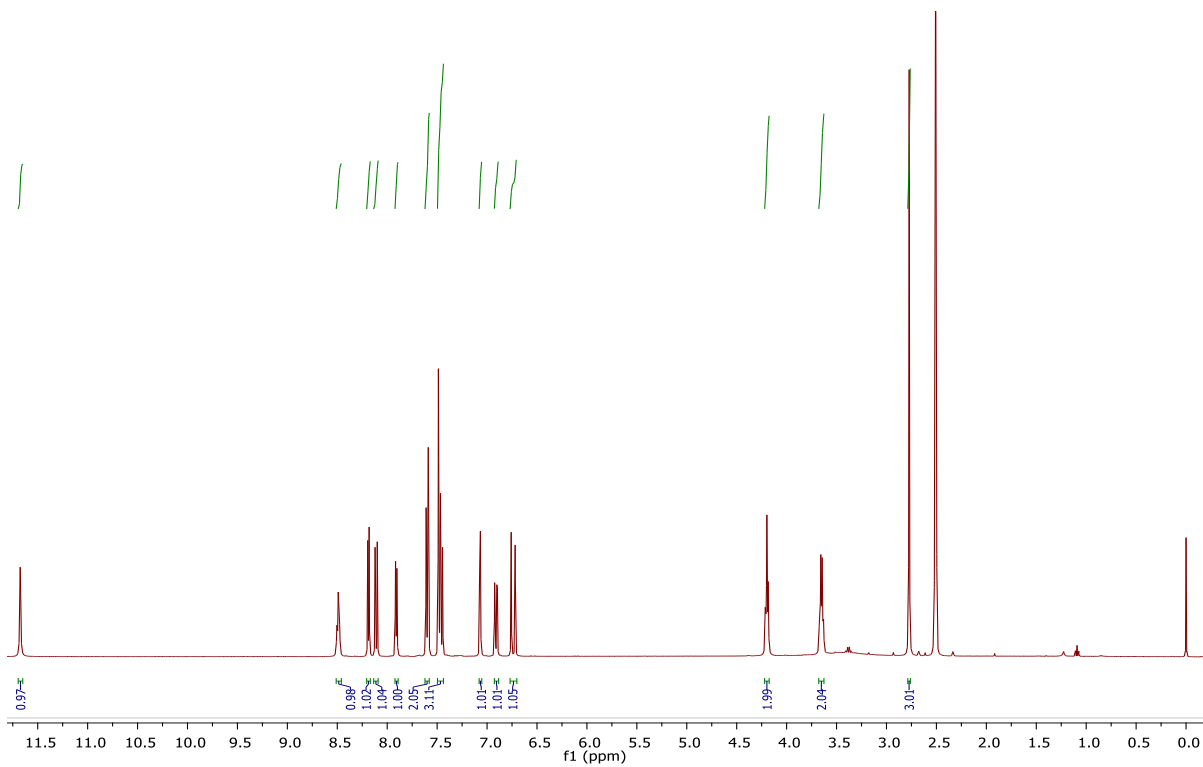
4f



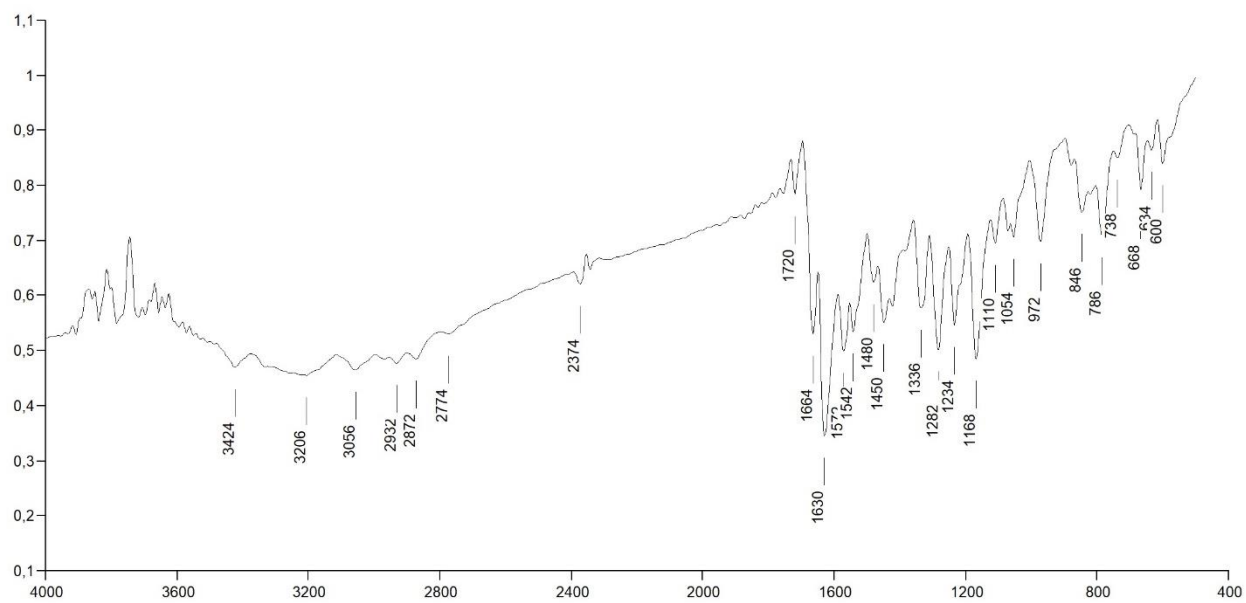
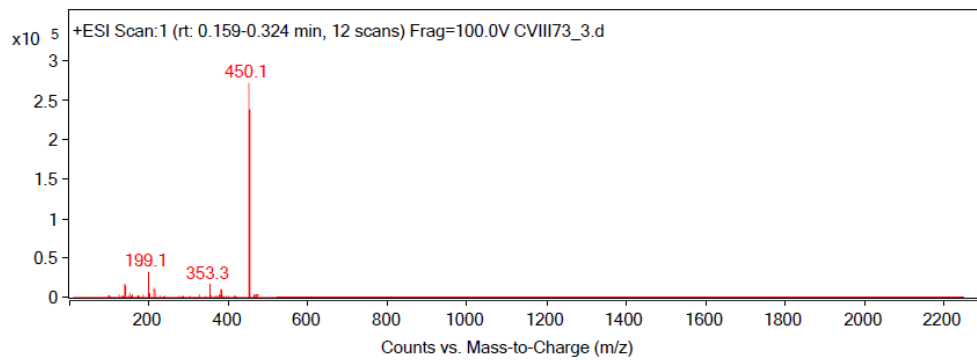
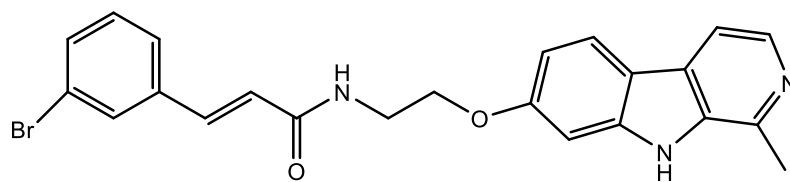


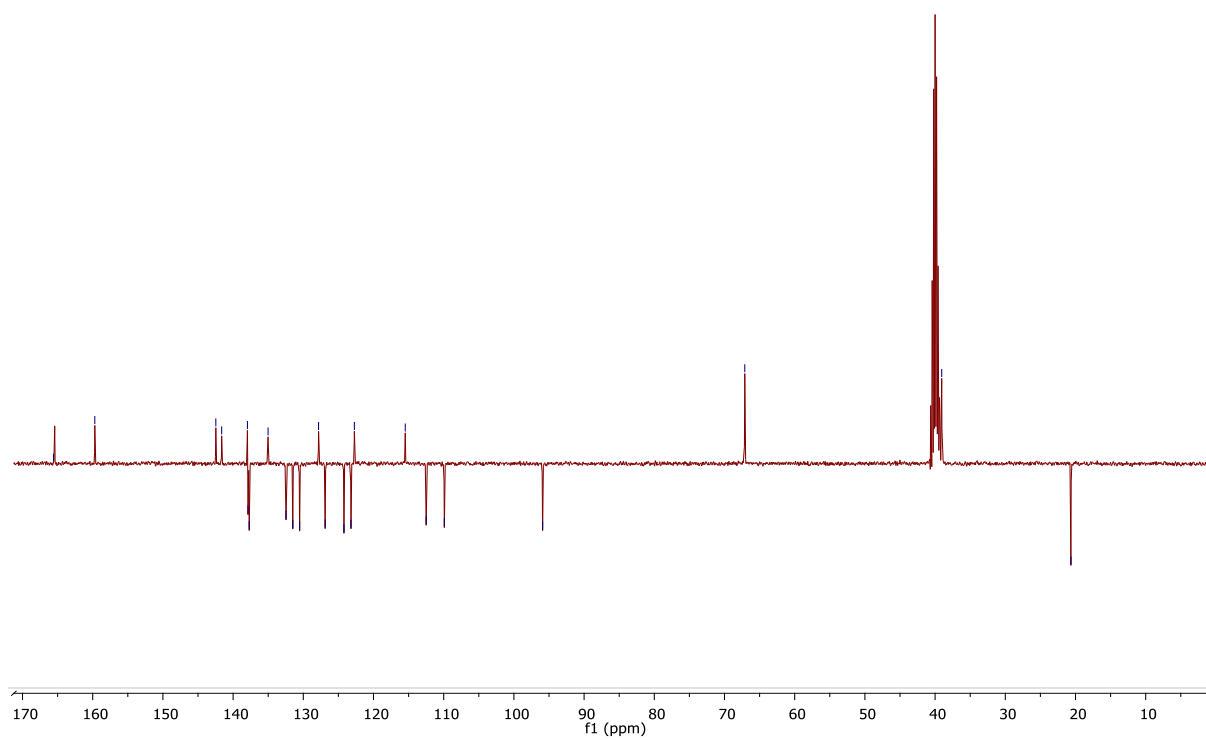
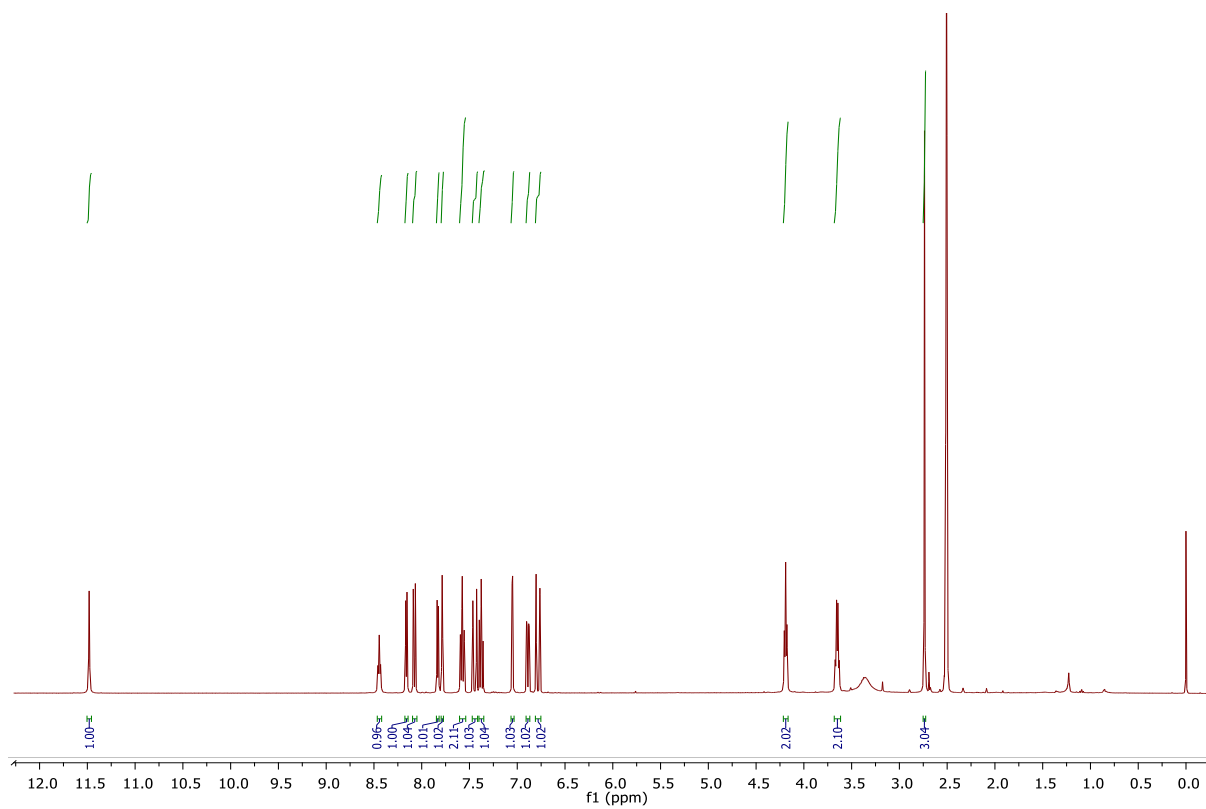
4g





4h





ŽIVOTOPISI

Barbara Rubinić rođena je 12. listopada 1996. godine u Zagrebu. I. gimnaziju završila je u Zagrebu, s odličnim uspjehom. Tijekom školovanja sudjelovala je na Državnim natjecanjima iz kemije na kojima je osvojila deveto (1. razred), treće (2. razred), prvo (3. razred) te peto mjesto (4. razred). U četvrtom razredu gimnazije dodijeljena joj je nagrada "Luka Ritz: Nasilje nije hrabrost" za volonterski rad. 2015. godine sudjelovala je na Međunarodnoj kemijskoj olimpijadi (*47th International Chemistry Olympiad*) u Bakuu, Azerbajdžan. Iste godine upisala je Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu a 2016. godine upisuje i sveučilišni preddiplomski studij kemije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu. Preko ljeta 2016. godine volontira kao suorganizator radionice kemijske sinteze acetilsalicilne kiseline predviđene za 7. i 8. razred osnovne škole na Ljetnoj tvornici znanosti u Samoboru. Za akademsku godinu 2016./2017. dodijeljena joj je Dekanova nagrada za izvrstan uspjeh na Medicinskom fakultetu. Od 2017. godine volontira na pripremama za maturu iz kemije u Salezijanskom oratoriju na Knežiji, a od siječnja 2018. godine počinje volontirati i na Zavodu za farmaceutsku kemiju (Farmaceutsko-biokemijski fakultet). Koautor je prijevoda knjige "*This book thinks you're a scientist*" na hrvatski jezik. Sudjeluje u radu Centra izvrsnosti u Bjelovaru u osmišljanju i izvedbi radionica za kemiju drugih razreda srednjih škola. Član je Vijeća Studentske sekcije za kardiologiju te Znanstvenog odbora CROSS-a (*Croatian students' summit*). Izradi ovog rada pristupila je zbog zainteresiranosti za razvoj i sintezu novih lijekova te želje za stjecanjem novih iskustava.

Luca Udovičić rođena je 2. travnja 1998. godine u Zagrebu. Završila je XV. zagrebačku gimnaziju u Zagrebu, s odličnim uspjehom. Tijekom školovanja sudjelovala je na Državnim natjecanjima iz kemije na kojima je osvojila dva puta drugo (7. i 1. razred), četvrto (3. razred), te deseto mjesto (4. razred). Bila je dio programa darovitih učenika XV. gimnazije i dva puta sudjelovala na maloj znanstvenoj konferenciji s projektima (2015. i 2016). Na ljeto 2017. godine sudjelovala je na Međunarodnoj kemijskoj olimpijadi (*49th International Chemistry Olympiad*) u Nakhon Pathomu, Thailand na kojoj je osvojila brončanu medalju, te je zbog tog uspjeha nagrađena Oskarom znanja 2018. godine. Upisala je Farmaceutsko-biokemijski fakultet u Zagrebu akademske godine 2017./2018. te je trenutno studentica druge godine. Nalazi se već drugu godinu u kategoriji 10% najuspješnijih studenata na studiju. Dugi niz godina aktivno se bavila sportom, a trenutno je član rukometne ekipe farmaceutsko-biokemijskog fakulteta. Izradi ovog rada priključila se zbog mogućnosti stjecanja novih znanja na području razvoja novih lijekova.