

mgr Karolina Chrabąszcz

Synteza i aktywność biologiczna
metaloorganicznych pochodnych kwasu
foliowego oraz wybranych inhibitorów
polimeryzacji tubuliny

Promotor: dr hab. Damian Plażuk, prof. UŁ
Promotor pomocniczy: dr Błażej Rychlik

Katedra Chemii Organicznej
Wydział Chemii
Uniwersytet Łódzki

Łódź, maj 2021

*Składam serdeczne podziękowania mojemu promotorowi Panu
dr. hab. Damianowi Plażukowi, prof. UŁ, za cierpliwość, przekazaną
wiedzę, ogromne wsparcie merytoryczne i wiele cennych wskazówek,
bez których ta praca by nie powstała.*

*Serdecznie dziękuję promotorowi pomocniczemu Panu
dr. Błażejowi Rychlikowi za cenne uwagi, pomoc i życzliwość.*

*Szczególne podziękowania składam również Rodzicom i Tomkowi
za wsparcie oraz wiarę, jakimi obdarzają mnie każdego dnia.*

Badania wchodzące w skład przedłożonej rozprawy doktorskiej prowadzono pod opieką naukową dr. hab. Damiana Płażuka, prof. UŁ oraz dr. Błażeja Rychlika, w okresie od listopada 2016 r. do maja 2021 r. w Katedrze Chemii Organicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego.

Przedstawiona rozprawa doktorska została zrealizowana w ramach projektów badawczych finansowanych ze środków Narodowego Centrum Nauki, umowy nr 2015/17/B/NZ7/03011 oraz 2018/29/B/ST5/01736



N A R O D O W E C E N T R U M N A U K I

Spis treści

1.	Streszczenie w języku polskim	7
2.	Streszczenie w języku angielskim.....	8
3.	Wykaz stosowanych skrótów	9
4.	Przegląd literatury	13
4.1	Wprowadzenie	13
4.2	Modulatory polimeryzacji tubuliny.....	15
4.3	Inhibitory topoizomerazy II	17
4.4	Kwas foliowy i jego rola w komórce	21
4.5	Inhibitory białek ABC.....	24
4.6	Początki chemii biometaloorganicznej.....	27
4.7	Metaloceny	31
4.7.1	Wybrane ferrocenylowe pochodne o właściwościach przeciwnowotworowych	35
5.	Cel pracy	47
6.	Badania własne	49
6.1	Metalocenowe analogi etopozydu.....	49
6.1.1	Synteza 1 <i>H</i> -1,2,3-triazolowych analogów etopozydu.....	49
6.1.2	Synteza aminowych analogów etopozydu	52
6.1.3	Badania aktywności biologicznych metalocenowych analogów etopozydu.....	55
6.2	Ferrocenylowe analogi tryprostatyny A.....	63
6.2.1	Synteza analogów tryprostatyny A – zastąpienie podstawnika indolowego.....	63
6.2.2	Synteza analogów tryprostatyny A – modyfikacja proliny	74
6.2.3	Badania aktywności biologicznej analogów tryprostatyny A	77
6.3	Ferrocenylowe analogi kwasu foliowego i metotreksatu.....	87
6.3.1	Synteza ferrocenylowych analogów kwasu foliowego	87
6.3.2	Synteza ferrocenylowych analogów metotreksatu	94
6.3.3	Badania aktywności biologicznych ferrocenylowych analogów kwasu foliowego	97
6.4	Podsumowanie	99
7.	Wzory aminokwasów stosowanych w pracy	100
8.	Część eksperymentalna	101
8.1	Informacje ogólne	101
8.2	Synteza metalocenowych analogów etopozydu	103
	Procedura ogólna A – synteza ω -alkynoilometalocenów – acylowanie metalocenów kwasami karboksylowymi w obecności TFAA i TfOH.....	103
	Procedura ogólna B – synteza kwasów ω -metalocenylo- ω -oksoalkanowych –acylowanie metalocenów bezwodnikami kwasowymi w obecności chlorku glinu	106
	Procedura ogólna C – synteza estrów oraz kwasów ω -metalocenyloalkanowych – redukcja grupy ketonowej metodą Clemmensa	108
	Procedura ogólna D – synteza kwasów ω -metalocenyloalkanowych –zasadowa hydroliza ω -metalocenyloalkanianów metylu/etylu.....	110

Procedura ogólna E – synteza ω -ferrocenyloalkan-1-oli – redukcja grupy karboksylowej za pomocą tetrahydroglinianu litu	111
Procedura ogólna F – synteza ω -ferrocenyloalkanali – utlenianie ω -ferrocenyloalkan-1-oli metodą Swerna	113
Procedura ogólna G – synteza tioestrów S-etylowych	115
Procedura ogólna H – synteza ω -rutenocenyloalkanali – redukcja ω -rutenocenyloalkanianów S-etylowych.....	117
Procedura ogólna I – synteza 1 <i>H</i> -1,2,3-triazolowych analogów etopozytu – reakcja 1,3-dipolarnej cykloaddycji azydowo-alkinowej.....	120
Procedura ogólna J – synteza aminowych analogów etopozytu –aminowanie redukcyjne..	129
8.3 Synteza analogów Tryprostatyny A	135
Procedura ogólna K – synteza amidów aminokwasów	135
Procedura ogólna L – synteza 1,1-dibromo-2-(ferrocenylofenylo)etenów – reakcja Coreya-Fuchsa.....	137
Procedura ogólna M – synteza (ferrocenylofenylo)acetylenów	139
Procedura ogólna N – synteza kwasów ferrocenylopropynowych – reakcja karboksylowania acetylenów.....	141
Procedura ogólna O – synteza amidów – reakcja sprzęgania kwasów i amidów aminokwasów w obecności DIC i HOBt.....	143
Procedura ogólna P – synteza analogów tryprostatyny A – cyklizacja amidów	154
8.4 Synteza analogów kwasu foliowego i metotreksatu.....	165
Procedura ogólna R – synteza wiązania peptydowego na żywicy 2-chlorotrytylowej, synteza żywic 355-357	171
Procedura ogólna S – synteza wiązania peptydowego na żywicy 2-chlorotrytylowej, synteza żywic 358-371	172
Procedura ogólna T – synteza ferrocenyloowych analogów kwasu foliowego 377-391, reakcja sprzęgania azydku 376 do peptydów na żywicy	176
Procedura ogólna U – synteza ferrocenyloowych analogów metotreksatu 397-399, reakcja sprzęgania 396 do peptydów na żywicy	182
9. Literatura cytowana.....	185
10. Działalność naukowa.....	197
10.1 Udział w projektach badawczych.....	197
10.2 Spis komunikatów konferencyjnych	197
10.2.1 Komunikaty ustne.....	197
10.2.2 Komunikaty posterowe.....	198
10.3 Pozostała działalność.....	199

1. Streszczenie w języku polskim

Wprowadzenie ugrupowania metallocenowego do cząsteczki związku organicznego może skutkować pojawieniem się lub wzrostem aktywności biologicznych. Wiele prac naukowych potwierdza, że związki metaloorganiczne, często posiadając inny mechanizm działania niż związki organiczne, mogą zostać wykorzystane do projektowania potencjalnych chemioterapeutyków o wyższej selektywności, biodostępności i niskiej toksyczności.^{1, 2, 3-4}

Tematyka niniejszej rozprawy doktorskiej obejmuje syntezę i badania wpływu grupy metallocenowej na właściwości biologiczne wybranych inhibitorów polimeryzacji tubuliny oraz pochodnych kwasu foliowego i metotreksatu. Przedstawiłam syntezę oraz wyniki badań aktywności biologicznej ferrocenyłowych oraz rutenocenyłowych *1H*-1,2,3-triazolowych i aminowych analogów etopozyny, ferrocenyłowych analogów tryprostatyny A oraz ferrocenyłowych analogów kwasu foliowego i metotreksatu.

2. Streszczenie w języku angielskim

The introduction of a metallocene moiety into an organic compound molecule may result in the appearance or significant increase in biological activities. Many scientific works confirm that organometallic compounds, often having a different mode of action than organic compounds, can be used to design potential chemotherapeutic agents with higher selectivity, bioavailability and low toxicity.^{1, 2, 3-4}

The subject of this thesis covers the synthesis and research on the influence of the metallocene group on the biological properties of selected inhibitors of tubulin polymerization as well as folic acid and methotrexate derivatives. The synthesis and results of the biological activity of ferrocenyl and rutenocenyl *1H*-1,2,3-triazole and amine analogs of etoposide, ferrocenyl analogs of tryprostatin A and ferrocenyl analogs of folic acid and methotrexate are presented.

3. Wykaz stosowanych skrótów

ABC - (ang. *ATP-binding cassette*) - kaseta wiążąca ATP

Ac - acetyl

ACN - (ang. *acetonitrile*) - acetonitryl

APC - (ang. *allophycocyanin*) - allofikocyjanina

BCECF - (ang. *2',7'-bis(2-carboxyethyl)-5(6)-carboxyfluorescein*) - 2',7'-bis-(2-karboksyetylo)-5-(6)-karboksylfluoresceina

br. s - poszerzony singlet

d - dublet

DCM - (ang. *dichloromethane*) - dichlorometan

dd - dublet dubletów

DHFR - (ang. *dihydrofolate reductase*) - reduktaza dihydrofolianowa

DIC - (ang. *N,N'-diisopropylcarbodiimide*) - *N,N'*-diizopropylkarbodiimid

DIPEA - (ang. *diisopropylethylamine*) - diizopropyl dietyloamina

DMA - (ang. *N,N-dimethylacetamide*) - *N,N*-dimetyloacetamid

DMAP - (ang. *4-dimethylaminopyridine*) - 4-dimetyloaminopirydyna

DMF - (ang. *N,N-dimethylformamide*) - *N,N*-dimetyloformamid

eq - (ang. *equivalent*) - równoważnik

Et - etyl

FcH - ferrocen

FDA - (ang. *Food and Drug Administration*) – Agencja Żywności i Leków

FITC - (ang. *fluorescein isothiocyanate*) - izotiocyanian fluoresceiny

Fmoc - (ang. *9-fluorenylmethyloxycarbonyl*) - grupa 9-fluorenylometylowa

Fmoc-Cl - (ang. *9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride*) - chloromrówczan 9-fluorenylometylowy

FPGS - (ang. *folylpoly-γ-glutamate synthase*) - syntaza folilopoli-γ-glutamylowa

GARFT - (ang. *β-glycinamide ribonucleotide transformylase*) - formylotransferaza fosforybozylo-β-glicynamidowa

HOBt - (ang. *1-hydroxybenzotriazole*) - 1-hydroksybenzotriazol

HR-MS - (ang. *high-resolution mass spectrometry*) - wysokorozdzielcza spektrometria mas

IC₅₀ - stężenie hamujące aktywność do połowy

Ko143 - (3*S*,6*S*,12*aS*)-1,2,3,4,6,7,12,12*a*-Octahydro-9-methoxy-6-(2-methylpropyl)-1,4-dioxypyrazino[1',2':1,6]pyrido[3,4-*b*]indole-3-propanoic acid 1,1-dimethylethyl ester hydrate

LDA - (ang. *lithium diisopropylamide*) - diizopropylamid litu

L-Glu - kwas L-glutaminowy

MAPs - (ang. *microtubule-associated proteins*) - białka związane z mikrotubulami

MDR - (ang. *multi drug resistance*) - oporność wielolekowa

Me - metyl

MeOH - metanol

Mk571 - agonista receptora leukotrienowego CysLT1

MS - (ang. *mass spectrometry*) - spektrometria mas

Met. Syn. - (ang. *methionine synthase*) - syntaza metioninowa

MsOH - (ang. *methanesulfonic acid*) - kwas metanosulfonowy

MW - (ang. *microwave*) - mikrofale

NFM - (ang. *N-formylmorpholine*) - *N*-formylmorfolina

NMR - (ang. *nuclear magnetic resonance*) - spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego

PCFT - (ang. *proton-coupled folate transporter*) - transporter folianów sprzężony z prądem protonowym

p-TsOH - (ang. *p-toluenesulfonic acid*) - kwas *p*-toluenosulfonowy

q - kwartet

RcH - rutenocen

RFC - (ang. *reduced folate carrier*) - nośnik zredukowanego kwasu foliowego

RT - (ang. *room temperature*) - temperatura pokojowa

s - singlet

SAR - (ang. *structure activity relationship*) - badania zależności struktura-aktywność

SPPS - (ang. *solid phase peptide synthesis*) - synteza peptydów na podłożu stałym

t - tryplet

^tBu - *tert*-butyl

td - tryplet dubletów

TFA - (ang. *trifluoroacetic acid*) - kwas trifluorooctowy

TFAA - (ang. *trifluoroacetic anhydride*) - bezwodnik trifluorooctowy

TFE - (ang. 2,2,2-trifluoroethanol) - 2,2,2-trifluoroetanol

TfOH - (ang. *trifluoromethanesulfonic acid*) - kwas trifluorometanosulfonowy

THF - tetrahydrofuran

TIPS - (ang. *triisopropylsilane*) - triizopropylosilan

TLC - (ang. *thin-layer chromatography*) - chromatografia cienkowarstwowa

TMG - (ang. *N,N,N',N'*-tetramethylguanidine) - *N,N,N',N'*-tetrametyloguanidyna

TMS - (ang. *trimethylsilyl*) - trimetylosilil

TS - (ang. *thymidylate synthase*) - syntaza tymidylanowa

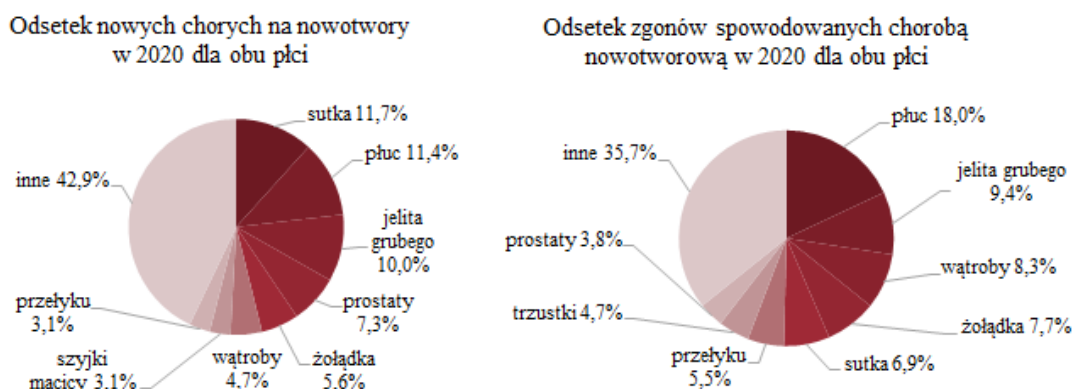
TTTA - (ang. *tris((1-tert-butyl-1H-1,2,3-triazolyl)methyl)amine*) - tris((1-tert-butylo-1H-1,2,3-triazolo)metylo)amina

4. Przegląd literatury

4.1 Wprowadzenie

Nowotwory są jedną z najczęstszych przyczyn śmierci na całym świecie zaraz po chorobach układu krążenia, udarze mózgu czy przewlekłej obturacyjnej chorobie płuc. Tylko w 2012 roku liczba nowych zachorowań na nowotwory ogółem wyniosła 14,1 mln ludzi na całym świecie, natomiast 8,2 mln osób zmarło.⁵ W 2020 roku liczba pacjentów onkologicznych wzrosła do 19,3 mln nowych przypadków, a liczba zgonów wyniosła 10,1 mln. Najczęściej diagnozowanymi nowotworami w 2020 r. były nowotwory sutka (11,7%), płuc (11,4%), a następnie jelita grubego (10,0%). Największą liczbę zgonów odnotowano w przypadku nowotworów płuc (18%) i jelita grubego (9,4%) (Rysunek 1).

6-7



Rysunek 1. Wykresy odsetka nowych przypadków i zgonów z powodu nowotworów w 2020 r.

Stosowana obecnie chemioterapia niszczy nie tylko komórki nowotworowe, lecz w znacznym stopniu także zdrowe, prowadząc do wystąpienia szeregu skutków ubocznych takich jak: wymioty, biegunka, zapalenie błon śluzowych czy złe samopoczucie.⁸ Jednym z problemów z jakim także mierzą się pacjenci onkologiczni, jest pojawiająca się coraz częściej oporność wielolekowa, skutkująca niepowodzeniem prowadzonej terapii. W związku z tym trwają poszukiwania nowych, bezpiecznych i innowacyjnych leków, które działałyby tylko w miejscu zmienionym chorobowo, nie uszkadzając przy tym zdrowych komórek.

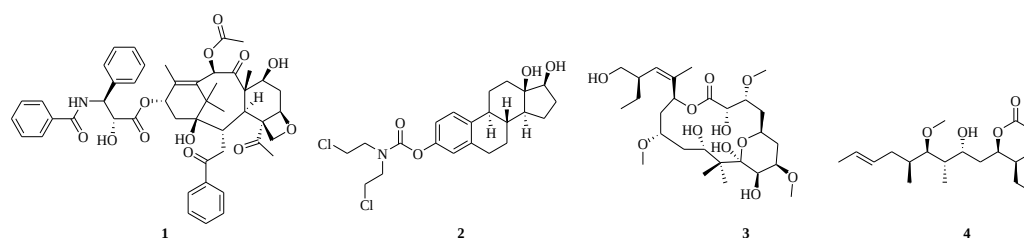
Obecne strategie leczenia nowotworów oparte na tradycyjnych chemioterapeutykach mają na celu m.in.:

- zaburzenie podziałów komórkowych poprzez zahamowanie polimeryzacji tubuliny, która tworząc mikrotubule jest niezbędna do synchronicznego rozdzielenia chromosomów (alkaloidy *Vinca*, taksany),
- zakłócenie procesu replikacji DNA poprzez tworzenie wiązań krzyżowych i pęknięć w DNA (cisplatyna, doksorubicyna),
- zaburzenie funkcjonowania kluczowych enzymów niezbędnych przy podziale komórkowym m.in. topoizomerazy II, odpowiedzialnej za relaksację, dodanie superskrętów do DNA po procesie replikacji oraz funkcje naprawcze (etopozyd),
- zaburzenie procesu syntezy DNA, poprzez zastosowanie strukturalnych analogów naturalnie występujących kofaktorów (metotreksat, raltitrekسد),
- inhibicja białek ABC, odpowiedzialnych za usuwanie leków na zewnątrz komórki (werapamil, walspodar).⁹

4.2 Modulatory polimeryzacji tubuliny

Mikrotubule są jednym z elementów tworzących cytoszkielet w komórkach eukariotycznych, powstających w wyniku polimeryzacji cząsteczek tubuliny. Są to sztywne struktury o cylindrycznym kształcie, średnicy zewnętrznej 25 nm i ścianie grubości 5 nm. Każdy protofilament budujący mikrotubule składa się z heterodimerów α i β tubuliny, które są ze sobą ściśle połączone wiązaniami niekowalencyjnymi. W budowie tego polimeru wyróżnia się dwa końce: plus (+) i minus (-) oraz miejsce wiązania GTP, przy czym koniec dodatni jest bardziej dynamiczny i stabilny niż ujemny. Dynamiczna przebudowa mikrotubul jest regulowana przez wiele czynników, naturalnie przez białka związane z mikrotubulami (MAPs, ang. *microtubule-associated proteins*), które chronią je przed niepożądaną destabilizacją, ale także przez szerokie spektrum leków. Niezwykle ważną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu mikrotubul pełnią białka motoryczne z grupy kinezyn i dynein. Kinezyny poruszają się w kierunku dodatniego końca mikrotubuli, natomiast dyneiny ujemnego, umożliwiając w ten sposób dwukierunkowy transport. Mikrotubule pełnią wiele istotnych funkcji, m.in. budują szkielet wici i rzęsek, odpowiadają za transport aksonalny w neuronach, a przy podziale komórki budują wrzeciono kariokinetyczne. Głównym zadaniem tej struktury jest prawidłowe rozmieszczenie i synchroniczne rozdzielenie chromosomów, a zaburzenie jej działania prowadzi do apoptozy lub katastrofy mitotycznej. Komórki nowotworowe, charakteryzujące się zaburzoną kontrolą podziałów komórkowych, są wyjątkowo wrażliwe na wszelkie zaburzenia działania mikrotubul, przez co organelle te są jednym z celów molekularnych współcześnie projektowanych leków przeciwnowotworowych. Wyróżnia się trzy charakterystyczne miejsca wiązania cząsteczek modulatorów do mikrotubul: domena alkaloidów *Vinca*, domena paklitakselowa i kolchicynowa.¹⁰ Związki chemiczne wpływające na proces polimeryzacji tubuliny dzieli się na stabilizatory oraz destabilizatory mikrotubul. Stabilizatorami mikrotubul są m.in. taksany. Paklitaksel **1** jest powszechnie wykorzystywanym lekiem przeciwnowotworowym stosowanym w terapii raka jajnika, płuc, czerniaka czy mięsaka Kaposiego. Wiążąc się odwracalnie z β -tubuliną zakłóca on dynamiczną reorganizację mikrotubul, hamując proliferację komórek wskutek zatrzymania mitozy.¹⁰ Innymi przykładami związków, które stabilizują mikrotubule są estramustyna **2**¹¹ oraz pelorusyd A **3**¹². Estramustyna jest stosowana w leczeniu hormonoopornego raka prostaty, a wiążąc się z białkami związanymi z mikrotubulami¹³,

stabilizuje tworzenie wrzeciona podziałowego. Pelorusyd A to naturalny związek makrocykliczny, który wiąże się z zewnętrzną częścią β -tubuliny w innym miejscu niż taksany, których centrum wiązania występuje wewnątrz mikrotubul. Interesujące właściwości wykazuje również pironetyna **4**¹⁴, która jest pierwszym naturalnym związkiem, dla którego potwierdzono wiązanie z α -tubuliną metodami rentgenografii strukturalnej (Rysunek 2).

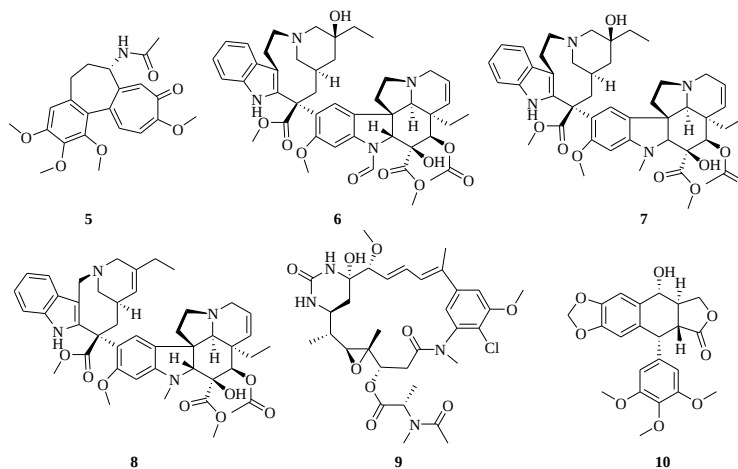


Rysunek 2. Struktury paklitakselu **1**, estramustyny **2**, pelorusydu **3** oraz pironetyny **4**

Przykładem destabilizatora mikrotubul jest kolchicina **5**, która wiąże się z tubuliną w centrum dimeru mikrotubul w tzw. domenie kolchicynowej (Rysunek 3). Kolchicina indukuje zmiany konformacyjne i hamuje asocjację heterodimerów, czego efektem jest jej bardzo wysoka toksyczność. Proces ten jest powolny, zależny od temperatury i praktycznie nieodwracalny. Destabilizacja mikrotubul prowadzi do zatrzymania podziałów komórkowych a tym samym śmierci komórki.^{10, 15} Winkrystyna **6**, winblastyna **7** czy winorelbina **8** należące do grupy alkaloidów *Vinca*, w szybki i odwracalny sposób łączą się z β -tubuliną związaną w dimerze (Rysunek 3). Alkaloidy *Vinca* wykazują wysokie powinowactwo do końców mikrotubul, które modyfikują, przez co hamują proces mitozy i wywołują apoptozę.¹⁰ Innym przykładem związku, który hamuje proces polimeryzacji tubuliny, wiążąc się z domeną *Vinca* jest majtansyna **9**¹⁶, która weszła do I fazy badań klinicznych, jednak ze względu na zbyt wysoką toksyczność nie została dopuszczona do stosowania jako lek¹⁷ (Rysunek 3).

Kolejnym związkiem, będącym inhibitorem polimeryzacji tubuliny łączącym się z domeną kolchicynową jest podofilotoksyna **10** (Rysunek 3). Podofilotoksyna została po raz pierwszy wyizolowana w 1880 r. przez Valeriana Podwysotskiego. Przez rdzennych mieszkańców Ameryki była powszechnie używana w postaci ekstraktu roślinnego ze stopkowca tarczowatego (*Podophyllum peltatum*) jako środek przeczyszczający, przeciwpasożytniczy i wykrztuśny.¹⁸⁻¹⁹ Wykazuje ona równie silne

działanie antymitotyczne co kolchicyna, jednakże, ze względu na swoją wysoką toksyczność, nie może być stosowana w terapii nowotworowej.²⁰



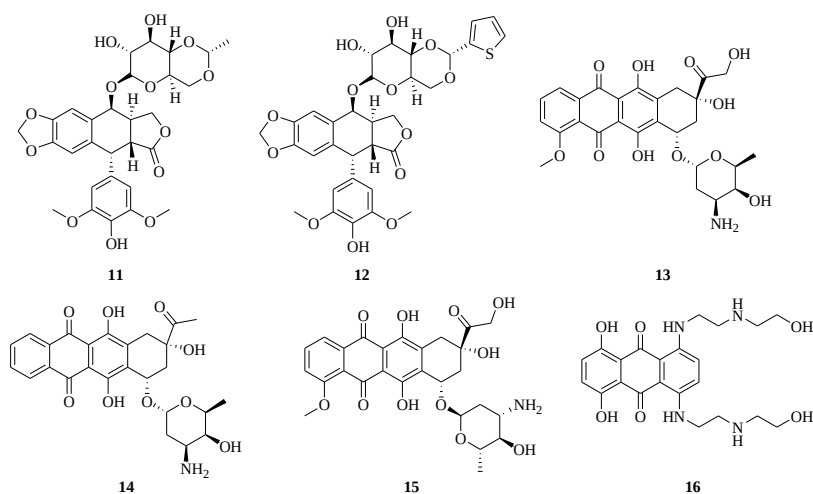
Rysunek 3. Struktury kolchicyny 5, winkrystyny 6, winblastyny 7, winorelbiny 8, majtansyny 9 i podofilotoksyny 10

4.3 Inhibitory topoizomerazy II

Topoizomerazy należą do grupy enzymów uczestniczących w wielu procesach komórkowych związanych z powielaniem materiału genetycznego, a ich główną funkcją jest rozplatanie i ligacja nici DNA, przez co biorą udział w kondensacji i późniejszej segregacji chromosomów.²¹ Wyróżnia się dwa typy topoizomeraz: I i II. Typ I katalizuje proces relaksacji poprzez wprowadzanie przejściowych jednoniciowych pęknięć DNA. Typ II występuje w postaci dwóch izoenzymów: II α i II β i katalizuje wprowadzenie ujemnych skrętów w dwuniciowym DNA, relaksację oraz rozplatanie nici dzięki tworzeniu wiązania między resztą tyrozyny enzymu a grupą fosforanową w pozycji 5' deoksyrybozy. Jedną z kluczowych funkcji topoizomerazy II jest separacja w fazie S i G₂ dwóch komplementarnych nici DNA, które zostały utworzone w procesie replikacji. Zahamowanie bądź zakłócenie jej działania prowadzi do apoptozy komórek.²²

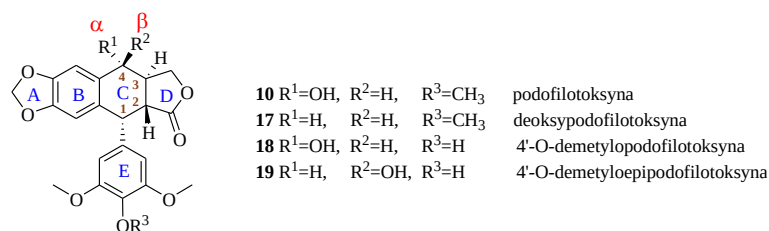
Ze względu na znaczenie topoizomerazy II dla procesu replikacji w komórkach, jest ona celem dla wielu leków przeciwnowotworowych, m.in. etopozydu 11, tenipozydu 12, doksorubicyny 13, idarubicyny 14, epirubicyny 15 czy mitoksantronu 16 (Rysunek 4). Leki te stosuje się w leczeniu nowotworów sutka, białaczki, mięsaka Kaposiego czy innych nowotworów złośliwych.²³

Antracykliny (np. doksorubicyna, idarubicyna i epirubicyna), dzięki swojej płaskiej budowie interkalują do DNA, natomiast dzięki obecności ugrupowania 1,4-chinonowego mogą ulegać jedno- lub dwuelektronowej redukcji do reaktywnych metabolitów. Niszczą błony lipidowe, natomiast łącząc się z topoizomerazą II powodują pęknięcia jedno- i dwuniciowe DNA, które wpływają na komórkę na wielu płaszczyznach, indukując apoptozę. Topoizomeraza II jest również celem molekularnym dla mitoksantronu, który powoduje zatrucie enzymu i jego dezaktywację, zatrzymując replikację i dalszy podział komórki.²³



Rysunek 4. Struktury etopozytu **11**, tenipozytu **12**, doksorubicyny **13**, idarubicyny **14**, epirubicyny **15** i mitoksantronu **16**

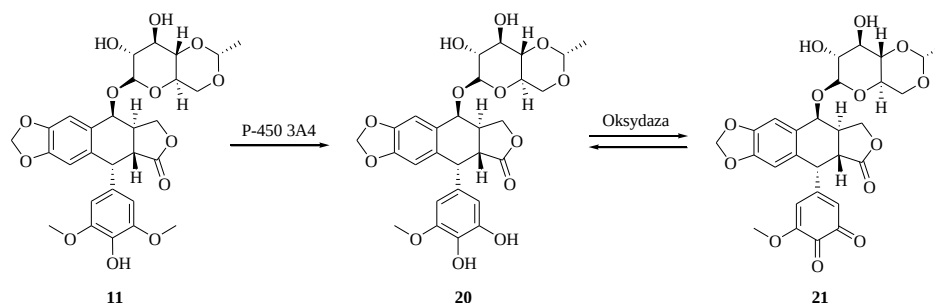
Etopozyd oraz tenipozyd są półsyntetycznymi pochodnymi podofilotoksyny powszechnie stosowanymi w leczeniu nowotworów jajnika, ostrych białaczek czy chłoniaków.²⁴ Leki te, wiążąc się z topoizomerazą II, uniemożliwiają ligację DNA, prowadząc do zwiększenia liczby pęknięć materiału genetycznego. Postuluje się, że utworzenie kompleksu leku z DNA-topoizomerazą II hamuje transkrypcję, co prowadzi do usunięcia powstałego kompleksu przez proteasom.²³



Rysunek 5. Struktury podofilotoksyny **10** deoksypodofilotoksyny **17**, 4'-O-demetylopodofilotoksyny **18** i 4'-O-demetyloepipodofilotoksyny **19**

Podofilotoksyna zbudowana jest z czterech skondensowanych pierścieni ABCD i posiada cztery centra stereogeniczne (Rysunek 5).^{10, 25} Badania zależności SAR pochodnych podofilotoksyny wykazały, iż stereochemia jej pochodnych ma kluczowe znaczenie dla aktywności otrzymanych związków. Zaobserwowano, że związki *trans*-laktonowe są bardziej aktywne niż pochodne *cis*, natomiast aromatyzacja pierścienia C prowadzi do utraty cytotoksyczności.²⁶ Ponadto demetylacja w pierścieniu E przy C-4' powoduje zwiększenie ilości pęknięć DNA a quasi-aksjalna konfiguracja atomu węgla C-1 warunkuje odpowiednią aktywność antyproliferacyjną tych pochodnych. Etopozyd i tenipozyd, będące glikozydowymi pochodnymi 4'-*O*-demetyloepipodofilotoksyny posiadają one inny mechanizm działania niż wyjściowa podofilotoksyna i są silnymi inhibitorami topoizomerazy II.²⁴

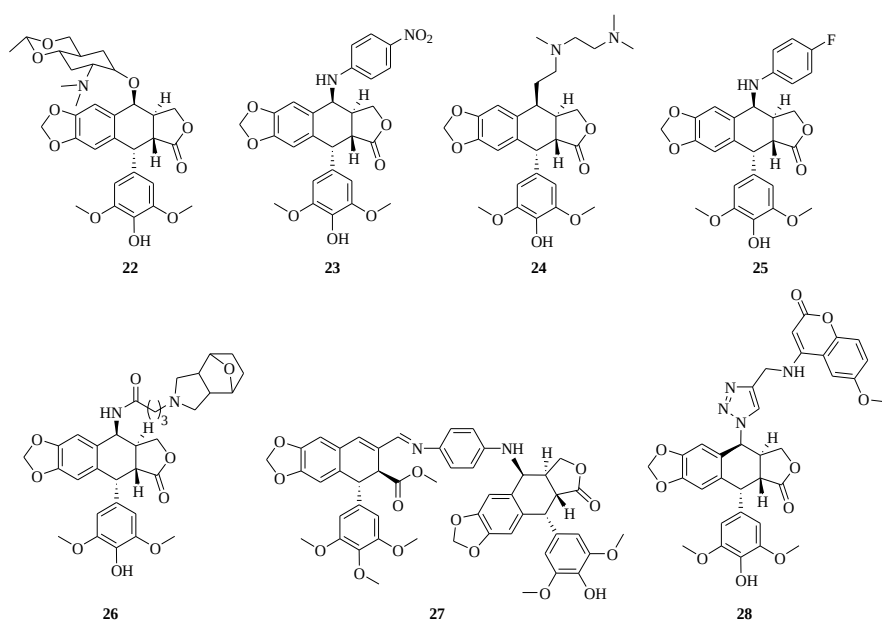
Nicolas Smith i współpracownicy zaobserwowali, że utworzony w wyniku *O*-demetylowania i utleniania w reakcji katalizowanej przez cytochrom P-450 3A4 odpowiedni chinon **21** (Schemat 1) ma wyższy potencjał blokujący enzym niż cząsteczka macierzysta i jest odpowiedzialny za zwiększone ryzyko rozwoju ostrej białaczki szpikowej w wyniku długotrwałego stosowania etopozydu.^{23, 27}



Schemat 1. Proponowana reakcja utleniania **11** w cytochromie P-450 3A4

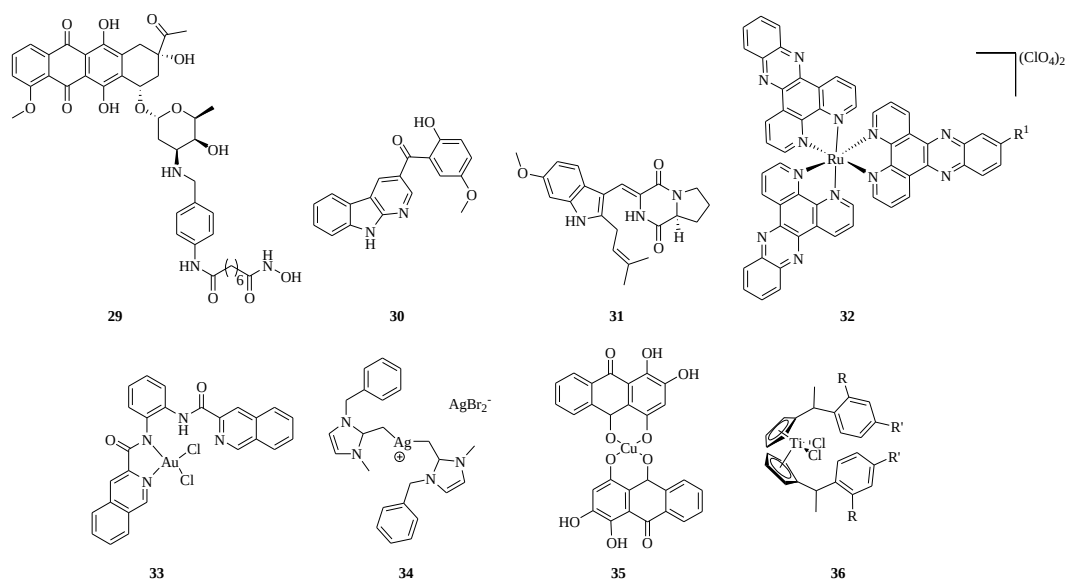
Jednym z głównych problemów współczesnej chemioterapii jest często słaba rozpuszczalność leków, ich wysoka toksyczność czy nabyta przez organizm lekooporność. Wszelkie zmiany w metabolizmie szybko dzielących się komórek nowotworowych powodują wytworzenie mechanizmów obronnych, takich jak: zmniejszenie ilości topoizomerazy II, nadekspresja białek odpowiedzialnych za eksport ksenobiotyków, wydłużenie cyklu komórkowego czy zmiana funkcji naprawczych DNA. Wpływa to w znaczny sposób na efektywność chemioterapii i skłania do poszukiwania nowych, skuteczniejszych rozwiązań, stanowiąc niebywale trudne zadanie dla projektowania leków.¹⁸

Z tego względu opracowuje się cząsteczki oparte na strukturze podofilotoksyny, które mogą być potencjalnymi inhibitorami topoizomerazy II o znaczeniu klinicznym. Badania doprowadziły do odkrycia szeregu związków, m.in. NK 611 **22**²⁴, GL-311 **23**, TOP 53 **24** i NPF **25**, które weszły do fazy badań klinicznych, jednak ostatecznie nie zostały dopuszczone do stosowania jako potencjalne leki (Rysunek 6).²⁸⁻²⁹ Wykazano, iż GL-331 hamuje działanie zarówno topoizomerazy I, jak i topoizomerazy II α .³⁰ Również inne pochodne podofilotoksyny wykazują podwójną aktywność np. **26** jednocześnie względem topoizomerazy II i fosfatazy proteinowej 2A³¹ czy **27**³² i **28**³³ względem tubuliny i topoizomerazy II (Rysunek 6).



Rysunek 6. Struktury pochodnych podofilotoksyny **22-28**

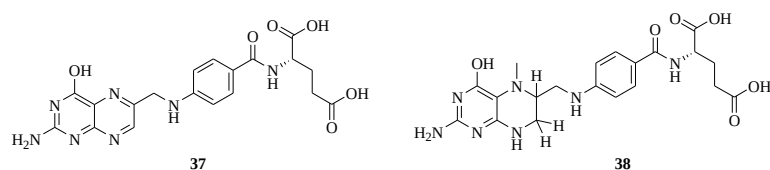
W literaturze można znaleźć również przykłady innych cząsteczek, które wykazują podwójne działanie poprzez jednoczesne hamowanie aktywności topoizomerazy II i deacetylazy histonowej jak np. **29**³⁴. Z kolei YCH337 **30**³⁵ oraz tryprostatyna A **31**³⁶⁻³⁷ wykazują aktywność zarówno wobec topoizomerazy II, jak i wpływają na proces polimeryzacji tubuliny (Rysunek 7). W przeciwieństwie do kolchicyny czy winblastyny, tryprostatyna A oddziałuje z białkami związanymi z mikrotubulami oraz C-końcową domeną tubulin hamując organizację mikrotubul.³⁸⁻³⁹ Również nieorganiczne związki rutenu **32**⁴⁰, złota **33**⁴¹, srebra **34**⁴², miedzi **35**⁴³ oraz metaloorganiczne jak tytanocen **36**⁴⁴, wykazują aktywność podwójnych inhibitorów topoizomerazy I/II lub topoizomerazy II/telomerazy.



Rysunek 7. Struktury inhibitorów **29**, YCH337 **30**, tryprostatyny **A 31**, kompleksów rutenu **32**, złota **33**, srebra **34**, miedzi **35** oraz pochodne tytanocenu **36**

4.4 Kwas foliowy i jego rola w komórce

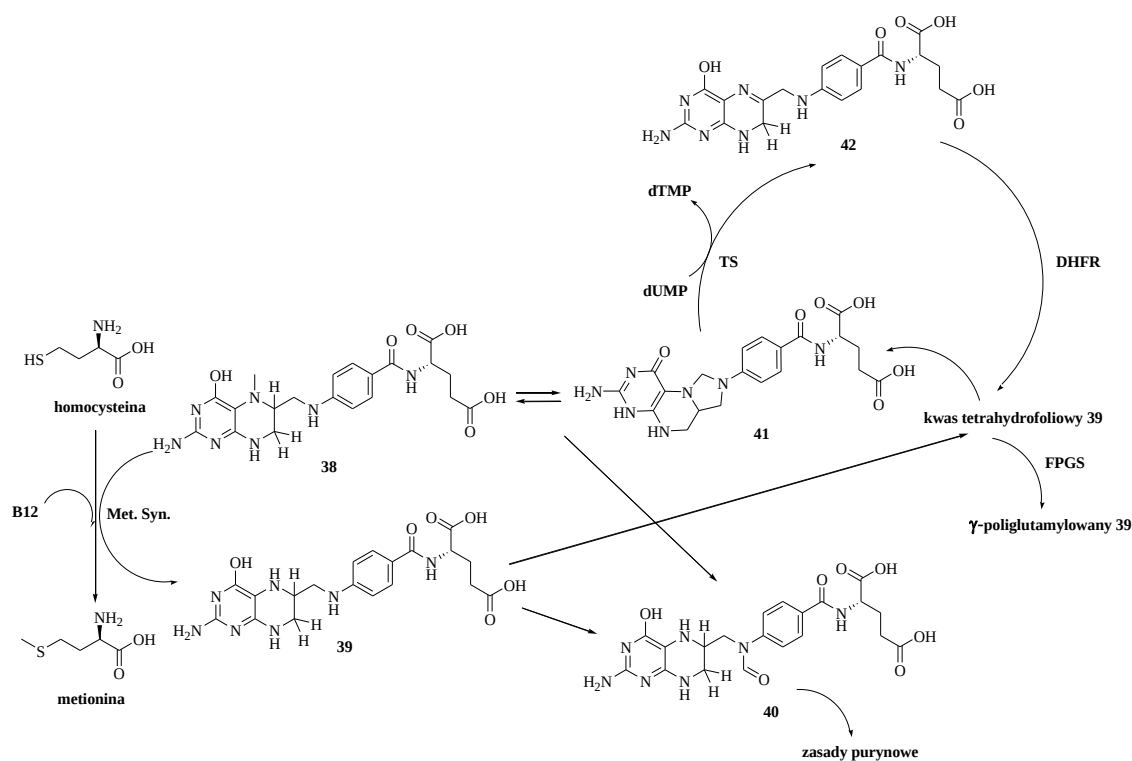
Kwas foliowy **37** pełni kluczową rolę w wielu procesach warunkujących wzrost i prawidłowe funkcjonowanie każdej żywej komórki. Należy do witamin z grupy B i w odróżnieniu od organizmów prokariotycznych, eukarionty muszą dostarczać go wraz z pożywieniem, gdyż nie są w stanie same syntezować tej witaminy. Naturalnie występująca pochodna **37** to kwas 5-metylotetrahydrofoliowy **38** (5-metyloTHF) (Rysunek 8). Kwas foliowy uczestniczy w biosyntezie puryn i pirymidyn, a tym samym w tworzeniu DNA i RNA, syntezie metioniny, seryny czy glicyny, katabolizmie histydyny oraz kwasu mrówkowego.⁴⁵



Rysunek 8. Struktury kwasu foliowego **37** oraz kwasu 5-metylotetrahydrofoliowego **38**

Metabolizm folianów jest niezwykle złożony i bierze w nim udział wiele enzymów (Schemat 2). Przyswajany z pożywieniem kwas 5-metylotetrahydrofoliowy jest transportowany do komórek przez specjalny nośnik kwasu foliowego RFC (ang. *reduced folate carrier*). W procesie dostarczania grupy metylowej przez 5-metyloTHF do syntezy metioniny z homocysteiny bierze udział witamina B12 (kobalamina) i enzym syntaza

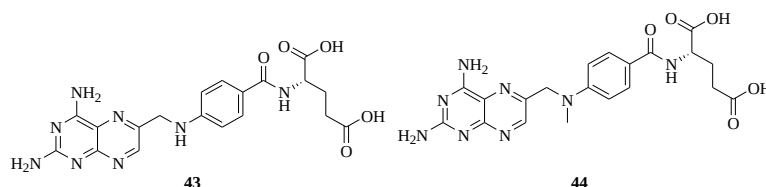
metioninowa (Met. Syn., ang. *methionine synthase*). Kwas tetrahydrofoliowy **39**, będący produktem ubocznym syntezy metioniny jest formylowany do N^{10} -formyloTHF **40** i wykorzystany jako donor atomu węgla przy syntezie zasad purynowych. Ponadto 5-metyloTHF zostaje przekształcony do N^5,N^{10} -metylenoTHF **41**, który uczestniczy w syntezie deoksytymidylomonofosforanu (dTMP) z deoksyurydynomonofosforanu (dUMP) przy udziale syntazy tymidylanowej (TS, ang. *thymidylate synthase*). Powstający w tym procesie kwas dihydrofoliowy **42** (DHF) zostaje zredukowany przez reduktazę dihydrofolianową (DHFR, ang. *dihydrofolate reductase*) do kwasu tetrahydrofoliowego. Z kolei kwas tetrahydrofoliowy, który jest głównym substratem dla syntazy folilopoli- γ -glutamyłowej (FPGS, ang. *folylpoly- γ -glutamate synthase*) ulega poliglutamylowaniu i występując w postaci polianionowej nie jest transportowany przez błonę komórkową, przez co zostaje zatrzymany wewnątrz komórki. Poliglutamylowanie jest jednym ze sposobów na zatrzymanie folianów w komórkach.⁴⁵



Schemat 2. Ogólny schemat metabolizmu folianów w komórce

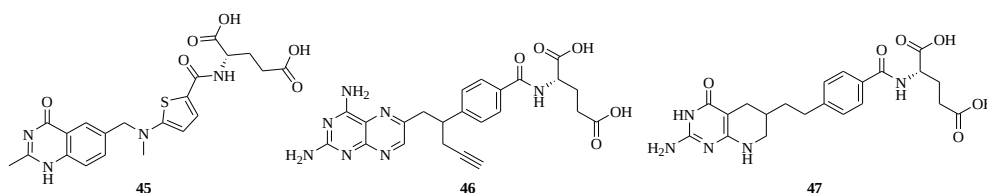
Kwas foliowy, uczestnicząc w wielu szlakach biochemicznych jest niezbędny w każdej dzielącej się komórce. Enzymy biorące udział w metabolizmie folianów są zatem częstym celem molekularnym dla potencjalnych leków przeciwnowotworowych.⁴⁶ Pierwszym lekiem, podanym pacjentom z ostrą białaczką

limfoblastyczną w 1948 r. była aminopteryna **43**.⁴⁷ Kolejnym przełomowym odkryciem okazał się metotreksat **44**, który hamuje działanie wielu enzymów, m.in. syntazy tymidylanowej, i który, podobnie jak **43**, jest silnym inhibitorem DHFR (Rysunek 9).⁴⁶ Metotreksat stosowany jest także w małych dawkach w leczeniu wielu chorób autoimmunologicznych, dzięki swoim przeciwzapalnym właściwościom.⁴⁸ Ze względu na niewielkie różnice strukturalne między **44** a folianami, FPGS rozpoznaje go jako substrat i przeprowadza poliglutamylowanie cząsteczki, zwiększając jego retencję wewnątrz komórki. Spadek stężenia leku **44** we krwi nie powoduje utraty aktywności przeciwnowotworowej ze względu na zmagazynowany w komórce poliglutamylowany metotreksat, który skutecznie hamuje aktywność DHFR. Inhibicja DHFR uniemożliwia replikację DNA i tym samym indukuje śmierć komórki.⁴⁵



Rysunek 9. Struktury aminopteryny **43** i metotreksatu **44**

Zsyntezowano i zbadano szereg antyfolianów m.in. raltitrexed **45**, hamujący syntazę tymidylanową, pralatreksat **46**, mający wysokie powinowactwo do RFC czy lometreksol **47** - selektywny inhibitor GARFT (ang. *β -glycinamide ribonucleotide transformylase*) odpowiadającej za syntezę zasad purynowych (Rysunek 10).⁴⁹

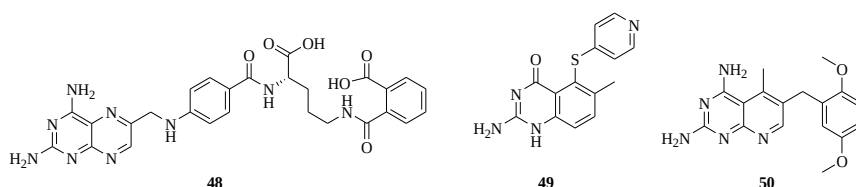


Rysunek 10. Struktury raltitrexedu **45**, pralatreksatu **46** i lometreksolu **47**

Zarówno foliany, jak i antyfoliany zawierające w swojej strukturze kwas glutaminowy występują przy fizjologicznym pH w postaci anionowej. Z tego względu ich transport do wnętrza komórki może się odbywać na kilka sposobów: za pomocą nośnika zredukowanych form kwasu foliowego RFC, transportera folianów sprzężonego z prądem protonowym PCFT (ang. *proton-coupled folate transporter*) oraz receptorów folianowych. Z kolei, białka ABC uczestniczą w transporcie folianów i antyfolianów

na zewnątrz komórki. Zmienność cechująca komórki nowotworowe prowadzi do wykształcenia mechanizmów obronnych na zastosowaną terapię np. poprzez zaburzenia wchłaniania leku w wyniku upośledzenia w działaniu importerów, czy jego zwiększone wydalenie z komórki, poprzez nadekspresję eksporterów. Nadekspresja białek ABC powoduje również zwiększenie ilości naturalnych folianów w komórce, co także skutkuje zmniejszeniem skuteczności chemioterapii z udziałem antyfolianów.⁵⁰

Zsyntezowano antyfoliany, które nie ulegają poliglutamylacji, a będąc bardziej lipofilowe są transportowane do komórki w inny sposób – przez dyfuzję pasywną. Przykładami takich związków są: talotreksyna **48** (PT-523) będąca inhibitorem DHFR, nolatreksed **49** – inhibitor TS, oraz pemetreksed **50**, który został wprowadzony jako lek i hamuje działanie DHFR, TS i innych enzymów odpowiedzialnych za syntezę zasad purynowych (Rysunek 11).⁵¹



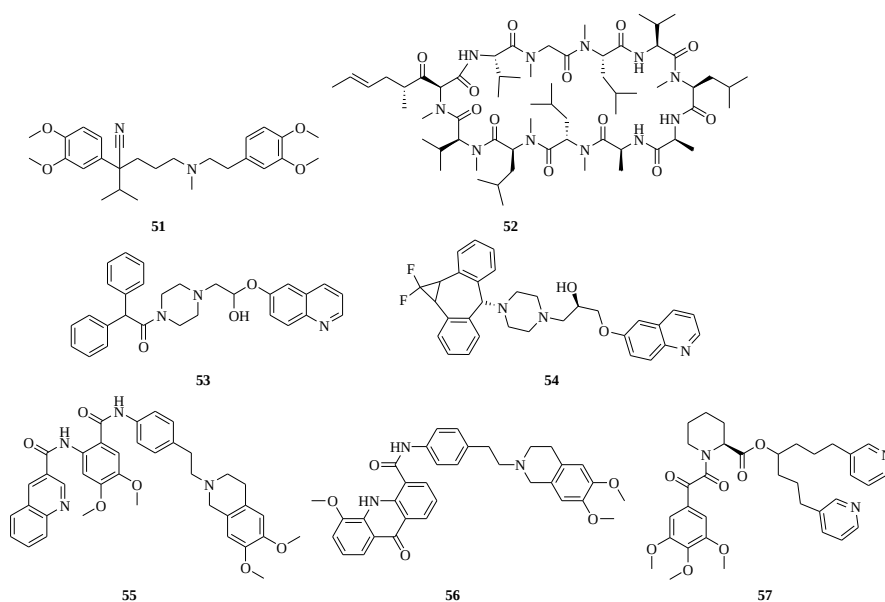
Rysunek 11. Struktury talotreksyny **48**, nolatreksedu **49** i pemetreksedu **50**

4.5 Inhibitory białek ABC

Transport do oraz usuwanie różnych związków chemicznych z komórki to kluczowe warunki do sprawnego metabolizmu. Wśród białek transportowych związanych z błoną komórkową wyróżnia się: kanały jonowe, akwaporyny, białka przenośnikowe oraz transportery wykorzystujące energię z ATP.⁵² Najliczniejszą grupę tego ostatniego rodzaju białek stanowią transportery ABC. Ze względu na kierunek transportu, transportery ABC dzieli się na eksportery i importery.⁵³ W komórkach eukariotycznych obecne są głównie eksportery, które uczestniczą w transporcie metabolitów, hormonów czy ksenobiotyków poza komórkę. W organizmie człowieka występuje 49 transporterów z tej grupy, które podzielono na 7 podrodzin (ABCA – ABCG). Występują m.in. w wątrobie (ABCB1, ABCC2 i ABCG2), jelicie cienkim (ABCB1, ABCC3 i ABCG2), barierze krew-mózg (ABCB1) czy kanalikach nerkowych (ABCB1, ABCC2, ABCC6). Białka te chronią komórki przed szkodliwym działaniem obcych substancji i pełnią kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy. Niepożądanym

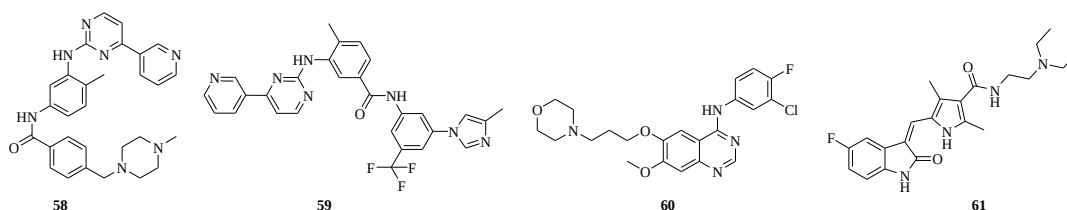
skutkiem aktywności białek ABC jest zwiększony transport leków na zewnątrz komórki lub zahamowanie ich pobierania. Oporność wielolekowa związana z nadekspresją białek ABC występuje bardzo często w komórkach nowotworowych i prowadzi do zwiększonego wydalania leków, co w znaczący sposób zmniejsza bądź całkowicie niweluje zaplanowany efekt terapeutyczny.⁵⁴⁻⁵⁵ Przełamanie bariery oporności wielolekowej (MDR) wydaje się możliwe przy zastosowaniu leków przeciwnowotworowych w połączeniu z odpowiednimi inhibitorami białek ABC w celu zablokowania ich funkcji eksportowej. Umożliwiłoby to zwiększenie stężenia leku w komórce nowotworowej, wydłużyłoby czas oddziaływania z celem molekularnym, a tym samym poprawiło skuteczność chemioterapii. Idealnym rozwiązaniem wydaje się sytuacja, kiedy opracowany związek działałby zarówno jako inhibitor ABC oraz jako lek przeciwnowotworowy, nie uszkadzając przy tym zdrowych komórek.⁵⁶⁻⁵⁷

W 1981 r. naukowcy odkryli, iż zastosowanie niewielkiej dawki werapamilu **51**, blokera kanałów wapniowych, stosowanego w chorobie niedokrwiennej serca, w połączeniu z winkrystyną i winblastyną doprowadziło do pokonania bariery lekooporności na winkrystynę, zwiększając cytotoksyczność alkaloidów *Vinca* wobec komórek białaczki P388 (Rysunek 12).⁵⁸ Dalsze badania mające na celu poszukiwanie potencjalnych leków doprowadziły do odkrycia związków drugiej generacji jak np. walspodar **52** (pochodna cyklosporyny D) czy dekswerapamil (enancjomer *R* werapamilu). Zaobserwowano także, że stosując inhibitor ABC wraz z paklitakselem czy etopozydem, należy zmniejszyć dawkę leku ze względu na wysoką cytotoksyczność otrzymanej kombinacji. Zmniejszenie stężenia leków skutkowało z kolei niepowodzeniem chemioterapii.⁵⁹ Do związków trzeciej generacji hamujących aktywność ABCB1, które weszły do fazy badań klinicznych należą dofekwidar **53**, zosukwidar **54**, tarikwidar **55**, elakridar **56** oraz birikodar **57** (Rysunek 12).⁶⁰ Spośród otrzymanych pochodnych, tarikwidar wykazywał najwyższe powinowactwo do transportera ABCB1.⁶⁰⁻⁶¹



Rysunek 12. Struktury werapamilu 51, walspodaru 52, dofekwidaru 53, zosukwidaru 54, tarikwidaru 55, elakridaru 56 oraz birikodaru 57

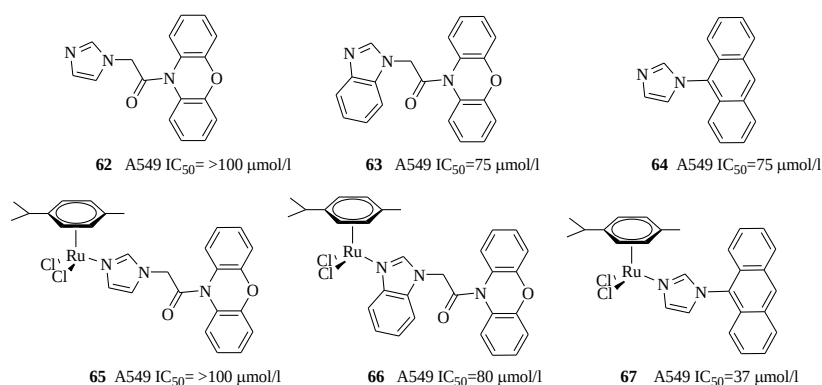
Przykłady leków, które są substratami białek ABC to: antracykliny – dokсорubicyna (ABCB1, ABCC1, ABCG2), alkaloidy *Vinca* – winblastyna (ABCB1, ABCC1), kolchicyna (ABCB1, ABCC1), etopozyd (ABCB1, ABCC1, ABCG2) czy paklitaksel (ABCB1). Także w przypadku inhibitorów kinaz tyrozynowych m.in. imatynibu (ABCC1, ABCG2) 58, nilotynibu (ABCB1) 59, gefitynibu (ABCB1, ABCC1, ABCG2) 60, sunitynibu 61 (Rysunek 13) i innych⁶², w komórkach z nadekspresją białek ABC następuje zmiana farmakokinetyki lub rozwój oporności na leczenie przeciwnowotworowe. Poprzez oddziaływanie leku z transporterem, do którego ma wysokie powinowactwo, jego stężenie w komórce może zostać zmniejszone do tego stopnia, że nie wywołuje żadnego efektu leczniczego.⁶³



Rysunek 13. Struktury wybranych inhibitorów kinazy tyrozynowej imatynibu 58, nilotynibu 59, gefitynibu 60, sunitynibu 61

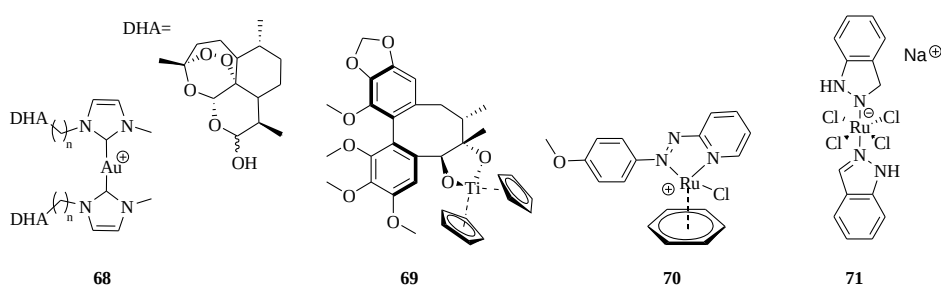
W 2007 roku Paul Dyson i współpracownicy zsyntezowali i zbadali aktywność biologiczną półsandwiczowych kompleksów rutenu 65-67⁶⁴ (Rysunek 14) będących

pochodnymi fenoksazyny, której *N*-podstawione organiczne pochodne **62-64** wykazywały właściwości antyproliferacyjne i hamowały aktywność komórkową związaną z opornością wielolekową.⁶⁵ Otrzymane związki zbadano wobec kilku linii komórek nowotworowych z czego dwie linie (A549 – ludzka linia komórkowa raka płuc oraz HT-29 – ludzka linia komórkowa gruczolakoraka jelita grubego) wykazywały wyraźnie podwyższoną aktywność białka ABCB1. Spośród zbadanych związków **67** był najbardziej obiecujący i posiadał wyższą cytotoksyczność niż jego organiczny analog.⁶⁴



Rysunek 14. Struktury organicznych *N*-podstawionych pochodnych fenoksazyny **62-64** oraz półsandwiczowych kompleksów rutenu **65-67**

Znane są także kompleksy złota(I) **68**⁶⁶ metaloorganiczne pochodne tytanocenu **69**⁶⁷ oraz inne kompleksy rutenu **70** wykazujące aktywność wobec transporterów ABC.⁶⁸⁻⁶⁹ Kompleks rutenu KP1339 **71** uwrażliwia komórki na działanie sorafenibu, leku, który jest wykorzystywany w chemioterapii raka nerki i raka wątrobowokomórkowego (Rysunek 15).⁷⁰



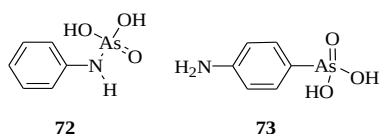
Rysunek 15. Struktury kompleksów **68-71**

4.6 Początki chemii biometaloorganicznej

Pierwsze wzmianki dotyczące związków metaloorganicznych sięgają 1757 r., gdy Louis-Claude Cadet de Gassicourt podjął próby wynalezienia niewidzialnego

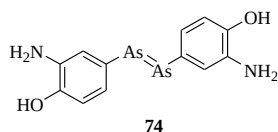
atramentu. W wyniku działania na rudy kobaltu zawierające arsen (CoAs_2 oraz CoAsS_2) różnymi kwasami i octanem potasu otrzymał brązową i toksyczną ciecz o ostrym zapachu czosnku, która w kontakcie z powietrzem zapalała się samorzutnie. Zsyntezowaną substancję nazwano dymiącą cieczą Cadeta (ang. *Cadet's fuming liquid*). Składał się na nią głównie dikakodyl $[(\text{CH}_3)_2\text{As}]_2$ i tlenek kakodylu $[(\text{CH}_3)_2\text{As}]_2\text{O}$. Późniejsze badania prowadzone przez Roberta Wilhelma Bunsena potwierdziły odkrycia Cadeta de Gassicourta.⁷¹

W 1863 r. Pierre Béchamp, w wyniku ogrzewania aniliny z kwasem arsenowym(V) zsyntezował organiczną pochodną arsenu, nazwaną atoksylem, której błędnie przypisał strukturę **72** (Rysunek 16). Badania wykazały, że sól sodowa **72** posiada działanie przeciwpasożytnicze wobec świdrowców wywołujących śpiączkę afrykańską, jednak ze względu na zbyt wysoką toksyczność nie mogła zostać wykorzystana jako lek. Paul Ehrlich przypisał atoksylowi strukturę **73**, w której występuje pojedyncze wiązanie arsen-węgiel i wolna grupa aminowa (Rysunek 16).⁷²



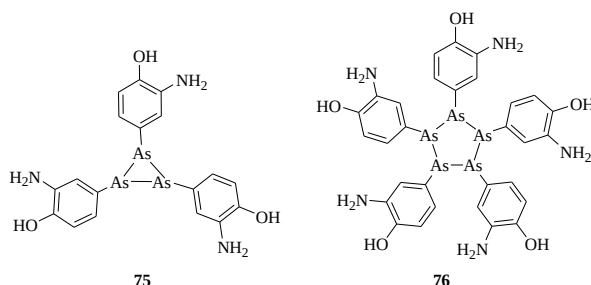
Rysunek 16. Błędna struktura atoksylu **72** oraz poprawna **73**

Wzrost zainteresowania związkami arsenoorganicznymi przyczynił się do otrzymania przez Ehrlicha oraz współpracowników serii pochodnych arsenoorganicznych i przeprowadzenia badań ich aktywności biologicznej wobec krętka bladego *Treponema pallidum* odpowiedzialnego za epidemię kiły, która należała wówczas do nieuleczalnych chorób. Spośród zsyntezowanych związków najskuteczniejszy okazał się związek 606, analog azobenzenu, nazwany później salwarsanem.⁷³ Paul Ehrlich błędnie przypisał salwarsanowi strukturę **74**. W 1910 r. po raz pierwszy podano tę organiczną pochodną arsenu pacjentom jako skuteczny lek na kiłę (Rysunek 13).⁷⁴



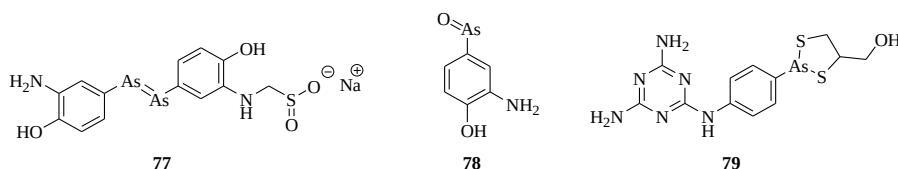
Rysunek 17. Błędna struktura salwarsanu **74**

Dokładne analizy widm masowych salwarsanu wykonane w 2005 r. przez Nicholasa Lloyda i współpracowników wykazały, że wiązania między atomami arsenu są pojedyncze a nie podwójne, jak dotychczas przypuszczano, oraz że cząsteczka występuje w postaci mieszaniny trimeru **75** i pentameru **76** (Rysunek 18).⁷⁵



Rysunek 18. Struktury trimeru **75** i pentameru **76** salwarsanu

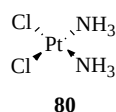
Prace nad zwiększeniem rozpuszczalności salwarsanu w wodzie doprowadziły do otrzymania szeregu substancji, które są obecnie wykorzystywane w leczeniu. Przykładami tych związków są Neosalvarsan® **77** czy Mapharsen® **78**, który został wprowadzony na rynek w 1930 r. i dla którego badania wykazały, że jest aktywnym i stabilnym metabolitem salwarsanu.⁷⁶ W 2003 r. FDA dopuściła do stosowania również tlenek arsenu(III), dostępny handlowo jako Trisenox®, który jest obecnie stosowany w leczeniu ostrej białaczki promielocytowej.⁷⁷ Natomiast preparat Arsobal® **79** jest aktualnie używany w leczeniu śpiączki afrykańskiej (Rysunek 19).⁷⁸



Rysunek 19. Struktury preparatów Neosalvarsan® **77**, Mapharsen® **78** i Arsobal® **79**

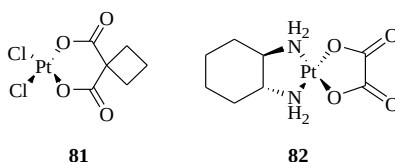
Przełomowym odkryciem w dziedzinie medycyny i chemii była publikacja Barnetta Rosenberga na łamach czasopisma *Nature* w 1969 r. dotycząca właściwości przeciwnowotworowych nieorganicznego kompleksu metalu, jakim jest cisplatyna **80** (Rysunek 20).⁷⁹ Zsyntezowana przez Michaela Peyrone'a w 1844 r. znalazła zastosowanie w medycynie ponad 100 lat później, gdy okazała się skutecznym chemioterapeutyką stosowaną również obecnie w leczeniu wielu nowotworów m.in. jąder, płuc czy jajnika.⁸⁰⁻⁸³

Badania mechanizmu działania cisplatyny pozwoliły na poznanie koordynacyjnych właściwości platyny, oddziaływań metalu z zasadami azotowymi, czy wpływu na metabolizm komórki. Cisplatyna tworzy addukty z DNA i mimo, że jej działanie jest niezależne od fazy cyklu komórkowego, to właśnie szybko dzielące się komórki nowotworowe są najbardziej wrażliwe na **80**. Związek ten poprzez oddziaływanie z materiałem genetycznym prowadzi m.in. do zahamowania transkrypcji, translacji, zatrzymania bądź zakłócenia cyklu komórkowego, a blokując funkcjonowanie różnych enzymów może prowadzić do apoptozy komórek.⁸⁰⁻⁸³



Rysunek 20. Struktura cisplatyny **80**

Terapii cisplatyną towarzyszy szereg skutków ubocznych takich jak wymioty, biegunka, zmęczenie, nefrotoksyczność czy neurotoksyczność. Z tego powodu rozpoczęto poszukiwania nowych i bezpieczniejszych związków, które wykazywałyby niższą toksyczność. Badania nad kompleksami platyny(II) doprowadziły do otrzymania szeregu związków, m.in. karboplatyny **81** czy oksaliplatyny **82**, gdzie zamiana ligandów chlorków na mniej labilne grupy opuszczające spowodowała, że leki te są mniej nefrotoksyczne przy zachowaniu swojej aktywności terapeutycznej (Rysunek 21).



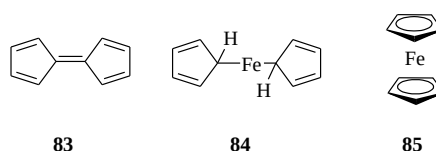
Rysunek 21. Struktury karboplatyny **81** i oksaliplatyny **82**

Odkrycie przeciwnowotworowych właściwości cisplatyny przyczyniło się do intensywnego rozwoju badań nad kompleksami innych metali m.in. żelaza, rodu, irydu, rutenu, tytanu czy osmu pod kątem działania antynowotworowego i miało znaczący wpływ na rozwój chemii nieorganicznej, koordynacyjnej i biometaloorganicznej.⁸⁰⁻⁸⁴

4.7 Metaloceny

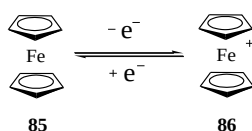
W 1951 r. Tom Kealy i Peter Pauson próbując zsyntezować fulwalen **83** w reakcji bromku cyklopentadienylomagnezowego z bezwodnym chlorkiem żelaza(III) otrzymali lotne, rozpuszczalne w eterze i benzenie, niezwykle stabilne względem kwasów i zasad, pomarańczowe kryształy, którym błędnie przypisali strukturę **84** (Rysunek 22).⁸⁵

Niespełna rok później, Samuel Miller, John Tebboth oraz John Tremaine zsyntezowali tę samą substancję w reakcji zredukowanego *in situ* żelaza z cyklopenta-1,3-dienem w atmosferze azotu w temperaturze 300°C, również przypisując jej strukturę **84**.⁸⁶ W kolejnych badaniach Geoffrey Wilkinson i współpracownicy zaobserwowali zerowy moment dipolowy i diamagnetyczność otrzymanego związku, a następnie zaproponowali sandwiczową budowę z dwoma pierścieniami η^5 -cyklopentadienylowymi, ułożonymi względem siebie symetrycznie, z centralnie umiejscowionym atomem żelaza **85** i nazwali go ferrocenem (Rysunek 22).⁸⁷⁻⁸⁹ Dwa ligandy η^5 -cyklopentadienylowe, będąc donorami dwunastu π -elektronów oddziałują z sześcioma elektronami walencyjnymi podpowłoki d Fe(II), tworząc osiemnastoelektronowy kompleks, który jest niezwykle stabilny.^{88, 90}



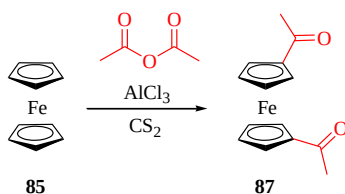
Rysunek 22. Struktury fulwalenu **83**, błędnie przypisanej struktury ferrocenu **84** oraz poprawnej struktury ferrocenu **85**

Badania krystalograficzne wykonane przez zespoły Ernsta Fishera⁹⁰ i Jacka Dunitza potwierdziły sandwiczową strukturę ferrocenu zaproponowaną przez Wilkinsons, gdzie długość wiązań C-C wynosi 1,4 Å, natomiast długość wiązania C-Fe jest równa 2,0 Å.⁹¹ Ferrocen jest związkiem aktywnym oksydoredukcyjnie (potencjał redoks +0,4V względem nasyconej elektrody kalomelowej (NEK))⁹² i ulega odwracalnemu utlenieniu do kationu ferroceniowego **86** (Schemat 3).⁹³



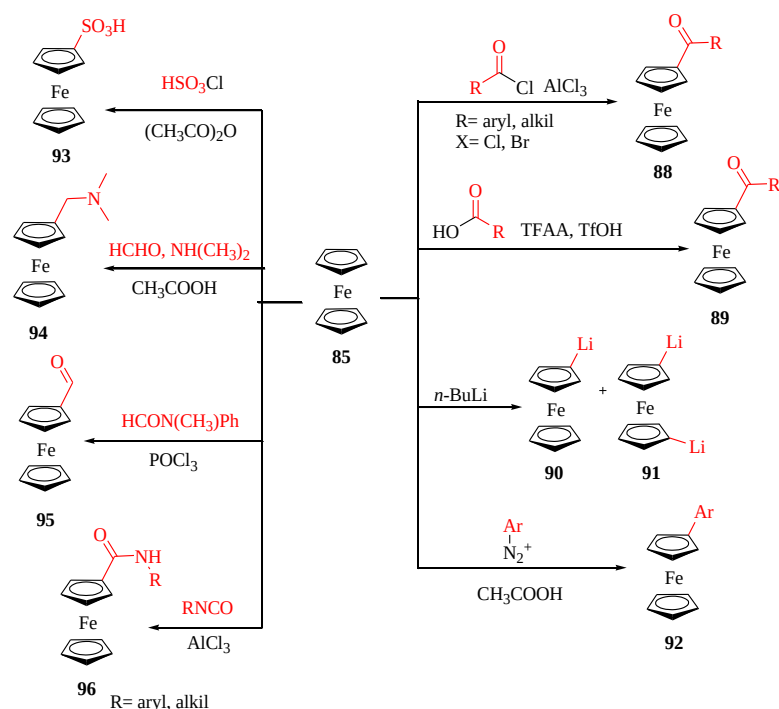
Schemat 3. Odwracalna jednoelektronowa reakcja redoks ferrocenu **85**

Robert Woodward i współpracownicy zaobserwowali, że ferrocen nie reaguje z bezwodnikiem maleinowym we wrzącym benzenie i nie można go uwodornić, stosując tlenek platyny jako katalizator, przez co nie wykazuje on typowych cech dla związków poliolefinowych. Stwierdzono, że **85** ulega reakcji acylowania Friedla-Craftsa prowadzącej do otrzymania mono- lub/i dipochodnej, co świadczy o jego aromatycznym charakterze. W wyniku acylowania **85** bezwodnikiem octowym w obecności dwukrotnego nadmiaru chlorku glinu jako katalizatora w disiarczku węgla powstaje 1,1'-diacetyloferrocen **87** (Schemat 4).⁹³



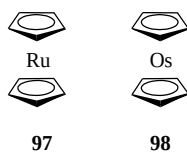
Schemat 4. Synteza 1,1'-diacetyloferrocenu **87**

Ferrocen ulega szeregowi reakcji typowych dla związków aromatycznych m.in. substytucji elektrofilowej czy reakcji metalowania. Acylowanie Friedla-Craftsa ferrocenu za pomocą chlorków kwasowych z użyciem chlorku glinu jako katalizatora i równomolowych ilości reagentów, przy powolnym dodawaniu do roztworu metalocenu, implikuje otrzymanie monopodstawionej pochodnej **88**.⁹⁴ Ferrocen można także acylować bezwodnikami mieszanymi w obecności silnego kwasu jakim jest TfOH, otrzymując **89**.⁹⁵ Metalowanie za pomocą *n*-butylolitu daje mono- **90** i dipodstawione pochodne **91**, które można dalej funkcjonalizować.⁹⁶ Ferrocen ulega również reakcjom arylowania solami diazoniowymi **92**⁹⁷, sulfonowania **93**⁹⁸, formylowania **94**⁹⁹, reakcji Mannicha **95**¹⁰⁰ czy amidowania **96**¹⁰¹ (Schemat 5). Jednakże próby nitrowania z użyciem kwasu azotowego(V) i siarkowego(VI) powodują degradację struktury ferrocenu poprzez utlenienie atomu żelaza.⁹⁴



Schemat 5. Reakcje funkcjonalizacji ferrocenu

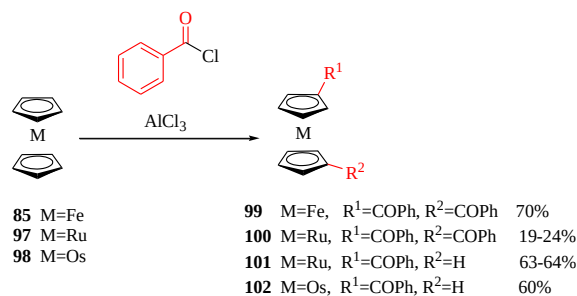
Inne pierwiastki VIII grupy układu okresowego, zarówno ruten, jak i osm, również tworzą związki sandwiczowe o wzorze ogólnym $(\text{C}_5\text{H}_5)_2\text{M}$, gdzie $\text{M}=\text{Ru}$, rutenocen **97**, $\text{M}=\text{Os}$, osmocen **98** (Rysunek 23). W 1952 r. Goeffrey Wilkinson otrzymał jasnożółte kryształy **97** w reakcji acetyloacetonianu rutenu(III) z bromkiem cyklopentadienylomagnezowym w temperaturze 80°C .¹⁰² Rutenocen jest równie stabilny i odporny na działanie reduktorów jak ferrocen, jednak w przeciwieństwie do niego, jest utleniany w sposób nieodwracalny. Rutenocen ulega reakcjom metalowania, acylowania, sulfonowania, aminometylowania, arylowania solami diazoniowymi czy formylowania Vilsmeiera-Haacka.¹⁰³



Rysunek 23. Struktury rutenocenu **97** i osmocenu **98**

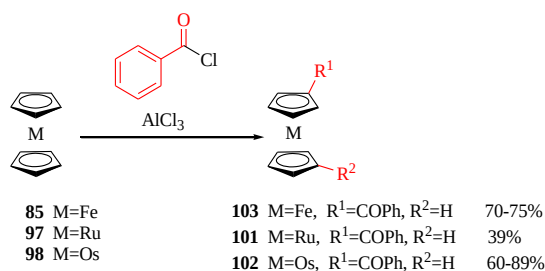
Marvin Rausch, Ernst Fisher i Heinrich Grubert porównali analogiczne pochodne ferrocenu, rutenocenu oraz osmocenu i stwierdzili, że metaloceny te znacznie różnią się reaktywnością w reakcjach substytucji elektrofilowej. Acylowanie metalocenu trzykrotnym nadmiarem chlorku benzoilu, stosując chlorek glinu, prowadzi

do otrzymania 1,1'-dibenzoilferrocenu **99**, mono- **101** i dibenznoilorutenocenu **100** oraz benzoiloosmocenu **102** (Schemat 6).⁹⁴



Schemat 6. Reakcje acylowania metalocenów trzykrotnym nadmiarem chlorku benzoilu w obecności $AlCl_3$

Zastosowanie równomolowych ilości reagentów prowadzi do otrzymania monopodstawionego rutenocenu **101** i ferrocenu **103**¹⁰⁴, natomiast zwiększenie nadmiaru odczynnika acylującego trzykrotnie i sześciokrotnie czy podwyższenie temperatury nie powoduje otrzymania dipodstawionego osmocenu, a jedynie monopochodną **102** (Schemat 7).⁹⁴

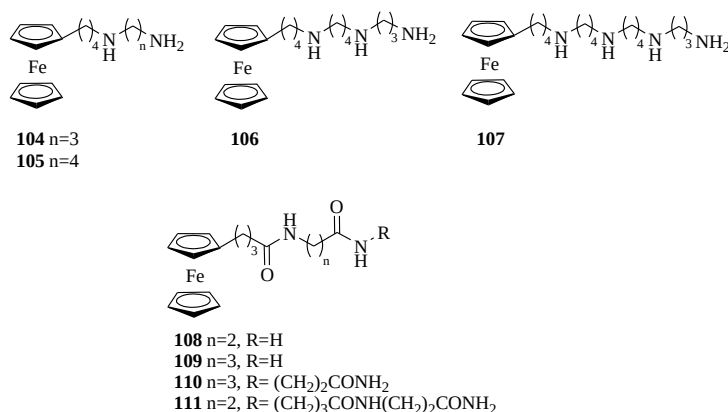


Schemat 7. Reakcje acylowania metalocenów chlorkiem benzoilu w obecności $AlCl_3$

W przypadku rutenocenu, przy zastosowaniu kilkukrotnego nadmiaru chlorku acetylu i chlorku glinu można wyizolować tylko 1,1'-diacetylorutenocen, natomiast nie obserwuje się powstawania monopochodnej. Reaktywność metalocenów w reakcji Friedla-Craftsa maleje zatem w kierunku ferrocen>rutenocen>osmocen.⁹⁴ W reakcji metalowania n -BuLi wyższą reaktywnością w porównaniu do ferrocenu charakteryzuje się rutenocen, a pomimo zastosowania kilkukrotnego nadmiaru n -BuLi, otrzymuje się wyłącznie monolitoosmocen.¹⁰⁵

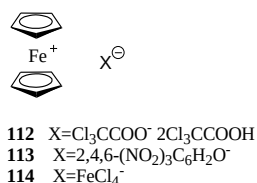
4.7.1 Wybrane ferrocenyłowe pochodne o właściwościach przeciwnowotworowych

W 1978 r. opisano właściwości przeciwnowotworowe ferrocenyłowych amin **104-107** i amidów **108-111**, które podano myszom z białaczką limfatyczną P-388 (Rysunek 24). Badania pokazały, że aminy były nietoksyczne, natomiast amidy wykazywały niewielką aktywność przeciwnowotworową, co potwierdza, iż wprowadzenie ferrocenu wpływa na zwiększenie aktywności otrzymanych koniugatów.¹⁰⁶



Rysunek 24. Struktury amin **104-107** i amidów ferrocenyłowych **108-111**

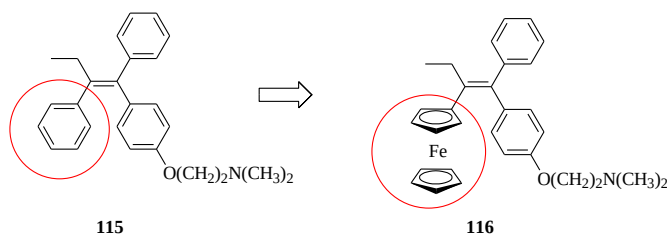
Późniejsze prace Hartmuta Köpfa, Petry Köpf-Maier i Eberharda Neuse dowiodły, że ferrocen nie jest toksyczny, a właściwości przeciwnowotworowe posiada kation ferroceniowy $[(C_5H_5)_2Fe]^+$. Badania przeprowadzone na myszach z wszczepionym guzem komórek Ehrlicha wykazały, iż najwyższą aktywność antyproliferacyjną wykazywała sól **112**, stąd stwierdzono, iż biodostępność kationu można regulować poprzez zastosowanie odpowiedniego przeciwjonu (Rysunek 25).¹⁰⁷⁻¹⁰⁸



Rysunek 25. Struktury soli ferroceniowych **112-114**

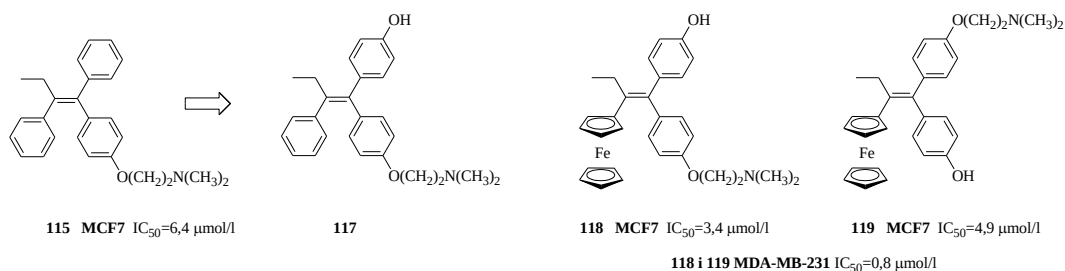
Intensywny rozwój badań nad zastosowaniem ferrocenyłowych pochodnych jako związków przeciwnowotworowych rozpoczął Gérard Jaouen. Wykazano, że zastąpienie

w tamoksyfenu **115** grupy fenylowej grupą ferrocenylową prowadzi do otrzymania związku o interesujących właściwościach antyproliferacyjnych (Rysunek 26).¹⁰⁹⁻¹¹⁰ Tamoksyfen należy do selektywnych modulatorów receptora estrogenowego o działaniu antyestrogenowym i jest stosowany w terapii hormonozależnego raka sutka (ER+), który stanowi 60% przypadków nowotworów sutka. Pozostała część to nowotwory sutka hormononiezależne (ER-), czyli nie posiadające receptora estrogenowego, na które lek ten nie jest aktywny.¹¹⁰



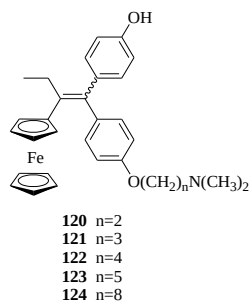
Rysunek 26. Struktury tamoksyfenu **115** i jego ferrocenylowego analogu **116**

Tamoksyfen jest metabolizowany do aktywnego biologicznie hydroksytamoksyfenu **117**, który łącząc się z receptorem estrogenowym α , uniemożliwia jego dalszą aktywność, hamując rozwój nowotworu hormonozależnego (Rysunek 27).¹¹¹ Zsyntezowano ferrocenylowe pochodne hydroksytamoksyfenu **118** i **119**, określono względne powinowactwo wiązania do receptora estrogenowego dla obu izomerów (*E/Z*), a następnie zbadano cytotoksyczność na liniach komórek nowotworowych MCF7 (ludzka linia komórkowa raka sutka, posiadająca receptory estradiolu), stosując jako związek kontrolny tamoksyfen. Badania pochodnej **118** wykazały, że powinowactwo do receptora estrogenowego izomeru *Z* jest wyższe niż dla izomeru *E* **119**.¹⁰⁹ W przypadku linii komórek nowotworowych MDA-MB-231 (ludzka hormononiezależna linia komórek nowotworowych raka sutka), wyznaczono wartość IC_{50} dla mieszaniny izomerów **118-119**. Wysoka aktywność wobec komórek nowotworowych, które nie są wrażliwe na tamoksyfen zachęciły naukowców do syntezy i oceny aktywności biologicznych innych ferrocenylowych pochodnych hydroksytamoksyfenu.¹¹²



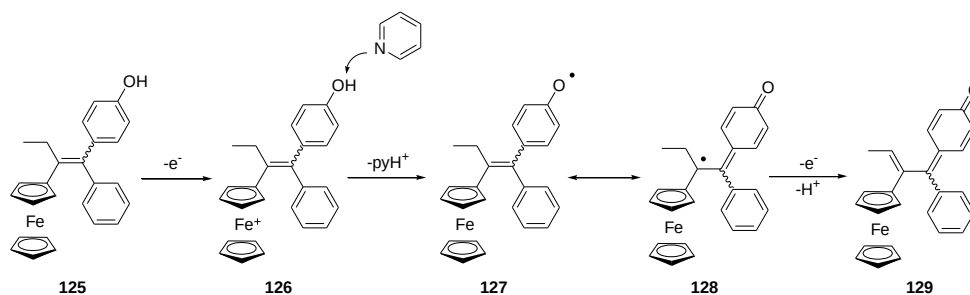
Rysunek 27. Struktury tamoksyfenu **115**, hydroksytamoksyfenu **117** i ferrocenylowych pochodnych **118** i **119**

Badania wpływu długości łańcucha na właściwości cytotoksyczne otrzymanych związków wobec linii komórkowych MCF7 i MDA-MB-231 pokazały, że otrzymane analogi wykazywały silne właściwości antyproliferacyjne zarówno w badaniach na liniach komórkowych MCF7 (ER+), jak i MDA-MB-231 (ER-). Aktywność **120-124** była podobna do hydroksytamoksyfenu w przypadku linii komórkowej MCF7, natomiast dla linii MDA-MB-231 ferrocenylowe analogi były zdecydowanie bardziej aktywne niż związek **117**. Stwierdzono, że w przypadku izomeru *Z* powinowactwo do receptora estrogenowego jest wyższe niż dla *E*, a za optymalną długość linkera uznano $n=3-5$ (Rysunek 28).¹¹³⁻¹¹⁵



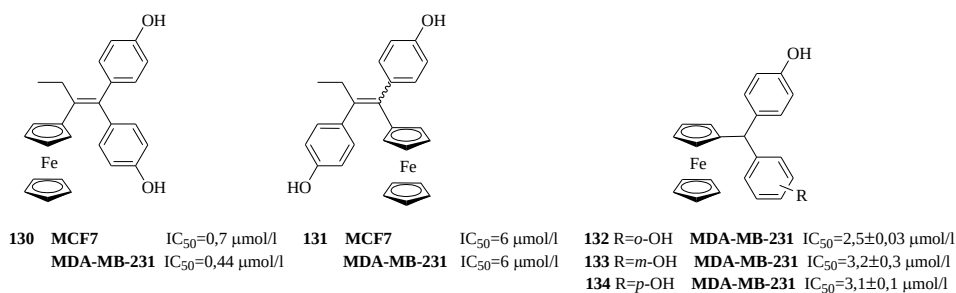
Rysunek 28. Struktury hydroksyferrocifenów **120-124**

Proponowany mechanizm działania **125** zakłada reakcję redoks ferrocenu poprzez układ π -elektronowy, prowadzącą do powstania metylenowego chinonu **129**, który będąc reaktywnym elektrofilem, jest podatny na nukleofilowy atak cząsteczek biologicznych, takich jak białka czy DNA (Schemat 8).¹¹⁶ Postuluje się również, że właściwości antyproliferacyjne ferrocifenów wynikają ze zdolności do generowania przez te związki w reakcji Fentona reaktywnych form tlenu (ang. *reactive oxygen species*, ROS), które powodują uszkodzenia DNA, starzenie komórek i mogą indukować apoptozę.¹¹⁷⁻¹¹⁹



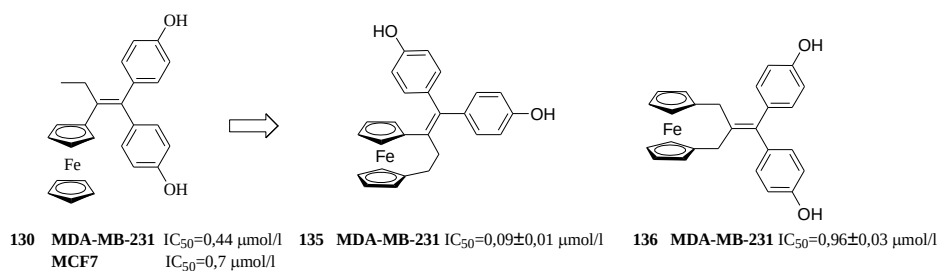
Schemat 8. Proponowany mechanizm działania **125**

Kontynuując badania nad analogami tamoksyfenu, zsyntezowano fenolowe pochodne **130** i **131**¹²⁰ oraz niesprężone fenole **132-134**¹¹⁸ (Rysunek 29). Najwyższą aktywność antyproliferacyjną zarówno względem MCF7, jak i wobec MDA-MB-231 (ER-) wykazywał związek **130**.¹²⁰ Wyższa aktywność związku **130** niż **131** pozwala wnioskować, że pozycja grupy ferrocenyłowej ma kluczowe znaczenie dla efektywności działania cząsteczki, natomiast brak łańcucha dimetyloaminoalkilowego w pozycji para pierścienia fenyłowego, który jest istotny przy wiązaniu do receptora estrogenowego, nie powoduje utraty właściwości cytotoksycznych. Obecność układu wiązań podwójnych dla **130** i **131** również wpływa na poprawę efektywności działania w porównaniu ze związkami nie zawierającymi układu sprzężonego dla **132-134**.¹¹¹



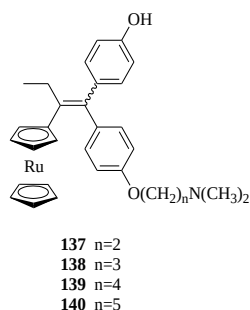
Rysunek 29. Struktury fenolowych pochodnych **130-131** oraz niesprężonych fenoli **132-134**

Dalsze modyfikacje polegające na zahamowaniu rotacji wokół wiązania podwójnego doprowadziły do otrzymania pochodnych *ansa*-ferrocenu **135** i **136**, spośród których związek **135** okazał się jednym z najbardziej aktywnych hydroksyferrocifenów wobec linii MDA-MB-231 (Rysunek 30).¹²¹



Rysunek 30. Struktury fenolowej pochodnej **130** i ansa-ferrocenów **135** i **136**

Zbadano rutenocenyłowe analogi hydroksytamoksifenu **137-140** wobec linii komórkowych MCF7, jak i MDA-MB-231 (Rysunek 31). Pochodne te wykazują podobną aktywność antyproliferacyjną co hydroksytamoksifen **117** dla linii MCF7, natomiast w przypadku linii hormononiezależnej MDA-MB-231 nie mają wpływu na podziały komórkowe. Postulowaną przyczyną braku aktywności jest nieodwracalne utlenianie oraz wyższy potencjał redoks dla rutenocenu. Przypuszcza się również, że brak aktywności antyproliferacyjnej **137-140** na liniach komórkowych ER (-) wynika z nietrwałości i szybkiego rozkładu rodników rutenocenyłowych, natomiast w przypadku ferrocifenów tworzą się wysoce reaktywne rodniki, wystarczająco stabilne, by ulegać dalszym reakcjom i przez co powodować działanie genotoksyczne.¹²²

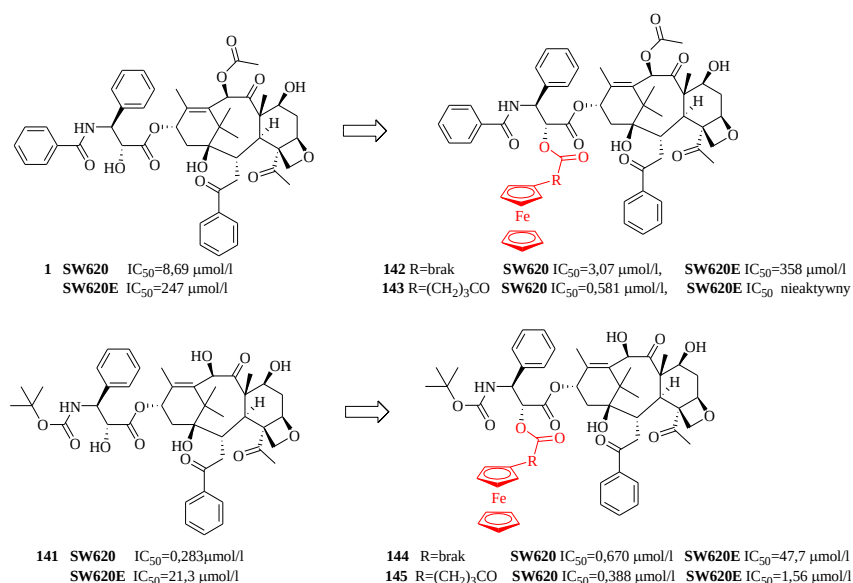


Rysunek 31. Struktury rutenocenyłowych pochodnych **137-140**

Interesujące właściwości biologiczne ferrocenyłowych pochodnych hydroksytamoksifenu rozpoczęły okres intensywnych badań nad różnymi koniugatami związków ferrocenyłowych w celu opracowania cząsteczek, które posiadałyby wyższą aktywność biologiczną i selektywność, będąc bezpieczną alternatywą dla obecnie stosowanych leków.

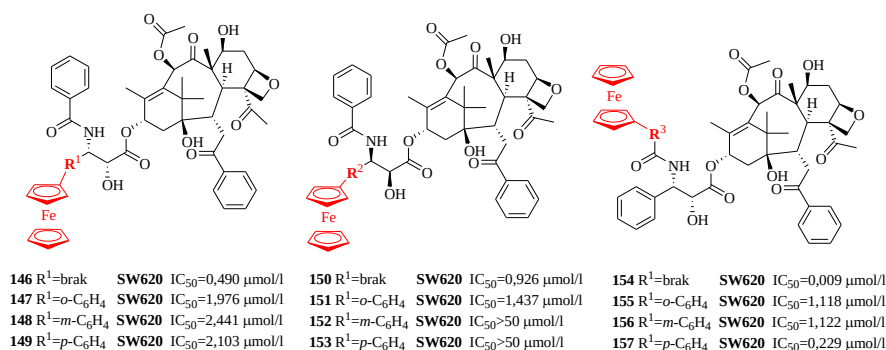
Tego typu badania wykonano dla ferrocenyłowych koniugatów związków antymitotycznych, których przedstawicielami są paklitaksel **1** i docetaksel **141**, a ich działanie polega na stabilizowaniu polimeryzacji mikrotubul (Rysunek 32). Z uwagi

na fakt, że taksany są substratami białek ABC, zbadano ich aktywność przeciwnowotworową wobec lekoopornych linii komórek nowotworowych na doksorubicynę, etopozyd, metotreksat i winkrystynę. Badania wykazały, że związek **145** posiadał najwyższą aktywność antyproliferacyjną wobec linii SW620E (ludzka linia komórkowa gruczolakoraka jelita grubego oporna na etopozyd) w porównaniu z paklitakselem, czy docetakselem.¹²³



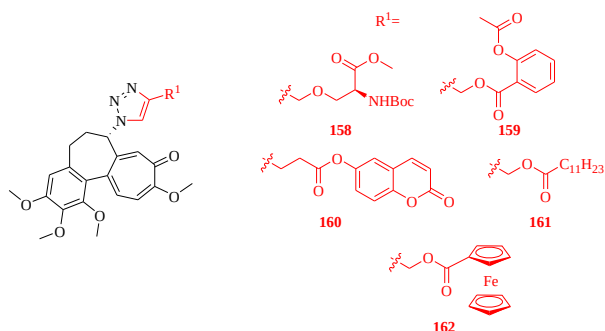
Rysunek 32. Struktury paklitakselu **1**, docetakselu **141**, ferrocenyłowych pochodnych paklitakselu **142** i **143** oraz docetakselu **144** i **145**

Sprawdzono również jaki wpływ na właściwości cytotoksyczne otrzymanych pochodnych ma zastąpienie grupy fenyłowej grupą ferrocenyłową i ferrocenylofenyłową (Rysunek 29). Badania aktywności biologicznej wykonano wobec linii komórkowych SW620, A549, Colo 205 (linia gruczolakoraka jelita grubego), Hep G2 (linia raka wątrobowokomórkowego), HCT116 (linia gruczolakoraka jelita grubego), MCF7 oraz linii opornych wywiedzionych z linii SW620. Najwyższą aktywność cytotoksyczną wobec większości badanych linii wykazywały pochodne **154-157**. Linia komórkowa SW620 była najbardziej wrażliwa na otrzymane pochodne. Spośród zbadanych związków tylko **154**, **156** i **146** posiadały zdolność do indukowania polimeryzacji tubuliny na podobnym poziomie co paklitaxel.¹²⁴



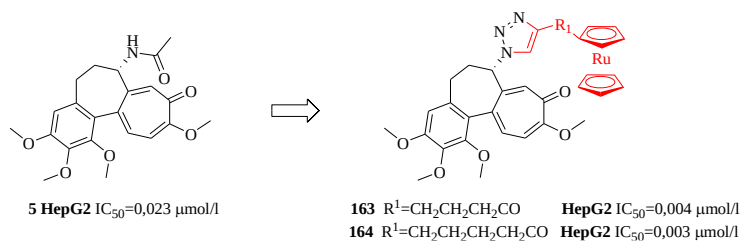
Rysunek 33. Struktury ferrocenyliowych pochodnych paklitakselu **146-157**

Kolejnym inhibitorem polimeryzacji tubuliny wykazującym bardzo wysoką toksyczność jest kolchicina, co uniemożliwia wykorzystanie jej jako leku przeciwnowotworowego. Jednakże, ze względu na silne działanie antymitotyczne jest ona obiektem wielu badań mających na celu odkrycie modyfikacji, która pozwoliłaby zastosować jej analogi w chemioterapii.¹²⁵ Zsyntezowano i zbadano wpływ szeregu analogów kolchicyny na polimeryzację tubuliny. Najwyższą aktywność wykazywały organiczne i metaloorganiczne analogi **158-162** (Rysunek 34).¹²⁶



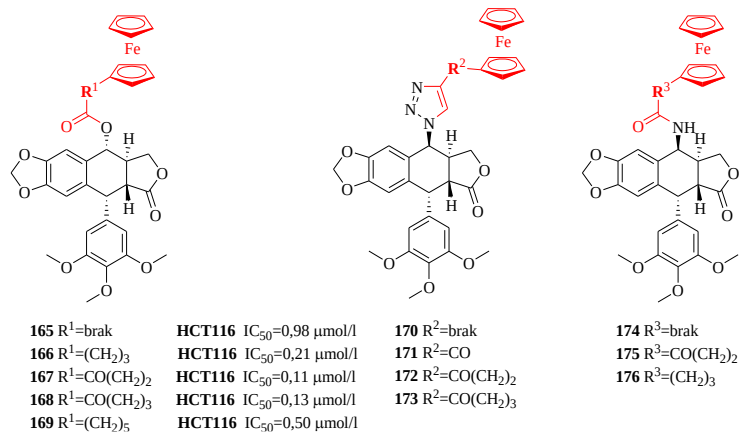
Rysunek 34. Struktury 1H-1,2,3-triazolowych analogów kolchicyny **158-162**

Z kolei, wprowadzenie do cząsteczki kolchicyny ugrupowania ferrocenyliowego oraz rutenocenyliowego z linkerem również prowadzi do otrzymania metalocenowych pochodnych, będących inhibitorami polimeryzacji tubuliny. Ponadto rutenocenyliowe analogi **163** i **164** wykazują wyższą cytotoksyczność niż macierzysta cząsteczka wobec linii komórkowej Hep G2 (Rysunek 35).¹²⁷⁻¹²⁸



Rysunek 35. Struktury kolchicyny 5 oraz metalocenowych pochodnych kolchicyny 163 i 164

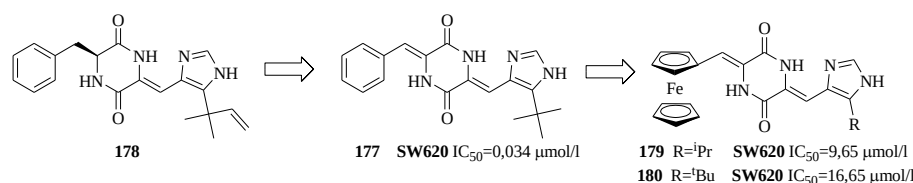
Celem sprawdzenia wpływu grupy ferrocenyłowej na aktywność biologiczną koniugatów podofilotoksyny zsyntezowano estrowe **165**¹²⁹, **166-169**, 1*H*-1,2,3-triazolowe **170-173** i amidowe **174-176** pochodne (Rysunek 36).¹³⁰ Badania wobec linii komórek nowotworowych HCT116, Colo 205, SW620, A549, Hep G2 oraz MCF7 wykazały, iż żaden z otrzymanych związków nie był bardziej aktywny niż podofilotoksyna, jednakże były bardziej cytotoksyczne niż etopozyd. Najwyższą aktywność wobec wszystkich linii komórek nowotworowych, szczególnie linii komórkowej HCT116, wykazywały estry **165-169**. Badania biologiczne pokazały, że działanie antyproliferacyjne **166-169** jest widoczne jako zmiana rozkładu faz cyklu komórkowego, oraz że zsyntezowane estry są inhibitorami polimeryzacji tubuliny.¹³⁰



Rysunek 36. Struktury ferrocenyłowych pochodnych 165-176

Z kolei zastąpienie w plinabulinie **177** grupy fenyłowej ugrupowaniem ferrocenyłowym doprowadziło do otrzymania związków posiadającym inny mechanizm działania – okazały się one inhibitorami transporterów ABC (Rysunek 37).¹³¹ Plinabulina jest syntetycznym analogiem fenyloahistyny **178**, produkowanej przez grzyby *Aspergillus ustus*.¹³² Badania mechanizmu działania fenyloahistyny wykazały, że jest ona inhibitorem polimeryzacji tubuliny, a wiążąc się z miejscem wiązania kolchicyny w tubulinie, blokuje mitozę i prowadzi do śmierci komórki.⁵⁴ Plinabulina wykazuje silne

działanie antymitotyczne poprzez hamowanie polimeryzacji tubuliny, a także zaburza funkcjonowanie naczyń krwionośnych nowotworu. Badania ferrocenyowych analogów plinabuliny wobec linii komórkowych MCF7, Hep G2, SW620 oraz linii posiadających nadekspresję białek ABC MDR: SW620C, SW620D, SW620E, SW620M, SW620V wykazały, że najaktywniejszymi związkami były **179** oraz **180**, które wykazywały aktywność wobec wszystkich badanych linii.¹³¹



Rysunek 37. Struktury fenyloahistyny **178**, plinabuliny **177** oraz ferrocenyowych analogów plinabuliny **179** i **180**

Określono również wpływ związku **180** na aktywność antyproliferacyjną dla linii komórkowych SW620, SW620C i SW620V przy jednoczesnym traktowaniu komórek doksorubicyną i mitoksantronem. Dodanie werapamilu i Ko143 miało na celu modulację aktywności białek ABC (Tabela 1). Modyfikacja cząsteczki plinabuliny ugrupowaniem ferrocenyowym uwrażliwiła badane linie komórkowe na doksorubicynę i mitoksantron, analog **180** okazał się być inhibitorem białek ABCB1 i ABCG2. Odkrycie to stwarza nowe możliwości w projektowaniu tego typu pochodnych.¹³¹

Tabela 1. Siła odwracania oporności związku **180** w wybranych liniach komórkowych opornych na wiele leków. Komórki inkubowano z doksorubicyną i mitoksantronem w obecności lub nieobecności modulatorów: Ko143 i werapamilu. Wartości wyrażono jako IC₅₀ dla doksorubicyny i mitoksantronu w µmol/l, przedziały ufności (95%) przedstawiono w nawiasach. Zebrane wartości są średnią z trzech niezależnych eksperymentów.

* oznaczono ekstrapolowane wartości

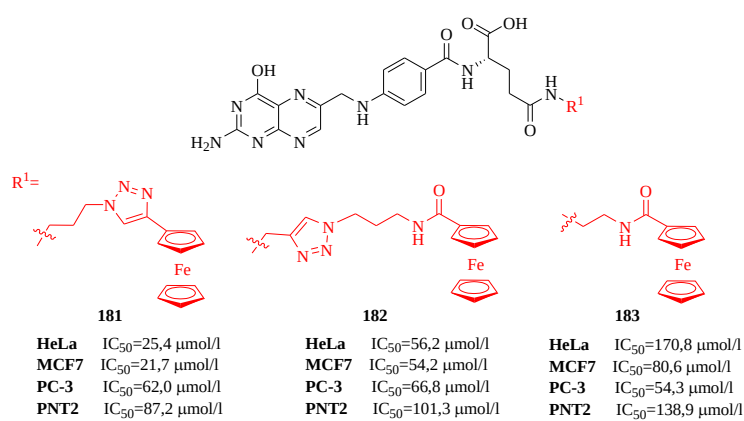
Doksorubicyna

SW620	SW620+ werapamil	SW620+ 180	SW620C	SW620C+ werapamil	SW620C+ 180	SW620V	SW620V+ werapamil	SW620V+ 180
0,93 (0,73-1,17)	0,33 (0,24-0,46)	0,30 (0,23-0,40)	14,85 (2,06-10,73)	0,80 (0,65-0,97)	0,24 (0,10-0,60)	327,7* (68,58-1566)	28,30 (26,79-29,91)	2,39 (0,72-7,98)

Mitoksantron

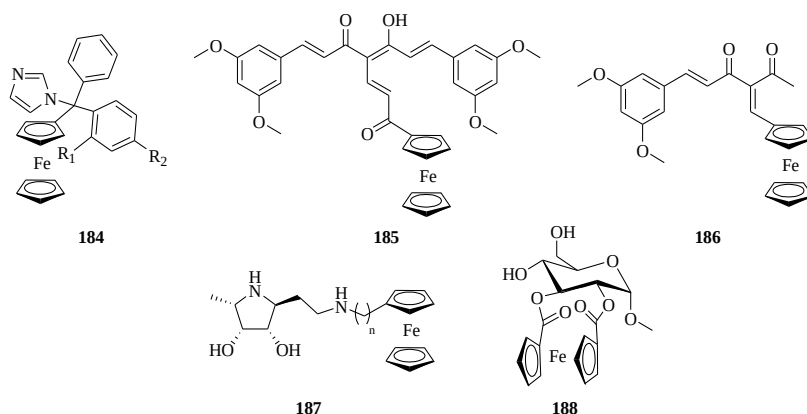
SW620	SW620+ Ko143	SW620+ 180	SW620C	SW620C+ Ko143	SW620C+ 180	SW620V	SW620V+ Ko143	SW620V+ 180
0,53 (0,43-0,64)	0,30 (0,24-0,36)	0,47 (0,40-0,55)	717,8* (17,53-29390)	11,51 (9,54-13,82)	13,21 (10,35-16,85)	2,63 (0,56-12,37)	36,86* (3,95-343,90)	4,12 (0,40-42,33)

W ostatnich latach zsyntezowano i zbadano również ferrocenyłowe koniugaty kwasu foliowego **181-183** wobec linii komórek nowotworowych HeLa (linia komórkowa raka szyjki macicy), MCF7, PC-3 (linia komórkowa raka gruczołu krokowego) oraz PNT2 (linia prawidłowego ludzkiego nabłonka gruczołu krokowego). Koniugat **181** wykazywał najwyższą aktywność antyproliferacyjną wobec linii MCF7 oraz HeLa, będąc jednocześnie mniej toksyczny wobec linii prawidłowej PNT2. Otrzymane wyniki wskazują na wysoki potencjał jaki posiadają ferrocenyłowe analogi kwasu foliowego i mogą dawać szansę zwiększenia specyficzności terapii celowanych przy zastosowaniu tego typu pochodnych (Rysunek 38).¹³³



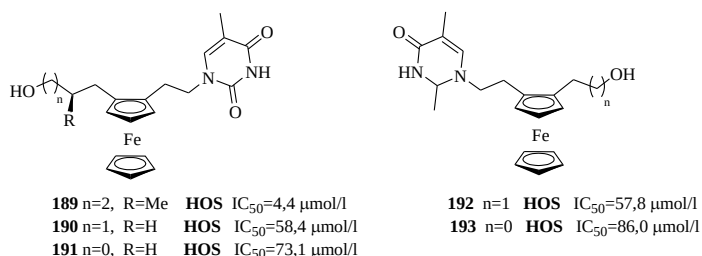
Rysunek 38. Struktury ferrocenyłowych analogów kwasu foliowego **181-183**

Szereg innych ferrocenyłowych analogów wykazuje interesujące właściwości antyproliferacyjne, m.in. ferrocenyłowe analogi klotrimazolu **184**¹³⁴, kurkuminy **185** i **186**¹³⁵, iminocukrów **187**¹³⁶, glukozy **188**¹³⁷ czy peptydy¹³⁸ (Rysunek 39).



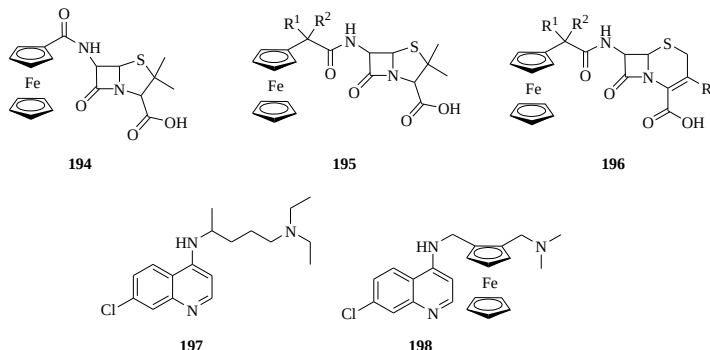
Rysunek 39. Struktury analogów klotrimazolu **184**, kurkuminy **185** i **186**, iminocukrów **187** oraz glukozy **188**

Właściwości przeciwnowotworowe wykazują również ferrocenyłowe pochodne nukleozydów.¹³⁹⁻¹⁴¹ Otrzymane ferrocenyłowe koniugaty tyminy **189-193** zbadano wobec linii komórek nowotworowych HOS (linia komórkowa kostniakomięsaka). Najwyższą aktywność antyproliferacyjną wykazywał związek **189** (Rysunek 40).¹⁴²



Rysunek 40. Struktury ferrocenyłowych pochodnych tyminy **189-193**

Oprócz powyżej zamieszczonych przykładów, w ostatnich latach zsyntezowano szereg ferrocenyłowych pochodnych^{3, 142-144} o właściwościach przeciwbakteryjnych – pochodne cefalosporyn i antybiotyków β-laktamowych **194-195**¹⁴⁵⁻¹⁴⁶ czy przeciwmalarycznych, jak ferrochina **198**, analog chlorochiny **197** (Rysunek 41).¹⁴⁷⁻¹⁵⁰



Rysunek 41. Struktury ferrocenyłowych pochodnych cefalosporyn i antybiotyków β-laktamowych **194-196**, chlorochiny **197** i ferrochiny **198**

5. Cel pracy

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej było zbadanie wpływu grupy metalocenowej, głównie ferrocenyłowej, na właściwości biologiczne wybranych związków, takich jak:

- metalocenowe analogi etopozydu

Badania te realizowano poprzez zsyntezowanie *1H*-1,2,3-triazolowych i aminowych analogów etopozydu, w których podstawnik węglowodanowy etopozydu zastąpiono grupą ferrocenyłową lub rutenocenyłową. Zbadano cytotoksyczność otrzymanych analogów, ich wpływ na cykl komórkowy, zdolność do hamowania topoizomerazy II oraz wpływ na polimeryzację tubuliny.

- ferrocenyłowe analogi tryprostatyny A

Badania te realizowano poprzez zsyntezowanie analogów tryprostatyny A, w których podstawnik indolowy zastąpiono grupą fenyłową, ferrocenyłową lub ferrocenylofenyłową oraz poprzez modyfikację proliny we fragmencie cyklo-Gly-Pro otrzymanych związków. Zbadano przeżywalność komórek nowotworowych wrażliwych oraz opornych na wybrane i najczęściej stosowane chemioterapeutyki w obecności otrzymanych analogów oraz ich oddziaływanie z transporterami ABC.

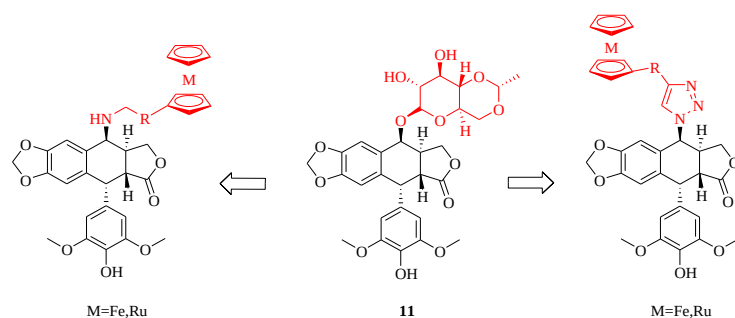
- ferrocenyłowe analogi kwasu foliowego i metotreksatu

Badania te realizowano poprzez syntezę ferrocenyłowych analogów kwasu foliowego oraz metotreksatu, zawierających podstawnik ferrocenyłowy wbudowany w cząsteczki kwasu foliowego i metotreksatu. Zbadano aktywność antyproliferacyjną zsyntezowanych związków.

6. Badania własne

6.1 Metalocenowe analogi etopozydu

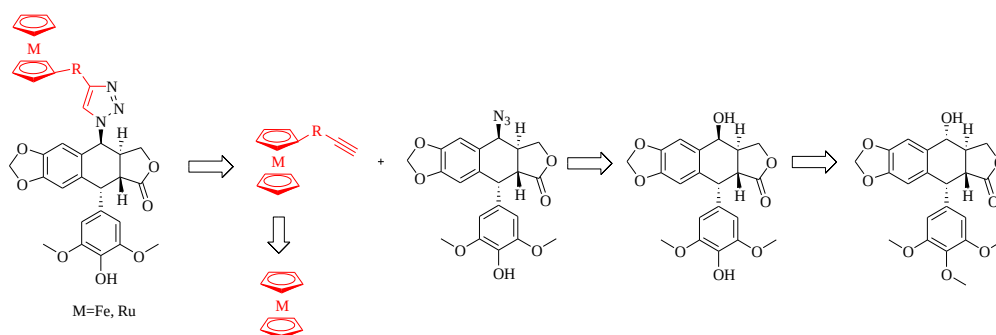
W pierwszym etapie swoich badań postanowiłam zsyntezować ferrocenyłowe oraz rutenocenyłowe analogi etopozydu i zbadać wpływ grupy metalocenowej na właściwości cytotoksyczne otrzymanych związków, a także ich zdolność do hamowania polimeryzacji tubuliny (Rysunek 42).



Rysunek 42. Struktury etopozydu **11**, 1*H*-1,2,3-triazolowych i aminowych analogów etopozydu

6.1.1 Synteza 1*H*-1,2,3-triazolowych analogów etopozydu

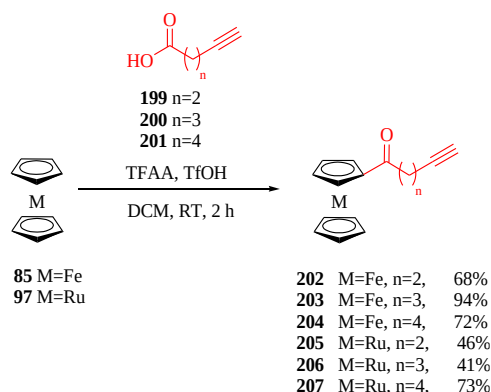
Koniugaty 1*H*-1,2,3-triazolowe zsyntezowałam w wieloetapowej reakcji, wychodząc z podofilotoksyny oraz odpowiednich metalocenów (Schemat 9).



Schemat 9. Retrosynteza 1*H*-1,2,3-triazolowych analogów etopozydu

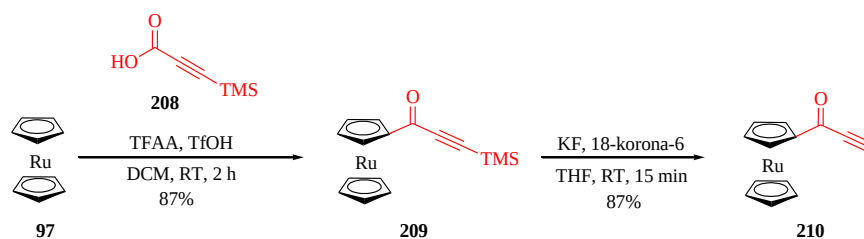
Niezbędne ω -alkyniloferroceny **202-204** oraz ω -alkynilorutenoceny **205-207** zsyntezowałam w reakcji acylowania Friedla-Craftsa ferrocenu **85** i rutenocenu **97** kwasami ω -alkynowymi **199-201** w obecności bezwodnika trifluorooctowego (TFAA) i kwasu trifluorometanosulfonowego (TfOH) (Schemat 10).¹²⁷⁻¹²⁸ W widmach ^1H NMR produktów obecne były sygnały pochodzące od podstawionych i niepodstawionych

ligandów η^5 -cyklopentadienylowych, grup metylenowych oraz tryplet pochodzący od protonu acetylenowego w zakresie δ 1,84-2,01 ppm.



Schemat 10. Reakcje acylowania Friedla-Craftsa ferrocenu **85** i rutenocenu **97** kwasami ω -alkynowymi **199-201** w obecności TFAA i TfOH

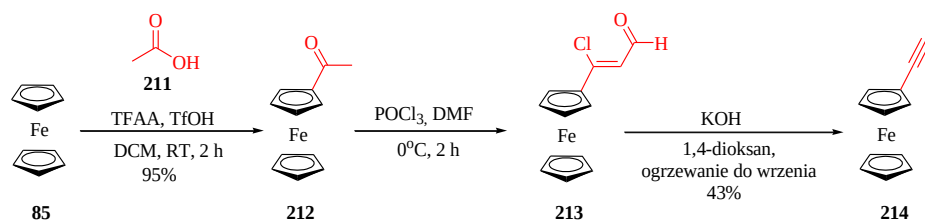
Analogiczną metodą otrzymałam propynoilorutenocen **210**.¹²⁷⁻¹²⁸ W reakcji acylowania **97** kwasem 3-(trimetylosililo)propynowym **208** w obecności TFAA i TfOH zsyntezowałam (3-trimetylosililo)propynoilorutenocen **209**, a następnie przeprowadziłam desililowanie, używając nadmiaru fluorku potasu i katalitycznej ilości eteru koronowego (18-korona 6) (Schemat 11). W widmie ^1H NMR obecne były sygnały pochodzące od podstawionego i niepodstawionego liganda η^5 -cyklopentadienylowego oraz singlet pochodzący od protonu acetylenowego przy δ 3,11 ppm.



Schemat 11. Synteza propynoilorutenocenu **210**

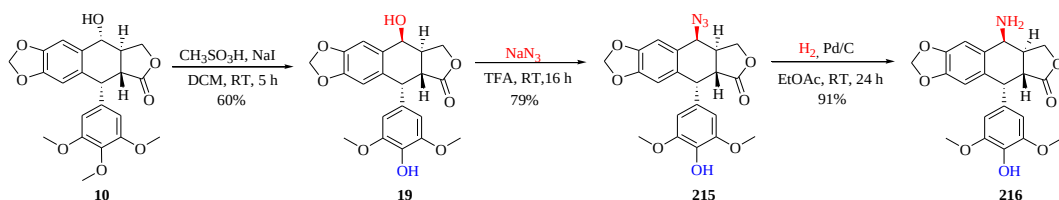
Etynyloferrocen **214** zsyntezowałam w trzyetapowej reakcji według procedury opisanej w literaturze.^{127-128, 151} W pierwszym etapie, w reakcji acylowania **85** kwasem octowym **211** w obecności TFAA i TfOH otrzymałam acetyloferrocen **212** z wydajnością 95%. Następnie, w reakcji Vilsmeiera-Haacka **212** z POCl_3 i DMF zsyntezowałam 3-chloro-3-ferrocenyloakroleinę **213**, którą poddałam reakcji z wodorotlenkiem potasu we wrzącym 1,4-dioksanie, uzyskując oczekiwany produkt **214** z wydajnością 43% w przeliczeniu na ilość użytego **212** (Schemat 12). W widmie ^1H NMR produktu obecny

był charakterystyczny singlet przy δ 3,65 ppm pochodzący od protonu acetylenowego oraz sygnały od podstawionego i niepodstawionego liganda η^5 -cyklopentadienylowego.



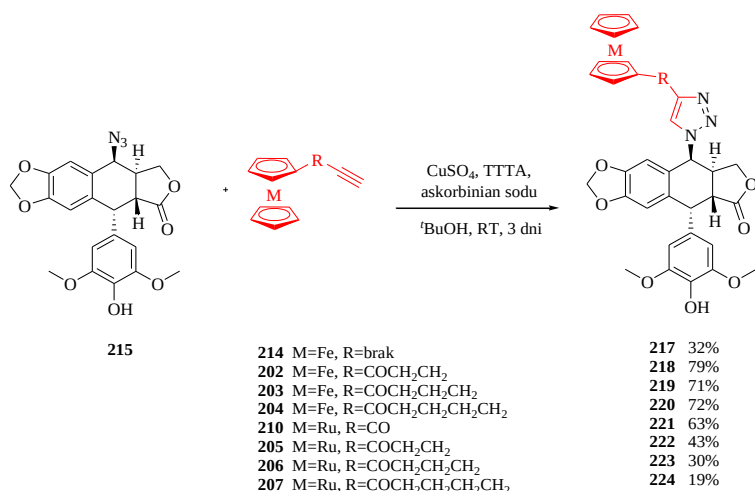
Schemat 12. Synteza etynyloferrocenu **214**

W celu syntezy docelowych *1H*-1,2,3-triazolowych oraz aminowych analogów etopozydu otrzymałam azydek **215** oraz aminę **216**. W pierwszym etapie, w reakcji selektywnego 4'-*O*-demetylowania podofilotoksyny **10** jodkiem sodu w kwasie metanosulfonowym zsyntezowałam 4'-*O*-demetyloepipodofilotoksynę **19** z wydajnością 60%. W tych warunkach zachodzi inwersja konfiguracji przy C-4 cząsteczki **10**.¹⁵² Następnie **19** poddałam reakcji z azydkiem sodu w TFA i otrzymałam odpowiedni azydek **215** z wydajnością 79%.¹⁵³ Uwodornienie **215** w obecności palladu na węglu w aparacie Paar[®] dało aminę **216** z wydajnością 91% (Schemat 13).¹⁵⁴



Schemat 13. Synteza azydu **215** i aminy **216**

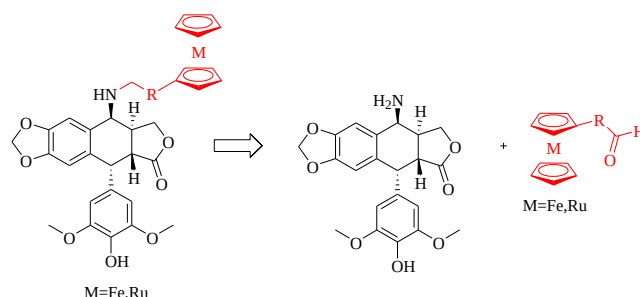
Analogi *1H*-1,2,3-triazolowe **217-224** zsyntezowałam w reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji azydowo-alkinowej azydku **215** z acetylenami **202-207**, **210**, **214** katalizowanej jonami miedzi(I), generowanymi *in situ* w reakcji siarczanu miedzi(II) i askorbinianu sodu, skompleksowanymi przez ligand TTTA (Schemat 14). Produkty **217-224** wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym i scharakteryzowałam metodami spektroskopowymi NMR, IR, MS oraz za pomocą analizy elementarnej. W widmach ¹H NMR produktów obecne były sygnały pochodzące od podstawionego i niepodstawionego liganda η^5 -cyklopentadienylowego, a także charakterystyczny singlet pochodzący od protonu *1H*-1,2,3-triazolu w zakresie δ 7,72-8,42 ppm i singlet od fenolu w zakresie δ 8,33-8,25.



Schemat 14. Synteza metalocenowych 1H-1,2,3-triazolowych analogów etopozylu 217-224

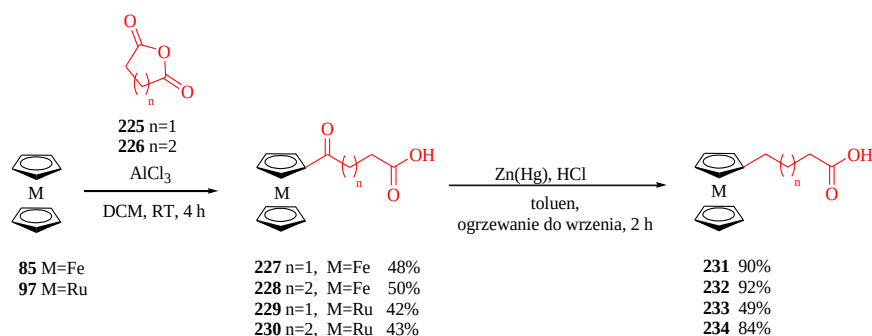
6.1.2 Synteza aminowych analogów etopozylu

Aminowe analogi etopozylu zsyntezowałam w reakcji aminowania redukcyjnego, wychodząc z aminy i aldehydów (Schemat 15).



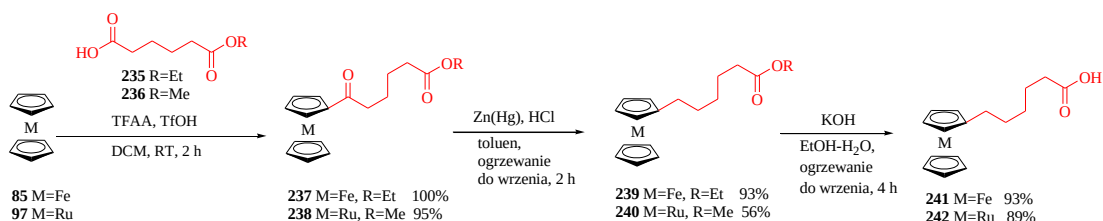
Schemat 15. Schemat syntezy aminowych analogów etopozylu

Niezbędne aldehydy **248-250**, **252**, **256** zsyntezowałam wychodząc z odpowiednich metalocenów **85** oraz **97**. W pierwszym etapie, acylowanie **85** i **97** bezwodnikami bursztynowym **225** oraz glutarowym **226** w obecności AlCl₃ doprowadziło do otrzymania kwasów ω-ferrocenoiloalkanowych **227-228**¹⁵⁵ oraz ω-rutenocenoiloalkanowych **229**¹⁵⁶-**230** z wydajnościami 42-50%. W reakcji Clemmensea zredukowałam grupę ketonową oksokwasów **227-230** za pomocą amalgamatu cynku, otrzymując kwasy ω-metalocenyloalkanowe **231**¹⁵⁷, **232**¹⁵⁸, **233**¹⁵⁶, **234** z wydajnościami 49-92% (Schemat 16). W widmach ¹H NMR produktów obserwowałam pojawienie się trypletu pochodzącego od grupy metylenowej zredukowanego oksokwasu, natomiast w widmach IR brak jednego pasma pochodzącego od drgań rozciągających grupy karbonylowej.



Schemat 16. Synteza kwasów ω -metalocenyloalkanowych **231-234**

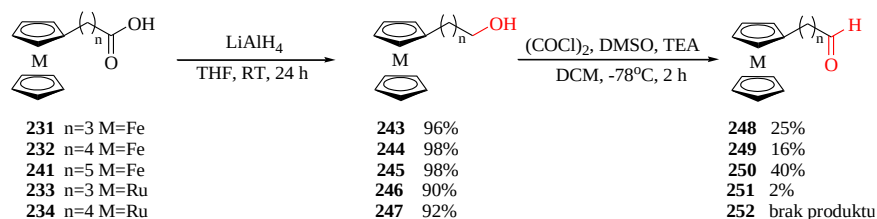
Kwasy ω -metalocenyloheksanowe **241-242** otrzymałam, wychodząc z **85** oraz **97**. W reakcji acylowania **85** i **97** monoestrem kwasu adypinowego **235-236** w obecności TFAA i TfOH zsyntezowałam oksoestry **237-238**. Grupę ketonową zredukowałam amalgamatem cynku, a otrzymane estry **239-240** poddałam hydrolizie zasadowej do odpowiednich kwasów **241**¹³⁰, **242** (Schemat 17). Brak sygnałów pochodzących od grupy *O*-alkilowej w widmie ¹H NMR produktów oraz obecność jednego sygnału pochodzącego od atomu węgla grupy karbonylowej w widmie ¹³C{¹H} NMR potwierdziły, że oczekiwanymi produktami są kwasy karboksylowe.



Schemat 17. Synteza kwasów ω -metalocenyloalkanowych **241-242**

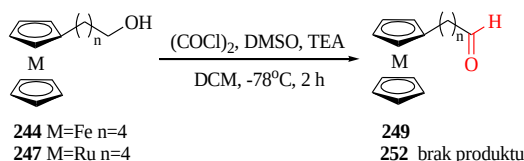
W kolejnym etapie kwasy ω -metalocenyloalkanowe **231-234**, i **241** zredukowałam do alkoholi pierwszorzędowych za pomocą LiAlH₄ w bezwodnym THF. W widmach ¹H NMR produktów obecny był poszerzony singlet pochodzący od grupy hydroksylowej w zakresie δ 4,33-4,34 ppm. Otrzymane alkohole **243**¹⁵⁹, **244**¹⁶⁰, **245** utleniałam w reakcji Swerna do odpowiednich aldehydów **248-250** z wydajnościami 16-40 % (Schemat 18). W widmach ¹H NMR zaobserwowałam tryplet pochodzący od grupy formylowej przy δ 9,76-9,77 ppm. Ponadto, w widmach IR obecne były pasma pochodzące od drgań rozciągających grupy karbonylowej w zakresie 1726-1724 cm⁻¹ potwierdzające, że otrzymane związki to aldehydy. Tę samą metodologię zastosowałam do syntezy ω -rutenocenyloalkanali **251-252**. Próby utlenienia związków **246** i **247** doprowadziły do otrzymania jedynie **251** z wydajnością 2%, natomiast

w przypadku utleniania **247** nie obserwowałam powstawania **252**, a wyłącznie produkty rozkładu alkoholu **247**.



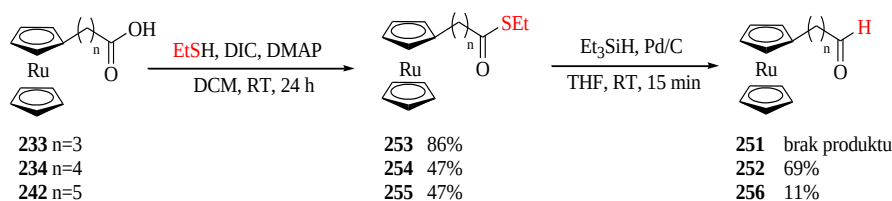
Schemat 18. Synteza ω -metalocenyloalkanali **248-251**

W związku z niepowodzeniem utleniania **247**, postanowiłam porównać przebieg reakcji Swerna dla **244** i **247** za pomocą HPLC-MS. Stwierdziłam, że w przypadku utleniania **244**, zarówno po 15 jak i po 60 minutach w mieszaninie reakcyjnej obecny był wyjściowy związek **244** i produkt **249** (Schemat 19). Z kolei w reakcji utleniania **247**, już po 15 minutach nie stwierdziłam obecności alkoholu **247** ani aldehydu **252**, a jedynie mieszaninę nieidentyfikowalnych produktów.



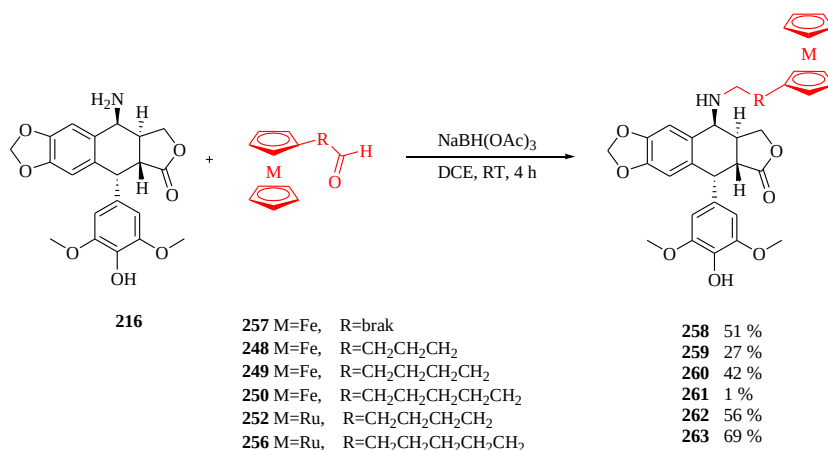
Schemat 19. Próby utleniania ω -metalocenyloalkoholi **244** i **247**

Ze względu na bardzo niską wydajność syntezy **251** oraz z uwagi na fakt, że utlenianie **247** nie powiodło się, odpowiednie ω -rutenocenyloalkanale **252** i **256** zsyntezowałam w reakcji redukcji tioestrów S-etylowych **253-255**. W tym celu kwasy **233-234**, **242** poddałam reakcji z etanotiolem w obecności DIC i DMAP, otrzymując pożądane produkty **253-255**. Stwierdziłam, że redukcja grupy tioestrowej trietylosilanem w obecności palladu na węglu prowadzi do otrzymania ω -rutenocenyloalkanali **252** i **256** z wydajnościami 69 oraz 11 % (Schemat 20). W widmach ^1H NMR produktów był obecny charakterystyczny tryplet pochodzącego od grupy formylowej przy δ 9,77 ppm. Reakcja redukcji **253** do **251** nie powiodła się, wyizolowałam jedynie produkty rozkładu związku wyjściowego, trudne do interpretacji za pomocą metod spektroskopowych.



Schemat 20. Synteza ω -rutenocenyloalkanali **252** i **256**

W reakcji aminowania redukcyjnego aminy **216** z aldehydami **248-250**, **252**, **256-257** oraz triacetoksyborowodorkiem sodu zsyntezowałam aminowe analogi etopozydu **258-263** z wydajnościami 15-69 % (Schemat 21). Produkty scharakteryzowałam za pomocą metod spektroskopowych NMR, IR, MS oraz za pomocą analizy elementarnej. Ze względu na bardzo niską wydajność syntezy **261** (1%) oraz problemy z oczyszczaniem, związek **261** nie został przekazany do badań biologicznych.



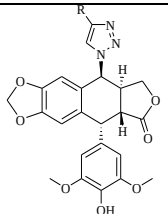
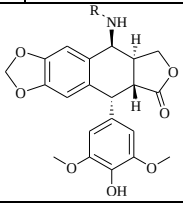
Schemat 21. Synteza metalocenowych koniugatów aminowych **258-263**

6.1.3 Badania aktywności biologicznych metalocenowych analogów etopozydu

W zespole dr. Błażeja Rychlika z Katedry Biofizyki Molekularnej Uniwersytetu Łódzkiego zbadano aktywność antyproliferacyjną otrzymanych *1H*-1,2,3-triazolowych i aminowych analogów etopozydu względem linii komórek nowotworowych A549 (gruczolakorak płuc), Colo 205 (gruczolakorak jelita grubego), HCT116 (rak jelita grubego), SW620 (gruczolakorak jelita grubego), HepG2 (rak wątrobowokomórkowy) oraz MCF7 (gruczolakorak sutka). W pierwszym etapie wykonano badania przeżywalności komórek nowotworowych w obecności badanych związków w stężeniu równym IC₅₀ dla etopozydu dla każdej z linii komórkowych (Tabela 2).

Tabela 2. Przeżywalność komórek nowotworowych w obecności analogów etopozyny stosowanych w stężeniu równym IC_{50} dla etopozyny dla każdej z linii komórkowych, 2,1 $\mu\text{mol/l}$ (A549), 1,2 $\mu\text{mol/l}$ (Colo 205), 4,2 $\mu\text{mol/l}$ (HCT 116), 2,4 $\mu\text{mol/l}$ (HepG2), 0,9 $\mu\text{mol/l}$ (MCF7), 1,4 $\mu\text{mol/l}$ (SW620). Dane przedstawiono jako średnią $\pm$ odchylenie standardowe trzech niezależnych eksperymentów.

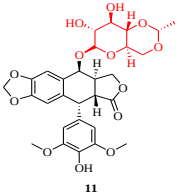
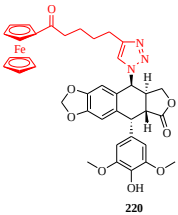
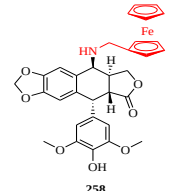
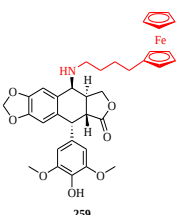
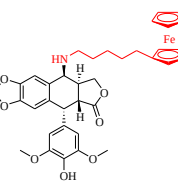
Dane według K. Chrabąszcz, A. Blauż, M. Gruchała, M. Wachulec, B. Rychlik, D. Plażuk, Chem. Eur. J. 2021, 27, 6254-6262

Wzór związku		Nr. zw.	Odsetek żywych komórek					
			A549	Colo 205	HCT 116	HepG2	MCF7	SW620
		Analogi 1H-1,2,3-triazolowe						
Ferrocenyłowe	R=Fcbra	217	82,6 $\pm$ 2,1	94,4 $\pm$ 9,7	90,4 $\pm$ 6,2	90,2 $\pm$ 7,4	77,6 $\pm$ 1,5	87,8 $\pm$ 2,7
	R=FcCO(CH ₂) ₂	218	54,1 $\pm$ 2,8	85,7 $\pm$ 6,6	96,9 $\pm$ 1,4	95,6 $\pm$ 11,3	47,8 $\pm$ 1,6	32,8 $\pm$ 1,4
	R=FcCO(CH ₂) ₃	219	61,9 $\pm$ 2,0	83,9 $\pm$ 12,6	96,0 $\pm$ 3,2	96,2 $\pm$ 13,5	42,6 $\pm$ 1,4	28,0 $\pm$ 2,8
	R=FcCO(CH ₂) ₄	220	40,3 $\pm$ 9,7	42,6 $\pm$ 4,4	38,1 $\pm$ 3,3	71,8 $\pm$ 8,0	41,1 $\pm$ 3,2	31,1 $\pm$ 2,5
Rutenocenyłowe	R=RcCO	221	45,5 $\pm$ 1,1	58,7 $\pm$ 8,1	95,7 $\pm$ 5,4	88,0 $\pm$ 8,4	41,9 $\pm$ 2,1	30,5 $\pm$ 1,1
	R=RcCO(CH ₂) ₂	222	75,5 $\pm$ 0,7	94,1 $\pm$ 8,7	90,2 $\pm$ 6,1	92,1 $\pm$ 6,6	79,0 $\pm$ 4,7	101,1 $\pm$ 2,3
	R=RcCO(CH ₂) ₃	223	75,0 $\pm$ 3,6	89,4 $\pm$ 4,9	94,6 $\pm$ 9,7	97,9 $\pm$ 0,9	76,3 $\pm$ 1,5	87,2 $\pm$ 4,7
	R=RcCO(CH ₂) ₄	224	79,9 $\pm$ 4,8	89,2 $\pm$ 8,3	92,3 $\pm$ 5,5	91,6 $\pm$ 9,1	77,8 $\pm$ 2,1	98,9 $\pm$ 3,8
		Analogi aminowe						
Ferrocenyłowe	R=FcCH ₂	258	74,9 $\pm$ 7,5	38,5 $\pm$ 3,4	78,5 $\pm$ 11,2	49,3 $\pm$ 6,9	50,4 $\pm$ 1,7	41,5 $\pm$ 3,4
	R=Fc(CH ₂) ₄	259	68,7 $\pm$ 11,7	37,1 $\pm$ 5,4	40,4 $\pm$ 2,0	54,3 $\pm$ 13,8	39,1 $\pm$ 3,9	40,4 $\pm$ 5,4
	R=Fc(CH ₂) ₅	260	57,0 $\pm$ 9,5	32,9 $\pm$ 3,3	39,8 $\pm$ 4,6	50,0 $\pm$ 10,6	26,1 $\pm$ 2,6	40,1 $\pm$ 3,6
Rutenoc.	R=Rc(CH ₂) ₅	262	76,1 $\pm$ 11,9	97,3 $\pm$ 7,3	79,9 $\pm$ 12,4	86,9 $\pm$ 7,9	58,7 $\pm$ 3,1	40,6 $\pm$ 4,0
	R=Rc(CH ₂) ₆	263	75,1 $\pm$ 14,4	92,5 $\pm$ 18,2	61,6 $\pm$ 1,5	81,2 $\pm$ 12,3	53,7 $\pm$ 3,4	33,8 $\pm$ 2,5

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że najwyższą aktywność antyproliferacyjną wobec większości linii komórkowych wykazywały aminy 258-260 oraz 1H-1,2,3-triazol 220. Ponadto, linie komórkowe MCF7 oraz SW620 były najbardziej wrażliwe na zsyntezowane związki. Dla najaktywniejszych analogów 220, 258-260

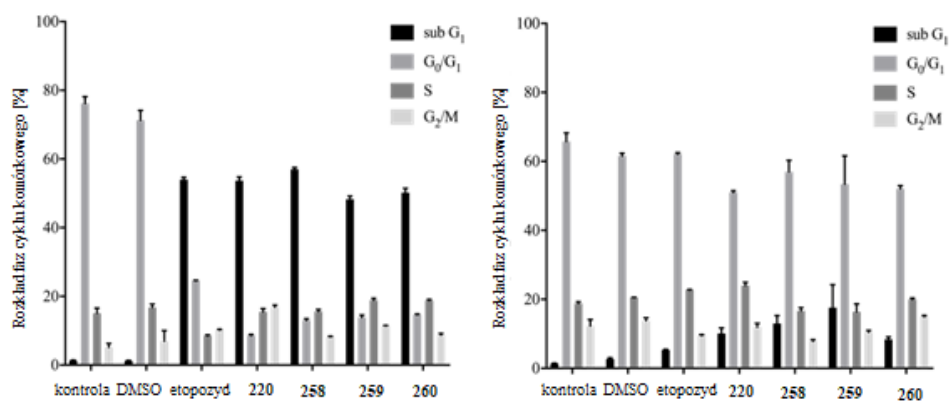
wykreślono krzywe przeżywalności w funkcji stężenia związku i wyznaczono wartości IC_{50} dla linii komórek nowotworowych opornych na etopozyd (SW620E) oraz metotreksat (SW620M) (Tabela 3).

Tabela 3. Wartości IC_{50} dla pochodnych **220**, **258-260**, przedziały ufności (95%) przedstawiono w nawiasach kwadratowych, współczynniki oporności podano jako stosunek wartości IC_{50} dla związku dla linii odpornej względem wrażliwej. Zebrane wartości są średnią z trzech niezależnych eksperymentów. Dane według K. Chrabąszcz, A. Błaż, M. Gruchała, M. Wachulec, B. Rychlik, D. Plażuk, Chem. Eur. J. 2021, 27, 6254-6262

Wzór związku	IC_{50} [$\mu\text{mol/l}$]			Współczynnik oporności dla SW620E	Współczynnik oporności dla SW620M
	SW620	SW620E	SW620M		
 11	1,39 [1,00-1,92]	87,2 [63,4-120]	4,13 [3,54-4,82]	62,7	3,0
 220	2,40 [1,80-3,20]	50,6 [39,0-65,6]	14,1 [9,47-21,1]	21,1	5,9
 258	0,546 [0,352-0,848]	6,24 [4,84-8,05]	1,51 [0,96-2,38]	11,4	2,8
 259	0,883 [0,676-1,15]	36,7 [30,4-44,2]	7,97 [3,82-16,6]	41,5	9,0
 260	0,503 [0,392-0,646]	4,23 [3,44-5,20]	1,48 [1,23-1,92]	8,4	2,9

Z przedstawionych danych wynika, że zsyntezowane analogi **220**, **258-260** wykazują aktywność zarówno względem linii komórkowych opornych (SW620E, SW620M), jak i wrażliwych (SW620). Ponadto, aminy **258-260** są aktywniejsze niż 1*H*-1,2,3-triazol **220** czy etopozyd, względem wszystkich badanych linii komórkowych. Zaobserwowano również, że aktywność związku zależy od długości linkera – najwyższą aktywność wykazywały aminy **258** i **260**.

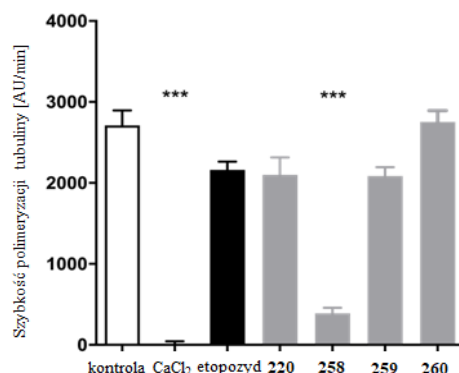
Z uwagi na fakt, że etopozyd hamuje działanie topoizomerazy II, odpowiedzialnej za zmniejszanie splątania DNA poprzez cięcie i ligację nici, co prowadzi do nagromadzenia jedno- i dwuniciowych pęknięć, zbadano również wpływ **220**, **258-260** na cykl komórkowy dla linii SW620 i SW620E. Wszystkie związki wykazywały podobne działanie do etopozydu, powodując podwyższenie liczby komórek w fazie G₂/M i frakcji subG₁ i obniżenie liczby komórek w fazie G₀/G₁ w linii SW620. Świadczy to o zatrzymaniu cyklu komórkowego w fazie podziału (tzw. areszt mitotyczny), co może prowadzić do apoptozy komórek. W przypadku linii SW620E zauważono podwyższenie frakcji subG₁ będącej odzwierciedleniem procesu apoptozy (resztki jąder komórkowych powstające na skutek fragmentacji chromatyny) po ekspozycji linii komórkowej na badane związki, jednak nasilenie tego efektu było niższe niż w wypadku linii SW620 (Rysunek 43).



Rysunek 43. Rozkład cyklu komórkowego dla komórek SW620 i SW620E traktowanych badanymi związkami **220**, **258-260** przez 48 h. Zastosowano stężenia równe wartościom IC₉₀ dla odpowiednich związków. Zebrane wartości są średnią z trzech niezależnych eksperymentów.

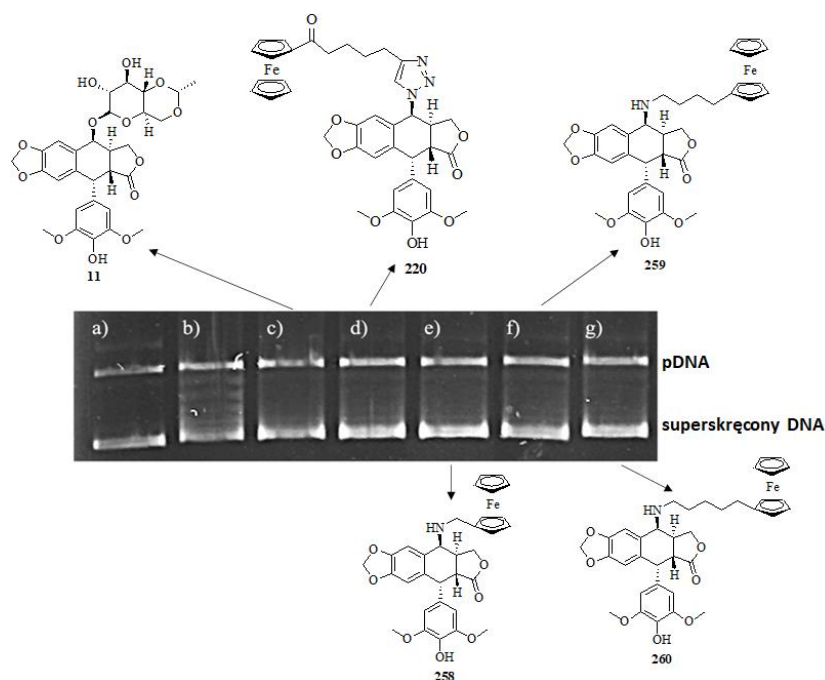
Dane według K. Chrabąszcz, A. Blauż, M. Gruchała, M. Wachulec, B. Rychlik, D. Plażuk, *Chem. Eur. J.* **2021**, 27, 6254-6262

Z uwagi na fakt, iż podofilotoksyna jest inhibitorem polimeryzacji tubuliny, postanowiono zbadać wpływ najaktywniejszych analogów **220**, **258-260** na ten proces (Rysunek 44). Spośród badanych związków, tylko najprostsza amina **258** wykazywała zdolność do hamowania polimeryzacji tubuliny, natomiast aktywność pozostałych analogów była podobna lub niższa niż etopozyd.



Rysunek 44. Wpływ badanych związków na szybkość polimeryzacji tubuliny. Stężenie chlorku wapnia wynosiło 0,5 mmol/l, stężenie końcowe badanych związków 10 μ mol/l, a zawartość DMSO, również w próbie kontrolnej, nie przekroczyła 1%. Zebrane dane są średnią z trzech niezależnych eksperymentów. Dane według K. Chrabąszcz, A. Błaż, M. Gruchała, M. Wachulec, B. Rychlik, D. Płażuk, Chem. Eur. J. 2021, 27, 6254-6262

Jako że 4'-O-demetylacja podofilotoksyny prowadzi do uzyskania pochodnych hamujących aktywność topoizomerazy II (TOPOII), postanowiono sprawdzić wpływ **220**, **258-260** na działanie tego enzymu za pomocą testu *in vitro* (Rysunek 45).



Rysunek 45. Wpływ zsyntezowanych związków na aktywność TOPOII a) plazmid pHOT, b) plazmid pHOT z dodatkiem TOPOII (topoizomery widoczne jako słabe prążki zlokalizowane między formami superskręconą i liniową pDNA), c) plazmid pHOT + TOPOII + 50 $\mu\text{mol/l}$ etopozydu, d) plazmid pHOT + TOPOII + 50 $\mu\text{mol/l}$ 220, e) plazmid pHOT + TOPOII + 50 $\mu\text{mol/l}$ 258, f) plazmid pHOT + TOPOII + 50 $\mu\text{mol/l}$ 259, g) Plazmid pHOT + TOPOII + 50 $\mu\text{mol/l}$ 260. Stężenie końcowe DMSO nie przekroczyło 1% i było jednakowe we wszystkich próbkach.

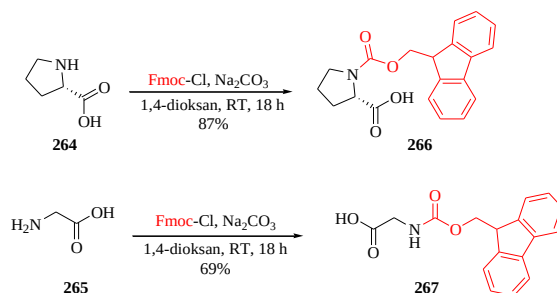
Dane według: K. Chrabąszcz, A. Błaż, M. Gruchała, M. Wachulec, B. Rychlik, D. Plażuk, Chem. Eur. J. 2021, 27, 6254-6262

Etopozyd w stężeniu 50 $\mu\text{mol/l}$ był w stanie znacząco obniżyć aktywność enzymu (Rysunek 45c), podobnie związki 258 i 259 (Rysunek 45e oraz Rysunek 45f), natomiast w obecności 220 i 260 (Rysunek 45d oraz Rysunek 45g) można zaobserwować resztkową aktywność TOPO II. Na podstawie przeprowadzonego eksperymentu stwierdzono, że wszystkie badane analogi są inhibitorami topoizomerazy II.

Otrzymane wyniki wskazują, że ugrupowanie metalocenowe ma istotny wpływ na aktywność biologiczną badanych związków oraz że ferrocenylowe analogi są bardziej aktywne biologicznie niż rutenocenylowe. Amina 258 jest podwójnym inhibitorem, zakłócającym zarówno proces polimeryzacji tubuliny (podobnie jak podofilotoksyna), jak i aktywność topoizomerazy II (podobnie jak etopozyd), natomiast pozostałe związki 220, 258-260 wykazywały zdolność do hamowania topoizomerazy II.

Wykazałam, że zastąpienie w cząsteczce etopozytu reszty węglowodanowej podstawnikiem ferrocenyloalkiloaminowym powoduje wzrost cytotoksyczności tych związków w porównaniu do etopozytu. Co więcej, związki tego typu wykazują działanie antyproliferacyjne wobec komórek nowotworowych opornych na etopozyd (SW620E) i metotreksat (SW620M), zaś najprostszy z nich wykazuje aktywność hamującą topoizomerazy II oraz polimeryzację tubuliny.

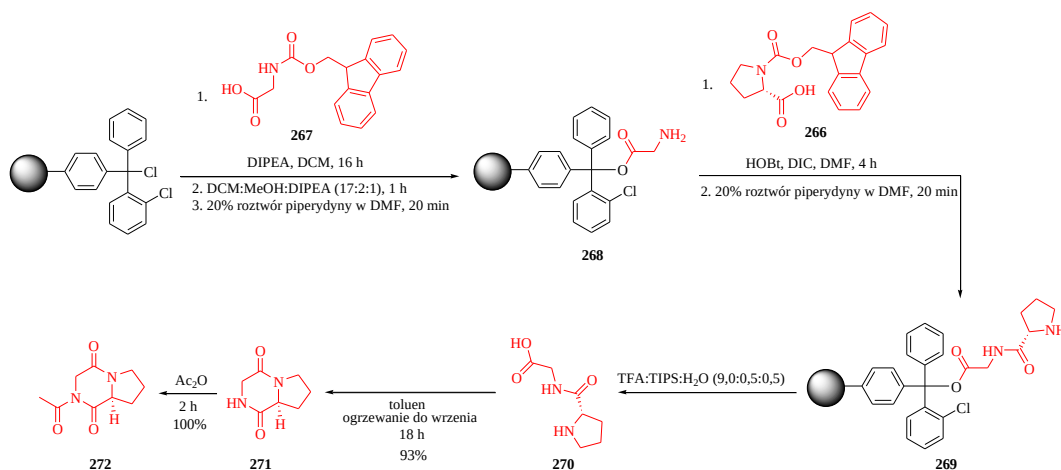
Związek **272** otrzymałam w wyniku kilkietapowej reakcji wykorzystując syntezę na podłożu stałym na żywicy 2-chlorotrytylowej i aminokwasy zabezpieczone grupą Fmoc. W pierwszym etapie zsyntezowałam Fmoc-Pro-OH **266** oraz Fmoc-Gly-OH **267** w reakcji L-proliny **264** oraz glicyny **265** z Fmoc-Cl w 1,4-dioksanie według procedur znanych z literatury (Schemat 23).^{162, 163}



Schemat 23. Synteza Fmoc-Pro-OH **266** oraz Fmoc-Gly-OH **267**

Następnie wykonałam reakcję sprzęgania Fmoc-Gly-OH z żywicą 2-chlorotrytylową, w obecności DIPEA, w szklanej tubie przeznaczonej do syntezy na podłożu stałym (Schemat 24). Po całonocnym mieszanii na wytrząsarce kołyskowej, usunęłam reagenty poprzez filtrację pod zmniejszonym ciśnieniem i zabezpieczyłam wolne grupy hydroksylowe na żywicy, stosując roztwór zamykający (ang. *capping solution*), składający się z DIPEA i MeOH w DCM (1:2:17, v/v/v). Usunęłam reagenty przez sączenie i do reaktora dodałam 20% roztwór piperydyny w DMF. Po 20 minutach powtórzyłam reakcję odbezpieczania grupy Fmoc, a żywicę przemyłam kilkakrotnie DMF, by usunąć piperydynę. Sprawdziłam za pomocą testu ninhydrynowego, czy glicyna dołączona do żywicy posiada wolną grupę aminową. W tym celu umieściłam kilka ziarenek żywicy w probówce, dodałam 1 ml 2% roztworu ninhydryny w etanolu i ogrzewałam przez 5 minut w temperaturze 95°C. Niebiesko-fioletowe zabarwienie ziaren żywicy świadczyło o obecności wolnych grup aminowych. W następnej kolejności wykonałam reakcję sprzęgania Fmoc-Pro-OH do **268** w obecności DIC i HOBt w DMF. Po 4-godzinnym mieszanii wykonałam test ninhydrynowy. Jasne zabarwienie ziaren świadczyło o braku wolnych grup aminowych i tym samym, o pozytywnym wyniku reakcji sprzęgania. Usunęłam reagenty pod zmniejszonym ciśnieniem, żywicę przemyłam kilka razy DMF i dodałam 20% roztwór piperydyny w DMF, aby usunąć grupę zabezpieczającą Fmoc. Procedurę tę powtórzyłam i wykonałam test ninhydrynowy. Żywicę **269** przemyłam DMF, DCM, MeOH i wysuszyłam. Następnie odciąłam dipeptyd od żywicy stosując mieszaninę TFA, TIPS i wody (9,0:0,5:0,5, v/v/v). Substancje lotne

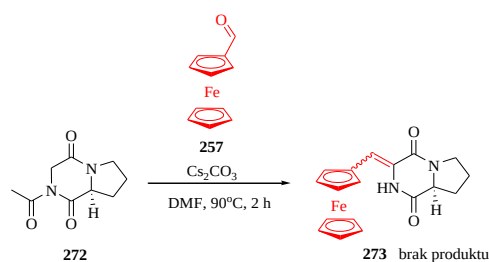
usunęłam pod zmniejszonym ciśnieniem, otrzymując **270**, który użyłam do dalszych syntez bez oczyszczania. Następnie przeprowadziłam reakcję cyklizacji dipeptydu **270** do **271** we wrzącym toluenie przez 18 godzin otrzymując produkt z wydajnością 93% (Schemat 24).



Schemat 24. Synteza związku **272**

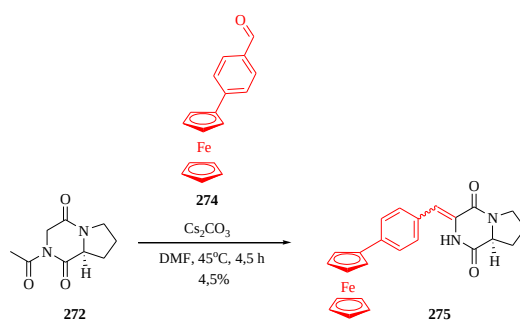
Związek **271** wydzieliłam i poddałam reakcji *N*-acetylowania bezwodnikiem octowym otrzymując **272** z wydajnością ilościową (Schemat 24). Brak poszerzonego singletu pochodzącego od NH amidowego w widmie ^1H NMR i obecność singletu pochodzącego od grupy metylowej przy δ 2,44 ppm potwierdziły, że otrzymanym produktem jest **272**.

W kolejnym etapie wykonałam kondensację Knoevenagla **272** z ferrocenokarboksyaldehydem **257**. Stwierdziłam, że wykorzystanie węglanu cezu jako zasady oraz prowadzenie reakcji w temperaturze 90°C przez 2 godziny prowadzi do wyizolowania wyłącznie nieprzereagowanego substratu **257** (odzysk 33%) (Schemat 25). Również, pomimo zastosowania *tert*-butanolanu potasu jako zasady w mieszaninie rozpuszczalników $t\text{BuOH}$ -DMF, nie wyizolowałam pożądanego produktu **273**, a jedynie nieprzereagowany **257** (odzysk 90%). Próby wykorzystania do syntezy reaktora mikrofalowego w różnych warunkach także nie przyniosły pozytywnych rezultatów.



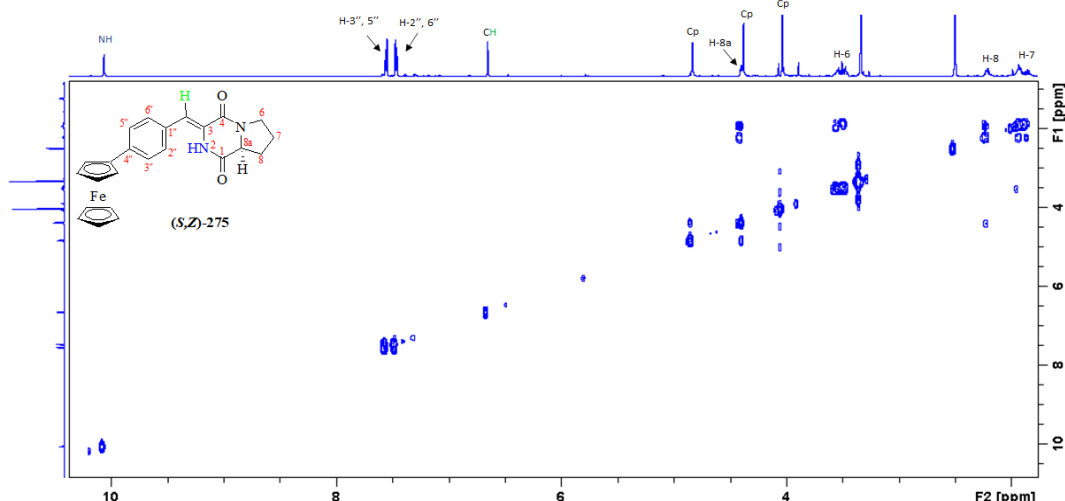
Schemat 25. Próby syntezy ferrocenylowej pochodnej 273

Z uwagi na niepowodzenie reakcji kondensacji, której przyczyną mógł być ferrocenokarboksyaldehyd, podjęłam decyzję o zastosowaniu do syntezy *p*-ferrocenylobenzaldehydu 274. Prowadząc reakcję w temperaturze 45°C z węglanem cezu jako zasadą, otrzymałam spodziewany produkt z wydajnością rzędu 4,5% w postaci mieszaniny dwóch izomerów geometrycznych *E/Z* 275 (Schemat 26), które udało mi się częściowo rozdzielić i scharakteryzować metodami spektroskopowymi NMR.



Schemat 26. Reakcja kondensacji Knoevenagla dla związku 275

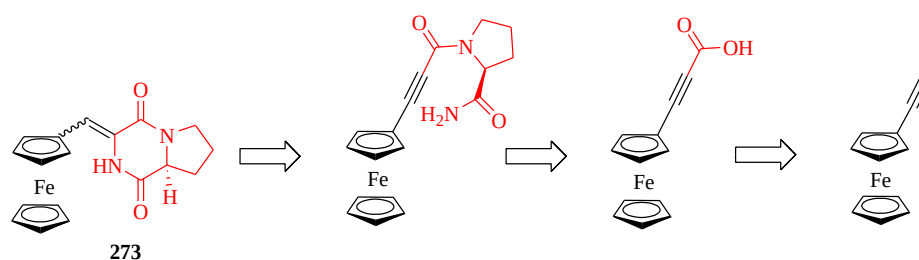
W widmie ^1H NMR 275 obserwowałam charakterystyczny poszerzony singlet pochodzący od NH amidowego przy δ 10,06 ppm, który nie sprzęga się z żadnym protonem, co widać na widmie ^1H - ^1H COSY oraz singlet odpowiadający protonowi winylowemu przy δ 6,65 ppm (Rysunek 47).



Rysunek 47. Widmo ^1H - ^1H COSY związku (S,Z)-275

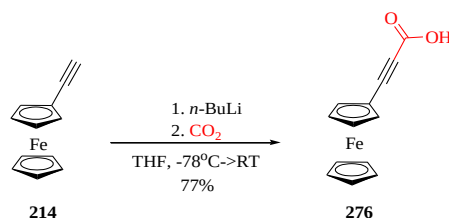
W związku z niską wydajnością syntezy **275** postanowiłam zoptymalizować warunki reakcji, m.in. podwyższając temperaturę do 80°C przez 12 godzin lub prowadząc reakcję w reaktorze mikrofalowym przez 30 minut w 80°C. Podniesienie temperatury i wydłużenie czasu reakcji skutkowało rozkładem substratów, natomiast reakcja z użyciem mikrofal dała w rezultacie produkt **275** w postaci mieszaniny izomerów *E/Z* z podobną wydajnością, rzędu 5,9%. Zastosowanie innych warunków reakcji, jak: piperidyna w THF, czy trifluorometanosulfonian dibutyloboru w obecności TEA w DCM również nie przyniosły pozytywnych rezultatów.

Z uwagi na małą wydajność reakcji kondensacji, postanowiłam sprawdzić możliwość wykorzystania do syntezy docelowych związków metody opisanej w literaturze¹⁶⁴, polegającej na cyklizacji odpowiednich amidów katalizowanej trimetylofosfiną w obecności kwasu L-glutaminowego. W celu sprawdzenia opisanej metodologii, podjęłam próby otrzymania najprostszej ferrocenyłowej pochodnej (S,Z)-273 (Rysunek 48).



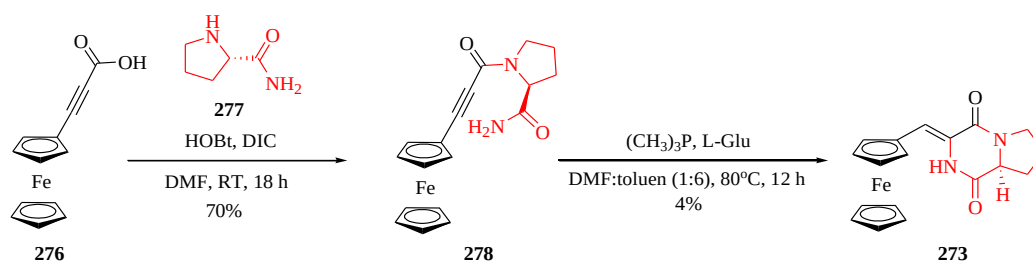
Rysunek 48. Ogólny schemat syntezy ferrocenyłowej pochodnej **273**

Kwas ferrocenylopropynowy **276** zsyntezowałam w reakcji karboksylowania dwutlenkiem węgla anionu etynyloferrocenu **214**, który został wygenerowany przy użyciu *n*-BuLi (Schemat 27). Stwierdziłam, że zastosowanie LDA nie prowadzi do uzyskania produktu **276**.

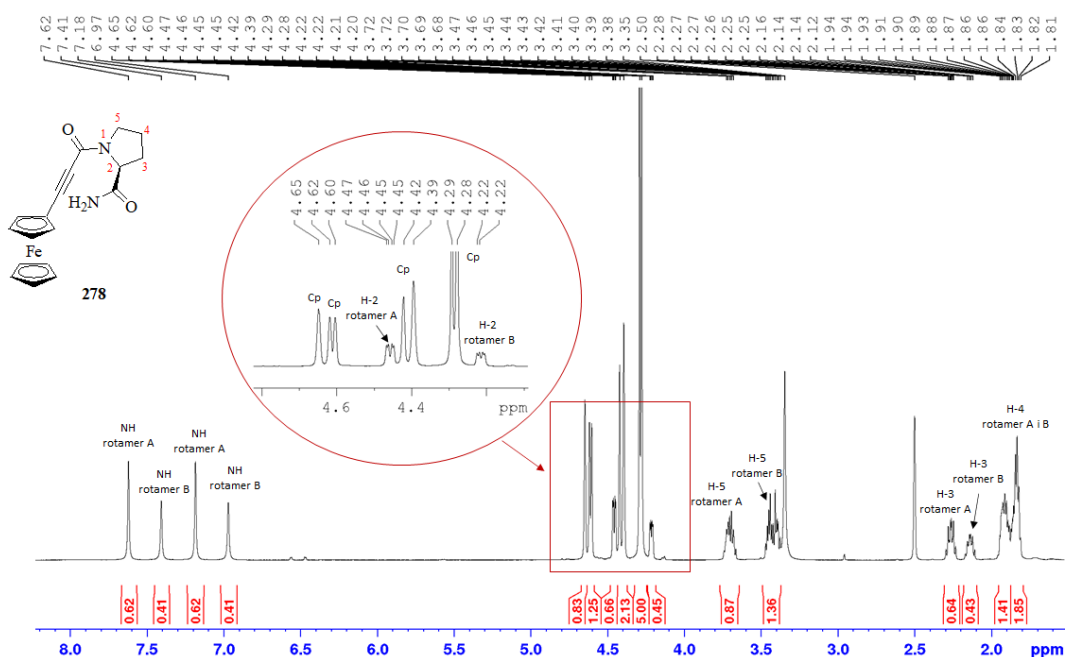


Schemat 27. Reakcja syntezy kwasu ferrocenylopropynowego **276**

W kolejnym etapie **276** poddałam reakcji z (*S*)-prolinamidem **277**, wykorzystując DIC i HOBT w DMF i otrzymując amid **278** z wydajnością 54% (Schemat 28). W widmach ¹H i ¹³C{¹H} NMR **278** obserwowałam sygnały od dwóch rotamerów w stosunku 3:2 (wartości wyznaczone na podstawie widma ¹H NMR) (Rysunek 49).

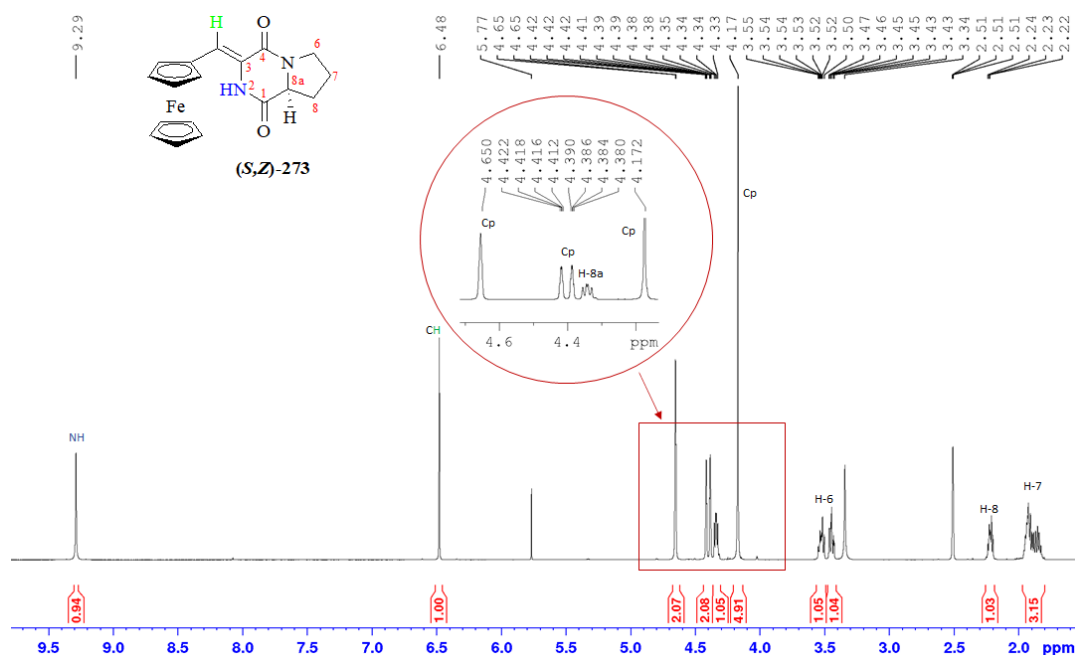


Schemat 28. Synteza ferrocenyłowej pochodnej (*S,Z*)-**273**



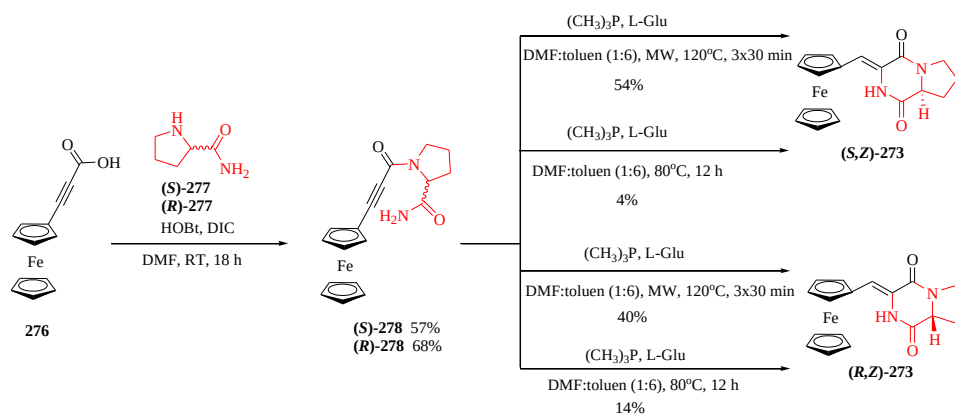
Rysunek 49. Widmo ^1H NMR związku **278**

Następnie wykonałam reakcję cyklizacji amidu **278** w warunkach opisanych w publikacji w obecności 0,10 eq trimetylofosfiny (1,00 mol/l roztwór w THF) i kwasu L-glutaminowego w mieszaninie rozpuszczalników DMF-toluen (1:6, v/v) w temperaturze 80°C, otrzymując produkt z wydajnością 4% (Schemat 28). Ze względu na niską wydajność, zdecydowałam się zoptymalizować reakcję cyklizacji wykorzystując reaktor mikrofalowy i prowadząc reakcję w temperaturze 120°C w 30-minutowych cyklach. Postęp reakcji monitorowałam za pomocą TLC po każdym cyklu. Po 1,5 godzinie rozpuszczalniki usunęłam pod zmniejszonym ciśnieniem, a produkt (**S,Z**)-**273** wydzieliłam wydajnością 54%. W widmie ^1H NMR izomeru (**S,Z**)-**273** obserwowałam charakterystyczny poszerzony singlet pochodzący od NH amidowego przy δ 9,29 ppm oraz singlet odpowiadający protonowi winylowemu δ 6,48 ppm (Rysunek 50). Wydzieliłam również niewielką ilość (11 mg) izomeru (**S,E**)-**273**. W widmie ^1H izomeru (**S,E**)-**273** obserwowałam podobny zestaw sygnałów, różniący się przesunięciami chemicznymi - proton amidowy znajdował się przy δ 10,13 ppm, natomiast winylowy przy δ 6,10 ppm.



Rysunek 50. Widmo ^1H NMR izomeru **(S,Z)-273**

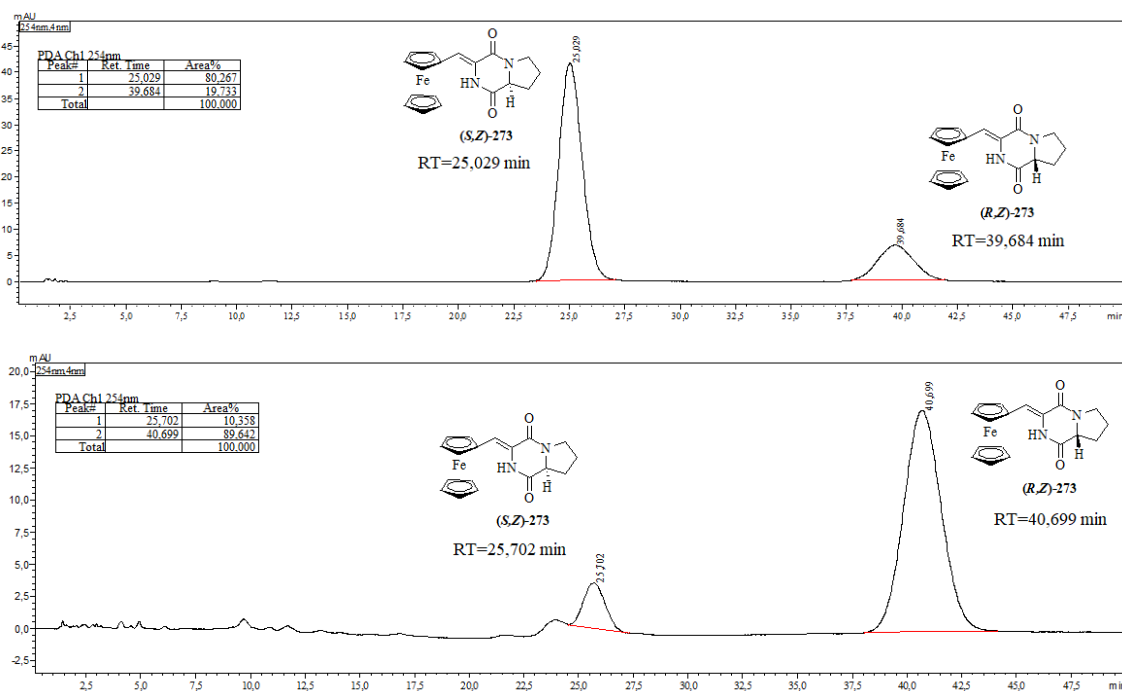
Z uwagi na fakt, że w reakcji cyklizacji **278** do **273** może zachodzić częściowa racemizacja, zsyntezowałam również ferrocenylową pochodną (*R,Z*)-prolinamidu **(R,Z)-273**, celem sprawdzenia stopnia racemizacji. Przeprowadziłam reakcje sprzęgania, a następnie cyklizacji odpowiednich amidów **(R)-278** i **(S)-278** według opracowanej metodologii w reaktorze mikrofalowym w temperaturze 120°C w cyklach po 30 minut oraz w kolbie w temperaturze 80°C przez 12 godzin (Schemat 22).



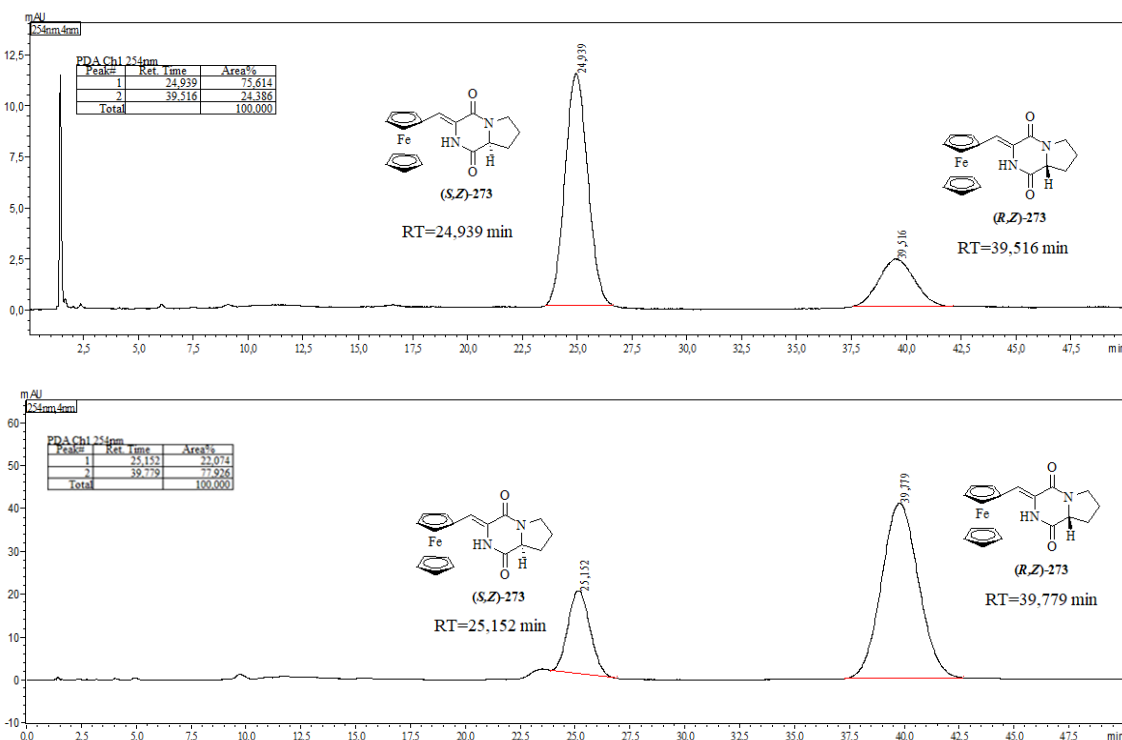
Schemat 29. Synteza ferrocenylowej pochodnej **(S,Z)-273** i **(R,Z)-273**

Otrzymane cykliczne produkty **(S,Z)-273** i **(R,Z)-273** poddałam analizie HPLC z wykorzystaniem chiralnej kolumny Lux Cellulose-2 (przepływ 1,5 ml/min,

IPA-n-heptan, 25:75, v/v) celem ustalenia stopnia racemizacji w reakcji cyklizacji (Rysunki 51 i 52).



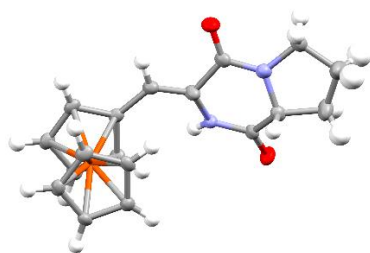
Rysunek 51. Chromatogramy związków (S,Z)-273 i (R,Z)-273 po reakcji w reaktorze mikrofalowym



Rysunek 52. Chromatogramy związków (S,Z)-273 i (R,Z)-273 po reakcji w kolbie reakcyjnej

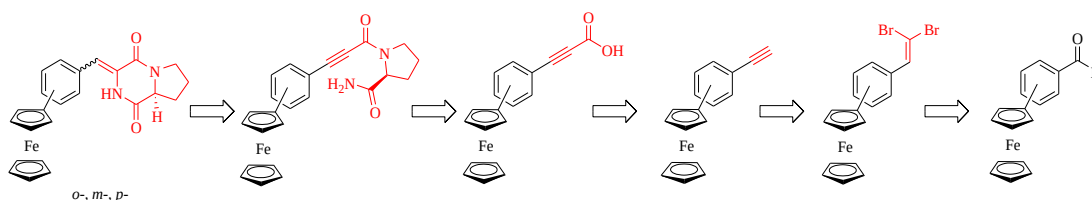
Stwierdziłam, że reakcja cyklizacji prowadzona w reaktorze mikrofalowym umożliwia syntezę pożądaných produktów z wyższą wydajnością oraz mniejszą racemizacją niż prowadzona w warunkach opisanych w publikacji.¹⁶⁴

Budowę związku **273** potwierdziłam metodą rentgenografii strukturalnej (Rysunek 53). Badania rentgenograficzne wykazały, że związek **273** krystalizuje w postaci mieszaniny racemicznej. Analizy te zostały wykonane przez dr hab. Annę Makal z Centrum Badań Biologiczno-Chemicznych Uniwersytetu Warszawskiego.



Rysunek 53. Struktura rentgenograficzna (*R,Z*)-**273**

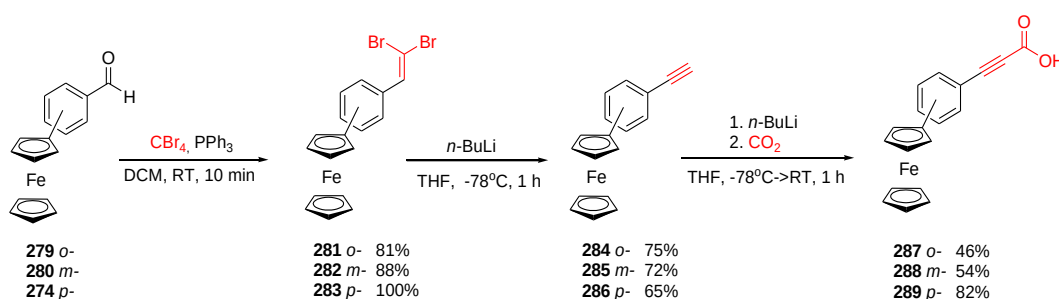
Wykorzystując zoptymalizowaną metodę cyklizacji odpowiednich amidów, postanowiłam zsyntezować fenyłowe oraz *o*-, *m*- i *p*-ferrocenylofenyłowe analogi tryprostatyny **A**. Związki te otrzymałam w wieloetapowej reakcji wychodząc z *o*-, *m*- i *p*-ferrocenylobenzaldehydów (Rysunek 54).



Rysunek 54. Ogólny schemat syntezy ferrocenylofenylopropynowych analogów tryprostatyny **A**

Niezbędne kwasy ferrocenylofenylopropynowe **287-289** zsyntezowałam analogiczną metodą, co kwas ferrocenylopropynowy w reakcji karboksylowania anionu wygenerowanego z odpowiedniego acetyleny za pomocą *n*-BuLi. Syntezę **287-289** rozpocząłam od przeprowadzenia reakcji Coreya-Fuchsa, gdzie w pierwszym etapie benzaldehydy **274**, **279-280** reagowały z tetrabromometanem i trifenylofosfiną w DCM dając 1,1-dibromo-2-(ferrocenylofenylo)etyleny **281-283** z wysokimi wydajnościami 81-100%. W widmach ¹H NMR obecny był singlet od protonu winylowego przy δ 7,74 ppm. Następnie reakcja **281-283** z *n*-BuLi doprowadziła do otrzymania

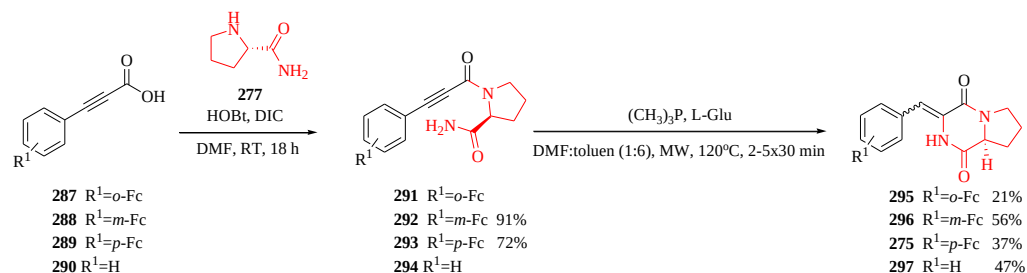
terminalnych acetylenów **284-286** z wydajnościami 65-75%. W widmach IR produktów były obecne pasma w zakresie 3286-3259 cm^{-1} oraz 2109-2101 cm^{-1} charakterystyczne dla acetylenów. Natomiast w widmach ^1H NMR był obecny charakterystyczny singlet w zakresie δ 4,39-4,19 ppm. W reakcji karboksylowania dwutlenkiem węgla anionów acetylenów **284-286** zsyntezowałam kwasy ferrocenylofenylopropynowe **287-288**, **289**¹⁶⁵ z wydajnościami 46-82% (Schemat 30). W widmach IR były obecne charakterystyczne pasma absorpcyjne w zakresie 2215-2198 cm^{-1} pochodzące od drgań rozciągających wiązania potrójnego, w zakresach 3410-3098 cm^{-1} (drgania rozciągające O-H) oraz w obszarze 1683-1663 cm^{-1} (drgania rozciągające C=O) charakterystyczne dla kwasów karboksylowych.



Schemat 30. Synteza kwasów *o*-, *m*-, *p*-ferrocenylofenylopropynowych **287-289**

W reakcji sprzęgania kwasów **287-290** z (*S*)-prolinamidem **277**, wykorzystując DIC i HOBt otrzymałam amidy **291-293**, **294**¹⁶⁴. Pomimo podjęcia wielu prób oczyszczania za pomocą chromatografii kolumnowej oraz krystalizacji, nie byłam w stanie oddzielić **291** oraz **294** od produktu ubocznego sprzęgania, czyli *N,N'*-diizopropylomocznika, dlatego wykorzystałam związki **291** i **294** do dalszych przemian bez dodatkowego oczyszczania. Stwierdziłam, że pochodna mocznika nie przeszkadza w reakcji cyklizacji. W widmach NMR amidów **291-294** obserwowałam rotamery, tak jak w przypadku związku **278**. W kolejnym etapie przeprowadziłam reakcję cyklizacji amidów **291-294** do **275**, **295-296**, **297**¹⁶⁴ w zoptymalizowanych warunkach z 0,10 eq Me₃P i L-Glu w 120°C w reaktorze mikrofalowym w cyklach po 30 minut. Produkty wydzieliłam w postaci dwóch izomerów (*E/Z*) w przypadku związków **275**, **296-297** i jednego izomeru *Z* w przypadku **295**, prawdopodobnie ze względu na dużą zawadę steryczną spowodowaną podstawieniem ferrocenu w pozycji *orto* w pierścieniu fenylowym (Schemat 31). Wydzielenie związków o konfiguracji *E* i czystości powyżej 95% było możliwe tylko w przypadku **296** oraz **297**, dlatego w większości jedynie

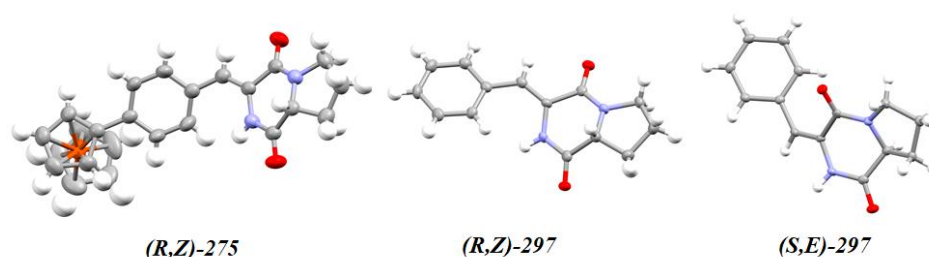
izomery *Z* scharakteryzowałam metodami spektroskopowymi NMR, IR, MS oraz za pomocą analizy elementarnej.



Schemat 31. Synteza analogów 275, 295-297

Z uwagi na fakt, że w reakcji cyklizacji może zachodzić częściowa racemizacja, zsyntezowałam również pochodne (*R*)-prolinamidu, w celu sprawdzenia stopnia racemizacji, stosując kolumnę chiralną HPLC.

Budowę związków 275 i 297 potwierdziłam metodą rentgenografii strukturalnej (Rysunek 55). Analizy te zostały wykonane przez dr hab. Annę Makal z Centrum Badań Biologiczno-Chemicznych Uniwersytetu Warszawskiego.

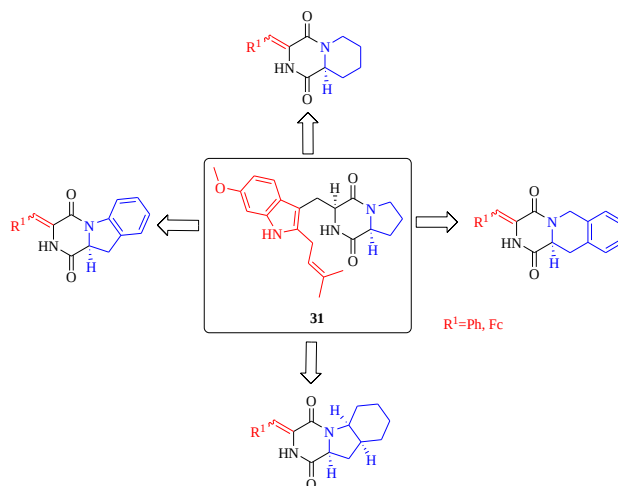


Rysunek 55. Struktura rentgenograficzna (*R,Z*)-275, (*R,Z*)-297 oraz (*S,E*)-297

Próby krystalizacji związków 275, 295-297 w celu otrzymania czystych enancjomerów nie powiodły się. Z tego powodu, do badań biologicznych zastosowano mieszaniny enancjomerów, natomiast próby otrzymania czystych enancjomerów są przeze mnie kontynuowane.

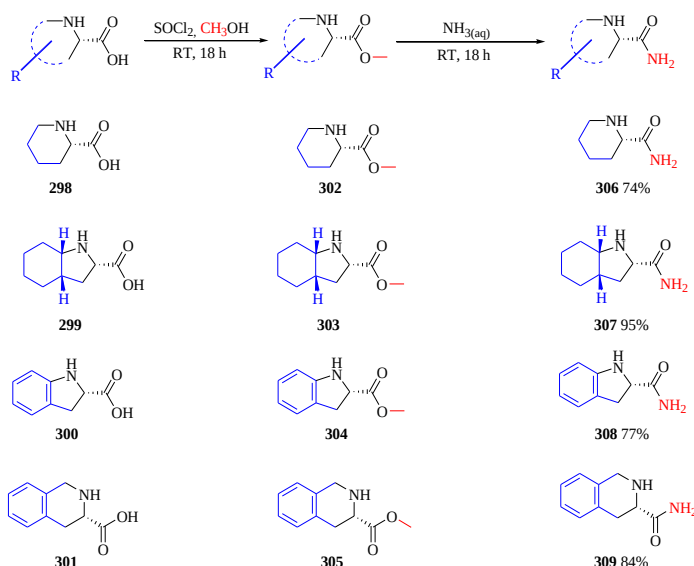
6.2.2 Synteza analogów tryprostatyny A – modyfikacja proliny

Uzyskane wyniki zachęciły mnie do syntezy kolejnych analogów tryprostatyny A (Rysunek 58). W celu sprawdzenia wpływu podstawnika ferrocenylowego na aktywność biologiczną otrzymałam również serię fenylowych analogów.



Rysunek 58. Struktury tryprostatyny **31** i jej analogów

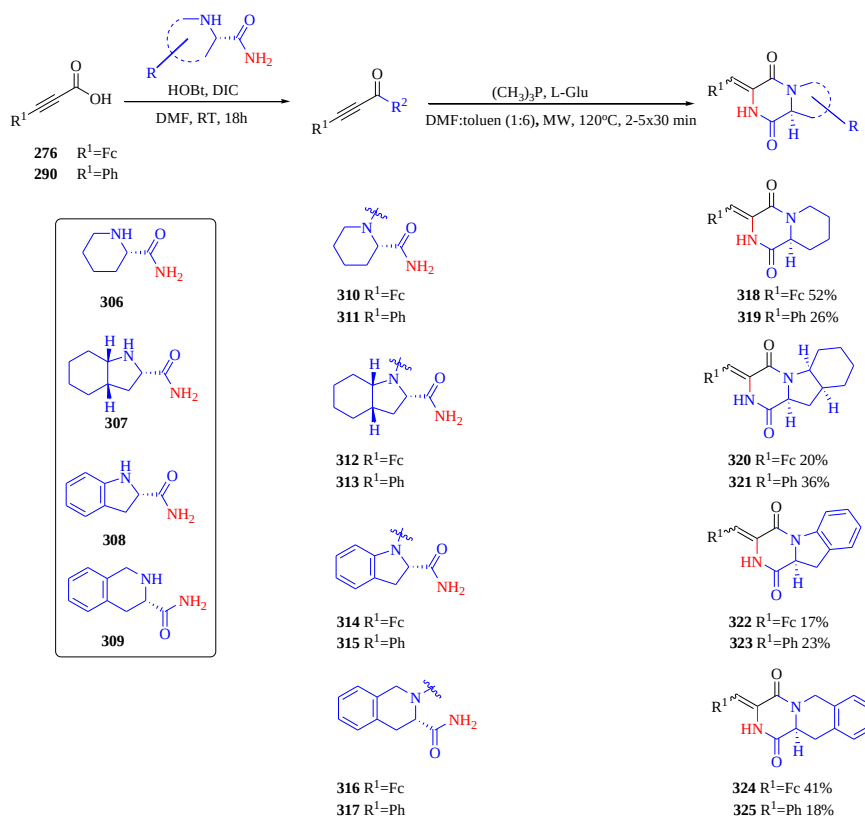
Analogi **318-325** zsyntezowałam, wykorzystując opracowaną metodę cyklizacji odpowiednich amidów, wychodząc z odpowiednich aminokwasów. W pierwszym etapie aminokwasy: kwas (S)-pipekolinowy **298**, kwas L-oktahydro-1*H*-indolo-2-karboksylowy **299**, kwas (S)-indolino-2-karboksylowy **300** oraz kwas (S)-1,2,3,4-tetrahydroizochinolino-3-karboksylowy **301** przeprowadziłam w estry **302**¹⁶⁶, **303-305** w reakcji z metanolem w obecności chlorku tionylu. Otrzymane estry poddałam reakcji amonolizy w 25% wodnym roztworze amoniaku, uzyskując odpowiednie amidy aminokwasów **306-309** z wydajnościami 74-95% (Schemat 32).



Schemat 32. Synteza amidów aminokwasów **306-309**

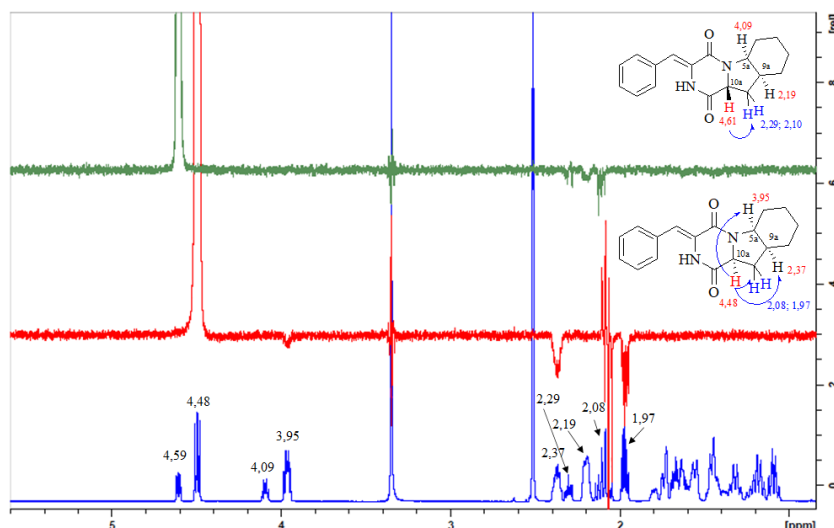
Następnie przeprowadziłam reakcję sprzęgania **306-309** z kwasami **276** i **290** w obecności DIC oraz HOBt, otrzymując amidy **310-317**, które poddałam reakcji

cyklizacji w reaktorze mikrofalowym, zgodnie z opracowaną metodologią. Analogi **318-325** wydzieliłam w postaci dwóch izomerów *E/Z*. Wydzielenie izomerów o konfiguracji *E* i czystości powyżej 95% było niemożliwe, dlatego jedynie izomery *Z* scharakteryzowałam metodami spektroskopowymi NMR, IR, MS oraz za pomocą analizy elementarnej.



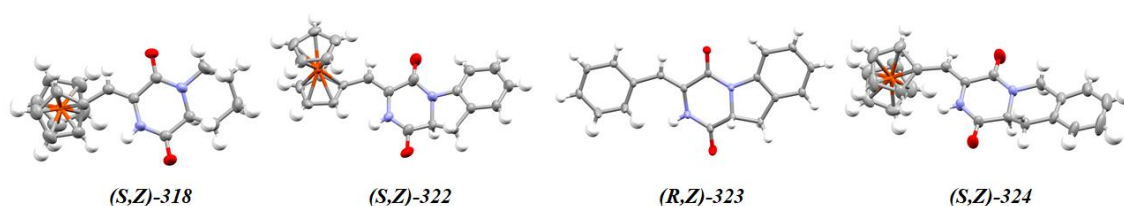
Schemat 33. Syntezy ferrocenylowych i fenyłowych analogów **318-325**

W przypadku związków **320** i **321** otrzymałam mieszaninę diastereoizomerów (**5aS,9aS,10aS,Z**) oraz (**5aS,9aS,10aR,Z**), dla których wykonałam widma selektywne ROE. Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów stwierdziłam, iż główny produkt cyklizacji ma konfigurację (**5aS,9aS,10aS,Z**) oraz że racemizacja nastąpiła w 27% (Rysunek 59).



Rysunek 59. Widmo ROE dla mieszaniny diastereoizomerów (5a*S*,9a*S*,10a*S*,*Z*) oraz (5a*S*,9a*S*,10a*R*,*Z*)-321, naświetlanie 4,59 oraz 4,48 ppm

Budowę związków **318**, **322-324** potwierdziłam metodą rentgenografii strukturalnej (Rysunek 60). Analizy zostały wykonane przez dr hab. Annę Makal z Centrum Badań Biologiczno-Chemicznych Uniwersytetu Warszawskiego.



Rysunek 60. Struktura rentgenograficzna (S,*Z*)-318, (S,*Z*)-322, (R,*Z*)-323 oraz (S,*Z*)-324

6.2.3 Badania aktywności biologicznej analogów tryprostatyny A

W zespole dr. Błażeja Rychlika z Katedry Biofizyki Molekularnej Uniwersytetu Łódzkiego zbadano aktywność antyproliferacyjną wybranych zsyntezowanych ferrocenyłowych i fenyłowych analogów tryprostatyny A. W pierwszym etapie wykonano badania przeżywalności komórek nowotworowych wrażliwych oraz opornych na najczęściej stosowane chemioterapeutyki: cisplatynę, doksorubicynę, etopozyd, metotreksat, winkrystynę i mitoksantron w obecności związków (*Z*)-273, (*Z*)-275, (*Z*)-295, (*Z*)-296, (*E*)-296, (*Z*)-297 oraz (*E*)-297. Badania przeżywalności prowadzono w zakresie stężeń związków 10^{-8} mol/l do 10^{-4} mol/l. Komórki traktowano odpowiednio lekiem, badanym związkiem oraz mieszaniną leku i związku. Badania wykazały, iż pochodne fenyłowe są nietoksyczne zarówno dla linii wrażliwej, jak i niewrażliwej.

Zaobserwowano, że ferrocenyłowe analogi są w większości nietoksyczne wobec wszystkich linii. Po potraktowaniu komórek nowotworowych mieszaniną ferrocenyłowego analogu i danego leku obserwowano obniżenie przeżywalności, co jest wynikiem uwrażliwienia komórek na zastosowany chemioterapeutyk. Największe różnice w przeżywalności zanotowano dla ferrocenylofenyloowych analogów tryprostatyny A. Wysoki poziom uwrażliwienia komórek na doksorubicynę, winkrystynę oraz mitoksantron obserwowano w przypadku związków **(Z)**-275, **(Z)**-295 oraz **(Z)**-265 (Tabela 4). Wykazano tym samym, iż pozycja ugrupowania ferrocenyłowego *orto*, *meta* i *para* ma kluczowe znaczenia dla aktywności otrzymanych analogów. Do oceny oddziaływań, jakie wywierają na siebie kombinacje leku i badanego związku zastosowano metodę Chou i Talalaya, polegającą na wykorzystaniu algorytmów matematycznych.¹⁶⁷ Badania wykazały, że pochodne **(Z)**-273, **(Z)**-275, **(Z)**-295 oraz **(Z)**-296 wykazują synergistyczny efekt ($CI < 1$) z cisplatyną, doksorubicyną oraz winkrystyną, zarówno w przypadku linii wrażliwej, jak i niewrażliwych, w niskich i wysokich stężeniach. Nie zaobserwowano efektu przy zastosowaniu kombinacji metotreksatu i badanych związków.

Tabela 4. Przeżywalność komórek nowotworowych w obecności ferrocenylowych analogów tryprostatyny A dla linii wrażliwych i opornych na cisplatynę (cDDP), doksorubicynę (Dox), etopozyd (VP16), metotreksat (MTX), winkrystynę (VINC) i mitoksantron (Mito). Dane przedstawiono jako średnią wyników trzech niezależnych eksperymentów.

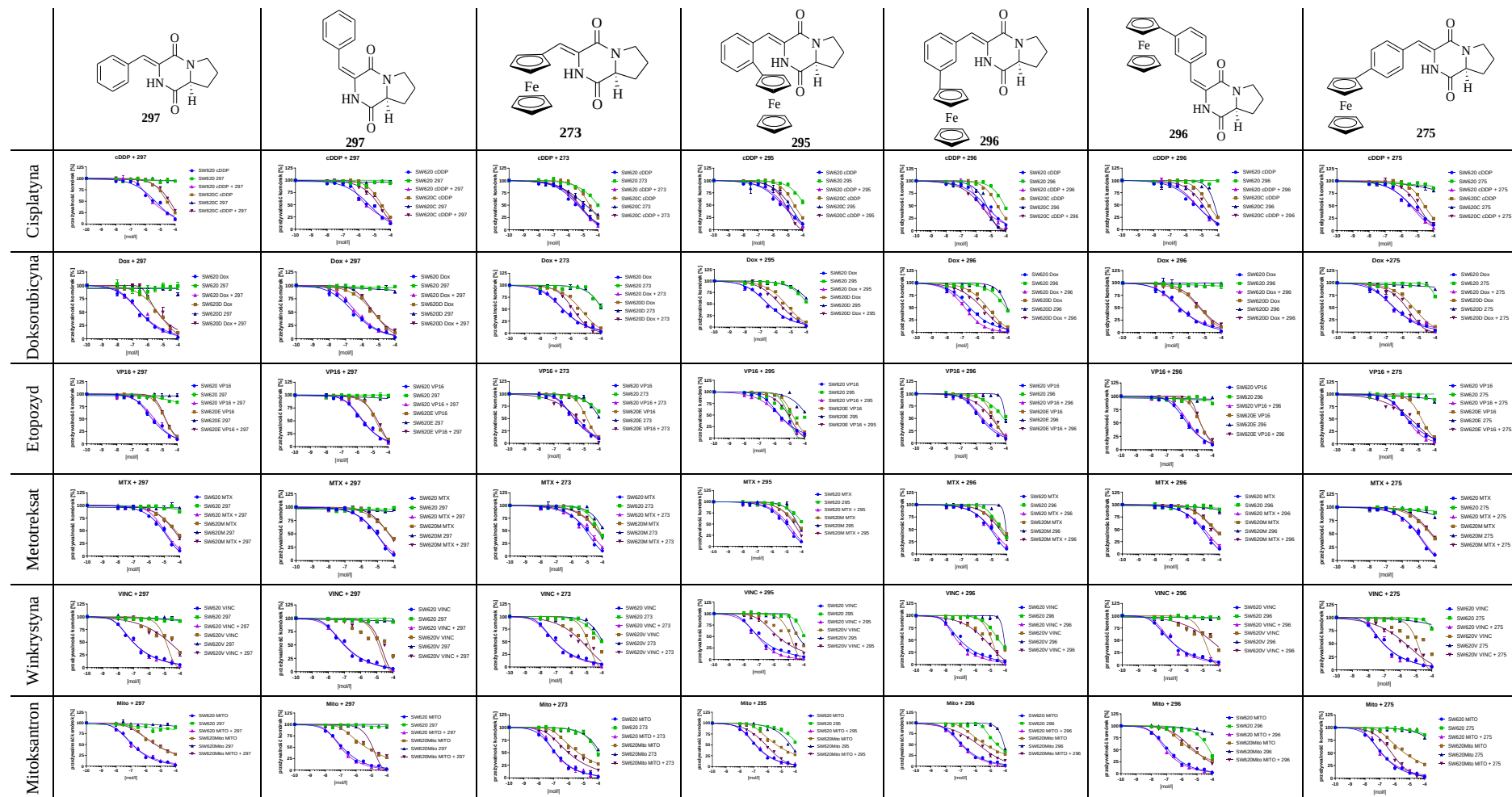


Tabela 5. Wpływ pochodnych 273, 275, 295-297 na przeżywalność komórek SW620 oraz linii SW620C odpornej na cisplatynę (cDDP), przedziały ufności (95%) przedstawiono w nawiasach, zebrane wartości są średnią z trzech niezależnych eksperymentów. *przedział bardzo szeroki

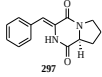
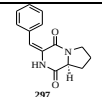
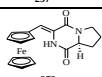
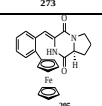
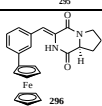
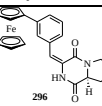
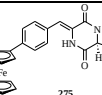
Związek	IC ₅₀ (μmol/l)						Współczynnik uwrażliwienia IC ₅₀ cDDP/ IC ₅₀ cDDP+zw
	SW620			SW620C			
	cDDP	związek	cDDP+ związek	cDDP	związek	cDDP+ związek	
 297	4,50*	NA*	2,92 (2,22-4,15)	27,5 (24,8-30,4)	NA*	42,7*	0,64
 297	4,50*	NA*	2,87*	27,5 (24,8-30,4)	NA*	18,6*	1,48
 273	4,50*	>100*	5,24*	27,5 (24,8-30,4)	15,1*	6,13 (5,45-6,89)	4,49
 295	4,50*	>100*	5,97*	27,5 (24,8-30,4)	13,2*	7,08*	3,88
 296	4,50*	81,2*	2,33 (1,93-2,83)	27,5 (25,4-30,6)	5,03*	2,21*	12,4
 296	4,50*	NA*	4,72 (3,26-6,53)	27,5 (24,8-30,4)	62,6*	12,3*	2,24
 275	4,50*	NA*	3,83 (2,80-6,74)	27,5 (24,8-30,4)	NA*	11,0*	2,50

Tabela 6. Wpływ pochodnych 273, 275, 295-297 na przeżywalność komórek SW620 oraz linii SW620D odpornej na dokсорubicynę (Dox), przedziały ufności (95%) przedstawiono w nawiasach, zebrane wartości są średnią z trzech niezależnych eksperymentów. *przedział bardzo szeroki

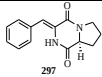
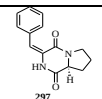
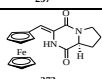
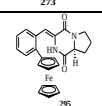
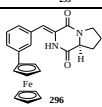
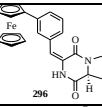
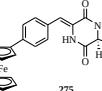
Związek	IC ₅₀ (μmol/l)						Współczynnik uwrażliwienia IC ₅₀ Dox/ IC ₅₀ Dox+zw
	SW620			SW620D			
	Dox	związek	Dox+ związek	Dox	związek	Dox+ związek	
 297	0,313 (0,257-0,384)	NA*	0,327 (0,244-0,442)	4,59 (3,92-5,37)	NA*	4,26 (3,32-6,80)	1,08
 297	0,313 (0,257-0,384)	NA*	0,458 (0,396-0,530)	4,59 (3,92-5,37)	NA*	4,96 (4,15-5,93)	0,93
 273	0,313 (0,257-0,384)	>100*	0,337 (0,274-0,415)	4,59 (3,92-5,37)	>100*	1,47 (1,27-1,69)	3,12
 295	0,313 (0,257-0,384)	>100*	0,313 (0,257-0,384)	4,59 (3,92-5,37)	>100*	1,86 (1,52-2,26)	2,47
 296	0,313 (0,257-0,384)	73,3*	0,147 (0,135-0,161)	4,59 (3,92-5,37)	93,3*	1,99 (1,62-4,96)	2,31
 296	0,313 (0,257-0,384)	NA*	0,280 (0,219-0,358)	4,59 (3,92-5,37)	NA*	5,33 (4,49-6,31)	0,86
 275	0,313 (0,257-0,384)	NA*	0,287 (0,223-0,376)	4,59 (3,92-5,37)	NA*	1,75*	2,62

Tabela 7. Wpływ pochodnych 273, 275, 295-297 na przeżywalność komórek SW620 oraz linii SW620E odpornej na etopozyd (VP16), przedziały ufności (95%) przedstawiono w nawiasach, zebrane wartości są średnią z trzech niezależnych eksperymentów. *przedział bardzo szeroki

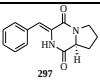
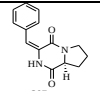
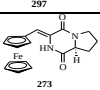
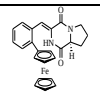
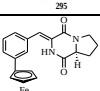
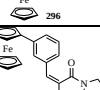
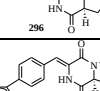
Związek	IC ₅₀ (μmol/l)						Współczynnik uwrażliwienia IC ₅₀ VP16/ IC ₅₀ VP16+zw
	SW620			SW620E			
	VP16	związek	VP16+ związek	VP16	związek	VP16+ związek	
	2,20 (1,79-2,71)	NA*	3,16 (2,51-3,95)	15,9 (14,0-17,9)	NA*	17,1 (13,7-21,4)	0,93
	2,20 (1,79-2,71)	NA*	2,44 (2,03-2,94)	15,9 (14,0-17,9)	NA*	20,2*	0,79
	2,20 (1,79-2,71)	>100*	2,27 (1,94-2,67)	15,9 (14,0-17,9)	>100*	3,78*	4,21
	2,20 (1,79-2,71)	24,8 (18,9-34,1)	1,99 (1,63-2,43)	15,9 (14,0-17,9)	>100*	8,26*	1,92
	2,20 (1,79-2,71)	>100*	2,90 (2,34-3,62)	15,9 (14,0-17,9)	94,2*	11,8*	1,35
	2,20 (1,79-2,71)	NA*	2,86 (2,42-3,37)	15,9 (14,0-17,9)	NA*	16,5 (14,6-18,7)	0,96
	2,20 (1,79-2,71)	NA*	1,98 (1,69-2,30)	15,9 (14,0-17,9)	21,6*	3,39*	4,69

Tabela 8. Wpływ pochodnych 273, 275, 295-297 na przeżywalność komórek SW620 oraz linii SW620M odpornej na metotreksat (MTX), przedziały ufności (95%) przedstawiono w nawiasach, zebrane wartości są średnią z trzech niezależnych eksperymentów. *przedział bardzo szeroki

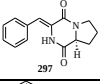
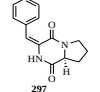
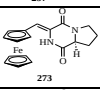
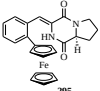
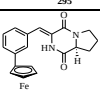
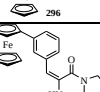
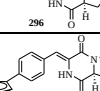
Związek	IC ₅₀ (μmol/l)						Współczynnik uwrażliwienia IC ₅₀ MTX/ IC ₅₀ MTX+zw
	SW620			SW620M			
	MTX	związek	MTX+ związek	MTX	związek	MTX+ związek	
 297	8,49*	NA *	10,3 (8,40-12,6)	54,3 (45,2-65,5)	NA*	43,7*	1,24
 297	8,49*	NA *	8,38 (6,83-10,2)	54,3 (45,2-65,5)	NA*	49,5 (40,3-60,8)	1,10
 273	8,49*	66,6*	12,3*	54,3 (45,2-65,5)	>100*	45,4*	1,20
 295	8,49*	>100*	12,6*	54,3 (45,2-65,5)	60,9*	32,6*	1,67
 296	8,49*	43,1 (38,5-48,3)	10,5 *	54,3 (45,2-65,5)	88,9*	33,8 (27,2-45,0)	1,61
 296	8,49*	8,80*	11,4*	54,3 (45,2-65,5)	>100*	44,3 (36,3-55,1)	1,23
 275	8,49*	7,02*	9,51*	54,3 (45,2-65,5)	>100*	63,8 (53,6-77,4)	0,85

Tabela 9. Wpływ pochodnych 273, 275, 295-297 na przeżywalność komórek SW620 oraz linii SW620V odpornej na winkrystynę (VINC), przedziały ufności (95%) przedstawiono w nawiasach, zebrane wartości są średnią z trzech niezależnych eksperymentów. *przedział bardzo szeroki

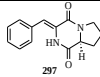
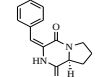
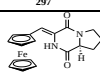
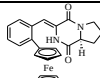
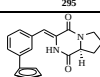
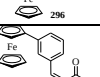
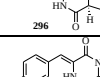
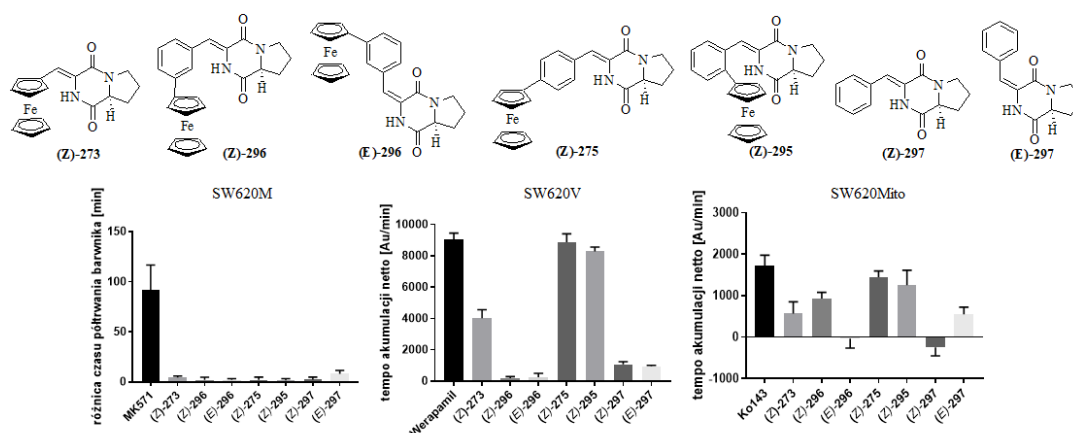
Związek	IC ₅₀ (μmol/l)						Współczynnik uwrażliwienia IC ₅₀ VINC/ IC ₅₀ VINC+zw
	SW620			SW620V			
	VINC	związek	VINC+ związek	VINC	związek	VINC+ związek	
 297	0,0929 (0,0709-0,120)	NA*	0,0956 (0,0752-0,120)	24,5*	NA*	20,8*	1,18
 297	0,0929 (0,0709-0,120)	NA*	0,104 (0,0837-0,129)	24,5*	NA*	17,7*	1,38
 273	0,0929 (0,0709-0,120)	98,7 (81,0-132)	0,0868 (0,0668-0,111)	24,5*	>100*	5,17*	4,74
 295	0,0929 (0,0709-0,120)	>100*	0,0842 (0,0656-0,106)	24,5*	40,6*	1,88 (1,49-2,41)	13,0
 296	0,0929 (0,0709-0,120)	38,3 (33,8-43,6)	0,0558 (0,0480-0,0649)	24,5*	87,7*	4,51*	5,43
 296	0,0929 (0,0709-0,120)	NA*	0,102 (0,0761-0,136)	24,5*	NA*	31,0*	0,79
 275	0,0929 (0,0709-0,120)	NA*	0,0869 (0,0680-0,121)	24,5*	NA*	2,22*	11,0

Tabela 10. Wpływ pochodnych 273, 275, 295-297 na przeżywalność komórek SW620 oraz linii SW620Mito odpornej na mitoksantron (Mito), przedziały ufności (95%) przedstawiono w nawiasach, zebrane wartości są średnią z trzech niezależnych eksperymentów. *przedział bardzo szeroki

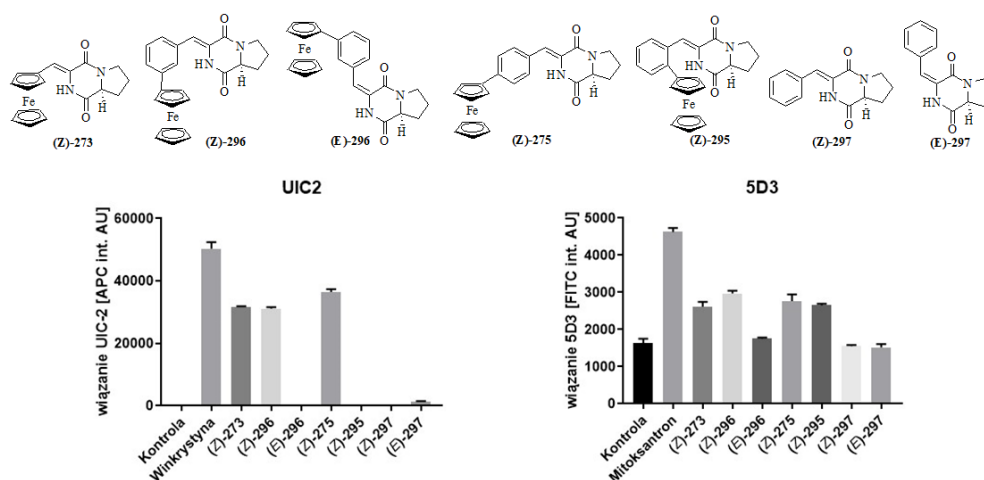
Związek	IC ₅₀ (μmol/l)						Współczynnik uwalnia IC ₅₀ Mito/ IC ₅₀ Mito+zw
	SW620			SW620Mito			
	Mito	związek	Mito+ związek	Mito	związek	Mito+ związek	
	0,128 (0,111-0,147)	NA*	0,125 (0,104-0,153)	4,40 (3,68-5,30)	NA*	4,66 (3,93-5,55)	0,94
	0,128 (0,111-0,147)	NA*	0,0982 (0,0873-0,111)	4,40 (3,68-5,30)	NA*	5,71 (4,55-7,23)	0,77
	0,128 (0,111-0,147)	92,3*	0,124 (0,105-0,148)	4,40 (3,68-5,30)	>100*	0,967 (0,706-1,38)	4,55
	0,128 (0,111-0,147)	>100*	0,145 (0,124-0,169)	4,40 (3,68-5,30)	47,3*	0,756 (0,639-0,892)	5,82
	0,128 (0,111-0,147)	28,1 (23,5-33,9)	0,107 (0,0920-0,124)	4,40 (3,68-5,30)	81,4*	1,54 (1,16-2,01)	0,98
	0,128 (0,111-0,147)	64,3*	0,0909 (0,0778-0,107)	4,40 (3,68-5,30)	NA*	6,21 (4,72-8,20)	0,71
	0,128 (0,111-0,147)	NA*	0,120 (0,104-0,140)	4,40 (3,68-5,30)	NA*	0,602 (0,504-0,720)	7,3

W celu potwierdzenia, iż otrzymane związki są bezpośrednio działającymi inhibitorami białek ABC, przeprowadzono badania ich wpływu na transport znanych substratów - znaczników fluorescencyjnych. Do badań wykorzystano linie komórkowe: wrażliwą – SW620 (gruczolakorak jelita grubego) i odporne: SW620M (uzyskaną na drodze selekcji metotreksatem, wykazującą nadekspresję ABCC1), SW620V (uzyskaną na drodze selekcji winkrystyną, wykazującą nadekspresję ABCB1) oraz SW620Mito (uzyskaną na drodze selekcji mitoksantronem, wykazującą nadekspresję ABCG2). Do pomiaru aktywności ABCC1 w komórkach SW620M wykorzystano test eliminacji 2',7'-bis-(2-karboksyetylo)-5-(6)-karboksylfluoresceiny (BCECF). Aktywność transportera przejawia się jako skrócenie retencji barwnika w cytoplazmie i wykładniczy zanik fluorescencji komórek w czasie. W obecności inhibitora, czas retencji barwnika ulega znaczącemu wydłużeniu. Miarą czasu retencji jest okres półtrwania barwnika w cytozolu. Jako wzorcowy inhibitor ABCC1 wykorzystano MK571 - agonistę receptora leukotrienowego CysLT1. Żaden z badanych związków nie zwiększał retencji barwnika w cytoplazmie komórek SW620M, co jasno wskazuje na brak oddziaływania z transporterem ABCC1. Do pomiaru aktywności ABCB1 i ABCG2 wykorzystywano testy akumulacji, odpowiednio, kalceiny i feoforbidu a. W komórkach wykazujących nadekspresję danego transportera przyrost intensywności fluorescencji jest znacznie słabszy niż po zastosowaniu inhibitora blokującego usuwanie barwnika z komórki. Akumulację kalceiny, której ester acetoksymetylowy jest substratem ABCB1, mierzono w komórkach linii SW620V, stosując werapamil jako modelowy inhibitor. Z kolei akumulację feoforbidu a badano w linii SW620Mito stosując jako kontrolę Ko143. Badania transportu potwierdziły, iż związki **(Z)-273**, **(Z)-275** i **(Z)-295** są substratami dla białka ABCB1, natomiast analogi **(Z)-273**, **(Z)-296**, **(Z)-275**, **(Z)-295** oraz **(E)-297** są substratami białka ABCG2 (Rysunek 56). Żaden z badanych związków nie wpływał na transport stosowanych znaczników w linii kontrolnej SW620.



Rysunek 56. Wpływ (Z)-273, (Z)-275, (Z)-295, (Z)-296, (E)-296, (Z)-297 i (E)-297 w stężeniu 25 $\mu\text{mol/l}$ dla linii SW620M, 10 $\mu\text{mol/l}$ dla linii SW620V oraz 1 $\mu\text{mol/l}$ dla linii SW620Mito na aktywność wybranych transporterów ABC.

Aby określić, czy zsyntezowane analogi tryprostatyny A (Z)-273, (Z)-275, (Z)-295, (Z)-296, (E)-296, (Z)-297 i (E)-297 oddziałują bezpośrednio z cząsteczkami transporterów, zbadano wiązanie specyficznie rozpoznających konformację przeciwciał monoklonalnych UIC2 oraz 5D3 do transporterów ABC w obecności badanych związków. Wiązanie znakowanego allofikocyjaniną (APC) przeciwciała UIC2 badano w linii komórkowej SW620V wykazującej silną nadekspresję białka ABCB1. Jako modelowy substrat ABCB1 stosowano winkrystynę. Wykazano, że przeciwciało UIC2 wiąże się z komórkami traktowanymi (Z)-273, (Z)-296 oraz (Z)-275, co jasno wskazuje, że związki te są substratami ABCB1. Z kolei wiązanie znakowanego fluoresceiną przeciwciała 5D3 do aktywnego transportera ABCG2 badano, wykorzystując linię komórkową SW620Mito, wykazującą nadekspresję białka ABCG2 (Rysunek 56). Najsilniejsze wiązanie przeciwciała 5D3 do aktywnego transportera stwierdzono w przypadku związków (Z)-273, (Z)-296, (Z)-275 i (Z)-295. Uzyskane dane pozwalają stwierdzić, iż związki (Z)-273, (Z)-296 i (Z)-275 są substratami dla białek oporności wielolekowej ABCB1 oraz ABCG2, natomiast związek (Z)-295 jest substratem tylko dla białka ABCG2.



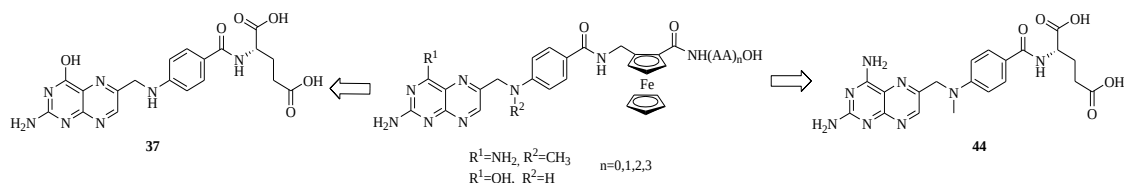
Rysunek 57. Wiązanie przeciwciał monoklonalnych do transporterów ABC (UIC2 do ABCB1, 5D3 do ABCG2) w obecności zsyntezowanych związków (Z)-273, (Z)-275, (Z)-295, (Z)-296, (E)-296, (Z)-297 i (E)-297 w stężeniu 1 $\mu\text{mol/l}$

Z przeprowadzonych badań wynika, że najaktywniejszymi związkami są ferrocenyłowe analogi tryprostatyny A (Z)-273, (Z)-296, (Z)-275 i (Z)-295 w porównaniu z fenyłowymi pochodnymi, co dowodzi, iż ugrupowanie metalocenowe ma istotny wpływ na aktywność biologiczną badanych związków. Ponadto zaobserwowałam, że izomer Z posiada wyższe powinowactwo do transportera w porównaniu z izomerem E. Wykazałam, że zastąpienie w cząsteczce tryprostatyny A grupy indolowej podstawnikiem ferrocenyłowym lub ferrocenylofenyłowym wpływa na zwiększenie aktywności cytotoksycznych tych pochodnych, co więcej, związki tego typu wykazują wysoką aktywność wobec białek oporności wielolekowej ABCB1 oraz ABCG2.

6.3 Ferrocenyłowe analogi kwasu foliowego i metotreksatu

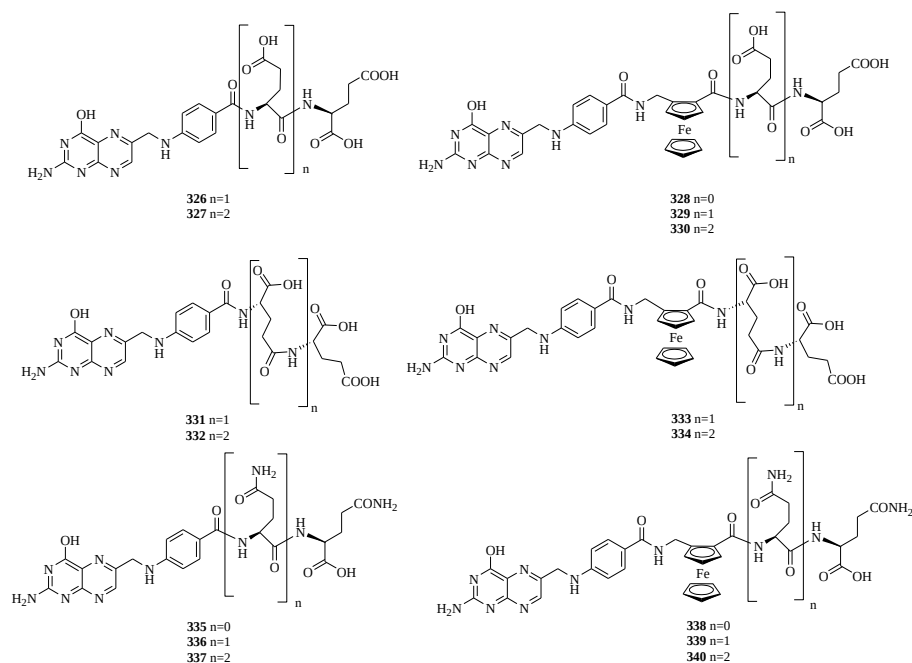
6.3.1 Synteza ferrocenyłowych analogów kwasu foliowego

W kolejnym etapie moich badań postanowiłam zbadać wpływ ugrupowania ferrocenyłowego na aktywność biologiczną pochodnych kwasu foliowego **37** i metotreksatu **44** (Rysunek 61).

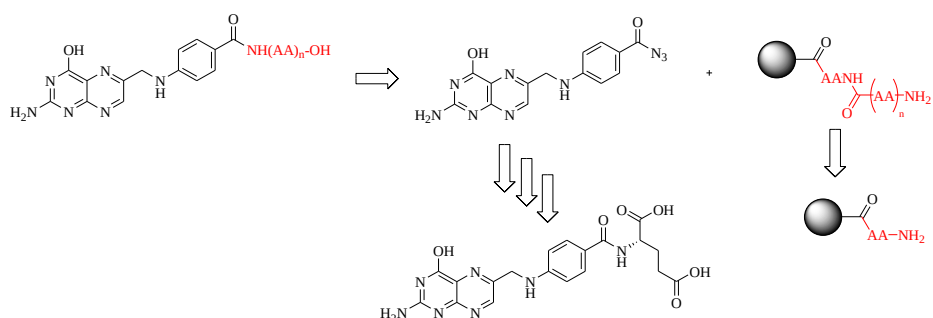


Rysunek 61. Struktury kwasu foliowego **37**, metotreksatu **44** i ich ferrocenyłowych analogów

W pierwszym etapie postanowiłam otrzymać ferrocenyłowe analogi kwasu foliowego **326-340** (Rysunek 62) w wyniku modyfikacji procedury opisanej w literaturze¹⁶⁸, polegającej na reakcji azydku **376** z peptydami, otrzymanymi na podłożu stałym - żywicy 2-chlorotrytylowej (Schemat 34).

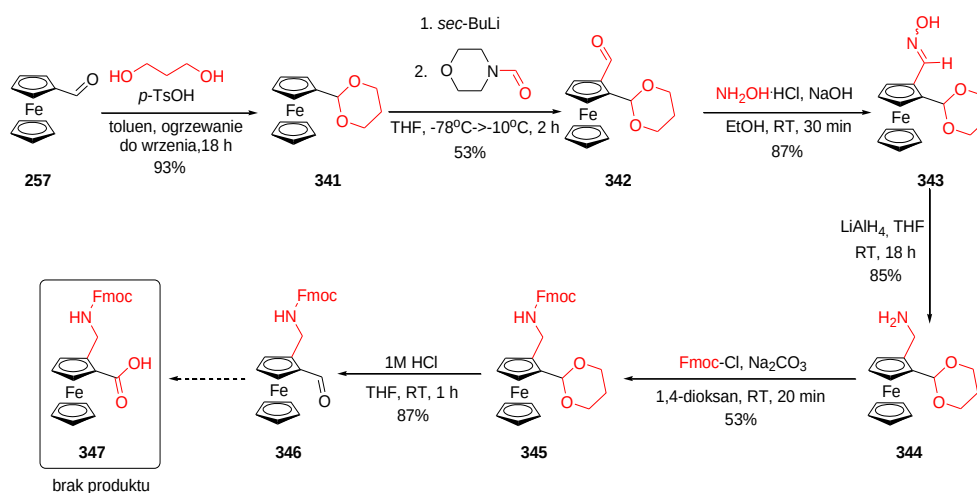


Rysunek 62. Struktury analogów kwasu foliowego **326-340**



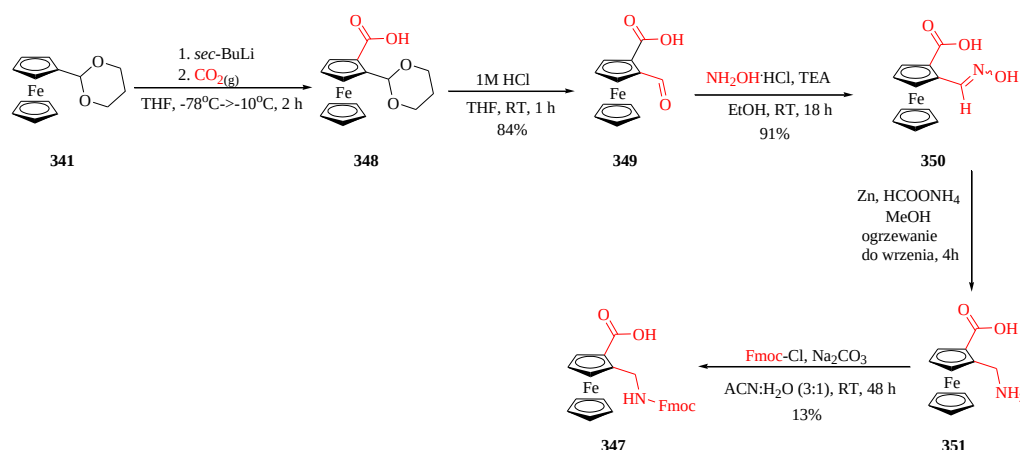
Schemat 34. Ogólny schemat syntezy analogów kwasu foliowego

Kluczowym etapem syntezy nowych analogów z tej grupy było otrzymanie kwasu *rac*-2-Fmoc(aminometylo)-1-ferrocenokarboksylowego **347**. Związek ten postanowiłam zsyntezować w wieloetapowej reakcji, wychodząc z ferrocenokarboksyaldehydu **257**. W pierwszym etapie grupę formylową **257** zabezpieczyłam 1,3-propanodiolem, otrzymując **341** z wydajnością 93%. Acetal **341** poddałam litowaniu w pozycji 2 *sec*-BuLi, a następnie formylowaniu za pomocą *N*-formylomorfoliny, otrzymując **342** z wydajnością 53%.¹⁶⁹ W reakcji **342** z chlorowodorkiem hydroksyloaminy zsyntezowałam oksym **343** w postaci dwóch izomerów *syn* i *anti*, których nie rozdzielałam, ponieważ w kolejnym etapie zredukowałam otrzymaną mieszaninę **343** do aminy **344** za pomocą LiAlH₄ w temperaturze pokojowej. Następnie grupę aminową **344** zabezpieczyłam w reakcji z Fmoc-Cl w 1,4-dioksanie. Acetal **345** poddałam hydrolizie kwasowej za pomocą roztworu HCl o stężeniu 1 mol/l, otrzymując **346** i podjęłam próby utlenienia grupy formylowej do karboksylowej, stosując jako utleniacze m.in. tlenek srebra, Oxone[®], manganian (VII) potasu, tlenek manganu (IV) oraz odczynnik Dess-Martina. Niestety, w żadnym przypadku nie otrzymałam pożądanego związku **347**, a jedynie produkty rozkładu substratu **346** (Schemat 35).



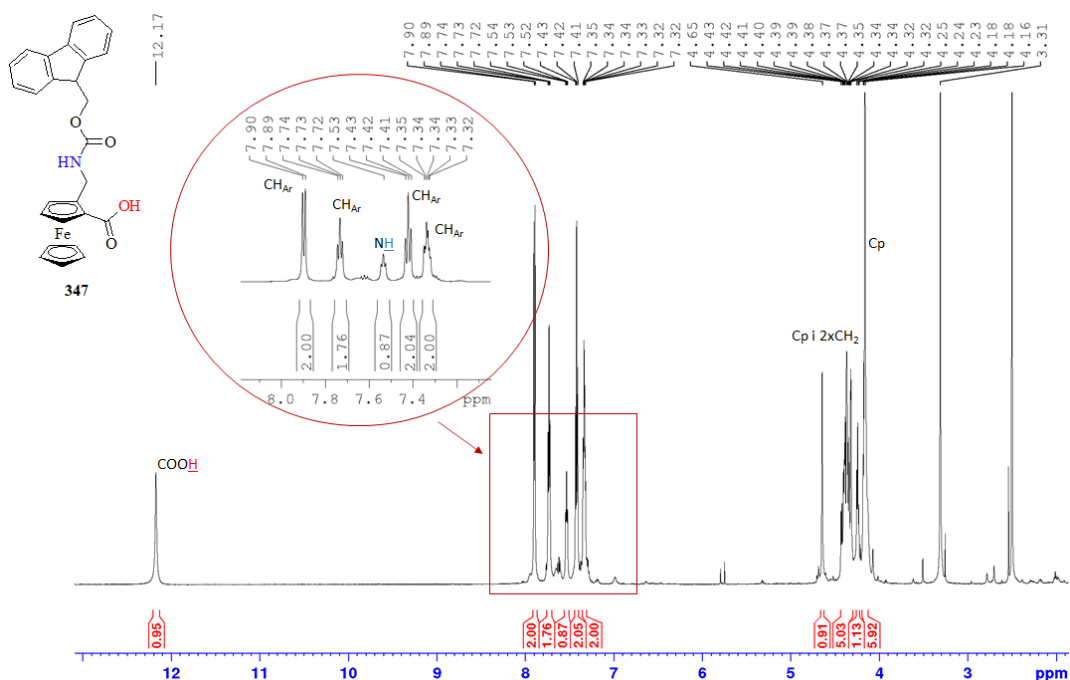
Schemat 35. Próby syntezy kwasu *rac*-2-Fmoc(aminometylo)ferrocenyloвого **347**

W związku z niepowodzeniem syntezy postanowiłam otrzymać **347**, modyfikując opracowaną metodę poprzez zastąpienie formylowania reakcją karboksylowania. Wychodząc z acetalu **341** w reakcji litowania w pozycji 2 *sec*-BuLi, otrzymałam litową pochodną, którą następnie poddałam reakcji karboksylowania gazowym dwutlenkiem węgla wprowadzanym do mieszaniny reakcyjnej przez 2 godziny. Następnie bez izolowania związku **348**, przeprowadziłam hydrolizę acetalu do aldehydu za pomocą 1 mol/l kwasu solnego, otrzymując kwas *rac*-2-formyloferrocenokarboksylowy **349** z wydajnością 84% w przeliczeniu na ilość użytego acetalu **341**. W widmie ^1H NMR **341** były obecne charakterystyczne sygnały pochodzące od grupy karboksylowej przy δ 12,80 ppm i grupy formylowej przy δ 10,52 ppm. W reakcji **341** z chlorowodorkiem hydroksyloaminy otrzymałam oksym **350** w postaci dwóch izomerów *syn* i *anti* z wydajnością 91%. W widmie ^1H NMR produktu były obecne charakterystyczne sygnały pochodzące od grupy karboksylowej przy δ 12,48 ppm, oksymu przy δ 10,82 ppm oraz protony winylowe przy δ 8,45 i 8,01. Redukcja mieszaniny izomerów **350** przy użyciu nadmiaru pyłu cynkowego i mrówczanu amonu doprowadziła do otrzymania kwasu *rac*-2-(aminometylo)ferrocenokarboksylowego **351**, który bez oczyszczania zabezpieczyłam grupą Fmoc w mieszaninie rozpuszczalników acetonitryl:woda (3:1, v/v) przez 48 godzin (Schemat 36). Produkt **347** scharakteryzowałam za pomocą metod spektroskopowych NMR, MS, IR oraz za pomocą analizy elementarnej.



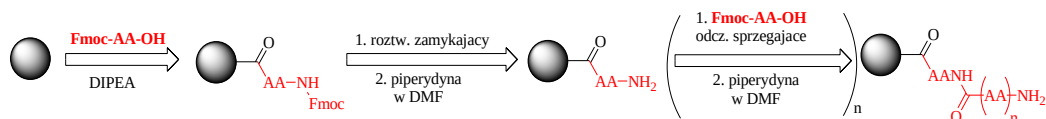
Schemat 36. Synteza kwasu rac-2-Fmoc(aminometylo)ferrocenokarboksylowego **347**

W widmie ^1H NMR **347** były obecne charakterystyczne sygnały pochodzące od protonu grupy karboksylowej przy δ 12,17 ppm, protonów aromatycznych grupy 9-fluorenylometylowej w zakresie δ 7,90-7,32 ppm i protonu amidowego δ 7,53 ppm (Rysunek 63).



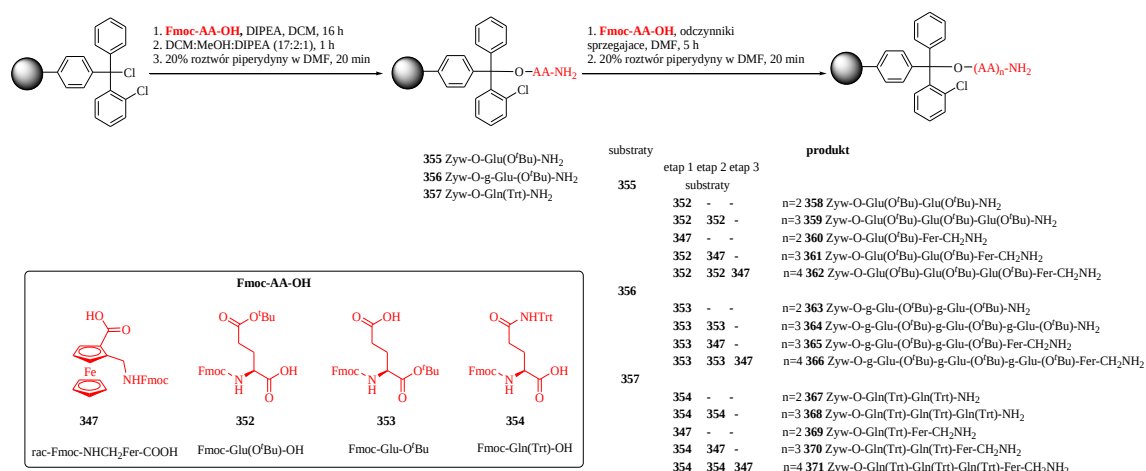
Rysunek 63. Widmo ^1H NMR dla **347**

Kolejnym etapem syntezy analogów **326-340** było otrzymanie odpowiedniego łańcucha bocznego metodą SPPS, wykorzystując żywicę 2-chlorotrytylową i aminokwasy zabezpieczone grupą Fmoc **347**, **352-354** według ogólnej procedury przedstawionej na Rysunku 64.



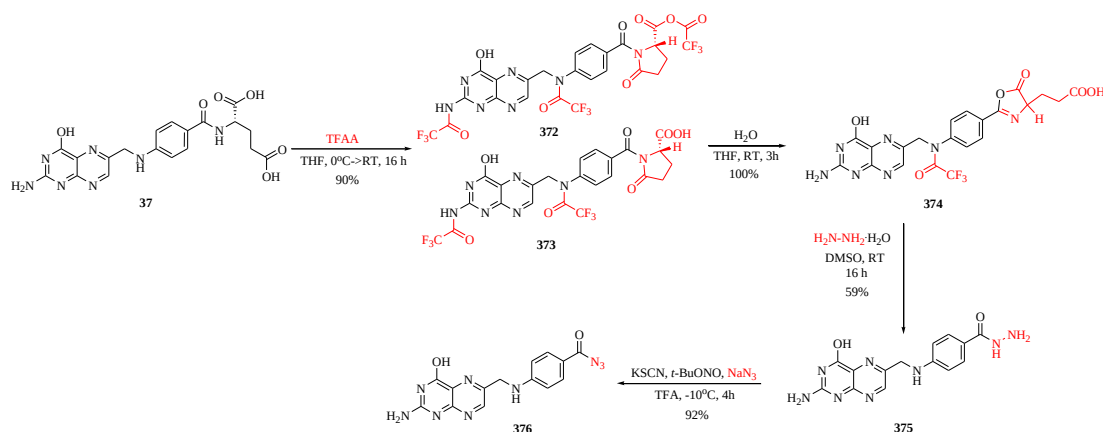
Rysunek 64. Ogólny schemat syntezy żywic 355-371

Pierwszy etap syntezy żywic 355-357 polegał na reakcji Fmoc-aminokwasów 352-354 z żywicą 2-chlorotrytylową w obecności DIPEA w DCM. Po usunięciu nadmiaru reagentów pod zmniejszonym ciśnieniem, zabezpieczyłam wolne pozycje na żywicy roztworem blokującym DCM:MeOH:DIPEA (17:2:1, v/v/v). Usunęłam reagenty poprzez filtrację próżniową i dodałam 20% roztwór piperydyny w DMF w celu usunięcia grupy zabezpieczającej Fmoc. Procedurę powtórzyłam, każdorazowo przemywając żywicę DMF, a następnie wykonałam test ninhydrynowy. W zależności od liczby aminokwasów, które zawierał ostateczny związek, przeprowadzałam kolejne reakcje sprzęgania aminokwasów do wolnej grupy aminowej aminokwasu związanego z żywicą, stosując jako odczynniki sprzęgające DIC i HOBt lub HATU i 2,4,6-kolidynę w DMF przez 4 godziny. Każdorazowo po sprzęganiu przeprowadzałam test ninhydrynowy i odbezpieczałam grupę aminową roztworem piperydyny, po czym przemywałam żywicę kilka razy DMF. W celu syntezy metalocenowych analogów 328-330, 333-334, 338-340, do wolnej grupy aminowej aminokwasu związanego z żywicą sprzęgałam 347. Po 4 godzinach mieszania usunęłam reagenty poprzez filtrację próżniową, wykonałam test ninhydrynowy i odbezpieczyłam grupę aminową 20% roztworem piperydyny w DMF otrzymując żywice 360-362, 365-366, 369-371 (Schemat 37).



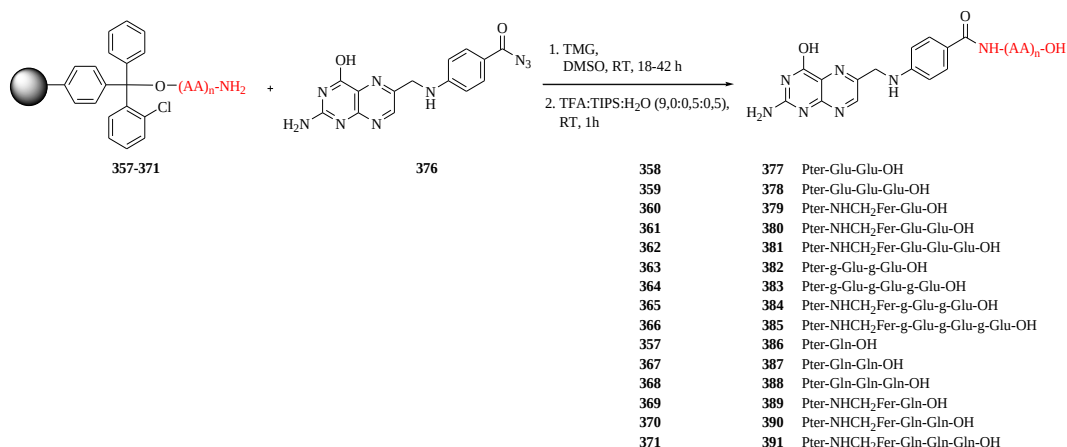
Schemat 37. Synteza żywic 358-371

Niezbędny azydek **376**¹⁶⁸ otrzymałam, wychodząc z kwasu foliowego **37**, gdzie w pierwszym etapie, w reakcji **37** z TFAA zsyntezowałam mieszaninę bezwodnika i kwasu *N*^{2,10}-bi(trifluoroacetylo)pirofoliowego **372-373**, którą poddałam reakcji z wodą w THF, otrzymując kwas **374**. Następnie, w reakcji monohydratu hydrazyny ze związkiem **374** w DMSO, zsyntezowałam hydrazyd **375**. Potraktowanie **375** azotanem(III) *tert*-butylu i azydkiem sodu doprowadziło do uzyskania **376** z wydajnością 92% (Schemat 38).



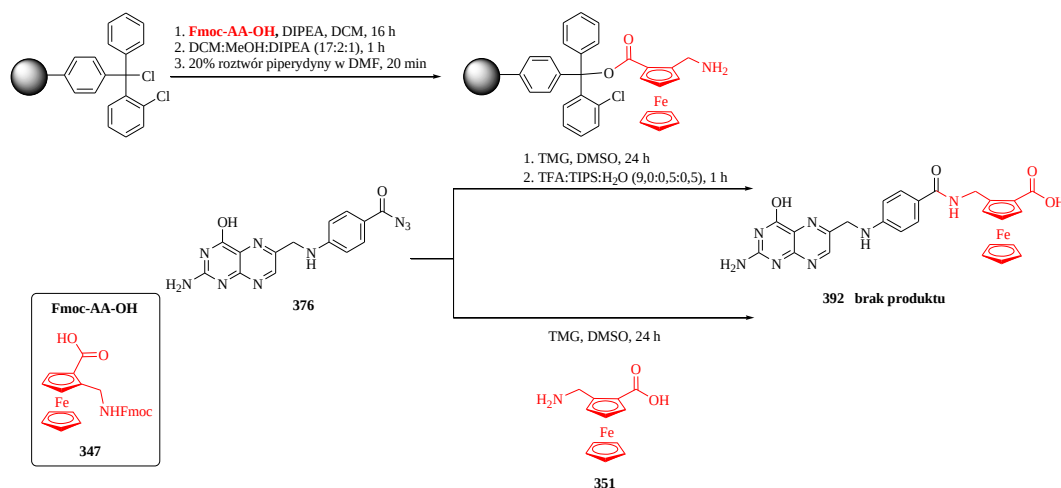
Schemat 38. Synteza azydku **376**

W reakcji sprzęgania **376** do wolnej grupy aminowej aminokwasu związanego z żywicą, stosując jako zasadę TMG, otrzymałam **377-391**. Następnie odcięłam produkty reakcji od podłoża stałego, wykorzystując mieszaninę TFA:TIPS:H₂O (9,0:0,5:0,5, v/v/v) przez 1 godzinę, a substancje lotne usunęłam na wyparce. Związki **377-391** wydzieliłam za pomocą preparatywnej chromatografii HPLC, scharakteryzowałam wykorzystując HR-MS, a ich czystość oznaczyłam wykonując analityczną chromatografię HPLC (Schemat 39).



Schemat 39. Synteza związków 377-391

Tę samą metodologię zastosowałam do syntezy analogu **392**. Dołączyłam **347** do żywicy 2-chlorotrytylowej w obecności DIPEA w DCM przez 16 godzin. Po tym czasie zabezpieczyłam wolne pozycje na żywicy roztworem zamykającym i w kolejnym etapie usunęłam Fmoc stosując 20% roztwór piperidyny w DMF. Po przemyciu żywicy DMF wykonałam sprzęganie z **376**, w obecności TMG w DMSO przez 24 godziny. Żywicę potraktowałam mieszaniną TFA:TIPS:H₂O (9,0:0,5:0,5, v/v/v) przez 1 godzinę i usunęłam substancje lotne pod zmniejszonym ciśnieniem. Próby wyizolowania **392** nie powiodły się, dlatego postanowiłam przeprowadzić reakcję sprzęgania **376** z **351** w roztworze z dodatkiem TMG, jednak i w tym przypadku nie otrzymałam pożądanego produktu **392** (Schemat 40).

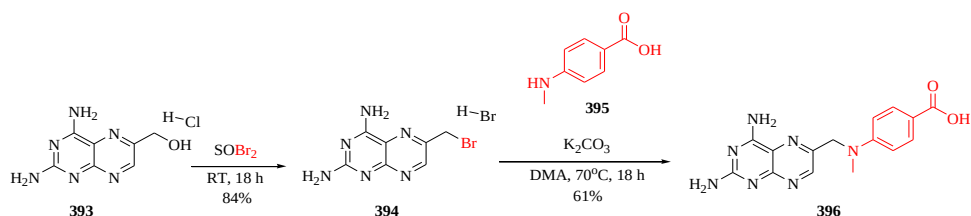


Schemat 40. Próby syntezy **392**

6.3.2 Synteza ferrocenyowych analogów metotreksatu

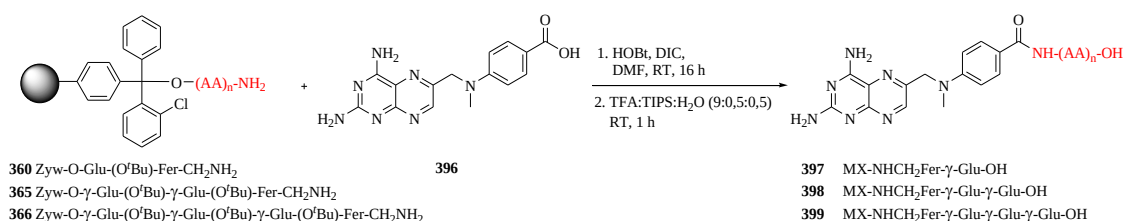
Kolejną serią związków, którą otrzymałam były ferrocenyowe analogi metotreksatu **397-399**. W celu syntezy **397-399** wykorzystałam otrzymane we wcześniejszych etapach peptydy związane z żywicą **360, 365-366**, natomiast kwas **396** zsyntezowałam w dwuetapowej reakcji według procedury opisanej w literaturze.

W reakcji chlorowodorku (2,4-diaminopterydyn-6-yl)metanolu **393** z bromkiem tionylu otrzymałam związek **394**¹⁷⁰, którego użyłam jako odczynnika alkilującego w reakcji z **395**, uzyskując kwas 4-[(2,4-diaminopterydyno-6-metylo)metyloamino]benzoesowy **396**¹⁷¹ z wydajnością 61% (Schemat 41). W widmie ¹H NMR **396** były obecne charakterystyczne dublety pochodzące od protonów pierścienia fenylowego przy δ 7,72 i 6,81 ppm oraz sygnał od grupy metylowej przy δ 3,20 ppm.



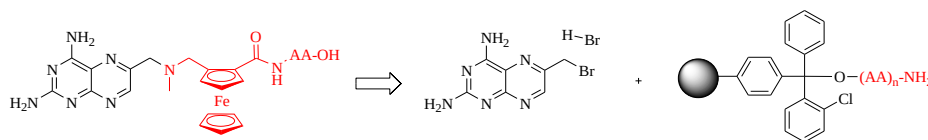
Schemat 41. Synteza kwasu **396**

Otrzymany kwas **396** poddałam reakcji sprzęgania z grupą aminową peptydu dołączonego do żywicy, używając jako odczynników sprzęgających DIC i HOBt w DMF przez 16 godzin (Schemat 42). Po sprzęganiu odcięłam produkty od żywicy, stosując mieszaninę TFA:TIPS:H₂O (9,0:0,5:0,5, v/v/v), a substancje lotne usunęłam pod zmniejszonym ciśnieniem. Związki **397-399** wydzieliłam za pomocą preparatywnej chromatografii HPLC, scharakteryzowałam wykorzystując HR-MS, a ich czystość oznaczyłam wykonując analityczną chromatografię HPLC.



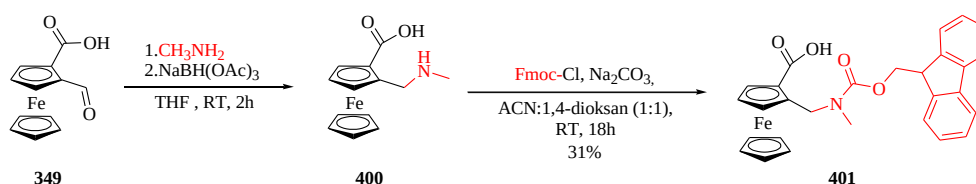
Schemat 42. Synteza analogów metotreksatu **397-199**

W kolejnej serii analogów metotreksatu postanowiłam zastąpić pierścień fenyłowy ugrupowaniem ferrocenyłowym (Schemat 43). Związki te postanowiłam zsyntezować w reakcji alkirowania grupy aminowej aminokwasu 6-bromometylopterydyno-2,4-diaminą **394**.



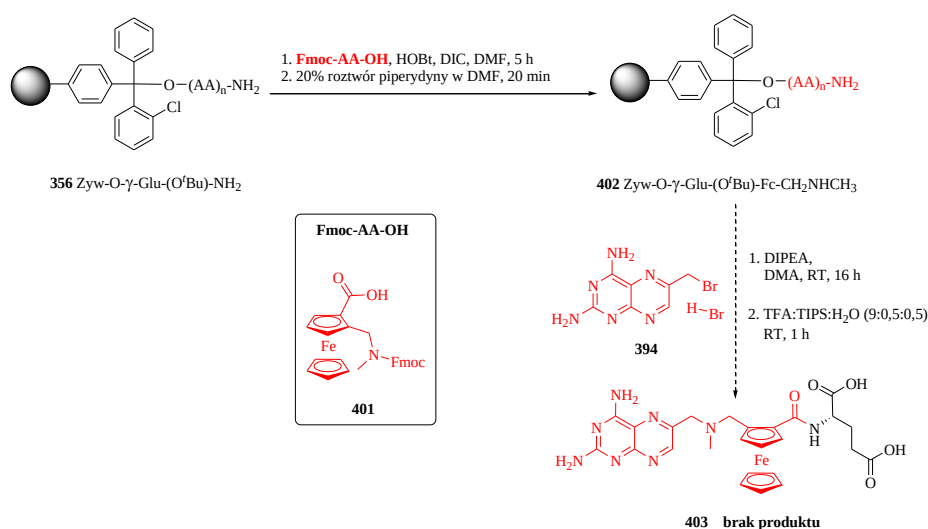
Schemat 43. Ogólny schemat syntezy ferrocenyłowej pochodnej

Syntezę rozpocząłam od otrzymania kwasu *rac*-Fmoc-*N*-metylo-*N*-(aminometylo)ferrocenokarboksylowego **401**. W pierwszym etapie, wychodząc z kwasu *rac*-2-formyloferrocenokarboksylowego **349** w reakcji aminowania redukcyjnego z metyloaminą otrzymałam **400**, który użyłam w dalszym etapie bez oczyszczania. Otrzymany **400** zabezpieczyłam Fmoc-Cl według opracowanej wcześniej procedury, uzyskując produkt **401** z wydajnością 31% w przeliczeniu na ilość użytego **349** (Schemat 44).



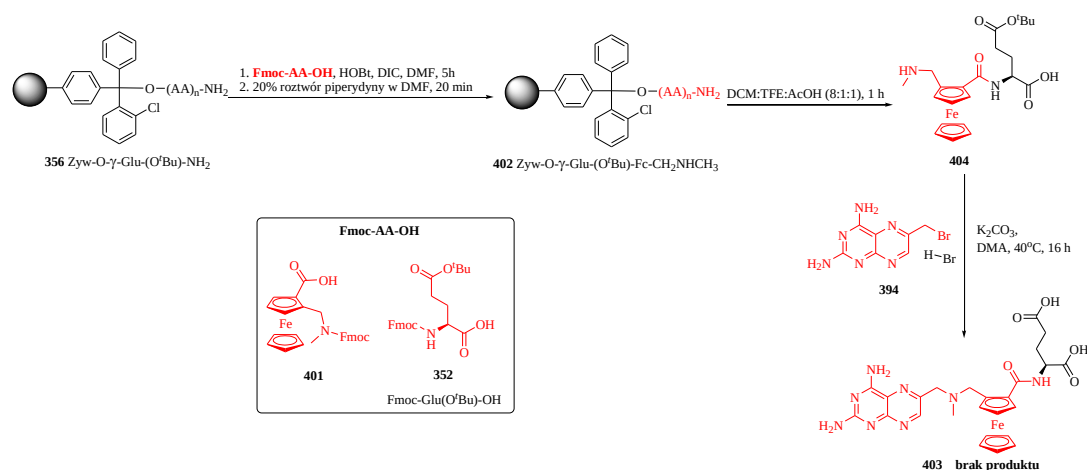
Schemat 44. Synteza kwasu *rac*-Fmoc-*N*-metylo-*N*-(aminometylo)ferrocenokarboksylowego **401**

W kolejnym etapie, wolną grupę aminową kwasu glutaminowego związanego z żywicą sprzęgałam z **401**, wykorzystując HOBt i DIC w DMF. Usunęłam grupę zabezpieczającą Fmoc 20% roztworem piperydyny w DMF, przemyłam żywicę kilkakrotnie DMF oraz DMA. Następnie przeprowadziłam reakcję alkirowania związkiem **394** wolnej grupy *N*-metyloaminowej pochodnej ferrocenyłowej związanej z żywicą **402** w obecności DIPEA w DMA. Pomimo wydłużenia czasu reakcji oraz dodania świeżych porcji reagentów, nie wyizolowałam pożądanego produktu. Również, mimo użycia innych zasad: TMG, węglań potasu czy węglań cezu, nie otrzymałam produktu **403** (Schemat 45).



Schemat 45. Próby syntezy analogu 403

Po szeregu niepowodzeń metodą SPPS, zdecydowałam się wykonać reakcję alkilowania w roztworze. Wykorzystałam żywicę 2-chlorotrytylową do syntezy dipeptydu γ -Glu-(OᵀBu)-Fer-CH₂NHCH₃ **402**, który następnie odciąłam i wyizolowałam, stosując mieszaninę DCM:TFE:AcOH (8:1:1, v/v/v). W kolejnym etapie otrzymany dipeptyd **404** poddałam reakcji alkilowania **394** w roztworze w obecności węglanu potasu w DMA w temperaturze 40°C, ale i w tym przypadku nie otrzymałam pożądanego produktu **403** (Schemat 38).

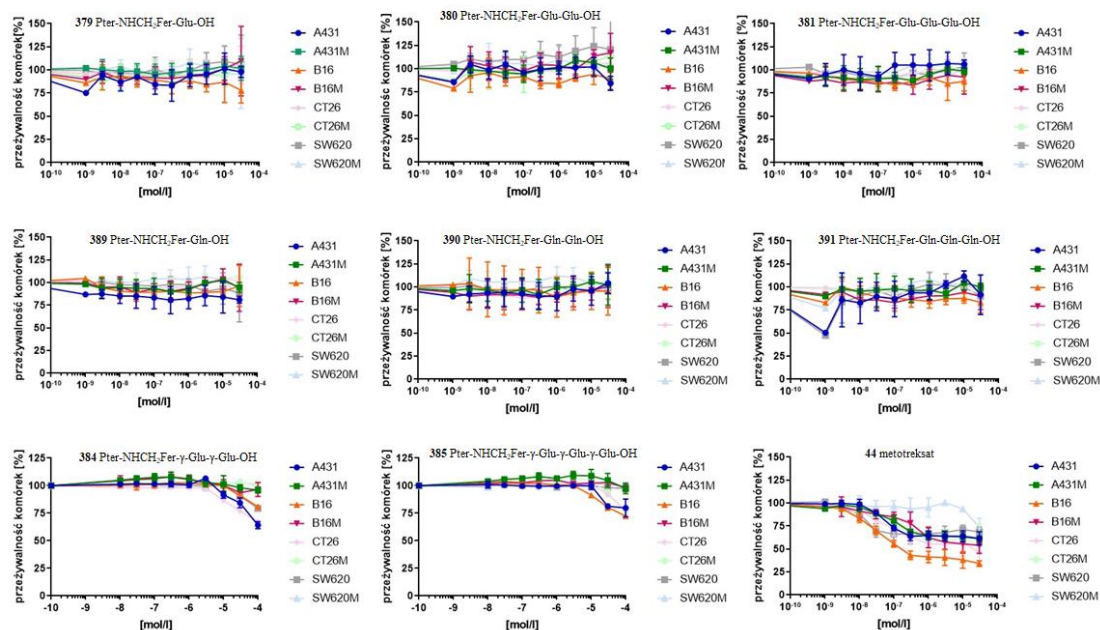


Schemat 46. Próby syntezy analogu 40

6.3.3 Badania aktywności biologicznych ferrocenyłowych analogów kwasu foliowego

Aktywność antyproliferacyjną zsyntezowanych związków **377-391** zbadano w zespole dr. Błażeja Rychlika wobec linii komórek nowotworowych: A-431 (rak płaskonabłonkowy skóry człowieka), A-431M (wariant A-431 oporny na metotreksat), B16-F10 (czerniak myszy), B16M (wariant B16-F10 oporny na metotreksat), CT26.WT (rak okrężnicy myszy), CT26M (wariant CT26.WT oporny na metotreksat), SW620 (gruczolakorak jelita grubego), SW620M (gruczolakorak jelita grubego oporny na metotreksat) (Rysunek 65). Zbadano przeżywalność komórek nowotworowych w podłożu pozbawionym kwasu foliowego, po potraktowaniu komórek analogami kwasu foliowego, zarówno ferrocenyłowymi, jak i organicznymi.

Wyniki badań wstępnych pokazały, że seria związków organicznych, zgodnie z oczekiwaniami, nie wykazuje aktywności cytostatycznej. Natomiast wszystkie ferrocenyłowe analogi były mniej cytotoksyczne niż metotreksat względem badanych linii komórkowych. Pomimo prowadzenia badań w zakresie stężeń od 10^{-9} do 10^{-4} mol/l, przeżywalność komórek w obecności najwyższych stężeń związków **379-381**, **389-390** była na poziomie 75-100%. Przeżywalność komórek linii A-431 w przypadku **384** i **385** przy stężeniu 10^{-4} dla linii A431 wynosiła około 75%. Na podstawie przedstawionych danych można stwierdzić, że otrzymane analogi są w zdecydowanej większości nieaktywne. Niska cytotoksyczność może być spowodowana zwiększoną aktywnością transporterów odpowiedzialnych za wydalanie cząsteczek poza komórkę, związki te mogą być dobrymi substratami dla tych białek skąd może wynikać ich niska toksyczność, jednakże hipoteza ta wymaga dalszych badań.



Rysunek 65. Przeżywalność komórek nowotworowych w obecności analogów kwasu foliowego dla każdej z linii komórkowych. Dane na wykresach są średnią z trzech niezależnych eksperymentów.

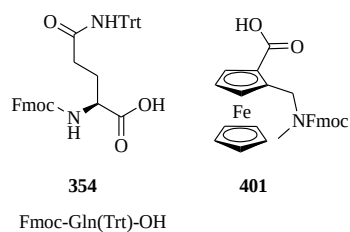
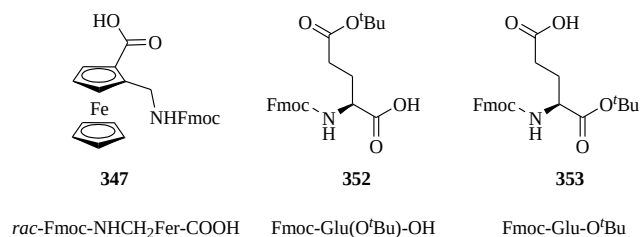
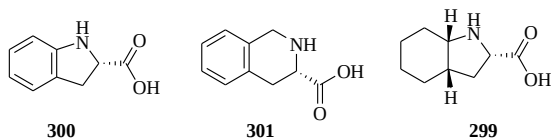
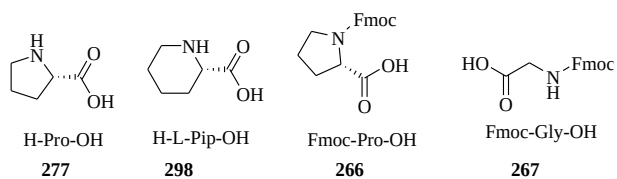
6.4 Podsumowanie

Zsyntezowałam dwie serie analogów etopozydu: ferrocenyłowe oraz rutenocenyłowe pochodne 1*H*-1,2,3-triazolowe i aminowe. Ocena potencjału antyproliferacyjnego otrzymanych związków pokazała, że najaktywniejsze są 1*H*-1,2,3-triazol **220** oraz aminy **258-260**. Po zbadaniu wpływu analogów **220**, **258-260** na zdolność do hamowania polimeryzacji tubuliny i na aktywność topoizomerazy II stwierdzono, że najprostsza amina **258** jest związkiem wykazującym podwójne działanie – jest inhibitorem zarówno procesu polimeryzacji mikrotubul, jak i TOPOII. Wykazałam, że zastąpienie reszty cukrowej etopozydu podstawnikiem ferrocenyloalkiloaminowym powoduje zwiększenie cytotoksyczności otrzymanych analogów.

Zsyntezowałam serię ferrocenyłowych oraz fenyłowych analogów tryprostatyny A. Badania aktywności antyproliferacyjnej w stosunku do linii komórek nowotworowych wrażliwych oraz opornych na najczęściej stosowane chemioterapeutyki (cisplatynę, doksorubicynę, etopozyd, metotreksat, winkrystynę i mitoksantron) pokazały, że po potraktowaniu komórek mieszaniną badanego związku i leku następuje uwrażliwienie komórek nowotworowych na zastosowany chemioterapeutyk. Badania wpływu zsyntezowanych związków na transport wzorcowych substratów wybranych białek oporności wielolekowej oraz wiązanie przeciwciał UIC2 oraz 5D3, potwierdziły, że związki (**Z**)-**273**, (**Z**)-**296** i (**Z**)-**275** są substratami dla białek ABCB1 oraz ABCG2, natomiast związek (**Z**)-**295** jest substratem tylko dla białka ABCG2. Wykazałam, że zastąpienie podstawnika indolowego w cząsteczce tryprostatyny A grupą ferrocenyłową lub ferrocenylofenyłową prowadzi do otrzymania związków wykazujących umiarkowaną cytotoksyczność, a otrzymane analogi wykazują wysoką aktywność wobec białek oporności wielolekowej ABCB1 oraz ABCG2.

Zsyntezowałam serie ferrocenyłowych analogów kwasu foliowego oraz metotreksatu. Przeprowadzono badania przeżywalności otrzymanych związków względem wybranych linii komórek nowotworowych opornych i wrażliwych na metotreksat. Otrzymane wyniki pokazały, że ferrocenyłowe analogi kwasu foliowego wykazują niewielką aktywność antyproliferacyjną i w większości są nietoksyczne wobec badanych linii komórkowych. Wykazałam, iż obecność ugrupowania ferrocenyłowego nie wpływa znacząco na aktywność biologiczną otrzymanych pochodnych.

7. Wzory aminokwasów stosowanych w pracy



8. Część eksperymentalna

8.1 Informacje ogólne

Wszystkie reakcje prowadziłam w ochronnej atmosferze argonu. THF i toluen destylowałam znad sodu i benzofenonu, dichlorometan znad wodoru wapnia, DMF znad wodoru wapnia pod zmniejszonym ciśnieniem i przechowywałam w ochronnej atmosferze argonu nad sitami molekularnymi 4Å. Pozostałe odczynniki zostały zakupione z firm Merck®, Fluorochem, TCI, Alfa Aesar oraz innych i użyte bez oczyszczania.

Widma NMR wykonano na spektrometrze Bruker AVIII 600 (600,26 MHz dla ^1H), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (150,94 MHz)) i kalibrowano na sygnał resztkowy rozpuszczalnika. Stosowano rozpuszczalniki deuterowane: CDCl_3 (^1H , δ 7,26 ppm, $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, δ 77,0 ppm), $\text{DMSO}-d_6$ (^1H , δ 2,50 ppm, $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, δ 39,51 ppm) oraz CD_2Cl_2 (^1H , δ 5,32 ppm, $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, δ 54,0 ppm). Wartości przesunięć chemicznych wyrażono w [ppm], a stałe sprzężenia J w [Hz]. Widma absorpcji w podczerwieni (IR) wykonano za pomocą spektrofotometru *FT-IR NEXUS* w KBr oraz metodą filmu cieczy; położenie pasm absorpcji wyrażono w cm^{-1} . Analizy elementarne wykonano na analizatorze *Vario EL III* (Elementar Analysensysteme GmbH). Synteza na podłożu stałym wykonywana była w reaktorach do SPPS, natomiast do mieszania wykorzystano wytrząsarkę kołyskową. Reakcje z użyciem mikrofal prowadzone były w reaktorze mikrofalowym Monowave 400 firmy Anton Paar. Chromatografię cienkowarstwową wykonano na płytkach aluminiowych pokrytych SiO_2 (60 F254 0,2 mm) firmy Supelco®. Chromatografia kolumnowa była wykonywana na żelu krzemionkowym 60 (230-400 mesh) firmy Merck. Do izolacji polarnych związków wykorzystano system Shimadzu HPLC na preparatywnej kolumnie (Phenomenex PFP, 15 x 21,6 mm, 5 μm , przepływ 25 ml/min) z detektorem PDA w układzie odwróconym A:B, gdzie A to 0,1% TFA w H_2O , a B to 0,1% TFA w ACN zaczynając od 0% do 100% B w ciągu 20 minut, następnie 100% B w ciągu następnych 5 minut i 0% B przez następne 10 minut. Czystość związków oznaczono metodą analizy HPLC na kolumnie analitycznej (Phenomenex PFP 150 x 4,6 mm, 5 μm , przepływ 1 ml/min) przy użyciu systemu Shimadzu HPLC z detektorem PDA w układzie odwróconym A:B, gdzie A to 0,1% TFA w H_2O , a B to 0,1% TFA w ACN. Metody analityczne wykorzystane do oznaczenia czystości związków: metoda **AN-1**: gradient A:B zaczynając od $t=0,3$ min 0% B, $t=20$ min 100% B, $t=25$ min 0% B, $t=35$ min 0% B;

metoda **AN-2**: gradient A:B zaczynając od t=0,3 min, 20% B, t=15 min 80% B, t=21 min 100% B, t=25 min 100% B, t=26 min 20% B, t=35 min 20% B; metoda **AN-3**: gradient A:B zaczynając od t=0,3 min, 20% B, t=21 min 100% B, t=25 min 100% B, t=26 min 20% B, t=35 min 20% B; metoda **AN-4**: gradient A:B zaczynając od t=0,3 min, 20% B, t=15 min 80% B, t=21 min 100% B, t=25 min 100% B, t=26 min 20% B, t=35 min 20% B.

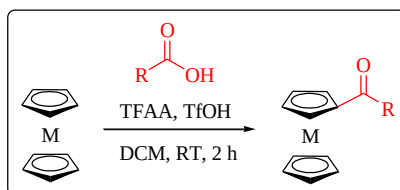
Nadmiary enancjomerycznie wyznaczyłam za pomocą analizy HPLC na chiralnej kolumnie analitycznej Lux Cellulose-2, metoda **AN-5**: przepływ 1,5 ml/min, IPA-n-heptan, 25:75, v/v, 90 min.

Pomiary LC-MS (techniką jonizacji ESI) zostały wykonane stosując system Shimadzu Nexera XR na analitycznej kolumnie (Phenomenex XB-C18, 50 x 2,1 cm, 1,7 μ m, przepływ 0,3 ml/min) z detektorem PDA (SPD-M40) i LC-MS-2020 w układzie odwróconym A:B:C, gdzie A to 0,01% HCOOH w H₂O, B to 0,01% HCOOH w MeOH, a C to 0,01% HCOOH w ACN. Metody analityczne wykorzystane do oznaczenia czystości związków: metoda **LC-MS-1**: gradient A:B:C zaczynając od t=0,2 min, 15% B, 15% C, t=4 min, 45% B, 45% C, t=5 min, 45% B, 45% C, t=8 min, 15% B, 15% C, t=13 min, 15% B, 15% C; metoda **LC-MS-2**: izokratyczna A:B:C, 45% A, 27,5% B, 27,5% C t= 9 min.

Pomiary ESI-MS zostały wykonane na spektrometrze Varian 500-MS LC Ion Trap (Uniwersytet Łódzki). Pomiary HR-MS zostały wykonane na spektrometrze Bruker microTOF-Q II techniką jonizacji ESI (Instytut Chemii Organicznej w Warszawie).

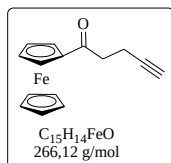
8.2 Synteza metallocenowych analogów etopozydu

Procedura ogólna A – synteza ω -alkynoilometalocenów – acylowanie metallocenów kwasami karboksylowymi w obecności TFAA i TfOH



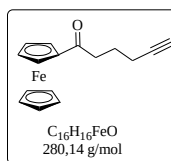
1,10 eq TFAA dodałam do roztworu 1,10 eq kwasu karboksylowego w DCM. Następnie dodałam 1,00 eq metallocenu ($C_{p2}M=0,400$ mol/l), a po jego rozpuszczeniu wkropliłam 1,00 eq TfOH i mieszałam przez 2 godziny w temperaturze pokojowej. Mieszaninę reakcyjną wylałam do zlewki z lodem i produkt wyekstrahowałam trzykrotnie DCM. Połączone warstwy organiczne przemyłam wodorowęglanem sodu, solanką i suszyłam nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu, a po odsączeniu środka suszącego usunęłam rozpuszczalnik na wyparce. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym.

4-pentynoiloferrocen **202**¹²⁷⁻¹²⁸



202 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej A** z wydajnością 68% (181 mg) wychodząc z 186 mg (1,00 mmola) FcH, 108 mg (1,10 mmola) **199**, 231 mg (160 μ l, 1,10 mmola) TFAA, 165 mg (100 μ l, 1,10 mmola) TfOH i 4,50 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 4,81 (t, $^3J_{H-H}=1,9$ Hz, 2H, Cp); 4,52 (t, $^3J_{H-H}=1,9$ Hz, 2H, Cp); 4,24 (s, 5H, Cp); 2,98 (t, $^3J_{H-H}=7,3$ Hz, 2H); 2,60 (dt, $^3J_{H-H}=11,1$ Hz, $^4J_{H-H}=2,6$ Hz, 2H); 2,00 (t, $^4J_{H-H}=2,6$ Hz, 1H).

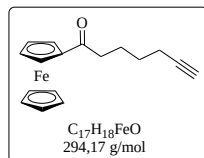
5-heksynoiloferrocen **203**¹²⁷⁻¹²⁸



203 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej A** z wydajnością 94% (263 mg) wychodząc z 186 mg (1,00 mmola) FcH, 120 mg (120 μ l, 1,10 mmola) **200**, 231 mg (160 μ l, 1,10 mmola) TFAA, 165 mg (100 μ l, 1,10 mmola) TfOH i 4,50 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 4,80 (t, $^3J_{H-H}=1,9$ Hz, 2H,

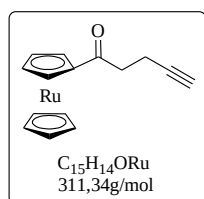
Cp); 4,50 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,9$ Hz, 2H, Cp); 4,21 (s, 5H, Cp); 2,88 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,1$ Hz, 2H); 2,35 (dt, $^3J_{\text{H-H}}=10,2$ Hz; $^4J_{\text{H-H}}=2,6$ Hz, 2H); 2,01 (t, $^4J_{\text{H-H}}=2,6$ Hz, 1H); 1,96-1,91 (m, 2H).

6-heptynoilferrocen 204¹²⁷⁻¹²⁸



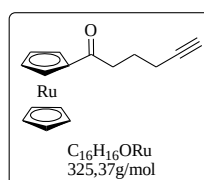
204 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej A** z wydajnością 88% (488 mg) wychodząc z 186 mg (1,00 mmola) FcH, 120 mg (120 μl , 1,10 mmola) **201**, 231 mg (160 μl , 1,10 mmola) TFAA, 165 mg (100 μl , 1,10 mmola) TfOH i 4,50 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM. **$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3)** δ 4,78 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,9$ Hz, 2H, Cp); 4,50 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,9$ Hz, 2H, Cp); 4,20 (s, 5H, Cp); 2,73 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,4$ Hz, 2H); 2,26-2,25 (m, 2H); 1,96 (s, 1H); 1,84 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,6$ Hz, 2H); 1,64-1,62 (m, 2H).

4-pentynoilorutenocen 205¹²⁷⁻¹²⁸



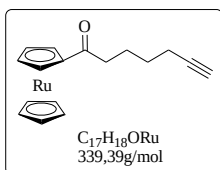
205 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej A** z wydajnością 46% (143 mg) wychodząc z 231 mg (1,00 mmola) Rch, 156 mg (1,10 mmola) **199**, 231 mg (160 μl , 1,10 mmola) TFAA, 165 mg (100 μl , 1,10 mmola) TfOH i 4,50 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM. **$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3)** δ 5,12 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,8$ Hz, 2H, Cp); 4,78 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,8$ Hz, 2H, Cp); 4,61 (s, 5H, Cp); 2,87 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,4$ Hz, 2H); 2,54 (dt, $^3J_{\text{H-H}}=10,9$ Hz; $^4J_{\text{H-H}}=2,6$ Hz, 2H); 1,97 (t, $^4J_{\text{H-H}}=2,6$ Hz, 1H).

5-heksynoilorutenocen 206¹²⁷⁻¹²⁸



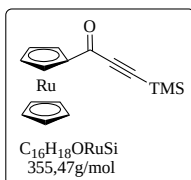
206 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej A** z wydajnością 41% (134 mg) wychodząc z 231 mg (1,00 mmola) Rch, 112 mg (110 μl , 1,10 mmola) **200**, 231 mg (160 μl , 1,10 mmola) TFAA, 165 mg (100 μl , 1,10 mmola) TfOH i 4,50 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM. **$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3)** δ 5,12 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,8$ Hz, 2H, Cp); 4,77 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,8$ Hz, 2H, Cp); 4,60 (s, 5H, Cp); 2,77 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,1$ Hz, 2H); 2,28 (dt, $^3J_{\text{H-H}}=6,8$ Hz; $^4J_{\text{H-H}}=2,6$ Hz, 2H); 1,99 (t, $^4J_{\text{H-H}}=2,6$ Hz, 1H); 1,90-1,85 (m, 2H).

6-heptynoilorutenocen 207¹²⁷⁻¹²⁸



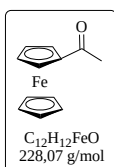
207 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej A** z wydajnością 73% (248 mg) wychodząc z 231 mg (1,00 mmola) R_cH, 139 mg (140 µl, 1,10 mmola) **201**, 231 mg (160 µl, 1,10 mmola) TFAA, 165 mg (100 µl, 1,10 mmola) TfOH i 4,50 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM. ¹H NMR (CDCl₃) δ 5,10 (t, ³J_{H-H}=1,7 Hz, 2H, Cp); 4,77 (t, ³J_{H-H}=1,7 Hz, 2H, Cp); 4,58 (s, 5H, Cp); 2,61 (t, ³J_{H-H}=7,4 Hz, 2H); 2,23 (dt, ³J_{H-H}=7,1 Hz; ⁴J_{H-H}=2,6 Hz, 2H); 1,96 (t, ⁴J_{H-H}=2,6 Hz, 1H); 1,81-1,75 (m, 2H); 1,61-1,55 (m, 2H).

(3-trimetylosililopropynoilo)rutenocen 209¹²⁷⁻¹²⁸



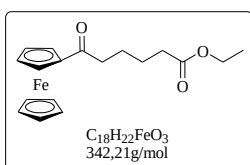
209 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej A** z wydajnością 55% (197 mg) wychodząc z 231 mg (1,00 mmola) R_cH, 156 mg (1,10 mmol) **208**, 231 mg (160 µl, 1,10 mmola) TFAA, 165 mg (100 µl, 1,10 mmola) TfOH i 4,50 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM i użyłam do następnego etapu bez wykonywania analiz.

Acetyloferrocen 212^{127-128, 151}



212 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej A** z wydajnością 95% (4,65 g) wychodząc z 4,00 g (21,5 mmola) FcH, 1,42 g (1,35 ml, 26,7 mmola) kwasu octowego, 4,97 g (3,29 ml, 23,7 mmola) TFAA, 3,23 g (1,89 ml, 21,5 mmola) TfOH i 54 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 4,78 (t, ³J_{H-H}=1,9 Hz, 2H, Cp); 4,56 (t, ³J_{H-H}=1,9 Hz, 2H, Cp); 4,24 (s, 5H, Cp); 2,35 (s, 3H).

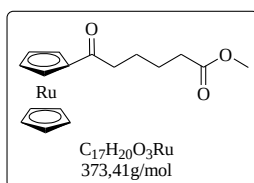
5-ferrocenoilopentanian etylu 237¹³⁰



237 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej A** z wydajnością ilościową (24,5 g) wychodząc z 13,3 g (71,6 mmola) FcH, 13,7 g (14,0 ml, 78,8 mmola) **235**, 16,5 g (11,1 ml, 78,8 mmola) TFAA, 10,8 g (6,34 ml, 71,6 mmola) TfOH i 120 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM. ¹H NMR (CDCl₃) δ 4,78

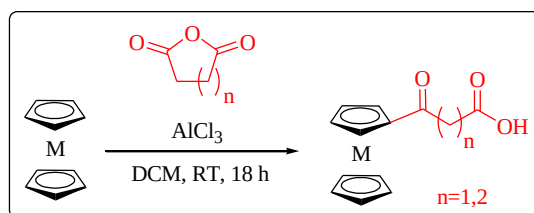
(br. s, 2H, Cp); 4,49 (br. s, 2H, Cp); 4,19 (s, 5H, Cp); 4,14 (q, $^3J_{\text{H-H}}=7,1$ Hz, 2H, OCH_2CH_3); 2,73 (t, $^3J_{\text{H-H}}=6,8$ Hz, 2H); 2,37 (t, $^3J_{\text{H-H}}=6,9$ Hz, 2H); 1,74-1,70 (m, 4H); 1,26 (t, $^3J_{\text{H-H}}=6,8$ Hz, 3H, OCH_2CH_3).

5-rutenocenoilopentanian metylu 238



238 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej A** z wydajnością 95% (1,39 g) wychodząc z 904 mg (3,91 mmola) R_cH, 689 mg (620 μl , 4,30 mmola) **236**, 907 mg (610 μl , 4,30 mmola) TFAA, 645 mg (0,380 ml, 4,30 mmola) TfOH i 19,6 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 0%-2% MeOH. **T.t.** 58-60°C; ^1H NMR (**DMSO-*d*₆**) δ 5,11 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,7$ Hz, 2H, Cp); 4,83 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,7$ Hz, 2H, Cp); 4,62 (s, 5H, Cp); 3,59 (s, 3H, CH₃); 2,62-2,59 (m, 2H, H-5); 2,33-2,31 (m, 2H, H-2); 1,54-1,52 (m, 4H, H-3, H-4); ^{13}C NMR (**DMSO-*d*₆**) δ 201,2 (C-6); 173,2 (C-1); 83,9 (C_{ipso}); 73,4 (Cp); 71,7 (Cp); 70,5 (Cp); 51,1 (CH₃); 37,6 (C-5); 33,1 (C-3); 24,1 (C-4); 23,7 (C-2); **IR (KBr, ν , cm^{-1})** 3083, 2945, 2900, 2867, 1735, 1659, 1448, 1376, 1172; **ESI-MS (*m/z*)** obliczone dla C₁₇H₂₀O₃Ru: 374,1; znalezione: 375,1 [M+H]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₁₇H₂₀O₃Ru: C 54,68; H 5,40; znaleziona: C 54,84; H 5,49%.

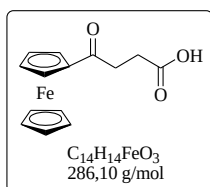
Procedura ogólna B – synteza kwasów ω -metalocenylo- ω -oksoalkanowych –acylowanie metalocenów bezwodnikami kwasowymi w obecności chlorku glinu



Do 1,60 eq bezwodnego AlCl₃ dodałam bezwodny DCM, ochłodziłam mieszaninę do 0°C i mieszałam 30 minut. Po tym czasie dodałam 1,00 eq bezwodnika kwasowego, a po jego rozpuszczeniu 1,00 eq metalocenu (C_{Cp2M}=0,500 mol/l) i mieszałam przez 18 godzin w temperaturze pokojowej. Mieszaninę reakcyjną wylałam do zlewki z lodem i produkt wyekstrahowałam trzykrotnie DCM. Połączone warstwy organiczne przemyłam solanką, suszyłam nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu a po odsączeniu środka suszącego

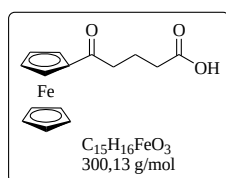
usunęłam rozpuszczalnik na wyparce. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym.

Kwas 3-ferrocenoilopropanowy 227¹⁵⁵



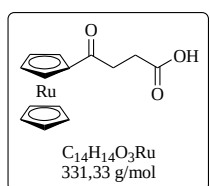
227 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej B** z wydajnością 48% (13,0 g) wychodząc z 18,6 g (100 mmola) FcH, 10,1 g (0,100 mola) 225, 21,3 g (160 mmola) $AlCl_3$ i 200 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie 0%-10% MeOH. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 4,82 (t, $^3J_{H-H}=1,9$ Hz, 2H, Cp); 4,52 (t, $^3J_{H-H}=1,9$ Hz, 2H, Cp); 4,24 (s, 5H); 3,09 (t, $^3J_{H-H}=6,5$ Hz, 2H, CH_2), 2,76 (t, $^3J_{H-H}=6,5$ Hz, 2H, CH_2).

Kwas 4-ferrocenoilobutanowy 228¹⁵⁵



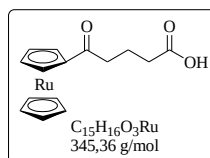
228 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej B** z wydajnością 50% (7,53 g) wychodząc z 9,30 g (50,0 mmola) FcH, 6,28 g (55,0 mmola) 226, 10,7 g (80,0 mmola) $AlCl_3$ i 100 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie 0%-10% MeOH. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 4,79 (br. s, 2H, Cp); 4,50 (br. s, 2H, Cp); 4,19 (s, 5H, Cp); 2,81 (br. s, 2H); 2,51 (br. s, 2H, CH_2); 2,05 (br. s, 2H, CH_2).

Kwas 3-rutenocenoilopropanowy 229¹⁵⁶



229 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej B** z wydajnością 42% (604 mg) wychodząc z 1,00 g (4,32 mmola) RcH, 436 mg (4,32 mmola) 225, 692 mg (5,19 mmola) $AlCl_3$ i 8,65 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie 0%-5% MeOH. 1H NMR ($DMSO-d_6$) δ 5,13 (t, $^3J_{H-H}=1,8$ Hz, 2H, Cp); 4,83 (t, $^3J_{H-H}=1,7$ Hz, 2H, Cp); 4,65 (s, 5H, Cp); 2,90-2,88 (m, 2H, CH_2); 2,44 (t, $^3J_{H-H}=6,4$ Hz, 2H, CH_2).

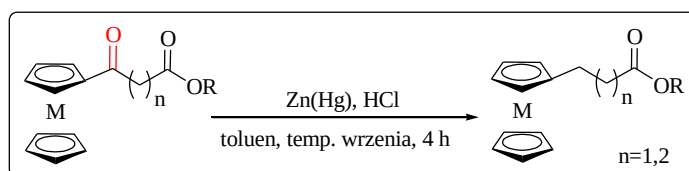
Kwas 4-rutenocenoilobutanowy 230



230 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej B** z wydajnością 43% (642 mg) wychodząc z 1,00 g (4,32 mmola) RcH, 543 mg (4,76 mmola) 226, 807 mg (6,05 mmola) $AlCl_3$ i 8,65 ml DCM.

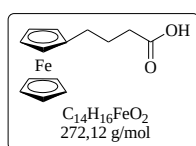
Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie 0%-2% MeOH. **T.t.** 138-140°C; **¹H NMR (CDCl₃)** δ 9,95 (br. s, 1H, COOH); 5,10 (t, ³J_{H-H}=1,6 Hz, 2H, Cp); 4,77 (t, ³J_{H-H}=1,6 Hz, 2H, Cp); 4,58 (s, 5H, Cp); 2,70 (t, ³J_{H-H}=7,2 Hz, 2H, H-4); 2,45 (t, ³J_{H-H}=7,1 Hz, 2H, H-2); 2,01-1,97 (m, 2H, H-3); **¹³C{¹H} NMR (CDCl₃)** δ 201,7 (C-5); 178,9 (C-1); 83,7 (C_p_{ipso}); 73,6 (Cp); 72,0 (Cp); 70,7 (Cp); 37,5 (C-4); 33,0 (C-2); 19,7 (C-3); **IR** (KBr, ν, cm⁻¹) 3091, 2939, 1733, 1710, 1670, 1632, 1457, 1411, 1379, 1203, 1159, 813; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla C₁₅H₁₆O₃Ru: 346,0; znalezione: 347,2 [M+H]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₁₅H₁₆O₃Ru: C 52,17; H 4,67; znaleziona: C 52,09; H 4,79%.

Procedura ogólna C – synteza estrów oraz kwasów ω-metalocenyloalkanowych – redukcja grupy ketonowej metodą Clemmensena



Do roztworu 1,00 eq ω-oksokwasu lub ω-oksoestru (C=0,400 mol/l) w toluenie dodałam 30,0 eq stężonego HCl i amalgamat cynku (przygotowany bezpośrednio przed reakcją poprzez zmieszanie 10,0 eq pyłu cynkowego (<10 µm) z wodnym roztworem 0,20 eq chlorku rtęci(II) (C_{HgCl₂}=0,200 mol/l) oraz ze stężonym kwasem solnym (1,00 ml na 5 g cynku)). Mieszaninę reakcyjną ogrzewałam do wrzenia pod chłodnicą zwrotną przez 4 godziny intensywnie mieszając. Odsączyłam amalgamat, dodałam wodę i produkt wyekstrahowałam trzykrotnie tolueniem. Połączone warstwy organiczne przemyłam solanką, suszyłam nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu, a po odsączeniu środka suszącego usunęłam rozpuszczalnik na wyparce otrzymując produkt, który wykorzystałam do dalszych syntez bez oczyszczania.

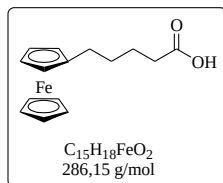
Kwas 4-ferrocenylobutanowy **231**¹⁵⁷



231 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej C** z wydajnością 90% (5,20 g) wychodząc z 6,00 g (20,8 mmola) **227**, 13,5 g cynku (208,3 mmola), 1,13 g (4,17 mmola) HgCl₂, 50,0 ml HCl, 21,0 ml H₂O

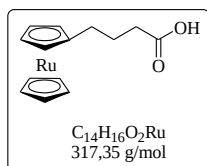
i 52,0 ml toluenu. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 4,11 (s, 5H, Cp); 4,07-4,05 (m, 4H, Cp); 2,42-2,38 (m, 4H, 2xCH₂); 1,88-1,84 (m, 2H, CH₂).

Kwas 5-ferrocenylopentanowy 232¹⁵⁸



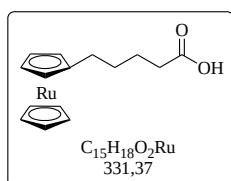
232 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej C** z wydajnością 92% (4,29 g) wychodząc z 4,93 g (16,5 mmola) **228**, 10,7 g cynku (165 mmola), 896 mg (3,30 mmola) HgCl_2 , 50,0 ml HCl , 16,5 ml H_2O i 50,0 ml toluenu. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 4,09 (s, 5H, Cp); 4,07-4,04 (m, 4H, Cp); 2,38-2,34 (m, 4H, 2xCH₂); 1,70-1,65 (m, 2H, CH₂); 1,59-1,54 (m, 2H, CH₂).

Kwas 4-rutenocenylobutanowy 233¹⁵⁶



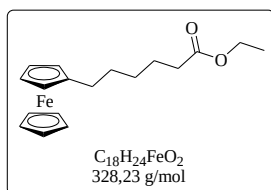
233 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej C** z wydajnością 49% (285 mg) wychodząc z 604 mg (1,82 mmola) **229**, 1,18 g cynku (18,2 mmola), 64,1 mg (0,236 mmola) HgCl_2 , 8,0 ml HCl , 1,00 ml H_2O i 8,0 ml toluenu. $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 11,99 (br. s, 1H, COOH); 4,52 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,5$ Hz, 2H, Cp); 4,51 (s, 5H, Cp); 4,42 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,5$ Hz, 2H, Cp); 2,23 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,3$ Hz, 2H, H-2); 2,14 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,9$ Hz, 2H, H-4); 1,67-1,61 (m, 2H, H-3); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 174,3 (C-1); 92,0 (C_pipso); 70,5 (Cp); 70,3 (Cp); 69,3 (Cp); 33,4 (C-2); 27,9 (C-4); 26,4 (C-3).

Kwas 5-rutenocenylopentanowy 234



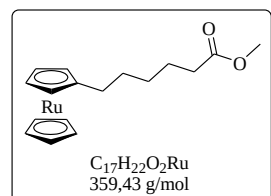
234 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej C** z wydajnością 84% (359 mg) wychodząc z 447 mg (1,30 mmola) **230**, 845 mg cynku (13,0 mmola), 70,6 mg (0,26 mmola) HgCl_2 , 10,0 ml HCl , 2,00 ml H_2O i 10,0 ml toluenu. **T.t.** 105-107 °C; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 4,50 (br s, 7H, Cp); 4,43 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,6$ Hz, 2H, Cp); 2,37 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,5$ Hz, 2H, H-2); 2,21 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,8$ Hz, 2H, H-5); 1,71-1,66 (m, 2H, H-3); 1,53-1,49 (m, 2H, H-4); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (CDCl_3) δ 179,1 (C-1); 92,6 (C_pipso); 70,7 (Cp); 70,4 (Cp); 69,3 (Cp); 33,8 (C-2); 31,1 (C-4); 28,8 (C-5); 24,6 (C-3); **IR** (KBr, v, cm⁻¹) 2930, 2854, 1693, 1410, 1256, 1210, 1099, 810; **ESI-MS** (m/z) obliczone dla $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_2\text{Ru}$: 332,0; znalezione: 333,1 [$\text{M}+\text{H}$]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_2\text{Ru}$: C 54,37; H 5,48; znaleziona: C 54,29; H 5,63%.

6-ferrocenyloheksanian etylu 239¹³⁰



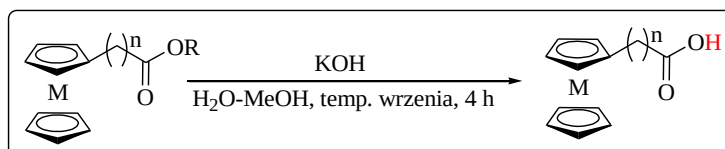
239 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej C** z wydajnością 93% (6,37 g) wychodząc z 7,15 g (20,9 mmola) **237**, 13,6 g cynku (209 mmola), 1,14 g (4,18 mmola) HgCl₂, 50,0 ml HCl, 16,5 ml H₂O i 50,0 ml toluenu. ¹H NMR (CDCl₃) δ 4,13 (q, ³J_{H-H}=5,3 Hz, 2H, OCH₂CH₃); 4,09 (s, 5H, Cp); 4,05-4,02 (m, 4H, Cp); 2,33 (t, ³J_{H-H}=7,8 Hz, 2H, CH₂); 2,29 (t, ³J_{H-H}=7,5 Hz, 2H, CH₂); 1,67-1,62 (m, 2H, CH₂); 1,55-1,49 (m, 2H, CH₂); 1,38-1,33 (m, 2H, CH₂); 1,26 (t, ³J_{H-H}=7,1 Hz, 3H, OCH₂CH₃).

6-rutenocenyloheksanian metylu 240



240 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej C** z wydajnością 56% (729 mg) wychodząc z 1,39 g (3,72 mmola) **238**, 2,42 g cynku (37,2 mmola), 202 mg (0,744 mmola) HgCl₂, 10,0 ml HCl, 2,00 ml H₂O i 10,0 ml toluenu. ¹H NMR (CDCl₃) δ 4,50 (s, 5H, Cp); 4,49 (t, ³J_{H-H}=1,5 Hz, 2H, Cp); 4,42 (t, ³J_{H-H}=1,6 Hz, 2H, Cp); 3,67 (s, 3H, CH₃); 2,31 (t, ³J_{H-H}=7,5 Hz, 2H, H-2); 2,18 (t, ³J_{H-H}=7,8 Hz, 2H, H-6); 1,66-1,61 (m, 2H, H-3); 1,48-1,43 (m, 2H, H-5); 1,37-1,32 (m, 2H, H-4); ¹³C{¹H} NMR (CDCl₃) δ 174,2 (C-1); 93,0 (C_p_{ipso}); 70,7 (Cp); 70,3 (Cp); 69,2 (Cp); 51,4 (CH₃); 34,0 (C-2); 31,3 (C-5); 29,0 (C-4, C-6); 24,8 (C-3); IR (KBr, ν, cm⁻¹) 3096, 2929, 2854, 1740, 1198, 806, 756; ESI-MS (m/z) obliczone dla C₁₇H₂₂O₂Ru: 360,1; znalezione: 361,1 [M+H]⁺; Analiza elementarna obliczona dla C₁₇H₂₂O₂Ru: C 56,81; H 6,17; znaleziona: C 56,92; H 6,21%.

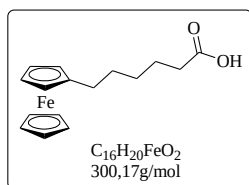
Procedura ogólna D – synteza kwasów ω-metalocenyloalkanowych – zasadowa hydroliza ω-metalocenyloalkanianów metylu/etylu



Wodny roztwór 4,00 eq KOH (C_{KOH}=1,30 mol/l) dodałam do 1,00 eq estru (C_{estru}=0,400 mol/l) rozpuszczonego w MeOH i ogrzewałam do wrzenia pod chłodnicą zwrotną przez 4 godziny. Po ochłodzeniu do temperatury pokojowej dodałam wodę i nieprzereagowany ester wyekstrahowałam trzykrotnie eterem dietylowym. Warstwę wodną zakwasiłam stężonym HCl do pH=1 i produkt wyekstrahowałam trzykrotnie DCM. Warstwę

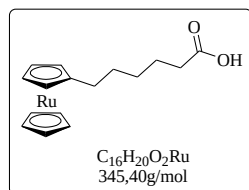
organiczną przemyłam solanką, suszyłam nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu, a po odsączeniu środka suszącego usunęłam rozpuszczalnik na wyparce otrzymując produkt, który wykorzystałam do dalszych syntez bez oczyszczania.

Kwas 6-ferrocenyloheksanowy **241**¹³⁰



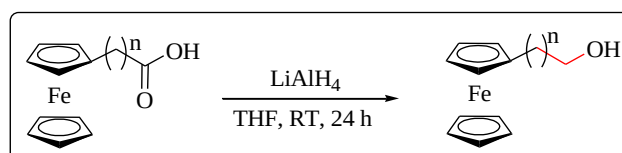
241 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej D** z wydajnością 93% (5,54 g) wychodząc z 6,37 g (19,4 mmola) **239**, 5,13 g (77,6 mmola) KOH, 50 ml MeOH i 60 ml H₂O. ¹H NMR (CDCl₃) δ 4,10 (s, 5H, Cp); 4,06 (br. s, 2H, Cp); 4,05 (br. s, 2H, Cp); 2,37-2,32 (m, 4H, 2x CH₂); 1,69-1,64 (m, 2H, CH₂); 1,55-1,50 (m, 2H, CH₂); 1,41-1,36 (m, 2H, CH₂).

Kwas 6-rutenocenyloheksanowy **242**



242 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej D** z wydajnością 89% (596 mg) wychodząc z 700 mg (1,95 mmola) **240**, 514 mg (7,79 mmola) KOH, 6 ml MeOH i 10 ml H₂O. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 12,00 (br s, 1H, COOH); 4,52 (t, ³J_{H-H}=1,6 Hz, 2H, Cp); 4,50 (s, 5H, Cp); 4,41 (t, ³J_{H-H}=1,6 Hz, 2H, Cp); 2,19 (t, ³J_{H-H}=7,3 Hz, 2H, H-2); 2,12 (t, ³J_{H-H}=7,8 Hz, 2H, H-6); 1,52–1,47 (m, 2H, H-3); 1,44–1,37 (m, 2H, H-5); 1,31–1,26 (m, 2H, H-4); ¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆) δ 174,5 (C-1); 92,7 (C_p_{ipso}); 70,6 (Cp); 70,3 (Cp); 69,2 (Cp); 33,6 (C-2); 30,9 (C-5); 28,5 (C-4, C-6), 24,4 (C-3); IR (KBr, ν, cm⁻¹) 3084, 2929, 2855, 1707, 1101, 806; ESI-MS (*m/z*) obliczono dla C₁₆H₂₀O₂Ru: 346,1; Znaleziono: 347,0 [M+H]⁺; Analiza elementarna obliczono dla C₁₆H₂₀O₂Ru: C 55,64; H 5,84; znaleziono: C 57,98; H 6,25%.

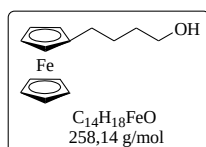
Procedura ogólna E – synteza ω-ferrocenyloalkan-1-oli – redukcja grupy karboksylowej za pomocą tetrahydroglinianu litu



Roztwór 1,00 eq kwasu (C_{kwasu}=0,300 mol/l) w THF wkropliłam do zawiesiny 2,00 eq LiAlH₄ (C_{LiAlH4}=0,700 mol/l) w THF i mieszałam 24 godziny w temperaturze pokojowej. Reakcję zakończyłam dodając octan etylu, następnie wodny nasycony roztwór chlorku

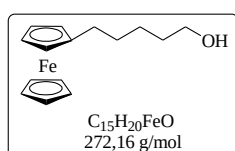
amonu i HCl o stężeniu 1 mol/l. Produkt wyekstrahowałam trzykrotnie octanem etylu. Połączone warstwy organiczne przemyłam solanką, suszyłam nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu, a po odsączeniu środka suszącego usunęłam rozpuszczalnik na wyparce otrzymując produkt, który wykorzystałam do dalszych syntez bez oczyszczania.

4-ferrocenylobutan-1-ol 243



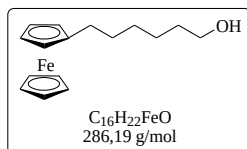
243 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej D** z wydajnością 89% (596 mg) wychodząc z 970 mg (3,54 mmola) **231**, 269 mg (7,08 mmola) LiAlH_4 i 22,0 ml THF. $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 4,35 (br s, 1H, OH); 4,10 (s, 5H, Cp); 4,08 (br s, 2H, Cp); 4,03 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,7$ Hz, 2H, Cp); 3,40 (t, $^3J_{\text{H-H}}=6,3$ Hz, 2H, H-1); 2,29 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,6$ Hz, 2H, H-4); 1,51-1,41 (m, 4H, H-2, H-3); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 88,9 (Cp_{ipso}); 68,2 (Cp); 67,7 (Cp); 66,7 (Cp); 60,5 (C-1); 32,4 (C-2); 28,8 (C-4); 27,0 (C-3); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 3286, 3077, 2930, 2859, 1105, 1053, 1024, 999, 819, 480; **ESI-MS** (m/z) obliczone dla $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{FeO}$: 258,1; znalezione: 259,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$; **Analiza elementarna** obliczona dla $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{FeO}$: C 65,14; H 7,03; znaleziona: C 65,24; H 7,29%.

5-ferrocenylopentan-1-ol 244



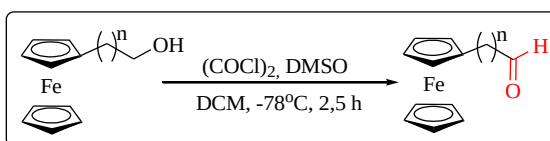
244 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej D** z wydajnością 98% (1,05 g) wychodząc z 1,13 g (3,95 mmola) **232**, 300 mg (7,90 mmola) LiAlH_4 i 22,0 ml THF. $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 4,34 (br s, 1H, OH); 4,10 (s, 5H); 4,08 (br s, 2H, Cp); 4,03 (br s, 2H, Cp); 3,38 (t, $^3J_{\text{H-H}}=6,5$ Hz, 2H, H-1); 2,28 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,8$ Hz, 2H, H-5); 1,48-1,40 (m, 4H, H-3, H-4); 1,33-1,28 (m, 2H, H-2); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 88,9 (Cp_{ipso}); 68,3 (Cp); 67,8 (Cp); 66,8 (Cp); 60,7 (C-1); 32,4 (C-4); 30,4 (C-3); 29,0 (C-5); 25,5 (C-2); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 3339, 3092, 2930, 2857, 1105, 1051, 1039, 1022, 1001, 817; **ESI-MS** (m/z) obliczone dla $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{FeO}$: 272,1; znalezione: 273,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$; **Analiza elementarna** obliczona dla $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{FeO}$: C 66,20; H 7,41; znaleziona: C 66,09; H 7,57%.

6-ferrocenyloheksan-1-ol 245



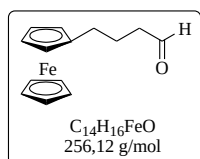
245 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej D** z wydajnością 98% (1,05 g) wychodząc z 1,17 g (3,90 mmola) **241**, 296 mg (7,80 mmola) LiAlH₄ i 22,0 ml THF. **¹H NMR (DMSO-*d*₆)** δ 4,33 (br s, 1H, OH); 4,10 (s, 5H, Cp); 4,08 (br. s, 2H, Cp); 4,03 (br. s, 2H, Cp); 3,37 (t, ³J_{H-H}=6,6 Hz, 2H, H-1); 2,28 (t, ³J_{H-H}=7,8 Hz, 2H, H-6); 1,48-1,43 (m, 2H, H-5); 1,43-1,38 (m, 2H, H-2); 1,30-1,28 (m, 4H, H-3, H-4); **¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆)** δ 89,0 (Cp_{ipso}); 68,3 (Cp); 67,8 (Cp); 66,8 (Cp); 60,7 (C-1); 32,5 (C-2); 30,6 (C-5); 28,9 (C-6, C-4); 25,4 (C-3); **IR** (film cieczy, ν, cm⁻¹) 3313, 3092, 2929, 2855, 1105, 1054, 1040, 1022, 1001, 817, 484; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla C₁₆H₂₂FeO: 286,1; znalezione: 287,2 [M+H]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₁₆H₂₂FeO: C 67,2; H 7,8; znaleziona: C 67,2; H 7,9%.

Procedura ogólna F – synteza ω-ferrocenyloalkanali – utlenianie ω-ferrocenyloalkan-1-oli metodą Swerna



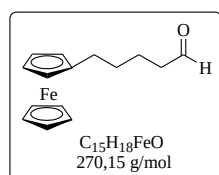
Roztwór 1,50 eq (COCl)₂ (C_{(COCl)₂}=1,00 mol/l) w bezwodnym DCM ochłodziłam do -78°C, wkropliłam 3,00 eq DMSO i mieszałam przez 30 minut. Następnie wkropliłam roztwór 1,00 eq alkoholu (C_{alkoholu}=0,500 mol/l) w DCM i mieszałam przez 1 godzinę w -78°C. Po tym czasie dodałam 3,00 eq trietyloaminy i mieszałam jeszcze przez 1 godzinę pozwalając mieszaninie osiągnąć temperaturę pokojową. Mieszaninę reakcyjną rozcieńczyłam pięciokrotną objętością DCM, dodałam nasycony wodny roztwór chlorku amonu i produkt wyekstrahowałam trzykrotnie DCM. Połączone warstwy organiczne przemyłam solanką, suszyłam nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu, a po odsączeniu środka suszącego usunęłam rozpuszczalnik na wyparce. Produkt oczyściłam za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym.

4-ferrocenylobutanal 248



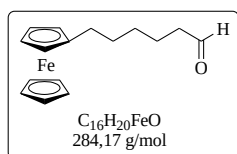
248 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej F** z wydajnością 25% (107 mg) wychodząc z 439 mg (1,70 mmola) **243**, 323 mg (210 μ l, 2,55 mmola) (COCl)₂, 398 mg (360 μ l, 5,10 mmola) DMSO, 430 mg (590 μ l, 4,25 mmola) TEA i 5,70 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent cykloheksan-DCM (1:1, v/v). **¹H NMR (CDCl₃)** δ 9,76 (t, ³J_{H-H}=1,6 Hz, 1H, CHO); 4,10 (s, 5H, Cp); 4,06 (br s, 4H, Cp); 2,45 (td, ³J_{H-H}=7,3; 1,6 Hz, 2H, H-2); 2,39 (t, ³J_{H-H}=7,7 Hz, 2H, H-4); 1,86-1,78 (m, 2H, H-3); **¹³C{¹H} NMR (CDCl₃)** δ 202,4 (C-1); 87,9 (C_p_{ipso}); 68,5 (Cp); 68,1 (Cp); 67,3 (Cp); 43,5 (C-2); 29,0 (C-4); 23,5 (C-3); **IR** (KBr, ν , cm⁻¹) 2924, 2852, 1726, 1463; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla C₁₄H₁₆FeO: 256,1; znalezione: 257,2 [M+H]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₁₄H₁₆FeO: C 65,65; H 6,30; znaleziona: C 67,60; H 6,95%.

5-ferrocenylopentanal 249



249 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej F** z wydajnością 16% (85 mg) wychodząc z 528 mg (1,94 mmola) **244**, 369 mg (250 μ l, 2,91 mmola) (COCl)₂, 455 mg (410 μ l, 5,85 mmola) DMSO, 491 mg (680 μ l, 4,85 mmola) TEA i 6,50 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM. **¹H NMR (CDCl₃)** δ 9,76 (t, ³J_{H-H}=1,7 Hz, 1H, CHO); 4,08 (s, 5H, Cp); 4,05 (br. s, 4H, Cp); 2,44 (td, ³J_{H-H}=7,3; 1,6 Hz, 2H, H-2); 2,36 (t, ³J_{H-H}=7,7 Hz, 2H, H-5); 1,69-1,64 (m, 2H, H-3); 1,57-1,52 (m, 2H, H-4); **¹³C{¹H} NMR (CDCl₃)** δ 202,5 (C-1); 88,6 (C_p_{ipso}); 68,5 (Cp); 68,0 (Cp); 67,1 (Cp); 43,8 (C-2); 30,6 (C-4); 29,4 (C-5); 22,0 (C-3); **IR** (KBr, ν , cm⁻¹) 3092, 2927, 2855, 2720, 1724, 1105, 818, 485; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla C₁₅H₁₈FeO: 270,2; znalezione: 271,3 [M+H]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₁₅H₁₈FeO: C 66,69; H 6,72; znaleziona: C 66,66; H 6,75%.

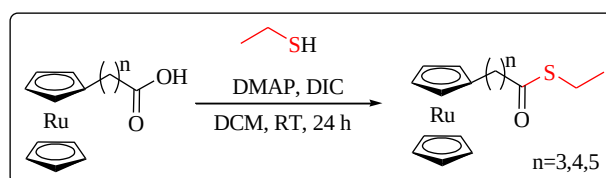
6-ferrocenyloheksanal 250



250 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej F** z wydajnością 40% (207 mg) wychodząc z 520 mg (1,82 mmola) **245**, 346 mg (230 μ l, 2,73 mmola) (COCl)₂, 426 mg (390 μ l, 5,45 mmola) DMSO, 460 mg (630 μ l, 4,54 mmola) TEA i 6,10 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-cykloheksan (1:1, v/v). **¹H NMR**

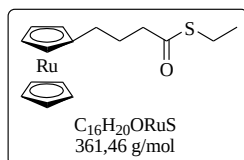
(CDCl₃) δ 9,77 (t, $^3J_{H-H}=1,8$ Hz, 1H, CHO); 4,09 (s, 5H, Cp); 4,05-4,03 (m, 4H, Cp); 2,42 (td, $^3J_{H-H}=7,3$; 1,8 Hz, 2H, H-2); 2,34 (t, $^3J_{H-H}=7,7$ Hz, 2H, H-6); 1,68-1,63 (m, 2H, H-3); 1,55-1,50 (m, 2H, H-5); 1,39-1,34 (m, 2H, H-4); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (CDCl₃) δ 202,6 (C-1); 89,2 (Cp_{ipso}); 68,6 (Cp); 68,1 (Cp); 67,1 (Cp); 43,8 (C-2); 30,9 (C-5); 29,4 (C-6); 29,0 (C-4); 21,9 (C-3); IR (KBr, ν , cm⁻¹) 3092, 2929, 2856, 2718, 1724, 1105, 1039, 1022, 1000, 818; ESI-MS (m/z) obliczone dla C₁₆H₂₀FeO: 284,1; znaleziona: 285,2 [M+H]⁺; Analiza elementarna obliczona dla C₁₆H₂₀FeO: C 67,6; H 7,1; znaleziona: C 67,8; H 7,4%.

Procedura ogólna G – synteza tioestrów S-etylowych



Do roztworu 1,00 eq kwasu ($C_{\text{kwasu}}=0,050$ mol/l) w DCM dodałam 1,40 eq DIC, 1,00 eq DMAP, 1,40 eq EtSH i mieszałam przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Mieszaninę reakcyjną odparowałam do sucha. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym.

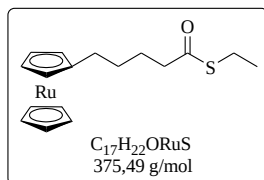
4-rutenocenyloctiobutanian S-etylu 253



253 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej G** z wydajnością 86% (117 mg) wychodząc z 120 mg (0,378 mmola) **233**, 99,4 mg (120 μ l, 1,60 mmola) EtSH, 140 mg (1,14 mmola) DMAP, 202 mg (250 μ l, 1,60 mmola) DIC i 23 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM. ^1H NMR (CD₂Cl₂) δ 4,50 (s, 5H, Cp) nałożony z Cp 4,50 (t, $^3J_{H-H}=1,6$ Hz, 2H, Cp); 4,42 (t, $^3J_{H-H}=1,6$ Hz, 2H, Cp), 2,86 (q, $^3J_{H-H}=7,4$ Hz, 2H, COSCH₂CH₃); 2,57 (t, $^3J_{H-H}=7,4$ Hz, 2H, H-2); 2,20 (t, $^3J_{H-H}=7,9$ Hz, 2H, H-4); 1,81-1,76 (m, 2H, H-3); 1,23 (t, $^3J_{H-H}=7,4$ Hz, 3H, COSCH₂CH₃); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (CD₂Cl₂) δ 199,7 (C-1); 92,6 (Cp_{ipso}); 71,2 (Cp); 70,9 (Cp); 69,8 (Cp); 44,3 (C-2); 28,8 (C-4); 28,1 (C-3); 23,7 (COSCH₂CH₃); 15,2 (COSCH₂CH₃); IR (film cieczy, ν , cm⁻¹) 3095, 2929, 2870, 1687, 1456, 1412, 1375, 1265, 1101, 1059, 1038, 1020, 997, 970, 920, 806, 613, 573, 459; ESI-MS (m/z) obliczone dla C₁₆H₂₀ORuS: 362,0; znaleziona: 362,9 [M+H]⁺;

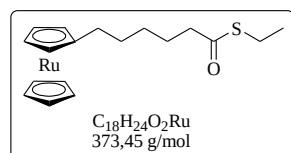
Analiza elementarna obliczona dla $C_{16}H_{20}ORuS$: C 53,2, H 5,6, S 8,9; znaleziona: C 53,3, H 5,6, S 8,7%.

5-rutenocenyliotiopentanian S-etylu 254



254 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej G** z wydajnością 47% (178 mg) wychodząc z 334 mg (1,01 mmola) **234**, 87,6 mg (100 μ l, 1,41 mmola) EtSH, 123 mg (1,01 mmola) DMAP, 178 mg (220 μ l, 1,41 mmola) DIC i 20 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM. **1H NMR (DMSO- d_6)** δ 4,51 (t, $^3J_{H-H}=1,6$ Hz, 2H, Cp); 4,50 (s, 5H, Cp); 4,41 (t, $^3J_{H-H}=1,6$ Hz, 2H, Cp); 2,83 (q, $^3J_{H-H}=7,4$ Hz, 2H, COSCH $_2$ CH $_3$); 2,57 (t, $^3J_{H-H}=7,3$ Hz, 2H, H-2); 2,13 (t, $^3J_{H-H}=7,8$ Hz, 2H, H-5); 1,62-1,57 (m, 2H, H-3); 1,45-1,40 (m, 2H, H-4); 1,17 (t, $^3J_{H-H}=7,4$ Hz, 3H, COSCH $_2$ CH $_3$); **$^{13}C\{^1H\}$ (DMSO- d_6)** δ 198,8 (C-1); 92,4 (C $_{ipso}$); 70,5 (Cp); 70,3 (Cp); 69,2 (Cp); 43,2 (C-2); 30,3 (C-4); 28,1 (C-5); 25,0 (C-3); 22,5 (COSCH $_2$ CH $_3$); 14,8 (COSCH $_2$ CH $_3$); **IR** (film cieczy, ν , cm^{-1}); 3304, 3088, 2968, 2926, 2856, 1705, 1644, 1533, 1393, 1364, 1255, 814, 803; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla $C_{17}H_{22}ORuS$: 376,0; znalezione: 377,0 $[M+H]^+$; **Analiza elementarna** obliczona dla $C_{17}H_{22}ORuS$: C 54,38, H 5,91, S 8,54; znaleziona: C 56,68, H 6,34, S 8,06%.

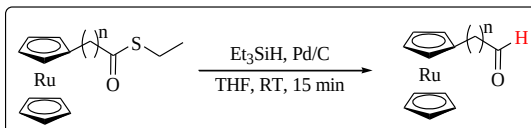
6-rutenocenyliotioheksanian S-etylu 255



255 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej G** z wydajnością 47% (301 mg) wychodząc z 563 mg (1,63 mmola) **242**, 142 mg (170 μ l, 2,28 mmola) EtSH, 200 mg (1,63 mmola) DMAP, 288 mg (350 μ l, 2,28 mmola) DIC i 28 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-n-heksan (1:1, v/v). **1H NMR (DMSO- d_6)** δ 4,51 (t, $^3J_{H-H}=1,6$ Hz, 2H, Cp); 4,50 (s, 5H, Cp); 4,41 (t, $^3J_{H-H}=1,6$ Hz, 2H, Cp); 2,82 (q, $^3J_{H-H}=7,4$ Hz, 2H, COSCH $_2$ CH $_3$); 2,55 (t, $^3J_{H-H}=7,3$ Hz, 2H, H-2); 2,12 (t, $^3J_{H-H}=7,8$ Hz, 2H, H-6); 1,59-1,54 (m, 2H, H-3); 1,45-1,37 (m, 2H, H-5); 1,32-1,27 (m, 2H, H-4); 1,18 (t, $^3J_{H-H}=7,4$ Hz, 3H, COSCH $_2$ CH $_3$); **$^{13}C\{^1H\}$ (DMSO- d_6)** δ 198,7 (C-1); 92,5 (C $_{ipso}$); 70,5 (Cp); 70,2 (Cp); 69,1 (Cp); 43,3 (C-2); 30,7 (C-5); 28,3 (C-6); 28,1 (C-4); 24,9 (C-3); 22,5 (COSCH $_2$ CH $_3$); 14,7 (COSCH $_2$ CH $_3$); **IR** (film cieczy, ν , cm^{-1}); 3097, 2927, 2852, 1687, 1099, 806, 754; **ESI-MS (m/z)** obliczone

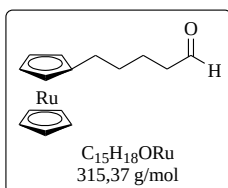
dla $C_{18}H_{24}ORuS$: 390,1; znalezione: 391,1 $[M+H]^+$; **Analiza elementarna** obliczona dla $C_{18}H_{24}ORuS$: C 55,50, H 6,21, S 8,23; znaleziona: C 55,73, H 6,04, S 8,15%.

Procedura ogólna H – synteza ω-rutenocenyloalkanali – redukcja ω-rutenocenyloalkanianów S-etylowych



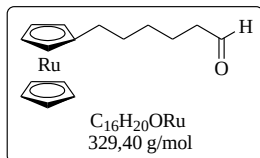
Do roztworu 1,00 eq ω-rutenocenyloalkanianu S-etylowego ($C_{tioestru}=0,040$ mol/l) w THF dodałam 30 mg 10% palladu na węglu, a następnie 8,20 eq Et_3SiH i mieszałam przez 15 minut w temperaturze pokojowej. Mieszaninę reakcyjną przesączyłam przez Celit[®], a przesącz odparowałam pod zmniejszonym ciśnieniem. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym.

5-rutenocenylopentanal 252



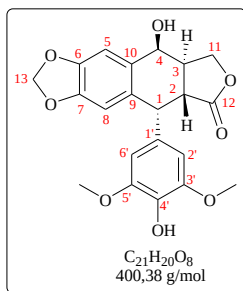
252 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej H** z wydajnością 69% (94 mg) wychodząc z 170 mg (0,453 mmola) **254**, 432 mg (590 µl, 3,71 mmola) Et_3SiH , 30 mg Pd/C i 11,3 ml THF. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-n-heksan w gradiencie 50-70% DCM. **1H NMR ($CDCl_3$)** δ 9,77 (t, $^3J_{H-H}=1,8$ Hz, 1H, CHO); 4,50 (s, 5H, Cp); 4,49 (t, $^3J_{H-H}=1,6$ Hz, 2H, Cp); 4,43 (t, $^3J_{H-H}=1,6$ Hz, 2H, Cp); 2,44 (td, $^3J_{H-H}=7,3$, 1.8 Hz, 2H, CH_2); 2,22 (t, $^3J_{H-H}=7,8$ Hz, 2H, CH_2); 1,70-1,65 (m, 2H, CH_2); 1,49-1,48 (m, 2H, CH_2).

6-rutenocenyloheksanal 256



256 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej H** z wydajnością 11% (25 mg) wychodząc z 280 mg (0,719 mmola) **255**, 685 mg (940 µl, 5,89 mmola) Et_3SiH , 50 mg Pd/C i 18,0 ml THF. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-n-heksan (1:1, v/v). **1H NMR ($CDCl_3$)** δ 9,77 (br. s, 1H, CHO); 4,50 (br. s, 5H, Cp); 4,49 (br. s, 2H, Cp); 4,43 (br. s, 2H, Cp); 2,44-2,41 (m, 2H, CH_2); 2,19 (t, $^3J_{H-H}=7,8$ Hz, 2H, CH_2); 1,67-1,62 (m, 2H, CH_2); 1,48-1,45 (m, 2H, CH_2); 1,39-1,34 (m, 2H, CH_2).

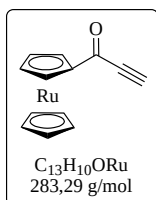
4'-demetyloepipodofilotoksyna **19**¹⁵²



1,00 g (6,88 mmola, 3,00 eq) jodku sodu dodałam do roztworu 950 mg (2,29 mmola, 1,00 eq) podofilotoksyny **10** w 23,0 ml DCM. Po ochłodzeniu mieszaniny reakcyjnej do 0°C wkropliłam 661 mg (450 μ l, 6,88 mmola, 3,00 eq) kwasu metanosulfonowego i mieszałam przez 5 godzin w temperaturze pokojowej. Następnie dodałam 50 ml mieszaniny woda-aceton (1:1, v/v) oraz 3,00 g

węglału baru i mieszałam przez 20 minut. Mieszaninę reakcyjną rozcieńczyłam DCM do objętości 100 ml, dodałam 300 ml nasyconego roztworu tiosiarczanu sodu i produkt wyekstrahowałam DCM (3x50 ml). Połączone warstwy organiczne przemyłam solanką, suszyłam nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu, a po odsączeniu środka suszącego usunęłam rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem. Produkt **19** wydzieliłam z wydajnością 60% (547 mg) za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym stosując jako eluent $CHCl_3$ -MeOH w gradiencie od 0%-2% MeOH. **1H NMR (DMSO- d_6)** δ 8,28 (br. s, 1H, 4'-OH); 6,93 (s, 1H, H-5); 6,50 (s, 1H, H-8); 6,20 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,00 (s, 1H, H-13); 5,98 (s, 1H, H-13); 5,44 (d, $^3J_{H-H}=6,0$ Hz, 1H, C4-OH); 4,72 (dd, $^3J_{H-H}=5,2$; 3,6 Hz, 1H, H-4); 4,48 (d, $^3J_{H-H}=5,2$ Hz, 1H, H-1); 4,33 (t, $J=7,9$ Hz, 1H, H-11); 4,17 (dd, $J=10,7$; 8,3 Hz, 1H, H-11); 3,61 (s, 6H, CH_3); 3,24 (dd, $^3J_{H-H}=14,3$ Hz, 5,3 Hz, 1H, H-2); 2,80-2,72 (m, 1H, H-3); **$^{13}C\{^1H\}$ NMR (DMSO- d_6)** δ 175,5 (C-12); 147,6 (C-3', C-5'); 147,5 (C-6 lub C-7); 146,7 (C-6 lub C-7); 135,1 (C-4'); 133,7 (C-9 lub C-10); 132,1 (C-9 lub C-10); 130,8 (C-1'); 110,3 (C-5); 109,9 (C-8); 108,9 (C-2', C-6'); 101,6 (C-13); 68,1 (C-11); 65,5 (C-4); 56,5 (CH_3); 43,5 (C-1); 40,3 (C-2); 38,7 (C-3).

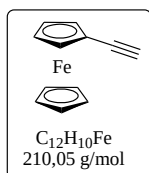
Propynoilorutenocen **210**¹²⁷⁻¹²⁸



606 mg (10,4 mmola, 20,0 eq) fluorku potasu dodałam do roztworu zawierającego 197 mg (0,556 mmola, 1,00 eq) **209** w 6,00 ml THF i 2 mg eteru 18-korona-6. Reakcję prowadziłam przez 30 minut, następnie wylałam mieszaninę reakcyjną do zlewki z wodą (50 ml) i produkt ekstrahowałam DCM (3x50 ml). Połączone warstwy organiczne przemyłam solanką i suszyłam nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu, a po odsączeniu środka suszącego, usunęłam rozpuszczalnik na wyparce. Produkt **210** wydzieliłam z wydajnością 87% (136 mg) za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym, stosując jako

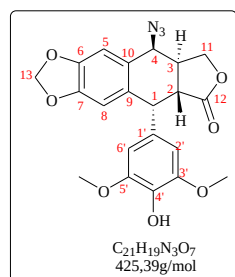
eluent DCM. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 5,25 (br. s, 2H, Cp); 4,86 (br. s, 2H, Cp); 4,65 (s, 5H, Cp); 3,11 (s, 1H).

Etynyloferrocen **214**^{127-128, 151}



14,1 g (8,65 ml, 91,9 mmola, 5,62 eq) POCl_3 dodałam do 45,0 ml DMF w 0°C . Następnie wkropliłam 3,73 g (16,4 mmola, 1,00 eq) **212** w 10 ml DMF i mieszałam przez 2 godziny w temp 0°C . Mieszaninę reakcyjną wylałam do zlewki z wodą (500 ml), zneutralizowałam do $\text{pH}=4$ octanem sodu i produkt wyekstrahowałam eterem dietylowym (5x50 ml). Połączone warstwy organiczne przemyłam solanką i suszyłam nad bezwodnym siarczanem sodu, a po odsączeniu środka suszącego usunęłam rozpuszczalnik na wyparce. Pozostałość w kolbie rozpuściłam w 120 ml 1,4-dioksanu, dodałam 2,46 g (37,7 mmola, 2,66 eq) sproszkowanego KOH i ogrzewałam do wrzenia przez 2 godziny. Mieszaninę reakcyjną wylałam do zlewki z wodą (100 ml), zneutralizowałam 5% roztworem kwasu cytrynowego i produkt wyekstrahowałam DCM (3x50 ml). Połączone warstwy organiczne przemyłam solanką, suszyłam nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu, a po odsączeniu środka suszącego usunęłam rozpuszczalnik na wyparce. Produkt **214** wydzieliłam z wydajnością 47% (1,62 g) za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym, stosując jako eluent DCM-cykloheksan (95:5, v/v). $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 4,49 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,9$ Hz, 2H, Cp); 4,26 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,9$ Hz, 2H, Cp); 4,22 (s, 5H, Cp); 3,65 (s, 1H).

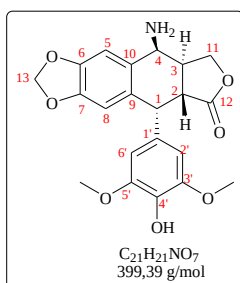
4 β -azydo-4'-demetylo-4-deoksypodofilotoksyna **215**¹⁵³



374 mg (5,75 mmola, 5,00 eq) azydku sodu dodałam do roztworu 460 mg (1,15 mmola, 1,00 eq) **19** w 20,0 ml chloroform, a następnie wkropliłam 2,31 ml TFA w temperaturze 0°C i mieszałam przez 16 godzin. Mieszaninę reakcyjną rozcieńczyłam chloroformem (50 ml) i wylałam do zlewki z nasyconym roztworem wodorowęglanu sodu (200 ml). Warstwy rozdzieliłam, a organiczną przemyłam wodorowęglanem (2x100 ml), wodą (2x100 ml), solanką (100 ml) i suszyłam nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu. Po odsączeniu środka suszącego usunęłam rozpuszczalnik na wyparce. Produkt **215** wydzieliłam z wydajnością 79% (532 mg) za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym stosując jako eluent CHCl_3 -MeOH

w gradiencie od 0%-2% MeOH. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 6,80 (s, 1H, H-5); 6,59 (s, 1H, H-8); 6,27 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,02 (d, $^2J_{\text{H-H}}=1,1$ Hz, 1H, H-13); 6,00 (d, $^2J_{\text{H-H}}=1,1$ Hz, 1H, H-13); 4,76 (d, $^3J_{\text{H-H}}=4,8$ Hz, 1H, H-4); 4,62 (d, $^3J_{\text{H-H}}=5,2$ Hz, 1H, H-1); 4,31 (s, 1H, H-11); 4,29 (d, $J=1,7$ Hz, 1H, H-11); 3,77 (s, 6H, CH_3); 3,16 (dd, $^3J_{\text{H-H}}=13,8$ Hz, 5,3 Hz, 1H, H-2); 2,96-2,90 (m, 1H, H-3); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (CDCl_3) δ 174,2 (C-12); 149,1 (C-6 lub C-7); 147,5 (C-6 lub C-7); 146,6 (C-3', C-5'); 134,4 (C-4'); 132,5 (C-9 lub C-10); 130,7 (C-1'); 127,0 (C-9 lub C-10); 110,3 (C-8); 108,8 (C-5); 108,1 (C-2', C-6'); 101,9 (C-13); 67,7 (C-11); 59,7 (C-4); 56,7 (CH_3); 43,7 (C-1); 41,5 (C-2); 37,0 (C-3).

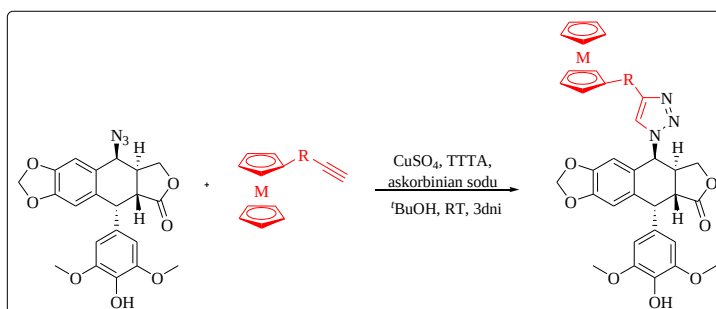
4 β -amino-4'-demetylpodofilotoksyna **216**¹⁵⁴



260 mg Pd/C dodałam do roztworu 951 mg (2,24 mmola, 1,00 eq) **215** w 26,0 ml EtOAc i umieściłam w aparacie Paara® pod ciśnieniem 1,5 bara. Reakcję mieszałam w temperaturze pokojowej przez 24 godziny. Pallad odsączyłam używając Celitu®, a przesącz zatężyłam na wyparce. Produkt **216** wydzieliłam z wydajnością 81% (720 mg) za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako

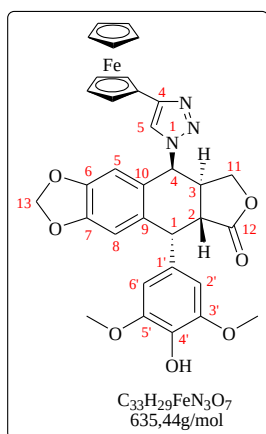
eluent CHCl_3 -MeOH w gradiencie od 0%-2% MeOH. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 6,80 (s, 1H, H-5); 6,49 (s, 1H, H-8); 6,30 (s, 2H, H-2', H-6'); 5,96 (d, $^2J_{\text{H-H}}=1,3$ Hz 1H, H-13); 5,93 (d, $^2J_{\text{H-H}}=1,3$ Hz 1H, H-13); 4,55 (d, $^3J_{\text{H-H}}=5,2$ Hz, 1H, H-1); 4,29 (d, $^3J_{\text{H-H}}=9,3$ Hz, 1H, H-11); 4,19 (d, $^3J_{\text{H-H}}=4,1$ Hz, 1H, H-4); 3,76 (s, 6H, CH_3); 3,27 (dd, $^3J_{\text{H-H}}=14,0$ Hz, 5,2 Hz, 1H, H-2); 2,85-2,79 (m, 1H, H-3); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (CDCl_3) δ 175,5 (C-12); 147,8 (C-6 lub C-7); 147,5 (C-6 lub C-7); 146,5 (C-3', C-5'); 134,3 (C-9 lub C-10); 134,2 (C-1'); 131,4 (C-4'); 131,3 (C-9 lub C-10); 110,4 (C-8); 108,8 (C-5); 108,2 (C-2', C-6'); 101,5 (C-13); 68,3 (C-11); 56,6 (CH_3); 56,7 (C-4); 43,9 (C-1); 40,4 (C-2); 38,2 (C-3).

Procedura ogólna I – synteza 1*H*-1,2,3-triazolowych analogów etopozydu – reakcja 1,3-dipolarnej cykloaddycji azydowo-alkinowej



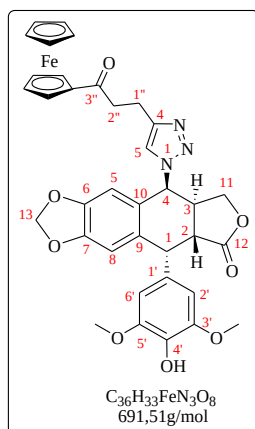
Przygotowałam kompleks miedzi(I) z TTTA poprzez zmieszanie 0,5 ml 0,1 molowego roztworu siarczanu miedzi (II), 0,5 ml 0,1 molowego roztworu askorbinianu sodu oraz 2,3 ml 0,01 molowego roztworu TTTA. Otrzymany kompleks dodałam do 1,00 eq **215** ($C_{215}=0,04$ mol/l) oraz 1,00 eq ω -alkynoilometalocenu rozpuszczonych w t BuOH i mieszałam w temperaturze pokojowej przez 3 dni. Mieszaninę reakcyjną rozcieńczyłam pięciokrotną objętością DCM, dodałam wodę i produkt wyekstrahowałam trzykrotnie DCM. Połączone warstwy organiczne przemyłam solanką, suszyłam nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu, a po odsączeniu środka suszącego usunęłam rozpuszczalnik na wyparce. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym.

4'-demetylo-4-deokso-4 β -(4-ferrocenylo-1,2,3-triazol-1-ilo)podofilotoksyna **217**



217 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej I** z wydajnością 32% (47 mg) wychodząc z 100 mg (0,253 mmola) **215**, 49 mg (0,235 mmola) **214** i 6,00 ml t BuOH. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-EtOAc w gradiencie 0%-50% EtOAc. **T.t.** 270-272°C; **1H NMR (DMSO- d_6)** δ 8,28 (br. s, 1H, 4'-OH); 8,07 (s, 1H, H-5_{triazol}); 6,79 (s, 1H, H-5); 6,70 (s, 1H, H-8); 6,31 (br. s, 2H, H-2', H-6'); 6,24 (d, $^3J_{H-H}=5,2$ Hz, 1H, H-4); 6,03 (s, 1H, H-13); 6,01 (s, 1H, H-13); 4,74 (br. s, 2H, Cp); 4,71 (d, $^3J_{H-H}=4,8$ Hz, 1H, H-1); 4,42 (t, $^3J_{H-H}=7,9$ Hz, 1H, H-11); 4,31 (br. s, 2H, Cp); 4,01 (s, 5H, Cp); 3,67 (s, 6H, CH₃); 3,53 (dd, $^3J_{H-H}=14,7$ Hz, 4,9 Hz, 1H, H-2); 3,29-3,23 (m, 1H, H-3); 2,98 (t, $^3J_{H-H}=9,6$ Hz, 1H, H-11); **$^{13}C\{^1H\}$ NMR (DMSO- d_6)** δ 173,5 (C-12); 148,0 (C-6 lub C-7); 147,2 (C-3', C-5'); 146,8 (C-6 lub C-7); 145,3 (C-4_{triazol}); 134,9 (C-4'); 133,2 (C-9 lub C-10); 129,5 (C-1'); 126,1 (C-9 lub C-10); 121,0 (C-5_{triazol}); 109,8 (C-8); 108,5 (C-2', C-6'); 108,4 (C-5); 101,5 (C-13); 75,4 (C_{ipso}); 69,2 (Cp); 68,3 (Cp); 67,1 (C-11); 66,3 (2xCp); 57,3 (C-4); 56,0 (CH₃); 42,8 (C-1); 40,9 (C-2); 36,4 (C-3); **IR** (KBr, ν , cm⁻¹) 3391, 3123, 3084, 3000, 2953, 2934, 2905, 2838, 1768, 1611, 1485, 1231, 1218, 1107; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla $C_{33}H_{29}FeN_3O_7$: 635,1; znalezione: 635,2 [M]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla $C_{33}H_{29}FeN_3O_7$: C 62,37; H 4,60; N 6,61; znaleziona: C 62,11; H 4,74; N 6,84 %; **R_f** (HPLC) τ =6,250 min (Metoda **LC-MS-1**), τ =17,2 min (Metoda **AN-3**).

4'-demetylo-4-deokso-4β-(4-(2-ferrocenoiloetylo)-1,2,3-triazol-1-ilo)podofilotoksyna 218

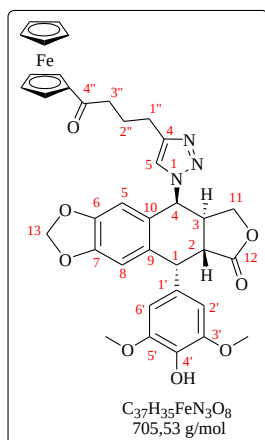


218 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej I** z wydajnością 79% (193 mg) wychodząc z 150 mg (0,353 mmola) **215**, 94 mg (0,353 mmola) **202** i 6,00 ml ^tBuOH. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-EtOAc w gradiencie 30%-50% EtOAc. **T.t.** 163-165°C; **¹H NMR (DMSO-*d*₆)** δ 8,27 (s, 1H, 4'-OH); 7,76 (s, 1H, H-5_{triazol}); 6,69 (s, 1H, H-5); 6,66 (s, 1H, H-8); 6,28 (s, 2H, H-2', H-6'); 6,20 (d, ³J_{H-H}=5,2 Hz, 1H, H-4); 6,02 (s, 1H, H-13); 5,97 (s, 1H, H-13);

4,78 (br s, 2H, Cp); 4,68 (d, ³J_{H-H}=5,1 Hz, 1H, H-1); 4,54 (br s, 2H, Cp); 4,34 (t, ³J_{H-H}=8,0 Hz, 1H, H-11); 4,15 (s, 5H, Cp); 3,66 (s, 6H, CH₃); 3,41 (dd, ³J_{H-H}=14,7; 5,1 Hz, 1H, H-2); 3,26-3,19 (m, 1H, H-3); 3,13 (t, ³J_{H-H}=7,3 Hz, 2H, H-2''); 3,12 (t, ³J_{H-H}=6,9 Hz, 1H, H-2''); 2,96-2,91 (m, 3H, H-11, H-1''); **¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆)** δ 202,0 (C-3''); 173,5 (C-12); 148,0 (C-6 lub C-7); 147,2 (C-5', C-3'); 146,8 (C-6 lub C-7); 146,0 (C-4_{triazol}); 134,9 (C-4'); 133,1 (C-9 lub C-10); 129,6 (C-1'); 126,1 (C-9 lub C-10); 122,9 (C-5_{triazol}); 109,7 (C-8); 108,6 (C-5); 108,5 (C-2', C-6'); 101,5 (C-13); 78,7 (C_{ipso}); 72,0 (2xCp); 69,4 (Cp); 69,0 (Cp); 68,9 (Cp); 67,1 (C-11); 57,2 (C-4); 56,0 (CH₃); 42,7 (C-1); 40,9 (C-2); 37,9 (C-2''); 36,4 (C-3); 19,6 (C-1''); **IR** (KBr, ν, cm⁻¹) 3363, 3090, 2924, 2853, 1779, 1663, 1611, 1518, 1505, 1485, 1456, 1230, 1108; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla C₃₆H₃₃FeN₃O₈: 691,1; znalezione: 692,2 [M+H]⁺, 690,1 [M-H]⁻; **Analiza elementarna** obliczona dla C₃₆H₃₃FeN₃O₈: C 62,53; H 4,81; N 6,08; znaleziona: C 62,58; H 4,77; N 6,05 %; **R_f** (HPLC) τ=5,965 min (Metoda **LC-MS-1**), τ=16,3 min (Metoda **AN-2**).

4'-demetylo-4-deokso-4β-(4-(3-ferrocenoilopropyl)-1,2,3-triazol-1-ilo)

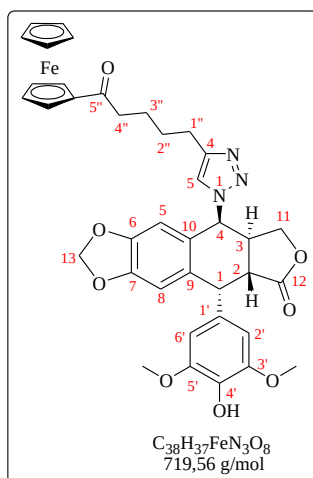
podofilotoksyna 219



219 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej I** z wydajnością 71% (177 mg) wychodząc z 150 mg (0,353 mmola) **215**, 99 mg (0,353 mmola) **203** i 6,00 ml t BuOH. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-EtOAc w gradiencie 30%-50% EtOAc. **T.t.** 208-210°C; **1H NMR (DMSO- d_6)** δ 8,27 (br. s, 1H, 4'-OH); 7,78 (s, 1H, H-5_{triazol}); 6,73 (s, 1H, H-5), 6,67 (s, 1H, H-8); 6,28 (br. s, 2H, H-2', H-6'); 6,21 (d, $^3J_{H-H}=5,3$ Hz, 1H, H-4); 6,03 (s, 1H, H-13); 5,98 (s, 1H, H-13); 4,74 (br s, 2H, Cp); 4,67 (d, $^3J_{H-H}=5,1$ Hz, 1H, H-1); 4,54 (t, $^3J_{H-H}=1,8$ Hz, 2H, Cp); 4,37 (t, $^3J_{H-H}=8,0$ Hz, 1H, H-11); 4,19 (s, 5H, Cp); 3,66 (s, 6H, CH₃); 3,47 (dd, $^3J_{H-H}=14,7$; 5,1 Hz, 1H, H-2); 3,27-3,21 (m, 1H, H-3); 2,96 (dd, $^3J_{H-H}=10,7$; 8,7 Hz, 1H, H-11); 2,78 (t, $^3J_{H-H}=7,2$ Hz, 2H, H-3''); 2,70 (t, $^3J_{H-H}=7,4$ Hz, 2H, H-1''); 1,95-1,90 (m, 2H, H-2''); **$^{13}C\{^1H\}$ NMR (DMSO- d_6)** δ 203,0 (C-4''); 173,5 (C-12); 148,0 (C-6 lub C-7); 147,2 (C-3', C-5'); 146,8 (C-6 lub C-7); 146,5 (C-4_{triazol}); 134,9 (C-4'); 133,2 (C-9 lub C-10); 129,6 (C-1'); 126,2 (C-9 lub C-10); 122,7 (C-5_{triazol}); 109,7 (C-8); 108,5 (C-5, C-2', C-6'); 101,5 (C-13); 79,0 (C_p_{ipso}); 71,9 (Cp); 69,4 (Cp); 68,9 (Cp); 67,1 (C-11); 57,2 (C-4); 56,0 (CH₃); 42,7 (C-1); 40,9 (C-2); 38,0 (C-1''); 36,4 (C-3); 24,5 (C-3''); 23,5 (C-2''); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 3396, 2955, 2924, 2854, 1755, 1661, 1521, 1505, 1485, 1457, 1230, 1217, 1106, 1035, 994; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla $C_{37}H_{35}FeN_3O_8$: 705,2; znalezione: 706,3 $[M+H]^+$, 704,3 $[M-H]^-$; **Analiza elementarna** obliczona dla $C_{37}H_{35}FeN_3O_8$: C 62,99; H 5,00; N 5,96; znaleziona: C 63,19; H 5,25; N 5,79 %; **R_f** (HPLC) $\tau=6,110$ min (Metoda **LC-MS-1**), $\tau=16,5$ min (Metoda **AN-2**).

4'-demetylo-4-deokso-4β-(4-(4-ferrocenoilobutylo)-1,2,3-triazol-1-ilo)

podofilotoksyna 220

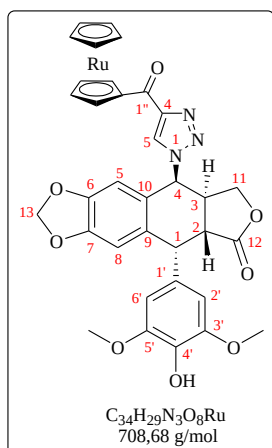


220 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej I** z wydajnością 72% (184 mg) wychodząc z 150 mg (0,353 mmola) **215**, 104 mg (0,353 mmola) **204** i 6,00 ml t -BuOH. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-EtOAc w gradiencie 40%-60% EtOAc.

T.t. 144-146°C; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8,27 (br. s, 1H, 4'-OH); 7,74 (s, 1H, H-5_{triazol}); 6,71 (s, 1H, H-5); 6,66 (s, 1H, H-8); 6,28 (br s, 2H, H-2', H6'); 6,19 (d, $^3J_{\text{H-H}}=5,3$ Hz, 1H, H-4); 6,03 (s, 1H, H-13); 5,99 (s, 1H, H-13); 4,78

(t, $^3J_{\text{H-H}}=1,9$ Hz, 2H, Cp); 4,67 (d, $^3J_{\text{H-H}}=5,1$ Hz, 1H, H-1); 4,55 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,9$ Hz, 2H, Cp); 4,35 (t, $^3J_{\text{H-H}}=8,0$ Hz, 1H, H-11); 4,21 (s, 5H, Cp); 3,66 (s, 6H, CH_3); 3,46 (dd, $^3J_{\text{H-H}}=14,7$; 5,1 Hz, 1H, H-2); 3,26-3,20 (m, 1H, H-3); 2,92 (dd, $^3J_{\text{H-H}}=10,7$; 8,6 Hz, 1H, H-11); 2,75 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,0$ Hz, 2H, H-4''); 2,66 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,2$ Hz, 2H, H-1''); 1,69-1,60 (m, 4H, H-3'', H-2''); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 203,2 (C-5''); 173,5 (C-12); 148,0 (C-6/C-7 lub C-4_{triazol}); 147,2 (C-3', C-5'); 146,8 (C-6/C-7 lub C-4_{triazol}); 146,7 (C-6/C-7 lub C-4_{triazol}); 134,9 (C-4'); 133,1 (C-9 lub C-10); 129,6 (C-1'); 126,2 (C-9 lub C-10); 122,5 (C-5_{triazol}); 109,7 (C-8); 108,5 (C-5, C-2', C-6'); 101,5 (C-13); 79,0 (C_p_{ipso}); 71,9 (Cp); 69,4 (Cp); 69,0 (Cp); 67,1 (C-11); 57,1 (C-4); 56,0 (CH_3); 42,7 (C-1); 40,9 (C-2); 38,4 (C-4''); 36,4 (C-3); 28,4 (C-2'' lub C-3''); 24,8 (C-1''); 23,5 (C-2'' lub C-3''); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 3324, 2925, 2854, 1780, 1656, 1518, 1505, 1485, 1456, 1231, 1114, 1091, 1035, 1000; **ESI-MS** (m/z) obliczone dla $C_{38}H_{37}FeN_3O_8$: 719,2; znalezione: 720,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 718,3 $[\text{M}-\text{H}]^-$; **Analiza elementarna** obliczona dla $C_{38}H_{37}FeN_3O_8$: C 63,43; H 5,18; N 5,84; znaleziona: C 63,29; H 5,45; N 5,57 %; **R_f** (HPLC) $\tau=6,339$ min (Metoda **LC-MS-1**), $\tau=17,0$ min (Metoda **AN-2**).

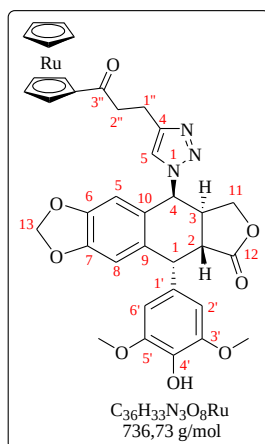
4'-demetylo-4-deokso-4β-(4-rutenocenoilo-1,2,3-triazol-1-ilo)podofilotoksyna 221



221 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej I** z wydajnością 63% (141 mg) wychodząc z 134 mg (0,315 mmola) **215**, 89,3 mg (0,315 mmola) **210** i 10,0 ml $tBuOH$. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-EtOAc w gradiencie 30%-40% EtOAc. **T.t.** 203-205°C; **1H NMR (DMSO- d_6)** δ 8,42 (s, 1H, H-5_{triazol}); 8,27 (br. s, 1H, 4'-OH); 6,87 (s, 1H, H-5); 6,70 (s, 1H, H-8); 6,32 (d, $^3J_{H-H}=5,2$ Hz, 1H, H-4); 6,29 (br. s, 2H, H-2', H-6'); 6,04 (s, 1H, H-13); 5,98 (s, 1H, H-13); 5,58 (br s, 1H, Cp); 5,51 (br s, 1H, Cp); 4,96-4,94 (m, 2H, Cp); 4,71 (d, $^3J_{H-H}=5,1$ Hz, 1H, H-1); 4,53 (s, 5H, Cp); 4,42 (t, $^3J_{H-H}=8,0$ Hz, 1H, H-11); 3,67 (s, 6H, CH₃); 3,53 (dd, $^3J_{H-H}=14,6$; 5,1 Hz, 1H, H-2); 3,33-3,26 (m, 1H, H-3); 3,11 (dd, $^3J_{H-H}=10,7$; 8,8 Hz, 1H, H-11); **$^{13}C\{^1H\}$ NMR (DMSO- d_6)** δ 185,2 (C-1''); 173,5 (C-12); 148,2 (C-6 lub C-7); 147,2 (C-3', C-5'); 146,9 (C-6 lub C-7); 146,3 (C-4_{triazol}); 134,9 (C-4'); 133,6 (C-9 lub C-10); 129,6 (C-1'); 128,7 (C-6 lub C-7); 125,5 (C-9 lub C-10); 109,8 (C-8); 108,7 (C-5); 108,5 (C-2', C-6'); 101,5 (C-13); 82,8 (C_p_{ipso}); 73,9 (Cp); 73,8 (Cp); 72,6 (Cp); 72,1 (Cp); 71,9 (Cp); 67,0 (C-11); 57,8 (C-4); 56,0 (CH₃); 42,7 (C-1); 40,6 (C-2); 36,3 (C-3); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 3376, 2953, 2924, 2853, 1760, 1612, 1520, 1485, 1445, 1229, 1219, 1112, 1102, 1034, 995; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla $C_{34}H_{29}N_3O_8Ru$: 709,1; znalezione: 710,0 $[M+H]^+$, 707,9 $[M-H]^-$; **Analiza elementarna** obliczona dla $C_{33}H_{29}FeN_3O_7$: C 57,62; H 4,12; N 5,93; znaleziona: C 57,46; H 4,41; N 5,89%; **R_f** (HPLC) $\tau=6,298$ min (Metoda **LC-MS-1**), $\tau=18,8$ min (Metoda **AN-3**).

4'-demetylo-4-deokso-4β-(4-(2-rutenocenoiloetylo)-1,2,3-triazol-1-ilo)

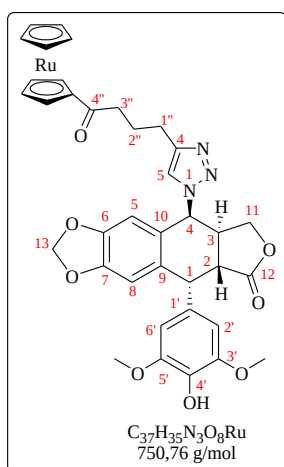
podofilotoksyna 222



222 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej I** z wydajnością 43% (74 mg) wychodząc z 100 mg (0,235 mmola) **215**, 73 mg (0,235 mmola) **205** i 8,00 ml t BuOH. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-EtOAc w gradiencie 50%-60% EtOAc. **T.t.** 163-165°C; **1H NMR (DMSO- d_6)** δ 8,25 (br. s, 1H, 4'-OH); 7,72 (s, 1H, H-5_{triazol}); 6,70 (s, 1H, H-5); 6,66 (s, 1H, H-8); 6,28 (br. s, 2H, H-2', H-6'); 6,20 (d, $^3J_{H-H}=5,3$ Hz, 1H, H-4); 6,03 (s, 1H, H-13); 5,98 (s, 1H, H-13), 5;09 (br s, 2H, Cp); 4,82 (br s, 2H, Cp); 4,68 (d, $^3J_{H-H}=5,1$ Hz, 1H,

H-1); 4,56 (s, 5H, Cp); 4,34 (t, $^3J_{H-H}=8,0$ Hz, 1H, H-11); 3,66 (s, 6H, CH₃); 3,42 (dd, $^3J_{H-H}=14,7$; 5,2 Hz, 1H, H-2); 3,26-3,20 (m, 1H, H-3); 2,99 (t, $^3J_{H-H}=7,4$ Hz, 2H, H-2''); 2,91 (dd, $^3J_{H-H}=10,6$; 8,7 Hz, 1H, H-11); 2,87 (t, $^3J_{H-H}=7,0$ Hz, 2H, H-1''); **$^{13}C\{^1H\}$ NMR (DMSO- d_6)** δ 200,0 (C-3''); 173,5 (C-12); 148,0 (C-6 lub C-7); 147,2 (C-5', C-3'); 146,7 (C-6 lub C-7); 145,9 (C-4_{triazol}); 134,9 (C-4'); 133,1 (C-9 lub C-10); 129,6 (C-1'); 126,1 (C-9 lub C-10); 122,8 (C-5_{triazol}); 109,7 (C-8); 108,6 (C-5); 108,5 (C-2', C-6'); 101,5 (C-13); 83,5 (C_{pipso}); 73,4 (2xCp); 71,7 (Cp); 70,4 (Cp); 67,0 (C-11); 57,2 (C-4); 56,0 (CH₃); 42,7 (C-1); 40,8 (C-2); 37,2 (C-2''); 36,4 (C-3); 20,0 (C-1''); **IR** (KBr, ν , cm⁻¹) 2922, 2851, 1782, 1667, 1516, 1505, 1484, 1456, 1229, 1110, 1092, 1037, 1001; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla $C_{36}H_{33}N_3O_8Ru$: 737,1; znaleziono: 738,4 [M+H]⁺, 735,9 [M-H]⁻; **Analiza elementarna** obliczona dla $C_{36}H_{33}N_3O_8Ru$: C 58,69; H 4,51; N 5,70; znaleziono: C 58,51; H 4,70; N 5,45 %; **R_f** (HPLC) $\tau=6,054$ min (Metoda **LC-MS-1**), $\tau=17,8$ min (Metoda **AN-3**).

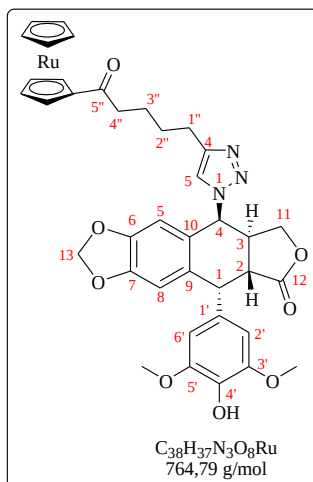
**4'-demetylo-4-deokso-4β-(4-(3-rutenocenoilopropylo)-1,2,3-triazol-1-ilo)
podofilotoksyna 223**



223 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej I** z wydajnością 30% (54 mg) wychodząc z 100 mg (0,235 mmola) **215**, 77 mg (0,235 mmola) **206** i 8,00 ml ^tBuOH. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-EtOAc w gradiencie 50%-60% EtOAc. **T.t.** 150-152°C; **¹H NMR (DMSO-*d*₆)** δ 8,25 (br. s, 1H, 4'-OH); 7,75 (s, 1H, H-5_{triazol}); 6,72 (s, 1H, H-5); 6,66 (s, 1H, H-8); 6,28 (br. s, 2H, H-2', H-6'); 6,20 (d, ³J_{H-H}=5,3 Hz, 1H, H-4); 6,03 (s, 1H, H-13); 5,98 (s, 1H, H-13); 5,05 (t, ³J_{H-H}=1,6 Hz, 2H, Cp); 4,82 (t, ³J_{H-H}=1,5 Hz, 2H, Cp); 4,67 (d, ³J_{H-H}=5,1 Hz, 1H, H-1); 4,58 (s, 5H, Cp); 4,36 (t, ³J_{H-H}=8,0 Hz, 1H, H-11); 3,66 (s, 6H, CH₃), 3,46 (dd, ³J_{H-H}=14,7; 5,1Hz, 1H, H-2); 3,26-3,20 (m, 1H, H-3); 2,95 (dd, ³J_{H-H}=10,6; 8,7 Hz, 1H, H-11); 2,65-2,62 (m, 4H, H-1'', H-2''); 1,89-1,84 (m, 2H, H-3''); **¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆)** δ 201,1 (C-4''); 173,5 (C-12); 148,0 (C-6 lub C-7); 147,2 (C-3', C-5'); 146,8 (C-6 lub C-7); 146,4 (C-4_{triazol}); 134,9 (C-4'); 133,2 (C-9 lub C-10); 129,6 (C-1'); 126,1 (C-9 lub C-10); 122,6 (C-5_{triazol}); 109,7 (C-8); 108,5 (C-5, C-2', C-6'); 101,4 (C-13); 83,7 (C_p_{ipso}); 73,3 (Cp); 71,7 (Cp); 70,4 (Cp); 67,1 (C-11); 57,2 (C4); 56,0 (CH₃); 42,7 (C-1); 40,8 (C-2); 37,4 (C-1'' lub C-2''); 36,4 (C-3); 24,4 (C-1'' lub C-2''); 23,9 (C-3''); **IR** (KBr, ν, cm⁻¹) 2922, 2852, 1779, 1667, 1518, 1505, 1485, 1456, 1230, 1113, 1101, 1092, 1036, 999; **ESI-MS (*m/z*)** obliczone dla C₃₇H₃₅N₃O₈Ru: 751,2; znalezione: 752,2 [M+H]⁺, 749,6 [M-H]⁻; **Analiza elementarna** obliczona dla C₃₇H₃₅N₃O₈Ru: C 59,19; H 4,70; N 5,60; znaleziona: C 59,27; H 4,87; N 5,34 %; **R_f** (HPLC) τ=6,185 min (Metoda **LC-MS-1**), τ=18,2 min (Metoda **AN-3**).

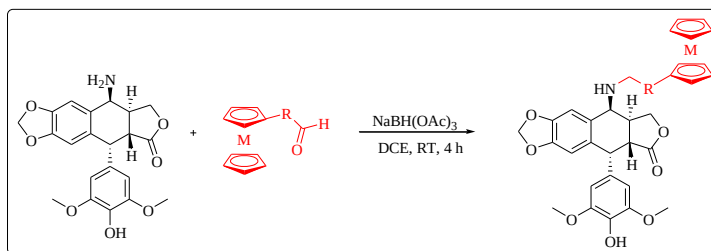
4'-demetylo-4-deokso-4β-(4-(4-rutenocenoilobutylo)-1,2,3-triazol-1-ilo)

podofilotoksyna 224



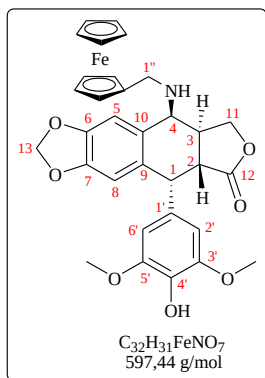
224 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej I** z wydajnością 19% (34 mg) wychodząc z 100 mg (0,235 mmola) **215**, 80 mg (0,235 mmola) **207** i 8,00 ml $tBuOH$. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-EtOAc w gradiencie 50%-60% EtOAc. **T.t.** 135-137°C; **1H NMR (DMSO- d_6)** δ 8,33 (br. s, 1H, 4'-OH); 7,73 (s, 1H, H-5_{triazol}); 6,71 (s, 1H, H-5); 6,66 (s, 1H, H-8); 6,27 (br. s, 2H, H-2', H6'); 6,19 (d, $^3J_{H-H}=5,3$ Hz, 1H, H-4); 6,03 (s, 1H, H-13); 5,99 (s, 1H, H-13); 5,09 (t, $^3J_{H-H}=1,8$ Hz, 2H, Cp); 4,82 (t, $^3J_{H-H}=1,8$ Hz, 2H, Cp); 4,66 (d, $^3J_{H-H}=5,1$ Hz, 1H, H-1); 4,59 (s, 5H, Cp); 4,34 (t, $^3J_{H-H}=8,0$ Hz, 1H, H-11); 3,65 (s, 6H, CH₃); 3,46 (dd, $^3J_{H-H}=14,7$; 5,1 Hz, 1H, H-2); 3,26-3,19 (m, 1H, H-3); 2,90 (dd, $^3J_{H-H}=10,7$; 8,6 Hz, 1H, H-11); 2,63-2,60 (m, 4H, H-3'', H-4''); 1,60-1,55 (m, 4H, H-1'', H-2''); **$^{13}C\{^1H\}$ NMR (DMSO- d_6)** δ 201,4 (C-5''); 173,6 (C-12); 148,0 (C-6 lub C-7); 147,2 (C-3', C-5'); 146,8 (C-6 lub C-7 lub C-4_{triazol}); 146,7 (C-6 lub C-7 lub C-4_{triazol}) 134,8 (C-4'); 133,2 (C-9 lub C-10); 129,6 (C-1'); 126,2 (C-9 lub C-10); 122,5 (C-5_{triazol}); 109,8 (C-8); 108,6 (C-5, C-2', C-6'); 101,5 (C-13); 83,9 (C_p_{ipso}); 73,4 (Cp); 71,8 (Cp); 70,5 (Cp); 67,2 (C-11); 57,2 (C-4); 56,0 (CH₃); 42,7 (C-1); 40,9 (C-2); 37,7 (C-3'' lub C-4''); 36,5 (C-3); 28,4 (C-1'' lub C-2''); 24,8 (C-3'' lub C-4''); 23,9 (C-1'' lub C-2''); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 2923, 2853, 1781, 1667, 1518, 1505, 1485, 1456, 1230, 1114, 1101, 1037; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla $C_{38}H_{37}N_3O_8Ru$: 765,2; znalezione: 765,8 $[M]^+$, 763,8 $[M-H]^-$; **Analiza elementarna** obliczona dla $C_{38}H_{37}N_3O_8Ru$: C 59,68; H 4,88; N 5,49; znaleziona: C 60,52; H 4,91; N 5,20%; **R_f** (HPLC) $\tau=6,407$ min (Metoda **LC-MS-1**), $\tau=18,9$ min (Metoda **AN-3**).

Procedura ogólna J – synteza aminowych analogów etopozydu – aminowanie redukcyjne



1,40 eq triacetoksyborowodoru sodu dodałam do 1,00 eq **216** ($C_{216}=0,250$ mol/l) oraz 1,05 eq aldehydu rozpuszczonych w 1,2-dichloroetanie i mieszałam w temperaturze pokojowej przez 4 godziny. Mieszaninę reakcyjną rozcieńczyłam pięciokrotną objętością DCM, dodałam wodę i produkt wyekstrahowałam trzykrotnie DCM. Połączone warstwy organiczne przemyłam solanką, suszyłam nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu, a po odsączeniu środka suszącego usunęłam rozpuszczalnik na wyparce. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym.

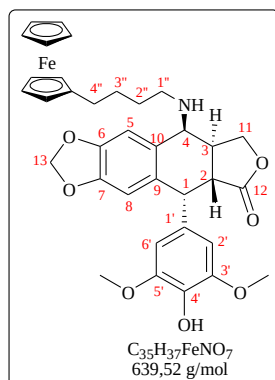
4 β -amino-4'-demetylo-4-deoksy-N-(ferrocenylometylo)podofilotoksyna 258



258 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej J** z wydajnością 51% (76 mg) wychodząc z 100 mg (0,250 mmola) **216**, 56 mg (0,263 mmola) **257**, 74,3 mg (0,351 mmola) $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ i 1,50 ml DCE. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-EtOAc w gradiencie 5%-10% EtOAc. **T.t.** $>270^\circ\text{C}$; **^1H NMR (DMSO- d_6)** δ 8,17 (br s, 1H, 4'-OH); 6,61 (s, 1H, H-5); 6,43 (s, 1H, H-8); 6,19 (br s, 2H, H-2', H-6'); 5,95 (s, 1H, H-13); 5,94 (s, 1H, H-13); 4,40 (d, $^3J_{\text{H-H}}=5,4$ Hz, 1H, H-1); 4,32 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,7$ Hz, 1H, H-11); 4,30-4,29 (m, 2H, Cp); 4,15-4,13 (m, 2H) nałożony z 4,14 (s, 5H, Cp); 4,13-4,11 (m, 1H, H-11); 3,91 (d, $^3J_{\text{H-H}}=4,0$ Hz, 1H, H-4); 3,61 (s, 6H, CH_3); 3,57 (d, $^3J_{\text{H-H}}=13,4$ Hz, 1H, H-1''); 3,51 (d, $^3J_{\text{H-H}}=13,4$ Hz, 1H, H-1''); 3,25 (dd, $^3J_{\text{H-H}}=14,1$; 5,4 Hz, 1H, H-2); 2,75-2,69 (m, 1H, H-3); 1,78 (br s, 1H, NH); **$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (DMSO- d_6)** δ 175,0 (C-12); 147,0 (C-3', C-5'); 146,5 (C-6 lub C-7); 146,2 (C-6 lub C-7); 134,7 (C-4'); 133,1 (C-9 lub C-10); 131,3 (C-9 lub C-10); 130,7 (C-1'); 109,3 (C-8); 108,7 (C-5); 108,6 (C-2', C-6'); 100,9 (C-13); 87,3 (Cp_{ipso}); 68,5 (Cp); 68,3 (C-11); 68,2 (Cp); 68,1 (Cp); 67,5 (Cp); 67,2 (Cp); 56,0 (CH_3); 54,0 (C-4);

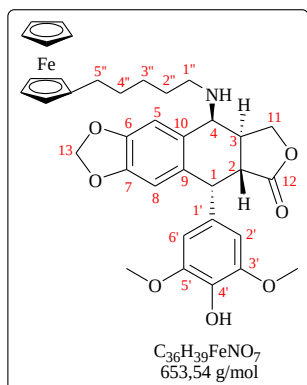
48,1 (C-1''); 42,8 (C-1); 40,7 (C-2); 38,2 (C-3); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 3371, 3325, 3086, 2997, 2952, 2925, 2853, 1761, 1482, 1225, 1112, 988; **ESI-MS** (m/z) obliczone dla $\text{C}_{32}\text{H}_{31}\text{FeNO}_7$: 597,1; znalezienie: 597,2 $[\text{M}]^+$; **Analiza elementarna** obliczona dla $\text{C}_{32}\text{H}_{31}\text{FeNO}_7$: C 64,33; H 5,23; N 2,34; znaleziona: C 66,18; H 6,41; N 2,00%; **R_f** (HPLC) $\tau=4,237$ min (Metoda **LC-MS-1**), $\tau=14,9$ min (Metoda **AN-3**).

4 β -amino-4'-demetylo-4-deoksy-N-(4-ferrocenylobutylo)podofilotoksyna 259



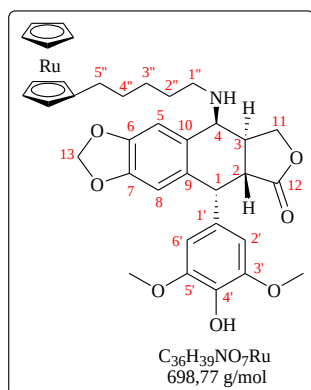
259 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej J** z wydajnością 27% (43 mg) wychodząc z 100 mg (0,250 mmola) **216**, 67 mg (0,263 mmola) **248**, 74,3 mg (0,351 mmola) $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ i 1,00 ml DCE. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent toluen-EtOAc w gradiencie 5%-50% EtOAc. **T.t.** 104-105°C; **^1H NMR (DMSO- d_6)** δ 8,18 (br s, 1H, 4'-OH); 6,91 (s, 1H, H-5); 6,46 (s, 1H, H-8); 6,20 (br s, 2H, H-2', H-6'); 5,99 (s, 1H, H-13); 5,96 (s, 1H, H-13); 4,41 (d, $^3J_{\text{H-H}}=5,3$ Hz, 1H, H-1); 4,36 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,7$ Hz, 1H, H-11); 4,18 (dd, $^3J_{\text{H-H}}=10,5$; 8,3 Hz, 1H, H-11); 4,10 (s, 5H, Cp); 4,08 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,5$ Hz, 2H, Cp); 4,03 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,6$ Hz, 2H, Cp); 3,81 (d, $^3J_{\text{H-H}}=3,8$ Hz, 1H, H-4); 3,61 (s, 6H, CH_3); 3,29-3,26 (m, 1H, H-2); 2,80-2,76 (m, 2H, H-3, H-1''); 2,53-2,50 (m, 1H, H-1'' nałożony z DMSO- d_6); 2,31 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,5$ Hz, 2H, H-4''); 1,57-1,50 (m, 2H, H-3''); 1,49-1,45 (m, 2H, H-2''); **$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (DMSO- d_6)** δ 175,0 (C-12); 147,0 (C-3', C-5'); 146,5 (C-6 lub C-7); 146,1 (C-6 lub C-7); 134,6 (C-4'); 133,2 (C-9 lub C-10); 131,2 (C-9 lub C-10); 130,8 (C-1'); 109,4 (C-8); 109,1 (C-5); 108,5 (C-2', C-6'); 100,9 (C-13); 88,8 (Cp_{ipso}); 68,3 (C-11); 68,2 (Cp); 67,7 (2xCp); 66,7 (Cp); 56,0 (CH_3); 55,4 (C-4); 49,0 (C-1''); 42,9 (C-1); 40,7 (C-2); 38,2 (C-3); 30,0 (C-2''); 28,8 (C-4''); 28,2 (C-3''); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 3443, 3089, 2931, 2842, 1774, 1611, 1518, 1504, 1482, 1459, 1426, 1384, 1329, 1308, 1226, 1187, 1156, 1113, 1037, 999, 931, 863, 801, 786, 484; **ESI-MS** (m/z) obliczone dla $\text{C}_{35}\text{H}_{37}\text{FeNO}_7$: 639,5; znalezienie: 639,2 $[\text{M}]^+$; **Analiza elementarna** obliczona dla $\text{C}_{35}\text{H}_{37}\text{FeNO}_7$: C 65,73; H 5,83; N 2,19; znaleziona: C 65,62; H 6,04; N 2,04%; **R_f** (HPLC) $\tau=4,950$ min (Metoda **LC-MS-1**), $\tau=17,9$ min (Metoda **AN-2**).

4β-amino-4'-demetylo-4-deoksy-N-(5-ferrocenylopentylo)podofilotoksyna 260



260 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej J** z wydajnością 42% (69 mg) wychodząc z 100 mg (0,250 mmola) **216**, 71 mg (0,263 mmola) **249**, 74,3 mg (0,351 mmola) $NaBH(OAc)_3$ i 1,00 ml DCE. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent toluen-EtOAc w gradiencie 5%-50% EtOAc. **T.t.** 135-136°C; 1H NMR (**DMSO- d_6**) δ 8,16 (br s, 1H, 4'-OH); 6,90 (s, 1H, H-5); 6,46 (s, 1H, H-8); 6,20 (br s, 2H, H-2', H-6'); 5,99 (s, 1H, H-13); 5,96 (s, 1H, H-13); 4,41 (d, $^3J_{H-H}=5,4$ Hz, 1H, H-1); 4,35 (t, $^3J_{H-H}=7,6$ Hz, 1H, H-11); 4,17 (dd, $^3J_{H-H}=10,8$; 8,0 Hz, 1H, H-11); 4,09 (s, 5H, Cp); 4,08 (t, $^3J_{H-H}=1,6$ Hz, 2H, Cp); 4,03 (t, $^3J_{H-H}=1,6$ Hz, 2H, Cp); 3,82 (d, $^3J_{H-H}=4,2$ Hz, 1H, H-4); 3,62 (s, 6H, CH_3); 3,27 (dd, $^3J_{H-H}=14,1$; 5,4 Hz, 1H, H-2); 2,79-2,73 (m, 2H, H-3, H-1''); 2,52-2,49 (m, 1H, nałożony z DMSO- d_6 , H-1''); 2,30 (t, $^3J_{H-H}=7,7$ Hz, 2H, C-5''); 1,49-1,44 (m, 4H, H-2'', H-4''); 1,38-1,30 (m, 2H, H-3''); $^{13}C\{^1H\}$ NMR (**DMSO- d_6**) δ 175,0 (C-12); 147,0 (C-3', C-5'); 146,5 (C-6); 146,1 (C-7); 134,7 (C-4'); 133,1 (C-9); 131,2 (C-10); 130,8 (C-1'); 109,3 (C-8); 109,0 (C-5); 108,6 (C-2', C-6'); 100,9 (C-13); 88,8 ($C_{p_{ipso}}$); 68,3 (C-11); 68,1 (Cp); 67,6 (2xCp); 66,6 (Cp); 56,0 (CH_3); 55,4 (C-4); 49,1 (C-1''); 42,8 (C-1); 40,7 (C-2); 38,2 (C-3); 30,4 (C-2'' lub C-4''); 29,8 (C-2'' lub C-4''); 28,9 (C-5''); 26,6 (C-3''); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 2954, 2925, 2853, 1759, 1481, 1458, 1225, 1112; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla $C_{36}H_{39}FeNO_7$: 653,2; znalezione: 653,2 $[M]^+$; **Analiza elementarna** obliczona dla $C_{36}H_{39}FeNO_7$: 66,16; H 6,02; N 2,14; znaleziona: C 66,28; H 6,37; N 1,96%; **R_f** (HPLC) $\tau=5,248$ min (Metoda LC-MS-1), $\tau=18,5$ min (Metoda AN-2).

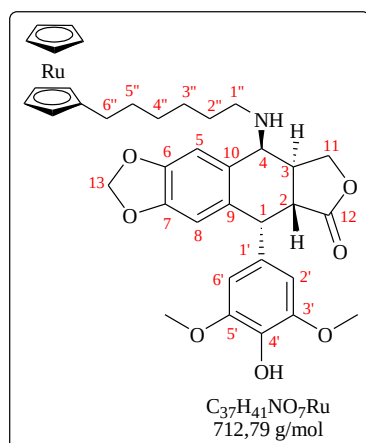
4β-amino-4'-demetylo-4-deoksy-N-(5-rutenocenylopentylo)podofilotoksyna 262



262 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej J** z wydajnością 56% (118 mg) wychodząc z 120 mg (0,301 mmola) **216**, 100 mg (0,316 mmola) **252**, 89,0 mg (0,421 mmola) $NaBH(OAc)_3$ i 2,00 ml DCE. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent toluen-EtOAc w gradiencie 2%-20% EtOAc. **T.t.** 180-184°C; 1H NMR (**DMSO- d_6**) δ 8,18 (s, 1H, OH); 6,90 (s, 1H, CH_{Ar}); 6,46 (s, 1H, CH_{Ar}); 6,20 (s, 2H, CH_{Ar}); 5,99 (s, 1H, CH_2); 5,96

(s, 1H, CH₂); 4,52 (br s, 2H, Cp); 4,50 (s, 5H, Cp); 4,42-4,41 (m, 1H) nałożony z 4,41 (br s, 2H, Cp); 4,36 (t, ³J_{H-H}=7,6 Hz, 1H); 4,17 (dd, ³J_{H-H}=10,8; 8,1 Hz, 1H); 3,82 (d, ³J_{H-H}=4,1 Hz, 1H); 3,61 (s, 6H, CH₃); 3,27 (dd, ³J_{H-H}=14,1; 5,4 Hz, 1H); 2,80-2,75 (m, 2H); 2,52-2,50 (m, 1H, nałożony z DMSO-*d*₆); 2,14 (t, ³J_{H-H}=7,7 Hz, 2H); 1,47-1,40 (m, 4H); 1,37-1,30 (m, 2H); **IR** (KBr, ν, cm⁻¹) 3349, 2930, 2854, 1759, 1481, 1225, 1112; **ESI-MS** (*m/z*) obliczone dla C₃₆H₃₉NO₇Ru: 699,2; znalezione: 700,4 [M]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₃₆H₃₉NO₇Ru: C 61,88; H 5,63; N 2,00; znaleziona: C 61,75; H 5,85; N 1,96%; **R_f**(HPLC) τ=5,248 min (Metoda **LC-MS-1**), τ=18,2 min (Metoda **AN-2**). Zarówno wyższe stężenie próbki, obniżenie lub podwyższenie temperatury w eksperymencie NMR, jak i użycie innych rozpuszczalników niż DMSO-*d*₆ nie pozwoliły na uzyskanie dobrej jakości widma ¹³C{¹H} NMR.

4β-amino-4'-demetylo-4-deoksy-*N*-(5-rutenocenylopentylo)podofilotoksyna 263



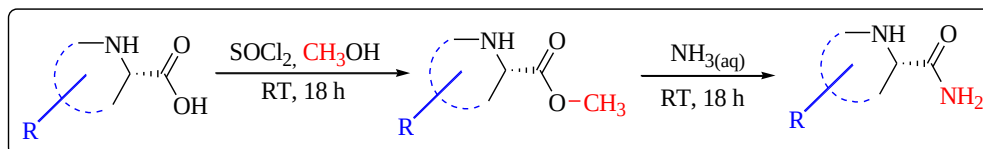
263 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej J** z wydajnością 69% (35 mg) wychodząc z 29 mg (0,0722 mmola) **216**, 25,0 mg (0,0758 mmola) **256**, 21,4 mg (0,101 mmola) NaBH(OAc)₃ i 0,50 ml DCE. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent toluen-EtOAc w gradiencie 5%-20% EtOAc. **T.t.** 207-209°C; **¹H NMR (DMSO-*d*₆)** δ 8,18 (br s, 1H, 4'-OH); 6,90 (s, 1H, H-5); 6,46 (s, 1H, H-8); 6,19 (br s, 2H,

H-2', H-6'); 5,99 (s, 1H, H-13); 5,96 (s, 1H, H-13); 4,51 (br s, 2H, Cp); 4,49 (s, 5H, Cp); 4,41-4,40 (m, 3H, H-1 and Cp); 4,35 (t, ³J_{H-H}=7,6 Hz, 1H, H-11); 4,16 (dd, ³J_{H-H}=10,8; 8,1 Hz, 1H, H-11); 3,81 (d, ³J_{H-H}=4,2 Hz, 1H, H-4); 3,61 (s, 6H, CH₃); 3,27 (dd, ³J_{H-H}=14,2; 5,5 Hz, 1H, H-2); 2,79-2,73 (m, 2H, H-3, H-1''); 2,52-2,46 (m, 1H, H-1'', nałożony z DMSO-*d*₆); 2,14 (t, ³J_{H-H}=7,8 Hz, 2H, H-6''); 1,45-1,39 (m, 4H, H-2'', H-5''); 1,33-1,23 (m, 4H, H-3'', H-4''); **¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆)** δ 75,1 (C-12); 147,1 (C-3', C-5'); 146,6 (C-6 lub C-7); 146,1 (C-6 lub C-7); 134,6 (C-4'); 133,2 (C-9 lub C-10); 131,2 (C-9 lub C-10); 130,8 (C-1'); 109,4 (C-8); 109,1 (C-5); 108,5 (C-2', C-6'); 100,9 (C-13); 92,7 (C_pipso); 70,5 (Cp); 70,2 (Cp); 69,1 (Cp); 68,3 (C-11); 56,0 (CH₃); 55,4 (C-4); 49,2 (C-1''); 42,9 (C-1); 40,7 (C-2); 38,2 (C-3); 31,1 (C-2'' lub C-5''); 30,0 (C-2'' lub C-5''); 28,9 (C-3'' lub C-4''); 28,5 (C-6'') 26,5 (C-3'' lub C-4''); **IR** (KBr, ν, cm⁻¹) 3335, 2928, 2854, 1757, 1609, 1521, 1479, 1468, 1458, 1222, 1113, 800;

ESI-MS (*m/z*) obliczone dla $C_{37}H_{41}NO_7Ru$: 713,2; znaleziona: 714,1 $[M]^+$; **Analiza elementarna** obliczona dla $C_{37}H_{41}NO_7Ru$: 62,35; H 5,80; N 1,97; znaleziona: C 62,49; H 5,89, N 1,76%; **R_f** (HPLC) τ =5,592 min (Metoda **LC-MS-1**), τ =18,6 min (Metoda **AN-3**).

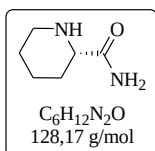
8.3 Synteza analogów Tryprostatyny A

Procedura ogólna K – synteza amidów aminokwasów



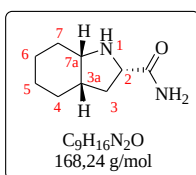
1,50 eq SOCl_2 wkropliłam do metanolu w temperaturze 0°C . Następnie dodałam porcjami 1,00 eq aminokwasu ($C_{\text{aminokwasu}}=0,400 \text{ mol/l}$), pozwoliłam mieszaninie reakcyjnej osiągnąć temperaturę pokojową i mieszałam przez 18 godzin. Odparowałam MeOH, dodałam wodę, wodorowęglan sodu, a produkt wyekstrahowałam trzykrotnie DCM. Połączone warstwy organiczne przemyłam solanką, suszyłam nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu, a po odsączeniu środka suszącego usunęłam rozpuszczalnik na wyparce. Produkt użyłam bez oczyszczania do następnego etapu. Dodałam 16,0 ml 25% wodnego roztworu amoniaku i mieszałam w temperaturze pokojowej przez 16 godzin. Po tym czasie usunęłam amoniak na wyparce, a otrzymany olej rozpuściłam w MeOH, dodałam toluen i odparowałam rozpuszczalniki w celu pozbycia się wody.

(S)-pipekolinamid 306



306 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej K** z wydajnością 74% (730 mg) wychodząc z 1,00 g (7,74 mmola) **298**, 1,38 g (840 μl , 11,6 mmola) SOCl_2 i 19,4 ml MeOH. ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) δ 7,11 (br s, 1H, NH); 6,95 (br s, 1H, NH); 2,98 (dd, $^3J_{\text{H-H}}=10,3$; 2,9 Hz, 1H, H-2); 2,93-2,90 (m, 1H, H-6); 2,52-2,48 (m, 1H, H-6); 1,75-1,70 (m, 2H, H-3, H-4); 1,48-1,45 (m, 1H, H-5); 1,36-1,25 (m, 3H, H-3, H-4, H-5); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR ($\text{DMSO-}d_6$) δ 175,4 (C=O); 59,4 (C-2); 45,2 (C-6); 29,6 (C-3); 25,7 (C-5); 24,0 (C-4).

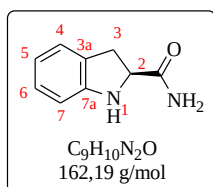
(2S,3aS,7aS)-oktahydro-1H-indolo-2-karboksyamid 307



307 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej K** z wydajnością 95% (946 mg) wychodząc z 1,00 g (8,86 mmola) **299**, 1,05 g (640 μl , 8,86 mmola) SOCl_2 i 14,8 ml MeOH. ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) δ 7,40 (br. s, 1H, NH); 7,06 (br. s, 1H, NH); 3,45 (dd, $^3J_{\text{H-H}}=10,6$; 5,2 Hz, 1H, H-2); 3,08-3,06 (m, 1H, H-7a); 2,10-2,05 (m, 1H, H-3); 1,87-1,81 (m, 1H, H-6 lub H-5); 1,55-1,48 (m, 4H); 1,45-1,42 (m, 1H); 1,40-1,35 (m, 1H); 1,33-1,25 (m, 2H, H-4);

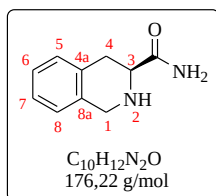
1,19-1,13 (m, 1H); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (DMSO- d_6) δ 177,6 (C=O); 58,4 (CH); 56,9 (CH); 37,6 (CH); 35,7 (CH₂); 28,5 (CH₂); 27,2 (CH₂); 23,6 (CH₂); 21,1 (CH₂).

(S)-indolino-2-karboksamid 308



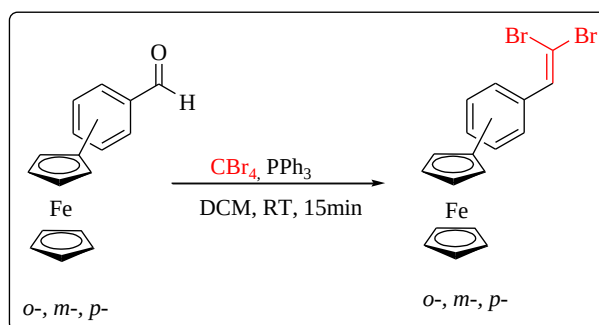
308 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej K** z wydajnością 77% (767 mg) wychodząc z 1,00 g (6,13 mmola) **300**, 1,09 g (670 μl , 9,19 mmola) SOCl_2 i 15,3 ml MeOH. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 7,32 (br. s, 1H, NH); 7,13 (br. s, 1H, NH); 7,00 (d, $^3J_{\text{H-H}}=7,3$ Hz, 1H, H-7); 6,93 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,6$ Hz, 1H, H-4); 6,58-6,54 (m, 2H, H-5, H-6); 5,89 (br. s, 1H, NH); 4,13 (dd, $^3J_{\text{H-H}}=10,4$; 7,7 Hz, 1H, H-2); 3,25 (dd, $^2J_{\text{H-H}}=16,0$ Hz, $^3J_{\text{H-H}}=10,4$ Hz, 1H, H-3); 2,94 (dd, $^2J_{\text{H-H}}=16,0$ Hz, $^3J_{\text{H-H}}=7,8$ Hz, 1H, H-3); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (DMSO- d_6) δ 175,8 (C=O); 151,3 (C-3a); 127,2 (C-7a); 127,1 (C-4); 124,1 (C-7); 117,7 (C-5); 108,9 (C-6); 60,6 (C-2); 34,33 (C-3).

(S)-1,2,3,4-tetrahydro-3-izochinolinokarboksamid 309



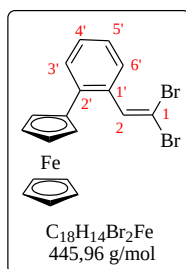
309 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej K** z wydajnością 84% (839 mg) wychodząc z 1,00 g (5,64 mmola) **301**, 1,01 g (610 μl , 8,47 mmola) SOCl_2 i 14,1 ml MeOH. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 7,35 (br. s, 1H, NH); 7,11-7,09 (m, 4H, H-5, H-6, H-7, NH); 7,03-7,02 (m, 1H, H-8); 3,92 (d, $^2J_{\text{H-H}}=16,3$ Hz, 1H, H-1), 3,86 (d, $^2J_{\text{H-H}}=16,4$ Hz, 1H, H-1); 3,35 (dd, $^3J_{\text{H-H}}=10,2$; 4,6 Hz, 1H, H-3); 2,89 (dd, $^2J_{\text{H-H}}=16,1$ Hz, $^3J_{\text{H-H}}=4,6$ Hz, 1H, H-4); 2,72 (dd, $^2J_{\text{H-H}}=16,1$ Hz, $^3J_{\text{H-H}}=10,1$ Hz, 1H, H-4); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (DMSO- d_6) δ 174,8 (C=O); 136,1 (C-8a); 134,4 (C-4a); 128,9 (C-5); 125,8 (C-6 lub C-7); 125,7 (C-6 lub C-7); 125,6 (C-8); 56,0 (C-3); 46,8 (C-1); 31,1 (C-4).

Procedura ogólna L – synteza 1,1-dibromo-2-(ferrocenylofenylo)etenów – reakcja Coreya-Fuchsa



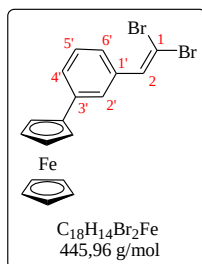
Do roztworu 2,00 eq CBr_4 ($C_{\text{CBr}_4}=0,280 \text{ mol/l}$) w DCM dodałam 4,00 eq PPh_3 . Następnie wkropliłam 1,00 eq aldehydu ($C_{\text{aldehydu}}=0,160 \text{ mol/l}$) rozpuszczonego w DCM i mieszałam przez 15 minut w temperaturze pokojowej. Mieszaninę reakcyjną rozcieńczyłam trzykrotną objętością DCM, dodałam wodę i produkt ekstrahowałam trzykrotnie DCM. Połączone warstwy organiczne przemyłam solanką, suszyłam nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu, a po odsączeniu środka suszącego rozpuszczalnik usunęłam na wyparce. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej.

1,1-dibromo-2-(2-ferrocenylofenylo)eten 281



281 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej L** z wydajnością 81% (2,71 g) wychodząc z 2,18 g (7,50 mmola) **279**, 4,97 g (15,0 mmola) CBr_4 , 7,87 g (30,0 mmola) PPh_3 i 75,0 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-cykloheksan (5:95, v/v). **T.t.** 62-63°C; $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 7,89 (s, 1H, H-2); 7,68 (d, $^3J_{\text{H-H}}=7,8 \text{ Hz}$, 1H, H-3'); 7,37 (d, $^3J_{\text{H-H}}=7,6 \text{ Hz}$, 1H, H-6'); 7,34 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,5 \text{ Hz}$, 1H, H-4'); 7,28 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,5 \text{ Hz}$, 1H, H-5); 4,57-4,56 (m, 2H, Cp); 4,43-4,41 (m, 2H, Cp); 4,13 (s, 5H, Cp); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 138,3 (C-2); 136,8 (C-1'); 133,1 (C-2'); 129,6 (C-3'); 129,0 (C-6'); 128,3 (C-4'); 125,9 (C-5'); 90,8 (C-1); 84,4 (Cp_{ipso}); 69,3 (Cp); 68,9 (Cp); 68,8 (Cp); **ESI-MS** (m/z) obliczone dla $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{Br}_2\text{Fe}$: 443,9 $[\text{M}]^+$; znalezione: 445,7 $[\text{M}]^+$; **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 3100, 3069, 3025, 1104, 1000, 822, 782, 754, 732, 473, 491; **Analiza elementarna** obliczona dla $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{Br}_2\text{Fe}$: C 48,48; H 3,16; znaleziona: C 48,54; H 3,23%.

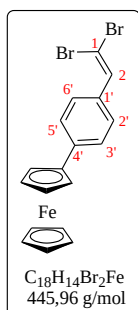
1,1-dibromo-2-(3-ferrocenylofenylo)eten 282



282 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej L** z wydajnością 88% (2,53 g) wychodząc z 1,88 g (6,49 mmola) **280**, 4,30 g (13,0 mmola) CBr_4 , 6,81 g (26,0 mmola) PPh_3 i 65,0 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent cykloheksan-DCM (70:30, v/v). **T.t.** 107-108°C; **^1H NMR (DMSO- d_6)**

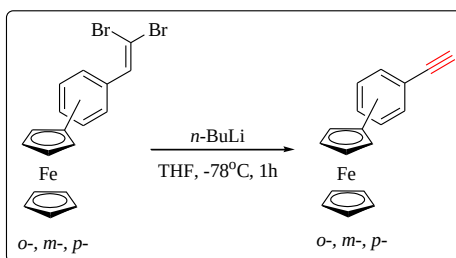
δ 7,81 (s, 1H, H-2); 7,77 (t, $^4J_{\text{H-H}}=1,8$ Hz, 1H, H-2'); 7,54 (dt, $^3J_{\text{H-H}}=7,7$ Hz, $^4J_{\text{H-H}}=1,3$ Hz, 1H, H-4'); 7,44-7,42 (m, 1H, H-6'); 7,34 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,7$ Hz, 1H, H-5'); 4,79 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,9$ Hz, 2H, Cp); 4,37 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,8$ Hz, 2H, Cp); 4,04 (s, 5H, Cp); **$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (DMSO- d_6)** δ 139,4 (C-3'); 137,1 (C-2); 135,0 (C-1'); 128,5 (C-5'); 126,1 (C-4'); 125,8 (C-2'); 125,6 (C-6'); 89,2 (C-1); 84,1 (Cp_{ipso}); 69,4 (Cp); 69,0 (Cp); 66,4 (Cp); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 3016, 1599, 1104, 899, 855, 816, 801, 786, 693, 482; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{Br}_2\text{Fe}$: 443,9; znalezione: 445,7 $[\text{M}+\text{H}]^+$; **Analiza elementarna** obliczona dla $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{Br}_2\text{Fe}$: C 48,48; H 3,16; znaleziona: C 48,32; H 3,44%.

1,1-dibromo-2-(4-ferrocenylofenylo)eten 283



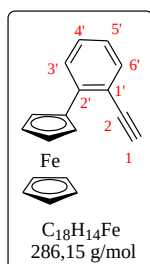
283 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej L** z wydajnością ilościową (1,22 g) wychodząc z 800 mg (2,76 mmola) **274**, 1,83 g (5,52 mmola) CBr_4 , 2,89 g (11,03 mmola) PPh_3 i 27,6 ml DCM. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent cykloheksan-DCM (95:5, v/v). **T.t.** 118-119°C; **^1H NMR (DMSO- d_6)** δ 7,74 (s, 1H, H-2); 7,58 (s, 4H, H-2', H-3', H-5', H-6'); 4,84 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,7$ Hz, 2H, Cp); 4,39 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,7$ Hz, 2H, Cp); 4,03 (s, 5H, Cp); **$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (DMSO- d_6)** δ 140,0 (C-4'); 136,8 (C-2); 132,2 (C-1'); 128,4 (C-2', C-6'); 125,7 (C-3', C5'); 87,7 (C-1); 83,7 (Cp_{ipso}); 69,4 (Cp); 69,3 (Cp); 66,4 (Cp); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 3080, 3009, 2923, 2852, 1106, 877, 859, 818, 775, 528, 493, 479, 440, 429; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{Br}_2\text{Fe}$: 443,9 $[\text{M}]^+$; znalezione: 445,7 $[\text{M}+\text{H}]^+$; **Analiza elementarna** obliczona dla $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{Br}_2\text{Fe}$: C 48,48; H 3,16; znaleziona: C 48,30; H 3,26%.

Procedura ogólna M – synteza (ferrocenylofenylo)acetylenów



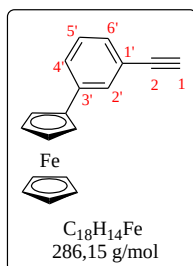
Do roztworu 1,00 eq 1,1-dibromo-2-(ferrocenylofenylo)etenu ($C=0,200$ mol/l) w THF ochłodzonego do -78°C wkropiłam 3,30 eq $n\text{-BuLi}$ i mieszałam przez 1 godzinę. Reakcję rozcieńczyłam dwukrotną objętością DCM, dodałam roztwór HCl o stężeniu 1 mol/l i produkt wyekstrahowałam trzykrotnie DCM. Połączone warstwy organiczne przemyłam solanką, suszyłam nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu, a po odsączeniu środka suszącego usunęłam rozpuszczalnik na wyparce. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej.

(2-ferrocenylofenylo)acetylen 284



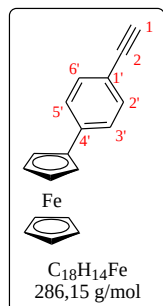
284 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej M** z wydajnością 75% (1,30 g) wychodząc z 2,71 g (6,08 mmola) **281**, 8,90 ml $n\text{-BuLi}$ (2,5 mol/l w heksanie, 23,4 mmola) i 39,3 ml THF. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-cykloheksan (5:95, v/v). **T.t.** $75\text{--}76^{\circ}\text{C}$; **^1H NMR (DMSO- d_6)** δ 7,69 (d, $^3J_{\text{H-H}}=7,9$ Hz, 1H, H-3'); 7,43 (dd, $^3J_{\text{H-H}}=7,7$ Hz, $^4J_{\text{H-H}}=1,1$ Hz, 1H, H-6'); 7,35 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,7$ Hz, 1H, H-5'); 7,20 (td, $^3J_{\text{H-H}}=7,5$ Hz, $^4J_{\text{H-H}}=1,1$ Hz, 1H, H-4'); 4,96 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,9$ Hz, 2H, Cp); 4,39 (s, 1H, H-1); 4,37 (t, $J=1,8$ Hz, 2H, Cp); 4,09 (s, 5H, Cp); **$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (DMSO- d_6)** δ 140,7 (C-2'); 134,0 (C-6'); 129,2 (C-3'); 128,7 (C-5'); 125,8 (C-4'); 118,9 (C-1'); 84,5 (C-1); 84,0 (C-2); 83,9 (Cp_{ipso}); 69,5 (Cp); 68,7 (Cp); 68,5 (Cp); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 3312, 3259, 2101, 1496, 825, 770, 762, 627, 497, 488, 473; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{Fe}$: 286,0; znalezione: 286,0 $[\text{M}]^+$; **Analiza elementarna** obliczona dla $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{Fe}$: C 75,55; H 4,93; znaleziona: C 75,50; H 4,98%.

(3-ferrocenylofenylo)acetylen 285



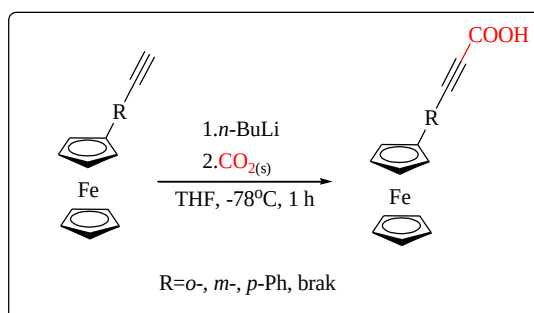
285 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej M** z wydajnością 72% (1,17 g) wychodząc z 2,53 g (5,67 mmola) **282**, 8,74 ml *n*-BuLi (2,5 mol/l w heksanie, 21,9 mmola) i 36,6 ml THF. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-cykloheksan (5:95, v/v). **T.t.** 114-115°C; **¹H NMR (DMSO-*d*₆)** δ 7,62 (s, 1H, H-4'); 7,60-7,58 (m, 1H, H-6'); 7,33-7,30 (m, 2H, H-2', H-5'); 4,84 (t, ³*J*_{H-H}=1,7 Hz, 2H, Cp); 4,37 (t, ³*J*_{H-H}=1,7 Hz, 2H, Cp); 4,21 (s, 1H, H-1); 4,02 (s, 5H, Cp); **¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆)** δ 139,8 (C-3'); 129,0 (C-5'); 128,7 (C-2'); 128,5 (C-4'); 126,5 (C-6'); 121,8 (C-1'); 83,7 (C-2); 83,4 (C_p_{ipso}); 80,6 (C-1); 69,4 (Cp); 69,2 (Cp); 66,4 (Cp); **IR** (KBr, ν , cm⁻¹) 3280, 2109, 1104, 814, 795, 689, 672, 661, 621, 504, 487; **ESI-MS (*m/z*)** obliczone dla C₁₈H₁₄Fe: 286,0; znalezione: 285,9 [M]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₁₈H₁₄Fe: C 75,55; H 4,93; Znaleziona: C 75,51; H 4,85%.

(4-ferrocenylofenylo)acetylen 286



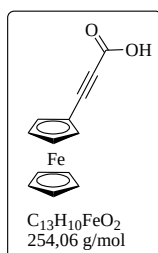
286 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej M** z wydajnością 65% (534 mg) wychodząc z 1,26 g (2,84 mmola) **283**, 5,86 ml *n*-BuLi (1,6 mol/l w heksanie, 9,37 mmola) i 18,0 ml THF. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent cykloheksan-DCM w gradiencie od 5%-100% DCM. **T.t.** 104-105°C; **¹H NMR (DMSO-*d*₆)** δ 7,55 (d, ³*J*_{H-H}=8,2 Hz, 2H, H-3', H-5'); 7,40 (d, ³*J*_{H-H}=8,3 Hz, 2H, H-2', H-6'); 4,83 (t, ³*J*_{H-H}=1,8 Hz, 2H, Cp); 4,39 (t, ³*J*_{H-H}=1,8 Hz, 2H, Cp); 4,19 (s, 1H, H-1); 4,02 (s, 5H, Cp); **¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆)** δ 140,3 (C-1'); 131,7 (C-2', C-6'); 125,8 (C-3', C-5'); 118,7 (C-4'); 83,9 (C-2); 83,4 (C_p_{ipso}); 80,6 (C-1); 69,5 (Cp); 69,4 (Cp); 66,4 (Cp); **IR** (KBr, ν , cm⁻¹) 3286, 2104, 1664, 1645, 1604, 1106, 835, 820, 659, 614, 549, 487; **ESI-MS (*m/z*)** obliczone dla C₁₈H₁₄Fe: 286,0; znalezione: 285,9 [M]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₁₈H₁₄Fe: C 75,55; H 4,93; znalezione: C 75,51; H 4,87%.

Procedura ogólna N – synteza kwasów ferrocenylopropynowych – reakcja karboksylowania acetylenów



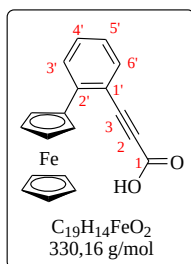
Do roztworu 1,00 eq acetyleny ($C_{\text{acetylen}}=0,200 \text{ mol/l}$) w THF ochłodzonego do -78°C wkropliłam 1,20 eq *n*-BuLi i mieszałam przez 1 godzinę. Po tym czasie dodawałam porcjami stały CO_2 przez 1 godzinę a następnie ogrzałam mieszaninę reakcyjną do temperatury pokojowej. Mieszaninę rozcieńczyłam dwukrotną objętością DCM, dodałam nasycony roztwór kwasu cytrynowego i produkt wyekstrahowałam trzykrotnie DCM. Połączone warstwy organiczne przemyłam solanką, suszyłam nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu, a po odsączeniu środka suszącego usunęłam rozpuszczalnik na wyparce. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej.

Kwas ferrocenylopropynowy 276



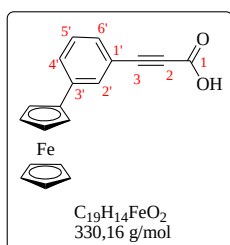
276 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej N** z wydajnością 77% (463 mg) wychodząc z 500 mg (2,38 mmola) **214**, 1,80 ml *n*-BuLi (1,6 mol/l w heksanie, 2,88 mmola) i 12,7 ml THF. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-30% MeOH. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 4,47 (br. s, 2H, Cp); 4,30 (br. s, 2H, Cp); 4,23 (s, 5H, Cp); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 71,5 (Cp); 69,7 (Cp); 68,9 (Cp); IR (KBr, ν , cm^{-1}) 3412, 3094, 2927, 2204, 1694, 1568, 1387, 1366, 1281.

Kwas (2-ferrocenylofenylo)propynowy 287



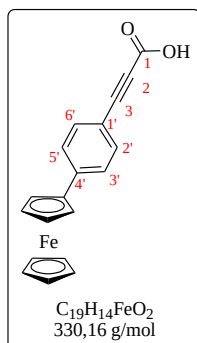
287 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej N** z wydajnością 46% (665 mg) wychodząc z 1,25 g (4,37 mmola) **284**, 2,12 ml *n*-BuLi (2,5 mol/l w heksanie, 5,29 mmola) i 24,7 ml THF. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-10% MeOH. **T.t.** >165°C rozkład; **¹H NMR (DMSO-*d*₆)** δ 13,82 (br. s; 1H, COOH); 7,72 (d, $^3J_{\text{H-H}}=7,9$ Hz, 1H, H-3'); 7,55 (d, $^3J_{\text{H-H}}=7,7$ Hz, 1H, H-6'); 7,45 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,7$ Hz, $^4J_{\text{H-H}}=1,1$ Hz, 1H, H-4'); 7,28 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,5$ Hz, 1H, H-5'); 4,96 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,7$ Hz, 2H, Cp); 4,43 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,7$ Hz, 2H, Cp); 4,12 (s, 5H, Cp); **¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆)** δ 154,7 (C-1); 142,6 (C-1'); 134,8 (C-6'); 130,7 (C-4'); 129,2 (C-3'); 126,1 (C-5'); 116,0 (C-2'); 85,5 (C-2); 85,3 (C-3); 83,0 (C_p_{ipso}); 69,6 (Cp); 69,1 (Cp); 68,5 (Cp); **IR** (KBr, ν , cm⁻¹) 2811, 2644, 2201, 1663, 1410, 1202, 757; **ESI-MS (*m/z*)** obliczone dla C₁₉H₁₄FeO₂: 330,0; znalezione: 329,9 [M]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₁₉H₁₄FeO₂: C 69,12; H 4,27; znaleziona: C 69,15; H 4,39%.

Kwas (3-ferrocenylofenylo)propynowy 288



288 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej N** z wydajnością 54% (727 mg) wychodząc z 1,17 g (4,08 mmola) **285**, 2,15 ml *n*-BuLi (2,5 mol/l w heksanie, 5,38 mmola) i 24,5 ml THF. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-5% MeOH. **T.t.** >140°C rozkład; **¹H NMR (DMSO-*d*₆)** δ 13,82 (br. s, 1H, COOH); 7,77 (br. s, 1H, H-2'); 7,72 (dt, $^3J_{\text{H-H}}=7,9$ Hz, $^4J_{\text{H-H}}=1,4$ Hz, 1H, H-4'); 7,44 (dt, $^3J_{\text{H-H}}=7,7$ Hz, $^4J_{\text{H-H}}=1,3$ Hz, 1H, H-6'); 7,40 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,7$ Hz, 1H, H-5'); 4,90 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,8$ Hz, 2H, Cp); 4,39 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,7$ Hz, 2H, Cp); 4,03 (s, 5H, Cp); **¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆)** δ 154,4 (C-1); 140,4 (C_{Ar}); 129,8 (C-6'); 129,2 (C-6'); 129,1 (C-2'); 128,2 (C-4'); 119,1 (C-1'); 84,7 (C-3); 82,9 (C_p_{ipso}); 81,6 (C-2); 69,5 (Cp); 69,4 (Cp); 66,5 (Cp); **IR** (KBr, ν , cm⁻¹) 3082, 2971, 2215, 1683, 1411, 1279, 1267, 1197, 811; **ESI-MS (*m/z*)** obliczone dla C₁₉H₁₄FeO₂: 330,0; znalezione: 329,9 [M]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₁₉H₁₄FeO₂: C 69,12; H 4,27; znaleziona: C 68,98; H 4,24%.

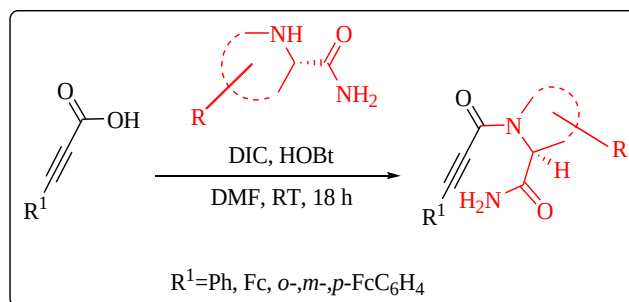
Kwas (4-ferrocenylofenylo)propynowy 289



289 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej N** z wydajnością 82% (1,37 g) wychodząc z 1,46 g (5,10 mmola) **286**, 2,50 ml *n*-BuLi (2,5 mol/l w heksanie, 6,17 mmola) i 28,9 ml THF. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-10% MeOH. **T.t.** 156-157°C; **¹H NMR (DMSO-*d*₆)** δ 13,73 (br. s, 1H, COOH); 7,61 (d, $^3J_{\text{H-H}}=8,3$ Hz, 2H, H-3', H-5'); 7,53 (d, $^3J_{\text{H-H}}=8,3$ Hz, 2H, H-2', H-6'); 4,87 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,6$ Hz, 2H, Cp); 4,42 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,6$ Hz, 2H, Cp); 4,02 (s, 5H, Cp); **¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆)** δ 154,5 (C-1); 142,9 (C-1'); 132,8 (C-2', C-6'); 126,1 (C-3', C-5'); 115,6 (C-4'); 85,2 (C-3); 82,7 (C_{ipso}); 81,9 (C-2); 69,8 (Cp); 69,6 (Cp); 66,7 (Cp); **IR** (KBr, ν , cm⁻¹) 3410, 2920, 2853, 2578, 2198, 1668, 1601, 1308, 1215, 1176, 841, 818; **ESI-MS (*m/z*)** obliczone

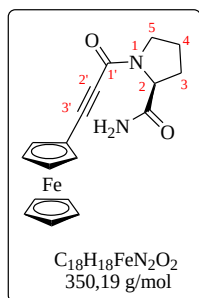
dla C₁₉H₁₄FeO₂: 330,0; znalezione: 329,8 [M]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₁₉H₁₄FeO₂: C 69,12; H 4,27; znaleziona: C 68,92; H 4,41%.

Procedura ogólna O – synteza amidów – reakcja sprzęgania kwasów i amidów aminokwasów w obecności DIC i HOBt



Do 1,00 eq kwasu ($C_{\text{kwasu}}=0,200$ mol/l) i 1,00 eq amidu aminokwasu rozpuszczonych w DMF dodałam 1,00 eq HOBt, 1,10 eq DIC i mieszałam przez 18 godzin w temperaturze pokojowej. Po tym czasie rozcieńczyłam mieszaninę reakcyjną dwukrotną objętością EtOAc, dodałam roztwór HCl o stężeniu 1 mol/l i produkt wyekstrahowałam pięciokrotnie EtOAc. Połączone warstwy organiczne przemyłam solanką, suszyłam nad bezwodnym siarczanem sodu, a po odsączeniu środka suszącego usunęłam rozpuszczalnik na wyparce. Produkt wyizolowałam za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym.

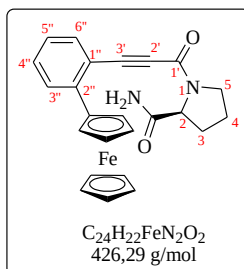
(S)-1-(3-ferrocenylopropynoilo)-prolinamid 278



278 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej O** z wydajnością 70% (138 mg) wychodząc z 143 mg (0,563 mmola) **276**, 64 mg (0,563 mmola) **(S)-277**, 78 mg (96 μ l, 0,619 mmola) DIC, 76 mg (0,563 mmola) HOBt i 3,00 ml DMF. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-3% MeOH. **T.t.** > 210°C rozkład; mieszanina

rotamerów, rotamer A-główny, **1H NMR (DMSO- d_6)** δ 7,62 (br. s, 0,6H, NH, rotamer A); 7,74 (br. s, 0,4H, NH, rotamer B); 7,19 (br. s, 0,6H, NH, rotamer A); 6,97 (br. s, 0,4H, NH, rotamer B); 4,65 (br. s, 0,8H, Cp, rotamer A i B); 4,62-4,60 (m, 1,2H, Cp, rotamer A i B); 4,46 (dd, $^3J_{H-H}=8,6$; 2,9 Hz, 0,6H, H-2, rotamer A); 4,42-4,39 (m, 2H, Cp, rotamer A i B); 4,29 (s, 2H, Cp, rotamer B); 4,28 (s, 2,8H, Cp, rotamer A); 4,21 (dd, $^3J_{H-H}=8,6$; 3,6 Hz, 0,4H, H-2, rotamer B); 3,72-3,68 (m, 0,8H, H-5, rotamer B); 3,47-3,38 (m, 1,3H, H-5, rotamer A); 2,30-2,23 (m, 0,6H, H-3, rotamer A); 2,17-2,11 (m, 0,4H, H-3, rotamer B); 1,94-1,87 (m, 1,4H, H-4, rotamer A i B), 1,87-1,81 (m, 1,8H, H-4, rotamer A i B); **$^{13}C\{^1H\}$ NMR (DMSO- d_6)** δ 173,5 (C=O, rotamer A); 172,9 (C=O, rotamer B); 152,2 (C=O, C-1'); 151,8 (C=O, C-1'); 89,3; 89,1 (C-2'/3'); 79,9 (C_{ipso}); 72,2; 72,0; 71,9; 70,2; 70,0; 69,9 (Cp); 61,1 (C-2, rotamer A); 60,7 (Cp); 60,5 (Cp); 58,9 (C-2, rotamer B); 48,3 (C-5, rotamer B); 45,9 (C-5, rotamer A); 31,1 (C-3, rotamer A); 29,9 (C-3, rotamer B); 23,7 (C-4); 22,7 (C-4); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 3327, 2945, 2928, 2850, 2211, 1626, 1575, 1536, 1311, 1244, 1088, 641; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla $C_{18}H_{18}FeN_2O_2$: 350,1; znalezione: 350,8 $[M]^+$; **Analiza elementarna** obliczona dla $C_{18}H_{18}FeN_2O_2$: C, 61,74; H, 5,18; N, 8,00. znaleziona: C, 58,53; H, 7,97; N, 9,73%.

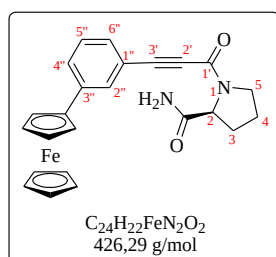
(S)-1-[3-(2-ferrocenylofenylo)-propynoilo]-prolinamid 291



291 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej O** otrzymując 365 mg produktu zanieczyszczonego *N,N'*-diizopropylomocznikiem wychodząc z 300 mg (0,909 mmola) **287**, 104 mg (0,909 mmola) **(S)-277**, 126 mg (155 μ l, 1,00 mmola) DIC, 106 mg (0,909 mmola) HOBt i 4,50 ml DMF. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-2% MeOH. **T.t.** 109-110°C; mieszanina rotamerów w stosunku 1:1, **1H NMR (DMSO- d_6)** δ 7,75 (d, $J=7,5$ Hz, 0,5H, CH_{Ar}); 7,56 (d, $J=7,6$ Hz, 0,5H, CH_{Ar}); 7,63 (br. s, 0,5H, NH);

7,57-7,54 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,46-7,40 (m, 1,5H, CH_{Ar}); 7,30-7,23 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,22 (br. s, 0,5H, NH); 7,00 (br. s, 0,5H, NH); 4,96-4,94 (m, 2H, Cp); 4,58 (dd, $J=8,6$; 3,2 Hz, 0,5H, H-2); 4,41 (br. s, 2H, Cp); 4,27 (dd, $J=8,6$; 3,8 Hz, 0,5H, H-2); 4,13 (s, 5H, 2xCp); 3,75-3,72 (m, 1H, H-5); 3,54-3,50 (m, 0,5H, H-5); 3,49-3,45 (m, 0,5H, H-5); 2,30-2,24 (m, 0,5H, H-3); 2,19-2,13 (m, 0,5H, H-3); 1,97-1,91 (m, 1H, H-3), 1,89-1,83 (m, 2H, H-4); **¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆)** δ 173,5 (C=O); 172,8 (C=O); 152,3 (C=O, C-1'); 151,8 (C=O, C-1'); 142,0; 134,8; 134,5; 130,2; 130,2; 129,4; 129,0; 126,1; 125,8 (CH_{Ar}); 117,0; 116,9 (C_{Ar}); 88,7; 88,2; 86,5; 86,4; 83,5; 83,2 (C-2'/3'/Cp_{ipso}); 69,7; 69,1; 69,0; 68,9; 68,8; 68,7; 68,5; 68,4 (Cp); 61,1 (C-2); 59,0 (C-2); 48,3 (C-5); 46,1 (C-5); 31,0 (C-3); 30,0 (C-3); 23,7 (C-4); 22,8 (C-4); **IR** (KBr, ν , cm⁻¹) 3320, 3185, 2204, 1686, 1617, 1409, 762, 730, 510, 492; **LC-MS (ESI, *m/z*)** obliczone dla C₂₄H₂₂FeN₂O₂: 426,1; znalezione: 426,0 [M]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₂₄H₂₂FeN₂O₂: C 67,62; H 5,20; N 6,57; znaleziona: C 67,40; H 5,50; N 6,40.

(*S*)-1-[3-(3-ferrocenylofenylo)-propynoilo]-prolinamid 292

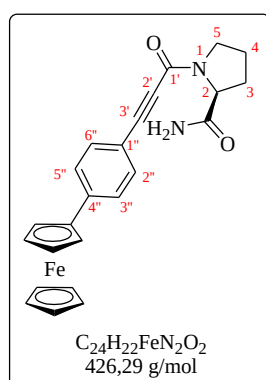


292 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej O** z wydajnością 91% (304 mg) wychodząc z 260 mg (0,788 mmola) **288**, 90 mg (0,788 mmola) (*S*)-**277**, 109 mg (134 μ l, 0,866 mmola) DIC, 106 mg (0,787 mmola) HOBt i 3,94 ml DMF. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując

jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-5% MeOH. **T.t.** 101-102°C; mieszanina rotamerów, rotamer A-główny, **¹H NMR (DMSO-*d*₆)** δ 7,75 (s, 0,4H, CH_{Ar}); 7,70-7,68 (m, 2,3H, CH_{Ar}, rotamer A i B); 7,45-7,36 (m, 2,5H, CH_{Ar}, rotamer A i B); 7,26 (br. s, 0,6H, NH, rotamer A); 7,00 (br. s, 0,4H, NH, rotamer B); 4,89 (t, $J=1,7$ Hz, 0,8H, Cp); 4,88-4,87 (m, 1,2H, Cp); 4,59 (dd, $J=8,6$; 3,3 Hz, 0,6H, H-2, rotamer A); 4,39 (t, $J=1,8$ Hz, 2H, Cp); 4,27 (dd, $J=8,5$; 3,8 Hz, 0,4H, H-3, rotamer B); 4,02 (s, 2,8H, Cp); 4,03 (s, 2,1H, Cp); 3,83-3,78 (m, 0,9H, H-5, rotamer B); 3,53-3,49 (m, 0,6H, H-5, rotamer A); 3,48-3,43 (m, 0,6H, H-5, rotamer A); 2,32-2,26 (m, 0,6H, H-3, rotamer A); 2,19-2,15 (m, 0,4H, H-3, rotamer B); 1,97-1,91 (m, 1,2H, H-3 rotamer A, H-4, rotamer B), 1,88-1,84 (m, 2,1H, H-4, rotamer A i B); **¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆)** δ 173,7 (C=O, rotamer A); 172,8 (C=O, rotamer B); 152,9 (C=O, C-1', rotamer A); 151,5 (C=O, C-1', rotamer B); 140,2; 140,1; 129,7; 129,5; 129,2; 129,0; 128,9; 127,9; 127,9 (CH_{Ar}); 119,8 (C_{Ar}); 88,1; 87,5; 83,0; 83,0; 82,7; 82,6 (C-2'/3'/Cp_{ipso}); 69,5; 69,3; 66,5; 66,4 (Cp); 61,2 (C-2,

rotamer A); 59,0 (C-2, rotamer B); 48,8 (C-5, rotamer B); 46,1 (C-5, rotamer A); 31,0 (C-3, rotamer A); 30,0 (C-3, rotamer B); 23,7 (C-4, rotamer B); 22,8 (C-4, rotamer A); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 3320, 3185, 3090, 2953, 2922, 2874, 2211, 1683, 1617, 1409, 1105, 796, 501, 487; **ESI-MS** (m/z) obliczone dla $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{FeN}_2\text{O}_2$: 426,1; znaleziona: 426,0 $[\text{M}]^+$; **Analiza elementarna** obliczona dla $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{FeN}_2\text{O}_2$: C 67,62; H 5,20; N 6,57; znaleziona: C 67,46; H 5,48; N 6,67%.

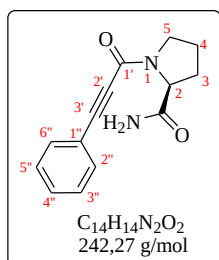
(S)-1-[3-(4-ferrocenylofenylo)-propynoi]-prolinamid 293



293 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej O** z wydajnością 72% (149 mg) wychodząc z 161 mg (0,488 mmola) **289**, 56 mg (0,488 mmola) **(S)-277**, 68 mg (83 μl , 0,536 mmola) DIC, 66 mg (0,488 mmola) HOBt i 2,44 ml DMF. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-2% MeOH. **T.t.** 99-100°C; mieszanina rotamerów, rotamer A-główny, **^1H NMR (DMSO- d_6)** δ 7,67 (br. s, 0,6H, NH, rotamer A); 7,62-7,59 (m, 2,1H, H-3'', H-5'', rotamer A i B); 7,53 (d, $J=8,3$ Hz, 0,9H, H-2'', H-6'', rotamer B); 7,50 (d, $J=8,3$ Hz, 1,2H, H-2'', H-6'', rotamer A); 7,44 (br. s, 0,4H, NH, rotamer B); 7,22 (br. s, 0,6H, NH, rotamer A); 7,00 (br. s, 0,4H, NH, rotamer B); 4,89-4,88 (m, 2,1H, Cp, rotamer A i B); 4,56 (dd, $^3J_{\text{H-H}}=8,6$; 3,3 Hz, 0,6H, H-2, rotamer A); 4,43-4,42 (m, 2,1H, Cp, rotamer A i B); 4,26 (dd, $^3J_{\text{H-H}}=8,6$; 3,7 Hz, 0,4H, H-2, rotamer B); 4,03 (s, 2,2H, Cp, rotamer B); 4,02 (m, 2,8H, Cp, rotamer A); 3,81-3,74 (m, 0,8H, H-6, rotamer B); 3,52-3,42 (m, 1,2H, H-6, rotamer A); 2,30-2,24 (m, 0,6H, H-3, rotamer A); 2,20-2,13 (m, 0,5H, H-3, rotamer B); 1,97-1,91 (m, 1,2H, H-3 rotamer A, H-4 rotamer B), 1,88-1,83 (m, 2,1H, H-4, rotamer A i B); **$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (DMSO- d_6)** δ 173,6 (C=O, rotamer A); 172,8 (C=O, rotamer B); 152,1 (C=O, C-1', rotamer A); 151,7 (C=O, C-1', rotamer B); 142,3 (C-1''); 142,3 (C-1''); 132,5 (C-2'', C-6'', rotamer A); 132,3 (C-2'', C-6'', rotamer B); 126,0 (C-3'', C-5''); 125,9 (C-3'', C-5''); 116,5 (C-4''); 116,4 (C-4''); 88,6; 88,0 (C-2'/3'); 83,0; 82,9; 82,9 (C-2'/3'/Cp_{ipso}); 69,7; 69,6; 66,7 (Cp); 61,1 (C-2, rotamer A); 59,0 (C-2, rotamer B); 48,4 (C-5, rotamer B); 46,1 (C-5, rotamer A); 31,0 (C-3, rotamer A); 30,0 (C-3, rotamer B); 23,7 (C-4, rotamer B); 22,8 (C-4, rotamer A); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 3307, 3185, 3088, 2923, 2875, 2205, 1693, 1617, 1601, 1524, 1409, 1105; **ESI-MS** (m/z) obliczone

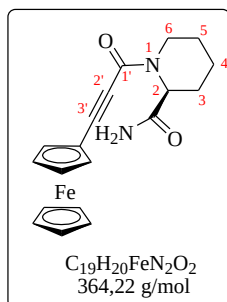
dla $C_{24}H_{22}FeN_2O_2$: 426,1; znalezione: 426,1 $[M]^+$; **Analiza elementarna** obliczona dla $C_{24}H_{22}FeN_2O_2$: C 67,62; H 5,20; N 6,57; znaleziona: C 67,57; H 5,38; N 6,39%.

(S)-1-(3-fenylopropynoilo)-prolinamid 294¹⁶⁴



294 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej O** otrzymując 817 mg produktu zanieczyszczonego *N,N'*-diizopropylomocznikiem wychodząc z 500 mg (3,43 mmola) **290**, 391 mg (3,43 mmola) **(S)-277**, 475 mg (583 μ l, 3,76 mmola) DIC, 462 mg (3,43 mmola) HOBt i 17,1 ml DMF. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-4% MeOH. **T.t.** 203-204°C; mieszanina rotamerów, rotamer A-główny, 1H NMR (**DMSO-*d*₆**) δ 7,65-7,62 (m, 1,4H, CH_{Ar}); 7,60-7,58 (m, 1,2H, CH_{Ar}); 7,54-7,50 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,48-7,44 (m, 2,4H, CH_{Ar}); 7,19 (br. s, 0,6H, NH, rotamer A); 7,00 (br. s, 0,4H, NH, rotamer B); 4,54 (dd, $J=8,7$; 3,4 Hz, 0,6H, H-2, rotamer A); 4,26 (dd, $J=8,6$; 3,8 Hz, 0,4H, H-2, rotamer B); 3,79-3,73 (m, 0,9H, H-5, rotamer B); 3,51-3,41 (m, 1,2H, H-5, rotamer A); 2,30-2,23 (m, 0,6H, H-3, rotamer A); 2,18-2,13 (m, 0,4H, H-3, rotamer B); 1,95-1,90 (m, 1H, H-3 rotamer A, H-4 rotamer B), 1,89-1,82 (m, 2H, H-4, rotamer A i B); $^{13}C\{^1H\}$ NMR (**DMSO-*d*₆**) δ 173,5 (C=O, rotamer A); 172,8 (C=O, rotamer B); 151,9 (C=O, C-1', rotamer A); 151,5 (C=O, C-1', rotamer B); 132,4; 132,2; 130,5; 129,0; 128,9 (CH_{Ar}); 119,7 (2x C_{Ar}); 87,8; 87,3; 82,9; 82,8 (C-2'/C-3'); 61,1 (C-2, rotamer A); 59,0 (C-2, rotamer B); 48,4 (C-5, rotamer B); 46,1 (C-5, rotamer A); 31,0 (C-3, rotamer A); 30,0 (C-3, rotamer B); 23,7 (C-4); 22,8 (C-4); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 3382, 3281, 3194, 2203, 1698, 1664, 1591, 1428, 1403, 1347, 1289, 761, 735, 695; **ESI-MS (*m/z*)** obliczone dla $C_{14}H_{14}N_2O_2$: 242,1; znalezione: 243,0 $[M+H]^+$; **Analiza elementarna** obliczona dla $C_{14}H_{14}N_2O_2$: C 69,41; H 5,82; N 11,56; znaleziona: C 69,24; H 5,94; N 11,81%.

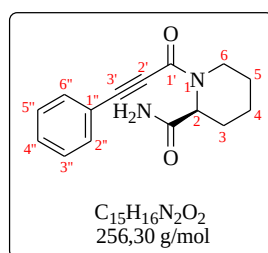
(S)-1-(3-ferrocenylopropynoilo)-pipekolinamid 310



311 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej O** z wydajnością 56% (160 mg) wychodząc z 200 mg (0,787 mmola) **276**, 101 mg (0,787 mmola) **306**, 109 mg (134 μ l, 0,866 mmola) DIC, 106 mg (0,787 mmola) HOBt i 3,94 ml DMF. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-2% MeOH. **T.t.** >221°C rozkład; mieszanina

rotamerów, rotamer A-główny, ^1H NMR (**DMSO-*d*₆**) δ 7,58 (br. s, 0,4H, NH, rotamer B); 7,43 (br. s, 0,6H, NH, rotamer A); 7,29 (br. s, 0,4H, NH, rotamer B); 7,15 (br. s, 0,6H, NH, rotamer A); 4,94-4,93 (m, 0,6H, H-2, rotamer A); 4,90-4,89 (m, 0,4H, H-2, rotamer B); 4,66 (br. s, 1,6H, Cp); 4,63 (br. s, 0,5H, Cp); 4,43-4,41 (m, 2,1H, Cp); 4,29 (s, 2,7H, Cp); 4,26 (s, 2,4H, Cp); 4,25-4,20 (m, 0,9H, H-6, rotamer A i B); 3,41-3,31 (m, 0,6H, H-6, rotamer A, nałożony z pikiem od wody); 2,91-2,86 (m, 0,4H, H-6, rotamer B); 2,25-2,23 (m, 0,4H, H-3, rotamer B); 2,15-2,13 (m, 0,6H, H-3, rotamer A); 1,72-1,64 (m, 2,6H, H-4, H-5, rotamer A i B), 1,52-1,48 (m, 0,6H, H-3, rotamer A), 1,42-1,24 (m, 2,2H, H-4, H-5, rotamer A i B); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (**DMSO-*d*₆**) δ 171,9 (C=O, rotamer B); 171,6 (C=O, rotamer A); 154,0 (C=O, C-1', rotamer B); 153,5 (C=O, C-1', rotamer A); 91,2; 91,1; 78,7; 78,5 (C-2'/3'); 72,2; 72,0; 71,9 (Cp, Cp_{ipso}); 70,1; 70,1; 70,0; 60,8; 60,5 (Cp); 57,3 (C-2, rotamer B); 51,6 (C-2, rotamer A); 44,8 (C-6, rotamer A); 39,1 (C-6, rotamer B); 27,6 (C-3, rotamer B); 26,8 (C-3, rotamer A); 24,9 (C-4); 24,0 (C-4); 20,4 (2xC-5, rotamer A i B); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 3326, 3169, 2937, 2203, 1686, 1610, 1428, 1391, 1016; **ESI-MS** (m/z) obliczone dla $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{FeN}_2\text{O}_2$: 364,1; znalezione: 364,1 $[\text{M}]^+$; **Analiza elementarna** obliczona dla $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{FeN}_2\text{O}_2$: C 62,66; H 5,54; N 7,69; znaleziona: C 62,57; H 5,45; N 7,69%.

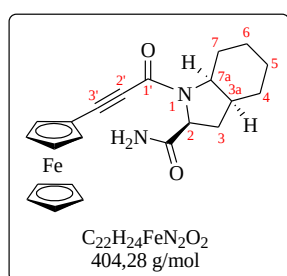
(S)-1-(3-fenylopropynoilo)-pipekolinamid 311



311 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej O** otrzymując 562 mg produktu zanieczyszczzonego *N,N'*-diizopropylomocznikiem wychodząc z 250 mg (1,71 mmola) **290**, 219 mg (1,71 mmola) **306**, 238 mg (330 μl , 1,88 mmola) DIC, 231 mg (1,71 mmola) HOBT i 8,6 ml DMF. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-2% MeOH. **T.t.** 175-176°C; mieszanina rotamerów, rotamer A-główny, ^1H NMR (**DMSO-*d*₆**) δ 7,63-7,60 (m, 2,4H, CH_{Ar}); 7,54-7,51 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,48-7,46 (m, 2,6H, CH_{Ar}); 7,25 (br. s, 0,4H, NH, rotamer B); 7,18 (br. s, 0,6H, NH, rotamer A); 4,99 (d, $J=4,1$ Hz, 0,4H, H-2, rotamer B); 4,95 (d, $J=4,2$ Hz, 0,6H, H-2, rotamer A); 4,27 (t, $J=11,1$ Hz, 1H; H-6, rotamer A i B); 3,42 (t, $J=13,0$ Hz, 0,6H; H-6, rotamer A); 2,95 (t, $J=12,7$ Hz, 0,4H; H-6, rotamer B); 2,22-2,15 (m, 1H, H-3, rotamer A i B); 1,72-1,63 (m, 2,5H, H-4, H-5, rotamer A i B), 1,54-1,50 (m, 0,6H, H-3, rotamer A), 1,44-1,27 (m, 2,1H, H-4, H-5, rotamer A i B); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (**DMSO-*d*₆**) δ 171,9 (C=O, rotamer B); 171,5 (C=O,

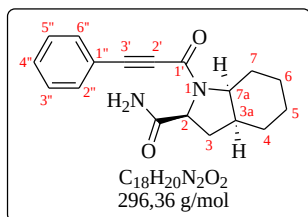
rotamer A); 153,6 (C=O, C-1', rotamer B); 153,2 (C=O, C-1', rotamer A); 132,3; 132,2; 130,5; 130,4; 129,0; 128,9 (CH_{Ar}); 119,7; 119,6 (C_{Ar}); 89,8; 89,5; 81,8; 81,5 (C-2'/C-3'); 57,3 (C-2, rotamer B); 51,8 (C-2, rotamer A); 44,9 (C-6, rotamer A); 39,1 (C-6, rotamer B); 27,7 (C-3, rotamer B); 26,8 (C-3, rotamer A); 25,0 (C-4); 24,0 (C-4); 20,4 (C-5); 20,3 (C-5); **IR** (KBr, v, cm⁻¹) 3382, 3179, 2947, 2215, 1686, 1616, 1428, 1392, 761, 692; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla C₁₅H₁₆N₂O₂: 256,1; znalezione: 257,1 [M+H]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₁₅H₁₆N₂O₂: C 70,29; H 6,29; N 10,93; znaleziona: C 70,19; H 6,33; N 11,03%.

(2*S*,3*aS*,7*aS*)-1-(3-ferrocenylopropynoilo)-oktahydro-1*H*-indolokarboksyamid 312



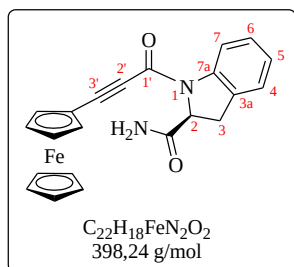
312 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej T** otrzymując 280 mg produktu zanieczyszczzonego *N,N'*-diizopropylomocznikiem wychodząc z 230 mg (0,905 mmola) **276**, 152 mg (0,905 mmola) **307**, 126 mg (154 µl, 1,00 mmola) DIC, 122 mg (0,905 mmola) HOBT i 4,50 ml DMF. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-2% MeOH. **T.t.** 216-217°C; mieszanina rotamerów, rotamer A-główny, **¹H NMR (DMSO-*d*₆)** δ 7,62 (br. s, 0,4H, NH, rotamer B); 7,40 (br. s, 0,6H, NH, rotamer A); 7,17 (br. s, 0,4H, NH, rotamer B); 6,95 (br. s, 0,6H, NH, rotamer B); 4,63 (t, ³J_{H-H}=1,8 Hz, 1H, Cp, rotamer A); 4,60 (t, ³J_{H-H}=1,8 Hz, 1H, Cp, rotamer B); 4,43-4,42 (m, 1,5H, Cp i H-2, rotamer B); 4,40-4,39 (m, 1H, Cp); 4,29 (s, 5H, Cp, rotamer A i B); 4,18 (dd, ³J_{H-H}=9,8; 8,0 Hz, 0,6H, H-2, rotamer A); 4,07-4,03 (m, 0,6H, H-7a, rotamer A); 3,99-3,95 (m, 0,4H, H-7a, rotamer B); 2,38-2,35 (m, 0,6H, H-3a, rotamer A); 2,27-2,23 (m, 0,4H, H-3a, rotamer B); 2,21-2,18 (m, 0,4H, H-3a, rotamer B); 2,09-2,02 (m, 1,2H, CH₂); 1,94-1,86 (m, 1,5H, CH₂); 1,71-1,56 (m, 3,8H, CH₂); 1,46-1,36 (m, 1,5H, CH₂); 1,29-1,19 (m, 1,8H, CH₂); 1,15-1,08 (m, 0,6H, CH₂); **¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆)** δ 173,4 (C=O); 172,6 (C=O); 152,2 (C=O, C-1'); 151,0 (C=O, C-1'); 89,3; 87,6; 79,7; 72,1 (2xCp); 72,0; 71,8; 70,2; 70,0; 69,9 (2xCp); 60,9 (C-2); 60,8; 60,6; 59,1 (C-2); 58,9 (C-2); 56,4 (C-7a); 36,0 (C-3a); 35,2 (C-3a); 32,6; 31,9; 27,8; 26,1; 25,2 (2x); 23,3; 20,0; 19,8 (CH₂); **IR** (KBr, v, cm⁻¹) 3409, 3143, 2924, 2223, 1686, 1674, 1617, 1398; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla C₂₂H₂₄FeN₂O₂: 404,1; znalezione: 405,1 [M+H]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₂₂H₂₄FeN₂O₂: C 65,36; H 5,98; N 6,93; znaleziona: C 60,67; H 5,92; N 7,10%.

(2*S*,3*aS*,7*aS*)-1-(3-fenylpropynoilo)-oktahydro-1*H*-indolokarboksyamid 313



312 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej O** otrzymując 648 mg produktu zanieczyszczonego *N,N'*-diizopropylomocznikiem wychodząc z 300 mg (2,05 mmola) **290**, 345 mg (2,05 mmola) **307**, 285 mg (350 μ l, 2,26 mmola) DIC, 277 mg (2,05 mmola) HOBt i 10,0 ml DMF. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-3% MeOH. **T.t.** 195-196°C; mieszanina rotamerów, rotamer A-główny, **¹H NMR (DMSO-*d*₆)** δ 7,65 (br. s, 0,4H, NH, rotamer B); 7,60-7,58 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,54-7,44 (m, 3,5H, CH_{Ar}, NH); 7,21 (br. s, 0,4H, NH, rotamer B); 6,98 (br. s, 0,6H, NH, rotamer A); 4,50 (dd, ³*J*_{H-H}=9,5; 8,1 Hz, 0,4H, H-2, rotamer B); 4,23 (dd, ³*J*_{H-H}=9,7; 8,1 Hz, 0,6H, H-2, rotamer A); 4,13-4,09 (m, 0,6H, H-7a, rotamer A); 4,02-3,98 (m, 0,4H, H-7a, rotamer B); 2,38-2,35 (m, 0,6H, H-3a, rotamer A); 2,29-2,25 (m, 0,4H, H-3a, rotamer B); 2,21-2,17 (m, 0,4H); 2,10-2,06 (m, 0,6H); 2,00-1,98 (m, 0,6H); 1,95-1,91 (m, 1,5H); 1,67-1,57 (m, 3,6H); 1,43-1,9 (m, 1,5H); 1,28-1,18 (m, 1,6H); 1,16-1,09 (m, 0,5H); **¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆)** δ 173,4 (C=O); 172,4 (C=O); 151,9 (C=O, C-1'); 150,7 (C=O, C-1'); 132,4; 132,1; 130,4 (2x); 129,0; 128,8 (CH_{Ar}); 119,9; 199,7 (C_{Ar}); 87,4; 86,3; 82,7 (2x); 60,7 (C-2); 59,2 (C-7a); 59,0 (C-2); 56,6 (C-7a); 36,1 (C-3a); 35,2 (C-3a); 32,5 (C-3); 31,3 (C-3); 27,7 (CH₂); 26,0 (CH₂); 25,1 (2xCH₂); 23,3; 23,2; 20,0; 19,8 (CH₂); **IR** (KBr, ν , cm⁻¹) 3382, 3200, 2941, 2926, 2208, 1667, 1597, 1420, 767; **ESI-MS (*m/z*)** obliczone dla C₁₈H₂₀N₂O₂: 296,2; znalezione: 297,1 [M]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₁₈H₂₀N₂O₂: C 72,95; H 6,80; N 9,45; znaleziona: C 72,78; H 6,79; N 9,53%.

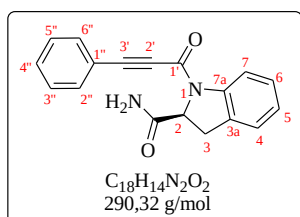
(*S*)-1-(3-ferrocenylpropynoilo)-2,3-dihydro-1*H*-indolo-2-karboksyamid 314



314 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej O** otrzymując 399 mg produktu zanieczyszczonego *N,N'*-diizopropylomocznikiem wychodząc z 240 mg (0,945 mmola) **276**, 153 mg (0,945 mmola) **308**, 131 mg (161 μ l, 1,04 mmola) DIC, 128 mg (0,945 mmola) HOBt i 4,70 ml DMF. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-2% MeOH. **T.t.** >220°C rozkład; mieszanina rotamerów, rotamer A-główny, **¹H NMR (DMSO-*d*₆)** δ 8,03 (d, *J*=8,0 Hz,

0,9H, CH_{Ar}); 7,84 (s, 0,8H, CH_{Ar}); 7,33 (s, 0,8H, CH_{Ar}); 7,24 (d, $J=7,3$ Hz, 0,8H, CH_{Ar}); 7,20 (d, $J=7,7$ Hz, 0,8H, CH_{Ar}); 7,04 (t, $J=7,3$ Hz, 0,8H, CH_{Ar}); 5,13 (dd, $J=11,1$; 3,3 Hz, 0,8H, H-2, rotamer A); 4,95 (dd, $J=11,0$; 3,0 Hz, 0,1H, H-2, rotamer B); 4,80 (br. s, 0,1H, Cp, rotamer B); 4,76 (br. s, 0,1H, Cp, rotamer B); 4,70 (br. s, 1,5H, Cp, rotamer A); 4,52 (br. s, 0,2H, Cp, rotamer B); 4,46-4,45 (m, 1,6H, Cp, rotamer A); 4,35 (s, 0,4H, Cp, rotamer B); 4,32 (s, 3,6H, Cp, rotamer A); 3,67 (dd, $J=16,6$; 11,2 Hz, 0,8H, H-3, rotamer A); 3,47 (dd, $J=16,7$; 11,2 Hz, 0,1H, H-3, rotamer B); 3,06 (dd, $J=16,7$; 3,0 Hz, 0,8H, H-3, rotamer A); 2,95 (d, $J=16,7$; 3,5 Hz, 0,1H, H-3, rotamer B); ¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆) δ 172,7 (C=O); 151,3 (C=O, C-1'); 142,5 (C_{Ar}); 130,6 (C_{Ar}); 127,2; 124,8; 123,9; 115,9 (CH_{Ar}); 91,0; 80,1; 72,5; 72,3; 70,4; 70,3; 70,2 (Cp); 61,8 (C-2); 33,8 (C-3); IR (KBr, ν , cm⁻¹) 3408, 3319, 3180, 2204, 1691, 1669, 1625, 1592, 1482, 1461, 1386, 1371, 751; ESI-MS (*m/z*) obliczone dla C₂₂H₁₈FeN₂O₂: 398,1; znaleziona: 398,1 [M]⁺; Analiza elementarna obliczona dla C₂₂H₁₈FeN₂O₂: C 65,36; H 5,98; N 6,93; znaleziona: C 60,67; H 5,92; N 7,10%.

(S)-1-(3-fenylopropynoilo)-2,3-dihydro-1*H*-indolo-2-karboksyamid 315

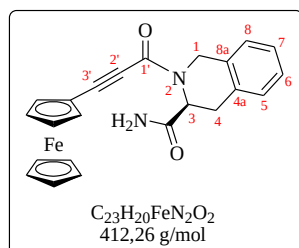


315 zsyntezowałam wg procedury ogólnej **O** otrzymując 853 mg produktu zanieczyszczonego *N,N'*-diizopropylomocznikiem wychodząc z 300 mg (2,05 mmola) **290**, 333 mg (2,05 mmola) **308**, 285 mg (350 μ l, 2,26 mmola) DIC, 277 mg (2,05 mmola) HOBt i 10,0 ml DMF. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-2% MeOH. T.t. 255-256°C; mieszanina rotamerów, rotamer A-główny, ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 8,03 (d, $J=8,0$ Hz, 0,9H, CH_{Ar}); 7,99 (d, $J=8,0$ Hz, 0,1H, CH_{Ar}); 7,86 (s, 0,9H, CH_{Ar}); 7,72 (d, $J=7,6$ Hz, 0,2H, CH_{Ar}); 7,68 (d, $J=7,6$ Hz, 1,8H, CH_{Ar}); 7,56 (t, $J=7,4$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,49 (t, $J=7,4$ Hz, 1,8H, CH_{Ar}); 7,33 (br. s, 0,9H, NH, rotamer A); 7,30 (br. s, 0,1H, NH, rotamer B); 7,25 (d, $J=7,3$ Hz, 0,9H, CH_{Ar}); 7,22 (t, $J=7,7$ Hz, 0,9H, CH_{Ar}); 7,14 (br. s, 0,1H, NH, rotamer B); 7,07 (t, $J=7,3$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 5,24 (d, $J=10,9$ Hz, 0,9H, H-2, rotamer A); 5,00 (d, $J=10,7$ Hz, 0,1H, H-2, rotamer B); 3,67 (dd, $J=16,5$; 11,3 Hz, 0,9H, H-3, rotamer A); 3,49 (dd, $J=16,4$; 11,0 Hz, 0,1H, H-3, rotamer B); 3,07 (d, $J=16,7$ Hz, 0,9H, H-3, rotamer A); 3,07 (d, $J=16,6$ Hz, 0,1H, H-3, rotamer B); ¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆) δ 172,7 (C=O); 151,0 (C=O, C-1'); 142,3 (C_{Ar}); 132,6; 132,2; 130,9; 130,8; 129,2; 129,2; 128,9; 127,3; 124,8; 124,3 (CH_{Ar}); 119,4; 116,1

(C_{Ar}); 88,5; 82,8; (C-2'/C-3'); 61,8 (C-2); 33,7 (C-3); **IR** (KBr, ν , cm⁻¹) 3397, 3351, 3188, 2214, 1679, 1629, 1593, 1492, 1484, 1441, 752, 686; **ESI-MS** (m/z) obliczone dla C₁₈H₁₄N₂O₂: 290,1; znalezione: 291,1 [M+H]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₁₈H₁₄N₂O₂: C 74,47; H 4,86; N 9,65; znaleziona: C 72,25; H 4,81; N 9,59%.

(S)-2-(3-ferrocenylopropynoilo)-1,2,3,4-tetrahydro-izochinolino-3-karboksyamid

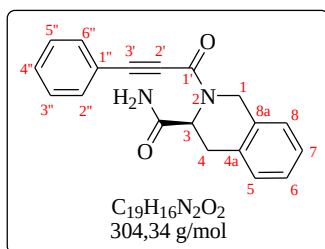
316



316 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej O** otrzymując 395 mg produktu zanieczyszczonego *N,N'*-diizopropylomocznikiem wychodząc z 240 mg (0,945 mmola) **276**, 167 mg (0,945 mmola) **309**, 131 mg (161 μ l, 1,04 mmola) DIC, 128 mg (0,945 mmola) HOBT

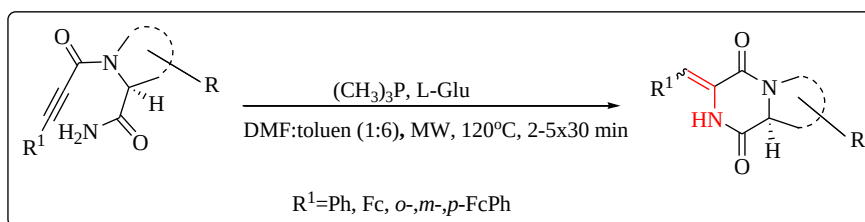
i 4,70 ml DMF. Produkt oczyściłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-3% MeOH. **T.t.** 187-188°C; mieszanina rotamerów, rotamer A-główny, **¹H NMR (DMSO-*d*₆)** δ 7,60 (br. s, 0,6H, NH, rotamer A); 7,48 (br. s, 0,4H, NH, rotamer B); 7,30 (br. s, 0,4H, NH, rotamer B); 7,22-7,17 (m, 4,9H, CH_{Ar}); 7,04 (br. s, 0,4H, NH, rotamer B); 5,05-5,03 (m, 1,1H, H-3 rotamer A, H-1); 4,86-4,83 (m, 0,5H, H-3 rotamer B); 4,79-4,72 (m, 2H, Cp, H-1); 4,68-4,65 (m, 1,3H, Cp); 4,52 ($J=17,9$ Hz, 0,8H, H-1, rotamer A); 4,45 (m, 2,2H, Cp); 4,33 (s, 2H, Cp); 4,28 (s, 3H, Cp); 3,26-3,25 (m, 1,4H, H-4, rotamer A), 3,12-3,10 (m, 0,8H, H-4, rotamer B); **¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆)** δ 171,9 (C=O, rotamer A); 171,7 (C=O, rotamer B); 154,0 (C=O, C-1', rotamer A); 153,5 (C=O, C-1', rotamer B); 133,4; 133,3; 132,9; 132,6; 132,2 (C_{Ar}); 128,0; 127,9; 127,0; 126,7; 126,5 (2x); 126,2; 125,9; 127,0; 126,8; 126,6; 126,5; 126,2; 126,1 (CH_{Ar}); 91,7; 91,1; 79,0; 78,9 (C-2'/C-3'); 72,3; 72,1 (2x); 72,0; 70,1 (4x); 60,6; 60,3(Cp_{ipso}); 56,4 (C-3, rotamer A); 52,5 (C-3, rotamer B); 46,8 (C-1, rotamer B); 43,4 (C-1, rotamer A); 31,9 (C-4, rotamer A); 30,9 (C-4, rotamer B); **IR** (KBr, ν , cm⁻¹) 3398, 3026, 2219, 1689, 1623, 1611, 1585, 1390; **ESI-MS** (m/z) obliczone dla C₂₃H₂₀FeN₂O₂: 412,1; znalezione: 412,0 [M]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₂₃H₂₀FeN₂O₂: C 67,01; H 4,89; N 6,80; znaleziona: C 66,90; H 4,99; N 6,90%.

(S)-2-(3-fenylopropynoilo)-1,2,3,4-tetrahydro-izochinolino-3-karboksyamid 317



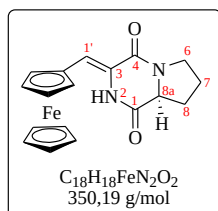
317 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej O** otrzymując 1,15 g produktu zanieczyszczonego *N,N'*-diizopropylomocznikiem wychodząc z 300 g (2,05 mmola) **290**, 362 mg (2,05 mmola) **309**, 285 mg (350 μ l, 2,26 mmola) DIC, 277 mg (2,05 mmola) HOBt i 10,0 ml DMF. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-3% MeOH. **T.t.** 229-230°C; mieszanina rotamerów, rotamer A-główny, **1H NMR (DMSO- d_6)** δ 7,72 (d, $J=7,5$ Hz, 0,9H, CH_{Ar}); 7,63 (d, $J=7,7$ Hz, 1,7H, CH_{Ar}); 7,57-7,47 (m, 3,6H, CH_{Ar}); 7,32 (br. s, 0,4H, NH, rotamer B); 7,21-7,20 (m, 3,7H, CH_{Ar}); 7,15 (br. s, 0,6H, NH, rotamer A); 7,06 (br. s, 0,4H, NH, rotamer B); 5,14 (t, $J=4,7$ Hz, 0,6H, H-3, rotamer A); 5,10 (d, $J=15,8$ Hz, 0,4H, H-1, rotamer B); 4,88 (t, $J=5,2$ Hz, 0,4H, H-3, rotamer B); 4,83 (d, $J=15,8$ Hz, 0,4H, H-1, rotamer B); 4,77 (d, $J=16,9$ Hz, 0,6H, H-1, rotamer A); 4,56 (d, $J=17,0$ Hz, 0,6H, H-1, rotamer A); 3,28-3,22 (m, 1,2H, H-4, rotamer A), 3,17-3,10 (m, 0,9H, H-4, rotamer B); **$^{13}C\{^1H\}$ NMR (DMSO- d_6)** δ 171,9 (C=O, rotamer A); 171,5 (C=O, rotamer B); 153,7 (C=O, C-1', rotamer A); 153,3 (C=O, C-1', rotamer B); 133,3; 131,2 (C_{Ar}); 132,8; 132,6; 132,4 (2x); 130,6 (2x), 129,0; 128,9; 127,9 (2x); 127,0; 126,8; 126,6; 126,5; 126,2; 126,1 (CH_{Ar}); 119,6; 119,5 (C_{Ar}); 90,1; 89,2; 81,9; 81,8 (C-2'/C-3'); 56,5 (C-2, rotamer A); 52,6 (C-2, rotamer B); 46,8 (C-1, rotamer B); 43,4 (C-1, rotamer A); 32,0 (C-4, rotamer A); 30,9 (C-4, rotamer B); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 3400, 3217, 2217, 1686, 1617, 1427, 762, 727, 691; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla $C_{19}H_{16}N_2O_2$: 304,1; znalezione: 305,1 $[M+H]^+$; **Analiza elementarna** obliczona dla $C_{19}H_{16}N_2O_2$: C 74,98; H 5,30; N 9,20; znaleziona: C 74,76; H 5,38; N 9,33%.

Procedura ogólna P – synteza analogów tryprostatyny A – cyklizacja amidów



1,00 eq amidu ($C_{\text{amidu}} = 0,090 \text{ mol/l}$) i 1,00 eq kwasu L-glutaminowego rozpuściłam w mieszaninie toluen-DMF (6:1, v/v) w szklanym naczyniu przeznaczonym do reakcji w reaktorze mikrofalowym. Następnie dodałam 0,20-0,30 eq Me_3P (roztwór o stężeniu 1 mol/l w THF) i umieściłam naczynie w reaktorze mikrofalowym. Prowadziłam reakcję w cyklach 30 minutowych w temperaturze 120°C . Rozpuszczalniki usunęłam pod zmniejszonym ciśnieniem, a produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej.

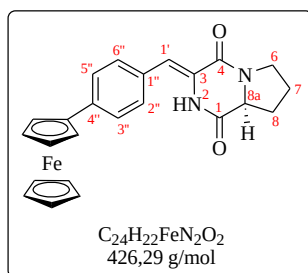
(S,Z)-3-ferrocylideno-heksahydro-pirololo[1,2-a]pirazyno-1,4-dion 273



(S,Z)-273 zsyntezowałam wg procedury ogólnej P z wydajnością 54% (74 mg) wychodząc z 138 mg (0,395 mmola) **278**, 58 mg (0,395 mmola) L-Glu, 140 μl (0,140 mmola) Me_3P w 4,40 ml mieszaniny toluen-DMF (6:1, v/v) przez 30 minut. Produkt

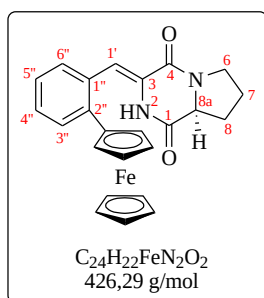
wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-2% MeOH. T.t. $>220^\circ\text{C}$ rozkład; $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 9,29 (br. s, 1H, H-2); 6,48 (s, 1H, H-1''); 4,65 (t, $^3J_{\text{H-H}} = 2,6 \text{ Hz}$, 2H, Cp); 4,42-4,41 (m, 1H, Cp); 4,39-4,38 (m, 1H, Cp); 4,34 (dd, $^3J_{\text{H-H}} = 9,4; 6,5 \text{ Hz}$, 1H, H-8a); 4,17 (s, 5H, Cp); 3,55-3,50 (m, 1H, H-6); 3,47-3,43 (m, 1H, H-6); 2,24-2,20 (m, 1H, H-8); 1,96-1,83 (m, 3H, H-8, H-7); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 166,5 (C-1); 158,5 (C-4); 125,9 (C-3); 114,7 (C-1'); 77,0 (Cp_{ipso}); 69,9 (Cp); 69,6 (Cp); 69,6 (Cp); 69,2 (Cp); 69,2 (Cp); 58,2 (C-8a); 45,0 (C-6); 28,0 (C-8); 21,6 (C-7); IR (KBr, ν , cm^{-1}) 3085, 2928, 2883, 1686, 1628, 1441, 1382; LC-MS (ESI, m/z) obliczone dla $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{FeN}_2\text{O}_2$: 350,1; Znaleziono: 350,0 $[\text{M}]^+$; Analiza elementarna obliczona dla $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{FeN}_2\text{O}_2$: C 61,74; H 5,18; N 8,00 znaleziona: C 61,57; H 5,25; N 8,09%; R_f (HPLC) $\tau = 1,221 \text{ min}$ (Metoda LC-MS-2), $\tau = 13,0 \text{ min}$ (Metoda AN-4), $\tau = 25,0 \text{ min}$ (80%) (S,Z), $\tau = 25,0 \text{ min}$ (20%) (R,Z) (Metoda AN-5). Wychodząc z (R)-prolinamidu otrzymałam analogicznie (R,Z)-273

(S,Z)-3-(4-ferrocenylo-benzylideno)-heksahydro-pirololo[1,2-a]pirazyno-1,4-dion 275



(S,Z)-275 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej P** z wydajnością 37% (134 mg) wychodząc z 362 mg (0,849 mmola) **293**, 125 mg (0,849 mmola) L-Glu, 240 μ l (0,240 mmola) Me_3P w 7,00 ml mieszaniny toluen-DMF (6:1, v/v) przez 60 minut. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-2% MeOH. Wyizolowałam dwie frakcje, F1 (126 mg, **(S,Z)**) i F2 (12,6 mg, **(S,E)**). **T.t.** >230°C rozkład; Analizy **(S,Z)-275**: 1H NMR (**DMSO- d_6**) δ 10,06 (br. s, 1H, NH); 7,55 (d, $^3J_{H-H}=8,3$ Hz, 2H, H-3'', H-5''); 7,47 (d, $^3J_{H-H}=8,3$ Hz, 2H, H-2'', H-6''); 6,66 (s, 1H, H-1'); 4,84-4,83 (m, 2H, Cp); 4,39 (dd, $^3J_{H-H}=9,5$; 6,5 Hz, 1H, H-8a); 4,38 (t, $^3J_{H-H}=1,8$ Hz, 2H, Cp); 4,04 (s, 5H, Cp); 3,57-3,53 (m, 1H, H-6); 3,49-3,45 (m, 1H, H-6); 2,24-2,20 (m, 1H, H-8); 1,96-1,83 (m, 3H, H-7, H-8); $^{13}C\{^1H\}$ NMR (**DMSO- d_6**) δ 167,2 (C-1); 158,8 (C-2); 139,1 (C-1'); 130,9 (C-4''); 129,4 (C-2'', C-6''); 127,8 (C-3); 125,8 (C-3'', C-5''); 114,9 (C-1'); 84,0 (C_{ipso}); 69,4 (Cp); 69,2 (Cp); 69,2 (Cp); 66,4 (Cp); 66,3 (Cp); 58,2 (C-8a); 45,1 (C-6); 27,9 (C-8); 21,6 (C-7); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 3282, 1686, 1664, 1623, 1605, 1434, 1386, 842, 827, 809, 512, 485; **LC-MS (ESI, m/z)** obliczone dla $C_{24}H_{22}FeN_2O_2$: 426,1; znalezione: 426,1 $[M]^+$; **Analiza elementarna** obliczona dla $C_{24}H_{22}FeN_2O_2$: C 67,62; H 5,20; N 6,57 znaleziona: C 67,45; H 5,28; N 6,57%; **R_f** (HPLC) $\tau=4,748$ min (Metoda **LC-MS-2**), $\tau=16,8$ min (Metoda **AN-4**), $\tau=30,4$ min (33%) **(S,Z)**, $\tau=55,7$ min (67%) **(R,Z)** (Metoda **AN-5**). Wychodząc z (R)-prolinamidu otrzymałam analogicznie **(R,Z)-275**.

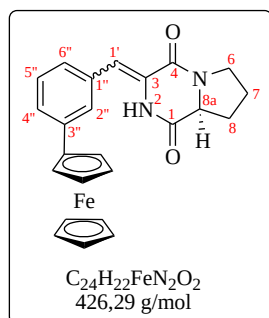
(S,Z)-3-(2-ferrocenylo-benzylideno)-heksahydro-pirololo[1,2-a]pirazyno-1,4-dion 295



(S,Z)-295 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej P** z wydajnością 21% (82 mg) w przeliczeniu na ilość użytego **287**, wychodząc z 278 mg (0,652 mmola) **291**, 96 mg (0,652 mmola) L-Glu, 165 μ l (0,165 mmola) Me_3P w 7,00 ml mieszaniny toluen-DMF (6:1, v/v) przez 150 minut. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-3% MeOH. **T.t.** >135°C rozkład; 1H NMR (**DMSO- d_6**) δ 9,93 (br. s, 1H, NH); 7,63-7,62 (s, 1H, H-3''); 7,50-7,49 (m, 1H, H-6''); 7,28-7,24 (m, 3H, H-4'', H-5'', H-1'); 4,63-4,62 (m, 1H, Cp); 4,49-4,48 (m, 1H, Cp); 4,41 (dd, $^3J_{H-H}=9,8$; 6,9 Hz, 1H,

H-8a); 4,40-4,38 (m, 2H, Cp); 4,20 (s, 5H, Cp); 3,63-3,59 (m, 1H, H-6); 3,52-3,48 (m, 1H, H-6); 2,25-2,21 (m, 1H, H-8); 1,96-1,84 (m, 3H, H-7, H-8); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (**DMSO-*d*₆**) δ 166,7 (C-1); 158,6 (C-4); 137,9 (C-1''); 131,2 (C-2''); 129,4 (C-3''); 129,2 (C-6''); 128,1 (C-3); 127,6 (C-4'' lub C-5''); 126,0 (C-4'' lub C-5''); 115,0 (C-1'); 84,9 (C_{ipso}); 70,5 (Cp); 69,4 (Cp); 69,0 (Cp); 68,3 (Cp); 67,6 (Cp); 58,4 (C-8a); 45,1 (C-6); 28,2 (C-8); 21,7 (C-7); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 3191, 3081, 2955, 2874, 1694, 1629, 1435, 1382, 766, 742; **LC-MS (ESI, *m/z*)** obliczone dla $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{FeN}_2\text{O}_2$: 426,1; znalezione: 426,1 $[\text{M}]^+$; **Analiza elementarna** obliczona dla $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{FeN}_2\text{O}_2$: C 67,62; H 5,20; N 6,57 znaleziona: C 67,56; H 5,48; N 6,56%; **R_f** (HPLC) τ =3,755 min (Metoda **LC-MS-2**), τ =16,2 min (Metoda **AN-4**), τ =23,9 min (93%) (**S,Z**), τ =59,5 min (7%) (**R,Z**) (Metoda **AN-5**). Wychodząc z (*R*)-prolinamidu otrzymałam analogicznie (**R,Z**)-**295**.

(**S,Z**)- oraz (**S,E**)-3-(3-ferrocenylo-benzylideno)-heksahydro-pirololo[1,2-a]pirazyno-1,4-dion **296**

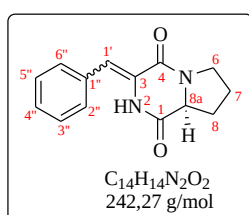


(**S,Z**)-**296** zsyntezowałam wg procedury ogólnej **P** z sumaryczną wydajnością 56% (113 mg **F1 (S,Z)**, wydajność 42% i 36 mg **F2 (S,E)** wydajność 14%) wychodząc z 271 mg (0,635 mmola) **292**, 93,4 mg (0,635 mmola) L-Glu, 180 μl (0,180 mmola) Me_3P w 7,00 ml mieszaniny toluen-DMF (6:1, v/v) przez 90 minut. Produkty wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej

na żelu krzemionkowym stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-5% MeOH. **T.t.** $>205^\circ\text{C}$ rozkład; **F1** ^1H NMR (**DMSO-*d*₆**) δ 10,03 (br. s, 1H, NH); 7,65 (s, 1H, H-2''); 7,48-7,46 (m, 1H, H-5''); 7,40-7,38 (m, 1H, H-6''); 7,32 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,7$ Hz, 1H, H-4''); 6,71 (s, 1H, H-1'); 4,82 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,8$ Hz, 2H, Cp); 4,42 (dd, $^3J_{\text{H-H}}=9,4$; 6,5 Hz, 1H, H-8a); 4,35 (t, $^3J_{\text{H-H}}=1,8$ Hz, 2H, Cp); 4,04 (s, 5H, Cp); 3,58-3,54 (m, 1H, H-6); 3,50-3,46 (m, 1H, H-6); 2,24-2,20 (m, 1H, H-8); 1,97-1,84 (m, 3H, H-7, H-8); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (**DMSO-*d*₆**) δ 167,2 (C-1); 158,6 (C-4); 139,4 (C-3''); 133,6 (C-1''); 128,6 (C-3); 128,5 (C-4''); 127,0 (C-2''); 126,6 (C-6''); 125,6 (C-5''); 114,9 (C-1'); 84,5 (C_{ipso}); 69,4 (Cp); 68,9 (Cp); 68,9 (Cp); 66,5 (Cp); 66,4 (Cp); 58,2 (C-8a); 45,2 (C-6); 27,9 (C-8); 21,6 (C-7); **F2** ^1H NMR (**DMSO-*d*₆**) δ 10,40 (br. s, 1H, NH); 7,71 (s, 1H); 7,39-7,38 (m, 1H); 7,32-7,31 (m, 1H); 7,20 (t, $J=7,7$ Hz, 1H); 6,38 (s, 1H); 4,72 (br. s, 2H, Cp); 4,39 (dd, $J=8,8$; 7,0 Hz, 1H); 4,34-4,32 (m, 2H, Cp); 4,05 (s, 5H, Cp); 3,54-3,50 (m, 1H); 3,45-3,41 (m, 1H); 2,23-2,20 (m, 1H); 1,93-1,80 (m, 3H); **F1 IR** (KBr,

ν , cm^{-1}) 3176, 3082, 2929, 2887, 1690, 1672, 1633, 1439, 1390, 805, 696; **F1 LC-MS (ESI, m/z)** obliczone dla $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{FeN}_2\text{O}_2$: 426,1; znalezione: 426,1 $[\text{M}]^+$; **F2 LC-MS (ESI, m/z)** obliczone dla $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{FeN}_2\text{O}_2$: 426,1; znalezione: 426,1 $[\text{M}]^+$; **F1 Analiza elementarna** obliczona dla $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{FeN}_2\text{O}_2$: C 67,62; H 5,20; N 6,57 znaleziona: C 65,87; H 5,61; N 5,83%; **R_f** (HPLC) **F1** τ =4,870 min, **F2** τ =4,570 min (Metoda **LC-MS-2**), **F1** τ =16,8 min, **F2** τ =16,4 min (Metoda **AN-4**), **F1** τ =22,2 min (22%) (**S,Z**), τ =39,0 min (78%) (**R,Z**) (metoda **AN-5**), **F2** τ =20,5 min (9%) (**R,E**), τ =36,3 min (91%) (**S,E**) (Metoda **AN-5**). Wychodząc z (*R*)-prolinamidu otrzymałam analogicznie (**R,Z**)-**296**.

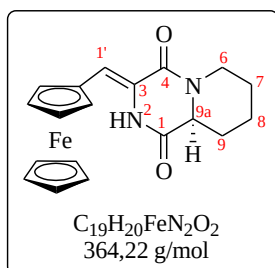
(S,Z) oraz (S,E)-3-Benzylideno-heksahydro-pirollo[1,2-a]pirazyno-1,4-dion 297¹⁶⁴



(S,Z)-297 zsyntezowałam wg procedury ogólnej **P** z sumaryczną wydajnością 47% (162 mg **F1 (S,Z)** wydajność 39%, 31,5 mg **F2 (S,E)** wydajność 8%) w przeliczeniu na ilość użytego **290**, wychodząc z 320 mg (1,32 mmola) **294**, 194 mg (1,32 mmola) L-Glu, 264 μl (0,264 mmola) Me_3P w 14,7 ml mieszaniny toluen-DMF (6:1, v/v) przez 60 minut. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-3% MeOH. **T.t.** 162-163°C rozkład; **F1** **¹H NMR (DMSO- d_6)** δ 10,04 (br. s, 1H, NH); 7,54 (d, $^3J_{\text{H-H}}=7,4$ Hz, 2H, H-2'', H-6''); 7,40 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,7$ Hz, 2H, H-3'', H-5''); 7,30 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,4$ Hz, 1H, H-4''); 6,67 (s, 1H, H-1'); 4,39 (dd, $^3J_{\text{H-H}}=9,5$; 6,6 Hz, 1H, H-8a); 3,57-3,52 (m, 1H, H-6); 3,48-3,44 (m, 1H, H-6); 2,23-2,19 (m, 1H, H-8); 1,96-1,82 (m, 3H, H-7, H-8); **F1** **¹³C{¹H} NMR (DMSO- d_6)** δ 167,7 (C-1); 159,0 (C-2); 134,0 (C-1''); 129,8 (C-2'', C-6''); 129,1 (C-3'', C-5'', C-3); 128,4 (C-4''); 115,1 (C-1'); 58,7 (C-8a); 45,6 (C-6); 28,4 (C-8); 22,1 (C-7); **F2** **¹H NMR (DMSO- d_6)** δ 10,38 (br. s, 1H, NH); 7,51 (d, $^3J_{\text{H-H}}=7,5$ Hz, 2H, H-2'', H-6''); 7,27 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,5$ Hz, 2H, H-3'', H-5''); 7,22 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,3$ Hz, 1H, H-4''); 6,35 (s, 1H, H-1'); 4,36 (dd, $^3J_{\text{H-H}}=9,0$; 6,9 Hz, 1H, H-8a); 3,52-3,48 (m, 1H, H-6); 3,43-3,39 (m, 1H, H-6); 2,21-2,18 (m, 1H, H-8); 1,92-1,85 (m, 3H, H-7, H-8); **F2** **¹³C{¹H} NMR (DMSO- d_6)** δ 167,3 (C-1); 157,4 (C-2); 134,2 (C-1''); 129,9 (C-2'', C-6''); 128,8 (C-3); 127,6 (C-3'', C-5''); 127,3 (C-4''); 119,2 (C-1''); 58,4 (C-8a); 45,3 (C-6); 28,3 (C-8); 21,7 (C-8); **F1 IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 3176, 3146, 3106, 2980, 1694, 1616, 1451, 1383, 1308, 695; **F1 LC-MS (ESI, m/z)** obliczone dla $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$: 242,1; znalezione: 243,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$; **F1 Analiza elementarna** obliczona dla $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$: C 69,41; H 5,82; N 11,56 znaleziona: C 69,34; H 5,76; N 11,69%; **F1 R_f** (HPLC) **F1** τ =0,654 min, **F2** τ =0,628 min

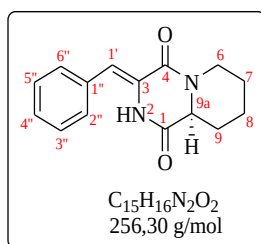
(Metoda **LC-MS-2**), **F1** τ =6,3 min, **F2** τ =5,1 min (Metoda **AN-4**), **F1** τ =14,2 min (26%) (**R,Z**), τ =22,9 min (74%) (**S,Z**) (metoda **AN-5**), **F2** τ =20,8 min (10%) (**R,E**), τ =36,1 min (90%) (**S,E**) (Metoda **AN-5**). Wychodząc z (*R*)-prolinamidu zsyntezowałam analogicznie (**S,Z**)-**297**.

(**S,Z**)-3-ferrocylideno-heksahydro-pirydo[1,2-a]pirazyno-1,4-dion **318**



(**S,Z**)-**318** zsyntezowałam wg procedury ogólnej **P** z wydajnością 52% (148 mg) wychodząc z 317 mg (0,870 mmola) **310**, 128 mg (0,870 mmola) L-Glu, 174 μ l (0,174 mmola) Me_3P w 9,70 ml mieszaniny toluen-DMF (6:1, v/v) przez 60 minut. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-2% MeOH. **T.t.** 183-184°C; **1H NMR (DMSO- d_6)** δ 9,06 (br. s, 1H, NH); 6,53 (s, 1H, H-1'); 4,64-4,63 (m, 2H, Cp); 4,51-4,48 (m, 1H, H-6); 4,41-4,39 (m, 2H, Cp); 4,18 (s, 5H, Cp); 4,12 (dd, $^3J_{H-H}$ =12,1; 2,9 Hz, 1H, H-9a); 2,61 (dt, $^2J_{H-H}$ =13,0Hz, $^3J_{H-H}$ =2,8 Hz, 1H, H-6); 2,17-2,13 (m, 1H, H-9); 1,89-1,85 (m, 1H, H-7); 1,69-1,65 (m, 1H, H-8); 1,62-1,54 (m, 1H, H-7); 1,50-1,44 (m, 1H, H-9); 1,38-1,30 (m, 1H, H-8); **$^{13}C\{^1H\}$ NMR (DMSO- d_6)** δ 164,8 (C-1); 156,9 (C-4); 123,7 (C-3); 113,5 (C-1'); 76,9 (Cp_{ipso}); 69,6 (Cp); 69,6 (Cp); 69,4 (Cp); 69,2 (Cp); 69,1 (Cp); 58,6 (C-9a); 42,3 (C-6); 30,5 (C-9); 24,4 (C-8); 23,6 (C-7); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}) 3273, 3087, 2934, 2850, 1689, 1626, 1424, 1405, 742, 482; **LC-MS (ESI, m/z)** obliczone dla $C_{19}H_{20}FeN_2O_2$: 364,1; znalezione: 364,0 $[M]^+$; **Analiza elementarna** obliczona dla $C_{19}H_{20}FeN_2O_2$: C 62,66; H 5,54; N 7,69 znaleziona: C 62,76; H 5,61; N 7,84%; **R_f** (HPLC) τ =1,721 min (Metoda **LC-MS-2**), τ =14,7 min (Metoda **AN-4**), τ =52,1 min (99%) (**S,Z**) (Metoda **AN-5**).

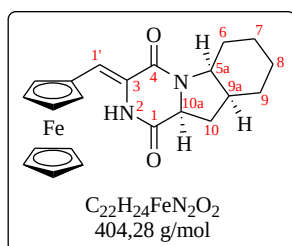
(**S,Z**)-3-Benzylideno-heksahydro-pirydo[1,2-a]pirazyno-1,4-dion **319**



(**S,Z**)-**319** zsyntezowałam wg procedury ogólnej **P** z wydajnością 26% (116 mg) wychodząc z 400 mg (1,56 mmola) **311**, 230 mg (1,56 mmola) L-Glu, 310 μ l (0,310 mmola) Me_3P w 15,0 ml mieszaniny toluen-DMF (6:1, v/v) przez 60 minut. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-3% MeOH. **T.t.** 135-136°C; **1H NMR (DMSO- d_6)** δ 9,88 (br. s, 1H, NH); 7,46 (d, $^3J_{H-H}$ =7,4 Hz, 2H, H-2'', H-6''); 7,46 (d, $^3J_{H-H}$ =7,4 Hz, 2H, H-2'', H-6'');

7,40 (t, $^3J_{\text{H-H}}=5,2$ Hz, 2H, H-3'', H-5''); 7,30 (t, $^3J_{\text{H-H}}=7,4$ Hz, 1H, H-4''); 6,77 (s, 1H, H-1'); 4,53-4,50 (m, 1H, H-6); 4,14 (dd, $^3J_{\text{H-H}}=12,0$; 2,9 Hz, 1H, H-9a); 2,64 (dt, $^2J_{\text{H-H}}=13,0$ Hz; $^3J_{\text{H-H}}=2,9$ Hz, 1H, H-6); 2,15-2,12 (m, 1H, H-9); 1,89-1,85 (m, 1H, H-8); 1,70-1,66 (m, 1H, H-7); 1,62-1,54 (m, 1H, H-8); 1,52-1,45 (m, 1H, H-9); 1,39-1,31 (m, 1H, H-7); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (DMSO- d_6) δ 165,5 (C-1); 157,0 (C-4); 133,5 (C-1''); 129,1 (C-2'', C-6''); 128,7 (C-3'', C-5''); 127,8 (C-4''); 125,9 (C-3); 114,1 (C-1'); 58,7 (C-9a); 45,4 (C-6); 30,6 (C-9); 24,4 (C-7); 23,6 (C-8); IR (KBr, ν , cm^{-1}) 3196, 3085, 2967, 2932, 2858, 1690, 1627, 1443, 1406, 1273, 761, 693; LC-MS (ESI, m/z) obliczone dla $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$: 256,1; znalezienie: 257,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$; Analiza elementarna obliczona dla $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$: C 70,29; H 6,29; N 10,93 znaleziona: C 70,32; H 6,34; N 11,05%; R_f (HPLC) $\tau=0,891$ min (Metoda LC-MS-2), $\tau=11,2$ min (Metoda AN-4), $\tau=16,2$ min (99%) (S,Z) (Metoda AN-5).

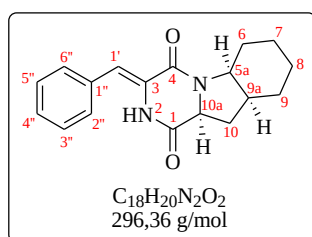
(5aS,9aS,10aS,Z)-3-ferrocylideno-dekahydro-pirazyno[1,2-a]indolo-1,4-dion 320



(5aS,9aS,10aS,Z)-320 zsyntezowałam wg procedury ogólnej U z wydajnością 20% (68 mg) wychodząc z 347 mg (0,859 mmola) 312, 126 mg (0,859 mmola) L-Glu, 172 μl (0,172 mmola) Me_3P w 9,50 ml mieszaniny toluen:DMF (6:1, v/v) przez 120 minut. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-2% MeOH. Związek w postaci mieszaniny diastereoizomerów o konfiguracji (5aS,9aS,10aS,Z)-A, (5aS,9aS,10aR,Z)-B, ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 9,38 (br. s, 0,7H, NH); 9,30 (br. s, 0,3H, NH); 6,47 (s, 0,7H, H-1', A); 6,45 (s, 0,3H, H-1', B); 4,65 (br. s, 1H, Cp, A i B); 4,63-4,62 (m, 1H, Cp, A i B); 4,51 (dd, $^3J_{\text{H-H}}=9,9$; 4,4 Hz; 0,4H, H-10a, B); 4,40-4,37 (m, 3H, Cp A i B, H-10a A); 4,16 (s, 1,6H, Cp, A i B); 4,15 (s, 3,3H, Cp, A i B); 4,06-4,02 (m, 0,4H, H-5a, B); 3,94-3,90 (m, 0,7H, H-5a, A); 2,36-2,35 (m, 0,7H, H-9a, A); 2,30-2,27 (m, 0,3H, H-9a, B); 2,20-2,13 (m, 1H, H-6 A, H-10 B); 2,10-2,02 (m, 1H, H-10 A); 1,97-1,93 (m, 0,7H, H-10, A); 1,80-1,71 (m, 1H, H-6 B, H-9 A); 1,70-1,58 (m, 2,6H, H-9 A, H-6 B); 1,54-1,52 (m, 0,8H, H-7, A); 1,45-1,27 (m, 2,7H, CH_2); 1,23-1,04 (m, 2H, CH_2); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (DMSO- d_6) δ 167,7 (C-1); 167,1 (C-1); 159,5 (C-4); 158,4 (C-4); 129,6; 126,2; 126,0 (C_{Ar}); 116,0 (C-1'); 115,7 (C-1'); 77,1 (2x); 70,2; 69,8; 69,7; 69,6 (2x); 69,4; 69,3; 69,2 (Cp); 58,2 (C-10a); 56,7 (C-5a); 55,6 (C-10a); 55,4 (C-5a); 34,6 (C-9a); 34,4 (C-9a); 28,9 (C-10); 28,3 (C-10); 27,3 (C-6); 25,5 (C-9); 25,3 (C-9); 25,3 (C-6); 22,8 (C-7); 22,6

(CH₂); 20,7 (C-8); 19,9 (CH₂); **IR** (KBr, ν, cm⁻¹) 3200, 3092, 2969, 2929, 2586, 1689, 1666, 1615, 1444, 1386, 1376, 484; **LC-MS (ESI, m/z)** obliczone dla C₂₂H₂₄FeN₂O₂: 404,3; znaleziona: 404,3 [M]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₂₂H₂₄FeN₂O₂: C 65,36; H 5,98; N 6,93 znaleziona: C 65,41; H 6,06; N 7,07%; **R_f** (HPLC) τ=5,304 min (55%) τ=6,445 min (45%) (Metoda **LC-MS-2**), τ=15,8 min (62%) (**S,Z**) τ=16,1 min (34%) (**R,Z**) (Metoda **AN-4**).

(5aS,9aS,10aS,Z)-3-Benzylideno-dekahydro-pirazyno[1,2-a]indolo-1,4-dion 321



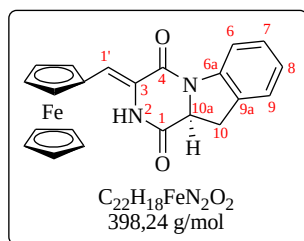
(5aS,9aS,10aS,Z)-321 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej**

U z wydajnością 36% (216 mg) wychodząc z 586 mg (1,98 mmola) **313**, 291 mg (1,98 mmola) L-Glu, 395 μl (0,395 mmola) Me₃P w 17,0 ml mieszaniny toluen:DMF (6:1, v/v) przez 60 minut. Produkt wydzieliłam za pomocą

chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-2% MeOH. Związek w postaci mieszaniny diastereoizomerów o konfiguracji (**5aS,9aS,10aS,Z**)-A, (**5aS,9aS,10aR,Z**)-B, ¹H NMR (**DMSO-d₆**) δ 10,05 (br. s, 1H, NH); 7,55 (d, ³J_{H-H}=7,4 Hz, 2H, H-2'', H-6'', A i B); 7,40 (t, ³J_{H-H}=5,2 Hz, 2H, H-3'', H-5'', A i B); 7,30 (t, ³J_{H-H}=7,4 Hz, 1H, H-4'', A i B); 6,66 (s, 0,7H, H-1', A); 6,66 (s, 0,3H, H-1', B); 4,59 (dd, ³J_{H-H}=9,8; 4,4 Hz, 0,3H, H-10a, B); 4,48 (dd, ³J_{H-H}=10,6; 6,5 Hz, 0,7H, H-10a, A); 4,10-4,06 (m, 0,3H, H-5a, B); 3,97-3,93 (m, 0,7H, H-5a, A); 2,38-2,27 (m, 0,8H, H-9a, A); 2,31-2,27 (m, 0,3H, H-9a, B); 2,20-2,17 (m, 1H, H-6, A); 2,13-2,09 (m, 0,3H, H-10, B); 2,09-2,03 (m, 0,8H, H-10, A); 1,98-1,94 (m, 0,8H, H-10, A); 1,80-1,71 (m, 1H, CH₂); 1,68-1,53 (m, 2,5H, CH₂); 1,47-1,27 (m, 2,5H, CH₂); 1,23-1,13 (m, 1H, CH₂); 1,11-1,04 (m, 0,8H, H-6, A); ¹³C{¹H} NMR (**DMSO-d₆**) δ 169,9 (C-1); 167,7 (C-1); 159,4 (C-4); 158,5 (C-4); 133,6; 133,6 (C_{Ar}); 129,4; 129,3; 129,0; 128,7; 128,6; 128,0 (2xCH_{Ar}); 115,5 (2xC-1'); 58,2 (C-10a, A); 56,8 (C-5a); 55,7 (C-10a); 55,6 (C-5a); 34,6 (C-9a); 34,4 (C-9a); 28,8 (C-10); 28,3 (C-10); 27,2 (C-6); 25,4 (C-9); 25,3 (C-9); 25,2 (CH₂); 22,8 (C-7); 22,5 (C-7); 20,6 (CH₂); 20,0 (CH₂); **IR** (KBr, ν, cm⁻¹) 3191, 3080, 2927, 2908, 2852, 1695, 1670, 1629, 1433, 1393, 1375, 699; **LC-MS (ESI, m/z)** obliczone dla C₁₈H₂₀N₂O₂: 296,2; znaleziona: 297,1 [M+H]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₁₈H₂₀N₂O₂: C 72,95; H 6,80; N 9,45 znaleziona: C 73,00; H 6,89; N 9,55%; **R_f** (HPLC) τ=1,363 min (64%) τ=1,624 min (34%) (Metoda **LC-MS-2**), τ=13,3

min (73%) $\tau=13,8$ min (26%) (Metoda AN-4), $\tau=8,7$ min (28%) (5a*S*,9a*S*,10a*R*,*Z*), $\tau=44,4$ min (72%) (5a*S*,9a*S*,10a*S*,*Z*) (Metoda AN-5).

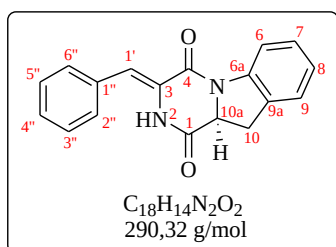
(*S,Z*)-3-ferrocylideno-2,3,10,10a-tetrahydro-pirazyno[1,2-*a*]indolo-1,4-dion 322



(*S,Z*)-322 zsyntezowałam wg procedury ogólnej P z wydajnością 17% (65 mg) wychodząc z 80 mg (0,201 mmola) **314**, 30 mg (0,201 mmola) L-Glu, 201 μ l (0,201 mmola) Me₃P w 2,30 ml mieszaniny toluen-DMF (6:1, v/v) przez 30 minut. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej

stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-2% MeOH. T.t. >220°C rozkład; ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 9,62 (br. s, 1H, NH); 8,05 (d, ³J_{H-H}=7,9 Hz, 1H, H-6); 7,35 (d, ³J_{H-H}=7,4 Hz, 1H, H-9); 7,26 (t, ³J_{H-H}=7,7 Hz, 1H, H-7), 7,11 (td, ³J_{H-H}=7,4 Hz, ⁴J_{H-H}=0,8 Hz, 1H, H-8); 6,71 (s, 1H, H-1'); 5,19 (t, ³J_{H-H}=10,1 Hz, 1H, H-10a); 4,74-4,73 (m, 1H, Cp); 4,71-4,70 (m, 1H, Cp); 4,47-4,46 (m, 1H, Cp); 4,44-4,43 (m, 1H, Cp); 4,20 (s, 5H, Cp); 3,40-3,30 (m, 2H, H-10); ¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆) δ 166,1 (C-1); 158,3 (C-4); 141,5 (C-9a); 130,1 (C-6a); 127,5 (C-7); 125,3 (C-3); 125,2 (C-9); 124,4 (C-8); 118,1 (C-1'); 115,2 (C-6); 76,7 (C_pipso); 70,5 (Cp); 70,1 (Cp); 70,0 (Cp); 69,5 (Cp); 69,4 (Cp); 59,3 (C-6); 30,3 (C-10); IR (KBr, ν , cm⁻¹) 3193, 3087, 1687, 1630, 1482, 1463, 1402, 751, 488; LC-MS (ESI, *m/z*) obliczone dla C₂₂H₁₈FeN₂O₂: 398,1; znalezione: 398,0 [M]⁺; Analiza elementarna obliczona dla C₂₂H₁₈FeN₂O₂: C 66,35; H 4,56; N 7,03; znaleziona: C 66,25; H 4,63; N 7,14%; R_f (HPLC) $\tau=4,242$ min (Metoda LC-MS-2), $\tau=17,4$ min (Metoda AN-4), $\tau=24,7$ min (100%) (*S,Z*) (Metoda AN-5).

(*S,Z*)-3-Benzylideno-2,3,10,10a-tetrahydro-pirazyno[1,2-*a*]indolo-1,4-dion 323

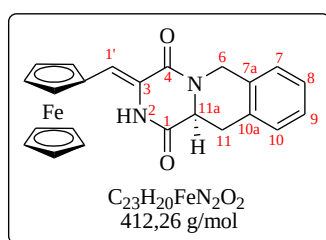


(*S,Z*)-323 zsyntezowałam wg procedury ogólnej P z wydajnością 23% (138 mg) wychodząc z 210 mg (0,723 mmola) **315**, 106 mg (0,723 mmola) L-Glu, 145 μ l (0,145 mmola) Me₃P w 8,00 ml mieszaniny toluen-DMF (6:1, v/v) przez 60 minut. Produkt wydzieliłam za pomocą

chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-3% MeOH. T.t. 235-236°C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 10,36 (br. s, 1H, NH); 8,07 (d, ³J_{H-H}=7,7 Hz, 1H, H-6); 7,62 (d, ³J_{H-H}=7,4 Hz, 2H, H-2'', H-6''); 7,43 (t, ³J_{H-H}=7,7 Hz, 2H, H-3'', H-5''); 7,36-7,33 (m, 2H, H-4'', H-9); 7,27 (t, ³J_{H-H}=7,7 Hz,

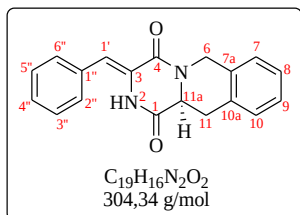
1H, H-7); 7,14-7,11 (m, 1H, H-8); 6,88 (s, 1H, H-1'); 5,25 (t, $^3J_{H-H}=10,1$ Hz, 1H, H-10a); 3,40-3,31 (m, 2H, H-10); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (DMSO- d_6) δ 166,7 (C-1); 158,2 (C-4); 141,3 (C-6a); 133,3 (C-1''); 130,2 (C-9a); 129,6 (C-2'', C-6''); 128,6 (C-3'', C-5''); 128,3 (C-4''); 128,2 (C-3); 127,5 (C-7); 125,2 (C-9); 124,7 (C-8); 117,1 (C-1'); 115,3 (C-6); 59,3 (C-10a); 30,3 (C-10); IR (KBr, ν , cm^{-1}) 3310, 3059, 1697, 1670, 1618, 1598, 1497, 1481, 1397, 757, 684, 401; LC-MS (ESI, m/z) obliczone dla $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$: 290,1; znaleziona: 291,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 289,9 $[\text{M}]^-$; Analiza elementarna obliczona dla $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$: C 74,47; H 4,86; N 9,65 znaleziona: C 74,24; H 4,95; N 9,57%; R_f (HPLC) $\tau=1,863$ min (Metoda LC-MS-2), $\tau=15,4$ min (Metoda AN-4), $\tau=14,4$ min (27%) (R,Z), $\tau=25,6$ min (71%) (S,Z) (Metoda AN-5).

(S,Z)-3-ferrocylideno-2,3,11,11a-tetrahydro-6H-pirazyno[1,2-b]izochinolono-1,4-dion 324



(S,Z)-324 zsyntezowałam wg procedury ogólnej P z wydajnością 41% (155 mg) wychodząc z 300 mg (0,728 mmola) 316, 107 mg (0,728 mmola) L-Glu, 300 μl (0,300 mmola) Me_3P w 8,00 ml mieszaniny toluen-DMF (6:1, v/v) przez 30 minut. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-2% MeOH. Wyizolowałam dwie frakcje, F1 (0,164 g) i F2 (0,0163 g). T.t. 230-231°C; ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 9,31 (br. s, 1H, NH); 7,28-7,20 (m, 4H, H-7, H-8, H-9, H-10); 6,59 (s, 1H, H-1'); 5,23 (d, $^2J_{H-H}=17,2$ Hz, 1H, H-6); 4,68-4,67 (m, 2H, Cp); 4,50 (dd, $^3J_{H-H}=12,1$; 3,9 Hz, 1H, H-11a); 4,43-4,41 (m, 2H, Cp); 4,35 (d, $^2J_{H-H}=17,2$ Hz, 1H, H-6); 4,19 (s, 5H, Cp); 3,28 (dd, $^2J_{H-H}=16,1$ Hz, $^3J_{H-H}=3,9$ Hz, 1H, H-11); 3,07 (dd, $^2J_{H-H}=15,8$ Hz, $^3J_{H-H}=12,3$ Hz, 1H, H-11); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (DMSO- d_6) δ 164,6 (C-1); 157,7 (C-4); 132,5 (C-7a); 132,2 (C-10a); 128,7 (C-10); 126,6 (C-7/C-8/C-9); 126,6 (C-7/C-8/C-9); 126,3 (C-7/C-8/C-9); 123,5 (C-3); 114,5 (C-1'); 76,8 (Cp_{ipso}); 69,7 (Cp); 69,5 (Cp); 69,5 (Cp); 69,2 (Cp); 55,3 (C-11a); 44,1 (C-6), 32,7 (C-11); IR (KBr, ν , cm^{-1}) 3255, 3080, 1679, 1622, 1433, 1399, 746, 483; LC-MS (ESI, m/z) obliczone dla $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{FeN}_2\text{O}_2$: 412,1; znaleziona: 412,0 $[\text{M}]^+$; Analiza elementarna obliczona dla $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{FeN}_2\text{O}_2$: C 67,01; H 4,89; N 6,80 znaleziona: C 66,98; H 4,90; N 6,92%; R_f (HPLC) $\tau=4,307$ min (Metoda LC-MS-2), $\tau=17,1$ min (Metoda AN-4), $\tau=47,5$ min (99%) (S,Z) (Metoda AN-5).

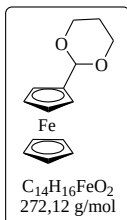
(S,Z)-3-Benzylideno-2,3,11,11a-tetrahydro-6H-pirazyno[1,2-b]izochinolino-1,4-dion 325



(S,Z)-325 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej P** z wydajnością 18% (113 mg) wychodząc z 600 mg (1,97 mmola) **317**, 290 mg (1,97 mmola) L-Glu, 394 μ l (0,394 mmola) Me₃P w 21,9 ml mieszaniny toluen-DMF (6:1, v/v) przez 60 minut. Produkt wydzieliłam za pomocą chromatografii kolumnowej stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-3% MeOH. **T.t.** 230-231°C; **¹H NMR (DMSO-*d*₆)** δ 10,14 (br. s, 1H, NH); 7,51 (d, ³J_{H-H}=7,6 Hz, 2H); 7,41 (d, ³J_{H-H}=7,6 Hz, 2H); 7,32-7,20 (m, 5H); 6,81 (s, 1H); 5,22 (d, ²J_{H-H}=17,2 Hz, 1H); 4,52 (dd, ³J_{H-H}=12,0; 3,8 Hz, 1H); 4,40 (d, ²J_{H-H}=17,2 Hz, 1H); 3,27 (dd, ²J_{H-H}=16,0 Hz, ³J_{H-H}=3,6 Hz, 1H); 3,09 (dd, ²J_{H-H}=15,4 Hz, ³J_{H-H}=12,5 Hz, 1H); **¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆)** δ 165,2 (C=O); 158,0 (C=O); 133,4; 132,5; 132,1; 129,2; 128,6; 128,6; 127,9; 126,7; 126,6; 126,3; 126,0 (C_{Ar}); 114,7 (CH); 55,3 (CH); 44,3 (CH₂); 32,7 (CH₂); **IR** (KBr, ν , cm⁻¹) 3207, 3047, 2905, 1683, 1669, 1624, 1383, 750, 695; **LC-MS (ESI, *m/z*)** obliczone dla C₁₉H₁₆N₂O₂: 304,1; znalezione: 305,1 [M+H]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₁₉H₁₆N₂O₂: C 74,98; H 5,30; N 9,20 znaleziona: C 74,88; H 5,32; N 9,44%; **R_f** (HPLC) τ =1,832 min (Metoda **LC-MS-2**), τ =15,1 min (Metoda **AN-4**), τ =15,0 min (97%) (**S,Z**), τ =19,3 min (3%) (**R,Z**) (Metoda **AN-5**).

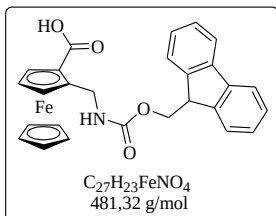
8.4 Synteza analogów kwasu foliowego i metotreksatu

2-ferrocenylo-1,3-dioksan **341**¹⁶⁹



Do roztworu 10,0 g (46,7 mmola, 1,00 eq) ferrocenokarboksyaldehydu w 250 ml toluenu dodałam 17,8 g (16,9 ml, 234 mmola, 5,00 eq) 1,3-propanodiolu i 710 mg (3,74 mmola, 0,08 eq) *p*-TsOH. Mieszaninę reakcyjną ogrzewałam do wrzenia z nasadką destylacyjną Deana-Starka przez 18 h. Po ochłodzeniu mieszaniny reakcyjnej dodałam 200 ml wody i produkt wyekstrahowałam toluenem (3x200 ml). Połączone warstwy organiczne przemyłam solanką, suszyłam nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu, a po odsączeniu środka suszącego usunęłam rozpuszczalnik na wyparce otrzymując produkt **341** z wydajnością 93% (11,8 g), który wykorzystałam do dalszych syntez bez oczyszczania. **¹H NMR (DMSO-*d*₆)** δ 4,26 (t, ³*J*_{H-H}=1,8 Hz, 2H, Cp); 4,17 (s, 5H, Cp); 4,12 (t, ³*J*_{H-H}=1,8 Hz, 2H, Cp); 4,10-4,07 (m, 2H, CH₂); 3,90-3,86 (m, 2H, CH₂); 1,96-1,90 (m, 1H); 1,40-1,38 (m, 1H).

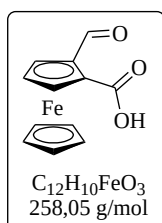
Kwas *rac*-2-(*N*-Fmoc-aminometylo)-1-ferrocenokarboksylowy **347**



Do roztworu 2,05 g (7,51 mmola, 1,00 eq) **350** w 15,0 ml MeOH dodałam 2,95 g (45,1 mmola, 6,00 eq) sproszkowanego cynku (<10 μ m), 3,79 g (60,1 mmola, 8,00 eq) mrówczanu amonu i otrzymaną mieszaninę ogrzewałam pod chłodnicą zwrotną przez 16 h. Mieszaninę reakcyjną przesączyłam przez Celit[®] i odparowałam do sucha, otrzymując kwas *rac*-2-(aminometylo)ferrocenokarboksylowy. Do roztworu otrzymanego kwasu w 50,0 ml wody i 50,0 ml ACN dodałam 2,33 g (9,01 mmola, 1,10 eq) Fmoc-Cl oraz 4,00 g (37,5 mmola, 5,00 eq) węglanu sodu i mieszałam w temperaturze pokojowej przez 20 h. Następnie dodałam 1,00 ml DIPEA, kolejną porcję 1,00 g (3,86 mmola) Fmoc-Cl i mieszałam przez kolejne 20 h. Po tym czasie dodałam 50,0 ml roztworu HCl o stężeniu 1 mol/l i produkt wyekstrahowałam DCM (3x50,0 ml). Połączone warstwy organiczne przemyłam solanką, suszyłam nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu, a po odsączeniu środka suszącego usunęłam rozpuszczalnik na wyparce. Produkt **347** wydzieliłam z wydajnością 13% (485 mg) w przeliczeniu na ilość użytego **350** za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie 2%-10% MeOH. **¹H NMR (DMSO-*d*₆)**

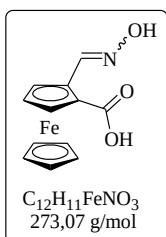
δ 12,17 (br. s, 1H, COOH); 7,90 (d, $^3J_{H-H}=7,5$ Hz, 2H, CH_{Ar}); 7,73 (t, $^3J_{H-H}=6,7$ Hz, 2H, CH_{Ar}); 7,53 (t, $^3J_{H-H}=5,9$ Hz, 1H, CONH); 7,42 (t, $^3J_{H-H}=7,4$ Hz, 2H, CH_{Ar}); 7,35-7,32 (m, 2H, CH_{Ar}); 4,65 (br. s, 1H, Cp); 4,43-4,32 (m, 3H, CH₂NHCOOCH₂ oraz 2H, Cp); 4,25 (t, $^3J_{H-H}=6,8$ Hz, 1H, CH₂CH_{Fmoc}); 4,18-4,15 (m, 1H, CH₂NH) nałożony z 4,16 (s, 5H, Cp); **$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (DMSO-*d*₆)** δ 172,8 (COOH); 156,1 (NHCO); 143,9 (C_{Ar}); 143,8 (C_{Ar}); 140,7 (C_{Ar}); 127,6 (CH_{Ar}); 127,0 (2 x CH_{Ar}); 125,2 (CH_{Ar}); 125,1 (CH_{Ar}); 120,1 (CH_{Ar}); 88,8 (C_p_{ipso}); 71,4 (Cp); 70,5 (Cp); 70,1 (Cp); 69,2 (C_p_{ipso}); 68,8 (Cp); 65,3 (CH₂); 46,8 (CH); 38,6 (CH₂); **ESI-MS (*m/z*)** obliczono dla C₂₇H₂₃FeNO₄: 481,1; znaleziono: 482,3 [M+H]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₂₇H₂₃FeNO₄: 67,38; H 4,82; N 2,91; znaleziona: C 68,96; H 6,49, N 2,64%.

Kwas *rac*-2-formylo-1-ferrocenokarboksylowy **349**¹⁶⁹



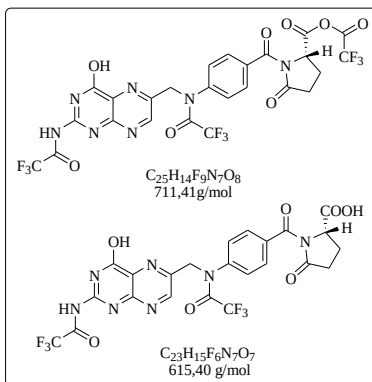
349 zsyntezowałam wg zmodyfikowanej procedury literaturowej. 35,3 ml (49,4 mmola, 1,10 eq) *sec*-BuLi (C=1,40 mol/l w cykloheksanie) wkropliłam do roztworu 12,2 g (44,9 mmola, 1,00 eq) **341** w 180 ml bezwodnego THF w ochronnej atmosferze argonu w temperaturze -78°C. Mieszaninę reakcyjną ogrzałam do temperatury -10°C i mieszałam przez godzinę. Bezpośrednio przed użyciem dwutlenku węgla, ochłodziłam kolbę reakcyjną do -78°C i za pomocą długiej igły zanurzonej w mieszaninie reakcyjnej wprowadzałam CO₂ bezpośrednio z butli przez 1,5 h a po osiągnięciu temperatury pokojowej dodałam kilka kawałków stałego CO₂ (około 50 g). Mieszaninę reakcyjną rozcieńczyłam 50,0 ml THF i dodałam 100 ml HCl o stężeniu 1 mol/l. Po 30 minutach zalkalizowałam otrzymany roztwór do pH=10 i wyekstrahowałam DCM (3x100 ml). Połączone warstwy organiczne przemyłam solanką, suszyłam nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu, a po odsączeniu środka suszącego usunęłam rozpuszczalnik na wyparce odzyskując 1,88 g ferrocenokarboksyaldehydu. Warstwę wodną zakwasiłam używając stężonego HCl do pH=1 i produkt wyekstrahowałam DCM (3x100 ml). Połączone warstwy organiczne przemyłam solanką, suszyłam nad bezwodnym siarczanem sodu, a po odsączeniu środka suszącego usunęłam rozpuszczalnik na wyparce otrzymując produkt **349** z wydajnością 84% (9,71 g), który wykorzystałam do dalszych syntez bez oczyszczania. **^1H NMR (DMSO-*d*₆)** δ 12,80 (br. s, 1H, COOH); 10,52 (s, 1H, CHO); 5,14-5,13 (m, 1H, Cp); 5,02 (br. s, 1H, Cp); 4,92-4,91 (m, 1H, Cp); 4,38 (s, 5H, Cp).

Kwas 2-(hydroksyiminometylo)ferrocenokarboksylowy **350**



8,89 g (128 mmola, 3,00 eq) chlorowodoru hydroksyloaminy dodałam do roztworu 11,0 g (42,6 mmola, 1,00 eq) **349** w 214 ml etanolu (99,8%). Następnie wkropliłam 17,2 g (23,8 ml, 170,4 mmola, 4,00 eq) TEA i mieszałam w temperaturze pokojowej przez 16 h. Do mieszaniny reakcyjnej dodałam 100 ml HCl o stężeniu 1 mol/l, zakwasiłam stężonym HCl do pH=1 i produkt wyekstrahowałam DCM (3x100 ml). Połączone warstwy organiczne przemyłam solanką, suszyłam nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu, a po odsączeniu środka suszącego usunęłam rozpuszczalnik na wyparce. Produkt **350** wydzieliłam w postaci mieszaniny izomerów *syn* i *anti* z wydajnością 91% (10,6 g) za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie 2%-10% MeOH. $^1\text{H NMR}$ (**DMSO- d_6**) δ 12,48 (br. s, 1H, COOH); 10,82 (s, 1H, NOH); 8,45 (s, 1H, CH, izomer A); 8,01 (s, 0,15H, CHNOH, izomer B); 5,42 (s, 0,16H, Cp, izomer B); 4,86 (s, 2H, Cp, izomer A); 4,63 (s, 0,2H, Cp, izomer B); 4,59 (s, 1H, Cp, izomer A); 4,23 (s, 5H, Cp, izomer A); 4,21 (s, 1H, Cp, izomer B); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (**DMSO- d_6**) δ 172,1 (C=O); 146,8 (CHNOH); 79,1 (br. s, Cp_{ipso}); 75,6 (Cp, izomer B); 72,1 (br. s, Cp izomer A); 71,6 (Cp izomer B); 71,2 (br. s, Cp izomer A); 70,7 (Cp, izomer B); 70,6 (Cp, izomer A); 70,3 (br. s, Cp izomer B); 68,8 (Cp, izomer A); ESI-MS (*m/z*) obliczone dla C₁₂H₁₁FeNO₃: 273,0; znalezione: 274,1 [M+H]⁺; Analiza elementarna obliczona dla C₁₂H₁₁FeNO₃: 52,78; H 4,06; N 5,13; znaleziona: C 49,90; H 4,56; N 4,16%.

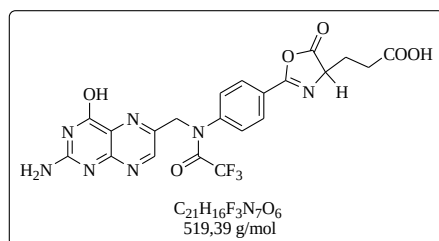
Mieszanina kwasu i bezwodnika N^{2,10}-bi(trifluoroacetylo)pirofoliowego **372 i 373**¹⁶⁸



Do zawiesiny 10,0 g (22,7 mmola, 1,00 eq) **37** w 99 ml THF wkropliłam 37,6 g (24,9 ml, 179 mmola, 7,90 eq) TFAA w 0°C. Uzyskaną zawiesinę mieszałam w temperaturze pokojowej przez 16 h. Roztwór przesączałam przez warstwę Celitu®, przesącz zatężyłam otrzymując ciemnobrązową lepłą ciecz (~30 ml) a następnie rozcieńczyłam dodając 50,0 ml THF i 50,0 ml toluenu. Otrzymany roztwór wylałam do zlewki zawierającej 250 ml n-pentanu. Wytrącony żółty osad odsączałam, przemyłam n-pentanem (100 ml) i eterem dietylowym (100 ml) otrzymując produkt z wydajnością 90% (12,6 g). $^1\text{H NMR}$ (**DMSO- d_6**) δ 12,72

(br. s, 1H); 8,90 (s, 1H); 7,66 (s, 4H); 5,27 (s, 2H); 4,73 (dd, $J=9,0$; 4,0 Hz, 1H); 3,60-3,59 (m, 1H); 2,60-2,42 (m, 3H).

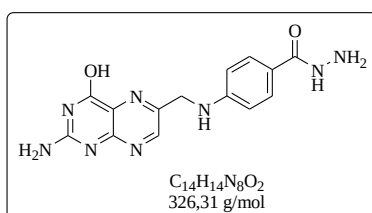
Kwas N¹⁰-(trifluoroacetylo)pirofoliowy 374¹⁶⁸



Do roztworu 12,4 g (20,2 mmola, 1,00 eq) mieszaniny **372-373** w 67,0 ml THF dodałam 9,00 g lodu i mieszałam w ciemności przez 3 h. Otrzymany roztwór wylałam do zlewki zawierającej 500 ml ochłodzonego do 0°C Et₂O. Wytrącony żółty osad

odsączyłam, przemyłam Et₂O (3x200 ml) i suszyłam przez noc pod zmniejszonym ciśnieniem, otrzymując produkt z wydajnością ilościową (11,7 g). ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 8,65 (s, 1H); 7,63 (br. s, 4H); 5,13 (br. s, 2H); 4,72 (dd, $J=8,9$; 3,8 Hz, 1H); 2,58-2,41 (m, 4H).

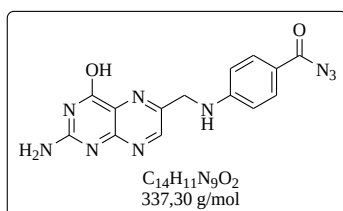
Hydrazyd kwasu 4-[(2-amino-4-hydroksy-pterydynylo-6-metylo)-amino]-benzoesowego 375¹⁶⁸



Do roztworu 11,7 g (22,7 mmola, 1,00 eq) **374** w 236 ml bezwodnego DMSO dodałam 11,08 g (10,7 ml, 227 mmola, 10,0 eq) monohydratu hydrazyny i mieszałam przez 16 h w temperaturze pokojowej. Mieszaninę

reakcyjną przesączałam przez warstwę Celitu[®], a do przesączu dodałam MeOH (180 ml) i Et₂O (200 ml). Wytrącony żółty osad odsączyłam, przemyłam MeOH (300 ml), a następnie Et₂O (200 ml). Produkt suszyłam pod zmniejszonym ciśnieniem przez 18 h otrzymując **375** z wydajnością 59% (4,40 g). ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 9,29 (s, 1H); 8,63 (s, 1H); 7,58 (d, $^3J_{H-H}=8,8$ Hz, 2H); 6,97 (br. s, 2H); 6,86 (t, $^3J_{H-H}=6,1$ Hz, 1H); 6,61 (d, $^3J_{H-H}=8,8$ Hz, 2H); 4,46 (d, $^3J_{H-H}=6,1$ Hz, 2H).

Azydek 4-[(2-Amino-4-hydroksy-pterydyno-6-ylmetylo)-amino]-benzoilu 376¹⁶⁸

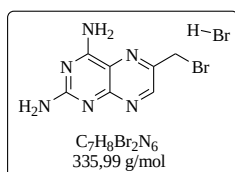


Do roztworu 4,40 g (13,5 mmola, 1,00 eq) **375**, 65 mg (0,674 mmola, 0,05 eq) tiocyjanianu potasu w 33,7 ml TFA ochłodzonego do -10°C wkropliłam 215 mg (1,61 ml, 13,5 mmola, 1,00 eq) azotanu (III) *tert*-butylu i mieszałam

przez 4 godziny w -10°C. Po ogrzaniu mieszaniny reakcyjnej do temperatury pokojowej,

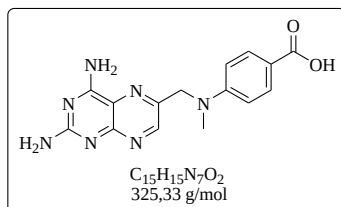
dodałam 877 mg (13,5 mmola, 1,00 eq) azydku sodu i mieszałam jeszcze przez 1 h. Roztwór przesączałam przez warstwę Celitu[®], a przesącz wylałam do 200 ml 2-propanolu ochłodzonego do 0°C. Odsączyłam żółty osad, przemyłam wodą (100 ml) i produkt zliofilizowałam z wody otrzymując **376** z wydajnością 92% (4,20 g). ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 8,68 (s, 1H); 7,69 (d, ³J_{H-H}=8,9 Hz, 2H); 6,70 (d, ³J_{H-H}=8,9 Hz, 2H); 4,55 (s, 2H).

Bromowodorek 2,4-diamino-6-(bromometylo)pterydyny **394**¹⁷⁰



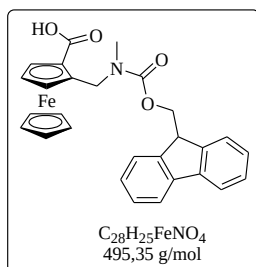
26,8 g (10,0 ml, 129 mmola, 50,0 eq) bromku tionylu dodałam do 595 mg (2,60 mmola, 1,00 eq) **393** i mieszałam przez 18 h w temperaturze pokojowej. Mieszaninę reakcyjną wylałam do zlewki zawierającej 400 ml heksanu ochłodzonego do 0°C i odsączyłam produkt z wydajnością 84% (733 mg). ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 12,89 (br. s, 1H); 9,32 (br. s, 1H); 9,21 (br. s, 1H); 9,03 (s, 1H); 4,87 (s, 2H); ESI-MS (*m/z*) obliczone dla C₇H₇BrN₆: 254,0; znalezione: 255,1[M+H]⁺.

Kwas 4-[(2,4-diaminopterydino-6-metylo)metyloamino]benzoesowy **396**¹⁷¹



Do roztworu 140 mg (0,417 mmola, 1,00 eq) **394** w 4,00 ml DMA dodałam 108 mg (0,784 mmola, 2,00 eq) węgla potasu, 178 mg (1,18 mmola, 3,00 eq) **395** i mieszałam przez 18 h w 70°C. Po ochłodzeniu do temperatury pokojowej wylałam mieszaninę reakcyjną do zlewki z zawierającej 50,0 ml DCM ochłodzonego do 0°C i odsączyłam ciemnobrunatny produkt pod zmniejszonym ciśnieniem z wydajnością 61% (78 mg). ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 8,57 (s, 1H); 7,72 (d, *J*=8,9 Hz, 2H); 6,81 (d, *J*=8,9 Hz, 2H); 6,57 (br. s, 2H); 4,77 (s, 2H); 3,20 (s, 3H); ESI-MS (*m/z*) obliczone dla C₁₅H₁₅N₇O₂: 325,1; znalezione: 326,2[M+H]⁺.

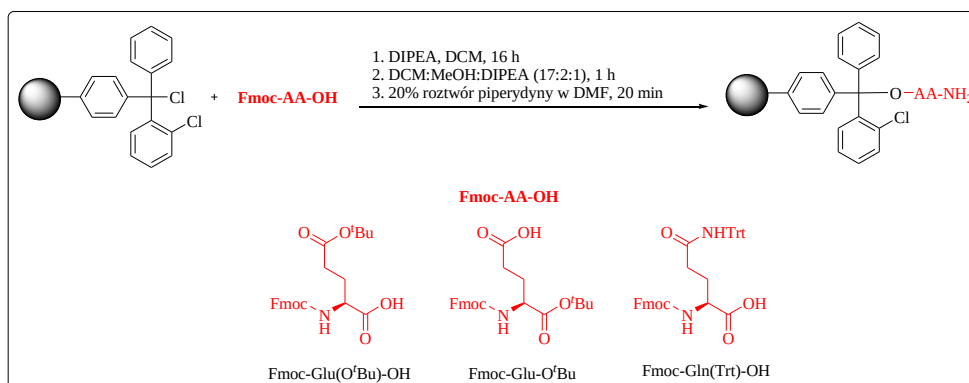
Kwas 2-(*N*-Fmoc-*N*-metyloaminometyl)-1-ferrocenokarboksylowy **401**



0,361 g (5,20 ml, 10,4 mmola, 3,00 eq) metyloaminy (C=2,3 mol/l w THF) wkropliłam do roztworu 1,00 g (3,88 mmola, 1,00 eq) **349** w 7,70 ml THF i otrzymany roztwór mieszałam w temperaturze pokojowej przez 1 h. Następnie dodałam 3,29 g (15,5 mmola, 4,00 eq) triacetoksyborowodoru sodu i mieszałam kolejną

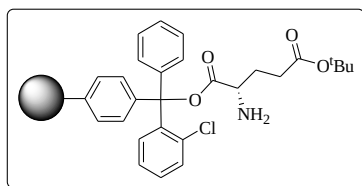
godzinę. Reakcję przerwałam dodając 50 ml MeOH, a po 30 minutach mieszania, rozpuszczalniki odparowałam otrzymując surowy produkt **400**. Związek **400** zawiesiłam w 30,0 ml mieszaniny 1,4-dioksan-ACN (1:1, v/v), dodałam 2,05 g (19,4 mmola, 5,00 eq) węglanu sodu 1,10 g (4,62 mmola, 1,10 eq) Fmoc-Cl i mieszałam przez 18 h. Mieszaninę reakcyjną rozcieńczyłam DCM, dodałam roztwór kwasu solnego o stężeniu 1 mol/l do pH=1 i produkt ekstrahowałam DCM (3x50 ml). Połączone warstwy organiczne przemyłam solanką, suszyłam nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu. a po odsączeniu środka suszącego usunęłam rozpuszczalnik na wyparce. Surowy produkt oczyściłam za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym stosując jako eluent DCM-MeOH w gradiencie od 1%-3% MeOH; W=31% (0,599 g). Mieszanina rotamerów: **¹H NMR (DMSO-*d*₆)** δ 12,23 (br. s, 1H, COOH); 7,96 (t, *J*=6,3 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,89 (d, *J*=7,2 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,66 (t, *J*=6,5 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,63 (d, *J*=7,6 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,46-7,40 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,37-7,31 (m, 2H, CH_{Ar}); 4,69-4,67 (m, 0,8 H, Cp, CH₂Cp); 4,62-4,60 (m, 1,1H, Cp, CH₂(Fmoc)); 4,56-4,53 (m, 0,6 H CH₂(Fmoc)); 4,39-4,34 (m, 1,7 H, Cp, CH₂(Fmoc), CH₂Fc); 4,32-4,27 (m, 2,1 H, Cp, CHFmoc, CH₂Fc); 4,18 (s, 2H, Cp); 4,14-4,10 (m, 1,4 H, Cp, CH₂Fc); 4,07 (s, 3H, Cp); 3,58 (s, 0,6 H, Cp); 2,79 (s, 1,2 H, CH₃); 2,70 (s, 1,8 H, CH₃); **¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆)** δ 172,7 (COOH); 172,6 (COOH); 155,4 (OC(=O)N); 155,2 (OC(=O)N); 144,2 (CFmoc); 144,0 (CFmoc); 143,9 (2xCFmoc); 140,1 (CFmoc); 140,1 (CFmoc); 140,8 (CFmoc); 127,6 (2xCHFmoc); 127,5 (CHFmoc); 127,1 (CHFmoc); 125,0 (CHFmoc); 124,7 (2xCHFmoc); 120,2 (CHFmoc); 120,1 (2xCHFmoc); 86,3 (C_p_{ipso}); 85,8 (C_p_{ipso}); 72,8; 72,3; 70,6; 70,3; 70,2; 69,8; 69,5; 69,3; 69,2 (Cp); 66,4 (CH₂CH(Fmoc)); 65,8 (CH₂CH(Fmoc)); 46,8 (CH₂CH(Fmoc)); 46,4 (CH₂Fc); 42,3(CH₂Fc); 33,8 (CH₃); 33,6 (CH₃); **ESI-MS (*m/z*)** obliczono dla C₂₈H₂₅FeNO₄: 495,1 [M]⁺; znaleziono: 495,4 [M]⁺; **Analiza elementarna** obliczona dla C₂₈H₂₅FeNO₄: C 67,89; H 5,09; N 2,81; znaleziona: C 67,80; H 5,21; N 3,02%.

Procedura ogólna R – synteza wiązania peptydowego na żywicy 2-chlorotrytylowej, synteza żywic 355-357



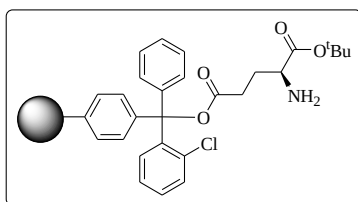
Żywicę 2-chlorotrytylową (stopień osadzenia 1,60 mmol/g, rozmiar ziaren 100-300 μm) spulchniłam w DCM w reaktorze przez 30 minut i przemyłam DCM. W falkonie zawiesiłam Fmoc-aminokwas (2,50 eq) w DCM, dodałam DIPEA (2,50 eq) i mieszałam przez 1 min, aż do całkowitego rozpuszczenia aminokwasu. Natychmiast po rozpuszczeniu aminokwasu w falkonie, usunęłam z żywicy DCM i dodałam świeżo otrzymany roztwór. Reakcję prowadziłam w reaktorze na wytrząsarce kołyskowej przez 16 godzin w temperaturze pokojowej. Nadmiar reagentów usunęłam przez filtrację próżniową, a żywicę przemyłam trzykrotnie DCM. Wolne miejsca na żywicy zablokowałam mieszaniną blokującą (DCM-MeOH-DIPEA, 17:2:1, v/v/v) przez 1 godzinę. Roztwór usunęłam przez filtrację próżniową, a żywicę przemyłam trzykrotnie DCM i DMF. Grupę Fmoc usunęłam przez potraktowanie żywicy 20% roztworem piperidyny w DMF w dwóch cyklach po 20 minut. Roztwór usunęłam przez filtrację próżniową, a żywicę przemyłam dokładnie DMF. Wykonałam test z ninhydriną, by potwierdzić całkowite odbezpieczenie grupy aminowej. Otrzymaną żywicę przemyłam trzykrotnie DMF, DCM, MeOH i suszyłam pod próżnią przez 1 h.

Żyw-O-Glu(O^tBu)-NH₂ 355



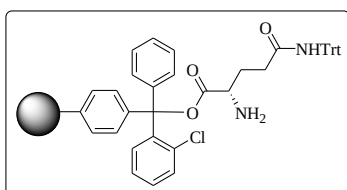
Żywicę 355 zsyntezowałam wg procedury ogólnej R wychodząc z 1,00 g (1,60 mmola) żywicy 2-chlorotrytylowej, 1,70 g (4,00 mmol) 352, 517 mg (0,700 ml, 4,02 mmola) DIPEA i 15,0 ml DCM.

Żyw-O- γ -Glu-(O^tBu)-NH₂ 356



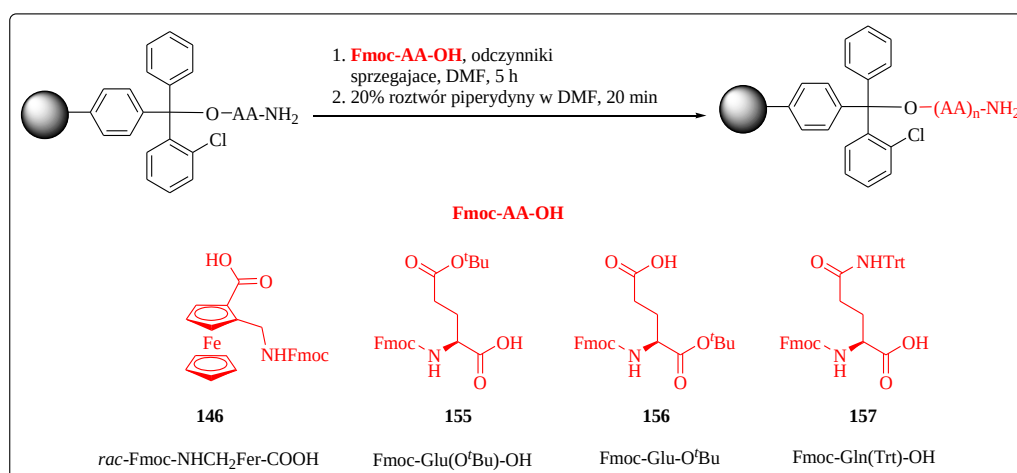
Żywicę **356** otrzymałam wg **procedury ogólnej R** wychodząc z 1,00 g (1,60 mmola) żywicy 2-chlorotrytylowej, 1,70 g (4,00 mmola) **353**, 517 mg (700 μ l, 4,02 mmola) DIPEA i 15,0 ml DCM.

Żyw-O-Gln(Trt)-NH₂ 357



Żywicę **357** otrzymałam wg **procedury ogólnej R** wychodząc z 1,00 g (1,60 mmola) żywicy 2-chlorotrytylowej, 2,44 g (4,00 mmola) **354**, 517 mg (700 μ l, 4,02 mmola) DIPEA i 15,0 ml DCM.

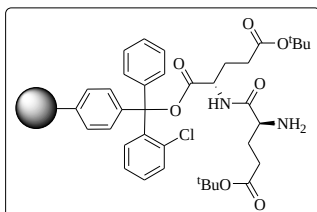
Procedura ogólna S – synteza wiązania peptydowego na żywicy 2-chlorotrytylowej, synteza żywic **358-371**



Żywicę z przyłączonym aminokwasem spulchniałam w DCM w ciągu 30 minut, przemyłam pięciokrotnie DMF i dodałam świeżo przygotowany roztwór Fmoc-aminokwasu (2,50 eq) z odczynniki sprzęgającymi (2,4,6-kolidyna/HATU lub HOBt/DIC) w DMF. Reakcję prowadziłam w reaktorze na wytrząsarce kołyskowej przez 4 godziny w temperaturze pokojowej. Nadmiar reagentów usunęłam przez filtrację próżniową, a otrzymaną żywicę przemyłam trzykrotnie DMF i usunęłam grupę Fmoc przez dwukrotne potraktowanie żywicy 20% roztworem piperydyny w DMF w ciągu 20 minut. Po odessaniu roztworu przez filtrację próżniową, żywicę przemyłam pięciokrotnie DMF, a zakończenie reakcji odbezpieczenia potwierdziłam testem

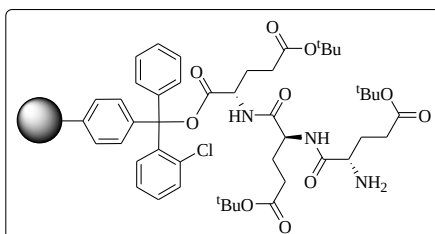
ninhydrynowym. Otrzymaną żywicę przemyłam trzykrotnie DCM, DMF, MeOH i suszyłam pod próżnią przez 1 godzinę.

Żyw-O-Glu(O^tBu)-Glu(O^tBu)-NH₂ 358



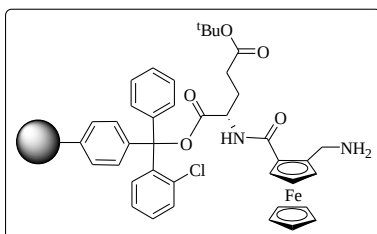
Żywicę **358** (1,30 g) zsyntezowałam wg **procedury ogólnej S** wychodząc z 1,00 g (1,60 mmola) żywicy **355**, 1,00 g (1,60 mmola) **352**, 486 mg (528 μ l, 4,00 mmola) 2,4,6-kolidyny i 1,52 g (4,00 mmola) HATU w 10,0 ml DMF.

Żyw-O-Glu(O^tBu)-Glu(O^tBu)-Glu(O^tBu)-NH₂ 359



Żywicę **359** zsyntezowałam wg **procedury ogólnej S** wychodząc z żywicy **358** (przygotowanej z 0,500 g żywicy **355**), 851 mg (2,00 mmola) **352**, 242 mg (264 μ l, 2,00 mmola) 2,4,6-kolidyny i 761 mg (2,00 mmola) HATU w 5,00 ml DMF.

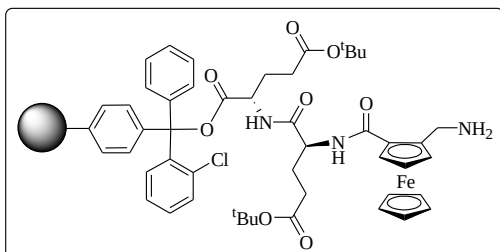
Żyw-O-Glu(O^tBu)-Fc-CH₂NH₂ 360



Żywicę **360** zsyntezowałam wg **procedury ogólnej S** wychodząc z 187 mg żywicy **355**, 361 mg (0,750 mmola) **347**, 92 mg (100 μ l, 0,757 mmola) 2,4,6-kolidyny i 285 mg (0,750 mmola) HATU w 3,00 ml DMF. Otrzymaną żywicę użyłam bez suszenia do kolejnego

etapu.

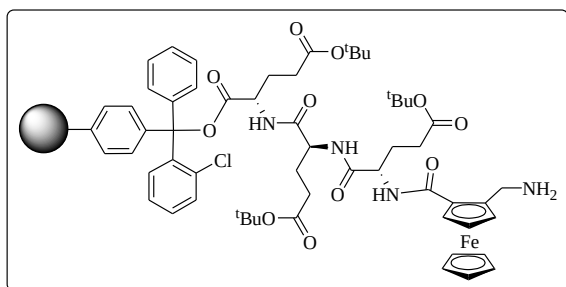
Żyw-O-Glu(O^tBu)-Glu(O^tBu)-Fc-CH₂NH₂ 361



Żywicę **361** zsyntezowałam wg **procedury ogólnej S** wychodząc z 187 mg żywicy **358**, 361 mg (0,750 mmola) **347**, 92 mg (100 μ l, 0,757 mmola) 2,4,6-kolidyny i 285 mg (0,750 mmola) HATU w 3,00 ml DMF.

Otrzymaną żywicę użyłam bez suszenia do kolejnego etapu.

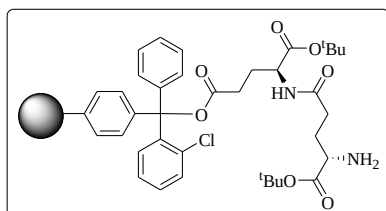
Żyw-O-Glu(O^tBu)-Glu(O^tBu)-Glu(O^tBu)-Fc-CH₂NH₂ 362



Żywicę **362** zsyntezowałam wg **procedury ogólnej S** wychodząc z 187 mg żywicy **359**, 361 mg (0,750 mmola) **347**, 92 mg (100 µl, 0,757 mmola) 2,4,6-kolidyny i 285 mg (0,750 mmola) HATU w 3,00 ml DMF. Otrzymaną

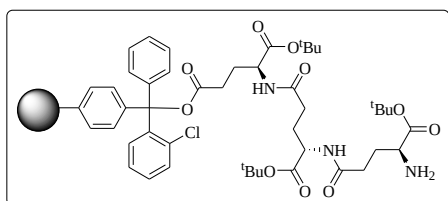
żywicę użyłam bez suszenia do kolejnego etapu.

Żyw-O-γ-Glu(O^tBu)-γ-Glu(O^tBu)-NH₂ 363



Żywicę **363** (3,18 g) zsyntezowałam wg **procedury ogólnej S** wychodząc z 3,02 g żywicy **356**, 5,11 g (12,0 mmola) **353**, 1,62 g (12,0 mmola) HOBt i 1,52 g (1,86 ml, 12,0 mmola) DIC w 10,0 ml DMF.

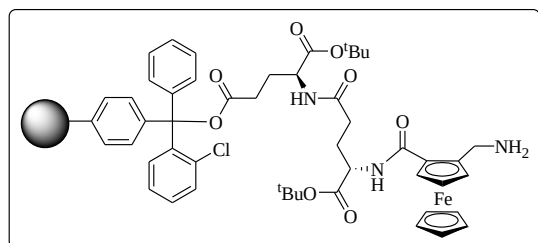
Żyw-O-γ-Glu(O^tBu)-γ-Glu(O^tBu)-γ-Glu(O^tBu)-NH₂ 364



Żywicę **364** (2,00 g) zsyntezowałam wg **procedury ogólnej S** wychodząc z 1,62 g żywicy **363**, 2,72 g (6,40 mmola) **353**, 865 mg (6,40 mmola) HOBt i 808 mg (1,00 ml, 6,40 mmola) DIC w 10,0 ml

DMF.

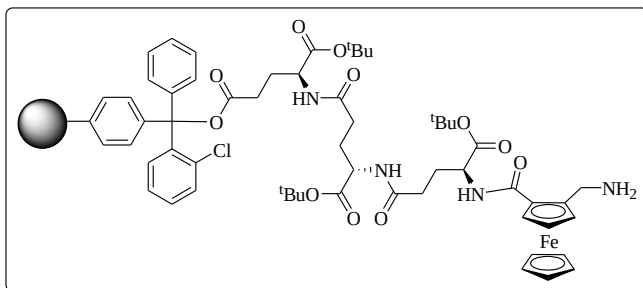
Żyw-O-γ-Glu(O^tBu)-γ-Glu(O^tBu)-Fc-CH₂NH₂ 365



Żywicę **365** zsyntezowałam wg **procedury ogólnej S** wychodząc z 187 mg żywicy **363**, 361 mg (0,750 mmola) **347**, 101 mg (0,750 mmola) HOBt i 95 mg (116 µl, 0,750 mmola) DIC w 3,00 ml DMF.

Otrzymaną żywicę użyłam bez suszenia do kolejnego etapu.

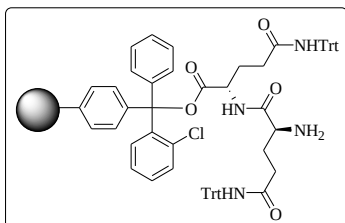
Żyw-O- γ -Glu-(O^tBu)- γ -Glu-(O^tBu)- γ -Glu-(O^tBu)-Fc-CH₂NH₂ 366



Żywicę **366** zsyntezowałam wg **procedury ogólnej S** wychodząc z 187 mg żywicy **364**, 361 mg (0,750 mmola) **347**, 101 mg (0,750 mmola) HOBt i 95 mg (116 μ l, 0,750 mmola) DIC

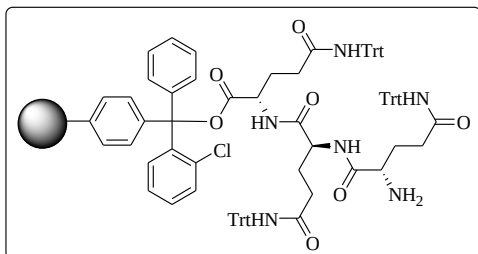
w 3,00 ml DMF. Otrzymaną żywicę użyłam bez suszenia do kolejnego etapu.

Żyw-O-Gln(Trt)-Gln(Trt)-NH₂ 367



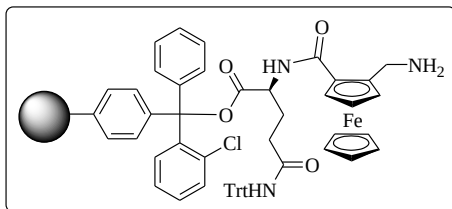
Żywicę **367** (3,73 g) zsyntezowałam wg **procedury ogólnej S** wychodząc z 2,00 g żywicy **357**, 4,89 g (8,00 mmola) **354**, 1,08 g (8,00 mmola) HOBt i 1,01 g (1,24 ml, 8,00 mmola) DIC w 10,0 ml DMF.

Żyw-O-Gln(Trt)-Gln(Trt)-Gln(Trt)-NH₂ 368



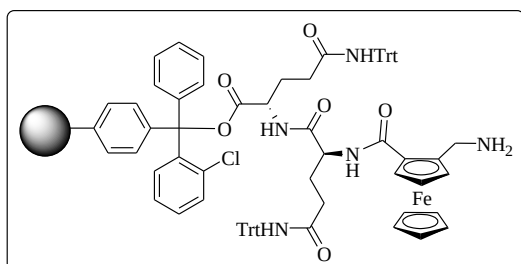
Żywicę **368** zsyntezowałam wg **procedury ogólnej S** wychodząc z 2,13 g żywicy **367**, 4,89 g (8,52 mmola) **354**, 1,15 g (8,52 mmola) HOBt i 1,08 g (1,32 ml, 8,52 mmola) DIC w 10,0 ml DMF.

Żyw-O-Gln(Trt)-Fc-CH₂NH₂ 369



Żywicę **369** zsyntezowałam wg **procedury ogólnej S** wychodząc z 187 mg żywicy **357**, 361 mg (0,750 mmola) **347**, 92 mg (100 μ l, 0,757 mmola) 2,4,6-kolidyny i 285 mg (0,750 mmola) HATU w 3,00 ml DMF. Otrzymaną żywicę użyłam bez suszenia do kolejnego etapu.

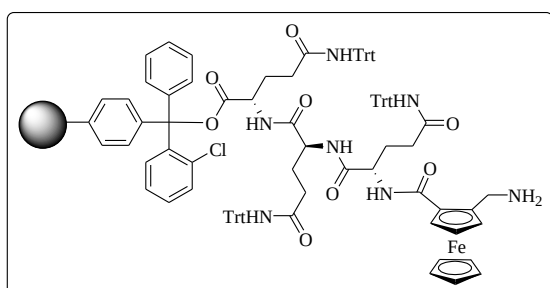
Żyw-O-Gln(Trt)-Gln(Trt)-Fc-CH₂NH₂ 370



Żywicę **370** zsyntezowałam wg **procedury ogólnej S** wychodząc z 187 mg żywicy **367**, 361 mg (0,750 mmola) **347**, 92 mg (100 μ l, 0,757 mmola) 2,4,6-kolidyny i 285 mg (0,750 mmola) HATU w 3,00 ml DMF.

Otrzymaną żywicę użyłam bez suszenia do kolejnego etapu.

Żyw-O-Gln(Trt)-Gln(Trt)-Gln(Trt)-Fc-CH₂NH₂ 371

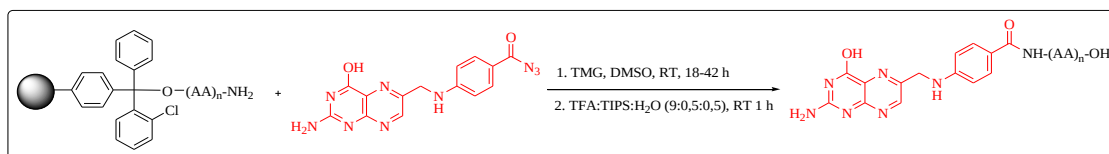


Żywicę **371** zsyntezowałam wg **procedury ogólnej S** wychodząc z 187 mg żywicy **368**, 361 mg (0,750 mmola) **347**, 92 mg (100 μ l, 0,757 mmola) 2,4,6-kolidyny i 285 mg (0,750 mmola) HATU w 3,00 ml DMF.

Otrzymaną żywicę użyłam bez suszenia

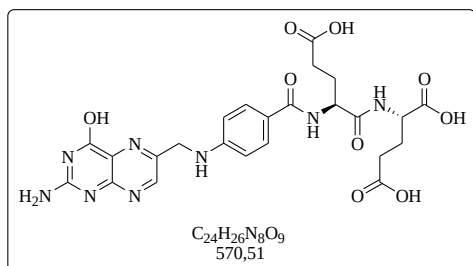
do kolejnego etapu.

Procedura ogólna T – synteza ferrocenyłowych analogów kwasu foliowego **377-391**, reakcja sprzęgania azydku **376** do peptydów na żywicy



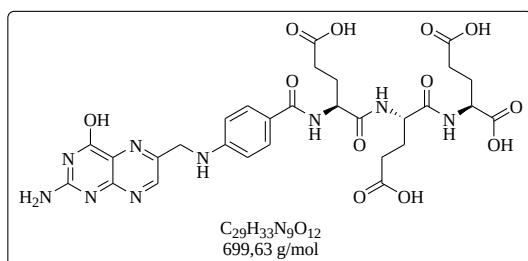
Żywicę z dołączonym łańcuchem peptydowym spulchniałam w DCM przez 30 minut, a następnie przemyłam DMF i DMSO. Do zawiesiny **376** (1,00 eq) ($C_{376}=0,600$ mol/l) w DMSO dodałam TMG (2,00 eq) i wylałam przygotowaną mieszaninę na żywicę. Reakcję prowadziłam w reaktorze na wytrząsarce kołyskowej przez 18 godzin w temperaturze pokojowej. Nadmiar reagentów usunęłam przez filtrację próżniową, a żywicę przemyłam trzykrotnie DMF, DCM, MeOH i wysuszyłam pod próżnią przez 1 godzinę. Suchą żywicę potraktowałam roztworem do odcinania peptydu (TFA-TIPS-H₂O, 9:0,5:0,5, v/v/v) przez 1 godzinę. Otrzymany roztwór zebrałam i odparowałam. Pozostałość rozpuściłam w DMSO (ok. 6 ml) i wydzieliłam za pomocą preparatywnej chromatografii HPLC. Frakcje zawierające produkt zliofilizowałam.

Pter-Glu-Glu-OH 377



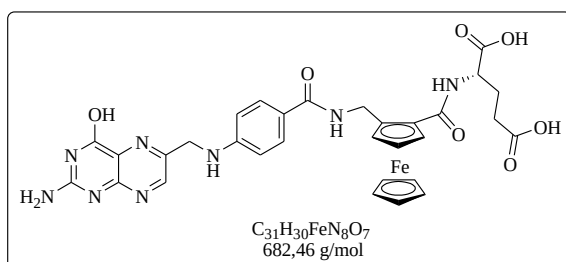
377 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej T** wychodząc z 420 mg żywicy **358**, 565 mg (1,68 mmola) **376**, 229 mg (250 μ l, 2,00 mmola) TMG w 3,00 ml DMSO. Wyizolowałam 15 mg produktu. **R_f** (HPLC) τ =12,21 min (metoda **AN-1**); czystość 97,4%; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla $C_{24}H_{26}N_8O_9$ m/z=569,17 [M-H]⁻, znalezione m/z = 569,17 [M-H]⁻.

Pter-Glu-Glu-Glu-OH 378



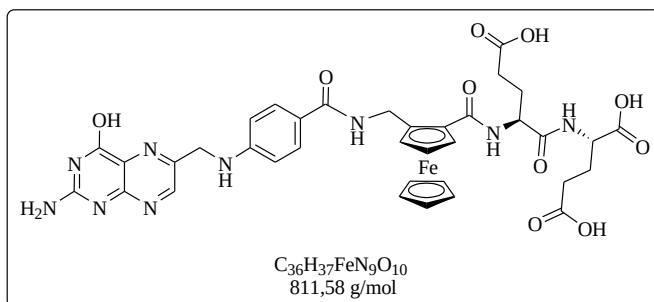
378 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej T** wychodząc z 500 mg (0,800 mmola) żywicy **359**, 675 mg (2,00 mmola) **376**, 229 mg (250 μ l, 2,00 mmola) TMG w 3,00 ml DMSO. Po 18 h dodałam 100 mg (0,296 mmola) **376**, 92 mg (100 μ l, 0,795 mmola) TMG i mieszałam przez 24 h. Wyizolowałam 25 mg produktu. **R_f** (HPLC) τ =12,24 min (metoda **AN-1**); czystość 98,8%; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla $C_{29}H_{33}N_9O_{12}$ m/z=698,22 [M-H]⁻, znalezione m/z=698,22 [M-H]⁻.

Pter-NHCH₂Fer-Glu-OH 379



379 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej T** wychodząc z 188 mg żywicy **360**, 253 mg (0,750 mmola) **376**, 82 mg (90 μ l, 0,718 mmola) TMG w 2,50 ml DMSO. Wyizolowałam 20 mg produktu. **R_f** (HPLC) τ =14,74 min (metoda **AN-1**); czystość 71,3%; **HR-MS (m/z)** obliczone dla $C_{31}H_{30}FeN_8O_7$ m/z=681,1509 [M-H]⁻, znalezione m/z=681,1509 [M-H]⁻.

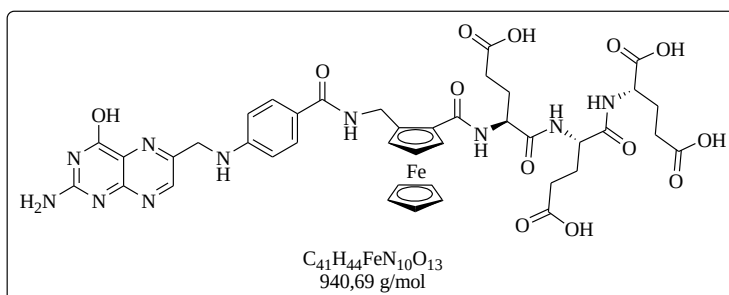
Pter-NHCH₂Fer-Glu-Glu-OH 380



380 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej T** wychodząc z 188 mg żywicy **361**, 253 mg (0,750 mmola) **376**, 82 mg (90 μ l, 0,718 mmola) TMG w 2,50 ml DMSO. Wyizolowałam 13 mg produktu.

Rf (HPLC) τ =14,42 min (metoda **AN-1**); czystość 92,0%; **HR-MS** (m/z) obliczone dla $C_{36}H_{37}FeN_9O_{10}$ m/z =810,1935 $[M-H]^-$, znalezione m/z =810,1932 $[M-H]^-$.

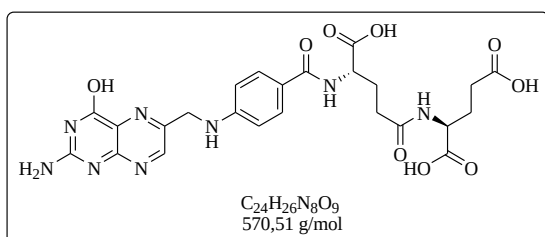
Pter-NHCH₂Fer-Glu-Glu-Glu-OH 381



381 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej T** wychodząc z 188 mg żywicy **362**, 253 mg (0,750 mmola) **376**, 82 mg (90 μ l, 0,718 mmola) TMG

w 2,50 ml DMSO. Wyizolowałam 4 mg produktu. **Rf** (HPLC) τ =14,26 min (metoda **AN-1**); czystość 95,1%; **HR-MS** (m/z) obliczone dla $C_{41}H_{44}FeN_{10}O_{13}$ m/z =939,2360 $[M-H]^-$, znalezione m/z =939,2349 $[M-H]^-$.

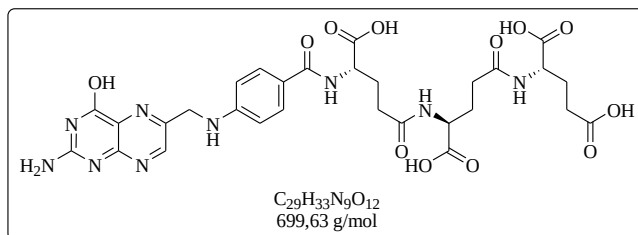
Pter- γ -Glu- γ -Glu-OH 382



382 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej T** wychodząc z 500 mg żywicy **363**, 674 mg (2,00 mmola) **376**, 229 mg (250 μ l, 1,99 mmola) TMG w 4,00 ml DMSO. Po 18 h dodałam 200 mg (0,593 mmola)

376, 92 mg (100 μ l, 0,795 mmola) TMG i mieszałam dodatkowo przez 24 h. Wyizolowałam 33 mg produktu. **Rf** (HPLC) τ =12,01 min (metoda **AN-1**); czystość 99,4%; **ESI-MS** (m/z) obliczone dla $C_{24}H_{26}N_8O_9$ m/z =571,19 $[M+H]^+$, znalezione m/z =571,35 $[M+H]^+$.

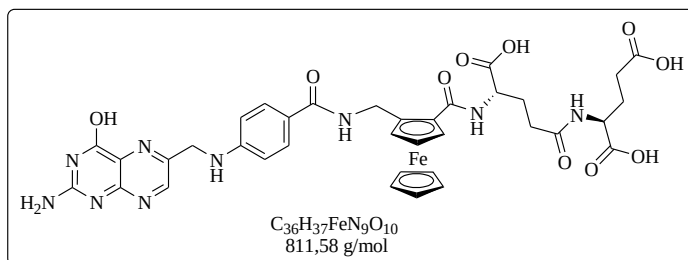
Pter- γ -Glu- γ -Glu- γ -Glu-OH 383



383 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej T** wychodząc z 500 mg żywicy **364**, 674 mg (2,00 mmola) **376**, 229 mg (250 μ l, 1,99 mmola) TMG w 4,00 ml DMSO. Po 18 h

dodałam 200 mg (0,593 mmola) **376**, 92 mg (100 μ l, 0,795 mmola) TMG i mieszałam dodatkowo przez 24 h. Wyizolowałam 28 mg produktu. **R_f** (HPLC) τ =11,96 min (metoda **AN-1**); czystość 99,6%; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla $C_{29}H_{33}N_9O_{12}$ m/z=700,23 [M+H]⁺, znalezione m/z=700,46 [M+H]⁺.

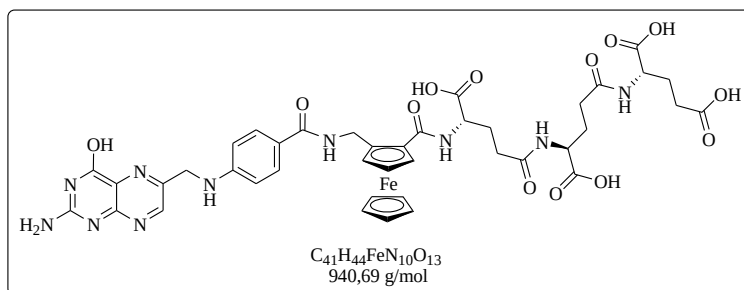
Pter-NHCH₂Fer- γ -Glu- γ -Glu-OH 384



384 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej T** wychodząc z 188 mg żywicy **365**, 253 mg (0,750 mmola) **376**, 82 mg (90 μ l, 0,718 mmola)

TMG w 2,50 ml DMSO. Po 18 h dodałam 100 mg (0,296 mmola) **376**, 46 mg (50 μ l, 0,398 mmola) TMG i mieszałam dodatkowo przez 24 h. Wyizolowałam 52 mg produktu. **R_f** (HPLC) τ =14,29 min (metoda **AN-1**); czystość 97,1%; **HR-MS (m/z)** obliczone dla $C_{36}H_{37}FeN_9O_{10}$ m/z=834,1910 [M+Na]⁺, znalezione m/z=834,1879 [M+Na]⁺.

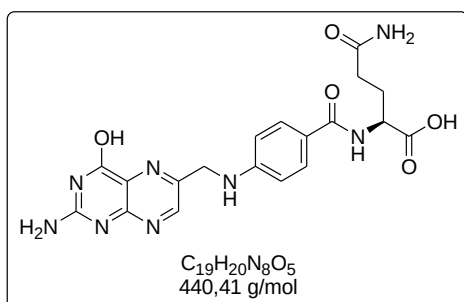
Pter-NHCH₂Fer- γ -Glu- γ -Glu- γ -Glu-OH 385



385 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej T** wychodząc z 188 mg żywicy **366**, 253 mg (0,750 mmola) **376**, 82 mg (90 μ l, 0,718 mmola) TMG w 2,50

ml DMSO. Po 18 h dodałam 100 mg (0,296 mmola) **376**, 46 mg (50 μ l, 0,398 mmola) TMG i mieszałam dodatkowo przez 24 h. Wyizolowałam 41 mg produktu. **R_f** (HPLC) τ =14,04 min (metoda **AN-1**); czystość 97,2%; **ESI-MS HR-MS (m/z)** obliczone dla $C_{41}H_{44}FeN_{10}O_{13}$ m/z=963,2336 [M+Na]⁺, znalezione m/z=963,2326 [M+Na]⁺.

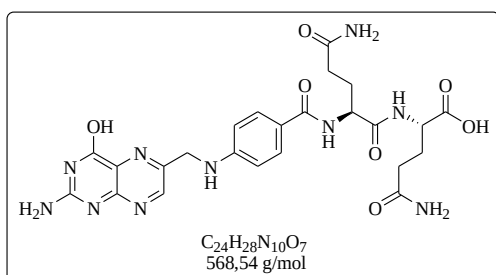
Pter-Gln-OH 386



386 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej T** wychodząc z 398 mg żywicy **357**, 536 mg (1,59 mmola) **376**, 183 mg (200 μ l, 1,59 mmola) TMG w 4,00 ml DMSO. Po 18 h dodałam 80 mg (0,237 mmola) **376**, 46 mg (50 μ l, 0,398 mmola) TMG i mieszałam dodatkowo przez 24 h.

Wyizolowałam 13 mg produktu. **Rf** (HPLC) τ =11,83 min (metoda **AN-1**); czystość 95,0%; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla $C_{19}H_{20}N_8O_5$ m/z =463,1454 $[M+Na]^+$, znalezione m/z =463,1443 $[M+Na]^+$.

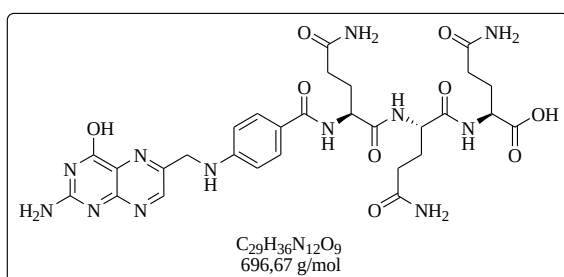
Pter-Gln-Gln-OH 387



387 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej T** wychodząc z 398 mg żywicy **367**, 536 mg (1,59 mmola) **376**, 183 mg (200 μ l, 1,59 mmola) TMG w 4,00 ml DMSO. Po 18 h dodałam 80 mg (0,237 mmola) **376**, 46 mg (50 μ l, 0,398 mmola)

TMG i mieszałam dodatkowo przez 24 h. Wyizolowałam 7 mg produktu. **Rf** (HPLC) τ =11,67 min (metoda **AN-1**); czystość 97,5%; **HR-MS (m/z)** obliczone dla $C_{24}H_{28}N_{10}O_7$ m/z =591,2040 $[M+Na]^+$, znalezione m/z =591,2017 $[M+Na]^+$.

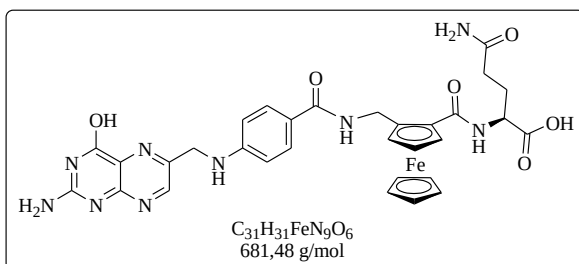
Pter-Gln-Gln-Gln-OH 388



388 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej T** wychodząc z 398 mg żywicy **368**, 536 mg (1,59 mmola) **376**, 183 mg (200 μ l, 1,59 mmola) TMG w 4,00 ml DMSO. Po 18 h dodałam 80 mg (0,237 mmola) **376**, 46 mg (50 μ l,

0,398 mmola) TMG i mieszałam dodatkowo przez 24 h. Wyizolowałam 5 mg produktu. **Rf** (HPLC) τ =11,60 min (metoda **AN-1**); czystość 97,6%; **HR-MS (m/z)** obliczone dla $C_{29}H_{36}N_{12}O_9$ m/z =719,2626 $[M+Na]^+$, znalezione m/z =719,2640 $[M+Na]^+$.

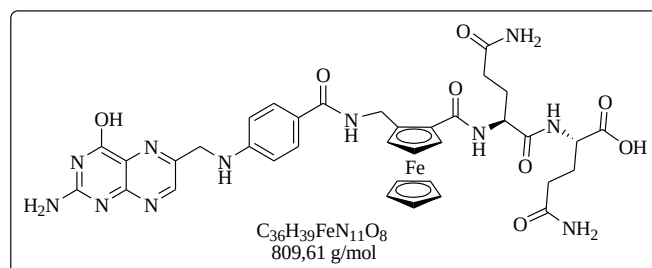
Pter-NHCH₂Fer-Gln-OH 389



389 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej T** wychodząc z 188 mg żywicy **369**, 253 mg (0,750 mmola) **376**, 82 mg (90 μ l, 0,718 mmola) TMG w 2,50 ml DMSO. Po 18 h dodałam 100 mg

(0,296 mmola) **376**, 92 mg (100 μ l, 0,796 mmola) TMG i mieszałam dodatkowo przez 24 h. Wyizolowałam 3 mg produktu. **Rf** (HPLC) τ =14,28 min (metoda **AN-1**); czystość 95,2%; **ESI-MS HR-MS (m/z)** obliczone dla $C_{31}H_{31}FeN_9O_6$ m/z=704,1644 [M+Na]⁺, znalezione m/z=704,1639 [M+Na]⁺.

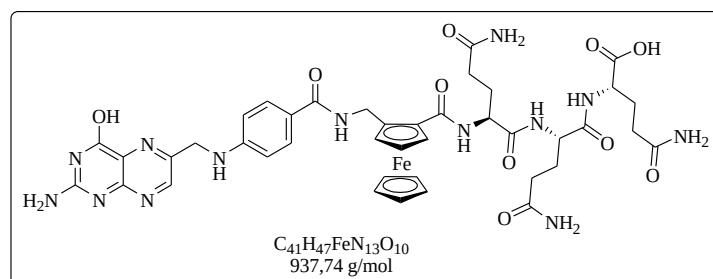
Pter-NHCH₂Fer-Gln-Gln-OH 390



390 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej T** wychodząc z 188 mg żywicy **370**, 253 mg (0,750 mmola) **376**, 82 mg (90 μ l, 0,718 mmola) TMG w 2,50 ml DMSO. Po 18 h

dodałam 100 mg (0,296 mmola) **376**, 46 mg (50 μ l, 0,398 mmola) TMG i mieszałam dodatkowo przez 24 h. Wyizolowałam 6 mg produktu. **Rf** (HPLC) τ =13,82 min (metoda **AN-1**); czystość 96,5%; **ESI-MS HR-MS (m/z)** obliczone dla $C_{36}H_{39}FeN_{11}O_8$ m/z=832,2330 [M+Na]⁺, znalezione m/z=832,2202 [M+Na]⁺.

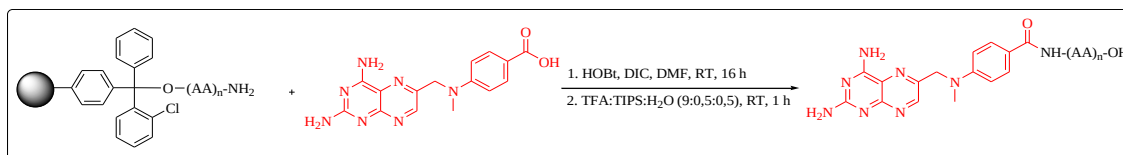
Pter-NHCH₂Fer-Gln-Gln-Gln-OH 391



391 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej T** wychodząc z 188 mg żywicy **371**, 253 mg (0,750 mmola) azydku **376**, 82 mg (90 μ l,

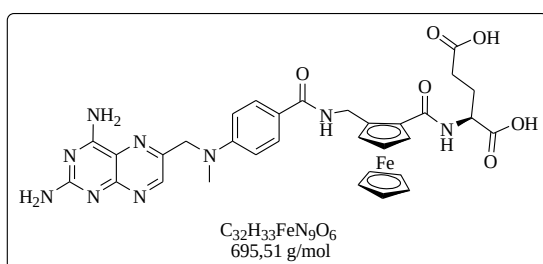
0,718 mmola) TMG w 2,50 ml DMSO. Po 18 h dodałam 80 mg (0,237 mmola) **376**, 46 mg (50 μ l, 0,398 mmola) TMG i mieszałam dodatkowo przez 24 h. Wyizolowałam 7 mg produktu. **Rf** (HPLC) τ =13,56 min (metoda **AN-1**); czystość 97,5%; **ESI-MS HR-MS (m/z)** obliczone dla $C_{41}H_{47}FeN_{13}O_{10}$ m/z=960,2816 [M+Na]⁺, znalezione m/z=960,2827 [M+Na]⁺.

Procedura ogólna U – synteza ferrocenyowych analogów metotreksatu **397-399**, reakcja sprzęgania **396** do peptydów na żywicy



Żywicę z dołączonym łańcuchem peptydowym spulchniałam w DCM przez 30 minut, a następnie przemyłam DMF i DMSO. Do zawiesiny 2,50 eq kwasu **396** ($C_{396}=0,450$ mol/l) w DMF dodałam 2,50 eq HOBt i mieszałam przez 1 minutę. Następnie dodałam 2,50 eq DIC a powstałą mieszaninę wylałam na żywicę. Reakcję prowadziłam w reaktorze na wytrząsarce kołyskowej przez 48 godzin w temperaturze pokojowej. Nadmiar reagentów usunęłam przez filtrację próżniową, a żywicę przemyłam trzykrotnie DMF, DCM, MeOH i wysuszyłam pod próżnią przez 1 godzinę. Suchą żywicę potraktowałam roztworem do odcinania peptydu (TFA-TIPS- H_2O , 9:0,5:0,5, v/v/v) przez 1 godzinę. Otrzymany roztwór zebrałam i odparowałam. Pozostałość rozpuściłam w DMSO (ok. 6 ml) i wydzieliłam za pomocą preparatywnego HPLC. Frakcje zawierające produkt zliofilizowałam.

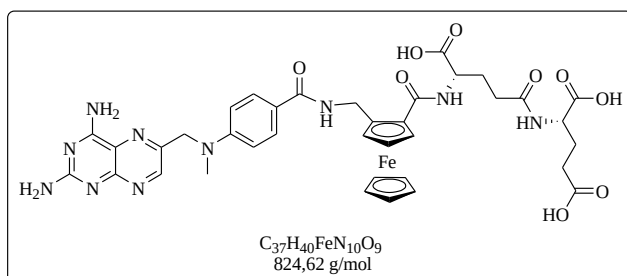
MX-NHCH₂Fer- γ -Glu-OH **397**



397 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej U** wychodząc z żywicy **360** (otrzymanej z 220 mg żywicy **356**), 261 mg (0,800 mmola) **396**, 119 mg (0,880 mmola) HOBt, 101 mg (124 μ l, 0,880 mmola) DIC

w 2,00 ml DMF przez 48 h. Wyizolowałam 31 mg produktu. **R_f** (HPLC) $\tau=15,57$ min (metoda **AN-1**); czystość 97,5%; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla $C_{32}H_{33}FeN_9O_6$ $m/z=718,18$ $[M+Na]^+$, znalezione $m/z=718,18$ $[M+Na]^+$.

MX-NHCH₂Fer- γ -Glu- γ -Glu-OH 398

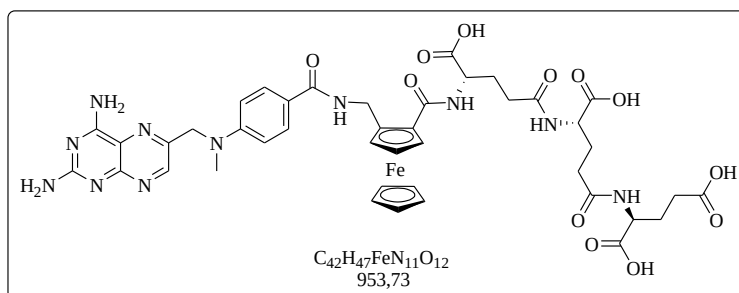


398 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej U** wychodząc z żywicy **365** (otrzymanej z 220 mg żywicy **363**), 286 mg (0,880 mmola) **396**, 119 mg (0,880 mmola) HOBt, 111 mg

(136 μ l, 0,880 mmola) DIC w 3,00 ml DMF przez 48 h. Wyizolowałam 56 mg produktu.

R_f (HPLC) τ =14,99 min (metoda **AN-1**); czystość 98,0%; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla $C_{37}H_{40}FeN_{10}O_9$ m/z=847,22 [M+Na]⁺, znalezione m/z=847,22 [M+Na]⁺.

MX-NHCH₂Fer- γ -Glu- γ -Glu- γ -Glu-OH 399



399 zsyntezowałam wg **procedury ogólnej U** wychodząc z żywicy **366** (otrzymanej z 220 mg żywicy **364**), 286 mg (0,880 mmola) **396**, 119 mg

(0,880 mmola) HOBt, 111 mg (136 μ l, 0,880 mmola) DIC w 3,00 ml DMF przez 48 h.

Wyizolowałam 15 mg produktu. **R_f** (HPLC) τ =14,71 min (metoda **AN-1**); czystość 96,6%; **ESI-MS (m/z)** obliczone dla $C_{42}H_{47}FeN_{11}O_{12}$ m/z=976,27 [M+Na]⁺, znalezione m/z=976,26 [M+Na]⁺.

9. Literatura cytowana

1. Dombrowski, K. E.; Baldwin, W.; Sheats, J. E., Metallocenes in biochemistry, microbiology & medicine. *Journal of Organometallic Chemistry* **1986**, 302 (3), 281-306.
2. Metzler-Nolte N., S. M., Ferrocenes: Ligands, Materials and Biomolecules. **2008**, 499-639.
3. Gasser, G.; Ott, I.; Metzler-Nolte, N., Organometallic Anticancer Compounds. *Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, 54 (1), 3-25.
4. Braga, S. S.; Silva, A. M. S., A New Age for Iron: Antitumoral Ferrocenes. *Organometallics* **2013**, 32 (20), 5626-5639.
5. Torre, L. A.; Bray, F.; Siegel, R. L.; Ferlay, J.; Lortet-Tieulent, J.; Jemal, A., Global cancer statistics, 2012. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* **2015**, 65 (2), 87-108.
6. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/39-All-cancers-fact-sheet.pdf>. Dostęp:24.05.2021 r.
7. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. Dostęp:24.05.2021 r.
8. Quintão, N. L. M.; Santin, J. R.; Stoeberl, L. C.; Corrêa, T. P.; Melato, J.; Costa, R., Pharmacological Treatment of Chemotherapy-Induced Neuropathic Pain: PPAR γ Agonists as a Promising Tool. *Frontiers in Neuroscience* **2019**, 13 (907).
9. Kumar S, A. M., Waseem M, Pandey AK, Drug Targets for Cancer Treatment: An Overview. *Medicinal chemistry* **2015**, 5 (3), 115-123.
10. Mollinedo, F.; Gajate, C., Microtubules, microtubule-interfering agents and apoptosis. *Apoptosis : an international journal on programmed cell death* **2003**, 8 (5), 413-50.
11. Panda, D.; Miller, H. P.; Islam, K.; Wilson, L., Stabilization of microtubule dynamics by estramustine by binding to a novel site in tubulin: A possible mechanistic basis for its antitumor action. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1997**, 94 (20), 10560-10564.
12. Kanakkanthara, A.; Northcote, P. T.; Miller, J. H., Peloruside A: a lead non-taxoid-site microtubule-stabilizing agent with potential activity against cancer, neurodegeneration, and autoimmune disease. *Natural Product Reports* **2016**, 33 (4), 549-561.
13. Dehmelt, L.; Halpain, S., The MAP2/Tau family of microtubule-associated proteins. *Genome Biology* **2004**, 6 (1), 204.
14. Coulup, S. K.; Georg, G. I., Revisiting microtubule targeting agents: α -Tubulin and the pironetin binding site as unexplored targets for cancer therapeutics. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2019**, 29 (15), 1865-1873.
15. Szczepański, M.; Grzanka, A.; Izdebska, M., Mikrotubule & cel terapii przeciwnowotworowej. *Nowotwory. Journal of Oncology* **2007**, 57 (5), 579.
16. Hearn, B. R.; Shaw, S. J.; Myles, D. C., 7.04 - Microtubule Targeting Agents. In *Comprehensive Medicinal Chemistry II*, Taylor, J. B.; Triggle, D. J., Eds. Elsevier: Oxford, 2007; pp 81-110.
17. Widdison, W. C.; Wilhelm, S. D.; Cavanagh, E. E.; Whiteman, K. R.; Leece, B. A.; Kovtun, Y.; Goldmacher, V. S.; Xie, H.; Steeves, R. M.; Lutz, R. J.; Zhao, R.; Wang, L.; Blättler, W. A.; Chari, R. V. J., Semisynthetic Maytansine Analogues for the Targeted Treatment of Cancer. *Journal of Medicinal Chemistry* **2006**, 49 (14), 4392-4408.
18. Podwyssotzki, V., Pharmakologische Studien über Podophyllum peltatum. *Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie* **1880**, 13 (1), 29-52.
19. Kelly, M. G.; Hartwell, J. L., The Biological Effects and the Chemical Composition of Podophyllin. A Review. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* **1954**, 14 (4), 967-1010.

20. King, L. S.; Sullivan, M., The similarity of the effect of podophyllin and colchicine and their use in the treatment of condylomata acuminata. *Science* **1946**, *104* (2698), 244.
21. Miller, K. G.; Liu, L. F.; Englund, P. T., A homogeneous type II DNA topoisomerase from HeLa cell nuclei. *Journal of Biological Chemistry* **1981**, *256* (17), 9334-9339.
22. Kaufmann, W. K., Human Topoisomerase II Function, Tyrosine Phosphorylation and Cell Cycle Checkpoints. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* **1998**, *217* (3), 327-334.
23. Smith, N. A.; Byl, J. A. W.; Mercer, S. L.; Deweese, J. E.; Osheroff, N., Etoposide Quinone Is a Covalent Poison of Human Topoisomerase II β . *Biochemistry* **2014**, *53* (19), 3229-3236.
24. Raßmann, I.; Schrödel, H.; Schilling, T.; Zucchetti, M.; Kaeser-Fröhlich, A.; Rastetter, J.; Hanauske, A. R., Clinical and pharmacokinetic phase I trial of oral dimethylaminoetoposide (NK611) administered for 21 days every 35 days. *Investigational New Drugs* **1996**, *14* (4), 379-386.
25. Youngjae, Y., Podophyllotoxin Derivatives: Current Synthetic Approaches for New Anticancer Agents. *Current Pharmaceutical Design* **2005**, *11* (13), 1695-1717.
26. Kamal, A.; Laxman, N.; Ramesh, G., Facile and efficient one-pot synthesis of 4 β -arylamino podophyllotoxins: synthesis of DNA topoisomerase II inhibitors (NPF and W-68). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2000**, *10* (18), 2059-2062.
27. Chen, A. Y.; Liu, L. F., DNA topoisomerases: essential enzymes and lethal targets. *Annual review of pharmacology and toxicology* **1994**, *34*, 191-218.
28. Liu, Y.-Q.; Tian, J.; Qian, K.; Zhao, X.-B.; Morris-Natschke, S. L.; Yang, L.; Nan, X.; Tian, X.; Lee, K.-H., Recent Progress on C-4-Modified Podophyllotoxin Analogs as Potent Antitumor Agents. *Medicinal Research Reviews* **2015**, *35* (1), 1-62.
29. You, Y., Podophyllotoxin derivatives: current synthetic approaches for new anticancer agents. *Current pharmaceutical design* **2005**, *11* (13), 1695-717.
30. Kamal, A.; Suresh, P.; Ramaiah, M. J.; Srinivasa Reddy, T.; Kapavarapu, R. K.; Rao, B. N.; Imthiajali, S.; Lakshminarayan Reddy, T.; Pushpavalli, S. N. C. V. L.; Shankaraiah, N.; Pal-Bhadra, M., 4 β -[4'-(1-(Aryl)ureido)benzamide]podophyllotoxins as DNA topoisomerase I and II α inhibitors and apoptosis inducing agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2013**, *21* (17), 5198-5208.
31. Tang, Z.-B.; Chen, Y.-Z.; Zhao, J.; Guan, X.-W.; Bo, Y.-X.; Chen, S.-W.; Hui, L., Conjugates of podophyllotoxin and norcantharidin as dual inhibitors of topoisomerase II and protein phosphatase 2A. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2016**, *123*, 568-576.
32. Hernández, Á.-P.; Díez, P.; García, P. A.; Pérez-Andrés, M.; Ortega, P.; Jambrina, P. G.; Díez, D.; Castro, M. Á.; Fuentes, M., A Novel Cytotoxic Conjugate Derived from the Natural Product Podophyllotoxin as a Direct-Target Protein Dual Inhibitor. *Molecules* **2020**, *25* (18), 4258.
33. Hao, S.-Y.; Feng, S.-L.; Wang, X.-R.; Wang, Z.; Chen, S.-W.; Hui, L., Novel conjugates of podophyllotoxin and coumarin: Synthesis, cytotoxicities, cell cycle arrest, binding CT DNA and inhibition of Topo II β . *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2019**, *29* (16), 2129-2135.
34. Guerrant, W.; Patil, V.; Canzoneri, J. C.; Oyelere, A. K., Dual Targeting of Histone Deacetylase and Topoisomerase II with Novel Bifunctional Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, *55* (4), 1465-1477.
35. Yi, J.-M.; Zhang, X.-F.; Huan, X.-J.; Song, S.-S.; Wang, W.; Tian, Q.-T.; Sun, Y.-M.; Chen, Y.; Ding, J.; Wang, Y.-Q.; Yang, C.-H.; Miao, Z.-H., Dual targeting of

microtubule and topoisomerase II by α -carboline derivative YCH337 for tumor proliferation and growth inhibition. *Oncotarget* **2015**, 6 (11).

36. Zhao, S.; Smith, K. S.; Deveau, A. M.; Dieckhaus, C. M.; Johnson, M. A.; Macdonald, T. L.; Cook, J. M., Biological Activity of the Tryprostatins and Their Diastereomers on Human Carcinoma Cell Lines. *Journal of Medicinal Chemistry* **2002**, 45 (8), 1559-1562.

37. USUI, T.; KONDOH, M.; CUI, C.-B.; MAYUMI, T.; OSADA, H., Tryprostatin A, a specific and novel inhibitor of microtubule assembly. *Biochemical Journal* **1998**, 333 (3), 543-548.

38. Jain, H. D.; Zhang, C.; Zhou, S.; Zhou, H.; Ma, J.; Liu, X.; Liao, X.; Deveau, A. M.; Dieckhaus, C. M.; Johnson, M. A.; Smith, K. S.; Macdonald, T. L.; Kakeya, H.; Osada, H.; Cook, J. M., Synthesis and structure–activity relationship studies on tryprostatin A, an inhibitor of breast cancer resistance protein. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2008**, 16 (8), 4626-4651.

39. Kondoh, M.; Usui, T.; Mayumi, T.; Osada, H., Effects of tryprostatin derivatives on microtubule assembly in vitro and in situ. *J Antibiot (Tokyo)* **1998**, 51 (8), 801-804.

40. He, X.; Jin, L.; Tan, L., DNA-binding, topoisomerases I and II inhibition and in vitro cytotoxicity of ruthenium(II) polypyridyl complexes: [Ru(dppz)₂L]²⁺ (L=dppz-11-CO₂Me and dppz). *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2015**, 135, 101-109.

41. Wilson, C. R.; Fagenson, A. M.; Ruangpradit, W.; Muller, M. T.; Munro, O. Q., Gold(III) Complexes of Pyridyl- and Isoquinolylamido Ligands: Structural, Spectroscopic, and Biological Studies of a New Class of Dual Topoisomerase I and II Inhibitors. *Inorganic Chemistry* **2013**, 52 (14), 7889-7906.

42. Allison, S. J.; Sadiq, M.; Baronou, E.; Cooper, P. A.; Dunnill, C.; Georgopoulos, N. T.; Latif, A.; Shepherd, S.; Shnyder, S. D.; Stratford, I. J.; Wheelhouse, R. T.; Willans, C. E.; Phillips, R. M., Preclinical anti-cancer activity and multiple mechanisms of action of a cationic silver complex bearing N-heterocyclic carbene ligands. *Cancer Letters* **2017**, 403, 98-107.

43. Das, P.; Jain, C. K.; Dey, S. K.; Saha, R.; Chowdhury, A. D.; Roychoudhury, S.; Kumar, S.; Majumder, H. K.; Das, S., Synthesis, crystal structure, DNA interaction and in vitro anticancer activity of a Cu(II) complex of purpurin: dual poison for human DNA topoisomerase I and II. *RSC Advances* **2014**, 4 (103), 59344-59357.

44. Chimento, A.; Saturnino, C.; Iacopetta, D.; Mazzotta, R.; Caruso, A.; Plutino, M. R.; Mariconda, A.; Ramunno, A.; Sinicropi, M. S.; Pezzi, V.; Longo, P., Inhibition of human topoisomerase I and II and anti-proliferative effects on MCF-7 cells by new titanocene complexes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2015**, 23 (22), 7302-7312.

45. Visentin, M.; Zhao, R.; Goldman, I. D., The antifolates. *Hematol Oncol Clin North Am* **2012**, 26 (3), 629-ix.

46. Assaraf, Y. G., Molecular basis of antifolate resistance. *Cancer and Metastasis Reviews* **2007**, 26 (1), 153-181.

47. Dacie, J. V.; Dresner, E.; Mollin, D. L.; White, J. C., Aminopterin in the Treatment of Acute Leukaemia. *British Medical Journal* **1950**, 1 (4668), 1447.

48. Chan, E. S. L.; Cronstein, B. N., Methotrexate—how does it really work? *Nature Reviews Rheumatology* **2010**, 6 (3), 175-178.

49. Hagner, N.; Joerger, M., Cancer chemotherapy: targeting folic acid synthesis. *Cancer management and research* **2010**, 2, 293-301.

50. Assaraf, Y. G., The role of multidrug resistance efflux transporters in antifolate resistance and folate homeostasis. *Drug Resistance Updates* **2006**, 9 (4), 227-246.

51. Gonen, N.; Assaraf, Y. G., Antifolates in cancer therapy: Structure, activity and mechanisms of drug resistance. *Drug Resistance Updates* **2012**, *15* (4), 183-210.
52. Vasiliou, V.; Vasiliou, K.; Nebert, D. W., Human ATP-binding cassette (ABC) transporter family. *Human Genomics* **2009**, *3* (3), 281.
53. Morita, M.; Imanaka, T., Peroxisomal ABC transporters: structure, function and role in disease. *Biochimica et biophysica acta* **2012**, *1822* (9), 1387-96.
54. Kanoh, K.; Kohno, S.; Katada, J.; Takahashi, J.; Uno, I., (-)-Phenylahistin arrests cells in mitosis by inhibiting tubulin polymerization. *J Antibiot (Tokyo)* **1999**, *52* (2), 134-141.
55. Lockhart, A. C.; Tirona, R. G.; Kim, R. B., Pharmacogenetics of ATP-binding Cassette Transporters in Cancer and Chemotherapy&sup>1</sup>. *Molecular Cancer Therapeutics* **2003**, *2* (7), 685.
56. Fletcher, J. I.; Williams, R. T.; Henderson, M. J.; Norris, M. D.; Haber, M., ABC transporters as mediators of drug resistance and contributors to cancer cell biology. *Drug Resistance Updates* **2016**, *26*, 1-9.
57. Choi, Y. H.; Yu, A.-M., ABC transporters in multidrug resistance and pharmacokinetics, and strategies for drug development. *Current pharmaceutical design* **2014**, *20* (5), 793-807.
58. Tsuruo, T.; Iida, H.; Tsukagoshi, S.; Sakurai, Y., Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia in vivo and in vitro through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastine by verapamil. *Cancer research* **1981**, *41* (5), 1967-72.
59. Leonard, G. D.; Fojo, T.; Bates, S. E., The Role of ABC Transporters in Clinical Practice. *The Oncologist* **2003**, *8* (5), 411-424.
60. Robey, R. W.; Pluchino, K. M.; Hall, M. D.; Fojo, A. T.; Bates, S. E.; Gottesman, M. M., Revisiting the role of ABC transporters in multidrug-resistant cancer. *Nature Reviews Cancer* **2018**, *18* (7), 452-464.
61. Binkhathlan, Z.; Lavasanifar, A., P-glycoprotein inhibition as a therapeutic approach for overcoming multidrug resistance in cancer: current status and future perspectives. *Current cancer drug targets* **2013**, *13* (3), 326-46.
62. Crawford, R. R.; Potukuchi, P. K.; Schuetz, E. G.; Schuetz, J. D., Beyond Competitive Inhibition: Regulation of ABC Transporters by Kinases and Protein-Protein Interactions as Potential Mechanisms of Drug-Drug Interactions. *Drug Metabolism and Disposition* **2018**, *46* (5), 567.
63. Shukla, S.; Chen, Z.-S.; Ambudkar, S. V., Tyrosine kinase inhibitors as modulators of ABC transporter-mediated drug resistance. *Drug Resistance Updates* **2012**, *15* (1), 70-80.
64. Vock, C. A.; Ang, W. H.; Scolaro, C.; Phillips, A. D.; Lagopoulos, L.; Juillerat-Jeanneret, L.; Sava, G.; Scopelliti, R.; Dyson, P. J., Development of Ruthenium Antitumor Drugs that Overcome Multidrug Resistance Mechanisms. *Journal of Medicinal Chemistry* **2007**, *50* (9), 2166-2175.
65. Thimmaiah, K. N.; Horton, J. K.; Seshadri, R.; Israel, M.; Houghton, J. A.; Harwood, F. C.; Houghton, P. J., Synthesis and chemical characterization of N-substituted phenoxazines directed toward reversing vinca alkaloid resistance in multidrug-resistant cancer cells. *Journal of Medicinal Chemistry* **1992**, *35* (18), 3358-3364.
66. Zhang, C.; Fortin, P.-Y.; Barnoin, G.; Qin, X.; Wang, X.; Fernandez Alvarez, A.; Bijani, C.; Maddelein, M.-L.; Hemmert, C.; Cuvillier, O.; Gornitzka, H., An Artemisinin-Derivative-(NHC)Gold(I) Hybrid with Enhanced Cytotoxicity through Inhibition of

NRF2 Transcriptional Activity. *Angewandte Chemie International Edition* **2020**, 59 (29), 12062-12068.

67. Gmeiner, A.; Effenberger-Neidnicht, K.; Zoldáková, M.; Schobert, R., A methyltitanocene complex of schisandrol A with high efficacy against multi-drug resistant cervix and breast carcinoma cells. *Applied Organometallic Chemistry* **2011**, 25 (2), 117-120.

68. Pazinato, J.; Cruz, O. M.; Naidek, K. P.; Pires, A. R. A.; Westphal, E.; Gallardo, H.; Baubichon-Cortay, H.; Rocha, M. E. M.; Martinez, G. R.; Winnischofer, S. M. B.; Di Pietro, A.; Winnischofer, H., Cytotoxicity of η^6 -areneruthenium-based molecules to glioblastoma cells and their recognition by multidrug ABC transporters. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2018**, 148, 165-177.

69. Zeng, L.; Li, J.; Zhang, C.; Zhang, Y. K.; Zhang, W.; Huang, J.; Ashby, C. R.; Chen, Z. S.; Chao, H., An organoruthenium complex overcomes ABCG2-mediated multidrug resistance via multiple mechanisms. *Chemical communications (Cambridge, England)* **2019**, 55 (26), 3833-3836.

70. Heffeter, P.; Atil, B.; Kryeziu, K.; Groza, D.; Koellensperger, G.; Körner, W.; Jungwirth, U.; Mohr, T.; Keppler, B. K.; Berger, W., The ruthenium compound KP1339 potentiates the anticancer activity of sorafenib in vitro and in vivo. *European Journal of Cancer* **2013**, 49 (15), 3366-3375.

71. Seyferth, D., Cadet's Fuming Arsenical Liquid and the Cacodyl Compounds of Bunsen. *Organometallics* **2001**, 20 (8), 1488-1498.

72. Levinson, A. S., The structure of salvarsan and the arsenic-arsenic double bond. *Journal of Chemical Education* **1977**, 54, 98.

73. Ehrlich, P.; Bertheim, A., Über das salzsaure 3.3'-Diamino-4.4'-dioxy-arsenobenzol und seine nächsten Verwandten. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1912**, 45 (1), 756-766.

74. JONES, H. W., Report of a Series of Cases of Syphilis Treated by Ehrlich's Arsenobenzol at the Walter Reed General Hospital, District of Columbia. *The Boston Medical and Surgical Journal* **1911**, 164 (11), 381-383.

75. Lloyd, N. C.; Morgan, H. W.; Nicholson, B. K.; Ronimus, R. S., The Composition of Ehrlich's Salvarsan: Resolution of a Century-Old Debate. *Angewandte Chemie International Edition* **2005**, 44 (6), 941-944.

76. Bosch, F.; Rosich, L., The Contributions of Paul Ehrlich to Pharmacology: A Tribute on the Occasion of the Centenary of His Nobel Prize. *Pharmacology* **2008**, 82 (3), 171-179.

77. Ho, P. C., 33As Metallotherapeutic Arsenic Compounds. In *Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents*, 2005; pp 297-311.

78. Gibaud, S.; Jaouen, G., Arsenic-Based Drugs: From Fowler's Solution to Modern Anticancer Chemotherapy. In *Medicinal Organometallic Chemistry*, Jaouen, G.; Metzler-Nolte, N., Eds. Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2010; pp 1-20.

79. Rosenberg, B.; Vancamp, L.; Trosko, J. E.; Mansour, V. H., Platinum Compounds: a New Class of Potent Antitumour Agents. *Nature* **1969**, 222 (5191), 385-386.

80. Eastman, A., The Mechanism of Action of Cisplatin: From Adducts to Apoptosis. In *Cisplatin*, 1999; pp 111-134.

81. O'Dwyer, P. J.; Stevenson, J. P.; Johnson, S. W., Clinical Status of Cisplatin, Carboplatin, and Other Platinum-Based Antitumor Drugs. In *Cisplatin*, 1999; pp 29-69.

82. Rosenberg, B., Platinum Complexes for the Treatment of Cancer: Why the Search Goes On. In *Cisplatin*, 1999; pp 1-27.

83. Zamble, D. B.; Lippard, S. J., The Response of Cellular Proteins to Cisplatin-Damaged DNA. In *Cisplatin*, 1999; pp 71-110.
84. Bruijninx, P. C. A.; Sadler, P. J., New trends for metal complexes with anticancer activity. *Current Opinion in Chemical Biology* **2008**, 12 (2), 197-206.
85. Kealy, T. J.; Pauson, P. L., A New Type of Organo-Iron Compound. *Nature* **1951**, 168 (4285), 1039-1040.
86. Miller, S. A.; Tebboth, J. A.; Tremaine, J. F., 114. Dicyclopentadienyliron. *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1952**, (0), 632-635.
87. Wilkinson, G., The Preparation and Some Properties of the Cobalticinium Salts. *Journal of the American Chemical Society* **1952**, 74 (23), 6148-6149.
88. Wilkinson, G.; Rosenblum, M.; Whiting, M. C.; Woodward, R. B., THE STRUCTURE OF IRON BIS-CYCLOPENTADIENYL. *Journal of the American Chemical Society* **1952**, 74 (8), 2125-2126.
89. Wilkinson, G., The iron sandwich. A recollection of the first four months. *Journal of Organometallic Chemistry* **1975**, 100 (1), 273-278.
90. Fischer, E. O.; Pfab, W., Cyclopentadien-Metallkomplexe, ein neuer Typ metallorganischer Verbindungen. *Zeitschrift für Naturforschung B* **1952**, 7 (7), 377-379.
91. Dunitz, J. D.; Orgel, L. E., Bis-cyclopentadienyl Iron: a Molecular Sandwich. *Nature* **1953**, 171 (4342), 121-122.
92. Page, J. A.; Wilkinson, G., The Polarographic Chemistry of Ferrocene, Ruthenocene and the Metal Hydrocarbon Ions. *Journal of the American Chemical Society* **1952**, 74 (23), 6149-6150.
93. Woodward, R. B.; Rosenblum, M.; Whiting, M. C., A NEW AROMATIC SYSTEM. *Journal of the American Chemical Society* **1952**, 74 (13), 3458-3459.
94. Rausch, M. D.; Fischer, E. O.; Grubert, H., The Aromatic Reactivity of Ferrocene, Ruthenocene and Osmocene^{1,2}. *Journal of the American Chemical Society* **1960**, 82 (1), 76-82.
95. Plazuk, D.; Zakrzewski, J., Acylation of Ferrocene and a 1,1'-Diphosphaferrocene with Acyl Trifluoroacetates in the Presence of Trifluoromethanesulfonic (Triflic) Acid or Some Metal Triflates. *Synthetic Communications* **2004**, 34 (1), 99-107.
96. Benkeser, R. A.; Goggin, D.; Schroll, G., A Route to Monosubstituted Ferrocene Compounds. *Journal of the American Chemical Society* **1954**, 76 (15), 4025-4026.
97. Broadhead, G. D.; Pauson, P. L., Ferrocene derivatives. Part II. Arylation. *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1955**, (0), 367-370.
98. Weinmayr, V., Hydrogen Fluoride as a Condensing Agent. V. Reactions of Dicyclopentadienyliron in Anhydrous Hydrogen Fluoride¹. *Journal of the American Chemical Society* **1955**, 77 (11), 3009-3011.
99. Broadhead, G. D.; Osgerby, J. M.; Pauson, P. L., 127. Ferrocene derivatives. Part V. Ferrocenealdehyde. *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1958**, (0), 650-656.
100. Hauser, C.; Lindsay, J., Communications-Ortho Substituted Type of Rearrangement with Quaternary Ammonium Ions of Dicyclopentadienyliron by Potassium Amide. *The Journal of Organic Chemistry* **1956**, 21 (3), 382-383.
101. Rausch, M.; Shaw, P.; Mayo, D.; Lovelace, A., Derivatives of Ferrocene V. The Preparation of Some N-Substituted Ferrocenecarboxamides. *The Journal of Organic Chemistry* **1958**, 23 (3), 505-507.
102. Wilkinson, G., The preparation and some properties of ruthenocene and ruthenicinium salts. *Journal of the American Chemical Society* **1952**, 74 (23), 6146-6147.
103. White, R. E.; Hanusa, T. P., Ruthenium: Organometallic Chemistry Based in part on the article Ruthenium: Organometallic Chemistry by Ulrich Koelle which appeared in

the Encyclopedia of Inorganic Chemistry, First Edition. In *Encyclopedia of Inorganic Chemistry*, 2005.

104. RAUSCH, M.; VOGEL, M.; ROSENBERG, H., Derivatives of Ferrocene. II. Some Reduction Products of Benzoylferrocene and 1, 1'-Dibenzoylferrocene. *The Journal of Organic Chemistry* **1957**, 22 (8), 903-906.

105. Sanders, R.; Mueller-Westerhoff, U. T., The lithiation of ferrocene and ruthenocene: a retraction and an improvement. *Journal of Organometallic Chemistry* **1996**, 512 (1), 219-224.

106. Fiorina, V. J.; Dubois, R. J.; Brynes, S., Ferrocenyl polyamines as agents for the chemoimmunotherapy of cancer. *Journal of medicinal chemistry* **1978**, 21 (4), 393-395.

107. Köpf-Maier, P.; Köpf, H.; Neuse, E. W., Ferrocenium salts—the first antineoplastic iron compounds. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1984**, 23 (6), 456-457.

108. Köpf-Maier, P.; Köpf, H.; Neuse, E., Ferricenium complexes: a new type of water-soluble antitumor agent. *Journal of cancer research and clinical oncology* **1984**, 108 (3), 336-340.

109. Top, S.; Tang, J.; Vessièrès, A.; Carrez, D.; Provot, C.; Jaouen, G., Ferrocenyl hydroxytamoxifen: a prototype for a new range of oestradiol receptor site-directed cytotoxics. *Chemical Communications* **1996**, (8), 955-956.

110. Top, S.; Dauer, B.; Vaissermann, J.; Jaouen, G., Facile route to ferrocifen, 1-[4-(2-dimethylaminoethoxy)]-1-(phenyl-2-ferrocenyl-but-1-ene), first organometallic analogue of tamoxifen, by the McMurry reaction. *Journal of Organometallic Chemistry* **1997**, 541 (1-2), 355-361.

111. Nguyen, A.; Vessièrès, A.; Hillard, E. A.; Top, S.; Pigeon, P.; Jaouen, G., Ferrocifens and ferrocifenols as new potential weapons against breast cancer. *CHIMIA International Journal for Chemistry* **2007**, 61 (11), 716-724.

112. Jaouen, G.; Vessièrès, A.; Top, S., Ferrocifen type anti cancer drugs. *Chemical Society Reviews* **2015**, 44 (24), 8802-8817.

113. Jaouen, G.; Top, S.; Vessieres, A.; Leclercq, G.; McGlinchey, M. J., The first organometallic selective estrogen receptor modulators (SERMs) and their relevance to breast cancer. *Current medicinal chemistry* **2004**, 11 (18), 2505-2517.

114. Top, S.; Vessièrès, A.; Cabestaing, C.; Laios, I.; Leclercq, G.; Provot, C.; Jaouen, G., Studies on organometallic selective estrogen receptor modulators. (SERMs) Dual activity in the hydroxy-ferrocifen series. *Journal of Organometallic Chemistry* **2001**, 637-639, 500-506.

115. Top, S.; Vessièrès, A.; Leclercq, G.; Quivy, J.; Tang, J.; Vaissermann, J.; Huché, M.; Jaouen, G., Synthesis, Biochemical Properties and Molecular Modelling Studies of Organometallic Specific Estrogen Receptor Modulators (SERMs), the Ferrocifens and Hydroxyferrocifens: Evidence for an Antiproliferative Effect of Hydroxyferrocifens on both Hormone-Dependent and Hormone-Independent Breast Cancer Cell Lines. *Chemistry – A European Journal* **2003**, 9 (21), 5223-5236.

116. Hillard, E.; Vessièrès, A.; Thouin, L.; Jaouen, G.; Amatore, C., Ferrocene-mediated proton-coupled electron transfer in a series of ferrocifen-type breast-cancer drug candidates. *Angewandte Chemie* **2006**, 118 (2), 291-296.

117. Vessièrès, A.; Corbet, C.; Heldt, J. M.; Lories, N.; Jouy, N.; Laios, I.; Leclercq, G.; Jaouen, G.; Toillon, R.-A., A ferrocenyl derivative of hydroxytamoxifen elicits an estrogen receptor-independent mechanism of action in breast cancer cell lines. *Journal of inorganic biochemistry* **2010**, 104 (5), 503-511.

118. Hillard, E.; Vessieres, A.; Le Bideau, F.; Plažuk, D.; Spera, D.; Huche, M.; Jaouen, G., A series of unconjugated ferrocenyl phenols: prospects as anticancer agents. *ChemMedChem: Chemistry Enabling Drug Discovery* **2006**, *1* (5), 551-559.
119. Lu, C.; Heldt, J. M.; Guille-Collignon, M.; Lemaître, F.; Jaouen, G.; Vessièrès, A.; Amatore, C., Quantitative analyses of ROS and RNS production in breast cancer cell lines incubated with ferrocifens. *ChemMedChem* **2014**, *9* (6), 1286-1293.
120. Vessièrès, A.; Top, S.; Pigeon, P.; Hillard, E.; Boubeker, L.; Spera, D.; Jaouen, G., Modification of the Estrogenic Properties of Diphenols by the Incorporation of Ferrocene. Generation of Antiproliferative Effects in Vitro. *Journal of Medicinal Chemistry* **2005**, *48* (12), 3937-3940.
121. Plažuk, D.; Vessièrès, A.; Hillard, E. A.; Buriez, O.; Labbé, E.; Pigeon, P.; Plamont, M.-A.; Amatore, C.; Zakrzewski, J.; Jaouen, G., A [3] ferrocenophane polyphenol showing a remarkable antiproliferative activity on breast and prostate cancer cell lines. *Journal of medicinal chemistry* **2009**, *52* (15), 4964-4967.
122. Pigeon, P.; Top, S.; Vessièrès, A.; Huché, M.; Hillard, E. A.; Salomon, E.; Jaouen, G., Selective estrogen receptor modulators in the ruthenocene series. Synthesis and biological behavior. *Journal of medicinal chemistry* **2005**, *48* (8), 2814-2821.
123. Plažuk, D.; Wieczorek, A.; Błaż, A.; Rychlik, B., Synthesis and biological activities of ferrocenyl derivatives of paclitaxel. *MedChemComm* **2012**, *3* (4), 498-501.
124. Plažuk, D.; Wieczorek, A.; Ciszewski, W. M.; Kowalczyk, K.; Błaż, A.; Pawlędzio, S.; Makal, A.; Eurtivong, C.; Arabshahi, H. J.; Reynisson, J.; Hartinger, C. G.; Rychlik, B., Synthesis and in vitro Biological Evaluation of Ferrocenyl Side-Chain-Functionalized Paclitaxel Derivatives. *ChemMedChem* **2017**, *12* (22), 1882-1892.
125. Gracheva, I. A.; Shchegravina, E. S.; Schmalz, H.-G.; Beletskaya, I. P.; Fedorov, A. Y., Colchicine Alkaloids and Synthetic Analogues: Current Progress and Perspectives. *Journal of Medicinal Chemistry* **2020**, *63* (19), 10618-10651.
126. Nicolaus, N.; Zapke, J.; Riesterer, P.; Neudörfl, J.-M.; Prokop, A.; Oschkinat, H.; Schmalz, H.-G., Azides Derived from Colchicine and their Use in Library Synthesis: a Practical Entry to New Bioactive Derivatives of an Old Natural Drug. *ChemMedChem* **2010**, *5* (5), 661-665.
127. Kowalczyk, K.; Błaż, A.; Ciszewski, W. M.; Wieczorek, A.; Rychlik, B.; Plažuk, D., Colchicine metallocenyl bioconjugates showing high antiproliferative activities against cancer cell lines. *Dalton Transactions* **2017**, *46* (48), 17041-17052.
128. Kowalczyk, K.; Błaż, A.; Ciszewski, W. M.; Wieczorek, A.; Rychlik, B.; Plažuk, D., Correction: Colchicine metallocenyl bioconjugates showing high antiproliferative activities against cancer cell lines. *Dalton Transactions* **2018**, *47* (8), 2822-2822.
129. Beaupérin, M.; Polat, D.; Roudesly, F.; Top, S.; Vessièrès, A.; Oble, J.; Jaouen, G.; Poli, G., Approach to ferrocenyl-podophyllotoxin analogs and their evaluation as anti-tumor agents. *Journal of Organometallic Chemistry* **2017**, *839*, 83-90.
130. Wieczorek, A.; Błaż, A.; Makal, A.; Rychlik, B.; Plažuk, D., Synthesis and evaluation of biological properties of ferrocenyl-podophyllotoxin conjugates. *Dalton Transactions* **2017**, *46* (33), 10847-10858.
131. Wieczorek, A.; Błaż, A.; Zakrzewski, J.; Rychlik, B. e.; Plažuk, D., Ferrocenyl 2, 5-piperazinediones as tubulin-binding organometallic ABCB1 and ABCG2 inhibitors active against MDR cells. *ACS medicinal chemistry letters* **2016**, *7* (6), 612-617.
132. Kanoh, K.; Kohno, S.; Asari, T.; Harada, T.; Katada, J.; Muramatsu, M.; Kawashima, H.; Sekiya, H.; Uno, I., (–)-Phenylahistin: a new mammalian cell cycle inhibitor produced by *Aspergillus ustus*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1997**, *7* (22), 2847-2852.

133. Bertuzzi, D. L.; Perli, G.; Braga, C. B.; Ornelas, C., Synthesis, characterization, and anticancer activity of folate γ -ferrocenyl conjugates. *New Journal of Chemistry* **2020**, 44 (12), 4694-4703.
134. Pedotti, S.; Ussia, M.; Patti, A.; Musso, N.; Barresi, V.; Condorelli, D. F., Synthesis of the ferrocenyl analogue of clotrimazole drug. *Journal of Organometallic Chemistry* **2017**, 830, 56-61.
135. Arezki, A.; Chabot, G. G.; Quentin, L.; Scherman, D.; Jaouen, G.; Brulé, E., Synthesis and biological evaluation of novel ferrocenyl curcuminoid derivatives. *MedChemComm* **2011**, 2 (3), 190-195.
136. Hottin, A.; Dubar, F.; Steenackers, A.; Delannoy, P.; Biot, C.; Behr, J.-B., Iminosugar-ferrocene conjugates as potential anticancer agents. *Organic & biomolecular chemistry* **2012**, 10 (29), 5592-5597.
137. Hartinger, C. G.; Nazarov, A. A.; Arion, V. B.; Giester, G.; Jakupec, M.; Galanski, M.; Keppler, B. K., Novel glucose-ferrocenyl derivatives: synthesis and properties. *New Journal of Chemistry* **2002**, 26 (6), 671-673.
138. Noor, F.; Kinscherf, R.; Bonaterra, G. A.; Walczak, S.; Wölfl, S.; Metzler-Nolte, N., Enhanced cellular uptake and cytotoxicity studies of organometallic bioconjugates of the NLS peptide in Hep G2 cells. *ChemBioChem* **2009**, 10 (3), 493-502.
139. Kedge, J. L.; Nguyen, H. V.; Khan, Z.; Male, L.; Horswell, S. L.; Mehellou, Y.; Tucker, J. H., Organometallic nucleoside analogues: effect of hydroxyalkyl linker length on cancer cell line toxicity. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2017**, 2017 (2), 466-476.
140. Nguyen, H. V.; Zhao, Z.-y.; Sallustrau, A.; Horswell, S. L.; Male, L.; Mulas, A.; Tucker, J. H. R., A ferrocene nucleic acid oligomer as an organometallic structural mimic of DNA. *Chemical Communications* **2012**, 48 (100), 12165-12167.
141. Kowalski, K., Ferrocenyl-nucleobase complexes: Synthesis, chemistry and applications. *Coordination Chemistry Reviews* **2016**, 317, 132-156.
142. Wang, R.; Chen, H.; Yan, W.; Zheng, M.; Zhang, T.; Zhang, Y., Ferrocene-containing hybrids as potential anticancer agents: Current developments, mechanisms of action and structure-activity relationships. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2020**, 190, 112109.
143. Stepnicka, P., *Ferrocenes: ligands, materials and biomolecules*. John Wiley & Sons: 2008.
144. Braga, S. S.; Silva, A. M., A new age for iron: antitumoral ferrocenes. *Organometallics* **2013**, 32 (20), 5626-5639.
145. Patra, M.; Gasser, G.; Metzler-Nolte, N., Small organometallic compounds as antibacterial agents. *Dalton Transactions* **2012**, 41 (21), 6350-6358.
146. Edwards, E. I.; Epton, R.; Marr, G., The synthesis and reactions of homonuclear ferrocene acid anhydrides and their use in the preparation of ferrocenylpenicillins and -cephalosporins. *Journal of Organometallic Chemistry* **1979**, 168 (2), 259-272.
147. Biot, C.; Glorian, G.; Maciejewski, L. A.; Brocard, J. S.; Domarle, O.; Blampain, G.; Millet, P.; Georges, A. J.; Abessolo, H.; Dive, D., Synthesis and antimalarial activity in vitro and in vivo of a new ferrocene- chloroquine analogue. *Journal of medicinal chemistry* **1997**, 40 (23), 3715-3718.
148. Ong, Y. C.; Gasser, G., Organometallic compounds in drug discovery: Past, present and future. *Drug Discovery Today: Technologies* **2019**.
149. Dive, D.; Biot, C., Ferrocene Conjugates of Chloroquine and other Antimalarials: the Development of Ferroquine, a New Antimalarial. *ChemMedChem* **2008**, 3 (3), 383-391.

150. Biot, C.; Taramelli, D.; Forfar-Bares, I.; Maciejewski, L. A.; Boyce, M.; Nowogrocki, G.; Brocard, J. S.; Basilico, N.; Olliaro, P.; Egan, T. J., Insights into the mechanism of action of ferroquine. Relationship between physicochemical properties and antiparasmodial activity. *Molecular pharmaceutics* **2005**, 2 (3), 185-193.
151. Polin, J.; Schottenberger, H., CONVERSION OF METHYL KETONES INTO TERMINAL ACETYLENES: ETHYNYLFERROCENE:(FERROCENE ETHYNYL). *Organic syntheses* **1996**, 73, 262-269.
152. Mariani, A.; Bartoli, A.; Atwal, M.; Lee, K. C.; Austin, C. A.; Rodriguez, R., Differential Targeting of Human Topoisomerase II Isoforms with Small Molecules. *Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, 58 (11), 4851-4856.
153. Hansen, H. F.; Jensen, R. B.; Willumsen, A. M.; Nørskov-Lauritsen, N.; Ebbesen, P.; Nielsen, P. E.; Buchardt, O., New compounds related to podophyllotoxin and congeners: synthesis, structure elucidation and biological testing. *Acta Chem Scand* **1993**, 47 (12), 1190-1200.
154. Tian, X.; Wang, Y.-g.; Yang, M.-g.; Chen, Y.-z., Synthesis and antitumor activity of spin labeled derivatives of podophyllotoxin. *Life Sciences* **1997**, 60 (8), 511-517.
155. Rinehart, K.; Curby, R.; Sokol, P. E., ORGANIC CHEMISTRY OF FERROCENE. 2. THE PREPARATION OF OMEGA-FERROCENYL ALIPHATIC ACIDS. *JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY* **1957**, 79 (13), 3420-3424.
156. Hofer, O.; Schlögl, K., Synthesen von mono-und disubstituierten ruthenocenen. *Journal of Organometallic Chemistry* **1968**, 13 (2), 443-456.
157. Suzuki, I.; Chen, Q.; Ueno, A.; Osa, T., Ferrocene-appended cyclodextrins. The effects of temperature, organic solvent, length of spacer, and cavity size on the complexation behavior. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1993**, 66 (5), 1472-1481.
158. Jr, K. J. R.; Jr, R. J. C.; Sokol, P. E., Organic chemistry of ferrocene. II. The preparation of ferrocenyl aliphatic. *Journal of the American Chemical Society* **1957**, 79 (13), 3420-3424.
159. Davis, W. L.; Shago, R. F.; Langner, E. H.; Swarts, J. C., Synthesis and electrochemical properties of a series of ferrocene-containing alcohols. *Polyhedron* **2005**, 24 (12), 1611-1616.
160. Peng, C.; Zhou, X.; Chen, G. Z.; Moggia, F.; Fages, F.; Brisset, H.; Roncali, J., Internally referenced analysis of charge-transfer reactions in a new ferrocenyl bithiophenic conducting polymer through cyclic voltammetry. *Chemical communications* **2008**, (48), 6606-6608.
161. Rydon, H. N.; Smith, P. W. G., 702. Polypeptides. Part IV. The self-condensation of the esters of some peptides of glycine and proline. *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1956**, (0), 3642-3650.
162. Popovici-Muller, J.; Lemieux, R. M.; Artin, E.; Saunders, J. O.; Salituro, F. G.; Travins, J.; Cianchetta, G.; Cai, Z.; Zhou, D.; Cui, D.; Chen, P.; Straley, K.; Tobin, E.; Wang, F.; David, M. D.; Penard-Lacronique, V.; Quivoron, C.; Saada, V.; de Botton, S.; Gross, S.; Dang, L.; Yang, H.; Utley, L.; Chen, Y.; Kim, H.; Jin, S.; Gu, Z.; Yao, G.; Luo, Z.; Lv, X.; Fang, C.; Yan, L.; Olaharski, A.; Silverman, L.; Biller, S.; Su, S.-S. M.; Yen, K., Discovery of AG-120 (Ivosidenib): A First-in-Class Mutant IDH1 Inhibitor for the Treatment of IDH1 Mutant Cancers. *ACS Medicinal Chemistry Letters* **2018**, 9 (4), 300-305.
163. Narita, K.; Matsuhara, K.; Itoh, J.; Akiyama, Y.; Dan, S.; Yamori, T.; Ito, A.; Yoshida, M.; Katoh, T., Synthesis and biological evaluation of novel FK228 analogues

as potential isoform selective HDAC inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2016**, *121*, 592-609.

164. Xi, Y.-K.; Zhang, H.; Li, R.-X.; Kang, S.-Y.; Li, J.; Li, Y., Total Synthesis of Spirotryprostatins through Organomediated Intramolecular Umpolung Cyclization. *Chemistry – A European Journal* **2019**, *25* (12), 3005-3009.

165. Okulov, V. N.; Dyadchenko, M. A.; Churakov, A. V.; Polunin, E. V.; Lemenovskii, D. A.; Yu, H.; Wang, L.; Dyadchenko, V. P., Rod-like derivatives of ferrocenylacetylene: syntheses and structure. *Mendeleev Communications* **2015**, *25* (3), 171-173.

166. Dawidowski, M.; Herold, F.; Wilczek, M.; Kleps, J.; Wolska, I.; Turło, J.; Chodkowski, A.; Widomski, P.; Bielejewska, A., The synthesis and conformational analysis of optical isomers of 4-phenyl-perhydropyrido[1,2-a]pyrazine-1,3-dione: an example of ‘solid state–frozen’ dynamics in nitrogen-bridged bicyclic 2,6-diketopiperazines. *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20* (15), 1759-1766.

167. Chou, T.-C., Drug Combination Studies and Their Synergy Quantification Using the Chou-Talalay Method. *Cancer research* **2010**, *70* (2), 440.

168. Luo, J.; Smith, M. D.; Lantrip, D. A.; Wang, S.; Fuchs, P. L., Efficient Syntheses of Pyrofolic Acid and Pteroyl Azide, Reagents for the Production of Carboxyl-Differentiated Derivatives of Folic Acid. *Journal of the American Chemical Society* **1997**, *119* (42), 10004-10013.

169. Steffen, W.; Laskoski, M.; Collins, G.; Bunz, U., Triformylferrocenes, novel modules for organometallic scaffolds. *Journal of Organometallic Chemistry* **2001**, *630* (1), 132-138.

170. Marques, S. M.; Enyedy, É. A.; Supuran, C. T.; Krupenko, N. I.; Krupenko, S. A.; Amélia Santos, M., Pteridine–sulfonamide conjugates as dual inhibitors of carbonic anhydrases and dihydrofolate reductase with potential antitumor activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2010**, *18* (14), 5081-5089.

171. COISH, P., D., G.; WICKENS, P.; DIXON, B.; OSTERMAN, D.; KHIRE, U., R.; NAVIA, M.; BERMAN, J.; KAUR, H.; WILSON, J.; UNDERWOOD, D. DIAMINOPTERIDINE DERIVATIVES. 2010.

10. Działalność naukowa

1. Damian Plażuk, Michał Łomzik, Karolina Chrabąszcz, Anna Wieczorek-Błąż, „*Thiiranes and Thiirenes—Monocyclic*”, Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering, **2020**, 1-52

DOI: 10.1016/B978-0-12-409547-2.14786-9

2. Karolina Chrabąszcz, Andrzej Błąż, Martyna Gruchała, Marcin Wachulec, Błażej Rychlik, Damian Plażuk, “*Synthesis and Biological Activity of Ferrocenyl and Ruthenocenyl Analogues of Etoposide: Discovery of a Novel Dual Inhibitor of Topoisomerase II Activity and Tubulin Polymerization*”, Chemistry A European Journal, **2021**, 27, 6254-6262

DOI: 10.1002/chem.202005133

10.1 Udział w projektach badawczych

1. Wykonawca Grantu UMO-2015/17/B/NZ7/03011 pt. "Analogi kwasu foliowego o właściwościach cytotoksycznych a przełamanie bariery oporności wielolekowej" (kierownik grantu, dr Błażej Rychlik)
2. Wykonawca Grantu UMO-2018/29/B/ST5/01736 pt. "Związki metaloorganiczne jako selektywne inhibitory wybranych białek oporności wielolekowej" (kierownik grantu, dr hab. Damian Plażuk, prof. UŁ)

10.2 Spis komunikatów konferencyjnych

10.2.1 Komunikaty ustne

1. K. Chrabąszcz, A. Błąż, B. Rychlik, D. Plażuk, „Ferrocenylowe i rutenocenylowe analogi etopozyny – synteza i właściwości cytotoksyczne”. VI Ogólnopolska konferencja dla młodych naukowców „Pomiędzy Naukami” Chorzów, 14.09.2018 r.
2. K. Chrabąszcz, B. Rychlik, D. Plażuk, „Synteza i aktywność biologiczna wybranych analogów etopozyny”, 62 Zjazd Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Warszawa, 2.09-06.09.2019 r.

10.2.2 Komunikaty posterowe

1. K. Chrabąszcz, B. Rychlik, D. Plażuk, „Ferrocenyłowe koniugaty 4'-demetyloepipodofilotoksyny. Synteza i właściwości cytotoksyczne”, Ogólnopolskie Studenckie Mikrosymposium Chemików – „Chemia – przyszłość zaczyna się dziś”, Białystok, 30.03-2.04.2017 r.
2. K. Chrabąszcz, E. Kozłowska, P. Żelechowska, J. Agier, „Wpływ mikrobioty jelitowej na rozwój mózgu, starzenie i neurodegenerację”, III Ogólnopolska konferencja doktorantów nauk o życiu – „Bioopen”, Łódź, 11.05-12.05.2017 r.
3. K. Chrabąszcz, B. Rychlik, D. Plażuk, „Wybrane metalocenowe analogi etopozyny”, V Łódzkie symposium doktorantów chemii, Łódź, 11.05-12.05.2017 r.
4. K. Chrabąszcz, B. Rychlik, D. Plażuk, „Synteza i właściwości cytotoksyczne wybranych metalocenowych analogów etopozyny”, VI Ogólnopolska konferencja dla młodych naukowców „Pomiędzy Naukami” Chorzów, 15.09.2017 r.
5. K. Chrabąszcz, B. Rychlik, D. Plażuk, „Synteza i aktywność biologiczna wybranych analogów etopozyny”, 60 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Wrocław 17.09-21.09.2017 r.
6. K. Chrabąszcz, B. Rychlik, D. Plażuk, „Synthesis and biological properties of ferrocenyl and ruthenocenyl conjugates of etoposide”, 20th International symposium „Advances in the chemistry of heteroorganic compounds”, Łódź, 23.11-24.11.2017 r.
7. K. Chrabąszcz, A. Błaż, B. Rychlik, D. Plażuk, „Metalocenowe analogi etopozyny. Synteza i właściwości cytotoksyczne”, XI Ogólnopolskie Symposium chemii organicznej, Warszawa, 8.04-11.04.2018 r.
8. K. Chrabąszcz, M. Żuberek, D. Plażuk, B. Rychlik, „Synteza i cytotoksyczność ferrocenyłowych analogów kwasu foliowego i metotreksatu”, VI Łódzkie symposium doktorantów chemii, Łódź, 10.05-11.05.2018 r.
9. K. Chrabąszcz, M. Żuberek, D. Plażuk, B. Rychlik, „Synthesis and evaluation of biological properties of ferrocenyl analogs of folic acid and methotrexate”, 28th International Conference on organometallic Chemistry, Florencja, Włochy, 15.07-20.07.2018 r.
10. K. Chrabąszcz, D. Plażuk, M. Żuberek, B. Rychlik, „Synthesis of ferrocenyl analogs of folic acid”, Advances in the chemistry of heteroorganic compounds”, Łódź, 23.11.2018 r.

11. K. Chrabąszcz, B. Rychlik, A. Błaż, D. Plażuk, „Synteza i aktywność biologiczna wybranych analogów etopozyny”, Dokonania Naukowe Doktorantów – VII Edycja, Warszawa, 12.04.2019 r.
12. K. Chrabąszcz, D. Plażuk, M. Żuberek, B. Rychlik, „Synthesis and evaluation of biological properties of ferrocenyl analogs of folic acid”, „15th International symposium on Applied Bioinorganic Chemistry”, Nara, Japonia, 02.06-05.06.2019 r.
13. K. Chrabąszcz, B. Rychlik, D. Plażuk, „Ferrocenyl and ruthenocenyl conjugates of etoposide. Synthesis and evaluation of biological activity”, 9th International Symposium on Bioorganometallic Chemistry, York, Wielka Brytania, 28.07-02.08.2019 r.
14. K. Chrabąszcz, D. Plażuk, „Synteza ferrocenyłowych analogów GABA i ich wykorzystanie w syntezie peptydów”, VII Łódzkie sympozjum doktorantów chemii, Łódź, 09.05-10.05.2019 r.
15. K. Chrabąszcz, B. Rychlik, D. Plażuk, „Synthesis of α -glutamylated ferrocenyl analogs of folic acid”, XXII International Symposium “Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds”, Łódź, 22.11.2019 r.

10.3 Pozostała działalność

Udział w komitetach organizacyjnych konferencji naukowych:

1. VII Łódzkie sympozjum doktorantów chemii. Łódź, 9.05-10.05.2019 r.

Nagrody:

- 2016/2017 - Stypendium jakościowe dla najlepszych doktorantów
- 2016/2017- Stypendium rektora dla najlepszych doktorantów
- 2019/2020 - Stypendium rektora dla najlepszych doktorantów

