

Sinteza 2,6-disupstituiranih derivata benzotiazola primjenom mehanokemije

Posavec, Antea

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:149:664813>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-04**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Antea Posavec

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, srpanj 2022.

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

Kandidatkinja Antea Posavec

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

Antea Posavec

SINTEZA 2,6-DISUPSTITUIRANIH DERIVATA BENZOTIAZOLA
PRIMJENOM MEHANOKEMIJE

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić
Članovi povjerenstva: 1. prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić
2. prof. dr. sc. Marijana Hranjec
3. prof. dr. sc. Danijela Ašperger

Zagreb, srpanj 2022.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Silvane Raić-Malić.

Zahvaljujem svojoj mentorici, prof. dr. sc. Silvani Raić-Malić, na pruženoj mogućnosti izrade završnog rada, predloženoj temi te na svom znanju prenesenom za vrijeme trajanja preddiplomskog studija.

Veliko hvala doktorandici Valentini Rep, mag. appl. chem., na uloženom vremenu, svim upućenim savjetima kao i znanju i vještinama koje sam uz nju usvojila tijekom izvedbe eksperimentalnog dijela ovog rada.

Svim članovima Zavoda za organsku kemiju zahvaljujem na susretljivosti i ugodnoj radnoj atmosferi.

SAŽETAK

Sinteza 2,6-disupstituiranih derivata benzotiazola primjenom mehanokemije

U ovom radu opisana je sinteza novih 2-aril-6-cijanobenzotiazolnih derivata kao potencijalnih biološki aktivnih molekula. Za pripravu ciljanih spojeva **5a–9a**, **5b–9b**, **5c–9c** korištena je ekološki prihvatljiva mehanokemijska sinteza.

Potrebni intermedijeri priređeni su višestupnjevitom sintezom. Sinteza fenolnih derivata benzotiazola (**4a–4c**) provedena je reakcijom kondenzacije bis(2-amino-5-cijanofenil)disulfida **3** s odgovarajućim benzaldehidima u ekološki prihvatljivom otapalu glicerolu. Bis(2-amino-5-cijanofenil)disulfid **3** priređen je iz 4-amino-3-tiocijanatobenzonitrila **2** reakcijom reduktivne dimerizacije s natrijevim sulfidom u etanolu i vodi, dok je 4-amino-3-tiocijanatobenzonitril **2** priređen reakcijom supstitucije iz 4-aminobenzonitrila **1** i kalijeva tiocijanata uz brom u ledenoj octenoj kiselini. Ciljani 2,6-disupstituirani derivati benzotiazola (**5a–9a**, **5b–9b**, **5c–9c**) priređeni su *O*-alkiliranjem fenolnih derivata benzotiazola (**4a–4c**) s odgovarajućim alkil-halogenidima.

Strukture novosintetiziranih derivata potvrđene su spektroskopijom ^1H i ^{13}C NMR.

Ključne riječi: cijanobenzotiazoli, organska sinteza, mehanokemija, ^1H NMR spektroskopija, ^{13}C NMR spektroskopija

SUMMARY

Synthesis of 2,6-disubstituted benzothiazole derivatives using mechanochemistry

In this work synthesis of novel 2-aryl-6-cyanobenzothiazoles as potential bioactive molecules is described. For the preparation of target compounds **5a–9a**, **5b–9b**, **5c–9c** environmentally friendly mechanochemical synthesis was used.

Required intermediates were prepared by multistep synthetic pathway. Phenolic benzothiazole derivatives (**4a–4c**) were obtained by condensation of bis(2-amino-5-cyanophenyl)disulphide **3** with corresponding benzaldehydes in green solvent glycerol. Bis(2-amino-5-cyanophenyl)disulphide **3** was prepared by base-promoted reductive dimerization of 4-amino-3-thiocyanatobenzonitrile **2** with sodium sulphide in ethanol / water, while 4-amino-3-thiocyanatobenzonitrile **2** was prepared from 4-aminobenzonitrile **1** and potassium thiocyanate with bromine in acetic acid *via* substitution reaction. Targeted 2,6-disubstituted benzothiazole derivatives (**5a–9a**, **5b–9b**, **5c–9c**) were prepared through *O*-alkylation of phenolic benzothiazole derivatives (**4a–4c**) with corresponding alkyl-halogenides.

The structures of all newly synthesized compounds were confirmed by ¹H NMR and ¹³C NMR spectroscopy.

Key words: cyanobenzothiazoles, organic synthesis, mechanochemistry, ¹H NMR spectroscopy, ¹³C NMR spectroscopy

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO.....	3
2.1 Mehanokemija	4
2.2. Benzotiazol	8
2.3. Biološki aktivni derivati benzotiazola	11
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	18
3.1. Opće napomene	19
3.2. Sinteza 2-aril-6-cijanobenzotiazolnih analoga 5a–9a , 5b–9b i 5c–9c	20
3.2.1. Sinteza 4-amino-3-tiocijanatobenzonitrila (2)	21
3.2.2. Sinteza bis(2-amino-5-cijanofenil)disulfida (3).....	21
3.2.3. Opći postupak sinteze fenolnih derivata benzotiazola (4a–4c)	21
3.2.4. Opći postupak sinteze <i>O</i> -alkiliranih derivata benzotiazola (5a–9a , 5b–9b , 5c–9c)	23
4. REZULTATI I RASPRAVA	29
4.1. Cilj rada	30
4.2. Sinteza odgovarajućih prekursora	31
4.3. Sinteza ciljanih spojeva	34
5. ZAKLJUČAK	38
6. LITERATURA.....	40
7. PRILOZI.....	43

1. UVOD

U današnje vrijeme, prepoznata je važnost primjene metoda zelene kemije s ciljem postizanja sigurnijih, efikasnijih i ekološki prihvatljivijih sintetskih postupaka. Mehanokemijska sinteza, kao jedna od metoda zelene kemije, prerasla je u široko primjenjivu alternativu klasičnim kemijskim procesima u otopini. Ona ne samo da eliminira potrebu za korištenjem otapala kao najvećih onečišćivala, već i omogućuje provođenje u otopini otežanih ili čak neizvedivih procesa i to uz minimalni energetska utrošak.¹

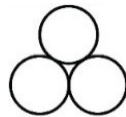
Heterociklički spojevi najbrojnija su klasa organskih spojeva. Od velikog su značaja u području medicinske kemije što potvrđuje činjenica da čak preko 85 % biološki aktivnih molekula u svojoj strukturi sadrži heterocikličku podjedinicu. Najzastupljeniji su dušikovi heterocikli i heterocikli koji uz dušik u prstenu imaju i atom sumpora ili kisika.²

Benzotiazol je aromatski heterociklički spoj sačinjen od peteročlanog tiazolnog prstena fuzioniranog na benzensku jezgru. Ovaj biciklički sustav sastavna je komponenta mnogih morskih i kopnenih prirodnih spojeva kao i brojnih farmaceutskih proizvoda s raznolikim biološkim svojstvima. Derivati benzotiazola posjeduju širok spektar farmakoloških aktivnosti poput antitumorskog, antimikrobnog, antibakterijskog, antivirusnog, diuretskog i protuupalnog djelovanja.³ Iz tog razloga, supstitucija na jezgri benzotiazola vrlo je važna u procesu otkrića novih lijekova. Benzotiazoli supstituirani na položajima 2 i 6 pokazali su se ključnima za poticanje antiproliferativnog i antiparazitskog djelovanja, posebice 2-arilni analozi.⁴ Također, nitrilna skupina svestrana je i jedinstvena funkcionalna skupina. Nalazi se u mnogim farmaceutskim sredstvima i prirodnim proizvodima, a služi i kao važan intermedijer u organskoj sintezi za različite transformacije funkcionalnih skupina.^{5,6}

2. OPĆI DIO

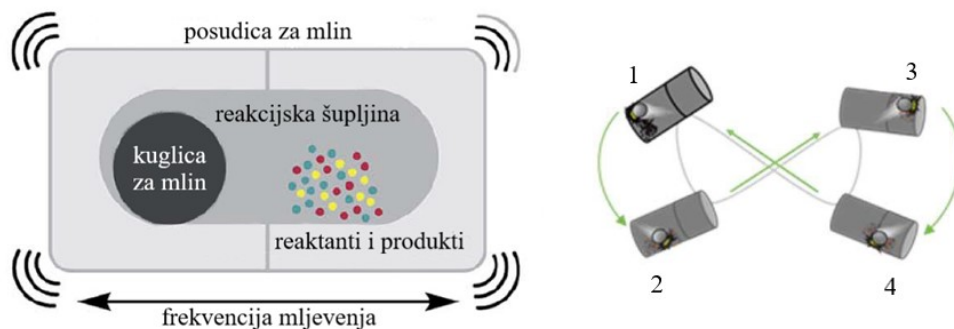
2.1 Mehanokemija

Mehanokemijska reakcija definirana je kao reakcija inducirana apsorpcijom mehaničke energije. Reaktanti se mehanički aktiviraju ručnim mljevenjem u tarioniku s tučkom ili u danas sve češće upotrebljivanim mehanokemijskim mlinovima uz pomoć kuglica za mljevenje.⁷



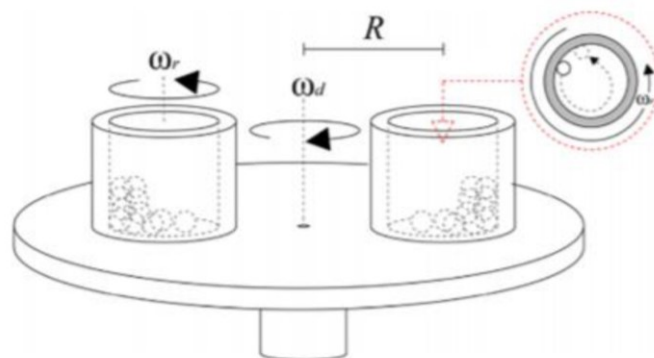
Slika 1. Simbolički prikaz mehanokemijske reakcije

Mehanokemijski mlinovi s najširokom uporabom su vibracijski i planetarni mlinovi. U vibracijski mlin horizontalno se postavljaju posudice s reaktantima i jednom ili više kuglica za mljevenje. Posudice se u mlinu gibaju kompleksnom putanjom, kombinacijom linearne vibracije s rotacijom, kako je prikazano na Slici 2. Pri takvom gibanju, umetnute kuglice sudaraju se međusobno i sa stijenkama posudice i na taj način dovode reaktantima potrebnu mehaničku energiju.⁷



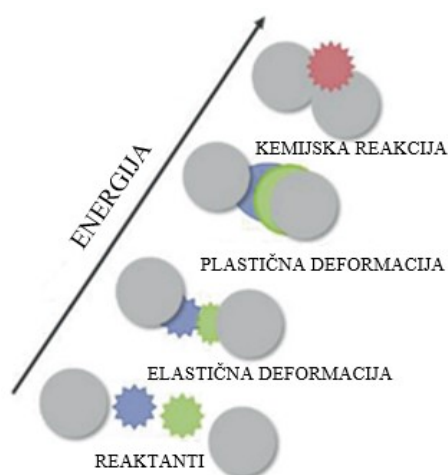
Slika 2. Shematski prikaz posudice i njezine kretnje u vibracijskom mlinu^{7,8}

Kod planetarnih mlinova paran broj reakcijskih posudica (najčešće dvije, jedna nasuprot druge) postavlja se na rotirajući disk. Posudice, osim što rotiraju zajedno s diskom oko centralne osi mlina, rotiraju i oko svoje osi što podsjeća na kretanje planeta u Sunčevom sustavu po čemu je ovaj mlin i dobio ime.⁹



Slika 3. Shematski prikaz planetarnog mlina¹⁰

Okretanjem diska planetarnog mlina stvara se centrifugalna sila koja potiče rotirajuće kretanje kuglica uz stijenke posudica. Dolazi do stvaranja trenja koje prouzrokuje mljevenje reaktanata. Posudice se oko svoje osi okreću obrnuto od smjera rotacije diska što rezultira centrifugalnom silom suprotnoga smjera. Pod tim utjecajem kuglice prelaze na nasuprotnu stijenku posudice sudarajući se pri tome s reaktantima.¹¹ Mehanička aktivacija reaktanata uzrokovana sudarima ili trenjem dovodi do naprezanja, lomljenja i stvaranja deformacija u strukturi. Zadovoljavajuća količina prenesene energije inducirati će kemijsku reakciju, dok u protivnom dolazi isključivo do pojave elastičnih deformacija (Slika 4).¹²



Slika 4. Shema provedbe mehanokemijske reakcije¹²

Interes kemičara za mehanokemijskom sintezom naglo je porastao nakon razvitka zelene kemije. Zelena kemija promiče razvoj kemije na održiviji način, manje štetan za okoliš i ljudsko zdravlje. Devedesetih godina dvadesetog stoljeća Anastas i Warner definirali su

dvanaest načela zelene kemije koja kemičarima služe kao smjernice za postizanje tog održivog razvoja.¹³

Tablica 1. Dvanaest načela zelene kemije^{13,14}

1.	Sprječavanje akumulacije otpada	Bolje je spriječiti nastajanje otpada, nego ga zbrinjavati nakon što je nastao.
2.	Iskoristivost atoma	Sintetski postupak treba osmisliti tako da se maksimizira ugradnja ulaznih sirovina u proizvod.
3.	Manje opasne kemijske sinteze	Sintetski postupak, ako je moguće, treba osmisliti tako da ne koristi i ne proizvodi tvari toksične za ljude i okoliš.
4.	Odabir sigurnijih produkata	Kemijske proizvode treba osmisliti tako da im se smanji toksičnost, a zadrži djelotvornost.
5.	Sigurnija otapala i pomoćna sredstva	Uporabu pomoćnih kemijskih tvari treba izbjeći ili zamijeniti neškodljivim, kada je to moguće.
6.	Procjena energetske efikasnosti	Sintetske procese treba provoditi pri sobnoj temperaturi i atmosferskom tlaku tako da bi se energetske zahtjevi sveli na minimum.
7.	Upotreba obnovljivih sirovina	Potrebno je upotrebljavati obnovljive sirovine kada je to tehnički i ekonomski prihvatljivo.
8.	Smanjena proizvodnja derivata	Poželjno je izbjegavati nepotrebna proširenja procesa (npr. zaštitu funkcionalnih skupina) jer ona zahtijevaju reagense koji stvaraju dodatan otpad.
9.	Kataliza	Katalitički reagensi prihvatljiviji su od stehiometrijskih reagensa.
10.	Postupci za razgradnju	Kemijski produkti trebaju biti osmišljeni tako da se po završetku djelovanja mogu prevesti u neškodljive proizvode koji ne zaostaju u okolišu.
11.	Praćenje procesa zbog prevencije zagađenja	Poželjno je razvijati analitičke metode za praćenje sintetskog procesa s ciljem sprječavanja nastanka opasnih tvari.
12.	Prevenција nesretnih slučajeva	Potrebno je smanjiti uporabu tvari koje mogu uzrokovati štetne posljedice (eksplozija, vatra i štetno isparavanje).

Sprječavanje akumulacije otpada jedno je od najvažnijih načela zelene kemije. Velika je prednost mehanokemijske sinteze što ne zahtijeva uporabu otapala s obzirom da su upravo ona ta od kojih potječe većina otpada. Organska otapala ne samo da stvaraju otpad, već su njihove pare i štetne za zdravlje. Samim time, mehanokemijska sinteza zadovoljava već dva načela zelene kemije.¹⁵

U reakcijsku smjesu ponekad se ipak dodaje otapalo, u katalitičkim količinama (eng. *Liquid - Assisted Grinding*, LAG), s ciljem ubrzanja izvedivih sinteza ili poticanja sinteza koje nije moguće provesti suhim mljevenjem. Utjecaj otapala na reaktivnost definira se omjerom dodanog otapala i mase reaktanata koji se naziva η -faktor. Vrijednost $\eta = 0$ odgovara suhom mljevenju. Kod sinteza potpomognutim otapalom za vrijednosti η u rasponu $\approx 0 - 1 \mu\text{L} / \text{mg}$ reaktivnost je neovisna o topljivosti reaktanata u dodanom otapalu, dok je za $\eta > 1 \mu\text{L} / \text{mg}$ slaba topljivost reaktanata prepreka reaktivnosti. Reaktivnost neovisna o topljivosti reaktanata pokušala se objasniti na razne načine poput stvaranja pokretnih površinskih slojeva ili činjenicom da je količina otapala dovoljno mala da bude konstantno zasićena reaktantima.¹

Tijekom procesa mljevenja, posudice i kuglice za mljevenje troše se i na taj način mogu kontaminirati reakcijsku smjesu. Ovaj nedostatak iskorišten je kao prilika za uporabom posudica i kuglica sačinjenih od materijala koji imaju katalitičko djelovanje za provođenu reakciju.¹⁵ J. Mack i suradnici, umjesto bakrova(I) jodida kao katalizatora, koristili su posudice i kuglice od elementarnog bakra. Nakon provođenja procesa nekoliko puta, masa posudica i kuglica nije se znatno promijenila ukazujući na to da se kataliza većinom odvijala na površini posudice i kuglica, a ne metalnim česticama koje nastaju trošenjem. Ovakav pristup dodatno smanjuje potrebu za korištenjem otapala i skupocjenih katalizatora.¹

Provođenje mehanokemijskih sinteza u zatvorenim reakcijskim posudicama brzih kretnji otežava praćenje tijeka reakcije. *In situ* tehnike poput difrakcije rendgenskih zraka na praškastom uzorku (PXRD), Ramanove spektroskopije ili kombinacija obje, omogućile su kontinuirano praćenje strukturnih promjena na molekularnoj razini.¹⁵ Reakcijske posudice od poli(metil-metakrilata) (PMMA), prikazane na Slici 5., zbog svoje prozirnosti propuštaju lasersku svjetlost i omogućuju joj interakciju s reakcijskom smjesom.¹⁶

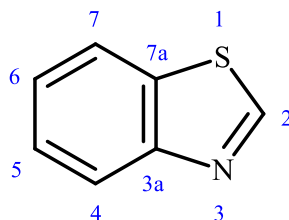


Slika 5. Posudice za mlin od različitih materijala (s lijeva na desno):
poli(metil-metakrilat), teflon i nehrđajući čelik¹

Mehanokemijske reakcije ne zahtijevaju zagrijavanje pa su i energetski povoljnije od klasičnih kemijskih reakcija. Unatoč tome, postižu zadovoljavajuća iskorištenja u puno kraćem vremenu od klasičnih reakcija u otapalu. Razvoj termičke kontrole mehanokemijskih reakcija omogućio je provođenje reakcija i na blago povišenim temperaturama. Ukupno vrijeme trajanja reakcije time se s nekoliko sati svelo na nekoliko minuta i tako dodatno smanjilo ukupnu potrošnju energije.⁸

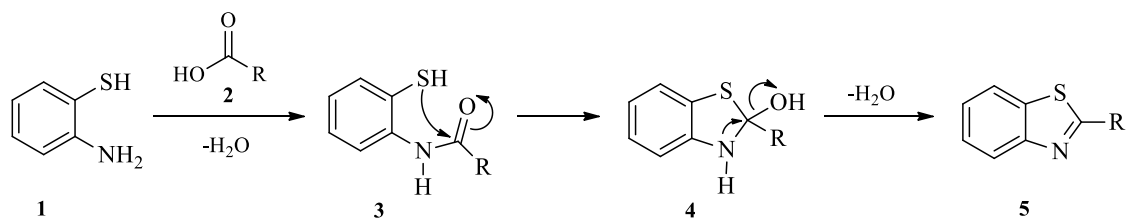
2.2. Benzotiazol

Benzotiazol je heterociklički spoj aromatskog karaktera sastavljen od tiazolnog prstena koji je s položajima 4 i 5 kondenziran na benzensku jezgru. Vrlo je važan u medicinskoj kemiji budući da su se njegovi derivati pokazali kao potencijalno dobri lijekovi.¹⁷



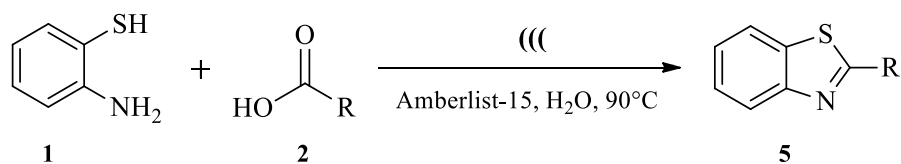
Slika 6. Struktura benzotiazola

Jedan od načina pripreme benzotiazola je reakcija ciklokondenzacije *o*-aminotiofenola s karboksilnom kiselinom.¹⁷



Shema 1. Mehanizam reakcije kondenzacije *o*-aminotiofenola s karboksilnom kiselinom

Razvijena je metoda koja koristi ultrazvučne valove za sintezu benzotiazola mehanizmom prikazanim na Shemi 1. U vodenome mediju, potpomognut ultrazvučnim valovima, *o*-aminotiofenol s različitim karboksilnim kiselinama podliježe reakciji ciklokondenzacije uz prisutnost obnovljivog katalizatora Amberlista-15. Metoda postiže vrlo visoka iskorištenja, ne zahtijeva uporabu štetnih organskih otapala ni postizanje inertnih uvjeta što je čini vrlo jednostavnom i usklađenom s načelima zelene kemije.¹⁸



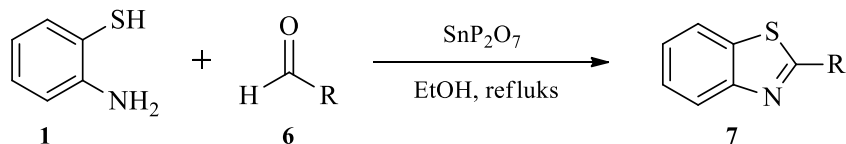
Shema 2. Ultrazvukom potpomognuta kondenzacija *o*-aminotiofenola s karboksilnom kiselinom u vodenom mediju

Tablica 2. Derivati benzotiazola priređeni ultrazvučnom metodom

Spoj	R	t / min	η / %	Spoj	R	t / min	η / %
5a	Ph	90	90	5d	<i>p</i> -CH ₃ Ph	120	85
5b	<i>p</i> -ClPh	60	92	5e	<i>p</i> -FPh	80	88
5c	<i>p</i> -NO ₂ Ph	90	82	5f	piridin-4-il	180	82

Osim kondenzacijom s karboksilnom kiselinom, sinteza benzotiazola iz *o*-aminotiofenola može se provesti i u reakciji s aldehidom. Merroun i suradnici¹⁹ prijavili su jednostavnu i učinkovitu metodu sinteze benzotiazola kondenzacijom *o*-aminotiofenola s nekoliko aromatskih i alifatskih aldehida. Reakcija se provodi na temperaturi refluksa s SnP₂O₇ kao katalizatorom otopljenim u etanolu (Shema 3.). Neovisno o korištenom aldehidu,

u vrlo kratkom vremenu (8 – 35 min) dobivena su izvrsna iskorištenja (86 – 95 %) što ukazuje na efikasnost samog katalizatora u sintezi benzotiazola. Velika prednost ovog katalizatora je mogućnost uporabe i do pet puta bez ikakvog gubitka aktivnosti.

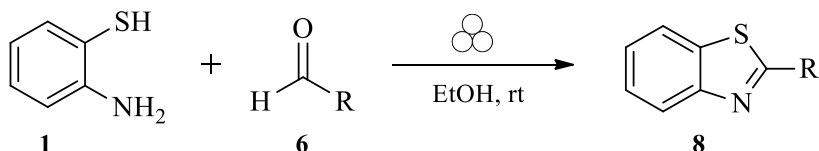


Shema 3. Kondenzacija *o*-aminotiofenola s aldehydom uz SnP₂O₇ kao katalizator

Tablica 3. Derivati benzotiazola priređeni iz aldehida

Spoj	R	t / min	η / %	Spoj	R	t / min	η / %
7a	Ph	10	95	7f	<i>p</i> -OHPH	15	89
7b	<i>p</i> -ClPh	10	93	7g	<i>p</i> -OCH ₃ Ph	10	90
7c	<i>p</i> -NO ₂ Ph	15	94	7h	4-OH-2-OCH ₃ Ph	20	89
7d	<i>p</i> -CH ₃ Ph	8	90	7i	CH ₃	35	86
7e	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ Ph	15	92	7j	C ₂ H ₅	20	88

S ciljem optimizacije reakcijskih uvjeta, Banerjee i suradnici²⁰ istraživali su mehanokemijsku sintezu 2-supstituiranih derivata benzotiazola. Provedeno je ručno suho i raznim otapalima potpomognuto mljevenje *o*-aminotiofenola i benzaldehida u mortu od ahata pri čemu se mljevenje s katalitičkom količinom etanola pokazalo najekonomičnijim. Metoda je testirana s nekoliko aromatskih aldehida i pokazala se izvrsnom za postizanje visokih iskorištenja u kratkom reakcijskom vremenu.

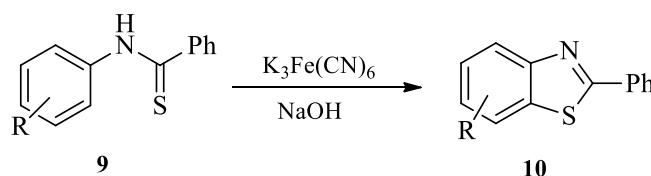


Shema 4. Mehanokemijska sinteza derivata benzotiazola kondenzacijom *o*-aminotiofenola s benzaldehidom

Tablica 4. Mehanokemijska sinteza 2-arilbenzotiazola

Spoj	R	t / min	η / %	Spoj	R	t / min	η / %
8a	Ph	15	88	8j	<i>p</i> -CNPh	15	83
8b	<i>p</i> -ClPh	15	78	8k	<i>p</i> -OHPPh	45	78
8c	<i>o</i> -ClPh	20	79	8l	<i>o</i> -OHPPh	60	82
8d	<i>m</i> -ClPh	15	81	8m	<i>p</i> -OCH ₃ Ph	40	83
8e	<i>p</i> -BrPh	15	81	8n	4-OH-3-OCH ₃ Ph	60	78
8f	<i>m</i> -BrPh	15	85	8o	furan-2-il	20	88
8g	<i>p</i> -FPh	10	87	8p	tiofen-2-il	20	94
8h	<i>p</i> -NO ₂ Ph	10	80	8q	indol-3-il	20	88
8i	<i>m</i> -NO ₂ Ph	15	83	8r	piridin-4-il	25	92

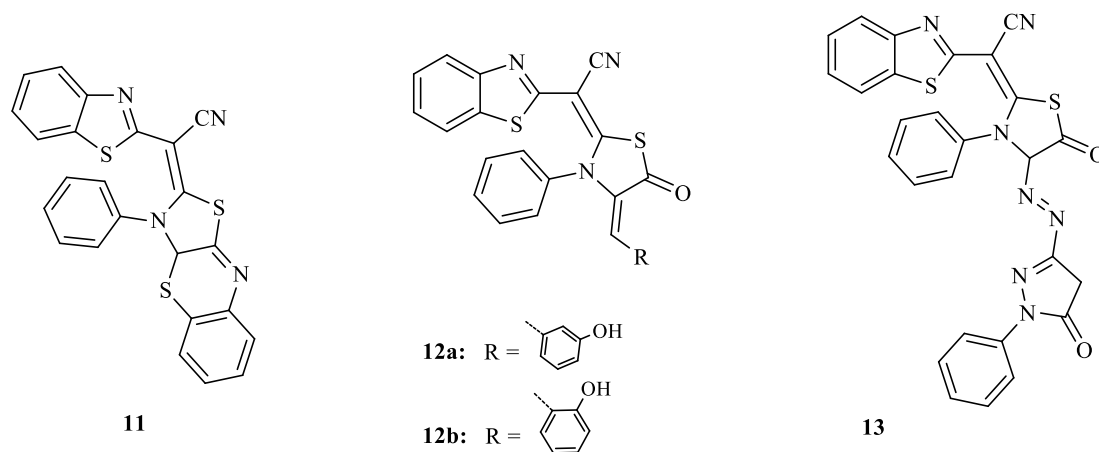
Alternativna metoda priprave benzotiazola je oksidativna ciklizacija *N*-ariltioamida. Jedan od mnogih pristupa je Jacobsonova metoda oksidacije kalijevim ferocijanidom u lužnatome mediju prikazana na Shemi 5.³



Shema 5. Jacobsonova metoda sinteze benzotiazola

2.3. Biološki aktivni derivati benzotiazola

Kako broj tumorskih oboljenja u svijetu konstantno raste, sve veća pažnja pridaje se ispitivanju antitumorskih djelovanja derivata benzotiazola. L. W. Mohamed i suradnici²¹ sintetizirali su nove derivate i ispitali njihovo citostatsko djelovanje na stanične linije raka dojke MCF-7. Spojevi prikazani na Slici 7. pokazali su odlično citostatsko djelovanje u usporedbi s često korištenim terapeutikom cisplatinom. Koncentracija koja inhibira rast tumorskih stanica za 50 %, IC₅₀ vrijednost, za spoj **11** iznosi 8.64 μ M, za spoj **12a** 7.39 μ M, za spoj **12b** 7.56 μ M i za spoj **13** 5.15 μ M, dok za cisplatin ona iznosi 13.33 μ M.

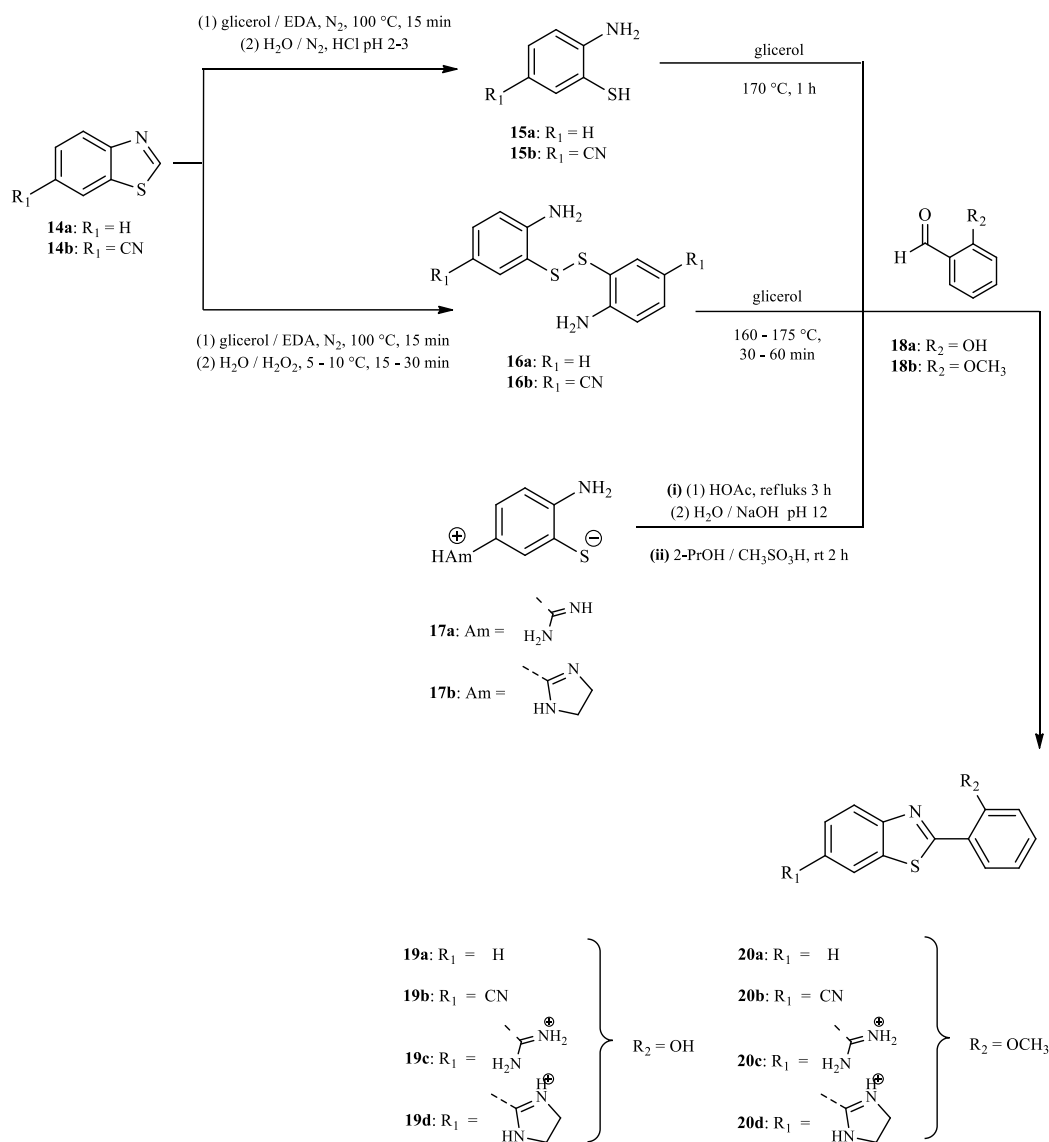


Slika 7. Pripravljene 2-supstituirani aktivni derivati benzotiazola

Ispitan je i učinak novosintetiziranih spojeva na aktivnost enzima koji metaboliziraju slobodne radikale poput superoksid-dismutaze (SOD), katalaze (CAT) i glutation-peroksidaze (GSH-Px). Praćeni su parametri oksidativnog stresa poput vodikovog peroksida (H_2O_2), dušikovog monoksida (NO) i reduciranog glutationa (GSH) te učinak pripremljenih derivata na razinu proteina i nukleinskih kiselina.

Tretiranje tumorskih stanica s $1/10$ IC_{50} vrijednosti svakog spoja značajno je povećalo aktivnost SOD i razinu H_2O_2 i NO te smanjilo aktivnost CAT, GSH-Px i razinu GSH. Razina proteina i nukleinskih kiselina znatno se smanjila. Najizraženije djelovanje pokazao je spoj **13** što se podudara i s ispitivanjima citostatskog djelovanja (**13** > **12a** > **12b** > **11** > cisplatin). Može se zaključiti da se antitumorsko djelovanje dobivenih spojeva zasniva na njihovoj sposobnosti regulacije reaktivnih kisikovih čestica koje umrtvljuju tumorske stanice.

Metodama zelene sinteze, L. Racané i suradnici²² sintetizirali su 2,6-disupstituirane derivate benzotiazola kao potencijalne antiproliferativne terapeutike (Shema 6.). Njihovo djelovanje ispitano je *in vitro* na sljedećim tumorskim staničnim linijama: karcinom cerviksa (HeLa), kolorektalni metastatski adenokarcinom (SW620), metastatski epitelni adenokarcinom dojke (MCF-7) i karcinom pluća (A549) te na staničnim linijama fibroblasta kože (HFF).

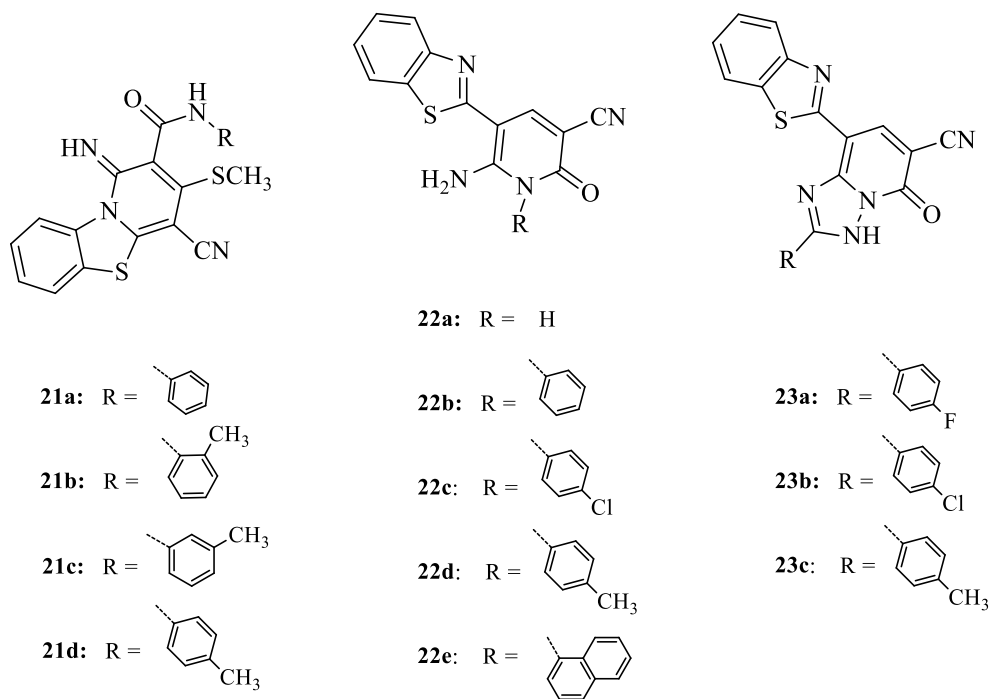


Shema 6. Sinteza 2,6-disupstituiranih derivata benzotiazola

Analiza odnosa strukture i aktivnosti (SAR) pokazala je da uvođenje supstituenta na C-6 položaj benzotiazolnog prstena poboljšava antiproliferativnu aktivnost spoja, dok hidroksilna skupina u 2-arilnom dijelu značajno povećava selektivnost prema tumorskim staničnim linijama. Spojevi **19a** i **20a** pokazali su slabo inhibicijsko djelovanje. Najviše se ističe djelovanje spoja **19b** na HeLa stanice ($IC_{50} = 0.2 \mu\text{M}$), koje je značajno bolje od djelovanja standarda, 5-fluoruracila, čiji IC_{50} iznosi $8.8 \mu\text{M}$. Spojevi **19c**, **20c** i **20d** pokazali su jako dobro djelovanje prema svim tumorskim staničnim linijama. Spoj **19d** pokazao je dobru selektivnost. Karakterizira ga jako inhibitorsko djelovanje prema A549 ($IC_{50} = 6.9 \mu\text{M}$) i

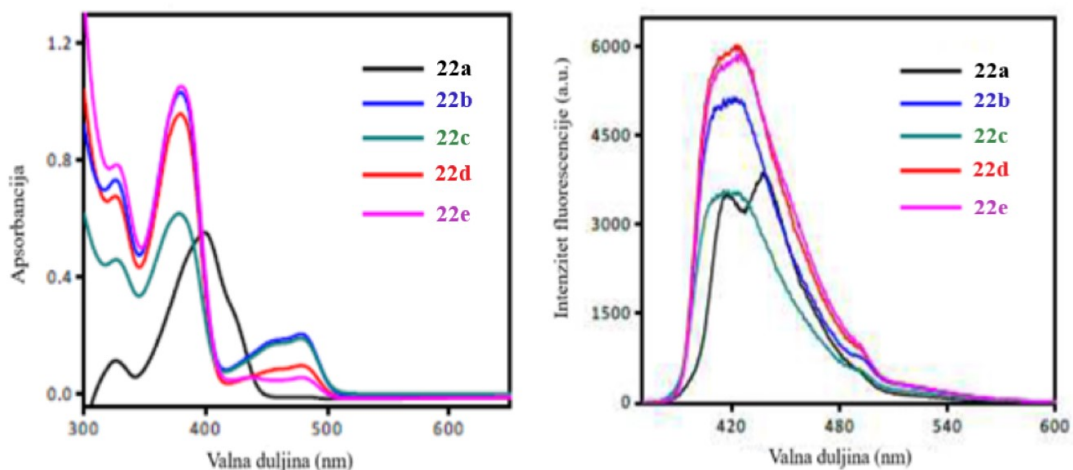
MCF-7 ($IC_{50} = 4.2 \mu M$) staničnim linijama, dok prema staničnim linijama ljudskog fibroblasta kože (HFF) ne pokazuje znakove aktivnosti.

S ciljem ispitivanja antimikrobnog djelovanja, Rasha A. Azzam i suradnici²³ priredili su seriju benzotiazolnih derivata koji sadrže piridinsku jezgru. Djelotvornima su se pokazali spojevi **21a**, **21b**, **22a**, **22b**, **22e** i **23a–23c** prikazani na Slici 8.

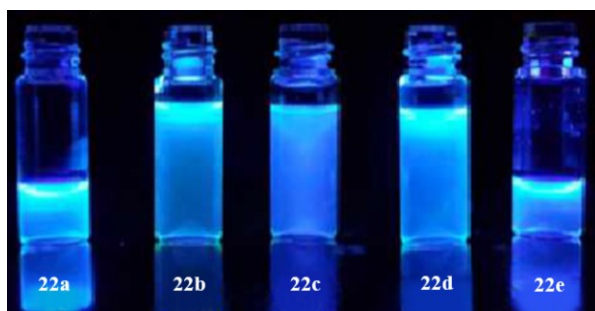


Slika 8. Priređeni derivati benzotiazola s piridinskom jezgrom

Zbog uočene intenzivne fluorescencije spojeva **22a–22e**, studija je proširena i na određivanje njihovih fotofizičkih svojstava. Navedeni derivati snimani su UV/Vis spektroskopijom u etanolu kao otapalu. Spoj **22a** pokazuje dva apsorpcijska maksimuma (manji na 326 nm i veći na 399 nm), dok spojevi **22b–22e** pokazuju tri maksimuma, najveći na ≈ 379 nm ($\pi-\pi^*$) i dva manja maksimuma na ≈ 326 nm ($\pi-\pi^*$) i ≈ 480 nm ($n-\pi^*$). U fluorescencijskom spektru snimanom u etanolu (valna duljina ekscitacije je 370 nm) spojevi pokazuju široki maksimum raspona 418 – 425 nm. Vidljivo je kako se maksimumi fluorescencije spojeva **22b–22e** neznatno razlikuju (1 – 5 nm) što ukazuje na minimalni učinak supstituenta na fluorescencijsko ponašanje spojeva.



Slika 9. UV/Vis apsorpcijski spektar (lijevo) i fluorescencijski spektar (desno) spojeva **22a**–**22e** snimanih u etanolu²³



Slika 10. Spojevi **22a**–**22e** u etanolu pobuđeni svjetlošću valne duljine 370 nm²³

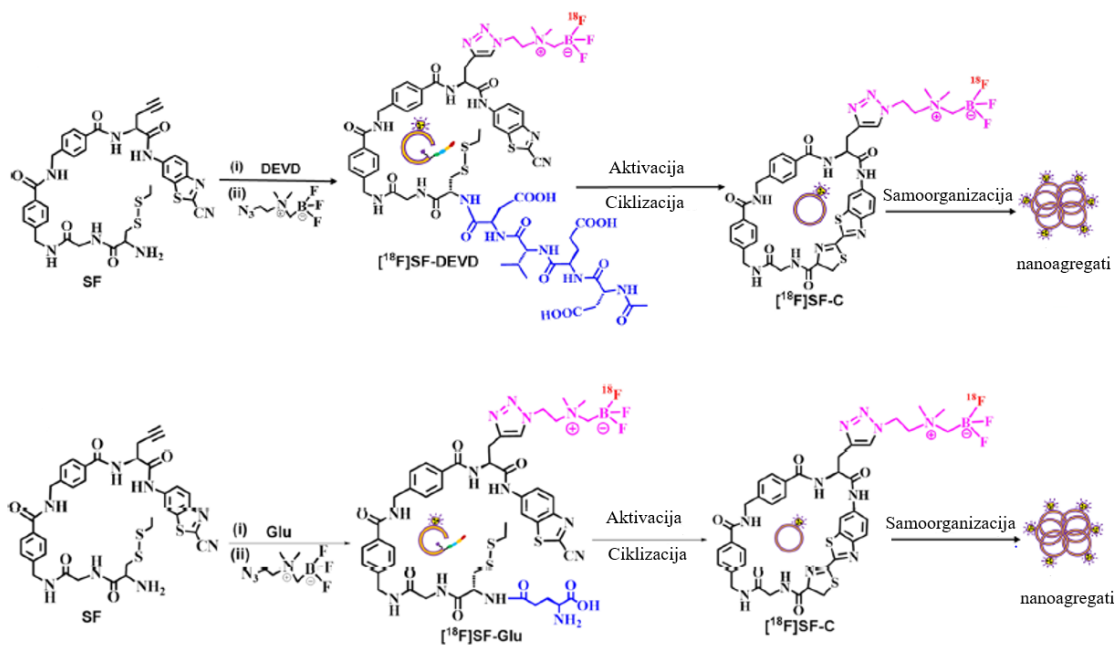
Antimikrobno djelovanje novosintetiziranih spojeva ispitano je *in vitro* na različitim bakterijskim sojevima: *Staphylococcus aureus* i *Streptococcus mutans* (Gram pozitivne bakterije), *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Klebsiella pneumonia* (Gram negativne bakterije) te na soju gljivica *Candida albicans*. Rezultati su prikazani u Tablici 5. Utvrđeno je da spoj **21b** s metilnom skupinom u *orto*-položaju pokazuje bolju aktivnost od spoja **21a** bez supstituenta. Spojevi s metilnom skupinom u *meta* i *para* položaju (**21c** i **21d**) nisu se pokazali aktivnima. *N*-nesupstituirani 2-piridilbenzotiazolni derivat **22a** pokazao je bolje djelovanje protiv bakterija *Pseudomonas aeruginosa* i *Staphylococcus aureus* nego što su pokazali supstituirani derivati **22b**–**22e**, a od njih se jedino spoj **22b** pokazao aktivnim protiv gljivičnog soja *Candida albicans*. Kod spoja **23a** uočeno je vrlo obećavajuće djelovanje na *Escherichiu coli*, *Klebsiellu pneumoniu* i *Staphylococcus aureus*. Zanimljivo je što derivat

23c koji za supstituent ima elektron-donorsku skupinu CH₃ ima bolje inhibicijsko djelovanje od spoja **23b** čiji je supstituent elektron-odvlačeći klor na istome položaju.

Tablica 5. Promjer inhibicijske zone (mm) sintetiziranih spojeva i korištenih standarda

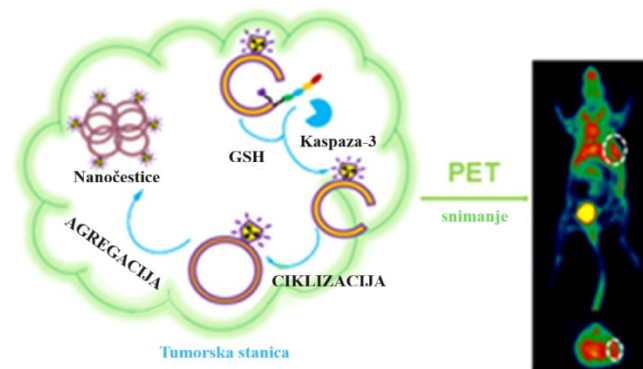
Spoj	Gram negativne bakterije			Gram pozitivne bakterije		Gljive
	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumonia</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. mutans</i>	<i>C. albicans</i>
21a	-	10.7 ± 1.1	-	-	-	-
21b	13.0 ± 0.0	14.7 ± 0.6	-	-	14.3 ± 0.6	-
22a	-	-	11.3 ± 0.5	13.3 ± 0.5	-	-
22b	-	-	-	10.7 ± 0.5	-	11.7 ± 0.6
22e	-	16.0 ± 1.1	-	-	-	-
23a	16.7 ± 1.0	24.3 ± 0.6	-	20.3 ± 0.6	20.3 ± 0.5	-
23b	-	15.3 ± 0.6	-	-	13.0 ± 1.0	-
23c	-	17.3 ± 1.5	-	14.7 ± 0.6	13.7 ± 1.2	11.7 ± 0.5
gentamicin	35.0 ± 0.5	35.0 ± 0.5	30.0 ± 0.5	-	-	-
ampicilin	-	-	-	30.0 ± 1.0	35.0 ± 0.5	-
nistatin	-	-	-	-	-	20.0 ± 0.5

Pokazalo se da je disregulacija enzimske aktivnosti usko povezana s proliferacijom tumorskih stanica pa je praćenje aktivnosti enzima jedna od važnih strategija u dijagnostici karcinoma. Iz tog razloga, mnogi znanstvenici posvetili su svoj rad dizajniranju spojeva koji omogućuju neinvazivnu *in vivo* detekciju aktivnosti enzima od interesa. Jedna od strategija u dizajnu takvih proba za oslikavanje jest priprava malih molekula koje se nakon aktivacije enzimom samosastavljaju u supramolekule. J. Lin i suradnici²⁴ dizajnirali su i sintetizirali jednu takvu molekulu; novi bioortogonalni polipeptidni lanac (nazvan SF) koji u strukturi sadrži 2-cijanobenzotiazolnu podjedinicu i cisteinski dio. Ukoliko se ovakvi spojevi obilježe pozitronskim emiterima, a njihova agregacija učini ovisnom o interakciji s enzimom od interesa, pozitronskom emisijskom tomografijom (PET) dobiva se jasan prikaz distribucije nanoagregata unutar tijela, što ujedno oslikava i aktivnost dotičnog enzima. Integriranjem različitih peptida i radioaktivnim fluorom (¹⁸F) obilježene aminometil-trifluorboratne skupine u strukturu SF spoja, ovaj tim znanstvenika priredio je dva nova „PET trcera“, [¹⁸F]SF-DEVD i [¹⁸F]SF-Glu (Slika 11.), s ciljem praćenja aktivnosti kaspaze-3, odnosno γ -glutamil-transferaze (GGT).



Slika 11. Intramolekularna ciklizacija "PET tracara" [¹⁸F]SF-DEVD i [¹⁸F]SF-Glu²⁴

Na Slici 12. prikazan je mehanizam detekcije enzimske aktivnosti u tumorskim stanicama pomoću PET snimanja na primjeru molekule [¹⁸F]SF-DEVD. Vidljivo je da glutation (GSH) i kaspaza-3 iniciraju redukciju disulfida i cijepanje tetrapeptidnog lanca Asp–Glu–Val–Asp (DEVD). [¹⁸F]SF-DEVD tada podliježe brzom reakciji intramolekularne kondenzacije tvoreći makrociklički produkt [¹⁸F]SF-C koji se zatim nakuplja u radioaktivne nanočestice i na taj način zadržava u apoptotičnim tumorskim stanicama. Rezultati provedenog ispitivanja pokazali su da polipeptidna struktura spoja SF može poslužiti kao opća molekularna struktura u razvoju pametnih „PET tracara“ za neinvazivno oslikavanje aktivnosti enzima, što bi moglo pridonijeti otkrivanju tumora i procjeni učinkovitosti liječenja.



Slika 12. Detekcija aktivnosti kaspaze-3 u tumorskim stanicama²⁴

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Opće napomene

Svi spojevi provjeravani su tankoslojnom kromatografijom (TLC) provedenom na pločama presvučenim silikagelom Merck 60F-254 u odgovarajućem sustavu otapala: diklormetan, diklormetan / metanol, etilacetat. Za detekciju izoliranih komponenata korištena je UV svjetlost valne duljine 254 nm.

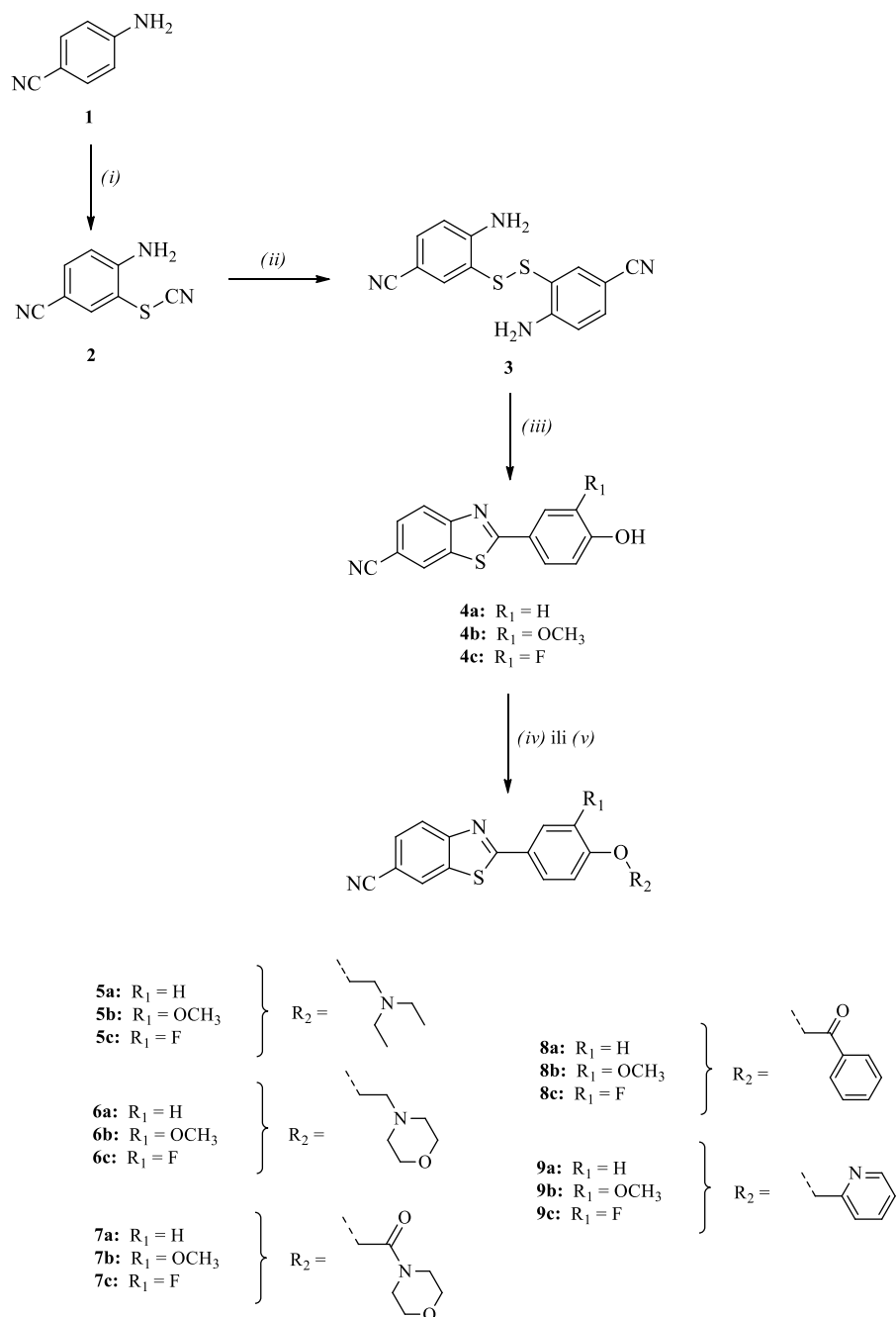
Kromatografska odjeljivanja provedena su na staklenim kolonama punjenim silikagelom (0.063 – 0.2 nm, Fluka) pod utjecajem gravitacije. Prikladna smjesa otapala diklormetana i metanola korištena je kao eluens za odjeljivanje čistih spojeva.

Točke tališta sintetiziranih spojeva određene su na instrumentu Kofler (Reichert, Wien) i nisu korigirane.

^1H i ^{13}C NMR spektri snimljeni su na spektrometrima Bruker AV600 i Bruker AV300 na 300 i 600 MHz odnosno 75 i 150 MHz. Spektri su snimani u dimetilsulfoksidu DMSO- d_6 kao otapalu pri 298 K. Kemijski pomaci (δ / ppm) izraženi su u odnosu na rezidualni signal DMSO pri δ 2.50 ppm za ^1H i δ 39.50 ppm za ^{13}C . Pojedine rezonancije dodijeljene su na osnovi kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta signala i H-H konstanti sprega.

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.

3.2. Sinteza 2-aril-6-cijanobenzotiazolnih analoga 5a–9a, 5b–9b i 5c–9c



Shema 1. Sinteza fenolnih (**4a–4c**) i *O*-alkiliranih (**5a–9a**, **5b–9b**, **5c–9c**) derivata benzotiazola. *Reagensi i reakcijski uvjeti:* (i) KSCN, Br₂, octena kiselina, 0 – 10 °C; (ii) Na₂S x 9H₂O, EtOH, H₂O, 85 °C; (iii) odgovarajući benzaldehid, glicerol, 160 – 175 °C; (iv) odgovarajući alkil-halogenid (R₂Cl / R₂Br), K₂CO₃, EtOH (**5a–8a**, **5b–8b**, **5c–8c**), kuglični mlin (30 Hz); (v) odgovarajući alkil-halogenid (R₂Cl / R₂Br), K₂CO₃, KI, EtOH (**9a–9c**), kuglični mlin (30 Hz).

3.2.1. Sinteza 4-amino-3-tiocijanatobenzonitrila (2)

U ohlađenu reakcijsku smjesu (0 °C) 4-aminobenzonitrila **1** (9 g, 76.18 mmol) i kalijeva tiocijanata (30 g, 304.72 mmol) u 95%-tnoj octenoj kiselini (150 mL) postupno se dokapava otopina broma (7.5 mL, 146.43 mmol) u ledenoj octenoj kiselini (30 mL), održavajući temperaturu reakcijske smjese između 0 i 10 °C. Nakon završetka dokapavanja, reakcijska smjesa nastavi se miješati 60 minuta pri 5 °C. Po završetku reakcije (praćeno TLC-om) reakcijska se smjesa izlije na 1 L hladne destilirane vode. Nastali talog se profiltrira, ispere hladnom vodom i dobro osuši. Dobiven je žuti praškasti produkt (12.0 g, 90.24 %, Tt = 153–154 °C). ¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 7.95 (1H, d, *J* = 1.9 Hz), 7.57 (1H, dd, *J* = 8.7, 2.0 Hz), 6.93 (2H, bs, NH₂), 6.88 (1H, d, *J* = 8.7 Hz). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO) δ 153.56 (CNH₂), 140.79, 135.64, 118.89 (CN), 115.63, 110.92 (SCN), 103.76, 97.27.

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

U zagrijanu smjesu (60 °C) 4-amino-3-tiocijanatobenzonitrila **2** (5 g, 28.54 mmol) u 15 mL etanola, ulije se 40 mL vodene otopine natrijeva sulfida nonahidrata (13.7 g, 57.07 mmol). Reakcijska smjesa miješa se 60 minuta na 85 °C. Ohlađena reakcijska smjesa zakiseli se do pH 6.5 sa 5N octenom kiselinom i ekstrahira diklormetanom (3 x 30 mL). Organski ekstrakt ispere se vodom, suši nad magnezijevim sulfatom i filtrira, a filtrat se zatim upari do suha pod sniženim tlakom. Nastali talog prekrystalizira se iz etanola. Dobiven je žuti praškasti produkt (2.67 g; 59.77 %; Tt = 203–206 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7.48 (1H, dd, *J* = 8.6, 2.0 Hz), 7.10 (1H, d, *J* = 1.9 Hz), 6.83 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 6.64 (2H, bs, NH₂). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO) δ 153.60 (CNH₂), 140.16, 134.75, 119.29 (CN), 115.40, 114.81, 96.11.

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

Bis(2-amino-5-cijanofenil)disulfid **3** (1 ekv) suspendiran u glicerolu (2.0 g) pomiješa se s odgovarajućim benzaldehidom (1.75 ekv). Reakcijska smjesa zagrije se na 160 °C i miješa 30 – 60 minuta. Nakon toga reakcijska smjesa ohladi se ispod 100 °C, tretira sa 75%-tnim etanolom i ostavi u hladnjaku preko noći. Nastali talog se filtrira, ispere etanolom i osuši na zraku.

3.2.3.1. Sinteza 2-(4-hidroksifenil)-6-cijanobenzotiazola (4a)

Spoj **4a** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom bis(2-amino-5-cijanofenil)disulfida **3** (1.200 g, 4.022 mmol) i 4-hidroksibenzaldehida (859.5 mg, 7.038 mmol). Dobiven je praškasti produkt žute boje (1.5213 g; 85.68 %; Tt > 250 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 10.41 (1H, bs, OH), 8.66 (1H, d, *J* = 1.0 Hz), 8.09 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.97 (2H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.87 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.4 Hz), 6.95 (2H, d, *J* = 8.6 Hz). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO) δ 171.99, 161.37, 156.18, 134.71, 129.70, 129.59, 127.27, 123.24, 122.91, 118.88 (CN), 116.21, 106.75.

3.2.3.2. Sinteza 2-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-6-cijanobenzotiazola (4b)

Spoj **4b** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom bis(2-amino-5-cijanofenil)disulfida **3** (1.200 g, 4.022 mmol) i 3-metoksi-4-hidroksibenzaldehida (1070.8 mg, 7.038 mmol). Dobiven je praškasti produkt žute boje (1.9243 g; 96.86 %; Tt > 250 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 10.04 (1H, bs, OH), 8.68 (1H, d, *J* = 1.3 Hz), 8.12 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.89 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.6 Hz), 7.64 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 7.57 (1H, dd, *J* = 8.2, 2.0 Hz), 6.96 (1H, d, *J* = 8.2 Hz), 3.90 (3H, s, OCH₃). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO) δ 172.07, 156.11, 150.95, 148.13, 134.78, 129.72, 127.26, 123.50, 122.93, 122.00, 118.87 (CN), 115.99, 110.31, 106.79, 55.69 (OCH₃).

3.2.3.3. Sinteza 2-(3-fluor-4-hidroksifenil)-6-cijanobenzotiazola (4c)

Spoj **4c** priređen je prema navedenom općem postupku dodatkom bis(2-amino-5-cijanofenil)disulfida **3** (1.200 g, 4.022 mmol) i 3-fluor-4-hidroksibenzaldehida (986.1 mg, 7.038 mmol). Dobiven je praškasti produkt žute boje (1.4014 g; 73.67 %; Tt > 250 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 10.90 (1H, s, OH), 8.66 (1H, d, *J* = 1.3 Hz), 8.09 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.88 (1H, t, *J* = 2.0 Hz), 7.85 (1H, dd, *J* = 5.6, 1.8 Hz), 7.76 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.6 Hz), 7.12 (1H, t, *J* = 8.6 Hz). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO) δ 170.75 (d, *J*_{CF} = 2.7 Hz), 155.89, 151.03 (d, *J*_{CF} = 243.3 Hz), 149.01 (d, *J*_{CF} = 12.2 Hz), 134.86, 129.75, 127.39, 124.94 (d, *J*_{CF} = 2.8 Hz), 123.59 (d, *J*_{CF} = 6.6 Hz), 123.13, 118.78 (CN), 118.36 (d, *J* = 3.3 Hz), 115.03 (d, *J*_{CF} = 20.2 Hz), 107.08.

3.2.4. Opći postupak sinteze *O*-alkiliranih derivata benzotiazola (5a–9a, 5b–9b, 5c–9c)

Smjesa odgovarajućeg fenolnog derivata benzotiazola (4a–4c, 1 ekv), K₂CO₃ (3 ekv ili 5 ekv), odgovarajućeg alkil-halogenida (1.2 ekv ili 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 se u kugličnom mlinu provodi 24 – 36 sati. Nakon završetka reakcije, kruta reakcijska smjesa otopi se u diklormetanu i ekstrahira vodom kako bi se uklonio suvišak kalijeva karbonata. Otopalo se iz organskog ekstrakta ukloni pod sniženim tlakom, a dobiveni ostatak pročisti se kolonskom kromatografijom na silikagelu uz sustav diklormetan / metanol (DCM : MeOH = 100 : 1) kao eluens.

3.2.4.1. Sinteza 2-(4-(2-(dietilamino)etoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola (5a)

Spoj 5a priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom fenolnog derivata 4a (1 ekv, 200 mg, 0.793 mmol), K₂CO₃ (5 ekv, 548 mg, 3.965 mmol) i 2-klor-*N,N*-dietiletanamina (1.5 ekv, 204.6 mg, 1.189 mmol). Reakcija je provođena 24 h. Dobiven je svijetložuti praškasti produkt (182.1 mg; 65.34 %; Tt = 137–139 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.72 (1H, d, *J* = 1.2 Hz), 8.14 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 8.08 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.91 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.6 Hz), 7.14 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 4.14 (2H, t, *J* = 5.9 Hz, OCH₂), 2.83 (2H, bs, NCH₂), 2.58 (4H, dd, *J* = 13.6, 6.7 Hz, NCH₂), 0.99 (6H, t, *J* = 7.1 Hz, CH₃). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO) δ 171.63, 161.79, 156.12, 134.84, 129.81, 129.42, 127.46, 124.68, 123.14, 118.85 (CN), 115.37, 107.00, 66.70 (OCH₂), 51.13 (NCH₂), 46.96 (2xNCH₂), 11.76 (2xCH₃).

3.2.4.2. Sinteza 2-(4-(2-(dietilamino)etoksi)-3-metoksifenil)-6-cijanobenzotiazola (5b)

Spoj 5b priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom fenolnog derivata 4b (1 ekv, 200 mg, 0.708 mmol), K₂CO₃ (3 ekv, 293.6 mg, 2.124 mmol) i 2-klor-*N,N*-dietiletanamina (1.2 ekv, 146.3 mg, 0.850 mmol). Reakcija je provođena 24 h. Dobiven je smeđe-žuti praškasti produkt (141.1 mg; 52.24 %; Tt = 112–115 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.71 (1H, d, *J* = 1.3 Hz), 8.15 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.91 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.6 Hz), 7.71 – 7.61 (2H, m), 7.17 (1H, d, *J* = 9.0 Hz), 4.13 (2H, t, *J* = 6.0 Hz), 3.90 (3H, s), 2.87 (2H, s), 2.62 (4H, d, *J* = 6.5 Hz), 1.01 (6H, t, *J* = 7.1 Hz). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO) δ 171.75, 156.03, 151.59, 149.26, 134.89, 129.77, 127.39, 124.80, 123.13, 121.61, 118.83 (CN), 112.96, 109.85, 107.02, 67.03 (OCH₂), 55.73 (OCH₃), 51.05 (NCH₂), 47.03 (2xNCH₂), 11.62 (2xCH₃).

3.2.4.3. Sinteza 2-(4-(2-(dietilamino)etoksi)-3-fluor-fenil)-6-cijanobenzotiazola (5c)

Spoj **5c** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom fenolnog derivata **4c** (1 ekv, 200 mg, 0.740 mmol), K₂CO₃ (5 ekv, 511.4 mg, 3.700 mmol) i 2-klor-*N,N*-dietiletanamina (1.5 ekv, 191 mg, 1.110 mmol). Reakcija je provedena 26 h. Dobiven je tamnožuti praškasti produkt (68.9 mg; 25.20 %; Tt = 104–106 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.71 (1H, d, *J* = 1.2 Hz), 8.13 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.95 – 7.83 (3H, m), 7.35 (1H, t, *J* = 8.8 Hz), 4.19 (2H, t, *J* = 5.9 Hz), 2.84 (2H, t, *J* = 5.9 Hz), 2.57 (4H, q, *J* = 7.1 Hz), 0.98 (6H, t, *J* = 7.1 Hz). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO) δ 170.41 (d, *J* = 2.7 Hz), 155.82, 151.55 (d, *J*_{CF} = 245.9 Hz), 149.77 (d, *J*_{CF} = 10.6 Hz), 134.99, 129.81, 127.53, 124.89, 124.82 (d, *J*_{CF} = 3.5 Hz), 123.31, 118.75 (CN), 115.16 (d, *J*_{CF} = 1.6 Hz), 114.57 (d, *J*_{CF} = 20.2 Hz), 107.28, 67.75 (OCH₂), 50.97 (NCH₂), 47.00 (2xNCH₂), 11.76 (2xCH₃).

3.2.4.4. Sinteza 2-(4-(2-morfolinoetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola (6a)

Spoj **6a** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom fenolnog derivata **4a** (1 ekv, 200 mg, 0.793 mmol), K₂CO₃ (5 ekv, 548 mg, 3.965 mmol) i 4-(2-kloretil)morfolina (1.5 ekv, 221.2 mg, 1.189 mmol). Reakcija je provedena 24 h. Dobiven je bijeli praškasti produkt (138.3 mg; 47.72 %; Tt = 159–164 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.72 (1H, d, *J* = 0.9 Hz), 8.14 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 8.08 (2H, d, *J* = 8.7 Hz), 7.92 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.4 Hz), 7.15 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 4.21 (2H, t, *J* = 5.6 Hz), 3.59 (4H, t, *J* = 4.4 Hz), 2.73 (2H, t, *J* = 5.6 Hz). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO) δ 171.62, 161.72, 156.12, 134.85, 129.81, 129.40, 127.47, 124.74, 123.16, 118.85 (CN), 115.41, 107.01, 66.14 (2xOCH₂), 65.74 (OCH₂), 56.80 (NCH₂), 53.57(2xNCH₂).

3.2.4.5. Sinteza 2-(3-metoksi-4-(2-morfolinoetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola (6b)

Spoj **6b** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom fenolnog derivata **4b** (1 ekv, 200 mg, 0.708 mmol), K₂CO₃ (3 ekv, 293.6 mg, 2.124 mmol) i 4-(2-kloretil)morfolina (1.2 ekv, 158.2 mg, 0.850 mmol). Reakcija je provedena 24 h. Dobiven je svijetložuti praškasti produkt (104.1 mg; 37.18 %; Tt = 170–172 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.73 (1H, d, *J* = 1.2 Hz), 8.17 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.92 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.6 Hz), 7.73 – 7.59 (2H, m), 7.19 (1H, d, *J* = 9.0 Hz), 4.20 (2H, t, *J* = 5.8 Hz), 3.90 (3H, s), 3.58 (4H, t, *J* = 4.6 Hz), 2.74 (2H, t, *J* = 5.8 Hz). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO) δ 171.76, 156.04, 151.58, 149.27,

134.91, 129.79, 127.42, 124.86, 123.15, 121.61, 118.84 (CN), 113.10, 109.87, 107.04, 66.35 (OCH₂), 66.15 (2xOCH₂), 56.80 (NCH₂), 55.73 (OCH₃), 53.63 (2xNCH₂).

3.2.4.6. Sinteza 2-(3-fluor-4-(2-morfolinoetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola (6c)

Spoj **6c** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom fenolnog derivata **4c** (1 ekv, 200 mg, 0.740 mmol), K₂CO₃ (5 ekv, 511.4 mg, 3.700 mmol) i 4-(2-kloretil)morfolina (1.5 ekv, 206.6 mg, 1.110 mmol). Reakcija je provedena 26 h. Dobiven je svijetložuti praškasti produkt (101.5 mg; 35.78 %; Tt = 171–173 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.73 (1H, d, *J* = 1.1 Hz), 8.15 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.99 – 7.85 (3H, m), 7.39 (1H, t, *J* = 8.6 Hz), 4.28 (2H, t, *J* = 5.6 Hz), 3.58 (4H, t, *J* = 4.6 Hz), 2.76 (2H, t, *J* = 5.6 Hz). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO) δ 170.42 (d, *J*_{CF} = 2.7 Hz), 155.83, 151.57 (d, *J*_{CF} = 246.0 Hz), 149.69 (d, *J*_{CF} = 10.5 Hz), 135.02, 129.85, 127.58, 125.03, 124.90 (d, *J*_{CF} = 3.0 Hz), 123.35, 118.76 (CN), 115.33 (d, *J*_{CF} = 1.4 Hz), 114.64 (d, *J*_{CF} = 20.3 Hz), 107.32, 66.90 (OCH₂), 66.14 (2xOCH₂), 56.66 (NCH₂), 53.54 (2xNCH₂).

3.2.4.7. Sinteza 2-(4-(2-morfolino-2-oksoetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola (7a)

Spoj **7a** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom fenolnog derivata **4a** (1 ekv, 200 mg, 0.793 mmol), K₂CO₃ (5 ekv, 548 mg, 3.965 mmol) i 2-klor-1-morfolinoetanona (1.5 ekv, 194.5 mg, 1.189 mmol). Reakcija je provedena 26 h. Dobiven je svijetložuti kristaliničan produkt (116.2 mg; 38.62 %; Tt = 54–58 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.72 (1H, d, *J* = 1.2 Hz), 8.15 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 8.07 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.91 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.6 Hz), 7.13 (2H, d, *J* = 8.9 Hz), 5.00 (2H, s), 3.69 – 3.54 (4H, m), 3.48 (4H, s). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO) δ 171.59, 165.50 (C=O), 161.36, 156.11, 134.88, 129.79, 129.25, 127.46, 125.01, 123.17, 118.84 (CN), 115.55, 107.03, 66.00 (OCH₂), 65.96 (OCH₂), 65.69 (OCH₂), 44.60 (NCH₂), 41.58 (NCH₂).

3.2.4.8. Sinteza 2-(3-metoksi-4-(2-morfolino-2-oksoetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola (7b)

Spoj **7b** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom fenolnog derivata **4b** (1 ekv, 200 mg, 0.708 mmol), K₂CO₃ (3 ekv, 293.6 mg, 2.124 mmol) i 2-klor-1-morfolinoetanona (1.2 ekv, 139.1 mg, 0.850 mmol). Reakcija je provedena 24 h. Dobiven je žuti praškasti produkt (118.5 mg; 40.88 %; Tt = 197–201 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ

8.72 (1H, d, $J = 1.2$ Hz), 8.16 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.91 (1H, dd, $J = 8.5, 1.6$ Hz), 7.73 – 7.60 (2H, m), 7.05 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 4.99 (2H, s), 3.92 (3H, s), 3.68 – 3.55 (4H, m), 3.48 (4H, s). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 171.72, 165.47 (C=O), 156.03, 151.06, 149.19, 134.94, 129.79, 127.43, 125.18, 123.18, 121.33, 118.84 (CN), 113.43, 110.01, 107.06, 66.14 (2xOCH₂), 66.01 (OCH₂), 55.77 (OCH₃), 44.74 (NCH₂), 41.63 (NCH₂).

3.2.4.9. Sinteza 2-(3-fluor-4-(2-morfolino-2-oksoetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola (7c)

Spoj **7c** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom fenolnog derivata **4c** (1 ekv, 200 mg, 0.740 mmol), K₂CO₃ (5 ekv, 511.4 mg, 3.700 mmol) i 2-klor-1-morfolinoetanona (1.5 ekv, 181.6 mg, 1.110 mmol). Reakcija je provedena 24 h. Dobiven je bijeli praškasti produkt (101.5 mg; 37.13 %; Tt = 193–194 °C). ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.74 (1H, d, $J = 1.2$ Hz), 8.16 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.97 (1H, dd, $J = 12.0, 2.1$ Hz), 7.95 – 7.86 (2H, m), 7.27 (1H, t, $J = 8.7$ Hz), 5.13 (2H, s), 3.71 – 3.53 (4H, m), 3.47 (4H, bs). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 170.45 (d, $J_{\text{CF}} = 2.6$ Hz), 165.10 (C=O), 155.85, 151.47 (d, $J_{\text{CF}} = 246.1$ Hz), 149.39 (d, $J_{\text{CF}} = 10.4$ Hz), 135.06, 129.87, 127.61, 125.22 (d, $J_{\text{CF}} = 7.1$ Hz), 124.61 (d, $J = 3.0$ Hz), 123.39, 118.77 (CN), 115.62 (d, $J_{\text{CF}} = 1.4$ Hz), 114.75 (d, $J_{\text{CF}} = 20.3$ Hz), 107.33, 66.06 (OCH₂), 66.00 (OCH₂), 65.90 (OCH₂), 44.52 (NCH₂), 41.59 (NCH₂).

3.2.4.10. Sinteza 2-(4-(2-okso-2-feniletoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola (8a)

Spoj **8a** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom fenolnog derivata **4a** (1 ekv, 200 mg, 0.793 mmol), K₂CO₃ (5 ekv, 548 mg, 3.965 mmol) i 2-brom-1-feniletanona (1.5 ekv, 236.7 mg, 1.189 mmol). Reakcija je provedena 36 h. Dobiven je bijeli praškasti produkt (64.7 mg; 22.03 %; Tt = 193–196 °C). ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.73 (1H, d, $J = 1.2$ Hz), 8.16 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 8.07 (4H, t, $J = 9.0$ Hz), 7.92 (1H, dd, $J = 8.5, 1.6$ Hz), 7.72 (1H, t, $J = 7.4$ Hz), 7.60 (2H, t, $J = 7.5$ Hz), 7.19 (2H, d, $J = 8.9$ Hz), 5.77 (2H, s). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 193.95 (C=O), 171.58, 161.25, 156.11, 134.89, 134.20, 133.90, 129.81, 129.33, 128.84, 127.87, 127.50, 125.08, 123.19, 118.85 (CN), 115.60, 107.04, 70.31 (OCH₂).

3.2.4.11. Sinteza 2-(3-metoksi-4-(2-okso-2-feniletoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola (8b)

Spoj **8b** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom fenolnog derivata **4b** (1 ekv, 200 mg, 0.708 mmol), K₂CO₃ (3 ekv, 293.6 mg, 2.124 mmol) i 2-brom-1-feniletanona

(1.2 ekv, 169.2 mg, 0.850 mmol). Reakcija je provođena 24 h. Dobiven je svijetložuti praškasti produkt (241.5 mg; 85.19 %; Tt > 250 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.71 (1H, d, *J* = 1.2 Hz), 8.16 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 8.05 (2H, d, *J* = 7.2 Hz), 7.91 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.6 Hz), 7.76 – 7.66 (2H, m), 7.66 – 7.55 (3H, m), 7.09 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 5.75 (2H, s), 3.94 (3H, s). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO) δ 193.93 (C=O), 171.71, 156.03, 150.97, 149.18, 134.94, 134.22, 133.87, 129.79, 128.83, 127.88, 127.43, 125.20, 123.19, 121.34, 118.84 (CN), 113.44, 110.12, 107.06, 70.57 (OCH₂), 55.77 (OCH₃).

3.2.4.12. Sinteza 2-(3-fluor-4-(2-okso-2-feniletoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola (8c)

Spoj **8c** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom fenolnog derivata **4c** (1 ekv, 200 mg, 0.740 mmol), K₂CO₃ (5 ekv, 511.4 mg, 3.700 mmol) i 2-brom-1-feniletanona (1.5 ekv, 220.9 mg, 1.110 mmol). Reakcija je provođena 36 h. Dobiven je žuti kristaliničan produkt (170.3 mg; 59.26 %; Tt = 204–205 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.74 (1H, d, *J* = 1.1 Hz), 8.17 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 8.09 – 7.96 (3H, m), 7.93 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.5 Hz), 7.87 (1H, d, *J* = 8.7 Hz), 7.73 (1H, t, *J* = 7.4 Hz), 7.60 (2H, t, *J* = 7.5 Hz), 7.34 (1H, t, *J* = 8.7 Hz), 5.88 (2H, s). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO) δ 193.52 (C=O), 170.41 (d, *J* = 2.9 Hz), 155.85, 151.47 (d, *J* = 246.1 Hz), 149.23 (d, *J* = 10.4 Hz), 135.07, 134.05, 133.98, 125.35 (d, *J* = 6.8 Hz), 124.66 (d, *J* = 3.0 Hz), 123.40, 118.77 (CN), 115.66, 114.89 (d, *J* = 20.3 Hz), 107.30, 70.85 (OCH₂).

3.2.4.13. Sinteza 2-(4-(piridin-2-ilmetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola (9a)

Spoj **9a** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom fenolnog derivata **4a** (1 ekv, 200 mg, 0.793 mmol), K₂CO₃ (5 ekv, 548 mg, 3.965 mmol), 2-(klormetil)piridina (1.5 ekv, 195 mg, 1.189 mmol) i kalijeva jodida (100 mg). Reakcija je provođena 34 h. Dobiven je svijetložuti praškasti produkt (93.2 mg; 34.23 %; Tt = 243–246 °C). ¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.67 (1H, d, *J* = 1.5 Hz), 8.58 (1H, d, *J* = 4.8 Hz), 8.13 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 8.08 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.87 (1H, dd, *J* = 8.4, 1.6 Hz), 7.83 (1H, td, *J* = 7.7, 1.8 Hz), 7.53 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 7.34 (1H, dd, *J* = 6.9, 4.9 Hz), 7.24 (2H, d, *J* = 8.9 Hz), 5.30 (2H, s). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO) δ 171.56, 161.36, 156.11, 156.04, 149.19, 137.06, 134.90, 129.83, 129.48, 127.52, 125.14, 123.21, 123.12, 121.80, 118.84 (CN), 115.74, 107.07, 70.53 (OCH₂).

3.2.4.14. Sinteza 2-(3-metoksi-4-(piridin-2-ilmetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola (9b)

Spoj **9b** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom fenolnog derivata **4b** (1 ekv, 200 mg, 0.708 mmol), K₂CO₃ (5 ekv, 489.3 mg, 3.540 mmol), 2-(klormetil)piridina (1.5 ekv, 174.2 mg, 1.062 mmol) i kalijeva jodida (100 mg). Reakcija je provođena 34 h. Dobiven je svijetložuti praškasti produkt (130.7 mg; 49.43 %; Tt = 210–212 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.74 (1H, d, *J* = 1.1 Hz), 8.61 (1H, d, *J* = 4.1 Hz), 8.18 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.93 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.6 Hz), 7.87 (1H, td, *J* = 7.8, 1.7 Hz), 7.72 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 7.68 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz), 7.55 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 7.38 (1H, dd, *J* = 6.6, 5.0 Hz), 7.24 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 5.30 (2H, s), 3.94 (3H, s). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO) δ 171.72, 156.12, 156.03, 151.09, 149.40, 149.16, 137.07, 134.96, 129.82, 127.49, 125.27, 123.22, 123.12, 121.80, 121.56, 118.84 (CN), 113.51, 109.93, 107.10, 70.90 (OCH₂), 55.77 (OCH₃).

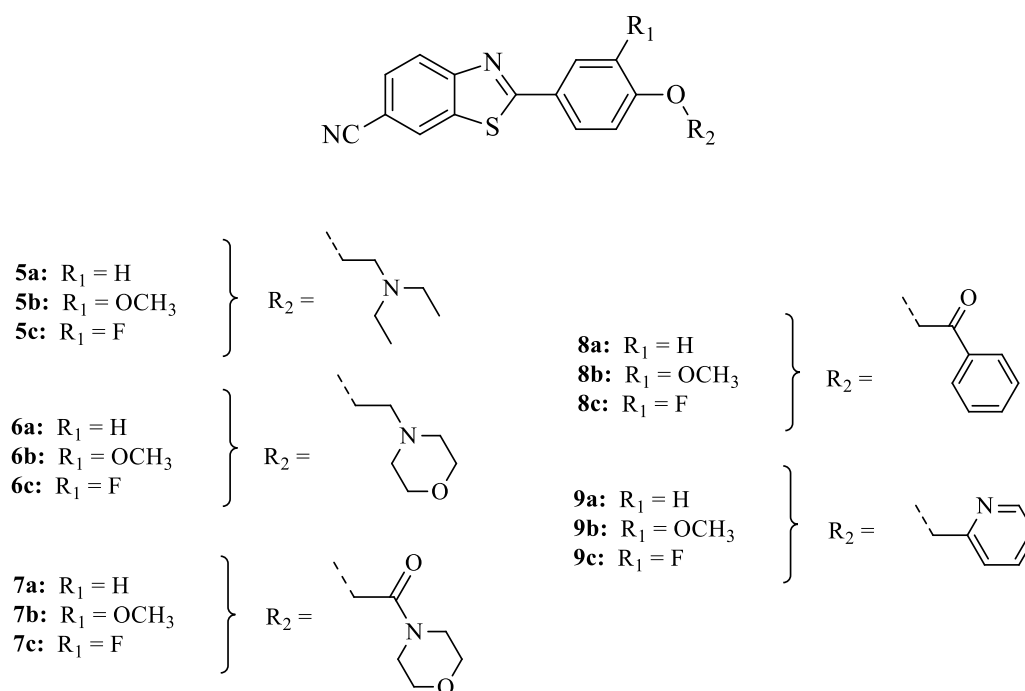
3.2.4.15. Sinteza 2-(3-fluor-4-(piridin-2-ilmetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola (9c)

Spoj **9c** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom fenolnog derivata **4c** (1 ekv, 200 mg, 0.740 mmol), K₂CO₃ (5 ekv, 511.4 mg, 3.700 mmol), 2-(klormetil)piridina (1.5 ekv, 182.1 mg, 1.110 mmol) i kalijeva jodida (100 mg). Reakcija je provođena 34 h. Dobiven je svijetložuti praškasti produkt (130 mg; 48.62 %; Tt = 222–225 °C). ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.77 (1H, d, *J* = 1.2 Hz), 8.62 (1H, d, *J* = 4.2 Hz), 8.18 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 8.03 (1H, dd, *J* = 11.9, 2.1 Hz), 7.94 (2H, dd, *J* = 8.5, 1.6 Hz), 7.89 (1H, td, *J* = 7.7, 1.7 Hz), 7.57 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 7.47 (1H, t, *J* = 8.6 Hz), 7.39 (1H, dd, *J* = 6.7, 5.0 Hz), 5.40 (2H, s). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO) δ 151.03 (d, *J* = 245.1 Hz), 149.26, 137.49, 137.17, 135.09, 129.96, 129.92, 127.68, 124.97 (d, *J* = 3.9 Hz), 123.44, 123.30, 121.90, 118.88 (CN), 115.78, 114.99, 107.39, 71.26 (OCH₂).

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Cilj rada

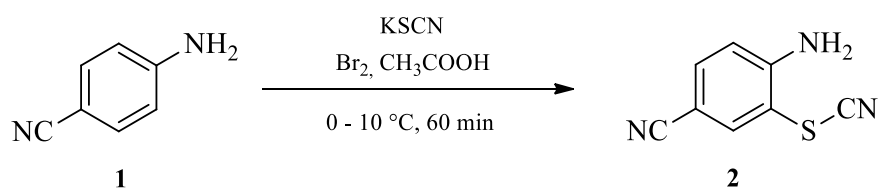
Zadatak ovog rada bila je sinteza novih 2-aril-6-cijano derivata benzotiazola (**5a–9a**, **5b–9b**, **5c–9c**) kao potencijalnih biološki aktivnih molekula, čije su strukture prikazane na Slici 1. Odgovarajući prekursori priređeni su metodom zelene sinteze u glicerolu, a ciljani spojevi priređeni su mehanokemijski. Svi spojevi okarakterizirani su ^1H NMR i ^{13}C NMR spektroskopijom.



Slika 1. Prikaz struktura ciljanih derivata benzotiazola (**5a–9a**, **5b–9b**, **5c–9c**)

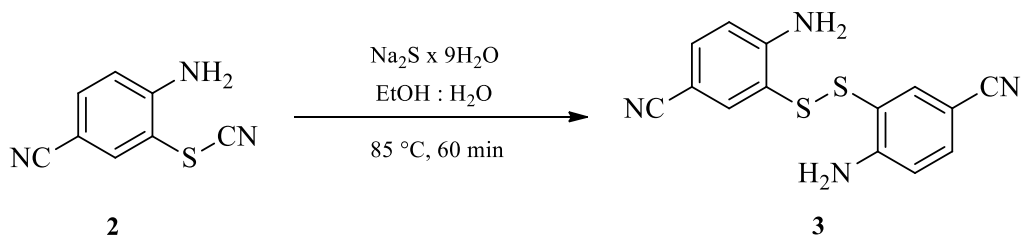
4.2. Sinteza odgovarajućih prekursora

Pripravi ciljanih derivata benzotiazola prethodi višestupnjevita sinteza odgovarajućih prekursora, fenolnih derivata benzotiazola **4a–4c**. U prvom stupnju sinteze, reakcijom supstitucije prikazanoj na Shemi 1., priređen je 4-amino-3-tiocijanatobenzonitril **2** iz 4-aminobenzonitrila **1** i kalijeve tiocijanata uz brom u ledenoj octenoj kiselini. Reakcija je provedena tri puta, a željeni produkt dobiven je u visokom iskorištenju od 90.24 %, 72.64 % i 84.50 %.



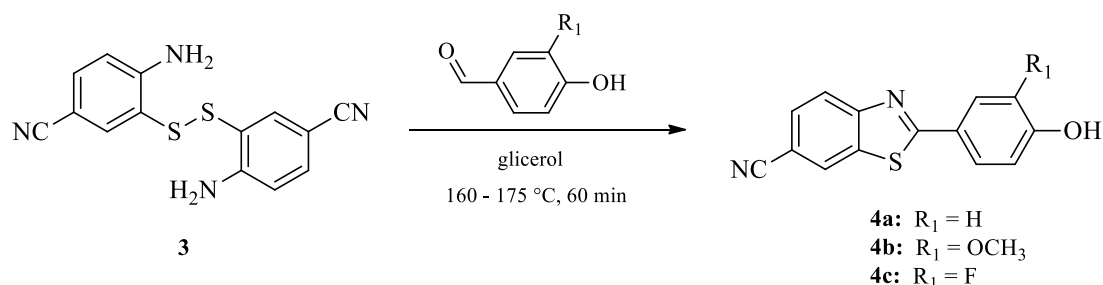
Shema 1. Sinteza 4-amino-3-tiocijanatobenzonitrila **2**

U idućem je stupnju reakcijom 4-amino-3-tiocijanatobenzonitrila **2** i natrijevog sulfida u vodi i etanolu sintetiziran bis(2-amino-5-cijanofenil)disulfid **3**, kao što je prikazano na Shemi 2. Reakcija je pri navedenim uvjetima provedena tri puta uz iskorištenja od 59.77 %, 56.41% i 57.09 %.



Shema 2. Sinteza bis(2-amino-5-cijanofenil)disulfida **3**

Konačno, sinteza fenolnih derivata benzotiazola **4a–4c** provedena je kondenzacijom bis(2-amino-5-cijanofenil)disulfida **3** s odgovarajućim benzaldehidima, bez upotrebe katalizatora, korištenjem ekološki prihvatljivog otapala glicerola prema Shemi 3. Željeni produkti **4a–4c** dobiveni su u visokim iskorištenjima, čije su vrijednosti prikazane u Tablici 1.



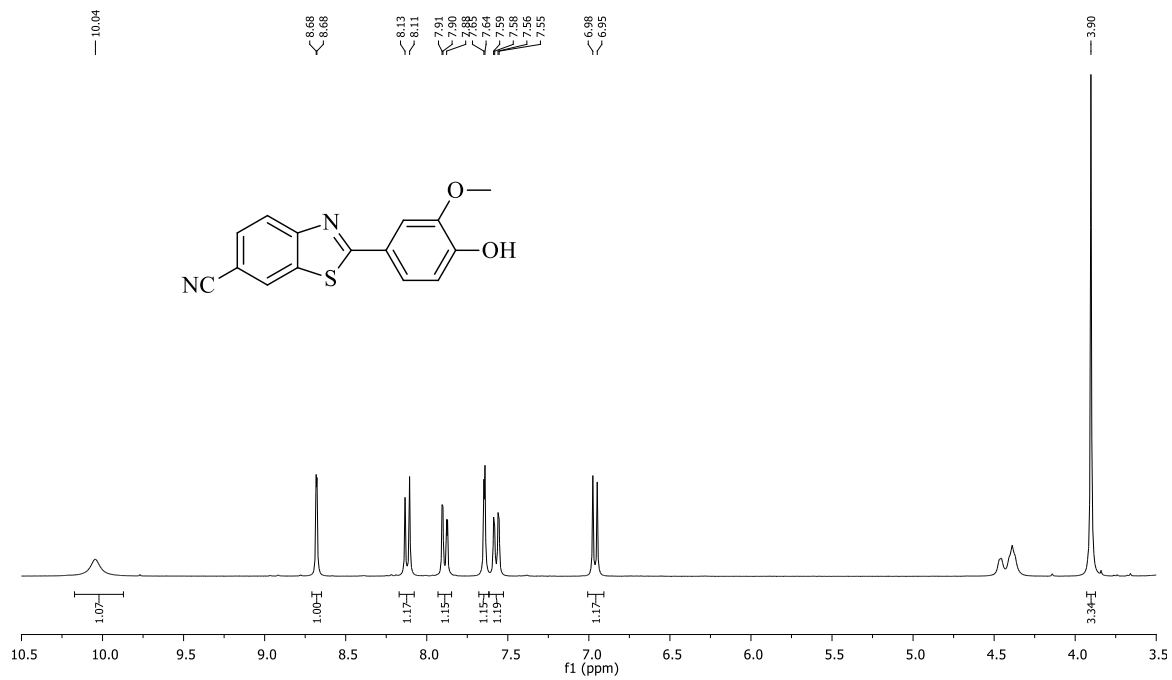
Shema 3. Sinteza fenolnih derivata benzotiazola **4a–4c**

Tablica 1. Iskorištenja reakcija sinteze odgovarajućih fenolnih derivata benzotiazola **4a–4c**

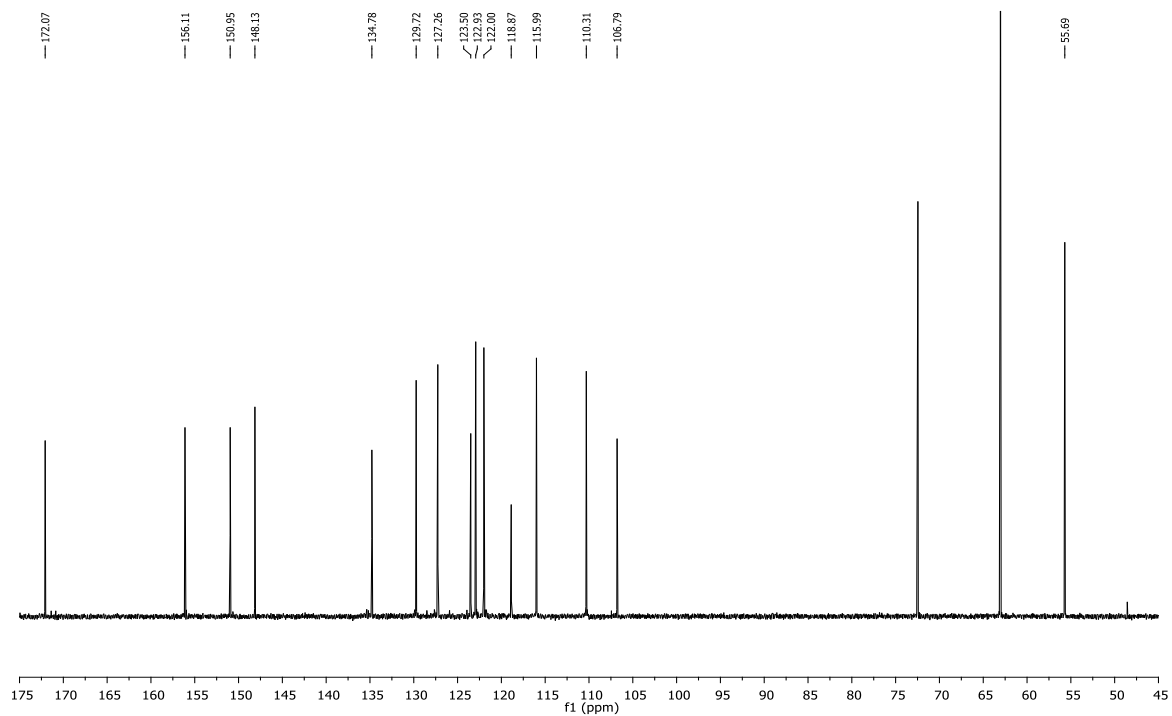
m (spoj 3) / g	m (4-hidroksibenzaldehid) / g	m (spoj 4a) / g	η / %
0.300	0.2137	0.2384	53.99
1.200	0.8595	1.5213	85.68
m (spoj 3) / g	m (3-metoksi-4-hidroksibenzaldehid) / g	m (spoj 4b) / g	η / %
0.300	0.2663	0.3416	69.13
1.200	1.0708	1.9243	96.86
m (spoj 3) / g	m (3-fluor-4-hidroksibenzaldehid) / g	m (spoj 4c) / g	η / %
0.300	0.2452	0.2794	59.08
1.200	0.9861	1.4014	73.67

Strukture priređenih spojeva potvrđene su ¹H NMR i ¹³C NMR spektroskopijom. Na Slici 2. prikazan je ¹H NMR spektar spoja **4b**. Na priloženom ¹H NMR spektru, u aromatskom dijelu vidljiv je odgovarajući broj signala aromatskih protona u području od 7.00 ppm do 8.70 ppm i specifični široki singlet hidroksilne skupine fenola na 10.04 ppm. U alifatskom području spektra, na 3.90 ppm, može se uočiti signal protona metoksi skupine.

Na ¹³C NMR spektru spoja **4b**, prikazanom na Slici 3., prisutan je odgovarajući broj signala aromatskih ugljika u području od 105 ppm do 173 ppm, kao i signal kvaternog ugljika cijano skupine na 118.87 ppm. U alifatskom području spektra, na 55.69 ppm, može se uočiti signal ugljika metoksi skupine.



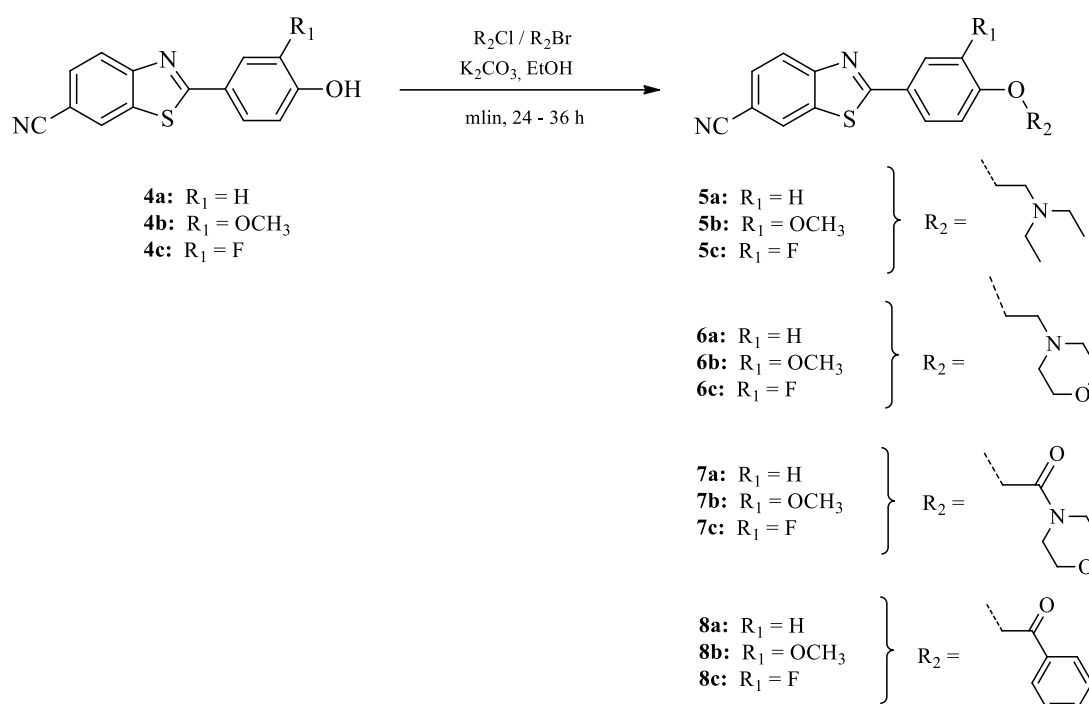
Slika 2. ¹H NMR spektar spoja **4b**



Slika 3. ¹³C NMR spektar spoja **4b**

4.3. Sinteza ciljanih spojeva

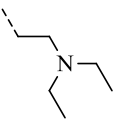
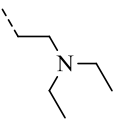
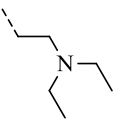
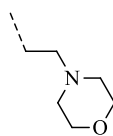
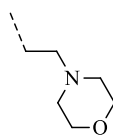
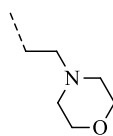
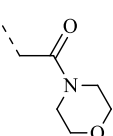
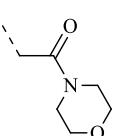
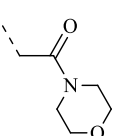
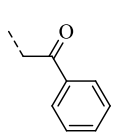
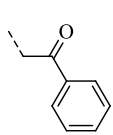
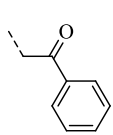
Ciljani 2-aril-6-cijano-supstituirani benzotiazoli **5a–8a**, **5b–8b** i **5c–8c** priređeni su pri sobnoj temperaturi, u vibracijskom, kugličnom mlinu, reakcijom *O*-alkiliranja odgovarajućih fenolnih derivata benzotiazola **4a–4c** i alkil-halogenida uz dodatak katalitičke količine etanola i K_2CO_3 kao ekološki prihvatljivog deprotonirajućeg agensa (Shema 4.).

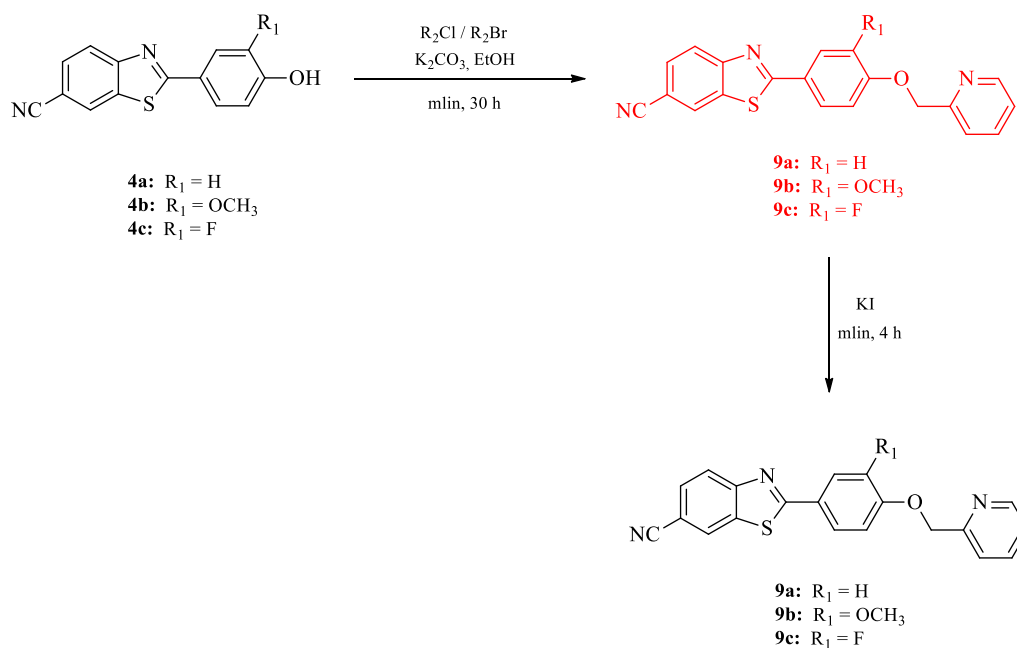


Shema 4. Mehanokemijska sinteza ciljanih derivata **5a–8a**, **5b–8b** i **5c–8c**

Iz Tablice 2. vidljivo je da su kod priprave *N*-etilendietilnih **5a–5c** i etilenmorfolinskih **6a–6c** derivata benzotiazola najveća iskorištenja postignuta za nesupstituirane analoge **5a** (65.34 %) i **6a** (47.72 %) nakon 24 sata, dok su najmanja iskorištenja dobivena kod fluor supstituiranih analoga **5c** (25.20 %) i **6c** (35.78 %) nakon 26 sati. Pri sintezi acilmorfolinskih analoga benzotiazola **7a–7c**, željeni produkti dobiveni su u iskorištenjima od 37.13 % do 40.88 %. Kod priprave acetofenonskih analoga **8a–8c** najveće iskorištenje reakcije dobiveno je kod metoksi supstituiranog analoga **8b** (85.19 %), nakon 24 sata, dok je iskorištenje reakcije nesupstituiranog analoga **8a** i fluor supstituiranog analoga **8c** nakon 36 sati iznosilo 22.03 % i 59.26 %.

Tablica 2. Prikaz iskorištenja mehanokemijske sinteze ciljanih spojeva **5a–8a**, **5b–8b**, **5c–8c**

Spoj	R ₁	R ₂	t / h	η / %
5a	H		24	65.34
5b	OCH ₃		24	52.24
5c	F		26	25.20
6a	H		24	47.72
6b	OCH ₃		24	37.18
6c	F		26	35.78
7a	H		26	38.62
7b	OCH ₃		24	40.88
7c	F		24	37.13
8a	H		36	22.03
8b	OCH ₃		24	85.19
8c	F		36	59.26

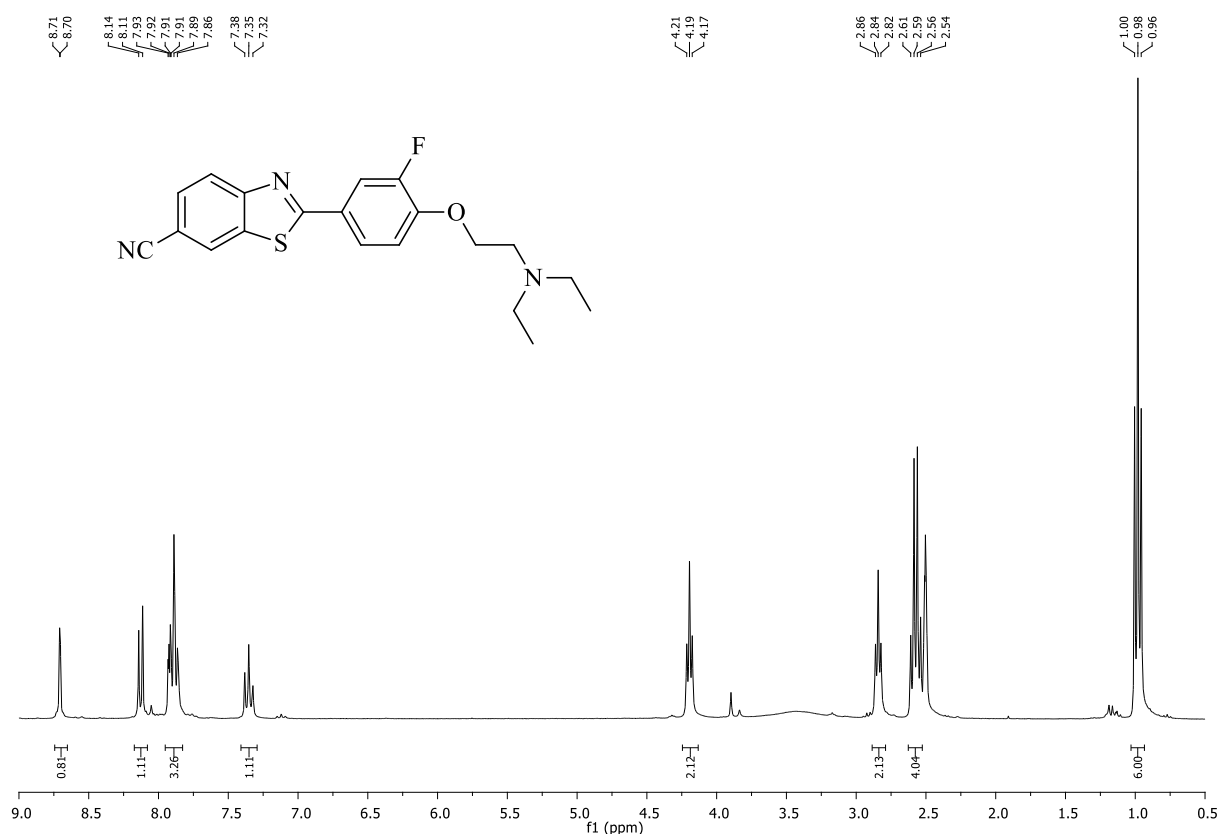


Shema 5. Mehanokemijska sinteza ciljanih derivata **9a–9c**

Na Shemi 5. prikazana je priprava piridin supstituiranih analoga benzotiazola **9a–9c**. Sinteza ovih derivata provedena je pri istim uvjetima pri kojima su uspješno sintetizirani preostali ciljani spojevi (**5a–8a**, **5b–8b**, **5c–8c**). Nakon 30 sati, provjerom reakcijske smjese

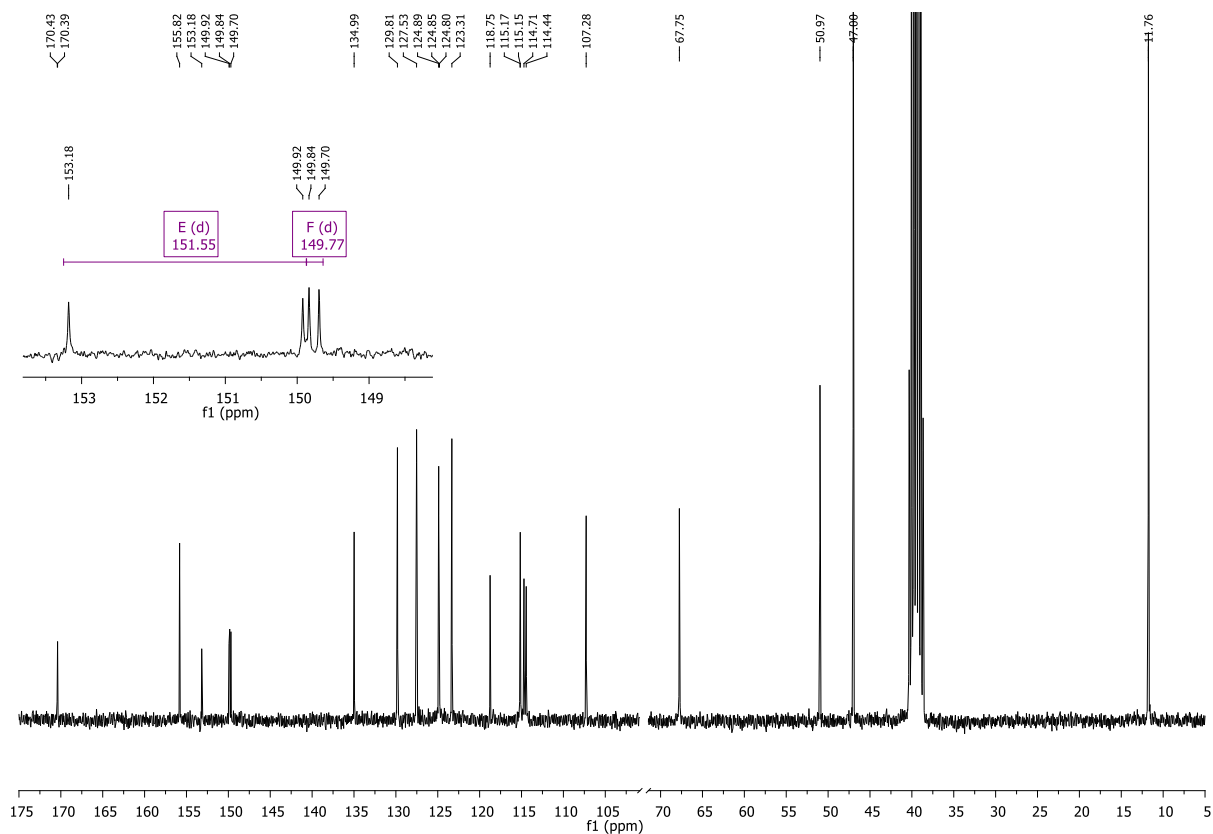
tankoslojnom kromatografijom, utvrđeno je da nije došlo do stvaranja željenog produkta, stoga je u reakcijsku smjesu dodano 100 mg KI. Reakcija je u mlinu provođena još 4 sata, nakon čega su izolirani željeni produkti u iskorištenjima od 34.23 % (**9a**), 49.43 % (**9b**) i 48.62% (**9c**).

Strukture priređenih spojeva potvrđene su ^1H NMR i ^{13}C NMR spektroskopijom. Na Slici 4. prikazan je ^1H NMR spektar, a na Slici 5. ^{13}C NMR spektar spoja **5c**.



Slika 4. ^1H NMR spektar spoja **5c**

^1H NMR spektar spoja **5c** pokazuje odgovarajući broj aromatskih protona u području od 7.30 ppm do 8.75 ppm. Izostanak širokog singleta hidrosilne skupine fenola (~ 10 ppm) ukazuje na uspješno provedenu reakciju *O*-alkiliranja. U alifatskom dijelu spektra vidljiva su tri signala metilenskih protona na 4.19 ppm (OCH_2), 2.57 ppm (NCH_2) i 2.84 ppm (NCH_2), kao i signal metilnih (CH_3) protona na 0.98 ppm.



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

U ^{13}C NMR spektru spoja **5c** prisutan je odgovarajući broj signala aromatskih ugljika u području od 107 ppm do 171 ppm. Sprega fluora s fluor-supstituiranim ugljikom fenoksietilenskog dijela molekule ($\text{C}3'$) vidljiva je na 151.55 ppm u obliku dubleta s konstantom sprege $J_{CF} = 245.9$ Hz. Sprega preko dvije veze vidljiva je na 149.77 ppm kao dublet kvaternog ugljika vezanog za kisik ($\text{C}4'$) s konstantom sprege $J_{CF} = 10.6$ Hz i na 114.57 ppm kao dublet $\text{C}2'$ ugljikovog atoma s konstantom sprege $J_{CF} = 20.2$ Hz. Može se uočiti i sprega preko više veza na 170.41 ppm kao dublet $\text{C}2$ kvaternog ugljika benzotiazola ($J_{CF} = 2.7$ Hz) i na 124.82 ppm kao dublet $\text{C}5'$ ugljikovog atoma ($J_{CF} = 3.5$ Hz). Utjecaj fluora seže sve do $\text{C}6'$ ugljikova atoma čiji se dublet nalazi na 115.16 ppm i pokazuje konstantu sprege od $J_{CF} = 1.6$ Hz. U području od 11 ppm do 68 ppm, nalazi se odgovarajući broj signala alifatskih ugljika.

5. ZAKLJUČAK

- U ovom radu priređeni su novi potencijalno biološki aktivni 6-cijanobenzotiazoli koji su u položaju 2 benzotiazolne jezgre supstituirani fenoksimetilenskom poveznicom s metilendietilamino skupinom (**5a–5c**), metilenmorfolinom (**6a–6c**), morfolinoilom (**7a–7b**), benzoilom (**8a–8c**) i piridinom (**9a–9c**).
- Sinteza 4-amino-3-tiocijanatobenzonitrila **2** i bis(2-amino-5-cijanofenil)disulfida **3** provedena je klasičnim pristupom. Bis(2-amino-5-cijanofenil)disulfid **3** priređen je iz 4-amino-3-tiocijanatobenzonitrila **2** uz natrijev sulfid u etanolu i vodi, dok je 4-amino-3-tiocijanatobenzonitril **2** priređen reakcijom supstitucije iz 4-aminobenzonitrila **1** i kalijeva tiocijanata uz brom u ledenoj octenoj kiselini.
- Odgovarajući fenolni derivati benzotiazola **4a–4c** priređeni su metodom zelene sinteze u glicerolu, reakcijom kondenzacije bis(2-amino-5-cijanofenil)disulfida **3** s odgovarajućim benzaldehidom.
- Ciljani 2,6-disupstituirani derivati benzotiazola **5a–8a**, **5b–8b** i **5c–8c** priređeni su mehanokemijskom sintezom u vibracijskom, kugličnom mlinu, reakcijom *O*-alkiliranja odgovarajućih fenolnih derivata benzotiazola **4a–4c** s alkil-halogenidom uz K₂CO₃ i katalitičku količinu etanola.
- Ciljani derivati benzotiazola koji u strukturi sadrže piridinski prsten (**9a–9c**) priređeni su mehanokemijskom sintezom u vibracijskom, kugličnom mlinu, reakcijom *O*-alkiliranja odgovarajućih fenolnih derivata benzotiazola **4a–4c** s alkil-halogenidom uz K₂CO₃, etanol i KI.
- Strukture svih priređenih spojeva potvrđene su ¹H NMR i ¹³C NMR spektroskopijom.

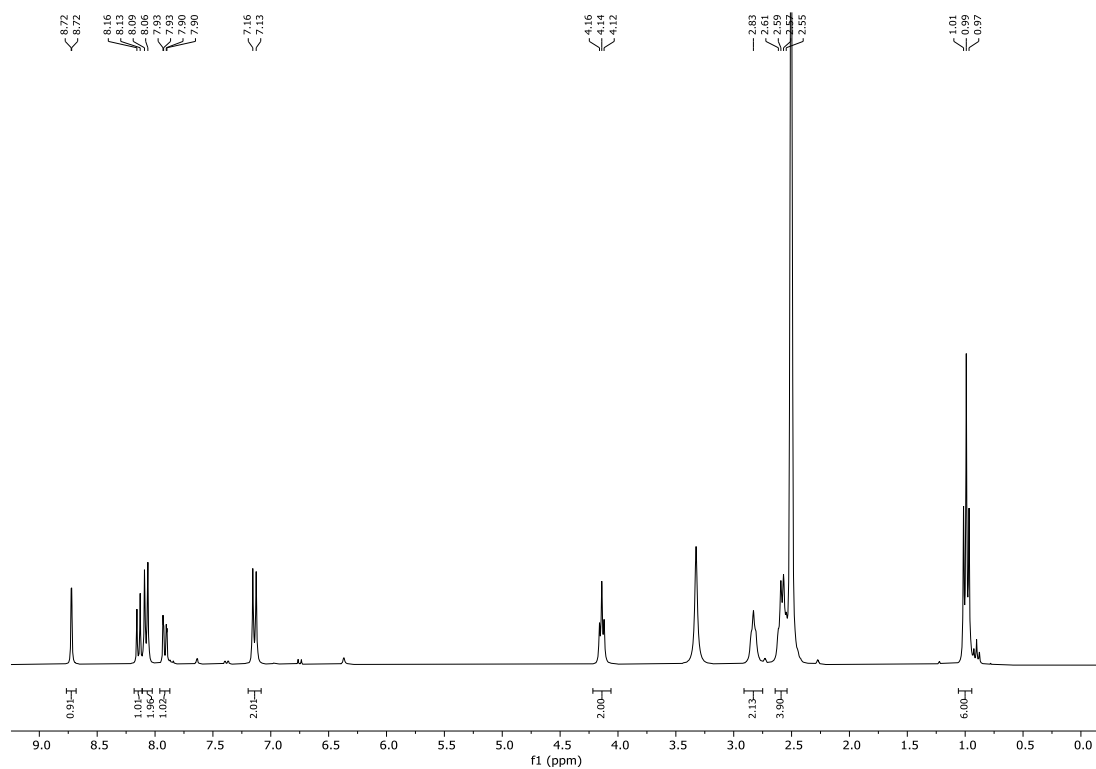
6. LITERATURA

1. Do, J.L., Frišćić, T., Mechanochemistry: A Force of Synthesis, *ACS Cent. Sci.*, **3** (2017) 13–19.
2. Jampilek, J., Heterocycles in Medicinal Chemistry, *Molecules*, **24** (2019) 3839.
3. Ram, V. J., Sethi, A., Nath, M., Pratap, R., Five-Membered Heterocycles, u: Ram, V. J., Sethi, A., Nath, M., Pratap, R., *The Chemistry of Heterocycles*, Elsevier, 2019, str. 149-478.
4. Racané, L., Rep, V., Kraljević Pavelić, S., Grbčić, P., Zonjić, I., Radić Stojković, M., Taylor, M. C., Kelly, J. M., Raić-Malić, S., Synthesis, antiproliferative and antitrypanosomal activities, and DNA binding of novel 6-amidino-2-arylbenthiazoles, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **36** (2021) 1952-1967.
5. Fleming, F. F., Yao, L., Ravikumar, P. C., Funk, L., Shook, B. C., Nitrile-containing pharmaceuticals: Efficacious roles of the nitrile pharmacophore, *J. Med. Chem.*, **53** (2010) 7902-7917.
6. Shekharappa, Roopesh Kumar, L., Srinivasulu, C., Dehydration of Chiral α -Amides to Chiral α -Nitriles Under the Appel Reaction Conditions. *Int. J. Pept. Res. Ther.*, **27** (2021) 497–502.
7. 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.
8. Andersen, J., Mack, J., Mechanochemistry and organic synthesis: From mystical to practical, *Green Chem.*, **20** (2018) 1435-1443.
9. Colombo, I., Grassi, G., Grassi, M., Drug mechanochemical activation, *J. Pharm. Sci.*, **98** (2009) 3961-3986.
10. Colacino, E., Carta, M., Pia, G., Porcheddu, A., Ricci, P. C., Delogu, F., Processing and Investigation Methods in Mechanochemical Kinetics, *ACS Omega*, **3** (2018) 9196–9209.
11. Baheti, V. K., Abbasi, R., Militky, J., Ball milling of jute fibre wastes to prepare nanocellulose, *World J. Eng.*, **9** (2012) 45-50.
12. Cova, C. M., Luque, R., Advances in mechanochemical processes for biomass valorization, *BMC Chem. Eng.*, **1** (2019) 16.
13. Anastas, P., Eghbali, N., Green Chemistry: Principles and Practice, *Chem. Soc. Rev.*, **39** (2010) 301-312.
14. Jukić, M., Đaković, S., Filipović-Kovačević, Ž., Vorkapić-Furač, J., “Zelena” kemija – ekološki prihvatljivi procesi, *Kem. Ind.*, **53** (2004) 217–224.

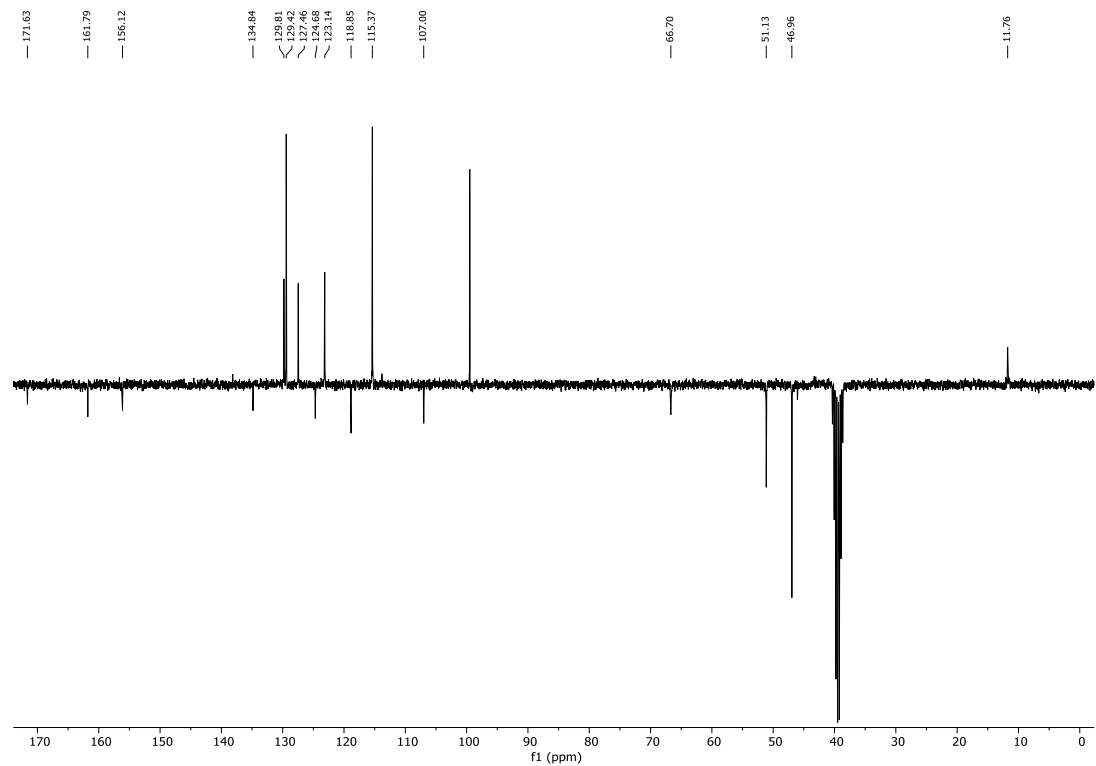
15. Ardila-Fierro, K. J., Hernandez, J. G., Sustainability Assessment of Mechanochemistry by Using the Twelve Principles of Green Chemistry, *ChemSusChem*, **14** (2021) 1–19.
16. <http://www.insolidotech.org/plastic-vessels.html> (pristup: 10.04.2022.)
17. García-Báez, E. V., Padilla-Martínez, I. I. Tamay-Cach, F., Cruz, A., Benzothiazoles from Condensation of *o*-Aminothiophenoles with Carboxylic Acids and Their Derivatives: A Review, *Molecules*, **26** (2021) 6518.
18. Rambabu, D., Murthi, P. R. K., Dulla, B., Rao, M. V. B., Pal, M., Amberlyst-15–catalyzed synthesis of 2-substituted 1,3-benzazoles in water under ultrasound, *Synth. Commun.*, **43** (2013) 3083–3092.
19. Merroun, Y., Chehab, S. Ghailane, T., Akhazzane, M., Souizi, 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.
20. Banerjee, M., Chatterjee, A., Kumar, V., Bhutia, Z. T., Khandare, D. G., Majikb, M. S., Roy, B. G., A simple and efficient mechanochemical route for the synthesis of 2-aryl benzothiazoles and substituted benzimidazoles, *RSC Adv.*, **4** (2014) 39606-39611.
21. Mohamed, L. W., Taher, A. T., Rady, G. S., Ali, M. M., Mahmoud, A. E., Synthesis and cytotoxic activity of certain benzothiazole derivatives against human MCF-7 cancer cell line, *Chem. Biol. Drug. Des.*, **89** (2017) 566-576.
22. Racané, L., Ptiček, L., Fajdetić, G., Tralić-Kulenović, V., Klobučar, M., Kraljević Pavelić, S., Perić, M., Čipčić Paljetak, H., Verbanac, D., Starčević, K., Green synthesis and biological evaluation of 6-substituted-2-(2-hydroxy/methoxy-phenyl)benzothiazole derivatives as potential antioxidant, antibacterial and antitumor agents, *Bioorg. Chem.*, **95** (2020) 103537.
23. Azzam, R. A., Elgemeie, G. H., Osman, R. R., Synthesis of novel pyrido[2,1-*b*]benzothiazole and *N*-substituted 2-pyridylbenzothiazole derivatives showing remarkable fluorescence and biological activities, *J. Mol. Struct.*, **1201** (2020) 127194.
24. Lin, J., Gao, D., Wang, S., Lv, G., Wang, X., Lu, C., Peng, Y., Qiu, L., Stimuli-Responsive Macrocyclization Scaffold Allows In Situ Self-Assembly of Radioactive Tracers for Positron Emission Tomography Imaging of Enzyme Activity, *J. Am. Chem. Soc.*, **144** (2022) 7667–7675.

7. PRILOZI

Prilog 1.

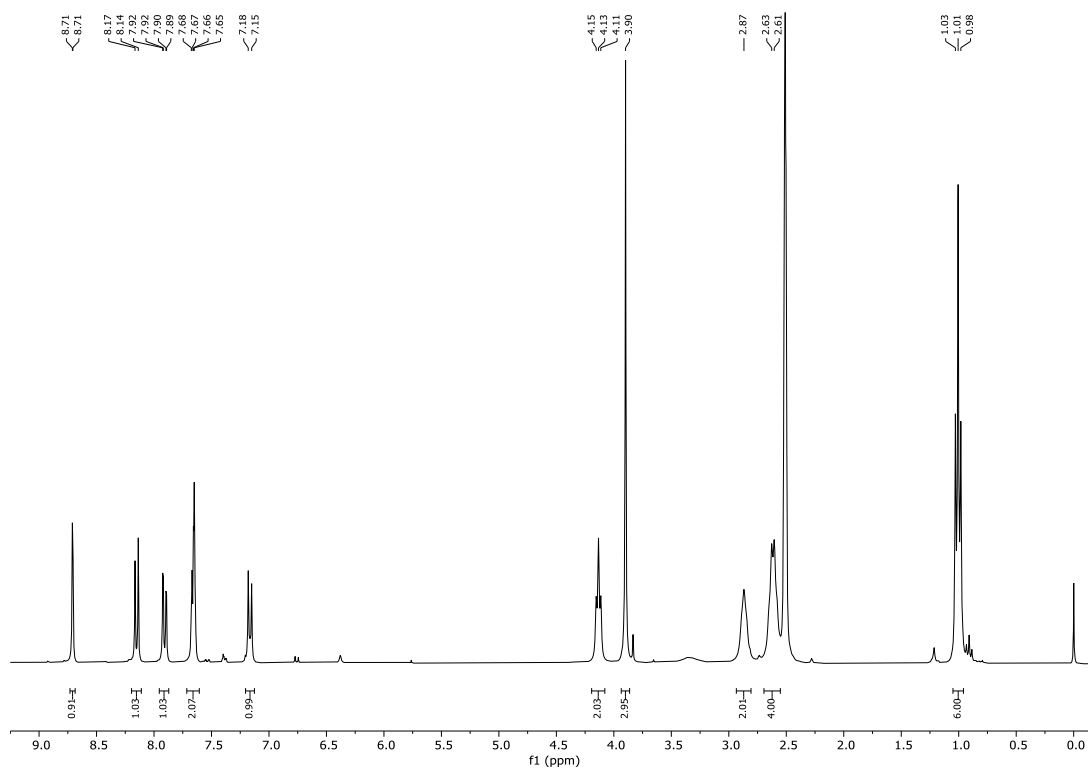


a) ¹H NMR spektar 2-(4-(2-(diethylamino)etoksi)fenil)-6-cijanbenzotiazola **5a**

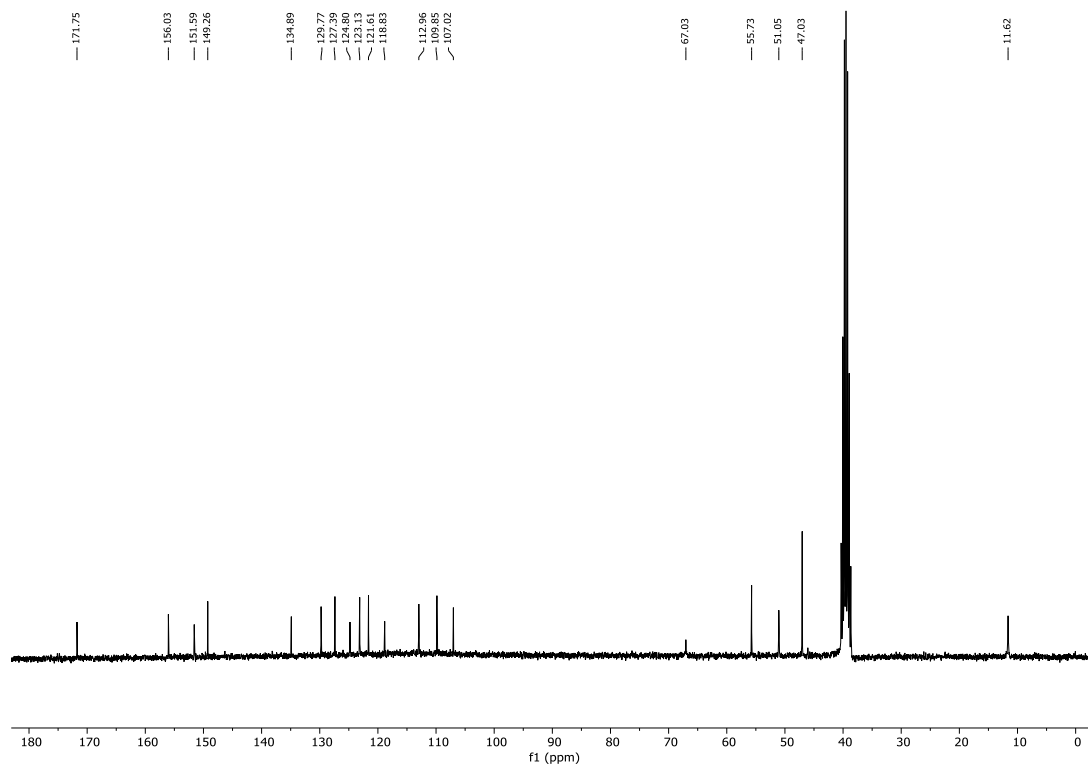


b) ¹³C NMR spektar 2-(4-(2-(diethylamino)etoksi)fenil)-6-cijanbenzotiazola **5a**

Prilog 2.

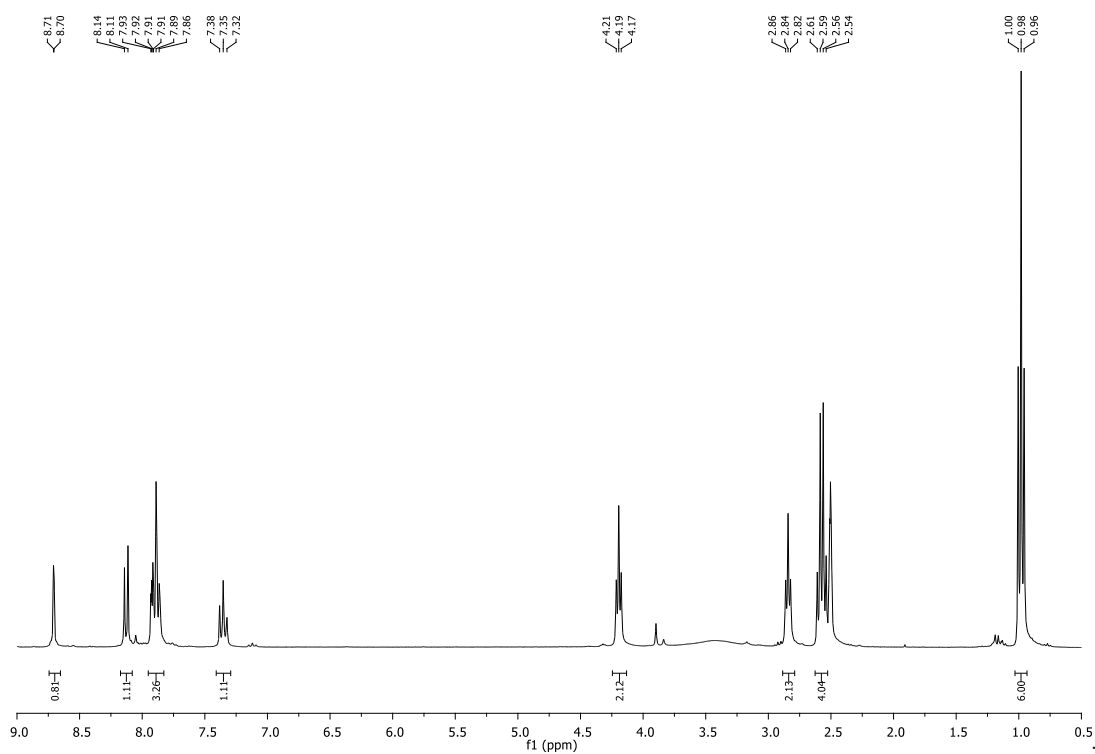


a) ¹H NMR spektar 2-(4-(2-(diethylamino)etoksi)-3-metoksifenil)-6-cijanbenzotiazola **5b**

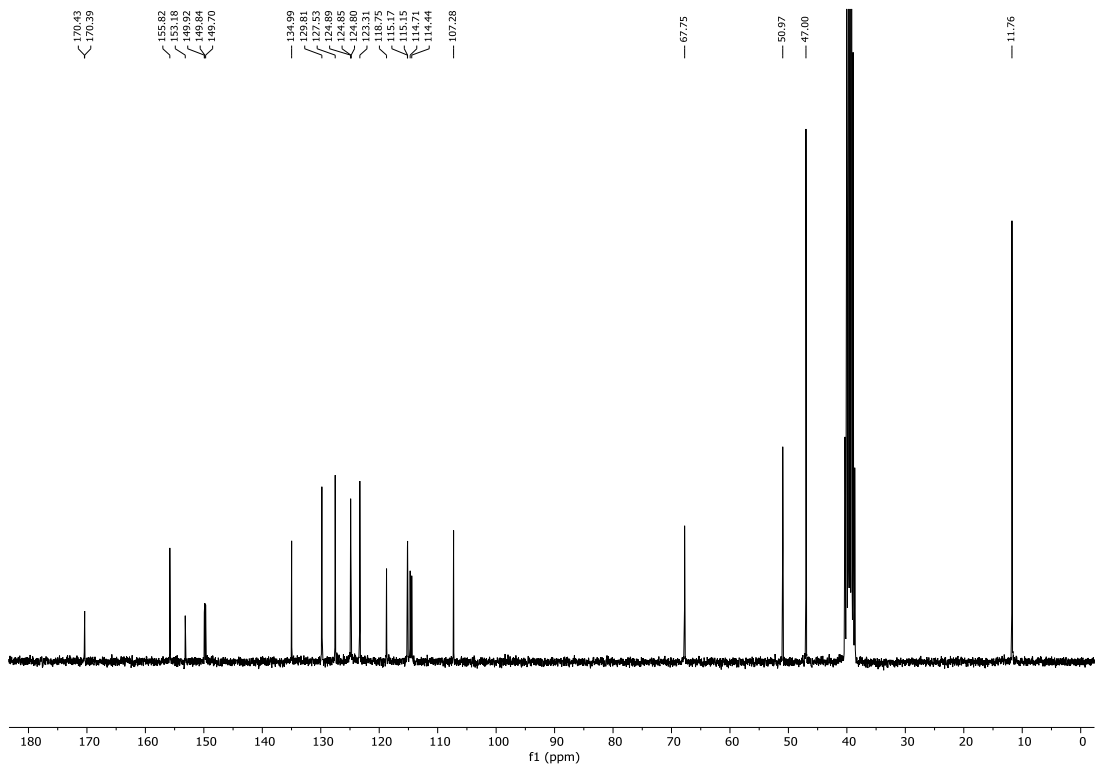


b) ¹³C NMR spektar 2-(4-(2-(diethylamino)etoksi)-3-metoksifenil)-6-cijanbenzotiazola **5b**

Prilog 3.

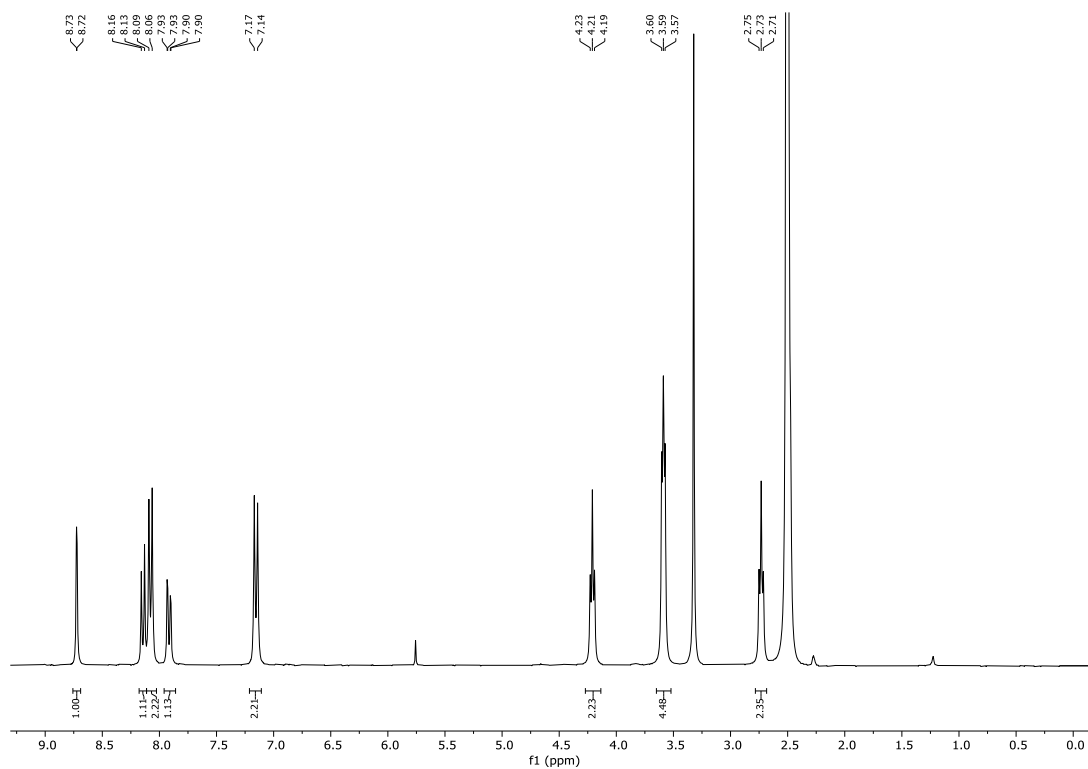


a) ^1H NMR spektar 2-(4-(2-(dietilamino)etoksi)-3-fluor-fenil)-6-cijanobenzotiazola **5c**

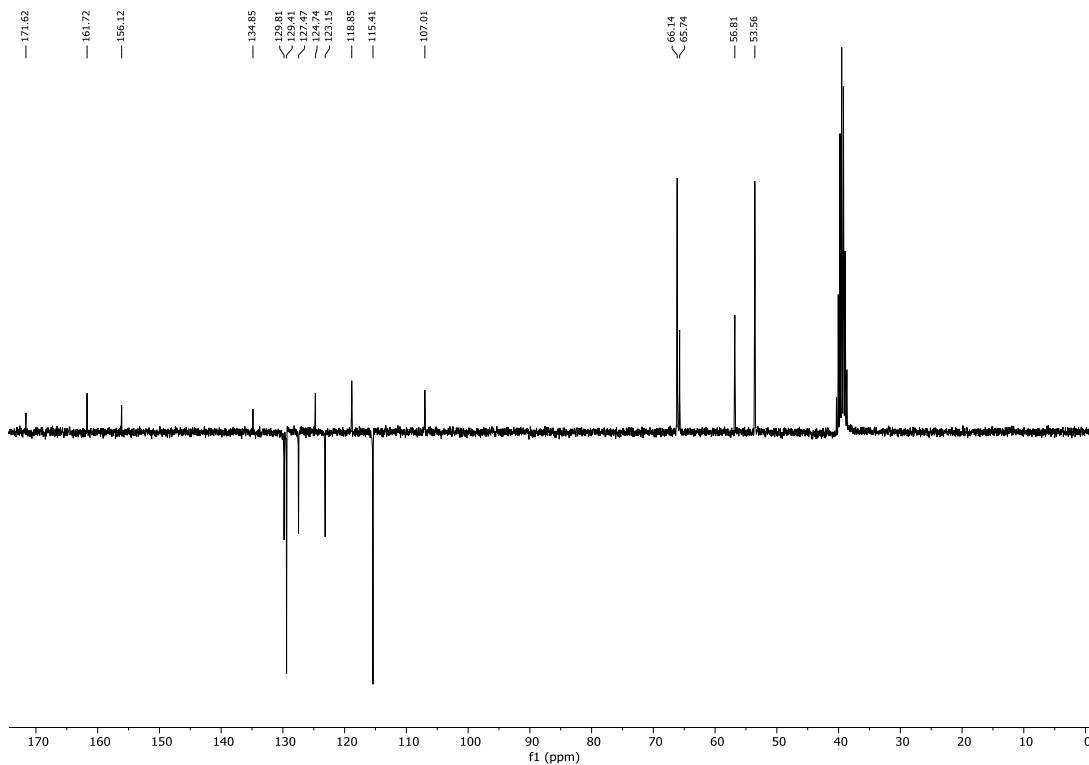


b) ^{13}C NMR spektar 2-(4-(2-(dietilamino)etoksi)-3-fluor-fenil)-6-cijanobenzotiazola **5c**

Prilog 4.

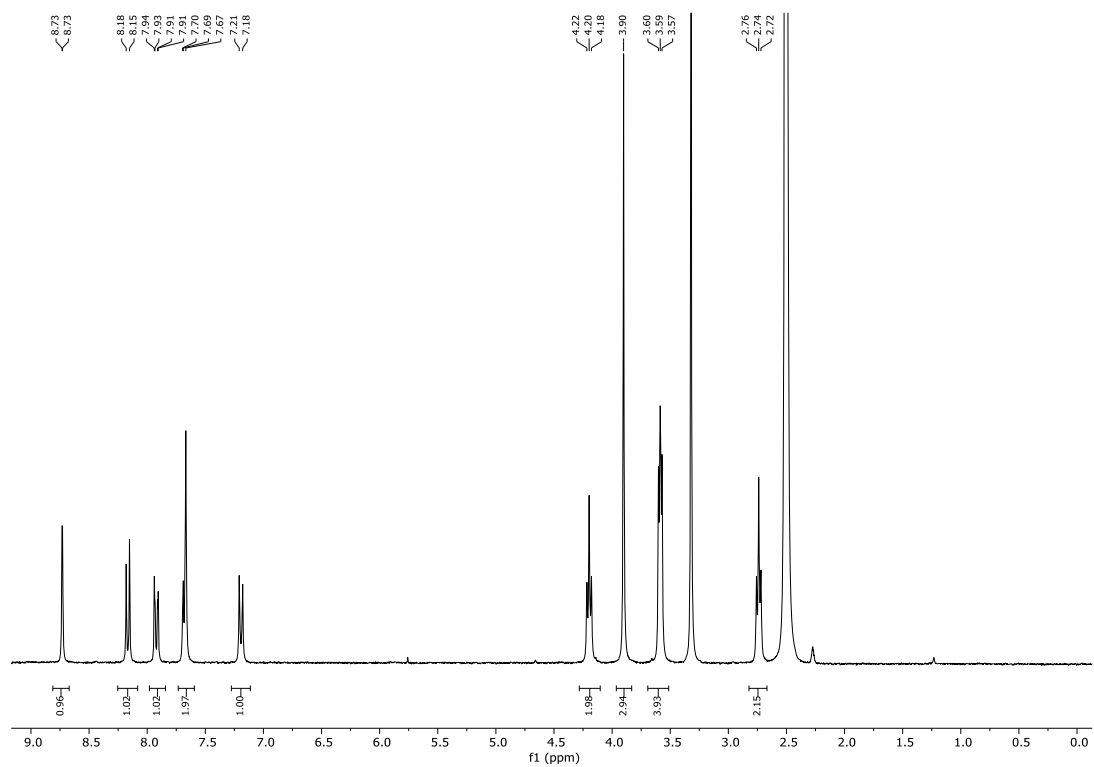


a) ¹H NMR spektar 2-(4-(2-morfolinoetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola **6a**

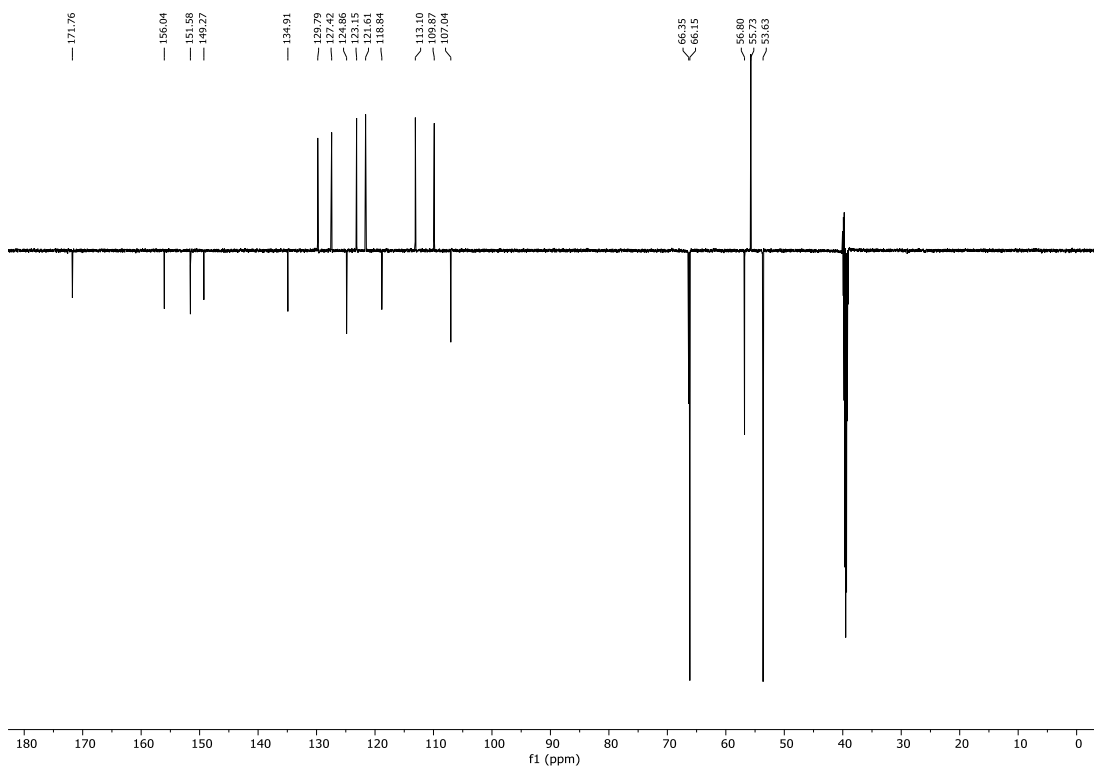


b) ¹³C NMR spektar 2-(4-(2-morfolinoetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola **6a**

Prilog 5.

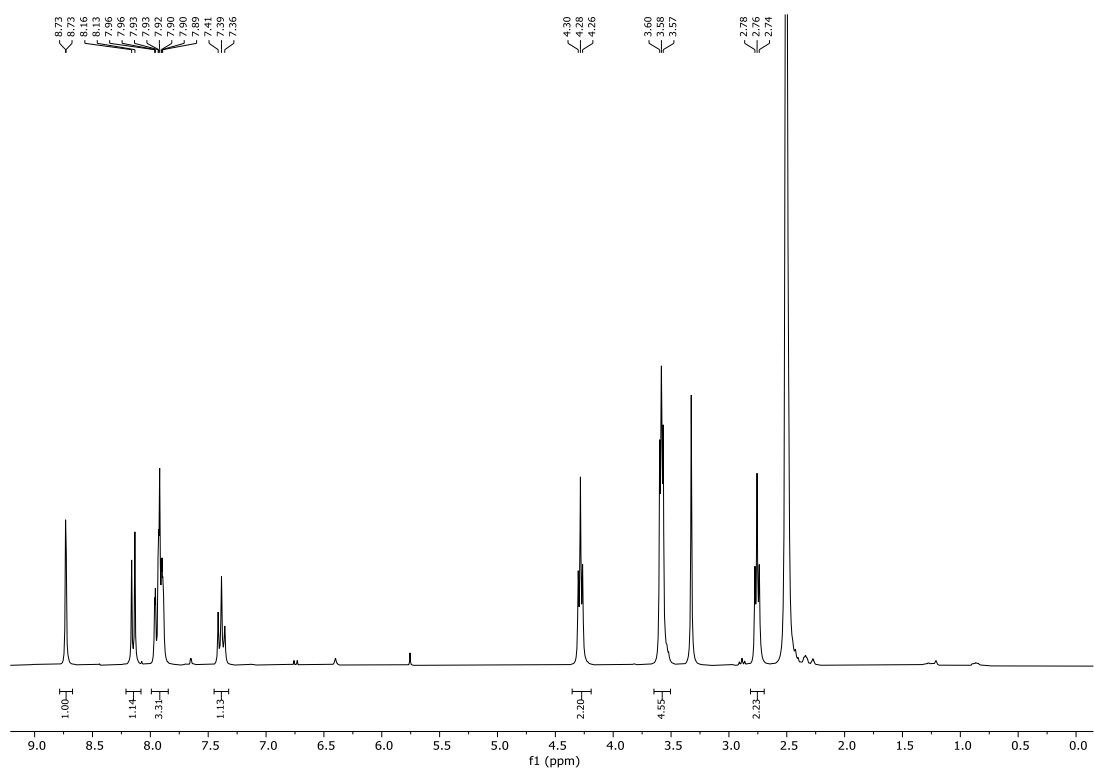


a) ¹H NMR spektar 2-(3-metoksi-4-(2-morfolinoetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola **6b**

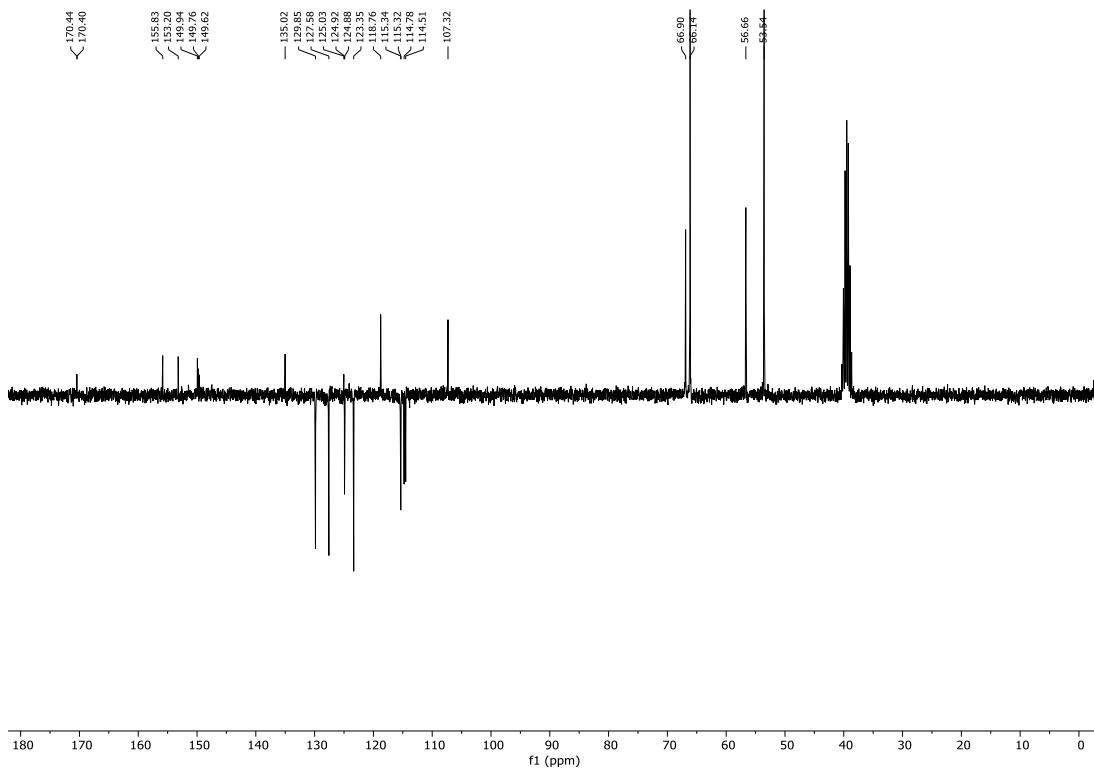


b) ¹³C NMR spektar 2-(3-metoksi-4-(2-morfolinoetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola **6b**

Prilog 6.

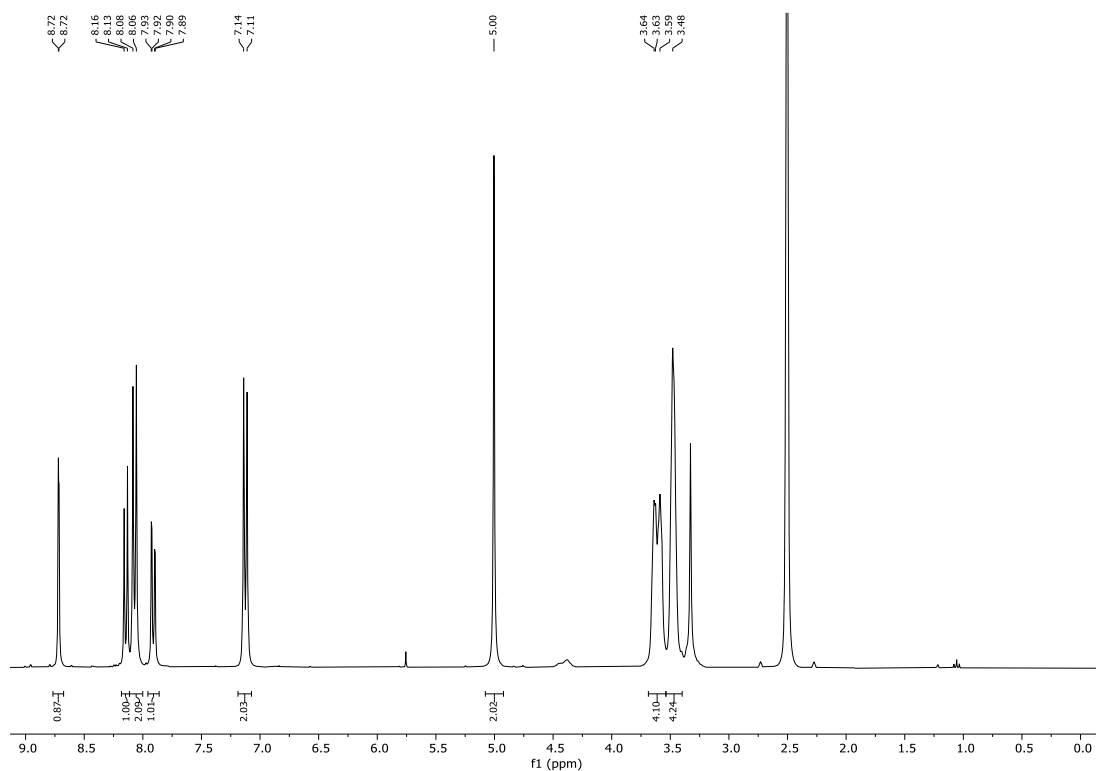


a) ^1H NMR spektar 2-(3-fluor-4-(2-morfolinoetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola **6c**

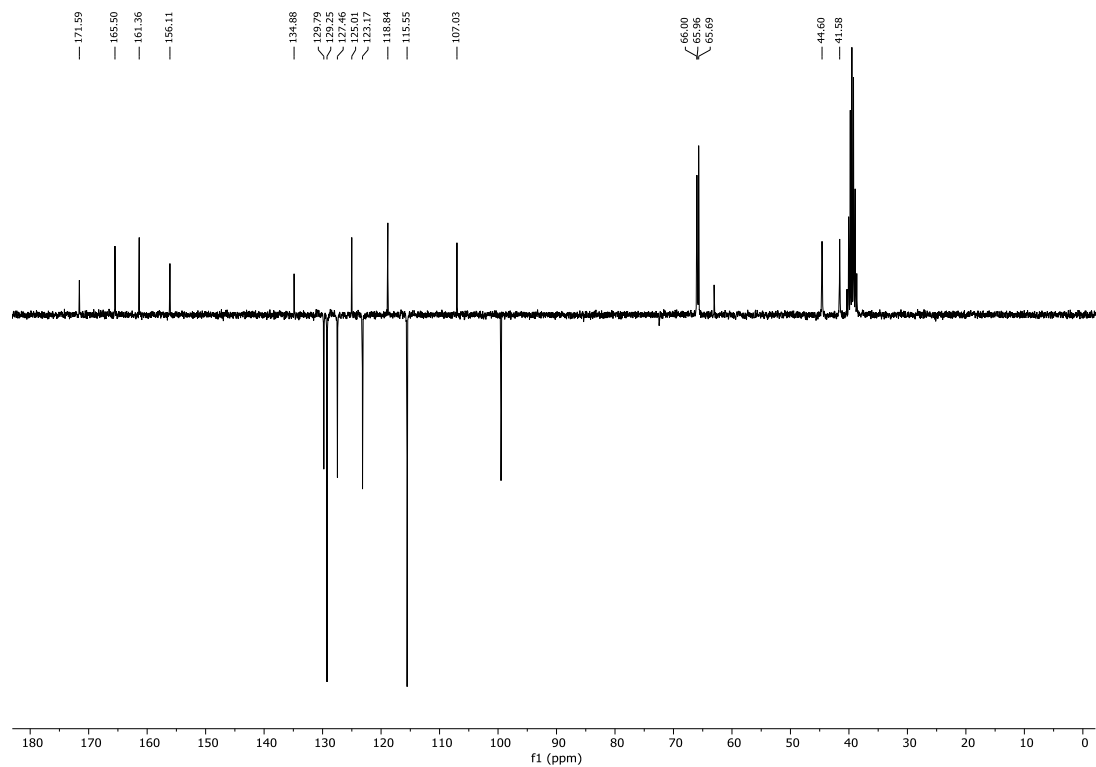


b) ^{13}C NMR spektar 2-(3-fluor-4-(2-morfolinoetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola **6c**

Prilog 7.

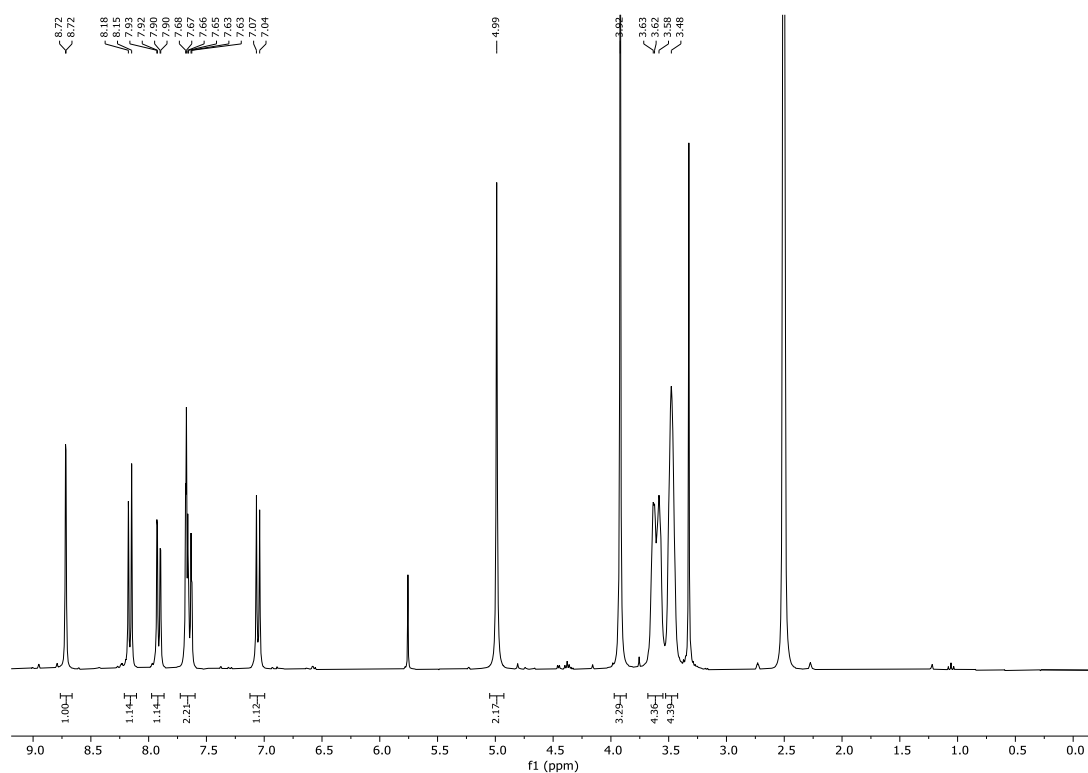


a) ¹H NMR spektar 2-(4-(2-morfolino-2-oksoetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola **7a**

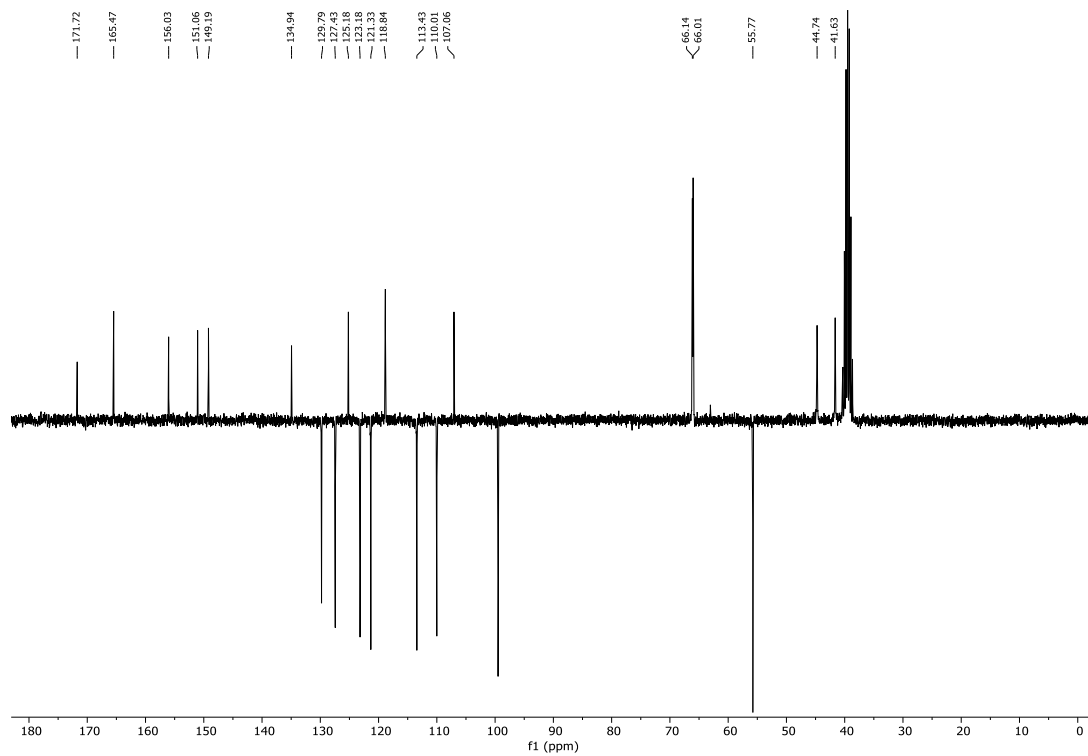


b) ¹³C NMR spektar 2-(4-(2-morfolino-2-oksoetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola **7a**

Prilog 8.

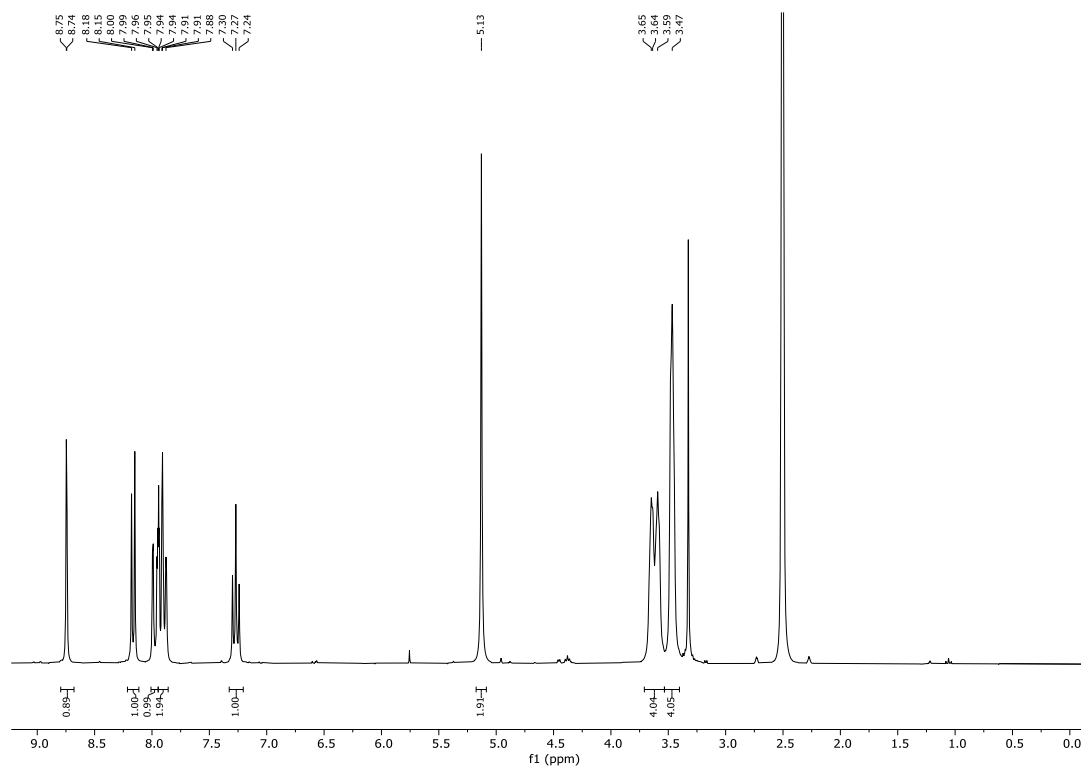


a) ¹H NMR spektar 2-(3-metoksi-4-(2-morfolino-2-oksoetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola
7b

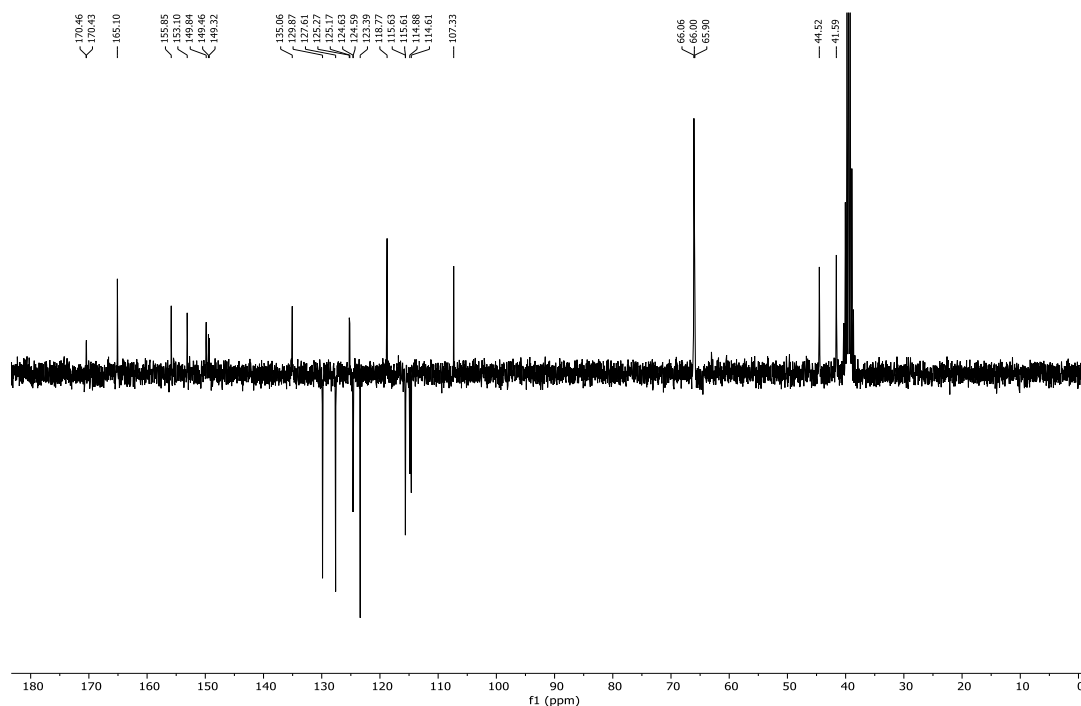


b) ¹³C NMR spektar 2-(3-metoksi-4-(2-morfolino-2-oksoetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola
7b

Prilog 9.

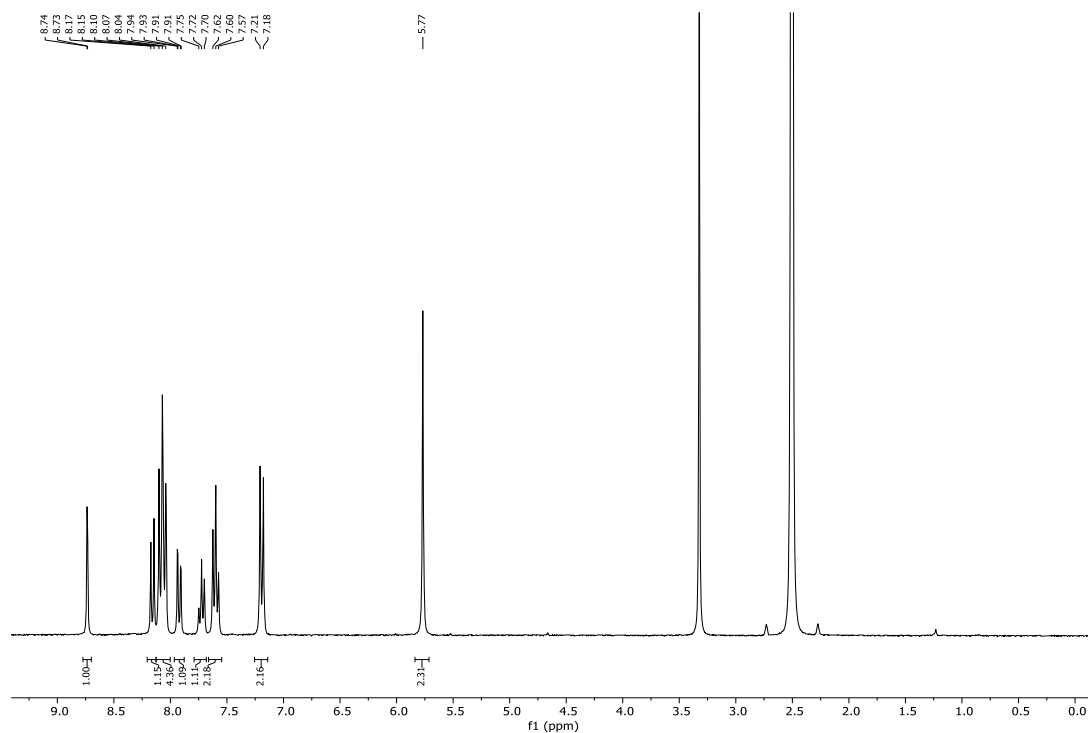


a) ¹H NMR spektar 2-(3-fluor-4-(2-morfolino-2-oksoetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola 7c

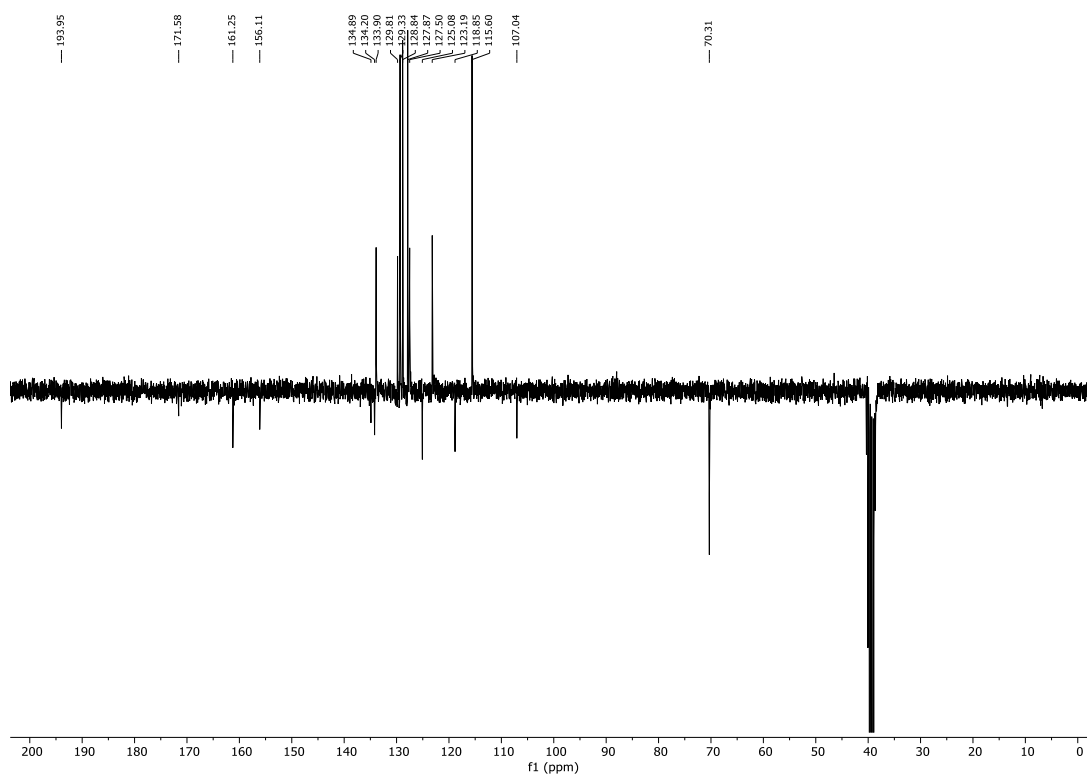


b) ¹³C NMR spektar 2-(3-fluor-4-(2-morfolino-2-oksoetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola 7c

Prilog 10.

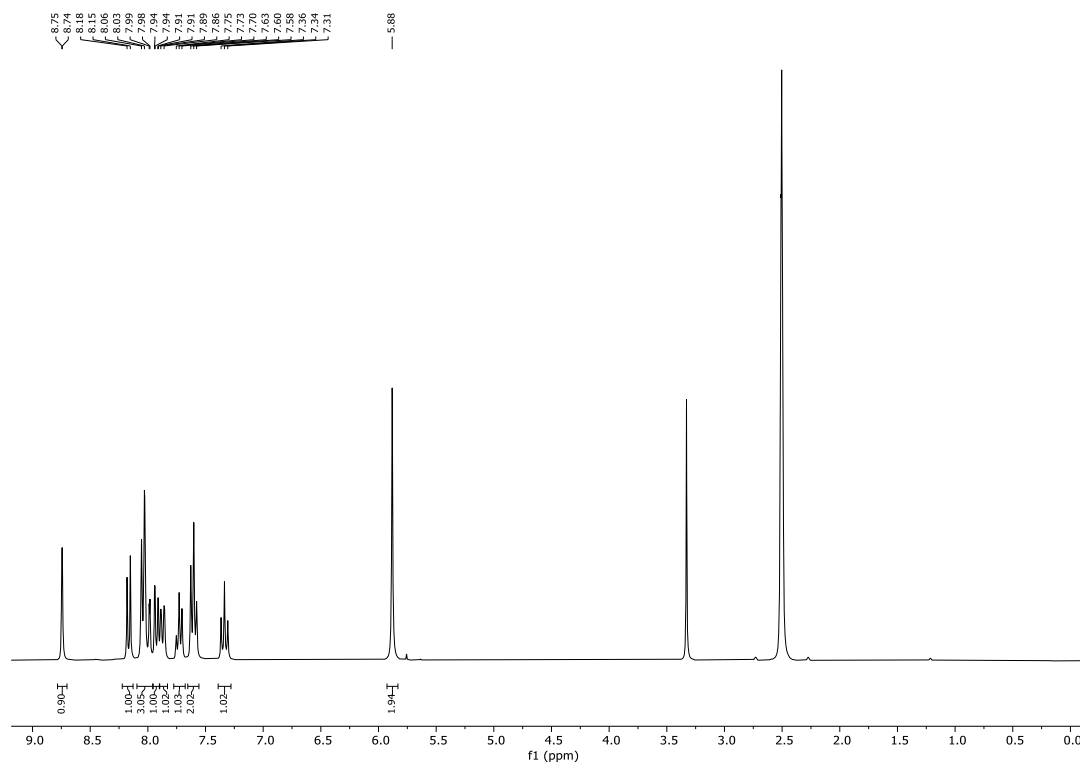


a) ¹H NMR spektar 2-(4-(2-okso-2-feniletoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola **8a**

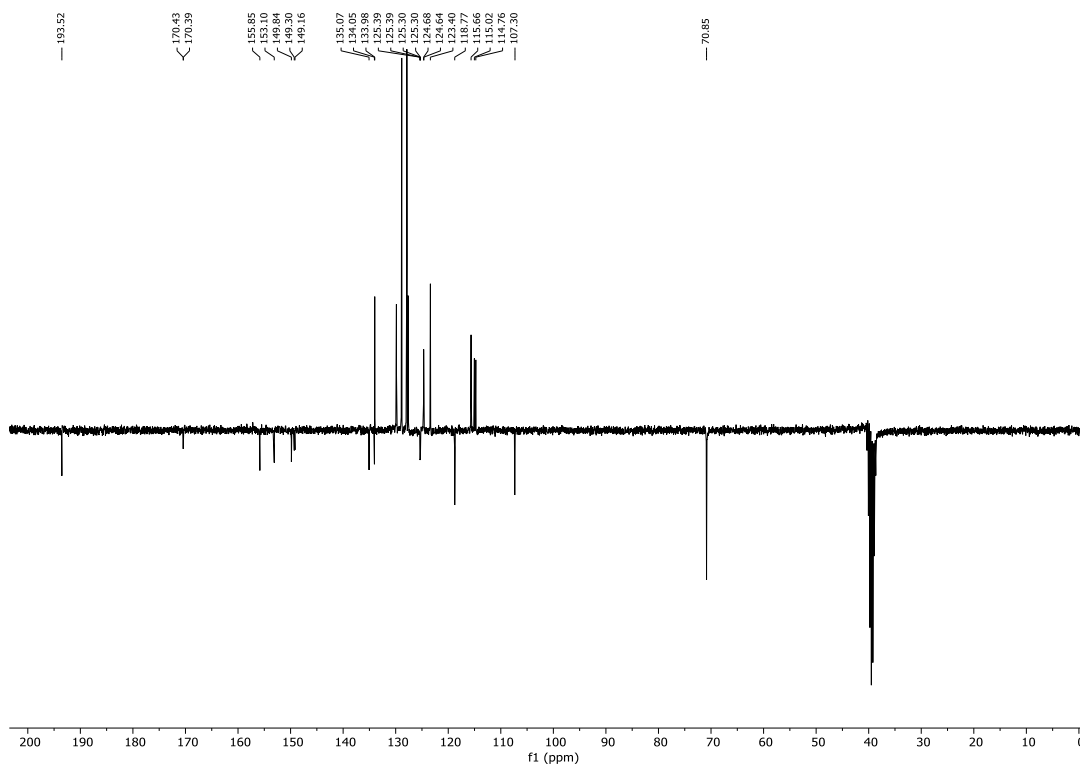


b) ¹³C NMR spektar 2-(4-(2-okso-2-feniletoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola **8a**

Prilog 12.

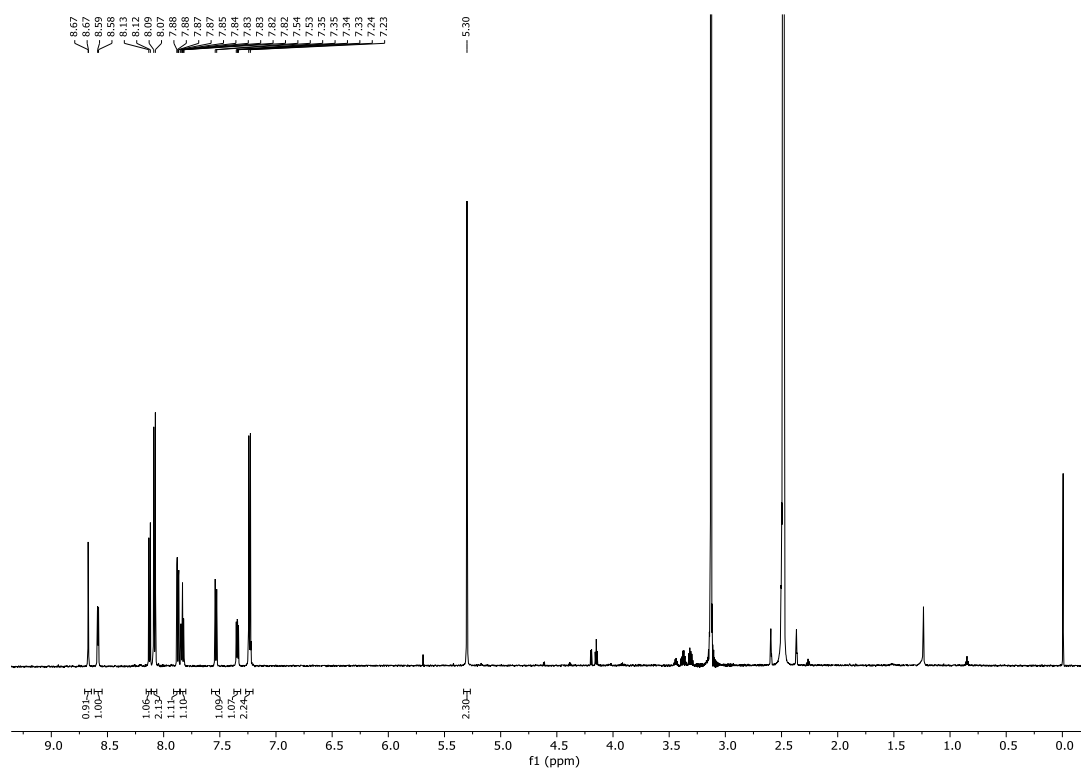


a) ^1H NMR spektar 2-(3-fluor-4-(2-okso-2-feniletoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola **8c**

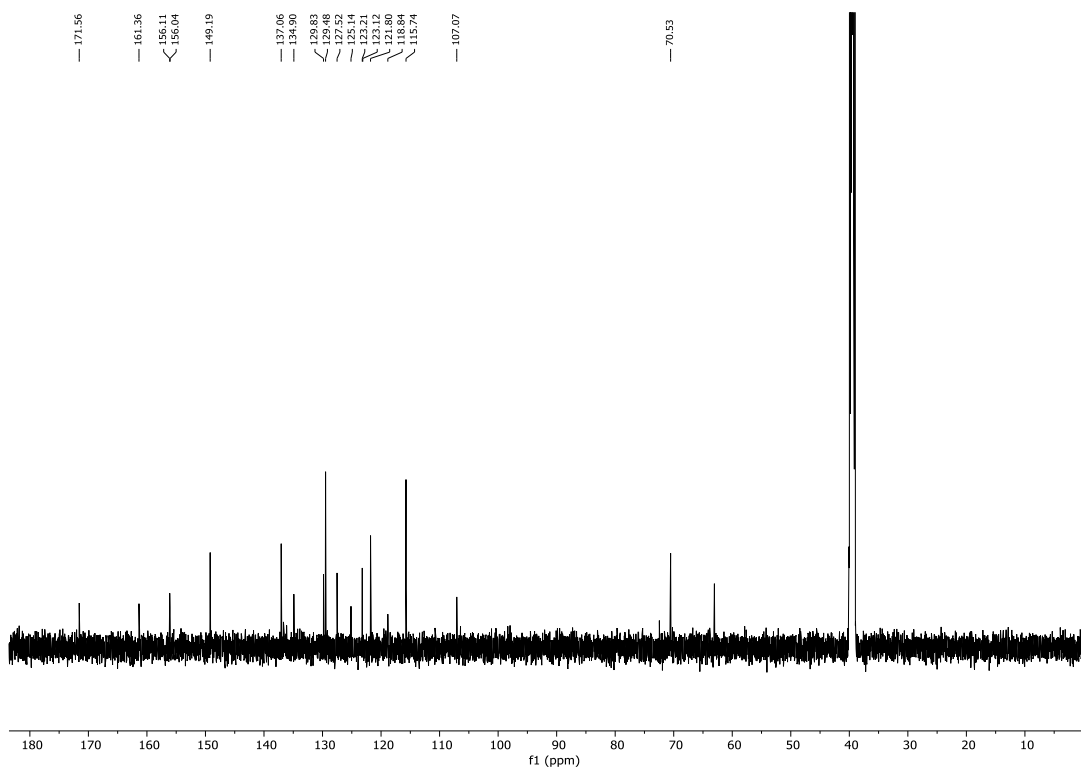


b) ^{13}C NMR spektar 2-(3-fluor-4-(2-okso-2-feniletoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola **8c**

Prilog 13.

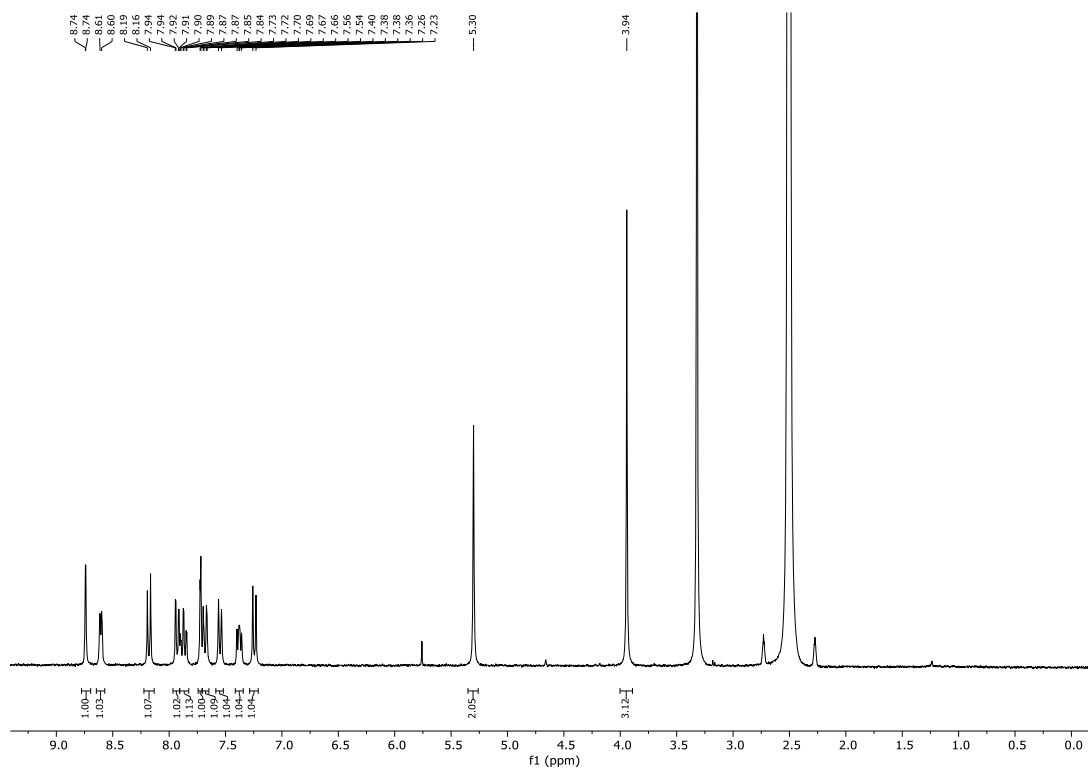


a) ¹H NMR spektar 2-(4-(piridin-2-ilmetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola **9a**

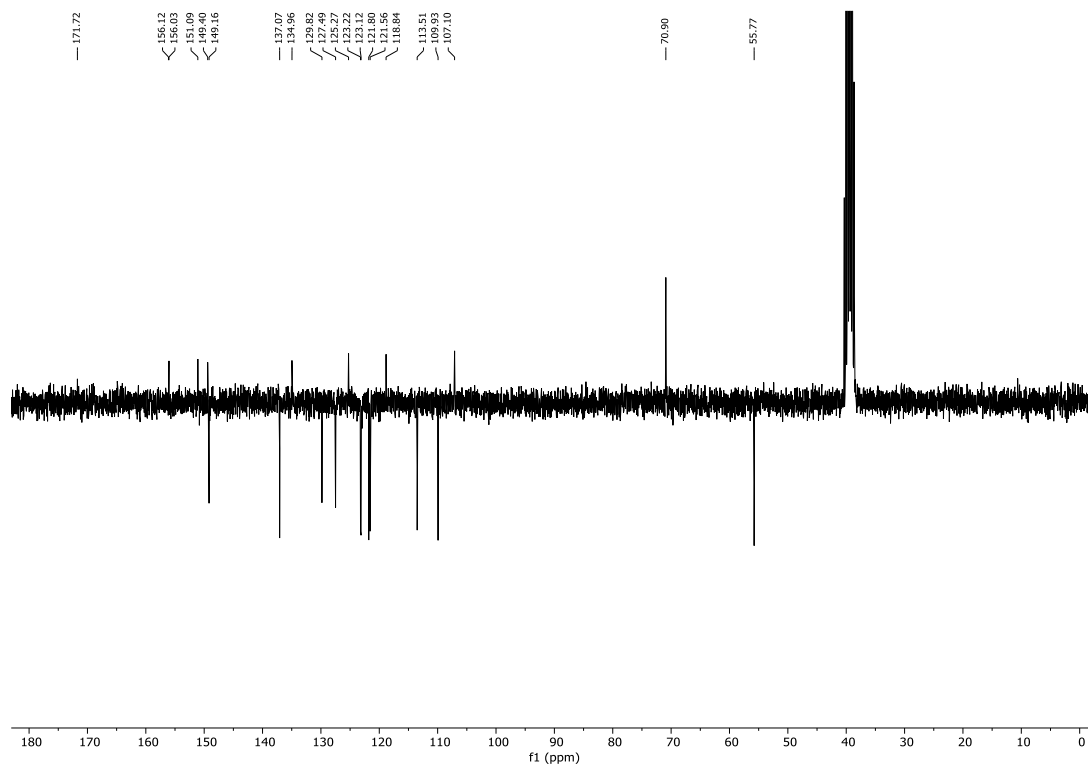


b) ¹³C NMR spektar 2-(4-(piridin-2-ilmetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola **9a**

Prilog 14.

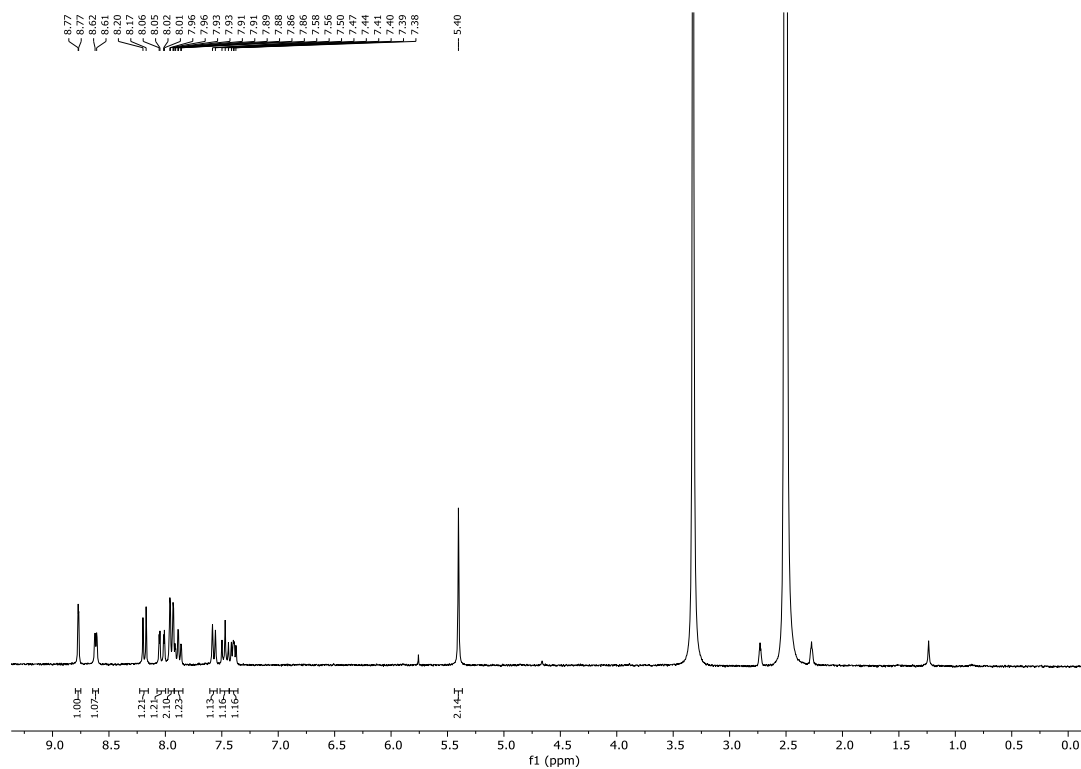


a) ^1H NMR spektar 2-(3-metoksi-4-(piridin-2-ilmetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola **9b**

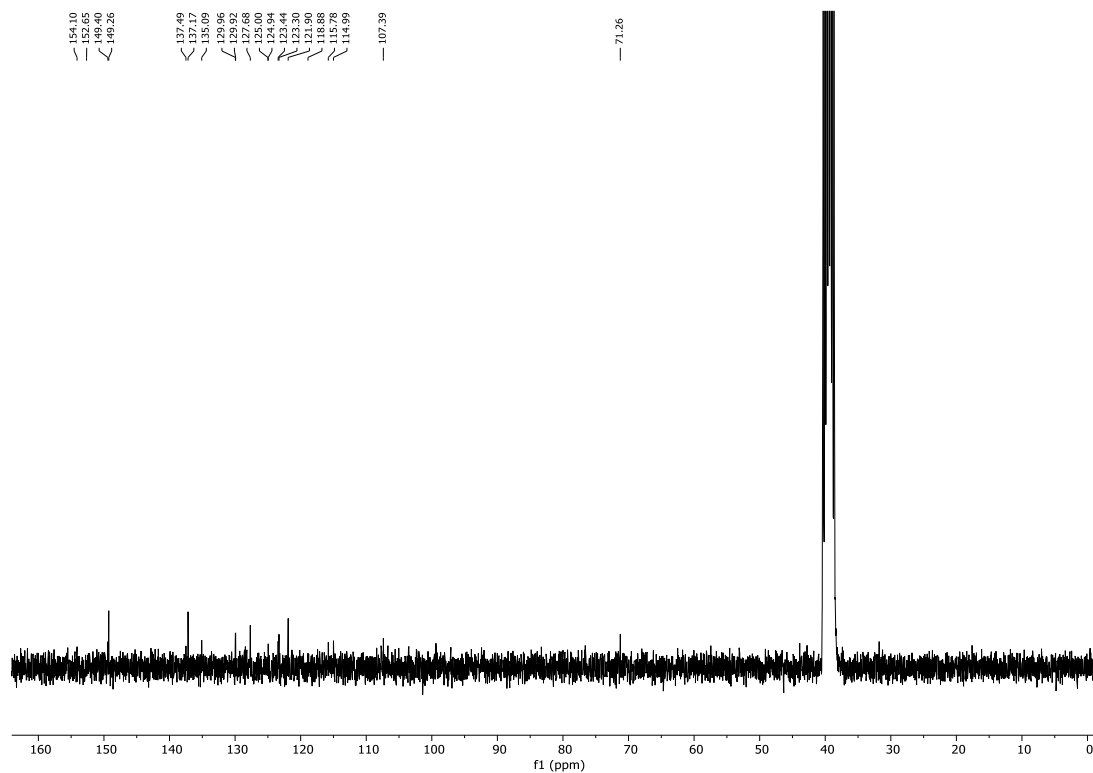


b) ^{13}C NMR spektar 2-(3-metoksi-4-(piridin-2-ilmetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola **9b**

Prilog 15.



a) ¹H NMR spektr 2-(3-fluor-4-(piridin-2-ilmetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola **9c**



b) ¹³C NMR spektr 2-(3-fluor-4-(piridin-2-ilmetoksi)fenil)-6-cijanobenzotiazola **9c**

Životopis

Antea Posavec [REDACTED] Godine 2015. završila je Osnovnu školu Većeslava Holjevca u Zagrebu i upisala Prvu gimnaziju u Zagrebu, opći smjer. Maturirala je 2019. godine s odličnim uspjehom i upisala preddiplomski studij Primijenjene kemije na Fakultetu kemijskog inženjerstva Sveučilišta u Zagrebu. Na trećoj godini studija, stručnu praksu odradila je na Institutu Ruđer Bošković u Laboratoriju za stereoselektivnu sintezu i biokatalizu Zavoda za organsku kemiju i biokemiju pod voditeljstvom dr. sc. Maje Majerić Elenkov. U svibnju 2021. godine, polaganjem C2 Proficiency (CPE) ispita, Cambridge Assessment English dodijelio joj je prestižni certifikat o poznavanju engleskog jezika na C2 razini.

Sudjelovanje na znanstvenom skupu:

1. Petanjko, M.; Posavec, A.; Raić-Malić, S.; Rep, V., SYNTHESIS OF NOVEL NITRO AND CYANO SUBSTITUTED BENZOTHIAZOLES USING GREEN CHEMISTRY METHODS // XIV. Susret mladih kemijskih inženjera, Zagreb, Republika Hrvatska, 24. – 25. veljače 2022. (postersko priopćenje)