Sinteza, karakterizacija i biološko djelovanje semikarbazida, urea i ureidoamida primakina

Pavić, Kristina

Doctoral thesis / Disertacija

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:457377

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

Sveučilište u Zagrebu
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

KRISTINA PAVIĆ

SINTEZA, KARAKTERIZACIJA I BIOLOŠKO DJELOVANJE SEMIKARBAZIDA, UREA I UREIDOAMIDA PRIMAKINA

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2017.



University of Zagreb
FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY

KRISTINA PAVIĆ

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF PRIMAQUINE SEMICARBAZIDES, UREAS AND UREIDOAMIDES

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2017.

Sveučilište u Zagrebu
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

KRISTINA PAVIĆ

SINTEZA, KARAKTERIZACIJA I BIOLOŠKO DJELOVANJE SEMIKARBAZIDA, UREA I UREIDOAMIDA PRIMAKINA

DOKTORSKI RAD

Mentor: prof. dr. sc. Branka Zorc

Zagreb, 2017.



University of Zagreb
FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY

KRISTINA PAVIĆ

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF PRIMAQUINE SEMICARBAZIDES, UREAS AND UREIDOAMIDES

DOCTORAL THESIS

Supervisor: Prof. Branka Zorc, PhD

Zagreb, 2017.

Doktorski rad je predan na ocjenu Fakultetskom vijeću Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja akademskog stupnja doktora znanosti iz područja biomedicine i zdravstva, polje farmacija, grana farmacija.

Rad je izrađen u Zavodu za farmaceutsku kemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u suradnji sa Zavodom za molekularnu medicinu Instituta Ruđer Bošković, Zagreb, Rega Institute for Medical Research KU Leuven (Belgija), School of Pharmacy, Aristotle University of Thessaloniki, Solun (Grčka) i Swiss Tropical and Public Health Institute, Basel (Švicarska), u sklopu doktorskog studija „Farmaceutsko-biokemijske znanosti“ Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Rad je djelomično financiran projektom Hrvatske zaklade za znanost „Dizajniranje, sinteza i evaluacija derivata primakina, vorinostata i sorafeniba kao potencijalnih citostatika“ (HRZZ-IP-09-2014-1501).



Zahvale

Mentorici prof. dr. sc. Branki Zorc, na nesebičnim savjetima, pomoći i podršci tijekom izrade ovog doktorskog rada.

Doc. dr. sc. Ivani Perković na uvođenju u laboratorijski rad, nesebičnoj pomoći, savjetima, zajedničkom mućkanju u laboratoriju i prijateljstvu te izv. prof. dr. sc. Zrinki Rajić Džolić na savjetima, pomoći, idejama i prijateljstvu.

Dr. sc. Marijeti Kralj, dr. sc. Katji Ester, dr. sc. Ireni Martin Kleiner, prof. dr. sc. Dominiqueu Scholsu, prof. dr. sc. Dimitri Hadjipavlou-Litini, dr. sc. Anna-Mariji Katsori, Eleni Pontiki i dr. sc. Marcelu Kaiseru na biološkim ispitivanjima.

Svim članovima Zavoda za farmaceutsku kemiju, na ugodnoj atmosferi i druženju.

Studentima Filipu, Petri, Mateju i Mateji koji su radeći svoje diplomske radove i/ili radove za Rektorovu nagradu uvelike pomogli u izradi dijela ovog rada.

Mami i Tati, na bezuvjetnoj ljubavi, razumijevanju, vjeri i podršci! Volim vas!

Matiji, mojoj ljubavi, hvala ti što si bio uz mene i što vjeruješ u mene onda kada ja ne vjerujem u sebe! Volim te!

SAŽETAK

U okviru ovog doktorskog rada, koji predstavlja nastavak istraživanja o mogućnostima derivatizacije antimalarijskog lijeka primakina (PQ) u Zavodu za farmaceutsku kemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, sintetizirane su *bis*-uree PQ **11** te uree i semikarbazoni **12** s velikim arilnim i hidroksialkilnim supstituentima, konjugati PQ i derivata cimetne kiseline (DCK) amidnog **15** i acilsemikarbazidnog tipa **16** te ureidoamidi PQ **20**. Većina derivata PQ pripremljena je koristeći benzotriazolsku metodu – klorid 1-benzotriazolkarboksilne kiseline (BtcCl) s nukleofilima daje cijeli niz vrlo reaktivnih prekursora koji su upotrijebljeni u sintezi navedenih derivata PQ. Za pripremu *bis*-urea **11** primijenjena su dva sintetska pristupa. U prvom pristupu produkti su „rasli" sa semikarbazidne strane, a PQ je ulazio u molekulu zadnji, dok su u drugom pristupu produkti sintetizirani iz zajedničkog prekursora semikarbazida PQ **9**. Drugi pristup bio je prikladniji za pripremu cijele serije *bis*-urea. Derivati PQ **12** sintetizirani su iz benzotriazolida **8**, **2c** ili **2d** i odgovarajućih amina ili izravno iz PQ i izocijanata. PQ-DCK amidi **15** i acilsemikarbazidi **16** pripremljeni su iz odgovarajućih klorida **14** i PQ ili semikarbazida PQ **9**. Amidi **15d**,**e**,**g** pripremljeni su dodatno aminolizom benzotriazolida DCK **13** primakinom. Derivati PQ i aminokiselina ureidoamidi **20** pripravljeni su iz PQ i odgovarajućih amida *N*-(1-benzotriazolkarbonil)aminokiselina **19**.

Svi sintetizirani spojevi karakterizirani su uobičajenim analitičkim i spektroskopskim metodama te im je *in vitro* ispitano citostatsko djelovanje, kao i antioksidativno djelovanje na temelju sposobnosti redukcije 1,1-difenil-2-pikrilhidrazila (DPPH) te inhibicije lipidne peroksidacije linolne kiseline i lipooksigenaze. Najbolje citostatsko djelovanje na staničnu liniju MCF-7 adenokarcinoma dojke pokazao je spoj **16j**, a slijedio ga je **11f** s povoljnijim omjerom citostatske aktivnosti i citotoksičnosti. Najjaču sposobnost redukcije DPPH pokazali su spojevi **16d**,**g**,**i**,**j**,**k**, najjači inhibitori lipidne peroksidacije bili su spojevi **20c** i **12d**, a najsnažniji inhibitor lipooksigenaze bio je spoj **16d**. Iz dobivenih rezultata može se zaključiti da su *bis*-uree i acilsemikarbazidni derivati primakina aktivniji od urea i amida te mogu poslužiti kao vodeći spojevi u razvoju novih citostatika i antioksidansa.

Ključne riječi: primakin/semikarbazid/*bis*-urea/urea/sinteza/citostatsko djelovanje/ antioksidativno djelovanje

SUMMARY

This doctoral thesis describes synthesis of various primaquine (PQ) derivatives: *bis*-ureas **11**, ureas and semicarbazones **12** with bulky aryl or hydroxyalkyl substituents, PQ-cinnamic acid conjugates (PQ-CAD) of the amide **15** and acylsemicarbazide type **16**, and ureidoamides **20**, as a continuation of the previous work on the derivatization of the antimalarial drug PQ developed at the Department of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy and Biochemistry in Zagreb. Most PQ derivatives were prepared utilizing benzotriazole as a synthetic auxiliary – 1-benzotriazolecarboxylic acid chloride (BtcCl) reacts readily with nucleophiles affording a variety of highly reactive synthetic precursors for the synthesis of the title compounds. Two synthetic approaches for the preparation of the PQ *bis*-ureas **11** were applied. In the first approach, the products grew from the semicarbazide part, and PQ entered the molecule at the final stage. In the second approach, one common precursor PQ semicarbazide **9** was introduced, from which various PQ *bis*-ureas were prepared. Derivatives **12** were obtained in the reaction of benzotriazolide **8**, **2c** or **2d** with corresponding amines or directly from PQ and isocyanate. PQ-CAD amides **15** and acylsemicarbazides **16** were prepared from the corresponding chlorides **14** and PQ or PQ semicarbazide **9**, respectively. Additionally, amides **15d**,**e**,**g** were obtained by aminolysis of CAD benzotriazolide **13** with PQ. Ureidoamide derivatives of PQ and amino acids **20** were synthesized in the reaction of PQ and corresponding *N*-(1-benzotriazolecarbonyl)amino acid amides **19**.

Common analytical and spectroscopic methods for the characterization of the synthesized compounds were used. Their cytostatic activity, antioxidative activity by DPPH reducing ability, and inhibition of linoleic acid lipid peroxidation and lipoxygenase were evaluated *in vitro*. The most prominent cytostatic activity on MCF-7 breast adenocarcinoma cell line was exerted by compound **16j**, followed by **11f** having more favourable ratio of antiproliferative activity and cytotoxicity. Compounds **16d**,**g**,**i**,**j**,**k** had the strongest DPPH reducing ability, whereas compounds **20c** and **12d** showed the highest inhibition of linoleic acid lipid peroxidation. The most potent lipoxigenase inhibitor was compound **16d**. The obtained results indicate that PQ *bis*-ureas and acylsemicarbazides are more active than ureas and amides, and therefore could be considered as lead compounds in development of novel cytostatics and antioxidants.

Keywords: primaquine/semicarbazide/*bis*-urea/urea/synthesis/cytostatic activity/ antioxidative activity

SADRŽAJ

1. UVOD 1
1.1. OBRAZLOŽENJE TEME 2
1.1.1. Antimalarici i njihovi derivati kao potencijalni citostatici 2
1.1.2. Cimetna kiselina i njeni derivati 5
1.2. LITERATURNI PREGLED 7
1.2.1. Primakin 7
1.2.1.1. *Fizikalno-kemijska svojstva primakina* 7
1.2.1.2. *Sinteza primakina* 8
1.2.1.3. *Biološko djelovanje primakina* 9
1.2.1.4. *Nuspojave primakina* 12
1.2.1.5. *Farmakokinetika i metabolizam primakina* 13
1.2.1.6. *Derivati primakina i njihovo djelovanje* 15
1.2.2. Cimetna kiselina i njeni derivati 27
1.2.2.1. *Cimetna kiselina u prirodi* 27
1.2.2.2. *Sinteza cimetne kiseline* 27
1.2.2.3. *Biološko djelovanje cimetne kiseline i njenih derivat*a 30
2. MATERIJALI I METODE 37
2.1. MATERIJALI I INSTRUMENTI 38
2.2. SINTEZE 40
2.2.1. Sinteza klorida 1-benzotriazolkarboksilne kiseline (**1**) 40
2.2.2. Sinteza 1-(*N*-arilkarbamoil)- i 1-(*N*-arilkarbohidrazoil)benzotriazola (amida i hidrazida 1-benzotriazolkarboksilne kiseline) **2a-d**. Opća metoda 40
2.2.3. Sinteza 1-(trifenilmetil)imidazolidin-2-ona (**3**) 42
2.2.4. Sinteza 1,3-*bis*[(fenil)(4-klorfenil)metil]uree (**4b**) 42
2.2.5. Sinteza karbamata **5**. Opća metoda 43
2.2.6. Sinteza 4-arilsemikarbazida **6**. Opća metoda 44
2.2.7. Sinteza 1-(1-benzotriazolkarbonil)-4-arilsemikarbazida **7**. Opća metoda 45
2.2.8. Sinteza benzotriazolida primakina **8** (*N*-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karboksamida) 46
2.2.9. Sinteza semikarbazida primakina **9** (3-amino-1-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}urea) 47

2.2.10. Sinteza benzotriazolida semikarbazida primakina **10** (*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karboksamid) 47

2.2.11. Sinteza *bis*-urea primakina (1-primakinkarbonil-4-supstituiranih semikarbazida) **11a-l**. Opća metoda 48

2.2.12. Sinteza derivata primakina **12a-g**. Opća metoda 58

2.2.13. Sinteza benzotriazolida derivata cimetne kiseline **13d,e,g**. Opća metoda 63

2.2.14. Sinteza klorida derivata cimetne kiseline **14a-k**. Opća metoda 64

2.2.15. Sinteza amida primakina i derivata cimetne kiseline **15a-k**. Opća metoda 64

2.2.16. Sinteza 1-acilsemikarbazida primakina i derivata cimetne kiseline **16a-k**. Opća metoda 73

2.2.17. Sinteza *N*-(1-benzotriazolkarbonil)aminokiselina (*N*-Btc-aminokiselina) **17a-c**. Opća metoda 81

2.2.18. Sinteza klorida *N*-(1-benzotriazolkarbonil)aminokiselina **18a-c**. Opća metoda 82

2.2.19. Sinteza amida *N*-(1-benzotriazolkarbonil)aminokiselina **19a-g**. Opća metoda 82

2.2.20. Sinteza ureidoamida primakina **20a-g**. Opća metoda 86

2.3. BIOLOŠKA ISPITIVANJA 92

2.3.1. Ispitivanja citostatskog djelovanja i citotoksičnosti 92

2.3.2. Ispitivanja antioksidativnog djelovanja 94

3. REZULTATI I RASPRAVA 95

3.1. SINTEZE 96

3.1.1. Sinteza 1-(*N*-arilkarbamoil) benzotriazola, 1-(*N*-arilkarbohidrazoil)benzotriazola (amida i hidrazida 1-benzotriazolkarboksilne kiseline) **2a-d** i 1-(trifenilmetil)imidazoli-din-2-ona (**3**) 97

3.1.2. Sinteza 1,3-*bis*[(fenil)(4-klorfenil)metil]uree (**4b**) i karbamata **5** 102

3.1.3. Sinteza 4-arilsemikarbazida **6** i 1-(1-benzotriazolkarbonil)-4-arilsemikarbazida **7** 105

3.1.4. Sinteza semikarbazida primakina **9** i benzotriazolida semikarbazida primakina **10** 109

3.1.5. Sinteza derivata primakina s velikim arilnim ili hidroksialkilnim supstituentima **11a-l** i **12a-g** 112

3.1.5.1. *Sinteza bis-urea primakina (1-primakinkarbonil-4-supstituiranih semikarbazida) **11a-l*** 112

3.1.5.2. *Sinteza derivata primakina **12a-g*** 126

3.1.6. Sinteza konjugata primakina i derivata cimetne kiseline **15a-k** i **16a-k** 133

3.1.6.1. *Sinteza amida primakina i derivata cimetne kiseline **15a-k*** 134

3.1.6.2. *Sinteza 1-acilsemikarbazida primakina i derivata cimetne kiseline **16a-k*** 144

3.1.7. Sinteza aminokiselinskih derivata – ureidoamida primakina **20a-g**..... 153

3.2. BIOLOŠKA ISPITIVANJA..... 170

3.2.1. Ispitivanja citostatskog djelovanja..... 170

3.2.1.1. *Derivati primakina s velikim arilnim ili hidroksialkilnim supstituentima **11a-l** i **12a-g***..... 170

3.2.1.2. *Konjugati primakina i derivata cimetne kiseline **15a-k** i **16a-k***..... 178

3.2.1.3. *Ureidoamidi primakina **20a-g***..... 184

3.2.2. Ispitivanja antioksidativnog djelovanja..... 187

3.2.2.1. *Derivati primakina s velikim arilnim ili hidroksialkilnim supstituentima **11a-l** i **12a-g***..... 188

3.2.2.2. *Konjugati primakina i derivata cimetne kiseline **15a-k** i **16a-k***..... 191

3.2.2.3. *Ureidoamidi primakina **20a-g***..... 194

4. ZAKLJUČCI..... 196

5. LITERATURA..... 200

6. ŽIVOTOPIS..... 216

PRILOG A

PRILOG B

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/BASIC DOCUMENTATION CARD

KRATICE

AAPH	2,2'-azobis(2-amidinopropan) dihidroklorid
AhR	aril ugljikovodični receptor
AKR1C3	aldo-keto reduktaza 1C3
ALDH	aldehid dehidrogenaza
Boc	*tert*-butiloksikarbonil
Btc	1-benzotriazolkarbonil
BtcCl	klorid 1-benzotriazol karboksilne kiseline
BtH	benzotriazol (1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol)
t-Bu	*tert*-butil
Caco-2	humana stanična linija adenokarcinoma debelog crijeva
Capan-1	humana stanična linija adenokarcinoma gušterače
CDI	1,1'-karbonildiimidazol
CEM	humana stanična linija akutne limfoblastičke leukemije
CIS	cisplatin
COX-2	ciklooksigenaza-2
DCC	*N*,*N'*-dicikloheksilkarbodiimid
DCK	derivat cimetne kiseline (eng. *cinnamic acid derivative*, CAD)
DIC	*N*,*N'*-diizopropilkarbodiimid
DMEM	Dulbeccov modificirani Eagleov medij
DMF	*N*,*N*-dimetilformamid
DMSO	dimetilsulfoksid
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
EGFR	receptor za humani epidermalni faktor rasta
ESI	ionizacija elektroraspršenjem
FAL	fenilalanin amonij liaza
FBS	fetalni goveđi serum
Fmoc	9-fluorenilmetoksikarbonil
5-FU	5-fluorouracil
FDA	Agencija za hranu i lijekove (*Food and Drug Administration*)
G6PD	glukoza-6-fosfat dehidrogenaza
GC/MS	tehnika vezanog sustava plinske kromatografije i masene spektrometrije
H460	humana stanična linija karcinoma pluća ne-malih stanica

HCT 116	humana stanična linija karcinoma debelog crijeva
HDAC	histonska deacetilaza
HeLa	humana stanična linija karcinoma epitela cerviksa
HER2	receptor za humani epidermalni faktor rasta 2
HL-60	humana stanična linija akutne promijelocitne leukemije
HOBt	1-hidroksibenzotriazol
Hsp90	protein toplinskog šoka 90
HT-29	humana stanična linija adenokarcinoma debelog crijeva
IC_{50}	koncentracija spoja koja inhibira rast stanica za 50 %
INN	međunarodno nezaštićeno ime (eng. *International Nonproprietary Name*)
IR	infracrveno elektromagnetsko zračenje
K562	humana stanična linija kronične mijeloične leukemije
L1210	murinska stanična linija limfocitne leukemije
L6	stanična linija mioblasta štakora
5-LOX	arahidonat 5-lipooksigenaza
LOX	lipooksigenaza
LP	lipidna peroksidacija
MAO-A	monoaminooksidaza-A
MCF-7	humana stanična linija adenokarcinoma dojke
Mia Paca-2	humana stanična linija karcinoma gušterače
Molt-4/C8	humana stanična linija akutne T limfoblastičke leukemije
MS	masena spektrometrija
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijev bromid
NDGA	nordihidrogvajaretična kiselina
NF-κB	nuklearni faktor kapa B
NMR	nuklearna magnetska rezonancija
NSAIL	nesteroidni protuupalni lijek
PAH	policiklički aromatski ugljikovodik
PAP	2-fenilaminopirimidin
PARP	poli(ADP-ribozil)-polimeraza
Pd/C	paladij na ugljenu
PHEA	poli[α,β-(*N*-2-hidroksietil-DL-aspartamid]
PHPA	poli[α,β-(*N*-3-hidroksipropil-DL-aspartamid]
Pmc	2,2,5,7,8-pentametilkroman-6-sulfonil

PQ	primakin
Ra-Ni	Raney-nikal
RKV	reaktivne kisikove vrste
RPMI 1640	Roswell Park Memorial Institute medij
SOR	sorafenib
s.t.	sobna temperatura
SW 620	humana stanična linija adenokarcinoma debelog crijeva
SZO	Svjetska zdravstvena organizacija (*World Health Organization*)
TEA	trietilamin
TFA	trifluoroctena kiselina
TLC	tankoslojna kromatografija
TMS	tetrametilsilan
t_t	temperatura taljenja
U937	stanična linija humanog histiocitnog limfoma
Z	benziloksikarbonil

1. UVOD

1.1. OBRAZLOŽENJE TEME

Unatoč poboljšanju antitumorske terapije, karcinom i dalje predstavlja značajan globalni javnozdravstveni problem. Procjenjuje se da je samo tijekom 2015. godine od karcinoma umrlo 8,8 milijuna ljudi, što ga po učestalosti čini drugim uzročnikom smrtnosti u svijetu [1]. U Hrvatskoj je tijekom 2014. godine dijagnosticirano 21 434 novih slučajeva karcinoma, a iste godine od karcinoma je umrlo 13 939 osoba [2]. Moderna kemoterapija karcinoma značajno je napredovala, čime je produljen životni vijek oboljelih. Međutim, citostatici još uvijek nisu dovoljno selektivni ili su pretoksični, zbog čega uzrokuju ozbiljne nuspojave koje znatno narušavaju kvalitetu života bolesnika. Osim toga, sve veći problem predstavlja i rastuća pojava rezistencije tumorskih stanica na postojeće citostatike. Zbog svega navedenog, razvoj novih sigurnijih i učinkovitijih antitumorskih lijekova i dalje je iznimno aktualno područje.

Istraživanje i razvoj novog lijeka vrlo je skup (u prosjeku 2,6 milijardi dolara) i dugotrajan proces (10–15 godina). Samo oko 12 % lijekova koji uđu u klinička ispitivanja, u konačnici dospije na tržište. Tijekom 2015. godine u Sjedinjenim Američkim Državama odobreno je 56 novih lijekova, od toga 14 novih citostatika [3,4].

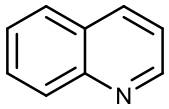
Sve češći pristup u istraživanju i razvoju novih lijekova predstavlja prenamjena postojećih lijekova za nove indikacije. Srodan pristup uključuje povećanje učinkovitosti i selektivnosti nekog lijeka malim modifikacijama njegove strukture [5,6]. Najveća prednost prenamjene postojećih lijekova je dostupnost podataka o farmakokinetičkim i toksikološkim studijama te njihova prisutnost na tržištu, čime se značajno racionaliziraju troškovi razvoja.

1.1.1. Antimalarici i njihovi derivati kao potencijalni citostatici

Brojne studije tijekom posljednja dva desetljeća opisuju antitumorsko djelovanje antimalarika i njihovih derivata, sinergističko djelovanje antimalarika s poznatim citostaticima ili smanjenje otpornosti tumorskih stanica na postojeću terapiju uslijed kombinacije s antimalarijskim lijekovima [6–16]. Naime, istraživanja pokazuju da antimalarijski lijekovi posjeduju sposobnost resenzitizacije tumorskih stanica rezistentnih na kemoterapiju inhibicijom mehanizama otpornosti tumorskih stanica (npr. inhibicija autofagije ili P-glikoproteina) [15]. Trenutno se osam antimalarika dokazanog antiproliferativnog djelovanja nalazi u više od 50 kliničkih studija kojima se evaluira njihova učinkovitost u terapiji

karcinoma. Najveći broj tih kliničkih studija usmjereno je na antitumorsko ili adjuvantno djelovanje polusintetskih derivata artemizinina te kinolinskih antimalarika – klorokina i hidroksiklorokina [17].

Sa stajališta farmaceutske kemije i u smislu potrage za novim lijekovima kinolin (benzopiridin, 1-azanaftalen) je vrlo zanimljiv heterociklički spoj pogodan za različite tipove derivatizacije (Slika 1). Na tržištu postoji velik broj kinolinskih derivata iz različitih farmakoterapijskih skupina: antimalarici (kinin, kinidin, klorokin, hidroksiklorokin, meflokin, amodiakin, primakin), antivirotici (sakvinavir, elvitegravir), antimikrobni lijekovi (fluorokinoloni, nitroksolin), anthelmintici (oksamnikvin), lokalni anestetici (dibukain), antiastmatici (montelukast), lijekovi za liječenje glaukoma (kartilol), kardiotonici (veznarinon), antipsihotici (aripiprazol, brekspiprazol) i citostatici (kamptotecin, irinotekan, topotekan te inhibitori protein-kinaza bosutinib, lenvatinib i kabozantinib), dok je u kliničkim studijama kao potencijalni citostatik inhibitor farneziltransferaze tipifarnib [18]. Široki spektar biološkog djelovanja posljedica je brojnih sintetskih mogućnosti koje pruža kinolinski prsten [19,20].

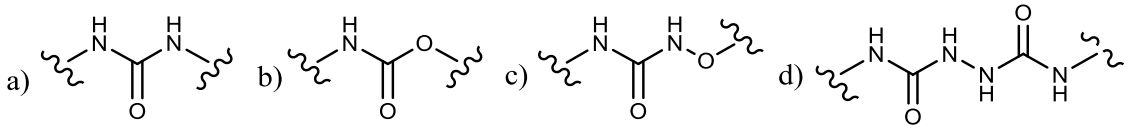


Slika 1. Strukturna formula kinolina.

Afzal i suradnici u preglednom radu navode i opisuju molekularne mehanizme kojima kinolinski derivati inhibiraju rast malignih stanica, uzrokujući zaustavljanje staničnog ciklusa, apoptozu, inhibiciju angiogeneze i ometanje migracije stanica. To je prvenstveno inhibicija različitih enzima (npr. topoizomeraze, protein-kinaza, telomeraze, karboanhidraze, aromataze, kinon-reduktaze 2, farneziltranferaze, histonske acetiltranferaze, histonske deacetilaze) te inhibicija proteasoma, proteina toplinskog šoka 90 (Hsp90), nuklearnog faktora kapa B (NF-κB) i onkogenog Ras proteina [18].

Tijekom posljednjih desetak godina istraživanja antitumorskih lijekova u Zavodu za farmaceutsku kemiju usmjerena su na derivatizaciju molekule primakina, antimalarijskog lijeka kinolinske strukture. Sam primakin ima umjereno citostatsko djelovanje [21], a variranjem supstituenata na bočnom lancu nastoji se poboljšati djelovanje i selektivnost novih derivata.

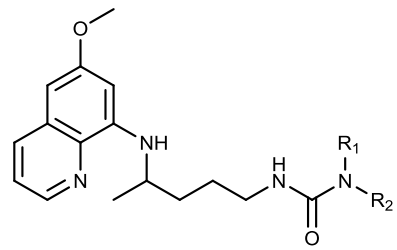
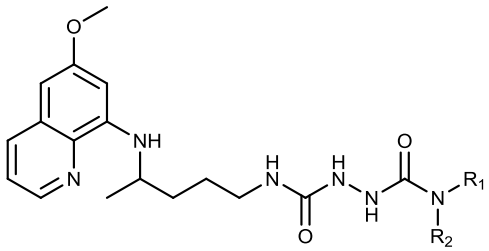
U više znanstvenih radova koje je publicirala istraživačka skupina Zavoda za farmaceutsku kemiju opisana je sinteza novih derivata primakina kao potencijalnih citostatika te im je ispitano antitumorsko [21–24], antivirusno [22,23], antioksidativno [21,23,24], antimalarijsko [25] i antituberkulozno djelovanje [24]. Neki od sintetiziranih urea i semikarbazidnih derivata primakina pokazali su snažno citostatsko djelovanje *in vitro* na većinu ispitanih malignih staničnih linija ili selektivno djelovanje na staničnu liniju adenokarcinoma dojke (MCF-7) ili debelog crijeva (SW 620) [21–23]. Najaktivniji derivati imali su jedan ili više aromatskih prstena vezanih za primakinski farmakofor preko poveznice bogate atomima dušika i kisika (urea, karbamat, *O*-supstituirana hidroksiurea, *bis*-urea) (Slika 2). Spojevi s ovim funkcionalnim skupinama vrlo su interesantni u razvoju lijekova jer mogu stvarati vodikove veze s aminokiselinama enzima ili receptora. Npr. poznato je da derivati arilurea, uz mnogobrojna biološka djelovanja, posjeduju i citostatsko djelovanje, te se koriste u terapiji karcinoma (sorafenib i regorafenib) [26]. S druge strane, i hidroksisemikarbazidi predstavljaju spojeve s potencijalnim citostatskim djelovanjem [27].



Slika 2. Poveznice bogate atomima dušika i kisika: a) urea, b) karbamat, c) *O*-supstituirana hidroksiurea, d) *bis*-urea.

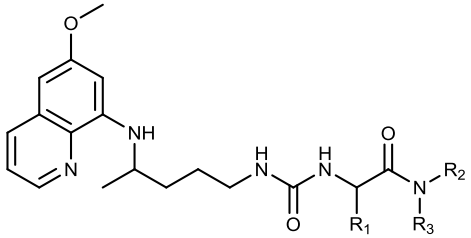
Fernandes i suradnici pokazali su da imidazokini, imidazolidin-4-onski derivati primakina, imaju djelovanje na staničnu liniju MCF-7, dok su na humanu staničnu liniju adenokarcinoma debelog crijeva (HT-29) gotovo inaktivni [28].

Uzimajući u obzir sve navedeno, u okviru ovog doktorskog rada sintetizirana je nova serija urea i *bis*-urea derivata primakina koji preko urea ili karbamoilsemikarbazidnog premoštenja na položaju 4 imaju vezan arilni (benzhidrilni, tritilni ili fenilni) ili hidroksialkilni supstituent (Slika 3) [29].

a)  b) 

Slika 3. a) Urea derivati primakina, b) *bis*-urea derivati primakina (1-primakinkarbonil-4-supstituirani semikarbazidi).

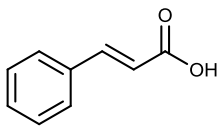
Kao nastavak istraživanja sintetizirana je i serija ureidoamida primakina (Slika 4). Kod ovih derivata urea i amidna funkcionalna skupina razdvojene su aminokiselinskom razmaknicom, na koju je primakin vezan preko uree, a arilni ostatak preko amida. Srodni spojevi sintetizirani su u Zavodu za farmaceutsku kemiju u sklopu ranijih istraživanja te im je ispitano biološko djelovanje [30–34].



Slika 4. Ureidoamidi primakina.

1.1.2. Cimetna kiselina i njeni derivati

Cimetna kiselina (Slika 5) i njeni derivati prirodni su spojevi široko rasprostranjeni u biljnom svijetu. Najzastupljeniji su u vrstama roda *Cinnamomum* iz porodice Lauraceae prema kojem je cimetna kiselina dobila naziv [35]. Najvažniji predstavnik roda je *Cinnamomum verum*, J. Presl.

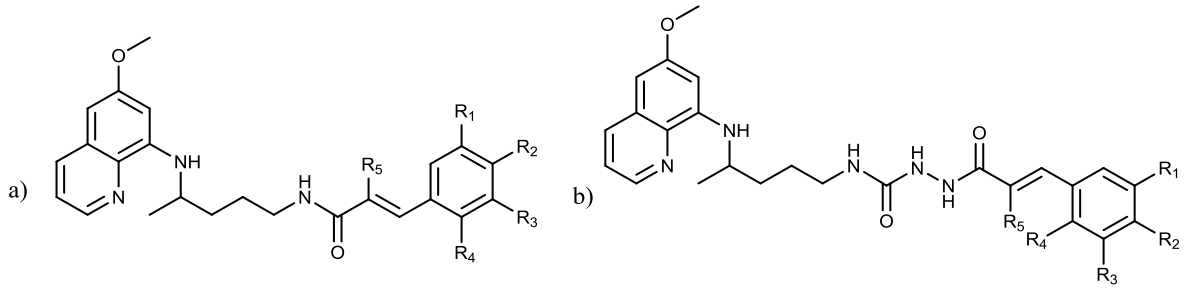


Slika 5. Cimetna kiselina.

Osim što su ključni intermedijeri u biosintetskim putovima kod biljaka [35], cimetna kiselina i njeni derivati (DCK, eng. *cinnamic acid derivative*, CAD) također posjeduju niz različitih farmakoloških djelovanja [36,37]. Velik broj publikacija govori o njihovom snažnom antibakterijskom, antimikotskom, antivirusnom [35,38–41], antituberkuloznom [42–46], antioksidativnom [38,47–49], protuupalnom [50], hepatoprotektivnom [51], hipolipemičkom [52,53], sedativnom [54], antidijabetičkom [55], antimalarijskom [56] i citostatskom djelovanju [49,57,58]. U literaturi je opisana sinteza i *in vitro* citostatsko djelovanje hibridnih molekula DCK i kinolinskog antimalarika klorokina [59] ili dihidroartemizinina [60], te antimalarijsko djelovanje *N*-cinamoiliranih konjugata primakina, tzv. primacina [61]. Konjugati DCK i aminoakridina ili 4-aminokinolina pripravljeni su kao potencijalni antimalarici dvojnog djelovanja, odnosno djelovanja na eritrocitnu i hepatocitnu fazu životnog ciklusa plazmodija [62–64].

Osim toga, strukturni motiv cimetne kiseline prisutan je u sljedećim odobrenim lijekovima: citostaticima (panobinostat, belinostat), antialergijskim lijekovima (cinarizin, cinaserin, tranilast) i antitrombotskom lijeku ozagrelu.

U drugom dijelu ovog doktorskog rada pripravljena je serija hibridnih molekula – amida i 1-acilsemikarbazida primakina koji imaju cimetnu kiselinu ili DCK vezanu na primakin direktno ili preko karbonilsemikarbazidnog mosta (Slika 6). Prilikom dizajniranja tih spojeva primijenjen je pristup molekularne hibridizacije koji se temelji na kombinaciji različitih farmakofornih jedinica (primakin i cimetna kiselina) [65].



Slika 6. Konjugati primakina i derivata cimetne kiseline: a) amidi i b) 1-acilsemikarbazidi.

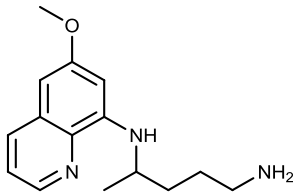
U okviru ovog doktorskog rada svim derivatima primakina ispitano je citostatsko i antioksidativno djelovanje *in vitro*.

1.2. LITERATURNI PREGLED

1.2.1. Primakin

1.2.1.1. Fizikalno-kemijska svojstva primakina

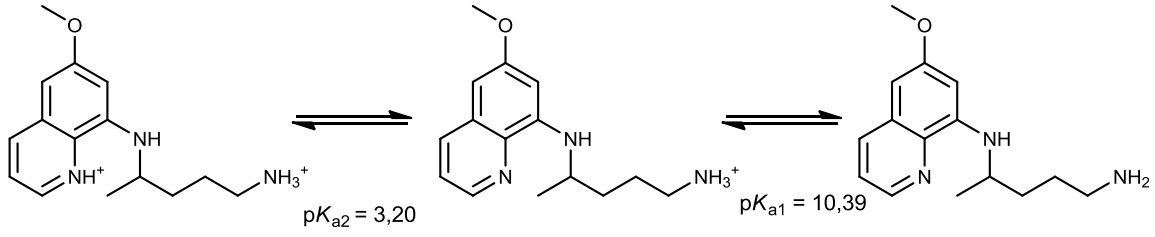
Primakin (PQ) je međunarodno nezaštićeno ime (eng. *International Nonproprietary Name*, INN) *N*-(6-metoksikinolin-8-il)pentan-1,4-diamina (Slika 7).



Slika 7. Primakin.

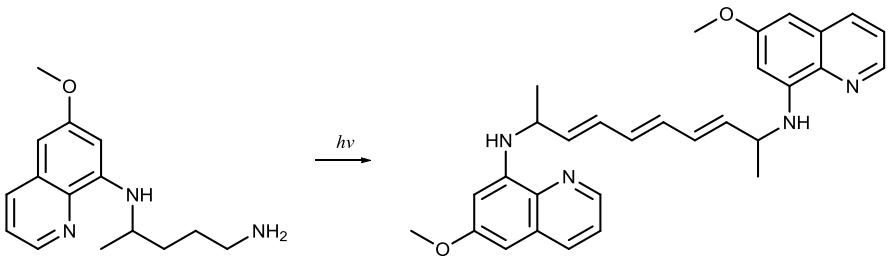
Molekulska formula primakina je $C_{15}H_{21}N_3O$, a relativna molekulska masa 259,35. Na sobnoj temperaturi primakin je viskozna tekućina vrelišta 175–179 °C [66]. Na tržištu je dostupan kao generički lijek različitih proizvođača, a dolazi u obliku soli s fosfornom kiselinom (primakin difosfat). Primakin difosfat kristalinična je praškasta tvar crveno-narančaste boje, molekulske formule $C_{15}H_{21}N_3O \times 2\ H_3PO_4$ i relativne molekulske mase 455,34. Topljivost u vodi iznosi 50 g L^{-1}, a temperatura taljenja 205–206 °C [67]. Iako primakin ima kiralni ugljikov atom, upotrebljava se kao racemat.

Primakin je dibazična tvar s pK_a vrijednostima 10,39 (primarni amin) i 3,20 (dušik u kinolinskom prstenu) (Shema 1). Teorijska pK_a vrijednost sekundarnog anilinskog dušika je između –1 i –2 te nije biološki značajna [68]. Pri fiziološkom pH primakin ima pozitivan nabojni broj +1 (terminalna amino skupina).



Shema 1. Disocijacijske konstante primakina.

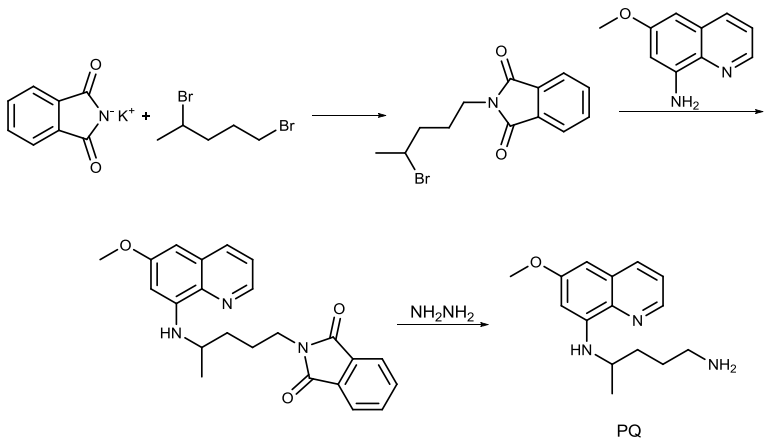
Svi kinolinski antimalarici, uključujući primakin, apsorbiraju UVA (320–400 nm) i UVB (290–320 nm) zračenje, fotolabilni su te se moraju zaštititi od svjetlosti. Oksidativnim fotoraspadom primakina nastaje vrlo velik broj produkata. Dimer primakina (Shema 2), identificiran metodom vezanog sustava plinske kromatografije i masene spektrometrije (GC/MS) te nuklearnom magnetskom rezonancijom (NMR), jedan je od glavnih produkata koji nastaje izlaganjem vodene otopine primakin difosfata (pH 7,4) izvoru svjetlosti valne duljine 320–600 nm [69,70].



Shema 2. Fotokemijska dimerizacija primakina.

1.2.1.2. Sinteza primakina

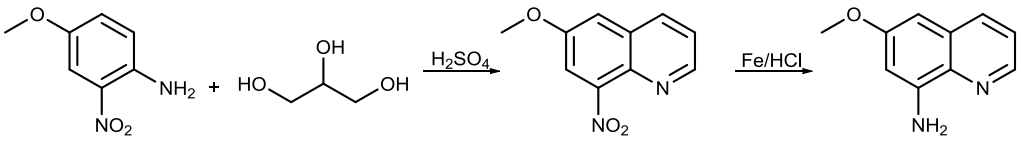
Elderfield i sur. su 1946. godine sintetizirali primakin u potrazi za sigurnijim i djelotvornijim antimalaricima, vođeni pamakinom kao spojem uzorom, od kojeg se primakin razlikuje samo u terminalnoj amino skupini. Zbog velikih potreba za lijekom, 1955. godine isti autori su opisali sintezu većih količina primakina (Shema 3) [71].



Shema 3. Sinteza primakina prema Elderfieldu i sur. [71].

U prvom reakcijskom koraku refluksiranjem 1,4-dibrompentana i kalijevog ftalimida u acetonu nastaje 4-brom-1-ftalimidopentan koji kondenzacijom sa 6-metoksi-8-aminokinolinom daje ftalimidni derivat primakina. Ftalimidna zaštita s primarne amino skupine primakina uklanja se pomoću hidrazina [71].

Sinteza primakina opisana je i u patentima iz 1965. i 1969. godine [72–74]. Posljednja tri reakcijska koraka identična su prethodno opisanoj sintezi [71], ali patenti dodatno opisuju sintezu 6-metoksi-8-aminokinolinskog prstena. U Skraupovoj reakciji iz 4-metoksi-2-nitroanilina i glicerola u prisutnosti sumporne kiseline nastaje 6-metoksi-8-nitrokinolin. Nitro skupina reducirana je u amino skupinu prema Shemi 4.



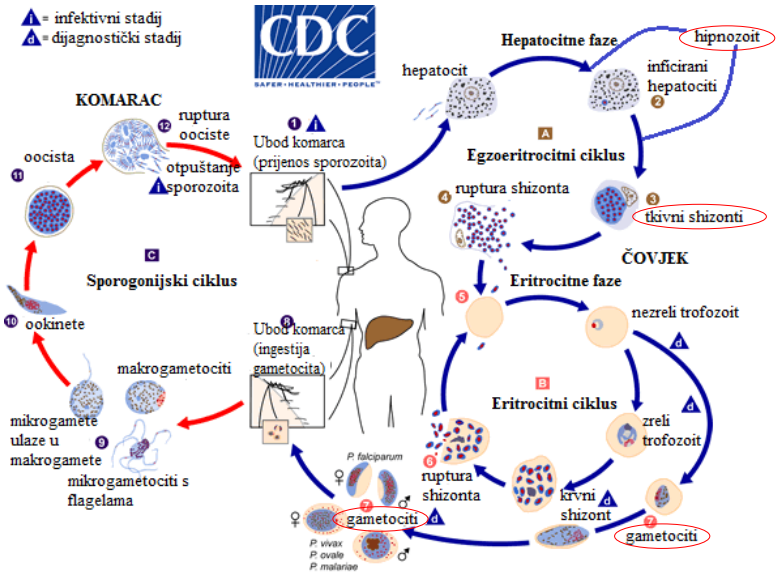
Shema 4. Sinteza 6-metoksi-8-aminokinolina [74].

1.2.1.3. Biološko djelovanje primakina

Primakin, sintetski antimalarijski lijek iz skupine 8-aminokinolina, u upotrebi je više od 60 godina [75]. Američka Agencija za hranu i lijekove (*Food and Drug Administration*, FDA) 1952. godine dala je odobrenje za stavljanje primakina u promet. Nalazi se na Listi esencijalnih lijekova Svjetske zdravstvene organizacije (SZO) [76].

Primakin djeluje na tkivne shizonte svih vrsta plazmodija koji uzrokuju malariju kod čovjeka, a ujedno je jedini poznati antimalarik na tržištu koji djeluje i na latentne oblike u jetri (hipnozoite), karakteristične za vrste *Plasmodium vivax* i *P. ovale*. Zbog ovih svojstava primakin se primjenjuje za radikalno liječenje akutnih infekcija uzrokovanih *P. vivax* i *P. ovale*. Međutim, kako vrlo slabo djeluje na aseksulane eritrocitne oblike plazmodija, primakin se mora primjenjivati u kombinaciji s krvnim shizontocidima poput klorokina i artemizinina. Uspješnost liječenja primakinom ovisi o ukupnoj dozi. Doza od 15 mg (0,25 mg/kg) dnevno tijekom 14 dana dovoljna je za liječenje malarije uzrokovane sojevima umjerenih područja. Međutim, zbog pojave rezistencije *P. vivax* na primakin, SZO je nedavno izdala nove smjernice za liječenje malarije u endemskim područjima prema kojima preporučuje dvostruku dozu 30 mg, odnosno 0,5 mg/kg dnevno tijekom 14 dana. Osim za

radikalno liječenje infekcija uzrokovanih *P. vivax i P. ovale*, primakin se primjenjuje i za sprječavanje relapsa jer uništava latentne oblike plazmodija u jetri protiv kojih klasična kemoprofilaksa klorokinom i drugim krvnim shizontocidima nije djelotvorna. Kako je primakin vrlo učinkovit protiv primarnih egzoeritrocitnih oblika svih vrsta plazmodija, odnosno uništava uzročnika u jetri prije nego dospije u krvotok, može se primjenjivati i za primarnu (pravu ili kauzalnu) profilaksu svih vrsta malarije u dozi od 30 mg dnevno (0,5 mg/kg) jedan dan prije odlaska u rizična područja do sedam dana nakon povratka [75]. Nadalje, primakin je vrlo učinkovit protiv gametocita svih vrsta plazmodija, uzročnika malarije kod čovjeka te se iz tog razloga koristi za sprječavanje širenja infekcije, odnosno prijenos uzročnika s čovjeka na komarca u jednokratnoj dozi od 0,5 do 0,75 mg primakina po kg tjelesne mase (30–45 mg dnevno) ili, prema novim SZO smjernicama, u nižoj dozi od 0,25 mg/kg (15 mg dnevno) jednokratno u kombinaciji s artemizininom bez testiranja aktivnosti glukoza-6-fosfat dehidrogenaze (G6PD). Važno je naglasiti da je primakin jedini antimalarik koji djeluje na gametocite vrste *P. falciparum* i ujedno jedini na kojeg su gametociti kasnijih faza osjetljiviji od nezrelih gametocita [77]. Na Slici 8 prikazan je životni ciklus plazmodija te su zaokruženi stadiji plazmodija osjetljivi na primakin. Iako se prvenstveno koristi kao antimalarijski lijek, primakin se prepisuje u kombinaciji s klindamicinom za liječenje pneumocistične pneumonije koju uzrokuje *Pneumocistis carinii* kod pacijenata zaraženih HIV-om [75].



Slika 8. Životni ciklus plazmodija. Stadiji plazmodija osjetljivi na primakin označeni su crvenom bojom (prilagođeno prema ref. 78).

Kao što je već rečeno, primakin se primjenjuje kao racemična smjesa (+)-(*S*)- i (–)-(*R*)-enantiomera iako su neke studije pokazale da enantiomeri primakina imaju različitu aktivnost, toksičnost i farmakokinetički profil [79–81]. (+)-(*S*)-Primakin pokazao je bolju kauzalnu profilaktičku aktivnost i bio je bolji krvni shizontocid na mišjem modelu *P. berghei* malarije, ali je imao i veću hematotoksičnost [79]. S druge strane, kod rhesus majmuna oba enantiomera imala su podjednaku učinkovitost protiv *P. cynomolgi* [82]. Međutim, prvim kliničkim pokusom otkrivene su razlike u biotransformaciji (+)-(*S*)- i (–)-(*R*)-enantiomera primakina kod ljudi [80]. Smatra se da su upravo navedene razlike u metabolizmu (+)-(*S*)- i (–)-(*R*)-enantiomera primakina uzrokom različitog farmakodinamičkog i farmakokinetičkog profila (poglavlje 1.2.1.5), ali su potrebne dodatne studije koje bi to potvrdile [81].

Točan mehanizam antimalarijskog djelovanja primakina još uvijek nije razjašnjen, ali se pretpostavlja da djeluje na metaboličke reakcije u mitohondriju parazita interferirajući s funkcijom ubikinona, prenositelja elektrona u respiratornom lancu. Drugi mogući mehanizam djelovanja je posljedica stvaranja visokoreaktivnih metabolita koji uzrokuju oksidativni stres. Osim za antimalarijsko djelovanje, smatra se da je biotransformacija primakina ujedno odgovorna za njegovu toksičnost (poglavlje 1.2.1.5). Neke studije pokazale su da primakin djeluje i na proliferaciju mitohondrija što dovodi do inhibicije rasta onih stadija parazita koji zahtijevaju funkcionalne mitohondrije [77].

Najnovije istraživanje mehanizma djelovanja primakina provedeno na modelu kvasca *Saccharomyces cerevisiae* otkrilo je da primakin oštećuje Fe-S klastere akonitaze, enzima uključenog u ciklus limunske kiseline i na taj način interferira s aerobnim disanjem [83]. Međutim, osjetljivost mitohondrijskih enzima parazita na primakin treba potvrditi dodatnim eksperimentima na samom plazmodiju. S druge strane, neka istraživanja pokazuju da su membranski lipidi potencijalna meta djelovanja primakina. Zbog pozitivnog naboja pri fiziološkom pH, primakin stupa u interakcije s negativno nabijenim glavama fosfolipida i dolazi do interkalacije primakina između fosfolipida stanične membrane. Direktna posljedica te interkalacije je povećana fluidnost stanične membrane, što potencijalno može utjecati na funkciju membranskih proteina [84]. Kimura i suradnici opisali su inhibiciju enzima piridoksal-kinaze primakinom i klorokinom. Piridoksal-5'-fosfat esencijalan je koenzim plazmodija, a kako ne može ući u stanicu, sintetizira se iz prekursora uz enzim piridoksal-kinazu. Zbog toga piridoksal-kinaza ima ključnu ulogu u proizvodnji vitamina B_6 u stanici plazmodija, a specifični inhibitori piridoksal-kinaze parazita smatraju se novim potencijalnim antiparaziticima [85].

1.2.1.4. Nuspojave primakina

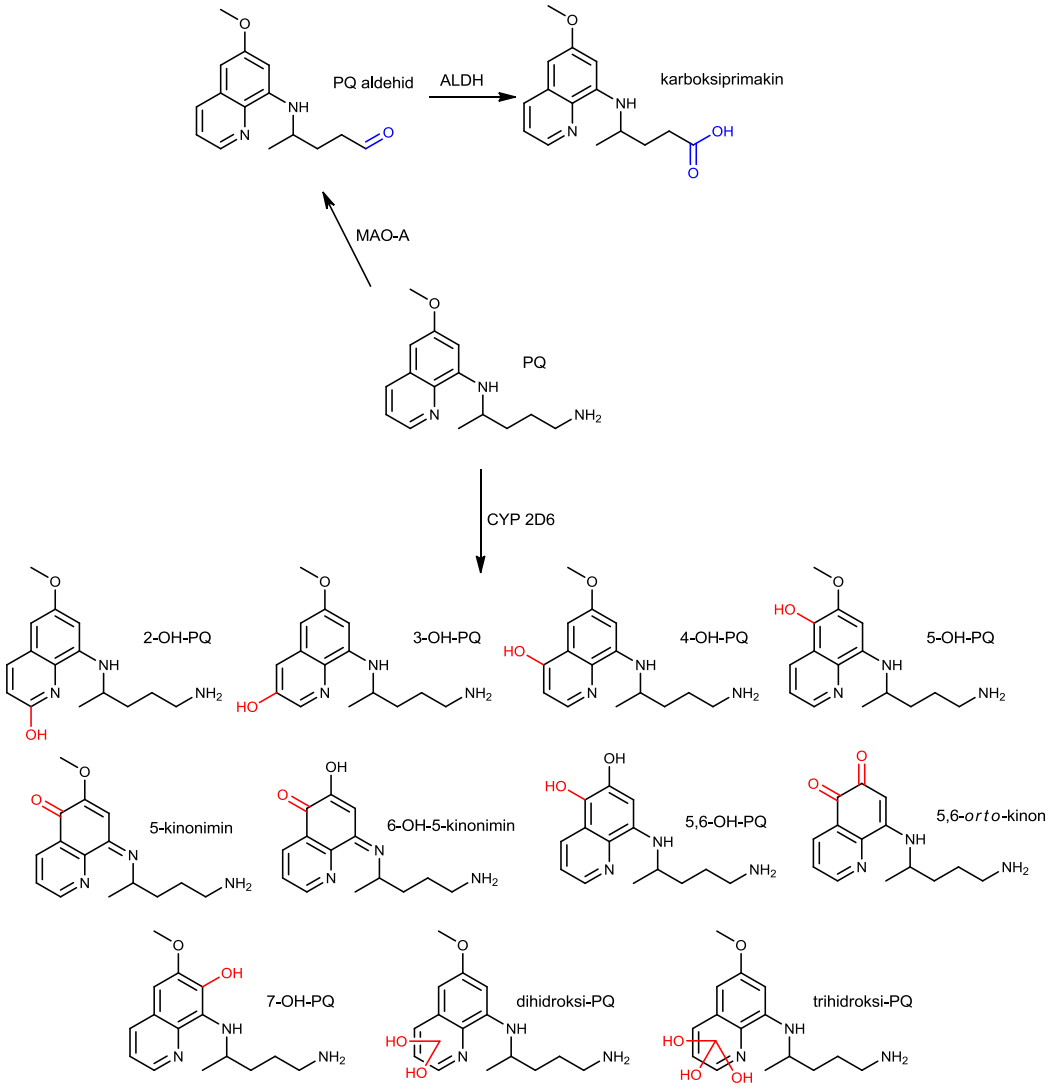
Primakin se u terapijskoj dozi dobro podnosi te je siguran za primjenu kod osoba s normalnom aktivnošću G6PD. Rijetke nuspojave koje se javljaju pri višim dozama lijeka te nakon primjene na prazan želudac uključuju mučninu, abdominalne bolove, dijareju i glavobolju. Ozbiljnije, ali vrlo rijetke nuspojave primakina su leukopenija, agranulocitoza, leukocitoza i srčane aritmije [86]. Kod osoba s nedostatkom G6PD primakin izaziva hemolitičku anemiju. Nedostatak G6PD nasljedni je recesivni X-vezani enzimski poremećaj koji zahvaća preko 400 milijuna ljudi u svijetu, a posebno je čest u endemskim malaričnim područjima. Međutim, jačina hemolize ovisna je o dozi, trajanju terapije te stupnju deficijencije G6PD. Procjenjuje se da je rizik od smrtonosne hemolize kod heterozigota, odnosno osoba sa slabim do umjerenim nedostatkom G6PD, vrlo nizak ako se primakin primijeni jednokratno [75]. Enzim G6PD uključen je u put pentoza-fosfata u kojem katalizira oksidaciju glukoza-6-fosfata u 6-fosfoglukono-δ-lakton pri čemu se generira NADPH. U normalnim stanicama prilikom oksidativnog stresa G6PD generira NADPH koji je nužan za redukciju glutationa glutation reduktazom. Nedostatak G6PD onemogućava redukciju glutationa čime su stanice izložene oksidativnom oštećenju. U eritrocitima osoba s nedostatkom G6PD najjače je izražen oksidativni stres jer eritrociti nemaju mitohondrije kao alternativni izvor NADPH [75]. Zbog toga se preporučuje testiranje aktivnosti G6PD prije uvođenja primakina u terapiju. Također, ne savjetuje se primjena primakina u trudnoći jer je fetus relativno G6PD-deficijentan i zbog toga pod rizikom od hemolize [86].

Primakin vrlo rijetko uzrokuje i methemoglobinemiju, a vjerojatnost raste u slučaju urođenog nedostatka enzima NADH methemoglobin-reduktaze. Autooksidacija Fe(II) hemoglobina u Fe(III) methemoglobin u normalnim uvjetima odvija se vrlo sporo. Međutim, u stanjima povećanog oksidativnog stresa, infekcijama, kod nedostatka enzima NADH methemoglobin-reduktaze te pod utjecajem različitih ksenobiotika, željezo se u hemoglobinu oksidira pri čemu raste koncentracija methemoglobina u krvi. To je potencijalno po život opasno stanje jer oksidirani oblik željeza ne može vezati kisik pa se smanjuje opskrba tkiva kisikom. Međutim, učestalost nedostatka NADH methemoglobin-reduktaze u populaciji veoma je mala [77].

1.2.1.5. Farmakokinetika i metabolizam primakina

Primakin se vrlo brzo apsorbira iz gastrointestinalnog trakta i postiže vršnu koncentraciju u plazmi nakon 1–2 h. Poluvrijeme života primakina u plazmi je 3–8 h, a 24 h nakon peroralne primjene koncentracija u plazmi je zanemariva. Ima velik volumen distribucije, ali se ne skladišti u tkivima, već se vrlo brzo metabolizira i izlučuje urinom [86]. Samo 1–4 % primijenjene doze primakina izlučuje se nepromijenjeno urinom.

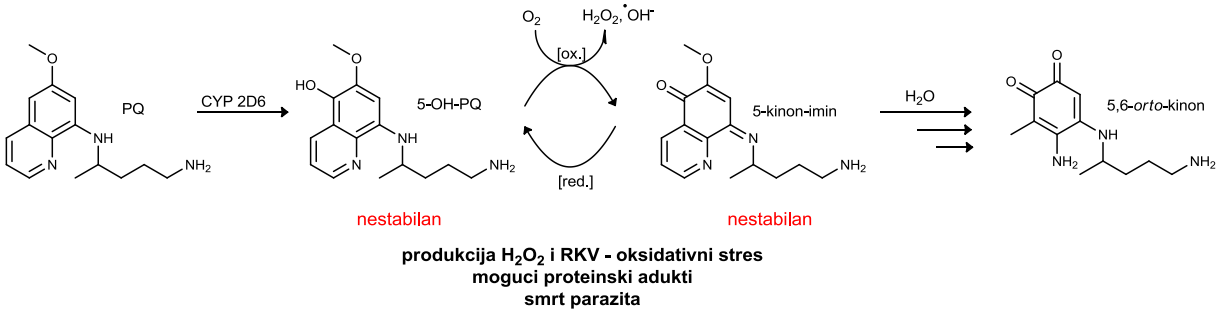
Iako je metabolizam primakina istraživan desetljećima, najznačajnija otkrića u području njegovog metabolizma dogodila su se u zadnjih pet godina. Pybus i suradnici su 2012. godine otkrili da postoje dva glavna metabolička puta primakina: djelovanjem monoaminooksidaze-A (MAO-A) i enzima CYP 2D6 [87]. Glavni metabolit primakina u ljudskoj plazmi je karboksiprimakin, inaktivni metabolit koji se može detektirati u plazmi već 30 min nakon primjene lijeka [75]. Metabolički put uz MAO-A najvjerojatnije je odgovoran za oksidativnu deaminaciju bočnog lanca primakina u primakin aldehid, prekursor karboksiprimakina (Shema 5). Karboksiprimakin podliježe daljnjim reakcijama konjugacije s glukuronskom kiselinom te nastaje krajnji produkt acil glukuronid [87]. Osim što je inaktivan, karboksiprimakin je i manje toksičan u odnosu na primakin. Reakcija biotransformacije primakina u karboksiprimakin je stereoselektivna. Studije na miševima i ljudima pokazale su da karboksiprimakin najvećim dijelom potječe od (–)-(*R*)-primakina, što djelomično objašnjava manju toksičnost tog enantiomera [81].



Shema 5. Biotransformacija primakina preko MAO-A i CYP 2D6 (prilagođeno prema ref. 88).

Aromatska hidroksilacija primakina u najvećoj mjeri je katalizirana enzimom CYP 2D6 (Shema 5). Dugo vremena se smatralo da fenolni metaboliti primakina, pogotovo 5-hidroksiprimakin, imaju ulogu u hemolitičkoj toksičnosti primakina [77]. Međutim, tek nedavno je otkriveno da su hidroksilirani metaboliti najvjerojatnije odgovorni i za antimalarijsko djelovanje primakina [88]. Pybus i suradnici dokazali su ovisnost antimalarijskog djelovanja primakina o metabolizmu posredovanom enzimom CYP 2D [89]. Hidroksilacija primakina posredovana enzimom CYP 2D6 generira nestabilne metabolite koji ulaze u redoks ciklus. Među njima je najistraživaniji 5-hidroksiprimakin. U njegovom redoks ciklusu izmjenjuju se reducirani hidroksi oblik i oksidirani 5-kinonimin, pri čemu se generiraju vodikov peroksid i reaktivne kisikove vrste (RKV) koji uzrokuju oksidativni stres

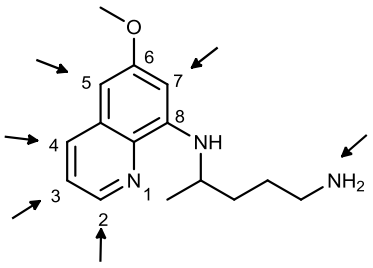
(Shema 6). 5-Hidroksiprimakin i odgovarajući kinonimin vrlo su nestabilni metaboliti te brzo reagiraju s vodom dajući stabilne 5,6-*orto*-kinone [88]. Stereoselektivnost također ima ulogu u aromatskoj hidroksilaciji primakina. Za razliku od oksidativne deaminacije koja se brže odvija na (–)-(*R*)-enantiomeru, aromatska hidroksilacija preko CYP 2D6 oko dva puta je brža kod (+)-(*S*)- nego kod (–)-(*R*)-primakina što može objasniti i jaču hemolitičku toksičnost (+)-(*S*)-enantiomera na modelu glodavaca [81].



Shema 6. Predloženi mehanizam metaboličke aktivacije primakina i antimalarijskog djelovanja na egzoeritrocitne oblike plazmodija (prilagođeno prema ref. 88).

1.2.1.6. Derivati primakina i njihovo djelovanje

Derivate primakina možemo podijeliti u dvije osnovne skupine: derivate sa supstituentima na kinolinskom prstenu i derivate koji su nastali modifikacijom primarne amino skupine bočnog lanca primakina [77]. Neki od njih pokazali su veću djelotvornost i/ili manju toksičnost, veću selektivnost prema pojedinim vrstama roda *Plasmodium* ili povećanu aktivnost na shizonte. Na Slici 9 označeni su položaji na kojima su vršene modifikacije strukture primakina.



Slika 9. Modifikacije strukture primakina.

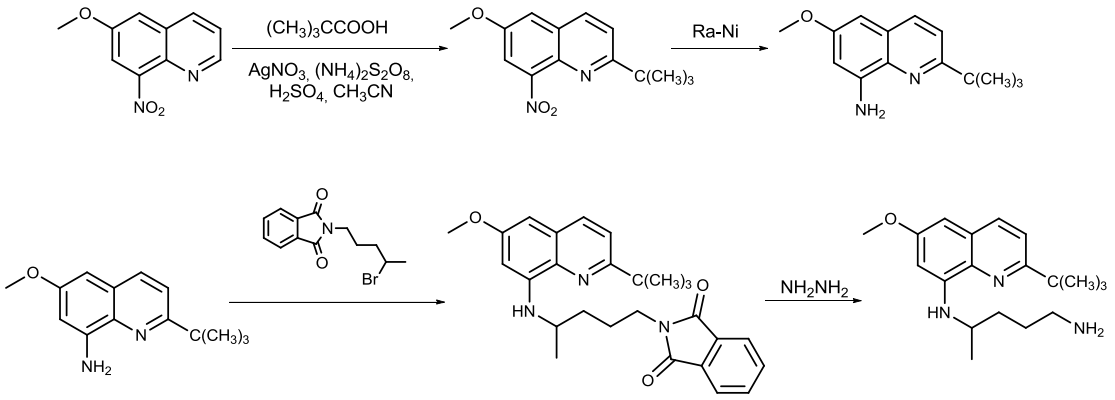
Modifikacije kinolinskog prstena

Jedna od strategija povećanja učinkovitosti i smanjenja toksičnosti primakina je uvođenje supstituenata na slobodne položaje kinolinskog prstena (2, 3, 4, 5 i 7). Sintetizirano je preko 200 derivata primakina koji imaju jedan ili više supstituenata na navedenim pozicijama. Istraživanja su pokazala kako su za poboljšanje antimalarijskog djelovanja najpogodnija mjesta supstitucije kinolinskog prstena položaji 2 i 4 (primjerice metil ili etil u položajima 2 i 4, *tert*-butilna skupina u položaju 2). Osim toga, aktivni derivati primakina dobiveni su supstitucijom u položaju 5 (pentoksi/alkoksi skupina/fluor) te supstitucijom fenoksi skupine u položajima 3 i 4 kinolinskog prstena. Mnogi od tih derivata imali su gametocidnu i shizontocidnu aktivnost usporedivu s primakinom ili čak veću [77].

Uvođenjem etilne skupine na položaj 2 te metilne na položaj 4 kinolinskog prstena dobiveni su derivati podjednake aktivnosti na *P. cynomolgi* kao primakin [90]. Drugi alkilni supstituenti na poziciji 4 rezultirali su gubitkom aktivnosti, ali su bili nešto manje toksični [91,92]. Ariloksi supstituenti na položaju 5 4-metilprimakina ne samo da su bili učinkovitiji u radikalnom kurativnom djelovanju od samog primakina, već su imali i vrlo jaku supresivnu aktivnost [93]. Zamjena ariloksi skupine alkoksi skupinom na položaju 5 4-metilprimakina znatno je povećala aktivnost pri nižim dozama. Derivati s dugolančanim alkoksi supstituentima (9–12 atoma ugljika) na položaju 5 nisu bili toksični niti u jednoj ispitanoj dozi (2,5–640 mg/kg), dok su ostali derivati bili toksični samo pri višim dozama. Povećanje toksičnosti nije bilo praćeno značajnijim povećanjem aktivnosti [94]. Monosupstituirani derivati s fenoksi skupinom na položaju 5 bili su relativno aktivni, a neki i manje toksični od primakina. Uvođenjem metilne skupine na poziciju 3 ili 4 nekih 5-fenoksiprimakina značajno se povećala shizontocidna aktivnost [95].

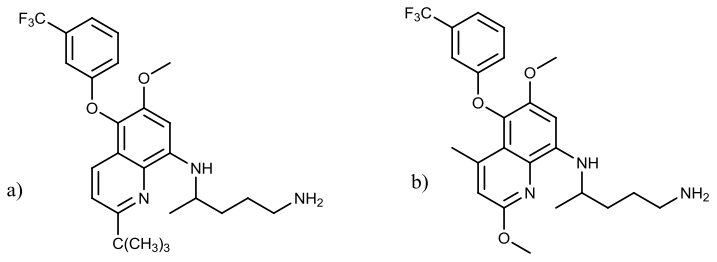
Kako bi se izbjegao neželjeni metabolički put koji vodi do toksičnih metabolita, pripremljen je 2-*tert*-butilprimakin (Shema 7) kod kojeg je pozicija 2 kinolinskog prstena zaštićena velikom i metabolički stabilnom *tert*-butilnom skupinom. Ovaj derivat primakina pokazao je izvrsnu *in vivo* krvnu shizontocidnu aktivnost na *P. berghei*, multirezistentnu vrstu *P. yoelii nigeriensis* te *in vitro* aktivnost na eritrocitnu fazu *P. falciparum*. K tome, 2-*tert*-butilprimakin je prvi 8-aminokinolinski krvni shizontocid koji uopće ne izaziva methemoglobinemiju. Sintezu i antimalarijsko djelovanje opisali su Jain i suradnici 2004. godine [96]. Početni korak u sintezi bila je direktna alkilacija 6-metoksi-8-nitrokinolina. Alkilirajući agens nastao je u srebrom kataliziranoj reakciji radikalne oksidativne

dekarboksilacije 2,2-dimetilpropanske kiseline amonijevim persulfatom u acetonitrilu i 10 % sumpornoj kiselini (Shema 7). 2-*Tert*-butilprimakin dobiven je iz 2-*tert*-butil-6-metoksi-8-nitrokinolina reakcijama analognim sintezi primakina (poglavlje 1.2.1.2., Sheme 3 i 4).



Shema 7. Sinteza 2-*tert*-butilprimakina [96].

U daljnjim istraživanjima Jain i suradnici sintetizirali su derivate 2-*tert*-butilprimakina među kojima je najaktivniji bio 5-(3-trifluormetil)fenoksi derivat (Slika 10a) [97]. U molekuli tafenokina, 8-aminokinolina koji se nalazi u zadnjim fazama kliničkih ispitivanja kao potencijalna zamjena za primakin, objedinjena su prethodno navedena strukturna svojstva: ima 3-trifluormetilfenoksi skupinu na položaju 5 kinolinskog prstena, zaštićenu poziciju 2 metoksi susptituentom i metilnu skupinu na položaju 4 (Slika 10b) [98].



Slika 10. a) 5-(3-Trifluormetil)fenoksi derivat 2-*tert*-butilprimakina i b) tafenokin.

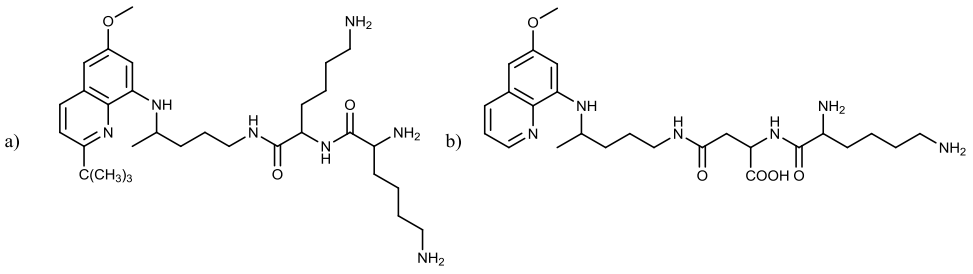
Na temelju rezultata dosadašnjih ispitivanja može se zaključiti da uvođenje odgovarajućih supstituenata na poziciju 2 kinolinskog prstena malo poboljšava aktivnost i smanjuje toksičnost, dok uvođenje fenoksi supstituenta na položaj 5 znatno smanjuje toksičnost pri čemu je antimalarijska aktivnost zadržana ili povećana [77].

Modifikacije primarne amino skupine

Modifikacijama terminalne, primarne amino skupine primakina onemogućena je oksidativna deaminacija i nastanak inaktivnog karboksiprimakina, čime je produljeno poluvrijeme života lijeka u plazmi, što u konačnici može doprinijeti boljem antimalarijskom djelovanju primakina [77].

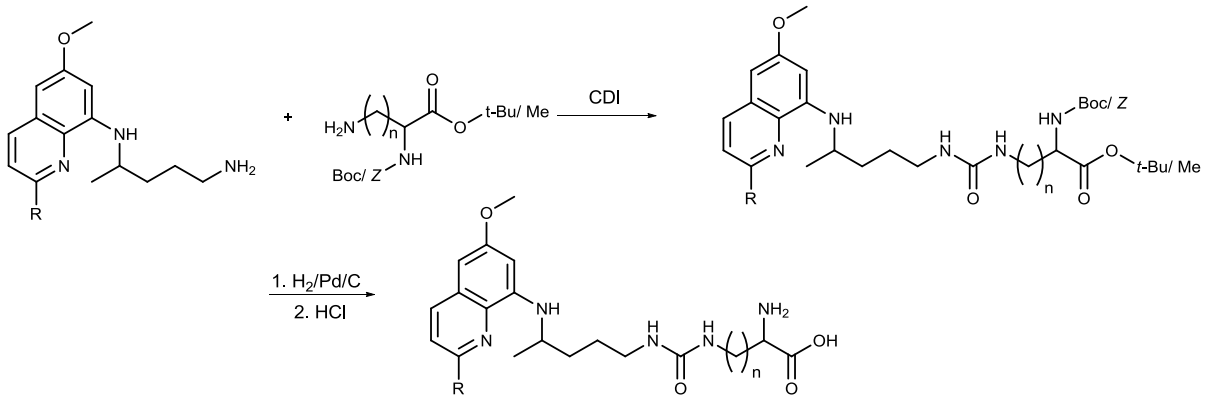
Jedna od primijenjenih metoda je *N*-acilacija primarne amino skupine primakina aminokiselinama ili oligopeptidima čime je također poboljšan transport primakina u inficirane eritrocite [99]. Jedan od mnogobrojnih aminokiselinskih derivata primakina – *N*-cisteinilprimakin, povezan disulfidnim mostom na proteinski nosač imao je izraženije kauzalno profilaktičko djelovanje od samog primakina. Pripremljeni su i oligopeptidni derivati primakina, poput PQ-L-Lys-L-Leu-D-Val, PQ-L-Lys-L-Leu-D-Ala ili PQ-L-Lys-L-Leu-L-Val te im je ispitano antimalarijsko djelovanje *in vivo*. D-Valinski derivat bio je manje toksičan od svog L-stereoizomera i primakina te učinkovitiji u sprječavanju relapsa od L-stereoizomera, dok je učinkovitost D-alaninskog derivata u sprječavanju relapsa bila slična onoj L-valinskog derivata [77].

Kaur i suradnici 2012. godine opisali su sintezu tri serije konjugata primakina s aminokiselinama, dipeptidima ili pseudopeptidima (Sheme 8–10) [100]. Korištene su bazične aminokiseline lizin, arginin i ornitin jer je ranije ustanovljeno da one povećavaju antimalarijsku aktivnost 8-aminokinolina. Najizraženije *in vitro* antimalarijsko djelovanje na *P. falciparum* D6 (soj osjetljiv na klorokin) te *P. falciparum* W2 (soj rezistentan na klorokin) pokazali su konjugat 2-*tert*-butilprimakina i L-lizina te pseudopeptidni derivat u kojem je primakin povezan s asparaginskom kiselinom preko β-karboksilne skupine bočnog lanca, a α-amino skupina arginina supstituirana je lizinom (Slika 11).



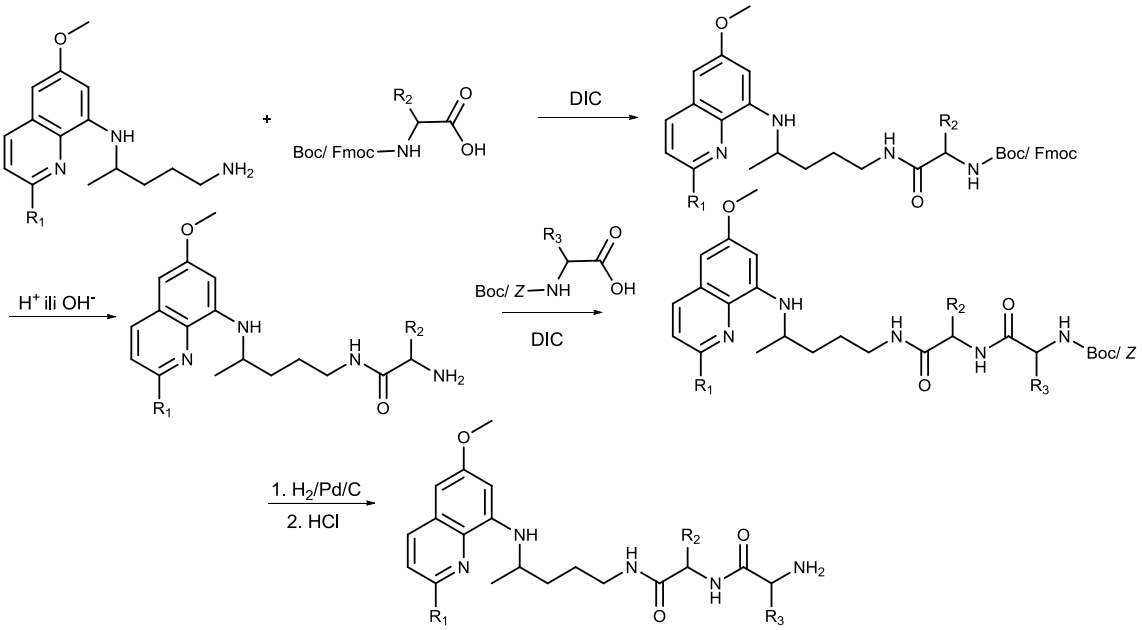
Slika 11. Strukture najaktivnijih aminokiselinskih derivata primakina: a) dipeptida i b) pseudopeptida [100].

Aminokiselinski konjugati 8-aminokinolina sintetizirani su iz odgovarajućeg primakinskog derivata i prikladno zaštićene aminokiseline uz 1,1'-karbonildiimidazol (CDI) kao *coupling* reagens prema Shemi 8. Deprotekcija funkcionalnih skupina aminokiselina ovisila je o vrsti zaštitne skupine: u slučaju kombinacije benziloksikarbonilne zaštite (*Z*) i metilnog estera, *Z* zaštitna skupina uklonjena je katalitičkim hidrogeniranjem, a metilni ester je u drugom koraku hidroliziran u kiselom mediju, dok je u slučaju kombinacije *tert*-butiloksikarbonilne zaštitne skupine (Boc) i *tert*-butilnog (*t*-Bu) estera zaštita uklonjena u jednom koraku hidrolizom u kiselom mediju [100].



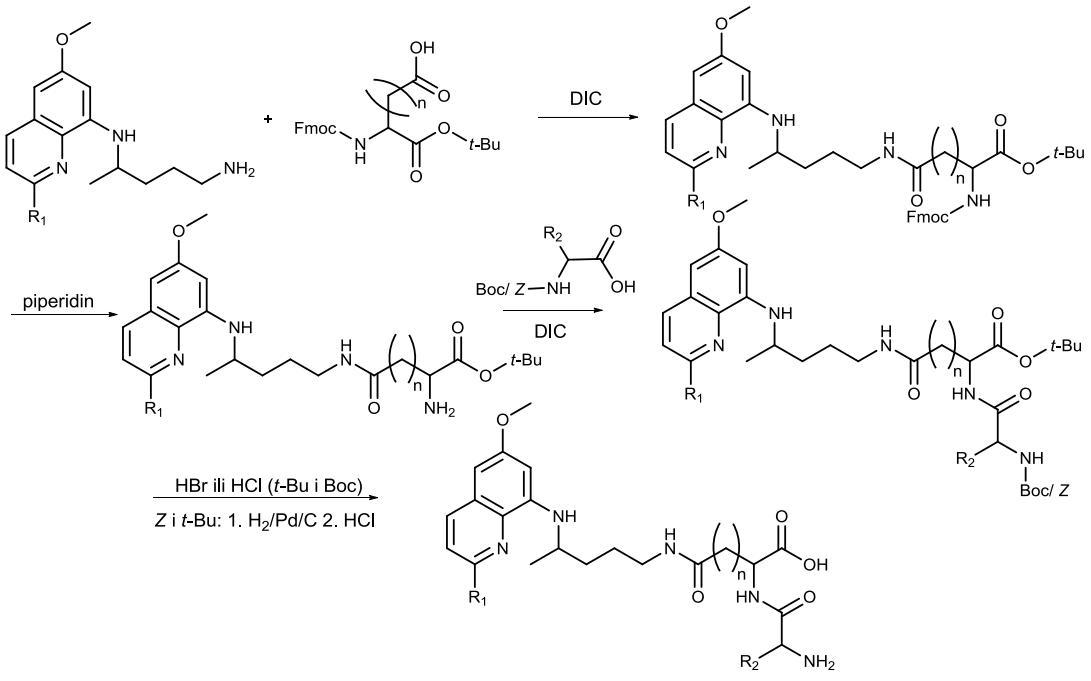
Shema 8. Sinteza konjugata primakina i aminokiselina [100].

Na Shemi 9 prikazana je sinteza konjugata primakina i oligopeptida uz *N*,*N*'-diizopropilkarbodiimid (DIC) kao *coupling* reagens. α-Amino skupina aminokiseline bila je zaštićena Boc ili 9-fluorenilmetoksikarbonilnom (Fmoc) zaštitnom skupinom, a amino skupina u postraničnom lancu sa *Z*, Boc ili 2,2,5,7,8-pentametilkroman-6-sulfonilnom (Pmc) zaštitnom skupinom. Deprotekcije amino skupina izvršene su prema prethodno opisanom postupku, osim Fmoc zaštitne skupine koja je uklonjena pri bazičnim uvjetima [100].



Shema 9. Sinteza konjugata primakina i dipeptida [100].

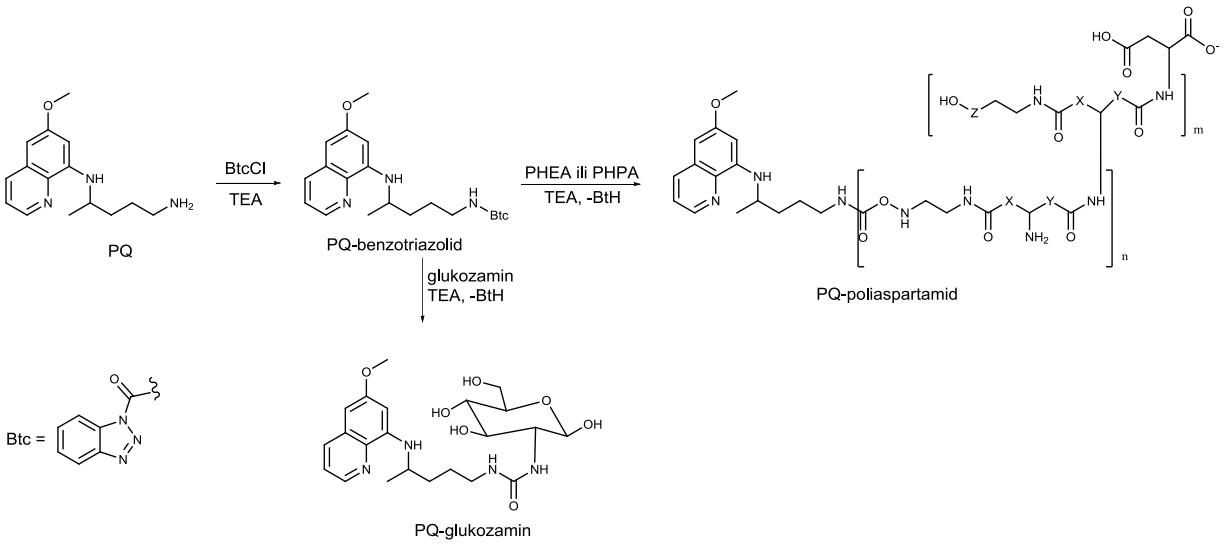
Pseudopeptidni konjugati primakina sintetizirani su prema Shemi 10 analogno prethodno opisanim sintezama uz DIC kao *coupling* reagens. Ta sinteza se razlikovala od prethodnih po tome što je primakin povezan s bazičnom aminokiselinom preko mosta kisele aminokiseline (Asp ili Glu) [100].



Shema 10. Sinteza konjugata primakina i pseudopeptida [100].

Iako je sintetiziran izuzetno velik broj aminokiselinskih i oligopeptidnih derivata primakina te neki od njih imaju veći indeks selektivnosti (omjer djelotvornosti i toksičnosti), većina njih se razgradi uz peptidaze u gastrointestinalnom traktu. Kako bi se spriječila ili odgodila navedena hidroliza, sintetizirani su peptidilprimakinski derivati s dodatnom zaštitom peptidnog ostatka vezanjem na polimerni nosač, uvođenjem bioizostera peptidne veze ili tvorbom dvostrukog prolijeka [77].

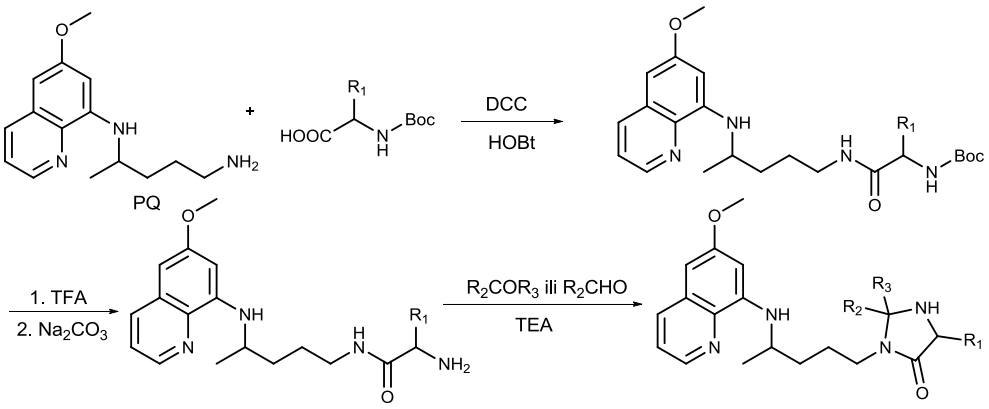
Borissova i suradnici opisali su sintezu tetrapeptidnih derivata primakina koji su bili vezani na poliakrilne škrobne mikročestice preko α-amino skupine *N*-terminalne aminokiseline čineći tako terapijski sustav za dostavu lijeka u lizosome [77]. Nadalje, Rajić i suradnici 2009. godine opisali su pripravu poliaspartamidnih konjugata primakina koji, za razliku od glukozaminskih (Shema 11), pokazuju veću aktivnost *in vivo* prema krvnim shizontima *P. berghei*, a u odnosu na primakin bolje su topljivi i imaju produljeni učinak. Sinteza tih konjugata primakina uključuje reaktivni intermedijer benzotriazolid primakina [25].



Shema 11. Sinteza poliaspartamidnih i glukozaminskih konjugata primakina [25].

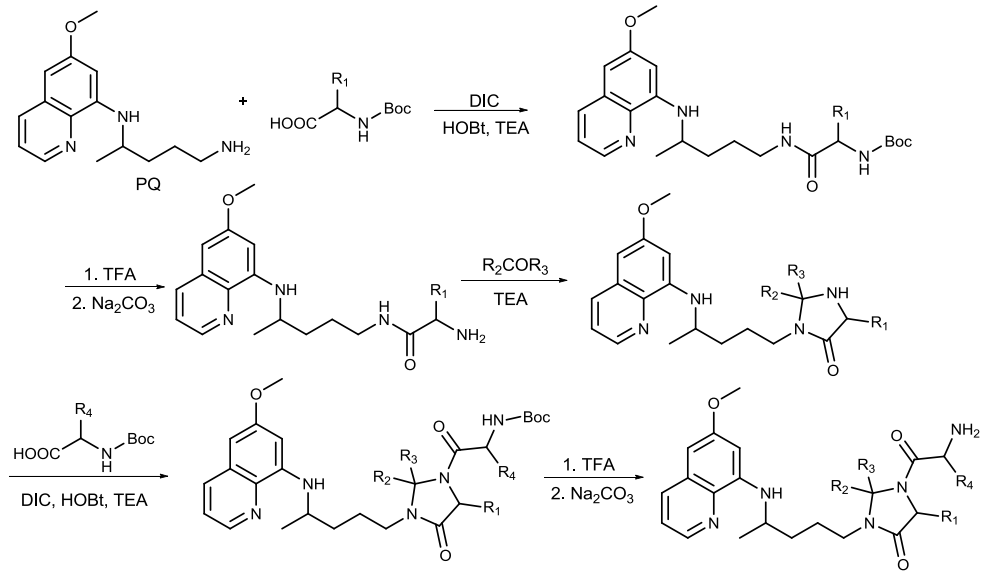
Gomes i suradnici 2004. godine opisali su pripravu aminokiselinskih derivata primakina kod kojih je peptidna veza bila zaštićena imidazolidin-4-onskim prstenom u svrhu povećanja enzimske stabilnosti peptida. Sinteza konjugata primakina i *N*-Boc-aminokiseline bila je prvi reakcijski korak u kojem je *N,N'*-dicikloheksilkarbodiimid (DCC) upotrijebljen kao *coupling* reagens, a 1-hidroksibenzotriazol (HOBt) djelovao je kao pomoćni nukleofil. Boc zaštitna skupina uklonjena je hidrolizom pomoću trifluoroctene kiseline (TFA). Imidazolidin-4-oni

pripremljeni su reakcijom slobodne amino skupine nastalog primakinskog konjugata s ketonom ili aldehidom koju je slijedila intramolekulska ciklizacija (Shema 12). Reakcije su katalizirane kiselinama ili bazama, osim u slučaju acetona kod kojeg katalizator nije potreban [101]. Rezultati istraživanja antimalarijskog djelovanja pokazali su da imaju gametocidno djelovanje *in vivo* na *P. berghei* usporedivo s primakinom te da sprječavaju prijenos uzročnika sa zaraženih miševa na komarce vrste *Anopheles stephensi* [102].



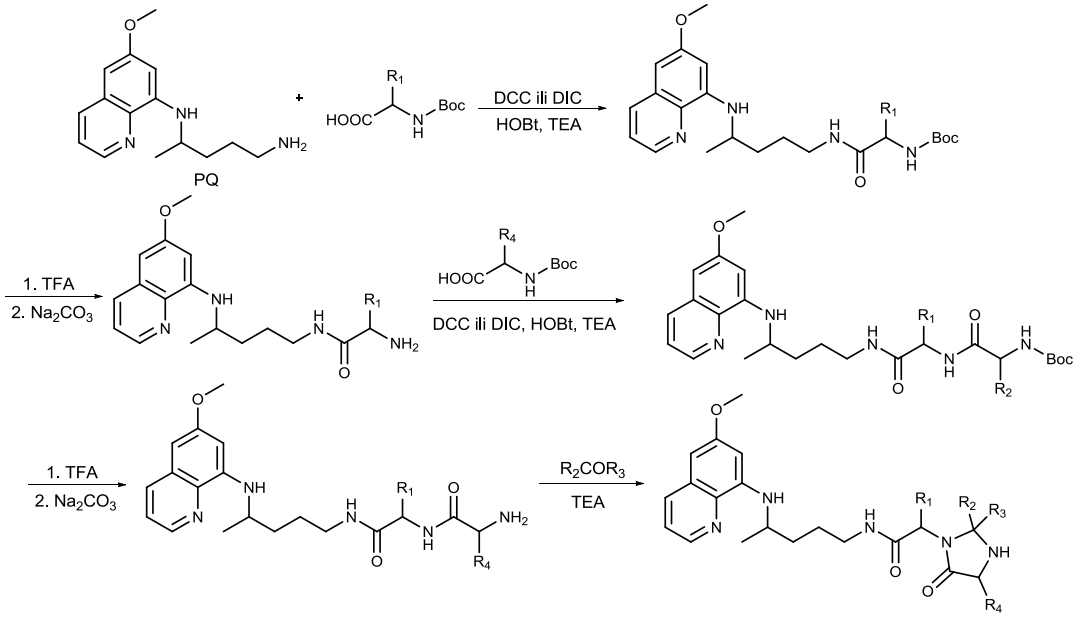
Shema 12. Sinteza imidazolidin-4-on derivata primakina [101].

Ista istraživačka skupina uklopila je imidazolidin-4-onski prsten u dipeptide primakina, pri čemu je u jednoj seriji spojeva imidazolidinonski prsten bio na C-terminusu dipeptida, a u drugoj na *N*-terminusu. Uvođenjem imidazolidin-4-onskog prstena na C-terminusu dipeptida, terminalna amino skupina, za koju se smatra da je djelomično odgovorna za antimalarijsko djelovanje, ostala je slobodna. Imidazolidin-4-oni sintetizirani su prema prethodno opisanom postupku, ali je kao *coupling* reagens korišten DIC. Slobodna amino skupina nastalog imidazolidin-4-onskog prstena u predzadnjem reakcijskom koraku kondenzirana je s karboksilnom skupinom *N*-Boc-aminokiseline uz isti *coupling* reagens. Deprotekcija amino skupine izvršena je pomoću TFA (Shema 13). Ovi spojevi bili su izuzetno otporni na hidrolizu u ljudskoj plazmi i fosfatnom puferu pH 7,4, a antimalarijsko djelovanje bilo je slabije u odnosu na primakin [103].



Shema 13. Sinteza dipeptida primakina s imidazolidin-4-onom na C-terminusu [103].

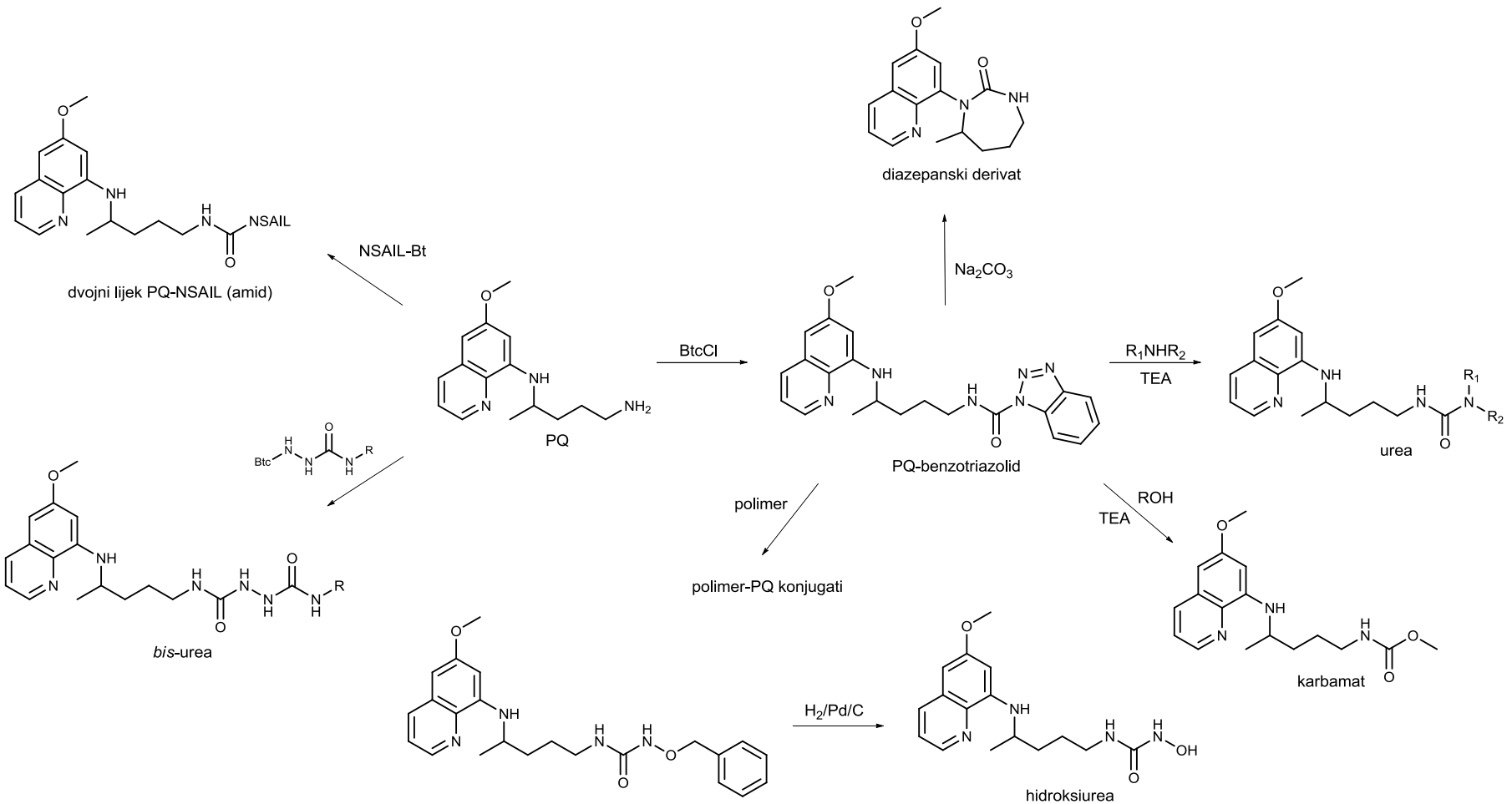
U svrhu optimizacije brzine hidrolize i topljivosti imidazolidin-4-onskih derivata sintetizirani su derivati primakina koji na *N*-terminusu imaju imidazolidin-4-onski prsten. Sinteza tih derivata analogna je prethodno opisanoj sintezi imidazolidin-4-onskih derivata primakina (Shema 14). Sintetizirani derivati bili su podložni hidrolizi u neutralnim i bazičnim uvjetima, ali ne i peptidazama plazme, dok im je antimalarijska aktivnost usporediva s primakinom [104].



Shema 14. Sinteza dipeptida primakina s imidazolidin-4-onom na *N*-terminusu [104].

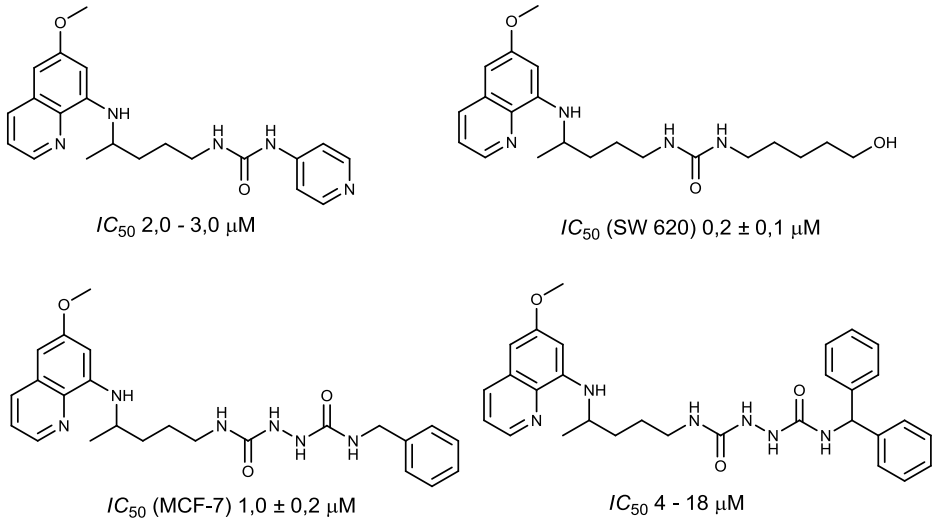
Opisanim imidazolidin-4-onskim derivatima primakina, tzv. imidazokinima ispitano je i citostatsko djelovanje na humane maligne stanične linije adenokarcinoma debelog crijeva (HT-29 i Caco-2) te staničnu liniju MCF-7. Imidazokini su pokazali relativno dobro citostatsko djelovanje na MCF-7, umjereno na Caco-2, dok su na stanicama HT-29 bili nedjelotvorni [28].

Istraživanja u Zavodu za farmaceutsku kemiju usmjerena su prvenstveno na pronalaženje novih derivata primakina s pojačanim citostatskim djelovanjem. Tijekom zadnjih desetak godina sintetizirano je više različitih serija primakinskih derivata od kojih su neki pokazivali citostatsko djelovanje u mikromolarnim koncentracijama [21–23]. Sintetizirani derivati imali su alkilne, cikloalkilne, arilne ili hidroksialkilne supstituente vezane preko poveznice bogate atomima dušika i kisika (amid, urea, karbamat, hidroksiurea, *bis*-urea) na primarnu amino skupinu primakina. Svi derivati primakina sintetizirani su benzotriazolskom metodom koja je korištena i u okviru ovog doktorskog rada, a primijenjena su dva osnovna sintetska puta koja vode do primakinskih derivata. U prvom sintetskom pristupu primakin je reagirao s kloridom 1-benzotriazolkarboksilne kiseline (BtcCl) dajući benzotriazolid primakina koji je bio prekursor u sintezi urea [21,22], karbamata [21] i prethodno spomenutih konjugata polimer-primakin [25]. Uree primakina dobivene su aminolizom benzotriazolida odgovarajućim aminima ili aminoalkoholima [21,22], dok su karbamati pripremljeni analognim reakcijama s alkoholima [21]. Diazepanski derivat dobiven je ciklizacijom benzotriazolida primakina u bazičnim uvjetima [21]. U drugom sintetskom pristupu, primakin je reagirao kao primarni amin s benzotriazolskim prekursorima – benzotriazolidima nesteroidnih protuupalnih lijekova (NSAIL) i 1-(1-benzotriazolkarbonil)-4-cikloalkil/aril semikarbazidima, pri čemu su nastali dvojni lijekovi NSAIL-a i primakina [24] i *bis*-uree (karbamoilsemikarbazidi) primakina [23]. *N*-Hidroksiurea primakina dobivena je hidrogenolizom *O*-benziloksi uree [21]. Sinteza primakinskih derivata pripremljenih u Zavodu za farmaceutsku kemiju prikazana je na Shemi 15.



Shema 15. Sinteza primakinskih derivata u Zavodu za farmaceutsku kemiju (prilagođeno prema ref. 105).

Od sintetiziranih derivata iz serije urea primakina najsnažniji citostatski učinak na stanične linije mišje limfocitne leukemije (L1210) (IC_{50} = 3,0 ± 0,4 μM), humane akutne limfoblastičke leukemije (CEM) (IC_{50} = 2,9 ± 1,7 μM) i humanog adenokarcinoma debelog crijeva (SW 620) (IC_{50} = 2,0 ± 1,0 μM) imao je piridinski derivat [22], dok je hidroksipentilni derivat uree pokazao izuzetno snažno antiproliferativno djelovanje na staničnu liniju SW 620 (IC_{50} = 0,2 ± 0,01 μM) [21]. U seriji *bis*-urea primakina selektivan, a ujedno i najaktivniji prema staničnoj liniji MCF-7 bio je benzilni derivat (IC_{50} = 1,0 ± 0,2 μM), dok je benzhidrilni derivat pokazao snažno citostatsko djelovanje prema svim ispitanim malignim staničnim linijama (IC_{50} = 4–18 μM). Tim spojevima je ispitano i antioksidativno djelovanje na temelju sposobnosti redukcije 1,1-difenil-2-pikrilhidrazila (DPPH), inhibicije lipidne peroksidacije linolne kiseline i inhibicije lipooksigenaze iz soje te je benzhidrilni derivat bio i najsnažniji inhibitor lipooksigenaze iz soje [23]. Strukture najaktivnijih derivata prikazane su na Slici 12.

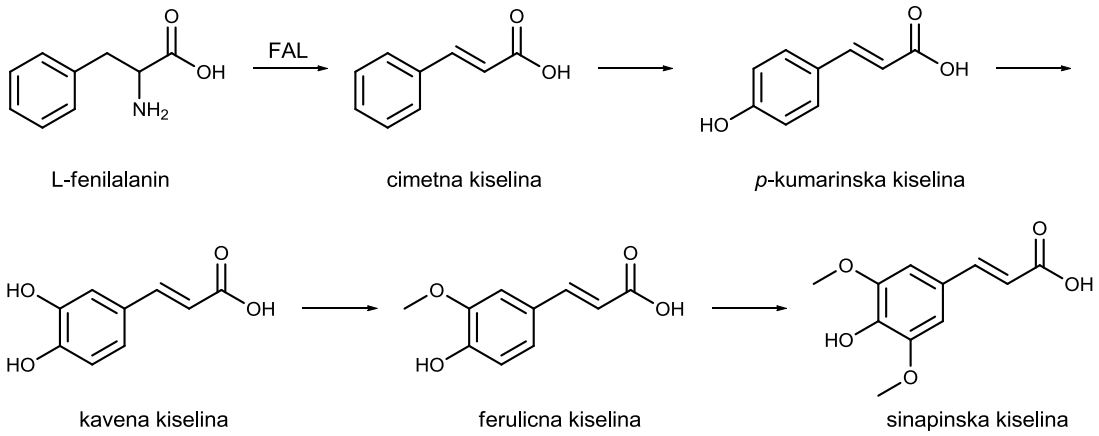


Slika 12. Najaktivniji urea i *bis*-urea derivati primakina [21–23].

1.2.2. Cimetna kiselina i njeni derivati

1.2.2.1. Cimetna kiselina u prirodi

Cimetna kiselina (3-fenilprop-2-enska ili fenilakrilna kiselina) i njeni derivati (DCK) široko su rašireni u biljnom svijetu. Cimetna kiselina pripada skupini biljnih hormona auksina koji reguliraju rast i diferencijaciju stanica. U prirodi se nalaze pretežno u *trans* konfiguraciji. Cimetna kiselina nastaje deaminacijom L-fenilalanina uz enzim fenilalanin amonij liazu (FAL). Djelovanjem enzima iz skupine citokroma P450 u biljkama iz cimetne kiseline nastaju njeni fenolni derivati (*p*-kumarinska, kavena, ferulična i sinapinska kiselina) (Shema 16) [58]. Motiv cimetne kiseline prisutan je u brojnim sekundarnim metabolitima fenilpropanoidnog biosintetskog puta u biljkama, poput kumarina, lignina, izoflavonoida, flavonoida, antocijana, i dr. [35,58].



Shema 16. Biosintetski put cimetne kiseline i njenih fenolnih derivata [58].

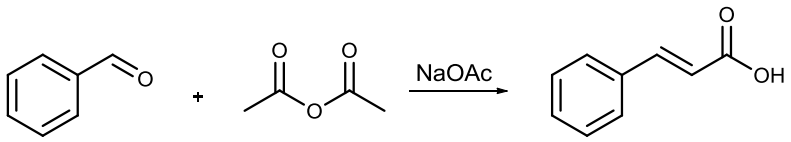
1.2.2.2. Sinteza cimetne kiseline

Za industrijske potrebe cimetna kiselina i DCK ne izoliraju se iz prirodnih izvora nego se priređuju sintetskim putem [36]. U ovom literaturnom pregledu opisane su samo neke mogućnosti sinteze cimetne kiseline i njenih derivata.

Perkinova reakcija

U Perkinovoj reakciji cimetna kiselina nastaje kondenzacijom benzaldehida i anhidrida octene kiseline u prisutnosti slabe baze natrijevog acetata (Shema 17) [106]. Nije prikladna za

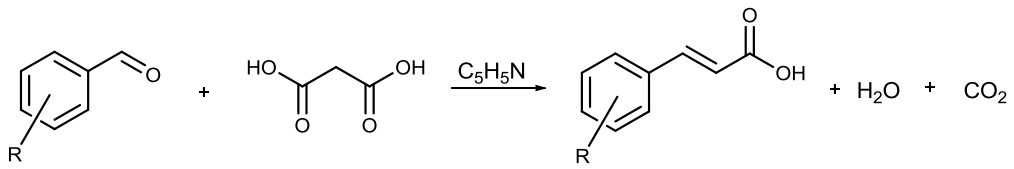
sintezu derivata cimetne kiseline s elektron donorskim supstituentima na benzenskom prstenu [36].



Shema 17. Sinteza cimetne kiseline Perkinovom reakcijom [106].

Knoevenagelova kondenzacija

Cimetna kiselina i DCK mogu se pripremiti Knoevenagelovom reakcijom iz odgovarajućeg benzaldehida i malonske kiseline uz piridin kao bazu [106,107]. Reakcija ide jednako dobro ako su reaktanti *p*- i *m*-nitro, *p*-metoksi i 3,4-dinitrobenzaldehid, ali u slučaju hidroksialdehida trajanje reakcije je znatno produljeno (1–2 tjedna), s nižim iskorištenjima [107].

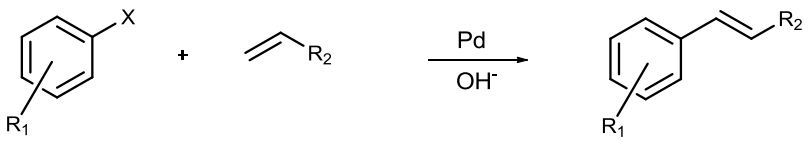


Shema 18. Sinteza DCK Kneovenagelovom kondenzacijom [107].

Jedna od modifikacija Knoevenagelove reakcije je mikrovalovima potpomognuta sinteza DCK uz polifosfatni ester kao katalizator u uvjetima bez otapala [108] ili uz tetrabutilamonijev bromid i kalijev karbonat u vodi [109].

Heckova reakcija

Heckova sinteza cimetne kiseline i DCK je paladijem katalizirana *coupling* reakcija aril halida i derivata akrilne kiseline u bazičnim uvjetima (Shema 19) [110]. Postoje različite izvedbe te reakcije, a najekonomičnija je ultrazvukom potpomognuta izvedba Heckove sinteze na sobnoj temperaturi uz kokatalizator tetrabutilamonijev bromid u bazičnoj vodenoj otopini [111].

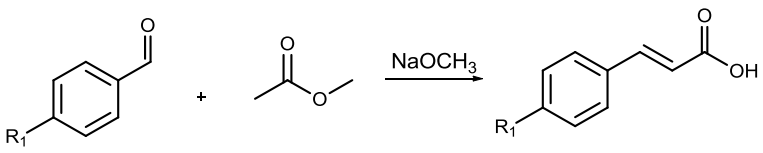


R_1 = H, OCH_3, Cl, I, Br, $NHCOCH_3$, NO_2, CHO
R_2 = COOH, $COOCH_3$, CN, Ph
X = I, Br

Shema 19. Općeniti prikaz Heckove sinteze DCK [110].

Claisen-Schmidtova reakcija

Različiti DCK mogu se pripremiti Claisen-Schmidtovom kondenzacijom iz benzaldehida i estera octene kiseline uz metalne alkokside kao bazu (Shema 20) [112].

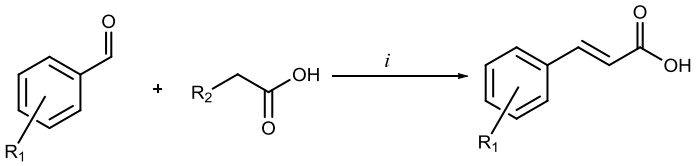


R_1 = H, OCH_3, Cl

Shema 20. Sinteza DCK Claisen-Schmidtovom reakcijom [112].

Sinteza iz alifatskih karboksilnih kiselina

Cimetna kiselina i DCK mogu se sintetizirati u jednostupanjskoj reakciji aromatskih aldehida sa suviškom alifatske karboksilne kiseline u prisutnosti borovog tribromida [113] ili natrijevog borhidrida [114] (Shema 21). Iskorištenja u reakcijama su vrlo dobra kod aromatskih aldehida s elektron-odvlačećim supstituentima.



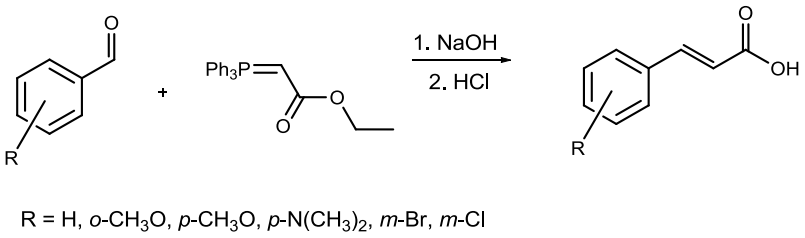
R_1 = H, *p*-CH_3O, *p*-Cl, *m*-Cl, *m*-NO_2
R_2 = H, CH_3

i 1. BBr_3, 2. OH^- ili $NaBH_4$

Shema 21. Sinteza DCK iz alifatskih karboksilnih kiselina [113,114].

Wittigova reakcija

Vrlo često se cimetna kiselina i DCK dobivaju Wittigovom reakcijom iz odgovarajućeg benzaldehida i fosforovog ilida (Shema 22) [115].



R = H, *o*-CH_3O, *p*-CH_3O, *p*-$N(CH_3)_2$, *m*-Br, *m*-Cl

Shema 22. Sinteza DCK Wittigovom reakcijom [115].

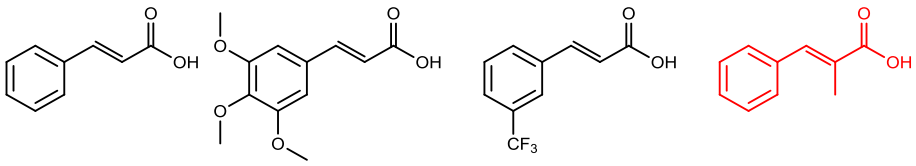
1.2.2.3. *Biološko djelovanje cimetne kiseline i njenih derivata*

Kao što je u prethodnom poglavlju navedeno (poglavlje 1.1.2.), cimetna kiselina i njeni prirodni i sintetski derivati imaju izuzetno raznoliko farmakološko djelovanje. Ovdje je dan pregled prirodnih i sintetskih DCK s naglaskom na njihovo antiproliferativno i antimalarijsko djelovanje.

De i suradnici su u preglednom radu detaljno opisali moguće mehanizme citostatskog djelovanja cimetne kiseline i DCK [58]. Sama cimetna kiselina i njeni prirodni fenolni derivati imaju vrlo izraženo antiproliferativno djelovanje. Točan mehanizam antitumorskog djelovanja cimetne kiseline i DCK nije u potpunosti razjašnjen, ali se smatra da cimetna kiselina uzrokuje izoprenilaciju proteina, čime je spriječen prijenos signala za diobu stanica [58,116]. S druge strane, neki analozi cimetne kiseline djeluju *in vitro* kao specifični inhibitori tirozin-kinaza, što inhibira rast tumorskih stanica [58]. Fenetilni ester kavene kiseline, izoliran iz propolisa, pokazao je izuzetno antitumorsko djelovanje na više razina: regulacijom ekspresije metaloproteinaza inhibirao je invaziju tumorskih stanica, inhibicijom NF-κB kontrolirao je rast tumora, inducirao je apoptozu u stanicama humane mijeloične leukemije (U937) koja je bila praćena oslobađanjem citokroma c, smanjenjem ekspresije Bcl-2 i povećanjem ekspresije Bax, aktivacijom kaspaze-3 i cijepanjem poli(ADP-ribozil)-polimeraze (PARP) te generiranjem RKV koje mogu posredovati u apoptotičkoj fragmentaciji DNA [58].

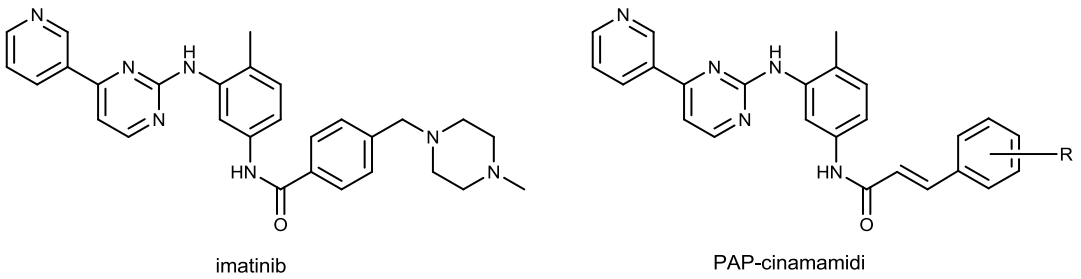
Jedan od mogućih mehanizama citostatskog djelovanja cimetne kiseline i DCK je i Michaelova adicija. S obzirom da u strukturi imaju α,β-nezasićenu karboksilnu funkcionalnu skupinu, cimetna kiselina i DCK posjeduju svojstva Michaelovog akceptora zbog čega mogu reagirati s tiolnim skupinama glutationa i cisteina te tvoriti adukte. To svojstvo se vrlo često primjenjuje u dizajniranju antitumorskih lijekova. Iako ne postoje izravni dokazi da cimetna kiselina sudjeluje u Michaelovoj adiciji u tumorskim stanicama, postoji nekoliko primjera u kojima je zasićenje dvostruke veze rezultiralo smanjenjem citostatskog djelovanja [58].

Aldo-keto reduktaza 1C3 (AKR1C3), poznata i kao 17-hidroksisteroid-dehidrogenaza tipa 5, katalizira zadnji korak u biosintezi spolnih hormona (androgena, estrogena i progestina). U zadnje vrijeme je sve zanimljivija kao potencijalna terapijska meta za liječenje karcinoma ovisnih o hormonima, poput karcinoma dojke, prostate i endometrija. Istraživanja su pokazala da cimetna kiselina i DCK s hidrofobnim supstituentima (3,4,5-trimetoksi, 3-trifluormetil i α-metil derivati) imaju sposobnosti inhibicije enzima AKRC13 u mikromolarnim koncentracijama, pri čemu je najaktivnija bila α-metilcimetna kiselina (Slika 13; označena crvenom bojom) [58,117].



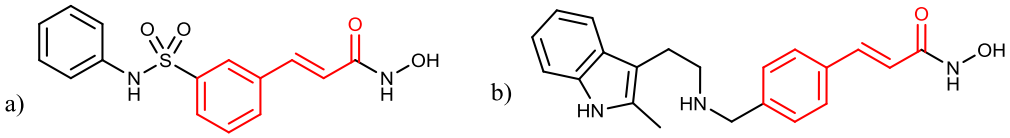
Slika 13. DCK – potentni inhibitori AKR1C3 [58].

Chang i suradnici opisali su sintezu amidnih konjugata DCK i 2-fenilaminopirimidina (PAP), tzv. PAP-cinamamida po uzoru na derivat PAP imatinib, potentan i relativno selektivan inhibitor Bcr-Abl tirozin-kinaze (Slika 14) te su im ispitali citostatsko djelovanje na humanu staničnu liniju kronične mijeloične leukemije (K562). Najaktivniji je bio derivat s bromom u *orto* položaju na benzenskom prstenu cimetne kiseline, a slijedili su ga redom *o*-klor i *o*-fluor derivati, s IC_{50} vrijednostima u nanomolarnom području [118].



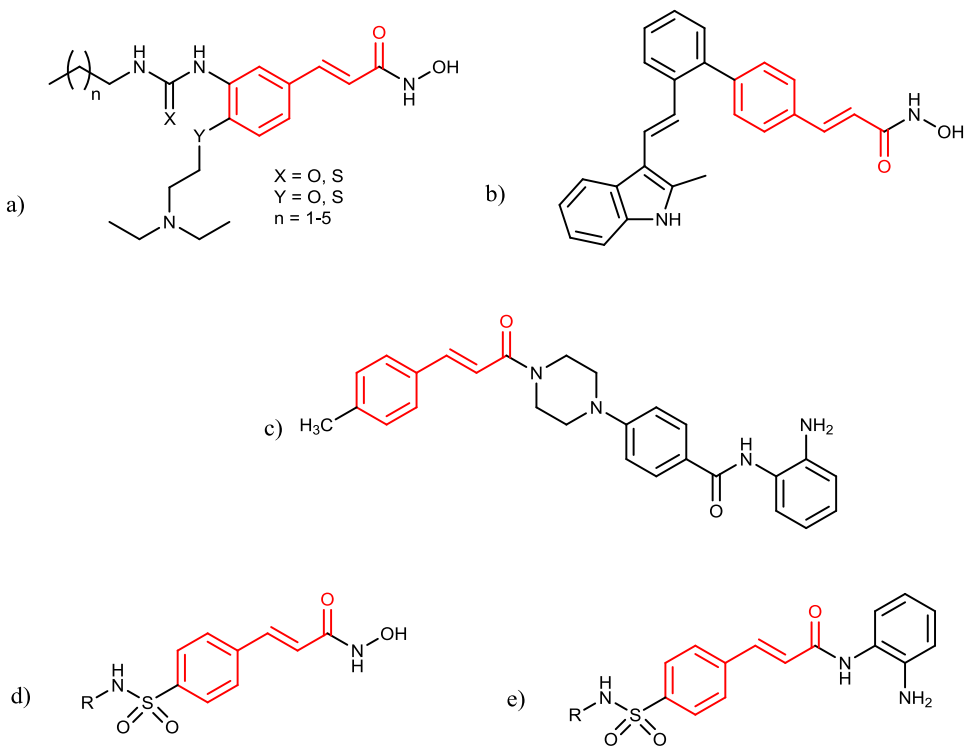
Slika 14. Strukturne formule PAP derivata: imatiniba i PAP-cinamamida [118].

Derivati cimetne hidroksamske (cinamohidroksamske) kiseline nova su skupina citostatskih lijekova inhibitora više izoformi histonske deacetilaze (HDAC) [58]. Inhibitori HDAC vežu se na aktivno mjesto enzima i keliraju cinkove ione, što dovodi do povećane koncentracije acetiliranih histona i drugih proteina (npr. transkripcijski faktori) potrebnih za ekspresiju gena nužnih za diferencijaciju stanice [119]. FDA je 2014. godine odobrila belinostat za liječenje refraktornog perifernog limfoma T-stanica, a sljedeće godine i panobinostat za liječenje multiplog mijeloma [120,121]. Na Slici 15 prikazane su strukture panobinostata i belinostata, a strukturni motiv cimetne kiseline označen je crvenom bojom.



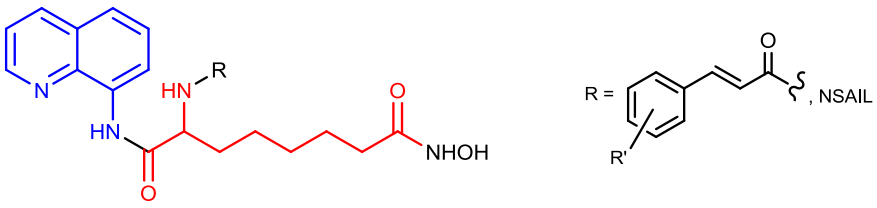
Slika 15. Strukturne formule odobrenih inhibitora HDAC: a) belinostata, b) panobinostata.

Razvoj novih DCK kao potencijalnih inhibitora HDAC vrlo je aktualno područje u farmaceutskoj kemiji. U posljednjih pet godina objavljeno je mnogo radova u kojima je evaluirano citostatsko djelovanje različitih derivata cimetne kiseline kao potencijalnih inhibitora HDAC, a neki od njih su karbamidni i tiokarbamidni derivati cinamohidroksamske kiseline (Slika 16a) [122], indolil-supstituirane 4-fenilcinamohidroksamske kiseline (Slika 16b) [123], piperazinski derivati kidamida (derivat cimetne kiseline, inhibitor HDAC, registriran u Kini) (Slika 16c) [124], sulfonamidni derivati cinamohidroksamske kiseline (Slika 16d) i amida cimetne kiseline (Slika 16e) [125]. Mnogi od sintetiziranih derivata pokazali su slično ili jače antiproliferativno djelovanje od lijeka vorinostata, prvog inhibitora HDAC koji se koristi za liječenje kožnog limfoma T-stanica [126].



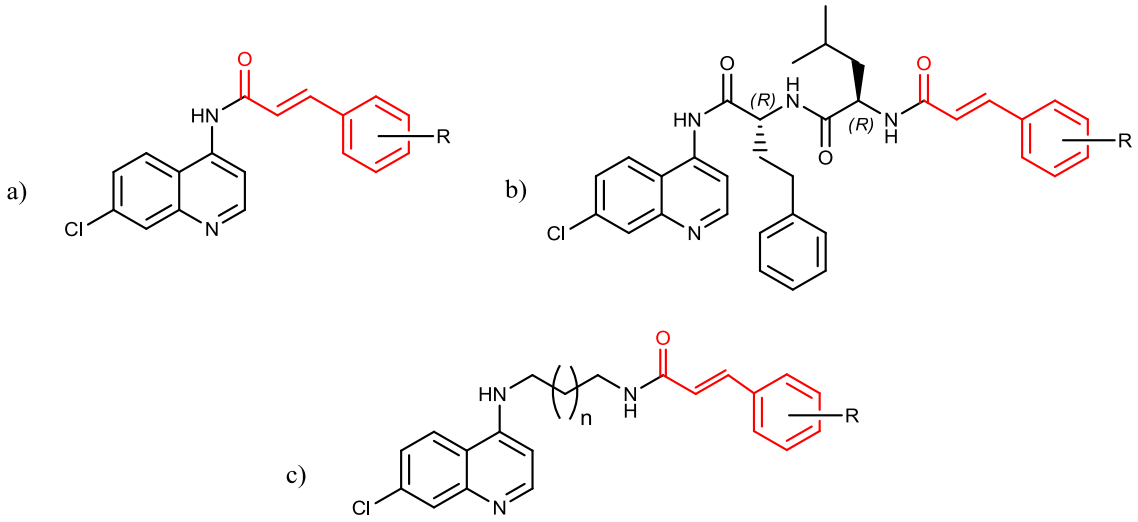
Slika 16. Strukturne formule inhibitora HDAC (strukturni motiv cimetne kiseline označen crvenom bojom) [122–125].

HDAC plazmodija predstavljaju potencijalne mete novih antimalarijskih lijekova. *P. falciparum* ima pet gena koji kodiraju HDAC, od kojih *Pf*HDAC1-3 pokazuju homologiju s eukariotskim HDAC, uključujući humane [127]. Istraživanja su pokazala da inhibitori HDAC, osim što mogu zaustaviti rast i inducirati diferencijaju i/ili apoptozu različitih humanih malignih staničnih linija, posjeduju i izraženo antimalarijsko djelovanje te stoga predstavljaju spojeve uzore za razvoj novih antiparazitskih lijekova [128]. Male razlike u aminokiselinama koje čine vezno mjesto enzima plazmodija i čovjeka mogu se iskoristiti za razvoj selektivnih inhibitora *Pf*HDAC-1 [128]. Wheatley i suradnici sintetizirali su hibridne spojeve sastavljene od tri građevne jedinice: derivata L-2-aminosuberinske kiseline (označeno crvenom bojom), 8-aminokinolina (označeno plavom bojom) i derivata cimetne kiseline ili NSAIL (supstituent R) (Slika 17) te su im ispitali antimalarijsko djelovanje *in vitro* na *P. falciparum*. Hidroksi i metoksi derivati cimetne kiseline imali su izraženo antimalarijsko djelovanje u nanomolarnom području, dok su derivati cimetne kiseline s većim supstituentima pokazali slabije djelovanje. Međutim, NSAIL derivati pokazali su jače djelovanje [128].



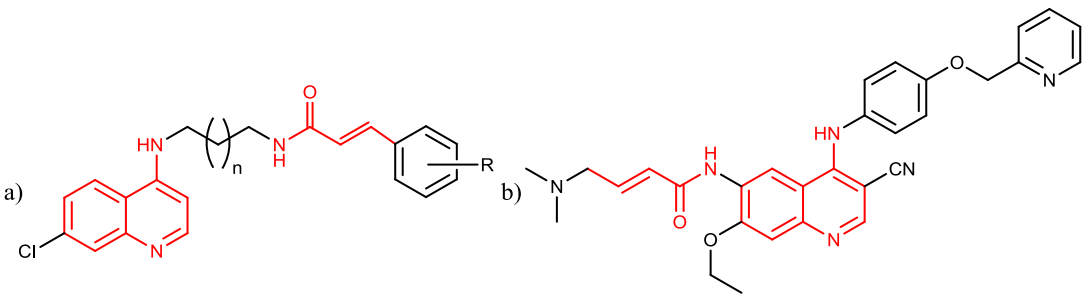
Slika 17. Strukturna formula potencijalnih inhibitora HDAC s antimalarijskim djelovanjem [128].

Pérez i suradnici sintetizirali su nekoliko serija hibridnih molekula koje u strukturi sadrže motiv cimetne kiseline [59,61–64] te su im ispitali antimalarijsko djelovanje. Prvoj generaciji hibridnih molekula, kod kojih su derivati cimetne kiseline i 4-aminokinolini bili povezani izravno (Slika 18a) ili dipeptidnom poveznicom (Slika 18b), ispitano je antimalarijsko djelovanje *in vitro* na eritrocitnu fazu *P. falciparum* W2 (soj rezistentan na klorokin). Većina dipeptidnih derivata su, za razliku od amida, pokazali jako djelovanje (IC_{50} < 10 μM), a najaktivniji spoj bio je derivat *p*-izopropilcimetne kiseline. Na temelju tih rezultata autori su zaključili da je za antimalarijsko djelovanje nužna fleksibilna hidrofobna poveznica između heterocikla i derivata cimetne kiseline [63] te su sintetizirali novu seriju hibridnih molekula klorokina i derivata cimetne kiseline i ispitali im antimalarijsko djelovanje *in vitro* na eritrocitne oblike *P. falciparum* W2 i 3D7 te hepatocitne oblike *P. berghei* [64]. U ovoj seriji spojeva 4-aminokinolin povezan je s derivatom cimetne kiseline aminoalkilnom poveznicom (Slika 18c). Svi sintetizirani derivati imali su bolje djelovanje od klorokina, iz čega se može zaključiti da *N*-acilacija cimetnom kiselinom povećava antimalarijsko djelovanje 4-aminokinolina. Iz studije odnosa strukture i djelovanja autori su zaključili da je za dvojno djelovanje na obje faze životnog ciklusa plazmodija bitna butilna poveznica te 7-klor-4-aminokinolinski prsten. Spojevi s izopropilnom skupinom i klorom u *para* položaju na benzenskom prstenu cimetne kiseline bili su jednako aktivni kao i artemizinin na eritrocitne faze životnog ciklusa *P. falciparum*.



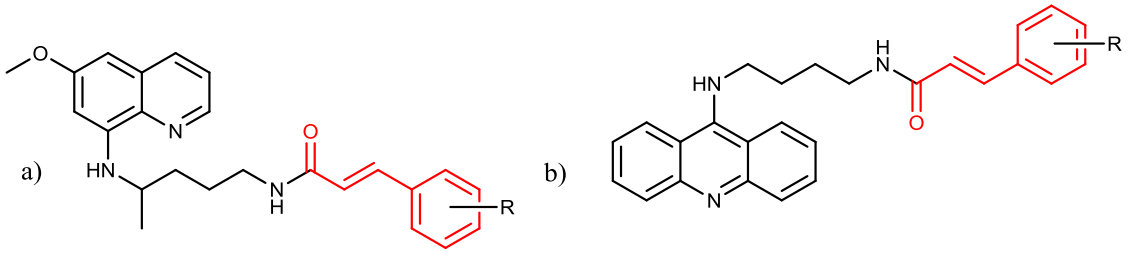
Slika 18. Konjugati 4-aminokinolina i derivata cimetne kiseline: a) 4-aminokinolin-amid-DCK, b) 4-aminokinolin-dipeptid-DCK, c) 4-aminokinolin-alkil-amid-DCK (strukturni motiv cimetne kiseline označen crvenom bojom) [63,64].

Pérez i suradnici ispitali su i citostatsko djelovanje *in vitro* prethodno opisanih hibridnih molekula klorokina i DCK dvojnog antimalarijskog djelovanja. Svi ispitani spojevi pokazali su selektivno citostatsko djelovanje na ispitane maligne stanične linije (IC_{50} u mikromolarnom području), dok na normalne stanične linije nisu imali učinak. Mehanizam djelovanja tih spojeva nije poznat, ali se zbog određene strukturne homologije s citostatskim lijekom neratinibom, inhibitorom receptorskih tirozin-kinaza – receptora za humani epidermalni faktor rasta 2 (HER2) i receptora za humani epidermalni faktor rasta (EGFR), odobrenim za adjuvantno liječenje HER2 pozitivnog karcinoma dojke [129,130], pretpostavlja da bi možda mogli djelovati kao inhibitori vezanja ATP-a na HER2 i EGFR (Slika 19) [59].



Slika 19. Usporedba struktura: a) derivat klorokina – 4-aminokinolin-alkil-amid-DCK i b) citostatik neratinib (zajednički dijelovi strukture – 4-aminokinolin i α,β-nezasićeni amid označeni su crvenom bojom) (prilagođeno prema ref. 59).

Ista skupina autora sintetizirala je i amide primakina i derivata cimetne kiseline, tzv. primacine (Slika 20a) te *N*-butilaminoakridina i derivata cimetne kiseline (Slika 20b) te im ispitala antimalarijsko djelovanje *in vitro* na eritrocitnu fazu *P. falciparum* W2 i hepatocitnu *P. berghei*. Primacini su bili aktivniji na hepatocitnu fazu od referentnog lijeka primakina, ali inaktivni na eritrocitnu fazu, što potkrepljuje tvrdnju da je za djelovanje na krvne shizonte nužan 7-klor-4-aminokinolinski prsten prisutan u klorokinu [61]. Aminoakridinski derivati bili su aktivni na obje faze, iako nisu pokazali bolje djelovanje na eritrocitnu fazu od klorokina [62].



Slika 20. Strukturne formule amida: a) primakina i DCK, b) *N*-butilaminoakridina i DCK (strukturni motiv cimetne kiseline označen crvenom bojom) [61,62].

2. MATERIJALI I METODE

2.1. MATERIJALI I INSTRUMENTI

Tališta (t_t) su određena na Stuart SMP3 instrumentu za određivanje tališta (Barloworld Scientific, UK) u otvorenim kapilarama i nisu korigirana. Iskorištenja nisu optimirana. CHN analiza je provedena na CHNS LECO instrumentu za elementarnu analizu (LECO Corporation, SAD). CEM Discover mikrovalni reaktor (CEM Corporation, SAD) korišten je u mikrovalnoj sintezi (P = 150 W).

Tijek reakcija i čistoća produkata praćeni su tankoslojnom kromatografijom (TLC). Za TLC su upotrijebljene silikagel ploče 60 F_{254} (Merck, Njemačka), te petroleter/etil-acetat/metanol (30:10:5), cikloheksan/etil-acetat/metanol (30:10:7, 30:10:5), cikloheksan/etil-acetat (4:1, 2:1, 1:1), diklormetan/metanol/petroleter/etil-acetat (9:1:5:5), cikloheksan/diklormetan/ metanol (50:98:2, 10:18:2) i/ili diklormetan/metanol (98:2, 97:3, 95:5, 9:1) kao pokretne faze. Analizirani spojevi detektirani su UV zračenjem (λ = 254 nm), parama joda i/ili etanolnom otopinom fosfomolibdenske kiseline. Za kromatografiju na koloni kao nepokretna faza korišten je silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm (Kemika, Hrvatska) ili 0,040–0,063 mm (Merck) uz iste pokretne faze kao i u TLC-u.

IR spektri snimljeni su na Paragon 500 (Perkin Elmer, UK) ili Spectrum One FT-IR spektrometru (Perkin Elmer), u području valnih brojeva od 4000 do 450 cm^{-1}, a UV-Vis spektri na Lambda 20 double beam spektrofotometru (Perkin Elmer). ^{1}H i ^{13}C NMR spektri snimljeni su na Bruker AV-600 (Bruker, SAD) kod 300,13 ili 600,13 MHz za ^{1}H i kod 75,47 ili 150,90 MHz za ^{13}C jezgru ili na Varian Inova 400 spektrometru (Varian, SAD) kod 399,59 MHz za ^{1}H i 100,48 MHz za ^{13}C jezgru. Uzorci su mjereni u DMSO-d_6 otopinama na 20 °C u NMR cjevčicama promjera 5 mm. Kemijski pomaci izraženi su u ppm u odnosu na tetrametilsilan (TMS) kao unutarnji standard u ^{1}H, odnosno signal DMSO u ^{13}C spektru (39,51 ppm). Konstante sprezanja (J) izražene su u Hz. Spektri masa snimljeni su na HPLC-MS/MS instrumentu (HPLC, Agilent Technologies 1200; MS, Agilent Technologies 6410 Triple Quad, SAD). Ionizacija elektroraspršenjem (ESI) u pozitivnom ili negativnom modu korištena je kao tehnika ionizacije. Spectramax Gemini XS microplate fluorimetar (Molecular Devices Cooperation, USA) korišten je za mjerenje fluorescencije kod ispitivanja citotoksičnosti.

1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol (benzotriazol, BtH), trifozgen, tionil-klorid, hidrazin hidrat, trietilamin (TEA), *N*-metil-1,1-difenilmetanamin, 2-aminoetanol, 3-aminopropanol, 5-aminopentanol, 2-[(2-hidroksietil)amino]etanol (dietanolamin), 2-amino-2-

(hidroksimetil)propan-1,3-diol (trometamin), 4-metoksibenzofenon, 4,4'-dimetoksibenzofenon, L-leucin, D-fenilglicin, DL-*p*-klorfenilglicin, *p*-bromanilin, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), 2,2'-azobis(2-amidinopropan) dihidroklorid (AAPH), Troloks, nordihidrogvajaretična kiseline (NDGA), lipooksigenaza soje (LOX), natrijev linoleat, 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijev bromid (MTT), podofilotoksin i Alamar Blue nabavljeni su od tvrtke Sigma-Aldrich (SAD), a 2-(trifluormetil)-4-izocijanato-1-klorbenzen od tvrtke Acros Organics (Belgija). Cimetna kiselina (CA), α-metilcimetna kiselina ((3-fenil-2-metil)akrilna kiselina), 4-metoksicimetna kiselina (metilni eter *p*-kumarinske kiseline), 3,4-dimetoksicimetna kiselina (dimetilni eter kavene kiseline), 3,4,5-trimetoksicimetna kiselina, 3,4-(metilendioksi)cimetna kiselina (3-benzo[1,3]dioksol-5-il-akrilna kiselina), 4-klorcimetna kiselina, 2-fluorcimetna kiselina, 4-(trifluormetil)cimetna kiselina, 3-(trifluormetil)cimetna kiselina i 3,5-*bis*(trifluormetil)cimetna kiselina nabavljene su od tvrtke Sigma-Aldrich, kao *trans* stereoizomeri (≥ 99 %). Primakin (PQ), difenilmetanamin (benzhidrilamin), (fenil)(4-klorfenil)metanamin i (2-aminoetil)(trifenilmetil)amin (N^1-tritiletan-1,2-diamin) pripremljeni su neposredno prije upotrebe iz odgovarajućih komercijalno dostupnih soli primakin difosfata (Sigma-Aldrich), difenilmetanamin hidroklorida (Sigma-Aldrich), (fenil)(4-klorfenil)metanamin hidroklorida (Sigma-Aldrich) i (2-aminoetil)(trifenilmetil)amin hidrobromida (Fluka), redom. Sve reakcije koje uključuju PQ izvođene su uz zaštitu od svjetlosti. Za ispitivanje citostatskog djelovanja korištene su stanične linije iz Američke zbirke staničnih kultura te sljedeće kemikalije i reagensi: Dulbeccov modificirani Eagleov medij (DMEM) (Lonza, Švicarska), medij Roswell Park Memorial Institute (RPMI 1640) (Lonza, Švicarska), fetalni goveđi serum (FBS) (GIBCO Invitrogen, UK), L-glutamin 2 mM (GIBCO Invitrogen, UK) i penicilin (100 U/ml)/streptomicin (0,1 mg/ml) (GIBCO Invitrogen, UK).

U eksperimentalnom dijelu korištena su bezvodna otapala. Bezvodni toluen dobiven je sljedećim postupkom: toluen je ekstrahiran vodom, osušen nad bezvodnim kalcijevim kloridom, destiliran i čuvan nad elementarnim natrijem. Bezvodni dimetilformamid (DMF): smjesa 1 L DMF-a i 100 mL bezvodnog toluena destilirana je, pri čemu prvo destilira azeotropna smjesa toluena i vode, a zatim čisti DMF. Čuvan je nad aktiviranim molekulskim sitima. Bezvodni diklormetan dobiven je na sljedeći način: diklormetan je ekstrahiran vodom, sušen iznad kalcijevog klorida i predestiliran. Bezvodni dioksan dobiven je 24-satnim refluksiranjem na natriju. Destiliran je i čuvan nad natrijem.

Sve ostale kemikalije bile su *p. a.* čistoće.

2.2. SINTEZE

2.2.1. Sinteza klorida 1-benzotriazolkarboksilne kiseline (1)

Klorid 1-benzotriazolkarboksilne kiseline (**1**) pripravljen je prema poznatom propisu [131]. Otopina BtH (0,596 g, 5 mmol) i trifozgena (0,991 g, 3,34 mmol) u bezvodnom toluenu (10 mL) refluksirana je 3 h na 115 °C. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom te je reakcijska smjesa nekoliko puta naparena bezvodnim toluenom. Dobiveni klorid 1-benzotriazolkarboksilne kiseline (BtcCl, **1**) upotrijebljen je bez čišćenja u daljnjim reakcijama.

2.2.2. Sinteza 1-(*N*-arilkarbamoil)- i 1-(*N*-arilkarbohidrazoil)benzotriazola (amida i hidrazida 1-benzotriazolkarboksilne kiseline) 2a-d. Opća metoda

1-(*N*-arilkarbamoil)benzotriazoli **2a**,**b** i 1-(*N*-arilkarbohidrazoil)benzotriazoli **2c**,**d** pripravljeni su iz klorida **1** i odgovarajućeg amina ili hidrazona prema prilagođenom ranije objavljenom propisu [132]. Otopini BtcCl (**1**) (0,908 g, 5,0 mmol) u bezvodnom toluenu (10 mL) uz miješanje je dokapana otopina odgovarajućeg amina ili hidrazona[1] (5,0 mmol) i TEA (0,505 g, 5,0 mmol) u bezvodnom toluenu (5 mL) tijekom 0,25 h. Nakon dokapavanja reakcijska smjesa je miješana 1 h na sobnoj temperaturi, ekstrahirana 5 % otopinom NaOH (3 × 15 mL) te isprana vodom (3 × 15 mL). Organski sloj sušen je nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen pod sniženim tlakom. Dobiveni sirovi 1-karbamoilbenzotriazoli **2a** i **2b** pročišćeni su prekristalizacijom iz etera/petroletera, dok su 1-karbohidrazoilbenzotriazoli **2c** i **2d** upotrijebljeni u daljnjim reakcijama bez pročišćavanja. Prilikom sinteze **2b** dodana je dvostruka količina TEA kako bi se (fenil)(4-klorfenil)metanamin oslobodio iz oblika soli.

[1] 4-Metoksibenzofenon hidrazon i 4,4'-dimetoksibenzofenon hidrazon pripravljeni su prema ranije objavljenom propisu za pripravu hidrazona [133] iz 4-metoksibenzofenona (1,060 g, 5,0 mmol), odnosno 4,4'-dimetoksibenzofenona (1,210 g, 5,0 mmol) i hidrazin hidrata (0,300 g, 6,0 mmol) refluksiranjem u etanolu (8 mL) tijekom 6 h, uz nekoliko kapi ledene octene kiseline kao katalizatora. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom. Sirovi produkt je otopljen u etil-acetatu (15 mL) i ekstrahiran vodom (3 × 15 mL). Organski sloj je sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen. Čisti produkt dobiven je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat 3:1 (4-metoksibenzofenon hidrazon) ili cikloheksan/diklormetan/metanol 50:98:2 (4,4'-dimetoksibenzofenon hidrazon). Strukture hidrazona potvrđene su indirektno, derivatizacijom u spojeve **11c** i **12c**, odnosno **11d** i **12d**.

***N*-(Difenilmetil)-*N*-metil-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karboksamid (2a)**

Količina reaktanta: 0,986 g *N*-metil-1,1-difenilmetanamina.

Iskorištenje: 1,352 g (79 %).

t_t 93–96 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3050, 1696, 1600, 1488, 1450, 1400, 1360, 1292, 1230, 1074, 1038, 746, 718 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 8,19 (d, 1H, 3, *J* = 8,19), 7,94 (d, 1H, 6, *J* = 8,37), 7,71 (t, 1H, 5, *J* = 7,29), 7,55 (t, 1H, 4, *J* = 7,59), 7,46–7,32 (m, 10H, 4'–8', 10'–14'), 6,87 (s, 1H, 2'), 3,04 (s, 3H, 1').

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 150,71 (1), 144,62 (2), 137,98 (3', 9'), 132,65 (7), 129,50, 128,65, 128,4, 127,81, 125,44, 119,59, 113,37 (3–6, 4'–8', 10'–14'), 64,40 (2'), 30,19 (1').

MS/MS (*m*/*z*): 365,2 $(M + 23)^+$, 707,4 $(2M + 23)^+$.

Elementarna analiza za $C_{21}H_{18}N_4O$ (342,39): C 73,67; H 5,30; N 16,36; nađeno: C 73,76; H 5,56; N 16,02.

***N*-[(Fenil)(4-klorfenil)metil]-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karboksamid (2b)**

Količina reaktanta: 1,271 g (fenil)(4-klorfenil)metanamina.

Iskorištenje: 1,433 g (79 %).

t_t 143,5–145,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3306, 1708, 1522, 1448, 1378, 1230, 1070, 1016, 754, 702, 600 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 10,04 (d, 1H, 1'', izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,80), 8,21 (d, 1H, 3, *J* = 8,21), 8,16 (d, 1H, 6, *J* = 8,21), 7,71 (t, 1H, 5, *J* = 7,60), 7,56–7,25 (m, 10 H, arom,), 6,41 (d, 1H, 2', *J* = 8,80).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 148,68 (1), 145,44 (7), 140,69 (9'), 140,13 (3'), 132,03 (6'), 131,45 (2), 129,94–125,60 (arom.), 119,78 (6), 113,47 (3), 57,20 (2').

MS/MS (*m*/*z*): 385,2 $(M + 23)^+$.

Elementarna analiza za $C_{20}H_{15}ClN_4O$ (362,81): C 66,21; H 4,17; N 15,44; nađeno: C 66,63; H 4,60; N 15,40.

***N*'-[(Fenil)(4-metoksifenil)metilen]-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karbohidrazid (2c)**

Količina reaktanta: 1,130 g 4-metoksibenzofenon hidrazona.

Iskorištenje: 1,670 g (90 %).

IR (KBr): ν_{max} 3313, 1755, 1610, 1509, 1490, 1448, 1371, 1255, 1216, 1178, 1028, 958, 944, 878, 769, 757 cm^{-1}.

Struktura spoja **2c** potvrđena je indirektno derivatizacijom u spoj **11c** i **12c**.

***N*'-[*Bis*(4-metoksifenil)metilen]-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karbohidrazid (2d)**

Količina reaktanta: 1,280 g 4,4'-dimetoksibenzofenon hidrazona.

Iskorištenje: 1,700 g (85 %).

IR (KBr): ν_{max} 3319, 1746, 1609, 1499, 1446, 1325, 1306, 1248, 1169, 1080, 1025, 879, 837, 784, 752 cm^{-1}.

Struktura spoja **2d** potvrđena je indirektno derivatizacijom u spojeve **11d** i **12d**.

2.2.3. Sinteza 1-(trifenilmetil)imidazolidin-2-ona (3)

Količina reaktanta: 1,917 g (2-aminoetil)(trifenilmetil)amin hidrobromida. Sirovi produkt je pročišćen prekristalizacijom iz etanola.

Iskorištenje: 1,313 g (80 %).

t_t 224–225,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3258, 1698, 1488, 1394, 1258, 1220, 1032, 760, 710, 628, 560 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 7,36 (d, 6H, 3', 7', 9', 13', 15', 19', *J* = 7,94), 7,26 (t, 6H, 4', 6', 10', 12', 16', 18', *J* = 7,52, 8,06), 7,17 (t, 3H, 5', 11', 17', *J* = 7,31), 6,33 (s, 1H, 3, izmjenjiv s D_2O), 3,26 (t, 2H, 5, *J* = 7,69), 3,19 (t, 2H, 4, *J* = 7,31).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 161,40 (2), 143,26 (2', 8', 14'), 128,93 (4', 6', 10', 12', 16', 18'), 127,23 (3', 7', 9', 13', 15', 19'), 126,11 (5', 11', 17'), 72,50 (1'), 45,14 (5), 37,50 (4).

MS/MS (*m*/*z*): 243,2 (imidazolski fragment).

Elementarna analiza za $C_{22}H_{20}N_2O$ (328,41): C 80,46; H 6,14; N 8,53; nađeno: C 80,86; H 6,33; N 8,29.

2.2.4. Sinteza 1,3-*bis*[(fenil)(4-klorfenil)metil]uree (4b)

Smjesa 1-(*N*-arilkarbamoil)benzotriazola **2b** (0,100 g, 0,276 mmol), (fenil)(4-klorfenil) metanamin hidroklorida (0,077 g, 0,303 mmol) i TEA (0,112 g, 1,104 mmol) u dioksanu (2 mL) grijana je 3,5 h na 60 °C. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a sirovi produkt je otopljen u etil-acetatu (20 mL) i ekstrahiran 5 % otopinom NaOH (3 × 15 mL) te ispran vodom (3 × 15 mL). Čisti produkt **4b** kristalizirao je iz organskog sloja te je filtriran i prekristaliziran iz etanola. Urea **4b** je komercijalno dostupan spoj [134].

Iskorištenje: 0,094 g (74 %).

t_t 298–300 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3308, 1630, 1572, 1488, 1452, 1280, 1090, 1014, 849, 810, 754, 700 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 7,40–7,22 (m, 9H, 4'–8', 10', 11', 13', 14'), 6,96 (d, 1H, 1, 3, J = 8,30), 5,88 (d, 1H, 2', J = 8,10).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 156,22 (2), 142,91 (3'), 142,64 (9'), 131,33 (12'), 128,56–128,34 (5', 7', 10', 11', 13', 14'), 127,08 (6'), 126,86 (4', 8'), 56,38 (2').

MS/MS (m/z): 484,3 $(M + 23)^+$.

Elementarna analiza za $C_{27}H_{22}Cl_2N_2O$ (461,38): C 70,29; H 4,81; N 6,07; nađeno: C 69,96; H 4,45; N 6,45.

2.2.5. Sinteza karbamata 5. Opća metoda

Metoda A. Smjesa 1-(*N*-arilkarbamoil)benzotriazola **2** (0,146 mmol) i natrijevog etoksida (0,039 g, 0,574 mmol) u etanolu (3 mL) miješana je na sobnoj temperaturi 1 h.

Metoda B. Otopina 1-(*N*-arilkarbamoil)benzotriazola **2** (0,276 mmol) u etanolu (5 mL) refluksirana je 1 h. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a sirovi produkt je otopljen u etil-acetatu (20 mL) i ekstrahiran 5 % otopinom NaOH (3 × 15 mL) te ispran vodom (3 × 15 mL). Organski sloj je sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen.

Etil-*N*-(difenilmetil)-*N*-metilkarbamat (5a)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,050 g spoja **2a**. Sirovi produkt **5a** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat 4:1.

Iskorištenje: 0,037 g (95 %).

Ulje.

IR (film): ν_{max} 3030, 2980, 1698, 1448, 1398, 1306, 1170, 1142, 1004, 770, 736, 704 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 7,37–7,12 (m, 10H, 4'–8', 10'-14'), 6,52 (s, 1H, 2'), 4,11–4,06 (q, 2H, 2, J = 7,09), 2,64 (s, 3H, 1'), 1,19 (t, 3H, 1, J = 6,91).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 158,00 (3), 139,25 (3', 9'), 128,51–127.39 (4'–8', 10'–14'), 62,30 (2'), 61,08 (2), 30,96 (1'), 14,54 (1).

MS/MS (m/z): 292,2 $(M + 23)^+$.

Elementarna analiza za $C_{17}H_{19}NO_2$ (269,34): C 75,81; H 7,11; N 5,20; nađeno: C 75,50; H 6,88; N 5,56.

Etil-*N*-[(fenil)(4-klorfenil)metil]karbamat (5b)

Metoda B. Količina reaktanta: 0,100 g spoja **2b**. Sirovi produkt **5b** pročišćen je rastrljavanjem u eteru/petroleteru.

Iskorištenje: 0,063 g (79 %).

t_t 116–118 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3286, 1714, 1684, 1530, 1492, 1278, 1238, 1090, 1040, 848, 754, 700 cm^{-1}.

^1H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 8,21 (d, 1H, 4, izmjenjiv s D_2O, J = 7,44), 7,38–7,22 (m, 9H, 4'–8', 10', 11', 13', 14'), 5,87 (d, 1H, 2', J = 9,19), 4,03–4,00 (q, 2H, 2, J = 7,00), 1,17 (t, 3H, 1, J = 6,00).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 158,01 (3), 142,24, 141,79 (3', 9'), 131,50 (12'), 128,96–127,00 (4'–8', 10', 11', 13', 14'), 59,96 (2), 57,48 (2'), 14,58 (1).

MS/MS (m/z): 312,2 $(M + 23)^+$.

Elementarna analiza za $C_{16}H_{16}ClNO_2$ (289,76): C 66,32; H 5,57; N 4,83; nađeno: C 65,93; H 5,70; N 5,09.

2.2.6. Sinteza 4-arilsemikarbazida 6. Opća metoda

4-Arilsemikarbazidi sintetizirani su prema prilagođenom ranije objavljenom propisu [23,132,135]. Otopini hidrazin hidrata (1,202 g, 24,0 mmol) u dioksanu (2 mL) uz miješanje je dokapana otopina spoja **2** (4,0 mmol) u dioksanu (3 mL) tijekom 0,25 h. Nakon dokapavanja reakcijska smjesa je miješana 25 h na sobnoj temperaturi. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a sirovi produkt je otopljen u etil-acetatu (20 mL) i ekstrahiran 5 % otopinom NaOH (3 × 15 mL) te ispran vodom (3 × 15 mL). Organski sloj je sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen.

3-Amino-1-(difenilmetil)-1-metilurea (6a)

Količina reaktanta: 1,370 g spoja **2a**. Sirovi produkt **6a** pročišćen je rastrljavanjem u eteru/petroleteru.

Iskorištenje: 0,754 g (74 %).

t_t 105–108,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3320, 1626, 1496, 1318, 1188, 1024, 878, 738, 714, 608 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 7,62 (s, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O), 7,36 (t, 4H, 5', 7', 11', 13', J = 7,53), 7,31–7,28 (t, 2H, 6', 12', J = 7,25), 7,12 (d, 4H, 4', 8', 10', 14', J = 7,57), 6,74 (s, 1H, 2'), 3,96 (s, 2H, 1, izmjenjiv s D_2O), 2,58 (s, 3H, 1').

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 160,50 (3), 140,01 (3', 9'), 128,32 (5', 7', 11', 13'), 128,27 (4', 8', 10', 14'), 127,05 (6', 12'), 60,97 (2'), 30,19 (1').

MS/MS (m/z): 278,3 $(M + 23)^+$.

Elementarna analiza za $C_{15}H_{17}N_3O$ (255,31): C 70,56; H 6,71; N 16,46; nađeno: C 70,11; H 6,45; N 16,62.

3-Amino-1-[(fenil)(4-klorfenil)metil]urea (6b)

Količina reaktanta: 1,451 g spoja **2b**. Sirovi produkt **6b** pročišćen je rastrljavanjem u eteru.

Iskorištenje: 0,838 g (76 %).

t_t 148,5–150 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3408, 3334, 3218, 3082, 1662, 1634, 1560, 1566, 1472, 1096, 1016, 698 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 7,30–7,23 (m, 9H, arom.), 7,08 (s, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O), 7,01 (d, 1H, 4, izmjenjiv s D_2O, J = 8,56), 5,95 (d, 1H, 2', J = 8,56), 4,16 (s, 2H, 1, izmjenjiv s D_2O).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 159,21 (3), 142,94 (9'), 142,60 (3'), 131,32 (6'), 128,80–126,84 (4', 5', 7', 8', 10'–14'), 56,00 (2').

MS/MS (m/z): 276,2 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{14}H_{14}ClN_3O$ (275,73): C 60,98; H 5,12; N 15,24; nađeno: C 60,78; H 4,91; N 15,64.

2.2.7. Sinteza 1-(1-benzotriazolkarbonil)-4-arilsemikarbazida 7. Opća metoda

1-benzotriazolkarbonil-4-arilsemikarbazidi sintetizirani su prema ranije objavljenoj metodi [23, 135]. Otopini BtcCl (**1**) (0,131 g, 0,725 mmol) u bezvodnom toluenu (3 mL) uz miješanje je dokapana otopina spoja **6** (0,725 mmol) i TEA (0,073 g, 0,725 mmol) u bezvodnom dioksanu (5 mL) tijekom 0,25 h na vodenoj kupelji. Reakcijska smjesa je miješana 1 h na vodenoj kupelji. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a sirovi produkt je otopljen u etil-acetatu (20 mL) i ekstrahiran vodom (4 × 15 mL). Organski sloj je sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen.

***N*-{[(Difenilmetil)(metil)karbamoil]amino}-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karboksamid (7a)**

Količina reaktanta: 1,185 g spoja **6a**. Sirovi produkt **7a** pročišćen je prekristalizacijom iz toluena.

Iskorištenje: 0,238 g (82 %).

t_t 171,5–172,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3386, 3288, 1758, 1666, 1562, 1486, 1449, 1376, 1284, 1120, 1100, 1040, 875, 770, 750, 712, 698 cm^{-1}.

Struktura spoja **7a** potvrđena je indirektno, derivatizacijom u spoj **11a**.

***N*-({[(Fenil)(4-klorfenil)metil]karbamoil}amino)-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karboksamid (7b)**

Količina reaktanta: 0,200 g spoja **6b**. Sirovi produkt **7b** pročišćen je rastrljavanjem u eteru/petroleteru i prekristalizacijom iz acetona/vode.

Iskorištenje: 0,147 g (48 %).

t_t 161,5–162,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3358, 3294, 1754, 1664, 1572, 1492, 1448, 1236, 1016, 752 cm^{-1}.

Struktura spoja **7b** potvrđena je indirektno, derivatizacijom u spoj **11b**.

2.2.8. Sinteza benzotriazolida primakina 8 (*N*-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karboksamida)

Otopini BtcCl (**1**) (1,342 g, 7,42 mmol) i TEA (0,749 g, 7,42 mmol) u bezvodnom toluenu (30 mL) dokapana je otopina primakina (1,924 g, 7,42 mmol) u bezvodnom toluenu (20 mL) uz miješanje na ledenoj kupelji tijekom 0,25 h. Reakcijska smjesa je miješana 2 h na sobnoj temperaturi, nakon čega je ekstrahirana vodom (3 × 30 mL). Organski sloj je sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen. Čisti produkt dobiven je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat/metanol 30:10:5 i rastrljavanjem u eteru. IR spektar i talište benzotriazolida primakina **8** u potpunosti odgovaraju ranije sintetiziranom spoju [22].

2.2.9. Sinteza semikarbazida primakina 9 (3-amino-1-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}urea)

Otopina benzotriazolida primakina **8** (0,5 g, 1,24 mmol) i hidrazin hidrata (0,124 g, 2,48 mmol) u dioksanu (8 mL) miješana je 4 dana na sobnoj temperaturi u prisutnosti katalitičke količine natrijevog ditionita. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a sirovi produkt je otopljen u etil-acetatu (10 mL) i ekstrahiran 5 % otopinom NaOH (3 × 10 mL) te ispran vodom (3 × 15 mL). Organski sloj je sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen. Sirovi produkt **9** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 95:5. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **9**.

Iskorištenje: 0,320 g (81 %).

t_t 109–110,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3370, 3328, 2960, 2930, 1618, 1570, 1524, 1456, 1388, 1294, 1275, 1208, 1170, 1054, 900, 820, 795, 680, 623 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 8,54–8,53 (dd, 1H, 11, J = 1,65, 4,19), 8,09–8,06 (dd, 1H, 13, J = 1,63, 8,35), 7,44–7,41 (m, 1H, 12), 6,84 (s, 1H, 1", izmjenjiv s D_2O), 6,47 (s, 1H, 17), 6,34 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, J = 5,87), 6,26 (s, 1H, 15), 6,11 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, J = 8,75), 4,03 (s, 2H, 2", izmjenjiv s D_2O), 3,82 (s, 3H, 18), 3,63–3,57 (m, 1H, 6), 3,04–3,01 (q, 2H, 3, J = 5,78), 1,68–1,45 (m, 4H, 4, 5), 1,21 (d, 3H, 7, J = 6,33).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 160,23 (16), 159,00 (1), 144,63 (9), 144,28 (11), 134,80 (13), 134,51 (10), 129,57 (14), 122,11 (12), 96,09 (17), 91,59 (15), 54,98 (18), 47,05 (6), 38,88 (3), 33,44 (5), 27,00 (4), 20,20 (7).

MS/MS (m/z): 318,2 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{16}H_{23}N_5O_2$ (317,39): C 60,55; H 7,30; N 22,07; nađeno: C 60,72; H 7,00; N 21,77.

2.2.10. Sinteza benzotriazolida semikarbazida primakina 10 (*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karboksamid)

Otopini BtcCl (**1**) (0,091 g, 0,5 mmol) u bezvodnom dioksanu (3 mL) dokapana je otopina semikarbazida primakina **9** (0,159 g, 0,5 mmol) i TEA (0,051 g, 0,5 mmol) u dioksanu (3 mL) uz miješanje na vodenoj kupelji tijekom 0,1 h. Reakcijska smjesa je miješana 1 h na

sobnoj temperaturi. Otopina sirovog spoja **10** korištena je bez pročišćavanja u sintezi spojeva **11a**,**b**,**e**,**f**,**h-l**.
Struktura spoja **10** potvrđena je indirektno, derivatizacijom u spojeve **11**.

2.2.11. Sinteza *bis*-urea primakina (1-primakinkarbonil-4-supstituiranih semikarbazida) 11a-l. Opća metoda

Metoda A. Metoda A za sintezu *bis*-urea primakina (1-primakinkarbonil-4-supstituiranih semikarbazida) prilagođena je prema ranije objavljenom propisu [23]. Otopina primakina[2] (0,182 g, 0,7 mmol), spoja **7** (0,7 mmol) i TEA (0,209 g, 2,1 mmol) u dioksanu (10 mL) miješana je 18,5 h na sobnoj temperaturi. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a sirovi produkt je otopljen u etil-acetatu (10 mL), ekstrahiran 5 % NaOH (3 × 10 mL) te ispran vodom (3 × 15 mL). Organski sloj je sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen.

Metoda B. Otopini spoja **10** (0,232 g, 0,5 mmol) u dioksanu (6 mL) uz miješanje je dokapana otopina amina ili odgovarajuće soli amina (0,5 mmol) i TEA (0,101 g, 1 mmol) u dioksanu (6 mL) tijekom 0,25 h. Reakcijska smjesa je miješana 2–24 h na sobnoj temperaturi. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a sirovi produkt je otopljen u etil-acetatu (10 mL), ekstrahiran 5 % NaOH (3 × 10 mL) te ispran vodom (3 × 15 mL). Organski sloj je sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen.

Metoda C. Otopina semikarbazida primakina **9** (0,095 g, 0,3 mmol), TEA (0,045 g, 0,45 mmol) i spoja **2c** ili **2d** (0,3 mmol) u dioksanu (7 mL) miješana je 1 h na sobnoj temperaturi. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a sirovi produkt je otopljen u etil-acetatu (10 mL), ekstrahiran 5 % NaOH (3 × 10 mL) te ispran vodom (3 × 15 mL). Organski sloj je sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen.

Metoda D. Otopina semikarbazida primakina **9** (0,254 g, 0,8 mmol) i 2-(trifluormetil)-4-izocijanato-1-klorbenzena (0,266 g, 1,2 mmol) u toluenu (8 mL) miješana je 24 h na sobnoj temperaturi u prisutnosti katalitičke količine natrijevog ditionita. Reakcijska smjesa je filtrirana, a otapalo je upareno pod sniženim tlakom.

[2] Primakin je oslobođen iz soli primakin difosfata na sljedeći način: otopina primakin difosfata u vodi zalužena je 5 % otopinom NaOH do pH 10–11 te ekstrahirana diklormetanom. Organski sloj je ispran vodom do pH 7, sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen pod sniženim tlakom.

3-{[(Difenilmetil)(metil)karbamoil]amino}-1-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil} urea (11a)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,208 g spoja **7a**. Sirovi produkt **11a** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 95:5. Rastrljavanjem u petroleteru dobiven je čisti produkt **11a**.

Iskorištenje: 0,201 g (54 %).

Metoda B. Količina reaktanta: 0,099 g *N*-metil-1,1-difenilmetanamina. Sirovi produkt **11a** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 95:5. Rastrljavanjem u petroleteru dobiven je čisti produkt **11a**.

Trajanje reakcije: 20 h.

Iskorištenje: 0,157 g (58 %).

t_t 79–82 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3294, 2934, 1642, 1520, 1454, 1424, 1388, 1336, 1220, 1158, 850, 690, 720, 702 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 8,54–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,72, 4,27), 8,29 (s, 1H, 2", izmjenjiv s D_2O), 8,09–8,06 (dd, 1H, 13, *J* = 1,76, 8,29), 7,44–7,41 (m, 1H, 12), 7,37–7,12 (m, 11H, 4'–8',10'–14', 1", izmjenjiv s D_2O), 6,69 (s, 1H, 2'), 6,48 (s, 1H, 17), 6,31 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, *J* = 5,59), 6,27 (s, 1H, 15), 6,11 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,70), 3,82 (s, 3H, 18), 3,64–3,56 (m, 1H, 6), 3,07–3,01 (q, 2H, 3, *J* = 6,02, 9,79), 2,65 (s, 3H, 1'), 1,65–1,40 (m, 4H, 4, 5), 1,20 (d, 3H, 7, *J* = 6,28).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 159,00, 158,99 (16, 3"), 158,49 (1), 144,62 (9), 144,23 (11), 139,74 (3', 9'), 134,79 (13), 134,51 (10), 129,57 (14), 128,34, 127,12 (4'–8', 10'–14'), 122,09 (12), 96,09 (17), 91,58 (15), 61,11 (2'), 54,98 (18), 47,02 (6), 39,29 (3), 33,38 (5), 30,51 (1'), 26,83 (4), 20,20 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 541,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{31}H_{36}N_6O_3$ (540,66): C 68,87; H 6,71; N 15,54; nađeno: C 70,24; H 6,76; N 15,11.

3-({[(Fenil)(4-klorfenil)metil]karbamoil}amino)-1-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino] pentil}urea (11b)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,295 g spoja **7b**. Sirovi produkt **11b** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te

pokretnu fazu diklormetan/metanol 95:5. Rastrljavanjem u eteru/petroleteru dobiven je čisti produkt **11b**.

Iskorištenje: 0,232 g (59 %).

Metoda B. Količina reaktanta: 0,127 g (fenil)(4-klorfenil)metanamin hidroklorida. Sirovi produkt **11b** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 95:5. Rastrljavanjem u petroleteru dobiven je čisti produkt **11b**.

Trajanje reakcije: 18 h.

Iskorištenje: 0,177 g (63 %).

t_t 96–98 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3302, 3086, 2936, 1656, 1572, 1520, 1492, 1388, 1220, 1158, 840, 790, 700 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 8,55–8,53 (dd, 1H, 11, J = 1,35, 4,09), 8,10–8,07 (dd, 1H, 13, J = 1,29, 8,29), 7,66 (s, 1H, 2", izmjenjiv s D_2O), 7,57 (s, 1H, 1", izmjenjiv s D_2O), 7,45–7,13 (m, 10H, 4', 5', 7', 8', 10'–14', 12), 7,10 (d, 1H, 4", izmjenjiv s D_2O, J = 8,50), 6,49 (s, 1H, 17), 6,37 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, J = 5.21), 6,28 (s, 1H, 15), 6,12 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, J = 8,58), 5,95 (d, 1H, 2', J = 8,30), 3,83 (s, 3H, 18), 3,67–3,53 (m, 1H, 6), 3,10–2,95 (m, 2H, 3), 1,70–1,36 (m, 4H, 4, 5), 1,20 (d, 3H, 7, J = 6,19).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 159,50 (3"), 159,09 (16), 158,32 (1), 145,13 (9), 144,71 (11), 143,04 (9'), 142,68 (3'), 135,26 (13), 135,02 (10), 131,87 (6'), 130,06 (14), 129,50–127,34 (4', 5', 7', 8', 10'–14'), 122,56 (12), 96,58 (17), 92,13 (15), 56,62 (2'), 55,46 (18), 47,55 (6), 39,61 (3), 33,87 (5), 27,17 (4), 20,66 (7).

Elementarna analiza za $C_{30}H_{33}ClN_6O_3$ (561,07): C 64,22; H 5,93; N 14,98; nađeno: C 64,28; H 6,13; N 14,60.

1-{[(Fenil)(4-metoksifenil)metilen]amino}-3-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil} karbamoil)amino]urea (11c)

Metoda C. Količina reaktanta: 0,111 g spoja **2c**. Sirovi produkt **11c** pročišćen je rastrljavanjem u eteru.

Iskorištenje: 0,133 g (78 %).

t_t 107–108 °C (raspad).

IR (KBr): ν_{max} 3346, 3060, 2962, 2934, 1686, 1613, 1576, 1519, 1457, 1388, 1251, 1169, 1111, 1030, 822, 791, 774 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 8,67 (s, 1H, 4", izmjenjiv s D_2O), 8,53–8,52 (dd, 1H, 11, J = 1,44, 4,15), 8,47 (s, 1H, 2", izmjenjiv s D_2O), 8,09–8,05 (dd, 1H, 13, J = 1,44, 8,30), 7,61–7,11 (m, 8H, 4', 5', 8', 10'–14'), 7,53 (d, 1H, 1", izmjenjiv s D_2O, J = 5,59), 7,48–7,46 (q, 1H, 12, J = 3,83, 4,31), 6,90 (d, 1H, 7', J = 8,94), 6,47 (s, 1H, 17), 6,35 (s, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O), 6,27 (s, 1H, 15), 6,11 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, J = 8,78), 3,83 (s, 3H, 15'), 3,82 (s, 3H, 18), 3,68–3,57 (m, 1H, 6), 3,04–3,03 (m, 2H, 3), 1,67–1,40 (m, 4H, 4, 5), 1,26 (d, 3H, 7, J = 6,39).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 160,03 (6'), 159,81 (3''), 158,97 (16), 158,57 (1), 154,96 (2'), 144,61 (9), 144,21 (11), 137,47 (9'), 134,77 (13), 134,49 (10), 129,53 (14), 129,55, 128,14, 127,06 (4', 8', 10', 11', 13', 14'), 128,24 (12'), 123,66 (3'), 122,07 (12), 114,98 (5', 7'), 96,07 (17), 91,57 (15), 55,18 (15'), 54,95 (18), 47,01 (6), 39,32 (3), 33,39 (5), 26,72 (4), 20,19 (7).

MS/MS (m/z): 570,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{31}H_{35}N_7O_4$ (569,65): C 65,36; H 6,19; N 17,21; nađeno: C 65,72; H 6,00; N 16,87.

1-{[*Bis*(4-metoksifenil)metilen]amino}-3-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil} karbamoil)amino]urea (11d)

Metoda C. Količina reaktanta: 0,120 g spoja **2d**. Sirovi produkt **11d** pročišćen je rastrljavanjem u eteru.

Iskorištenje: 0,142 g (79 %).

t_t 117,5–120 °C (raspad).

IR (KBr): ν_{max} 3344, 2933, 2837, 1683, 1610, 1575, 1516, 1456, 1422, 1387, 1337, 1303, 1251, 1167, 1110, 1030, 837, 822, 791 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 8,60 (s, 1H, 4", izmjenjiv s D_2O), 8,53–8,52 (dd, 1H, 11, J = 1,68, 4,15), 8,27 (s, 1H, 2", izmjenjiv s D_2O), 8,07–8,06 (dd, 1H, 13, J = 1,50, 8,24), 7,52 (s, 1H, 1", izmjenjiv s D_2O), 7,49 (d, 2H, 4', 8', J = 8,76), 7,42–7,40 (q, 1H, 12, J = 4,14), 7,17, 7,11 (2d, 4H, 10', 11', 13', 14', J = 8,70), 6,89 (d, 2H, 5', 7', J = 8,94), 6,46 (s, 1H, 17), 6,36 (s, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O), 6,26 (s, 1H, 15), 6,11 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, J = 8,70), 3,79 (s, 3H, 18), 3,78 (s, 3H, 16'), 3,76 (s, 3H, 15'), 3,65–3,60 (m, 1H, 6), 3,09–3,01 (m, 2H, 3), 1,65–1,46 (m, 4H, 4, 5), 1,20 (d, 3H, 7, J = 6,31).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 160,02, 159,79 (6', 12'), 159,00 (3", 16), 158,57 (1), 155,02 (2'), 144,64 (9), 144,21 (11), 134,75 (13), 134,52 (10), 130,09 (14), 129,77, 128,57 (4', 8', 10', 14'), 123,87, 129,55 (3', 9'), 122,04 (12), 114,96, 113,58 (5', 7', 11', 13'), 96,09 (17), 91,66 (15), 55,20 (15', 16'), 54,97 (18), 47,06 (6), 39,21 (3), 33,44 (5), 26,70 (4), 20,20 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 600,2 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{32}H_{37}N_7O_5$ (599,68): C 64,09; H 6,22; N 16,35; nađeno: C 63,75; H 6,33; N 16,65.

1-[({4-[(6-Metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-3-{2-[(trifenilmetil) amino]etil}urea (11e)

Metoda B. Količina reaktanta: 0,181 g (0,473 mmol) (2-aminoetil)(trifenilmetil)amin hidrobromida. Sirovi produkt **11e** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 95:5. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **11e**.

Trajanje reakcije: 20 h.

Iskorištenje: 0,178 g (58 %).

t_t 109,5–110 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3374, 3306, 3228, 2932, 1662, 1620, 1544, 1520, 1454, 1388, 1220, 1200, 1158, 850, 790, 770, 749, 708 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 8,53 (d, 1H, 11, *J* = 7,85), 8,07 (d, 1H, 13, *J* = 8,40), 7,53 (s, 1H, 2", izmjenjiv s D_2O), 7,49 (s, 1H, 1", izmjenjiv s D_2O), 7,44–7,14 (m, 16H, 12, 7'–11', 13'–17', 19'–23'), 6,47 (s, 1H, 17), 6,40 (t, 1H, 1', izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,13), 6,33 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, *J* = 6,48, 7,21), 6,24 (s, 1H, 15), 6,09 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,22), 3,82 (s, 3H, 18), 3,61–3,56 (m, 1H, 6), 3,17–3,12 (q, 2H, 2', *J* = 6,11), 3,03–2,98 (q, 2H, 3, *J* = 6,48), 2,77 (t, 1H, 4', izmjenjiv s D_2O, *J* = 7,21), 2,06–2,00 (q, 2H, 3', *J* = 5,75, 7,58), 1,62–1,42 (m, 4H, 4, 5), 1,16 (d, 3H, 7, *J* = 4,29).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 158,98 (16), 158,63 (3"), 158,61 (1), 146,10 (6', 12', 18'), 144,61 (9), 144,22 (11), 134,78 (13), 134,50 (10), 129,56 (14), 128,39–125,96 (7'–11', 13'–17', 19'–23'), 122,09 (12), 96,06 (15), 91,56 (17), 70,17 (5'), 65,05 (2'), 54,97 (18), 46,99 (6), 43,87 (3'), 39,79 (3), 33,33 (5), 26,64 (4), 20,15 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 646,4 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{38}H_{43}N_7O_3$ (645,79): C 70,67; H 6,71; N 15,18; nađeno: C 70,29; H 6,61; N 15,57.

3-{4-[(6-Metoksikinolin-8-il)amino]pentil}-1-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil} karbamoil)amino]urea (11f)

Metoda B. Količina reaktanta: 0,225 g primakin difosfata. Sirovi produkt **11f** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te

pokretnu fazu diklormetan/metanol/petroleter/etil-acetat 9:1:5:5. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **11f**.

Trajanje reakcije: 2 h.

Iskorištenje: 0,151 g (68 %).

t_t 135–136,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3306, 3228, 3084, 2936, 1662, 1616, 1576, 1521, 1456, 1388, 1220, 1202, 1158, 1051, 821, 791 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 8,53–8,51 (dd, 1H, 11, *J* = 1,55, 4,14), 8,07–8,05 (dd, 1H, 13, *J* = 1,58, 8,26), 7,45 (s, 1H, 1", 2", izmjenjiv s D_2O), 7,42–7,40 (q, 1H, 12, *J* = 4,14), 6,46 (s, 1H, 17), 6,31 (t, 1H, 2, 4", izmjenjiv s D_2O, *J* =5,66), 6,25 (s, 1H, 15), 6,09 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,66), 3,82 (s, 3H, 18), 3,60–3,57 (m, 1H, 6), 3,04–3,00 (m, 2H, 3), 1,61–1,44 (m, 4H, 4, 5), 1,18 (d, 3H, 7, *J* = 6,28).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 159,48 (16), 159,09 (1), 145,12 (9), 144,69 (11), 135,25 (13), 135,00 (10), 130,04 (14), 122,55 (12), 96,55 (17), 92,09 (15), 55,45 (18), 47,53 (6), 39,58 (3), 33,84 (5), 27,12 (4), 20,66 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 603,4 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{32}H_{42}N_8O_4$ (602,73): C 63,77; H 7,02; N 18,59; nađeno: C 63,98; H 7,42; N 18,69.

1-({[3-(Trifluormetil)-4-klorfenil]karbamoil}amino)-3-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino] pentil}urea (11g)

Metoda D. Količina reaktanta: 0,254 g primakin semikarbazida **9** i 0,266 g 2-(trifluormetil)-4-izocijanato-1-klorbenzena. Sirovi produkt **11g** pročišćen je prekristalizacijom iz petroletera/acetona.

Iskorištenje: 0,221 g (51 %).

t_t 109–111 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3250, 3131, 2964, 2930, 1684, 1617, 1595, 1542, 1517, 1424, 1387, 1324, 1261, 1134, 1032, 906, 827, 792 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 9,14 (s, 1H, 4", izmjenjiv s D_2O), 8,51–8,50 (dd, 1H, 11, *J* = 1,49, 4,11), 8,12 (s, 1H, 3'), 8,10 (s, 1H, 2", izmjenjiv s D_2O), 8,06–8,04 (dd, 1H, 13, *J* = 1,35, 8,23), 7,81 (d, 1H, 7', *J* = 7,28), 7,65 (s, 1H, 1", izmjenjiv s D_2O), 7,52 (d, 1H, 6', *J* = 8,83), 7,41–7,39 (q, 1H, 12, *J* = 4,16), 6,49 (s, 1H, 2), 6,45 (s, 1H, 17), 6,24 (s, 1H, 15), 6,08 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,73), 3,80 (s, 3H, 18), 3,63–3,59 (m, 1H, 6), 3,06–3,03 (m, 2H, 3), 1,66–1,46 (m, 4H, 4, 5), 1,18 (d, 3H, 7, *J* = 6,29).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 159,00 (16), 158,42 (3"), 155,98 (1), 144,64 (9), 144,20 (11), 139,50 (2'), 134,75 (13), 134,51 (10), 131,65 (8'), 129,56 (14), 123,40 (5'), 123,30 (6'), 122,14 (4'), 122,04 (12), 117,50 (3', 7'), 96,07 (17), 91,64 (15), 54,96 (18), 47,07 (6), 39,27 (3), 33,43 (5), 26,61 (4), 20,19 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 539,2 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{24}H_{26}ClF_3N_6O_3$ (538,95): C 53,48; H 4,86; N 15,59; nađeno: C 53,04; H 4,72; N 15,73.

3-(2-Hidroksietil)-1-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]urea (11h)

Metoda B. Količina reaktanta: 0,046 g (0,75 mmol) 2-aminoetanola. Sirovi produkt **11h** pročišćen je bez prethodne ekstrakcije kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 9:1. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **11h**.

Trajanje reakcije: 24 h.

Iskorištenje: 0,085 g (42 %).

t_t 196,5–197,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3300, 3093, 2927, 2855, 1662, 1616, 1558, 1520, 1456, 1422, 1387, 1334, 1219, 1200, 1157, 1071, 1051, 819, 790 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 8,54–8,53 (dd, 1H, 11, J = 1,57, 4,17), 8,09–8,05 (dd, 1H, 13, J = 1,46, 8,28), 7,58 (s, 1H, 2", izmjenjiv s D_2O), 7,49 (s, 1H, 1", izmjenjiv s D_2O), 7,44–7,40 (q, 1H, 12, J = 4,18), 6,47 (s, 1H, 17), 6,37 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, J = 5,59), 6,26–6,23 (m, 2H, 15, 4", izmjenjiv s D_2O), 6,10 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, J = 8,70), 4,61 (t, 1H, 4', izmjenjiv s D_2O, J = 5,35), 3,82 (s, 3H, 18), 3,64–3,58 (m, 1H, 6), 3,41–3,35 (q, 2H, 3', J = 5,99), 3,11–3,02 (m, 4H, 2', 3), 1,66–1,42 (m, 4H, 4, 5), 1,20 (d, 3H, 7, J = 6,28).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 159,49 (16), 159,25 (3"), 159,12 (1), 145,14 (9), 144,71 (11), 135,26 (13), 135,01 (10), 130,05 (14), 122,56 (12), 96,57 (17), 92,11 (15), 60,95 (3'), 55,47 (18), 47,55 (6), 42,39 (2'), 39,62 (3), 33,88 (5), 27,14 (4), 20,69 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 405,2 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{19}H_{28}N_6O_4$ (404,46): C 56,42; H 6,98; N 20,78; nađeno: C 56,77; H 7,12; N 20,45.

3-(3-Hidroksipropil)-1-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]penil}karbamoil)amino]urea (11i)

Metoda B. Količina reaktanta: 0,056 g (0,75 mmol) 3-aminopropanola. Sirovi produkt **11i** pročišćen je bez prethodne ekstrakcije kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 9:1. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **11i**.

Trajanje reakcije: 19 h.

Iskorištenje: 0,111 g (53 %).

t_t 191–193,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3302, 3226, 3092, 2934, 1661, 1616, 1575, 1558, 1520, 1456, 1423, 1387, 1329, 1220, 1200, 1158, 1052, 1032, 820, 790 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 8,54–8,53 (dd, 1H, 11, J = 1,61, 4,18), 8,09–8,05 (dd, 1H, 13, J = 1,55, 8,29), 7,51 (s, 1H, 2", izmjenjiv s D_2O), 7,49 (s, 1H, 1", izmjenjiv s D_2O), 7,44–7,40 (q, 1H, 12, J = 4,19), 6,47 (s, 1H, 17), 6,37 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, J = 5,60), 6,33 (t, 1H, 4", izmjenjiv s D_2O, J = 5,84), 6,28 (s, 1H, 15), 6,10 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, J = 8,76), 4,39 (t, 1H, 5', izmjenjiv s D_2O, J = 5,11), 3,82 (s, 3H, 18), 3,65–3,58 (m, 1H, 6), 3,43–3,37 (q, 2H, 4', J = 5,60, 6,08), 3,10–3,03 (m, 4H, 2', 3), 1,66–1,42 (m, 6H, 3', 4, 5), 1,20 (d, 3H, 7, J = 6,33).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 159,49 (16), 159,29 (3"), 159,10 (1), 145,13 (9), 144,71 (11), 135,26 (13), 135,01 (10), 130,05 (14), 122,56 (12), 96,57 (17), 92,11 (15), 58,88 (4'), 55,47 (18), 47,55 (6), 39,61 (3), 36,81 (2'), 33,88 (5), 33,36 (3'), 27,14 (4), 20,69 (7).

MS/MS (m/z): 419,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{20}H_{30}N_6O_4$ (418,49): C 57,40; H 7,23; N 20,08; nađeno: C 56,99; H 7,29; N 20,39.

3-(5-Hidroksipentil)-1-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]urea (11j)

Metoda B. Količina reaktanta: 0,077 g (0,75 mmol) 5-aminopentanola. Sirovi produkt **11j** pročišćen je bez prethodne ekstrakcije kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 9:1. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **11j**.

Trajanje reakcije: 24 h.

Iskorištenje: 0,123 g (55 %).

t_t 167,5–169,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3302, 3226, 3090, 2935, 2860, 1661, 1616, 1575, 1558, 1520, 1456, 1423, 1387, 1330, 1219, 1201, 1159, 1134, 1051, 1032, 821, 790 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 8,54–8,53 (dd, 1H, 11, J = 1,57, 4,15), 8,09–8,06 (dd, 1H, 13, J = 1,43, 8,29), 7,49 (s, 1H, 2", izmjenjiv s D_2O), 7,47 (s, 1H, 1", izmjenjiv s D_2O), 7,44–7,40 (q, 1H, 12, J = 4,20), 6,47 (s, 1H, 17), 6,36 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, J = 5,57), 6,28–6,25 (m, 2H, 15, 4", izmjenjiv s D_2O), 6,11 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, J = 8,71), 4,32 (t, 1H, 7', izmjenjiv s D_2O, J = 5,15), 3,82 (s, 3H, 18), 3,64–3,57 (m, 1H, 6), 3,39–3,33 (q, 2H, 6', J = 5,62, 6,29), 3,04–2,94 (m, 4H, 2', 3), 1,66–1,42 (m, 4H, 4, 5), 1,42–1,19 (m, 6H, 3'–5'), 1,20 (d, 3H, 7, J = 6,21).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 159,47 (16), 159,13 (3"), 159,08 (1), 145,11 (9), 144,71 (11), 135,27 (13), 134,99 (10), 130,05 (14), 122,57 (12), 96,54 (17), 92,05 (15), 61,13 (6'), 55,46 (18), 47,51 (6), 39,57 (2'), 39,61 (3), 33,83 (5), 32,74 (5'), 30,20 (3'), 27,14 (4), 23,27 (4'), 20,69 (7).

MS/MS (m/z): 447,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{22}H_{34}N_6O_4$ (446,54): C 59,17; H 7,67; N 18,82; nađeno: C 59,56; H 7,43; N 18,60.

3-{[*Bis*(2-hidroksietil)karbamoil]amino}-1-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}urea (11k)

Metoda B. Količina reaktanta: 0,079 g (0,75 mmol) dietanolamina. Sirovi produkt **11k** pročišćen je bez prethodne ekstrakcije kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 9:1. Rastrljavanjem u eteru dobiven je smolasti talog konačnog produkta **11k**.

Trajanje reakcije: 18 h.

Iskorištenje: 0,191 g (85 %).

Smola.

IR (film): ν_{max} 3330, 2936, 1616, 1576, 1520, 1456, 1387, 1220, 1167, 1051, 822, 791 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 8,55–8,53 (dd, 1H, 11, J = 1,16, 4,14), 8,09–8,05 (dd, 1H, 13, J = 1,16, 8,27), 8,03 (s, 1H, 2", izmjenjiv s D_2O), 7,44–7,40 (q, 1H, 12, J = 4,14), 7,23 (s, 1H, 1", izmjenjiv s D_2O), 6,47 (s, 1H, 17), 6,35 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, J = 5,46), 6,26 (s, 2H, 15), 6,11 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, J = 8,77), 4,85 (t, 2H, 4', izmjenjiv s D_2O, J = 4,63), 3,82 (s, 3H, 18), 3,66–3,54 (m, 1H, 6), 3,52–3,47 (q, 4H, 3', J = 5,46), 3,34–3,30 (q, 4H, 2' J = 5,36), 3,03–2,99 (q, 2H, 3, J = 5,62, 7,94), 1,55–1,44 (m, 4H, 4, 5), 1,20 (d, 3H, 7, J = 6,29).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 159,48 (16), 159,47 (3"), 158,84 (1), 145,10 (9), 144,73 (11), 135,27 (13), 134,98 (10), 130,05 (14), 122,58 (12), 96,57 (17), 92,08 (15), 60,16 (3'), 55,46 (18), 50,14 (2'), 47,49 (6), 39,50 (3), 33,87 (5), 27,24 (4), 20,67 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 449,2 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{21}H_{32}N_6O_5$ (448,52): C 56,24; H 7,19; N 18,74; nađeno: C 55,86; H 7,01; N 19,02.

3-({[1,3-Dihidroksi-2-(hidroksimetil)propan-2-il]karbamoil}amino)-1-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}urea (11l)

Metoda B. Količina reaktanta: 0,091 g (0,75 mmol) trometamina. Sirovi produkt **11l** pročišćen je bez prethodne ekstrakcije kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 9:1. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **11l**.

Trajanje reakcije: 24 h.

Iskorištenje: 0,109 g (47 %).

t_t 112–115 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3320, 2936, 1654, 1617, 1576, 1521, 1457, 1423, 1388, 1221, 1202, 1159, 1052, 1031, 822, 791 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 8,54 (d, 1H, 11, *J* = 2,89), 8,07 (d, 1H, 13, *J* = 7,59), 7,87 (s, 1H, 2", izmjenjiv s D_2O), 7,58 (s, 1H, 1", izmjenjiv s D_2O), 7,44–7,40 (q, 1H, 12, *J* = 3,69, 4,70), 6,47 (s, 1H, 17), 6,46 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, *J* = 2,61), 6,26 (s, 1H, 15), 6,10 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,40), 5,97 (s, 1H, 4", izmjenjiv s D_2O), 4,84 (t, 3H, 4', izmjenjiv s D_2O, *J* = 5,57), 3,82 (s, 3H, 18), 3,64–3,60 (m, 1H, 6), 3,48 (d, 6H, 3', *J* = 5,58), 3,06–2,96 (m, 2H, 3), 1,62–1,52 (m, 4H, 4, 5), 1,20 (d, 3H, 7, *J* = 6,14).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 159,56 (16), 159,49 (3"), 159,05 (1), 145,15 (9), 144,72 (11), 135,26 (13), 135,01 (10), 130,05 (14), 122,56 (12), 96,58 (17), 92,12 (15), 61,37 (3'), 60,91 (2'), 55,47 (18), 47,53 (6), 39,61 (3), 33,85 (5), 27,10 (4), 20,69 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 465,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{21}H_{32}N_6O_6$ (464,52): C 54,30; H 6,96; N 18,09; nađeno: C 53,99; H 6,76; N 18,32.

2.2.12. Sinteza derivata primakina 12a-g. Opća metoda

Metoda A. Otopina benzotriazolida primakina **8** (0,162 g, 0,4 mmol), TEA (0,061 g, 0,6 mmol) i odgovarajućeg amina (0,6 mmol) u diklormetanu (2 mL) grijana je 1–1,33 h na 65 °C u mikrovalnom reaktoru u prisutnosti nekoliko miligrama natrijevog ditionita. Zatim je reakcijska smjesa razrijeđena diklormetanom (10 mL), ekstrahirana 5 % otopinom NaOH (3 × 10 mL) te isprana vodom (3 × 15 mL). Organski sloj je sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen. Ako je odgovarajući amin bio u obliku soli, dodana je dodatna količina TEA (0,6 mmol, odnosno 1,2 mmol kod primakin-difosfata).

Metoda B. Otopina primakina (0,130 g, 0,5 mmol), TEA (0,076 g, 0,75 mmol) i odgovarajućeg 1-(*N*-arilkarbohidrazoil)benzotriazola **2c** ili **2d** (0,5 mmol) u dioksanu (10 mL) miješana je 1,5 h na sobnoj temperaturi u prisutnosti nekoliko miligrama natrijevog ditionita. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a sirovi produkt je otopljen u etil-acetatu (15 mL), ekstrahiran 5 % otopinom NaOH (3 × 10 mL) te ispran vodom (3 × 15 mL). Organski sloj je sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen.

Metoda C. Otopina primakina (0,194 g, 0,75 mmol) i 2-(trifluormetil)-4-izocijanato-1-klorbenzena (0,138 g, 0,62 mmol) u toluenu (8 mL) miješana je 24 h na sobnoj temperaturi. Reakcijska smjesa je filtrirana i uparena pod sniženim tlakom.

1-(Difenilmetil)-3-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}-1-metilurea (12a)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,118 g *N*-metil-1,1-difenilmetanamina. Sirovi produkt **12a** pročišćen je rastrljavanjem u eteru.

Trajanje reakcije: 1 h.

Iskorištenje: 0,134 g (69 %).

t_t 124–126 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3363, 2930, 1624, 1578, 1524, 1454, 1388, 1320, 1222, 1200, 1168, 840, 790, 745, 706 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 8,55–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,63, 4,19), 8,09–8,07 (dd, 1H, 13, *J* = 1,60, 8,29), 7,44–7,41 (m, 1H, 12), 7,37–7,08 (m, 10H, 4'–8', 10'–14'), 6,74 (s, 1H, 2'), 6,48–6,46 (m, 2H, 2, 17, izmjenjiv s D_2O), 6,27 (d, 1H, 15, *J* = 2,46), 6,12 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,68), 3,81 (s, 3H, 18), 3,66–3,59 (m, 1H, 6), 3,14–3,06 (m, 2H, 3), 2,57 (s, 3H, 1'), 1,69–1,48 (m, 4H, 4, 5), 1,21 (d, 3H, 7, *J* = 6,29).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 159,00 (16), 158,08 (1), 144,61 (9), 144,22 (11), 140,30 (3', 9'), 134,78 (13), 134,53 (10), 129,56 (14), 128,31–128,22 (4'–8', 10'–14'), 122,09 (12), 96,07 (17), 91,55 (15), 60,64 (2'), 54,96 (18), 47,04 (6), 40,30 (3), 33,32 (5), 30,65 (1'), 26,67 (4), 20,21 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 483,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{30}H_{34}N_4O_2$ (482,62): C 74,66; H 7,10; N 11,61; nađeno: C 75,04; H 7,44; N 11,19.

1-[(Fenil)(4-klorfenil)metil]-3-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}urea (12b)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,152 g (fenil)(4-klorfenil)metanamin hidroklorida. Sirovi produkt **12b** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 98:2. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **12b**.

Trajanje reakcije: 1,33 h.

Iskorištenje: 0,190 g (95 %).

t_t 135–137 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3346, 2938, 1632, 1576, 1520, 1490, 1476, 1424, 1388, 1220, 1200, 1166, 1095, 824, 795, 751, 700 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 8,54–8,53 (dd, 1H, 11, J = 1,64, 4,20), 8,09–8,06 (dd, 1H, 13, J = 1,62, 8,30), 7,44–7,42 (m, 1H, 12), 7,37–7,20 (m, 9H, 4', 5', 7', 8', 10'–14'), 6,81 (d, 1H, 1', izmjenjiv s D_2O, J = 8,41), 6,48 (s, 1H, 17), 6,26 (d, 1H, 15, J = 2,49), 6,12 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, J = 8,80), 5,92 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, J = 5,54), 5,88 (d, 1H, 2', J = 8,34), 3,80 (s, 3H, 18), 3,65–3,58 (m, 1H, 6), 3,08–3,00 (q, 2H, 3, J = 5,84, 6,72), 1,68–1,42 (m, 4H, 4, 5), 1,20 (d, 3H, 7, J = 6,30).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 158,99 (16), 157,14 (1), 144,61 (9), 144,30 (11), 143,14 (9'), 142,88 (3'), 134,79 (13), 134,50 (10), 131,20 (6'), 129,57 (14), 128,76–126,89 (4', 5', 7', 8', 10'–14'), 122,10 (12), 96,09 (17), 91,63 (15), 56,26 (2'), 54,97 (18), 47,03 (6), 39,23 (3), 33,47 (5), 26,85 (4), 20,20 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 503,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{29}H_{31}ClN_4O_2$ (503,04): C 69,24; H 6,21; N 11,14; nađeno: C 68,85; H 6,25; N 11,50.

1-{[(Fenil)(4-metoksifenil)metilen]amino}-3-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil} urea (12c)

Metoda B. Količina reaktanta: 0,186 g spoja **2c**. Sirovi produkt **12c** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol/cikloheksan/etil-acetat 9:1:5:5.

Iskorištenje: 0,158 g (62 %).

Ulje.

IR (film): ν_{max} 3354, 3050, 2935, 2835, 1694, 1682, 1615, 1575, 1506, 1456, 1424, 1386, 1336, 1250, 1171, 1110, 1031, 822, 792, 774, 735 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 8,54–8,52 (dd, 1H, 11, J = 1,60, 4,17), 8,09–8,05 (dd, 1H, 13, J = 1,51, 8,32), 7,94 (s, 1H, 1", izmjenjiv s D_2O), 7,59–6,88 (m, 10H, 2, 4', 5', 7', 8', 10'–14'), 7,44–7,40 (q, 1H, 12, J = 4,20), 6,47 (s, 1H, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,13 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, J = 6,03), 3,84 (s, 3H, 15'), 3,81 (s, 3H, 18), 3,70–3,63 (m, 1H, 6), 3,20–3,13 (q, 2H, 3, J = 5,85, 6,21), 1,70–1,52 (m, 4H, 4, 5), 1,23 (d, 3H, 7, J = 6,25).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 160,29 (6'), 159,50 (16), 155,25 (1), 147,05 (2'), 145,11 (9), 144,70 (11), 138,05 (9'), 135,27 (13), 135,01 (10), 130,04 (14), 130,36–127,41 (4', 8', 10'–14'), 124,28 (3'), 122,55 (12), 115,50 (5', 7'), 96,62 (17), 92,14 (15), 55,69 (15'), 55,45 (18), 47,56 (6), 39,48 (3), 33,94 (5), 27,26 (4), 20,68 (7).

MS/MS (m/z): 512,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{30}H_{33}N_5O_3$ (511,61): C 70,43; H 6,50; N 13,69; nađeno: C 70,01; H 6,33; N 13,95.

1-{[*Bis*(4-metoksifenil)metilen]amino}-3-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}urea (12d)

Metoda B. Količina reaktanta: 0,201 g spoja **2d**. Sirovi produkt **12d** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 98:2.

Iskorištenje: 0,168 g (62 %).

Ulje.

IR (film): ν_{max} 3354, 3048, 2934, 2837, 1682, 1607, 1575, 1506, 1456, 1423, 1386, 1303, 1249, 1168, 1109, 1031, 836, 791, 735 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 8,51–8,48 (dd, 1H, 11, J = 1,57, 4,14), 8,06–8,03 (dd, 1H, 13, J = 1,57, 8,13), 7,75 (s, 1H, 1", izmjenjiv s D_2O), 7,42–7,38 (q, 1H, 12, J = 4,28), 7,47–6,83 (m, 9H, 2, 4', 5', 7', 8', 10', 11', 13', 14'), 6,44 (s, 1H, 17), 6,25 (s, 1H, 15), 6,11 (d,

1H, 8, izmjenjiv s D_2O, J = 8,70), 3,81 (s, 3H, 18), 3,78 (s, 3H, 15'), 3,73 (s, 3H, 16'), 3,66–3,60 (m, 1H, 6), 3,16–3,10 (q, 2H, 3, J = 6,27), 1,68–1,47 (m, 4H, 4, 5), 1,20 (d, 3H, 7, J = 6,27).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 160,21 (6', 12'), 159,47 (16), 155,34 (1), 146,95 (2'), 145,01 (9), 144,71 (11), 135,27 (13), 134,99 (10), 130,63 (14), 130,31, 128,89 (4', 8', 10', 14'), 130,31, 124,46 (3', 9'), 122,57 (12), 115,44, 114,05 (5', 7', 11', 13'), 96,57 (17), 92,07 (15), 55,67 (15', 16'), 55,45 (18), 47,52 (6), 39,21 (3), 33,91 (5), 27,30 (4), 20,67 (7).

MS/MS (m/z): 542,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{31}H_{35}N_5O_4$ (541,64): C 68,74; H 6,51; N 12,93; nađeno: C 68,70; H 6,77; N 13,21.

1-{4-[(6-Metoksikinolin-8-il)amino]pentil}-3-{2-[(trifenilmetil)amino]etil}urea (12e)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,230 g (2-aminoetil)(trifenilmetil)amin hidrobromida. Sirovi produkt **12e** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 95:5. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **12e**.

Trajanje reakcije: 1 h.

Iskorištenje: 0,191 g (81 %).

t_t 145–146 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3310, 2940, 1628, 1594, 1576, 1518, 1450, 1386, 1220, 1201, 1158, 840, 795, 780, 770, 746, 706 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 8,53–8,52 (dd, 1H, 11, J = 1,49, 4,14), 8,09–8,06 (dd, 1H, 13, J = 1,58, 8,25), 7,44–7,41 (m, 1H, 12), 7,40–7,13 (m, 15H, 7'–11', 13'–17', 19'–23'), 6,47 (s, 1H, 17), 6,26 (s, 1H, 15), 6,12 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, J = 8,78), 5,94–5,89 (2t, 2H, 2, 1', izmjenjiv s D_2O, J = 6,00), 3,81 (s, 3H, 18), 3,64–3,58 (m, 1H, 6), 3,11–3,07 (q, 2H, 2', J = 6,00), 3,01–2,97 (q, 2H, 3, J = 6,18), 2,70 (t, 1H, 4', izmjenjiv s D_2O, J = 7,90), 2,00–1,95 (q, 2H, 3', J = 6,39, 7,30), 1,66–1,40 (m, 4H, 4, 5), 1,19 (d, 3H, 7, J = 6,33).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 158,99 (16), 158,12 (1), 146,10 (6', 12', 18'), 144,62 (9), 144,22 (11), 134,78 (13), 134,50 (10), 129,56 (14), 128,38, 127,61, 125,97 (7'–11', 13'–17', 19'–23'), 122,09 (12), 96,06 (17), 91,58 (15), 70,13 (5'), 64,89 (2'), 54,97 (18), 47,05 (6), 47,05 (3'), 39,29 (3), 33,54 (5), 26,97 (4), 20,21 (7).

MS/MS (m/z): 588,4 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{37}H_{41}N_5O_2$ (587,75): C 75,61; H 7,03; N 11,92; nađeno: C 75,88; H 7,40; N 11,72.

1,3-*Bis*{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}urea (12f)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,273 g primakin difosfata. Sirovi produkt **12f** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat/metanol 30:10:5.

Trajanje reakcije: 1,25 h.

Iskorištenje: 0,183 g (84 %).

Ulje.

IR (film): ν_{max} 3378, 2932, 2856, 1616, 1570, 1520, 1456, 1388, 1220, 1160, 1052, 822, 795 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 8,52–8,51 (dd, 1H, 11, *J* = 1,65, 4,20), 8,08–8,06 (dd, 1H, 13, *J* = 1,65, 8,31), 7,43–7,40 (m, 1H, 12), 6,46 (s, 1H, 17), 6,25 (s, 1H, 15), 6,10 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,80), 5,76 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, *J* = 5,86), 3,81 (s, 3H, 18), 3,63–3,57 (m, 1H, 6), 3,00–2,95 (q, 2H, 3, J_1 = 5,86, 6,56), 1,64–1,41 (m, 4H, 4,5), 1,19 (d, 3H, 7, *J* = 6,14).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 158,99 (16), 157,30 (1), 144,61 (9), 144,22 (11), 134,79 (13), 134,50 (10), 129,56 (14), 122,09 (12), 96,08 (17), 91,58 (15), 54,96 (18), 47,02 (6), 39,71 (3), 33,49 (5), 26,90 (4), 20,20 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 545,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{31}H_{40}N_6O_3$ (544,69): C 68,36; H 7,40; N 15,43; nađeno: C 68,02; H 7,23; N 15,58.

1-(3-Trifluormetil-4-klorfenil)-3-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}urea (12g)

Metoda C. Količina reaktanta: 0,138 g 2-(trifluormetil)-4-izocijanato-1-klorbenzena. Sirovi produkt **12g** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 98:2. Stajanjem kristalizirao čisti produkt **12g**.

Iskorištenje: 0,191 g (64 %).

t_t 233–235,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3366, 2932, 2855, 1656, 1560, 1554, 1520, 1484, 1388, 1328, 1262, 1138, 1032, 822, 795 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 8,88 (s, 1H, 1", izmjenjiv s D_2O), 8,54–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,43, 4,08), 8,07–8,06 (dd, 1H, 13, *J* = 1,40, 8,16), 8,04 (s, 1H, 3'), 7,56 (dd, , 1H, 7' *J* = 2,18, 8,71), 7,51 (d, 1H, 6', *J* = 8,71), 7,43–7,41 (q, 1H, 12, *J* = 4,35), 6,47 (s, 1H, 17), 6,34 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, *J* = 5,60), 6,28 (s, 1H, 15), 6,13 (d 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* =

9,02), 3,81 (s, 3H, 18), 3,67–3,62 (m, 1H, 6), 3,14–3,11 (q, 2H, 3, J = 6,22), 1,74–1,50 (m, 4H, 4, 5), 1,23 (d, 3H, 7, J = 6,53).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 159,00 (16), 154,83 (1), 144,63 (9), 144,20 (11), 134,75 (13), 134,53 (10), 131,72 (8'), 129,55 (14), 123,75 (5'), 122,24 (6'), 122,04 (12), 121,19 (4'), 116,12, 116,08 (3', 7'), 96,14 (17), 91,67 (15), 54,93 (18), 47,05 (6), 39,16 (3), 33,44 (5), 26,44 (4), 20,21 (7).

MS/MS (m/z): 481,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{23}H_{24}ClF_3N_4O_2$ (480,91): C 57,44; H 5,03; N 11,65; nađeno: C 57,86; H 5,30; N 11,68.

2.2.13. Sinteza benzotriazolida derivata cimetne kiseline 13d,e,g. Opća metoda

Otopini derivata cimetne kiseline (1 mmol) i TEA (0,101 g, 1 mmol) u bezvodnom toluenu (5 mL) uz miješanje je dokapana otopina BtcCl (**1**) (0,181 g, 1 mmol) u bezvodnom toluenu (5 mL) tijekom 0,25 h. Reakcijska smjesa je miješana 0,5 h na sobnoj temperaturi. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a sirovi produkt je otopljen u etil-acetatu (**13e**) ili diklormetanu (**13d** i **13g**) (15 mL) i ekstrahiran vodom (3 × 15 mL). Organski sloj je sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen. Spojevi **13e** [136] **i 13g** [137] opisani su prethodno.

(*E*)-1-(1*H*-Benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-il)-3-(3,4-dimetoksifenil)prop-2-en-1-on (13d)

Količina reaktanta: 0,208 g 3,4-dimetoksicimetne kiseline. Sirovi produkt **13d** rastrljan je u eteru i bez dodatnog pročišćavanja korišten u reakciji s primakinom.

Iskorištenje: 0,207 g (67 %).

Struktura je potvrđena indirektno, derivatizacijom u spoj **15d**.

(*E*)-1-(1*H*-Benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-il)-3-(3,4,5-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on (13e)

Količina reaktanta: 0,238 g 3,4,5-trimetoksicimetne kiseline. Sirovi produkt **13e** rastrljan je u eteru i bez dodatnog pročišćavanja korišten u reakciji s primakinom.

Iskorištenje: 0,197 g (58 %).

Struktura je potvrđena indirektno, derivatizacijom u spoj **15e**.

(*E*)-1-(1*H*-Benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-il)-3-(4-klorofenil)prop-2-en-1-on (13g)

Količina reaktanta: 0,183 g 4-klorcimetne kiseline. Sirovi produkt **13g** rastrljan je u eteru i bez dodatnog pročišćavanja korišten u reakciji s primakinom.

Iskorištenje: 0,119 g (42 %).
Struktura je potvrđena indirektno, derivatizacijom u spoj **15g**.

2.2.14. Sinteza klorida derivata cimetne kiseline 14a-k. Opća metoda

Otopina cimetne kiseline ili derivata cimetne kiseline (0,65 mmol) i tionil-klorida (0,387 g, 3,25 mmol) u bezvodnom toluenu (8 mL) miješana je 3 h na sobnoj temperaturi u prisutnosti katalitičke količine bezvodnog DMF-a. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a sirovi produkt **14** naparen je tri puta bezvodnim toluenom te je korišten u reakciji s primakinom ili semikarbazidom primakina **9** bez pročišćavanja.

2.2.15. Sinteza amida primakina i derivata cimetne kiseline 15a-k. Opća metoda

Metoda A. Suspenzija primakin difosfata (0,228 g, 0,5 mmol) i TEA (0,167 g, 1,65 mmol) u bezvodnom diklormetanu (6 mL) miješana je 0,25 h na sobnoj temperaturi, nakon čega joj je dokapana otopina klorida **14** (0,65 mmol) u bezvodnom diklormetanu (3 mL) tijekom 0,1 h. Reakcijska smjesa je miješana 0,5–3 h na sobnoj temperaturi. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a sirovi produkt je otopljen u etil-acetatu (15 mL) i ekstrahiran 5 % otopinom NaOH (3 × 10 mL) te ispran vodom (3 × 15 mL). Organski sloj je sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen.

Metoda B. Otopini spoja **13** (0,5 mmol) u bezvodnom dioksanu (5 mL) uz miješanje je dokapana otopina primakina (0,130 g, 0,5 mmol) i TEA (0,051 g, 0,5 mmol) u bezvodnom dioksanu (5 mL). Reakcijska smjesa je miješana 24 h na sobnoj temperaturi. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a sirovi produkt otopljen u etil-acetatu (10 mL) i ekstrahiran 5 % otopinom NaOH (3 × 10 mL) i ispran vodom (3 × 10 mL). Organski sloj je sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen.
NMR spektri amida **15a**,**d**,**g** odgovaraju ranije sintetiziranim spojevima [61].

(*E*)-*N*-{4-[(6-Metoksikinolin-8-il)amino]pentil}-3-fenilprop-2-enamid (15a)
Metoda A. Količina reaktanta: 0,108 g klorida **14a**. Sirovi produkt **15a** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 95:5. Spoj **15a** je kristalizirao iz malog volumena etil-acetata. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **15a**.
Trajanje reakcije: 0,5 h.
Iskorištenje: 0,126 g (65 %).

t_t 72–74 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3387, 3282, 3061, 2927, 2852, 1660, 1614, 1576, 1556, 1516, 1454, 1424, 1387, 1338, 1220, 1203, 1160, 1052, 1031, 977, 902, 863, 822, 791, 766, 680, 626 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 8,55–8,53 (dd, 1H, 11, J = 1,43, 4,13), 8,13 (t, 1H, 2, J = 5,69), 8,09–8,06 (dd, 1H, 13, J = 1,43, 8,28), 7,55 (d, 2H, 4', 8', J = 6,49), 7,45–7,34 (m, 5H, 12, 2', 5', 6', 7'), 6,61 (d, 1H, 1', J = 15,82), 6,47 (s, 1H, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,15 (d, 1H, 8, J = 8,73), 3,81 (s, 3H, 18), 3,66 (m, 1H, 6), 3,21 (m, 2H, 3), 1,64 (m, 4H, 4, 5), 1,22 (d, 3H, 7, J = 6,25).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 164,78 (1), 159,01 (16), 144,64 (9), 144,23 (11), 138,40 (2'), 134,96 (10), 134,80 (13), 134,52 (3'), 129,58 (14), 129,33 (6'), 128,89 (5', 7'), 127,44 (4', 8'), 122,32 (12), 122,10 (1'), 96,12 (17), 91,61 (15), 54,96 (18), 47,01 (6), 39,02 (3), 33,54 (5), 26,03 (4), 20,23 (7).

MS/MS (m/z): 390,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{24}H_{27}N_3O_2$ (389,49): C 74,01; H 6,99; N 10,79; nađeno: C 74,49; H 7,02; N 10,50.

(*E*)-*N*-{4-[(6-Metoksikinolin-8-il)amino]pentil}-2-metil-3-fenilprop-2-enamid (15b)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,117 g klorida **14b**. Sirovi produkt **15b** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 95:5.

Trajanje reakcije: 0,5 h.

Iskorištenje: 0,157 g (78 %).

Ulje.

IR (film): ν_{max} 3378, 3054, 2936, 2867, 1735, 1651, 1616, 1578, 1519, 1456, 1424, 1388, 1271, 1220, 1202, 1158, 1052, 1031, 926, 900, 822, 792, 763, 738, 703, 624 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 8,55–8,53 (dd, 1H, 11, J = 1,63, 4,19), 8,09–8,03 (m, 2H, 2, 13), 7,45–7,28 (m, 6H, 12, 4'–8'), 7,18 (s, 1H, 2'), 6,48 (s, 1H, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,16–6,14 (d, 1H, 8, J = 8,75), 3,81 (s, 3H, 18), 3,70–3,63 (m, 1H, 6), 3,23–3,17 (m, 2H, 3), 1,99 (s, 3H, 12'), 1,73–1,56 (m, 4H, 4, 5), 1,24–1,23 (d, 3H, 7, J = 6,29).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 168,71 (1), 159,02 (16), 144,58 (9), 144,27 (11), 136,14 (3'), 134,80 (13), 134,54 (10), 132,68 (1'), 131,87 (2'), 129,58 (14), 129,17 (5', 7'), 128,35 (4', 8'), 127,56 (6'), 122,10 (12), 96,11 (17), 91,58 (15), 54,96 (18), 47,04 (6), 39,02 (3), 33,43 (5), 25,95 (4), 20,19 (7), 14,29 (12').

MS/MS (m/z): 404,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{25}H_{29}N_3O_2$ (403,52): C 74,41; H 7,24; N 10,41; nađeno: C 74,20; H 7,02; N 10,66.

(*E*)-3-(4-Metoksifenil)-*N*-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}prop-2-enamid (15c)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,128 g klorida **14c**. Sirovi produkt **15c** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretne faze cikloheksan/etil-acetat/metanol 30:10:7 i diklormetan/metanol 95:5. Spoj **15c** je kristalizirao iz malog volumena etil-acetata. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **15c**.

Trajanje reakcije: 0,25 h.

Iskorištenje: 0,133 g (66 %).

t_t 78–80 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3255, 3070, 2962, 2930, 2856, 1738, 1652, 1610, 1571, 1517, 1455, 1424, 1385, 1304, 1229, 1168, 1032, 981, 823, 791, 678, 630 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 8,54–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,5, 4,2), 8,09–8,05 (dd, 1H, 13, *J* = 1,4, 8,3), 8,02–7,98 (t, 1H, 2, *J* = 5,4), 7,50–7,47 (d, 2H, 4', 8', *J* = 8,69), 7,44–7,40 (m, 1H, 12), 7,38–7,32 (d, 1H, 2', *J* = 15,75), 6,98–6,95 (d, 2H, 5', 7', *J* = 8,70), 6,48–6,42 (m, 2H, 17, 1'), 6,28 (s, 1H, 15), 6,15–6,12 (d, 1H, 8, *J* = 8,74), 3,81 (s, 3H, 18), 3,78 (s, 3H, 10'), 3,65 (m, 1H, 6), 3,21–3,19 (m, 2H, 3), 1,7–1,56 (m, 4H, 4, 5), 1,23–1,21 (d, 3H, 7, *J* = 6,27).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 165,05 (1), 160,18 (6'), 158,98 (16), 144,61 (9), 144,18 (11), 138,02 (2'), 134,74 (13), 134,49 (10), 129,53 (14), 128,93 (4', 8'), 127,50 (3'), 122,03 (12), 119,85 (1'), 114,30 (5', 7'), 96,08 (17), 91,61 (15), 55,18 (18), 54,93 (10'), 47,00 (6), 39,02 (3), 33,54 (5), 26,03 (4), 20,19 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 420,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{25}H_{29}N_3O_3$ (419,52): C 71,57; H 6,97; N 10,02; nađeno: C 71,43; H 7,02; N 10,17.

(*E*)-3-(3,4-Dimetoksifenil)-*N*-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}prop-2-enamid (15d)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,147 g klorida **14d**. Sirovi produkt **15d** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat 1:2. Spoj **15d** je kristalizirao iz malog volumena etil-acetata. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **15d**.

Trajanje reakcije: 0,33 h.

Iskorištenje: 0,157 g (70 %).

Metoda B. Količina reaktanta: 0,155 g spoja **13d**. Sirovi produkt **15d** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat/metanol 30:10:5. Spoj **15d** je kristalizirao iz malog volumena etil-acetata. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **15d**.

Iskorištenje: 0,169 g (75 %).

t_t 85–88 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3355, 3256, 3072, 2964, 2932, 2360, 1738, 1653, 1613, 1555, 1518, 1458, 1425, 1388, 1339, 1298, 1259, 1201, 1166, 1138, 1022, 980, 851, 819, 793, 765, 681, 627, 597 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 8,54–8,53 (dd, 1H, 11, J = 1,62, 4,19), 8,09–8,05 (dd, 1H, 13, J = 1,56, 8,29), 8,00–7,96 (t, 1H, 2, J = 5,52), 7,44–7,40 (m, 1H, 12, J = 4,20, 8,25), 7,36–7,31 (d, 1H, 2', J = 15,73), 7,14–7,08 (m, 2H, 4', 8'), 6,98–6,96 (d, 1H, 1', J = 8,32), 6,51–6,45 (m, 2H, 17, 7'), 6,28 (s, 1H, 15), 6,15–6,12 (d, 1H, 8, J = 8,76), 3,81–3,78 (m, 9H, 18, 10', 11'), 3,65 (m, 1H, 6), 3,23–3,19 (m, 2H, 3), 1,70–1,56 (m, 4H, 4, 5), 1,23–1,21 (d, 2H, 7, J = 6,29).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 165,05 (1), 158,97 (16), 149,98 (5'), 148,85 (6'), 144,61 (9), 144,18 (11), 138,36 (2'), 134,73 (13), 134,49 (10), 129,53 (14), 127,75 (3'), 122,03 (12), 121,20 (8'), 120,05 (1'), 111,74 (7'), 109,96 (4'), 96,08 (17), 91,61 (15), 55,49 (11'), 55,37 (10'), 54,92 (18), 47,00 (6), 39,02 (3), 33,55 (5), 26,02 (4), 20,20 (7).

MS/MS (m/z): 450,5 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{26}H_{31}N_3O_4$ (449,54): C 69,47; H 6,95; N 9,35; nađeno: C 69,80; H 7,01; N 9,57.

(*E*)-*N*-{4-[(6-Metoksikinolin-8-il)amino]pentil}-3-(3,4,5-trimetoksifenil)prop-2-enamid (15e)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,169 g klorida **14e**. Sirovi produkt **15e** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat/metanol 30:10:5. Spoj **15e** je kristalizirao iz malog volumena etil-acetata. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **15e**.

Trajanje reakcije: 1 h.

Iskorištenje: 0,125 g (52 %).

Metoda B. Količina reaktanta: 0,170 g spoja **13e**. Sirovi produkt **15e** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te

pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat/metanol 30:10:5. Spoj **15e** je kristalizirao iz malog volumena etil-acetata. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **15e**.

Iskorištenje: 0,165 g (69 %).

t_t 120–123,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3367, 3285, 3084, 2962, 1657, 1617, 1583, 1520, 1456, 1421, 1388, 1328, 1277, 1241, 1221, 1200, 1164, 1125, 1052, 1014, 978, 824, 792, 682, 622, 604 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 8,54–8,53 (d, 1H, 11, *J* = 2,85), 8,09–8,03 (m, 2H, 2, 13), 7,44–7,40 (m, 1H, 12), 7,37–7,32 (d, 1H, 2', *J* = 15,68), 6,88 (s, 2H, 4', 8'), 6,54–6,52 (d, 1H, 1', *J* = 15,69), 6,47 (s, 1H, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,15–6,12 (d, 1H, 8, *J* = 8,69), 3,81 (s, 9H, 18, 9', 11'), 3,68 (s, 4H, 6, 10'), 3,21–3,19 (m, 2H, 3), 1,69–1,65 (m, 4H, 4, 5), 1,23–1,22 (d, 3H, 7, *J* = 6,15).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 164,83 (1), 158,97 (16), 153,00 (5', 7'), 144,62 (9), 144,18 (11), 138,57 (6'), 138,46 (2'), 134,74 (13), 134,49 (10), 130,55 (14), 129,53 (3'), 122,04 (12), 121,66 (1'), 104,87 (4', 8'), 96,08 (17), 91,61 (15), 60,02 (10'), 55,82 (9', 11'), 54,92 (18), 46,99 (6), 39,02 (3), 33,56 (5), 25,98 (4), 20,20 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 480,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{27}H_{33}N_3O_5$ (479,57): C 67,62; H 6,94; N 8,76; nađeno: C 67,99; H 7,06; N 8,99.

(*E*)-3-(2*H*-Benzo[*d*][1,3]dioksol-5-il)-*N*-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}prop-2-enamid (15f)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,137 g klorida **14f**. Sirovi produkt **15f** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 97:3. Spoj **15f** je kristalizirao iz malog volumena etil-acetata. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **15f**.

Trajanje reakcije: 1 h.

Iskorištenje: 0,124 g (57 %).

t_t 77–79,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3350, 3253, 3069, 2961, 2934, 1738, 1655, 1620, 1576, 1557, 1520, 1491, 1454, 1425, 1387, 1356, 1334, 1281, 1247, 1200, 1167, 1124, 1096, 1041, 977, 927, 855, 819, 792, 752, 681, 624, 593 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 8,53–8,51 (dd, 1H, 11, *J* = 1,61, 4,18), 8,07–8,04 (dd, 1H, 13, *J* = 1,57, 8,29), 7,99–7,95 (t, 1H, 2, *J* = 5,52), 7,43–7,39 (m, 1H, 12), 7,33–7,28 (d, 1H, 2'), 7,11 (s, 1H, 4'), 7,05–7,02 (dd, 1H, 8', *J* = 1,46, 8,11), 6,93–6,91 (d, 1H, 1', *J* = 8,00),

6,46–6,40 (m, 2H, 17, 7'), 6,27 (s, 1H, 15), 6,14–6,11 (d, 1H, 8, *J* = 8,77), 6,04 (s, 2H, 10'), 3,80 (s, 3H, 18), 3,64 (m, 1H, 6), 3,21–3,15 (m, 2H, 3), 1,69–1,51 (m, 4H, 4, 5), 1,22–1,20 (d, 2H, 7, *J* = 6,29).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 164,93 (1), 158,97 (16), 148,29 (5'), 147,85 (6'), 144,61 (9), 144,18 (11), 138,13 (2'), 134,73 (13), 134,49 (10), 129,53 (14), 129,33 (3'), 123,00 (8'), 122,05 (12), 120,42 (1'), 108,49 (7'), 106,11 (4'), 101,33 (10'), 96,08 (17), 91,61 (15), 54,93 (18), 46,99 (6), 39,02 (3), 33,53 (5), 26,01 (4), 20,19 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 434,2 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{25}H_{27}N_3O_4$ (433,50): C 69,27; H 6,28; N 9,69; nađeno: C 69,40; H 6,69; N 9,22.

(*E*)-3-(4-Klorfenil)-*N*-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}prop-2-enamid (15g)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,131 g klorida **14g**. Sirovi produkt **15g** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 97:3. Spoj **15g** je kristalizirao iz malog volumena etil-acetata. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **15g**.

Trajanje reakcije: 2 h.

Iskorištenje: 0,167 g (79 %).

Metoda B. Količina reaktanta: 0,142 g spoja **13g**. Sirovi produkt **15g** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretne faze cikloheksan/etil-acetat/metanol 30:10:5 i diklormetan/metanol 95:5. Spoj **15g** je kristalizirao iz malog volumena etil-acetata. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **15g**.

Iskorištenje: 0,070 g (33 %).

t_t 85–87 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3358, 3275, 3078, 2958, 2327, 2857, 1740, 1655, 1615, 1558, 1520, 1492, 1457, 1426, 1388, 1343, 1227, 1202, 1168, 1097, 1052, 1013, 982, 903, 823, 791, 736, 709, 677, 628 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 8,54–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,60, 4,19), 8,13–8,05 (m, 2H, 2, 13), 7,58–7,56 (d, 2H, 4', 8', *J* = 8,54), 7,47–7,37 (m, 4H, 5, 12, 2', 7'), 7,63–7,58 (d, 1H, 1', *J* = 15,82), 7,47 (s, 1H, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,15–6,12 (d, 1H, 8, *J* = 8,79), 3,81 (s, 3H, 18), 3,65 (m, 1H, 6), 3,22–3,20 (m, 2H, 3), 1,72–1,53 (m, 4H, 4, 5), 1,23–1,21 (d, 3H, 7, *J* = 6,28).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 164,56 (1), 158,97 (16), 144,60 (9), 144,18 (11), 136,97 (2'), 134,73 (13), 134,49 (10), 133,91 (6'), 133,68 (3'), 129,53 (14), 129,08 (5', 7'), 128,85 (4', 8'), 123,14 (12), 122,03 (1'), 96,08 (17), 91,61 (15), 54,92 (18), 46,98 (6), 39,02 (3), 33,51 (5), 26,95 (4), 20,19 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 424,2 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{24}H_{26}ClN_3O_2$ (423,94): C 68,00; H 6,18; N 9,91; nađeno: C 68,44; H 6,35; N 10,05.

(*E*)-3-(2-Fluorfenil)-*N*-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}prop-2-enamid (15h)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,120 g klorida **14h**. Sirovi produkt **15h** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 97:3. Spoj **15h** je kristalizirao iz malog volumena etil-acetata. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **15h**.

Trajanje reakcije: 2 h.

Iskorištenje: 0,120 g (59 %).

t_t 65–67,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3357, 3271, 3078, 2960, 2927, 2857, 1739, 1655, 1616, 1578, 1557, 1520, 1487, 1458, 1426, 1388, 1343, 1283, 1226, 1201, 1167, 1093, 1052, 1032, 985, 903, 875, 822, 792, 758, 714, 678, 625 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 8,55–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,60, 4,19), 8,23–8,19 (t, 1H, 2, *J* = 5,50), 8,09–8,05 (dd, 1H, 13, *J* = 1,55, 8,28), 7,66–7,61 (t, 1H, 6', *J* = 6,49), 7,50–7,39 (m, 3H, 12, 2', 8'), 7,30–7,23 (m, 2H, 5', 7'), 6,73–6,68 (d, 1H, 1', *J* = 15,94), 6,47 (s, 1H, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,15–6,13 (d, 1H, 8, *J* = 8,79), 3,81 (s, 3H, 18), 3,65 (m, 1H, 6), 3,25–3,21 (m, 2H, 3), 1,73–1,53 (m, 4H, 4, 5), 1,24–1,21 (d, 3H, 7, *J* = 6,28).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 164,48 (1), 162,02–158,71 (d, 8', *J* = 250,43), 158,97 (16), 144,61 (9), 144,18 (11), 134,73 (13), 134,49 (10), 131,14–131,02 (d, 6', *J* = 8,58), 130,72 (2'), 129,53 (14), 129,03–128,99 (d, 5', *J* = 3,26), 125,17–125,09 (d, 4', *J* = 6,18), 124,97 (1'), 122,61–122,41 (d, 3', *J* = 12,66), 122,03 (12), 116,12–115,83 (d, 7', *J* = 23,47), 96,08 (17), 91,61 (15), 54,91 (18), 46,98 (6), 39,02 (3), 33,51 (5), 25,91 (4), 20,19 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 408,1 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{24}H_{26}FN_3O_2$ (407,48): C 70,74; H 6,43; N 10,31; nađeno: C 70,60; H 5,99; N 10,39.

(*E*)-*N*-{4-[(6-Metoksikinolin-8-il)amino]pentil}-3-[3-(trifluormetil)fenil]prop-2-enamid (15i)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,152 g klorida **14i**. Sirovi produkt **15i** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 97:3. Spoj **15i** je kristalizirao iz malog volumena etil-acetata. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **15i**.

Trajanje reakcije: 2,5 h.

Iskorištenje: 0,162 g (71 %).

t_t 48,5–49,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3262, 3075, 2964, 2861, 1661, 1618, 1561, 1520, 1454, 1387, 1335, 1221, 1166, 1126, 975, 803, 864, 820, 793, 735, 688, 625, 584, 513 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 8,55–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,46, 4,10), 8,15–8,11 (t, 1H, 2, *J* = 5,51), 8,08–8,05 (dd, 1H, 13, *J* = 1,56, 8,27), 7,89–7,84 (m, 2H, 6', 8'), 7,73–7,62 (m, 2H, 4', 5'), 7,52–7,47 (d, 1H, 2', *J* = 15,84), 7,44–7,40 (m, 1H, 12), 6,77–6,72 (d, 1H, 1', *J* = 15,85), 6,47 (s, 1H, 17), 6,29 (s, 1H, 15), 6,16–6,13 (d, 1H, 8, *J* = 8,76), 3,81 (s, 3H, 18), 3,66 (m, 1H, 6), 3,23–3,21 (m, 2H, 3), 1,72–1,57 (m, 4H, 4, 5), 1,24–1,22 (d, 3H, 7, *J* = 6,25).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 164,34 (1), 158,97 (16), 144,61 (9), 144,18 (11), 136,62 (2'), 136,17 (3'), 134,73 (13), 134,50 (10), 132,28–122,55 (q, 11', *J* = 244,60), 131,20 (4'), 130,28–128,83 (q, 7', *J* = 31,73), 129,96 (5'), 129,44 (14), 125,60–125,46 (q, 6', *J* = 3,70), 124,48 (1'), 123,75–123,60 (q, 8', *J* = 3,71), 122,03 (12), 96,09 (17), 91,60 (15), 54,91 (18), 46,98 (6), 39,02 (3), 33,50 (5), 25,91 (4), 20,20 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 458,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{25}H_{26}F_3N_3O_2$ (457,49): C 65,63; H 5,73; N 9,18; nađeno: C 65,24; H 6,00; N 9,43.

(*E*)-*N*-{4-[(6-Metoksikinolin-8-il)amino]pentil}-3-[4-(trifluormetil)fenil]prop-2-enamid (15j)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,152 g klorida **14j**. Sirovi produkt **15j** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 95:5. Spoj **15j** je kristalizirao iz malog volumena etil-acetata. Rastrljavanjem u eteru/petroleteru dobiven je čisti produkt **15j**.

Trajanje reakcije: 2 h.

Iskorištenje: 0,167 g (73 %).

t_t 82–84 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3359, 3262, 3075, 2963, 2931, 2856, 1738, 1655, 1615, 1577, 1560, 1519, 1456, 1424, 1386, 1326, 1227, 1203, 1163, 1130, 1110, 1069, 1050, 1015, 979, 957, 903, 880, 829, 792, 719, 681, 623, 596 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 8,55–8,53 (dd, 1H, 11, J = 1,61, 4,19), 8,24–8,21 (t, 1H, 2, J = 5,56), 8,09–8,06 (dd, 1H, 13, J = 1,57, 8,30), 7,76 (s, 4H, 4', 5', 7', 8'), 7,50–7,45 (d, 1H, 2', J = 15,87), 7,45–7,40 (m, 1H, 12), 6,76–6,71 (d, 1H, 1', J = 15,84), 6,47 (s, 1H, 17), 6,29 (s, 1H, 15), 6,16–6,13 (d, 1H, 8, J = 8,80), 3,81 (s, 3H, 18), 3,66 (m, 1H, 6), 3,25–3,21 (m, 2H, 3), 1,73–1,53 (m, 4H, 4, 5), 1,24–1,21 (d, 3H, 7, J = 6,28).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 164,31 (1), 159,00 (16), 144,63 (9), 144,23 (11), 139,07 (3'), 136,74 (2'), 134,79 (13), 134,52 (10), 129,57 (14), 129,71–128,44 (q, 6', J = 31,56), 129,51–118,69 (q, 10', J = 272,14), 128,07 (4', 8'), 125,82–125,67 (q, 5', 7', J = 3,80), 125,12 (1'), 122,09 (12), 96,12 (17), 91,60 (15), 54,95 (18), 46,99 (6), 39,02 (3), 33,52 (5), 23,96 (4), 20,23 (7).

MS/MS (m/z): 458,2 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{25}H_{26}F_3N_3O_2$ (457,49): C 65,63; H 5,73; N 9,18; nađeno: C 65,98; H 6,01; N 9,44.

(*E*)-3-[3,5-*Bis*(trifluormetil)fenil]-*N*-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}prop-2-enamid (15k)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,194 g klorida **14k**. Sirovi produkt **15k** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 95:5. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **15k**.

Trajanje reakcije: 3 h.

Iskorištenje: 0,194 g (74 %).

t_t 148–150 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3395, 3286, 3095, 2964, 2934, 2861, 1663, 1623, 1576, 1521, 1456, 1423, 1334, 1341, 1278, 1224, 1174, 1136, 1052, 1031, 978, 940, 899, 868, 845, 822, 792, 683, 624 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 8,54 (s, 1H, 11), 8,26 (s, 2H, 4', 8'), 8,18 (t, 1H, 2, J = 5,21), 8,08–8,07 (m, 2H, 13, 6'), 7,60–7,58 (d, 1H, 2', J = 15,82), 7,44–7,42 (m, 1H, 12), 6,91–6,88 (d, 1H, 1', J = 15,90), 6,47 (s, 1H, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,16–6,14 (d, 1H, 8, J = 8,54), 3,80 (s, 3H, 18), 3,66 (m, 1H, 6), 3,23 (m, 2H, 3), 1,70–1,58 (m, 4H, 4, 5), 1,23–1,22 (d, 3H, 7, J = 5,99).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 164,07 (1), 159,00 (16), 144,64 (9), 144,24 (11), 137,97 (3'), 135,16 (2'), 134,81 (13), 134,53 (10), 131,14–130,48 (q, 5', 7', J = 33,83), 129,58 (14), 127,84 (4', 8'), 126,61 (6'), 125,94–120,54 (q, 9', 11', J = 272,30), 122,23 (1'), 122,11 (12), 96,14 (17), 91,59 (15), 54,95 (18), 46,99 (6), 39,02 (3), 33,51 (5), 25,92 (4), 20,25 (7).
MS/MS (m/z): 526,4 $(M + 1)^+$.
Elementarna analiza za $C_{26}H_{25}F_6N_3O_2$ (525,49): C 59,43; H 4,80; N 8,00; nađeno: C 59,67; H 5,02; N 8,22.

2.2.16. Sinteza 1-acilsemikarbazida primakina i derivata cimetne kiseline 16a-k. Opća metoda

Otopini klorida **14a-k** (0,65 mmol) u bezvodnom diklormetanu (3 mL) uz miješanje je dokapana otopina semikarbazida primakina **9** (0,159 g, 0,5 mmol) i TEA (0,051 g, 0,5 mmol) u bezvodnom diklormetanu (6 mL) tijekom 0,1 h. Reakcijska smjesa je miješana 24 h na sobnoj temperaturi. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a sirovi produkt je otopljen u etil-acetatu (15 mL) i ekstrahiran 5 % otopinom NaOH (3 × 10 mL) te ispran vodom (3 × 15 mL). Organski sloj je sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen.

(*E*)-*N*-[({4-[(6-Metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-3-fenilprop-2-enamid (16a)

Količina reaktanta: 0,108 g klorida **14a**. Sirovi produkt **16a** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 95:5. Rastrljavanjem u eteru/petroleteru dobiven je čisti produkt **16a**.
Iskorištenje: 0,125 g (56 %).
t_t 188–190 °C (raspad).
IR (KBr): ν_{max} 3302, 3236, 3038, 2936, 1696, 1628, 1578, 1596, 1458, 1388, 1424, 1356, 1222, 1156, 1054, 978, 862, 822, 790, 762, 726, 678, 658, 632, 556, 488 cm^{-1}.
^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 9,75 (s, 1H, 2''), 8,54–8,53 (dd, 1H, 11, J = 1,41, 4,11), 8,09–8,06 (dd, 1H, 13, J = 1,30, 8,25), 7,85 (s, 1H, 1''), 7,58–7,36 (m, 7H, 12, 2', 4'–8'), 6,65–6,60 (d, 1H, 1', J = 15,90), 6,48–6,44 (m, 2H, 2, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,13–6,10 (d, 1H, 8, J = 8,62), 3,82 (s, 3H, 18), 3,64 (m, 1H, 6), 3,06–3,04 (m, 2H, 3), 1,63–1,47 (m, 4H, 4, 5), 1,22–1,20 (d, 3H, 7, J = 6,24).
^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 164,65 (3''), 158,98 (16), 157,92 (1), 144,61 (9), 144,20 (11), 139,46 (2'), 134,74 (13), 134,67 (10), 134,49 (3'), 129,60 (6'), 129,53 (14), 128,92 (5', 7'),

127,50 (4', 8'), 122,04 (12), 119,94 (1'), 96,07 (17), 91,61 (15), 54,95 (18), 47,01 (6), 39,02 (3), 33,41 (5), 26,65 (4), 20,18 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 448,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{25}H_{29}N_5O_3$ (447,53): C 67,09; H 6,53; N 15,65; nađeno: C 67,37; H 6,22; N 15,66.

(*E*)-*N*-[({4-[(6-Metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-3-fenil-2-metilprop-2-enamid (16b)

Količina reaktanta: 0,117 g klorida **14b**. Sirovi produkt **16b** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,040–0,063 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 95:5. S kolone je dobiven čisti uljni produkt **16b** koji je kristalizirao nakon dugog stajanja na niskoj temperaturi.

Iskorištenje: 0,122 g (53 %).

t_t 65,5 °C (raspad).

IR (film): ν_{max} 3265, 2961, 2935, 1652, 1617, 1576, 1520, 1454, 1423, 1387, 1336, 1258, 1239, 1220, 1203, 1158, 1051, 1031, 1004, 928, 910, 822, 791, 762, 709, 695, 625, 589, 515 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 9,67 (s, 1H, 2''), 8,54–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,57, 4,15), 8,08–8,07 (dd, 1H, 13, *J* = 1,49, 8,28), 7,67 (s, 1H, 1''), 7,43–7,30 (m, 7H, 12, 2', 4'–8'), 6,48–6,45 (m, 2H, 2, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,13–6,11 (d, 1H, 8, *J* = 8,75), 3,82 (s, 3H, 18), 3,65–3,63 (m, 1H, 6), 3,08–3,02 (m, 2H, 3), 2,02 (s, 3H, 12'), 1,66–1,47 (m, 4H, 4, 5), 1,22–1,21 (d, 3H, 7, *J* = 6,29).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 168,89 (3''), 159,00 (16), 158,36 (1), 144,63 (9), 144,24 (11), 135,83 (3'), 134,78 (13), 134,51 (10), 133,23 (2'), 130,74 (1'), 129,56 (14), 129,22 (5', 7'), 128,42 (4', 8'), 127,80 (6'), 122,08 (12), 96,10 (17), 91,61 (15), 54,97 (18), 47,02 (6), 39,02 (3), 33,43 (5), 26,73 (4), 20,21 (7), 14,15 (12').

MS/MS (*m*/*z*): 462,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{26}H_{31}N_5O_3$ (461,56): C 67,66; H 6,77; N 15,17; nađeno: C 67,51; H 6,55; N 15,00.

(*E*)-3-(4-Metoksifenil)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino] prop-2-enamid (16c)

Količina reaktanta: 0,128 g klorida **14c**. Sirovi produkt **16c** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretne faze

petroleter/etil-acetat/metanol 30:10:5 i diklormetan/metanol 95:5. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **16c**.

Iskorištenje: 0,143 g (60 %).

t_t 89,5 °C (raspad).

IR (KBr): ν_{max} 3248, 2934, 1654, 1604, 1575, 1517, 1456, 1424, 1386, 1251, 1167, 1029, 980, 824, 791, 628, 521 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 9,64 (s, 1H, 2''), 8,54–8,52 (dd, 1H, 11, *J* = 1,45, 4,10), 8,08–8,06 (d, 1H, 13, *J* = 7,07), 7,80 (s, 1H, 1''), 7,53–7,42 (m, 4H, 12, 2', 4', 8'), 6,99–6,97 (d, 2H, 5', 7', *J* = 8,66), 6,49–6,45 (m, 3H, 2, 17, 1'), 6,27 (s, 1H, 15), 6,10 (s, 1H, 8), 3,82 (s, 3H, 18), 3,78 (s, 3H, 10'), 3,62 (m, 1H, 6), 3,04 (m, 2H, 3), 1,63–1,46 (m, 4H, 4, 5), 1,21–1,19 (d, 3H, 7, *J* = 6,23).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 165,24 (3''), 160,56 (6'), 159,06 (16), 158,17 (1), 144,69 (9), 144,35 (11), 139,41 (2'), 134,90 (13), 134,56 (10), 129,65 (14), 129,28 (4', 8'), 127,30 (3'), 122,19 (12), 117,37 (1'), 114,49 (5', 7'), 96,19 (17), 91,71 (15), 55,34 (18), 55,07 (10'), 47,11 (6), 39,02 (3), 33,49 (5), 26,77 (4), 20,29 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 478,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{26}H_{31}N_5O_4$ (477,56): C 65,39; H 6,54; N 14,66; nađeno: C 65,51; H 6,60; N 14,48.

(*E*)-3-(3,4-Dimetoksifenil)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil) amino]prop-2-enamid (16d)

Količina reaktanta: 0,147 g klorida **14d**. Sirovi produkt **16d** pročišćen je prekristalizacijom iz etil-acetata, diklormetana, vrućeg acetona, etera i vrućeg etanola.

Iskorištenje: 0,145 g (57 %).

t_t 200,5–201,5 °C (raspad).

IR (KBr): ν_{max} 3375, 3213, 3084, 3003, 2937, 1668, 1628, 1596, 1559, 1515, 1456, 1421, 1387, 1356, 1293, 1262, 1235, 1202, 1171, 1138, 1052, 1022, 977, 939, 856, 816, 788, 767, 710, 679, 622, 594, 560, 460 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 9,62–9,61 (d, 1H, 2'', *J* = 1,73), 8,54–8,52 (dd, 1H, 11, *J* = 1,39, 4,06), 8,08–8,06 (dd, 1H, 13, *J* = 1,29, 8,29), 7,81 (s, 1H, 1''), 7,44–7,40 (m, 2H, 12, 2'), 7,15–7,12 (m, 2H, 4', 8'), 7,00–6,98 (d, 1H, 1', *J* = 8,28), 6,53–6,46 (m, 3H, 2, 17, 7'), 6,26 (s, 1H, 15), 6,11–6,09 (d, 1H, 8, *J* = 8,73), 3,81–3,78 (m, 9H, 18, 10', 11'), 3,62 (m, 1H, 6), 3,04–3,02 (m, 2H, 3), 1,54–1,51 (m, 4H, 4, 5), 1,21–1,19 (d, 3H, 7, *J* = 6,25).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 165,27 (3''), 159,06 (16), 158,19 (1), 150,32 (5'), 148,93 (6'), 144,69 (9), 144,36 (11), 139,74 (2'), 134,91 (13), 134,57 (10), 129,66 (14), 127,55 (3'), 122,21 (12), 121,48 (8'), 117,64 (1'), 111,81 (7'), 110,20 (4'), 96,19 (17), 91,69 (15), 55,62 (10'), 55,52 (18), 55,08 (11'), 47,11 (6), 39,02 (3), 33,50 (5), 26,80 (4), 20,30 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 508,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{27}H_{33}N_5O_5$ (507,58): C 63,89; H 6,55; N 13,80; nađeno: C 64,03; H 6,68; N 13,50.

(*E*)-*N*-[({4-[(6-Metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-3-(3,4,5-trimetoksifenil)prop-2-enamid (16e)

Količina reaktanta: 0,169 g klorida **14e**. Sirovi produkt **16e** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 95:5. Rastrljavanjem u eteru/petroleteru dobiven je čisti produkt **16e**.

Iskorištenje: 0,167 g (62 %).

t_t 90,5 °C (raspad).

IR (KBr): ν_{max} 3250, 2937, 1654, 1618, 1582, 1508, 1454, 1420, 1388, 1326, 1266, 1240, 1221, 1203, 1155, 1126, 1051, 1031, 1003, 976, 822, 791, 677, 624, 585, 526, 512, 464 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 9,64–9,63 (d, 1H, 2'', *J* = 1,91), 8,53–8,52 (dd, 1H, 11, *J* = 1,51, 4,16), 8,07–8,05 (dd, 1H, 13, *J* = 1,41, 8,28), 7,83 (s, 1H, 1''), 7,45–7,40 (m, 2H, 12, 2'), 6,90 (s, 2H, 4', 8'), 6,59–6,55 (d, 1H, 1', *J* = 15,80), 6,46–6,43 (m, 2H, 2, 17), 6,26 (s, 1H, 15), 6,11–6,09 (d, 1H, 8, *J* = 8,78), 3,81 (s, 3H, 18), 3,80 (s, 6H, 9', 11'), 3,68 (s, 3H, 10'), 3,63 (m, 1H, 6), 3,04–3,02 (m, 2H, 3), 1,61–1,51 (m, 4H, 4, 5), 1,21–1,19 (d, 3H, 7, *J* = 6,25).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 164,92 (3''), 159,05 (16), 158,05 (1), 153,14 (5', 7'), 144,69 (9), 144,33 (11), 139,82 (2'), 138,89 (6'), 134,88 (13), 134,56 (10), 130,38 (14), 129,64 (3'), 122,17 (12), 119,26 (1'), 105,09 (4', 8'), 96,17 (17), 91,69 (15), 60,16 (10'), 55,96 (9', 11'), 55,05 (18), 47,10 (6), 39,02 (3), 33,49 (5), 26,76 (4), 20,28 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 538,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{28}H_{35}N_5O_6$ (537,61): C 62,55; H 6,56; N 13,03; nađeno: C 62,79; H 6,86; N 13,29.

(*E*)-3-(2*H*-Benzo[*d*][1,3]dioksol-5-il)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil} karbamoil)amino]prop-2-enamid (16f)

Količina reaktanta: 0,137 g klorida **14f**. Sirovi produkt **16f** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 95:5. Rastrljavanjem u eteru/petroleteru dobiven je čisti produkt **16f**.

Iskorištenje: 0,145 g (59 %).

t_t 75,5 °C (raspad).

IR (KBr): ν_{max} 3250, 2335, 2361, 1654, 1618, 1577, 1560, 1521, 1490, 1448, 1388, 1252, 1202, 1158, 1100, 1037, 976, 929, 819, 791, 670, 625, 592, 518 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 9,64 (s, 1H, 2''), 8,53 (d, 1H, 11, *J* = 2,84), 8,08–8,06 (d, 1H, 13, *J* = 8,05), 7,82 (s, 1H, 1''), 7,43–7,39 (m, 2H, 12, 2'), 7,15 (s, 1H, 4'), 7,09–7,07 (d, 1H, 8', *J* = 8,05), 6,96–6,94 (d, 1H, 1', *J* = 7,96), 6,48–6,44 (m, 3H, 2, 17, 7'), 6,26 (s, 1H, 15), 6,11–6,09 (d, 1H, 8, *J* = 7,59), 6,06 (s, 3H, 10'), 3,82 (s, 3H, 18), 3,62 (m, 1H, 6), 3,04 (m, 2H, 3), 1,60–1,46 (m, 4H, 4, 5), 1,21–1,19 (d, 3H, 7, *J* = 6,13).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 165,45 (3''), 159,43 (16), 158,49 (1), 149,08 (5'), 148,38 (6'), 145,05 (9), 144,69 (11), 139,84 (2'), 135,25 (13), 134,93 (10), 130,01 (14), 129,50 (3'), 123,83 (8'), 122,54 (12), 118,33 (1'), 109,05 (7'), 106,66 (4'), 101,92 (10'), 96,55 (17), 92,06 (15), 55,42 (18), 47,47 (6), 39,02 (3), 33,86 (5), 27,14 (4), 20,65 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 492,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{26}H_{29}N_5O_5$ (491,54): C 63,53; H 5,95; N 14,25; nađeno: C 63,73; H 5,84; N 14,00.

(*E*)-3-(4-Klorfenil)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]prop-2-enamid (16g)

Količina reaktanta: 0,131 g klorida **14g**. Sirovi produkt **16g** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat/metanol 30:10:5. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **16g**.

Iskorištenje: 0,142 g (59 %).

t_t 185–187,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3337, 3230, 3037, 2966, 2937, 2362, 2343, 1697, 1661, 1625, 1592, 1521, 1490, 1458, 1425, 1408, 1391, 1354, 1290, 1266, 1239, 1221, 1199, 1161, 1090, 1052, 1010, 982, 945, 899, 866, 819, 790, 726, 676, 628, 495 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 9,79 (s, 1H, 2''), 8,53–8,52 (dd, 1H, 11, *J* = 1,06, 4,11), 8,08–8,05 (dd, 1H, 13, *J* = 1,30, 8,25), 7,88 (s, 1H, 1''), 7,61–7,59 (d, 2H, 4', 8', *J* = 8,47),

7,50–7,45 (m, 3H, 2', 5', 7'), 7,43–7,40 (m, 1H, 12), 6,64–6,60 (d, 1H, 1', *J* = 15,89), 6,51–6,48 (t, 1H, 2, *J* = 5,44), 6,46 (s, 1H, 17), 6,25 (s, 1H, 15), 6,11–6,09 (d, 1H, 8, *J* = 8,71), 3,81 (s, 3H, 18), 3,62 (m, 1H, 6), 3,04 (m, 2H, 3), 1,61–1,51 (m, 4H, 4, 5), 1,20–1,19 (d, 3H, 7, *J* = 6,25).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 164,63 (3''), 159,05 (16), 158,03 (1), 144,68 (9), 144,33 (11), 138,28 (2'), 134,89 (13), 134,56 (10), 134,18 (6), 133,68 (3'), 129,64 (14), 129,35 (4', 8'), 129,09 (5', 7'), 122,19 (12), 120,75 (1'), 96,17 (17), 91,66 (15), 55,06 (18), 47,08 (6), 39,02 (3), 33,47 (5), 26,77 (4), 20,28 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 482,2 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{25}H_{28}ClN_5O_3$ (481,97): C 62,30; H 5,86; N 14,53; nađeno: C 62,69; H 6,01; N 14,30.

(*E*)-3-(2-Fluorfenil)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]prop-2-enamid (16h)

Količina reaktanta: 0,120 g klorida **14h**. Sirovi produkt **16h** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,040–0,063 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 95:5. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **16h**.

Iskorištenje: 0,207 g (89 %).

t_t 91–93 °C (raspad).

IR (KBr): ν_{max} 3250, 2964, 1654, 1618, 1578, 1520, 1457, 1388, 1221, 1159, 1052, 982, 822, 791, 757 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 9,85 (s, 1H, 2''), 8,54–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,50, 4,10), 8,08–8,06 (dd, 1H, 13, *J* = 1,42, 8,22), 7,87 (s, 1H, 1''), 7,67–7,65 (t, 1H, 6', *J* = 7,22), 7,57–7,55 (d, 1H, 2', *J* = 16,02), 7,45–7,41 (m, 2H, 12, 4'), 7,30–7,26 (m, 2H, 5', 7'), 6,76–6,73 (d, 1H, 1', *J* = 16,03), 6,48 (s, 2H, 2, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,12–6,11 (d, 1H, 8, *J* = 8,70), 3,83 (s, 3H, 18), 3,64 (m, 1H, 6), 3,07 (m, 2H, 3), 1,65–1,49 (m, 4H, 4, 5), 1,22–1,21 (d, 3H, 7, *J* = 6,28).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 164,43 (3''), 161,30–159,64 (d, 8', *J* = 250,54), 158,99 (16), 157,86 (1), 144,62 (9), 144,21 (11), 134,74 (13), 134,50 (10), 131,90 (2'), 131,47–131,41 (d, 6', *J* = 8,67), 129,54 (14), 129,22–129,20 (d, 5', *J* = 2,69), 124,98 (1'), 122,90–122,86 (d, 4', *J* = 6,35), 122,35–122,28 (d, 3', *J* = 11,54), 122,04 (12), 116,13–115,99 (d, 7', *J* = 21,68), 96,09 (17), 91,04 (15), 54,95 (18), 47,03 (6), 39,02 (3), 33,43 (5), 26,64 (4), 20,19 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 466,1 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{25}H_{28}FN_5O_3$ (465,52): C 64,50; H 6,06; N 15,04; nađeno: C 64,69; H 6,17; N 15,33.

(*E*)-*N*-[({4-[(6-Metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-3-[3-(trifluormetil) fenil]prop-2-enamid (16i)

Količina reaktanta: 0,152 g klorida **14i**. Sirovi produkt **16i** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,040–0,063 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 95:5. Uparavanjem diklormetana pri sniženom tlaku dobiven je čisti produkt **16i**.

Iskorištenje: 0,191 g (74 %).

t_t 86–88 °C (raspad).

IR (KBr): ν_{max} 3254, 2964, 1659, 1618, 1577, 1521, 1456, 1424, 1388, 1334, 1222, 1199, 1166, 1126, 1075, 976, 900, 822, 792, 694, 660, 625, 561, 514 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 9,77 (s, 1H, 2"), 8,54 (d, 1H, 11, *J* = 2,58), 8,08–8,06 (d, 1H, 13, *J* = 7,91), 7,92–7,88 (m, 3H, 6', 8', 1"), 7,75–7,73 (d, 1H, 4', *J* = 7,53), 7,68–7,65 (t, 1H, 5', *J* = 7,55), 7,61–7,59 (d, 1H, 2', *J* = 15,88), 7,43–7,41 (m, 1H, 12), 6,78–6,76 (d, 1H, 1', *J* = 15,89), 6,47 (s, 2H, 2, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,12–6,11 (d, 1H, 8, *J* = 8,50), 3,83 (s, 3H, 18), 3,64 (m, 1H, 6), 3,07–3,06 (m, 2H, 3), 1,65–1,49 (m, 4H, 4, 5), 1,22–1,21 (d, 3H, 7, *J* = 6,00).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 164,18 (3"), 158,99 (16), 157,81 (1), 144,62 (9), 144,20 (11), 137,75 (2'), 135,90 (3'), 134,74 (13), 134,50 (10), 132,14–127,87 (q, 11', *J* = 214,50), 131,15 (4'), 130,07–129,41 (q, 7', *J* = 30,02), 130,06 (5'), 129,53 (14), 125,84 (6'), 123,98 (8'), 122,11 (12), 122,03 (1'), 96,08 (17), 91,64 (15), 54,94 (18), 47,03 (6), 39,02 (3), 33,43 (5), 26,64 (4), 20,18 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 516,2 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{26}H_{28}F_3N_5O_3$ (515,53): C 60,57; H 5,47; N 13,58; nađeno: C 60,60; H 5,81; N 13,77.

(*E*)-*N*-[({4-[(6-Metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-3-[4-(trifluormetil) fenil]prop-2-enamid (16j)

Količina reaktanta: 0,152 g klorida **14j**. Sirovi produkt **16j** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,040–0,063 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 95:5. Rastrljavanjem u eteru/petroleteru dobiven je čisti produkt **16j**. Dio produkta **16j** kristalizirao je iz reakcijske smjese te je filtriran i ispran vodom.

Iskorištenje: 0,173 g (67 %).

t_t 123 °C (raspad).

IR (KBr): ν_{max} 3266, 1695, 1664, 1612, 1525, 1469, 1425, 1390, 1327, 1235, 1169, 1118, 1067, 834, 789, 728, 631, 592 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 9,85 (s, 1H, 2''), 8,54–8,53 (d, 1H, 11, J = 3,71), 8,08–8,06 (d, 1H, 13, J = 8,07), 7,90 (s, 1H, 1''), 7,78 (s, 4H, 4', 5', 7', 8'), 7,59–7,56 (d, 1H, 2', J = 15,92), 7,43–7,41 (m, 1H, 12), 6,77–6,74 (d, 1H, 1', J = 15,90), 6,47 (s, 2H, 2, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,12–6,11 (d, 1H, 8, J = 8,58), 3,83 (s, 3H, 18), 3,64 (m, 1H, 6), 3,07–3,05 (m, 2H, 3), 1,65–1,47 (m, 4H, 4, 5), 1,22–1,21 (d, 3H, 7, J = 6,06).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 164,10 (3''), 158,98 (16), 157,80 (1), 144,61 (9), 144,19 (11), 138,73 (3'), 137,75 (2'), 134,73 (10), 134,49 (13), 129,64–129,01 (q, 6', J = 31,19), 129,53 (14), 128,13 (4', 8'), 126,81–121,32 (q, 10', J = 271,67), 125,76 (5', 7'), 122,77 (1'), 122,02 (12), 96,07 (17), 91,63 (15), 54,93 (18), 47,01 (6), 39,02 (3), 33,42 (5), 26,63 (4), 20,17 (7).

MS/MS (m/z): 516,2 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{26}H_{28}F_3N_5O_3$ (515,53): C 60,57; H 5,47; N 13,58; nađeno: C 60,22; H 5,24; N 13,33.

(*E*)-3-[3,5-*Bis*(trifluormetil)fenil]-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil} karbamoil)amino]prop-2-enamid (16k)

Količina reaktanta: 0,194 g klorida **14k**. Sirovi produkt **16k** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,040–0,063 mm te pokretnu fazu diklormetan/metanol 95:5. Prekristalizacijom iz toluena dobiven je čisti produkt **16k**.

Iskorištenje: 0,163 g (56 %).

t_t 118–119,5 °C (raspad).

IR (KBr): ν_{max} 3393, 3335, 3220, 3020, 2942, 2363, 1647, 1617, 1579, 1521, 1459, 1425, 1384, 1340, 1280, 1224, 1175, 1135, 1053, 971, 942, 898, 847, 823, 792, 730, 683, 629, 599, 561, 519, 466 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 9,81 (s, 1H, 2''), 8,55–8,53 (dd, 1H, 11, J = 1,62, 4,19), 8,29 (s, 2H, 4', 8'), 8,12 (s, 1H, 6'), 8,09–8,07 (dd, 1H, 13, J = 1,58, 8,31), 7,99 (s, 1H, 1''), 7,72–7,68 (d, 1H, 2', J = 15,92), 7,77–7,41 (m, 1H, 12), 6,94–6,90 (d, 1H, 1', J = 15,97), 6,51–6,47 (m, 2H, 2, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,14–6,11 (d, 1H, 8, J = 8,74), 3,82 (s, 3H, 18), 3,64 (m, 1H, 6), 3,06 (m, 2H, 3), 1,66–1,48 (m, 4H, 4, 5), 1,22–1,21 (d, 3H, 7, J = 6,28).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 163,86 (3''), 159,02 (16), 157,78 (1), 144,65 (9), 144,27 (11), 137,67 (3'), 136,28 (2'), 134,83 (13), 134,53 (10), 131,40–130,40 (q, 5', 7', J = 33,53),

129,60 (14), 128,22 (4', 8'), 127,28–119,14 (q, 9', 11', J = 272,61), 125,53 (6'), 124,23 (1'), 122,13 (12), 96,13 (17), 91,61 (15), 55,01 (18), 47,04 (6), 39,02 (3), 33,45 (5), 26,74 (4), 20,25 (7).

MS/MS (m/z): 584,3 $(M + 1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{27}H_{27}F_6N_5O_3$ (583,53): C 55,57; H 4,66; N 12,00; nađeno: C 55,60; H 4,83; N 12,29.

2.2.17. Sinteza *N*-(1-benzotriazolkarbonil)aminokiselina (*N*-Btc-aminokiselina) 17a-c. Opća metoda

N-(1-benzotriazolkarbonil)aminokiseline **17a-c** pripravljene su prema ranije objavljenom propisu [138]. Suspenziji odgovarajuće aminokiseline (20 mmol) u bezvodnom dioksanu (40 mL) uz miješanje je dokapana otopina BtcCl (**1**) (1,810 g, 10 mmol) u bezvodnom dioksanu (10 mL) tijekom 0,25 h. Reakcijska smjesa je miješana 24 h na sobnoj temperaturi. Talog hidroklorida aminokiseline je odsisan, a otapalo upareno pod sniženim tlakom. Sirova *N*-(1-benzotriazolkarbonil)aminokiselina pet puta je rastrljana u vrućem toluenu. IR spektri i tališta spojeva Btc-L-leucina (**17a**) i Btc-D-fenilglicina (**17b**) u potpunosti odgovaraju ranije sintetiziranim spojevima [138], dok su za Btc-DL-*p*-klorfenilglicin (**17c**) navedeni na kraju opisa za pripravu spoja **17c**.

Btc-DL-*p*-klorfenilglicin (2-[(1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karbonil)amino]-2-(4-klorfenil) octena kiselina) (17c)

Količina reaktanta: 3,712 g DL-*p*-klorfenilglicina.

Iskorištenje: 3,274 g (99 %).

t_t 127 °C (raspad).

IR (KBr): ν_{max} 3360, 2924, 2540, 1750, 1712, 1494, 1450, 1380, 1290, 1184, 1136, 1064, 1018, 976, 932, 822, 786, 754, 732, 680, 662, 642, 624, 600, 558, 538, 516, 466 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): 9,63–9,62 (d, 1H, 10', J = 7,21), 8,24–7,15 (m, 9H, 3–6, 1', 5', 6', 8', 9'), 5,71–5,69 (d, 1H, 2', J = 7,20).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 170,66 (3'), 148,50 (1), 145,48 (7), 135,76 (4'), 132,81 (7'), 131,25 (2), 130,22 (4), 130,14, 128,41 (5', 6', 8', 9'), 125,76 (5), 119,94 (6), 113,38 (3), 56,69 (2').

MS/MS (m/z): 120,1 $(BtH + 1)^+$, 353,2 $(M + 23)^+$.

2.2.18. Sinteza klorida *N*-(1-benzotriazolkarbonil)aminokiselina 18a-c. Opća metoda

Otopina odgovarajuće *N*-(1-benzotriazolkarbonil)aminokiseline **17** (4 mmol) u tionil-kloridu (20 mL) miješana je 24 h na sobnoj temperaturi. Tionil-klorid je uparen pod sniženim tlakom, a dobiveni ostatak tri puta je naparen bezvodnim toluenom. Sirovi produkti klorida **18** upotrijebljeni su u daljnjim reakcijama bez pročišćavanja.

2.2.19. Sinteza amida *N*-(1-benzotriazolkarbonil)aminokiselina 19a-g. Opća metoda

Otopini odgovarajućeg klorida *N*-(1-benzotriazolkarbonil)aminokiseline **18** (4 mmol) u bezvodnom toluenu (30 mL) uz miješanje je dokapana otopina odgovarajućeg amina[3] ili hidrazona (3,4 mmol) i TEA (0,404 g, 4 mmol) u bezvodnom toluenu (20 mL) tijekom 0,25 h. Reakcijska smjesa je miješana 0,5 h na sobnoj temperaturi. Istaloženi TEA hidroklorid je odsisan, a matičnica je uparena. Ostatak je otopljen u etil-acetatu (40 mL) i ekstrahiran 1 % otopinom klorovodične kiseline (3 × 40 mL) te ispran vodom (2 × 40 mL). Organski sloj je sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen. IR spektar, ^{1}H NMR i talište spoja **19a** i **19b** odgovaraju ranije sintetiziranim spojevima [30].

Btc-L-leucin-benzhidrilamid (2-[(1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karbonil)amino]-*N*-(difenilmetil)-4-metilpentanamid) (19a)

Količina reaktanata: 1,179 g klorida **18a** i 0,623 g difenilmetanamina. Sirovi produkt **19a** pročišćen je rastrljavanjem u eteru.

Iskorištenje: 1,081 g (72 %).

t_t 155–158 °C (lit. 153–158 °C, [30]).

IR (KBr): ν_{max} 3328, 3261, 3068, 2958, 2929, 1716, 1650, 1557, 1522, 1450, 1378, 1287, 1230, 1152, 1079, 1050, 1013, 925, 855, 836, 753, 699, 633, 567, 521, 462 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 9,12–9,09 (2d, 2H, 1', 1", *J* = 3,95), 8,23–7,24 (m, 14H, 3–6, 4"–8", 10"–14"), 6,18–6,16 (d, 1H, 2", *J* = 8,37), 4,71–4,65 (m, 1H, 2'), 1,94–1,88 (m, 1H, 4'), 1,73–1,62 (m, 2H, 5'), 0,95–0,89 (d, 6H, 6', 7', *J* = 6,48).

[3] Benzhidrilamin i (fenil)(4-klorfenil)metanamin prethodno su oslobođeni iz hidroklorida na sljedeći način: sol amina je otopljena u vodi (50 mL). Otopina je zalužena 5 % NaOH do pH 11–12 i ekstrahirana diklormetanom (6 × 40 mL) te isprana vodom do pH 7. Organski sloj je sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen. Dobiveno ulje amina upotrijebljeno je odmah u daljnjim reakcijama.

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 170,58 (3'), 148,84 (1), 145,47 (7), 142,19 (3", 9"), 131,32 (2), 130,06 (4), 128,40–127,05 (4"–8", 10"–14"), 125,65 (5), 119,84 (6), 113,54 (3), 56,08 (2'), 52,97 (2"), 38,89 (4'), 24,46 (5'), 23,08, 21,38 (6', 7').

MS/MS (*m*/*z*): 120,1 $(BtH + 1)^+$.

Btc-D-fenilglicin-*N*-metilbenzhidrilamid (2-[(1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karbonil) amino]-*N*-(difenilmetil)-*N*-metil-2-fenilacetamid) (19b)

Količina reaktanata: 1,259 g klorida **18b** i 0,671 g *N*-metil-1,1-difenilmetanamina. Sirovi produkt **19b** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat/metanol 30:10:5. Uparavanjem etera pod sniženim tlakom taloži se čisti produkt **19b**.

Iskorištenje: 0,857 g (53 %).

t_t 82–83,5 °C; lit. 89–93 °C [30].

IR (KBr): ν_{max} 3377, 3032, 2939, 1735, 1649, 1490, 1405, 1294, 1231, 1081, 1033, 932, 867, 813, 753, 702, 611, 569, 519 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 9,16–9,14 (d, 1H, 1', *J* = 5,97), 8,22–6,93 (m, 19H, 5'–9', 3–6, 4"–8", 10"–14"), 6,53 (s, 1H, 2"), 6,16–6,14 (d, 1H, 2', *J* = 6,23), 2,67 (s, 3H, 15").

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 169,24 (3'), 147,40 (1), 145,50 (7), 138,47, 138,24 (3", 9"), 135,92 (4'), 131,08 (2), 130,26 (4), 128,80–127,51 (5'–9', 4"–8", 10"–14"), 125,71 (5), 119,97 (6), 113,28 (3), 61,00 (2"), 55,58 (2'), 31,69 (1").

MS/MS (*m*/*z*): 117,9 $(BtH - 1)^-$.

Btc-D-fenilglicin-4-klorbenzhidrilamid (2-[(1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karbonil) amino]-*N*-[(fenil)(4-klorfenil)metil]-2-fenilacetamid) (19c)

Količina reaktanata: 1,259 g klorida **18b** i 0,740 g (fenil)(4-klorfenil)metanamina. Sirovi produkt **19c** pročišćen je rastrljavanjem u eteru/petroleteru, a matičnica kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,040–0,063 mm te pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat/metanol 30:10:5.

Iskorištenje: 1,400 g (83 %).

t_t 116–118,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3286, 3062, 3032, 1748, 1660, 1502, 1499, 1448, 1380, 1232, 1182, 1126, 1094, 1036, 934, 852, 812, 752, 698, 612, 572, 554, 518, 496 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 9,41–9,39 (t, 1H, 1", *J* = 7,41), 9,03–9,01 (d, 1H, 1', *J* = 7,14), 8,23–7,08 (m, 18H, 5'–9', 3–6, 4", 5", 7", 8", 10"–14"), 6,19–6,17 (d, 1H, 2", *J* = 8,10), 5,84–5,81 (t, 1H, 2', *J* = 6,46).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 172,20 (3'), 148,06 (1), 145,50 (7), 141,21, 140,76 (3", 9"), 135,60 (4'), 132,20 (6"), 131,15 (2), 130,21 (4), 129,40–126,72 (5'–9', 4", 5", 7", 8", 10"–14"), 125,69 (5), 119,91 (6), 113,33 (3), 59,56 (2'), 56,54 (2").

MS/MS (*m*/*z*): 120,1 $(BtH + 1)^+$, 496,2 $(M + 1)^+$.

Btc-DL-*p*-klorfenilglicin-4-bromanilid (2-[(1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karbonil)amino]-*N*-(4-bromfenil)-2-(4-klorfenil)acetamid) (19d)

Količina reaktanata: 1,397 g klorida **18c** i 0,585 g *p*-bromanilina. Sirovi produkt **19d** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,040–0,063 mm te pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat/metanol 30:10:5. Rastrljavanjem u eteru/petroleteru i toluenu/petroleteru dobiven je čisti produkt **19d**.

Iskorištenje: 0,989 g (60 %).

t_t 168,5–169,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3406, 3232, 3062, 1732, 1656, 1600, 1498, 1452, 1396, 1346, 1290, 1218, 1092, 1014, 930, 818, 778, 754, 724 ,656, 628, 594, 540, 502 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 10,63 (s, 1H, 1'), 9,48–9,47 (d, 1H, 1", *J* = 7,14), 8,24–7,48 (m, 12H, 3–6, 5', 6', 8', 9', 3", 4", 6", 7"), 5,83–5,82 (d, 1H, 2', *J* = 7,18).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 167,39 (3'), 148,52 (1), 145,48 (7), 137,78 (2"), 135,92 (4'), 133,04 (7'), 131,72, 129,80, 128,62, 121,47 (5', 6', 8', 9', 3", 4", 6", 7"), 131,24 (2), 130,22 (4), 125,77 (5), 119,95 (6), 115,62 (5"), 113,39 (3), 57,58 (2').

MS/MS (*m*/*z*): 120,1 $(BtH + 1)^+$.

Btc-DL-*p*-klorfenilglicin-benzhidrilamid (2-[(1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karbonil) amino]-2-(4-klorfenil)-*N*-(difenilmetil)acetamid) (19e)

Količina reaktanata: 1,397 g klorida **18c** i 0,623 g difenilmetanamina. Sirovi produkt **19e** pročišćen je rastrljavanjem u eteru/petroleteru.

Iskorištenje: 0,640 g (38 %).

t_t 164,5–166,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3388, 3276, 3062, 1732, 1682, 1648, 1492, 1448, 1380, 1288, 1218, 1094, 1024, 930, 818, 750, 702, 648, 590, 566, 540 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 9,41–9,40 (d, 1H, 1', *J* = 8,23), 9,10–9,09 (d, 1H, 1", *J* = 7,29), 8,23–7,08 (m, 18H, 3–6, 5', 6', 8', 9', 4"–8", 10"–14"), 6,17–6,15 (d, 1H, 2", *J* = 8,20), 5,84–5,83 (d, 1H, 2', *J* = 7,23).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 167,71 (3'), 148,10 (1), 145,47 (7), 141,62, 141,60 (3", 9"), 136,63 (4'), 132,79 (7'), 131,15 (2), 130,18 (4), 129,27–126,85 (5', 6', 8', 9', 4"–8", 10"–14"), 125,69 (5), 119,90 (6), 113,31 (3), 56,55 (2'), 56,34 (2").

MS/MS (*m*/*z*): 120,1 $(BtH + 1)^+$, 496,2 $(M + 1)^+$.

Btc-DL-*p*-klorfenilglicin-4-klorbenzhidrilamid (2-[(1*H*-Benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karbonil)amino]-2-(4-klorfenil)-*N*-[(fenil)(4-klorfenil)metil]acetamid) (19f)

Količina reaktanata: 1,397 g klorida **18c** i 0,740 g (fenil)(4-klorfenil)metanamina. Sirovi produkt **19f** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,040–0,063 mm te pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat/metanol 30:10:5. Rastrljavanjem u eteru/petroleteru dobiven je čisti produkt **19f**.

Iskorištenje: 0,307 g (17 %).

t_t 158–159,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3394, 3279, 3062, 1730, 1651, 1492, 1450, 1410, 1381, 1321, 1290, 1219, 1184, 1150, 1093, 1017, 930, 828, 753, 702, 623, 563, 537 cm^{-1}.

MS/MS (*m*/*z*): 120,2 $(BtH + 1)^+$.

Struktura spoja **19f** potvrđena je indirektno, kemijskom derivatizacijom u spoj **20f**.

***N*-[(4-Klorfenil)({*N*'-[(fenil)(4-metoksifenil)metilen]hidrazinkarbonil})metil]-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karboksamid (19g)**

Količina reaktanata: 1,397 g klorida **18c** i 0,769 g 4-metoksibenzofenon hidrazona. Sirovi produkt **19g** pročišćen je kromatografijom na koloni uz silikagel veličine čestica 0,040–0,063 mm te pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat/metanol 30:10:5. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **19g**.

Iskorištenje: 1,136 g (62 %).

IR (KBr): ν_{max} 3373, 3307, 3181, 3076, 3049, 2923, 2829, 1733, 1676, 1604, 1506, 1489, 1443, 1377, 1305, 1289, 1256, 1179, 1157, 1108, 1089, 1031, 960, 935, 836, 806, 779, 749, 696, 653, 628, 603, 570, 532 cm^{-1}.

MS/MS (*m*/*z*): 20,1 $(BtH+1)^+$, 539,1 $(M+1)^+$.

Struktura spoja **19g** potvrđena je indirektno, kemijskom derivatizacijom u spoj **20g**.

2.2.20. Sinteza ureidoamida primakina 20a-g. Opća metoda

Metoda A. Otopina primakina (0,259 g, 1 mmol) i amida *N*-(1-benzotriazolkarbonil)aminokiseline **19** (0,5 mmol) u dioksanu (12 mL) miješana je 24 h na sobnoj temperaturi. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom.

Metoda B. Suspenzija primakin difosfata (0,182 g, 0,4 mmol), amida *N*-(1-benzotriazolkarbonil)aminokiseline **19b** (0,190 g, 0,4 mmol) i TEA (0,081 g, 0,8 mmol) u diklormetanu (3 mL) grijana je na 70 °C 0,75 h u mikrovalnom reaktoru. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom. Sirovi produkt **20b** otopljen je u etil-acetatu (15 mL) i ekstrahiran 5 % NaOH (3 × 15 mL) i ispran vodom (2 × 15 mL). Organski sloj je sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen.

Metoda C. Otopina primakina (0,589 g, 0,1 mmol) i amida *N*-(1-benzotriazolkarbonil)aminokiseline **19d** (0,242 g, 0,5 mmol) grijana je na 40 °C 0,25 h u mikrovalnom reaktoru u prisutnosti katalitičke količine natrijevog ditionita. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom.

_N_-(Difenilmetil)-2-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-4-metilpentanamid (20a)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,221 g spoja **19a**. Sirovi produkt **20a** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,040–0,063 mm te pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat/metanol 30:10:5. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **20a**.

Iskorištenje: 0,253 g (87 %).

t_t 184,5–185,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3316, 2958, 1655, 1624, 1569, 1519, 1493, 1454, 1422, 1388, 1336, 1290, 1201, 1167, 1155, 1052, 1028, 824, 791, 746, 697 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 8,89–8,87 (d, 1H, 1", *J* = 8,53), 8,52 (s, 1H, 11), 8,08–8,06 (d, 1H, 13, *J* = 8,25), 7,43–7,20 (m, 11H, 12, 4"–8", 10"–14"), 6,46 (s, 1H, 17), 6,25 (s, 1H, 15), 6,12–5,97 (m, 4H, 2, 8, 1', 2"), 4,33–4,32 (q, 1H, 2', *J* = 8,05, 14,91), 3,81 (s, 3H, 18), 3,60 (m, 1H, 6), 3,00 (m, 2H, 3), 1,61–1,35 (m, 7H, 4, 5, 4', 5'), 1,18 (d, 3H, 7, *J* = 3,31), 0,85–0,82 (2d, 6H, 6', 7').

^{13}C NMR (DMSO–d_6, δ ppm): 172,46 (3'), 159,02 (16), 157,62 (1), 144,64 (9), 144,25 (11), 142,45, 142,40 (3", 9"), 134,82 (13), 134,54 (10), 129,60 (14), 128,34–126,93 (4"–8", 10"–

14''), 122,12 (12), 96,12 (17), 91,61 (15), 55,73 (2'), 55,00 (18), 51,44 (2''), 47,05 (6), 42,22 (4'), 39,02 (3), 33,53 (5), 26,93 (4), 24,27 (5'), 23,03, 22,01 (6', 7'), 20,24 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 582,2 $(M+1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{35}H_{43}N_5O_3$ (581,75): C 72,26; H 7,45; N 12,04; nađeno: C 72,50; H 7,55; N 12,09.

_N_-(Difenilmetil)-2-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-_N_-metil-2-fenilacetamid (20b)

Metoda B. Količina reaktanta: 0,190 g spoja **19b**. Sirovi produkt **20b** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat/metanol 30:10:5. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **20b**.

Iskorištenje: 0,084 g (34 %).

t_t 146,5–148,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3335, 3060, 3030, 2962, 2933, 2863, 1622, 1563, 1521, 1495, 1479, 1457, 1406, 1388, 1337, 1308, 1221, 1201, 1163, 1116, 1082, 1052, 1031, 1003, 971, 921, 869, 823, 791, 769, 735, 720, 701, 678, 624, 608, 566, 467 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 8,54–8,53 (d, 1H, 11, *J* = 3,06), 8,09–8,07 (d, 1H, 13, *J* = 7,94), 7,42–6,89 (m, 16H, 12, 5'–9', 4''–8'', 10''–14''), 6,67–6,46 (m, 3H, 17, 1', 2''), 6,25–6,09 (2s, 2H, 2, 15), 6,12–6,09 (d, 1H, 8, *J* = 8,50), 5,77–5,75 (d, 1H, 2', *J* = 8,11), 3,82 (s, 3H, 18), 3,61 (m, 1H, 6), 3,01 (m, 2H, 3), 2,65 (s, 3H, 1''), 1,61–1,48 (4, 5), 1,19–1,18 (d, 3H, 7, *J* = 5,83).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 171,34 (3'), 159,00 (16), 157,07 (1), 144,63 (9), 144,24 (11), 138,81, 138,62 (4, 3'', 9''), 134,80 (13), 134,51 (10), 129,58 (14), 128,66–127,36 (5'–9', 4''–8'', 10''–14''), 122,10 (12), 96,11 (17), 91,62 (15), 60,33 (2''), 54,96 (18), 54,26 (2'), 47,00 (6), 39,02 (3), 33,52 (5), 31,69 (1''), 26,87 (4), 20,21 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 616,5 $(M+1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{38}H_{41}N_5O_3$ (615,76): C 74,12; H 6,71; N 11,37; nađeno: C 74,44; H 6,80; N 11,11.

_N_-[(Fenil)(4-klorfenil)metil]-2-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil) amino]-2-fenilacetamid (20c)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,322 g (0,65 mmol) spoja **19c**. Sirovi produkt **20c** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,040–0,063 mm

te pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat/metanol 30:10:5. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **20c**.

Iskorištenje: 0,351 g (85 %).

t_t 129–131 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3317, 3255, 1621, 1571, 1547, 1518, 1489, 1453, 1422, 1386, 1218, 1157, 1090, 1051, 1029, 1014, 818, 790, 697 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 9,28–9,25 (dd, 1H, 1", *J* = 5,74, 8,25), 8,54–8,53 (d, 1H, 11, *J* = 4,09), 8,09–8,06 (dd, 1H, 13, *J* = 1,41, 8,27), 7,44–7,09 (m, 15H, 12, 5'–9', 4", 5", 7", 8", 10"–14"), 6,69–6,65 (dd, 1H, 1', *J* = 3,84, 8,57), 6,48 (s, 1H, 17), 6,26–6,24 (2s, 2H, 2, 15), 6,12–6,07 (m, 2H, 8, 2"), 5,53–5,50 (dd, 1H, 2', *J* = 5,50, 8,37), 3,82 (s, 3H, 18), 3,61 (m, 1H, 6), 3,01 (m, 2H, 3), 1,61–1,44 (m, 4H, 4, 5), 1,19–1,18 (d, 3H, 7, *J* = 6,25).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 170,08 (3'), 159,01 (16), 157,09 (1), 144,64 (9), 144,26 (11), 141,66–141,09 (3", 9"), 140,25 (4'), 134,82 (13), 134,53 (10), 131,75 (6"), 129,60 (14), 129,37–126,58 (5'–9', 4", 5", 7", 8", 10"–14"), 122,13 (12), 96,12 (17), 91,63 (15), 56,39 (2'), 55,26 (2"), 55,00 (18), 47,03 (6), 39,02 (3), 33,52 (5), 26,85 (4), 20,23 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 636,2 $(M+1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{37}H_{38}ClN_5O_3$ (635,27): C 69,85; H 6,02; N 11,01; nađeno: C 69,73; H 5,92; N 11,27.

N-(4-Bromfenil)-2-(4-klorfenil)-2-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil) amino]acetamid (20d)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,242 g spoja **19d**. Sirovi produkt **20d** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,040–0,063 mm te pokretne faze cikloheksan/diklormetan/metanol 10:18:2 i cikloheksan/etil-acetat/metanol 30:10:5. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **20d**.

Iskorištenje: 0,209 g (67 %).

Metoda C. Količina reaktanta: 0,242 g spoja **19d**. Sirovi produkt **20d** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,040–0,063 mm te pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat/metanol 30:10:5. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **20d**.

Iskorištenje: 0,186 g (59 %).

t_t 152–154,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3335, 3285, 3093, 3049, 2961, 2928, 2857, 1635, 1591, 1544, 1517, 1486, 1454, 1421, 1388, 1347, 1303, 1283, 1218, 1201, 1157, 1091, 1072, 1050, 1028, 1009, 968, 935, 899, 817, 787, 760, 710, 674, 622, 551, 499 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): 8,96 (s, 1H, 1"), 8,54–8,53 (d, 1H, 11, *J* = 3,87), 8,44 (s, 1H, 2), 8,09–8,06 (d, 1H, 13, *J* = 8,20), 7,53–7,30 (m, 9H, 12, 5', 6', 8', 9', 3", 4", 6", 7"), 7,12–7,09 (dd, 1H, 1', 3,61, 7,49), 6,47 (s, 1H, 17), 6,25 (s, 1H, 15), 6,09–6,06 (d, 1H, 8, *J* = 8,75), 5,33–5,30 (d, 1H, 2', *J* = 7,71), 3,82 (s, 3H, 18), 3,57 (m, 1H, 6), 3,09 (m, 2H, 3), 1,51–1,40 (m, 4H, 4, 5), 1,21–1,19 (d, 0,65H, 7, *J* = 6,18), 1,15–1,13 (d, 2,27H, 7, *J* = 5,74).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 169,47 (3'), 158,99 (16), 153,85 (1), 144,62 (9), 144,24 (11), 139,51 (2"), 139,15 (4'), 134,80 (13), 134,51 (10), 131,42 (7'), 131,42, 128,30, 119,36 (5', 6', 8', 9', 3", 4", 6", 7"), 129,57 (14), 122,10 (21), 112,52 (5"), 96,10 (17), 91,61 (15), 55,72 (2'), 54,98 (18), 46,87 (6), 39,02 (3), 33,27 (5), 25,72 (4), 20,16 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 626,3 $(M+1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{30}H_{31}BrClN_5O_3$ (624.96): C 57,66; H 5,00; N 11,21; nađeno: C 57,81; H 5,18; N 11,00.

N-(Difenilmetil)-2-(4-klorfenil)-2-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil) amino]acetamid (20e)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,230 g spoja **19e**. Sirovi produkt **20e** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,040–0,063 mm te pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat/metanol 30:10:5. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **20e**.

Iskorištenje: 0,114 g (36 %).

t_t 180–183 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3321, 3254, 1621, 1572, 1547, 1519, 1491, 1455, 1422, 1388, 1348, 1218, 1197, 1159, 1091, 1051, 1030, 1013, 819, 790, 744, 693 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): δ 9,27–9,25 (d, 1H, 1", *J* = 8,53), 8,53–8,52 (d, 1H, 11, *J* = 3,74), 8,08–8,06 (dd, 1H, 13, *J* = 1,46, 8,24), 7,43–7,09 (m, 15H, 12, 5', 6', 8', 9', 4"–8", 10"–14"), 6,70–6,69 (d, 1H, 1', *J* = 8,53), 6,47 (s, 1H, 17), 6,26–6,24 (2s, 2H, 2, 15), 6,11–6,10 (d, 1H, 8, *J* = 8,70), 6,06–6,05 (d, 1H, 2", *J* = 8,49), 5,54–5,52 (dd, 1H, 2', *J* = 2,55, 8,52), 3,81 (s, 3H, 18), 3,62–3,60 (m, 1H, 6), 3,02–2,97 (m, 2H, 3), 1,64–1,41 (m, 4H, 4, 5), 1,19–1,18 (d, 3H, 7, *J* = 5,54).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 169,49 (3'), 158,98 (16), 156,92 (1), 144,61 (9), 144,21 (11), 142,01–141,86 (3", 9"), 139,47 (4'), 134,77 (13), 134,49 (10), 131,81 (7'), 129,55 (14),

128,39–126,80 (5', 6', 8', 9', 4''–8'', 10''–14''), 122,06 (12), 96,06 (17), 91,62 (15), 56,90 (2'), 55,70 (2''), 54,95 (18), 47,00 (6), 39,02 (3), 33,47 (5), 26,78 (4), 20,18 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 636,4 $(M+1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{37}H_{38}ClN_5O_3$ (635,27): C 69,85; H 6,02; N 11,01; nađeno: C 69,79; H 5,90; N 11,14.

_N_-[(Fenil)(4-klorfenil)metil]-2-(4-klorfenil)-2-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil} karbamoil)amino]acetamid (20f)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,265 g spoja **19f**. Sirovi produkt **20f** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te pokretnu fazu cikloheksan/etil-acetat/metanol 30:10:5. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **20f**.

Iskorištenje: 0,127 g (38 %).

t_t 150–151,5 °C.

IR (KBr): ν_{max} 3317, 3252, 1623, 1519, 1489, 1454, 1387, 1218, 1158, 1091, 1051, 1013, 819, 790, 757, 697 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz): δ 9,29–9,28 (d, 1H, 1'', *J* = 8,62), 8,53 (s, 1H, 11), 8,08–8,07 (d, 1H, 13, *J* = 7,19), 7,43–7,09 (m, 14H, 12, 5', 6', 8', 9', 4'', 5'', 7'', 8'', 10''–14''), 6,71–6,68 (dd, 1H, 1', *J* = 4,04, 8,40), 6,47 (s, 1H, 17), 6,26–6,24 (2s, 2H, 2, 15), 6,11–6,10 (d, 1H, 8, *J* = 8,66), 6,07–6,06 (d, 1H, 2'', *J* = 8,28), 5,53–5,50 (td, 1H, 2', *J* = 2,30, 8,23, 8,05), 3,81 (s, 3H, 18), 3,61–3,60 (m, 1H, 6), 3,00 (m, 2H, 3), 1,63–1,42 (m, 4H, 4, 5), 1,19–1,18 (d, 3H, 7, *J* = 6,22).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 169,59 (3'), 158,98 (16), 156,94 (1), 144,61 (9), 144,21 (11), 141,50–140,92 (3'', 9''), 139,32 (4'), 134,76 (13), 134,49 (10), 131,81, 131,56 (7', 6''), 129,55 (14), 129,27–126,84 (5', 6', 8', 9', 4'', 5'', 7'', 8'', 10''–14''), 122,06 (12), 96,08 (17), 91,62 (15), 55,77 (2'), 55,34 (2''), 54,95 (18), 47,00 (6), 39,02 (3), 33,47 (5), 26,76 (4), 20,18 (7).

MS/MS (*m*/*z*): 670,4 $(M+1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{37}H_{37}Cl_2N_5O_3$ (669,23): C 66,27; H 5,56; N 10,44; nađeno: C 66,40; H 5,71; N 10,22.

3-[(4-Klorfenil)({*N*'-[(fenil)(4-metoksifenil)metilen]hidrazinkarbonil})metil]-1-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}urea (20g)

Metoda A. Količina reaktanta: 0,269 g spoja **19g**. Sirovi produkt **20g** pročišćen je kromatografijom na koloni uz nepokretnu fazu silikagel veličine čestica 0,063–0,200 mm te

pokretne faze diklormetan/metanol 95:5 i cikloheksan/etil-acetat 1:1. Rastrljavanjem u eteru dobiven je čisti produkt **20g**.

Iskorištenje: 0,068 g (20 %).

Ulje.

IR (film): ν_{max} 3349, 2930, 1633, 1610, 1555, 1509, 1454, 1421, 1386, 1324, 1304, 1250, 1220, 1201, 1164, 1090, 1029, 959, 819, 790, 772, 697 cm^{-1}.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz): δ 10,28 (s, 1H, 1''), 8,54–8,53 (d, 1H, 11, J = 4,08), 8,09–8,06 (d, 1H, 13, J = 8,20), 7,58–6,92 (m, 14H, 12, 5', 6', 8', 9', 4'', 5'', 7'', 8'', 10''–14''), 6,74–6,71 (d, 1H, 1', J = 8,38), 6,48 (s, 1H, 17), 6,27–6,21 (m, 2H, 2, 15), 6,13–6,10 (d, 1H, 8, J = 8,71), 5,54–5,51 (d, 0,63H, 2', J = 7,95), 5,37–5,35 (d, 0,37H, 2', J = 7,81), 3,82 (s, 3H, 18), 3,86–3,84 (d, 1H, 16'', J = 4,06), 3,78–3,76 (d, 2H, 15'', J = 5,04), 3,61 (m, 1H, 6), 3,0 (m, 2H, 3), 1,65–1,48 (m, 4H, 4, 5), 1,21–1,19 (d, 3H, 7, J = 6,05).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm): 169,45 (3'), 167,10 (6''), 158,99 (16), 157,00 (1), 155,00 (2''), 144,62 (9), 144,24 (11), 138,90 (4'), 134,79 (13), 134,51 (10), 132,50 (9''), 131,98 (7'), 130,17–127,65 (5', 6', 8', 9', 4'', 8'', 10''–14''), 129,57 (14), 124,27 (3''), 122,09 (12), 114,60, 113,77 (5'', 7''), 96,09 (17), 91,62 (15), 55,21 (2'), 54,97 (18, 15''), 47,0 (6), 39,02 (3), 33,48 (5), 26,78 (4), 20,20 (7).

MS/MS (m/z): 679,3 $(M+1)^+$.

Elementarna analiza za $C_{38}H_{39}ClN_6O_4$ (678,27): C 67,20; H 5,79; N 12,37; nađeno: C 67,39; H 5,83; N 12,19.

2.3. BIOLOŠKA ISPITIVANJA

2.3.1. Ispitivanja citostatskog djelovanja i citotoksičnosti

Ispitivanja citostatskog djelovanja provedena su na Institutu Ruđer Bošković i na Rega Institute for Medical Research, Katholieke Universiteit Leuven, Belgija, a citotoksičnost je ispitana na Swiss Tropic and Public Health Institute, Basel, Švicarska.

Citostatsko djelovanje sintetiziranih spojeva ispitano je *in vitro* na sljedećim humanim malignim staničnim linijama: adenokarcinom debelog crijeva (SW 620), adenokarcinom dojke (MCF-7), karcinom pluća ne-malih stanica (H460), karcinom gušterače (Mia Paca-2), karcinom epitela cerviksa (HeLa), adenokarcinom gušterače (Capan-1), akutna limfoblastička leukemija (CEM), akutna T limfoblastička leukemija (Molt-4/C8), akutna promijelocitna leukemija (HL-60) i kronična mijeloična leukemija (K562) te na mišjoj malignoj staničnoj liniji limfocitne leukemije (L1210), dok je citotoksičnost ispitana na staničnoj liniji mioblasta štakora (L6).

Adherentne stanične linije SW 620, MCF-7, H460, Mia Paca-2, HeLa i Capan-1 uzgajane su u monosloju i održavane u mediju DMEM, dok su stanične linije leukemija CEM, Molt-4/C8, K562, HL-60 i L1210 uzgajane u mediju RPMI 1640, na 37 °C i pri 5 % CO_2, u atmosferi zasićenoj vlagom. Mediji za uzgoj stanica obogaćeni su 10 %-tnim fetalnim goveđim serumom (FBS), 2 mM L-glutaminom i antibioticima (100 U/mL penicilin i 100 μg/mL streptomicin).

Inhibicija rasta malignih stanica uslijed izlaganja sintetiziranim spojevima ispitana je prema ranije opisanoj metodi [21–23,135,139]. Stanice su nasađene na mikrotitarske ploče s 96 bunarića u koncentraciji 1×10^4 do 5×10^4 stanica/mL, ovisno o brzini diobe stanica, nakon čega su u suspenziju dodani ispitivani spojevi u pet različitih koncentracija od 10^{-8} do 10^{-4} M (razrjeđenje 10 ×). Stanice su inkubirane 3–4 dana na 37 °C pri 5 % CO_2. Otopine ispitivanih spojeva svježe su razrjeđene na dan provođenja pokusa. Nakon završetka tretmana proveden je kolorimetrijski test koji koristi 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazolijev bromid (MTT) za procjenu vijabilnosti stanica. MTT test utvrđuje metaboličku aktivnost mitohondrijskih dehidrogenaza koje u živim stanicama kataliziraju kemijsku reakciju nastanka ljubičastog netopljivog formazana iz žutog tetrazolijevog spoja (MTT). Nakon otapanja, intenzitet nastalog obojenja proporcionalan je broju metabolički aktivnih stanica, odnosno vijabilnosti stanica, a očitava se spektrofotometrijski na valnoj duljini 570 nm.

Postotak preživljenja, odnosno vijabilnost stanica određena je na temelju srednjih vrijednosti očitanih apsorbancija prema sljedećim izrazima [139]:

a) ako je srednja vrijednost apsorbancije tretiranih stanica veća od srednje vrijednosti apsorbancije nulti dan, vrijedi izraz:

$$vijabilnost\ (\%) = \frac{apsorbancija\ tretiranih\ stanica - apsorbancija\ nulti\ dan}{apsorbancija\ kontrole - apsorbancija\ nulti\ dan} \times 100\ \%,$$

b) ako je srednja vrijednost apsorbancije tretiranih stanica manja od srednja vrijednosti apsorbancije nulti dan, vrijedi izraz:

$$vijabilnost\ (\%) = \frac{apsorbancija\ tretiranih\ stanica - apsorbancija\ nulti\ dan}{apsorbancija\ nulti\ dan} \times 100\ \%.$$

Rezultati su izraženi kao srednje vrijednosti IC_{50}, koncentracije spoja koja inhibira rast stanica za 50 %. Provedena su minimalno dva neovisna pokusa u kvadriplikatu. IC_{50} vrijednosti izračunate su iz krivulje ovisnosti vijabilnosti stanica o koncentraciji primjenom linearne regresijske analize.

Citotoksičnost sintetiziranih spojeva ispitana je na staničnoj liniji L6 prema prethodno opisanoj metodi [140,141]. Stanice u koncentraciji 4×10^4 stanica/mL nasađene su na mikrotitarske pločice s 96 bunarića, u 100 µL staničnog medija RPMI 1640, obogaćenog 2 mM L-glutaminom i 10 %-tnim FBS-om. Ispitivani spojevi dodani su u suspenziju u 11 različitih koncentracija pokrivajući raspon od 0,002 do 100 µg/mL (razrjeđenje 3 ×). Nakon 70 h inkubacije, spoj Alamar Blue (10 µL) dodan je u svaki bunarić te su ploče inkubirane 2 h nakon čega je očitana fluorescencija na fluorimetru. Valna duljina ekscitacije bila je 536 nm, a emisije 588 nm. IC_{50} vrijednosti izračunate su primjenom linearne regresijske analize iz krivulje ovisnosti inhibicije rasta stanica o koncentraciji primjenom Softmax Pro programa (Molecular Devices Cooperation, SAD). Podofilotoksin je korišten kao kontrola.

2.3.2. Ispitivanja antioksidativnog djelovanja

Antioksidativno djelovanje sintetiziranih spojeva određeno je u *in vitro* uvjetima pomoću metode DPPH te ispitivanjem inhibicije lipidne peroksidacije linolne kiseline i inhibicije aktivnosti lipooksigenaze. Istraživanja su provedena na School of Pharmacy, Faculty of Health Sciences, Aristotles University of Thessaloniki, Solun, Grčka prema prethodno opisanim postupcima [142].

Ispitivanje antioksidativnog djelovanja na temelju sposobnosti redukcije DPPH provedeno je na sljedeći način: otopini DPPH u apsolutnom etanolu (0,05 mM) dodan je jednak volumen ispitivanog spoja do konačne koncentracije 50 i/ili 100 μM te je izmjerena apsorbancija na 517 nm nakon 20 i 60 min pri sobnoj temperaturi. Pokusi su ponovljeni u triplikatu, a rezultati su izraženi kao aritmetička sredina. Standardna devijacija bila je manja od 10 % aritmetičke sredine. Nordihidrogvajaretična kiselina (NDGA) korištena je kao poredbena tvar.

Za inicijaciju lipidne peroksidacije linolne kiseline korišten je 2,2'-azobis(2-amidinopropan) dihidroklorid (AAPH) kao generator slobodnih radikala. Konačna otopina u UV kiveti sastojala se od 10 μL otopine natrijevog linoleata (16 mM), 0,93 mL fosfatnog pufera (0,05 M, pH 7,4). Otopina je zagrijana na 37 °C, nakon čega joj je dodano 10 μL otopine ispitivanog spoja u DMSO (konačna koncentracija 100 μM) i 50 μL otopine AAPH (40 mM) čime je započela reakcija oksidacije. Pokus je izvođen na 37 °C, na zraku. Nastanak konjugiranog hidroperoksidnog diena oksidacijom natrijevog linoleata u vodenoj otopini praćen je na 234 nm. Pokusi su ponovljeni u triplikatu te su rezultati izraženi kao aritmetička sredina. Standardna devijacija bila je manja od 10 % aritmetičke sredine. Troloks je korišten kao poredbena tvar, a DMSO je korišten kao slijepa proba.

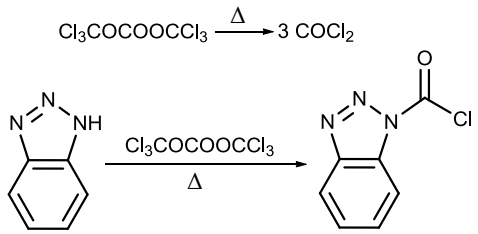
Ispitivanje inhibicije lipooksigenaze (LOX) iz soje provedeno je na sljedeći način: ispitivani spojevi (konačne koncentracije 100 μM ili šest različitih koncentracija za određivanje IC_{50} vrijednosti) otopljeni su u DMSO i inkubirani na sobnoj temperaturi u prisutnosti 0,1 mL otopine natrijevog linoleata i 0,2 mL otopine enzima LOX ($1/9 \times 10^{-4}$ m/V u fiziološkoj otopini). Oksidacija natrijevog linoleata u 13-hidroperoksilinolnu kiselinu praćena je spektrofotometrijski na 234 nm. Svako mjerenje provedeno je u triplikatu, a rezultati su izraženi kao aritmetička sredina. Standardna devijacija aritmetičke sredine bila je manja od 10 % aritmetičke sredine. Kao poredbena tvar korištena je NDGA.

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. SINTEZE

U okviru ovog doktorskog rada sintetizirani su sljedeći spojevi: amidi i hidrazidi 1-benzotriazolkarboksilne kiseline **2**, imidazolidinon **3**, urea **4**, karbamati **5**, 4-arilsemikarbazidi **6**, 1-(1-benzotriazolkarbonil)-4-arilsemikarbazidi **7**, benzotriazolid primakina **8**, semikarbazid primakina **9**, benzotriazolid semikarbazida primakina **10**, *bis*-uree primakina **11**, uree **12a**,**b**,**e-g**, semikarbazoni **12c**,**d**, benzotriazolidi derivata cimetne kiseline **13,** kloridi derivata cimetne kiseline **14**, konjugati primakina i derivata cimetne kiseline amidi **15** i 1-acilsemikarbazidi **16**, *N*-Btc-aminokiseline **17** i njihovi kloridi **18**, amidi *N*-(1-benzotriazolkarbonil)aminokiselina **19** te ureidoamidi **20**.

Klorid 1-benzotriazolkarboksilne kiseline (BtcCl, **1**) poslužio je kao početni spoj za pripravu amida 1-benzotriazolkarboksilne kiseline **2**, 1-(1-benzotriazolkarbonil)-4-arilsemikarbazida **7**, benzotriazolida derivata cimetne kiseline **13**, derivata primakina: benzotriazolida primakina **8**, benzotriazolida semikarbazida primakina **10**, te derivata aminokiselina *N*-(1-benzotriazolkarbonil) aminokiselina **17**. BtcCl priređen je refluksiranjem benzotriazola (BtH) i trifozgena u otopini bezvodnog toluena (Shema 23) [143]. Također, klorid **1** se može sintetizirati i iz benzotriazola i 20 % otopine fozgena ili uvođenjem plinovitog fozgena u toluensku otopinu benzotriazola [131]. Međutim, zbog jednostavnijeg i sigurnijeg rukovanja u laboratoriju, danas se uglavnom upotrebljava čvrsti trimer fozgena trifozgen, koji se zagrijavanjem razlaže na tri molekule fozgena (Shema 23).

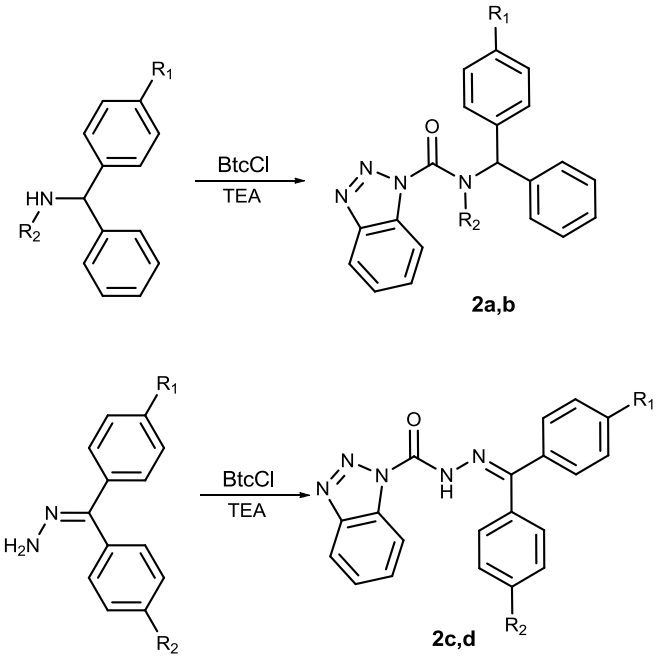


Shema 23. Sinteza klorida 1-benzotriazolkarboksilne kiseline (BtcCl, **1**).

3.1.1. Sinteza 1-(*N*-arilkarbamoil) benzotriazola, 1-(*N*-arilkarbohidrazoil)benzotriazola (amida i hidrazida 1-benzotriazolkarboksilne kiseline) 2a-d i 1-(trifenilmetil)imidazolidin-2-ona (3)

Klorid **1** u reakciji s aminima (*N*-metil-1,1-difenilmetanamin i (fenil)(4-klorfenil)metanamin) i hidrazonima (4-metoksibenzofenon i 4,4'-dimetoksibenzofenon hidrazon) daje reaktivne spojeve 1-(*N*-arilkarbamoil)benzotriazole **2a** i **2b** (aktivne uree), odnosno 1-(*N*-arilkarbohidrazoil)benzotriazole **2c** i **2d** (aktivni semikarbazoni) (Shema 24). Reakcije su provedene uz ekvimolarnu količinu TEA koji služi kao akceptor oslobođenog klorovodika. U reakciji dobivanja *N*-[(fenil)(4-klorfenil)metil]-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karboksamida (**2b**) potrebna je dvostruka količina TEA kako bi se (fenil)(4-klorfenil)metanamin oslobodio iz oblika soli. Svi produkti sintetizirani su prema prilagođenom objavljenom postupku [132]. Kloridni ion je izvrsna izlazna skupina te kao takav ima prednost pred BtH kao izlaznom skupinom. Međutim, prilikom izvođenja reakcija nužno je bilo izbjeći suvišak amina, odnosno hidrazona (ili osigurati suvišak BtcCl u odnosu na amin ili hidrazon) kako bi se spriječila nukleofilna supstitucija BtH. Upravo radi toga toluenska otopina amina ili hidrazona i TEA dokapavana je u otopinu BtcCl, **1**, a ne obrnuto.

Nastali 1-(*N*-arilkarbamoil)benzotriazoli **2** vrlo su reaktivni spojevi koji s amino-spojevima daju simetrične i asimetrične uree, semikarbazide i karbazide te druge srodne spojeve, a s alkoholima karbamate [144]. Spojevi **2a** i **2b** upotrijebljeni su u daljnjim reakcijama sinteze uree **4b**, karbamata **5** i 4-arilsemikarbazida **6**, dok su **2c** i **2d** upotrijebljeni u sintezi imino-*bis*-urea **11c** i **11d** i semikarbazona **12c** i **12d**.



	2a	**2b**	**2c**	**2d**
R_1	H	Cl	OCH_3	OCH_3
R_2	CH_3	H	H	OCH_3

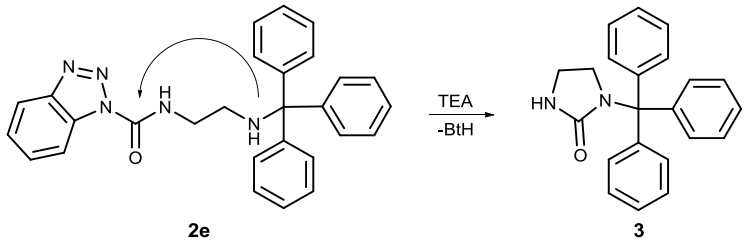
Shema 24. Sinteza 1-(*N*-arilkarbamoil)benzotriazola **2a-d**.

Pripravljeni su sljedeći 1-(*N*-arilkarbamoil)benzotriazoli, odnosno 1-(*N*-arilkarbohidrazoil) benzotriazoli:

N-(difenilmetil)-*N*-metil-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karboksamid (**2a**),
N-[(fenil)(4-klorfenil)metil]-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karboksamid (**2b**),
N'-[(fenil)(4-metoksifenil)metilen]-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karbohidrazid (**2c**),
N'-[*bis*(4-metoksifenil)metilen]-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karbohidrazid (**2d**).

Na opisani način pokušalo se pripraviti i amid 1-benzotriazolkarboksilne kiseline N^1-tritiletan-1,2-diamina **2e**. Međutim, tijekom ove reakcije uočeno je oslobađanje BtH što je upućivalo na intramolekulsku ciklizaciju (Shema 25). Naime, ovaj diamin posjeduje sekundarnu amino skupinu koja u bazičnim uvjetima (TEA) ili pri višim temperaturama nukleofilno supstituira BtH na karbonilnoj skupini aktivne uree pri čemu nastaje ciklička urea

– *N*-supstituirani imidazolidinski derivat 1-(trifenilmetil)imidazolidin-2-on (**3**). Iz tog razloga navedeni 1-(*N*-arilkarbamoil)benzotriazol **2e** nije izoliran.



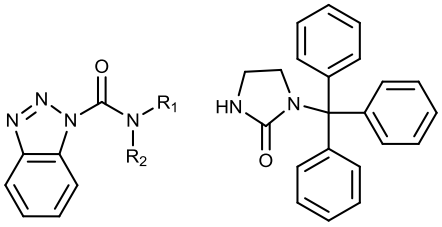
Shema 25. Intramolekulska ciklizacija spoja **2e** u cikličku ureu – spoj **3**.

Svi sintetizirani derivati **2a-d** i **3** novi su spojevi. Njihova sinteza i čistoća praćeni su tankoslojnom kromatografijom. Strukture spojeva **2a**, **2b** i **3** potvrđene su uobičajenim spektroskopskim metodama (IR, ^{1}H i ^{13}C NMR, MS) te elementarnom analizom koja je služila i za potvrdu čistoće, dok su strukture spojeva **2c** i **2d** potvrđene indirektno, derivatizacijom u spojeve **11c**,**d** i **12c**,**d**.

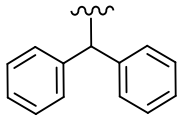
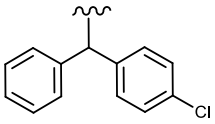
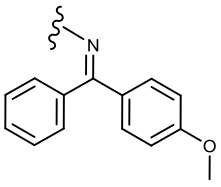
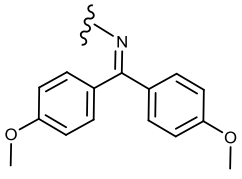
IR spektri 1-(*N*-arilkarbamoil)benzotriazola **2** pokazuju karakteristične vrpce kod 3319–3306 (NH rastezanje), 1755–1696 (C=O rastezanje, amid I) i 1610–1522 (NH uvijanje, amid II) cm^{-1}. Apsorpcijska vrpca aktivnih urea koja odgovara C=O rastezanju pomaknuta je prema višim valnim brojevima u odnosu na obične amide, što je karakteristično za karbamoilazole. ^{1}H NMR spektar spoja **2b** otkriva da se signal NH, izmjenjiv s D_2O nestaje, nalazi u području 10,04 ppm, dok u spektru tercijarnog amida **2a** tog signala nema. Analizom ^{13}C NMR spektara utvrđeno je da se karbonil nalazi u području 148,68–150,71 ppm. Kemijski pomaci protona u ^{1}H, odnosno ugljika u ^{13}C NMR spektrima u skladu su s predloženim strukturama novih spojeva. U masenim spektrima spojeva **2a** i **2b** vide se natrijevi adukti, dok je u masenom spektru spoja **3** prisutan imidazolidin-2-onski fragment pri *m/z* 243,2. Međutim, struktura spoja **3** potvrđena je NMR spektrom – 15 vodikovih atoma u aromatskom području, signal NH izmjenjiv s D_2O na 6,33 ppm i dva bliska tripleta na 3,26 i 3,15 ppm u ^{1}H spektru, te signal karbonila na 161,40 ppm i odgovarajući broj aromatskih i alifatskih ugljikovih atoma u ^{13}C spektru.

Analitički i spektroskopski podaci za spojeve **2a-d** i **3** dani su u Tablicama 1–3.

Tablica 1. Analitički i IR podaci za benzotriazolide **2a-d** i 1-(trifenilmetil)imidazolidin-2-on **3**.

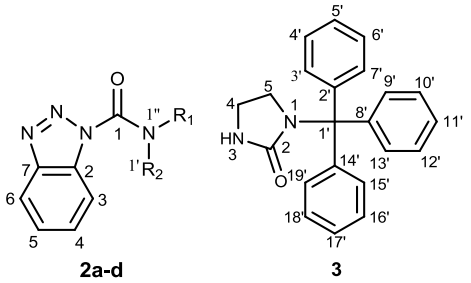


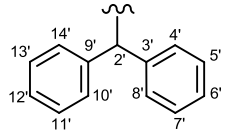
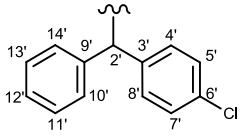
2a-d **3**

Spoj	R_1	R_2	Iskor. (%)	t_t (°C)	Mol. formula (M_r)	MS (*m/z*)	IR (KBr/film) ν_{max} (cm^{-1})
2a		CH_3	79	93–96	$C_{21}H_{18}N_4O$ (342,39)	365,2 $(M+23)^+$ 707,4 $(2M+23)^+$	3050, 1696, 1600, 1488, 1450, 1400, 1360, 1292, 1230, 1074, 1038, 746, 718
2b		H	79	143,5–145,5	$C_{20}H_{15}ClN_4O$ (362,81)	385,2 $(M+23)^+$	3306, 1708, 1522, 1448, 1378, 1230, 1070, 1016, 754, 702, 600
2c		H	90	–	$C_{21}H_{17}N_5O_2$ (371,39)	–	3313, 1755, 1610, 1509, 1490, 1448, 1371, 1255, 1216, 1178, 1028, 958, 944, 878, 769, 757
2d		H	85	–	$C_{22}H_{19}N_5O_3$ (401,42)	–	3319, 1746, 1609, 1499, 1446, 1325, 1306, 1248, 1169, 1080, 1025, 879, 837, 784, 752

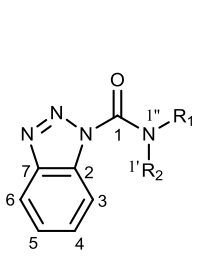
3	–	–	80	224–225,5	$C_{22}H_{20}N_2O$ (328,41)	243,2 (imidazol. fragment)	3258, 1698, 1488, 1394, 1258, 1220, 1032, 760, 710, 628, 560

Tablica 2. ^{1}H NMR spektroskopski podaci za benzotriazolide **2a**,**b** i 1-(trifenilmetil) imidazolidin-2-on **3**.

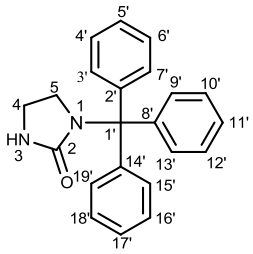


Spoj	**R_1**	**R_2**	**^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz)**
2a		$^{1'}CH_3$	8,19 (d, 1H, 3, J = 8,19), 7,94 (d, 1H, 6, J = 8,37), 7,71 (t, 1H, 5, J = 7,29), 7,55 (t, 1H, 4, J = 7,59), 7,46–7,32 (m, 10H, 4'–8', 10'–14'), 6,87 (s, 1H, 2'), 3,04 (s, 3H, 1')
2b		H	10,04 (d, 1H, 1'', izmjenjiv s D_2O, J = 8,80), 8,21 (d, 1H, 3, J = 8,21), 8,16 (d, 1H, 6, J = 8,21), 7,71 (t, 1H, 5, J = 7,60), 7,56–7,25 (m, 10 H, arom,), 6,41 (d, 1H, 2', J = 8,80)
3	–	–	7,36 (d, 6H, 3', 7', 9', 13', 15', 19', J = 7,94), 7,26 (t, 6H, 4', 6', 10', 12', 16', 18', J = 7,52, 8,06), 7,17 (t, 3H, 5', 11', 17', J = 7,31), 6,33 (s, 1H, 3, izmjenjiv s D_2O), 3,26 (t, 2H, 5, J = 7,69), 3,19 (t, 2H, 4, J = 7,31)

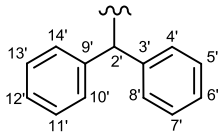
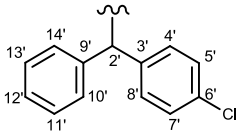
Tablica 3. ^{13}C NMR spektroskopski podaci za benzotriazolide **2a**,**b** i 1-(trifenilmetil) imidazolidin-2-on **3**.



2a-d



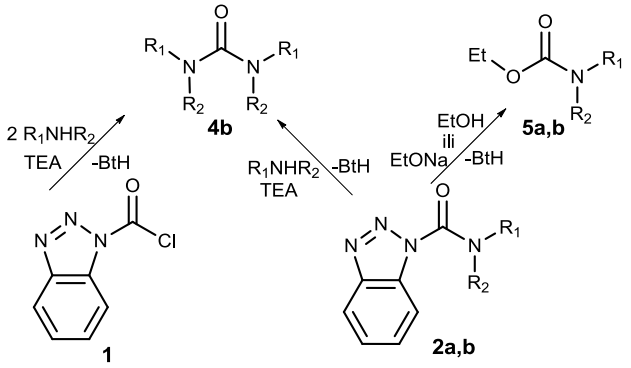
3

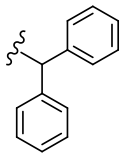
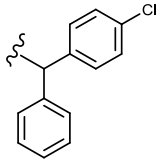
Spoj	R_1	R_2	^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm)
2a		$^{1'}CH_3$	150,71 (1), 144,62 (2), 137,98 (3', 9'), 132,65 (7), 129,50, 128,65, 128,4, 127,81, 125,44, 119,59, 113,37 (3–6, 4'–8', 10'–14'), 64,40 (2'), 30,19 (1')
2b		H	148,68 (1), 145,44 (7), 140,69 (9'), 140,13 (3'), 132,03 (6'), 131,45 (2), 129,94–125,60 (arom.), 119,78 (6), 113,47 (3), 57,20 (2')
3	–	–	161,40 (2), 143,26 (2', 8', 14'), 128,93 (4', 6', 10', 12', 16', 18'), 127,23 (3', 7', 9', 13', 15', 19'), 126,11 (5', 11', 17'), 72,50 (1'), 45,14 (5), 37,50 (4)

3.1.2. Sinteza 1,3-*bis*[(fenil)(4-klorfenil)metil]uree (4b) i karbamata 5

Simetrična urea **4b** pripremljena je prema prilagođenim propisima [21,22,132] iz 1-(*N*-arilkarbamoil)benzotriazola **2b**, uz mali suvišak soli (fenil)(4-klorfenil)metanamina te četverostruku količinu TEA (Shema 26). Jedan ekvivalent TEA nužan je za oslobađanje amina iz oblika soli, jedan služi kao akceptor oslobođenog BtH, a preostala dva ekvivalenta TEA imaju katalitičku ulogu. Alternativna metoda za pripravu uree **4b** uključuje klorid **1** i (fenil)(4-klorfenil)metanamin u omjeru 1:2, u prisutnosti TEA. Pokušaj pripreme simetrične uree iz 1-(*N*-arilkarbamoil)benzotriazola **2a** na opisani način nije uspio niti pri povišenoj temperaturi i produljenom vremenu reakcije. S obzirom da su *N*-metil-1,1-difenilmetanamin i (fenil)(4-klorfenil)metanamin podjednako jake baze [145], vjerojatno sterički efekti u sekundarnom aminu ometaju supstituciju BtH.

Karbamati **5** pripremljeni su u reakciji 1-(*N*-arilkarbamoil)benzotriazola **2a** i **2b** sa suviškom natrijevog etoksida na sobnoj temperaturi (Metoda A) ili refluksiranjem u etanolu (Metoda B) (Shema 26) [21,131]. Etoksid je bolji nukleofil od etanola te reakcija s etoksidom ide na sobnoj temperaturi u vrlo visokom iskorištenju (η = 95 %), za razliku od etanola koji zahtjeva višu temperaturu reakcije, dok je iskorištenje niže (η = 79 %).



	5a	**4b**, **5b**
R_1		
R_2	CH_3	H

Shema 26. Sinteza 1,3-*bis*[(fenil)(4-klorfenil)metil]uree (**4b**) i karbamata **5**.

Pripravljeni su sljedeći spojevi:
1,3-*bis*[(fenil)(4-klorfenil)metil]urea (**4b**),
etil-*N*-(difenilmetil)-*N*-metilkarbamat (**5a**),
etil-*N*-[(fenil)(4-klorfenil)metil]karbamat (**5b**).

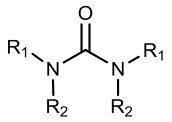
Karbamati **5** su novi, do sada neopisani spojevi, a urea **4b** je komercijalno dostupan spoj [134]. Sinteza svih derivata i njihova čistoća praćeni su tankoslojnom kromatografijom. Njihove strukture potvrđene su uobičajenim spektroskopskim metodama (IR, ^{1}H i ^{13}C NMR, MS) te elementarnom analizom koja je služila i za potvrdu čistoće.

IR spektar uree **4b** pokazuje karakteristične vrpce kod 3308 (NH rastezanje), 1630 (C=O rastezanje, amid I) i 1572 (NH uvijanje, amid II) cm^{-1}, dok se karakteristične apsorpcijske

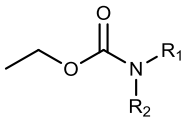
vrpce karbonilne skupine karbamata u IR spektrima spojeva **5** nalaze pri višim valnim brojevima kod 1714–1698 (C=O rastezanje, amid I) cm^{-1}. U ^{1}H NMR spektru spoja **4b** signal NH nalazi se na 6,96 ppm. U području 7,40–7,22 ppm nalazi se multiplet koji odgovara signalima vodikovih atoma u aromatskom dijelu molekule. Analizom ^{13}C NMR spektra utvrđeno je da se signal karbonilne skupine uree **4b** nalazi na 156,22 ppm, dok su signali karbonilnih skupina karbamata **5** odsjenjeniji zbog vezanog elektronegativnijeg atoma kisika u odnosu na atom dušika, te su pomaknuti u niže polje (158,01–158,00 ppm). Kemijski pomaci protona u ^{1}H, odnosno ugljika u ^{13}C NMR spektrima u skladu su s predloženim strukturama spojeva. U masenim spektrima uree **4b** i karbamata **5** vide se natrijevi adukti odgovarajućeg *m*/*z*.

U literaturi nisu opisani analitički ni spektroskopski podaci za ureu **4b** te su dani zajedno s podacima za karbamate **5** u Tablicama 4 i 5.

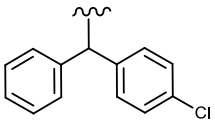
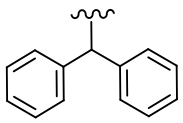
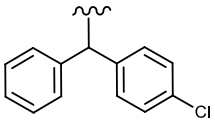
Tablica 4. Analitički i IR podaci za ureu **4b** i karbamate **5**.



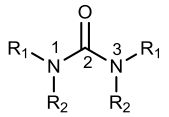
4b



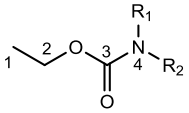
5a,b

Spoj	**R_1**	**R_2**	**Iskor. (%)**	**t_t (°C)**	**Mol. formula (M_r)**	**MS (*m/z*)**	**IR (KBr/film) ν_{max} (cm^{-1})**
4b		H	74	298–300	$C_{27}H_{22}Cl_2N_2O$ (461,38)	484,3 $(M+23)^+$	3308, 1630, 1572, 1488, 1452, 1280, 1090, 1014, 849, 810, 754, 700
5a		CH_3	95	ulje	$C_{17}H_{19}NO_2$ (269,34)	292,2 $(M+23)^+$	3030, 2980, 1698, 1448, 1398, 1306, 1170, 1142, 1004, 770, 736, 704
5b		H	79	116–118	$C_{16}H_{16}ClNO_2$ (289,76)	312,2 $(M+23)^+$	3286, 1714, 1684, 1530, 1492, 1278, 1238, 1090, 1040, 848, 754, 700

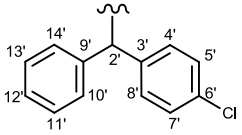
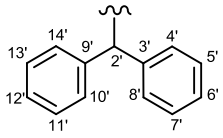
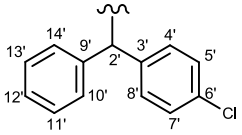
Tablica 5. ^{1}H i ^{13}C NMR spektroskopski podaci za ureu **4b** i karbamate **5**.



4

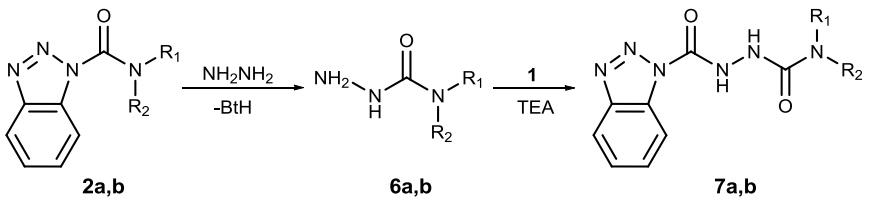


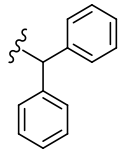
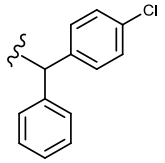
5

Spoj	R_1	R_2	^{1}H i ^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz)
4b		H	7,40–7,22 (m, 9H, 4'–8', 10', 11', 13', 14'), 6,96 (d, 1H, 1, 3, J = 8,30), 5,88 (d, 1H, 2', J = 8,10) 156,22 (2), 142,91 (3'), 142,64 (9'), 131,33 (12'), 128,56–128,34 (5', 7', 10', 11', 13', 14'), 127,08 (6'), 126,86 (4', 8'), 56,38 (2')
5a		$^{1'}CH_3$	7,37–7,12 (m, 10H, 4'–8', 10'-14'), 6,52 (s, 1H, 2'), 4,11–4,06 (q, 2H, 2, J = 7,09), 2,64 (s, 3H, 1'), 1,19 (t, 3H, 1, J = 6,91) 158,00 (3), 139,25 (3', 9'), 128,51–127.39 (4'–8', 10'–14'), 62,30 (2'), 61,08 (2), 30,96 (1'), 14,54 (1)
5b		H	8,21 (d, 1H, 4, izmjenjiv s D_2O, J = 7,44), 7,38–7,22 (m, 9H, 4'–8', 10', 11', 13', 14'), 5,87 (d, 1H, 2', J = 9,19), 4,03–4,00 (q, 2H, 2, J = 7,00), 1,17 (t, 3H, 1, J = 6,00) 158,01 (3), 142,24, 141,79 (3', 9'), 131,50 (12'), 128,96–127,00 (4'–8', 10', 11', 13', 14'), 59,96 (2), 57,48 (2'), 14,58 (1)

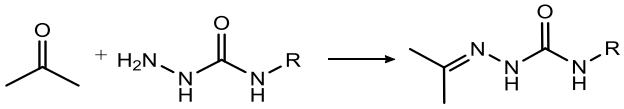
3.1.3. Sinteza 4-arilsemikarbazida 6 i 1-(1-benzotriazolkarbonil)-4-arilsemikarbazida 7

1-(*N*-arilkarbamoil)benzotriazoli **2a** i **2b** i hidrazin hidrat upotrijebljeni su za pripravu 4-arilsemikarbazida **6** prema prilagođenom ranije objavljenom propisu (molarni omjer reaktanata 1:6, dioksan, sobna temperatura, 25 h) [23,132,135]. BtH je u reakciji nukleofilne supstitucije zamijenjen hidrazinom (Shema 27). Reakcije su izvođene uz veliki suvišak hidrazin hidrata te je otopina spoja **2** polagano dokapavana u otopinu hidrazin hidrata, a ne obrnuto, kako bi se spriječila kondenzacija spoja **2** s nastalim produktom **6**. U reakciji nije uočen nastanak kondenziranog derivata. Prilikom obrade reakcije izbjegavan je aceton zbog moguće reakcije karbonilne skupine acetona sa slobodnom amino skupinom 4-arilsemikarbazida **6** (Shema 28) [106].



	a	b
R_1		
R_2	CH_3	H

Shema 27. Sinteza 4-arilsemikarbazida **6** i 1-(1-benzotriazolkarbonil)-4-arilsemikarbazida **7**.



Shema 28. Moguća reakcija acetona i 1-nesupstituiranog semikarbazida.

Dobiveni 4-arilsemikarbazidi **6** su zatim acilirani pomoću BtcCl do 1-(1-benzotriazolkarbonil)-4-arilsemikarbazida **7** (Shema 27) prema prethodno objavljenom propisu [23,135]. Reakcija je izvođena u prisutnosti ekvimolarne količine TEA kao akceptora oslobođenog klorovodika kako bi se spriječila intramolekulska ciklizacija u bazičnim uvjetima u 4-supstituirani 1,2,4-triazolidin-3,5-dion moguća kod spoja **7b**. Otopina spoja **6** polagano je dokapavana otopini klorida **1**, a ne obrnuto, da ne bi došlo do kondenzacije spoja **6** s nastalim produktom **7**. Spojevi **7** upotrijebljeni su u reakciji aminolize primakinom u sintezi *bis*-urea (1-primakinkarbonil-4-arilsemikarbazida) **11a** i **11b** te u danim reakcijskim uvjetima nisu pokazali sklonost intramolekulskoj ciklizaciji.

Pripravljeni su sljedeći 4-arilsemikarbazidi **6** i 1-(1-benzotriazolkarbonil)-4-arilsemikarbazidi **7**:

3-amino-1-(difenilmetil)-1-metilurea (**6a**),

3-amino-1-[(fenil)(4-klorfenil)metil]urea (**6b**),

N-{[(difenilmetil)(metil)karbamoil]amino}-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karboksamid (**7a**),

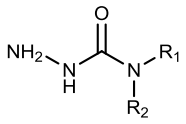
N-({[(fenil)(4-klorfenil)metil]karbamoil}amino)-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karboksamid (**7b**).

Svi sintetizirani spojevi su novi. Tijek sinteze i čistoća spojeva praćeni su tankoslojnom kromatografijom. Strukture spojeva **6a** i **6b** potvrđene su uobičajenim spektroskopskim metodama (IR, ^{1}H i ^{13}C NMR, MS) te elementarnom analizom koja je služila i za potvrdu čistoće, dok su strukture spojeva **7a** i **7b** potvrđene indirektno, derivatizacijom u spojeve **11a** i **11b**.

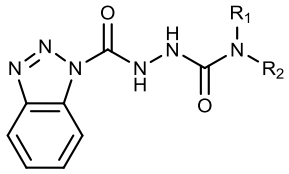
IR spektri spojeva **6** pokazuju karakteristične apsorpcijske vrpce kod 1662–1626 (C=O rastezanje, amid I), kod sličnih valnih brojeva kao u IR spektru uree **4b**, dok IR spektri spojeva **7** pokazuju apsorpcijske vrpce kod 1666–1664 (C=O rastezanje, amid I) te dodatne vrpce karbonila pri višim valnim brojevima 1758–1754 cm^{-1} (C=O rastezanje, amid I) što upućuje na uvođenje dodatne karbonilne skupine u obliku 1-benzotriazolkarbonila u strukturu. ^{1}H NMR spektri spojeva **6** pokazuju da se signal NH vezan na karbonil nalazi u području 7,62–7,01 ppm. U ^{1}H NMR spektru spoja **6a** jedan NH signal je izostao budući da je dušikov atom u položaju 4, koji potječe iz amina, tercijaran. Signal koji odgovara NH_2 skupini zasjenjeniji je te je pomaknut u više polje u područje 4,16–3,96 ppm. MS spektar spoja **6a** pokazuje natrijev adukt, dok se kod spoja **6b** vidi pseudomolekulski ion.

Analitički i spektroskopski podaci za spojeve **6** i **7** dani su u Tablicama 6 i 7.

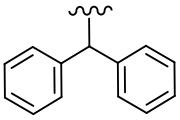
Tablica 6. Analitički i IR podaci za spojeve **6** i **7**.

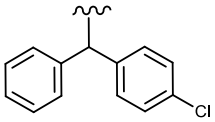
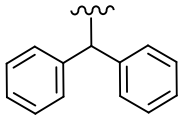
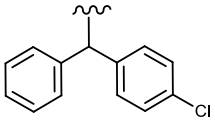


6a,b

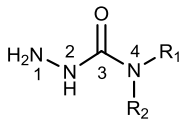


7a,b

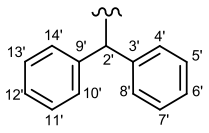
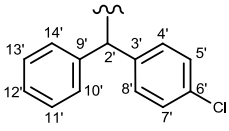
Spoj	R_1	R_2	Iskor. (%)	t_t (°C)	Mol. formula (M_r)	MS (*m/z*)	IR (KBr/film) ν_{max} (cm^{-1})
6a		CH_3	74	105–108,5	$C_{15}H_{17}N_3O$ (255,31)	278,3 $(M+23)^+$	3320, 1626, 1496, 1318, 1188, 1024, 878, 738, 714, 608

6b		H	76	148,5–150	$C_{14}H_{14}ClN_3O$ (275,73)	276,2 $(M+1)^+$	3408, 3334, 3218, 3082, 1662, 1634, 1560, 1566, 1472, 1096, 1016, 698
7a		CH_3	82	171,5–172,5	$C_{22}H_{20}N_6O_2$ (400,43)	–	3386, 3288, 1758, 1666, 1562, 1486, 1449, 1376, 1284, 1120, 1100, 1040, 875, 770, 750, 712, 698
7b		H	48	161,5–162,5	$C_{21}H_{17}ClN_6O_2$ (420,85)	–	3358, 3294, 1754, 1664, 1572, 1492, 1448, 1236, 1016, 752

Tablica 7. ^{1}H i ^{13}C NMR spektroskopski podaci za spojeve **6**.



6

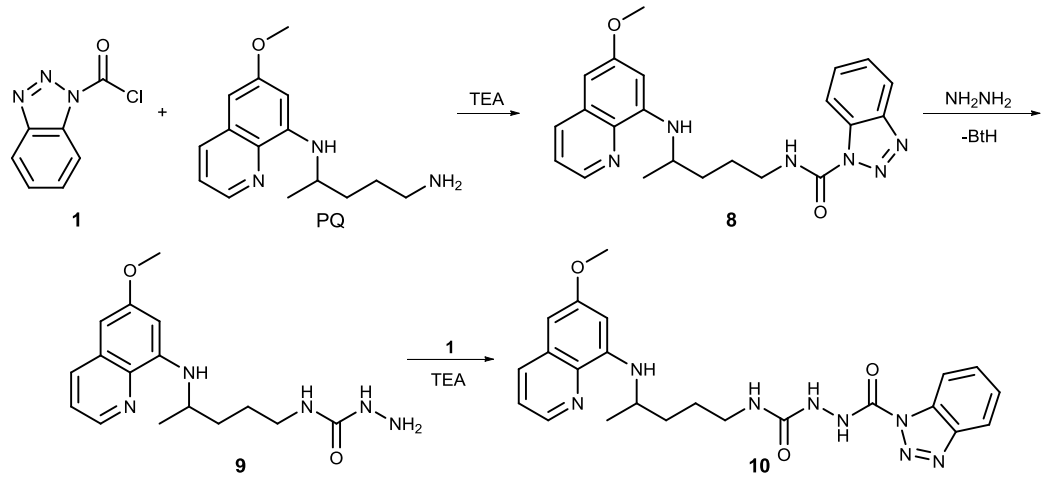
Spoj	**R_1**	**R_2**	**^{1}H i ^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz)**
6a		$^1CH_3$	7,62 (s, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O), 7,36 (t, 4H, 5', 7', 11', 13', J = 7,53), 7,31–7,28 (t, 2H, 6', 12', J = 7,25), 7,12 (d, 4H, 4', 8', 10', 14', J = 7,57), 6,74 (s, 1H, 2'), 3,96 (s, 2H, 1, izmjenjiv s D_2O), 2,58 (s, 3H, 1') 160,50 (3), 140,01 (3', 9'), 128,32 (5', 7', 11', 13'), 128,27 (4', 8', 10', 14'), 127,05 (6', 12'), 60,97 (2'), 30,19 (1')
6b		H	7,30–7,23 (m, 9H, arom.), 7,08 (s, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O), 7,01 (d, 1H, 4, izmjenjiv s D_2O, J = 8,56), 5,95 (d, 1H, 2', J = 8,56), 4,16 (s, 2H, 1, izmjenjiv s D_2O) 159,21 (3), 142,94 (9'), 142,60 (3'), 131,32 (6'), 128,80–126,84 (4', 5', 7', 8', 10'–14'), 56,00 (2')

3.1.4. Sinteza semikarbazida primakina 9 i benzotriazolida semikarbazida primakina 10

Prvi korak u sintezi spojeva **9** i **10** bila je priprava benzotriazolida primakina **8**. Spoj **8** sintetiziran je aciliranjem primakina kloridom **1** uz ekvimolarnu količinu TEA kao akceptora oslobođenog klorovodika (Shema 29). Reakcija je izvođena uz zaštitu od svjetlosti jer je primakin na svjetlosti nestabilan. Primakin je komercijalno dostupan u obliku difosfata te je neposredno prije upotrebe oslobođen iz soli zaluživanjem do pH 10–11 pomoću natrijeve lužine (w = 5 %). Sinteza i karakterizacija benzotriazolida primakina **8** prethodno je opisana te su temperatura tališta i IR spektar odgovarali literaturnim podacima [22].

Semikarbazid primakina **9** sintetiziran je aminolizom benzotriazolida primakina **8** hidrazinom u prisutnosti natrijevog ditionita kao antioksidansa prema prilagođenom ranije objavljenom propisu (molarni omjer reaktanata 1:2, dioksan, sobna temperatura, 4 dana) (Shema 29) [23,132,135]. Reakcijska smjesa bila je također zaštićena od svjetlosti. Kako je reakcija bila vrlo spora, nije bilo potrebno polagano dokapavati benzotriazolid primakina **8** u otopinu hidrazin hidrata, nego su reaktanti samo pomiješani u otapalu. Prilikom obrade reakcije izbjegavan je aceton zbog moguće reakcije keto skupine sa slobodnom amino skupinom semikarbazida **9**, kao i u slučaju obrade 4-arilsemikarbazida **6** (poglavlje 3.1.3.).

Benzotriazolid semikarbazida primakina **10** pripremljen je aciliranjem semikarbazida **9** kloridom **1** uz TEA kao akceptor oslobođenog klorovodika prema prethodno objavljenom propisu (Shema 29) [23,135]. Kao i kod sinteze spojeva **7**, reakcija je izvođena uz ekvimolarnu količinu TEA kako bi se izbjegla potencijalna intramolekulska ciklizacija u bazičnim uvjetima. Također, otopina spoja **9** i TEA polagano je dokapavana u otopinu klorida **1** kako ne bi došlo do kondenzacije spoja **9** s nastalim spojem **10**. Zbog nestabilnosti, benzotriazolid **10** nije izoliran te je upotrijebljen u sljedećem reakcijskom koraku s odgovarajućim aminima bez prethodnog pročišćavanja.



Shema 29. Sinteza derivata primakina: semikarbazida **9** i benzotriazolida semikarbazida **10**.

Pripravljeni su sljedeći spojevi:
N-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karboksamid (**8**),
3-amino-1-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}urea (**9**),
N-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karboksamid (**10**).

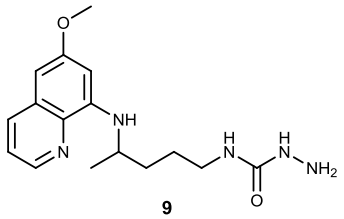
Novi spojevi su derivati primakina **9** i **10**. Sinteze derivata i njihova čistoća praćeni su tankoslojnom kromatografijom. Struktura spoja **9** potvrđena je uobičajenim analitičkim i spektroskopskim metodama (IR, ^{1}H i ^{13}C NMR, MS) te elementarnom analizom koja je služila i za potvrdu čistoće, dok je struktura spoja **10** potvrđena indirektno, derivatizacijom u spojeve **11**.

IR spektar semikarbazida primakina **9** pokazuje karakterističnu apsorpcijsku vrpcu koja odgovara rasteznoj vibraciji semikarbazidne karbonilne skupine u sličnom području valnih brojeva kao kod 4-arilsemikarbazida **6** (1618 cm^{-1}, amid I). ^{1}H NMR spektar spoja **9** pokazuje da se signali NH skupina vezanih na karbonil nalaze na 6,84 i 6,34 ppm, dok je signal koji odgovara NH_2 skupini zasjenjeniji te je pomaknut u više polje na 4,03 ppm. Prisutnost primakinskog ostatka potvrđena je ^{1}H NMR spektrom: dublet dubleta koji odgovara aromatskom vodikovom atomu na položaju 11 u susjedstvu piridinskog dušika kinolinskog prstena nalazi se na 8,55–8,54, metoksi skupina vidi se kao singlet na 3,82, CH kiralnog ugljikovog atoma je multiplet na 3,63–3,57, dok je metilna skupina dublet na 1,21 ppm. ^{13}C NMR spektar pokazuje signale ugljikovih atoma koji odgovaraju gore navedenim signalima u protonskom spektru pri 144,28, 54,98, 47,05 i 20,20 ppm, redom. Osim toga, ^{13}C

NMR spektar otkriva signal semikarbazidnog karbonila na 159,00 ppm. MS spektar spoja **9** pokazuje pseudomolekulski ion.

Analitički i spektroskopski podaci za spoj **9** dani su u Tablicama 8 i 9.

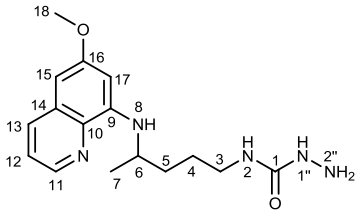
Tablica 8. Analitički i IR podaci za semikarbazid primakina **9**.



9

Spoj	Iskor. (%)	t_t (°C)	MS (*m/z*)	Mol. formula (M_r)	IR (KBr/film) ν_{max} (cm^{-1})
9	81	109–110,5	318,2 $(M+1)^+$	$C_{16}H_{23}N_5O_2$ (317,39)	3370, 3328, 2960, 2930, 1618, 1570, 1524, 1456, 1388, 1294, 1275, 1208, 1170, 1054, 900, 820, 795, 680, 623

Tablica 9. ^{1}H i ^{13}C NMR spektroskopski podaci za semikarbazid primakina **9**.



9

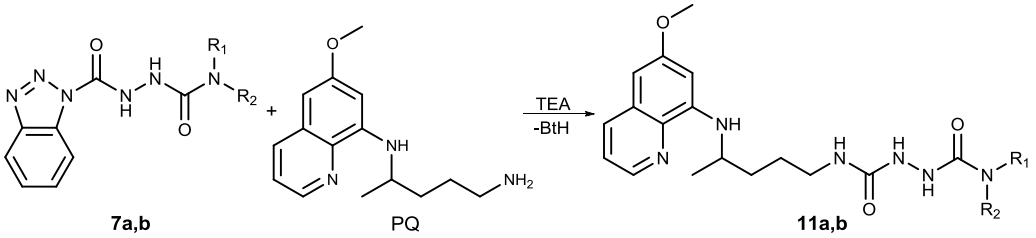
Spoj	^{1}H (DMSO-d_6, δ ppm, *J*/Hz)	^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm)
9	8,54–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,65, 4,19), 8,09–8,06 (dd, 1H, 13, *J* = 1,63, 8,35), 7,44–7,41 (m, 1H, 12), 6,84 (s, 1H, 1'', izmjenjiv s D_2O), 6,47 (s, 1H, 17), 6,34 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, *J* = 5,87), 6,26 (s, 1H, 15), 6,11 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,75), 4,03 (s, 2H, 2'', izmjenjiv s D_2O), 3,82 (s, 3H, 18), 3,63–3,57 (m, 1H, 6), 3,04–3,01 (q, 2H, 3, *J* = 5,78), 1,68–1,45 (m, 4H, 4, 5), 1,21 (d, 3H, 7, *J* = 6,33)	160,23 (16), 159,00 (1), 144,63 (9), 144,28 (11), 134,80 (13), 134,51 (10), 129,57 (14), 122,11 (12), 96,09 (17), 91,59 (15), 54,98 (18), 47,05 (6), 38,88 (3), 33,44 (5), 27,00 (4), 20,20 (7)

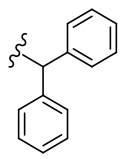
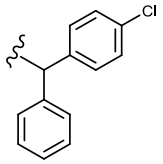
3.1.5. Sinteza derivata primakina s velikim arilnim ili hidroksialkilnim supstituentima 11a-l i 12a-g

U sklopu ranijih istraživanja u Zavodu za farmaceutsku kemiju sintetizirani su različiti semikarbazidi i uree primakina te im je ispitano citostatsko i antioksidativno djelovanje [21–23]. U ovom poglavlju opisana je priprava novih *bis*-urea (1-primakinkarbonil-4-supstituiranih semikarbazida) **11a-g**, urea **12a**,**b**,**e-g** i semikarbazona **12c**,**d** s velikim arilnim (benzhidrilnim, tritilnim ili fenilnim) te *bis*-urea **11h-l** s hidroksialkilnim supstituentima. Kao i u sintezi spojeva **9** i **10**, sve reakcije koje su uključivale primakin ili derivat primakina izvođene su uz zaštitu od svjetlosti kako bi se izbjegla razgradnja reaktanata i/ili produkata.

3.1.5.1. Sinteza bis-urea primakina (1-primakinkarbonil-4-supstituiranih semikarbazida) 11a-l

Za pripravu *bis*-urea primakina (1-primakinkarbonil-4-supstituiranih semikarbazida) **11a-l** primijenjene su četiri metode (Metoda A-D). U Metodi A *bis*-uree **11** sintetizirane su iz 1-(1-benzotriazolkarbonil)-4-arilsemikarbazida **7** i primakina uz TEA prema ranije objavljenom postupku [23]. Upotrijebljena je trostruka količina TEA koji je ujedno služio kao katalizator (dva ekvivalenta) i akceptor oslobođenog BtH (jedan ekvivalent). Primakin je oslobođen iz difosfatne soli prema ranije opisanom postupku. Ovom metodom sintetizirani su samo spojevi **11a** i **11b** (Shema 30).

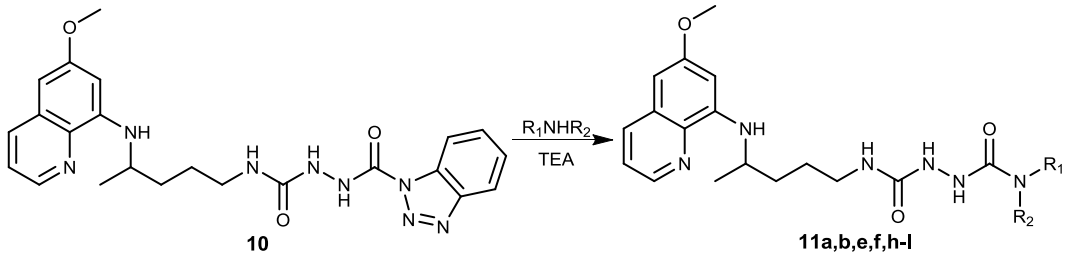


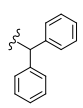
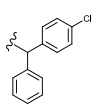
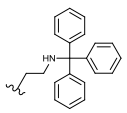
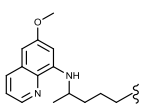
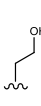
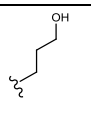
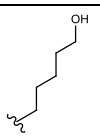
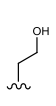
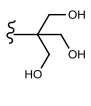
	a	**b**
R_1		
R_2	CH_3	H

Shema 30. Sinteza *bis*-urea **11a** i **11b** (Metoda A).

Metoda B nova je metoda priprave *bis*-urea **11** razvijena radi neuspješnog pokušaja priprave prekursora spoja **11e –** amida 1-benzotriazolkarboksilne kiseline **2e** s tritilnim ostatkom. Kao što je u poglavlju 3.1.1. opisano, priprava spoja **2e** nije bila uspješna zbog brze i neizbježne intramolekulske ciklizacije u spoj **3**. Iz ovog razloga razvijena je Metoda B u kojoj su prekursori bili semikarbazid primakina **9** te njegov benzotriazolid **10** kao analozi 4-arilsemikarbazida **6** i njihovih benzotriazolida **7**. U Metodi B *bis*-uree **11** sintetizirane su iz benzotriazolida semikarbazida primakina **10** i odgovarajućeg amina uz dvostruku količinu TEA. Jedan ekvivalent bio je akceptor BtH, a drugi katalizator ili je služio za oslobađanje amina iz oblika soli. Ovom metodom pripremljene su sve *bis*-uree **11**, osim **11c**,**d** i **g** (Shema 31).

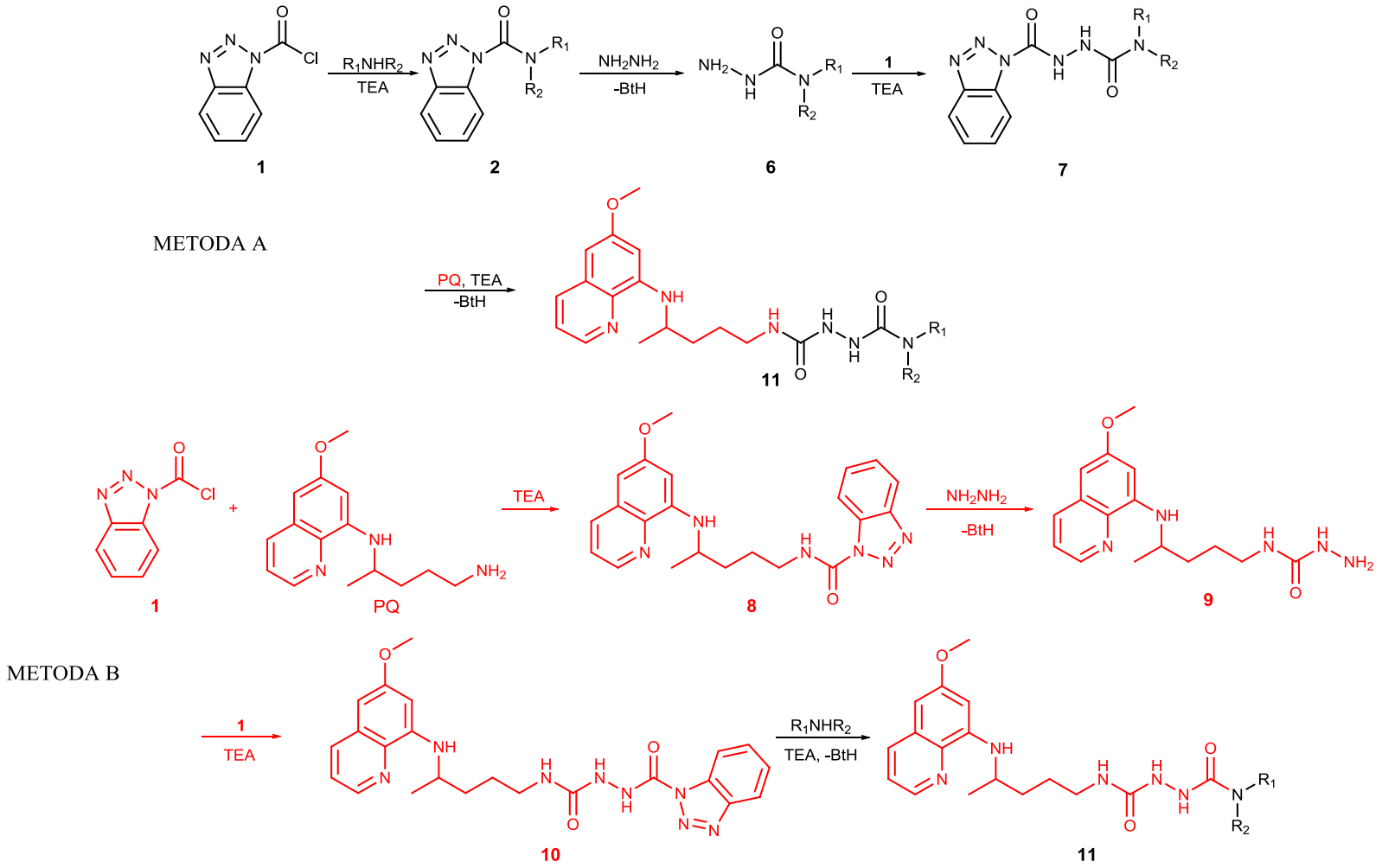
Kod sinteze hidroksialkilnih derivata **11h-l** u zadnjem reakcijskom koraku u molekulu je ulazio bifunkcionalni amin s jednom ili više hidroksilnih skupina koje također mogu u reakciji nukleofilne supstitucije istisnuti BtH iz spoja **10**. Međutim, zbog zadanih blagih reakcijskih uvjeta i jačih nukleofilnih svojstava amina u odnosu na alkohole, hidroksilna skupina amina nije reagirala. Također, obrada ovih reakcija razlikovala se od obrade reakcija u kojima je konačni produkt na položaju 4 imao arilni supstituent. Za razliku od arilnih derivata, sirovi hidroksialkilni derivati **11h-l** pročišćeni su kromatografijom na koloni bez prethodne ekstrakcije zbog toga što su produkti **11h-l** zbog veće hidrofilnosti ekstrakcijom prelazili u vodenu fazu. Derivati **11h-l** međusobno se razlikuju po duljini alkilnog lanca ili po broju hidroksilnih skupina (Shema 31).



	a	**b**	**e**	**f**	**h**	**i**	**j**	**k**	**l**
R_1									
R_2	CH_3	H	H	H	H	H	H		H

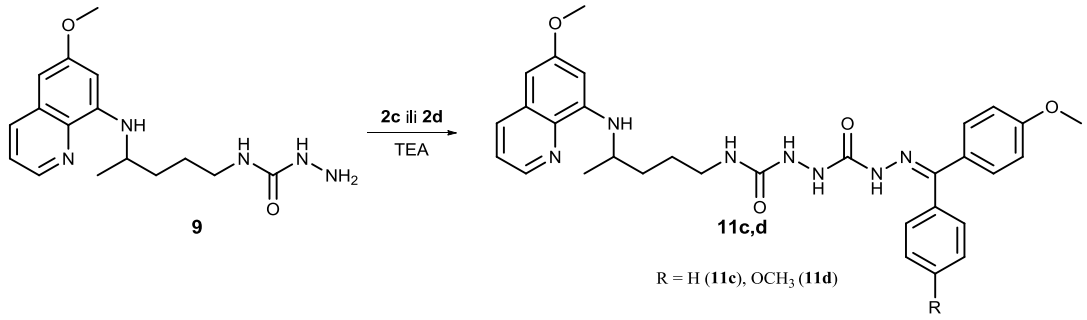
Shema 31. Sinteza *bis*-urea primakina **11a**,**b**,**e**,**f**,**h-l** (Metoda B).

Metoda A i B dvije su alternativne metode. U prvom pristupu (Metoda A), *bis*-uree **11** „rasle“ su sa semikarbazidne strane, a primakin je tek u zadnjem reakcijskom koraku ulazio u molekulu, dok je u drugom pristupu (Metoda B) produkt „rastao“ s primakinske strane. Spojevi **11a** i **11b** sintetizirani su na oba načina. Obje metode daju podjednako iskorištenje (nešto više iskorištenje je bilo u Metodi B), a reakcije također podjednako dugo traju (~ 1 dan). Međutim, Metodi B dana je prednost pred Metodom A jer uključuje jedan zajednički prekursor svih *bis*-urea **11** – semikarbazid primakina **9** iz kojeg se u jednom koraku bez izolacije pripravlja neposredni prekursor **10** koji reagira s odgovarajućim aminima dajući konačne produkte **11**. S druge strane Metoda A zahtijevala bi pripravu različitih 1-(1-benzotriazolkarbonil)-4-supstituiranih semikarbazida **7** iz odgovarajućih 4-supstituiranih semikarbazida **6**. Za sintezu semikarbazida **6** prethodno je potrebno pripraviti amide 1-benzotriazolkarboksilne kiseline **2** iz odgovarajućih amina i klorida **1**. Dakle, sinteza konačnog produkta **11** prema Metodi A prethodno zahtjeva četiri reakcijska koraka za svaki pojedini derivat, u odnosu na Metodu B u kojoj konačni produkt nastaje iz zajedničkog prekursora **10** u jednom reakcijskom koraku. Također, spoj **11e** nije bilo moguće sintetizirati Metodom A. Usporedba dvije metode prikazana je na Shemi 32. Crveno su označeni reakcijski koraci zajednički sintezama svih spojeva **11**.

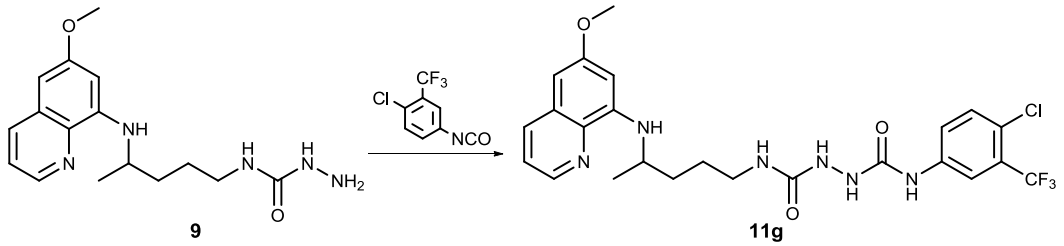


Shema 32. Usporedba Metode A i Metode B za sintezu *bis*-urea **11**.

Spojevi **11c**,**d**,**g** pripravljeni su direktno iz semikarbazida primakina **9** i derivata **2c** ili **2d** uz TEA (Metoda C) (Shema 33), odnosno izocijanatnog derivata 2-(trifluormetil)-4-izocijanato-1-klorbenzena bez TEA (Metoda D) (Shema 34). S obzirom na reaktante, Metoda C zapravo predstavlja hibrid Metoda A i B, dok je produkt **11g** dobiven direktno u jednom reakcijskom koraku pri čemu nije bila potrebna aktivacija ni jednog od reaktanata pomoću BtcCl. Naime, izocijanatna funkcionalna skupina vrlo je jak elektrofil te spremno reagira s nukleofilima, poput amino derivata. Nukleofilni napad događa se na vrlo reaktivnom elektrofilnom linearnom (*sp* hibridizacija) ugljikovom atomu (N=C=O) te se nova karbamoilna skupina uvodi u molekulu nukleofila [106,146]. U konkretnom slučaju, u sintezi spoja **11g** navedeni izocijanat reagirao je s nukleofilnom terminalnom amino skupinom semikarbazida **9** dajući *bis*-ureu **11g** (Shema 34).



Shema 33. Sinteza imino-*bis*-urea **11c** i **11d** Metodom C.



Shema 34. Sinteza *bis*-uree **11g** Metodom D.

U Tablici 10 dan je pregled reakcijskih uvjeta i iskorištenja za sve *bis*-uree primakina **11a-l**.

Tablica 10. Reakcijski uvjeti sinteze *bis*-urea **11a-l**.

Spoj 11	Metoda	Množinski omjer reaktanata	Otapalo	Temp (°C)	Trajanje reakcije (h)	Obrada	Iskorištenje (%)
a,**b**	A	1:1:3 (**7** : PQ : TEA)	dioksan	s.t.	18,5	ekstrakcija u lužnatom	54–59
a,**b**,**e**,**f**	B	1:1:2 (**10** : amin : TEA)	dioksan	s.t.	2–20	ekstrakcija u lužnatom	58–68
h-l	B	1:1:2 (**10** : amin : TEA)	dioksan	s.t.	18–24	bez ekstrakcije	42–85
c,**d**	C	1:1:1,5 (**9** : **2** : TEA)	dioksan	s.t.	1	ekstrakcija u lužnatom	78–79
g	D	1:1,5:0 (**9** : izocijanat : TEA)	toluen	s.t.	24	bez ekstrakcije	51

s.t. – sobna temperatura

Pripravljene su sljedeće *bis*-uree:
3-{[(difenilmetil)(metil)karbamoil]amino}-1-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}urea (**11a**),
3-({[(fenil)(4-klorfenil)metil]karbamoil}amino)-1-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil} urea (**11b**),
1-{[(fenil)(4-metoksifenil)metilen]amino}-3-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil} karbamoil)amino]urea (**11c**),
1-{[*bis*(4-metoksifenil)metilen]amino}-3-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil} karbamoil)amino]urea (**11d**),
1-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-3-{2-[(trifenilmetil)amino] etil}urea (**11e**),
3-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}-1-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil} karbamoil)amino]urea (**11f**),
1-({[3-(trifluormetil)-4-klorfenil]karbamoil}amino)-3-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino] pentil}urea (**11g**),
3-(2-hidroksietil)-1-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]urea (**11h**),

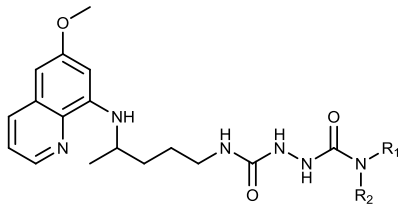
3-(3-hidroksipropil)-1-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]penil}karbamoil)amino]urea (**11i**), 3-(5-hidroksipentil)-1-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]urea (**11j**), 3-{[*bis*(2-hidroksietil)karbamoil]amino}-1-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}urea (**11k**), 3-({[1,3-dihidroksi-2-(hidroksimetil)propan-2-il]karbamoil}amino)-1-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}urea (**11l**).

Svi sintetizirani derivati **11a-l** novi su spojevi. Tijek sinteze i čistoća praćeni su tankoslojnom kromatografijom, a njihove strukture potvrđene su uobičajenim spektroskopskim metodama (IR, ^{1}H i ^{13}C NMR, MS) te elementarnom analizom koja je služila i za potvrdu čistoće.

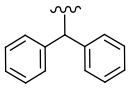
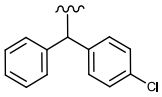
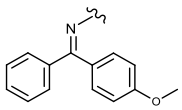
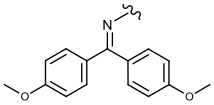
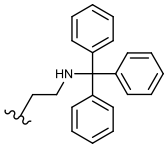
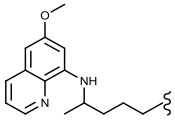
IR spektri *bis*-urea **11** pokazuju karakteristične vrpce kod 3346–3250 (NH i OH rastezanje), 1686–1616 (C=O rastezanje, amid I) i 1613–1519 (NH uvijanje, amid II) cm^{-1}. U ^{1}H NMR spektrima potvrđena je prisutnost primakinskog ostatka u svim sintetiziranim derivatima: signal vodikovog atoma u susjedstvu piridinskog dušika javlja se u području 8,55–8,51, metoksi skupina daje singlet na 3,83–3,79, signal CH kiralnog ugljikovog atoma multiplet je na 3,68–3,53, dok je signal metilne skupine dublet na 1,26–1,16 ppm. ^{13}C NMR spektar pokazuje signale pripadajućih ugljikovih atoma u području 144,73–144,21, 55,47–54,96, 47,55–46,99 i 20,69–20,15 ppm, redom. U ^{1}H spektru signal NH skupine vezane na kinolinski prsten nalazi se na 6,12–6,08 ppm, dok je signal terminalne NH skupine primakina, u novom spoju vezane na karbonil, pomaknut niže u polje te se nalazi u području 6,49–6,31 ppm. Signali hidroksilnih skupina u derivatima **11h-l** tripleti su izmjenjivi s D_2O u području 4,85–4,32 ppm. Signali metoksi skupina u spojevima **11c** i **11d** vrlo su bliski signalu metoksi skupine primakina. Benzhidrilni ostatak daje očekivane signale u aromatskom području s odgovarajućim brojem vodikovih, odnosno ugljikovih atoma. U ^{13}C spektru spojeva **11a-l** vide se dva bliska karbonilna signala u području 159,81–155,98 ppm. Signal ugljikovog atoma koji nosi dvije fenilne skupine u spojevima **11a** i **11b** bitno se razlikovao: derivat s klorom (**11b**) ima manji kemijski pomak (56,62 ppm), dok je signal derivata bez klora pomaknut niže u polje prema višim kemijskim pomacima (61,11 ppm). Analogni ugljikovi atomi u spojevima **11c** i **11d** odsjenjeniji su zbog elektron-odvlačećeg utjecaja atoma dušika te su pomaknuti prema znatno višim ppm vrijednostima (155,02–154,96 ppm). Tritilni derivat **11e** u ^{13}C spektru pokazuje novi signal kvarternog ugljikovog atoma na 70,17 ppm te dva nova karakteristična signala alifatskih ugljika na 65,05 i 43,87 ppm. U MS spektrima svih derivata **11a-l** vidi se pseudomolekulski ion.

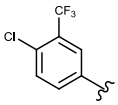
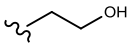
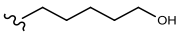
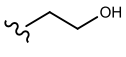
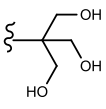
Analitički i spektroskopski podaci za *bis*-uree **11a-l** dani su u Tablicama 11–13.

Tablica 11. Analitički i IR podaci za *bis*-uree **11a-l**.

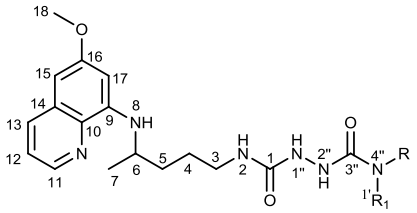


11a-l

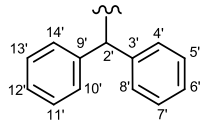
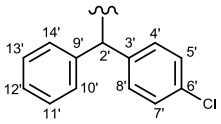
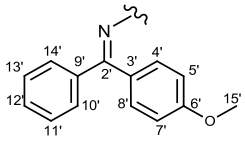
Spoj	R_1	R_2	t_t (°C)	Mol. formula (M_r)	MS (*m/z*)	IR (KBr/film) ν_{max} (cm^{-1})
11a		CH_3	79–82	$C_{31}H_{36}N_6O_3$ (540,66)	541,3 $(M+1)^+$	3294, 2934, 1642, 1520, 1454, 1424, 1388, 1336, 1220, 1158, 850, 690, 720, 702
11b		H	96–98	$C_{30}H_{33}ClN_6O_3$ (561,07)	–	3302, 3086, 2936, 1656, 1572, 1520, 1492, 1388, 1220, 1158, 840, 790, 700
11c		H	107–108 (raspad)	$C_{31}H_{35}N_7O_4$ (569,65)	570,3 $(M+1)^+$	3346, 3060, 2962, 2934, 1686, 1613, 1576, 1519, 1457, 1388, 1251, 1169, 1111, 1030, 822, 791, 774
11d		H	117,5–120 (raspad)	$C_{32}H_{37}N_7O_5$ (599,68)	600,2 $(M+1)^+$	3344, 2933, 2837, 1683, 1610, 1575, 1516, 1456, 1422, 1387, 1337, 1303, 1251, 1167, 1110, 1030, 837, 822, 791
11e		H	109,5–110	$C_{38}H_{43}N_7O_3$ (645,79)	646,4 $(M+1)^+$	3374, 3306, 3228, 2932, 1662, 1620, 1544, 1520, 1454, 1388, 1220, 1200, 1158, 850, 790, 770, 749, 708
11f		H	135–136,5	$C_{32}H_{42}N_8O_4$ (602,73)	603,4 $(M+1)^+$	3306, 3228, 3084, 2936, 1662, 1616, 1576, 1521, 1456, 1388, 1220, 1202,

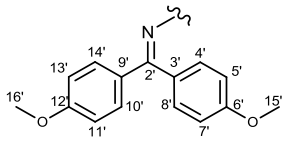
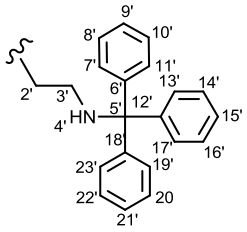
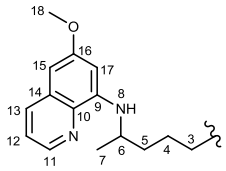
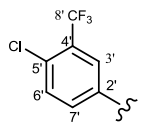
						1158, 1051, 821, 791
11g		H	109–111	$C_{24}H_{26}ClF_3N_6O_3$ (538,95)	539,2 $(M+1)^+$	3250, 3131, 2964, 2930, 1684, 1617, 1595, 1542, 1517, 1424, 1387, 1324, 1261, 1134, 1032, 906, 827, 792
11h		H	196,5–197,5	$C_{19}H_{28}N_6O_4$ (404,46)	405,2 $(M+1)^+$	3300, 3093, 2927, 2855, 1662, 1616, 1558, 1520, 1456, 1422, 1387, 1334, 1219, 1200, 1157, 1071, 1051, 819, 790
11i		H	191–193,5	$C_{20}H_{30}N_6O_4$ (418,49)	419,3 $(M + 1)^+$	3302, 3226, 3092, 2934, 1661, 1616, 1575, 1558, 1520, 1456, 1423, 1387, 1329, 1220, 1200, 1158, 1052, 1032, 820, 790
11j		H	167,5–169,5	$C_{22}H_{34}N_6O_4$ (446,54)	447,3 $(M + 1)^+$	3302, 3226, 3090, 2935, 2860, 1661, 1616, 1575, 1558, 1520, 1456, 1423, 1387, 1330, 1219, 1201, 1159, 1134, 1051, 1032, 821, 790
11k			ulje	$C_{21}H_{32}N_6O_5$ (448,52)	449,2 $(M+1)^+$	3330, 2936, 1616, 1576, 1520, 1456, 1387, 1220, 1167, 1051, 822, 791
11l		H	112–115	$C_{21}H_{32}N_6O_6$ (464,52)	465,3 $(M+1)^+$	3320, 2936, 1654, 1617, 1576, 1521, 1457, 1423, 1388, 1221, 1202, 1159, 1052, 1031, 822, 791

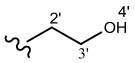
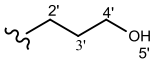
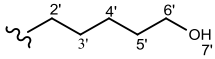
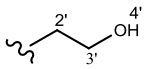
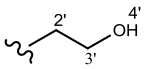
Tablica 12. ^{1}H NMR spektroskopski podaci za *bis*-uree **11a-l**.

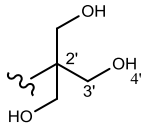


11

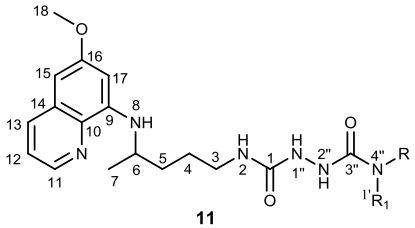
Spoj	R_1	R_2	^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz)
11a		$^{1'}CH_3$	8,54–8,53 (dd, 1H, 11, J = 1,72, 4,27), 8,29 (s, 1H, 2'', izmjenjiv s D_2O), 8,09–8,06 (dd, 1H, 13, J = 1,76, 8,29), 7,44–7,41 (m, 1H, 12), 7,37–7,12 (m, 11H, 4'–8',10'–14', 1'', izmjenjiv s D_2O), 6,69 (s, 1H, 2'), 6,48 (s, 1H, 17), 6,31 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, J = 5,59), 6,27 (s, 1H, 15), 6,11 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, J = 8,70), 3,82 (s, 3H, 18), 3,64–3,56 (m, 1H, 6), 3,07–3,01 (q, 2H, 3, J = 6,02, 9,79), 2,65 (s, 3H, 1'), 1,65–1,40 (m, 4H, 4, 5), 1,20 (d, 3H, 7, J = 6,28)
11b		H	8,55–8,53 (dd, 1H, 11, J = 1,35, 4,09), 8,10–8,07 (dd, 1H, 13, J = 1,29, 8,29), 7,66 (s, 1H, 2'', izmjenjiv s D_2O), 7,57 (s, 1H, 1'', izmjenjiv s D_2O), 7,45–7,13 (m, 10H, 4', 5', 7', 8', 10'–14', 12), 7,10 (d, 1H, 4'', izmjenjiv s D_2O, J = 8,50), 6,49 (s, 1H, 17), 6,37 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, J = 5.21), 6,28 (s, 1H, 15), 6,12 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, J = 8,58), 5,95 (d, 1H, 2', J = 8,30), 3,83 (s, 3H, 18), 3,67–3,53 (m, 1H, 6), 3,10–2,95 (m, 2H, 3), 1,70–1,36 (m, 4H, 4, 5), 1,20 (d, 3H, 7, J = 6,19)
11c		H	8,67 (s, 1H, 4'', izmjenjiv s D_2O), 8,53–8,52 (dd, 1H, 11, J = 1,44, 4,15), 8,47 (s, 1H, 2'', izmjenjiv s D_2O), 8,09–8,05 (dd, 1H, 13, J = 1,44, 8,30), 7,61–7,11 (m, 8H, 4', 5', 8', 10'–14'), 7,53 (d, 1H, 1'', izmjenjiv s D_2O, J = 5,59), 7,48–7,46 (q, 1H, 12, J = 3,83, 4,31), 6,90 (d, 1H, 7', J = 8,94), 6,47 (s, 1H, 17), 6,35 (s, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O), 6,27 (s, 1H, 15), 6,11 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, J = 8,78), 3,83 (s, 3H, 15'), 3,82 (s, 3H, 18), 3,68–3,57 (m, 1H, 6), 3,04–3,03 (m, 2H, 3), 1,67–1,40 (m, 4H, 4, 5), 1,26 (d, 3H, 7, J = 6,39)

11d		H	8,60 (s, 1H, 4", izmjenjiv s D_2O), 8,53–8,52 (dd, 1H, 11, *J* = 1,68, 4,15), 8,27 (s, 1H, 2", izmjenjiv s D_2O), 8,07–8,06 (dd, 1H, 13, *J* = 1,50, 8,24), 7,52 (s, 1H, 1", izmjenjiv s D_2O), 7,49 (d, 2H, 4', 8', *J* = 8,76), 7,42–7,40 (q, 1H, 12, *J* = 4,14), 7,17, 7,11 (2d, 4H, 10', 11', 13', 14', *J* = 8,70), 6,89 (d, 2H, 5', 7', *J* = 8,94), 6,46 (s, 1H, 17), 6,36 (s, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O), 6,26 (s, 1H, 15), 6,11 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,70), 3,79 (s, 3H, 18), 3,78 (s, 3H, 16'), 3,76 (s, 3H, 15'), 3,65–3,60 (m, 1H, 6), 3,09–3,01 (m, 2H, 3), 1,65–1,46 (m, 4H, 4, 5), 1,20 (d, 3H, 7, *J* = 6,31)
11e		H	8,53 (d, 1H, 11, *J* = 7,85), 8,07 (d, 1H, 13, *J* = 8,40), 7,53 (s, 1H, 2", izmjenjiv s D_2O), 7,49 (s, 1H, 1", izmjenjiv s D_2O), 7,44–7,14 (m, 16H, 12, 7'–11', 13'–17', 19'–23'), 6,47 (s, 1H, 17), 6,40 (t, 1H, 1', izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,13), 6,33 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, *J* = 6,48, 7,21), 6,24 (s, 1H, 15), 6,09 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,22), 3,82 (s, 3H, 18), 3,61–3,56 (m, 1H, 6), 3,17–3,12 (q, 2H, 2', *J* = 6,11), 3,03–2,98 (q, 2H, 3, *J* = 6,48), 2,77 (t, 1H, 4', izmjenjiv s D_2O, *J* = 7,21), 2,06–2,00 (q, 2H, 3', *J* = 5,75, 7,58), 1,62–1,42 (m, 4H, 4, 5), 1,16 (d, 3H, 7, *J* = 4,29)
11f		H	8,53–8,51 (dd, 1H, 11, *J* = 1,55, 4,14), 8,07–8,05 (dd, 1H, 13, *J* = 1,58, 8,26), 7,45 (s, 1H, 1", 2", izmjenjiv s D_2O), 7,42–7,40 (q, 1H, 12, *J* = 4,14), 6,46 (s, 1H, 17), 6,31 (t, 1H, 2, 4", izmjenjiv s D_2O, *J* =5,66), 6,25 (s, 1H, 15), 6,09 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,66), 3,82 (s, 3H, 18), 3,60–3,57 (m, 1H, 6), 3,04–3,00 (m, 2H, 3), 1,61–1,44 (m, 4H, 4, 5), 1,18 (d, 3H, 7, *J* = 6,28)
11g		H	9,14 (s, 1H, 4", izmjenjiv s D_2O), 8,51–8,50 (dd, 1H, 11, *J* = 1,49, 4,11), 8,12 (s, 1H, 3'), 8,10 (s, 1H, 2", izmjenjiv s D_2O), 8,06–8,04 (dd, 1H, 13, *J* = 1,35, 8,23), 7,81 (d, 1H, 7', *J* = 7,28), 7,65 (s, 1H, 1", izmjenjiv s D_2O), 7,52 (d, 1H, 6', *J* = 8,83), 7,41–7,39 (q, 1H, 12, *J* = 4,16), 6,49 (s, 1H, 2), 6,45 (s, 1H, 17), 6,24 (s, 1H, 15), 6,08 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,73), 3,80 (s, 3H, 18), 3,63–3,59 (m, 1H, 6), 3,06–3,03 (m, 2H, 3), 1,66–1,46 (m, 4H, 4, 5), 1,18 (d, 3H, 7, *J* = 6,29)

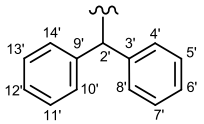
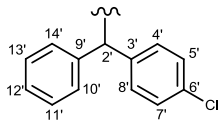
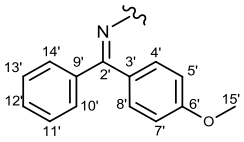
11h		H	8,54–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,57, 4,17), 8,09–8,05 (dd, 1H, 13, *J* = 1,46, 8,28), 7,58 (s, 1H, 2'', izmjenjiv s D_2O), 7,49 (s, 1H, 1'', izmjenjiv s D_2O), 7,44–7,40 (q, 1H, 12, *J* = 4,18), 6,47 (s, 1H, 17), 6,37 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, *J* = 5,59), 6,26–6,23 (m, 2H, 15, 4'', izmjenjiv s D_2O), 6,10 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,70), 4,61 (t, 1H, 4', izmjenjiv s D_2O, *J* = 5,35), 3,82 (s, 3H, 18), 3,64–3,58 (m, 1H, 6), 3,41–3,35 (q, 2H, 3', *J* = 5,99), 3,11–3,02 (m, 4H, 2', 3), 1,66–1,42 (m, 4H, 4, 5), 1,20 (d, 3H, 7, *J* = 6,28)
11i		H	8,54–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,61, 4,18), 8,09–8,05 (dd, 1H, 13, *J* = 1,55, 8,29), 7,51 (s, 1H, 2'', izmjenjiv s D_2O), 7,49 (s, 1H, 1'', izmjenjiv s D_2O), 7,44–7,40 (q, 1H, 12, *J* = 4,19), 6,47 (s, 1H, 17), 6,37 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, *J* = 5,60), 6,33 (t, 1H, 4'', izmjenjiv s D_2O, *J* = 5,84), 6,28 (s, 1H, 15), 6,10 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,76), 4,39 (t, 1H, 5', izmjenjiv s D_2O, *J* = 5,11), 3,82 (s, 3H, 18), 3,65–3,58 (m, 1H, 6), 3,43–3,37 (q, 2H, 4', *J* = 5,60, 6,08), 3,10–3,03 (m, 4H, 2', 3), 1,66–1,42 (m, 6H, 3', 4, 5), 1,20 (d, 3H, 7, *J* = 6,33)
11j		H	8,54–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,57, 4,15), 8,09–8,06 (dd, 1H, 13, *J* = 1,43, 8,29), 7,49 (s, 1H, 2'', izmjenjiv s D_2O), 7,47 (s, 1H, 1'', izmjenjiv s D_2O), 7,44–7,40 (q, 1H, 12, *J* = 4,20), 6,47 (s, 1H, 17), 6,36 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, *J* = 5,57), 6,28–6,25 (m, 2H, 15, 4'', izmjenjiv s D_2O), 6,11 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,71), 4,32 (t, 1H, 7', izmjenjiv s D_2O, *J* = 5,15), 3,82 (s, 3H, 18), 3,64–3,57 (m, 1H, 6), 3,39–3,33 (q, 2H, 6', *J* = 5,62, 6,29), 3,04–2,94 (m, 4H, 2', 3), 1,66–1,42 (m, 4H, 4, 5), 1,42–1,19 (m, 6H, 3'–5'), 1,20 (d, 3H, 7, *J* = 6,21)
11k			8,55–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,16, 4,14), 8,09–8,05 (dd, 1H, 13, *J* = 1,16, 8,27), 8,03 (s, 1H, 2'', izmjenjiv s D_2O), 7,44–7,40 (q, 1H, 12, *J* = 4,14), 7,23 (s, 1H, 1'', izmjenjiv s D_2O), 6,47 (s, 1H, 17), 6,35 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, *J* = 5,46), 6,26 (s, 2H, 15), 6,11 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,77), 4,85 (t, 2H, 4', izmjenjiv s D_2O, *J* = 4,63), 3,82 (s, 3H, 18), 3,66–3,54 (m, 1H, 6), 3,52–3,47 (q, 4H, 3', *J* = 5,46), 3,34–3,30 (q, 4H, 2' *J* = 5,36), 3,03–2,99 (q, 2H, 3, *J* = 5,62, 7,94), 1,55–1,44 (m, 4H, 4, 5), 1,20 (d, 3H, 7, *J* = 6,29)

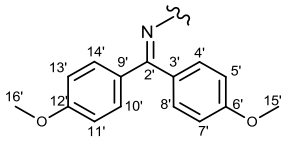
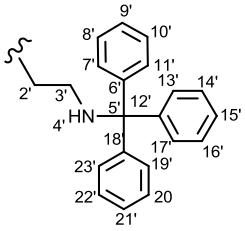
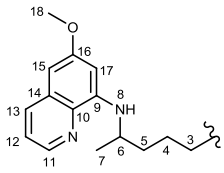
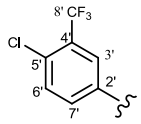
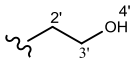
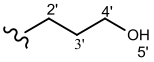
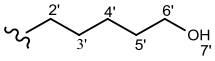
11l		H	8,54 (d, 1H, 11, *J* = 2,89), 8,07 (d, 1H, 13, *J* = 7,59), 7,87 (s, 1H, 2'', izmjenjiv s D_2O), 7,58 (s, 1H, 1'', izmjenjiv s D_2O), 7,44–7,40 (q, 1H, 12, *J* = 3,69, 4,70), 6,47 (s, 1H, 17), 6,46 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, *J* = 2,61), 6,26 (s, 1H, 15), 6,10 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,40), 5,97 (s, 1H, 4'', izmjenjiv s D_2O), 4,84 (t, 3H, 4', izmjenjiv s D_2O, *J* = 5,57), 3,82 (s, 3H, 18), 3,64–3,60 (m, 1H, 6), 3,48 (d, 6H, 3', *J* = 5,58), 3,06–2,96 (m, 2H, 3), 1,62–1,52 (m, 4H, 4, 5), 1,20 (d, 3H, 7, *J* = 6,14)

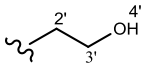
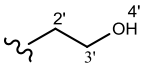
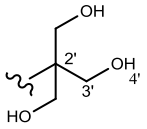
Tablica 13. ^{13}C NMR spektroskopski podaci za *bis*-uree **11a-l**.



11

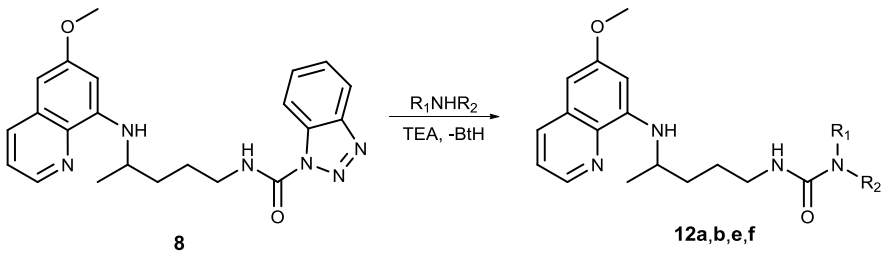
Spoj	**R_1**	**R_2**	**^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm)**
11a		$^{1'}CH_3$	159,00, 158,99 (16, 3''), 158,49 (1), 144,62 (9), 144,23 (11), 139,74 (3', 9'), 134,79 (13), 134,51 (10), 129,57 (14), 128,34, 127,12 (4'–8', 10'–14'), 122,09 (12), 96,09 (17), 91,58 (15), 61,11 (2'), 54,98 (18), 47,02 (6), 39,29 (3), 33,38 (5), 30,51 (1'), 26,83 (4), 20,20 (7)
11b		H	159,50 (3''), 159,09 (16), 158,32 (1), 145,13 (9), 144,71 (11), 143,04 (9'), 142,68 (3'), 135,26 (13), 135,02 (10), 131,87 (6'), 130,06 (14), 129,50–127,34 (4', 5', 7', 8', 10'–14'), 122,56 (12), 96,58 (17), 92,13 (15), 56,62 (2'), 55,46 (18), 47,55 (6), 39,61 (3), 33,87 (5), 27,17 (4), 20,66 (7)
11c		H	160,03 (6'), 159,81 (3''), 158,97 (16), 158,57 (1), 154,96 (2'), 144,61 (9), 144,21 (11), 137,47 (9'), 134,77 (13), 134,49 (10), 129,53 (14), 129,55, 128,14, 127,06 (4', 8', 10', 11', 13', 14'), 128,24 (12'), 123,66 (3'), 122,07 (12), 114,98 (5', 7'), 96,07 (17), 91,57 (15), 55,18 (15'), 54,95 (18), 47,01 (6), 39,32 (3), 33,39 (5), 26,72 (4), 20,19 (7)

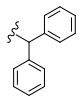
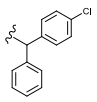
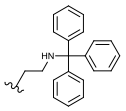
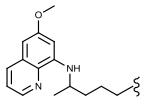
11d		H	160,02, 159,79 (6', 12'), 159,00 (3", 16), 158,57 (1), 155,02 (2'), 144,64 (9), 144,21 (11), 134,75 (13), 134,52 (10), 130,09 (14), 129,77, 128,57 (4', 8', 10', 14'), 123,87, 129,55 (3', 9'), 122,04 (12), 114,96, 113,58 (5', 7', 11', 13'), 96,09 (17), 91,66 (15), 55,20 (15', 16'), 54,97 (18), 47,06 (6), 39,21 (3), 33,44 (5), 26,70 (4), 20,20 (7)
11e		H	158,98 (16), 158,63 (3''), 158,61 (1), 146,10 (6', 12', 18'), 144,61 (9), 144,22 (11), 134,78 (13), 134,50 (10), 129,56 (14), 128,39–125,96 (7'–11', 13'–17', 19'–23'), 122,09 (12), 96,06 (15), 91,56 (17), 70,17 (5'), 65,05 (2'), 54,97 (18), 46,99 (6), 43,87 (3'), 39,79 (3), 33,33 (5), 26,64 (4), 20,15 (7)
11f		H	159,48 (16), 159,09 (1), 145,12 (9), 144,69 (11), 135,25 (13), 135,00 (10), 130,04 (14), 122,55 (12), 96,55 (17), 92,09 (15), 55,45 (18), 47,53 (6), 39,58 (3), 33,84 (5), 27,12 (4), 20,66 (7)
11g		H	159,00 (16), 158,42 (3"), 155,98 (1), 144,64 (9), 144,20 (11), 139,50 (2'), 134,75 (13), 134,51 (10), 131,65 (8'), 129,56 (14), 123,40 (5'), 123,30 (6'), 122,14 (4'), 122,04 (12), 117,50 (3', 7'), 96,07 (17), 91,64 (15), 54,96 (18), 47,07 (6), 39,27 (3), 33,43 (5), 26,61 (4), 20,19 (7)
11h		H	159,49 (16), 159,25 (3"), 159,12 (1), 145,14 (9), 144,71 (11), 135,26 (13), 135,01 (10), 130,05 (14), 122,56 (12), 96,57 (17), 92,11 (15), 60,95 (3'), 55,47 (18), 47,55 (6), 42,39 (2'), 39,62 (3), 33,88 (5), 27,14 (4), 20,69 (7)
11i		H	159,49 (16), 159,29 (3"), 159,10 (1), 145,13 (9), 144,71 (11), 135,26 (13), 135,01 (10), 130,05 (14), 122,56 (12), 96,57 (17), 92,11 (15), 58,88 (4'), 55,47 (18), 47,55 (6), 39,61 (3), 36,81 (2'), 33,88 (5), 33,36 (3'), 27,14 (4), 20,69 (7)
11j		H	159,47 (16), 159,13 (3"), 159,08 (1), 145,11 (9), 144,71 (11), 135,27 (13), 134,99 (10), 130,05 (14), 122,57 (12), 96,54 (17), 92,05 (15), 61,13 (6'), 55,46 (18), 47,51 (6), 39,57 (2'), 39,61 (3), 33,83 (5), 32,74 (5'), 30,20 (3'), 27,14 (4), 23,27 (4'), 20,69 (7)

11k			159,48 (16), 159,47 (3''), 158,84 (1), 145,10 (9), 144,73 (11), 135,27 (13), 134,98 (10), 130,05 (14), 122,58 (12), 96,57 (17), 92,08 (15), 60,16 (3'), 55,46 (18), 50,14 (2'), 47,49 (6), 39,50 (3), 33,87 (5), 27,24 (4), 20,67 (7)
11l		H	159,56 (16), 159,49 (3''), 159,05 (1), 145,15 (9), 144,72 (11), 135,26 (13), 135,01 (10), 130,05 (14), 122,56 (12), 96,58 (17), 92,12 (15), 61,37 (3'), 60,91 (2'), 55,47 (18), 47,53 (6), 39,61 (3), 33,85 (5), 27,10 (4), 20,69 (7)

*3.1.5.2. Sinteza derivata primakina **12a-g***

Uree primakina **12a**,**b**,**e**,**f** pripremljene su u jednom reakcijskom koraku iz benzotriazolida primakina **8** i odgovarajućeg amina uz suvišak TEA prema prilagođenoj ranije objavljenoj metodi za sintezu urea primakina (Shema 35) [21,22]. Umjesto na sobnoj temperaturi, kako su izvođene reakcije sinteze urea primakina kod Džimbeg i suradnika, odnosno Šimunovića i suradnika, uree primakina su u ovom radu sintetizirane primjenom mikrovalnog zračenja (P = 150 W, t = 65 °C) (Metoda A). Ova metoda priprave urea primakina pokazala se vrlo prikladnom jer je vrijeme reakcija znatno skraćeno u odnosu na reakcije na sobnoj temperaturi te je nastajalo manje nusprodukata nego kod pokušaja klasičnog zagrijavanja. Još jedna prednost u odnosu na klasičnu sintezu bila je upotreba vrlo malog volumena otapala diklormetana zbog čega je ova metoda ekološki prihvatljivija. Kod odabira otapala za mikrovalnu sintezu prednost su imala otapala koja imaju veliku moć apsorpcije mikrovalnog zračenja, poput diklormetana [147].

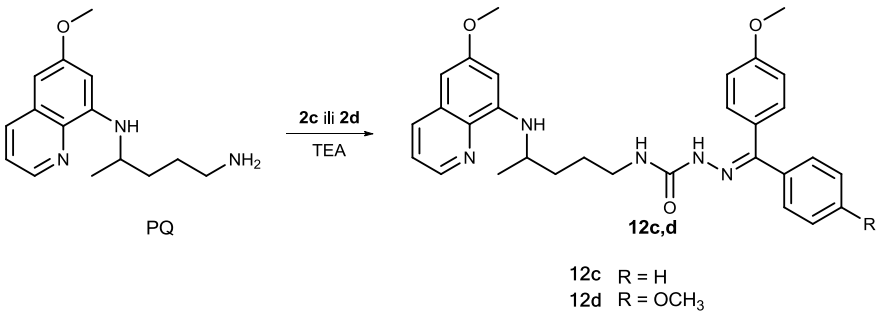


	a	**b**	**e**	**f**
R_1				
R_2	CH_3	H	H	H

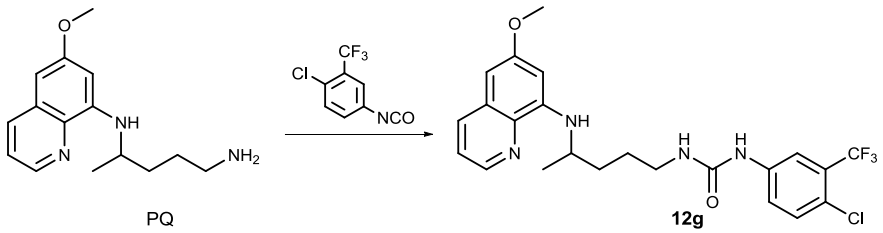
Shema 35. Sinteza urea primakina **12a**,**b**,**e**,**f** (Metoda A).

Sinteza urea primakina reakcija je nukleofilne supstitucije BtH u benzotriazolidu primakina **8**. Kao akceptor oslobođenog BtH služio je TEA koji je upotrijebljen u suvišku u odnosu na spoj **8** (1,5 puta više). Ako je odgovarajući amin bio u obliku soli, oslobođen je *in situ* dodatkom dvostruke količine TEA u odnosu na sol amina, odnosno trostruke količine u slučaju primakin difosfata. Ovakav način oslobađanja primakina pokazao se znatno bržim u odnosu na oslobađanje pomoću otopine natrijeve lužine. Međutim, odabir otapala vrlo je bitan – diklormetan je bio pogodniji od dioksana zbog slabe topljivosti baze primakina u dioksanu. U svim reakcijama sinteze urea primakina korišten je natrijev ditionit kao antioksidans.

Semikarbazoni **12c** i **12d**, te urea **12g** pripravljeni su analogno *bis*-ureama **11c**,**d**,**g** iz spojeva **2c** ili **2d** uz TEA (Metoda B) (Shema 36), odnosno izocijanatnog derivata 2-(trifluormetil)-4-izocijanato-1-klorbenzena bez TEA (Metoda C) (Shema 37), uz primakin kao nukleofil, umjesto semikarbazid primakina **9**.



Shema 36. Sinteza semikarbazona primakina **12c** i **12d** (Metoda B).



Shema 37. Sinteza uree primakina **12g** (Metoda C).

Pripravljene su sljedeće uree primakina:
1-(difenilmetil)-3-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}-1-metilurea (**12a**),
1-[(fenil)(4-klorfenil)metil]-3-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}urea (**12b**),
1-{[(fenil)(4-metoksifenil)metilen]amino}-3-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}urea (**12c**),
1-{[*bis*(4-metoksifenil)metilen]amino}-3-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}urea (**12d**),
1-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}-3-{2-[(trifenilmetil)amino]etil}urea (**12e**),
1,3-*bis*{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}urea (**12f**),
1-(3-trifluormetil-4-klorfenil)-3-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}urea (**12g**).

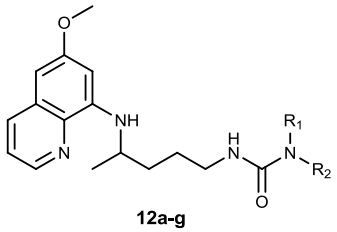
Svi sintetizirani derivati primakina **12** novi su spojevi. Tijek reakcija i čistoća produkata praćeni su tankoslojnom kromatografijom, a strukture su potvrđene uobičajenim spektroskopskim metodama (IR, ^{1}H i ^{13}C NMR, MS) te elementarnom analizom koja je služila i za potvrdu čistoće.

IR spektri spojeva **12** pokazuju karakteristične vrpce kod 3378–3310 (NH rastezanje), 1694–1616 (C=O rastezanje, amid I) i 1615–1524 (NH uvijanje, amid II) cm^{-1}. U ^{1}H NMR spektrima potvrđena je prisutnost primakinskog ostatka u svim sintetiziranim spojevima **12**: signal vodikovog atoma u kinolinskom prstenu pored dušikovog atoma nalazi se u području 8,55–8,48, metoksi skupina pojavljuje se kao singlet na 3,81–3,80, signal CH kiralnog ugljikovog atoma vidi se kao multiplet na 3,70–3,57, a signal metilne skupine je dublet na 1,23–1,19 ppm. ^{13}C NMR spektar pokazuje signale pripadajućih ugljikovih atoma u području 144,71–144,20, 55,45–54,93, 47,56–47,02 i 20,68–20,20 ppm, redom. ^{1}H spektar otkriva signal NH skupine vezane na kinolinski prsten u području 6,13–6,10 ppm. Kao i u slučaju imino-*bis*-urea **11c** i **11d**, signali metoksi skupina u semikarbazonima **12c** i **12d** vrlo su bliski signalu metoksi skupine primakina. Benzhidrilni ostatak daje očekivane signale u aromatskom području s odgovarajućim brojem vodikovih, odnosno ugljikovih atoma. U ^{13}C spektru signali karbonilnih skupina uree nalaze se u području 158,12–154,83 ppm. U spojevima **12a** i **12b**

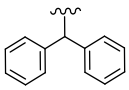
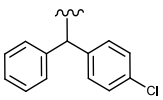
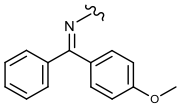
bitno se razlikuju kemijski pomaci signala ugljikovih atoma na koji su vezane dvije fenilne skupine: signal derivata s klorom **12b** ima manji kemijski pomak (56,26 ppm), dok je signal derivata bez klora **12a** pomaknut niže u polje prema višim ppm vrijednostima (60,64 ppm), kao i kod *bis*-urea s analognim supstituentima **11a** i **11b**. Također, analogni ugljikovi atomi u spojevima **12c** i **12d** odsjenjeniji su i pomaknuti znatno niže u polje zbog elektron-odvlačećeg utjecaja atoma dušika (147,05–146,95 ppm), ali manje nego analogni ugljikovi atomi odgovarajućih imino-*bis*-urea (**11c** i **11d**). Tritilni derivat **12e** u ^{13}C spektru pokazuje novi signal kvarternog ugljikovog atoma na 70,13 ppm te dva nova karakteristična signala alifatskih ugljika na 64,89 i 47,05 ppm, slično kao kod analogne *bis*-uree **11e**. U MS spektrima svih derivata **12a-g** vidi se pseudomolekulski ion.

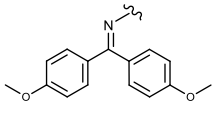
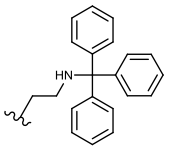
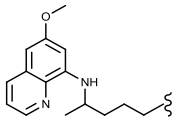
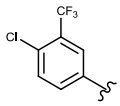
Analitički i spektroskopski podaci za uree primakina **12a-g** dani su u Tablicama 14–16.

Tablica 14. Analitički i IR podaci za uree primakina **12a-g**.

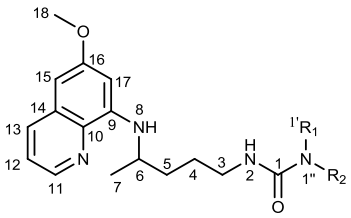


12a-g

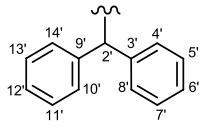
Spoj	R_1	R_2	Iskor. (%)	t_t (°C)	Mol. formula (M_r)	MS (*m/z*)	IR (KBr/film) ν_{max} (cm^{-1})
12a		CH_3	69	124–126	$C_{30}H_{34}N_4O_2$ (482,62)	483,3 $(M+1)^+$	3363, 2930, 1624, 1578, 1524, 1454, 1388, 1320, 1222, 1200, 1168, 840, 790, 745, 706
12b		H	95	135–137	$C_{29}H_{31}ClN_4O_2$ (503,04)	503,3 $(M+1)^+$	3346, 2938, 1632, 1576, 1520, 1490, 1476, 1424, 1388, 1220, 1200, 1166, 1095, 824, 795, 751, 700
12c		H	62	ulje	$C_{30}H_{33}N_5O_3$ (511,61)	512,3 $(M+1)^+$	3354, 3050, 2935, 2835, 1694, 1682, 1615, 1575, 1506, 1456, 1424, 1386,

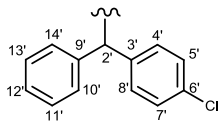
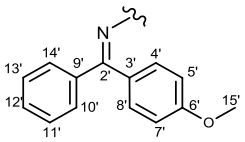
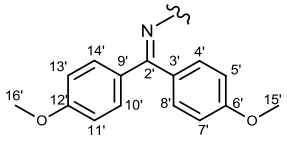
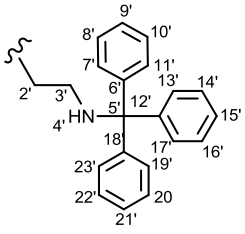
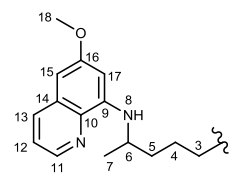
							1336, 1250, 1171, 1110, 1031, 822, 792, 774, 735
12d		H	62	ulje	$C_{31}H_{35}N_5O_4$ (541,64)	542,3 $(M+1)^+$	3354, 3048, 2934, 2837, 1682, 1607, 1575, 1506, 1456, 1423, 1386, 1303, 1249, 1168, 1109, 1031, 836, 791, 735
12e		H	81	145–146	$C_{37}H_{41}N_5O_2$ (587,75)	588,4 (M + 1)$^+$	3310, 2940, 1628, 1594, 1576, 1518, 1450, 1386, 1220, 1201, 1158, 840, 795, 780, 770, 746, 706
12f		H	84	ulje	$C_{31}H_{40}N_6O_3$ (544,69)	545,3 $(M+1)^+$	3378, 2932, 2856, 1616, 1570, 1520, 1456, 1388, 1220, 1160, 1052, 822, 795
12g		H	64	233–235,5	$C_{23}H_{24}ClF_3N_4O_2$ (480,91)	481,3 $(M+1)^+$	3366, 2932, 2855, 1656, 1560, 1554, 1520, 1484, 1388, 1328, 1262, 1138, 1032, 822, 795

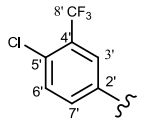
Tablica 15. ^{1}H NMR spektroskopski podaci za uree primakina **12a-g**.



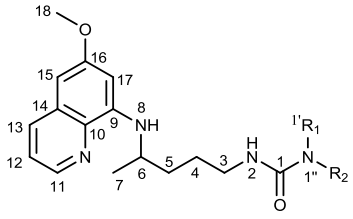
12

Spoj	**R_1**	**R_2**	**^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz)**
12a		$^{1'}CH_3$	8,55–8,53 (dd, 1H, 11, J = 1,63, 4,19), 8,09–8,07 (dd, 1H, 13, J = 1,60, 8,29), 7,44–7,41 (m, 1H, 12), 7,37–7,08 (m, 10H, 4'–8', 10'–14'), 6,74 (s, 1H, 2'), 6,48–6,46 (m, 2H, 2, 17, izmjenjiv s D_2O), 6,27 (d, 1H, 15, J = 2,46), 6,12 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, J = 8,68), 3,81 (s, 3H, 18), 3,66–3,59 (m, 1H, 6), 3,14–3,06 (m, 2H, 3), 2,57 (s, 3H, 1'), 1,69–1,48 (m, 4H, 4, 5), 1,21 (d, 3H, 7, J = 6,29)

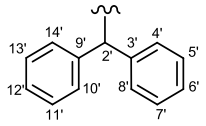
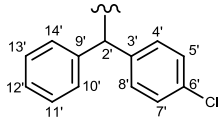
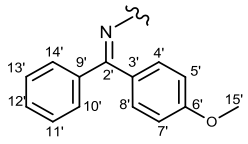
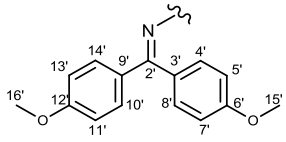
12b		H	8,54–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,64, 4,20), 8,09–8,06 (dd, 1H, 13, *J* = 1,62, 8,30), 7,44–7,42 (m, 1H, 12), 7,37–7,20 (m, 9H, 4', 5', 7', 8', 10'–14'), 6,81 (d, 1H, 1', izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,41), 6,48 (s, 1H, 17), 6,26 (d, 1H, 15, *J* = 2,49), 6,12 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,80), 5,92 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, *J* = 5,54), 5,88 (d, 1H, 2', *J* = 8,34), 3,80 (s, 3H, 18), 3,65–3,58 (m, 1H, 6), 3,08–3,00 (q, 2H, 3, *J* = 5,84, 6,72), 1,68–1,42 (m, 4H, 4, 5), 1,20 (d, 3H, 7, *J* = 6,30)
12c		H	8,54–8,52 (dd, 1H, 11, *J* = 1,60, 4,17), 8,09–8,05 (dd, 1H, 13, *J* = 1,51, 8,32), 7,94 (s, 1H, 1'', izmjenjiv s D_2O), 7,59–6,88 (m, 10H, 2, 4', 5', 7', 8', 10'–14'), 7,44–7,40 (q, 1H, 12, *J* = 4,20), 6,47 (s, 1H, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,13 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 6,03), 3,84 (s, 3H, 15'), 3,81 (s, 3H, 18), 3,70–3,63 (m, 1H, 6), 3,20–3,13 (q, 2H, 3, *J* = 5,85, 6,21), 1,70–1,52 (m, 4H, 4, 5), 1,23 (d, 3H, 7, *J* = 6,25)
12d		H	8,51–8,48 (dd, 1H, 11, *J* = 1,57, 4,14), 8,06–8,03 (dd, 1H, 13, *J* = 1,57, 8,13), 7,75 (s, 1H, 1'', izmjenjiv s D_2O), 7,42–7,38 (q, 1H, 12, *J* = 4,28), 7,47–6,83 (m, 9H, 2, 4', 5', 7', 8', 10', 11', 13', 14'), 6,44 (s, 1H, 17), 6,25 (s, 1H, 15), 6,11 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,70), 3,81 (s, 3H, 18), 3,78 (s, 3H, 15'), 3,73 (s, 3H, 16'), 3,66–3,60 (m, 1H, 6), 3,16–3,10 (q, 2H, 3, *J* = 6,27), 1,68–1,47 (m, 4H, 4, 5), 1,20 (d, 3H, 7, *J* = 6,27)
12e		H	8,53–8,52 (dd, 1H, 11, *J* = 1,49, 4,14), 8,09–8,06 (dd, 1H, 13, *J* = 1,58, 8,25), 7,44–7,41 (m, 1H, 12), 7,40–7,13 (m, 15H, 7'–11', 13'–17', 19'–23'), 6,47 (s, 1H, 17), 6,26 (s, 1H, 15), 6,12 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,78), 5,94–5,89 (2t, 2H, 2, 1', izmjenjiv s D_2O, *J* = 6,00), 3,81 (s, 3H, 18), 3,64–3,58 (m, 1H, 6), 3,11–3,07 (q, 2H, 2', *J* = 6,00), 3,01–2,97 (q, 2H, 3, *J* = 6,18), 2,70 (t, 1H, 4', izmjenjiv s D_2O, *J* = 7,90), 2,00–1,95 (q, 2H, 3', *J* = 6,39, 7,30), 1,66–1,40 (m, 4H, 4, 5), 1,19 (d, 3H, 7, *J* = 6,33)
12f		H	8,52–8,51 (dd, 1H, 11, *J* = 1,65, 4,20), 8,08–8,06 (dd, 1H, 13, *J* = 1,65, 8,31), 7,43–7,40 (m, 1H, 12), 6,46 (s, 1H, 17), 6,25 (s, 1H, 15), 6,10 (d, 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 8,80), 5,76 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, *J* = 5,86), 3,81 (s, 3H, 18), 3,63–3,57 (m, 1H, 6), 3,00–2,95 (q, 2H, 3, J_1 = 5,86, 6,56), 1,64–1,41 (m, 4H, 4,5), 1,19 (d, 3H, 7, *J* = 6,14)

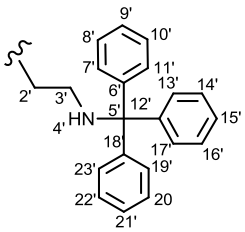
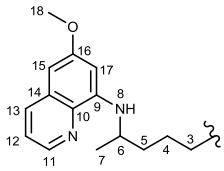
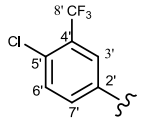
12g		H	8,88 (s, 1H, 1'', izmjenjiv s D_2O), 8,54–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,43, 4,08), 8,07–8,06 (dd, 1H, 13, *J* = 1,40, 8,16), 8,04 (s, 1H, 3'), 7,56 (dd, , 1H, 7' *J* = 2,18, 8,71), 7,51 (d, 1H, 6', *J* = 8,71), 7,43–7,41 (q, 1H, 12, *J* = 4,35), 6,47 (s, 1H, 17), 6,34 (t, 1H, 2, izmjenjiv s D_2O, *J* = 5,60), 6,28 (s, 1H, 15), 6,13 (d 1H, 8, izmjenjiv s D_2O, *J* = 9,02), 3,81 (s, 3H, 18), 3,67–3,62 (m, 1H, 6), 3,14–3,11 (q, 2H, 3, *J* = 6,22), 1,74–1,50 (m, 4H, 4, 5), 1,23 (d, 3H, 7, *J* = 6,53)

Tablica 16. ^{13}C NMR spektroskopski podaci za uree primakina **12a-g**.



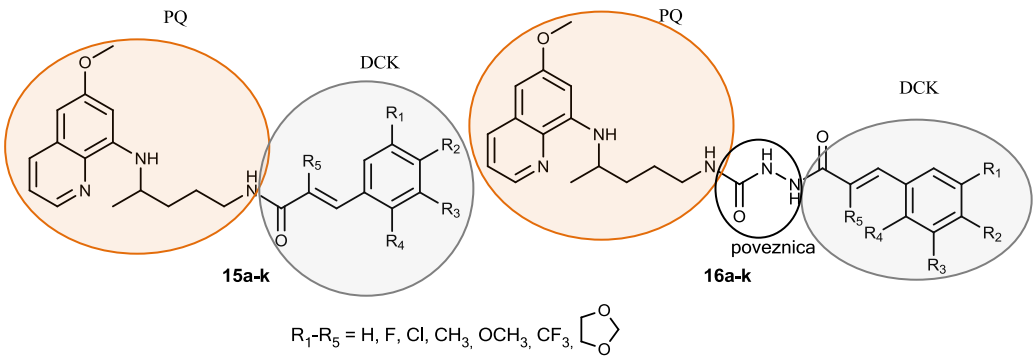
12

Spoj	**R_1**	**R_2**	**^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm)**
12a		$^{1'}CH_3$	159,00 (16), 158,08 (1), 144,61 (9), 144,22 (11), 140,30 (3', 9'), 134,78 (13), 134,53 (10), 129,56 (14), 128,31–128,22 (4'–8', 10'–14'), 122,09 (12), 96,07 (17), 91,55 (15), 60,64 (2'), 54,96 (18), 47,04 (6), 40,30 (3), 33,32 (5), 30,65 (1'), 26,67 (4), 20,21 (7)
12b		H	158,99 (16), 157,14 (1), 144,61 (9), 144,30 (11), 143,14 (9'), 142,88 (3'), 134,79 (13), 134,50 (10), 131,20 (6'), 129,57 (14), 128,76–126,89 (4', 5', 7', 8', 10'–14'), 122,10 (12), 96,09 (17), 91,63 (15), 56,26 (2'), 54,97 (18), 47,03 (6), 39,23 (3), 33,47 (5), 26,85 (4), 20,20 (7)
12c		H	160,29 (6'), 159,50 (16), 155,25 (1), 147,05 (2'), 145,11 (9), 144,70 (11), 138,05 (9'), 135,27 (13), 135,01 (10), 130,04 (14), 130,36–127,41 (4', 8', 10'–14'), 124,28 (3'), 122,55 (12), 115,50 (5', 7'), 96,62 (17), 92,14 (15), 55,69 (15'), 55,45 (18), 47,56 (6), 39,48 (3), 33,94 (5), 27,26 (4), 20,68 (7)
12d		H	160,21 (6', 12'), 159,47 (16), 155,34 (1), 146,95 (2'), 145,01 (9), 144,71 (11), 135,27 (13), 134,99 (10), 130,63 (14), 130,31, 128,89 (4', 8', 10', 14'), 130,31, 124,46 (3', 9'), 122,57 (12), 115,44, 114,05 (5', 7', 11', 13'), 96,57 (17), 92,07 (15), 55,67 (15', 16'), 55,45 (18), 47,52 (6), 39,21 (3), 33,91 (5), 27,30 (4), 20,67 (7)

12e		H	158,99 (16), 158,12 (1), 146,10 (6', 12', 18'), 144,62 (9), 144,22 (11), 134,78 (13), 134,50 (10), 129,56 (14), 128,38, 127,61, 125,97 (7'–11', 13'–17', 19'–23'), 122,09 (12), 96,06 (17), 91,58 (15), 70,13 (5'), 64,89 (2'), 54,97 (18), 47,05 (6), 47,05 (3'), 39,29 (3), 33,54 (5), 26,97 (4), 20,21 (7)
12f		H	158,99 (16), 157,30 (1), 144,61 (9), 144,22 (11), 134,79 (13), 134,50 (10), 129,56 (14), 122,09 (12), 96,08 (17), 91,58 (15), 54,96 (18), 47,02 (6), 39,71 (3), 33,49 (5), 26,90 (4), 20,20 (7)
12g		H	159,00 (16), 154,83 (1), 144,63 (9), 144,20 (11), 134,75 (13), 134,53 (10), 131,72 (8'), 129,55 (14), 123,75 (5'), 122,24 (6'), 122,04 (12), 121,19 (4'), 116,12, 116,08 (3', 7'), 96,14 (17), 91,67 (15), 54,93 (18), 47,05 (6), 39,16 (3), 33,44 (5), 26,44 (4), 20,21 (7)

3.1.6. Sinteza konjugata primakina i derivata cimetne kiseline 15a-k i 16a-k

U ovom poglavlju opisane su sinteze benzotriazolida derivata cimetne kiseline (benzotriazolidi DCK) **13d**,**e**,**g**, klorida derivata cimetne kiseline (kloridi DCK) **14a-k** te konjugata primakina i derivata cimetne kiseline amidnog (PQ-DCK amidi) **15a-k** i 1-acilsemikarbazidnog tipa (PQ-DCK 1-acilsemikarbazidi) **16a-k**. PQ-DCK amidi **15** i 1-acilsemikarbazidi **16** predstavljaju hibridne molekule sastavljene od dvije različite farmakoforne jedinice, primakina i cimetne kiseline ili derivata cimetne kiseline, povezane amidnom, odnosno 1-acilsemikarbazidnom poveznicom. 1-acilsemikarbazidnu funkcionalnu skupinu čine terminalna amino skupina primakina, hidrazidna poveznica (CONHNH) i karbonilna skupina derivata cimetne kiseline (Slika 21).

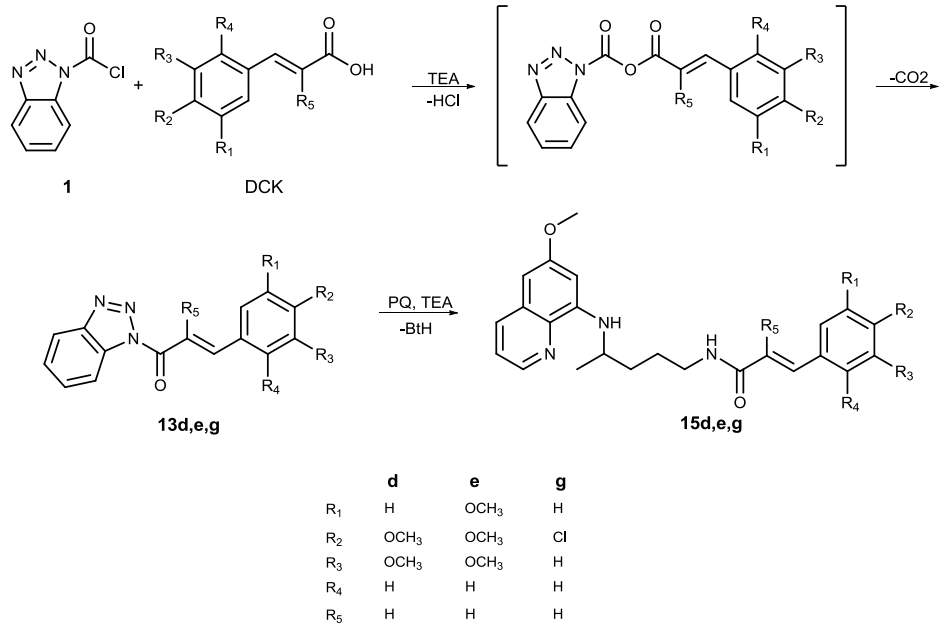


Slika 21. Konjugati primakina i derivata cimetne kiseline **15** i **16**.

*3.1.6.1. Sinteza amida primakina i derivata cimetne kiseline **15a-k***

Primijenjene su dvije metode priprave PQ-DCK amida **15a-k**. U prvom sintetskom pristupu upotrijebljeni su kloridi DCK **14a-k** kao aktivirani međuprodukti (Metoda A), dok su u drugom sintetskom pristupu derivati cimetne kiseline prevedeni u benzotriazolide **13** (Metoda B). Obje metode dale su produkte sa sličnim iskorištenjem.

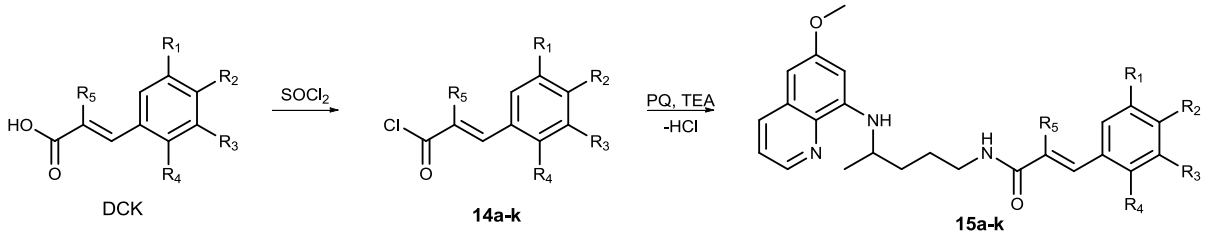
Benzotriazolidi DCK **13** (aktivni amidi) pripremljeni su reakcijom klorida **1** s odgovarajućim derivatom cimetne kiseline (3,4-dimetoksicimetnom, 3,4,5-trimetoksicimetnom ili 4-klorcimetnom kiselinom) u omjeru 1:1, uz prisutnost TEA (Metoda B) [148–151]. U ovoj reakciji prvo nastaje mješoviti anhidrid koji dekarboksilacijom daje aktivni amid **13** (Shema 38). Na ovaj način je karboksilna skupina DCK aktivirana te u blagim uvjetima reagira s amino skupinom primakina. Ovom metodom pripremljeni su benzotriazolidi DCK **13d**,**e**,**g** iz kojih su aminolizom primakinom u prisutnosti TEA dobiveni PQ-DCK amidi **15d**,**e**,**g** (s.t., dioksan, 24 h). Struktura benzotriazolida DCK **13** potvrđena je indirektno, derivatizacijom u PQ-DCK amide **15d**,**e**,**g**. Spojevi **13e** [136] i **13g** [137] opisani su prethodno, a sintetizirani su novom metodom.



Shema 38. Sinteza PQ-DCK amida **15d**,**e**,**g** preko benzotriazolida DCK **13** (Metoda B).

Druga metoda priprave PQ-DCK amida uključivala je kondenzaciju primakina i klorida cimetne kiseline ili derivata cimetne kiseline **14** (Metoda A). Cimetna kiselina i njeni derivati

prevedeni su pomoću tionil-klorida ($SOCl_2$) u odgovarajuće reaktivne međuprodukte, kiselinske kloride **14a-k** (Shema 39). Tionil-klorid u prisutnosti katalitičke količine DMF-a [106] vrlo brzo reagira s karboksilnim kiselinama, derivatima cimetne kiseline dajući kiselinske kloride **14** koji su bez pročišćavanja upotrijebljeni u sljedećoj reakciji kondenzacije s primakinom uz TEA (s.t., diklormetan, 0,5–3 h). Kako su kiselinski kloridi vrlo reaktivni i nestabilni spojevi, pripremaju se neposredno prije upotrebe. Kloridi DCK **14** upotrijebljeni su u malom suvišku u odnosu na primakin (1,3:1). TEA je u reakciji služio kao akceptor oslobođenog klorovodika (jedan ekvivalent) te za oslobađanje primakina iz difosfatne soli (dva ekvivalenta). Na ovaj način priređeno je svih 11 PQ-DCK amida **15a-k** (Shema 39). Za razliku od benzotriazolske Metode B koja zahtjeva prethodnu pripremu klorida **1** i benzotriazolida DCK **13**, u Metodi A neposredni prekursori kiselinski kloridi **14** nastaju u jednom stupnju, a reakcijski korak koji daje konačne produkte **15** znatno je brži u odnosu na Metodu B (0,5–3 h u odnosu na 24 h).



	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k
R_1	H	H	H	H	OCH_3	H	H	H	H	H	CF_3
R_2	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	O,O	Cl	H	H	CF_3	H
R_3	H	H	H	OCH_3	OCH_3		H	H	CF_3	H	CF_3
R_4	H	H	H	H	H	H	H	F	H	H	H
R_5	H	CH_3	H	H	H	H	H	H	H	H	H

Shema 39. Sinteza PQ-DCK amida **15a-k** preko klorida DCK **14** (Metoda A).

Pripremljeni su sljedeći DCK benzotriazolidi:

(*E*)-1-(1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-il)-3-(3,4-dimetoksifenil)prop-2-en-1-on (**13d**),

(*E*)-1-(1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-il)-3-(3,4,5-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on (**13e**),

(*E*)-1-(1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-il)-3-(4-klorofenil)prop-2-en-1-on (**13g**),

te sljedeći PQ-DCK amidi:

(*E*)-*N*-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}-3-fenilprop-2-enamid (**15a**),

(*E*)-*N*-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}-2-metil-3-fenilprop-2-enamid (**15b**),

(*E*)-3-(4-metoksifenil)-*N*-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}prop-2-enamid (**15c**),

(*E*)-3-(3,4-dimetoksifenil)-*N*-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}prop-2-enamid (**15d**),
(*E*)-*N*-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}-3-(3,4,5-trimetoksifenil)prop-2-enamid (**15e**),
(*E*)-3-(2*H*-benzo[*d*][1,3]dioksol-5-il)-*N*-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}prop-2-enamid (**15f**),
(*E*)-3-(4-klorfenil)-*N*-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}prop-2-enamid (**15g**),
(*E*)-3-(2-fluorfenil)-*N*-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}prop-2-enamid (**15h**),
(*E*)-*N*-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}-3-[3-(trifluormetil)fenil]prop-2-enamid (**15i**),
(*E*)-*N*-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}-3-[4-(trifluormetil)fenil]prop-2-enamid (**15j**),
(*E*)-3-[3,5-*bis*(trifluormetil)fenil]-*N*-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}prop-2-enamid (**15k**).

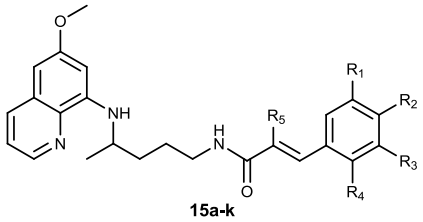
Iz serije PQ-DCK amida novi spojevi su **15b**,**c**,**e**,**f**,**h-k**, a svi spojevi pripravljeni su novom metodom. Tijek reakcija i čistoća produkata praćeni su tankoslojnom kromatografijom, a strukture su potvrđene uobičajenim spektroskopskim metodama (IR, ^{1}H i ^{13}C NMR, MS) te elementarnom analizom koja je služila i za potvrdu čistoće. NMR spektroskopski podaci ranije pripravljenih spojeva **15a**,**d**,**g** odgovaraju literaturnim podacima [61], dok ostali analitički i spektroskopski podaci do sada nisu opisani.

IR spektri amida **15** pokazuju karakteristične vrpce kod 3395–3253 (NH rastezanje), 1661–1651 (C=O rastezanje, amid I) i 1520–1518 (NH uvijanje, amid II) cm^{-1}. Prisutnost primakinskog ostatka u svim sintetiziranim amidima **15** potvrđena je NMR spektrima: ^{1}H NMR spektri pokazuju signal vodikovog atoma u kinolinskom prstenu do dušikovog atoma u području 8,55–8,51, metoksi skupina vidi se kao singlet na 3,81–3,80, signal CH kiralnog ugljikovog atoma nalazi se u području 3,70–3,63, dok je signal metilne skupine dublet na 1,24–1,20 ppm. ^{13}C NMR spektar pokazuje signale pripadajućih ugljikovih atoma u području 144,27–144,18, 55,18–54,91, 47,04–46,98 i 20,25–20,19 ppm, redom. U aromatskom području vide se dodatni signali vodikovih i ugljikovih atoma DCK benzenskog prstena. Signali metoksi skupina u spojevima **15c-e** vrlo su bliski signalu metoksi skupine primakina. U ^{13}C NMR spektrima spojeva s fluorom (**15h-k**) vidi se cijepanje signala ugljika fluorom. ^{13}C NMR spektar predstavlja ^{1}H raspregnuti ^{13}C spektar, dok je u odnosu na atom fluora ^{19}F neraspregnut. Kako su i ^{13}C i ^{19}F susjedne kemijski različite jezgre koje posjeduju spin u više različitih kombinacija spinskih stanja, dolazi do sprezanja ovih jezgara, što se vidi kao cijepanje signala ugljikovih atoma na n+1 signala, gdje je n broj vezanih atoma fluora. Cijepanje se proteže kroz više veza: signali CF_3 derivata **15i-k** primjećuju se kao kvarteti u području između 132,28 i 118,69 ppm s vrlo velikim konstantama sprezanja $^{1}J_{CF}$ = 244,60–

272,30 Hz. Sprezanje kroz dvije veze vidi se u području 131,14–128,44 ppm s manjom konstantom sprezanja ($^2J_{CF}$ = 31,56–33,83 Hz), dok se sprezanje kroz tri veze vidi na 125,82–125,46 ppm ($^3J_{CF}$ = 3,70–3,80 Hz). U *o*-fluor derivatu **15h** na 162,02–157,71 ppm nalazi se dublet ugljikovog atoma na koji je vezan fluor ($^1J_{CF}$ = 250,43 Hz), te dodatnih pet dubleta u aromatskom području koji odgovaraju cijepanjima kroz dvije ($^2J_{CF}$ = 12,66 i 23,47 Hz), tri ($^3J_{CF}$ = 6,18 i 8,58 Hz), odnosno četiri veze ($^4J_{CF}$ = 3,26 Hz). Kod trifluormetilnih derivata ne primjećuje se cijepanje kroz četiri veze jer je signal kvarteta premalen u odnosu na šum. Signal amidne NH skupine u ^{1}H NMR spektru pojavljuje se u području između 8,24 i 7,95 ppm, dok je signal amino skupine primakina u području 6,16–6,11 ppm. Prisutnost amidne karbonilne skupine je, osim karakterističnom rasteznom vibracijom u IR spektru, potvrđena i ^{13}C NMR spektrom (168,71–164,07 ppm). MS spektri svih spojeva **15** pokazuju pseudomolekulske ione.

U Tablicama 17 i 18 dani su analitički i spektroskopski podaci za PQ-DCK amide **15a-k**.

Tablica 17. Analitički i IR podaci za PQ-DCK amide **15a-k**.

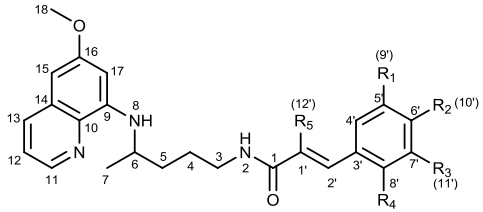


15a-k

Spoj	Iskorištenje (%)		t_t (°C)	Mol. formula (M_r)	MS (*m/z*)	IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1})
	Metoda A	Metoda B				
15a	65	–	72–74	$C_{24}H_{27}N_3O_2$ (389,49)	390,3 $(M+1)^+$	3387, 3282, 3061, 2927, 2852, 1660, 1614, 1576, 1556, 1516, 1454, 1424, 1387, 1338, 1220, 1203, 1160, 1052, 1031, 977, 902, 863, 822, 791, 766, 680, 626
15b	78	–	ulje	$C_{25}H_{29}N_3O_2$ (403,52)	404,3 $(M+1)^+$	(film) 3378, 3054, 2936, 2867, 1735, 1651, 1616, 1578, 1519, 1456, 1424, 1388, 1271, 1220, 1202, 1158, 1052, 1031, 926, 900, 822, 792, 763, 738, 703, 624
15c	66	–	78–80	$C_{25}H_{29}N_3O_3$ (419,52)	420,3 $(M+1)^+$	3255, 3070, 2962, 2930, 2856, 1738, 1652, 1610, 1571, 1517, 1455, 1424, 1385, 1304, 1229, 1168, 1032, 981, 823, 791, 678, 630

15d	70	75	85–88	$C_{26}H_{31}N_3O_4$ (449,54)	450,5 $(M+1)^+$	3355, 3256, 3072, 2964, 2932, 2360, 1738, 1653, 1613, 1555, 1518, 1458, 1425, 1388, 1339, 1298, 1259, 1201, 1166, 1138, 1022, 980, 851, 819, 793, 765, 681, 627, 597
15e	52	69	120–123,5	$C_{27}H_{33}N_3O_5$ (479,57)	480,3 $(M+1)^+$	3367, 3285, 3084, 2962, 1657, 1617, 1583, 1520, 1456, 1421, 1388, 1328, 1277, 1241, 1221, 1200, 1164, 1125, 1052, 1014, 978, 824, 792, 682, 622, 604
15f	57	–	77–79,5	$C_{25}H_{27}N_3O_4$ (433,50)	434,2 $(M+1)^+$	3350, 3253, 3069, 2961, 2934, 1738, 1655, 1620, 1576, 1557, 1520, 1491, 1454, 1425, 1387, 1356, 1334, 1281, 1247, 1200, 1167, 1124, 1096, 1041, 977, 927, 855, 819, 792, 752, 681, 624, 593
15g	79	33	85–87	$C_{24}H_{26}ClN_3O_2$ (423,94)	424,2 $(M+1)^+$	3358, 3275, 3078, 2958, 2327, 2857, 1740, 1655, 1615, 1558, 1520, 1492, 1457, 1426, 1388, 1343, 1227, 1202, 1168, 1097, 1052, 1013, 982, 903, 823, 791, 736, 709, 677, 628
15h	59	–	65–67,5	$C_{24}H_{26}FN_3O_2$ (407,48)	408,1 $(M+1)^+$	3357, 3271, 3078, 2960, 2927, 2857, 1739, 1655, 1616, 1578, 1557, 1520, 1487, 1458, 1426, 1388, 1343, 1283, 1226, 1201, 1167, 1093, 1052, 1032, 985, 903, 875, 822, 792, 758, 714, 678, 625
15i	71	–	48,5–49,5	$C_{25}H_{26}F_3N_3O_2$ (457,49)	458,3 $(M+1)^+$	3262, 3075, 2964, 2861, 1661, 1618, 1561, 1520, 1454, 1387, 1335, 1221, 1166, 1126, 975, 803, 864, 820, 793, 735, 688, 625, 584, 513
15j	73	–	82–84	$C_{25}H_{26}F_3N_3O_2$ (457,49)	458,2 $(M+1)^+$	3359, 3262, 3075, 2963, 2931, 2856, 1738, 1655, 1615, 1577, 1560, 1519, 1456, 1424, 1386, 1326, 1227, 1203, 1163, 1130, 1110, 1069, 1050, 1015, 979, 957, 903, 880, 829, 792, 719, 681, 623, 596
15k	74	–	148–150	$C_{26}H_{25}F_6N_3O_2$ (525,49)	526,4 $(M+1)^+$	3395, 3286, 3095, 2964, 2934, 2861, 1663, 1623, 1576, 1521, 1456, 1423, 1334, 1341, 1278, 1224, 1174, 1136, 1052, 1031, 978, 940, 899, 868, 845, 822, 792, 683, 624

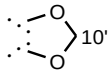
Tablica 18. ^{1}H i ^{13}C NMR spektroskopski podaci za PQ-DCK amide **15a-k**.



15a-k

Spoj	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz)	^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz)
15a	H	H	H	H	H	8,55–8,53 (dd, 1H, 11, J = 1,43, 4,13), 8,13 (t, 1H, 2, J = 5,69), 8,09–8,06 (dd, 1H, 13, J = 1,43, 8,28), 7,55 (d, 2H, 4', 8', J = 6,49), 7,45–7,34 (m, 5H, 12, 2', 5', 6', 7'), 6,61 (d, 1H, 1', J = 15,82), 6,47 (s, 1H, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,15 (d, 1H, 8, J = 8,73), 3,81 (s, 3H, 18), 3,66 (m, 1H, 6), 3,21 (m, 2H, 3), 1,64 (m, 4H, 4, 5), 1,22 (d, 3H, 7, J = 6,25)	164,78 (1), 159,01 (16), 144,64 (9), 144,23 (11), 138,40 (2'), 134,96 (10), 134,80 (13), 134,52 (3'), 129,58 (14), 129,33 (6'), 128,89 (5', 7'), 127,44 (4', 8'), 122,32 (12), 122,10 (1'), 96,12 (17), 91,61 (15), 54,96 (18), 47,01 (6), 39,02 (3), 33,54 (5), 26,03 (4), 20,23 (7)
15b	H	H	H	H	$^{12'}CH_3$	8,55–8,53 (dd, 1H, 11, J = 1,63, 4,19), 8,09–8,03 (m, 2H, 2, 13), 7,45–7,28 (m, 6H, 12, 4'–8'), 7,18 (s, 1H, 2'), 6,48 (s, 1H, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,16–6,14 (d, 1H, 8, J = 8,75), 3,81 (s, 3H, 18), 3,70–3,63 (m, 1H, 6), 3,23–3,17 (m, 2H, 3), 1,99 (s, 3H, 12'), 1,73–1,56 (m, 4H, 4, 5), 1,24–1,23 (d, 3H, 7, J = 6,29)	168,71 (1), 159,02 (16), 144,58 (9), 144,27 (11), 136,14 (3'), 134,80 (13), 134,54 (10), 132,68 (1'), 131,87 (2'), 129,58 (14), 129,17 (5', 7'), 128,35 (4', 8'), 127,56 (6'), 122,10 (12), 96,11 (17), 91,58 (15), 54,96 (18), 47,04 (6), 39,02 (3), 33,43 (5), 25,95 (4), 20,19 (7), 14,29 (12')

15c	H	$^{10'}OCH_3$	H	H	H	8,54–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,5, 4,2), 8,09–8,05 (dd, 1H, 13, *J* = 1,4, 8,3), 8,02–7,98 (t, 1H, 2, *J* = 5,4), 7,50–7,47 (d, 2H, 4', 8', *J* = 8,69), 7,44–7,40 (m, 1H, 12), 7,38–7,32 (d, 1H, 2', *J* = 15,75), 6,98–6,95 (d, 2H, 5', 7', *J* = 8,70), 6,48–6,42 (m, 2H, 17, 1'), 6,28 (s, 1H, 15), 6,15–6,12 (d, 1H, 8, *J* = 8,74), 3,81 (s, 3H, 18), 3,78 (s, 3H, 10'), 3,65 (m, 1H, 6), 3,21–3,19 (m, 2H, 3), 1,7–1,56 (m, 4H, 4, 5), 1,23–1,21 (d, 3H, 7, *J* = 6,27)	165,05 (1), 160,18 (6'), 158,98 (16), 144,61 (9), 144,18 (11), 138,02 (2'), 134,74 (13), 134,49 (10), 129,53 (14), 128,93 (4', 8'), 127,50 (3'), 122,03 (12), 119,85 (1'), 114,30 (5', 7'), 96,08 (17), 91,61 (15), 55,18 (18), 54,93 (10'), 47,00 (6), 39,02 (3), 33,54 (5), 26,03 (4), 20,19 (7)
15d	H	$^{10'}OCH_3$	$^{11'}OCH_3$	H	H	8,54–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,62, 4,19), 8,09–8,05 (dd, 1H, 13, *J* = 1,56, 8,29), 8,00–7,96 (t, 1H, 2, *J* = 5,52), 7,44–7,40 (m, 1H, 12, *J* = 4,20, 8,25), 7,36–7,31 (d, 1H, 2', *J* = 15,73), 7,14–7,08 (m, 2H, 4', 8'), 6,98–6,96 (d, 1H, 1', *J* = 8,32), 6,51–6,45 (m, 2H, 17, 7'), 6,28 (s, 1H, 15), 6,15–6,12 (d, 1H, 8, *J* = 8,76), 3,81–3,78 (m, 9H, 18, 10', 11'), 3,65 (m, 1H, 6), 3,23–3,19 (m, 2H, 3), 1,70–1,56 (m, 4H, 4, 5), 1,23–1,21 (d, 2H, 7, *J* = 6,29)	165,05 (1), 158,97 (16), 149,98 (5'), 148,85 (6'), 144,61 (9), 144,18 (11), 138,36 (2'), 134,73 (13), 134,49 (10), 129,53 (14), 127,75 (3'), 122,03 (12), 121,20 (8'), 120,05 (1'), 111,74 (7'), 109,96 (4'), 96,08 (17), 91,61 (15), 55,49 (11'), 55,37 (10'), 54,92 (18), 47,00 (6), 39,02 (3), 33,55 (5), 26,02 (4), 20,20 (7)
15e	$^{9'}OCH_3$	$^{10'}OCH_3$	$^{11'}OCH_3$	H	H	8,54–8,53 (d, 1H, 11, *J* = 2,85), 8,09–8,03 (m, 2H, 2, 13), 7,44–7,40 (m, 1H, 12), 7,37–7,32 (d, 1H, 2', *J* = 15,68), 6,88 (s, 2H, 4', 8'), 6,54–6,52 (d, 1H, 1', *J* = 15,69), 6,47 (s, 1H, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,15–6,12 (d, 1H, 8, *J* = 8,69), 3,81 (s, 9H, 18, 9', 11'), 3,68 (s, 4H, 6, 10'), 3,21–3,19 (m, 2H, 3), 1,69–1,65	164,83 (1), 158,97 (16), 153,00 (5', 7'), 144,62 (9), 144,18 (11), 138,57 (6'), 138,46 (2'), 134,74 (13), 134,49 (10), 130,55 (14), 129,53 (3'), 122,04 (12), 121,66 (1'), 104,87 (4', 8'), 96,08 (17), 91,61 (15), 60,02 (10'), 55,82 (9', 11'), 54,92 (18), 46,99 (6),

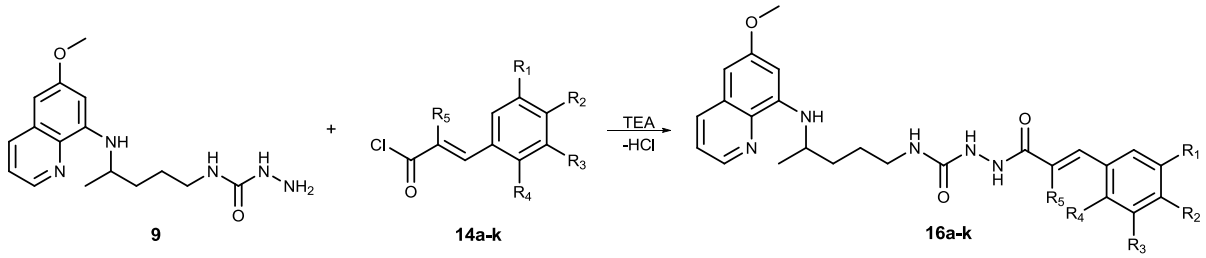
						(m, 4H, 4, 5), 1,23–1,22 (d, 3H, 7, *J* = 6,15)	39,02 (3), 33,56 (5), 25,98 (4), 20,20 (7)
15f	H			H	H	8,53–8,51 (dd, 1H, 11, *J* = 1,61, 4,18), 8,07–8,04 (dd, 1H, 13, *J* = 1,57, 8,29), 7,99–7,95 (t, 1H, 2, *J* = 5,52), 7,43–7,39 (m, 1H, 12), 7,33–7,28 (d, 1H, 2'), 7,11 (s, 1H, 4'), 7,05–7,02 (dd, 1H, 8', *J* = 1,46, 8,11), 6,93–6,91 (d, 1H, 1', *J* = 8,00), 6,46–6,40 (m, 2H, 17, 7'), 6,27 (s, 1H, 15), 6,14–6,11 (d, 1H, 8, *J* = 8,77), 6,04 (s, 2H, 10'), 3,80 (s, 3H, 18), 3,64 (m, 1H, 6), 3,21–3,15 (m, 2H, 3), 1,69–1,51 (m, 4H, 4, 5), 1,22–1,20 (d, 2H, 7, *J* = 6,29)	164,93 (1), 158,97 (16), 148,29 (5'), 147,85 (6'), 144,61 (9), 144,18 (11), 138,13 (2'), 134,73 (13), 134,49 (10), 129,53 (14), 129,33 (3'), 123,00 (8'), 122,05 (12), 120,42 (1'), 108,49 (7'), 106,11 (4'), 101,33 (10'), 96,08 (17), 91,61 (15), 54,93 (18), 46,99 (6), 39,02 (3), 33,53 (5), 26,01 (4), 20,19 (7)
15g	H	Cl	H	H	H	8,54–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,60, 4,19), 8,13–8,05 (m, 2H, 2, 13), 7,58–7,56 (d, 2H, 4', 8', *J* = 8,54), 7,47–7,37 (m, 4H, 5, 12, 2', 7'), 7,63–7,58 (d, 1H, 1', *J* = 15,82), 7,47 (s, 1H, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,15–6,12 (d, 1H, 8, *J* = 8,79), 3,81 (s, 3H, 18), 3,65 (m, 1H, 6), 3,22–3,20 (m, 2H, 3), 1,72–1,53 (m, 4H, 4, 5), 1,23–1,21 (d, 3H, 7, *J* = 6,28)	164,56 (1), 158,97 (16), 144,60 (9), 144,18 (11), 136,97 (2'), 134,73 (13), 134,49 (10), 133,91 (6'), 133,68 (3'), 129,53 (14), 129,08 (5', 7'), 128,85 (4', 8'), 123,14 (12), 122,03 (1'), 96,08 (17), 91,61 (15), 54,92 (18), 46,98 (6), 39,02 (3), 33,51 (5), 26,95 (4), 20,19 (7)
15h	H	H	H	F	H	8,55–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,60, 4,19), 8,23–8,19 (t, 1H, 2, *J* = 5,50), 8,09–8,05 (dd, 1H, 13, *J* = 1,55, 8,28), 7,66–7,61 (t, 1H, 6', *J* = 6,49), 7,50–7,39 (m, 3H, 12, 2', 8'), 7,30–7,23 (m, 2H, 5', 7'), 6,73–6,68 (d, 1H, 1', *J* = 15,94), 6,47 (s, 1H, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,15–6,13 (d, 1H, 8, *J* = 8,79), 3,81 (s, 3H, 18),	164,48 (1), 162,02–158,71 (d, 8', *J* = 250,43), 158,97 (16), 144,61 (9), 144,18 (11), 134,73 (13), 134,49 (10), 131,14–131,02 (d, 6', *J* = 8,58), 130,72 (2'), 129,53 (14), 129,03–128,99 (d, 5', *J* = 3,26), 125,17–125,09 (d, 4', *J* = 6,18), 124,97 (1'), 122,61–122,41 (d, 3', *J* = 12,66), 122,03 (12),

						3,65 (m, 1H, 6), 3,25–3,21 (m, 2H, 3), 1,73–1,53 (m, 4H, 4, 5), 1,24–1,21 (d, 3H, 7, *J* = 6,28)	116,12–115,83 (d, 7', *J* = 23,47), 96,08 (17), 91,61 (15), 54,91 (18), 46,98 (6), 39,02 (3), 33,51 (5), 25,91 (4), 20,19 (7)
15i	H	H	$^{11'}CF_3$	H	H	8,55–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,46, 4,10), 8,15–8,11 (t, 1H, 2, *J* = 5,51), 8,08–8,05 (dd, 1H, 13, *J* = 1,56, 8,27), 7,89–7,84 (m, 2H, 6', 8'), 7,73–7,62 (m, 2H, 4', 5'), 7,52–7,47 (d, 1H, 2', *J* = 15,84), 7,44–7,40 (m, 1H, 12), 6,77–6,72 (d, 1H, 1', *J* = 15,85), 6,47 (s, 1H, 17), 6,29 (s, 1H, 15), 6,16–6,13 (d, 1H, 8, *J* = 8,76), 3,81 (s, 3H, 18), 3,66 (m, 1H, 6), 3,23–3,21 (m, 2H, 3), 1,72–1,57 (m, 4H, 4, 5), 1,24–1,22 (d, 3H, 7, *J* = 6,25)	164,34 (1), 158,97 (16), 144,61 (9), 144,18 (11), 136,62 (2'), 136,17 (3'), 134,73 (13), 134,50 (10), 132,28–122,55 (q, 11', *J* = 244,60), 131,20 (4'), 130,28–128,83 (q, 7', *J* = 31,73), 129,96 (5'), 129,44 (14), 125,60–125,46 (q, 6', *J* = 3,70), 124,48 (1'), 123,75–123,60 (q, 8', *J* = 3,71), 122,03 (12), 96,09 (17), 91,60 (15), 54,91 (18), 46,98 (6), 39,02 (3), 33,50 (5), 25,91 (4), 20,20 (7)
15j	H	$^{10'}CF_3$	H	H	H	8,55–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,61, 4,19), 8,24–8,21 (t, 1H, 2, *J* = 5,56), 8,09–8,06 (dd, 1H, 13, *J* = 1,57, 8,30), 7,76 (s, 4H, 4', 5', 7', 8'), 7,50–7,45 (d, 1H, 2', *J* = 15,87), 7,45–7,40 (m, 1H, 12), 6,76–6,71 (d, 1H, 1', *J* = 15,84), 6,47 (s, 1H, 17), 6,29 (s, 1H, 15), 6,16–6,13 (d, 1H, 8, *J* = 8,80), 3,81 (s, 3H, 18), 3,66 (m, 1H, 6), 3,25–3,21 (m, 2H, 3), 1,73–1,53 (m, 4H, 4, 5), 1,24–1,21 (d, 3H, 7, *J* = 6,28)	164,31 (1), 159,00 (16), 144,63 (9), 144,23 (11), 139,07 (3'), 136,74 (2'), 134,79 (13), 134,52 (10), 129,57 (14), 129,71–128,44 (q, 6', *J* = 31,56), 129,51–118,69 (q, 10', *J* = 272,14), 128,07 (4', 8'), 125,82–125,67 (q, 5', 7', *J* = 3,80), 125,12 (1'), 122,09 (12), 96,12 (17), 91,60 (15), 54,95 (18), 46,99 (6), 39,02 (3), 33,52 (5), 23,96 (4), 20,23 (7)
15k	$^{9'}CF_3$	H	$^{11'}CF_3$	H	H	8,54 (s, 1H, 11), 8,26 (s, 2H, 4', 8'), 8,18 (t, 1H, 2, *J* = 5,21), 8,08–8,07 (m, 2H, 13, 6'), 7,60–7,58 (d, 1H, 2', *J* = 15,82), 7,44–7,42 (m, 1H, 12), 6,91–6,88	164,07 (1), 159,00 (16), 144,64 (9), 144,24 (11), 137,97 (3'), 135,16 (2'), 134,81 (13), 134,53 (10), 131,14–130,48 (q, 5', 7', *J* = 33,83), 129,58 (14),

	(d, 1H, 1', *J* = 15,90), 6,47 (s, 1H, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,16–6,14 (d, 1H, 8, *J* = 8,54), 3,80 (s, 3H, 18), 3,66 (m, 1H, 6), 3,23 (m, 2H, 3), 1,70–1,58 (m, 4H, 4, 5), 1,23–1,22 (d, 3H, 7, *J* = 5,99)	127,84 (4', 8'), 126,61 (6'), 125,94–120,54 (q, 9', 11', *J* = 272,30), 122,23 (1'), 122,11 (12), 96,14 (17), 91,59 (15), 54,95 (18), 46,99 (6), 39,02 (3), 33,51 (5), 25,92 (4), 20,25 (7)

*3.1.6.2. Sinteza 1-acilsemikarbazida primakina i derivata cimetne kiseline **16a-k***

PQ-DCK 1-acilsemikarbazidi **16a-k** priređeni su kondenzacijom semikarbazida primakina **9** s odgovarajućim kloridom DCK **14a-k** uz TEA kao akceptor oslobođenog klorovodika (Shema 40). Kiselinski kloridi **14a-k** sintetizirani su neposredno prije upotrebe prema prethodno opisanom postupku (poglavlje 3.1.6.1.).



	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k
R_1	H	H	H	H	OCH_3	H	H	H	H	H	CF_3
R_2	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3		Cl	H	H	CF_3	H
R_3	H	H	H	OCH_3	OCH_3		H	H	CF_3	H	CF_3
R_4	H	H	H	H	H	H	H	F	H	H	H
R_5	H	CH_3	H	H	H	H	H	H	H	H	H

Shema 40. Sinteza PQ-DCK 1-acilsemikarbazida **16a-k.**

Priređeni su sljedeći PQ-DCK 1-acilsemikarbazidi **16a-k**:

(*E*)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-3-fenilprop-2-enamid (**16a**),

(*E*)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-3-fenil-2-metilprop-2-enamid (**16b**),

(*E*)-3-(4-metoksifenil)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]prop-2-enamid (**16c**),

(*E*)-3-(3,4-dimetoksifenil)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino] prop-2-enamid (**16d**),

(*E*)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-3-(3,4,5-trimetoksifenil) prop-2-enamid (**16e**),

(*E*)-3-(2*H*-benzo[*d*][1,3]dioksol-5-il)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil} karbamoil)amino]prop-2-enamid (**16f**),

(*E*)-3-(4-klorfenil)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]prop-2-enamid (**16g**),

(*E*)-3-(2-fluorfenil)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]prop-2-enamid (**16h**),
(*E*)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-3-[3-(trifluormetil)fenil] prop-2-enamid (**16i**),
(*E*)-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-3-[4-(trifluormetil)fenil] prop-2-enamid (**16j**),
(*E*)-3-[3,5-*bis*(trifluormetil)fenil]-*N*-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil) amino]prop-2-enamid (**16k**).

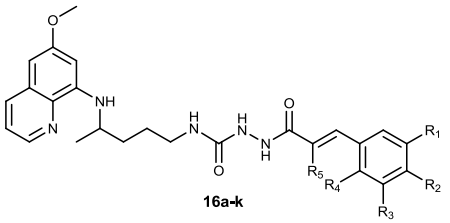
Svi sintetizirani PQ-DCK 1-acilsemikarbazidi **16a-k** novi su spojevi. Tijek reakcija i čistoća produkata praćeni su tankoslojnom kromatografijom, a strukture su potvrđene uobičajenim spektroskopskim metodama (IR, ^{1}H i ^{13}C NMR, MS) te elementarnom analizom koja je služila i za potvrdu čistoće. Osim *p*-klor derivata **16g**, svi sintetizirani spojevi **16** su na visokim temperaturama nestabilni te se raspadaju.

U IR spektrima acilsemikarbazida **16** prisutne su karakteristične vrpce: NH rastezna vibracija na 3393–3248, rastezna vibracija karbonila kod 1697–1604 (amid I) te NH uvijanje kod 1596–1508 (amid II) cm^{-1}. Prisutnost primakinskog ostatka u 1-acilsemikarbazidima **16** potvrđena je ^{1}H NMR spektrom: signal vodikovog atoma u kinolinskom prstenu u susjedstvu dušikovog atoma nalazi se u području 8,55–8,52, metoksi skupina je singlet na 3,83–3,81, CH kiralnog ugljikovog atoma vidi se u području 3,65–3,62, a signal metilne skupine je dublet na 1,22–1,19 ppm. ^{13}C NMR spektar otkriva signale pripadajućih ugljikovih atoma u području 144,69–144,19, 55,52–54,93, 47,47–46,01 i 20,65–20,18 ppm, redom. Kao i u spektrima amida **15**, u aromatskom području vide se dodatni signali vodikovih i ugljikovih atoma DCK benzenskog prstena. Signali metoksi skupina u spojevima **16c-e** vrlo su bliski signalu metoksi skupine primakina. U ^{13}C NMR spektrima spojeva s fluorom (**16h-k**) uočava se cijepanje signala ugljika fluorom. Cijepanje se proteže kroz više veza: analogno amidima **15**, signali odgovarajućih ugljikovih atoma u CF_3 derivatima **16i-k** primjećuju se kao kvarteti u području 132,14–119,14 ppm s velikim konstantama sprezanja $^{1}J_{CF}$ = 214,50–272,61 Hz. Sprezanje kroz dvije veze vidi se u području 131,40–129,01 ppm s konstantom sprezanja $^{2}J_{CF}$ = 33,53–30,02 Hz. U ^{13}C spektru *o*-fluor derivata **16h** dubleti se nalaze na sličnim ppm vrijednostima kao kod amidnog analoga **15h**: dublet ugljikovog atoma na koji je vezan fluor nalazi se na 161,30–159,64 ppm ($^{1}J_{CF}$ = 250,54 Hz), dok se dodatnih pet dubleta koji su posljedica sprezanja kroz više veza uočavaju u aromatskom području ($^{2}J_{CF}$ = 11,54 i 21,68 Hz, $^{3}J_{CF}$ = 6,35 i 8,67 Hz, $^{4}J_{CF}$ = 2,69 Hz). ^{1}H NMR spektar otkriva četiri signala koji odgovaraju NH

skupinama: singlet NH skupine vezane na karbonilnu skupinu derivata cimetne kiseline nalazi se u području između 9,85 i 9,62 ppm, susjedna NH skupina je također singlet, ali je zasjenjenija i pomaknuta više u polje (7,99–7,67 ppm), terminalna NH skupina primakina odsjenjenija je u odnosu na amidne derivate **15** te se vidi u području 6,53–6,43 ppm, dok se dublet amino skupine do kiralnog ugljikovog atoma primakina nalazi na 6,14–6,09 ppm. Prisutnost dvije karbonilne skupine potvrđena je ^{13}C NMR spektrom. Karbonilna skupina porijeklom iz DCK pomaknuta je niže u polje (viši kemijski pomaci) u odnosu na karbonilnu skupinu semikarbazida na položaju 3 (168,89–163,86 u odnosu na 158,49–157,78 ppm). U MS spektrima svih spojeva **16** vide se pseudomolekulski ioni.

U Tablicama 19 i 20 dani su analitički i spektroskopski podaci za PQ-DCK 1-acilsemikarbazide **16a-k**.

Tablica 19. Analitički i IR podaci za PQ-DCK 1-acilsemikarbazide **16a-k**.

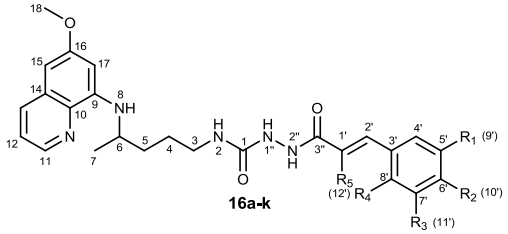


16a-k

Spoj	**Iskor. (%)**	**t_t (°C)**	**Mol. formula (M_r)**	**MS (*m/z*)**	**IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1})**
16a	56	188–190 (raspad)	$C_{25}H_{29}N_5O_3$ (447,53)	448,3 $(M+1)^+$	3302, 3236, 3038, 2936, 1696, 1628, 1578, 1596, 1458, 1388, 1424, 1356, 1222, 1156, 1054, 978, 862, 822, 790, 762, 726, 678, 658, 632, 556, 488
16b	53	65,5 (raspad)	$C_{26}H_{31}N_5O_3$ (461,56)	462,3 $(M+1)^+$	3265, 2961, 2935, 1652, 1617, 1576, 1520, 1454, 1423, 1387, 1336, 1258, 1239, 1220, 1203, 1158, 1051, 1031, 1004, 928, 910, 822, 791, 762, 709, 695, 625, 589, 515
16c	60	89,5 (raspad)	$C_{26}H_{31}N_5O_4$ (477,56)	478,3 $(M+1)^+$	3248, 2934, 1654, 1604, 1575, 1517, 1456, 1424, 1386, 1251, 1167, 1029, 980, 824, 791, 628, 521

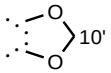
16d	57	200,5–201,5 (raspad)	$C_{27}H_{33}N_5O_5$ (507,58)	508,3 $(M+1)^+$	3375, 3213, 3084, 3003, 2937, 1668, 1628, 1596, 1559, 1515, 1456, 1421, 1387, 1356, 1293, 1262, 1235, 1202, 1171, 1138, 1052, 1022, 977, 939, 856, 816, 788, 767, 710, 679, 622, 594, 560, 460
16e	62	90,5 (raspad)	$C_{28}H_{35}N_5O_6$ (537,61)	538,3 $(M+1)^+$	3250, 2937, 1654, 1618, 1582, 1508, 1454, 1420, 1388, 1326, 1266, 1240, 1221, 1203, 1155, 1126, 1051, 1031, 1003, 976, 822, 791, 677, 624, 585, 526, 512, 464
16f	59	75,5 (raspad)	$C_{26}H_{29}N_5O_5$ (491,54)	492,3 $(M+1)^+$	3250, 2335, 2361, 1654, 1618, 1577, 1560, 1521, 1490, 1448, 1388, 1252, 1202, 1158, 1100, 1037, 976, 929, 819, 791, 670, 625, 592, 518
16g	59	185–187,5	$C_{25}H_{28}ClN_5O_3$ (481,97)	482,2 $(M+1)^+$	3337, 3230, 3037, 2966, 2937, 2362, 2343, 1697, 1661, 1625, 1592, 1521, 1490, 1458, 1425, 1408, 1391, 1354, 1290, 1266, 1239, 1221, 1199, 1161, 1090, 1052, 1010, 982, 945, 899, 866, 819, 790, 726, 676, 628, 495
16h	89	91–93 (raspad)	$C_{25}H_{28}FN_5O_3$ (465,52)	466,1 $(M+1)^+$	3250, 2964, 1654, 1618, 1578, 1520, 1457, 1388, 1221, 1159, 1052, 982, 822, 791, 757
16i	74	86–88 (raspad)	$C_{26}H_{28}F_3N_5O_3$ (515,53)	516,2 $(M+1)^+$	3254, 2964, 1659, 1618, 1577, 1521, 1456, 1424, 1388, 1334, 1222, 1199, 1166, 1126, 1075, 976, 900, 822, 792, 694, 660, 625, 561, 514
16j	67	123 (raspad)	$C_{26}H_{28}F_3N_5O_3$ (515,53)	516,2 $(M+1)^+$	3266, 1695, 1664, 1612, 1525, 1469, 1425, 1390, 1327, 1235, 1169, 1118, 1067, 834, 789, 728, 631, 592
16k	56	118–119,5 (raspad)	$C_{27}H_{27}F_6N_5O_3$ (583,53)	584,3 $(M+1)^+$	3393, 3335, 3220, 3020, 2942, 2363, 1647, 1617, 1579, 1521, 1459, 1425, 1384, 1340, 1280, 1224, 1175, 1135, 1053, 971, 942, 898, 847, 823, 792, 730, 683, 629, 599, 561, 519, 466

Tablica 20. ^{1}H i ^{13}C NMR spektroskopski podaci za PQ-DCK 1-acilsemikarbazide **16a-k**.



Spoj	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz)	^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz)
16a	H	H	H	H	H	9,75 (s, 1H, 2''), 8,54–8,53 (dd, 1H, 11, J = 1,41, 4,11), 8,09–8,06 (dd, 1H, 13, J = 1,30, 8,25), 7,85 (s, 1H, 1''), 7,58–7,36 (m, 7H, 12, 2', 4'–8'), 6,65–6,60 (d, 1H, 1', J = 15,90), 6,48–6,44 (m, 2H, 2, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,13–6,10 (d, 1H, 8, J = 8,62), 3,82 (s, 3H, 18), 3,64 (m, 1H, 6), 3,06–3,04 (m, 2H, 3), 1,63–1,47 (m, 4H, 4, 5), 1,22–1,20 (d, 3H, 7, J = 6,24)	164,65 (3''), 158,98 (16), 157,92 (1), 144,61 (9), 144,20 (11), 139,46 (2'), 134,74 (13), 134,67 (10), 134,49 (3'), 129,60 (6'), 129,53 (14), 128,92 (5', 7'), 127,50 (4', 8'), 122,04 (12), 119,94 (1'), 96,07 (17), 91,61 (15), 54,95 (18), 47,01 (6), 39,02 (3), 33,41 (5), 26,65 (4), 20,18 (7)
16b	H	H	H	H	$^{12'}CH_3$	9,67 (s, 1H, 2''), 8,54–8,53 (dd, 1H, 11, J = 1,57, 4,15), 8,08–8,07 (dd, 1H, 13, J = 1,49, 8,28), 7,67 (s, 1H, 1''), 7,43–7,30 (m, 7H, 12, 2', 4'–8'), 6,48–6,45 (m, 2H, 2, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,13–6,11 (d, 1H, 8, J = 8,75), 3,82 (s, 3H, 18), 3,65–3,63 (m, 1H, 6), 3,08–3,02 (m, 2H, 3), 2,02 (s, 3H, 12'), 1,66–1,47 (m, 4H, 4, 5), 1,22–1,21 (d, 3H, 7, J = 6,29)	168,89 (3''), 159,00 (16), 158,36 (1), 144,63 (9), 144,24 (11), 135,83 (3'), 134,78 (13), 134,51 (10), 133,23 (2'), 130,74 (1'), 129,56 (14), 129,22 (5', 7'), 128,42 (4', 8'), 127,80 (6'), 122,08 (12), 96,10 (17), 91,61 (15), 54,97 (18), 47,02 (6), 39,02 (3), 33,43 (5), 26,73 (4), 20,21 (7), 14,15 (12')

16c	H	$^{10'}OCH_3$	H	H	H	9,64 (s, 1H, 2''), 8,54–8,52 (dd, 1H, 11, *J* = 1,45, 4,10), 8,08–8,06 (d, 1H, 13, *J* = 7,07), 7,80 (s, 1H, 1''), 7,53–7,42 (m, 4H, 12, 2', 4', 8'), 6,99–6,97 (d, 2H, 5', 7', *J* = 8,66), 6,49–6,45 (m, 3H, 2, 17, 1'), 6,27 (s, 1H, 15), 6,10 (s, 1H, 8), 3,82 (s, 3H, 18), 3,78 (s, 3H, 10'), 3,62 (m, 1H, 6), 3,04 (m, 2H, 3), 1,63–1,46 (m, 4H, 4, 5), 1,21–1,19 (d, 3H, 7, *J* = 6,23)	165,24 (3''), 160,56 (6'), 159,06 (16), 158,17 (1), 144,69 (9), 144,35 (11), 139,41 (2'), 134,90 (13), 134,56 (10), 129,65 (14), 129,28 (4', 8'), 127,30 (3'), 122,19 (12), 117,37 (1'), 114,49 (5', 7'), 96,19 (17), 91,71 (15), 55,34 (18), 55,07 (10'), 47,11 (6), 39,02 (3), 33,49 (5), 26,77 (4), 20,29 (7)
16d	H	$^{10'}OCH_3$	$^{11'}OCH_3$	H	H	9,62–9,61 (d, 1H, 2'', *J* = 1,73), 8,54–8,52 (dd, 1H, 11, *J* = 1,39, 4,06), 8,08–8,06 (dd, 1H, 13, *J* = 1,29, 8,29), 7,81 (s, 1H, 1''), 7,44–7,40 (m, 2H, 12, 2'), 7,15–7,12 (m, 2H, 4', 8'), 7,00–6,98 (d, 1H, 1', *J* = 8,28), 6,53–6,46 (m, 3H, 2, 17, 7'), 6,26 (s, 1H, 15), 6,11–6,09 (d, 1H, 8, *J* = 8,73), 3,81–3,78 (m, 9H, 18, 10', 11'), 3,62 (m, 1H, 6), 3,04–3,02 (m, 2H, 3), 1,54–1,51 (m, 4H, 4, 5), 1,21–1,19 (d, 3H, 7, *J* = 6,25)	165,27 (3''), 159,06 (16), 158,19 (1), 150,32 (5'), 148,93 (6'), 144,69 (9), 144,36 (11), 139,74 (2'), 134,91 (13), 134,57 (10), 129,66 (14), 127,55 (3'), 122,21 (12), 121,48 (8'), 117,64 (1'), 111,81 (7'), 110,20 (4'), 96,19 (17), 91,69 (15), 55,62 (10'), 55,52 (18), 55,08 (11'), 47,11 (6), 39,02 (3), 33,50 (5), 26,80 (4), 20,30 (7)
16e	$^{9'}OCH_3$	$^{10'}OCH_3$	$^{11'}OCH_3$	H	H	9,64–9,63 (d, 1H, 2'', *J* = 1,91), 8,53–8,52 (dd, 1H, 11, *J* = 1,51, 4,16), 8,07–8,05 (dd, 1H, 13, *J* = 1,41, 8,28), 7,83 (s, 1H, 1''), 7,45–7,40 (m, 2H, 12, 2'), 6,90 (s, 2H, 4', 8'), 6,59–6,55 (d, 1H, 1', *J* = 15,80), 6,46–6,43 (m, 2H, 2, 17), 6,26 (s, 1H, 15), 6,11–6,09 (d, 1H, 8, *J* = 8,78), 3,81 (s, 3H, 18), 3,80 (s, 6H, 9', 11'), 3,68 (s, 3H, 10'), 3,63 (m, 1H, 6), 3,04–3,02 (m, 2H, 3), 1,61–1,51 (m, 4H, 4, 5), 1,21–1,19 (d, 3H, 7, *J* = 6,25)	164,92 (3''), 159,05 (16), 158,05 (1), 153,14 (5', 7'), 144,69 (9), 144,33 (11), 139,82 (2'), 138,89 (6'), 134,88 (13), 134,56 (10), 130,38 (14), 129,64 (3'), 122,17 (12), 119,26 (1'), 105,09 (4', 8'), 96,17 (17), 91,69 (15), 60,16 (10'), 55,96 (9', 11'), 55,05 (18), 47,10 (6), 39,02 (3), 33,49 (5), 26,76 (4), 20,28 (7)

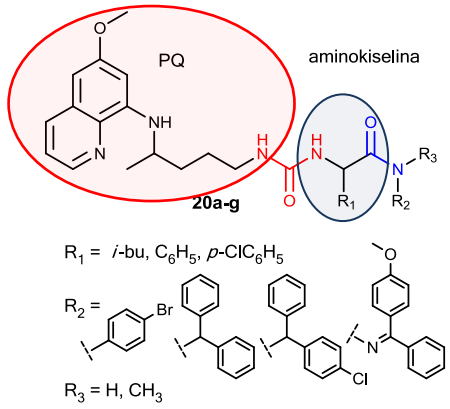
16f	H		H	H	9,64 (s, 1H, 2''), 8,53 (d, 1H, 11, *J* = 2,84), 8,08–8,06 (d, 1H, 13, *J* = 8,05), 7,82 (s, 1H, 1''), 7,43–7,39 (m, 2H, 12, 2'), 7,15 (s, 1H, 4'), 7,09–7,07 (d, 1H, 8', *J* = 8,05), 6,96–6,94 (d, 1H, 1', *J* = 7,96), 6,48–6,44 (m, 3H, 2, 17, 7'), 6,26 (s, 1H, 15), 6,11–6,09 (d, 1H, 8, *J* = 7,59), 6,06 (s, 3H, 10'), 3,82 (s, 3H, 18), 3,62 (m, 1H, 6), 3,04 (m, 2H, 3), 1,60–1,46 (m, 4H, 4, 5), 1,21–1,19 (d, 3H, 7, *J* = 6,13)	165,45 (3''), 159,43 (16), 158,49 (1), 149,08 (5'), 148,38 (6'), 145,05 (9), 144,69 (11), 139,84 (2'), 135,25 (13), 134,93 (10), 130,01 (14), 129,50 (3'), 123,83 (8'), 122,54 (12), 118,33 (1'), 109,05 (7'), 106,66 (4'), 101,92 (10'), 96,55 (17), 92,06 (15), 55,42 (18), 47,47 (6), 39,02 (3), 33,86 (5), 27,14 (4), 20,65 (7)
16g	H	Cl	H	H	H	9,79 (s, 1H, 2''), 8,53–8,52 (dd, 1H, 11, *J* = 1,06, 4,11), 8,08–8,05 (dd, 1H, 13, *J* = 1,30, 8,25), 7,88 (s, 1H, 1''), 7,61–7,59 (d, 2H, 4', 8', *J* = 8,47), 7,50–7,45 (m, 3H, 2', 5', 7'), 7,43–7,40 (m, 1H, 12), 6,64–6,60 (d, 1H, 1', *J* = 15,89), 6,51–6,48 (t, 1H, 2, *J* = 5,44), 6,46 (s, 1H, 17), 6,25 (s, 1H, 15), 6,11–6,09 (d, 1H, 8, *J* = 8,71), 3,81 (s, 3H, 18), 3,62 (m, 1H, 6), 3,04 (m, 2H, 3), 1,61–1,51 (m, 4H, 4, 5), 1,20–1,19 (d, 3H, 7, *J* = 6,25)	164,63 (3''), 159,05 (16), 158,03 (1), 144,68 (9), 144,33 (11), 138,28 (2'), 134,89 (13), 134,56 (10), 134,18 (6), 133,68 (3'), 129,64 (14), 129,35 (4', 8'), 129,09 (5', 7'), 122,19 (12), 120,75 (1'), 96,17 (17), 91,66 (15), 55,06 (18), 47,08 (6), 39,02 (3), 33,47 (5), 26,77 (4), 20,28 (7)
16h	H	H	H	F	H	9,85 (s, 1H, 2''), 8,54–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,50, 4,10), 8,08–8,06 (dd, 1H, 13, *J* = 1,42, 8,22), 7,87 (s, 1H, 1''), 7,67–7,65 (t, 1H, 6', *J* = 7,22), 7,57–7,55 (d, 1H, 2', *J* = 16,02), 7,45–7,41 (m, 2H, 12, 4'), 7,30–7,26 (m, 2H, 5', 7'), 6,76–6,73 (d, 1H, 1', *J* = 16,03), 6,48 (s, 2H, 2, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,12–6,11 (d, 1H, 8, *J* = 8,70), 3,83 (s, 3H, 18), 3,64 (m, 1H, 6),	164,43 (3''), 161,30–159,64 (d, 8', *J* = 250,54), 158,99 (16), 157,86 (1), 144,62 (9), 144,21 (11), 134,74 (13), 134,50 (10), 131,90 (2'), 131,47–131,41 (d, 6', *J* = 8,67), 129,54 (14), 129,22–129,20 (d, 5', *J* = 2,69), 124,98 (1'), 122,90–122,86 (d, 4', *J* = 6,35), 122,35–122,28 (d, 3', *J* = 11,54), 122,04 (12), 116,13–115,99 (d, 7', *J* = 21,68), 96,09 (17), 91,04

						3,07 (m, 2H, 3), 1,65–1,49 (m, 4H, 4, 5), 1,22–1,21 (d, 3H, 7, *J* = 6,28)	(15), 54,95 (18), 47,03 (6), 39,02 (3), 33,43 (5), 26,64 (4), 20,19 (7)
16i	H	H	$^{11'}CF_3$	H	H	9,77 (s, 1H, 2''), 8,54 (d, 1H, 11, *J* = 2,58), 8,08–8,06 (d, 1H, 13, *J* = 7,91), 7,92–7,88 (m, 3H, 6', 8', 1''), 7,75–7,73 (d, 1H, 4', *J* = 7,53), 7,68–7,65 (t, 1H, 5', *J* = 7,55), 7,61–7,59 (d, 1H, 2', *J* = 15,88), 7,43–7,41 (m, 1H, 12), 6,78–6,76 (d, 1H, 1', *J* = 15,89), 6,47 (s, 2H, 2, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,12–6,11 (d, 1H, 8, *J* = 8,50), 3,83 (s, 3H, 18), 3,64 (m, 1H, 6), 3,07–3,06 (m, 2H, 3), 1,65–1,49 (m, 4H, 4, 5), 1,22–1,21 (d, 3H, 7, *J* = 6,00)	164,18 (3''), 158,99 (16), 157,81 (1), 144,62 (9), 144,20 (11), 137,75 (2'), 135,90 (3'), 134,74 (13), 134,50 (10), 132,14–127,87 (q, 11', *J* = 214,50), 131,15 (4'), 130,07–129,41 (q, 7', *J* = 30,02), 130,06 (5'), 129,53 (14), 125,84 (6'), 123,98 (8'), 122,11 (12), 122,03 (1'), 96,08 (17), 91,64 (15), 54,94 (18), 47,03 (6), 39,02 (3), 33,43 (5), 26,64 (4), 20,18 (7)
16j	H	$^{10'}CF_3$	H	H	H	9,85 (s, 1H, 2''), 8,54–8,53 (d, 1H, 11, *J* = 3,71), 8,08–8,06 (d, 1H, 13, *J* = 8,07), 7,90 (s, 1H, 1''), 7,78 (s, 4H, 4', 5', 7', 8'), 7,59–7,56 (d, 1H, 2', *J* = 15,92), 7,43–7,41 (m, 1H, 12), 6,77–6,74 (d, 1H, 1', *J* = 15,90), 6,47 (s, 2H, 2, 17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,12–6,11 (d, 1H, 8, *J* = 8,58), 3,83 (s, 3H, 18), 3,64 (m, 1H, 6), 3,07–3,05 (m, 2H, 3), 1,65–1,47 (m, 4H, 4, 5), 1,22–1,21 (d, 3H, 7, *J* = 6,06)	164,10 (3''), 158,98 (16), 157,80 (1), 144,61 (9), 144,19 (11), 138,73 (3'), 137,75 (2'), 134,73 (10), 134,49 (13), 129,64–129,01 (q, 6', *J* = 31,19), 129,53 (14), 128,13 (4', 8'), 126,81–121,32 (q, 10', *J* = 271,67), 125,76 (5', 7'), 122,77 (1'), 122,02 (12), 96,07 (17), 91,63 (15), 54,93 (18), 47,01 (6), 39,02 (3), 33,42 (5), 26,63 (4), 20,17 (7)
16k	$^{9'}CF_3$	H	$^{11'}CF_3$	H	H	9,81 (s, 1H, 2''), 8,55–8,53 (dd, 1H, 11, *J* = 1,62, 4,19), 8,29 (s, 2H, 4', 8'), 8,12 (s, 1H, 6'), 8,09–8,07 (dd, 1H, 13, *J* = 1,58, 8,31), 7,99 (s, 1H, 1''), 7,72–7,68 (d, 1H, 2', *J* = 15,92), 7,77–7,41 (m, 1H, 12), 6,94–6,90 (d, 1H, 1', *J* = 15,97), 6,51–6,47 (m, 2H, 2,	163,86 (3''), 159,02 (16), 157,78 (1), 144,65 (9), 144,27 (11), 137,67 (3'), 136,28 (2'), 134,83 (13), 134,53 (10), 131,40–130,40 (q, 5', 7', *J* = 33,53), 129,60 (14), 128,22 (4', 8'), 127,28–119,14 (q, 9', 11', *J* = 272,61), 125,53 (6'), 124,23 (1'), 122,13 (12),

	17), 6,28 (s, 1H, 15), 6,14–6,11 (d, 1H, 8, *J* = 8,74), 3,82 (s, 3H, 18), 3,64 (m, 1H, 6), 3,06 (m, 2H, 3), 1,66–1,48 (m, 4H, 4, 5), 1,22–1,21 (d, 3H, 7, *J* = 6,28)	96,13 (17), 91,61 (15), 55,01 (18), 47,04 (6), 39,02 (3), 33,45 (5), 26,74 (4), 20,25 (7)

3.1.7. Sinteza aminokiselinskih derivata – ureidoamida primakina 20a-g

U okviru ranijih istraživanja u Zavodu za farmaceutsku kemiju sintetizirane su i biološki ispitane različite serije aminokiselinskih derivata ureidoamida [30–32]. U ovom poglavlju opisana je po prvi put sinteza derivata primakina ureidoamidnog tipa. Na Slici 22 prikazana je opća formula ureidoamida primakina. Različiti ureidoamidi **20** pripravljeni su variranjem aminokiselinske poveznice u sredini molekule te arilnog ostatka na desnom krilu molekule ureidoamida **20**. Crvenom bojom označena je urea komponenta ureidoamida, a plavom amidna.

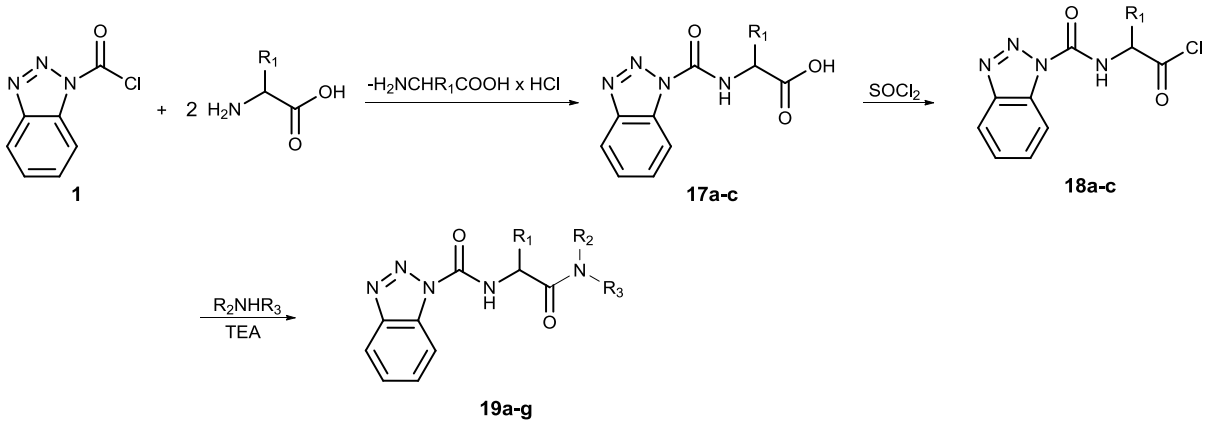


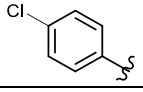
Slika 22. Strukturna formula ureidoamida primakina **20a-g**.

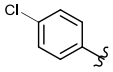
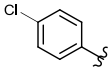
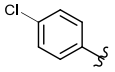
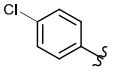
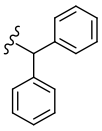
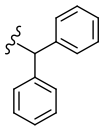
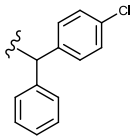
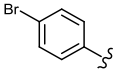
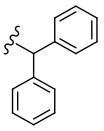
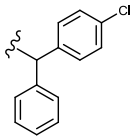
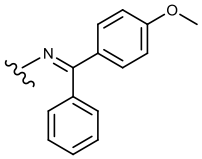
Prvi korak u sintezi ureidoamida primakina **20** bila je sinteza *N*-(1-benzotriazolkarbonil)aminokiselina (*N*-Btc-aminokiselina) **17a-c**. Klorid 1-benzotriazolkarboksilne kiseline reagirao je s amino skupinom aminokiselina (L-leucin, D-fenilglicin, DL-*p*-klorfenilglicin) pri čemu nastaju *N*-Btc-aminokiseline (Shema 41) [138]. Reakcija se provodi u bezvodnom dioksanu na sobnoj temperaturi uz dvostruku količinu aminokiseline, pri čemu jedan ekvivalent aminokiseline služi kao akceptor klorovodika oslobođenog u reakciji, a drugi reagira s BtcCl. Nastali hidroklorid aminokiseline nije topljiv u dioksanu te je odsisan, a uparavanjem matičnice dobiven je sirovi produkt **17**.

Pripravljene su sljedeće *N*-Btc-aminokiseline:
N-Btc-L-leucin (**17a**),
N-Btc-D-fenilglicin (**17b**),
N-Btc-DL-*p*-klorfenilglicin (**17c**).

Novi spoj je *N*-Btc-DL-*p*-klorfenilglicin (**17c**). IR spektri i tališta ranije opisanih *N*-Btc-aminokiselina *N*-Btc-L-leucina (**17a**) i *N*-Btc-D-fenilglicina (**17b**) odgovaraju literaturnim podacima [138].



	17a, 18a	17b, 18b	17c, 18c
R_1			

	19a	19b	19c	19d	19e	19f	19g
R_1							
R_2							
R_3	H	CH_3	H	H	H	H	H

Shema 41. Sinteza amida *N*-(1-benzotriazolkarbonil)aminokiselina **19a-g**.

N-(1-benzotriazolkarbonil)aminokiseline **17a-c** prevedene su pomoću tionil-klorida u odgovarajuće kiselinske kloride **18a-c** koji su bez pročišćavanja upotrijebljeni u sljedećoj reakciji aminolize. Reakcijom s aromatskim aminima ili hidrazonom priređeni su amidi *N*-Btc-aminokiselina **19a-g** (Shema 41) [33]. TEA (ekvimolarna količina) upotrijebljen je kao

akceptor oslobođenog klorovodika. U zadanim blagim reakcijskim uvjetima kod novosintetiziranih amida **19** nije dolazilo do ciklizacije u hidantoin.

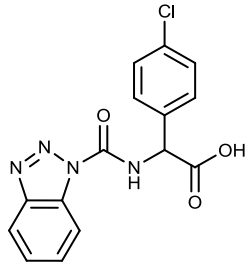
Priređeni su sljedeći *N*-Btc-amidi:
N-(1-benzotriazolkarbonil)-L-leucin-benzhidrilamid (**19a**),
N-(1-benzotriazolkarbonil)-D-fenilglicin-*N*-metilbenzhidrilamid (**19b**),
N-(1-benzotriazolkarbonil)-D-fenilglicin-4-klorbenzhidrilamid (**19c**),
N-(1-benzotriazolkarbonil)-DL-*p*-klorfenilglicin-4-bromanilid (**19d**),
N-(1-benzotriazolkarbonil)-DL-*p*-klorfenilglicin-benzhidrilamid (**19e**),
N-(1-benzotriazolkarbonil)-DL-*p*-klorfenilglicin-4-klorbenzhidrilamid (**19f**),
N-[(4-klorfenil)({*N*'-[(fenil)(4-metoksifenil)metilen]hidrazinkarbonil})metil]-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-karboksamid (**19g**).

Svi amidi, osim amida **19a** i **19b**, novi su spojevi pripravljeni prema poznatom postupku [30,33]. Temperature tališta ne odgovaraju u potpunosti literaturnim podacima, ali IR spektar, i ^{1}H NMR spektar spoja **19a** i **19b** su u skladu s literaturom [30]. Tijek reakcija i čistoća produkata praćeni su tankoslojnom kromatografijom, a strukture su potvrđene uobičajenim spektroskopskim metodama (IR, ^{1}H i ^{13}C NMR, MS) te elementarnom analizom koja je služila i za potvrdu čistoće.

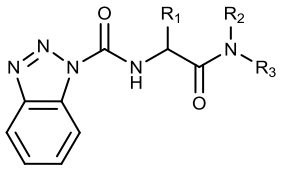
IR spektri svih benzotriazolida **17** i **19** pokazuju karakterističnu rasteznu vibraciju karbonilne skupine (amid I) kod 1750–1716 te vrpcu koja odgovara NH uvijanju (amid II) kod 1712–1649 cm^{-1}, pri višim valnim brojevima u odnosu na obične amide, što je karakteristično za aktivne uree. Prisutnost karbonilnih skupina potvrđena je ^{13}C NMR spektrima: karbonilna skupina vezana na benzotriazol nalazila se između 148,84 i 147,40 ppm, dok je amidna karbonilna skupina bila na 172,20–167,39 ppm. Kemijski pomaci drugih protona u ^{1}H i drugih ugljikovih atoma u ^{13}C spektrima odgovaraju predloženim strukturama novih spojeva. Strukture spojeva **19f** i **19g** potvrđene su indirektno, derivatizacijom u spojeve **20f** i **20g**. U MS spektrima amida **19** vide se benzotriazolski fragmenti na *m/z* 120,1 ili 117,9, a jedino spektri spojeva **19c**,**e**,**g** pokazuju pseudomolekulske ione.

Analitički i spektroskopski podaci za *N*-Btc-aminokiselinu **17c** i amide **19a-g** dani su u Tablicama 21–23.

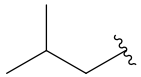
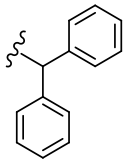
Tablica 21. Analitički i IR podaci za *N*-Btc-aminokiselinu **17c** i amide **19a-g**.

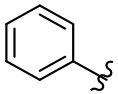
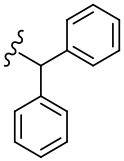
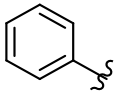
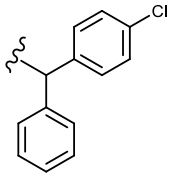
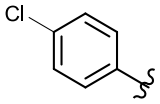
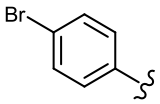
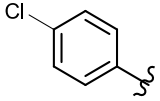
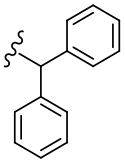
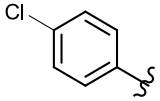
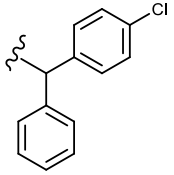


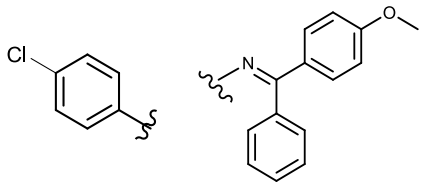
17c



19a-g

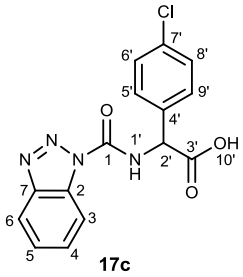
Spoj	**R_1**	**R_2**	**R_3**	**Iskor. (%)**	**t_t (°C)**	**Mol. formula (M_r)**	**MS (*m/z*)**	**IR (KBr/film) ν_{max} (cm^{-1})**
17c	–	–	–	99	127 (raspad)	$C_{15}H_{11}ClN_4O_3$ (330,73)	120,1 $(BtH+1)^+$ 353,2 $(M+Na)^+$	3360, 2924, 2540, 1750, 1712, 1494, 1450, 1380, 1290, 1184, 1136, 1064, 1018, 976, 932, 822, 786, 754, 732, 680, 662, 642, 624, 600, 558, 538, 516, 466
19a			H	72	153–158	$C_{26}H_{27}N_5O_2$ (441,52)	120,1 $(BtH+1)^+$	3328, 3261, 3068, 2958, 2929, 1716, 1650, 1557, 1522, 1450, 1378, 1287, 1230, 1152, 1079, 1050, 1013, 925, 855, 836, 753, 699, 633, 567, 521, 462

19b			CH_3	53	82–83,5 (lit. 89–93 [30])	$C_{29}H_{25}N_5O_2$ (475,54)	117,9 $(BtH–1)^-$	3377, 3032, 2939, 1735, 1649, 1490, 1405, 1294, 1231, 1081, 1033, 932, 867, 813, 753, 702, 611, 569, 519
19c			H	83	116–118,5	$C_{28}H_{22}ClN_5O_2$ (495,96) (495,15)[a]	120,1 $(BtH+1)^+$ 496,2 $(M+1)^+$	3286, 3062, 3032, 1748, 1660, 1502, 1499, 1448, 1380, 1232, 1182, 1126, 1094, 1036, 934, 852, 812, 752, 698, 612, 572, 554, 518, 496
19d			H	60	168,5–169,5	$C_{21}H_{15}BrClN_5O_2$ (484,73)	120,1 $(BtH)^+$	3406, 3232, 3062, 1732, 1656, 1600, 1498, 1452, 1396, 1346, 1290, 1218, 1092, 1014, 930 ,818, 778, 754, 724 ,656, 628, 594, 540, 502
19e			H	38	164,5–166,5	$C_{28}H_{22}ClN_5O_2$ (495,96) (495,15)[a]	120,1 $(BtH)^+$ 496,2 $(M+1)^+$	3388, 3276, 3062, 1732, 1682, 1648, 1492, 1448, 1380, 1288, 1218, 1094, 1024, 930, 818, 750, 702, 648, 590, 566, 540
19f			H	17	158–159,5	$C_{28}H_{21}FCl_2N_5O_2$ (530,40)	120,2 $(BtH+1)^+$	3394, 3279, 3062, 1730, 1651, 1492, 1450, 1410, 1381, 1321, 1290, 1219, 1184, 1150, 1093, 1017, 930, 828, 753, 702, 623, 563, 537

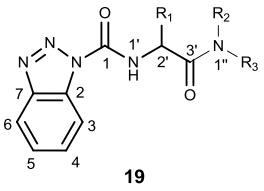
19g		H	62	–	$C_{29}H_{23}ClN_6O_3$ (538,98) (538,15)[a]	120,1 $(BtH)^+$, 539,1 $(M+1)^+$	3373, 3307, 3181, 3076, 3049, 2923, 2829, 1733, 1676, 1604, 1506, 1489, 1443, 1377, 1305, 1289, 1256, 1179, 1157, 1108, 1089, 1031, 960, 935, 836, 806, 779, 749, 696, 653, 628, 603, 570, 532

[a] točna masa

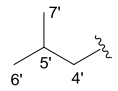
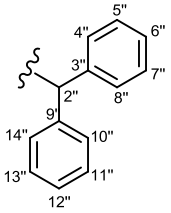
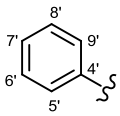
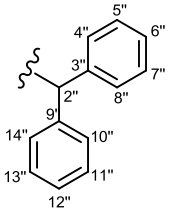
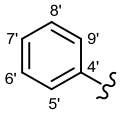
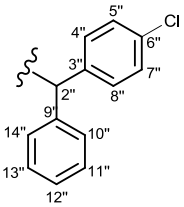
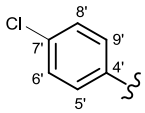
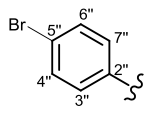
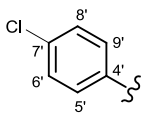
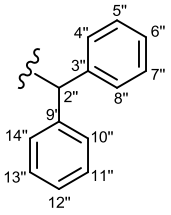
Tablica 22. [1]H NMR spektroskopski podaci za *N*-Btc-aminokiselinu **17c** i amide **19**.



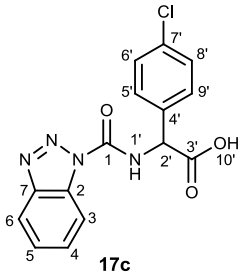
17c



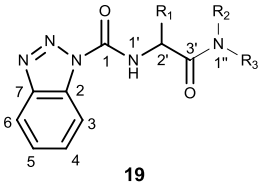
19

Spoj	R_1	R_2	R_3	^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz)
17c	–	–	–	9,63–9,62 (d, 1H, 10', J = 7,21), 8,24–7,15 (m, 9H, 1', 3–6, 5', 6', 8', 9'), 5,71–5,69 (d, 1H, 2', J = 7,20)
19a			H	9,12–9,09 (2d, 2H, 1, 1", J = 3,95), 8,23–7,24 (m, 14H, 3'–6', 4"–8", 10"–14"), 6,18–6,16 (d, 1H, 2", J = 8,37), 4,71–4,65 (m, 1H, 2), 1,94–1,88 (m, 1H, 4), 1,73–1,62 (m, 2H, 5), 0,95–0,89 (d, 6H, 6, 7, J = 6,48)
19b			$^{15"}CH_3$	9,16–9,14 (d, 1H, 1, J = 5,97), 8,22–6,93 (m, 19H, 5–9, 3'–6', 4"–8", 10"–14"), 6,53 (s, 1H, 2"), 6,16–6,14 (d, 1H, 2, J = 6,23), 2,67 (s, 3H, 15")
19c			H	9,41–9,39 (t, 1H, 1", J = 7,41), 9,03–9,01 (d, 1H, 1, J = 7,14), 8,23–7,08 (m, 18H, 5–9, 3'–6', 4", 5", 7", 8", 10"–14"), 6,19–6,17 (d, 1H, 2", J = 8,10), 5,84–5,81 (t, 1H, 2, J = 6,46)
19d			H	10,63 (s, 1H, 1), 9,48–9,47 (d, 1H, 1", J = 7,14), 8,24–7,48 (m, 12H, 5, 6, 8, 9, 3'–6', 3", 4", 6", 7"), 5,83–5,82 (d, 1H, 2, J = 7,18)
19e			H	9,41–9,40 (d, 1H, 1, J = 8,23), 9,10–9,09 (d, 1H, 1", J = 7,29), 8,23–7,08 (m, 18H, 5, 6, 8, 9, 3'–6', 4"–8", 10"–14"), 6,17–6,15 (d, 1H, 2", J = 8,20), 5,84–5,83 (d, 1H, 2, J = 7,23)

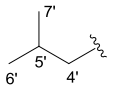
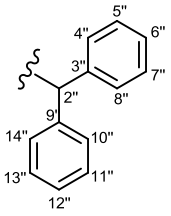
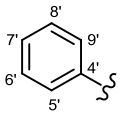
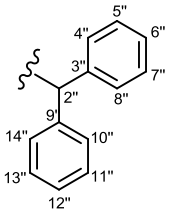
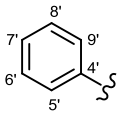
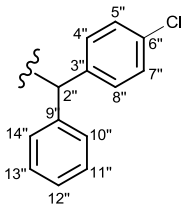
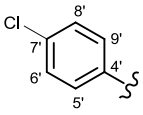
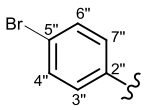
Tablica 23. ^{13}C NMR spektroskopski podaci za *N*-Btc-aminokiselinu **17c** i amide **19**.

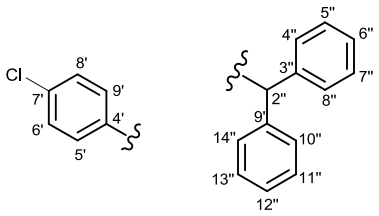


17c

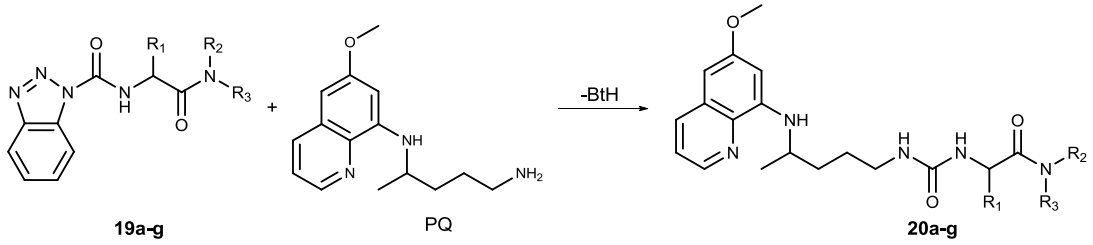


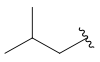
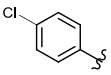
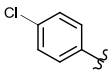
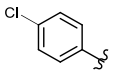
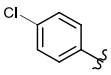
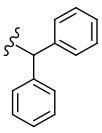
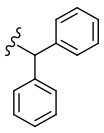
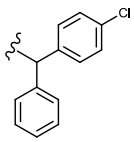
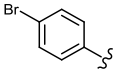
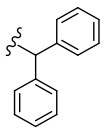
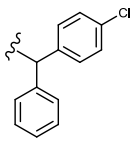
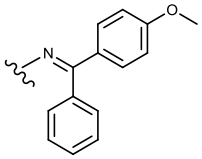
19

Spoj	R_1	R_2	R_3	^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm)
17c	–	–	–	170,66 (3'), 148,50 (1), 145,48 (7), 135,76 (4'), 132,81 (7'), 131,25 (2), 130,22 (4), 130,14, 128,41 (5', 6', 8', 9'), 125,76 (5), 119,94 (6), 113,38 (3), 56,69 (2')
19a			H	170,58 (3), 148,84 (1'), 145,47 (7'), 142,19 (3", 9"), 131,32 (2'), 130,06 (4'), 128,40–127,05 (4"–8", 10"–14"), 125,65 (5'), 119,84 (6'), 113,54 (3'), 56,08 (2), 52,97 (2"), 38,89 (4), 24,46 (5), 23,08, 21,38 (6, 7)
19b			$^{15"}CH_3$	169,24 (3), 147,40 (1'), 145,50 (7'), 138,47, 138,24 (3", 9"), 135,92 (4), 131,08 (2'), 130,26 (4'), 128,80–127,51 (5–9, 4"–8", 10"–14"), 125,71 (5'), 119,97 (6'), 113,28 (3'), 61,00 (2"), 55,58 (2), 31,69 (1")
19c			H	172,20 (3), 148,06 (1'), 145,50 (7'), 141,21, 140,76 (3", 9"), 135,60 (4), 132,20 (6"), 131,15 (2'), 130,21 (4'), 129,40–126,72 (5–9, 4", 5", 7", 8", 10"–14"), 125,69 (5'), 119,91 (6'), 113,33 (3'), 59,56 (2), 56,54 (2")
19d			H	167,39 (3), 148,52 (1'), 145,48 (7'), 137,78 (2"), 135,92 (4), 133,04 (7), 131,72, 129,80, 128,62, 121,47 (5, 6, 8, 9, 3", 4", 6", 7"), 131,24 (2'), 130,22 (4'), 125,77 (5'), 119,95 (6'), 115,62 (5"), 113,39 (3'), 57,58 (2)

19e		H	167,71 (3), 148,10 (1'), 145,47 (7'), 141,62, 141,60 (3", 9"), 136,63 (4), 132,79 (7), 131,15 (2'), 130,18 (4'), 129,27–126,85 (5, 6, 8, 9, 4"–8", 10"–14"), 125,69 (5'), 119,90 (6'), 113,31 (3'), 56,55 (2), 56,34 (2")

Reaktivni amidi *N*-(1-benzotriazolkarbonil)aminokiselina **19a-g** bili su ishodni spojevi u sintezi novih konjugata aminokiselina i primakina, ureidoamida **20a-g**. Ureidoamidi **20a-g** sintetizirani su aminolizom amida *N*-Btc-aminokiselina **19a-g** primakinom (Shema 42).

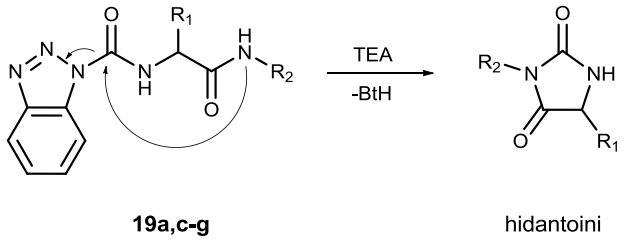


	20a	**20b**	**20c**	**20d**	**20e**	**20f**	**20g**
R_1							
R_2							
R_3	H	CH_3	H	H	H	H	H

Shema 42. Sinteza ureidoamida primakina **20a-g**.

U ovom koraku formirana je urea funkcionalna skupina. Primakin je prethodno oslobođen iz oblika difosfata na ranije opisan način (poglavlje 3.1.4.). Molarni omjer reaktanata amida *N*-Btc-aminokiselina **19a-g** i primakina iznosio je 1:2 (Metoda A). Jedan ekvivalent primakina reagirao je s amidom **19**, a drugi je služio kao akceptor oslobođenog BtH. U ovom slučaju primakin je upotrijebljen umjesto TEA jer je slabija baza te je tako spriječena ciklizacija u hidantoin koja se odvijala pri bazičnijim uvjetima (Shema 43). To je potvrđeno IR spektrom: karakteristične apsorpcijske vrpce hidantoina pojavljuju se kod ~1770 (amid I) i ~1715 (amid

II) cm^{-1}, dok se rastezne vibracije karbonilnih skupina ureidoamida nalaze pri nižim valnim brojevima (1655–1544 cm^{-1}). Ovaj postupak predstavlja modifikaciju prethodno objavljene metode [31–33]. U odnosu na prethodni reakcijski korak u kojem je klorid **18** reagirao s aminom gotovo trenutno (0,5 h), supstitucija na benzotriazolskoj strani molekule zahtijevala je više vremena (24 h). U sintezi ureidoamida **20b** upotrijebljeni su reaktanti amid **19b** i primakin u molarnom omjeru 1:1, uz dvostruku količinu TEA koji je služio za oslobađanje primakina iz soli (Metoda B). U ovom slučaju nije dolazilo do ciklizacije u hidantoin zbog tercijarne amidne skupine te je reakcija potpomognuta mikrovalnim zračenjem (70 °C, 0,75 h). Ureidoamid **20d** pripremljen je prethodno opisanom Metodom A te Metodom C u mikrovalnom reaktoru (40 °C, 0,25 h) uz jednake molarne omjere reaktanata kao u Metodi A, te u prisutnosti natrijevog ditionita kao antioksidansa. Iskorištenja u obje metode bila su podjednaka.



Shema 43. Reakcija ciklizacije u hidantoine u bazičnim uvjetima.

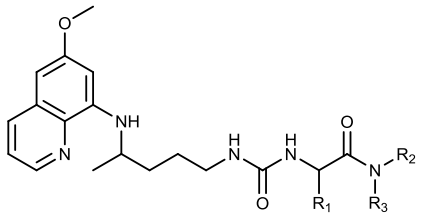
Pripravljeni su sljedeći ureidoamidi:
N-(difenilmetil)-2-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-4-metil-pentanamid (**20a**),
N-(difenilmetil)-2-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil)amino]-*N*-metil-2-fenilacetamid (**20b**),
N-[(fenil)(4-klorfenil)metil]-2-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil) amino]-2-fenilacetamid (**20c**),
N-(4-bromfenil)-2-(4-klorfenil)-2-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil) amino]acetamid (**20d**),
N-(difenilmetil)-2-(4-klorfenil)-2-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}karbamoil) amino]acetamid (**20e**),
N-[(fenil)(4-klorfenil)metil]-2-(4-klorfenil)-2-[({4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil} karbamoil)amino]acetamid (**20f**),
3-[(4-klorfenil)({*N*'-[(fenil)(4-metoksifenil)metilen]hidrazinkarbonil})metil]-1-{4-[(6-metoksikinolin-8-il)amino]pentil}urea (**20g**).

Sinteze novih spojeva i njihova čistoća praćeni su tankoslojnom kromatografijom, a strukture su potvrđene uobičajenim spektroskopskim metodama (IR, ^{1}H i ^{13}C NMR, MS) te elementarnom analizom koja je služila i za potvrdu čistoće.

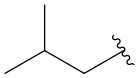
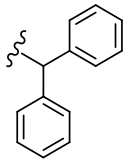
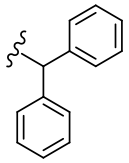
IR spektri ureidoamida **20a-g** pokazuju karakteristične vrpce kod 3349–3316 (NH rastezanje), 1655–1621 (C=O rastezanje, amid I) i 1591–1544 (NH uvijanje, amid II) cm^{-1}. NMR spektrima potvrđena je prisutnost primakina u molekuli: vodikovi atomi u blizini piridinskog dušika u ^{1}H spektru nalazili su se u području između 8,54 i 8,52, NH skupina vezana na kinolinski prsten pokazivala je signal kod 6,13–5,97, metoksi skupina na 3,82–3,81, kiralni CH vidi se kao multiplet kod 3,62–3,57, a metilna skupina je dublet na 1,21–1,19 ppm. ^{13}C NMR spektar pokazuje signale pripadajućih ugljikovih atoma u području 144,26–144,21, 55,00–54,95, 47,05–46,87 i 20,24–20,16 ppm, redom. U ^{13}C NMR spektru signali urea karbonila pomaknuti su prema manjim ppm vrijednostima (157,62–153,85 ppm) u odnosu na signale odgovarajućih karbonila amida *N*-Btc-aminokiselina **19a-g**, dok se signal amidnog karbonila nalazi na približno istim ppm vrijednostima kao kod spojeva **19** (172,46-169,45 ppm). Signal nitrilne C=N skupine u spoju **20g** pojavljuje se na 155,00 ppm. Strukture ureidoamida **20a-g** odgovaraju predviđenim. MS spektri svih spojeva **20a-g** otkrivaju pseudomolekulski ion.

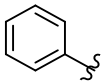
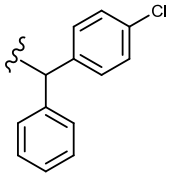
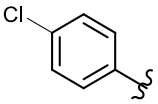
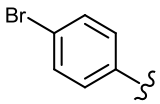
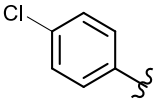
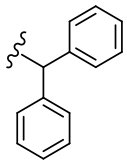
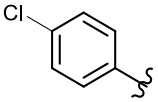
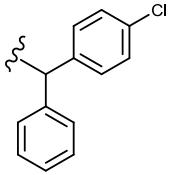
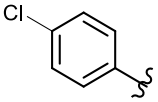
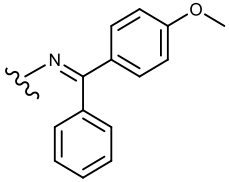
U Tablicama 24–26 dani su analitički i spektroskopski podaci za ureidoamide **20a-g**.

Tablica 24. Analitički i IR podaci za ureidoamide **20a-g**.



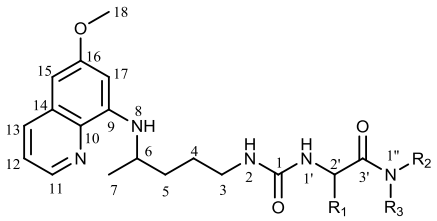
20a-g

Spoj	**R_1**	**R_2**	**R_3**	**Iskor. (%) (Metoda)**	**t_t (°C)**	**Mol. formula (M_r)**	**MS (*m/z*)**	**IR (KBr/film) ν_{max} (cm^{-1})**
20a			H	87 (A)	184,5–185,5	$C_{35}H_{43}N_5O_3$ (581,75)	582,1 $(M+1)^+$	3316, 2958, 1655, 1624, 1569, 1519, 1493, 1454, 1422, 1388, 1336, 1290, 1201, 1167, 1155, 1052, 1028, 824, 791, 746, 697
20b			CH_3	34 (B)	146,5–148,5	$C_{38}H_{41}N_5O_3$ (615,76)	616,5 $(M+1)^+$	3335, 3060, 3030, 2962, 2933, 2863, 1622, 1563, 1521, 1495, 1479, 1457, 1406, 1388, 1337, 1308, 1221, 1201, 1163, 1116, 1082, 1052, 1031, 1003, 971, 921, 869, 823, 791, 769, 735, 720, 701, 678, 624, 608, 566, 467

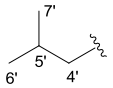
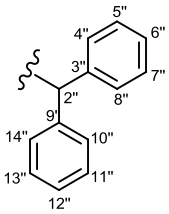
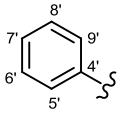
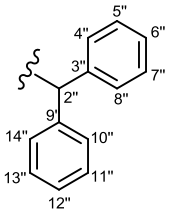
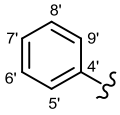
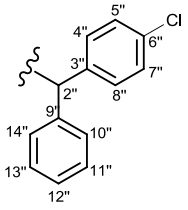
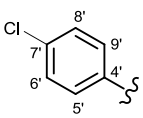
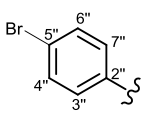
20c			H	85 (A)	129–131	$C_{37}H_{38}ClN_5O_3$ (636,18) (635,27)[a]	636,2 $(M+1)^+$	3317, 3255, 1621, 1571, 1547, 1518, 1489, 1453, 1422, 1386, 1218, 1157, 1090, 1051, 1029, 1014, 818, 790, 697
20d			H	67 (A) 59 (C)	152–154,5	$C_{30}H_{34}BrClN_5O_3$ (624,96)	626,3 $(M+1)^+$	3335, 3285, 3093, 3049, 2961, 2928, 2857, 1635, 1591, 1544, 1517, 1486, 1454, 1421, 1388, 1347, 1303, 1283, 1218, 1201, 1157, 1091, 1072, 1050, 1028, 1009, 968, 935, 899, 817, 787, 760, 710, 674, 622, 551, 499
20e			H	36 (A)	180–183	$C_{37}H_{38}ClN_5O_3$ (636,18) (635,27)[a]	636,4 $(M+1)^+$	3321, 3254, 1621, 1572, 1547, 1519, 1491, 1455, 1422, 1388, 1348, 1218, 1197, 1159, 1091, 1051, 1030, 1013, 819, 790, 744, 693
20f			H	38 (A)	150–151,5	$C_{37}H_{37}Cl_2N_5O_3$ (670,63) (669,23)[a]	670,4 $(M+1)^+$	3317, 3252, 1623, 1519, 1489, 1454, 1387, 1218, 1158, 1091, 1051, 1013, 819, 790, 757, 697
20g			H	20 (A)	ulje	$C_{38}H_{39}ClN_6O_4$ (679,21) (678,27)[a]	679,3 $(M+1)^+$	3349, 2930, 1633, 1610, 1555, 1509, 1454, 1421, 1386, 1324, 1304, 1250, 1220, 1201, 1164, 1090, 1029, 959, 819, 790, 772, 697

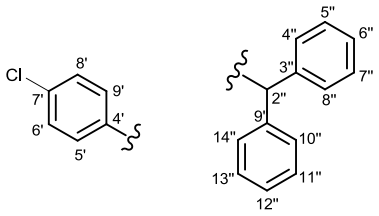
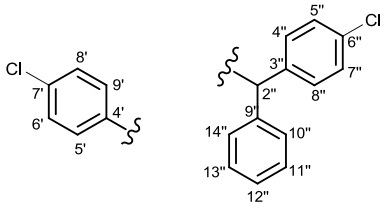
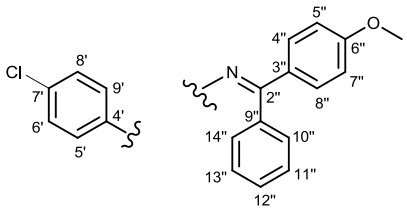
[a] točna masa

Tablica 25. [1]H NMR spektroskopski podaci za ureidoamide **20**.

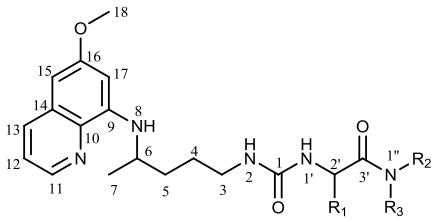


20

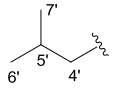
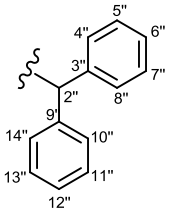
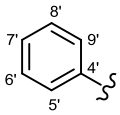
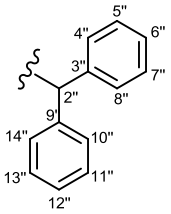
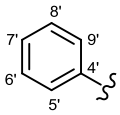
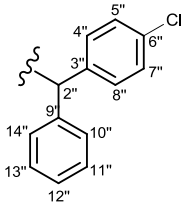
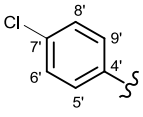
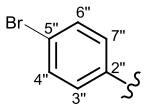
Spoj	R_1	R_2	R_3	^{1}H NMR (DMSO-d_6, δ ppm, J/Hz)
20a			H	8,89–8,87 (d, 1H, 1'', J = 8,53), 8,52 (s, 1H, 11), 8,08–8,06 (d, 1H, 13, J = 8,25), 7,43–7,20 (m, 11H, 12, 4''–8'', 10''–14''), 6,46 (s, 1H, 17), 6,25 (s, 1H, 15), 6,12–5,97 (m, 4H, 2, 8, 1', 2''), 4,33–4,32 (q, 1H, 2', J = 8,05, 14,91), 3,81 (s, 3H, 18), 3,60 (m, 1H, 6), 3,00 (m, 2H, 3), 1,61–1,35 (m, 7H, 4, 5, 4', 5'), 1,18 (d, 3H, 7, J = 3,31), 0,85–0,82 (2d, 6H, 6', 7')
20b			$^{15''}CH_3$	8,54–8,53 (d, 1H, 11, J = 3,06), 8,09–8,07 (d, 1H, 13, J = 7,94), 7,42–6,89 (m, 16H, 12, 5'–9', 4''–8'', 10''–14''), 6,67–6,46 (m, 3H, 17, 1', 2''), 6,25–6,09 (2s, 2H, 2, 15), 6,12–6,09 (d, 1H, 8, J = 8,50), 5,77–5,75 (d, 1H, 2', J = 8,11), 3,82 (s, 3H, 18), 3,61 (m, 1H, 6), 3,01 (m, 2H, 3), 2,65 (s, 3H, 1''), 1,61–1,48 (4, 5), 1,19–1,18 (d, 3H, 7, J = 5,83)
20c			H	9,28–9,25 (dd, 1H, 1'', J = 5,74, 8,25), 8,54–8,53 (d, 1H, 11, J = 4,09), 8,09–8,06 (dd, 1H, 13, J = 1,41, 8,27), 7,44–7,09 (m, 15H, 12, 5'–9', 4'', 5'', 7'', 8'', 10''–14''), 6,69–6,65 (dd, 1H, 1', J = 3,84, 8,57), 6,48 (s, 1H, 17), 6,26–6,24 (2s, 2H, 2, 15), 6,12–6,07 (m, 2H, 8, 2''), 5,53–5,50 (dd, 1H, 2', J = 5,50, 8,37), 3,82 (s, 3H, 18), 3,61 (m, 1H, 6), 3,01 (m, 2H, 3), 1,61–1,44 (m, 4H, 4, 5), 1,19–1,18 (d, 3H, 7, J = 6,25)
20d			H	8,96 (s, 1H, 1''), 8,54–8,53 (d, 1H, 11, J = 3,87), 8,44 (s, 1H, 2), 8,09–8,06 (d, 1H, 13, J = 8,20), 7,53–7,30 (m, 9H, 12, 5', 6', 8', 9', 3'', 4'', 6'', 7''), 7,12–7,09 (dd, 1H, 1', 3,61, 7,49), 6,47 (s, 1H, 17), 6,25 (s, 1H, 15), 6,09–6,06 (d, 1H, 8, J = 8,75), 5,33–5,30 (d, 1H, 2', J = 7,71), 3,82 (s, 3H, 18), 3,57 (m, 1H, 6), 3,09 (m, 2H,

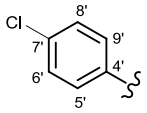
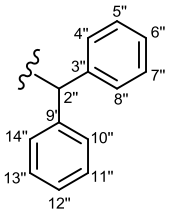
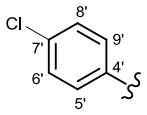
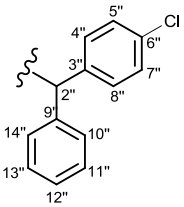
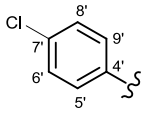
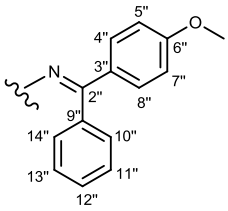
				3), 1,51–1,40 (m, 4H, 4, 5), 1,21–1,19 (d, 0,65H, 7, *J* = 6,18), 1,15–1,13 (d, 2,27H, 7, *J* = 5,74)
20e			H	9,27–9,25 (d, 1H, 1'', *J* = 8,53), 8,53–8,52 (d, 1H, 11, *J* = 3,74), 8,08–8,06 (dd, 1H, 13, *J* = 1,46, 8,24), 7,43–7,09 (m, 15H, 12, 5', 6', 8', 9', 4''–8'', 10''–14''), 6,70–6,69 (d, 1H, 1', *J* = 8,53), 6,47 (s, 1H, 17), 6,26–6,24 (2s, 2H, 2, 15), 6,11–6,10 (d, 1H, 8, *J* = 8,70), 6,06–6,05 (d, 1H, 2'', *J* = 8,49), 5,54–5,52 (dd, 1H, 2', *J* = 2,55, 8,52), 3,81 (s, 3H, 18), 3,62–3,60 (m, 1H, 6), 3,02–2,97 (m, 2H, 3), 1,64–1,41 (m, 4H, 4, 5), 1,19–1,18 (d, 3H, 7, *J* = 5,54)
20f			H	9,29–9,28 (d, 1H, 1'', *J* = 8,62), 8,53 (s, 1H, 11), 8,08–8,07 (d, 1H, 13, *J* = 7,19), 7,43–7,09 (m, 14H, 12, 5', 6', 8', 9', 4'', 5'', 7'', 8'', 10''–14''), 6,71–6,68 (dd, 1H, 1', *J* = 4,04, 8,40), 6,47 (s, 1H, 17), 6,26–6,24 (2s, 2H, 2, 15), 6,11–6,10 (d, 1H, 8, *J* = 8,66), 6,07–6,06 (d, 1H, 2'', *J* = 8,28), 5,53–5,50 (td, 1H, 2', *J* = 2,30, 8,23, 8,05), 3,81 (s, 3H, 18), 3,61–3,60 (m, 1H, 6), 3,00 (m, 2H, 3), 1,63–1,42 (m, 4H, 4, 5), 1,19–1,18 (d, 3H, 7, *J* = 6,22)
20g			H	10,28 (s, 1H, 1''), 8,54–8,53 (d, 1H, 11, *J* = 4,08), 8,09–8,06 (d, 1H, 13, *J* = 8,20), 7,58–6,92 (m, 14H, 12, 5', 6', 8', 9', 5'', 6'', 8'', 9'', 11''–15''), 6,74–6,71 (d, 1H, 1', *J* = 8,38), 6,48 (s, 1H, 17), 6,27–6,21 (m, 2H, 2, 15), 6,13–6,10 (d, 1H, 8, *J* = 8,71), 5,54–5,51 (d, 0,63H, 2', *J* = 7,95), 5,37–5,35 (d, 0,37H, 2', *J* = 7,81), 3,82 (s, 3H, 18), 3,86–3,84 (d, 1H, 16'', *J* = 4,06), 3,78–3,76 (d, 2H, 16'', *J* = 5,04), 3,61 (m, 1H, 6), 3,0 (m, 2H, 3), 1,65–1,48 (m, 4H, 4, 5), 1,21–1,19 (d, 3H, 7, *J* = 6,05)

Tablica 26. ^{13}C NMR spektroskopski podaci za ureidoamide **20**.



20

Spoj	R_1	R_2	R_3	^{13}C NMR (DMSO-d_6, δ ppm)
20a			H	172,46 (3'), 159,02 (16), 157,62 (1), 144,64 (9), 144,25 (11), 142,45, 142,40 (3'', 9''), 134,82 (13), 134,54 (10), 129,60 (14), 128,34–126,93 (4''–8'', 10''–14''), 122,12 (12), 96,12 (17), 91,61 (15), 55,73 (2'), 55,00 (18), 51,44 (2''), 47,05 (6), 42,22 (4'), 39,02 (3), 33,53 (5), 26,93 (4), 24,27 (5'), 23,03, 22,01 (6', 7'), 20,24 (7)
20b			^{15}CH$_3$	171,34 (3'), 159,00 (16), 157,07 (1), 144,63 (9), 144,24 (11), 138,81, 138,62 (4, 3'', 9''), 134,80 (13), 134,51 (10), 129,58 (14), 128,66–127,36 (5'–9', 4''–8'', 10''–14''), 122,10 (12), 96,11 (17), 91,62 (15), 60,33 (2''), 54,96 (18), 54,26 (2'), 47,00 (6), 39,02 (3), 33,52 (5), 31,69 (1''), 26,87 (4), 20,21 (7)
20c			H	170,08 (3'), 159,01 (16), 157,09 (1), 144,64 (9), 144,26 (11), 141,66–141,09 (3'', 9''), 140,25 (4'), 134,82 (13), 134,53 (10), 131,75 (6''), 129,60 (14), 129,37–126,58 (5'–9', 4'', 5'', 7'', 8'', 10''–14''), 122,13 (12), 96,12 (17), 91,63 (15), 56,39 (2'), 55,26 (2''), 55,00 (18), 47,03 (6), 39,02 (3), 33,52 (5), 26,85 (4), 20,23 (7)
20d			H	169,47 (3'), 158,99 (16), 153,85 (1), 144,62 (9), 144,24 (11), 139,51 (2''), 139,15 (4'), 134,80 (13), 134,51 (10), 131,42 (7'), 131,42, 128,30, 119,36 (5', 6', 8', 9', 3'', 4'', 6'', 7''), 129,57 (14), 122,10 (21), 112,52 (5''), 96,10 (17), 91,61 (15), 55,72 (2'), 54,98 (18), 46,87 (6), 39,02 (3), 33,27 (5), 25,72 (4), 20,16 (7)

20e			H	169,49 (3'), 158,98 (16), 156,92 (1), 144,61 (9), 144,21 (11), 142,01–141,86 (3'', 9''), 139,47 (4'), 134,77 (13), 134,49 (10), 131,81 (7'), 129,55 (14), 128,39–126,80 (5', 6', 8', 9', 4''–8'', 10''–14''), 122,06 (12), 96,06 (17), 91,62 (15), 56,90 (2'), 55,70 (2''), 54,95 (18), 47,00 (6), 39,02 (3), 33,47 (5), 26,78 (4), 20,18 (7)
20f			H	169,59 (3'), 158,98 (16), 156,94 (1), 144,61 (9), 144,21 (11), 141,50–140,92 (3'', 9''), 139,32 (4'), 134,76 (13), 134,49 (10), 131,81, 131,56 (7', 6''), 129,55 (14), 129,27–126,84 (5', 6', 8', 9', 4'', 5'', 7'', 8'', 10''–14''), 122,06 (12), 96,08 (17), 91,62 (15), 55,77 (2'), 55,34 (2''), 54,95 (18), 47,00 (6), 39,02 (3), 33,47 (5), 26,76 (4), 20,18 (7)
20g			H	169,45 (3'), 167,10 (7''), 158,99 (16), 157,00 (1), 155,00 (3''), 144,62 (9), 144,24 (11), 138,90 (4'), 134,79 (13), 134,51 (10), 132,50 (10''), 131,98 (7'), 130,17–127,65 (5', 6', 8', 9', 5'', 9'', 11''–15''), 129,57 (14), 124,27 (4''), 122,09 (12), 114,60, 113,77 (6'', 8''), 96,09 (17), 91,62 (15), 55,21 (2'), 54,97 (18, 16''), 47,0 (6), 39,02 (3), 33,48 (5), 26,78 (4), 20,20 (7)

3.2. BIOLOŠKA ISPITIVANJA

3.2.1. Ispitivanja citostatskog djelovanja

*3.2.1.1. Derivati primakina s velikim arilnim ili hidroksialkilnim supstituentima **11a-l** i **12a-g***

Citostatsko djelovanje *bis*-urea primakina **11a-l**, urea primakina **12a**,**b**,**e-g**, semikarbazona **12c**,**d** i njihovih sintetskih prekursora (amida i hidrazida 1-benzotriazolkarboksilne kiseline **2**, 4-arilsemikarbazida **6** i semikarbazida primakina **9**) te spojeva **3**-**5** ispitano je *in vitro* na sljedećim humanim malignim staničnim linijama: SW 620, MCF-7, H460, CEM, Molt-4/C8, Mia Paca-2 i HeLa te na mišjoj malignoj staničnoj liniji L1210 (Tablica 27) [29]. Citotoksičnost je ispitana na staničnoj liniji L6 [140]. Ispitani spojevi **2-6** koji u svojoj strukturi nisu sadržavali primakin, bili su slabo aktivni ili inaktivni u najvećoj ispitanoj koncentraciji, što je u skladu s prethodno objavljenim rezultatima i upućuje na to da je primakinski ostatak nužan za djelovanje [23]. S druge strane, semikarbazidi primakina **11a-g** pokazali su značajno citostatsko djelovanje na sve ispitane maligne stanične linije, dok su derivati s hidroksilnom skupinom **11h-l** selektivno djelovali na staničnu liniju MCF-7 u niskim mikromolarnim koncentracijama (IC_{50} = 4–29 μM) (Tablica 27).

Najširi spektar citostatskog djelovanja pokazali su *bis*-urea derivati s lipofilnom benzhidrilnom (**11a-d**) ili tritilnom skupinom (**11e**), što je u skladu s očekivanjima. Naime, upravo benzhidrilni derivati pokazali su se najučinkovitijim u ranije sintetiziranoj seriji 1,4-supstituiranih semikarbazida primakina [23] te NSAIL semikarbazida [135]. Modifikacije na benzhidrilnoj skupini, tj. uvođenje 4-klor (**11b**), 4-metoksi (**11c**) te 4,4'-dimetoksi skupine (**11d**) nisu imale utjecaj na djelovanje niti na selektivnost ispitivanih spojeva. Među navedenim derivatima najviše su se istaknuli spoj **11d** i tritilni derivat **11e** koji nisu pokazali citotoksično djelovanje na staničnu liniju L6.

Spoj **11g** s trifluormetilnom skupinom i klorom kao supstituentima na benzenskom prstenu pokazao je selektivno djelovanje prema staničnoj liniji MCF-7 te umjereno citostatsko djelovanje na ostale ispitane maligne stanične linije.

Bis-uree s jednom ili više hidroksilnih skupina (**11h-l**) pokazale su također veliku selektivnost prema MCF-7 (IC_{50} = 4–29 μM). Njihovo djelovanje bilo je u skladu s ranije objavljenim citostatskim djelovanjem urea primakina s analognim supstituentima [21]. Među njima je ponovno najjače djelovanje pokazao derivat s najdužim alkilnim lancem – aminopentanolski

derivat **11j**, ali je, za razliku od analogne uree, sintetizirane u okviru prethodnih istraživanja [21], koja je imala najizraženije citostatsko djelovanje na staničnu liniju SW 620, selektivno djelovao na MCF-7 (IC_{50} = 4 ± 0,9 μM). Derivati s dvije ili tri hidroksilne skupine **11k** i **11l** pokazali su slabije djelovanje u odnosu na derivate s jednom hidroksilnom skupinom.

U cijeloj seriji *bis*-urea derivata primakina s velikim arilnim ili hidroksialkilnim supstituentima najviše se istaknula simetrična *bis* primakinska *bis*-urea **11f** kao izuzetno selektivan derivat na staničnu liniju MCF-7 (IC_{50} = 0,2 ± 0,09 μM), dok na ostale ispitane maligne stanične linije gotovo uopće nije imala učinak u najvećoj ispitanoj koncentraciji. Također, nije pokazala citotoksičan učinak na normalnu staničnu liniju L6.

Derivati primakina **12**, s iznimkom urea **12b** i **12e**, pokazali su također selektivnost prema staničnoj liniji MCF-7, ali su općenito imali slabije citostatsko djelovanje od analognih *bis*-urea **11a-g**. Najaktivniji je bio derivat **12g** s halogeniranim benzenskim prstenom kakav se nalazi u molekuli citostatskog lijeka sorafeniba, inhibitora tirozin-kinaze.

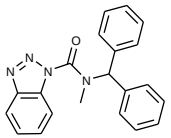
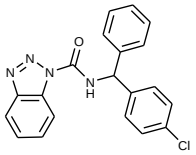
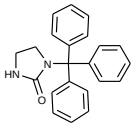
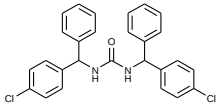
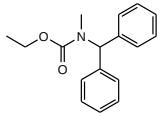
Variranje supstituenata na benzhidrilnoj skupini utjecalo je na djelovanje, što nije bio slučaj kod analognih *bis*-urea. Spoj **12a** s nesupstituiranom benzhidrilnom skupinom pokazao je izraženo citostatsko djelovanje na stanične linije CEM, L1210, MCF-7, Molt-4/8 i Mia Paca-2. Benzhidrilni derivat s klorom u *p*-položaju **12b** bio je gotov inaktivan u najvećoj ispitanoj koncentraciji (10^{-4} M), dok su derivati s jednom ili dvije metoksi skupine **12c** i **12d** bili selektivni na MCF-7.

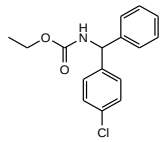
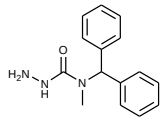
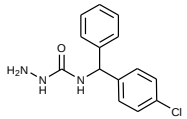
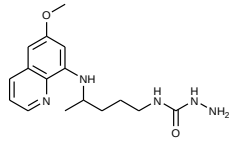
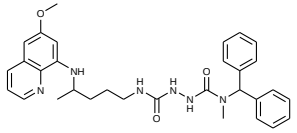
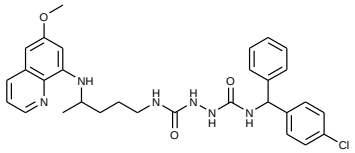
Prilikom prethodnih istraživanja derivata primakina u Zavodu za farmaceutsku kemiju također je primijećena velika osjetljivost stanica MCF-7 na derivate primakina [21,23]. Drugi autori također opisuju selektivno citostatsko djelovanje kinidina, primakina, *N*-dipeptidilprimakina i imidazolidin-4-on derivata primakina na MCF-7 [28,152]. Selektivna inhibicija rasta stanica MCF-7 može se objasniti specifičnom indukcijom enzima CYP1. Stanice MCF-7 poznate su kao CYP1 inducibilne stanice [153]. Enzimi iz obitelji citokroma P450 (CYP) kataliziraju inicijalne reakcije detoksifikacije ili bioaktivacije lijekova, toksina i drugih ksenobiotika. Nekoliko studija pokazalo je da je primakin u uvjetima *in vitro* potentan induktor enzima CYP1 na razini transkripcije [154] te na post-translacijskoj razini [155]. Regulacija genske ekspresije enzima CYP1A1 uključuje aril ugljikovodični receptor (AhR) koji je aktiviran ligandima – policikličkim aromatskim ugljikovodicima (PAH) i halogeniranim ugljikovodicima. Iako primakin ne dijeli strukturne značajke s klasičnim AhR ligandima, dokazano je da se s niskim afinitetom veže na vezno mjesto AhR, iako za različite

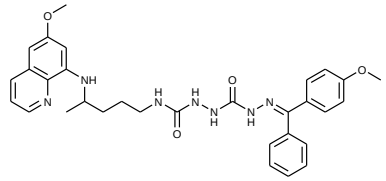
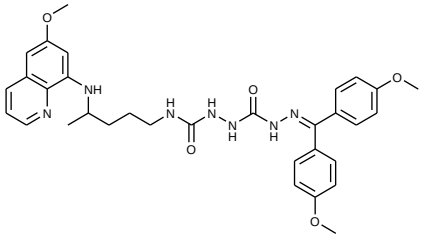
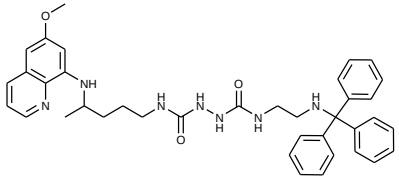
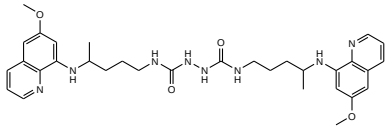
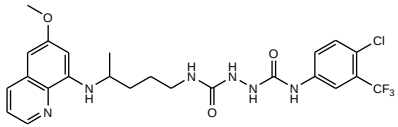
aminokiselinske ostatke u odnosu na klasične ligande kao što su PAH [156,157]. Međutim, primakin nije klinički značajno inducirao CYP1A1 enzim *in vivo* u koncentraciji koju normalno postiže u plazmi [158]. Razlog tome može biti vrlo kratko poluvrijeme eliminacije primakina ($t_{1/2}$ ~ 3–8 h) zbog brze oksidativne deaminacije u inaktivni karboksiprimakin [159]. Zaštita primarne amino skupine primakina, kao u derivatima **11** i **12**, može znatno produžiti $t_{1/2}$ jer ometa metabolizam primakina u karboksiprimakin [77]. S druge strane, semikarbazidi se u mikrosomima jetre metaboliziraju preko citokroma P450 pri čemu nastaju toksični produkti formaldehid, dušikov(II) oksid i amonijak [160]. Uzimajući u obzir sve navedeno, selektivnost ispitanih spojeva prema stanicama MCF-7 može se povezati s primakinskim ostatkom i/ili sa semikarbazidnom poveznicom. Međutim, ispitivanje mehanizma selektivnog citostatskog djelovanja sintetiziranih derivata primakina nadilazi okvire ovog rada.

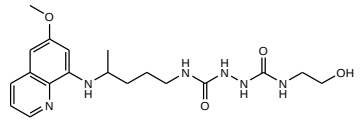
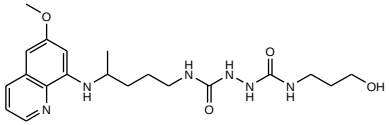
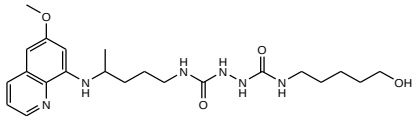
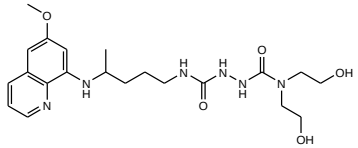
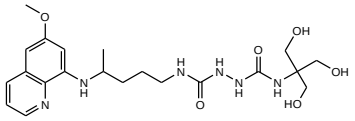
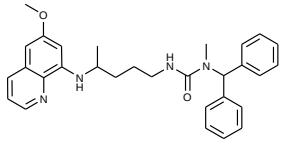
Rezultati inhibitornog djelovanja *bis*-urea **11a-l** i derivata primakina **12a-g** te njihovih sintetskih prekursora na rast malignih staničnih linija dani su u Tablici 27.

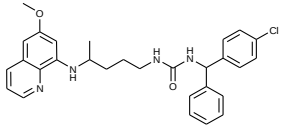
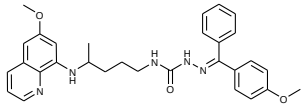
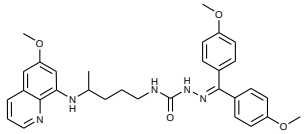
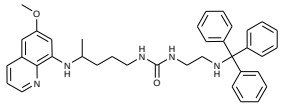
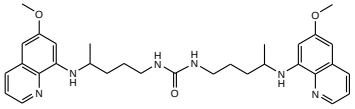
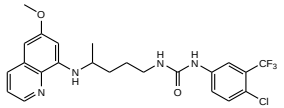
Tablica 27. Inhibitorno djelovanje *bis*-urea **11a-l** i urea primakina **12a-g** te njihovih sintetskih prekursora na rast malignih staničnih linija i normalnih mioblasta (L6).

Spoj	Strukturna formula	Stanične linije [IC_{50}[a] (μM)]								
		L1210	**Molt-4/C8**	**CEM**	**HeLa**	**Mia Paca-2**	**SW 620**	**MCF-7**	**H460**	**L6**
2a		15 ± 1	28 ± 3	24 ± 2	25 ± 1	26 ± 6	≥ 100	23 ± 9	27 ± 2	n.o.
2b		67 ± 37	176 ± 105	116 ± 65	87 ± 16	110 ± 25	23 ± 12	42 ± 40	18 ± 8	n.o.
3		68 ± 10	21 ± 3	27 ± 11	102 ± 80	31 ± 8	≥100	63 ± 4	>100	n.o.
4b		> 250	> 250	> 250	> 250	97 ± 16	> 100	> 100	> 100	n.o.
5a		96 ± 18	105 ± 18	108 ± 28	80 ± 10	94 ± 7	27 ± 10	26 ± 8	≥ 100	n.o.

5b		> 250	> 250	> 250	> 250	142 ± 81	> 100	> 100	> 100	n.o.
6a		≥ 250	144 ± 37	127 ± 11	174 ± 71	127 ± 3	> 100	≥ 100	> 100	n.o.
6b		≥ 250	≥ 250	217 ± 32	182 ± 44	178 ± 90	> 100	≥ 100	> 100	n.o.
9		> 250	≥ 250	> 250	≥ 250	≥ 250	>100	16 ± 5	>100	n.o.
11a		16 ± 2	19 ± 1	10 ± 1	22 ± 2	18 ± 0	27 ± 3	5 ± 0,9	16 ± 6	10,4
11b		8,8 ± 4,4	9,6 ± 4,3	5,5 ± 2,2	6,9 ± 3,0	6,0 ± 0,7	3 ± 2	2 ± 0,2	3 ± 1	8,4

11c		6,2 ± 0,5	12 ± 6	7,4 ± 2,1	18 ± 4	13 ± 7	7 ± 4	2 ± 0,5	7 ± 1	16,0
11d		7,5 ± 2,7	12 ± 7	8,0 ± 3,4	50 ± 16	11 ± 5	≥ 100	1 ± 0,2	5 ± 0,3	105,4
11e		6,2 ± 1,1	8,0 ± 3,2	4,2 ± 0,1	10 ± 3	5,0 ± 0,5	7 ± 4	2 ± 0,2	4 ± 0,3	> 100
11f		92 ± 25	≥ 250	87 ± 47	67 ± 31	69 ± 46	> 100	0,2 ± 0,09	94 ± 3	76,6
11g		19 ± 1	19 ± 1	14 ± 2	17 ± 0	18 ± 6	15 ± 4	2 ± 0,7	13 ± 0,08	n.o.

11h		> 250	> 250	> 250	196 ± 58	≥ 250	> 100	13 ± 4	> 100	n.o.
11i		> 250	> 250	> 250	> 250	≥ 250	> 100	13 ± 0,5	> 100	n.o.
11j		> 250	≥ 250	170 ± 11	≥ 250	168 ± 40	> 100	4 ± 0,9	> 100	n.o.
11k		> 250	> 250	> 250	> 250	> 250	> 100	29 ± 10	> 100	178,1
11l		> 250	> 250	> 250	> 250	> 250	> 100	28 ± 3	> 100	n.o.
12a		6,7 ± 0,2	10 ± 4	5,2 ± 0,0	121 ± 48	21 ± 17	> 100	9 ± 2	≥ 100	n.o.

12b		94 ± 11	≥ 250	86 ± 48	186 ± 67	181 ± 52	> 100	> 100	> 100	140
12c		34 ± 11	≥ 250	10-100[b]	129 ± 40	155 ± 54	> 100	5 ± 3	> 100	> 195
12d		> 250	> 250	> 250	> 250	> 250	> 100	6 ± 2	> 100	> 185
12e		40 ± 14	210 ± 38	10-100[b]	38 ± 0	40 ± 16	54 ± 23	45 ± 34	> 100	> 170
12f		92 ± 24	> 250	5-50[b]	> 250	186 ± 90	> 100	6 ± 3	> 100	> 185
12g		3,6 ± 0,5	3,4 ± 0,9	3,1 ± 0,6	3,9 ± 1,6	4,0 ± 0,1	23 ± 2	4 ± 1	28 ± 7	n.o.

[a] IC_{50} – koncentracija spoja koja inhibira rast stanica za 50 %; [b] neovisno o koncentraciji; n.o. – nije određeno.

*3.2.1.2. Konjugati primakina i derivata cimetne kiseline **15a-k** i **16a-k***

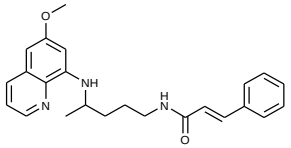
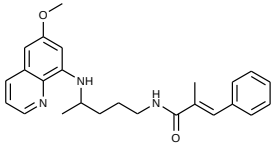
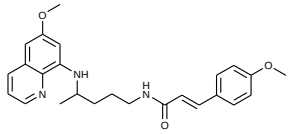
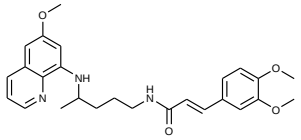
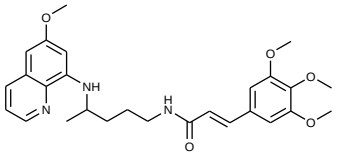
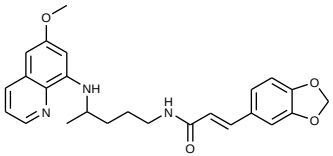
Novi konjugati primakina i derivata cimetne kiseline **15** i **16** dizajnirani su prvenstveno kao potencijalni citostatski lijekovi. Njihovo citostatsko djelovanje ispitano je *in vitro* na pet humanih malignih staničnih linija: CEM, HeLa, H460, SW 620 i MCF-7 te na mišjoj malignoj staničnoj liniji L1210 i uspoređeno sa standardnim lijekovima: citostaticima sorafenibom (SOR), cisplatinom (CIS), 5-fluorouracilom (5-FU) i melfalanom te primakinom [65]. Citotoksičnost je ispitana na staničnoj liniji L6 [140].

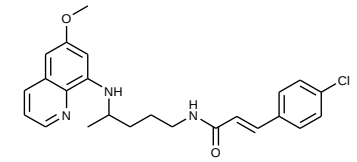
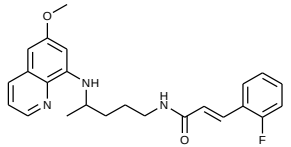
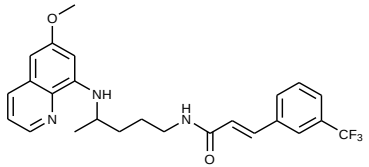
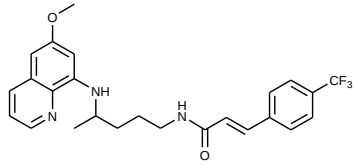
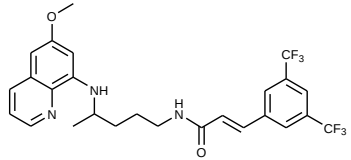
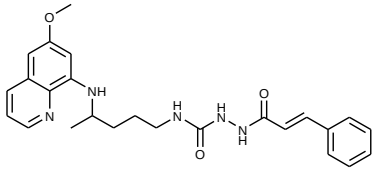
Amidi primakina i derivata cimetne kiseline **15a-k** pokazali su slabo citostatsko djelovanje na stanične linije leukemije L1210 i CEM, dok na staničnu liniju H460 uopće nisu djelovali u najvećoj ispitanoj koncentraciji (10^{-4} M). Osim toga, većina spojeva iz ove serije nije bila aktivna niti na stanicama SW 620 u najvećoj ispitanoj koncentraciji. Međutim, spojevi **15a** i **15i** pokazali su blago, a spoj **15h** vrlo jako citostatsko djelovanje (IC_{50} = 0,3 ± 0,1 μM) na staničnu liniju SW 620. Aktivnost na staničnu liniju HeLa znatno je varirala među amidnim derivatima: spojevi **15a** i **15h** pokazali su snažnu aktivnost u niskim mikromolarnim koncentracijama (IC_{50} = 4,0 ± 0,9 i 2,1 ± 2,1 μM, redom), dok su drugi amidni derivati imali slabo citostatsko djelovanje (**15b**,**f**,**g**,**i**,**j**,**k**) ili su bili inaktivni u najvećoj ispitanoj koncentraciji (**15c-e**) (Tablica 28) [65]. Stanična linija MCF-7 ponovno je bila najosjetljivija na ispitane derivate primakina. Gotovo svi amidi **15a-k** pokazali su citostatsko djelovanje na MCF-7 u niskim mikromolarnim koncentracijama. Ponovno je *o*-fluor derivat **15h** imao najjače djelovanje (IC_{50} = 1,1 ± 0,6 μM). Međutim, isti spoj **15h** pokazao je citotoksičnost na stanicama L6, a s obzirom da je pokazao jako citostatsko djelovanje na pet od šest ispitanih staničnih linija, moguće je da je uzrok tome generalna citotoksičnost. Acilsemikarbazidi primakina i derivata cimetne kiseline **16a-k** općenito su imali jače citostatsko djelovanje od amida na sve ispitane maligne stanične linije, a posebno jako su djelovali na staničnu liniju MCF-7 (Tablica 28). Međutim, bili su i toksičniji na staničnu liniju L6 od amidnih derivata. Spojevi **16c**,**f**,**g**,**j** imali su izraženo citostatsko djelovanje na MCF-7, dok je aktivnost prema drugim staničnim linijama varirala. Tri najaktivnija acilsemikarbazida imala su metoksi, klor i trifluormetilni supstituent u *para* položaju. Najaktivniji spoj bio je *p*-trifluormetilni derivat **16j** u nanomolarnoj koncentraciji (IC_{50} = 0,03 ± 0,02 μM). Na staničnu liniju L6 pokazao je oko dva puta jače citotoksično djelovanje od samog primakina i referentnog lijeka 5-FU te podjednaku citotoksičnost referentnom lijeku melfalanu, ali je na staničnu liniju MCF-7 imao 900 puta jače djelovanje od primakina, 500 puta od 5-FU i 10 puta od melfalana.

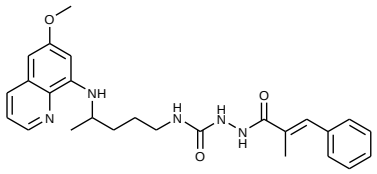
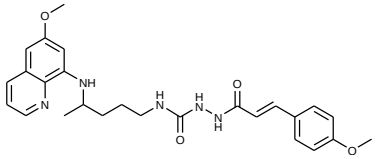
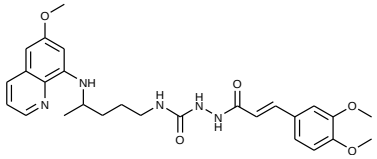
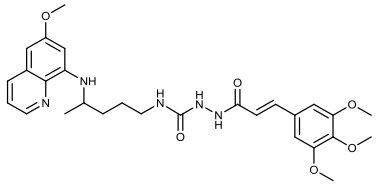
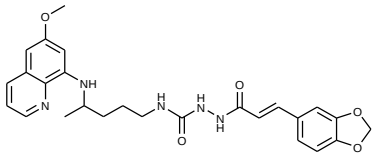
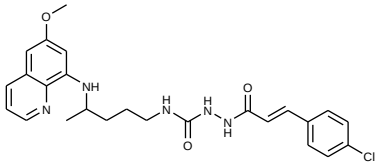
Izraženo citostatsko djelovanje PQ-DCK 1-acilsemikarbazida **16** na staničnu liniju MCF-7 također se može povezati s indukcijom enzima CYP1 u stanicama MCF-7 i generiranjem toksičnih produkata metabolizmom semikarbazida preko enzima CYP. Osim toga može se pretpostaviti da bi mogli djelovati i kao inhibitori HER2 i EGFR zbog određene strukturne homologije s citostatskim lijekom neratinibom (kinolinski prsten i α,β-nezasićeni karbonil) koji se primjenjuje za liječenje HER2 pozitivnog karcinoma dojke (poglavlje 1.2.2.3., Slika 19b) [59,129,130].

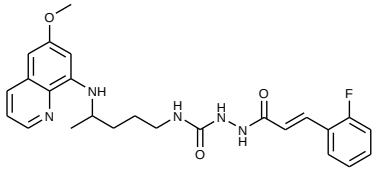
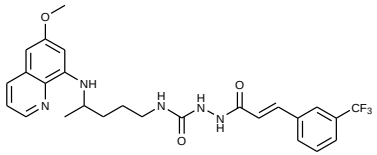
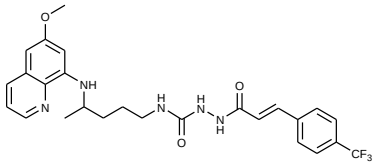
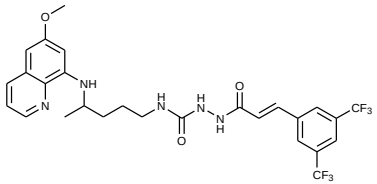
Rezultati inhibitornog djelovanja amida **15a-k** i 1-acilsemikarbazida primakina **16a-k** na rast malignih staničnih linija dani su u Tablici 28.

Tablica 28. Inhibitorno djelovanje konjugata primakina i derivata cimetne kiseline **15a-k** i **16a-k** na rast malignih staničnih linija i normalnih mioblasta (L6).

Spoj	Strukturna formula	Stanične linije [IC_{50}[a] (μM)]						
		L1210	**CEM**	**HeLa**	**H460**	**SW 620**	**MCF-7**	**L6**
15a		52 ± 3	27 ± 4	4,0 ± 0,9	> 100	23 ± 9	24 ± 5	18,5
15b		51 ± 0	55 ± 6	106 ± 26	> 100	> 100	9,4 ± 0,2	> 250
15c		106 ± 6	61 ± 30	> 125	> 100	> 100	20 ± 3	> 240
15d		100 ± 34	90 ± 45	> 125	> 100	> 100	16 ± 0,6	> 220
15e		22 ± 2	55 ± 16	> 125	> 100	> 100	8,7 ± 0,3	> 210
15f		59 ± 2	37 ± 27	72 ± 57	> 100	> 100	6,9 ± 1,3	29

15g		63 ± 2	20 ± 2	36 ± 16	> 100	> 100	4,3 ± 1,0	16,8
15h		66 ± 5	18 ± 15	2,1 ± 2,1	> 100	0,3 ± 0,1	1,1 ± 0,6	3,5
15i		68 ± 2	41 ± 15	112 ± 11	> 100	64 ± 41	11 ± 2	16,2
15j		50 ± 18	14 ± 1	25 ± 6	> 100	> 100	3,9 ± 0,6	160
15k		92 ± 24	68 ± 29	18 ± 1	> 100	> 100	2,6 ± 0,5	158,1
16a		7,0 ± 3,1	3,0 ± 0,5	12 ± 2	> 100	> 100	2,5 ± 1,9	13,9

16b		53 ± 5	25 ± 14	47 ± 6	50 ± 4	9,5 ± 0,9	16 ± 9	36,5
16c		1,7 ± 0,4	1,3 ± 0,7	2,4 ± 0,2	> 100	> 100	0,4 ± 0,2	3,6
16d		40 ± 14	93 ± 46	92 ± 30	32 ± 21	25 ± 9	1,9 ± 1,8	37
16e		57 ± 5	54 ± 12	70 ± 2	63 ± 2	48 ± 17	1,4 ± 0,1	138,2
16f		4,8 ± 0,2	7,4 ± 2,1	31 ± 0	27 ± 3	17 ± 5	0,6 ± 0,3	15,5
16g		1,6 ± 0,7	0,9 ± 0,7	2,7 ± 1,2	20 ± 0,7	21 ± 4	0,2 ± 0,2	7,3

16h		40 ± 4	15 ± 2	46 ± 2	12 ± 0,2	12 ± 4	5,9 ± 2,0	25,1
16i		9,4 ± 4,8	10 ± 1	10 ± 1	18 ± 3	16 ± 5	2,3 ± 0,2	10,6
16j		27 ± 0	9,4 ± 5,6	28 ± 12	34 ± 2	40 ± 5	0,03 ± 0,02	28,3
16k		30 ± 17	17 ± 5	30 ± 23	48 ± 2	32 ± 4	3,2 ± 0,8	> 170
PQ		n.o.	n.o.	n.o.	30 ± 7	14 ± 2	28 ± 10	59,5
SOR		4,2 ± 2,4	3,2 ± 1,7	7,1 ± 2,6	6,1 ± 6,1[b]	7,1 ± 1,9	3,9 ± 1,6	n.o.
CIS		n.o.	n.o.	n.o.	1 ± 0,1	7 ± 2[c]	10 ± 1	n.o.
5-FU		0,5 ± 0,2	18 ± 5	0,54 ± 0,1	3 ± 0,3	4 ± 0,7[c]	15 ± 2	48,85 [161]
melfalan		n.o.	n.o.	n.o.	n.o.	n.o.	0,3 [162]	24,51 [161]

[a] IC_{50} – koncentracija spoja koja inhibira rast stanica za 50 %; [b] stanična linija adenokarcinoma pluća A549; [c] stanična linija karcinoma kolona HCT 116; n.o. – nije određeno.

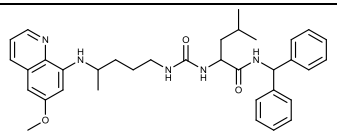
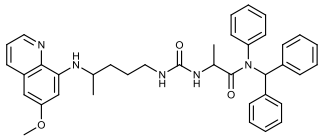
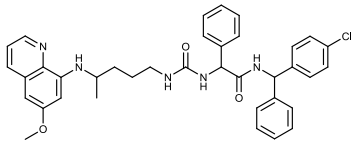
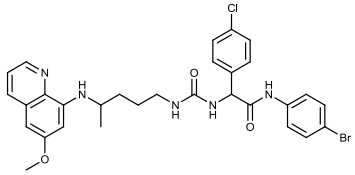
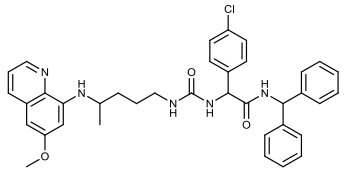
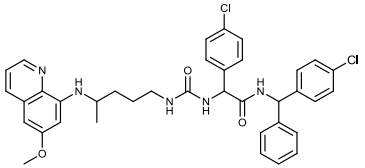
*3.2.1.3. Ureidoamidi primakina **20a-g***

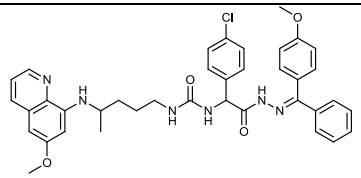
Citostatsko djelovanje ureidoamida primakina **20a-g** ispitano je *in vitro* na sljedećim humanim malignim staničnim linijama: H460, SW 620, MCF-7, HCT 116, HL-60, K562 i Capan-1. Citotoksičnost je ispitana na staničnoj liniji L6.

Citostatska ispitivanja pokazala su da ureidoamidi nisu značajno inhibirali rast ispitanih stanica u najvećoj ispitanoj koncentraciji (IC_{50} > 100 μM), osim spoja **20e** koji je imao izraženo citostatsko djelovanje na staničnoj liniji SW 620 (IC_{50} = 6 ± 1 μM) te umjereno na MCF-7. Osim spoja **20e**, umjereno citostatsko djelovanje na iste stanične linije pokazao je i derivat DL-*p*-klorfenilglicina i *p*-bromanilina **20d**, ali je on ujedno imao i najizraženiji citostatski učinak od svih ispitanih ureidoamida primakina.

Rezultati inhibitornog djelovanja ureidoamida primakina **20a-g** na rast malignih staničnih linija prikazani su u Tablici 29.

Tablica 29. Inhibitorno djelovanje ureidoamida primakina **20a-g** na rast malignih staničnih linija i normalnih mioblasta (L6).

Spoj	Strukturna formula	Stanične linije [IC_{50}[a] (μM)]							
		H460	**SW 620**	**MCF-7**	**HCT-116**	**HL-60**	**K562**	**Capan-1**	**L6**
20a		> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 170
20b		> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 140
20c		> 100	> 100	62 ± 37	> 100	> 100	> 100	> 100	> 160
20d		> 100	32 ± 8	16 ± 0,2	> 100	> 100	> 100	> 100	54,0
20e		> 100	6 ± 1	49 ± 43	> 100	> 100	> 100	> 100	> 160
20f		> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 150

20g		> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 120
PQ		30 ± 7	14 ± 2	28 ± 10	44,22	11,36	12,04	14,24	59,5
Staurosporin		0,27	n.o.	n.o.	0,085	0,014	0,11	0,011	n.o.
Etopozid		1,23	n.o.	n.o.	1,46	0,51	1,38	0,19	n.o.
Docetaksel		0,002	n.o.	n.o.	0,001	0,002	0,009	0,008	n.o.
5-FU		3 ± 3	n.o.	15 ± 2	n.o.	n.o.	n.o.	n.o.	48,85 [161]
Melfalan		n.o.	n.o.	n.o.	n.o.	n.o.	n.o.	0,3 [162]	24,51 [161]

[a] IC_{50} – koncentracija spoja koja inhibira rast stanica za 50 %; n.o. – nije određeno.

.

3.2.2. Ispitivanja antioksidativnog djelovanja

Antioksidativno djelovanje derivata primakina s velikim arilnim ili hidroksialkilnim supstituentima **11a-l** i **12a-g**, njihovih sintetskih prekursora **2**, **6** i **9**, spojeva **3-5**, konjugata primakina i derivata cimetne kiseline **15a-k** i **16a-k** te ureidoamida primakina **20a-g** određeno je u *in vitro* uvjetima pomoću metode DPPH te ispitivanjem inhibicije lipidne peroksidacije linolne kiseline i inhibicije lipooksigenaze.

Brojne studije govore o prooksidativnim svojstvima primakina i njegovih metabolita [77,163]. Hidroksilirani metaboliti primakina (npr. 5-hidroksiprimakin, 5,6-dihidroksi-8-aminokinolin, 5,6-dihidroksiprimakin) generiraju jake oksidanse: vodikov peroksid, kinonimine, slobodne radikale metabolita primakina i druge RKV [164] koji uzrokuju oksidativni stres u jetri, bubrezima, eritrocitima te drugim tkivima. Suprotno očekivanom, prethodna istraživanja pokazala su značajan antioksidativni učinak *bis*-urea primakina [23]. U smislu antitumorskog djelovanja zanimljiv je prooksidativni učinak jer on potiče apoptozu tumorskih stanica. S druge strane, antioksidativno djelovanje povezujemo s prevencijom stvaranja RKV koje imaju ulogu u etiologiji različitih bolesti, pa tako i raka. Iz navedenih razloga u okviru ovog rada ispitano je antioksidativno djelovanje *in vitro* novih derivata primakina.

Kako bi se obuhvatili mogući različiti antioksidativni mehanizmi, antioksidativno djelovanje novosintetiziranih spojeva ispitano je *in vitro* na tri razine [142]:

1. interakcija sa stabilnim slobodnim radikalom 1,1-difenil-2-pikrilhidrazilom (DPPH),
2. inhibicija lipidne peroksidacije linolne kiseline uzrokovana slobodnim radikalima generiranim pomoću vodotopljivog 2,2'-azobis(2-amidinopropan) dihidroklorida (AAPH),
3. inhibicija lipooksigenaze iz soje.

Kao poredbene tvari korišteni su antioksidansi nordihidrogvajaretična kiselina (NDGA) i Troloks, derivat vitamina E.

*3.2.2.1. Derivati primakina s velikim arilnim ili hidroksialkilnim supstituentima **11a-l** i **12a-g***

Ispitan je stupanj interakcije *bis*-urea **11a-l** i derivata primakina **12a-g**, njihovih sintetskih prekursora **2**, **6** i **9** te spojeva **3-5** sa stabilnim slobodnim radikalom DPPH, što opisuje njihovu sposobnost hvatanja slobodnih radikala, odnosno predstavlja mjeru antioksidativnog djelovanja. Interakcija derivata primakina s DPPH ispitana je kod jedne koncentracije (100 μM) mjerenjem apsorbancija ispitivanih otopina na 517 nm (nakon 20 i 60 min). Rezultati su prikazani u Tablici 30.

Bis-urea **11g** pokazala je najbolju sposobnost redukcije DPPH (64 % nakon 20 min i 90 % nakon 60 min), slično kao NDGA u istoj koncentraciji (91 %). Semikarbazid primakina **9** bez supstituenta na položaju 4 pokazao je sličnu aktivnost spoju **11g**. *Bis*-uree s velikim arilnim ostatkom **11a-e** reducirale su DPPH s učinkovitošću od 30–47 % nakon 20 min, dok su derivati s hidroksilnim skupinama **11h-l** bili manje aktivni (0–25 %). Produljenjem reakcije do 60 min svi su ispitani spojevi još jače reducirali DPPH. U pravilu su lipofilniji spojevi pokazali jaču sposobnost redukcije DPPH u odnosu na manje lipofilne. Urea derivati primakina **12a-g** pokazali su slabiju interakciju s DPPH (5–20 %) nakon 20 min u odnosu na *bis*-uree s analognim supstituentima. Njihova antioksidativna sposobnost također je blago porasla nakon 60 min (12–32 %). Spojevi bez primakinskog ostatka u strukturi **2-6** bili su vrlo slabo aktivni ili inaktivni.

Inhibicija lipidne peroksidacije linolne kiseline ispitana je koristeći vodotopljivi azo spoj AAPH. Azo spojevi imaju sposobnost generiranja slobodnih alkilperoksil radikala spontanom termičkom razgradnjom. Nastali slobodni radikali uzrokuju oksidaciju linolne kiseline do konjugiranog hidroperoksidnog diena [165].

Rezultati ispitivanja pokazuju da su i *bis*-uree **11a-l** i derivati primakina **12a-g** potentni inhibitori lipidne peroksidacije linolne kiseline (Tablica 30). Urea derivati **12a-g**, među kojima se najviše ističe benzhidrilni derivat **12d** te *bis*-urea derivati s lipofilnim supstituentima **11a-g** pokazali su jaču sposobnost inhibicije lipidne peroksidacije od poredbene tvari Troloksa (61–98 % u odnosu na 63 % kod Troloksa). *Bis*-uree s hidroksilnom skupinom **11h-l** bile su manje aktivne (27–54 %) u odnosu na derivate s lipofilnim supstituentima, dok među ureama i semikarbazonima **12** nije bilo značajne razlike u aktivnosti. Rezultati upućuju na to da inhibicija lipidne peroksidacije linolne kiseline ne korelira nužno sa sposobnošću redukcije DPPH. Dakle, neki spojevi koji su potentni inhibitori

lipidne peroksidacije ne pokazuju nužno i sposobnost redukcije DPPH, što upućuje na moguće različite mehanizme antioksidativnog djelovanja. Primjerice poznato je da su neki antioksidansi (poput vitamina E) puno učinkovitiji u hvatanju peroksil radikala (nastalih procesom lipidne peroksidacije) u odnosu na ostale RKV [166].

Inhibitori lipooksigenaze (LOX) privukli su pozornost kao potencijalni lijekovi za liječenje alergija i astme, karcinoma, upalnih i kardiovaskularnih bolesti te osteoporoze. Arahidonat 5-lipooksigenaza (5-LOX) katalizira biotransformaciju arahidonske kiseline u 5-hidroperoksieikozatetraensku kiselinu, prekursor važnih medijatora upale leukotriena, pri čemu se generiraju RKV. Iz navedenih razloga je u okviru antioksidativnog djelovanja ispitana i sposobnost inhibicije LOX. 5-LOX je zanimljiva meta novih lijekova, a direktni inhibitori 5-LOX kategoriziraju se ovisno o mehanizmu djelovanja na redoks inhibitore 5-LOX koji ometaju oksido-redukcijski ciklus enzima, kelatore željeza u aktivnom centru enzima (hidroksamske kiseline i *N*-hidroksiurea), inhibitore ne-redoks tipa koji se natječu s arahidonskom kiselinom za vezno mjesto na 5-LOX te novu klasu alosteričkih inhibitora [167].

Sposobnost inhibicije lipooksigenaze iz soje *in vitro* derivatima primakina **11a**-**l** i **12a**-**g** te spojevima **2-6** i **9** ispitana je enzimskim testom temeljenim na mjerenju apsorbancije [135,168]. Od ispitanih spojeva najveću sposobnost inhibicije LOX pokazale su *bis*-uree **11c** > **11b** > **11d** te analogne uree, odnosno semikarbazoni primakina **12b** > **12c** = **12d** (IC_{50} = 57,9–75 μM, IC_{50} (NDGA) = 28 μM) (Tablica 30). Ovi spojevi imaju lipofilnu benzhidrilnu skupinu s klorom ili metoksi skupinom kao supstituentima te visoke clog *P* vrijednosti (5,54–7,43), što potvrđuje tvrdnju o važnosti lipofilnosti LOX inhibitora [169]. log *P* vrijednost je mjera lipofilnosti koja predstavlja logaritam omjera ravnotežne koncentracije neionizirane tvari u *n*-oktanolu i ravnotežne koncentracije neionizirane tvari u vodi, dok je clog *P* računski predviđena vrijednost (c = *calculated*). Spojevi s niskom clog *P* vrijednosti u pravilu nisu pokazali sposobnost inhibicije LOX.

Tablica 30. Teorijski izračunate clog *P* vrijednosti, sposobnost redukcije DPPH, inhibicija lipidne peroksidacije linolne kiseline i *in vitro* inhibicija lipooksigenaze iz soje derivata **2-6**, **9**, **11** i **12**.

Spoj	clog *P*[a]	DPPH 20 min (%)[b]	DPPH 60 min (%)[b]	Inhibicija LP[b] (%)	Inhibicija LOX[b] (%) (IC_{50} μM)
2a	5,37	3	n.a.	76	(87,5)
2b	5,15	24	12	63	28
3	3,66	n.a.	n.a.	20	6
4b	7,01	n.a.	n.a.	33	38
5a	4,08	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
5b	4,20	n.a.	n.a.	21	n.a.
6a	1,44	24	47	7	n.a.
6b	1,70	14	27	52	9
9	1,14	61	82	70	42
11a	4,98	44	73	69	44
11b	5,45	30	55	77	(70,5)
11c	6,26	47	64	78	(60,5)
11d	6,18	37	84	82	(75)
11e	6,51	30	41	88	(100)
11f	4,88	18	37	65	31
11g	4,63	64	90	63	n.a.
11h	1,44	n.a.	20	27	n.a.
11i	1,67	9	20	45	n.a.
11j	1,75	14	32	54	4
11k	1,55	25	45	43	30
11l	2,70	18	40	49	6
12a	5,57	20	16	79	n.a.
12b	6,54	12	24	90	(57,9)
12c	7,43	19	26	77	(60,5)

12d	7,35	5	14	98	(60)
12e	7,32	n.a.	12	89	(93)
12f	5,98	20	32	89	6
12g	6,39	20	21	61	43
NDGA	n.o.	80	91	n.o.	84 (28)
Troloks	n.o.	n.o.	n.o.	63	n.o.

[a] lipofilnost molekule (clog *P*) izračunata je teorijski programom CLOGP (Biobyte Corp.);

[b] koncentracija ispitivanog spoja 100 μM; n.a. – nema aktivnosti; n.o. – nije određeno.

*3.2.2.2. Konjugati primakina i derivata cimetne kiseline **15a-k** i **16a-k***

Interakcija konjugata primakina i derivata cimetne kiseline **15** i **16** s DPPH promatrana je kod dvije koncentracije spojeva (50 i 100 μM) nakon 20 i 60 min. PQ-DCK amidi **15a-k** nisu pokazali sposobnost redukcije DPPH ili su pokazali vrlo slabu kod 50 μM. Sposobnost redukcije DPPH amida **15a-k** porasla je porastom koncentracije na 100 μM. Najaktivniji je bio nesupstituirani PQ-DCK amid **15a** (53 %) (Tablica 31). S druge strane, PQ-DCK acilsemikarbazidi **16a-k** imali su veću sposobnost redukcije DPPH u obje koncentracije. Kod većine spojeva interakcija s DPPH bila je ovisna o koncentraciji i vremenu. Trifluormetilni derivati **16i**,**j**,**k** te metoksi **16d** i kloro derivat **16g** pokazali su najjaču sposobnost redukcije DPPH od svih ispitanih spojeva iz ove serije. Općenito je vrijedilo pravilo da je acilsemikarbazidni derivat imao bolju sposobnost redukcije DPPH od amidnog analoga s istim supstituentima (**15a** < **16a**, **15b** < **16b**, itd.), te se može zaključiti da je acilsemikarbazidna funkcionalna skupina odgovorna za jaču antioksidativnu aktivnost na razini interakcije s DPPH.

Kao što je navedeno, trifluormetilni supstituent na benzenskom prstenu cimetne kiseline kod PQ-DCK acilsemikarbazida **16** utjecao je na povećavanje antioksidativne sposobnosti konjugata. Također, derivat s dvije vicinalne metoksi skupine (*meta* i *para*) imao je veću aktivnost od derivata s jednom metoksi skupinom (**16d** > **16c**), dok je dodatna treća metoksi skupina smanjila aktivnost spoja **16e**, vjerojatno zbog steričkih smetnji, jer veliki radikal DPPH ne može pristupiti molekuli i reducirati se. Zamjena fenilnog prstena benzo[*d*][1,3]dioksolom povećala je aktivnost (**16f** > **16a**). Priroda i/ili položaj halogenog supstituenta na aromatskom prstenu derivata cimetne kiseline utjecala je na antioksidativnu

sposobnost: *p*-Cl derivat **16g** bio je potentniji od *o*-F derivata **16h**. Nije pronađena korelacija između lipofilnog parametra clog *P* vrijednosti i sposobnosti redukcije DPPH u obje skupine spojeva (Tablica 31). Međutim, hidrofilni doprinos razmaknice između dvije farmakoforne jedinice imao je značajnu ulogu u antioksidativnoj sposobnosti (clog *P* **15a** > **16a**, **15b** > **16b**, itd., dok je sposobnost redukcija bila obrnuta **15a** < **16a**, **15b** < **16b**, itd.).

Rezultati ispitivanja inhibicije lipidne peroksidacije linolne kiseline *in vitro* pokazali su da svi PQ-DCK amidi **15** značajno inhibiraju lipidnu peroksidaciju (32–87 %), ali su acilsemikarbazidi **16** ipak pokazali veću sposobnost inhibicije (50–89 %) (Tablica 31). Spoj **15f** s benzodioksolskim prstenom bio je najaktivniji u amidnoj seriji, dok su kod acilsemikarbazida najaktivniji bili nesupstituirani derivat (**16a**), metoksi derivati (**16c-e**), benzodioksolski derivat (**16f**), *p*-klor (**16g**) i *m*-CF_3 (**16i**) derivat (83–89 %). Ponovno nije uočena korelacija između lipofilnosti i inhibicije lipidne peroksidacije.

Sposobnost inhibicije LOX PQ-DCK konjugatima **15** i **16** ispitana je enzimskim testom temeljenim na mjerenju apsorbancije [135,168]. Rezultati su pokazali da su svi amidi **15**, osim **15j**, bili vrlo slabo aktivni kod ispitivane koncentracije od 100 μM (10–45 %). S druge strane, acilsemikarbazidni analozi **16** pokazali su značajnu sposobnost inhibicije LOX (IC_{50} = 10–100 μM) (Tablica 31). Dimetoksi derivat **16d** bio je najpotentniji inhibitor LOX (IC_{50} = 10 μM), što je dvostruko veća koncentracija u odnosu na poredbenu tvar NDGA. Spojevi **16j** i **16h** su uz **16d** bili najaktivniji među acilsemikarbazidnom serijom. Spojevi s velikom clog *P* vrijednosti nisu bili aktivni te u ovom slučaju nije potvrđena činjenica da je lipofilnost važno fizikalno-kemijsko svojstvo inhibitora LOX. Rezultati pokazuju da je inhibicija LOX u skladu s inhibicijom lipidne peroksidacije linolne kiseline i sposobnosti redukcije DPPH. Općenito se može zaključiti da acilsemikarbazidna funkcionalna skupina u molekuli PQ-DCK konjugata daje hibridne spojeve boljeg antioksidativnog djelovanja.

Tablica 31. Teorijski izračunate clog *P* vrijednosti, sposobnost redukcije DPPH, inhibicija lipidne peroksidacije linolne kiseline i *in vitro* inhibicija lipooksigenaze PQ-DCK konjugata **15** i **16**.

Spoj	clog *P*[a]	DPPH 20 min (%)[b]	DPPH 60 min (%)[b]	DPPH 20 min (%)[c]	DPPH 60 min (%)[c]	Inhibicija LP[b] (%)	Inhibicija LOX[b] (%) (IC_{50} μM)
15a	3,82	53	33	16	20	44	19
15b	4,22	5	37	2	2	79	14
15c	3,66	40	43	22	27	70	45
15d	3,51	34	31	n.a.	n.a.	73	43
15e	3,35	16	23	4	9	47	26
15f	3,44	11	33	n.a.	n.a.	87	34
15g	4,43	27	46	n.a.	n.a.	46	17
15h	3,96	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	66	10
15i	4,70	n.a.	8	n.a.	13	32	19
15j	4,70	38	40	n.a.	n.a.	77	(50)
15k	5,58	n.a.	50	n.a.	n.a.	65	43
16a	2,90	39	100	49	100	83	36
16b	3,29	84	99	42	100	62	(100)
16c	2,74	39	100	54	100	89	(50)
16d	2,58	100	100	55	100	88	(10)
16e	2,43	46	100	60	100	86	(43)

16f	2,52	74	100	47	100	88	(55)
16g	3,50	100	100	66	100	89	(70)
16h	3,04	52	100	61	100	67	(41)
16i	3,78	96	73	71	100	84	(42,5)
16j	3,78	100	95	42	79	50	(35)
16k	4,65	98	97	72	100	55	(67,5)
NDGA	n.o.	89	94	83	87	n.o.	(5,5)
Troloks	n.o.	n.o.	n.o.	n.o.	n.o.	88	n.o.

[a] lipofilnost molekule (clog *P*) izračunata je teorijski programom Chemicalize (ChemAxon, USA); [b] koncentracija ispitivanog spoja 100 μM; [c] koncentracija ispitivanog spoja 50 μM; n.a. – nema aktivnosti; n.o. – nije određeno.

*3.2.2.3. Ureidoamidi primakina **20a-g***

Interakcija ureidoamida primakina **20a-g** s DPPH promatrana je kod jedne koncentracije spojeva (100 μM) nakon 20 i 60 min. Sposobnost redukcije DPPH spojeva **20a-g** bila je vrlo mala, vjerojatno zbog steričkih smetnji (Tablica 32).

Rezultati ispitivanja inhibicije lipidne peroksidacije linolne kiseline pokazali su da ureidoamidi **20a-g** značajno inhibiraju lipidnu peroksidaciju (77–99 %) kod koncentracije spojeva 100 μM, s iznimkom spoja **20a** koji pokazuje samo 15 % inhibicije. Derivat **20a** ujedno je jedini derivat alifatske aminokiseline L-leucina s izopropilnim lancem između ureido i amidnih funkcionalnih skupina. Smanjenje inhibicije lipidne peroksidacije u odnosu na aromatske derivate može se objasniti steričkim smetnjama. Najaktivniji od ispitanih ureidoamida bio je spoj **20c** (99 %).

Sposobnost inhibicije LOX derivatima **20a-g** ispitana enzimskim testom temeljenim na mjerenju apsorbancije pokazala je da su svi ureidoamidi aktivni (IC_{50} = 40–71 μM), s iznimkom spoja **20a**. Spoj **20c** ponovno je bio najaktivniji derivat (IC_{50} = 40 μM), a spoj **20e** pokazao je vrlo sličnu inhibiciju LOX te je moguće zaključiti da prisutnost klora u molekuli,

ali ne i njegova pozicija, utječu na inhibiciju LOX. S druge strane, prisutnost dva klora u molekuli **20f** smanjuje aktivnost, slično kao i dodatak velikog atoma halogena (Br) u spoju **20d**. Također, inhibicija LOX je smanjena i u slučaju kombinacije metoksi skupine i klora u derivatu **20g** te nedostatka klora u spoju **20b**.

Svi ispitani ureidoamidi **20a-g** imali su približno jednake teorijske clog *P* vrijednosti, stoga ideja da lipofilnost ima važnu ulogu u inhibiciji LOX nije podržana za ovu skupinu spojeva. Rezultati pokazuju da su ureidoamidi **20c** i **20e** bili jedni od najjačih inhibitora lipidne peroksidacije linolne kiseline (99 i 90 %, redom) te ujedno i najaktivniji inhibitori LOX (IC_{50} = 40 i 41,5 μM, redom).

Tablica 32. Teorijski izračunate clog *P* vrijednosti, sposobnost redukcije DPPH, inhibicija lipidne peroksidacije linolne kiseline i *in vitro* inhibicija lipooksigenaze ureidoamida **20**.

Spoj	**clog *P*[a]**	**DPPH 20 min (%)[b]**	**DPPH 60 min (%)[b]**	**Inhibicija LP[b] (%)**	**Inhibicija LOX[b] (%) (IC_{50} μM)**
20a	5,58	6,0	5,0	15,0	40,0
20b	5,92	7,0	5,0	92,0	(69)
20c	6,30	2,0	2,0	99,0	(40)
20d	5,57	no	no	77,0	(71)
20e	6,30	1,0	2,0	90,0	(41,5)
20f	6,90	1,0	1,0	80,0	(56)
20g	6,29	2,0	2,0	90,0	(67,5)
NDGA	n.o.	83,0	91,0	n.o.	(0,45)
Troloks	n.o.	n.o.	n.o.	96,0	n.o.

[a] lipofilnost molekule (clog *P*) izračunata je teorijski programom Chemicalize (ChemAxon, USA);

[b] koncentracija ispitivanog spoja 100 μM; n.o. – nije određeno.

4. ZAKLJUČCI

U ovom doktorskom radu ukupno su sintetizirana 93 spoja, od čega je 66 novih, do sada nepoznatih spojeva. Strukture novih spojeva potvrđene su uobičajenim analitičkim i spektroskopskim metodama (talište, elementarna analiza, ^{1}H i ^{13}C NMR, MS), osim spojeva **2c**,**d**, **7a**,**b**, **10**, **13d**,**e**,**g**, **18c**, **19f**,**g** čije su strukture potvrđene indirektno, derivatizacijom u konačne produkte.

1. Sintetizirani su prekursori u sintezi derivata primakina:

   - 1-(*N*-arilkarbamoil)benzotriazoli i 1-(*N*-arilkarbohidrazoil)benzotriazoli **2**, prekursori u sintezi uree **4b**, karbamata **5**, 4-arilsemikarbazida **6**, imino-*bis*-urea **11c**,**d** i semikarbazona **12c**,**d**. Spojevi **2** priređeni su reakcijom klorida (BtcCl, **1**) s aminima ili hidrazonima. Svi spojevi su novi.
   - 4-arilsemikarbazidi **6**, prekursori 1-(1-benzotriazolkarbonil)-4-arilsemikarbazida **7** iz kojih su pripravljene *bis*-uree **11a**,**b** Metodom A. Spojevi **6** priređeni su reakcijom 1-(*N*-arilkarbamoil)benzotriazola **2** s hidrazinom.
   - DCK benzotriazolidi **13d**,**e**,**g** i DCK kloridi **14**, prekursori u sintezi PQ-DCK amida **15** i acilsemikarbazida **16**. Novi spoj je **13d**.
   - derivati aminokiselina: *N*-Btc-aminokiseline **17**, njihovi kloridi **18** i amidi *N*-(1-benzotriazolkarbonil)aminokiselina **19**, prekursori u sintezi ureidoamida **20**. Amidi **19** pripravljeni su aminolizom klorida **18** odgovarajućim aminima ili hidrazonom. Novi spojevi su **17** i **18c** te **19c-g**.

2. Sintetizirani su imidazolidinon **3** intramolekulskom ciklizacijom odgovarajućeg benzotriazolida pri bazičnim uvjetima, urea derivat **4b** aminolizom 1-(*N*-arilkarbamoil)benzotriazola **2** odgovarajućim aminom te karbamati **5** alkoholizom 1-(*N*-arilkarbamoil)benzotriazola **2** etanolom. Novi spojevi su **3** i **5**.

3. Sintetizirani su različiti derivati primakina (51 spoj, 47 novih), ciljni spojevi ovog doktorskog rada, potencijalni biološki aktivni spojevi:

   - benzotriazolid primakina **8**, prekursor u sintezi semikarbazida primakina **9** te urea **12a**,**b**,**e**,**f**. Semikarbazid **9** dobiven je iz benzotriazolida **8** i hidrazina te je upotrijebljen izravno u sintezi *bis*-urea **11c**,**d**,**g** i 1-acilsemikarbazida **16** ili je prvo aktiviran acilacijom kloridom **1** u benzotriazolid **10**. Spojevi **9** i **10** su novi.
   - *bis*-uree primakina (1-primakinkarbonil-4-supstituirani semikarbazidi) **11** sintetizirane su na četiri načina: *bis*-uree **11a**,**b** pripremljene su aminolizom 1-(1-benzotriazolkarbonil)-4-arilsemikarbazida **7** primakinom (Metoda A), **11a**,**b**,**e**,**f**,**h-l**

aminolizom zajedničkog prekursora **10** odgovarajućim aminima (Metoda B), imino-*bis*-uree **11c**,**d** izravnom reakcijom semikarbazida **9** i 1-(*N*-arilkarbohidrazoil)benzotriazola **2** u kojoj je BtH zamijenjen semikarbazidnom skupinom (Metoda C), a **11g** pripremljen je izravnom reakcijom semikarbazida **9** i izocijanata. Svi spojevi su novi.

- uree primakina **12a**,**b**,**e**,**f** pripremljene su aminolizom benzotriazolida **8** odgovarajućim aminima, semikarbazoni **12c**,**d** dobiveni su u reakciji primakina i 1-(*N*-arilkarbohidrazoil)benzotriazola **2**, a urea **12g** izravnom reakcijom primakina i izocijanata. Svi spojevi su novi.
- PQ-DCK amidi **15** i 1-acilsemikarbazidi **16** sintetizirani su kondenzacijom klorida **14** s primakinom (spojevi **15**, Metoda A), odnosno semikarbazidom **9** (spojevi **16**). Amidi **15d**,**e**,**g** dodatno su pripremljeni aminolizom benzotriazolida **13** primakinom (Metoda B). Svi spojevi su novi, osim **15a**,**d**,**g**.
- ureidoamidi primakina **20** pripremljeni su aminolizom amida *N*-Btc-aminokiselina **19** primakinom. Svi spojevi su novi.

4. Za derivate **2-6**, **9**, **11**, **12**, **15**, **16** i **20** ispitano je citostatsko kao i antioksidativno djelovanje u *in vitro* uvjetima na temelju sposobnosti redukcije DPPH, inbicije lipidne peroksidacije linolne kiseline i inhibicije aktivnosti lipooksigenaze iz soje:

- *bis*-uree primakina **11** i PQ-DCK acilsemikarbazidi **16** pokazali su općenito jače citostatsko djelovanje od analognih urea i semikarbazona **12**, odnosno PQ-DCK amida **15**. Najjače inhibitorno djelovanje na rast stanične linije MCF-7 imao je *p*-CF_3 derivat PQ-DCK acilsemikarbazida **16j**, a slijedili su ga *bis*-primakinski derivat *bis*-uree **11f** te PQ-DCK acilsemikarbazidi s *p*-Cl **16g** i *p*-metoksi supstituentom **16c**. Spoj **11f** bio je ujedno izuzetno selektivan prema MCF-7 staničnoj liniji te nije bio citotoksičan za normalnu staničnu liniju L6. Na staničnu liniju SW 620 najsnažnije djelovanje imao je *o*-fluor PQ-DCK amid **15h**. Ureidoamidi primakina **20** bili su inaktivni u najvišoj ispitanoj koncentraciji, osim **20e** i **20d** koji su pokazali umjereno citostatsko djelovanje. Iz ove serije najjaktivniji je bio spoj **20e** na staničnu liniju SW 620. Najzanimljivije otkriće svakako je velika osjetljivost stanične linije MCF-7 na više ispitanih derivata primakina.
- većina PQ-DCK acilsemikarbazida **16** snažno je reducirala DPPH nakon 60 min. Spojevi **16d**,**g**,**i**,**j**,**k** imali su izraženo antioksidativno djelovanje već nakon 20 min. U

seriji *bis*-urea najjače djelovanje imao je spoj **11g**. Ostali derivati bili su slabo aktivni ili inaktivni.

- najjači inhibitori lipidne peroksidacije linolne kiseline bili su ureidoamidni derivat *p*-klorbenzhidrila i D-fenilglicina **20c** i semikarbazon **12d**.
- najsnažniji inhibitor LOX bio je 3,4-dimetoksi derivat PQ-DCK acilsemikarbazida **16d**, a slijedili su ga PQ-DCK acilsemikarbazidi **16e**,**h**,**i**,**j** te ureidoamidi **20c**,**e**.

Rezultati istraživanja provedenih u okviru ovog doktorskog rada objavljeni su u dva znanstvena rada (Prilog B) i 12 kongresnih priopćenja.

5. LITERATURA

[1] World Health Organisation. Cancer. http://www.who.int/cancer/en/, pristupljeno 14. 06. 2017.

[2] Onkologija. Incidencija raka u Hrvatskoj. http://www.onkologija.hr/incidencija-raka-u-hrvatskoj/, pristupljeno 14. 06. 2017.

[3] Pharmaceutical Research and Manufacturers of America. 2016 biopharmaceutical research industry profile, 2016., http://phrma-docs.phrma.org/sites/default/files/pdf/biopharmaceutical-industry-profile.pdf, pristupljeno 14. 06. 2017.

[4] US Food and Drug Administration. Novel Drugs 2015, 2016., https://www.fda.gov/drugs/developmentapprovalprocess/druginnovation/ucm430302.htm, pristupljeno 20. 06. 2017.

[5] Oprea TI, Mestres J. Drug repurposing: Far beyond new targets for old drugs. *AAPS J*, 2012, 14, 759–763.

[6] Solomon VR, Lee H. Chloroquine and its analogs: A new promise of an old drug for effective and safe cancer therapies. *Eur J Pharmacol*, 2009, 65, 220–233.

[7] Das AK. Anticancer activity of antimalarial artemisinin compounds. *Ann Med Health Sci Res*, 2015, 5, 93–102.

[8] Abdel-Aziz AK, Shouman S, El-Demerdash E, Elgendy M, Abdel-Naim AB. Chloroquine as a promising adjuvant chemotherapy together with sunitinib. *Sci Proc*, 2014, e384.

[9] van Huijsduijnen RH, Kiplin Guy R, Chibale K, Haynes RK, Peitz I, Kelter G, Phillips MA, Vennerstrom JL, YuthavongY, Wells TN. Anticancer properties of distinct antimalarial drug classes. *PLoS ONE*, 2013, 8, e82962.

[10] Solomon VR, Hu C, Lee H. Design and synthesis of choloroquine analogs with anti-breast cancer property. *Eur J Med Chem*, 2010, 45, 3916–3923.

[11] Crespo-Ortiz MP, Wei MQ. Antitumor activity of artemisinin and its derivatives: From a well-known antimalarial agent to a potential anticancer drug. *J Biomed Biotechnol*, 2012.

[12] Kimura T, Takabatake Y, Takahashi A, Isaka Y. Chloroquine in cancer therapy: A double-edged sword of autophagy. *Cancer Res*, 2013, 73, 3–7.

[13] Kim JH, Choi AR, Yoon S. Co-treatment with the anti-malarial drugs mefloquine and primaquine highly sensitizes drug-resistant cancer cells by increasing P-gp inhibition. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 441, 655–660.

[14] Lin YC, Lin JF, Wen SI, Yang SC, Tsai TF, Chen HE, Chou KY, Hwang TI. Chloroquine and hydroxychloroquine inhibit bladder cancer cell growth by targeting basal autophagy and enhancing apoptosis. *Kaohsiung J Med Sci*, 2017, 33, 215–223.

[15] Pascolo S. Time to use a dose of chloroquine as an adjuvant to anti-cancer chemotherapies. *Eur J Pharmacol*, 2016, 771, 139–144.

[16] Duffy R, Wade C. Discovery of anticancer drugs from antimalarial natural products: a MEDLINE literature review. *Drug Discov Today*, 2012, 17, 942–953.

[17] https://clinicaltrials.gov/, pristupljeno 15. 06. 2017.

[18] Afzal O, Kumar S, Haider MR, Ali MR, Kumar R, Jaggi M, Bawa S. A review on anticancer potential of bioactive heterocycle quinoline. *Eur J Med Chem*, 2015, 97, 871–910.

[19] Solomon VR, Lee H. Quinoline as a privileged scaffold in cancer drug discovery. *Curr Med Chem*, 2011, 18, 1488–1508.

[20] Jain S, Chandra V, Jain PK, Pathak K, Pathak D, Vaidya A. Comprehensive review on current developments of quinoline-based anticancer agents. *Arab J Chem*, 2016.

[21] Šimunović M, Perković I, Zorc B, Ester K, Kralj M, Hadjipavlou-Litina D, Pontiki E. Urea and carbamate derivatives of primaquine: Synthesis, cytostatic and antioxidant activities. *Bioorg Med Chem*, 2009, 17, 5605–5613.

[22] Džimbeg G, Zorc B, Kralj M, Ester K, Pavelić K, Andrei G, Snoeck R, Balzarini J, De Clercq E, Mintas M. The novel primaquine derivatives of N-alkyl, cycloalkyl or aryl urea: Synthesis, cytostatic and antiviral activity evaluations. *Eur J Med Chem*, 2008, 43, 1180–1187.

[23] Perković I, Tršinar S, Žanetić J, Kralj M, Martin-Kleiner I, Balzarini J, Hadjipavlou-Litina D, Katsori AM, Zorc B. Novel 1-acyl-4-substituted semicarbazide derivatives of primaquine − synthesis, cytostatic, antiviral and antioxidative studies. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2013, 28, 601–610.

[24] Rajić Z, Zovko Končić M, Miloloža K, Perković I, Butula I, Zorc B, Bucar F. Primaquine-NSAID twin drugs: Synthesis, radical scavenging, antioxidant and Fe^{2+} chelating activity. *Acta Pharm*, 2010, 60, 325–337.

[25] Rajić Z, Kos G, Zorc B, Singh PP, Singh S. Macromolecular prodrugs. XII. Primaquine conjugates: synthesis and preliminary antimalarial evaluation. *Acta Pharm*, 2009, 59, 107–115.

[26] Sikka P, Sahu JK, Mishra AK, Hashim SR. Role of aryl urea containing compounds in medicinal chemistry. *Med Chem*, 2015, 5, 479–483.

[27] Ren S, Wang R, Komatsu K, Bonaz-Krause P, Zyrianov Y, McKenna CE, Csipke C, Tokes ZA, Lien EJ. Synthesis and biological evaluation, and quantitative structure-activity relationship analysis of new Schiff bases of hydroxysemicarbazide as potential antitumor agents. *J Med Chem*, 2002, 45, 410–419.

[28] Fernandes I, Vale N, de Freitas V, Moreira R, Mateus N, Gomes P. Anti-tumoral activity of imidazoquines, a new class of antimalarials derived from primaquine. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19, 6914–6917.

[29] Pavić K, Perković I, Cindrić M, Pranjić M, Martin-Kleiner I, Kralj M, Schols D, Hadjipavlou-Litina D, Katsori AM, Zorc B. Novel semicarbazides and ureas of primaquine with bulky aryl or hydroxyalkyl substituents: Synthesis, cytostatic and antioxidative activity. *Eur J Med Chem*, 2014, 86, 502–514.

[30] Opačić N, Barbarić M, Zorc B, Cetina M, Nagl A, Frković D, Kralj M, Pavelić K, Balzarini J, Andrei G, Snoeck R, De Clercq E, Raić-Malić S, Mintas M. The novel L- and D-amino acid derivatives of hydroxyurea and hydantoins: synthesis, X-ray crystal structure study, and cytostatic and antiviral activity evaluations. *J Med Chem*, 2005, 48, 475–482.

[31] Perković I, Butula I, ZorcB, Hock K, Kraljević Pavelić S, Pavelić K, De Clercq E, Balzarini J, Mintas M. Novel lipophilic hydroxyurea derivatives: Synthesis, cytostatic and antiviral activity evaluations. *Chem Biol Drug Des*, 2008, 71, 546–553

[32] Perković I, Butula I, Rajić Z, Hadjipavlou-Litina D, Pontiki E, Zorc B. Novel ureidoamides derived from aminoacids: Synthesis and preliminary biological screening. *Croat Chem Acta*, 2010, 83, 151–161.

[33] Zorc B, Butula I. Reaktionen mit N-(1-Benzotriazolcarbonyl)-aminosäuren. I. Synthese von Hydantoin und Hydantoinsäure-amiden. *Croat Chem Acta*, 1981, 54, 441–449.

[34] Mushkolaj I, Matijević-Sosa J, Zorc B, Butula I. Reactions with N-(1-benzotriazolylcarbonyl)amino acids. V. Reactions with hydroxylamine. *Acta Pharm*, 1997, 47, 109–115.

[35] Guzman JD. Natural cinnamic acids, synthetic derivatives and hybrids with antimicrobial activity. *Molecules*, 2014, 19, 292–349.

[36] Sharma PJ. Cinnamic acid derivatives: A new chapter of various pharmacological activities. *Chem Pharm Res*, 2011, 3, 403–423.

[37] Lone, Shaub R, Koul KK. Role of cinnamate and cinnamate derivatives in pharmacology. *Glob J Pharmacol*, 2014, 8, 328–335.

[38] Sova M. Antioxidant and antimicrobial activities of cinnamic acid derivatives. *Mini Rev Med Chem*, 2012, 12, 749–767.

[39] Narasimhan B, Belsare D, Pharande D, Mourya V, Dhake A. Esters, amides and substituted derivatives of cinnamic acid: Synthesis, antimicrobial activity and QSAR investigations. *Eur J Med Chem*, 2004, 39, 827–834.

[40] Kim JH, Campbell BC, Mahomey NE, Chan KL, Molyneux RJ. Identification of phenolics for control of *Aspergillus flavus* using *Saccharomyces cerevisiae* in a model target-gene bioassay. *J Agric Food Chem*, 2004, 52, 7814–7821.

[41] Zhu J, Zhu H, Kobamoto N, Yasuda M, Tawata S. Fungitoxic and phytotoxic activities of cinnamic acid esters and amides. *J Pestic Sci*, 2000, 25, 263–266.

[42] Bairwa R, Kakwani M, Tawari NR, Lalchandani J, Ray MK, Rajan MR, Degani MS. Novel molecular hybrids of cinnamic acids and guanylhydrazones as potential antitubercular agents. *Bioorg Med Chem*, 2010, 20, 1623–1625.

[43] Reddy VM, Nadadhur G, Daneluzzi D, Dimova V, Gangadharam PR. Antimycobacterial activity of a new rifamycin derivative, 3-(4-cinnamylpiperazinyl iminomethyl) rifamycin SV (T9). *J Antimicrob Agents Chemother*, 1995, 39, 2320–2324.

[44] Carvalho SA, da Silva EF, de Souza MV, Lourenco MC, Vicente FR. Synthesis and antimycobacterial evaluation of new trans-cinnamic acid hydrazide derivatives. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18, 538–541.

[45] Kakwani MD, Suryavanshi P, Ray M, Rajan MGR, Majee S, Samad A, Devarajan P, Degani MS. Design, synthesis and antimycobacterial activity of cinnamide derivatives: A molecular hybridization approach. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011,21, 1997–1999.

[46] Yoya GK, Bedos-Belval F, Constant P, Duran H, Daffé M, Baltas M. Synthesis and evaluation of a novel series of pseudo-cinnamic derivatives as antituberculosis agents. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19, 341–343.

[47] Bogdashev NN, Tukhovskaya NA, Pogrebnyak AV. Physicochemical characterisation of cinnamic acid derivatives. Part 1. Relationship between antioxidant activity and physicochemical properties. *Pharm Chem J*, 1998, 32, 31–33.

[48] Chen JH, Ho CT. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *J Agric Food Chem*, 1997, 45, 2374–2378.

[49] Pontiki E, Hadjipavlou-Litina D, Litinas K, Geromichalos G. Novel cinnamic acid derivatives as antioxidant and anticancer agents: Design, synthesis and modeling studies. *Molecules*, 2014, 19, 9655–9674.

[50] Kumar S, Arya P, Mukherjee C, Singh BK, Singh N, Parmar VS, Prasad AK, Ghosh B. Novel aromatic ester from *Piper longum* and its analogues inhibit expression of cell adhesion molecules on endothelial cells. *Biochemistry*, 2005, 44, 15944–15952.

[51] Fernandez-Martinez E, Bobadilla RA, Morales-Rios MS, Muriel P, Perez-Alvarez VM. Trans-3-phenyl-2-propenoic acid (cinnamic acid) derivatives: structure-activity relationship as hepatoprotective agents. *Med Chem*, 2007, 3, 475–479.

[52] Duchnowicz P, Broncel M, Podsędek A, Koter-Michalak M. Hypolipidemic and antioxidant effects of hydroxycinnamic acids, quercetin, and cyanidin 3-glucoside in hypercholesterolemic erythrocytes (*in vitro* study). *Eur J Nutr*, 2012, 51, 435–443.

[53] Lee MK, Park YB, Moon SS, Bok SH, Kim DJ, Ha TY, Jeong TS, Jeong KS, Choi MS. Hypocholesterolemic and antioxidant properties of 3-(4-hydroxyl)propanoic acid derivatives in high-cholesterol fed rats. *Chem Biol Interact*, 2007, 170, 9–19.

[54] Yabe T, Hirahara H, Harada N, Ito N, Nagal T, Sangi T, Yamada H. Ferulic acid induces neural progenitor cell proliferation *in vitro* and *in vivo*. *Neuroscience*, 2010, 165, 515–524.

[55] Hafizur RM, Hameed A, Shukrana M, Raza SA, Chishti S, Kabir N, Siddiqui RA. Cinnamic acid exerts anti-diabetic activity by improving glucose tolerance *in vivo* and by stimulating insulin secretion *in vitro*. *Phytomedicine*, 2015, 22, 297–300.

[56] Kanaani J, Ginsburg H. Effects of cinnamic acid derivatives on in vitro growth of *Plasmodium falciparum* and on the permeability of the membrane of malaria-infected erythrocytes. *Antimicrob Agents Chemother*, 1992, 36, 1102–1108.

[57] Wheatley NC, Andrews KT, Tran TL, Lucke AJ, Reid RC, Fairlie DP. Antimalarial histone deacetylase inhibitors containing cinnamate or NSAID components. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20, 7080–7084.

[58] De P, Baltas M, Bedos-Belval F. Cinnamic acid derivatives as anticancer agents – a review. *Curr Med Chem*, 2011, 18, 1672–1703.

[59] Pérez BC, Fernandes I, Mateus N, Teixeira C, Gomes P. Recycling antimalarial leads for cancer: Antiproliferative properties of *N*-cinnamoyl chloroquine analogues. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23, 6769–6772.

[60] Xu CC, Deng T, Fan ML, Lv WB, Liu JH, Yu BY. Synthesis and *in vitro* antitumor evaluation of dihydroartemisinin-cinnamic acid ester derivatives. *Eur J Med Chem*, 2016, 107, 192–203.

[61] Pérez B, Teixeira C, Albuquerque IS, Gut J, Rosenthal PJ, Prudencio M, Gomes P. PRIMACINS, *N*-cinnamoyl-primaquine conjugates, with improved liver-stage antimalarial activity. *Med Chem Commun*, 2012, 3, 1170–1172.

[62] Pérez BC, Teixeira C, Gomes AS, Albuquerque IS, Gut J, Rosenthal PJ, Prudęncio M, Gomes P. *In vitro* efficiency of 9-(*N*-cinnamoylbutyl)aminoacridines against blood- and liver-stage malaria parasites. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23, 610–613.

[63] Pérez BC, Teixeira C, Figueiras M, Gut J, Rosenthal PJ, Gomes JRB, Gomes P. Novel cinnamic acid/4-aminoquinoline conjugates bearing non-proteinogenic amino acids: Towards the development of potential dual action antimalarials. *Eur J Med Chem*, 2012, 54, 887–899.

[64] Pérez BC, Teixeira C, Albuquerque IS, Gut J, Rosenhtal PJ, Gomes JRB, Prudencio M, Gomes P. *N*-Cinnamoylated chloroquine analogues as dual-stage antimalarial leads. *J Med Chem*, 2013, 56, 556–567.

[65] Pavić K, Perković I, Gilja P, Kozlina F, Ester K, Kralj M, Schols D, Hadjipavlou-Litina D, Pontiki E, Zorc B. Design, synthesis and biological evaluation of novel primaquine-cinnamic acid conjugates of the amide and acylsemicarbazide type. *Molecules*, svez. 2016, 21, 1629–1653.

[66] O'Neil M. The Merck Index – An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. Whitehouse Station, NJ, Merck and Co. Inc., 2001, str. 1384.

[67] http://www.sigmaaldrich.com/Graphics/COfAInfo/SigmaSAPQM/SPEC/16/160393/160393-BULK_____ALDRICH__.pdf, pristupljeno 16. 06. 2017.

[68] Hufford DC, McChesney JD. Assignments of dissociation constants of primaquine by ^{13}C NMR spectroscopy. *J Heterocyclic Chem*, 1983, 20, 273–275.

[69] Kristensen S, Grislingaas AL, Greenhill JV, Skjetne T, Karlsen J, Hjorth Tonnesen H. Photochemical stability of biologically active compounds: V. Photochemical degradation of primaquine in an aqueous medium. *Int J Pharm*, 1993, 100, 15–23.

[70] Ahmad I, Ahmad S, Anwar Z, Sheraz MA, Sikorski M. Photostability and photostabilization of drugs and products. *Int J Photoenergy*, 2016.

[71] Elderfield RC, Mertel HE, Mitch RT, Wempen IM, Werble E. Synthesis of primaquine and certain of its analogs. *J Am Chem Soc*, 1955, 77, 4816–4819.

[72] Doyle P, Wylei AG. 1969. US patent 3,478,047.

[73] A. C. Company. 1965. Patent BR patent 1,076,109.

[74] Vardanyan R, Hruby V. Synthesis of essential drugs. Amsterdam, Elsevier, 2006.

[75] Recht J, Ashley E, White N. Safety of 8-aminoquinoline antimalarial medicines. Ženeva, World Health Organization, 2014.

[76] World Health Organization. WHO model list of essential medicines. http://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/en/, pristupljeno 16. 06. 2017.

[77] Vale N, Moreiea R, Gomes P. Primaquine revisited six decades after its discovery. *Eur J Med Chem*, 2009, 44, 937–953.

[78] Center for Disease Control and Prevention. Malaria. https://www.cdc.gov/Malaria/ about/ biology/index.html, pristupljeno 16. 06. 2017.

[79] Nanayakkara ND, Tekwani BL, Herath HB, Sahu R, Gettayacamin M, Tungtaeng A, van Gessel Y, Baresel P, Wickham KS, Bartlett MS, Fronczek FR, Melendez V, Ohrt C, Reichard GA, McChesney JD, Rochford R, Walker LA. Scalable preparation and differential pharmacologic and toxicologic profiles of primaquine enantiomers. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014, 58, 4737–4744.

[80] Tekwani BL, Avula B, Sahu R, Chaurasiya ND, Khan SI, Jain S, Fasinu PS, Herath HM, Stanford D, Nanayakkara NP, McChesney JD, Yates TW, ElSohly MA, Khan IA, Walker LA. Enantioselective pharmacokinetics of primaquine in healthy human volunteers. *Drug Metab Dispos*. 2015, 43, 571–577.

[81] Fasinu PS, Tekwani BL, Nanayakkara ND, Avula B, Herath HB, Wang YH, Adelli VR, Elsohly MA, Khan SI, Khan IA, Pybus BS, Marcsisin SR, Reichard GA, McChesney JD, Walker LA. Enantioselective metabolism of primaquine by human CYP 2D6. *Malar J*, 2014, 13, e507.

[82] Brocks DR, Mehvar R. Stereoselectivity in the pharmacodynamics and pharmacokinetics of the chiral antimalarial drugs. *Clin Pharmacokinet*. 2003, 42, 1359–1382.

[83] Laleve A, Vallieres C, Golinelli-Cohen MP, Bouton C, Song Z, Pawlik G, Tindall SM, Avery SV, Clain J, Meunier N. The antimalarial drug primaquine targets Fe-S cluster proteins and yeast respiratory growth. *Redox Biol*, 2016, 2

[84] Basso LG, Rodrigues RZ, Naal RMZG, Costa-Filho AJ. Effects of the antimalarial drug primaquine on the dynamic structure of lipid model membranes. *BBA-Biomembranes*, 2011, 1808, 55–64.

[85] Kimura T, Shirakawa R, Yaoita N, Hayashi T, Nagano K, Horiuchi H. The antimalarial drugs chloroquine and primaquine inhibit pyridoxal kinase, an essential enzyme for vitamin B6 production. *FEBS Lett*,2014, 588, 3673–3676.

[86] Rosenthal PJ. Antiprotozoal drugs. U: Basic & clinical pharmacology. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ, urednici, New York, McGraw-Hill, 2012, 915–936.

[87] Pybus BS, Sousa JC, Jin X, Ferguson JA, Christian RE, Barnhart R, Voung C, Sciotti RJ, Reichard GA, Kozar MP, Walker LA, Ohrt C, Melendez V. CYP450 phenotyping and accurate mass identification of metabolites of the 8-aminoquinoline, anti-malarial drug primaquine. *Malar J*, 2012, 11, e259.

[88] Marcsisin SR, Reichard G, Pybus BS. Primaquine pharmacology in the context of CYP 2D6 pharmacogenomics: Current state of the art. *Pharmaco Ther*, 2016, 161, 1–10.

[89] Pybus BS, Marcsisin SR, Jin X, Deye G, Sousa JC, Li Q, Caridha D, Zeng Q, Reichard GA, Ockenhouse C, Bennett J, Walker LA, Ohrt C, Melendez V. The metabolism of primaquine to its active metabolite is dependent on CYP 2D6. *Malar J*, 2013, 12, e212.

[90] Carroll FI, Berrang BD, Linn CP. Synthesis of 2,4-disubstituted 6-methoxy-8-aminoquinoline analogues as potential antiparasitics. *J Med Chem*, 1980, 23, 581–584.

[91] LaMontagne MP, Markovac A, Menke JR. Antimalarials 10. Synthesis of 4-substituted primaquine analogs as candidate antimalarials. *J Med Chem*, 1977, 20, 1122–1127.

[92] Carroll FI, Berrang B, Linn CP, Twine CE. Synthesis of some 4-substituted 8-amino-6-methoxyquinolines as potential antimalarials. *J Med Chem*, 1979, 22, 694–699.

[93] LaMontagne MP, Blumbergs P, Strube RE. Antimalarials 14. 5-(aryloxy) methylprimaquine analogues. A highly effective series of blood and tissue schizonticidal agents. *J Med Chem*, 1982, 25, 1094–1097.

[94] Chen EC, Tanabe K, Saggiomo AJ, Nodiff EA. Modifications of primaquine as antimalarials. 4. 5-Alkoxy derivatives of primaquine. *J Med Chem*, 1987, 30, 1193–1199.

[95] Nodiff EA, Tanabe K, Chen EH, Saggiomo AJ. Modifications of primaquine as antimalarials. 3,5-Phenoxy derivatives of primaquine. *J Med Chem*, 1982, 25, 1097–1101.

[96] Jain M, Vangapandu S, Sachdeva S, Singh S, Singh PP, Jena GB, Tikoo K, Ramarao P, Kaul CL, Jain R. Discovery of a bulky 2-*tert*-butyl group containing primaquine analogue that exhibits potent blood-schizontocidal antimalarial activities and complete elimination of methemoglobin toxicity. *J Med Chem*, 2004, 47, 285–287.

[97] Jain M, Khan SI, Tekwani BL, Jacob MR, Singh S, Singh PP, Jain R. Synthesis, antimalarial, antileishmanial, and antimicrobial activities of some 8-quinolinamine analogues. *Bioorg Med Chem*, 2005, 13, 4458–4466.

[98] Bawa S, Kumar S, Drabu S, Kumar R. Structural modifications of quinoline-based antimalarial agents: Recent developments. *J Pharm Bioallied Sci*, 2010, 2, 64–71.

[99] Kirk K. Membrane transport in the malaria-infected erythrocyte. *Physiol Rev*, 2001, 81, 495–537.

[100] Kaur K, Jain M, Khan SI, Jacob MR, Tekwani BL, Singh S, Singh PP, Jain R. Amino acid, dipeptide and pseudodipeptide conjugates of ring-substituted 8-aminoquinolines: Synthesis and evaluation of anti-infective, ß-haematin inhibiton and cytotoxic activities. *Eur J. Med Chem*, 2012, 52, 230–241.

[101] Gomes P, Araujo MJ, Rodrigues M, Vale N, Azevedo Z, Iley J, P Chambel, Morais J, Moreira R. Synthesis of imidazolidin-4-one and 1*H*-imidazo[2,1-*a*]isoindole-2,5(3*H*,9b*H*)-dione derivatives of primaquine: scope and limitations. *Tetrahedron*, 2004, 60, 5551–5562.

[102] Araujo MJ, Bom J, Capela R, Casimiro C, Chambel P, Gomes P, Iley J, Lopes F, Morais J, Moreira R, de Oliveira E, do Rosario V, Vale N. Imidazolidin-4-one derivatives of primaquine as novel transmission-blocking antimalarials. *J Med Chem*, 2005, 48, 888–892.

[103] Vale N, Matos J, Gut J, Nogueira F, do Rosario V, Rosenthal PJ, Moreira R, Gomes P. Imidazolidin-4-one peptidomimetic derivatives of primaquine: Synthesis and antimalarial activity. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18, 4150–4153.

[104] Vale N, Nogueria F, do Rosario VE, Gomes P, Moreira R. Primaquine dipeptide derivatives bearing an imidazolidin-4-one moiety at the *N*-terminus as potential antimalarial prodrugs. *Eur J Med Chem*, 2009, 44, 2506–2516.

[105] Zorc B, Rajić Džolić Z, Butula I. Benzotriazole as a synthetic auxiliary. *Croat Chem Acta*, 2012, 85, 595–602.

[106] Clayden J, Greeves N, Warren S. Organic Chemistry. Oxford New York, Oxford University Press Inc., 2012.

[107] Kolb KE, Field KW, Schatz PF. A one-step synthesis of cinnamic acids using malonic acid: The Verley-Doebner modification of the Knoevenagel condensation. *J Chem Educ*, 1990, 67, A304.

[108] Mobinikhaledi, Foroughifar N, Jirandehi HF. Microwave–assisted synthesis of cinnamic acid derivatives in the presence of PPE and under solvent-free condition. *Synth React Inorg Met Org Chem*, 2008, 38, 428–430.

[109] Gupta M, Wakhloo BP. Tetrabutylammoniumbromide mediated Knoevenagel condensation. *Arkivoc*, 2007, 1, 94–98.

[110] Wall VM, Eisenstadt A, Ager DJ, Laneman A. The Heck reaction and cinnamic acid synthesis by heterogeneous catalysis. *Platinum Metals Rev*, 1999, 43, 138–145.

[111] Zhang Z, Zha Z, Gan C, Pan C, Zhou Y, Wang Z, Zhou MM. Catalysis and regioselectivita of the aqueous Heck reaction by Pd(0) nanoparticles under ultrasonic irradiation. *J Org Chem*, 2006, 71, 4339–4342.

[112] Hatsuda M, Kuroda T, Seki M. An improved synthesis of (*E*)-cinnamic acid derivatives via the Claisen-Schmidt condensation. *Synth Commun*, 2003, 23, 427–434.

[113] Chiriac CI, Tanasa F, Onciu M. A novel approach in cinnamic acid synthesis: Direct synthesis of cinnamic acids from aromatic aldehydes and aliphatic carboxylic acids in the presence of boron tribromide. *Molecules*, 2005, 10, 481–487.

[114] Chiriac CI, Tanasa F, Onciu M. A new direct synthesis of cinnamic acids from aromatic aldehydes and aliphatic carboxylic acids in the presence of sodium borohydride. *Tetrahedron Lett*, 2003, 44, 3579–3580.

[115] Thiemann T, Elshorbagy MW, Salem MHDA, al-Suaibi MAM, al-Hindawi B. One pot reaction of benzaldehydes to cinnamic acids and arylpropiolic acids in aqueous medium. *14th Internationl Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry*, 2010.

[116] Liu L, Hudgins R, Shack S, Yin MQ, Samid D. Cinnamic acid: A natural product with potential use in cancer intervention. *Int J Cancer*, 1995, 62, 345–350.

[117] Brozic P, Kocbek P, Sova M, Kristl J, Martens S, Adamski J, Gobec S, Lanisnik Rizner T. Flavonoids and cinnamic acid derivatives as inhibitors of 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1. *Mol Cell Endocrinol*, 2009, 301, 229–234.

[118] Chang S, Yin SL, Wang J, Jing JK, Dong JH. Design and synthesis of novel 2-phenylaminopyrimidine (PAP) derivatives and their antiproliferative effects in human chronic myeloid leukemia cells. *Molecules*, 2009, 14, 4166–4179.

[119] Richon VM. Cancer biology: Mechanism of antitumour action of vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid), a novel histone deacetylase inhibitor. *Brit J Cancer*, 2006, 95, S2–S6.

[120] Lee HZ, Kwitkowski VE, Del Valle PL, Ricci MS, Saber H, Habtemariam BA, Bullock J, Bloomquist E, Li Shen Y, Chen XH, Brown J, Mehrotra N, Dorff S, Charlab R, Kane RC, Kaminskas E, Justice R, Farrell AT, Pazdur R. FDA approval: Belinostat for the treatment of patients with relapsed or refractory peripheral T-cell lymphoma. *Clin Cancer Res*, 2015, 21, 2666–2670.

[121] Laubach JP, Moreau P, San-Miguel JF, Richardson PG. Panobinostat for the treatment of multiple myeloma. *Clin Cancer Res*, 2015, 21, 4767–4773.

[122] Ning C, Bi Y, He Y, Huang WY, Liu L, Li Y, Zhang S, Liu X, Yu N. Design, synthesis and biological evaluation of di-substituted cinnamic hydroxamic acids bearing urea/thiourea unit as potent histone deacetylase inhibitors. *Bioorg Med Chem. Lett*, 2013, 23, 6432–6435.

[123] Cincinelli R, Zwick V, Musso L, Zuco V, de Cesare M, Zunino F, Simoes-Pires C, Nurisso C, Giannini G, Cuendet M. Biphenyl-4-yl-acrylohydroxamic acids: Identification of a novel indolyl-substituted HDAC inhibitor with antitumor activity. *Eur J Med Chem*, 2016, 112, 99–105.

[124] Zhang Q, Lu B, Li J. Deisgn, synthesis and biological evaluation of 4-piperazinyl-containing chidamide derivatives aas HDACs inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27, 3162–3166.

[125] Wang L, Bao X, Yang J, Li H, Zhou Q, Jiang X, Li M, Liu X, Yuan X, Sun Y, Chen J, Zhang J, Chen G, Wu C. Novel cinnamohydrohamic acid derivatives as HDAC inhibitors with anticancer activity *in vitro* and *in vivo*. *Chem Biol Inter*, 2016, 249, 64–70.

[126] http://reference.medscape.com/drug/zolinza-vorinostat-342102, pristupljeno 31. 08. 2017.

[127] Mukherjee P, Pradhan A, Shah F, Tekwani BL, Avery MA. Structural insights into the *Plasmodium falciparum* histone deacetylase 1 (*Pf*HDAC-1): A novel target for the development of antimalarial therapy. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16, 5254–5265.

[128] Wheatley NC, Andrews KT, Tran TL, Lucke AJ, Reid RC, Fairlie DP. Antimalarial histone deacetylase inhibitors containing cinnamate or NSAID components. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20, 7080–7084.

[129] https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-drug?CdrID=453548, pristupljeno 1. 09. 2017.

[130] https://www.fda.gov/drugs/informationondrugs/approveddrugs/ucm567259.htm, pristupljeno 1. 09. 2017.

[131] Butula I, Proštenik MV, Vela V. Reactions with 1-benzotriazolecarboxylic acid chloride. I. Synthesis of the 2,6-*bis*(hydroxymethyl)pyridinedicarbamates. *Croat Chem Acta*, 1977, 49, 837–842.

[132] Butula I, Vela V, Ivezić B. Reaktionen mit 1-Benzotriazolcarbonsäurechlorid. IV. Synthese von substituierten Harnstoffen, Semicarbaziden und Carbaziden. *Croat Chem Acta*, 1978, 51, 339–346.

[133] Newkome GR, Fishel DR. Preparation of hydrazones: acetophenone hydrazone. *Org Synth*, 1970, 50, 102.

[134] http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2333527.html?rid=bc854b05-4c8a-4d49-bd82-88f39a160a8d, pristupljeno 31. 05. 2017.

[135] Perković I, Butula I, Kralj M, Martin-Kleiner I, Balzarini J, Hadjipavlou-Litina D, Katsori AM, Zorc B. Novel NSAIL 1-acyl-4-cycloalkyl/arylsemicarbazides and 1-acyl-5-benzyloxy/hydroxy carbamoylcarbazides as potential anticancer agents and antioxidants. *Eur J Med Chem*, 2012, 51, 227–238.

[136] Hanci S, Me NK, Meher NK. Preparation of *N*-(α,β-unsaturated acyl)-sulfonamides. *Arkivoc*, 2009, iv, 115–124.

[137] Kreutzberger A, van der Goot H. Entzündungshemmende wirkstoffe. III. Synthese und entzündungshemmende wirksamkeit aromatisch substituierter benztriazole. *J Heterocycl Chem*, 1975, 12, 665–667.

[138] Butula I, Zorc B, Vela V. Reaktionen mit 1-Benzotriazolcarbonsäurechlorid. VII. Die Umsetzung mit Aminosäuern. *Croat Chem Acta*, 1981, 54, 435–440.

[139] National Cancer Institute. NCI-60 Screening Methodology. https://dtp.cancer.gov/discovery_development/nci-60/methodology.htm, pristupljeno 04. 09. 2017.

[140] Kedzierska E, Orzelska J, Perković I, Knežević D, Fidecka S, Kaiser M, Zorc B. Pharmacological effects of primaquine ureas and semicarbazides on the central nervous system in mice and antimalarial activity *in vitro*. *Fundam Clin Pharmacol*, 2016, 30, 58–69.

[141] Page C, Page M, Noel C. A new fluorimetric assay for cytotoxicity measurements *in vitro*. *Int J Oncol*, 1993, 3, 473–476.

[142] Hadjipavlou-Litina D, Garnelis T, Athanassopoulos CM, Papaioannou D. Kukoamine A analogs with lipoxygenase inhibitory activity. *J Enyznm Inhib Med Chem*, 2009, 24, 1188–1193.

[143] Kalčić I, Zovko M, Jadrijević-Mladar Takač M, Zorc B, Butula I. Synthesis and reactions of some azolecarboxylic acid derivatives. *Croat Chem Acta*, 2003, 76, 217–228.

[144] Butula I, Zorc B. Čudesna molekula benzotriazol. *Kem Ind*, 2007, 56, 123–134.

[145] Chemicalize, chemicalize.com, pristupljeno 05. 06. 2017.

[146] Asghar SF, Yasin KA, Rehman H, Aziz S. Synthesis and cyclisation of 1,4-disubstituted semicarbazides. *Nat Prod Res*, 2010, 24, 315–325.

[147] Zrinski I, Eckert-Maksić M. Primjena mikrovalnog zračenja u organskoj sintezi. *Kem Ind*, 2005, 54, 469–476.

[148] Zovko M, Zorc B, Jadrijević-Mladar Takač M, Metelko B, Novak P. The novel ketoprofenamides - synthesis and spectroscopic characterization. *Croat Chem Acta*, 2003, 76, 335–341.

[149] Barbarić M, Kralj M, Marjanović M, Husnjak I, Pavelić K, Filipović-Grčić J, Zorc D, Zorc B. Synthesis and *in vitro* antitumor effect of diclofenac and fenoprofen thiolated and nonthiolated polyaspartamide-drug conjugates. *Eur J Med Chem*, 2007, 42, 20–29.

[150] Rajić Z, Butula I, ZorcB, Kraljević Pavelić S, Hock K, Pavelić K, Naesens L, De Clercq D, Balzarini J, Przyborowska M, Ossowski T, Mintas M. Cytostatic and antiviral activity evaluations of hydroxamic derivatives of some non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Chem Biol Drug Des*, 2009, 73, 328338.

[151] Rajić Z, Hadjipavlou-Litina D, Pontiki E, Kralj M, Šuman L, Zorc B. The novel ketoprofen amides – synthesis and biological evaluation as antioxidants, lipoxygenase inhibitors and cytostatic agents. *Chem Bio. Drug Des*, 2010, 75, 641–652.

[152] Zhou Q, Melkoumian ZK, Lucktong A, Moniwa M, Davie JR, Strobl JS. Rapid induction of histone hyperacetylation and cellular differentiation in human breast tumor cell lines following degradation of histone deacetylase-1. *J Biol Chem*, 2000, 275, 35256–35263.

[153] Nakajima M, Iwanari M, Yokoi T. Effects of histone deacetylation and DNA methylation on the constitutive and TCDD-inducible expressions of the human CYP1 family in MCF-7 and HeLa cells. *Toxicol Lett*, 2003, 144, 247–256.

[154] Krusekopf S, Roots I, Hildebrandt AG, Kleeberg U. Time-dependent transcriptional induction of CYP1A1, CYP1A2 and CYP1B1 mRNAs by H^+/K^+ - ATPase inhibitors and other xenobiotics. *Xenobiotica*, 2003, 33, 107–118.

[155] Werlinder V, Backlund M, Zhukov A, Ingelman-Sundberg M. Transcriptional and post-translational regulation of CYP1A1 by primaquine. *J Pharmacol Exp Ther*, 2001, 297, 206–214.

[156] Pohjanvirta R. The AH receptor in biology and toxicology. Hoboken, N.J, Wiley, 2012.

[157] Backlund M, Ingelman-Sundberg M. Different structural requirements of the ligand binding domain of the aryl hydrocarbon receptor for high- and low-affinity ligand binding and receptor activation. *Mol Pharmacol*, 2004, 65, 416–425.

[158] Bapiro TE, Andersson TB, Otter C, Hasler JA, Masimirembwa CM. Cytochrome P450 1A1/2 induction by antiparasitic drugs: dose-dependent increase in ethoxyresorufin *O*-deethylase activity and mRNA caused by quinine, primaquine and albendazole in HepG2 cells. *Eur J Clin Pharmacol*, 2002, 58, 537–542.

[159] Pukrittayakamee S, Imwong M, Chotivanich K, Singhasivanon P, Day NPJ, White NJ. A comparison of two short-course primaquine regimens for the treatment and radical cure of *Plasmodium vivax* malaria in Thailand. *Am J Trop Med Hyg*, 2010, 82, 542–547.

[160] Latyshko N, Gudkova O, Dmytrenko M. Semicarbazide as potential source of formaldehyde and nitric oxide formation. *Drugs Ther Stud*, 2012, 2, 43–47.

[161] Gul M, Mete E, Atalay M, Arik M, Inci Gul H. Cytotoxicity of 1-aryl-3-buthylamino-1-propanone hydrochlorides against Jurkat and L6 cells. *Arzneimittelforschung*, 2009, 59, 364–369.

[162] Fine RL, Patel J, Chabner BA. Phorbol esters induce multidrug resistance in human breast cancer cells. *Proc Nati Acad Sci U*, 1988, 85, 582–586.

[163] Giovanella F, Ferreira GK, de Pra SDT, Carvahlo-Silva M, Gomes LM, Scaini G, Goncalves RC, Michels M, Galant LS, Longaretti LM, Dajori AL, Andrade VM, Dal-Pizzol F, Streck EL, de Souza RP. Effects of primaquine and chloroquine on oxidative stress parameters in rats. *An Acad Bras Ciênc*, 2015, 87, 1487–1496.

[164] Vasquez-Vivar J, Augusto O. Hydroxylated metabolites of the antimalarial drug primaquin. *J Biol Chem*, 1992, 267, 6848–6854.

[165] Liégeois C, Lermusieau G, Collin S. Measuring antioxidant efficiency of wort, malt, and hops against the 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride-induced oxidation of an aqueous dispersion of linoleic acid. J *Agric Food Chem*, 2000, 48, 1129–1134.

[166] Nimse SB, Pal D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Adv*, 2015, 5, 27986–28006.

[167] Pergola C, Werz O. 5-Lipoxygenase inhibitors: A review of recent developments and patents. *Expert Opin Ther Patents*, 2010, 20, 355–375.

[168] Katsori AM, Chatzopoulou M, Dimas K, Kontogiorgis C, Patsilinakos A, Trangas T, Hadjipavlou-Litina D. Curcumin analogues as possible anti-proliferative & anti-inflammatory agents. *Eur J Med Chem*, 2011, 46, 2722–2735.

[169] Pontiki E, Hadjipavlou-Litina D. Lipoxygenase inhibitors: A comparative QSAR study review and evaluation of new QSARs. *Med Res Rev*, 2008, 28, 39–117.

6. ŽIVOTOPIS

Kristina Pavić rođena je u Osijeku 19. 6. 1988. godine, gdje je završila osnovnu školu i gimnaziju. Tijekom srednje škole sudjelovala je na Državnim natjecanjima iz kemije na kojima je dva puta osvojila prvo, a dva puta drugo mjesto. Od 2007. do 2012. g. studirala je farmaciju na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu u Zagrebu. Diplomirala je među 10% najboljih studenata u generaciji. Tijekom studija primala je Državnu stipendiju za darovite studente i Stipendiju grada Osijeka.

Od listopada 2012. do listopada 2013. g. bila je zaposlena na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu kao asistentica na zamjeni u Zavodu za farmaceutsku kemiju. Godine 2013./14. radila je pripravnički staž za magistre farmacije te je 2014. godine položila državni stručni ispit za magistre farmacije i stekla Odobrenje za samostalan rad. Od 2015. g. zaposlena je kao asistentica na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu u istom Zavodu. Akademske godine 2012./13. upisala je poslijediplomski doktorski studij Farmaceutsko-biokemijske znanosti na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu.

Objavila je 3 znanstvena i 3 stručna rada, održala 3 predavanja te sudjelovala na više domaćih i međunarodnih kongresa s posterskim priopćenjima. Suvoditeljica je jednog studentskog rada dobitnika Rektorove nagrade ak. god. 2015./16. Od 2015. do 2017. g. sudjelovala je u radu znanstvenog i/ili organizacijskog odbora Simpozija studenata farmacije i medicinske biokemije.

Znanstveni radovi (CC):

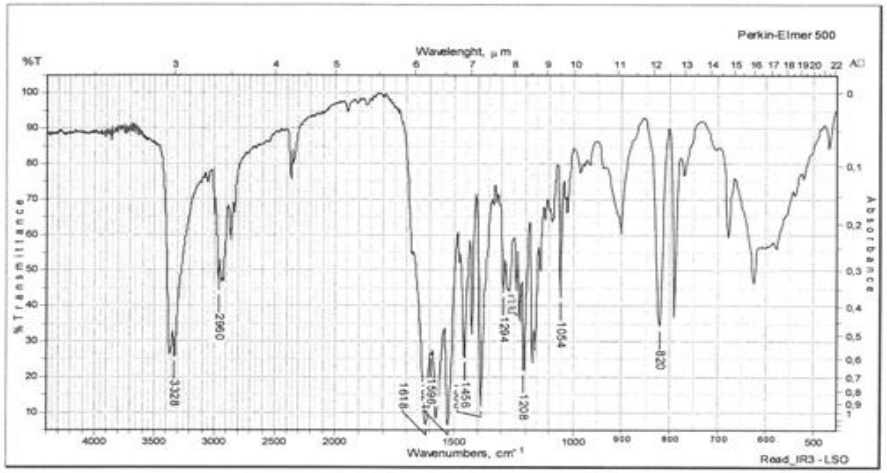
1. **Pavić K**, Perković I, Cindrić M, Pranjić M, Martin-Kleiner I, Kralj M, Schols D, Hadjipavlou-Litina D, Katsori AM, Zorc B. Novel semicarbazides and ureas of primaquine with bulky aryl or hydroxyalkyl substituents : Synthesis, cytostatic and antioxidative activity. *Eur J Med Chem,* 2014, 86, 502–514.

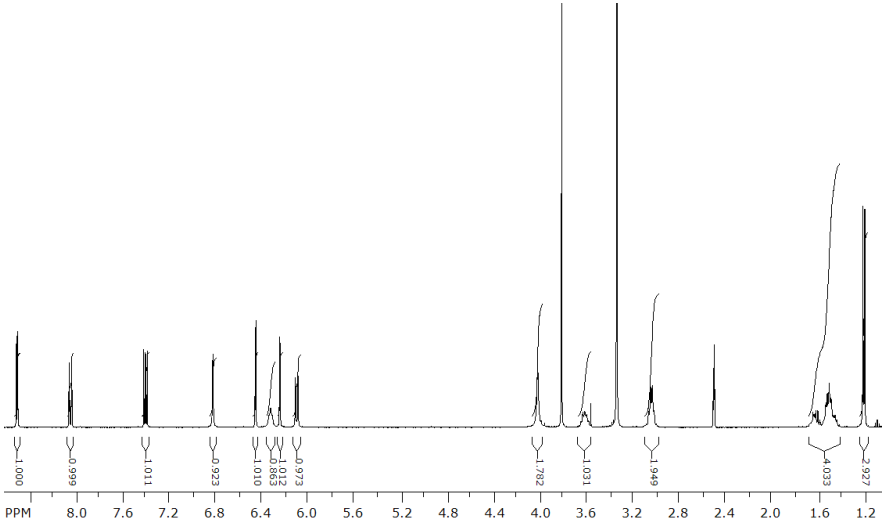
2. Perković I, Antunović M, Marijanović I, **Pavić K**, Ester K, Kralj M, Vlainić J, Kosalec I, Schols D, Hadjipavlou-Litina D, Pontiki E, Zorc B. Novel urea and bis-urea primaquine derivatives with hydroxyphenyl and halogenphenyl substituents: synthesis and biological evaluation. *Eur J Med Chem,* 2016, 124, 622–636.

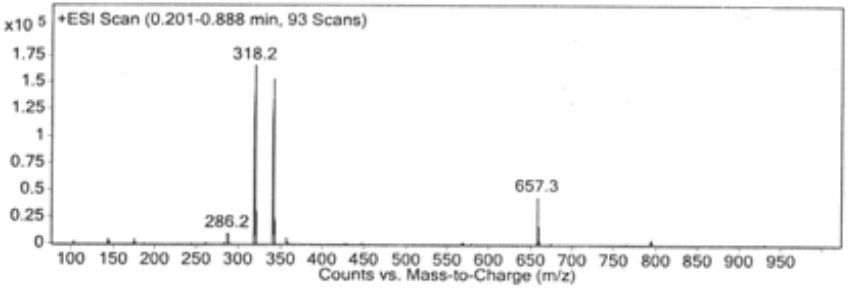
3. **Pavić K**, Perković I, Gilja P, Kozlina F, Ester K, Kralj M, Schols D, Hadjipavlou- Litina D, Pontiki E, Zorc B. Design, synthesis and biological evaluation of novel primaquine-cinnamic acid conjugates of the amide and acylsemicarbazide type. *Molecules,* 2016, 21, 1629–1653.

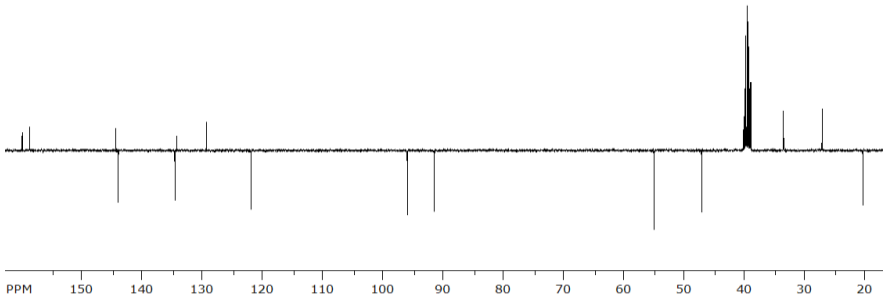
PRILOG A

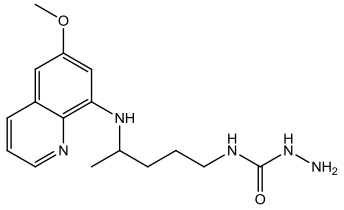
Prilog sadrži IR, NMR i MS spektre odabranih derivata primakina opisanih u ovom doktorskom radu.


Perkin-Elmer 500
Wavelenght, μm
%T
%Transmittance
Absorbance
Wavenumbers, cm-1
Read_IR3 - LSO
3328
2960
1618
1456
1294
1208
1054
820

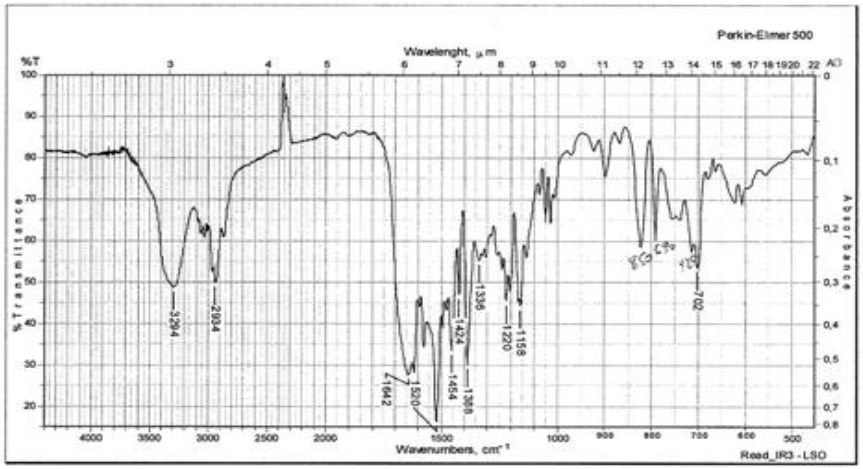

1.000
0.999
1.011
0.923
1.010
0.863
1.012
0.973
1.782
1.031
1.949
4.033
2.927
PPM

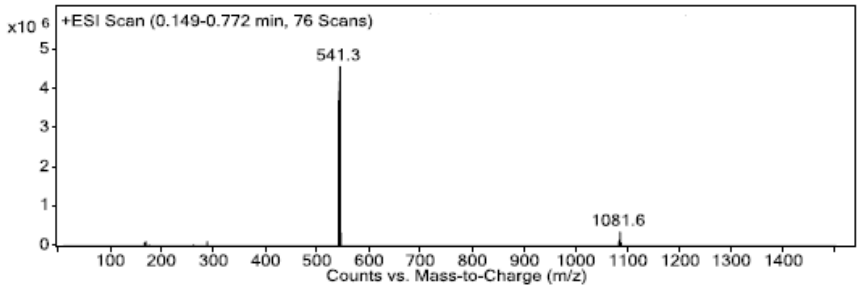

x10 5
+ESI Scan (0.201-0.888 min, 93 Scans)
318.2
286.2
657.3
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

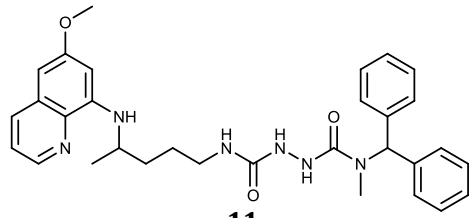

PPM


O
NH
N
H
N
H
N
NH2
O

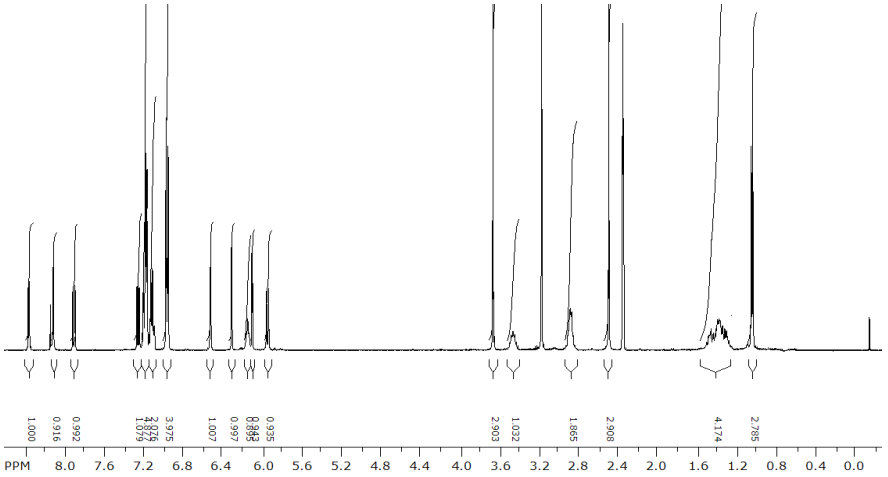
9

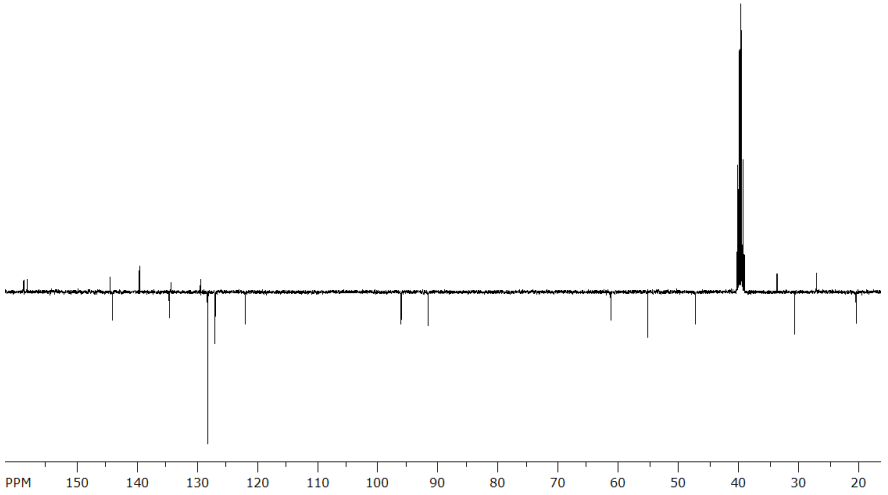

Perkin-Elmer 500
Wavelenght, μm
%T
Wavenumbers, cm-1
Absorbance
3294
2934
1642
1520
1454
1424
1388
1336
1220
1159
702
Read_IR3 - LSO

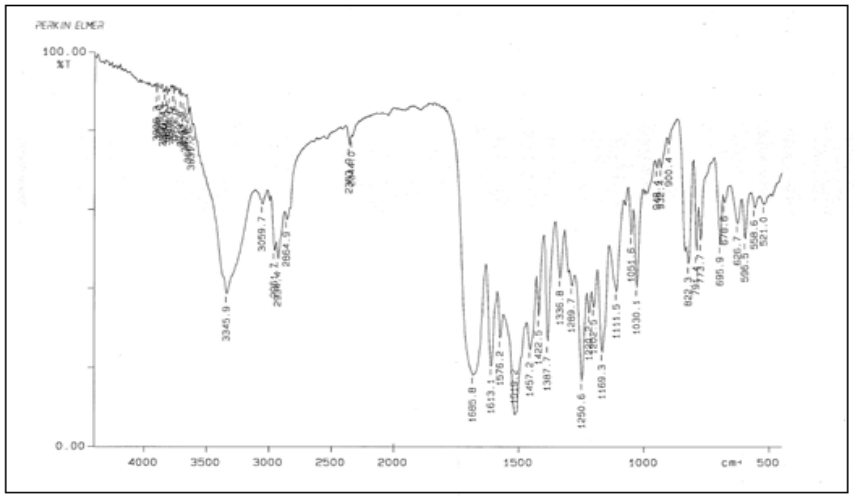

x10 6
+ESI Scan (0.149-0.772 min, 76 Scans)
541.3
1081.6
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

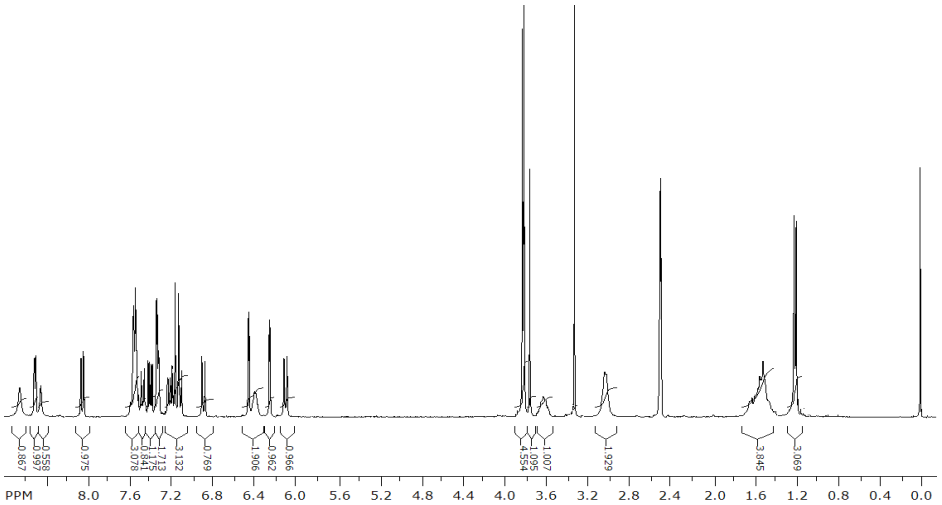


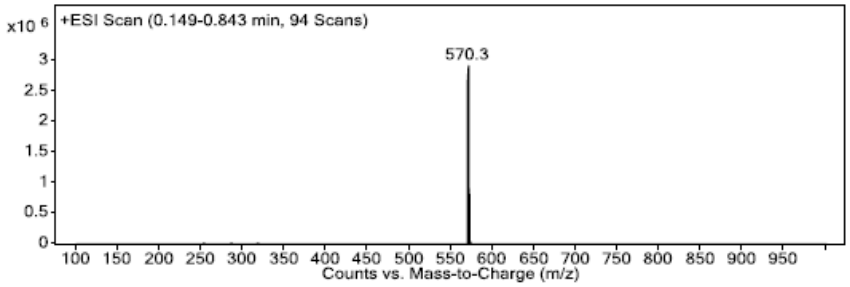
11a

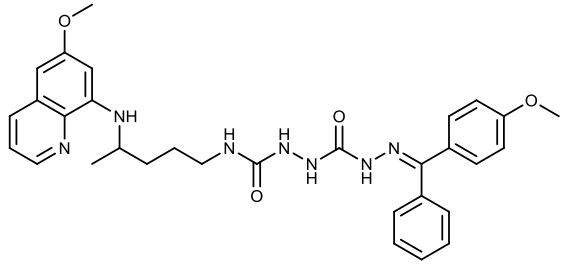

1.000
0.916
0.992
3.975
1.007
0.997
0.935
2.903
1.032
1.865
2.908
4.174
2.785
PPM


PPM

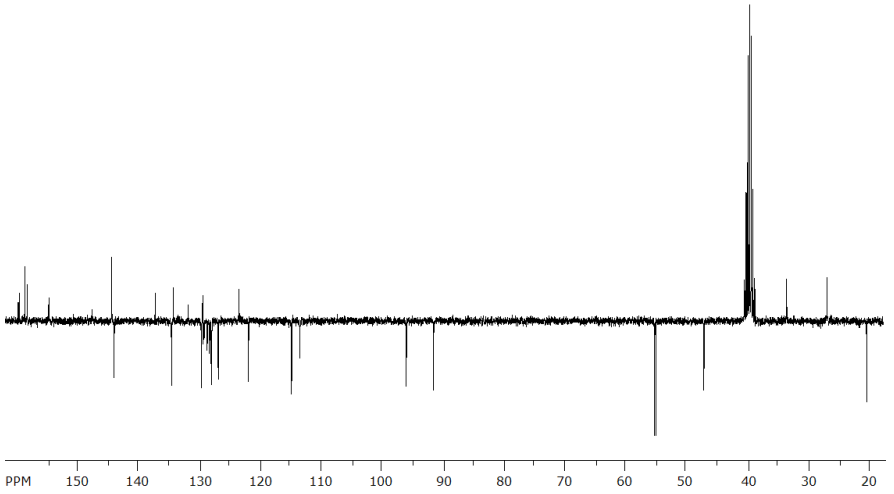

PERKIN ELMER
100.00
%T
0.00
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
cm-1
500

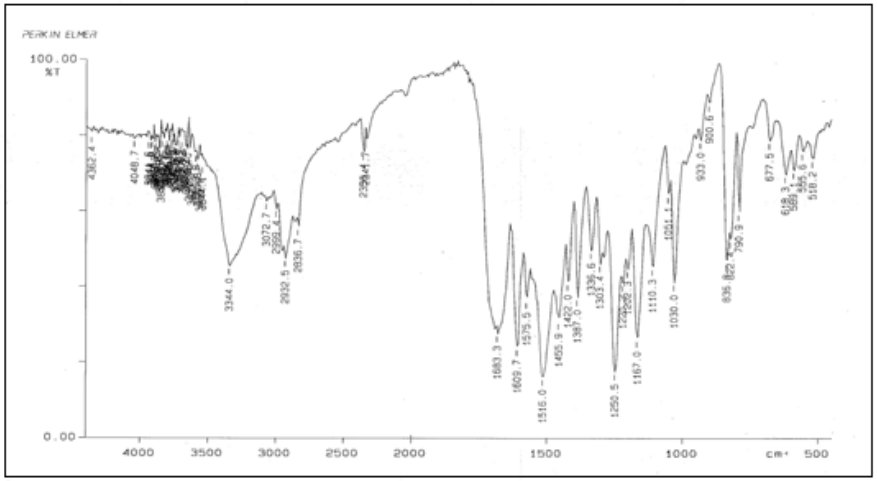

PPM
8.0
7.6
7.2
6.8
6.4
6.0
5.6
5.2
4.8
4.4
4.0
3.6
3.2
2.8
2.4
2.0
1.6
1.2
0.8
0.4
0.0

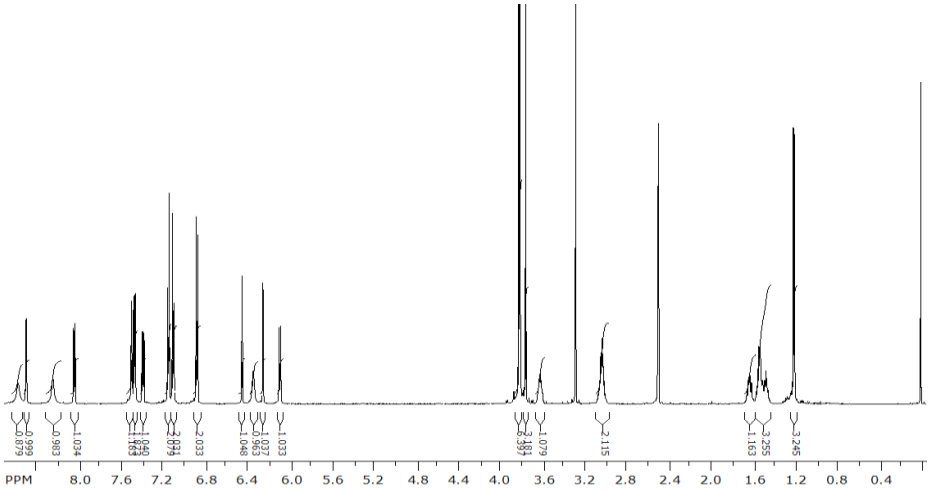

x10 6
+ESI Scan (0.149-0.843 min, 94 Scans)
570.3
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

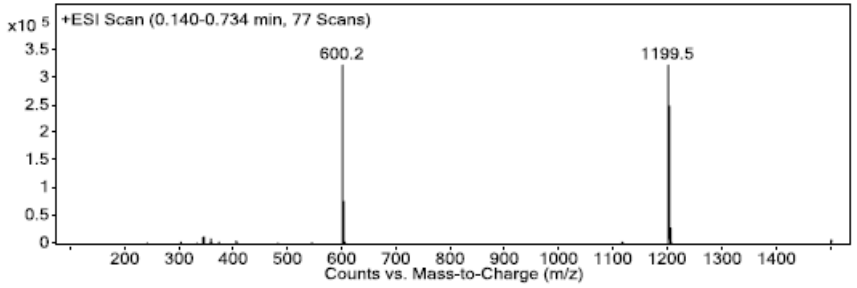

O
NH
N
H
N
O
H
N
H
N
O
N
O

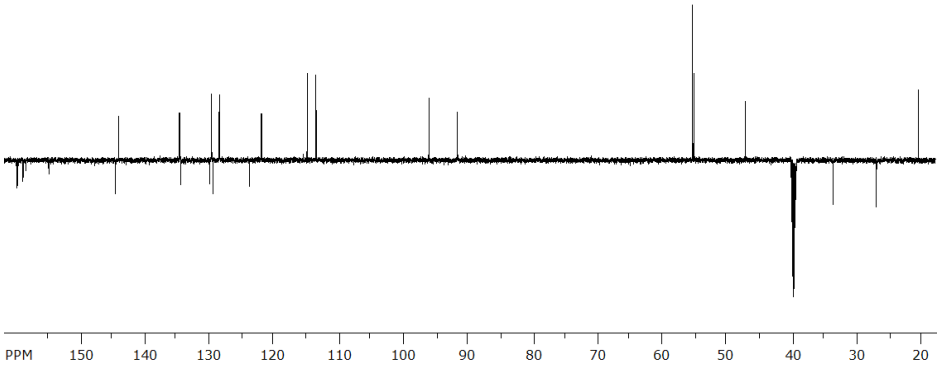
11c

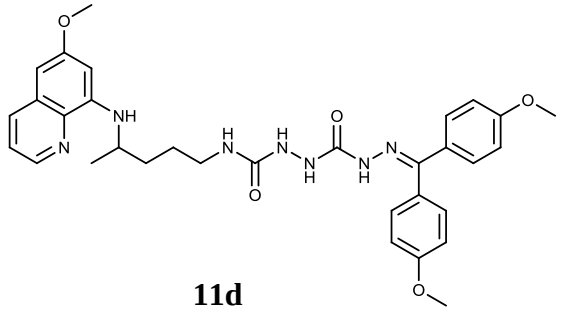

PPM
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20


PERKIN ELMER
100.00
%T
0.00
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
cm-1
500

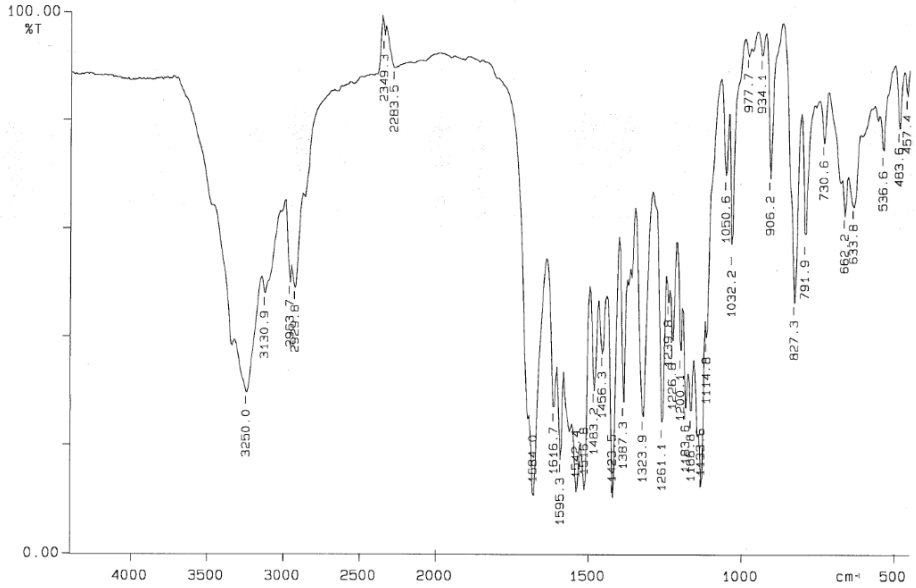

PPM
8.0
7.6
7.2
6.8
6.4
6.0
5.6
5.2
4.8
4.4
4.0
3.6
3.2
2.8
2.4
2.0
1.6
1.2
0.8
0.4

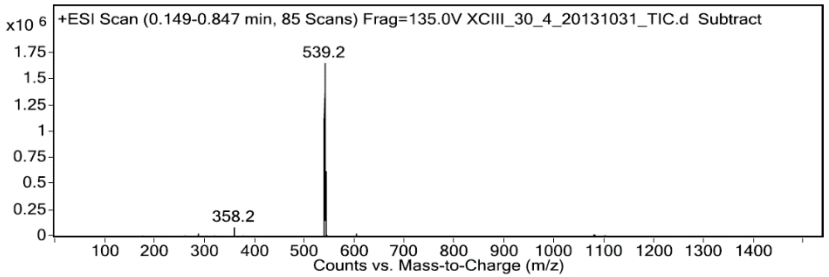

x10 5
+ESI Scan (0.140-0.734 min, 77 Scans)
600.2
1199.5
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

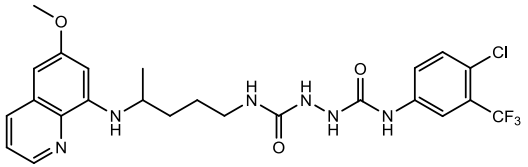

PPM
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20



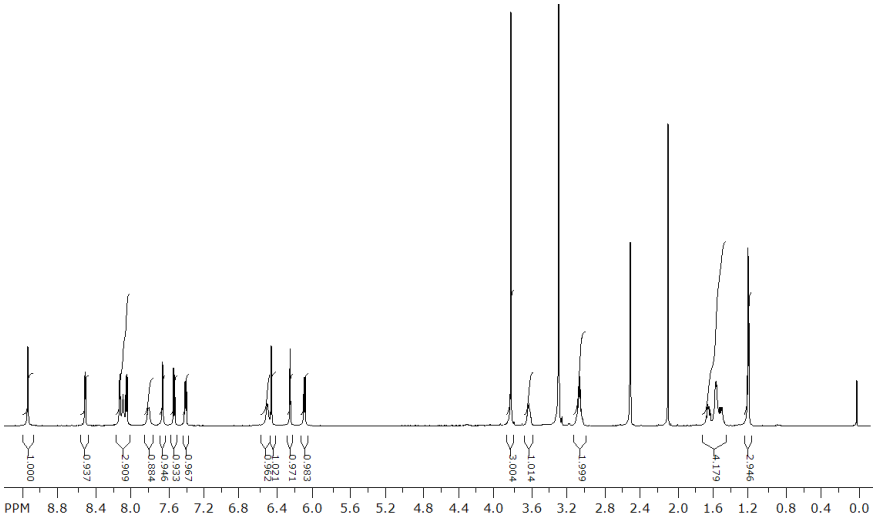
11d

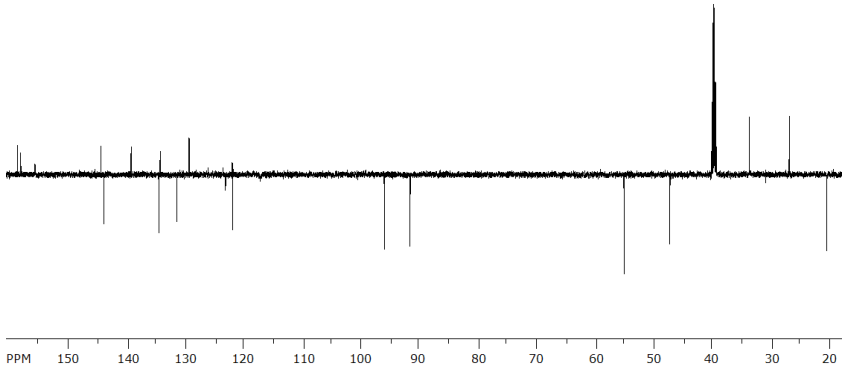

100.00
%T
0.00
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
cm-1
500
3250.0
3130.9
2963.8
2349.3
2283.5
1684.0
1595.3
1516.7
1456.3
1387.3
1323.9
1261.1
1114.8
1032.2
1050.6
977.7
934.1
906.2
827.3
791.9
730.6
662.2
536.6
483.6
457.4

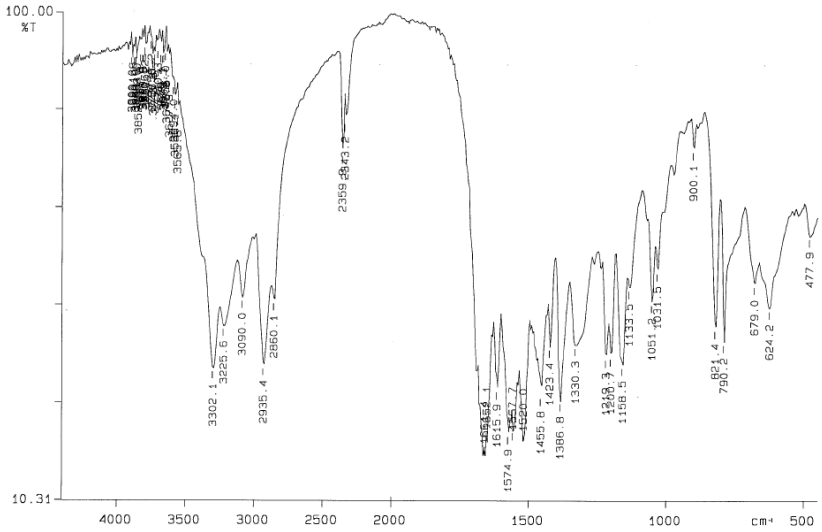

x10 6
+ESI Scan (0.149-0.847 min, 85 Scans) Frag=135.0V XCIII_30_4_20131031_TIC.d Subtract
1.75
1.5
1.25
1
0.75
0.5
0.25
0
539.2
358.2
100
200
300
400
500
600
700
800
900
1000
1100
1200
1300
1400
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

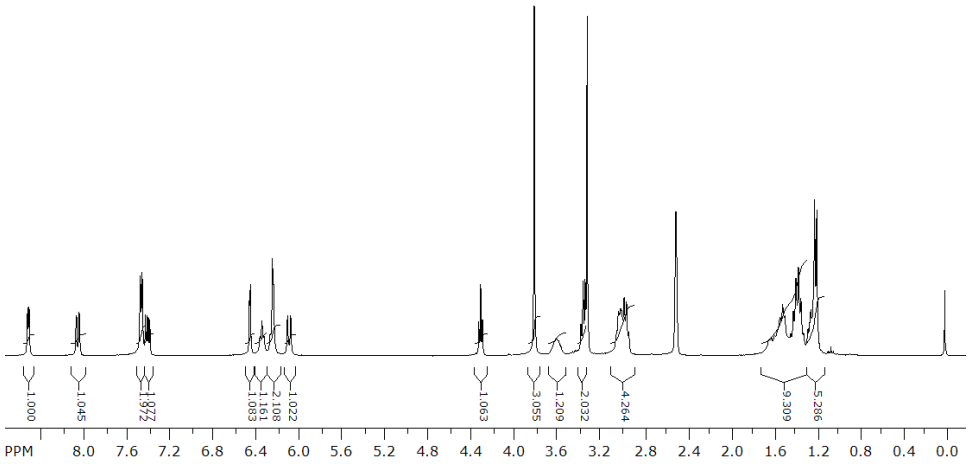

O
N
H
N
H
O
H
N
H
O
N
H
Cl
CF3

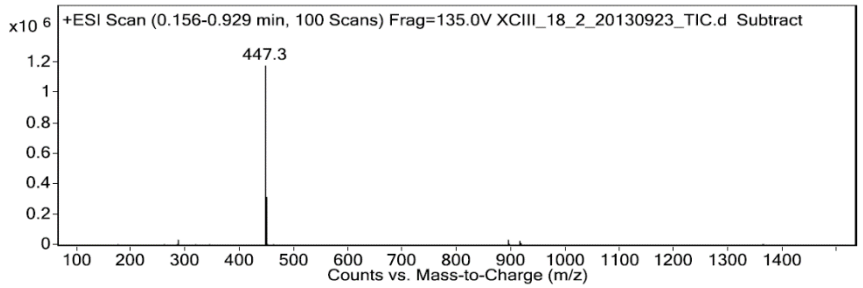
11g

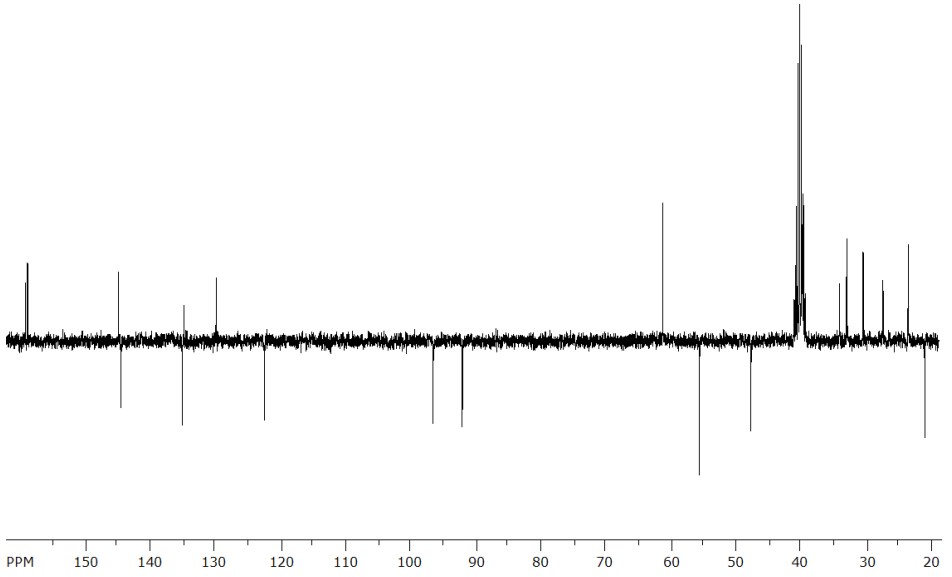

1.000
0.937
2.909
0.884
0.964
0.933
0.967
1.021
1.062
0.971
0.983
3.004
1.014
1.999
4.179
2.946
PPM
8.8
8.4
8.0
7.6
7.2
6.8
6.4
6.0
5.6
5.2
4.8
4.4
4.0
3.6
3.2
2.8
2.4
2.0
1.6
1.2
0.8
0.4
0.0

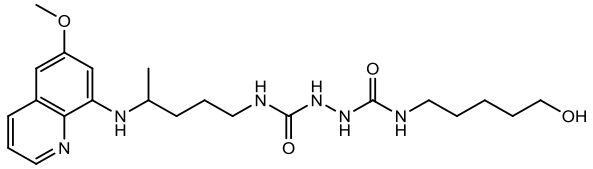

PPM
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20


100.00
%T
10.31
3302.1
3225.6
3090.0
2935.4
2860.1
2359.4
2343.2
1615.9
1574.8
1459.8
1423.4
1386.8
1330.3
1218.3
1196.7
1158.5
1133.5
1051.2
1031.5
900.1
821.4
790.2
679.0
624.2
477.9
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
cm-1
500

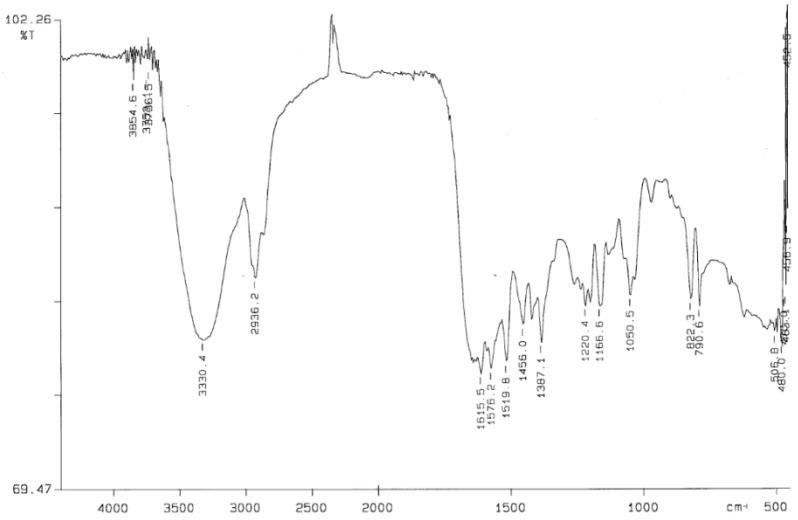

1.000
1.045
1.977
1.972
1.083
1.161
2.108
1.022
1.063
3.055
1.209
2.032
4.264
9.309
5.286
PPM
8.0
7.6
7.2
6.8
6.4
6.0
5.6
5.2
4.8
4.4
4.0
3.6
3.2
2.8
2.4
2.0
1.6
1.2
0.8
0.4
0.0

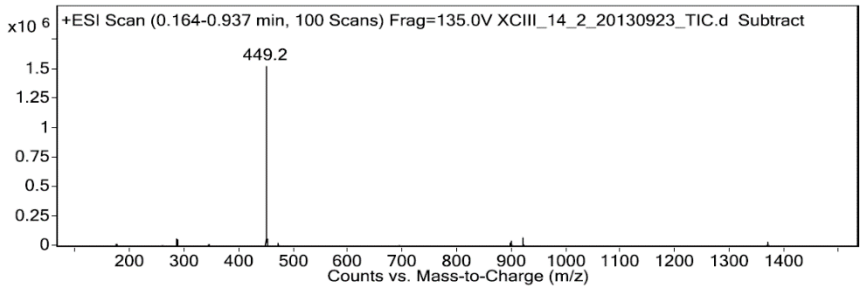

x10 6
+ESI Scan (0.156-0.929 min, 100 Scans) Frag=135.0V XCIII_18_2_20130923_TIC.d Subtract
447.3
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
100
200
300
400
500
600
700
800
900
1000
1100
1200
1300
1400
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

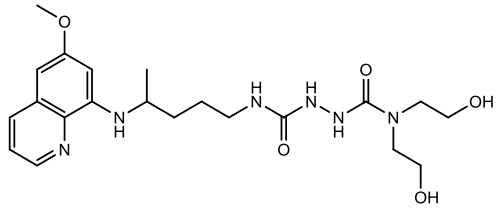

PPM
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20


O
N
H
N
H
O
H
N
N
H
O
OH

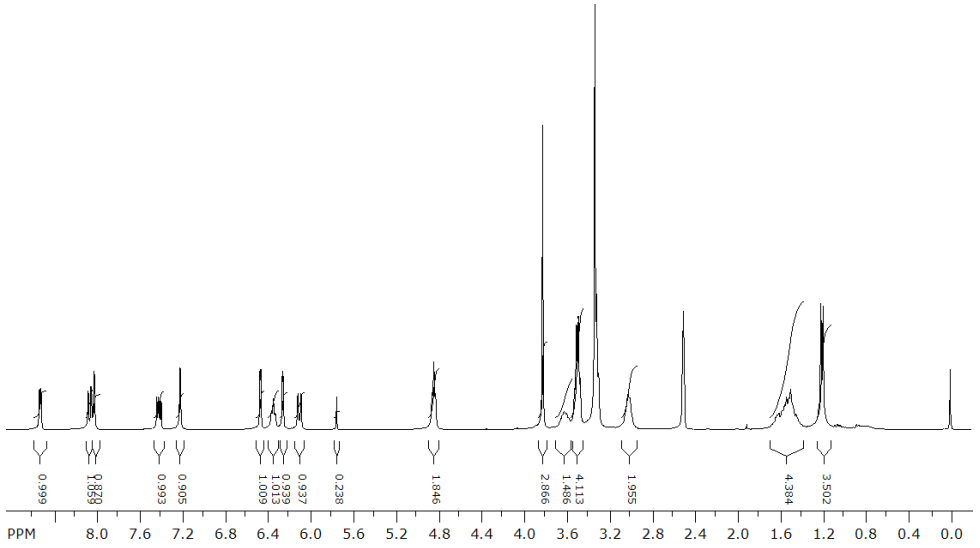
11j

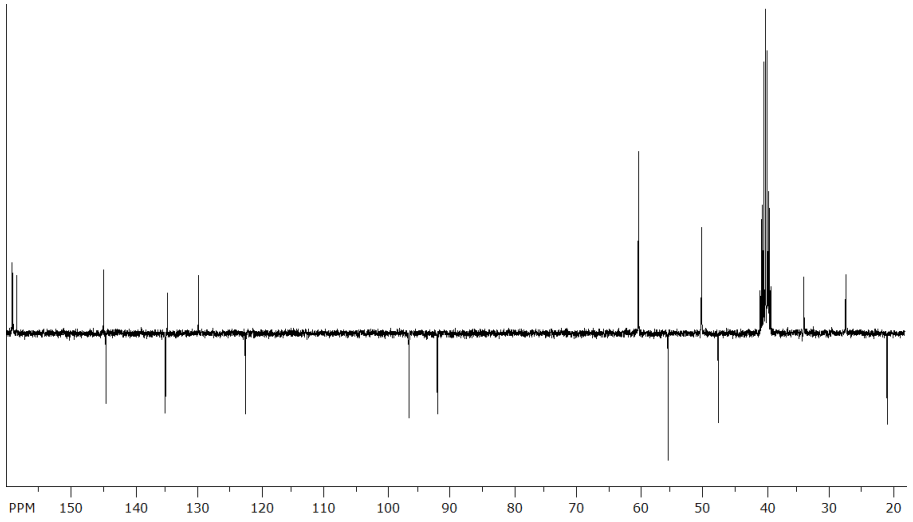

102.26
%T
69.47
3954.6
3930.4
3961.5
2936.2
3330.4
1615.5
1576.2
1519.8
1456.0
1387.1
1220.4
1166.6
1050.5
822.3
790.6
506.8
480.0
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
cm-1
500

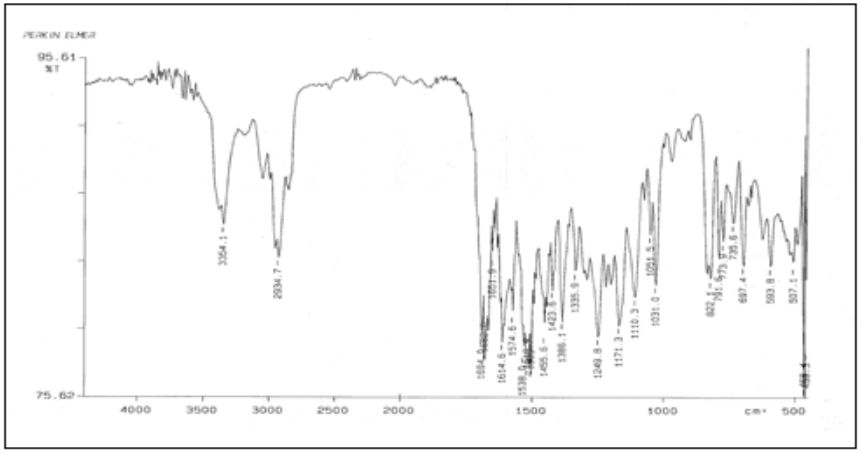

x10 6
+ESI Scan (0.164-0.937 min, 100 Scans) Frag=135.0V XCIII_14_2_20130923_TIC.d Subtract
449.2
1.5
1.25
1
0.75
0.5
0.25
0
200
300
400
500
600
700
800
900
1000
1100
1200
1300
1400
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

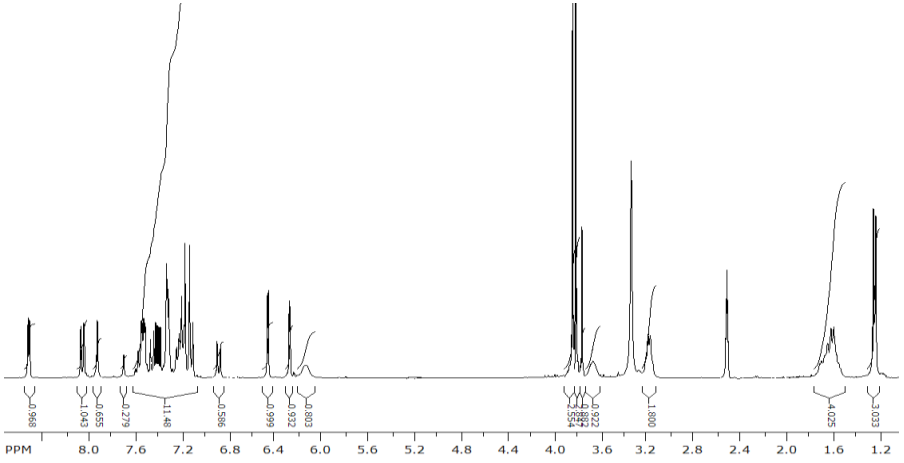

O
N
H
N
H
O
H
N
H
N
O
N
OH
OH

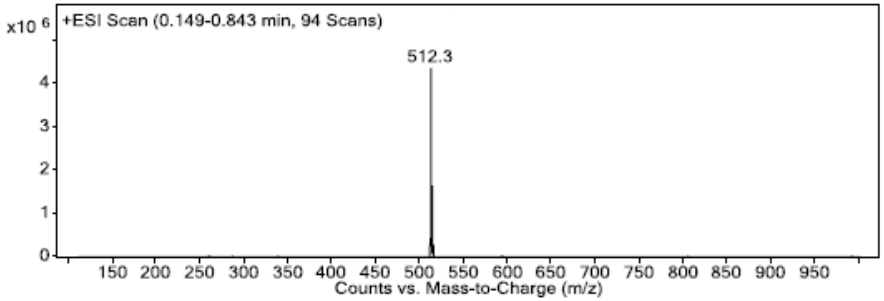
11k

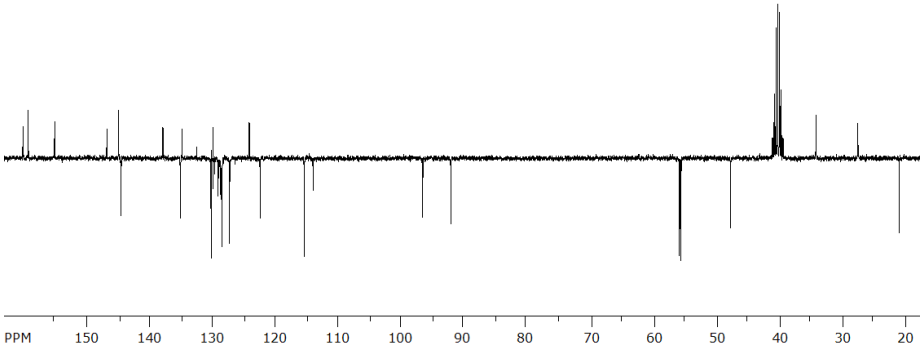

0.999
1.829
1.859
0.993
0.905
1.009
1.013
0.939
0.937
0.238
1.846
2.866
1.486
4.113
1.955
4.384
3.502
PPM
8.0
7.6
7.2
6.8
6.4
6.0
5.6
5.2
4.8
4.4
4.0
3.6
3.2
2.8
2.4
2.0
1.6
1.2
0.8
0.4
0.0

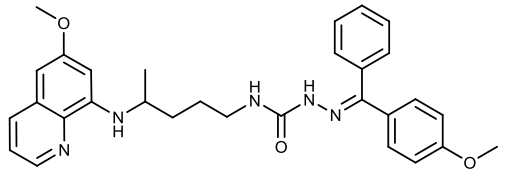

PPM
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20


PERKIN ELMER
95.61
%T
75.62
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
cm-1
500

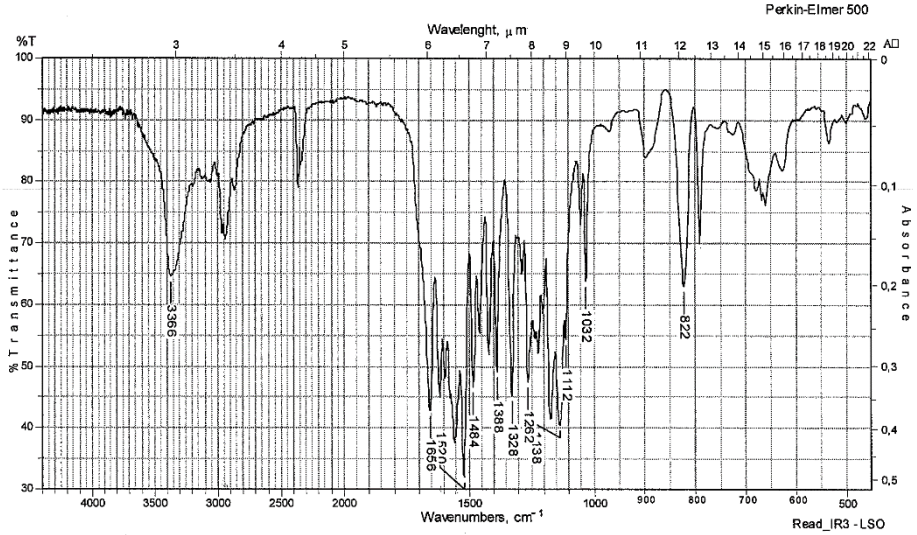

0.968
1.043
0.555
0.729
1.149
0.959
0.999
0.592
0.803
0.922
1.000
4.029
3.033
PPM
8.0
7.6
7.2
6.8
6.4
6.0
5.6
5.2
4.8
4.4
4.0
3.6
3.2
2.8
2.4
2.0
1.6
1.2

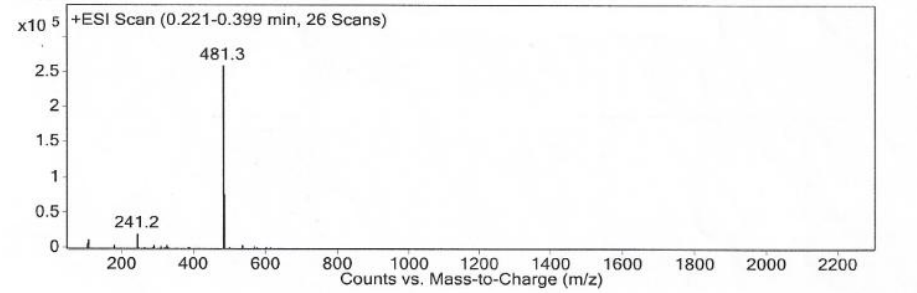

x10 6
+ESI Scan (0.149-0.843 min, 94 Scans)
512.3
4
3
2
1
0
150 200 250 300 350 400 450 500 550 600 650 700 750 800 850 900 950
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

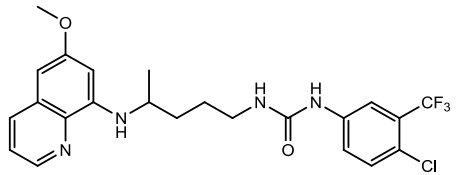

PPM
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20


O
N
H
N
O
H
N
N
O

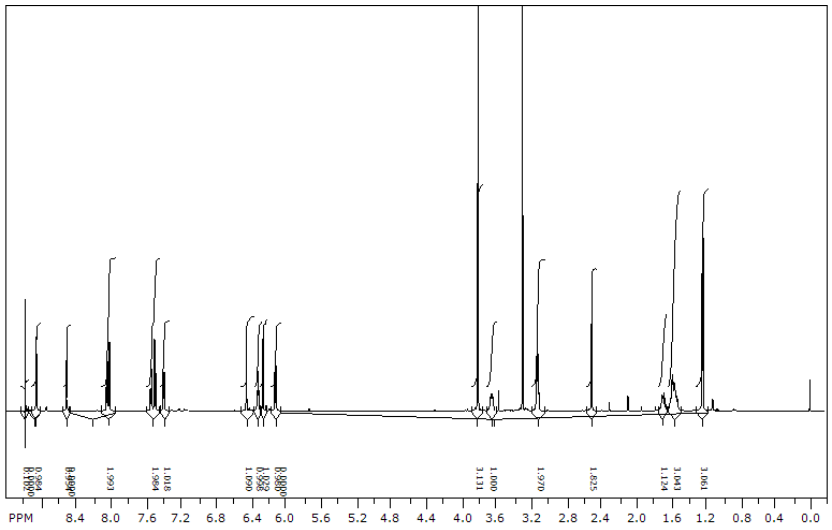
12c

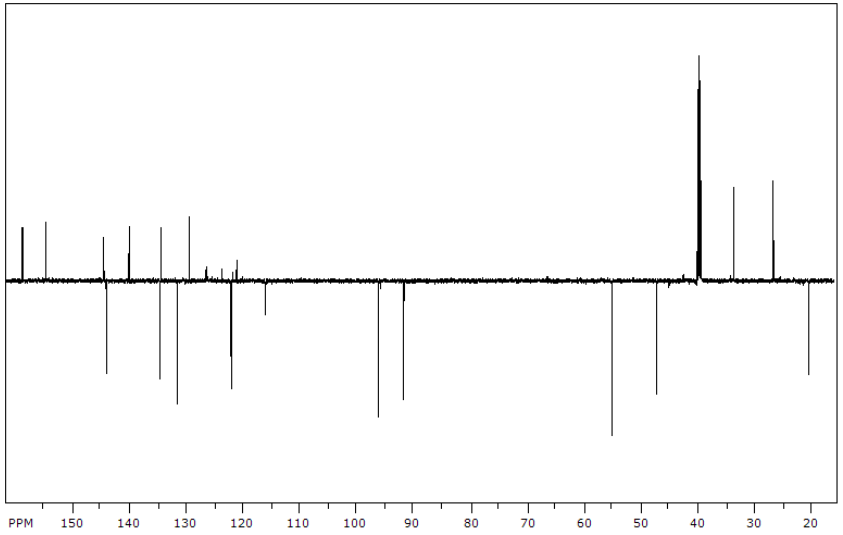

Perkin-Elmer 500
Wavelenght, μm
%T
% Transmittance
Absorbance
Wavenumbers, cm-1
3366
1656
1520
1484
1388
1328
1262
1198
1112
1032
822
Read_IR3 -LSO

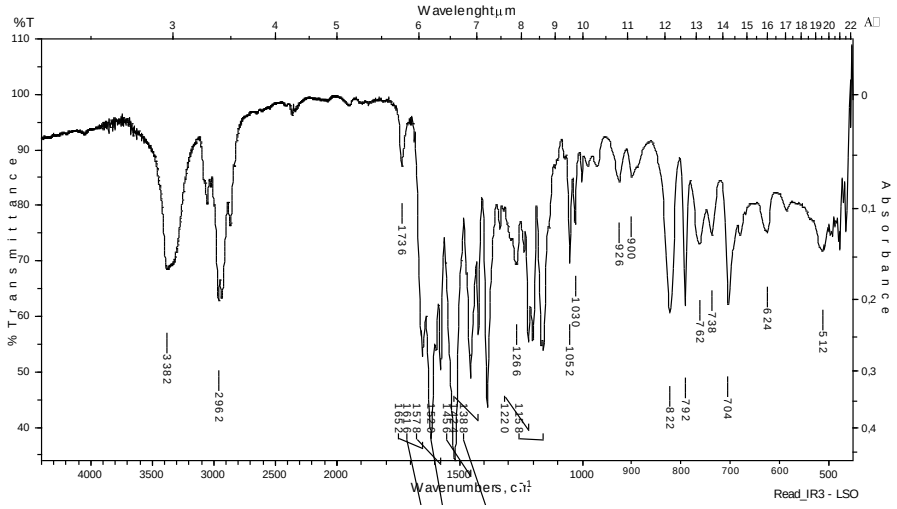

x10 5
+ESI Scan (0.221-0.399 min, 26 Scans)
481.3
241.2
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

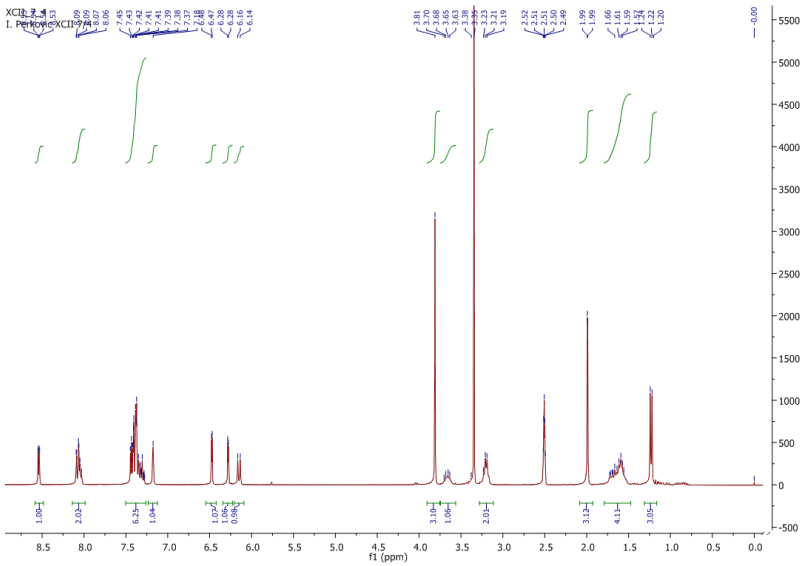

O
N
H
N
H
N
O
CF3
Cl

12g

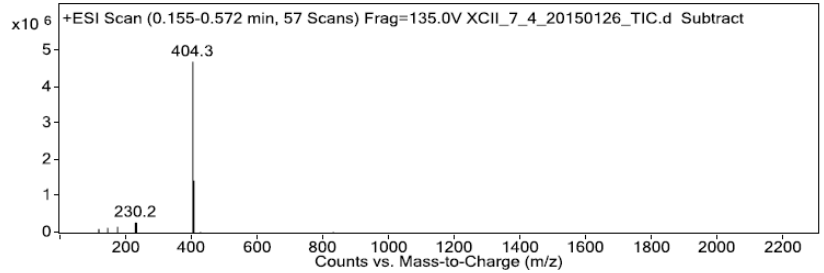

PPM

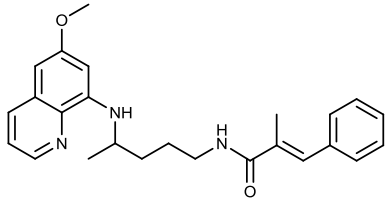

PPM

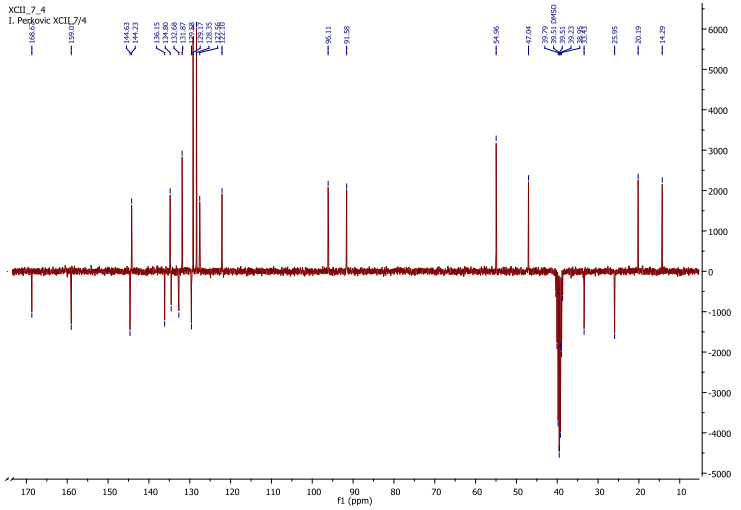




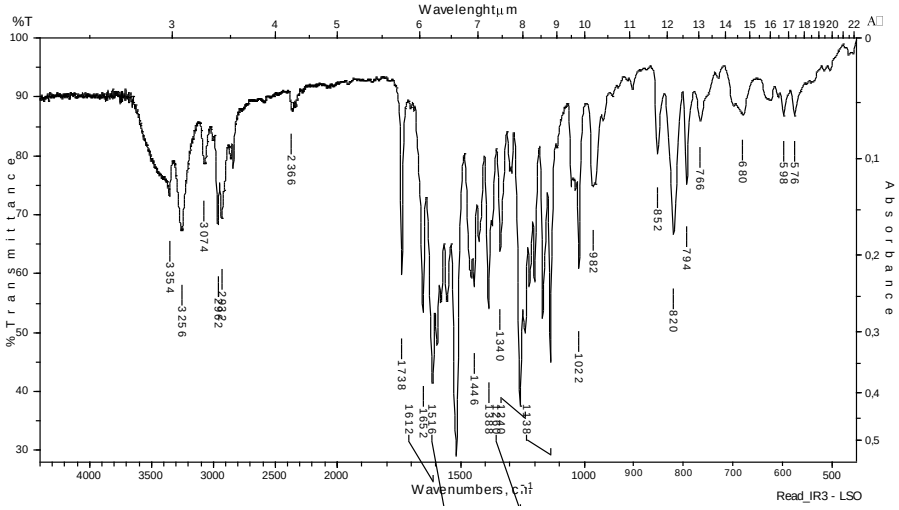
Spectrum Source	Fragmentor Voltage	Collision Energy	Ionization Mode
Peak (1) in "+ TIC Scan"	135	0	ESI

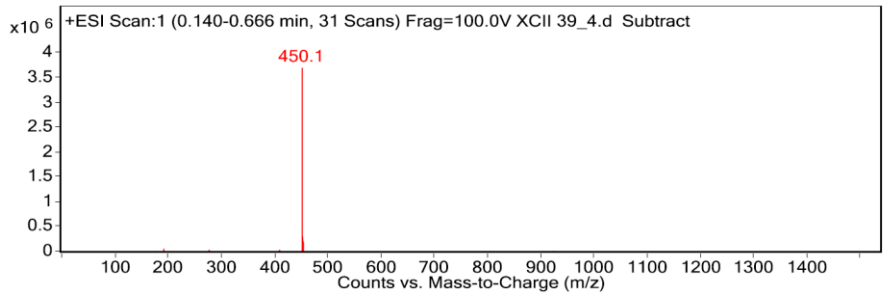


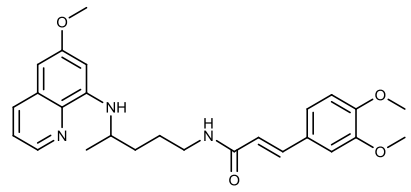




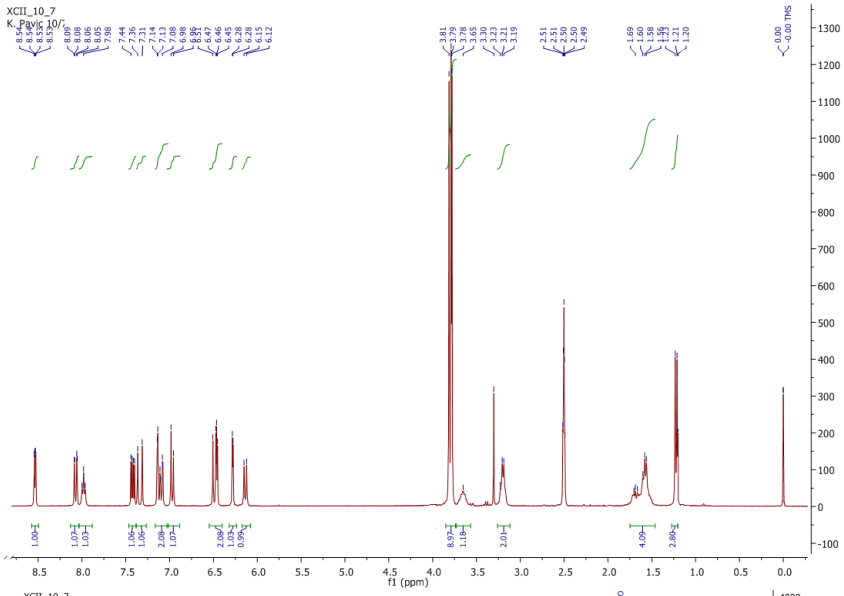
15b

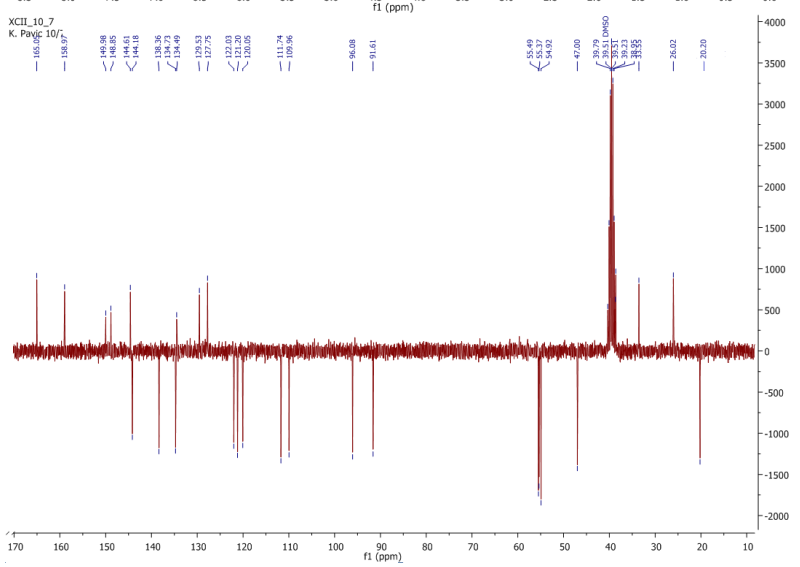

Wavelenght μm
%T
%Transmittance
Absorbance
Wavenumbers, cm-1
Read_IR3 - LSO
3354
3256
3074
2962
2366
1738
1612
1516
1446
1340
1238
1022
982
852
820
794
766
680
598
576

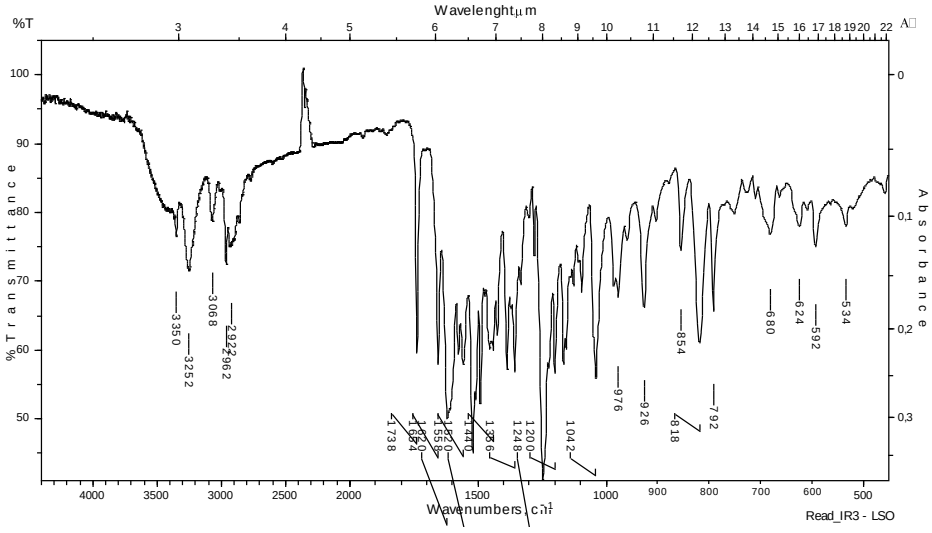

+ESI Scan:1 (0.140-0.666 min, 31 Scans) Frag=100.0V XCII 39_4.d Subtract
x10 6
450.1
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

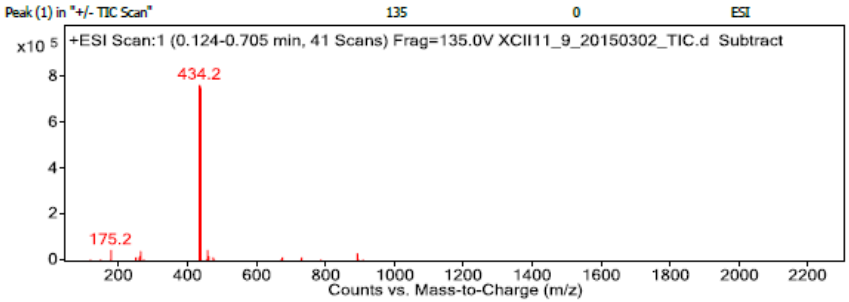

O
NH
N
H
N
O
O
O

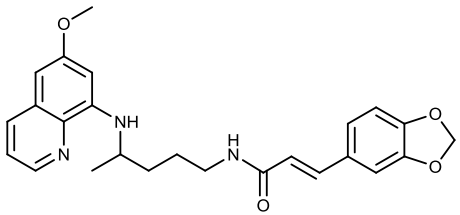
15d


XCII_10_7
K. Pavic 10/7
f1 (ppm)

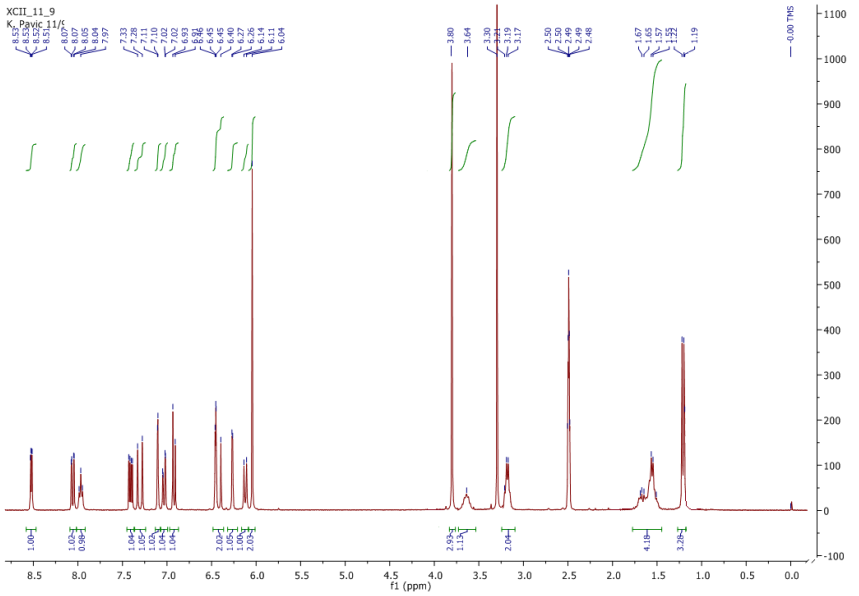

XCII_10_7
K. Pavic 10/7
f1 (ppm)

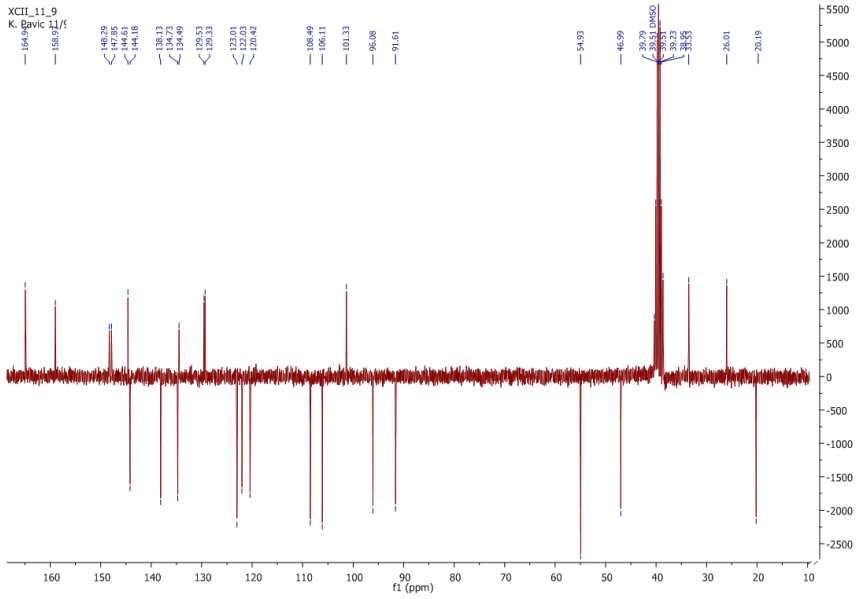

Wavelenght μm
%T
%Transmittance
Absorbance
Wavenumbers cm-1
Read_IR3 - LSO
3350
3252
3068
2922
2962
1738
1684
1650
1555
1440
1376
1248
1200
1042
976
926
854
818
792
680
624
592
534

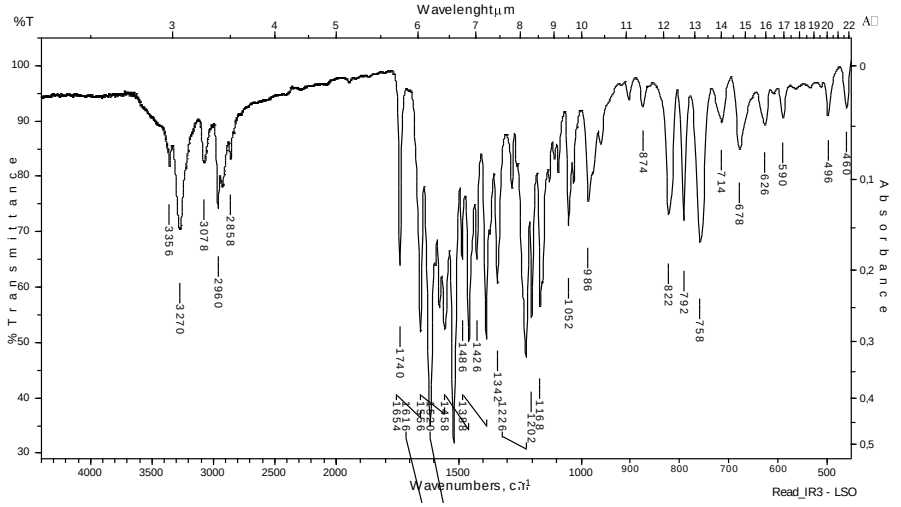

Peak (1) in "+/- TIC Scan"
135
0
ESI
x10 5
+ESI Scan:1 (0.124-0.705 min, 41 Scans) Frag=135.0V XCII11_9_20150302_TIC.d Subtract
434.2
175.2
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

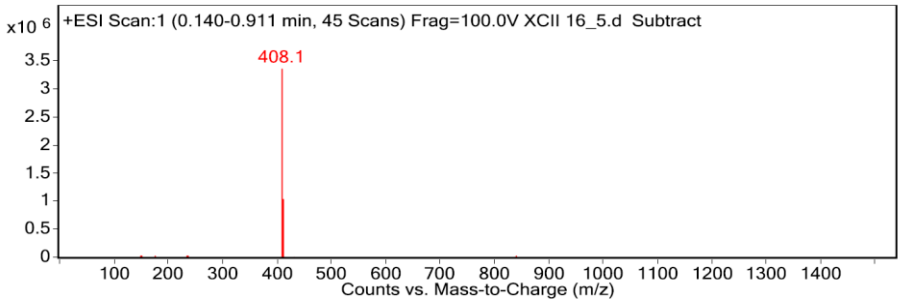

O
NH
N
H
N
O
O
O

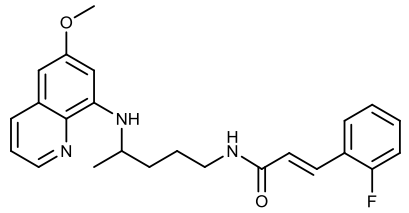
15f


XCII_11_9
f1 (ppm)

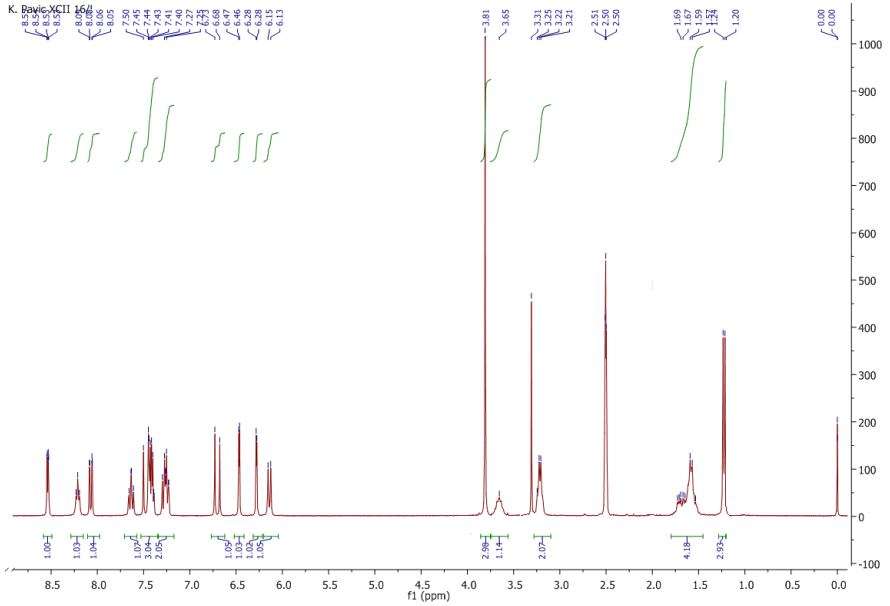

XCII_11_9
f1 (ppm)

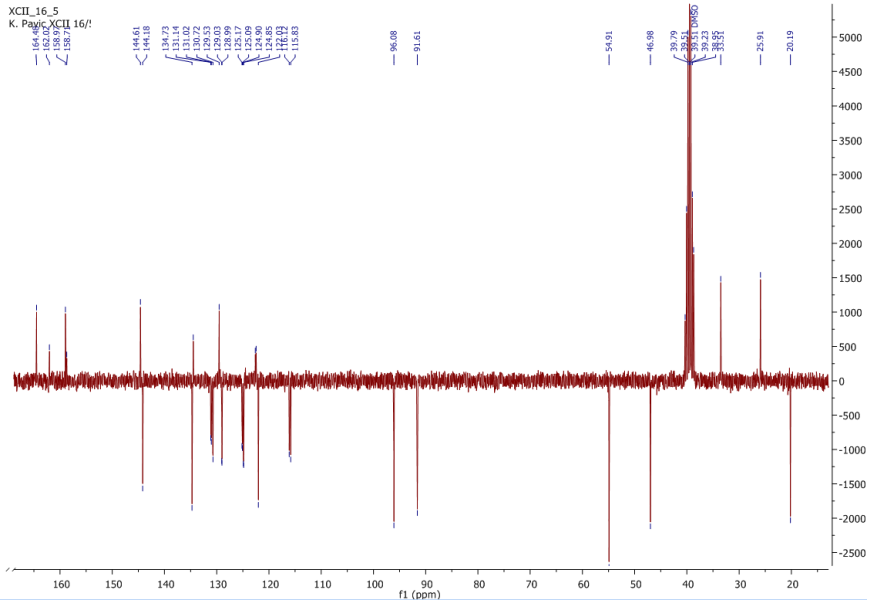

Wavelenght μm
%T
% Transmittance
Absorbance
Wavenumbers, cm-1
Read_IR3 - LSO
3356
3270
3078
2960
2858
1740
1654
1626
1596
1558
1486
1426
1387
1342
1226
1202
1168
1052
986
874
822
792
758
714
678
626
590
496
460

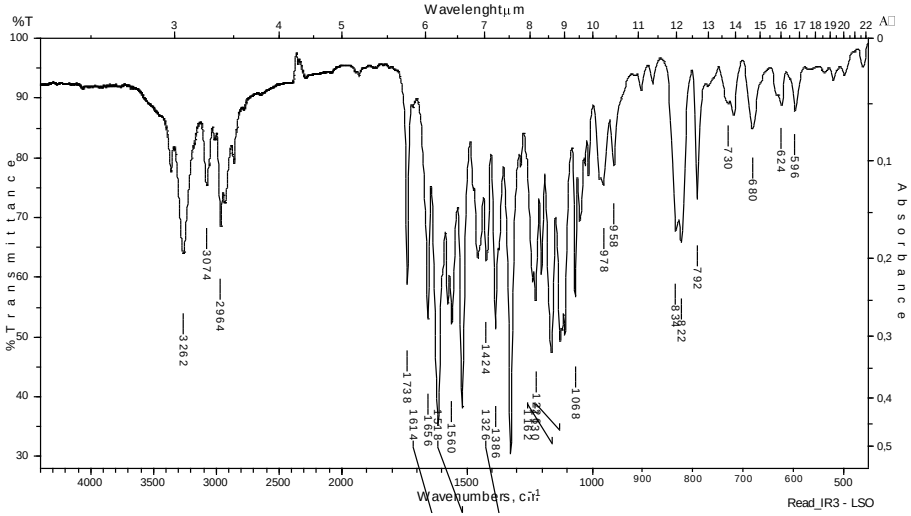

+ESI Scan:1 (0.140-0.911 min, 45 Scans) Frag=100.0V XCII 16_5.d Subtract
x10 6
408.1
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

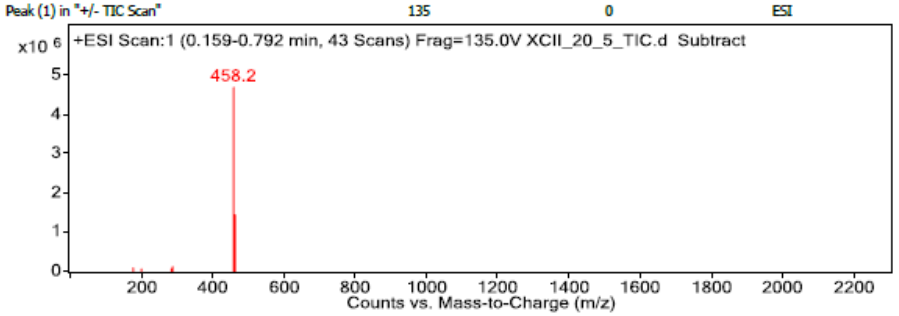

O
NH
N
H
N
O
F

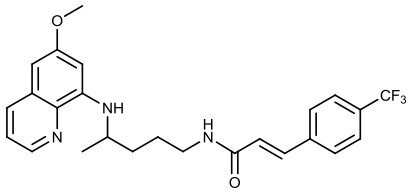
15h


K. Pavic XCII 16/2
f1 (ppm)

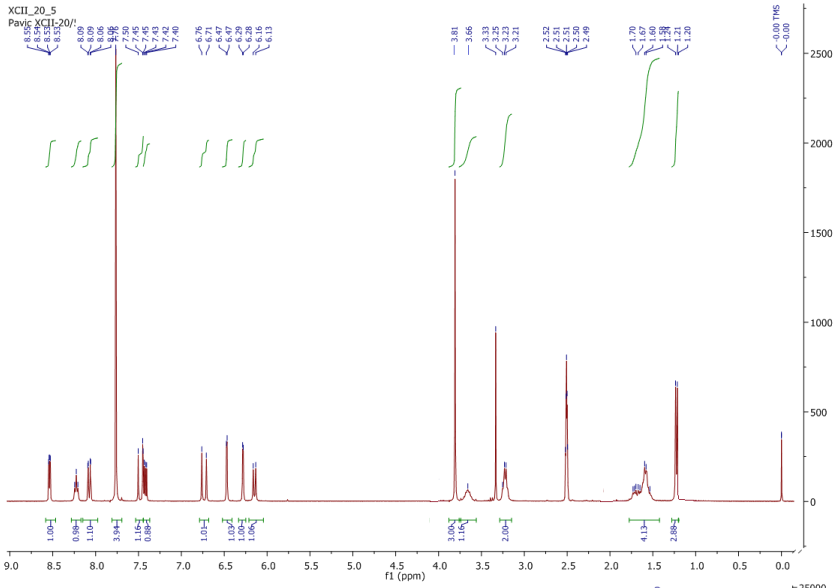

XCII_16_5
K. Pavic_XCII 16/1
f1 (ppm)

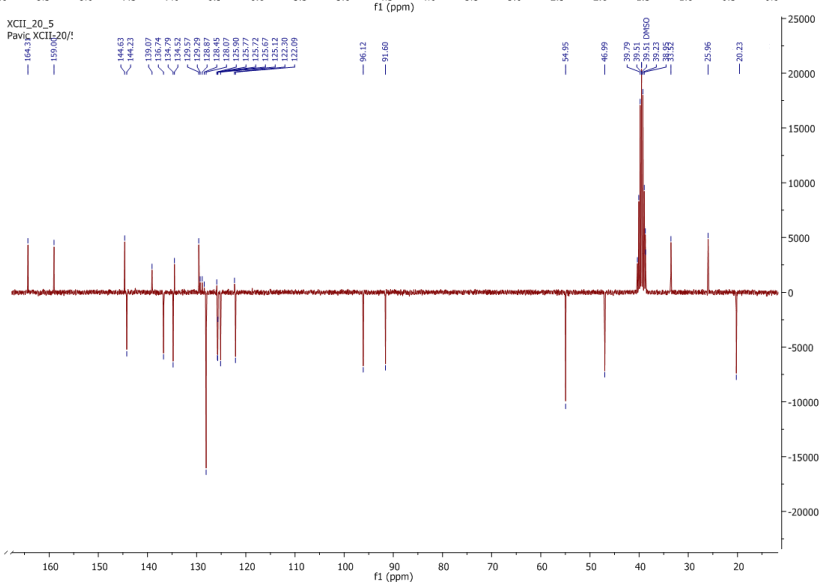

Wavelenght μm
%T
%Transmittance
Absorbance
Wavenumbers, cm-1
Read_IR3 - LSO
3262
3074
2964
1738
1614
1655
1518
1560
1424
1326
1386
1182
1068
978
958
834
822
792
730
680
624
596

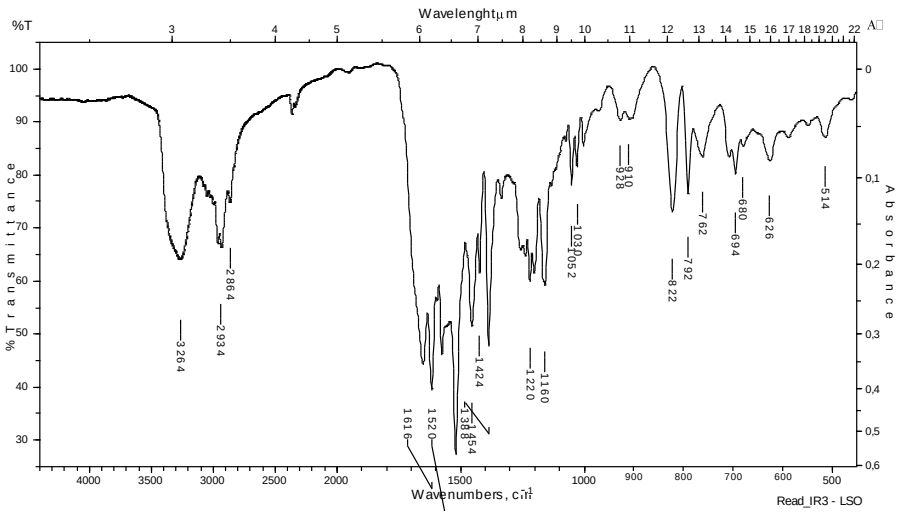

Peak (1) in "+/- TIC Scan"
135
0
ESI
+ESI Scan:1 (0.159-0.792 min, 43 Scans) Frag=135.0V XCII_20_5_TIC.d Subtract
x10 6
458.2
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

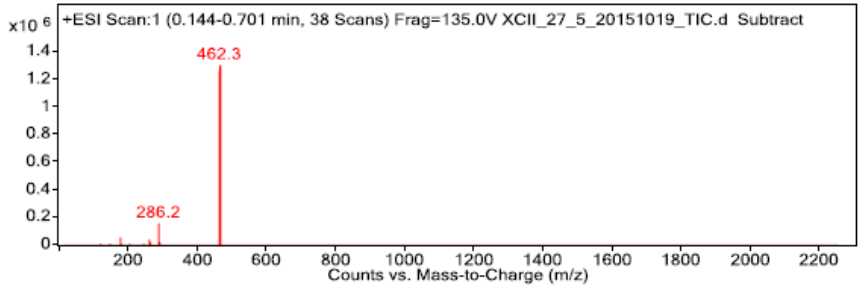

O
NH
N
H
N
O
CF3

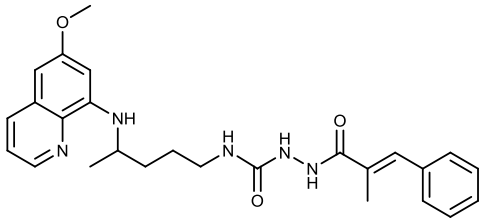
15j


XCII_20_5
Pavic XCII-20/
f1 (ppm)

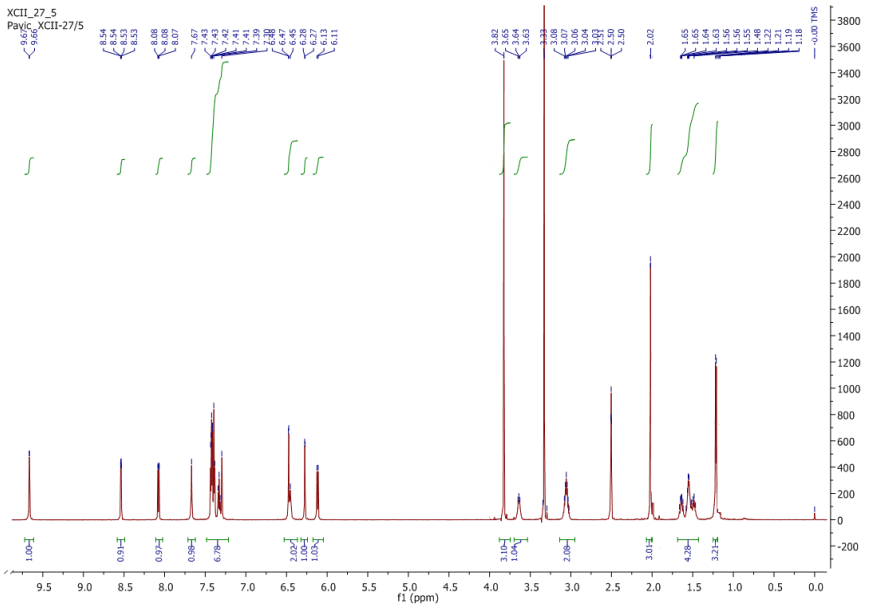

XCII_20_5
Pavic XCII-20/
f1 (ppm)

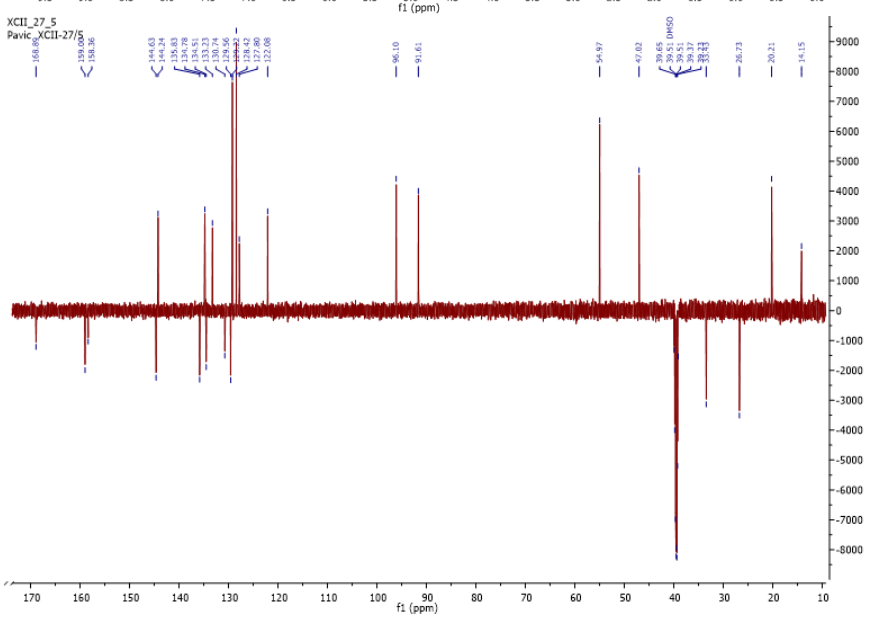

%T
Wavelenght μm
Transmittance
Absorbance
Wavenumbers, cm-1
Read_IR3 - LSO
3264
2934
2864
1616
1520
1454
1424
1220
1160
1052
1030
918
910
822
792
690
694
626
514

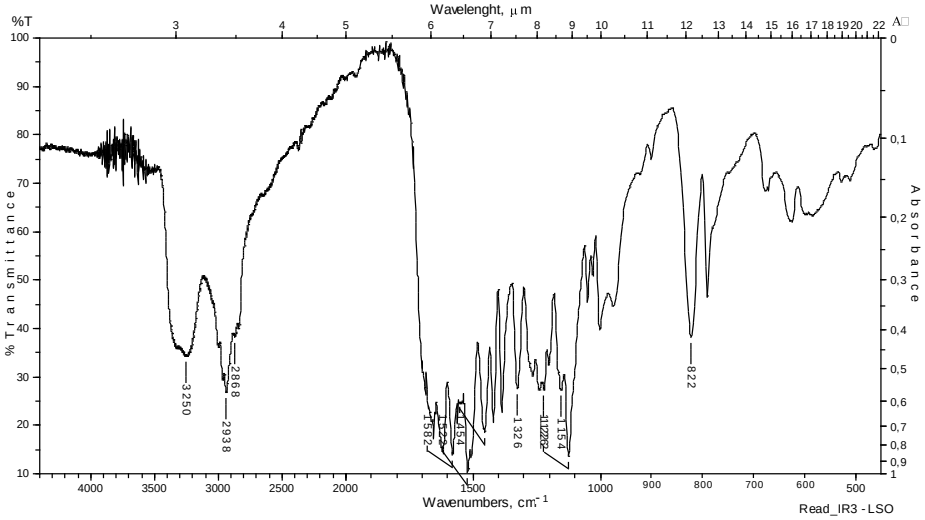

x10 6
+ESI Scan:1 (0.144-0.701 min, 38 Scans) Frag=135.0V XCII_27_5_20151019_TIC.d Subtract
462.3
286.2
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

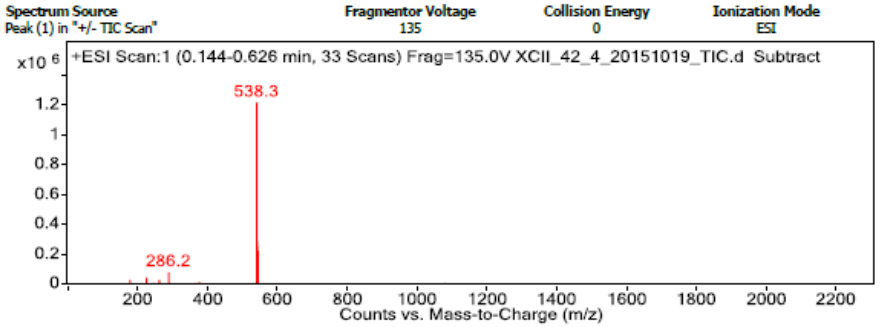

O
NH
N
H
N
O
H
N
N
H
O

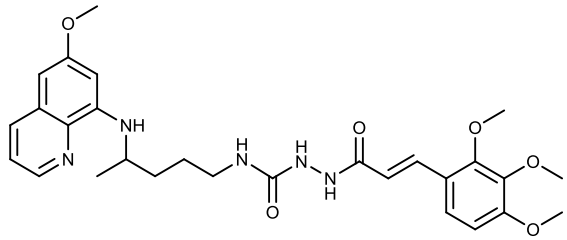
16b


XCII_27_5
Pavic_XCII-27/5
f1 (ppm)

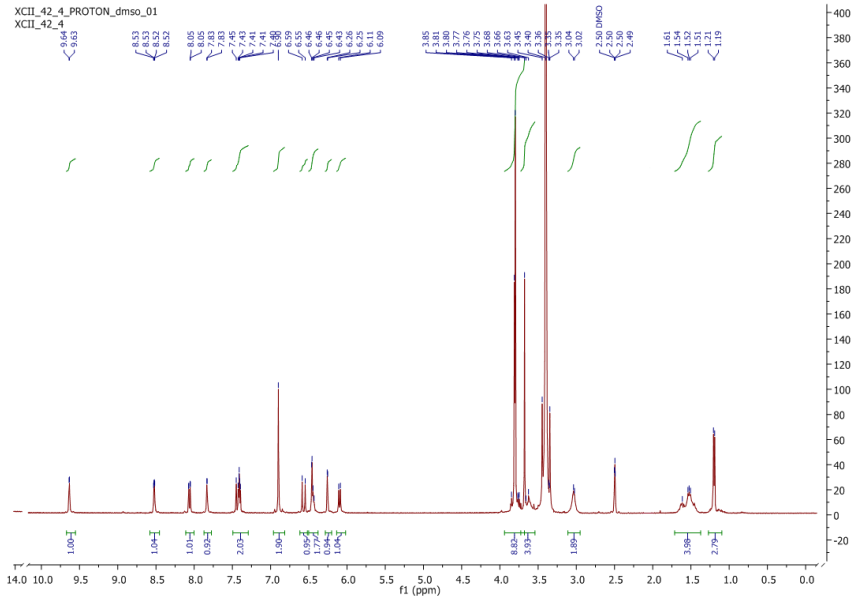

XCII_27_5
Pavic_XCII-27/5
f1 (ppm)

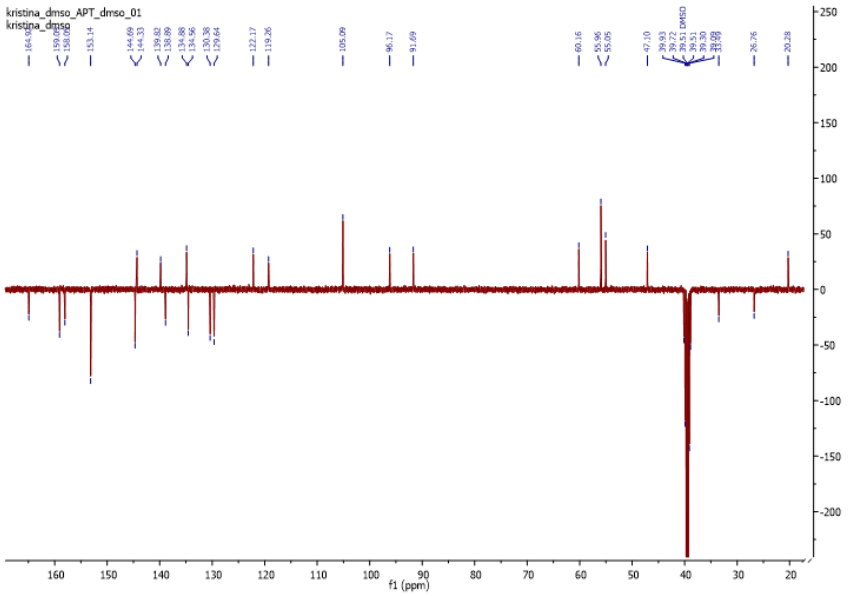

%T
Wavelenght, μm
% Transmittance
Absorbance
Wavenumbers, cm-1
3250
2869
2938
1582
1326
822
Read_IR3 - LSO

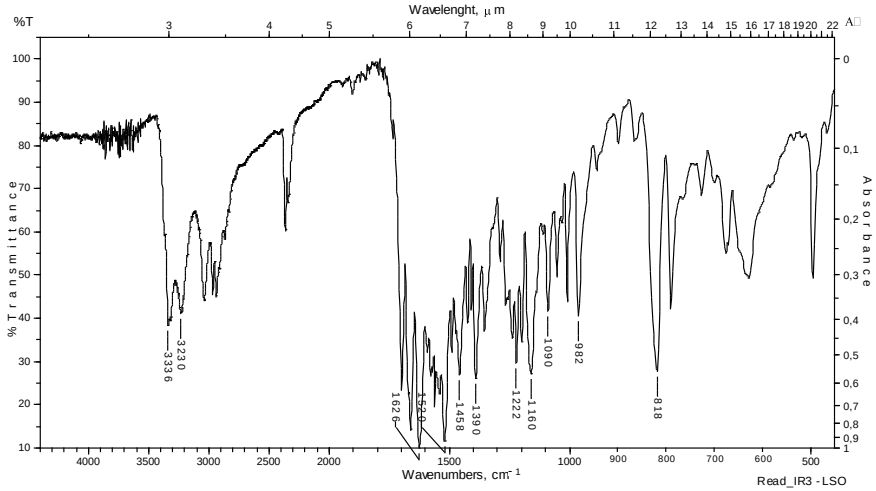

Spectrum Source
Peak (1) in "+/- TIC Scan"
Fragmentor Voltage
135
Collision Energy
0
Ionization Mode
ESI
+ESI Scan:1 (0.144-0.626 min, 33 Scans) Frag=135.0V XCII_42_4_20151019_TIC.d Subtract
538.3
286.2
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

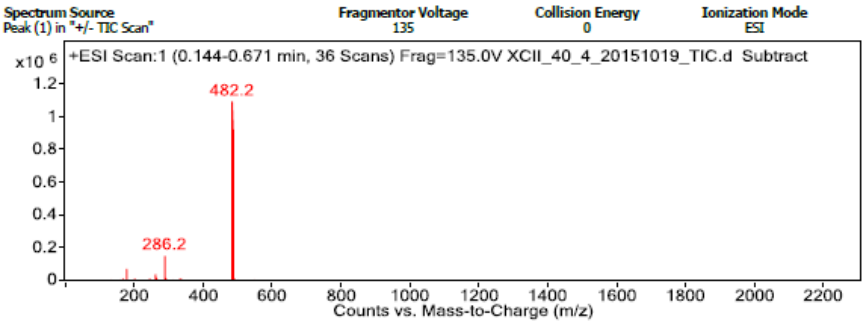


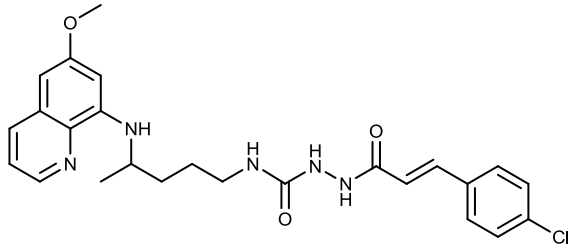
16e


XCII_42_4_PROTON_dmso_01
XCII_42_4
f1 (ppm)

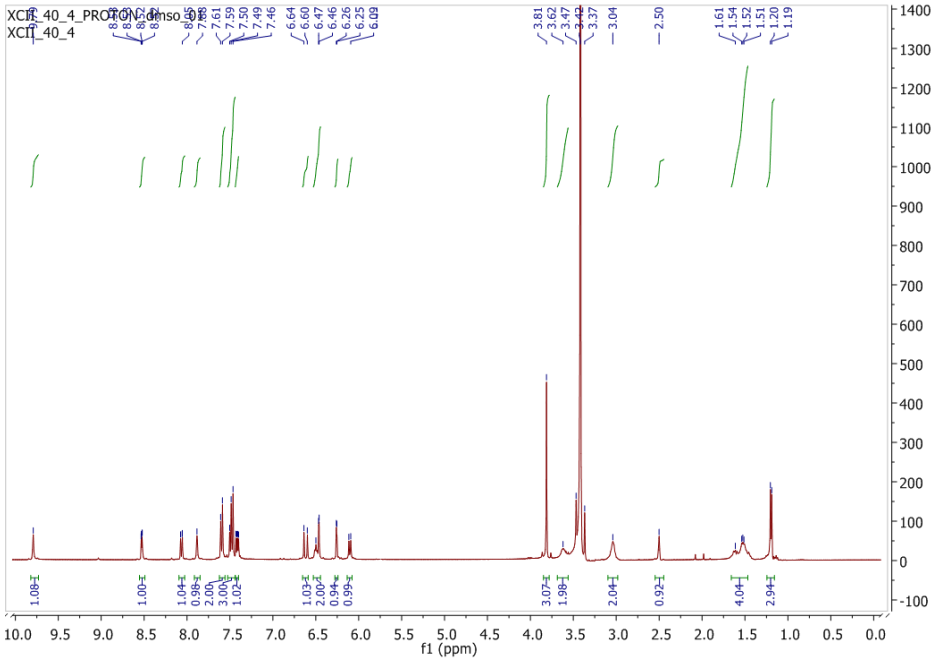

kristina_dmso_APT_dmso_01
kristina_dmso
f1 (ppm)

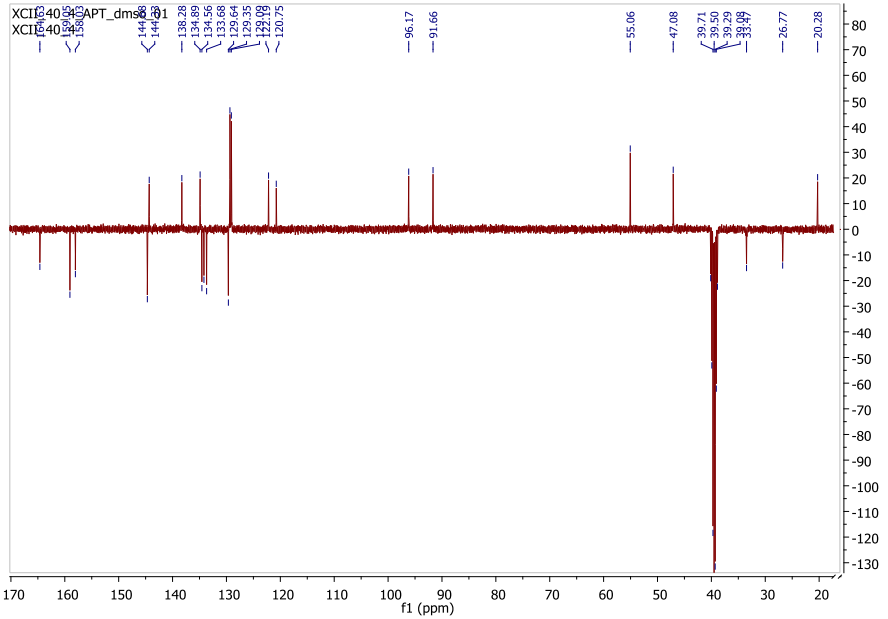

Wavelenght, μm
%T
% Transmittance
Absorbance
Wavenumbers, cm-1
Read_IR3 - LSO
3336
3230
1626
1520
1458
1390
1222
1160
1090
982
818

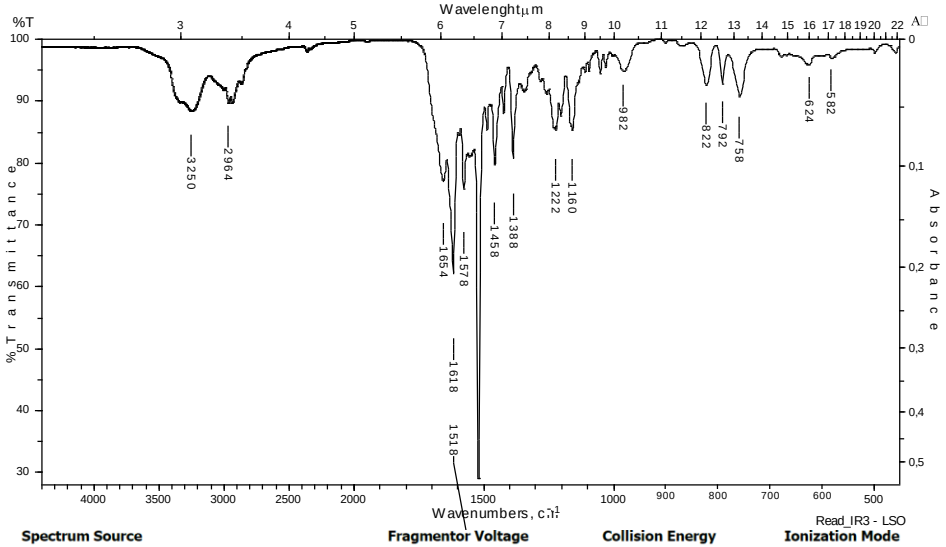

Spectrum Source
Peak (1) in "+/- TIC Scan"
Fragmentor Voltage
135
Collision Energy
0
Ionization Mode
ESI
+ESI Scan:1 (0.144-0.671 min, 36 Scans) Frag=135.0V XCII_40_4_20151019_TIC.d Subtract
x10 6
482.2
286.2
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

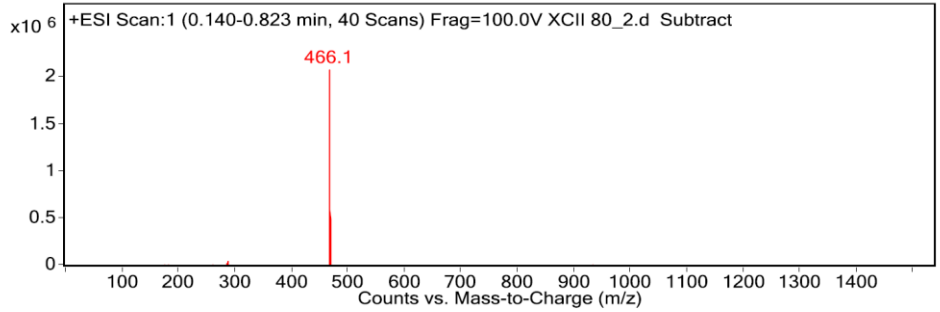

O
NH
N
H
N
H
N
O
O
Cl

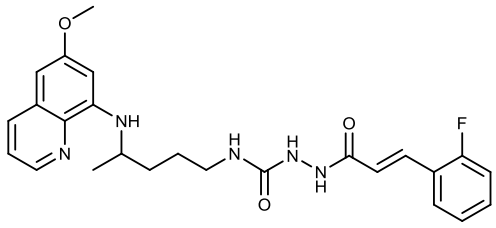
16g


XCII_40_4_PROTON_dmso
XCII_40_4
f1 (ppm)

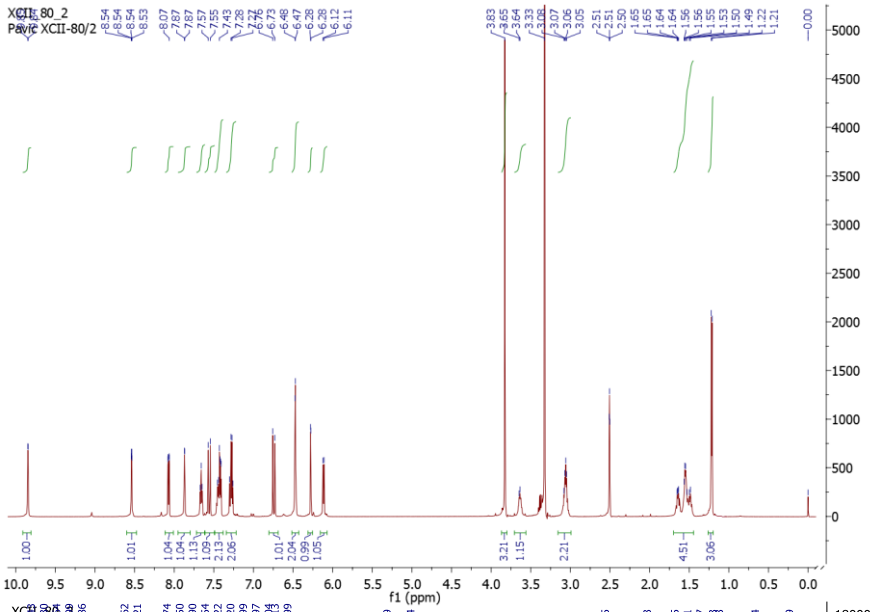

XCII_40_4_APT_dmso_01
XCII_40_4
f1 (ppm)

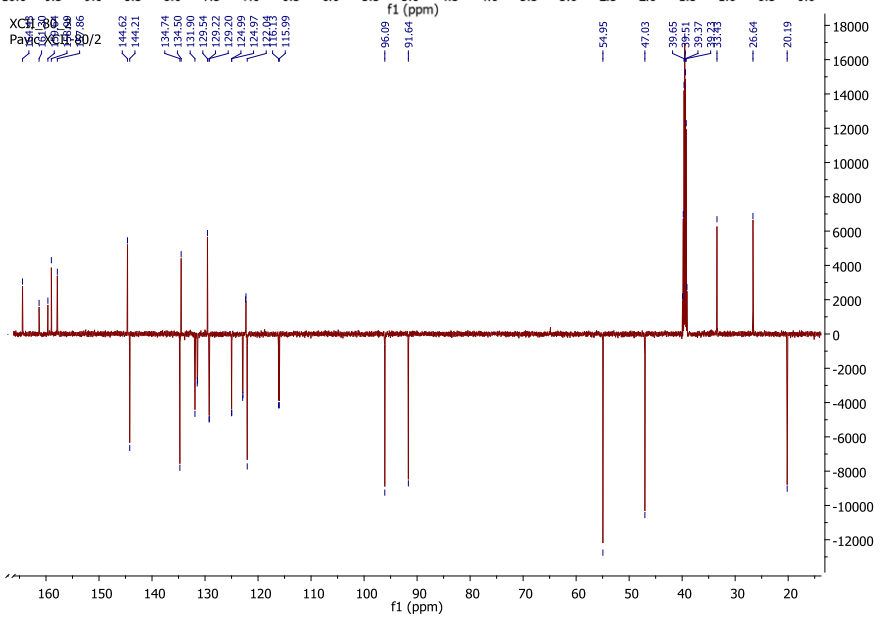

%T
Wavelenght μm
%Transmittance
Absorbance
Wavenumbers, cm-1
3250
2964
1654
1578
1458
1388
1222
1160
982
822
792
758
624
582
1618
1518
Spectrum Source
Peak (1) in "+/- TIC Scan"
Fragmentor Voltage
100
Collision Energy
0
Ionization Mode
ESI
Read_IR3 - LSO

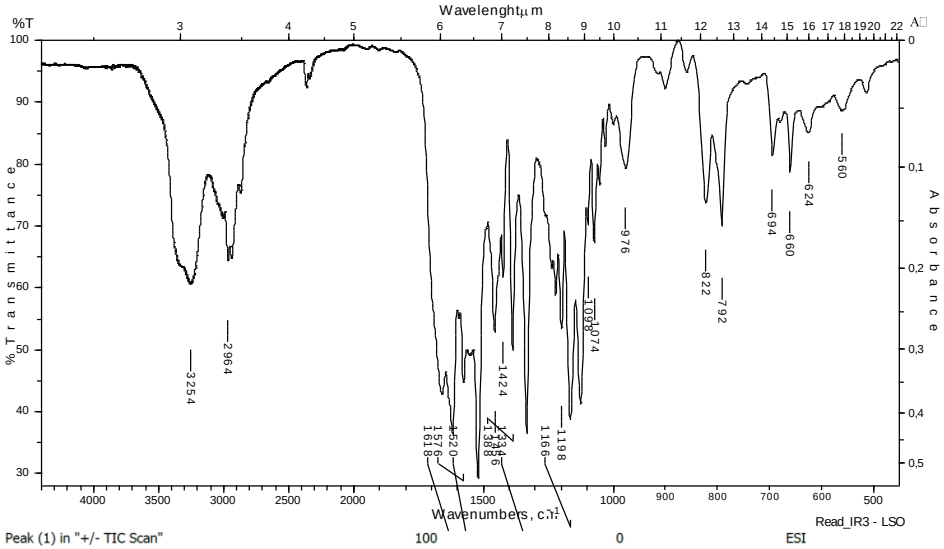

+ESI Scan:1 (0.140-0.823 min, 40 Scans) Frag=100.0V XCII 80_2.d Subtract
x10 6
466.1
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

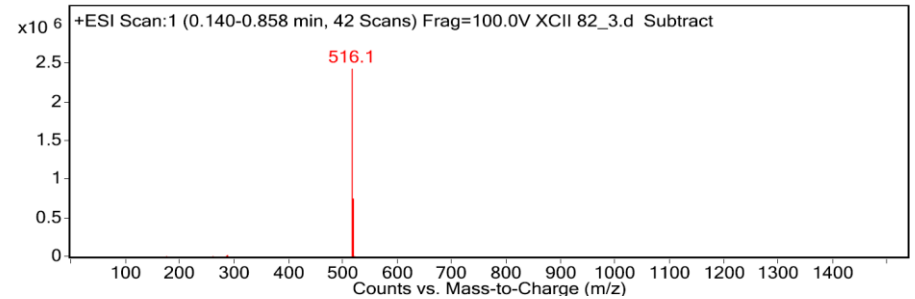

O
NH
N
H
N
O
H
N
N
O
F

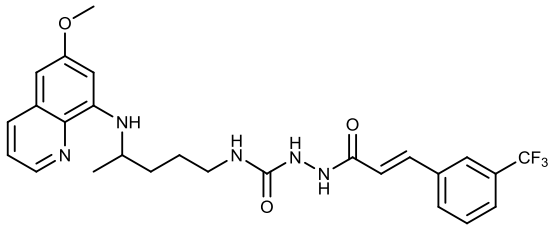
16h


XCII_80_2
Pavic XCII-80/2
f1 (ppm)

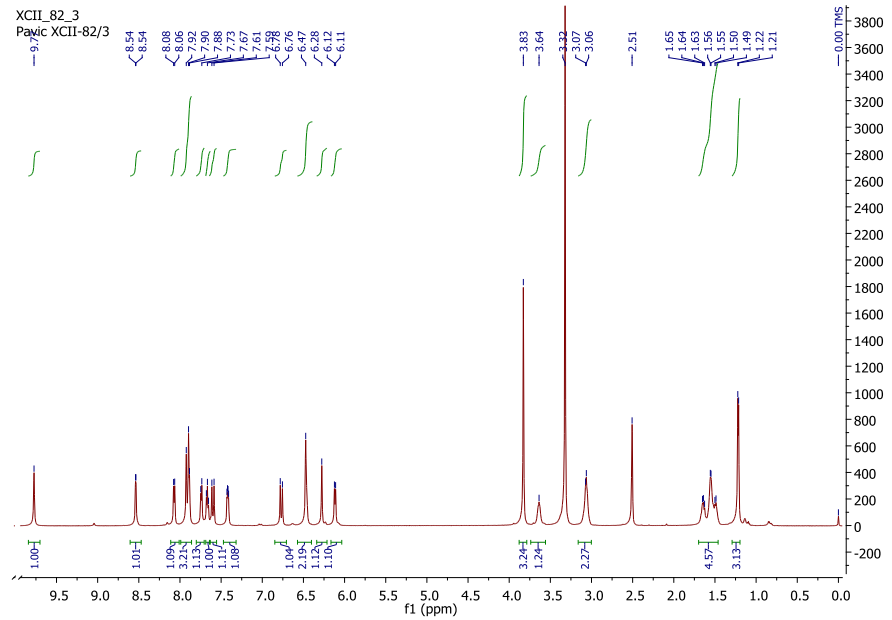

XCII_80
Pavic XCII-80/2
f1 (ppm)

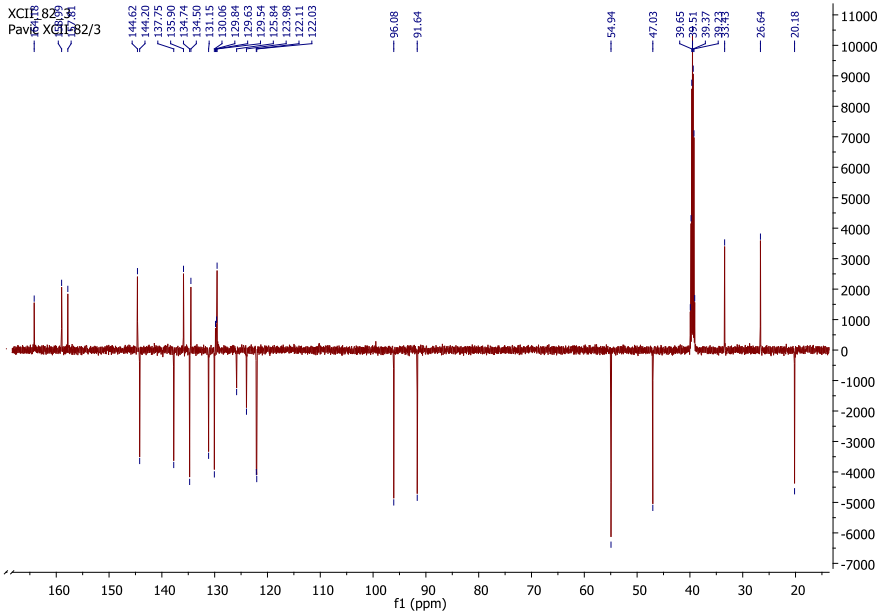

Wavelenght μm
%T
Transmittance %
Absorbance
Wavenumbers, cm-1
Read_IR3 - LSO
3254
2964
1424
1198
1166
976
822
792
694
660
624
560

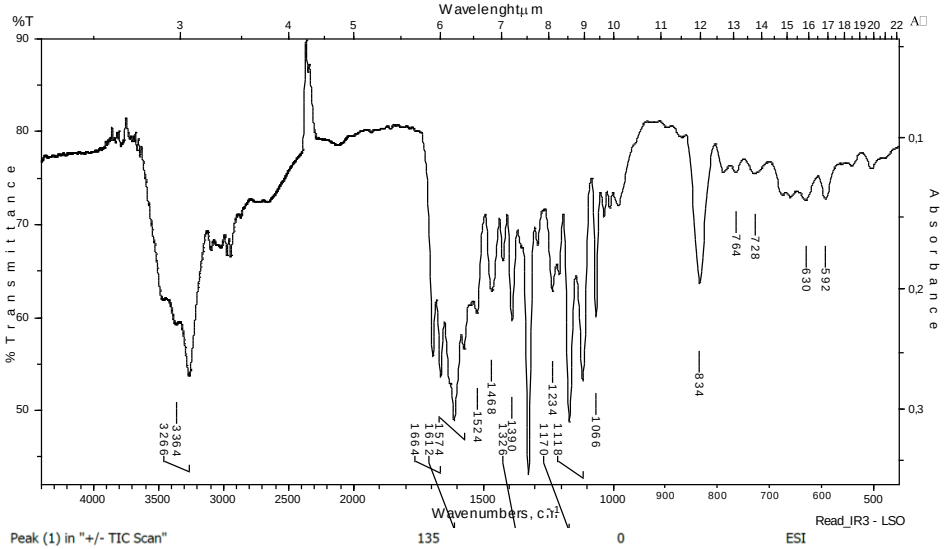

Peak (1) in "+/- TIC Scan"
100
0
ESI
+ESI Scan:1 (0.140-0.858 min, 42 Scans) Frag=100.0V XCII 82_3.d Subtract
x10 6
516.1
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

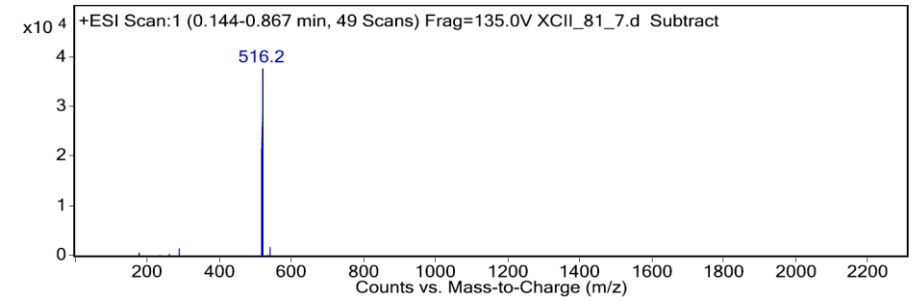

O
NH
N
H
N
H
N
N
H
O
O
CF3

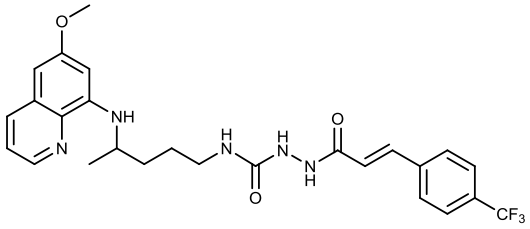
16i


XCII_82_3
Pavic XCII-82/3
TMS
f1 (ppm)

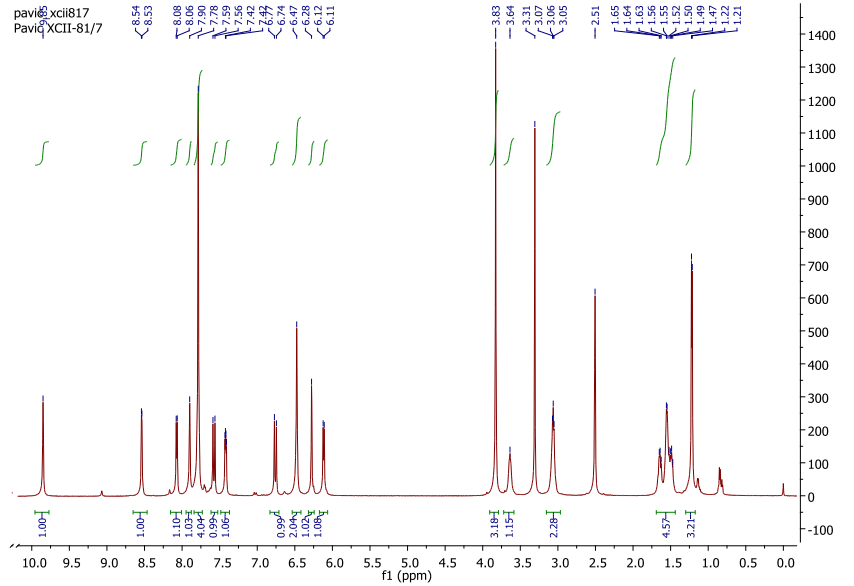

XCII_82_3
Pavic XCII-82/3
f1 (ppm)

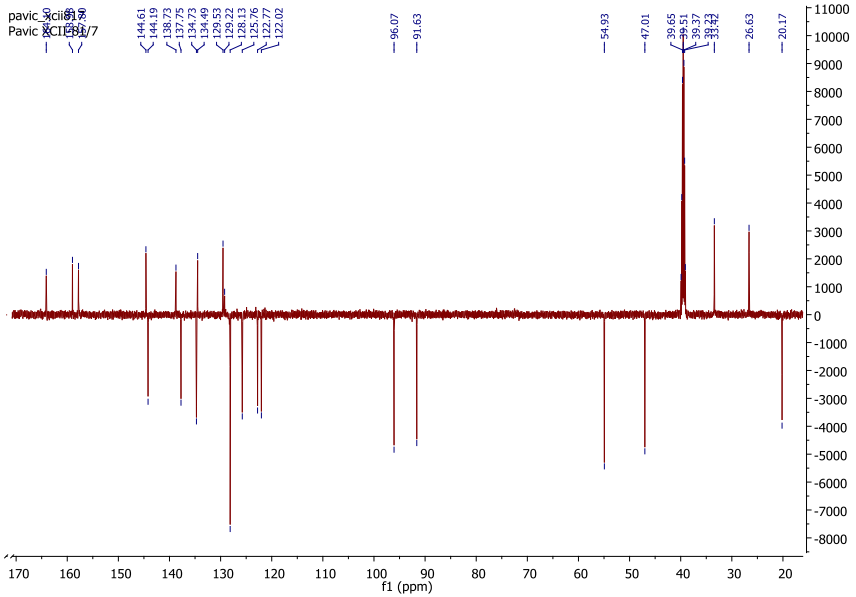

Wavelenghtμm
%T
% T r a n s m i t t a n c e
A b s o r b a n c e
Wavenumbers, cm-1
Read_IR3 - LSO
3364
3266
1664
1612
1574
1524
1468
1390
1326
1234
1170
1118
1066
834
764
728
630
592

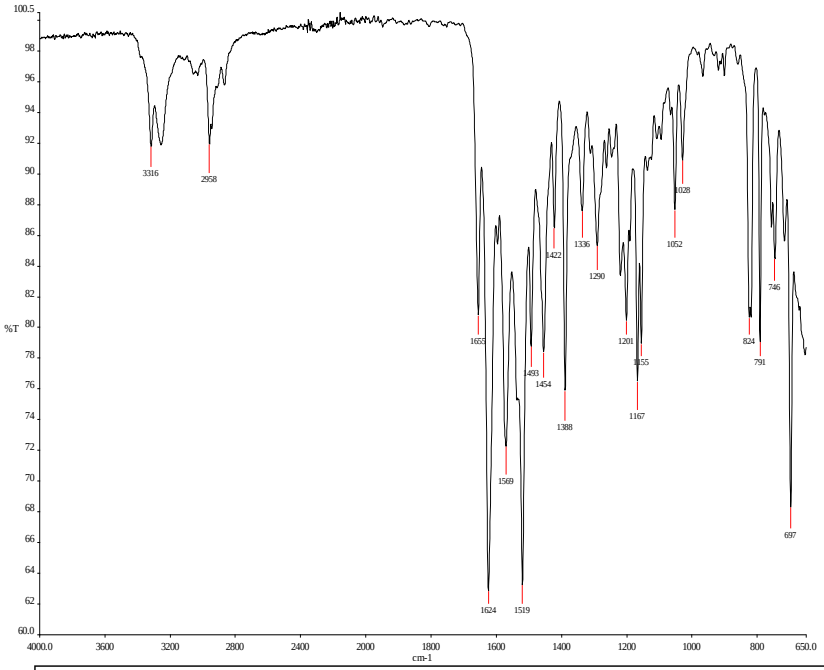

Peak (1) in "+/- TIC Scan"
135
0
ESI
x10 4
+ESI Scan:1 (0.144-0.867 min, 49 Scans) Frag=135.0V XCII_81_7.d Subtract
516.2
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

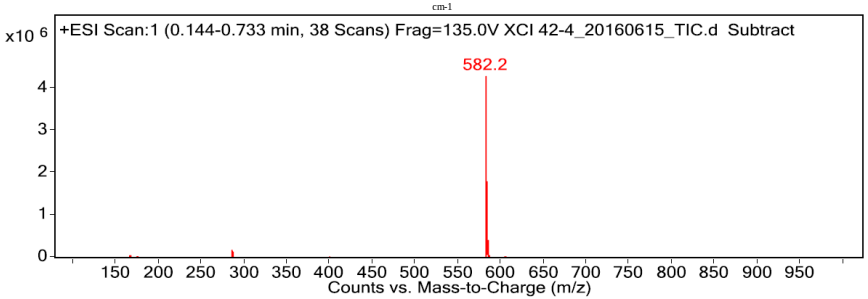

O
NH
N
H
N
O
H
N
N
H
O
CF3

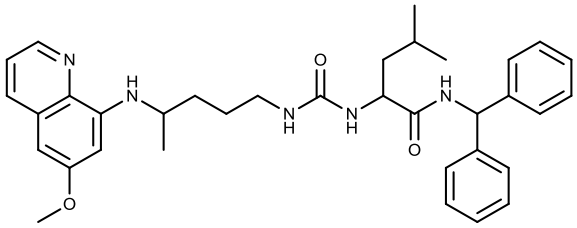
16j


pavic_xcii817
Pavic XCII-81/7
f1 (ppm)

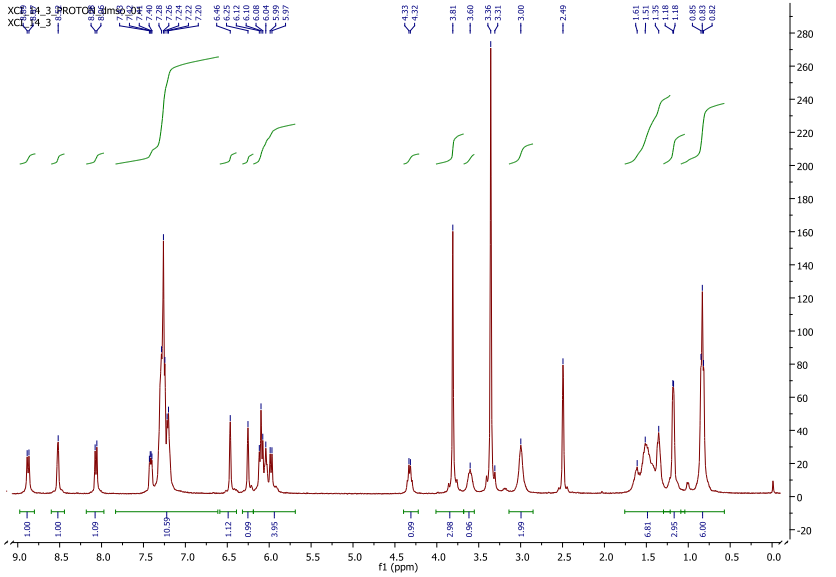

pavic_xcii817
Pavic XCII-81/7
f1 (ppm)

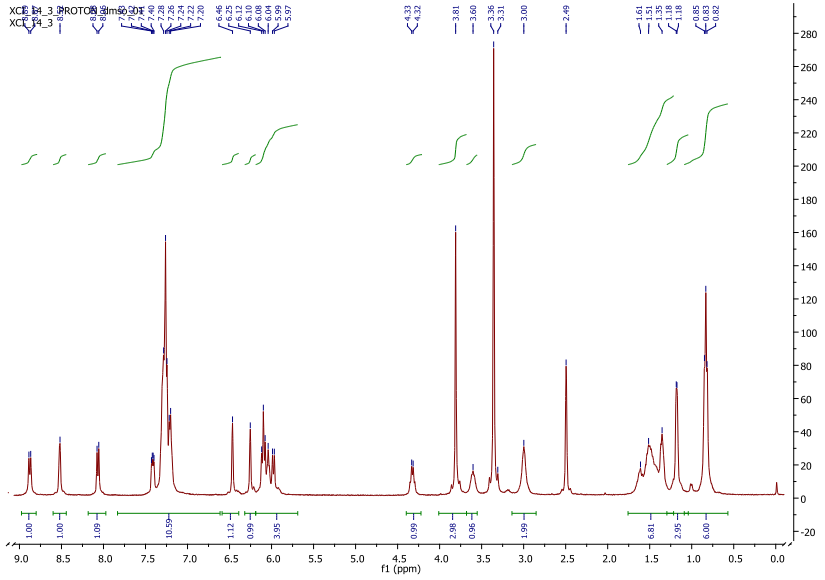

%T
cm-1
3316
2958
1653
1624
1569
1519
1493
1454
1422
1388
1336
1290
1201
1155
1167
1052
1028
824
791
746
697

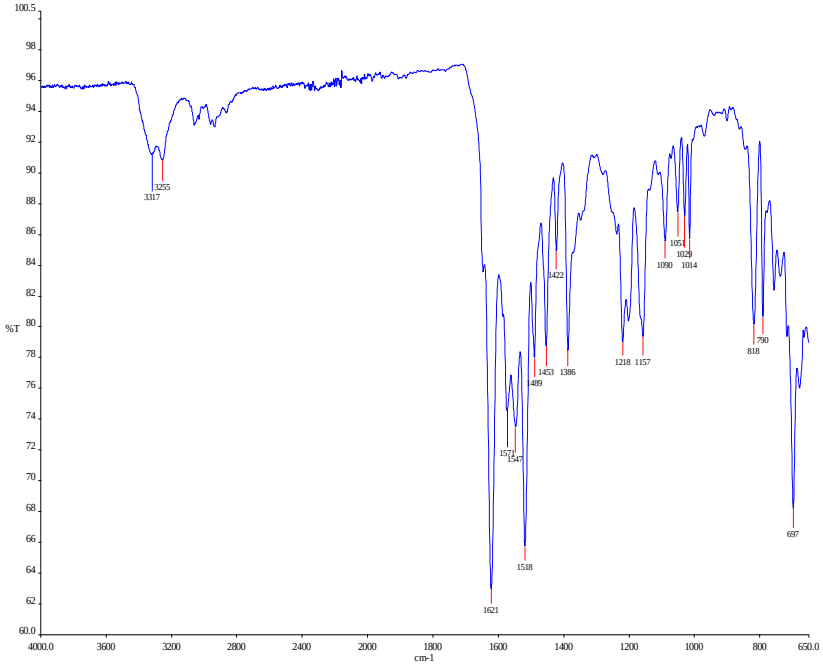

x10 6
+ESI Scan:1 (0.144-0.733 min, 38 Scans) Frag=135.0V XCI 42-4_20160615_TIC.d Subtract
582.2
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

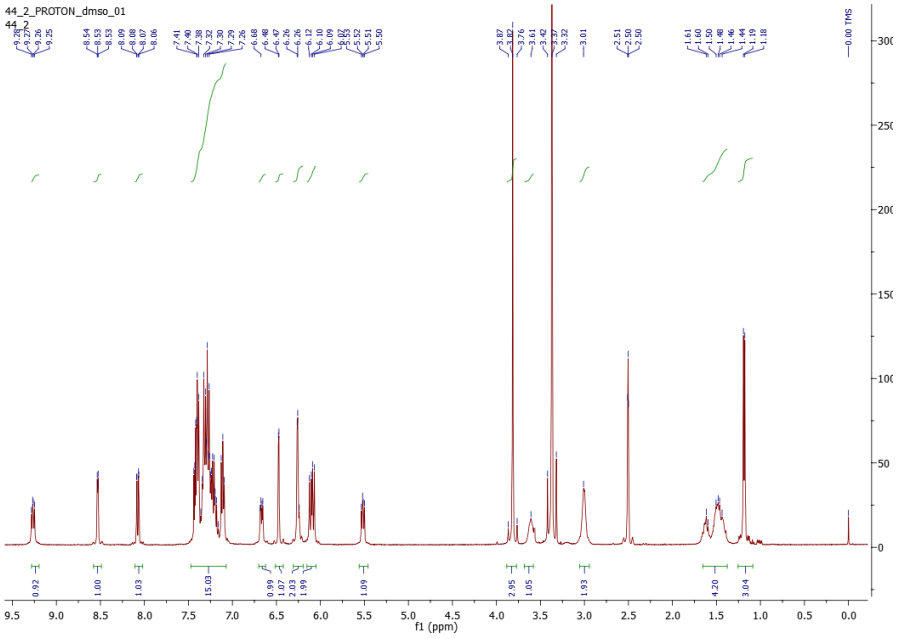


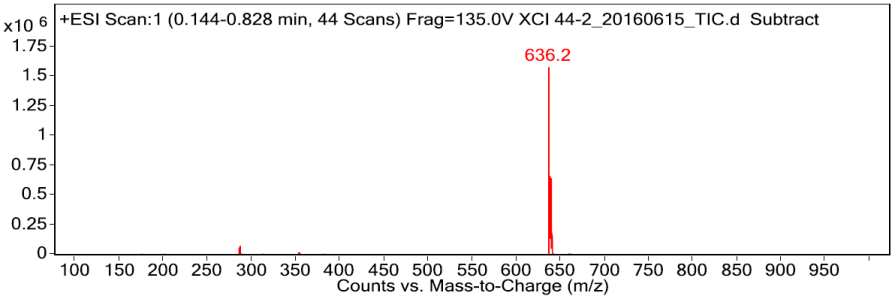
20a

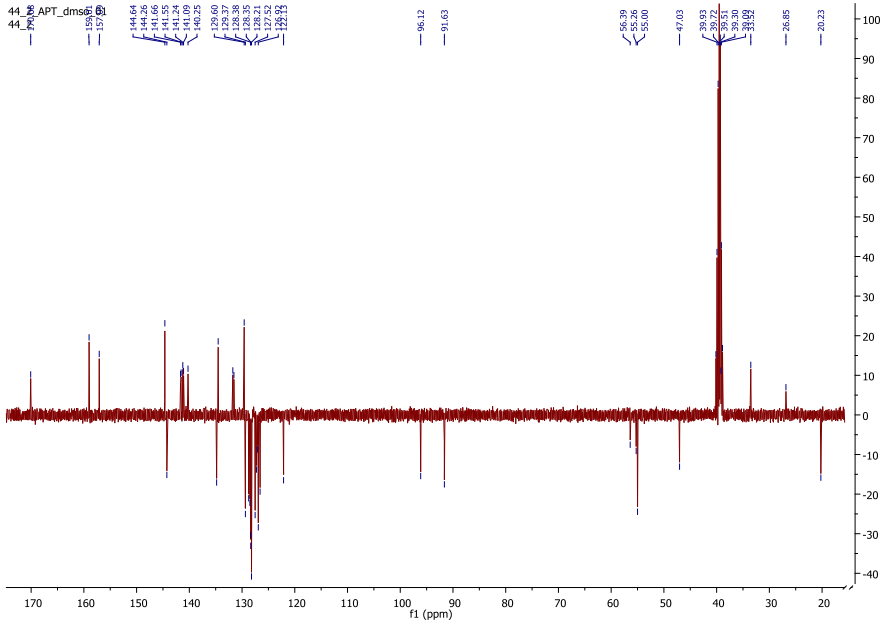

f1 (ppm)

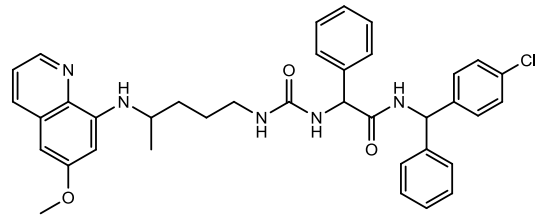

f1 (ppm)


%T
cm-1
3317
3255
1621
1547
1518
1489
1453
1422
1386
1218
1157
1090
1051
1029
1014
818
790
697

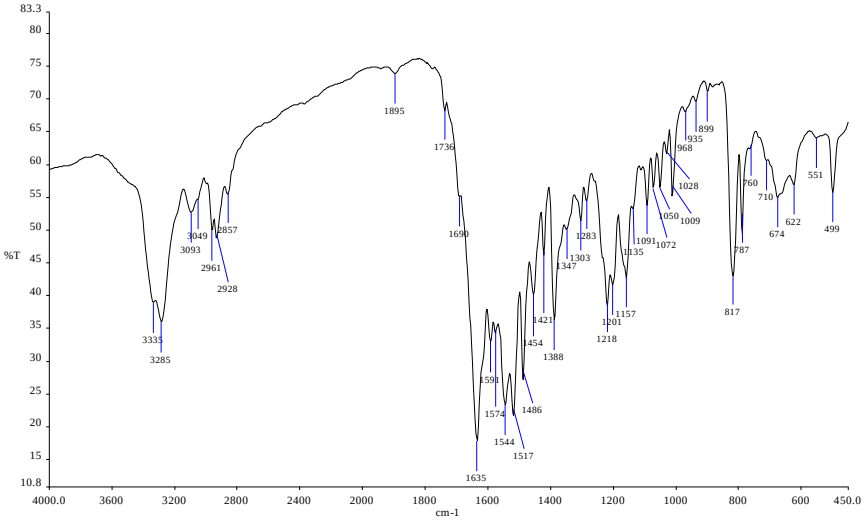

44_2_PROTON_dmso_01
44_2
f1 (ppm)

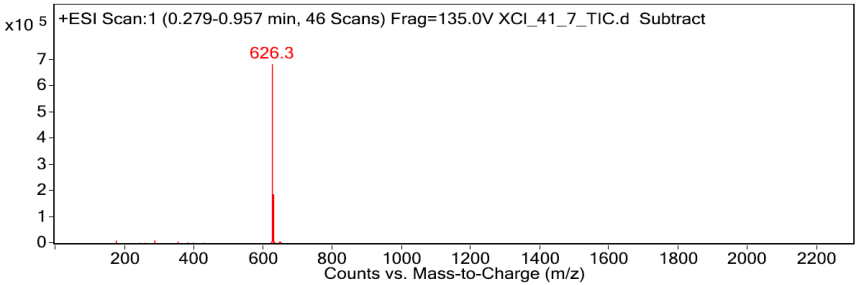

+ESI Scan:1 (0.144-0.828 min, 44 Scans) Frag=135.0V XCI 44-2_20160615_TIC.d Subtract
x10 6
636.2
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

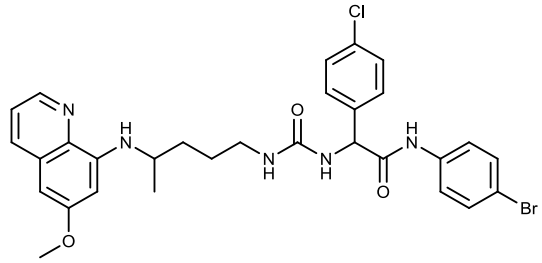

44_2_APT_dmso_01
f1 (ppm)


N
H
N
O
N
H
N
H
O
H
N
Cl
O

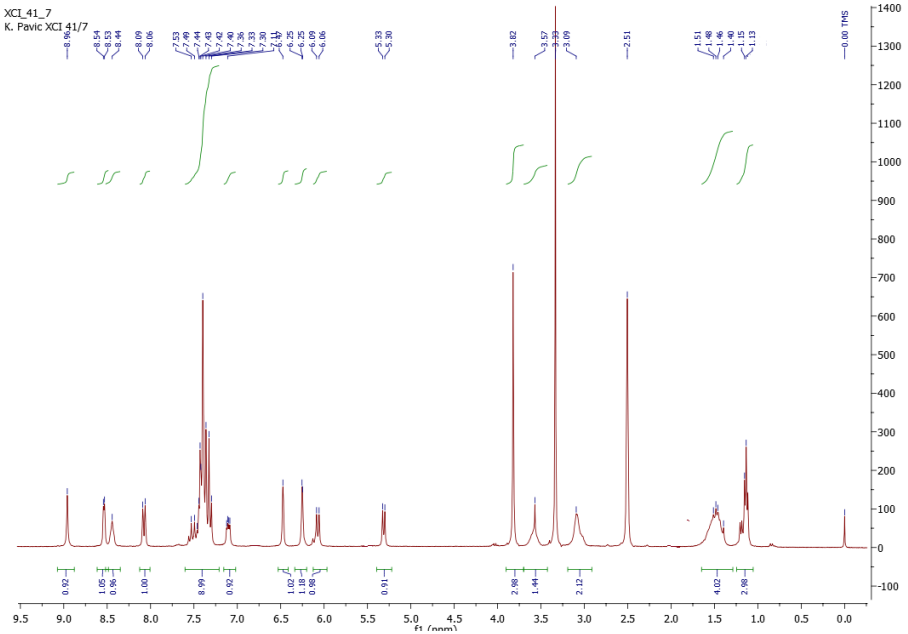
20c

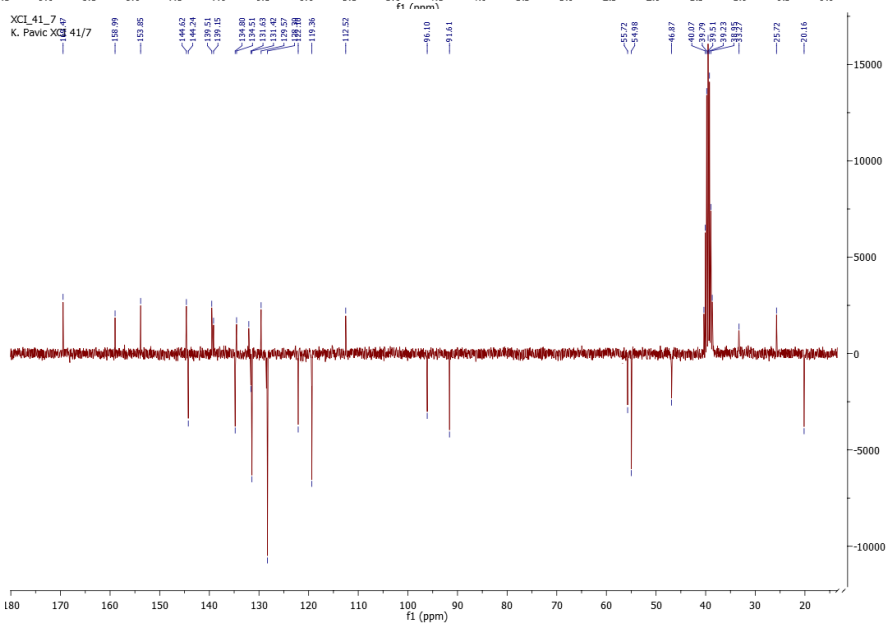

%T
cm-1
4000.0
3600
3200
2800
2400
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
450.0
3335
3285
3093
3049
2961
2928
2857
1895
1736
1690
1635
1598
1574
1544
1517
1486
1454
1421
1388
1347
1303
1283
1218
1201
1157
1135
1091
1072
1050
1028
1009
968
935
899
817
787
760
710
674
622
551
499

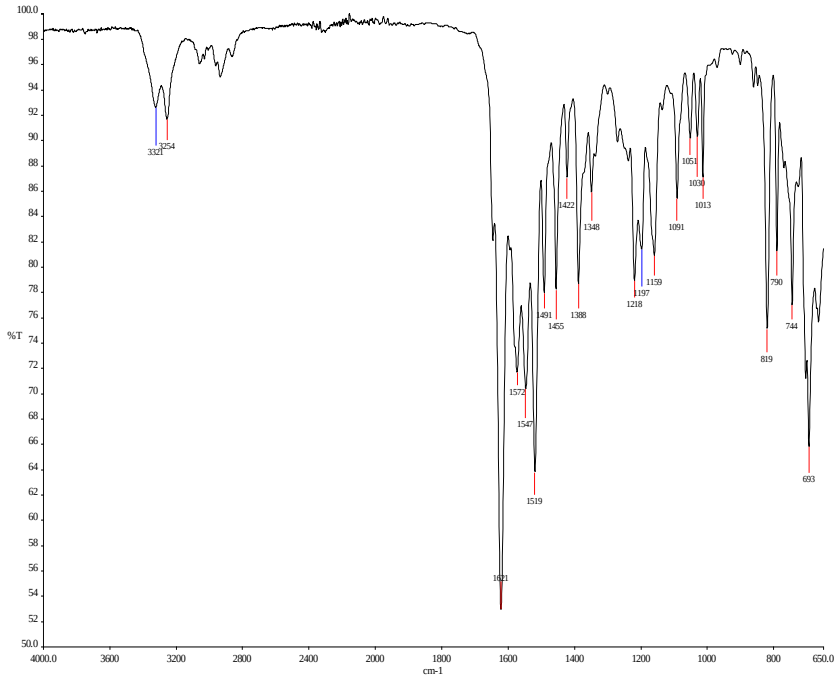

x10 5
+ESI Scan:1 (0.279-0.957 min, 46 Scans) Frag=135.0V XCI_41_7_TIC.d Subtract
626.3
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

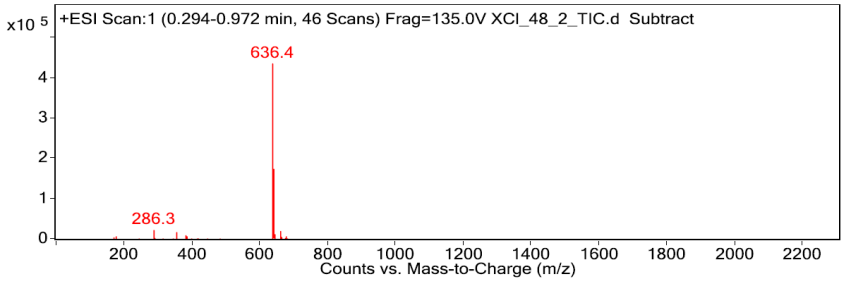

Cl
N
H
N
O
N
H
N
H
O
Br
O

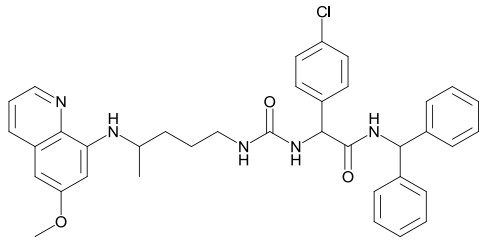
20d


XCI_41_7
K. Pavic XCI 41/7
f1 (ppm)

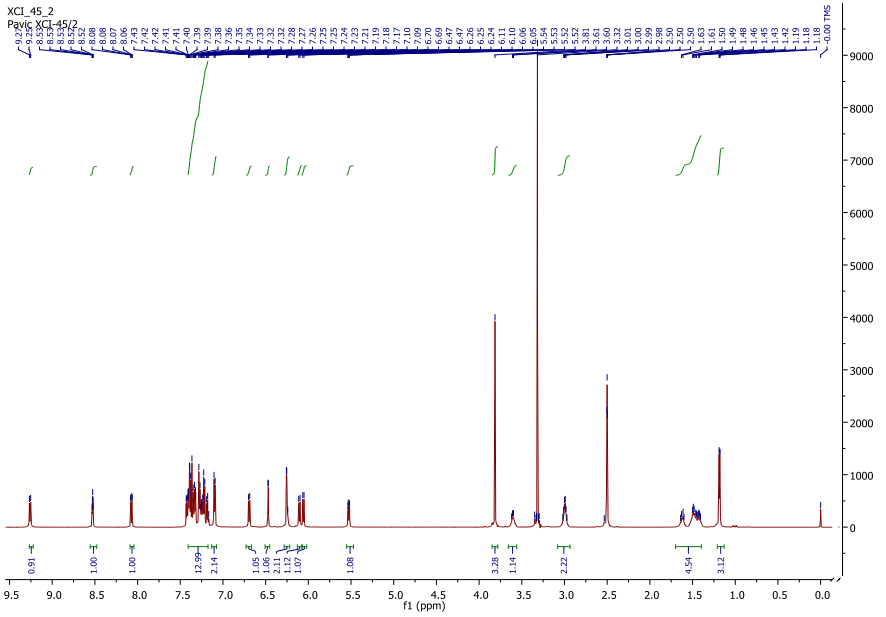

XCI_41_7
K. Pavic XCI 41/7
f1 (ppm)

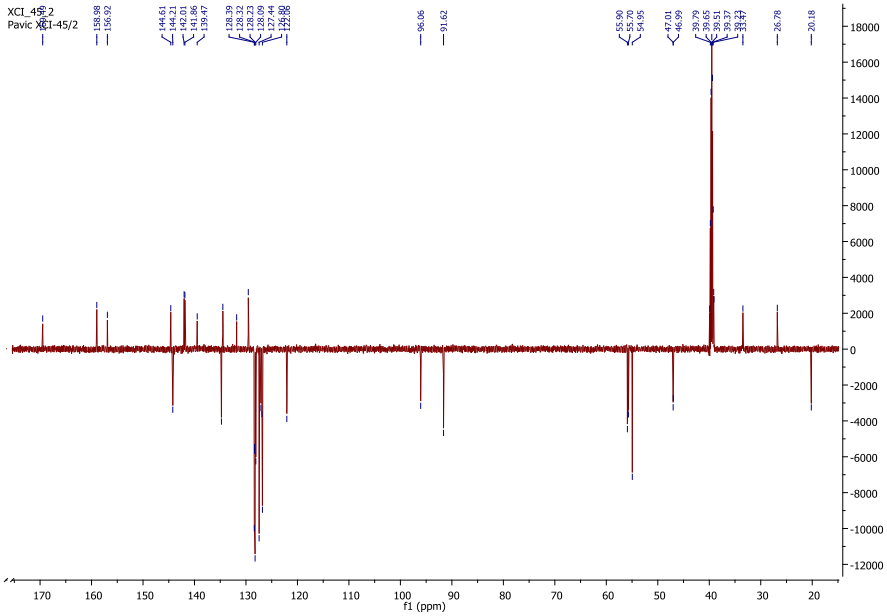

%T
cm-1
3321
3254
1621
1572
1547
1519
1491
1455
1422
1388
1348
1218
1197
1159
1091
1051
1030
1013
819
790
744
693

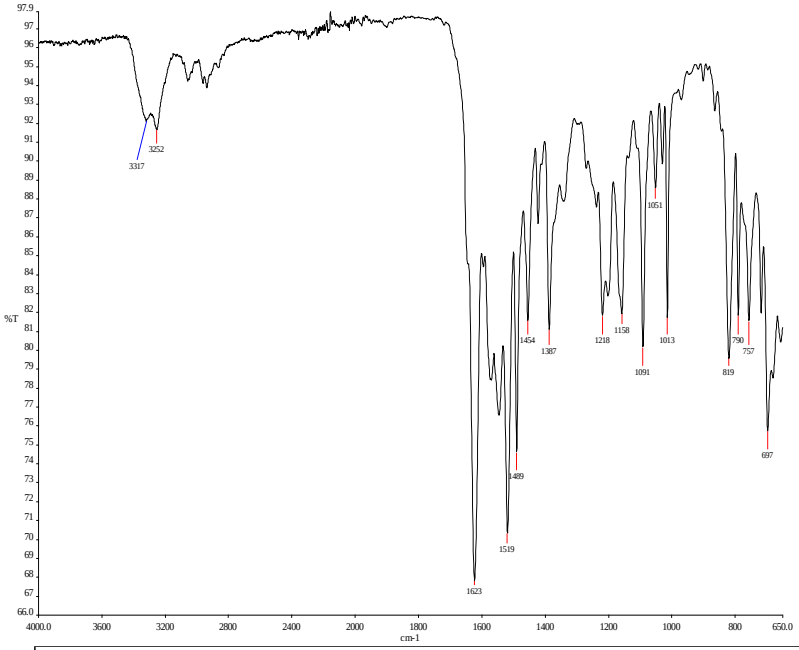

+ESI Scan:1 (0.294-0.972 min, 46 Scans) Frag=135.0V XCI_48_2_TIC.d Subtract
x10 5
636.4
286.3
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

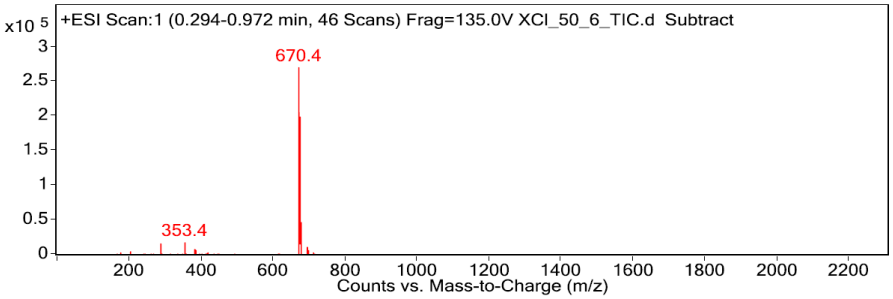

Cl
N
H
N
O
N
H
N
H
O
O

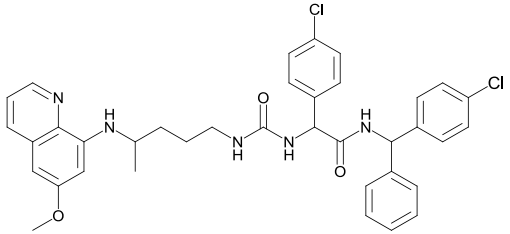
20e


XCI_45_2
Pavic XCI-45/2
f1 (ppm)

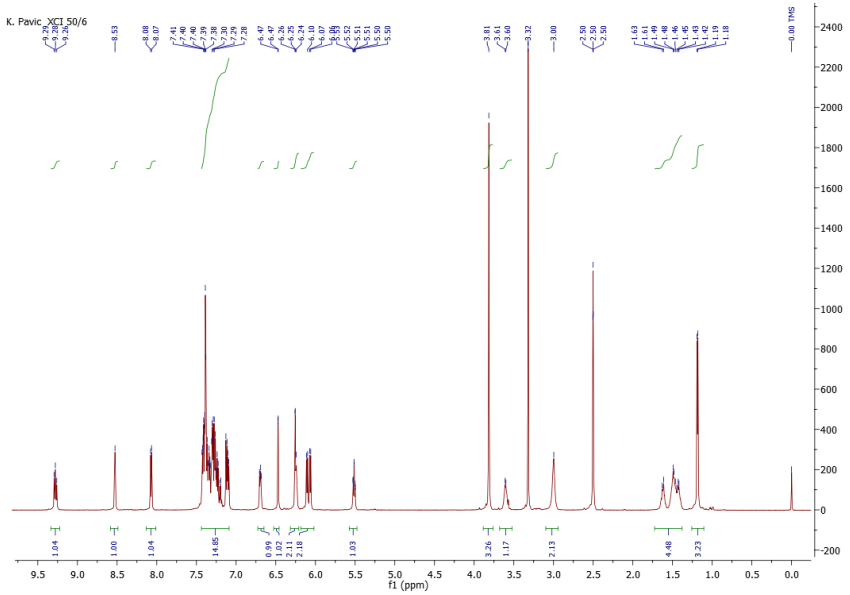

XCI_45_2
Pavic XCI-45/2
f1 (ppm)

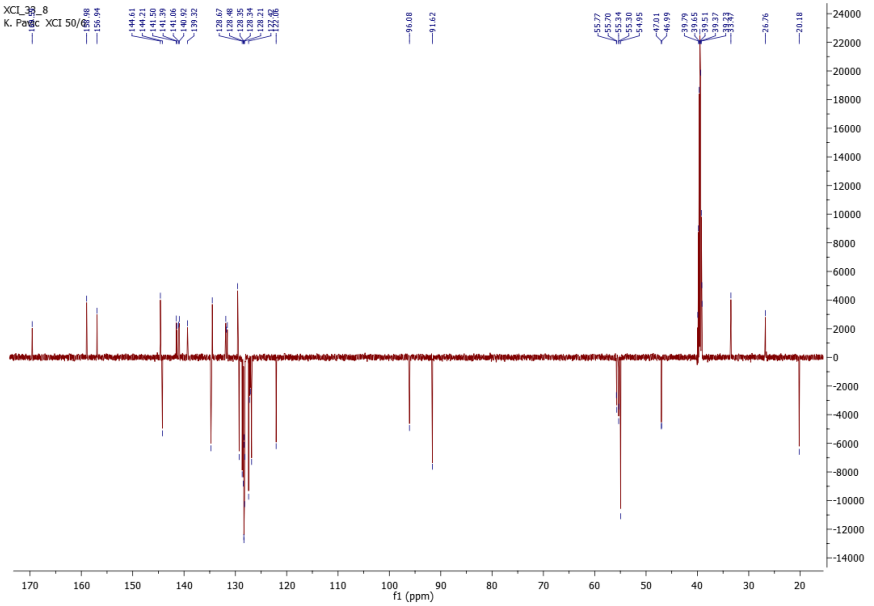

%T
cm-1
3317
3252
1623
1519
1489
1454
1387
1218
1158
1091
1051
1013
819
790
757
697


x10 5
+ESI Scan:1 (0.294-0.972 min, 46 Scans) Frag=135.0V XCl_50_6_TIC.d Subtract
670.4
353.4
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)


Cl
Cl
N
H
N
O
N
H
N
H
O
O

20f


K. Pavic XCl 50/6
f1 (ppm)


XCl_38_8
K. Pavic XCl 50/6
f1 (ppm)

PRILOG B

Prilog sadrži dva znanstvena rada objavljena u časopisima zastupljenim u bazi Current Contents koji obrađuju problematiku iznesenu u ovom doktorskom radu:

1. **Pavić K**, Perković I, Cindrić M, Pranjić M, Martin-Kleiner I, Kralj M, Schols D, Hadjipavlou-Litina D, Katsori AM, Zorc B. Novel semicarbazides and ureas of primaquine with bulky aryl or hydroxyalkyl substituents : Synthesis, cytostatic and antioxidative activity. *Eur J Med Chem,* 2014, 86, 502–514.

2. **Pavić K**, Perković I, Gilja P, Kozlina F, Ester K, Kralj M, Schols D, Hadjipavlou- Litina D, Pontiki E, Zorc B. Design, synthesis and biological evaluation of novel primaquine-cinnamic acid conjugates of the amide and acylsemicarbazide type. *Molecules,* 2016, 21, 1629–1653.