

Priprava novih nitro-supstituiranih derivata benzotiazola

Petanjko, Monika

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

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:149:171123>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-28**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Monika Petanjko

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, srpanj 2022.

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

Kandidatkinja Monika Petanjko

Predala je izrađen završni rad dana: 30. lipnja 2022.

Povjerenstvo u sastavu:

prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

prof. dr. sc. Marijana Hranjec, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

prof. dr. sc. Danijela Ašperger, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

povoljno je ocijenilo završni rad i odobrilo obranu završnog rada pred povjerenstvom u istom sastavu.

Završni ispit održat će se dana: 5. srpnja 2022.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Monika Petanjko

Priprava novih nitro-supstituiranih derivata benzotiazola

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić

Članovi ispitnog povjerenstva: prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić

prof. dr. sc. Marijana Hranjec

prof. dr. sc. Danijela Ašperger

Zagreb, srpanj 2022.

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Silvani Raić-Malić na pruženoj mogućnosti izrade završnog rada pod njenim stručnim vodstvom, predloženoj temi, predanosti u ispravljaju ovog rada te na korisnim savjetima i pomoći.

Zahvaljujem se i doktorandici Valentini Rep, mag. appl. chem., na uloženom vremenu i trudu te strpljenju i puno dobre volje prilikom izvedbe eksperimentalnog dijela ovog rada u laboratoriju kao i njegovog pisanja.

Sažetak

U sklopu završnog rada provedena je mehanokemijska sinteza *O*-alkiliranih 6-nitro-supstituiranih derivata benzotiazola **5a–10a**, **5b–10b**, **5c–10c**, kao i sinteza potpomognuta mikrovalovima benzotiazolnih derivata supstituiranih 1,2,3-*H*-triazolom **11a–11c**.

Ključni prekursori 4-(6-nitrobenzotiazol-2-il)fenola **4a–4c** pripremljeni su u glicerolu reakcijom bis(2-amino-5-nitrofenil)disulfida **3** i odgovarajućeg supstituiranog 4-hidroksibenzaldehida. Sintaza ciljanih *O*-alkiliranih 6-nitro-supstituiranih benzotiazola (**5a–10a**, **5b–10b**, **5c–10c**) provedena je iz odgovarajućih fenolnih derivata (**4a–4c**) u reakciji s određenim alkil-halogenidom u kugličnom mlinu.

Sintaza 1,2,3-*H*-triazolnih derivata benzotiazola **11a–11c** provedena je Cu(I) kataliziranom regioselektivnom 1,3-dipolarnom cikloadicijom iz odgovarajućih terminalnih alkina benzotiazola **5a–5c** i trimetilsililazida. Navedenim „klik“ reakcijama koje su provedene u mikrovalnom reaktoru nisu izolirani ciljani produkti. Strukturna i spektroskopska karakterizacija novopripređenih spojeva provedena je ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom.

Ključne riječi: benzotiazol, nitro-supstituirani benzotiazoli, mehanokemijska sinteza, 1,2,3-*H*-triazoli, Huisgenova cikloadicija, „klik“ reakcija, sinteza potpomognuta mikrovalovima

Abstract

As part of this paper, mechanochemical synthesis of *O*-alkylated 6-nitro-substituted benzothiazole derivatives **5a–10a**, **5b–10b**, **5c–10c** was performed, as well as microwave-assisted synthesis of benzothiazole derivatives substituted with 1,2,3-*H*-triazole **11a–11c**.

Key intermediates 4-(6-nitrobenzothiazol-2-yl)phenols **4a–4c** were prepared in glycerol by reaction of bis (2-amino-5-nitrophenyl)disulfide **3** and the corresponding substituted 4-hydroxybenzaldehyde. The synthesis of targeted *O*-alkylated 6-nitro-substituted benzothiazoles (**5a–10a**, **5b–10b**, **5c–10c**) was performed from the corresponding phenolic derivatives (**4a–4c**) and alkyl halides in a ball mill.

The synthesis of 1,2,3-*H*-triazole derivatives of benzothiazole **11a–11c** was performed by regioselective Cu(I) catalyzed 1,3-dipolar cycloaddition from the corresponding terminal alkynes of benzothiazole **5a–5c** and trimethylsilylazide. These "click" reactions performed in the microwave reactor did not yield the target products. Structural and spectroscopic characterization of the newly prepared compounds was performed by ¹H and ¹³C NMR spectroscopy.

Key words: benzothiazole, nitro-substituted benzothiazoles, mechanochemical synthesis, 1,2,3-*H*-triazoles, Huisgen cycloaddition, „click“ reaction, microwave-assisted synthesis

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. OPĆI DIO	3
2.1. Benzotiazol	4
2.2. Triazol	7
2.3. Mehanokemija.....	9
2.4. Biološki aktivni derivati benzotiazola.....	11
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	15
3.1. Opće napomene.....	16
3.2. Sinteza fenolnih derivata benzotiazola (4a–4c).....	17
3.3. Sinteza ciljanih <i>O</i> -alkiliranih i 1,2,3-1H-triazolnih analoga benzotiazola (5a–10a, 5b–10b, 5c–10c, 11a–11c).....	20
4. REZULTATI I RASPRAVA	29
4.1. Cilj rada	30
4.2. Sinteza ciljanih spojeva	31
4.3. Spektroskopska karakterizacija novosintetiziranih spojeva pomoću ¹ H i ¹³ C NMR metode.....	35
5. ZAKLJUČAK	39
6. LITERATURA.....	41
7. PRILOZI	45

1. UVOD

Heterociklički spojevi predstavljaju najbrojniju i najraznolikiju klasu organskih spojeva. U svojoj strukturi imaju najmanje jedan ugljikov atom zamijenjen heteroatomom, a najčešći su atomi dušika, sumpora i kisika. Strukturne su jedinice mnogih prirodnih, polusintetskih i sintetskih spojeva te imaju veliki kemijski, biološki i tehnološki značaj. Posebno je izražena njihova važnost u medicinskoj kemiji i farmaceutskoj industriji gdje se koriste kao farmakoforne strukturne jedinice u razvoju i dizajniranju novih lijekova.¹

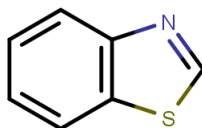
Benzotiazol je organski spoj koji ima heterocikličku jezgru (tiazol) koja mu daje širok spektar biološke aktivnosti.² Derivati benzotiazola pokazuju raznoliku biološku aktivnost, s manje toksičnih učinaka, što čini benzotiazol jednim od važnih struktura u medicinskoj kemiji. Spojevi koji sadrže benzotiazolni prsten imaju različita farmakološka djelovanja kao što su antivirusna, antimikrobna, antialergijska, antidijabetička, antitumorska, protuupalna, antihelminthska i antikancerogena.³ S obzirom na mnoga pozitivna djelovanja benzotiazola, današnja znanstvena istraživanja usmjerena su prema sintezi snažnijih, selektivnijih i manje toksičnih agensa.³

Mehanokemijske reakcije pojavile su se kao održiva alternativa u odnosu na reakcije u otopini. Mehanokemija nudi ne samo mogućnost da se eliminira potreba za korištenjem otapala i time smanji stvaranje otpada, već se njezinom primjenom mogu provesti reakcije spojeva koje prethodno nisu bile moguće u otopini.⁴

2. OPĆI DIO

2.1. Benzotiazol

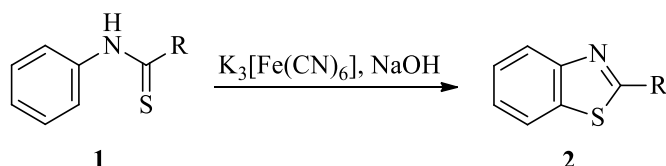
Benzotiazol (1,3-benzotiazol) spada u skupinu aromatskih heterocikličkih spojeva, a sastoji se od peteročlanog 1,3-tiazolnog prstena kondenziranog na benzenu jezgru u položaju 4 i 5.⁵ Slabo bazične je prirode i bezbojan te se najčešće nalazi u tekućem agregacijskom stanju, a temperatura vrelišta mu iznosi 227 °C. Također, poznat je po svojoj svestranoj ulozi u sintetičkoj, farmaceutskoj i medicinskoj kemiji.⁵



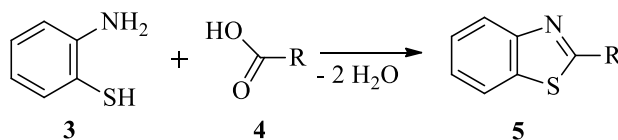
Slika 1. Struktura benzotiazola

2.1.1. Sinteza benzotiazola

Jedna od najstarijih metoda pripreve benzotiazola je oksidativna ciklizacija *N*-ariltioamida, uz kalijev ferocijanid ili brom (Shema 1), dok je najznačajnija i najprimjenjivija metoda pripreve benzotiazola reakcija ciklokondenzacije *o*-aminotiofenola s karboksilnom kiselinom, njezinim derivatima ili aldehydima (Shema 2).⁵



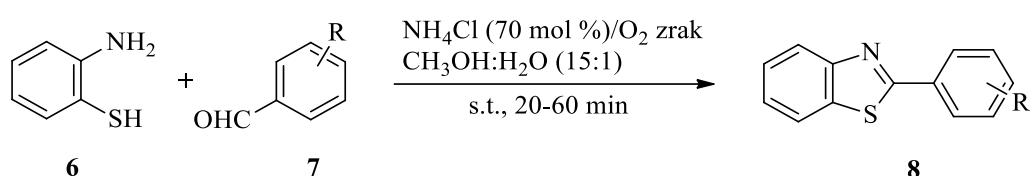
Shema 1. Oksidativna ciklizacija *N*-ariltioamida



Shema 2. Ciklokondenzacija *o*-aminotiofenola s karboksilnom kiselinom

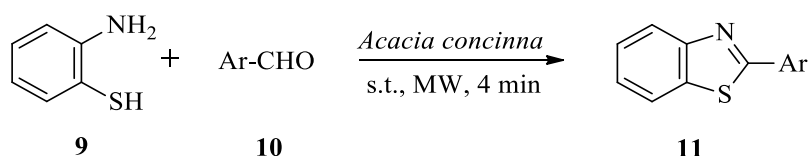
Međutim, tradicionalne metode pripreve benzotiazola daju niska iskorištenja, lošu selektivnost, a pri tom se koriste toksični reagensi, metalni katalizatori i agresivni reakcijski uvjeti te se u današnje vrijeme sve više teži uporabi zelene kemije.

Maleki i ko-autori⁷ otkrili su da amonijev klorid, NH₄Cl može katalizirati reakciju kondenzacije *o*-aminotiofenola s benzaldehidom. Benzotiazol je dobiven provođenjem reakcije u smjesi metanola i vode kao otapala na sobnoj temperaturi kroz 1 sat na način da je amonijev klorid aktivirao benzaldehid stvaranjem vodikovih veza te je potaknuo nukleofilni napad benzaldehida od strane amino skupine *o*-aminotiofenola. Ova metoda predstavlja reakcijski put koji udovoljava zahtjevima zelene kemije za sintezu benzotiazola i njegovih derivata zbog kratkog vremena potrebnog za odvijanje reakcije, visokih iskorištenja te uporabe katalizatora koji se može reciklirati.



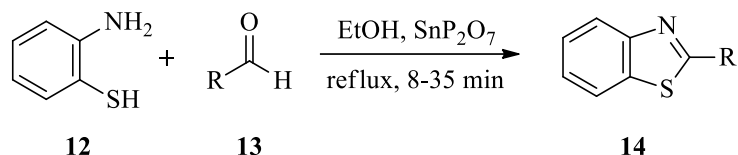
Shema 3. Kondenzacija *o*-aminotiofenola s benzaldehidima na sobnoj temperaturi

Bhat i suradnici⁸ istraživali su brzu sintezu 2-arilbenzotiazola kondenzacijom *o*-aminotiofenola i raznih aril-aldehida uz prisutnost *Acacia concinna* kao biokatalizatora pod djelovanjem mikrovalnog zračenja. Metoda je pokazala da su u kratkom vremenu trajanja reakcije dobivena visoka iskorištenja očekivanih produkata, a uz to je i ekološki prihvatljiva s obzirom da nije korišteno nikakvo otapalo.



Shema 4. Kondenzacija *o*-aminotiofenola i aril-aldehida pod mikrovalnim zračenjem

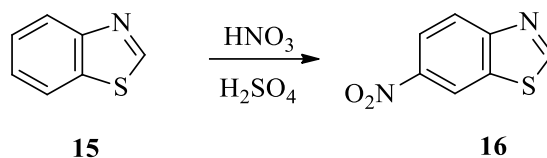
Merroun i suradnici⁹ razvili su učinkovitu, jednostavnu i zelenu metodu za sintezu benzotiazola. Riječ je o reakciji kondenzacije *o*-aminotiofenola s raznim aromatskim aldehydima uz uporabu kositrovog pirofosfata, SnP₂O₇, heterogenog katalizatora. Reakcija je pogodna zbog visokih iskorištenja te kratkog vremena trajanja, a posebice zbog katalizatora kojeg je moguće upotrijebiti još barem pet puta bez ikakve degradacije.



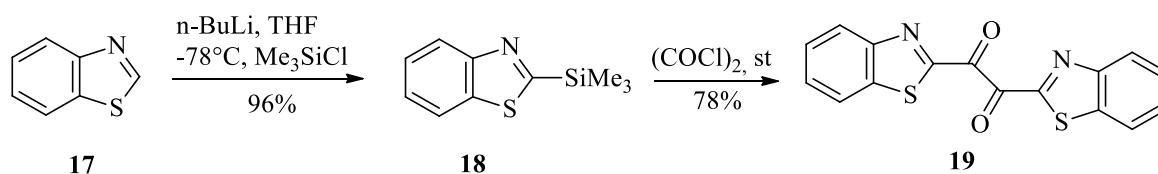
Shema 5. Kondenzacija *o*-aminotiofenola s aromatskim aldehidima

2.1.2. Reaktivnost benzotiazolne jezgre

Općenito, benzotiazoli podliježu reakcijama elektrofilne aromatske supstitucije što je karakteristično za aromatske spojeve. Reakcije nitriranja i halogeniranja moguće su samo na benzenskom prstenu. Nesklonost podvrgavanju elektrofilnoj supstituciji na tiazolnom prstenu može se prevladati korištenjem sililiranih derivata ili organolitijevog reagensa.⁵

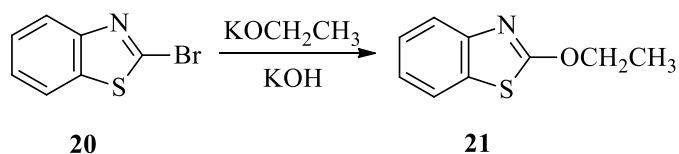


Shema 6. Elektrofilna aromatska supstitucija - nitriranje benzotiazola

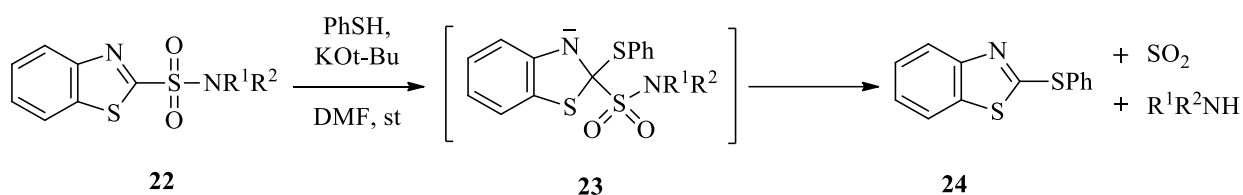


Shema 7. Reakcija benzotiazola s n-butillitijem i reakcija elektrofilne supstitucije na ugljiku

Također, moguće su i nukleofilne aromatske supstitucije, isključivo na C-2 položaju uz prisustvo jakog nukleofila. Odvijanje nukleofilne reakcije važno je za metodu uklanjanja benzotiazol-2-ilne sulfonilne zaštitne skupine i tada u reakciji s tiolom na C-2 položaju dolazi do otpuštanja primarnog ili sekundarnog amina.⁶

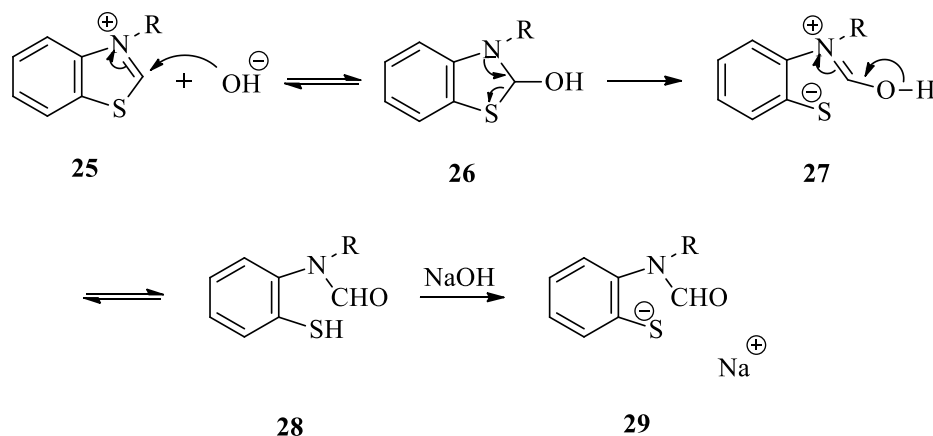


Shema 8. Reakcija nukleofilne aromatske supstitucije s jakim nukleofilom



Shema 9. Reakcija uklanjanja sulfonilne zaštitne skupine i nastanak amina

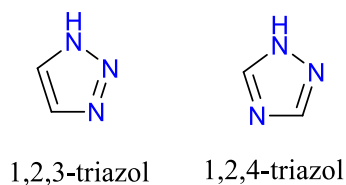
Soli benzotiazola osjetljive su prema nukleofilima i lako podliježu reakcijama nukleofilne adicije na C-2 položaj. Reakcijom s vodenom otopinom baze, uz adiciju hidroksida, gubi se C-2 i otvara se prsten pri čemu se pretvaraju u odgovarajući *o*-supstituirani benzen.⁶



Shema 10. Reakcija dobivanja *o*-supstituiranog benzena iz soli benzotiazola

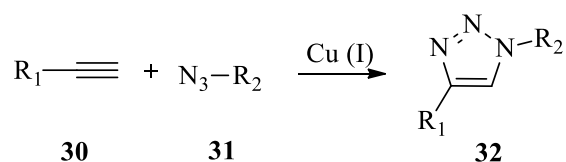
2.2. Triazol

Triazol, poznat i pod nazivom pirodiazol, pripada skupini peteročlanih organskih heterocikličkih spojeva u čijoj strukturi se nalaze tri dušikova atoma. Nalazi se u formi kristalne krutine, bijele do blijedožute boje. Svojestven je po slabom i karakterističnom mirisu, topljiv u vodi i alkoholu. Postoji u dva izomerna oblika: 1,2,3-triazol i 1,2,4-triazol.¹⁰



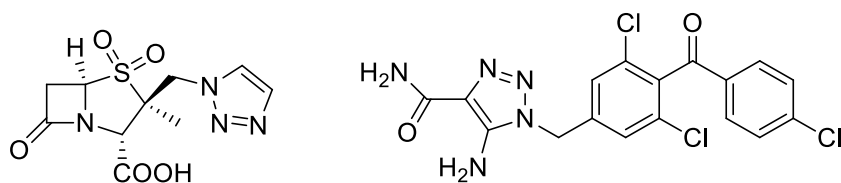
Slika 2. Strukturni izomeri triazola

Najpoznatija metoda sinteze 1,2,3-triazola je 1,3-dipolarna cikloadicija, Huisgenova cikloadicija između azida i terminalnih alkina „klik“ reakcijom. Reakcija je katalizirana bakrom (I), često i uz prisutnost bakrovih (II) soli, kao što je bakar (II) sulfat pentahidrat, ali tada je potrebno koristiti i natrijev askorbat ili elementarni bakar kako bi se bakar (II) reducira u bakar (I). Pogodno otapalo za ovu reakciju je smjesa *tert*-butanola i vode. Mehanizam ove reakcije započinje stvaranjem bakrovog (I) acetilida koji dalje reagira s azidom i stvara se kompleks te dolazi do zatvaranja prstena. Nakon toga, uz redukciju bakra (III) do bakra (I) dobiven je bakrov triazolid koji uzima proton od alkina kako bi se u konačnici formirao triazol. S obzirom na visoku pKa vrijednost alkina (pKa vrijednosti oko 20), razmjena protona između triazolida i alkina nije lagan reakcijski korak.^{11,12,13}



Shema 11. Općeniti prikaz reakcije 1,3-dipolarne cikloadicije

Triazoli su svestrani i zastupljeni u brojnim klinički korištenim lijekovima s obzirom da su istraživanja pokazala širok spektar farmakoloških aktivnosti kao što su antimikrobne, protuupalne, analgetske, antiepileptičke, antivirusne, antihipertenzivne, antimalarijske, antidepresivne, antituberkulozne, antioksidativne i antitumorske. 1,2,3-triazoli pokazuju veliku stabilnost prema oksidaciji i redukciji te prema hidrolizi u kiselim i lužnatim sredinama. Posjeduju veliki dipolni moment što im omogućava aktivno sudjelovanje u stvaranju vodikovih veza, dipol-dipol i π -interakcija što im pomaže u lakom vezanju s raznim enzimima i receptorima u biološkom sustavu. Primjeri lijekova koji u svojoj strukturi sadrže triazolni prsten su: karboksiamidotriazol, poznat po svom antitumorskom djelovanju i tazobaktam, β -laktamski antibiotik koji je inhibitor bakterijskog enzima betalaktamaze.¹⁴

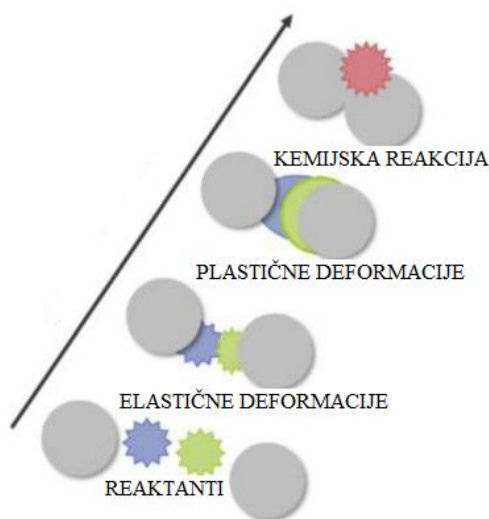


Slika 3. Strukture lijekova koji sadrže triazolni prsten: tazobaktam (lijevo) i karboksiamidotriazol (CAI) (desno)

2.3. Mehanokemija

Mehanokemija predstavlja granu kemije koja proučava kemijske i fizikalno-kemijske transformacije tvari u svim agregacijskim stanjima nastale pod utjecajem mehaničke energije. Mehanokemijska sinteza temelji se na reakcijama između čvrstih tvari koje se odvijaju primjenom mehaničke sile, poput drobljenja i mljevenja te bez korištenja otapala, u tarioniku, a najčešće u mehanokemijskim mlinovima.¹⁵

Princip rada kugličnih mlinova je uzrokovati sudare kuglica za mljevenje međusobno te sa stijenkama posude kako bi materijal u toj posudi bio što više pod utjecajem mehaničke sile. Pretpostavka je da do reakcije dolazi samo kad su reaktanti u kontaktu pri mljevenju, a kako se približavaju, tako se djelomično povezuju i stvara se nova kemijska veza. Pri odgovarajućoj količini praškastog uzorka sudar je neelastičan čime se većina kinetičke energije prenosi na uzorak, a jako mali udio na stijenku posude. Masa praha unutar mlina, broj i veličina kuglica, učestalost sudara te njihova energija i temperatura važni su čimbenici koji utječu na režime mljevenja.¹⁷



Slika 4. Prikaz tijeka mehanokemijske reakcije povećanjem energije udara kuglica¹⁶

Mehanokemijske reakcije se uglavnom provode bez prisutnosti otapala, no u nekim slučajevima otapalo se može dodati u katalitičkim količinama. Pri tom se uvodi η -faktor koji predstavlja omjer dodanog volumena tekućine i mase reakcijske smjese te se pomoću η -faktora izražava utjecaj tekućine na reaktivnost tijekom reakcije. Slijedom toga, u mehanokemiji postoje tri osnovne metode sinteze, a podjela je sljedeća: sinteza bez prisutnosti

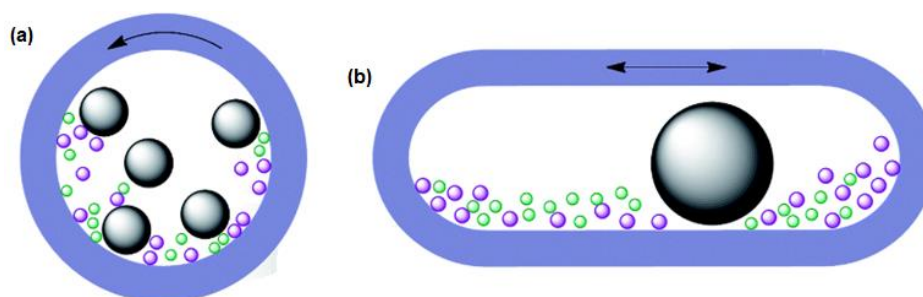
otapala ($\eta = 0$), sinteza potpomognuta tekućinom ($\eta \approx 0-1 \mu\text{L mg}^{-1}$) i sinteza potpomognuta ionima (anorganskim solima) i tekućinom.¹⁸

Najpoznatiji i najčešće korišteni su planetarni (rotacijski) i vibracijski mlinovi. U vibracijskom mlinu reaktanti se stavljaju u posudice zajedno s jednom ili više kuglica. Posudice se postavljaju vodoravno u mlin, a smjer gibanja je naprijed-nazad, frekvencijom koja određuje intenzitet mljevenja. S druge strane, u planetarnom mlinu dolazi do rotiranja posude s reaktantima oko centralne i vlastite osi pri čemu nastaje centrifugalna sila koja oponaša gravitaciju. Vibracijski mlinovi se uobičajeno koriste za male količine krute tvari, a planetarni mlinovi imaju široku primjenu u industriji. Reakcijske posudice i kuglice korištene u mehanokemijskim mlinovima najčešće su izrađene od nehrđajućeg čelika, cirkonijeva oksida, volfram karbida ili politetrafluoretilena (PTFE, teflon).¹⁹

Mehanokemijska sinteza ima mnoge prednosti kao što su veća iskorištenja provedenih reakcija, manje dobivenih nusprodukata, manji utrošak energije, veća selektivnost te kratko vrijeme trajanja.



Slika 5. Posudice i kuglice za mlin od različitih materijala

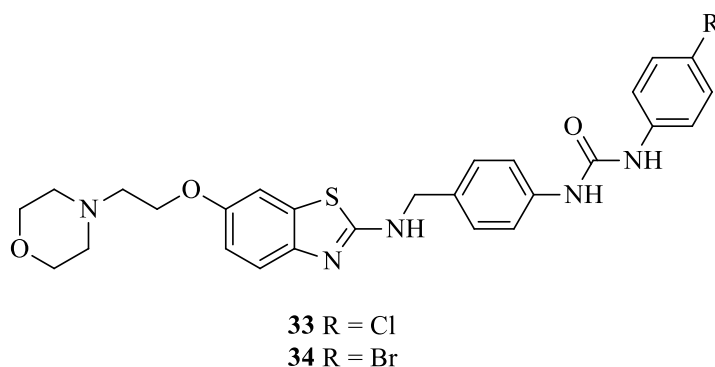


Slika 6. Shematski prikazi načina mehaničke aktivacije kemijskih reakcija: a) planetarno kuglično mljevenje; b) vibracijsko mljevenje velike brzine²⁰

2.4. Biološki aktivni derivati benzotiazola

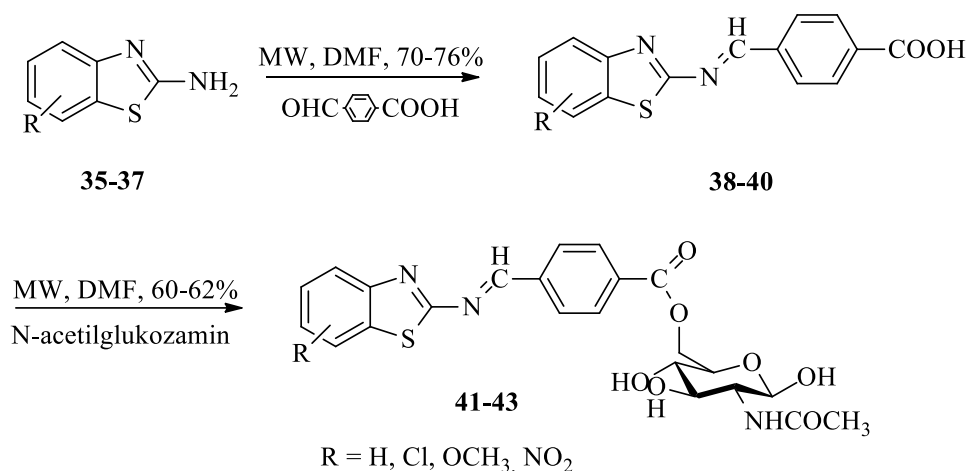
Benzotiazol i njegovi derivati su vrlo važni heterociklički spojevi zbog svojih snažnih i značajnih bioloških aktivnosti, a posebice se ističu nitro-supstituirani derivati. Također, imaju odlična farmakološka svojstva i uvelike se koriste kao antimikrobna, antioksidativna, antitumorska i protuupalna sredstva te kao citotoksični agensi. Brojna istraživanja utjecaja strukture na aktivnost benzotiazolnih analoga ukazuju na važnost odabira vrste supstituenta na C-2 položaju benzotiazolnog prstena na aktivnost njegovih derivata. C-2 supstituirani derivati kao što su 2-aminobenzotiazol, 2-merkaptobenzotiazol i 2-arilbenzotiazol široko su istraživani u procesu otkrića i dizajna lijekova s potencijalnim antitumorskim učincima s obzirom da u svijetu raste broj tumorskih oboljenja.²¹

Prema tome, Lee i ostali²² otkrili su seriju derivata 2-aminobenzotiazola s antitumorskom aktivnošću i s funkcijom inhibitora *Aurora B* kinaze. Svim derivatima je bila procijenjena inhibitorska aktivnost protiv enzimskog djelovanja *Aurora B* kinaze pri različitim koncentracijama u intervalu $IC_{50} = 0.11\text{--}3.1 \mu\text{M}$. Spojevi **33** i **34** s klorovim i bromovim atomom u para- položaju na fenilnom prstenu, testirani na koncentraciji enzima od $1 \mu\text{M}$, pokazali su izvrsnu inhibitorsku aktivnost s IC_{50} vrijednostima od 0.12 i $0.09 \mu\text{M}$. Dokazano je da su supstitucije s klorovim i bromovim atomom važne za antitumorsku aktivnost, odnosno povećavaju je, jer je para- položaj na fenilnom prstenu puno pogodniji nego što su orto- i meta-. S druge strane, morfolinska skupina na C-6 položaju aminobenzotiazola povećava inhibitorsku aktivnost spoja. Nadalje, uočeno je dobro vezivanje spojeva **33** i **34** s aktivnim mjestom *Aurora B* kinaze te su oba spoja pokazala smanjenje razine stanične fosforilacije i zaustavljanje staničnog ciklusa Hela stanice u G2/M fazi.



Slika 7. Derivat aminobenzotiazola s antitumorskim djelovanjem

Kumari i suradnici²³ istraživali su kako uklapanje benzotiazolne strukture s biomaterijalima može poboljšati biorasploživost benzotiazola i povećati njegovu stabilnost s ciljem dobivanja novih biološki aktivnih biokonjugata. Važnost ovog istraživanja leži u sinergijskom pristupu koji uključuje kovalentno povezivanje dva biološki aktivna spoja za razvoj nove generacije derivata biokonjugata benzotiazola na temelju Schiffovih baza s antimikrobnim i antitumorskim svojstvima. Za pripremu biokonjugata benzotiazola korišten je *N*-acetilglukozamin koji i sam posjeduje ljekovita svojstva. Antimikrobna aktivnost priređenih spojeva testirana je na *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* bakterijskim sojevima kao i na soju gljivica *Candida albicans*. Spojevi **39** i **42** su pokazali maksimum pri inhibiciji gljivičnog soja (*C. albicans*) s vrijednostima maksimuma zone inhibicije 34 ± 1.5 mm i 28 ± 1.3 mm, a spojevi **41**, MIC = 2.5 $\mu\text{g/mL}$, **42**, MIC = 6.25 $\mu\text{g/mL}$ i **43**, MIC = 6.25 $\mu\text{g/mL}$, pokazuju vrlo dobro djelovanje protiv *E. coli* i *S. aureus*. S obzirom na dobivene rezultate, dokazano je da biološka aktivnost derivata raste nakon reakcije konjugacije s *N*-acetilglukozaminom. Također, prisutnost nitro-skupine na C-6 položaju benzotiazolne jezgre omogućava značajno povećanje aktivnosti protiv navedenih mikrobnih sojeva u usporedbi s klorom i metoksi-skupinom.

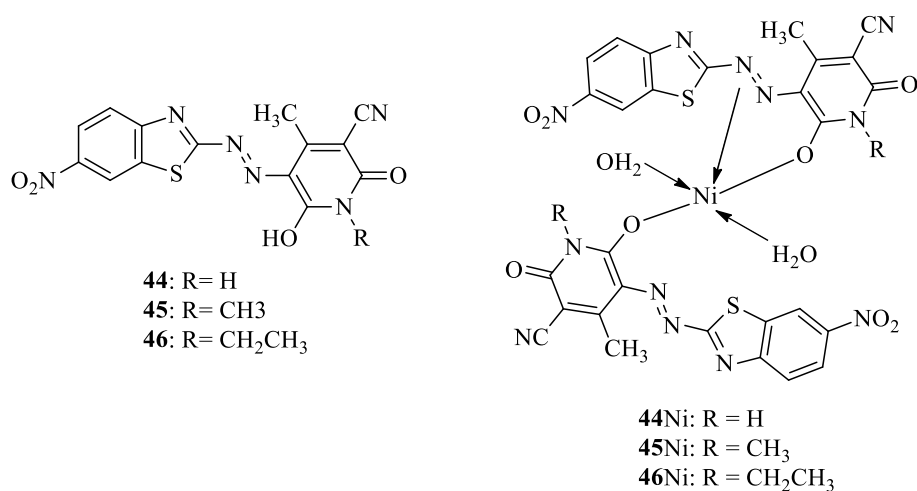


Shema 12. Sinteza benzotiazolnih derivata Schiffove baze (**38–40**) i biokonjugata (**41–43**)

Ravi i suradnici²⁴ proveli su sintezu i karakterizaciju bioaktivnih Ni(II) kompleksa baziranih na strukturi 6-nitro-1,3-benzotiazola te ugrađenih u azo bojila. Ispitali su njihovo antimikobakteriološko i protuupalno djelovanje te aktivnost cijepanja DNK molekule protiv superuzvojitog plazmida pBR322 DNK. Metalni kompleksi azo boja, koji sadrže heterociklički prsten, napravljeni su s namjerom kako bi postali prikladni lijekovi u

bioanorganskoj kemiji. Kompleksi prijelaznih metala s azo bojilima, koja sadrže heteroatome, imaju značajnu važnost u tekstilnoj industriji te u polju elektronike i biomedicine. Nikal je esencijalni metal koji igra važnu ulogu kao hranjiva tvar za biljke te više životinje, uključujući i ljudska bića.

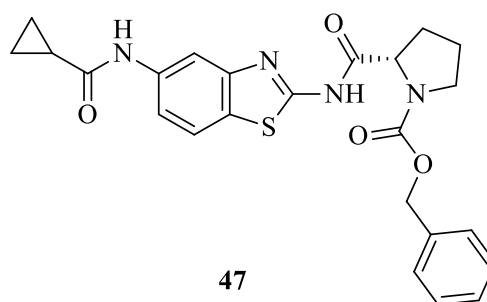
Ispitivanje antimikrobnog djelovanja provedeno je metodom razrjeđenja u epruveti. Svi ispitivani spojevi pokazuju značajan inhibicijski učinak na rast patogenih organizama koji su se koristili u ispitivanju, a to su: *S. aureus*, *K. pneumoniae* i *P. aeruginosa* i tri gljivične vrste bakterija *C. albicans*, *A. favus* i *A. fumigates* te je važno napomenuti da Ni(II) kompleksi pokazuju povećan inhibitori učinak u usporedbi s odgovarajućim azo bojama. Iz rezultata se uočava da su svi nosintetizirani spojevi pokazali potencijalni inhibitori učinak na *M. tuberculosis*. Kompleksi azo boja s Ni(II), spojevi **44** i **46** pokazuju najvišu aktivnost s MIC vrijednošću od 1.60 µg/mL. Povećanje aktivnosti metalnih kelata u odnosu na ligand može se pripisati povećanju lipofilne prirode molekule što dovodi do lakog prodiranja spojeva u stanicu. Iz rezultata aktivnosti cijepanja DNK vidljivo je da spoj **46** i njegov Ni(II) kompleks imaju sposobnost cijepanja svih konformacija DNK molekule. Zaključak je da sintetizirani spojevi smanjuju aktivnost patogenih sojeva što je u korelaciji s cijepanjem bakterijske DNK.



Slika 8. Ligandi azo bojila (lijevo) i predložene strukture za komplekse azo bojila s niklom (desno)²⁴

Osvrćući se na mnogobrojne pozitivne aktivnosti benzotiazolne jezgre, provedena su istraživanja na temu potencijalnih djelovanja kao inhibitora hepatitis C virusa, bolesti koja je zastupljena širom svijeta. Djelovanje benzotiazola protiv hepatitis C virusa otkriveno je fenotipskim probirom koji predstavlja važnu strategiju u otkrivanju lijekova na bazi malih

molekula. Takva ispitivanja, bazirana na staničnom anti-hepatitis C probiru, provedena su na način da se koriste različiti genotipi hepatitis C virusa, kao testnih virusa, i potencijalni inhibitori te se provode PCR analize. Uz to, molekularni cilj djelovanja benzotiazola određivan je na temelju kemijske sličnosti s već detektiranim inhibitorima, na primjer NS5A. Derivat benzotiazola **47** identificiran je kao inhibitor hepatitis C virusa s niskom citotoksičnošću, $IC_{50} = 26.81 \mu M$, te je pokazao djelotvorno inhibicijsko djelovanje protiv virusnog genotipa 1b, 2a, virusne RNK molekule te nestrukturalnih proteina.²⁵



Slika 9. Prikaz derivata čija se inhibitorska aktivnost ispitivala

U usporedbi s tržišnim inhibitorima NS5A, benzotiazoli su manje molekularne mase, imaju manju hidrofobnost i jednostavniju kemijsku sintezu što ukazuje na njihov potencijal da posjeduju bolju oralnu biorasploživost te lakše procese proizvodnje. Prema tome, predstavljaju dobre polazne točke za otkrivanje nove generacije sredstava s djelovanjem protiv hepatitis C virusa.²⁵

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Opće napomene

Reakcije potpomognute mikrovalovima provedene su u reaktoru za mikrovalnu sintezu Milestone Start S u kvarcnim posudama (40 bar).

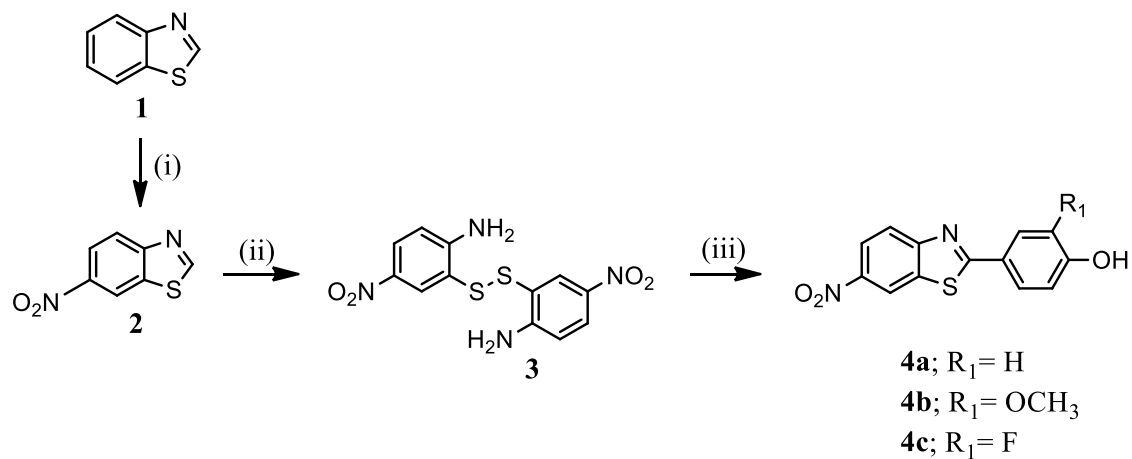
Mehanokemijska sinteza provedena je pri sobnoj temperaturi u vibracijskom, kugličnom mlinu IST500 (30 Hz) u teflonskim posudama unutarnjeg volumena od 14 mL zajedno s jednom kuglicom za mljevenje od nehrđajućeg čelika.

Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom (TLC) provedenoj na pločama 60 F₂₅₄ (Merck) presvučenim slojem silika-gela u odgovarajućem sustavu otapala: diklormetan/metanol, diklormetan/etil acetat i etil acetat/n-heksan. Prilikom detekcije izoliranih komponenata korištena je UV svjetlost (254 nm, 366 nm) te izlaganje parama joda.

Točke tališta sintetiziranih spojeva određene su na instrumentu Kofler (Reichert) i digitalnom uređaju Stuart SMP11 (Cole-Parmer) te nisu korigirana.

¹H i ¹³C NMR spektri snimljeni su na spektrometrima Bruker Avance 300 i Bruker Avance 600 pri 300, 400 i 600 MHz (¹H), te 75, 100 i 150 MHz (¹³C). Svi uzorci su analizirani u dimetil sulfoksidu DMSO-*d*₆ pri 298 K. NMR kemijski pomaci (δ/ppm) izraženi su u odnosu na rezidualni signal otapala DMSO pri δ 2.50 ppm za ¹H i δ 39.50 ppm za ¹³C. Pojedine rezonancije su asignirane na osnovi intenziteta signala, kemijskih pomaka, multipliciteta rezonancija i H-H konstanti sprega.

3.2. Sinteza fenolnih derivata benzotiazola (4a–4c)



Shema 1. Sinteza fenolnih (**4a–4c**) derivata benzotiazola. *Reagensi i reakcijski uvjeti:* (i) benzotiazol, H_2SO_4 , HNO_3 , 0 °C, 15 min; (ii) 6-nitrobenzotiazol, glicerol, argon, etilendiamin, 90–100 °C, 15 min, H_2O_2 , 5 °C, 30 min; (iii) odgovarajući supstituirani 4-hidroksibenzaldehid, glicerol, EtOH, 160–175 °C, 30–60 min.

3.2.1. Sinteza 6-nitrobenzotiazola (2)

Benzotiazol **1** (18.2 mL, 0.17 mol) je otopljen u koncentriranoj H₂SO₄ (46 mL). Reakcijska smjesa je ohlađena do 0 °C te se smjesi postupno dokapava 100%-tna HNO₃ (18.2 mL) održavajući temperaturu smjese između 0 i 5 °C. Nakon završetka dokapavanja reakcijska smjesa se nastavi miješati 15 minuta na temperaturi od 0 °C te 2 sata na sobnoj temperaturi. Po završetku reakcije, reakcijska smjesa se izlije na 500 mL ledene destilirane vode. Nastali talog se profiltrira i ispire hladnom vodom dok nije postignuta neutralna pH vrijednost filtrata. Dobiven je svijetložuti talog praškaste strukture (7516 mg; 25.03%; T_t = 126–129 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.72 (1H, s), 9.22 (1H, d, *J* = 2.2 Hz), 8.34 (1H, dd, *J* = 9.0, 2.3 Hz), 8.26 (1H, d, *J* = 9.0 Hz). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO) δ 163.06, 160.51, 156.61, 144.64, 134.46, 123.49, 121.28, 119.66.

3.2.2. Sinteza bis(2-amino-5-nitrofenil)disulfida (3)

U miješanu suspenziju 6-nitrobenzotiazola **2** (1.8 g, 10 mmol) u glicerolu (5 g) pod argonom, dodan je etilendiamin (1670 μL, 25 mmol). Reakcijska smjesa je zagrijavana na 100 °C 15 minuta. Reakcijska smjesa je izlivena na 200 mL ledene vode, te je smjesi dodan, kap po kap 1,0 mL 30% H₂O₂. Nakon dodatka vodikova peroksida reakcijska smjesa je miješana na 5 °C 30 minuta. Dobiveni talog je filtriran, ispran vodom i osušen na zraku. Dobiveni je praškasti talog žute boje (1.69 g; 99.40 %; T_t = 243–345 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7.99 (1H, dd, *J* = 9.2, 2.7 Hz), 7.52 (1H, d, *J* = 2.6 Hz), 7.21 (2H, s, NH₂), 6.85 (1H, d, *J* = 9.2 Hz). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO) δ 155.75, 135.06, 132.87, 127.63, 114.24, 113.95.

3.2.3. Opći postupak za sintezu fenolnih derivata benzotiazola (4a–4c)

Bis(2-amino-5-nitrofenil)disulfid **3** (1 ekv) i odgovarajući supstituirani 4-hidroksibenzaldehid (1.75 ekv) suspendiraju se u glicerolu (2 g) i zagrijavaju na 160–175 °C 30–60 minuta. Reakcijskoj smjesi ohlađenoj na temperaturu ispod 100 °C doda se 20 mL 75%-tnog etanola te se reakcijska smjesa preko noći ostavi u hladnjaku. Dobiveni produkt se skupi filtracijom, ispere razrijeđenim etanolom i suši na zraku.

4-(6-nitrobenzotiazol-2-il)fenol (4a)

Spoj **4a** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom bis(2-amino-5-nitrofenil)disulfida **3** (1.020 g, 3.0 mmol) i 4-hidroksibenzaldehida (630.1 mg, 5.16 mmol). Dobiven je praškasti talog žutosmeđe boje (542.7 mg; 38.6%; $T_t = 238\text{--}241\text{ }^\circ\text{C}$). ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 10.43 (1H, s, OH), 9.11 (1H, d, $J = 2.2$ Hz), 8.29 (1H, dd, $J = 9.0, 2.3$ Hz), 8.10 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 7.98 (2H, d, $J = 8.6$ Hz), 6.95 (2H, d, $J = 8.6$ Hz). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 173.80, 161.52, 157.65, 143.87, 134.74, 129.69, 123.32, 122.35, 121.81, 119.13, 116.24.

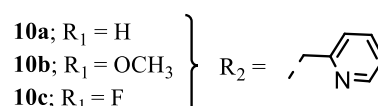
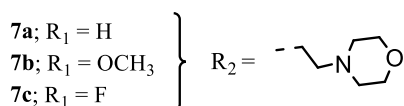
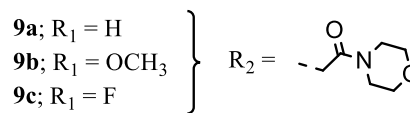
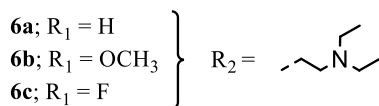
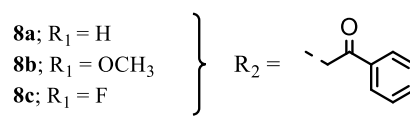
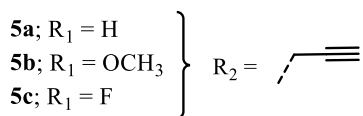
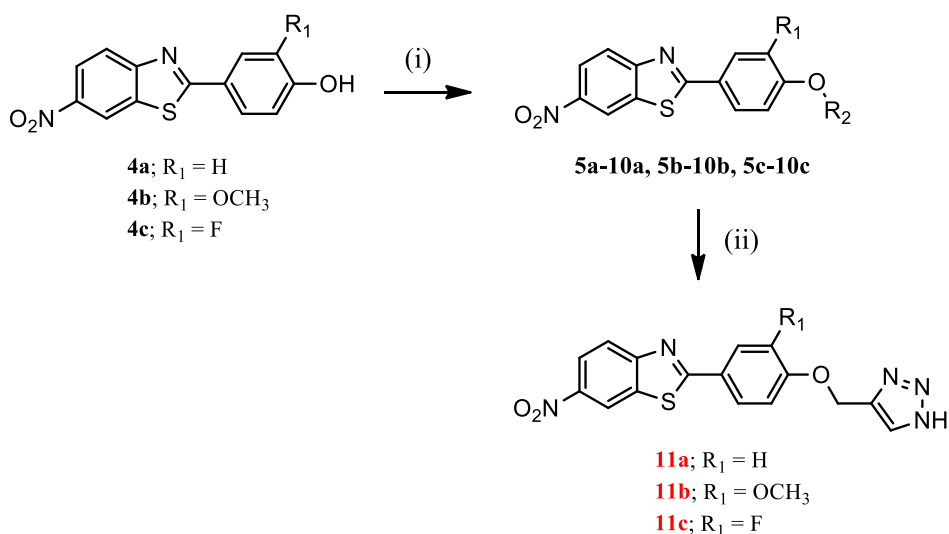
2-metoksi-4(6-nitrobenzotiazol-2-il)fenol (4b)

Spoj **4b** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom bis(2-amino-5-nitrofenil)disulfida **3** (1.020 g, 3.0 mmol) i 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida (785.09 mg, 5.16 mmol). Dobiven je kristaliničan produkt žute boje (968.3 mg; 62.07%; $T_t > 250\text{ }^\circ\text{C}$). ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 10.09 (1H, s, OH), 9.12 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 8.31 (dd, $J = 9.0, 2.4$ Hz, 1H), 8.13 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.65 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.59 (dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, 1H), 6.97 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 3.92 (3H, s, OCH_3). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 173.85, 157.58, 151.13, 148.14, 143.90, 134.81, 123.58, 122.37, 122.13, 121.82, 119.10, 116.02, 110.34, 55.70 (OCH_3).

2-fluor-4-(6-nitrobenzotiazol-2-il)fenol (4c)

Spoj **4c** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom bis(2-amino-5-nitrofenil)disulfida **3** (1.020 mg; 3.0 mmol) i 3-fluor-4-hidroksibenzaldehida (722.97 mg, 5.16 mmol). Dobiven je svijetlosmeđi praškasti produkt (813.5 mg; 54.31%; $T_t > 250\text{ }^\circ\text{C}$). ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 10.90 (1H, s, OH), 8.71 (1H, d, $J = 1.2$ Hz), 8.13 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.95 – 7.86 (2H, m), 7.81 (1H, dd, $J = 8.4, 1.5$ Hz), 7.14 (1H, t, $J = 8.7$ Hz). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 172.03 (d, $J_{CF} = 2.5$ Hz), 157.18, 151.68 (d, $J_{CF} = 246.5$ Hz), 148.31 (d, $J_{CF} = 10.6$ Hz), 144.27, 135.13, 125.81 (d, $J_{CF} = 7.0$ Hz), 124.83 (d, $J_{CF} = 3.2$ Hz), 122.92, 121.92, 119.40, 115.84 (d, $J_{CF} = 1.3$ Hz), 114.85 (d, $J_{CF} = 20.3$ Hz).

3.3. Sinteza ciljanih *O*-alkiliranih i 1,2,3-1*H*-triazolnih analoga benzotiazola (5a–10a, 5b–10b, 5c–10c, 11a–11c)



Shema 2. Sinteza *O*-alkiliranih, *O*-propargiliranih (**5a–10a**, **5b–10b**, **5c–10c**) i 1,2,3-1*H*-triazolnih (**11a–11c**) derivata benzotiazola. *Reagensi i reakcijski uvjeti:* (i) odgovarajući alkil-halogenid R₂Cl / R₂Br, K₂CO₃, Metoda A: acetonitril, 60 °C, 12 h; Metoda B: EtOH, kuglični mlin (30 Hz), Metoda C: EtOH, 100 mg KI, kuglični mlin (30 Hz); (ii) TMSN₃, CuI, DMF : MeOH = 9 : 1, MW 400 W 120 °C, 1 h.

3.3.1. Opći postupak za sintezu *O*-propargiliranih i *O*-alkiliranih derivata (5a–10a, 5b–10b, 5c–10c)

Metoda A: U smjesu odgovarajućeg fenolnog derivata benzotiazola (**4a–4c**, 1 ekv) u acetonitrilu (10 mL) doda se K₂CO₃ (3 ekv) i propargil-bromid (1.5 ekv) te se reakcija provodi na 60 °C kroz 12 sati. Po završetku reakcije reakcijska smjesa se izlije na hladnu vodu, a nastali talog se profiltrira i osuši na zraku.

Metoda B: Smjesa odgovarajućeg fenolnog derivata benzotiazola (**4a–4c**, 1 ekv), K₂CO₃ (3 ekv), odgovarajućeg alkil-halogenida (1.5 ekv) i etanola (100–500 µL) stavi se u teflonsku posudicu za kuglični mlin s kuglicom od nehrđajućeg čelika (10 mm, promjer). Reakcija u kugličnom mlinu provodi se 24–40 sati. Nakon završetka reakcije, kruta reakcijska smjesa se otopi u diklormetanu i ekstrahira vodom. Otapalo se iz organskog ekstrakta ukloni pod sniženim tlakom, a dobiveni ostatak pročisti se kolonskom kromatografijom na silika-gelu uz sustav diklormetan/metanol (DCM : MeOH = 100 : 1) kao eluens.

Metoda C: Smjesa odgovarajućeg fenolnog derivata benzotiazola (**4a–4c**, 1 ekv), K₂CO₃ (3 ekv), odgovarajućeg alkil-halogenida (1.5 ekv), KI (100 mg) i etanola (100–500 µL) stavi se u teflonsku posudicu za kuglični mlin s kuglicom od nehrđajućeg čelika (10 mm, promjer). Reakcija u kugličnom mlinu provodi se 24–40 sati. Nakon završetka reakcije, kruta reakcijska smjesa se otopi u diklormetanu i ekstrahira. Otapalo se iz organskog ekstrakta ukloni pod sniženim tlakom, a dobiveni ostatak pročisti se kolonskom kromatografijom na silika-gelu uz sustav diklormetan/metanol (DCM : MeOH = 100 : 1) kao eluens.

2-(4-(prop-2-in-1-iloksi)fenil)-6-nitrobenzotiazol (**5a**)

Spoj **5a** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom odgovarajućeg fenolnog derivata benzotiazola **4a** (Metoda A: 500 mg, 1.84 mmol) i propargil-bromida (Metoda A: 2.76 mmol, 246 µL). Dobiven je praškasti produkt smeđe boje (Metoda A: 455.0 mg, 79.83 %, T_i = 242–245 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.20 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 8.35 (1H, dd, *J* = 9.0, 2.2 Hz), 8.19 (1H, d, *J* = 9.1 Hz), 8.14 (2H, d, *J* = 8.7 Hz), 7.21 (2H, d, *J* = 8.7 Hz), 4.95 (2H, d, *J* = 1.9 Hz, OCH₂), 3.66 (1H, s, CH). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO) δ 173.32, 160.48, 157.53, 144.15, 134.98, 129.46, 125.48, 122.74, 121.94, 119.38, 115.79, 78.81 (CCH), 78.66 (CCH), 55.78 (OCH₂).

2-(3-metoksi-4-(prop-2-in-1-iloksi)fenil)-6-nitrobenzotiazol (5b)

Spoj **5b** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom odgovarajućeg fenolnog derivata benzotiazola **4b** (Metoda A: 500 mg, 1.65 mmol) i propargil-bromida (Metoda A: 2.48 mmol, 221 μ L). Dobiven je praškasti produkt smeđe boje (Metoda A: 467.5 mg, 83.50 %, $T_f = 228\text{--}230\text{ }^\circ\text{C}$). ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 9.16 (1H, d, $J = 2.3$ Hz), 8.32 (1H, dd, $J = 8.9, 2.4$ Hz), 8.18 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 7.71 (1H, dd, $J = 8.3, 2.0$ Hz), 7.69 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 7.22 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 4.93 (2H, d, $J = 2.3$ Hz, OCH₂), 3.91 (3H, s, OCH₃), 3.65 (1H, t, $J = 2.3$ Hz, CH). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 173.42, 157.42, 150.10, 149.44, 144.14, 135.02, 125.67, 122.71, 121.89, 121.40, 119.28, 113.75, 109.94, 78.84 (CCH), 78.68 (CCH), 56.09 (OCH₂), 55.70 (OCH₃).

2-(3-fluor-4-(prop-2-in-1-iloksi)fenil)-6-nitrobenzotiazol (5c)

Spoj **5c** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom odgovarajućeg fenolnog derivata benzotiazola **4c** (Metoda A: 500 mg, 1.72 mmol) i propargil-bromida (Metoda A: 2.58 mmol, 230 μ L). Dobiven je praškasti produkt smeđe boje (Metoda A: 453.6 mg, 80.21 %, $T_f = 182\text{--}185\text{ }^\circ\text{C}$). ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.18 (1H, d, $J = 2.2$ Hz), 8.33 (1H, dd, $J = 9.0, 2.3$ Hz), 8.17 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 8.03 – 7.91 (2H, m), 7.44 (1H, t, $J = 8.7$ Hz), 5.05 (2H, d, $J = 2.1$ Hz, OCH₂), 3.74 (1H, s, CH). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 172.03 (d, $J = 2.6$ Hz), 157.18, 151.68 (d, $J_{CF} = 246.4$ Hz), 148.31 (d, $J_{CF} = 10.6$ Hz), 144.27, 135.13, 127.02, 125.82 (d, $J_{CF} = 7.0$ Hz), 124.83 (d, $J_{CF} = 3.2$ Hz), 122.93, 121.92, 119.40, 115.85 (d, $J_{CF} = 1.1$ Hz), 114.86 (d, $J_{CF} = 20.3$ Hz), 79.41 (CCH), 78.13 (CCH), 56.70 (OCH₂).

2-(4-(2-(dietilamino)etoksi)fenil)-6-nitro-benzotiazol (6a)

Spoj **6a** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom odgovarajućeg fenolnog derivata **4a** (Metoda B: 200 mg; 0.735 mmol) i 2-dietilaminoetilklorida (Metoda B: 227.7 mg; 1.323 mmol). Dobiven je smeđi produkt praškaste strukture (Metoda B: 72.4 mg; 26.52%; $T_f = 131\text{--}134\text{ }^\circ\text{C}$). ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.17 (1H, d, $J = 2.3$ Hz), 8.33 (1H, dd, $J = 9.0, 2.4$ Hz), 8.16 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 8.09 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.14 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 4.15 (2H, t, $J = 6.0$ Hz, OCH₂), 2.84 (2H, t, $J = 5.7$ Hz, NCH₂), 2.59 (4H, q, $J = 7.1$ Hz, 2xNCH₂), 1.00 (6H, t, $J = 7.1$ Hz, CH₃). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 173.43, 161.91, 157.57, 144.06, 134.89, 129.50, 124.75, 122.61, 121.89, 119.29, 115.40, 66.68 (OCH₂), 51.12 (NCH₂), 46.97 (2xNCH₂), 11.72 (CH₃).

2-(4-(2-(dietilamino)etoksi)-3-metoksifenil)-6-nitrobenzotiazol (6b)

Spoj **6b** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom odgovarajućeg fenolnog derivata **4b** (Metoda B: 200 mg; 0.662 mmol) i 2-dietilaminoetilklorida (Metoda B: 196.7 mg; 1.143 mmol). Dobiven je produkt smeđe boje i praškaste strukture (Metoda B: 90.8 mg; 34.16%; $T_f = 111\text{--}114\text{ }^\circ\text{C}$). ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.14 (1H, d, $J = 2.3$ Hz), 8.32 (1H, dd, $J = 9.0, 2.4$ Hz), 8.16 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 7.67 (2H, dd, $J = 10.3, 2.1$ Hz), 7.17 (1H, d, $J = 8.2$ Hz), 4.14 (2H, t, $J = 6.0$ Hz, OCH₂), 3.90 (3H, s, OCH₃), 2.89 (2H, t, $J = 6.2$ Hz, NCH₂), 2.63 (4H, dd, $J = 14.4, 7.2$ Hz, 2xNCH₂), 1.02 (6H, t, $J = 7.1$ Hz, CH₃). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 173.71, 157.66, 151.90, 149.44, 144.23, 135.12, 125.05, 122.78, 122.04, 121.92, 119.39, 113.15, 110.04, 67.18 (OCH₂), 55.92 (OCH₃), 51.20 (NCH₂), 47.23 (2xNCH₂), 11.76 (CH₃).

2-(4-(2-(dietilamino)etoksi)-3-fluorfenil)-6-nitrobenzotiazol (6c)

Spoj **6c** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom odgovarajućeg fenolnog derivata **4c** (Metoda B: 200 mg; 0.689 mmol) i 2-dietilaminoetilklorida (Metoda B: 178.0 mg; 1.034 mmol). Dobiven je igličasti produkt narančaste boje (Metoda B: 109.4 mg; 40.77%; $T_f = 112\text{--}114\text{ }^\circ\text{C}$). ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.20 (1H, d, $J = 2.2$ Hz), 8.34 (1H, dd, $J = 9.0, 2.3$ Hz), 8.18 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 8.05 – 7.91 (2H, m), 7.43 (1H, t, $J = 8.6$ Hz), 4.43 (2H, s, OCH₂), 3.34 (2H, s, NCH₂), 3.02 (4H, d, $J = 6.8$ Hz, 2xNCH₂), 1.17 (6H, t, $J = 7.0$ Hz, CH₃). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 172.10 (d, $J = 2.6$ Hz), 157.22, 151.56 (d, $J = 246.5$ Hz), 149.25 (d, $J = 10.7$ Hz), 144.29, 135.12, 125.50 (d, $J = 6.9$ Hz), 125.05 (d, $J = 3.1$ Hz), 122.92, 121.98, 119.45, 115.44 (d, $J = 1.2$ Hz), 114.77 (d, $J = 20.1$ Hz), 65.42 (OCH₂), 50.33 (NCH₂), 47.41 (2xNCH₂), 9.84 (CH₃).

2-(4-(2-morfolinetoksi)fenil)-6-nitrobenzotiazol (7a)

Spoj **7a** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom odgovarajućeg fenolnog derivata **4a** (Metoda B: 200 mg; 0.735 mmol) i N-(2-kloretil)morfolina (Metoda B: 246.16 mg; 1.323 mmol). Dobiven je žuti kristalinični produkt (Metoda B: 226.5 mg; 79.95%; $T_f = 169\text{--}172\text{ }^\circ\text{C}$). ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 9.10 (1H, d, $J = 2.3$ Hz), 8.30 (1H, dd, $J = 8.9, 2.3$ Hz), 8.13 (1H, d, $J = 8.9$ Hz), 8.06 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.13 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 4.20 (2H, t, $J = 5.6$ Hz, OCH₂), 3.57 (4H, t, $J = 4.8$ Hz, OCH₂), 2.72 (2H, t, $J = 5.7$ Hz, NCH₂). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 173.44, 161.86, 157.58, 144.09, 134.91, 129.51, 124.85, 122.64, 121.93, 119.34, 115.46, 66.13 (2xOCH₂), 65.76 (OCH₂), 56.80 (NCH₂), 53.56 (2xNCH₂).

2-(3-metoksi-4-(2-morfolinetoksi)fenil)-6-nitrobenzotiazol (7b)

Spoj **7b** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom odgovarajućeg fenolnog derivata **4b** (Metoda B: 200 mg; 0.662 mmol) i N-(2-kloretil)morfolina (Metoda B: 207.7 mg; 1.116 mmol). Dobiven je žuti svilenkasti produkt (Metoda B: 85.8 mg; 31.20%; $T_f = 205\text{--}207$ °C). ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 9.06 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 8.30 (1H, dd, $J = 8.9, 2.4$ Hz), 8.14 (1H, d, $J = 8.9$ Hz), 7.68 (2H, dd, $J = 7.2, 1.9$ Hz), 7.18 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 4.21 (2H, t, $J = 5.8$ Hz, OCH₂), 3.90 (3H, s, OCH₃), 3.58 (4H, t, $J = 4.7$ Hz, OCH₂), 2.75 (2H, t, $J = 5.8$ Hz, NCH₂), 2.50 (4H, t, $J = 4.7$ Hz, NCH₂). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 173.44, 157.55, 152.17, 149.86, 144.42, 135.10, 125.42, 122.68, 121.83, 121.76, 118.91, 114.16, 111.35, 67.05(OCH₂), 66.26 (2xOCH₂), 56.91 (NCH₂), 56.27 (OCH₃), 53.63 (2xNCH₂).

2-(3-fluor-4-(2-morfolinetoksi)fenil)-6-nitrobenzotiazol (7c)

Spoj **7c** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom odgovarajućeg fenolnog derivata **4c** (Metoda B: 200 mg; 0.689 mmol) i N-(2-kloretil)morfolina (Metoda B: 192.4 mg; 1.034 mmol). Dobiven je kristaliničan produkt žutosmeđe boje (Metoda B: 77.7 mg; 27.95%; $T_f = 154\text{--}157$ °C). ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.15 (1H, d, $J = 2.2$ Hz), 8.31 (1H, dd, $J = 9.0, 2.3$ Hz), 8.14 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 7.92 (2H, dd, $J = 14.5, 4.6$ Hz), 7.37 (1H, t, $J = 8.8$ Hz), 4.28 (2H, t, $J = 5.6$ Hz, OCH₂), 3.59 (4H, t, $J = 4.6$ Hz, OCH₂), 2.76 (2H, t, $J = 5.6$ Hz, NCH₂). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 172.15 (d, $J = 2.9$ Hz), 157.22, 151.54 (d, $J = 246.1$ Hz), 149.80 (d, $J = 10.7$ Hz), 144.20, 135.05, 125.06 (d, $J = 3.2$ Hz), 124.98 (d, $J = 2.7$ Hz), 122.83, 121.90, 119.35, 115.28 (d, $J = 1.6$ Hz), 114.63 (d, $J = 20.3$ Hz), 66.91 (OCH₂), 66.14 (2xOCH₂), 56.65 (NCH₂), 53.54 (2xNCH₂).

2-(4-(2-okso-2-feniletoksi)fenil)-6-nitrobenzotiazol (8a)

Spoj **8a** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom odgovarajućeg fenolnog derivata **4a** (Metoda B: 200 mg; 0.735 mmol) i bromacetofenona (Metoda B: 175.6 mg; 0.882 mmol). Dobiven je žuti produkt kristalinične strukture (Metoda B: 113.5 mg; 39.55%; $T_f = 214\text{--}217$ °C). ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.19 (1H, d, $J = 1.9$ Hz), 8.35 (1H, dd, $J = 8.9, 2.0$ Hz), 8.18 (1H, d, $J = 8.9$ Hz), 8.11 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 8.05 (2H, d, $J = 7.6$ Hz), 7.72 (1H, t, $J = 7.5$ Hz), 7.60 (2H, t, $J = 7.4$ Hz), 7.20 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 5.78 (2H, s, OCH₂). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 193.95 (C=O), 173.40, 161.40, 157.57, 154.29, 144.12, 134.96, 134.20, 133.91, 129.44, 128.85, 127.88, 125.16, 122.69, 121.93, 119.36, 115.65, 70.33 (OCH₂).

2-(3-metoksi-4-(2-okso-2-feniletoksi)fenil)-6-nitrobenzotiazol (8b)

Spoj **8b** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom odgovarajućeg fenolnog derivata **4b** (Metoda B, Metoda C: 200 mg; 0.662 mmol) i bromacetofenona (Metoda B, Metoda C: 158 mg; 0.794 mmol) te je dodano 100 mg KI (Metoda C). Dobiven je žutosmeđi produkt praškaste strukture (Metoda C: 111.1 mg; 39.92%; $T_f = 211\text{--}214^\circ\text{C}$). ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.17 (1H, s), 8.33 (1H, d, $J = 8.2$ Hz), 8.19 (1H, d, $J = 8.6$ Hz), 8.05 (2H, d, $J = 6.9$ Hz), 7.81 – 7.49 (5H, m), 7.10 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 5.76 (2H, s, OCH_2), 3.95 (3H, s, OCH_3). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 194.03 (C=O), 173.39, 157.50, 151.37, 149.52, 144.31, 135.08, 134.50, 133.71, 128.76, 127.87, 125.64, 122.71, 121.80, 121.52, 119.05, 114.08, 111.02, 70.96 (OCH_2), 56.11 (OCH_3).

2-(3-fluor-4-(2-okso-2-feniletoksi)fenil)-6-nitrobenzotiazol (8c)

Spoj **8c** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom odgovarajućeg fenolnog derivata **4c** (Metoda B: 200 mg; 0.689 mmol) i bromacetofenona (Metoda B: 164.6 mg; 0.827 mmol). Dobiven je svijetložuti svilenkasti produkt (Metoda B: 37.1 mg; 13.18%; $T_f = 212\text{--}214^\circ\text{C}$). ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.21 (1H, s), 8.35 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 8.20 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 8.04 (3H, d, $J = 7.5$ Hz), 7.90 (1H, d, $J = 7.9$ Hz), 7.72 (1H, d, $J = 6.7$ Hz), 7.62 (2H, d, $J = 6.7$ Hz), 7.35 (1H, t, $J = 8.3$ Hz), 5.89 (2H, s, OCH_2). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 193.47 (C=O), 172.16, 157.24, 151.46 (d, $J = 246.2$ Hz), 149.36 (d, $J = 10.2$ Hz), 144.24, 135.11, 134.03, 133.99, 128.85, 127.88, 125.37 (d, $J = 6.9$ Hz), 124.75 (d, $J = 2.7$ Hz), 122.88, 121.93, 119.40, 115.64, 114.89 (d, $J = 20.3$ Hz), 70.86 (OCH_2).

2-(4-(2-morfolino-2-oksoetoksi)fenil)-6-nitrobenzotiazol (9a)

Spoj **9a** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom odgovarajućeg fenolnog derivata **4a** (Metoda B: 200 mg; 0.735 mmol) i N-(kloracetyl)morfolina (Metoda B: 144.3 mg; 0.882 mmol). Dobiven je praškasti produkt narančaste boje (Metoda B: 179.8 mg; 61.25%; $T_f = 206\text{--}209^\circ\text{C}$). ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.15 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 8.32 (1H, dd, $J = 9.0, 2.2$ Hz), 8.15 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 8.07 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.13 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 5.01 (2H, s, OCH_2), 3.64 (2H, bs, NCH_2), 3.59 (2H, bs, NCH_2), 3.48 (4H, bs, OCH_2). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 173.41, 165.49 (C=O), 161.51, 157.56, 144.09, 134.94, 129.35, 125.08, 122.66, 121.91, 119.33, 115.60, 66.02 (OCH_2), 65.95 (OCH_2), 65.69 (OCH_2), 44.60 (NCH_2), 41.59 (NCH_2).

2-(3-metoksi-4-(2-morfolino-2-oksoetoksi)fenil)-6-nitrobenzotiazol (9b)

Spoj **9b** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom odgovarajućeg fenolnog derivata **4b** (Metoda B: 200 mg; 0.662 mmol) i N-(kloracetil)morfolina (Metoda B: 129.9 mg; 0.794 mmol). Dobiven je žuti kristalinični produkt (Metoda B: 112.2 mg; 39.47%; $T_f = 210\text{--}213\text{ }^\circ\text{C}$). ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.17 (1H, d, $J = 2.3$ Hz), 8.33 (1H, dd, $J = 9.0, 2.4$ Hz), 8.18 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 7.74 – 7.62 (2H, m), 7.06 (1H, d, $J = 8.2$ Hz), 5.00 (2H, s, OCH₂), 3.93 (3H, s, OCH₃), 3.58 (2H, bs, NCH₂), 3.48 (2H, bs, NCH₂), 3.38 (4H, bs, OCH₂). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 173.52, 165.46 (C=O), 157.48, 151.22, 149.21, 144.11, 135.00, 125.24, 122.67, 121.90, 121.47, 119.27, 113.45, 110.05, 66.14 (OCH₂), 66.01 (OCH₂), 55.78 (OCH₃), 44.74 (NCH₂), 41.63 (NCH₂).

2-(3-fluor-4-(2-morfolino-2-oksoetoksi)fenil)-6-nitrobenzotiazol (9c)

Spoj **9c** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom odgovarajućeg fenolnog derivata **4c** (Metoda B: 200 mg; 0.689 mmol) i N-(kloracetil)morfolina (Metoda B: 135.3 mg; 0.827 mmol). Dobiven je kristalinični produkt svijetložute boje (Metoda B: 182.4 mg; 63.42%; $T_f = 205\text{--}208\text{ }^\circ\text{C}$). ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.18 (1H, d, $J = 2.3$ Hz), 8.33 (1H, dd, $J = 9.0, 2.3$ Hz), 8.17 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 7.98 (1H, dd, $J = 11.9, 2.0$ Hz), 7.90 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.27 (1H, t, $J = 8.6$ Hz), 5.13 (2H, s, OCH₂), 3.65 (2H, bs, NCH₂), 3.59 (2H, d, $J = 6.0$ Hz, NCH₂), 3.47 (4H, bs, OCH₂). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 172.20 (d, $J = 2.4$ Hz), 165.09 (C=O), 157.26, 151.47 (d, $J = 246.1$ Hz), 149.53 (d, $J = 10.5$ Hz), 144.26, 135.12, 125.26 (d, $J = 6.9$ Hz), 124.71 (d, $J = 2.8$ Hz), 122.89, 121.94, 119.41, 115.63, 114.77 (d, $J = 20.2$ Hz), 66.07 (OCH₂), 66.01 (OCH₂), 65.90 (OCH₂), 44.52 (NCH₂), 41.60 (NCH₂).

2-(4-((piridin-2-il)metoksi)fenil)-6-nitrobenzotiazol (10a)

Spoj **10a** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom odgovarajućeg fenolnog derivata **4a** (Metoda C: 200 mg; 0.689 mmol) i 2-klormetilpiridina (Metoda C: 300.14 mg; 1.034 mmol) te je dodano 100 mg KI (Metoda C). Dobiven je svijetlosmeđi produkt praškaste strukture (Metoda C: 145.7 mg; 54.55%; $T_f = 234\text{--}236\text{ }^\circ\text{C}$). ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.19 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 8.61 (1H, d, $J = 4.5$ Hz), 8.35 (1H, dd, $J = 9.0, 2.4$ Hz), 8.18 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 8.13 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.87 (1H, dd, $J = 8.5, 6.9$ Hz), 7.56 (1H, d, $J = 7.9$ Hz), 7.38 (1H, dd, $J = 7.0, 5.2$ Hz), 7.26 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 5.33 (2H, OCH₂). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 161.49, 154.93, 149.16, 137.12, 134.96, 131.27, 129.58, 128.75, 123.15, 122.90, 122.70, 122.19, 121.83, 118.33, 115.78, 70.52 (OCH₂).

2-(3-metoksi-4-((piridin-2-il)metoksi)fenil)-6-nitrobenzotiazol (10b)

Spoj **10b** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom odgovarajućeg fenolnog derivata **4b** (Metoda C: 200 mg; 0.662 mmol) i 2-klormetilpiridina (Metoda C: 162.88 mg; 0.993 mmol) te je dodano 100 mg KI (Metoda C). Dobiven je žuti produkt čvrste strukture (Metoda C: 89.2 mg; 34.25%; $T_f = 197\text{--}199\text{ }^\circ\text{C}$). ^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 9.18 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 8.60 (1H, d, $J = 4.3$ Hz), 8.34 (1H, dd, $J = 9.0, 2.4$ Hz), 8.19 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 7.87 (1H, td, $J = 7.7, 1.7$ Hz), 7.72 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 7.69 (1H, dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz), 7.55 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 7.38 (1H, dd, $J = 6.9, 5.0$ Hz), 7.25 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 5.30 (2H, s, OCH₂), 3.94 (3H, s, OCH₃). ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 173.50, 157.47, 156.09, 151.24, 149.40, 149.17, 144.14, 137.07, 135.02, 125.32, 123.13, 122.70, 121.92, 121.81, 121.68, 119.31, 113.51, 109.95, 70.91 (OCH₂), 55.78 (OCH₃).

2-(3-fluor-4-((piridin-2-il)metoksi)fenil)-6-nitrobenzotiazol (10c)

Spoj **10c** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom odgovarajućeg fenolnog derivata **4c** (Metoda C: 200 mg; 0.689 mmol) i 2-klormetilpiridina (Metoda C: 135.7 mg; 0.827 mmol) te je dodano 100 mg KI (Metoda C). Dobiven je svijetlosmeđi produkt praškaste strukture (Metoda C: 47.3 mg; 18%; $T_f = 227\text{--}229\text{ }^\circ\text{C}$). ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.23 (1H, d, $J = 2.2$ Hz), 8.62 (1H, d, $J = 4.4$ Hz), 8.36 (1H, dd, $J = 8.9, 2.4$ Hz), 8.21 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 8.05 (1H, dd, $J = 11.8, 1.9$ Hz), 7.97 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.89 (1H, td, $J = 7.7, 1.5$ Hz), 7.57 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 7.48 (1H, t, $J = 8.6$ Hz), 7.40 (1H, dd, $J = 7.2, 4.3$ Hz), 5.41 (2H, s, OCH₂). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 172.21, 157.27, 155.51, 151.71 (d, $J_{CF} = 244.9$ Hz), 149.27, 149.06, 144.34, 137.17, 135.17, 125.09 (d, $J_{CF} = 3.0$ Hz), 123.05, 121.91, 120.66, 119.52, 115.81, 114.90 (d, $J_{CF} = 20.0$ Hz), 71.26 (OCH₂).

3.3.2. Opći postupak za sintezu 1,2,3-*H*-triazolnih analoga benzotiazola (11a–11c)

Reakcijska smjesa odgovarajućeg spoja **5a–5c** (1 eq), CuI (0.1 eq) i trimetilsililazida (1.5 eq) suspendirana je u smjesi dimetilformamida (DMF) i metanola (DMF : MeOH = 1:1) (2 mL). Zatim je reakcijska smjesa stavljena u mikrovalni reaktor na 120 °C, 400 W, u vremenu od 60 minuta. Otapalo se iz smjese ukloni pod sniženim tlakom, a produkt se pročišćava kolonskom kromatografijom u sustavu CH₂Cl₂ : MeOH = 100:2.

2-(4-((1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)fenil)-6-nitrobenzotiazol (11a)

Spoj **11a** pripravlja se prema navedenom općem postupku reakcijom odgovarajućeg *O*-propargiliranog derivata benzotiazola **5a** (300 mg; 0.97 mmol), trimetilsililazida (193 μ L; 1.455 mmol) i CuI (37 mg; 0.194 mmol). Dobiven je bijeli praškasti produkt. ^1H NMR spektroskopijom dobivenog praškastog produkta utvrđeno je da nije dobiven željeni produkt.

2-(3-metoksi-4-((1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)fenil)-6-nitrobenzotiazol (11b)

Spoj **11b** pripravlja se prema navedenom općem postupku reakcijom odgovarajućeg *O*-propargiliranog derivata benzotiazola **5b** (300 mg; 0.91 mmol), trimetilsililazida (182 μ L; 1.365 mmol) i CuI (35 mg; 0.182 mmol). Dobiven je žuti praškasti produkt. ^1H NMR spektroskopijom dobivenog praškastog produkta utvrđeno je da nije dobiven željeni produkt.

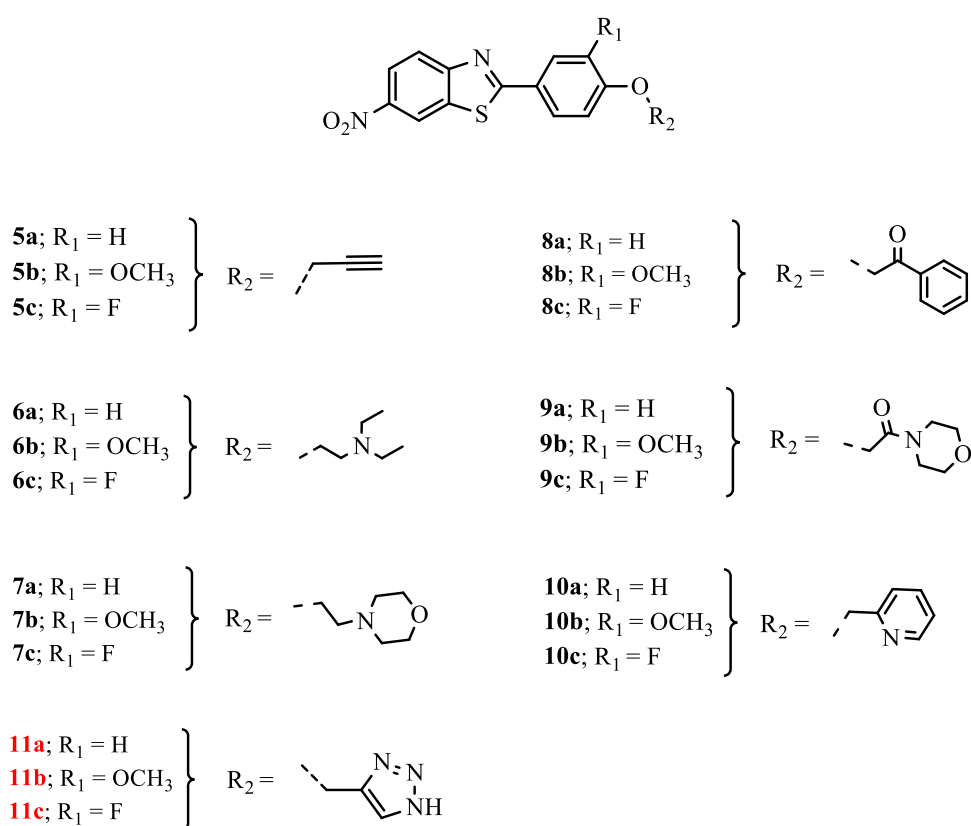
2-(3-fluor-4-((1H-1,2,3-triazol-4-il)metoksi)fenil)-6-nitrobenzotiazol (11c)

Spoj **11c** pripravlja se prema navedenom općem postupku reakcijom odgovarajućeg *O*-propargiliranog derivata benzotiazola **5c** (300 mg; 0.88 mmol), trimetilsililazida (175 μ L; 1.32 mmol) i CuI (34 mg; 0.176 mmol). Dobiven je sivi praškasti produkt. ^1H NMR spektroskopijom dobivenog praškastog produkta utvrđeno je da nije dobiven željeni produkt.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Cilj rada

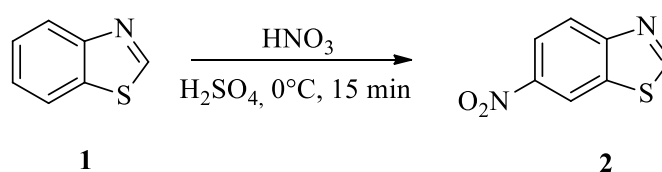
Zadatak ovog rada bila je priprava 2-aril-6-nitro-supstituiranih benzotiazola (**5a–10a**, **5b–10b**, **5c–10c**, **11a–11c**), kao potencijalnih biološki aktivnih molekula, čije su strukture prikazane na Slici 1. Prilikom priprave prekursora korištene su klasične sintetske metode, dok je kod pripreme ciljanih spojeva korištena metoda mehanokemijske sinteze i sinteza potpomognuta mikrovalovima. Svi priređeni spojevi su okarakterizirani ^1H NMR i ^{13}C NMR spektroskopijom.



Slika 1. Prikaz struktura ciljanih spojeva nitro-supstituiranih derivata benzotiazola

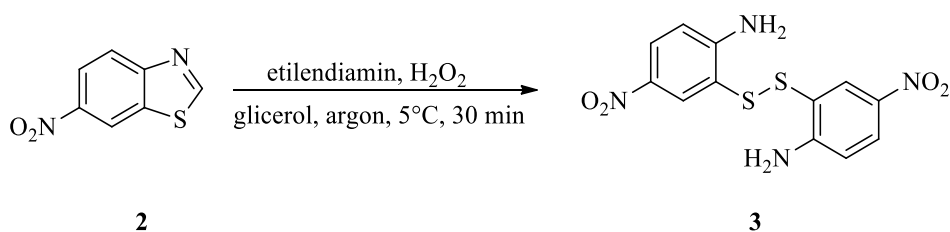
4.2. Sinteza ciljanih spojeva

Priprava 6-nitro-supstituiranih derivata benzotiazola **6a–10a**, **6b–10b** i **6c–10c** provedena je višestupnjevitom sintezom počevši od sinteze odgovarajućih benzotiazolnih prekursora **4a–4c**. Spoj **2**, 6-nitrobenzotiazol priređen je reakcijom nitriranja benzotiazolne jezgre u smjesi sumporne i dušične kiseline pri 0 °C kako je prikazano na Shemi 3. Reakcija je provedena dva puta pod istim uvjetima. U prvom pokušaju iskorištenje reakcije je iznosilo 20.6 %, a u drugom pokušaju 25.0 %.



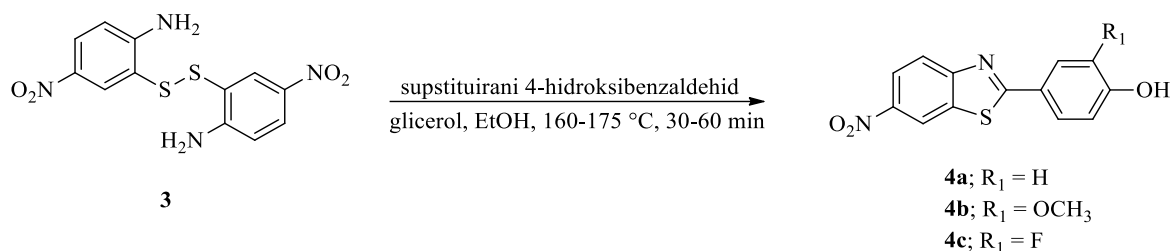
Shema 3. Sinteza 6-nitrobenzotiazola

Sljedeći stupanj sinteze bila je priprava bis(2-amino-5-nitrofenil)disulfida **3**. Željeni disulfidni prekursor **3** dobiven je otvaranjem benzotiazolnog prstena uz etilendiamin (EDA) kao bazom. Kao što je prikazano na Shemi 4, reakcija je provedena u glicerolu na 100 °C za 15 minuta, a naknadnom oksidacijom s vodikovim peroksidom dobiven je spoj **3** u visokim iskorištenjima. U prva dva pokušaja željeni disulfid **3** dobiven je u gotovo kvantitativnom iskorištenju od 99.4 %, dok su u iduća tri pokušaja iskorištenja reakcije iznosila 78.9 %, 89.4 % i 78.9 %.



Shema 4. Sinteza bis(2-amino-5-nitrofenil)disulfida

Priprava fenolnih derivata benzotiazola **4a–4c**, koji služe kao prekursori za sintezu ciljanih spojeva (**6a–10a**, **6b–10b**, **6c–10c**), prikazana je na Shemi 5. Benzotiazolni prekursori **4a–4c** priređeni su reakcijom kondenzacije iz disulfida **3** i odgovarajućih benzaldehida toplinskom reakcijom, bez upotrebe katalizatora korištenjem ekološki prihvatljivog otapala glicerola. Željeni produkti **4a–4c** dobiveni su u dobrim iskorištenjima, čije su vrijednosti prikazane u Tablici 1.

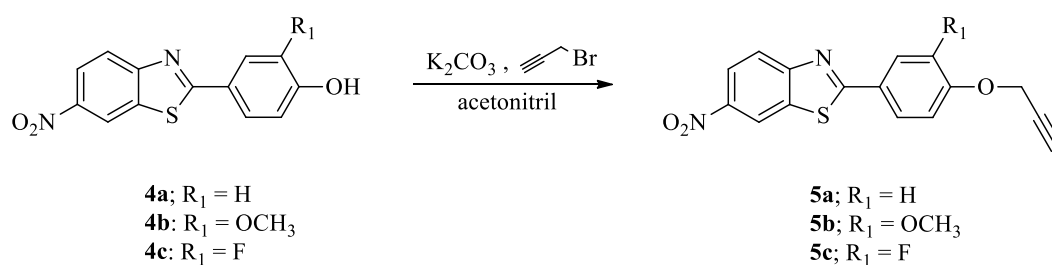


Shema 5. Sinteza fenolnih derivata benzotiazola

Tablica 1. Prikaz iskorištenja za reakcije dobivanja fenolnih derivata benzotiazola (**4a–4c**)

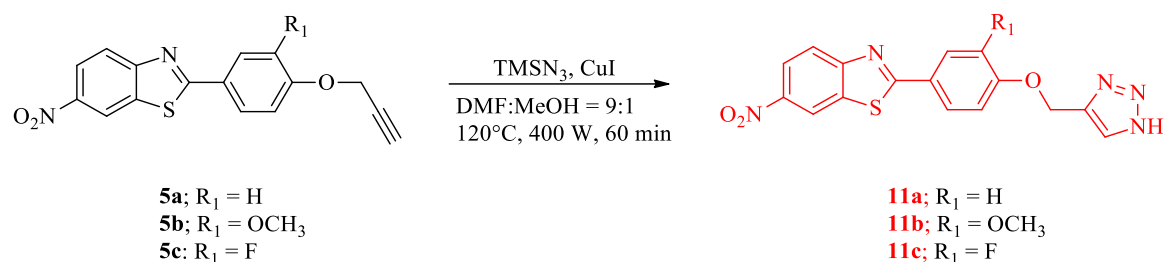
Spoj	R ₁	η / %	Spoj	R ₁	η / %	Spoj	R ₁	η / %
4a	H	35.58, 38.6	4b	OCH ₃	62.07	4c	F	54.31

Reakcija *O*-propargiliranja provedena je klasičnom sintezom u otopini iz odgovarajućih fenolnih derivata (**4a–4c**) u acetonitrilu s propargil-bromidom i kalijevim karbonatom (Shema 6). *O*-propargilirani derivati (**5a–5c**) dobiveni su u visokim iskorištenjima reakcije; 79.8% za spoj **5a**, 80.2% za spoj **5b** i 83.5% za spoj **5c**.

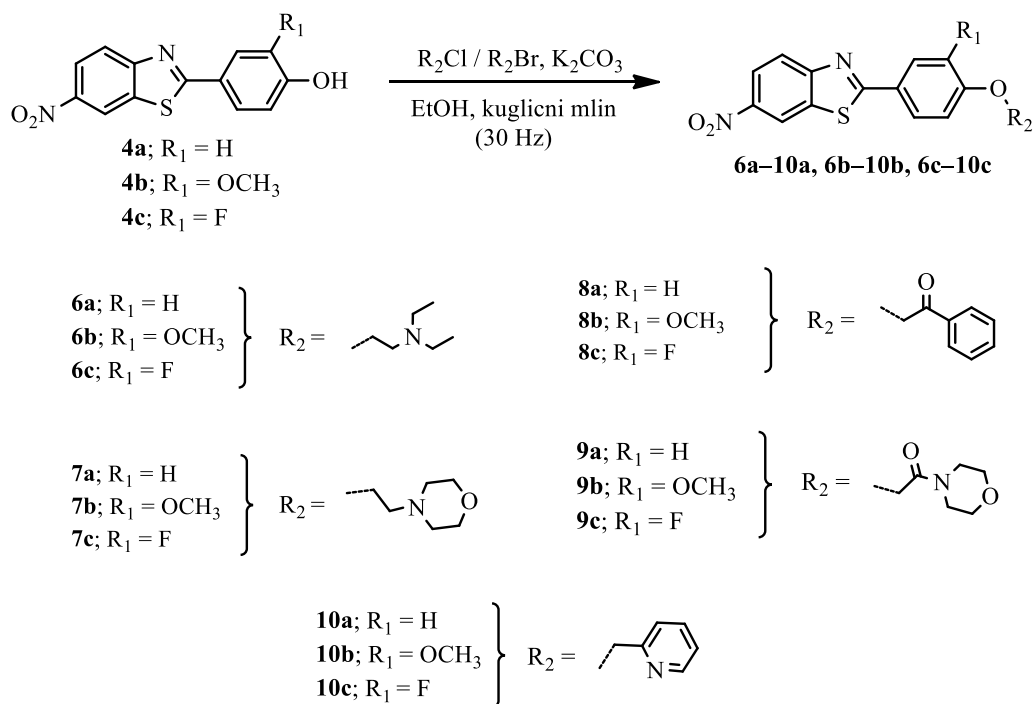


Shema 6. Sinteza propargiliranih derivata benzotiazola

O-propargilirani prekursori benzotiazola (**5a–5c**) korišteni su u Huisgenovoj 1,3-dipolarnoj cikloadiciji za dobivanje 1,2,3-*1H*-triazolnih derivata benzotiazola (**11a–11c**). Na Shemi 7 prikazana je „klik“ reakcija između odgovarajućih propargiliranih derivata (**5a–5c**) i trimetilsililazida (TMSN₃), uz CuI kao katalizatorom. Reakcija je provedena sintezom potpomognutom mikrovalovima pri 120 °C. Prema ¹H NMR spektrima, vidljivo je da željeni spojevi nisu dobiveni.



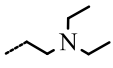
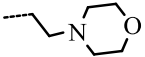
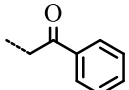
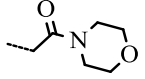
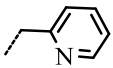
Shema 7. Sinteza 1,2,3-*1H*-triazolnih derivata benzotiazola



Shema 8. Sinteza *O*-alkiliranih derivata benzotiazola

Benzotiazolni derivati (**6a–10a**, **6b–10b**, **6c–10c**) priređeni su reakcijom *O*-alkiliranja, prikazanoj na Shemi 8, provedenoj u kugličnom mlinu između odgovarajućih fenolnih derivata (**4a–4c**) i različitih alkil-halogenida uz K₂CO₃ kao bazom i dodatkom etanola (500 μL), a dobivena iskorištenja prikazana su u Tablici 2.

Tablica 2. Prikaz iskorištenja i vremenskog trajanja reakcija nastajanja ciljanih *O*-alkiliranih derivata benzotiazola (**6a–10a**, **6b–10b**, **6c–10c**)

Spoj	R ₁	R ₂	η / %	t / h
6a	H		26.52	24
6b	OCH ₃		34.16	24
6c	F		40.77	30
7a	H		79.95	30
7b	OCH ₃		31.20	31
7c	F		18.53; 27.95	31
8a	H		39.55	23
8b	OCH ₃		7.58; 39.92	23
8c	F		13.18	26
9a	H		61.25	30
9b	OCH ₃		39.47	31
9c	F		63.42	31
10a	H		54.55	40
10b	OCH ₃		34.25	40
10c	F		18.0	40

Prema vrijednostima iz Tablice 2 vidljivo je kako su reakcije s benzoilmetoksi supstituentom najbrže provedene te su željeni ciljani spojevi **8a** i **8b** dobiveni nakon 23 sata i **8c** nakon 26 sati. Najdulje vrijeme trajanja imaju reakcije s piridinilmetoksi supstituentom (**10a–10c**), gdje su željeni produkti dobiveni nakon 40 sati, u iskorištenjima od 18.0 % (**10c**), 34.2 % (**10b**) i 54.5 % (**10a**). Kod sinteze derivata s morfoliniletoksi supstituentom (**7a–7c**) najveće iskorištenje reakcije je za spoj **7a** koji posjeduje vodik kao supstituent vezan na C3 fenilne poveznice, dok je najmanje iskorištenje za analog **7c** (18.5 % i 27.9 %) koji u položaju

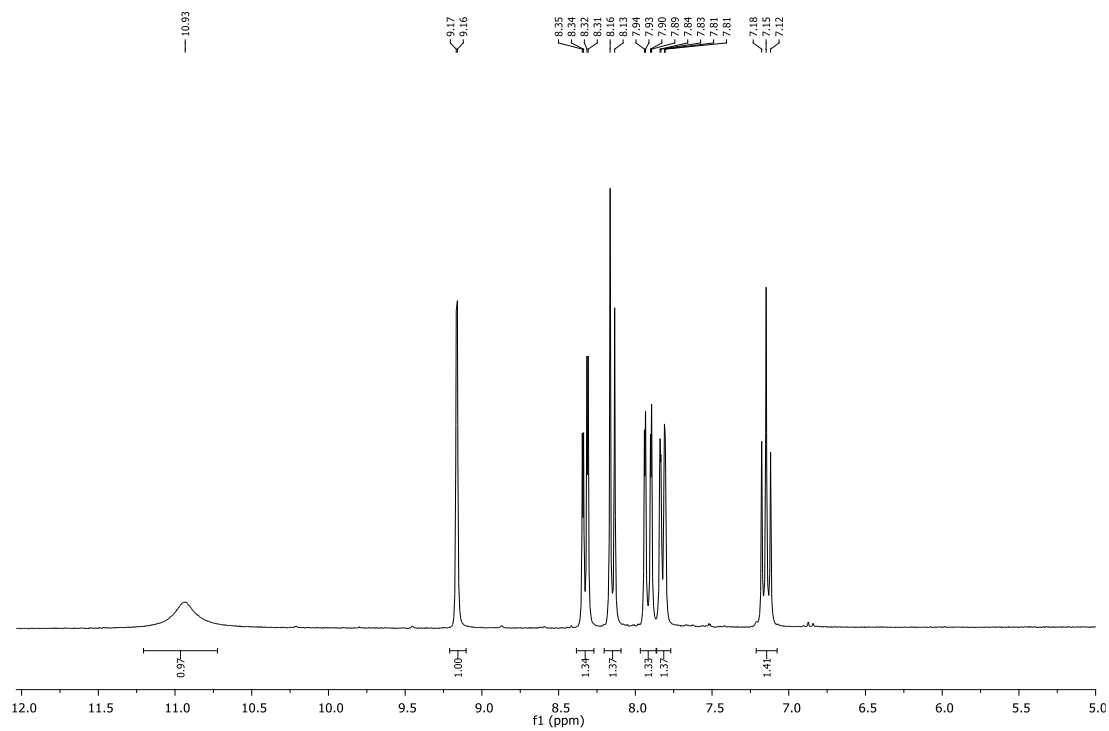
C3 sadrži fluor. Općenito najveća iskorištenja pokazale su sinteze spojeva s morfolinoilmetoksi supstituentom (**9a–9c**) u kojima spoj **9c** ima najbolje iskorištenje u odnosu na ostale sintetizirane spojeve s fluorom kao supstituentom. Uspoređujući iskorištenja unutar pojedine skupine spojeva, može se primijetiti kako su kod sinteza spojeva **7c**, **8c** i **10c**, gdje je fluor supstituent na C-3 fenilne poveznice, dobivena puno manja iskorištenja nego za supstituente kao što su vodik i metoksi-skupina.

4.3. Spektroskopska karakterizacija novosintetiziranih spojeva pomoću ^1H i ^{13}C NMR metode

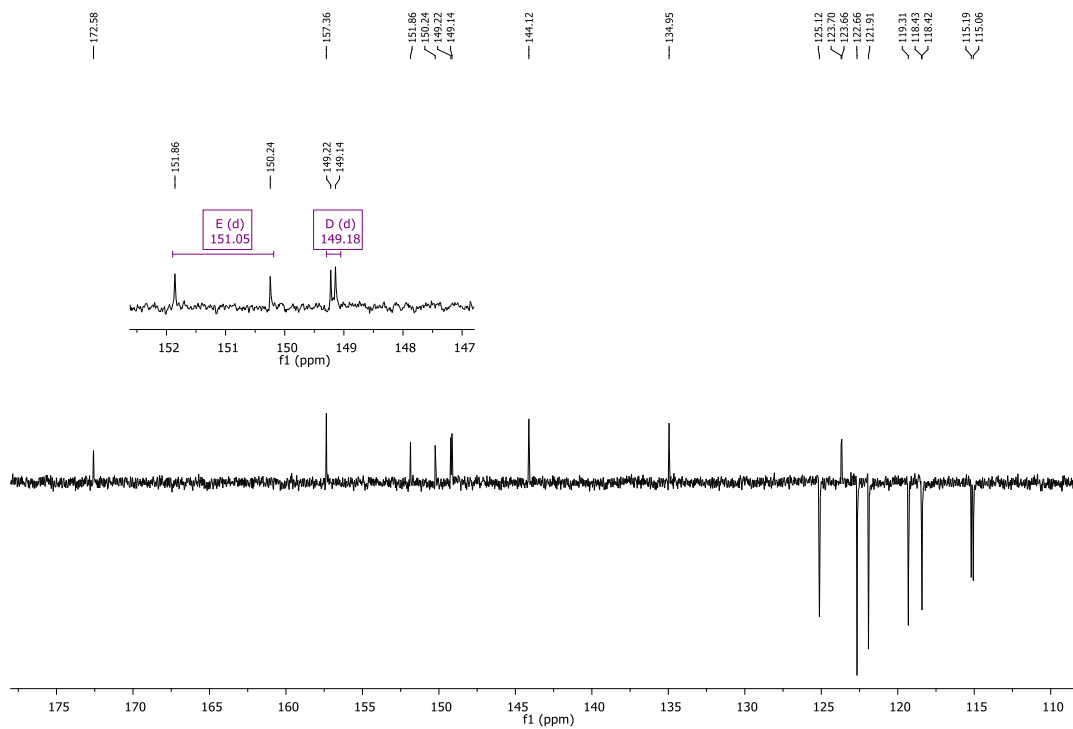
Strukture priređenih ciljanih spojeva potvrđene su ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom. Svi sintetizirani derivati benzotiazola (**5a–10a**, **5b–10b**, **5c–10c**) u ^1H NMR spektrima prikazuju karakteristične signale benzotiazolne jezgre u aromatskom području (7.0–9.0 ppm).

^1H NMR spektar fenolnog derivata benzotiazola **4c** prikazan na Slici 2 pokazuje odgovarajući broj signala aromatskih protona u rasponu kemijskih pomaka 7.00–9.30 ppm. Također, prisutan je karakteristični široki signal za OH skupinu na 10.93 ppm.

U ^{13}C NMR spektru spoja **4c** (Slika 3) prikazan je odgovarajući broj signala aromatskih ugljika u području 115–175 ppm. C-F sprege ugljika supstituiranog fluorom (C3') fenolne skupine vidi se kao dublet s konstantom sprege $J_{CF} = 243.3$ Hz na 151.05 ppm. Sprega preko dvije veze vidljiva je na signalu kvaternog ugljika (C4') vezanom za OH skupinu u obliku dubleta na 149.18 ppm s konstantom sprege $J_{CF} = 12.0$ Hz i dubleta ugljika (C2') na 115.13 ppm s konstantom sprege $J_{CF} = 20.3$ Hz. Utjecaj fluora širi se preko tri veze te su tako zamijećena još dva dubleta, za signal C1' atoma na 123.68 ppm s konstantom sprege $J_{CF} = 6.6$ Hz te za signal C5' atoma na 118.43 ppm s konstantom sprege $J_{CF} = 2.6$ Hz.

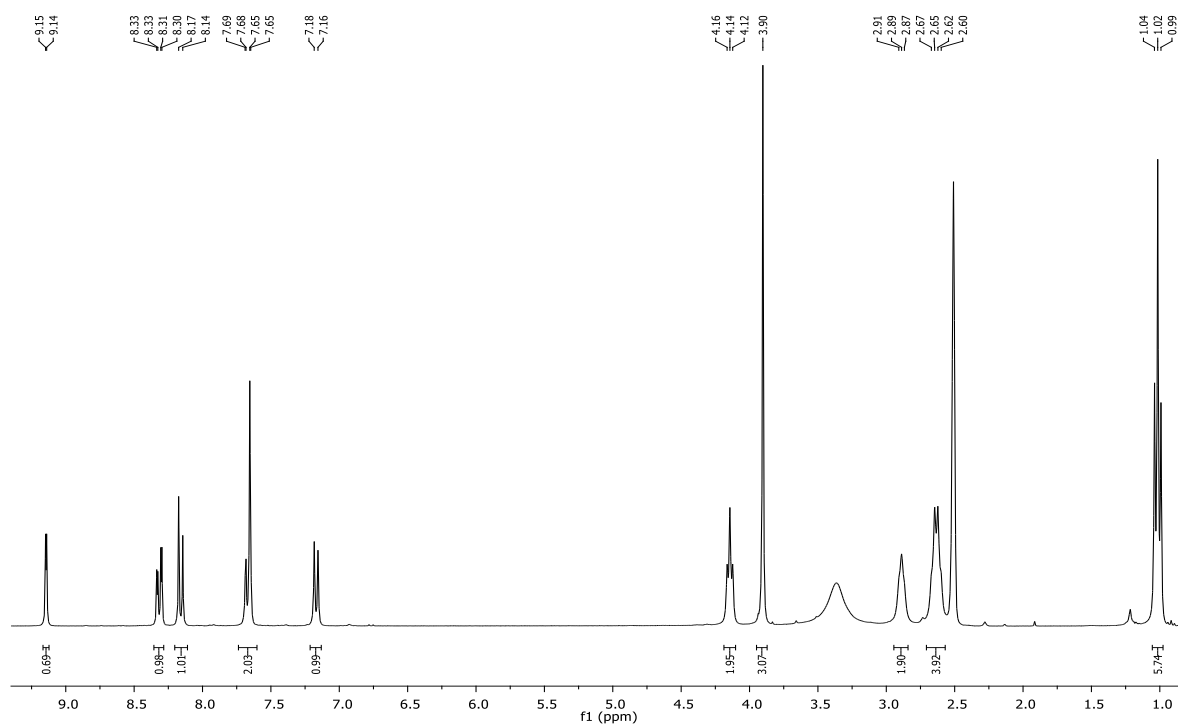


Slika 2. ^1H NMR spektar spoja **4c**

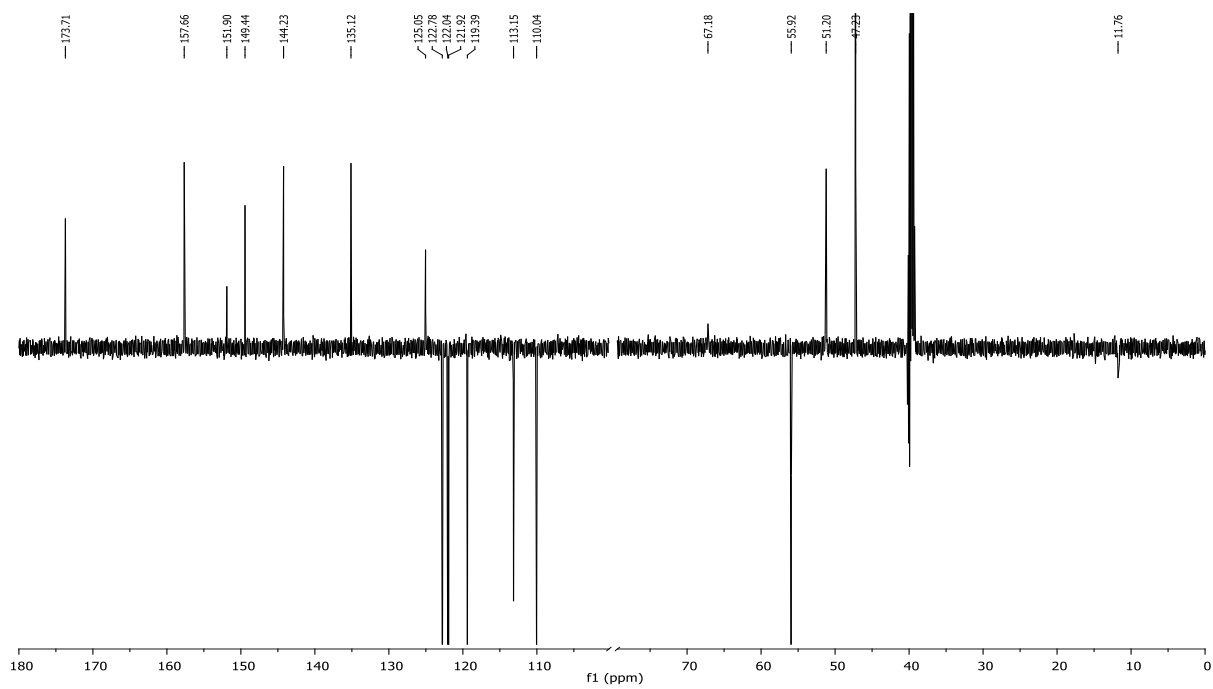


Slika 3. ^{13}C NMR spektar spoja **4c**

Benzotiazolni derivat s dietilaminskim supstituentom (**6b**) pokazuje karakteristične signale aromatskog prstena u području 7.00–9.15 ppm. Također, uz signale aromatskog prstena, u spektru su vidljivi signali metilenske skupine na 4.14 ppm (OCH₂), 2.89 ppm (NCH₂) i 2.63 ppm (NCH₂) kao i signal metilnih protona na 1.02 ppm. Signal koji odgovara protonima metoksi skupine nalazi se na 3.90 ppm (Slika 4). U ¹³C spektru spoja **6b**, prikazanom na Slici 5, nalazi se odgovarajući broj signala aromatskih ugljika u području od 110 do 170 ppm. Vidljiva su četiri signala u alifatskom dijelu spektra. Signali na 51.20 ppm i 47.23 ppm pripadaju ugljicima metilenske NCH₂ skupine, dok signal na 67.18 ppm pripada ugljiku metilenske OCH₂ skupine, a signal na 11.7 ppm pripada ugljicima metilne (CH₃) skupine. Signal na 55.92 ppm pripada ugljiku metoksi (OCH₃) skupine.



Slika 4. ¹H NMR spektar spoja **6b**



Slika 5. ^{13}C NMR spektar spoja **6b**

5. ZAKLJUČAK

- Sinteza 6-nitrobenzotiazola **2** provedena je reakcijom nitriranja, dok je sinteza prekursora bis(2-amino-5-nitrofenil)disulfida **3** provedena bazičnom reakcijom otvaranja prstena benzotiazola s etilendiaminom (EDA).
- 4-(6-nitrobenzotiazol-2-il)fenol **4a**, 2-metoksi-4(6-nitrobenzotiazol-2-il)fenol **4b** i 2-fluor-4-(6-nitrobenzotiazol-2-il)fenol **4c** priređeni su reakcijom kondenzacije prekursora **3** s odgovarajućim benzaldehidima u ekološki prihvatljivom otapalu glicerolu.
- Sinteza ciljanih spojeva **6a–10a**, **6b–10b**, **6c–10c** provedena je u kugličnom mlinu reakcijom odgovarajućih fenolnih derivata **4a–4c** i alkil-halogenida uz dodatak katalitičke količine etanola.
- Klasičnom sintezom u otopini iz odgovarajućih fenolnih derivata **4a–4c** i propargilbromida dobiveni su propargilirani derivati **5a–5c**.
- Sinteza 1,2,3-triazolnih analoga benzotiazola **11a–11c** provedena reakcijom cikloadicije uz CuI kao katalizator te potpomognuta mikrovalovima nije bila uspješna, jer nisu izolirani ciljani spojevi.
- Struktura priređenih spojeva potvrđena je ^1H NMR i ^{13}C NMR spektroskopijom.

6. LITERATURA

1. Gazivoda Kraljević, T., Hranjec, M., Osnove kemije heterocikličkih spojeva, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Hrvatsko društvo kemijskih inženjera i tehnologa, Zagreb, 2020, str. 1.–2.
2. Pathak, N., Rathi, E., Kumar, N., Kini, G.S., Rao, C.M., A Review on Anticancer Potentials of Benzothiazole Derivatives, *Med. Chem.* **20** (2020) 12–23.
3. Bhat, M., Belagali L., S., Structural Activity Relationship and Importance of Benzothiazole Derivatives in Medicinal Chemistry: A Comprehensive Review, *Mini Rev. Org. Chem.* **17** (2020) 323–350.
4. Friščić, T., Mottillo, C., Titi, H.M., Mechanochemistry for Synthesis, *Angew. Chem., Int. Ed.* **59** (2020) 1018–1029.
5. Hauptmann, S., Eicher, T., The Chemistry of Heterocycles, Second Edition, Wiley-VCH GmbH & Co.KGaA, 2003, str. 155.–157.
6. Joule, J.A., Mills, K., Heterocyclic Chemistry, Blackwell Publishing, 2010, str. 505.
7. Maleki, B., Salehabadi, H., Ammonium chloride; as a mild and efficient catalyst for the synthesis of some 2-arylbenzothiazoles and bisbenzothiazole derivatives, *Eur. J. Chem.* **1** (2010) 377–380.
8. Bhat, R., Karhale, S., Arde, S., Helavi, V., Acacia concinna pod catalyzed synthesis of 2-arylbenzothia/(oxa)zole derivatives, *Iran. J. Catal.* **9** (2019) 173–179.
9. Merroun, Y., Chehab, S., Ghailane, T., Akhazzane, M., Souzizi1, A., Ghailane, R., Preparation of tin-modified mono-ammonium phosphate fertilizer and its application as heterogeneous catalyst in the benzimidazoles and benzothiazoles synthesis, *React. Kinet., Mech. Catal.* **126** (2019) 249–264.
10. Kumar, R., Yar, M.S., Chaturvedi, S., Srivastava, A., *Int. J. PharmTech Res.* **5** (2013) 1844–1869.
11. Haldón, E., Nicasio, M.C., Pérez, P.J., Copper-catalysed azide–alkyne cycloadditions (CuAAC): an update, *Org. Biomol. Chem.* **13** (2015) 9528–9550.
12. Li, L., Zhang, Z., development and applications of the copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC) as a bioorthogonal reaction, *Molecules* **21** (2016) 1393.

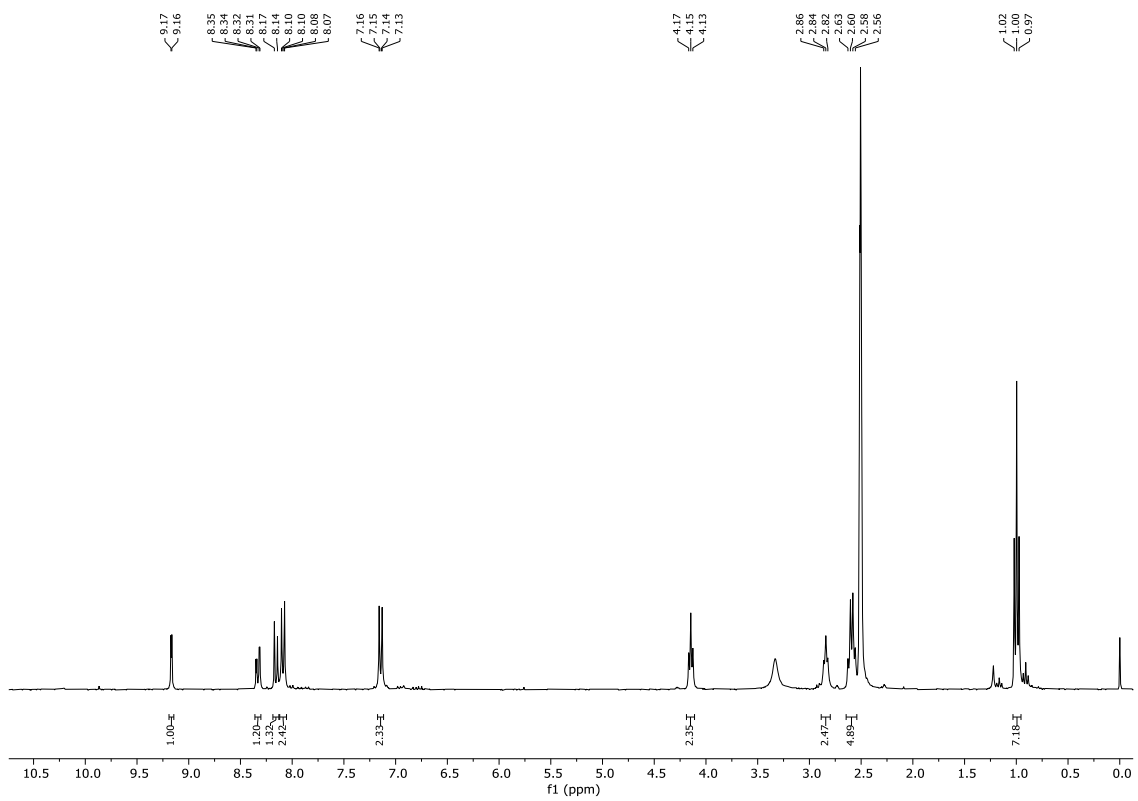
13. Zhu, L., Brassard, C.J., Zhang, X., Guha, P.M., Clark, R.J., On the mechanism of copper(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition, *Chem. Rec.* **16** (2016) 1501–1517.
14. Haider, S., Alam, M.S., Hamid, H., 1, 2, 3-Triazoles: scaffold with medicinal significance, *Inflamm. Cell Signal.* **1** (2014) 1–10.
15. Ardila-Fierro, K.J., Hernández, J.G., Sustainability Assessment of Mechanochemistry by Using the Twelve Principles of Green Chemistry, *ChemSusChem* **14** (2021) 1–19.
16. Cova, C.M., Luque, R., Advances in mechanochemical processes for biomass valorization, *BMC Chem. Eng.* **1** (2019) 1–12.
17. Cocco, G., Delogu, F., Monagheddu, M., Mulas, G., Schiffini, L., Impact characteristics and mechanical alloying processes by ball milling: experimental evaluation and modelling outcomes, *Int. J. NonEquilibrium Process.* **11** (2000) 235–269.
18. Do, J.L., Friščić, T., Mechanochemistry: A force of Synthesis, *ACS Cent. Sci.* **3** (2017) 13–19.
19. Howard, J.L., Cao, Q., Browne, D.L., Mechanochemistry as an emerging tool for molecular synthesis: What can it offer?, *Chem. Sci.* **9** (2018) 3080–3094.
20. Leonardi, M., Villacampa, M., Menéndez, J.C., Multicomponent mechanochemical synthesis, *Chem. Sci.* **8** (2018) 2042–2064.
21. Gupta, A., Synthesis of Novel Nitro Substituted Benzothiazole Derivatives and Antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*, *Research J. Pharm. and Tech.* **12** (2019) 1–6.
22. Lee, J., An, Y., Kwon, J., Kim, K.I., Jeon, R., Optimization and biological evaluation of 2-aminobenzothiazole derivatives as Aurora B kinase inhibitors, *Bioorg. & Med. Chem.* **25** (2017) 3614–3622.
23. Kumari, B., Chauhan, K., Trivedi, J., Jaiswal, V., Kanwar, S., Pokharel, Y.R., Benzothiazole-Based-Bioconjugates with Improved Antimicrobial, Anticancer and Antioxidant Potential, *ChemistrySelect* **3** (2018) 11326–11332.
24. Ravi, N., Keshavayya, J., Mallikarjuna, N.M., Synthesis, Spectral Characterization and Pharmacological Evaluation of Ni(II) Complexes of 6-Nitro-benzothiazole Incorporated Azo Dyes, *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.* **30** (2020) 3781–3796.

25. Liu, N., Zhu, S., Zhang, X., Yin, X., Dong, G., Yao, J., Miao, Z., Zhang, W., Zhang, X., Sheng, C., The Discovery and Characterization of a Novel Scaffold as Potent Hepatitis C Virus Inhibitors, *Chem. Commun. (Cambridge, U. K.)* **52** (2016) 3340–3343.

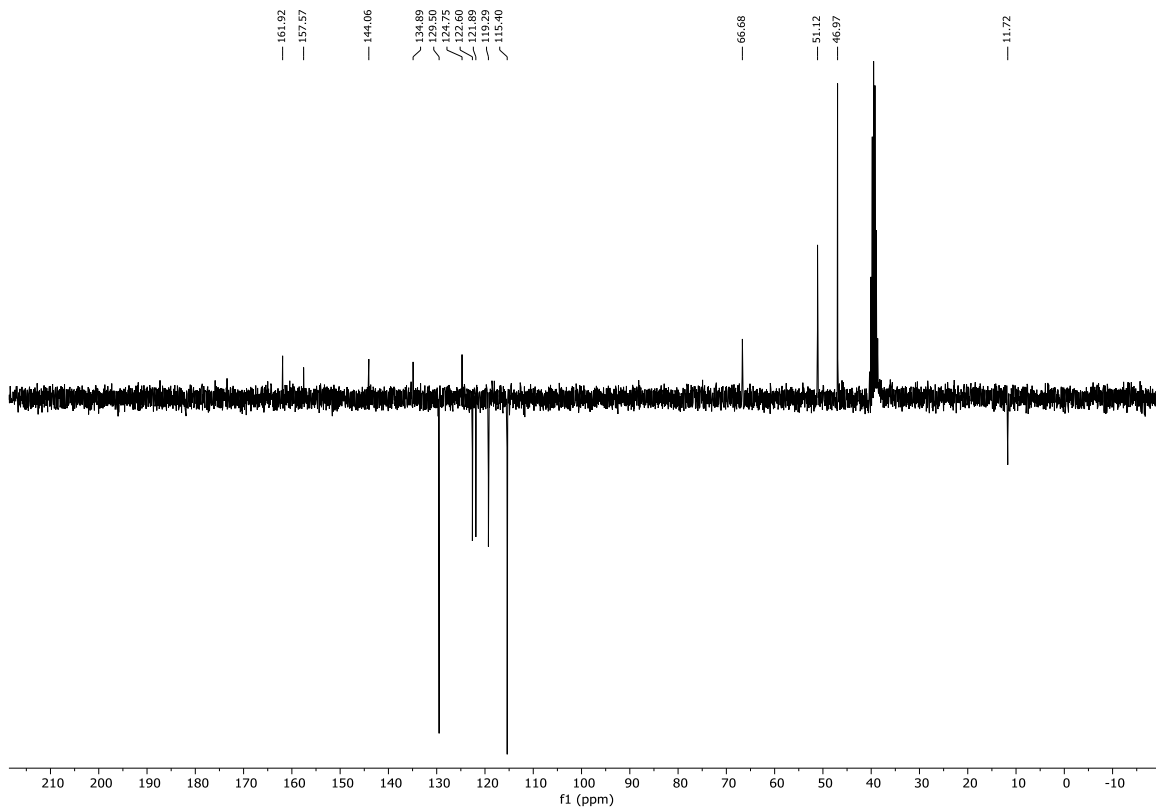
7. PRILOZI

Prilog 1.

a) ^1H NMR spektar spoja **6a**

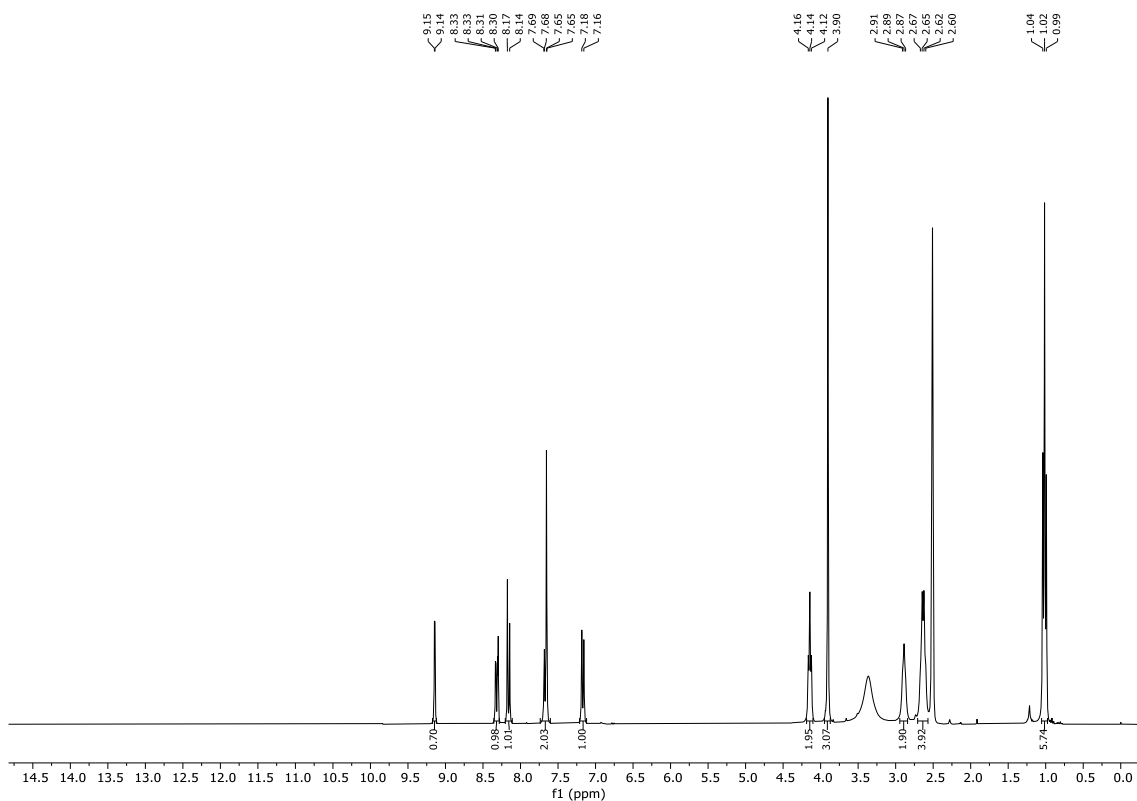


b) ^{13}C NMR spektar spoja **6a**

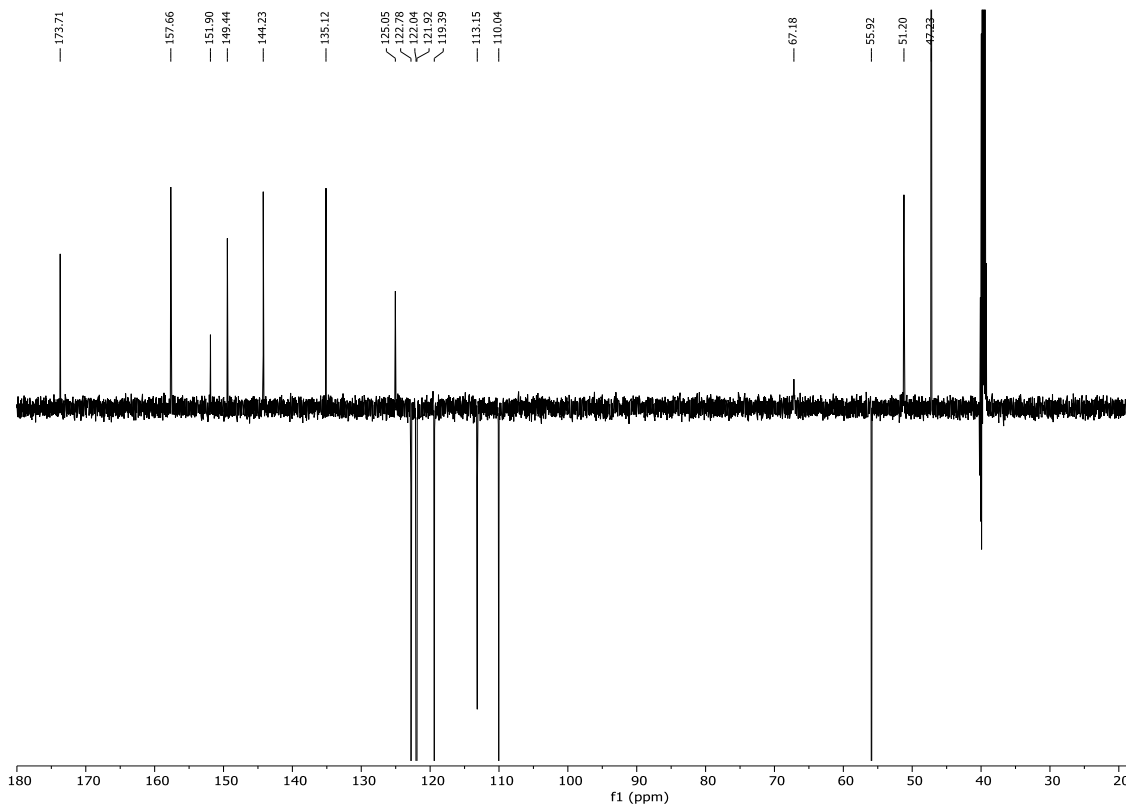


Prilog 2.

a) ^1H NMR spektar spoja **6b**

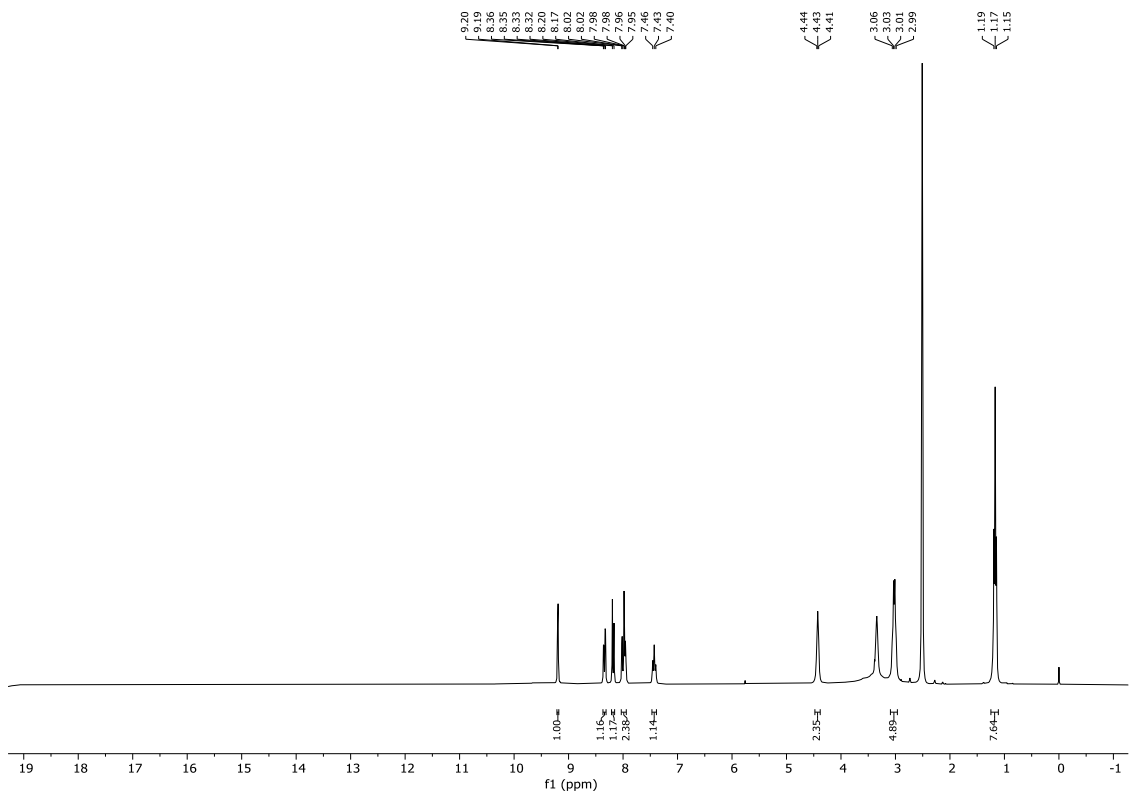


b) ^{13}C NMR spektar spoja **6b**

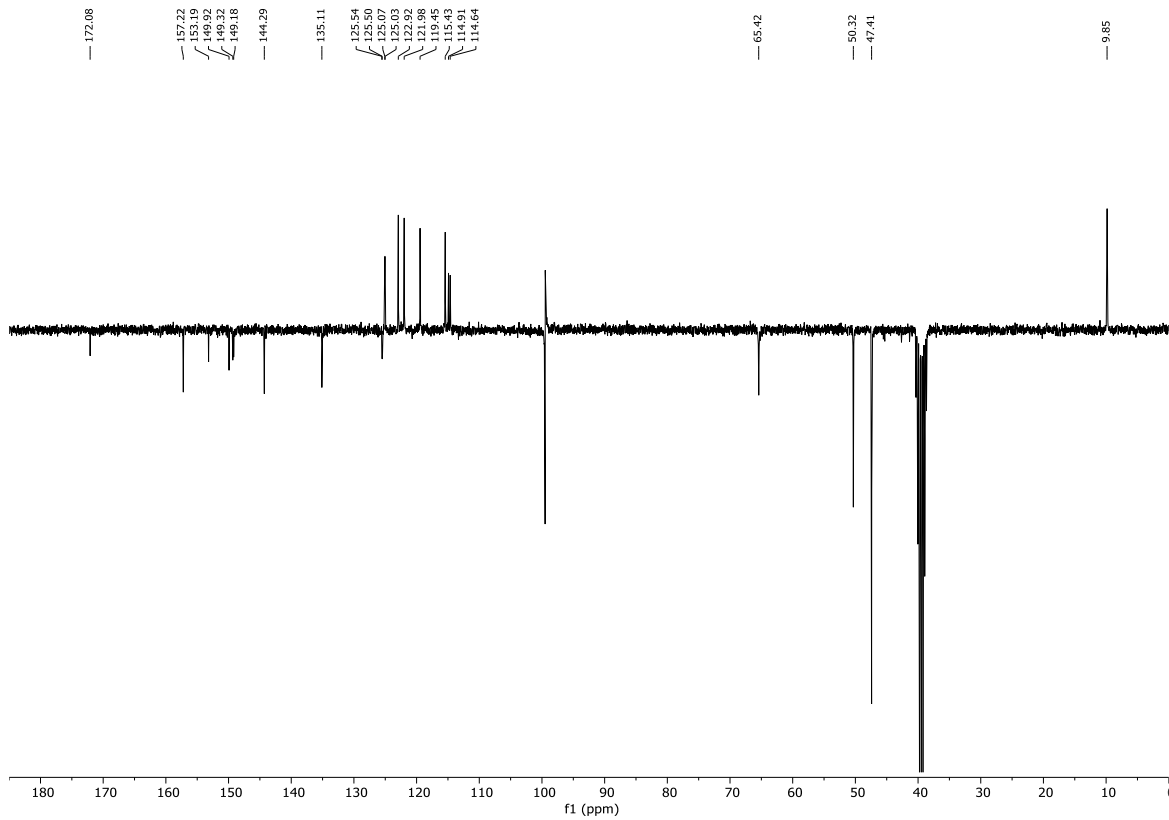


Prilog 3.

a) ^1H NMR spektar spoja **6c**

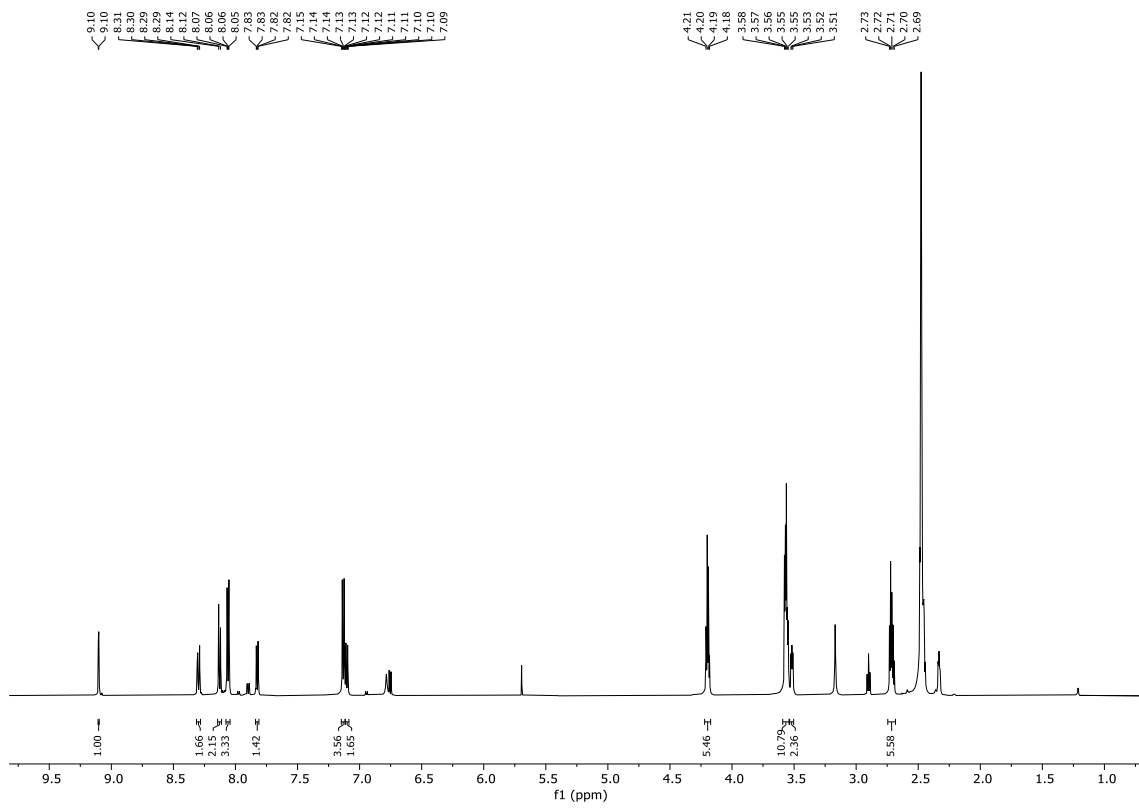


b) ^{13}C NMR spektar spoja **6c**

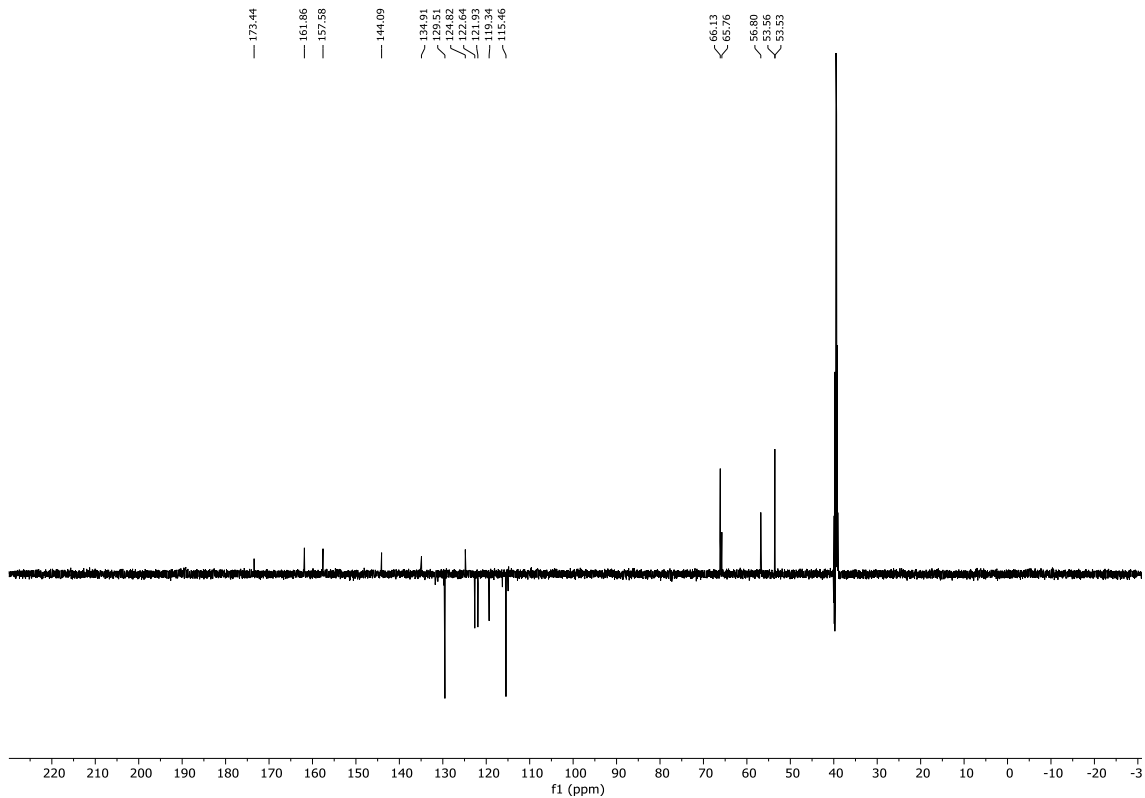


Prilog 4.

a) ^1H NMR spektar spoja **7a**

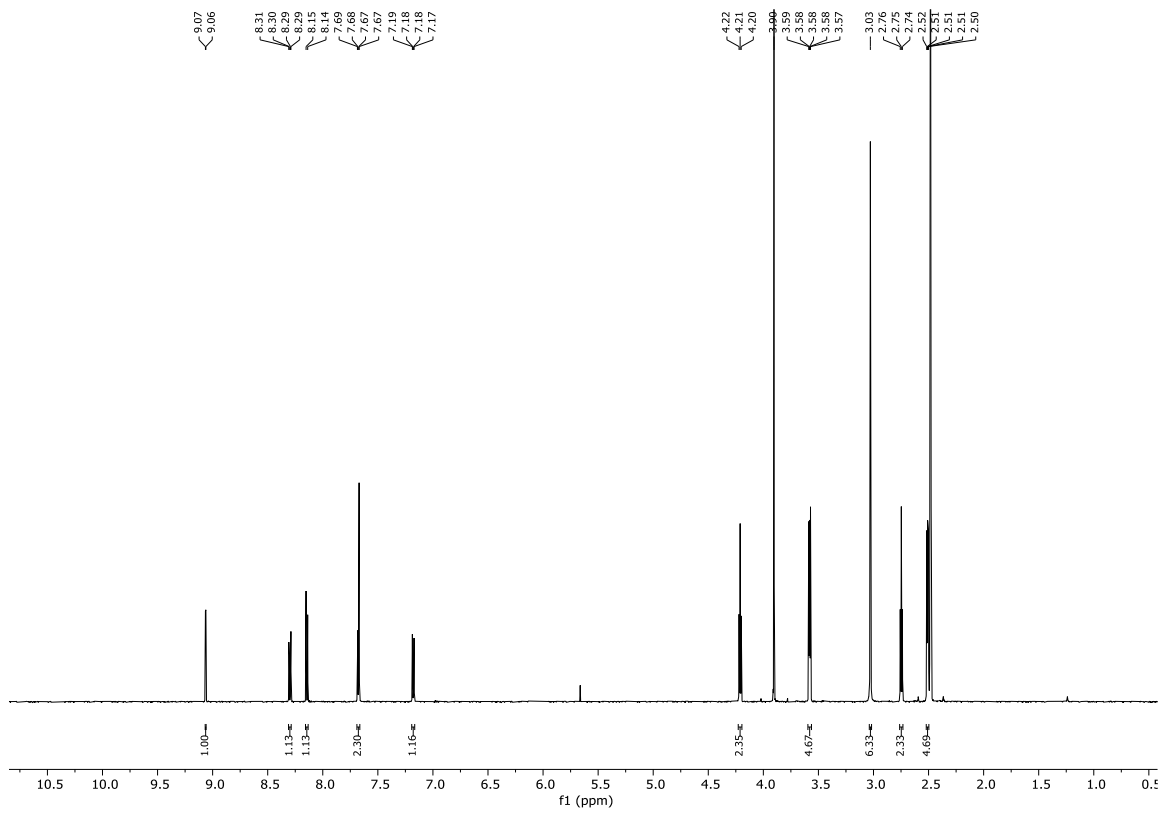


b) ^{13}C NMR spektar spoja **7a**

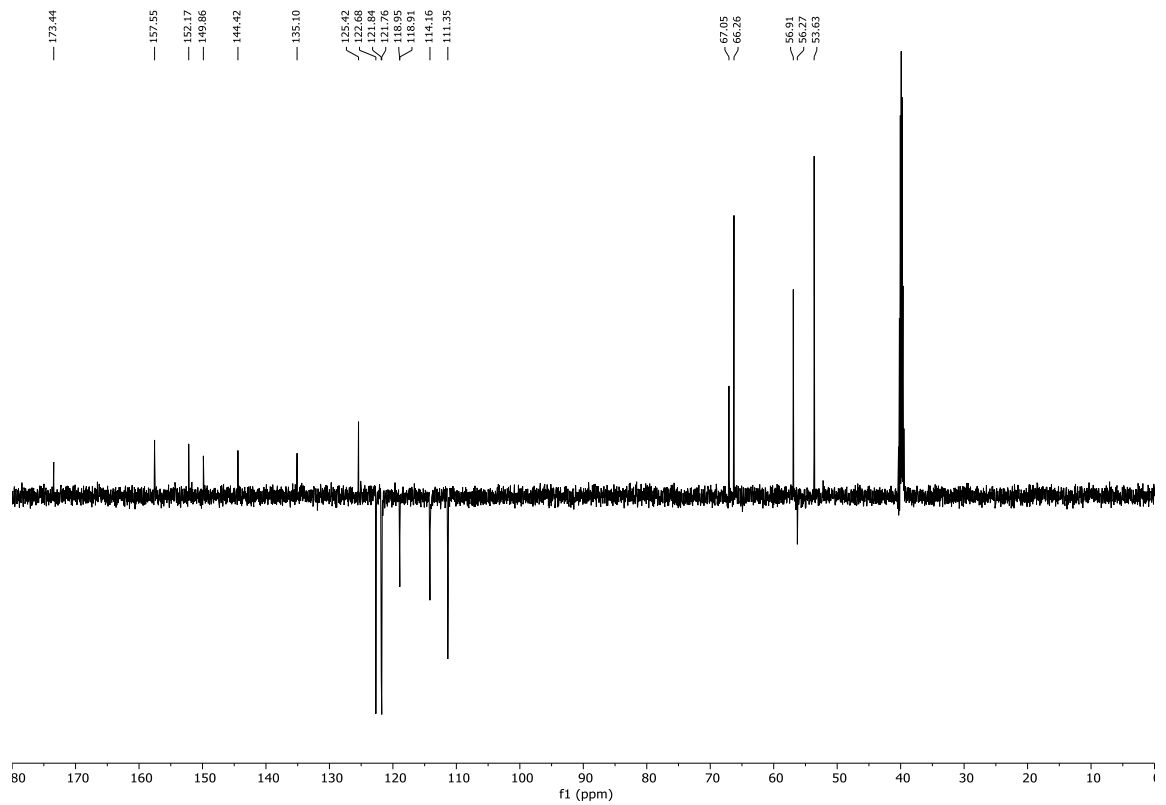


Prilog 5.

a) ^1H NMR spektar spoja **7b**

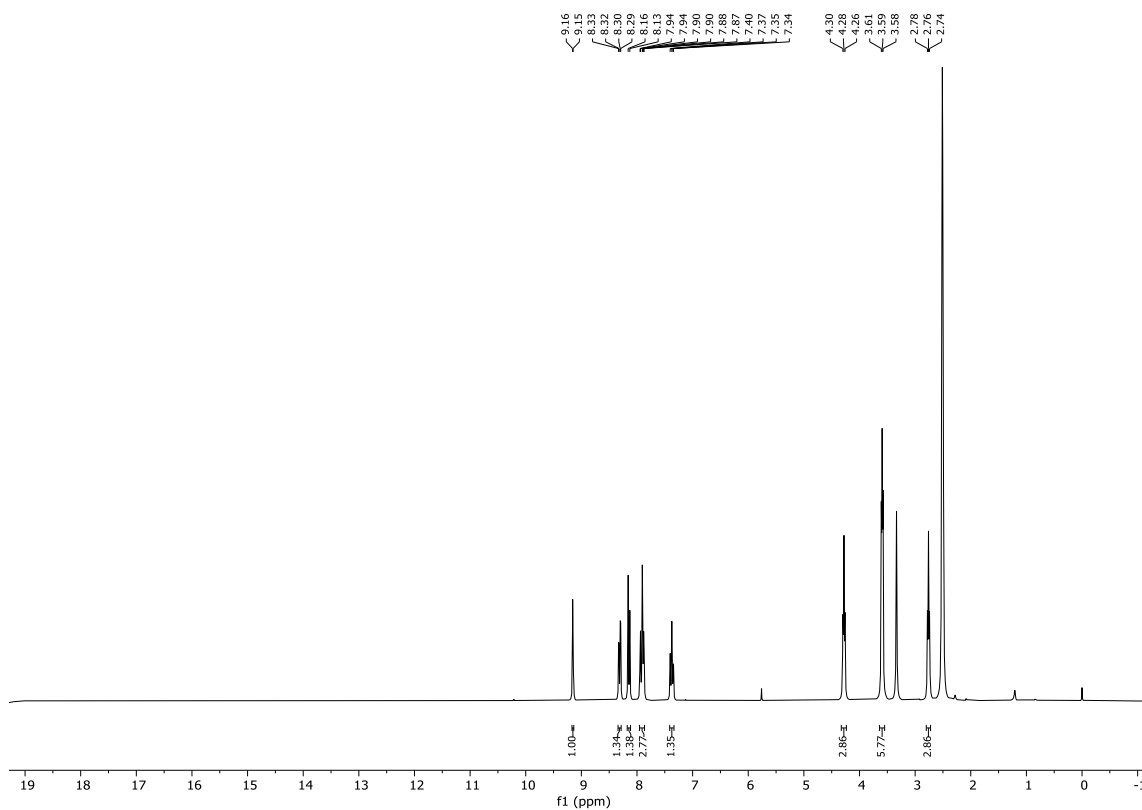


b) ^{13}C NMR spektar spoja **7b**

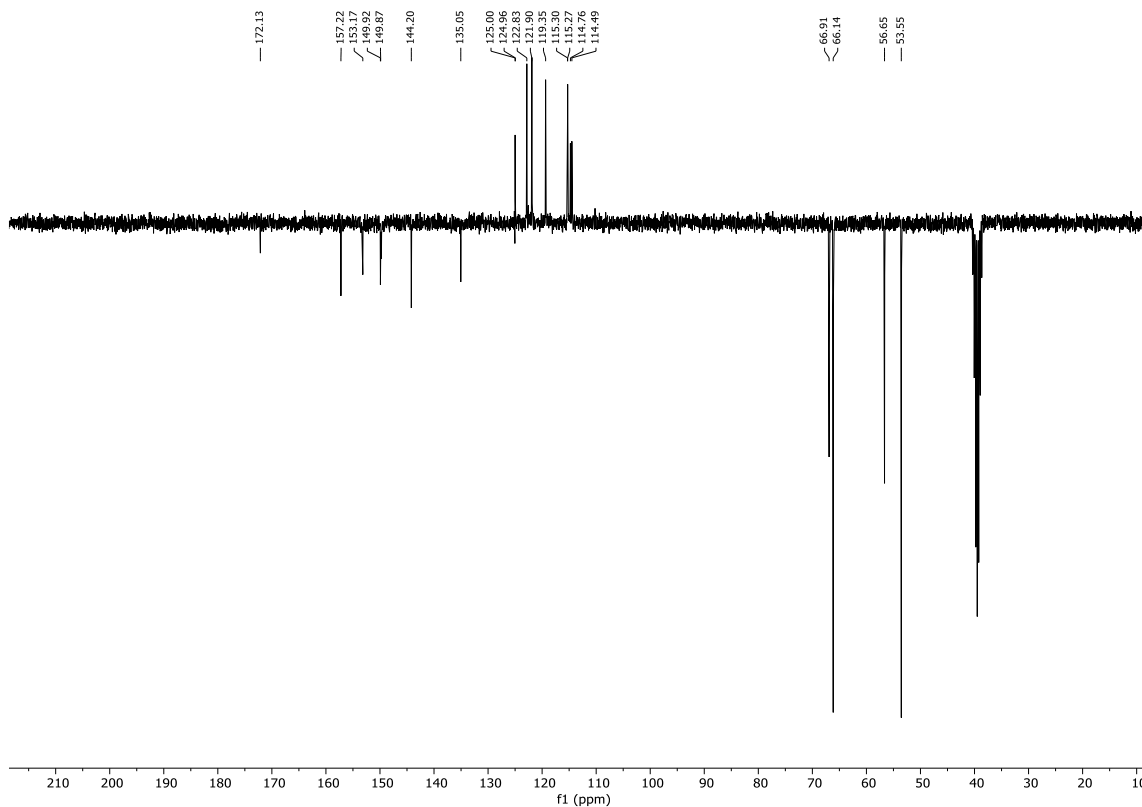


Prilog 6.

a) ^1H NMR spektar spoja **7c**

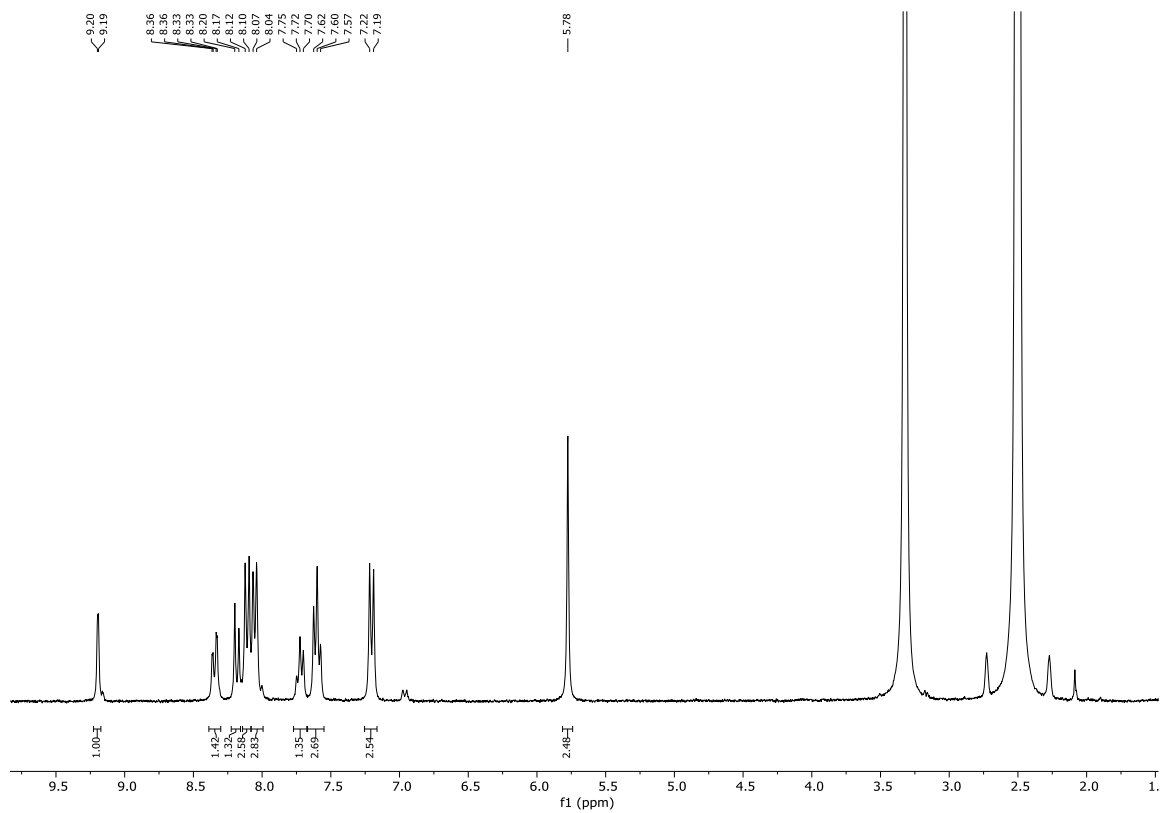


b) ^{13}C NMR spektar spoja **7c**

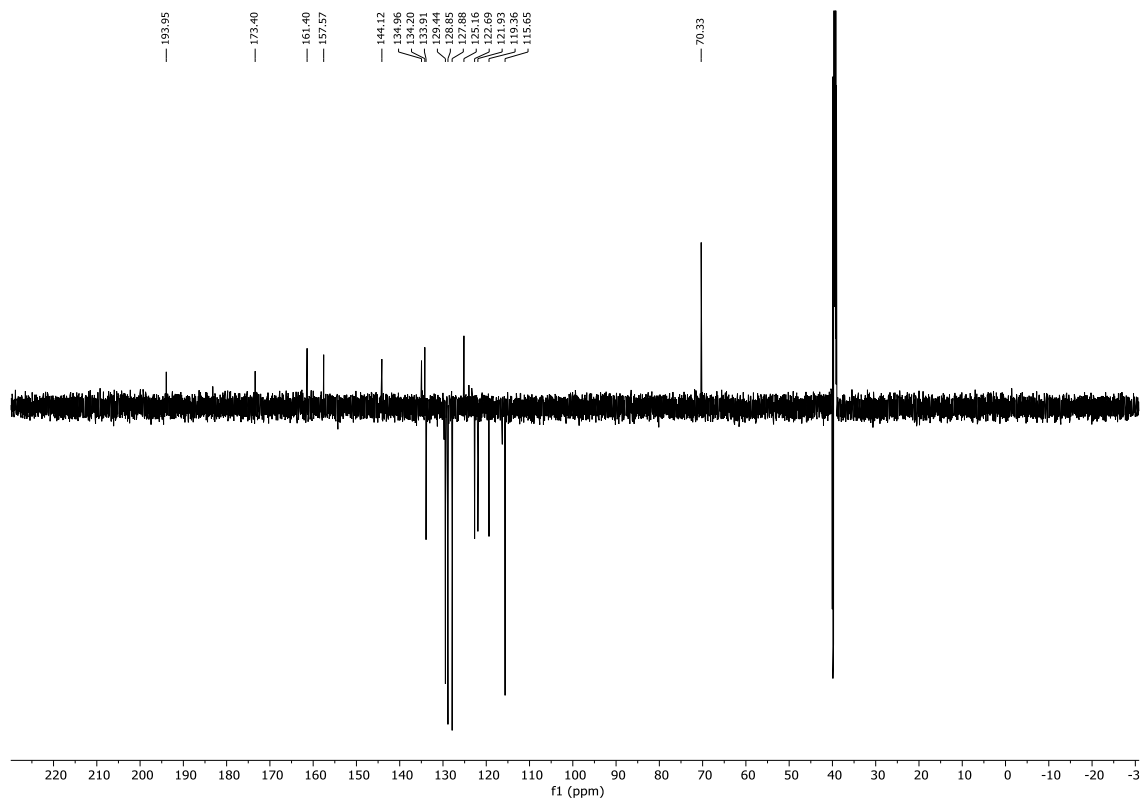


Prilog 7.

a) ^1H NMR spektar spoja **8a**

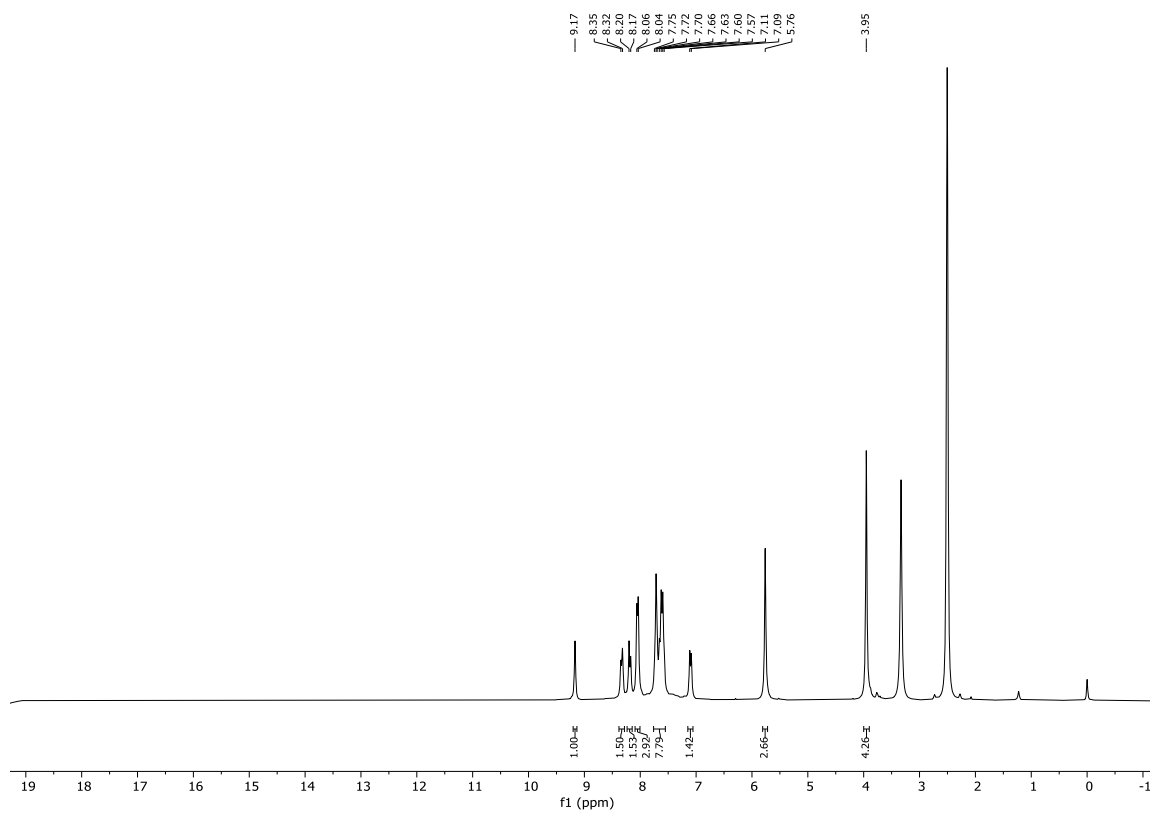


b) ^{13}C NMR spektar spoja **8a**

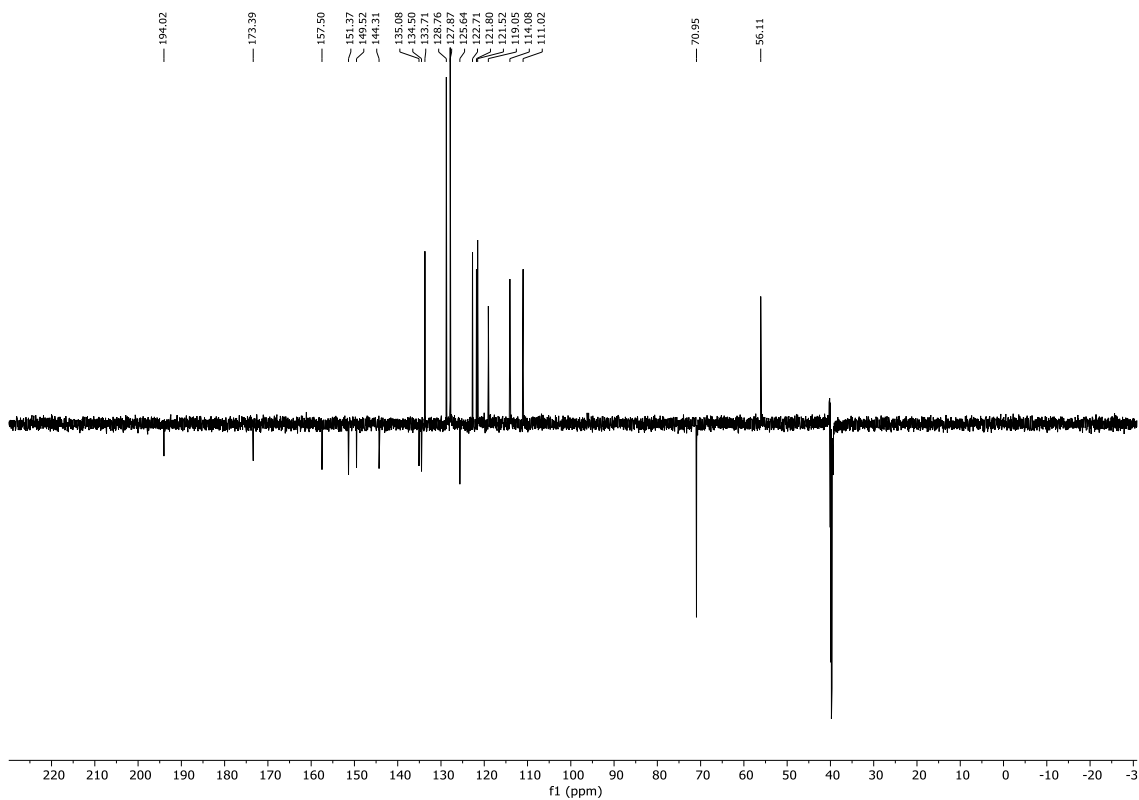


Prilog 8.

a) ^1H NMR spektar spoja **8b**

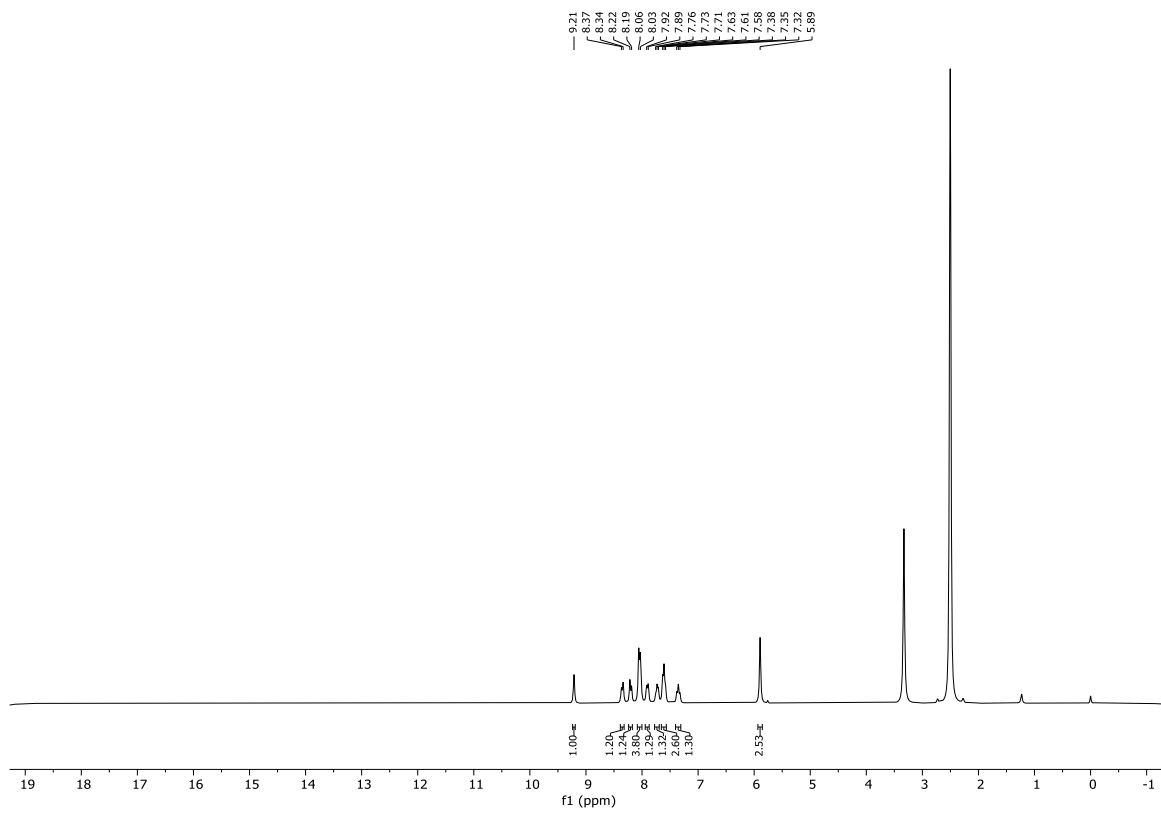


b) ^{13}C NMR spektar spoja **8b**

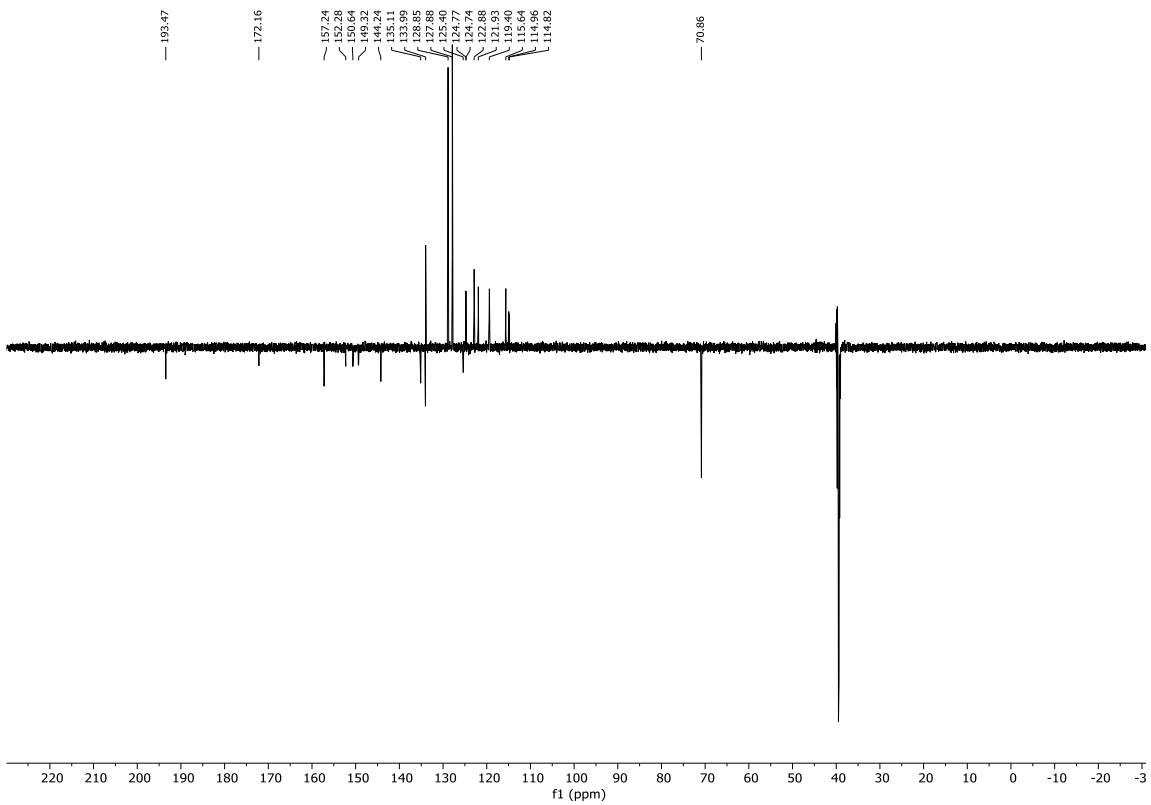


Prilog 9.

a) ^1H NMR spektar spoja **8c**

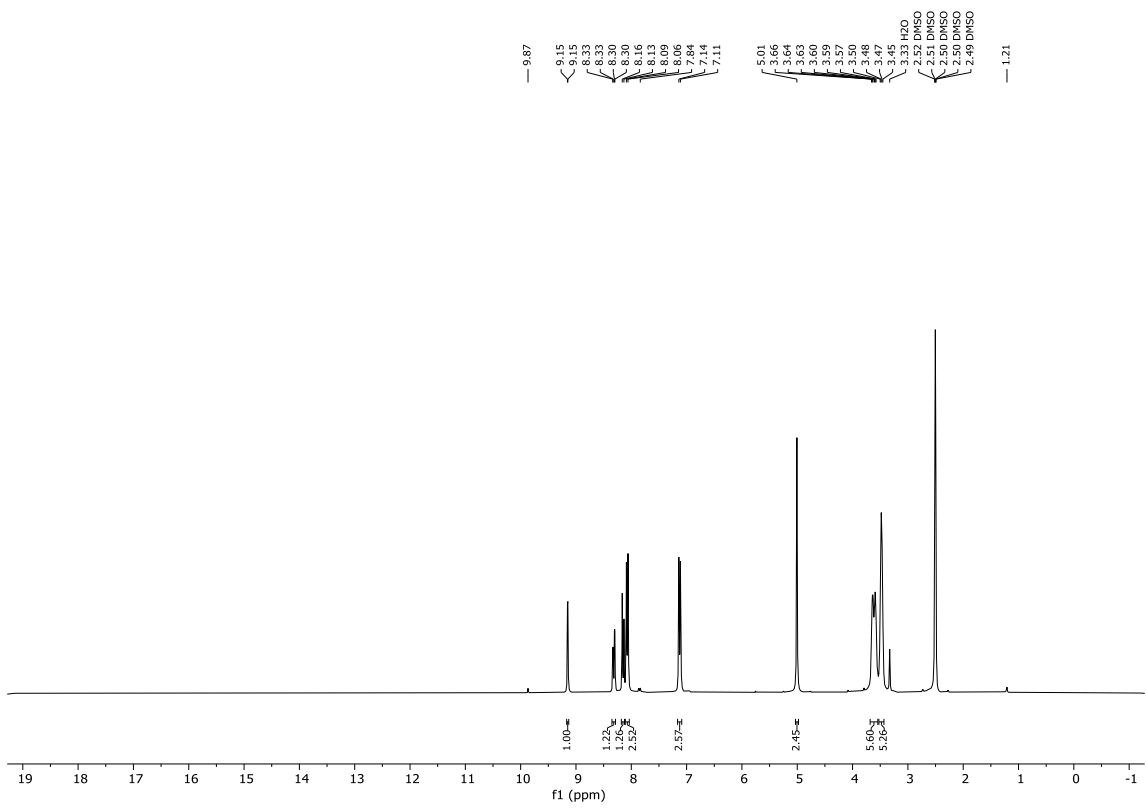


b) ^{13}C NMR spektar spoja **8c**

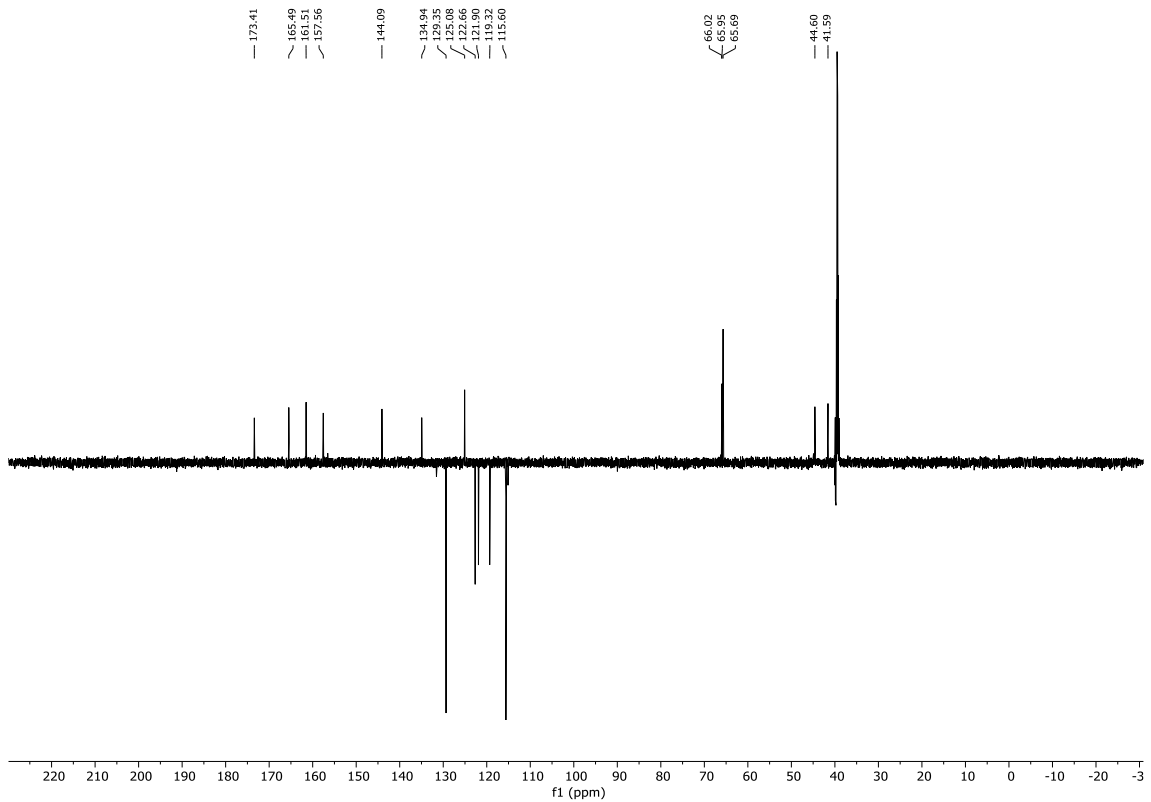


Prilog 10.

a) ^1H NMR spektar spoja **9a**

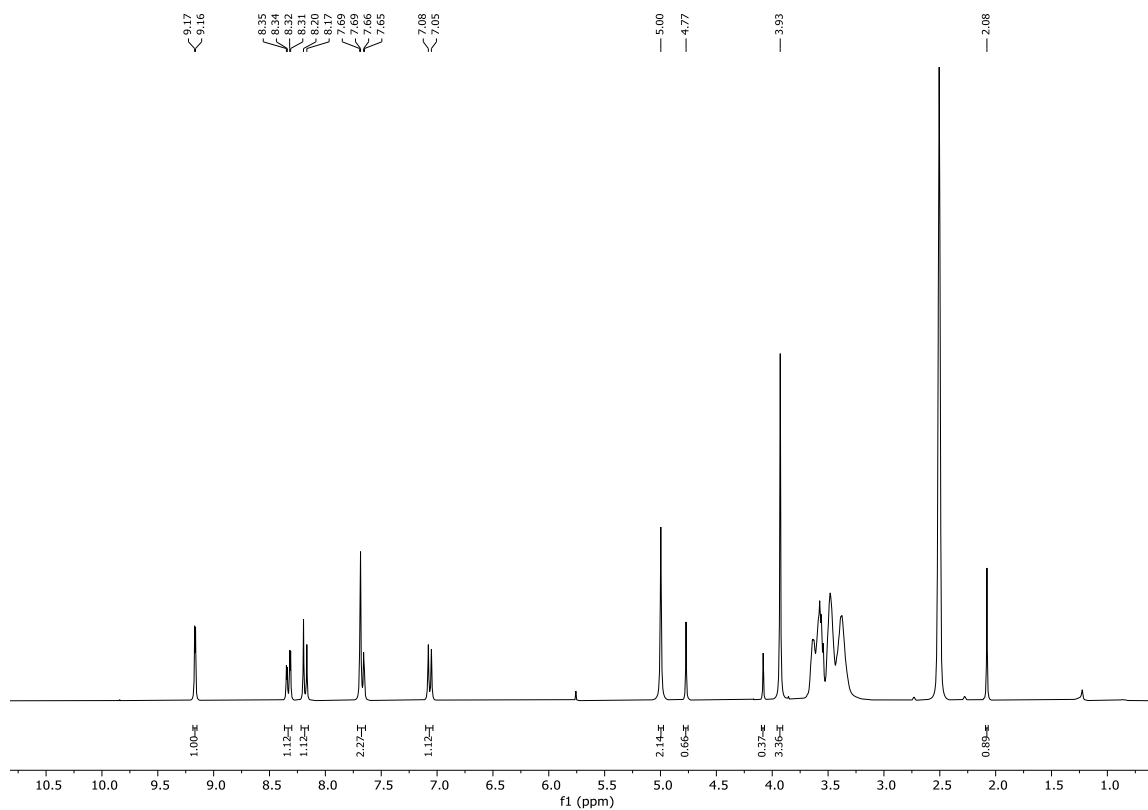


b) ^{13}C NMR spektar spoja **9a**

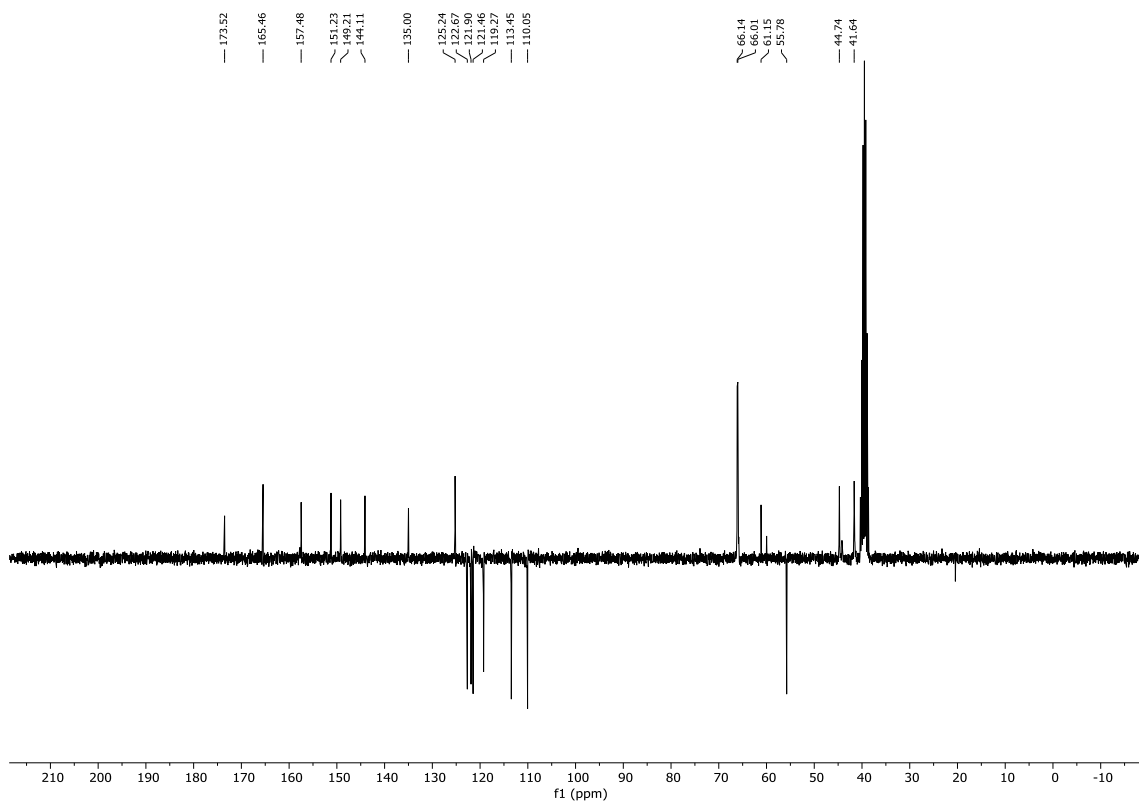


Prilog 11.

a) ^1H NMR spektar spoja **9b**

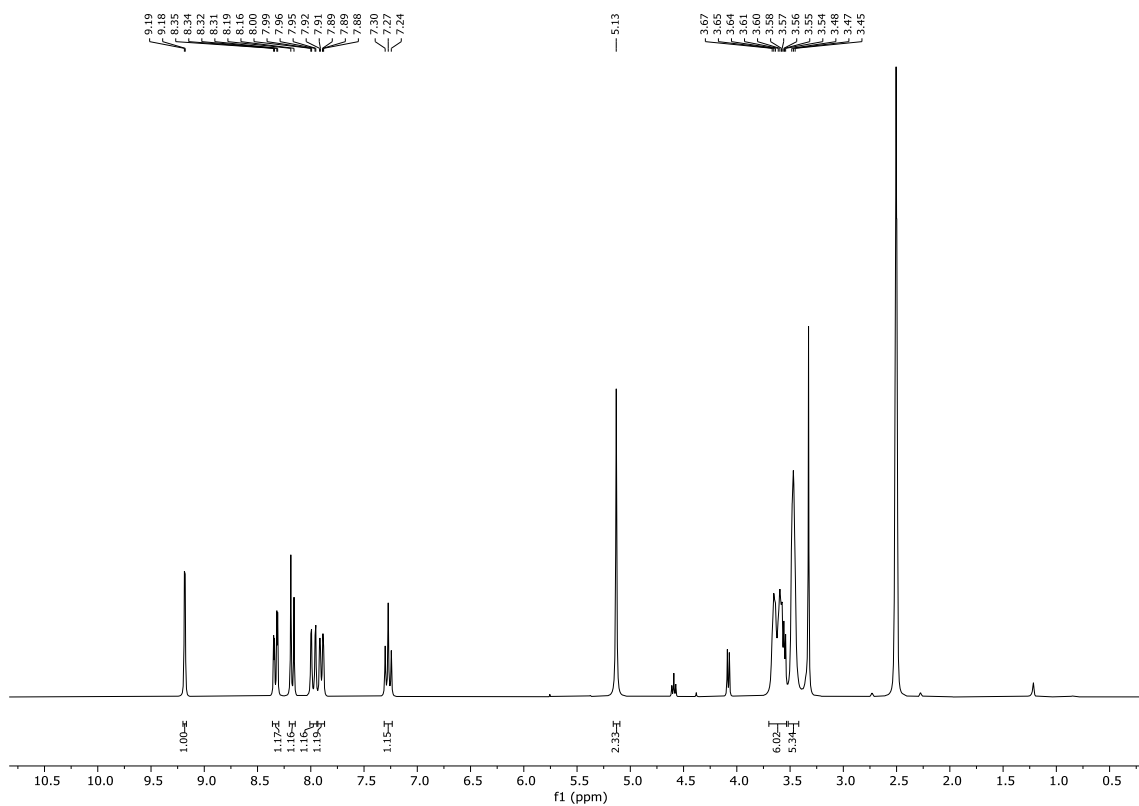


b) ^{13}C NMR spektar spoja **9b**

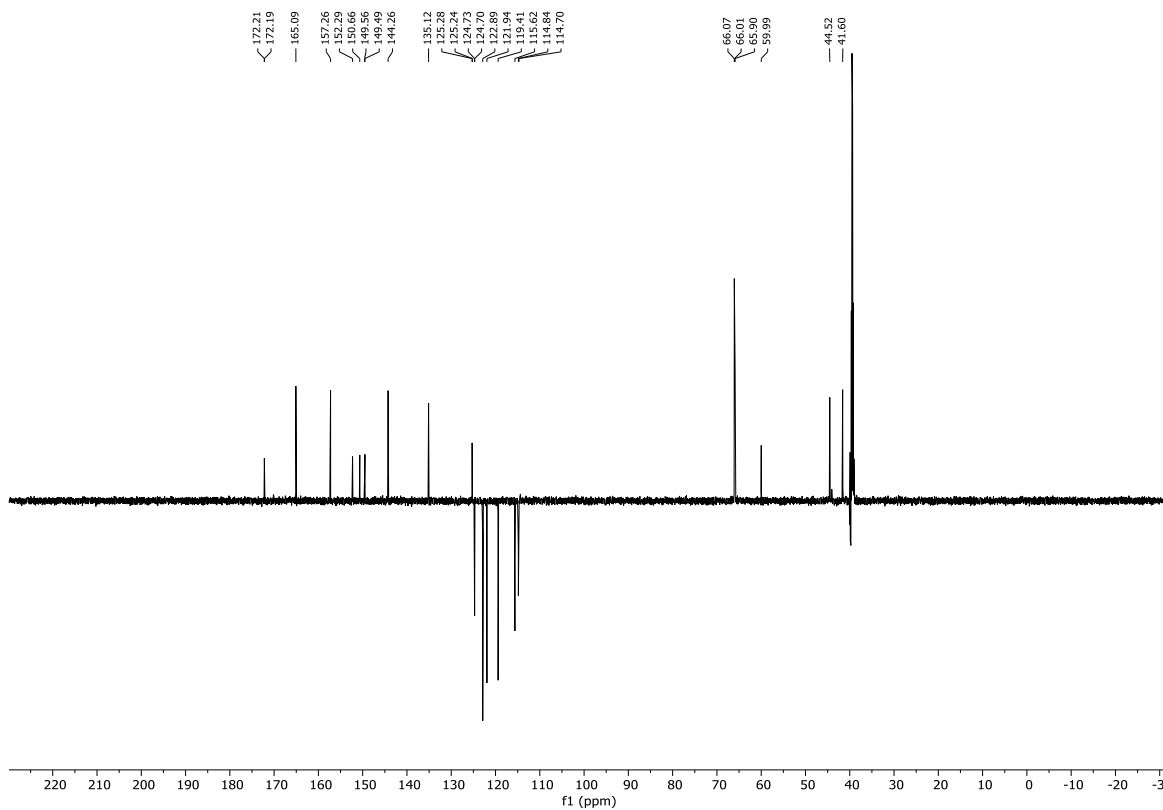


Prilog 12.

a) ^1H NMR spektar spoja **9c**

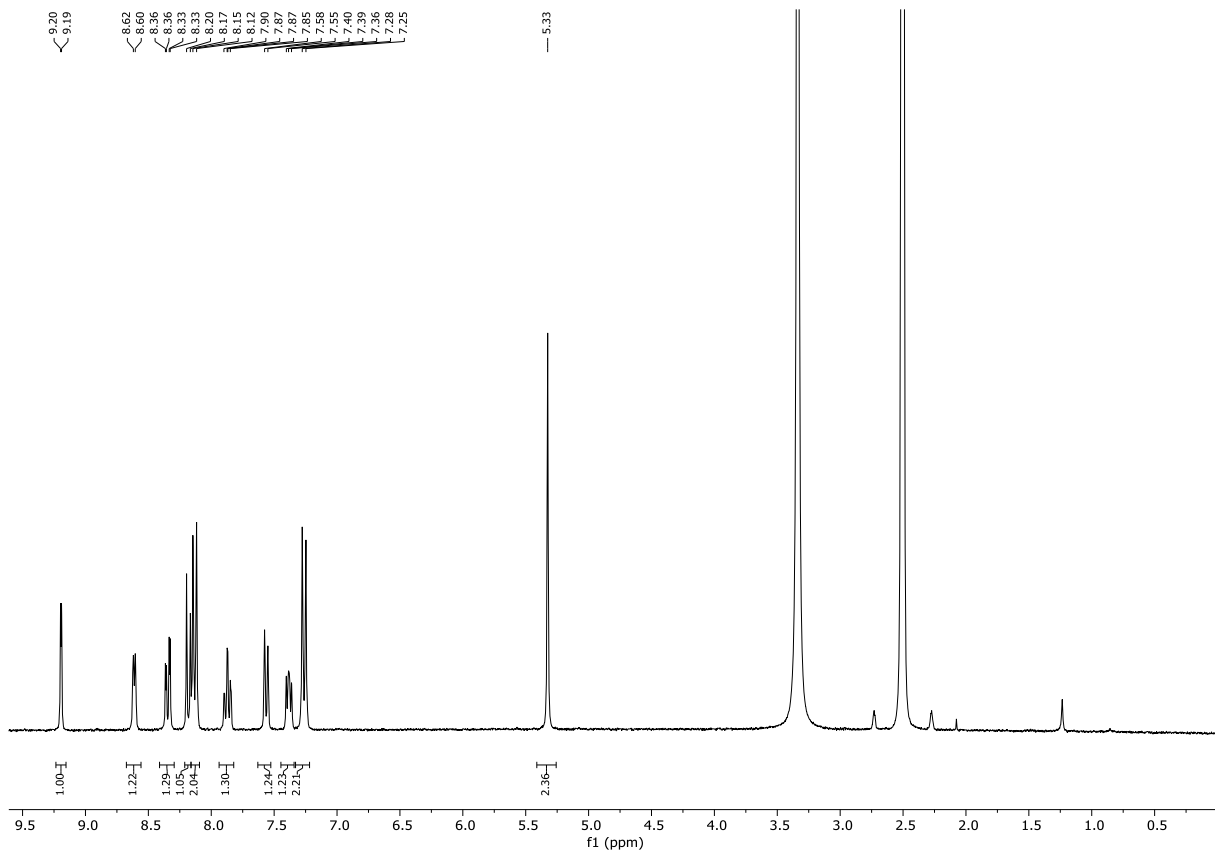


b) ^{13}C NMR spektar spoja **9c**

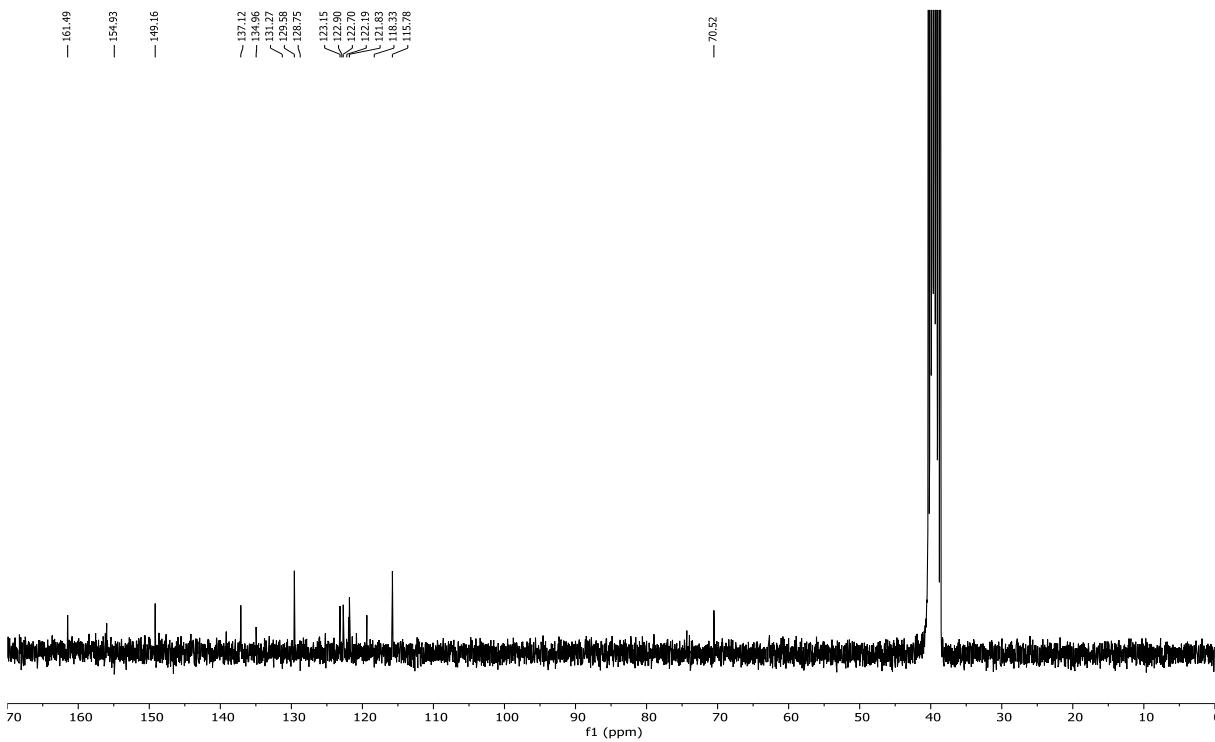


Prilog 13.

a) ^1H NMR spektar 10a

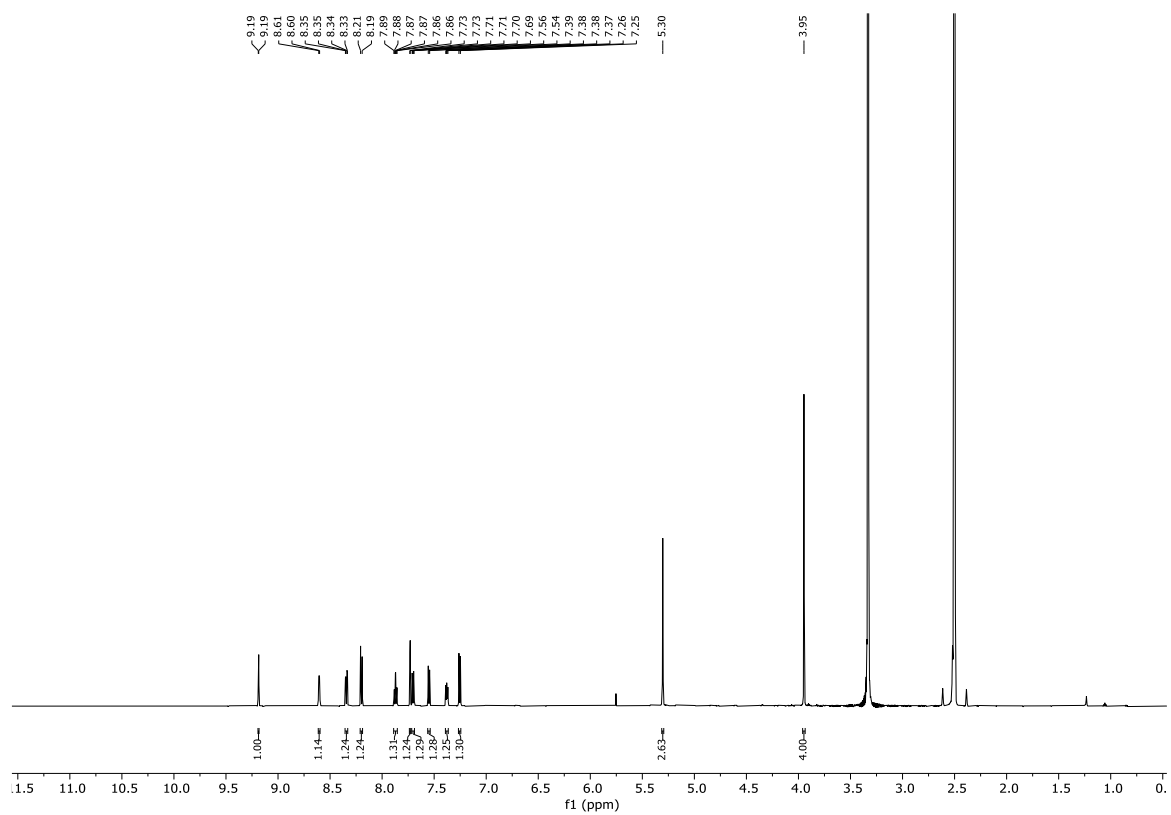


b) ^{13}C NMR spektar spoja 10a

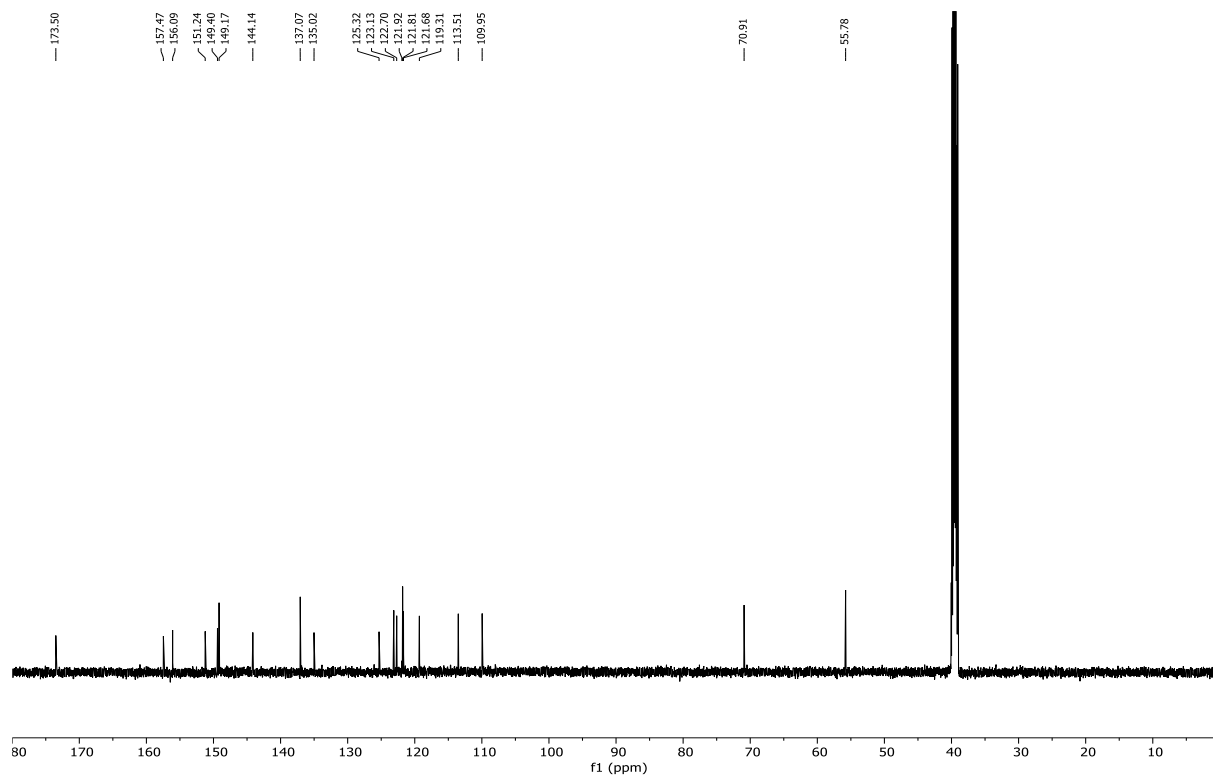


Prilog 14.

a) ^1H NMR spektar spoja 10b

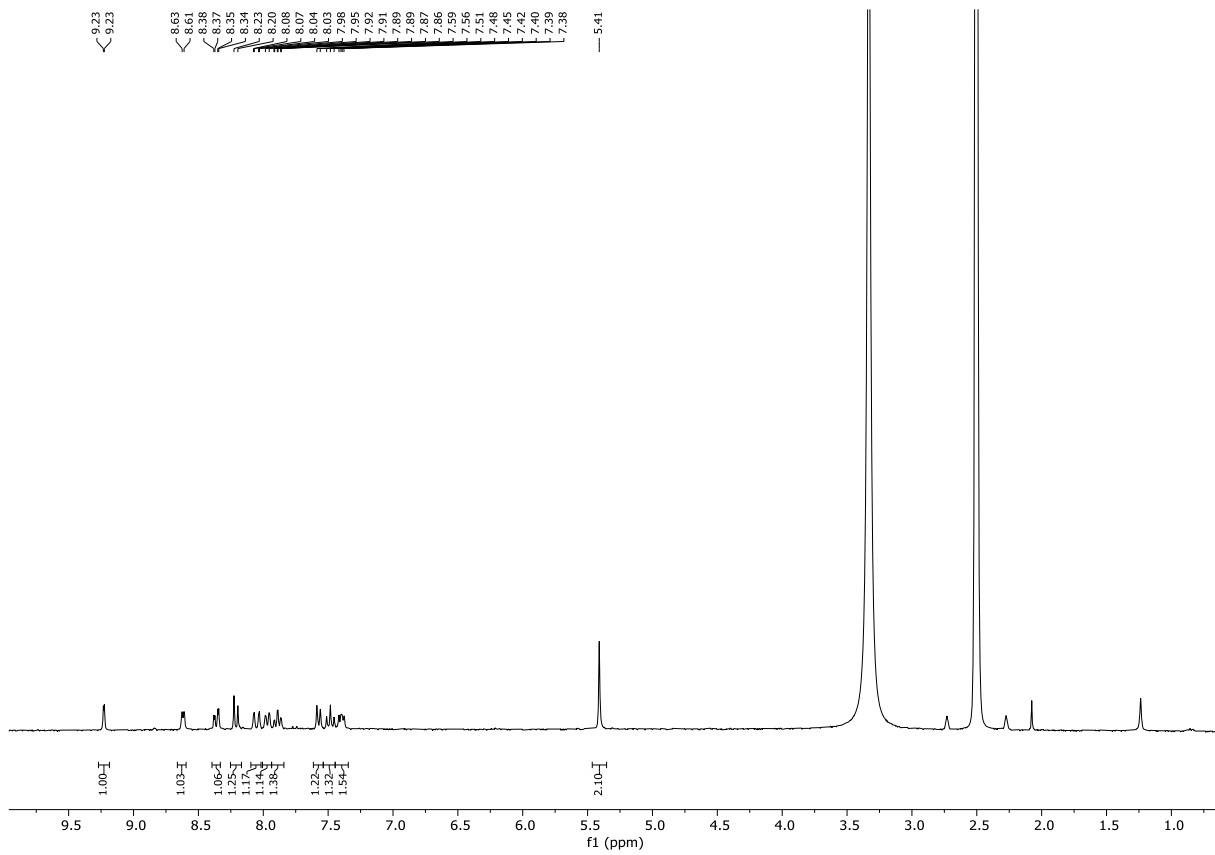


b) ^{13}C NMR spektar spoja 10b

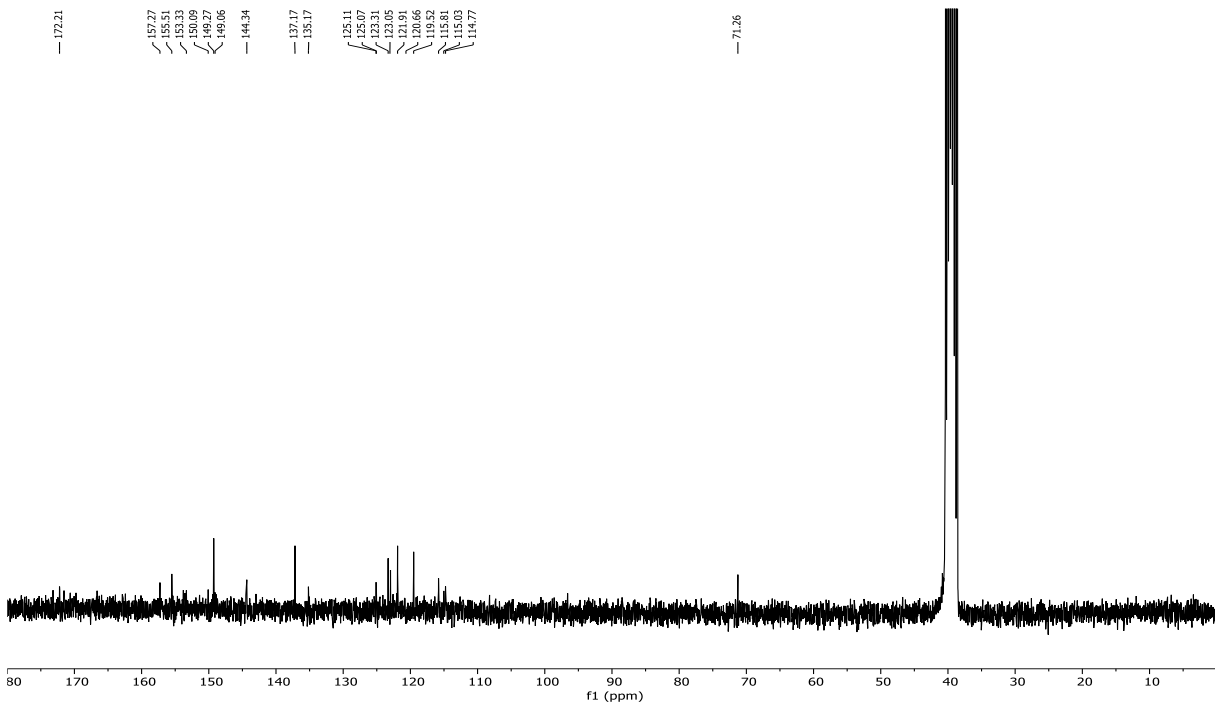


Prilog 15.

a) ^1H NMR spektar spoja 10c



b) ^{13}C NMR spektar spoja 10c



Životopis

Monika Petanjko ██████████ Završila je osnovnu školu Viktora Kovačića u Humu na Sutli 2014. godine. Iste godine upisala je opću gimnaziju u srednjoj školi u Pregradi gdje je maturirala 2018. godine. Nakon završenog srednjoškolskog obrazovanja upisala je studij primijenjene kemije na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu. Stručnu praksu odradila je u tvornici stakla Vetropack Straža d.d. Hum na Sutli. Članica je Studentske sekcije Hrvatskog društva kemijskih inženjera i tehnologa te piše članke za znanstveno – popularni časopis Reaktor ideja. Također, zajedno s kolegicom s fakulteta sudjelovala je na XIV. Susretu mladih kemijskih inženjera s posterskim priopćenjem rada Sinteza novih nitro i cijano supstituiranih benzotiazola primjenom zelene kemije.