

# Sinteza i strukturna karakterizacija 2-aril-6-fluorbenzotiazola

---

Prenc, Sara

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:446445>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-09-28**



*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Sara Prenc

**SINTEZA I STRUKTURNA KARAKTERIZACIJA 2-ARIL-6-  
FLUORBENZTIAZOLA**

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: izv. prof. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević

Članovi ispitnog povjerenstva:

1. izv. prof. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević
2. prof. dr. sc. Dragana Mutavdžić Pavlović
3. dr. sc. Lidija Furač, viši predavač

Zagreb, rujan 2019.

## *Zahvale*

*Zahvaljujem mentorici, izv. prof. dr. sc. Tatjani Gazivoda Kraljević na predloženoj temi i prilici za izradu ovog rada te na prenesenom znanju tijekom studija.*

*Posebno zahvaljujem mag. appl. chem. Ivani Sokol na strpljivosti, pristupačnosti i vodstvu tijekom izrade eksperimentalnog dijela i pisanja rada.*

*Također zahvaljujem obitelji i bližnjima na podršci tijekom cijelog školovanja.*

## SAŽETAK

U ovom radu opisana je sinteza novih derivata benzotiazola i njihova strukturna karakterizacija  $^1\text{H-NMR}$  i FTIR spektroskopijom. Reakcijom 2-aminotiofenola (**1**) i 2-amino-5-fluorotiofenola (**3**) s 3-fluor-4-hidroksibenzaldehidom pripremljeni su 2-(4-hidroksi-3-fluorfenil)benzotiazol (**4**) i 2-fluor-4-(6-fluorbenzo[*d*]tiazol-2-il)fenol (**5**) koji su potom mikrovalovima potpomognutim *O*-alkiliranjem prevedeni u odgovarajuće derivate benzotiazola (**6-10**). Propargiliranjem benzotiazolnih derivata (**4** i **5**) s propargil-bromidom uz natrijev hidrid kao bazu sintetizirani su *O*-propargilirani derivati benzotiazola **12** i **13** koji klik reakcijom kataliziranom bakrom s *N*-azidoetilmorfolinom (**14**) nisu dali ciljane 1,2,3-triazolne derivate benzotiazola. Strukture svih novopripremljenih spojeva potvrđene su  $^1\text{H-NMR}$  i FTIR spektroskopijom.

## ABSTRACT

This paper describes the synthesis of new benzothiazole derivatives and their structural characterization by  $^1\text{H-NMR}$  and FTIR spectroscopy. 2-(4-hydroxy-3-fluorophenyl)benzothiazole (**4**) and 2-fluoro-4-(6-fluorobenzo[d]thiazol-2-yl)phenol (**5**) were prepared by reaction of 2-aminothiophenol (**1**) and 2-amino-5-fluorothiophenol (**3**) with 3-fluoro-4-hydroxybenzaldehyde, which were then converted under microwave irradiation into the corresponding benzothiazole derivatives (**6-10**). Propargylation of benzothiazole derivatives (**4** and **5**) with propargyl bromide using sodium hydride as a base gave *O*-propargylated benzothiazole derivatives **12** and **13**, which didn't give by copper catalysed click reaction with ethylmorpholine azide (**14**) desired 1,2,3-triazole derivatives of benzothiazole **15** and **16**. The structures of all newly prepared compounds were confirmed by  $^1\text{H-NMR}$  and FTIR spectroscopy.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, u sklopu projekta Hrvatske zaklade za znanost IP-2018-01-4682.

## SADRŽAJ

|  |    |
|--|----|
| 1. UVOD .....  | 1  |
| 2. OPĆI DIO .....  | 4  |
| 2.1. BENZTIAZOL I NJEGOVI DERIVATI .....   | 5  |
| 2.1.1. KEMIJA BENZTIAZOLA .....  | 6  |
| 2.1.2. SINTEZA BENZTIAZOLA I NJегоVIH DERIVATA .....                             | 7  |
| 2.1.3. SINTEZA KONDENZACIJOM 2-AMINOTIOFENOLA .....                              | 8  |
| 2.1.4. SINTEZA REAKCIJOM CIKLIZACIJE .....                                       | 8  |
| 2.1.5. SINTEZA UZ POMOĆ LAWESSON-ovog REAGENSA .....                             | 10 |
| 2.1.6. BIOLOŠKO DJELOVANJE DERIVATA BENZTIAZOLA .....                            | 11 |
| 2.1.6.1. ANTITUMORSKO DJELOVANJE .....   | 11 |
| 2.1.6.2. ANTIBAKTERIJSKO DJELOVANJE .....  | 13 |
| 2.1.6.3. ANTIDIJABETSKO DJELOVANJE .....   | 14 |
| 2.1.6.4. PROTUUPALNO DJELOVANJE .....  | 15 |
| 2.1.6.5. PARKINSONOVA BOLEST .....   | 16 |
| 2.2. KLIK KEMIJA .....   | 17 |
| 2.2.1. MEHANIZAM CuAAC .....   | 18 |
| 2.2.2. 1,2,3-TRIAZOL KAO FARMAKOFOR .....  | 21 |
| 2.3. <i>IN SILICO</i> ANALIZA .....  | 23 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO .....   | 24 |
| 3.1. OPĆE NAPOMENE .....   | 25 |
| 3.2. PREGLED SINTETIZIRANIH SPOJEVA .....  | 26 |
| 3.3. PRIPRAVA SPOJEVA .....  | 28 |
| 4. REZULTATI I RASPRAVA .....  | 35 |
| 4.1. SINTEZE SPOJEVA .....   | 36 |
| 4.2. STRUKTURNA KARAKTERIZACIJA SPOJEVA <sup>1</sup> H-NMR SPEKTROSKOPIJOM ..... | 39 |
| 4.3. STRUKTURNA KARAKTERIZACIJA SPOJEVA FTIR SPEKTROSKOPIJOM ....                | 48 |
| 4.4. <i>IN SILICO</i> ANALIZA DERIVATA BENZTIAZOLA .....                         | 49 |
| 5. ZAKLJUČCI .....   | 55 |
| 6. LITERATURA .....  | 57 |
| 7. ŽIVOTOPIS .....   | 62 |

# **1. UVOD**

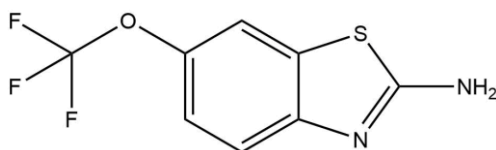


## 1. UVOD

Medicinska kemija je znanost koja obuhvaća dizajniranje, razvoj i sintezu farmaceutskih agenasa, a zahtijeva poznavanje organske kemije, biokemije, farmakologije, molekularne biologije, genetike, farmakokinetike i toksikologije te fizikalne kemije, spektroskopije i kompjuterskih tehnika za simulaciju i analizu, kao i interpretaciju podataka. Medicinska kemija obuhvaća i evaluaciju svojstava postojećih lijekova.<sup>1</sup>

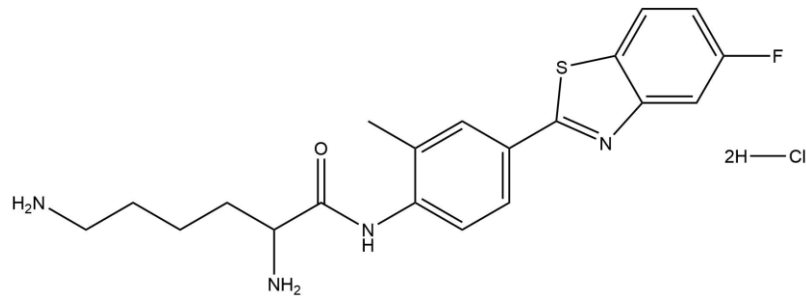
Veliki broj lijekova koji se danas koriste sadrže heterocikličku jezgru. Jedan od tih heterocikla je upravo benzotiazol – farmakofor sa širokim spektrom farmakoloških svojstava. Poznato je da ima antitumorsko, antimikrobno, antidijabetsko, protuupalno, antivirusno i antituberkulostatsko djelovanje.<sup>2</sup> Benzotiazol se u istraživanjima koristi kao početni spoj za sintezu većih, obično bioaktivnih spojeva ili se pripremaju njegovi različito supstituirani derivati. Njegova aromatičnost čini ga relativno stabilnim, no heterociklički prsten ima reaktivna mjesta koja omogućavaju funkcionalizaciju.

1950-ih godina, velik broj derivata 2-aminobenzotiazola intenzivno je proučavan kao lijek za opuštanje mišića. Nakon toga medicinski kemičari nisu pokazivali aktivni interes za tu klasu spojeva, no interes je ponovo porastao kada je ispitano biološko djelovanje riluzola (Slika 1). Otkriveno je da riluzol (6-trifluormetoksi-2-benzotiazolamin) utječe na neurotransmisiju glutamata u biokemijskim i elektrofiziološkim eksperimentima, a danas se koristi u liječenju amiotrofične lateralne skleroze. Nakon opsežnih istraživanja derivata benzotiazola ustanovljeno je da imaju raznoliku kemijsku reaktivnost i široki spektar bioloških aktivnosti.



Slika 1. Riluzol

Tako derivati benzotiazola pokazuju antitumorsko djelovanje, te primjerice Phortress (Slika 2) koji se smatra pametnim lijekom pokazuje antitumorsku aktivnost protiv raka dojke, neovisno o prisutnosti estrogenskih receptora i protiv stanica raka jajnika, bubrega, pluća i debelog crijeva.<sup>3</sup>



Slika 2. Phortress

Unatoč tome što je posljednjih desetljeća postignut značajan napredak u istraživanju i razvoju različitih antitumorskih lijekova, postojeća antitumorska kemoterapija još uvijek ima dva glavna ograničenja. Prvo je nedostatak selektivnosti konvencionalnih kemoterapijskih sredstava prema tumorskim tkivima, što znači da osim uništavanja tumorskih stanica dolazi i do oštećenja zdravih stanica, često sa teškim posljedicama. Drugo je stjecanje otpornosti tumorskih stanica na lijekove.<sup>4</sup>

Kod bakterijskih oboljenja također je rastući problem njihova otpornost na antibiotike zbog široke primjene kod ljudi, životinja i u poljoprivredi.<sup>4</sup>

Upravo zbog toga postoji potreba za sintezom novih potencijalnih bioaktivnih spojeva koji su djelotvorni, imaju selektivnu toksičnost i što manje nuspojave.

Osnovni cilj ovog rada bio je sintetizirati nove derivate benzotiazola i provesti njihovu strukturnu karakterizaciju te predvidjeti njihovo biološko djelovanje.

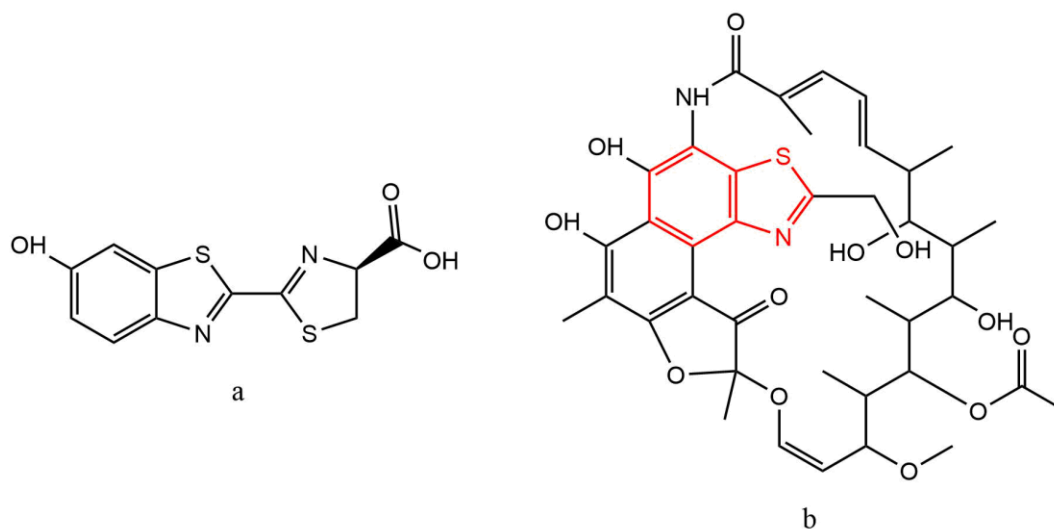
## **2. OPĆI DIO**

## 2. OPĆI DIO

### 2.1. BENZTIAZOL I NJEGOVI DERIVATI

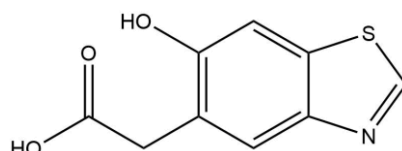
Mnogi alkaloidi u svojoj strukturi sadrže atome dušika i sumpora, a jednu podskupinu čine benzotiazolni alkaloidi. Benzotiazolni alkaloidi su relativno rijetki u prirodi, a njihova struktura može varirati od samog benzotiazola i jednostavnih derivata, kao što su npr. luciferin u krijesnicama (Slika 3a) koji ima svojstvo bioluminescencije, pa do kompleksnijih molekula poput Rifamicina Q (Slika 3b) koji je izoliran iz bakterija *Nocardia mediterranei*.

Iako biosinteza benzotiazola nije mnogo proučavana, pretpostavlja se da derivati benzotiazola nastaju adicijom cisteina na derivate benzokinona i zatvaranjem prstena.<sup>5</sup>



Slika 3. Strukture luciferina i Rifamicina Q

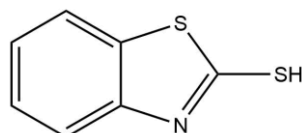
Sam benzotiazol prvi put je izoliran 1967. godine iz američke brusnice Early Black (*Vaccinium macrocarpon*), a kasnije je izoliran iz lišća čaja i repne žlijezde jelena (*Cervus elaphus*). 6-hidroksibenzotiazol-5-octena kiselina (Slika 4), još poznata kao antibiotik C304A, je prirodni derivat benzotiazola izoliran iz kultiviranog filtrata bakterija *Actinosynnema sp.* i *Paecilomyces lilacinus*.<sup>5</sup>



Slika 4. Antibiotik C304A

Najčešće upotrebljavani derivat benzotiazola, 2-merkaptobenzotiazol (Slika 5), koristi se kao inicijator u procesu vulkanizacije pri čemu pomaže u stvaranju sulfidne veze između nezasićenih elastomernih polimera u svrhu dobivanja fleksibilnog i umreženog elastičnog materijala.

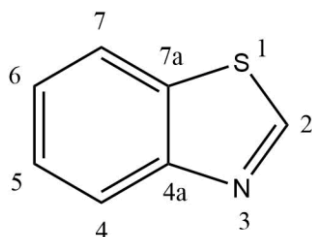
Benzotiazol i neki njegovi derivati koriste se i kao fungicidi, herbicidi te algicidi. Također, primijenjuju se i kao inhibitori korozije, u hlađenju vode te u antifrizu za automobile.<sup>6</sup>



Slika 5. Struktura 2-merkaptobenzotiazola

### 2.1.1. KEMIJA BENZOTIAZOLA

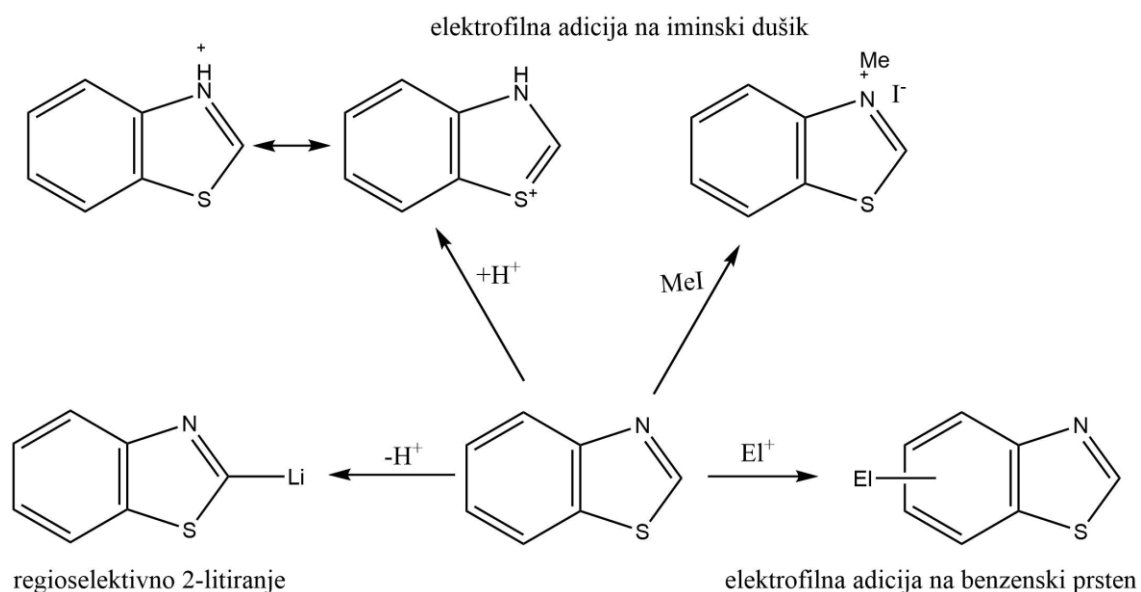
Osnovnu strukturu benzotiazola (Slika 6) čini benzenski prsten fuzioniran u položaju s tiazolom na položaju 4,5. Numeriranje tiazola započinje od atoma sumpora. Devet atoma koji čine biciklički sustav kao i svi supstituenti su koplanarni.<sup>7</sup>



Slika 6. Struktura benzotiazola

Zbog elektron odvalaćećeg utjecaja atoma dušika heterociklički prsten podložan je nukleofilnoj supstituciji na C-2 položaju. U toj reakciji dobro odlazeće skupine čine kisik ili sumpor, a najčešći reagensi za ove reakcije su amini i organolitijevi spojevi. Iz istog razloga, reakcije elektrofilne supstitucije moguće su samo na benzenskom prstenu na položajima C-5, 6 ili 7. Benzotiazol se kao i ostali benzo-1,3-azoli lako alkilira s alkil-halogenidima na dušikovom atomu, pri čemu nastaju kvaterne amonijeve soli. Iako heterociklička jezgra nije podložna reakcijama s elektrofilima, lako se litira u položaju 2 s organolitijevim reagensima poput litijevog diizopropilamida (LDA) i butil-litija (*n*-BuLi). Budući da je litij manje elektronegativan od ugljika, lako se supstituira s elektrofilnim reagensima pa je time

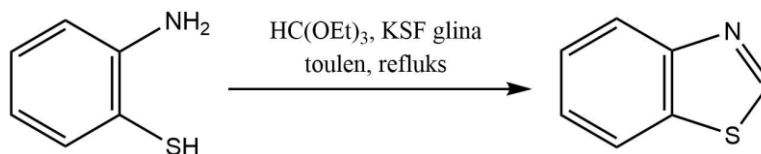
omogućeno supstituiranje benzotiazola s elektrofilima. Na shemi 1 prikazane su elektrofilne reakcije benzotiazola.<sup>8</sup>



Shema 1. Primjeri elektrofilnih reakcija benzotiazola

### 2.1.2. SINTEZA BENZOTIAZOLA I NJEGOVIH DERIVATA

Benzotiazolni prsten najjednostavnije se može sintetizirati kondenzacijom 2-aminobenzotiazola s karboksilnim kiselinama ili njihovim derivatima (Shema 2). C-atom iz karboksilne kiseline umeće se u percursor s heteroatomima u *orto*-položaju na benzenskom prstenu. Kod sinteze nesupstituiranog benzotiazola preporuča se korištenje KSF gline kao čvrstog kiselog katalizatora.<sup>9</sup>



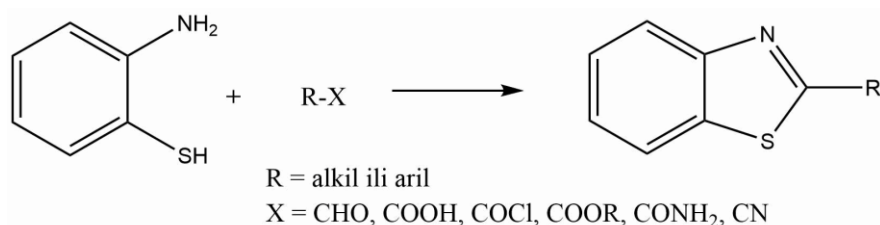
Shema 2. Sinteza benzotiazola

Kao što je već spomenuto, benzotiazol i njegovi derivati čine važnu skupinu heterocikličkih spojeva sa širokim spektrom farmakoloških svojstava. Različite biološke

primjene benzotiazolnih spojeva potaknule su istraživanja u svrhu dobivanja novih derivata s boljom biološkom aktivnošću i raznolikom primjenom u farmaceutskoj industriji te su razvijene brojne metode za sintezu različitih derivata. Svaka metoda ima svoje prednosti i nedostatke, ali najčešće klasične metode za sintezu benzotiazola temelje se na ciklizaciji tiobenzamida koja uključuje kalijev heksacijanoferrat(III) i natrijev hidroksid te ciklizaciji supstituiranog anilina u prisutnosti kalijevog tiocijanata.<sup>10</sup>

### 2.1.3. SINTEZA KONDENZACIJOM IZ 2-AMINOTIOFENOLA

Najčešće korištena reakcija za sintezu benzotiazola je kondenzacija 2-aminotiofenola s aldehidima ili karboksilnim kiselinama i njihovim derivatima (Shema 3). Kod kondenzacije 2-aminotiofenola s aldehidima kao katalizatori mogu se koristiti I<sub>2</sub>, trimetilsililni klorid (TMSCl) i piridinijev klorokromat (PCC), a kod kondenzacije s karboksilnim kiselinama polifosforna kiselina (PPA), polifenil-eter (PPE) i P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H (1/10). Iako je to klasična sinteza, 2-aminotiofenoli nisu lako dostupni a postoje i ograničenja pri samoj pripravi poput snažnih reakcijskih uvjeta, dugog vremena trajanja reakcije, mogućih sporednih reakcija itd. Upravo zbog toga razvijaju se nove učinkovitije metode za sintezu benzotiazola.<sup>11</sup>

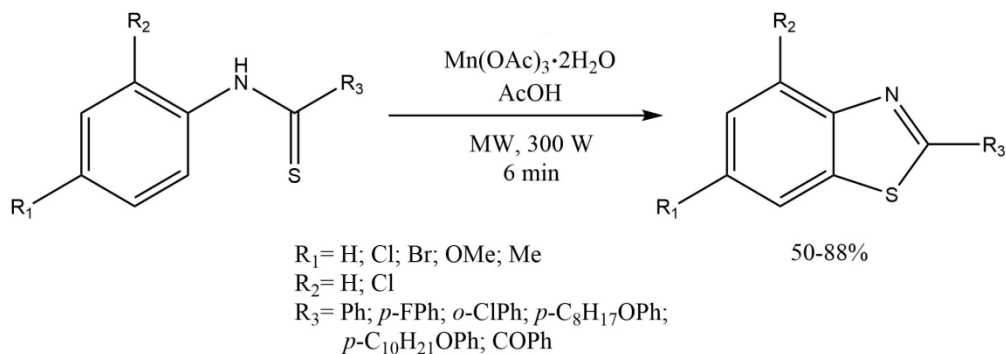


Shema 3. Sinteza derivata benzotiazola kondenzacijom

### 2.1.4. SINTEZA REAKCIJOM CIKLIZACIJE

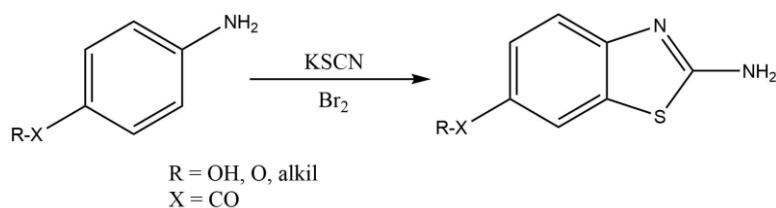
Mu i suradnici razvili su visokoučinkovitu metodu za pripravu 2-benzoilbenzotiazola i 2-arilbenzotiazola. Radi se o radikalnoj ciklizaciji benzoiltioformanilida i ariltioformanilida uz manganov(III)-triacetat (Mn(OAc)<sub>3</sub>) potpomognutoj mikrovalnim zračenjem (Shema 4). Umjesto kalijevog heksacijanoferata(III) (K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]) ili broma (Br<sub>2</sub>), koji se uglavnom

koriste kod radikalne ciklizacije supstituiranih tioformanilida, može se primijeniti i  $(\text{Mn}(\text{OAc})_3)^{12}$



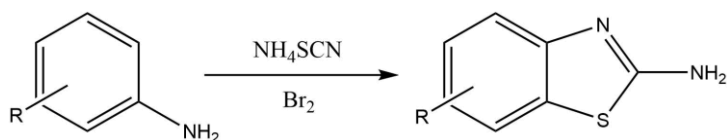
Shema 4. Sinteza derivata benzotiazola ciklizacijom

Naim i suradnici sintetizirali su 2-aminobenzotiazol-6-karboksilnu kiselinu i 2-amino-6-supstituirane-karbonilbenzotiazole reakcijom odgovarajućih 4-supstituiranih anilina s kalijevim tiocijanatom te oksidativnom ciklizacijom dobivenih tiourea bromom (Shema 5).<sup>10</sup>



Shema 5. Sinteza derivata benzotiazola ciklizacijom

Patel i Agravat sintetizirali su različite 4,5,6-supstituirane-2-aminobenzotiazole reakcijom odgovarajuće supstituiranih anilina s amonijevim tiocijanatom i bromom (Shema 6).<sup>10</sup>



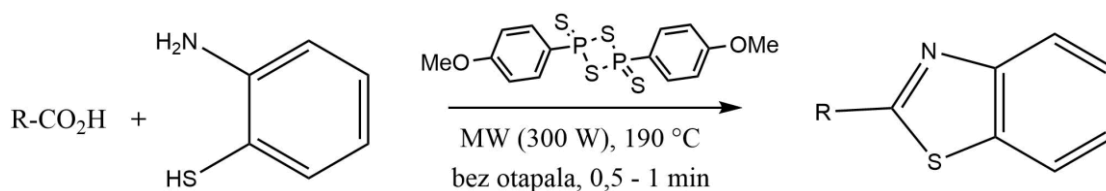
Shema 6. Sinteza derivata benzotiazola ciklizacijom



### 2.1.5. SINTEZA UZ POMOĆ LAWESSON-ovog REAGENSA

Tradicionalne kemijske reakcije izvode se pomoću otapala koja mogu biti opasna za ljudsko zdravlje i okoliš stoga predstavljaju veliki ekološki i sigurnosni problem. Na svjetskoj razini 2011. godine je potrošeno oko 6,4 milijuna tona otapala na bazi alkohola, kao najčešće korištenih otapala u industriji. Osim korištenja štetnih otapala, nedostatak nekih klasičnih sinteza je i dugotrajnost reakcija. Organske sinteze potpomognute mikrovalovima sve se više koriste kako bi se ubrzale termičke organske reakcije. U takvim reakcijama polarne molekule ili polarni intermedijeri koji nastaju tijekom reakcije selektivno apsorbiraju energiju mikrovalnog zračenja. Prednosti mikrovalovima potpomognutih reakcija su veća brzina reakcija, nastajanje čistijih produkata i veća iskorištenja.

Seijas i suradnici razvili su brzu i učinkovitu metodu za sintezu benzotiazola iz karboksilnih kiselina i *o*-aminotiofenola uz Lawesson-ov reagens (LR) (2,4-bis(4-metoksifenil)-1,3,2,4-ditiadifosfetan 2,4-disulfid) bez upotrebe otapala. Zagrijavanjem dolazi do otvaranja četveročlanog prstena Lawesson-ovog reagensa pri čemu nastaju dva reaktivna ditioposfinska ilida koji aktiviraju karboksilnu kiselinu. Utvrđeno je da su optimalni reakcijski uvjeti 300 W i 190 °C u trajanju reakcije 0,5 - 1 minute te 0,35 ekvivalenta LR. Ovisno o korištenoj kiselini dobiveni su različito 2-supstituirani benzotiazoli, svi u visokim iskorištenjima 80-90%. Veliki broj aromatskih, heteroaromatskih i alifatskih karboksilnih kiselina reagira u navedenim uvjetima dajući dobra iskorištenja (Shema 7).<sup>13</sup>



Shema 7. Sintaza derivata benzotiazola uz pomoć Lawesson-ovog reagensa

## 2.1.6. BIOLOŠKO DJELOVANJE DERIVATA BENZTIAZOLA

Benzotiazol i njegovi derivati pokazuju antitumorsko, antimikrobno, protuupalno, antidijabetičko, antiepileptičko i antioksidativno djelovanje te su lako dostupni što ih čini idealnim kandidatima za sintezu novih potencijalnih bioaktivnih spojeva. Ispitivanja odnosa strukture i djelovanja (eng. *Structure Activity Relationship*, SAR) postojećih spojeva pokazala su da je moguće dizajnirati i sintetizirati nove spojeve s različitim potencijalnim biološkim aktivnostima.<sup>14</sup>

Kako bi došlo do apsorpcije i distribucije spoja u organizmu potrebno je zadovoljiti određene kriterije kao što su veličina, odnos hidrofilnosti i lipofilnosti, stabilnost u kiselom mediju i uz prisutnost hidrolitičkih enzima itd. Većina biološki aktivnih spojeva (~80%) ipak ne dopijeva do tržišta zbog nezadovoljenih farmakokinetičkih kriterija, nedovoljne djelotvornosti ili nuspojava kod ljudi i s obzirom da se svi željeni i neželjeni efekti javljaju kao posljedica biološke aktivnosti, tako je i predviđanje toksičnosti iz svojstava same molekule nepouzdan. Stoga je kod dizajniranja lijekova potrebno imati na umu da se u pravilu izbjegavaju jako reaktivne funkcionalne skupine poput aldehidne, zbog oksidativne nestabilnosti  $\alpha,\beta$ -nezasićene karbonilni spojevi i 2-halopiridini zbog nespecifične reaktivnosti kao elektrofilni.<sup>1</sup>

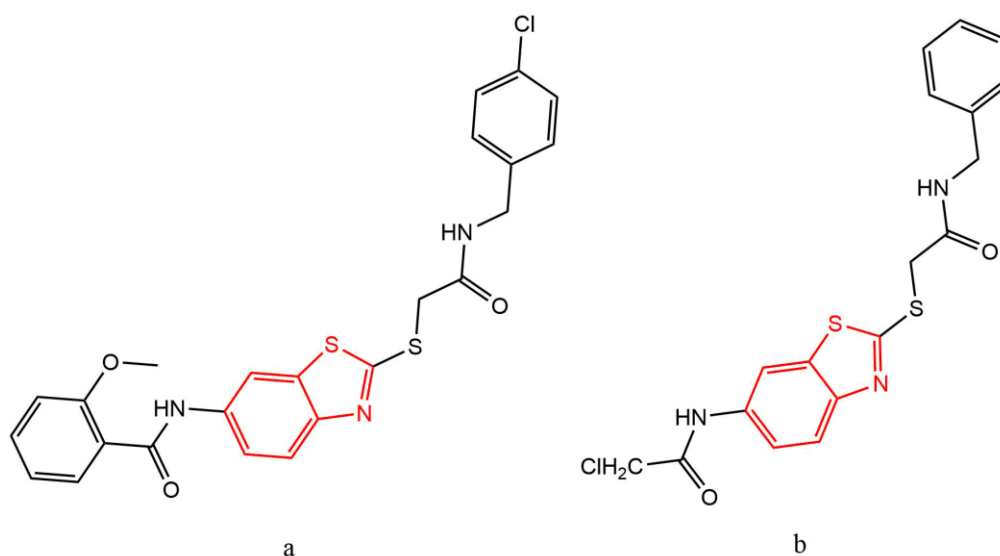
### 2.1.6.1. ANTITUMORSKO DJELOVANJE

Rak je vrlo kompleksna i smrtonosna bolest koja može zahvatiti gotovo bilo koju vrstu tkiva u ljudskom organizmu i predstavlja veliki izazov medicinskim kemičarima. Iako su tumorske stanice raznolike i heterogene, zajedničko im je svojstvo brza proliferacija, stoga je razvoj novih antitumorskih lijekova koji bi učinkovito inhibirali proliferaciju tumorskih stanica i spriječili metastaziranje izuzetno važan.

Apoptoza, poseban oblik stanične smrti nužan za održavanje stanične homeostaze u viših eukariota, ima ključnu ulogu u prevenciji proliferacije tumorskih stanica i služi kao zaštitni mehanizam od potencijalno štetnih stanica i uklanjanje istih. Smatra se da je njegova deregulacija uljučena u patogenezu raka te postoje brojni antitumorski spojevi koji induciraju apoptozu tumorskih stanica. Preliminarna ispitivanja biološkog djelovanja novorazvijenih protutumorskih spojeva uključuju upravo njihovu sposobnost induciranja apoptoze.<sup>15</sup>

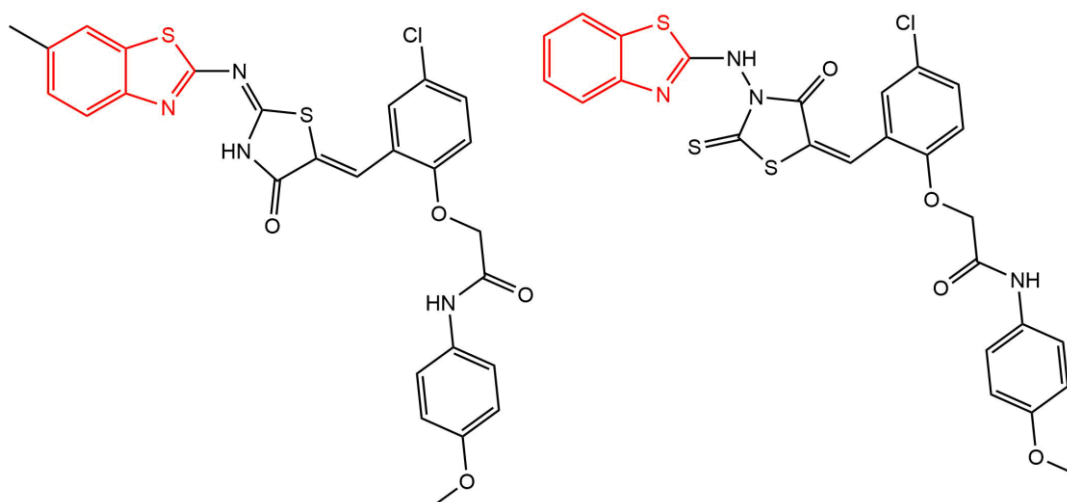
Wang i suradnici sintetizirali su nove derivate benzotiazol-2-tiola i istražili njihovo antiproliferacijsko djelovanje na HepG2 (stanice raka jetre) i MCF-7 (stanice raka dojke).

Većina spojeva pokazala je inhibitorno djelovanje na rast malignih stanica, a neki od njih bili su djelotvorniji od cisplatina (lijek koji se koristi u kemoterapiji za mnoge vrste tumora). Izraženo antitumorsko djelovanje pokazali su derivati benzotiazola prikazani na slici 7. Tako je spoj **a** pokazao  $IC_{50}$  vrijednost  $0,6 \mu M$  na stanicama HepG2 i  $1,1 \mu M$  na MCF-7, dok su za spoj **b** dobivene vrijednosti  $IC_{50}$   $1,1 \mu M$  na HepG2 i  $4,2 \mu M$  na MCF-7 što je bolje u usporedbi s,  $IC_{50}$  vrijednostima dobivenima za cisplatin ( $8,4$  i  $16,3 \mu M$ ).<sup>15</sup>



Slika 7. Derivati benzotiazola s antitumorskim djelovanjem

Havrylyuk i suradnici ispitali su antitumorsku aktivnost serije spojeva s benzotiazolnom jezgrom supstituiranom u položaju 2 tiazolidinonima, a spojevi prikazani na slici 8 pokazali su izraženu antitumorsku aktivnost u mikromolarnim koncentracijama na zloćudne stanice leukemije, melanoma te stanice raka pluća, crijeva, jajnika, prostate, dojke i bubrega.<sup>16</sup>

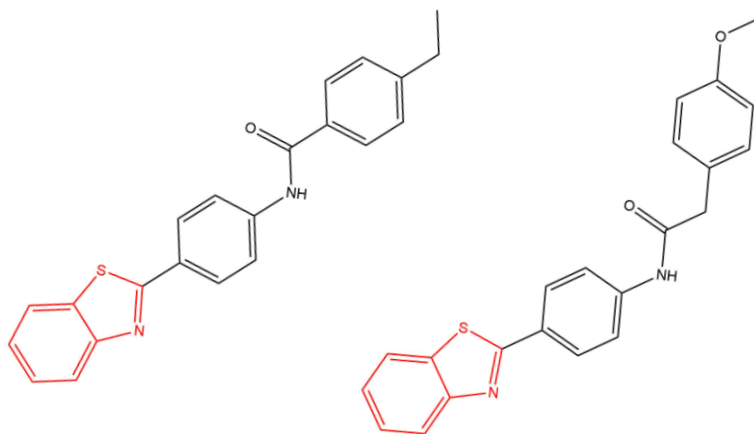


Slika 8. Derivati benzotiazola s protutumorskim djelovanjem

### 2.1.6.2. ANTIBAKTERIJSKO DJELOVANJE

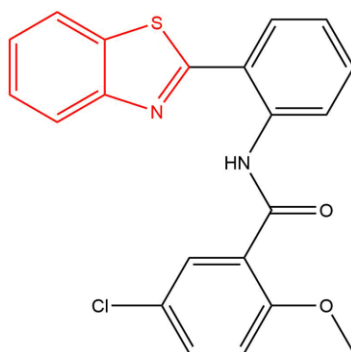
Zabrinjavajuća je činjenica da bakterije razvijaju otpornost na sve postojeće lijekove, a trenutni trendovi sugeriraju da neke bolesti neće imati djelotvorne terapijske učinke u sljedećih deset godina.<sup>17</sup> Bakterije razvijaju otpornost pomoću raznih mehanizama, poput primjerice sprječavanja ulaska aktivnog spoja smanjivanjem propusnosti membrane, lučenjem sluzi i sl. Najčešće rezistentne bakterije su *Staphylococcus aureus* (MRSA) koje su rezistentne na meticilin, *Enterococcus faecium* (VRE) rezistentne na vankomicin, *Escherichia coli* i *Klebsiella sp.* rezistentne na fulorokinolon i multirezistentna *Pseudomonas aeruginosa*. Novootkriveni antibakterijski lijekovi samo su privremeno rješenje jer se s vremenom povećava bakterijska otpornost. Gram-negativne bakterije predstavljaju veći izazov zbog manje permeabilnosti stanične stijenke u odnosu na Gram-pozitivne bakterije. Antibakterijski spojevi koji u svojoj strukturi sadrže benzotiazol vežu se na različite biološke mete u bakterijskim stanicama i pokazali su se kao dobri inhibitori enzima važnih za bitne procese u bakterijskim stanicama, poput sinteze stanične stijenke, stanične diobe i replikacije DNA ili enzima važnih za različite biosintetske putove esencijalnih spojeva u bakterijskim stanicama, kao što su biosinteza histidina i biotina.<sup>18</sup>

Boelli i suradnici sintetizirali su seriju derivata 2-[4-(4-supstituiranog benzamido/fenilacetamido)fenil]benzotiazola i ispitali njihovo antibakterijsko djelovanje na *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, i *Escherichia coli*. Sintetizirani spojevi pokazali su širok spektar djelovanja na sve ispitane bakterije, a vrijednosti minimalne inhibicijske koncentracije (eng. *Minimum Inhibitory Concentration*, MIC) su 6,25-100 µg/mL. Izraženo antibakterijsko djelovanje protiv *S. aureus* i *P. aeruginosa* (MIC= 6,25 µg/mL) pokazali su spojevi prikazani na slici 9.<sup>19</sup>



Slika 9. Derivati benzotiazola s antibakterijskim djelovanjem

M. Singh i suradnici sintetizirali su derivate 2-arilbenzotiazola kako bi utvrdili antibakterijsku aktivnost protiv dva soja Gram-pozitivnih bakterija: *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) i *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) te četiri soja Gram-negativnih bakterija: *Escherichia coli* (*E.coli*), *Salmonella typhi* (*S.typhi*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) i *Klebsiella pneumonia* (*K.pneumoniae*). Od sintetiziranih spojeva, *N*-(4-(benzo[*d*]tiazol-2-il)fenil)-2-metoksi-5-kloro-benzamid (Slika 10) pokazao je bolje antimikrobno djelovanje (MIC = 3,91-62,5 µg/ml) protiv svih ispitivanih bakterijskih sojeva u usporedbi s antibakterijskim lijekovima penicilinom i ciprofloksacinom.



Slika 10. Derivat benzotiazola s antibakterijskim djelovanjem

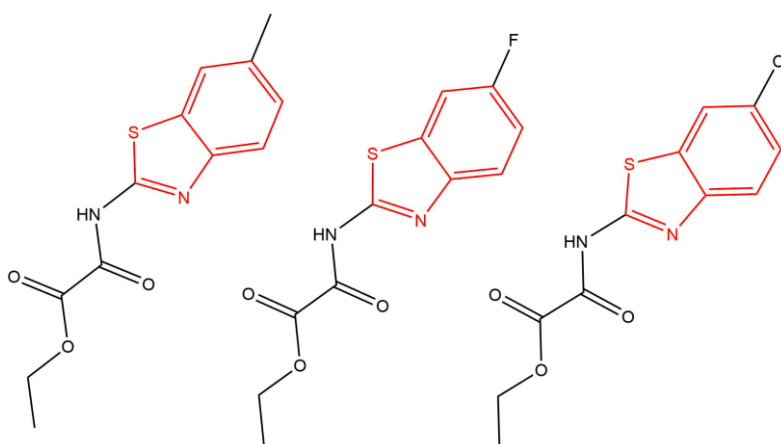
SAR analizom sintetiziranih spojeva utvrđeno je da derivati supstituirani fluorom, klorom i metoksi supstuentima imaju najizraženije antibakterijsko djelovanje. Poznato je da elektron donorski supstituenti povećavaju elektronsku gustoću i čine spojeve učinkovitijima protiv bakterija. Ipak, prevelika elektronska gustoća može otežati difuziju kroz bakterijsku stanicu i time smanjiti djelotvornost spoja.<sup>20</sup>

### 2.1.6.3. ANTIDIJABETSKO DJELOVANJE

Dijabetes karakterizira kronična hiperglikemija, inzulinska rezistencija i relativni manjak inzulina te spada u skupinu metaboličkih poremećaja s višestrukom etiologijom. Podatci iz 2015. godine ukazuju na to da je u svijetu od dijabetesa bolovalo 415 milijuna ljudi, a predviđa se da će se taj broj povećati na 642 milijuna do 2040. godine. Iz tog razloga raste potreba za učinkovitim terapijama kako bi se postigla optimalna kontrola glikemije kod oboljelih od dijabetesa.<sup>3, 21</sup> Dijabetes tipa 2 i pretilost povezani su s nedostatkom signalizacije inzulinskih receptora koja bi se trebala moći regulirati inhibicijom određene protein-tirozinske

fosfataze uključene u regulaciju inzulinskih receptora. Protein-tirozin-fosfataza 1B (PTP-1B) ima ključnu ulogu u staničnoj signalizaciji i kod nekih bolesti čovjeka, posebno dijabetesa i pretilosti, što ju čini atraktivnom metom u liječenju dijabetesa.<sup>22</sup>

Navarrete-Vazquez i suradnici pripravili su derivate etil-2-(6-supstituiranog benzo[d]tiazol-2-ilamino)-2-oksoacetata te je provedeno *in vitro* testiranje inhibicijske aktivnosti na proteinskoj tirozin fosfatazi-1B (PTP-1B). Također, provedena su *in vivo* testiranja hipoglikemijske aktivnosti na akutnom normoglikemijskom modelu i oralni test tolerancije glukoze, koja su pokazala značajno smanjenje koncentracije glukoze u krvnoj plazmi, slično lijeku glibenklamidu. Najznačajniju reverzibilnu inhibicijsku aktivnost u području niskih mikromolarnih koncentracija pokazali su spojevi prikazani na slici 11.<sup>22</sup>



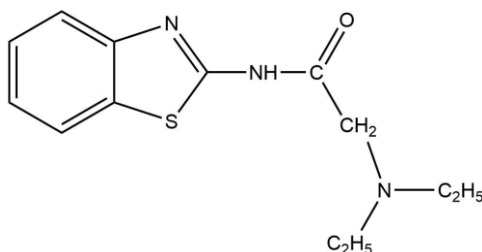
Slika 11. Derivati benzotiazola s antidijabetskim djelovanjem

#### 2.1.6.4. PROTUUPALNO DJELOVANJE

Do upale može doći zbog fizičke traume, ozljede, djelovanja kemikalija, bakterijskih infekcija itd. Ona se javlja kao pokušaj samoobrane tijela kako bi se otklonio štetni stimulans i započeo proces ozdravljenja. Nesteroidni protuupalni lijekovi (eng. *Nonsteroidal anti-inflammatory drugs*, NSAIDs) se najčešće primjenjuju za liječenje upala. Oni djeluju na način da blokiraju biosintezu prostaglandina prvenstveno inhibicijom metabolizma arahidonske kiseline putem inhibicije nekih enzima uključenih u njegovu sintezu - ciklooksigenaze 1 i ciklooksigenaze 2. Dugoročna terapija nesteroidnim protuupalnim lijekovima uzrokuje nepoželjne gastrointestinalne komplikacije kao što su iritacija želuca, ulceracija, krvarenje i poremećaj rada bubrega.<sup>23</sup>

A. Kumar i suradnici sintetizirali su derivate 2-aminobenzotiazola kako bi ispitali njihovo protuupalno djelovanje. Laboratorijskim štakorima u stražnju nogu je injektiran

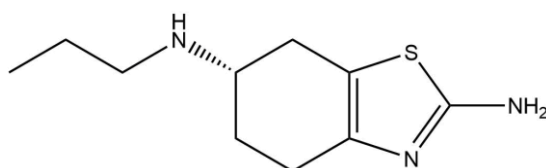
karagenan (0.1 mL 1% w/v otopina) što je uzokovalo postupno povećanje promjera šape. Svi sintetizirani spojevi pokazali su protuupalno djelovanje na karagenanom inducirani edem šape. Najizraženiju aktivnost pokazao je *N*-(benzo[*d*]tiazol-2-il)-2-(dietilamino)acetamid (Slika 12). Također, moguća toksičnost spoja ispitana je *in silico*, a rezultati su pokazali vrlo nisku ili nikakvu toksičnost ovog spoja s obzirom na tumogenost, mutagenost, utjecaj na reproduktivni sustav i nadražujuće djelovanje.<sup>23</sup>



Slika 12. Derivati benzotiazola s protuupalnim djelovanjem

#### 2.1.6.5. PARKINSONOVA BOLEST

Središnji živčani sustav sadrži širok raspon neurotransmitora i visoke koncentracije receptora. Mehanizmi djelovanja mnogih lijekova često su složene kombinacije djelovanja baziranih na radu receptora. Parkinsonovu bolest primarno uzrokuje nedostatak dopamina, pa su dopaminski agonsiti poput pramipeksola (Mirapexin) (Slika 13) djelotvorni u ublažavanju nekih simptoma. Ovaj se lijek također koristi za liječenje sindroma nemirnih nogu.<sup>24</sup>

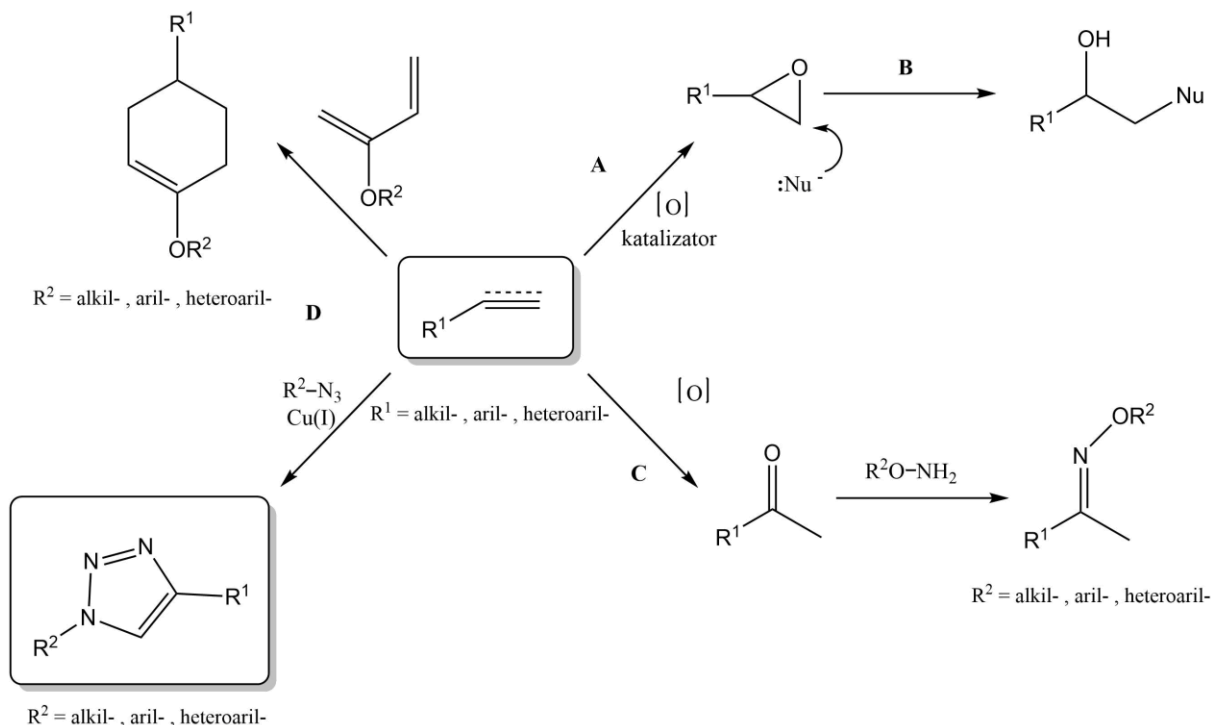


Slika 13. Struktura pramipeksola

Česte nuspojave ovog lijeka su glavobolja, umor, nesanicna, mučnina i halucinacije. Ozbiljnije nuspojave mogu biti zatajenje srca i nizak krvni tlak. Pramipeksol je odobren za medicinsku uporabu u SAD-u 1997. godine i dostupan je kao generički lijek, a u 2016. je bio 204. najpropisaniji lijek u SAD-u.<sup>25</sup>

## 2.2. KLIK KEMIJA

Koncept klik kemije prvi put su uveli Sharpless i suradnici 2001. godine, a nedvojbeno predstavlja jedan od najpopularnijih pristupa u suvremenoj organskoj sintezi. Klik kemija objedinjuje široku paletu kemijskih reakcija nastajanja veze ugljik-heteroatom u kojima se brzo i pouzdano dolazi do produkata spajanjem više manjih jedinica, nije ograničena na skup organskih reakcija, već predstavlja sintetsku filozofiju inspiriranu prirodom u smislu njene učinkovitosti, selektivnosti i jednostavnosti. Svaka reakcija kojom se učinkovito mogu dobiti molekule povezane iz manjih jedinica uz jednostavne reakcijske uvijete mogu se smatrati klik reakcijama. Klik reakcije su reakcije modularnog pristupa, učinkovite, prilagodljive, daju jedan produkt (u visokom iskorištenju) i mogu se provoditi u netoksičnim otapalima koja se mogu lako ukloniti bez potrebe za kromatografskim pročišćavanjem. Postoji nekoliko vrsta reakcija koje možemo smatrati klik reakcijama (Shema 8): adicije na nezasićenu vezu ugljik-ugljik (A), reakcije nukleofilnog otvaranja prstena (B), karbonilna kemija nealdolnog tipa (C) i cikloadicijske reakcije (D), a najzastupljenija od svih klik reakcija je Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija azida i terminalnog alkina, pri čemu nastaje 1,2,3-triazol.<sup>26</sup>



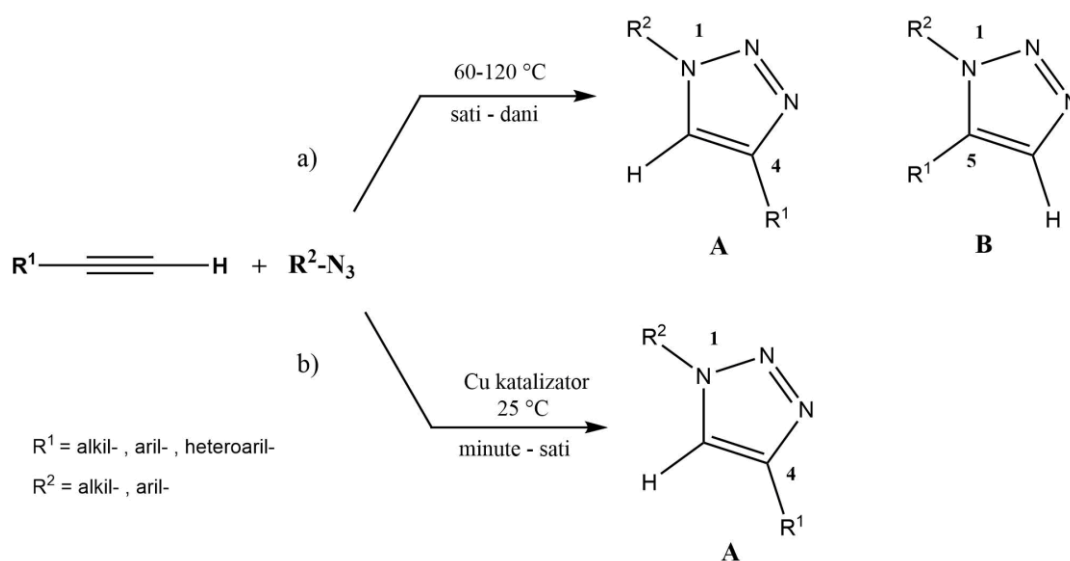
Shema 8. Vrste klik reakcija



Alkin i azid vrlo su selektivni u reaktivnosti: inertni su prema većini funkcionalnih skupina i stabilni u velikom broju otapala, pri različitim temperaturama i vrijednostima pH. Nekatalizirana reakcija zahtijeva visoku temperaturu i pri tom nastaje smjesa dvaju regioizomera: 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazol i 1,5-disupstituirani 1,2,3-triazol. Sharpless je prvobitno uveo koncept klik kemije kao učinkovitu metodu povezivanja u istraživanju lijekova, ali koncept i metodologija bili su široko prihvaćeni, a klik kemija našla je primjenu u gotovo svim aspektima istraživanja i tehnologije u kojima se koriste organske molekule poput znanosti o polimerima, nanoznanosti, biokonjugacije i razvoja senzora.<sup>27</sup>

### 2.2.1. MEHANIZAM CuAAC (Cu(I)-katalizirana azid-alkinska 1,3-dipolarna cikloadicija)

U posljednjih desetak godina Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija dolazi u žarište interesa sintetske organske kemije od kada su *Tornøe i Meldal* 2002. godine upotrijebili bakar(I) kao katalizator. Ova reakcija je od tada poznata kao Cu(I)-katalizirana azid-alkinska cikloadicija (eng. *Copper Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition*, CuAAC). Cu(I)-katalizirana 1,3-cikloadicija je do 107 puta brža od nekatalizirane reakcije (Schema 9), odvija se pri temperaturi 0-25 °C, a sterička i elektronska svojstva supstituenata ne utječu bitno na tijek katalizirane reakcije. Reakcijom regioselektivno nastaju 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazoli stabilni u hidrolitičkim i oksidoredukcijskim uvjetima te pri visokim temperaturama.

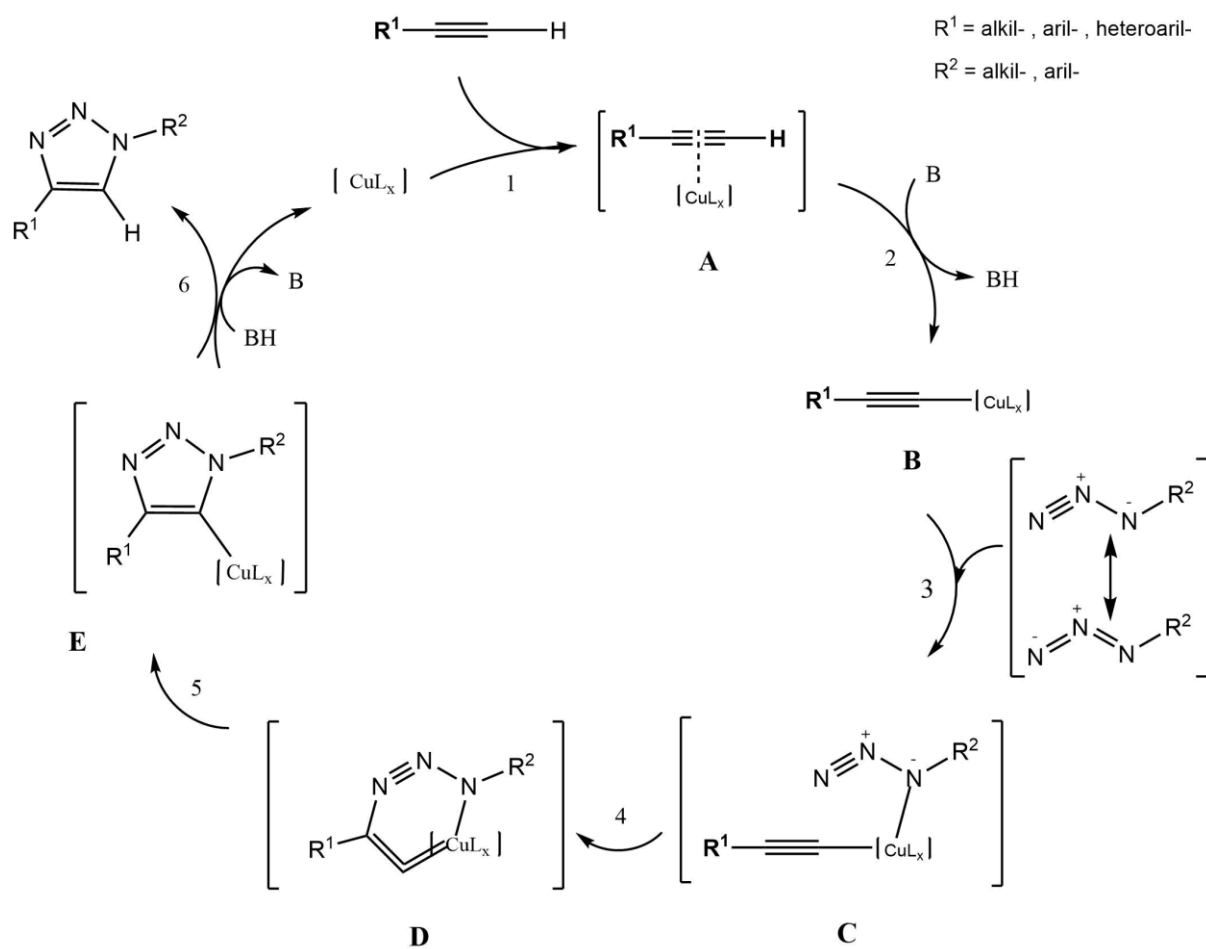


Schema 9. Azid-alkinska cikloadicija sa i bez katalizatora

Bakar (I) se u reakciju uvodi izravno ili se može pripremiti *in situ*. Ovisno o reakcijskim uvjetima izabire se i odgovarajući bakrov katalizator. U slučaju polarnih supstrata najčešće se primjenjuje vodeni medij te  $\text{CuSO}_4$  uz odgovarajuće redukcijsko sredstvo (npr. natrijev askorbat) koje će *in situ* generirati potrebni Cu(I). Neposredna primjena katalizatora Cu(I) najčešće uključuje primjenu soli Cu(I) (CuI ili CuBr) ili kompleksa Cu(I) ( $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$ ,  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ ,  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_3]\text{Br}$ ). Kompleksi su se pokazali kao dobro rješenje kod reakcija u organskim otapalima gdje je topljivost Cu(I) soli ograničena. Osim Cu(I) i Cu(II) kao izvora bakra poznate su i primjene katalizatora Cu(0) (bakrena žica ili bakreni prah) te nanočestica bakra. Cu(I) je termodinamički nestabilan te se relativno lako oksidira u Cu(II) koji je katalitički neaktivan. Cu(II) kao oksidacijsko sredstvo može uzrokovati nastanak neželjenih nusprodukata, a da bi se to spriječilo, reakcije sa solima Cu(I) treba provoditi bez prisutnosti kisika. Kao alternativno rješenje strogo suhim reakcijskim uvjetima u reakcijama CuAAC mogu se upotrijebiti i kompleksi Cu(I) s različitim ligandima. Ligandi štite Cu(I) od oksidacije, pa nije nužno provoditi reakciju bez prisustva kisika, a mogu i poboljšati katalitička svojstva soli Cu(I). Osim toga, ligandi mogu djelovati i kao akceptori protona, pa nije potrebna upotreba baza. Najčešće upotrebljavani ligand u organskoj sintezi i biokonjugaciji molekula je TBTA (tris[(1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil]amin), a batofenantrolin i PMEDTA (*N*1-(2-(dimetilamino) etil)-*N*1,*N*2,*N*2-trimetiletan-1,2-diamin) se upotrebljavaju u kemiji polimera.

U reakcijama CuAAC upotrebljava se niz nepolarnih te polarnih aprotičnih i protičnih otapala (toluen, 1,4-dioksan,  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , THF, DMF,  $\text{CH}_3\text{CN}$ , DMSO, NMP, *t*-BuOH, EtOH, MeOH), a moguća je i upotreba vode u smjesi s nekim organskim otapalom (najčešće s EtOH ili *tert*-BuOH). Kao baze se najčešće upotrebljavaju diizopropiletilamin (DIPEA), *N,N'*-dimetiletilendiamin (DMEDA) i  $\text{Et}_3\text{N}$ . Opći uvjeti za reakciju CuAAC u nukleozidnoj kemiji podrazumijevaju temperaturu 0-25 °C te 10 mol% bakrovog katalizatora, 5 mol % redukcijskog sredstva (npr. natrijeva askorbata) i 15 mol % baze, sve u odnosu na mjerodavni reaktant koji može biti alkin odnosno azid. Postupak obrade reakcije i izolacija produkta uglavnom su vrlo jednostavni te podrazumijevaju filtriranje i prekrizalizaciju. S obzirom na to da se radi o potencijalno biološki aktivnim spojevima koji se pripremaju u svrhu bioloških testiranja, posebnu pažnju treba obratiti na kontaminaciju spojeva bakrovim solima. To je iznimno važan stupanj izolacije, a najuspješniji postupci uklanjanja bakra su filtriranje kroz kolonu *Cellita* ili kroz kratkukolonu  $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$  odnosno tretiranje reakcijske smjese aktivnim ugljenom.

Pretpostavljeni mehanizam Cu(I)-katalizirane azid-alkinske 1,3-dipolarne cikloadicije prikazan je na shemi 10. Oznaka [CuL] podrazumijeva bilo koji bakrov katalizator koji može sudjelovati u reakciji. U Cu(I)-kataliziranim klik reakcijama sudjeluje isključivo terminalni alkin te u prvom koraku reakcije  $\text{Cu}^+$  koordinira  $\pi$ -elektrone alkina i nastaje  $\pi$ -kompleks bakra i alkina (**A**). Koordinacijom  $\text{Cu}^+$  na trostruku vezu ugljik-ugljik smanjuje se  $pK_a$  terminalnog protona alkina, što omogućuje deprotoniranje i nastanak bakrovog acetilida (**B**). Kompleks bakrovog acetilida koordinira azid, pri čemu nastaje intermedijar (**C**), a njegovom pregradnjom nastaje šesteročlani prsten (**D**), u koji je uključen i bakar (Cu-prsten). Taj korak ima računski dobivenu energijsku barijeru  $18,7 \text{ kcal mol}^{-1}$ , što je znatno manje od  $23,7 \text{ kcal mol}^{-1}$ , koliko iznosi teorijska barijera nekatalizirane reakcije. Energijska barijera za nastajanje triazolila (**E**) (triazola supstituiranog bakrom) je niska;  $3,2 \text{ kcal mol}^{-1}$ . Protoniranjem triazolila **E** oslobađa se bakar i nastaje produkt 1,4-supstituirani 1,2,3-triazol.<sup>26</sup>



Shema 10. Mehanizam CuAAC

### 2.2.2. 1,2,3-TRIAZOL KAO FARMAKOFOR

Od otkrića i primjene Huisgenove 1,3-dipolarne azid-alkinske cikloadicije uvođenjem Cu(I) katalizatora reakcija CuAAC nije dobila samo naziv “klik” nego je općenito postala sinonimom brze, svestrane i jednostavne sintetske metode sa širokim područjem primjene. Upravo je stoga značajno utjecala na razvoj biblioteka spojeva, pogotovo 1,2,3-triazola, s potencijalnom primjenom u biološkim sustavima.

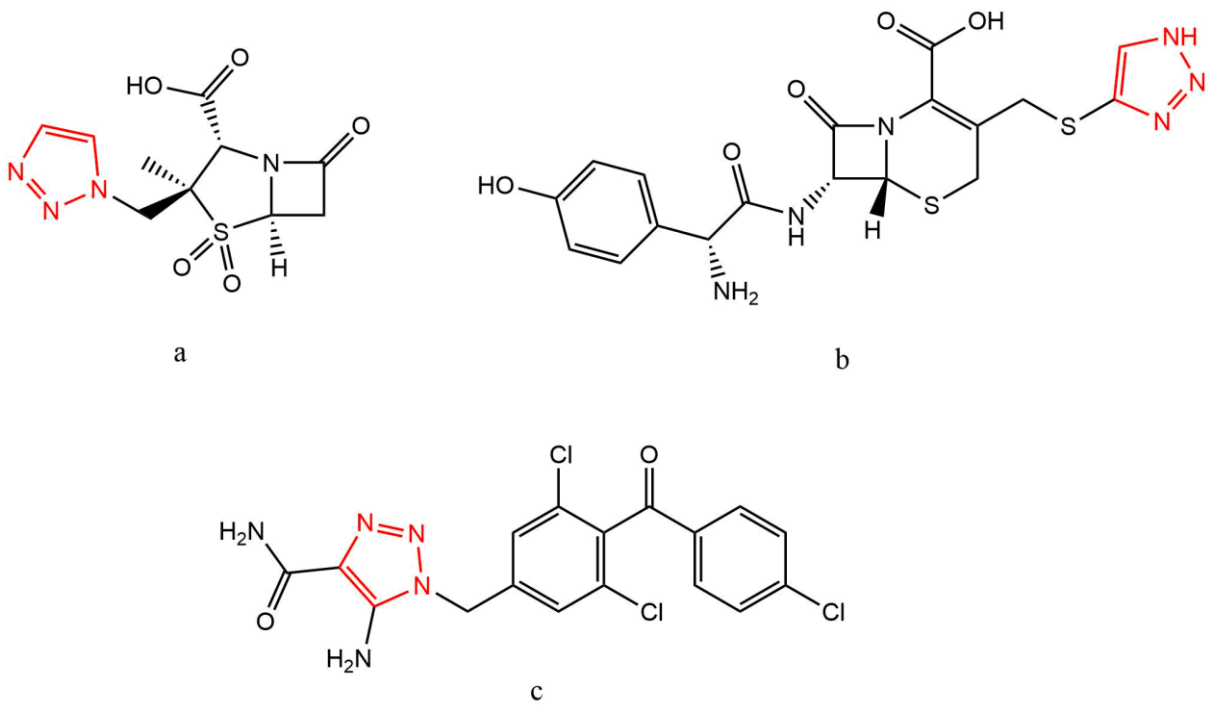
Brojni poznati farmaceutici u svojoj strukturi sadrže upravo 1,2,3-triazolni prsten što govori u prilog važnosti ovog prstena kao jednom od ključnih farmakofora u biološki aktivnim molekulama.<sup>26</sup>

Tazobaktam (Slika 14a) spada u skupinu  $\beta$ -laktamskih antibiotika, koji djeluju tako što inhibiraju enzim  $\beta$ -laktamazu koja nastaje u bakterijama i koja je odgovorna za razgradnju  $\beta$ -laktamskih antibiotika (što predstavlja jedan od načina otpornosti bakterija na  $\beta$ -laktamske antibiotike). Inhibitori  $\beta$ -laktamaze sami nemaju značajan antibiotski učinak, te se u liječenju primjenjuju zajedno s nekim drugim antibiotikom.<sup>28</sup>

Cefatrizin (Slika 14b) spada u organsku klasu spojeva poznatih kao cefalosporini. Na temelju mehanizma djelovanja pripada u farmakološku skupinu inhibitora sinteze peptidoglikana. Cefalosporini inhibiraju sintezu peptidoglikanskog sloja koji gradi bakterijsku staničnu stijenku i važan je za njezin strukturni integritet.<sup>29</sup>

Karboksiamidotriazol (Slika 14c) je oralno aktivna tvar s potencijalnom antineoplastičnom aktivnošću. Djeluje tako da inhibira  $\text{Ca}^{2+}$  kanale i na taj način blokira ulazak  $\text{Ca}^{2+}$  iona u stanice i oslobađanje  $\text{Ca}^{2+}$  iz intracelularnih prostora što rezultira poremećajem prijenosa signala posredovanih kalcijevim kanalima i inhibicijom signalizacije vaskularnog endotelnog faktora rasta (eng. *Vascular endothelial growth factor*, VEGF), proliferacije endotela i angiogeneze. Ovaj agens može također inhibirati rast, proliferaciju i metastaziranje tumorskih stanica.<sup>30</sup>

Pored brojnih primjera prisutnosti 1,2,3-triazola kao strukturnog motiva molekula s biološkom aktivnošću, 1,2,3-triazolni heterocikli pronašli su i širu industrijsku primjenu. Tako se danas upotrebljavaju kao boje i fotostabilizatori u industriji optičkih vlakana, inhibitori korozije metala i legura, svjetlosni stabilizatori organskih materijala i polimera te u agronomiji kao insekticidi, fungicidi, herbicidi i regulatori rasta.<sup>26</sup>



Slika 14. Tazobaktam (a), cefatrizin (b) i karboksiamidotriazol (c)

### 2.3. IN SILICO ANALIZA

PASS (eng. *Prediction of Activity Spectra for Substances*) je softver dizajniran kao alat za procjenu općeg biološkog potencijala organskih molekula sličnih lijekovima. Uz potencijalna biološka djelovanja prikazuje i  $P_a$  vrijednost (vjerojatnost aktivnosti spoja) i  $P_i$  vrijednost (vjerojatnost neaktivnosti spoja). Kod interpretacije podataka samo aktivnosti s vrijednostima  $P_a > P_i$  mogu se smatrati mogućima za određeni spoj. PASS ne predviđa da li je spoj dobar kandidat kao lijek, već pomaže u odabiru spoja s najvećim potencijalom.<sup>31</sup>

PASS predviđa preko 3500 vrsta bioloških aktivnosti, uključujući farmakološke učinke, mehanizme djelovanja, toksične i štetne učinke, interakciju s metaboličkim enzimima i prijenosnicima, utjecaj na ekspresiju gena itd. Predviđanje se temelji na analizi odnosa strukture i aktivnosti (SAR) za više od 250 000 biološki aktivnih tvari, uključujući lijekove, kandidate za lijekove i toksične spojeve. Prema tome, uspoređivanjem strukture novog spoja sa strukturama dobro poznatih biološki aktivnih tvari moguće je procijeniti može li novi spoj imati određeni učinak. Procijenjena prosječna točnost predviđanja je oko 95%. Biološka aktivnost ovisi o svojstvima spoja (struktura i fizikalno-kemijska svojstva), biološkoj vrsti i načinu liječenja (doza, put administracije lijeka itd.).<sup>31</sup>

Spektar biološke aktivnosti (eng. *Biological Activity Spectrum*, BAS) spoja predstavlja skup farmakoloških učinaka, fizioloških i biokemijskih mehanizama djelovanja, specifične toksičnosti (mutagenost, kancerogenost, teratogenost i embriotoksičnost) koji se mogu otkriti u interakciji spoja s biološkim sustavom. Većina poznatih biološki aktivnih tvari ima mnogo različitih bioloških aktivnosti koje uzrokuju glavna (terapijska) i sporedna djelovanja. Jedan dio tih aktivnosti otkrije se tijekom početnog predkliničkog ispitivanja spoja, drugi dio u kliničkim ispitivanjima, a neke aktivnosti moguće je otkriti i mnogo godina nakon stavljanja lijeka na tržište.<sup>31</sup>

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. OPĆE NAPOMENE

Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom (TLC), koja je provedena na pločama 60F-254 nm presvučanim slojem silikagela Merck u odgovarajućem sustavu otapala. Za detekciju izoliranih komponenata korištena je UV-svjetlost valnih duljina 254 i 365 nm.

Kromatografija na koloni provedena je na silikagelu Fluka (0,063-0,2 mm), a staklene kolone su punjene pod utjecajem gravitacije te je kao eluens korištena smjesa otapala diklormetan:metanol u odgovarajućem omjeru.

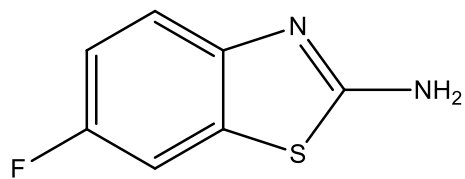
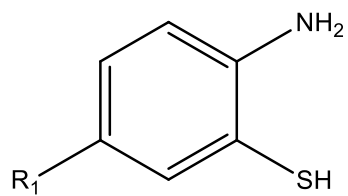
Spektri  $^1\text{H-NMR}$  su snimljeni na spektrometru Bruker Avance 300 i 600 MHz. Svi su uzorci otopljeni u DMSO-*d*6 i mjereni pri 298 K u NMR cjevčici promjera 5 mm. Kemijski pomaci ( $\delta$ ) u  $^1\text{H-NMR}$  spektrima izraženi su u jedinicama ppm u odnosu na tetrametilsilan (TMS,  $\delta=0,0$  ppm), a konstante sprege ( $J$ ) u Hercima (Hz). Pojedinačne rezonancije asignirane su na temelju njihovih kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta signala i konstanti sprege H-H.

IR spektri snimljeni su na spektrometru Perkin-Elmer 2000, dok su uzorci pripremljeni u obliku KBr pastila.

Reakcije potpomognute mikrovalnim zračenjem provedene su u Milestone Start S mikrovalnoj pećnici u kvarcnim posudama.

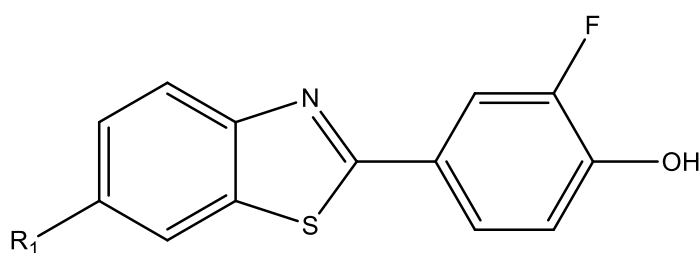


### 3.2. PREGLED SINTETIZIRANIH SPOJEVA

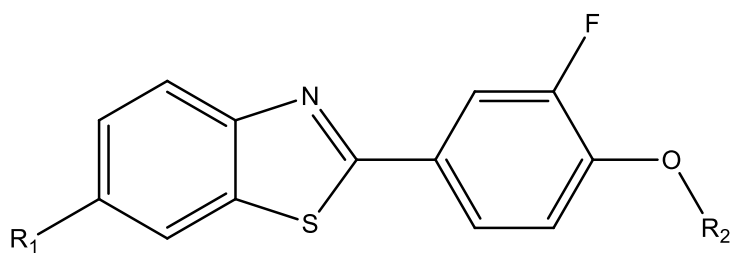


**2**

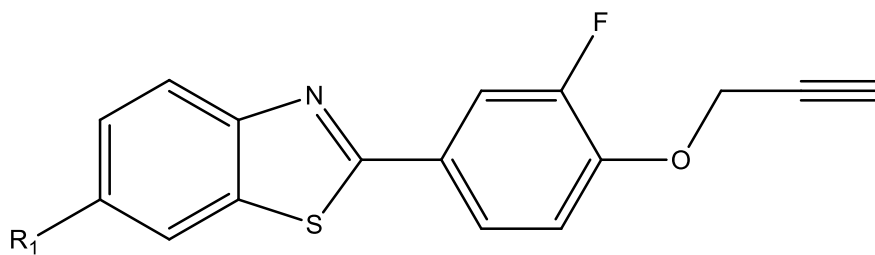
| SPOJ           | 1 | 3 |
|----------------|---|---|
| R <sub>1</sub> | H | F |



| SPOJ           | 4 | 5 |
|----------------|---|---|
| R <sub>1</sub> | H | F |

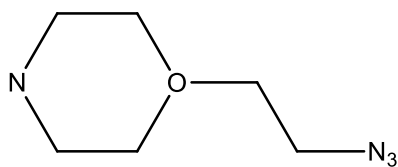


| SPOJ     | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | SPOJ      | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> |
|----------|----------------|----------------|-----------|----------------|----------------|
| <b>6</b> | H              |                | <b>9</b>  | F              |                |
| <b>7</b> | H              |                | <b>10</b> | F              |                |
| <b>8</b> | H              |                |           |                |                |



**12, 13**

| SPOJ           | 12 | 13 |
|----------------|----|----|
| R <sub>1</sub> | H  | F  |



**14**

### 3.3. PRIPRAVA SPOJEVA

#### 3.3.1. 2-aminotiofenol (1)

2-aminobenzotiazol (5 g; 0,0333 mol) i KOH (25 g; 0,4455 mol) su otopljeni u vodi (50 mL) te je reakcijska smjesa zagrijavana na temperaturi refluksa 24 sata. Tijek reakcije je praćen tankoslojnom kromatografijom (TLC). Nakon provedene reakcije, reakcijska smjesa je ohlađena te zakiseljena octenom kiselinom do pH 6. Dobiveni ljepljivi talog je odfiltriran preko Büchnerovog lijevka i ispran vodom (2 x150 mL) nakon čega je dodatno osušen na vakuumu. Izoliran je svjetlo sivi praškasti spoj **1** ( 2,5485 g; 61,25%;  $T_t > 270^\circ\text{C}$  ).

$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, DMSO)  $\delta$  7,08 ppm (t,  $J = 7,4$  Hz, 1H, H-4), 7,00 ppm (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H, H-6), 6,73 ppm (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, H-3), 6,43 ppm (t,  $J = 7,2$  Hz, 1H, H-5), 5,43 (s, 2H, H-2).

#### 3.3.2. 6-fluorbenzo[*d*]tiazol-2-amin (2)

U ledenu octenu kiselinu (100 mL) dodan je kalijev tiocijanat (32 g; 0,06 mol) i 4-fluoranilin (5,8 g; 0,06 mol). Potom je reakcijska smjesa ohlađena u ledenoj kupelji te je dokapavana smjesa broma (0,02 mol; 2,3 mL) i ledene octene kiseline (10 mL) pazeći da temperatura reakcijske smjese ne prijeđe  $10^\circ\text{C}$ . Kada je dodan sav brom reakcijska smjesa je miješana još 2 h na  $0-10^\circ\text{C}$ , te dodatno miješana 24 h na sobnoj temperaturi. U reakcijsku smjesu dodana je voda (24 mL) i smjesa je zagrijana na  $85^\circ\text{C}$  te je emulzija profiltrirana, a dobiveni talog otopljen u octenoj kiselinu (40 mL) i otopina zagrijana na  $85^\circ\text{C}$ . Otopina je zatim neutralizirana s koncentriranom otopinom amonijaka do pH 6, profiltrirana, a talog je sušen na zraku. Dobiven je žuti prah spoja **2** (6,9 g; 78,7 %;  $125-127^\circ\text{C}$ ).

$^1\text{H-NMR}$  ( 300 MHz, DMSO)  $\delta$  7,58 ppm (dd,  $J = 8,7, 2,3$  Hz, 1H, H-4), 7,46 ppm (s, 2H, H-2), 7,30 ppm (dd,  $J = 8,7, 4,8$  Hz, 1H, H-7), 7,04 ppm (td,  $J = 9,1, 2,4$  Hz, 1H, H-5).

#### 3.3.3. 2-amino-5-fluortiofenol (3)

Spoj **2** (3 g; 0,02 mol) je otopljen u 10 M otopini natrijevog hidroksida (70 mL). Reakcijska smjesa je miješana 2 sata pri temperaturi od  $120^\circ\text{C}$  u struji argona. Tijek reakcije je praćen TLC-om. Nakon provedene reakcije, reakcijska smjesa je ohlađena te je zakiseljena s octenom kiselinom do pH 6. Dobiveni talog je odfiltriran i ispran vrućom vodom, a zatim je sušen na vakuumu. Dobiven je žuti prah spoja **3** (936 mg; 36,7 %;  $> 270^\circ\text{C}$ ).

<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO) δ 6,98 ppm (td,  $J = 9,0, 3,0$  Hz, 1H, H-4), 6,82 ppm (dd,  $J = 8,7, 3,0$  Hz, 1H, H-6), 6,72 ppm (dd,  $J = 8,9, 5,1$  Hz, 1H, H-3), 5,36 ppm (s, 2H, H-2).

### 3.3.4. 4-(benzo[*d*]tiazol-2-il)-2-fluorfenol (4)

3-fluor-4-hidroksibenzaldehid (2,242 g; 0,0160 mol) otopljen je u piridinu (5 mL) te je otopina zagrijana na temperaturu refluksa nakon čega je dokapan 2-aminotiofenol (**1**) (2 g; 0,0160 mol) otopljen u piridinu (5 ml). Smjesa je miješana na temperaturi refluksa 20 h, a tijekom reakcije praćen TLC-om. Nakon završetka reakcije, reakcijska smjesa je izlivena na 2M HCl (90 mL) i ohlađena preko noći. Nastali talog je odfiltriran i prekrizaliziran u ksilenu. Dobiven je sivi praškasti spoj **4** (1,8107 g; 80,92%;  $T_t > 270^\circ\text{C}$ ).

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO) δ 8,11 (d,  $J = 7,7$  Hz, 1H, H-4), 7,85 (dd,  $J = 12,0, 2,4$  Hz, 1H, H-2'), 7,75 (dd,  $J = 8,4, 2,7$  Hz, 1H, H-6'), 7,68 – 7,59 (m, 1H, H-7), 7,52 (t,  $J = 7,5$  Hz, 1H, H-5), 7,43 (t,  $J = 7,6$  Hz, 1H, H-6), 7,15 (td,  $J = 8,5, 3,4$  Hz, 1H, H-5').

### 3.3.5. 2-fluor-4-(6-fluorbenzo[*d*]tiazol-2-il)fenol (5)

3-fluor-4-hidroksibenzaldehid (1,95 g; 0,014 mol) otopljen je u piridinu (5 mL) te je otopina zagrijana na temperaturu refluksa nakon čega je dokapan 2-amino-5-fluorotiofenol (**3**) (2 g; 0,0140 mol) otopljen u piridinu (5 ml). Smjesa je miješana na temperaturi refluksa 20 h, a tijekom reakcije praćen TLC-om. Nakon završetka reakcije, reakcijska smjesa je izlivena na 2M HCl (90 mL) i ohlađena preko noći. Nastali talog je odfiltriran i prekrizaliziran u ksilenu. Dobiven je smeđi praškasti spoj **5** (1,0 g, 27,8 %  $T_t > 270^\circ\text{C}$ ).

<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO) δ 8,05 (m, 1H, H-4), 7,83 (dd,  $J = 11,7, 2,4$  Hz, 1H, H-7), 7,73 (dd,  $J = 8,4, 2,4$  Hz, 1H, H-5), 7,66 – 7,61 (m, 2H, H-2', H-6'), 7,39 (td,  $J = 9,2, 2,9$  Hz, 1H, H-5').

### 3.3.6. 2-(4-(benzo[*d*]tiazol-2-il)-2-fluorfenoksi)-*N,N*-dietiletan-1-amin (6)

#### METODA A:

U otopinu spoja **4** (150 mg; 0,6097 mmol) u acetonitrilu (5 mL) dodan je K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (201,48 mg; 1,46 mmol). Reakcijska smjesa je miješana 30 min na sobnoj temperaturi, a zatim je dodan 2-dietilaminoetil-klorid (104 mg; 0,6097 mmol). Reakcijska smjesa miješana

je na temperaturi refluksa 24 h, atijek reakcije praćen TLC-om. Reakcijska smjesa pročišćena je kolonskom kromatografijom, ali spoj **6** nije izoliran.

#### **METODA B:**

U otopinu spoja **4** (70 mg; 0,2854 mmol) u acetonitrilu (5 mL) dodan je K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (94,5 mg; 0,6849 mmol). Reakcijska smjesa je miješana 30 min na sobnoj temperaturi, a zatim je dodan 2-dietilaminoetil-klorid (49,1 mg; 0,2854 mmol) i smjesa je stavljena u mikrovalni reaktor 12 h pri 60 °C i 1000 W s 8 min hlađenja na kraju. Nakon završetka reakcije čije je napredovanje praćeno TLC-om, iz otopine je odfiltriran svijetlo smeđi talog spoja **6** (129,8 mg; 95,64%; T<sub>i</sub> > 270 °C).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO) δ 8,99 (d, *J* = 6,3 Hz, 2H, H-4, H-7), 8,63 – 8,56 (m, 1H, H-2'), 8,18 – 8,12 (m, *J* = 7,0 Hz 2H, H-5, H-6), 6,29 (m, 2H, H-5', H-6'), 4,63 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H, H-1"), 3,52 (t, *J* = 3,6 Hz, 4H, H-3"), 2,83 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H, H-2"), 0,85 (t, *J* = 6,8 Hz, 6H, H-4").

#### **3.3.7. 4-(2-(4-(benzo[*d*]tiazol-2-il)-2-fluorfenoksi)etil)morfolin (7)**

#### **METODA A:**

U otopinu spoja **4** (150 mg; 0,6097 mmol) u acetonitrilu (5 mL) dodan je K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (201,48 mg; 1,46 mmol). Reakcijska smjesa je miješana 2 h na sobnoj temperaturi, a zatim je dodan *N*-(2-kloretil)morfolin-hidroklorid (120 mg; 0,6097 mmol). Reakcijska smjesa miješana je na temperaturi refluksa 24 h. Tijek reakcije je praćen TLC-om, a ciljani spoj nije dobiven.

#### **METODA B:**

U otopinu spoja **4** (100 mg; 0,4065 mmol) u acetonitrilu (5 mL) dodano je 2,4 eq. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (134,6 mg; 0,9756 mmol). Reakcijska smjesa miješana je 2 h na sobnoj temperaturi, a zatim je dodan *N*-(2-kloretil)morfolin-hidroklorid (75,6 mg; 0,4065 mmol) te je miješanje nastavljeno na temperaturi refluksa preko noći. Tijek reakcije praćen je TLC-om. Reakcijska smjesa je zatim stavljena u mikrovalni reaktor 2 h pri 60°C i 1000 W s 8 min hlađenja na kraju. Napredovanje reakcije je ponovno praćeno TLC-om), a željeni spoj nije dobiven.

#### **METODA C:**

U otopinu spoja **4** (70 mg; 0,2854 mmol) u acetonitrilu (5 mL) dodano je 2,4 eq. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (94,5 mg; 0,6849 mmol). Reakcijska smjesa miješana je 30 min na sobnoj temperaturi,

a zatim je dodan *N*-(2-kloretil)morfolin-hidroklorid (53,1 mg; 0,2854 mmol). Smjesa je stavljena u mikrovalni reaktor 12 h pri 60 °C i 1000 W s 8 min hlađenja na kraju, a napredovanje reakcije je praćeno TLC-om. Nakon završetka reakcije iz otopine je odfiltriran bijeli praškasti spoj **7** (35,4 mg; 34,50%;  $T_t > 270$  °C).

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz, DMSO)  $\delta$  9,07 (d,  $J = 6,3$  Hz, 2H, H-4, H-7), 8,62 (t,  $J = 7,4$  Hz 1H, H-5), 8,16 (t,  $J = 7,4$  Hz, 1H, H-6), 7,74 (m, 2H, H-2', H-6''), 7,47 – 7,40 (m, 1H, H-5'), 3,71 (t,  $J = 7,2$  Hz, 2H, H-1''), 3,55 (m, 8H, H-3'', H-4''), 2,75 (t,  $J = 7,2$  Hz, 2H, H-2'').

### 3.3.8. 2-(4-(benzo[*d*]tiazol-2-*l*)-2-fluorfenoksi)-1-morfolinoetan-1-on (**8**)

#### METODA A:

U otopinu spoja **4** (150 mg; 0,6097 mmol) u acetonitrilu (5 mL) dodan je  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (218,7 mg; 1,58 mmol). Reakcijska smjesa je miješana 30 min na sobnoj temperaturi, a zatim je dodan 2-brom-1-morfolinoetan-1-on (0,08 mL; 0,6097 mmol) te je miješanje nastavljeno e na temperaturi refluksa 24 h. Tijek reakcije praćen je TLC-om. Reakcijska smjesa pročišćena je kolonskom kromatografijom, a zatim izlivena u vodu i ekstrahirana sa  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Organski sloj osušen je iznad  $\text{MgSO}_4$ , filtriran i uparen, pri čemu je izoliran tamno-smeđi uljasti spoj **8** (81,4 mg; 35,79%).

#### METODA B:

U otopinu spoja **4** (70 mg; 0,2854 mmol) u acetonitrilu (5 mL) dodan je  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (102,3 mg; 0,742 mmol). Reakcijska smjesa je miješana 30 min na sobnoj temperaturi, a zatim je dodan 2-brom-1-morfolinoetan-1-on (0,04 mL; 0,2854 mmol) i smjesa je stavljena u mikrovalni reaktor 12 h pri 60 °C i 1000 W s 8 min hlađenja na kraju. Nakon završetka reakcije čiji je tijek praćen je TLC-om iz otopina je odfiltriran svijetlo sivi talog spoja **8** (96,3 mg; 90,59%;  $T_t > 270$  °C).

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz, DMSO)  $\delta$  8,14 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, H-4), 8,04 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H, H-7), 7,93 (dd,  $J = 12,0, 2,3$  Hz, 1H, H-2'), 7,87 – 7,85 (m, 1H, H-5), 7,54 (td,  $J = 7,80, 1,3$  Hz, 1H, H-5'), 7,49 – 7,42 (m, 1H, H-6'), 7,26 (t,  $J = 8,6$  Hz, 1H, H-6), 5,11 (s, 2H, H-1''), 3,62 (m, 4H, H-3''), 2,39 (t,  $J = 4,5$ , 4H, H-4'').

### 3.3.9. *N,N*-dietil-2-(2-fluor-4-(6-fluorobenzo[*d*]tiazol-2-il)fenoksi)etan-1-amin (9)

U otopinu spoja **5** (100 mg; 0,38 mmol) u acetonitrilu (5 mL) dodan je K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (157 mg; 1,2 mmol). Reakcijska smjesa je miješana 2 h na sobnoj temperaturi, a zatim je dodan 2-dietilaminoetil-klorid (80 mg; 0,46 mmol). Reakcijska smjesa je zatim stavljena u mikrovalni reaktor 20 h pri 100°C i 1100 W s 8 min hlađenja na kraju. Napredovanje reakcije je ponovno praćeno TLC-om. Nakon završetka reakcije iz otopine je odfiltriran i ekstrahiran u diklormetanu i vodi (3x30 mL). Organski sloj osušen je iznad MgSO<sub>4</sub>, filtriran i uparen. Pri čemu je izoliran sivi prah spoja **9** (870 mg; 49,15 %; T<sub>1</sub>>270 °C).

<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO) δ 8,05 – 7,99 (m, 1H), 7,89 – 7,84 (m, 2H), 7,81 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,38 (dt, *J* = 9,1, 4,7 Hz, 1H), 7,35 – 7,32 (m, 1H), 3,34 (t, *J* = 3,6 Hz, 2H, H-1"), 2,80 (t, *J* = 6 Hz, 2H, H-2"), 2,52 (q, *J* = 6 Hz, 4H, H-3"), 0,92 (t, *J* = 6 Hz, 6H, H-4").

### 3.3.10. 4-(2-(2-fluor-4-(6-fluorbenzo[*d*]tiazol-2-il)fenoksi)ethyl)morfolin (10)

U otopinu spoja **5** (100 mg; 0,38 mmol) u acetonitrilu (5 mL) dodan je K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (157 mg; 1,2 mmol). Reakcijska smjesa je miješana 2 h na sobnoj temperaturi, a zatim je dodan *N*-(2-kloretil)morfolin-hidroklorid (86 mg; 0,46 mmol). Reakcijska smjesa je zatim stavljena u mikrovalni reaktor 20 h pri 100°C i 1100 W s 8 min hlađenja na kraju. Napredovanje reakcije je ponovno praćeno TLC-om. Nakon završetka reakcije iz otopine je odfiltriran i ekstrahirana u diklormetanu i vodi (3x30 mL). Organski sloj osušen je znad MgSO<sub>4</sub>, filtriran i uparen. Pri čemu je izoliran crveni uljasti spoj **10** (43,5 mg; 30,60 %).

<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO) δ 8,10 – 8,01 (m, 2H), 7,91 (m, 1H), 7,88 – 7,83 (m, 1H), 7,78 (m, 1H), 7,69 (dt, *J* = 11,5, 3,4 Hz, 1H), 3,43 (t, *J* = 1,8 Hz, 2H, H-1"), 3,41 (t, *J* = 2,4 Hz, 4H, H-4"), 2,57 (t, *J* = 1,8 Hz, 4H, H-3"), 2,44 (t, *J* = 1,4 Hz, 2H, H-2").

### 3.3.11. 2-(2-fluor-4-(6-fluorbenzo[*d*]tiazol-2-il)fenoksi)-1-morfolinoetan-1-on (11)

U otopinu spoja **5** (100 mg; 0,38 mmol) u acetonitrilu (5 mL) dodan je K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (157 mg; 1,2 mmol). Reakcijska smjesa je miješana 2 h na sobnoj temperaturi, a zatim je 2-brom-1-morfolinoetan-1-on (0,06 mL; 0,46 mmol). Reakcijska smjesa je zatim stavljena u mikrovalni reaktor 20 h pri 100°C i 1100 W s 8 min hlađenja na kraju. Napredovanje reakcije je ponovno praćeno TLC-om. Nakon završetka reakcije smjesa je odfiltriran i ekstrahirana u

diklormetanu i vodi (3x30 mL). Organski sloj osušen je iznad MgSO<sub>4</sub>, filtriran i uparen, ali ciljani spoj nije dobiven.

### 3.3.12. 2-(3-fluor-4-(prop-2-in-1-iloksi)fenil)benzo[*d*]tiazol (12)

Reakcijska smjesa spoja **4** (250 mg; 1,019 mmol), NaH (29,3 mg; 1,223 mmol) i suhog etanola (10 mL) miješana je 1 h na sobnoj temperaturi. Nakon toga dodan je propargil-bromid (0,09 mL; 1,223 mmol) i smjesa je miješana na temperaturi refluksa preko noći. Reakcijska smjesa izlivena je u 20 mL vode i filtrirana preko Buchnerovog lijevka pri čemu je dobiven svijetlo-smeđi praškasti talog spoja **12** (160 mg; 52,37%; T<sub>f</sub> > 270 °C).

### 3.3.13. 6-fluor-2-(4-(prop-2-in-1-iloksi)fenil)benzo[*d*]tiazol (13)

U otopinu spoja **5** (300 mg; 0,001 mol) u suhom etanolu (5 mL) je dodan natrijev hidrid (175 mg; 0,007 mol). Reakcijska smjesa miješana je 2 h na sobnoj temperaturi, a zatim je dodan propargil-bromid (0,14 mL; 0,002 mol; 80%). Reakcijska smjesa miješana je 6 h na temperaturi refluksa, a zatim je dodatno miješana 64h na sobnoj temperaturi. Tijek reakcije je praćen TLC-om. Sirova smjesa je uparena, otopljena u CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> te ekstrahirana s 2M NaOH, a organski sloj osušen iznad MgSO<sub>4</sub>. Filtriranjem i uparavanjem izoliran je smeđi uljasti spoj **13** (130 mg; 38,2 %).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.11 – 8.04 (m, 2H), 7.95 (dd, *J* = 12.0, 2.2 Hz, 1H), 7.92 – 7.88 (m, 1H), 7.46 – 7.39 (m, 2H), 5.03 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H, H-1"), 3.72 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H- H-3").

### 3.3.14. *N*-azidoetilmorfolin (14)

*N*-kloretilmorfolin (3 g; 0,01612 mol) i natrijev azid (3,15 g; 0,0484 mol) su otopljeni u vodi (16,2 mL) te je reakcijska smjesa miješana 16 h na 80 °C. Tijek reakcije je praćen TLC-om. Nakon završetka reakcije reakcijska smjesa je ohlađena na sobnu temperaturu i zaljučena dodatkom KOH do pH 10. Sirova smjesa je ekstrahirana dietil-eterom (3x50 ml), a organski sloj osušen iznad MgSO<sub>4</sub>. Filtrat je uparen do suha na sobnoj temperaturi pri čemu je izoliran bezbojni uljasti spoj **14** (2,21 g; 87,78%).



<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO) δ 3,56 (t, *J* = 4,5 Hz, 4H), 3,35 (t, *J* = 6 Hz, 2H), 2,52 (d, *J* = 6 Hz, 2H), 2,42 (t, *J* = 4,5 Hz, 4H).

**3.3.15. 4-(2-(4-((4-(benzo[*d*]tiazol-2-il)-2-fluorfenoksi)metil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)etil)morfolin (15)**

U reakcijskoj smjesi su pomiješani spoj **14** (46,9 mg; 0,3002 mmol), spoj **12** (100 mg; 0,3335 mmol) te je dodana katalitička količina bakrovog acetata. Reakcijska smjesa je miješana na na temperaturi refluksa. Tijek reakcije je praćen TLC-om. Spoj je pročišćen kolonskom kromatografijom u sustavu CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH=100:1. Spoj nije izoliran.

**3.3.16. 4-(2-(4-((2-fluor-4-(6-fluorbenzo[*d*]tiazol-2-il)fenoksi)metil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)etil)morfolin (16)**

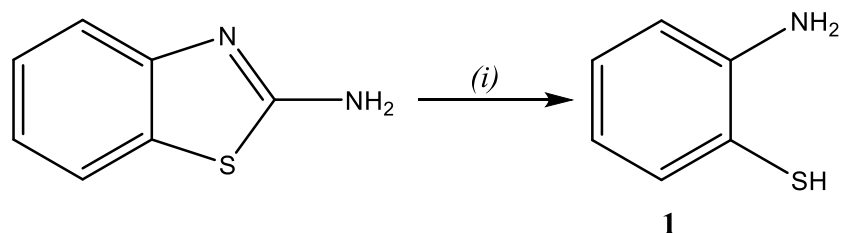
U reakcijskoj smjesi su pomiješani spoj **14** (46,9 mg; 0,3002 mmol), spoj **13** (100 mg; 0,3335 mmol) te je dodana katalitička količina bakrovog acetata. Reakcijska smjesa je miješana na na temperaturi refluksa. Tijek reakcije je praćen TLC-om. Spoj je pročišćen kolonskom kromatografijom u sustavu CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH=100:1. Spoj nije izoliran.

## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

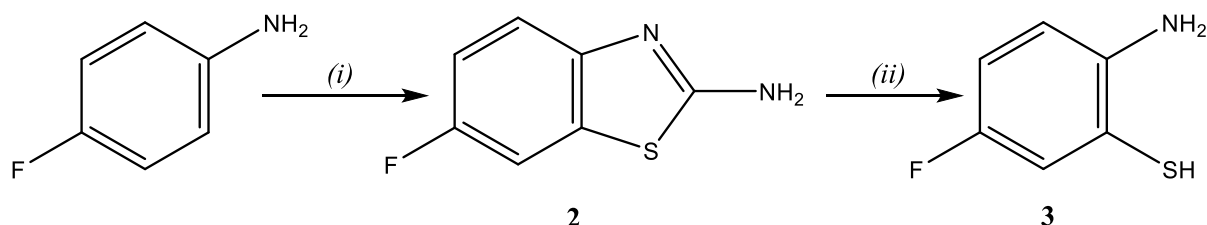
### 4.1. SINTEZE SPOJEVA

Otvaranje 2-aminobenzotiazolnog prstena provedeno je u otopini KOH uz etilenglikol pri temperaturi refluksa pri čemu je dobiven 2-aminotiofenol (**1**) (Shema 1).



Shema 1. Reagensi i reakcijski uvjeti: (i) KOH/etilenglikol/refluks 24 h

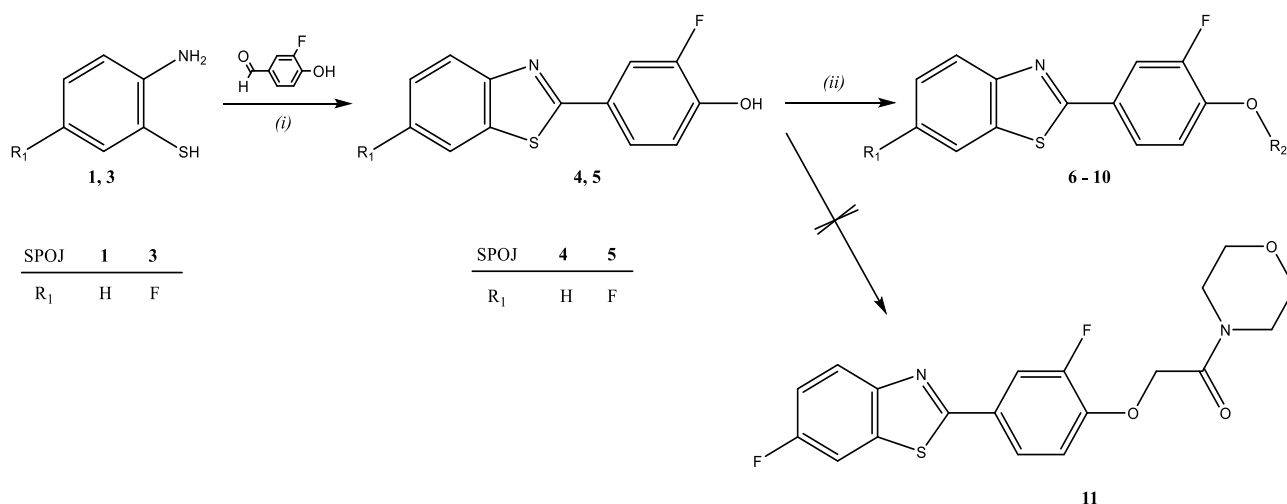
Reakcijom 4-fluoranilina s KSCN i Br<sub>2</sub> u ledenoj octenoj kiselini pripremljen je ciklizacijom 6-fluorbenzotiazol-2-amin (**2**) koji u reakciji s vodenom otopinom NaOH uz otvaranje benzotiazolnog prstena daje 2-amino-5-fluortiofenol (**3**) (Shema 2.).



Shema 2. Reagensi i reakcijski uvjeti: (i) KSCN/octena kiselina/Br<sub>2</sub>/miješanje preko noći sobna temp.; (ii) NaOH(aq)/octena kiselina/2h 120°C

Reakcijom 3-fluor-4-hidroksibenzaldehida s odgovarajućim tiofenolima (**1** i **3**) u piridinu sintetizirani su 2-(4-hidroksifenil)benzotiazol (**4**) te 6-fluor-2-(4-hidroksifenil)benzotiazol (**5**). Mehanizmom nukleofilne adicije dolazi do zatvaranja benzotiazolnog prstena. Djelomično polarizirana veza između ugljika i kisika na karbonilnoj skupini uzrokuje napad nukleofila, NH<sub>2</sub> prilikom čega dolazi do stvaranja Schiff-ove baze. Nadalje ciklizacijom dolazi do stvaranja ciljanog 2-arilbenzotiazola. Reakcijom *O*-alkiliranja s

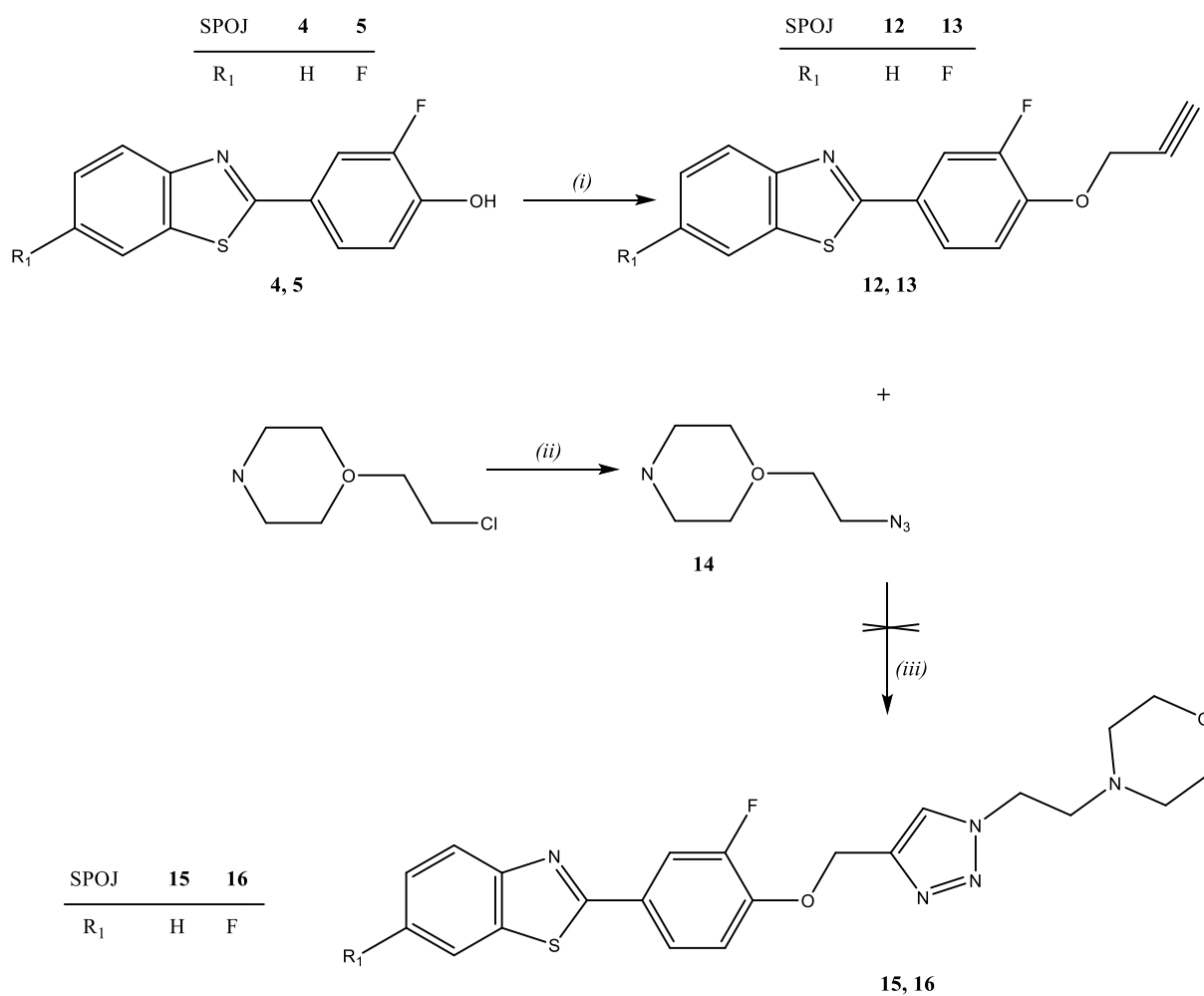
odgovarajućim reagensima u acetonitrilu uz  $K_2CO_3$  kao bazu priređeni su 2-(4-alkoksifenil) derivati benzotiazola (**6-10**) (Shema 3).



| SPOJ     | $R_1$ | $R_2$ | SPOJ      | $R_1$ | $R_2$ |
|----------|-------|-------|-----------|-------|-------|
| <b>6</b> | H     |       | <b>9</b>  | F     |       |
| <b>7</b> | H     |       | <b>10</b> | F     |       |
| <b>8</b> | H     |       |           |       |       |

Shema 3. Reagens i reakcijski uvjeti: (i) piridin/miješanje/refluks 20 h/2M HCl; (ii) acetonitril/ $K_2CO_3$ /miješanje 30 min/sobna temp./alkilirajući reagens/MW 12 h/60 °C (**6,8**); acetonitril/ $K_2CO_3$ /miješanje 2 h/sobna temp./alkilirajući reagens/refluks preko noći/MW 2 h/60 °C/1000 W (**7**); acetonitril/ $K_2CO_3$ /miješanje 2 h/sobna temp./alkilirajući reagens/MW 20 h/100 °C/1100 W (**9,10**); (iii) acetonitril/ $K_2CO_3$ /miješanje 2 h/sobna temp./2-brom-1-morfolonoetan-1-on/MW 20 h/100 °C/1000 W

Propargiliranjem priređenih derivata benzotiazola (**4** i **5**) s propargil-bromidom uz natrijev hidrid kao bazu sintetizirani su *O*-propargilirani derivati benzotiazola (**12** i **13**). Reakcijom *N*-kloretilmorfolina s natrijevim azidom pripremljen je *N*-azidoetilmorfolin (**14**) koji potom 1,3-dipolarnom cikloadicijom s propargilbenzotiazolom nije dao ciljani 1,2,3-triazolni derivat (Shema 4.).

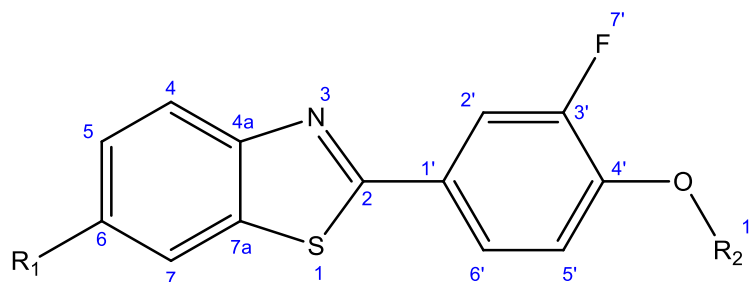


Shema 4. (i) NaH/suhi EtOH/miješanje 1h/ sobna temp./propargil-bromid/refluks preko noći;

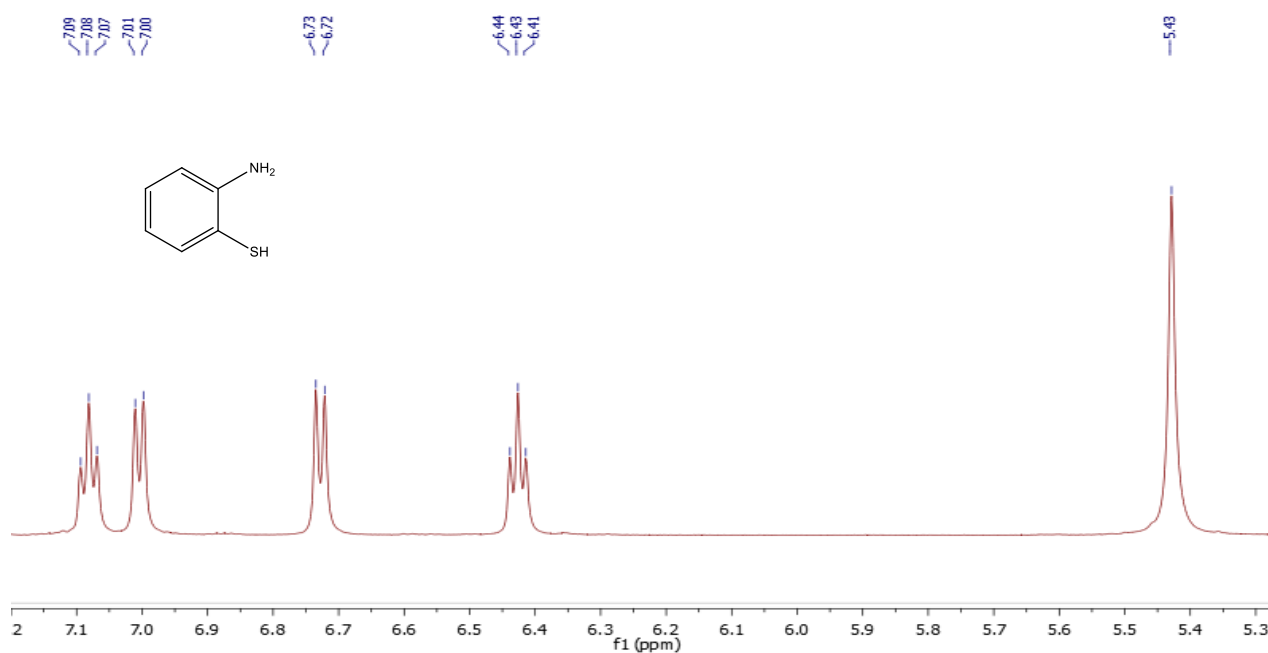
(ii) NaN<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O/miješanje 16 h/80 °C; (iii) CuAc/refluks

## 4.2. STRUKTURNA KARAKTERIZACIJA PRIPRAVLJENIH SPOJEVA <sup>1</sup>H-NMR SPEKTROSKOPIJOM

Spektri <sup>1</sup>H-NMR svih sintetiziranih spojeva asignirani su na temelju kemijskih pomaka ( $\delta$  /ppm), intenziteta signala, multipliciteta rezonancija te H-H konstanti sprega ( $J$ /Hz).

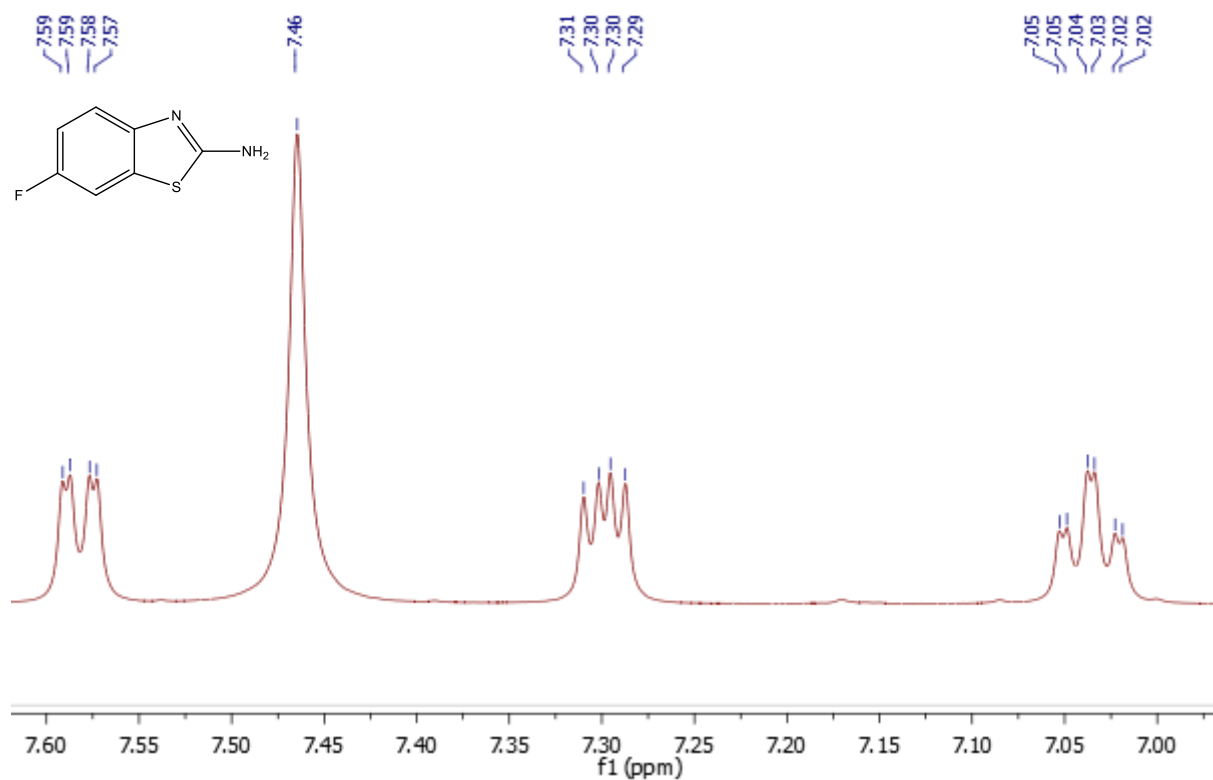


U <sup>1</sup>H-NMR spektru spoja **1** (Slika 1) prisutni su sljedeći signali: u aromatskom dijelu spektra na 7,08 ppm triplet ( $J = 7,4$  Hz) intenziteta 1H za H-4, dublet ( $J = 7,5$  Hz) intenziteta 1H na 7,00 ppm za H-6, na 6,73 ppm dublet ( $J = 8,0$  Hz) intenziteta 1H za H-3, triplet ( $J = 7,2$  Hz) intenziteta 1H na 6,43 ppm za H-5 i singlet te u alifatskom dijelu spektra singlet intenziteta 2H na 5,43 ppm za protone amino skupine.



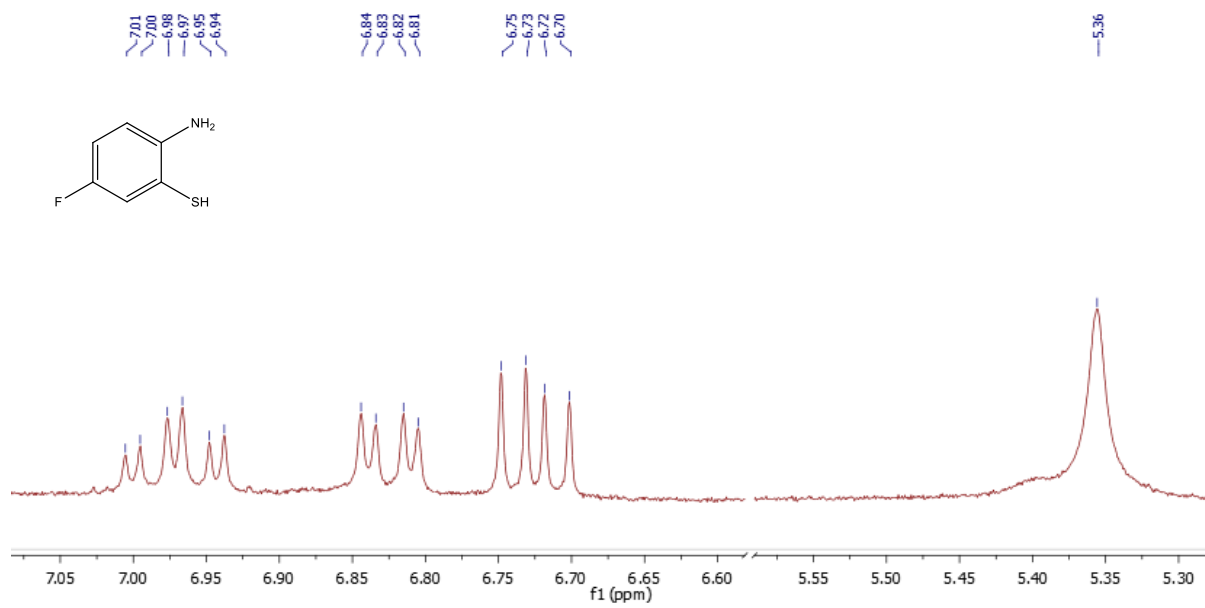
Slika 1. <sup>1</sup>H-NMR spektar spoja **1**

U  $^1\text{H}$  NMR spektru 6-fluorobenzo[*d*]tiazol-2-amina (**2**) (Slika 2), prisutni su sljedeći signali: dublet dubleta inteziteta 1H na 7,58 ppm za H-4 (dd,  $J = 8,7, 2,3$  Hz, 1H, H-4), singlet inteziteta 2H na 7,46 ppm za H-2 (s, 2H, H-2), dublet dubleta inteziteta 1H na 7,30 ppm za H-7 (dd,  $J = 8,7, 4,8$  Hz, 1H, H-7) i triplet dubleta inteziteata 1H na 7,04 ppm za H-5 (td,  $J = 9,1, 2,4$  Hz, 1H, H-5).



Slika 2.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **2**

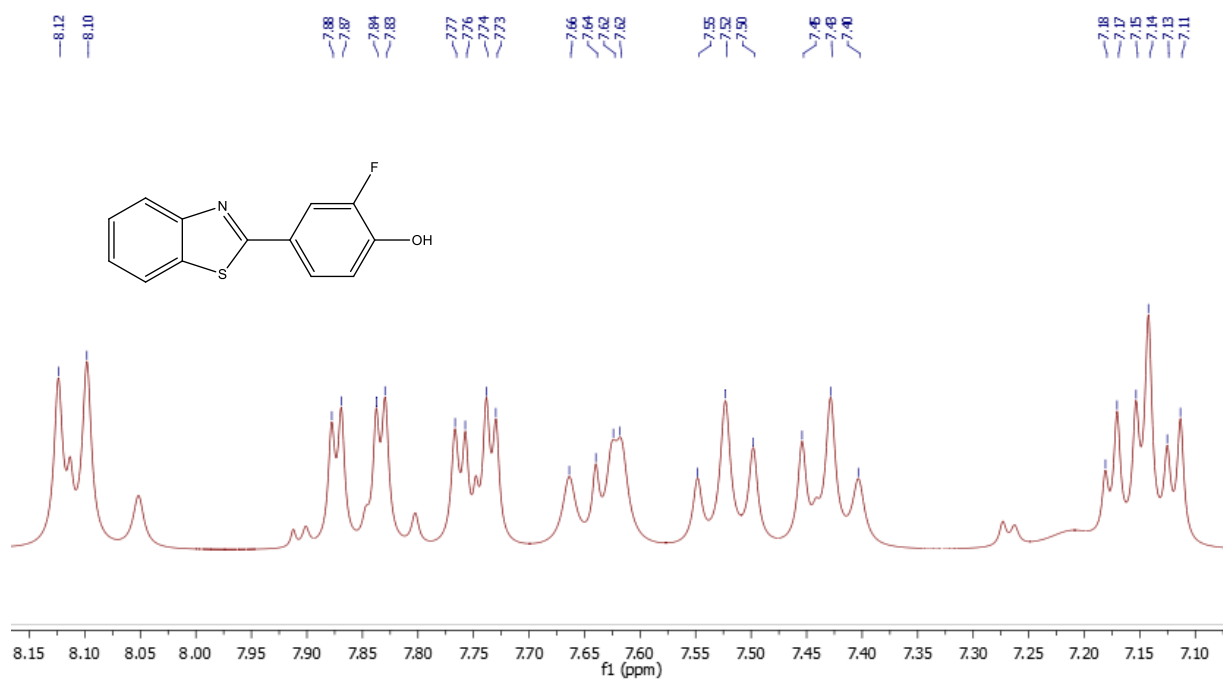
U  $^1\text{H}$ -NMR spektru spoja **3** (Slika 3) prisutni su sljedeći signali: u aromatskom dijelu spektra signal inteziteta 1H na 6,98 ppm za proton H-4 (td,  $J = 9,0, 3,0$  Hz, 1H, H-4), dublet dubleta na 6,82 ppm za proton H-6 (dd,  $J = 8,7, 3,0$  Hz, 1H) te signal inteziteta 1H na 6,72 ppm za proton H-3 (dd,  $J = 8,9, 5,1$  Hz, 1H), dok je u alifatskom dijelu spektra prisutan signal inteziteta 2H na 5,36 ppm za protone amino skupine (s, 2H).



Slika 3. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja **3**

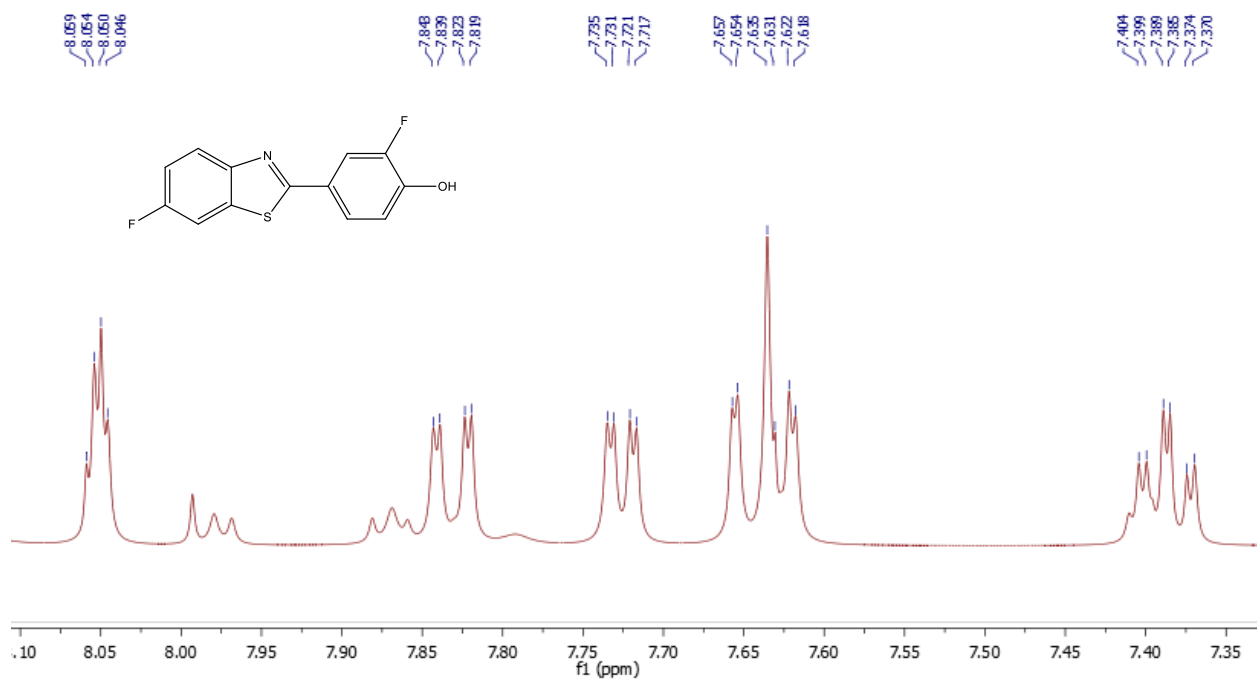
<sup>1</sup>H-NMR spektar spoja **4** (Slika 4) pokazuje u aromatskom dijelu spektra pored signala za protone benzotiazolnog prstena i dodatne signale za fenilni prsten:  $\delta$  8,11 (d,  $J = 7,7$  Hz, 1H, H-4), 7,85 (dd,  $J = 12,0, 2,4$  Hz, 1H, H-2'), 7,75 (dd,  $J = 8,4, 2,7$  Hz, 1H, H-6'), 7,68 – 7,59 (m, 1H, H-7), 7,52 (t,  $J = 7,5$  Hz, 1H, H-5), 7,43 (t,  $J = 7,6$  Hz, 1H, H-6), 7,15 (td,  $J = 8,5, 3,4$  Hz, 1H, H-5'), čime je potvrđena kondenzacija spoja **1** i 3-fluor-4-hidroksibenzaldehida.





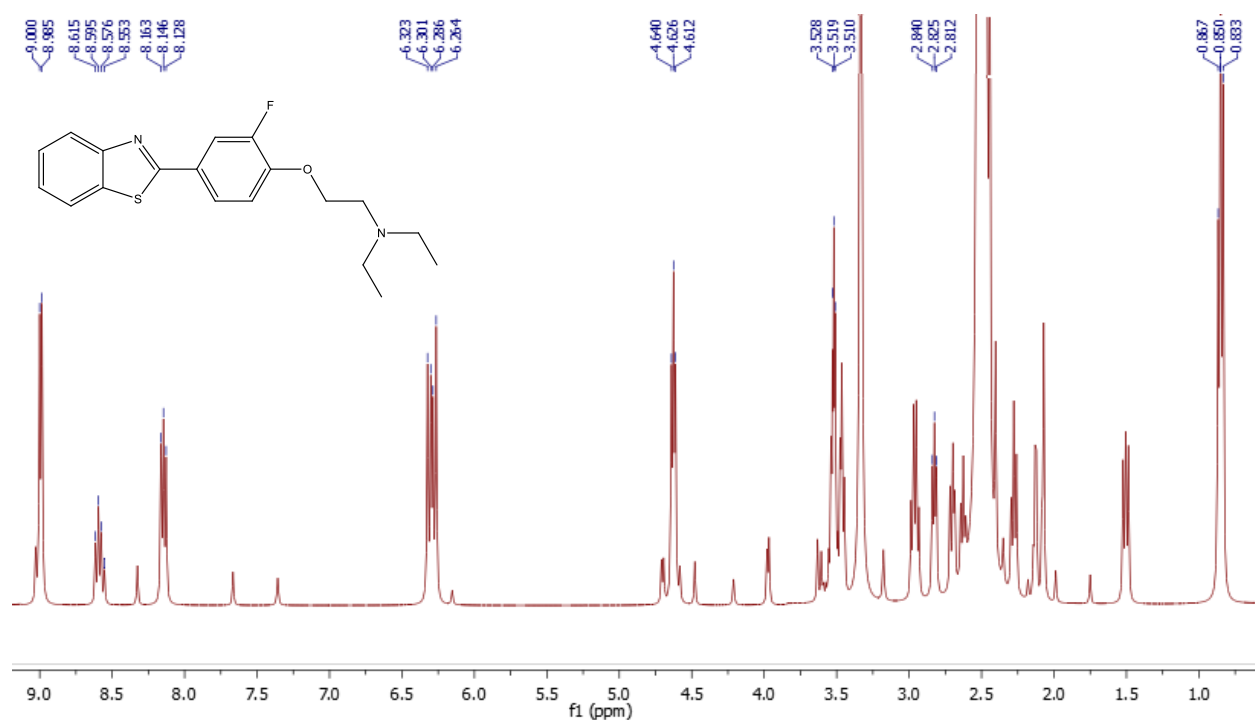
Slika 4. <sup>1</sup>H-NMR spektar spoja **4**

<sup>1</sup>H-NMR spektar spoja **5** sadrži signale:  $\delta$  8,05 (m, 1H, H-4), 7,83 (dd,  $J = 11,7, 2,4$  Hz, 1H, H-7), 7,73 (dd,  $J = 8,4, 2,4$  Hz, 1H, H-5), 7,66 – 7,61 (m, 2H, H-2', H-6'), 7,39 (td,  $J = 9,2, 2,9$  Hz, 1H, H-5').



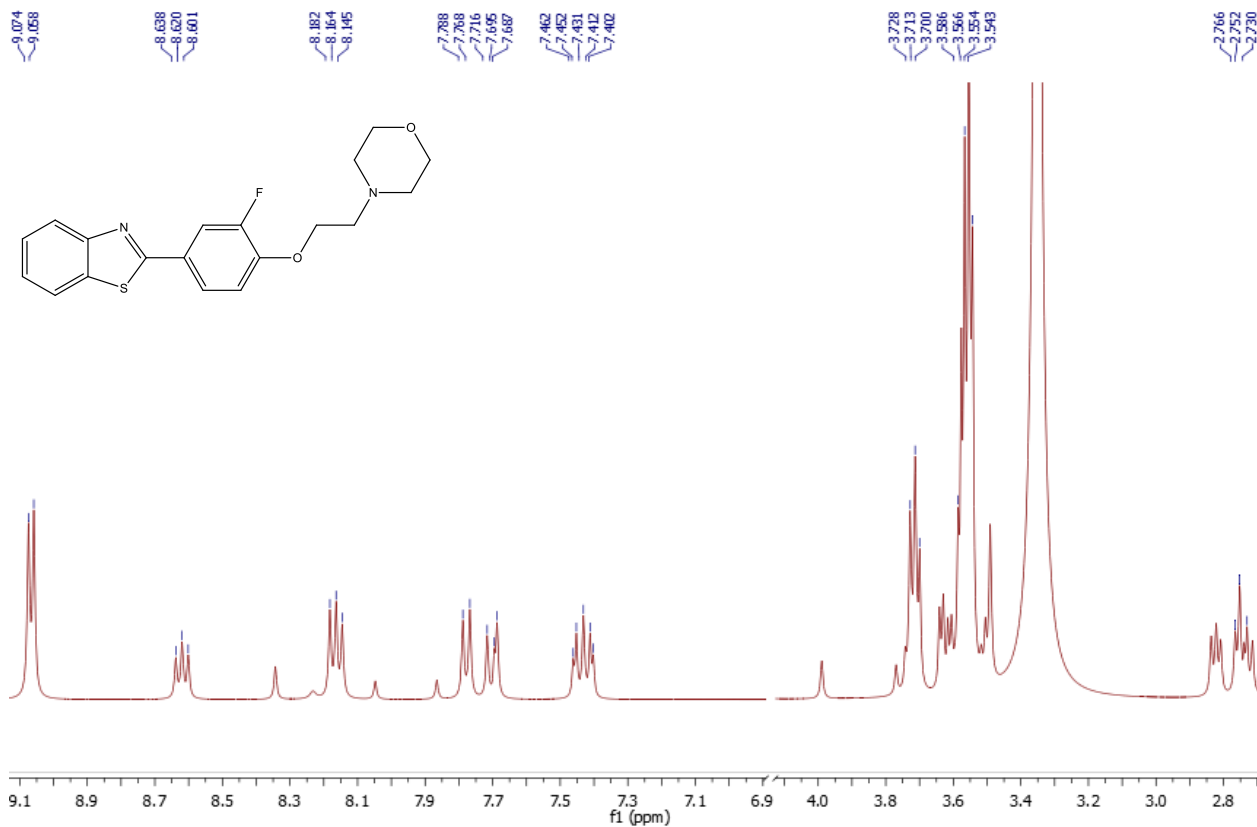
Slika 5. <sup>1</sup>H-NMR spektar spoja **5**

<sup>1</sup>H-NMR spektri spojeva **6-9** (Slike 6-9) u usporedbi sa spektrima spoja **4 i 5** sadrže uz signale u aromatskom dijelu spektra za protone benzotiazolnog i fenilnog prstena i dodatne signale u alifatskom dijelu spektra, čime je potvrđeno *O*-alkiliranje spojeva **4 i 5** s odgovarajućim halogenidom. Tako <sup>1</sup>H-NMR spektar spoja **6** pokazuje sljedeće signale: δ 8,99 (d, *J* = 6,3 Hz, 2H, H-4, H-7), 8,63 – 8,56 (m, 1H, H-2'), 8,18 – 8,12 (m, *J* = 7,0 Hz 2H, H-5, H-6), 6,29 (m, 2H, H-5', H-6'), 4,63 (t, *J* = 5,6 2H, H-1''), 3,52 (t, *J* = 3,6, 4H, H-3''), 2,83 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H, H-2''), 0,85 (t, *J* = 6,8 Hz, 6H, H-4'').



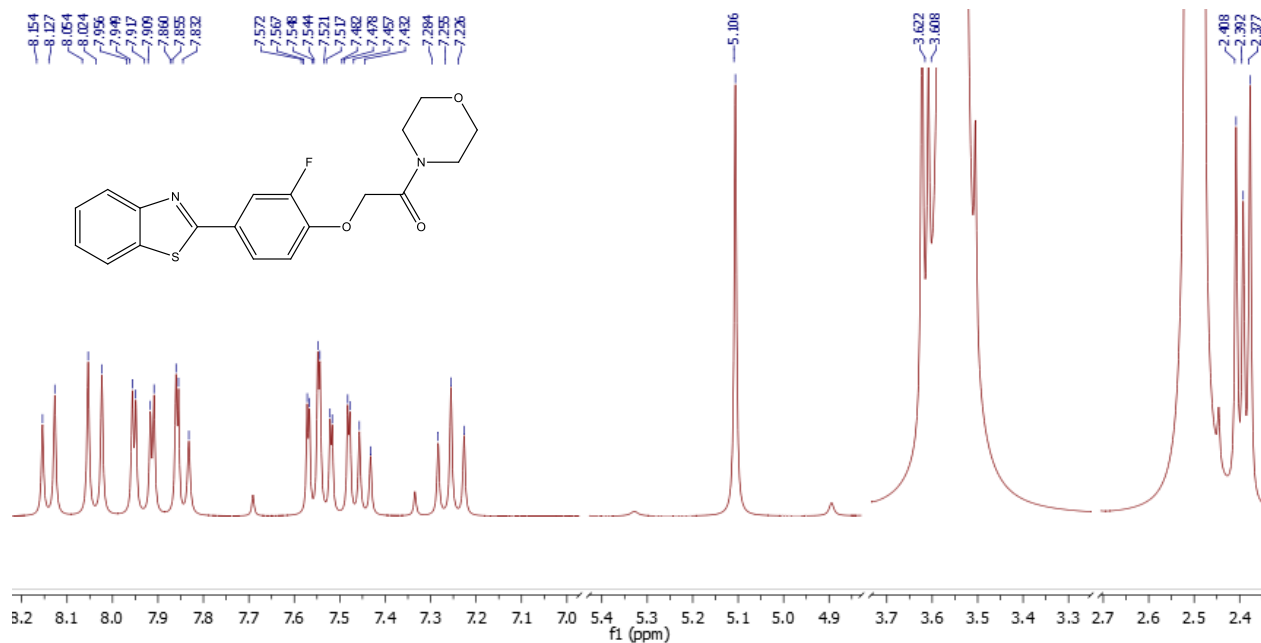
Slika 6. <sup>1</sup>H-NMR spektar spoja **6**

<sup>1</sup>H-NMR spektar spoja **7** (Slika 7) pokazuje sljedeće signale: 9,07 (d, *J* = 6,3 Hz, 2H, H-4, H-7), 8,62 (t, *J* = 7,4 Hz 1H, H-5), 8,16 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, H-6), 7,74 (m, 2H, H-2', H-6''), 7,47 – 7,40 (m, 1H, H-5'), 3,71 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H, H-1''), 3,55 (m, 8H, H-3'', H-4''), 2,75 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H, H-2'').



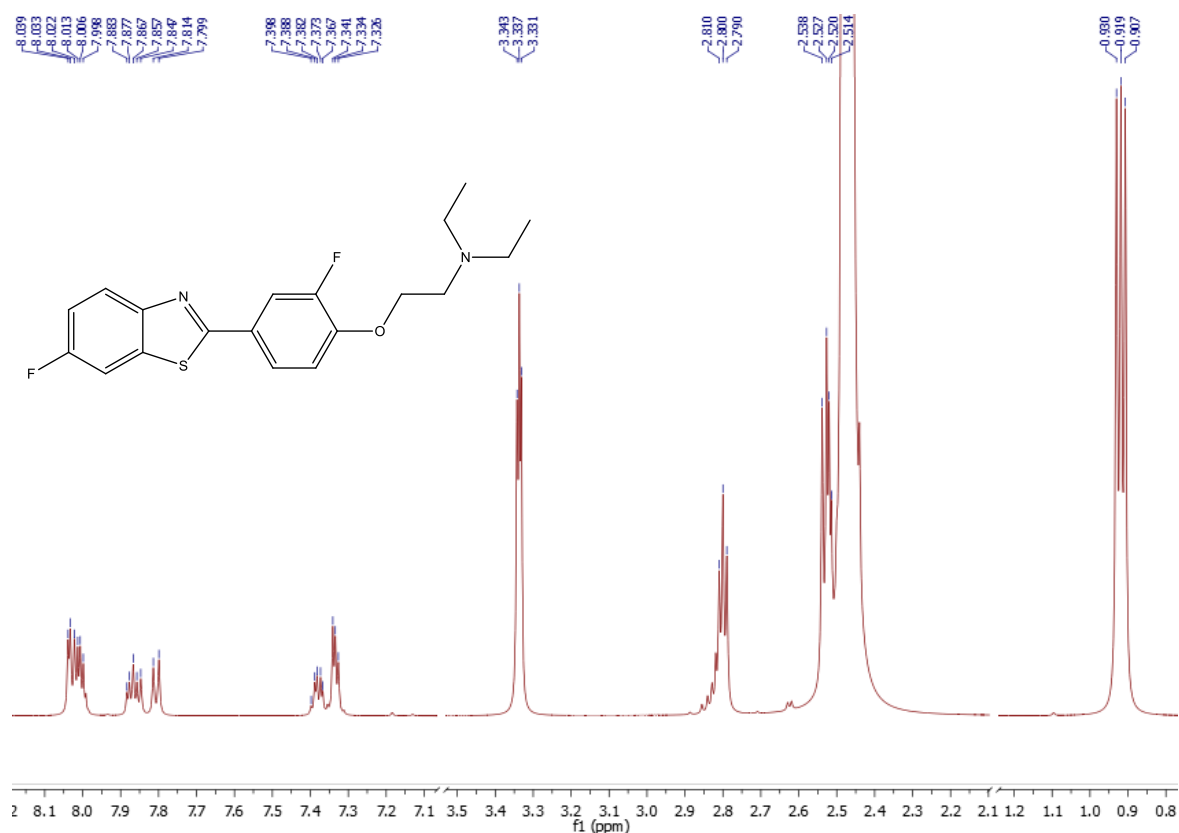
Slika 7. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 7

U <sup>1</sup>H-NMR spektru spoja 8 prisutni su signali  $\delta$  8,14 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, H-4), 8,04 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H, H-7), 7,93 (dd,  $J = 12,0, 2,3$  Hz, 1H, H-2'), 7,87 – 7,85 (m, 1H, H-5), 7,54 (td,  $J = 7,80, 1,3$  Hz, 1H, H-5'), 7,49 – 7,42 (m, 1H, H-6'), 7,26 (t,  $J = 8,6$  Hz, 1H, H-6), 5,11 (s, 2H, H-1"), 3,62 (m, 4H, H-3"), 2,39 (t,  $J = 4,5, 4$ H, H-4"),



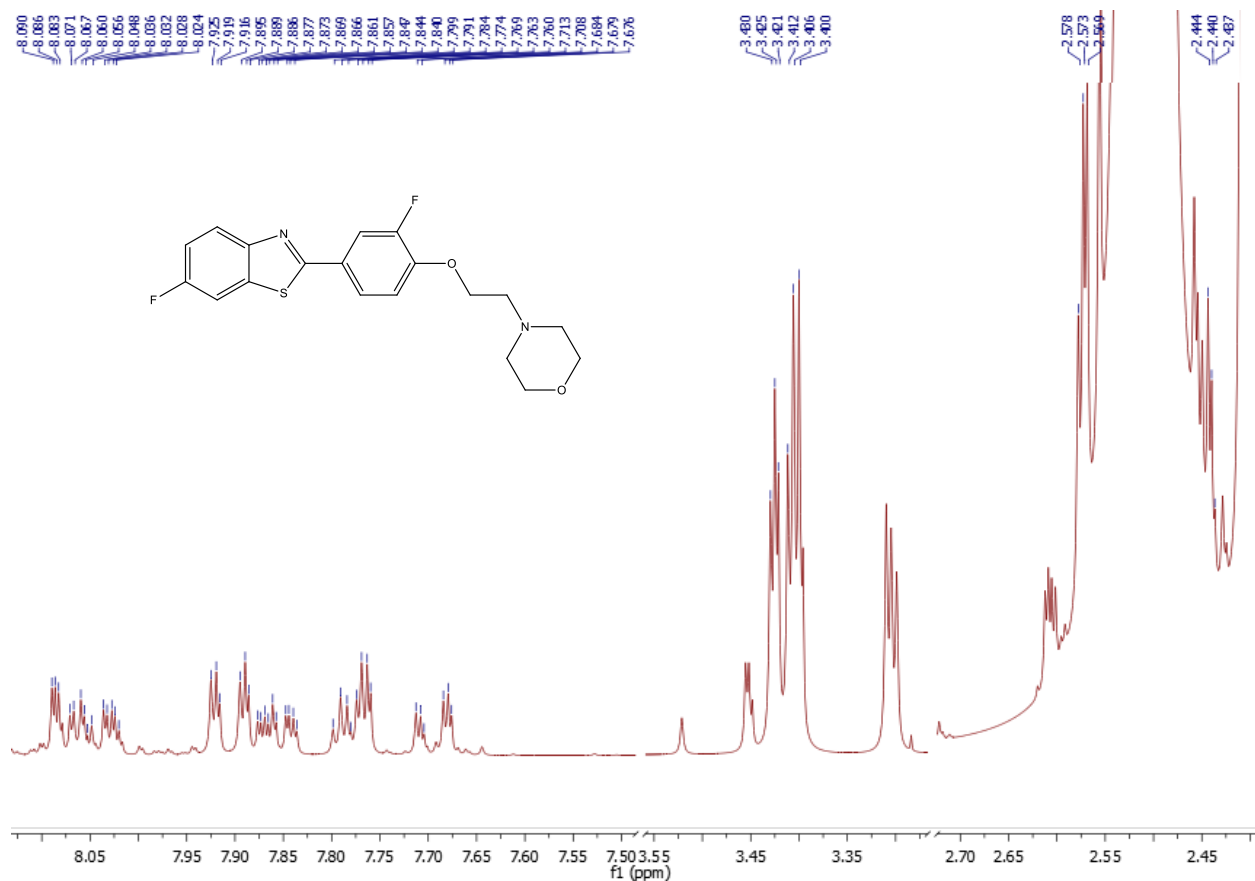
Slika 8. <sup>1</sup>H-NMR spektar spoja 8

$^1\text{H-NMR}$  spektar spoja **9** sadrži signale:  $\delta$  8,05 – 7,99 (m, 1H), 7,89 – 7,84 (m, 2H), 7,81 (d,  $J$  = 8,8 Hz, 1H), 7,38 (dt,  $J$  = 9,1, 4,7 Hz, 1H), 7,35 – 7,32 (m, 1H), 3,34 (t,  $J$  = 3,6 Hz, 2H, H-1"), 2,80 (t,  $J$  = 6 Hz, 2H, H-2"), 2,52 (q,  $J$  = 6 Hz, 4H, H-3"), 0,92 (t,  $J$  = 6 Hz, 6H, H-4").



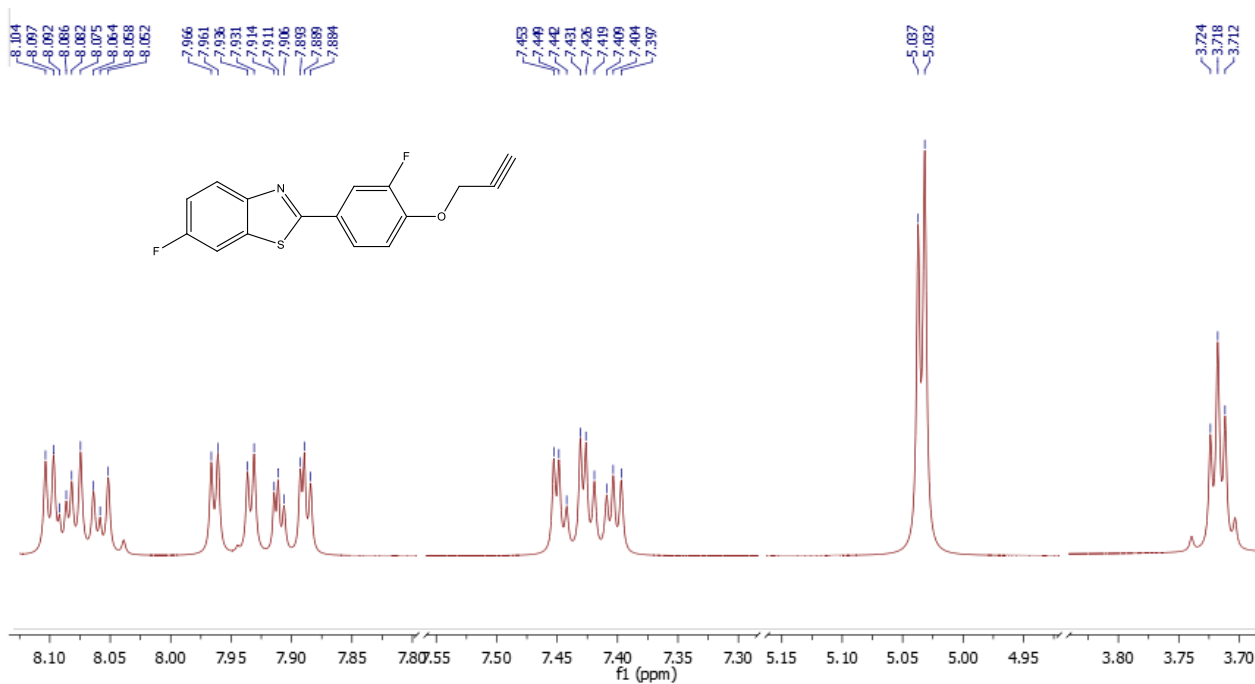
Slika 9.  $^1\text{H-NMR}$  spektar spoja **9**

U  $^1\text{H-NMR}$  spektru ciljanog spoja **10** (Slika 10) pored signala aromatskih protona 2-arilbenzotiazola ( $\delta$  8,10 – 8,01 (m, 2H), 7,91 (m, 1H), 7,88 – 7,83 (m, 1H), 7,78 (m, 1H), 7,69 (dt,  $J$  = 11,5, 3,4 Hz, 1H)), vide i signali za alifatske protone: 3,43 (t,  $J$  = 1,8 Hz, 2H, H-1"), 3,41 (t,  $J$  = 2,4 Hz, 4H, H-4"), 2,57 (t,  $J$  = 1,8 Hz, 4H, H-3"), 2,44 (t,  $J$  = 1,4 Hz, 2H, H-2"), čime je potvrđeno uvođenje *N*-(2-kloretil)morfolinskog supstituenta.



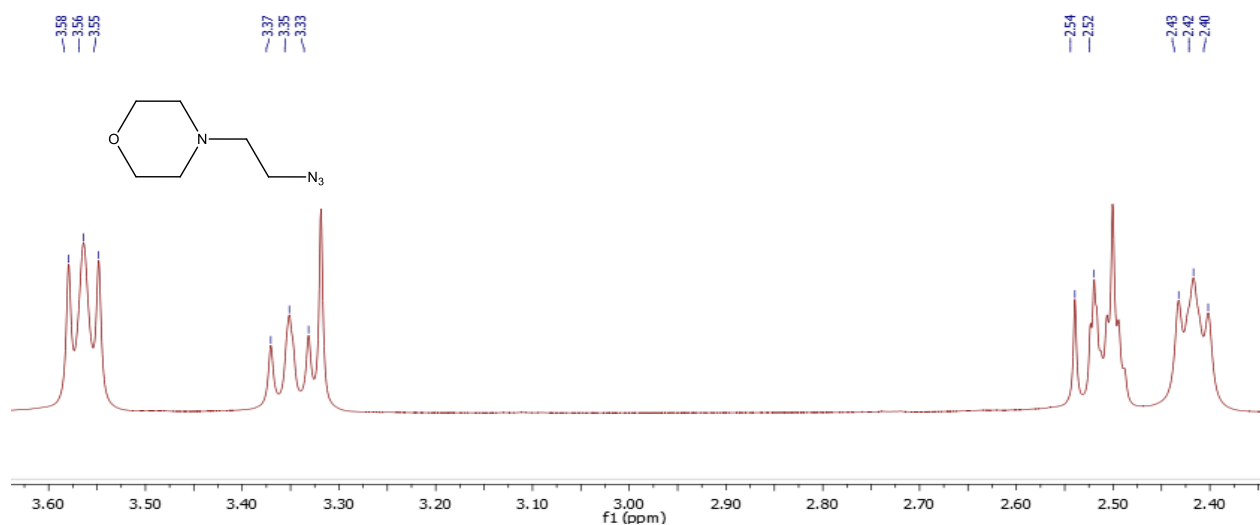
Slika 10. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja **10**

Usporedbom <sup>1</sup>H-NMR spektara spojeva **4** i **5** (Slike 4 i 5) vidljivo je da je reakcijom *O*-alkiliranja nastao propargilirani derivati benzotiazola jer pored signala za protone benzotiazolnog prstena u aromatskom dijelu spektra prisutni su dodatni signali za propargilni supstituent: dublet inteziteta 2H na 5,03 ppm za H-1'(d,  $J = 2,2$  Hz, 2H, H-1") i triplet inteziteta 1H na 3,72 ppm za H-3' (t,  $J = 2,4$  Hz, 1H, H-3").



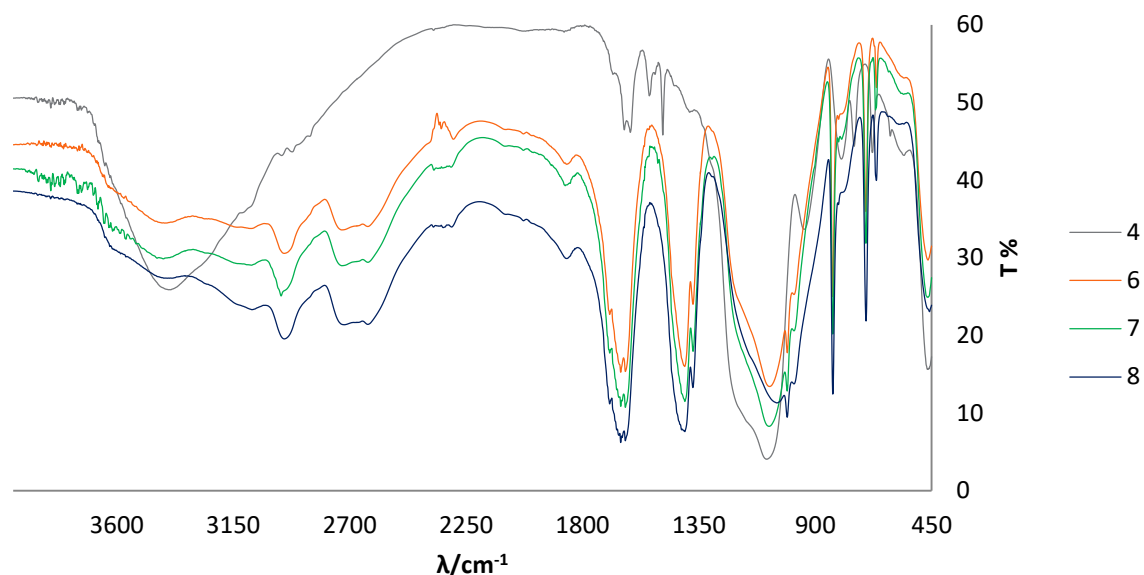
Slika 11. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja **13**

U <sup>1</sup>H-NMR spektru *N*-azidoetilmorfolina (Slika 12) prisutni su u alifatskom dijelu spektra sljedeći signali za metilenske (CH<sub>2</sub>) protone: za kemijski ekvivalentne metilenske protone uz kisik triplet ( $J = 4,5$  Hz) intenziteta 4H na 3,56 ppm, na 3,35 ppm triplet ( $J = 6$  Hz) intenziteta 2H za protone uz azido skupinu, triplet intenziteta 2H na 2,52 ppm za metilenske protone azidoetilnog supstituenta uz dušik i triplet intenziteta 4H za kemijski ekvivalentne metilenske protone uz dušik na 2,42 ppm .



Slika 12. <sup>1</sup>H-NMR spektar spoja **14**

### 4.3. STRUKTURNA KARAKTERIZACIJA PRIPRAVLJENIH SPOJEVA FTIR SPEKTROSKOPIJOM



Slika 13. FTIR spektri spojeva **4** i **6-8**

U FTIR spektru spoja **4** (Slika 13) može se uočiti na  $3416\text{ cm}^{-1}$  široka vrpca karakteristična za vibracije istezanja u hidroksilnoj skupini. Nadalje također se mogu uočiti i C-OH i C-F istezanja u području valnih duljina od  $1210\text{-}1082\text{ cm}^{-1}$ . U FTIR spektrima ciljanih spojeva **6-8** pripremljenih mikrovalovima potpomognutim reakcijama *O*-alkiliranja se može uočiti izostanak vrpce koja odgovara vibracijama istezanja OH skupine. Vibracijske vrpce u području valnih duljina od  $2977\text{ cm}^{-1}$  do  $2942\text{ cm}^{-1}$  odgovaraju alkilnim C-H istezanjima. Kod spoja **8** je također prisutna vrpca za istezanje C=O amidne skupine na  $1624\text{ cm}^{-1}$ , dok se kod spojeva **6** i **7** mogu uočiti vrpce za C-H savijanja čime je potvrđena supstitucija početnog 4-(benzo[*d*]tiazol-2-il)-2-fluorfenola.

#### 4.4. *IN SILICO* ANALIZA PRIPRAVLJENIH DERIVATA BENZTIAZOLA

Uz pomoć softverskog paketa PASS predviđeni su spektri aktivnosti spojeva na temelju 2D strukturne formule biološki aktivnih tvari (Tablica 1.). Uz predviđene aktivnosti dane su i vrijednosti Pa (vjerojatnost aktivnosti spoja) i Pi (vjerojatnost neaktivnosti spoja).

*In silico* analiza pripremljenih spojeva (Tablica 1) pokazuje da bi spoj **1** mogao djelovati kao inhibitor HIV-1 integraze (Pa=0,718, Pi=0,002) i inhibitor lizaze (Pa=0,895 i Pi=0,004). Poznato je da inhibitori enzima lizaze mogu utjecati na proliferaciju tumora i inducirati apoptozu tumorskih stanica.<sup>32</sup> Zatim **8** kao inhibitor STAT transkripcijskih faktora (Pa=0,695, Pi=0,004), koji imaju ulogu u procesima bitnim za proliferaciju, metastaziranje i razvijanje otpornosti tumorskih stanica, te imunološkim i upalnim procesima.<sup>33</sup> Benzotiazolni derivati **12** (Pa=0,513, Pi=0,005) i **4** (Pa=0,734, Pi=0,002) imaju potencijalno djelovanje kao agonisti aril ugljikovodičnih receptora (Pa=0,513, Pi=0,005), također s potencijanom primjenom u protutumorskoj kemoterapiji.<sup>34</sup> Spoj **7** pokazao je najveću farmakološku aktivnost kao vazoprotektor (Pa= 0,689 i Pi= 0,011). Od fluoriranih derivata benzotiazola najveću aktivnost na neku biološku metu pokazao je spoj **2** kao inhibitor muramoiltetrapeptidnske karboksipeptidaze (Pa= 0,789 i Pi= 0,008) i najveću vjerojatnost farmakološke aktivnosti kao agens za zaštitu mukozne membrane (Pa= 0,842 i Pi= 0,010). S potencijalnim djelovanjem protiv neplodnosti kod žena (Pa=0,994, Pi=0,000) ističe se spoj **14**.



Tablica 1. Najvjerojatnije biološke mete i učinci predviđeni PASS-om za sintetizirane derivate benzotiazola

| Aktivnost spoja 1                     | Pa_1  | Pi_1  | Aktivnost spoja 1                                   | Pa_1  | Pi_1  | Aktivnost spoja 1                           | Pa_1  | Pi_1  |
|---------------------------------------|-------|-------|---|-------|-------|---|-------|-------|
| Inhibitor arilacetoni-trilaze         | 0,902 | 0,004 | Inhibitor gama-gvanidino butiraldehid dehidrogenaze | 0,742 | 0,005 | Inhibitor karnitinamidaza                   | 0,716 | 0,007 |
| Inhibitor lizaze                      | 0,895 | 0,004 | Inhibitor desaturaze linoleoil-CoA                  | 0,735 | 0,003 | Inhibitor mangan peroksidaze                | 0,717 | 0,011 |
| Inhibitor NADPH peroksidaze           | 0,880 | 0,004 | Inhibitor peroksidaze                               | 0,738 | 0,008 | Inhibitor fosfatidilserinska dekarboksilaza | 0,716 | 0,010 |
| Inhibitor nitrat reduktaze (citokrom) | 0,815 | 0,005 | Inhibitor superoksid dizmutaze                      | 0,737 | 0,010 | Inhibitor taurin dehidrogenaze              | 0,726 | 0,026 |
| Inhibitor albendazol monooksigenaze   | 0,801 | 0,003 | Inhibitor glutamil endopeptidaze II                 | 0,743 | 0,019 | Inhibitor glukoza oksidaze                  | 0,717 | 0,022 |
| Inhibitor tiol oksidaze               | 0,770 | 0,004 | Inhibitor komplementnog faktora D                   | 0,736 | 0,014 | Omptin inhibitor                            | 0,708 | 0,020 |
| Inhibitor fragilizina                 | 0,774 | 0,010 | Inhibitor (S)-6-hidroksinikotin oksidaza            | 0,723 | 0,005 | Zaštitnik sluznice                          | 0,729 | 0,044 |
| Inhibitor lakaze                      | 0,763 | 0,004 | Inhibitor linoleat diol sintaze                     | 0,726 | 0,010 | Liječenje fobijskih poremećaja              | 0,736 | 0,060 |

|   |       |       |   |       |       |
|---|-------|-------|---|-------|-------|
| Glycosylphosphatidyl inositol phospholipase D inhibitor | 0,764 | 0,020 | Inhibitor HIV-1 integraze                   | 0,718 | 0,002 |
| Inhibitor N-benziloksikarbonilglicinske hidrolaze       | 0,748 | 0,008 | Inhibitor Aspulvinon dimetilaliltransferaze | 0,757 | 0,046 |
| Inhibitor taurin-2-oksoglutarat transaminaze            | 0,740 | 0,003 | Inhibitor fosfolipid-translocirajuće ATPaze | 0,722 | 0,011 |

| Aktivnost spoja 2                                  | Pa_2  | Pi_2  | Aktivnost spoja 3                   | Pa_3  | Pi_3  | Aktivnost spoja 4                           | Pa_4  | Pi_4  |
|--|-------|-------|-------------------------------------|-------|-------|---|-------|-------|
| Zaštita mukozne membrane                           | 0,842 | 0,010 | Inhibitor NADPH peroksidaze         | 0,799 | 0,012 | Supstrat Arilamin N-acetiltransferaze       | 0,826 | 0,002 |
| Inhibitor muramoiltetrapeptidske karboksipeptidaze | 0,789 | 0,008 | Inhibitor lizaze                    | 0,786 | 0,011 | Inhibitor Aspulvinon dimetilaliltransferaze | 0,780 | 0,040 |
| Inhibitor taurin 2-oksoglutarat transaminaza       | 0,731 | 0,003 | Inhibitor albendazol monooksigenaze | 0,642 | 0,005 | Agonist aril ugljikovodičnih receptora      | 0,734 | 0,002 |
| Inhibitor NADPH peroksidaze                        | 0,714 | 0,025 | Inhibitor arilacetonitrilaze        | 0,629 | 0,020 |   |       |       |
| Inhibitor arilacetonitrilaze                       | 0,684 | 0,017 |                                     |       |       |   |       |       |

| Aktivnost spoja 5                           | Pa_5  | Pi_5  | Aktivnost spoja 6                                  | Pa_6  | Pi_6  | Aktivnost spoja 7                       | Pa_7  | Pi_7  |
|---|-------|-------|--|-------|-------|---|-------|-------|
| Agonist aril ugljikovidičnih receptora      | 0,704 | 0,002 | Inhibitor glukonat 2-dehidrogenaze                 | 0,722 | 0,045 | Vazoprotektor                           | 0,689 | 0,011 |
| Substrat arilamin N-acetiltransferaze       | 0,671 | 0,003 | Antisekretorno djelovanje                          | 0,677 | 0,012 | Antagonist anafilatoksinskih receptora  | 0,624 | 0,035 |
| Vazoprotector                               | 0,634 | 0,016 | Inhibitor glikozilfosfatidilinozitol-fosfolipaze D | 0,675 | 0,042 | Inhibitor STAT transkripcijskih faktora | 0,506 | 0,020 |
| Inhibitor aspulvinon dimetilaliltransferaze | 0,652 | 0,080 | Spazmolitik, urinarni                              | 0,639 | 0,018 | Antineurotik                            | 0,564 | 0,084 |
|   |       |       | Regulator metabolizma nukleotida                   | 0,618 | 0,017 |   |       |       |

| Aktivnost spoja 8                         | Pa_8  | Pi_8  | Aktivnost spoja 9                             | Pa_9  | Pi_9  | Aktivnost spoja 10                      | Pa_10 | Pi_10 |
|---|-------|-------|---|-------|-------|---|-------|-------|
| Inhibitor STAT transkripcijskih faktora   | 0,695 | 0,004 | Inhibitor (akceptor) glukonat 2-dehidrogenaze | 0,679 | 0,068 | Vazoprotector                           | 0,714 | 0,010 |
| Inhibitor STAT 3 transkripcijskih faktora | 0,629 | 0,005 | Spazmolitik, urinarni                         | 0,571 | 0,031 | Antineurotik                            | 0,665 | 0,051 |
| Antagonist anafilatoksinskih receptora    | 0,584 | 0,043 | FMO1 substrat                                 | 0,511 | 0,020 | Inhibitor STAT transkripcijskih faktora | 0,434 | 0,036 |
| Inhibitor transkripcijskih faktora        | 0,521 | 0,011 | Regulator metabolizma nukleotida              | 0,515 | 0,029 | Antagonist anafilatoksin receptora      | 0,471 | 0,074 |
| Antiishemijsko djelovanje, cerebralni     | 0,525 | 0,093 |   |       |       |   |       |       |
| Analgetik, neopioidan                     | 0,458 | 0,036 |   |       |       |   |       |       |
| Antagonist oreksin receptora 1            | 0,420 | 0,005 |   |       |       |   |       |       |
| Analgetik                                 | 0,462 | 0,048 |   |       |       |   |       |       |
| Antineoplastik (multipli mijelom)         | 0,427 | 0,018 |   |       |       |   |       |       |

| Aktivnost spoja 12                     | Pa_12 | Pi_12 | Aktivnost spoja 13                     | Pa_13 | Pi_13 | Aktivnost spoja 14             | Pa_14 | Pi_14 |
|--|-------|-------|--|-------|-------|--------------------------------|-------|-------|
| Antiosteoporotsko djelovanje           | 0,534 | 0,012 | Antiosteoporotsko djelovanje           | 0,488 | 0,015 | Protiv neplodnosti (žene)      | 0,994 | 0,000 |
| Agonist aril ugljikovodičnih receptora | 0,513 | 0,005 | Agonist aril ugljikovodičnih receptora | 0,457 | 0,006 | Liječenje fobijskih poremećaja | 0,929 | 0,004 |
| Antisekretorno djelovanje              | 0,505 | 0,029 | Protiv bolesti kostiju                 | 0,446 | 0,020 | Inhibitor glioksilat-reduktaze | 0,753 | 0,004 |
|  |       |       |  |       |       | Kardiovaskularni analeptik     | 0,745 | 0,005 |
|  |       |       |  |       |       | Antineurotik                   | 0,742 | 0,029 |

## **5. ZAKLJUČCI**

## 5. ZAKLJUČCI

- 2-aminotiofenol (**1**) priređen je otvaranjem 2-aminobenzotiazolnog prstena s KOH u etilenglikolu.
- Reakcijom 4-fluoranilina s KSCN i Br<sub>2</sub> u ledenoj octenoj kiselini pripremljen je 2-amino-6-fluorbenzotiazol (**2**) koji je potom s vodenom otopinom NaOH preveden u 2-amino-5-fluortiofenol (**3**).
- Kondenzacijom 2-aminotiofenola (**1** i **3**) s 3-fluor-4-hidroksibenzaldehidom sintetizirani su 2-(4-hidroksi-3-fluorfenil)benzotiazol (**4**) i 2-fluor-4-(6-fluorbenzo[*d*]tiazol-2-il)fenol (**5**).
- Mikrovalovima potpomognutim reakcijama *O*-alkiliranja 2-(4-hidroksi-3-fluorfenil)benzotiazola (**4**) sintetizirani su derivati 2-(4-alkoksi-3-fluorfenil)benzotiazola **6-8**.
- Mikrovalovima potpomognutim reakcijama *O*-alkiliranja 2-fluor-4-(6-fluorbenzo[*d*]tiazol-2-il)fenola (**5**) pripremljeni su odgovarajući 2-(4-alkoksifenil) derivati benzotiazola **9** i **10**.
- Reakcijom spojeva **4** i **5** s propargil-bromidom uz K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> kao bazu priređeni su propargilirani derivati 2-aryl-6-fluorbenzotiazola (**12** i **13**).
- *N*-azidoetilmorfolin (**14**) sintetiziran je reakcijom *N*-kloretilmorfolina s natrijevim azidom.
- Huisgenovom 1,3-dipolarnom cikloadicijom kataliziranom bakrom terminalnih alkina (**12** i **13**) i etilmorfolinskog azida (**14**) ciljani triazolni derivati nisu izolirani.
- Strukturna analiza pripremljenih spojeva provedena je <sup>1</sup>H-NMR i FTIR spektroskopijom.
- *In silico* PASS analiza za sintetizirane derivate benzotiazola pokazala je da spoj **4** ima najveću vjerojatnost aktivnosti na biološku metu kao supstrat arilamin *N*-acetiltransferaze (Pa= 0,826 i Pi= 0,002), a spoj **7** najveću farmakološku aktivnost kao vazoprotektor (Pa= 0,689 i Pi= 0,011). Od fluoriranih derivata benzotiazola najveću aktivnost na neku biološku metu pokazao je spoj **2** kao inhibitor karboksipeptidaze (Pa= 0,789 i Pi= 0,008) i najveću vjerojatnost farmakološke aktivnosti kao agens za zaštitu mukozne membrane (Pa= 0,842 i Pi= 0,010).

## **6. LITERATURA**



## 6. LITERATURA

1. P. Imming, Medicinal chemistry: Definitions and objectives, drug activity phases, drug classification systems, u Wermuth, C.G., The Practice of Medicinal Chemistry, 3rd ed. AcademicPress, Amsterdam/Boston, 2015, str. 3-13.
2. S. Agarwal, D. Gandhi, P. Kalal, "Benzothiazole: A Versatile and Multitargeted Pharmacophore in the Field of Medicinal Chemistry", Letters in Organic Chemistry, **14** (2017) 729-742.
3. R. Ali, N. Siddiqui, "Biological Aspects of Emerging Benzothiazoles: A Short Review," Journal of Chemistry **2013** (2013) 1-12.
4. P. C. Sharma, A. Sinhar, A. Sharma, H. Rajak, D. P. Pathak, Medicinal significance of benzothiazole scaffold: an insight view, Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, **28** (2013) 240-266.
5. L. Le Bozec, C.J. Moody, Naturally Occurring Nitrogen–Sulfur Compounds. The Benzothiazole Alkaloids, Australian Journal of Chemistry **62** (2009) 639-647.
6. R. S. Keri, M. R. Patil, S. A. Patil, S. Budagumpi, A comprehensive review in current developments of benzothiazole-based molecules in medicinal chemistry, European Journal of Medicinal Chemistry, **89** (2015) 207-251.
7. A. Shaista, P. Amrita, Benzothiazole - A magic molecule, International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research **8** (2017) 4909-4929.
8. J. A. Joule, K. Mills, Heterocyclic chemistry, 5th ed, 2010., Wiley Publishing, 503-506.
9. J. A. Joule, K. Mills, Heterocyclic chemistry, 5th ed, 2010., Wiley Publishing, 507.
10. A. Gupta, S. Rawat, Synthesis and Cyclization of Benzothiazole: Review, Journal of Current Pharmaceutical Research, **3**;1 (2010) 13-23.

11. V. Facchinetti, R.D.R. Reis<sup>1</sup>, C.R.B. Gomes, T.R.A. Vasconcelos, *Chemistry and Biological Activities of 1,3-Benzothiazoles, Mini-Reviews in Organic Chemistry*, **43** (2012) 44-53.
12. N. P. Prajapati, R. H. Vekariya, M. A. Borad, H. D. Patel, Recent advances in the synthesis of 2-substituted Benzothiazoles: A Review, *RSC Adv.*, **4** (2014) 60176-60208.
13. J. A. Seijas, M. P. Vázquez-Tato, M. R. Carballido-Reboredo, J. Crecente-Campo, L. Romar-López, Lawesson's Reagent and Microwaves: A New Efficient Access to Benzoxazoles and Benzothiazoles from Carboxylic Acids under Solvent-Free Conditions Lawesson's Reagent and Microwaves in Benzoazoles Synthesis, *Synlett*, **2** (2007) 313-316.
14. R.K. Gill<sup>1</sup>, R.K. Rawal<sup>1</sup>, J. Bariwal, Recent Advances in the Chemistry and Biology of Benzothiazoles, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **348** (2015) 155-178.
15. Z. Wang, X.-H. Shi, J. Wang, T. Zhou, Y.-Z. Xu, Synthesis, structure–activity relationships and preliminary antitumor evaluation of benzothiazole-2-thiol derivatives as novel apoptosis inducers, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **21** (2011) 1097-1101.
16. D. Havrylyuka, L. Mosulaa, Zimenkovsky B, Synthesis and anticancer activity evaluation of 4-thiazolidinones containing benzothiazole moiety, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **45**(11) (2010) 5012-21.
17. [https://shodhganga.inflibnet.ac.in/bitstream/10603/9231/9/09\\_chapter%204.pdf](https://shodhganga.inflibnet.ac.in/bitstream/10603/9231/9/09_chapter%204.pdf)
18. M. Gjorgjieva, T. Tomašič, D. Kikelj, L. P. Mašič, Benzothiazole-based Compounds in Antibacterial Drug Discovery, *Current Medicinal Chemistry*, **25** (2018) 5218-5236.
19. K. Bolelli, I. Yalcin, S. O'zgen, Synthesis of novel 2-[4-(4-substituted benzamido/phenylacetamido)phenyl] benzothiazoles as antimicrobial agents, *Medicinal Chemistry Research*, **21** (2012) 3818–3825.

20. M. Singh, S.K. Singh, M. Gangwar, G. Nath, S.K. Singh, Design, Synthesis and mode of action of some benzothiazole derivatives bearing amide moiety as antibacterial agents, *RSC Adv.*, **4** (2014) 19013-19023.
21. <https://tinyurl.com/y8zjcl9g> (pristup 20.07.2019.)
22. G. Navarrete-Vazqueza, M. Ramírez-Martínez, Synthesis, in vitro and in silico screening of ethyl 2-(6-substituted benzo[d]thiazol-2-ylamino)-2-oxoacetates as protein-tyrosine phosphatase 1B inhibitors, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **53** (2012) 346-355.
23. A. Kumarb, A.K. Shakyaa, H.H. Siddiquib, Synthesis and anti-inflammatory activity of some novel 2-aminobenzothiazole derivatives, *Indian Journal of Heterocyclic Chemistry*, **25** (2016) 243-249.
24. J. A. Joule, K. Mills, *Heterocyclic chemistry*, 5th ed, 2010., *Wiley Publishing*, 659.
25. <https://www.drugs.com/mtm/pramipexole.html> (pristup 22.07.2019.)
26. D. Saftić, L. Krstulović, M. Bajić, B. Žinić, 1,3-Dipolarna cikloadicija (I. dio): Dobivanje 1,2,3-triazolnih derivata u nukleozidnoj kemiji, *Kemija u industriji*, **64** (2015) 481–498.
27. R. Ramapanicker, P. Chauhan, *Click Chemistry: Mechanistic and Synthetic Perspectives, Click Reactions in Organic Synthesis*, Wiley-VCH, 2016.
28. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01606> (pristup 22.07.2019.)
29. <https://www.mims.com/malaysia/drug/info/cefatrizine?mtype=generic> (pristup 22.07.2019.)
30. <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-drug/def/carboxyamidotriazole> (pristup 22.07.2019.)
31. <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/index.php> (pristup 07.09.2019.)

32. C. Granchi, ATP citrate lyase (ACLY) inhibitors: An anti-cancer strategy at the crossroads of glucose and lipid metabolism, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **157** (2018) 1276-1291.
33. I. Kolosenko, Y. Yu, S. Busker, M. Dyczynski, Identification of novel small molecules that inhibit STAT3-dependent transcription and function, *PLOS One*, **12**(6) (2017) <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178844>
34. S. Safe, Y. Cheng, Un-Ho Jin, The Aryl Hydrocarbon Receptor (AhR) as a Drug Target for Cancer Chemotherapy, *Current Opinion in Toxicology*, **2** (2017) 24-29.

## **7. ŽIVOTOPIS**

## 7. ŽIVOTOPIS

████████████████████ Osnovnoškolsko obrazovanje završila sam u OŠ Mate Balote u Bujama. Srednju školu završila sam 2016. godine kao kemijski tehničar u Prirodoslovnoj školi Vladimira Preloga u Zagrebu i iste godine upisala preddiplomski studiji Primijenjena kemija na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu. Za vrijeme studija obavila sam stručnu praksu u laboratoriju BIFIX-a u Bujama.