

Sinteza i konformacijska analiza ferocenskog alkohola

Pavlić, Kristian

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

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:159:760746>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-02**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Kristian Pavlič

7041 - PT

SINTEZA I KONFORMACIJSKA ANALIZA
FEROCENSKOG ALKOHOLA

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Organska kemija

Mentor: Doc. dr. sc. Monika Kovačević

Zagreb, 2019.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Zavod za kemiju i biokemiju

Laboratorij za organsku kemiju

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

SINTEZA I KONFORMACIJSKA ANALIZA FEROCENSKOG ALKOHOLA

Kristian Pavlić, 0058206263

Sažetak: U ovom radu opisani su sinteza i konformacijska svojstva ferocenskog alkohola **2** ($\text{HO}_2\text{HC-Fn-NHBoc}$) koji se dobiva redukcijom esterske skupine ferocenske aminokiseline (Fca, **1**) u prisustvu LiAlH_4 . Da bi se ispitalo utjecaj dobivene hidroksilne skupine pri tvorbi intramolekulskih vodikovih veza (IHB) na konformacijski prostor koji ferocenski alkohol zauzima u otopini, provedena je spektroskopska analiza (IR- i NMR-spektroskopija). Kristalografskom analizom kao i DFT modeliranjem u čvrstom stanju, ispitana je mogućnost tvorbe IHB u čvrstom stanju. Pokazalo se da u čvrstom stanju dolazi do tvorbe IHB veze, dok u otopini nema indikacija za postojanjem takve veze.

Ključne riječi: alkoholi, DFT, ferocen, kristalna struktura, vodikova veza

Rad sadrži: 20 stranica, 9 slika, 1 tablica, 1 shema, 30 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Doc. dr. sc. Monika Kovačević

Datum obrane: 14. lipnja 2019.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Food Technology
Department of Chemistry and Biochemistry
Laboratory for Organic Chemistry
Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

Synthesis and conformational analysis of ferrocene alcohol

Kristian Pavlić, 0058206263

Abstract: This study has explored the synthesis and structural characteristics of ferrocene alcohol **2** (HO₂HC-Fn-NHBoc), derived by reduction of ferrocene amino acid (Fca, **1**) ester group in presence of LiAlH₄. In order to explore influence of derived hydroxyl group on formation of intramolecular hydrogen bond (IHB), the detailed conformational analysis (IR and NMR spectroscopy) in solution was performed. Crystallographic structure and DFT modelling of alcohol **2** in solid state was determined to explore possibility of IHB formation. It was demonstrated that ferrocene alcohol **2** was stabilized through intramolecular hydrogen bonding in solid state. In solution state there was no data indicating the same bonding pattern.

Keywords: alcohols, DFT, ferrocene, crystal structure, hydrogen bond

Thesis contains: 20 pages, 9 figures, 1 tables, 1 scheme, 30 references

Original in: Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Ph. D. Monika Kovačević, Assistant Professor

Defence date: June 14th 2019

SADRŽAJ

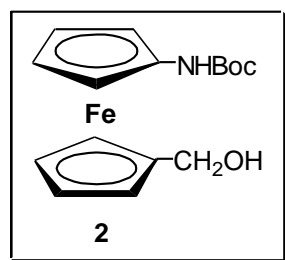
1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. Biooragnometalna kemija	2
2.2. Peptidomimetici	3
2.3. Ferocen	4
2.4. Ferocenski alkoholi	5
2.4.1. Priprava ferocenskih alkohola	6
2.4.2. Biološka aktivnost ferocenskih alkohola	9
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	11
3.1. Materijali	11
3.2. Metode	11
3.2.1. Sinteza HO ₂ HC-Fn-NHBoc	12
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	13
4.1. Uvod	13
4.2. NMR- i IR-spektroskopija	15
4.3. Kristalografska analiza	16
4.4. DFT modeliranje	16
5. ZAKLJUČCI.....	18
6. POPIS LITERATURE.....	19

1. UVOD

Bioorganometalna kemija je interdisciplinarno područje koje povezuje organometalnu kemiju s biologijom, medicinom i molekularnom biotehnologijom, a proučava biološki aktivne komplekse u kojima su vezom ugljik-metal povezani klasični organometalni ligandi i biomolekule.[1-4] Biokonjugati organometalnih spojeva i biomolekula (DNA, aminokiselina, peptida...) koriste se u biokemiji i farmaciji u terapeutske svrhe, liječenju karcinoma, imunotestovima, molekulskom prepoznavanju, enzimskoj katalizi i toksikologiji.[5]

Iznimna svojstva bioorganometalnog spoja ferocena obuhvaćaju stabilnost u biološkom mediju, redoks-aktivnost, lipofilnost i olakšani prolaz kroz staničnu membranu, nisku toksičnost te relativno jednostavne metode kemijske modifikacije.[5] Osim u katalizi, kemiji materijala te u drugim područjima koja uključuju njihova supramolekulska, makromolekulska i opto-elektronička svojstva, feroceni nalaze i medicinsku primjenu zahvaljujući poboljšanoj farmakološkoj aktivnosti ferocenom-modificiranih biološki aktivnih molekula. Tvorba i dizajn malih molekula koje sadržavaju ferocen, a mogu se upotrijebiti kao sintoni za tvorbu većih, kompleksnih i potencijalno biološki aktivnih molekula, predstavlja veliki izazov. Takve molekule su i disupstituirani ferocenski alkoholi, koji mogu poslužiti za sintezu posebne vrste peptidomimetika- depsipectida.[6]

U ovom radu opisan će se sinteza ferocenskog alkohola **2** ($\text{HO}_2\text{HC-Fn-NHBoc}$), koji se dobija redukcijom esterske skupine ferocenske aminokiseline (Fca, **1**) u prisustvu LiAlH_4 (slika 1.). Konformacijska analiza spoja provest će se da bi se ispitaio utjecaj hidroksilne skupine na tvorbu intramolekulskih vodikovih veza [IHB, (engl. *Intramolecular Hydrogen Bond*)] između amino skupine na jednom ferocenskom prstenu i hidroksilne skupine na drugom.



Slika 1. Struktura ferocenskog alkohola **2** ($\text{HO}_2\text{HC-Fn-NHBoc}$)

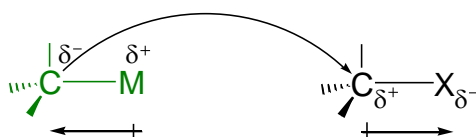
Konformacijska analiza alkohola **2** u otopini provest će se standardnim spektroskopskim metodama (IR- i NMR-spektroskopija), a obrazac vodikovih veza u čvrstom stanju ispitat će se kristalografskom analizom i DFT-modeliranjem.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Bioorganometalna kemija

Bioorganometalna kemija relativno je nova znanstvena disciplina i obuhvaća područje kemije koje proučava konjugate organometalnih spojeva i biomolekula (steroida, šećera, aminokiselina, peptida, DNA, vitamina i enzima). Organometalnim spojem smatra se onaj spoj koji sadrži barem jednu vezu metal-ugljik koja potječe iz organske molekule. [1-4, 7]

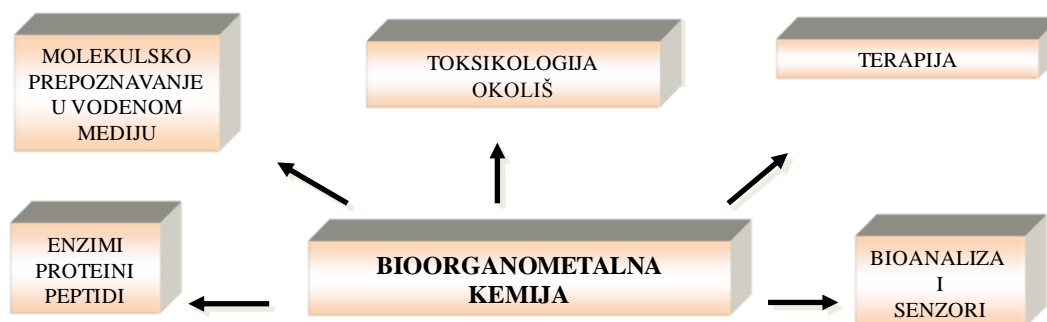
C-M veza izvor je različitih elektronskih i steričkih efekata kojima se može kontrolirati biološka aktivnost. Organometalni spojevi dijele se, ovisno o karakteru C–M veze, na kovalentne i ionske (indeks postotnog udjela ionskog karaktera). Veća razlika u elektronegativnosti atomâ ugljika i metala pridonosi porastu ionskog karaktera veze te većoj reaktivnosti organometalnog spoja (slika 2.). Osim elektronegativnosti metala, na karakter C–M veze utječe i struktura organskog dijela molekule; ionski karakter raste ukoliko se karbanion može stabilizirati rezonancijskom delokalizacijom ili utjecajem elektron-odvlačećih supstituenata.



Slika 2. Nukleofilni karakter ugljikovog atoma iz organometalnog spoja

Nukleofilni ugljikov atom iz organometalnog spoja u reakciji s elektrofilnim ugljikovim atomom (iz alkil-halogenida, estera, aldehida, ketona) stvara novu vezu C-C čime se otvara mogućnost sinteze većih molekula iz manjih prekursora.

Do sada je u literaturi opisano pet glavnih područja koje objedinjuje bioorganometalna kemija i koji su joj od glavnog interesa istraživanja (slika 3.): Organometalni spojevi i terapija, Toksikologija i okoliš, Molekulsko prepoznavanje u vodenom mediju, Enzimi, peptidi i proteini te Bioanaliza i senzori.



Slika 3. Interesna područja bioorganometalne kemije

2.2. Peptidomimetici

Peptidi i proteini su (makro)biomolekule sastavljene iz prirodnih L-aminokiselina, čija je biološka aktivnost posljedica njihove dobro definirane trodimenzijske strukture, odnosno konformacije. Peptidi i proteini sudjeluju u svim životno važnih funkcijama (enzimskoj katalizi, prijenosu i pohrani drugih molekula, prijenosu živčanih impulsa, molekulskom prepoznavanju, kontroli rasta i diferencijaciji). Građeni su iz 20 proteinogenih aminokiselina povezanih amidnom (peptidnom) vezom. Peptidna veza je planarna i ima karakter dvostruke veze. Nasuprot tome, veze između alfa-ugljikova atoma i karbonilnoga ugljikova odnosno dušikova atoma jednostruke su veze oko kojih postoji visok stupanj rotacijske slobode. Trodimenzijsku građu proteina određuje slijed aminokiselina u njihovim lancima.

Primarna struktura peptida određena je slijedom aminokiselina koje su u polipeptidnom lancu vezane peptidnom vezom. Sekundarna i tercijarna struktura proteina označuju prostorni odnos susjednih ili udaljenih aminokiselinskih ostataka u linearnom slijedu aminokiselina, a granica je između tih dvaju strukturnih obilježja proizvoljna. Dvije pravilne opetovane konformacije polipeptidnog lanca sekundarne strukture, koje u kratkim odsječcima nalazimo u mnogim proteinima, a podržane su vodikovim vezama između CO- i NH-skupina, su α -uzvojnica i β -nabrana ploha.[8]

α -uzvojnica karakteriziraju vodikove veze između NH-skupine aminokiselinskog ostatka i i CO-skupine aminokiselinskog ostatka $i+4$ pri čemu se zatvaraju 13-člani prstenovi unutar istog lanca. β -nabrana ploha stabilizirana je vodikovim vezama između dvaju različitih polipeptidnih lanaca; ovisno o njihovom usmjerenju može biti paralelna (lanci su orijentirani u istom smjeru i tvore 12-člane prstenove), dok se u slučaju antiparalelne plohe izmjenjuju 10- i 14-člani prstenovi. Okreti imaju važnu ulogu u nabiranju proteina i doprinose njihovoj stabilnosti. Odgovorni su za kompaktni, globularni oblik proteinskih molekula, jer omogućavaju promjenu smjera polipeptidnih lanaca.

Tercijarna struktura opisuje prostorni odnos udaljenih aminokiselinskih ostataka (dijelovi polipeptidnog lanca koji su u linearnom slijedu udaljeni jedan od drugog njegovim se smatanjem mogu približiti). Kvaterna struktura odnosi se na proteine koji se sastoje od najmanje dva polipeptidna lanca, a opisuje njihovu relativnu orijentaciju.

Peptidi iako posjeduju veliki potencijal biološke i strukturne raznolikosti u svojoj primjeni u terapijske svrhe ograničeni su svojim nepovoljnim svojstvima kao na primjer: sklonost zauzimanju brojnih energetski ekvivalentnih konformacija koje omogućuju međudjelovanje s neželjenim receptorima kao i s proteolitičkim enzimima; nestabilnost u fiziološkim uvjetima te polarni karakter koji onemogućuje prolazak kroz staničnu membranu i

krvno-moždanu barijeru.[6] Modifikacija nepovoljnih farmakoloških i biofarmaceutskih svojstava prirodnih peptida s ciljem njihove kliničke primjene omogućena je uporabom odgovarajućih mimetika.

Peptidomimetici su peptidni ili nepeptidni spojevi koji kao ligandi mogu oponašati ili blokirati biološki učinak peptidnog receptora, odnosno spojevi čija su sekundarna strukturalna svojstva analogna prirodnim peptidima uslijed čega mogu oponašati njihove biološke funkcije.

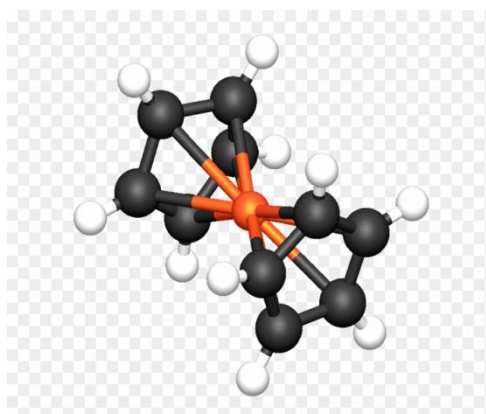
Opisano je nekoliko različitih pristupa u dizajnu i sintezi peptidomimetika:[9]

- ugradnja nepeptidnih kalupa u peptidnu sekvencu,
- zamjena peptidne veze nepeptidnim analogima,
- konjugacija aminokiselinskih bočnih ogranaka s malim molekulama,
- ciklizacija glavnog lanca.

Zajednički cilj svih gore navedenih pristupa pripreme peptidomimetika jest oponašanje ili mimikrija osnovnih motiva sekundarne strukture (α -uzvojnice, β -nabrane plohe te β - i γ -okretâ).[10]

2.3. Ferocen

1951. godine T. J. Kealy i P. L. Pauson su prilikom pripreme fulvalena, u reakciji ciklopentadienilnog magnezijevog-bromida i željezovog (III) klorida, dobili ferocen, narančasti prah iznimne stabilnosti (slika 4.).

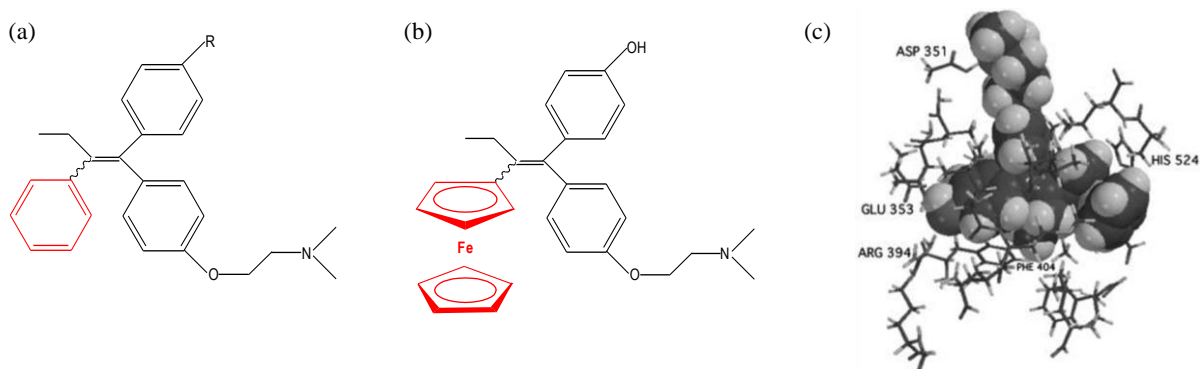


Slika 4. Kristali ferocena (*lijevo*), struktura ferocena (*desno*)

Njegovo otkriće dovelo je do intenzivnog istraživanja metalnih kompleksa aromatičnih ugljikovodika pod zajedničkim imenom metalloceni. Sam ferocen karakterizira struktura tzv.

"sendviča" jer se željezov atom nalazi između dva ciklopentadienilna prstena (Cp) i zbog prisutnosti izravne veze ugljik-metal klasificira se u skupinu organometalnih spojeva. Ferocen je iznimno stabilan spoj, bilo u vodenom ili aerobnom mediju, povoljnih elektrokemijskih svojstava te sam po sebi nije toksičan. Stabilnost ferocena proizlazi iz njegove aromatičnosti zbog 6-elektronske konfiguracije svakog prstena, a analogija s benzenom dokazana je Friedel-Craftsovim aciliranjem i drugim reakcijama elektrofilne supstitucije.

Jedan od najeksponiranijih bioorganometalnih terapeutika na bazi ferocena jest hidroksiferocifen, analog tamoksifena, citostatika koji se koristi u liječenju estrogen-ovisnih [ER(+)] karcinoma dojke. Zamjena jednog fenilnog prstena iz tamoksifena s ferocenom urodila je lijekom učinkovitim prema ER(+) i ER(-) tumorskim staničnim linijama. Točan mehanizam antiproliferativnog učinka hidroksiferocifena nije poznat, ali se na temelju molekuskog modeliranja pretpostavlja da se ferocifeni zahvaljujući interakciji s His524 i Asp351 vežu u aktivno mjesto estrogenog receptora što dovodi do željenog antagonističkog učinka (slika 5).[11]



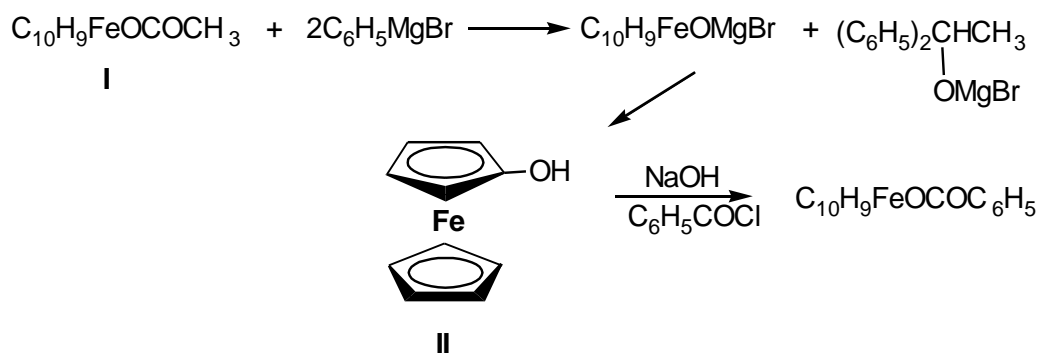
Slika 5. (a) Tamoksifen (R = H), (b) hidroksiferocifen, (c) vezivanje hidroksiferocifena za vezno mjesto estrogenog receptora

2.4. Ferocenski alkoholi

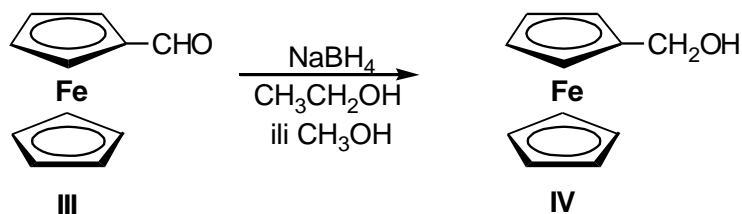
Kemijski gledano, hidroksilna skupina (–OH) je funkcionalna skupina koja se nalazi vezana u većim organskim molekulama kao što su šećeri, fenolni spojevi i alkoholi. Biološki je iznimno bitna budući da kao donor ili akceptor formira vodikove veze, te tako utječe na povećanje hidrofilitnosti i topljivosti u vodenom mediju.

2.4.1. Priprava ferocenskih alkohola

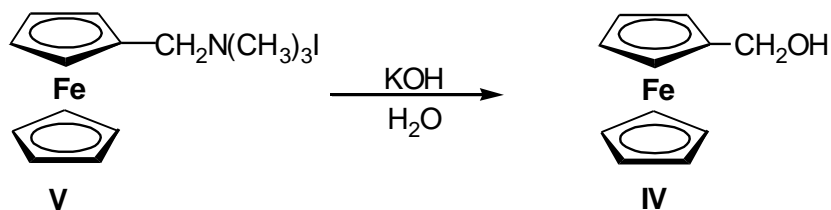
(i) Najniži homolog ferocenskih alkohola, nestabilni hidroksiferocen ili ferocenol (**II**) pripravlja se reakcijom ferocenilacetata (**I**) s fenilmagnezijevim bromidom, uz naknadnu obradu s CO₂. [12]



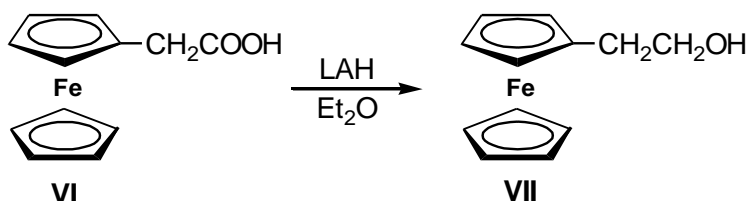
(ii) Njegov viši homolog ferocenil-metanol (**IV**) pripravlja se redukcijom ferocenkarbaldelida (**III**) s NaBH₄. [13]



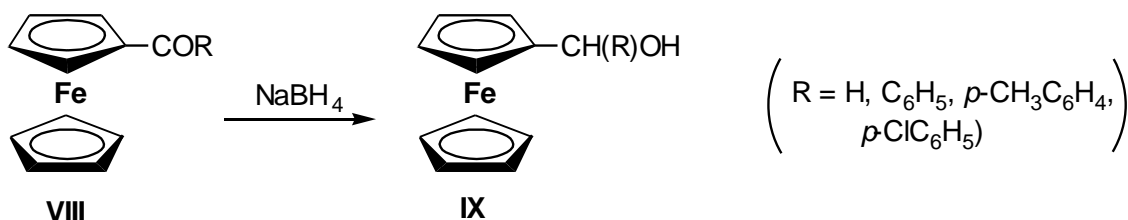
U Laboratoriju za organsku kemiju PBF-a isti spoj pripravljen je hidrolizom *N,N,N*-trimetilferocilamonijeva jodida (**V**). [14]



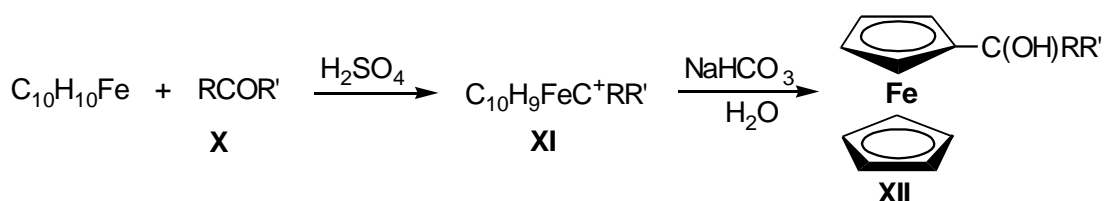
(iii) Ferocetil-etalol (**VII**) s dimetilenskom razmaknicom između hidroksilne skupine i ferocenske jezgre pripravlja se redukcijom ferocetiloktene kiseline (**VI**) s LiAlH_4 u eteru pri sobnoj temperaturi.[14, 15]



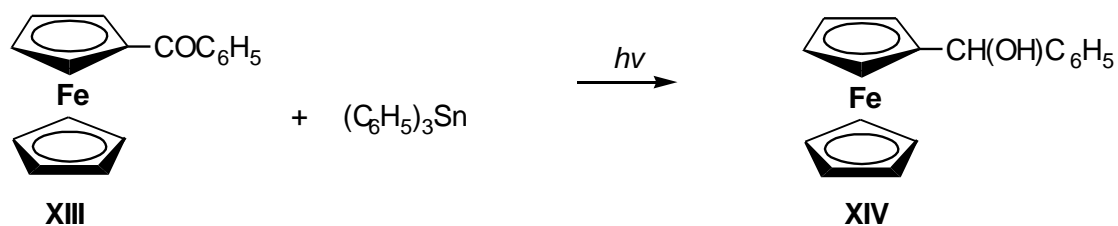
(iv) Kiralni monokarbinoli **IX** dobivaju se redukcijom acilferocena **VIII** djelovanjem NaBH_4 . [16]



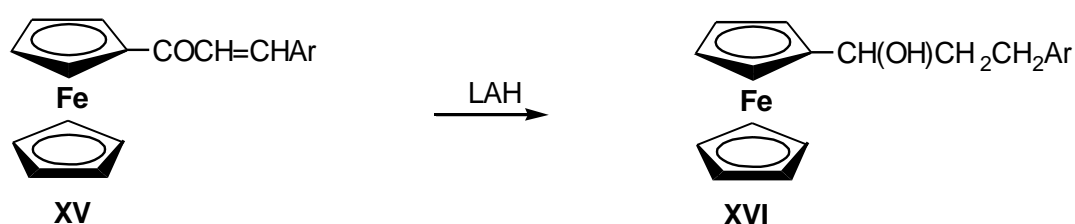
(v) Kondenzacijom ferocena s karbonilnim spojevima **X** u koncentriranoj sumpornoj kiselini nastaje α -alkilferocetilmetanol (**XII**) preko odgovarajućeg α -ferocetilnog karbokationa **XI**. [17]



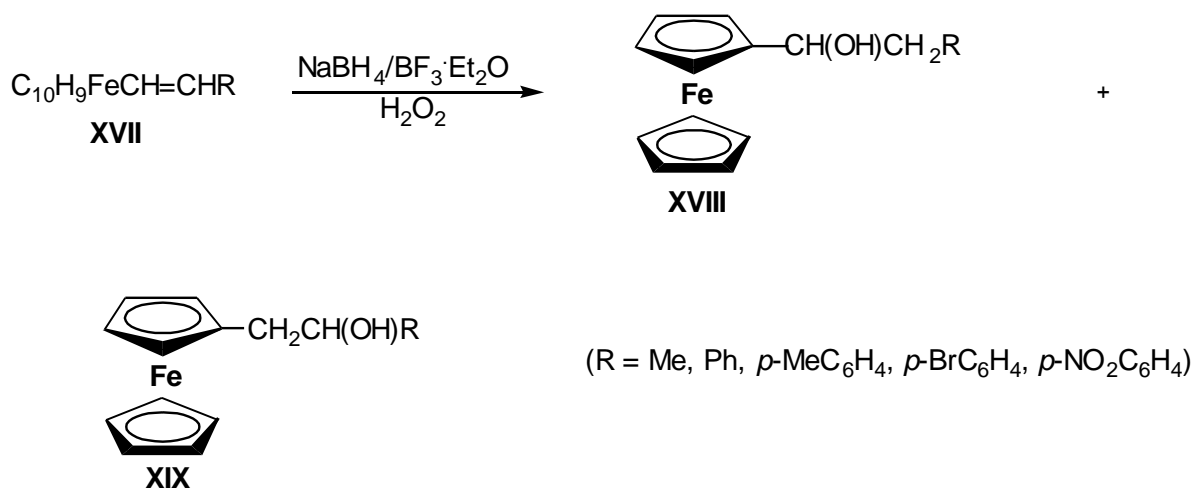
Ferocetilkarbinoli **XIV** također mogu nastati redukcijom ferocetil-ketona **XIII** s trifenilkositrovim(IV) hidridom uz UV-zračenje ili u prisutnosti azobisisobutironitrila.[18]



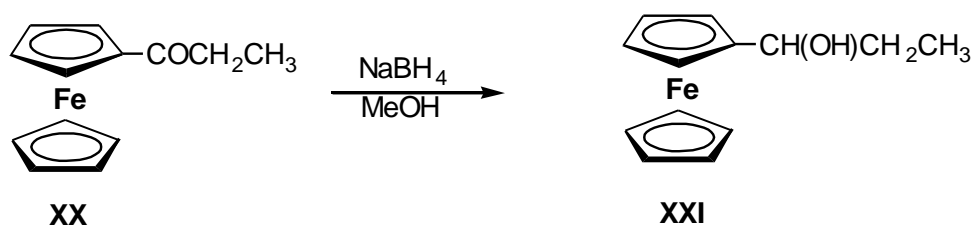
(vi) Redukcijom karbonilne skupine i dvostruke veze iz β -arilvinil-ferocenil-ketona (**XV**) djelovanjem LAH u smjesi THF i etera nastaje alkohol **XVI**. [19]



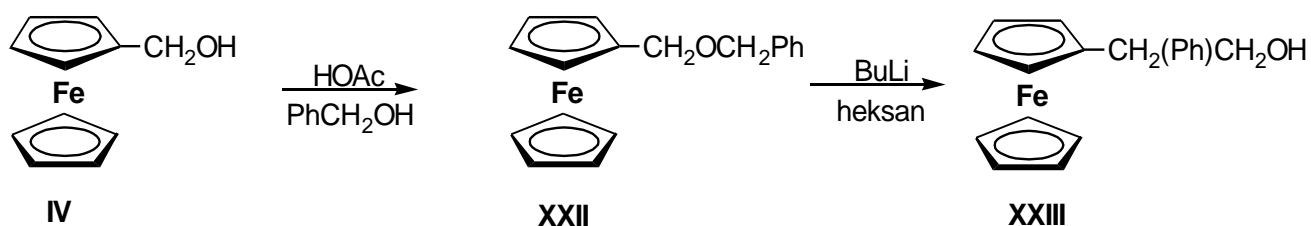
(vii) Redukcijom ferocenilalkena **XVII** smjesom NaBH_4 i $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ u THF, uz naknadnu oksidaciju s H_2O_2 , nastaje smjesa α - i β -alkohola **XVIII** i **XIX** u različitim omjerima. [20]



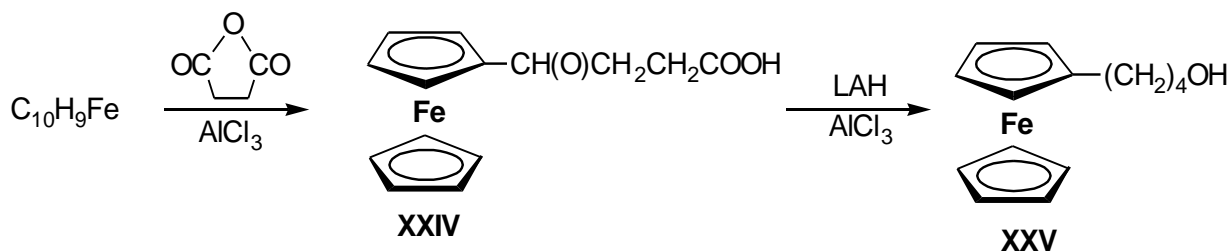
Kiralni alkohol **XXI** (R = Me) u našem je Laboratoriju pripremljen redukcijom metanolne otopine odgovarajućeg ketona **XX** s NaBH_4 . [14]



(viii) 2-Ferocenil-1-feniletanol (**XXIII**) pripravljen je u našem Laboratoriju reakcijom benzilferocil-etera (**XXII**) otopljenog u suhom THF dokapavanjem heksanske otopine BuLi.[14]



(ix) Viši derivati ferocenskih alkohola u kojima je hidroksilna skupina preko metilenskih razmaknica različitih duljina vezana na ferocensku jezgru mogu se pripremiti redukcijom odgovarajućih ferocenskih kiselina s LAH.[13] Sinteza 2-ferocenilbutan-1-ola (**XXV**) iz γ -ketokiseline **XXIV** može poslužiti kao primjer takve sinteze.



2.4.2. Biološka aktivnost ferocenskih alkohola

Swarts i suradnici ispitivali su odnos strukture i aktivnosti (citotoksičnosti) serije ferocenskih alkohola **XXVI** prateći njihov utjecaj *in vitro* na stanične linije HeLa (humani karcinom cerviksa) kroz 7 dana kontinuirane inkubacije.[21] Utvrđeno je da su alkoholi s duljim metilenskim razmaknicama aktivniji (pokazuju niži redukcijski potencijal zbog čega lakše podliježu enzimskoj oksidaciji, generirajući tako aktivne ferocenske vrste) (tablica 1).

Tablica 1. Kemosenzitivnost lijekova (izražena kao IC₅₀)

C ₁₀ H ₉ Fe(CH ₂) _m OH (XXVI)	E ^o /V ^b	IC ₅₀ /μM
<i>m</i> = 1	0.111	>100
<i>m</i> = 2	0.029	35.0
<i>m</i> = 3	0.029	17.0
<i>m</i> = 4	0.026	5.7

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

Sve kemikalije korištene u sintezi bile su analitičke čistoće, dok su otapala korištena u radu pročišćena prema standardnim postupcima.[22]

3.2. Metode

Tijek reakcija i kontrola čistoće sintetiziranih spojeva ispitivani su tankoslojnom kromatografijom (TLC) na pločicama silikagela (Fluka Silica Gel) s fluorescentnim indikatorom (254 nm). Produkti su pročišćeni tankoslojnom preparativnom kromatografijom na silikagelu ("Merck", Kieselgel 60 HF₂₅₄) uporabom smjesâ diklormetan/etil-acetat = 5:1 kao eluensâ. Karakterizacija sintetiziranih spojeva provedena je pomoću infracrvene spektroskopije (IR), nuklearne magnetske rezonance (NMR), elementarne analize i tekućinske kromatografije visoke razlučivosti sa spektrometrijom masa (HPLC-MS). Tališta su određena na Reichert Thermovar HT 1 BT 11 i nisu korigirana.

IR-spektri uzoraka snimljeni su na spektrofotometru Bomem MB 100 u CH₂Cl₂.

¹H- i ¹³C-NMR-spektri određeni su u CDCl₃, Bruker Advance DRX 400 uz tetrametilsilan kao unutrašnji standard. Kemijski pomaci (δ) izraženi su u ppm.

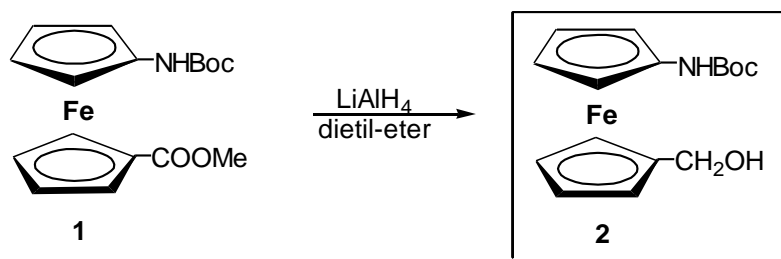
Maseni spektri izmjereni su na Agilent Technologies 6410 Triple Quadrupole Mass Spectrometer (MS ionizacija).

DFT-računi načinjeni su pomoću programa Gaussian 09/DFT (B3LYP, MO6 i MO6-2X).

Sinteza Boc-Fca (**1**) opisana je u literaturi [23], a spektroskopski podaci odgovaraju literaturnima.

3.2.1. Sinteza (*tert*-Butil-1'-(hidroksimetil)ferocenilkarbamata)

HO₂HC-Fn-NHBoc



Shema 1. Sinteza ferocenskog alkohola (**HO₂HC-Fn-NHBoc**)

Otopini spoja **1** (200 mg, 0,56 mmol) u suhom dietil-eteru (15 mL) oprezno se doda LiAlH₄ (50 mg), te se napredak reakcije prati kromatografski. Nakon što je utvrđena potpuna potrošnja početnog spoja, te tvorba produkta, reakcija se prekida dodatkom hladne vode u obrocima. Reakcijska smjesa ekstrahira se dietil-eterom, ispere vodom i zasićenom otopinom NaCl te se suši na bezvodnom Na₂S₀₄. Sirovi produkt pročisti se tankoslojnom preparativnom kromatografijom (dikormetan : etilacetat = 5 : 1) pri čemu se dobije 145 mg (78%) produkta **2** u obliku žutih kristala.

IR (CH₂Cl₂) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3602 j (OH_{slobodna}), 3433 j (NH_{slobodna}), 1706 j (C=O_{Boc}).

$t_f = 113-117$ °C.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ/ppm : 5.96 (s, 1H, NH); 4.43 (s, 2H, Fn); 4.39 (s, 2H, Fn); 4.15 (s, 4H, Fn); 3.98 (pt, 2H, CH_{2Fn}); 3.07 (br s, 1H, CH_{2OH}); 1.50 [s, 9H, (CH₃)_{3-Boc}].

¹³C-NMR, APT (75 MHz, CDCl₃) δ/ppm : 153.99 (CO_{Boc}); 96.72 (Cq_{Boc}); 80.85 (C-1, Fn); 68.59 (2C, Fn); 67.98 (2C, Fn); 62.94 (C-1', Fn); 64.54 (4C, Fn); 60.56 (CH_{2Fn}); 28.54 [(CH₃)_{3-Boc}].

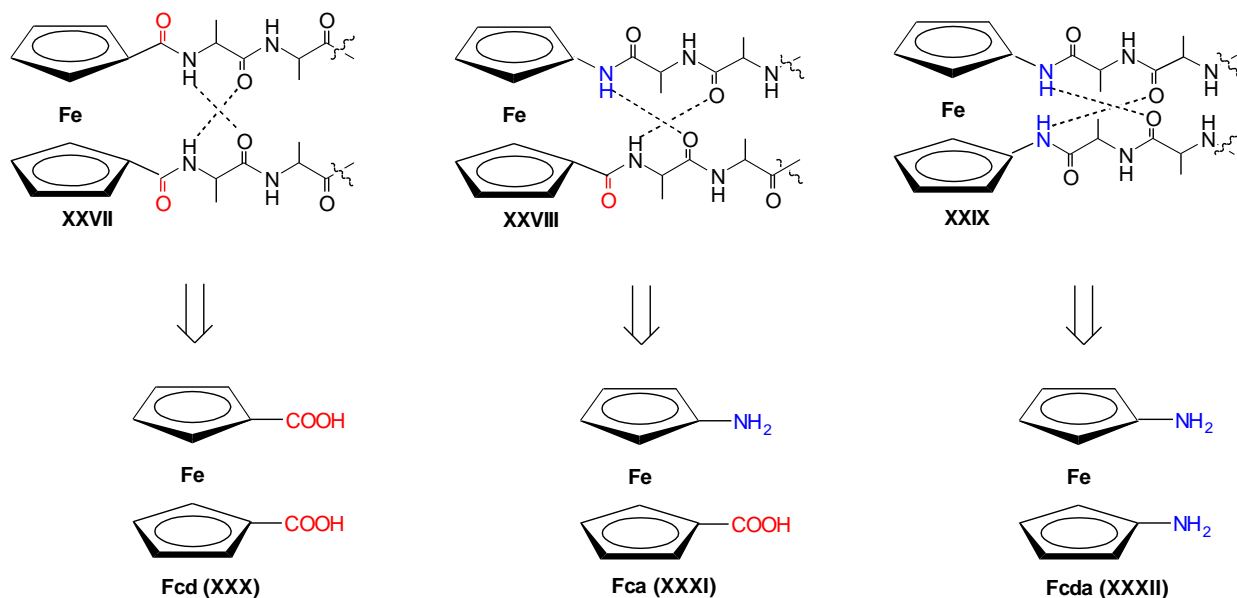
Elementarna analiza za C₁₆H₂₁NO₃Fe (331,196): C 58.02, H 6.39, N 4.23%.
Pronađeno: C 58.21, H 6.27, N 4.05%.

ESI-MS: izračunato za C₁₆H₂₁NO₃Fe: 331,2; dobiveno [M+H]⁺ na m/z 332,1.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Uvod

Kako je spomenuto u Uvodu, tvorba malih ferocenskih molekula koje mogu poslužiti kao sintoni za tvorbu kompleksnijih molekula, od iznimne je važnosti u kemiji. Poznato je nekoliko ferocenskih sintona koji su prikazani na slici 6.[24]

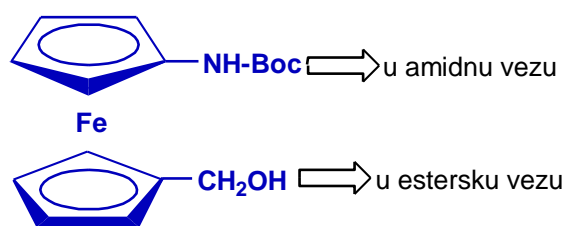


Slika 6. Ferocenski peptidi **XXVII-XXIX** izvedeni iz Fcd (**XXX**), Fca (**XXXI**) i Fcda (**XXXII**)

(IHB označene su isprekidanim crtama)

Spojevi koji nastaju konjugacijom takvim sintona s aminokiselinama- 1,1'-disupstituirani feroceni- nameću se kao učinkoviti bioorganometalni „kalupi“ zahvaljujući sposobnosti indukcije kiralnog uređenja u pripadajućim peptidima $\text{Fn}[\text{CO}(\text{AA})_m\text{OMe}]_2$ (**XXX**)[25] i $\text{Y}(\text{AA})_n\text{Fca}(\text{AA})_m\text{OMe}$ (**XXXI**)[26] [Fn = ferocenilen, Fca = 1'-aminoferocen-1-karboksilna kiselina, AA = prirodna aminokiselina, Y = Ac (acetil), Boc (*tert*-butoksikarbonil), $m = 1, 2, \dots$; $n = 1, 2, \dots$] i $\text{Y}(\text{AA})_n\text{NH-FN-NH}(\text{AA})_m\text{Y}$ (**XXXII**)[27].

Ferocenski alkohol koji je pripremljen u ovom Završnom radu, predstavlja novi ferocenski kalup (slika 7.), budući da se deprotekcijom amino skupine gornji lanac može ugraditi u peptidnu vezu, dok hidroksilna skupina na donjem lancu može poslužiti kao prekursor za tvorbu esterske veze. Takvi spojevi predstavljaju potentne molekule za sintezu depsipeptida.



Slika 7. Ferocenski alkohol **2** kao sinton za tvorbu depsipeptida

U sklopu Diplomskog rada koji je izrađen u Laboratoriju za organsku kemiju, već je pripremljen HO₂HC-Fn-NHBoc, ali višestupanjskom sintezom koja je zahtijevala šest zahtijevnih koraka.[28, 29]

Priprava alkohola **HO₂HC-Fn-NHBoc** opisana u ovom radu sastojala se iz redukcije karbonilne skupine estera ferocenske amonikiseline uz reducirajući reagens, LiAlH₄. Rezultirajući alkohol dobiven je u visokom iskorištenju od 78% u obliku žutog praha koji je iskristalizirao u obliku žutih duguljastih kristala.

Struktura pripremljenih spojeva potvrđena je spektralnom analizom: NMR- i IR-spektroskopijom.

¹H-NMR spektar ferocenskog alkohola **2** sadrži singlete protona amidne odn. hidroksilne skupine pri δ 5.96, odn. 3.07 ppm. 9 protona iz zaštitne skupine nalazi se u obliku singleta pri 1.50 ppm, dok se ferocenski protoni iz ciklopentadienilnih prstenova nalaze pri 4.43, 4.39 i 4.15 ppm u obliku tri singleta sa ukupno 8 protona. Pri 3.98 ppm javlja se signal metilne skupine alkohola.

U ¹³C-NMR spektru alkohola **2** vidljiv je signal samo jedne karbonilne skupine pri δ 153.99 ppm koja pripada karbonilu iz zaštitne skupine. Singlet metilne skupine koja povezuje hidroksilnu grupu i ferocensku jezgru prikazuje se pri δ 60.56 ppm.

Pretvorbu ferocenske aminokiseline **1** u odgovarajući alkohol **2** pratili smo i IR-spektroskopijom pri čemu je intenzitet signala esterskog karbonila (~1715 cm⁻¹) nestao. Završetak pretvorbe označio je nestanak signala u navedenom području, te javljanje nove, jake apsorpcijske vrpce pri 3602 cm⁻¹ koja odgovara hidroksilnoj skupini u molekuli **2**.

4.2. NMR- i IR-spektroskopija

IR-spektroskopija je metoda koja daje pouzdan uvid u konformacijski prostor peptida u otopini. Istezne frekvencije NH-skupina u području nižem od 3400 cm^{-1} ukazuju na njihovo sudjelovanje u vodikovim vezama, dok se signali iznad 3400 cm^{-1} pripisuju slobodnim NH-skupinama. Isto tako, apsorpcijske vrpce OH-skupina u području $3650\text{--}3590\text{ cm}^{-1}$ ukazuju na slobodne OH-skupine, dok vrpce pri $3550\text{--}3450\text{ cm}^{-1}$ indiciraju njihovo sudjelovanje u vodikovim vezama. Karakter vodikove veze (inter- ili intramolekulski) određuje se mjerenjem koncentracijski-ovisnih IR-spektara. Postupnim razrjeđivanjem otopine ispitivanog uzorka cijepaju se intermolekulske vodikove veze uslijed čega znatno opada intenzitet njihovih signala u području u kojemu skupine sudjeluju u IHB vezama. Ukoliko su, pak, u molekuli prisutne intramolekulske vodikove veze njihov intenzitet razrjeđivanjem slabi proporcionalno slabljenju signala slobodne OH- i NH-skupine.

Signal pri 3433 cm^{-1} u IR-spektru $\text{HO}_2\text{HC-Fn-NHBoc}$ pripisuje se njegovim slobodnim NH-skupinama, dok signal pri 3602 cm^{-1} ukazuju na slobodne OH-skupine. Zbog toga niti ne možemo razgovarati o karakteru IHB veza, budući da nema asociраних OH- i NH-skupina.

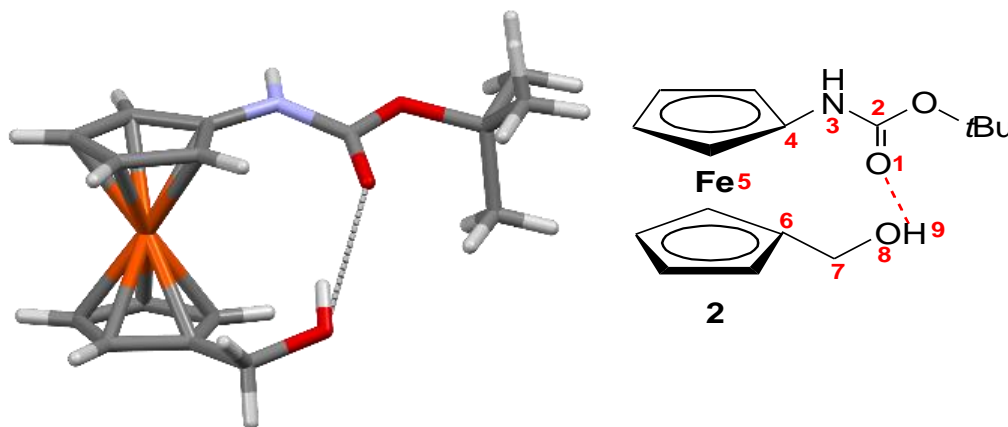
NMR-spektroskopska analiza omogućava jasniji uvid u obrasce vodikovih veza, prethodno indiciranih IR-spektroskopijom. Naime, tom je tehnikom moguće razlikovati pojedine NH-skupine u molekuli te na temelju njihovih kemijskih pomaka zaključiti sudjeluju li u vodikovim vezama (kemijski pomaci iznad 7 ppm pripisuju se asociраним NH-skupinama). Dakako, pri tome treba imati na umu da registrirani protonski kemijski pomak predstavlja prosjek svih doprinosećih konformacija zahvaljujući brzom ravnoteži između slobodnih i vezanih stanja.

NH-skupina iz NHBoc registrirana je pri višem polju u ^1H NMR-spektru, pri 5.96 ppm. Sam pomak amidnog protona indicira da NH skupina ne sudjeluje u IHB.

Može se zaključiti na temelju analize IR- i NMR-spektralnih podataka, da u otopini ne dolazi do tvorbe IHB.

4.3. Kristalografska analiza

Rendgenskom strukturnom analizom alkohola **2** dobili smo točne trodimenzionalne podatke o njegovoj geometriji (slika 8, *lijevo*). Opaža se intramolekulska vodikova veza O-H \cdots O=C koja zatvara 9-člani prsten (slika 8, *desno*).

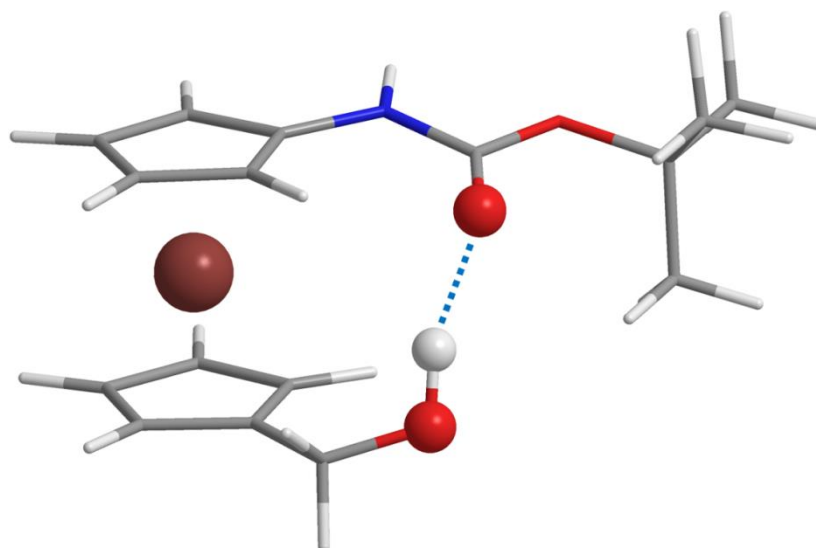


Slika 8. Molekulska struktura alkohola **2** u čvrstom stanju: IHB (*lijevo*) i shematski prikaz (*desno*)

4.4. DFT-modeliranje

DFT (teorija funkcionala gustoće, *engl.* Density Functional Theory) je računalna metoda koja može poslužiti za proučavanje konformacijskog prostora koje zauzimaju ferocenski spojevi.[30]

Na slici 9. prikazane su konformacije alkohola **2** dobivene optimizacijom struktura stabiliziranih intramolekulskim vodikovim vezama na razini MO6 i MO6-2X u čvrstom stanju. Najstabilniju konformaciju (0.0 kJ mol⁻¹) karakterizira intramolekulska vodikova veza uspostavljena između karbonilne skupine iz zaštitne skupine i vodika iz hidroksilne skupine koja zatvara 9-člani prsten (OH \cdots OC_{Boc}) (slika 9).



Slika 9. Najstabilniji konformeri **2** optimizirani MO6/6-31G(d) funkcionalom s prikazanim vodikovim vezama

5. ZAKLJUČCI

- Sintezom u jednom koraku optimizirano je dobivanje ferocenskog alkohola **HO₂HC-Fn-NHBoc** u visokom iskorištenju.
- Struktura spoja potvrđena je IR- i NMR-spektroskopijom. Signal koji se javlja u ¹H-NMR spektru pri 3.98 ppm odgovara metilnoj skupini alkohola, dok se proton iz hidroksilne skupine javlja pri 3.07 ppm. U ¹³C-NMR spektru nestali su signali esterske skupine iz prekursora **1** (Fca), a singlet metilne skupine koja povezuje hidroksilnu grupu i ferocensku jezgru prikazuje se pri δ 60.56 ppm.
- Konformacijskom analizom pripremljenog alkohola u otopini, a na temelju IR-spektara nema indikacija za sudjelovanje protona iz NH-, odnosno OH-skupine u vodikovoj vezi.
- Rendgenskom strukturnom analizom alkohola **2** utvrđena je intramolekulska vodikova veza O-H···O=C koja zatvara 9-člani prsten.
- DFT-modeliranjem dobivena je najstabilnija konformacija koja odgovara strukturi dobivenoj kristalografskom analizom.
- U nastavku istraživanja ispitat će se antioksidacijska aktivnost alkohola, te će se isti iskoristiti za sintezu dosad neistraženih ferocenskih depsipetida.

6. LITERATURNI IZVORI

- [1] Jaouen G. (2006), *Bioorganometallics: Biomolecules, Labeling, Medicine*. John Wiley & Sons, str. 1-31.
- [2] Simonneaux G. (2006), *Bioorganometallic Chemistry (Topics in Organometallic Chemistry)*, Springer-Verlag, str. 1-55.
- [3] Gasser G., Ott I., Metzler-Nolte N. (2011) Organometallic Anticancer Compound. *Journal of Medicinal Chemistry* **54**: 3-25.
- [4] Therrien B. (2012) Drug delivery by water-soluble organometallic cages. *Topics in Current Chemistry* **319**: 35-56.
- [5] Štepička P. (2006) *Ferrocenes: Ligands, Materials and Biomolecules*, 1. izd., John Wiley & Sons Ltd.
- [6] Jerić I. (2004) Peptidni mimetici: zašto i kako? *Kemija u industriji* **53**: 495-504.
- [7] Popović Z. (2012) Osnove kemije organometalnih spojeva, Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- [8] Stryer L. (1991), *Biokemija*, 2. izd. (preveli S. Vuk-Pavlović i Ž. Kućan), Školska knjiga.
- [9] Livnah N., Yechezkel T. (2005) *Bulletin of the Israel Chemical Society* **20**: 32-42.
- [10] Ross N. T., Katt W. P., Hamilton A. D. (2010) Synthetic mimetics of protein secondary structure domains. *Philosophical Transaction of the Royal Society A* **368**: 989-1008.
- [11] Jaouen G., Top S., Vessières A., Leclercq G., McGlinchey M. J. (2001) The first organometallic selective estrogen receptor modulators (SERMs) and their relevance to breast cancer. *Current Medicinal Chemistry* **11**: 2505-2517.
- [12] Nesmeyanov A. N., Sazonova V. A., Drozd V. N. (1959) Hydroxyferrocene. *Tetrahedron* **17**: 13-15.
- [13] Davis W. L., Shago R. F., Langner E. H. G., Swarts J. C. (2005) Synthesis and electrochemistry of a series of ferrocene-containing alcohols. *Polyhedron* **24**: 1611-1616.
- [14] Alagić-Ibrahimpašić J. (2002) Magistarski rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- [15] Reinhart K. L., Curby R. J., Sokol P. E. (1957) The Preparation of w-Ferrocenyl. Aliphatic Acids. *Journal of American Chemical Society* **79**: 3420-3424.
- [16] C. Moise, I. Tirouflet, *Bulletin de la Société Chimique de France* **1** (1971) 2656-2665.
- [17] Misterkiewicz B. (1982) A simple synthesis and purification of 1-ferrocenylalkyl alcohols. *Journal of Organometallic Chemistry* **224**: 43-47.
- [18] Coye J. D., Marr G. (1973) Photochemical reactions of ferrocenyl ketones. *Journal of Organometallic Chemistry* **60**: 153-156.

- [19] Kalenikov E. A., Pauškin J. M., Tkalčeva V. G., Šigelj J. A. (1975) *Doklady Akademii Nauk SSSR*. **19**: 443-445.
- [20] Sterzo C. L., Ortaggi G. (1984) Hydroboration of ferrocenylalkenes: mechanistic and synthetic aspects. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transaction II*: 345-348.
- [21] Shago R. F., Swarts J. C., Kreft E., van Rensburg C. E. J. (2007) Antineoplastic activity of a series of ferrocene-containing alcohols. *Anticancer Research* **27**: 3431-3434.
- [22] Perrin D. D., Armarego W. L. F. (1988) Purification of laboratory chemicals, Pergamon Press.
- [23] Barišić L., Rapić V., Kovač V. (2002) Ferrocene Compounds. XXIX.* Efficient Syntheses of 1'-Aminoferrocene-1-carboxylic Acid Derivatives. *Croatica Chemica Acta* **75**: 199-210.
- [24] Kirin S. I., Kraatz H.-B., Metzler-Nolte N. (2006) Systematizing Structural Motifs and Nomenclature in 1,*n*-Disubstituted Ferrocene Peptides. *Chemical Society Reviews* **35**: 348-354.
- [25] Moriuchi T., Hirao T. (2012) Dipeptide-Induced Chirality Organization. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* **74**: 23-40.
- [26] Barišić L., Dropučić M., Rapić V., Pritzkow H., Kirin S.I., Metzler-Nolte N. (2004) The first oligopeptide derivative of 1'-aminoferrocene-1-carboxylic acid shows helical chirality with antiparallel strands. *Chemical Communications* 2004-2005.
- [27] Kovačević M., Kodrin I., Cetina M., Kmetič I., Murati T., Čakić Semenčić M., Roca S., Barišić L. (2015) The conjugates of ferrocene-1,1'-diamine and amino acids. A novel synthetic approach and conformational analysis. *Dalton transactions* **44**: 16405-16420.
- [28] Mamić M. (2010) Priprava ferrocenskih konjugata s ugljikohidratima, Diplomski rad Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- [29] Barišić L., Kovačević M., Mamić M., Kodrin I., Mihalić Z., Rapić V. (2012) Synthesis and Conformational Analysis of Methyl *N*-Alanyl-1'-aminoferrocene-1-carboxylate. *European Journal of Inorganic Chemistry* **11**: 1810-1822.
- [30] Kodrin I. (2011) Doktorska disertacija, Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Zadnja stranica završnog rada

(uključiti u konačnu verziju završnog rada u pdf formatu, kao skeniranu potpisanu stranicu)

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Kristina Powlis
ime i prezime studenta