

Sinteza, karakterizacija i biološka aktivnost novih nitro-tiazolnih derivata

Božičević, Marin

Master's thesis / Diplomski rad

2020

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:149:249111>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-12**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Marin Božičević

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2020

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
POVJERENSTVO ZA DIPLOMSKE ISPITE

Kandidat **Marin Božičević**

Predao je izrađen diplomski rad dana: 18. rujna 2020.

Povjerenstvo u sastavu:

Prof. dr. sc. Irena Škorić, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

Doc. dr. sc. Zvonimir Katančić, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

Doc. dr. sc. Dragana Vuk, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

Prof. dr. sc. Sandra Babić, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu (zamjena)

povoljno je ocijenilo diplomski rad i odobrilo obranu diplomskog rada pred povjerenstvom u istom sastavu.

Diplomski ispit održat će se dana: 23. rujna 2020.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Marin Božičević

**Sinteza, karakterizacija i biološka aktivnost novih nitro-tiazolnih
derivata**

DIPLOMSKI RAD

Mentor rada: prof. dr. sc. Irena Škorić

Neposredni voditelj rada: dr. sc. Marina Modrić

Članovi ispitnog povjerenjstva:

Prof. dr. sc. Irena Škorić

Doc. dr. sc. Dragana Vuk

Doc. dr. sc. Zvonimir Katančić

Zamjena :

Prof. dr. sc. Sandra Babić

Zagreb, rujan 2020.

SAŽETAK

Napredovanjem i širenjem farmaceutske industrije te novim razmišljanjima u istraživanju i razvoju novih lijekova, interesi znanstvenika sve su širi, a pristupi rješenjima se stalno mijenjaju. Razumijevanje vezanja i interakcije biološki aktivnih spojeva s njihovim biološkim metama dovelo je do preciznijih, bolje isplaniranih i više ciljanih sinteza novih spojeva. U tom pogledu heterociklički spojevi predstavljaju bitnu skupinu građevnih jedinica novih molekula. Tiazol kao jedan od predstavnika takvih spojeva zauzima bitno mjesto u sintezi novih biološki aktivnih spojeva te nalazi primjenu u liječenju mnogih bolesti. Jedna od često istraživanih funkcija tiazolnih spojeva jest inhibicija acetilkolinesteraze i butirilkolinesteraze.

Uvidom u sve veće zanimanje za spojeve sa tiazolom kao podstrukturnom jedinicom kao mogućih inhibitora kolinesteraza, za cilj ovog rada postavljena je sinteza novih spojeva koji se mogu biološki testirati za navedenu primjenu. Plan rada bio je sintetizirati 26 novih derivata nitro-tiazola, no zbog vrlo male čistoće korištenog polaznog reagensa 2-amin-5-nitrotiazola te njegove nereaktivnosti, kao zamjena je korišten 2-aminotiazol. Od planiranih 26 derivata, sintetizirano je 25.

10 amida, koji su dio biblioteke, sintetizirano je reakcijom amidacije iz HATU aktivirane karboksilne kiseline te 2-aminotiazola. Sinteza amida je bila uspješna te je optimirana tijekom pripreme biblioteke spojeva. Promjenom omjera reaktanata dobivene su veće količine željenih spojeva. Nadalje, 5 imina uspješno je sintetizirano reakcijom reduktivne aminacije. Iz polovice reakcijske smjese u kojoj su sintetizirani imini, daljnjom reakcijom redukcije sintetizirani su 4 odgovarajuća amina, dok je sinteza jednog amina bila neuspješna. Naposljetku su izabrana 3 analogna sekundarna amina i amida kojima je na prisutnu NH skupinu amidne odnosno aminske veze uvedena metilna skupina kako bi se procijenio doprinos vodikove veze na biološku aktivnost.

Svi produkti okarakterizirani su nuklearnom magnetskom rezonancijom i čistoća im je utvrđena tekućinskom kromatografijom ultravisoke djelotvornosti s UV i masenim detektorima.

Ključne riječi: tiazol, acetilkolinesteraza, reduktivna aminacija, reakcije amidacije, imini, amini, amidi, nuklearna magnetska rezonancija

ABSTRACT

Along with the advancement and expansion of pharmaceutical industry, as well as new consideration in research and development of new medicines, scientists' interests are getting broader, and approaches to the solutions are constantly changing. Understanding of bonding and interaction between biologically active compounds and their biological targets has led to more precise, better planned and more targeted syntheses of new compounds. Thus, heterocyclic compounds represent a significant group of building blocks of new molecules. As one of the important heterocyclic compounds, thiazole takes an important part in the synthesis of new biologically active compounds and its derivatives are used in treating different diseases. One of the frequently researched functions of thiazole derivatives is inhibition of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase.

Considering the growing interest in thiazole derivatives as possible cholinesterase inhibitors, the goal of this research is synthesis of new compounds that can be biologically tested. Although it was planned to synthesize 26 novel nitro-thiazole derivatives, low purity and low reactivity of 2-amino-5-nitrothiazole forced us to use 2-aminothiazole as starting material. 25 new compounds were successfully synthesized.

As part of compound library, 10 amides were synthesized using 2-aminothiazole and carboxylic acid activated by HATU. All amides were successfully synthesized, and the reaction was optimized during library preparation. The yield of final products was increased by changing starting material ratio. Reductive amination reaction was successfully used in synthesis of 5 imines. Half of reaction mixture containing formed imines was used to synthesize new amines, with one of five reactions being unsuccessful. In order to inspect importance of hydrogen bond in biological activity of new derivatives, 3 amides and 3 amines with same substituents were additionally methylated.

All new products were characterized using nuclear magnetic resonance and their purity was determined by ultra performance liquid chromatography with UV and mass detectors.

Key words: thiazole, acetylcholinesterase, reductive amination, amidation, imines, amines, amides, nuclear magnetic resonance

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Ireni Škorić na iskazanom povjerenju, svakom savjetu, volji i prilici da pod njezinim mentorstvom izradim ovaj diplomski rad.

Također zahvaljujem dr. sc. Marini Modrić na neumornim savjetima, provjerama i konstantnom pomaganju uz uvijek prisutan osmijeh i dobru volju kroz cijeli period izrade ovog rad, kako u laboratoriju tako i u procesu samog pisanja rada.

Zahvaljujem svima iz tvrtke "Fidelta d.o.o" na omogućavanju da se u njihovim laboratorijskim prostorima provede ovaj rad, a naročito cijeloj ekipi iz Laboratorija 0.206 bez čijih savjeta ovaj rad ne bi bio kakav je.

Veliko hvala dugujem i ekipi iz podruma, Maji Gerard, Dinku Žiheru, Ani Čikoš i Goranu Landeku, za sva predivna druženja, sve savjete te svu pomoć kroz proteklih 4 godine zajedničkog rada u Fidelti.

Posebnu zahvalu dugujem djevojci Dori, koja me neumorno trpila u cijelom procesu izrade rada te kroz zadnjih 5 godina studiranja. Bila mi je najveća podrška u svim pogledima života i izdržala sve stresne situacije uz mene te me unatoč svemu poticala da napredujem kao osoba.

Hvala cijeloj mojoj obitelji na svemu što su me naučili kroz život i na svoj podršci i razumijevanju!

Hvala svim prijateljima iz Vijeća mudraca!

Hvala Krivom putu za sve skuhanе kave kada su one bile najpotrebnije!

I na kraju, hvala svim kolegama sa fakulteta koji su na bilo koji način utjecali u izradi ovog rada, ali i koji su bili prisutni kada je trebalo!

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. BIOLOŠKI AKTIVNI SPOJEVI S TIAZOLNOM JEZGROM.....	3
2.1.1. Inhibitori kolinesteraza.....	3
2.1.2. Ostali biološki aktivni spojevi sa tiazolnom jezgrom	7
2.2. Sinteza amida	9
2.3. Sinteza amina i imina	11
3. REZULTATI I RASPRAVA	15
3.1. SINTEZA AMIDA IZ 2-AMINO TIAZOLA.....	15
3.2. SINTEZA IMINA I AMINA REDUKTIVNOM AMINACIJOM.....	27
3.3. SINTEZA METILIRANIH AMIDA I AMINA.....	40
4. EKSPERIMENTALNI DIO.....	41
4.1. OPĆE NAPOMENE	41
4.2. REAKCIJE AMIDACIJE	42
4.3. REDUKTIVNA AMINACIJA.....	47
4.3.1. Sinteza imina.....	47
4.3.2. Sinteza amina	49
4.4. METILIRANJE DOBIVENIH PRODUKATA	51
5. ZAKLJUČAK	54
6. LITERATURA.....	55
7. ŽIVOTOPIS	58

1. UVOD

Tiazol kao jedan od predstavnika aromatskih heterocikličkih spojeva, u današnje vrijeme sve je više istraživan kao jedinica koja doprinosi biološkoj aktivnosti novih lijekova i već odobrenih lijekova na mnoge načine. Takvi lijekovi imaju vrlo široku primjenu i koriste se za liječenje mnogih lakših upala i bolesti, raznih infekcija, ali i težih bolesti.

Kod Alzheimerove bolesti, ali i mnogih drugih bolesti živčanog sustava često je vidljiv nedostatak neurotransmitera acetilkolina. Acetilkolin se djelovanjem kolinesteraza, i to u većem dijelu acetilkolinesteraze, a u manjem butirilkolinesteraze, raspada na kolin i octenu kiselinu. Ukoliko se taj raspad dogodi prije nego acetilkolin uspije obaviti funkciju neurotransmitera, dolazi do općenito smanjenog prijenosa impulsa među receptorima i samim time do komplikacija u cijelom živčanom sustavu. Može se onda zaključiti da je jedan od dobrih pristupa liječenju ili ublažavanju bolesti izazvanih manjkom acetilkolina upravo inhibicija spomenutih kolinesteraza.

Mnoga istraživanja inhibicije acetilkolinesteraze raznim derivatima tiazola osnova su ovog rada u kojem je sintetizirano 25 novih spojeva, amina, imina te amida. Za sintezu 10 amida (**1-10**) korištena je često upotrebljavana sinteza formiranja amidne veze iz karboksilne kiseline i amina. U ovom slučaju korišten je 2-aminotiazol te karboksilne kiseline različitih funkcionalnih skupina kako bi se utvrdio utjecaj pojedinih skupina na biološku aktivnost. Kiseline upotrebljavane u sintezama prvo su aktivirane pomoću (1-[bis(dimetilamino)metilen]-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]piridinium3-oksid heksafluorofosfata (HATU) prije čega su deprotonirane *N,N*-diizopropil-etilaminom. 10 sljedećih spojeva (**11-20**), i to 5 imina i 5 njima analognih amina, sintetizirano je reakcijom reduktivne aminacije. Iz iste reakcijske smjese su izolirani imin i odgovarajući amin, i to na način da je iz jedne polovice reakcijske smjese izoliran nastali imin, dok je u drugoj polovici provedena redukcija istog imina do pripadajućeg amina. Takav način sinteze je omogućio bržu i jednostavniju sintezu obje vrste spojeva. Nažalost, jedan amin (**20**) nije uspješno sintetiziran. Nadalje su izabrana 3 amida i njima 3 analogna amina koji su dodatno metilirani. Dobiveni produkti okarakterizirani su spektroskopskim i kromatografskim metodama, i to ¹H NMR i ¹³C NMR tehnikama te tekućinskom kromatografijom ultra visoke djelotvornosti s UV i masenim detektorima.

Iako je prvotni cilj bio sintetizirati derivate nitro-tiazola, zbog vrlo niske čistoće početnog spoja 2-amino,5-nitrotiazola, što je rezultiralo potpuno onemogućenim sintezama, kao zamjena je uspješno iskorišten 2-aminotiazol.

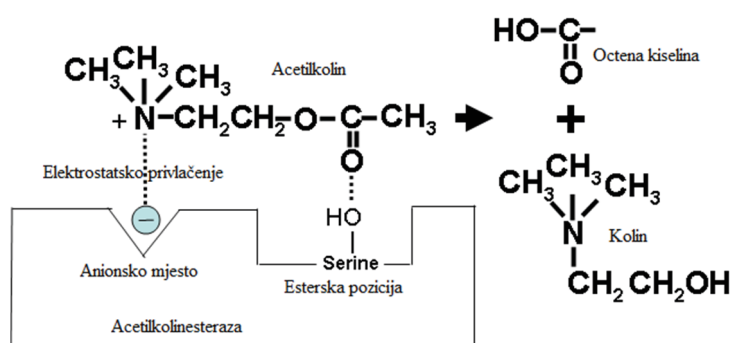
2. TEORIJSKI DIO

2.1. BIOLOŠKI AKTIVNI SPOJEVI S TIAZOLNOM JEZGROM

Veliko zanimanje prema tiazolu u istraživanju novih lijekova proizlazi iz činjenice da već postoje raznoliki lijekovi s tiazolnom jezgrom poput antibakterijskih lijekova, antihistaminika, vitamina B1 (tiamin), antifungalnih lijekova, lijekova protiv gihta i mnogih drugih vrsta lijekova, dok se provode i mnoga istraživanja primjene lijekova s tiazolnom jezgrom za liječenje tumora te za inhibiciju kolinesteraza.^{1,2,3} Osim tiazola kao bitni farmakofori u istraživanju lijekova u novije vrijeme sve više se spominju i ostali monociklički i biciklički heterociklički spojevi poput imidazola, oksazola, indola, purina, oksadiazola te mnogih drugih. Činjenica da otprilike 85 % svih biološki aktivnih spojeva sadrži heterocikličku jedinicu proizlazi iz njihove sposobnosti da utječu na polarnost, topljivost, lipofilnost te na sposobnost vezanja biološki aktivnih spojeva vodikovim vezama na aktivna mjesta što direktno utječe na njihova svojstva kao lijekova.⁴

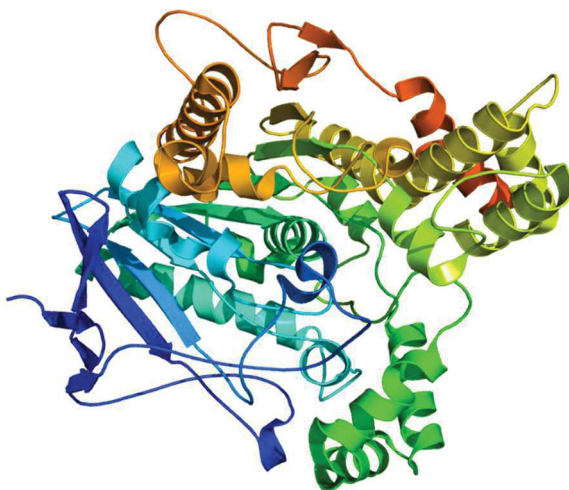
2.1.1. Inhibitori kolinesteraza

Razvojem medicinske kemije te dijagnostike različitih bolesti u današnje vrijeme otvaraju se i novi pristupi liječenju dugo poznatih bolesti. Jedna od takvih bolesti je i Alzheimerova bolest koja se povezuje s gubitkom kognitivnih funkcija, najviše s gubitkom pamćenja, a ujedno je i najčešća bolest povezana sa slabijom funkcijom moždanih stanica i općenito otežanim prijenosom impulsa među receptorima, što svakako potiče istraživače lijekova diljem svijeta da se na novi način pristupi pronalasku mogućih lijekova.⁵ Alzheimerova bolest povezana je s gubitkom i propadanjem stanica koje koriste ili stvaraju neurotransmiter acetilkolin. Acetilkolin se u prisutnosti enzima acetilkolinesteraze i butirilkolinesteraze hidrolizira te raspada na kolin i octenu kiselinu što dovodi do smanjenog prijenosa živčanih impulsa (slika 1).^{6,7}



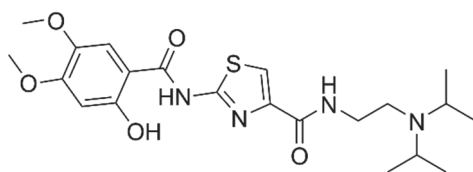
Slika 1. Pojednostavljeni prikaz raspada acetilkolina pod utjecajem acetilkolinesteraze. ⁸

Ta činjenica je smjernica da se istraživanja na temu živčanih i moždanih bolesti, pod koje se ubraja i Alzheimerova bolest, zasnivaju na pokušaju inhibicije acetilkolinesteraze i butirilkonestertaze. Dok acetilkolinesteraza selektivno hidrolizira acetilkolin, butirilkolinesteraza nema specifično određenu funkcija^[6]. Butirilkolinesteraza je također manje zastupljen enzim od acetilkolinesteraze u ljudskom mozgu zbog čega se može pretpostaviti da je u još manjoj količini zaslužan za hidrolizu acetilkolina u usporedbi s acetilkolinesterazom.⁷



Slika 2. Prikaz izgleda enzima acetilkolinesteraze.⁹

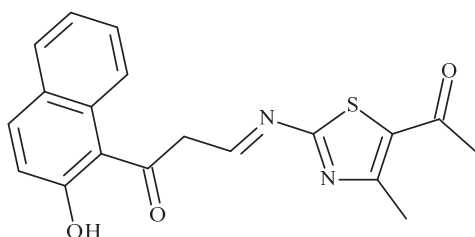
Acotiamide (slika 3), lijek koji se koristi za liječenje funkcionalne dispesije djeluje kao selektivni inhibitor acetilkolinesteraze i derivat je tiazola što je potaklo razvoj biološki aktivnih spojeva sa tiazolnom jezgrom s ciljem inhibicije kolinesteraza.



Slika 3. Struktura Acotiamida.⁵

Iz strukture Acotiamida vidljivo je da se na poziciji 2 na tiazolu nalazi NH skupina što će i biti temelj sinteze novih spojeva u ovom radu koji su prevedeni u amide, amine i imine.

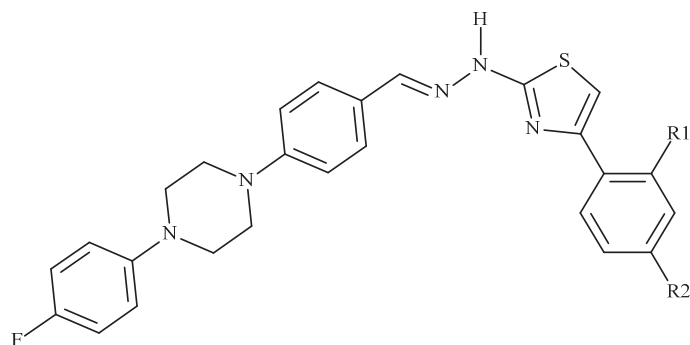
Potreba za novim lijekovima koji bi se mogli koristiti za inhibiciju kolinesteraza kod bolesnika s Alzheimerovom bolesti velika je zbog raznih nuspojava koje se javljaju kod trenutno dostupnih lijekova i činjenice da napredovanjem bolesti sve više stanica propada i sve je manje acetilkolina dostupno te učinkovitost dostupnih inhibitora opada s vremenom. Zbog toga ima puno radova na temu inhibicije kolinesteraza. Od novih spojeva koji sadrže tiazolnu jezgru spominju se arilidenski derivati aminotiazoliletanona,⁷ derivati tiazolilhidrazona,⁵ derivati tiazol-piperazina¹⁰ i mnogi drugi derivati. Neki od spomenutih spojeva pokazuju obećavajuću aktivnost te selektivnost prema acetilkolinesterazi, dok je mali broj njih pokazao ikakvo vezanje i inhibiciju butirilkolinesteraze. Tako na primjer svi spomenuti derivati aminotiazolil etanona pokazuju vrlo selektivnu djelovanje prema acetilkolinesterazi, od kojih samo 2 spoja pokazuju ikakvu aktivnost prema butirilkolinesterazi. Kako je već spomenuto acetilkolinesteraza pokazuje puno veću katalitičku aktivnost prema hidrolizi acetilkolina i prisutnija je u mnogo većim količinama nego butirilkolinesteraza, zbog čega su i rezultati ovakvih spojeva obećavajući. Kao spoj koji postiže najjaču inhibiciju acetilkolinesteraze, a ujedno i pokazuje inhibiciju butirilkolinesteraze navodi se 1-(2-(((2-hidroksinaftalen-1-il)metilen)amino)-4-metiltiazol-5-il)etanone (slika 4).⁷



Slika 4. Struktura 1-(2-(((2-hidroksinaftalen-1-il)metilen)amino)-4-metiltiazol-5-il)etanona.⁷

$IC_{50}(\mu M) \pm SEM$ spoja prikazanog na slici 4 iznosi 1.78 ± 0.11 za acetilkolinesterazu, a $IC_{50}(\mu M) \pm SEM$ za butirilkolinesterazu iznosi 11.9 ± 0.43 iz čega se može zaključiti da je za inhibiciju acetilkolinesteraze potrebna prilično manja količina spoja.⁷

Pri ispitivanju derivata tiazolilhidrazona sintetizirano je 11 derivata od kojih su 3 spoja pokazali značajnu inhibiciju acetilkolinesteraze. Niti jedan spoj nije pokazao značajnu inhibiciju butirilkolinesteraze, iako neznatna inhibicija postoji.



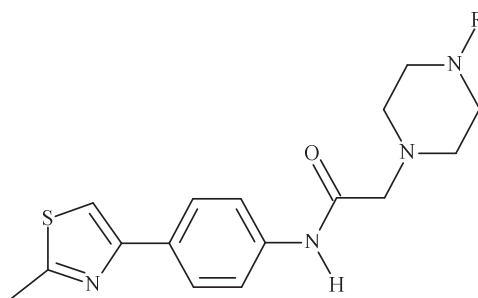
Slika 5. Struktura derivata tiazolilhidrazona.⁵

Derivati spoja prikazanog na slici koji su pokazali najbolju inhibiciju acetilkolinesteraze u pozicijama R₁ i R₂ sadrže supstituente kako slijedi:

- 1) R₁ = -H, R₂ = -H, IC₅₀(μM) ±SEM = 0.0496±0.002
- 2) R₁ = -H, R₂ = -OCH₃, IC₅₀(μM) ±SEM = 0.0317±0.001
- 3) R₁ = -H, R₂ = -CF₃, IC₅₀(μM) ±SEM = 0.2158±0.010

Kao referentna vrijednost korišten je Donepezil koji se vodi kao lijek za ublažavanje simptoma Alzheimerove bolesti i inhibitor je acetilkolinesteraze, a vrijednost količine spoja potrebne da dođe do inhibicije acetilkolinesteraze iznosi IC₅₀(μM) ±SEM = 0.0287±0.005.⁵ Iz rezultata ispitivanja vidljivo je da spoj s metoksi-supstuentom u *para*-položaju, odnosno R₂ poziciji pokazuje najbolje rezultate inhibicije koji su također vrlo bliski vrijednostima Donepezila.

Kako bi se osigurala raznolikost novih mogućih inhibitora acetilkolinesteraze, pristupi različitim radova se zasnivaju na drugačijim tipovima molekula, tj, na uvođenju različitih supstituenata na različitim atomima ugljika molekule tiazola. Tako su i ispitani derivati tiazol-piperazina (slika 6). Sintetizirano je 16 različitih derivata od kojih niti jedan nije pokazao gotovo nikakvu inhibiciju butirilkolinesteraze, međutim inhibicija acetilkolinesteraze nekih spojeva se pokazala vrlo učinkovita.



Slika 6. Struktura derivata tiazol-piperazina.¹⁰

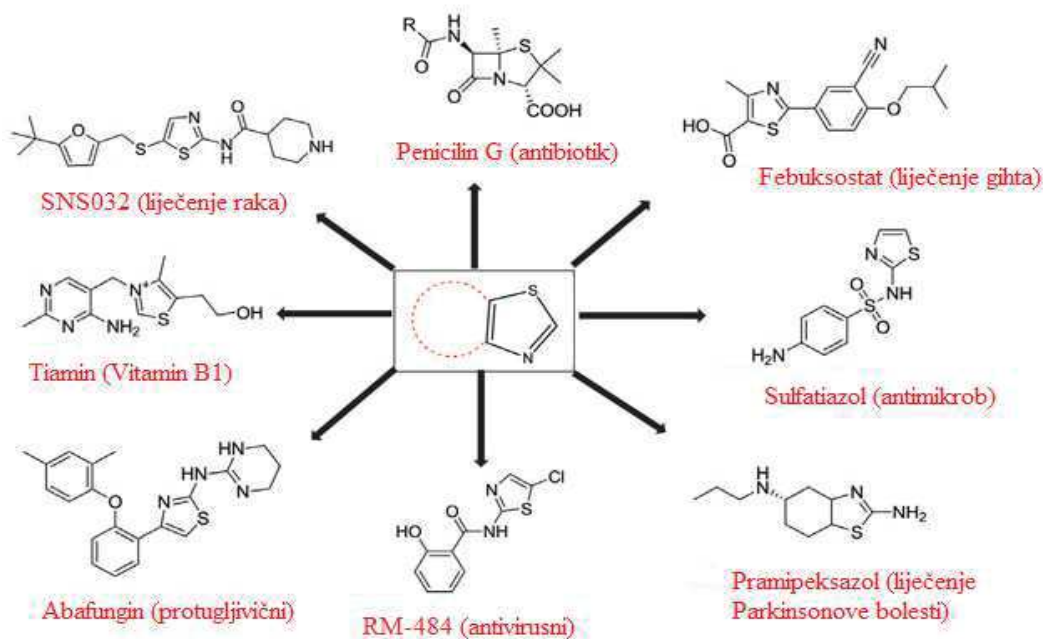
Od spomenutih 16 derivata 3 spoja su jedina pokazala inhibiciju acetilkolinesteraze koja se može smatrati značajnom, a supstituenti te vrijednost IC_{50} tih spojeva su sljedeći:

- 1) R = 2-piridil, $IC_{50}(\mu M) \pm SEM = 0.051 \pm 0.002$
- 2) R = Benzil, $IC_{50}(\mu M) \pm SEM = 0.011 \pm 0.001$
- 3) R = 2-furoil, $IC_{50}(\mu M) \pm SEM = 0.27 \pm 0.001$

I u ovom istraživanju kao referentna vrijednost korišten je Donepezil, čija IC_{50} vrijednost iznosi $IC_{50}(\mu M) \pm SEM = 0.054 \pm 0.002$.¹⁰ Iz rezultata u ovom istraživanju vidljivo je da je inhibicija derivata sa 2-piridil te benzilom kao supstituentima čak i bolja od donepezila, što im svakako daje veliki značaj u daljnjem razvoju i istraživanju. Derivat sa 2-furoil supstituentom pokazao je nešto veću količinu potrebnu da dođe do inhibicije, što nije nužno znak da se daljnjim istraživanjem te molekule i uvođenjem dodatnih supstituenata ta količina smanji te postignu bolji rezultati.

2.1.2. Ostali biološki aktivni spojevi sa tiazolnom jezgrom

Spomenuto je na početku poglavlja 2 da se lijekovi sa tiazolnom jezgrom koriste na raznim područjima. Samo neki od mnogih lijekova prikazani su na slici 7.



Slika 7. Prikaz nekih od lijekova s tiazolnom jezgrom.¹¹

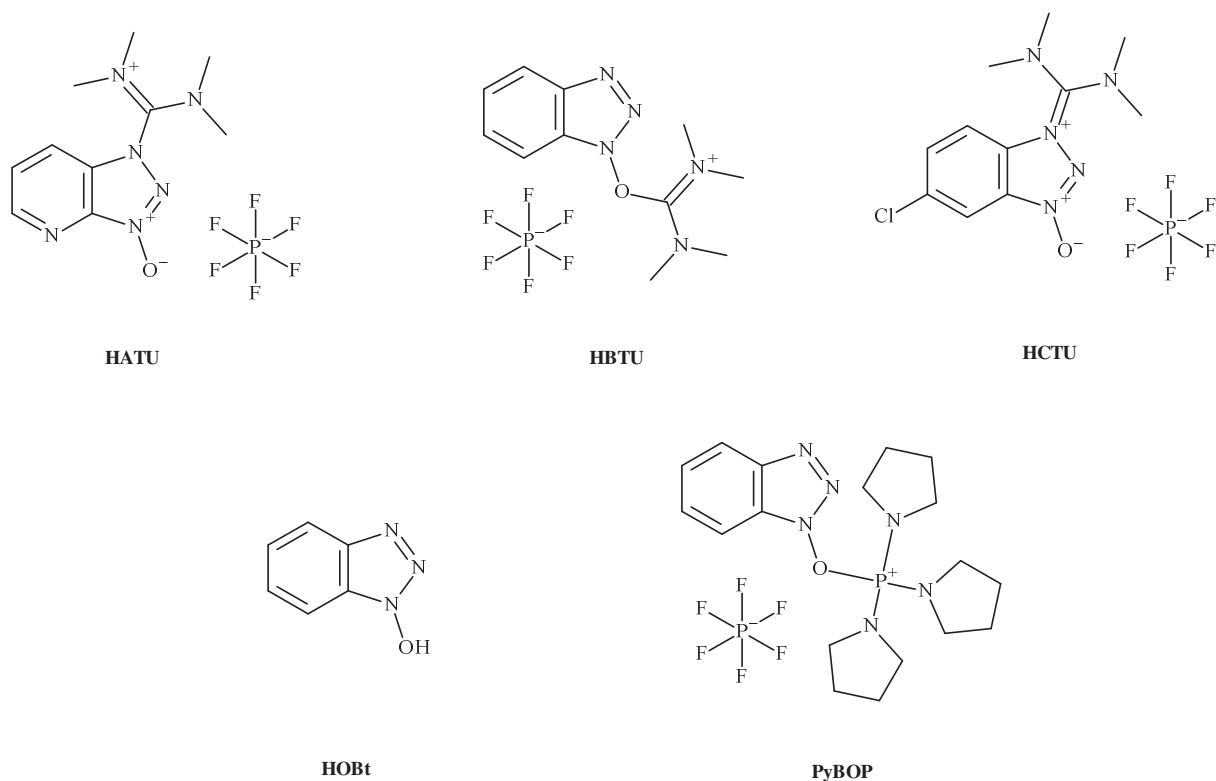
Od spojeva prikazanih na slici kao najvažniji se može istaknuti Tiamin (vitamin B1) te antibiotik Penicilin G. Vitamin B1 ima enzimski aktivnu funkciju te sudjeluje u raznim ciklusima u organizmu. Enzimi koji ovise o tiaminu direktno su vezani za metabolizam odnosno za stvaranje i prijenos energije u organizmu. Otkriće Tiamina otvorilo je nove pristupe u nutricionizmu. Tiamin je tako prvi povezan s liječenjem bolesti kod životinja izazvane direktnim nedostatkom istog. Jedan od glavnih enzima u metaboličkim procesima koji su povezani s Tiaminom je kompleks piruvat-dehidrogenaze (EC 1.2.4.1) koji sudjeluje u ciklusu limunske kiseline, u sintezi acetil-koenzima A iz piruvata. Zatim vrijedi spomenuti kompleks α -ketoglutarat dehidrogenaze (EC 1.2.4.2), koji također sudjeluje u ciklusu limunske kiseline te transketolazu (2.2.1.1.), koja sudjeluje u ciklusu pentoza-fosfata u kojem stanice prevode glukozu-6-fosfat u nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfat (NADPH) te pentoze (šećere s pet atoma ugljika).^{12,13} S druge strane, penicilin G, poznat i kao benzilpenicilin je prirodni penicilinski antibiotik uskog spektra djelovanja koji se koristi za liječenje bakterijskih infekcija.¹⁴ Zbog svoje nestabilnosti u želučanoj kiselini koja ga razgrađuje, penicilin G je lijek koji se uglavnom unosi intravenozno. Najveću aktivnost pokazuje u liječenju pneumonije izazvane pneumokokom (*Streptococcus pneumoniae*) te u liječenju streptokoka izazvanog beta-hemolitičkim streptokokom grupe A.¹⁵ Općenito je poznato da je jedan od najvećih nedostataka penicilinskih lijekova taj što kod mnogih pacijenata izaziva alergijske reakcije.

Uz sve već dostupne lijekove, nove biološki aktivne spojeve te spojeve s tiazolnom jedinicom u fazi istraživanja, može se zaključiti da spojevi s takvom jedinicom imaju potencijala u raznim primjenama.

2.2. Sinteza amida

Sinteza amida je jedna od najčešće provedenih sinteza u medicinskoj kemiji. Amidna veza prisutna je u mnogim molekulama pa tako i lijekovima na tržištu te mnogim spojevima koji su u fazi istraživanja, makar nije ograničena samo na sintetske spojeve, već se pronalazi i u biološkom svijetu. Važnost amidne veze u biološkim spojevima se najbolje može opisati time da je to glavna veza između aminokiselina pri tvorenju proteina.¹⁶ Prisutnost amidne veze omogućava vezanje amida vodikovim vezama na aktivno mjesto biološke mete ukoliko je takvo vezanje potrebno.

Vrlo je uobičajeno da se željeni amidi sintetiziraju iz amina te karboksilne kiseline. U osnovi reakcija između određene karboksilne kiseline i amina spada u reakcije kondenzacije i može se potaknuti jednostavnim zagrijavanjem, ali reakcija provedena na taj način često nije efektivna u smislu da su iskorištenja takvih reakcija vrlo mala, reagensi nisu često kompatibilni, a reakcije su vrlo duge. Sve navedeno je rezultat nastajanja slabo reaktivne ili nereaktivne karboksilat-amonijeve soli. Kako se reakcija između amina i karboksilne kiseline ne odvija spontano, kiselina se često u svrhu optimiranja reakcije aktivira s dodatnim reagensima. Takvi reagensi u reakciji s karboksilnom kiselinom formiraju aktivirane spojeve u obliku kiselinskih klorida, raznih anhidrida te aktiviranih estera.¹⁷ U tu svrhu koristi veliki broj različitih reagensa, ovisno o vrsti polaznih spojeva i njihovoj reaktivnosti. Samo neki od često korištenih aktivirajućih reagensa su: HATU ((1-[Bis(dimetilamino)metilen]-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]piridinium3-oksid heksafluorofosfat), HBTU ((2-(1*H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronij heksafluorofosfat), HCTU (*O*-(1*H*-6-klorobenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronij heksafluorofosfat), HOBt (hidroksibenzotriazol), PyBOP (benzotriazol-1-il-oksitripirolidinofosfonijev heksafluorofosfat) te mnogi drugi (slika 8).



Slika 8. Prikaz strukture aktivirajućih reagensa HATU, HBTU, HCTU, HOBt i PyBOP.¹⁸

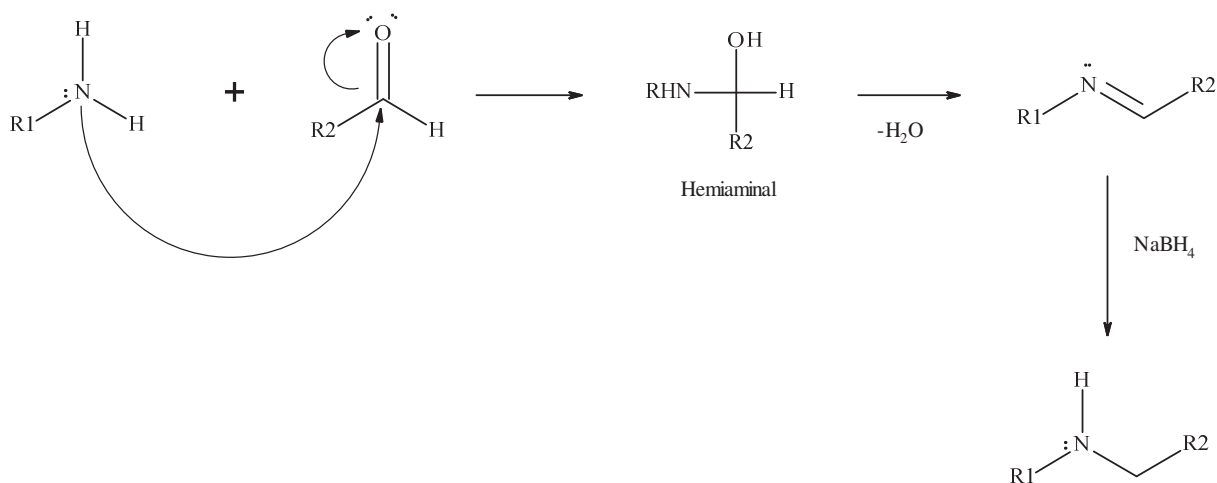
Svaki od navedenih reagensa ima svoje prednosti. HATU, HBTU, HCTU i PyBOP su vrlo slični aktivirajući reagensi i djeluju na gotovo isti način, jedina razlika je u brzini odvijanja reakcije te jačini samih aktivirajućih reagensa. HATU je od navedena 4 reagensa najbrži i najagresivniji, što dovodi do malo bržih reakcija aktivacije. Izbor odgovarajućeg reagensa za određene kiseline vrlo je težak jer je rijetko dostupna direktna usporedba svih mogućih reagensa, iako je o tome pisano u mnogim radovima.^{16,19,20} Zbog dostupnosti i vrlo širokog raspona karboksilnih kiselina koje mogu biti aktivirane pomoću HATU, u ovom radu je korišten isključivo HATU kao aktivirajući reagens.

Kiselina ne može biti aktivirana ukoliko nije prvo deprotonirana, a u tu svrhu se često koristi DIPEA (diizopropiletilamin). Pojednostavljeni prikaz mehanizma reakcije aktivacije s HATU i DIPEA prikazan je u poglavlju 3.1. na slici 12.

2.3. Sinteza amina i imina

Amini su uz amide također vrlo zastupljena vrsta spojeva u medicinskoj i organskoj kemiji. Prisutnost –NH skupine u biološki aktivnim spojevima, ali i u mnogim drugim primjenama već je dovoljno puta spomenuta kao skupina koja doprinosi na različite načine i nalazi svoju primjenu u različitim ulogama. Općenito spojevi koji sadrže dušik, a naročito amini, su veoma bitne molekule kako u sintetskoj organskoj kemiji, tako i u prirodi. Kako je spomenuto da amidna veza ima značajnu ulogu u vezanju aminokiselina u proteinima, tako se može povući paralela i reći da su amini zastupljeni upravo u tim aminokiselinama i proteinima. Osim s aminokiselinama amine možemo povezati s raznim peptidima, beta-laktamima, klorofilom, DNA, RNA, nukleotidima, alkaloidima i mnogim drugim spojevima.²¹

Reduktivna aminacija i Buchwald-Hartwigova reakcija dva su najčešća tipa reakcija korištenih za sintezu amina. Glavna razlika je što pri reduktivnoj aminaciji u prvom koraku nastaje imin, koji se dalje reducira do amina, dok kod Buchwald-Hartwigove reakcije je taj korak preskočen te direktno nastaje amin što zahtijeva korištenje raznih katalizatora. Četvrtina reakcija u kojima se formira C-N veza u farmaceutskoj industriji svodi se na reduktivnu aminaciju.²² Uz to, jednostavnost provedbe i veliki broj različitih pristupa reakciji reduktivnu aminaciju se i danas koristi kao prvi odabir pri sintezi amina, a naročito imina.²³ Mehanizam ovih reakcija vrlo je jednostavan (Slika 9).



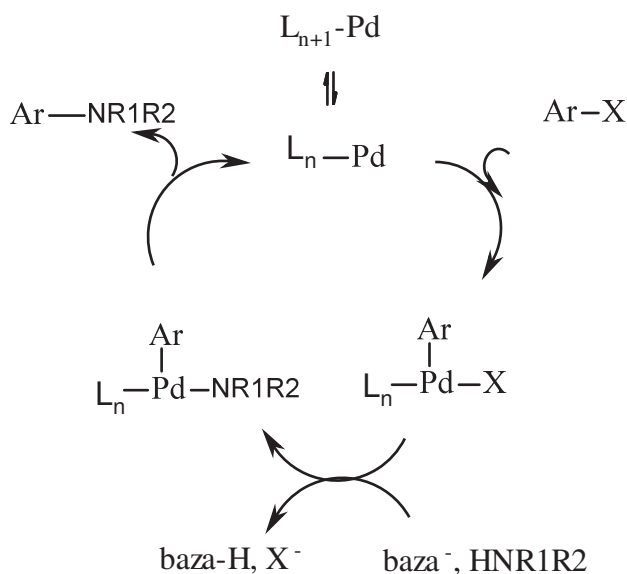
Slika 9. Pojednostavljeni prikaz mehanizma reduktivne aminacije.

U prvom koraku dolazi do nukleofilnog napada amina na karbonilni ugljik aldehida te se stvara međuprodukt hemiaminal koji odvođenjem vode iz reakcijske smjese prelazi u željeni imin. Imin se dalje uz pomoć redukcijskog sredstva, u ovom slučaju NaBH_4 , reducira do željenog amina. Ukoliko bi se kao polazni amin koristio sekundarni amin umjesto primarnoga, nakon nastajanja hemiaminala bi se formirao iminijev kation koji se dalje može reducirati do željenog amina ili bi se do željenog amina moglo doći direktnom hidrogenacijom hemiaminala.²³

Kao reduktivno sredstvo u upotrebi su razni reagensi poput H_2/Pd , NaBH_4 , NaBH_3CN , $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ i ostali reagensi. Za sintezu na laboratorijskoj skali najprigodniji su NaBH_4 , NaBH_3CN i $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ zbog jednostavnog korištenja i dostupnosti istih kao zasebnih reagensa u krutom stanju. NaBH_3CN i $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ imaju veću selektivnost i toleranciju prema potencijalnom reduciranju funkcionalnih skupina nego što je slučaj za NaBH_4 .²⁴ Nakon reakcije s borhidridno-baziranim redukcijskim sredstvima obavezna je ekstrakcija i zbrinjavanje potencijalno toksičnih nusprodukata, kao što je na primjer HCN pri korištenju NaBH_3CN , te odvođenje vodika nastalog tokom redukcije na siguran način. S druge strane, korištenjem H_2/Pd , koji se može smatrati ekonomski prihvatljivijim redukcijskim sredstvom zbog stvaranja manje nusprodukata, može u puno većoj mjeri doći do redukcije i ostalih skupina sklonih redukciji.²⁴ Prilikom sinteze navedenih reduktivnih sredstava nastaje puno otpada, naročito pri proizvodnji sredstava na bazi borhidrida. Za proizvodnju vodika se koristi prirodni plin pri čemu se koriste procesi na visokim temperaturama te zahtjevni procesi odvajanja nastalih plinova. Iako su vrlo efikasni, ovakvi reagensi daleko su od takozvane zelene kemije.^{23,24}

Alternativna reakcija reduktivnoj aminaciji za sintezu amina svakako je Buchwald-Hartwigova reakcija. To je reakcija katalizirana paladijem pri čemu iz arilhalogenida i sekundarnih ili primarnih amina nastaje željeni aromatski amin. Paladijem katalizirana aminacija arilnih halogenida i pseudo-halogenida rastuća je vrsta sinteze raznih novih materijala, farmaceutika te se koristi i u laboratorijskoj sintezi pojedinih prirodnih spojeva.²⁵ Iako se ova reakcija spominje još 1983., tek 1994. u dva neovisno objavljena znanstvena rada, jednog od strane Hartwiga i njegove grupe, a drugog Buchwalda i njegove grupe, ovakav način sinteze prvi put detaljno opisuje i prikazuje načine optimiranja.²⁶ U današnje vrijeme, napredovanjem razumijevanja utjecaja pojedinih liganada, steričkih smetnji, selektivnosti i efektivnosti pojedinih katalizatora, komercijalno je dostupno puno različitih katalizatora i liganada zasebno, kao i već gotovih katalizatora s ligandima koji se iz dana u dan razvijaju i optimiraju i nalaze svoju primjenu u različitim reakcijama.

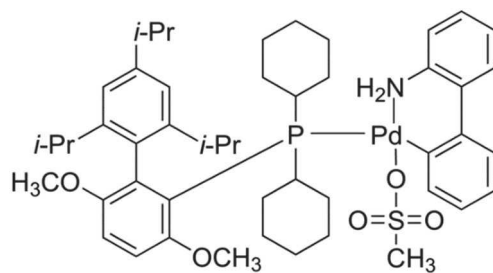
Pojednostavljeni mehanizam ovakvih reakcija prikazan je na slici 10.



Slika 10. Pojednostavljeni prikaz mehanizma Buchwald-Hartwigove reakcije.

Prvi korak Buchwald-Hartwigove reakcije je oksidativna adicija liganda i Pd ($L_n\text{-Pd}$) i arilnog halogenida. Nakon toga se amin deprotonira bazom te dolazi do zamjene halogenida aminom. Na kraju dolazi do reaktivne eliminacije gdje se kao produkt izdvaja željeni arilamin, a katalizator se regenerira.

Na tržištu postoji mnogo različitih katalizatora koji pronalaze svoju primjenu u raznim reakcijama i koriste se zbog raznih prednosti. U ovom radu za testne reakcije korišten je isključivo BrettPhos PdG3. To je katalizator treće generacije koji se koristi u Buchwald-Hartwigovim reakcijama. Odlikuju ga stabilnost prema povišenim temperaturama, stabilnost na zraku i u prisutnosti vlage. Dugo je postojan u otopinama te je vrlo dobro topljiv u različitim otapalima. Od ostalih prednosti valja izdvojiti da je za reakciju potrebna mala količina ovog katalizatora, da uspješno skraćuje trajanje reakcije i da je vrlo dobra regeneracija u katalitičkom ciklusu.²⁷ Struktura BrettPhos PdG3 katalizatora prikazana je na slici 11.

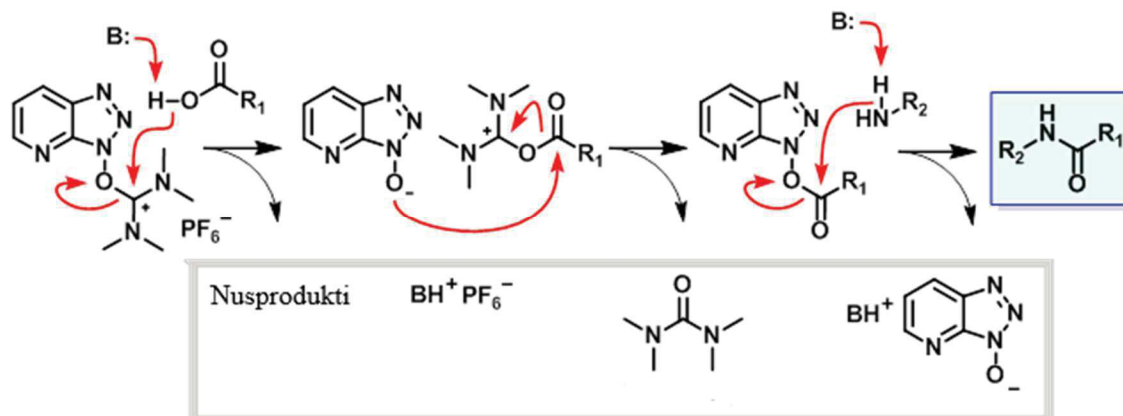


Slika 11. Prikaz strukture BrettPhosPdG3 katalizatora.²⁷

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. SINTEZA AMIDA IZ 2-AMINO TIAZOLA

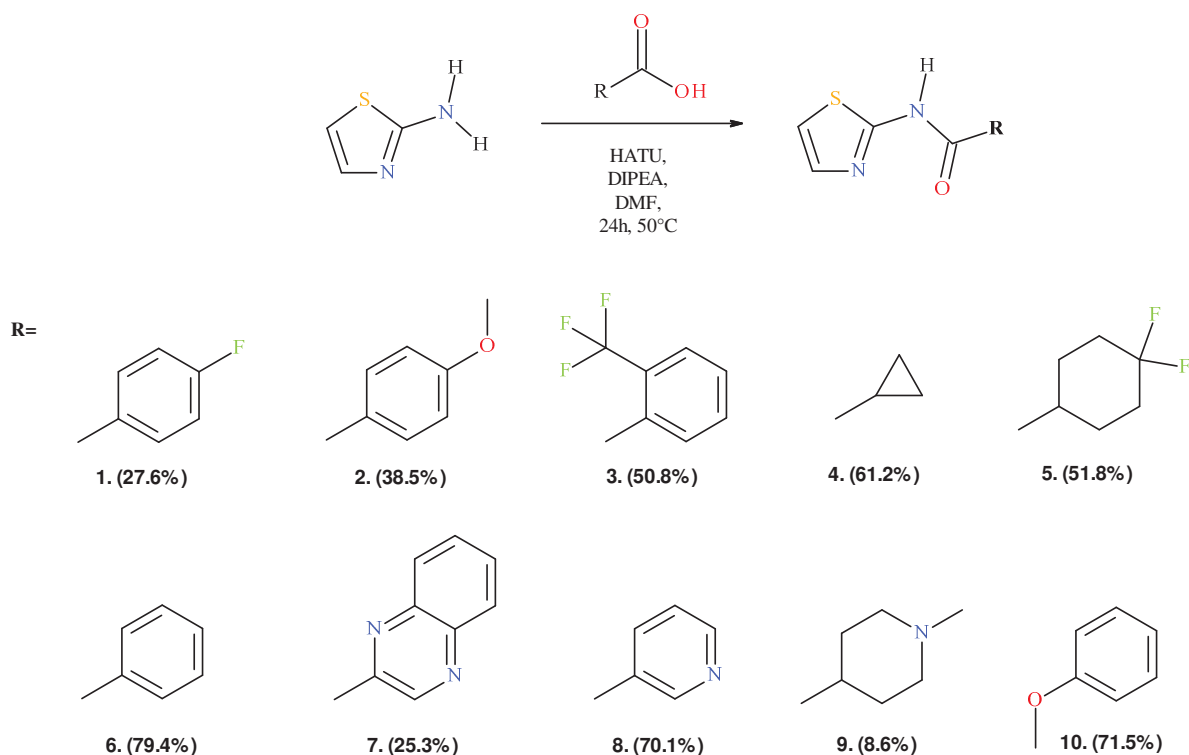
Amidi u ovom radu sintetizirani su iz već spomenutog 2-amino tiazola te različitih karboksilnih kiselina aktiviranih s 1-[bis(dimetilamino)metilen]-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]piridinij-3-oksid-heksafluorofosfatom (HATU), uz diizopropiletilamin (DIPEA), poznatu i kao Hünigova baza.³⁰ Mehanizam ovakvih reakcija prikazan je na slici 12.



Slika 12. Pojednostavljeni mehanizam aktivacije kiseline pomoću HATU i nastajanja amida.

Na slici je vidljivo da se sama aktivacija karboksilne kiseline odvija u 2 koraka od kojih u prvom koraku baza (B), u ovom slučaju DIPEA, prvo deprotonira karboksilnu kiselinu, a nastali karboksilatni anion napada pozitivno nabijeni atom ugljika u HATU. U drugom koraku novonastali HOAt anion reagira s također novonastalom aktiviranom karboksilnom kiselinom te nastaje aktivirani ester. Nakon nastajanja aktiviranog estera daljnji, treći korak je nastajanje željenog amida reakcijom amina deprotoniranog s DIPEA i spomenutog aktiviranog estera.

Produkti dobiveni ovakvim reakcijama amidacije prikazani su na slici 13.



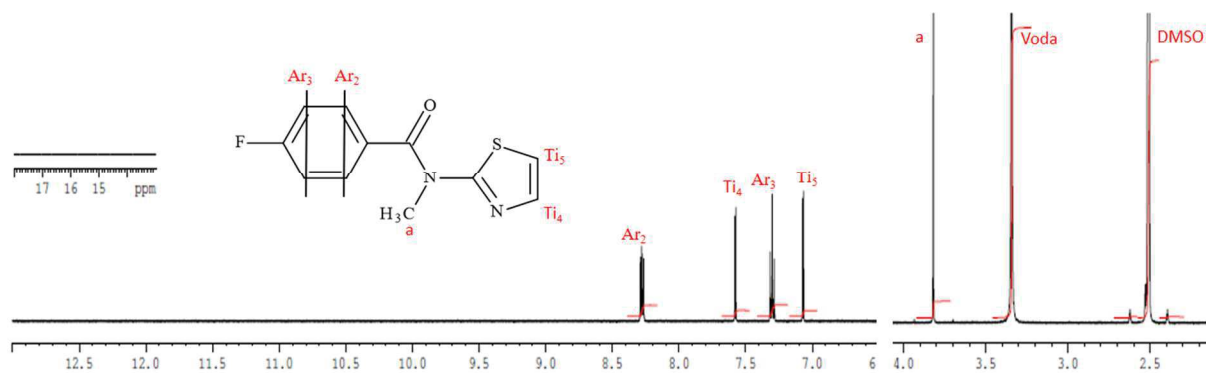
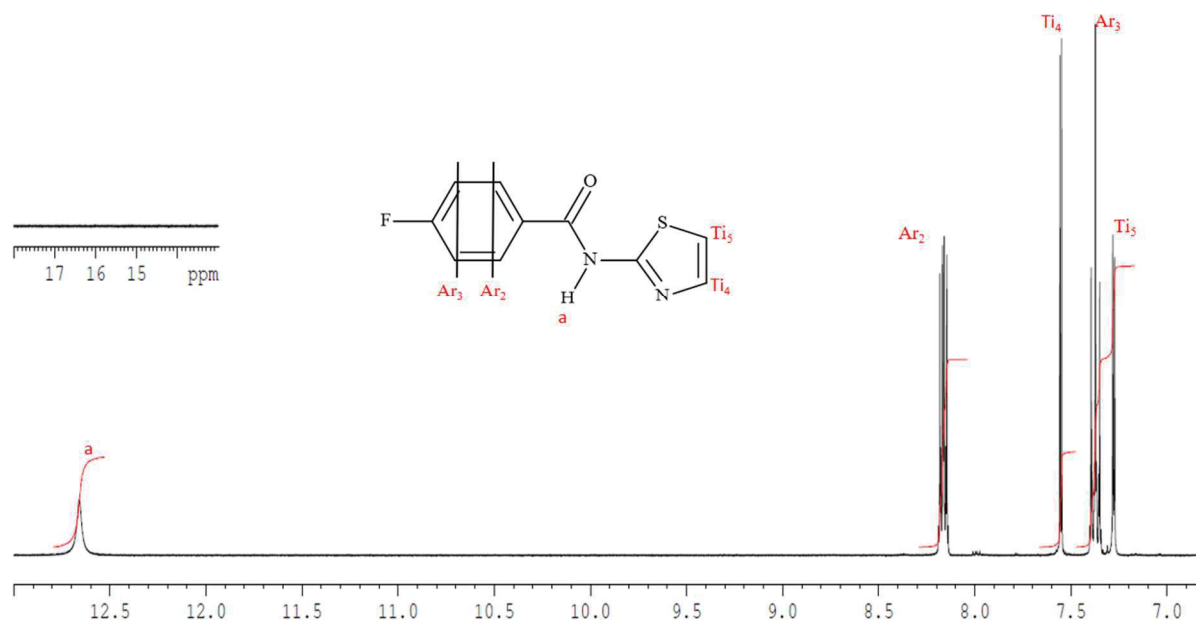
Slika 13. Produkti (1-10) dobiveni reakcijama amidacije.

U eksperimentalnom dijelu rada (poglavlje 4.2) prikazano je da je mjerodavni reaktant u reakcijama nastajanja spojeva **1-5** bio 2-aminotiazol, a kiselina se dodavala u suvišku, što je rezultiralo zaostajanjem kompleksa kiseline aktivirane s HATU koji je otežavao izolaciju spojeva kolonskom kromatografijom, tj. određene frakcije u kojima se nalazio željeni produkt sadržavale su i spomenuti kompleks. To je bio direktan uzrok manjim količinama izoliranih željenih produkata. Obrnutim pristupom sintezi daljnjih amida gdje su se reakcije za dobivanje spojeva **6-10** vodile uz suvišak 2-aminotiazola, a mjerodavni reaktant je bio određena kiselina, izbjeglo se zaostajanje nastalog kompleksa i samim time je izolacija tih spojeva bila jednostavnija te su dobivene veće količine čistog željenog produkta i postignuta su veća iskorištenja što je vidljivo na slici 13. Produkti **7** i **9** odstupaju od takvog trenda. Kod produkta **7** izolacija kolonskom kromatografijom nije bila potrebna jer je istaložio tokom same sinteze, ali je iskorištenje prilično manje nego što je slučaj kod ostalih produkata. S druge strane, produkt **9** se prilikom kolonske kromatografije vezao na kolonu punjenu silika-gelom i korišteni sustav nije bio dovoljno jak da ga eluira s kolone te je kolona isprana sa sustavom DCM:MeOH:NH₄OH = 98:9:1.5 pri čemu je uspješno izolirano vrlo malo spoja.

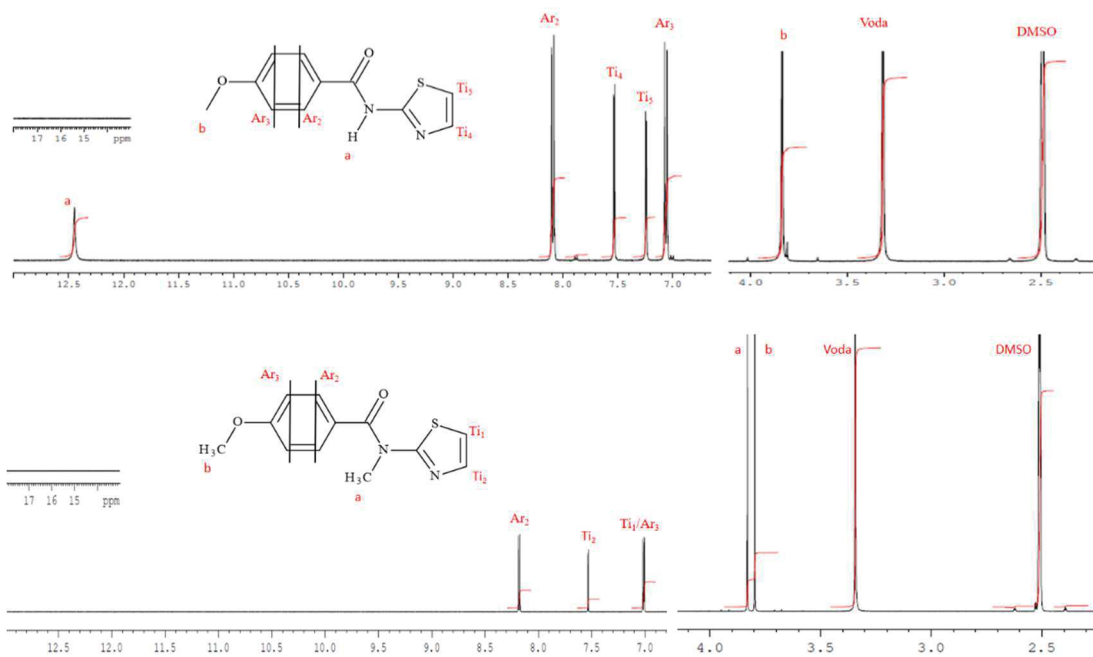
Produkti **1**, **2** i **3** dodatno su metilirani kako je opisano u poglavlju 4.4, a kako bi se utvrdila važnost i utjecaj N-H veze za biološku aktivnost tj., za vezanje na aktivno mjesto.

Dobiveni produkti okarakterizirani su nuklearnom magnetskom rezonancijom i dobiveni spektri vidljivi su na slikama 14-25.

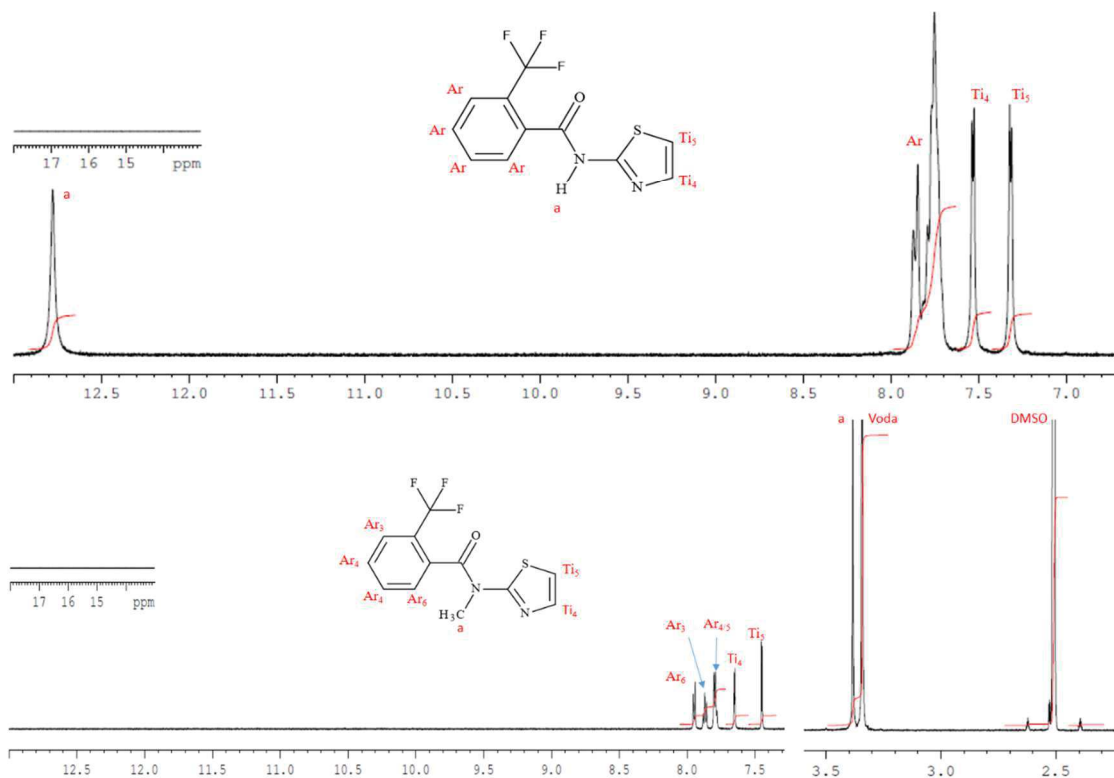
Na slikama 14, 15 i 16 prikazani su ^1H NMR spektri 3 amida koji su izabrani za metiliranje kako bi se utvrdio utjecaj N-H veze na moguću biološku aktivnost tih spojeva. Prvo što je vidljivo na sve 3 slike je da nakon metiliranja svih produkata, na spektrima metiliranih produkata nije prisutan singlet u područjima od 12-13 ppm-a koji odgovara vodiku amidne skupine, već je došlo do pojave singleta u alifatskom području pri 3.8 ppm za produkt **22**, 3.85 ppm za produkt **23** te 3.4 ppm za produkt **21**, što ukazuje na da se metilna skupina vezala na željeni dušik. Kod svih 6 produkata je u području 7-7.4 ppm vidljiv dublet koji odgovara protonu Ti_5 koji se nalazi na poziciji 5 tiazolnog prstena i više je zasjenjen zbog neposredne blizine sumporovog atoma nego što je to slučaj za dublet u području 7.5-7.7 koji se pripisuje protonu Ti_4 koji se nalazi u poziciji 4 tiazolnog prstena.



Slika 14. ¹H NMR spektar 4-fluor-*N*-tiazol-2-il-benzamida (**1**) i metiliranog analoga 4-fluor-*N*-metil-*N*-tiazol-2-il-benzamida (**22**).

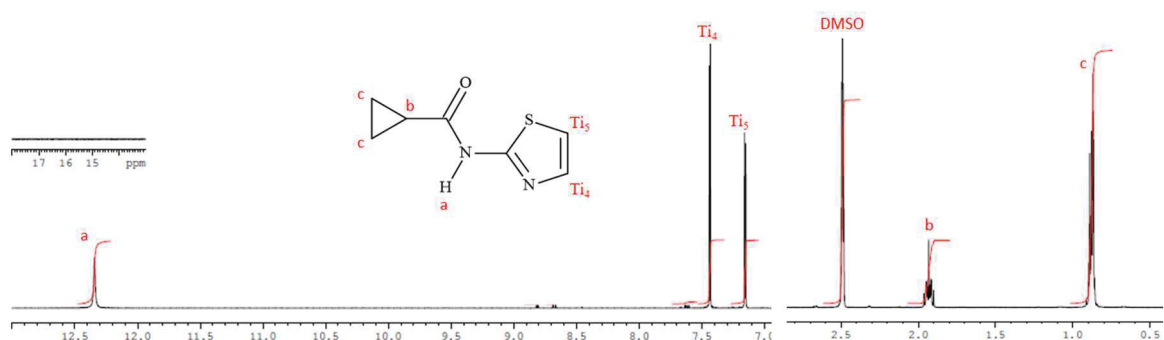


Slika 15. ¹H NMR spektar 4-metoksi-*N*-tiazol-2-il-benzamida (**2**) i metiliranog analoga 4-metoksi-*N*-metil-*N*-tiazol-2-il-benzamida (**23**).



Slika 16. ¹H NMR spektar *N*-tiazol-2-il-2-(trifluorometil)benzamida (**3**) i metiliranog analoga *N*-metil-*N*-tiazol-2-il-2-(trifluorometil)benzamida (**21**).

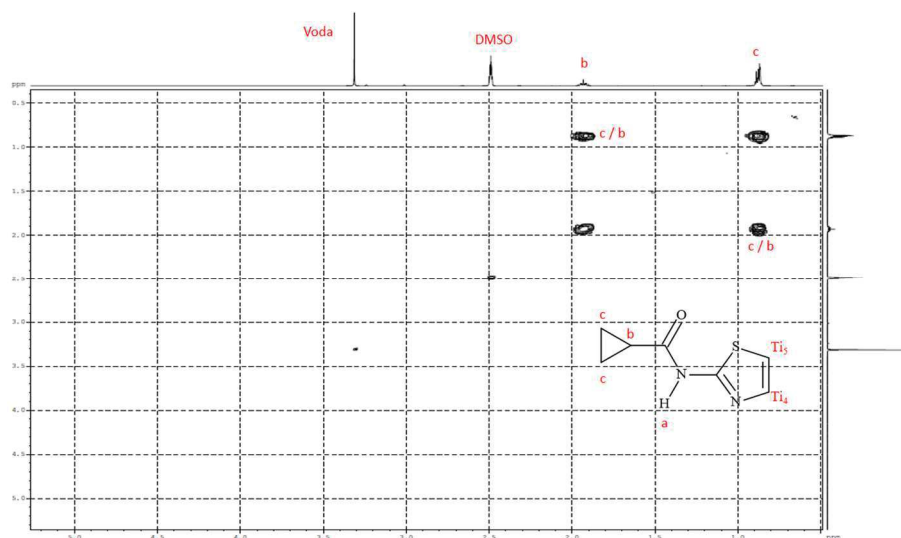
Kod produkata **1** i **2** te **22** i **23** lijepo se može vidjeti simetričnost molekule i sličnost protona Ar₂ odnosno Ar₃ s obje strane benzenskog prstena koji se u spektrima očituju kao sjedinjeni dubleti na istim pomacima. Četiri protona benzenskog prstena produkta **3** vidljivi su kao jedan multiplet pa je vrlo teško odrediti koji točno proton je na kojem pomaku, dok je kod produkta **21** došlo do razdvajanja signala pa se mogu uočiti dublet pri 7.95 ppm koji se pripisuje protonu Ar₆ u poziciji 6 benzenskog prstena. Do njega, na 7.84-7.89 vidljiv je multiplet koji odgovara protonu Ar₃ na poziciji 3 u benzenskom prstenu. Iako taj proton ima samo jedan vodik na susjednim atomima i za očekivati da će njegov signal biti dublet, zbog prisutnosti trifluorometilne skupine u susjednom ugljikovom atomu, dolazi do razdvajanja signala koji na kraju ima izgled multipleta. Konstanta sprege tiazolnih protona iznosi 3,3-3,7 Hz za prva tri nemetilirana amida te za produkt **21**, dok je kod produkata **22** i **23** primijećen porast te konstanta sprege iznosi 4.6 Hz. Kod spojeva **2** i **23** osim u području karakterističnom za protone aromatskog dijela molekule, vidljiv je i singlet na 3.84 odnosno 3.80 ppm čiji je integral 3 i pripisan je protonima metoksi skupine u *para*-položaju benzenskog prstena.



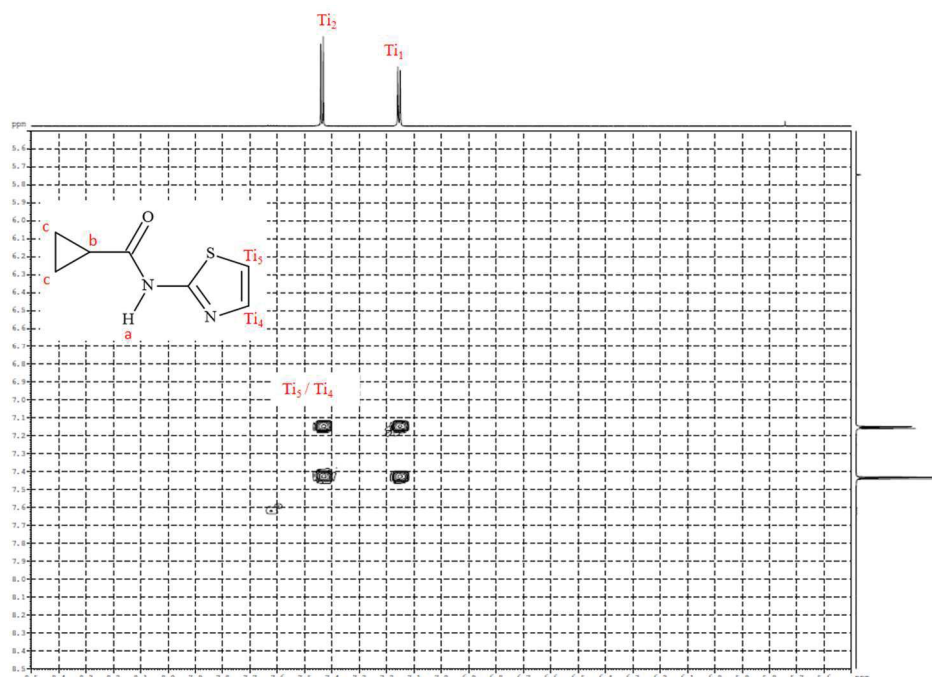
Slika 17. ¹H NMR sprektar *N*-tiazol-2-il-ciklopropankarboksamida (**4**).

Na slici 17 prikazan je ¹H NMR spektar produkta **4**. Na 7.44 ppm može se uočiti dublet koji odgovara Ti₄ protonu koji se nalazi na poziciji 4 tiazolnog prstena, te dublet koji odgovara protonu na poziciji 5 tiazolnog prstena Ti₅ pri 7.15 ppm što se poklapa sa ostalim okarakteriziranim amidima i signalima koji pripadaju protonima tiazolnog prstena. Konstanta sprege tih protona je vrlo slična kao i kod ostalih amida te iznosi 3.7 Hz za proton Ti₄, a 3.6 Hz

za proton Ti_5 . Kako je supstituent na produktu **4** ciklopropan, za očekivati je da će signali njemu pripadajućih protona biti u području višeg polja nego što je slučaj kod aromatskih supstitenata, što je i potvrđeno te je vidljivo da je prisutan multiplet na pomaku od 0.84-0.91 ppm čiji je integral 4 i pripisuje se protonima označenim sa **c** koji se nalaze na pozicijama 2 i 3 ciklopropanskog prstena te. Na 1.90-1.97 ppm primijećen je multiplet integrala 1 koji odgovara protonu **b** u poziciji 1 ciklopropana. Svi spomenuti signali očekivanog su izgleda te odgovaraju željenoj strukturi.



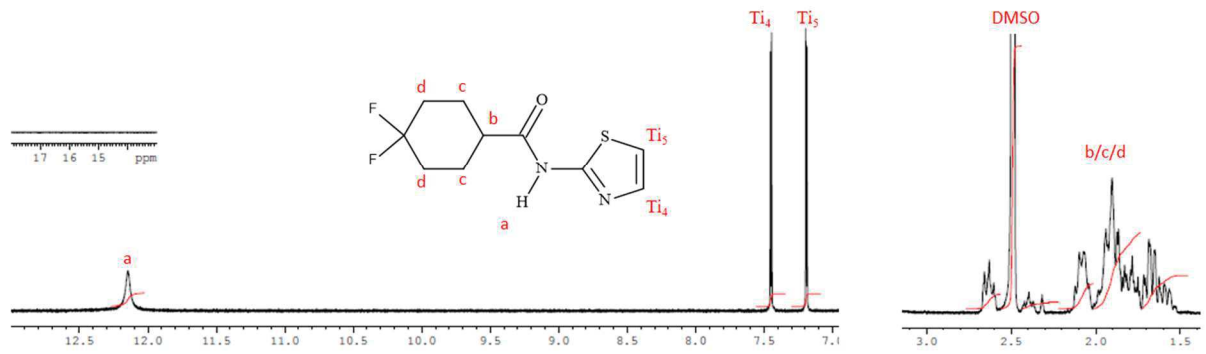
Slika 18. COSY spektar *N*-tiazol-2-il-ciklopropankarboksamida (**4**) u rasponu od 0-5 ppm.



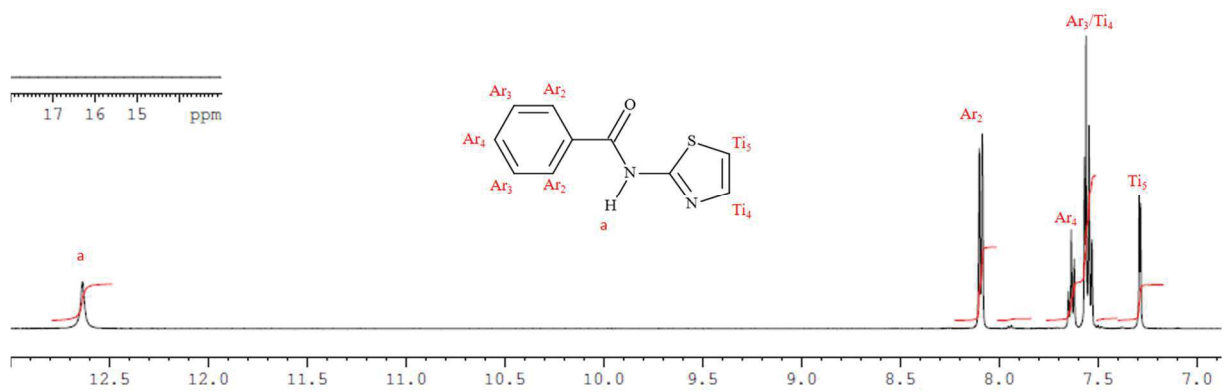
Slika 19. COSY spektar *N*-tiazol-2-il-ciklopropankarboksamida (**4**) u rasponu od 5.5-8.5 ppm.

Na slici 18 prikazan je COSY spektar istog područja 0-5 ppm koji nam prikazuje interakcije i sprežanja susjednih protona i iz spektra se može dodatno potvrditi da je raspored protona ciklopropana upravo kako je pretpostavljeno na ^1H NMR spektru jer je vidljiva interakcija **c** i **b**. Slika 19 prikazuje COSY spektar istog produkta, ali u području od 5.5-8.5 ppm i također potvrđuje predviđanja iz ^1H NMR spektra te sprežanja tiazolnih protona (Ti_4/Ti_5). Pri 7.6 ppm te u rasponu od 8.6-8.9 ppm na ^1H NMR spektru mogu se uočiti minimalne nečistoće koje se poklapaju sa čistoćom produkta **4** određenom UPLC-MS(UV) metodom (96.33 %). Kao i kod ostalih amida vidljiv je i singlet koji odgovara protonu vezanom na dušik koji se u ovom slučaju nalazi na 12.34 ppm.

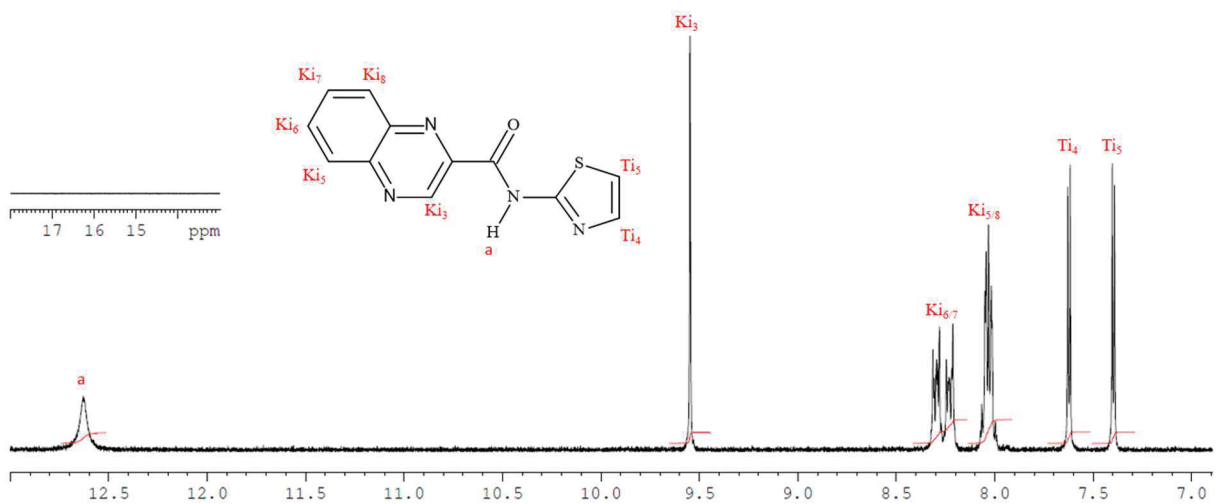
Na slikama 20-25 prikazani su ^1H NMR spektri preostalih amida (**5-10**). Na svim spektrima je vidljiv karakterističan singlet između 11.5 i 13 ppm, ovisno o amidu čiji spektar je snimljen, koji odgovara protonu vezanom na dušik amidne skupine. Razlika u pomacima istog protona može biti povezana sa samim radom instrumenta na kojem spektar sniman te sa supstituentima vezanim na karbonilni ugljik koji svojim oblikom, veličinom i položajem u prostoru utječu na cijelu molekulu amida. Produkt **9** jedini je pri snimanju otopljen u kloroformu jer kada je spektar bio snimljen u DMSO, signali koji odgovaraju DMSO i vodi prisutnoj u istom prekrivao signale spoja te nije bilo moguće asignirati pojedine signale odgovarajućim protonima. Signal koji je specifičan za kloroform vidljiv je na 7.3 ppm i nalazi se točno između protona koji pripadaju tiazolnom prstenu te se nije preklopio niti sa jednim signalom okarakterizirane molekule. Voda prisutna u kloroformu vidljiva je u rasponu od 1.6-1.8 ppm i ima oblik izduljenog singleta što je za vodu u kloroformu i karakteristično. Na spektru se dalje može vidjeti singlet integrala 3 na 2.33 ppm koji odgovara metilnoj skupini vezanoj na dušik piperidina. Zatim je u rasponu od 1.94-2.03 ppm vidljiv multiplet integrala koji je pripisan protonima Pyp₃ u položaju 3, multiplet u rasponu od 2.40-2.51 ppm koji odgovara protonu Pyp₄ u položaju 4, te 2 dubleta pri 2.05 ppm i 2.98 ppm koji se pripisuju protonima Pyp₂ u položaju 2 piperidinskog prstena. Razlog razdvajanja tih protona koji bi trebali biti simetrični je konformacija molekule piperidina i blizina dušikovog atoma zbog čega tijekom rotacije molekule može doći do različitih odziva tih protona.



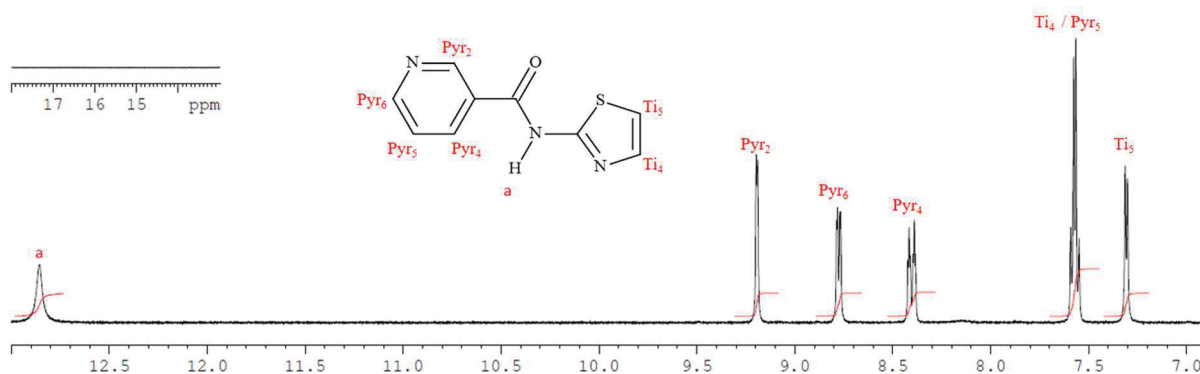
Slika 20. ^1H NMR spektar 4,4-difluor-*N*-tiazol-2-il-cikloheksankarboksamida (5).



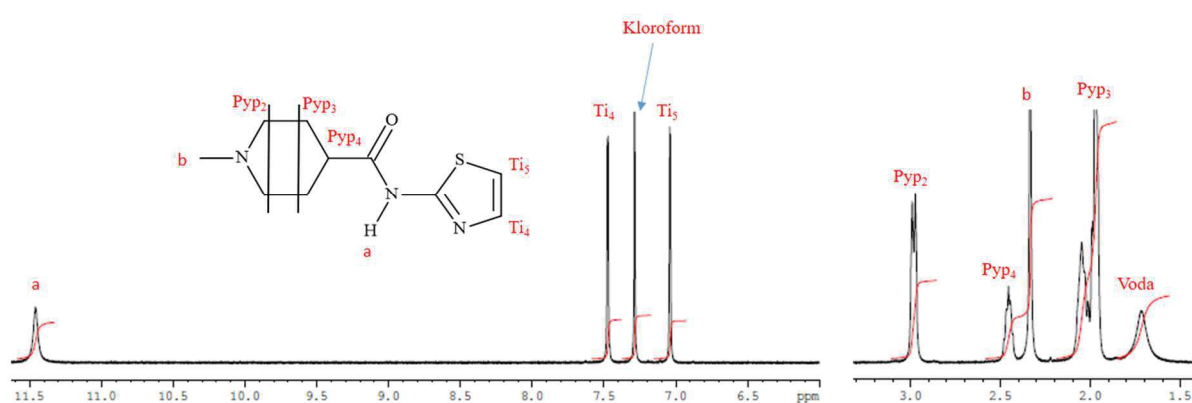
Slika 21. ^1H NMR spektar *N*-tiazol-2-il-benzamida (6).



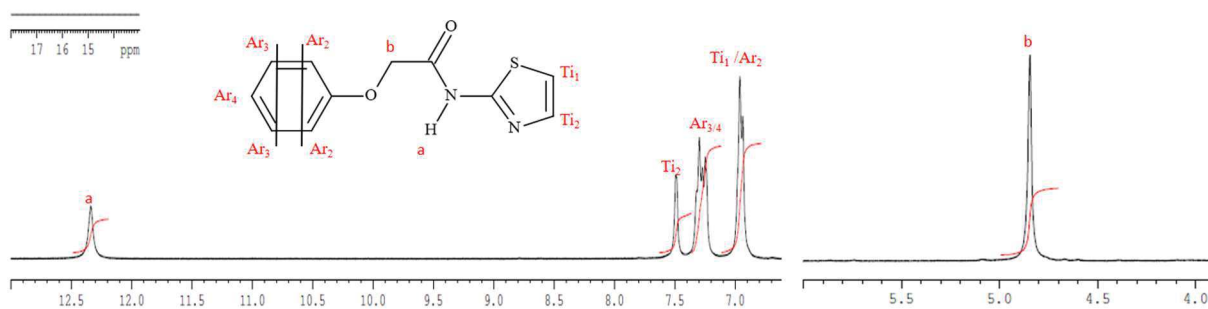
Slika 22. ^1H NMR spektar *N*-tiazol-2-il-kinoksalin-2-karboksamida (7).



Slika 23. ^1H NMR spektar *N*-tiazol-2-il piridin-3-karboksamida (**8**).



Slika 24. ^1H NMR spektar 1-metil-*N*-tiazol-2-il-piperidin-4-karboksamida (**9**).



Slika 25. ^1H NMR spektar 2-fenoksi-*N*-tiazol-2-il-acetamida (**10**).

Sličan slučaj smetnje protona otapala DMSO vidljiv je i kod produkta **5** kod kojeg su signali koji pripadaju prstenu cikloheksana na istom pomaku kao i signali koji odgovaraju za DMSO, međutim u ovom slučaju je bilo moguće asignirati sve protone odgovarajućim signalima. U ^1H NMR spektru tog spoja može se uočiti da su svi protoni koji odgovaraju

cikloheksanskom prstenu vidljivi u području od 1.5-2.5 ppm. Zbog utjecaja 2 atoma fluora u položaju 4 te zbog konformacije cikloheksana, signali protona cikloheksana su razvučeni i razdvojeni. Benzenski prsten je planarna molekula i zbog toga se može govoriti o simetričnosti molekule, dok je cikloheksan zasićeni cikloalkan koji u prostoru najčešće zauzima takozvanu konformaciju stolice. U rasponu od 7.1-7.5 ppm mogu se primijetiti dubleti koji se pripisuju protonima Ti_4 i Ti_5 koji se nalaze u pozicijama 4 i 5 tiazolnog prstena. Konstanta sprege tih protona iznosi 3.5 Hz što odgovara konstantama sprege i ostalih amida. Dubleti koji odgovaraju protonima Ti_4 i Ti_5 ostalih amida su također prisutni u rasponu 7.0-7.7 ppm što odgovara očekivanjima. Konstante sprege tih protona iznosi od 3.5-3.7 Hz kod svih produkata. Kod produkata **8** i **10** konstante sprege nisu mogle biti izračunate jer se signali tiazolnih protona i ostalih protona iz molekule amida poklapaju. Svi vidljivi spektri sadrže sve karakteristične signale za svaku molekulu i u potpunosti odgovaraju željenoj strukturi.

Na spektru produkta **6** vidljivi su karakteristični signali na pomacima 7.55 ppm i 8.1 ppm karakterističnim za aromatske spojeve, u ovom slučaju fenila. Na 8.1 ppm prisutan je dublet integrala 2 koji odgovara simetričnim protonima Ar_2 u poziciji 2 fenilnog prstena. To su jedini protoni tog supstituenta koji na susjednim atomima ugljika imaju samo jedan atom vodika i zbog toga je za očekivati da su i jedini protoni čiji će signali imati izgled dubleta. Multiplet koji se pripisuje protonu Ar_4 u poziciji 4 benzilnog prstena vidljiv je u rasponu od 7.59-7.66 ppm, dok je multiplet koji se pripisuje simetričnim protonima Ar_3 na pozicijama 3 fenilnog prstena te protonima Ti_4 , vidljiv u rasponu od 7.51 - 7.59 ppm

Za produkt **7** koji kao supstituent ima kinoksalin mogu se primijetiti vrlo karakteristični signali i to singlet na 9.55 ppm koji se može pripisati protonu Ki_3 u poziciji 3 kinoksalinskog prstena, multiplet u rasponu 8.2-8.4 ppm koji se pripisuje protonima Ki_6 i Ki_7 na pozicijama 6 i 7 kinoksalinskog prstena te multiplet na 8.0-8.1 ppm koji svakako odgovara protonima Ki_5 i Ki_8 na pozicijama 5 i 8 kinoksalinskog prstena. Ta dva protona Ki_5 i Ki_8 pomaknuti su u više polje nego njima susjedni protoni Ki_6 i Ki_7 što odgovara njihovom okruženju i rezultat je većeg zasjenjenja protona u pozicijama 5 i 8 zbog oblika molekule i njihove okoline.

Na spektru (slika 23) koji odgovara produktu **8** vidljivi su signali karakteristični za piridinski prsten. Navedeno je da kod ovog produkta signal protona Ti_4 tiazolnog prstena se poklapa sa signalom jednog od protona supstituenta u toj molekuli i taj signal na 7.6 ppm se pripisuje protonu u poziciji 5 molekule piridina. Taj signal je pripisan protonu Pyr_5 zbog toga što niti jedan ostali signal koji odgovara protonima piridinskog prstena nema izgled tripleta, već

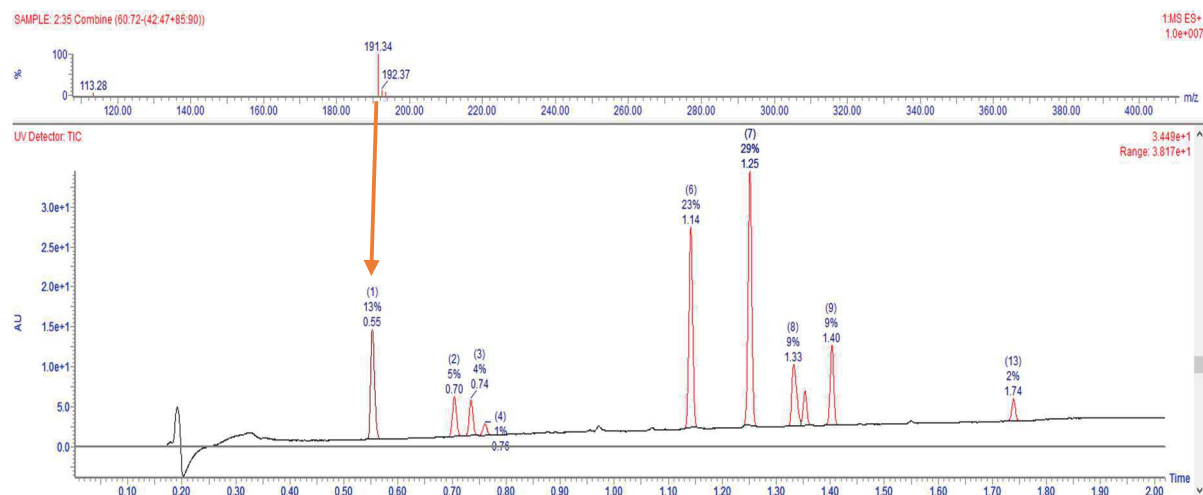
su vidljivi samo jedan singlet i dva dubleta, a iz broja susjednih vodikovih atoma za očekivati je da će signal protona Pyr₅ imati izgled tripleta. Singlet prisutan na 9.19 ppm pripisuje se protonu Pyr₂ koji se nalazi na poziciji 2, dok su dubleti pripisani ostalim protonima i to dublet na 8.78 odgovara protonu u poziciji 6, dok je dublet na 8.40 ppm dodijeljen protonu u poziciji 4. Takav raspored signala je prisutan zbog toga što je proton Pyr₄ više zasjenjen te se nalazi u višem polju, tj. na nižim pomacima.

Na slici 25 prikazan je ¹H NMR spektar produkta **10**. Singlet koji odgovara protonu b tj. -CH₂ skupini vezanoj na kisik fenoksi-supstituenta može se uočiti na pomaku 4.84 ppm i izgledom odgovara singletu čiji integral iznosi 2. Protoni Ar₂ u poziciji 2 fenila padaju pod isti signal kao i protoni u poziciji 5 tiazolnog prstena na 6.95 ppm. Integral tog signala iznosi 3 i odgovara navedenim protonima. Nakon toga se mogu uočiti multiplet u rasponu od 7.17-7.38 kojem su pripisani svi ostali protoni fenilnog prstena i to 2 protona Ar₃ u poziciji 3 te jedan proton Ar₄ u para položaju odnosno na poziciji 4 te dublet na pomaku od 7.49 ppm koji odgovara protonu tiazolnog prstena u poziciji 4.

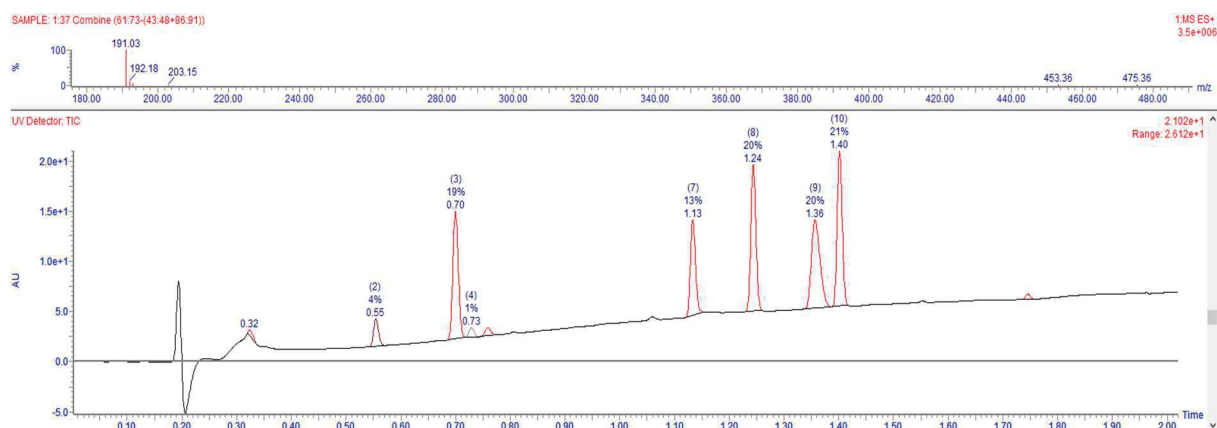
Svi protoni pripisani su odgovarajućim signalima te su njihovi integrali izračunati uz pomoć računalnog programa ACD Spectrus.

3.2. SINTEZA IMINA I AMINA REDUKTIVNOM AMINACIJOM

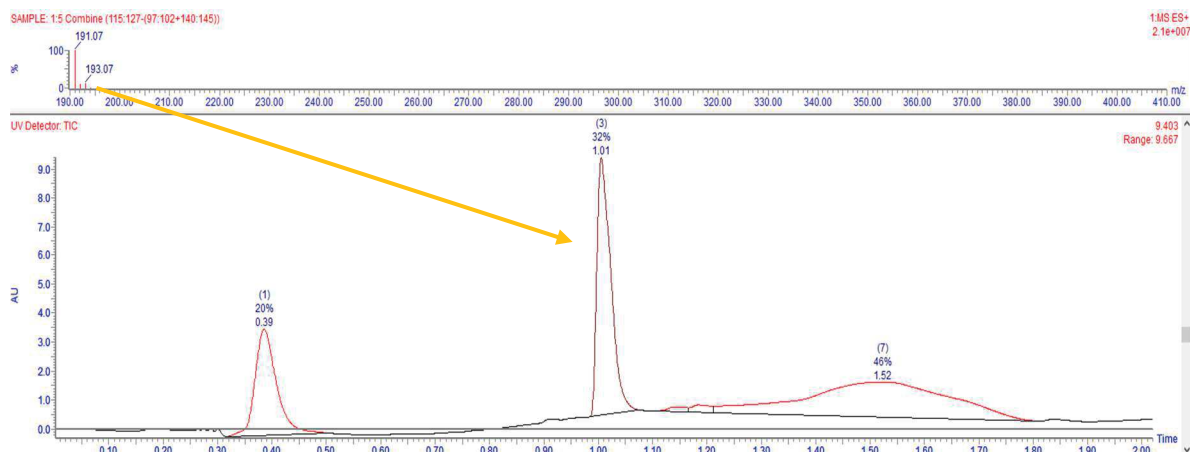
Svi imini i amini u ovom radu sintetizirani su reakcijom reduktivne aminacije.^{31,32} Provedene su 3 testne reakcije i to dvije Buchwald-Hartwigove uz BrettPhos Pd G3 kao katalizator, te kalij *tert*-butoksid kao bazu, od kojih je jedna reakcija provedena uz grijanje na 80°C konvencionalnim načinom, tj. na magnetskoj miješalici uz grijaće tijelo preko noći te je dodatno zagrijana na 100°C 3 sata, a druga reakcija je zagrijana na 100°C mikrovalnim zračenjem u trajanju od 30 minuta. Treća testna reakcija, koja se i pokazala najboljom zbog više razloga, jest reakcija reduktivne aminacije, koja je provedena na 80°C na miješalici s grijaćim tijelom preko noći. Profil reakcija prikazan je na slikama 26, 27 i 28.



Slika 26. Profil Buchwald-Hartwigove reakcije grijane konvencionalnim načinom praćen na UPLC s UV i masenim detektorima.

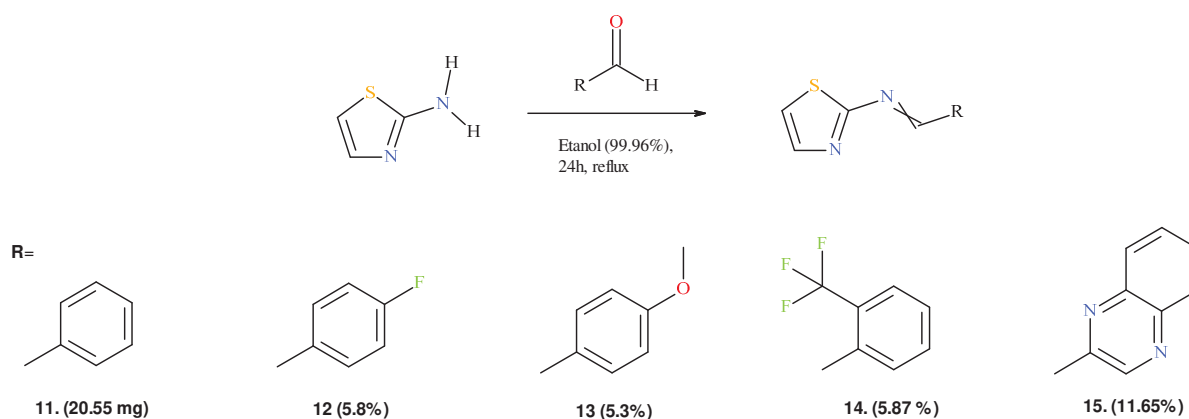


Slika 27. Profil Buchwald-Hartwigove reakcije grijane uz pomoć mikrovalnog zračenja praćen na UPLC s UV i masenim detektorima.

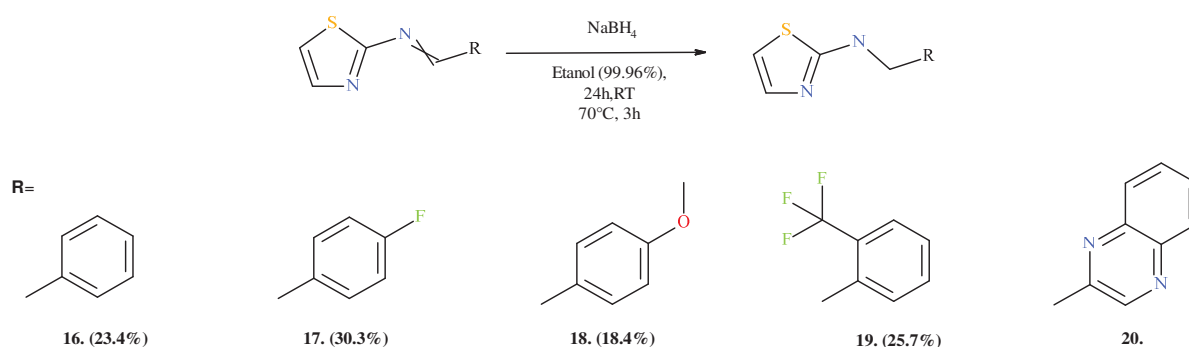


Slika 28. Profil reakcije reduktivne aminacije praćen na UPLC s UV i masenim detektorima.

Iz slika 26-28 se jasno vidi da je profil reakcije reduktivne aminacije puno čišći i bolji nego što je to slučaj kod Buchwald-Hartwigovih reakcija. Maksimum prisutan na $rt = 0.39$ min na slici 28, prema masenom spektru odgovara polaznom 2-amino tiazolu koji je prisutan iz prvog koraka reakcije reduktivne aminacije u kojem nastaje imin te se ne uzima u obzir prilikom određivanja konverzije imina u amin. Nedostatak maksimuma koji bi odgovarao iminu ukazuje na to da je konverzija u amin potpuna. Razlika u vrijednostima retencijskih vremena istog amina koje u Buchwald-Hartwigovim reakcijama iznosi $rt = 0.55$ min, a u reakcijama reduktivne aminacije $rt = 1.01$ min, razlog je toga što je doseg Buchwald-Hartwigovih reakcija praćen u kiselim uvjetima (Metoda A), a doseg reakcija reduktivne aminacije u lužnatim uvjetima (Metoda B). Sama bolja konverzija je bila jedan od razloga zašto je za daljnje reakcije izabrana baš reduktivna aminacija. Drugi vrlo bitan razlog je taj što je reduktivna aminacija reakcija u 2 koraka gdje u prvom koraku nastaju imini koji se mogu izolirati kao zasebni produkti što je i napravljeno te opisano u poglavlju 4.3.1. Takvom reakcijom postignuto je da su izolirana 2 tipa produkta, odnosno imini iz polovice reakcijske smjese, dok je druga polovica reakcijske smjese prebačena u zasebnu tikvicu te je provedena redukcija do odgovarajućeg amina uz NaBH_4 kao redukcijsko sredstvo. Također se može primijetiti da je profil Buchwald-Hartwigove reakcije grijanje konvencionalnim načinom bolji te da je postignuta bolja konverzija, međutim to ne mora biti samo razlog načina grijanja već je vjerojatniji razlog što je ta reakcija vođena dulje vrijeme nego ista uz mikrovalno zračenje. Svi produkti planirani za sintezu reduktivnom aminacijom prikazani su na slikama 29 i 30.



Slika 29. Imini (11-15) dobiveni reakcijom reduktivne aminacije.



Slika 30. Amini (16-19) dobiveni redukcijom odgovarajućih imina te planirani amin (20).

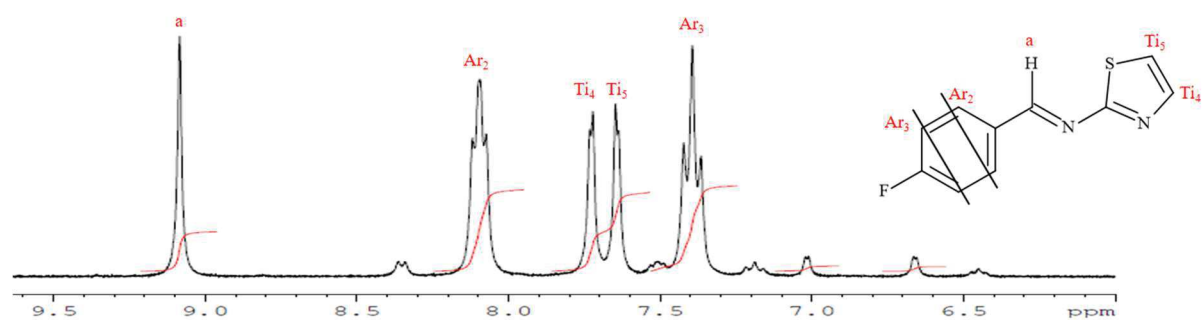
N-(kinoksalin-2-ilmetil)tiazol-2-amin (20) nije uspješno sintetiziran. NaBH_4 se u sintezi tog amina pokazao kao neadekvatno reduktivno sredstvo pa izolirani produkt prema ^1H NMR i masenom spektru nije odgovarao željenom aminu.

Iako se reduktivna aminacija pokazala kao dobar način paralelne sinteze imina i odgovarajućih amina, ovakvim pristupom teško je odrediti točna iskorištenja jer se uzimanjem alikvota reakcijske smjese nakon formiranja imina, koja se dalje koristi za redukciju do amina, uvodi greška u izračunu zbog pretpostavke da je u tom alikvotu prisutno 100% imina bez prisutnosti polaznih reagensa. Ta činjenica nam ukazuje na to da nisu sva prikazana iskorištenja u potpunosti točna, već su navedena kako bi bilo moguće nekako usporediti tok reakcija. Dakle, ako se uzme u obzir da je u alikvotu vjerojatno bilo prisutno manje imina nego što je pretpostavljeno sa 100%-tnom konverzijom, iskorištenja odnosno konverzija imina u amin je vjerojatno veća nego što je navedeno. Jedina iskorištenja koja su donekle točna su iskorištenja

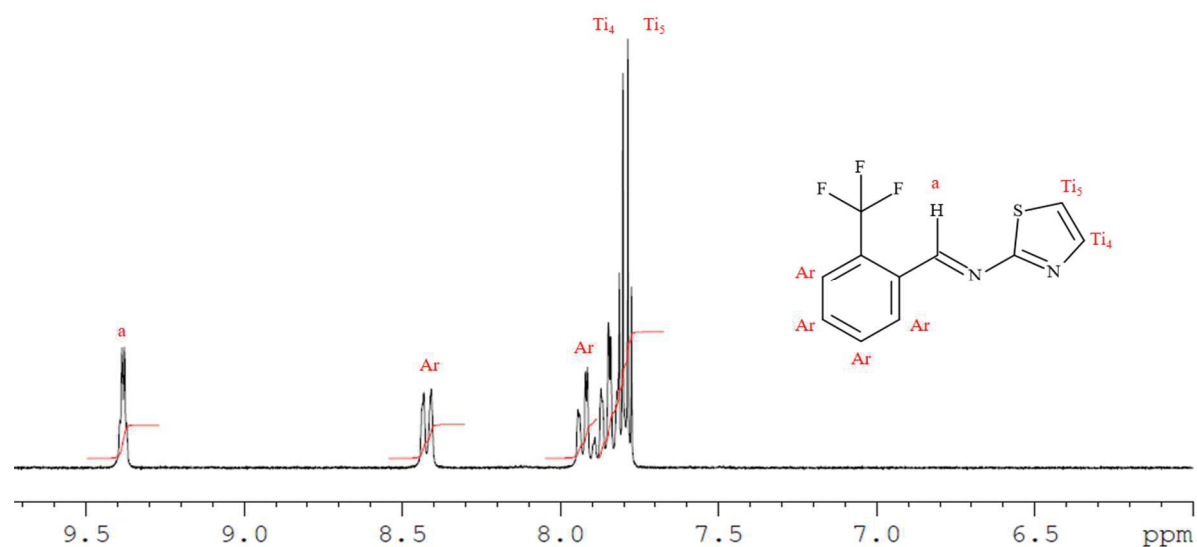
produkata **12** i **13** jer je sinteza tih produkata ponovljena bez odvajanja alikvota za redukciju do amina. Cilj ovog rada nije bio optimiranje reakcija u potpunosti, već sinteza željenih produkata koji mogu biti biološki ispitani. Ako se pokaže da neki od sintetiziranih spojeva predstavlja mogućeg kandidata za inhibiciju acetilkolinesteraze, reakcije svakako mogu biti optimirane.

Nadalje, produkt **11** je za razliku od ostalih imina prije redukcije do amina uparen do suha te je 150 mg te krutine otopljeno u etanolu i reducirano do amina, a na preostalih 70 mg krutine nepoznate čistoće je provedeno kromatografsko odjeljivanje te bi kod tog produkta bilo netočno uopće računati ikakvo iskorištenje pa je za njega na slici 29 navedena masa izoliranog spoja.

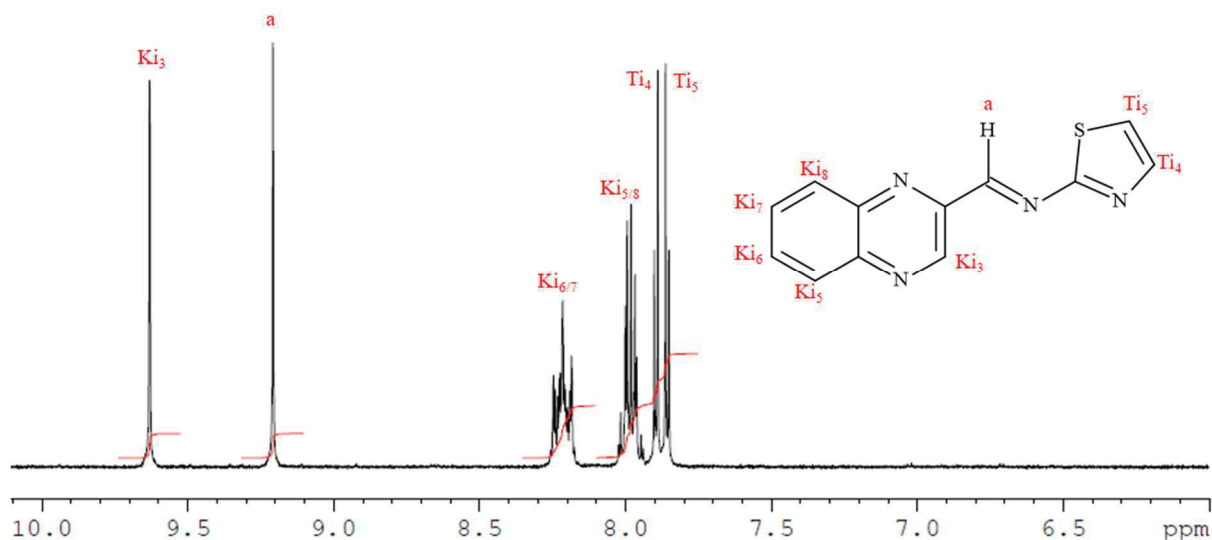
Svi navedeni produkti okarakterizirani su nuklearnom magnetskom rezonancijom i karakteristični signali za pojedine produkte prikazani su na slikama 31-39.



Slika 31. ^1H NMR spektar 1-(4-fluorfenil)-*N*-tiazol-2-il-metanimina (**12**).



Slika 32. ^1H NMR spektar *N*-tiazol-2-il-1-[2-(trifluorometil)fenil]metanimina (**14**).



Slika 33. ¹H NMR spektar 1-kinoksalin-2-il-*N*-tiazol-2-il-metanimina (**15**).

Na slikama 31, 32 i 33 prikazani su ¹H NMR spektri produkata **12**, **14** i **15**. Razlog zbog kojeg su ova tri produkta izdvojena od ostalih imina je to što je izolacija i karakterizacija ovih produkata bila jednostavnija i izravnija nego što je bio slučaj kod produkata **11** i **13**. Kod sva 3 produkta u rasponu od 9.1-9.4 ppm može se uočiti singlet koji odgovara vodikovom atomu HC=N skupine koja je karakteristična za imine. Taj singlet kod produkata **14** poprima oblik sličan dubletu što može biti razlog utjecaja dušikovog atoma u neposrednoj blizini.

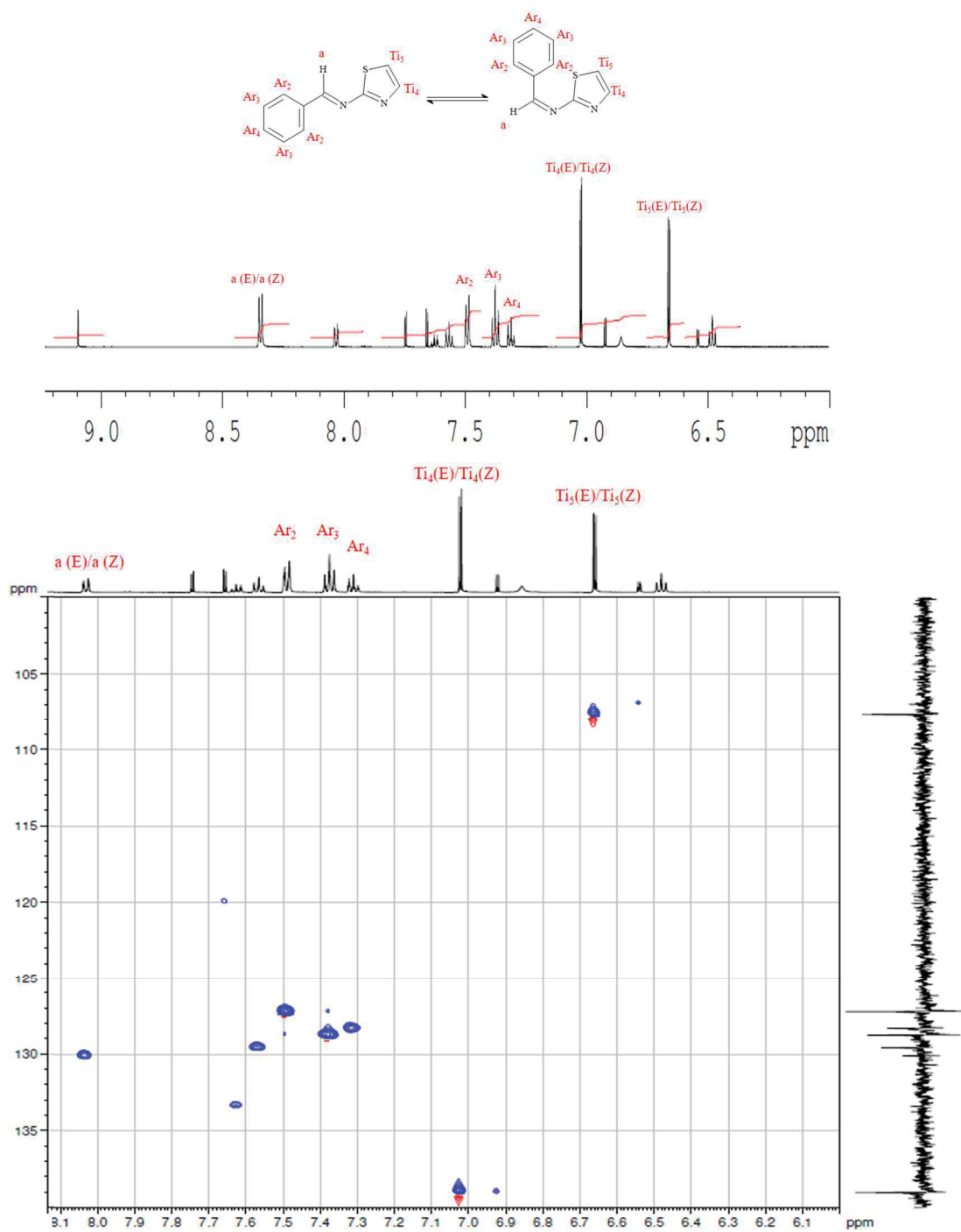
Na slici 31 koja prikazuje ¹H NMR spektar produkata **12** osim navedenog singleta HC=N skupine mogu se uočiti i signali karakteristični za protone Ti₄ i Ti₅ tiazolnog prstena koji se nalaze u rasponu od 7.6-7.8 ppm. Moguće je primijetiti da su ti protoni manje razmaknuti te pomaknuti u niže polje nego što je bio slučaj kod prethodno opisanih amida. Multiplieti u rasponu od 7.34-7.45 ppm i 8.04-8.17 ppm pripisuju se protonima benzenskog prstena u pozicijama 2 i 3. Osim signala koji odgovaraju željenom amidu na spektru se može vidjeti i signale vrlo malih integrala koji ukazuju na prisutnost nečistoća koje su rezultat raspada imina koji se lako hidroliziraju u prisutnosti vode³³ koja je uvijek prisutna u DMSO u kojem su spektri snimani.

U ¹H NMR spektru produkata **14** nisu prisutni signali koji bi upućivali na raspadanje odgovarajućeg amina. Vrlo je vjerojatno da je razlog prisutnost trifluormetilne skupine u blizini HC=N skupine koja zbog svoje veličine izaziva jake steričke smetnje zbog kojih je otežana ikakva reakcija i pristup vode zbog čega je i manja vjerojatnost da će doći do hidrolize. Dakle,

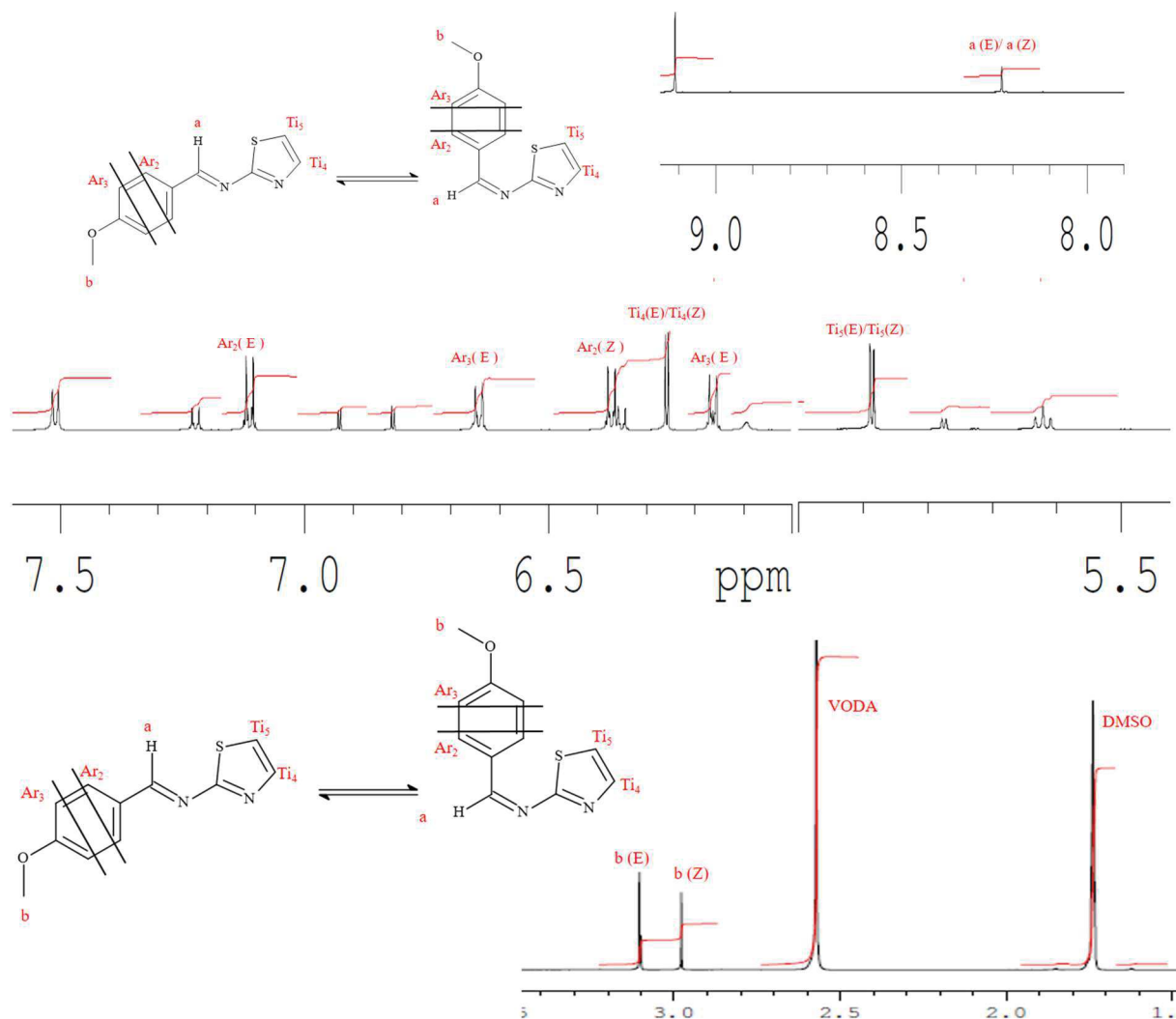
na ovom spektru su prisutni samo signali koji potvrđuju željenu strukturu. Kao i kod produkta **12** može se vidjeti da se dubleti protona na pozicijama 4 i 5 tiazolnog prstena nalaze u nižem polju nego kod amida. Ti_5 proton može se pripisati dubletu vidljivom na otprilike 7.78 ppm, a proton Ti_4 na otprilike 7.81 ppm. Blizina ta 2 protona te 3 protona benzenskog prstena otežala je točnije očitavanje pomaka pojedinih signala pa su svi navedeni protoni pripali jednom multipletu integrala 5 vidljivom u rasponu od 7.77-7.95 ppm. Jedini signal koji se izdvojio vidljiv je na 8.42 ppm u obliku dubleta i pripisan je protonu Ar_3 u poziciji 3 benzenskog prstena.

Slika 33 prikazuje 1H NMR spektar produkta **16** i također je vidljivo da nisu prisutni signali koji bi ukazivali na produkte hidrolize i raspada tog imina. Na 9.63 ppm prisutan je singlet koji je karakterističan za kinoksalinski prsten i odgovara protonu Ki_3 koji se nalazi u poziciji 3 kinoksalina. Na ovom spektru sivi protoni su se odvojili dovoljno da se točnije asignira pojedini proton odgovarajućem signalu. U rasponu od 7.83-7.91 ppm vidljiva su dva dubleta koja odgovaraju protonima tiazolnog prstena u pozicijama 4 i 5, točnije signal u nižem polju odgovara protonu Ti_4 , a signal u višem polju odgovara protonu Ti_5 . Kretanjem prema nižem polju kroz spektar vidljiv je multiplet integrala 2 u rasponu od 7.97-8.03 ppm koji odgovara protonima Ki_5 i Ki_8 u pozicijama 5 i 8 kinoksalina, dok je u rasponu od 8.16-8.27 vidljiv drugi multiplet, također integrala 2 te se on može dodijeliti protonima Ki_6 i Ki_7 u pozicijama 6 i 7.

U nastavku rada prikazani su spektri produkata **11** i **13** (slike 34 i 35). Ti spektri su dobar dokaz raspada imina kao i postojanja *E* i *Z*-izomera, međutim zbog samog raspada i prisutnosti oba izomera signali prisutni u spektrima su vrlo mali zbog čega je sama asignacija bila otežana, a spektre je bilo potrebno uvećati i podijeliti na više dijelova kako bi se moglo točnije prikazati izgled svih prisutnim signala i točnije odrediti integrale. Kako bi se direktnije utvrdilo koji signali odgovaraju kojim protonima, spektri su snimljeni na Bruker Ultra Shield 600 instrumentu najjačeg magnetskog polja od instrumenata korištenih za ovaj rad. Osim standardnih 1H NMR spektara snimljeni su i spektri ^{13}C , COSY i HSQC od kojih će za asignaciju biti obrađeni samo 1H i HSQC. Iako su za produkt **13** snimljene sve tehnike, korišten je samo 1H NMR jer je situacija ista kao i kod produkta **11**. Uz to prilikom snimanja HSQC i COSY spektara instrument nije uspješno obradio 1H NMR spektre te nije bilo moguće s velikom sigurnošću analizirati navedene spektre.



Slika 34. ¹H NMR i HSQC spektri 1-fenil-*N*-tiazol-2-ylmetanimina (11).



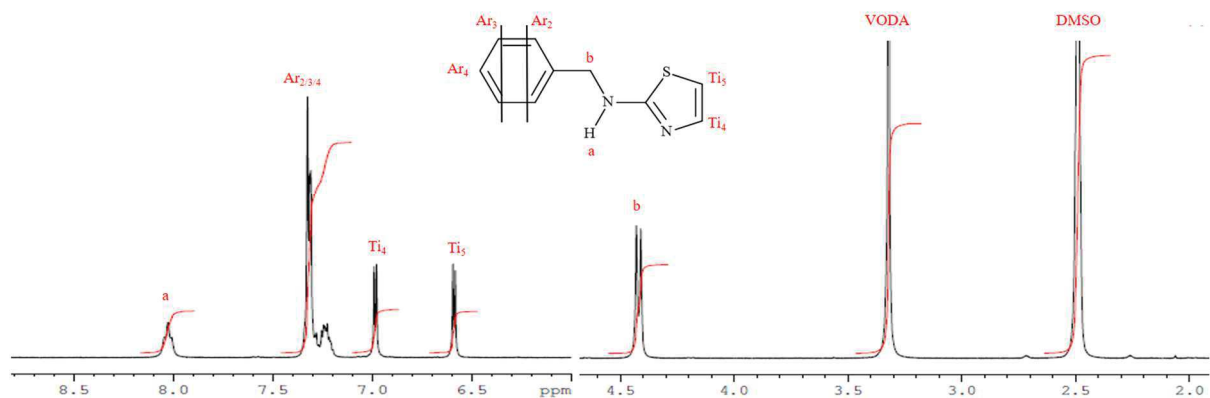
Slika 35. ^1H NMR spektar 1-(4-metoksifenil)-*N*-tiazol-2-ilmetanimina (**13**).

Na slici 34 prikazani su ^1H NMR i HSQC spektri produkta **11**. Vidljivo je da su u spektrima prisutni mnogi signali koji ne odgovaraju željenom produktu već produktima hidrolize istog. Iako integrali protona Ar_2 , Ar_3 i Ar_4 ne odgovaraju u potpunosti vrijednosti 4, što bi bio potvrdni dokaz o tome da postoje 2 izomera dobivenog imina, iz HSQC spektra može se vidjeti da su ti protoni zapravo prisutni. Greške u spektrima produkata **11** i **13** javljaju se vrlo vjerojatno zbog male količine spoja u cjevčici prilikom snimanja te dodatnog raspada oba spoja što je još umanjilo količinu. Druga potvrda da se stvarno radi o (E) i (Z) izomerima je to što integral tiazolnih protona iznosi 4 umjesto 2. Na spektru spoja **11** pri pomaku od 6.66 ppm vidljiv je dublet, integrala 2, koji se pripisuje protonu Ti_5 koji se nalazi na poziciji 5 tiazola, dok je na 7.02 vidljiv drugi dublet koji se pripisuje protonu na poziciji 4 tiazola Ti_4 . Protoni oba izomera nalaze se na istom pomaku. Dalje se mogu uočiti 2 tripleta i to triplet na 7.31 ppm koji

je dodijeljen protonima Ar₃ na poziciji 3 benzena te triplet na 7.37 ppm koji odgovara protonima Ar₄ na poziciji 4. Dublet na 7.49 ppm odgovara protonima Ar₂ benzenskog prstena. Dublet na 8.34 zapravo nije dublet već odgovara 2 singleta koji se pripisuju protonima a odnosno vodicim N=C-H skupine. Jedan signal priprada *E*-izomeru, a drugi *Z*-izomeru kako je i prikazano na samom spektru.

Prilikom snimanja spektara produkta **14** došlo je do greške u obradi i nije obrađen ¹H NMR spektar koji bi nam omogućio pripisivanje određenih vodika odgovarajućim protonima ugljikau HSQC spektru. Zbog greške prilikom snimanja spektara, računalni program *ACD Spectrus* nije mogao obraditi ¹H NMR spektar pa su pomaci signala i njihovi integrali procijenjeni iz prikaza spektra u računalnom programu *Top Spin*. Za razliku od spektra produkta **11**, u ¹H NMR spektru vidljivi su svi protoni oba izomera. Signali protona benzenskog prstena *E*-izomera u obliku dubleta se nalaze na 7.11 ppm što se pripisuje Ar₂ protonima u poziciji 2 te na 6.64 ppm što odgovara protonima Ar₃ u poziciji 3. Dublet na 6.37 ppm odgovara protonima Ar₂ *Z*-izomera te se na 6.16 ppm može zamijetiti dublet koji odgovara Ar₃ protonima *Z*-izomera. Zbog steričkih razlika izomera, za očekivati je da će se protoni 4-metoksibenzila javiti na različitim pomacima. Tiazolni protoni na pozicijama 4 i 5 odnosno protoni Ti₄ i Ti₅ ne osjete utjecaj steričke razlike izomera pa ih je moguće uočiti na istim pomacima. Ti₄ protoni oba izomera nalaze se na 6.25 ppm, dok se Ti₅ protoni oba izomera nalaze na 5.87 ppm i signali su im oblika dubleta sa integralima 2. Protoni metoksi skupine označeni sa b nalaze se na 2.98 ppm za *Z*-izomer, a na 3.1 ppm za *E*-izomer. Oba signala su singleti integrala 3. Kao i kod produkta **11** protoni =CH skupine oba izomera primijećeni su na istom pomaku pri 8.21 ppm

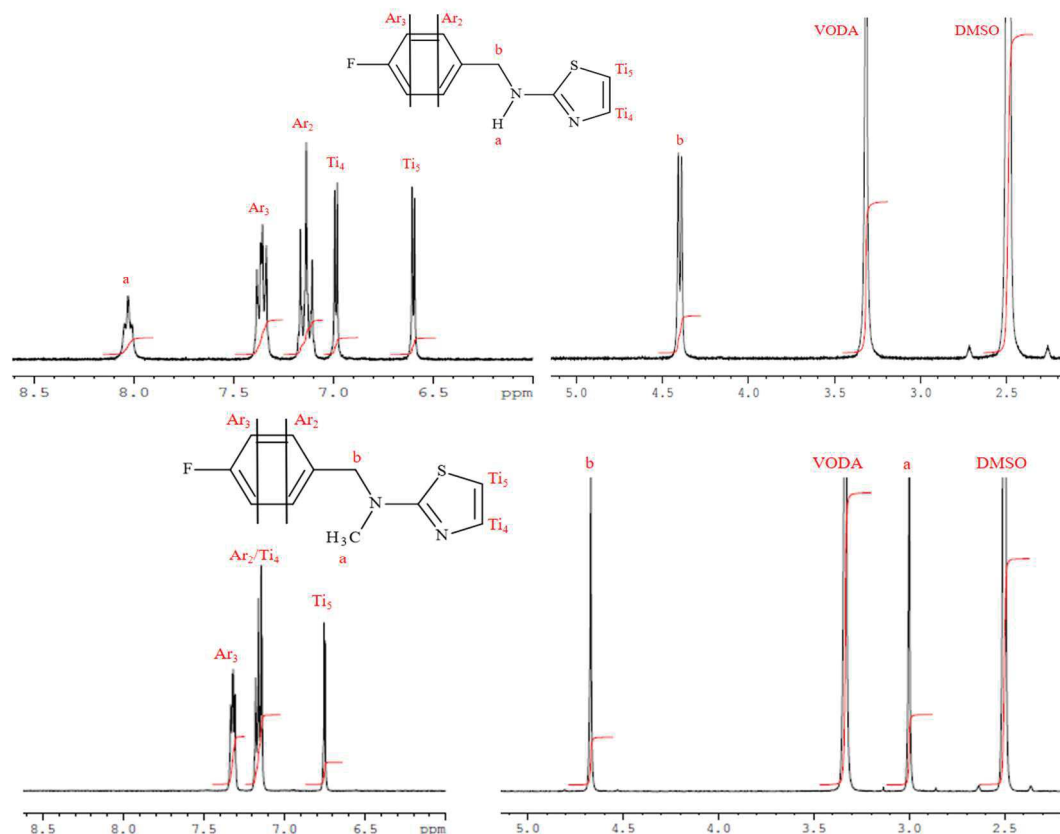
Svi snimljeni spektri imina (**11-15**) odgovaraju željenim strukturama unatoč svim poteškoćama prilikom asignacije signala. Činjenica da se produkti **11** i **14** hidroliziraju prilikom otapanja u DMSO može biti ograničavajući čimbenik prilikom testiranja biološke aktivnosti.



Slika 36. ^1H NMR spektar *N*-benzil-tiazol-2-amina (**16**).

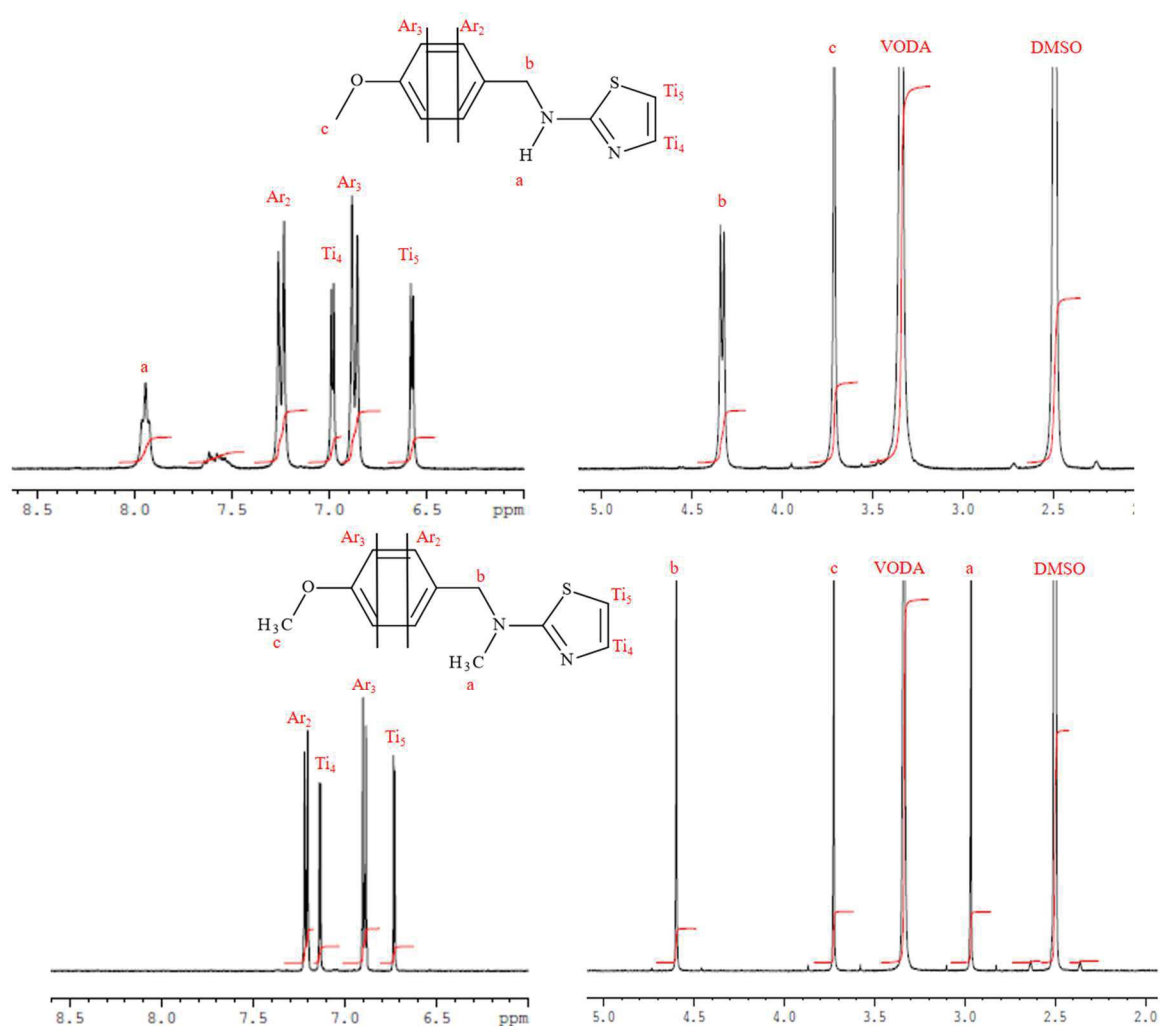
Slika 36 prikazuje ^1H NMR spektar produkta **16** i odmah se mogu primijetiti signali karakteristični za protone prisutne u tiazolnoj jedinici koji su prisutni i vidljivi kod svih produkata. Protoni Ti_4 ovog produkta vidljivi su na 6.98 ppm čija je konstanta sprege 3.5 Hz, a protoni Ti_5 prisutni su na 6.59 ppm i konstanta sprege iznosi 3.7 Hz. Oba signala su dubleti što odgovara njihovoj okolini i prisutnosti jednog susjednog atoma vodika. Dokaz dobro provedene redukcije je pojava multipleta integrala 1 u rasponu od 7.96-8.08 ppm koji odgovara protonu NH skupine te dubletu integrala 2 na 4.42 ppm koji odgovara protonima CH_2 skupine vezane na NH skupinu. Konstanta sprege CH_2 skupine označene slovom b na spektru iznosi 5.9 Hz. Protoni benzilne skupine se nalaze u rasponu od 7.21-7.36 ppm i zbog njihove premale udaljenosti nije moguće dodijeliti pojedinom protonu odgovarajući signal već se očituju kao multiplet integrala 5. Iz ovog spektra može se zaključiti da je redukcija provedena uspješno i na željenom mjestu te da je dobiven produkt željene strukture. Produkt **16** jedini je amid koji nije dodatno metiliran.

Na slici 37 prikazani su spektri produkta **17** i njemu analognog metiliranog produkta **24**. Može se primijetiti da je uvođenje metilne skupine uspješno i da je uvedena na dušik. To se može zaključiti iz nedostatka signala koji odgovara NH skupini na ^1H NMR spektru produkta **24** te iz pojavljivanja singleta integrala 3 na 3 ppm koji odgovara metilnoj skupini i označena je slovom a na doljnjem spektru produkta **24**. Također i promjena izgleda signala na 4.67 ppm koji odgovara singletu dok signal istih protona na ^1H NMR spektru produkta **17** odgovara dubletu zbog prisutnosti vodika na susjednom dušikovom atomu.



Slika 37. ^1H NMR spektri *N*-[(4-fluorfenil)metil]tiazol-2-amina (**17**) i metiliranog analoga *N*-[(4-fluorfenil)metil]-*N*-metil-tiazol-2-amina (**24**).

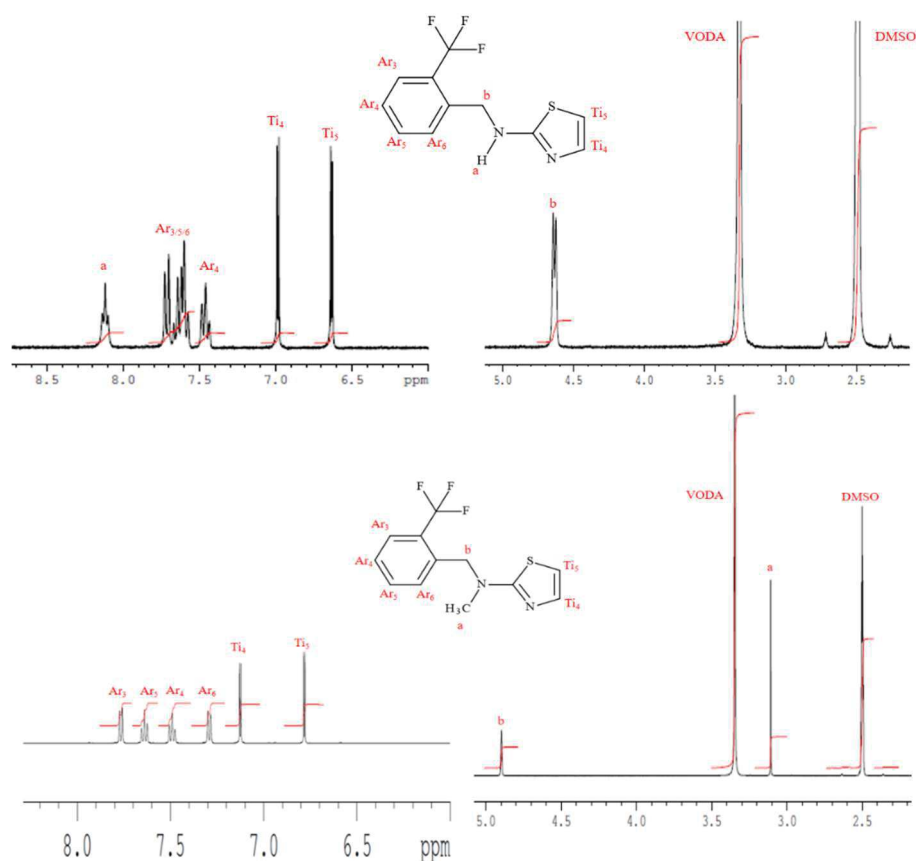
Protoni tiazola oba produkta nalaze se na sličnim pomacima. Ti_4 protoni produkta vidljivi su na 6.99 ppm, a Ti_5 na 6.60 ppm. Konstanta sprege iznosi 3.7 Hz. Ar_3 protoni produkta **17** vidljivi su kao dublet dubleta, integrala 2 na 7.36 ppm konstante sprege 8.6, a protoni Ar_2 se mogu uočiti kao dublet dubleta, integrala 2 na 7.13 ppm konstante sprege 8.9 Hz. Multiplet na 8.07 ppm pripisuje se NH skupini i integral iznosi 1. S druge strane, tiazolni protoni produkta **24** vidljivi su na 6.75 ppm što odgovara Ti_5 protonima, konstante sprege 3.4 Hz, dok su Ti_4 protoni skupa sa Ar_2 protonima dodijeljeni multipletu u rasponu od 7.12-7.19 ppm. Preostali Ar_3 protoni produkta **24** mogu se primijetiti na 7.32 ppm čija konstanta sprege iznosi 6.6 Hz.



Slika 38. ^1H NMR spektri *N*-[(4-metoksifenil)metil]tiazol-2amina (**18**) i metiliranog analoga *N*-[(4-metoksifenil)metil]-*N*-metil-tiazol-2amina (**25**).

Kao i kod metiliranja produkta **17**, iz izgleda spektara produkata **18** i **25**, vidljivi su isti dokazi dobro provedenog metiliranja koji su nestanak signal NH skupine, promjena izgleda signala CH_2 skupine iz dubleta u singlet te pojava singleta koji odgovara uvedenoj CH_3 skupini na spektru povezanim sa produktom **25**. Spomenuta uvedena CH_3 vidljiva je na 2.97 ppm i integral signala iznosi 3. Singlet označen slovom c na 3.72 ppm pripisuje se metoksi skupini na fenilu i također integral iznos 3. CH_2 skupina označena slovom a može se pripisati singletu na 4.60 ppm integrala 2. Protoni tiazolne jedinice nalaze se na karakterističnom mjestu u spektru i to Ti_4 protoni na 7.14 ppm, a Ti_5 protoni na 6.73 ppm. Konstanta sprege spomenutih protona iznosi 3.7 Hz. Dubleti fenilnih protona također se nalaze na karakterističnom i očekivanom mjestu. Ar_3 protoni vidljivi su u rasponu od 6.87-6.91 dok je dublet povezan sa Ar_2 prisutan u rasponu od 7.19-7.23 ppm. Isti navedeni tiazolni i fenilni protoni produkta **18** prikazuju isti

raspored za nešto povećanim pomacima koji su 6.57 ppm za Ti₅ proton, 6.98 ppm za Ti₄ proton, raspon od 6.83-6.91 ppm za Ar₃ protone te raspon 7.19-7.31 ppm za Ar₂ protone.



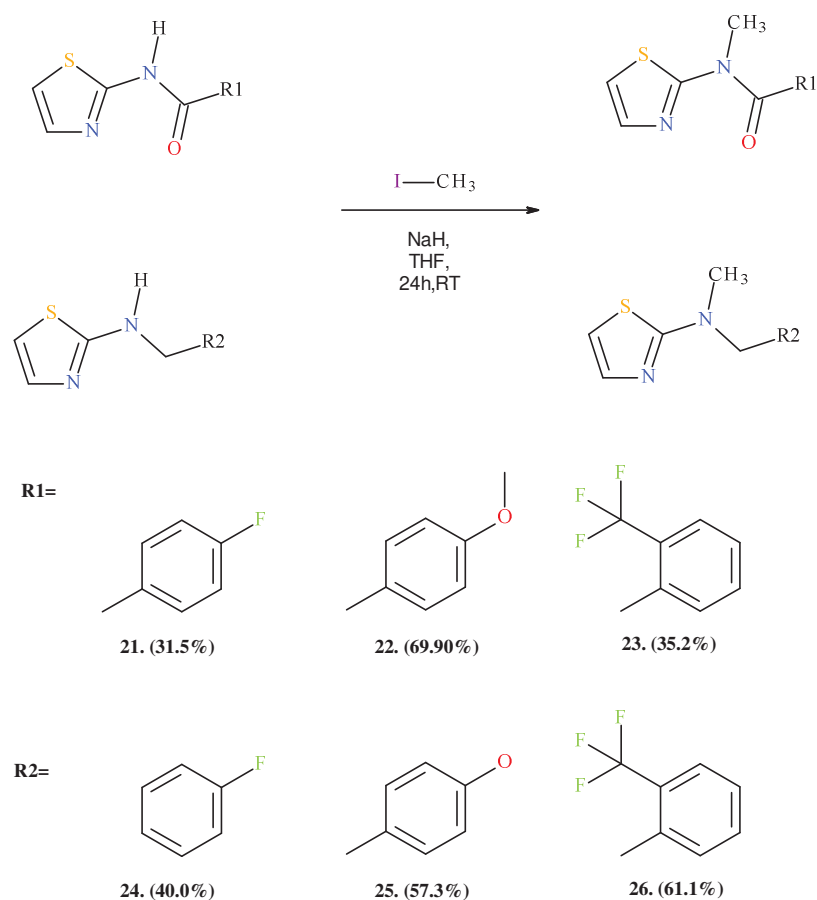
Slika 39. ¹H NMR spektri *N*-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]tiazol-2-amina (**19**) i metiliranog analoga *N*-metil-*N*-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]tiazol-2-amina (**26**).

Prethodno opisani ¹H NMR spektri prikazuju koje su promjene na spektrima dovoljne da se dokaže uspješno provedeno uođenje metilne skupine na dušik pa se iz istih razloga može zaključiti da je i metiliranje produkta **19** provedeno kako je planirano. Protoni tiazolnog prstena kod produkata **19** i **26** vidljivi su na sebi karakterističnim pomacima i sad već poznatog su oblika. Protoni prisutni u 2-(trifluorometil)fenilu kod produkta **19** sjedinjeni su u jedan multiplet u rasponu od 7.57-7.73 ppm koji odgovara integralu za 3 vodika, te jedan multiplet u rasponu 7.43-7.50 ppm koji odgovara jednom protonu Ar₄. Isti protoni na spektru produkta **26** su razdvojeni što omogućava bolje pripisivanje signala odgovarajućim protonima. Pregledom signala od nižeg prema višem polju može se zaključiti da se dublet na 7.77 može pripisati Ar₃ protonu, triplet na 7.64 ppm Ar₅ protonu, triplet na 7.49 ppm Ar₄ protonu te dublet na 7.29 ppm Ar₆ protonu. Multiplet prisutan na spektru produkta **19** u rasponu od 8.1-8.2 ppm pripisan je

NH skupini, a proton CH₂ označen slovom **b** na istom spektru pripisan je dubletu 4.65 ppm. 3 protona uvedene metilne skupine vidljive su na spektru produkta **26** na 3.1 ppm i označeni su slovom **a**.

3.3. SINTEZA METILIRANIH AMIDA I AMINA

Zbog procjene utjecaja NH skupine na biološku aktivnost, 3 amida i njima analogna 3 amina dodatno su metilirana. U tu svrhu korišten je jodometan uz NaH kao bazu^{34,35}. Produkti dobiveni takvim reakcijama vidljivi su na slici 40.



Slika 40. Produkti (**21-26**) dobiveni metiliranjem odgovarajućih amida i amina.

Svi dobiveni produkti okarakterizirani su nuklearnom magnetskom rezonancijom, a pripadajući ¹H NMR spektri prikazani su uz spektre odgovarajućih nemetiliranih amida i amina.

4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. OPĆE NAPOMENE

Testne reakcije amidacije te reakcije reduktivne aminacije provedene su na magnetskoj miješalici s grijaćim tijelom, dok je dio reakcija amidacije proveden na tresilici s grijaćim tijelom. Kromatografska odjeljivanja provedena su na Biotage instrumentu uz korištenje puriFlash kolona punjenih silika-gelom (4g, 15 μ m i 12g, 15 μ m).

Svi dobiveni produkti identificirani su i okarakterizirani tekućinskom kromatografijom ultra visoke djelotvornosti (UPLC) s masenim i UV detektorom te nuklearnom magnetskom rezonancijom (NMR). ^1H NMR spektri snimljeni su na Bruker Ultra Shield 300, Bruker Ultra Shield 400, Bruker Ultra Shield 500 te Bruker Ultra Shield -600 ovisno o količini spoja te željenim spektrima. Korištena je i tehnika 2D-HH-COSY za asignaciju signala i određivanje interakcija u molekuli. Tekućinska kromatografija ultravisoke djelotvornosti kojom je praćen doseg reakcije te određena čistoća krajnjeg produkta provođena je na Waters Acquity Ultra Performance LC sa SQD masenim spektrometrom (UPLC-MS/UV). Ovisno o strukturi spoja korištene su dvije metode za praćenje dosega reakcije:

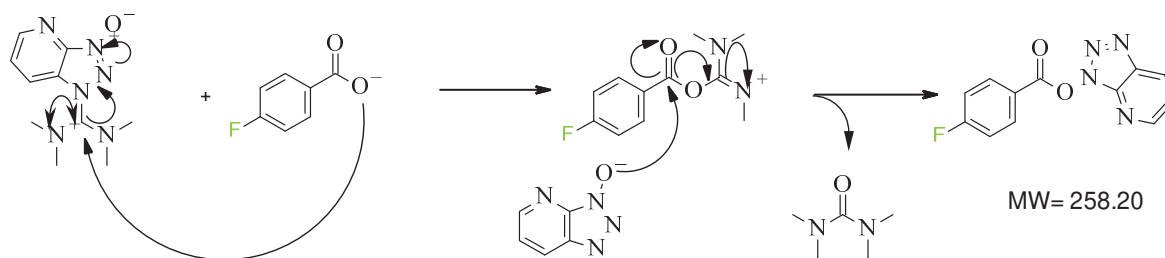
Metoda A – trajanje metode = 2 min, kiseli uvjeti (0.1% HCOOH u H₂O/0.1% HCOOH u MeCN)

Metoda B – trajanje metode = 2 min, bazični uvjeti (0.05% NH₃ u H₂O/0.05% NH₃ u MeCN)

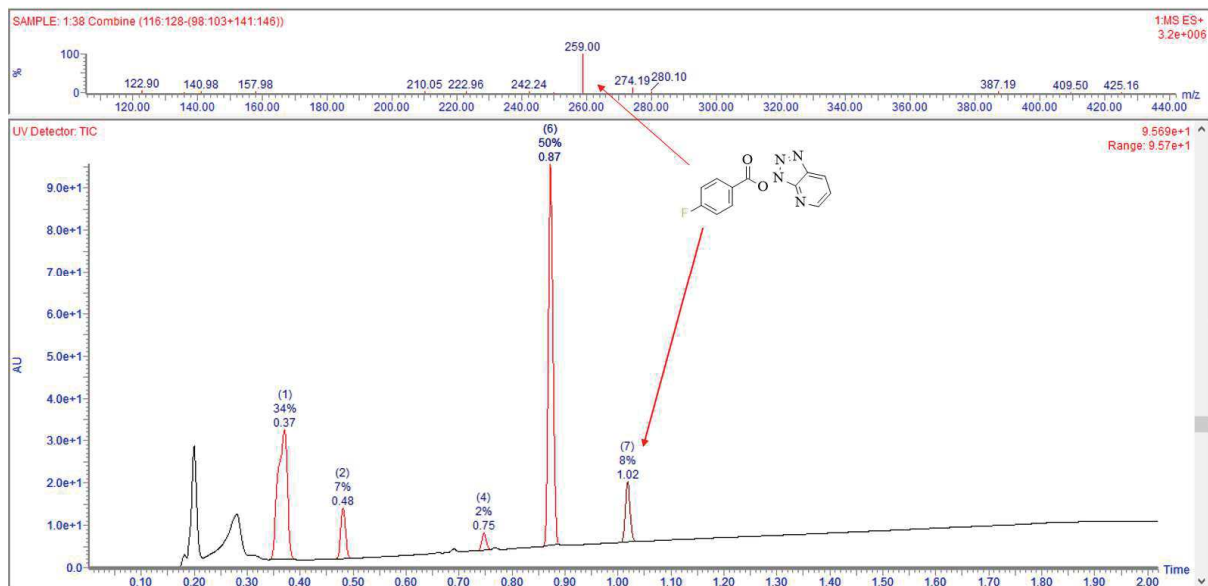
Korištene su sljedeće kratice: s, singlet; d, dublet; t, triplet, dd, dublet dubleta; m, multiplet; DMF-dimetilformamid, DCM-diklormetan, MeOH-metanol, MeCN-acetonitril, DIPEA-diizopropiletilamin, HATU-1-[Bis(dimetilamino)metilen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]piridinij-3-oksidi heksafluorofosfat.

4.2. REAKCIJE AMIDACIJE

Procedura za spojeve **1-5**: 1.2 ekvivalenata određene karboksilne kiseline otopljeno je u 1 mL DMF-a u tikvici s okruglim dnom te je dodano 1.2 ekvivalenata HATU-a i 1.2 ekvivalenata DIPEA-e kako bi se prisutna kiselina aktivirala za naknadne reakcije. Nakon 15 minuta u reakcijsku smjesu dodan je 1 ekvivalent 2-amino tiazola (50 mg, 0.499 mmol) i reakcijska smjesa je miješana na magnetskoj miješalici preko noći na 50°C. Doseg reakcije praćen je sa UPLC-MS/UV (Metoda A). U svim reakcijskim smjesama primijećena je prisutnost intermedijera kiseline aktivirane sa HATU-om (slika 41). Reakcija je zatim zaustavljena i provedena je ekstrakcija. Reakcijska smjesa prebačena je u lijevak za odijeljivanje i dodano je 10 mL zasićene vodene otopine amonij-klorida (NH₄Cl) te 10 mL etil-acetata. Kada su se slojevi odvojili, vodeni sloj je ispušten iz lijevka, a zaostali organski sloj je dodatno opran sa 10 mL zasićene vodene otopine amonij-klorida te 2X10 mL destilirane vode. Nakon provedene ekstrakcije organski sloj je dodatno osušen kroz fazni separator, kroz koji prolazi organski sloj, a eventualno prisutna voda zaostaje u separatoru. Tako obrađena reakcijska smjesa uparena je na rotacijskom uparivaču do suha.



Slika 40. Pojednostavljeni prikaz aktivacije 4-fluorbenzojeve kiseline s HATU.



Slika 41. Prikaz masenog spektra i TIC spektra dosegaja reakcije sinteze 4-fluor-*N*-tiazol-2-il-benzamida (**1**).

Upareni produkti otopljeni su u maloj količini diklormetana i nanoseni na TLC pločice koje su razvijene u raznim sustavima otapala s ciljem nalaženja najboljeg sustava za kromatografsko odvajanje. Zatim je u otopinu dodan silika-gel, smjesa je uparena do suha testavljena u pretkolonu. Spojevi su izolirani kolonskom kromatografijom na uređaju Biotage uz puriFlash kolone. Određeni sustavi otapala tj. eluensi, brzine protoka, korištene kolone kao i vrijeme eluiranja vidljivi su u tablici 1.

Tablica 1. Uvjeti kromatografskog odjeljivanja produkata **1-5**

Produkt	Eluens i brzina protoka	Kolona	Vrijeme eluiranja	Izolirana količina/ mg
1	DCM:(DCM:MeOH=100:1) 0-100% 6 mL/min	puriFlash 4g, 15µm	30% DCM:MeOH= 100:1	30.6
2	DCM:(DCM:MeOH=100:1) 0-100% 6 mL/min	puriFlash 4g, 15µm	30% DCM:MeOH= 100:1	45.7
3	DCM:(DCM:MeOH:NH ₄ OH = 90:9:1.5) 0-100%	puriFlash 4g, 15µm	5% DCM:MeOH:NH ₄ OH = 90:9:1.5	68.99

4	DCM:(DCM:MeOH=100:1) 0-100% 6 mL/min	puriFlash 4g, 15 μ m	40% DCM:MeOH= 100:1	53.3
5	DCM:(DCM:MeCN=10:1) 0-100% 6 mL/min	puriFlash 4g, 15 μ m	35% DCM:MeCN= 10:1	127.3

U prethodnim procedurama prisutnost kompleksa kiseline aktivirane s HATU često je značilo otežanu izolaciju nastalih produkata. Zbog toga je odlučeno da se idućim reakcijama 6-10 pristupi na drugi način u kojem je mjerodavni reaktant postavlja, a 2-amino tiazol se u reakciju dodaje u suvišku kako bi se osiguralo da će se sav nastali kompleks potrošiti u reakciji.

Procedura za spojeve **6-10**: 1 ekvivalent određene karboksilne kiseline otopljeno je u 2 mL DMF-a u viali od 8 mL nakon čega je dodan 1 ekvivalent HATU-a i 1 ekvivalent DIPEA-e kako bi se prisutna kiselina aktivirala. Viala je zatim stavljena na tresilicu. Nakon 15 minuta u reakcijsku smjesu dodan je 1.1 ekvivalent 2-amino tiazola i 1.1 ekvivalent DIPEA-a te je reakcijska smjesa zagrijana na 50°C i miješana na tresilici preko noći. Doseg reakcije praćen je UPLC-MS/UV (metoda A). Promjenom omjera reaktanata uspješno se izbjeglo zaostajanje nastalog kompleksa kiseline aktivirane HATU-om. Reakcijska smjesa je zatim prebačena u lijevak za odjeljivanje nakon čega je dodano 10 mL destilirane vode i 10 mL etil-acetata. Zatim je vodeni sloj ispušten iz lijevka, organski sloj prebačen u tikvicu s okruglim dnom, a vodeni sloj je vraćen u lijevak za odjeljivanje i još jednom ekstrahiran sa 10 mL etil acetata. Vodeni sloj je ponovno ispušten kroz lijevak, a organski sloj pridružen prethodnom u tikvici s okruglim dnom. Količina produkta zaostalog u vodenom sloju praćena je UPLC-MS/UV (metoda A) i primijećeno je da je u vodenim slojevima produkt prisutan u tragovima te je vodeni sloj odbačen, osim kod produkta 8 kod kojeg se pH vrijednost podesila na 6.5 uz pomoć 1M vodene otopine HCl te produkta 9 kod kojeg se pH vrijednost, uz pomoć 1M vodene otopine NaOH podesila na 9.1 kako bi većina nastalih produkata prešla u organski sloj. PH vrijednost pri kojoj željeni produkt ima veću topljivost u organskom sloju određena je pomoću programa Percepta. Organski sloj je zatim ispran sa 10 mL vodenom otopinom Litij-klorid, 10 mL destilirane vode te 10 mL vodene otopine Natrij-klorida, a zatim sušen nad Na₂SO₄, filtriran te uparen do suha na rotacijskom uparivaču.

Upareni produkti otopljeni su u maloj količini diklormetana i nanoseni na TLC pločice koje su razvijene u raznim sustavima otapala s ciljem nalaženja najboljeg sustava za kromatografsko

odvajanje. Zatim je u otopinu dodan silika-gel, smjesa je uparena do suha te ubačena u pretkolonu. Kromatografsko odjeljivanje produkata **1-10** provedeno je na Biotage instrumentu na 4g i 12g puriFlash kolonama, ovisno o količini dobivenog produkta, u sustavima otapala pri brzinama protoka koji su se pokazali najboljima za pojedine produkte (tablica 2). Jedini produkt koji nije bilo potrebno izolirati kolonskom kromatografijom jest produkt **7** jer je tijekom sinteze istaložio u količini dovoljnoj za daljnja ispitivanja.

Tablica 2. Uvjeti kromatografskog odjeljivanja produkata **6-10**

Produkt	Eluens i brzina protoka	Kolona	Vrijeme eluiranja	Izolirana količina/ mg
6	DCM:(DCM:MeOH=100:1) 0-100% 6 mL/min	puriFlash 4g, 50 μ m	40% DCM:MeOH= 100:1	132.64
7	/	/	/	37.33
8	DCM:(DCM:MeOH:NH ₃ = 90:4:1) 0-100%, 8 mL/min	puriFlash 12g, 15 μ m	40-45% DCM:MeOH:NH ₃ = 90:4:1	116.77
9	MeOH, 8 mL/min	puriFlash 12g, 15 μ m	40% MeOH	13.50
10	DCM:(DCM:MeCN=10:0.5) 0-100% 6mL/min	puriFlash 4g, 15 μ m	5%DCM:MeCN=10:0.5	110.32

Nakon kromatografskog odjeljivanja, frakcije su nanese na TLC pločice kako bi se odredilo koje frakcije sadrže željeni produkt i jesu li prisutne eventualne nečistoće. Nakon izbora, frakcije su prebačene u tikvicu s okruglim dnom te upareni do suha na rotacijskom uparivaču i sušeni u vakuum sušnici preko noći na 40°C.

Finalni produkti okarakterizirani su pomoću NMR i njihova čistoća utvrđena je UPLC-MS/UV-om uz slijepu probu.

4-fluor-N-tiazol-2-il-benzamid (1): bijela krutina, R_f (DCM:MeOH=100:1)= 0.46, UPLC-MS/UV (metoda A) rt=0.87 min, m/z=223.00 ES⁺, čistoća (DAD)= 97.99%, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ /ppm 12.66 (br s, 1 H), 8.19 - 8.14 (m, 2 H), 7.55 (d, *J* = 3.55 Hz, 1 H), 7.41 - 7.34 (m, 2 H), 7.28 (d, *J* = 3.67 Hz, 1 H).

4-metoksi-*N*-tiazol-2-il-benzamid (2): bijela krutina, R_f (DCM:MeOH=100:1)= 0.30, UPLC-MS/UV (metoda A), $rt=0.86$ min, $m/z=235.04$ ES+, čistoća (DAD)= 98.43%, 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ /ppm: 12.45 (br s, 1 H); 8.12 - 8.06 (m, 2 H); 7.53 (d, $J=3.67$ Hz, 1 H); 7.24 (d, $J=3.55$ Hz, 1 H); 7.09 - 7.03 (m, 2 H); 3.84 (s, 3 H).

***N*-tiazol-2-il-2-(trifluormetil)benzamide (3):** bijela krutina, R_f (DCM:MeOH:NH₄OH = 90:9:1.5) =0.80 UPLC/MS-UV (metoda A), $rt=0.91$ min, $m/z =273.34$ ES+, čistoća (DAD)= 99.82% , 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ = 12.78 (br s, 1H), 7.89 - 7.71 (m, 4H), 7.53 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 7.32 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H).

***N*-tiazol-2-ilciklopropankarboksamid (4):** smeđe-crvena krutina , R_f (DCM:MeOH=100:1)= 0.19, UPLC/MS-UV (metoda A), $rt=0.63$ min, $m/z=168.98$ ES+, čistoća (DAD)= 96.33%, 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ / ppm: 12.34 (s, 1 H); 7.44 (d, $J=3.67$ Hz, 1 H); 7.15 (d, $J=3.55$ Hz, 1 H); 1.97 - 1.90 (m, 1 H); 0.91 - 0.84 (m, 4 H).

4,4-difluor-*N*-tiazol-2-il-cikloheksankarboksamid (5): bijela krutina, R_f (DCM:MeCN=10:1) = 0.49, UPLC/MS-UV (metoda A), $rt=0.63$ min, $m/z = 247.09$ ES+, čistoća (DAD) 99.83%, 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 12.16 (br s, 1H), 7.45 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 7.19 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 2.14 - 2.01 (m, 2H), 1.98 - 1.74 (m, 5H), 1.72 - 1.56 (m, 2H).

***N*-tiazol-2-il-benzamid (6):** bijela krutina, R_f (DCM:MeOH=100:1) =0.45, UPLC/MS-UV (metoda A), $rt=0.82$ min, $m/z=205.04$ ES+, čistoća (DAD) = 99.29%, 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ = 12.64 (br s, 1H), 8.09 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.67 - 7.59 (m, 1H), 7.59 - 7.52 (m, 3H), 7.29 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H)

***N*-tiazol-2-il-kinoksalin-2-karboksamid (7):** žuta krutina, R_f (DCM:MeOH = 100:1) =0.56, UPLC/MS-UV (metoda A), $rt=0,90$ min, $m/z=257.07$ ES+, čistoća (DAD)=99.79%, 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ = 12.63 (s, 1H), 9.55 (s, 1H), 8.33 - 8.20 (m, 2H), 8.08 - 7.99 (m, 2H), 7.62 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 7.40 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H).

***N*-tiazol-2-il piridin-3-karboksamid (8):** bijela krutina, R_f (DCM:MeOH:NH₃/MeOH = 90:4:1) =0.26, UPLC/MS-UV (metoda A), $rt=0.50$ min, $m/z=206.03$ ES+, čistoća (DAD) = 100%, 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ = 12.86 (br s, 1H), 9.19 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.78 (dd, $J = 1.6, 4.9$ Hz, 1H), 8.40 (m, $J = 1.9, 8.0$ Hz, 1H), 7.60 - 7.54 (m, 2H), 7.31 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H).

1-metil-*N*-tiazol-2-il-piperidin-4-karboksamid (9): smeđe-žuta krutina, R_f (MeOH) = 0.29, UPLC/MS-UV (metoda A), $rt=0.37$ min, $m/z=226.11$ ES+, čistoća (DAD) = 95.80%, 1H NMR (600 MHz, CHLOROFORM- d) δ = 11.46 (br s, 1H), 7.47 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 7.04 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 2.98 (d, J = 11.2 Hz, 2H), 2.51-2.40 (m, J = 5.5 Hz, 1H), 2.33 (s, 3H), 2.05 (br s, 2H), 2.03 - 1.94 (m, 4H).

2-fenoksi-*N*-tiazol-2-il-acetamid (10): bijela krutina, R_f (DCM:MeCN=10:0.5) = 0.66, UPLC/MS-UV (metoda A), $rt=0.87$ min, $m/z=235.06$ ES+, 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ = 12.34 (br s, 1H), 7.49 (br s, 1H), 7.38 - 7.17 (m, 3H), 6.95 (d, J = 7.5 Hz, 3H), 4.84 (s, 2H).

4.3. REDUKTIVNA AMINACIJA

Svi imini i amini u ovom radu sintetizirani su reakcijom reduktivne aminacije. To je reakcija u 2 stupnja gdje u prvom stupnju nastaje imin, a u drugom se nastavlja redukcija imina do željenog amina, uz reduktivno sredstvo kao što je $NaBH_4$. Činjenice da se ovakvom reakcijom mogu izolirati imini i amini bila je glavni razlog zbog kojeg je reduktivna aminacija izabrana prije Buchwald-Hartwigove reakcije koja je također provedena. Iako je Buchwald Hartwigova reakcija vrlo raširena kao način sinteze amina, u ovom radu se pokazala kao manje zanimljiv pristup i profil reakcije je izgledao lošije.

4.3.1. Sinteza imina

Procedura za spojeve **10-15**: 1 ekvivalent (200 mg, 1.997 mmol) 2-amino tiazola otopljeno je u 7 mL 99,96% etanola nakon čega je dodan 1 ekvivalent željenog aldehida. Reakcijska smjesa je zagrijana na 80°C u Viton viali te dobro začepljena kako ne bi isparilo prisutno otapalo. Reakcija se provodila idućih 3 sata nakon čega je doseg provjeren sa UPLC-MS/UV (Metoda B). Primijećeno je kako su i dalje prisutni polazni reagensi. Produkt 11 je zatim uparen do suha, dok su ostale reakcije provedene preko noći s ciljem poboljšanja konverzije koja je praćena UPLC-MS/UV-om (Metoda B). 3.5 mL svih reakcijskih smjesa, osim produkta 1 kojeg je odvagano 150 mg, otopljeno u 3-5 mL 99,96% etanola te odvojeno u tikvicu s okruglim dnom kako bi se imini reducirali do amina što je opisano u poglavlju 4.3.2.

Preostala reakcijska smjesa je uparena do suha te trituirana sa dietil-eterom kako bi se uklonio zaostali aldehyd nakon čega je zaostao produkt u obliku taloga. Tako dobiveni produkt otopljen je u diklormetanu, dodan je silika gel, smjesa je uparena do suha i ubačena u pretkolonu te je

provedeno kromatografsko odjeljivanje kako je prethodno opisano kod sinteze amida. Sustavi otapala te uvjeti kromatografskog odjeljivanja vidljivi su u tablici 3. Količina izoliranih produkata **12** i **13** nakon kolonske kromatografije bila je nedovoljna pa je sinteza istih ponovljena bez koraka odvajanja alikvota za reakciju redukcije imina do amina.

Tablica 3. Uvjeti kromatografskog odjeljivanja produkata **11-15**

Produkt	Eluens i brzina protoka	Kolona	Vrijeme eluiranja	Izolirana količina/ mg
11	DCM:(DCM:MeCN=10:0.5) 0-100% 6mL/min	puriFlash 4g, 15 μ m	20% DCM:MeCN=10:0.5	20,55
12	DCM:(DCM:MeCN=10:0.5) 0-100% 8mL/min	puriFlash 12g, 15 μ m	20-30% DCM:MeCN=10:0.5	23.67
13	DCM:(DCM:MeCN=10:0.5) 0-100% 8mL/min	puriFlash 12g, 15 μ m	40-50% DCM:MeCN=10:0.5	23.01
14	DCM:(DCM:MeCN=10:0.5) 0-100% 8mL/min	puriFlash 12g, 15 μ m	20-30% DCM:MeCN=10:0.5	17.60
15	DCM:(DCM:MeCN=10:1) 0-100% 7mL/min	puriFlash 12g, 15 μ m	40-60% DCM:MeCN=10:1	27.91

Nakon kromatografskog odjeljivanja, frakcije u kojima je prisutan željeni produkt, skupljene su u tikvicu s okruglim dnom te uparene do suha. Zbog nestabilnosti imina u svim frakcijama često je prisutan aldehid, čak i nakon kromatografskog odjeljivanja, zbog čega su upareni produkti ponovno trituirani dietil-eterom, izuzev produkata **2** i **3** koji su trituirani s pentanom jer su u dietil eteru topljivi. Nakon trituiranja, dobivena smjesa je centrifugirana, tekući dio je odbačen, a talog je osušen u vakuum sušnici na sobnoj temperaturi.

Finalni produkti okarakterizirani su pomoću NMR, ali njihova čistoća nije mogla biti točno utvrđena pomoću sustava UPLC-MS/UV zbog već spomenute nestabilnosti i sklonosti vraćanju u polazne reagense prilikom njihovog otapanja i prolaska kroz sustav uređaja za tekućinsku kromatografiju ultra visoke djelotvornosti.

1-fenil-N-tiazol-2-il-metanimin (11): žuta krutina, R_f (DCM:MeCN=10:0.5) =0.76, UPLC/MS-UV (metoda B), $rt=1.04$ min, $m/z=189.05$ MS ES+, 1H NMR (600 MHz, DMSO-

d6) δ = 8.34 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.49 (t, 2H), 7.37 (m, 2H), 7.31 (t, 2H), 7.02 (d, J = 3.7 Hz, 2H), 6.66 (d, J = 3.7 Hz, 2H)

1-(4-fluorfenil)-*N*-tiazol-2-il-metanimin (12): bijelo-žuta krutina, R_f (DCM:MeCN=10:0.5)= 0.82, UPLC/MS-UV (metoda B), rt =1.03 min, m/z =207.02 MS ES+, čistoća (NMR)=95+%, ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ = 9.08 (s, 1H), 8.17 – 8.04 (m, J = 6.5 Hz, 2H), 7.77 - 7.68 (d, 1H), 7.68 - 7.60 (d, 1H), 7.45 - 7.34 (m, J = 8.4 Hz, 2H).

1-(4-meoksifenil)-*N*-tiazol-2-il-metanimin (13): žuta krutina, R_f (DCM:MeCN=10:0.5)= 0.74, UPLC/MS-UV (metoda B), rt =1.01 min, m/z =219.06 MS ES+, ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ = 8.21 (d, 2H), 7.11 (d, 2H), 6.64 (d, 2H), 6.37 (d, 2H), 6.25 (d, 2H), 6.16(d, 2H), 5.87 (d, 2H), 3.10 (s, 3H), 2.98 (s, 3H).

***N*-tiazol-2-il-1-[2-(trifluoroetil)fenil]metanimin (14):** žuta krutina, R_f (DCM:MeCN =10:0.5) =0.83, UPLC/MS-UV (metoda B), rt =1.91 min i 2.31 min, m/z =257.01 MS ES+, čistoća (NMR)=95+% ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ = 9.38 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 8.42 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 7.95 - 7.77 (m, 5H).

1-kinoksalin-2-il-*N*-tiazol-2-il-metanimin (15): crveno-smeđa krutina R_f (DCM:MeCN =10:1) =0.72, UPLC/MS-UV (metoda B), rt =1.04 min, m/z =241.05 MS ES+, čistoća (NMR)=95+%, ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ = 9.63 (s, 1H), 9.21 (s, 1H), 8.27 - 8.16 (m, 2H), 8.03 - 7.93 (m, 2H), 7.91 - 7.84 (m, 2H)

4.3.2. Sinteza amina

Procedura za spojeve **15-20**: U reakcijsku smjesu iz prethodne sinteze imina dodan je 1 ekvivalent NaBH_4 u odnosu na pretpostavljenu količinu prisutnog produkta kada bi konverzija prethodne reakcije bila 100%. Reakcija je zatim miješana na magnetskoj miješalici preko noći te je doseg praćen UPLC-MS/UV (Metoda B). Primijećeno je da je doseg reakcija prilično nizak što može biti rezultat starosti NaBH_4 i gubitka aktivnosti istog pa je u reakcijsku smjesu dodano još 0.5 ekvivalenta NaBH_4 i reakcijska smjesa je zagrijana na 70°C te miješana narednih 3 sata. Doseg je ponovno provjeren UPLC-MS/UV (Metoda B) i primijećeno je da je nastalo znatno više željenog produkta nego ranije, iako su i dalje prisutni polazni reagensi za sintezu željenih imina, kao i sam imin. Unatoč prisutnosti polaznih reagensa, doseg reakcije je bio zadovoljavajuć i reakcije su zaustavljene. Reakcijska smjesa je zatim prebačena u lijevak za odjeljivanje te je dodano 10 mL etil-acetata i 10 mL zaićene vodene otopine NaCl. Vodeni sloj

je zatim ispušten, a organski sloj dodatno opran sa 10 mL zasićene vodene otopinom NaCl i destilirane vode. Vodeni slojevi su svi skupljeni i provjereni na UPLC-MS/UV (Metoda B) kako bi se utvrdilo jesu li prisutni željeni produkti. Kada je zaključeno da u vodenim slojevima nema produkata ili su vidljivi u tragovima, vodeni sloj je odbačen. Organski sloj je osušen nad NaSO₄, filtriran te uparen do suha na rotacijskom uparivaču. Tako dobiven produkt otopljen je u diklormetanu, dodan je silika-gel, smjesa je uparena do suha te je suhi produkt na silikagelu prebačen u pretkolonu. Produkt 16 je za razliku od ostalih produkata otopljen u minimalnoj količini DCM-a te direktno nanesen na kondicioniranu kolonu. Dobiveni produkti izolirani su kolonskom kromatografijom na Biotage instrumentu uz 4g, i 12g puriFlash kolone u različitim sustavima otapala vidljivim u tablici 4

Tablica 4. Uvjeti kromatografskog odjeljivanja produkata **16-20**

Produkt	Eluens i brzina protoka	Kolona	Vrijeme eluiranja	Izolirana količina/ mg
16	DCM:(DCM:MeCN=10:1) 0-100% 6 mL/min	puriFlash 4g, 15µm	15-25% DCM:MeCN= 10:1	35.64
17	DCM:(DCM:MeCN=10:1) 0-100% 6 mL/min	puriFlash 12g, 15µm	20-30% DCM:MeCN= 10:1	62.76
18	DCM:(DCM:MeCN=10:1) 0-100% 8 mL/min	puriFlash 12g, 15µm	50-60% DCM:MeCN= 10:1	40.33
19	DCM:(DCM:MeCN=10:1) 0-100% 8 mL/min	puriFlash 12g, 15µm	20-30% DCM:MeCN= 10:1	66.50
20	DCM:(DCM:MeOH:NH ₃ = 90:4:1) 0-100%, 8 mL/min	puriFlash 12g, 15µm	60% DCM:MeOH:NH ₃ = 90:4:1	27.91

Kao i u prethodnim procedurama nakon kromatografskog odjeljivanja, frakcije su nanese na TLC pločice kako bi se odredilo koje frakcije sadrže željeni produkt i jesu li prisutne eventualne nečistoće. Nakon izbora, frakcije su prebačene u tikvicu s okruglim dnom poznate mase te upareni do suha i sušeni u vakuum sušnici preko noći na 40°C.

Dobiveni finalni produkti okarakterizirani su NMR-om i njihova čistoća utvrđena je UPLC-MS/UV-om uz slijepu probu.

***N*-benziltiazol-2-amin (16):** bijeli kristali, R_f (DCM:MeCN=10:1) =0.51 , UPLC/MS-UV (metoda B) $rt=0.98$ min, $m/z=191.06$ ES+ , čistoća (DAD)= 99.38%, 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 8.08 - 7.96$ (m, 1H), 7.36 - 7.21 (m, 5H), 6.98 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 6.59 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 4.42 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H).

***N*-[(4-fluorfenil)metil]tiazol-2-amin (17):** bijeli kristali, R_f (DCM:MeCN=10:1) =0.50, UPLC/MS-UV (metoda B) $rt=1.02$ min, $m/z=209.05$ ES+, čistoća (DAD) = 99.12%, 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 8.03$ (t, $J = 5.5$ Hz, 1H), 7.36 (dd, $J = 5.5, 8.6$ Hz, 2H), 7.13 (t, $J = 8.9$ Hz, 2H), 6.99 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 6.60 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 4.40 (d, $J = 5.7$ Hz, 2H).

***N*-[(4-metoksifenil)metil]tiazol-2-amin (18):** bijeli kristali, R_f (DCM:MeCN=10:1) =0.43, UPLC/MS-UV (metoda B) $rt=0.90$ min, $m/z=221.43$ ES+, čistoća (DAD) = 98.61%, 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 7.94$ (t, $J = 5.3$ Hz, 1H), 7.31 - 7.19 (m, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.98 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 6.91 - 6.83 (m, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.57 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 4.33 (d, $J = 5.7$ Hz, 2H), 3.71 (s, 3H).

***N*-[[2-(trifluormetil)fenil]metil]tiazol-2-amin (19):** bijeli kristali, R_f (DCM:MeCN=10:1) =0.68, UPLC/MS-UV (metoda B) $rt=1.20$ min, $m/z=259.04$ ES+, čistoća (DAD)=99.50%, 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 8.12$ (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 7.73 - 7.57 (m, 3H), 7.50 - 7.43 (m, 1H), 6.99 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 6.63 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 4.63 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H).

4.4. METILIRANJE DOBIVENIH PRODUKATA

Kako bi se utvrdila važnost NH veze na biološku aktivnost, neki produkti su dodatno metilirani. Za metiliranje odabrano je 3 amida i njima sličnih 3 amina. Sinteza je provedena u istim uvjetima i sa istima reagensima za sve spojeve.

Određena količina odgovarajućeg amida ili amina (10-20 mg) otopljena je u 0.5 mL bezvodnog THF-u u 8mL viali, te je reakcijska smjesa uz miješanje na magnetskoj miješalici ohlađena na 0°C u kadici sa ledom. Nakon 15 minuta u reakcijsku smjesu dodano je 2 ekvivalenta NaH i reakcijska smjesa je hlađena narednih 15 minuta. Nakon 15 minuta u reakcijsku smjesu dodano je 2 ekvivalenta jodometana, nakon čega je reakcijska smjesa dodatno hlađena 10 minuta i zatim izvađena iz leda te provođena na sobnoj temperaturi preko noći. Doseg reakcije praćen je UPLC-MS/UV (Metoda A za metilirane amide, metoda B za metilirane amine). Reakcija je zatim zaustavljena i provedena je ekstrakcija u viali. Dodano je 0.5 mL vode te 2 mL diklormetana uz miješanje. Reakcijska smjesa je zatim prebačena u fazni

separator, koji propušta organski, u ovom slučaju donji sloj, dok vodeni sloj zaostaje u separatoru. Organski sloj je zatim uparen do suha i izvagan kako bi se utvrdila količina dobivenog produkta. U svim slučajevima je vidljivo da u vodenom sloju nije zaostao željeni produkt te su vodeni slojevi odbačeni.

Dobiveni talozi i uljasti produkti su zatim otopljeni u minimalnoj količini diklormetana te nanoseni direktno na kondicioniranu puriFlash kolonu nakon čega je provedeno kromatografsko odjeljivanje. Svi produkti izolirani su kolonskom kromatografijom na Biotage instrumentu na 4g, 15 µm puriFlash koloni uz DCM:(DCM:ACN 10:0.5) 1-100% sustav kao eluens.

Tablica 5. Uvjeti kromatografskog odjeljivanja produkata **21-26**

Produkt	Eluens i brzina protoka	Kolona	Vrijeme eluiranja	Izolirana količina/ mg
21	DCM:(DCM:MeCN=10:0.5) 0-100% 6 mL/min	puriFlash 4g, 15µm	20-30% DCM:MeCN= 10:0.5	3.35
22	DCM:(DCM:MeCN=10:0.5) 0-100% 6 mL/min	puriFlash 4g, 15µm	30-40% DCM:MeCN= 10:0.5	11.11
23	DCM:(DCM:MeCN=10:0.5) 0-100% 6 mL/min	puriFlash 4g, 15µm	5-10% DCM:MeCN= 10:0.5	7.42
24	DCM:(DCM:MeCN=10:0.5) 0-100% 6 mL/min	puriFlash 4g, 15µm	15% DCM:MeCN= 10:0.5	8.56
25	DCM:(DCM:MeCN=10:0.5) 0-100% 6 mL/min	puriFlash 4g, 15µm	30-40% DCM:MeCN= 10:0.5	12.13
26	DCM:(DCM:MeCN=10:0.5) 0-100% 6 mL/min	puriFlash 4g, 15µm	10-15% DCM:MeCN= 10:0.5	12.88

Nakon kromatografskog odjeljivanja, frakcije su nanosene na TLC pločice kako bi se odredilo koje frakcije sadrže željeni produkt i jesu li prisutne nečistoće. Nakon izbora, frakcije su prebačene u tikvicu s okruglim dnom te upareni do suha i sušeni u vakuum sušnici preko noći na 40°C.

Finalni produkti okarakterizirani su NMR-om i njihova čistoća utvrđena je sustavom UPLC-MS/UV uz slijepu probu.

***N*-metil-*N*-tiazol-2-il-2-(trifluorometil)benzamid (21):** bijeli kristali, R_f (DCM:MeCN =10:0.5) =0.67. UPLC/MS-UV (metoda A) $rt=1.04$ min, $m/z=287.02$ ES+, čistoća (DAD) = 99.87%, 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 7.95$ (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.89 - 7.84 (m, 1H), 7.82 - 7.77 (m, 2H), 7.65 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 3.38 (s, 3H).

4-fluor-*N*-metil-*N*-tiazol-2-il-benzamid (22): bijeli kristali, R_f (DCM:MeCN=10:0.5)= 0.48, UPLC/MS-UV (metoda A) $rt=0.92$ min, $m/z=237.04$ ES+, čistoća (DAD)=100%, 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 8.28$ (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 7.58 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 7.30 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.07 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 3.82 (s, 3H).

4-metoksi-*N*-metil-*N*-tiazol-2-il-benzamid (23): bijeli kristali, R_f (DCM:MeCN=10:0.5)= 0.37, UPLC/MS-UV (metoda A) $rt=0.85$ min, $m/z=249.05$ ES+, čistoća (DAD) = 100%, 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 8.18$ (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.53 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 7.02 - 7.00 (m, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.80 (s, 3H).

***N*-[(4-fluorfenil)metil]-*N*-metil-tiazol-2-amin (24):** uljasti produkt, R_f (DCM:MeCN=10:0.5)= 0.56, UPLC/MS-UV (metoda B) $rt=1.07$ min, $m/z=223.05$ ES+, čistoća (DAD)=98.86%, 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 7.32$ (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 7.19 - 7.12 (m, 3H), 6.75 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 4.67 (s, 2H), 3.00 (s, 3H).

***N*-[(4-metoksifenil)metil]-*N*-metil-tiazol-2-amin (25):** uljasti produkt, R_f (DCM:MeCN=10:0.5)= 0.50, UPLC/MS-UV (metoda B) $rt=1.04$ min, $m/z=235,08$ min, čistoća (DAD) = 99.15%, 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 7.23 - 7.19$ (m, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.14 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 6.91 - 6.87 (m, 2H), 6.73 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 4.60 (s, 2H), 3.72 (s, 3H), 2.97 (s, 3H)

***N*-metil-*N*-[[2-(trifluormetil)fenil]metil]tiazol-2-amin (26):** uljasti produkt, R_f (DCM:MeCN=10:0.5)= 0.65, UPLC/MS-UV (metoda B) $rt=1.21$ min, $m/z= 273.05$ ES+, čistoća (DAD)= 99.53%, 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 7.77$ (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.64 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.49 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.12 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 6.78 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 4.90 (s, 2H), 3.11 (s, 3H).

5. ZAKLJUČAK

Sintetizirano je 25 novih derivata tiazola (**1-19**, **21-26**) uz jednu neuspješnu sintezu produkta **20**. 10 amida sintetizirano je reakcijom 2-aminotiazola i HATU aktivirane karboksilne kiseline te je pri tim reakcijama uočeno vrlo dobro iskorištenje. Nakon sinteze prvih 5 amida (**1-5**) reakcije su optimirane i paralelno je sintetizirano dodatnih 5 amida (**6-10**) kod kojih je uočeno i povećanje iskorištenja te je izolirana veća količina spojeva. Najveće iskorištenje uočeno je kod *N*-tiazol-2-ilbenzamida (**6**) koje iznosi 79.4 %. Čistoća svih sintetiziranih amida je iznad 95% prema DAD detektoru UPLC-MS/UV uređaja što ih čini prikladnima za biološka ispitivanja.

Uz 10 amida, reakcijom reduktivne aminacije sintetizirano je 5 imina od kojih je dio korišten za redukciju do amina. Od 5 planiranih amina uspješno je sintetizirano 4. Iako je za imine čistoća procijenjena iz ¹H NMR spektara za produkte za koje je to bilo moguće, svi sintetizirani amini, kao i amidi pokazuju čistoće iznad 95% prema DAD detektoru što ih čini prikladnima za biološka ispitivanja. Osim procijenjene čistoće, za ispitivanje biološke aktivnosti imina ograničavajući čimbenik je i njihova tendencija da u kontaktu s vodom hidroliziraju te se raspadaju zbog čega je potrebno primijeniti optimiranje reakcije kao i prevođenje takvih produkata u neki prikladniji oblik. Iskorištenja imina i amina također nisu prikladna za komentiranje i usporedbu jer korištenim načinom sinteze nije moguće sa sigurnošću utvrditi kolika su iskorištenja točna.

Nadalje je odvagano 10-20 mg 3 analogna amida i amina koji su podvrgnuti reakciji metiliranja. Iskorištenja u tim reakcijama se kreću od 31.5 % za sintezu produkta **22** do 69.9 % za sintezu produkta **23**.

¹H NMR spektri svih sintetiziranih produkata odgovaraju predviđenim strukturama. Asignacija, odnosno pripisivanje odgovarajućih signala odgovarajućim protonima svih produkata odrađeno je uz pomoć ACD spectrum računalnog programa.

U daljnjim istraživanjima ispitat će se biološka aktivnost svih produkata na inhibiciju acetilkolinesteraze te će se istražiti njihova ADME svojstva.

6. LITERATURA

- [1] Someshwar, P., Significance of Thiazole-based Heterocycles for Bioactive Systems, *Scope of Selective Heterocycles from Organic and Pharmaceutical Perspective* Intech Open, (2016)
- [2] Kadhim, A.,J., Mohammed, J., H., Dr.Aljamali, N., M., Thiazole Amide Derivatives (Synthesis, Spectral Investigation, Chemical Properties, Antifungal Assay), *NeuroQuantology*, Volume 28, (2020), 16-25.
- [3] Ayati, A., Emami, S., Asadipour, A., Shafiee, A., Foroumadi, A., Recent Applications of 1,3-thiazole Core Structure in the Identification of New Lead Cmpounds and Drug Discovery, *European Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 97, (2015), 699-718.
- [4] Jampilek, J., Heterocycles in Medicinal Chemistry, *Molecules*, 24, (2019), art.3839.
- [5] Osmaniye, D., Sağlık, B.N., Çevik, U.A., Levent, S., Çavuşoğlu, B.K., Özkay, Y., Kaplancikli, Z.A., Turan, G., Synthesis and AChE Inhibitory Activity of Novel Thiazolhydrazone Deviations. *Molecules*, 24, „019, art.2392
- [6] Turan-Zitouni, G., Ozdemir, A., Kaplancikli, Z.A., Altintop, M.D., Temel, H.E., Çiftci, G.A., Synthesis and Biological Evaluation of Some Thiazole Derivatives as New Cholinesterase Inhibitors, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, Vol 28(3), (2013), 509-514.
- [7] Channar, P.A., Shah, M.S., Saeed, A., Khan, S.U., Larik, F.A., Shabir, G., Iqbal, J., Sinthesis, Characterization and Cholinesterase Inhibition Studies of New Arylidene Aminothiazolyethanone Derivatives. *Medicinal Chemistry*, Volume 13, 2017, 1-6.
- [8] <https://www.atsdr.cdc.gov/csem/csem.asp?csem=11&po=5>, (pristup 28.08.2020).
- [9] <https://www.pngwing.com/en/free-png-mooil> (pristup 28.08.2020)
- [10] Yurrtas, L., Kaplacinkli, Z.A., Özkay, Y., Design, Sinthesis and Evaluation of New Thiazole Piperazines as Acetylcholinesterase Inhibitors, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, Volume 28(5), (2013), 1040-1047.

- [11] Chhabria, M.T., Patel, S., Modi, P., Bramkshatriya, P.S., Thiazole: A Review on Chemistry, Synthesis and Therapeutic Importance of its Derivatives, *Curr. Top. Med. Chem.* Volume 16(26), (2016), 2841-2862.
- [12] Ge, T., Yang, J., Zhou, S., Wang, Y., Li, Y., Tong, X., The Role of Pentose Phosphate Pathway in Diabetes and Cancer, *Frontiers in Endocrinology*, Volume 11, 2020, art. 365
- [13] Bitsch, R., Thiamin: Physiology, *Encyclopedia of Food and Health*, (2016), 290-296.
- [14] <https://www.drugbank.ca/categories/DBCAT000740> (pristup 29.08.2020).
- [15] Farrington, M., Antibacterial Drugs, *Clinical Pharmacology*, 11e , 2012, Section 3, Chapter 13, 173-190.
- [16] Valeur, E., Bradley, M., Amide Bond Formation: Beyond the Myth of Coupling Reagents, *Chemical Society Reviews*, Volume 38, (2009), 606-631
- [17] Due-Hansen, M.E., Pandey, S.K., Christiansen, E., Andersen, R., Hansen, S.V.F., Ulven, T., A Protocol for Amide Bond Formation With Electron Deficient Amines and Sterically Hindered Substrates, *Organic and Biomolecular Chemistry*, Volume 14, (2016), 430-433.
- [18] <https://www.peptide.com/resources/solid-phase-peptide-synthesis/coupling-reagents/> , (pristup 28.08.2020)
- [19] Anderson, N.G., Reagent Selection (chapter 4), *Practical Process Research and Development*, drugo izdanje, Academic Press, (2012), 89-120
- [20] MacMillan, D.S., Murray, J., Sneddon, H.F., Jamieson, C., Watson, A.J.B., Evaluation of Alternative Solvents in Common Amide Coupling Reactions: Replacement of Dichloromethane and *N,N*-Dimethylformamide, *Green Chemistry*, Volume 15, (2013), 596-600
- [21] Abdel-Magid, A., Reduction of C=N to CH-NH by Metal Hydrides, *Comprehensive Organic Synthesis: Second Edition*, Volume 8, (2014), 85-150.
- [22] Roughley, S.D., Jordan, A.M., The Medicinal Chemist's Toolbox: An Analysis of Reactions Used in the Pursuit of Drug Candidates, *Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 54, (2011), 3451-3479.
- [23] Afanasyev, O.I., Kuchuk, E., Usanov, D.L., Chusov, D., Reductive Amination in the Synthesis of Pharmaceuticals, *Chemical Reviews*, Volume 119, (2019), 11857-11911

- [24] Podyacheva, E., Afanasyev, O.I., Tsygankov, A.A., Makarova, M., Chusov, D., Hitchiker's Guide to Reductive Amination, *Synthesis*, Volume 51, (2019), str 2667-2677.
- [25] Heravi, M.M., Kheilkordi, Z., Zadsirjan, V., Heydari, M., Malmir, M., Buchwald-Hartwig REaction: An overview, *Journal of Organometallic Chemistry*, Volume 861, (2018), 17-104.
- [26] Forero-Cortes, P.A., Haydl, A.M., The 25th Anniversary of the Buchwald-Hartwig Amination: Development, Applications, and Outlook, *Organic Process Research & Development*, Volume 23, (2019), 1478-1483
- [27] <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/761605?lang=en®ion=HR>
(pristup 05.09.2020)
- [28] Andersen, C.B., Wan, Y., Chang, J.W., Riggs, B., Lee, C., Liu, Y., Sessa, F., Villa, F., Kwiatkowski, N., Suzuki, M., Nallan, L., Heald, R., Musacchio, A., Gray, N.S., Discovery of Selective Aminothiazole Aurora Kinase Inhibitors, *ACS Chem.Biol.*, Volume 3, (2008), 180-192.
- [29] Parvez, A., Jyotsna, M., Ypousofy, M.H., Hadda, T.B., Theoretical Calculations and Experimental Verification of the Antibacterial Potential of Some Monocyclic β -Lactams Containing Two Synergetic Buried Antibacterial Pharmacophore Sites, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, Volume 185 (7), (2010), 1500-1510
- [30] Singh, N., Sethi, P.S., Imines.1: Synthesis and Nucleophilic additions on conjugated imines, *Journal of Indian Chemical Society*, Volume 52 (11), (1975), 1079-1081
- [31] Clayden, J., Greeves, N., Warren, S.G., Organic chemistry (second edition), Oxford University Press Inc, New York, (2012), 230-232.
- [32] Taylor, N.J., Emer, E., Preshlock, S., Schedler, M., Tredwell, M., Verhoog, S., Mercier, J., Genicot, C., Gouverneur, V., Derisking the Cu-Mediated ^{18}F -Fluorination of Heterocyclic Positron Emission Tomography Radioligands, *Journal of the American Society*, Volume 139(24), (2017), 8267-8276.
- [33] Sairaman, A., Cardoso, F.C., Bispat, A., Lewis, R.J., Duggan, P.J., Tuck, K.L., Synthesis and Evaluation of Aminobenzothiazoles as Blockers of N- and T-type Calcium Channels, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Volume 26(11), (2018), 3046-3059.

7. ŽIVOTOPIS

Marin Božičević ██████████ Završio je osnovnu školu "Fran Krsto Frankopan" u Omišlju 2007. Školovanje je nastavio u Kemijsko-grafičkoj školi u Rijeci za kemijskog tehničara te završio 2011. godine. Iste godine upisao je sveučilišni preddiplomski studij *Kemijsko inženjerstvo* na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije. 2014. godine mijenja studij na preddiplomski studij *Kemija i inženjerstvo materijala* u sklopu istog Fakulteta. Stručnu praksu je odradio 2017. godine u tvrtki "Fidelta d.o.o za istraživanje i razvoj" na području organske sinteze. Završni rad izradio je na Zavodu za anorgansku kemijsku tehnologiju i nemetale uz mentorsvo prof. dr. sc. Stanislava Kurajice na temu *Hidrotermalna sinteza bakrom dopiranog CeO₂*. 2018. godine upisuje diplomski studij *Kemija i inženjerstvo materijala* na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.