

# Priprava monosupstituiranih ferocenskih hidantoina

---

Širić, Ariana

Undergraduate thesis / Završni rad

2013

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:871082>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-10**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Prediplomski studij Biotehnologija**

**Ariana Širić**

6327/BT

**PRIPRAVA MONOSUPSTITUIRANIH  
FEROCENSKIH HIDANTOINA**

ZAVRŠNI RAD

**Modul: Organska kemija**

**Mentor: Dr.sc. Senka Djaković, izv.prof.**

**Zagreb, 2013.**

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

## BASIC DOCUMENTATION CARD

1. UVOD	str 1.
2. TEORIJSKI DIO	
2.1. Uvod	str 2.
2.2. Optička aktivnost i kiralnost	str 2.
2.3. Priprava hidantoina	str 4.
2.3.1. Dobivanje hidantoina iz aminokiselina	str 5.
2.3.2. Dobivanje hidantoina iz aldehida i ketona	str 4.
2.3.3. Dobivanje hidantoina iz tiohidantoina	str 7.
2.3.4. Dobivanje hidantoina iz aminoestera	str 7.
2.4. Biološka aktivnost	str 10.
3. EKSPERIMENTALNI DIO	
3.1. Materijali	str 12.
3.2. Metode	str 12.
3.3. N,N-difenilferocenkarboksamid (1)	str 15.
3.4. Ferocenkarboksilna kiselina (2)	str 15.
3.5. Ferocenkarboksazid (3)	str 15.
3.6. Ferocetil-izocijanat (4)	str 16.

3.7. Ferocenski ureidopeptidi <b>5a-c</b>	str 16.
3.8. Ferocenski hidantoini <b>6a-c</b>	str 17.
4. REZULTATI I RASPRAVA	
4.1. Uvod	str 19.
4.2. Ferocetil-izocijanat <b>4</b>	str 19.
4.3. Ferocenski ureidopeptidi <b>5a-c</b>	str 21.
4.4. Ferocenski hidantoini <b>6a-c</b>	str 22.
5. ZAKLJUČAK	str. 24.
6.LITERATURA	str. 25.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

## DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Preddiplomski studij Biotehnologija  
Zavod za kemiju i biokemiju  
Laboratorij za organsku kemiju

Završni rad

### PRIPRAVA MONOSUPSTITUIRANIH FEROCENSKIH HIDANTOINA

Ariana Širić, 6327/BT

**Sažetak:** Hidantoini se nalaze u brojnim prirodnim produktima i biološki aktivnim spojevima, a posjeduju zanimljiva svojstva poput antifungalnog, antibakterijskog, antitumorskog, antikonvulzivnog i sl. djelovanja. Također predstavljaju intermedijere u sintezi optički čistih prirodnih i neprirodnih aminokiselina. Prilikom izvedbe ovog završnog rada pripremljeni su ferocenski ureidopeptidi (**5a-c**) te ferocenski hidantoini (**6a-c**), čija je struktura dokazana IR,  $^1\text{H}$ - i  $^{13}\text{C}$ -NMR-spektroskopijom.

**Ključne riječi:** ferocen, hidantoin, aminokiselina, sinteza

**Rad sadrži:** 4 slike, 1 tablicu, 16 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (PDF format) obliku pohranjen u:** Knjižnica

Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** Dr.sc. Senka Djaković, izv. prof.

**Pomoć pri izradi:** dr.sc. Jasmina Lapić, doc.

**Rad predan:** 2.09.2013.

**BASIC DOCUMENTATION CARD**

## BASIC DOCUMENTATION CARD

**Final work**

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**Undergraduate study Biotechnology**  
**Department of Chemistry and Biochemistry**  
**Laboratory for Organic Chemistry**

### PREPARATION OF MONOSUBSTITUED FERROCENE HYDANTOINS

**Ariana Širić, 6327/BT**

**Abstract:** Hydantoins are contained in many natural products and bioactive molecules, and they exhibit interesting biological activities, such as antifungal, antibacterial, antitumor, anticonvulsant and others. They are also intermediates during the synthesis of optically pure natural and unnatural amino acids. Ferrocene ureidopeptides (**5a-c**) and ferrocene hydantoins (**6a-c**) were synthesized during this experimental design. The structure of these compounds was confirmed with IR, <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR-spectroscopy.

**Keywords:** ferrocene, hydantoins, amino acid, synthesis

**Thesis contains:** 4 figures, 1 table, 16 references

**Original in:** Croatian

**Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited in:** Librari of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** PhD Senka Djaković, Associate Professor

**Technical support and assistance:** PhD Jasmina Lapić, Assistant Professor

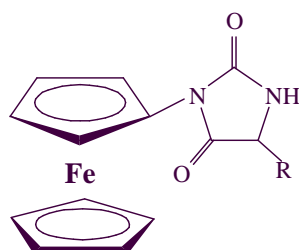
**Thesis delivered:** September 2<sup>nd</sup> 2013.



## **1. UVOD**

Ovaj se završni rad uklapa u istraživanje na području metalocenâ koja su u okviru znanstveno-istraživačkog projekta br. 058-1191344-3122 *Metalocenski biokonjugati, heterocikli i makromolekule*, financiranog od strane Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa RH, već niz godina izvode u Laboratoriju za organsku kemiju Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta u Zagrebu.

Cilj ovog završnog rada jest priprava ferocenskih hidantoina (**6a-c**), a u nastavku istraživanja pripremit će se i disupstituirani ferocenski hidantoini te će im se odrediti biološka aktivnost zbog vrlo zanimljivih farmakoloških svojstava ove skupine spojeva.



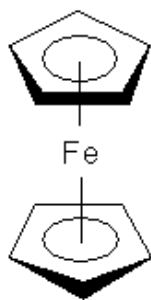
- 6a**, R=H  
**6b**, R=CH<sub>3</sub>  
**6c**, R=CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

U prvom dijelu rada pažnja je posvećena pripravi željenih spojeva, a drugi dio obuhvaća identifikaciju pripremljenih spojeva pomoću IR, <sup>1</sup>H- i <sup>13</sup>C-NMR spektroskopije.

## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. Uvod

Otkriće ferocena (slika 1), najvažnijeg predstavnika metallocena, dogodilo se 1951. godine zahvaljujući Pausonu i Kellyu te je upravo ono bilo zaslužno za eksplozivan razvoj organometalne kemije. Ferocen je spoj, koji nastaje interakcijom željeza i ugljika u nezasićenim cikličkim ugljikovodicima. U toj vezi sudjeluje ukupno 18 elektrona, što je svojstveno strukturi plemenitoga plina te ukazuje na stabilnost ferocena. U usporedbi s benzenom utvrđena je veća reaktivnost, pri čemu su limitirajući faktori sklonost protoniranju i reakcijama s Lewisovim kiselinama te (reverzibilnoj) oksidaciji željeza u fericenijev ion [1]. Mnogi fizikalno-kemijski postupci u istraživanju strukture ferocena su pokazali njegovu plošnu strukturu, tzv. strukturu „sendviča“, zahvaljujući kojoj se molekula odlikuje posebnom stereokemijom odnosno kiroptičkim svojstvima. Ferocen ima važnu ulogu u procesima molekularnog prepoznavanja [2]. Ferocenski derivati se primjenjuju u biokemiji, mikrobiologiji i medicini, a nalaze primjenu i u znanosti o materijalima (kompleksi s prijenosom naboja, termotropni tekući kristali, ferocenski polimeri i dendrimeri, elektrooptički materijali, ferocenski senzori itd.). Također koriste se i kao neeksplozivni agensi u gorivu za benzinske motore. Neke ferocenske soli pokazuju antikancerogeno djelovanje, a prijavljen je i probni lijek, koji je ferocenijska verzija tamoxifena. Zamišljeno je da se tamoxifen veže na vezna mjesta estrogena, ispoljavajući citotoksično djelovanje [3].

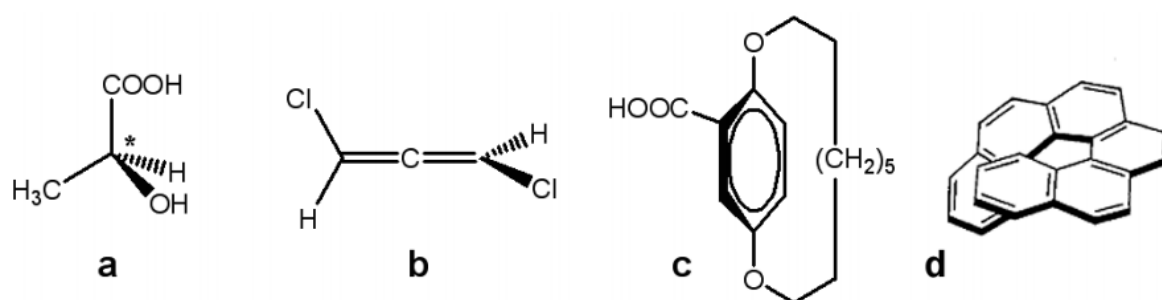


Slika 1. Ferocen

## 2.2. Optička aktivnost i kiralnost

*Stereokemija* je znanstvena disciplina koja se bavi proučavanjem trodimenzionalne strukture molekula, odnosno proučava prostorni raspored atoma u molekulama i stereoizomeriju spojeva. Prostorni odnosi između atoma unutar molekule mogu znatno utjecati na fizička i kemijska svojstva spojeva [4]. *Stereoizomeri* imaju istu molekulsku formulu i isti redoslijed

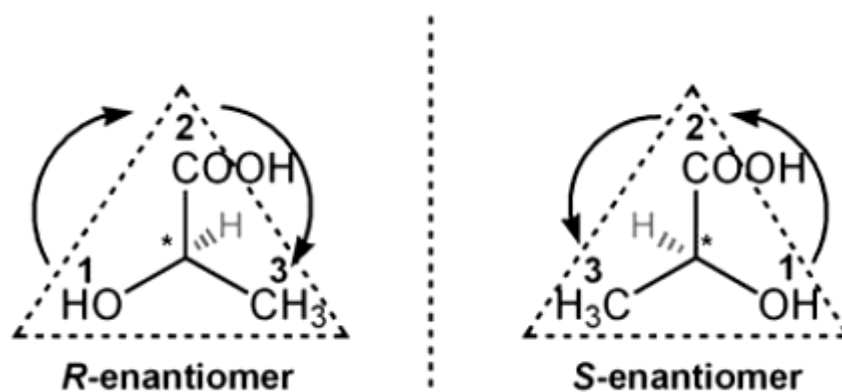
kovalentno vezanih atoma ili skupina, a različito prostorno usmjerenje tih atoma ili skupina. Stereoizomeri se dijele na *konformacijske* i *konfiguracijske*, a konfiguracijski opet na *geometrijske* i *optičke izomere*. Razlika u prostornom rasporedu atoma unutar molekule može uzrokovati razliku u biološkim svojstvima optičkih stereoizomera, odnosno enantiomera i diastereomera. *Konformacijski izomeri* se razlikuju prema prostornom rasporedu atoma, a na sobnoj temperaturi lako prelaze jedan u drugi, rotacijom oko jednostruke C–C veze. *Cis-* i *trans-*izomeri imaju isti slijed sastavnih atoma, ali se razlikuju po tome što je položaj pojedinačnih atoma zbog određenih razloga sputan. U širem smislu se takvi izomeri mogu svrstati u konfiguracijske izomere, a javljaju se kod cikličkih spojeva te spojeva sa dvostrukom vezom. *Cis-* i *trans-* izomeri se odlikuju različitim fizičkim i kemijskim svojstvima i zato se obično mogu lako razdvojiti [5]. Kod *trans-*izomera pojedine skupine atoma su smještene sa suprotnih strana prstena ili dvostruke veze, dok su kod *cis-*izomera smještene sa iste strane prstena ili dvostruke veze. *Enantiomerima* nazivamo molekule koje se odnose kao predmet i zrcalna slika, odnosno ne mogu se uzajamno preklopiti. Enantiomeri se odnose kao lijeva i desna ruka i kiralne su molekule. *Kiralnost* je posljedica asimetrije molekula, a središte asimetrije predstavlja *kiralni centar*. Enantiomeri zakreću ravninu polariziranog svjetla, a to svojstvo prvi je uočio J. B. Biot 1815. god. Iako je kiralnost neophodna za optičku aktivnost molekule, kiralni spoj ne mora pokazivati optičku aktivnost. Takvi spojevi su smjesa jednakih količina enantiomera, nazvana *racemična smjesa* te se označava sa ( $\pm$ ). Razlikuju se četiri oblika kiralnosti: *središnja*, *osna*, *planarna* i *helikoidalna kiralnost* (slika 2a, b, c i d).



Slika 2. Četiri oblika kiralnosti: središnja (a), osna (b), planarna (c) i helikoidalna (d) (2).

Kod molekula je najčešća središnja kiralnost. Kiralna molekula (slika 2a.) ima *asimetrično središte*, tj. *centar asimetrije* kada su na nekom atomu (ugljik, dušik, fosfor, sumpor i drugi) vezana četiri različita supstituenta usmjerena u vrhove tetraedra [6]. Molekule koje imaju dva, tri ili  $n$  kiralnih centara imaju  $2^n$  stereoizomera. Postoje dva sustava nomenklature kiralnih spojeva: *relativna* i *apsolutna konfiguracija*. *Relativna konfiguracija* označava kiralne

strukture sa D- (desnozакрећући, dextrorotatory) i L- (lijevozakrećući, levorotatory), odnosno (+) i (-) s obzirom na stranu zakretanja ravnine polariziranog svjetla kada ono prolazi kroz otopinu enantiomerno čistog spoja. Drugi sustav nomenklature, Cahn-Ingold-Prelogova (CIP) nomenklatura, označava apsolutnu konfiguraciju oznakama konfiguracije *R* (lat. *rectus*-desno) ili *S* (lat. *sinister*- lijevo) s obzirom na raspored prioritetnih skupina oko kiralnog, asimetričnog središta (slika 3.).



Slika 3. Primjer određivanja apsolutne konfiguracije enantiomera (mliječna kiselina)

Ova nomenklatura rangira supstituente na kiralnom centru s obzirom na atomski broj atoma direktno vezanog na kiralni centar. Atomi većeg atomskog broja imaju viši prioritet, no ako dva supstituenta na kiralnom središtu imaju isti prioritet, sljedeći atomi vezani na prvi atom također se rangiraju dok se ne uoči razlika. Višestruke veze se promatraju kao odgovarajući broj jednostrukih veza s atomom istog atomskog broja.

*Dijastereoizomeri (dijastereomeri)* su stereoizomeri spojeva s dva ili više kiralnih centara koji se ne odnose kao predmet i njegova zrcalna slika. Za razliku od enantiomera, dijastereoizomeri obično nemaju slična fizikalna i kemijska svojstva [7].

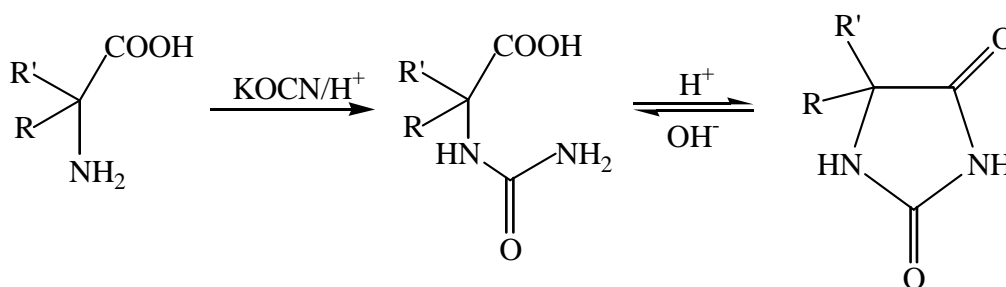
*Meso-oblici* su akiralni (iako sam spoj sadrži kiralne centre) i time optički inaktivni, zbog toga što posjeduju ravninu simetrije koja dijeli spoj na dva dijela koja se mogu preklopiti, odnosno jedan kiralni centar zakreće ravninu polariziranog svjetla u jednu stranu, a drugi u suprotnu stranu za isti iznos pa je ukupno zakretanje jednako nuli.

### 2.3. Priprava hidantoina

Hidantoini su važni prekursori u organskoj sintezi prirodnih i neprirodnih aminokiselina, koje se dobivaju kiselinско-baznom ili enzimskom hidrolizom [8]. U literaturi su opisani različiti postupci dobivanja hidantonina i njihovih derivata te će u ovom dijelu biti kratak osvrt na te metode priprave.

### 2.3.1. Dobivanje hidantoina iz aminokiselina

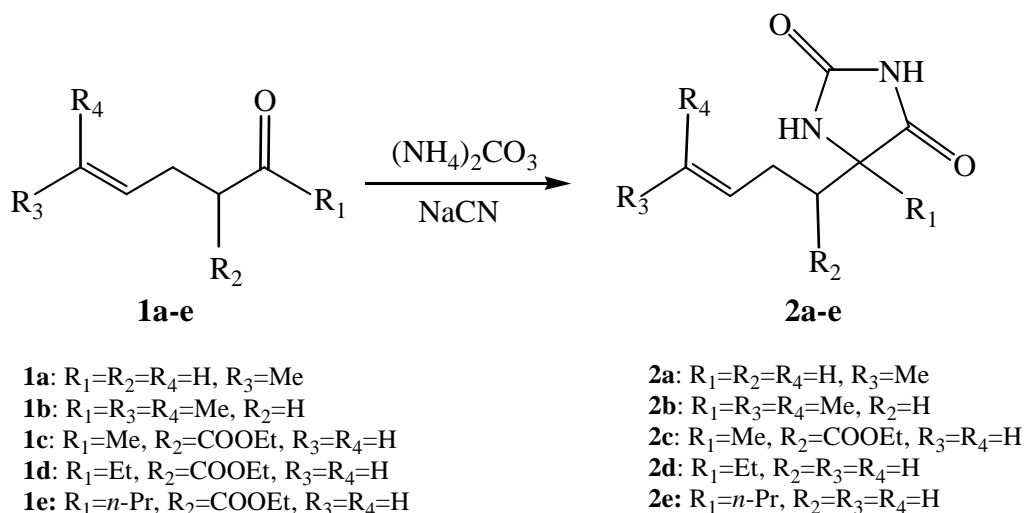
Priprava hidantoina adicijom cijanata, izocijanata i derivata uree na  $\alpha$ -aminokiseline poznat je pod nazivom Readova sinteza (shema 1.), a suprotan je hidrolizi hidantoina. Hidantoini nastaju ciklizacijom odgovarajuće hidantoiniske kiseline u kiseljoj sredini, a ona nastaje reakcijom  $\alpha$ -aminokiselina sa alkalnim cijanatima. Modificirani postupak u kojemu su aminokiseline zamijenjene  $\alpha$ -aminonitrilima, poznat je kao Streckerova sinteza hidantoina, jer upućuje na reakciju koja se primjenjuje za dobivanje  $\alpha$ -aminonitrila iz aldehida i ketona. Korištenjem izocijanata umjesto alkalnih cijanata dobivaju se 3-supstituirani hidantoini polazeći bilo od aminokiselina ili aminonitrila [9]. Prevođenje  $\alpha$ -cijanokiselina u odgovarajuće hidantoina slična je ovim reakcijama, a odvija se uz Curtiusovu pregradnju. Kondenzacijom različitih derivata  $\alpha$ -aminokiselina (kloridi, amidi, esteri) sa ureom također se mogu pripremiti odgovarajući hidantoini.



Shema 1. Readova sinteza hidantoina iz  $\alpha$ -aminokiselina

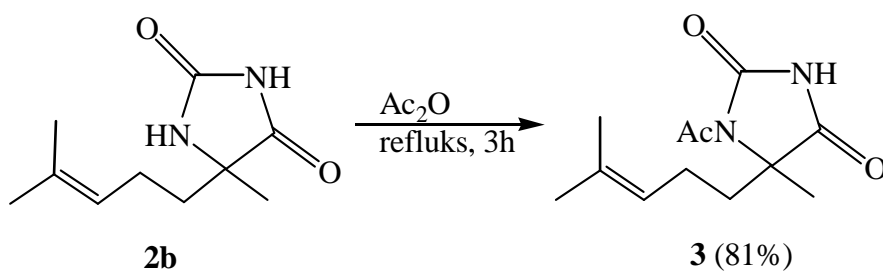
### 2.3.2. Dobivanje hidantoina iz aldehida i ketona

Najčešći način priprave hidantoina iz aldehida i ketona je Bucherer-Bergsova reakcija, u kojoj se hidantoini dobivaju djelovanjem natrij-cijanida i amonijeva-karbonata na aldehide i ketone. Kao polazni spojevi mogu se koristiti i oksimi, semikarbazoni i tiosemikarbazoni. Bucherer-Bergsovom i Readovom sintezom hidantoina iz cikloalkanona dobivaju se epimerni produkti, koji su značajni za pripravu stereoselektivnih aminokiselina. S obzirom da 5-supstituirani hidantoini pokazuju biološku aktivnost, opisana je njihova sinteza pomoću Bucherer-Bergsove reakcije. Priprava 5-(alk-3-enil)-hidantoina iz nezasićenih aldehida, ketona i  $\alpha$ -alil- $\beta$ -ketoestera provedena je višestupanjskom sintezom u visokom prinosu [8].



Shema 2. Bucherer-Bergs-ova sinteza 5-alkenil hidantoina

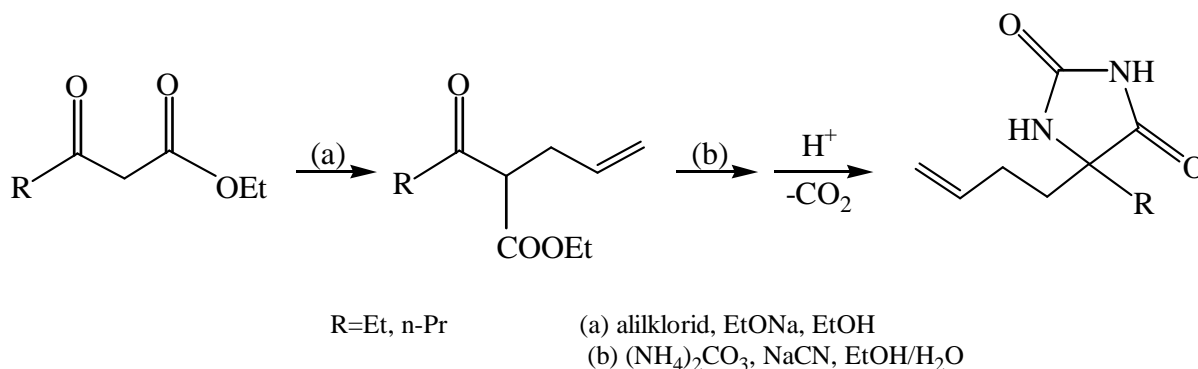
Na ovaj način pripravljen je hidantoin **2a** iz *trans*-4-heksenala uz zadržavanje konfiguracije dvostruke veze (shema 2). Nezasićeni keton **1b** preveden je u hidantoin **2b** koji se dalje prevodi u odgovarajući *N*-1-acetilni derivat **3** refluksiranjem sa acetanhidridom (shema 3).



Shema 3. *N*-1-Acetiliranje 5-alkenilhidantoina **2b**

Sinteza 5-alkenilhidantoina iz β-ketoestera provedena je u dva stupnja. Prvi stupanj je α-alkilacija β-ketoestera alil-kloridom u bezvodnom etanolu u prisutnosti natrijeva etoksida kao baze, a u sljedećem stupnju α-alil-β-ketoesteri se supstituiraju Bucherer-Bergs-ovom reakcijom te nastaje 2-etil(4-alkil-2,5-diokso-imidazolin-4-il)-pent-4-enoata **2c**. Međutim, samo je u slučaju 2-alil-etilacetoacetata dobiven ovaj produkt, dok u slučaju kada su supstrati **1d** i **1e** nastaju potpuno dekarboksilirani produkti (shema 4.). Do dekarboksilacije dolazi tijekom obrade nakon adicije HCl.



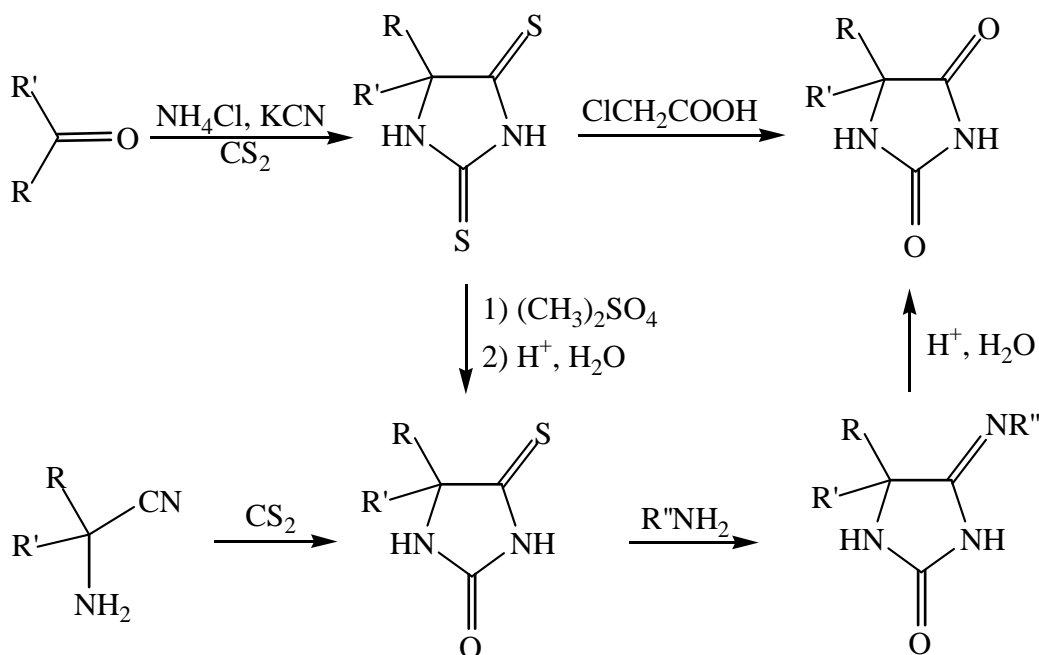


Shema 4. Sinteza 5-alkenilhidantoina iz  $\beta$ -ketoestera

Dobiveni dekarboksilirani produkti su potencijalno biološki aktivni spojevi te se također mogu upotrijebiti u sintezi bicikličkih hidantoina i neprirodnih aminokiselina.

### 2.3.3. Dobivanje hidantoina iz tiohidantoina

Reakcijom aldehida ili ketona s ugljikovim disulfidom, amonijevim kloridom ili natrijevim cijanidom nastaju 2,4-ditiohidantoini. 4-tiohidantoini se dobivaju u reakciji amonijeva klorida i kalijeva cijanida s ugljikovim disulfidom te se zatim prevode do odgovarajućih hidantoina (shema 5).

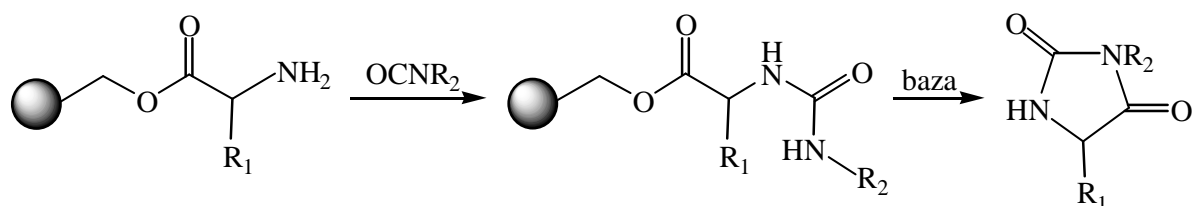


Shema 5. Sinteza hidantoina iz odgovarajućih tiohidantoina

### 2.3.4. Dobivanje hidantoina iz aminoestera

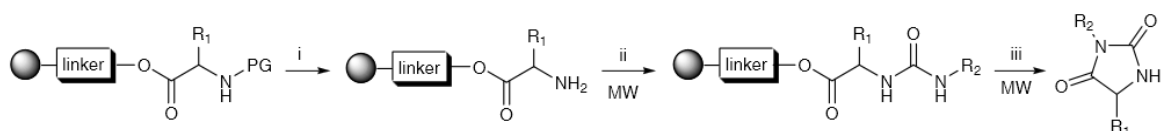
Upotreba tehnologije mikrovalnog zračenja u organskoj sintezi postala je značajna u procesu istraživanja lijekova. Mikrovalno zračenje direktno zagrijava reaktante koristeći sposobnost

nekim tekućina i krutina, da pretvaraju elektromagnetsko zračenje u toplinu. Kratko vrijeme reakcije te veći izbor reakcija postignuti mikrovalnim zračenjem te povezani s reakcijama na čvrstoj fazi, omogućuju djelotvornu pripravu hidantoina. Nakon što je uspješno provedena prva sinteza hidantoina na čvrstoj fazi, razvijene su različite metode sinteze na smoli ili polietilen glikolu. Posebno zanimanje bilo je za reakcije ciklizacije i skidanja nastalog spoja s čvrstog nosača u jednom koraku. Glavna prednost ove metode temelji se na činjenici da produkti koji nisu sposobni za ciklizaciju ostaju vezani na čvrstoj fazi pri čemu nastaju spojevi visokog stupnja čistoće.



Shema 6. Reakcija smole sa izocijanatom

Kao jedna od značajnijih metoda za sintezu hidantoina na čvrstom nosaču može biti uporaba komercijalno dostupnih smola sa *N*-zaštićenim aminokiselinama. Pogodna *N*-deprotekcija aminokiseline praćena reakcijom smole s izocijanatom daje odgovarajuću ureu. Obrada ovog intermedijera bazom, omogućuje nukleofilni napad na estersku (ili amidnu) skupinu, pri čemu se oslobađa hidantoini produkt (shema 6.). U ovakvim uvjetima urea se skida sa nosača, dok aminokiselina ostaje vezana za čvrstu fazu. Željeni se produkt skidanjem s čvrste faze nalazi u otapalu te je na taj način olakšano pročišćavanje. Kako bi se našla najprikladnija smola za ovu transformaciju, ispitana su i uspoređena djelovanja različitih smola pod istim mikrovalnim uvjetima. U tu svrhu korištene su različite kombinacije smola, razmaknica, linkera ili aminokiseline [10]. Osnovni put sinteze ciljanih molekula prikazan je na shemi 7



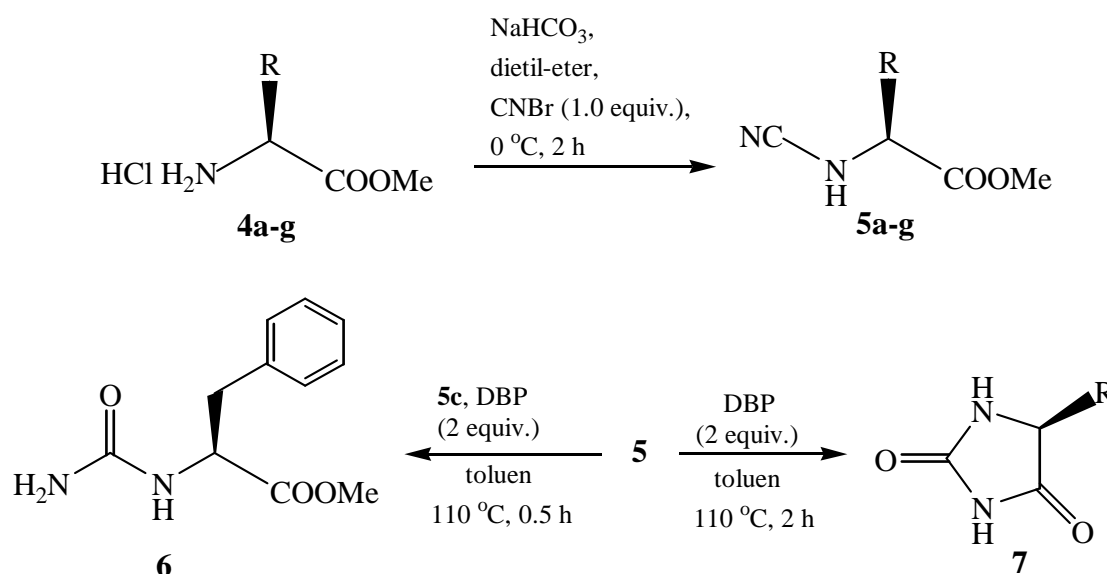
i- smjesa piperidina i diklormetana ili tetrahidrofurana i diklormetana; ii- $R_2NCO$ , THF; iii- $Et_3N$  i THF/DMF.

Shema 7. Sinteza hidantoina na različitim molama

Nakon *N*-deprotekcije aminokiseline (Boc ili Fmoc zaštitne skupine) pri sobnoj temperaturi, sljedeća su dva koraka provedena pod mikrovalnim uvjetima. Obrada slobodne amino skupine, aminokiseline vezane na smolu, sa izocijanatom je postignuta u tetrahidrofuranu

(THF) u mikrovalnom reaktoru. Smola je zatim obrađena sa Et<sub>3</sub>N u sustavu THF/DMF (tetrahidrofuran/dimetilformamid) u mikrovalnom reaktoru. Ovaj opći protokol može se primijeniti za smole koje su esterskom vezom povezane s aminokiselinom, a u svrhu pripreve različitih hidantoina s dobrim ili odličnim prinosom. Pokazalo se da se korištenjem mikrovalnog zračenja, u odnosu na konvencionalni klasični način, može pripremiti niz različitih hidantoina u visokom prinosu, visokog stupnja čistoće u kratkom vremenu.

Konvencionalne metode sinteze za pripremu hidantoina uključuju reakciju uree s različitim prirodnim i neprirodnim aminokiselinama [11]. Za pripremu 5-mono- i 5,5-disupstituiranih hidantoina pogodne su Readova i Bucherer-Bergsova sinteza. No, hidantoini derivati mogu biti sintetizirani i drugim metodama, ali one imaju mnoge nedostatke kao što su niski prinosi, skupi supstrati te žestoki reakcijski uvjeti. Da bi se izbjegli ti nedostaci, razni hidantoini derivati su dobiveni posredstvom dibutilfosfat (DBP). Na shemi 6. prikazana je priprema hidantoina **7a-g** počevši od estera prirodnih aminokiselina hidroklorida **4a-g**, pri čemu su dobivena dobra iskorištenja reakcija.



Shema 6. Sinteza derivata hidantoina

Fenilalaninski derivat hidantoina pripremljen je u dva stupnja polazeći od estera (L)-fenilalanin hidroklorida (**4c**). U prvom stupnju djelovanjem CNBr u dietil-eteru na spoj **4c** nastaje metil ester *N*-cijano-fenilalanina **5c** koji refluksiranjem s dibutilfosfatom u toluenu daje neciklički disupstituirani derivat uree **6**. Međutim, produljenjem refluksiranja na dva sata dobiven je željeni produkt fenilalanin-hidantoin **7c**. U optimalnim reakcijskim uvjetima sintetizirano je sedam derivata hidantoina **7a-g** počevši od metilnih ester aminokiselinskih hidroklorida **4a-g** u visokom prinosu (tablica 1.).

Tablica 1. Vrijednosti vremena trajanja i iskorištenja reakcije sinteze aminokiselinskih hidantoina **7a-g**

Ulaz	Produkti	R	Vrijeme	Iskorištenje (%)
1	<b>7a</b>	H	1,5	75
2	<b>7b</b>	CH <sub>3</sub>	2	79
3	<b>7c</b>	CH <sub>2</sub> Ph	2	73
4	<b>7d</b>	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	2	85
5	<b>7e</b>	CH(CH <sub>3</sub> ) CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	1,5	82
6	<b>7f</b>	CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	2	77
7	<b>7g</b>	CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	2	74

## 2.4. Biološka aktivnost

Hidantoini (imidazolidin-2,4-dioni) predstavljaju sveprisutnu strukturnu jezgru koja se može naći u brojnim prirodnim produktima i bioaktivnim heterocikličkim spojevima. Sintaza hidantoina i njihovih derivata intenzivno se ispituje zbog njihovih farmakoloških svojstava kao što su antifungalna, antibakterijska, antiupalna, antitumorska, a također se rabe i kao lijekovi za liječenje hipoglikemije, antidepresivi, antiepileptici itd. [12] Različiti alkaloidni spojevi izolirani iz morskih organizama i bakterija također imaju hidantoinu jedinicu u svojoj strukturi. [13] Hidantoini su ključni intermedijeri u sintezi nekih optički čistih prirodnih i neprirodnih aminokiselina. [10] Hidantoini i 5-supstituirani derivati su prisutni u velikom broju različitih lijekova, kako u prirodnom tako i u svom sintetičkom obliku. Spirohidantoini su značajni kod tretmana kroničnih problema dijabetesa, fenitoin (5,5-difenilhidantoin) se koristi u liječenju epilepsije, dok je nilutamid (5,5 dimetilhidantoin) odobren za liječenje karcinoma prostate [14]. Uvođenjem ferocenske jedinice na poziciji N(1) ili na C(5) hidantoinskog prstena nilutamida (nesteroidni antiandrogen) pripremljen je prvi ferocetil-aril-hidantoin. *N*-supstituirani kompleksi pokazali su slab do umjeren antiproliferacijski efekt (IC<sub>50</sub> oko 68 μM) na hormon-ovisne i hormon-neovisne stanice raka prostate, dok C(5)-supstituirani spojevi pokazuju 10 puta veću toksičnost (IC<sub>50</sub> oko 5,4 μM). [15] Nilutamid je čisti antiandrogen koji inhibira sintezu steroidnih hormona testisa, koji djeluje tvoreći komplekse sa citoplazmatskim hormonskim receptorima. Receptori ne mogu biti translocirani u jezgru te se na taj način blokira većina bioloških odgovora ciljane stanice na androgene. S druge strane, 5-supstituirani hidantoini su važni kao intermedijeri u industrijskoj sintezi aminokiselina. Aplisinopsini, izolirani iz morskih organizama su primjer spojeva koji sadrže hidantoinu (prirodnu) te pokazuju citotoksičnost prema kancerogenim

stanicama i učinak na neurotransmitere [16]. 3,5-disupstituirani hidantoini su značajni po svom citostatičkom i antiviralnom djelovanju. Od svih spojeva, 3-benzhidril-5-izopropil hidantoin pokazao je slabo, ali učinkovito djelovanje protiv virusa koji uzrokuje kravlje boginje. 3-cikloheksil-5-fenil hidantoin je pokazao inhibitornu aktivnost protiv karcinoma vrata maternice (HeLa), karcinoma dojke (MCF-7), ali isto tako i citotoksično djelovanje na normalne ljudske fibroblaste (WI 38). Suprotno tome 3-benzhidril-5-izopropil hidantoini derivat ( $C_{22}H_{18}N_2O_2$ ) je pokazao ublaženo djelovanje na HeLa, MCF-7, karcinom gušterače (MiaPaCa-2), karcinom pluća (H 460) i karcinom debelog crijeva, no nema učinka na WI 38. Hidantoini derivati (1,3-imidazolidindioni) pokazuju različite i zanimljive farmakološke osobine. Nekoliko takvih derivata (fenitoin, mefenitoin, norantoin, methetoin, ethotoin, fosfenitoin) su poznati kao antikonvulzivni lijekovi. Ostali 5-supstituirani hidantoini, poput 5,5-ditienilhidantoina, 5,5-dipiridilhidantoina, spirotiohidantoina, tiohidantoina i dihidantoina također posjeduju antikonvulzivno djelovanje. Derivati hidantoina mogu biti i antiaritmički i antimikrobni agensi (nitrofurantoin), sredstva za opuštanje mišića (dantrolen) i nesteroidni antiandrogeni (nilutamid), dok se alantoin koristi kao keratolitik, astringent, antacid, antipsorijatik te za liječenje rana. Hidantoini također pokazuju antidepresivne, antiviralne i antitrombocitne učinke, kao i inhibitorno djelovanje na neke enzime (humanu aldoza reduktazu i humanu elastazu iz leukocita). Najbolja farmakološka djelovanja hidantoina su postignuta lipofilnim derivatima hidantoina supstituiranim cikloalkilima, fenilima ili benzhidrilima [12a]. Hidantoin, tiohidantoin i iminohidantoin čine široku i tijesno povezanu skupinu derivata koji pokazuju različita kemijska i biološka svojstva. Osim toga predstavljaju okosnicu potencijalno bioaktivnog i strukturno sličnog spoja, 2-aminoimidazola. Jednostavan prirodni spoj koji sadrži 2-iminoimidazolin-4-on jest kreatin. Prisutnost 2-iminohidantoina u aktivnim supstancama lijekova doprinosi različitim farmakološkim aktivnostima poput antikonvulzivnosti, inhibiciji  $\beta$ -sekretaze, protein kinaze, inhibiciji NF-kB aktivacije te liječenju malarije [16].

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. Materijali

*Benzen* se suši kuhanjem u aparaturi s kalcijevim hidridom pri temperaturi refluksa. Ostali kupovni reagensi i kemikalije su korišteni bez pročišćavanja.

### 3.2. Metode

Snimljeni su IR spektri čvrstih tvari u kalijevu bromidu te uljasto-smolastih tvari u diklormetanu na IR spektrofotometru Bomem MB 100 Mid FT.  $^1\text{H}$ - i  $^{13}\text{C}$ -NMR-spektri otopina uzoraka u  $\text{CDCl}_3$  snimljeni su na spektrometrima Varian EM 360 i Varian Gemini 300 s tetrametilsilanom kao unutarnjim standardom.

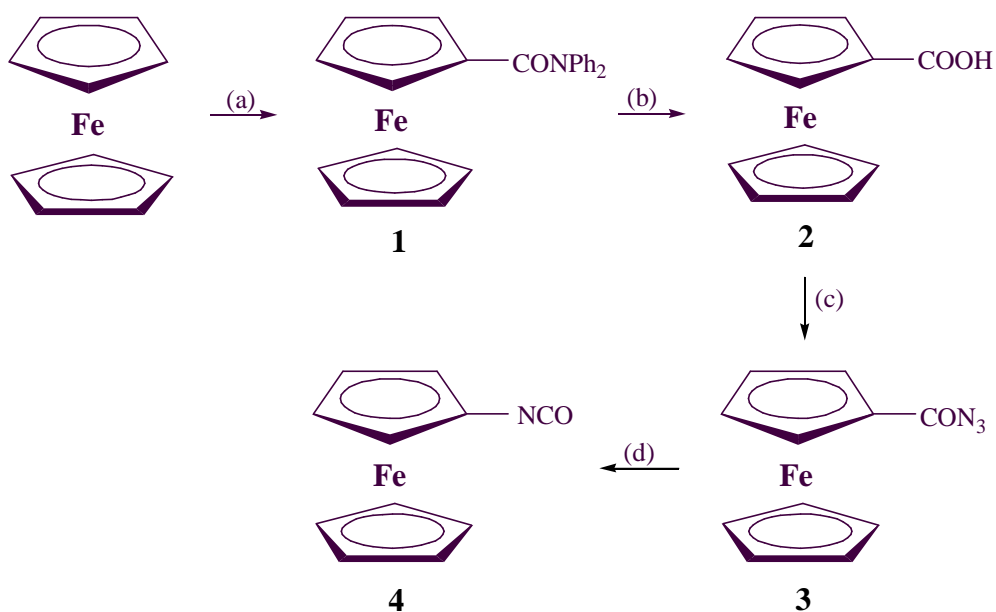
Intermedijeri i produkti su pročišćeni preparativnom tankoslojnom kromatografijom na silikagelu („Merck“, Kieselgel 60 HF254 ) korištenjem izabranih otapala kao eluensâ.

*Tumačenje spektroskopskih oznaka i kratica:*

*IR spektri:*  $\nu$  = rastezanje (stretching),  $\delta$  = deformacije (bending), j. = jaka vrpca, sr.= srednja vrpca, š. = široka vrpca, r = rame (infleksija), v = vrlo.

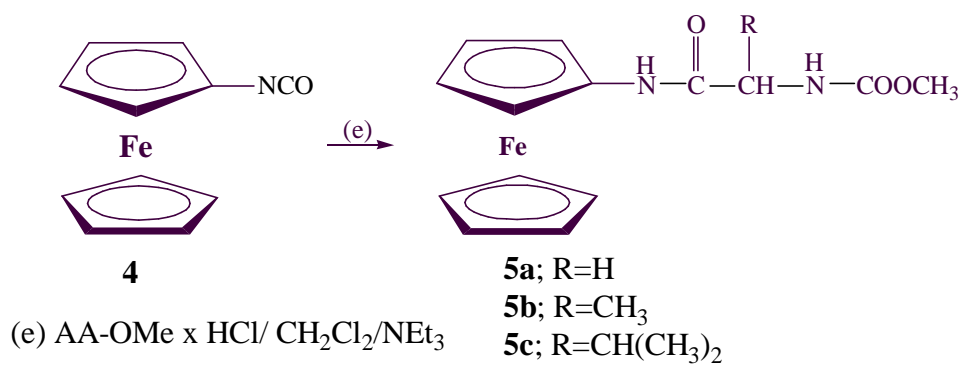
*$^1\text{H}$ -NMR-spektri:* s = singlet, d = dublet, t = triplet, q = kvartet, m = multiplet.

## Priprava ferocenil-izocijanata



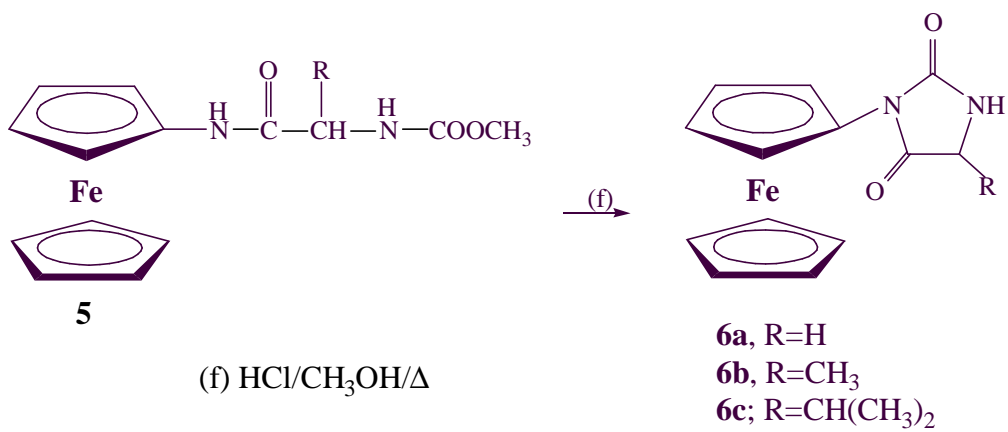
(a)  $\text{Ph}_2\text{NCOCl}/\text{AlCl}_3/\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ ; (b)  $\text{KOH}/\text{EtOH}$ ; (c) 1.  $\text{NEt}_3/\text{ClCOOEt}$ , 2.  $\text{NaN}_3/\text{H}_2\text{O}$ ;  
 (d)  $\text{benzen}/\Delta/3,5 \text{ h}$

## Priprava ureidopeptida





## Priprava ferocenskih hidantoina



### 3.3. N,N-difenilferocenkarkboksamid (1)

Suspenciji aluminijeva klorida (3.58 g, 26.8 mmol) u suhom dikloretnu (27 ml) doda se otopina Ph<sub>2</sub>NCOCl (6.23 g, 26.8 mmol) u istom otapalu (27 ml) i dokapa 1,2-dikloretna otopina ferocena (5 g, 26.8 mmol). Nakon 24 sata refluksiranja reakcijska se smjesa prenese u čašu s ledom i ekstrahira diklormetanom. Organski se sloj ispere zasićenom otopinom NaCl, osuši bezvodnim Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i upari do suha pri čemu zaostaje sirovi amid **1** (8.5 g). Za snimanje IR- i NMR-spektra 200 mg sirova produkta pročišćeno je tankoslojnom preparativnom kromatografijom (eluens: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) pri čemu je dobiveno 120 mg (60%) narančastih kristala amida **1**;  $t_f = 179-182$  °C.

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ : 1642 j, 1594 s, 1492 s (C=O, CONPh<sub>2</sub>). <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta/\text{ppm}$ : 7.39 (4H, t, Ph), 7.25 (6H, t, Ph), 4.26 (s, 5H, Fc nesupst. prsten), 4.21 (d, 4H, H-2 H-3 H-4 H-5, Fc). <sup>13</sup>C-NMR, APT (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta/\text{ppm}$ : 171 (CONPh<sub>2</sub>), 143.9 (2Cq, Ph<sub>2</sub>), 129.1 (4C, o, Ph<sub>2</sub>), 127.59 (4C, m, Ph<sub>2</sub>), 126.37 (2C, p, Ph<sub>2</sub>), 76.1 (C-1, Fc), 70.1 (C-2, C-5, Fc), 71.6 (C-3, C-4, Fc), 69.8 (Fc nesupst. prsten).

### 3.4. Ferocenkarkboksilna kiselina (2)

Sirovi se amid **1** (8.3 g) otopi u 20%-tnoj otopini kalijeva hidroksida u etanolu (260 ml). Reakcijska se smjesa refluksira 22 sata nakon čega se upari do suha, otopi u 5%-tnoj vodenoj otopini NaHCO<sub>3</sub> i ekstrahira diklormetanom. Organska se faza ispere zasićenom otopinom NaCl, osuši bezvodnim Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i upari, pri čemu je dobiveno 4.05 g neizreagirano supstrata **1**. Zakiseljavanjem alkalne vodene faze koncentriranom HCl istaloži se 3.98 g (80%) tamnožutih kristala kiseline **2**;  $t_f = 193-200$  °C [2].

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ : 3100-2700 š (OH, COOH), 1657 j (C=O, COOH).

### 3.5. Ferocenkarkboksazid (3)

Kiselina **2** (550 g, 2.37 mmol) suspendira se u vodi (0.5 ml), otopi dodatkom malo acetona i ohladi na 0 °C. Uz miješanje dokapa se otopina NEt<sub>3</sub> (0.385 ml, 2.79 mmol) u acetonu (5 ml), a potom otopina ClCOOEt (0.385 ml, 4.05 mmol) u istom otapalu (2 ml). Nakon 15 minuta miješanja u reakcijsku se smjesu doda otopina NaN<sub>3</sub> (312 mg, 4.75 mmol) u vodi (1.6 ml). Nakon 90 minuta miješanja pri 0 °C, reakcijska se smjesa razrijedi ledenom vodom i ekstrahira diklormetanom. Organski se sloj ispere 5%-tnom otopinom NaHCO<sub>3</sub>, zasićenom otopinom NaCl, osuši bezvodnim Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i upari na rotacijskom vakuum-uparivaču. Dobiveno je 400 mg (65.68%) narančastih kristala.  $t_f = 193-200$  °C [2].

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ : 2132 j (C=O), CON<sub>3</sub>. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta/\text{ppm}$ : 4.83 (s, 2H, H-2, H-5', Fc), 4.52 (s, 2H, H3'-H4', Fc), 4.27 (s, 5H, Fc nesupst. prsten). <sup>13</sup>C-NMR, APT (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta/\text{ppm}$ : 176.7 (C=O, CON<sub>3</sub>), 72.55 (2C, C2-C5), 72.0 (1C, Cq), 70.10 (5C, Fc nesupst. prsten), 76 (C-1, Fc), 70.1 (C-2, C-5, Fc), 71.6 (C-3, C-4, Fc), 69.8 (C-1', C-2', C-3', C-4', C-5', Fc nesupst. prsten).

### 3.6. Ferocenil-izocijanat (4)

Otopina spoja **3** (400 mg, 1.56 mmol) u suhom benzenu (20 ml) zagrijava se pri 85 °C. Nakon 3.5 sata zagrijavanja iz reakcijske se smjese upari benzen, a zaostaje smjesa izocijanata **4** i polaznog azida **3** [2].

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ : 2273 j (N=C=O), 2136 j (N<sub>3</sub>), 3683 j (CON<sub>3</sub>).

### 3.7. Ferocenski ureidopeptidi 5a-c

U otopinu smjese **4** (0.969 mmol) u diklormetanu doda se AA-OMe prethodno pripremljen iz AA-OMe·HCl (0.72 mmol) dodatkom NEt<sub>3</sub>. Nakon 30 minuta miješanja pri sobnoj temperaturi u reakcijsku smjesu doda se H<sub>2</sub>O i ekstrahira diklormetanom. Organski sloj se ispere zasićenom otopinom NaCl do neutralnog, osuši bezvodnim Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i upari na vakuum-uparivaču. Dobiveni ostatak razdijeljen je s pomoću tankoslojne preparativne kromatografije CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc (10 : 1).

**Fc-NH-CO-Gly-OMe (5a)**: dobiveno m=211 mg (20%) žuti kristali.

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ : 3430 (sr, NH, slobodna), 3361 (sl, NH, asocirana), 1746 (j, C=O, ester), 1677 (j, C=O, amid I), 1530 (j, C=O, amid II). <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta/\text{ppm}$ : 6.12 (1H, s, NH), 5.76 (1H, d, NH<sub>Gly</sub>), 4.39 (2H, s, Cp-H), 4.27 (5H, s, Cp-H), 4.12 (2H, s, Cp-H), 4.07 (2H, d, CH<sub>2, Gly</sub>), 3.78 (3H, s, OCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-NMR, APT (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta/\text{ppm}$ : 171.30 (C=O, ester), 156.71 (C=O, urea), 70.44 (C, Fc), 69.45 (Fc-nesupst. prsten), 65.81 (C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, Fc), 63.87 (C<sub>2</sub>, C<sub>5</sub>, Fc), 52.24 (-OCH<sub>3</sub>), 42.08 (CH<sub>2, Gly</sub>).

**Fc-NH-CO-Ala-OMe (5b)**: dobiveno m=42 mg (23%) narančaste smole.

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ : 3426 (NH, slobodna), 3367 (NH, asocirana), 1740 j (C=O, ester), 1675 (j, C=O, amid I). <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta/\text{ppm}$ : 5.70 (1H, s, NH), 5.63 (1H, d, NH<sub>Ala</sub>), 4.46 (1H, dq, CH <sub>$\alpha$ ,Ala</sub>), 4.38 (2H, pt, Cp-H), 4.27 (5H, s, Cp-H), 4.14 (2H, pt, Cp-H), 3.73 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 1.40 (3H, d, CH<sub>3, Ala</sub>). <sup>13</sup>C-NMR, APT (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta/\text{ppm}$ : 174.51 (C=O, ester), 156.00

(C=O, urea), 70.32 (C, Fc), 69.77 (Fc-nesupst. prsten), 65.92 (C<sub>3</sub>, Fc), 65.83 (C<sub>4</sub>, Fc), 63.17 (C<sub>2</sub>, Fc), 62.74 (C<sub>5</sub>, Fc), 52.41 (-OCH<sub>3</sub>), 48.81 (C<sub>α</sub>, Ala), 18.99 (CH<sub>3</sub>, Ala).

**Fc-NH-CO-Val-OMe (5c):** dobiveno m=251 mg (74%) žuti kristali.

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ : 3426 (sr, NH, slobodna), 3365 (sl, NH, asocirana), 1735 (j, C=O, ester), 1675 (j, C=O, amid I), 1526 (j, C=O, amid II). <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta/\text{ppm}$ : 6.37 (1H, s, NH<sub>I</sub>), 5.82 (1H, d, NH<sub>Val</sub>), 4.49 (1H, m, CH<sub>α,Val</sub>), 4.35 (2H, s, Cp-H), 4.25 (5H, s, Cp-H), 4.07 (2H, s, Cp-H), 3.75 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 2.15 (m, 1H, CH<sub>Val</sub>), 0.97 (3H, d, CH<sub>3,Val</sub>), 0.92 (3H, d, CH<sub>3,Val</sub>). <sup>13</sup>C-NMR, APT (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta/\text{ppm}$ : 173.52 (C=O, ester), 156.74 (C=O, urea), 70.32 (C, Fc), 69.33 (Fc-nesupst. prsten), 65.49 (C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> Fc), 63.46 (C<sub>2</sub>, Fc), 62.89 (C<sub>5</sub>, Fc), 58.19 (CH<sub>α,Val</sub>), 52.03 (-OCH<sub>3</sub>), 31.46 (C<sub>β,Val</sub>), 19.11 (CH<sub>3,Val</sub>), 18.99 (CH<sub>3,Val</sub>).

### 3.8. Ferocenski hidantoini 6a-c

U otopinu smjese ureidopeptida **5** (0,103 mmol) u metanolu (1.14 mL) doda se HCl (9.25  $\mu\text{L}$ ) te refluksira oko 3-4 sata. Nakon toga grijanje se isključi i reakcijska se smjesa miješa preko noći na sobnoj temperaturi. Reakcijska smjesa se upari i pročisti preparativnom tankoslojnom kromatografijom uz eluens EtOAc.

**6a:** dobiveno m=34 mg (36%) žuto-narančasti kristali.

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ : 3434 (sr, NH, slobodna), 3361 (vrlo sl, NH, asocirana), 1781 (sl, C=O), 1725 (j, C=O), 1687 (sr, C=O, amid I), 1529 (sl, C=O, amid II). <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta/\text{ppm}$ : 5.29 (1H, s, NH), 4.33 (2H, s, Cp-H), 4.25 (5H, s, Cp-H), 4.12 (2H, s, Cp-H), 4.03 (2H, d, CH<sub>2, Gly</sub>). <sup>13</sup>C-NMR, APT (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta/\text{ppm}$ : 172,00 (C=O), 81.5 (C, Fc), 69.49 (Fc-nesupst. prsten), 65.33 (C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, Fc), 62.51 (C<sub>2</sub>, C<sub>5</sub>, Fc), 42.05 (CH<sub>2</sub>).

**6b:** dobiveno m=38.2 mg (59%) narančasti kristali.

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ : 3445 (NH, slobodna), 1781 (sl, C=O), 1725 (j, C=O). <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta/\text{ppm}$ : 5.58 (1H, s, NH), 4.95 (1H, s, CH<sub>α</sub>), 4.2 (5H, s, Cp-H), 4.13 (4H, m, Cp-H), 1.51 (3H, d, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-NMR, APT (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta/\text{ppm}$ : 172.79 (C=O), 155.61 (C=O), 84.25 (C, Fc), 69.49 (Fc-nesupst. prsten), 65.342 (C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, Fc), 62.55 (C<sub>2</sub>, C<sub>5</sub>, Fc), 52.19 (CH), 18.05 (CH<sub>3</sub>).

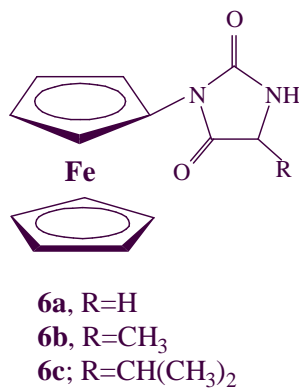
**6c:** dobiveno m=25 mg (50%) žuti kristali.

IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3439 (sr, NH, slobodna), 1776 (sl, C=O), 1726 (j, C=O), 1682 (j, C=O, amid I), 1524 (sl, C=O, amid II). <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta/\text{ppm}$ : 6.02 (1H, s, NH), 4.26 (2H, s, Cp-*H*), 4.19 (5H, s, Cp-*H*), 4.09 (2H, s, Cp-*H*), 3.94 (m, 1H, CH), 2.27 (2H, m, CH), 1.20(3H, d, CH<sub>3</sub>), 0.97 (3H, d, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-NMR, APT (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta/\text{ppm}$ : 171.73 (C=O), 158.0 (C=O), 88.95 (C, Fc), 69.96 (Fc-nesupst. prsten), 65.27 (C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> Fc), 61.61 (C<sub>2</sub>,C<sub>5</sub>, Fc), 58.15 (CH), 30.43 (CH), 17.99 (CH<sub>3</sub>), 15.97 (CH<sub>3</sub>).

## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

## 4.1. Uvod

Cilj ovog završnog rada jest priprava ferocenskih hidantoina (**6a-c**), a u nastavku istraživanja pripremit će se i disupstituirani ferocenski hidantoini te će im se odrediti biološka aktivnost zbog vrlo zanimljivih farmakoloških svojstava ove skupine spojeva.

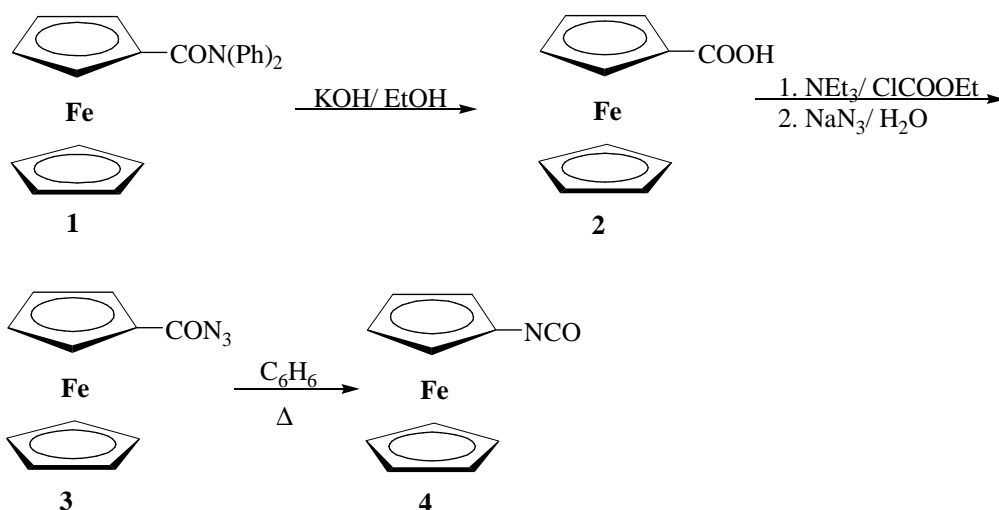


Slika 4.

U prvom dijelu rada pažnja je posvećena pripravi željenih spojeva, a drugi dio obuhvaća identifikaciju pripremljenih spojeva pomoću IR, <sup>1</sup>H- i <sup>13</sup>C-NMR spektroskopije.

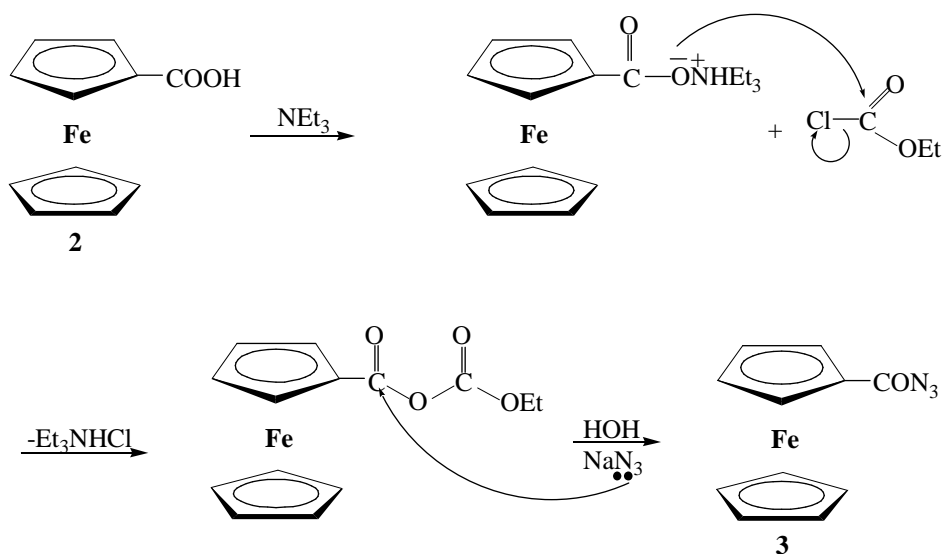
## 4.2. Ferocetil-izocijanat 4

Polazni spoj u sintezi ciljanih ferocenskih hidantoina **6** je ferocenski-izocijanat **4** koji se priprema višestupanjskom sintezom (shema 1.). Pri tome je djelovanjem *N,N*-difenilkarbamoil klorida na otopinu ferocena u diklorešanu dobiveno 60% *N,N*-difenilferocencarboksamida (**1**). Hidrolizom spoja **1** u etanolnoj otopini kalijeva hidroksida nastaje ferocencarboksilna kiselina (**2**) [2]. Djelovanjem smjese reagensâ NEt<sub>3</sub>, ClCOOEt i NaN<sub>3</sub> na kiselinu **2** u vodenoj otopini pripravljen je azid **3**. Curtisovom pregradnjom azida **3** zagrijavanjem u benzenu pripravljen je ferocetil-izocijanat (**4**) [2].



Shema 1. Priprava ferocenil-izocijanata **4**

Sinteza azida **3** odvija se uz pretpostavku sljedećeg mehanizma: reakcijom  $\text{NEt}_3$  i  $\text{ClCOOEt}$  s karboksilnom skupinom kiseline **2** nastaje nestabilni mješoviti anhidrid koji se djelovanjem vodene otopine  $\text{NaN}_3$ , prevodi u azid **3** (75%), a samo manjim dijelom raspada se na polaznu ferocenkarboksilnu kiselinu (**2**).



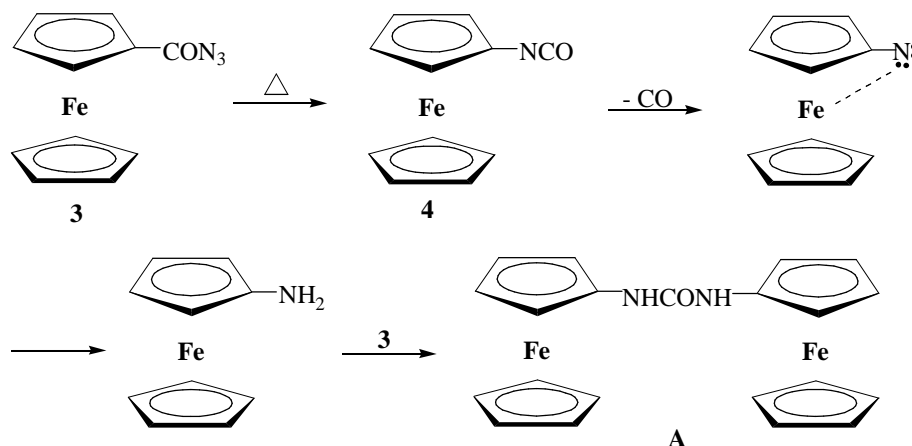
Shema 2. Mehanizam nastajanja azida **3**

IR-spektar azida **3** pokazuje karakterističnu apsorpcijsku vrpcu azida pri  $2138 \text{ cm}^{-1}$ .  $^1\text{H-NMR}$ -spektar ferocenkarboksazida **3** potvrđuje supstituciju na jednom ciklopentadienilnom prstenu ferocena, a  $^{13}\text{C-NMR}$ -spektri azida sadrže vrpcu karbonylna ugljikova atoma azida pri  $\delta 176.1 \text{ ppm}$ .

Tijek Curtiusovih pregradnja (shema 3.) azida praćen je IR-spektroskopijom smanjenjem karakterističnih apsorpcijskih vrpca azida **3** ( $2138$  i  $1687 \text{ cm}^{-1}$ ) odnosno povećanjem vrpca



svojtvenih za NCO-skupinu spoja **4** ( $2273\text{ cm}^{-1}$ ). Daljnjim zagrijavanjem nastaje i mala količina *N,N'*-diferocenilureâ tipa **A** te zbog toga reakcija nije izvedena do kraja. Formiranje produkata **A** može se objasniti termičkom odgradnjom izocijanata **4** u tvorbi sa željezom stabiliziranog nitrena koji u reakcijskim uvjetima daje intermedijarni amin. Nukleofilna adicija tog intermedijara na izocijanat **3** daje simetričnu ureu **A**.

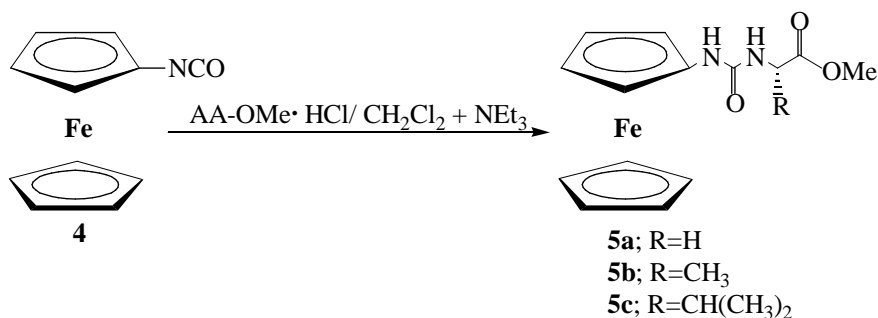


Shema 3. Mehanizam Curtiusovih pregradnja azida **3**

Pročišćavanje produkata i njihovih prekursora tankoslojnom preparativnom kromatografijom nije bilo moguće jer azidi i izocijanati imaju identične  $R_f$ -vrijednosti.

### 4.3. Ferocenski ureidopeptidi **5a-c**

Kopulacijom sirovog produkta **4** s AA-OMe (dobivenog iz AA-OMe·HCl dodatkom  $\text{NEt}_3$  do pH 8), nastaju ureidopeptidi **5a-c** u 20-75% iskorištenju (shema 4.), nakon pročišćavanja preparativnom tankoslojnom kromatografijom.



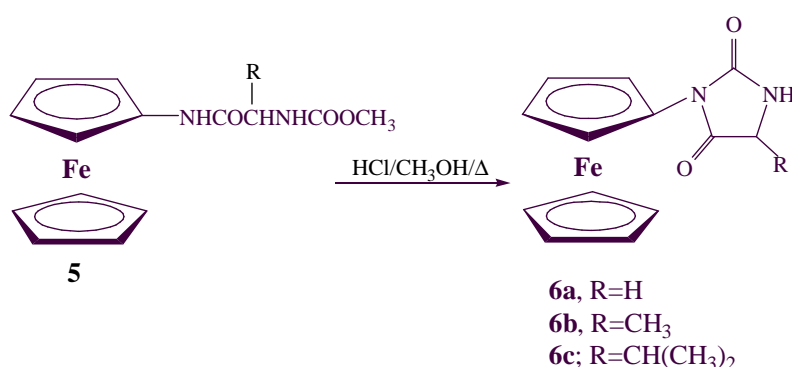
Shema 4. Priprava ureidopeptida **5a-c**

IR-spektri ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) konjugata **5** ukazuju na prisutnost jedne slobodne N–H oko  $3426$  i jedne asociirane N–H oko  $3363\text{ cm}^{-1}$ . U  $^1\text{H-NMR}$  spektru ( $\text{CDCl}_3$ ) ureidopeptida **5** vidljiv je proton

NH-skupine od  $\delta$  5.63 ppm koji je dodijeljen alaninskoj podjedinici,  $\delta$  5.76 ppm koji je dodijeljen glicinskoj podjedinici, do  $\delta$  5.82 ppm koji je dodijeljen valinskoj podjedinici i NH-proton iz ureilenske podjedinice pri  $\delta$  5.70 ppm za Ala-podjedinicu,  $\delta$  6.12 ppm za Gly-podjedinicu i  $\delta$  6.37 ppm za Val-podjedinicu. Metinski proton alaninske podjedinice registriran je pri  $\delta$  4.46, a valinske podjedinice pri  $\delta$  4.49 i 2.15 ppm, a metilenski protoni glicinske podjedinice registrirani su pri  $\delta$  4.07 ppm. Metilni su protoni zabilježeni pri  $\delta$  1.40 ppm za Ala-podjedinicu, odnosno pri  $\delta$  0.97 i 0.92 ppm za Val-podjedinicu. Metilni protoni esterske skupine za sva tri ureidopeptida registrirani su oko  $\delta$  3.75 ppm. Karbonilni ugljikovi atomi esterske skupine i ureilenske podjedinice očituju se u  $^{13}\text{C}$ -NMR spektru signalima za sva tri ureidopeptida oko  $\delta$  173 i 156 ppm. Metinski, metilenski odnosno metilni ugljikov atom ureidopeptida **5a-c** nalaze se pri uobičajenim vrijednostima kemijskih pomaka.

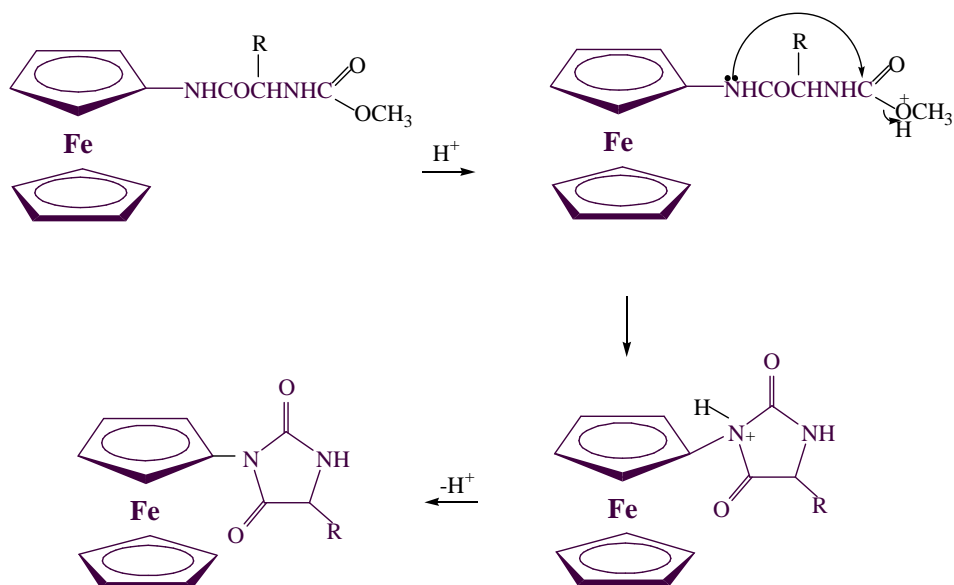
#### 4.4. Ferocenski hidantoini **6a-c**

Iz Teorijskog uvoda vidljivo je da su do sada opisane brojne pripreve hidantoinskih derivata iz raznih prekursora. U ovom radu opisana je sinteza ferocenskih hidantoina (shema 5.) gdje su kao polazni spojevi korišteni ferocenski ureidopeptidi **5a-c**, pri kojoj se uspješno pripravljaju spojevi **6a-c** u dobrom iskorištenju (vidi sec. 3.8.). Tijek reakcije nije bilo moguće pratiti tankoslojnom kromatografijom s obzirom da su i polazni spoj (ureidopeptid) i konačni spoj (hidantoin) imali iste  $R_f$  vrijednosti te se u svrhu praćenja reakcije koristila IR-spektroskopija. U ovoj reakciji dolazi do nastajanja nove apsorpcijske vrpce oko  $1780\text{ cm}^{-1}$  što odgovara cikličkim spojevima poput hidantoinskog prstena.



Shema 5. Priprava ferocenskih hidantoina **6a-c**

Mehanizam ove ciklizacije uključuje protoniranje esterske skupine ureidopeptida kiselinom (HCl) te se ona prevodi u dobru odlazeću skupinu, nakon čega slijedi nukleofilni napad N-atoma aminoskupine vezane uz ferocen i dolazi do zatvaranja prstena (shema 6.).



Shema 6. Mehanizam nastajanja hidantoinskog prstena

IR-spektri ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) spojeva **6a-c** ukazuju na prisutnost većinom samo jedne vrpce koja se pripisuje slobodnoj N–H oko  $3440\text{ cm}^{-1}$  i jedne vrlo slabe apsorpcijske vrpce, samo za spoj **6a**, pri  $3361\text{ cm}^{-1}$  koja odgovara asociranoj NH skupini. Također je kod svih spojeva **6a-c** zamijećena apsorpcijska vrpca oko  $1780\text{ cm}^{-1}$  slabog intenziteta, koja odgovara karbonilnoj skupini hidantoinskog prstena. U  $^1\text{H-NMR}$  spektru ( $\text{CDCl}_3$ ) hidantoinskih derivata **6** vidljiv je samo jedan signal koji se pripisuje protonu NH-skupine od  $\delta$  5.29 do 6.02 ppm koji su dodijeljeni aminokiselinskim podjedinicama. Naime, kemijski pomak koji je bio prisutan u  $^1\text{H}$  NMR spektrima ureidopeptida **5**, a pripisan je NH-skupini direkto vezanoj na ferocen, kod ovih spojeva nije zamijećen što je dodatna potvrda nastajanja hidantoinskog prstena. Metinski proton alaninske podjedinice registriran je pri  $\delta$  4.95, a valinske podjedinice pri  $\delta$  3.94 i 2.27 ppm, a metilenski protoni glicinske podjedinice registrirani su pri  $\delta$  4.03 ppm. Metilni su protoni zabilježeni pri  $\delta$  1.51 ppm za Ala-podjedinicu, odnosno pri  $\delta$  1.2 i 0.97 ppm za Val-podjedinicu. Karbonilni ugljikovi atomi hidantoinskog prstena vidljivi su u  $^{13}\text{C-NMR}$  spektru oko  $\delta$  172 i 155 ppm. Metinski, metilenski odnosno metilni ugljikov atom spojeva **6a-c** nalaze se pri uobičajenim vrijednostima kemijskih pomaka karakterističnim za te skupine.

## **5. ZAKLJUČAK**

- ↳ Višestupanjskim sintezama uspješno su pripremljeni homoanularno supstituirani ferocenski hidantoini **6a-c** u dobrom iskorištenju.
- ↳ U FTIR-spektrima pripremljenih spojeva **6a-c** prisutna apsorpcijska vrpca  $\sim 3440\text{ cm}^{-1}$  ( $c \approx 10^{-2}\text{ M}$ ) upućuje na prisutnost slobodne NH-skupine, te slaba apsorpcijska vrpca registrirana pri  $1781\text{ cm}^{-1}$  i jaka  $\sim 1726\text{ cm}^{-1}$  ukazuju na prisutnost hidantoiniskog prstena.
- ↳  $^1\text{H}$ - i  $^{13}\text{C}$ -NMR spektri snimljeni u  $\text{CDCl}_3$  pri  $c = 1 \times 10^{-2}\text{ M}$  također su potvrdili strukturu pripremljenih spojeva. Kemijski pomak protona NH-skupine direktno vezane uz ferocensku podjedinicu spojeva **5a-c** ( $\delta = 5.7$  do  $6.37\text{ ppm}$ ) nakon ciklizacije nije prisutan u  $^1\text{H}$ -NMR spektrima spojeva **6a-c**, što dodatno potvrđuje nastanak hidantoiniskog prstena.
- ↳ U nastavku istraživanja bit će ispitana biološka aktivnost pripremljenih hidantoiniskih derivata **6a-c**.

## **6. LITERATURA**

- [1] V. Rapić i M. Čakić Semenčić (2011): I. Organometalna i bioorganometalna kemija. *Kem. Ind.* **60** (2), 61–79.
- [2] J. Lapić (2008) Priprava i konformacijska analiza ferocenskih peptida i ureidopeptida. Doktorska disertacija, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu.
- [3] Wikipedia (2001), <<http://en.wikipedia.org/wiki/Ferrocene>>. Pristupljeno 20.6.2013.
- [4] Proleksis enciklopedija (2012) <<http://proleksis.lzmk.hr/46837/>> Pristupljeno 21.6.2013.
- [5] S. H. Pine (1994) Organic Chemistry, 5. izd., Školska knjiga, Zagreb.
- [6] Šinko G. (2005) Preparations and biological properties of chiral compounds. *Arh Hig Rada Toksikol* **56**, 351-361.
- [7] Englesko-hrvatski kemijski rječnik i glosar <<http://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=dijastereoizomer>> Pristupljeno 23.6.2013.
- [8] Šmit B., Pavlović R., (2012): Synthesis of novel 5-(alk-3-enyl)-hydantoin. *Molecules (ECSOC-16)*.
- [9] Trišović P., N., Ušćumlić S., G., Petrović D., S. (2009) Hidantoini: Dobijanje, svojstva i antikonvulzivna aktivnost. *Hem. ind.* **63** (1) 17–31.
- [10] Colacino E., Lamaty F., Martinez J., Parrot I., (2007) Microwave-assisted solid-phase synthesis of hydantoin derivatives. *Tetrahedron lett.* **48**, 5317-5320.
- [11] Agrawal K., S., Sathe M., Halve K., A., Kaushik P. M., (2012) Dibutylphosphate (DBP) mediated synthesis of cyclic N,N'-disubstituted urea derivatives from amino esters: a comparative study. *Tetrahedron lett.* **53**, 5996-5999.
- [12] a) Jakše R., Krošelj V., Rečnik S., Soršak G., Svete J., Stanovnik B., Glič Grdadolnik S. (2002) Stereoselective Synthesis of 5-[(Z)-Heteroarylmethylidene] Substituted Hydantoins and Thiohydantoins as Aplynsin Analogs, *Z.Naturforsch.* **57b**, 453-459.

b) [16] Rajic Z., Zorc B., Raic-Malic S., Ester K., Kralj M., Pavelic K., Balzarini J., De Clercq E., Mintas M., (2006) Hydantoin Derivatives of L-and D-aminoacids: Synthesis and Evaluation of Their Antiviral and Antitumoral Activity. *Molecules* **11**, 837-848.

c) Dadiboyena S., Nefzi A., (2011) Parallel solid-phase synthesis of disubstitued 3-(1*H*-benzo[*d*] imidazol-2-yl) imidazolidine-2,4-diones and 3-(1*H*-benzo[*d*] imidazol-2-yl)-2-thioxoimidazolidin-4-ones. *Tetrahedron lett.* **52**, 7030-7033.

[13] Meusel M., Gutschow M., (2004) Recent Developments in Hydantoin Chemistry. A Review; *Org. Prep. Proced. Int.* **36**, 391-443.

[14] Fraile M., J., Lafuente G., Mayoral A., J., Pallares A. (2011) Synthesis and reactivity of 5-methylenehydantoin. *Tetrahedron lett.* **67**, 8639-8647.

[15] Payen O., Top S., Vessieres A., Brule E., Plamont M. - A., McGlinchey J., M., Müller-Bunz H., Jaouen G. (2008) Synthesis and Structure-Activity Relationships of the First Ferrocenyl-Aryl-Hydantoin Derivatives of the Nonsteroidal Antiandrogen Nilutamide. *J. Med. Chem.* **51**, 1791-1799.

[16] Kumar V., Rana H., Kaushik P., M., (2012) Novel and green protocol for the synthesis of 2-iminohydantoins. *Tetrahedron lett.* **53**, 6423-6425.