

Konjugati 1,2,3-triazola i heterocikla: sinteza, antimikrobna i citostatska ispitivanja

Maračić, Silvija

Doctoral thesis / Disertacija

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:799503>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-19**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

Silvija Maračić

**KONJUGATI 1,2,3-TRIAZOLA I HETEROCIKLA:
SINTEZA, ANTIMIKROBNA I CITOSTATSKA
ISPITIVANJA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2019.



University of Zagreb

FACULTY OF CHEMICAL ENGINEERING AND TECHNOLOGY

Silvija Maračić

**1,2,3-TRIAZOLE AND HETEROCYCLE
CONJUGATES: SYNTHESIS, ANTIMICROBIAL
AND CYTOSTATIC EVALUATIONS**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2019.



Sveučilište u Zagrebu

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

Silvija Maračić

**KONJUGATI 1,2,3-TRIAZOLA I HETEROCIKLA:
SINTEZA, ANTIMIKROBNA I CITOSTATSKA
ISPITIVANJA**

DOKTORSKI RAD

Mentor: Prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić

Zagreb, 2019.



University of Zagreb

FACULTY OF CHEMICAL ENGINEERING AND TECHNOLOGY

Silvija Maračić

**1,2,3-TRIAZOLE AND HETEROCYCLE
CONJUGATES: SYNTHESIS, ANTIMICROBIAL
AND CYTOSTATIC EVALUATIONS**

DOCTORAL THESIS

Supervisor: Prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić

Zagreb, 2019.

Bibliografski podaci:

- ❖ UDK: 547.857.057:615.28.011(043.3)
- ❖ Znanstveno područje: prirodne znanosti
- ❖ Znanstveno polje: kemija
- ❖ Institucija: Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije
- ❖ Voditelj rada: Prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić
- ❖ Broj stranica: 188
- ❖ Broj slika: 59
- ❖ Broj tablica: 13
- ❖ Broj shema: 32
- ❖ Broj literaturnih referenci: 119
- ❖ Datum obrane: 18. srpnja 2019.
- ❖ Sastav povjerenstva za obranu: Izv. prof. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević, FKIT
Izv. prof. dr. sc. Svjetlana Krištafor, FKIT
Izv. prof. dr. sc. Senka Djaković, PBF
- ❖ Rad je pohranjen u:
Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Hrvatske bratske zajednice bb;
Knjižnici Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu, Marulićev trg 20;
Knjižnici Sveučilišta u Rijeci, Dolac 1;
Knjižnici Sveučilišta u Splitu, Livanjska 5 i
Knjižnici Sveučilišta u Osijeku, Europska avenija 24.

Tema rada prihvaćena je na sjednici Fakultetskog vijeća Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu održanoj 21. listopada 2013. te odobrena na sjednici Senata Sveučilišta u Zagrebu održanoj 10. prosinca 2013.

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Silvani Raić-Malić na predloženoj temi, svim savjetima i stručnoj pomoći koju mi je pružila tijekom izrade i pisanja ovog doktorskog rada.

Zahvaljujem izv. prof. dr. sc. Sandri Kraljević Pavelić s Odjela za biotehnologiju Sveučilišta u Rijeci kao i prof. dr. sc. Ljubici Glavaš-Obrovac s Medicinskog fakulteta Josipa Jurja Strossmayera Sveučilišta u Osijeku na provedenom ispitivanju antitumorskog djelovanja novopriređenih spojeva.

Zahvaljujem izv. prof. dr. sc. Donatelli Verbanac s Medicinskog fakulteta i doc. dr. sc. Domagoju Drenjančeviću s Medicinskog fakulteta Josipa Jurja Strossmayera Sveučilišta u Osijeku na ispitivanju antibakterijskog djelovanja novopriređenih spojeva.

Hvala izv. prof. dr. sc. Mariu Cetini s Tekstilno-tehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na određivanju kristalnih struktura spojeva.

Hvala doc. dr. sc. Ivani Stolić s Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na pomoći prilikom određivanja i interpretacije rezultata ispitivanja interakcije spojeva s ctDNA i dsRNA.

Hvala izv. prof. dr. sc. Senki Djaković i doc. dr. sc. Jasmini Lapić s Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na pomoći u sintezi konjugata kinolina i ferocena.

Zahvaljujem također dr. sc. Krunoslavu Užareviću i dr. sc. Martini Tireli s Instituta Ruđer Bošković gdje su provedene mehanokemijske reakcije.

Zahvaljujem kolegicama izv. prof. dr. sc. Tatjani Gazivoda Kraljević i izv. prof. dr. sc. Svjetlani Krištafor na pomoći i savjetima, posebice u počecima.

Hvala kolegicama dr. sc. Andrijani Meščić Macan i dr. sc. Andrei Bistrović na pomoći, savjetima i dobrom društvu uz puno smijeha.

Zahvaljujem svim članovima Zavoda za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije na ugodnoj radnoj atmosferi i kolegijalnosti.

Veliko hvala mojim roditeljima, obitelji, Robiju, Roku i Lovri na svemu.

Istraživanje u doktorskome radu provedeno je u okviru projekta Hrvatske zaklade za znanost HRZZ-IP-11-2013-5596 "Sinteza i citostatska ispitivanja biblioteke novih dušikovih heterocikla (SCIENCENTRY)".

SAŽETAK

U doktorskom radu opisana je sinteza i biološko djelovanje novih konjugata 1,2,3-triazola i heterocikličkih baza, poput benzimidazola, indola, benzotiazola, kumarina i kinolina. 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazolni derivati sintetizirani su regioselektivnom 1,3-dipolarnom cikloadicijom kataliziranom bakrom Cu(I) (CuAAC). Sinteza prekursora **6** i **24**, potrebnih za pripremu acikličkih pirimidinskih nukleozidnih analoga, kao i sinteza 1,2,3-triazolnih *bis*-heterocikla **39–53** i **55–60**, provedena je pod utjecajem mikrovalnog zračenja kako bi se povećalo iskorištenje i skratilo vrijeme trajanja reakcije. Konjugati 1,2,3-triazola i 6-fenil-2-(trifluormetil)kinolina **75a–75d** dodatno su sintetizirani mehanokemijskom *klik* reakcijom te je ispitan utjecaj *p*-supstituenta aromatskih azida na tijek reakcije. Cijano-supstituirani derivati **79a–79i** prevedeni su reakcijom s hidroksilaminom u prisutnosti baze u odgovarajuće amidoksim-supstituirane derivate (**80–90**), odnosno Pinnerovom reakcijom u amidino-supstituirane derivate **91–98**. Reakcijom CuAAC azidoferocena i propargiliranih derivata kinolina dobiveni su *O*-alkilirani derivati kinolina (**104a–104d**, **105a–105d**) i *N*-alkilirani derivati kinolona i 1,2,3-triazola (**106a**, **106b**, **107a** i **107b**), dok su konjugati s 1,4-disupstituiranim 1,2,3-triazolom **109a–109d** dobiveni reakcijom 4-(azidoetoksi)kinolina i etinil-ferocena. Sintetiziranim spojevima ispitano je antitumorsko djelovanje na niz staničnih linija karcinoma porijeklom iz čovjeka te antibakterijsko djelovanje na odabrane gram-pozitivne i gram-negativne bakterijske vrste. Hibrid benzotiazol–1,2,3-triazol–kumarina **59** pokazao je izraženo antibakterijsko djelovanje protiv bakterije *Moraxella catarrhalis*. Amidino-supstituiranim konjugatima 1,2,3-triazola i heterocikla koji su pokazali snažno antitumorsko djelovanje (**91–93**, **95** i **96**) ispitane su interakcije s dvolančanim polinukleotidima *ct*DNK i dsRNK (pApU) primjenom UV/Vis i CD-spektroskopije te određivanjem temperature mekšanja. Konjugati ferocena i kinolina povezani 1,2,3-triazolnim prstenom **106a** i **109c** pokazali su značajnu antiproliferativnu aktivnost na stanice kronične mijeloidne leukemije (K562) i Burkittov limfoma (Raji). Spoj **109c** je također pokazao udvostručenu proizvodnju reaktivnih kisikovih spojeva (ROS) u stanicama Raji, u odnosu na kontrolu.

Ključne riječi: amidini, antibakterijsko djelovanje, antitumorsko djelovanje, feroceni, kinolin, kumarin, mehanokemija, molekulska hibridizacija, 1,2,3-triazoli

SUMMARY

This thesis describes synthesis and biological activity of novel 1,2,3-triazole and heterocycle conjugates. 1,4-Disubstituted 1,2,3-triazole derivatives were synthesized by copper-catalyzed 1,3-dipolar cycloaddition (CuAAC). Synthesis of precursors **6** i **24** used for preparation of acyclic pyrimidine nucleoside analogues, and 1,2,3-triazole *bis*-heterocycles **39–53** and **55–60** were conducted under microwave assisted reactions in order to increase yields and shorten reaction time. 1,2,3-Triazole and 6-phenyl-2-(trifluoromethyl)quinoline conjugates **75a–75d** were additionally synthesized by mechanochemical click reaction and the effect of *p*-substituent of aromatic azide on reaction course was analyzed. Reaction of cyano substituted derivatives **79a–79i** with hydroxylamine in the presence of base resulted in the desired amidoxime substituted heterocycles **80–90**, while amidino substituted heterocycles **91–98** were synthesized according to the Pinner method. Novel *O*-alkylated quinoline (**104a–104d**, **105a–105d**) and *N*-alkylated (**106a**, **106b**, **107a** and **107b**) 4-quinolone derivatives attached to the ferrocene moiety through 1,4-disubstituted 1,2,3-triazole were prepared by CuAAC reaction of azidoferrocene precursors and propargylated quinoline derivatives, while quinoline-ferrocene conjugates **109a–109d** with 1,4-disubstituted 1,2,3-triazole were obtained by reaction of 4-(azidoethoxy)quinoline derivatives and ethynylferrocene. All prepared compounds were tested for their *in vitro* antitumor activities on several human cancer cells and normal fibroblasts and antibacterial activity against selected Gram-positive and Gram-negative bacteria. Benzothiazole–1,2,3-triazole–coumarin hybrid **59** showed a strong antibacterial activity against Gram-negative bacteria *Moraxella catarrhalis*. The interactions with double-stranded polynucleotides *ct*DNA and dsRNA (pApU) of chosen amidino substituted compounds **91–93**, **95** i **96** that displayed strongest antiproliferative activity were studied by using UV-Vis and CD spectroscopy and thermal denaturation experiments. 1,2,3-Triazole tethered quinoline-ferrocene conjugates **106a** and **109c** displayed marked activities on chronic myeloid leukemia in blast crisis (K562) and Burkitt lymphoma (Raji). Also, compound **109c** showed doubled intracellular reactive oxygen species (ROS) generation in Raji cells compared with control.

Key words: amidines, antibacterial activity, antitumor activity, ferrocenes, quinoline, coumarin, mechanochemistry, molecular hybridization, 1,2,3-triazoles

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. OPĆI DIO	5
2.1. Molekulska hibridizacija	7
2.2. Sinteza i fizikalno-kemijska svojstva 1,2,3-triazola	10
2.2.1. Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija	10
2.2.2. <i>Klik</i> kemija	11
2.2.3. Cikloadicija azida i alkina katalizirana bakrom (CuAAC)	12
2.2.4. Mehanizam CuAAC	13
2.2.5. Katalizatori	15
2.2.6. Fizikalno-kemijska svojstva 1,2,3-triazola	17
2.3. Biološka aktivnost hibrida 1,2,3-triazola i heterocikla	18
2.3.1. 1,2,3-triazoli u strukturi nukleozidnih analoga	19
2.3.1.1. Aciklički 1,2,3-triazolni nukleozidi	20
2.3.2. Hibridi 1,2,3-triazola i kinolina i 1,2,3-triazola i kinolona	24
2.3.2.1. Conrad-Limpachova sinteza kinolona	28
2.3.3. Hibridi 1,2,3-triazola i kumarina	30
2.3.4. Hibridi 1,2,3-triazola i ferocena	34
3. REZULTATI I RASPRAVA	39
3.1. Konjugati 1,2,3-triazola i acikličkih pirimidinskih nukleozidnih analoga	41
3.1.1. Sinteza konjugata 1,2,3-triazola i acikličkih pirimidinskih nukleozidnih analoga	41
3.1.2. Kristalne i molekulske strukture spojeva 2 , 3 , 5 i 27	46
3.2. Konjugati 1,2,3-triazola i heterocikličkih baza	50
3.2.1. Sinteza konjugata 1,2,3-triazola i heterocikličkih baza	50
3.2.2. Kristalna i molekulska struktura spoja 35	54
3.2.3. Spektroskopska karakterizacija spojeva 48–53 i 55–60 UV-Vis i fluorimetrijskom spektroskopijom	54
3.2.4. Biološka ispitivanja konjugata 1,2,3-triazola i heterocikličkih baza 35–68a	56
3.3. Konjugati 1,2,3-triazola i kinolina	60
3.3.1. Konvencionalna sinteza konjugata 1,2,3-triazola i kinolina	60
3.3.2. Mehanokemijska sinteza konjugata 1,2,3-triazola i kinolina.....	62
3.3.3. Kristalne i molekulske strukture konjugata 1,2,3-triazola i kinolina 75a–75d	63

3.3.3. <i>In situ</i> praćenje tijeka mehanokemijske reakcije CuAAC Ramanovom spektroskopijom	66
3.3.4. Rezultati bioloških ispitivanja	69
3.4. Cijano-, amidino- i amidoksim-supstituirani konjugati 1,2,3-triazola i heterocikličkih baza	71
3.4.1. Sinteza cijano-, amidino- i amidoksim-supstituiranih derivata 1,2,3-triazola	71
3.4.2. Kristalne i molekulske strukture cijano-supstituiranih heterocikličkih derivata 1,2,3-triazola 79b i 79g	73
3.4.3. Spektroskopska karakterizacija amidino-supstituiranih heterocikličkih derivata 1,2,3-triazola derivata 91–93, 95 i 96	74
3.4.4. Biološka ispitivanja	75
3.4.4.1. Antiproliferativna ispitivanja cijano-, amidino- i amidoksim-supstituiranih derivata 1,2,3-triazola	75
3.4.5. Ispitivanje interakcije amidino-supstituiranih derivata 91–93, 95 i 96 s dvolančanim polinukleotidima	78
3.4.5.1. UV/Vis titracije amidino-supstituiranih heterocikličkih derivata 1,2,3-triazola 91–93, 95 i 96 s ctDNK i dsRNK	78
3.4.5.2. Određivanje promjene temperature mekšanja (ΔT_m)	79
3.4.5.3. Spektroskopija cirkularnog dikroizma (CD)	80
3.5. Konjugati kinolina i ferocena povezani 1,2,3-triazolilnom poveznicom	83
3.5.1. Sinteza konjugata kinolina i ferocena povezanih 1,2,3-triazolilnom poveznicom	83
3.5.2. Kristalne i molekulske strukture hibrida kinolin–1,2,3-triazol–ferocena 104a, 104b, 105d, 109a i 109c	85
3.5.3. Spektroskopska i računalna analiza regiosektivne reakcije propargiliranja	89
3.5.4. Biološka ispitivanja hibrida kinolin–1,2,3-triazol–ferocena i kinolon–1,2,3-triazol–ferocena	92
3.5.4.1. Antiproliferativna ispitivanja	92
3.5.4.2. Određivanje antioksidativne aktivnosti DPPH metodom	93
4. EKSPERIMENTALNI DIO	97
4.1. Opće napomene	99
4.2. Sinteza konjugata 1,2,3-triazola i acikličkih pirimidinskih analoga nukleozida	100
4.3. Sinteza konjugata 1,2,3-triazola i heterocikličkih baza	115
4.3.1. Općeniti postupak za sintezu propargiliranih spojeva 31–34	117
4.3.2. Općeniti postupak za sintezu <i>NH</i> -1,2,3-triazola 35–38	118

4.3.3. Općeniti postupak sinteze 1,2,3-triazolnih bis-heterocikla 39–53 i 55–60	120
4.3.4. Opći postupak za sintezu <i>N</i> -alkiliranih 1,2,3-triazola 61a,b–64a	130
4.3.5. Opći postupak za sintezu spojeva 65a,b–68a	133
4.4. Sinteza konjugata 1,2,3-triazola i kinolina	136
4.4.1. Opći postupak sinteze 6-supstituiranih derivata kinolona 71 i 72	136
4.4.2. Opći postupak sinteze propargiliranih derivata kinolona 73 i 74	137
4.4.3. Opći postupak sinteze konjugata kinolina i 1,2,3-triazola 75a–75f i 76a–76f	138
4.5. Sinteza cijano- (79a–79i), amidoksim- (80–90) i amidino-supstituiranih (91–98)	
konjugata 1,2,3-triazola i heterocikličkih baza	143
4.5.1. Sinteza propargiliranih derivata cijano-supstituiranih heterocikla 77c , 77d i 77i	144
4.5.2. Opći postupak sinteze cijano-supstituiranih heterocikličkih derivata 1,2,3-triazola 79a–79i	146
4.5.3. Opći postupak sinteze amidoksim-supstituiranih heterocikličkih derivata 1,2,3-triazola 80–90	149
4.5.4. Opći postupak pripreme imidazolinil-supstituiranih heterocikličkih derivata 1,2,3-triazola 91–98	153
4.6. Sinteza konjugata kinolina i ferocena povezanih 1,2,3-triazolilnom poveznicom	158
4.6.1. Priprava 6-klor-2-(trifluormetil)kinolin-4(1 <i>H</i>)-ona (100c).....	158
4.6.2. Opći postupak sinteze <i>O</i> - i <i>N</i> -propargiliranih derivata kinolona (101a–101d , 102a i 102b)	159
4.6.3. Opći postupak sinteze derivata 4-(2-brometoksi)kinolina 103a–103d	160
4.6.4. Opći postupak sinteze derivata 4-azidoetoksikinolina (108a–108b)	162
4.6.5. Opći postupak sinteze hibrida kinolin–1,2,3-triazol–ferocen 109a–109d	163
4.7. Rendgenska strukturna analiza	165
4.8. Biološka ispitivanja	165
4.8.1. Antitumorska ispitivanja <i>in vitro</i>	165
4.8.1.1. MTT Test.....	166
4.8.2. Antibakterijska ispitivanja	166
4.9. Ispitivanje interakcija odabranih spojeva s polinukleotidima	167
4.9.1. Polinukleotidi	167
4.9.2. UV/Vis spektroskopija.....	167
4.9.3. Određivanje promjene temperature mekšanja (ΔT_m).....	168

4.9.4. Cirkularni dikroizam (CD).....	168
4.10. <i>In silico</i> analiza.....	168
5. ZAKLJUČAK.....	169
6. LITERATURA	175
7. PRILOZI.....	189

1. UVOD

Nedavna dostignuća u razvoju antitumorskih lijekova značajno su doprinijela samom izlječenju te bolesti kao i poboljšanju kvalitete života oboljelih od raka. Međutim, u mnogim slučajevima, dobra početna reakcija na liječenje se često nakon toga mijenja, što dovodi do recidiva bolesti. [1] Vrlo često terapija primijenjena u liječenju tumorskih oboljenja rezultira pojavom otpornosti na tumorske lijekove. Velik broj pacijenata ne reagira povoljno na primijenjenu terapiju (primarna ili urođena otpornost na lijekove) ili razvijaju otpornost tijekom same terapije (sekundarna ili stečena otpornost). [2] Tumorske stanice mogu stvoriti otpornost na jedan lijek (eng. *one-drug resistance*) ili na niz lijekova koji se razlikuju po strukturi i po mehanizmu djelovanja (eng. *multiple drug resistance*, MDR). Mnogo truda se ulaže kako bi se razjasnili mehanizmi otpornosti te razvili novi lijekovi koji bi prevladali ovaj veliki problem. [1,3] Pritom uvelike pomaže primjena novih tehnologija poput pozitron-emisijske tomografije, koja može pomoći u određivanju mehanizma otpornosti na lijek *in vivo* i molekuskog modeliranja, koje omogućuje ciljano dizajniranje novih lijekova. [2]

Još jedan veliki problem u medicini danas stvara i otpornost bakterija na antibiotike, a smatra se jednom od najvećih prijetnji ljudskom zdravlju na svijetu. [4] Naime, od otkrića penicilina, 1928. godine, uslijedila je sinteza i komercijalna proizvodnja mnogih antibiotika, a procjenjuje se da se godišnje proizvede oko 100 000 tona antibiotika. [5] Kriva primjena antibiotika, od malih razmjera poput krivo propisane antibiotske terapije od liječnika, preko nepotrebnih i nepravilnih primjena od strane samih pacijenata te nepravilnog doziranja i trajanja liječenja, do primjene širokih razmjera u stočarstvu za liječenje i poticanje rasta životinja, pogodovalo je razvoju otpornosti bakterija na antibiotike. [6] Neki sojevi bakterija razvili su otpornost na sve dostupne agense (eng. *multidrug resistant (MDR) bacteria*), poput zloglasnog slučaja bakterije *Staphylococcus aureus* (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, MRSA) otporne na metilicin te niz drugih lijekova poput aminoglikozida, makrolida, tetraciklina, kloramfenikola i linkozamida. [5] Posljednjih godina koristi se često i termin ESKAPE patogeni koji predstavlja skupinu bakterija otpornih na antibiotike (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Enterobacter* vrste) koje uzrokuju izrazito opasne tzv. bolničke infekcije, a koji imaju sposobnost izbjeći djelovanje uobičajenih antibiotika. [7]

Sve navedeno iziskuje potrebu za sintezom novih spojeva s djelotvornijim biološkim djelovanjem. Molekulska hibridizacija je metoda kojom se spajanjem dva farmakofora može sintetizirati hibridna molekula s boljim farmakokinetičkim svojstvima. Takav hibridni spoj

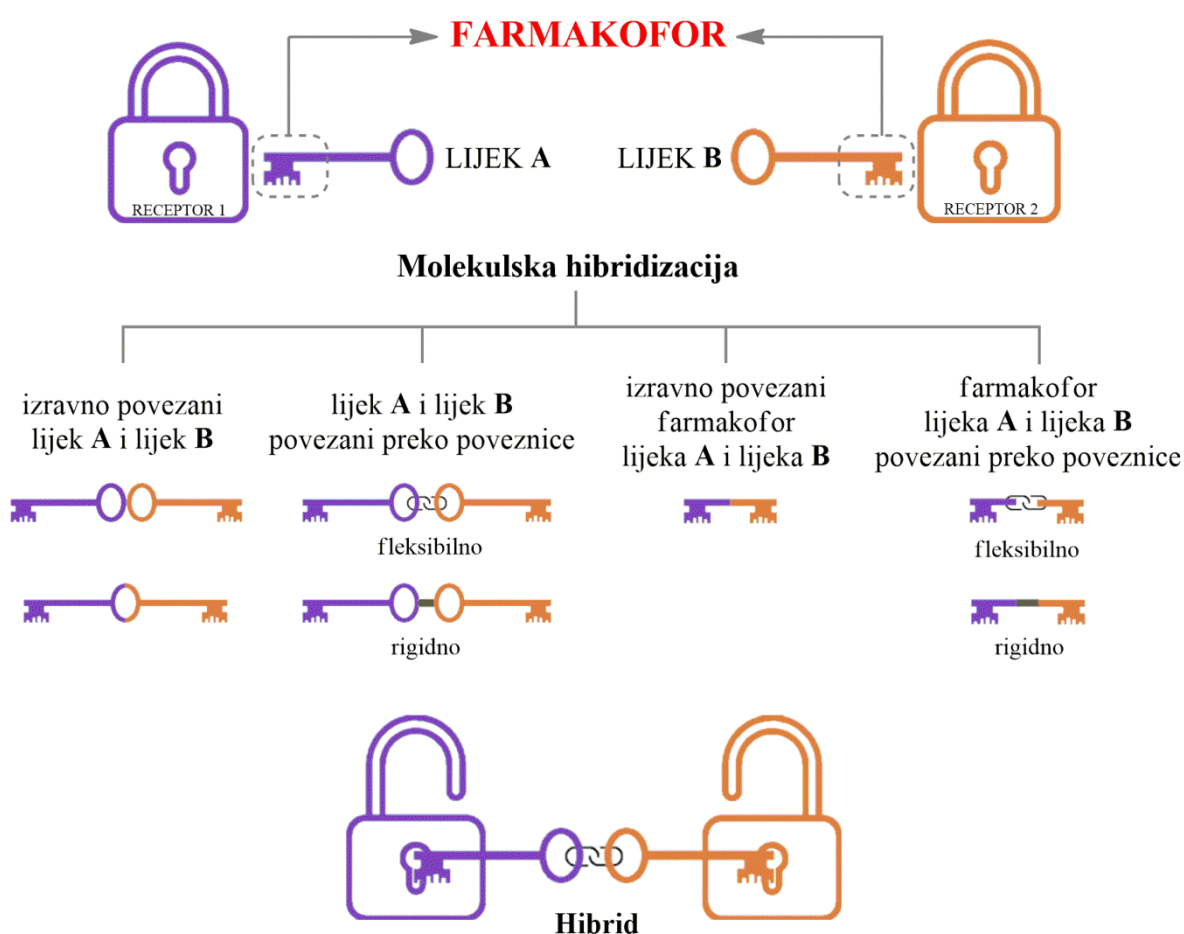
može djelovati na više receptora i omogućiti primjenu jednog umjesto dva različita lijeka. [8,9]

Klik kemija podrazumijeva niz brzih, pouzdanih i selektivnih reakcija koje omogućavaju brzu sintezu serije novih spojeva. [10] Sinonimom *klik* kemije postala je reakcija 1,3-dipolarne cikloadicije azida i alkina katalizirana bakrom (CuAAC). Reakcija CuAAC je regiospecifična te kao produkti nastaju isključivo 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazolni derivati. Ovakvi molekularni hibridi, u kojima 1,2,3-triazolni prsten može djelovati kao farmakofor ili kao poveznica, pokazali su širok spektar biološkog djelovanja te su temelj mnogih istraživanja s ciljem otkrivanja novih učinkovitijih lijekova. [11]

2. OPĆI DIO

2.1. Molekulska hibridizacija

Veliki izazov u dizajniranju novih lijekova i dalje predstavlja sinteza lijekova s boljim fizikalno-kemijskim svojstvima. [9] Naime, na učinkovitost lijeka utječu njegova fizikalno-kemijska svojstvima koja uključuju apsorpciju, distribuciju, mehanizam vezanja i interakcije između lijeka i stanične mete, metabolizam, način izlučivanja, farmakološku aktivnost i toksičnost. Molekulska hibridizacija je metoda kojom se povezivanjem lijekova ili farmakofora direktno ili preko neke poveznice dobiva spoj, hibridna molekula, boljih farmakokinetičkih svojstava koji djeluje na više receptora u usporedbi s istovremenom primjenom lijekova koji sačinjavaju hibridnu molekulu.



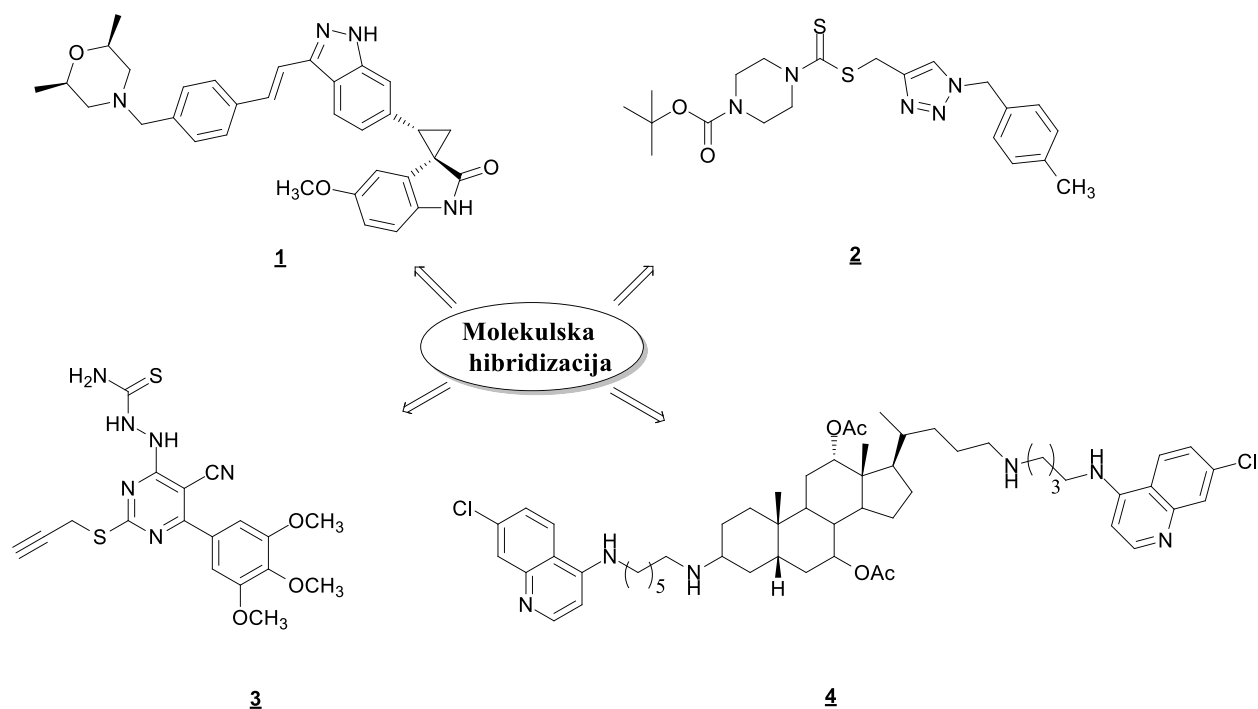
Slika 1. Hibrid A/B dobiven je spajanjem dvaju farmakofornih jedinica direktno ili preko poveznice [8]

Sinteza potencijalno biološki aktivnih hibridnih molekula je u posljednja dva desetljeća značajno porasla. [12] Kako se pokazalo da je pri razvoju novog lijeka uvijek povoljnije modificirati poznati farmakofor, hibridne molekule koje su dobivene

2. OPĆI DIO

kombinacijom strukturnih značajki dvaju aktivnih fragmenata, su najpopularnije kemijske jedinice na kojima se radi pri razvoju novih modificiranih molekula koje posjeduju poboljšana svojstva. Hibridni spojevi mogu biti izgrađeni spajanjem dvaju farmakofornih jedinica direktno ili preko poveznice pri čemu farmakoforne jedinice mogu biti farmakofori prirodnih spojeva ili sintetički pripravljene skupine (slika 1). [12,13]

Morphy i suradnici su uveli naziv “multiple ligands” koji obuhvaća tako dobivene lijekove. [14] Prednosti lijekova koji su strukturno hibridne molekule je u tome da kao jedna molekula mogu aktivirati različite mete, čime se povećava terapijska učinkovitost, te mogu promijeniti bioraspodjelu lijeka u stanici i učinkovitije se eliminirati iz nje nakon djelovanja.



Slika 2. Primjeri molekularnih hibrida inolinona i aksitiniba **1**, 1,2,3-triazola–ditiokarbamata **2** i pirimidina–tiouree **3** s antitumorskim djelovanjem i hibrida steroida–4-aminokinolina **4** s antimalarijskim djelovanjem. [15]

Izbor farmakofora ili kemijskih skupina koje sačinjavaju molekularni hibrid temelji se na njihovom unaprijed poznatom biološkom djelovanju, a za očekivati je da će hibridna molekula pokazati sinergijsko farmakološko djelovanje. [16] Molekularna hibridizacija je noviji koncept u dizajniranju lijekova koji se temelji na prepoznavanju farmakofornih podjedinica u strukturi dvaju ili više bioaktivnih derivata te se kroz odgovarajuću „fuziju“ tih

podjedinica dizajniraju novi hibridni spojevi. Nova hibridna molekula zadržava odabrane karakteristike početnih spojeva i ima bolju učinkovitost u odnosu na početne spojeve. Farmakoforna hibridizacija se uspoređuje sa konvencionalnom kombinatnom terapijom uz razliku da su dva lijeka kovalentno povezana u jedan lijek. Hibridni spojevi su, pored toga, dizajnirani kako bi umanjili nuspojave jednog hibridnog dijela, a istovremeno uklonili rizik interakcije lijekova i umanjili otpornost na određeni lijek. [8]

Dodatno, spajanjem bioaktivnih jedinica sa skupinama za koje se zna da ulaze u stanice poput aminokiselina i nukleozida, primjenom ovakvog koncepta zadržava se mehanizam ulaska lijeka u stanicu. Uz veliki broj prednosti, nedostatak molekulske hibridizacije je moguće prenošenje negativnih svojstava komponenta na spojenu molekulu. [17]

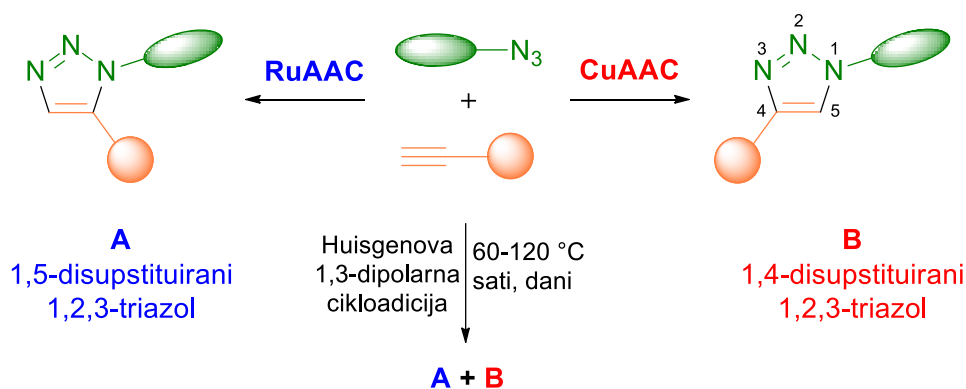
2.2. Sinteza i fizikalno-kemijska svojstva 1,2,3-triazola

U sintetskoj organskoj kemiji aromatski heterociklički 1,2,3-triazol je važan peteročlani prsten s obzirom da se relativno jednostavno priprema uz pomoć *klik* kemije reakcijom alkil, odnosno aril halida, alkina i natrijevog azida, a brojne molekule koji u svojoj strukturi imaju 1,2,3-triazolnu jezgru pokazuju biološku aktivnost. [11]

2.2.1. Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija

Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija je reakcija 1,3-dipolarnog spoja s dipolarofilom pri čemu nastaje peteročlani heterociklički spoj. Primjer dipolarofila su alkeni i alkini te molekule koje sadrže heteroatome u funkcionalnim skupinama kao što su karbonili i nitrili, a 1,3-dipolarni spojevi koji sadrže jedan ili više heteroatoma u svojoj strukturi su nitril-oksidi, azidi i diazoalkani. [18] Dakle, 1,2,3-triazoli mogu se sintetizirati reakcijom organskih azida i alkina 1,3-dipolarnom cikloadicijom, pri čemu nastaje smjesa 1,4- i 1,5-disupstituiranih regioizomera (Slika 3).

Nedostaci ove reakcije su visoka temperatura koja je potrebna za provođenje reakcije, kao i dugo trajanje reakcije, neselektivnost produkata i poteškoće u odvajanju dobivenih produkata klasičnim kromatografskim metodama. [19] Ovaj problem premostili su Sharpless [20] i Meldal [21] sa suradnicima 2002. god. uvođenjem Cu(I) iona kao katalizatora čime su omogućili provođenje reakcije pri nižoj temperaturi uz kraće trajanje reakcije i jednostavniju izolaciju isključivo jednog, 1,4-disupstituiranog 1,2,3-triazola.

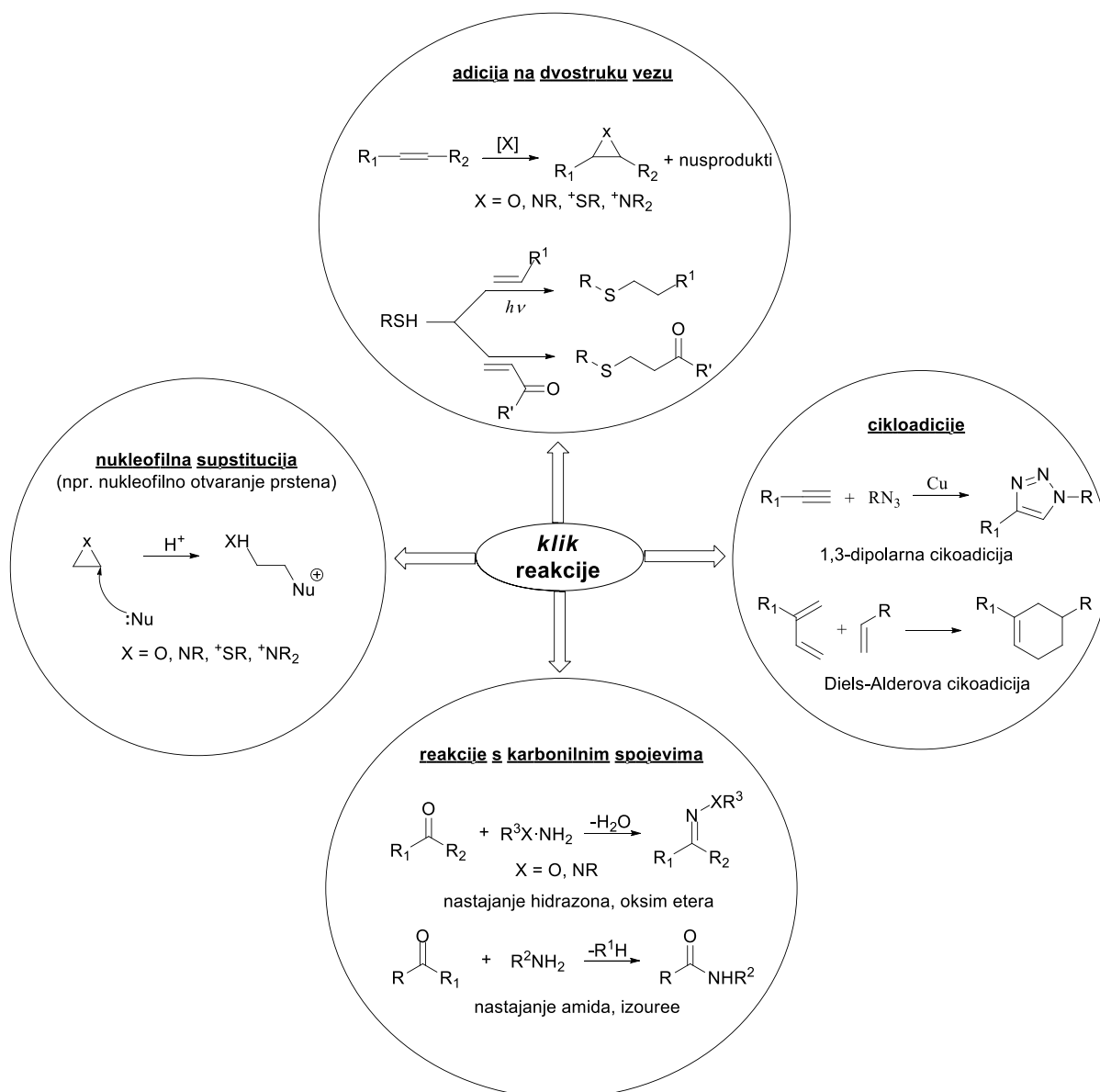


Slika 3. Sinteza 1,2,3- triazola klasičnim postupkom i *klik* reakcijom uz katalizator

2.2.2. *Klik* kemija

Termin *klik* kemija uveli su Sharples i suradnici [10] razvijajući brze, pouzdane i selektivne reakcije za sintezu novih spojeva spajajući male jedinice preko heteroaromatskih poveznica. Uvjete *klik* kemije ispunjavaju reakcije koje su jednostavne za izvođenje u blagim reakcijskim uvjetima, koje daju stereospecifične produkte u visokim iskorištenjima iz lako dostupnih i netoksičnih reagensa i otapala ili bez uporabe otapala, uz lako pročišćavanje reakcijske smjese. Neke reakcije koje ispunjavaju te zahtjeve prikazane su na slici 4, a to su:

- cikloadicije nezasićenih spojeva, posebice 1,3-dipolarne cikloadicije te Diels-Alderova cikloadicija,
- nukleofilno otvaranje prstena (aziridina, epoksida i sl.),
- reakcije koje uključuju spojeve s karbonilnom funkcionalnom skupinom (nastajanje derivata uree, tiouree, oksim etera, hidrazona, amida i aromatskih heterocikla) i
- adicija na dvostruku vezu (reakcije poput epoksidacije, dihidroksiliranja, aziridiniranja te nitrozilna i sulfenilna haloadicija i Michaelova adicija).

Slika 4. Općenita klasifikacija *klik* reakcija [19]

Klasična Huisgenova cikloadicija zbog već navedenih nedostataka nije ispunjavala uvjete *klik* reakcija, međutim, uvođenjem katalizatora, poboljšani reakcijski uvjeti čine ju gotovo sinonimom *klik* kemije. [22]

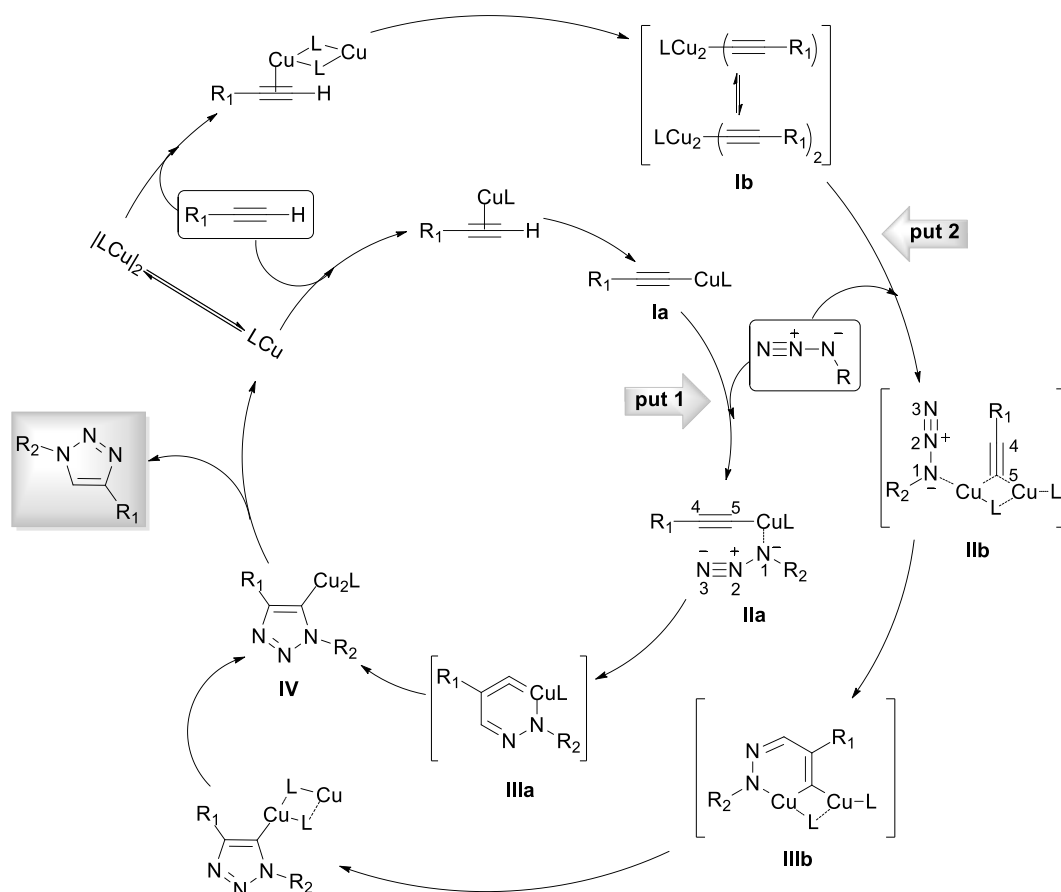
2.2.3. Cikloadicija azida i alkina katalizirana bakrom (CuAAC)

Cikloadicija azida i alkina katalizirana bakrom (CuAAC) temelji se na sintezi 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazola reakcijom terminalnih alkina i organskih azida u prisustvu

bakra i ispunjava uvjete *klik* reakcije. [23] Kao što je već spomenuto, reakcija je regiospecifična, nastaje isključivo 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazol i to iznimno velikom brzinom reakcije, čak 10^7 puta bržom od reakcije koja je provedena bez prisustva katalizatora. [19] Reakcija se može provoditi u raznim protičnim i aprotičnim otapalima, uključujući i vodu, a na samu reakciju ne utječe prisutnost organskih i anorganskih funkcionalnih skupina što uklanja potrebu za zaštitnim skupinama. [24]

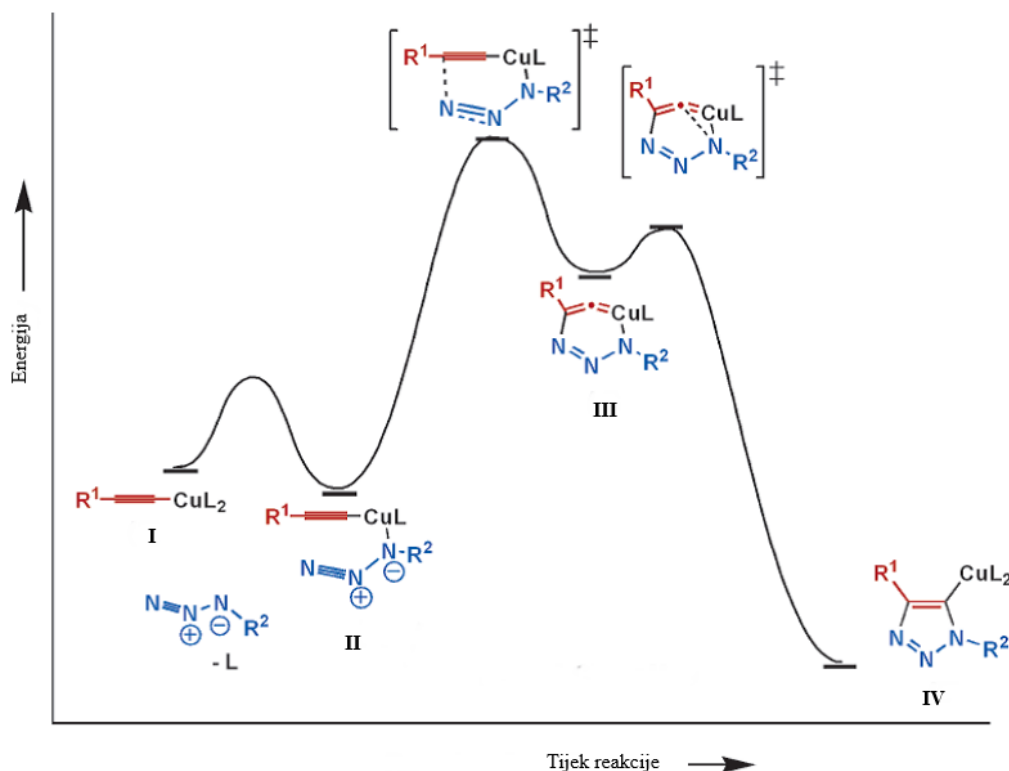
2.2.4. Mehanizam CuAAC

Klasična Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija je jednostupnjeviti proces, međutim bakrom katalizirana reakcija smatra se višestupnjevitom reakcijom gdje je bakar izravno uključen u međustupnjeve. [23] Pretpostavljeni mehanizam reakcije CuAAC potkrijepljen je DFT (*Density functional theory*) izračunima i eksperimentalnim podacima koji također ukazuju da iza ove jednostavne reakcije stoji kompliciraniji mehanizam, s obzirom da Cu(I), kao katalizator, uključuje primjenu različitih aditiva, poput liganada, reaktanata i otapala. Prema literaturi, mehanizam reakcije CuAAC moguće je objasniti kroz dva moguća puta, mononuklearni i binuklearni put (slika 5). Na samom početku reakcije Cu(I) ion stvara kompleks s terminalnim alkinom koji agregira te se u protičnom mediju deprotonira čime nastaje bakar acetilid **Ia** i **Ib**. U sljedećem stupnju u reakciji s azidom nastaju kompleksi **IIa** i **IIb** koji se zbog nukleofilnosti terminalnog dušikovog atoma preslaguju u metalocikle **IIIa** i **IIIb**. Zatim slobodni elektronski par na *N*-1 atomu reagira s atomom C-5 čime dolazi do stezanja metalocikličkog prstena i nastanka intermedijera **IV**. Na kraju protoniranjem intermedijera **IV** bazom ili otapalom nastaje 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazolni produkt i dolazi do odvajanja bakrovog kompleksa koji se vraća na početak procesa i stvaranja bakar acetilida **Ia** i **Ib**. [19]



Slika 5. Pretpostavljeni mehanizam reakcije CuAAC [19]

Sharplesov višestupnjeviti mehanizam (put 1), koji se temelji na DFT proračunima ukazuje na nastajanje metalocikličkih intermedijera. Azid se veže na atom bakra u bakar-acetilidu preko dušikovog atoma najbližeg ugljikovom atomu. Ovaj stupanj je blago egzoterman. Sljedeći stupanj u kojem C-2 atom acetilida prihvaća elektrone N-3 atoma u intermedijaru **II** je endoterman, a nakon njega dolazi do formiranja šesteročlanog metalocikla **III**., Energetska barijera za ovaj stupanj je mnogo niža od energetske barijere nekatalizirane reakcije, što upućuje na važnost Cu(I) katalizatora za ubrzanje reakcije (slika 6). [25]



Slika 6. Energijski dijagram za reakciju CuAAC temeljen na DFT proračunima [25]

Mehanistički put 2 pokazuje mogućnost nastajanja σ,π -bimetalnog Cu(I)-intermedijara što znači da azid i acetilid nisu nužno koordinirani na isti atom Cu (slika 5). [26] Bertrand i njegova istraživačka grupa izolirali su do tada pretpostavljeni σ,π -bisbakar-acetilid **I**(Cu₂) i 3,5-bismetall-triazolni kompleks **II**(Cu₂). Stabilnost **I**(Cu₂) i **II**(Cu₂) kompleksa ukazuju da je ovaj mehanistički put kinetički povoljniji od puta gdje nastaje monobakar-acetilid. [19]

2.2.5. Katalizatori

Do danas, bakar je jedini metal koji se pokazao jednostavnim, pouzdanim i regiospecifičnim katalizatorom cikloadicije alkina i azida. Njegova jedinstvena katalitička funkcija može se objasniti kombinacijom njegove sposobnosti da aktivira terminalne alkine u π - i σ -interakcije i sposobnosti brze izmjene liganada u koordinacijskoj sferi, posebice u vodenom mediju. Iako je rutenij često korišten katalizator u cikloadicijama alkina i azida kojima nastaju 1,5-disupstituirani 1,2,3-triazoli, reakcije RuAAC (*Ruthenium-Catalyzed Azide Alkyne Cycloaddition*) su mnogo osjetljivije na izbor otapala i sterička svojstva azida. [24]

Katalitički bakar u *klik* reakciju ulazi na tri načina: direktno kao Cu(I) ion; redukcijom Cu(II) iona i oksidacijom iz elementarnog oblika Cu(0). Izbor katalizatora ovisi o zahtjevima pojedinog eksperimenta i najčešće više kombinacija rezultira traženim produktom. Među ova

tri oksidacijska stanja bakra (0, +1, +2) termodinamički je najmanje stabilan Cu(I), koji se može oksidirati u katalitički neaktivan Cu(II) ion ili disproporcionirati u Cu(II) i Cu(0).

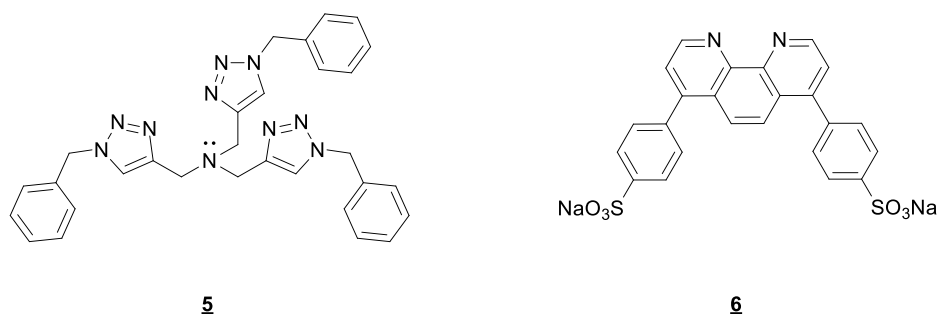
Zbog nestabilnosti Cu(I), najčešće se upotrebljava Cu(II) sol, poput bakar-sulfata (CuSO_4) ili bakar-acetata ($\text{Cu}(\text{OAc})_2$), uz prisustvo redukcijskog sredstva pri čemu *in situ* nastaje katalitički aktivan Cu(I) ion. Upotrebom Cu(II) soli i redukcijskog sredstva, izbjegava se moguća oksidacija katalizatora te se omogućuje visoka koncentracija Cu(I) iona kroz cijelu reakciju i nije potrebno provoditi reakciju u bezvodnim uvjetima. [19,24] Ovu metodu uveli su Sharpless i Fokin sa suradnicima [27] koristeći bakar(II)-sulfat pentahidrat uz natrij-askorbat kao redukcijsko sredstvo. Reakcija CuAAC katalizirana Cu(II) solima, koje katalizator tvore *in situ*, pokazala se otpornom na utjecaj funkcionalnih skupina (amina, alkohola i karboksilnih kiselina). Ovakva se reakcija može provoditi u vodenom mediju uz dodatna otapala poput alkohola i dimetil-sulfoksida (DMSO) uz najčešće vrlo visoka iskorištenja i bez nastanka nusprodukata, pri čemu su procesi obrade i čišćenja produkta jednostavni. Zbog svega navedenog, ova reakcija u potpunosti ispunjava zahtjeve *klik* kemije. [28]

Također, kao katalizatori, najčešće u reakcijama polimerizacije, koriste se Cu(I)-halidi kao što su bakar-jodid (CuI) i bakar-bromid (CuBr). CuI se vrlo često koristi kao katalizator zbog djelomične topljivosti u srednje polarnim otapalima poput acetonitrila, te je dobar izbor kada je potrebno reakciju provoditi u bezvodnim uvjetima. Dok katalitički aktivan Cu(I) ion koji nastaje redukcijom iz Cu(II) soli odmah formira Cu-acetilide, soli CuI i CuBr zahtijevaju prisutnost baze ili povišenu temperaturu kako bi došlo do nastanka Cu-acetilida. To je vjerojatno posljedica toga što se CuI pojavljuje u stabilnim nakupinama i potrebna je određena koncentracija acetilidnih aniona kako bi nastao kompleks. [26]

Bakar u elementarnom obliku Cu(0), tj. strugotine bakra, koriste se pri sobnoj temperaturi *in situ* oksidacijom u Cu(I) oblik. Takve su reakcije nešto sporije od reakcija gdje se rabi sustav Cu(II) soli s redukcijskim sredstvom, međutim reakcije s elementarnim bakrom mogu se ubrzati primjenom mikrovalnog zračenja. [28]

Iako mnogi katalizatori ubrzavaju cikloadiciju azida i alkina, potrebno je pronaći odgovarajući učinkoviti te selektivni katalizator s dobrim svojstvima koja uključuju stabilnost, nisku cijenu te mogućnost recikliranja. Nedovoljna stabilnost katalizatora u mediju u kojem se provodi reakcija povlači za sobom potrebu za većom količinom samog katalizatora. Problem nedovoljne stabilnosti katalitičkog sustava moguće je riješiti dodatkom određenih liganada.

[19] Za katalitički učinak Cu(I) u reakciji dobivanja triazola nije potrebna prisutnost liganada nego se oni često dodaju kako bi dodatno ubrzali reakciju i zaštitili Cu(I) od oksidacije. Ligandi koji se najčešće koriste u organskoj sintezi su tris[(1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil]amin (TBTA, **5**), batofenantrolin, **6** (slika 7) te amini (trietilamin, propilamin, tributilamin). [26,28]



Slika 7. Ligandi koji se koriste u CuAAC reakcijama

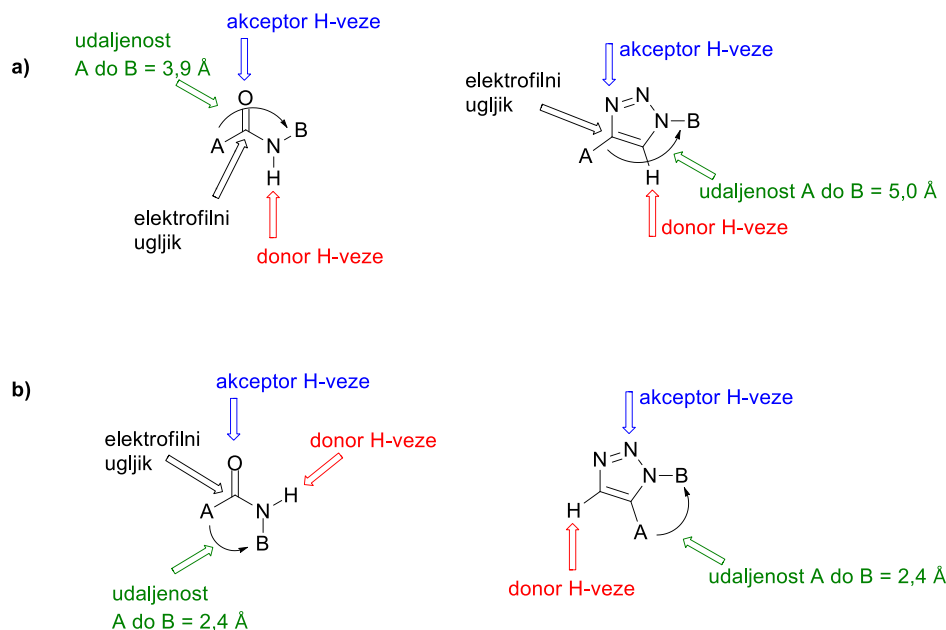
2.2.6. Fizikalno-kemijska svojstva 1,2,3-triazola

1,2,3-triazolni prsten može poslužiti kao idealna poveznica u molekuli jer omogućuje bolju topljivost u vodi, bioizoster je amidne veze i relativno otporan na hidrolitičke reakcije, što ga čini stabilnim u biološkim uvjetima. Prsten je iznimno krut što onemogućuje međusobnu interakciju povezanih strukturnih jedinica. [29] Međutim, 1,2,3-triazolni prsten ugrađen u strukturu spoja je više od pasivne poveznice upravo zbog svojih povoljnih fizikalno-kemijskih svojstava:

- može formirati π - π interakcije s aromatskim prstenom, poput fenilnog prstena,
- zbog slabe bazičnosti, ne protonira se pri fiziološkom pH,
- posjeduje jaki dipolni moment (5,2 – 5,6 D), aromatskog je karaktera i dobar je akceptor vodikove veze,
- stabilan je u metaboličkim i kemijskim degradacijama,
- inertan je u hidrolitičkim, oksidirajućim i reducirajućim uvjetima, čak i pri visokoj temperaturi. [30]

1,4- i 1,5-disupstituirani triazoli su značajni i zbog već spomenutog svojstva oponašanja *Z*- ili *E*-amidne veze. Tako 1,4-disupstituirani triazol pokazuje sličnost sa *Z*-amidnom vezom, a 1,5-disupstituirani triazol s *E*-amidnom vezom (slika 8). [31] Sličnost

disupstituiranih triazola i amidne veze je u veličini, odnosno u udaljenosti među supstituentima, dipolnom momentu i sposobnosti stvaranja vodikove veze.

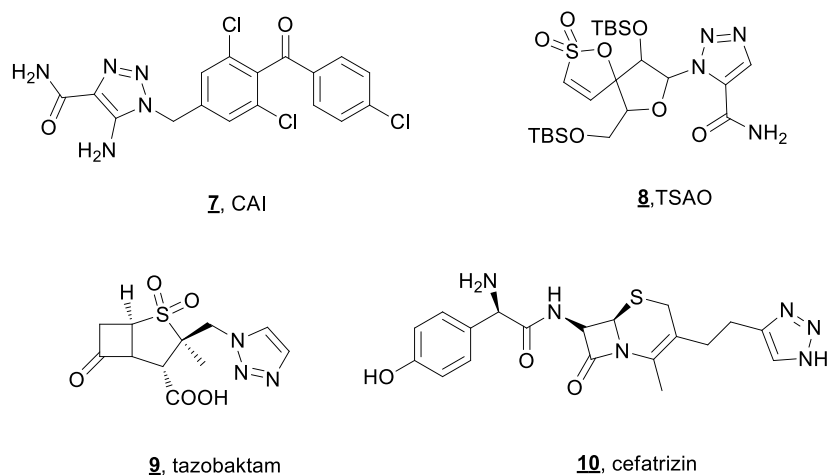


Slika 3. Strukturna sličnost amida i 1,2,3-triazola: a) *Z*-amidna veza i 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazol; b) *E*-amidna veza i 1,5-disupstituirani 1,2,3-triazol [29]

Triazolni prsten sa sp^2 -hibridiziranim *N*-2 i *N*-3 atomima se ponaša kao akceptor vodikove veze. Dipolni moment polarizira atom C-5 čime on postaje donor protona, poput protona NH amida. Međutim, za razliku od amida, 1,2,3-triazoli su iznimno stabilni u hidrolitičkim uvjetima, a zbog svoje slabe bazičnosti 1,2,3-triazolni prsten se ne protonira pri fiziološkoj pH vrijednosti. Ta svojstva čine triazolni prsten stabilnim i omogućuju stvaranje vodikovih veza, što je poželjno kod vezanja lijeka za biološke mete te za povećanje topljivosti. [30,32,33] Osim što su bioizosteri amidne veze, 1,2,3-triazoli zbog svoje aromatičnosti mogu biti i izosteri aromatskih, posebice heteroaromatskih prstenova te dvostrukih veza. [30]

2.3. Biološka aktivnost hibrida 1,2,3-triazola i heterocikla

Unatoč spomenutim dobrim svojstvima, na tržištu ili u zadnjoj fazi kliničkih ispitivanja nema mnogo lijekova koji u strukturi sadrže 1,2,3-triazolni prsten. Primjeri lijekova koji u strukturi imaju 1,2,3-triazol su karboksiamidotriazol (CAI, **7**), spoj s antitumorskim djelovanjem [34], *tert*-butildimetilsililspiroaminooksatioleidioksid (TSAO, **8**), koji je inhibitor reverzne transkriptaze, [35] te β -laktamski antibiotici tazobaktam, **9** [36] i cefatrizin, **10** [37] (slika 9).

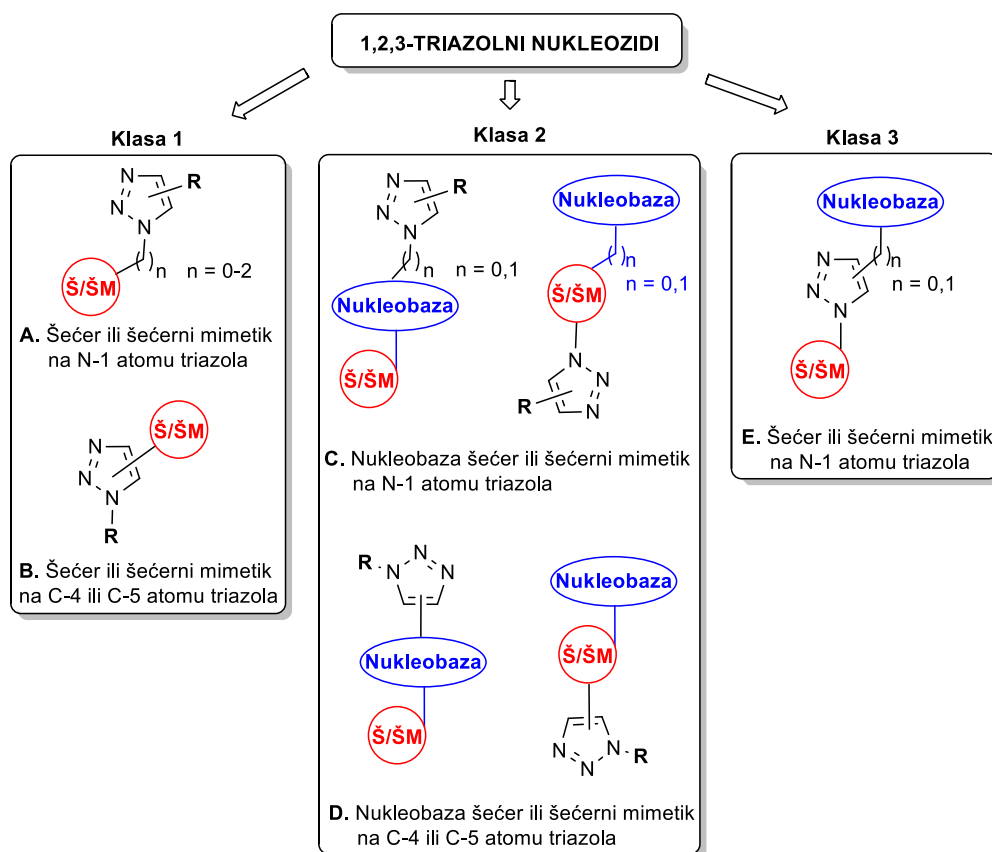


Slika 9. Derivati 1,2,3-triazola dostupni na tržištu

2.3.1. 1,2,3-triazoli u strukturi nukleozidnih analoga

S obzirom na različita svojstva 1,2,3-triazolne skupine, 1,2,3-triazolni nukleozidi mogu se podijeliti na 3 skupine (slika 10):

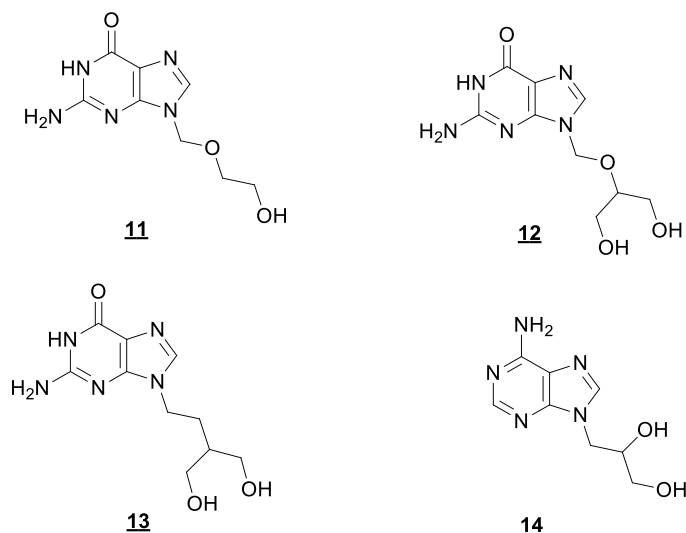
- 1,2,3-triazolni nukleozidi, karbonukleozidi i aciklonukleozidi u kojima je 1,2,3-triazolni prsten zamijenio nukleobazu (klasa 1),
- konjugati 1,2,3-triazolnih nukleozida koji sadrže ovaj peteročlani prsten kao supstituent na bazi, šećernoj skupini ili na dijelu molekule koji imitira šećer (klasa 2),
- 1,2,3-triazolni nukleozidi povezani 1,2,3-triazolnom poveznicom gdje triazolni prsten povezuje bazu sa šećerom ili dijelom molekule koji imitira šećer (klasa 3). [38]



Slika 10. 1,2,3-triazoli u strukturi nukleozidnih analoga [38]

2.3.1.1. Aciklički 1,2,3-triazolni nukleozidi

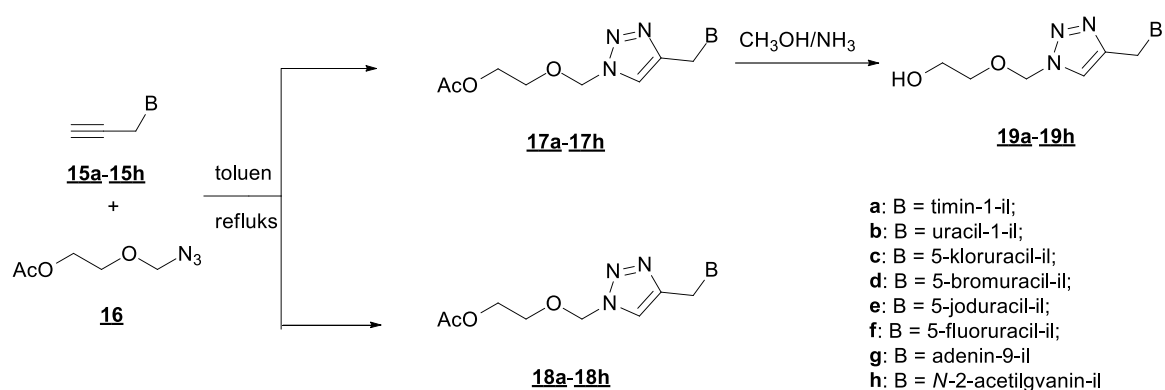
Aciklički nukleozidni analozi su sintetski analozi prirodnih nukleozida u kojima je šećerni prsten zamijenjen acikličkim lancem koji oponaša dio prstena ili cijeli prsten. Važni su biološki aktivni spojevi prvenstveno zbog antivirusnog i antitumorskog djelovanja. [39,40] Neki od najvažnijih acikličkih analoga nukleozida su prikazani na slici 11.



Slika 11. Primjeri poznatih acikličkih nukleozidnih analoga s antivirusnim djelovanjem; aciklovir **11**, ganciklovir **12**, penciklovir **13** i (*S*)-9-(2,3-dihidroksipropil)adenin **14** [41]

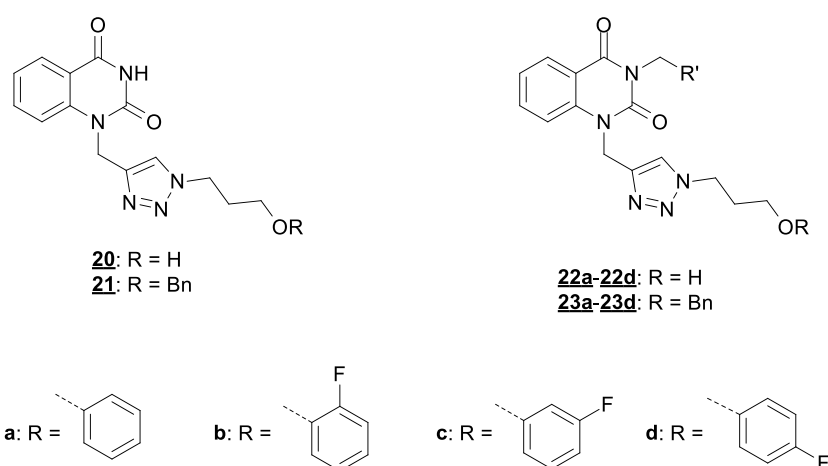
Aciklovir (9-(2-hidroksietoksimetil)gvanin, ACV) i penciklovir (9-[4-hidroksi-3-(hidroksimetil)butil]gvanin, PCV) pokazuju djelovanje protiv virusa herpes (HSV-1, HSV-2, VZV, hepatitis B), dok ganciklovir (9-(1,3-dihidroksi-2-propoksimetil)gvanin, GCV) i valganciklovir, prolijek sa značajno poboljšanom oralnom bioraspodjelivostu, imaju primjenu kao anticitomegalovirusni agensi. [40] (*S*)-9-(2,3-dihidroksipropil)adenin ((*S*)-DHPA) je antivirusni lijek širokog spektra djelovanja koji pokazuje podjednako djelovanje protiv DNK- i RNK-virusa. [42]

Lazrek je sa suradnicima 1997. godine sintetizirao prve 1,2,3-triazolne analoge aciklonukleozida. [43] Spojevi su sintetizirani 1,3-dipolarnom cikloadicijom *N*-9/*N*-1-propargilpurina i *N*-1-propargilpirimidina s odgovarajućim azidima (slika 10). Iako spojevi nisu pokazali ciljanu biološku aktivnost, od tada do danas brojni znanstvenici su se posvetili sintezi sličnih analoga nukleozida kako bi sintetizirali spojeve s boljim antivirusnim i antitumorskim djelovanjem (shema 1).



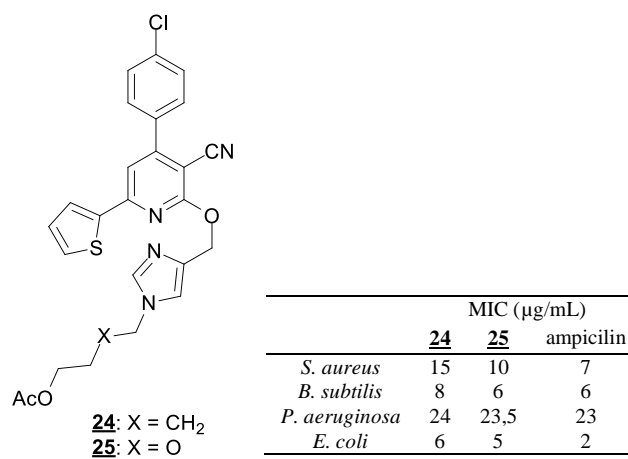
Shema 1. Sinteza 1,2,3-triazolnih acikličkih nukleozida

Glowacka i suradnici su 2017. godine pripravili 1,2,3-triazolne nukleozidne analoge sa supstituiranim kinazolin-2,4-dionom u strukturi koji su pokazali citostatsko djelovanje na ispitane tumorske stanične linije (slika 12). [40] Spojevi **23a** i **23d** su pokazali inhibitorno djelovanje na T-limfocite ($\text{IC}_{50} = 21 \mu\text{M}$ i $22 \mu\text{M}$), dok je spoj **21** pokazao citostatsku aktivnost na ljudske mikrovaskularne endotelne stanice (HMEC-1) ($\text{IC}_{50} = 28 \mu\text{M}$).



Slika 12. Derivati kinazolinskih nukleozida s citostatskim djelovanjem

Osim antivirusnog i citostatskog djelovanja, aciklonukleozidni analozi s 1,2,3-triazolnim prstenom pokazali su i antimikrobnu aktivnost, što su dokazali Moustafa i suradnici (slika 13). [44]

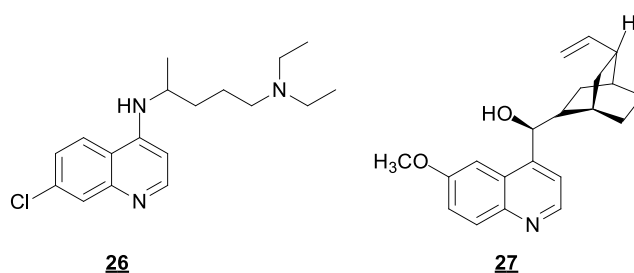


Slika 13. Aciklonukleozidi s 1,2,3-triazolnim prstenom koji pokazuju određenu antimikrobnu aktivnost

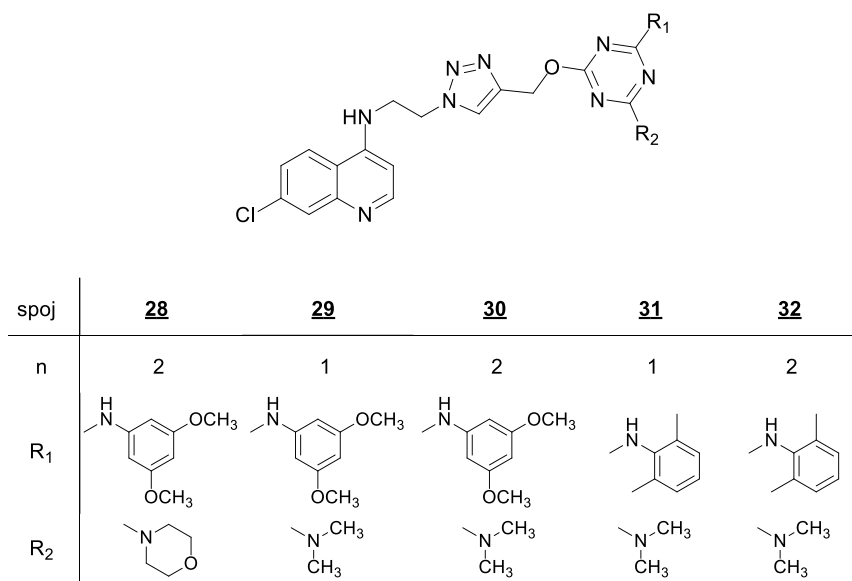
2.3.2. Hibridi 1,2,3-triazola i kinolina i 1,2,3-triazola i kinolona

Kinolin je heterociklički spoj koji sam po sebi nema mnogo primjena, međutim njegovi derivati imaju široki spektar djelovanja te su neki od njih našli primjenu kao lijekovi. Kinolinska jezgra smatra se privilegiranom strukturom u medicinskoj kemiji i koristi se za sintezu mnogih spojeva s biološkim djelovanjem, posebice antimalarijskim i antimikrobnim, a neki derivati kinolina su pokazali i određenu antitumorsku aktivnost. [45]

Derivati kinolina, klorokin i kinin, (slika 14) poznati su antimalarici od velikog interesa zbog svoje lake pripreme, dobrih farmakokinetičkih svojstava, slabe toksičnosti i malog broja nuspojava. [46]

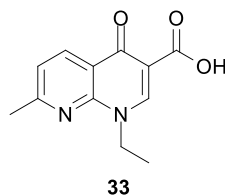
Slika 14. Klorokin (**26**) i kinin (**27**)

Manohar i suradnici sintetizirali su hibride 4-aminokinolina-1,2,3-triazola-1,3,5-triazina koji su pokazali snažno antimalarijsko djelovanje protiv parazitskih sojeva D6 i W2 *P. falciparum* bez toksičnosti na stanice *Vero* (slika 15).



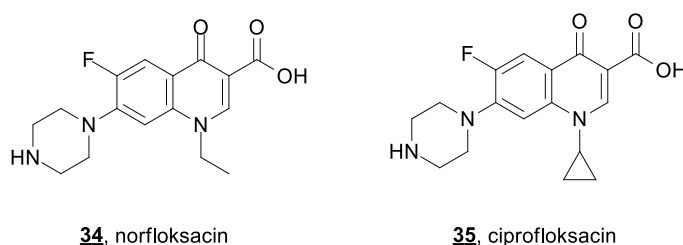
Slika 15. Hibridi 4-aminokinolina-1,2,3-triazola-1,3,5-triazina

Kinoloni i njegovi derivati čine veliku i važnu skupinu antibakterijskih lijekova. Leshner i suradnici [47] su 1960-ih otkrili nalidiksičnu kiselinu **33** kao prvi derivat kinolona s antibakterijskim djelovanjem, a koristila se za liječenje infekcija urinarnog trakta (slika 16). Od tada pa do danas sintetizirani su mnogi derivati kinolona kao potencijalni antibakterijski lijekovi.



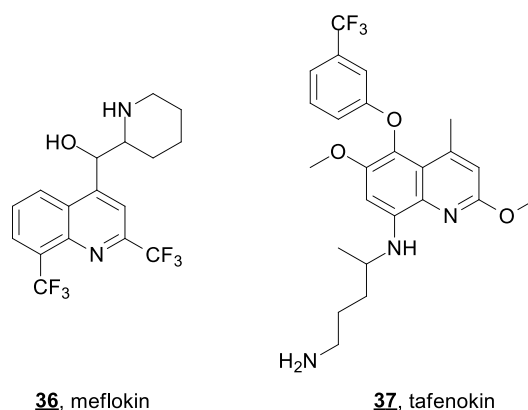
Slika 16. Nalidiksična kiselina

Kao značajna modifikacija u strukturi pokazalo se uvođenje atoma fluora na položaj 6 kinolona, što je bitno pojačalo aktivnost. [48] Prvi fluorokinolon bio je norfloksacin **34** s pojačanom antimikrobnom aktivnošću u odnosu na nalidiksičnu kiselinu i djelovao je na široki spektar gram-pozitivnih i gram-negativnih mikroorganizama. Modifikacijom strukture norfloksacina na položaju *N*-1, sintetiziran je ciprofloksacin **35**, jedan od najčešće propisanih antibiotika (slika 17). [49,50]

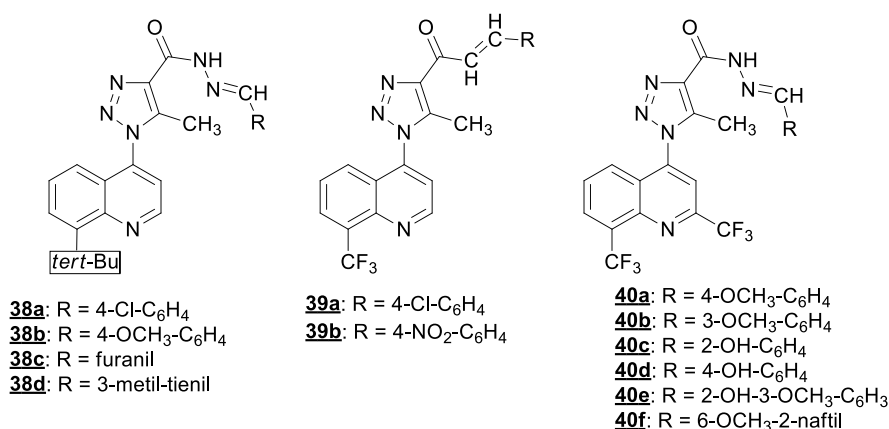


Slika 17. Fluorirani derivati kinolona

Fluorirani derivati često pokazuju bolju biološku aktivnost u usporedbi s nefluoriranim analogima jer uvođenje fluora u molekulu mijenja njene elektronska, lipofilna i sterička svojstva te može povećati intrinzičnu aktivnost te kemijsku i metaboličku stabilnost molekule. Nadalje, uvođenje trifluormetilne (CF₃) skupine pokazalo je da može posebno poboljšati farmakološku aktivnost i lipofilnost. [51] Primjer lijekova sa CF₃-skupinom u strukturi su meflokin i tafenokin (slika 18). [52]

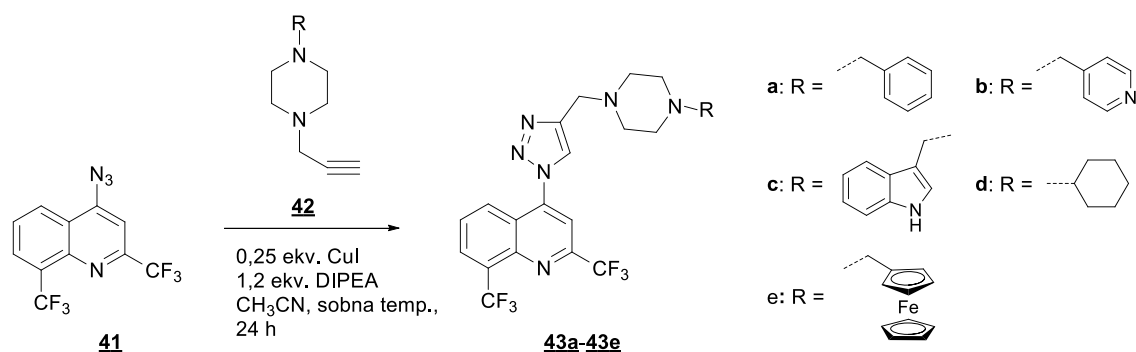
Slika 18. Antimalarici koji u strukturi sadrže CF₃-skupinu

Uvođenjem fluora, točnije CF₃-skupine, u strukturu hibrida 1,2,3-triazola i kinolina, Kumari i suradnici su sintetizirali seriju derivata s dobrim antibakterijskim djelovanjem. [51,53] Spojevi **38a–38d**, **39a** i **39b** pokazali su aktivnost protiv bakterija *B. subtilis* i *E. Coli*, a spojevi **40a–40f** protiv bakterija *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *A. flavus* i *T. mentagrophytes* (slika 19).



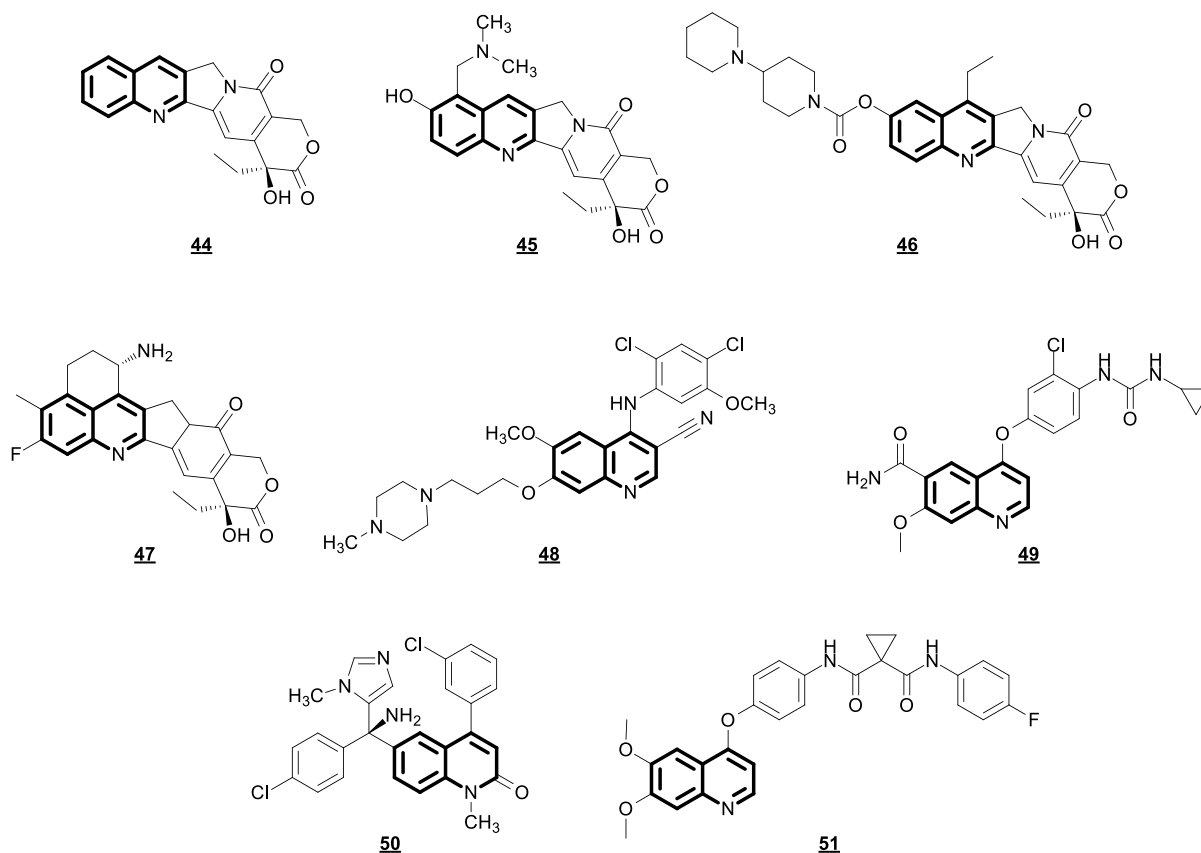
Slika 19. Fluorirani hibridi 1,2,3-triazola i kinolina s antibakterijskim djelovanjem

Blackie i suradnici su primjenom *klik* reakcije katalizirane bakrom (CuAAC) 4-azido-2,8-bis(trifluormetil)kinolina **41** s acetilenskim derivatom **42** sintetizirali 1,2,3-triazolne derivate **43** koji su se pokazali kao dobri inhibitori rasta *P. falciparum*. [54]



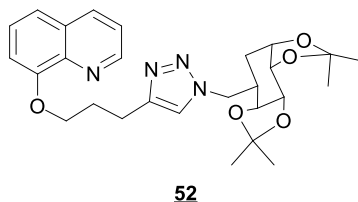
Slika 20. Hibridi 1,2,3-triazola i kinolina strukturno slični lijeku meflokin s antimalarijskim djelovanjem

Derivati kinolina imaju bitnu ulogu u razvoju antitumorskih lijekova jer pokazuju različite mehanizme antitumorskog djelovanja, tako na primjer zaustavljaju stanični ciklus, uzrokuju apoptozu stanice, inhibiraju angiogenezu, migraciju stanica te mijenjaju osjetljivost nuklearnih receptora. Neki derivati kinolina s antitumorskim djelovanjem prikazani su na slici 21 (kamptotekin **44**, topotekan **45**, irinotekan **46**, eksatekan **47**, bosutinib **48**, lenvatinib **49**, tipifarnib **50**, kabozantinib **51**). [55]



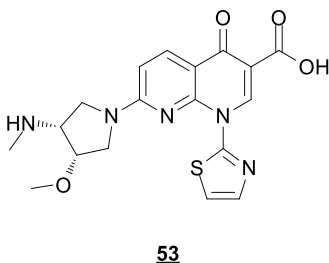
Slika 21. Antitumorski lijekovi koji u strukturi imaju kinolinsku jezgru

Derivat 8-hidroksikinolina **52** (slika 22) pokazao je snažno antiproliferativno djelovanje uz visoku selektivnost prema tumorskim stanicama jajnika (OVCAR-03, $GI_{50} < 0,25 \mu\text{g mL}^{-1}$) što je snažnije od referentnog lijeka doksorubicina (OVCAR-03, $GI_{50} = 0,43 \mu\text{g mL}^{-1}$).



Slika 22. Derivat 8-hidroksikinolina s antiproliferativnim djelovanjem

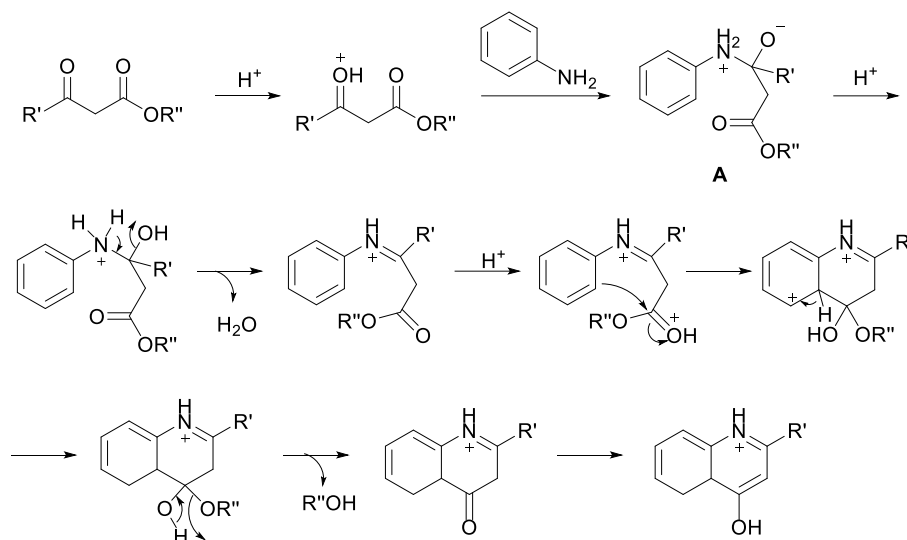
Kinoloni se smatraju „double-edged drugs“, što znači da ovisno o najmanjim promjenama u strukturi mogu mijenjati metu djelovanja od bakterije do čovjeka. Međutim, dok citotoksičnost predstavlja problem u antibakterijskoj terapiji, istovremeno je poželjno svojstvo antitumorskog agensa. [50] Prvi u skupini antitumorskih derivata kinolona je voreloksin (**53**) koji se nalazi u drugoj fazi kliničkih ispitivanja, a djeluje kao DNK-interkalator i inhibitor topoizomeraze II (slika 23). [56]



Slika 23. Voreloksin **53**, kao DNK-interkalator i inhibitor topoizomeraze II

2.3.2.1. Conrad-Limpachova sinteza kinolona

Razvijene su mnoge klasične metode sinteze kinolona, među kojima su Skraupova, Friedlanerova i Combesova sinteza, a jednako važna je i Conrad-Limpachova metoda koja se najčešće koristi u pripravi 4-kinolona. Reakcija se provodi u nekoliko stupnjeva, kako je prikazano na slici 24. [57]



Slika 24. Pretpostavljeni mehanizam Conrad-Limpachove sinteze 4-kinolona

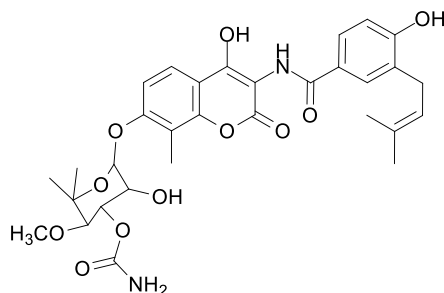
U prvom stupnju sinteze 4-kinolona, koji često prelaze u tautomerni oblik 4-hidroksikinolin, dolazi do termalne kondenzacije primarnog aromatskog amina i β -ketoestera pri čemu nastaje intermedijar A. Protoniranjem intermedijara A se formira Schiffova baza koja podliježe keto-enolnoj tautomeriji prije same ciklizacije. Nakon uklanjanja alkohola i keto-enolne tautomerije formira se konačni 4-kinolon. Međutim, tijekom kondenzacije primarnih aromatskih amina s β -ketoesterima, amino skupina može reagirati i s esterskom skupinom dajući kao intermedijar β -ketoacetamid koji ciklizira u 2-hidroksikinolin. Ovu vrstu pretvorbe otkrio je Knorr pa se metoda često naziva Conrad-Limpach-Knorrova metoda, iako između tih dviju reakcija postoji nekoliko bitnih razlika. Naime, u Conrad-Limpachovoj sintezi najčešće se koriste β -ketoesteri, dok se u Knorrovj uglavnom koristi etil-acetoacetat. Kondenzacije pri višim temperaturama rezultiraju Knorrovim produktom, a pri nižim temperaturama Conrad-Limpachovim produktom. [58]

Važan utjecaj na iskorištenje sinteze 4-kinolona ima i izbor otapala. Obzirom da supstrat za ciklizaciju mora biti imin-enol tautomer visoke energije, a ciklizacija u poluketal narušava aromatičnost fenilnog prstena, za ovu reakciju koriste se otapala visoke točke vrelišta. [57]

2.3.3. Hibridi 1,2,3-triazola i kumarina

Kumarini su prirodni spojevi iz skupine flavonoida s raznolikom biološkom aktivnošću i često niskom toksičnošću. [59] Također se smatraju privilegiranim strukturama zbog širokog raspona biološkog djelovanja kumarinskih derivata koji uključuje antikoagulantno, antitumorsko, antimikrobno i antioksidativno djelovanje. Povoljna svojstva kumarina mogu se pripisati kemijskim karakteristikama 2*H*-kromen-2-onske jezgre čiji aromatski prsten može stvarati hidrofobne π - π i CH- π interakcije, te svojstvima dvaju atoma kisika u laktonskom prstenu koji mogu stvarati vodikove veze s aminokiselinama i raznim vrstama enzima i receptora. Uz to, dvostruka veza u laktonskom dijelu molekule čini cijeli sustav planarnim čime omogućava delokalizaciju naboja, a time i fluorescentna svojstva ove klase spojeva. [60]

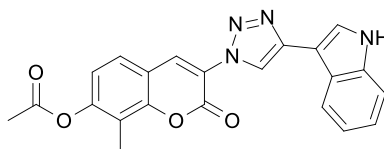
Jedan od značajnijih derivata kumarina je novobiocin (slika 25), antibiotik koji djeluje kao inhibitor DNK-giraze. Modifikacijom u strukturi novobiocina sintetizirana je serija novih spojeva koji djeluju kao selektivni inhibitori proteina Hsp90 i potencijalni su antitumorski lijekovi. [61]



54

Slika 25. Struktura antibiotika novobiocina

Sintetiziranjem molekulskih hibrida kumarina i 1,2,3-triazola dobiveni su brojni derivati s dobrim biološkim djelovanjem. Tako je analog novobiocina s 1,2,3-triazolnim prstenom na položaju 3 kumarina **55** pokazao antiproliferativno djelovanje na dvije stanične linije raka dojke SKBr-3 i MCF-7 (slika 26). [62].



55

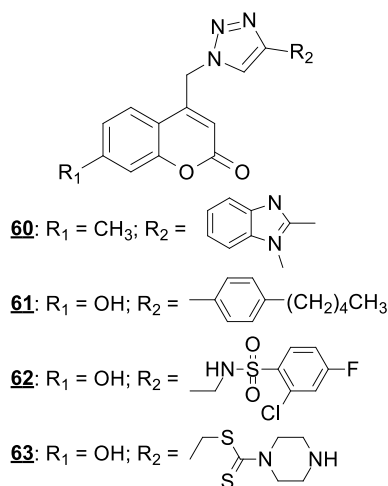
Slika 26. Struktura analoga novobiocina koji sadrži 1,2,3-triazolni prsten s antiproliferativnim djelovanjem

Usporedbom antiproliferativne aktivnosti analoga novobiocina koji u strukturi sadrže amidnu poveznicu **56** i **57** s analogima novobiocina s triazolnom poveznicom u strukturi **58** i **59**, utvrđeno je da su analozi **58** i **59** pokazali približno jednaku aktivnost na stanične linije te da triazolni prsten ne utječe na antiproliferativnu aktivnost (tablica 1) što potvrđuje spomenutu bioizosteriju 1,2,3-triazola i amida. [62]

Tablica 1. Usporedba antiproliferativne aktivnosti analoga novobiocina s amidnom i 1,2,3-triazolilnom poveznicom

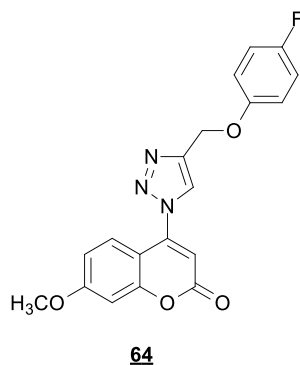
	56; R = biaril	58, R = biaril
IC ₅₀ (MCF-7)	18,7 ± 1,8	13,16 ± 3,85
IC ₅₀ (SKBr-3)	7,5 ± 1,0	21,22 ± 5,99
	57; R = 3-indol	59, R = 3-indol
IC ₅₀ (MCF-7)	5,3 ± 0,3	18,33 ± 4,67
IC ₅₀ (SKBr-3)	12,2 ± 1,5	8,17 ± 0,11

Kraljević i suradnici sintetizirali su hibrid 7-metilkumarina–1,2,3-triazola–2-metilbenzimidazola **60** koji je pokazao citotoksičnu aktivnost na stanice raka jetre HepG2 (IC₅₀ = 0,9 μM) uz visoku selektivnost (SI = 50). [63] Nadalje, spojevi s *p*-pentilfenilnom (**61**), 2-klor-4-fluorbenzensulfonamidnom (**62**) i ditiokarbamatnom (**63**) skupinom pokazali su visoku selektivnost protiv sojeva bakterije *Enterococcus* (slika 27). Pokazalo se da ova serija spojeva inhibira rast klinički izoliranog rezistentnog soja *Enterococcus faecium*, dok referentni antibiotici nisu pokazali tu aktivnost.



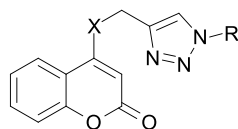
Slika 27. Antimikrobno djelovanje hibrida kumarina–1,2,3-triazola

Zhang i suradnici sintetizirali su seriju konjugata triazola i kumarina i ispitali njihovu antitumorsku aktivnost. [64] Spoj **64**, 4-(4-((4-fluorfenoksi)metil)-1,2,3-triazol-1-il)-7-metoksikumarin, pokazao je odličan široki spektar antitumorskog djelovanja *in vitro* s IC₅₀ vrijednostima od 5,89, 1,99 i 0,52 μM na stanične linije raka dojke (MCF-7), raka debelog crijeva (SW480) i adenokarcinoma pluća (A549). Daljnjom analizom utvrđeno je da spoj **64** inhibira rast stanica raka iniciranjem apoptoze stanice i prekidanjem staničnog ciklusa u G₂/M fazi.



Slika 28. Konjugat 1,2,3-triazola i kumarina s antiproliferativnim djelovanjem

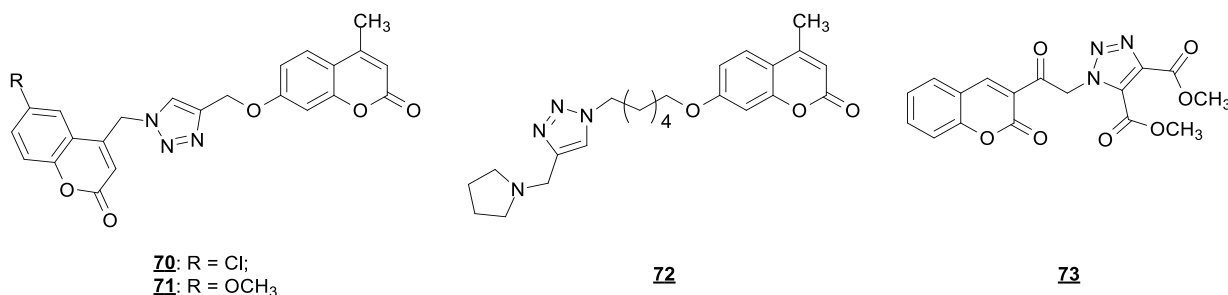
Antimikrobno djelovanje hibrida 1,2,3-triazola i kumarina pokazano je i na seriji derivata sintetiziranih 1,3-dipolarnom cikloadicijom *O*- ili *N*-propargiliranih kumarina s alkilnim i arilnim azidima. [60] Na slici 29 su prikazani derivati koji su pokazali najbolju aktivnost protiv bakterije *Enterococcus faecalis* (MIC vrijednosti u rasponu od 12,5-50 μg/mL) uz nisku toksičnost na ljudske eritrocite.



- 65:** X = O; R = fenil
66: X = O; R = 2-metoksifenil
67: X = O; R = *p*-fluorfenil
68: X = NH; R = *m*-nitrofenil
69: X = NH; R = nonil

Slika 29. Hibridi 1,2,3-triazola i kumarina s antimikrobnim djelovanjem

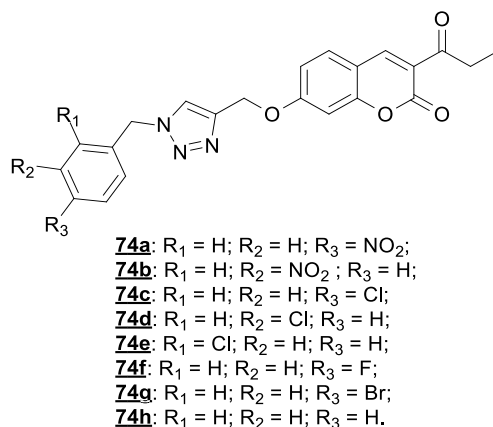
Hibridi 1,2,3-triazola i kumarina pokazali su i antifungalno djelovanje. [65] Spoj **70** imao je jednaku aktivnost protiv *Mycobacterium tuberculosis* kao streptomycin (MIC of 6.25 µg/mL) dok je njegov metoksilirani analog **71** pokazao bolju aktivnost nego flukonazol (slika 30).



Slika 30. Hibridi 1,2,3-triazola i kumarina s antifungalnim djelovanjem

Antifungalnu aktivnost pokazali su i derivati kumarina konjugirani s 1,2,3-triazolom (slika 30). Triazolni derivat 2*H*-kromen-2-ona **72** pokazao je aktivnost protiv četiri soja gljivica: *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigates*, *Aspergillus flavus* i *Candida albicans* [66], a dobru aktivnost protiv *Aspergillus niger* pokazao je 3-[1-(4,5-dikarbometoksi-1,2,3-triazoloacetyl)]kumarin **73** [67].

Sintetizirana je i serija novih etil-7-((1-(fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-2-okso-2*H*-kromen-3-karboksilata **74a–74h** kao potencijalnih antifungalnih agenasa (slika 31). Antifungalna aktivnost ispitana je na pet patogenih sojeva: *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* i *Cryptococcus neoformans*. Spojevi **83c**, **74d**, **74e** i **74h** su pokazali jednaku aktivnost protiv *Candida albicans* kao i referentni spoj mikonazol, dok je spoj **74f** imao dvostruko jače djelovanje protiv soja *Candida albicans* u odnosu na mikonazole i jednaku aktivnost kao flukonazol. [68]

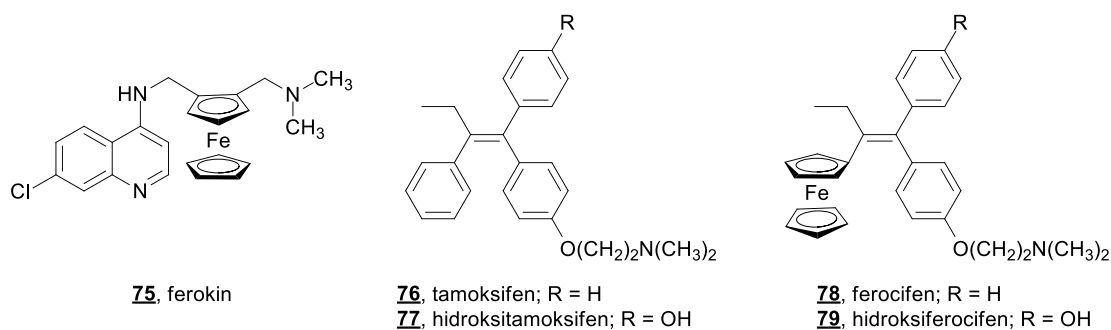


Slika 31. Hibridi 1,2,3-triazola i kumarina s antifungalnim djelovanjem

2.3.4. Hibridi 1,2,3-triazola i ferocena

Razvoj lijekova je posljednjih godina usmjeren i prema sintezi lijekova na bazi metala. Uz poznate farmaceutike na bazi platine i rutenija [69,70], veliku pozornost kao obećavajući farmakofori za razvoj novih učinkovitijih lijekova privukli su i metaloceni, posebice ferocen, zbog svojih povoljnih svojstava poput netoksičnosti, stabilnosti u fiziološkim uvjetima, lipofilnosti koja olakšava prolazak kroz membranu stanice i redoks karakteristika. [71–73]

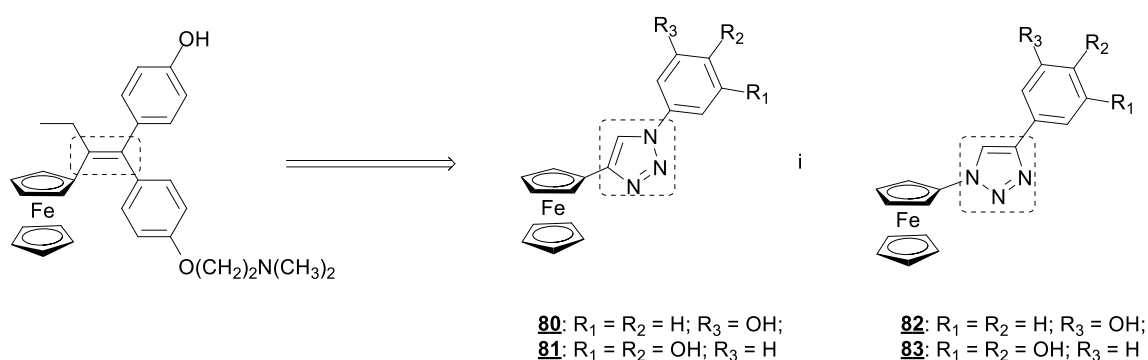
Ferokin je prvi organometalni spoj koji se nalazi u drugoj fazi kliničkih ispitivanja i koristi za liječenje malarije (slika 32). Ovaj derivat, u kojem je molekula ferocena povezana kovalentno sa 4-aminokinolinom, pokazao je snažnije antimalarijsko djelovanje od samog klorokina čak i na sojeve otporne na kumarin i multirezistentne sojeve, a nedavno je objavljeno da posjeduje i određenu antitumorsku aktivnost. [74,75] Ferocifeni, konjugati ferocena i tamoksifena, su spojevi u kojima je jedan fenilni prsten tamoksifena zamijenjen molekulom ferocena. Pokazali su odlično antiproliferativno djelovanje na stanice hormonski ovisnog i hormonski neovisnog raka dojke (slika 32), čak bolje od samog prolijeka hidroksitamoksifena koji je aktivan samo protiv hormonski ovisnog raka dojke. [76,77]



Slika 32. Konjugat kinolina i ferocena **75**, tamoksifen **76**, ferocifen **78** i njihovi hidroksilni derivati **77** i **79**

Uvođenje 1,2,3-triazolilne poveznice u strukturu hibrida ferocena i heterocikla sintetizirani su brojni spojevi s dobrim biološkim djelovanjem.

Analoge hidroksiferocifena **80–83** u kojima je dvostruka veza zamijenjena 1,2,3-triazolnim prstenom (slika 33) sintetizirali su Domagala i suradnici te su ispitali njihovu antitumorsku aktivnost na stanične linije hormonski ovisnog (MCF-7) i hormonski neovisnog (HCC38) raka dojke. [78] Ispitani spojevi u kojima se ferocenilna skupina nalazi na C-4 atomu 1,2,3-triazolnog prstena (**82** i **83**) pokazali su umjerenu aktivnost na stanične linije HCC38 ($IC_{50} \sim 15 - 48 \mu M$), dok su izomeri s ferocenilnom skupinom na N-1 atomu 1,2,3-triazolnog prstena (**80** i **81**) pokazali čak do 3 puta manju aktivnost. Najaktivnijim na stanične linije HCC38 se pokazao spoj **82** ($IC_{50} = 15,3 \mu M$) s *p*-hidroksifenilnom skupinom u položaju N-1 te ferocenilom na položaju C-4 1,2,3-triazola.

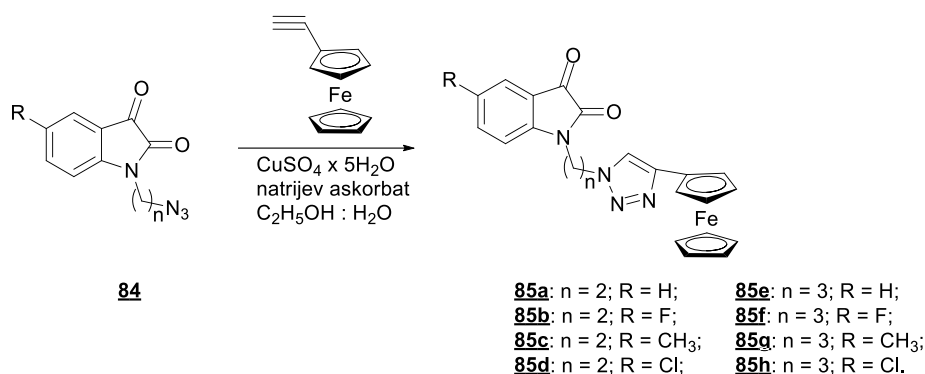


Slika 33. 1,2,3-triazolni analozi ferocifena

Kumar i suradnici su 2014. godine sintetizirali hibride izatina–1,2,3-triazola–ferocena te ispitali njihovo djelovanje na dva soja parazita *Plasmodium falciparum* (3D7 – soj osjetljiv

2. OPĆI DIO

na klorokin i W2 – soj otporan na klorokin). Fluor- i klor-supstituirani hibridi **85f** i **85h** pokazali su odličnu aktivnost i netoksičnost (slika 34). [79]

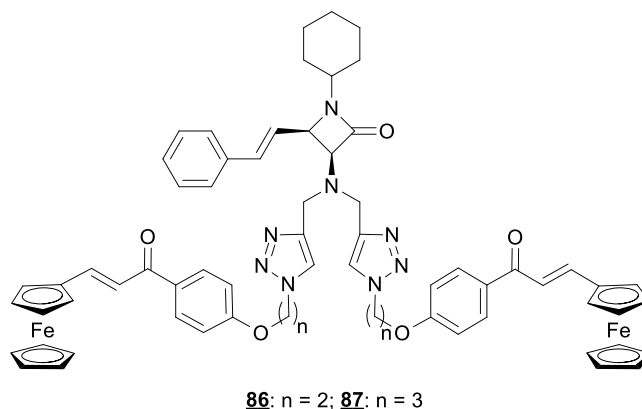


spoj	citotoksičnost		3D7		W2	
	IC ₅₀ μM	IC ₅₀ μM	SI ^a	IC ₅₀ μM	SI ^a	
85f	82,14	3,76	21,85	5,97	13,76	
85h	86,68	8,49	10,21	4,58	18,93	

^a selektivnost

Slika 34. Sinteza hibrida izatina–1,2,3-triazola–ferocena i njihova biološka aktivnost

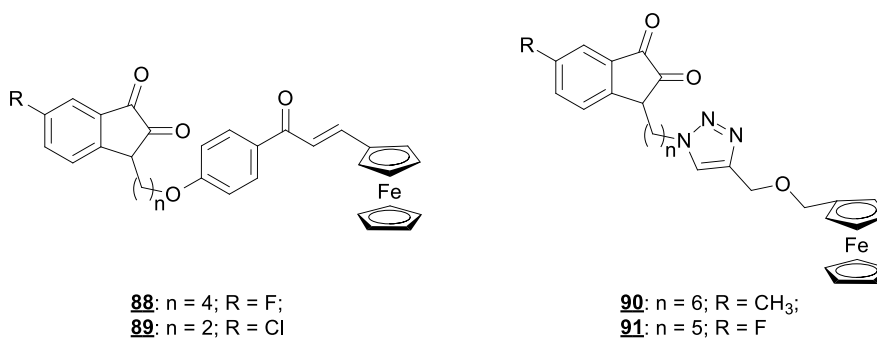
Antimalarijsko djelovanje zabilježeno je i kod serije konjugata ferocenilkalkona i β-laktama. [80] Spojevi su ispitani na sojeve 3D7 i W2 parazita *P. falciparum*. Spojevi **86** i **87** prikazani na slici 35, pokazali su najjače antimalarijsko djelovanje (IC₅₀ = 2,36 i 2,43 μM) te nisu bili toksični.



Slika 35. Ferocenilkalkon–β-laktamski konjugati s antimalarijskim djelovanjem

Singh i suradnici su objavili sintezu konjugata izatina i ferocena, te konjugata izatina i ferocena povezanih 1,2,3-triazolilnom poveznicom. [81] Sintetiziranim spojevima ispitana je njihova antimikrobna aktivnost na ljudski patogen *Trichomonas vaginalis*. Među konjugatima

izatina i ferocena najbolje djelovanje su pokazali derivati **88** i **89** s elektron odvlačecim skupinama na položaju C-5 izatina (slika 36). Uvođenje 1,2,3-triazolnog prstena u strukturu konjugata izatina i ferocena povećala se antimikrobna aktivnost te su se konjugati **90** i **91** pokazali najaktivnijim.



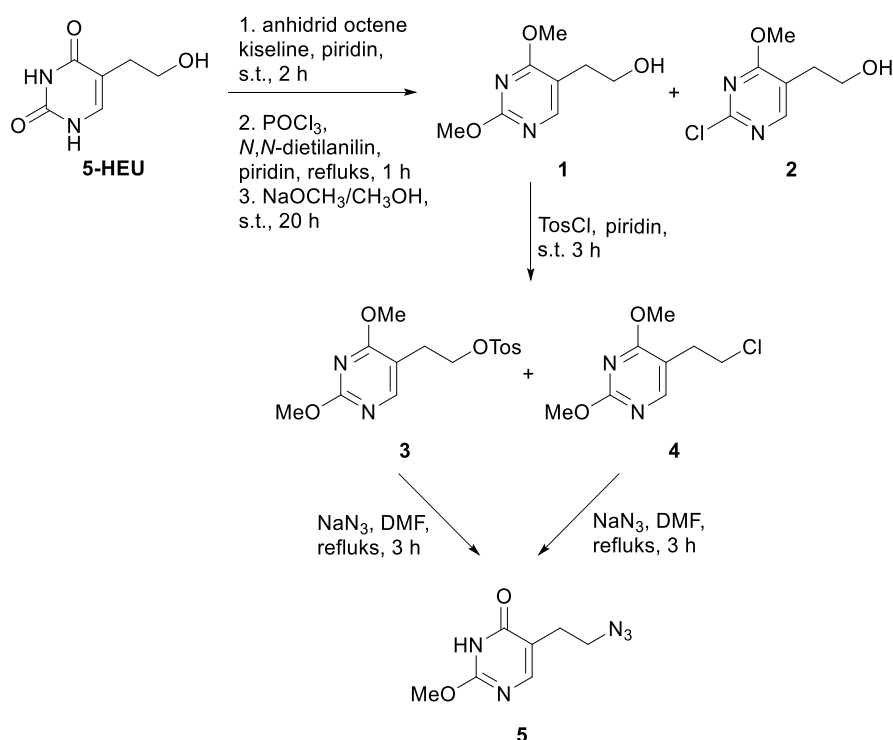
Slika 36. Konjugati izatina i ferocena

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. Konjugati 1,2,3-triazola i acikličkih pirimidinskih nukleozidnih analoga

3.1.1. Sinteza konjugata 1,2,3-triazola i acikličkih pirimidinskih nukleozidnih analoga

Sinteza ciljanih pirimidinskih derivata s 1,2,3-triazolnom skupinom povezanom preko etilenske poveznice počinje od 5-(2-hidroksietil)uracila (5-HEU) (shema 2). [82] Trostupnjevitom sintezom, [83] koja uključuje acetiliranje hidroksilne skupine 5-HEU, kloriranje te metoksiliranje dobivenih diklorpirimidinskih derivata, sintetiziran je 5-supstituirani 2,4-dimetoksipirimidinski derivat **1**. Kao nusprodukt u ovoj reakciji izoliran je i 2-klor-4-metoksipirimidinski derivat **2**. Tosiliranje spoja **1** provedeno je s *p*-toluensulfonil-kloridom (TosCl) gdje je kao glavni produkt dobiven spoj **3**, a kao nusprodukt klorirani derivat **4**. Oba produkta korištena su kao prekursori za sintezu azido derivata **5**, nukleofilnom supstitucijom s natrij-azidom (NaN₃). Spoj **5** sintetiziran je u boljem iskorištenju u reakciji s tosiliranim derivatom kao polaznim spojem.

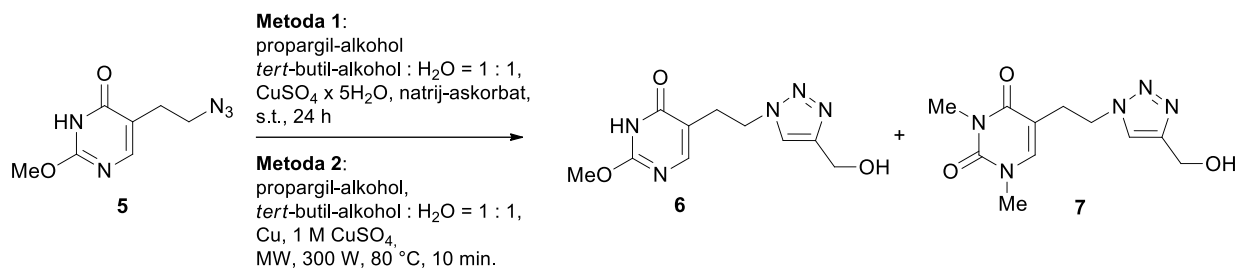


Shema 2. Sinteza azido prekursora **5** potrebnog za reakcije CuAAC u sintezi ciljanih 1,2,3-triazolnih derivata

Regioselektivnom 1,3-dipolarnom cikloadicijom alkina i organskog azida **5**, uz bakar kao katalizator, sintetiziran je 1,2,3-triazolni derivat **6** (shema 3). Korištenjem propargil-alkohola kao dipolarofila dobiven je spoj s polarnim terminalnim lancem na triazolnom

3. REZULTATI I RASPRAVA

prstenu. Reakcija je provedena konvencionalno (metoda 1) i u mikrovalnom reaktoru (metoda 2).

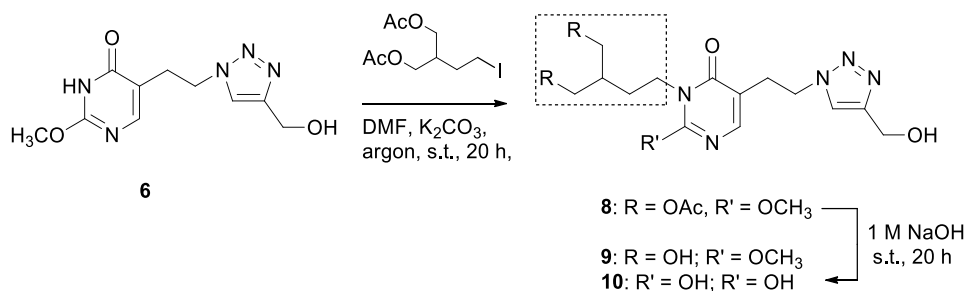


Shema 3. Sinteza 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazolnih derivata CuAAC reakcijom konvencionalno (metoda 1) i pod utjecajem mikrovalnog zračenja (metoda 2)

Kao što je već spomenuto, izvor Cu(I) iona, potrebnih za reakciju mogu biti soli Cu(I) ili Cu(II) uz dodatak redukcijskog sredstva. Natrij-askorbat korišten je kao redukcijsko sredstvo u reakcijama provedenim konvencionalno (metoda A), dok su u reakcijama provedenim u mikrovalnom reaktoru Cu(I) ioni dobiveni reakcijom koproporcioniranja Cu(II) iona i Cu(0). Iako je korištenje mikrovalnog zračenja drastično smanjilo trajanje reakcije, s 24 h na 10 min, uz spoj **6** (51 %) u ovoj reakciji je sintetiziran i 1,3-dimetil-5-[(4-hidroksimetil)-1,2,3-triazolil]uracil (**7**) kao nusprodukt (9 %). Konvencionalnom metodom izoliran je samo spoj **6** u iskorištenju od 65 %.

Ciljani 5-(1,2,3-triazoliletil)-supstituirani aciklouridini (**10**, **13**, **19**, **21** i **22**) sintetizirani su reakcijom *N*-alkiliranja 5-[2-(4-hidroksimetil-1,2,3-triazol-1-il)etil]-2-metoksipirimidin-4-ona (**6**) s odgovarajućim alkilirajućim agensom u prisutnosti baze.

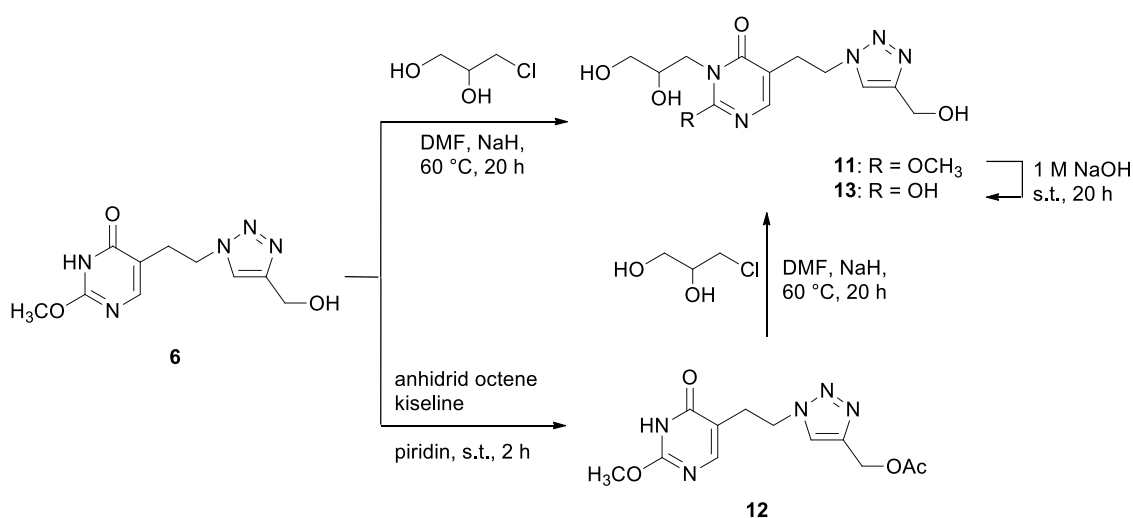
2-acetoksimetil-4-jodbutil-acetat [84] korišten je za uvođenje lanca poput penciklovirnog (poglavlje 2.3.1.1., spoj **13**), te je u reakciji sa spojem **6**, u prisustvu kalij-karbonata (K₂CO₃) kao baze, sintetiziran *N*-3-supstituirani aciklički 1,2,3-triazolni derivat **8** (shema 4).



Shema 4. Sinteza mono-alkiliranog 1,2,3-triazolnog derivata s lancem poput penciklovirnog na položaju *N*-3 pirimidinskog prstena

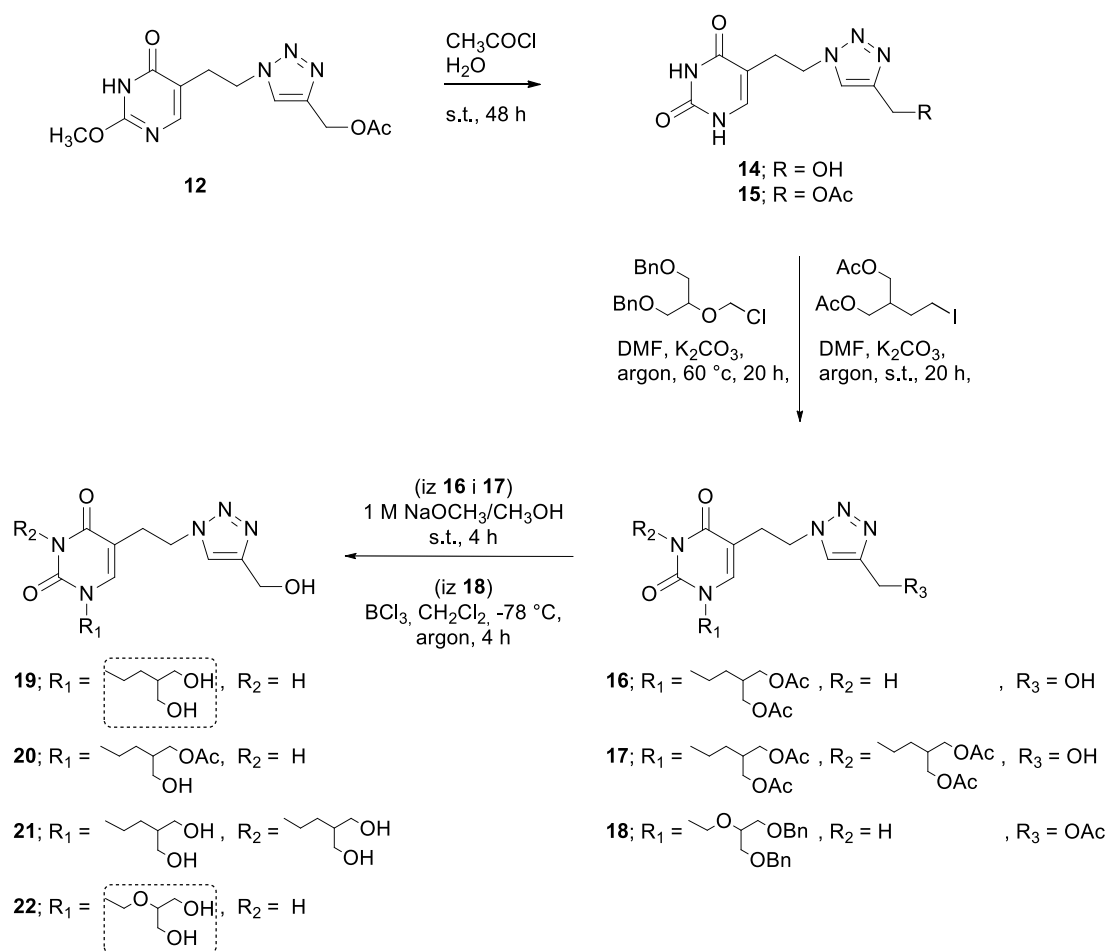
Zaštitne skupine su uklonjene uz 1 M otopinu NaOH te su izolirani derivat 2-metoksipirimidin-4-ona **9** i demetoksilirani derivat **10**.

1-klor-2,3-dihidroksipropan korišten je kao alkilirajući reagens za uvođenje 2,3-dihidroksipropilnog lanca u strukturu spoja **6** (shema 5). Direktnim *N*-3-alkiliranjem, uz natrij-hidrid (NaH) kao bazu, izoliran je produkt **11**, međutim u slabom iskorištenju (6 %). U reakciji alkiliranja acetiliranog derivata **12** također s 1-klor-2,3-dihidroksipropanom, sintetiziran je spoj **11** u malo boljem iskorištenju (27 %). *O*-dealkiliranjem spoja **11** u bazičnim uvjetima dobiven je ciljani derivat pirimidin-2,4-diona s *N*-3-dihidroksipropilnim lancem **13**.



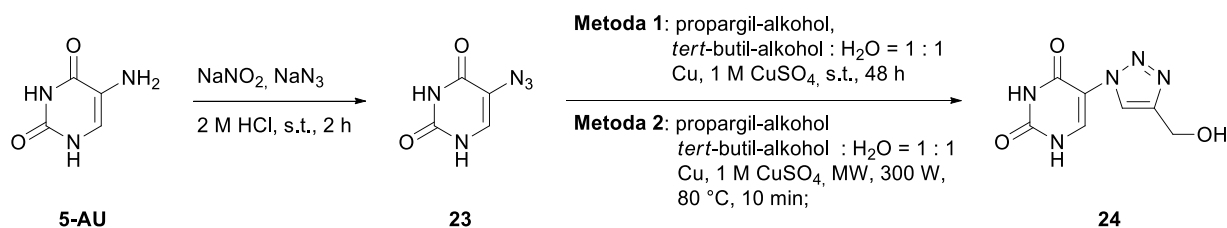
Shema 5. Sinteza monoalkiliranog 1,2,3-triazolnog derivata s 2,3-dihidroksipropilnim lancem na položaju *N*-3 pirimidinskog prstena

O-demetiliranje spoja **12** provedeno je s acetil-kloridom u vodi, te su dobiveni pirimidin-2,4-dioni sa 4-hidroksimetil-1,2,3-triazoliletilnom skupinom **14** i njegov acetilirani derivat **15** koji su korišteni kao supstrati za *N*-1-alkiliranje. Alkiliranje spoja **14** s 2-acetoksimetil-4-jodbutil-acetatom, uz K₂CO₃ kao bazu, dobiveni su *N*-1 monosupstituirani **16** i *N*-1,*N*-3 disupstituirani **17** nukleozidni analozi s lancem poput penciklovirnog (shema 6). Nasuprot tome, reakcija spoja **15** s 1,3-dibenziloksi-2-(klormetoksi)propanom [85] dala je isključivo *N*-1 monosupstituirani produkt **18** s lancem poput ganciklovirnog (poglavlje 2.3.1.1., spoj **12**). Uklanjanjem acetilnih zaštitnih skupina u spojevima **16** i **17**, dobiveni su ciljani trihidroksilni **19** i pentahidroksilni **20** derivati pirimidina kao i monoacetilirani analog **20**, a debenziliranjem spoja **18** s boron-trikloridom dobiven je konačni spoj **22**.



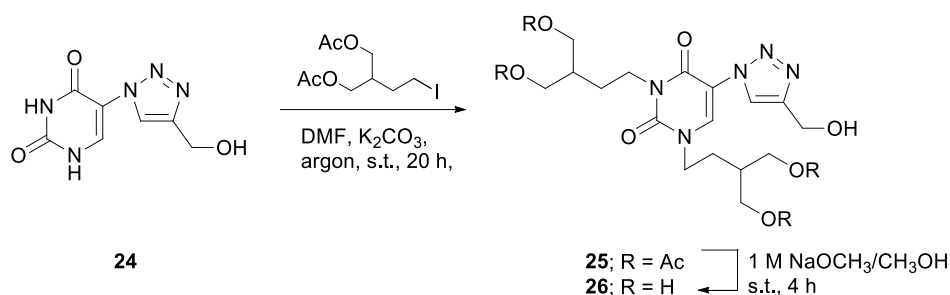
Shema 6. Sinteza mono- i dialkiliranih 1,2,3-triazolnih derivata pirimidina s lancem poput penciklovirnog na položaju *N*-1 i *N*-1, *N*-3 pirimidinskog prstena **19**, **20** i **21**, te monoalkiliranog spoja **22** s lancem poput ganciklovirnog na položaju *N*-3 pirimidinskog prstena

Sinteza 5-(1,2,3-triazolil)supstituiranih uracilnih aciklonukleozida **29** i **30** počinje od 5-aminouracila (5-AU) (shema 7). Reakcijom diazotacije, uz NaNO_2 u kiselom mediju, a zatim supstitucije s NaN_3 , sintetiziran je azido derivat **23**. U sljedećem stupnju, CuAAC reakcijom 5-azidouracila (**23**) i propargil-alkohola sintetiziran je triazolni derivat **24**, s 1,2,3-triazolnom skupinom na položaju C-5 pirimidina, povezanom direktno na prsten. Ova reakcija provedena konvencionalno, uz natrij-askorbat kao reducens nije dala željeni produkt, međutim uz sustav $\text{Cu}(0)/\text{Cu}(\text{II})$ nastao je produkt **24** uz iskorištenje od 25 %.



Shema 7. Sinteza derivata **24** s 1,2,3-triazolnom skupinom na položaju C-5 pirimidina

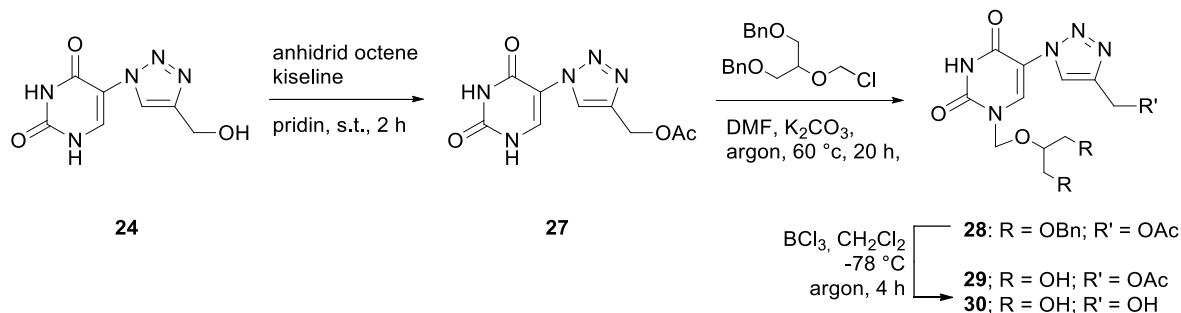
Na shemi 8 prikazana je sinteza *N*-1,*N*-3 dialkiliranog 5-(1,2,3-triazolil)-uracilnog derivata **25** reakcijom alkiliranja spoja **24** s 2-acetoksimetil-4-jodbutil-acetatom uz bazu, a nakon deprotekcije u bazičnim uvjetima dobiven je pentahidroksilni derivat **26**.



Shema 8. Sinteza *N*-1,*N*-3 dialkiliranog 5-(1,2,3-triazolil)-uracilnog derivata **25**

N-alkiliranjem spoja **24** s 1-klor-2,3-dihidroksipropanom i 1,3-dibenziloksi-2-(klormetoksi)propanom nisu dobiveni željeni produkti.

Reakcije su ponovljene s acetiliranim derivatom **27**, te je izoliran isključivo *N*-1 supstituirani derivat s ganciklovirnim lancem **28** (shema 9), dok reakcija s 1-klor-2,3-dihidroksipropanom ponovo nije dala željeni produkt. Uklanjanjem zaštitnih benzilnih skupina iz spoja **28**, dobiven je ciljani aciklonukleozid **30**.



Shema 9. Sinteza *N*-1 monoalkiliranog 5-(1,2,3-triazolil)-uracilnog derivata **25**

Usporedbom iskorištenja reakcija CuAAC provedenih konvencionalno i uz upotrebu mikrovalnog zračenja (tablica 2), dolazimo do zaključka da su reakcije uzimajući u obzir iskorištenja podjednake, međutim, uzimajući u obzir značajno kraće trajanje reakcija, reakcije u mikrovalnom reaktoru su se pokazale kao bolji izbor.

Tablica 2. Usporedba iskorištenja reakcija CuAAC provedenih konvencionalno i uz upotrebu mikrovalnog zračenja

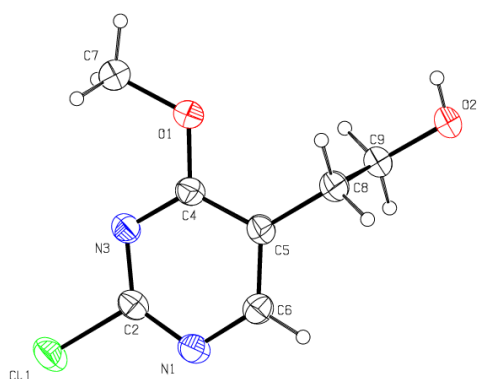
Spoj	Konvencionalna metoda		Metoda uz primjenu mikrovalnog zračenja	
	vrijeme	iskor.	vrijeme	iskor.
6	24 h	65 %	10 min	51 %
24	48 h	25 %	10 min	32 %

Spojevima **2–30** ispitana je citostatska aktivnost na stanične linije raka dojke (MCF-7), raka debelog crijeva (HCT116) i raka pluća (H 460). Spojevi nisu pokazali inhibitornu aktivnost na navedene tumorske stanice.

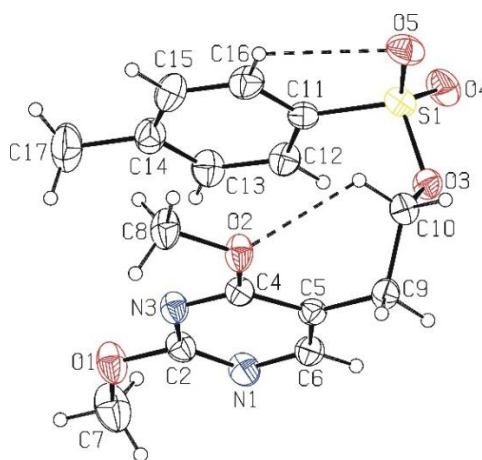
3.1.2. Kristalne i molekulske strukture spojeva **2**, **3**, **5** i **27**

Kristalne strukture spojeva **2**, **3**, **5** i **27** određene su rendgenskom strukturnom analizom na jediničnom kristalu. U spoju **2** (slika 37a), atom klora te metoksi i hidroksietilna skupina vezane su na C-2, C-4 i C-5 atome pirimidinskog prstena. U spoju **3** (slika 37b), atom klora na položaju C-2 prstena zamijenjen je metoksi skupinom, a hidroksietilna skupina na položaju C-5 zamijenjena je (2-tosiloksi)etilnom skupinom.

a)



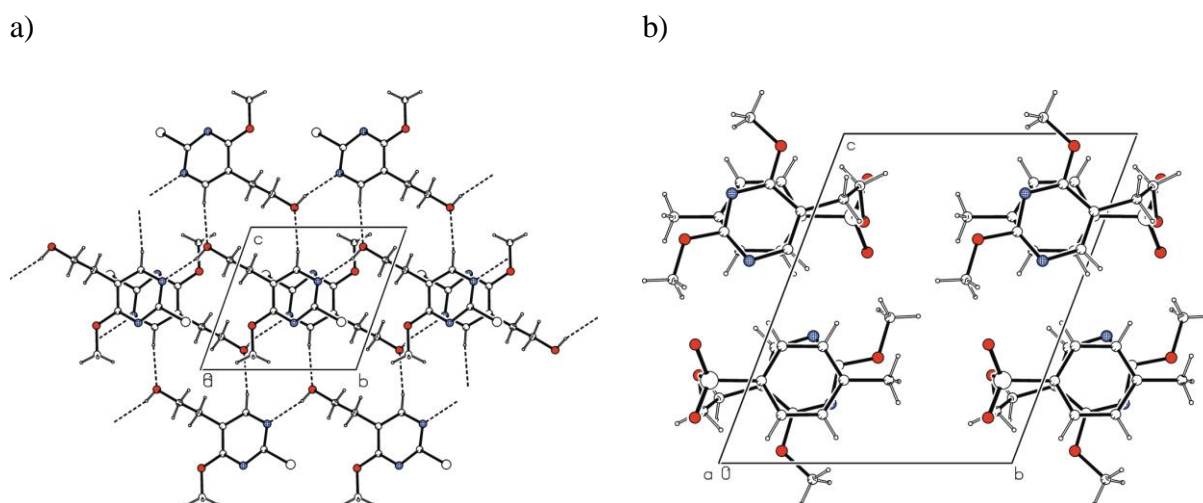
b)



Slika 37. Molekulske strukture spojeva **2** (a) i **3** (b).

Dužine veza i vezni kutovi u strukturama ovih dvaju spojeva vrlo su slični. Torzijski kut C5–C8–C9–O2 u spoju **2** iznosi $-178,92(19)^\circ$, što dokazuje *antiperiplanarnu* konformaciju hidroksietilne skupine. Konformacija spoja **3** je određena dvjema C–H \cdots O unutarmolekulskim vodikovim vezama (slika 37b), koje tvore šesteročlane i peteročlane prstenove. Pirimidinski i fenilni prstenovi su gotovo paralelni (diedarski kut iznosi $4,6^\circ$), tako da u strukturi ovog spoja postoji i jedna unutarmolekulska $\pi\cdots\pi$ interakcija.

Jedna O–H \cdots N vodikova veza udružuje molekule spoja **2**, na taj način stvarajući lance duž kristalografske osi *b* (slika 38a). Lanci su nadalje povezani jednom C–H \cdots O vodikovom vezom u trake. Nastale trake su dovoljno blizu jedna drugoj tako da jedna $\pi\cdots\pi$ interakcija između pirimidinskih prstenova susjednih molekula također sudjeluje u povezivanju molekula i ta slaba međumolekulska interakcija stvara dvo-dimenzijsku mrežu. Nasuprot tome, molekule spoja **3** povezane su uzduž osi *a* sa samo dvije slabe $\pi\cdots\pi$ interakcije (slika 38b).

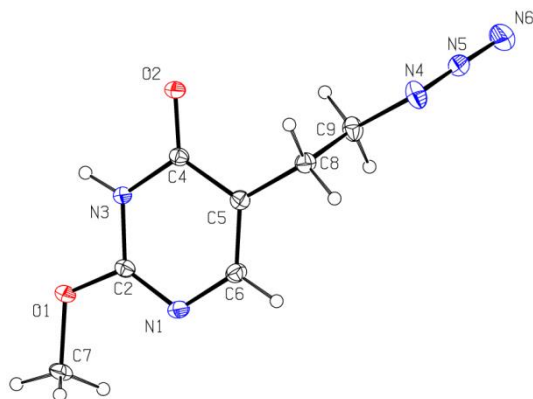


Slika 38. a) Kristalno pakiranje spoja **2**, koje prikazuje O–H \cdots N i C–H \cdots O vodikove veze te paralelni razmještaj pirimidinskih prstenova koji omogućuje stvaranje jedne međumolekulske $\pi\cdots\pi$ interakcije; b) kristalno pakiranje spoja **3**, koje prikazuje paralelni razmještaj pirimidinskih prstenova, koji omogućuje stvaranje dvije $\pi\cdots\pi$ međumolekulske interakcije.

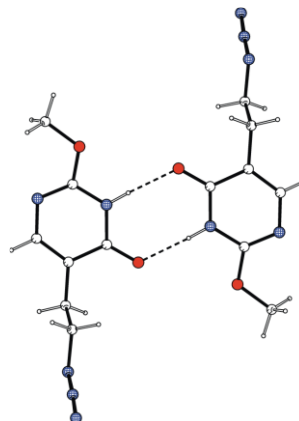
Geometrija derivata pirimidina s azidoetilnim lancem **5** (slika 39a) vrlo je slična geometriji sličnih spojeva. U strukturi ovog spoja vezni kut N1–C2–N3 pirimidinskog prstena nije toliko proširen kao kod spojeva **2** i **3**, već je nešto veći od uobičajenog vevnog kuta N1–C2–N3 koji iznosi $125,59(12)^\circ$. Međutim, kao i u drugim strukturama koje sadrže pirimidinski prsten, kako se to i očekuje za aromatske šesteročlane prstenove, zbroj svih

endocikličkih veznih kutova iznosi 720° . Međumolekulska N–H...O vodikova veza povezuje molekule ovog spoja u diskretne dimere (slika 39b).

a)



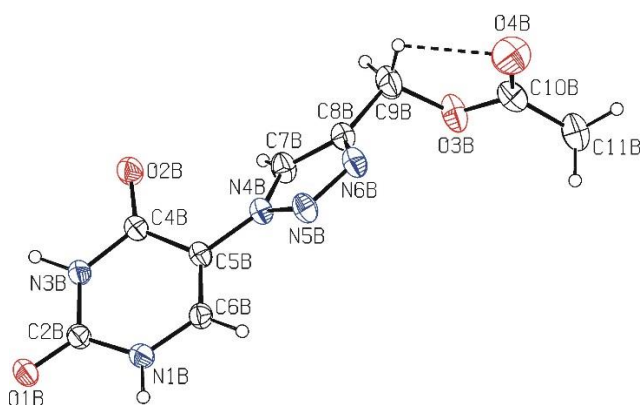
b)



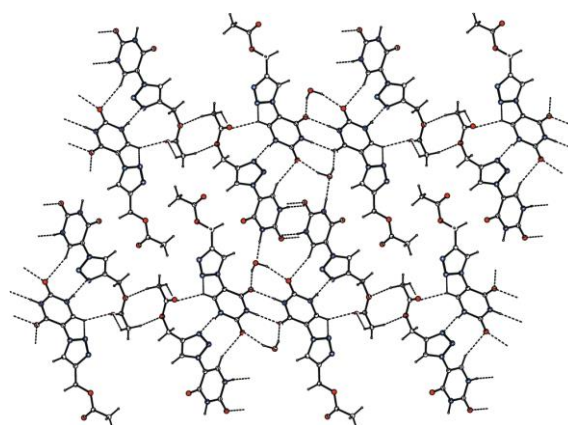
Slika 39. a) Molekulska struktura spoja **5**; b) dio kristalne strukture spoja **5**, koji prikazuje diskretni dimer nastao međumolekulskom N–H...O vodikovom vezom.

5-(4-acetoksimetil-1,2,3-triazol-1-il)pirimidin-2,4-dion (**27**) kristalizira s dvije neovisne molekule (označene kao A i B) i jednom molekulom vode u asimetričnoj jedinici (slika 40a). Duljine veza u molekuli A i B su unutar 4σ vrijednosti, uz izuzetak veza C4–C5 [C4A–C5A = 1,431(3), C4B–C5B = 1,445(3) Å] i C10–C11 [C10A–C11A = 1,482(4), C10B–C11B = 1,463(4) Å].

a)



b)



Slika 40. a) Molekulska struktura spoja **27** (prikazana je samo neovisna molekula B); b) dio kristalne strukture spoja **27**, koja prikazuje trodimenzijsku mrežu stvorenu N–H...O, N–H...N, O–H...O, C–H...O i C–H...N vodikovim vezama

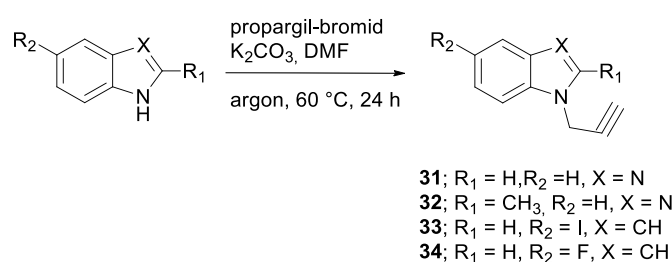
Za razliku od struktura **2** i **3**, najveći endociklički vezni kut u strukturi spoja **27** je C2–N3–C4 [C2A–N3A–C4A = 126,94(19), C2B–N3B–C4B = 126,66(19)°], dok je kut N1–C2–N3 manji od uobičajenog [N1A–C2A–N3A = 114,34(18), N1B–C2B–N3B = 115,13(19)°]. Najveća konformacijska razlika između dviju neovisnih molekula je u konformaciji acetoksimetilne skupine. Dok je konformacija C8 i C10 atoma u molekuli A *antiperiplanarna* [C8A–C9A–O3A–C10A = 177,7(2)°], konformacija iste skupine u molekuli B je *antiklinalna* [C8B–C9B–O3B–C10B = –109,7(3)°]. Ovakva konformacija skupine u molekuli B može se objasniti stvaranjem unutarmolekulske C–H–O vodikove veze (slika 40a). Neovisne molekule A-A, A-B i B-B spoja **27** međusobno su povezane s tri jake međumolekulske vodikove veze, dvije N–H···O i jednom N–H···N (slika 40b). Molekula vode služi kao most između dviju neovisnih molekula i povezana je s njima jakim vodikovim vezama, dvjema O–H···O i jednom N–H···O. U ovoj strukturi molekule povezuju i šest slabih C–H···O vodikovih veza i jedna C–H···N vodikova veza, koje zajedno s prethodno navedenim interakcijama stvaraju trodimenzijsku mrežu.

3.2. Konjugati 1,2,3-triazola i heterocikličkih baza

3.2.1. Sinteza konjugata 1,2,3-triazola i heterocikličkih baza

Konjugati benzimidazola, indola (**39–53**) i benzotiazola (**55–60**) te aciklički derivati benzimidazola i indola (**31a,b–38a**) koji sadrže 4-supstituirani 1,2,3-triazolni prsten sintetizirani su 1,3-dipolarnom cikloadicijom kataliziranom bakrom.

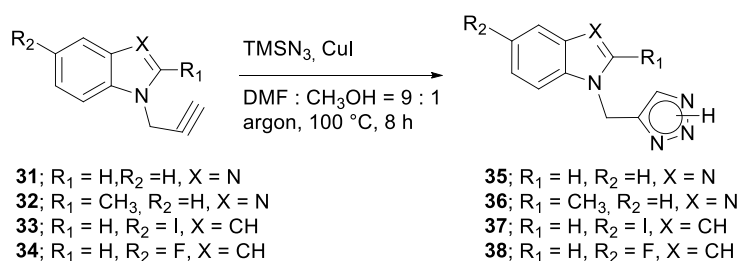
Sinteza kreće od pripreve propargiliranih derivata heterocikličkih baza. Reakcijom benzimidazola, 2-metilbenzimidazola, 5-jodindola i 5-fluorindola s propargil-bromidom uz prisutnost K_2CO_3 sintetizirani su alkinilni derivati **31–34** (shema 10).



Shema 10. Sinteza propargiliranih derivata benzimidazola i indola **31–34**

U sljedećem stupnju, sintetizirani su nesupstituirani *NH*-1,2,3-triazoli (**35–38**) i 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazolni derivati (**39–53** i **55–60**) 1,3-dipolarnom cikloadicijom alkinilnih derivata benzimidazola i indola **31–34** s odgovarajućim organskim azidima, uz bakar kao katalizator.

Tako su *NH*-1,2,3-triazolni derivati **35–38** (shema 11) dobiveni reakcijom CuAAC alkinilnih derivata **31–34** s azidotrimetilsilanom ($TMSN_3$) uz CuI kao izvor katalitički aktivnog $Cu(I)$ iona (31–61 %).



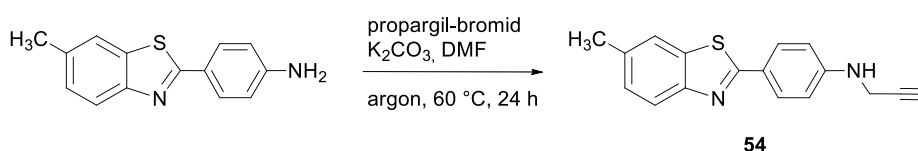
Shema 11. Sinteza *N*-nesupstituiranih 1,2,3-triazolnih derivata **35–38**

Općenito, *NH*-1,2,3-triazoli supstituirani sa supstuentom na jednom C-atomu prstena postoje u tri tautomerna oblika. Prema DFT proračunima, bez obzira na supstuent vezan na

C-atomu, *2H* 1,2,3-triazolni tautomer je najstabilniji. Analizom NMR spektara nesupstituiranih *NH*-1,2,3-triazolnih derivata **35–38** utvrđeno je da se spojevi nalaze u tautomernoj smjesi *2H* i *1H* 1,2,3-triazola u omjeru 2 : 1 (slika p1 i slika p2, Prilozi).

Nadalje, halogenirani aromatski azidni prekursori potrebni za sintezu 1,2,3-triazolnih derivata **39–47** i **55–58** sintetizirani su iz odgovarajućih arilamina prema literaturi. [86] Azidometilni derivati kumarina potrebni za sintezu hibrida heterocikla i kumarina, povezanih 1,2,3-triazolilnom poveznicom **48–53**, **29** i **30**, dobiveni su reakcijom natrij-azida sa 4-klormetil-7-metilkumarinom i 4-klormetil-7-hidroksikumarinom, koji su sintetizirani Pechmann-ovom ciklizacijom koristeći sulfatnu kiselinu. [87,88]

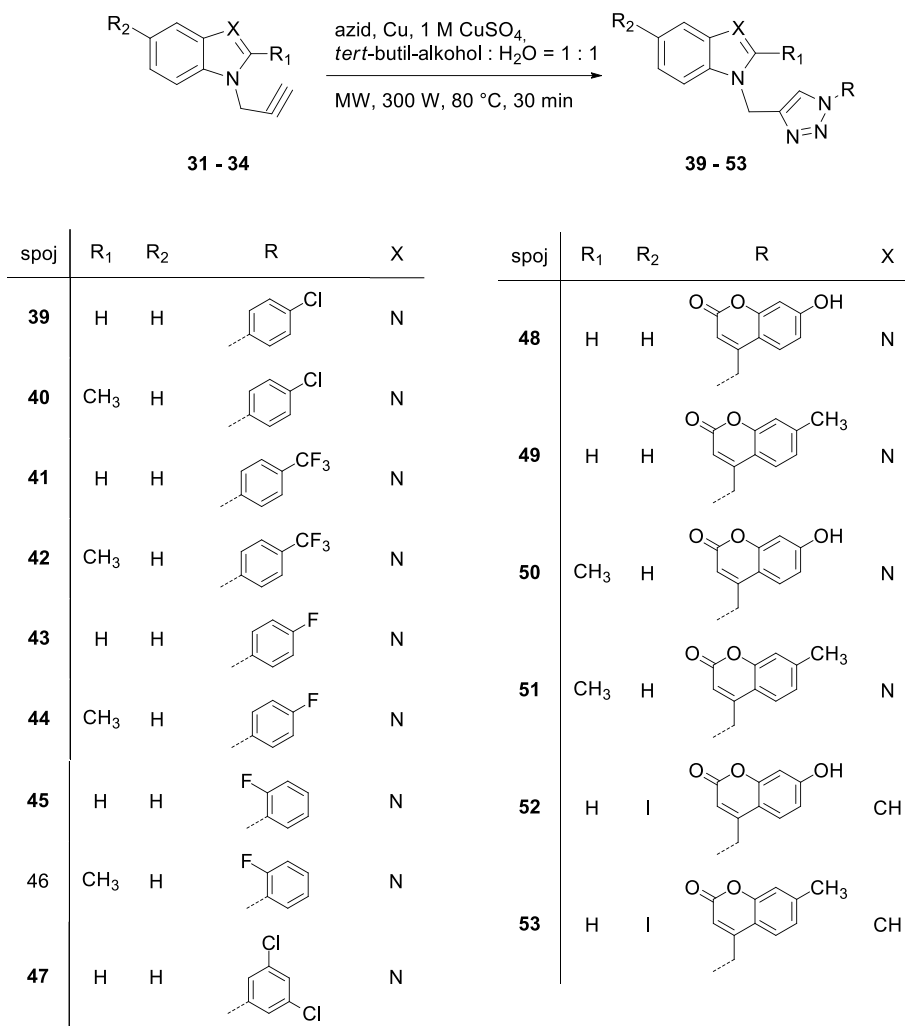
2-(4-(prop-2-inil)-6-metilbenzotiazol (**54**) je sintetiziran reakcijom propargil-bromida i 2-(aminofenil)-6-metilbenzotiazola uz K_2CO_3 (shema 12).



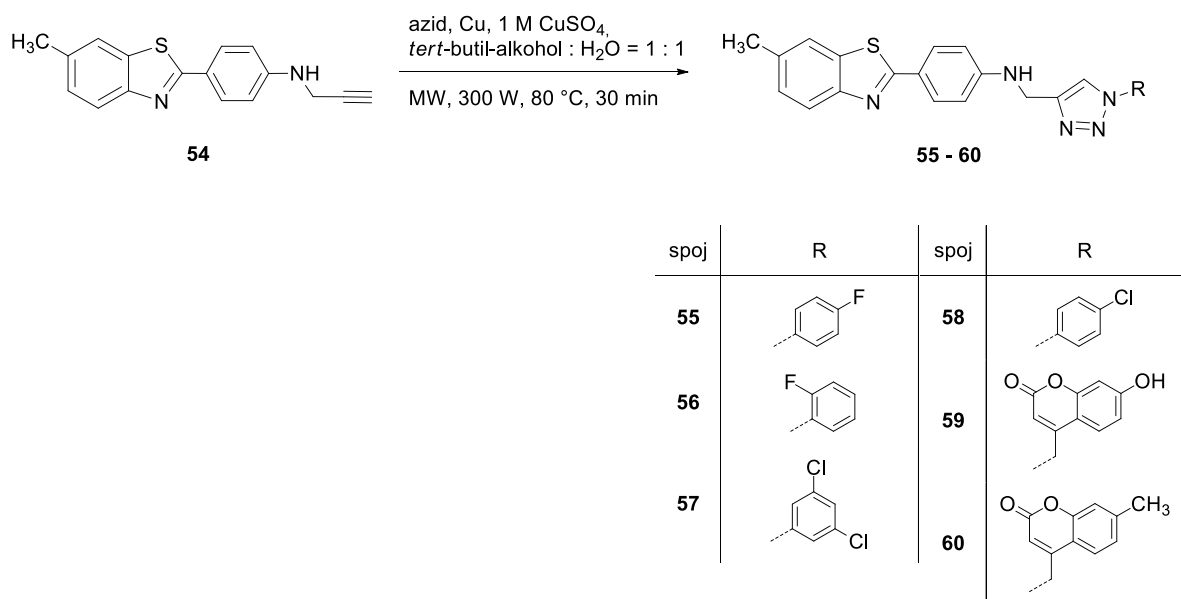
Shema 12. Sinteza 2-(4-(prop-2-inil)-6-metilbenzotiazola (**54**)

Ciljani triazolni derivati **39–53** i **55–60** dobiveni su reakcijom CuAAC alkinilnih derivata benzimidazola, 2-metilbenzimidazola, 5-jodinola i benzotiazola **31–33** i **54**, s odgovarajućim azido prekursorima u mikrovalnom reaktoru u vrlo dobrim iskorištenjima (67–89 %) (shema 13 i shema 14).

3. REZULTATI I RASPRAVA

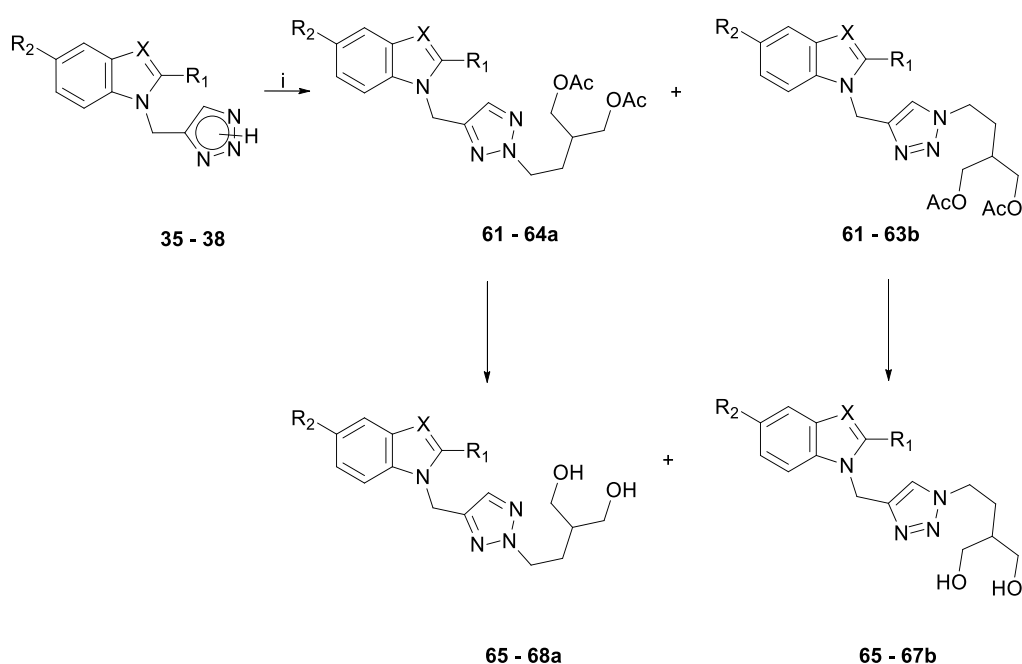


Shema 13. Sinteza 1,2,3-triazolnih derivata **39–53**



Shema 14. Sinteza benzotiazolnih derivata 1,2,3-triazola **55–60**

Sinteza acikličkih derivata 1,2,3-triazola i heterocikličkih baza prikazana je na shemi 15. Uvođenje penciklovirnog lanca provedeno je reakcijom *N*-alkiliranja *NH*-1,2,3-triazola **35–38** s 2-acetoksimetil-4-jodbutil-acetatom u bazičnim uvjetima. Sukladno navedenim rezultatima analize NMR spektara nesupstituiranih derivata 1,2,3-triazola **35–38**, dobivene su smjese *N*-2- i *N*-1-alkiliranih regioizomera uz veći udio *N*-2-alkiliranog derivata (udjeli za **61a/61b**, **62a/62b** i **63a/63b** iznose 3/1, 4/1 i 2/1). *N*-alkiliranjem *NH*-1,2,3-triazol-5-flourindol hibrida **38**, sintetiziran je isključivo *N*-2-alkilirani izomer **64a**. Uklanjanjem zaštitnih skupina na pobočnom lancu uz natrij-metoksid dobiveni su konačni 1,2,3-triazolni aciklički derivati **65a–68a** i **65b–67b**.



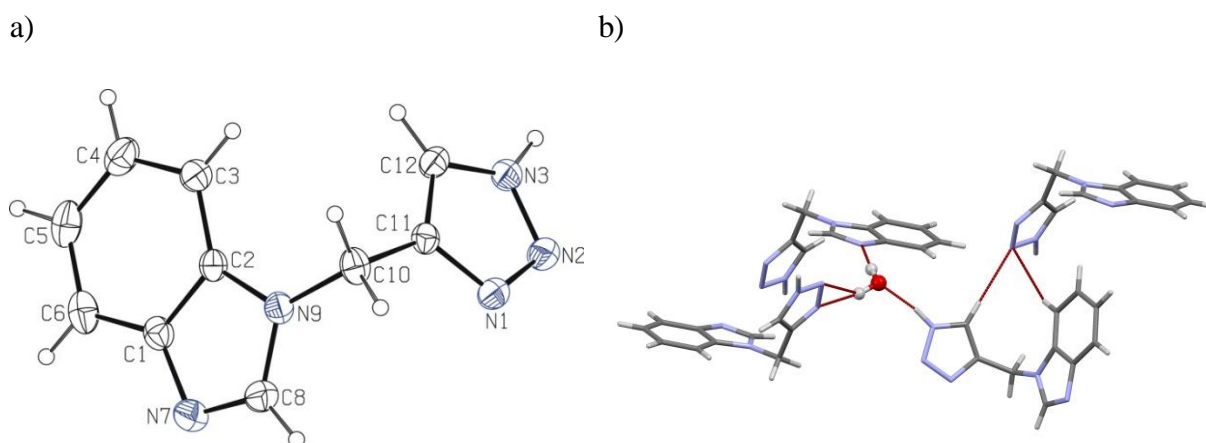
spoj	R ₁	R ₂	X	R ₃	spoj	R ₁	R ₂	X	R ₃
61a	H	H	N	OAc	65a	H	H	N	OH
61b	H	H	N	OAc	65b	H	H	N	OH
62a	CH ₃	H	N	OAc	66a	CH ₃	H	N	OH
62a	CH ₃	H	N	OAc	66b	CH ₃	H	N	OH
63a	H	I	CH	OAc	67a	H	I	CH	OH
63b	H	I	CH	OAc	67b	H	I	CH	OH
64a	H	F	CH	OAc	68a	H	F	CH	OH

Shema 15. Sinteza acikličkih derivata 1,2,3-triazola i heterocikličkih baza

3.2.2. Kristalna i molekulska struktura spoja 35

Spoj **35** (slika 41a), u kojem su benzimidazolni i 1,2,3-triazolni prstenovi povezani metilenskom poveznicom, kristalizira s jednom molekulom vode. Rendgenska strukturna analiza na jediničnom kristalu pokazala je da se 1,2,3-triazolni derivat nalazi u *1H* tautomernom obliku. Benzimidazolni prsten je gotovo okomit u odnosu na 1,2,3-triazolni prsten. Diedarski kut između ova dva prstena iznosi $72,1^\circ$.

S obzirom da spoj kristalizira kao hidrat, najjače interakcije su uočene između molekule spoja **35** i molekule vode (slika 41b). Ove interakcije, ojačane slabijim $\pi \cdots \pi$ interakcijama tvore trodimenzijsku mrežu. Naime, fenilni i imidazolni prstenovi susjednih molekula međusobno su paralelni tako da u stvaranju konačne supramolekulske strukture sudjeluju i tri $\pi \cdots \pi$ interakcije.



Slika 41. a) Molekulska struktura spoja **35**; b) dio kristalne strukture spoja **35**, koji prikazuje vodikove veze između molekula benzimidazolnog derivata i molekula vode

3.2.3. Spektroskopska karakterizacija spojeva 48–53 i 55–60 UV-Vis i fluorimetrijskom spektroskopijom

Provedena je spektroskopska karakterizacija 1,2,3-triazolnih derivata kumarina **48–53** i benzotiazolnih derivata **55–60** elektronskom apsorpcijskom (UV-Vis) i fluorimetrijskom spektroskopijom (tablica 3, slika 42). Spojevi **48–53** pokazali su maksimum apsorpcije na valnim duljinama u rasponu od 316–329 nm, dok su spojevi **55–60** pokazali maksimum apsorpcije na valnim duljinama 343 nm ili 347 nm. Spojevi s fenilnom poveznicom **55–60**

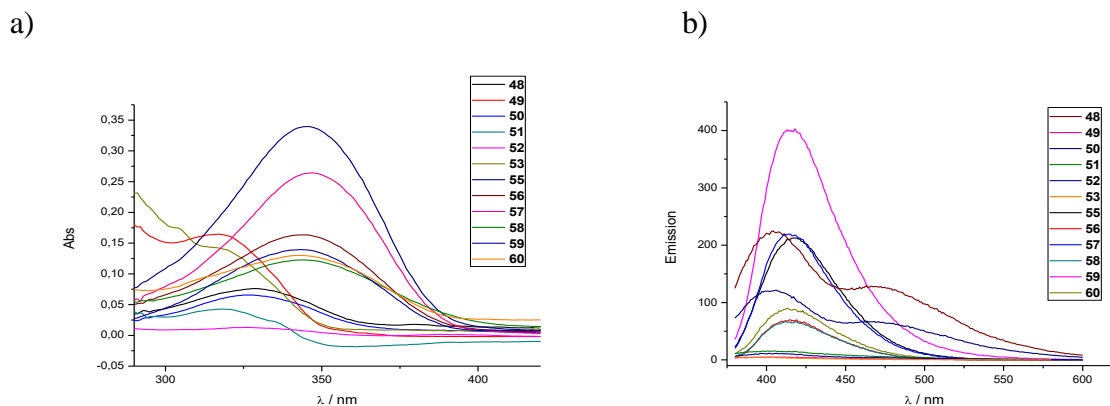
pokazuju crveni pomak za ~ 20 nm. Svi spojevi pokazuju fluorescenciju u ljubičastom dijelu vidljivog spektra sa različitim intenzitetom emisije. U emisijskim fluorimetrijskim spektrima spojeva **49**, **51–53** i **55–60** vidljiv je jedan maksimum emisije na 405 nm (za spojeve **49**, **51–53**) i ~ 416 nm (za spojeve **55–60**), dok su u emisijskim spektrima spojeva **48** i **50** vidljiva dva maksimuma na 405 nm i 469 nm.

Tablica 3. UV/Vis i fluorimetrijski podaci za spojeve **48–53** i **55–60** u metanolu.

Spoj	λ_{\max} (nm)	ϵ_{\max} (M ⁻¹ cm ⁻¹)	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	Stokes-ov pomak (nm)
48	329	0,38 x 10 ⁴	329	405, 469	76
49	316	0,82 x 10 ⁴	316	405	89
50	326	0,33 x 10 ⁴	326	405, 469	79
51	317	0,66 x 10 ⁴	317	405	88
52	326	0,07 x 10 ⁴	326	405	79
53	317	0,71 x 10 ⁴	320	405	85
55	347	1,73 x 10 ⁴	347	417	70
56	343	0,82 x 10 ⁴	343	417	74
57	347	1,32 x 10 ⁴	347	414	67
58	343	0,61 x 10 ⁴	343	415	72
59	343	0,70 x 10 ⁴	343	415	72
60	343	0,65 x 10 ⁴	343	414	71

Hibridi benzotiazol–1,2,3-triazola **55–60** pokazuju visoki intenzitet fluorescencije dok hibridi kumarina **48–53** pokazuju značajno smanjena fluorescencijska svojstva, što upućuje na to da je fenilna poveznica odgovorna za apsorpciju fotona. Među derivatima koji u strukturi sadrže halogene elemente **55–58**, spojevi **55** s 1-(*p*-fluorfenil)- i **57** s 1-(3,5-diklorfenil)-supstituentom pokazuju veće intenzitete emisije. Nadalje, spojevi **55–60** pokazuju crveni pomak maksimuma emisije za ~ 10 nm u usporedbi s hibridima bez fenilne poveznice **48–53**. Može se ujedno napomenuti da različiti arilni supstituenti na položaju N-1 triazolnog prstena nisu uzrokovali značajan crveni ili plavi pomak maksimuma emisije.

Stokes-ov pomak kod spojeva **48–53** i **55–60** ovisi o heterociklu vezanom na C-4 atom 1,2,3-triazolnog prstena. Stoga, Stokes-ov pomak za 2-fenilbenzotiazolne derivate **55–60** iznosi oko 64–74 nm, dok je kod ostalih heterocikličkih derivata **48–53** veći i iznosi 76–89 nm.



Slika 42. (a) UV-Vis spektri ($c = 2 \times 10^{-5}$ M) i (b) emisijski spektri ($c = 2 \times 10^{-5}$ M) spojeva **48–53 i 55–60**

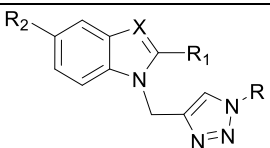
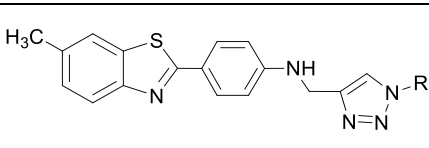
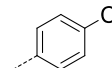
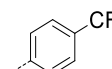
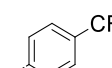
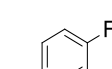
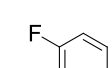
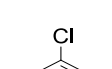
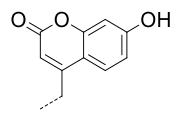
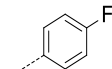
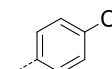
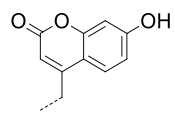
Najveći intenzitet emisije, na 415 nm, pokazao je spoj **59**, što može biti povezano s dva slobodna elektronska para 7-hidroksilnog supstituenta na kumarinskoj jezgri, dok je kumarinski derivat **60** s metilnom skupinom na položaju 7 pokazao hipokromni efekt maksimuma emisije na 414 nm. Sličan utjecaj 7-hidroksilnog supstituenta na kumarinu vidljiv je i kod spojeva **48**, **50** i **52**, koji pokazuju hipsokromni pomak u usporedbi sa srodnim 7-metil-supstituiranim spojevima **49**, **51** i **53**.

3.2.4. Biološka ispitivanja konjugata 1,2,3-triazola i heterocikličkih baza 35–68a

In vitro antibakterijska aktivnost novih konjugata 1,2,3-triazola i heterocikličkih baza **35–68a** ispitana je protiv gram-pozitivnih (*Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 49619) i *Streptococcus pyogenes* (ATCC 700294)) i gram-negativnih bakterijskih sojeva (*Escherichia coli* (ATCC 25922), *Moraxella catarrhalis* (ATCC 23246) i *Haemophilus influenzae* (ATCC 49247)). Dobiveni rezultati uspoređeni su s djelovanjem antibiotika azitromicina i prikazani u tablici 4. Aktivnost sintetiziranih spojeva prikazana je minimalnim inhibitornim koncentracijama, MIC (*minimum inhibitory concentration*).

Rezultati antibakterijskog ispitivanja pokazuju da spojevi **35–68a** ne pokazuju antibakterijsku aktivnost na testirane gram-pozitivne i gram-negativne bakterije osim selektivne aktivnosti protiv *Moraxella catarrhalis* vrste koju su pokazali hibridi 1,2,3-triazola i heterocikla s halogeno supstituiranim aromatskim prstenovima (**39**, **41–43**, **45**, **47**, **57** i **58**) i kumarinom (**52** i **59**).

Tablica 4. Antimikrobna aktivnost odabranih spojeva **39**, **41–43**, **45**, **47**, **52**, **55**, **58** i **59**

		MIC ($\mu\text{g/mL}$)					
Spoj	R	<i>S. aureus</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>M. catarrhalis</i>	<i>H. influenzae</i>
39, 41, 42, 43, 45, 47, 52							
55, 58, 59							
39		>128	>128	>128	>128	0,5	>128
41		>128	>128	>128	>128	16	>128
42		>128	>128	>128	>128	64	>128
43		>128	>128	>128	>128	1	>128
45		>128	>128	>128	>128	128	>128
47		>128	>128	>128	>128	16	>128
52		>128	>128	>128	>128	16	>128
55		>128	>128	>128	>128	128	>128
58		>128	>128	>128	>128	64	>128
59		>128	>128	>128	>128	$\leq 0,25$	>128
azitromicin		2	0,25	0,125	8	0,25	2

Među nesupstituiranim konjugatima benzimidazola i 1,2,3-triazola, spojevi **39** i **43** s *p*-klorfenilnim i *p*-fluorfenilnim supstituentom pokazuju najbolje djelovanje protiv *Moraxella catarrhalis* (MIC vrijednosti 0,5 i 1 $\mu\text{g/mL}$). Međutim, aktivnost ovih spojeva je 2-4 puta manja od aktivnosti referentnog azitomicina (MIC 0,25 $\mu\text{g/mL}$). Nadalje, aktivnost benzimidazolnih derivata **41** (MIC 16 $\mu\text{g/mL}$), **45** (MIC 128 $\mu\text{g/mL}$) i **47** (MIC 16 $\mu\text{g/mL}$) s

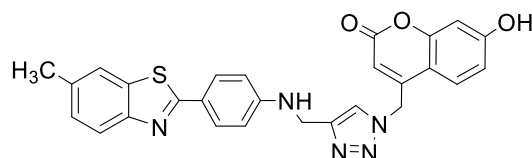
različito supstituiranim benzenskim prstenom je niža i ne vidi se povezanost s vrstom i položajem supstituenta na benzenskoj jezgri. Od 2-metilbenzimidazolnih konjugata samo spoj **42** s trifluormetilnim supstituentom pokazuje slabu aktivnost, a od benzotiazol-1,2,3-triazolnih hibrida spojevi **55** i **58** pokazuju graničnu aktivnost. Uvođenjem kumarinske podjedinice u strukturu triazolnih derivata dobiveni su 5-jodindolni **52** i 2-aril-5-metilbenzotiazolni **59** analozi s antibakterijskom aktivnosti protiv gram-negativne bakterije *Moraxella catarrhalis* (MIC $16 \text{ i } \leq 0,25 \text{ } \mu\text{g/mL}$), gdje je minimalna inhibitorna koncentracija spoja **59** usporediva s azitromicinom. Prema tome, supstituent na položaju C-7 kumarina ima veliki utjecaj na antibakterijsku aktivnost s obzirom da su MIC vrijednosti spojeva **52** i **59**, sa 7-hidroksi-supstituiranim kumarinom, puno niže od MIC vrijednosti njihovih 7-metil-supstituiranih analoga **53** i **60** (MIC $> 128 \text{ } \mu\text{g/mL}$).

Lipofilno svojstvo spojeva smatra se važnim parametrom koji je povezan s propusnosti membrane u biološkom sustavu jer raspodjela lijeka ovisi o sposobnosti prolaska kroz membranu. Štoviše, mnogi proteini koji sudjeluju u raspodjeli lijekova imaju hidrofobna vezna mjesta što daje značaj lipofilnosti spojeva. [89] Stoga je, kao mjera hidrofobnosti odnosno lipofilnosti, izračunat $ClogP$, koeficijent raspodijele oktanol/voda. Spojevi koji imaju $ClogP < 3$ ne posjeduju antibakterijsku aktivnost na ispitanim sojevima. Pa tako, aciklički derivati **31a,b–38a** s $ClogP$ vrijednostima od -0,1 do 2,82, pokazuju nedostatak antibakterijske aktivnosti (MIC vrijednosti $> 128 \text{ } \mu\text{g/mL}$). U usporedbi s tim, spojevi koji su pokazali aktivnost protiv *M. catarrhalis* bakterije imaju viša lipofilna svojstva s vrijednostima $ClogP$ u rasponu 3,14–6,24, uz vrijednost $logP$ od 4,99 za najaktivniji spoj **59**. Poznato je da stanice *M. catarrhalis* na svojoj površini imaju lipopolisaharide (LPS) male molekulske mase, koji se još nazivaju lipooligosaharidi (LOS), [90] koji pridonose povećanoj hidrofobnosti vanjske membrane. Druge dvije testirane gram-negativne bakterijske vrste imaju drugačiju strukturu vanjske membrane, uključujući LPS u stanicama *E. coli*, koja je manje hidrofobna od LOS i prisutnost dodatnih kapsula na površini stanica *H. influenzae*, koji doprinose ojačanju barijere ovih organizama. Stoga, među testiranim gram-negativnim organizmima, *M. catarrhalis* ima najpropusniju staničnu ovojnica za lipofilne agense, čime je omogućen viši stanični unos i pojačano unutarstanično djelovanje.

Za spoj **59**, provedena je *in silico* analiza predviđanja spektra aktivnosti, PASS (eng. *Prediction of Activity Spectra for Substances*) (tablica 5). Ova metoda koristi se za predviđanje mogućih meta biološke aktivnosti za spojeve kojima je eksperimentalno određena biološka aktivnost. [91] Za spoj **59**, PASS analizom je kao najvjerojatnija meta predviđen

transkripcijski faktor ($P_a = 0,75$), no točan mehanizam djelovanja navedenog spoja nije poznat, te su da bi se to ustanovilo, potrebna daljnja ispitivanja.

Tablica 5. Biološke mete za hibrid benzotiazol–1,2,3-triazol–kumarina **59** predviđene *in silico* metodom PASS^a



59

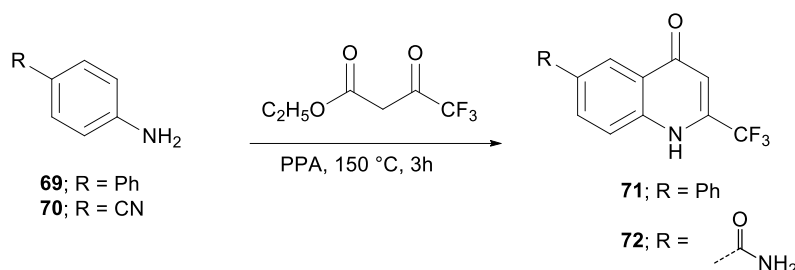
Biološke mete	P_a	P_i
Inhibitor transkripcijskog faktora	0,751	0,003
Inhibitor transkripcijskog faktora STAT	0,560	0,011
Inhibitor sinteze leukotriena	0,466	0,004
Inhibitor MAP-kinaze	0,426	0,003
Inhibitor transglutaminaze 2	0,379	0,002
Inhibitor transkripcijskog faktora STAT3	0,398	0,034
CYP2A11 supstrat	0,378	0,030
Antagonist interleukina 2	0,383	0,063
Inhibitor proto-onkogenog proteina tirozin-kinaze Fgr	0,340	0,032
Pojačivač ekspresije HMGCS2	0,349	0,076

^aSpektar aktivnosti koji predviđa PASS prikazan je popisom aktivnosti s vjerojatnostima "aktivnosti" (P_a) i "ne-aktivnosti" (P_i). Što je veća P_a i manja P_i vrijednost, to je veća vjerojatnost predviđene aktivnosti.

3.3. Konjugati 1,2,3-triazola i kinolina

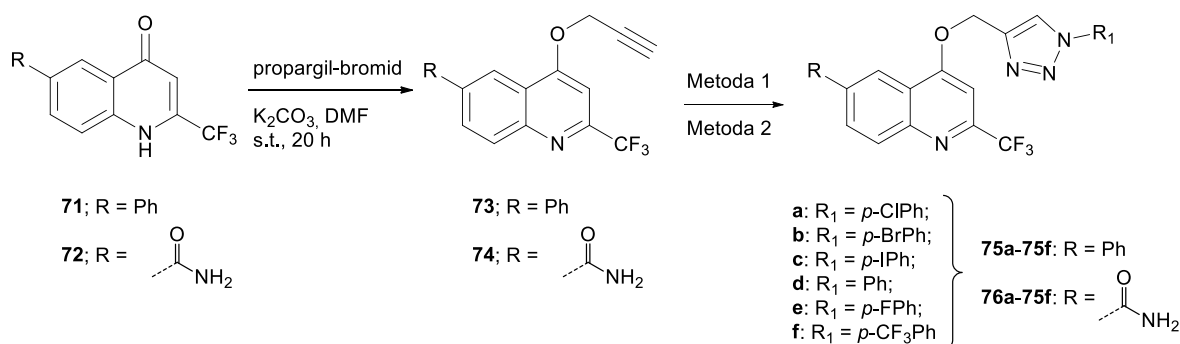
3.3.1. Konvencionalna sinteza konjugata 1,2,3-triazola i kinolina

6-supstituirani derivati kinolona **71** i **72** sintetizirani su Conrad-Limpach-ovom reakcijom primarnih aromatskih amina **69** i **70** sa 4,4,4-trifluor-3-oksobutanoatom u polifosornoj kiselini (PPA) (shema 16). Formiranje kinolona **72** popraćeno je konverzijom nitrilne skupine u amidnu, s obzirom da se reakcija sinteze provodi pri visokim temperaturama i u kiselim uvjetima, koji odgovaraju reakciji hidratiranja nitrila, [92] što je potvrđeno spektroskopijom ^1H i ^{13}C NMR. Zbog vodikovih veza među protonima amida i susjednih protona na aromatskom prstenu kao i prirode otapala protoni amidne skupine daju dva signala u ^1H NMR spektru. [93]



Shema 16. Sinteza početnih kinolona **71** i **72**

Alkinilni derivati **73** i **74** potrebni za sintezu ciljanih 1,2,3-triazolnih hibrida, dobiveni su reakcijom 6-fenil- **71** i 6-karboksamido-supstituiranih **72** kinolona s propargil-bromidom uz K₂CO₃ (shema 17). U ovoj reakciji dobiveni su isključivo *O*-alkilirani produkti, bez tragova *N*-supstituiranih analoga. Formiranje *O*-alkiliranih regioizomera **73** i **74** potvrđeno je analizom NMR spektara ^1H i ^{13}C , a za spoj **73** dodatno i analizom ^1H , ^1H -NOESY spektra (slika p3). U NOESY spektru vidljiva je interakcija *O*-metilenskih protona s protonom na položaju C-3 kinolinske jezgre, što potvrđuje da se propargilni lanac nalazi na atomu *O*-4 6-fenil-2-(trifluorometil)kinolina (**73**).

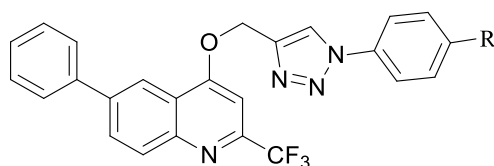


Shema 17. Sinteza 6-fenil- i 6-amido-supstituirani kinolinskih derivata 1,2,3-triazola

Sljedeći korak je reakcija CuAAC alkinilnih derivata **73** i **74** s odgovarajućim halogen-supstituiranim i nesupstituiranim aromatskim azidima u kojoj su sintetizirani ciljani 6-fenil-supstituirani kinolinski derivati 1,2,3-triazola **75a-75f** i 6-amido-supstituirani kinolinski derivati 1,2,3-triazola **76a-76f** (shema 17). Sinteze svih kinolinskih derivata 1,2,3-triazola provedene su preko noći na 60 °C u metanolu, uz dodatak Cu(OAc)₂ kao katalizatora.

Pored toga, spojevi **75a-75d** sintetizirani su konvencionalno na tri načina (tablica 6). Metoda 1a i metoda 1a* provedene su u metanolu uz Cu(OAc)₂ i na temperaturi od 60 °C, uz razliku u trajanju reakcije, dok je prema metodi 1b reakcija provedena u diklormetanu, s CuI, *N,N*-diizopropilaminom (DIPEA) i octenom kiselinom, na sobnoj temperaturi.

Tablica 6. Reakcijski uvjeti i iskorištenja konvencionalno provedenih *klik* reakcija sinteze 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazola



75a-75d

Spoj	R	Iskorištenje [%] ^a		
		1a CH ₃ OH, Cu(OAc) ₂ 3,5 h, 60 °C	Konvencionalne metode 2b CH ₂ Cl ₂ , CuI, DIPEA, octena kiselina, 3,5 h, s.t.	1a* CH ₃ OH, Cu(OAc) ₂ 24 h, 60 °C
75a	Cl	21	5	77
75b	Br	45	40	76
75c	I	89	52	89
75d	H	10	5	21

^a Iskorištenja su određena nakon izolacije produkata kolonskom kromatografijom.

Reakcijom s *p*-jodfenilazidom, kojom je dobiven spoj **75c**, dobiveno je najbolje iskorištenje (89 %), i to jednako u metodi 1a (trajanje 3,5 h) i metodi 1a* (preko noći). Metoda 1a* pokazala se boljom, uz porast iskorištenja, u slučaju reakcije sa *p*-klorfenilazidom (od 21 % do 77 %), *p*-bromfenilazidom (od 45 % do 76 %) i nesupstituiranim azidom (od 5 % do 21 %). Metodom 1b, izolirani su produkti **75a-75d** s nešto slabijim iskorištenjima (5–52 %) u odnosu na metode 1a i 1a*.

Iz svega navedenog i rezultata prikazanih u tablici 6, može se zaključiti kako reaktivnost *p*-supstituiranih arilazida raste u nizu H < Cl < Br < I. Vidljivo je da su se reakcije s jod-supstituiranim azidom provodile u gotovo 10 puta boljem iskorištenju u odnosu na nesupstituirani aromatski azid. Prema tome, utjecaj elektronske strukture azida na CuAAC reakciju je značajan i može se uvjetno pripisati reakcijskom stupnju pretpostavljenog mehanizma CuAAC reakcije [27,94] u kojem azid, točnije njegov negativno nabijen dušikov atom dolazi u kontakt s bakrovim acetilidom, prije samog procesa ciklizacije.

3.3.2. Mehanokemijska sinteza konjugata 1,2,3-triazola i kinolina

Mehanokemijska sinteza spojeva **75a–75d** provedena je u mehanokemijskom mlinu također na tri načina, te su rezultati prikazani i uspoređeni s rezultatima konvencionalno provedenih reakcija sinteze navedenih spojeva.

Tablica 7. Reakcijski uvjeti i iskorištenja mehanokemijskih i konvencionalnih *klik* reakcija sinteze 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazola

75a-75d

Spoj	R	Metode mehanokemijske <i>klik</i> reakcije	Iskorištenje [%] ^a	Metode konvencionalne <i>klik</i> reakcije	Iskorištenje [%] ^a
75a	Cl	2a^b	57	1a	21
		2b^c	85	1b	5
		2c^d	77	1a[*]	77
75b	Br	2a	60	1a	45
		2b	87	1b	40
		2c	80	1a[*]	76
75c	I	2a	77	1a	89
		2b	92	1b	52
		2c	87	1a[*]	89
75d	H	2a	72	1a	10
		2b	79	1b	5
		2c	76	1a[*]	21

^a Iskorištenja su određena nakon izolacije produkata kolonskom kromatografijom.

^b Metoda 2a: Cu(OAc)₂·H₂O, kuglice čelične 2 x 7 mm (SS, *stainless-steel*), PTFE (politetrafluoretilen, Teflon) posudica, 3,5 h, s. t., 30 Hz

^c Metoda 2b: CuI, DIPEA, octena kis., kuglice čelične 2 x 7 mm, PTFE posudica, 3,5 h, s. t., 30 Hz

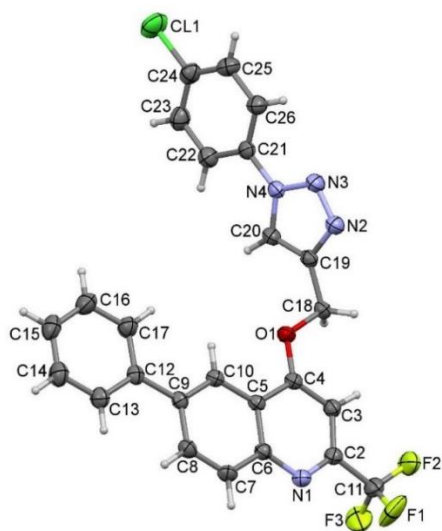
^d Metoda 2c: DIPEA, octena kis., PTFE posudica, mjedene kuglice (2x7 mm), s. t., 3,5 h.

Metodom 2a, gdje je mljevenje provedeno s $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ bez dodatka reducirajućeg sredstva, dobiveni su produkti **75a–75d** u 60–80 %-tnom iskorištenju (tablica 7). Značajno veća iskorištenja, do 92 %, dobivena su metodom 2b, uz primjenu CuI , DIPEA i HOAc sustava. Same bakrene kuglice koje se koriste u mehanokemijskim reakcijama za mljevenje mogu biti izvor $\text{Cu}(\text{I})$ iona [95]. Tako je u reakcijama u kojima su korištene bakrene kuglice, iskorištenje bilo nisko, a i produkt je bio onečišćen bakrenim mikročesticama, te su stoga korištene kuglice za mljevenje od mjedi (legura bakra i cinka). Iskorištenje reakcija je i dalje bilo nisko, te je tek dodatkom DIPEA i octene kiseline, kako bi se aktivirao bakar kao katalizator, došlo do potpune konverzije reaktanata u ciljane triazolne produkte uz iskorištenja 80–90 %. Nakon izolacije i pročišćavanja, spektroskopijom ESR (*electron spin resonance*) utvrđeno je da u produktima nema tragova bakra.

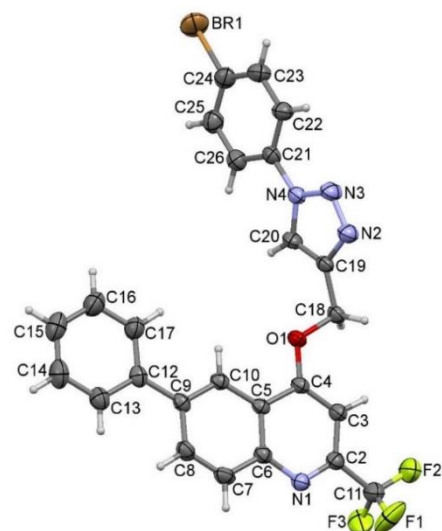
3.3.3. Kristalne i molekulske strukture konjugata 1,2,3-triazola i kinolina **75a–75d**

Rendgenska strukturalna analiza spojeva **75a–75d** na jediničnom kristalu dodatno je potvrdila da se reakcija supstitucije odvija na *O*-4 položaju kinolinskog heterocikla kao i stvaranje 1,2,3-triazolnog prstena. Molekulske strukture razlikuju se u supstituentu vezanom na atom C-24 fenilnog prstena (C21–C26) koji je klor u spoju **75a**, brom u spoju **75b**, jod u spoju **75c** i vodik u spoju **75d** (slika 43). Odgovarajuće duljine veza u ovim strukturama su slične, kao i konformacije molekula. Tako je npr. fenilni prsten (C12–C17) gotovo koplanaran s kinolinskim prstenom; diedarski kutevi u vrlo malom su rasponu od $1,6^\circ$ do $2,9^\circ$. Isto vrijedi i za diedarski kut između triazolnog prstena i prstena N1/C2–C6, koji iznosi od $65,6^\circ$ do $70,1^\circ$.

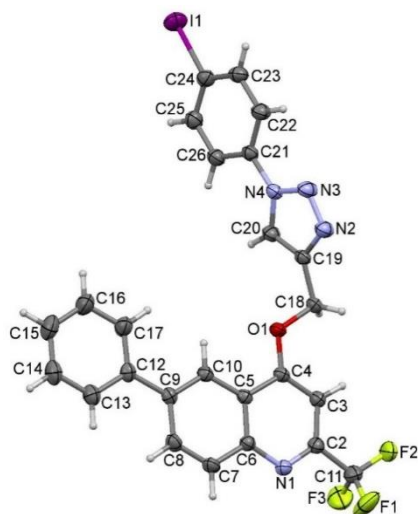
a)



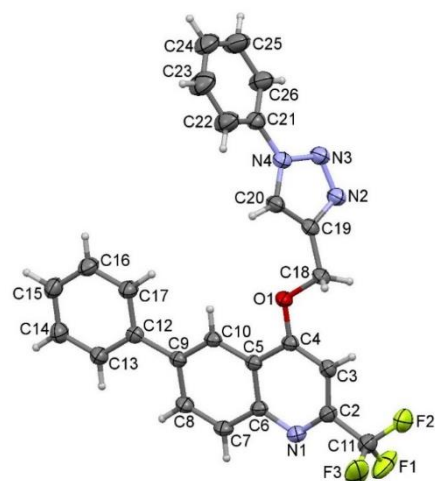
b)



c)

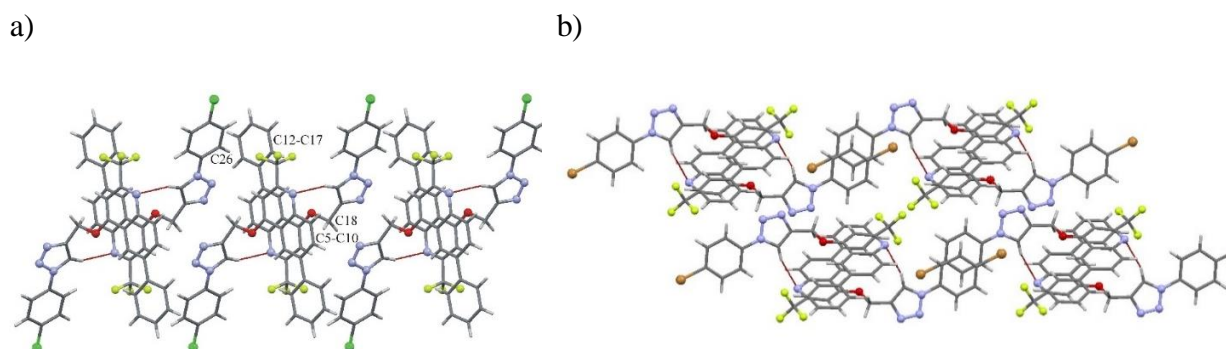


d)

Slika 43. Molekulske strukture spojeva **75a** (a), **75b** (b), **75c** (c) i **75d** (d).

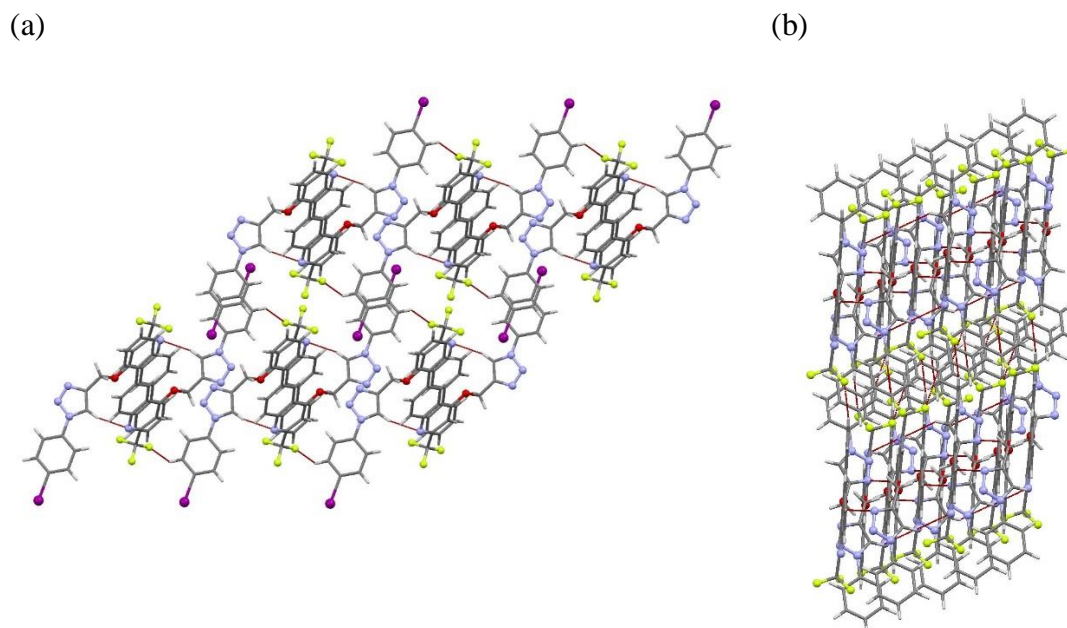
Iako gotovo iste interakcije, a koje uključuju iste atome, sudjeluju u povezivanju molekula ovih spojeva njihove supramolekulske strukture se razlikuju, odnosno međumolekulske interakcije stvaraju u strukturama ovih spojeva od jedno-dimenzijskih lanaca do trodimenzijske mreže. Tako su npr. molekule spoja **75a** povezane jednom vodikovom vezom C–H···N, na taj način stvarajući dimere. Jedna C–H··· π interakcija povezuje dimere u lance (slika 44a), dok jedna π ··· π interakcija stvara dvo-dimenziju mrežu. Isti motiv vodikove veze, dimer, a koji uključuje isti tip vodikove veze prisutan je i u

strukturi spoja **75b**. Jedna $\pi\cdots\pi$ interakcija između fenilnih prstenova susjednih molekula povezuje dimere u lance (slika 44b), tako da je supramolekulska struktura ovog spoja jedno-dimenzijski lanac dimera.



Slika 44. a) Dio kristalne strukture spoja **75a**, koji prikazuje lanac dimera stvoren jednom C–H \cdots π interakcijom (C26–H \cdots C12–C17); b) dio kristalne strukture spoja **75b**, koji prikazuje jedno-dimenzijski lanac dimera stvoren jednom $\pi\cdots\pi$ interakcijom

Glavni motiv, dimer dobiven C–H \cdots N vodikovom vezom, prisutan je i u strukturi spoja **75c**. Već spomenuti motiv lanca dimera u strukturi ovog spoja nastaje pomoću drugog tipa vodikove veze, C–H \cdots F. Fenilni prstenovi (C21–C26) susjednih molekula međusobno su paralelni, tako da je konačna supramolekulska struktura ovog spoja dvo-dimenzijska mreža nastala pomoću jedne $\pi\cdots\pi$ interakcije (slika 45a). Konačno, motivi vodikovih veza u strukturi spoja **75d** su iznenađujuće potpuno drugačiji od onih u prijašnjim strukturama. Molekule su povezane dvjema C–H \cdots N i dvjema C–H \cdots F vodikovim vezama te dvjema C–H \cdots π interakcijama. Sve navedene interakcije, zajedno sa jednom $\pi\cdots\pi$ interakcijom, stvaraju trodimenzijsku mrežu (slika 45b).



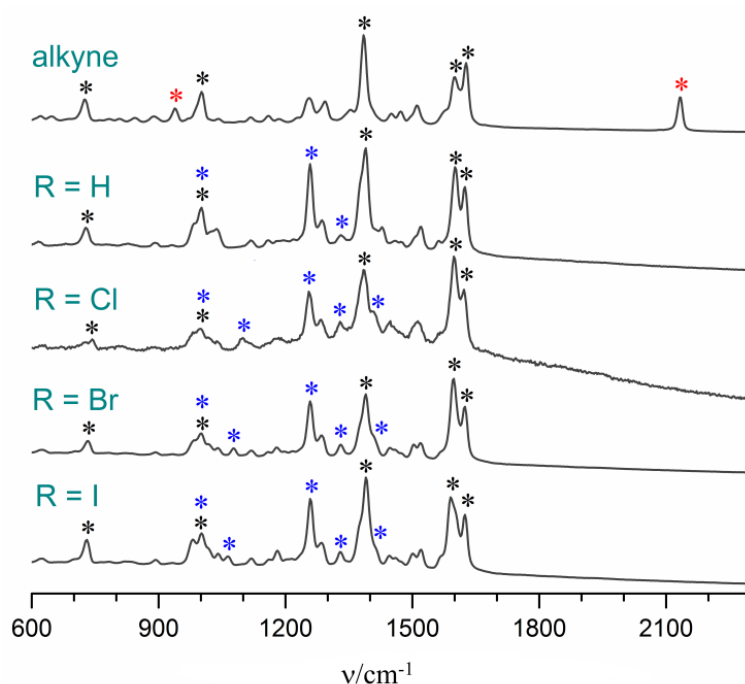
Slika 45. (a) Dio kristalne strukture spoja **75c**, koji prikazuje C–H···N i C–H···F vodikove veze te $\pi\cdots\pi$ interakcije koje stvaraju dvo-dimenzijsku mrežu; (b) dio kristalne strukture spoja **75d**, koji prikazuje trodimenzijsku mrežu stvorenu C–H···N i C–H···F vodikovim vezama te C–H··· π i $\pi\cdots\pi$ interakcijama

3.3.3. *In situ* praćenje tijekom mehanokemijske reakcije CuAAC Ramanovom spektroskopijom

Kako bi se dobio bolji uvid u mehanizam mehanokemijski provedene reakcije CuAAC, sinteza klor-supstituiranog spoja **75a** dodatno je provedena metodama 2a-2c, uz *in situ* praćenje tijekom reakcije Ramanovom spektroskopijom.

Ramanova spektroskopija je optička spektroskopska metoda kojom se dobije „molekulski otisak“ („*molecular fingerprint*“) snimanog uzorka. Temelji se na neelastičnom raspršenju elektromagnetskog zračenja kao posljedica interakcije zračenja s uzorkom. Omogućuje nedestruktivnu analizu kemijskog sastava i molekulske strukture uzorka koja ne ovisi o temperaturi, a uzorak može biti u bilo kojem agregatnom stanju. [96]

Ramanovi spektri alkinilnog derivata **73** i triazolnih produkata **75a–75d**, prikazani su na slici 46, dok spektri početnih aromatskih azida nisu snimljeni zbog njihove eksplozivnosti.



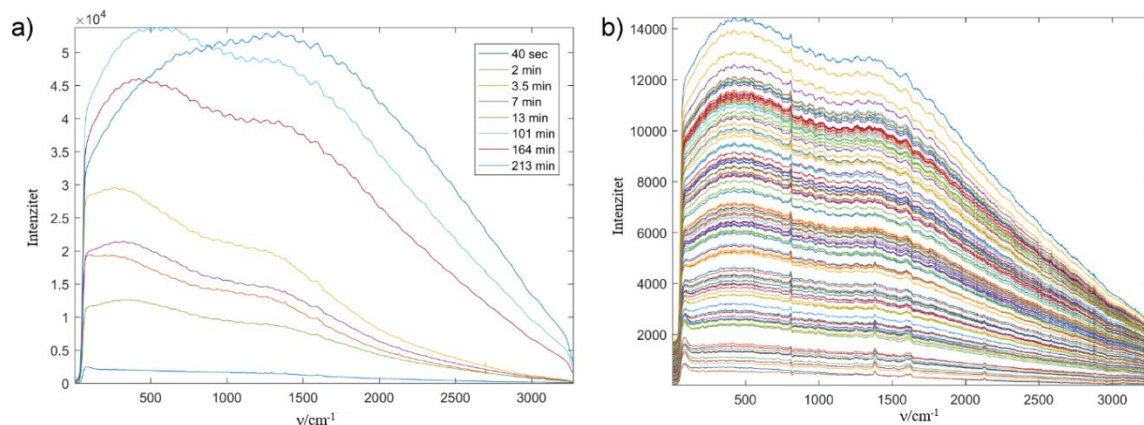
Slika 46. Ramanovi spektri alkina **73** i triazolnih produkata **75a–75d**. Vrpce koje odgovaraju signalima za alkin i triazolne produkte označeni su crvenom odnosno plavom zvjezdicom, a vrpce koje su zajedničke svim spojevima su označene crnom zvjezdicom.

Kao što je vidljivo, Ramanov spektar alkina **73** ima signal na 2133 cm^{-1} koji odgovara vibracijama trostruke veze $\text{C}\equiv\text{C}$. Triazolni produkti **75a–75d** imaju međusobno slične Ramanove spektre, uz različiti intenzitet signala koji odgovaraju vibracijama fenilnog prstena koji sadrže C -halogen vezu, na 1099 cm^{-1} (Cl), 1077 cm^{-1} (Br) i 1064 cm^{-1} (I). Spomenuta karakteristična vrpca alkina i vrpca na 1258 cm^{-1} , koja odgovara istezanju azido skupine u triazolnom prstenu, omogućuju praćenje tijeka reakcije Ramanovom spektroskopijom.

Nastajanje triazolnog derivata **75a** metodom 2a (uz $\text{Cu}(\text{OAc})_2$) praćeno je Ramanovom spektroskopijom te se pokazalo nastajanje jake luminiscencije što ukazuje na izravno uključanje katalizatora u procesu mljevenja i nastajanje luminiscentnih bakrovih spojeva. Početni Ramanov spektar ima vidljivi signal alkina koji je nakon nekoliko minuta mljevenja prekriven širokim luminiscentnim signalom (slika 47). Nakon 13 minuta vrpce se u spektru više nisu mogle definirati, ali se tijekom reakcije luminiscencija mijenjala vjerojatno kao rezultat formiranja različitih kompleksa bakra. U metodi 2b, gdje je u procesu mljevenja korišten CuI kao katalizator, u Ramanovom spektru se pojavila slična luminiscencija čak nakon 3 min, ali se nije značajno mijenjala. Snimanje spektra mljevenja samog CuI nije

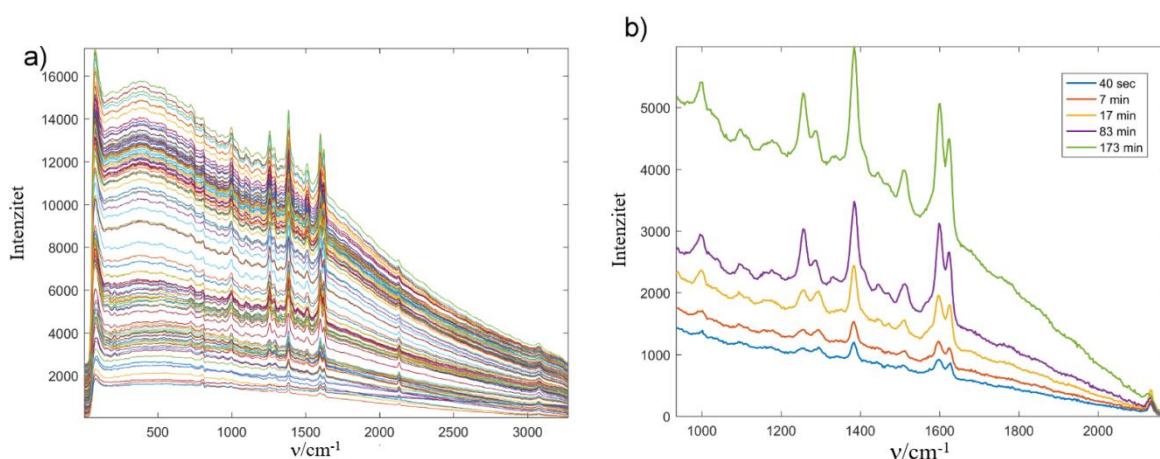
3. REZULTATI I RASPRAVA

pokazalo nastajanje luminiscencije, dok je mljevenje CuI uz dodatak produkta rezultiralo pojavom luminiscencije slično kao kod metode 2b.



Slika 47. *In situ* praćenje tijeka reakcija Ramanovom spektroskopijom: a) reakcija nastajanja spoja **75a** korištenjem bakrovog(II) acetata (metoda 2a) kao katalizatora; b) reakcija nastajanja spoja **75a** korištenjem bakrovog(I) jodida i DIPEA-e (metoda 2b)

Nasuprot tome, praćenje tijeka reakcije dobivanja spoja **75a** metodom 2c, gdje su korištene mjedene kuglice za mljevenje, luminiscencija se pojavila, ali dovoljno slabo tako da su Ramanovi signali reaktanata i produkata ostali vidljivi. Analizom vremenski razlučenih Ramanovih spektara uočeno je direktno nastajanje produkta **75a**, bez nastajanja intemedijera, te da je $\text{C}\equiv\text{C}$ vrpca početnog alkina **73** vidljiva nakon 210 min mljevenja (slika 48).



Slika 48. a) *In situ* praćenje tijeka mehanokemijske reakcije nastajanja spoja **75a** Ramanovom spektroskopijom u kojoj su korištene mjedene kuglice i PMMA posudica za mljevenje (metoda 2c); b) odabrani Ramanovi spektri iz slike 48a).

Nasuprot tome, praćenje tijeka reakcije dobivanja spoja **75a** metodom 2c, gdje su korištene mjedene kuglice za mljevenje, luminiscencija se pojavila, ali dovoljno slabo tako da su Ramanovi signali reaktanata i produkata ostali vidljivi. Analizom vremenski razlučenih Ramanovih spektara uočeno je direktno nastajanje produkta **75a**, bez nastajanja intemedijera, te da je C≡C vrpca početnog alkina **73** vidljiva nakon 210 min mljevenja (slika 48).

Činjenica da je praćenje reakcije bilo moguće uz mjedene kuglice, a ne uz direktni dodatak bakrovog katalizatora, može se objasniti smanjenim udjelom bakrovih spojeva u reakcijskoj smjesi. To upućuje na to da se katalitički proces mehanokemijske reakcije s kuglicama koje sadrže Cu(0) odvija na površini samih kuglica te da je difuzija bakrovih iona u reakcijsku smjesu smanjena.

3.3.4. Rezultati bioloških ispitivanja

Sintetiziranim konjugatima 1,2,3-triazola i kinolina **75a–75f** i **76a–76f** ispitano je antiproliferativno i antimikrobno djelovanje.

Antiproliferativno djelovanje ispitano je na 4 stanične linije: adenokarcinom pluća (A549), karcinom vrata maternice (HeLa), karcinom jetre (HepG2) i metastatski kolorektalni adenokarcinom (SW620) (tablica p1).

Spojevi općenito nisu pokazali značajnu antiproliferativnu aktivnost, osim 6-amidosupstituiranog konjugata **76c** s *p*-jodfenilnim supstituentom na 1,2,3-triazolnom prstenu, koji je pokazao umjereno antitumorsko djelovanje na stanice adenokarcinom pluća (A549) i karcinoma jetre (HepG2) ($IC_{50} = 13,64$ i $44,06 \mu M$), te snažno antitumorsko djelovanje na stanice karcinoma vrata maternice (HeLa) ($IC_{50} = 4,83 \mu M$). Od 6-amidosupstituiranih derivata još je spoj **76b** s *p*-bromfenilnim supstituentom na 1,2,3-triazolnom prstenu pokazao umjerenu antiproliferativnu aktivnost na sve četiri stanične linije.

Među 6-fenilsupstituiranim derivatima **75a–75f**, umjerenu antiproliferativnu aktivnost na stanice kolorektalnog adenokarcinoma (SW620) pokazali su spojevi **75a–75e** (IC_{50} vrijednosti od $61,37$ - $67,51 \mu M$), te spojevi **75b** i **75d** na stanice karcinoma vrata maternice HeLa ($IC_{50} = 35,48$ i $52,15 \mu M$).

In vitro antibakterijska aktivnost ispitana je protiv gram-pozitivnih (*Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Staphylococcus aureus* (MSSA 01), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) i *Enterococcus faecium* (VRE)) i gram-negativnih bakterijskih sojeva (*Escherichia*

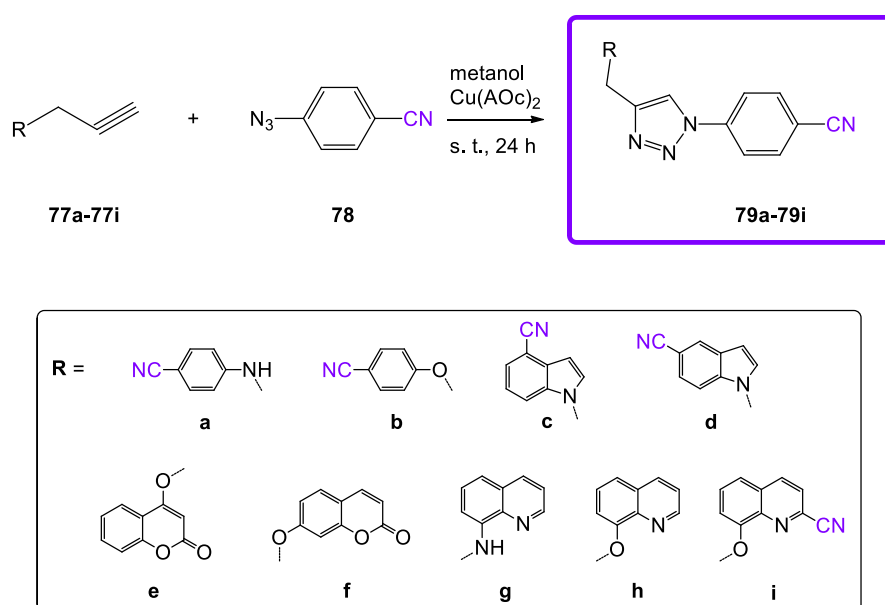
3. REZULTATI I RASPRAVA

coli (ATCC 25925), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700803), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) i *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606)). Dobiveni rezultati uspoređeni su s djelovanjem antibiotika (ampicilin, gentamicin, vankomicin i eritromicin za gram-pozitivne vrste, te ceftazidim, ciprofloksacin, imipenem i amikacin za gram-negativne vrste), međutim ispitani spojevi **75a–75f** i **76a–76f** nisu pokazali antimikrobno djelovanje.

3.4. Cijano-, amidino- i amidoksim-supstituirani konjugati 1,2,3-triazola i heterocikličkih baza

3.4.1. Sinteza cijano-, amidino- i amidoksim-supstituiranih derivata 1,2,3-triazola

Cijano-supstituirani prekursori **79a–79i** priređeni su Cu(I)-kataliziranom *klik* reakcijom alkinilnih derivata benzonitrila, kinolina, kumarina i indola **77a–77i** s 4-azidobenzonitrilom (shema 18). Odgovarajući alkinilni derivati **77a–77i** pripređeni su reakcijom propargiliranja derivata benzonitrila i odgovarajućih heterocikla, uz prisutnost baze. 4-azidobenzonitril sintetiziran je prema poznatoj proceduri. [97]

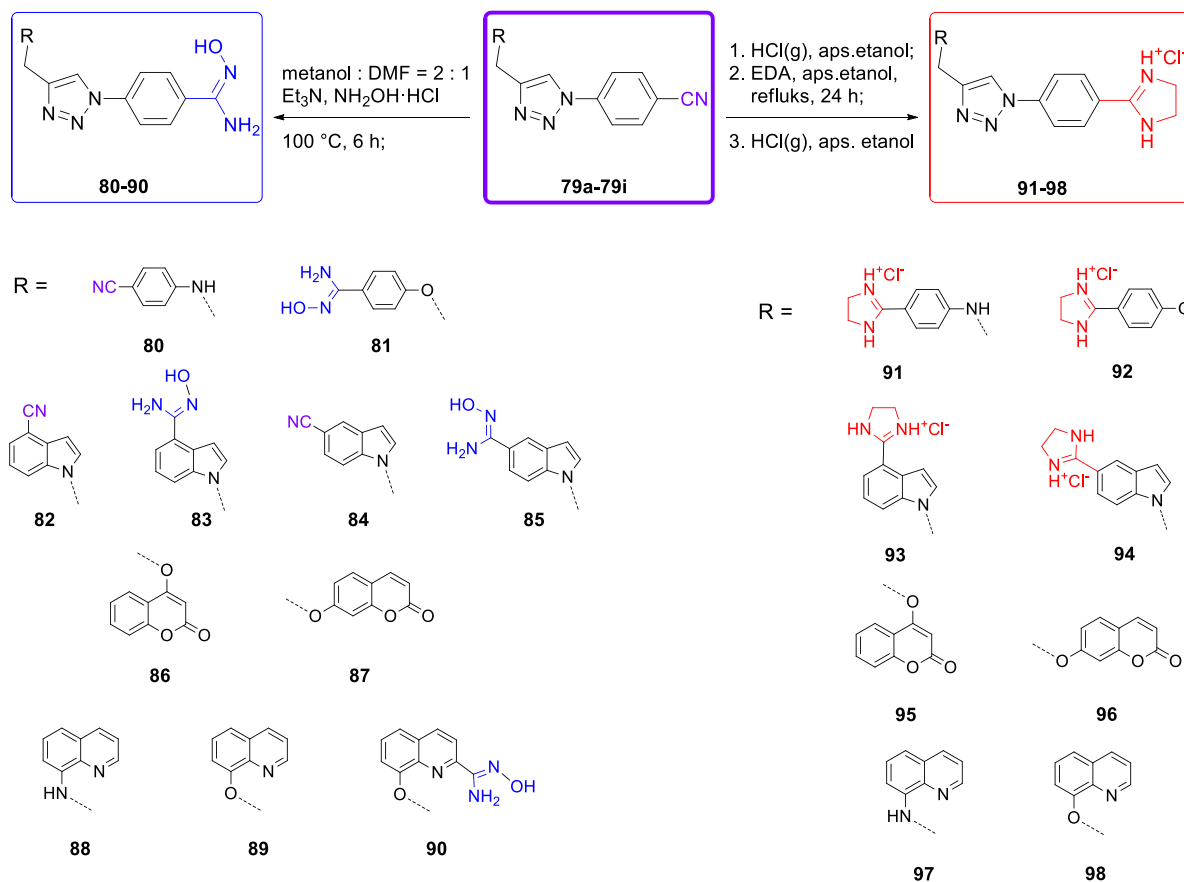


Shema 18. Sinteza cijano-supstituiranih konjugata 1,2,3-triazola

Dobiveni hibridi aromatskih nitrila i heterocikla povezani 1,4-disupstituiranim 1,2,3-triazolnim prstenom **79a–79i** poslužili su kao prekursori za sintezu amidoksim- (**80–90**) i amidino-supstituiranih derivata (**91–98**) (shema 19).

Amidoksimi su klasa spojeva koji služe kao početni spojevi za sintezu heterocikličkih derivata, a osim toga i sami posjeduju određenu biološku aktivnost. Mogu poslužiti i kao prolijekovi amidina, jer ih stanična reduktaza reducira do amidina. Manje su bazični od amidina i ne protoniraju se u fiziološkim uvjetima. [98,99]

3. REZULTATI I RASPRAVA



Shema 19. Sinteza amidoksim- (**80–90**) i amidino-supstituiranih derivata (**91–98**) 1,2,3-triazola

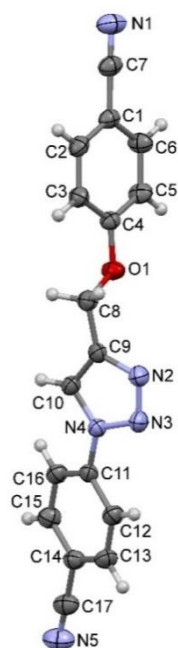
Reakcijom odgovarajućih nitrila **79a–79i** s hidroksilaminom u prisutnosti baze, trietilamina, sintetizirani su ciljani amidoksimi **80–90** (18-82 %).

Amidini su jedna su od najjačih neutralnih baza te se protoniraju pri fiziološkom pH (pH = 7,4). Sastavni su dio mnogih biološki aktivnih spojeva, a uobičajeni put sinteze je iz nitrila Pinnerovom reakcijom. Tako su Pinnerovom reakcijom priređeni odgovarajući iminoesterski međuprodukti uvođenjem plinovitog HCl-a u otopinu cijano derivata **79a–79i** u apsolutnom etanolu. Tijek reakcije praćen je IR-spektroskopijom, a završetak reakcije potvrđen je nestankom karakteristične vrpce cijano skupine na $\sim 2200\text{ cm}^{-1}$ u IR-spekttru nakon 4-10 dana. U drugom stupnju reakcije odgovarajući iminoesteri reagiraju s etilendiaminom te nastaju imidazolinil-supstituirani konjugati heterocikla i 1,2,3-triazola koji se naknadno protoniraju u hidrokloridne soli **91–98** u iskorištenjima od 21-72 % (shema 19).

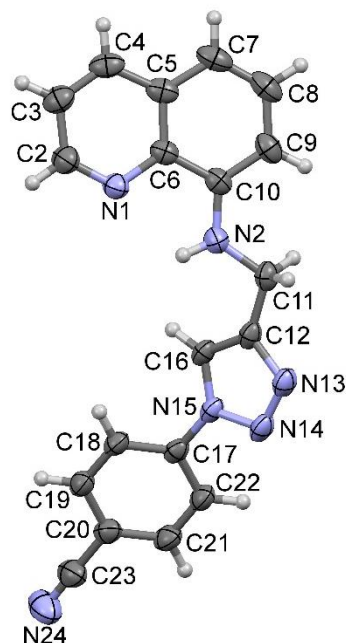
3.4.2. Kristalne i molekulske strukture cijano-supstituiranih heterocikličkih derivata 1,2,3-triazola **79b** i **79g**

Kristalna struktura spoja **79g** određena je rendgenskom strukturnom analizom na jediničnom kristalu, a njegova molekulska struktura prikazana je na slici 49a. Spoj **79g**, sastoji se od triju cikličkih sustava, od kojih je jedan biciklički prsten. Biciklički prsten povezan je s triazolnim prstenom –NH–CH₂– vezom. Diedarski kut između ravnina tih dvaju cikličkih sustava iznosi 40,1°. Zanimljivost ove strukture je da je kut između triazolnog i fenilnog prstena, a koji su izravno povezani, vrlo sličan prethodnom kutu i iznosi 31,7°. Spoj **79b**, također se sastoji od tri ciklička sustava, dva fenilna prstena i jedan triazolni (slika 49(b)). Diedarski kutovi između ravnina triazolnog prstena u odnosu na fenilne prstenove C1–C6 i C11–C16 iznose 76,9 i 20,0°, što znači da je C1–C6 prsten gotovo okomit na triazolni prsten, dok je C11–C16 prsten gotovo koplanaran s triazolnim prstenom.

a)

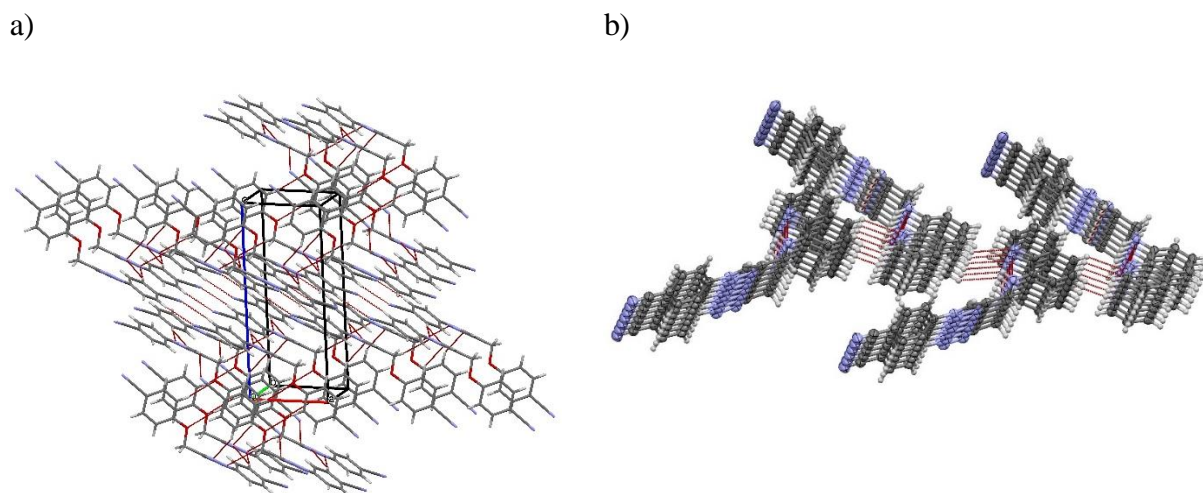


b)



Slika 49. Molekulska struktura spojeva **79g** (a) i **79b** (b)

Molekule spoja **79g** međusobno su povezane s tri C–H···N vodikove veze, na taj način stvarajući dvo-dimenzijsku mrežu (slika 50a). Molekule spoja **79b** povezuju značajno veći broj vodikovih veza, šest C–H···N i jedna C–H···O. Sve navedene interakcije zajedno sa dvije $\pi \cdots \pi$ interakcije stvaraju trodimenzijsku mrežu (slika 50b).



Slika 50. a) kristalno pakiranje spoja **79b**, koja prikazuje trodimenzijsku mrežu nastalu C–H...N i C–H...O vodikovim vezama te $\pi\cdots\pi$ interakcijama; b) Dio kristalne strukture spoja **79g**, koji prikazuje dvo-dimenzijsku mrežu stvorenu C–H...N vodikovim vezama.

3.4.3. Spektroskopska karakterizacija amidino-supstituiranih heterocikličkih derivata 1,2,3-triazola derivata **91–93, 95 i 96**

Amidino-supstituirani bis-fenilni **91** i **92**, indolni **93** i kumarinski derivati **95** i **96** 1,2,3-triazola, koji su pokazali najbolju biološku aktivnost na tumorske stanice, okarakterizirani su UV-Vis spektroskopijom. Uočena je linearna ovisnost apsorbancije o koncentraciji do 5×10^{-6} - 1×10^{-4} mol dm^{-3} . Apsorpcijski maksimumi i molarni apsorpcijski koeficijenti dani su u tablici 8. Promjene UV-Vis spektara povišenjem temperature do 95 °C su neznatne što ukazuje na stabilnost spojeva pri povišenoj temperaturi i nakon hlađenja na 25 °C.

Tablica 8. Molarni apsorpcijski koeficijenti (ϵ) određeni za spojeve **91–93, 95 i 96**^a

Spoj	λ / nm	$\epsilon \times 10^3 /$ dm ³ mol ⁻¹ cm ⁻¹	λ / nm	$\epsilon \times 10^3 /$ dm ³ mol ⁻¹ cm ⁻¹
91	270	16,1	315	17,4
93	264	18,9	325	5,9
96	267	20,9	319	14,3
95	267	27,8		
92	265	28,2		

^a Smjesa vode i DMSO (≥ 1 %).

3.4.4. Biološka ispitivanja

3.4.4.1. Antiproliferativna ispitivanja cijano-, amidino- i amidoksim-supstituiranih derivata 1,2,3-triazola

Rezultati antiproliferativnog djelovanja hibrida aromatskih nitrila i heterocikla povezanih 1,4-disupstituiranim 1,2,3-triazolnim prstenom **79a–79i**, te amidoksim- (**80–90**) i amidino-supstituiranih derivata (**91–98**) 1,2,3-triazola prikazani su u tablicama 9 i 10. Antiproliferativno djelovanje ispitano je na tumorske stanične linije adenokarcinoma pluća (A549), karcinoma vrata maternice (HeLa), metastatski kolorektalni adenokarcinom (SW620), karcinoma jetre (HepG2) kao i na normalne fibroblaste prepucija (HFF-1) kod čovjeka.

Tablica 9. Antiproliferativno djelovanje cijano-supstituiranih derivata **79a–79i**

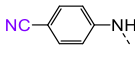
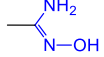
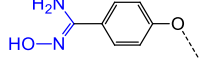
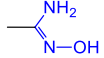

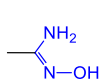
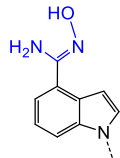
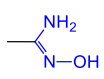
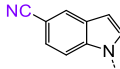
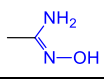
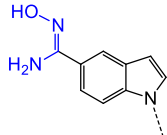
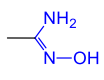
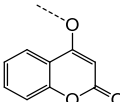
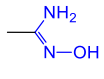
Spoj	R	IC ₅₀ ^a (μM)				
		A549	HeLa	HepG2	SW620	HFF*
79a		74.44	<u>4.70</u>	<u>9.49</u>	≤0.01	0.52
79b		53.31	8.43	18.37	≤0.01	1.60
79c		>100	32.96	<u>9.65</u>	38.71	8.01
79d		>100	>100	<u>9.22</u>	>100	>100
79e		80.49	26.60	78.99	≤0.01	3.36
79f		>100	99.83	>100	95.44	-
79g		84.21	>100	<u>3.48</u>	>100	7.52
79h		>100	<u>9.88</u>	<u>4.70</u>	>100	5.19
79i		>100	36.27	0.04	>100	8.72

^a IC₅₀; koncentracija spoja koja inhibira rast stanica za 50 %.

3. REZULTATI I RASPRAVA

Najsnažnije antitumorsko djelovanje među cijano-supstituiranim derivatima pokazali su asimetrični bisfenilni spojevi **79a** i **79b** zajedno sa 4-supstituiranim kumarinom **79e** i to na stanice metastatskog kolorektalnog adenokarcinoma (SW620) ($IC_{50} < 0,01 \mu M$) (tablica 9). Spojevi **79a** i **79b** pokazuju aktivnost i na stanice karcinoma vrata maternice (HeLa) i karcinoma jetre (HepG2), dok je kumarinski derivat pokazao selektivno djelovanje. Od cijano-supstituiranih kinolinskih derivata **79g–79i**, svi spojevi pokazuju aktivnost na stanice karcinoma jetre (HepG2) (vrijednost IC_{50} u rasponu od 0,04–4,70 μM). Konjugati 1,2,3-triazola i cijano-supstituiranih indola pokazuju selektivno djelovanje na stanice karcinoma jetre (HepG2). Zanimljivo je napomenuti da kinolin sa supstituentom na položaju 7, **79f** ne pokazuje značajnu antitumorsku aktivnost u odnosu na njegov 4-supstituirani analog **79e**.

Tablica 10. Antiproliferativno djelovanje amidoksim- **80–90** i amidino-supstituiranih **91–98** derivata 1,2,3-triazola

Spoj	R	R'	IC_{50}^a (μM)				
			A549	HeLa	HepG2	SW620	HFF*
80			>100	>100	>100	65,14	NA
81			>100	>100	>100	>100	NA
82			>100	65,75	>100	>100	NA
83			>100	>100	>100	>100	NA
84			>100	>100	>100	>100	NA
85			>100	60,66	>100	>100	NA
86			>100	99,72	>100	>100	NA

Spoj	R	R'	IC ₅₀ ^a (μM)				
			A549	HeLa	HepG2	SW620	HFF*
87			>100	87,38	91,40	>100	NA
88			<u>6,52</u>	25,55	>100	NA	9,81
89			76,68	64,51	>100	72,71	NA
90			31,35	<u>7,15</u>	51,31	<u>7,24</u>	NA
91			46,68	41,23	48,87	61,87	NA
92			15,67	<u>0,80</u>	<u>0,64</u>	<u>0,22</u>	<0,01
93			49,87	13,54	<u>2,37</u>	18,02	<0,01
94			>100	>100	69,07	49,77	NA
95			<u>7,86</u>	<u>1,90</u>	<u>3,55</u>	<u>1,75</u>	<0,01
96			<u>4,49</u>	<u>2,13</u>	<u>0,28</u>	<u>4,77</u>	3,14
97			29,13	23,75	<u>4,84</u>	35,55	11,66
98			25,22	10,27	<u>9,07</u>	<u>2,69</u>	<0,01

^a IC₅₀; koncentracija spoja koja inhibira rast stanica za 50 %.

Iz serije amidinskih spojeva, spoj **92** sa 4-metilenoksi-1,2,3-triazolilnom poveznicom pokazuje jaku antiproliferativnu aktivnost na stanice karcinoma vrata maternice (HeLa), metastatski kolorektalni adenokarcinom (SW620), karcinoma jetre (HepG2), za razliku od njegovog analoga **91** sa 4-aminometilen-1,2,3-triazolilnom poveznicom koji nije pokazao značajnu aktivnost (tablica 10). Derivat kinolina s aminometilenskom poveznicom između kinolina i 1,2,3-triazola **97** pokazao je izraženu i selektivnu aktivnost na stanice karcinoma

jetre (HepG2), dok je njegov analog **98** pokazao djelovanje na dvije stanične linije (HepG2 i SW620). Jaku citostatsku aktivnost na sve ispitane stanične linije pokazuju 4- i 7-supstituirani amidino-derivati kinolona **95** i **96**. 4-Amidino-supstituirani derivat indola **93** pokazao je selektivno antitumorsko djelovanje na stanice HepG2, dok njegov 5-supstituirani izomer **94** nije pokazao značajno djelovanje.

Iz rezultata antiproliferativnog ispitivanja možemo zaključiti da cijano- i amidino-supstituirani derivati 1,2,3-triazola pokazuju značajnu antitumorsku aktivnost, dok je prevođenje cijano skupine u amidoksimsku rezultiralo uglavnom izostankom antiproliferativne aktivnosti. Od spojeva koji sadrže u svojoj strukturi amidoksimsku skupinu, jedino su kinolinski derivati **88** i **90** pokazali umjerenu antitumorsku aktivnost na stanične linije adenokarcinoma pluća (A549), karcinoma vrata maternice (HeLa), metastatski kolorektalni adenokarcinom (SW620) (tablica 10).

3.4.5. Ispitivanje interakcije amidino-supstituiranih derivata 91–93, 95 i 96 s dvolančanim polinukleotidima

3.4.5.1. UV/Vis titracije amidino-supstituiranih heterocikličkih derivata 1,2,3-triazola 91–93, 95 i 96 s *ctDNK* i *dsRNK*

UV-Vis titracije s dvolančanim polinukleotidima (*ctDNK* i *dsRNK*) za spoj **91** provedene su dodavanjem alikvota otopine polinukleotida otopini spoja koncentracije $1,6 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$. Dodavanje *ctDNK* otopini spoja **91** do koncentracijskog omjera spoja i polinukleotida $r = 0,12$ rezultiralo je smanjenjem apsorpcijskog maksimuma ($\Delta H = 12,2 \%$) popraćeno snažnim batokromnim pomakom ($\Delta\lambda = 14 \text{ nm}$). Daljnim dodavanjem polinukleotida dolazi do povećanja maksimuma apsorpcije ($\Delta H = 18,6 \%$) što upućuje na nekoliko mogućih načina vezanja. Konstante vezanja ($\log K_s$) i gustoća veznih mjesta (n) izračunate su pomoću Scatchardovih ploha i za spoj **91** iznose $\log K_s = 4,88$ i $n = 0,08$, a izračunate su za titracijske podatke snimljene na $r \leq 0,12$. Ispitane su i interakcije spoja **91** s dvolančanim *dsRNK* polinukleotidom (pApU). Titracijom s pApU polinukleotidom uočen je batokromni pomak ($\Delta\lambda = 6 \text{ nm}$) popraćen malim hiperkromnim pomakom ($\Delta H = 5,6 \%$) što upućuje na agregiranje duž polinukleotidnog lanca.

Spoj **96** pokazao je minimalne promjene u UV-Vis spektrima tijekom titracije s *DNK/RNK* polinukleotidima (*ctDNK* $\Delta A = 8.4 \%$; pApU $\Delta A = 4.2 \%$) što se može pripisati slabim elektrostatskim interakcijama s polinukleotidima.

UV-Vis titracijama s dvolančanim polinukleotidima za spojeve **92**, **93**, i **95** nije bilo moguće odrediti afinitet, kao ni konstante vezanja zbog preklapanja apsorpcijskog maksimuma spoja i ds-polinukleotida.

3.4.5.2. Određivanje promjene temperature mekšanja (ΔT_m)

Razlika točke mekšanja slobodnih polinukleotida i njihovih kompleksa s ligandima definira se promjenom temperature mekšanja (ΔT_m). Nevalentne interakcije liganada s dvolančanim polinukleotidima DNK/RNK obično uzrokuju termičku stabilizaciju dvostruke uzvojnice što rezultira povećanjem T_m vrijednosti za DNK/RNK. Određene su promjene u apsorpciji na 260 nm u ovisnosti o temperaturi za *ct*DNK i pApU. Rezultati su prikazani u tablici 11. Temperature mekšanja povećane su za omjere $r = 0,1$, $0,2$ i $0,3$. Rezultati pokazuju da je za stvaranje nevalentnih interakcija s *ct*DNA ključno da spoj u svojoj strukturi sadrži dvije terminalne imidazolilne grupe.

Tablica 11. ΔT_m (°C) priređenih spojeva s polinukleotidima dodavanjem spojeva u različitim omjerima r^b (PBS, pH = 7).^a

Spoj	ctDNK			pApU		
	r					
	0,1	0,3	0,5	0,1	0,3	0,5
91	2,47	4,77	4,97	5,74	6,90	8,24
92	5,93	7,84	7,27	7,28	7,67	10,74
93	0,74	2,09	4,20	3,63	3,43	3,72
95	0,74	-0,6	0,94	4,01	3,18	4,78
96	-0,23	-1,94	0,17	4,97	4,97	6,51

^a Sve vrijednosti su dobivene kao srednja vrijednost iz najmanje dva mjerenja. Pogreška $\Delta T_m = \pm 0,5$ °C. ^b $r = [\text{spoj}]/[\text{polinukleotid}]$

Uklanjanjem jedne pozitivno nabijene imidazoline grupe iz strukture spoja značajno smanjuje sposobnost vezanja spoja za DNK i upućuje na važnost pozitivnog naboja za samo vezanje. Među spojevima koji sadrže dvije pozitivno nabijene imidazolilne grupe **91–93**, afinitet vezanja pada u smjeru **92** > **91** > **93**, čime možemo zaključiti da je za vezanje na DNK također značajna geometrija samog spoja. Dakle, u odnosu na asimetrične bis-fenilne spojeve **91** i **92**, spoj **93** sa velikim hidrofobnim indolnim prstenom ima smanjeni afinitet vezanja za DNK, a najjaču stabilizaciju dvostruke uzvojnice *ct*-DNA pokazuje spoj **92**.

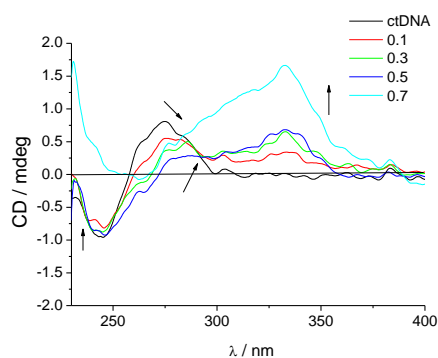
Ispitani spojevi pokazuju sposobnost da snažnije stabiliziraju pA-pU u odnosu na *ct*DNK polinukleotid. Dakle, možemo reći da je veličina i oblik utora polinukleotida

odlučujući faktor za vezanje spoja te da plići i širi utor dvolančane RNK više odgovara manje konkavnim spojevima **93**, **95** i **96** od užeg i hidrofobnog malog utora dvolančane DNK. Dobivene ΔT_m vrijednosti upućuju na zasićenost veznih mjesta za *ct*DNK u omjeru $r \geq 0,3$, te za pApU u omjeru $r = 0,3-0,5$ s.

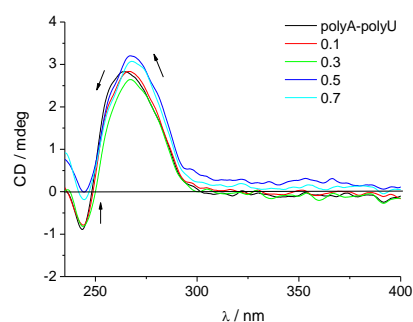
3.4.5.3. Spektroskopija cirkularnog dikroizma (CD)

Dodavanjem spoja **91** u otopinu *ct*DNA rezultiralo je smanjenjem CD spektra *ct*DNA (slika 51), a vidljiv je i snažan inducirani ICD signal u području 300-500 nm uz pojavu izoeliptične točke na 292 nm za $r = 0,5$, što ukazuje da je vezanje u mali utor dominantan način vezanja. Izražena ne-linearna ovisnot promjena u CD-spektru s omjerima r , ukazuje na to da je došlo do zasićenja veznog mjesta pri $r = 0,1$, što je u skladu sa vrijednostima n dobivenim iz UV-Vis titracija.

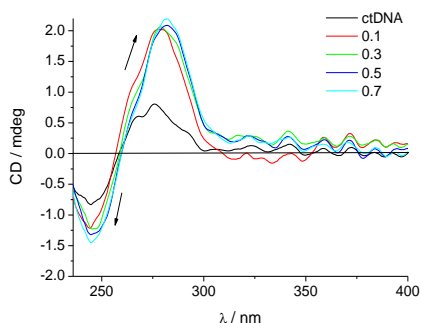
91 a)



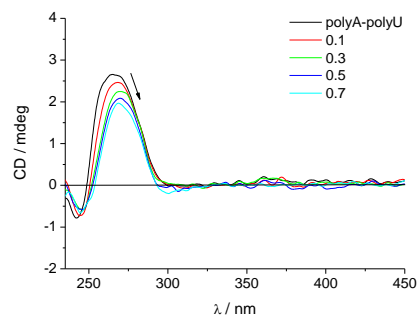
91 b)



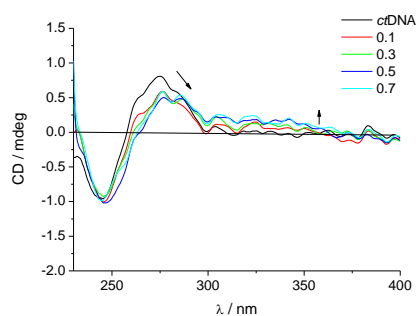
92 a)



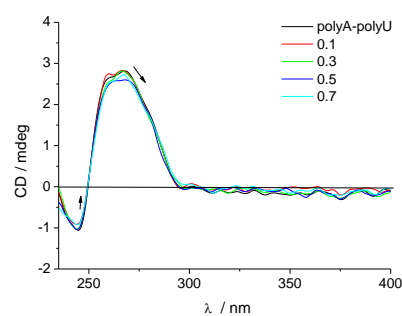
92 b)



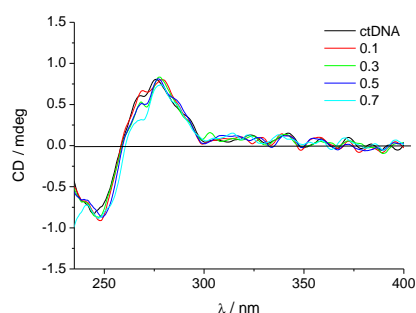
93 a)



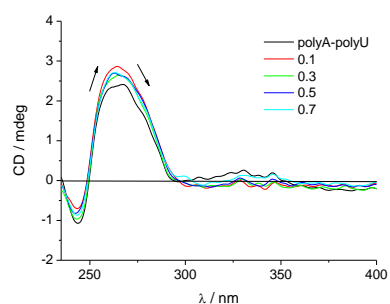
93 b)



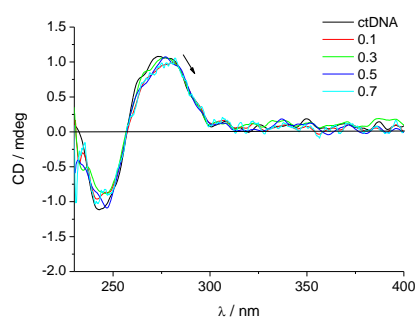
95 a)



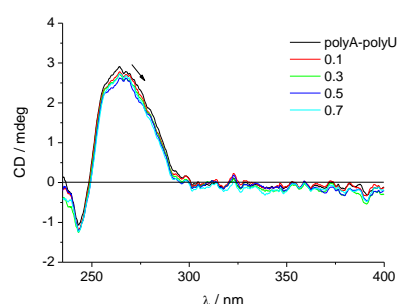
95 b)



96 a)



96 b)



Slika 51. Inducirani spektri CD spojeva **91–93**, **94** i **95** s *ctDNK* (a) i u prisutnosti polinukleotida pApU (b)

Dodavanjem spoja **93** u otopinu *ctDNK* također dolazi do smanjenja CD vrpce u rasponu 300–500 nm, što bi značilo da je vezanje u mali utor DNK dominantan način vezanja.

Blago smanjenje CD spektra *ctDNK* uslijed dodavanja spoja **96** u otopinu, ukazuje na mogućnost vezanja duž polinukleotidnog lanca, nespecifičnim agregiranjem molekula.

Spojevima **92** i **95**, sa apsorpcijskim maksimumom $\lambda < 300$ nm, koji se preklapa sa signalom polinukleotida, kao što je već navedeno, nije bilo moguće odrediti način vezanja.

U CD spektrima za pApU sa spojevima **91**, **93** i **96** ne dolazi do značajne promjene. Izostanak ICD signala ukazuje da nema dominantnog načina vezanja već nespecifično vezanje, poput nespecifičnog nakupljanja molekula uzduž polinukleotida, iako se ne može isključiti i dodatno vezanje u mali ili veliki utor kao ni djelomična interkalacija kao rezultat različite orijentacije spoja u odnosu na kiralnu os pApU dvostruke uzvojnice.

Značajne promjene u CD spektru za pApU uslijed titracije sa spojevima **92** i **95** ukazuju na vezanje spojeva ali opet nije moguće odrediti način vezanja.

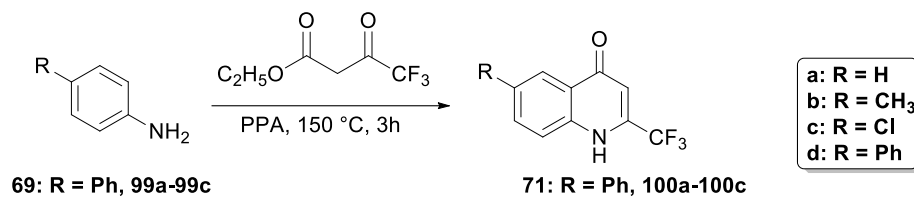
Dakle može se zaključiti da je spoj **92**, koji najsnažnije stabilizira dvostruku uzvojniciu *ct*-DNA, ujedno pokazao jaku antiproliferativnu aktivnost na tri stanične linije tumorskih stanica, kao i kumarinski derivati **95** i **96**. Međutim, u odnosu na bisfenilni spoj **92**, kumarinski derivati **95** i **96** pokazuju manji afinitet vezanja.

Nadalje, spoj **93**, sa indolnom jezgrom u strukturi, određivanjem temperature mekšanja s pApU, pokazao je najniži afinitet što je u skladu sa rezultatima cirkularnog dikroizma. Niski afinitet spoja **91** prema pApU utvrđen UV-Vis spektroskopskom analizom i CD titracijama nije u skladu s rezultatima određivanja temperature mekšanja. Povećana stabilnost tog kompleksa stoga se može pripisati elektrostatskim interakcijama negativno nabijene polinukleotidne zavojnice s kojom pozitivno nabijeni spojevi pokazuju snažniji stabilizirajući efekt. S obzirom na dobivene rezultate može se zaključiti kako je biološka aktivnost primarno u skladu s ne-kovalentnim interakcijama liganda i pApU, što ukazuje da je mogući mehanizam djelovanja ovih spojeva povezan s RNK, no nije moguće isključiti i DNK kao vezno mjesto.

3.5. Konjugati kinolina i ferocena povezani 1,2,3-triazolilnom poveznicom

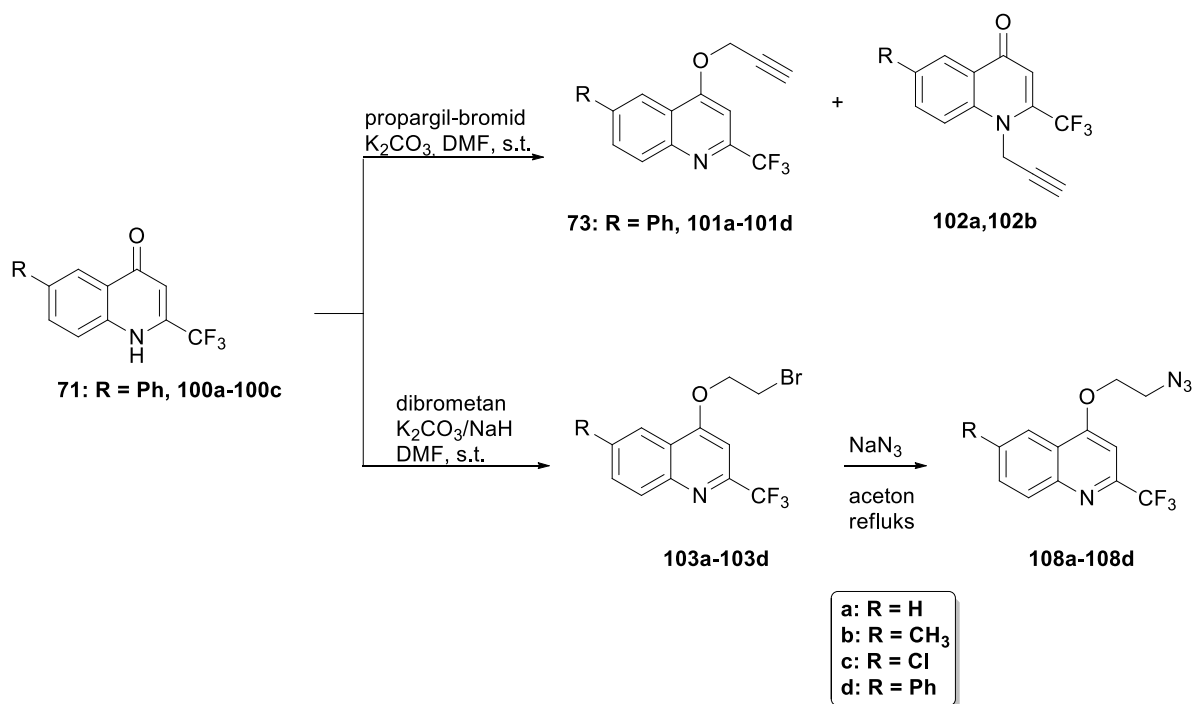
3.5.1. Sinteza konjugati kinolina i ferocena povezanih 1,2,3-triazolilnom poveznicom

Početni 6-supstituirani-2-(trifluormetil)kinolin-4(*1H*)-ni **69** (već opisan u poglavlju 3.3.1.) i **100a–100c** sintetizirani su Conrad-Limpach-ovom reakcijom primarnih aromatskih amina **99a–99c** s 4,4,4-trifluor-3-oksobutanoatom u polifosfornoj kiselinu (PPA) (shema 20). [100]



Shema 20. Sinteza kinolona **69** i **100a–100c** Conrad-Limpach-ovom reakcijom

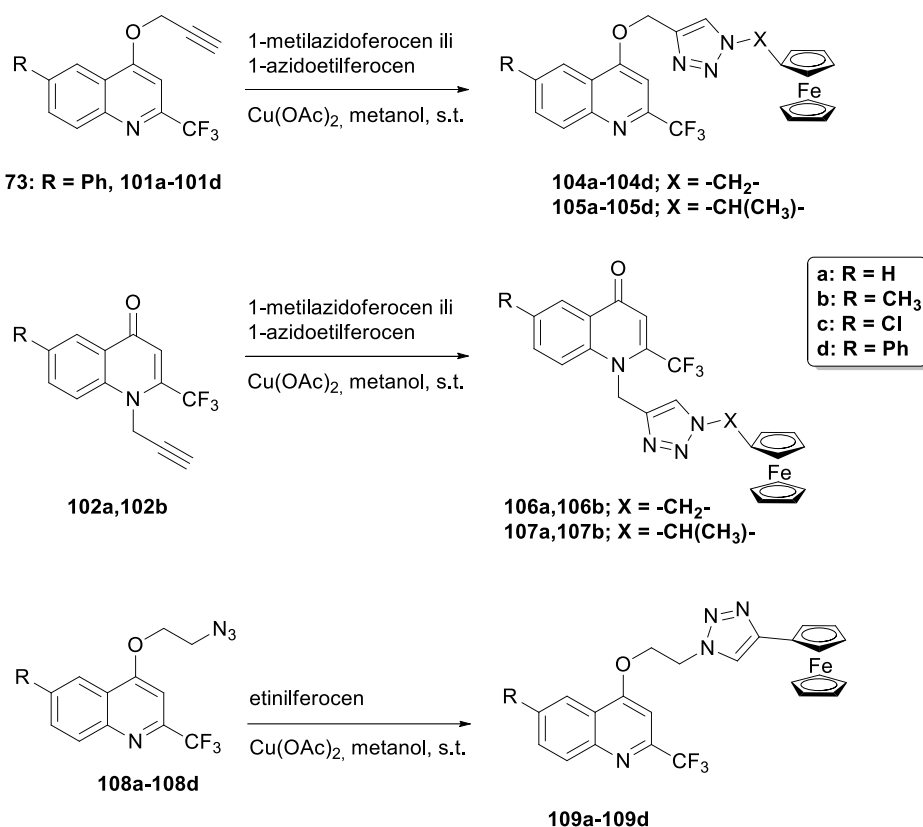
Alkililni i azidni prekursori, za sintezu ciljanih kinolin-ferocena i kinolon-ferocena povezanih 1,2,3-triazolnom poveznicom, sintetizirani su reakcijom alkiliranja kinolona **71** i **100a–100c** s propargil-bromidom ili dibrometanom u prisutnosti baze (K₂CO₃ ili NaH) (shema 21). Alkiliranjem 6-nesupstituiranog (**100a**) i 6-metil-supstituiranog (**100b**) kinolona dobivena je smjesa *O*-alkiliranih kinolina (uz iskorištenje **101a**: 84 % i **101b**: 75 %) i *N*-alkiliranih kinolona (uz iskorištenje **102a**: 3 % i **102b**: 4 %), dok su alkiliranjem 6-klor- (**100c**) i 6-fenil-supstituiranog kinolona (**71**) dobiveni samo *O*-alkilirani derivati (**101c** i **73**). Alkiliranjem kinolona **71** i **100a–100c** s dibrometanom uz prisutnost baze dobiveni su isključivo *O*-alkilirani produkti **103a–103d**.



Shema 21. Sinteza alkinilnih i azidnih prekursora za sintezu ciljanih kinolin-ferrocena i kinolon-ferrocena

Nadalje, 4-(brometoksi)kinolini **103a–103d** su reakcijom nukleofilne supstitucije s NaN₃ prevedeni u azido derivate **108a–108d**.

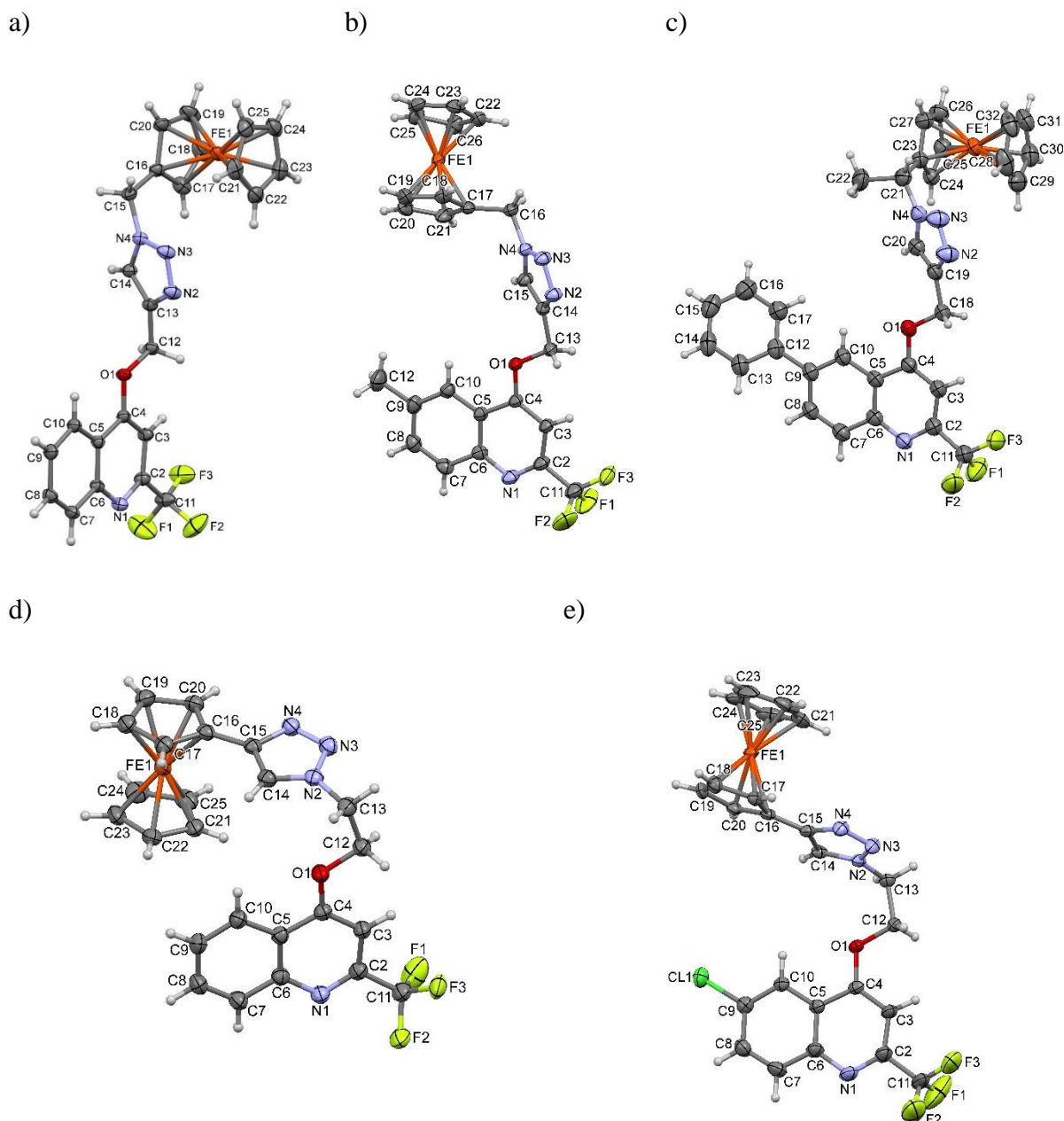
Ciljani hibridi ferrocena i kinolina odnosno kinolona, povezani 1,2,3-triazolnim prstenom **104a–104d**, **105a–105d**, **106a**, **106b**, **107a** i **107b** sintetizirani su CuAAC reakcijom 1-metilazidoferocena i 1-azidoetilferocena [101] s *O*- i *N*-alkinilnim derivatima kinolina (**73**, **101a–101c**, **102a** i **102b**). Reakcijom CuAAC azido derivata kinolina **108a–108d** s etinil-ferocenom dobiveni su ciljani hibridi **109a–109d** (shema 22).



Shema 22. Sinteza hibrida kinolin–1,2,3-triazol–ferocena

3.5.2. Kristalne i molekulske strukture hibrida kinolin–1,2,3-triazol–ferocena 104a, 104b, 105d, 109a i 109c

Rendgenskom strukturnom analizom na jediničnom kristalu potvrđene su strukture pet kinolinskih derivata ferocena, a njihove molekulske strukture prikazane su na slici 52. Konformacija ciklopentadienilnih (Cp) prstenova u ovih pet struktura nije ista. Dok je konformacija u strukturi **104a** približno na pola puta između D_{5d}-simetrično zasjenjene i D_{5h}-zvjezdaste, u svim drugim strukturama ona je D_{5d}-simetrično zasjenjena. Tako vrijednosti odgovarajućih pseudo-torzijskih kutova C–Cg–Cg–C (C su nasuprotni ugljikovi atomi dvaju Cp-prstenova, a Cg središta prstenova), iznose od –14,4(4)^o do –15,6(4)^o u **104a**, dok u strukturama drugih spojeva iznose od –0,6(3)^o do –7,0(10)^o.

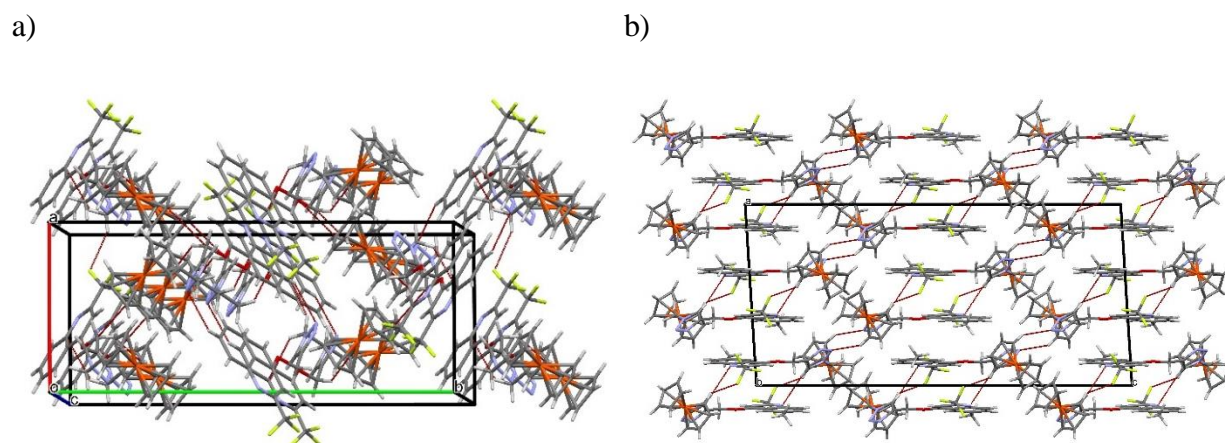


Slika 52. Molekulske strukture spojeva **104a** (a), **104b** (b), **105d** (c), **109a** (d) i **109c** (e).

Također, razlikuju se i u duljinama veza između supstituiranog Cp prstena i na njega vezanog ugljikova atoma. U strukturama **109a** i **109c**, triazolni i Cp prsten približno su koplanarni [diedarski kutevi iznose $12,3(4)^\circ$ u **109c** i $10,50(19)^\circ$ u **109a**] i čine prošireni π -konjugirani sustav. Zbog toga je veza C(triazolni prsten)–C(Cp) skraćena [$1,447(10)$ Å u **109c** i $1,460(4)$ Å u **109a**]. U ostalim strukturama te duljine veza su značajno veće i iznose od $1,482(5)$ Å do $1,509(5)$ Å. Triazolni prsten se u strukturama spojeva **109c** i **109a** nalazi na suprotnoj strani ravnine kinolinskog prstena (slika 52d i e). Torzijski kutevi O1–C12–C13–N2 iznose $63,7(8)^\circ$ i $-61,3(4)^\circ$. Isto tako triazolni prstenovi su zaokrenuti oko

veze C13–N2, jer torzijski kut iznosi $82,2(8)^\circ$ u strukturi spoja **109c**, a $-80,3(4)^\circ$ u strukturi spoja **109a**. Kod spojeva **104a**, **104b** i **105d** ne postoje tako velike razlike u konformaciji molekula.

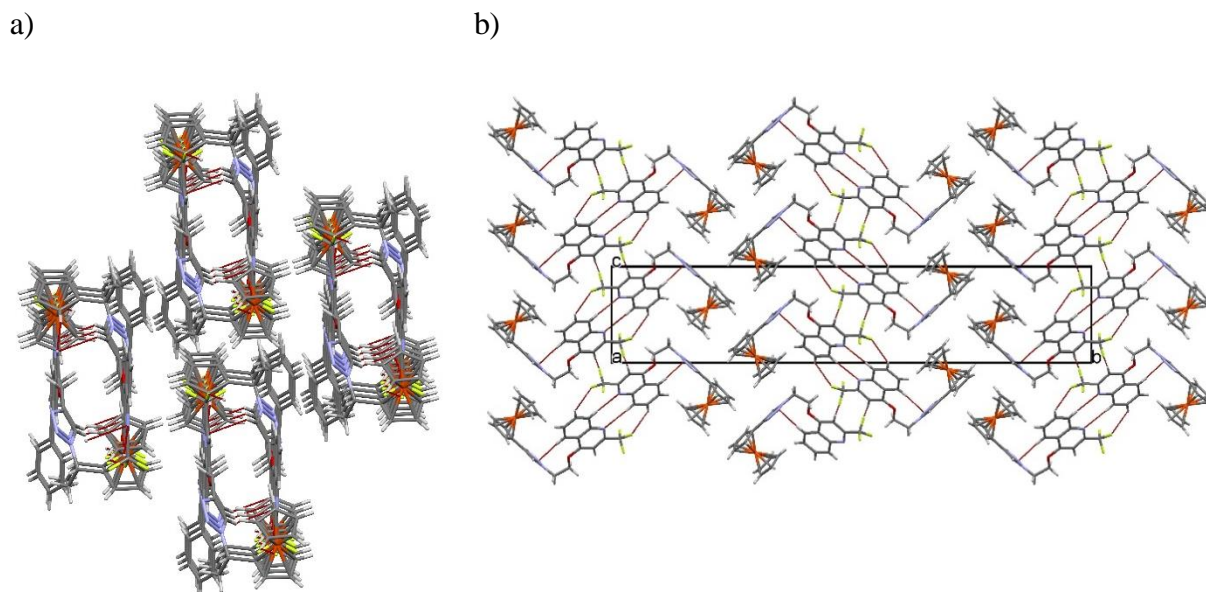
U supramolekulskom udruživanju spoja **104a** sudjeluje jedna C–H \cdots N i jedna C–H \cdots F vodikova veza stvarajući lanac prstenova. Dvije C–H \cdots π i tri $\pi\cdots\pi$ interakcije proširuju taj motiv u trodimenzijsku mrežu (slika 53a). Za razliku od strukture spoja **104a**, molekule spoja **104b** povezuje jedna C–H \cdots N vodikova veza više, čime nastaje jedno-dimenzijski lanac prstenova. Jedna C–H \cdots π interakcija, kao i jedna $\pi\cdots\pi$ interakcija, povezuju lance u trodimenzijsku mrežu (slika 53b). Kristalno pakiranje duž kristalografske osi *b* otkriva da su ferocenske podjedinice i trifluorometilne skupine paralelne s kristalografskom osi *a*.



Slika 53. (a) Kristalno pakiranje spoja **104a**, koje prikazuje trodimenzijsku mrežu nastalu C–H \cdots N i C–H \cdots F vodikovim vezama te C–H \cdots π i $\pi\cdots\pi$ interakcijama; (b) Kristalno pakiranje spoja **104b**, koja prikazuje trodimenzijsku mrežu nastalu jednom C–H \cdots N vodikovom vezom i jednom C–H \cdots π i $\pi\cdots\pi$ interakcijom, kao i položaj ferocenskih podjedinica.

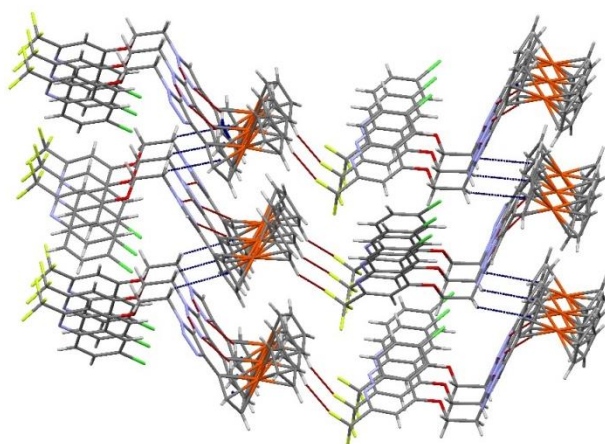
U povezivanju molekula spoja **105d**, pored jedne C–H \cdots F vodikove veze sudjeluju čak tri C–H \cdots N vodikove veze, stvarajući jedno-dimenzijski lanac dimera. Jedna $\pi\cdots\pi$ interakcija povezuje lance u dvo-dimenzijsku mrežu (slika 54a). Zanimljivost ove strukture je da u njenom supramolekulskom udruživanju ne sudjeluju C–H \cdots π interakcije. Dvije C–H \cdots N i dvije C–H \cdots F vodikove veze samo-udružuju molekule spoja **109a** u dvo-dimenzijsku mrežu (slika 54b). Kao i u strukturi spoja **105d**, C–H \cdots π interakcije ne povezuju molekule spoja **109a**, dok $\pi\cdots\pi$ interakcije sudjeluju u stvaranju dvo-dimenzijske mreže. Ferocenske

podjedinice susjednih dvo-dimenzijskih mreža su gotovo okomiti i paralelni kristalografskoj osi *c*.



Slika 54. a) Dio kristalne strukture spoja **105d**, koja prikazuje dvo-dimenzijsku mrežu nastalu C–H···F i C–H···N vodikovim vezama i $\pi\cdots\pi$ interakcijom; b) kristalno pakiranje spoja **109a**, koja prikazuje dvo-dimenzijsku mrežu nastalu C–H···N i C–H···F vodikovim vezama i $\pi\cdots\pi$ interakcijama, kao i položaj ferocenskih podjedinica.

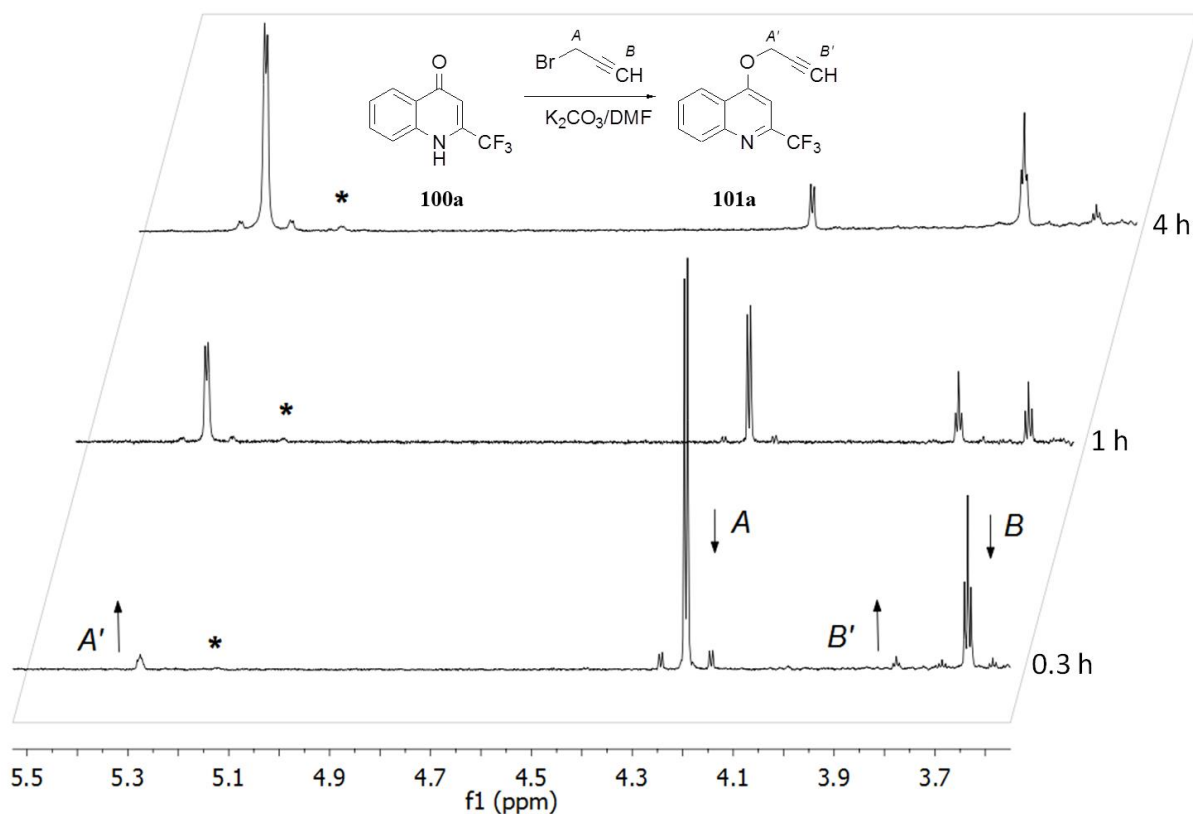
U **109c**, dvije vodikove veze C–H···N i jedna C–H···F ponovno stvaraju motiv lanca dimera i vrpce, a u stvaranju vrpce također sudjeluju i dvije $\pi\cdots\pi$ interakcije. Jedna C–H··· π interakcija povezuje vrpce u trodimenzijsku mrežu, na taj način stvarajući supramolekulsku strukturu višeg reda (slika 55).



Slika 55. Dio kristalne strukture spoja **109c**, koja prikazuje vrpce i jednu C–H··· π interakciju (prikazana plavom bojom) koja povezuje vrpce u trodimenzijsku mrežu.

3.5.3. Spektroskopska i računalna analiza regioselektivne reakcije propargiliranja

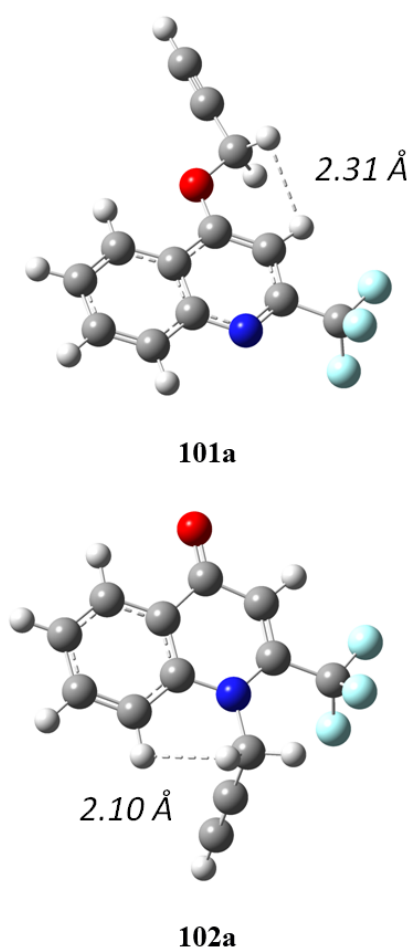
Kao bi razjasnili primjećenu regioselektivnost u reakciji propargiliranja kinolona **71** i **100a–100c**, provedena je dodatna spektroskopska analiza kao i kvantno-kemijski računi na primjeru reakcije spoja **100a** s propargil-bromidom. U ovoj reakciji, spektroskopski je detektiran jedan glavni produkt (slika 56). Reakcija je praćena uzimanjem alikvota u određenim vremenskim točkama, te snimanjem ^1H NMR spektara pojedinog alikvota. Uz nestanak signala za protone reaktanta (A i B, signali za protone propargil-bromida u rasponu od 3,4 – 4,5 ppm), dolazi do pojave signala (A' i B') za protone produkta (dublet i triplet na 5,28 ppm i 3,78 ppm). Osim toga, primjećuju se i signali manje zastupljenog produkta (označeni zvjezdicom na slici 56), udjela oko 4 %. Uz detaljniju spektroskopsku analizu produkta, dolazimo do zaključka da je u reakciji nastao *O*-alkilirani produkt **101a**, uz *N*-alkilirani spoj **102a**, kao manje zastupljeni produkt.



Slika 56. ^1H NMR (400 MHz) spektri alikvota reakcijske smjese (**100a** i propargil-bromid u DMF-u) uzimani u određenim vremenskim razmacima. Spektri su snimljeni tijekom 240 min, strelice pokazuju kako se signali mijenjaju kroz vrijeme. Svi spektri su snimljeni na 25 °C (u DMSO- d_6). Zvjezdicom označeni signal na 5,1 ppm pripada manje zastupljenom produktu **102a** (~ 4%).

3. REZULTATI I RASPRAVA

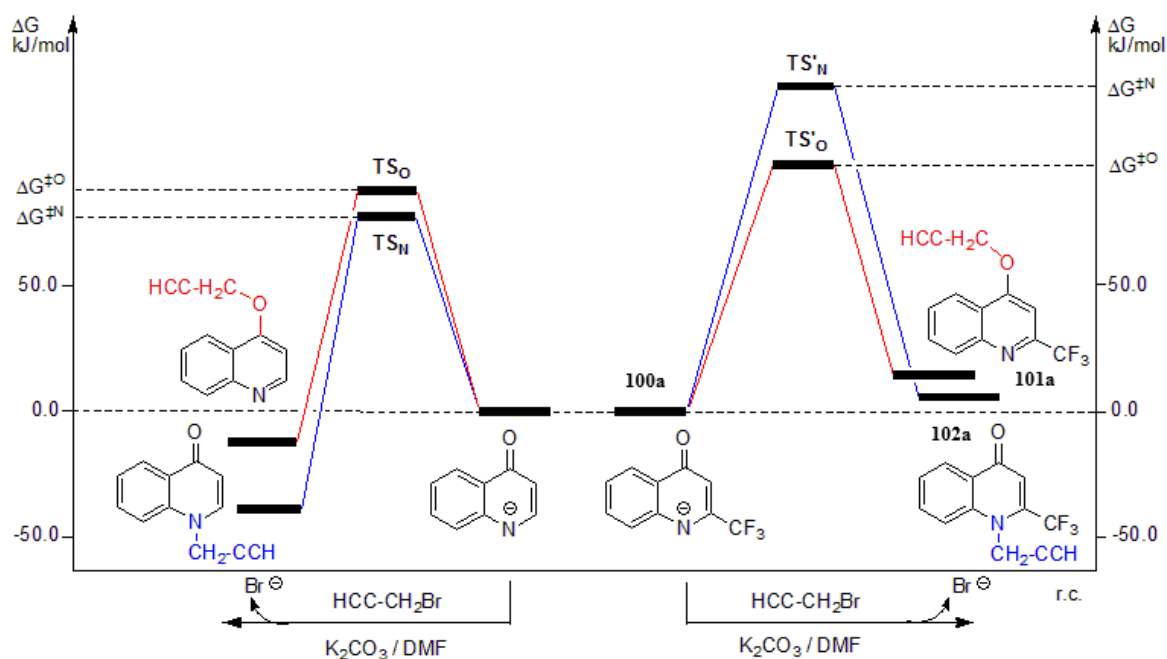
Korelacijama protona u spektru NOESY pojašnjene su razlike u *O*- i *N*-alkiliranim produktima. U slučaju *O*-alkiliranog kinolona **101a**, vidljiva je interakcija između protona C3-H i CH₂ propargilnog lanca, koji su međusobno blizu u prostoru (izračunata udaljenost oko 2,3 Å, slika 57). Za očekivati je izostanak ove interakcije kod *N*-izomera, jer su odgovarajuće međuatomske udaljenosti za te protone veće od 5 Å. Analogno tome, sprezanje između signala C8-H i propargilnih protona je primjećeno kod *N*-alkiliranog izomera **102a**, što je vidljivo u odgovarajućim 2D NOESY spektrima (slika p4 i p5).



Slika 57. *O*- i *N*-alkilirani produkti reakcije spoja **100a** i propargil-bromida. Iscrtkana linija pokazuje izračunate udaljenosti između protona koje su ekperimentalno dokazane ¹H-¹H NOESY spektrom.

Kako bi pojasnili zašto je reakcija propargiliranja uspješnija na *O*-atomu kinolona **100a**, provedeni su dodatni kvantno-kemijski računi. Gibbs-ova slobodna energija aktivacije za reakciju u *N*-položaju je približno 40 kJ mol⁻¹ viša od energijske barijere za odgovarajuću reakciju u *O*-položaju (slika 58). Izračunata energija *N*-alkiliranog produkta **102a** je slična

energiji *O*-alkiliranog spoja **101a**. Dakle, reakcija *O*-alkiliranja nije termodinamički, već kinetički, povoljnija.



Slika 58. Izračunate slobodne Gibbs-ove energije za *O*-propargiliranje (crvena linija) i *N*-propargiliranje (plava linija) nesupstituiranog kinolona (lijeva reakcija) i CF_3 -supstituiranog analoga (**100a**, desna reakcija). Relativna energija reaktanata je namještena na 0, zbog lakšeg uspoređivanja dviju reakcija.

U slučaju samog kinolona, izračunata Gibbs-ove energijske barijere za *O*- i *N*-alkiliranje su slične ($\Delta G^{\ddagger O}$ i $\Delta G^{\ddagger N}$). Konačni *N*-propargilirani spoj je za $> 40 \text{ kJ mol}^{-1}$ stabilniji od *O*-izomera. Dakle, kod samog kinolona, *N*-alkiliranje je termodinamički i kinetički povoljnije.

Međutim, uvođenjem triflourmetilne skupine na položaj C2 kinolona, *N*-alkiliranje postaje kinetički nepovoljnija reakcija, dok na *O*-alkiliranje nema utjecaja. Posljedica je to steričkih smetnji CF_3 skupine koja otežava reakciju na dušikovom atomu.

Uz sterički faktor, ispitan je i elektronski utjecaj supstituenata na C-2 položaju kinolona. Elektronski strukturni parametri (analiza popunjenost orbitala, NPA (*Natural Population Analysis*), najviša popunjena molekulska orbitala, HOMO, najniža popunjena molekulska orbitala, LUMO) su korišteni za ispitivanje utjecaja supstituenata na položaju C-2 na nukleofilnost *O*- i *N*-atoma aniona kinolona. Vrijednosti navedenih parametara pokazuju da supstituenti na položaju C2 ne pokazuju elektronske učinke na nukleofilnost kinolinskih aniona.

3.5.4. Biološka ispitivanja hibrida kinolin–1,2,3-triazol–ferocena i kinolon–1,2,3-triazol–ferocena

3.5.4.1. Antiproliferativna ispitivanja

Antiproliferativna aktivnost kinolin-ferocena **104a–104d**, **105a–105d**, i **109a–109d** te kinolon-ferocena **106a**, **106b**, **107a** i **107b** ispitana je na stanicama adenokarcinoma debelog crijeva (CaCo-2), karcinoma vrata maternice (HeLa), kronična mijeloidna leukemija (K562) i stanice Burkitt-ova limfoma (Raji), kao i na normalne stanice (MDCK1, *Madin Darby canine kidney*), te su rezultati prikazani u tablici 12.

Može se zaključiti da 6-supstituirani i nesupstituirani 2-(trifluormetil)kinolinski derivati **104a–104d** i **105a–105d**, povezani 1,4-disupstituiranim 1,2,3-triazolnim prstenom, ne pokazuju citostatsku aktivnost na ispitane stanične linije. Napusprot tome, njihovi *N*-alkilirani analozi **106a**, **106b** i **107a** pokazuju inhibitornu aktivnost na tumorske stanice, posebice na stanice kronične mijeloidne leukemije (K562) (IC_{50} vrijednost u rasponu od 7,73–16,95 μ M) te stanice Burkittova limfoma (Raji). 6-nesupstituirani derivat **106a** pokazao je bolju citostatsku aktivnost u odnosu na 6-metilsupstituirani analog **106b**. Isto tako je vidljivi da je metilenska poveznica između ferocena i 1,2,3-triazola imala utjecaj na citostatsku aktivnost u odnosu na etilensku poveznicu kod spojeva **107a** i **107b**. *N*-alkilirani konjugat **106a** pokazao je značajno inhibitorno djelovanje na Raji stanice ($IC_{50} = 8,4 \mu$ M), ali uz citotoksičnost na normalne stanice (MDCK1, $IC_{50} = 16,34 \mu$ M), uz niski indeks selektivnosti.

Među *O*-alkiliranim derivatima s ferocenskim prstenom vezanim direktno na 1,2,3-triazolni prsten, svi spojevi pokazuju blago inhibitorno djelovanje na stanice karcinoma vrata maternice (HeLa) i na stanice kronične mijeloidne leukemije (K562). Spoj **109c**, koji na položaju C-6 kinolina sadrži atom klora, pokazuje izraženu i selektivnu aktivnost na stanice Raji, a uz to nije citotoksičan za normalne MDCK1 stanice.

Tablica 12. Antiproliferativna aktivnost *in vitro* spojeva **104a–104d**, **105a–105d**, **106a**, **106b**, **107a**, **107b** i **109a–109d** na odabrane tumorske stanice.

			IC ₅₀ ^a (μM)				
Spoj	R	X	IC ₅₀ ^a (μM)				
			CaCo-2	HeLa	K562	Raji	MDCK1
104a–104d , 105a–105d							
106a , 106b , 107a , 107b							
109a–109d							
104a	H	-CH ₂ -	>100	97,04	>100	>100	>100
104b	CH ₃	-CH ₂ -	>100	99,86	97,28	>100	>100
104c	Cl	-CH ₂ -	>100	>100	>100	>100	>100
104d	Ph	-CH ₂ -	>100	>100	>100	>100	>100
105a	H	-CH(CH ₃)-	>100	>100	>100	>100	>100
105b	CH ₃	-CH(CH ₃)-	>100	>100	95,89	>100	>100
105c	Cl	-CH(CH ₃)-	>100	>100	>100	>100	>100
105d	Ph	-CH(CH ₃)-	>100	>100	>100	>100	>100
106a	H	-CH ₂ -	18,53	49,79	7,73	8,4	16,34
106b	CH ₃	-CH ₂ -	67,1	65,7	28,47	40,3	82,78
107a	H	-CH(CH ₃)-	73,8	51,1	16,95	37,6	58,31
107b	CH ₃	-CH(CH ₃)-	57,2	72,67	46,21	33,4	77,04
109a	H	-	>100	70,18	90,62	>100	>100
109b	CH ₃	-	>100	88,61	85,16	>100	>100
109c	Cl	-	>100	99,81	60,26	7,9	>100
109d	Ph	-	>100	>100	80,22	>100	>100

^a IC₅₀; koncentracija spoja koja inhibira rast stanica za 50 %.

3.5.4.2. Određivanje antioksidativne aktivnosti DPPH metodom

Za kinolin-ferocene **104a–104d**, **105a–105d** i **109a–109d** te kinolon-ferocene **106a**, **106b**, **107a** i **107b** spektrofotometrijski je određena sposobnost uklanjanja slobodnog radikala 1,1-difenil-2-pikrilhidrazola (DPPH). Antioksidativni kapacitet, RSC vrijednost, (radical-

3. REZULTATI I RASPRAVA

scavenging capacity) ispitanih spojeva i poznatih antioksidansa umbeliferona i eskuletina, prikazani su u tablici 13, kao postotak smanjenja radikala DPPH na DPPH-H.

Tablica 13. Rezultati antioksidativnog ispitivanja metodom DPPH za spojeve **104a–104d**, **105a–105d**, **106a**, **106b**, **107a** i **107b** i **109a–109d**.

Spoj ^b	RSC ^a (%)		Spoj ^b	RSC ^a (%)	
	DPPH % 30 min	DPPH % 60 min		DPPH % 30 min	DPPH % 60 min
104a	57,3	62,7	106b	2,5	6,4
104b	51,3	55,9	107a	14,1	15,8
104c	60,4	68,8	107b	16,1	19,0
104d	41,2	47,2	109a	52,1	54,7
105a	56,8	61,2	109b	30,6	32,5
105b	38,7	41,9	109c	15,4	16,6
105c	49,3	50,7	109d	39,0	39,2
105d	50,2	53,2	umbeliferon	81,6	82,6
106a	16,9	23,6	eskuletin	100,0	100

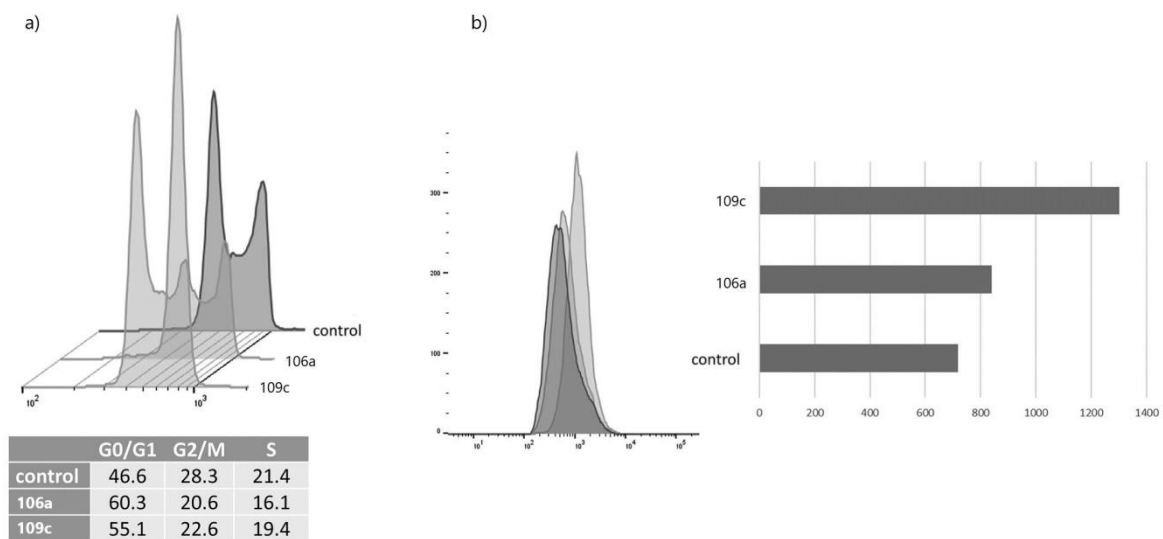
^a % RSC = 100 - (A_{uzorak}/A x 100], gdje je A 95 %-tna otopina metanola;

^b Koncentracija ispitanih spojeva je 0,2 mM

Iz rezultata je vidljivo da hibridi *O*-kinolin-ferocena **104a–104d** i **105a–105d** pokazuju umjerenu i sličnu antioksidativnu aktivnost (39–60 % nakon 30 min; 42–69 % nakon 60 min), na koju ne utječe supstituent na položaju C-6 kinolina niti prenosnica između ferocena i 1,2,3-triazola. *N*-alkilirani derivati **106a**, **106b**, **107a** i **107b** pokazuju značajno niži antioksidativni potencijal u odnosu na *O*-alkilirane produkte, što upućuje na utjecaj regioizomerije kinolinske skupine na antioksidativnu aktivnost. *O*-alkilirani derivati **109a–109d** s (4-ferocenil-1,2,3-triazolil)etoksi skupinom imaju smanjeni antioksidativni kapacitet u odnosu na spojeve **104a–104d** i **105a–105d**.

Spojevi **106a** i **109c**, s najboljom citostatskom aktivnosti, posjeduju slabo antioksidativno djelovanje, što govori da reverzna stanična oksidacija vjerojatno nije mehanizam njihove aktivnosti. Za ova dva spoja ispitana je distribucija staničnog ciklusa i generiranje reaktivnih kisikovih spojeva (ROS, *Reactive oxygen species*) u stanicama Burkittova limfoma (Raji) (slika 59). Vidljiva je sklonost akumuliranja u G0/G1 fazi staničnog ciklusa i naknadna inhibicija rasta Raji stanica. Spoj **106a** učinkovitiji je od spoja **109c** te pokazuje veći pomak u G0/G1 fazi. Iako oba spoja imaju slične rezultate antioksidativnog ispitivanja (tablica 13), njihovo generiranje reaktivnih kisikovih spojeva u

stanici se razlikuje što ujedno upućuje na različiti mehanizam biološke aktivnosti. Dok spoj **106a** pokazuje slabo stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva u odnosu na kontrolu, proizvodnja vrsta ROS u stanicama Burkittova limfoma je gotovo udvostručena za spoj **109c**.



Slika 59. Distribucija staničnog ciklusa (a) i generiranje reaktivnih kisikovih spojeva (b) u Raji stanica tretiranim sa spojevima **106a** i **109c**.

4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. Opće napomene

Sve kemikalije i otapala nabavljene su od komercijalnih dobavljača Aldrich i Acros. Tijek reakcija praćen je tankoslojnom kromatografijom (TLC) korištenjem ploča prevučениh silikagelom Merck 60F-254, a izolirane komponente detektirane su pod UV svjetlom (254 i 366 nm). Pročišćavanje spojeva provedeno je primjenom kolonske kromatografije na kolonama punjenim silikagelom 0,063-0,2 mm (Kemika, Merck) pri atmosferskom tlaku. Temperature tališta priređenih spojeva određene su na instrumentu Kofler (Reichert, Beč) i nisu korigirane.

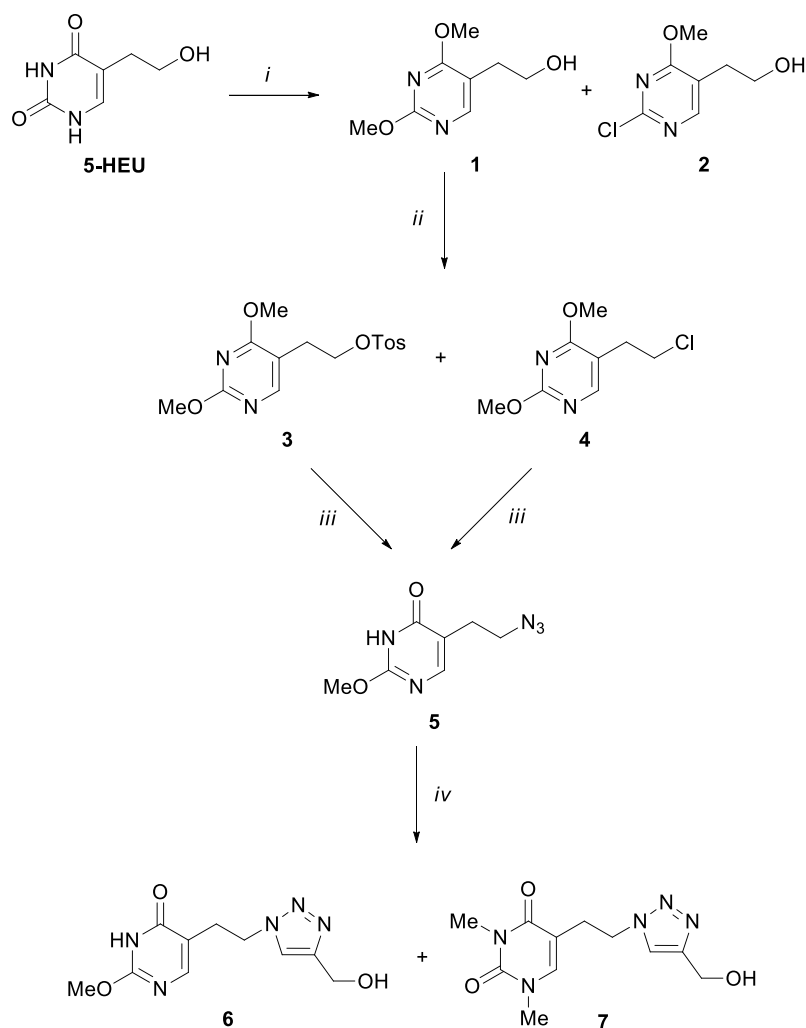
^1H i ^{13}C NMR spektri snimljeni su na spektrometru Bruker Avance 300 i 600 MHz. 2D homonuklearni i heteronuklearni NMR spektri snimljeni su na 300 i 600 MHz Agilent Technologies DD2 NMR spektrometru. Svi NMR spektri snimani su u DMSO- d_6 kao otapalu, koristeći tetrametilsilan kao interni standard. ^1H NMR spektri snimani su pri 300 i 600 MHz, dok su ^{13}C NMR spektri snimani pri 75 i 150 MHz. Kemijski pomaci (δ) izraženi su u ppm vrijednostima u odnosu prema tetrametilsilanu (TMS; δ 0,0 ppm), a konstante sprega (J) su izražene u hercima (Hz).

UV/Vis spektri snimljeni su na Varian Cary 50 spektrofotometru. Fluorescencijski emisijski spektri snimljeni su na Varian Cary Eclipse spektrofotometru. U oba slučaja korištene su kvarcne kivete promjera 0,5 cm te volumena 3 cm³.

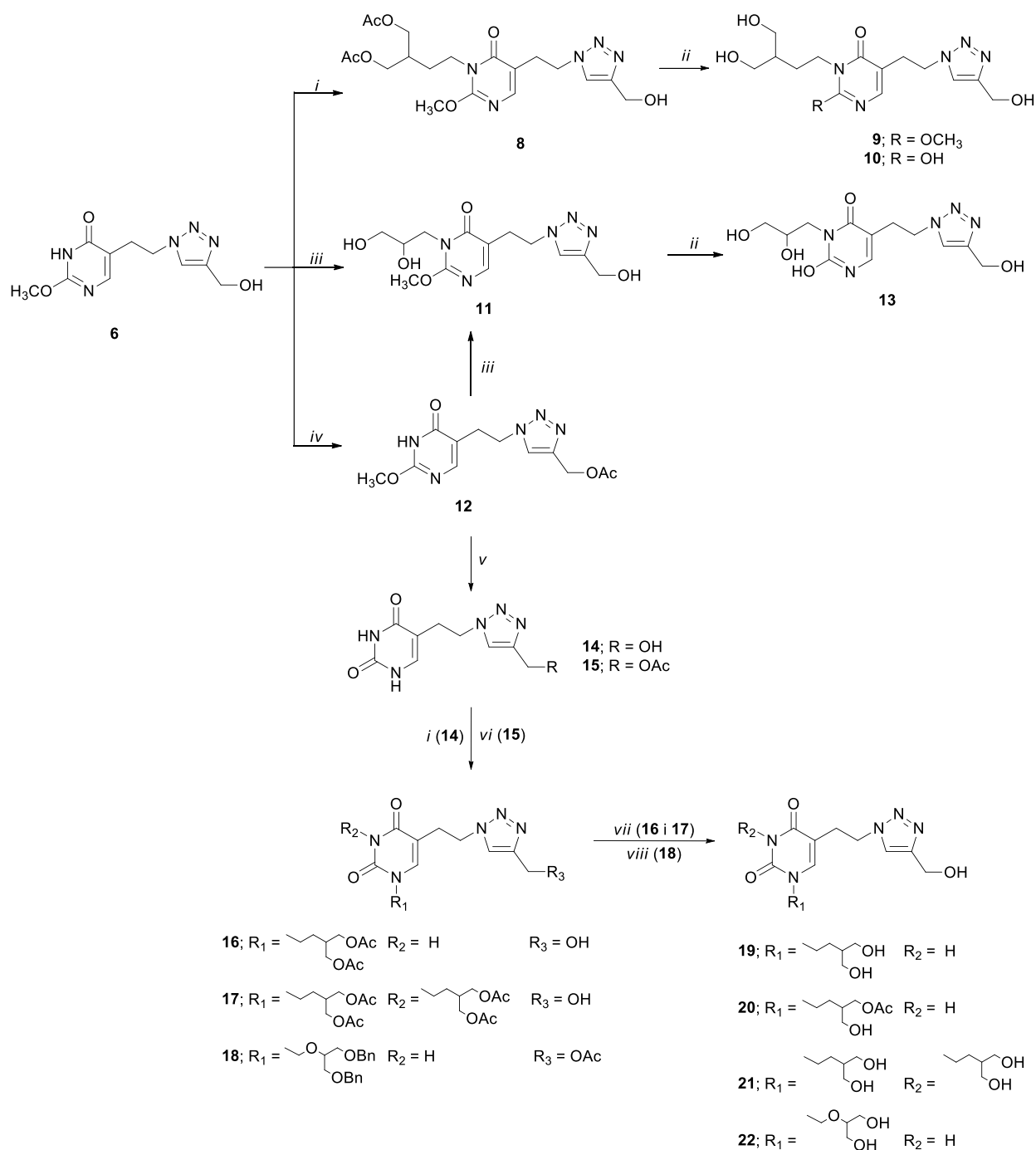
Spektri masa spektri snimljeni su na instrumentu Agilent 6410 s elektrosprej ionizacijom i dvostrukim kvadrupolom (LC/MS/MS). Visokoučinkovita tekućinska kromatografija (HPLC) provedena je na serijskom sustavu Agilent 1100 s UV detektorom primjenom analitičke kolone reverzne faze Zorbax C18 (2,1 × 30 mm; 3,5 μm). Svi spojevi za biološka ispitivanja *in vitro* pokazali su čistoću > 95 % u navedenom HPLC sustavu.

Reakcije potpomognute mikrovalnim zračenjem provedene su u reaktoru Milestrone Start S koristeći staklene kivete pri 80 °C i 300 W, uz tlak 1 bar. Mehanokemijske reakcije provedene su u vibrirajućem mehanokemijskom mlinu IST500 (InSolido Tehnologies) u posudicama od politetrafluoretilena (PTFE, teflon), a kao sredstvo za mljevenje korištene su čelične kuglice, te kuglice mjedi.

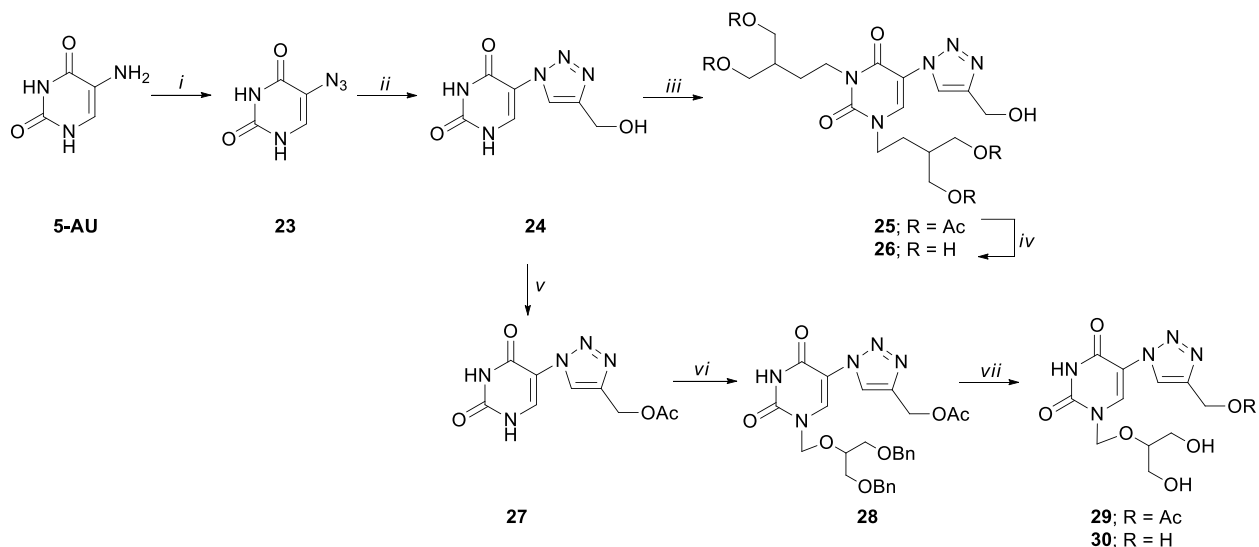
4.2. Sinteza konjugata 1,2,3-triazola i acikličkih pirimidinskih analoga nukleozida



Shema 23. *Reagensi i uvjeti:* *i*) 1. anhidrid octene kiseline, piridin, s.t., 2 h; 2. POCl₃, *N,N*-dietilanilin, piridin, refluks, 1 h; 3. NaOCH₃/ CH₃OH, s. t., 20 h; *ii*) TosCl, piridin, s.t., 3 h; *iii*) NaN₃, DMF, refluks, 20 h; *iv*) metoda 1: propargil-alkohol, *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1, CuSO₄ x 5H₂O, natrij-askorbat, s.t., 24 h; metoda 2: propargil-alkohol, *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1, Cu, 1 M otopina CuSO₄, MW, 300 W, 80 °C, 10 min.



Shema 24. *Reagensi i uvjeti:* i) 2-acetoksimetil-4-jodbutilacetat, DMF, K₂CO₃, s.t., 20 h, argon; ii) 1 M NaOH, s.t., 20 h; iii) 1-klor-2,3-dihidroksipropan, DMF, NaH, 60 °C, 20 h; iv) anhidrid octene kiseline, piridin, s.t., 2 h; v) acetil-klorid, H₂O, s.t., 48 h; vi) 1,3-dibenziloksi-2- klorometoksiopropan, DMF, K₂CO₃, 60 °C, 20 h, argon; vii) 1 M NaOCH₃/CH₃OH, s.t., 4 h; viii) BCl₃, diklormetan, -78 °C, argon, 4 h.



Shema 25. *Reagensi i uvjeti*: *i*) NaNO₂, NaN₃, 2 M HCl, s.t., 2 h; *ii*) metoda 1: propargil-alkohol, *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1, Cu, 1 M CuSO₄, s.t., 48 h; metoda 2: propargil-alkohol, *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1, Cu, 1 M CuSO₄, MW, 300 W, 80 °C, 10 min; *iii*) 2-acetoksimetil-4-jodbutilacetat, DMF, K₂CO₃, s.t., 20 h, argon; *iv*) 1 M NaOCH₃/CH₃OH, 4 h; *v*) anhidrid octene kiseline, pridin, s.t., 2 h; *vi*) 1,3-dibenziloksi-2-klormetoksipropan, DMF, K₂CO₃, 60 °C, 20 h, argon; *vii*) BCl₃, diklormetan, -78 °C, argon, 4 h.

2,4-dimetoksi-5-(2-hidroksietil)pirimidin (1) i 2-klor-5-(2-hidroksietil)-4-metoksipirimidin (2)

Otopini natrija (7,13 g; 0,31 mol) u bezvodom metanolu (310 mL) dodan je 5-(2-acetoksietil)-2,4-diklorpirimidin [83] (14,57 g; 0,06 mol). Reakcijska smjesa miješana je na sobnoj temperaturi 20 sati, a zatim neutralizirana sa koncentriranom HCl. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatku nakon uparavanja je dodan diklormetan (200 mL). Smjesa je miješana na sobnoj temperaturi 2 h i zatim filtrirana. Filtrat je sušen iznad Na₂SO₄ te je otapalo upareno pri sniženom tlaku, a ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom kromatografijom u eluensu diklormetan : metanol = 40 : 1. Izolirano je bezbojno ulje spoja **1** (8,2 g; 74 %) te bezbojni kristali spoja **2** (274 mg, 2 %, T.t. = 107–108 °C).

1: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,10 (1H, s, H-6), 4,61 (1H, t, *J* = 5,4 Hz, OH), 3,91 (3H, s, OCH₃), 3,87 (3H, s, OCH₃), 3,54 (2H, q, *J* = 6,2 Hz, CH₂-2'), 2,58 (2H, t, *J* = 6,8 Hz, CH₂-1'). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 169,36 (C-4), 164,17 (C-2), 158,42

(C-6), 112,54 (C-5), 60,05 (C-2'), 54,69 (OCH₃), 54,64 (OCH₃), 30,05 (C-1'), MS: 185 ([M+H]⁺).

2: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,29 (1H, s, H-6), 4,67 (1H, t, *J* = 5,4 Hz, OH), 3,97 (3H, s, OCH₃), 3,59 (2H, q, *J* = 5,9 Hz, CH₂-2'), 2,64 (2H, t, *J* = 6,4 Hz, CH₂-1'). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 169,12 (C-4), 159,20 (C-6), 157,05 (C-2), 118,98 (C-5), 59,32 (C-2'), 55,16 (OCH₃), 30,04 (C-1'). MS: 189 ([M+H]⁺).

2,4-dimetoksi-5-{2-[(*p*-toluensulfonil)oksi]etil}pirimidin (3) i 5-(2-kloretil)-2,4-dimetoksipirimidin (4)

Otopini spoja **1** (4,00 g; 21,74 mmol) u bezvodnom piridinu (20 mL) ohlađenoj na 0 °C dodana je otopina tosil-klorida (37,55 g; 0.20 mol) u piridinu (20 mL). Reakcijska smjesa miješana je na sobnoj temperaturi 3 h. Reakcija je prekinuta dodatkom vode, te je reakcijska smjesa ekstrahirana s etil-acetatom i sušena iznad MgSO₄. Nakon uparavanja otapala pri sniženom tlaku, ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom kromatografijom u eluensu diklormetan : metanol = 50 : 1. Izolirani su bezbojni kristali spoja **3** (3,57 g; 48 %, T.t. = 103–111 °C) kao i žuto ulje spoja **4** (1,22 g; 28 %).

3: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,00 (1H, s, H-6), 7,59 (d, 2H, *J* = 8,2 Hz, Ph), 7,36 (d, 2H, *J* = 8,2 Hz, Ph), 4,17 (2H, t, *J* = 6,2 Hz, CH₂-2'), 3,85 (3H, s, OCH₃), 3,77 (3H, s, OCH₃), 2,71 (2H, t, *J* = 6,2 Hz, CH₂-1'), 2,39 (3H, s, Ph-CH₃). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 168,99 (C-4), 164,56 (C-2), 158,81 (C-6), 145,31 (Ph), 132,54 (Ph), 130,39 (Ph), 127,82 (Ph), 109,97 (C-5), 69,13 (C-2'), 54,80 (OCH₃), 54,12 (OCH₃), 26,35 (C-1'), 21,53 (Ph-CH₃). MS: 339 ([M+H]⁺).

4: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,20 (1H, s, H-6), 3,94 (3H, s, OCH₃), 3,89 (3H, s, OCH₃), 3,79 (2H, t, *J* = 7,0 Hz, CH₂-2'), 2,90 (2H, t, *J* = 6,8 Hz, CH₂-1'). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 169,35 (C-4), 164,51 (C-2), 158,64 (C-6), 111,68 (C-5), 54,84 (OCH₃), 54,33 (OCH₃), 49,93 (C-2'), 26,12 (C-1'). MS: 203 ([M+H]⁺).

5-(2-azidoetil)-2-metoksipirimidin-4-on (5)

I. Spoj **3** (5,00 g; 14,79 mmol) otopljen je u dimetilformamidu (DMF) (20 mL) te je otopini dodan natrij-azid (3,32 g; 51,07 mmol). Reakcijska smjesa je miješana na temperaturi refleksa 20 h. Otapalo upareno pri sniženom tlaku, a ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom

kromatografijom u eluensu (etil-acetat : metanol = 10:1) te su izolirani bezbojni kristali spoja **5** (1,89 g; 66 %, T.t. = 49–53 °C).

II. Otopini spoja **4** (500 mg; 2,47 mmol) u DMF-u (16 mL) dodan je natrij-azid (548 mg; 8,43 mmol) te je smjesa miješana na temperaturi refluksa 20 h. Nakon uparavanja otapala pri sniženom tlaku i pročišćavanja ostatka kolonskom kromatografijom uz eluens etil-acetat : n-heksan = 4:1, izolirani su bezbojni kristali spoja **5** (100 mg; 21%). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 12,36 (1H, s, NH), 7,65 (1H, s, H-6), 3,85 (3H, s, OCH₃), 3,45 (2H, t, *J* = 7,0 Hz, CH₂-2'), 2,55 (2H, t, *J* = 6,8 Hz, CH₂-1'). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 164,36 (C-4), 157,72 (C-2), 151,70 (C-6), 107,87 (C-5), 55,04 (OCH₃), 55,02 (C-2'), 27,02 (C-1'). MS: 196 ([*M*+H]⁺).

5-[2-(4-hidroksimetil-1,2,3-triazol-1-il)etil]-2-metoksipirimidin-4-on (6) i 1,3-dimetil-5-[2-(4-hidroksimetil-1,2,3-triazol-1-il)etil]pirimidin-2,4-dion (7)

Metoda 1: Spoj **5** (970 mg; 4,97 mmol) i propargil-alkohol (0,33 mL; 5,64 mmol) otopljeni su u smjesi otapala *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 (23 mL) te je dodan natrij-aksorbat (53 mg; 0,27 mmol) i CuSO₄ x 5H₂O (21 mg; 0,08 mmol). Heterogena smjesa miješana je na sobnoj temperaturi 24 h. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom kromatografijom u eluensu diklormetan : metanol = 7 : 1. Izoliran je bijeli prah spoja **6** (814 mg; 65 %, T.t. = 171–172 °C).

Metoda 2: Spoj **5** (1,10 g; 5,64 mmol) je otopljen u smjesi otapala *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 (60 mL). Otopini je dodan bakar (bakrena žica) (294 mg; 4,64 mmol), 1 M otopina CuSO₄ (1,16 mL) i propargil-alkohol (0,36 mL; 6,1 mmol). Reakcijska smjesa je miješana pod utjecajem mikrovalnog zračenja 10 min na temperaturi od 80 °C uz snagu 300 W. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom kromatografijom u eluensu diklormetan : metanol = 7 : 1. Izoliran je bijeli prah spoja **6** (715 mg; 51 %) i blijedožuti prah spoja **7** (131 mg; 9 %, T.t. = 166–173 °C).

6: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 12,40 (1H, s, NH), 7,93 (1H, s, H-7'), 7,42 (1H, s, H-6), 5,12 (1H, t, *J* = 5,6 Hz, OH), 4,48–4,53 (4H, m, CH₂-2', CH₂-8'), 3,83 (3H, s, OCH₃), 2,83 (2H, t, *J* = 7,0 Hz, CH₂-1'). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 163,48 (C-4), 159,32 (C-2), 151,75 (C-6), 148,38 (C-6'), 123,02 (C-7'), 107,41 (C-5), 55,51 (CH₂-8'), 55,04 (OCH₃), 48,09 (C-2'), 27,92 (C-1'). MS: 252 ([*M*+H]⁺).

7: ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 7,93 (1H, s, H-7'), 7,44 (1H, s, H-6), 5,12 (1H, t, $J = 5,6$ Hz, OH), 4,49 (2H, d, $J = 5,5$ Hz, CH₂-8'), 4,46 (2H, t, $J = 7,0$ Hz, CH₂-2'), 3,22 (3H, s, CH₃-N), 3,19 (3H, s, CH₃-N), 2,76 (2H, t, $J = 7,1$ Hz, CH₂-1'). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 163,34 (C-4), 151,64 (C-2), 148,37 (C-6'), 142,68 (C-6), 123,21 (C-7'), 107,52 (C-5), 55,48 (CH₂-8'), 48,24 (C-2'), 36,68 (CH₃-N), 28,78 (C-1'), 27,95 (CH₃-N). MS: 266 ([M+H]⁺).

3-[4-acetoksi-3-(acetoksimetil)butil]-5-[2-(4-hidroksimetil-1,2,3-triazol-1-il)etil]-2-metoksipirimidin-4-on (8)

Spoj **6** (100 mg; 0,40 mmol) je otopljen u bezvodnom DMF-u (7 mL) te je dodan K₂CO₃ (125 mg; 0,91 mmol). Smjesa je miješana 45 min na sobnoj temperaturi u atmosferi argona, a zatim je dodan 2-acetoksimetil-4-jodbutilacetat [84] (163 mg; 0,52 mmol). Miješanje je nastavljeno preko noći. Reakcija je prekinuta, talog odfiltriran a otapalo je upareno pri sniženom tlaku. Ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens diklormetan : metanol = 10:1 kako bi se izoliralo bezbojno ulje spoja **8** (142 mg; 81 %). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 7,94 (1H, s, H-7'), 7,47 (1H, s, H-6), 5,13 (1H, t, $J = 5,6$ Hz, OH), 4,48–4,52 (4H, m, CH₂-2', CH₂-8'), 4,04–4,06 (4H, m, CH₂-4''), 3,98 (2H, t, $J = 7,5$ Hz, CH₂-1''), 3,86 (3H, s, OCH₃), 2,87 (2H, t, $J = 6,9$ Hz, CH₂-1'), 2,01 (6H, s, COCH₃), 2,19–2,23 (1H, m, CH-3''), 1,62 (2H, q, $J = 7,3$ Hz, CH₂-2''). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 170,88 (COCH₃), 162,24 (C-4), 156,31 (C-2), 148,38 (C-6'), 150,13 (C-6), 123,02 (C-7'), 111,16 (C-5), 63,94 (C-4''), 55,47 (CH₂-8'), 54,08 (OCH₃), 48,02 (C-2'), 34,64 (C-3''), 48,69 (C-1''), 28,87 (C-1'), 27,46 (C-2''), 21,01 (COCH₃). MS: 438 ([M+H]⁺).

3-[4-hidroksi-3-(hidroksimetil)butil]-5-[2-(4-hidroksimetil-1,2,3-triazol-1-il)etil]-2-metoksipirimidin-4-on (9) i 3-[4-hidroksi-3-(hidroksimetil)butil]-5-[2-(4-hidroksimetil-1,2,3-triazol-1-il)etil]pirimidin-2,4-dion (10).

Spoj **8** (116 mg; 0,27 mmol) je otopljen u 1 M otopini NaOH (4 mL) i otopina je miješana na sobnoj temperaturi 20 h. Reakcijska smjesa je neutralizirana dodatkom HCl. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatak pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens diklormetan : metanol = 5:1 i izolirano je bezbojno ulje spoja **9** (35 mg; 37 %) i bijeli prah spoja **10** (15 mg; 16 %, T.t. = 166–171 °C).

9: ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 7,94 (1H, s, H-7'), 7,91 (1H, s, H-6), 5,14 (1H, bs, OH-8'), 4,44–4,55 (4H, m, CH₂-2', CH₂-8'), 4,39 (2H, t, $J = 6,8$ Hz, OH-4''), 4,08 (2H, bs,

CH₂-1"), 3,84 (3H, s, OCH₃), prekriven signalom vode (CH₂-4"), 2,98 (2H, t, $J = 6,9$ Hz, CH₂-1'), 1,66–1,76 (3H, bs, CH₂-2", CH-3"). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 164,49 (C-4), 158,36 (C-2), 148,39 (C-6'), 139,02 (C-6), 124,92 (C-7'), 107,58 (C-5), 62,04 (C-4"), 55,48 (CH₂-8'), 54,75 (OCH₃), 48,64 (C-2'), 40,86 (C-3"), 48,64 (C-1"), 27,74 (C-1'), 27,69 (C-2"). MS: 354 ([*M*+H]⁺).

10: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 10,93 (1H, s, NH), 7,91 (1H, s, H-7'), 7,15 (1H, s, H-6), 5,14 (1H, bs, OH-8'), 4,41–4,48 (4H, m, CH₂-2', CH₂-8'), 4,36 (2H, bs, OH-4"), 3,82 (2H, bs, CH₂-1"), prekriven signalom vode (CH₂-4"), 2,75 (2H, t, $J = 6,8$ Hz, CH₂-1'), 1,48 (3H, bs, CH₂-2", CH-3"). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 164,63 (C-4), 151,46 (C-2), 148,36 (C-6'), 138,29 (C-6), 123,06 (C-7'), 107,59 (C-5), 61,98 (C-4"), 55,48 (CH₂-8'), 48,31 (C-2'), 41,85 (C-3"), 38,79 (C-1"), 28,55 (C-1'), 26,81 (C-2"). MS: 340 ([*M*+H]⁺).

3-(2,3-dihidroksipropil)-5-[2-(4-hidroksimetil-1,2,3-triazol-1-il)etil]-2-metoksipirimidin-4-on (11)

I. Spoj **6** (60 mg; 0,24 mmol) je otopljen u bezvodnom DMF-u (5 mL) te je dodan 60 % NaH (23 mg; 0,93 mmol). Reakcijska smjesa je miješana na sobnoj temperaturi. Nakon 1 h dodan je 1-klor-2,3-dihidroksipropan (0,14 mL; 1,68 mmol) i reakcijska smjesa je miješana na temperaturi od 60 °C preko noći. Otapalo je otpareno pri sniženom tlaku, a ostatak pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens diklormetan : metanol = 7:1. Izolirano je bezbojno ulje spoja **11** (5 mg; 6 %).

II. Prema postupku navedenom pod **I.**, spoj **11** je pripravljen iz spoja **12** (160 mg; 0,54 mmol), u DMF-u (10 mL), uz 60 % NaH (51 mg; 2,1 mmol) i 1-klor-2,3-dihidroksipropan (0,45 mL; 5,4 mmol). Iskorištenje: 47 mg; 27 %.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 7,91 (1H, s, H-7'), 7,31 (1H, s, H-6), 5,14 (1H, t, $J = 5,6$ Hz, OH-8'), 4,79 (1H, d, $J = 5,7$ Hz, OH-2"), 4,62 (1H, t, $J = 5,7$ Hz, OH-3"), 4,46–4,50 (4H, m, CH₂-2', CH₂-8'), 3,91 (1H, dd, $J_1 = 3,5$ Hz, $J_2 = 13,5$ Hz, CH-3"), 3,87 (3H, s, OCH₃), 3,60–3,69 (1H, m, CH-2"), 3,48 (1H, dd, $J_1 = 8,7$ Hz, $J_2 = 13,7$ Hz, CH₂-3"), prekriven signalom vode (CH₂-1"), 2,76 (2H, t, $J = 7,5$ Hz, CH₂-1'). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 162,66 (C-4), 156,88 (C-2), 150,01 (C-6), 148,37 (C-6'), 122,99 (C-7'), 115,98 (C-5), 68,88 (C-2"), 64,78 (C-3"), 56,04 (CH₂-8'), 55,51 (OCH₃), 48,07 (C-2'), 44,92 (C-1"), 28,92 (C-1'). MS: 326 ([*M*+H]⁺).

5-[2-(4-acetoksimetil-1,2,3-triazol-1-il)etil]pirimidin-2,4-dion (12)

Smjesa spoja **6** (814 mg; 3,24 mmol) i anhidrida octene kiseline (7,2 mL) u bezvodnom piridinu (8 mL) miješana je na sobnoj temperaturi 2 h. Reakcija je prekinuta dodatkom vode te je otapalo upareno pri sniženom tlaku. Nakon pročišćavanja kolonskom kromatografijom uz diklormetan : metanol = 7:1, izolirani su bijeli kristali spoja **12** (854 mg; 90 %, T.t. = 159–164 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 12,31 (1H, s, NH), 8,10 (1H, s, H-7'), 7,41 (1H, s, H-6), 5,09 (2H, s, CH₂-8'), 4,52 (2H, t, *J* = 6,9 Hz, CH₂-2'), 3,84 (3H, s, OCH₃), 2,83 (2H, t, *J* = 6,9 Hz, CH₂-1'), 2,03 (3H, s, COCH₃). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 170,05 (COCH₃), 157,23 (C-4), 154,84 (C-2), 141,78 (C-6'), 137,76 (C-6), 124,58 (C-7'), 116,18 (C-5), 57,03 (CH₂-8'), 54,52 (OCH₃), 47,78 (C-2'), 27,90 (C-1'), 20,57 (COCH₃). MS: 294 ([*M*+H]⁺).

3-(2,3-dihidroksipropil)-5-[2-(4-hidroksimetil-1,2,3-triazol-1-il)etil]pirimidin-2,4-dion (13)

Prema postupku opisanom za sintezu spojeva **9** i **10**, spoj **13** sintetiziran je iz spoja **11** (42 mg; 0,13 mmol) i 1 M otopine NaOH (4 mL). Nakon pročišćavanja kolonskom kromatografijom uz eluens diklormetan : metanol = 7:1 izolirano je bezbojno ulje spoja **13** (39 mg; 96 %). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 10,77 (1H, bs, NH), 7,88 (1H, s, H-7'), 7,15 (1H, s, H-6), 5,11 (1H, t, *J* = 5,6 Hz, OH-8'), 4,62 (1H, d, *J* = 5,4 Hz, OH-2''), 4,43–4,48 (5H, m, CH₂-2', CH₂-8', OH-3''), 3,89 (1H, dd, *J*₁ = 6,8 Hz, *J*₂ = 12,0 Hz, CH₂-3''), 3,72–3,78 (2H, m, CH-2'', CH₂-3''), prekriven signalom vode (CH₂-1''), 2,75 (2H, t, *J* = 7,0 Hz, CH₂-1'). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 164,10 (C-4), 151,88 (C-2), 148,33 (C-6'), 138,31 (C-6), 123,09 (C-7'), 107,61 (C-5), 68,95 (C-2''), 64,83 (C-3''), 55,46 (CH₂-8'), 48,33 (C-2'), 43,54 (C-1''), 28,55 (C-1'). MS: 312 ([*M*+H]⁺).

5-[2-(4-hidroksimetil-1,2,3-triazol-1-il)etil]pirimidin-2,4-dion (14) i 5-[2-(4-acetoksimetil-1,2,3-triazol-1-il)etil]pirimidin-2,4-dion (15)

Spoj **12** (931 mg; 3,18 mmol) je suspendiran u acetil-kloridu (16,3 mL; 0,23 mol) i suspenzija je miješana na sobnoj temperaturi 24 h. U reakcijsku smjesu dodana je voda (7,3 mL) i miješanje je nastavljeno preko noći. Nakon uklanjanja otapala i pročišćavanja kolonskom kromatografijom (diklormetan : metanol = 7:1) izoliran je bijeli prah spoja **14** (739 mg; 97 %, T.t. = 204–207 °C) i bezbojan kristalinični spoj **15** (10 mg; 1 %, T.t. = 203–211 °C).

14: ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 11,11 (1H, s, NH), 10,66 (1H, s, NH), 7,91 (1H, s, H-7'), 7,11 (1H, s, H-6), 5,14 (1H, t, $J = 5,6$ Hz, OH), 4,50 (2H, d, $J = 5,5$ Hz, CH₂-8'), 4,5 (2H, t, $J = 7,0$ Hz, CH₂-2'), 2,7 (2H, t, $J = 6,9$ Hz, CH₂-1'). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 164,78 (C-4), 151,70 (C-2), 148,39 (C-6'), 139,84 (C-6), 123,02 (C-7'), 108,07 (C-5), 55,51 (CH₂-8'), 48,35 (C-2'), 27,92 (C-1'). MS: 238([M+H]⁺).

15: ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 11,08 (1H, s, NH), 10,69 (1H, s, NH), 8,09 (1H, s, H-7'), 7,11 (1H, s, H-6), 5,10 (2H, s, CH₂-8'), 4,45 (2H, t, $J = 6,9$ Hz, CH₂-2'), 2,73 (2H, t, $J = 6,8$ Hz, CH₂-1'), 2,03 (3H, s, COCH₃). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 170,21 (COCH₃), 164,33 (C-4), 151,25 (C-2), 141,82 (C-6'), 139,46 (C-6), 124,64 (C-7'), 107,48 (C-5), 56,98 (CH₂-8'), 48,02 (C-2'), 27,37 (C-1'), 20,53 (COCH₃). MS: 280 ([M+H]⁺).

1-[4-acetoksi-3-(acetoksimetil)butil]-5-[2-(4-hidroksimetil-1,2,3-triazol-1-il)etil]pirimidin-2,4-dion (16) i 1,3-di[4-acetoksi-3-(acetoksimetil)butil]-5-[2-(4-hidroksimetil-1,2,3-triazol-1-il)etil]pirimidin-2,4-dion (17)

Kao što je opisano u postupku dobivanja spoja **8**, alkiliranje spoja **14** (100 mg; 0,42 mmol) provedeno je u bezvodnom DMF-u (7 mL) sa K₂CO₃ (58 mg; 0,42 mmol) i 2-acetoksimetil-4-jodbutilacetatom (132 mg; 0,42 mmol) te je izoliran bijeli praškasti spoj **16** (38 mg; 21 %, T.t. = 147–150 °C) i bezbojan uljasti spoj **17** (33 mg; 13 %).

16: ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 11,29 (1H, s, NH), 7,88 (1H, s, H-7'), 7,31 (1H, s, H-6), 5,07 (1H, s, $J = 5,6$ Hz, OH), 4,41–4,47 (4H, m, CH₂-2', CH₂-8'), 3,97 (4H, d, CH₂-4'', $J = 5,3$ Hz), 3,61 (2H, t, $J = 7,2$ Hz, CH₂-1''), 2,70 (2H, t, CH₂-1', $J = 6,8$ Hz), 1,99 (6H, s, COCH₃), 1,89 (1H, bs, CH-3''), 1,52 (2H, bs, CH₂-2''). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 170,43 (COCH₃), 163,66 (C-4), 150,65 (C-2), 148,28 (C-6'), 142,74 (C-6), 122,63 (C-7'), 108,46 (C-5), 63,52 (C-4''), 54,96 (CH₂-8'), 47,80 (C-1''), 45,06 (C-2'), 34,22 (C-3''), 27,62 (C-1'), 27,31 (C-2''), 20,54 (COCH₃). MS: 424 ([M+H]⁺).

17: ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 7,91 (1H, s, H-7'), 7,43 (1H, s, H-6), 5,09 (1H, t, $J = 5,6$ Hz, OH), 4,46–4,51 (4H, m, CH₂-2', CH₂-8'), 4,03 (2H, d, $J = 5,7$ Hz, CH₂-4''), 4,00 (2H, d, $J = 5,7$ Hz, CH₂-4''), 3,89 (2H, t, $J = 7,3$ Hz, CH₂-1''), 3,71 (2H, t, $J = 6,9$ Hz, CH₂-1''), 2,77 (2H, t, $J = 6,9$ Hz, CH₂-1'), 2,02 (12H, s, COCH₃), 1,92–1,97 (2H, m, CH-3''), 1,58 (4H, bs, CH₂-2''). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 170,86 (COCH₃), 161,64 (C-4), 151,05 (C-2), 148,34 (C-6'), 142,28 (C-6), 123,39 (C-7'), 110,75 (C-5), 64,08 (C-4''), 64,00

(C-4"), 55,46 (CH₂-8'), 48,26 (C-1"), 46,71 (C-2'), 34,62 (C-3"), 28,72 (C-1'), 27,78 (C-2"), 21,04 (COCH₃). MS: 610 ([M+H]⁺).

5-[2-(4-acetoksimetil-1,2,3-triazol-1-il)etil]-1-(1,3-dibenziloksi-2-propoksimetil)pirimidin-2,4-dion (18)

Kao što je opisano u postupku dobivanja spoja **8**, spoj **18** pripremljen je iz spoja **15** (110 mg; 0,39 mmol) u bezvodnom DMF-u (10 mL) uz K₂CO₃ (54 mg; 0,39 mmol) i 1,3-dibenziloksi-2-klormetoksipropan [102] (300 mg; 0,94 mmol). Nakon pročišćavanja kolonskom kromatografijom uz eluens diklormetan : metanol = 30:1, izoliran je bezbojan uljasti spoj **18** (89 mg; 40 %). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 11,43 (1H, s, NH), 8,06 (1H, s, H-7'), 7,47 (1H, s, H-6), 7,25–7,36 (10H, m, Ph), 5,14 (2H, s, CH₂-8'), 5,08 (2H, s, CH₂-1"), 4,47 (4H, s, CH₂-Ph), 4,42 (2H, t, *J* = 7,1 Hz, CH₂-2'), 3,94 (1H, bs, CH-3"), 3,42–3,53 (4H, m, CH₂-4"), 2,70 (2H, t, *J* = 7,1 Hz, CH₂-1'), 2,01 (3H, s, COCH₃). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 170,60 (COCH₃), 164,10 (C-4), 151,43 (C-2), 142,78 (C-6), 142,29 (C-6'), 138,67 (Ph), 128,79 (Ph), 127,87 (Ph), 127,77 (Ph), 125,11 (C-7'), 109,41 (C-5), 77,09 (C-3"), 76,50 (C-1"), 72,70 (CH₂-Ph), 70,21 (C-4"), 57,53 (CH₂-8'), 48,45 (C-2'), 27,89 (C-1'), 21,04 (COCH₃). MS: 564 ([M+H]⁺).

1-[4-hidroksi-3-(hidroksimetil)butil]-5-[2-(4-hidroksimetil-1,2,3-triazol-1-il)etil]pirimidin-2,4-dion (19) i 1-[3-acetoksimetil-4-hidroksibutil]-5-[2-(4-hidroksimetil-1,2,3-triazol-1-il)etil]pirimidin-2,4-dion (20)

Spoj **16** (33 mg; 0,08 mmol) otopljen je u bezvodnom metanolu (1,2 mL) te je dodana svježe pripremljena 0,1 M otopina NaOCH₃ u metanolu (0,3 mL). Reakcijska smjesa je miješana 4 h na sobnoj temperaturi, zatim neutralizirana dodatkom HCl/CH₃OH. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku a uljasti ostatak pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens diklormetan : metanol = 6 : 1. Izoliran je bijeli praškasti spoj **19** (12 mg; 44 %, T.t. = 245–255 °C) i spoj **20** (6 mg; 19 %, T.t. = 167–176 °C).

19: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 11,29 (1H, s, NH), 7,91 (1H, s, H-7'), 7,41 (1H, s, H-6), 5,12 (1H, t, *J* = 5,6 Hz, OH-8'), 4,45–4,51 (4H, m, CH₂-2', CH₂-8'), 4,39 (2H, t, *J* = 5,0 Hz, OH-4"), 3,63 (2H, t, *J* = 6,9 Hz, CH₂-1"), 3,31–3,42 (4H, m, CH₂-4"), 2,77 (2H, t, *J* = 6,9 Hz, CH₂-1'), 1,48 (3H, bs, CH₂-2", CH-3"). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 164,20 (C-4), 151,10 (C-2), 148,34 (C-6'), 143,43 (C-6), 123,14 (C-7'), 108,73 (C-5), 61,81

(C-4"), 55,43 (CH₂-8'), 48,33 (C-1"), 46,21 (C-2'), 41,02 (C-3"), 27,89 (C-1', C-2"). MS: 340 ([M+H]⁺)

20: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 11,31 (1H, s, NH), 7,91 (1H, s, H-7'), 7,34 (1H, s, H-6), 5,10 (1H, t, *J* = 5,6 Hz, OH-8'), 4,60 (1H, t, *J* = 5,2 Hz, OH-4"), 4,44–4,51 (4H, m, CH₂-2', CH₂-8'), 3,91–4,05 (2H, m, CH₂-4"), 3,63 (2H, t, *J* = 7,3 Hz, CH₂-1"), 3,36 (2H, t, *J* = 5,4 Hz, CH₂-4"), 2,73 (2H, t, *J* = 6,7 Hz, CH₂-1'), 2,02 (3H, s, COCH₃), 1,66 (1H, bs, CH-3"), 1,51 (2H, bs, CH₂-2"). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 171,05 (COCH₃), 164,17 (C-4), 151,12 (C-2), 148,34 (C-6'), 143,33 (C-6), 123,15 (C-7'), 108,83 (C-5), 64,48 (C-4"), 61,09 (C-4"), 55,44 (CH₂-8'), 48,30 (C-1"), 45,85 (C-2'), 37,76 (C-3"), 28,14 (C-1'), 27,95 (C-2'), 21,15 (COCH₃). MS: 382 ([M+H]⁺).

1,3-di[4-hidroksi-3-(hidroksimetil)butil]-5-[2-(4-hidroksimetil-1,2,3-triazol-1-il)etil]pirimidin-2,4-dion (21)

Prema postupku opisanom za sintezu spojeva **19** i **20**, spoj **21** je dobiven iz spoja **17** (48 mg; 0,08 mmol) u bezvodnom metanolu (0,8 mL) uz 0.1 M otopinu NaOCH₃/ CH₃OH (0,3 mL). Nakon pročišćavanja kolonskom kromatografijom uz eluens diklormetan : metanol = 6 : 1) izoliran je bezbojan uljasti spoj **21** (14 mg; 40 %). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 11,28 (1H, s, NH), 7,91 (1H, s, H-7'), 7,34 (1H, s, H-6), 5,11 (1H, s, *J* = 5,6 Hz, OH-8'), 4,44–4,51 (4H, m, CH₂-2', CH₂-8'), 4,40 (2H, t, *J* = 5,1 Hz, OH-4"), 4,34 (2H, t, *J* = 5,2 Hz, OH-4"), 3,87 (2H, bs, CH₂-1"), 3,69 (2H, bs, CH₂-1"), 3,34–3,43 (8H, m, CH₂-4"), 2,73 (2H, t, *J* = 6,7 Hz, CH₂-1'), 1,48 (6H, bs, CH₂-2", CH-3"). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 162,99 (C-4), 150,98 (C-2), 148,31 (C-6'), 141,89 (C-6), 123,14 (C-7'), 107,98 (C-5), 61,99 (C-4"), 61,87 (C-4"), 55,39 (CH₂-8'), 48,32 (C-1"), 47,50 (C-2'), 41,76 (C-3"), 41,06 (C-3"), u DMSO-u (C-1"), 28,70 (C-1'), 28,11 (C-2'), 26,73 (C-2"). MS: 442 ([M+H]⁺).

1-(1,3-dihidroksi-2-propoksimetil)-5-[2-(4-hidroksimetil-1,2,3-triazol-1-il)etil]pirimidin-2,4-dion (22)

Spoj **18** (83 mg; 0,15 mmol) otopljen je u bezvodnom diklormetanu (12 mL) u atmosferi argona. Smjesa je ohlađena na –78 °C i dodan je BCl₃ (1 M otopina u diklormetanu, 0,76 mL). Nakon 4 h reakcija je prekinuta dodatkom diklormetan : metanol = 1 : 1 (15 mL) te zagrijana na sobnu temperaturu. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatak pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens diklormetan : metanol = 5:1. Izoliran je bijeli praškasti spoj **22** (33 mg; 65 %, T.t. = 203–209 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 11,37

(1H, bs, NH), 7,94 (1H, s, H-7'), 7,47 (1H, s, H-6), 5,11–5,15 (3H, m, OH-8', CH-1''), 4,59 (2H, t, $J = 5,4$ Hz, OH-4''), 4,45–4,57 (4H, m, CH₂-2', CH₂-8'), 3,48–3,50 (1H, m, CH-3''), 3,28–3,44 (4H, m, CH₂-4''), 2,76 (2H, t, $J = 6,9$ Hz, CH₂-1'). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 164,18 (C-4), 151,31 (C-2), 148,38 (C-6'), 142,73 (C-6), 123,12 (C-7'), 109,32 (C-5), 80,91 (C-3''), 76,26 (C-1''), 61,36 (C-4''), 55,47 (CH₂-8'), 48,35 (C-2'), 28,06 (C-1'). MS: 342 ([*M*+H]⁺).

5-azidopirimidin-2,4-dion (23)

5-aminouracil (800 mg; 6,30 mmol) otopljen je u 2 M HCl (40 mL) ohlađenoj u ledenoj kupelji. Otopina je zatim razrijeđena dodatkom 2 M HCl (40 mL) te je dodan natrij-nitrit (435 mg, 6,30 mmol). Reakcijska smjesa je miješana na temperaturi 0–5 °C 15 min, zatim je oprezno dodan natrij-azid (492 mg; 7,56 mmol) te je smjesa miješana na sobnoj temperaturi 2 h. Blijedožuti talog je odfiltriran, ispran vodom i sušen. Izoliran je praškasti spoj **23** (875 mg; 90 %, T.t. > 280 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 11,50 (1H, s, NH), 10,98 (1H, s, NH), 7,32 (1H, s, H-6). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 161,28 (C-4), 150,53 (C-2), 130,59 (C-6), 112,63 (C-5). MS: 154 ([*M*+H]⁺).

5-(4-hidroksimetil-1,2,3-triazol-1-il)pirimidin-2,4-dion (24)

Metoda 1: Spoj **23** (1,00 g; 6,53 mmol) i propargil-alkohol (0,43 mL; 7,29 mmol) otopljeni su u smjesi otapala *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 (69 mL), te je dodan bakar (333 mg; 5,24 mmol) i 1 M otopina CuSO₄ (1,3 mL). Heterogena smjesa miješana je na sobnoj temperaturi 48 h. Otapala su uparena pri sniženom tlaku i ostatak pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens diklormetan : metanol = 7:1. Izoliran je bijeli praškasti spoj **24** (341 mg; 25 %, T.t. > 280 °C).

Metoda 2: Prema postupku opisanom za sintezu spoja **6** (metoda B) pripremljen je spoj **24**. Korišteni reagensi su: spoj **23** (1,00 g; 6,53 mmol), smjesa otapala *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 (69 mL), bakar (333 mg; 5,24 mmol), 1 M otopina CuSO₄ (1,3 mL) i propargil-alkohol (0,43 mL; 7,29 mmol). Nakon pročišćavanja kolonskom kromatografijom uz eluens diklormetan : metanol = 7:1, izoliran je spoj **24** (430 mg; 32 %). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 11,72 (2H, bs, NH), 8,14 (1H, s, H-5'), 8,10 (1H, s, H-6), 5,27 (1H, t, $J = 5,7$ Hz, OH), 4,56 (2H, d, $J = 5,4$, CH₂-6'). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 159,96 (C-4), 150,80 (C-2), 148,32 (C-4'), 139,13 (C-6), 124,95 (C-5'), 112,97 (C-5), 55,35 (CH₂-6'). MS: 210 ([*M*+H]⁺).

1,3-di[4-acetoksi-3-(acetoksimetil)butil]-5-(4-hidroksimetil-1,2,3-triazol-1-il)pirimidin-2,4-dion (25)

Prema postupku opisanom za sintezu spoja **8**, alkiliranje spoja **24** (27 mg; 0,13 mmol) provedeno je u bezvodnom DMF-u (2 mL) s 2-acetoksimetil-4-jodbutilacetatom (53 mg; 0,17 mmol) uz dodatak K_2CO_3 (41 mg; 0,29 mmol) te je izoliran bezbojan uljasti spoj **25** (22 mg; 29 %). 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 8,59 (1H, s, H-5'), 8,20 (1H, s, H-6), 5,29 (1H, t, $J = 5,7$ Hz, OH), 4,59 (2H, d, $J = 5,6$ Hz, CH_2-6'), 4,04 (8H, d, $J = 5,5$ Hz, CH_2-4''), 3,93–3,95 (4H, m, CH_2-1''), 2,02 (12H, s, $COCH_3$), 1,74 (3H, m, CH_2-2'' , $CH-3''$), 1,64 (3H, m, CH_2-2'' , $CH-3''$). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 170,85 ($COCH_3$), 158,58 (C-4), 150,37 (C-2), 140,41 (C-4'), 137,87 (C-6), 127,39 (C-5'), 112,66 (C-5), 63,99 (C-4''), 64,05 (C-4''), 54,73 (CH_2-6'), 46,53 (C-1''), 41,68 (C-1''), 35,17 (C-3''), 34,86 (C-3''), 26,15 (C-2''), 24,71 (C-2''), 21,08 ($COCH_3$). MS: 582 ($[M+H]^+$).

1,3-di[4-hidroksi-3-(hidroksimetil)butil]-5-(4-hidroksimetil-1,2,3-triazol-1-il)pirimidin-2,4-dion (26)

Prema postupku opisanom za sintezu spojeva **19** i **20**, spoj **26** pripremljen je iz spoja **25** (50 mg; 0,09 mmol), u bezvodnom metanolu (0,8 mL) i 0,1 M otopini $NaOCH_3/CH_3OH$ (0,08 mL) Nakon pročišćavanja kolonskom kromatografijom uz eluens diklormetan : metanol = 6 : 1, izoliran je bezbojan uljasti spoj **26** (18 mg; 48 %). 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 8,47 (1H, s, H-5'), 8,16 (1H, s, H-6), 5,23 (1H, t, $J = 5,7$ Hz, OH-6'), 4,55 (2H, d, $J = 5,7$ Hz, CH_2-6'), 4,39 (2H, t, $J = 5,2$ Hz, OH-4''), 4,31 (2H, t, $J = 5,1$ Hz, OH-4''), 3,86–3,94 (4H, m, CH_2-1''), 3,33–3,44 (8H, m, CH_2-4''), 1,59–1,67 (2H, m, $CH-3''$), 1,46–1,57 (4H, m, CH_2-2''). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 158,54 (C-4), 150,25 (C-2), 148,38 (C-4'), 140,92 (C-6), 125,04 (C-5'), 112,66 (C-5), 61,99 (C-4''), 61,94 (C-4''), 55,28 (CH_2-6'), 48,45 (C-1''), 41,76 (C-3''), 41,19 (C-3''), u DMSO-u (C-1''), 28,21 (C-2''), 26,63 (C-2''). MS: 414 ($[M+H]^+$).

5-(4-acetoksimetil-1,2,3-triazol-1-il)pirimidin-2,4-dion (27)

Spoj **27** pripremljen je prema postupku opisanom za sintezu spoja **12**, iz spoja **24** (430 mg; 2,06 mmol), anhidrida octene kiseline (2,9 mL) i piridina (3,3 mL). Pročišćavanjem kolonskom kromatografijom (diklormetan : metanol = 7:1) izoliran je bijeli kristaliničan spoj **26** (310 mg; 60 %, T.t. = 215–217 °C). 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ /ppm): 11,73 (1H, s, NH), 11,50 (1H, s, NH), 8,31 (1H, s, H-5'), 8,13 (1H, s, H-6), 5,15 (2H, s, CH_2-6'), 2,03 (3H,

s, COCH₃). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 170,06 (COCH₃), 159,43 (C-4), 150,29 (C-2), 141,73 (C-4'), 139,13 (C-6), 126,58 (C-5'), 112,22 (C-5), 56,86 (CH₂-6'), 20,56 (COCH₃). MS: 252 ([M+H]⁺).

5-(4-acetoksimetil-1,2,3-triazol-1-il)-1-(1,3-dibenziloksi-2-propoksimetil)pirimidin-2,4-dion (28)

Prema postupku opisanom za sintezu spoja **18**, spoj **28** pripravljen je iz spoja **27** (180 mg; 0,72 mmol), uz K₂CO₃ (99 mg; 0,72 mmol) i 1,3-dibenziloksi-2-klormetoksiopropan (550 mg; 1,72 mmol). Nakon pročišćavanja kolonskom kromatografijom (diklormetan : metanol = 30 : 1) izoliran je bezbojan uljasti spoj **28** (49 mg; 13 %). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 12,07 (1H, s, NH), 8,55 (1H, s, H-5'), 8,29 (1H, s, H-6), 7,26–7,32 (10H, m, Ph), 5,33 (2H, s, CH₂-6'), 5,19 (2H, s, CH₂-1''), 4,48 (4H, s, CH₂-Ph), 4,08 (1H, bs, CH-3''), 3,34–3,56 (4H, m, CH₂-4''), 2,06 (3H, s, COCH₃). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 171,28 (COCH₃), 159,45 (C-4), 150,52 (C-2), 142,41 (C-4'), 141,55 (C-6), 138,66 (Ph), 128,68 (Ph), 127,85 (Ph), 127,78 (Ph), 127,71 (C-5'), 113,26 (C-5), 77,83 (C-3''), 77,41 (C-1''), 72,77 (CH₂-Ph), 70,28 (C-4''), 57,34 (CH₂-6'), 21,05 (COCH₃). MS: 536 ([M+H]⁺).

5-(4-acetoksimetil-1,2,3-triazol-1-il)-1-(1,3-dihidroksi-2-propoksimetil)pirimidin-2,4-dion (29) i 1-(1,3-dihidroksi-2-propoksimetil)-5-(4-hidroksimetil-1,2,3-triazol-1-il)pirimidin-2,4-dion (30)

Spojevi **29** i **30** dobiveni su prema postupku za sintezu spoja **18**, iz spoja **28** (42 mg; 0,08 mmol), u diklormetanu (6.3 mL) s BCl₃ (1M otopina u diklormetanu, 0,34 mL). Nakon pročišćavanja kolonskom kromatografijom (diklormetan : metanol = 5 : 1) izolirani su bijeli praškasti produkti **29** (14 mg; 50 %, T.t. = 210–215 °C) i **30** (4 mg; 17 %; T.t. > 280 °C).

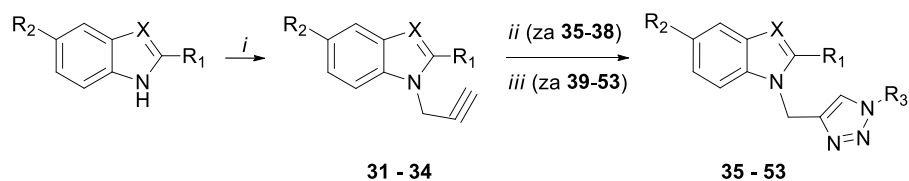
29: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 12,00 (1H, bs, NH), 8,50 (1H, s, H-5'), 8,36 (1H, s, H-6), 5,29 (2H, s, CH₂-6'), 5,18 (2H, s, CH₂-1''), 4,63 (2H, t, *J* = 5,5 Hz, OH-4''), 3,58–3,65 (1H, m, CH-3''), 3,31–3,48 (4H, m, CH₂-4''), 2,04 (3H, s, COCH₃). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 171,30 (COCH₃), 158,88 (C-4), 149,93 (C-2), 141,90 (C-4'), 141,40 (C-6), 126,43 (C-5'), 112,61 (C-5), 81,26 (C-3''), 76,68 (C-1''), 60,98 (C-4''), 56,84 (CH₂-6'), 20,56 (COCH₃). MS: 356 ([M+H]⁺).

30: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 11,95 (1H, s, NH), 8,44 (1H, s, H-5'), 8,16 (1H, s, H-6), 5,28 (2H, s, CH₂-1''), 5,22 (1H, t, *J* = 5,7 Hz, OH-6') 4,60 (2H, t, *J* = 5,5 Hz, OH-4''),

4. EKSPERIMENTALNI DIO

4,56 (2H, d, $J = 5,8$ Hz, CH₂-6'), 3,59–3,61 (1H, m, CH-3''), 3,42–3,46 (2H, m, CH₂-4''), 3,32–3,36 (2H, m, CH₂-4''). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 158,88 (C-4), 149,93 (C-2), 141,90 (C-4'), 141,40 (C-6), 126,43 (C-5'), 112,61 (C-5), 81,26 (C-3''), 76,68 (C-1''), 60,98 (C-4''), 56,84 (CH₂-6'). MS: 314 ([*M*+H]⁺).

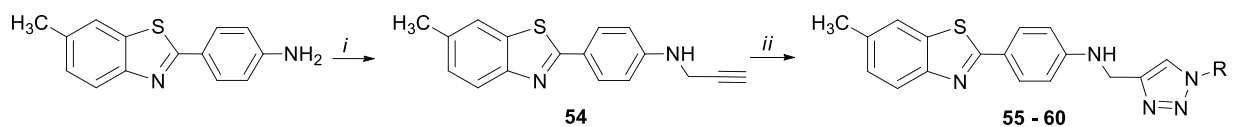
4.3. Sinteza konjugata 1,2,3-triazola i heterocikličkih baza



spoj	R ₁	R ₂	R ₃	X	spoj	R ₁	R ₂	R ₃	X
31	H	H	-	N	45	H	H		N
32	CH ₃	H	-	N	46	CH ₃	H		N
33	H	I	-	CH	47	H	H		N
34	H	F	-	CH	48	H	H		N
35	H	H	H	N	49	H	H		N
36	CH ₃	H	H	N	50	CH ₃	H		N
37	H	I	H	CH	51	CH ₃	H		N
38	H	F	H	CH	52	H	I		CH
39	H	H		N	53	H	I		CH
40	CH ₃	H		N					
41	H	H		N					
42	CH ₃	H		N					
43	H	H		N					
44	CH ₃	H		N					

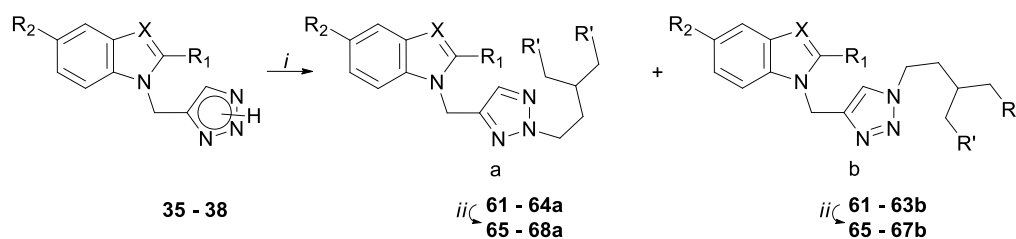
Shema 26. *Reagensi i uvjeti:* i) propargil-bromid, K₂CO₃, DMF, argon, 60 °C, 24 h; ii) trimetilsilil-azid (TMSN₃), CuI, DMF : CH₃OH = 9 : 1, argon, 100 °C, 8 h; iii) odgovarajući azid, Cu, 1 M otopina CuSO₄, *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1, MW, 300 W, 80 °C, 30 min.

4. EKSPERIMENTALNI DIO



spoj	R	spoj	R
55		58	
56		59	
56		60	

Shema 27. *Reagensi i uvjeti*: i) propargil-bromid, K_2CO_3 , DMF, argon, 60 °C, 24 h; ii) odgovarajući azid, Cu, 1 M otopina $CuSO_4$, *tert*-butanol : $H_2O = 1 : 1$, MW 300 W, 80 °C, 30 min.



spoj	R ₁	R ₂	X	R ₃	spoj	R ₁	R ₂	X	R ₃
61a	H	H	N	OAc	65a	H	H	N	OH
61b	H	H	N	OAc	65b	H	H	N	OH
62a	CH ₃	H	N	OAc	66a	CH ₃	H	N	OH
62a	CH ₃	H	N	OAc	66b	CH ₃	H	N	OH
63a	H	I	CH	OAc	67a	H	I	CH	OH
63b	H	I	CH	OAc	67b	H	I	CH	OH
64a	H	F	CH	OAc	68a	H	F	CH	OH

Shema 28. i) 2-acetoksimetil-4-jodbutilacetat, K_2CO_3 , DMF, s.t., 24 h; ii) 0,1 M $NaOCH_3/CH_3OH$, CH_3OH , s.t., 4 h.

4.3.1. Općeniti postupak za sintezu propargiliranih spojeva 31–34

Otopini odgovarajuće heterocikličke baze u DMF-u, dodan je K_2CO_3 (1 ekv.). Reakcijska smjesa je miješana 30 min u atmosferi argona, te je zatim dodan propargil-bromid (1 ekv.). Smjesa je zagrijana na 60 °C i miješana preko noći. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku i ostatak pročišćen kolonskom kromatografijom.

1-(prop-2-in-1-il)-1*H*-benzo[*d*]imidazol (31)

Spoj **31** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz benzimidazola (800 mg, 6,77 mmol). Pročišćavanjem uz eluens (diklormetan : metanol = 20 : 1) izoliran je žuti uljasti spoj **31** (890 mg, 84 %). 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 8,27 (s, 1H, H-2), 7,68 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, H-7), 7,64 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, H-4), 7,31 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, H-6), 7,24 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, H-5), 5,20 (d, 2H, $J = 2,5$ Hz, H-1'), 3,48 (t, 1H, $J = 2,5$ Hz, H-30). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 143,18 (C-2), 133,27 (C-3a), 131,39 (C-7a), 122,59 (C-6), 121,90 (C-5), 119,47 (C-4), 110,61 (C-7), 78,11 (C-2'), 76,15 (C-3'), 33,76 (C-1'). MS (ESI): $m/z = 157,1$ ($[M+H]^+$). Izračunato za $C_{10}H_8N_2$: C, 76,90; H, 5,16; N, 17,94. Nađeno: C, 76,81; H, 5,15; N, 17,89.

2-metil-1-(prop-2-in-1-il)-1*H*-benzo[*d*]imidazol (32)

Spoj **32** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz 2-metilbenzimidazola (200 mg, 1,51 mmol). Pročišćavanjem uz eluens (diklormetan : metanol = 20 : 1) dobiven je bezbojni uljasti spoj **32** (188 mg, 74 %). 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 7,52–7,57 (m, 2H, H-4, H-7), 7,13–7,24 (m, 2H, H-5, H-6), 5,12 (d, 2H, $J = 2,5$ Hz, H-1'), 3,39 (t, 1H, $J = 2,5$ Hz, H-30), 2,57 (s, 3H, CH_3). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 151,90 (C-2), 142,70 (C-3a), 135,15 (C-7a), 122,15 (C-6), 121,95 (C-5), 118,79 (C-4), 110,30 (C-7), 78,86 (C-2'), 75,80 (C-3'), 32,94 (C-10), 13,84 (CH_3). MS (ESI): $m/z = 171,1$ ($[M+H]^+$). Izračunato za $C_{11}H_{10}N_2$: C, 77,62; H, 5,92; N, 16,46. Nađeno: C, 77,59; H, 5,90; N, 16,47.

5-jod-1-(prop-2-in-1-il)-1*H*-indol (33)

Spoj **33** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz 5-jodindola (3 g, 12 mmol). Pročišćavanjem uz eluens *n*-heksan : etil-acetat = 10 : 1) izoliran je žuti uljasti spoj **33** (3 g, 67 %). 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 7,89 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-2), 7,34–7,40 (2H, m, H-4, H-6), 6,44 (1H, d, $J = 3,1$ Hz, H-3) 6,39 (1H, d, $J = 6,0$ Hz, H-7), 5,04 (2H, d, $J = 2,5$ Hz, H-1'), 3,36 (1H, t, $J = 2,5$ Hz, H-3'). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 135,07

(C-7a), 131,54 (C-3a), 129,86 (C-4), 129,70 (C-2), 129,41 (C-6), 113,02 (C-7), 101,18 (C-3), 83,77 (C-5), 79,39 (C-2'), 76,15 (C-3'), 35,68 (C-10). MS (ESI): $m/z = 171,1$ ($[M+H]^+$). Izračunato za $C_{11}H_8IN$: C, 47,00; H, 2,87; N, 4,98. Nađeno: C, 47,19; H, 2,86; N, 4,99.

5-fluor-1-(prop-2-in-1-il)-1H-indol (34)

Spoj **34** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz 5-fluorindola (300 mg, 2,22 mmol). Pročišćavanjem uz eluens *n*-heksan : etil-acetat = 10 : 3) izoliran je žuti uljasti spoj **34** (125 mg, 33 %). 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) (δ/ppm): 7,52 (dd, 1H, $J = 9,0$ Hz, $J = 4,5$ Hz, H-7), 7,46 (d, 1H, $J = 3,2$ Hz, H-2), 7,33 (dd, 1H, $J = 2,6$ Hz, $J = 9,9$ Hz, H-4), 7,02 (td, 1H, $J = 2,6$ Hz, $J = 9,2$ Hz, H-6), 6,46 (dd, 1H, $J = 3,2$ Hz, $J = 0,8$ Hz, H-3), 5,09 (d, 2H, $J = 2,5$ Hz, H-1'), 3,39 (t, 1H, $J = 2,5$ Hz, H-30). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) (δ/ppm): 157,22 (C-5, $J = 232,1$ Hz), 132,21 (C-7a), 130,17 (C-2), 128,59 (C-3a, $J = 10,5$ Hz), 111,02 (C-7, $J = 9,8$ Hz), 109,39 (C-6, $J = 26,2$ Hz), 105,12 (C-4, $J = 23,3$ Hz), 101,35 (C-3, $J = 4,7$ Hz), 79,04 (C-2'), 75,55 (C-3'), 35,31 (C-10). MS (ESI): $m/z = 174,1$ ($[M+H]^+$). Izračunato za $C_{11}H_8FN$: C, 76,29; H, 4,66; N, 8,09. Nađeno: C, 76,26; H, 4,65; N, 8,07.

4.3.2. Općeniti postupak za sintezu NH-1,2,3-triazola 35–38

Odgovarajuća propargilirana baza (**31–34**) otopljena je u smjesi otapala DMF : metanol = 9 : 1 u atmosferi argona. Dodani su CuI (0,05 ekv.) i trimetilsilil-azid (TMSN₃) (1,5 equiv) te je reakcijska smjesa zagrijana na 100 °C. Nakon 8 h, otapala su uparena pri sniženom tlaku i ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom kromatografijom.

1-[(1,2,3-triazol-4-il)metil]-1H-benzo[d]imidazol (35)

Spoj **35** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **31** (550 mg, 3,53 mmol). Nakon pročišćavanja uz eluens (diklormetan : metanol = 10:1) izoliran je bezbojan kristalinični spoj **35** (430 mg, 61%, T.t.= 187–189 °C). 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) smjesa 1,4- i 2,4-tautomera u omjeru 1 : 2 (δ/ppm): 15.21 (bs, 1H, NH), 14.90 (bs, 2H, NH), 8.32 (s, 1H, H-2), 8.14 (bs, 1H, H-30), 7.78 (bs, 2H, H-30), 7.53–7.68 (m, 6H, H-4, H-7), 7.18–7.24 (m, 6H, H-5, H-6), 5.59 (s, 6H, CH₂-10). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) (δ/ppm): 143.91 (C-2), 143.46 (C-2'), 141.82 (C-3a), 133.55 (C-7a), 134.42 (C-3'), 122.32 (C-5), 121.55 (C-6), 119.40 (C-4), 110.56 (C-7), in DMSO (C-10). MS (ESI): $m/z = 200,1$ ($[M+H]^+$). Izračunato za $C_{10}H_9N_5$: C, 60,29; H, 4,55; N, 35,16. Nađeno: C, 60,33; H, 4,56; N, 35,02.

2-metil-1-[(1,2,3-triazol-4-il)metil]-1H-benzo[d]imidazole (36)

Spoj **36** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **32** (500 mg, 2.94 mmol). Pročišćavanjem uz eluens diklormetan : metanol = 10:1 dobiven je bijeli praškasti spoj **36** (193 mg, 31 %, T.t. = 237–239 °C). ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) smjesa 1,4- i 2,4-tautomera u omjeru 1 : 2 (δ/ppm): 15,17 (bs, 1H, NH), 14,88 (bs, 2H, NH), 8,12 (bs, 1H, H-30), 7,77 (bs, 2H, H-30), 7,56 (d, 3H, *J* = 7,1 Hz, H-7), 7,50 (d, 3H, *J* = 7,6 Hz, H-4), 6,90–7,31 (m, 6H, H-5, H-6), 5,50 (s, 6H, CH₂-10), 2,63 (s, 9H, CH₃). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 152,15 (C-2), 144,69 (C-2'), 142,77 (C-3a), 135,39 (C-7a), 132,60 (C-3'), 121,94 (C-5), 121,73 (C-6), 118,64 (C-4), 110,41 (C-7), 38,48 (C-10), 14,12 (CH₃). MS (ESI): *m/z* = 214,1 ([*M*+H]⁺). Izračunato za C₁₁H₁₁N₅: C, 61,96; H, 5,20; N, 32,84. Nađeno: C, 61,82; H, 5,21; N, 32,89.

5-jod-1-[(1,2,3-triazol-4-il)metil]-1H-indol (37)

Spoj **37** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **33** (200 mg, 0,71 mmol). Pročišćavanjem uz eluens *n*-heksan : etil-acetat = 1 : 1 izoliran je žuti praškasti spoj **37** (123 mg, 54 %, T.t. = 119–121 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) smjesa 1,4- i 2,4-tautomera u omjeru 1 : 2 (δ/ppm): 15,06 (bs, 1H, NH), 14,86 (bs, 2H, NH), 7,91 (s, 1H, H-2), 7,67 (bs, 1H, H-30), 7,57 (bs, 2H, H-30), 7,32–7,46 (m, 9H, H-4, H-6, H-7), 6,42 (d, 3H, *J* = 3,1 Hz, H-3), 5,47 (s, 6H, CH₂-10). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 144,12 (C-2'), 135,20 (C-7a), 132,83 (C-3a), 131,49 (C-4), 130,24 (C-2), 129,51 (C-6), 129,29 (C-3'), 113,08 (C-7), 100,94 (C-3), 83,45 (C-5), 41,23 (C-10). MS (ESI): *m/z* = 325,0 ([*M*+H]⁺). Izračunato za C₁₁H₉IN₄: C, 40,76; H, 2,80; N, 17,29. Nađeno: C, 40,85; H, 2,81; N, 17,35.

5-fluor-1-[(1,2,3-triazol-4-il)metil]-1H-indol (38)

Spoj **38** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **34** (125 mg, 0,72 mmol). Pročišćavanjem uz eluens *n*-heksan : etil-acetat = 10 : 3 izoliran je žuti uljasti spoj **38** (101 mg, 65 %). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) smjesa 1,4- i 2,4-tautomera u omjeru 1 : 2 (δ/ppm): 15,15 (bs, 1H, NH), 14,82 (bs, 2H, NH), 8,02 (bs, 1H, H-12), 7,66 (bs, 2H, H-12), 7,50–7,56 (m, 6H, H-7, H-2), 7,29 (dd, 3H, *J* = 2,3 Hz, *J* = 9,9 Hz, H-4), 6,97 (td, 3H, *J* = 2,4 Hz, *J* = 9,3 Hz, H-6), 6,43 (d, 3H, *J* = 2,0 Hz, H-3), 5,48 (s, 6H, CH₂-10). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 157,08 (C-5, *J* = 232,0 Hz), 143,75 (C-2'), 132,37 (C-3'), 132,33 (C-7a), 130,55 (C-2), 128,49 (C-3a, *J* = 10,5 Hz), 111,08 (C-7, *J* = 9,8 Hz), 109,39 (C-6, *J* = 26,1 Hz), 104,96 (C-4, *J* = 23,0 Hz), 101,09 (C-3, *J* = 4,7 Hz), 40,81 (C-10). MS (ESI): *m/z* =

217,1 ($[M+H]^+$). Izračunato za $C_{11}H_9FN_4$: C, 61,10; H, 4,20; N, 25,91. Nađeno: C, 61,26; H, 4,19; N, 25,85.

4.3.3. Općeniti postupak sinteze 1,2,3-triazolnih bis-heterocikla 39–53 i 55–60

Sinteza halogeno-supstituiranih aromatskih azida je provedena iz odgovarajućih aril-amina prema postupku opisanom u literaturi. [86] Odgovarajuća *N*-propargilirana heterociklička baza (31–34) (1 ekv.) otopljena je u smjesi otapala *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 te je dodan azid (1,2 ekv.), Cu(0) (1 ekv.) i 1 M otopina CuSO₄. Reakcijska smjesa miješana je pod utjecajem mikrovalnog zračenja (300 W) na 80 °C, 30 min. Otapalo je upareno pri sniženim tlakom i ostatak pročišćen kolonskom kromatografijom.

1-[[1-(4-klorfenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil]-1*H*-benzo[*d*]imidazol (39)

Spoj 39 sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja 31 (50 mg, 0,32 mmol) i 1-azido-4-klorbenzena (59 mg, 0,38 mmol), uz Cu(0) (20 mg, 0,32 mmol) i 1 M otopinu CuSO₄ (0,08 mL) u smjesi otapala *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 (5 mL). Nakon pročišćavanja uz (diklormetan : metanol = 50 : 1) izoliran je praškasti spoj 39 (88 mg, 89 %; T.t. = 158–160 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 8,91 (s, 1H, H-2), 8,41 (s, 1H, H-30), 7,90 (d, 2H, *J* = 7,6 Hz, H-6',6"), 7,63–7,68 (m, 4H, H-4, H-7, H-5',5"), 7,20–7,28 (m, 2H, H-5, H-6), 5,67 (s, 2H, H-1'). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 143,77 (C-2), 141,81 (C-2'), 135,25 (C-3a), 133,02 (C-70), 131,26 (C-7a), 130,08 (C-4'), 129,8 (C-5',5"), 122,41 (C-5), 122,11 (C-6), 121,83 (C-6',6"), 121,61 (C-3'), 119,48 (C-4), 110,67 (C-7), 39,92 (C-10). MS (ESI): *m/z* = 310,1 ($[M+H]^+$). Izračunato za $C_{16}H_{12}ClN_5$: C, 62,04; H, 3,90; N, 22,61. Nađeno: C, 61,99; H, 3,89; N, 22,55.

1-[[1-(4-klorfenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil]-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol (40)

Spoj 40 sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja 32 (50 mg, 0,29 mmol) i 1-azido-4-klorbenzena (54,2 mg, 0,35 mmol), uz Cu(0) (18,4 mg, 0,29 mmol) i 1 M otopinu CuSO₄ (0,07 mL) u smjesi *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 (5 mL). Nakon pročišćavanja uz eluens diklormetan : metanol = 50:1 izoliran je žuti praškasti spoj 40 (80 mg, 84 %, T.t. = 115–117 °C). ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 8,92 (s, 1H, H-30), 7,90 (d, 2H, *J* = 6 Hz, H-6',6"), 7,71 (d, 1H, *J* = 6 Hz, H-4), 7,66 (d, 2H, *J* = 6 Hz, H-5',5"), 7,57 (d, 1H, *J* = 6 Hz, H-7), 7,25 (t, 1H, *J* = 6 Hz, H-6), 7,21 (t, 1H, *J* = 6 Hz, H-5), 5,63 (s, 2H, H-1'), 2,74 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 151,88 (C-2), 143,60 (C-2'), 135,21 (C-3a), 133,44 (C-70), 133,04 (C-7a), 129,80 (C-5',5"), 129,69 (C-4'), 122,12 (C-5, C-6), 122,00 (C-

3'), 121,82 (C-6',6"), 117,55 (C-4), 110,42 (C-7), 38,29 (C-10), 13,45 (CH₃). MS (ESI): $m/z = 324,1$ ($[M+H]^+$). Izračunato za C₁₇H₁₄ClN₅: C, 63,06; H, 4,36; N, 21,63. Nađeno: C, 63,14; H, 4,35; N, 21,71.

1-[[1-(4-(trifluormetil)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il]metil]-1H-benzo[d]imidazol (41)

Spoj **41** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **1** (50 mg, 0,32 mmol) i 1-azido-4-(trifluormetil)benzena (71 mg, 0,38 mmol), uz Cu(0) (20 mg, 0,32 mmol) i 1 M otopinu CuSO₄ (0,07 mL) u smjesi *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 (5 mL). Nakon pročišćavanja (diklormetan : metanol = 40 : 1) izoliran je bijeli praškasti spoj **41** (92 mg, 84 %, T.t. = 188–190 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 8,97 (s, 1H, H-2), 8,50 (s, 1H, H-30), 8,08 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, H-6', 6"), 7,92 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, H-5',5"), 7,68 (s, 2H, H-4, H-7), 7,19–7,28 (m, 2H, H-5, H-6), 5,65 (s, 2H, H-1'). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 143,93 (C-2), 141,76 (C-2'), 139,22 (C-3a), 129,21 (C-7a), 128,80 (q, $J = 129,3$ Hz, C-70), 127,15 (d, $J = 12$ Hz, C-4'), 126,55 (q, $J = 181$ Hz, CF₃), 124,66 (C-5), 122,60 (d, $J = 30$ Hz, C-5',5"), 122,35 (C-6), 121,8 (d, $J = 66$ Hz, C-6',6"), 120,62 (C-3'), 119,34 (C-4), 116,59 (C-7), 76,17 (C-10). MS (ESI): $m/z = 344,1$ ($[M+H]^+$). Izračunato za C₁₇H₁₂F₃N₅: C, 59,48; H, 3,52; N, 20,40. Nađeno: C, 59,40; H, 3,51; N, 20,32.

1-[[1-(4-(trifluormetil)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il]metil]-2-metil-1H-benzo[d]imidazol (42)

Spoj **42** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **32** (50 mg, 0,35 mmol) i 1-azido-4-(trifluormetil)benzena (65 mg, 0,30 mmol), uz Cu(0) (22,2 mg, 0,35 mmol) i 1 M otopinu CuSO₄ solution (0,07 mL) u smjesi *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 (5 mL). Nakon pročišćavanja uz eluens diklormetan : metanol = 20 : 1 dobiven je žuti praškasti spoj **42** (72 mg, 74 %, T.t. = 193–195 °C). ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 9,02 (s, 1H, H-30), 8,13 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, H-5',5"), 7,96 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz, H-4, H-7), 7,58 (dd, 2H, $J = 67,1$ Hz, $J_{H-H} = 7,7$ Hz, H-6',6"), 7,07–7,25 (m, 2H, H-5, H-6), 5,60 (s, 2H, H-1'), 2,70 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 144,12 (C-2), 139,20 (C-2'), 132,22 (C-3a), 128,73 (d, $J = 32,4$ Hz, C-70), 127,12 (d, $J = 3,7$ Hz, C-5',5"), 124,70 (C-5), 122,89 (C-6), 122,00 (C-7a), 121,65 (q, $J = 170$ Hz, CF₃), 121,41 (d, $J = 19,1$ Hz, C-6',6"), 120,58 (C-4'), 118,22 (C-3'), 115,63 (C-4), 110,11 (C-7), 38,19 (C-10), 13,78 (CH₃). MS (ESI): $m/z = 358,1$ ($[M+H]^+$). Izračunato za C₁₈H₁₄F₃N₅: C, 60,50; H, 3,95; N, 19,60. Nađeno: C, C, 60,58; H, 3,94; N, 19,57.

1-[[1-(4-fluorfenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il]metil]-1H-benzo[d]imidazol (43)

Spoj **43** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **31** (40 mg, 0,26 mmol) i 1-azido-4-fluorbenzena (43 mg, 0,31 mmol), uz Cu(0) (16,5 mg, 0,26 mmol) i 1 M otopinu CuSO₄ (0,05 mL) u smjesi *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 (5 mL). Nakon pročišćavanja (diklormetan : metanol = 40 : 1) izoliran je uljasti produkt **43** (57 mg, 76 %). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,80 (s, 1H, H-2) 8,47 (s, 1H, H-30), 7,87–7,91 (m, 2H, H-6',6''), 7,66 (s, 2H, H-4, H-7), 7,31–7,44 (m, 2H, H-5',5''), 7,09–7,30 (m, 2H, H-5, H-6), 5,61 (s, 2H, H-1'). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 162,15 (d, *J* = 243,8 Hz, C-70), 144,11 (C-2), 133,48 (C-2'), 123,09 (C-3a), 122,95 (d, *J* = 9 Hz, C-4'), 122,81 (C-7a), 122,60 (d, *J* = 74,3 Hz, C-6',6''), 122,20 (d, *J* = 15,8 Hz, C-5',5''), 119,96 (C-5), 119,03 (C-6), 117,34 (d, *J* = 23,3 Hz, C-4), 111,27 (C-3'), 76,64 (C-7) 68,19 (C-10). MS (ESI): *m/z* = 294,1 ([*M*+H]⁺). Izračunato za C₁₆H₁₂FN₅: C, 65,52; H, 4,12; N, 23,88. Nađeno: C, 65,46; H, 4,13; N, 23,82.

1-[[1-(4-fluorfenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il]metil]-2-metil-1H-benzo[d]imidazol (44)

Spoj **44** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **32** (60 mg, 0,35 mmol) i 1-azido-4-fluorbenzena (58 mg, 0,42 mmol), uz Cu(0) (22,2 mg, 0,35 mmol) i 1 M otopinu CuSO₄ (0,06 mL) u smjesi *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 (5 mL). Nakon pročišćavanja uz eluens diklormetan : metanol = 50 : 1 izoliran je praškasti produkt **44** (92 mg, 84 %, T.t. = 188–191 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,87 (s, 1H, H-30), 7,90 (dt, 2H, *J* = 10,4, *J*_{H-H} = 4,1 Hz, H-5',5''), 7,75 (dd, 2H, *J*_{H-H} = 7,3 Hz, *J* = 43,6 Hz, H-6',6''), 7,35–7,55 (m, 2H, H-4, H-7), 7,07–7,29 (m, 2H, H-5, H-6), 5,61 (s, 2H, H-1'), 2,65 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO) (δ/ppm-*d*₆): 161,65 (d, *J* = 245,9 Hz, C-7'), 143,73 (C-2), 132,22 (C-2'), 123,62 (C-3a), 122,53 (d, *J*_{C-F} = 9,8 Hz, C-5',5''), 122,11 (C-7a), 121,55 (C-5, C-6), 121,25 (C-4'), 118,28 (C-3'), 116,63 (d, *J* = 23,3 Hz, C-6',6''), 115,58 (C-4), 110,19 (C-7), 38,31 (C-10), 13,84 (CH₃). MS (ESI): *m/z* = 308,1 ([*M*+H]⁺). Izračunato za C₁₇H₁₄FN₅: C, 66,44; H, 4,59; N, 22,79. Nađeno: C, 66,37; H, 4,60; N, 22,83.

1-[[1-(2-fluorfenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il]metil]-1H-benzo[d]imidazol (45)

Spoj **45** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **31** (40 mg, 0,26 mmol) i 1-azido-2-fluorbenzen (43 mg, 0,31 mmol), uz Cu(0) (16,5 mg, 0,26 mmol) i 1 M otopinu CuSO₄ (0,05 mL) u smjesi *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 (5 mL). Nakon pročišćavanja uz eluens diklormetan : metanol = 40 : 1 izoliran je bijeli praškasti spoj **45** (64 mg, 85 %, T.t. = 144–146 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,66 (d, 1H, *J* = 2,2 Hz, H-3'), 8,40 (s, 1H, H-

2), 7,76 (td, 1H, $J = 7,8, 1,6$ Hz, H-7'), 7,66 (d, 2H, $J = 14,7$ Hz, H-4, H-7), 7,45–7,59 (m, 2H, H-7', H-8'), 7,30–7,42 (m, 2H, H-6', H-9'), 7,19 (dd, 2H, $J = 15,2$ Hz, 7,5 Hz, H-5, H-6), 5,63 (s, 2H, H-1'). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) (δ/ppm): 153,68 (d, $J = 250,4$ Hz, C-5'), 143,11 (C-3a, C-7a), 138,10 (C-2'), 131,31 (d, $J = 7,9$ Hz, C-7'), 125,84 (C-2), 125,57 (C-9'), 125,52 (d, $J = 3,7$ Hz, C-8'), 124,56 (d, $J = 10,8$ Hz, C-4'), 122,43 (C-6), 121,62 (C-4), 119,47 (C-3'), 117,14 (C-6'), 117,07 (d, $J = 19,5$ Hz, C-5'), 117,01 (C-5), 110,74 (C-7), 67,70 (C-10). MS (ESI): $m/z = 294,1$ ($[M+H]^+$). Izračunato za $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{FN}_5$: C, 65,52; H, 4,12; N, 23,88. Nađeno: C, 65,56; H, 4,13; N, 23,91.

1-[[1-(2-fluorfenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il]metil]-2-metil-1H-benzo[d]imidazol (46)

Spoj **46** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **32** (50 mg, 0,29 mmol) i 1-azido-2-fluorbenzena (48 mg, 0,35 mmol), uz Cu(0) (18,4 mg, 0,29 mmol) i 1 M otopinu CuSO_4 (0,06 mL) u smjesi *tert*-butanol : $\text{H}_2\text{O} = 1 : 1$ (5 mL). Nakon pročišćavanja uz eluens diklormetan : metanol = 40 : 1 izoliran je bijeli praškasti spoj **46** (73 mg, 82 %, T.t. = 170–173 °C). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) (δ/ppm): 8,73 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz, H-3'), 7,79 (td, 2H, $J = 7,9, 1,6$ Hz, H-6', H-7'), 7,48–7,72 (m, 3H, H-8', H-4, H-7), 7,32–7,48 (m, 1H, H-9'), 7,14–7,29 (m, 2H, H-5, H-6), 5,65 (s, 2H, H-1'), 2,72 (s, 3H, CH_3). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) (δ/ppm): 153,68 (d, $J = 254,0$ Hz, C-5') 143,11 (C-2), 131,33 (C-9'), 131,28 (C-3a), 125,71 (C-8'), 125,69 (d, $J = 46,8$ Hz, C-7'), 125,39 (d, $J = 34,73$ Hz, C-5'), 124,60 (C-7a), 122,02 (d, $J = 119,3$ Hz, C-4'), 119,47 (C-6'), 118,22 (C-5, C-6), 117,14 (C-3'), 117,01 (C-4), 110,74 (C-7), 67,70 (C-1'), 19,07 (CH_3). MS (ESI): $m/z = 307,1$ ($[M+H]^+$). Izračunato za $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{FN}_5$: C, 66,44; H, 4,59; N, 22,79. Nađeno: C, 66,61; H, 4,60; N, 22,85.

1-[[1-(3,5-diklorfenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il]metil]-1H-benzo[d]imidazol (47)

Spoj **47** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **32** (50 mg, 0,32 mmol) i 1-azido-3,5-diklorbenzena (71 mg, 0,38 mmol), uz Cu(0) (20,3 mg, 0,32 mmol) i 1 M otopinu CuSO_4 (0,06 mL) u smjesi *tert*-butanol : $\text{H}_2\text{O} = 1 : 1$ (5 mL). Nakon pročišćavanja uz eluens diklormetan : metanol = 40 : 1 izoliran je bijeli praškasti produkt **47** (84 mg, 77 %, T.t. = 201–203 °C). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) (δ/ppm): 8,91 (s, 1H, H-2), 8,41 (s, 1H, H-3'), 7,91 (d, 2H, $J = 9,01$ Hz, H-4, H-7), 7,63–7,71 (m, 3H, H-5, H-6, H-7'), 7,18–7,28 (m, 2H, H-5',5''), 5,67 (s, 2H, H-1'). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) (δ/ppm): 143,88 (C-2), 138,04 (C-2'), 135,16 (C-6', C-8'), 133,89 (C-3a), 130,10 (C-4'), 128,10 (C-7'), 122,55 (C-7a), 122,46 (C-5',5''), 121,47 (C-4, C-7), 122,04 (C-5, C-6), 118,82 (C-3'), 39,82 (C-10). MS (ESI): $m/z =$

344,1 ($[M+H]^+$). Izračunato za $C_{16}H_{11}Cl_2N_5$: C, 55,83; H, 3,22; N, 20,35. Nađeno: C, 55,95; H, 3,21; N, 20,31.

4-{4-(((1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)metil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil}-7-hidroksi-4a,8a-dihidro-2*H*-kromen-2-on (48)

4-(azidometil)-7-hidroksikumarin i 4-(azidometil)-7-metilkumarin sintetizirani su reakcijom natrij-azida i 4-klormetil-7-hidroksikumarina i 4-klormetil-7-metilkumarina koji su prethodno pripremljeni Pechmann-ovom ciklizacijom *m*-hidroksifenola odnosno *m*-krezola s 4-kloracetoacetatetil-esterom. [87,88,103] Spoj **48** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **31** (50 mg, 0,32 mmol) i 4-(azidometil)-7-hidroksikumarina (82 mg, 0,38 mmol), uz Cu(0) (20,3 mg, 0,32 mmol) i 1 M otopinu $CuSO_4$ (0,07 mL) u smjesi *tert*-butanol : H_2O = 1 : 1 (5 mL). Nakon pročišćavanja (diklormetan : metanol = 20 : 1) izoliran je žuti praškasti spoj **48** (91 mg, 76 %, T.t. = 184–187 °C). 1H NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$) (δ/ppm): 10,69 (s, 1H, OH), 8,28–8,33 (m, 2H, H-2, H-3'), 7,57–7,66 (m, 3H, H-6'', H-4, H-7), 7,10–7,30 (m, 2H, H-5, H-6), 6,71–6,85 (m, 3H, H-3'', H-7'', H-9''), 5,86 (s, 2H, H-4'), 5,58 (s, 2H, H-1'). ^{13}C NMR (151 MHz, $DMSO-d_6$) (δ/ppm): 161,64 (C-2''), 159,86 (C-8''), 155,05 (C-4''), 150,32 (C-10''), 143,56 (C-2'), 143,10 (C-3a), 137,09 (C-7a), 125,96 (C-6''), 124,74 (C-4), 122,35 (C-5, C-6), 121,60 (C-3'), 119,41 (C-2), 113,15 (C-7''), 110,59 (C-3''), 109,32 (C-7), 109,28 (C-5''), 102,50 (C-9''), 49,17 (C-4'), 40,37 (C-10). MS (ESI): m/z = 376,1 ($[M+H]^+$). Izračunato za $C_{20}H_{17}N_5O_3$: C, 63,99; H, 4,56; N, 18,66. Nađeno: C, 63,91; H, 4,55; N, 18,60.

4-{4-(((1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)metil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil}-7-metil-4a,8a-dihidro-2*H*-kromen-2-on (49)

Spoj **49** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **31** (40 mg, 0,26 mmol) i 4-(azidometil)-7-metilkumarina (67 mg, 0,31 mmol), uz Cu(0) (16,5 mg, 0,26 mmol) i 1 M otopine $CuSO_4$ (0,05 mL) u smjesi *tert*-butanol : H_2O = 1 : 1 (5 mL). Nakon pročišćavanja uz eluens diklormetan : metanol = 30 : 1 izoliran je žuti praškasti spoj **49** (64 mg, 67 %, T.t. = 210–212 °C). 1H NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$) (δ/ppm): 8,28–8,34 (m, 2H, H-2, H-3'), 7,50–7,74 (m, 3H, H-6'', H-4, H-7), 7,09–7,35 (m, 4H, H-7'', H-9'', H-5, H-6), 5,91 (s, 2H, H-7'), 5,79 (s, 1H, H-3''), 5,60 (s, 2H, H-1'), 2,41 (s, 3H, CH_3). ^{13}C NMR (151 MHz, $DMSO-d_6$) (δ/ppm): 159,49 (C-2''), 153,15 (C-4''), 149,92 (C-10''), 143,50 (C-3a), 143,16 (C-8''), 137,09 (C-7a), 127,07 (C-2'), 114,59 (C-5''), 125,58 (C-2), 124,71 (C-7''), 124,36 (C-6''), 119,46 (C-4), 116,79 (C-9''), 122,33 (C-5, C-6), 121,56 (C-3'), 112,81 (C-3''), 110,62 (C-7), 67,70 (C-4'),

49,15 (C-10), 19,07 (CH₃). MS (ESI): $m/z = 374,2$ ($[M+H]^+$). Izračunato za C₂₁H₁₉N₅O₂: C, 67,55; H, 5,13; N, 18,76. Nađeno: C, 67,50; H, 5,12; N, 18,70.

4-{4-(((2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)metil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil}-7-hidroksi-4a,8a-dihidro-2*H*-kromen-2-on (50)

Spoj **50** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **32** (40 mg, 0,26 mmol) i 4-(azidometil)-7-hidroksikumarina (62 mg, 0,29 mmol), uz Cu(0) (16,5 mg, 0,26 mmol) i 1 M otopinu CuSO₄ (0,05 mL) u smjesi *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 (5 mL). Nakon pročišćavanja uz eluens diklormetan : metanol = 40 : 1 izoliran je žuti praškasti spoj **50** (76 mg, 83 %, T.t. = 205–207 °C). ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 10,92 (s, 1H, OH), 8,31 (s, 1H, H-3'), 7,44–7,68 (m, 3H, H-6'', H-4, H-7), 7,04–7,25 (m, 2H, H-5, H-6), 6,70–6,92 (m, 3H, H-3'', H-7'', H-9''), 5,85 (s, 2H, H-4'), 5,52 (s, 2H, H-1'), 2,63 (s, 3H, CH₃), 2,41 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 160,11 (C-2''), 157,29 (C-8''), 153,88 (C-4''), 153,57 (C-10''), 145,39 (C-2), 144,48 (C-3a), 143,10 (C-2'), 137,09 (C-7a), 128,09 (C-6''), 126,74 (C-4), 123,66 (C-5, C-6), 123,44 (C-3'), 120,36 (C-7''), 115,46 (C-3''), 112,13 (C-7), 104,74 (C-9''), 102,25 (C-5''), 51,38 (C-4'), 40,37 (C-10), 15,88 (CH₃). MS (ESI): $m/z = 390,2$ ($[M+H]^+$). Izračunato za C₂₁H₁₉N₅O₃: C, 64,77; H, 4,92; N, 17,98. Nađeno: C, 64,70; H, 4,91; N, 17,92.

4-{4-(((2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)metil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil}-7-metil-4a,8a-dihidro-2*H*-kromen-2-on (51)

Spoj **51** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **32** (40 mg, 0,26 mmol) i 4-(azidometil)-7-metilkumarina (67 mg, 0,29 mmol), uz Cu(0) (16,5 mg, 0,26 mmol) i 1 M otopinu CuSO₄ (0,05 mL) u smjesi *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 (5 mL). Nakon pročišćavanja uz eluens diklormetan : metanol = 40 : 1 izoliran je žuti praškasti spoj **51** (74 mg, 81 %, T.t. = 128–130 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 8,30 (s, 1H, H-3'), 7,46–7,74 (m, 3H, H-6'', H-4, H-7), 7,06–7,34 (m, 4H, H-7'', H-9'', H-5, H-6), 5,90 (s, 2H, H-4'), 5,78 (s, 1H, H-3''), 5,54 (s, 2H, H-1'), 2,64 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 161,71 (C-2''), 155,36 (C-4''), 152,11 (C-10''), 145,72 (C-3a), 145,34 (C-2), 137,09 (C-7a), 134,69 (C-2'), 126,75 (C-7''), 126,57 (C-6''), 123,86 (C-5, C-6), 123,66 (C-3'), 120,24 (C-4), 116,80 (C-5''), 119,00 (C-9''), 115,05 (C-3''), 112,31 (C-7), 51,36 (C-4'), 40,49 (C-10), 23,22 (CH₃), 15,85 (CH₃). MS (ESI): $m/z = 388,2$ ($[M+H]^+$). Izračunato za C₂₂H₂₁N₅O₂: C, 68,20; H, 5,46; N, 18,08. Nađeno: C, 68,01; H, 5,44; N, 18,15.

4-{4-[[[(5-jod-1*H*-indol-1-il)metil]-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]metil]-7-hidroksi-4a,8a-dihidro-2*H*-kromen-2-on (52)

Spoj **52** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **33** (50 mg, 0,18 mmol) i 4-(azidometil)-7-hidroksikumarina (48 mg, 0,22 mmol), uz Cu(0) (14 mg, 0,22 mmol) i 1 M otopinu CuSO₄ (0,04 mL) u smjesi *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 (5 mL). Nakon pročišćavanja uz eluens diklormetan : metanol = 40 : 1 izoliran je žuti praškasti spoj **52** (76 mg, 85 %, T.t. = 139–141 °C). ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 10,65 (s, 1H, OH), 8,12 (s, 2H, H-2, H-3'), 7,89 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-4), 7,62 (d, 1H, *J* = 8,8 Hz, H-6"), 7,30–7,50 (m, 2H, H-6, H-7), 6,67–6,86 (m, 2H, H-9", H-7"), 6,33–6,49 (m, 2H, H-3, H-3"), 5,82 (s, 2H, H-4'), 5,49 (d, 2H, *J* = 21,4 Hz, H-1'). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 161,59 (C-2"), 159,85 (C-8"), 155,05 (C-10"), 154,33 (C-4"), 143,91 (C-2), 134,65 (C-2'), 131,00 (C-3a), 129,73 (C-7a), 129,00 (C-5), 128,81 (C-6), 125,98 (C-6"), 124,33 (C-3'), 113,12 (C-7), 112,60 (C-7"), 109,32 (C-5"), 109,25 (C-3"), 102,49 (C-9"), 100,44 (C-4), 83,02 (C-3), 49,11 (C-4'), 40,90 (C-10). MS (ESI): *m/z* = 500,1 ([*M*+*H*]⁺). Izračunato za C₂₁H₁₇IN₄O₃: C, 50,42; H, 3,43; N, 11,20. Nađeno: C, 50,36; H, 3,42; N, 11,16.

4-{4-[[[(5-jod-1*H*-indol-1-il)metil]-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]metil]-7-metil-4a,8a-dihidro-2*H*-kromen-2-on 53

Spoj **53** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **33** (40 mg, 0,14 mmol) i 4-(azidometil)-7-metilkumarina (37 mg, 0,17 mmol), uz Cu(0) (14 mg, 0,22 mmol) i 1 M otopinu CuSO₄ solution (0,04 mL) u smjesi *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 (4 mL). Nakon pročišćavanja uz eluens diklormetan : metanol = 70 : 1 izoliran je žuti praškasti spoj **53** (73 mg, 78 %, T.t. = 246–247 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,15 (s, 1H, H-3'), 7,91 (d, 1H, *J* = 1,3 Hz, H-4), 7,65 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz, H-6"), 7,22–7,40 (m, 3H, H-6, H-7, H-2), 7,13–7,27 (m, 2H, H-7", H-9"), 6,42 (d, 1H, *J* = 3,1 Hz, H-3), 5,88 (s, 2H, H-4'), 5,77 (s, 1H, H-3"), 5,49 (s, 2H, H-1'), 2,41 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 160,01 (C-2"), 153,64 (C-4"), 150,50 (C-10"), 144,44 (C-8"), 144,00 (C-2), 135,12 (C-2'), 131,50 (C-3a), 130,27 (C-5), 129,50 (C-7a), 129,30 (C-6), 126,09 (C-7"), 125,97 (C-6"), 124,86 (C-3'), 117,29 (C-9"), 115,09 (C-5"), 113,25 (C-7), 113,11 (C-3"), 100,93 (C-4), 83,55 (C-3), 49,60 (C-4'), 41,42 (C-10), 21,54 (CH₃). MS (ESI): *m/z* = 498,1 ([*M*+*H*]⁺). Izračunato za C₂₂H₁₉IN₄O₂: C, 53,03; H, 3,84; N, 11,24. Nađeno: C, 52,94; H, 3,83; N, 11,28.

2-[4-(prop-2-in-1-il)aminofenil]-6-metilbenzo[*d*]tiazol (54)

Otopini 2-(4-aminofenil)-6-metilbenzotiazola (2,88 g, 12 mmol) u bezvodnom acetonu (100 mL) dodan je bezvodni K_2CO_3 (8,82 g, 64 mmol) te je reakcijska smjesa miješana na temperaturi refluksa 30 min. Zatim je dodan kalij-jodid (996 mg, 6 mmol) i propargil-bromid (1,09 mL, 14,4 mmol). Reakcijska smjesa miješana je na temperaturi refluksa 24 h. Nakon završetka reakcije, smjesa je ohlađena, filtrirana, a filtrat je uparen pri sniženim tlakom i pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens diklormetan : metanol = 70 : 1 kako bi se izolirao žuti praškasti spoj **54** (773 mg, 23 %, T.t. = 176–178 °C). 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 7,77–7,82 (m, 4H, H-4, H-7, H-2',2''), 7,26 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz, H-6), 6,71–6,75 (m, 3H, H-3',3''), NH), 3,95 (dd, 2H, $J = 5,9$ Hz, H-6'), 3,10 (s, 1H, H-8'), 2,41 (s, 3H, CH₃). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 166,79 (C-2), 151,97 (C-3a), 150,40 (C-10), 134,07 (C-7a), 133,95 (C-4), 128,32 (C-3',3''), 127,60 (C-4'), 121,50 (C-5), 121,46 (C-6), 121,30 (C-2',2''), 112,61 (C-7), 81,48 (C-7'), 73,27 (C-8'), 31,75 (C-6'), 20,94 (CH₃). MS (ESI): $m/z = 279,1$ ($[M+H]^+$). Izračunato za C₁₇H₁₄N₂S: C, 73,35; H, 5,07; N, 10,06. Nađeno: C, 73,30; H, 5,08; N, 10,03.

2-{4-[(1-(4-fluorfenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil]aminofenil}-6-metilbenzo[d]tiazol (55)

Spoj **55** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **54** (150 mg, 0,54 mmol) i 1-azido-4-fluorbenzena (89 mg, 0,65 mmol), uz Cu(0) (34 mg, 0,54 mmol) i 1 M otopinu CuSO₄ (0,06 mL) u smjesi *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 (5 mL). Nakon pročišćavanja (diklormetan : metanol = 120 : 1) izoliran je praškasti spoj **55** (166 mg, 74 %, T.t. = 215–217 °C). 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 8,81 (s, 1H, H-8'), 7,74–7,91 (m, 5H, H-4, H-7, H-6, H-2',2''), 7,64 (dd, 2H, $J = 14,5$, $J_{H-H} = 8,2$ Hz, H-3'''), 7,25–7,34 (m, 2H, H-2'''), 6,95 (t, 1H, $J = 5,7$ Hz, NH), 6,80 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, H-3',3''), 4,49 (d, 2H, $J = 5,7$ Hz, H-6'), 2,42 (s, 3H, CH₃). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 166,81 (C-2), 163,22 (d, $J = 243,1$ Hz, C-4'''), 162,20 (C-7'), 151,97 (C-3a), 150,85 (C-4'), 146,36 (C-10''), 133,88 (C-7a), 131,82 (C-8'), 128,44 (C-3',3''), 127,58 (C-5), 121,50 (C-6), 121,40 (C-10), 120,85 (C-4), 120,77 (C-2',2''), 115,83 (d, $J = 21,14$ Hz, C-2'''), 112,24 (C-7), 107,48 (d, $J = 27,2$ Hz, C-3'''), 38,02 (C-6'), 20,94 (CH₃). MS (ESI): $m/z = 416,1$ ($[M+H]^+$). Izračunato za C₂₃H₁₈FN₅S: C, 66,49; H, 4,37; N, 16,86. Nađeno: C, 66,58; H, 4,38; N, 16,89.

2-{4-[(1-(2-fluorfenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil]aminofenil}-6-metilbenzo[d]tiazol (56)

Spoj **56** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **54** (50 mg, 0,18 mmol) i 1-azido-2-fluorbenzena (30 mg, 0,22 mmol), uz Cu(0) (11 mg, 0,18 mmol) i 1 M otopinu CuSO₄ (0,05 mL) u smjesi *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 (4 mL). Nakon pročišćavanja uz eluens

diklormetan : metanol = 120 : 1 izoliran je uljasti spoj **56** (62 mg, 83 %). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 8,74 (s, 1H, H-8'), 7,87–8,05 (m, 2H, H-5'', H-6'''), 7,77–7,81 (m, 5H, H-4, H-6, H-7, H-2',2'') 7,78 (dd, 1H, $J_{\text{H-H}} = 8,4$, $J = 4,9$ Hz, H-4'''), 7,27 (dd, 1H, $J_{\text{H-H}} = 8,4$, $J = 1,4$ Hz, H-2'''), 6,97 (t, 1H, $J = 5,7$ Hz, NH), 6,80 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, H-3',3''), 4,48 (d, 2H, $J = 5,6$ Hz, H-6'), 2,42 (s, 3H, CH₃). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 166,82 (C-2), 162,35 (C-4'''), 160,72 (C-7'), 151,97 (d, $J = 164,3$ Hz, C-3'''), 150,88 (C-3a), 146,18 (C-4'), 134,01 (C-7a), 133,94 (d, $J = 16,6$ Hz, C-1'''), 133,20 (d, $J = 13,6$ Hz, C-5'''), 132,12 (C-8'), 128,43 (C-3',3''), 127,58 (C-5), 122,28 (d, $J = 9,1$ Hz, C-6'''), 121,49 (C-6), 121,46 (C-10), 121,40 (C-4), 120,83 (C-2',2''), 116,69 (d, $J = 22,7$ Hz, C-2'''), 112,24 (C-7), 38,04 (C-6'), 20,94 (CH₃). MS (ESI): $m/z = 416,1$ ($[M+H]^+$). Izračunato za C₂₃H₁₈FN₅S: C, 66,49; H, 4,37; N, 16,86. Nađeno: C, 66,61; H, 4,36; N, 16,83.

2-{4-[[((1-(3,5-diklorfenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil]aminofenil)-6-metilbenzo[d]tiazol (57)

Spoj **57** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **54** (50 mg, 0,18 mmol) i 1-azido-3,5-diklorbenzena (41 mg, 0,22 mmol), uz Cu(0) (11 mg, 0,18 mmol) i 1 M otopinu CuSO₄ (0,05 mL) u smjesi *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 (4 mL). Nakon pročišćavanja uz eluens diklormetan : metanol = 120 : 1 izoliran je uljasti produkt **57** (70 mg, 84 %). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 8,90 (s, 1H, H-8'), 8,08 (d, 2H, $J = 1,7$ Hz, H-2'''), 7,71–7,87 (m, 5H, H-4, H-7, H-2',2'', H-4'''), 7,27 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, H-6), 7,01 (t, 1H, $J = 5,7$ Hz, NH), 6,79 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, H-3',3''), 4,50 (d, $J = 5,7$ Hz, 2H, H-6'), 2,42 (s, 3H, CH₃). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 167,31 (C-2), 160,34 (C-7'), 152,44 (C-1'''), 151,29 (C-3a), 147,16 (C-4'), 138,70 (C-10''), 135,73 (C-8'), 134,52 (C-7a), 134,36 (C-4), 128,95 (C-3',3''), 128,39 (C-3'''), 122,07 (C-6), 122,00 (C-10), 121,90 (C-5), 121,34 (C-2',2''), 119,01 (C-2'''), 112,72 (C-7), 38,46 (C-6'), 21,44 (CH₃). MS (ESI): $m/z = 466,1$ ($[M+H]^+$). Izračunato za C₂₃H₁₇Cl₂N₅S: C, 59,23; H, 3,67; N, 15,02. Nađeno: C, 59,49; H, 3,68; N, 15,05.

2-{4-[[((1-(4-klorfenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil]aminofenil)-6-metilbenzo[d]tiazol (58)

Spoj **58** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **54** (50 mg, 0,18 mmol) i 1-azido-4-klorbenzena (34 mg, 0,22 mmol), uz Cu(0) (11 mg, 0,18 mmol) i 1 M otopinu CuSO₄ (0,05 mL) u smjesi *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 (4 mL). Nakon pročišćavanja uz eluens diklormetan : metanol = 120 : 1 izoliran je uljasti spoj **58** (62 mg, 80 %). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 8,79 (s, 1H, H-8'), 7,94 (d, 2H, $J = 9,4$ Hz, H-3'''), 7,75–7,84 (m, 4H, H-4, H-7, H-2',2''), 7,68 (d, 2H $J = 8,4$ Hz, H-2'''), 7,27 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-6), 6,97 (t, 1H, $J =$

5,7 Hz, NH), 6,80 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, H-3',3''), 4,48 (d, 2H, $J = 5,6$ Hz, H-6'), 2,42 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 167,32 (C-2), 158,29 (C-7'), 152,45 (C-4'''), 151,35 (C-3a), 146,84 (C-1'''), 140,63 (C-4'), 135,91 (C-7a), 134,50 (C-8'), 134,37 (C-3',3''), 130,34 (C-5), 128,94 (C-3'''), 128,09 (C-6), 122,11 (C-10), 122,01 (C-4), 121,90 (C-2',2''), 121,31 (C-2'''), 112,73 (C-7), 38,50 (C-6'), 21,45 (CH₃). MS (ESI): $m/z = 432,1$ ($[M+H]^+$). Izračunato za C₂₃H₁₈ClN₅S: C, 63,95; H, 4,20; N, 16,21. Nađeno: C, 63,90; H, 4,21; N, 16,22.

4-[[4-((4-(6-metilbenzo[*d*]tiazol-2-il)fenilamino)metil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]metil]-7-hidroksi-4a,8a-dihidro-2*H*-kromen-2-on (59)

Spoj **59** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **54** (50 mg, 0,18 mmol) i 4-(azidometil)-7-hidroksikumarina (48 mg, 0,22 mmol), uz Cu(0) (11 mg, 0,18 mmol) i 1 M otopinu CuSO₄ (0,05 mL) u smjesi *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 (4 mL). Nakon pročišćavanja uz eluens diklormetan : metanol = 50 : 1 izoliran je žuti praškasti spoj **59** (60 mg, 68 %, T.t. = 229–231 °C). ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 10,68 (s, 1H, OH), 8,16 (s, 1H, H-8'), 7,76–7,88 (m, 3H, H-4, H-6''', H-9'''), 7,70 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, H-6), 7,28 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz, H-7), 6,91 (t, 1H, $J = 5,8$ Hz, NH), 6,83 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, H-7'''), 6,73–6,81 (m, 4H, H-2',2'', H-3',3''), 5,89 (s, 2H, H-6'), 6,76 (s, 1H, H-3'''), 4,45 (d, 2H, $J = 5,7$ Hz, H-9'), 2,43 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 166,84 (C-2'''), 161,59 (C-2), 159,90 (C-8'''), 155,04 (C-3a), 151,97 (C-10'''), 150,89 (C-1'), 150,69 (C-1'''), 145,60 (C-4'), 133,99 (C-6), 133,89 (C-7a), 128,41 (C-2',2''), 127,57 (C-7'''), 126,04 (C-5), 124,04 (C-7'), 121,49 (C-6'''), 121,40 (C-9'''), 120,77 (C-4, C-7), 113,13 (C-3'''), 112,21 (C-8'), 109,36 (C-3',3''), 109,05 (C-5'''), 102,48 (C-4'''), 49,09 (C-6'), 38,05 (C-9'), 20,94 (CH₃). MS (ESI): $m/z = 498,2$ ($[M+H]^+$). Izračunato za C₂₇H₂₃N₅O₃S: C, 65,17; H, 4,66; N, 14,08. Nađeno: C, 65,15; H, 4,67; N, 14,11.

4-[[4-((4-(6-metilbenzo[*d*]tiazol-2-il)fenilamino)metil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]metil]-7-metil-4a,8a-dihidro-2*H*-kromen-2-on (60)

Spoj **60** sintetiziran je prema navedenom općem postupku iz spoja **64** (50 mg, 0,18 mmol) i 4-(azidometil)-7-metilkumarina (47 mg, 0,22 mmol), uz Cu(0) (11 mg, 0,18 mmol) i 1 M otopinu CuSO₄ (0,05 mL) u smjesi *tert*-butanol : H₂O = 1 : 1 (4 mL). Nakon pročišćavanja (diklormetan : metanol = 50 : 1) izoliran je žuti praškasti spoj **60** (63 mg, 71 %, T.t. = 263–265 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 8,17 (s, 1H, H-8'), 7,62–7,88 (m, 3H, H-4, H-6''', H-9'''), 7,18–7,30 (m, 5H, H-6, H-7, H-2',2'', H-7'''), 6,92 (s, 1H, NH), 6,75 (s, 1H, H-3'''), 5,93 (s, 2H, H-6'), 5,77 (d, 2H, $J = 8,3$ Hz, H-3',3''), 4,44 (s, 2H, H-9'), 3,33 (s, 3H, CH₃),

2,41 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 166,81 (C-2'''), 159,53 (C-2), 153,14 (C-8'''), 151,90 (C-3a), 150,89 (C-10'''), 150,20 (C-1'), 145,62 (C-1'''), 143,51 (C-4'), 133,94 (C-7a), 128,42 (C-6), 127,65 (C-2',2''), 125,65 (C-7'''), 124,40 (C-5), 121,57 (C-7'), 121,46 (C-6'''), 120,73 (C-9'''), 116,81 (C-4), 116,75 (C-7), 114,69 (C-3'''), 112,63 (C-8'), 112,20 (C-3',3''), 107,32 (C-5'''), 102,52 (C-4''') 49,03 (C-6'), 38,05 (C-9'), 21,01 (CH₃), 20,91 (CH₃). MS (ESI): *m/z* = 496,2 ([*M*+*H*]⁺). Izračunato za C₂₈H₂₅N₅O₂S: C, 67,86; H, 5,08; N, 14,13. Nađeno: C, 67,77; H, 5,07; N, 14,12.

4.3.4. Opći postupak za sintezu *N*-alkiliranih 1,2,3-triazola 61a,b–64a

Derivat triazola (35–38) otopljen je u DMF-u i dodan je K₂CO₃ (1 ekv.). Smjesa je miješana 30 min te je dodan 2-acetoksimetil-4-jodbutilacetat (1 ekv.) [84]. Miješanje je nastavljeno preko noći na sobnoj temperaturi. Talog je odfiltriran, a otapalo upareno pri sniženom tlaku. Ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom kromatografijom.

1-[[2-(4-acetoksi-3-(acetoksimetil)butil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil]-1*H*-benzo[*d*]imidazol (61a) i 1-[[1-(4-acetoksi-3-(acetoksimetil)butil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil]-1*H*-benzo[*d*]imidazol (61b)

Spojevi su sintetizirani prema općenitom postupku iz spoja 35 (200 mg, 1,0 mmol). Nakon pročišćavanja (diklormetan : metanol = 15 : 1) izolirani su žuti uljasti spojevi 61a (298 mg, 77 %) i 61b (95 mg, 25 %).

61a: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,31 (s, 1H, H-2), 7,78 (s, 1H, H-3'), 7,56–7,66 (m, 2H, H-4, H-7), 7,15–7,26 (m, 2H, H-5, H-6), 5,57 (s, 2H, H-1'), 4,45 (t, 2H, *J* = 6,7 Hz, H-40), 3,91–4,03 (m, 4H, 2 x H-7'), 1,98 (s, 6H, 2 x COCH₃), 1,83–1,93 (m, 3H, H-5', H-6'). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 170,19 (COCH₃), 143,87 (C-2), 143,44 (C-2'), 143,33 (C-3a), 133,49 (C-7a), 133,20 (C-3'), 122,38 (C-5), 121,64 (C-6), 119,39 (C-4), 110,51 (C-7), 63,24 (C-7'), 51,96 (C-4'), 34,36 (C-6'), u DMSO-u (C-1'), 27,90 (C-5'), 20,51 (COCH₃). MS (ESI): *m/z* = 386,2 ([*M*+*H*]⁺). Izračunato za C₁₉H₂₃N₅O₄: C, 59,21; H, 6,01; N, 18,17. Nađeno: C, 59,15; H, 6,02; N, 18,21.

61b: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,31 (s, 1H, H-2), 8,15 (s, 1H, H-3'), 7,54–7,71 (m, 2H, H-4, H-7), 7,17–7,26 (m, 2H, H-5, H-6), 5,56 (s, 2H, H-1'), 4,41 (t, 2H, *J* = 7,1 Hz, H-4'), 3,99 (d, 4H, *J* = 4,8 Hz, 2 x H-7'), 1,98 (s, 6H, 2 x COCH₃), 1,80–1,92 (m, 3H, H-5', H-6'). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 170,29 (COCH₃), 143,81 (C-2), 142,46 (C-2'), 140,53 (C-3a), 133,43 (C-7a), 123,53 (C-3'), 122,41 (C-5), 121,69 (C-6), 119,28 (C-4),

110,68 (C-7), 63,30 (C-7'), 47,17 (C-4'), 34,33 (C-6'), u DMSO-u (C-1'), 28,57 (C-5'), 20,52 (COCH₃). MS (ESI): $m/z = 386,2$ ($[M+H]^+$). Izračunato za C₁₉H₂₃N₅O₄: C, 59,21; H, 6,01; N, 18,17. Nađeno: C, 59,10; H, 6,03; N, 18,15.

1-{2-[4-(acetoksi-3-(acetoksimetil)butil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil}-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol (62a) i 1-[[1-(4-acetoksi-3-(acetoksimetil)butil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil]-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol (62b)

Spojevi su sintetizirani prema općenitom postupku iz spoja **36** (80 mg, 0,38 mmol). Nakon pročišćavanja (diklormetan : metanol = 15 : 1) izolirani su bezbojni uljasti spojevi **62a** (129 mg, 84 %) i **62b** (28 mg, 19 %).

62a: ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 7,75 (s, 1H, H-3'), 7,54 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz, H-7), 7,50 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, H-4), 7,12–7,17 (m, 2H, H-5, H-6), 5,48 (s, 2H, H-1'), 4,44 (t, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-4'), 3,93–4,00 (m, 4H, 2 x H-7'), 2,60 (s, 3H, CH₃), 1,97 (s, 6H, 2 x COCH₃), 1,86–1,88 (m, 3H, H-6', H-5'). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 170,18 (COCH₃), 151,62 (C-2), 143,57 (C-2'), 142,28 (C-3a), 134,91 (C-7a), 132,96 (C-3'), 121,48 (C-5), 121,27 (C-6), 118,18 (C-4), 109,81 (C-7), 63,23 (C-7'), 51,92 (C-4'), 38,00 (C-1'), 34,35 (C-6'), 27,87 (C-5'), 20,50 (COCH₃), 13,57 (CH₃). MS (ESI): $m/z = 400,2$ ($[M+H]^+$). Izračunato za C₂₀H₂₅N₅O₄: C, 60,14; H, 6,31; N, 17,53. Nađeno: C, 60,05; H, 6,32; N, 17,59.

62b: ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 8,12 (s, 1H, H-3'), 7,55 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-7), 7,48 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, H-4), 7,08–7,17 (m, 2H, H-5, H-6), 5,45 (s, 2H, H-1'), 4,37 (t, 2H, $J = 7,3$ Hz, H-4'), 3,90–4,02 (m, 4H, 2 x H-7'), 2,61 (s, 3H, CH₃), 1,95 (s, 6H, 2 x COCH₃), 1,85–1,90 (m, 1H, H-6'), 1,80–1,84 (m, 2H, H-5'). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 170,22 (COCH₃), 151,63 (C-2), 142,66 (C-2'), 142,29 (C-3a), 134,89 (C-7a), 123,21 (C-3'), 121,41 (C-5), 121,20 (C-6), 118,13 (C-4), 109,91 (C-7), 63,32 (C-7'), 47,15 (C-4'), 38,22 (C-1'), 34,38 (C-6'), 28,60 (C-5'), 20,52 (COCH₃), 13,65 (CH₃). MS (ESI): $m/z = 400,2$ ($[M+H]^+$). Izračunato za C₂₀H₂₅N₅O₄: C, 60,14; H, 6,31; N, 17,53. Nađeno: C, 60,02; H, 6,32; N, 17,55.

1-[[2-(4-acetoksi-3-(acetoksimetil)butil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil]-5-jod-1*H*-indol (63a) i 1-[[1-(4-acetoksi-3-(acetoksimetil)butil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil]-5-jod-1*H*-indol (63b)

Spojevi su sintetizirani prema općenitom postupku iz spoja **37** (123 mg, 0,38 mmol). Nakon pročišćavanja uz etil-acetat kao eluens izolirani su žuti uljasti spojevi **63a** (51 mg, 26 %) i **63b** (23 mg, 3 %).

63a: ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 7,91 (s, 1H, H-2), 7,64 (s, 1H, H-3'), 7,43 (d, 1H, $J = 3,2$ Hz, H-4), 7,34–7,42 (m, 2H, H-6, H-7), 6,42 (d, 1H, $J = 3,1$ Hz, H-3), 5,45 (s, 2H, H-1'), 4,44 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-4'), 3,91–4,04 (m, 4H, H-7'), 1,98 (s, 6H, 2 x COCH₃), 1,86–1,94 (m, 3H, H-6', H-5'). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 170,70 (COCH₃), 144,68 (C-2'), 135,19 (C-7a), 133,43 (C-4), 131,49 (C-3a), 130,23 (C-2), 129,53 (C-6), 129,32 (C-3'), 113,02 (C-7), 101,01 (C-3), 83,54 (C-5), 63,74 (C-7'), 52,38 (C-4'), 41,14 (C-1'), 34,85 (C-6'), 28,40 (C-5'), 21,04 (COCH₃). MS (ESI): $m/z = 511,1$ ($[M+H]^+$). Izračunato za C₂₀H₂₃IN₄O₄: C, 47,07; H, 4,54; N, 10,98. Nađeno: C, 46,98; H, 4,55; N, 10,95.

63b: ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 8,02 (s, 1H, H-3'), 7,91 (s, 1H, H-2), 7,35–7,46 (m, 3H, H-4, H-6, H-7), 6,41 (d, 1H, $J = 2,7$ Hz, H-3), 5,44 (s, 2H, H-1'), 4,39 (t, 2H, $J = 7,3$ Hz, H-4'), 3,98 (d, 4H, $J = 4,6$ Hz, H-7'), 1,98 (s, 6H, 2 x COCH₃), 1,79–1,89 (m, 3H, H-6', H-5'). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 170,21 (COCH₃), 143,27 (C-2'), 134,66 (C-7a), 131,00 (C-3a), 129,68 (C-4), 128,97 (C-2), 128,77 (C-6), 123,11 (C-3'), 112,62 (C-7), 100,34 (C-3), 82,93 (C-5), 63,33 (C-7'), 47,11 (C-4'), 40,97 (C-1'), 34,41 (C-6'), 28,64 (C-5'), 20,53 (COCH₃). MS (ESI): $m/z = 511,1$ ($[M+H]^+$). Izračunato za C₂₀H₂₃IN₄O₄: C, 47,07; H, 4,54; N, 10,98. Nađeno: C, 47,01; H, 4,55; N, 10,95.

1-{2[-4-acetoksi-3-(acetoksietil)butil]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil}-5-fluor-1*H*-indol (**64a**)

Spoj **64a** sintetiziran je prema općenitom postupku iz spoja **38** (101 mg, 0,47 mmol). Nakon pročišćavanja (*n*-heksan : etil-acetat = 1 : 1) izoliran je bezbojan uljasti spoj **64a** (126 mg, 66 %). ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 7,64 (s, 1H, H-3'), 7,52 (dd, 1H, $J = 8,9$ Hz, $J = 4,5$ Hz, H-4), 7,49 (d, 1H, $J = 3,1$ Hz, H-2), 7,29 (dd, 1H, $J = 2,5$ Hz, $J = 9,9$ Hz, H-7), 6,96 (td, 1H, $J = 2,5$ Hz, $J = 9,2$ Hz, H-6), 6,44 (dd, 1H, $J = 3,2$ Hz, $J = 0,7$ Hz, H-3), 5,46 (s, 2H, H-1'), 4,45 (t, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-4'), 3,94–4,01 (m, 4H, H-7'), 1,98 (s, 6H, 2 x COCH₃), 1,86–1,90 (m, 3H, H-6', H-5'). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 170,24 (COCH₃), 157,09 ($J = 231,8$ Hz, C-5), 144,30 (C-2'), 134,83 (C-7a), 132,96 (C-3'), 128,49 ($J = 10,3$ Hz, C-3a), 130,52 (C-2), 109,18 ($J = 25,5$ Hz, C-6), 110,91 ($J = 9,8$ Hz, C-7), 105,00 (C-4, $J = 23,3$ Hz), 101,15 ($J = 4,5$ Hz, C-3), 63,23 (C-7'), 51,87 (C-4'), 40,75 (C-1'), 34,33 (C-6'), 27,90 (C-5'), 20,52 (COCH₃). MS (ESI): $m/z = 403,2$ ($[M+H]^+$). Izračunato za C₂₀H₂₃FN₄O₄: C, 59,69; H, 5,76; N, 13,92. Nađeno: C, 59,76; H, 5,78; N, 13,89.

4.3.5. Opći postupak za sintezu spojeva 65a,b–68a

Suhi triazolni derivat (**61a,b–64a**) otopljen je u bezvodnom metanolu te je dodana svježe pripremljena 0.1 M otopina NaOCH₃ u metanolu. Reakcijska smjesa je miješana 4 h na sobnoj temperaturi, zatim neutralizirana sa HCl/CH₃OH. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatak pročišćen kolonskom kromatografijom.

1-[[2-(4-(hidroksi-3-(hidroksimetil)butil)-1H-1,2,3-triazol-4-il]metil]-1H-benzo[d]imidazole (65a)

Spoj **65a** sintetiziran je prema općenitom postupku iz spoja **61a** (290 mg, 0,75 mmol) i 0,1 M otopine NaOCH₃/CH₃OH (0,75 mL). Spoj žuti uljasti spoj **65a** (211 mg, 93 %) izoliran je nakon pročišćavanja (diklormetan : metanol = 10 : 1). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 8,31 (s, 1H, H-2), 7,74 (s, 1H, H-3'), 7,56–7,66 (m, 2H, H-4, H-7), 7,15–7,27 (m, 2H, H-5, H-6), 5,56 (s, 2H, H-1'), 4,34–4,45 (m, 4H, H-4', 2 x OH), 3,32–4,43 (m, 4H, H-7'), 1,77–1,85 (m, 2H, H-5'), 1,40–1,48 (m, 1H, H-6'). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 143,88 (C-2), 143,76 (C-2'), 143,69 (C-3a), 134,02 (C-7a), 133,46 (C-3'), 122,90 (C-5), 122,11 (C-6), 119,93 (C-4), 111,02 (C-7), 61,59 (C-7'), 53,27 (C-4'), 40,90 (C-6'), 39,63 (C-1'), 28,81 (C-5'). MS (ESI): *m/z* = 302,2 ([*M*+H]⁺). Izračunato za C₁₅H₁₉N₅O₂: C, 59,79; H, 6,36; N, 23,24. Nađeno: C, 59,87; H, 6,34; N, 23,14.

1-[[1-(4-(hidroksi-3-(hidroksimetil)butil)-1H-1,2,3-triazol-4-il]metil]-1H-benzo[d]imidazol (65b)

Spoj **65b** sintetiziran je prema općenitom postupku iz spoja **61b** (90 mg, 0,23 mmol) 0,1 M otopine NaOCH₃/CH₃OH (0,23 mL). Bezbojan uljasti spoj **65b** (61 mg, 86 %) izoliran je nakon pročišćavanja uz eluens diklormetan : metanol = 10 : 1. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 8,31 (s, 1H, H-2), 7,60–7,67 (m, 2H, H-4, H-7), 7,27–7,38 (m, 2H, H-5, H-6), 5,55 (s, 2H, H-1'), 8,14 (s, 1H, H-3'), 4,40–4,50 (m, 4H, H-4', 2 x OH), 3,32–4,43 (m, 4H, H-7'), 1,72–1,79 (m, 2H, H-5'), 1,39–1,47 (m, 1H, H-6'). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 143,90 (C-2), 142,87 (C-2'), 140,44 (C-3a), 134,02 (C-7a), 123,81 (C-3'), 122,81 (C-5), 122,05 (C-6), 119,86 (C-4), 111,15 (C-7), u DMSO-u (C-1'), 61,64 (C-7'), 48,39 (C-4'), 41,00 (C-6'), 29,53 (C-5'). MS (ESI): *m/z* = 302,2 ([*M*+H]⁺). Izračunato za C₁₅H₁₉N₅O₂: C, 59,79; H, 6,36; N, 23,24. Nađeno: C, 59,84; H, 6,34; N, 23,15.

1-[[2-(4-(hidroksi-3-(hidroksimetil)butil)-1H-1,2,3-triazol-4-il]metil]-2-metil-1H-benzo[d]imidazol (36a)

Spoj **66a** sintetiziran je prema općenitom postupku iz spoja **62a** (112 mg, 0,28 mmol) i 0,1 M otopine NaOCH₃/CH₃OH (0,28 mL). Nakon pročišćavanja uz eluens diklormetan : metanol = 7 : 1 izoliran je uljasti spoj **66a** (54 mg, 61 %). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 7,72 (s, 1H, H-3'), 7,48–7,57 (m, 2H, H-4, H-7), 7,09–7,20 (m, 2H, H-5, H-6), 5,48 (s, 2H, H-1'), 4,36–4,42 (m, 4H, H-4', 2 x OH), 3,30–3,45 (m, 4H, H-7'), 2,60 (s, 3H, CH₃), 1,76–1,83 (m, 2H, H-5'), 1,38–1,47 (m, 1H, H-6'). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 150,02 (C-2), 143,80 (C-2'), 143,72 (C-3a), 133,69 (C-7a), 133,22 (C-3'), 122,02 (C-5), 121,77 (C-6), 118,68 (C-4), 110,34 (C-7), 61,58 (C-7'), 53,25 (C-4'), 40,93 (C-6'), 38,51 (C-1'), 28,79 (C-5'), 14,11 (CH₃). MS (ESI): *m/z* = 316,2 ([*M*+*H*]⁺). Izračunato za C₁₆H₂₁N₅O₂: C, 60,94; H, 6,71; N, 22,21. Nađeno: C, 60,88; H, 6,70; N, 22,24.

1-[[1-(4-hidroksi-3-(hidroksimetil)butil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil]-2-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol (66b)

Spoj **66b** sintetiziran je prema općenitom postupku iz spoja **62b** (29 mg, 0,07 mmol) i 0,1 M otopine NaOCH₃/CH₃OH (0,07 mL). Nakon pročišćavanja (diklormetan : metanol = 7 : 1) izoliran je bezbojan uljasti spoj **66b** (10 mg, 43 %). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,13 (s, 1H, H-3'), 7,45–7,61 (m, 2H, H-4, H-7), 7,12–7,19 (m, 2H, H-5, H-6), 5,46 (s, 2H, H-1'), 4,30–4,49 (m, 4H, H-4', 2 x OH), 3,31–3,45 (m, 4H, H-7'), 2,64 (s, 3H, CH₃), 1,72–1,79 (m, 2H, H-5'), 1,39–1,51 (m, 1H, H-6'). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 150,89 (C-2), 143,02 (C-2'), 142,77 (C-3a), 133,69 (C-7a), 123,53 (C-3'), 121,93 (C-5), 121,70 (C-6), 118,62 (C-4), 110,45 (C-7), 61,64 (C-7'), 48,39 (C-4'), 41,03 (C-6'), 38,71 (C-1'), 29,52 (C-5'), 14,17 (CH₃). MS (ESI): *m/z* = 316,2 ([*M*+*H*]⁺). Izračunato za C₁₆H₂₁N₅O₂: C, 60,94; H, 6,71; N, 22,21. Nađeno: C, 60,85; H, 6,69; N, 22,25.

1-[[2-(4-hidroksi-3-(hidroksimetil)butil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil]-5-jod-1*H*-indol (67a)

Spoj **67a** sintetiziran je prema općenitom postupku iz spoja **63a** (51 mg, 0,1 mmol) i 0,1 M otopine NaOCH₃/CH₃OH (0,1 mL). Nakon pročišćavanja uz eluens diklormetan : metanol = 15 : 1 izoliran je žuti uljasti spoj **67a** (19 mg, 45 %). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 7,91 (s, 1H, H-2), 7,61 (s, 1H, H-3'), 7,43 (d, 1H, *J* = 3,2 Hz, H-4), 7,39 (s, 2H, H-6, H-7), 6,42 (d, 1H, *J* = 3,1 Hz, H-3), 5,45 (s, 2H, H-1'), 4,37–4,42 (m, 4H, H-4', 2 x OH), 3,30–3,45 (m, 4H, H-7'), 1,77–1,84 (m, 2H, H-5'), 1,40–1,48 (m, 1H, H-6'). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 143,91 (C-2'), 134,71 (C-7a), 132,67 (C-4), 130,98 (C-3a), 129,72 (C-2), 129,06 (C-6), 128,82 (C-3'), 112,52 (C-7), 100,51 (C-3), 83,01 (C-5), 61,14 (C-7'),

52,72 (C-4'), 40,67 (C-1'), 40,45 (C-6'), 28,35 (C-5'). MS (ESI): $m/z = 427,1$ ($[M+H]^+$). Izračunato za $C_{16}H_{19}IN_4O_2$: C, 45,08; H, 4,49; N, 13,14. Nađeno: C, 45,01; H, 4,50; N, 13,16.

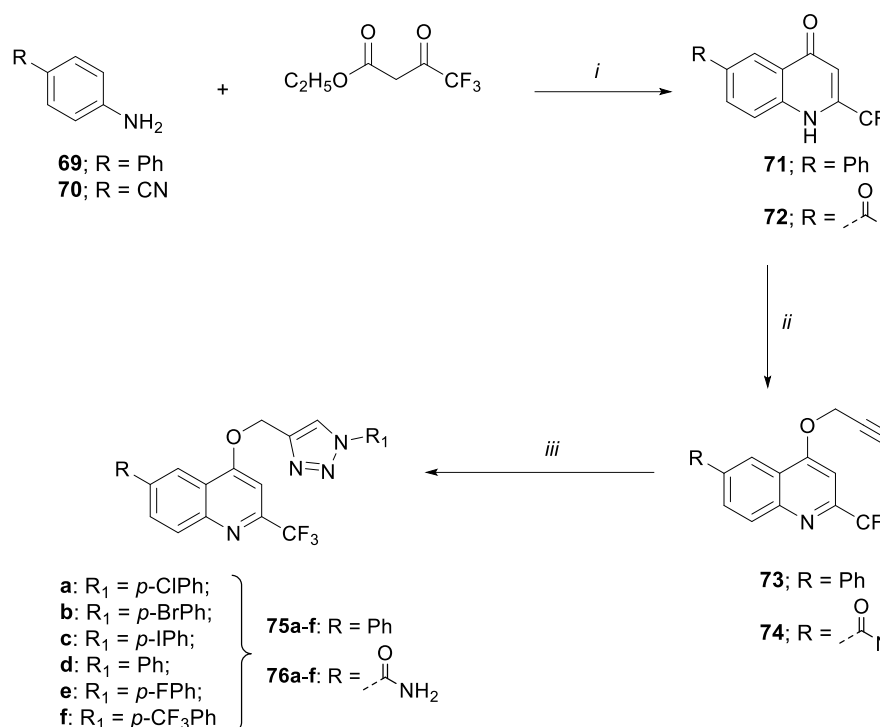
1-[[1-4-hidroksi-3-(hidroksimetil)butil]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil]-5-jod-1*H*-indol (67b)

Spoj **67b** sintetiziran je prema općenitom postupku iz spoja **63b** (23 mg; 0,05 mmol) i 0,1 M otopine $NaOCH_3/CH_3OH$ (0,05 mL). Nakon pročišćavanja uz eluens diklormetan : metanol = 15 : 1 izoliran je žuti uljasti spoj **67b** (11 mg, 53 %). 1H NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$) (δ/ppm): 8,00 (s, 1H, H-3'), 7,90 (s, 1H, H-2), 7,29–7,53 (m, 3H, H-4, H-6, H-7), 6,41 (d, 1H, $J = 2,8$ Hz, H-3), 5,43 (s, 2H, H-1'), 4,29–4,45 (m, 4H, H-4', 2 x OH), 3,32–3,45 (m, 4H, H-7'), 1,71–1,78 (m, 2H, H-5'), 1,39–1,49 (m, 1H, H-6'). ^{13}C NMR (75 MHz, $DMSO-d_6$) (δ/ppm): 143,13 (C-2'), 134,63 (C-7a), 130,96 (C-3a), 129,68 (C-4), 128,96 (C-2), 128,75 (C-6), 122,95 (C-3'), 112,65 (C-7), 100,32 (C-3), 82,97 (C-5), 61,11 (C-70), 47,82 (C-4'), 40,92 (C-10), 40,50 (C-6'), 29,04 (C-5'). MS (ESI): $m/z = 427,1$ ($[M+H]^+$). Izračunato za $C_{16}H_{19}IN_4O_2$: C, 45,08; H, 4,49; N, 13,14. Nađeno: C, 45,15; H, 4,50; N, 13,10.

5-fluor-1-[[2-(4-hidroksi-3-(hidroksimetil)butil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil]-1*H*-indol (68a)

Spoj **68a** sintetiziran je prema općenitom postupku iz spoja **64a** (126 mg, 0,31 mmol) i 0,1 M otopine $NaOCH_3/CH_3OH$ (3.1 mL). Nakon pročišćavanja (*n*-heksan : etil-acetat = 10 : 1) izoliran je bezbojan uljasti spoj **68a** (26 mg, 26 %). 1H NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$) (δ/ppm): 7,62 (s, 1H, H-3'), 7,48–7,55 (m, 2H, H-4, H-2), 7,29 (dd, 1H, $J = 9,9$ Hz, $J = 2,5$ Hz, H-7), 6,97 (td, 1H, $J = 9,3$ Hz, $J = 2,5$ Hz, H-6), 6,44 (d, 1H, $J = 3,1$ Hz, H-3), 5,45 (s, 2H, H-1'), 4,40 (t, 4H, $J = 7,7$ Hz, H-4', 2 x OH), 3,32–3,44 (m, 4H, H-7'), 1,77–1,84 (m, 2H, H-5'), 1,40–1,48 (m, 1H, H-6'). ^{13}C NMR (151 MHz, $DMSO-d_6$) (δ/ppm): 157,10 ($J = 231,10$ Hz, C-5), 144,03 (C-2'), 132,71 (C-3'), 132,31 (C-7a), 130,52 (C-2), 128,46 ($J = 10,1$ Hz, C-3a), 109,27 ($J = 26,0$ Hz, C-6), 110,99 ($J = 9,7$ Hz, C-7), 104,99 ($J = 23,1$ Hz, C-4), 101,17 ($J = 4,6$ Hz, C-3), 61,07 (C-7'), 52,68 (C-4'), 40,77 (C-1'), 40,39 (C-6'), 28,32 (C-5'). MS (ESI): $m/z = 319,2$ ($[M+H]^+$). Izračunato za $C_{16}H_{19}FN_4O_2$: C, 60,37; H, 6,02; N, 17,60. Nađeno: C, 60,29; H, 6,00; N, 17,54.

4.4. Sinteza konjugata 1,2,3-triazola i kinolona



Shema 29. *Reagensi i uvjeti*: *i*) polifosforna kiselina (PPA), 150 °C, 3 h; *ii*) propargil-bromid, K₂CO₃, DMF, s.t., 20 h; *iii*) konvencionalna metoda **1a**: Cu(OAc)₂ x H₂O, metanol, 60 °C, 3.5 h; konvencionalna metoda **1a***: Cu(OAc)₂ x H₂O, metanol, 60 °C, preko noći; konvencionalna metoda **1b**: CuI, DIPEA, octena kiselina, diklormetan, s.t., 3.5 h; mehanokemijska metoda **2a**: Cu(OAc)₂ x H₂O, čelične kuglice 2 x 7 mm, PTFE posudica, 3.5 h, s.t., 30 Hz; mehanokemijska metoda **2b**: CuI, DIPEA, octena kiselina, čelične kuglice 2 x 7 mm, PTFE posudica, 3.5 h, s.t., 30 Hz; mehanokemijska metoda **2c**: DIPEA, octena kiselina, PTFE posudica, mjedene kuglice 2 x 7 mm, s.t., 3.5 h.

4.4.1. Opći postupak sinteze 6-supstituiranih derivata kinolona **71** i **72**

Odgovarajući anilin dodan je u smjesu etil-4,4,4-trifluor-3-oksobutanoata (1 ekv.) i polifosforne kiseline (PPA) (0,8 g na 1 mmol spoja) koja je zagrijana na 100 °C. Reakcijska smjesa je zatim zagrijana na 150 °C i miješana 3 h. Nakon hlađenja, smjesa je razrijeđena sa vodenom otopinom NaOH (5 %), a zatim je dobiveni talog otopljen u 10 % otopini NaOH. Otopina je profiltrirana kako bi se uklonile netopljive nečistoće i zakiseljena dodatkom koncentrirane HCl. Dobiveni talog je odfiltriran i prekrizaliziran u metanolu.

6-fenil-2-(trifluormetil)kinolin-4(1H)-on (71)

Spoj **71** dobiven je prema općem postupku iz etil-4,4,4-trifluor-3-oksobutanoata (1,5 mL; 11,82 mmol), PPA i 4-aminobifenila (2,0 g; 11,82 mmol). Izoliran je bijeli praškasti spoj **71** (1,54 g; 45 %; T.t. > 250 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,44 (s, 1H, H-5), 8,12 (dd, *J* = 31,0, 8,7 Hz, 2H, H-7, H-8), 7,83 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H, Ph), 7,42–7,57 (m, 3H, Ph), 7,08 (s, 1H, H-3). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 166,2 (C-4), 146,8 (C-2, q, *J* = 33,7 Hz), 145,2 (C-8a), 139,5 (C-6), 138,7 (C-1'), 131,0 (C-7), 129,6 (C-3',5'), 129,0 (C-8), 128,5 (C-4'), 127,5 (C-2',6'), 121,9 (CF₃, q, *J* = 275,2 Hz), 122,9 (C-4a), 120,2 (C-5), 101,8 (C-3).

2-(trifluormetil)kinolin-4(1*H*)-on-6-karboksamid (72)

Spoj **72** dobiven je prema općem postupku iz etil-4,4,4-trifluor-3-oksobutanoata (2,6 mL; 16,90 mmol), PPA i 4-aminobenzonitrila (2,0 g; 11,82 mmol). Izoliran je spoj **72** (733 mg; 18 %, T.t. > 205 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,75 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H, H-5), 8,29 (s, 1H, CONH₂), 8,25 (dd, *J* = 8,8, 1,9 Hz, 1H, H-7), 7,99 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, H-8), 7,55 (s, 1H, CONH₂), 7,03 (s, 1H, H-3).

4.4.2. Opći postupak sinteze propargiliranih derivata kinolona 73 i 74

Otopini odgovarajućeg derivata 2-(trifluormetil)kinolona (1 ekv.) u DMF-u (10 mL) dodan je K₂CO₃ (1,4 ekv.). Reakcijska smjesa je miješana 30 min, a potom je dodan propargil-bromid (1 ekv.). Miješanje je nastavljeno preko noći na sobnoj temperaturi. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a kruti ostatak pročišćen kolonskom kromatografijom uz diklormetan kao eluens.

6-fenil-4-(prop-2-iniloksi)-2-(trifluormetil)kinolin (73)

Spoj **73** je sintetiziran prema općem postupku iz 6-fenil-2-(trifluormetil)kinolin-4(1*H*)-ona (**71**) (700 mg; 2,42 mmol), K₂CO₃ (468 mg; 3,38 mmol) i propargil-bromida (0,3 mL; 2,42 mmol). Nakon pročišćavanja kolonskom kromatografijom izoliran je žuti praškasti spoj **73** (700 mg; 88 %; T.t. = 113–115 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,39 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H, H-5), 8,17–8,27 (m, 2H, H-7, H-8), 7,81–7,88 (m, 2H, Ph), 7,42–7,60 (m, 4H, Ph, H-3), 5,34 (d, *J* = 2,4 Hz, 2H, CH₂), 3,80 (t, *J* = 2,3 Hz, 1H, CH). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 162,11 (C-4), 148,02 (C-2, q, *J* = 33,7 Hz), 147,31 (C-8a), 140,34 (C-6), 139,32 (C-1'), 131,16 (C-7), 130,42 (C-8), 129,71 (C-3',5'), 128,81 (C-4'), 127,71 (C-2',6'), 121,96 (q,

$J = 276,0$ Hz, CF_3), 121,86 (C-4a), 119,06 (C-5), 99,18 (C-3), 80,42 (C-2'), 78,09 (C-3'), 57,74 (C-1').

4-(prop-2-iniloksi)-2-(trifluormetil)kinolin-6-karboksamid (74)

Spoj **74** je sintetiziran prema općenitom postupku iz 2-(trifluormetil)kinolin-4(1*H*)-on-6-karboksamida (**72**) (600 mg; 2,32 mmol), K_2CO_3 (448 mg; 3,25 mmol) i propargil-bromida (0,3 mL; 2,32 mmol). Nakon pročišćavanja kolonskom kromatografijom izoliran je bijeli praškasti spoj **74** (510 mg; 74 %). ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (δ/ppm): 8,76 (d, $J = 1,7$ Hz, 1H, H-5), 8,39 (s, 1H, CONH_2), 8,32 (dd, $J = 8,8, 1,9$ Hz, 1H, H-7), 8,16 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H, H-8), 7,65 (s, 1H, CONH_2), 7,55 (s, 1H, H-3), 5,35 (d, $J = 2,3$ Hz, 2H, CH_2), 3,82 (t, $J = 2,3$ Hz, 1H, CH). ^{13}C NMR (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (δ/ppm): 166,92 (C- CONH_2), 162,43 (C-4), 148,90 (q, $J = 33,8$ Hz, C-2), 148,52 (C-8a), 133,55 (C-6), 129,90 (C-7), 129,27 (C-8), 121,83 (C-5), 121,36 (q, $J = 275,7$ Hz, CF_3), 120,51 (C-4a), 98,91 (C-3), 80,11 (C-3'), 77,52 (C-2'), 57,42 (C-1').

4.4.3. Opći postupak sinteze konjugata kinolina i 1,2,3-triazola 75a–75f i 76a–76f

Metoda 1a: Alkin (80 mg, 0,24 mmol) i odgovarajući azid (0,49 mL, 0,24 mmol) otopljeni su u metanolu (8 mL) te je dodan $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (2,24 mg, 0,05 ekv.). Reakcijska smjesa miješana je 3,5 h na temperaturi od 60 °C. Otapalo je otpareno pri sniženom tlaku i ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom kromatografijom (silika gel i Al_2O_3) uz diklormetan kao eluens.

Metoda 1a*: Kao što je opisano u metodi 1a, uz miješanje reakcijske smjese na 60 °C preko noći.

Metoda 1b: Smjesi CuI (1 mg, 4,9 mmol, 0,02 equiv), DIPEA-e (4,3 μL , 0,1 equiv) i HOAc (1,5 μL , 0,1 equiv) u diklormetanu (1,0 mL) dodan je alkin (80 mg, 0,24 mmol) i odgovarajući azid (0,49 mL, 0,24 mmol). Reakcijska smjesa je miješana na sobnoj temperaturi 3,5 h. . Otapalo je otpareno pri sniženom tlaku i ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom kromatografijom (silika gel i Al_2O_3) uz diklormetan kao eluens.

4-[[1-(4-klorofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metoksi]-6-fenil-2-(trifluormetil)kinolin (75a)

Bezbojan kristalinični spoj **75a** (T.t. = 225–227 °C) izoliran prema metodi 2a (67 mg; 57 %); metodi 2b (100 mg; 85 %); metodi 2c (90 mg; 77 %); metodi 1a (24 mg; 21 %); metodi 1a* (89 mg; 77 %) i metodi 1b (7 mg; 5 %). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 9,12 (s, 1H, H-triazol), 8,38 (s, 1H, H-5), 8,15–8,26 (m, 2H, H-7, H-8), 7,96–8,01 (m, 2H, Ph), 7,77–7,81 (m, 3H, H-3, Ph), 7,67–7,72 (m, 2H, Ph), 7,41–7,55 (m, 3H, Ph), 5,76 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 162,4 (C-4), 147,8 (q, *J* = 33,7 Hz), 146,8 (C-8a), 142,8 (C-triazol), 139,8 (C-6), 138,9 (C-1'), 135,3 (C-1''), 133,2 (C-4''), 130,7 (C-7), 129,9 (C-8, C-3', 5'), 129,2 (C-3'', 5''), 128,2 (C-4'), 127,3 (C-2', 6'), 121,5 (CF₃, q, *J* = 275,6 Hz), 123,6 (CH-triazol), 122,0 (C-2'', 6''), 121,4 (C-4a), 118,8 (C-5), 98,7 (C-3), 62,6 (CH₂). HRMS (ESI): izračunato za C₂₅H₁₆ClF₃N₄O [*M*+H]⁺ = 481,1043; nađeno = 481,1046.

4-[[1-(4-bromfenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metoksi]-6-fenil-2-(trifluormetil)kinolin (**75b**)

Bezbojan kristalinični spoj **75b** (T.t. = 239–241 °C) izoliran je prema metodi 2a (77 mg; 60 %); metodi 2b (112 mg; 87 %); metodi 2c (103 mg; 80 %); metodi 1a (58 mg; 45 %); metodi 1a* (96 mg; 76 %) i metodi 1b (52 mg; 40 %). ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 9,14 (s, 1H, H-triazole), 8,39 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H, H-5), 8,20–8,24 (m, 2H, H-7, H-8), 7,93 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, Ph), 7,76–7,85 (m, 5H, Ph, H-3), 7,53 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, Ph), 7,45 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, Ph), 5,76 (d, *J* = 2,0 Hz, 2H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 162,9 (C-4), 147,8 (C-2, *J* = 33,6 Hz), 147,3 (C-8a), 143,3 (C-triazol), 140,2 (C-6), 139,4 (C-1'), 136,2 (C-1''), 133,3 (C-3'', 5''), 131,2 (C-7), 130,4 (C-8), 129,7 (C-3', 5'), 128,7 (C-4'), 127,8 (C-2', 6'), 124,0 (CH-triazol), 122,7 (C-2'', 6''), 122,0 (C-4''), 121,9 (C-4a), 121,5 (q, *J* = 275,6 Hz, CF₃), 119,3 (C-5), 99,2 (C-3), 63,2 (CH₂). HRMS (ESI): izračunato za C₂₅H₁₆BrF₃N₄O [*M*+H]⁺ = 525,0538; nađeno = 525,0525.

4-[[1-(4-jodfenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metoksi]-6-fenil-2-(trifluormetil)kinolin (**75c**)

Bezbojni kristali spoja **75c** (T.t. = 254–256 °C) izolirani su prema metodi 2a (108 mg; 77 %); metodi 2b (129 mg; 92 %); metodi 2c (122 mg; 87 %); metodi 1a (124 mg; 89 %); metodi 1a* (124 mg; 89 %) i metodi 1b (72 mg; 52 %). ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 9,12 (s, 1H, H-triazol), 8,38 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H, H-5), 8,18–8,25 (m, 2H, H-7, H-8), 7,98 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, Ph), 7,73–7,83 (m, 5H, Ph, H-3), 7,52 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, Ph), 7,44 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H, Ph), 5,75 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 162,4 (C-4), 147,8 (C-2, *J* = 33,6 Hz), 146,8 (C-8a), 142,8 (C-triazol), 139,7 (C-6), 138,9 (C-1'), 138,6 (C-3'', 5''), 136,2 (C-1''), 130,7 (C-7), 129,9 (C-8), 129,2 (C-2'', 6''), 128,2 (C-4'), 127,3 (C-3', 5'), 121,5 (q, *J* =

275,6 Hz, CF₃), 123,4 (CH-triazol), 122,1 (C-2',6'), 121,4 (C-4a), 118,8 (C-5), 98,7 (C-3), 94,6 (C-4''), 62,7 (CH₂). HRMS (ESI): izračunato za C₂₅H₁₆IF₃N₄O [M+H]⁺ = 573,0399; nađeno = 573,0389.

6-fenil-4-[(1-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi]-2-(trifluormetil)kinolin (75d)

Bezbojni kristali spoja **75d** (T.t. = 212–214 °C) izolirani su prema metodi 2a (78 mg; 72 %); metodi 2b (86 mg; 79 %); metodi 2c (83 mg; 76 %); metodi 1a (11 mg; 10 %); metodi 1a* (23 mg; 21 %) i metodi 1b (5 mg; 5 %). ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 9,10 (s, 1H, H-triazol), 8,39 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H, H-5), 8,19–8,23 (m, 2H, H-7, H-8), 7,94 (d, *J* = 7,7 Hz, 2H, Ph), 7,80 (d, *J* = 7,3 Hz, 2H, Ph), 7,77 (s, 1H, H-3), 7,62 (t, *J* = 7,9 Hz, 2H, Ph), 7,50–7,53 (m, 3H, Ph), 7,44 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, Ph), 5,76 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 162,4 (C-4), 147,8 (q, *J* = 33,7 Hz, C-2), 146,8 (C-8a), 142,6 (C-triazol), 139,7 (C-6), 138,9 (C-1'), 136,5 (C-1''), 130,7 (C-7), 129,9 (C-8, C-3',5'), 129,2 (C-3'',5''), 128,9 (C-4''), 128,2 (C-4'), 127,3 (C-2',6'), 121,5 (q, *J* = 275,4 Hz, CF₃), 123,5 (CH-triazol), 120,6 (C-4a), 120,3 (C-2'',6''), 118,8 (C-5), 98,7 (C-3), 62,7 (CH₂). HRMS (ESI): izračunato za C₂₅H₁₇F₃N₄O [M+H]⁺ = 447,1433; nađeno = 447,1448.

6-fenil-4-[(1-(4-fluorfenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi]-2-(trifluormetil)kinolin (75e)

Bezbojni kristali spoja **75e** izolirani su prema metodi 1a* (76 mg; 68 %, T.t. = 211–214 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 9,08 (s, 1H, H-triazole), 8,38 (d, *J* = 1,0 Hz, 1H, H-5), 8,10 – 8,26 (m, 2H, H-7, H-8), 7,89–8,05 (m, 2H, Ph), 7,68–7,87 (m, 3H, H-3, Ph), 7,37–7,58 (m, 5H, Ph), 5,75 (d, *J* = 0,7 Hz, 2H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 162,43 (C-4), 161,74 (d, *J* = 246,0 Hz, C-4''), 147,79 (q, *J* = 33,6 Hz, C-2), 146,80 (C-8a), 142,64 (C-triazol), 139,75 (C-6), 138,91 (C-1'), 133,05 (d, *J* = 2,8 Hz, C-1''), 130,67 (C-7), 129,89 (C-8), 129,19 (C-3',5'), 128,25 (C-4'), 127,27 (C-2',6'), 123,73 (CH-triazol), 122,67 (d, *J* = 8,8 Hz), 121,53 (q, *J* = 275,6 Hz, CF₃), 121,38 (C-4a), 118,78 (C-5), 116,75 (d, *J* = 23,3 Hz), 98,67 (C-3), 62,69 (CH₂).

6-fenil-4-[(1-(4-(trifluorfenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-2-(trifluormetil)kinolin (75f)

Bijeli praškasti spoj **75f** izoliran je prema metodi 1a* (98 mg; 79 %, T.t. = 219–222 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 9,26 (s, 1H, H-triazol), 8,38 (s, 1H, H-5), 8,09–8,28 (m, 4H, H-7, H-8, Ph), 8,01 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, Ph), 7,69–7,88 (m, 3H, H-3, Ph), 7,52 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H, Ph), 7,44 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H, Ph), 5,78 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-

d_6) (δ /ppm): 162,90 (C-4), 148,50 (C-2), 147,29 (C-8a), 143,51 (C-triazol), 140,25 (C-6), 139,38 (C-1'), 131,17 (C-7), 130,38 (C-8), 129,67 (C-3',5'), 128,74 (C-4'), 127,76 (C-2',6'), 127,68 (C-3'',5''), 124,25 (CH-triazol), 121,86 (C-4a), 121,23 (C-2'',6''), 119,26 (C-5), 99,17 (C-3), 63,12 (CH₂).

4-((1-(4-klorfenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-2-(trifluormetil)kinolin-6-karboksamid (76a)

Spoj **76a** sintetiziran je prema metodi 1a* iz 4-(prop-2-in-1-iloksi)-2-(trifluormetil)-1,4-dihidrokinolin-6-karboksamida (**74**) (100 mg; 0,34 mmol). Izoliran je bijeli praškasti spoj **76a** (45 mg; 32 %; T.t. > 270 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 9,12 (s, 1H, H-triazol), 8,73 (d, $J = 1,7$ Hz, 1H, H-5), 8,31 (dd, $J = 8,8, 2,0$ Hz, 2H, H-7, CONH₂), 8,16 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H, H-8), 7,99 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H, Ph), 7,79 (s, 1H, H-3), 7,66–7,75 (m, 2H, Ph), 7,61 (s, 1H, CONH₂), 5,75 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 167,35 (CONH₂), 163,69 (C-4), 149,64 (q, $J = 33,7$ Hz, C-2), 148,97 (C-8a), 143,09 (C-triazol), 135,79 (C-1'), 133,83 (C-6), 133,68 (C-4'), 130,38 (C-3',5'), 130,26 (C-7), 129,69 (C-8), 124,24 (CH-triazol), 122,51 (C-2',6'), 122,46 (C-5), 121,88 (q, $J = 275,8$ Hz, CF₃), 120,99 (C-4a), 99,35 (C-3), 63,23 (CH₂).

4-((1-(4-bromfenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-2-(trifluormetil)kinolin-6-karboksamid (76b)

Spoj **76b** sintetiziran je prema metodi 1a* iz 4-(prop-2-in-1-iloksi)-2-(trifluormetil)-1,4-dihidrokinolin-6-karboksamida (**74**) (100 mg; 0,34 mmol). Izoliran je bijeli praškasti spoj **76b** (62 mg; 38 %, T.t. > 270 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 9,14 (s, 1H, H-triazol), 8,73 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H, H-5), 8,24–8,38 (m, 2H, H-7, CONH₂), 8,16 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H, H-8), 7,93 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H, Ph), 7,77–7,89 (m, 3H, Ph, H-3), 7,64 (s, 1H, CONH₂), 5,75 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 167,13 (CONH₂), 163,34 (C-4), 149,32 (d, $J = 33,7$ Hz, C-2) 148,62 (C-8a), 142,77 (C-triazol), 135,80 (C-1'), 133,42 (C-6), 132,96 (C-3',5'), 129,91 (C-7), 129,35 (C-8), 123,83 (CH-triazol), 122,40 (C-2',6'), 122,11 (C-5), 121,75 (C-4'), 121,50 (q, $J = 275,8$ Hz, CF₃), 120,63 (C-4a), 98,98 (C-3), 62,82 (CH₂).

4-((1-(4-jodfenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-2-(trifluormetil)kinolin-6-karboksamid (76c)

Spoj **76c** sintetiziran je prema metodi 1a* iz 4-(prop-2-in-1-iloksi)-2-(trifluormetil)-1,4-dihidrokinolin-6-karboksamida (**74**) (100 mg; 0,34 mmol). Izoliran je bijeli praškasti spoj **76c**

(25 mg; 18 %, T.t. > 270 °C). ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 9,12 (s, 1H, H-triazol), 8,72 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H, H-5), 8,33 (s, 1H, CONH₂), 8,31 (dd, *J* = 8,8, 1,9 Hz, 1H, H-7), 8,15 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H, H-8), 7,99 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, Ph), 7,72–7,83 (m, 3H, Ph, H-3), 7,62 (s, 1H, CONH₂), 5,74 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 166,86 (CONH₂), 163,20 (C-4), 149,04 (q, *J* = 33,8 Hz, C-2), 148,48 (C-8a), 142,61 (C-triazol), 138,61 (C-3',5'), 136,16 (C-1'), 133,35 (C-6), 129,76 (C-7), 129,19 (C-8), 123,57 (CH-triazol), 122,19 (C-2',5'), 121,95 (C-5), 120,50 (C-4a), 98,84 (C-3), 94,60 (C-4'), 62,74 (CH₂).

4-((1-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-2-(trifluormetil)kinolin-6-karboksamid (76d)

Spoj **76d** sintetiziran je prema metodi 1a* iz 4-(prop-2-in-1-iloksi)-2-(trifluormetil)-1,4-dihidrokinolin-6-karboksamida (**74**) (100 mg; 0,34 mmol). Izoliran je bijeli praškasti spoj **76d** (45 mg; 32 %, T.t. > 270 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 9,11 (s, 1H, H-triazole), 8,73 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H, H-5), 8,24–8,40 (m, 2H, H-7, CONH₂), 8,16 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H, H-8), 7,95 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H, Ph), 7,80 (s, 1H, H-3), 7,46–7,71 (m, 4H, Ph, CONH₂), 5,75 (s, 1H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 166,88 (CONH₂), 163,24 (C-4), 149,17 (q, *J* = 33,8 Hz, C-2), 148,50 (C-8a), 142,47 (C-triazol), 136,51 (C-1'), 133,35 (C-6), 129,94 (C-3',5'), 129,79 (C-7), 129,21 (C-8), 128,93 (C-4'), 123,66 (CH-triazol), 121,41 (q, *J* = 275,8 Hz, CF₃), 120,53 (C-5), 120,33 (C-4a), 119,58 (C-2',5'), 98,88 (C-3), 62,82 (CH₂).

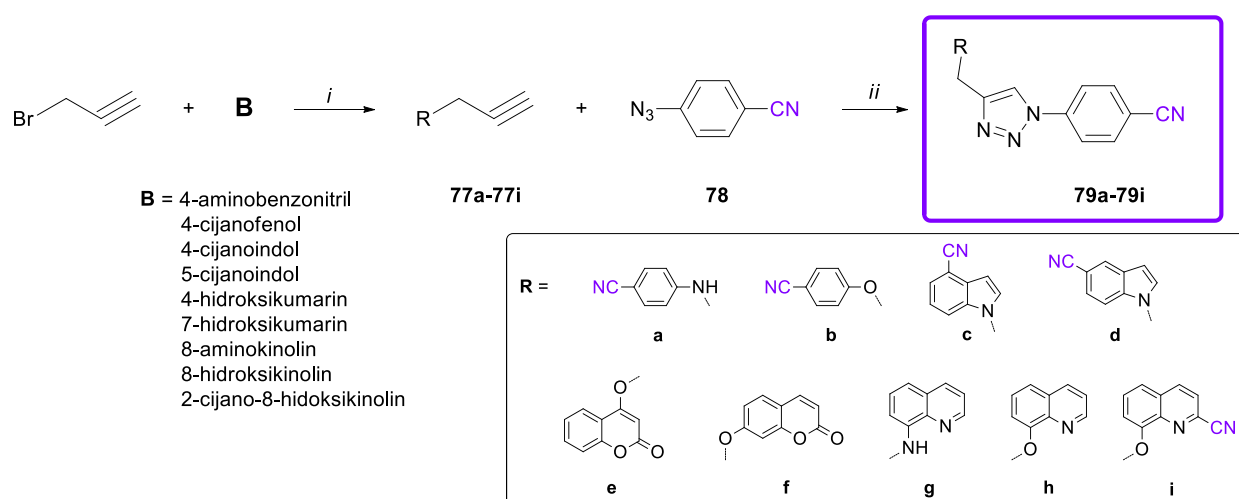
4-((1-(4-fluorfenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-2-(trifluormetil)kinolin-6-karboksamid (76e)

Spoj **76e** sintetiziran je prema metodi 1a* iz 4-(prop-2-in-1-iloksi)-2-(trifluormetil)-1,4-dihidrokinolin-6-karboksamida (**74**) (100 mg; 0,34 mmol). Izoliran je bijeli praškasti spoj **76e** (25 mg; 18 %, T.t. > 270 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 9,09 (s, 1H, H-triazol), 8,73 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H, H-5), 8,26–8,39 (m, 2H, H-7, CONH₂), 8,16 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H, H-8), 7,93–8,06 (m, 2H, Ph), 7,80 (s, 1H, H-3), 7,64 (s, 1H, CONH₂), 7,49 (t, *J* = 8,8 Hz, 2H, Ph), 5,75 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 166,81 (CONH₂), 163,25 (C-4), 149,17 (C-2), 148,37 (C-8a), 142,32 (C-triazol), 136,54 (C-1'), 133,33 (C-6), 129,54 (C-7), 128,95 (C-8), 123,55 (CH-triazol), 122,59 (d, *J* = 8,8 Hz, C-2',6') 121,72 (C-5), 120,42 (C-4a), 116,47 (d, *J* = 23,4 Hz, C-3',5'), 98,58 (C-3), 62,64 (CH₂).

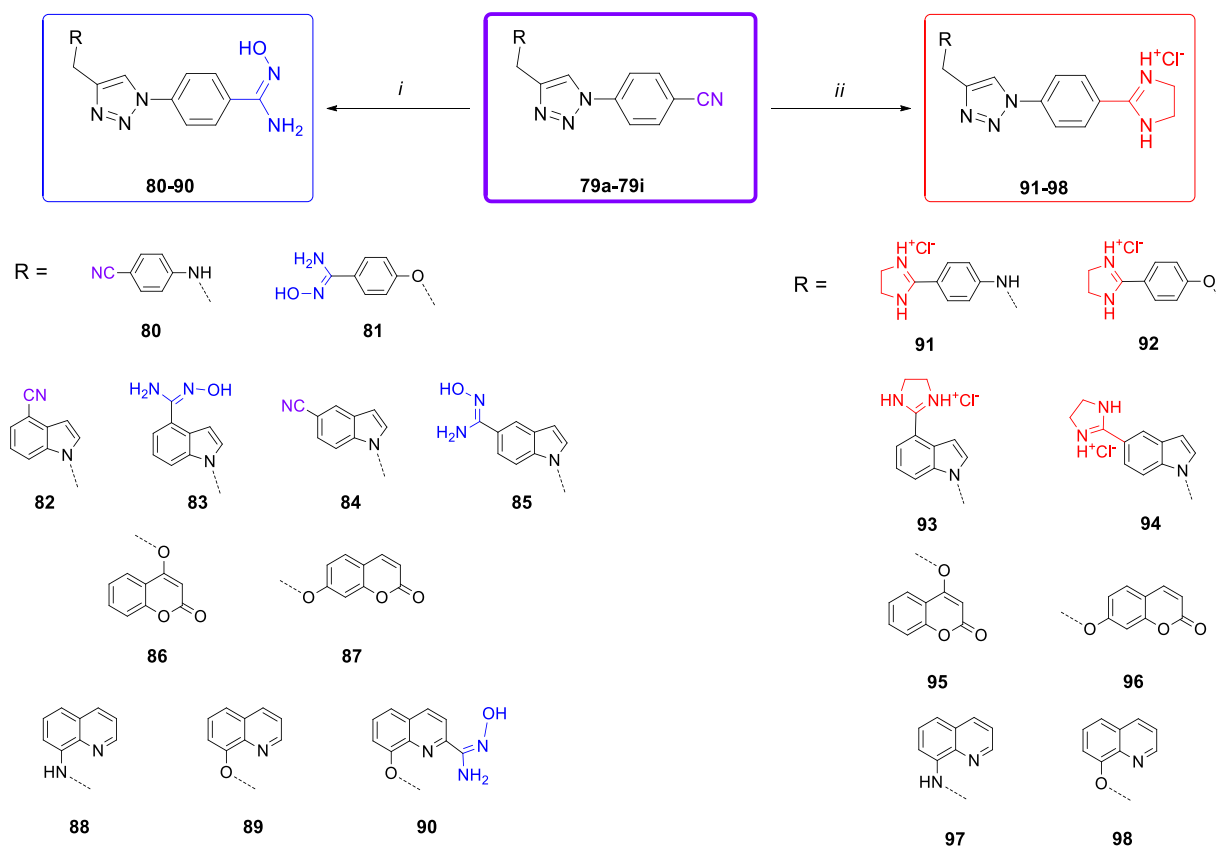
4-((1-(4-(trifluorfenil)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-2-(trifluormetil)kinolin-6-karboksamid (76f)

Spoj **76f** sintetiziran je prema metodi 1a* iz 4-(prop-2-in-1-iloksi)-2-(trifluormetil)-1,4-dihidrokinolin-6-karboksamida (**74**) (100 mg; 0,34 mmol). Izoliran je bijeli praškasti spoj **76f** (41 mg; 26 %, T.t. > 270 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 9,24 (s, 1H, H-triazole), 8,74 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H, H-5), 8,31 (dd, *J* = 8,7, 1,9 Hz, 2H, H-7, CONH₂), 8,19 (dd, *J* = 17,4, 8,7 Hz, 3H, Ph, H-8), 8,02 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, Ph), 7,80 (s, 1H, H-3), 7,61 (s, 1H, CONH₂), 5,78 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 166,83 (CONH₂), 163,17 (C-4), 149,13 (q, *J* = 33,8 Hz, C-2), 148,47 (C-8a), 142,82 (C-triazol), 139,27 (C-1'), 133,35 (C-6), 129,74 (C-7), 129,17 (C-8), 128,87 (q, *J* = 33,8 Hz, C-4'), 127,17 (C-3',5'), 123,19 (CH-triazol), 121,94 (C-5), 121,36 (q, *J* = 275,8 Hz, CF₃), 120,80 (C-2',6'), 120,48 (C-4a), 98,82 (C-3), 62,67 (CH₂).

4.5. Sinteza cijano- (**79a–79i**), amidoksim- (**80–90**) i amidino-supstituiranih (**91–98**) konjugata 1,2,3-triazola i heterocikličkih baza



Schema 30. *Reagensi i uvjeti*: *i*) propargiliranje hidroksilne skupine: propargil-bromid, aceton, K₂CO₃, refluks, 24 h; propargiliranje amino skupine: propargil-bromid, DMF, K₂CO₃, 80 °C, 24 h; *ii*) metanol, Cu(OAc)₂, s.t., 24 h.



Shema 31. *Reagensi i uvjeti*: *i*) metanol : DMF = 2 : 1, Et₃N, NH₂OH·HCl, 100 °C, 6 h; *ii*) 1. HCl(g), apsolutni etanol; 2. EDA, apsolutni etanol, refluks, 24 h; 3. HCl(g), apsolutni etanol.

Spoj 4-azidobenzonitril (**78**) sintetiziran je prema literaturi, [104] kao i odgovarajući propargilirani derivati benzonitrila (**77a** i **77b**), [105,106] kumarina (**77e** i **77f**) [15] i kinolina (**77g** i **77h**) [107,108].

4.5.1. Sinteza propargiliranih derivata cijano-supstituiranih heterocikla **77c**, **77d** i **77i**

4-cijano-1-[(prop-2-inil)amino]-1H-indol (**77c**)

4-cijanoindol (500 mg; 3,52 mmol) otopljen je u u DMF-u (10 mL) te je dodan K₂CO₃ (1,2 ekv.). Reakcijska smjesa je zagrijana na 80 °C. Nakon pola sata dodan je propargil-bromid (1,2 ekv.). Nakon 24 sata, reakcijska smjesa je profiltrana i otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom kromatografijom uz diklormetan kao eluens. Nakon pročišćavanja izoliran je bijeli prah spoja **77c** (403 mg; 64 %; T.t. = 137–140 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 7,92 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, H-5), 7,72 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H, H-2), 7,60 (dd, *J* = 7,4, 0,7 Hz, 1H, H-7), 7,39–7,31 (m, 1H, H-6), 6,63 (dd, *J* =

3,2, 0,8 Hz, 1H, H-3), 5,21 (d, $J = 2,5$ Hz, 2H, CH₂), 3,46 (t, $J = 2,5$ Hz, 1H, CH). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 135,13 (C-7a), 131,70 (C-2), 129,10 (C-3a), 125,06 (C-5), 121,37 (C-6), 118,36 (CN), 115,59 (C-7), 101,67 (C-4), 99,59 (C-3), 78,63 (C-2'), 76,04 (C-3'), 35,45 (CH₂-1').

5-cijano-1-[(prop-2-inil)amino]-1*H*-indol (77d)

5-cijanoindol (1,00 g; 7,03 mmol) otopljen je u DMF-u (20 mL) te je dodan K₂CO₃ (1,2 ekv.). Reakcijska smjesa je zagrijana na 80 °C. Nakon pola sata dodan je propargil-bromid (1,2 ekv.). Nakon 24 sata, reakcijska smjesa je profiltrirana i otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatak nakon uparavanja je pročišćen kolonskom kromatografijom uz diklormetan kao eluens. Dobiven je rozi prah spoja **77d** (900 mg; 71 %, T.t. = 107–109 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 5,19 (d, $J = 2,5$ Hz, 2H, CH₂), 3,44 (t, $J = 2,4$ Hz, 1H, CH), 7,54 (dd, $J = 8,5, 1,4$ Hz, 1H, H-6), 6,64 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H, H-3), 7,62 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H, H-2), 7,72 (d, $J = 8,5$, 1H, H-7), 8,12 (d, $J = 0,8$, 1H, H-4). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 137,02 (C-7a), 131,03 (C-2), 128,07 (C-3a), 126,15 (C-4), 124,11 (C-6), 120,48 (CN), 111,40 (C-7), 102,42 (C-3), 101,64 (C-5), 78,64 (C-2'), 76,01 (C-3'), 35,36 (CH₂-1').

2-cijano-8-(prop-2-iniloksi)-kinolin (77i)

8-hidroksikinolin-2-karbonitril (500 mg; 2,94 mmol) otopljen je u acetonu (18 mL) te je dodan K₂CO₃ (6 eq). Reakcijska smjesa je zagrijana na temperaturu refluksa. Nakon pola sata dodan je propargil-bromid (0,4 mL; 2,94 mmol). Nakon 24 sata, reakcijska smjesa je profiltrirana i otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatak nakon uparavanja je pročišćen kromatografijom na koloni uz petrol-eter:etil-acetat = 6:4 kao eluens. Dobiven je bijeli prah spoja **77i** (498 mg; 81 %, T.t. = 144–147 °C). ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 8,62 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, H-4), 8,05 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, H-3), 7,75 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-6), 7,69 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H, H-5), 7,44 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H, H-7), 5,10 (d, $J = 2,3$ Hz, 2H, CH₂), 3,65 (t, $J = 2,3$ Hz, 1H, CH). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 152,62 (C-8), 139,53 (C-4a), 138,09 (C-4), 131,56 (C-8a), 130,00 (C-6), 129,77 (C-2), 124,32 (C-3), 120,28 (C-5), 117,72 (CN), 111,64 (C-7), 78,90 (C-3'), 78,68 (C-2'), 56,22 (C-1').

4.5.2. Opći postupak sinteze cijano-supstituiranih heterocikličkih derivata 1,2,3-triazola 79a-79i

4-azidobenzonitril (1ekv.) i odgovarajući terminalni alkin (**77a–77i**) (1 ekv.) otopljeni su u metanolu te je dodan bakar(II)-acetat ($\text{Cu}(\text{OAc})_2$) (0,05 ekv.). Reakcijska smjesa miješana je 24 sata na sobnoj temperaturi. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku te je smjesa pročišćena kolonskom kromatografijom uz diklormetan kao eluens.

4-[[1-(4-cijanofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metilamino]benzonitril (**79a**)

Spoj **79a** pripremljen je prema općem postupku iz 4-azidobenzonitrila (396 mg; 2,75 mmol) i spoja **77a** (428 mg; 2,75 mmol) u metanolu (30 mL). Nakon kromatografije na koloni uz eluens diklormetan : metanol = 100 : 1 dobiven je bijeli prah spoja **79a** (306,7 mg; 37 %, T.t. = 247–248 °C). ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (δ/ppm): 8,90 (s, 1H, CH-triazol), 8,12 (q, $J = 9,0$ Hz, 4H, Ph), 7,47 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, Ph), 7,25 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H, NH), 6,75 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, Ph), 4,48 (d, $J = 5,7$ Hz, 2H, CH_2). ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (δ/ppm): 151,68 (C-Ph), 146,29 (C-Ph), 139,48 (C-triazol), 134,30 (C-Ph), 133,36 (C-Ph), 121,53 (CH-triazol), 120,46 (CN), 120,34 (C-Ph), 118,09 (CN), 112,19 (C-Ph), 110,97 (C-Ph), 96,36 (C-Ph), 75,94 (C-Ph), 37,64 (CH_2).

4-[[1-(4-cijanofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metiloksi]benzonitril (**79b**)

Spoj **79b** pripremljen je prema općem postupku iz 4-azidobenzonitrila (250,0 mg; 1,74 mmol) i spoja **77b** (273 mg; 1,74 mmol) u metanolu (20 mL). Dobiven je bijeli prah spoja **79b** (418 mg; 80 %, T.t. = 207–210 °C). ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (δ/ppm): 9,13 (s, 1H, H-triazol), 8,14 (dd, $J = 29,0, 8,8$ Hz, 4H, Ph), 7,81 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H, Ph), 7,26 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H, Ph), 5,38 (s, 1H, CH_2). ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (δ/ppm): 161,36 (C-Ph), 143,66 (C-Ph), 139,44 (C-triazol), 134,36 (C-Ph), 134,31 (CH-triazol), 123,47 (C-Ph), 120,69 (C-Ph), 119,09 (CN), 118,11 (CN), 115,91 (C-Ph), 111,27 (C-Ph), 103,39 (C-Ph), 61,32 (CH_2).

4-cijano-1-[[1-(4-cijanofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metilamino]-1*H*-indol (**79c**)

Spoj **79c** pripremljen je prema općem postupku iz 4-azidobenzonitrila (240 mg; 1,67 mmol) i spoja **77c** (300 mg; 1,67 mmol) u metanolu (20 mL). Dobiven je bijeli prah spoja **79c** (308 mg; 57 %). ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (δ/ppm): 8,95 (s, 1H, H-triazol), 8,13–8,05 (m, 4H, H-5), 8,02 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, H-5), 7,80 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H, H-2), 7,57 (d, $J = 7,3$ Hz,

1H, H-7), 7,36–7,27 (m, 1H, H-6), 6,65 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H, H-3), 5,70 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 144,65 (C-Ph), 139,36 (C-triazol), 135,31 (C-7a), 134,23 (C-Ph), 132,14 (C-2), 129,08 (C-3a), 124,90 (C-5), 122,03 (C-triazol), 121,28 (C-6), 120,54 (C-Ph), 118,46 (CN), 118,04 (CN), 115,73 (C-7), 111,10 (C-Ph), 101,54 (C-Ph), 99,53 (C-3), 40,93 (CH₂).

5-cijano-1-[[1-(4-cijanofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metilamino]-1*H*-indol (79d)

Spoj **79d** pripremljen je prema općem postupku iz 4-azidobenzonitrila (250 mg; 1,74 mmol) i spoja **77d** (313 mg; 1,74 mmol) u metanolu (20 mL). Dobiven je bijeli prah spoja **79d** (513 mg; 91 %, T.t. = 215–217 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 8,96 (s, 1H, H-triazol), 8,22–8,04 (m, 5H, Ph, H-4), 7,83 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, H-7), 7,70 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H, H-2), 7,51 (dd, $J = 8,6, 1,5$ Hz, 1H, H-6), 6,65 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H, H-3), 5,67 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 144,58 (C-Ph), 139,36 (C-triazol), 137,20 (C-7a), 134,23 (C-Ph), 131,44 (C-2), 128,03 (C-3a), 126,05 (C-4), 124,00 (C-6), 122,05 (CH-triazol), 120,54 (C-Ph), 118,03 (CN), 111,51 (C-7), 111,11 (C-Ph), 102,37 (C-3), 101,43 (C-5), 40,83 (CH₂).

4-[[1-(4-cijanofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metiloksi]-4a,8a-dihidro-2*H*-kromen-2-on (79e)

Spoj **79e** pripremljen je prema općem postupku iz 4-azidobenzonitrila (158 mg; 1,10 mmol) i spoja **77e** (220 mg; 1,10 mmol) u metanolu (20 mL). Dobiven je bijeli prah spoja **79e** (245 mg; 71 %, T.t. = 274–276 °C). ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 9,23 (s, 1H, H-triazol), 8,17 (dd, $J = 43,7, 8,4$ Hz, 4H, Ph), 7,84 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, H-5), 7,67 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H, H-7), 7,42 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, H-8), 7,36 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H, H-6), 6,21 (s, 1H, H-3), 5,55 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 164,28 (C-4), 161,50 (C-2), 152,77 (C-8a), 142,80 (C-Ph), 139,40 (C-triazol), 134,32 (C-Ph), 132,88 (C-7), 124,22 (C-6), 123,58 (CH-triazol), 123,02 (C-5), 120,70 (C-Ph), 118,07 (CN), 116,47 (C-8), 115,01 (C-4a), 111,29 (C-Ph), 91,53 (C-3), 62,71 (CH₂).

7-[[1-(4-cijanofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metiloksi]-4a,8a-dihidro-4*H*-kromen-4-on (79f)

Spoj **79f** pripremljen je prema općem postupku iz 4-azidobenzonitrila (187 mg; 1,30 mmol) i spoja **77f** (260 mg; 1,30 mmol) u metanolu (20 mL). Dobiven je bijeli prah spoja **79f** (187,20

mg; 41,8 %, T.t. = 228–229 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 9,16 (s, 1H, H-triazol), 8,14 (td, *J* = 8,9, 2,0 Hz, 4H, Ph), 8,01 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H, H-4), 7,66 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H, H-5), 7,20 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H, H-8), 7,06 (dd, *J* = 8,6, 2,4 Hz, 1H, H-6), 6,32 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H, H-3), 5,39 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 160,97 (C-2), 160,26 (C-7), 155,31 (C-8a), 144,30 (C-4), 143,67 (C-Ph), 139,43 (C-triazol), 134,34 (C-Ph), 129,60 (C-5), 123,47 (C-triazol), 120,63 (C-Ph), 118,10 (CN), 112,92 (C-3), 112,83 (C-6), 112,76 (C-Ph), 111,22 (C-4a), 101,64 (C-8), 61,52 (CH₂).

8-[[1-(4-cijanofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metilamino}kinolin (79g)

Spoj **79g** pripremljen je prema općem postupku iz 4-azidobenzonitrila (209 mg; 1,45 mmol) i spoja **77g** (316 mg; 1,74 mmol) u metanolu (20 mL). Otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatak pročišćen kromatografijom na koloni uz eluens diklormetan : metanol = 100 : 1. Dobiveni su žuti kristali spoja **79g** (269 mg; 60 %, T.t. = 196–198 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,90 (s, 1H, H-triazol), 8,76 (dd, *J* = 4,2, 1,6 Hz, 1H, H-2), 8,22 (dd, *J* = 8,3, 1,6 Hz, 1H, H-4), 8,10 (dd, *J* = 24,2, 8,9 Hz, 4H), 7,51 (dd, *J* = 8,3, 4,2 Hz, 1H, H-3), 7,36 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H, H-6), 7,10 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, H-7), 7,05 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H, NH), 6,80 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, H-5), 4,68 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H, CH₂). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 147,05 (C-2), 143,89 (C-8), 139,55 (C-triazol), 137,58 (C-4a), 135,95 (C-4), 134,22 (C-Ph), 128,23 (C-8a), 127,67 (C-6), 121,75 (C-3), 121,30 (CH-triazol), 120,37 (C-Ph), 118,09 (CN), 113,91 (C-5), 110,87 (C-Ph), 104,89 (C-7), 38,28 (CH₂).

2-cijano-8-[[1-(4-cijanofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metiloksi}kinolin (79i)

Spoj **79i** pripremljen je prema općem postupku iz 4-azidobenzonitrila (187 mg; 1,30 mmol) i spoja **6** (270 mg; 1,30 mmol) u metanolu (20 mL). Dobiven je bijeli prah spoja **79i** (260 mg; 57 %, T.t. = 263–265 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 9,21 (s, 1H, H-triazol), 8,62 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, H-4), 8,15 (dd, *J* = 21,8, 8,9 Hz, 4H, Ph), 8,05 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, H-3), 7,60–7,80 (m, 3H, H-5, H-5, H-7), 5,54 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 153,47 (C-8), 143,74 (C-Ph), 139,56 (C-4a), 139,45 (C-triazol), 138,07 (C-4), 134,27 (C-Ph), 131,43 (C-8a), 130,21 (C-6), 129,84 (C-2), 124,33 (C-3), 123,73 (CH-triazol), 120,66 (C-Ph), 120,07 (C-5), 118,06 (CN), 117,74 (CN), 111,49 (C-7), 111,18 (Ph), 61,66 (CH₂).

8-[[1-(4-cijanofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metiloksi]kinolin (79h)

Spoj **79h** pripremljen je prema općem postupku iz 4-azidobenzonitrila (353 mg; 2,45 mmol) i spoja **77h** (538 mg; 2,94 mmol) u metanolu (15 mL). Dobiven je bijeli prah spoja **79h** (655 mg; 82 %, T.t. = 158–162 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 9,19 (s, 1H, H-triazol), 8,84 (dd, *J* = 4,1, 1,7 Hz, 1H, H-2), 8,33 (dd, *J* = 8,3, 1,7 Hz, 1H, H-7), 8,16 (dd, *J* = 23,9, 8,9 Hz, 4H, Ph), 7,65–7,39 (m, 4H, H-3, H-5, H-6, H-7), 5,47 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 153,71 (C-8), 149,04 (C-2), 144,26 (C-Ph), 139,73 (C-4a), 139,47 (C-triazol), 135,82 (C-4), 134,31 (C-Ph), 129,09 (C-8a), 126,73 (C-6), 123,47 (CH-triazol), 121,90 (C-3), 120,59 (C-Ph), 120,30 (C-5), 118,08 (CN), 111,16 (C-Ph), 110,31 (C-7), 61,67 (CH₂).

4.5.3. Opći postupak sinteze amidoksim-supstituiranih heterocikličkih derivata 1,2,3-triazola 80–90

Cijano derivat **79a-79i** suspendiran je u smjesi otapala metanol : DMF = 2 : 1, te zagrijan na 100 °C. U reakcijsku smjesu dodan je trietilamin (Et₃N) (3 ekv. za svaku CN skupinu) i NH₂OH·HCl (3 ekv. za svaku CN skupinu). Reakcijska smjesa miješana je 6 h. Nakon hlađenja reakcijska smjesa je razrijeđena s vodom i dobiveni talog je odfiltriran. Talog je, prema potrebi, pročišćen kolonskom kromatografijom u eluensu diklormetan : metanol = 10 : 1.

(*Z*)-*N'*-hidroksi-4-(((1-(4-((*Z*)-*N'*-hidroksikarbamimidoil)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)benzimidamid (80)

Spoj **80** je sintetiziran prema općem postupku iz **79a** (50 mg; 0,17 mmol) s Et₃N (0,14 mL) i NH₂OH·HCl (71 mg) u smjesi otapala metanol : DMF = 2 : 1 (6 mL). Nakon pročišćavanja kolonskom kromatografijom izoliran je bijeli praškasti spoj **80** (19 mg; 35 %; T.t. = 222–225 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 9,80 (s, 1H, OH), 8,77 (s, 1H, H-triazol), 7,76 – 7,95 (m, 4H, Ph), 7,47 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, Ph), 7,23 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H, NH), 6,76 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, Ph), 5,93 (s, 2H, NH₂), 4,46 (d, *J* = 5,6 Hz, 2H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 151,73 (C-Ph), 149,83 (C(NH₂)=NOH), 145,74 (C-Ph), 136,68 (C-triazol),

133,35 (C-Ph), 126,71 (C-Ph), 121,21 (CH-triazol), 120,49 (CN), 119,47 (C-Ph), 112,18 (C-Ph), 96,27 (C-Ph), 37,71 (CH₂).

(Z)-N'-hidroksi-4-(4-((4-((Z)-N'-hidroksikarbamimidoil)fenoksi)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzimidamid (81)

Spoj **81** je sintetiziran prema općem postupku iz **79b** (80 mg; 0,27 mmol) s Et₃N (0,22 mL) i NH₂OH·HCl (113 mg) u smjesi otapala metanol : DMF = 2 : 1 (6 mL). Nakon pročišćavanja kolonskom kromatografijom izoliran je bijeli praškasti spoj **81** (80 mg; 82 %; T.t. = 218–221 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 9,75 (s, 1H, OH), 9,43 (s, 1H, OH), 8,95 (s, 1H, H-triazol), 7,80–8,03 (m, 4H, Ph), 7,63 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, Ph), 7,08 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, Ph), 5,89 (s, 2H, NH₂), 5,70 (s, 2H, NH₂), 5,28 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 158,51 (C-Ph), 150,55 (C(NH₂)=NOH), 149,84 (C(NH₂)=NOH), 143,83 (C-Ph), 136,62 (C-triazol), 133,52 (C-Ph), 126,76 (C-Ph), 126,73 (C-Ph), 126,15 (C-Ph), 122,82 (CH-triazol), 119,69 (C-Ph), 114,27 (C-Ph), 61,02 (CH₂).

1-((1-(4-((Z)-N'-hidroksikarbamimidoil)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-4-cijanoindol (82) i (Z)-N'-hidroksi -1-((1-(4-((Z)-N'-hidroksikarbamimidoil)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-indol-4-karboksimidamid (83)

Spojevi **82** i **83** su sintetizirani prema općem postupku iz **79c** (150 mg; 0,46 mmol) s Et₃N (0,38 mL) i NH₂OH·HCl (192 mg) u smjesi otapala metanol : DMF = 2 : 1 (12 mL). Nakon pročišćavanja kolonskom kromatografijom izoliran je bijeli praškasti spoj **82** (36 mg; 22 %; T.t. = 229–232 °C) i bijeli praškasti spoj **83** (74 mg; 41 %; T.t. = 120–123 °C).

82: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 9,79 (s, 1H, OH), 8,83 (s, 1H, H-triazol), 8,04 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, H-5), 7,86 (s, 4H, Ph), 7,81 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H, H-2), 7,57 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H, H-7), 7,25–7,37 (m, 1H, H-6), 6,64 (d, *J* = 3,1 Hz, 1H, H-3), 5,93 (s, 2H, NH₂), 5,68 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 149,93 (C(NH₂)=NOH), 144,26 (C-Ph), 136,61 (C-triazol), 135,39 (C-7a), 133,56 (C-3a), 132,20 (C-2), 129,15 (C-Ph), 126,77 (C-Ph), 124,97 (C-5), 121,76 (CH-triazol), 121,36 (C-6), 119,75 (C-Ph), 118,56 (CN), 115,81 (C-7), 101,59 (C-4), 99,56 (C-3), 41,04 (CH₂).

83: ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 9,78 (s, 1H, OH), 9,57 (s, 1H, OH), 8,82 (s, 1H, H-triazol), 7,86 (s, 4H, Ph), 7,67 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, H-5), 7,49 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H, H-2), 7,30 (dd, *J* = 7,3, 0,5 Hz, 1H, H-7), 7,09–7,21 (m, 1H, H-6), 6,88 (dd, *J* = 3,0, 0,5 Hz, 1H, H-3), 5,92 (s, 2H, NH₂), 5,68 (s, 2H, NH₂), 5,57 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆)

(δ /ppm): 152,02 (C(NH₂)=NOH), 149,80 (C(NH₂)=NOH), 144,59 (C-Ph), 136,55 (C-triazol), 135,89 (C-7a), 133,42 (C-3a), 128,70 (C-2), 126,65 (C-Ph), 125,61 (C-Ph), 125,55 (C-4), 121,53 (C-triazol), 120,69 (C-6), 119,59 (C-Ph), 117,65 (C-7), 110,78 (C-5), 102,63 (C-3), 40,71 (CH₂).

1-((1-(4-((Z)-N'-hidroksikarbamimidoil)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-5-cijanoindol (84) i **(Z)-N'-hidroksi-1-((1-(4-((Z)-N'-hidroksikarbamimidoil)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-indol-5-karboksimidamid (85)**

Spojevi **84** i **85** su sintetizirani prema općem postupku iz **79d** (125 mg; 0,39 mmol) s Et₃N (0,32 mL) i NH₂OH·HCl (163 mg) u smjesi otapala metanol : DMF = 2 : 1 (12 mL). Nakon pročišćavanja kolonskom kromatografijom izoliran je bijeli praškasti spoj **84** (26 mg; 18 %; T.t. = 232–234 °C) i bijeli praškasti spoj **85** (67 mg; 44 %; T.t. = 152–155 °C).

84: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 9,79 (s, 1H, OH), 8,84 (s, 1H, H-triazol), 8,11 (d, *J* = 1,0 Hz, 1H, H-4), 7,80–7,88 (m, 5H, Ph, H-7), 7,71 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H, H-2), 7,51 (dd, *J* = 8,6, 1,5 Hz, 1H, H-6), 6,65 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H, H-3), 5,92 (s, 2H, NH₂), 5,65 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 150,03 (C(NH₂)=NOH), 144,28 (C-Ph), 137,32 (C-triazol), 136,67 (C-7a), 133,61 (C-Ph), 131,57 (C-2), 128,18 (C-3a), 126,86 (C-Ph), 126,21 (C-4), 124,14 (C-6), 121,85 (CH-triazol), 120,72 (CN), 119,83 (C-Ph), 111,65 (C-7), 102,51 (C-3), 101,50 (C-5), 40,98 (CH₂).

85: ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 9,78 (s, 1H, OH), 9,39 (s, 1H, OH), 8,83 (s, 1H, H-triazol), 7,71–7,95 (m, 5H), 7,60 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H, 2H), 7,43–7,54 (m, 2H, H-4, H-6), 6,38–6,55 (m, 1H, H-3), 5,91 (s, 2H, NH₂), 5,72 (s, 2H, NH₂), 5,56 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 151,91 (C(NH₂)=NOH), 149,81 (C(NH₂)=NOH), 144,59 (C-Ph), 136,57 (C-triazol), 135,90 (C-7a), 133,45 (C-Ph), 129,31 (C-2), 127,77 (C-3a), 126,68 (C-Ph), 124,78 (C-5), 121,58 (CH-triazol), 119,61 (C-Ph), 119,26 (C-4), 117,77 (C-6), 109,68 (C-7), 101,71 (C-3), 40,78 (CH₂).

4-((1-(4-((Z)-N'-hidroksikarbamimidoil)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)kumarin (86)

Spoj **86** je sintetiziran prema općem postupku iz **79e** (100 mg; 0,29 mmol) s Et₃N (0,12 mL) i NH₂OH·HCl (60 mg) u smjesi otapala metanol : DMF = 2 : 1 (9 mL). Izoliran je bijeli praškasti spoj **86** (75 mg; 69 %; T.t. = 235–237 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ /ppm): 9,81 (s, 1H, OH), 9,11 (s, 1H, H-triazol), 7,94 (q, *J* = 8,9 Hz, 4H, Ph), 7,85 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, H-5), 7,61–7,72 (m, 1H, H-7), 7,42 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, H-8), 7,35 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, H-

6), 6,21 (s, 1H, H-3), 5,96 (s, 2H, NH₂), 5,53 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 164,43 (C-4), 161,62 (C-2), 152,82 (C-8a), 149,94 (C(NH₂)=NOH), 142,39 (C-triazol), 136,63 (C-Ph), 133,70 (C-Ph), 132,94 (C-7), 126,82 (C-Ph), 124,30 (C-6), 123,34 (CH-triazol), 123,09 C-5), 119,90 (C-Ph), 116,50 (C-8), 115,10 (C-4a), 91,49 (C-3), 62,83 (CH₂).

7-((1-(4-((Z)-N'-hidroksikarbamimidoil)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)kumarin (87)

Spoj **87** je sintetiziran prema općem postupku iz **79f** (100 mg; 0,29 mmol) s Et₃N (0,12 mL) i NH₂OH·HCl (60 mg) u smjesi otapala metanol : DMF = 2 : 1 (9 mL). Izoliran je bijeli praškasti spoj **87** (68 mg; 62 %; T.t. = 232–235 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 9,81 (s, 1H, OH), 9,03 (s, 1H, H-triazol), 8,01 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H, H-4), 7,91 (q, *J* = 9,0 Hz, 4H, Ph), 7,67 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H, H-5), 7,21 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H, H-8), 7,07 (dd, *J* = 8,6, 2,4 Hz, 1H, H-6), 6,32 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H, H-3), 5,95 (s, 2H, NH₂), 5,37 (s, 3H, CH₂). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 161,04 (C-2), 160,25 (C-7), 155,31 (C-8a), 149,86 (C(NH₂)=NOH), 144,29 (C-4), 143,24 (C-Ph), 136,60 (C-triazol), 133,59 (C-Ph), 129,58 (C-5), 126,76 (C-Ph), 123,09 (CH-triazol), 119,77 (C-Ph), 112,92 (C-3), 112,78 (C-6), 112,72 (C-4a), 101,66 (C-8), 61,62 (CH₂).

8-(((1-(4-((Z)-N'-hidroksikarbamimidoil)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)kinolin (88)

Spoj **88** je sintetiziran prema općem postupku iz **79g** (80 mg; 0,25 mmol) s Et₃N (0,10 mL) i NH₂OH·HCl (51 mg) u smjesi otapala metanol : DMF = 2 : 1 (9 mL). Nakon pročišćavanja kolonskom kromatografijom izoliran je bijeli praškasti spoj **88** (35 mg; 40 %; T.t. = 181–183 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 9,78 (s, 1H, OH), 8,77 (s, 1H, H-triazol), 8,22 (dd, *J* = 8,3, 1,6 Hz, 1H, H-2), 7,80–7,97 (m, 5H, Ph, H-4), 7,51 (dd, *J* = 8,3, 4,2 Hz, 1H, H-3), 7,37 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H, H-6), 7,11 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, H-5), 7,02 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H, NH), 6,82 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H, H-7), 5,92 (s, 2H, NH₂), 4,67 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 150,38 (C(NH₂)=NOH), 147,56 (C-2), 146,99 (C-8), 144,38 (C-Ph), 138,03 (C-triazol), 137,21 (C-4a), 136,45 (C-4), 133,73 (C-Ph), 128,71 (C-8a), 128,17 (C-6), 127,17 (C-Ph), 122,25 (C-3), 121,46 (CH-triazol), 120,00 (C-Ph), 114,38 (C-5), 105,39 (C-7), 29,45 (CH₂).

8-(((1-(4-((Z)-N'-hidroksikarbamimidoil)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)kinolin (89)

Spoj **89** je sintetiziran prema općem postupku iz **79h** (90 mg; 0,28 mmol) s Et₃N (0,12 mL) i NH₂OH·HCl (58 mg) u smjesi otapala metanol : DMF = 2 : 1 (9 mL). Izoliran je bijeli praškasti spoj **89** (78 mg; 79 %; T.t. = 230–232 °C). ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 9,80 (s, 1H, OH), 9,05 (s, 1H, H-triazol), 8,84 (dd, *J* = 4,1, 1,6 Hz, 1H, H-2), 8,33 (dd, *J* = 8,3, 1,6 Hz, 1H, H-4), 7,88–8,00 (m, 4H, Ph), 7,50–7,59 (m, 3H, H-3, H-5, H-6), 7,46 (dd, *J* = 6,3, 2,7 Hz, 1H, H-7), 5,94 (s, 2H, NH₂), 5,46 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 153,80 (C-8), 149,95 (C(NH₂)=NOH), 149,08 (C-2), 143,89 (C-Ph), 139,77 (C-triazol), 136,71 (C-4a), 135,90 (C-4), 133,58 (C-Ph), 129,28 (C-6), 129,14 (C-8a), 126,82 (C-Ph), 123,16 (CH-triazol), 121,95 (C-3), 120,28 (C-5), 119,79 (C-Ph), 110,31 (C-7), 61,80 (CH₂).

(Z)-N'-hidroksi-8-((1-(4-((Z)-N'-hidroksikarbamimidoil)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)kinolin-2-karboksimidamid (90)

Spoj **90** je sintetiziran prema općem postupku iz **79i** (80 mg; 0,23 mmol) s Et₃N (0,19 mL) i NH₂OH·HCl (95 mg) u smjesi otapala metanol : DMF = 2 : 1 (9 mL). Izoliran je bijeli praškasti spoj **90** (84 mg; 87 %; T.t. = 238–241 °C). ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 10,17 (s, 1H, OH), 9,81 (s, 1H, OH), 9,07 (s, 1H, H-triazol), 8,31 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,99 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,89–7,98 (m, 4H, Ph), 7,48–7,60 (m, 3H), 5,80–6,23 (m, 4H, 2 x NH₂), 5,53 (s, 2H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 153,58 (C-8), 149,85 (C(NH₂)=NOH), 149,57 (C(NH₂)=NOH), 148,58 (C-2), 144,07 (C-Ph), 138,30 (C-triazol), 136,65 (C-4a), 136,27 (C-4), 133,49 (C-Ph), 129,16 (C-8a), 127,18 (C-6), 126,74 (C-Ph), 122,90 (CH-triazol), 120,30 (C-3), 119,67 (C-Ph), 117,71 (C-5), 111,82 (C-7), 62,39 (CH₂).

4.5.4. Opći postupak pripreve imidazolinil-supstituiranih heterocikličkih derivata 1,2,3-triazola 91–98

U suspenziju odgovarajućeg cijano-supstituiranog derivata **79** u apsolutnom etanolu uvodi se plinoviti HCl uz održavanje temperature 0-5 °C do zasićenja reakcijske smjese. Suspenzija se zatim miješa na sobnoj temperaturi do nestanka CN vrpce na ~2200 cm⁻¹ u IR spektru. Nastali iminoester se profiltrira, ispere apsolutnim dietileterom do neutralnog pH i suši na vakuumu. Suspenziji dobivenog iminoestera u apsolutnom etanolu doda se etilendiamin (EDA) i reakcijska smjesa se zagrijava na temperaturi vrenja 24 sata. Nastali talog se profiltrira i dobro ispere dietileterom. U suspenziju dobivenog produkta u obliku baze

u etanolu uvodi se plinoviti HCl uz održavanje temperature 0-5 °C do zasićenja reakcijske smjese koja se zatim miješa 24 sata na sobnoj temperaturi. Nastali talog se profiltrira i ispere apsolutnim dietileterom.

4-(((1-(4-(imidazolin-2-il)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)benzoni-tril hidroklorid (91)

Spoj **91** pripravljen je prema općem postupku iz **79a** (50 mg; 0,17 mmol) u apsolutnom etanolu (15 ml). Nakon 4 dana iminoester je odfiltriran i suspendiran u apsolutnom etanolu (10 ml) te je dodan EDA (0,07 ml, 1,02 mmol). Izoliran je žuti praškasti spoj **91** (37 mg; 47 %; T.t. > 250 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 10,98 (s, 2H, NH), 10,12 (s, 2H, NH), 8,99 (s, 1H, H-triazol), 8,18–8,32 (m, 4H, Ph), 7,81 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, Ph), 7,57 (bs, 1H, NH), 6,83 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, Ph), 4,54 (d, *J* = 3,4 Hz, 2H, CH₂), 4,02 (s, 4H, CH₂), 3,89 (s, 4H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 164,47 (C-imidazolilni), 164,15 (C-imidazolilni), 156,90 (C-Ph), 153,46 (C-Ph), 146,32 (C-Ph), 140,51 (C-triazol), 130,63 (C-Ph), 130,41 (C-Ph), 121,71 (CH-triazol), 120,26 (C-Ph), 107,92 (C-Ph), 44,64 (2 x CH₂), 43,97 (2 x CH₂), 36,64 (CH₂).

4-(4-(((4-(imidazolin-2-il)feniloksi)metil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzoni-tril hidroklorid (92)

Spoj **92** pripravljen je prema općem postupku iz **79b** (100 mg; 0,33 mmol) u apsolutnom etanolu (20 ml). Nakon 10 dana iminoester je odfiltriran i suspendiran u apsolutnom etanolu (20 ml) te je dodan EDA (0,13 ml, 1,98 mmol). Izoliran je bijeli praškasti spoj **92** (34 mg; 22 %; T.t. > 250 °C). ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 10,97 (bs, 2H, NH-imidazolilni), 10,60 (bs, 2H, NH-imidazolilni), 9,19 (d, *J* = 19,7 Hz, 1H, H-triazol), 8,23–8,32 (m, 4H, Ph), 8,08 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H, Ph), 7,35 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H, Ph), 5,43 (s, 2H, CH₂), 4,03 (s, 4H, CH₂), 3,97 (s, 4H, CH₂). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 164,09 (C-imidazolilni), 163,78 (C-imidazolilni), 162,61 (C-Ph), 143,62 (C-Ph), 140,30 (C-triazol), 130,91 (C-Ph), 130,70 (C-Ph), 123,49 (CH-triazol), 122,15 (C-Ph), 120,33 (C-Ph), 115,49 (C-Ph), 114,57 (C-Ph), 61,39 (CH₂), 44,50 (2 x CH₂), 44,17 (2 x CH₂).

1-(((1-(4-(imidazolin-2-il)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-4-(imidazolin-2-il)1*H*-indol hidroklorid (93)

Spoj **93** pripravljen je prema općem postupku iz **79c** (150 mg; 0,46 mmol) u apsolutnom etanolu (30 ml). Nakon 4 dana iminoester je odfiltriran i suspendiran u apsolutnom etanolu

(15 ml) te je dodan EDA (0,19 ml, 2,76 mmol). Izoliran je smeđi praškasti spoj **93** (57 mg; 26 %); T.t. > 250 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 10,92 (s, 2H, NH-imidazolilni), 10,30 (s, 2H, NH-imidazolilni), 9,06 (s, 1H, H-triazole), 8,23 (dd, *J* = 20,1, 9,0 Hz, 4H, Ph), 8,10 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, H-5), 7,84 (d, *J* = 3,3 Hz, 1H, H-2), 7,59 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H, H-7), 7,36–7,43 (m, 1H, H-6), 6,79 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H, H-3), 5,73 (s, 2H, CH₂), 4,03 (d, *J* = 6,4 Hz, 8H, 2 x CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 165,66 (C-imidazolilni), 163,63 (C-imidazolilni), 144,51 (C-Ph), 140,20 (C-triazol), 135,98 (C-7a), 131,87 (C-2), 130,71 (C-Ph), 125,68 (C-3a), 122,15 (CH-triazol), 121,97 (C-Ph), 121,60 (C-6), 120,89 (C-5), 120,13 (C-Ph), 116,39 (C-7), 113,76 (C-4), 100,54 (C-3), 44,36 (CH₂), 40,81 (CH₂).

1-((1-(4-(imidazolin-2-il)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-5-(imidazolin-2-il)-1*H*-indol-hidroklorid (94)

Spoj **94** pripravljen je prema općem postupku iz **79d** (150 mg; 0,46 mmol) u apsolutnom etanolu (30 ml). Nakon 4 dana iminoester je odfiltriran i suspendiran u apsolutnom etanolu (15 ml) te je dodan EDA (0,19 ml, 2,76 mmol). Izoliran je crvenkasti praškasti spoj **94** (160 mg; 72 %); T.t. = 228–231 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 11,08 (s, 2H, NH-imidazolilni), 10,60 (s, 2H, NH-imidazolilni), 9,09 (s, 1H, H-triazol), 8,40 (s, 1H, H-4), 8,14–8,34 (m, 4H, Ph), 7,81–7,94 (m, 2H, H-2, H-7), 7,74 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H, H-6), 6,71 (d, *J* = 3,1 Hz, 1H, H-3), 5,70 (s, 2H, CH₂), 3,87–4,16 (m, 8H, 2 x CH₂). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 165,60 (C-imidazolilni), 163,62 (C-imidazolilni), 144,52 (C-Ph), 140,20 (C-triazol), 138,37 (C-7a), 131,59 (C-2), 130,67 (C-Ph), 127,84 (C-3a), 122,63 (C-4), 122,14 (CH-triazol), 121,95 (C-Ph), 121,17 (C-6), 120,11 (C-Ph), 112,88 (C-5), 111,01 (C-7), 102,94 (C-3), 44,35 (2 x CH₂), 44,06 (2 x CH₂), 40,84 (CH₂).

4-((1-(4-(imidazolin-2-il)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-2*H*-kromen-2-on hidroklorid (95)

Spoj **95** pripravljen je prema općem postupku iz **79e** (100 mg; 0,29 mmol) u apsolutnom etanolu (20 ml). Nakon 10 dana iminoester je odfiltriran i suspendiran u apsolutnom etanolu (10 ml) te je dodan EDA (0,06 ml, 0,87 mmol). Izoliran je bijeli praškasti spoj **95** (29 mg; 24 %); T.t. > 250 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 10,89 (s, 2H, NH-imidazolilni), 9,27 (s, 1H, H-triazol), 8,19–8,35 (m, 4H, Ph), 7,85 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, H-5), 7,68 (t, *J* = 7,1 Hz, 1H, H-7), 7,43 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, H-8), 7,36 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, H-6), 6,22 (s, 1H, H-3), 5,57 (s, 2H, CH₂), 4,04 (s, 4H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 164,27 (C-4), 163,84 (C-imidazolilni), 161,49 (C-2), 152,78 (C-8a), 142,84 (C-Ph), 140,29 (C-triazol),

132,89 (C-7), 130,57 (C-Ph), 124,23 (C-6), 123,52 (CH-triazol), 123,00 (C-5), 122,10 (Ph), 120,39 (C-Ph), 116,48 (C-8), 115,01 (C-4a), 91,55 (C-3), 62,72 (CH₂), 44,46 (2 x CH₂).

7-((1-(4-(imidazolin-2-il)fenil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)-2*H*-kromen-2-on hidroklorid (96)

Spoj **96** pripremljen je prema općem postupku iz **79f** (200 mg; 0,58 mmol) u apsolutnom etanolu (30 ml). Nakon 6 dana iminoester je odfiltriran i suspendiran u apsolutnom etanolu (15 ml) te je dodan EDA (0,12 ml, 1,74 mmol). Izoliran je bijeli praškasti spoj **96** (72 mg; 29 %); T.t. > 250 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 11,00 (s, 2H, NH-imidazolilni), 9,20 (s, 1H, H-triazol), 8,29 (q, *J* = 9,0 Hz, 4H, Ph), 8,01 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H, H-4), 7,67 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H, H-5), 7,20 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H, H-8), 7,07 (dd, *J* = 8,6, 2,4 Hz, 1H, H-6), 6,32 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H, H-3), 5,40 (s, 2H, CH₂), 4,03 (s, 4H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 163,91 (C-imidazolilni), 160,97 (C-2), 160,26 (C-7), 155,31 (C-8a), 144,30 (C-4), 143,74 (C-Ph), 140,32 (C-triazol), 130,54 (C-Ph), 129,63 (C-5), 123,40 (CH-triazol), 122,12 (C-Ph), 120,36 (C-Ph), 112,92 (C-3), 112,84 (C-6), 112,78 (C-4a), 101,66 (C-8), 61,55 (CH₂), 44,53 (2 x CH₂).

8-(((1-(4-(imidazolin-2-il)fenil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)kinolin (97)

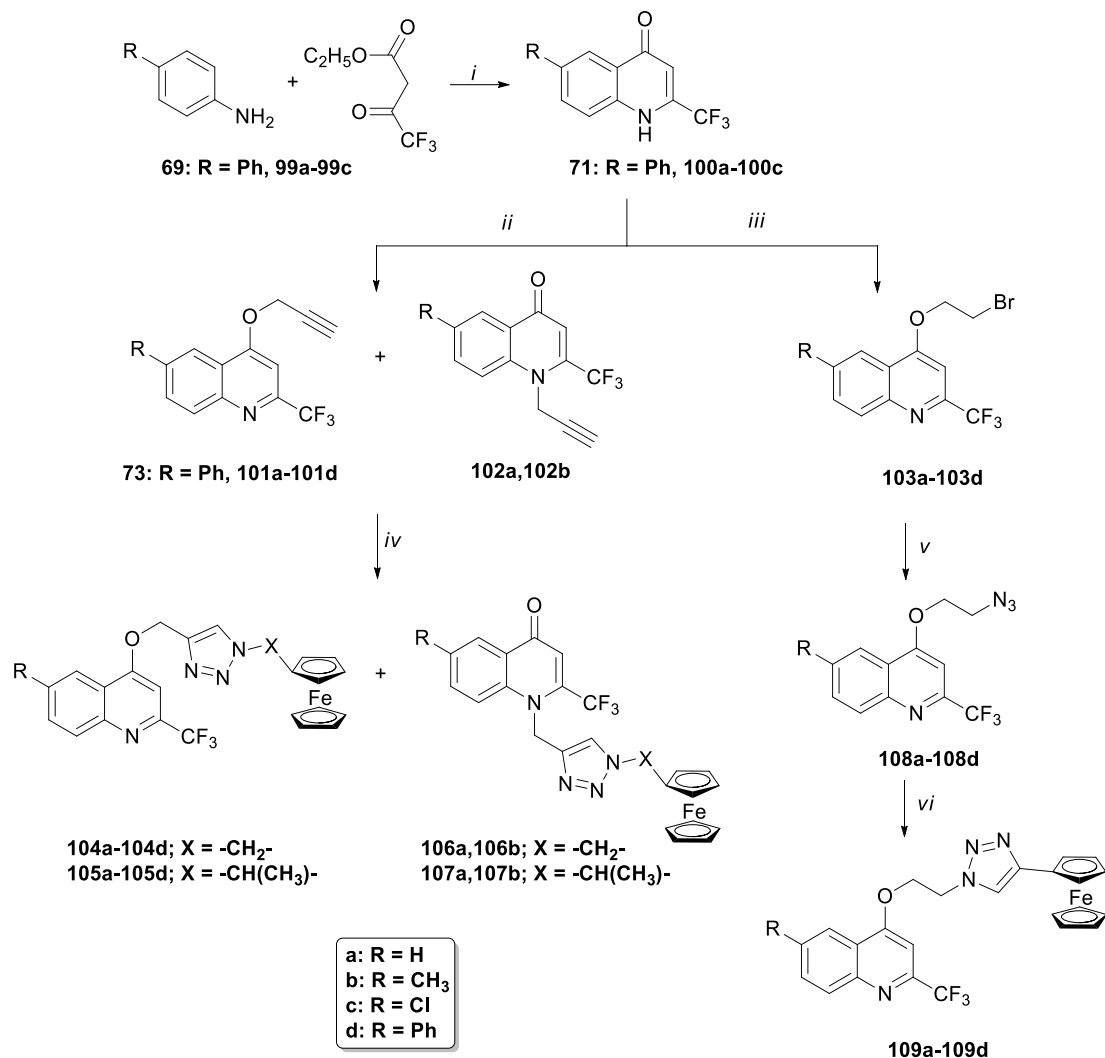
Spoj **97** pripremljen je prema općem postupku iz **79g** (190 mg; 0,58 mmol) u apsolutnom etanolu (30 ml). Nakon 10 dana iminoester je odfiltriran i suspendiran u apsolutnom etanolu (15 ml) te je dodan EDA (0,12 ml, 1,74 mmol). Izoliran je bijeli praškasti spoj **97** (48 mg; 21 %; T.t. = 192–196 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 10,93 (s, 2H, NH-imidazolilni), 8,96 (s, 1H, H-triazol), 8,82 (dd, *J* = 4,3, 1,5 Hz, 1H), 8,37 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 8,18–8,30 (m, 4H, Ph), 7,60 (dd, *J* = 8,3, 4,3 Hz, 1H), 7,42 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,19 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,89 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 4,71 (s, 2H, CH₂), 4,01 (s, 4H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 163,77 (C-imidazolilni), 146,90 (C-8), 146,42 (C-2), 143,14 (C-4a), 140,44 (C-triazol), 137,59 (C-4), 130,59 (C-Ph), 128,52 (C-8a), 128,12 (C-6), 121,79 (C-3), 121,72 (C-Ph), 121,37 (CH-triazol), 120,00 (C-Ph), 114,25 (C-7), 106,00 (C-5), 44,41 (2 x CH₂), 36,49 (CH₂).

8-(((1-(4-(imidazolin-2-il)fenil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)kinolin (98)

Spoj **98** pripremljen je prema općem postupku iz **79h** (175 mg; 0,53 mmol) u apsolutnom etanolu (30 ml). Nakon 6 dana iminoester je odfiltriran i suspendiran u apsolutnom etanolu (15 ml) te je dodan EDA (0,11 ml, 1,59 mmol). Izoliran je bijeli praškasti spoj **98** (50 mg; 23

%; T.t. = 229–232 °C). ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (δ/ppm): 10.93 (s, 2H, NH-imidazolilni), 9.56 (s, 1H, H-triazol), 9.08 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H, H-2), 8.91 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, H-4), 8.24–8.37 (m, 4H, Ph), 7.93 (bs, 1H, H-3), 7.76–7.86 (m, 3H, H-5, H-6, H-7), 5.64 (s, 2H, CH_2), 4.04 (s, 4H, CH_2). ^{13}C NMR (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (δ/ppm): 163,95 (C-imidazolilni), 153,10 (C-8), 150,11 (C-2), 144,02 (C-Ph), 140,68 (C-4a), 140,37 (C-triazol), 135,68 (C-4), 130,55 (C-Ph), 129,33 (C-8a), 123,57 (C-6), 122,33 (C-3), 122,03 (C-Ph), 120,53 (C-triazol), 120,30 (C-Ph), 108,81 (C-7), 62,19 (CH_2), 44,49 (CH_2).

4.6. Sinteza konjugata kinolina i ferocena povezanih 1,2,3-triazolilnom poveznicom



Shema 32. *Reagensi i uvjeti:* i) polifosforna kiselina (PPA), 150°C, 3 h; ii) propargil-bromid, K₂CO₃, DMF, s.t.; iii) dibrometan, K₂CO₃/NaH, DMF, s.t.; iv) 1-metilazidoferocen ili 1-azidoetilferocen, Cu(OAc)₂, metanol, s.t.; v) NaN₃, aceton, refluks; vi) etinilferocen, Cu(OAc)₂, metanol, 60°C.

4.6.1. Priprava 6-klor-2-(trifluormetil)kinolin-4(1H)-ona (100c)

Smjesa etil-4,4,4-trifluor-3-oksobutanoata (1 ekv.) i polifosforne kiseline (PPA) je zagrijana na 100 °C te je dodan 4-kloranilin (**99c**). Reakcijska smjesa je zatim zagrijana na 150 °C i

miješana 3 h. Nakon hlađenja, smjesa je razrijeđena s vodenom otopinom NaOH (5 %). Dobiveni talog je zatim otopljen u vodenoj otopini NaOH (10 %). Otopina je profiltrirana i zakiseljena dodatkom koncentrirane HCl. Dobiveni talog je suspendiran u vodi i ekstrahiran s etil-acetatom. Etil-acetat je uparen pri sniženom tlakom te je izoliran žuti praškasti spoj **100c** (1,33 g; 34 %; T.t. > 250 °C). ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 12,59 (bs, 1H, NH), 8,15 (s, 1H, H-5), 8,01 (s, 1H, H-8), 7,84 (dd, *J* = 9,0, 2,4 Hz, 1H, H-7), 7,14 (s, 1H, H-3). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 163,13 (C-4), 148,31 (C-2), 146,93 (C-8), 132,53 (C-7, C-8), 132,05 (C-6), 121,73 (q, *J* = 275,2 Hz, CF₃), 122,78 (C-4a), 121,84 (C-5), 101,51 (C-3).

4.6.2. Opći postupak sinteze *O*- i *N*-propargiliranih derivata kinolona (**101a–101d**, **102a** i **102b**)

Suspenziji odgovarajućeg kinolona **71** i **100a–100c** (1 ekv.) u DMF-u (10 mL) dodan je K₂CO₃ (1,4 ekv.). Reakcijska smjesa je miješana 30 min te je dodan propargil-bromide (1 ekv.) i reakcijska smjesa je miješana preko noći. Otapalo je upareno pri sniženom tlakom, a ostatak pročišćen kolonskom kromatografijom uz diklormetan kao eluens.

4-(prop-2-iniloksi)-2-(trifluormetil)kinolin (**101a**)

Izolirani su bezbojni kristali spoja **101a** (1.75 g, 84 %, T.t. = 106–108 °C); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,23 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H, H-5), 8,12 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, H-8), 7,86–8,00 (m, 1H, H-7), 7,76 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, H-6), 7,49 (s, 1H, H-3), 5,30 (d, *J* = 2,4 Hz, 2H, H-1'), 3,79 (t, *J* = 2,3 Hz, 1H, H-3'). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 162,01 (C-4), 147,91 (C-8a), 148,09 (q, *J* = 33,6 Hz, C-2), 132,06 (C-7), 129,66 (C-8), 128,86 (C-6), 122,10 (C-5), 121,54 (C-4a), 121,94 (q, *J* = 275,5 Hz, CF₃), 98,75 (C-3), 80,35 (C-2'), 78,10 (C-3'), 57,64 (C-1').

1-(prop-2-inil)-2-(trifluormetil)kinolin-4(1*H*)-on (**102a**)

Izolirani su bezbojni igličasti kristali spoja **102a** (55 mg, 3 %, T.t. = 159–161 °C); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 7,75–7,86 (m, 3H, H-5, H-7, H-8), 7,44–7,49 (m, 1H, H-6), 7,17 (s, 1H, H-3), 5,15 (d, 2H, *J* = 2,4 Hz, H-1'), prekriven signalom vode (H-3'). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 159,13 (C-4), 139,34 (C-8a), 136,37 (q, *J* = 31,1 Hz, C-2), 132,70 (C-7), 125,49 (C-8), 123,98 (C-6), 122,82 (q, *J* = 275,3 Hz, CF₃), 121,42 (C-3, q, *J* = 5,7 Hz), 116,75 (C-5), 114,675 (C-4a), 78,76 (C-3'), 75,53 (C-2'), 32,20 (C-1').

6-metil-4-(prop-2-iniloksi)-2-(trifluormetil)kinolin (101b)

Izolirani su bezbojni kristali spoja **101b** (1.55 g; 75 %; T.t. = 94–97 °C); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 7,91–8,10 (m, 2H, H-5, H-8), 7,75 (dd, *J* = 8,6, 1,9 Hz, 1H, H-7), 7,45 (s, 1H, H-3), 5,28 (d, *J* = 2,4 Hz, 2H, H-1'), 3,79 (t, *J* = 2,4 Hz, 1H, H-3'), 2,56 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 161,35 (C-4), 147,83 (q, *J* = 33,6 Hz, C-2), 146,49 (C-8a), 138,84 (C-6), 134,09 (C-7), 129,42 (C-8), 121,47 (C-4a), 120,72 (C-5), 122,02 (q, *J* = 275,4 Hz, CF₃), 98,72 (C-3), 80,26 (C-2'), 78,16 (C-3'), 57,50 (C-1'), 21,80 (CH₃).

6-metil-1-(prop-2-inil)-2-(trifluormetil)kinolin-4(1H)-on (102b)

Izolirani su bezbojni igličasti kristali spoja **102b** (83 mg; 4 %; T.t. = 211–213 °C); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 7,67 (s, 2H, H-5, H-8), 7,59 (s, 1H, H-7), 7,14 (s, 1H, H-3), 5,13 (d, *J* = 2,4 Hz, 2H, H-1'), prekriven signalom vode (1H, H-3'), 2,44 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 158,46 (C-4), 135,65 (q, *J* = 32,3 Hz, C-2), 136,94 (C-8a), 133,33 (C-7), 132,78 (C-6), 124,37 (C-8), 122,35 (q, *J* = 275,3 Hz, CF₃), 120,84 (q, *J* = 5,5 Hz, C-3), 116,20 (C-5), 114,15 (C-4a), 78,33 (C-3'), 74,96 (C-2'), 31,65 (C-1'), 20,34 (CH₃).

6-klor-4-(prop-2-iniloksi)-2-(trifluormetil)kinolin (101c)

Izoliran je žuti kristalinični prah spoja **101c** (1.50 g; 74 %, T.t. = 118–121 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,07–8,20 (m, 2H, H-5, H-8), 7,91 (dd, *J* = 9,0, 2,4 Hz, 1H, H-7), 7,53 (s, 1H, H-3), 5,29 (d, *J* = 2,4 Hz, 2H, H-1'), 3,79 (t, *J* = 2,4 Hz, 1H, H-3'). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 161,30 (C-4), 148,55 (q, *J* = 34,0 Hz, C-2), 146,39 (C-8), 133,57 (C-6), 132,64 (C-7), 131,94 (C-8), 122,36 (C-4a), 121,03 (C-5), 121,78 (q, *J* = 274,6 Hz, CF₃), 99,77 (C-3), 80,57 (C-2'), 77,87 (C-3'), 57,94 (C-1').

6-fenil-4-(prop-2-iniloksi)-2-(trifluormetil)kinolin (73): postupak pripreve opisan u poglavlju 4.4.

4.6.3. Opći postupak sinteze derivata 4-(2-brometoksi)kinolina 103a–103d

Suspenziji odgovarajućeg 2-(trifluormetil)kinolona **71** i **100a–100c** (1ekv.) u DMF-u dodan je K₂CO₃ (1,4 ekv.) za sintezu spojeva **103a–103c**, a NaH (1,4 ekv.) za sintezu spoja

103d. Nakon 30 min, dodan je 1,2-dibrometan (1,1 ekv.) i reakcijska smjesa je miješana na sobnoj temperature preko noći. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatak pročišćen kolonskom kromatografijom uz CH₂Cl₂ kao eluens.

4-(2-brometoksi)-2-(trifluormetil)kinolin (103a)

Izoliran je bijeli prah spoja **103a** (549 mg; 37 %; T.t. = 139–142 °C). ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,26 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, H-5), 8,09 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, H-8), 7,86–7,94 (m, 1H, H-7), 7,76 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, H-6), 7,45 (s, 1H, H-3), 4,56–4,88 (m, 2H, H-1'), 3,91–4,04 (m, 2H, H-2'). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 162,72 (C-4), 148,42 (q, *J* = 34,0 Hz, C-2), 147,85 (C-8a), 132,02 (C-7), 129,62 (C-8), 128,70 (C-6), 122,19 (C-5), 121,95 (q, *J* = 275,3 Hz, CF₃), 121,51 (C-4a), 98,45 (C-3), 69,57 (C-1'), 31,36 (C-2').

6-metil-4-(2-brometoksi)-2-(trifluormetil)kinolin (103b)

Izoliran je bijeli prah spoja **103b** (210 mg; 29 %; T.t. = 135–137 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 7,96–8,07 (m, 2H, H-5, H-8), 7,75 (dd, *J* = 8,7, 1,9 Hz, 1H, H-7), 7,42 (s, 1H, H-3), 4,53–4,80 (m, 1H, H-1'), 4,03–3,97 (m, 1H, H-2'), 2,56 (s, 1H, CH₃). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 162,10 (C-4), 147,48 (q, *J* = 33,5 Hz, C-2), 146,40 (C-8a), 138,24 (C-6), 133,89 (C-7), 129,27 (C-8), 122,09 (q, *J* = 275,3 Hz, CF₃), 121,43 (C-4a), 120,77 (C-5), 98,38 (C-3), 71,69 (C-1'), 31,32 (C-2'), 21,90 (CH₃).

6-klor-4-(2-brometoksi)-2-(trifluormetil)kinolin (103c)

Izoliran je bijeli prah spoja **103c** (192 mg; 26 %; T.t. = 132–135 °C). ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,20 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H, H-5), 8,12 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, H-8), 7,92 (dd, *J* = 9,0, 2,4 Hz, 1H, H-7), 7,52 (s, 1H, H-3), 4,63–4,80 (m, 2H, H-1'), 4,04–3,93 (m, 2H, H-2'). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 162,01 (C-4), 148,90 (q, *J* = 34,1 Hz, C-2), 146,33 (C-8a), 133,36 (C-6), 132,56 (C-7), 131,94 (C-8), 121,8 (q, *J* = 275,3 Hz, CF₃), 122,34 (C-4a), 121,09 (C-5), 99,50 (C-3), 69,87 (C-1'), 31,23 (C-2').

6-fenil-4-(2-brometoksi)-2-(trifluormetil)kinolin (103d)

Izoliran je bijeli prah spoja **103d** (184 mg; 27 %; T.t. = 72–75 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,47 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H, H-5), 8,07–8,32 (m, 2H, H-7, H-8), 7,82 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H, Ph), 7,52 (m, 4H, H-3, Ph), 4,67–4,90 (m, 2H, CH₂), 3,89–4,14 (m, 2H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 163,81 (C-4), 148,34 (q, *J* = 34,5 Hz, C-2), 147,24 (C-

8), 140,13 (C-6), 139,43 (C-1'), 131,17 (C-7), 130,37 (C-8), 129,56 (C-3'',5''), 128,83 (C-4''), 127,65 (C-2'',6''), 121,96 (q, $J = 275,2$ Hz, CF₃), 121,84 (C-4a), 119,23 (C-5), 98,89 (C-3), 69,68 (C-1'), 31,38 (C-2').

4.6.4. Opći postupak sinteze derivata 4-azidoetoksikinolina (108a–108b)

O-brometilni derivat kinolina (**108a–108d**) (1 ekv.) otopljen je u acetonu (10 mL) te je dodana vodena otopina natrij-azida (4 ekv.). Reakcijska smjesa miješana je na temperaturi refluksa 24 h. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatak je ekstrahiran s etil-acetatom i ispran vodenom otopinom natrij-klorida.

4-(2-azidoetoksi)-2-(trifluormetil)kinolin (108a)

Izoliran je bijeli prah spoja **108a** (160 mg; 64 %; T.t. = 83–86 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,26 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, H-5), 8,12 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, H-8), 7,92 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H, H-7), 7,77 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H, H-6), 7,47 (s, 1H, H-3), 4,53–4,80 (m, 2H, H-1'), 3,77–3,99 (m, 2H, H-2'). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 162,40 (C-4), 147,90 (q, $J = 33,8$ Hz, C-2), 147,38 (C-8a), 131,48 (C-7), 129,16 (C-8), 128,16 (C-6), 121,60 (C-5), 120,98 (C-4a), 121,46 (q, $J = 275,2$ Hz, CF₃), 97,84 (C-3), 68,68 (C-1'), 49,42 (C-2').

6-metil-4-(2-azidoetoksi)-2-(trifluormetil)kinolin (108b)

Izoliran je bijeli prah spoja **108b** (151 mg; 90 %; T.t. = 117–120 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 7,89–8,17 (m, 2H, H-5, H-8), 7,75 (dd, $J = 8,6, 2,0$ Hz, 1H, H-7), 7,42 (s, 1H, H-3), 4,56–4,70 (m, 2H, H-1'), 3,76–3,99 (m, 2H, H-2'), 2,54 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 161,77 (C-4), 146,96 (q, $J = 33,4$ Hz, C-2), 145,93 (C-8), 138,02 (C-6), 133,47 (C-7), 128,91 (C-8), 121,54 (q, $J = 275,4$ Hz, CF₃), 120,90 (C-4a), 120,34 (C-5), 97,76 (C-3), 68,54 (C-1'), 49,44 (C-2'), 21,38 (CH₃).

6-klor-4-(2-azidoetoksi)-2-(trifluormetil)kinolin (108c)

Izoliran je bijeli prah spoja **108c** (130 mg; 79 %; T.t. = 75–79 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,23 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H, H-5), 8,15 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, H-8), 7,94 (dd, $J = 9,0, 2,4$ Hz, 1H, H-7), 7,54 (s, 1H, H-3), 4,54–4,69 (m, 2H, H-1'), 3,81–3,95 (m, 2H, H-2'). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 162,22 (C-4), 146,34 (C-8a), 147,05 (q, $J = 33,5$ Hz,

C-2), 133,40 (C-6), 132,55 (C-7), 131,94 (C-8), 122,32 (C-4a), 121,19 (C-5), 121,80 (q, $J = 276,0$ Hz, CF_3), 99,33 (C-3), 69,59 (C-1'), 49,80 (C-2').

6-fenil-4-(2-azidoetoksi)-2-(trifluormetil)kinolin (108d)

Izoliran je bijeli prah spoja **108d** (290 mg; 91 %; T.t. = 127–130 °C). ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (δ/ppm): 8,49 (s, 1H, H-5), 8,12–8,32 (m, 2H, H-7, H-8), 7,84 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H, Ph), 7,38–7,61 (m, 4H, H-3, Ph), 4,48–4,81 (m, 2H, H-1'), 3,78–3,96 (m, 2H, H-2'). ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (δ/ppm): 163,01 (C-4), 147,74 (q, $J = 33,1$ Hz, C-2), 147,22 (C-8a), 140,13 (C-6), 139,27 (C-1"), 131,09 (C-7), 130,38 (C-8), 129,70 (C-3",5"), 128,84 (C-4"), 127,59 (C-2",6"), 121,75 (C-4a), 119,23 (C-5), 98,69 (C-3), 69,63 (C-1'), 49,91 (C-2').

4.6.5. Opći postupak sinteze hibrida kinolin–1,2,3-triazol–ferocen 109a–109d

Otopini azido derivate **108a-108b** (1 ekv.) u metanolu (1,5 mL), dodan je etinilferocen (1 ekv.) i $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (0,05 ekv.). Reakcijska smjesa je miješana 6 h na 60 °C. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku i ostatak pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens diklormetan : metanol = 10 : 1.

4-[2-(4-ferocetil-1,2,3-triazol-1-il)etoksi]-2-(trifluormetil)kinolin (109a)

Izolirani su narančasti kristali spoja **109a** (95 mg, 68 %, T.t. = 180–183 °C). IR (CH_2Cl_2) (ν/cm^{-1}): 3141(w, arC–H), 3089, 3040 (w, arC–H), 2929, 2859 (w, alC–H), 1582 (m, C=C), 1469 (m, N=N), 1369 (s, C–F), 1184 (s, N–N=N_{prsten}), 1145 (s, C–N), 1045 (m, C–O–C), 933 (m, arC–H), 833 (m, arC–H). ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (δ/ppm): 8,39 (s, 1H, H-triazol), 8,22 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, H-5), 8,07 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, H-8), 7,88 (t, $J = 7,0$ Hz, 1H, H-7), 7,74 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H, H-6), 7,49 (s, 1H, H-3), 4,97 (t, $J = 4,5$ Hz, 2H, H-1'), 4,86 (t, $J = 4,5$ Hz, 2H, H-2'), 4,69 (pt, 2H, CH-Fc), 4,28 (pt, 2H, CH-Fc), 3,91 (s, 5H, Cp-Fc). ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (δ/ppm): 162,71 (C-4), 148,37 (q, $J = 33,8$ Hz, C-2), 147,80 (C-8), 145,80 (C-triazol), 131,99 (C-6), 129,58 (C-7), 128,64 (C-8), 122,19 (C-4a), 121,92 (q, $J = 275,4$ Hz, CF_3), 121,85 (CH-triazol), 121,44 (C-5), 98,35 (C-3), 76,34 (C-1'), 69,60 (Cp-Fc), 68,69 (CH-Fc), 68,27 (Cq-Fc), 66,74 (CH-Fc), 49,14 (C-2'). HRMS (ESI): izračunato za $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{FeN}_4\text{O}$ [M]⁺ 492,0860; nađeno = 492,0880.

4-[2-(4-ferocetil-1,2,3-triazol-1-il)etoksi]-6-metil-2-(trifluormetil)kinolin (109b)

Izoliran je narančasti prah spoja **109b** (59 mg, 43 %, T.t. > 270 °C). IR (CH₂Cl₂) (v/cm⁻¹): 3141(w, arC–H), 3092, 3040 (w, arC–H), 2929, 2859 (w, alC–H), 1582 (m, C=C), 1470 (w, N=N), 1372 (s, C–F), 1185 (s, N–N=N_{prsten}), 1142 (s, C–N), 1107, 1044 (m, C–O–C), 946 (m, arC–H), 832 (m, arC–H); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,43 (s, 1H, H-triazol), 7,87–8,34 (m, 2H, H-5, H-8), 7,71 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H, H-7), 7,44 (s, 1H, H-3), 4,96 (t, *J* = 4,5 Hz, 2H, H-1'), 4,84 (t, *J* = 4,8 Hz, 2H, H-2'), 4,69 (pt, 2H, CH-Fc), 4,28 (pt, 2H, CH-Fc), 3,91 (s, 5H, CH-Fc), 2,53 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 161,47 (C-4), 146,82 (q, *J* = 33,7 Hz, C-2), 145,80 (C-8a), 145,28 (C-triazol), 137,95 (C-6), 133,39 (C-7), 128,77 (C-8), 121,51 (CH-triazol), 120,78 (C-4a), 120,21 (C-5), 121,42 (q, *J* = 275,6 Hz, CF₃), 97,73 (C-3), 76,62 (C-1'), 69,72 (Cp-Fc), 68,15 (CH-Fc), 67,65 (Cq-Fc), 66,18 (CH-Fc), 48,58 (C-2'), 21,34 (CH₃). HRMS (ESI): izračunato za C₂₅H₂₁F₃FeN₄O [*M*]⁺ 506,1017; nađeno = 506,1006.

6-klor-4-[2-(4-ferocetil-1,2,3-triazol-1-il)etoksi]-2-(trifluormetil)kinolin (109c)

Izolirani su narančasti kristali spoja **109c** (111 mg, 84 %, T.t. = 188–190 °C). IR (CH₂Cl₂) (v/cm⁻¹): 3145(w, arC–H), 3096, 3040 (w, arC–H), 2929, 2859 (w, alC–H), 1589 (m, C=C), 1499 (m, N=N), 1374 (s, C–F), 1189 (s, N–N=N_{prsten}), 1140 (s, C–N), 1100, 1046 (m, C–O–C), 941 (m, arC–H), 836 (s, arC–H); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,44 (s, 1H, H-triazol), 8,20 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H, H-5), 8,10 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, H-8), 7,89 (dd, *J* = 9,0, 2,4 Hz, 1H, H-7), 7,55 (s, 1H, H-3), 4,98 (t, *J* = 4,4 Hz, 2H, H-1'), 4,87 (t, *J* = 4,5 Hz, 2H, H-2'), 4,68 (pt, 2H, CH-Fc), 4,29 (pt, 2H, CH-Fc), 3,91 (s, 5H, Cp-Fc). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 162,02 (C-4), 148,82 (C-2, q, *J* = 34,5 Hz), 146,29 (C-8), 145,78 (C-triazol), 133,45 (C-6), 132,59 (C-7), 131,86 (C-8), 121,77 (q, *J* = 275,7 Hz, CF₃), 122,30 (C-4a), 121,96 (CH-triazol), 121,16 (C-5), 99,37 (C-3), 76,30 (C-1'), 69,59 (Cp-Fc), 68,71 (CH-Fc), 68,63 (Cq-Fc), 66,75 (CH-Fc), 49,01 (C-2'). HRMS (ESI): izračunato za C₂₄H₁₈ClF₃FeN₄O [*M*]⁺ 526,0471; nađeno = 526,0452.

4-[2-(4-ferocetil-1,2,3-triazol-1-il)etoksi]-6-fenil-2-(trifluormetil)kinolin (109d)

Izoliran je narančast kristaliničan prah spoja **109d** (232 mg, 47 %, T.t. = 141–144 °C). IR (CH₂Cl₂) (v/cm⁻¹): 3137(w, arC–H), 3089, 3036 (w, arC–H), 2929, 2855 (w, alC–H), 1579 (m, C=C), 1470 (m, N=N), 1374 (s, C–F), 1186 (s, N–N=N_{prsten}), 1141 (s, C–N), 1044 (m, C–O–C), 942 (m, arC–H), 841 (m, arC–H); ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,43 (s, 1H, H-triazol), 8,36 (d, *J* = 1,9 Hz, 1H, H-5), 8,20 (dd, *J* = 8,8, 2,1 Hz, 1H, H-7), 8,13 (d, *J* =

8,8 Hz, 1H, H-8), 7,86 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H, Ph), 7,56 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, Ph), 7,49 (m, 2H, Ph, H-3), 5,00 (t, $J = 4,8$ Hz, 2H, H-1'), 4,88 (t, $J = 4,9$ Hz, 2H, H-2'), 4,61 (pt, 2H, CH-Fc), 4,23 (pt, 2H, CH-Fc), 3,80 (s, 5H, Cp-Fc). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 162,28 (C-4), 147,75 (q, $J = 33,8$ Hz), 146,67 (C-8a), 145,28 (C-triazol), 139,56 (C-6), 138,71 (C-1"), 130,48 (C-7), 129,78 (C-8), 129,18 (C-3",5"), 128,31 (C-4"), 127,16 (C-2",6"), 121,44 (q, $J = 275,5$ Hz), 121,28 (C-4a, CH-triazol), 118,58 (C-5), 98,27 (C-3), 75,79 (C-1'), 69,00 (Cp-Fc), 68,13 (CH-Fc), 67,83 (Cq-Fc), 66,16 (CH-Fc), 48,57 (C-2'). HRMS (ESI): izračunato za $\text{C}_{30}\text{H}_{23}\text{F}_3\text{FeN}_4\text{O}$ [M] $^+$ 568,1173; nađeno = 568,1157.

4.7. Rendgenska strukturna analiza

Jedinični kristali spojeva **2**, **3**, **5**, **27**, **35**, **75a–75d**, **79b** i **79g** dobiveni su iz otopina etanola, metanola i diklormetana laganim isparavanjem pri sobnoj temperaturi. Podaci za jedinične kristale svih spojeva prikupljeni su na Oxford Diffraction Xcalibur Nova R difraktometru uz monokromatsko CuK_α zračenje ($\lambda = 1,54184$ Å) na Institutu Ruđer Bošković u Zagrebu i na Oxford Diffraction Xcalibur2 difraktometru uz monokromatsko MoK_α zračenje ($\lambda = 0,71073$ Å) na Zavodu za opću i anorgansku kemiju Kemijskog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu. Prikupljanje i obrada podataka provedeni su korištenjem programa *CrysAlisPro* [109]. Strukture svih spojeva riješene su direktnim metodama primjenom programa SIR-2004 [110], SIR-2014 [111] i SHELXS [112] i utočnjene su metodom najmanjeg kvadrata temeljenog na F^2 korištenjem programa SHELXL [112], integriranog u programski paket WinGX [113]. Analiza struktura i njihovi grafički prikazi načinjeni su programima *PLATON* [114] i *Mercury* [115].

4.8. Biološka ispitivanja

4.8.1. Antitumorska ispitivanja *in vitro*

Antitumorska aktivnost ispitana je na staničnim linijama zloćudnih tumora porijeklom iz čovjeka, A549 (adenokarcinom pluća ne-malih stanica), HeLa (karcinom vrata maternice), SW620 (metastatski kolorektalni adenokarcinom), HepG2 (karcinom jetre), CaCo-2 (adenokarcinom debelog crijeva), K562 (kronična mijeloidna leukemija) i Raji (Burkitt-ov limfom) kao i na normalne stanice MDCK1 (*Madin Darby canine kidney*) i HFF-1 (fibroblasti ljudskog prepucija), koji su kupljeni od tvrtke ATCC (The American Type Culture Collection, SAD). Za uzgoj stanica korištena je tekuća hranjiva podloga DMEM (Dulbecco's

Modified Eagle Medium, GIBCO Invitrogen, SAD) koja je prethodno kompletirana s 10 %-tnim serumom goveđeg fetusa (FBS, eng. *Fetal bovine serum*, GIBCO Invitrogen, SAD), 2mM L-glutaminom (Sigma, Njemačka), 100 jedinica/mL penicilinom i 100 µg/mL streptomycinom (GIBCO Invitrogen, SAD). Stanice su uzgajane u inkubatoru pri temperaturi od 37 °C i 5 % CO₂ u plastičnim bocama za stanične kulture (Falcon, SAD). Broj i vijabilnost stanica utvrđena je pomoću automatskog brojača stanica (Countess™ Automated Cell Counter, Invitrogen SAD).

4.8.1.1. MTT Test

Stanične linije nasadene su na standardne mikrotitarske pločice s 96 jažica (TPP®, Švicarska) nasadeno je 150 µL stanične suspenzije u koncentraciji 3×10^3 stanica/jažici. Nakon 24 h u jažice su dodani ispitivani spojevi u razrjeđenjima od 10^{-8} do 10^{-4} µM i stanice su inkubirane 72 h. Kontrolne stanice su rasle u mediju za rast bez i uz dodatak otapala u kojem su otopljeni uzorci za analizu (DMSO). Nakon 72 h inkubacije rast stanica je određen pomoću metode MTT [116]. Apsorbancija je mjerena pri valjnoj duljini od 570 nm na čitaču mikrotitarskih pločica (Sunrise™, Tecan, Švicarska). Postotak rasta stanica (PG, eng. *cell percentage of growth*) izračunat je iz eksperimentalno dobivenih apsorbancija prema protokolu NCI-a (eng. *National Cancer Institute*, SAD). Pomoću PG vrijednosti dobivene su “*dose-response*” krivulje, odnosno krivulja ovisnosti preživljenja stanica o koncentraciji. Interpolacijom na apscisi izračunate su vrijednostui IC₅₀ (koncentracija spoja koja inhibira rast 50 % stanica) i LC₅₀ (koncentracija spoja koja izaziva smrt 50 % stanica) vrijednosti za svaki od ispitivanih spojeva. Vrijednosti IC₅₀ dobiveni su iz tri nezavisna eksperimenta i statistički analizirani pomoću ANOVA, Tukey post-hoc testa ($p < 0,05$).

4.8.2. Antibakterijska ispitivanja

Priredeni spojevima ispitano je antibakterijsko djelovanje *in vitro* na gram-pozitivne bakterije: *S. aureus* (ATCC 29213), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 49619), *Streptococcus pyogenes* (ATCC 700294) i gram-negativne bakterije: *E. coli* (ATCC 25925 i ATCC 25922), *Moraxella catarrhalis* (ATCC 23246), *Haemophilus influenzae* (ATCC 49247), *K. pneumoniae* (ATCC 700803), *P. aeruginosa* (ATCC 27853) i *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606), te na na klinički rezistentne gram-pozitivne sojeve: *S. aureus* osjetljiv na meticilin (MSSA) i *E. faecium* rezistentan na vankomicin (VRE), prema standardnoj metodi mikrodilucije kao što je preporučeno u

smjernicama Instituta za kliničke i laboratorijske standarde [117] te je određena minimalna inhibitorna koncentracija (MIC). Ispitivanje je provedeno u mikrotitarskim pločicama s 96 jažica (Falcon 3077, Becton Dickinson Labware, New Jersey, SAD) u kationskom (Ca^{2+} i Mg^{2+}) mediju Mueller-Hinton (Becton Dickinson i Co., Cockeysville MD, SAD) za miješanje. Raspon koncentracije ispitivanih spojeva iznosio je 256–0,25 $\mu\text{g/mL}$. Standardizirani početni inokulum pripremljen je izravnom metodom suspenzije kolonija do konačnog inokuluma od 5×10^5 CFU/mL kao što je opisano (CLSI M7-A7). Posude su inkubirane pri 35 ± 2 °C preko noći (16 do 20 h). Također, *E. coli* ATCC 25922 i *P. aeruginosa* ATCC 27853 poslužili su kao kontrola kvalitete u postupku određivanja MIC vrijednosti. MIC je određen kao najniža koncentracija ispitivanog spoja koja potpuno inhibira rast organizma u jažicama. Sva testiranja su provedena u triplikatu.

4.9. Ispitivanje interakcija odabranih spojeva s polinukleotidima

4.9.1. Polinukleotidi

Interakcije priređenih spojeva ispitane su korištenjem polyA–polyU (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) i *calf thymus ctDNA* (Aldrich) polinukleotida. Polinukleotidi su otopljeni u BPE puferu (6,0 mM Na_2HPO_4 , 2,0 mM NaH_2PO_4 i 1,0 mM EDTA), $I = 0,05$ mol dm^{-3} ; pH = 7,0). *ctDNA* dodatno je sonificirana i filtrirana preko 0,45 mm filtera. Koncentracija polinukleotida određena je spektroskopski kao koncentracija nukleobaza [118].

4.9.2. UV/Vis spektroskopija

UV/Vis spektri snimljeni su na spektrofotometru Elmer Lambda 25. Apsorbancija je određena u kvarcnim kivetama duljine puta 1 cm. UV/Vis titracijama praćene su promjene spektara ispitivanih spojeva na valnim duljinama $\lambda = 220$ –450 nm, na kojima upotrebljeni polinukleotidi ne apsorbiraju UV/Vis zračenje. Mjerenja su provedena pri sobnoj temperaturi u puferu BPE. Prvo se snimi UV/Vis spektar slijepe probe (0,999 mL BPE i 1 μL DMSO). Zatim se snimi apsorpcijski spektar otopine ispitivanog spoja u kvarcnoj kiveti ($c = 1 \times 10^{-3}$ mol dm^{-3}) i dodaju alikvoti otopine polinukleotida u puferu BPE ($I = 0,05$ mol dm^{-3} , pH = 7,0). Nakon svakog dodatka promiješa se otopina i pričeka da se kompleks uravnoteži (2–3 min), te se snimi apsorpcijski spektar. Koncentracija polinukleotida mijenja se u području od 10^{-5} do 10^{-4} mol dm^{-3} i korigira za razrjeđenje. Dobiveni podaci obrađeni su u programu ORIGIN 9.0. Konstante stabilnosti (K_s) i omjeri n ([vezani spoj]/[polinukleotid]) izračunati su prema Scatchardovoj jednadžbi [119].

4.9.3. Određivanje promjene temperature mekšanja (ΔT_m)

Promjena temperature mekšanja ispitana je na Perkin Elmer Lambda 25 spektrofotometru u kvarcnim kivetama duljine puta 1 cm. Apsorbancija kompleksa DNA/RNA polinukleotida s ispitivanim spojevima praćena je na $\lambda = 260$ nm u ovisnosti o temperature (25–98 °C). Temperature “mekšanja” određene su kao točke infleksije temperaturnih krivulja na osnovu prve derivacije. Promjena temperature mekšanja (ΔT_m) određena je kao razlika temperature mekšanja kompleksa DNA/RNA-ispitani spoj i temperature mekšanja slobodnog polinukleotida. Mjerenja su provedena pri omjerima r (ispitivani spoj/polinukleotid) 0,1, 0,5 i 0,7 za *ct*DNA i 0,1, 0,3 i 0,5 za pApU. ΔT_m vrijednosti su određene iz najmanje dva neovisna mjerenja s pogreškom ± 0.5 °C. Dobiveni podaci obrađeni su u programu ORIGIN 9.0.

4.9.4. Cirkularni dikroizam (CD)

CD spektri snimani su na JASCO J-800 spektrometru. Titracijama su praćene promjene u intenzitetu CD spektra polinukleotida (koncentracije 2×10^{-5} M) dodatkom ispitivanog spoja u području $\lambda = 220$ –450 nm. Mjerenja su provedena pri omjerima r ([ispitani spoj]/[polinukleotid]) 0,1; 0,3; 0,5 i 0,7 na sobnoj temperaturi u BPE puferu ($I = 0.05$ mol dm^{-3} , pH= 7). Sva mjerenja su provedena na sobnoj temperaturi, a podatci obrađeni u programu ORIGIN 9.0.

4.10. *In silico* analiza

Predviđanje potencijalnih bioloških meta i farmakoloških učinaka provedeno je primjenom web-servisa PASS (<http://www.pharmaexpert.ru/passonline/index.php>), koje se temelji na identificiranju strukturnih značajki karakterističnih za aktivne spojeve [91].

5. ZAKLJUČAK

- Regioselektivnom 1,3-dipolarnom cikloadicijom azido derivata pirimidina **5** i **23** s propargil-alkoholom kataliziranom bakrom Cu(I) (CuAAC) sintetizirani su 5-[2-(4-hidroksimetil-1,2,3-triazol-1-il)etil]pirimidin-2,4-dion (**6**) i 5-(4-hidroksimetil-1,2,3-triazolil)pirimidin-2,4-dion (**24**).
- *Klik* reakcija kojom su sintetizirani spojevi **6** i **24** provedena je dodatno pod utjecajem mikrovalnog zračenja što je smanjilo vrijeme trajanja reakcije s 24 h na 10 min.
- Reakcijom *N*-alkiliranja konjugata 1,2,3-triazola i pirimidina **6** i **24** s odgovarajućim alkilirajućim agensom u prisutnosti baze, te uklanjanjem zaštitnih skupina, dobiveni su aciklički pirimidinski nukleozidni analozi s penciklovirnim, ganciklovirnim ili 2,3-dihidroksipropilnim lancem **10**, **13**, **19–21**, **26** i **30**.
- Reakcijom CuAAC sintetizirani su konjugati 1,2,3-triazola i benzimidazola, indola i 2-arilbenzotiazola s halogeno-supstituiranim aromatskim (**39–47** i **55–58**) i kumarinskim podjedinicama (**48–53**, **59** i **60**), te derivati indola i benzimidazola s nesupstituiranim *NH*-1,2,3-triazolnim prstenom (**35–38**). Naknadnim *N*-alkiliranjem nesupstituiranih *NH*-1,2,3-triazola **35–38** pripremljeni su 2,4- (**61a–64a**) i 1,4-disupstituirani (**61b–63b**) aciklički derivati s penciklovirnim lancem.
- Rendgenskom kristalnom strukturnom analizom potvrđeno je da se hibrid 1,2,3-triazol-benzimidazol **35** nalazi u *1H*-tautomernom obliku.
- Spojevi **48–53** i **55–60** pokazuju fluorescenciju u ljubičastom dijelu vidljivog spektra, a hibrid 2-arilbenzotiazol-1,2,3-triazol-7-hidroksikumarin **59** pokazao je najveći intenzitet emisije. Primijećen je utjecaj fenilne poveznice spojeva **55–60** na intenzitet emisije i maksimum valne duljine tako da povećava intenzitet emisije i uzrokuje crveni pomak maksimuma emisije za ~ 20 nm.
- Rezultati ispitivanja antibakterijskog djelovanja spojeva **35–68a** su pokazali da konjugati benzimidazola i 1,2,3-triazola s *p*-klorfenilnom **39** i *p*-fluorfenilnom **43** skupinom imaju značajnu inhibiciju patogena *M. catarrhalis* koji uzrokuje infekcije dišnog sustava kod čovjeka, a 2-arilbenzotiazol-1,2,3-triazol-7-hidroksikumarin **59** je pokazao jako antibakterijsko djelovanje na isti patogen poput referentnog antibiotika azitromicina (MIC ≤ 0,25 µg/mL).

- Konjugati 6-fenil- (**75a–75f**) i 6-karboksamido-2-(trifluormetil)kinolina (**76a–76f**) i 1,2,3-triazola sintetizirani su reakcijom CuAAC *p*-supstituiranih aromatskih azida i propargiliranih kinolina. Mehanokemijske *klik* reakcije uz Cu(II), Cu(I) i Cu(0) katalizatore dodatno su provedene u sintezi 6-fenil-2-(trifluormetil)kinolina **75a–75d**, čime su dobiveni spojevi u čak 15 puta boljim iskorištenjima u odnosu na reakcije provedene u otopini. Utjecaj *p*-supstituenta aromatskih azida jednak je u konvencionalno i mehanokemijskim provedenim *klik* reakcijama, a smanjuje reaktivnost u nizu H < Cl < Br < I.
- *In situ* praćenje tijeka mehanokemijske *klik* reakcije alkina **73** i 1-azido-4-klorbenzena Ramanovom spektroskopijom, kod kojih su kao katalizatori korištene soli Cu(I) i Cu(II), onemogućeno je pojavom širokih luminiscentnih signala koji nakon nekoliko minuta prekriju Ramanov spektar, što ukazuje na izravno uključenje katalizatora u reakciju tijekom mljevenja i nastajanje luminiscentnih bakrovih spojeva.
- Primjenom katalizatora Cu(0), u obliku mjedenih kuglica za mljevenje u mehanokemijskoj *klik* reakciji alkina **73** i 1-azido-4-klorbenzena, uočen je porast luminiscencije, ali dovoljno blagi da omogući praćenje direktne transformacije reaktanata u produkt. Analizom vremenski razlučenih Ramanovih spektara uočeno je direktno nastajanje produkta *p*-klorfenil-supstituiranog konjugata kinolina i 1,2,3-triazola **75a**, bez nastajanja intemedijera, te da je C≡C vrpca početnog alkina **73** vidljiva nakon 210 min mljevenja, čime se može zaključiti da se katalitički proces mehanokemijske *klik* reakcije u ovom slučaju odvija na površini samih kuglica te da je difuzija bakrovih iona u reakcijsku smjesu smanjena.
- Cijano-supstituirani derivati benzonitrila, kinolina, kumarina i indola **79a–79i** priređeni su 1,3-dipolarnom cikloadicijom odgovarajućih alkina **77a–77i** s 4-azidobenzonitrilom uz bakar, kao katalizator, a poslužili su kao prekursori za sintezu ciljanih amidoksim- (**80–90**) i amidino-supstituiranih (**91–98**) konjugata 1,2,3-triazola i heterocikla.
- Reakcijom nitrila s hidroksilaminom uz trietilamin, kao bazu, dobiveni su amidoksimi **80–90**, dok su amidini **91–98** sintetizirani Pinnerovom reakcijom.
- Amidini **91–98** su općenito pokazali dobru antiproliferativnu aktivnost. Asimetrični bis-fenilni amidin povezan preko 4-metilenoksi-1,2,3-triazolilne poveznice **92** pokazao je snažno antitumorsko djelovanje na stanične linije karcinoma vrata maternice (HeLa) (IC₅₀

= 0,80 $\mu\text{g/mL}$), metastatskog kolorektalnog adenokarcinoma (SW620) (IC_{50} = 0,22 $\mu\text{g/mL}$) i karcinoma jetre (HepG2) (IC_{50} = 0,64 $\mu\text{g/mL}$). Značajnu i selektivnu antitumorsku aktivnost na stanice karcinoma jetre (HepG2) (IC_{50} = 2,37 $\mu\text{g/mL}$) pokazao bis-amidino derivat indola **93**.

- Iz serije amidoksim-supstituiranih spojeva **80–90** samo su kinolinski derivati **88** i **90** pokazali umjerenu antitumorsku aktivnost.
- Rezultati ispitivanja interakcija s *ct*DNK i dsRNK za odabrane amidino-supstituirane heterocikličke derivate 1,2,3-triazola **91–93**, **95** i **96** ukazuju da je prisutnost dviju imidazolilnih grupa ključna za vezanje na DNK. Svi spojevi pokazuju veći afinitet prema polinukleotidima RNK (pApU i pCpG) u odnosu na *ct*DNK. Spektroskopijom CD utvrđeno je vezanje u mali utor *ct*DNK kao dominantan način vezanja spoja **93**, te vanjsko vezanje nespecifičnom agregacijom uzduž polinukleotidnog lanca za spoj **96**.
- Reakcijom CuAAC azidoferocena i propargiliranih derivata kinolina dobiveni su novi *O*-alkilirani derivati kinolina (**104a–104d**, **105a–105d**) i *N*-alkilirani derivati kinolona (**106a**, **106b**, **107a** i **107b**) povezani s ferocenskom jezgrom preko 1,4-disupstituiranog 1,2,3-triazola, dok su konjugati s 1,4-disupstituiranim 1,2,3-triazolom **109a–109d** dobiveni reakcijom CuAAC 4-(azidoetoksi)kinolina i etinil-ferocena.
- U reakciji propargiliranja kinolina dva su moguća produkta: *O*-propargilirani (**73** i **101a–101c**) i *N*-propargilirani derivati (**102a** i **102b**) 2-(trifluormetil)kinolina. Primjenom kvantno-kemijskih računa i analizom spektara NMR zaključeno je da na regioselektivnost reakcije propargiliranja 2-(trifluormetil)kinolina sterički utječe CF_3 skupina na položaju C-2 kinolina koja čini reakciju *N*-alkiliranja kinetčki manje povoljnom.
- Rezultati antiproliferativnog ispitivanja za kinolin–1,2,3-triazol–ferocen hibride pokazuju da *O*-alkilirani derivati (**104a–104d**, **105a–105d**) s 4,1-disupstituiranim 1,2,3-triazolom u strukturi nemaju citostatsku aktivnost u odnosu na njihove *N*-alkilirane analoge (**109a–109d**). Tako je *N*-alkilirani konjugat kinolina i ferocena **106a** pokazao značajnu antiproliferativnu aktivnost na stanice kronične mijeloidne leukemije (K562, IC_{50} = 7,7 $\mu\text{g/mL}$) i Burkittov limfom (Raji, IC_{50} = 8,4 $\mu\text{g/mL}$).
- 4-*O*-alkilirani derivat 6-klorupstituiranog kinolina koji je s ferocenskom jezgrom povezan preko 1,4-disupstituiranog 1,2,3-triazola **109c** pokazao je selektivnu antiproliferativnu

5. ZAKLJUČAK

aktivnost na stanice Burkittovog limfoma (Raji, $IC_{50} = 7,9 \mu\text{g/mL}$) bez citostatskog učinka na zdrave stanice. Spoj je također pokazao udvostručenu proizvodnju reaktivnih kisikovih spojeva (ROS) u stanicama Raji, u odnosu na kontrolu.

6. LITERATURA

1. Nikolaou, M.; Pavlopoulou, A.; Georgakilas, A.G.; Kyrodimos, E. The challenge of drug resistance in cancer treatment: a current overview. *Clin. Exp. Metastasis* **2018**, *35*, 309–318.
2. Peters, G.J. Cancer drug resistance: a new perspective. *Cancer Drug Resist.* **2018**, *1*, 1–5.
3. Hall, M.D.; Handley, M.D.; Gottesman, M.M. Is resistance useless? Multidrug resistance and collateral sensitivity. *Trends Pharmacol. Sci.* **2009**, *30*, 546–556.
4. Infectious Diseases Society of America (IDSA); Spellberg, B.; Blaser, M.; Guidos, R.J.; Boucher, H.W.; Bradley, J.S.; Eisenstein, B.I.; Gerding, D.; Lynfield, R.; Reller, L.B.; et al. Combating antimicrobial resistance: policy recommendations to save lives. *Clin. Infect. Dis.* **2011**, *52*, 397–428.
5. Nikaido, H. Multidrug resistance in bacteria. *Annu. Rev. Biochem.* **2009**, *78*, 119–146.
6. Pendleton, J.N.; Gorman, S.P.; Gilmore, B.F. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.* **2013**, *11*, 297–308.
7. Santajit, S.; Indrawattana, N. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Biomed Res. Int.* **2016**, *2016*, 2475067.
8. Nepali, K.; Sharma, S.; Sharma, M.; Bedi, P.M.S.; Dhar, K.L. Rational approaches, design strategies, structure activity relationship and mechanistic insights for anticancer hybrids. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *77*, 482–487.
9. Fraga, C.A.M. Drug hybridization strategies: before or after lead identification? *Expert Opin. Drug Discov.* **2009**, *4*, 605–609.
10. Kolb, H.C.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004–2021.
11. Dheer, D.; Singh, V.; Shankar, R. Medicinal attributes of 1,2,3-triazoles: Current developments. *Bioorg. Chem.* **2017**, *71*, 30–54.
12. Shaveta; Mishra, S.; Singh, P. Hybrid molecules: The privileged scaffolds for various pharmaceuticals. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *124*, 500–536.
13. Bosquesi, P.L.; Melo, T.R.F.; Vizioli, E.O.; dos Santos, J.L.; Chung, M.C. Anti-

- inflammatory drug design using a molecular hybridization approach. *Pharmaceuticals* **2011**, *4*, 1450–1474.
14. Morphy, R.; Kay, C.; Rankovic, Z. From magic bullets to designed multiple ligands. *Drug Discov. Today* **2004**, *9*, 641–651.
 15. Yu, B.; Qi, P.-P.; Shi, X.-J.; Huang, R.; Guo, H.; Zheng, Y.-C.; Yu, D.-Q.; Liu, H.-M. Efficient synthesis of new antiproliferative steroidal hybrids using the molecular hybridization approach. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *117*, 241–255.
 16. Karthikeyan, C.; Solomon, V.R.; Lee, H.; Trivedi, P. Design, synthesis and biological evaluation of some isatin-linked chalcones as novel anti-breast cancer agents: A molecular hybridization approach. *Biomed. Prev. Nutr.* **2013**, *3*, 325–330.
 17. Guantai, E.M.; Ncokazi, K.; Egan, T.J.; Gut, J.; Rosenthal, P.J.; Smith, P.J.; Chibale, K. Design, synthesis and in vitro antimalarial evaluation of triazole-linked chalcone and dienone hybrid compounds. *Bioorganic Med. Chem.* **2010**, *18*, 8243–8256.
 18. Huisgen, R. 1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future. *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1963**, *2*, 565–632.
 19. Tiwari, V.K.; Mishra, B.B.; Mishra, K.B.; Mishra, N.; Singh, A.S.; Chen, X. Cu-Catalyzed Click Reaction in Carbohydrate Chemistry. *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 3086–3240.
 20. Rostovtsev, V. V.; Green, L.G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K.B. A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective “Ligation” of Azides and Terminal Alkynes. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596–2599.
 21. Christian W. Tornøe; Caspar Christensen, A.; Meldal*, M. Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057–3064.
 22. Amblard, F.; Cho, J.H.; Schinazi, R.F. Cu(I)-catalyzed Huisgen azide-alkyne 1,3-dipolar cycloaddition reaction in nucleoside, nucleotide, and oligonucleotide chemistry. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 4207–4220.
 23. Singh, M.S.; Chowdhury, S.; Koley, S. Advances of azide-alkyne cycloaddition-click chemistry over the recent decade. *Tetrahedron* **2016**, *72*, 5257–5283.

24. Hein, J.E.; Fokin, V. V. Copper-catalyzed azide–alkyne cycloaddition (CuAAC) and beyond: new reactivity of copper(i) acetylides. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1302–1315.
25. Himo, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V. V.; Noodleman, L.; Sharpless, K.B.; Valery V. Fokin Copper(I)-Catalyzed Synthesis of Azoles. DFT Study Predicts Unprecedented Reactivity and Intermediates. **2004**, *127*, 210–216.
26. Meldal, M.; Tornøe, C.W. Cu-Catalyzed Azide - Alkyne Cycloaddition. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2952–3015.
27. Bock, V.D.; Hiemstra, H.; van Maarseveen, J.H. CuI-Catalyzed Alkyne-Azide “Click” Cycloadditions from a Mechanistic and Synthetic Perspective. *European J. Org. Chem.* **2006**, *2006*, 51–68.
28. Berg, R.; Straub, B.F. Advancements in the mechanistic understanding of the copper-catalyzed azide–alkyne cycloaddition. *Beilstein J. Org. Chem.* **2013**, *9*, 2715–2750.
29. Lauria, A.; Delisi, R.; Mingoia, F.; Terenzi, A.; Martorana, A.; Barone, G.; Almerico, A.M. 1,2,3-triazole in heterocyclic compounds, endowed with biological activity, through 1,3-dipolar cycloadditions. *European J. Org. Chem.* **2014**, 3289–3306.
30. Hou, J.; Liu, X.; Shen, J.; Zhao, G.; Wang, P.G. The impact of click chemistry in medicinal chemistry. *Expert Opin. Drug Discov.* **2012**, *7*, 489–501.
31. V. Kouznetsov, V.; Y. Vargas-Mendez, L.; I. Zubkov, F. Recent Advances in the Synthesis of Bioactive Quinoline-Based 1,2,3-Triazoles via Cu-Catalyzed Huisgen 1,3-Dipolar Cycloaddition (“Click Reaction”). *Mini. Rev. Org. Chem.* **2016**, *13*, 488–503.
32. Pedersen, D.S.; Abell, A. 1,2,3-Triazoles in peptidomimetic chemistry. *European J. Org. Chem.* **2011**, 2399–2411.
33. Massarotti, A.; Aprile, S.; Mercalli, V.; Del Grosso, E.; Grosa, G.; Sorba, G.; Tron, G.C. Are 1,4- and 1,5-disubstituted 1,2,3-triazoles good pharmacophoric groups? *ChemMedChem* **2014**, *9*, 2497–2508.
34. Soltis, M.J.; Yeh, H.J.; Cole, K.A.; Whittaker, N.; Wersto, R.P.; Kohn, E.C. Identification and characterization of human metabolites of CAI [5-amino-1-(4'-chlorobenzoyl-3,5-dichlorobenzyl)-1,2,3-triazole-4-carboxamide]. *Drug Metab. Dispos.* **1996**, *24*, 799–806.

35. Alvarez, R.; Velázquez, S.; San-felix, A.; Aquaro, S.; De Clercq, E.; Perno, C.; Karlsson, A.; Balzarini, J.; Camarasa, M.J. HIV 1,2,3-triazoles. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 4185–4194.
36. Bennett, I.S.; Brooks, G.; Broom, N.J.; Calvert, S.H.; Coleman, K.; François, I. 6-(substituted methylene)penems, potent broad spectrum inhibitors of bacterial beta-lactamase. V. Chiral 1,2,3-triazolyl derivatives. *J. Antibiot. (Tokyo)*. **1991**, *44*, 969–978.
37. Vatmurge, N.S.; Hazra, B.G.; Pore, V.S.; Shirazi, F.; Chavan, P.S.; Deshpande, M. V Synthesis and antimicrobial activity of beta-lactam-bile acid conjugates linked via triazole. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 2043–2047.
38. Raić-Malić, S.; Meščić, A. Recent trends in 1,2,3-triazolo-nucleosides as promising anti-infective and anticancer agents. *Curr. Med. Chem.* **2015**, *22*, 1462–1499.
39. De Clercq, E.; Field, H.J. Antiviral prodrugs - the development of successful prodrug strategies for antiviral chemotherapy. *Br. J. Pharmacol.* **2006**, *147*, 1–11.
40. Głowacka, I.E.; Andrei, G.; Schols, D.; Snoeck, R.; Gawron, K. Design, Synthesis, and the Biological Evaluation of a New Series of Acyclic 1,2,3-Triazole Nucleosides. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **2017**, *350*, 1–17.
41. De Clercq, E.; Holy, A. Antiviral activity of aliphatic nucleoside analogs: structure-function relationship. *J. Med. Chem.* **1979**, *22*, 510–513.
42. De Clercq, E.; Descamps, J.; De Somer, P.; Holý, A. (S)-9-(2,3-dihydroxypropyl)adenine: An aliphatic nucleoside analog with broad-spectrum antiviral activity. *Science (80-.)*. **1978**, *200*, 563–565.
43. Lazrek, H.B.; Taourirte, M.; Oulih, T.; Barascut, J.L.; Imbach, J.L.; Pannecouque, C.; Witrouw, M.; Clercq, E. De; Bio-organique, L.D.C.; Leuven, K.U. Synthesis and Anti-Hiv Activity of New Modified 1, 2, 3-Triazole. *Nucleosides Nucleotides & Nucleic Acids* **2001**, *20*, 1949–1960.
44. Moustafa, A.H.; El-Sayed, H.A.; Haikal, A.E.-F.Z.; El Ashry, E.S.H. Synthesis of Acyclovir and HBG Analogues Having Nicotinonitrile and Its 2-methoxy 1,2,3-triazole. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* **2011**, *30*, 340–352.

45. Solomon, V.R.; Lee, H. Quinoline as a privileged scaffold in cancer drug discovery. *Curr. Med. Chem.* **2011**, *18*, 1488–508.
46. Manohar, S.; Khan, S.I.; Rawat, D.S. Synthesis of 4-aminoquinoline-1,2,3-triazole and 4-aminoquinoline-1,2,3-triazole-1,3,5-triazine hybrids as potential antimalarial agents. *Chem. Biol. Drug Des.* **2011**, *78*, 124–136.
47. Leshner, G.Y.; Froelich, E.J.; Gruett, M.D.; Bailey, J.H.; Brundage, R.P. 1,8-Naphthyridine Derivatives. A New Class of Chemotherapeutic Agents. *J. Med. Pharm. Chem.* **1962**, *5*, 1063–1065.
48. Andersson, M.I. Development of the quinolones. *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, *51*, 1–11.
49. Lucia, P. Quinolones: Synthesis and Antibacterial Activity. In *Antimicrobial Agents*; InTech, 2012; pp. 255–272.
50. Sissi, C.; Palumbo, M. The Quinolone Family: From Antibacterial to Anticancer Agents. *Curr. Med. Chem. Agents* **2003**, *3*, 439–450.
51. Sumangala, V.; Poojary, B.; Chidananda, N.; Fernandes, J.; Kumari, N.S. Synthesis and antimicrobial activity of 1,2,3-triazoles containing quinoline moiety. *Arch. Pharm. Res.* **2010**, *33*, 1911–1918.
52. Garudachari, B.; Isloor, A.M.; Satyanarayana, M.N.; Fun, H.-K.; Hegde, G. Click chemistry approach: Regioselective one-pot synthesis of some new 8-trifluoromethylquinoline based 1,2,3-triazoles as potent antimicrobial agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *74*, 324–332.
53. Holla, B.S.; Mahalinga, M.; Karthikeyan, M.S.; Poojary, B.; Akberali, P.M.; Kumari, N.S. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of some substituted 1,2,3-triazoles. *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, *40*, 1173–1178.
54. Hamann, A.R.; de Kock, C.; Smith, P.J.; van Otterlo, W.A.L.; Blackie, M.A.L. Synthesis of novel triazole-linked mefloquine derivatives: biological evaluation against *Plasmodium falciparum*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 5466–5469.
55. Afzal, O.; Kumar, S.; Haider, M.R. af.; Ali, M.R. ahma.; Kumar, R.; Jaggi, M.; Bawa, S. A review on anticancer potential of bioactive heterocycle quinoline. *Eur. J. Med.*

- Chem.* 2015, 871–910.
56. Hawtin, R.E.; Stockett, D.E.; Byl, J.A.W.; McDowell, R.S.; Tan, N.; Arkin, M.R.; Conroy, A.; Yang, W.; Osheroff, N.; Fox, J.A. Voreloxin is an anticancer quinolone derivative that intercalates DNA and poisons topoisomerase II. *PLoS One* **2010**, *5*, e10186.
57. Brouet, J.-C.; Gu, S.; Peet, N.P.; Williams, J.D. A Survey of Solvents for the Conrad-Limpach Synthesis of 4-Hydroxyquinolones. *Synth. Commun.* **2009**, *39*, 5193–5196.
58. Wang, Z. Conrad-Limpach Quinoline Synthesis. In *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*; 2010; pp. 692–696.
59. Sandhu, S.; Bansal, Y.; Silakari, O.; Bansal, G. Coumarin hybrids as novel therapeutic agents. *Bioorganic Med. Chem.* **2014**, *22*, 3806–3814.
60. López-Rojas, P.; Janeczko, M.; Kubiński, K.; Amesty, Á.; Maslyk, M.; Estévez-Braun, A. Synthesis and antimicrobial activity of 4-substituted 1,2,3-triazole-coumarin derivatives. *Molecules* **2018**, *23*, 1–18.
61. Zhao, H.; Donnelly, A.C.; Kusuma, B.R.; Brandt, G.E.L.; Brown, D.; Rajewski, R.A.; Vielhauer, G.; Holzbeierlein, J.; Cohen, M.S.; Blagg, B.S.J. Engineering an Antibiotic to Fight Cancer: Optimization of the Novobiocin Scaffold to Produce Anti-proliferative Agents. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 3839–3853.
62. Peterson, L.B.; Blagg, B.S.J. Click chemistry to probe Hsp90: Synthesis and evaluation of a series of triazole-containing novobiocin analogues. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 3957–3960.
63. Kraljević, T.G.; Harej, A.; Sedić, M.; Pavelić, S.K.; Stepanić, V.; Drenjančević, D.; Talapko, J.; Raić-Malić, S. Synthesis, in vitro anticancer and antibacterial activities and in silico studies of new 4-substituted 1,2,3-triazole–coumarin hybrids. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *124*, 794–808.
64. Zhang, W.; Li, Z.; Zhou, M.; Wu, F.; Hou, X.; Luo, H.; Liu, H.; Han, X.; Yan, G.; Ding, Z.; et al. Synthesis and biological evaluation of 4-(1,2,3-triazol-1-yl)coumarin derivatives as potential antitumor agents. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 799–807.

65. Naik, R.J.; Kulkarni, M. V.; Sreedhara Ranganath Pai, K.; Nayak, P.G. Click Chemistry Approach for Bis-Chromenyl Triazole Hybrids and Their Antitubercular Activity. *Chem. Biol. Drug Des.* **2012**, *80*, 516–523.
66. Kushwaha, K.; Kaushik, N.; Lata, L.; Jain, S.C. Design and synthesis of novel 2H-chromen-2-one derivatives bearing 1,2,3-triazole moiety as lead antimicrobials. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 1795–1801.
67. Kusanur, R.A.; Kulkarni, M. V. New 1,3-dipolar cycloadducts of 3-azidoacetylcoumarins with DMAD and their antimicrobial activity. *Indian J. Chem. - Sect. B Org. Med. Chem.* **2005**, *44*, 591–594.
68. Shingate, B.B.; Shaikh, M.H.; Sangshetti, J.N.; Khan, F.A.K.; Subhedar, D.D. 1,2,3-Triazole incorporated coumarin derivatives as potential antifungal and antioxidant agents. *Chinese Chem. Lett.* **2015**, *27*, 295–301.
69. Oun, R.; Moussa, Y.E.; Wheate, N.J. The side effects of platinum-based chemotherapy drugs: a review for chemists. *Dalt. Trans.* **2018**, *47*, 6645–6653.
70. Ali, I.; Saleem, K.; Wesselinova, D.; Haque, A. Synthesis, DNA binding, hemolytic, and anti-cancer assays of curcumin I-based ligands and their ruthenium(III) complexes. *Med. Chem. Res.* **2013**, *22*, 1386–1398.
71. Haque, A.; Hsieh, M.F.; Hassan, S.I.; Haque Faizi, M.S.; Saha, A.; Dege, N.; Rather, J.A.; Khan, M.S. Synthesis, characterization, and pharmacological studies of ferrocene-1H-1,2,3-triazole hybrids. *J. Mol. Struct.* **2017**, *1146*, 536–545.
72. Singh, A.; Biot, C.; Viljoen, A.; Dupont, C.; Kremer, L.; Kumar, K.; Kumar, V. 1H-1,2,3-triazole-tethered uracil-ferrocene and uracil-ferrocenylchalcone conjugates: Synthesis and antitubercular evaluation. *Chem. Biol. Drug Des.* **2017**, *89*, 856–861.
73. Bartošík, M.; Koubková, L.; Karban, J.; Červenková Šastná, L.; Hodík, T.; Lamač, M.; Pinkas, J.; Hrstka, R. Electrochemical analysis of a novel ferrocene derivative as a potential antitumor drug. *Analyst* **2015**, *140*, 5864–5867.
74. Kondratskyi, A.; Kondratska, K.; Vanden Abeele, F.; Gordienko, D.; Dubois, C.; Toillon, R.A.; Slomianny, C.; Lemièrre, S.; Delcourt, P.; Dewailly, E.; et al. Ferroquine, the next generation antimalarial drug, has antitumor activity. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 1–15.

75. Biot, C.; Glorian, G.; Maciejewski, L.A.; Brocard, J.S.; Domarle, O.; Blampain, G.; Millet, P.; Georges, A.J.; Abessolo, H.; Dive, D.; et al. Synthesis and Antimalarial Activity in Vitro and in Vivo of a New Ferrocene–Chloroquine Analogue. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3715–3718.
76. Hillard, E.; Vessières, A.; Thouin, L.; Jaouen, G.; Amatore, C. Ferrocene-Mediated Proton-Coupled Electron Transfer in a Series of Ferrocifen-Type Breast-Cancer Drug Candidates. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2006**, *45*, 285–290.
77. Sansook, S.; Lineham, E.; Hassell-Hart, S.; Tizzard, G.J.; Coles, S.J.; Spencer, J.; Morley, S.J. Probing the Anticancer Action of Novel Ferrocene Analogues of MNK Inhibitors. *Molecules* **2018**, *23*, e2126.
78. Plazuk, D.; Rychlik, B.; Błauz, A.; Domagała, S. Synthesis, electrochemistry and anticancer activity of novel ferrocenyl phenols prepared via azide-alkyne 1,3-cycloaddition reaction. *J. Organomet. Chem.* **2012**, *715*, 102–112.
79. Kumar, K.; Pradines, B.; Madamet, M.; Amalvict, R.; Benoit, N.; Kumar, V. 1H-1,2,3-triazole tethered isatin-ferrocene conjugates: Synthesis and in vitro antimalarial evaluation. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *87*, 801–804.
80. Kumar, K.; Pradines, B.; Madamet, M.; Amalvict, R.; Kumar, V. 1H-1,2,3-triazole tethered mono- and bis-ferrocenylchalcone- β -lactam conjugates: Synthesis and antimalarial evaluation. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *86*, 113–121.
81. Singh, A.; Fong, G.; Liu, J.; Wu, Y.-H.; Chang, K.; Park, W.; Kim, J.; Tam, C.; Cheng, L.W.; Land, K.M.; et al. Synthesis and Preliminary Antimicrobial Analysis of Isatin–Ferrocene and Isatin–Ferrocenyl Chalcone Conjugates. *ACS Omega* **2018**, *3*, 5808–5813.
82. Fissekis, J.D.; Myles, A.; Brown, G.B. Synthesis of 5-Hydroxyalkylpyrimidines from Lactones ^{1,2}. *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 2670–2673.
83. Griengl, H.; Wanek, E.; Schwarz, W.; Streicher, W.; Rosenwirth, B.; De Clercq, E. 2'-Fluorinated arabinonucleosides of 5-(2-haloalkyl)uracil: synthesis and antiviral activity. *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 1199–1204.
84. Brand, B.; Reese, C.B.; Song, Q.; Visintin, C. Convenient syntheses of 9-[4-hydroxy-3-

- (hydroxymethyl)butyl]guanine (penciclovir) and 9-[4-acetoxy-3-(acetoxymethyl)butyl]-2-amino-9H-purine (famciclovir). *Tetrahedron* **1999**, *55*, 5239–5252.
85. Ogilvie, K.K.; Hamilton, R.G.; Gillen, M.F.; Radatus, B.K.; Smith, K.O.; Galloway, K.S. Uracil analogues of the acyclonucleoside 9-[[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethoxy]-methyl]guanine (BIOLF-62). *Can. J. Chem.* **1984**, *62*, 16–21.
86. Hu, M.; Li, J.; Yao, S.Q. In situ “click” assembly of small molecule matrix metalloprotease inhibitors containing zinc-chelating groups. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 5529–5531.
87. Duan, Y.-C.; Ma, Y.-C.; Zhang, E.; Shi, X.-J.; Wang, M.-M.; Ye, X.-W.; Liu, H.-M. Design and synthesis of novel 1,2,3-triazole-dithiocarbamate hybrids as potential anticancer agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *62*, 11–19.
88. Lin, W.; Long, L.; Feng, J.; Wang, B.; Guo, C. Synthesis of meso-coumarin-conjugated porphyrins and investigation of their luminescence properties. *European J. Org. Chem.* **2007**, 4301–4304.
89. Ansari, K.F.; Lal, C. Synthesis, physicochemical properties and antimicrobial activity of some new benzimidazole derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 4028–4033.
90. Tsujimoto, H.; Gotoh, N.; Nishino, T. Diffusion of macrolide antibiotics through the outer membrane of *Moraxella catarrhalis*. *J. Infect. Chemother.* **1999**, *5*, 196–200.
91. Filimonov, D.; Poroikov, V. Chapter 6. Probabilistic Approaches in Activity Prediction. In *Chemoinformatics Approaches to Virtual Screening*; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2008; pp. 182–216.
92. Moorthy, J.N.; Singhal, N. Facile and Highly Selective Conversion of Nitriles to Amides via Indirect Acid-Catalyzed Hydration Using TFA or AcOH–H₂SO₄. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1926–1929.
93. Gorobets, N.Y.; Yermolayev, S.A.; Gurley, T.; Gurinov, A.A.; Tolstoy, P.M.; Shenderovich, I.G.; Leadbeater, N.E. Difference between ¹H NMR signals of primary amide protons as a simple spectral index of the amide intramolecular hydrogen bond strength. *J. Phys. Org. Chem.* **2012**, *25*, 287–295.

94. Hein, J.E.; Fokin, V. V. Copper-catalyzed azide–alkyne cycloaddition (CuAAC) and beyond: new reactivity of copper(i) acetylides. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1302–1315.
95. Cook, T.L.; Walker, J.A.; Mack, J. Scratching the catalytic surface of mechanochemistry: a multi-component CuAAC reaction using a copper reaction vial. *Green Chem.* **2013**, *15*, 617–619.
96. Esmonde-White, K.A.; Cuellar, M.; Uerpmann, C.; Lenain, B.; Lewis, I.R. Raman spectroscopy as a process analytical technology for pharmaceutical manufacturing and bioprocessing. *Anal. Bioanal. Chem.* **2017**, *409*, 637–649.
97. Barral, K.; Moorhouse, A.D.; Moses, J.E. Efficient Conversion of Aromatic Amines into Azides: A One-Pot Synthesis of Triazole Linkages Efficient Conversion of Aromatic Amines into Azides: A One-Pot Synthesis of Triazole Linkages. *Drug Discov. Today* **2007**, 11–14.
98. Srivastava, R.M.; Pereira, M.C.; Faustino, W.W.M.; Coutinho, K.; Dos Anjos, J. V.; De Melo, S.J. Synthesis, mechanism of formation, and molecular orbital calculations of arylamidoximes. *Monatshefte fur Chemie* **2009**, *140*, 1319–1324.
99. Vörös, A.; Mucsi, Z.; Baán, Z.; Timári, G.; Hermeecz, I.; Mizsey, P.; Finta, Z. An experimental and theoretical study of reaction mechanisms between nitriles and hydroxylamine. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 8036–8047.
100. Marull, M.; Schlosser, M. Selective and Efficient Structural Elaboration of 2-(Trifluoromethyl)quinolinones. *European J. Org. Chem.* **2003**, *2003*, 1576–1588.
101. Upton, B.M.; Gipson, R.M.; Duhović, S.; Lydon, B.R.; Matsumoto, N.M.; Maynard, H.D.; Diaconescu, P.L. Synthesis of ferrocene-functionalized monomers for biodegradable polymer formation. *Inorg. Chem. Front.* **2014**, *1*, 271–277.
102. Ogilvie, K.K.; Hamilton, R.G.; Gillen, M.F.; Radatus, B.K.; Smith, K.O.; Galloway, K.S. Uracil analogues of the acyclonucleoside 9-[[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethoxy]-methyl]guanine (BIOLF-62). *Can. J. Chem.* **1984**, *62*, 16–21.
103. Basanagouda, M.; Shivashankar, K.; Kulkarni, M. V.; Rasal, V.P.; Patel, H.; Mutha, S.S.; Mohite, A.A. Synthesis and antimicrobial studies on novel sulfonamides containing 4-azidomethyl coumarin. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 1151–1157.

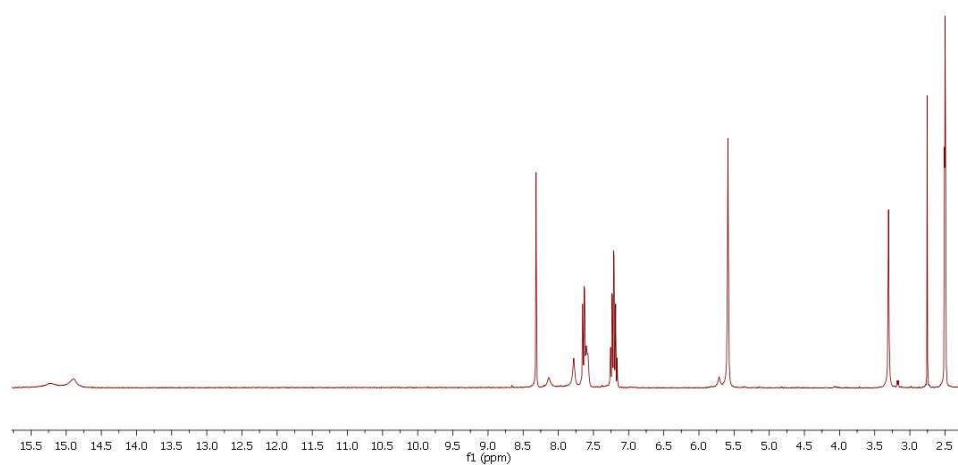
104. Barral, K.; Moorhouse, A.D.; Moses, J.E. Efficient Conversion of Aromatic Amines into Azides: A One-Pot Synthesis of Triazole Linkages. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1809–1811.
105. Sakai, N.; Hori, H.; Ogiwara, Y. Copper(II)-Catalyzed [4+1] Annulation of Propargylamines with *N*, *O*-Acetals: Entry to the Synthesis of Polysubstituted Pyrrole Derivatives. *European J. Org. Chem.* **2015**, *2015*, 1905–1909.
106. Ferroni, C.; Pepe, A.; Kim, Y.S.; Lee, S.; Guerrini, A.; Parenti, M.D.; Tesei, A.; Zamagni, A.; Cortesi, M.; Zaffaroni, N.; et al. 1,4-Substituted Triazoles as Nonsteroidal Anti-Androgens for Prostate Cancer Treatment. *J. Med. Chem.* **2017**, *60*, 3082–3093.
107. Wang, L.; Jin, J.; Zhao, L.; Shen, H.; Shen, C.; Zhang, P. Synthesis of C-glycosyl triazolyl quinoline-based fluorescent sensors for the detection of mercury ions. *Carbohydr. Res.* **2016**, *433*, 41–46.
108. Maity, D.; Govindaraju, T. A differentially selective sensor with fluorescence turn-on response to Zn²⁺ and dual-mode ratiometric response to Al³⁺ in aqueous media. *Chem. Commun. (Camb)*. **2012**, *48*, 1039–1041.
109. Oxford Diffraction, Xcalibur CCD System, CrysAlisPro, Agilent Technologies, Abingdon, England.
110. Burla, M.C.; Caliandro, R.; Camalli, M.; Carrozzini, B.; Cascarano, G.L.; De Caro, L.; Giacovazzo, C.; Polidori, G.; Spagna, R. *SIR2004*: an improved tool for crystal structure determination and refinement. *J. Appl. Crystallogr.* **2005**, *38*, 381–388.
111. Burla, M.C.; Caliandro, R.; Carrozzini, B.; Cascarano, G.L.; Cuocci, C.; Giacovazzo, C.; Mallamo, M.; Mazzone, A.; Polidori, G.; IUCr Crystal structure determination and refinement via *SIR2014*. *J. Appl. Crystallogr.* **2015**, *48*, 306–309.
112. Sheldrick, G.M.; IUCr Crystal structure refinement with *SHELXL*. *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.* **2015**, *71*, 3–8.
113. Farrugia, L.J. WinGX and ORTEP for Windows: An update. *J. Appl. Crystallogr.* **2012**, *45*, 849–854.
114. Spek, A.L. Structure validation in chemical crystallography. *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr.* **2009**, *65*, 148–155.

115. Macrae, C.F.; Bruno, I.J.; Chisholm, J.A.; Edgington, P.R.; McCabe, P.; Pidcock, E.; Rodriguez-Monge, L.; Taylor, R.; Van De Streek, J.; Wood, P.A. Mercury CSD 2.0 - New features for the visualization and investigation of crystal structures. *J. Appl. Crystallogr.* **2008**, *41*, 466–470.
116. Gazivoda, T.; Raić-Malić, S.; Kristafor, V.; Makuc, D.; Plavec, J.; Bratulić, S.; Kraljević-Pavelić, S.; Pavelić, K.; Naesens, L.; Andrei, G.; et al. Synthesis, cytostatic and anti-HIV evaluations of the new unsaturated acyclic C-5 pyrimidine nucleoside analogues. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 5624–5634.
117. *Clinical Laboratory Standard Institute CLSI, Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically.*; M07-A8 ed.; Wayne, PA, 2009;
118. Stolić, I.; Mišković, K.; Magdaleno, A.; Silber, A.M.; Piantanida, I.; Bajić, M.; Glavaš-Obrovac, L. Effect of 3,4-ethylenedioxy-extension of thiophene core on the DNA/RNA binding properties and biological activity of bisbenzimidazole amidines. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 2544–2554.
119. Scatchard, G. The attractions of proteins for small molecules and ions. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1949**, *51*, 660–672.

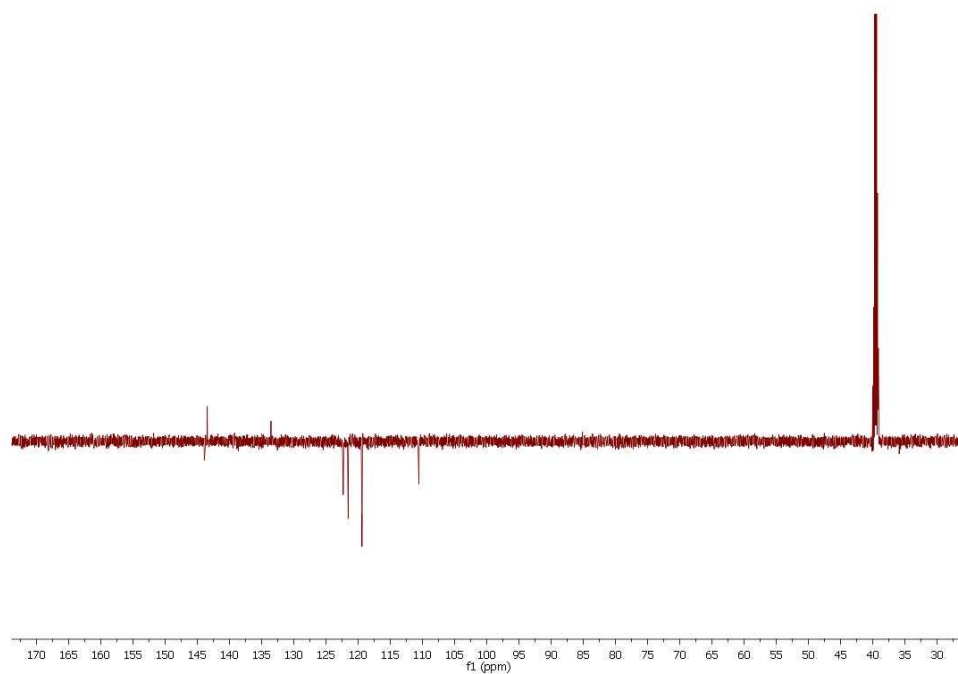
7. PRILOZI

Slika p1. a) ^1H NMR i b) ^{13}C NMR spoja **35**

a)



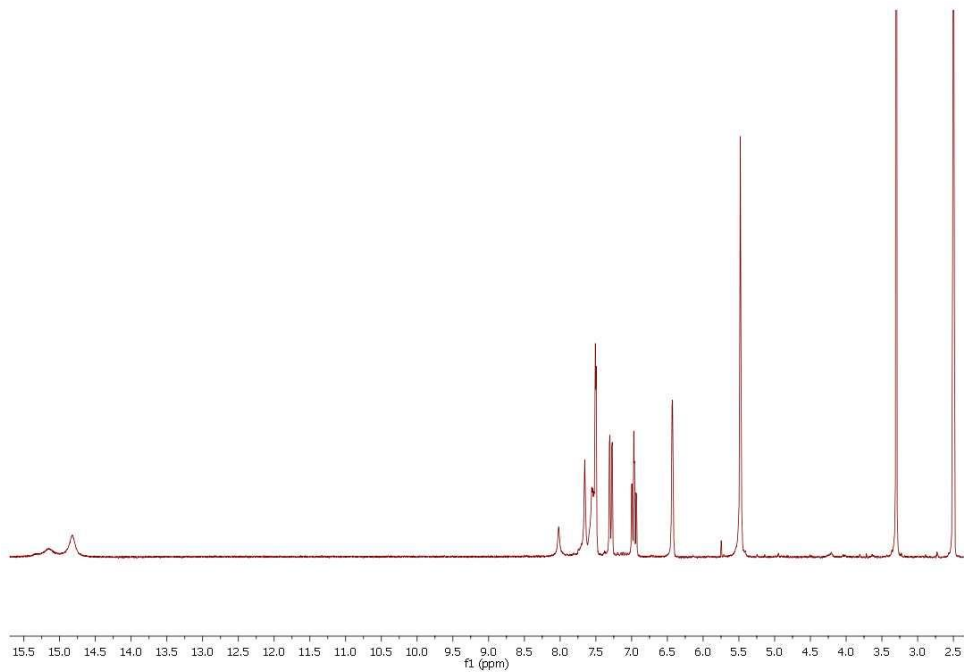
b)



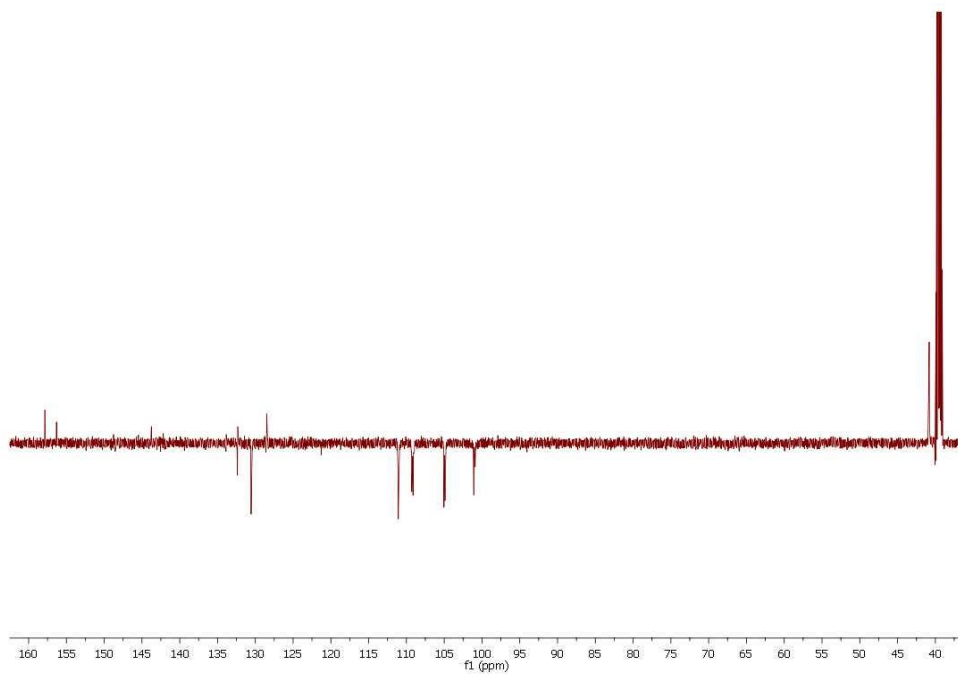
7. PRILOZI

Slika p2. a) ^1H NMR i b) ^{13}C NMR spoja **38**

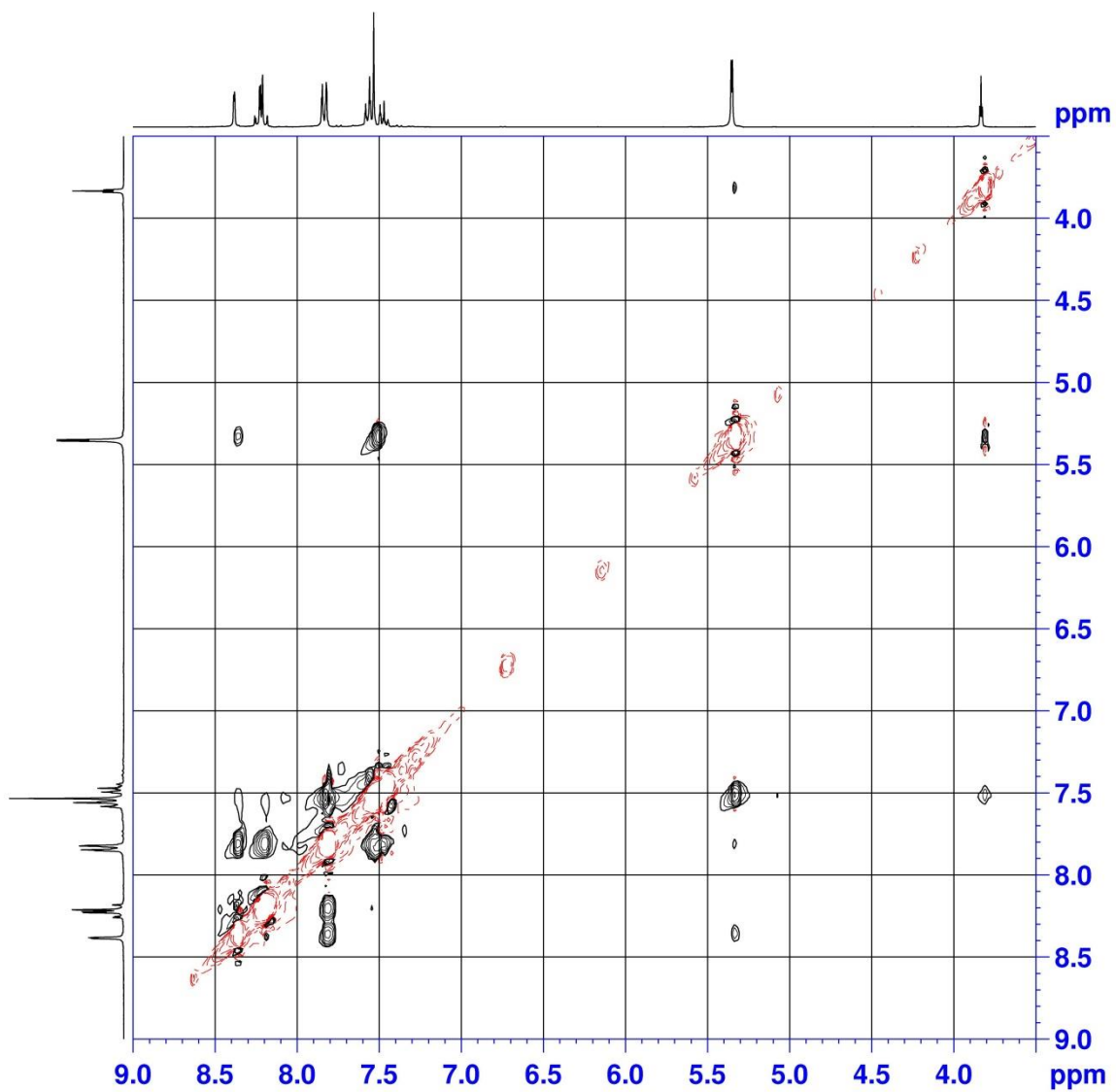
a)



b)



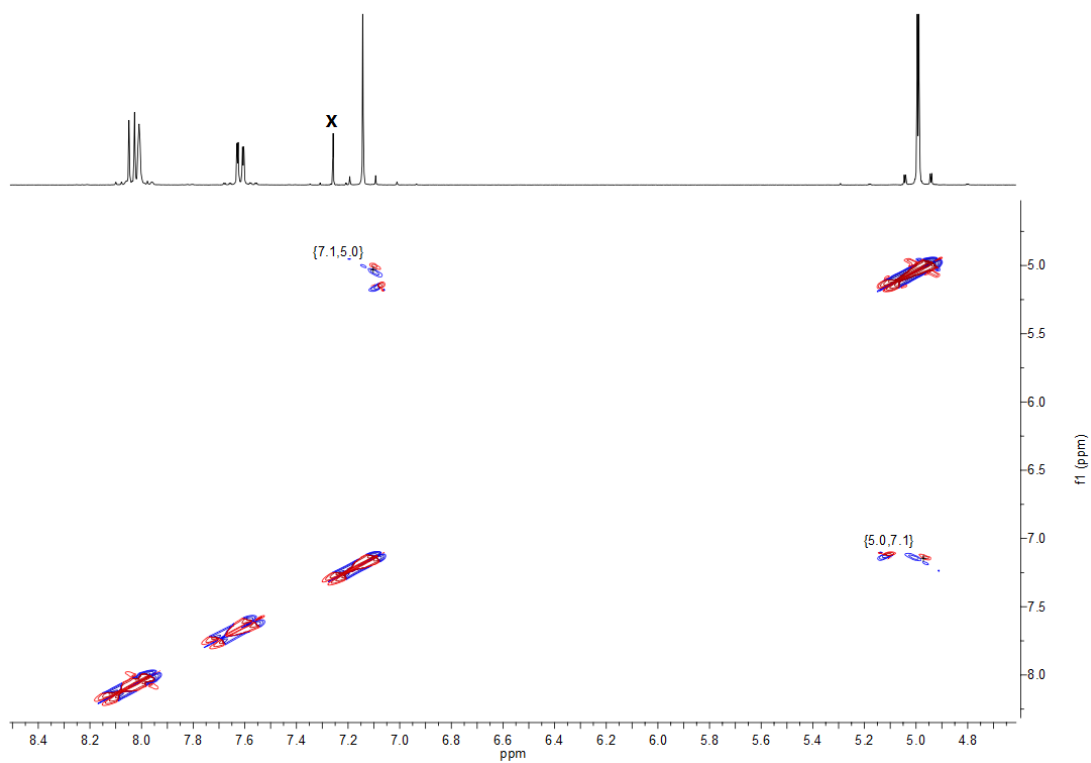
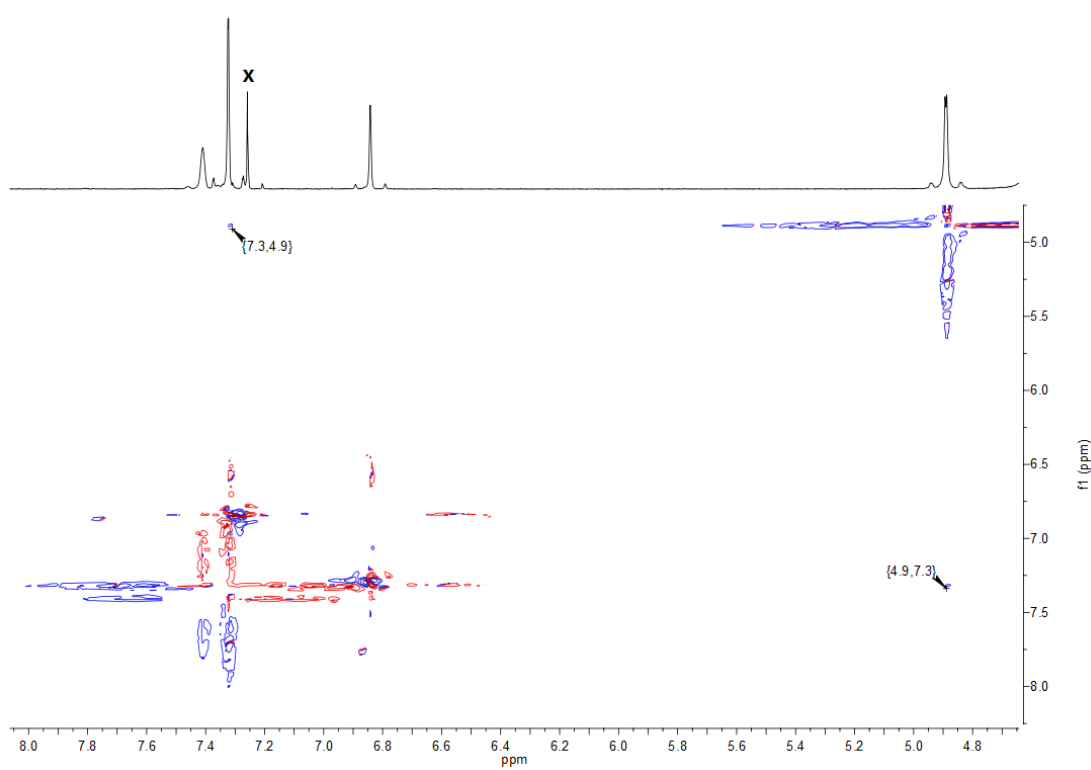
Slika p3. 2D NOESY spektar spoja 73



Tablica p1. Rezultati antiproliferativnog ispitivanja za konjugate 1,2,3-triazola i kinolina **75a–75f** i **76a–76f**

Spoj	R ₁	R ₂	IC ₅₀ μg/mL			
			A549	HeLa	HepG2	SW620
76a	-CONH ₂		>100	67,23	>100	>100
76b	-CONH ₂		26,59	22,65	35,17	60,39
76c	-CONH ₂		13,64	<u>4,83</u>	44,06	>100
76d	-CONH ₂		>100	72,08	>100	>100
76e	-CONH ₂		>100	>100	>100	>100
76f	-CONH ₂		>100	>100	>100	>100
75a	Ph		>100	>100	>100	67,51
75b	Ph		>100	35,48	>100	61,37
75c	Ph		>100	>100	>100	94,31
75d	Ph		91,45	52,15	>100	66,97
75e	Ph		>100	>100	95,3	67,42
75f	Ph		>100	>100	>100	>100

Slika p4. 2D NOESY spektar spoja **101a**

Slika p5. 2D NOESY spektar spoja **102a**

8. ŽIVOTOPIS

Silvija Maračić (rođ. Korunda) [REDACTED]

Osnovnu školu pohađala je u Svetoj Nedelji, a 1999. godine je upisala Zdravstveno učilište u Zagrebu, smjer farmaceutski tehničar, te maturirala 2003. godine. Nakon godine dana pripravničkog staža, 2004. godine položila je državni stručni ispit za farmaceutskog tehničara. Iste godine upisala je Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije te diplomirala 2010. godine. U siječnju 2011. godine zaposlila se na Zavodu za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije kao znanstveni novak te je upisala sveučilišni znanstveni poslijediplomski studij Inženjerska kemija na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu. Sudjelovala je u popularizaciji znanosti kao jedna od sukreatorica i voditeljica radionica *Duga na kemijskom stolu* i *Zabavni i poučni eksperimenti u kemiji* s kojima je sudjelovala na Festivalu znanosti 2011., 2012. i 2013. godine u Zagrebu, kao i na Noći istraživača 2012. godine u Slavonskom Brodu. Objavila je 5 znanstvenih radova u časopisima koji su indeksirani u bazi podataka *Current Contents* (CC) te je sudjelovala na 4 međunarodna i 3 domaća znanstvena skupa. Također je bila neposredni voditelj kod izrade šest završnih radova.

Znanstveni radovi

1. **Maračić, Silvija**; Lapić, Jasmina; Djaković, Senka; Opačak-Bernardi, Teuta; Glavaš-Obrovac, Ljubica; Vrček, Valerije; Raić-Malić, Silvana; Quinoline and ferrocene conjugates: Synthesis, computational study and biological evaluations, *Applied organometallic chemistry* **33** (2019), e4628.
2. Tireli, Martina; **Maračić, Silvija**; Lukin, Stipe; Juribašić Kulcsar, Marina; Žilić, Dijana; Cetina, Mario; Halasz, Ivan; Raić-Malić, Silvana; Užarević, Krunoslav; Solvent-free copper-catalyzed click chemistry for the synthesis of novel N-heterocyclic hybrids based on quinolone and 1, 2, 3-triazole, *Beilstein journal of organic chemistry* **13** (2017), 2352–2363.
3. **Maračić, Silvija**; Gazivoda Kraljević, Tatjana; Čipčić Paljetak, Hana; Perić, Mihaela; Matijašić, Mario; Verbanac, Donatella; Cetina, Mario; Raić-Malić, Silvana; 1, 2, 3-Triazole pharmacophore-based benzofused nitrogen/sulfur heterocycles with potential anti- *Moraxella catarrhalis* activity, *Bioorganic & medicinal chemistry* **23** (2015), 7448–7463.
4. **Korunda, Silvija**; Krištafor, Svjetlana; Cetina, Mario; Raić-Malić, Silvana; Conjugates of 1, 2, 3-Triazoles and Acyclic Pyrimidine Nucleoside Analogues: Syntheses and X- ray Crystallographic Studies, *Current organic chemistry* **17** (2013), 1114–1124.

5. Krištafor, Svjetlana; Meščić, Andrijana; Cetina, Mario; **Korunda, Silvija**; Makuc, Damjan; Plavec, Janez; Raić-Malić, Silvana; Synthesis, structural and conformational studies of Z- and E-isomers of fluorinated C-6 isobutenyl N-methyl thymine derivatives, *Journal of fluorine chemistry*, **132** (2011), 573–578.

Sudjelovanja na kongresima

1. Cetina, Mario; **Maračić, Silvija**; Lapić, Jasmina; Djaković, Senka; Raić Malić, Silvana, Conformation and supramolecular interactions in O-alkylated quinoline and ferrocene conjugates, *27th Slovenian-Croatian Crystallographic Meeting*, Rogaška Slatina, Slovenija, 19.–23.06.2019. Knjiga sažetaka, str. 60.
2. Cetina, Mario; **Maračić, Silvija**; Lapić, Jasmina; Djaković, Senka; Raić-Malić, Silvana, Konformacija i samoudruživanje konjugata kinolina i ferrocena, *26. Hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera*, Šibenik, Hrvatska, 9.–12.04.2019. Knjiga sažetaka, str. 144.
3. Djaković, Senka; Lapić, Jasmina; **Maračić, Silvija**; Vrček, Valerije; Raić-Malić; Silvana, Synthesis, NMR and DFT study of ferrocenyl- triazole-nucleobase derivatives, *28th International Conference on Organometallic Chemistry*, Firenca, Italija, 15.–20. 07. 2018. Knjiga sažetaka, str. 442.
4. **Maračić, Silvija**; Šimek, Helena; Grbčić, Petra; Sedić, Mirela; Stolić, Ivana; Kraljević Pavelić, Sandra; Raić-Malić, Silvana, Biological evaluations of amidine and amidoxime substituted heterocycles with 1, 2, 3-triazolyl spacer, *10th Joint Meeting on Medicinal Chemistry*, Dubrovnik, Hrvatska, 25.–28. 06. 2017., Knjiga sažetaka, str. 88.
5. **Maračić, Silvija**; Djaković, Senka; Lapić, Jasmina; Vrček, Valerije; Raić-Malić, Silvana, Sinteza i biološka ispitivanja konjugata 4-kinolona i ferrocena povezanih 1, 2, 3-triazolilnom poveznicom, *XXV. hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera*, Knjiga sažetaka, str. 197.
6. Krklec, Marko; **Maračić, Silvija**; Raić-Malić, Silvana, Sinteza biološki aktivnih konjugata cijano-supstituiranih heterocikla i 1, 2, 3-triazola, *XI. Susret mladih kemijskih inženjera*, Zagreb, Hrvatska, 18.–19.02. 2016., Knjiga sažetaka, str. 145.
7. **Korunda, Silvija**; Krištafor, Svjetlana; Cetina, Mario; Raić-Malić, Silvana, Novel Conjugates of 1, 2, 3-Triazoles and Acyclic Pyrimidine Nucleoside Analogues via Click Reaction // Drug discovery and selection, *International Conference on Medicinal Chemistry*, Nica, Francuska, 3.–5.07.2013., Knjiga sažetaka, str. 355.