

Sveučilište u Zagrebu

Farmaceutsko–biokemijski fakultet

Željka Babić i Maja Crkvenčić

**SINTEZA I KARAKTERIZACIJA
DERIVATA ANTITUMORSKOG LIJEKA
SORAFENIBA**

Zagreb, 2010.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za farmaceutsku kemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom doc. dr. sc. Zrinke Rajić i prof. dr. sc. Branke Zorc i predan je na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2009. / 2010.

KRATICE

CAS	<i>Chemical Abstracts Service</i>
CYP3A4	citokrom P450 3A4
DNK	deoksiribonukleinska kiselina
DMF	dimetilformamid
DMSO	dimetilsulfoksid
EtOAc	etil-acetat
IFN- α	interferon alfa
IL-2	interleukin-2
INN	međunarodno nezaštićeno ime (<i>international non-proprietary name</i>)
IR	infracrvena spektrofotometrija (<i>infrared spectrophotometry</i>)
KBr	kalijev bromid
MeOH	metanol
MRI	magnetska rezonanca (<i>magnetic resonance imaging</i>)
NMR	nuklearna magnetska rezonantna spektroskopija
PDGFR	receptor trombocitnog faktora rasta (<i>platelet-derived growth factor receptor</i>)
R_f	faktor zadržavanja
SAR	odnos između strukture i djelovanja (<i>structure-activity relationship</i>)
TEA	triethylamin
TMS	tetrametilsilan
t_i	temperatura taljenja
UGT1A9	UDP-glukuronoziltransferaza 1A9
VEGFR	receptor vaskularnog endotelnog faktora rasta (<i>vascular endothelial growth factor receptor</i>)
VHB	virus hepatitisa B

SADRŽAJ

1. Uvod	1
1.1. Karcinom bubrega	2
1.1.1. Liječenje karcinoma bubrega	4
1.1.2. Kombinirano liječenje karcinoma bubrega	5
1.2. Karcinom jetre	6
1.3. Sorafenib	8
1.3.1. Apsorpcija i distribucija	9
1.3.2. Metabolizam i eliminacija	9
1.3.3. Otkriće sorafeniba	10
1.3.4. Dizajniranje sorafeniba	11
1.3.5. Mehanizam djelovanja	12
1.3.6. Receptorske protein-tirozin-kinaze	13
1.3.7. Ras, Raf i MAPK signalni put	13
1.4. Kombinatorna i paralelna sinteza	15
2. Opći i specifični ciljevi rada	17
3. Materijali i metode	19
3.1. Sintaza klorida 4-kloropikolinske kiseline i opća metoda sinteze amida 4-kloropikolinske kiseline (1a-e)	21
3.1.1. <i>N</i> -ciklopentil-4-kloropikolinamid (1a)	21
3.1.2. <i>N</i> -cikloheksil-4-kloropikolinamid (1b)	21
3.1.3. <i>N</i> -cikloheksilmetil-4-kloropikolinamid (1c)	22
3.1.4. <i>N</i> -benzil-4-kloropikolinamid (1d)	22
3.1.5. <i>N</i> -feniletil-4-kloropikolinamid (1e)	22
3.2. Opća metoda sinteze eter-amida (2a-e)	23
3.2.1. 4-(4-Aminofenoksi)- <i>N</i> -ciklopentilpikolinamid (2a)	23
3.2.2. 4-(4-Aminofenoksi)- <i>N</i> -cikloheksilpikolinamid (2b)	24
3.2.3. 4-(4-Aminofenoksi)- <i>N</i> -cikloheksilmetilpikolinamid (2c)	24
3.2.4. 4-(4-Aminofenoksi)- <i>N</i> -benzilpikolinamid (2d)	25
3.2.5. 4-(4-Aminofenoksi)- <i>N</i> -feniletilpikolinamid (2e)	25
3.3. Opća metoda sinteze urea-eter-amida (3a-e)	26
3.3.1. <i>N</i> -ciklopentil-4-(4-(3-(4-kloro-3-(trifluormetil)fenil)ureido)fenoksi)pikolinamid (3a)	26
3.3.2. <i>N</i> -cikloheksil-4-(4-(3-(4-kloro-3-(trifluormetil)fenil)ureido)fenoksi)pikolinamid (3b)	26
3.3.3. <i>N</i> -cikloheksilmetil-4-(4-(3-(4-kloro-3-(trifluormetil)fenil)ureido)fenoksi)pikolinamid (3c)	27
3.3.4. <i>N</i> -benzil-4-(4-(3-(4-kloro-3-(trifluormetil)fenil)ureido)fenoksi)pikolinamid (3d)	27
3.3.5. <i>N</i> -feniletil-4-(4-(3-(4-kloro-3-(trifluormetil)fenil)ureido)fenoksi)pikolinamid (3e)	28

4. Rezultati i rasprava.....	29
5. Zaključci.....	39
6. Literatura	41
7. Sažetak	44
8. Summary	46
9. Zahvale	48
10. Životopisi	50
11. Prilozi	52

1. UVOD

Zadatak ovog znanstvenog rada bio je pripremiti pet derivata citostatika sorafeniba (**3a-e**). Sorafenib je noviji citostatik, inhibitor Raf kinaze (protein kinaze), odobren u terapiji karcinoma bubrega i jetre. Po kemijskoj građi sorafenib je amid, eter i urea, a derivati se razlikuju u amidnoj komponenti. U ovom radu opisane su njihove potpune sinteze.

1.1. Karcinom bubrega

Većina malignih promjena bubrega klasificiraju se kao renalni adenokarcinom ili RCC i potječu iz epitela proksimalnih tubula bubrega. Na njega otpada 90 do 95 % svih karcinoma koji se javljaju na bubrezima te približno 2 % svih malignih oboljenja u odraslih ljudi. U proteklih 50 godina broj ljudi kojima je dijagnosticiran RCC dramatično se povećao: procjene su da je u SAD-u učestalost obolijevanja od RCC-a u navedenom razdoblju porasla za 126 %. Taj porast povezan je s pušenjem, hipertenzijom, pretilošću i prehranom, no također i s napretkom u dijagnostici (kompjuterizirana tomografija (CT) i magnetska rezonanca (MRI)). Iz još nedovoljno razjašnjenih razloga češće pogađa muškarce nego žene. Omjer oboljelih žena i muškaraca je 1:1,5 (Negrier i sur. 2005; Amato i sur., 2000).

RCC je šesti po redu uzrok smrtnosti među karcinomima. No u proteklih 30 godina prognoza za oboljele od RCC-a se poboljšala. Američko društvo za nadgledanje istraživanja karcinoma (*The American Society of Cancer Surveillance Research*) navodi porast broja pacijenata s karcinomom bubrega koji su poživjeli 5 godina nakon postavljanja dijagnoze. Taj postotak je u razdoblju od 1992. do 1999. godine iznosio 63 %, u razdoblju od 1983. do 1985. 56 %, a između 1974. i 1976. godine bio je 52 %.

Postoji značajna razlika u ishodu bolesti među pacijentima kojima je bolest dijagnosticirana u ranijoj fazi i onih kod kojih je prepoznata tek u kasnoj fazi. Prosječno vrijeme preživljavanja pacijenata s metastatskim oblikom RCC-a je 6 do 12 mjeseci, a tek za njih 10 do 20 % iznosi 2 godine. Približno 25 % pacijenata u vrijeme kada se RCC dijagnosticira već ima metastaze.

Glavni histološki podtipovi RCC-a su karcinom svijetlih stanica, kromafini ili papilarni, kromofobni, onkocitični, karcinom sabirnih kanalića i neklasificirani karcinom. Karcinom bubrega sa svijetlim stanicama je najčešći oblik i čini 70 do 80 % svih slučajeva RCC-a (Negrier i sur., 2005).

Proliferacija stanica tumora je stimulirana signalima molekula koje aktiviraju receptorske tirozin kinaze (RTKs), uključujući i epidermalne faktore rasta (EGFs),

trombocitni faktor rasta (PDGF), citokin (c-Kit) i FLT3 (jedan od faktora rasta hematopoetskih stanica) (Zwick i sur., 2002; Schlessinger i sur., 1997). Vežanje faktora rasta za odgovarajući receptor aktivira receptorsku tirozin kinaznu aktivnost i dovodi do aktivacije Ras-a. Posljedično Ras aktivira Ras/MEK/ERK signalne puteve (Herrera i sur., 2002). Aktivirani ERK translocira se iz citoplazme u jezgru i modificira gensku ekspresiju preko fosforilacije transkripcijskih faktora, što je detaljnije opisano u poglavljima 1.3.5., 1.3.6. i 1.3.7. Aktivacija Ras signalnih puteva pokreće slijed događaja koji stimuliraju diobu i preživljavanje stanice, a javlja se tijekom pretjerane ekspresije mutacija RTKs, mutacijske aktivnosti k-Ras ili mutacijske aktivacije nizvodnih receptora Ras-a kao što je b-Raf (Davies i sur., 2002).

EGFR je pretjerano eksprimiran u podskupini humanog karcinoma pluća. PDGFs pomažu razvoj glioblastoma i igraju važnu ulogu u kroničnim mijeloproliferativnim karcinomima. FLT3 je mutacijski aktiviran kod akutnih mijelogenetskih leukemija, a c-Kit je aktiviran kod gastrointestinalnih tumora vezivnog tkiva. Ras mutacije su prisutne kod najmanje 45 % svih karcinoma kolona i kod više od 90 % tumora egzokrinog pankreasa (Downward i sur., 2003). Mutirani b-Raf je prisutan u visokom postotku kod melanoma (Davies i sur., 2002).

Neovaskularizacija je visoko regulirani proces kod kojeg je proliferacija vaskularnih endotelnih stanica, limfatičkih endotelnih stanica i stanica glatkih mišića koje podupiru nove krvne žile kontrolirana preko više faktora rasta koji se povezuju sa RTKs. Faktori rasta uključeni u neovaskularizaciju su vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF), bazični fibroblastni faktor rasta (bFGF) i PDGF. PDGFs također podupiru stabilizaciju krvnih žila preko regrutacije i dozrijevanja pericita (Bergers i sur., 2003). Periciti su razgranate, zvjezdaste stanice vezivnog tkiva koje sudjeluju u izgradnji kapilara i malih venula. Također, bFGF i VEGF različito aktiviraju Raf, što rezultira zaštitom endotelnih stanica od apoptoze (Alavi i sur., 2003; Hood i sur. 2002), zajedno sa stimulacijom proliferacije (Meadows i sur., 2001; Doanes i sur., 1999), čime se osiguravaju uvjeti za neovaskularizaciju.

Dakle, aktivacija RTK signalnih puteva je važan mehanizam preko kojeg većina humanih tumora stimulira svoju proliferaciju i preko kojih se potiče i stabilizira tumorska neovaskularizacija.

1.1.1. Liječenje karcinoma bubrega

Budući da je RCC iznimno otporan na radioterapiju i kemoterapiju najučinkovitiji pristup karcinomu je sprječavanje njegova nastanka. U slučaju maligne promjene normalnih stanica u tumorske i početka nekontrolirane proliferacije, vrijeme koje protekne do dijagnosticiranja tumora, a time i početka liječenja, igra najveću ulogu u preživljavanju bolesnika. Otkrivanje tumora u ranoj fazi daje najveće šanse za preživljavanje jer je mnoge slučajeve karcinoma moguće izliječiti lokalnom terapijom, kirurškim zahvatom ili zračenjem. Stupanj izlječenja lokaliziranog ranog karcinoma je visok, oko 90 %. Međutim, preživljavanje bolesnika čiji se karcinom proširio u susjedna tkiva pada na oko 50 %, dok je u bolesnika s metastatskim karcinomom manji od 10 %.

Kirurško liječenje i radioterapija su učinkoviti oblici liječenja neproširenih karcinoma, jer se u tom slučaju selektivnost za stanice tumora postiže lokalizacijom zahvata, uz pažnju da se što manje oštete normalne stanice. Ove vrste liječenja ne mogu dosegnuti stanice karcinoma koje su se proširile po organizmu, stoga liječenje proširenih karcinoma zahtijeva uporabu kemoterapijskih lijekova. Tijekom njihova razvoja nastojalo se otkriti u čemu se tumorske stanice razlikuju od normalnih stanica i kako to iskoristiti za terapiju.

Većina kemoterapijskih lijekova starije generacije djeluje tako da oštećuje DNK ili ometa njezinu sintezu, no time se istovremeno inhibiraju i normalne stanice koje se brzo dijele, kao što su krvotvorne stanice ili stanice folikula kose. Zbog toksičnosti ovih lijekova učinkovitost terapije je ograničena jer se mnogi karcinomi ne mogu eliminirati s onom količinom lijeka koju bolesnik može podnijeti.

Zajedničko obilježje tumora je da nekontroliranim rastom oduzimaju normalnim stanicama prostor i resurse za život. Taj agresivan rast tumora mora biti podržan stalnim dovodom hranjivih tvari i kisika, zbog čega tumorske stanice luče niz faktora rasta koji stimuliraju proliferaciju kapilarnih endotelnih stanica što dovodi do urastanja novih kapilara u tumor. Na temelju toga se razvio jedan od pristupa liječenju karcinoma koji puno obećava, a to je uporaba lijekova koji ometaju angiogenezu i time sprječavaju rast tumora ne djelujući izravno na zloćudne stanice. Važnost angiogeneze prvi je spoznao Judah Folkman 1971. godine, a stalna istraživanja Folkmana i suradnika dovela su do razvoja novih lijekova koji inhibirajući angiogenezu sprječavaju proliferaciju endotelnih stanica. Budući da ti lijekovi selektivno inhibiraju stvaranje novih krvnih žila, oni manje oštećuju normalne stanice od uobičajenih citostatika jer postojeće krvne žile ostaju očuvane za opskrbu stanica s normalnim potrebama.

Uloga onkogeni i tumor-supresorskih gena u razvoju tumora se intenzivno proučava. Alternativna strategija selektivnog liječenja tumora temelji se na razvoju lijekova specifično usmjerenih protiv onkogeni koji potiču tumorski rast. To su mutirani ili nenormalno eksprimirani oblici gena koji kontroliraju dijeljenje i preživljavanje stanice. Normalni oblici gena nazivaju se protoonkogeni i igraju važnu ulogu u životu stanice. Nažalost, to znači da onkogeni nisu specifični za tumorske stanice pa bi neselektivni inhibitori ekspresije ili funkcije onkogeni najvjerojatnije djelovali i na normalne i na tumorske stanice. Razvoj lijekova koji bi ciljano djelovali na pojedine onkogene nije sasvim jednostavan, ali nekoliko obećavajućih rezultata pokazuje da je ciljano liječenje usmjereno protiv određenih onkogeni ipak moguće (Cooper i Hausman, 2004).

1.1.2. Kombinirano liječenje karcinoma bubrega

Kombinacija lijeka koji aktivira imunološki odgovor organizma s lijekom koji zaustavlja dotok krvi karcinomu pomaže organizmu u borbi protiv tumora. Interferon-alfa (IFN- α) je protein kojeg u organizmu proizvode leukociti. Njegova primarna uloga je sudjelovanje u imunološkom odgovoru protiv virusnih infekcija, a također pojačava sposobnost organizma za borbu protiv tumora. Koristio se nekoliko desetljeća u liječenju karcinoma bubrega. Drugi lijek, sorafenib, lijek je iz skupine antiangiogenika. Kombinacijom tih lijekova značajno se povećao broj pacijenata koji pozitivno odgovaraju na terapiju, a životni vijek pacijenata se znatno produljio. Kada se koriste zajedno, ti lijekovi dovode do smanjivanja tumora u 8 % pacijenata te do stabilizacije bolesti u 62 % pacijenata.

Kod svih ispitanika karcinom bubrega je bio neoperativan ili u završnoj, metastatskoj fazi. Sudionici su uzimali sorafenib u obliku tableta dva puta na dan, a IFN- α tri puta na tjedan tijekom osam tjedana. Ukoliko je tumor prestao rasti ili se smanjio nakon dvotjedne pauze nastavljalo se s terapijom sve dok tumor ne bi nestao ili se stanje pogoršalo (Escudier i sur., 2007).

Iako RCC stanice imaju receptore za estrogen, progesteron i testosteron, terapija hormonima ne smatra se dovoljno učinkovitom (Atzpodien i sur., 2001). Opsežna istraživanja u pacijenata na kemoterapiji pokazala su prosječno poboljšanje općeg stanja od 5,5 % (Amato RJ, 2000).

Terapija citokinima, u koje spada i IFN smatra se umjereno uspješnim oblikom liječenja karcinoma zbog pratećih nuspojava. Opći pregled višestrukih kliničkih pokusa s IFN-om pokazao je da je šansa za potpunu remisiju nakon primjene imunoterapije 12,9 % te da je nefrektomija praćena s imunoterapijom najuspješniji oblik liječenja metastatskog karcinoma bubrega u bolesnika s minimalnim simptomima. Meta-analiza četiri nasumična pokusa dala je podatke o smanjenoj smrtnosti u roku od godinu dana pri liječenju s IFN-om (Coppin i sur., 2005). Međutim, novija istraživanja pokazuju da u pacijenata s rizikom srednjeg stupnja nema razlike u preživljavanju bez napredovanja bolesti (PFS, *progression-free survival*,) i u sveukupnom preživljavanju (OS, *overall survival*) između liječenja sa IFN-om ili interleukinom-2 (IL-2) u odnosu na kontrolnu skupinu koja je primala medroksiprogesteron acetat (Negrier i sur., 2005).

IL-2 se intenzivno proučavao kao terapija za RCC, pokazujući varijabilnu uspješnost. Velike doze IL-2 pokazale su se toksičnima zbog nastanka sindroma koji uključuje ozbiljnu hipotenziju, plućni edem i poremećaj bubrežne funkcije. Niske doze IL-2 davane potkožno pokazale su se manje djelotvornima, no podnošljivijima (Yang i sur., 1997).

Nedavna klinička studija u fazi III u pacijenata s RCC-om, koja je uspoređivala djelotvornost IFN-a, niskih doza IL-2, IFN-a u kombinaciji s IL-2 te medroksiprogesteron acetata, nije pokazala nikakve razlike u PFS-u ili OS-u, ali je pokazala smanjenje sigurnosti i kvalitete života pri upotrebi citokina (Negrier i sur., 2005).

Za kombinacije imunoterapije i kemoterapije nema jasnih rezultata; jedni upućuju na značajnu učinkovitost u liječenju uznapredovalog renalnog karcinoma u odnosu na hormonsku terapiju (Atzpodien i sur., 2001), a drugi da ova kombinacija nije uspjela pokazati nedvojbenu učinkovitost (Negrier i sur., 2000).

1.2. Karcinom jetre

Hepatocelularni karcinom (HCC) najčešći je od tri tipa karcinoma koji primarno nastaju u jetri. Po učestalosti je to peti karcinom u svijetu. Češće pogađa mušarce nego žene, u omjeru 3:1. Smatra se da je to povezano s većom prevalencijom alkoholizma, kroničnim jetrenim bolestima te posebno infekcijom virusom hepatitisa B (VHB). Infekcija virusom hepatitisa C također je jedan od faktora rizika za HCC, no još nije poznato do koje mjere.

Premda postoje brojne potvrde koje upućuju na povezanost VHB-a i HCC-a, sumnja se da VHB nije izravno karcinogen, već da njegova prisutnost u jetri čini stanice osjetljivijima

na neke tvari kao što su npr. aflatoksini. Aflatoksini su spojevi koje proizvode plijesni vrste *Aspergillus flavus*, mogu se naći u pljesnivim žitaricama, a u ispitivanjima na životinjama pokazali su se izrazito karcinogenima.

Ciroza jetre nije nužan prekursor HCC-a, ali 60 do 80 % oboljelih od HCC-a ima prisutnu i cirozu jetre (Kumar i sur., 1992). Iako HCC može uzrokovati povećanje jetre, on se najčešće pojavljuje u već oštećenoj jetri (cirozi jetre) pa su u tim slučajevima naglo povećanje jetre, pojava ascitesa, povišenje tjelesne temperature i bol u trbuhu znakovi koji upućuju na tumor. Žutice nema ili može biti vrlo blagog intenziteta. Od ranih simptoma mogu se još pojaviti opća slabost, anoreksija, gubitak tjelesne težine, a ponekad i mučnina i povraćanje (Vucelić i sur., 2002; Kumar i sur., 1992).

U listopadu 2007. godine Europska komisija je odobrila sorafenib za liječenje pacijenata s HCC-om, temeljeno na pozitivnim podacima treće faze placebo-kontrolirane studije koja je pokazala da je sorafenib za 44 % produljio OS kod pacijenata s HCC-om u odnosu na placebo. U toj studiji srednje sveukupno preživljavanje bilo je 10,8 mjeseci u pacijenata koji su primali sorafenib u usporedbi sa 8,0 mjeseci u pacijenata koji su primali placebo (www.emea.europa.eu).

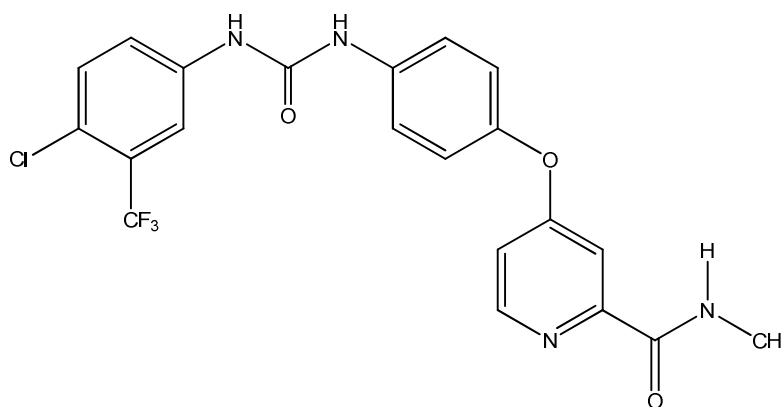
1.3. Sorafenib

Sorafenib je međunarodno nezaštićeno ime (INN) 4-(4-(3-(4-kloro-3-trifluormetilfenil)ureido)fenoksi)-*N*²-metilpiridin-2-karboksamida (Slika 1). Molekulska formula sorafeniba je C₂₁H₁₆ClF₃N₄O₃, molekulska masa mu je 464,8. Njegov CAS broj je 284461-73-0.

Dolazi u obliku soli tosilata, čiji je kemijski naziv 4-(4-(3-(4-kloro-3-trifluormetilfenil)ureido)fenoksi)-*N*²-metilpiridin-2-karboksamid 4-metilbensensulfonat, molekulske formule C₂₁H₁₆ClF₃N₄O₃, C₇H₈O₃S, a molekulska masa mu je 637,0. CAS broj sorafenib tosilata je 475207-59-1 (Sweetman, 2007).

Sorafenib je oralni višestruki inhibitor kinaza koji blokira kinaze u stanicama tumora (c-Raf, b-Raf, V600E b-Raf, c-Kit i FLT-3) i u tumorskoj vaskulaturi (c-Raf, VEGFR-2, VEGFR-3 i PDGFR-β). Raf kinaze su serin/treonin kinaze, a c-Kit, FLT-3, VEGFR-2, VEGFR-3 i PDGFR-β su receptorske tirozin kinaze (www.emea.europa.eu).

Najčešće nuspojave u pacijenata koji primaju sorafenib su kožne reakcije na rukama i nogama, te osip. Česte nuspojave su još leukopenija, limfopenija, anemija, neutropenija i trombocitopenija, a mogu se pojaviti i hipertenzija, hemoragija, hipofosfatemija. Od ostalih nuspojava javlja se još alopecija, pruritus, suhoća kože, gastrointestinalne tegobe, artralgija, mialgija i periferna neuropatija. U ozbiljnim nuspojavama, među kojima su ishemija srčanog mišića i infarkt miokarda, nije primijećena razlika između sorafenib i placebo skupine. Ako do njih dođe, terapiju treba prekinuti (Sweetman, 2007).



Slika 1. Sorafenib.

1.3.1. Apsorpcija i distribucija

Nakon *per os* primjene tablete sorafeniba prosječna relativna bioraspoloživost iznosi 38 do 49 % od ukupne doze, u usporedbi s oralnom primjenom otopine sorafeniba. Apsolutna bioraspoloživost nije poznata. Maksimalnu koncentraciju u plazmi (c_{\max}) postiže za približno 3 sata. Koncentracija sorafeniba u plazmi smanjuje se za 30 % ako se lijek uzima uz hranu bogatu mastima.

Povećanjem primijenjene doze lijeka iznad 400 mg prosječna c_{\max} i površina ispod krivulje (*AUC*) više ne rastu linearno u odnosu na primijenjenu dozu (njihov rast se usporava). Vezanje sorafeniba *in vitro* za proteine plazme iznosi 99,5 %. Višestruko doziranje sorafeniba tijekom 7 dana rezultiralo je dva i pol do sedam puta većom akumulacijom u usporedbi s primjenom pojedinačne doze. Ravnotežne koncentracije sorafeniba u plazmi postižu se unutar 7 dana (www.emea.europa.eu).

1.3.2. Metabolizam i eliminacija

Poluvrijeme eliminacije sorafeniba je 25 do 48 sati. Sorafenib se primarno metabolizira u jetri i podliježe oksidativnoj biotransformaciji, putem CYP3A4, kao i glukuronidaciji, putem UGT1A9.

Do sada je identificirano osam metabolita sorafeniba, od kojih je pet detektirano u krvnoj plazmi. Glavni cirkulirajući metabolit, piridin-*N*-oksid, u uvjetima *in vitro* pokazuje djelovanje slično sorafenibu.

Nakon oralne primjene otopine sorafeniba (doze od 100 mg), 96 % sorafeniba izluči se unutar 14 dana. Fecesom se izluči 77 %, a urinom u obliku glukuronida 19 % doze. Većinu lijeka koja se izluči putem fecesa čini nepromijenjeni sorafenib (51 % primijenjene doze), koji nije detektiran u urinu (www.emea.europa.eu), a značajan metabolit je i karboksilna kiselina (Negrier, 2005). Konjugati izlučeni bilijarnim putem mogu biti hidrolizirani djelovanjem crijevne flore, a oslobođeni sorafenib se može ponovo apsorbirati. Enterohepatičku cirkulaciju ometaju antimikrobni lijekovi te stoga istodobna primjena neomicina smanjuje bioraspoloživost za 54 % (www.emea.europa.eu).

1.3.3. Otkriće sorafeniba

Do osamdesetih godina dvadesetog stoljeća otkriće novih lijekova bilo je orijentirano na sintezu novih citotoksičnih kemoterapijskih lijekova, bez potpunog razumijevanja molekularnih mehanizama koji pokreću nastajanje tumora. Početkom osamdesetih godina počinje identifikacija promjena u stanici odgovornih za maligne transformacije.

Nizom otkrića, koja se nastavljaju i danas, otkriveni su onkogeni, koji izazivaju i održavaju karcinom, i tumor-supresorski geni, koji sprječavaju nastanak malignih promjena. Identificirane su, također, promjene na strukturi gena, kao što je npr. metilacija DNK, koja može stvoriti preduvjete za nastanak tumora tako što aktivira ili inaktivira gene odgovorne za regulaciju rasta stanice. Onkogeni se mogu aktivirati nasljednom ili stečenom mutacijom gena, fuzijom s drugim genima (npr. tijekom infekcije nekim vrstama virusa ili zbog greške nastale tijekom diobe stanice). Također, može doći do nenormalne ekspresije proteina zbog amplifikacije (stvaranja mnogo kopija istog gena), povećane aktivnosti promotora (dio DNK ispred gena koji kontrolira ekspresiju gena) ili proteinske stabilizacije.

Ispitivanja funkcije onkogeni doprinijela su razumijevanju nastanka tumora. Proučavaju se ključni sudionici signalnih puteva koji su važni za proliferaciju, diferencijaciju, preživljavanje, adheziju, pokretljivost, koordinaciju, razmnožavanje i apoptozu stanica. Među onkogenima nalaze se i geni koji kodiraju faktore rasta, konstitutivno aktivne tirozin-kinazne receptore faktora rasta i nerekceptorske tirozin-kinaze.

Ovi proteini sudjeluju u prijenosu signala putem univerzalne mitogen-aktivirane protein kinaze (MAP-kinaze; MAPK) međustaničnim signalnim putem. MAPK signalni put regulira normalnu proliferaciju, preživljavanje, diferencijaciju i adheziju tako da prenosi izvanstanične signale različitih faktora rasta do specifičnih transkripcijskih faktora i na kraju u jezgru stanice potičući sintezu potrebnih proteina. Neregulirana aktivacija signalizacije kroz MAPK put ima značajnu ulogu u nastanku raka, uključujući nastanak nekoliko tipova dobro prokrvljenih solidnih tumora te hematološke maligne bolesti.

U vrijeme početka farmaceutskih istraživanja koja su dovela do sorafeniba, na tržištu nije bilo citostatskih lijekova – inhibitora kinaze. Međutim, prije nego što je sorafenib odobren, pojavila su se dva ciljana antitumorska lijeka prve generacije – imatinib (Gleevec[®], Novartis) i erlotinib (Tarceva[®], Genotech) (Patrick i sur., 2009).

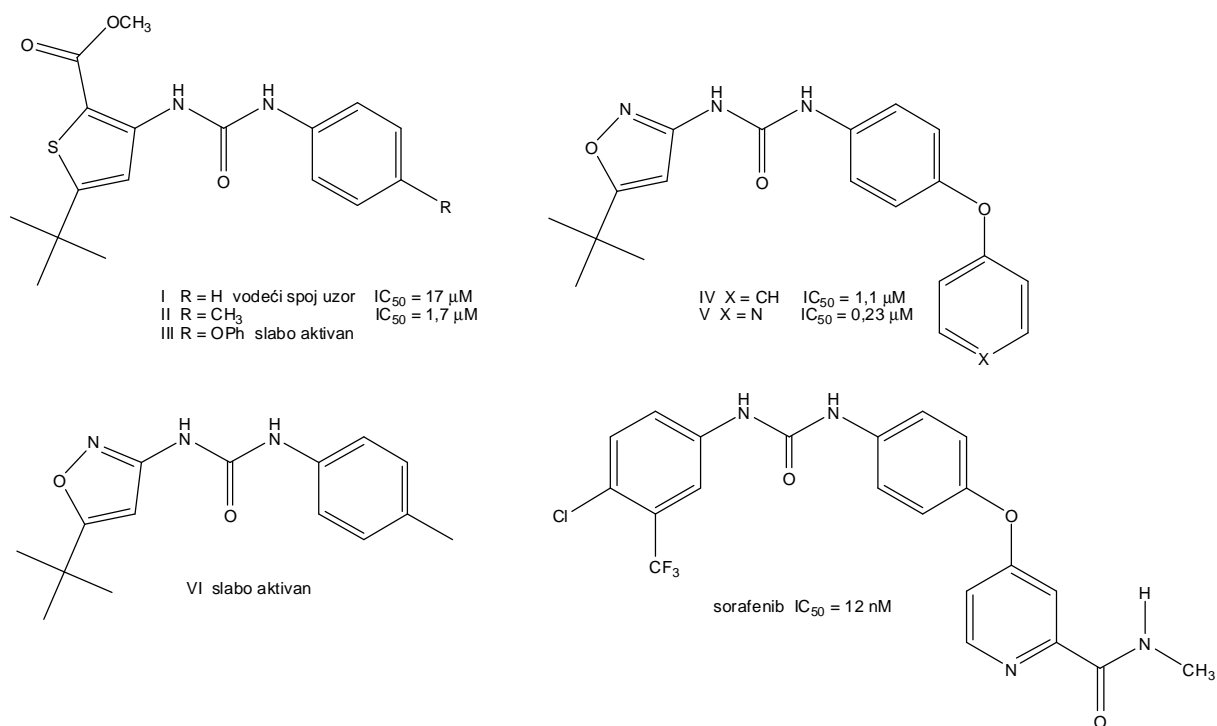
1.3.4. Dizajniranje sorafeniba

U nastojanju da se pronađe spoj uzor za sorafenib, *High throughput screening* (HTS) tehnologijom ispitano je djelovanje 200 000 spojeva na rekombinantnu Raf-1 kinazu (također nazvanu c-Raf). HTS tehnologija koristi robotiku i osjetljive detektore spojene s računalnim programom, čime se brzo može ispitati aktivnost velike količine spojeva, oko 100 000 spojeva na dan. To veliko istraživanje dovelo je do identifikacije uree I kao spoja uzora koji posjeduje aktivnost u mikromolarnim koncentracijama (Slika 2).

U daljnjim istraživanjima sintetizirani su mnogobrojni derivati te uree s različitim supstituentima i prstenovima. Tako je otkriveno da metilna skupina u *para* položaju na fenilu deseterostruko pojačava djelovanje. Opet je sintetiziran cijeli niz strukturnih analoga u kojima je jedna po jedna funkcionalna skupina sistematski zamjenjivana drugom. Unatoč sintezi velikog broja spojeva ova konvencionalna strategija nije dovela do većeg napretka.

Zatim se prešlo na paralelnu sintezu kojom se proizvelo tisuću analoga sa svim mogućim kombinacijama različitih supstituenata i prstenova. To je dovelo do otkrića uree IV s tek malo poboljšanim djelovanjem. Zanimljivo je da su ti rezultati odstupali od rezultata dobivenih SAR proračunima.

Spoj IV ima fenoksi supstituent i izoksazolski prsten, a ni jedna od tih skupina nije smatrana poželjnom prema SAR-u. Npr. spoj III s fenoksi supstituentom i spoj VI s izoksazolskim prstenom imaju slabije djelovanje od početnog spoja I. To upućuje da nijedna skupina nije dobra za djelovanje. Međutim, SAR analiza koja uključuje mijenjanje jednog po jednog supstituenta ne uzima u obzir sinergistički učinak koje mogu imati dvije ili više promjena molekule. Strategija višestrukih modifikacija omogućuje identifikaciju takvih sinergističkih učinaka i ukazuje na ograničenja u jednostavnim SAR analizama.



Slika 2. Razvoj sorafeniba.

U daljnjim istraživanjima spoj IV je uzet kao novi spoj uzor. Zamjenom fenilnog prstena s piridinskim otkriven je spoj V koji ima pet puta jače djelovanje, veću topljivost u vodi i veći *Clog P* (mjera lipofilnosti lijeka, a time i mjera sposobnosti lijeka da prođe kroz lipidne membrane u organizmu i dođe do mjesta djelovanja). Klasičnim variranjem supstituenata dizajniran je sorafenib koji je tisuću puta aktivniji od početnog spoja uzora (Patrick i sur., 2009).

1.3.5. Mehanizam djelovanja

Kao što je rečeno, sorafenib je inhibitor kinaza koji blokira tirozin kinazu te serin/treonin kinazu, koje su povezane s VEGFR-om i PDGFR-om. VEGFR i PDGFR imaju ključnu ulogu u patogenezi karcinoma preko von Hippel-Lindau (VHL) gena. VHL je tumorsupresorski gen koji kodira protein uključen u regulaciju proizvodnje VEGF-a i PDGF-a. Ako se VHL gen inaktivira dolazi do prekomjerne proizvodnje VEGF-a i PDGF-a što rezultira trajnom stimulacijom receptora.

Osim toga, mutacija gena za bilo koji protein koji sudjeluje u kaskadi prijenosa signala za proliferaciju i preživljavanje stanice može potencijalno dovesti do karcinoma. Stvaranje novih krvnih žila omogućuje tumoru rast, širenje i na kraju prijelaz u metastatsku fazu. Zbog toga su receptori za VEGF i PDGF pogodne ciljne molekule za terapiju karcinoma.

1.3.6. Receptorske protein-tirozin-kinaze

U ovoj porodici proteina nalaze se receptori za većinu polipeptidnih faktora rasta. Pojedini receptor sastoji se od izvanstanične domene na N-kraju koja veže ligand, jedne transmembranske alfa uzvojnice i citosolne domene na C-kraju koja ima protein-tirozin-kinaznu aktivnost. Vežanje liganda (npr. faktora rasta) za izvanstaničnu domenu receptora uzrokuje dimerizaciju receptora. Nakon dimerizacije dolazi do autofosforilacije spojenih receptora, jer se dva polipeptidna lanca uzajamno fosforiliraju. Takva fosforilacija ima dvije ključne uloge u signaliziranju tim receptorima. Kao prvo, fosforilacija tirozina unutar katalitičke domene povećava aktivnost protein kinaze, a kao drugo, fosforilacija tirozina izvan katalitičke domene oblikuje specifično vezno mjesto za dodatne proteine koji prenose unutarstanične signale. Na kraju dolazi do fosforilacije unutarstaničnih ciljnih proteina preko kojih će se dalje širiti signal, koji je započeo vezanjem faktora rasta (Cooper i Hausman, 2004).

1.3.7. Ras, Raf i MAPK signalni put

Signalni put MAPK je kaskada protein kinaza koje imaju ključnu ulogu u prijenosu signala u eukariotskim stanicama. Ovaj put je ostao očuvan tijekom evolucije pa ga možemo naći u svim eukariotskim stanicama, od kvasca do ljudi, što govori o njegovoj važnosti. Središnji je element toga puta porodica protein-serin/treonin-kinaza koje se zovu MAP-kinaze, a aktiviraju se u odgovoru na različite faktore rasta i druge signalne molekule.

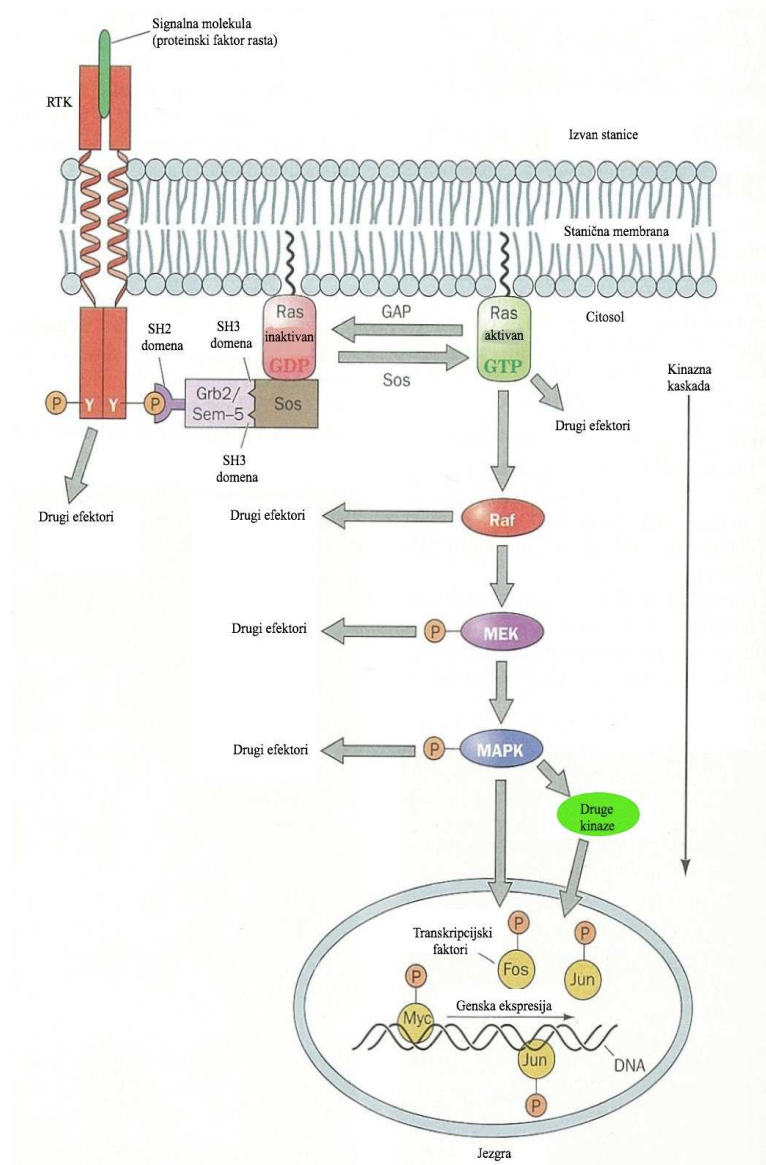
Postoje tri tipa MAP-kinaza među kojima je i ERK (*extracellular signal-regulated kinase*). Aktivaciju ERK-a potiču faktori rasta koji djeluju preko protein-tirozin-kinaze ili receptora povezanih s G-proteinima. Aktivacija ERK-a posredovana je proteinima Grb2 i faktorom izmjene gvanozina (GEF) te proteinskim kinazama Ras i Raf, koje se kaskadno

aktiviraju. Nakon vezanja faktora rasta za receptor dolazi do fosforilacije proteina Grb2, koji onda sa proteinom GEF aktivira Ras. Ras zatim aktivira protein-serin/treonin-kinazu Raf, a Raf potom fosforilira i aktivira drugu protein-kinazu, nazvanu MEK (prema MAP kinaza/ERK kinaza). MEK aktivira članove porodice ERK tako što fosforilira i treoninske i tirozinske ostatke. ERK zatim fosforilira ciljane proteine – druge protein kinaze, a dio aktiviranih ERK ulazi u jezgru i fosforilira transkripcijske faktore, koji dovode na kraju do ekspresije neposredno ranih gena koji su većinom transkripcijski faktori. Tako dolazi do ekspresije brojnih nizvodnih proteina.

Središnja uloga puta ERK razjašnjena je tijekom proučavanja Ras proteina, koji su prvi put otkriveni kao onkogeni proteini tumorskih virusa koji uzrokuju sarkome u štakora (otuda ime Ras, *rat sarcoma virus*).

Ras proteini vežu gvanozin; izmjenjuju se inaktivni oblik Ras-a koji veže GDP i aktivni oblik koji veže GTP. Aktivnost kompleksa Ras-GTP prestaje kada se hidrolizira GTP. Hidroliza je potaknuta djelovanjem proteina koji potiču aktivnost GTPaze (GAP). Raf se pretvara u aktivni oblik tako da se vezani GDP zamjeni sa GTP-om, a ta izmjena je potaknuta GEF-om.

Jedna od mutacija koja može dovesti do karcinoma je mutacija gena Ras čija je posljedica inhibicija hidrolize GTP-a na nenormalnom proteinu. Mutirani Ras proteini tako ostaju u stalno aktiviranom obliku i potiču nekontroliranu proliferaciju tumorskih stanica, čak i u odsutnosti faktora rasta (Cooper i Hausman, 2004).



Slika 3. Ras/Raf/MEK/MAPK signalni put

1.4. Kombinatorna i paralelna sinteza

Kombinatorna i paralelna sinteza omogućavaju proizvodnju velikog broja spojeva u kratkom vremenskom razdoblju. Reakcije se provode na maloj skali pa proces može biti automatiziran ili poluautomatiziran. Reakcije se izvode u nekoliko reakcijskih posuda u isto vrijeme, pod istim uvjetima, ali s različitim reagensima u svakoj reakcijskoj posudi.

U prošlosti su projekti u farmaceutskoj industriji uključivali identifikaciju spoja uzora koji ima biološku aktivnost, a koji se onda modificirao kako bi se razvio klinički koristan lijek. Za identifikaciju mjesta djelovanja i određivanje mehanizma djelovanja lijeka često je

potrebno puno godina. Danas većina farmaceutsko-kemijskih projekata započinje s već identificiranom metom, a zatim se radi na otkrivanju spoja uzora koji će stupiti u interakciju s metom. Ovaj preokret se dogodio kao posljedica otkrića humanog genoma i razvoja proteomike. Nakon mapiranja genoma identificiran je velik broj prije nepoznatih proteina, te je svaki od njih mogao poslužiti kao potencijalna meta lijeka. Farmaceutske kompanije bile su suočene s problemom identifikacije funkcije svakog proteina i pronalaska njegovog spoja uzora. Prije razdoblja kombinatorne kemije i paralelnih sinteza pronalazak spoja uzora bio je ograničavajući faktor u cijelom procesu sinteza. Danas se uz pomoć takve sinteze može u kratkom vremenu sintetizirati i ispitati tisuće spojeva kako bi se pronašli novi spojevi uzori, ispitao SAR i pronašli analozi s dobrim farmakološkim učincima i minimalnim nuspojavama.

Postupci koji se koriste u kombinatornoj sintezi su osmišljeni kako bi se proizvela smjesa različitih spojeva unutar svake reakcijske posude, dok se paralelnom sintezom dobiva samo jedan produkt u jednoj reakcijskoj posudi. Općenito, paralelna sinteza je preferirana, jer je lakše identificirati produkt. Ipak, postoji potreba za korištenjem kombinatorne sinteze za pronalazak spoja uzora jer ta metoda može generirati značajno više spojeva u određenom vremenskom razdoblju, što povećava vjerojatnost da se pronađe spoj uzor.

Tijekom procesa sinteze u svakoj reakcijskoj posudi namjerno se proizvodi smjesa produkata, što rezultira stvaranjem tisuće novih spojeva. Konvencionalnim metodama moglo bi se za to vrijeme sintetizirati tek nekoliko desetina spojeva. Kombinatorna sinteza protivi se konvencionalnoj organskoj sintezi gdje sintetičar proizvodi samo jedan spoj koji se može identificirati, očistiti i okarakterizirati. Produkti dobiveni kombinatornom sintezom se ne razdvajaju i ne pročišćavaju, ali se testira njihovo biološko djelovanje. Ukoliko nema biološkog djelovanja, nema potrebe nastaviti s ispitivanjima te smjese. S druge strane, ako postoji biološka aktivnost, jedna ili više komponenti u smjesi su aktivne. Iako identifikacija aktivnog spoja u smjesi može biti problematična, cijeli proces je ekonomičniji, jer izostanak biološke aktivnosti u smjesi od sto komponenti omogućava uštedu vremena jer u tom slučaju sinteza, pročišćavanje i identifikacija svake komponente u smjesi nije potrebna.

Međutim, uvijek postoji mogućnost da smjesa ne sadrži sve očekivane spojeve ako neki reaktanti ili međuprodukti ne reagiraju kao što je očekivano. Na temelju negativnog rezultata zaključuje se da spojevi nisu aktivni, a može se dogoditi da se neki od očekivanih spojeva nisu ni nalazili u smjesi. Tako se može promašiti spoj uzor. Pogrešni rezultati mogu nastati i u slučaju da pojedine komponente smjese mogu djelovati sinergistički ili antagonistički pa se učinak pojedinog spoja ne može pravilno interpretirati ili uočiti (Patrick, 2009).

2. OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA

Cilj ovog rada bio je sinteza pet novih derivata sorafeniba. U daljnjim istraživanjima koja prelaze okvire ovog rada ispitat će se njihovo potencijalno antitumorsko i antivirusno djelovanje.

3. MATERIJALI I METODE

Tališta (t_r) su određena na Stuart SMP3 instrumentu (Barloworld Scientific, UK) i nisu korigirana. Iskorištenja nisu optimirana.

Za tankoslojnu kromatografiju upotrebljene su silikagel ploče 60 F₂₅₄ (Kemika, Hrvatska), te petroleter/etil-acetat/metanol (3:1:0,5), petroleter/etil-acetat/metanol (3:1:0,25), petroleter/etil-acetat/metanol (3:1:0,15), cikloheksan/etil-acetat (1:1), petroleter/etil-acetat (1:1), etil-acetat te diklormetan/metanol (9:1), diklormetan/metanol (95:5) kao pokretne faze. Za kromatografiju na koloni kao nepokretna faza korišten je silikagel veličine čestica 0,063–0,200 nm (Merck, Njemačka), a kao pokretne faze petroleter/etil-acetat/metanol (3:1:0,5), petroleter/etil-acetat/metanol (3:1:0,25), petroleter/etil-acetat/metanol (3:1:0,15), petroleter/etil-acetat (1:1) i diklormetan/metanol (9:1). Za preparativnu kromatografiju korištene su ploče (Merck) te diklormetan/metanol (9:1) i diklormetan/metanol (95:5) kao pokretne faze. Analizirani spojevi detektirani su UV zračenjem ($\lambda = 254$ nm).

IR spektri snimljeni su na Paragon FT-IR spektrofotometru (Perkin Elmer, UK). NMR spektri snimljeni su Bruker AV-600 spektrometrom (Bruker, USA) kod 300,13 MHz za ¹H, odnosno kod 75,47 MHz za ¹³C jezgru. Uzorci su mjereni u DMSO-*d*₆ otopinama u NMR cjevčicama od 5 mm. Kemijski pomaci dani su u ppm u odnosu na tetrametilsilan (TMS) kao unutarnji standard. Spektri masa snimljeni su na HPLC-MS/MS (HPLC, Agilent Technologies 1200 Series; MS, Agilent Technologies 6410 Triple Quad).

Reakcije sinteze pomoću mikrovalova izvedene su u CEM Discover mikrovalnoj pećnici (CEM, USA).

Pikolinska kiselina, *p*-aminofenol i 4-kloro-3-(fluormetil)fenil izocijanat nabavljeni su od tvrtke Acros Organics (Belgija), ciklopentilamin, cikloheksilamin, cikloheksilmetilamin, benzilamin, feniletilamin i kalijev *t*-butoksid od tvrtke Aldrich (Njemačka), a kalijev karbonat od Kemike (Hrvatska).

U eksperimentalnom dijelu korištena su bezvodna otapala. Bezvodni toluen dobiven je sljedećim postupkom: toluen je ekstrahiran vodom, zatim je osušen nad bezvodnim kalcijevim kloridom, destilirani i čuvan nad elementarnim natrijem. Bezvodni dimetilformamid (DMF): u 1 L DMF-a dodano je 100 mL suhog toluena te je smjesa destilirana. Toluena azeotropski veže vodu i destilira prvi, a zatim destilira čisti DMF. Čuvan je nad aktiviranim molekulskim sitima. Bezvodni diklormetan: diklormetan je pran vodom, sušen iznad kalcijevog klorida i predestilirani.

Sve ostale kemikalije bile su *p. a.* čistoće.

3.1. Sinteza klorida 4-klorpikolinske kiseline i opća metoda sinteze amida 4-klorpikolinske kiseline (1a-e)

Otopina tionil-klorida (5 mL) i bezvodnog DMF-a (0,165 mL) miješana je na 45 °C kroz 20 minuta u inertnoj atmosferi dušika. Pikolinska kiselina (1,23 g, 0,01 mol) postupno je dodana na toj istoj temperaturi, pri čemu nastaje zelena suspenzija, koja zagrijavanjem do 72 °C prelazi u tamnocrvenu otopinu. Reakcijska smjesa miješana je na 72 °C tijekom 16 h, nakon čega nastaje žuti talog. Tionil-klorid uklonjen je uparavanjem pod sniženim tlakom i naparavanjem suhim toluenom. Dobivenom sirovom produktu, kloridu 4-klorpikolinske kiseline dodano je još 10 mL bezvodnog toluena. Otopina odgovarajućeg amina (0,01 mol) i trietilamina (2,79 mL, 0,02 mol) u bezvodnom toluenu (5 mL) dokapana je u reakcijsku smjesu kroz 5 minuta na ledenoj kupelji. Nakon pola sata reakcijska smjesa je ekstrahirana tri puta zasićenom otopinom natrijevog klorida, sušena na bezvodnom natrijevom sulfatu, profiltrirana i uparena. Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na koloni.

3.1.1. *N*-ciklopentil-4-klorpikolinamid (1a)

Količina ciklopentilamina: 0,988 mL.

Pokretna faza: petroleter/etil-acetat/metanol (3:1:0,5) i petroleter/etil-acetat (1:1).

Iskorištenje: 1,621g (72 %).

t_t 79–80 °C.

IR (KBr): ν_{\max} 3328, 3064, 2961, 2870, 1666, 1575, 1556, 1519, 732 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): 8,62 (d, 1H, 3), 8,58 (d, 1H, 1'), 8,02 (d, 1H, 6), 7,75 (dd, 1H, 4), 4,31-4,19 (m, 1H, 2'), 1,94-1,53 (m, 8H, 3'-6').

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 161,26 (1), 151,02 (2), 149,02 (3), 143,61 (5), 125,36 (6), 120,98 (4), 49,82 (2'), 31,12 (3', 6'), 22,62 (4', 5').

MS/MS m/z 225,1 (M + H)⁺.

3.1.2. *N*-cikloheksil-4-klorpikolinamid (1b)

Količina cikloheksilamina: 1,145 mL.

Pokretna faza: petroleter/etil-acetat/metanol (3:1:0,15).

Iskorištenje: 1,243 g (52 %).

t_t 116–119 °C.

IR (KBr): ν_{\max} 3330, 2930, 2853, 1650, 1578, 1554, 1534, 736 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): 8,61 (d, 1H, 3), 8,48 (d, 1H, 1'), 8,01 (d, 1H, 6), 7,74 (dd, 1H, 4), 3,80-3,74 (m, 1H, 2'), 1,79-1,16 (m, 10H, 3'-7').

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 161,54 (1), 151,90 (2), 149,91 (3), 144,53 (5), 126,28 (6), 121,90 (4), 48,13 (2'), 32,03 (3', 7'), 25,03 (5'), 24,73 (4', 6').

MS/MS m/z 239,1 (M + H) $^+$.

3.1.3. *N*-cikloheksilmetil-4-klorpikolinamid (1c)

Količina cikloheksilmetilamina: 1,301 mL.

Pokretna faza: petroleter/etil-acetat/metanol (3:1:0,15).

Iskorištenje: 0,999 g (40 %).

t_t 107–108 $^{\circ}\text{C}$.

IR (KBr): ν_{\max} 3341, 3089, 2926, 2855, 1649, 1537, 736 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): 8,82 (t, 1H, 1'), 8,62 (d, 1H, 3), 8,02 (d, 1H, 6), 7,76 (dd, 1H, 4), 3,16 (t, 2H, 2'), 1,68-0,97 (m, 11H, 3'-8').

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 163,08 (1), 152,37 (2), 150,46 (3), 145,00 (5), 126,76 (6), 122,39 (4), 45,52 (2'), 30,86 (4', 8'), 26,50 (6'), 25,81 (5', 7').

MS/MS m/z 253,1 (M + H) $^+$.

3.1.4. *N*-benzil-4-klorpikolinamid (1d)

Količina benzilamina: 1,092 mL.

Pokretna faza: petroleter/etil-acetat/metanol (3:1:0,25).

Iskorištenje: 1,577 g (64 %).

t_t 70–72 $^{\circ}\text{C}$.

IR (KBr): ν_{\max} 3326, 1649, 1578, 1552, 1536, 736, 725 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): 9,40 (t, 1H, 1'), 8,62 (d, 1H, 3), 8,01 (d, 1H, 6), 7,77 (dd, 1H, 4), 7,33-7,21 (m, 5H, arom. 4'-8'), 4,50 (d, 2H, 2').

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 163,26 (1), 152,23 (2), 150,57 (3), 145,04 (5), 139,76 (3'), 128,72 (4',8'), 127,83 (5',7'), 126,94 (6'), 125,36 (6), 120,98 (4), 42,98 (2').

MS/MS m/z 269,1 (M + Na) $^+$.

3.1.5. *N*-feniletil-4-klorpikolinamid (1e)

Količina feniletilamina: 1,260 mL.

Pokretna faza: petroleter/etil-acetat/metanol (3:1:0,15).

Iskorištenje: 1,404 g (54 %).

t_t 60–62 °C.

IR (KBr): ν_{\max} 3346, 1657, 1556, 1531, 733, 700 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): 8,88 (t, 1H, 1'), 8,61 (d, 1H, 3), 8,01 (d, 1H, 6), 7,73 (dd, 1H, 4), 3,55-3,52 (q, 2H, 2'), 2,86 (t, 2H, 3').

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 162,50 (1), 151,73 (2), 149,98 (3), 144,52 (5), 139, 24 (4'), 128,54 (5',9'), 128,31 (6',8'), 126,33 (6), 126,08 (7'), 121,86 (4), 40,44 (2'), 34,97 (3').

MS/MS m/z 261,1 (M + H) $^+$.

3.2. Opća metoda sinteze eter-amida (2a-e)

Suspenzija kalijevog *t*-butoksida (0,056 g, 0,0005 mol) i *p*-aminofenola (0,054 g, 0,0005 mol) u bezvodnom DMF-u (5 mL) miješana je na sobnoj temperaturi 30 minuta. Nakon dodatka odgovarajućeg amida 4-klorpikolinske kiseline **1a-e** (0,0005 mol) i kalijevog karbonata (0,034 g, 0,00025 mol) reakcijska smjesa miješana je u uređaju za mikrovalnu sintezu pod sljedećim uvjetima: $P = 150 \text{ W}$, $t = 173 \text{ °C}$, $t = 10 \text{ min}$. DMF je uparen pod sniženim tlakom, a ostatak nakon uparavanja otopljen je u etil-acetatu i ekstrahiran tri puta zasićenom otopinom natrijevog klorida. Organski sloj je sušen na bezvodnom natrijevom sulfatu, profiltriran te je otapalo upareno. Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na koloni ili prekrizacijom.

3.2.1. 4-(4-Aminofenoksi)-*N*-ciklopentilpikolinamid (2a)

Količina *N*-ciklopentil-4-klorpikolinamida (**1a**): 0,112 g.

Pokretna faza: diklormetan/metanol (9:1).

Iskorištenje: 0,069 g (46 %).

Smolasti produkt.

IR (KBr): ν_{\max} 3353, 2958, 2870, 1666, 1608, 1590, 1521, 1502, 1470, 1284, 1198, 836 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): 8,46 (d, 1H, 3), 8,44 (d, 1H, 1'), 7,34 (d, 1H, 6), 7,08 (dd, 1H, 4), 6,85 (d, 2H, 8,12), 6,66 (d, 2H, 9,11), 5,16 (s, 2H, 13), 4,22-4,15 (m, 1H, 2'), 1,99-1,53 (m, 8H, 3'-6').

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 167,30 (5), 163,31 (1), 152,74 (2), 150,51 (3), 147,32 (7), 143,37 (10), 121,99 (8,12), 115,36 (9,11), 114,23 (6), 108,86 (4), 51,04 (2'), 32,56 (3',6'), 23,95 (4', 5').

MS/MS m/z 298,2 (M + H) $^+$.

3.2.2. 4-(4-Aminofenoksi)- \mathcal{N} -cikloheksilpikolinamid (2b)

Količina \mathcal{N} -cikloheksil-4-klorpikolinamida (**1b**): 0,119 g.

Prekristalizacija iz metanola i vode.

Iskorištenje: 0,075 g (48 %).

t_t 150–153 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3357, 3316, 2928, 2855, 1660, 1566, 1523, 1506, 839 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): 8,45 (d, 1H, 3), 8,37 (d, 1H, 1'), 7,34 (d, 1H, 6), 7,08 (dd, 1H, 4), 6,85 (d, 2H, 8,12), 6,65 (d, 2H, 9,11), 5,17 (s, 2H, 13), 3,77-3,68 (m, 1H, 2'), 1,78-1,04 (m, 10H, 3'-7').

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 167,31 (5), 162,70 (1), 152,77 (2), 150,52 (3), 147,30 (7), 143,38 (10), 121,98 (8,12), 115,37 (9,11), 114,26 (6), 108,92 (4), 48,38 (2'), 32,58 (3',7'), 25,54 (5'), 25,18 (4', 6').

MS/MS m/z 312,2 (M + H) $^+$.

3.2.3. 4-(4-Aminofenoksi)- \mathcal{N} -cikloheksilmetilpikolinamid (2c)

Količina \mathcal{N} -cikloheksilmetil-4-klorpikolinamida (**1c**): 0,126 g.

Pokretna faza: petroleter/etil-acetat/metanol (3:1:0,15).

Iskorištenje: 0,075 g (46 %).

t_t 135–137 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3390, 3364, 3194, 2924, 2838, 1680, 1526, 1504, 1299, 1195, 844 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): 8,65 (t, 1H, 1'), 8,45 (d, 1H, 3), 7,34 (d, 1H, 6), 7,07 (dd, 1H, 4), 6,86 (d, 2H, 8,12), 6,65 (d, 2H, 9,11), 5,15 (s, 2H, 13), 3,12 (t, 2H, 2'), 1,66-0,84 (m, 11H, 3'-8').

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 167,31 (5), 163,76 (1), 152,78 (2), 150,54 (3), 147,32 (7), 143,37 (10), 122,00 (8,12), 115,36 (9,11), 114,19 (6), 108,90 (4), 45,39 (2'), 37,91 (3'), 30,86 (4',8'), 26,50 (6'), 25,81 (5', 7').

MS/MS m/z 326,2 (M + H)⁺.

3.2.4. 4-(4-Aminofenoksi)-*N*-benzilpikolinamid (2d)

Količina *N*-benzil-4-klorpikolinamida (**1d**): 0,123 g.

Pokretna faza: petroleter/etil-acetat/metanol (3:1:0,5).

Iskorištenje: 0,121 g (76 %).

Smolasti produkt.

IR (KBr): ν_{\max} 3348, 3062, 2925, 1665, 1590, 1566, 1526, 1501, 1468, 1261, 1197, 834, 699 cm^{-1} .

¹H NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm, *J*/Hz): 9,27 (t, 1H, 1'), 8,47 (d, 1H, 3), 7,38 (d, 1H, 6), 7,31-7,21 (m, 5H, 4'-8'), 7,08 (dd, 1H, 4), 6,85 (d, 2H, 8,12), 6,65 (d, 2H, 9,11), 5,16 (s, 2H, 13), 4,46 (d, 2H, 2').

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm): 167,32 (5), 163,96 (1), 152,63 (2), 150,66 (3), 147,33 (7), 143,36 (10), 139,89 (3'), 128,70 (4',8'), 127,81 (5',7'), 127,22 (6'), 122,01 (8,12), 115,38 (9,11), 114,35 (6), 109,09 (4), 42,91 (2').

3.2.5. 4-(4-Aminofenoksi)-*N*-feniletilpikolinamid (2e)

Količina *N*-feniletil-4-klorpikolinamida (**1e**): 0,130 g.

Pokretna faza: petroleter/etil-acetat/metanol (3:1:0,5).

Iskorištenje: 0,115 g (69 %).

Smolasti produkt.

IR (KBr): ν_{\max} 3354, 3229, 3061, 3027, 2928, 2862, 1665, 1607, 1590, 1526, 1504, 1469, 1285, 1198, 838, 670 cm^{-1} .

¹H NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm, *J*/Hz): 8,78 (t, 1H, 1'), 8,44 (d, 1H, 3), 7,35 (d, 1H, 6), 7,30-7,18 (m, 5H, 5'-9'), 7,08 (dd, 1H, 4), 6,87- (d, 2H, 8,12), 6,65 (d, 2H, 9,11), 5,17 (s, 2H, 13), 3,52 (q, 2H, 2'), 2,84 (t, 2H, 3').

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, δ ppm): 166,80 (5), 163,23 (1), 152,14 (2), 150,09 (3), 146,84 (7), 142,83 (10), 139,29 (4'), 128,53 (5',9'), 128,31 (6',8'), 126,06 (7'), 121,51 (8,12), 114,86 (9,11), 113,73 (6), 108,42 (4), 39,55 (2'), 24,06 (3').

MS/MS m/z 334,2 (M + H)⁺.

3.3. Opća metoda sinteze urea-eter-amida (3a-e)

U otopinu odgovarajućeg spoja **2a-f** (0,0001 mol) u bezvodnom diklormetanu (3 mL) dodan je 4-kloro-3-(fluormetil)fenil izocijanat (0,00012 mol) na sobnoj temperaturi pod atmosferom dušika te je reakcijska smjesa miješana 16 h. Otapalo je uklonjeno uparavanjem pod sniženim tlakom, a ostatak nakon uparavanja otopljen u etil-acetatu i ekstrahiran tri puta zasićenom otopinom natrijevog klorida. Organski sloj je sušen na bezvodnom natrijevom sulfatu, profiltriran te je otapalo upareno. Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na koloni, preparativnom kromatografijom ili prekrizacijom.

3.3.1. *N*-ciklopentil-4-(4-(3-(4-kloro-3-(trifluormetil)fenil)ureido)fenoksi)pikolinamid (3a)

Količina 4-(4-aminofenoksi)-*N*-ciklopentilpikolinamida (**2a**): 0.030 g.

Pokretna faza kromatografije na koloni: petroleter/etil-acetat/metanol (3:1:0,5).

Iskorištenje: 0,051g (98 %).

Smolasti produkt.

IR (KBr): ν_{\max} 3353, 2962, 2872, 1718, 1654, 1595, 1546, 1506, 1420, 1306, 1199, 1176, 1140, 838, 663 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): 9,20 (s, 1H, 15), 8,98 (s, 1H, 13), 8,50 (d, 1H, 3), 8,47 (d, 1H, 1'), 8,17 (s, 1H, 17), 7,69-7,58 (m, 4H, 20,21,8,12), 7,38 (d, 1H, 6), 7,18-7,14 (m, 3H, 4,9,11), 4,23-4,16 (m, 1H, 2'), 1,99-1,53 (m, 8H, 3'-6').

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 166,47 (5), 163,21 (1), 152,94 (14), 152,92 (2), 150,75 (3), 148,36 (7), 139,80 (10), 137,52 (16), 132,44 (22), 124,00 (19), 123,58 (20), 122,54 (18), 121,86 (8,12), 120,99 (9,11), 117,36 (17), 117,28 (21), 114,59 (6), 109,20 (4), 51,07 (2'), 32,55 (3',6'), 23,96 (4',5').

MS/MS m/z 519,1 (M + H)⁺.

3.3.2. *N*-cikloheksil-4-(4-(3-(4-kloro-3-(trifluormetil)fenil)ureido)fenoksi)pikolinamid (3b)

Količina 4-(4-aminofenoksi)-*N*-cikloheksilpikolinamida (**2b**): 0,031 g.

Pokretna faza kromatografije na koloni: petroleter/etil-acetat/metanol (3:1:0,5).

Pokretna faza preparativne kromatografije: diklormetan/ metanol (9:1).

Iskorištenje: 0,023 g (43 %).

t_r 110–114 °C.

IR (KBr): ν_{\max} 3348, 3072, 2932, 2855, 1716, 1650, 1596, 1548, 1505, 1484, 1419, 1293, 1197, 1175, 1137, 840, 663 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): 9,45 (s, 1H, 15), 9,19 (s, 1H, 13), 8,50 (d, 1H, 3), 8,40 (d, 1H, 1'), 8,11 (s, 1H, 17), 7,68-7,58 (m, 4H, 20,21,8,12), 7,39 (d, 1H, 6), 7,18-7,14 (m, 3H, 4,9,11), 3,75-3,72 (m, 1H, 2'), 1,78-1,56 (m, 10H, 3'-7').

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 166,49 (5), 162,61 (1), 152,99 (14), 152,93 (2), 150,77 (3), 148,31 (7), 139,85 (10), 137,56 (16), 132,47 (22), 123,93 (19), 123,45 (20), 122,46 (18), 121,87 (8,12), 120,84 (9,11), 117,21 (17), 117,13 (21), 114,59 (6), 109,31 (4), 48,42 (2'), 32,57 (3',7'), 25,53 (5'), 25,18 (4',6').

MS/MS m/z 533,2 (M + H)⁺.

3.3.3. *N*-cikloheksilmetil-4-(4-(3-(4-kloro-3-(trifluormetil)fenil)ureido)fenoksi)pikolinamid (3c)

Količina 4-(4-aminofenoksi)-*N*-cikloheksilmetilpikolinamida (2c): 0,033 g.

Pokretna faza kromatografije na koloni: petroleter/etil-acetat (1:1).

Prekristalizacija iz metanola i vode.

Iskorištenje: 0,030g (55 %).

t_r 156–160 °C.

IR (KBr): ν_{\max} 3353, 2962, 2872, 1718, 1654, 1595, 1546, 1506, 1420, 1306, 1199, 1176, 1140, 838, 663 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): 9,20 (s, 1H, 15), 8,97 (s, 1H, 13), 8,69 (t, 1H, 1'), 8,51 (d, 1H, 3), 8,12 (s, 1H, 17), 7,69-7,58 (m, 4H, 20,21,8,12), 7,38 (d, 1H, 6), 7,18-7,14 (m, 3H, 4,9,11), 3,13 (t, 2H, 2'), 1,66-0,78 (m, 11H, 3'-8').

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 166,49 (5), 163,66 (1), 152,94 (14), 152,92 (2), 150,78 (3), 148,35 (7), 139,80 (10), 137,52 (16), 132,45 (22), 124,04 (19), 123,58 (20), 122,58 (18), 121,90 (8,12), 120,99 (9,11), 117,36 (17), 117,29 (21), 114,57 (6), 109,22 (4), 45,41 (2'), 37,90 (3'), 30,86 (4',8'), 26,50 (6'), 25,81 (5',7').

MS/MS m/z 547,2 (M + H)⁺.

3.3.4. *N*-benzil-4-(4-(3-(4-kloro-3-(trifluormetil)fenil)ureido)fenoksi)pikolinamid (3d)

Količina 4-(4-aminofenoksi)-*N*-benzilpikolinamida (2d): 0,032 g.

Prekristalizacija iz metanola i vode.

Iskorištenje: 0,020 g (37 %).

t_r 160–163 °C.

IR (KBr): ν_{\max} 3351, 3132, 2926, 2854, 1718, 1654, 1595, 1543, 1506, 1420, 1303, 1199, 1176, 1140, 837, 668 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): 9,49 (s, 1H, 15), 9,31 (t, 1H, 1'), 9,22 (s, 1H, 13), 8,54 (d, 1H, 3), 8,12 (s, 1H, 17), 7,65-7,58 (m, 4H, 20,21,8,12), 7,42 (d, 1H, 6), 7,31-7,16 (m, 8H, 4,9,11,4'-8'), 4,46 (d, 2H, 2').

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 166,50 (5), 163,85 (1), 153,00 (14), 152,80 (2), 150,91 (3), 148,27 (7), 139,86 (10), 137,60 (16), 132,48 (22), 128,70 (4',8'), 127,83 (5',7'), 127,23 (6'), 126,66 (3'), 123,99 (19), 123,43 (20), 122,57 (18), 121,91 (8,12), 120,83 (9,11), 117,18 (17), 117,11 (21), 114,67 (6), 109,45 (4), 42,92 (2').

MS/MS m/z 541,1 (M + H) $^+$.

3.3.5. *N*-feniletil-4-(4-(3-(4-kloro-3-(trifluormetil)fenil)ureido)fenoksi)pikolinamid (3e)

Količina 4-(4-Aminofenoksi)-*N*-feniletilpikolinamida (2e): 0,033 g.

Pokretna faza kromatografije na koloni: petroleter/etil-acetat/metanol (3:1:0,15).

Iskorištenje: 0,041g (74 %).

Smolasti produkt.

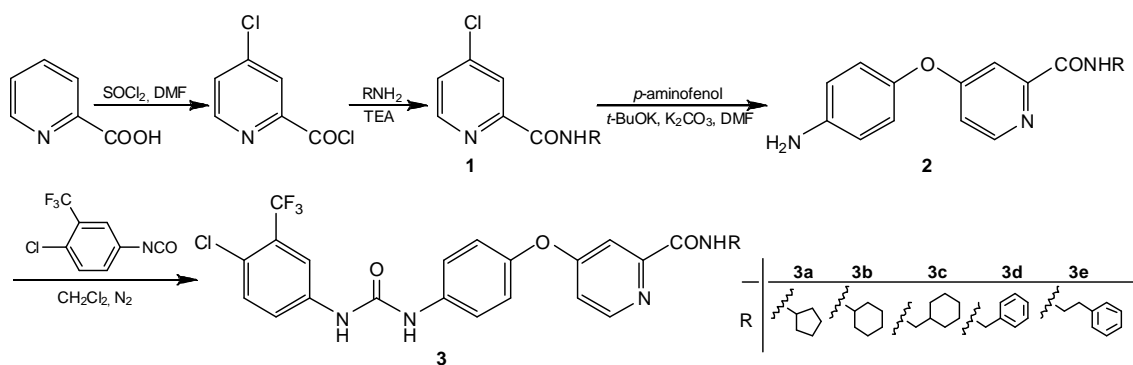
IR (KBr): ν_{\max} 3345, 3066, 2928, 1716, 1654, 1596, 1545, 1505, 1483, 1419, 1299, 1198, 1175, 1134, 840, 699 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz): 9,20 (s, 1H, 15), 8,98 (s, 1H, 13), 8,81 (t, 1H, 1'), 8,50 (d, 1H, 3), 8,12 (s, 1H, 17), 7,68-7,58 (m, 4H, 20,21,8,12), 7,39 (d, 1H, 6), 7,31-7,14 (m, 8H, 4,9,11,4'-8'), 3,51 (q, 2H, 2'), 2,84 (t, 2H, 3').

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm): 166,48 (5), 163,62 (1), 152,94 (14), 152,81 (2), 150,83 (3), 148,33 (7), 139,79 (10), 137,53 (16), 132,46 (22), 129,03 (5',9'), 128,81 (6',8'), 126,73 (4'), 126,57 (7'), 125,11 (19), 123,60 (20), 122,58 (18), 121,90 (8,12), 121,01 (9,11), 117,60 (17,21), 114,60 (6), 109,24 (4), 40,83 (2'), 35,50 (3').

4. REZULTATI I RASPRAVA

Kao što je rečeno u Uvodu, zadatak ovog rada bio je sinteza pet novih derivata antitumorskog lijeka sorafeniba, a to su *N*-ciklopentil-, *N*-cikloheksil-, *N*-cikloheksilmetil-, *N*-benzil- te *N*-feniletil-4-(4-(3-(4-kloro-3-(trifluormetil)fenil)ureido)fenoksi)picolinamid, polazeći iz pikolinske kiseline (Shema 1). Sinteza je rađena analogno postupku sinteze sorafeniba opisanom u literaturi (Bankston i sur., 2002). Pikolinska kiselina je prvo u reakciji s tionil-kloridom prevedena u kiselinski klorid. U primijenjenim reakcijskim uvjetima (72 °C, 16 h, atmosfera dušika) dolazi dodatno i do supstitucije atoma vodika klorom u položaju 4 piridinskog prstena pa nastaje metil-4-klorpikolinat. Dobiveni klorid je bez daljnjeg čišćenja upotrebljen u sljedećem reakcijskom koraku, sintezi amida 4-klorpikolinske kiseline (**1a-e**). Reakcija amidacije provedena je na sniženoj temperaturi, na ledenoj kupelji. Sirovi produkti pročišćeni su kromatografijom na koloni.



Shema 1. Sinteza derivata sorafeniba **3a-e**

Sinteza amida **1a**, **1b**, **1c** rađena je i preko alternativnog puta – iz metilnog estera 4-klorpikolinske kiseline i odgovarajućeg amina. Reakcija sa cikloheksilmetilaminom dala je očekivani amid **1c**, no reakcija sa ciklopentilaminom i cikloheksilaminom nije uspjela, čak ni nakon dodatka velikog suviška amina. Zbog toga su amidi **1a-e** pripremljeni iz klorida 4-klorpikolinske kiseline i odgovarajućih amina. Kiselinski kloridi su reaktivniji od estera: atom klora je elektronegativniji od atoma kisika pa je veza između karbonilnog ugljika i atoma klora polarnija, zbog čega taj ugljikov atom nosi veći parcijalni naboj nego u slučaju estera. Osim toga, klorid je bolja izlazna skupina nego alkoksidni ion. Time je potpomognuta nukleofilna supstitucija atoma klora amino skupinom (Pine i sur., 1986).

Prilikom sinteze amida **1a** i **1b** korišten je suvišak amina, u molarnom odnosu 3:1 prema pikolinskoj kiselini. No radi ekonomičnosti, tijekom sinteze amida **1c**, **1d** i **1e** umjesto

suviška amina koristio se dodatak dva ekvivalenta TEA koji je služio istoj namjeni – neutralizaciji dva ekvivalenta klorovodične kiseline, od kojih jedan nastaje prilikom prevođenja pikolinske kiseline u klorid 4-klorpikolinske kiseline uz pomoć tionil-klorida, a drugi prilikom nastajanja amida.

Pročišćavanjem na koloni dobivene su frakcije čistog produkta i frakcije koje su sadržavale produkt i onečišćenja. Nakon izolacije čistog produkta **1a** kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu petroleter/EtOAc/MeOH (3:1:0,5), jedna od nečistih frakcija pročišćena je dodatno kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu petroleter/EtOAc (1:1). Spoj **1b** se stajanjem kroz dulji period (2 mjeseca) na sobnoj temperaturi raspada, stoga je dodatno pročišćen prekrizacijom iz metanola i vode, no uz značajne gubitke.

U drugom reakcijskom koraku koji se provodi u mikrovalnoj pećnici 10 minuta na 173 °C dolazi do supstitucije atoma klora u strukturi amida 4-klorpikolinske kiseline sa 4-aminofenoksi skupinom pri čemu nastaju eter-amidi **2a-e**. Sirovi produkti pročišćeni su kromatografijom na koloni, preparativnom kromatografijom ili prekrizacijom. Reakcije su rađene u više šarži; iskorištenja najboljih šarži dana su u Tablici 4.

Reakcije se umjesto zagrijavanjem u mikrovalnoj pećnici mogu provoditi klasičnom metodom sinteze u otopini, no u tom slučaju reakcija traje mnogo dulje. Pokazalo se npr. u slučaju analogne reakcije sinteze *t*-butil-4-(4-aminofenoksi)pikolinata iz *t*-butil-4-klorpikolinata da se provođenjem reakcije u mikrovalnoj pećnici vrijeme reakcije skraćuje s dva sata na deset minuta. Nakon nekoliko pokusa pri različitim temperaturama izabrana je temperatura od 173 °C kao optimalna za reakciju sinteze *t*-butil-4-(4-aminofenoksi)pikolinata. Nastajanje produkta praćeno je tankoslojnom kromatografijom.

U šarži s najboljim iskorištenjem sirovi produkt **2c** pročišćen je kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu petroleter/EtOAc/MeOH (3:1:0,15). U drugoj šarži kromatografija na koloni nije dala čisti produkt ni u jednoj frakciji, stoga je dodatno provedena prekrizacija iz smjese metanola i vode. Iskorištenja su bila slična u obje šarže.

Kao najbolji način pročišćavanja sirovog produkta **2d** pokazala se kromatografija na koloni uz pokretnu fazu petroleter/EtOAc/MeOH (3:1:0,15). Produkt dobiven u drugoj šarži nije uspješno pročišćen kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu diklormetan/metanol (9:1), pa je pročišćen prekrizacijom. S obzirom da je spoj **2d** smolasti produkt prekrizacija je provedena odstranjivanjem matičnice kapaljkom od taloga, a ne odsisavanjem. Iako su gubici ovim postupkom bili mali, sveukupno iskorištenje ove šarže je bilo malo zbog neuspjeha prilikom daljnjeg čišćenja ostalih frakcija dobivenih kromatografijom na koloni.

U trećem reakcijskom koraku dolazi do nukleofilnog napada amino skupine iz 4-aminofenoksidnog dijela molekule na ugljikov atom izocijanatne skupine u 4-klor-3-(fluormetil)fenil izocijanatu, pri čemu nastaju derivati sorafeniba **3a-e**. Reakcija se provodi na sobnoj temperaturi 16 sati, u atmosferi dušika jer je 4-klor-3-(fluormetil)fenil izocijanat osjetljiv na vodu. Voda u reakcijsku smjesu može doći kao vlaga iz zraka. Ovaj reagens je dodavan u malom suvišku kako bi se osigurao pomak ravnoteže reakcije prema nastajanju produkta. Dobiveni sirovi produkti pročišćeni su kromatografijom na koloni, preparativnom kromatografijom ili prekrizalizacijom.

Prije pristupanja sintezi spojeva **3a-e** napravljena je probna reakcija anilina s 4-klor-3-(fluormetil)fenil izocijanatom, radi utvrđivanja približnih reakcijskih uvjeta. Nakon dodatka anilina otopina 4-klor-3-(fluormetil)fenil izocijanata u bezvodnom diklormetanu se odmah zamutila, a nakon jednog sata analiza reakcijske smjese tankoslojnom kromatografijom pokazala je da je nastao očekivani produkt. Kao poredbena otopina korištena je otopina izocijanata u anhidridu octene kiseline u koji je dodana voda kako bi se izocijanat raspao u ureu, time smo eliminirali mogućnost da je dobiveni produkt zapravo samo raspadnuti reaktant.

Pročišćavanje urea-eter-amida **3b** provedeno je na dva načina; jedan od njih bila je kromatografija na koloni uz pokretnu fazu petroleter/EtOAc/MeOH (3:1:0,5) pri čemu je dobivena frakcija čistog spoja i frakcija koja je sadržavala spoj i onečišćenja. Potonja je spojena sa sirovim produktom iz druge šarže, te su skupa pročišćeni preparativnom kromatografijom uz velike gubitke.



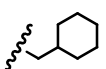
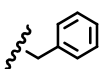
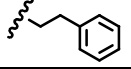
Spoj **3d** pročišćavan je i kromatografijom na koloni uz pokretnu fazu petroleter/EtOAc/MeOH (3:1:0,5). Iskorištenje se nije značajno razlikovalo od iskorištenja reakcije u kojoj je isti spoj pročišćen prekrizalizacijom iz metanola i vode.

Kromatografija na koloni se pokazala kao metoda koja ima najmanje gubitaka željenog spoja ali nije bila učinkovita ako onečišćenje i produkt imaju slične R_f vrijednosti. U tom slučaju rađena je prekrizalizacija ili preparativna kromatografija. Njihova učinkovitost varirala je od spoja do spoja, ove metode pokazale su veće gubitke.



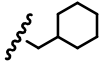
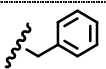
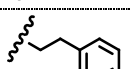
Strukture svih sintetiziranih spojeva potvrđene su uobičajenim spektroskopskim metodama (IR, ^1H i ^{13}C NMR, MS).

Iskorištenja opisanih reakcija navedena su u eksperimentalnom dijelu i Tablici 1, Tablici 4 i Tablici 7. Detaljni spektroskopski podaci dani su u eksperimentalnom dijelu i Tablicama 1-9, a spektri u Prilogu. Numeracija atoma prikazana je na Slici 4.



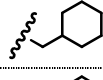
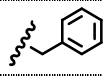
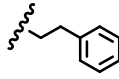
Tablica 1. Analitički i IR podaci za amide **1a-e**

Spoj	R	Iskor. (%)	t_t (°C)	Molekulska formula (M_r)	IR (KBr/film) ν_{\max} (cm ⁻¹)
1a		72	79–80	C ₁₁ H ₁₃ ClN ₂ O (224,69)	3328, 3064, 2961, 2870, 1666, 1575, 1556, 1519, 732
1b		52	116–119	C ₁₂ H ₁₅ ClN ₂ O (238,71)	3330, 2930, 2853, 1650, 1578, 1554, 1534, 736
1c		40	107–108	C ₁₃ H ₁₇ ClN ₂ O (252,74)	3341, 3089, 2926, 2855, 1649, 1537, 736
1d		64	70–72	C ₁₃ H ₁₁ ClN ₂ O (246,69)	3326, 1649, 1578, 1552, 1536, 736, 725
1e		54	60–62	C ₁₄ H ₁₃ ClN ₂ O (260,72)	3346, 1657, 1556, 1531, 733, 700



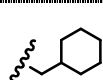
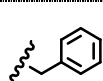
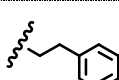
Tablica 2. ¹H NMR podaci za amide **1a-e**

Spoj	R	¹ H NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , δ ppm, <i>J</i> /Hz)
1a		8,62 (d, 1H, 3), 8,58 (d, 1H, 1'), 8,02 (d, 1H, 6), 7,75 (dd, 1H, 4), 4,31-4,19 (m, 1H, 2'), 1,94-1,53 (m, 8H, 3'-6')
1b		8,61 (d, 1H, 3), 8,48 (d, 1H, 1'), 8,01 (d, 1H, 6), 7,74 (dd, 1H, 4), 3,80-3,74 (m, 1H, 2'), 1,79-1,16 (m, 10H, 3'-7')
1c		8,82 (t, 1H, 1'), 8,62 (d, 1H, 3), 8,02 (d, 1H, 6), 7,76 (dd, 1H, 4), 3,16 (t, 2H, 2'), 1,68-0,97 (m, 11H, 3'-8')
1d		9,40 (t, 1H, 1'), 8,62 (d, 1H, 3), 8,01 (d, 1H, 6), 7,77 (dd, 1H, 4), 7,33-7,21 (m, 5H, arom. 4'-8'), 4,50 (d, 2H, 2')
1e		8,88 (t, 1H, 1'), 8,61 (d, 1H, 3), 8,01 (d, 1H, 6), 7,73 (dd, 1H, 4), 3,55-3,52 (q, 2H, 2'), 2,86 (t, 2H, 3')

Tablica 3. ^{13}C NMR podaci za amide **1a-e**

Spoj	R	^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm)
1a		161,26 (1), 151,02 (2), 149,02 (3), 143,61 (5), 125,36 (6), 120,98 (4), 49,82 (2'), 31,12 (3', 6'), 22,62 (4', 5')
1b		161,54 (1), 151,90 (2), 149,91 (3), 144,53 (5), 126,28 (6), 121,90 (4), 48,13 (2'), 32,03 (3', 7'), 25,03 (5'), 24,73 (4', 6')
1c		163,08 (1), 152,37 (2), 150,46 (3), 145,00 (5), 126,76 (6), 122,39 (4), 45,52 (2'), 30,86 (4', 8'), 26,50 (6'), 25,81 (5', 7')
1d		163,26 (1), 152,23 (2), 150,57 (3), 145,04 (5), 139,76 (3'), 128,72 (4',8'), 127,83 (5',7'), 126,94 (6'), 125,36 (6), 120,98 (4), 42,98 (2')
1e		162,50 (1), 151,73 (2), 149,98 (3), 144,52 (5), 139, 24 (4'), 128,54 (5',9'), 128,31 (6',8'), 126,33 (6), 126,08 (7'), 121,86 (4), 40,44 (2'), 34,97 (3')

 Tablica 4. Analitički i IR podaci za eter-amide **2a-e**

Spoj	R	Iskor. (%)	t_f ($^{\circ}\text{C}$)	Molekulska formula (M_r)	IR (KBr/film) ν_{max} (cm^{-1})
2a		46	smolasti produkt	$\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2$ (297,35)	3353, 2958, 2870, 1666, 1608, 1590, 1521, 1502, 1470, 1284, 1198, 836
2b		48	150–153	$\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2$ (311,38)	3357, 3316, 2928, 2855, 1660, 1566, 1523, 1506, 839
2c		46	135–137	$\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_2$ (325,40)	3390, 3364, 3194, 2924, 2838, 1680, 1526, 1504, 1299, 1195, 844
2d		76	smolasti produkt	$\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2$ (319,36)	3348, 3062, 2925, 1665, 1590, 1566, 1526, 1501, 1468, 1261, 1197, 834, 699
2e		69	smolasti produkt	$\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2$ (333,38)	3354, 3229, 3061, 3027, 2928, 2862, 1665, 1607, 1590, 1526, 1504, 1469, 1285, 1198, 838, 670



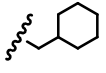
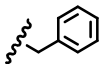
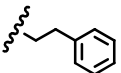
Tablica 5. ^1H NMR podaci za eter-amide **2a-e**

Spoj	R	^1H NMR (DMSO- d_6 , δ ppm, J/Hz)
2a		8,46 (d, 1H, 3), 8,44 (d, 1H, 1'), 7,34 (d, 1H, 6), 7,08 (dd, 1H, 4), 6,85 (d, 2H, 8,12), 6,66 (d, 2H, 9,11), 5,16 (s, 2H, 13), 4,22-4,15 (m, 1H, 2'), 1,99-1,53 (m, 8H, 3'-6')
2b		8,45 (d, 1H, 3), 8,37 (d, 1H, 1'), 7,34 (d, 1H, 6), 7,08 (dd, 1H, 4), 6,85 (d, 2H, 8,12), 6,65 (d, 2H, 9,11), 5,17 (s, 2H, 13), 3,77-3,68 (m, 1H, 2'), 1,78-1,04 (m, 10H, 3'-7')
2c		8,65 (t, 1H, 1'), 8,45 (d, 1H, 3), 7,34 (d, 1H, 6), 7,07 (dd, 1H, 4), 6,86 (d, 2H, 8,12), 6,65 (d, 2H, 9,11), 5,15 (s, 2H, 13), 3,12 (t, 2H, 2'), 1,66-0,84 (m, 11H, 3'-8')
2d		9,27 (t, 1H, 1'), 8,47 (d, 1H, 3), 7,38 (d, 1H, 6), 7,31-7,21 (m, 5H, 4'-8'), 7,08 (dd, 1H, 4), 6,85 (d, 2H, 8,12), 6,65 (d, 2H, 9,11), 5,16 (s, 2H, 13), 4,46 (d, 2H, 2')
2e		8,78 (t, 1H, 1'), 8,44 (d, 1H, 3), 7,35 (d, 1H, 6), 7,30-7,18 (m, 5H, 5'-9'), 7,08 (dd, 1H, 4), 6,87- (d, 2H, 8,12), 6,65 (d, 2H, 9,11), 5,17 (s, 2H, 13), 3,52 (q, 2H, 2'), 2,84 (t, 2H, 3')



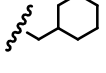
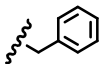
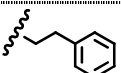
 Tablica 6. ^{13}C NMR podaci za eter-amide **2a-e**

Spoj	R	^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm)
2a		167,30 (5), 163,31 (1), 152,74 (2), 150,51 (3), 147,32 (7), 143,37 (10), 121,99 (8,12), 115,36 (9,11), 114,23 (6), 108,86 (4), 51,04 (2'), 32,56 (3',6'), 23,95 (4', 5')
2b		167,31 (5), 162,70 (1), 152,77 (2), 150,52 (3), 147,30 (7), 143,38 (10), 121,98 (8,12), 115,37 (9,11), 114,26 (6), 108,92 (4), 48,38 (2'), 32,58 (3',7'), 25,54 (5'), 25,18 (4', 6')
2c		167,31 (5), 163,76 (1), 152,78 (2), 150,54 (3), 147,32 (7), 143,37 (10), 122,00 (8,12), 115,36 (9,11), 114,19 (6), 108,90 (4), 45,39 (2'), 37,91 (3'), 30,86 (4',8'), 26,50 (6'), 25,81 (5', 7')
2d		167,32 (5), 163,96 (1), 152,63 (2), 150,66 (3), 147,33 (7), 143,36 (10), 139,89 (3'), 128,70 (4',8'), 127,81 (5',7'), 127,22 (6'), 122,01 (8,12), 115,38 (9,11), 114,35 (6), 109,09 (4), 42,91 (2')
2e		166,80 (5), 163,23 (1), 152,14 (2), 150,09 (3), 146,84 (7), 142,83 (10), 139,29 (4'), 128,53 (5',9'), 128,31 (6',8'), 126,06 (7'), 121,51 (8,12), 114,86 (9,11), 113,73 (6), 108,42 (4), 39,55 (2'), 24,06 (3')



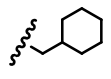
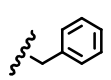
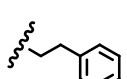
Tablica 7. Analitički i IR podaci za urea-eter-amide **3a-e**

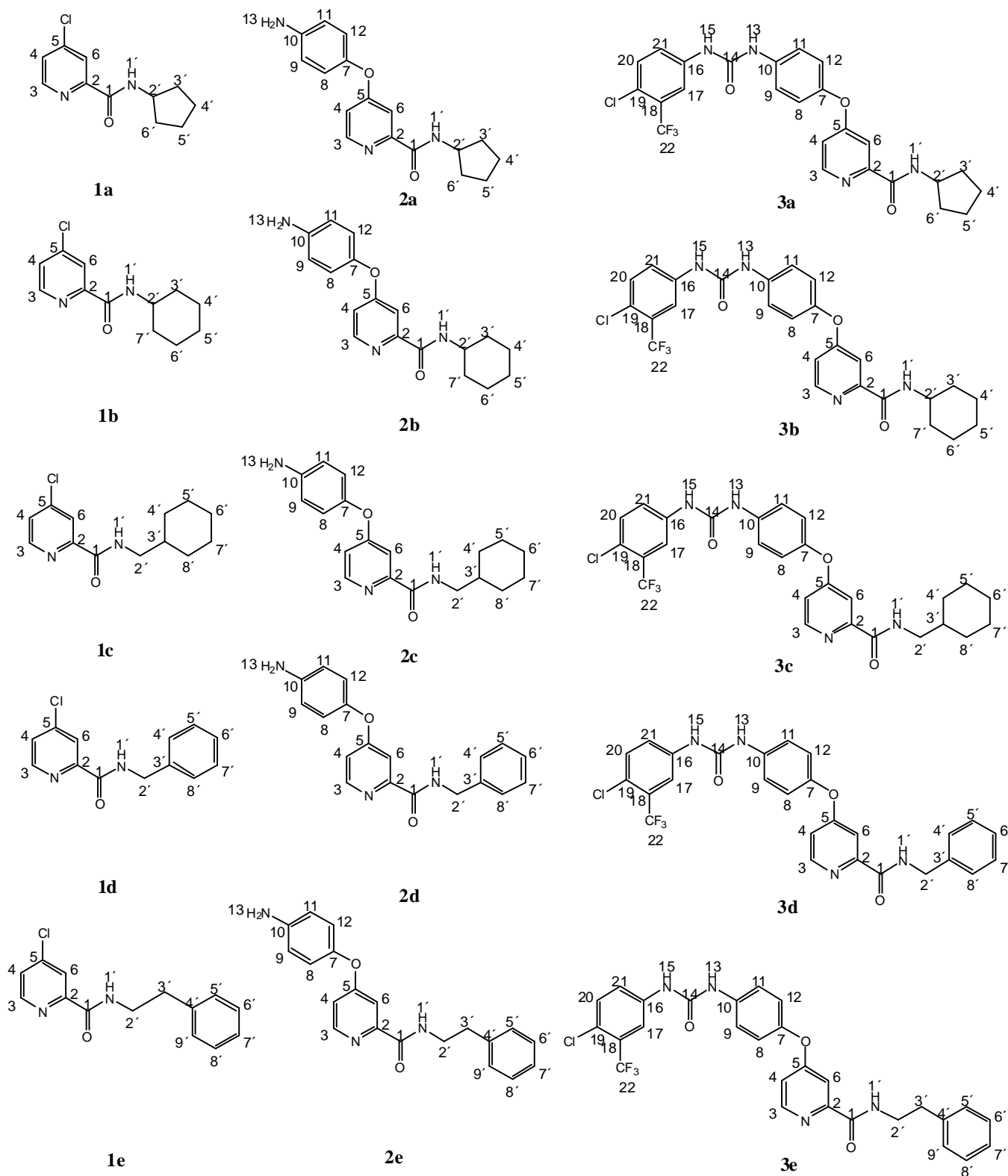
Spoj	R	Iskor. (%)	t_t (°C)	Molekulska formula (M_r)	IR (KBr/film) ν_{\max} (cm ⁻¹)
3a		98	smolasti produkt	C ₂₅ H ₂₂ ClF ₃ N ₄ O ₃ (518,92)	3353, 2962, 2872, 1718, 1654, 1595, 1546, 1506, 1420, 1306, 1199, 1176, 1140, 838, 663
3b		44	110–114	C ₂₆ H ₂₄ ClF ₃ N ₄ O ₃ (532,94)	3348, 3072, 2932, 2855, 1716, 1650, 1596, 1548, 1505, 1484, 1419, 1293, 1197, 1175, 1137, 840, 663
3c		55	156–160	C ₂₇ H ₂₆ ClF ₃ N ₄ O ₃ (546,97)	3353, 2962, 2872, 1718, 1654, 1595, 1546, 1506, 1420, 1306, 1199, 1176, 1140, 838, 663
3d		37	160–163	C ₂₇ H ₂₀ ClF ₃ N ₄ O ₃ (540,92)	3351, 3132, 2926, 2854, 1718, 1654, 1595, 1543, 1506, 1420, 1303, 1199, 1176, 1140, 837, 668
3e		74	smolasti produkt	C ₂₈ H ₂₂ ClF ₃ N ₄ O ₃ (554,95)	3345, 3066, 2928, 1716, 1654, 1596, 1545, 1505, 1483, 1419, 1299, 1198, 1175, 1134, 840, 699

 Tablica 8. ¹H NMR podaci za urea-eter-amide **3a-e**

Spoj	R	¹ H NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , δ ppm, J/Hz)
3a		9,20 (s, 1H, 15), 8,98 (s, 1H, 13), 8,50 (d, 1H, 3), 8,47 (d, 1H, 1'), 8,17 (s, 1H, 17), 7,69-7,58 (m, 4H, 20,21,8,12), 7,38 (d, 1H, 6), 7,18-7,14 (m, 3H, 4,9,11), 4,23-4,16 (m, 1H, 2'), 1,99-1,53 (m, 8H, 3'-6')
3b		9,45 (s, 1H, 15), 9,19 (s, 1H, 13), 8,50 (d, 1H, 3), 8,40 (d, 1H, 1'), 8,11 (s, 1H, 17), 7,68-7,58 (m, 4H, 20,21,8,12), 7,39 (d, 1H, 6), 7,18-7,14 (m, 3H, 4,9,11), 3,75-3,72 (m, 1H, 2'), 1,78-1,56 (m, 10H, 3'-7')
3c		9,20 (s, 1H, 15), 8,97 (s, 1H, 13), 8,69 (t, 1H, 1'), 8,51 (d, 1H, 3), 8,12 (s, 1H, 17), 7,69-7,58 (m, 4H, 20,21,8,12), 7,38 (d, 1H, 6), 7,18-7,14 (m, 3H, 4,9,11), 3,13 (t, 2H, 2'), 1,66-0,78 (m, 11H, 3'-8')
3d		9,49 (s, 1H, 15), 9,31 (t, 1H, 1'), 9,22 (s, 1H, 13), 8,54 (d, 1H, 3), 8,12 (s, 1H, 17), 7,65-7,58 (m, 4H, 20,21,8,12), 7,42 (d, 1H, 6), 7,31-7,16 (m, 8H, 4,9,11,4'-8'), 4,46 (d, 2H, 2')
3e		9,20 (s, 1H, 15), 8,98 (s, 1H, 13), 8,81 (t, 1H, 1'), 8,50 (d, 1H, 3), 8,12 (s, 1H, 17), 7,68-7,58 (m, 4H, 20,21,8,12), 7,39 (d, 1H, 6), 7,31-7,14 (m, 8H, 4,9,11,4'-8'), 3,51 (q, 2H, 2'), 2,84 (t, 2H, 3')

Tablica 9. ^{13}C NMR podaci za urea-eter-amide **3a-e**

Spoj	R	^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ ppm)
3a		166,47 (5), 163,21 (1), 152,94 (14), 152,92 (2), 150,75 (3), 148,36 (7), 139,80 (10), 137,52 (16), 132,44 (22), 124,00 (19), 123,58 (20), 122,54 (18), 121,86 (8,12), 120,99 (9,11), 117,36 (17), 117,28 (21), 114,59 (6), 109,20 (4), 51,07 (2'), 32,55 (3',6'), 23,96 (4',5')
3b		166,49 (5), 162,61 (1), 152,99 (14), 152,93 (2), 150,77 (3), 148,31 (7), 139,85 (10), 137,56 (16), 132,47 (22), 123,93 (19), 123,45 (20), 122,46 (18), 121,87 (8,12), 120,84 (9,11), 117,21 (17), 117,13 (21), 114,59 (6), 109,31 (4), 48,42 (2'), 32,57 (3',7'), 25,53 (5'), 25,18 (4',6')
3c		166,49 (5), 163,66 (1), 152,94 (14), 152,92 (2), 150,78 (3), 148,35 (7), 139,80 (10), 137,52 (16), 132,45 (22), 124,04 (19), 123,58 (20), 122,58 (18), 121,90 (8,12), 120,99 (9,11), 117,36 (17), 117,29 (21), 114,57 (6), 109,22 (4), 45,41 (2'), 37,90 (3'), 30,86 (4',8'), 26,50 (6'), 25,81 (5',7')
3d		166,50 (5), 163,85 (1), 153,00 (14), 152,80 (2), 150,91 (3), 148,27 (7), 139,86 (10), 137,60 (16), 132,48 (22), 128,70 (4',8'), 127,83 (5',7'), 127,23 (6'), 126,66 (3'), 123,99 (19), 123,43 (20), 122,57 (18), 121,91 (8,12), 120,83 (9,11), 117,18 (17), 117,11 (21), 114,67 (6), 109,45 (4), 42,92 (2')
3e		166,48 (5), 163,62 (1), 152,94 (14), 152,81 (2), 150,83 (3), 148,33 (7), 139,79 (10), 137,53 (16), 132,46 (22), 129,03 (5',9'), 128,81 (6',8'), 126,73 (4'), 126,57 (7'), 125,11 (19), 123,60 (20), 122,58 (18), 121,90 (8,12), 121,01 (9,11), 117,60 (17,21), 114,60 (6), 109,24 (4), 40,83 (2'), 35,50 (3')



Slika 4. Numeracija atoma za ^1H i ^{13}C NMR spektre.

5. ZAKLJUČCI

U ovom radu opisana je sinteza novih, do sada neopisanih spojeva, derivata sorafeniba **3a-e**, počevši od pikolinske kiseline preko klorida 4-klorpikolinske kiseline, odgovarajućih amida 4-klorpikolinske kiseline **1a-e** i zatim eter-amida **2a-e**. Strukture svih sintetiziranih spojeva potvrđene su uobičajenim spektroskopskim metodama (IR, ^1H i ^{13}C NMR, MS). U daljnjim istraživanjima koja prelaze okvire ovog rada produktima **1a-e**, **2a-e** i **3a-e** bit će ispitano potencijalno antitumorsko i antivirusno djelovanje.

6. LITERATURA

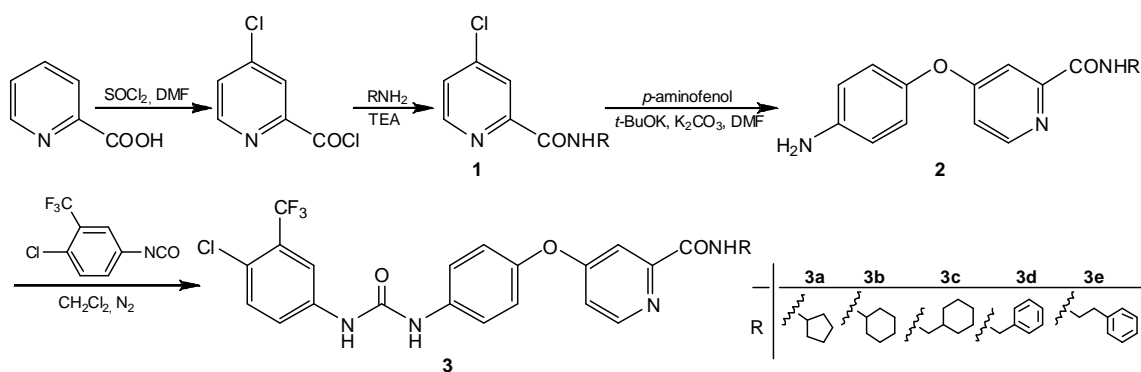
- Alavi A, Hood JD, Frausto R, Stupack DG, Cheresh DA. Role of Raf in vascular protection from distinct apoptotic stimuli. *Science* 2003; 301(5629):94-96.
- Amato RJ. Chemotherapy for renal cell carcinoma. *Semin Oncol* 2000; 27:177-186.
- Atzpodien J, Kirchner H, Illiger HJ, Metzner B, Ukena D, Schott H, Funke PJ, Gramatzki M, Jurgenson S, Wandert T. IL-2 in combination with IFN- alpha and 5-FU versus tamoxifen in metastatic renal cell carcinoma: long-term results of a controlled randomized clinical trial. *Br J Cancer* 2001; 85:1130-1136.
- Bankston D, Dumas J, Natero R, Riedl B, Monahan MK, Sibley R. A scaleable synthesis of BAY 43-9006: A potent raf kinase inhibitor for the treatment of cancer. *Org Proc Res Dev* 2002; 6:777-781.
- Bergers G, Song S, Meyer-Morse N, Bergsland E, Hanahan D. Benefits of targeting both pericytes and endothelial cells in the tumor vasculature with kinase inhibitors. *J Clin Invest* 2003; 111(9):1287-1295.
- Cooper GM, Hausman RE. Stanica, Lauc G, stručni urednik hrvatskog izdanja. Boston University; Zagreb: Medicinska naklada; 2004. str. 553-663.
- Coppin C, Porzsolt F, Awa A, Kumpf J, Coldman A, Wilt T. Immunotherapy for advanced renal cell cancer. *Coch Database Syst Rev* 2005; 1: 574-651.
- Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, Teague J, Woffendin H, Garnett MJ, Bottomley W et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002; 417(6892):949-954.
- Doanes AM, Hegland DD, Sethi R, Kovesdi I, Bruder JT, Finkel T. VEGF stimulates MAPK through a pathway that is unique for receptor tyrosine kinases. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 255(2):545-548.
- Downward J. Targeting RAS signalling pathways in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2003; 3(1):11-22.
- Escudier B, Lassau N, Angevin E, Soria JC, Chami L, Lamuraglia L, Zafarana E, Landreau V, Schwartz B, Brendel E, Armand JP, and Robert C. Phase I trial of sorafenib in combination with IFN A-2a in patients with unresectable and/or metastatic renal cell carcinoma or malignant melanoma. *Clin Cancer Res* 2007;13(6): 1801-1809.
- Herrera R, Sebolt-Leopold JS. Unraveling the complexities of the Raf/MAP kinase pathway for pharmacological intervention. *Trends Mol Med* 2002; 8(4 Suppl):27-31.
- Hood JD, Bednarski M, Frausto R, Guccione S, Reisfeld RA, Xiang R, Cheresh DA. Tumor regression by targeted gene delivery to the neovasculature. *Science* 2002; 296(5577):2404-2407.

- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Osnove patologije, Jukić S, Dominis M, stručni urednici hrvatskog izdanja, Philadelphia: W. B, Saunders Company, Zagreb: Školska knjiga; 1992. str: 558-561.
- Meadows KN, Bryant P, Pumiglia K. Vascular endothelial growth factor induction of the angiogenic phenotype requires Ras activation. *J Biol Chem* 2001; 276(52):49289-49298.
- Negrier S, Maral J, Drevon M, Vinke J, Escudier B, Philip T. Long-term follow-up of patients with metastatic renal cell carcinoma treated with intravenous recombinant interleukin-2 in Europe. *Cancer J Sci Am* 2000; 6 Suppl 1: 93-98.
- Negrier S PD, Revaud A, Chevreau D, Bay JO, Delva R. Do cytokines improve survival in patients with metastatic renal cell carcinoma (MRCC) of intermediate prognosis? Results of the prospective randomized PERCY Quattro trial. *J Clin Oncol* 2005; 23:380f.
- Pine SH, Hendrickon JB, Cram DJ, Hammond GS, *Organska kemija*. Zagreb: Školska knjiga; 1986. str. 306-330.
- Patrick GL. *An Introduction to Medicinal Chemistry*. Oxford: Oxford University Press; 2009. str. 561.
- Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell* 2000; 103(2):211-225.
- Sweetman SC (Ur), Martindale: *The Complete Drug Reference*, 35. (elektroničko) izdanje. London: Pharmaceutical Press; 2007.
- Vucelić B i sur., *Gastroenterologija i hepatologija II*. Dio. Zagreb: Školska knjiga; 2002. str. 1360-1361.
- Yang JC, Rosenberg SA. An ongoing prospective randomized comparison of interleukin-2 regimens for the treatment of metastatic renal cell cancer. *Cancer J Sci Am* 1997; 3 Suppl 1: 79-84.
- Zwick E, Bange J, Ullrich A. Receptor tyrosine kinases as targets for anticancer drugs. *Trends Mol Med* 2002; 8(1):17-23.
- Farmakokinetika i nuspojave sorafeniba, sorafenib u liječenju karcinoma jetre <http://www.emea.europa.eu/humandocs/Humans/EPAR/nexavar/nexavar.htm>, pristupljeno 15.4.2010.

7. SAŽETAK

SINTEZA I KARAKTERIZACIJA DERIVATA ANTITUMORSKOG LIJEKA SORAFENIBA

Sorafenib je noviji citostatik, inhibitor protein kinaza, odobren u terapiji karcinoma bubrega i jetre. U radu je opisana sinteza analoga sorafeniba **3a-e**. Početna supstancija pikolinska kiselina prevedena je pomoću tionil-klorida u kiselinski klorid koji u reakciji s odgovarajućim aminom (ciklopentilaminom, cikloheksilaminom, cikloheksilmetilaminom, benzilaminom i feniletilaminom) daje amide **1a-e**. U sljedećem sintetskom koraku ti produkti reagiraju s *p*-aminofenolom i daju eter-amide **2a-e**. U zadnjem koraku eter-amidi **2a-e** s odgovarajućim izocijanatom daju urea-eter-amide **3a-e**. Svi spojevi **3a-e** su novi, do sada neopisani, a od sorafeniba se razlikuju po amidnoj komponenti. Njihova struktura određena je uobičajenim spektroskopskim metodama (IR, ^1H i ^{13}C NMR, MS). Sintetizirani spojevi **3a-e** su potencijalni citostatici. U daljnjim ispitivanjima koja prelaze okvire ovog rada, bit će ispitano njihovo antitumorsko i antivirusno djelovanje.



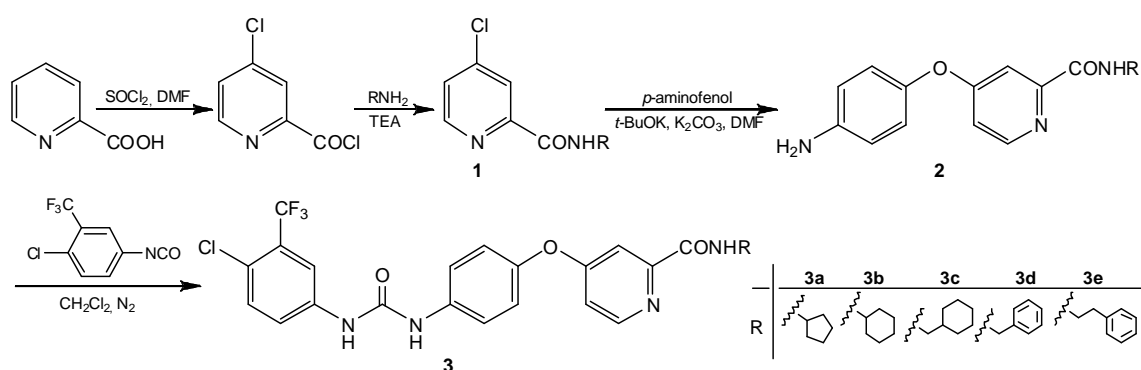
Ključne riječi: sorafenib, citostatik, sinteza, amid

8. SUMMARY

Željka Babić, Maja Crkvenčić

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF DERIVATIVES OF THE ANTITUMOR DRUG SORAFENIB

Sorafenib is a new cytostatic drug, inhibitor of protein kinase, approved for the treatment of renal cell and hepatocellular carcinoma. In this report we describe the synthesis of sorafenib derivatives **3a-e**. The starting substance, picolinic acid, was converted to acyl chloride bearing a new chlorine atom in *para* position. This product gave amides **1a-e** with an appropriate amine (cyclopentylamine, cyclohexylamine, cyclohexylmethylamine, benzylamine and phenethylamine). In the next reaction step these products were coupled with *p*-aminophenol to give ether-amides **2a-e**. In the final reaction step, amides **2a-e** and an appropriate isocyanate gave urea-ether-amides **3a-e**. All compounds **3a-e** are new and undescribed and they differ from sorafenib in their amide part. Their structure was defined by usual spectroscopic methods (IR, ^1H and ^{13}C NMR, MS). The synthesized compounds **3a-e** are potential cytostatics. Their cytostatic and antiviral potentials are under evaluation.



Key words: sorafenib, cytostatic, synthesis, amide

9. ZAHVALE

Zahvaljujemo se svim djelatnicima Zavoda za farmaceutsku kemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta u Zagrebu na vodstvu i podršci.

10. ŽIVOTOPISI

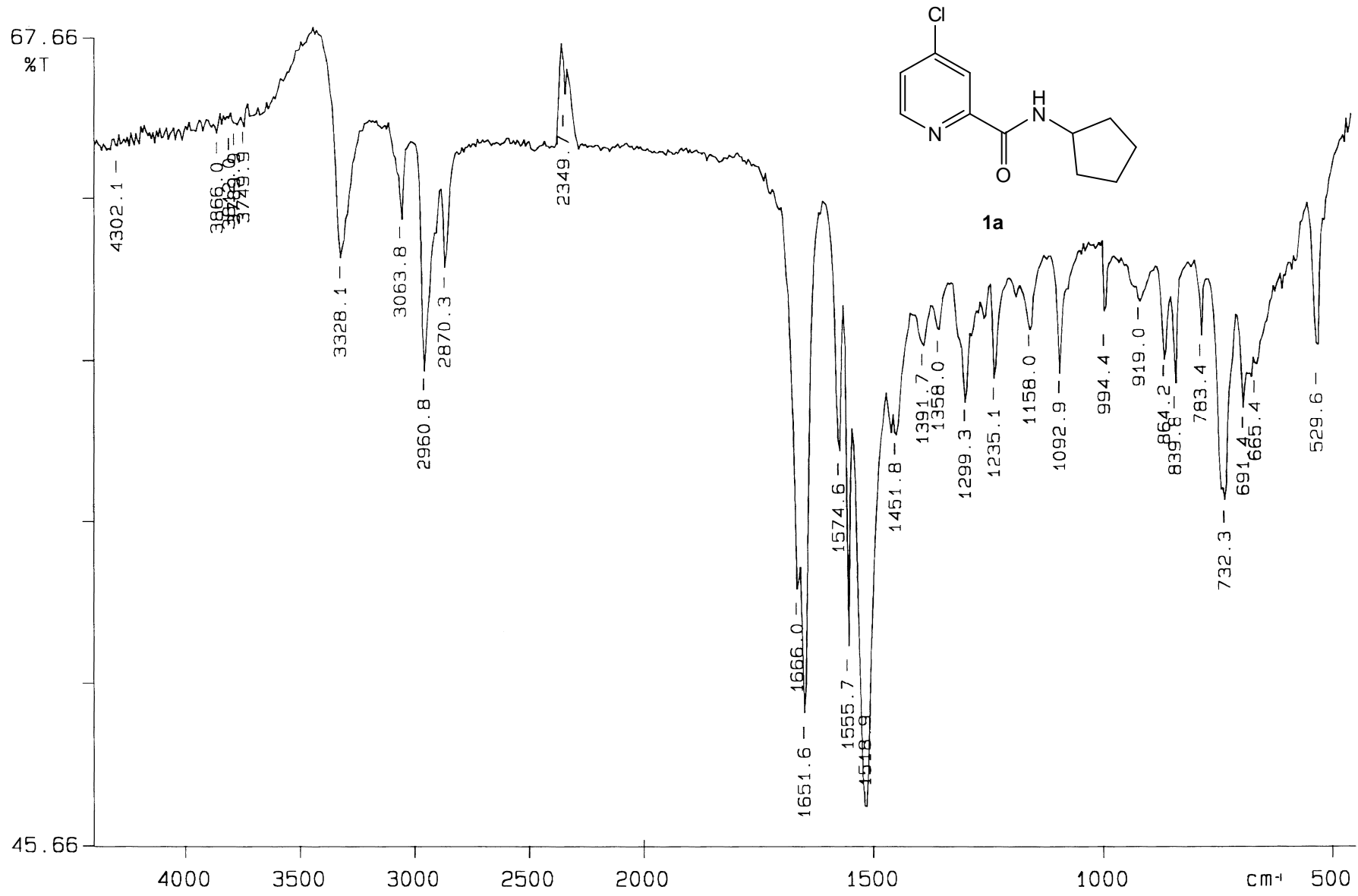
Željka Babić

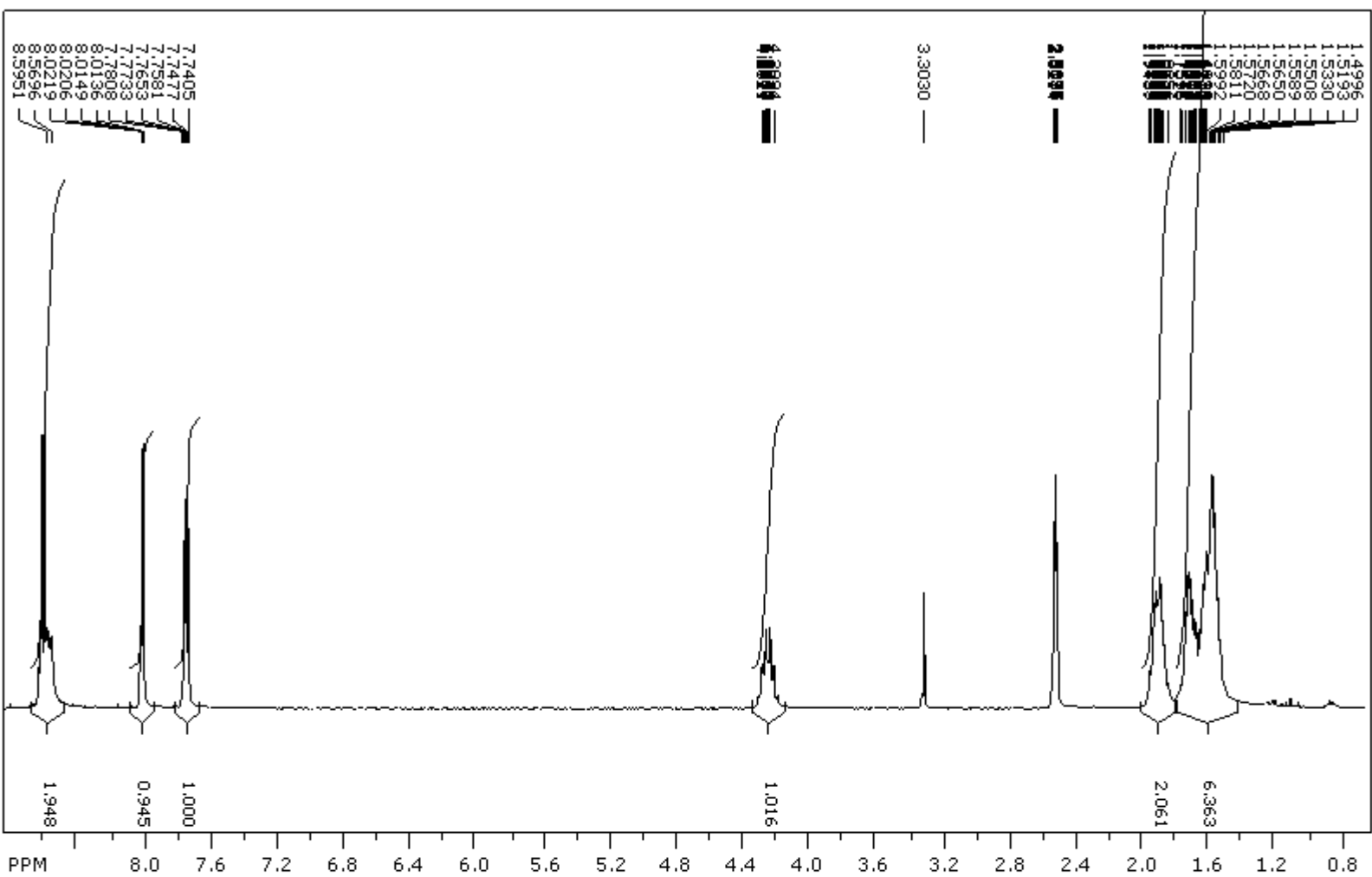
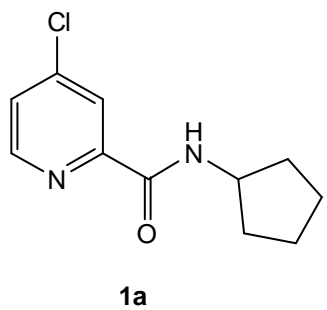
Rođena sam 13. travnja 1987. godine u Zagrebu. Osnovnu školu i Prirodoslovno-matematičku gimnaziju pohađala sam u Kutini. Tijekom srednjoškolskog obrazovanja sudjelovala sam u više državnih natjecanja (četiri godine iz kemije, dvaput iz fizike, jednom iz biologije i jednom iz latinskog jezika), a najbolji uspjeh mi je bio osvojeno treće mjesto iz biologije. 2006. godine upisala sam Farmaceutsko-biokemijski fakultet u Zagrebu s prvim mjestom na listi upisnika. Ovaj fakultet sam upisala iz želje da proširim i primijenim znanje iz kemije i biologije, a iz istog razloga sam pristupila izradi ovog rada.

Maja Crkvenčić

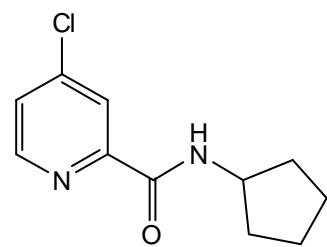
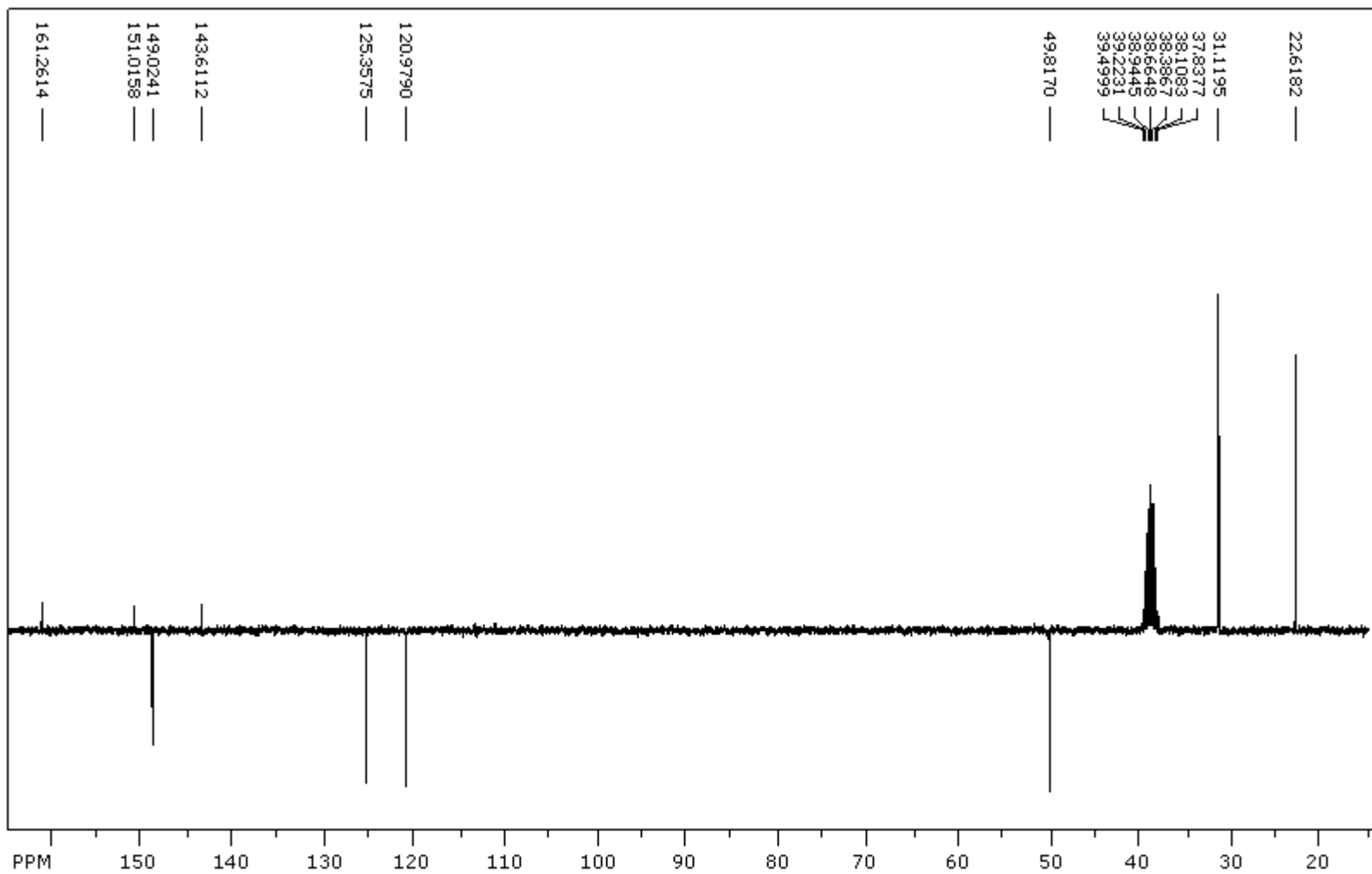
Rođena sam 6. kolovoza 1987. u Zagrebu. U Zaboku sam pohađala OŠ Ksavera Šandora Đalskog, a jezičnu gimnaziju (IV. gimnaziju) prema bilingvalnom programu na engleskom jeziku u Zagrebu. Gimnaziju sam završila s maturalskim radom iz psihologije s temom „Razlike i sličnosti između zaljubljenosti i ljubavi“. Farmaceutsko-biokemijski fakultet, smjer farmacija, upisala sam 2006. godine. Ovaj fakultet upisala sam jer me zanimaju i prirodne i društvene znanosti, kojih mi se farmacija čini dobar spoj. Studij mi se sviđa jer je multidisciplinarnan i daje širok raspon različitih znanja i vještina. Budući da volim stjecati nova iskustva, odlučila sam se sudjelovati u izradi ovog rada.

11. PRILOZI

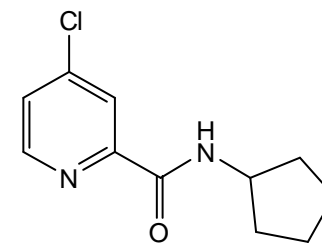




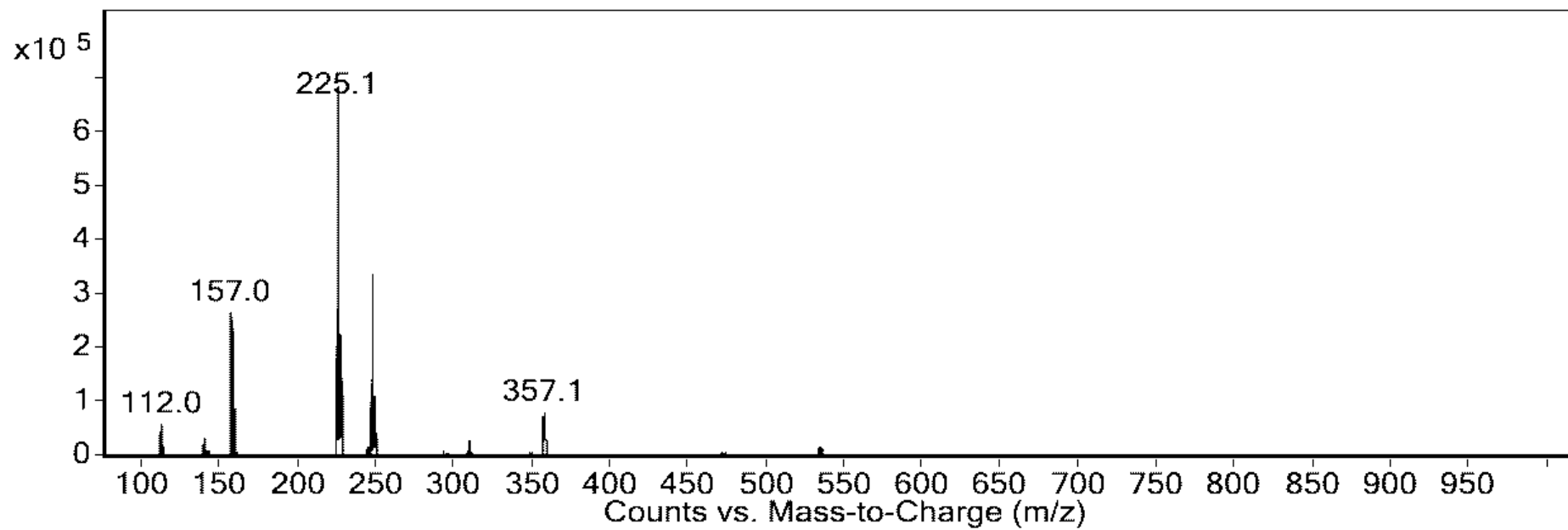
55



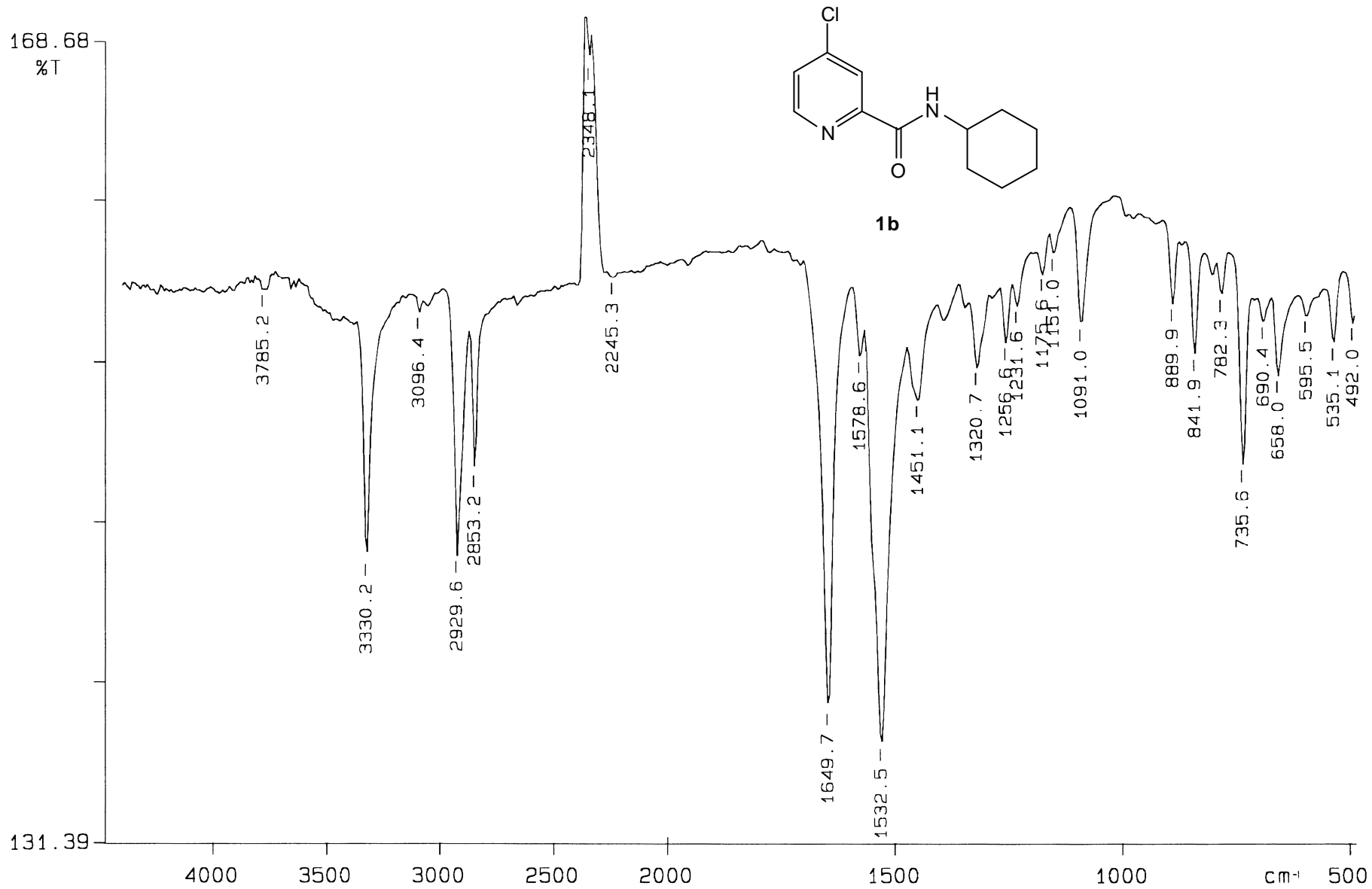
1a

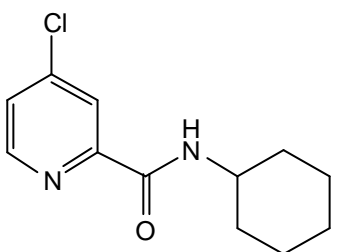


1a

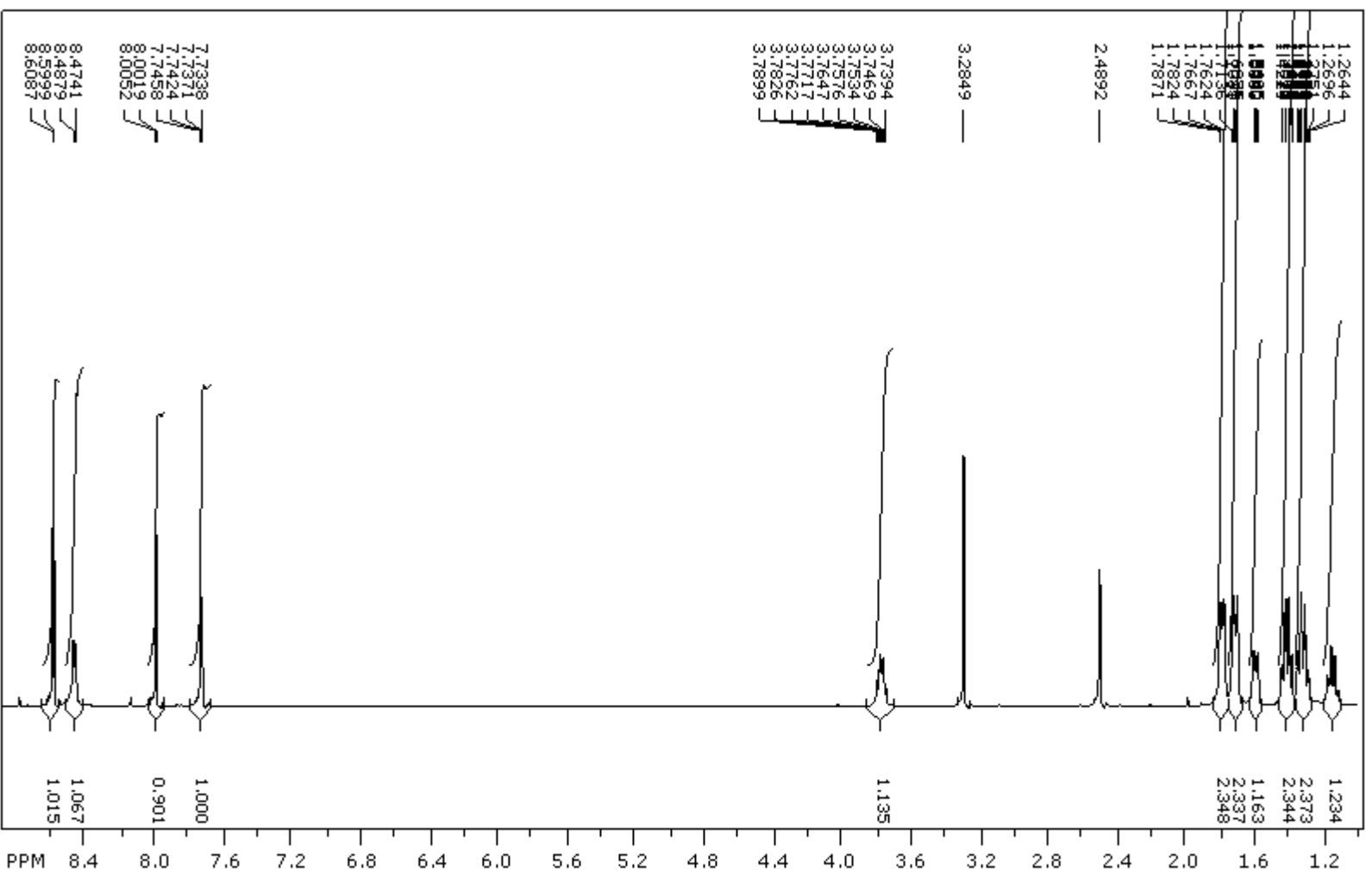


LS

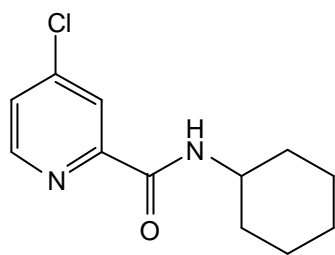
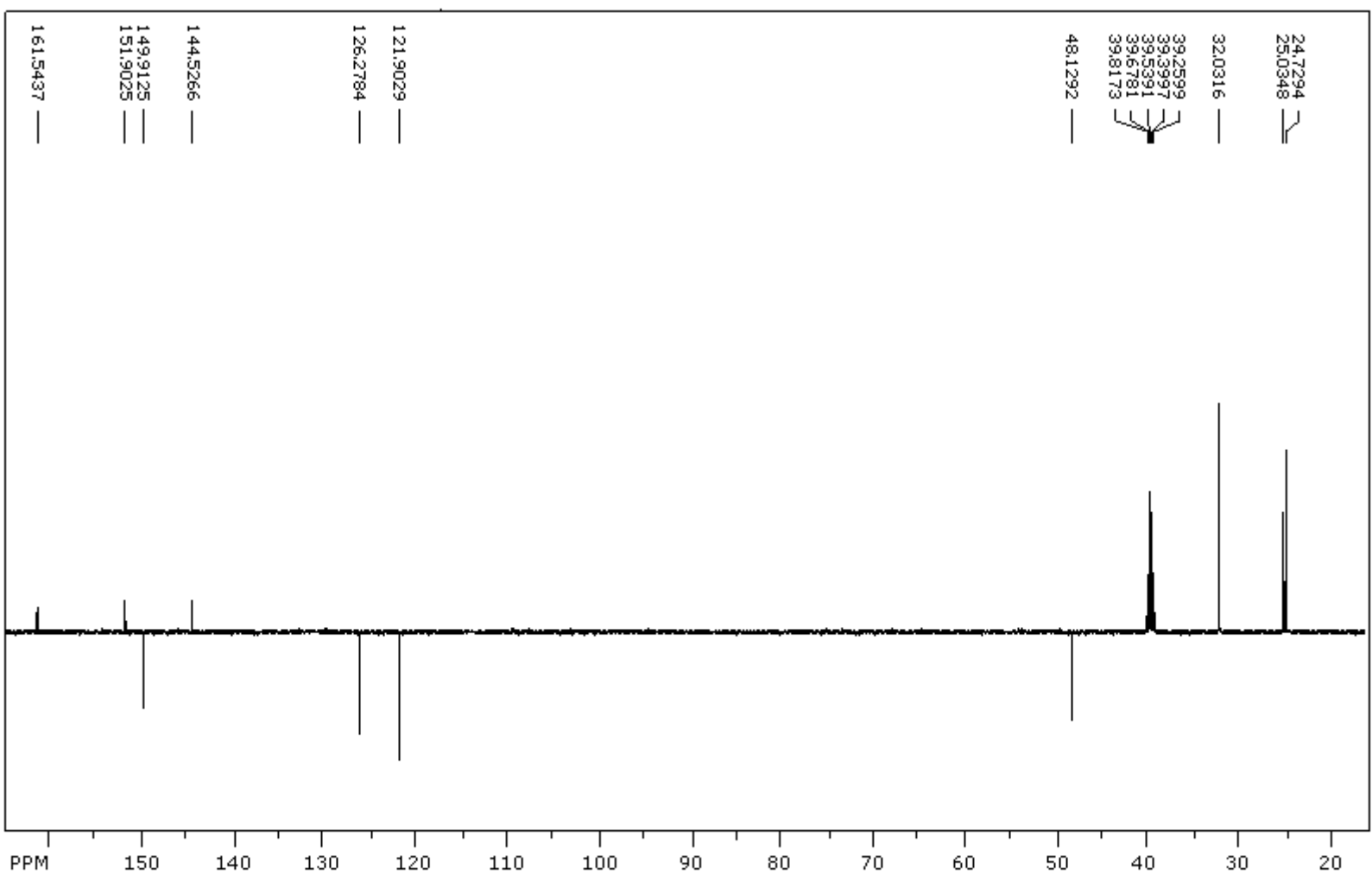


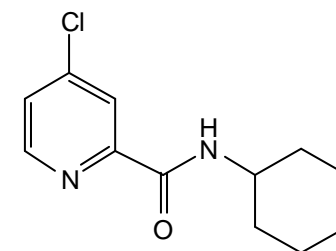


1b

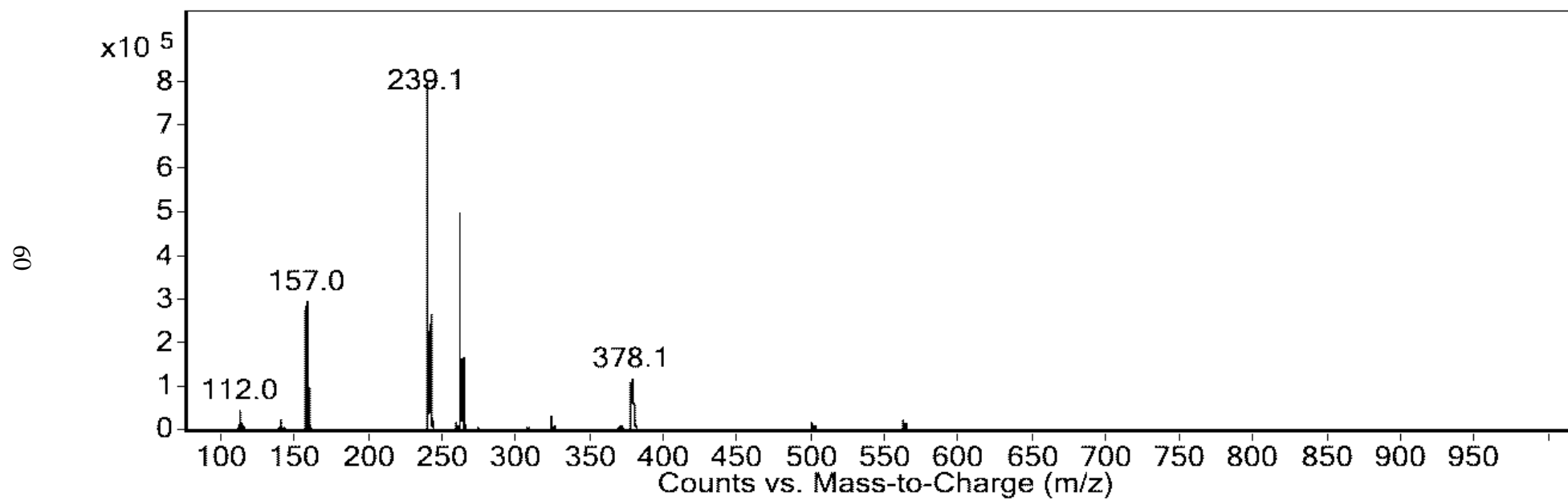


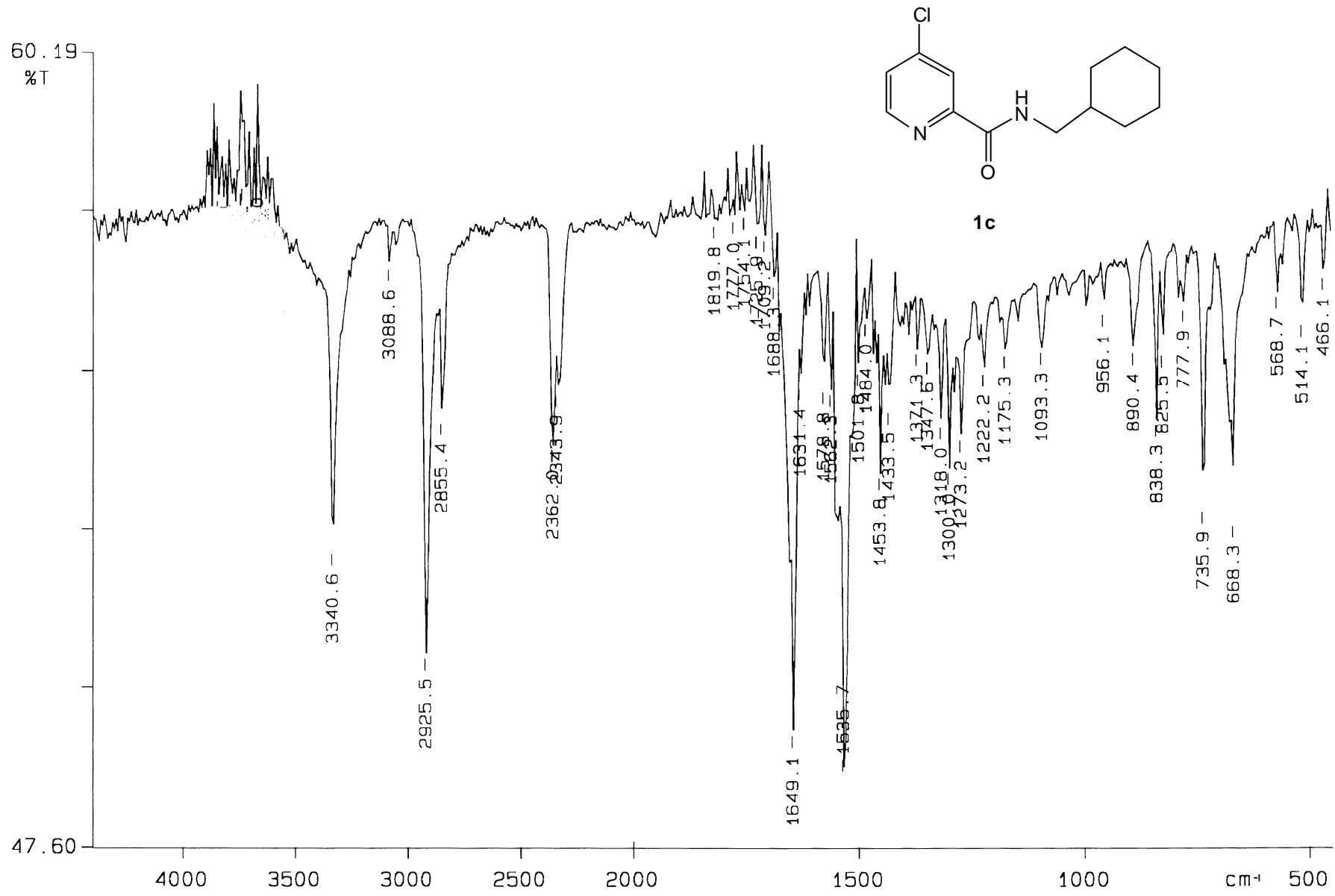
59

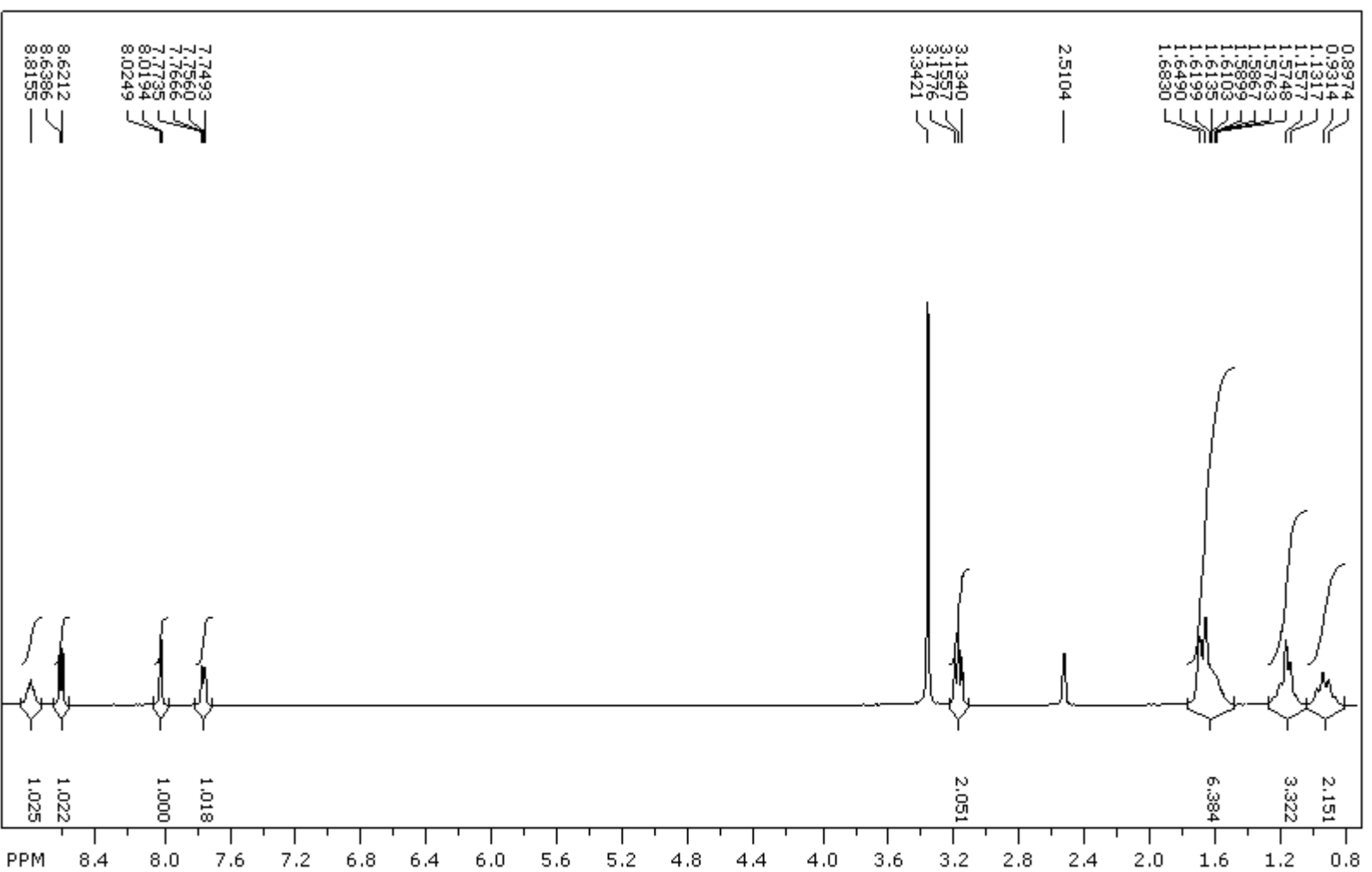
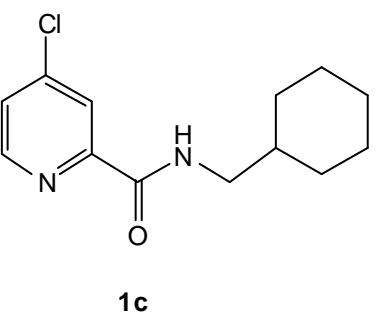
**1b**

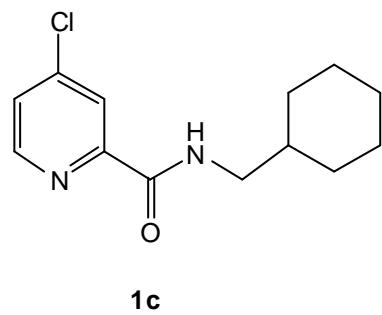
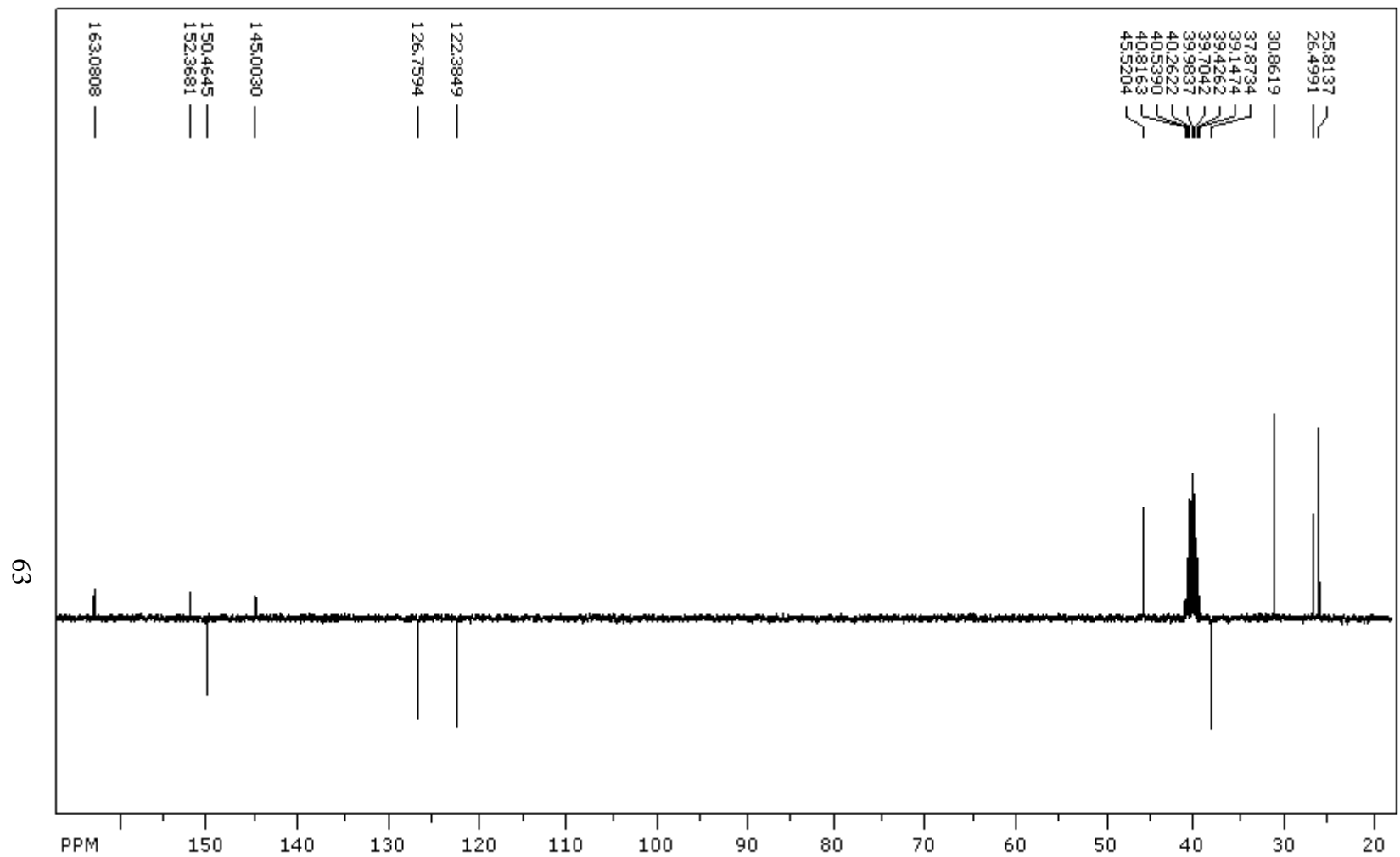


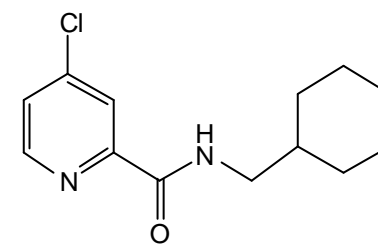
1b



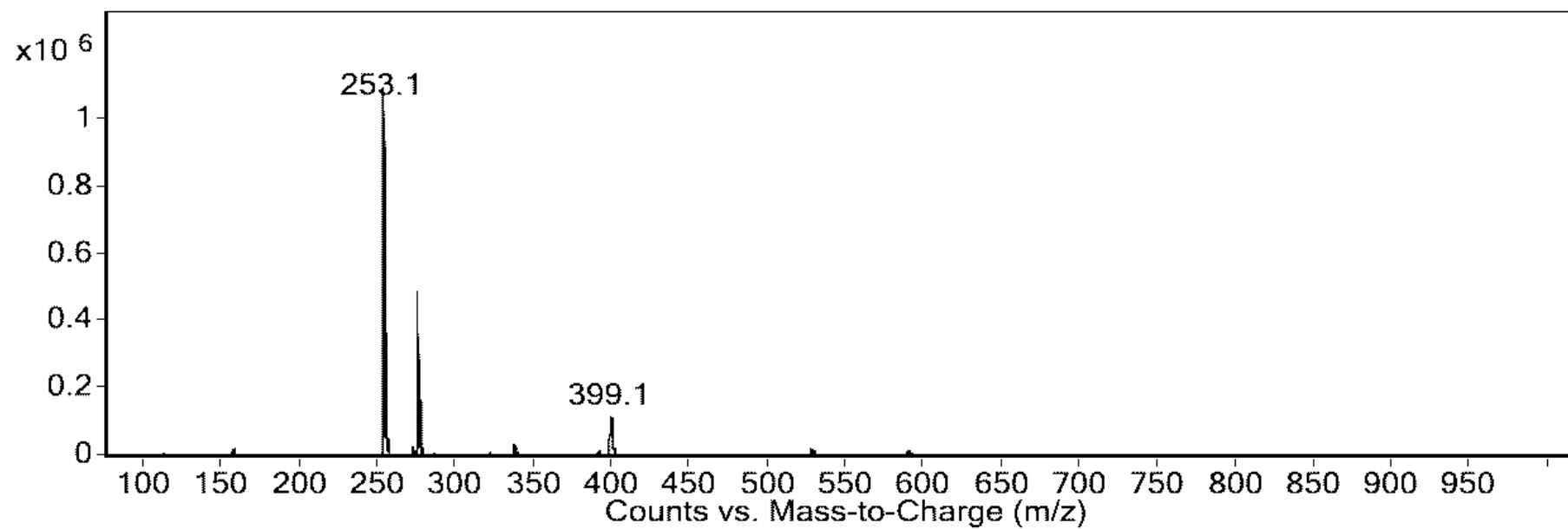


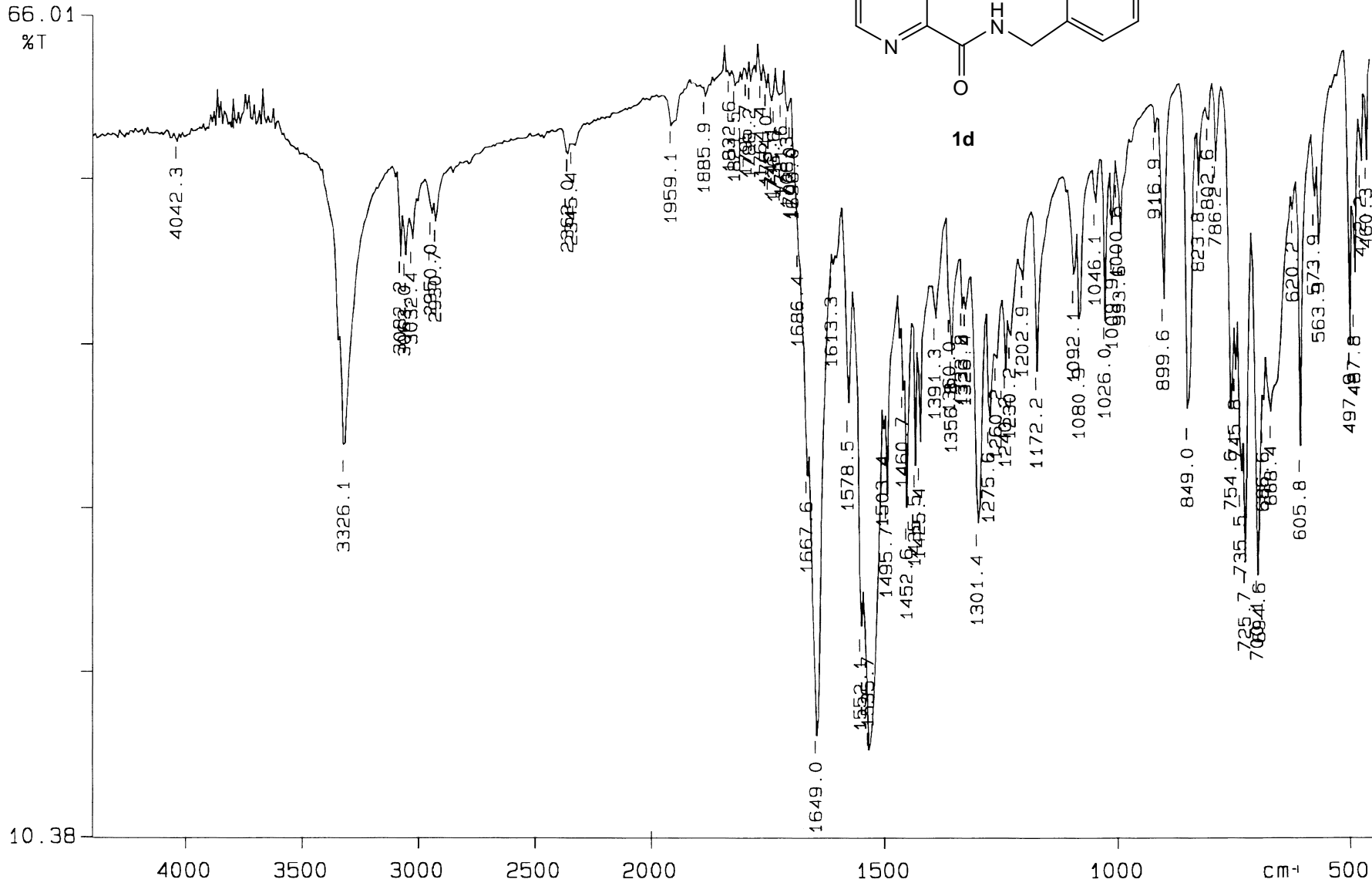


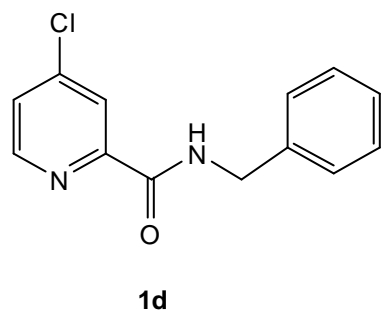
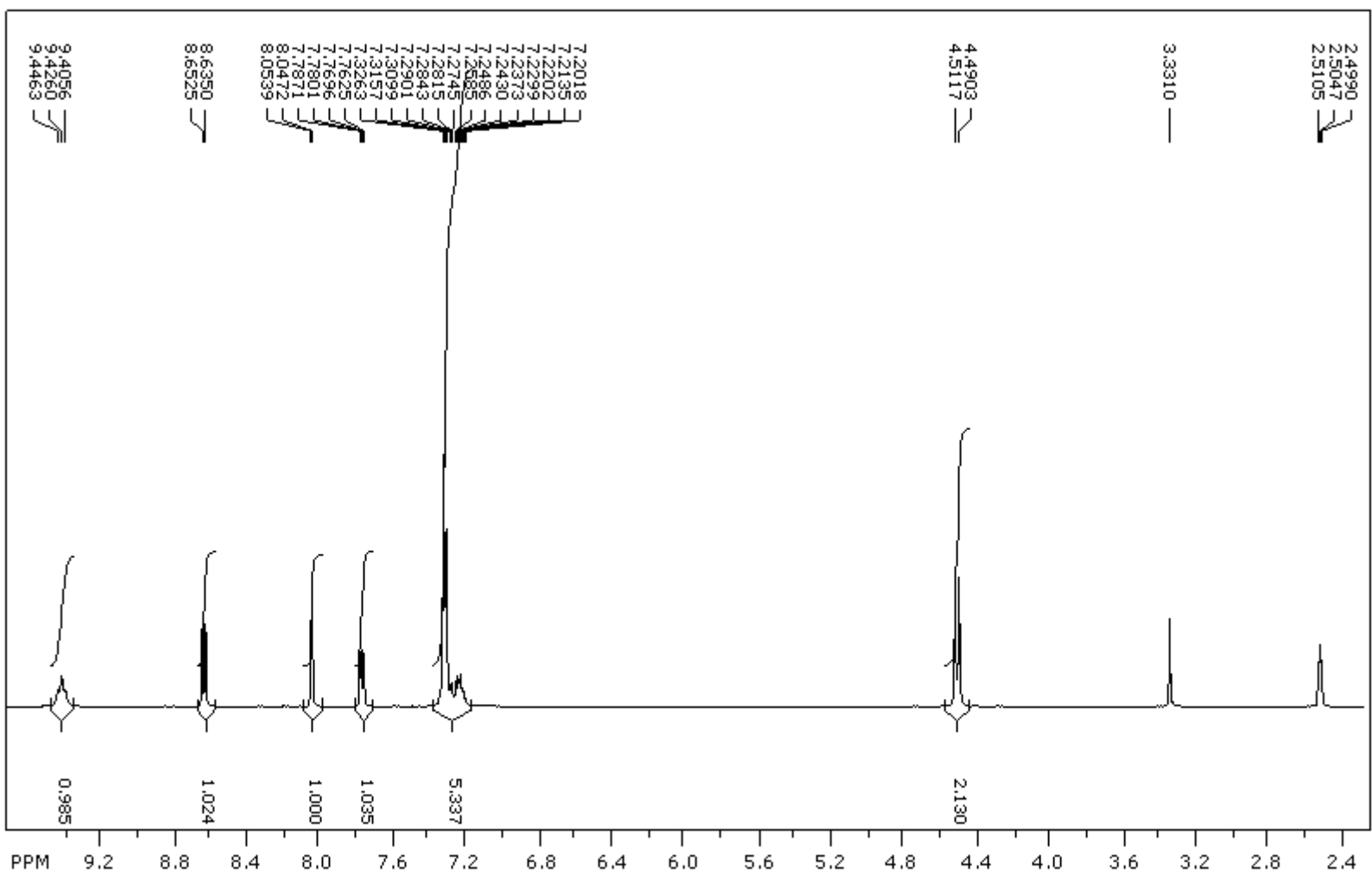


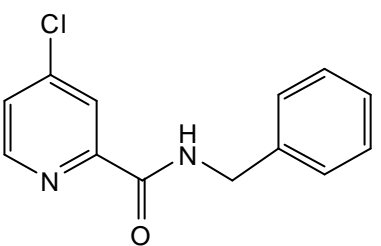


1c

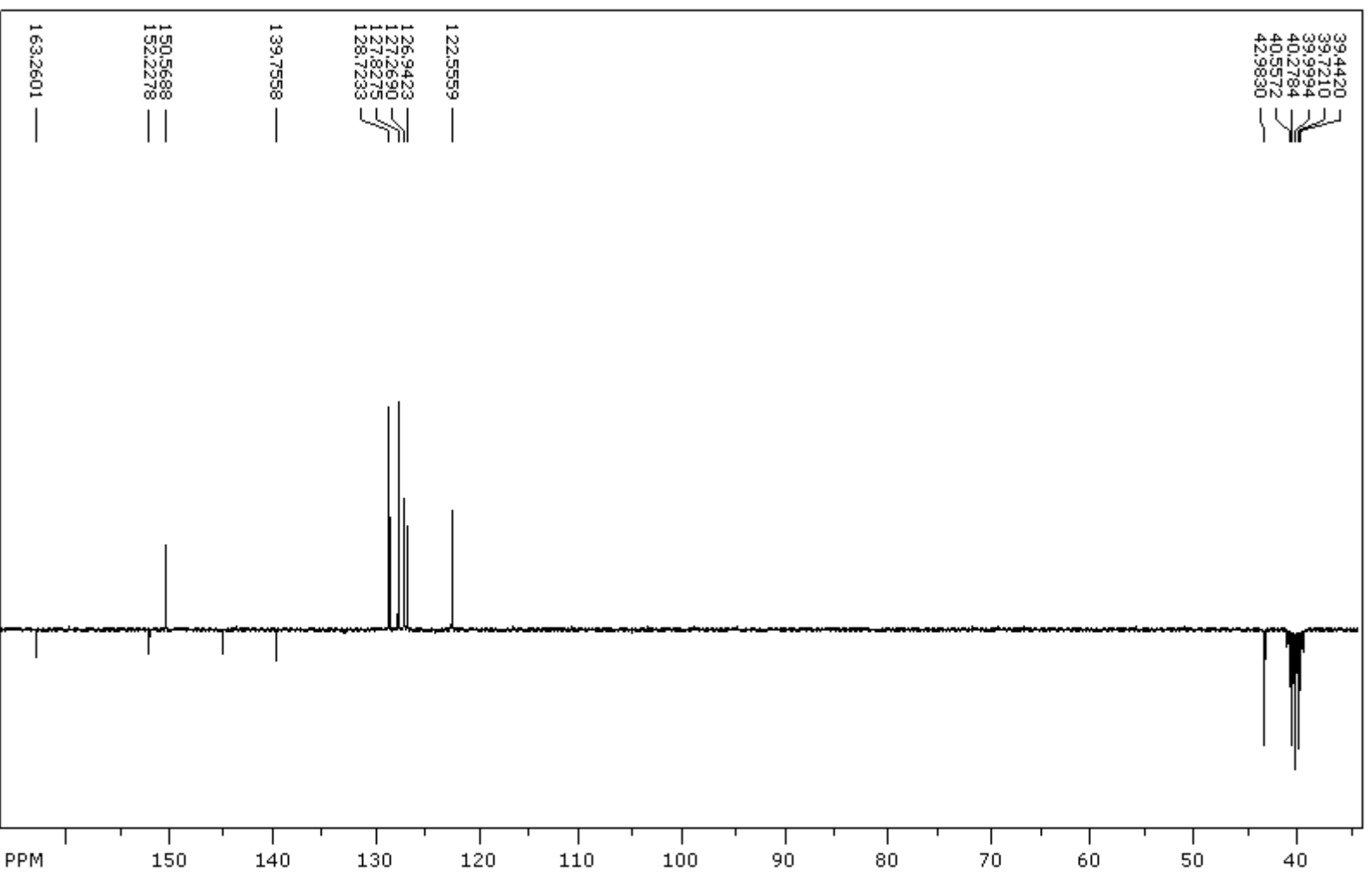


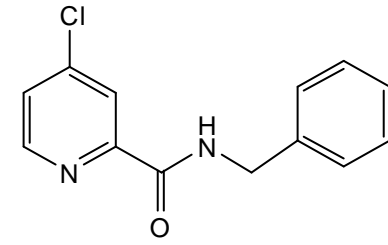






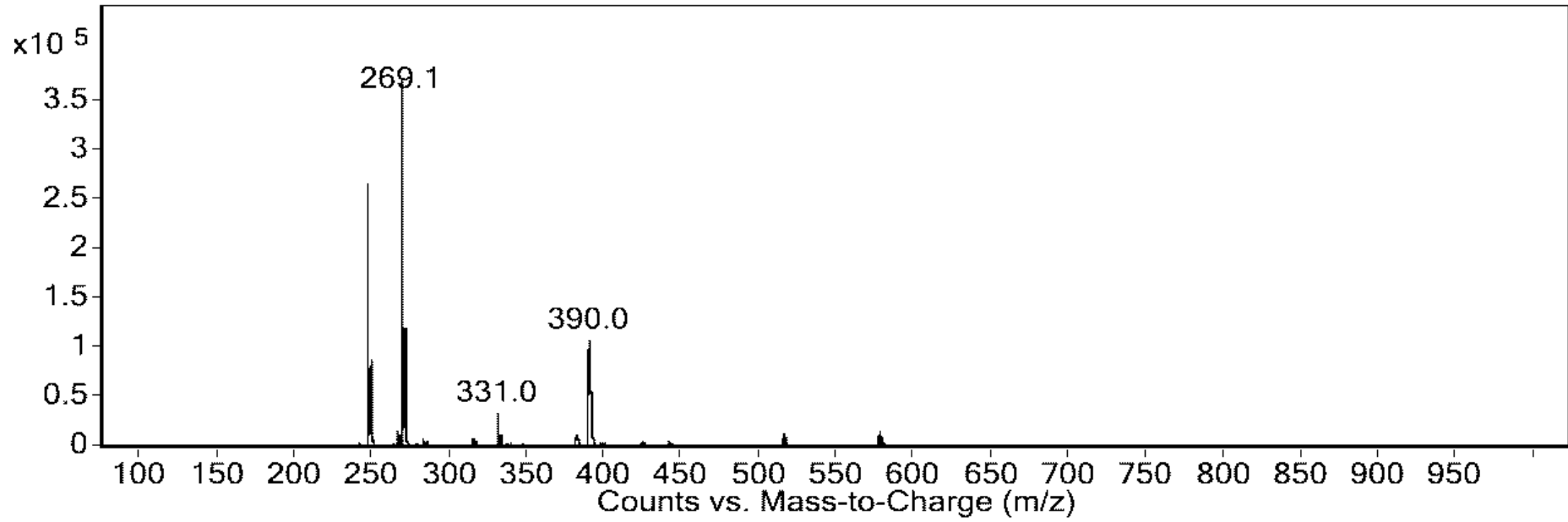
1d

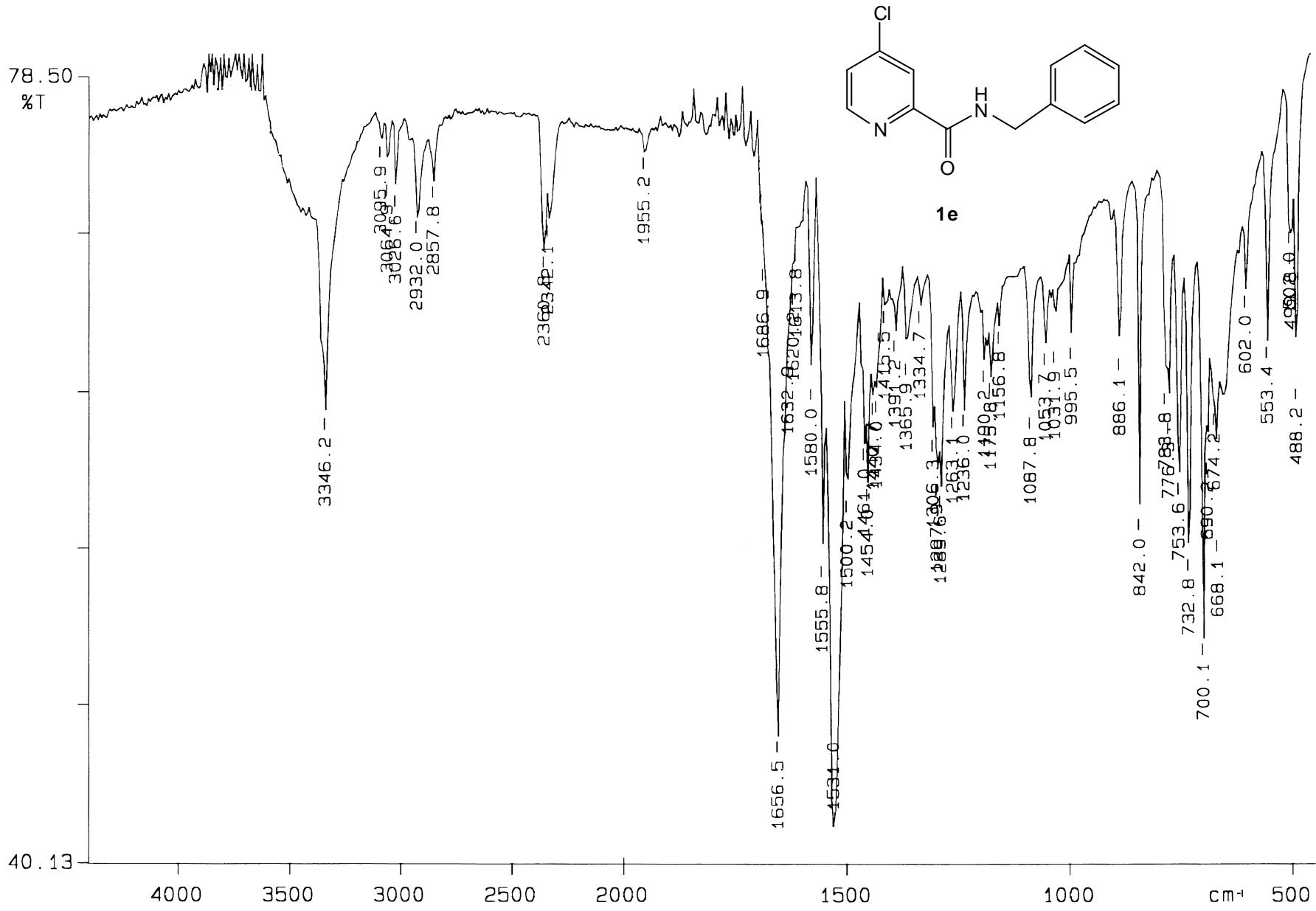


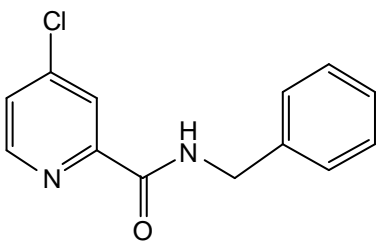


1d

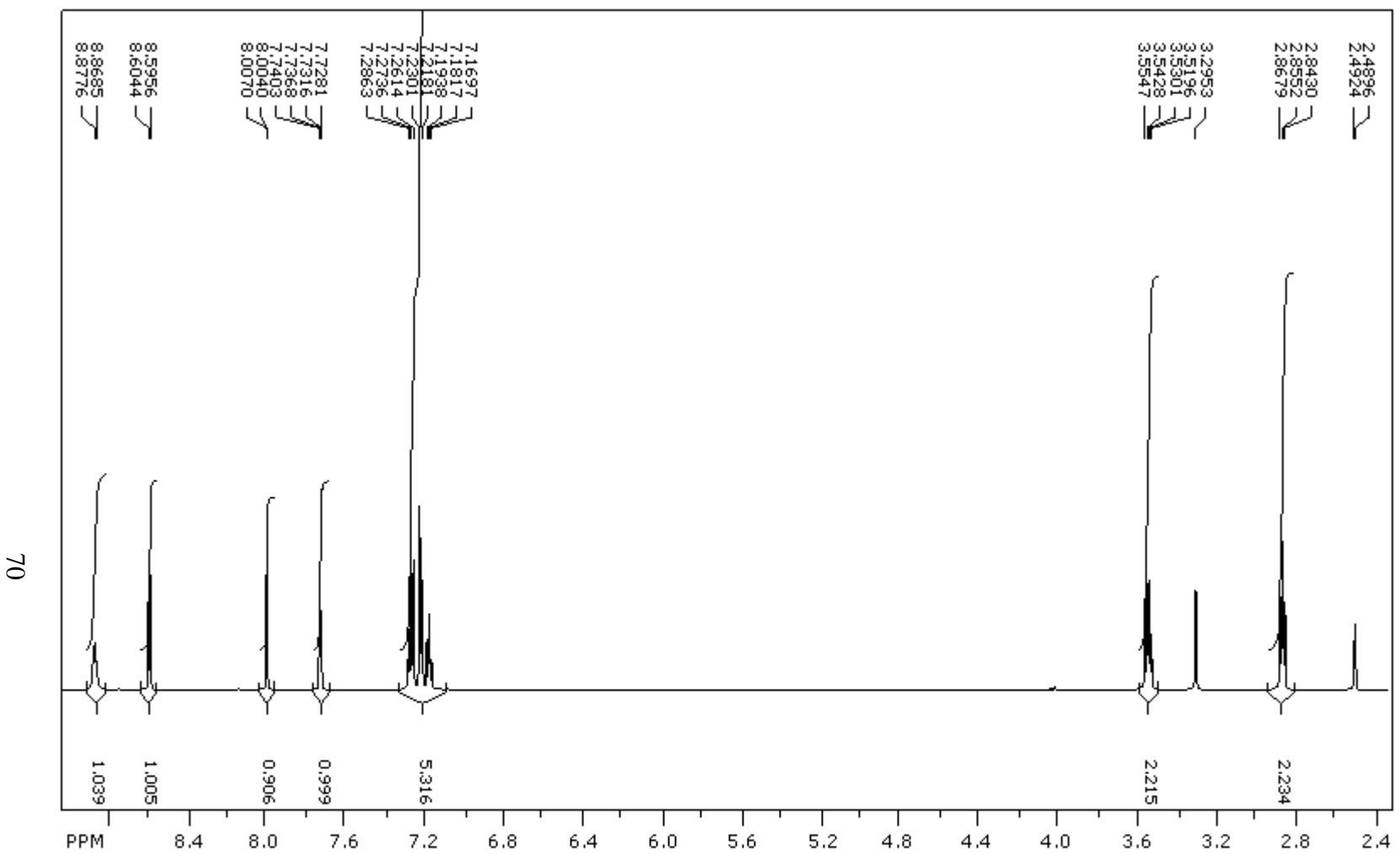
89



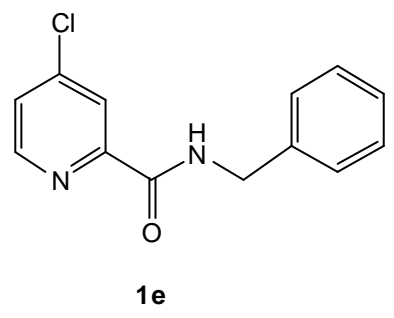
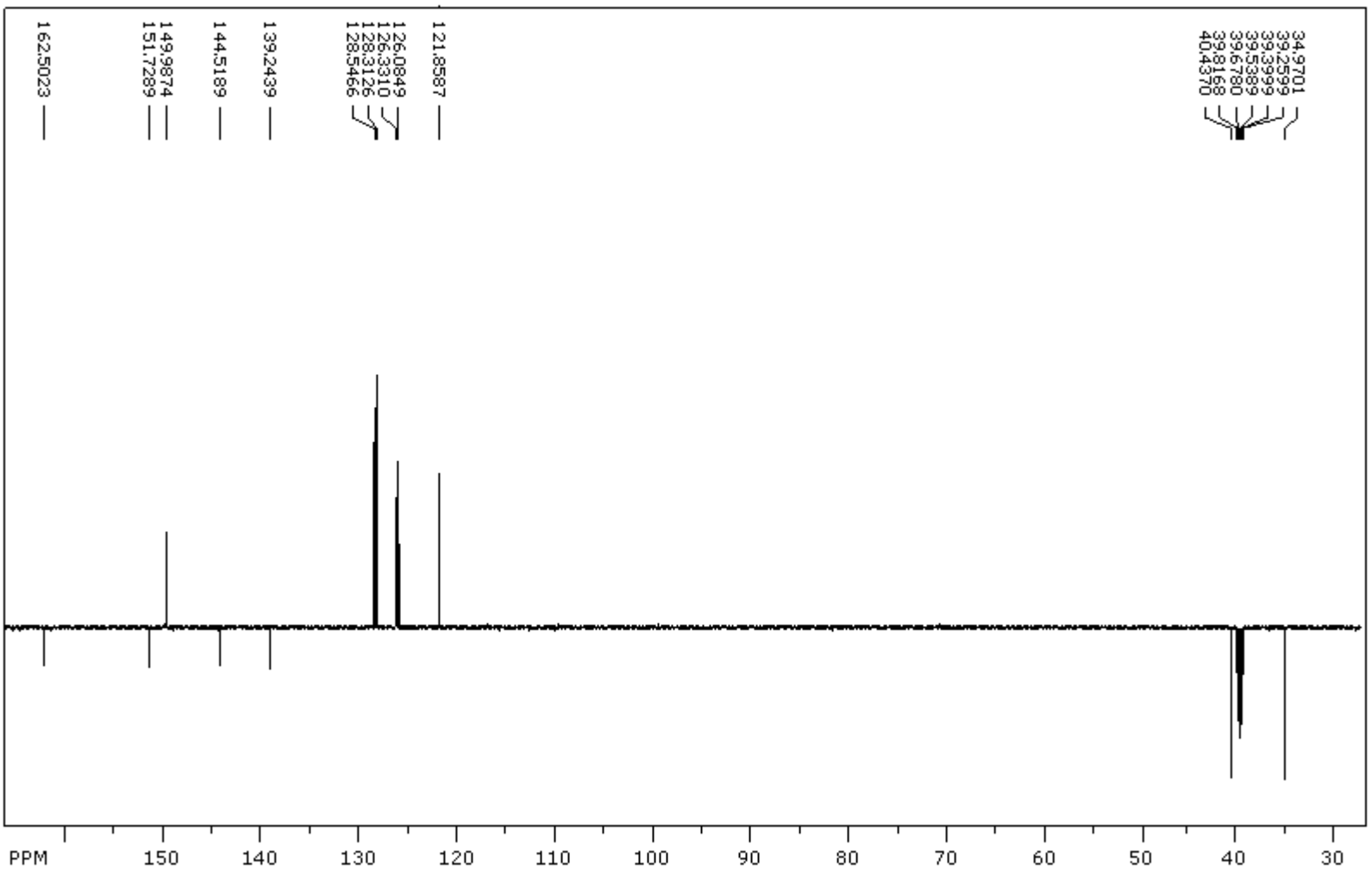


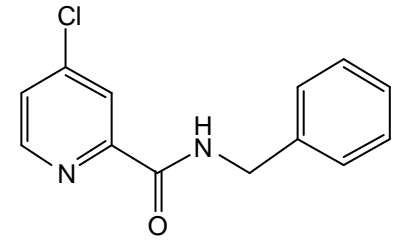


1e

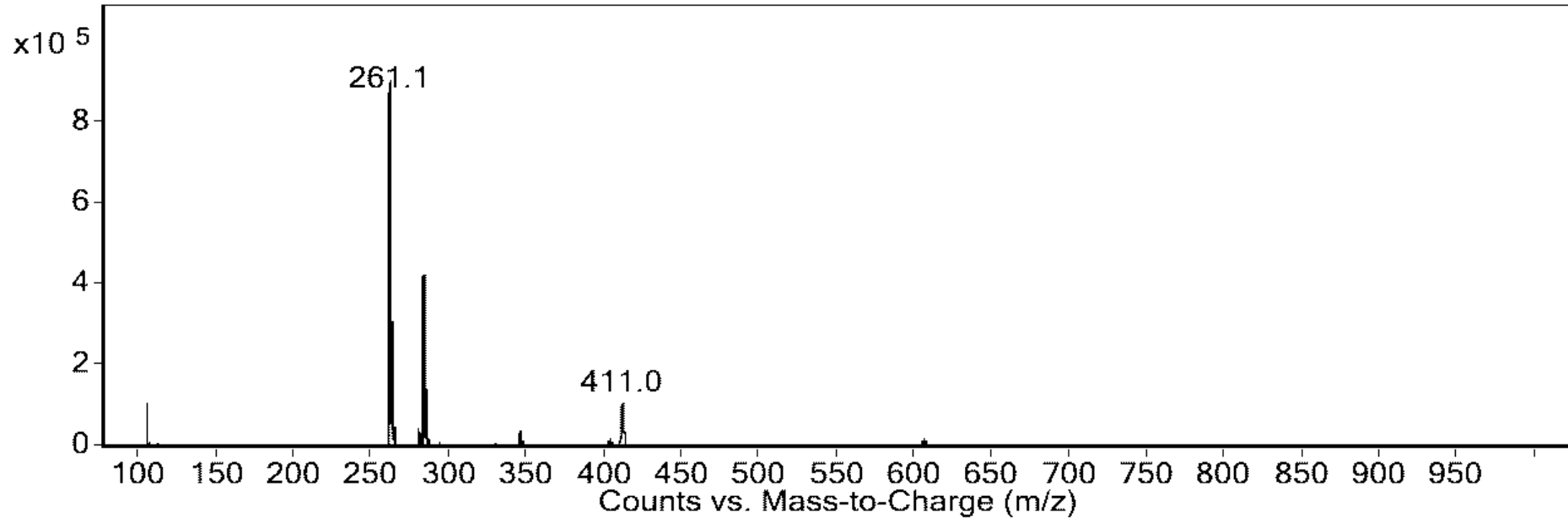


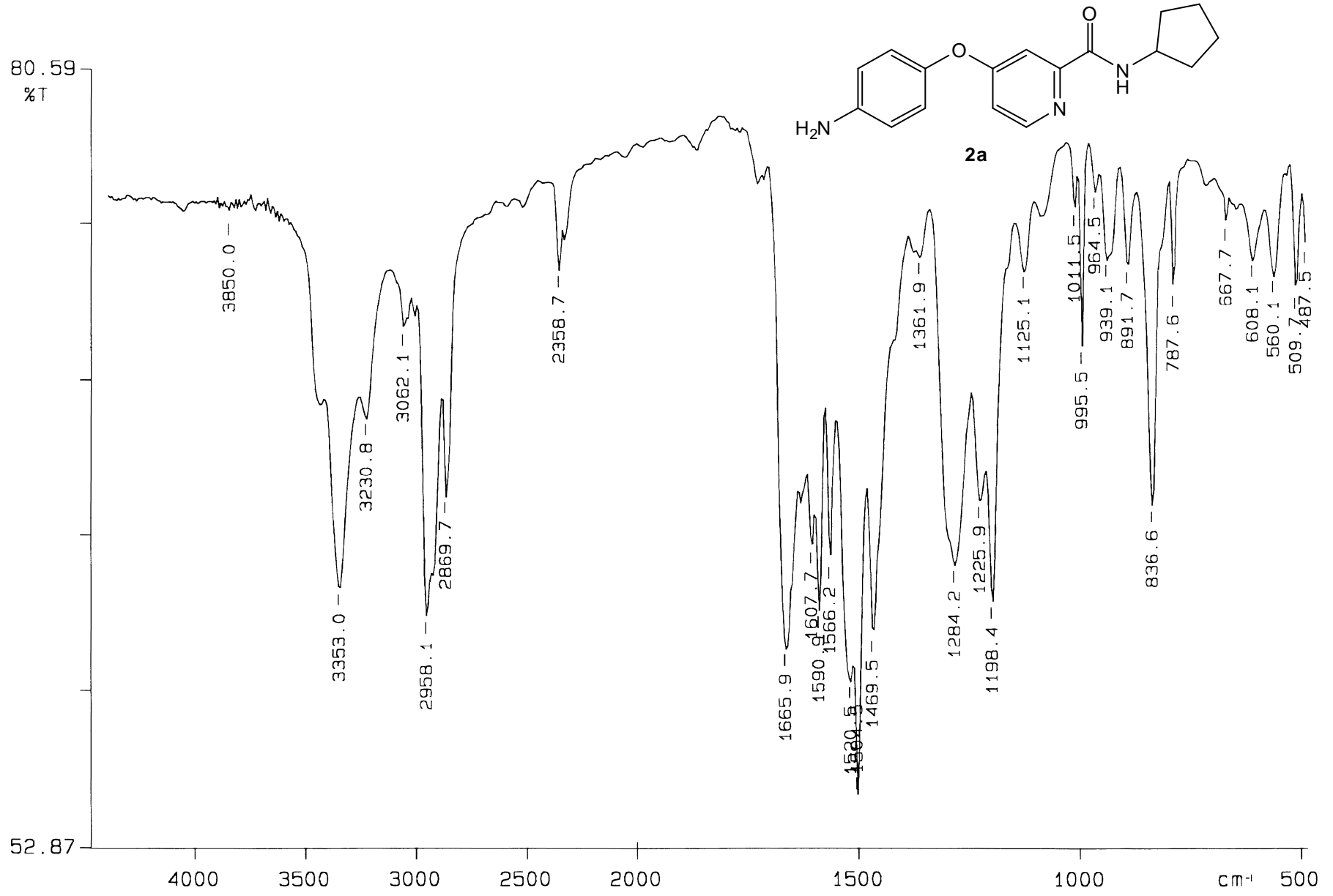
71

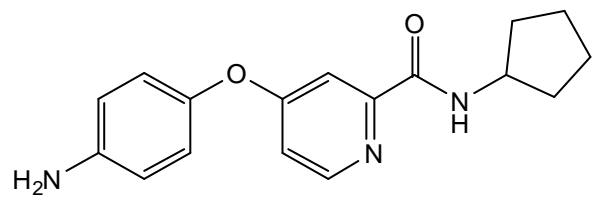




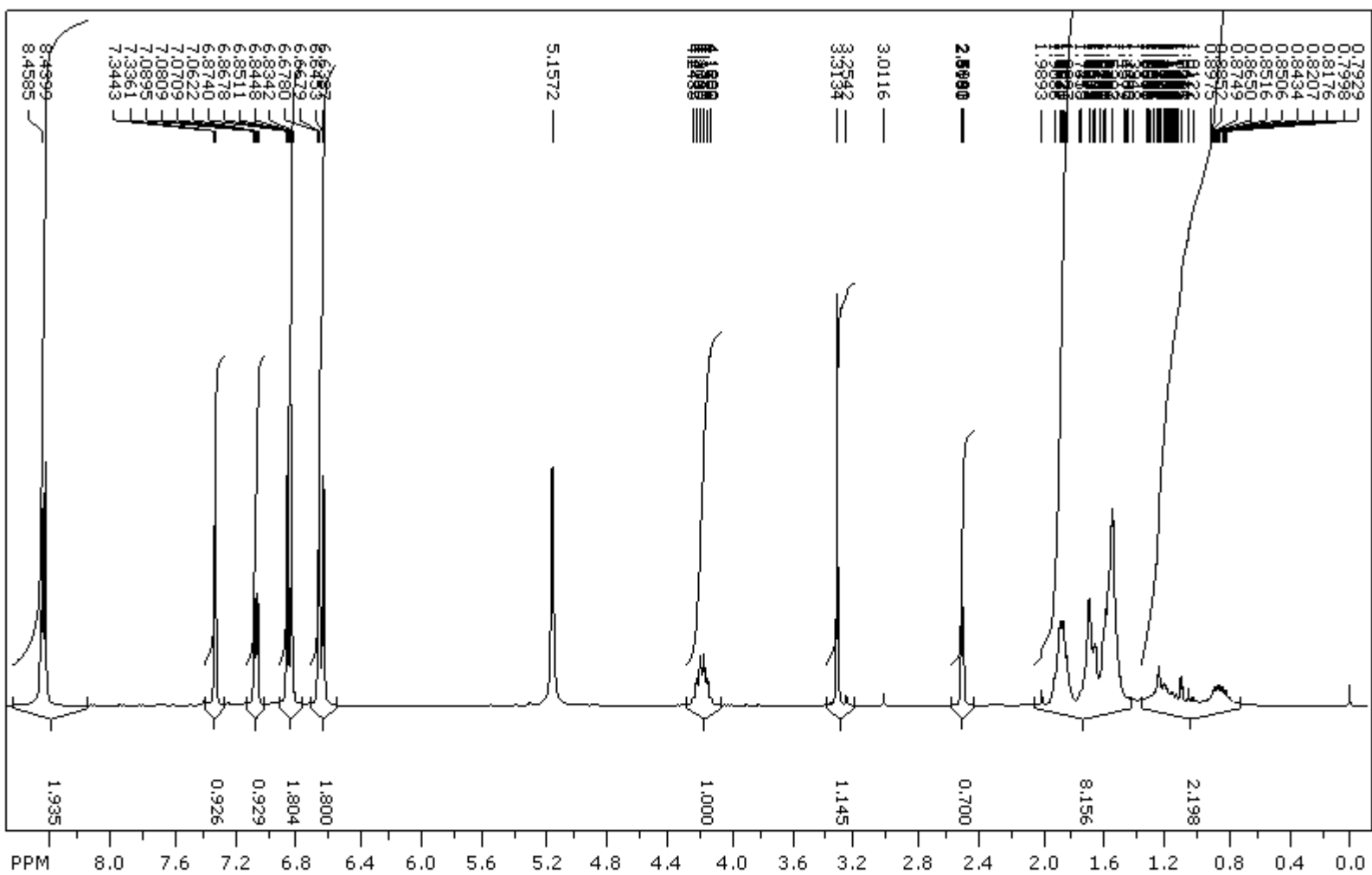
1e

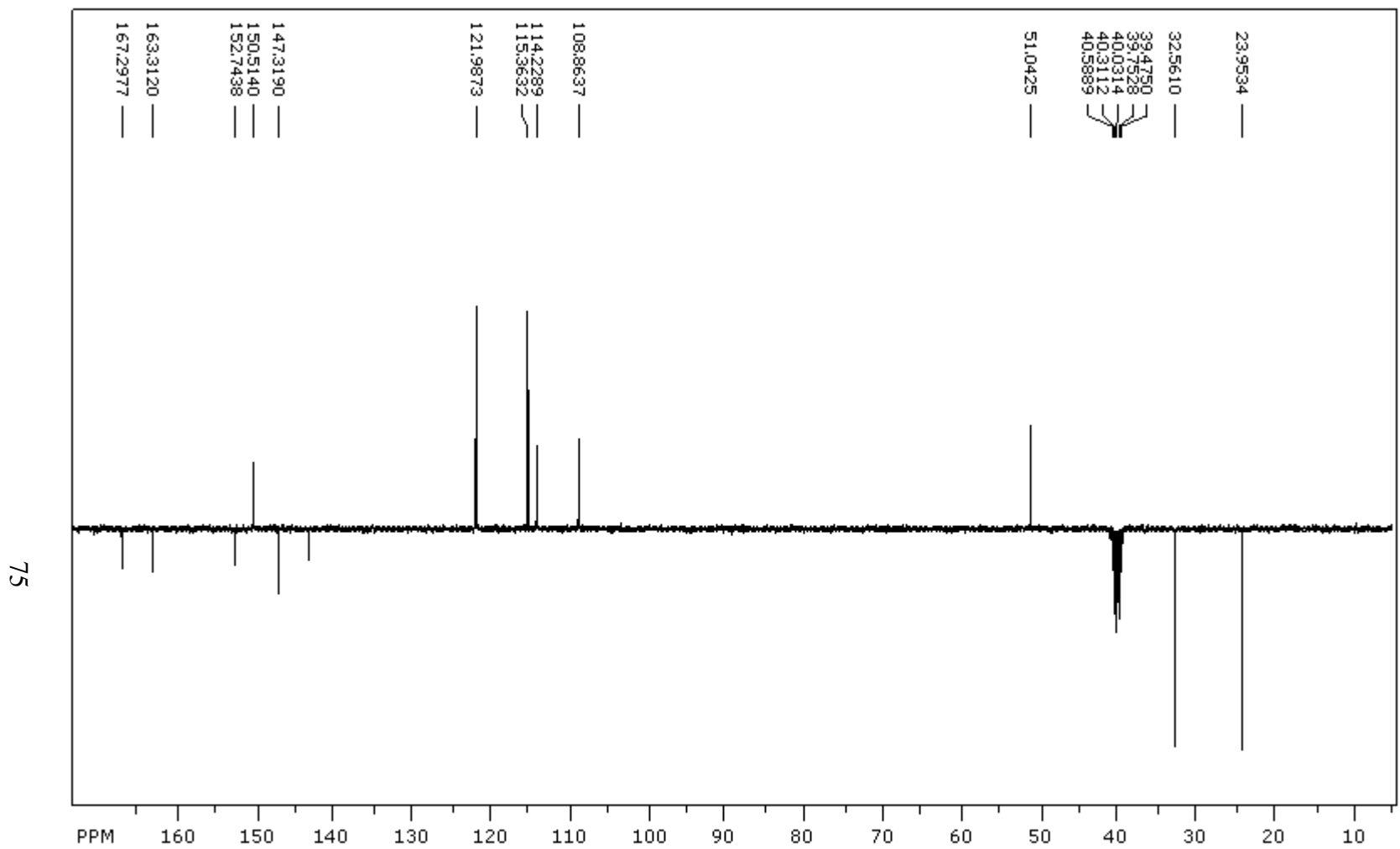
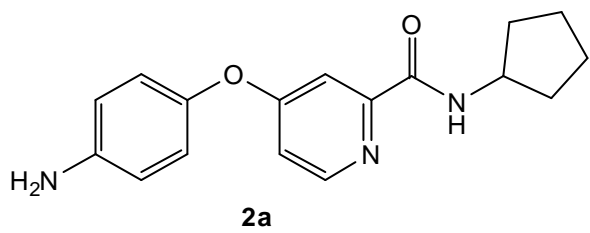


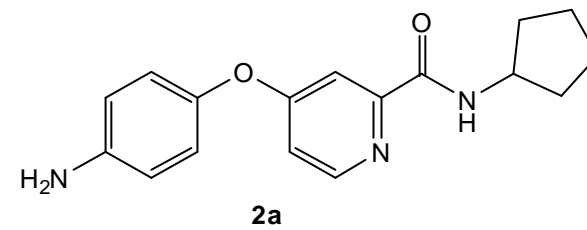




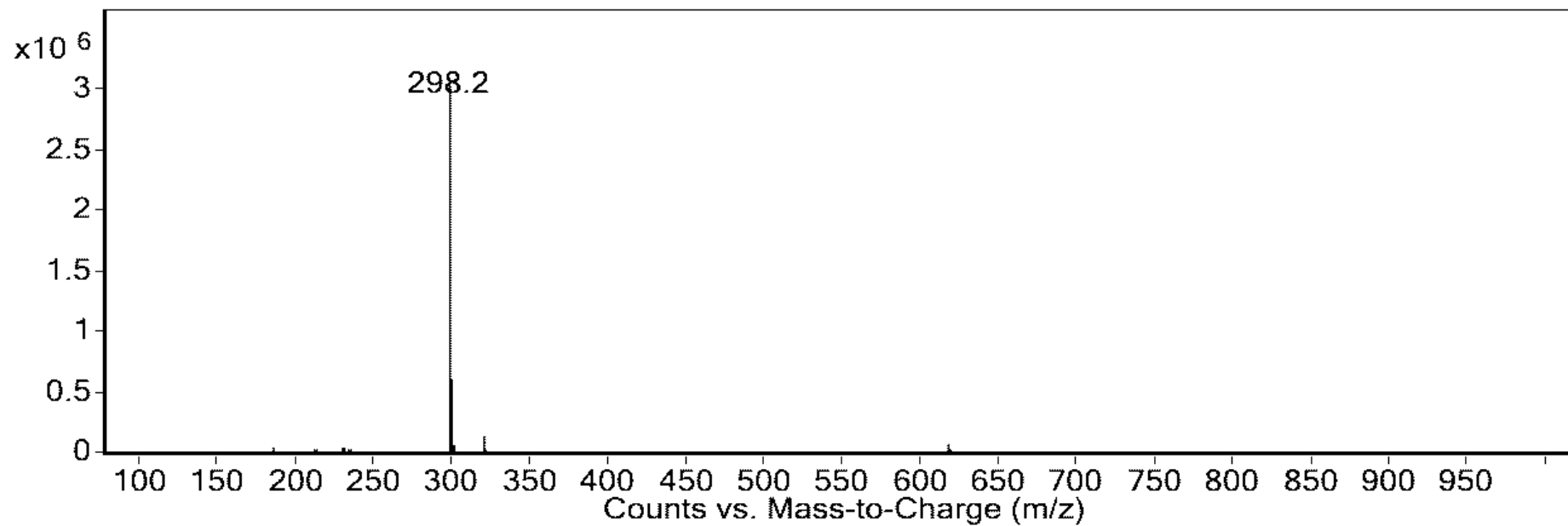
2a



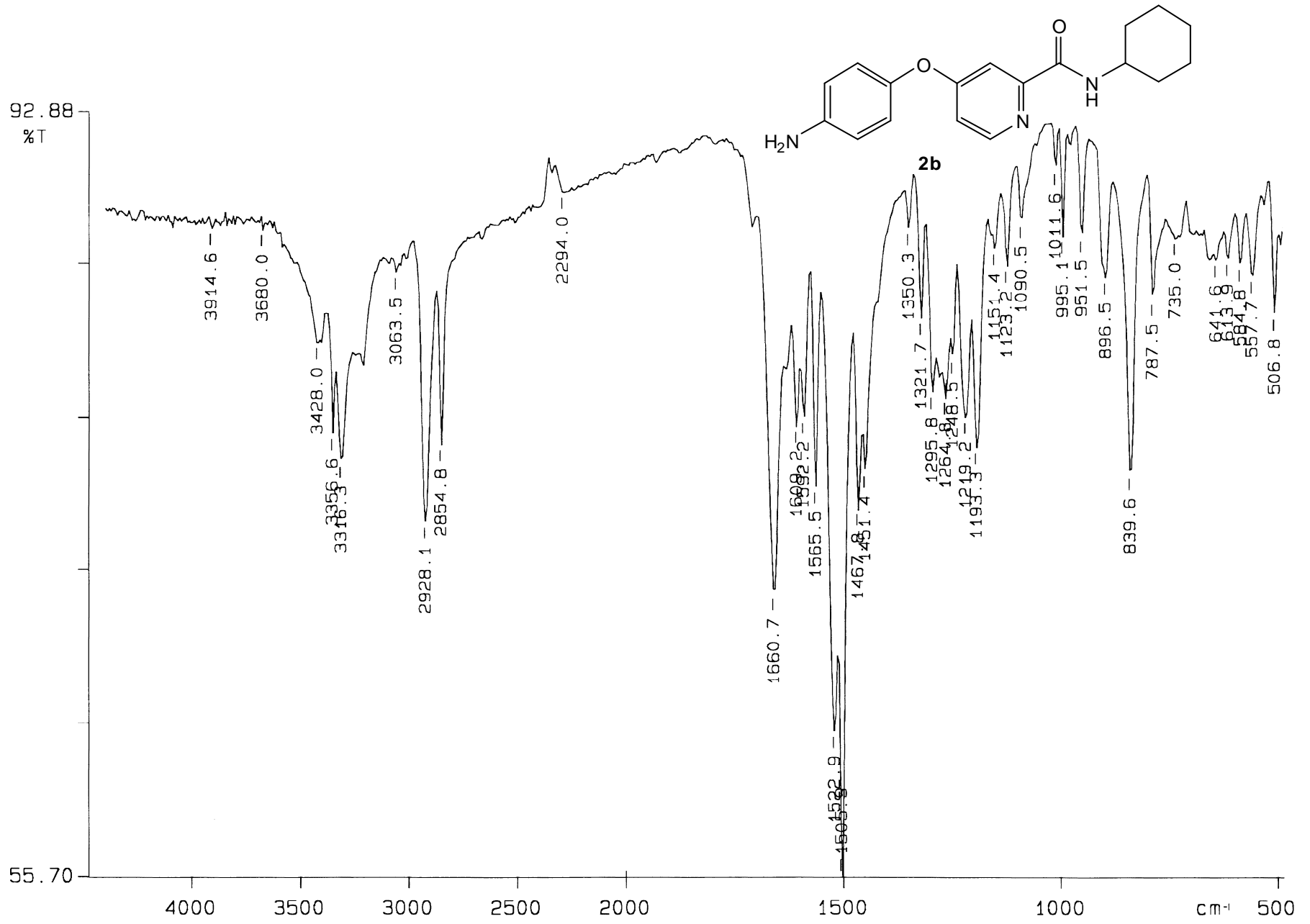


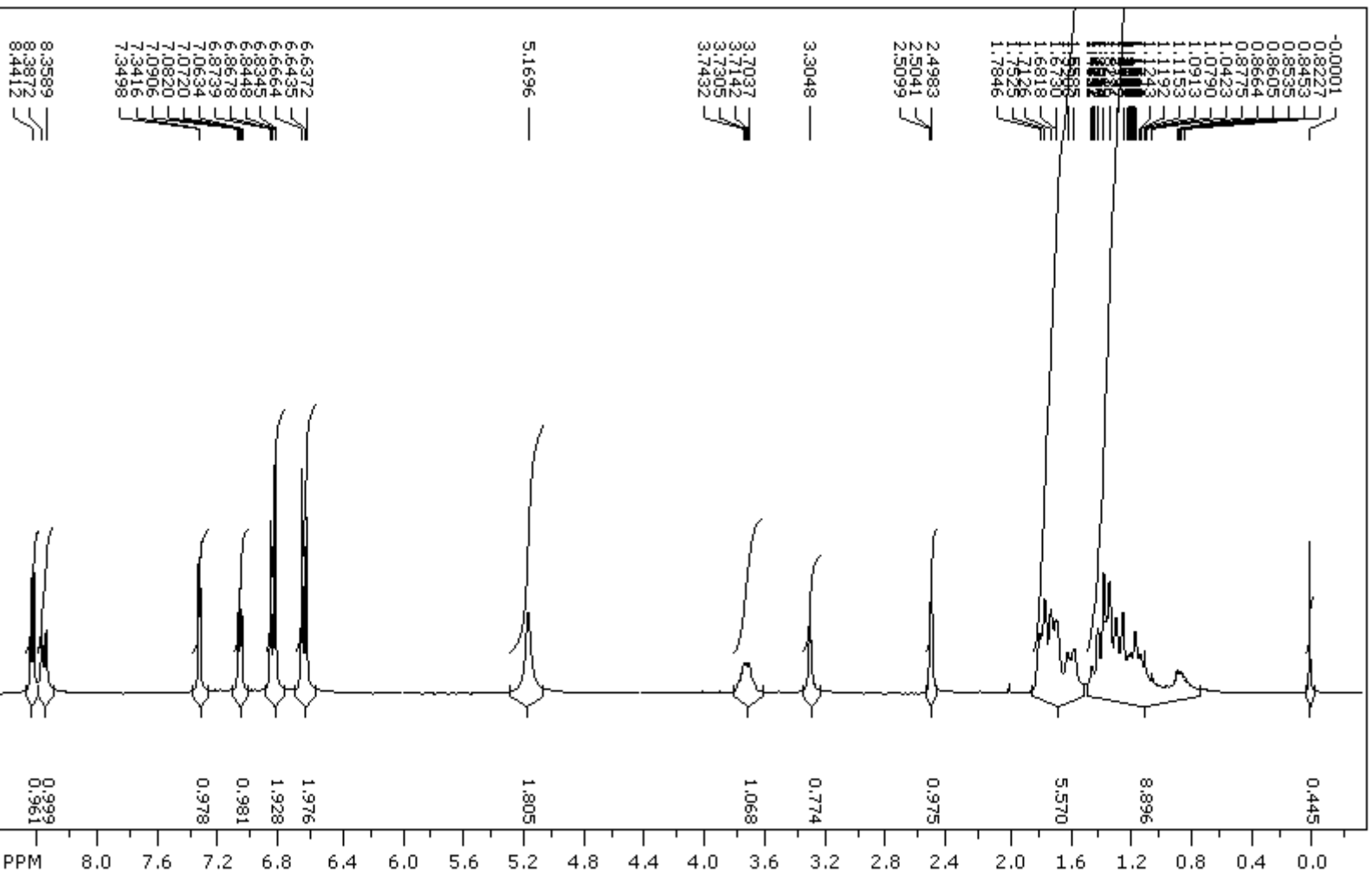
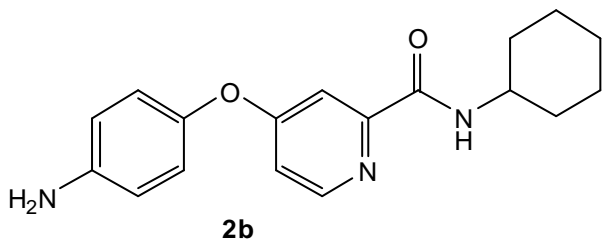


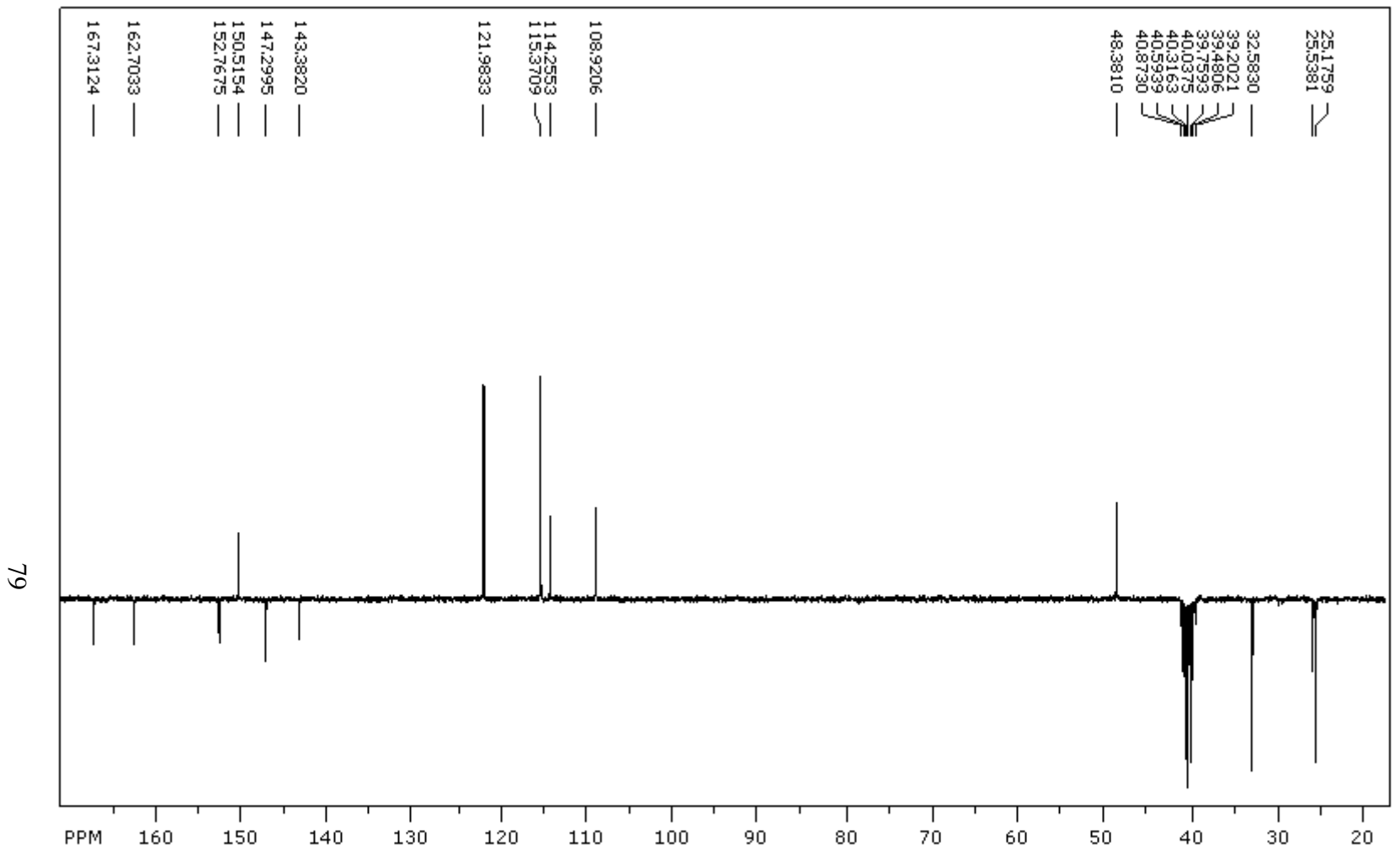
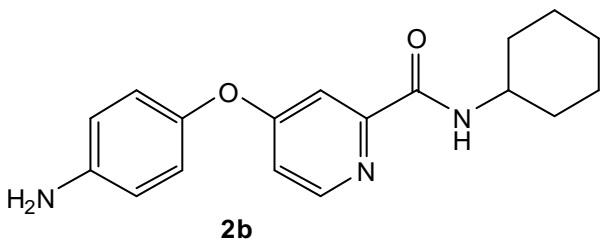
76

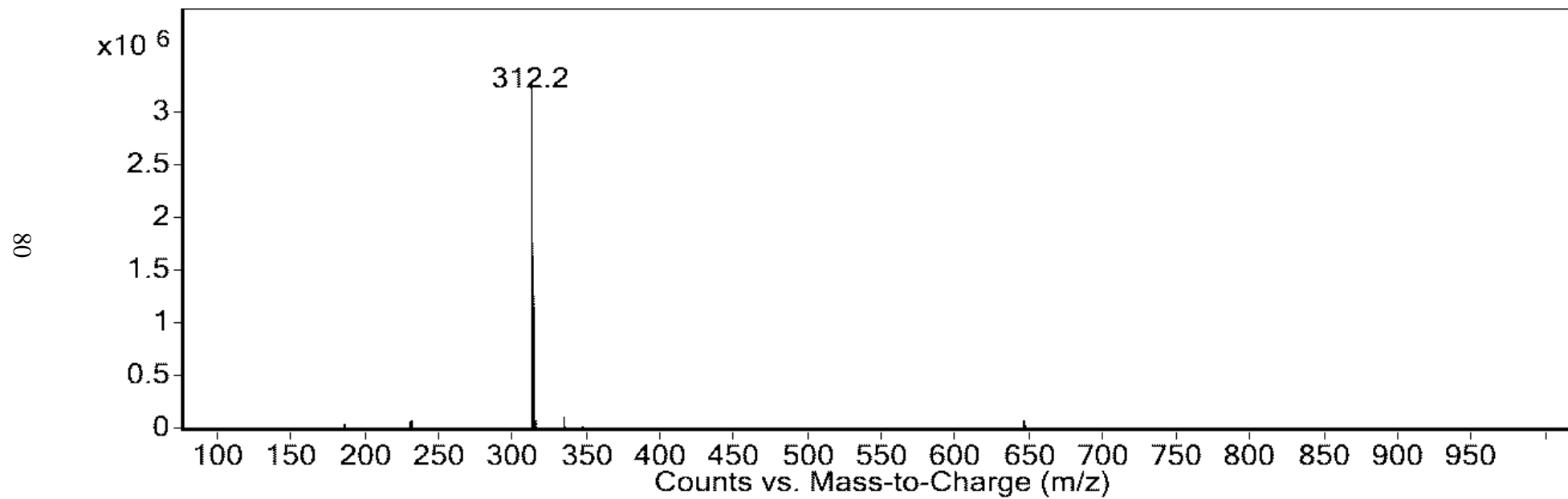
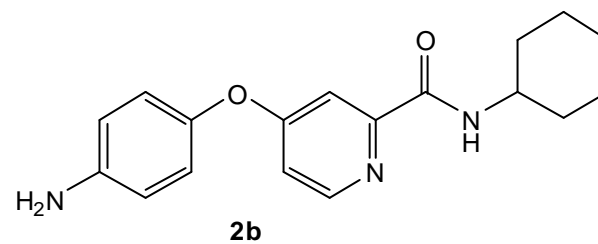


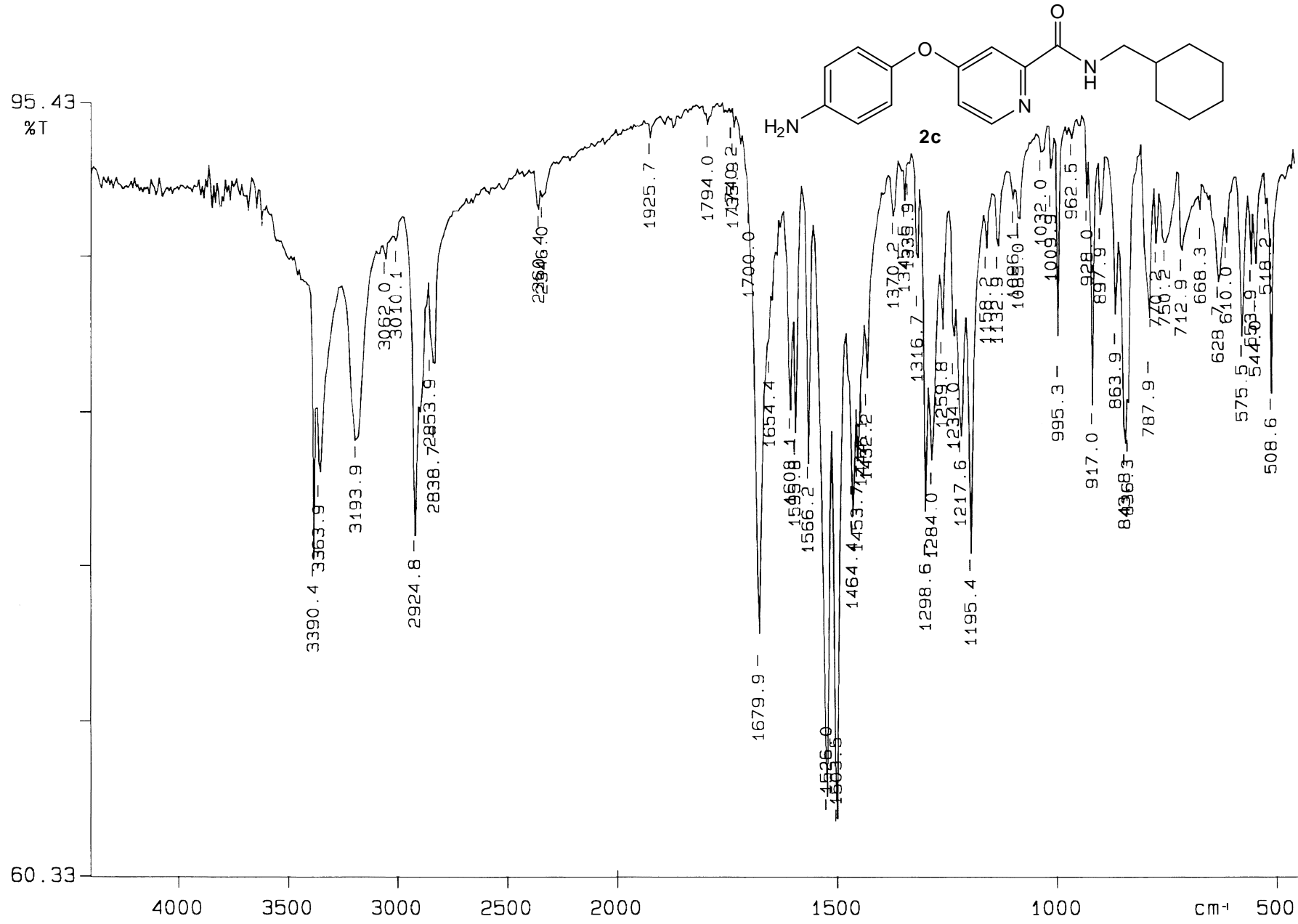
LL

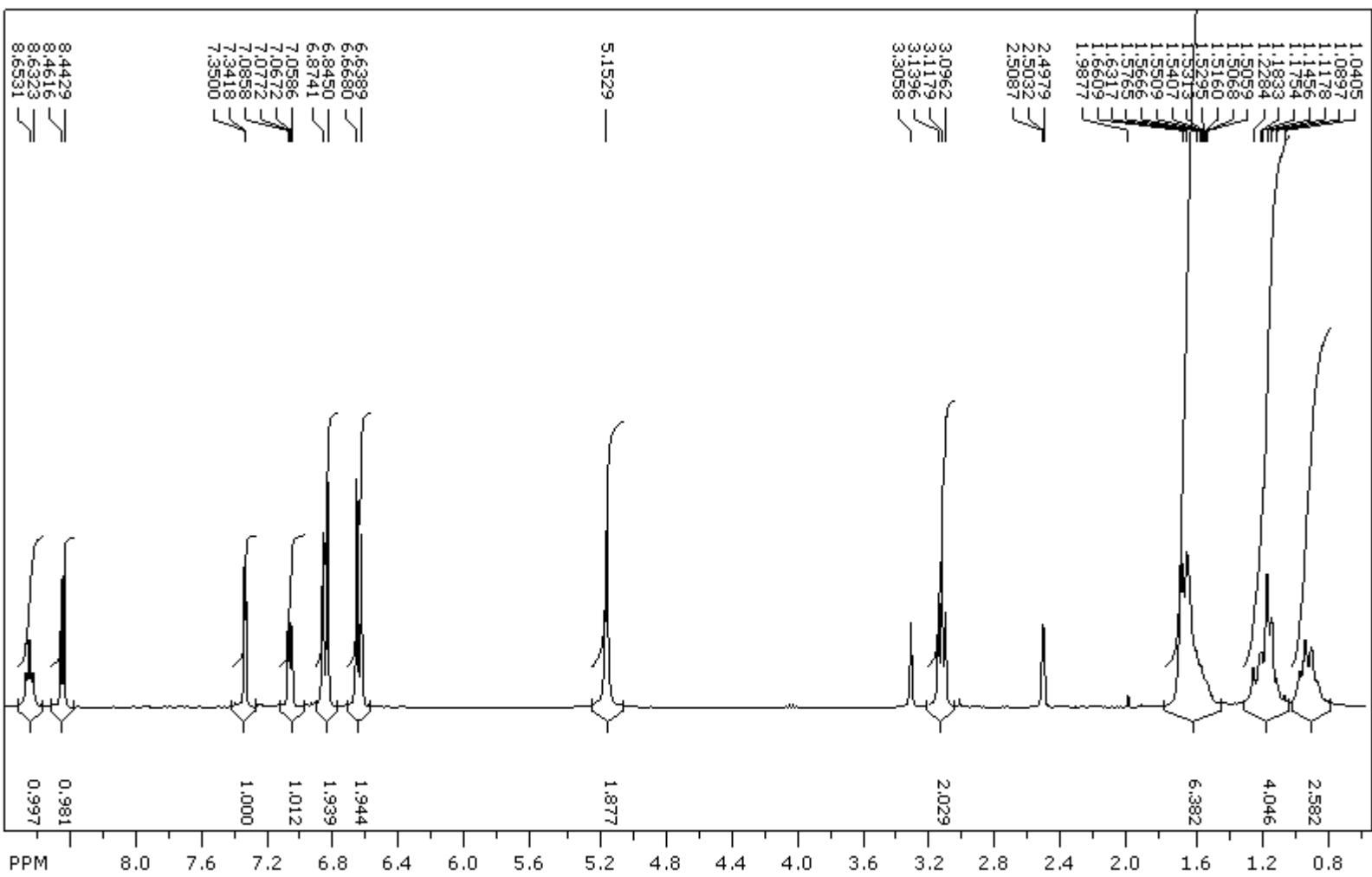
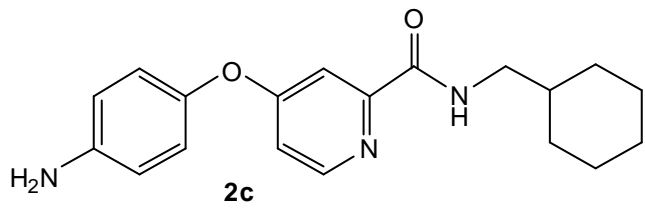


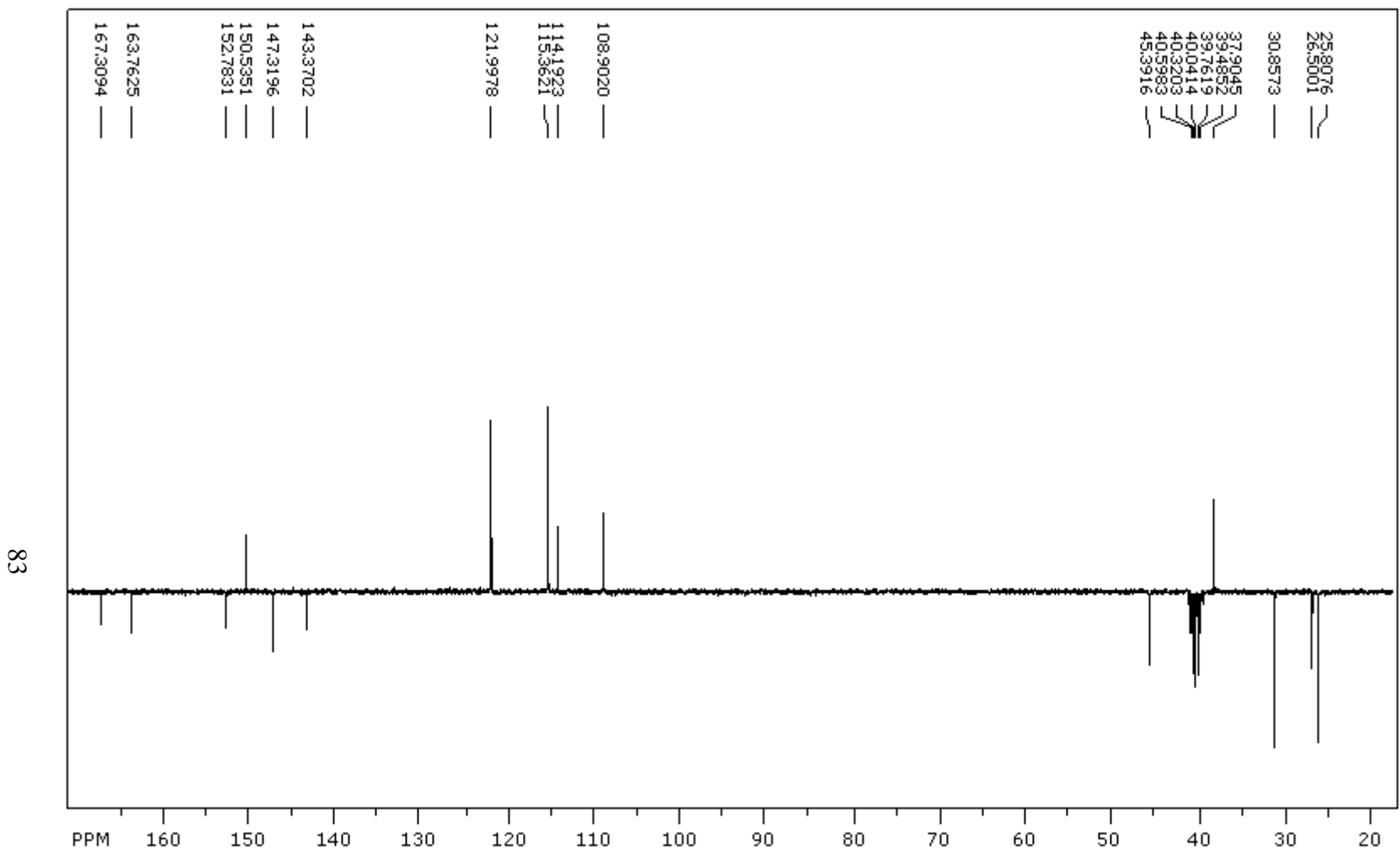
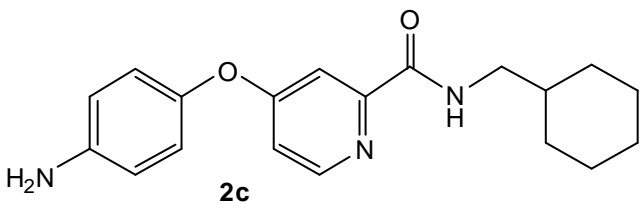


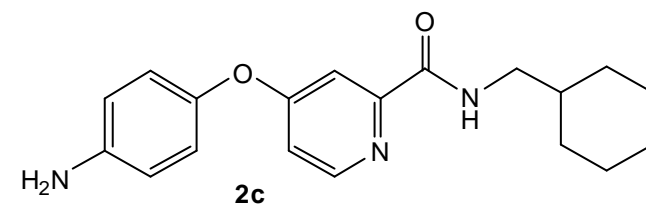




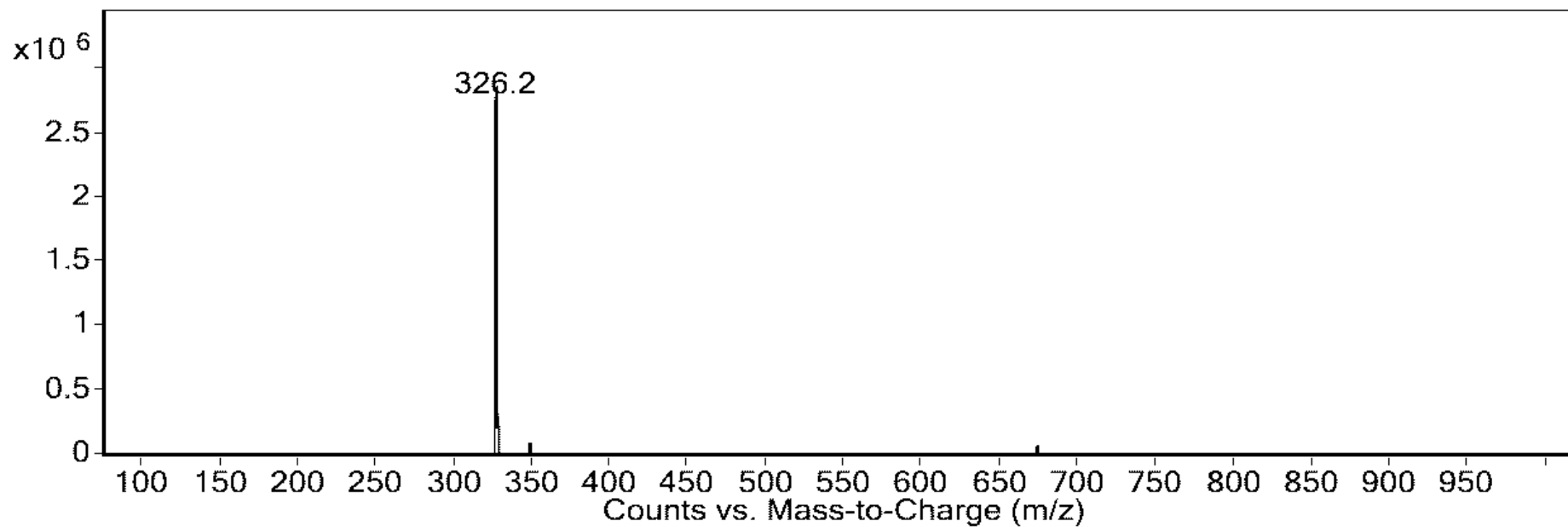


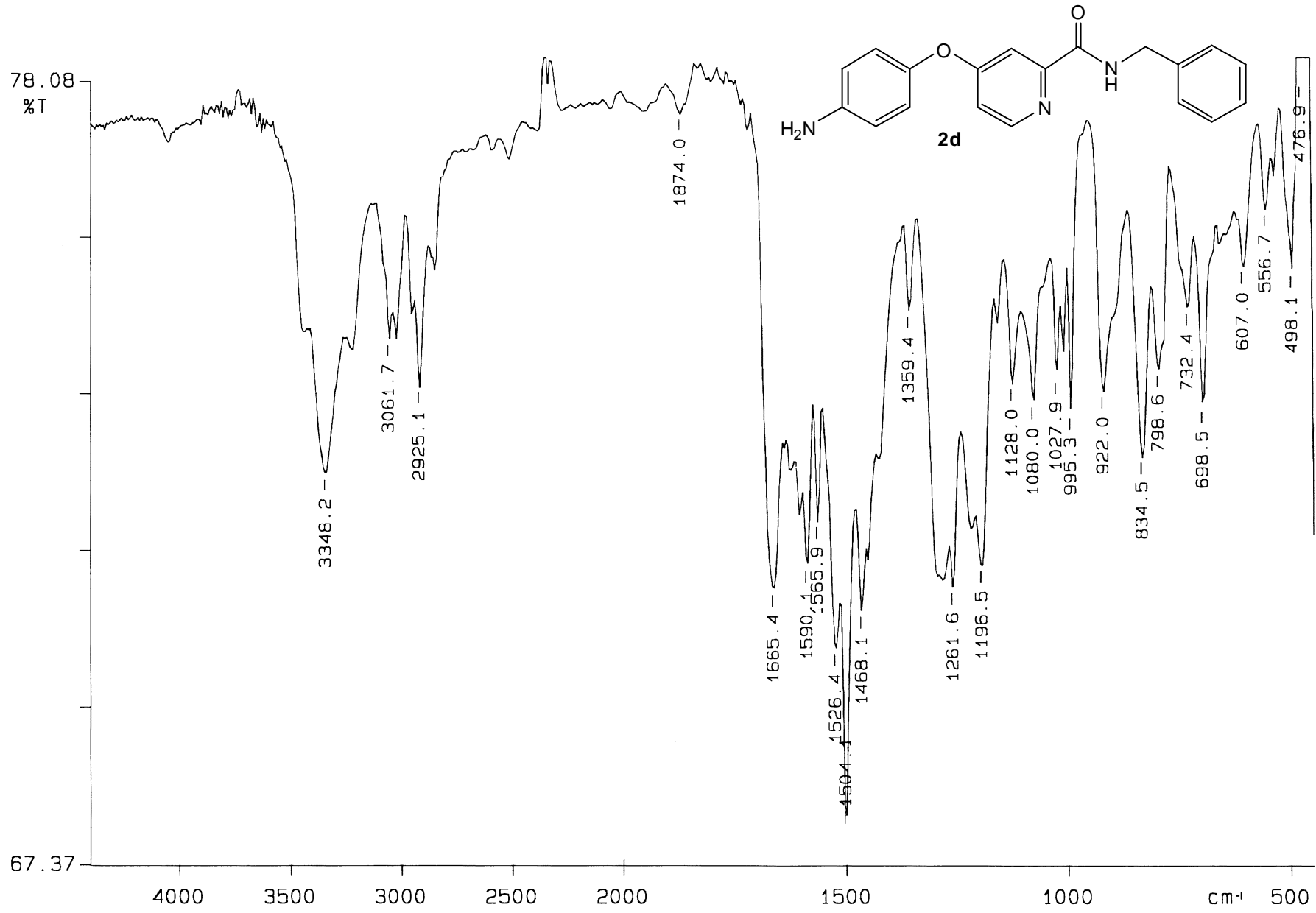


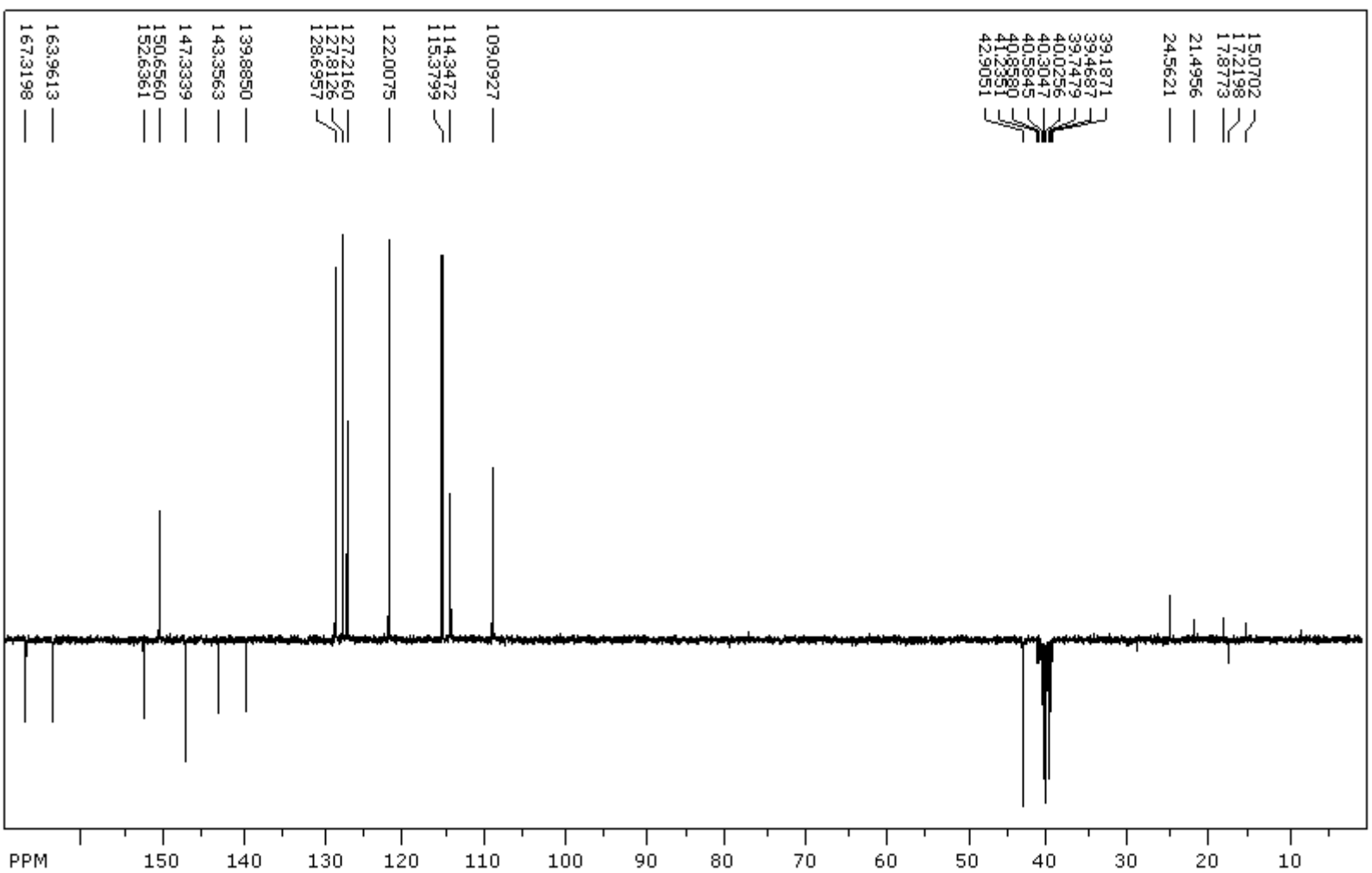
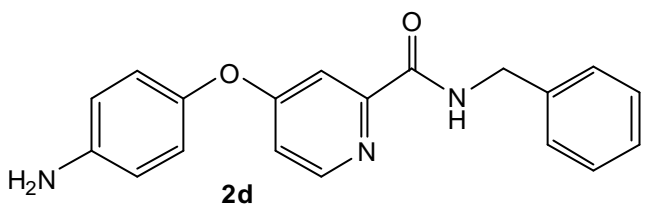


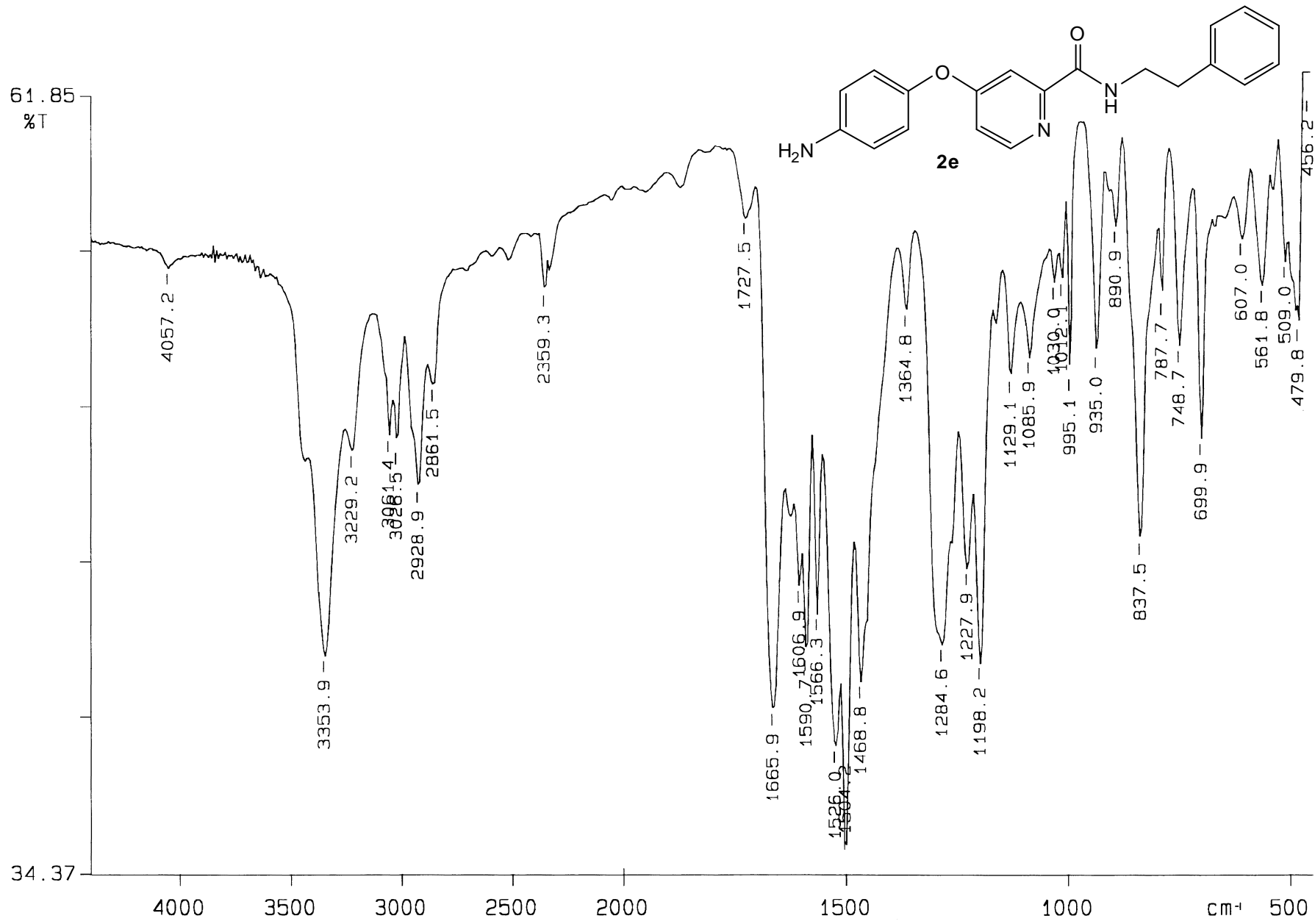


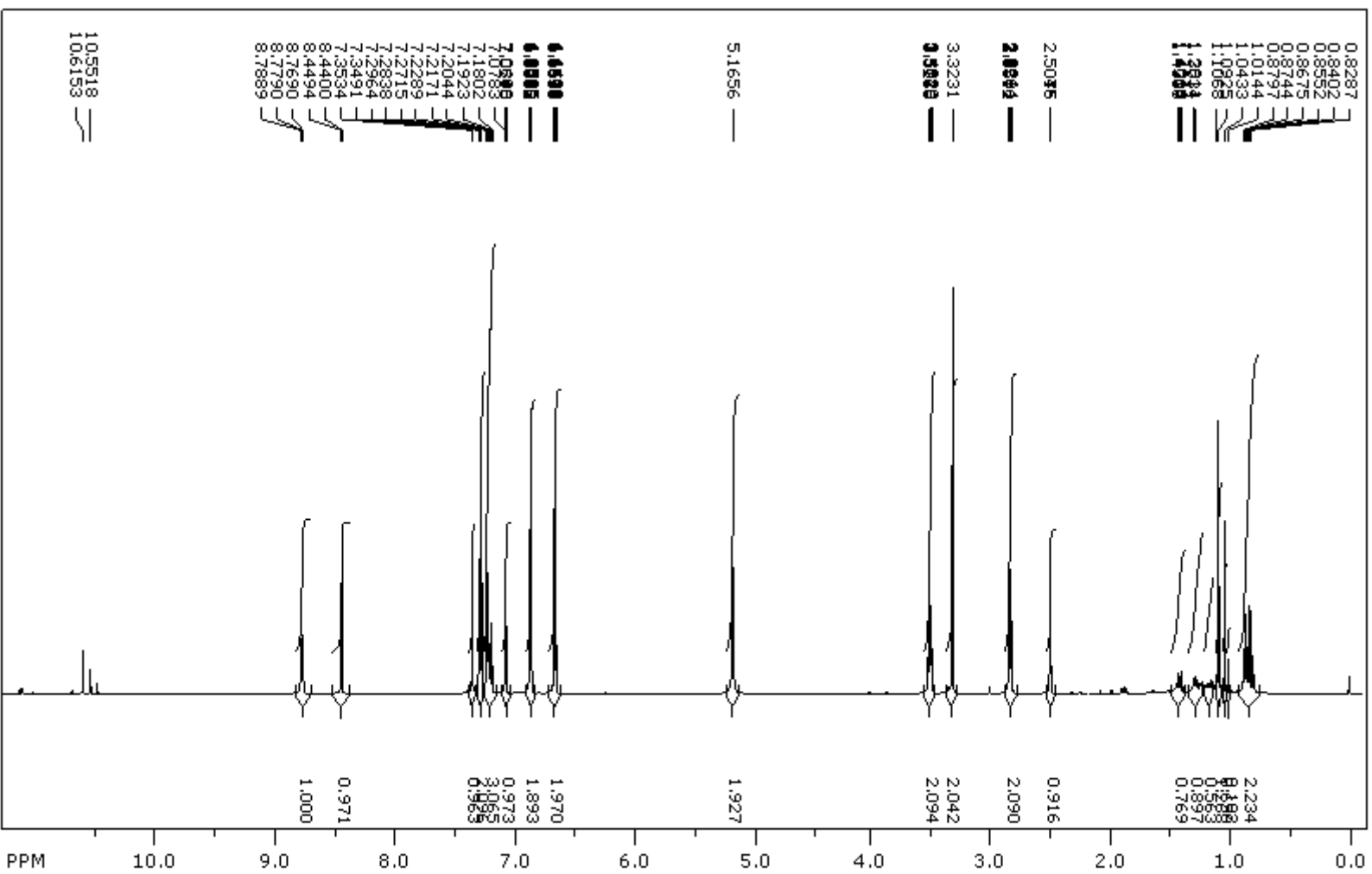
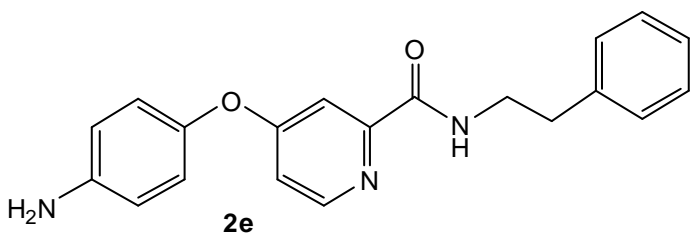
84

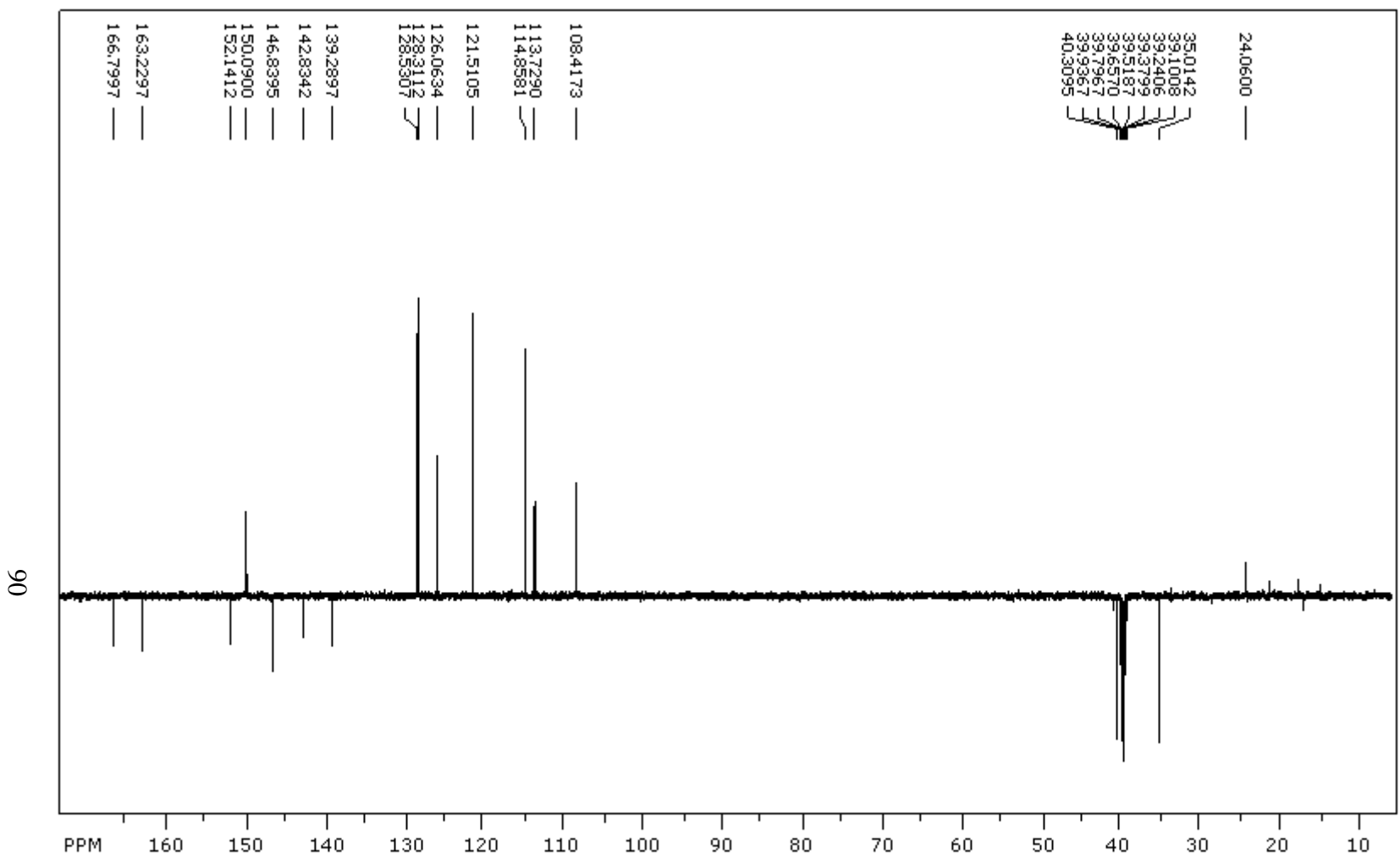
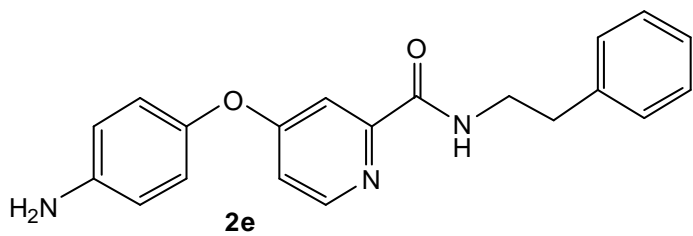


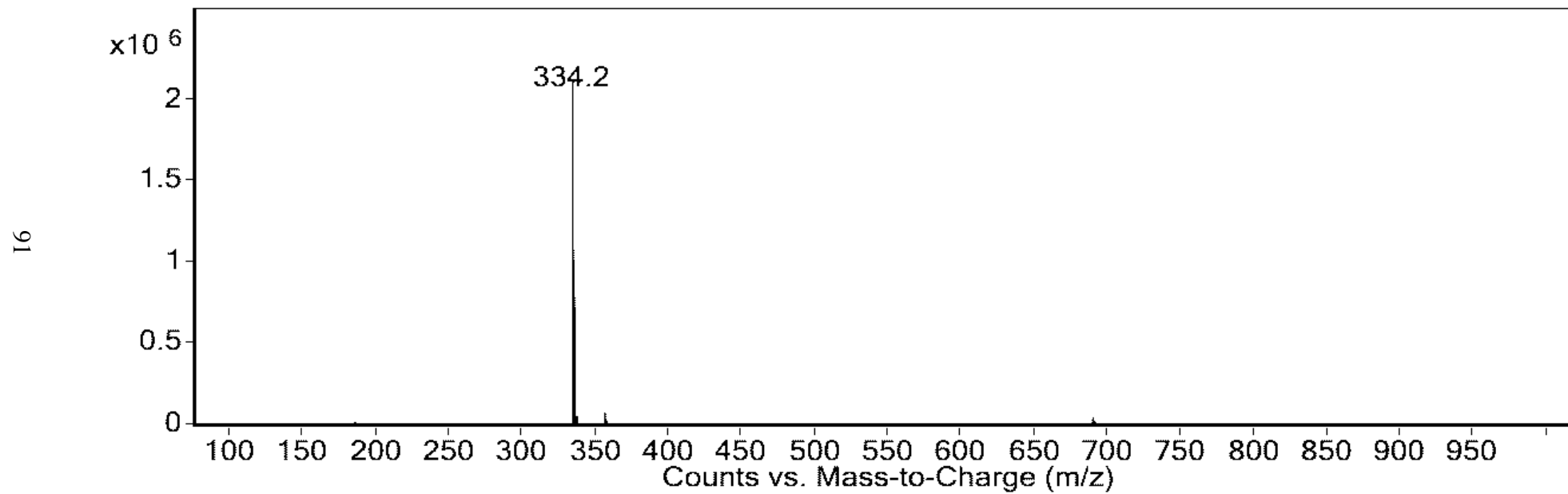
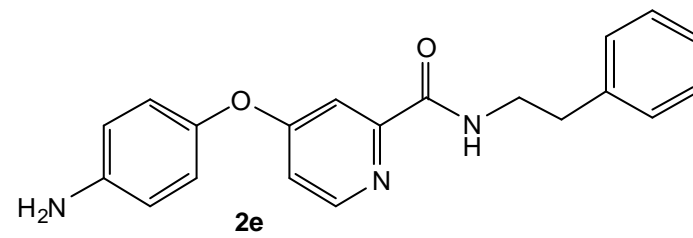


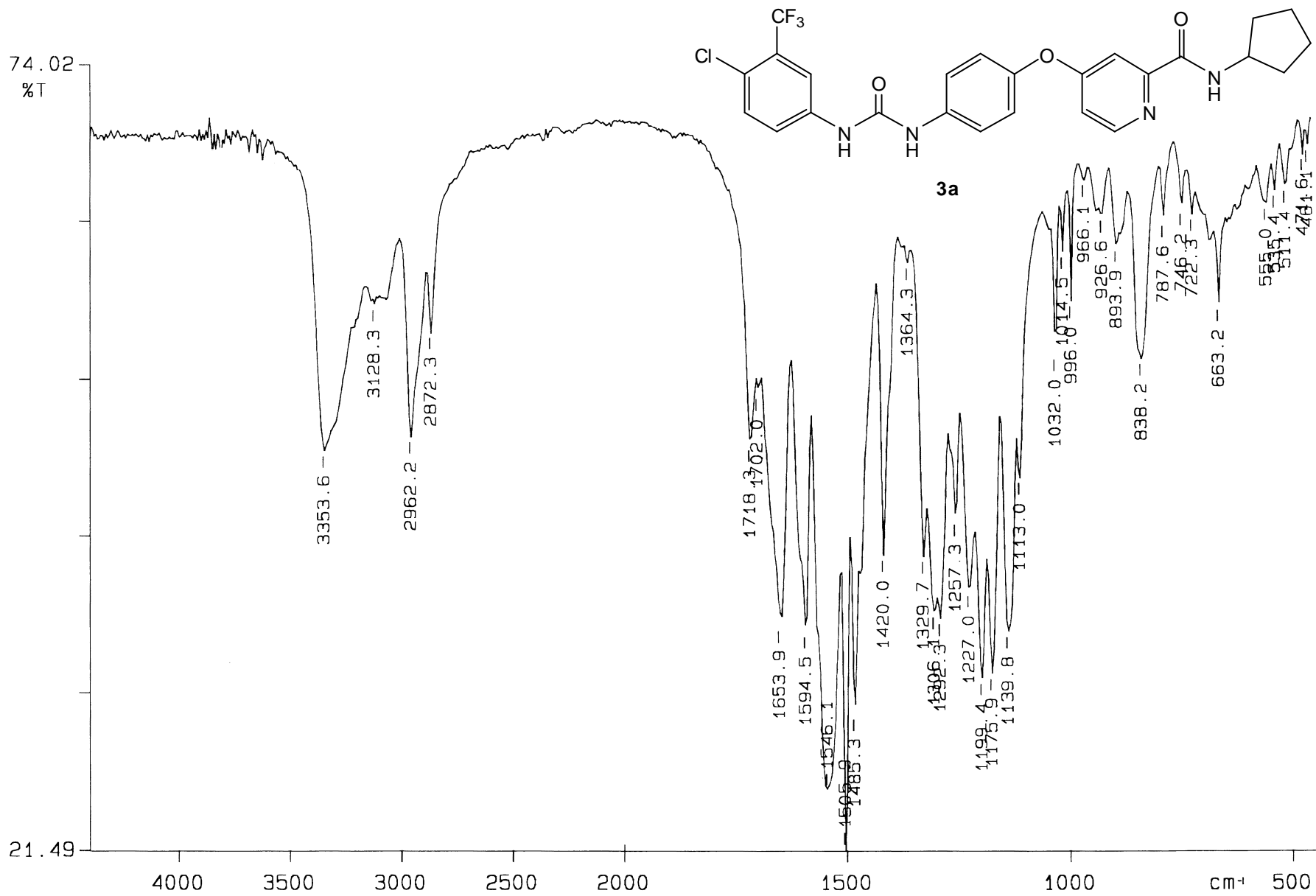


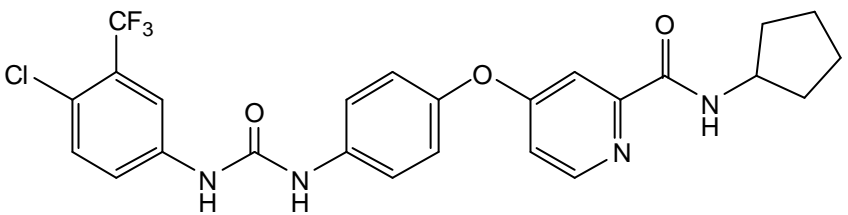




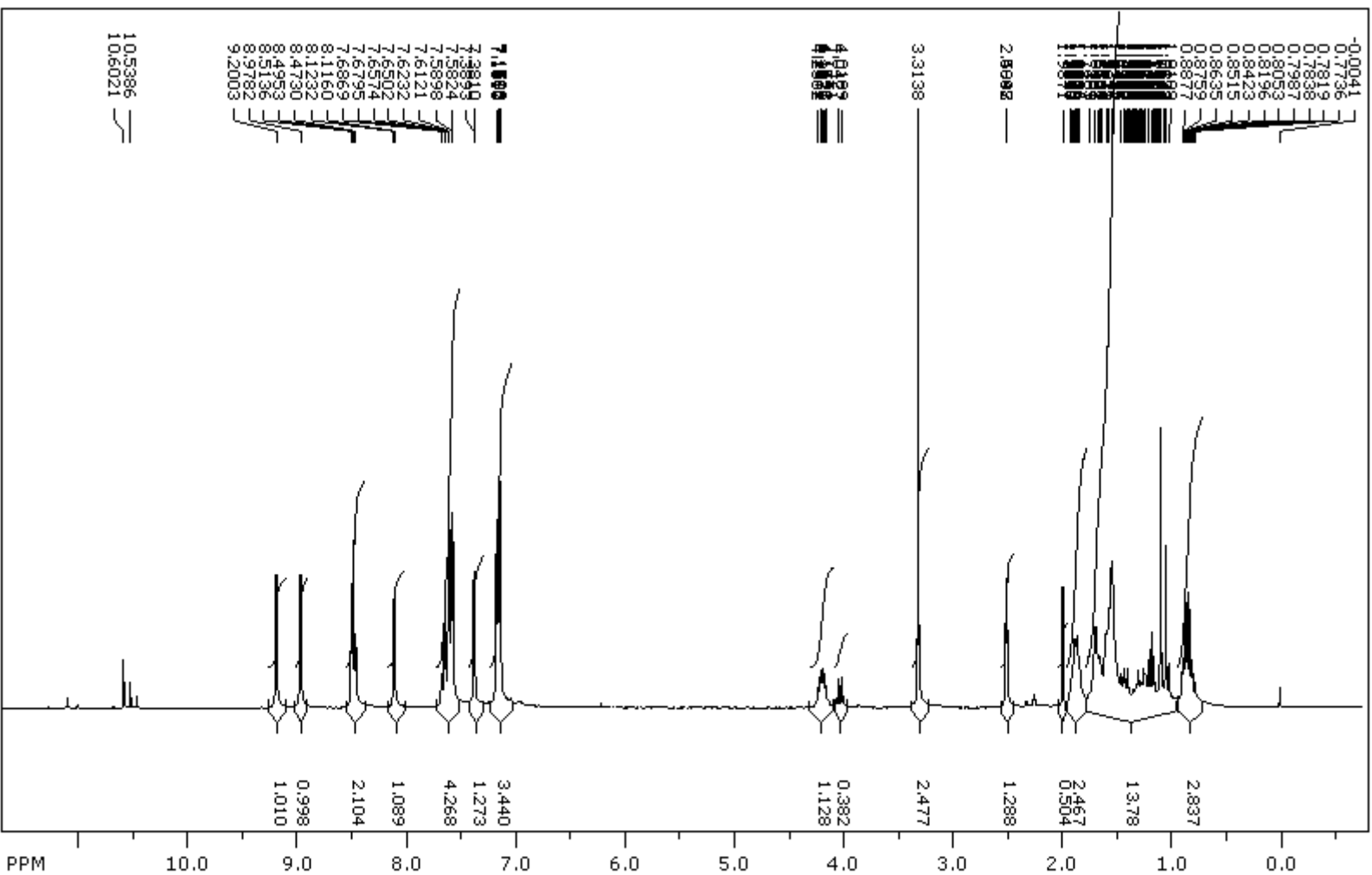


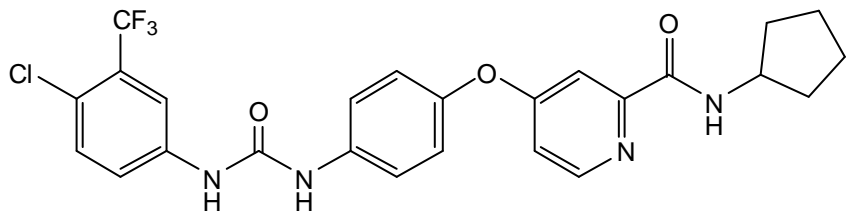




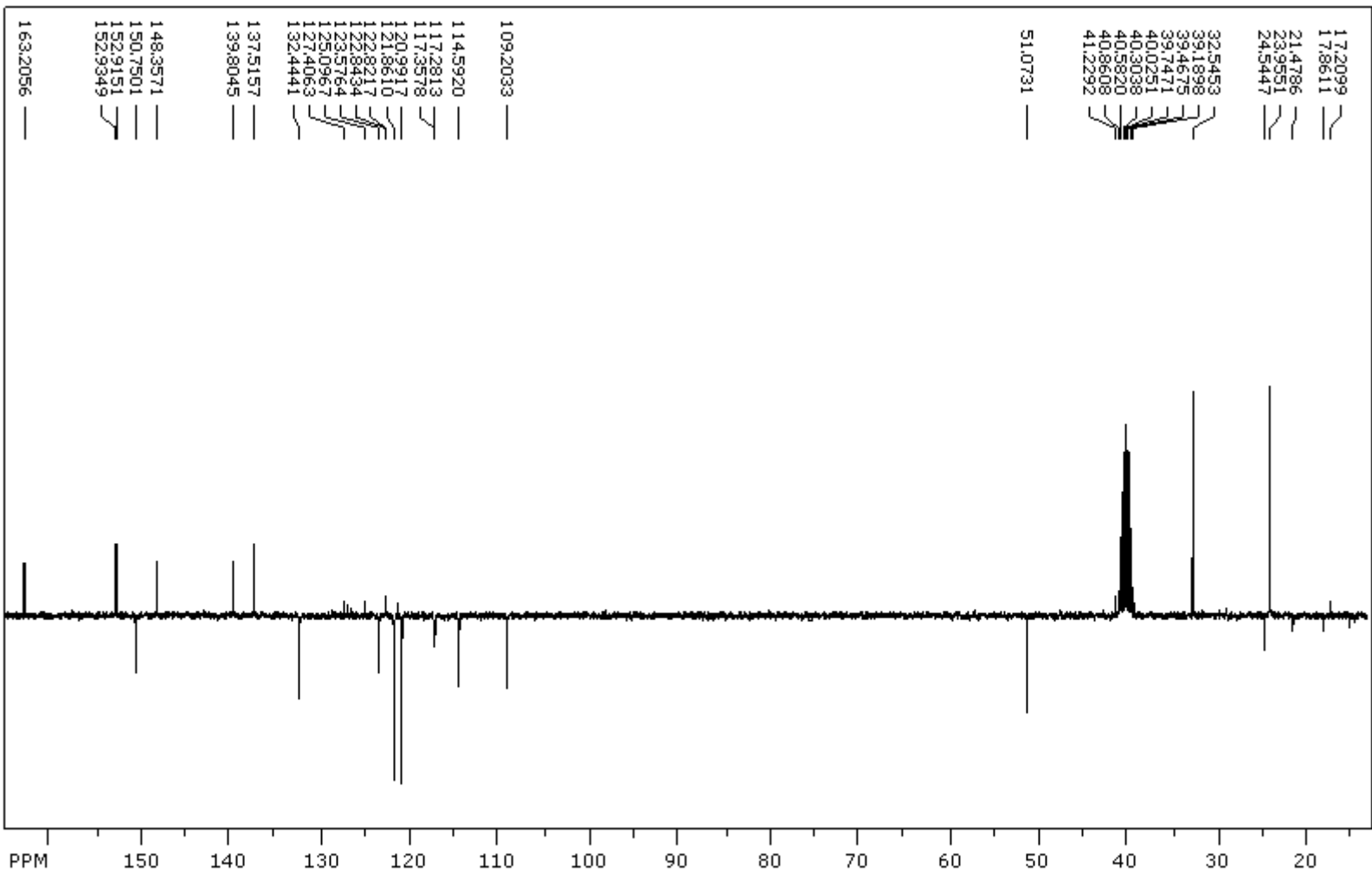


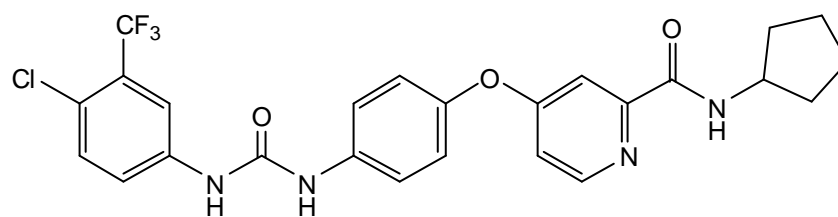
3a





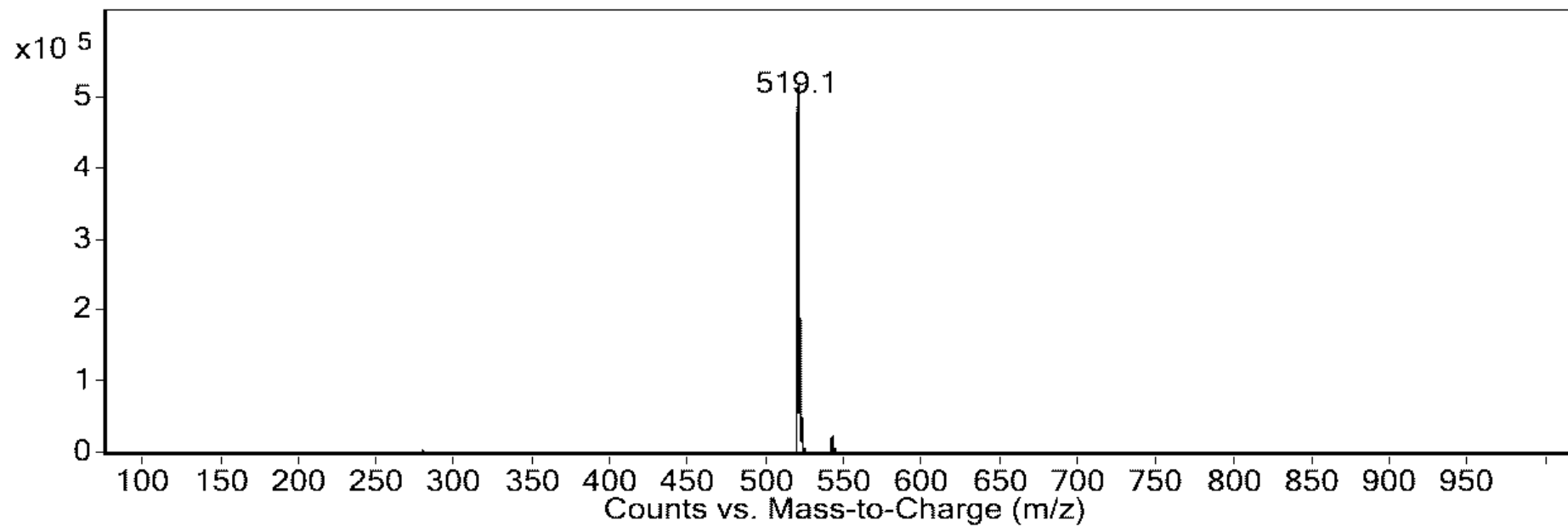
3a

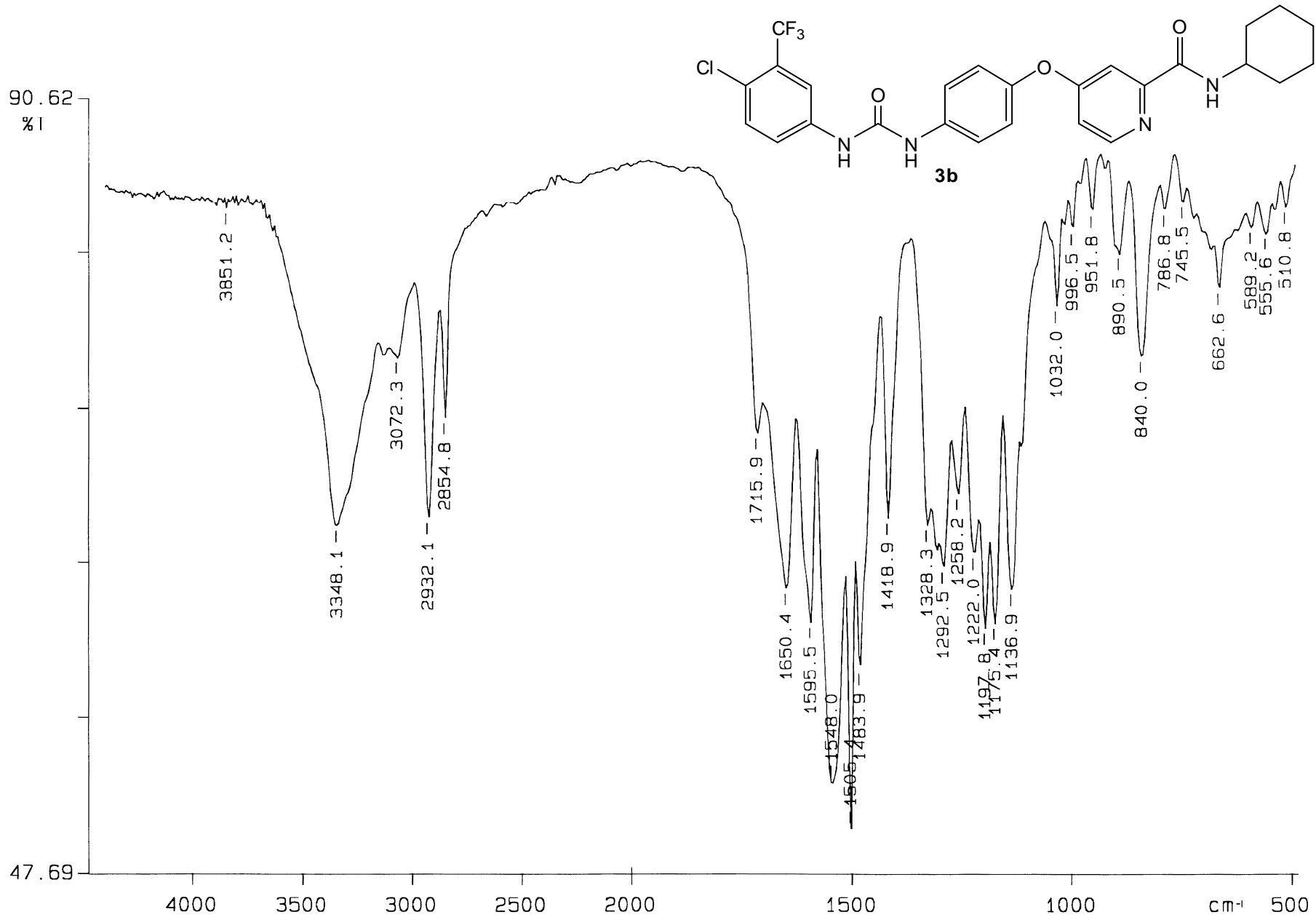


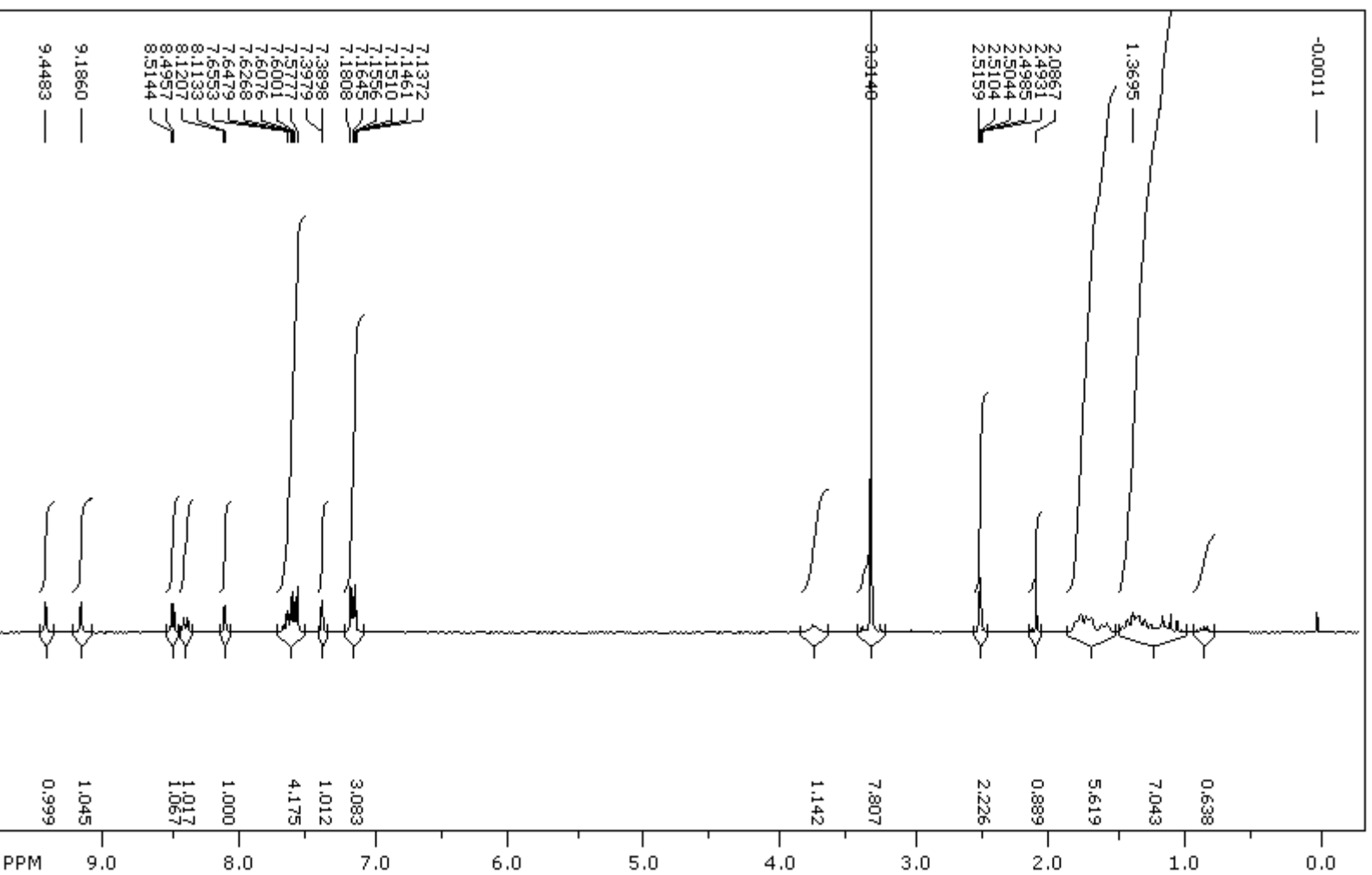
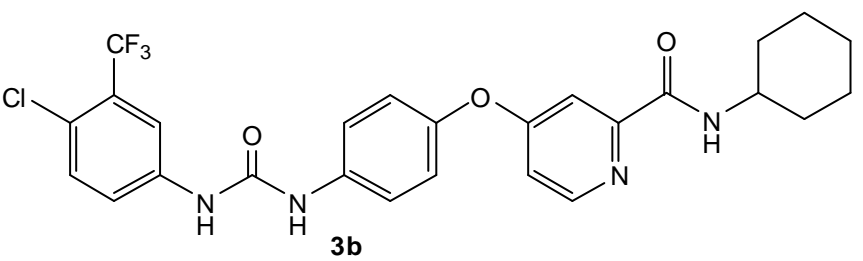


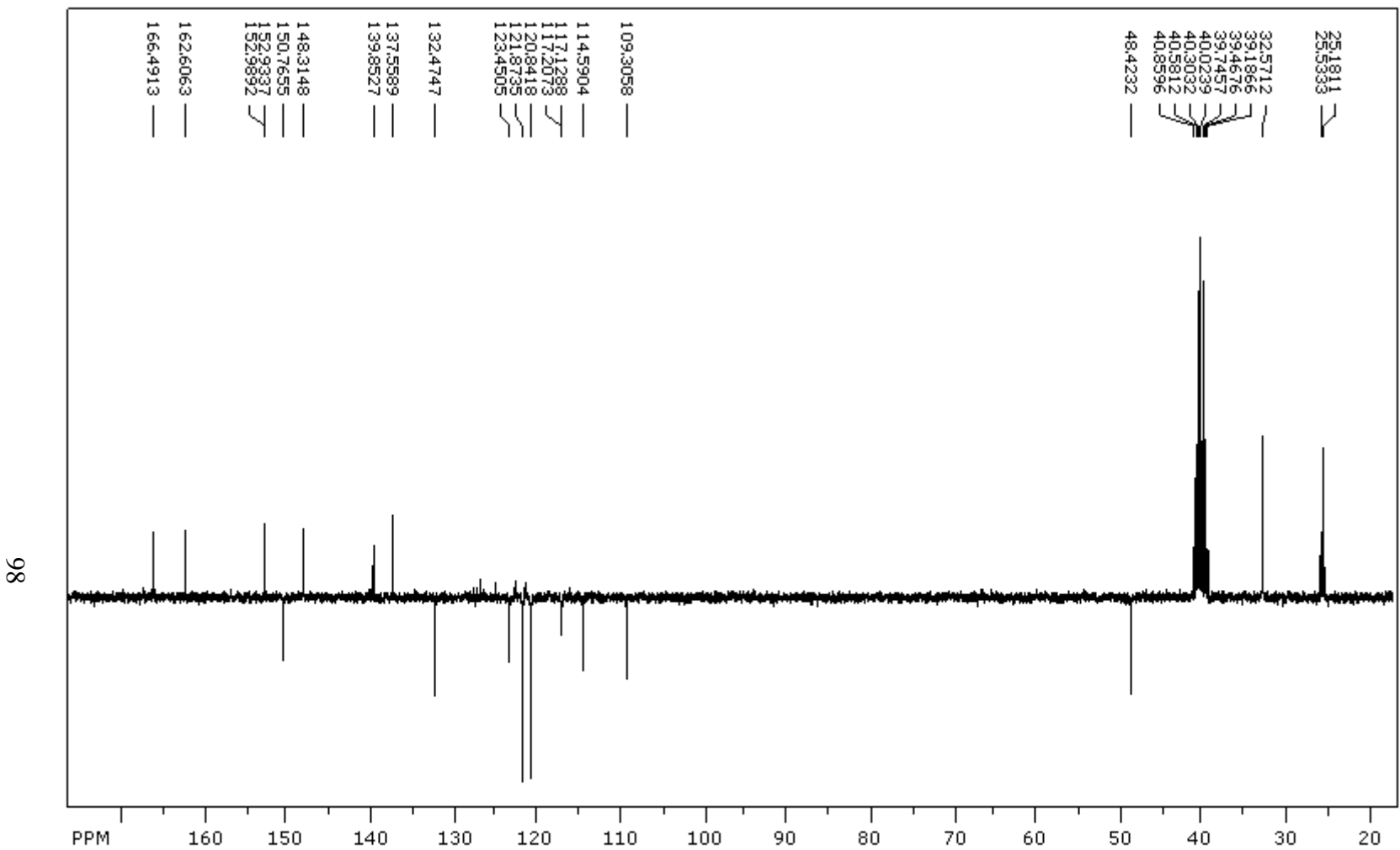
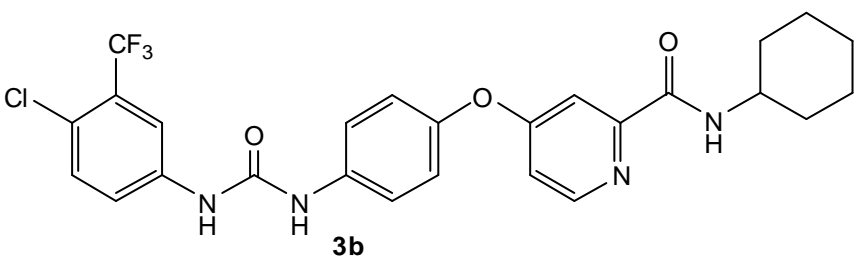
3a

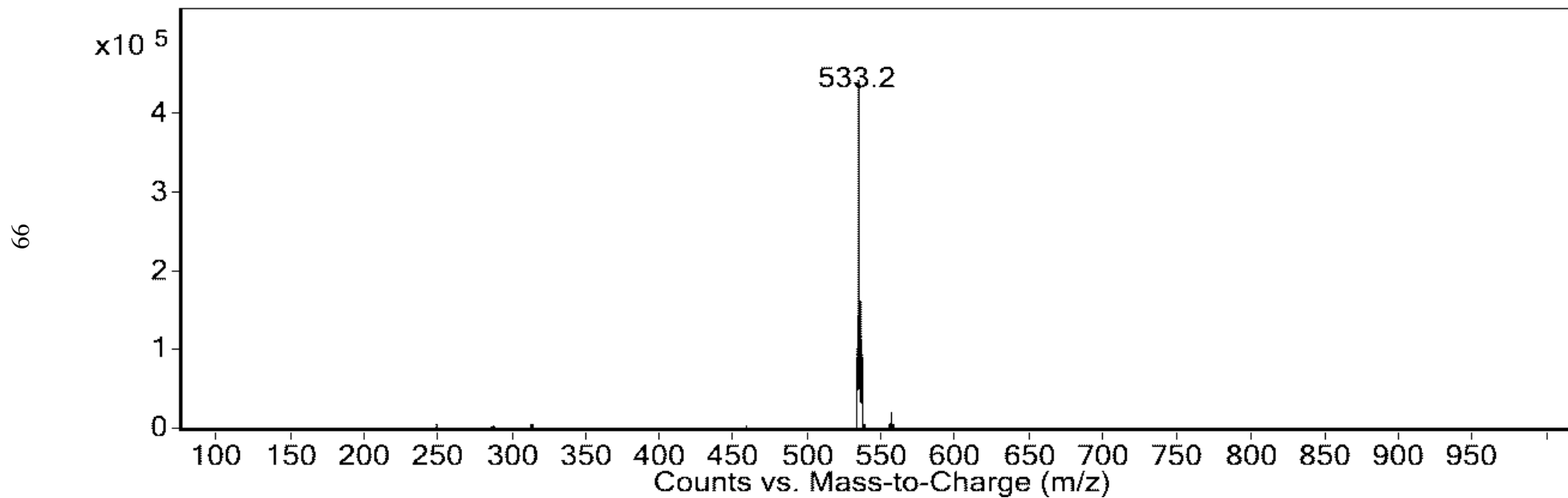
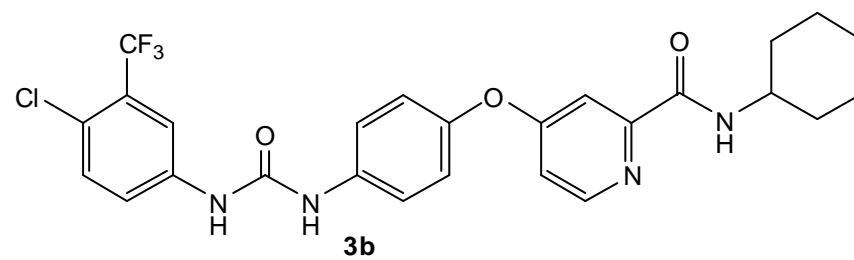
95











001

56.73
%T

14.38

4000 3500 3000 2500 2000 1500 1000 500
cm⁻¹

