

Sinteza i spektroskopska karakterizacija novih N-supstituiranih derivata benzimidazola

Beč, Anja

Master's thesis / Diplomski rad

2018

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:795330>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-04**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Anja Beč

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Anja Beč

Sinteza i spektroskopska karakterizacija novih
***N*-supstituiranih derivata benzimidazola**

DIPLOMSKI RAD

Voditelj rada: prof. dr. sc. Marijana Hranjec, FKIT

Članovi povjerenstva: prof. dr. sc. Marijana Hranjec, FKIT

dr. sc. Nataša Perin, poslijedoktorandica FKIT-a

prof. dr. sc. Dragana Mutavdžić Pavlović, FKIT

Zagreb, rujan 2018.

Zahvaljujem svojoj mentorici, prof. dr. sc. Marijani Hranjec, na predloženoj temi, uloženom vremenu kao i savjetima i pomoći koju mi je pružila tijekom izrade i pisanja ovog rada.

Zahvaljujem dr. sc. Nataši Perin, neposrednoj voditeljici, na ukazanom strpljenju, stručnom vodstvu i brojnim smjernicama tijekom izrade i pisanja ovog rada.

Također zahvaljujem svim članovima Zavoda za organsku kemiju, Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije na ugodnom radnom okruženju.

Najveća zahvala mojim roditeljima, djedu i baki za razumijevanje i potporu tijekom cijelog školovanja.

SAŽETAK

U okviru ovog rada provedena je sinteza novih i potencijalno biološki aktivnih *N*-supstituiranih derivata benzimidazola **12–14** i **31–43** te 2-benzimidazolil supstituiranog akrilonitrila **49**. Novi spojevi priređeni su klasičnim reakcijama organske sinteze kao i sintezama potpomognutim mikrovalnim zračenjem.

Višestupnjevitom linearnom sintezom priređeni su glavni prekursori, *N*-supstituirani derivati 5-cijano-2-cijanometilbenzimidazola **8–10**, *N*-supstituirani derivati 2-cijanometilbenzimidazola **20–22** te 2-cijanometil-5(6)-piperidinilbenzimidazol **47**. Derivati akrilonitrila s cijano grupom na benzimidazolskoj jezgri **12–14** priređeni su aldolnom kondenzacijom *N*-supstituiranih derivata 5-cijano-2-cijanometilbenzimidazola **8–10** s 4-*N,N*-dimetilamino-benzaldehidom **11**. Spojevi **13** i **14** izolirani su kao *E*-izomeri dok je spoj **12** dobiven kao smjesa geometrijskih izomera u omjeru 1 (**12b**): 3 (**12a**). Derivati akrilonitrila **31–43** priređeni su reakcijama aldolne kondenzacije *N*-supstituiranih derivata 2-cijanometilbenzimidazola **20–22** s odgovarajućim aromatskim i heteroaromatskim aldehidima **23–30**. Akrilonitrili **32** i **34–43** su izolirani kao *E*-izomeri, dok su spojevi **31** i **33** dobiveni kao smjesa geometrijskih izomera u omjeru 1 (**31b**): 2 (**31a**) i 1 (**33b**): 5 (**33a**). Piperidinil-supstituirani derivat akrilonitrila **49** priređen je reakcijom aldolne kondenzacije između 2-cijanometil-5(6)-piperidinilbenzimidazola i 4-dimetilaminobenzaldehida u obliku tautomera **49a** i **49b**.

Struktura svih novopriređenih spojeva potvrđena je ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom te masenom spektrometrijom.

Ključne riječi: akrilonitrili, benzimidazoli, aldolna kondenzacija, ^1H i ^{13}C NMR spektroskopija

SUMMARY

This work presents the synthesis of novel potentially biologically active *N*-substituted benzimidazole derivatives **8–10** and **20–22** and 2-benzimidazolyl-substituted acrylonitrile **49**. Novel compounds were prepared by classical reactions of organic chemistry and by microwave assisted reactions.

Corresponding main precursors, *N*-substituted 5-cyano-2-cyanomethylbenzimidazoles **8–10**, *N*-substituted 2-cyanomethylbenzimidazoles **20–22** and 2-cyanomethyl-5(6)-piperidinyl-benzimidazole **47** were prepared by using multi-step linear synthesis. Acrylonitrile derivatives with cyano group on the benzimidazole nuclei **12–14** were prepared by aldol condensation of *N*-substituted 5-cyano-2-cyanomethylbenzimidazoles **8–10** and 4-*N,N*-dimethyl-aminobenzaldehyde **11**. Compounds **13** and **14** were isolated as *E*-isomers while compound **12** was isolated as a mixture of two geometric isomers in a 1 (**12b**): 3 (**12a**) ratio. Acrylonitrile derivatives **31–43** were prepared by aldol condensation of *N*-substituted 2-cyanomethylbenzimidazoles **20–22** with corresponding aromatic and heteroaromatic aldehydes **23–30**. Compounds **32** and **34–43** were isolated as *E*-isomers while compounds **31** and **33** were isolated as a mixture of two geometric isomers in a 1 (**31b**): 2 (**31a**) and 1 (**33b**): 5 (**33a**) ratio. Piperidinyl-substituted acrylonitrile derivative **49** was prepared by aldol condensation of 2-cyanomethyl-5(6)-piperidinylbenzimidazole and 4-*N,N*-dimethylamino-benzaldehyde as a mixture of two tautomers **49a** and **49b**.

The structures of all compounds were determined by means of ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy as well as mass spectrometry.

Key words: acrylonitriles, benzimidazoles, aldol condensation, ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy

Sadržaj rada

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	3
2.1. Općenito o benzimidazolu	4
2.2. Biološka aktivnost i sinteza heteroarilnih supstituiranih akrilonitrila	6
2.3. Sinteza akrilonitrilnih derivata benzimidazola kao potencijalnih optičkih senzora	29
3. REZULTATI I RASPRAVA	36
3.1. Cilj rada	37
3.2. Sinteza priređenih spojeva	38
4. EKSPERIMENTALNI DIO	56
4.1. Opće napomene	57
4.2. Sinteza <i>N</i>-supstituiranih derivata 5-cijano-2-cijanometilbenzimidazola	58
4.2.1. Priprava 4-izobutilamino-3-nitrobenzonitrila 2.....	59
4.2.2. Priprava 4- <i>N</i> -metilamino-3-nitrobenzonitrila 3.....	59
4.2.3. Priprava 4- <i>N</i> -fenilamino-3-nitrobenzonitrila 4.....	59
4.2.4. Priprava 3-amino-4- <i>N</i> -izobutilaminobenzonitrila 5	60
4.2.5. Priprava 3-amino-4- <i>N</i> -metilaminobenzonitrila 6	60
4.2.6. Priprava 3-amino-4- <i>N</i> -fenilaminobenzonitrila 7	61
4.2.7. Priprava 5-cijano-2-cijanometil- <i>N</i> -izobutilbenzimidazola 8.....	61
4.2.8. Priprava 5-cijano-2-cijanometil- <i>N</i> -metilbenzimidazola 9	62
4.2.9. Priprava 5-cijano-2-cijanometil- <i>N</i> -fenilbenzimidazola 10.....	62
4.3.10. Opći postupak pripreme akrilonitrila 12–14.....	62
4.3. Sinteza <i>N</i>-supstituiranih derivata 2-cijanometilbenzimidazola	65
4.3.1. Priprava <i>N</i> -izobutil-2-nitroanilina 16	66
4.3.2. Priprava <i>N</i> -izobutil-1,2-fenilendiamina 17.....	66
4.3.3. Priprava 2-cijanometil- <i>N</i> -izobutilbenzimidazola 20	66
4.3.4. Priprava 2-cijanometil- <i>N</i> -metilbenzimidazola 21	67

4.3.5. Priprava 2-cijanometil- <i>N</i> -fenilbenzimidazola 22	67
4.3.6. Opći postupak priprave akrilonitrila 31–43	68
4.4. Sinteza derivata benzimidazola 49a,b.....	74
4.4.1. Priprava 2-nitro-5-piperidinilanilina 45.....	74
4.4.2. Priprava 4-piperidinil-1,2-fenilendiamina 46	75
4.4.3. Priprava 2-cijanometil-5(6)-piperidinilbenzimidazola 47a,b	75
4.4.4. Priprava <i>E</i> -2-[5(6)-piperidinilbenzimidazol-2-il]-3-(4- <i>N,N</i> -dimetil-aminofenil)akrilonitrila 49a,b	76
5. ZAKLJUČAK.....	77
6. LITERATURA	80
7. PRILOZI	83
8. ŽIVOTOPIS.....	118

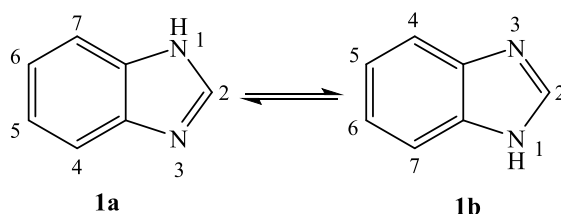
1. UVOD

U zadnjih nekoliko desetljeća veliki je interes organskih i medicinskih kemičara za sintezom heterocikličkih organskih molekula. Heterociklički spojevi danas su najbrojnija skupina organskih supstancija te su prisutni gotovo u svim strukturama mnogobrojnih lijekova koji se nalaze u različitim fazama kliničke upotrebe.^{1,2} Interes za proučavanjem benzimidazola, heterocikla koji u svojoj strukturi sadrži dva dušikova atoma, kao i njihove biološke aktivnosti, potječe još iz 40-tih godina prošlog stoljeća kada je njegova struktura potvrđena u mnogim prirodnim spojevima od kojih se najviše ističe njegova struktura u *N*-ribozildimetilbenzimidazolu gdje služi kao aksijalni ligand atomu kobalta u vitaminu B₁₂. Benzimidazolska jezgra je važan strukturni dio mnogih spojeva koji djeluju na mnogobrojne različite biološke mete i pokazuju raznolike farmaceutske karakteristike.³ Mnogi terapijski agensi sadrže u strukturi ovu kromofornu grupu i pokazuju široki spektar bioloških aktivnosti od kojih su najinteresantniji oni s antitumorskim i antiviralnim djelovanjem. Ciklički derivati benzimidazola imaju planarnu strukturu koja im omogućuje interkaliranje između parova baza dvostruke uzvojnice DNA.⁴ Derivati benzimidazola, osim izražene biološke aktivnosti, pronalaze primjenu u tehnologiji lasera, optoelektronici, kao fluorescentne probe i kemosenzori.^{5,6} U modernoj organskoj sintetskoj kemiji istraživanja su usmjerena prema korištenju novih ekološki prihvatljivih metoda koje čine temelje zelene kemije. Među takvim procesnim tehnikama vrlo važno mjesto zauzimaju tehnike koje koriste mikrovalno zračenje.

2. OPĆI DIO

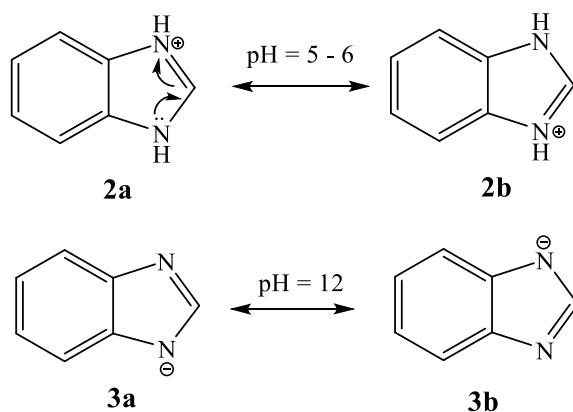
2.1. Općenito o benzimidazolu

Benzimidazoli pripadaju skupini heterocikličkih aromatskih spojeva čija je struktura sastavljena od imidazolnog prstena kondenziranog na benzensku jezgru, a njihova struktura se može prikazati u obliku dviju tautomernih struktura, **1a** i **1b**, prikazane na Slici 1:



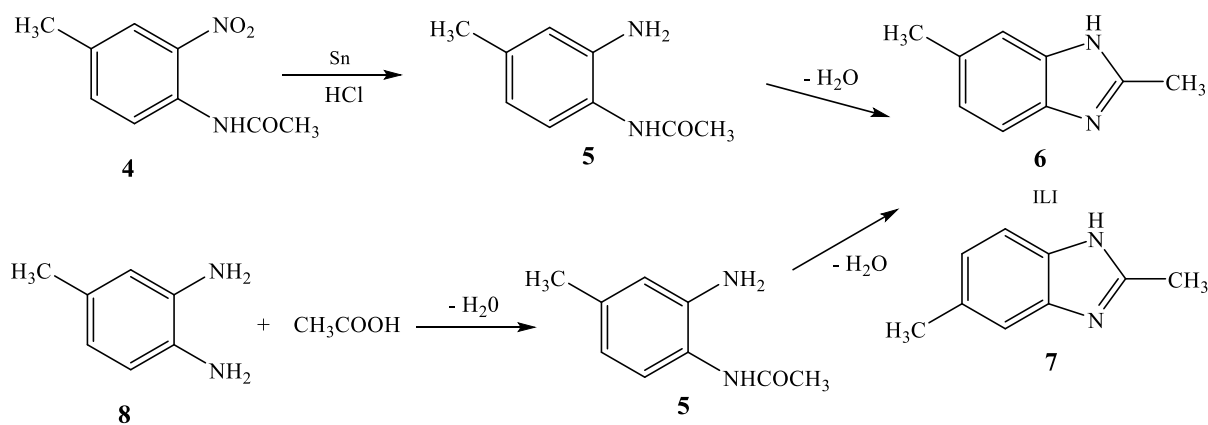
Slika 1. Dvije tautomerne strukture benzimidazola

Benzimidazolna struktura sadrži dva heterociklička dušikova atoma različitog karaktera, od kojih je jedan N atom pirolnog tipa, čiji su elektroni uključeni u aromatski sustav i može se alkilirati ili acilirati, dok je drugi N atom piridinskog tipa, nije dio aromatskog sustava i može se samo protonirati odnosno bazičan je. U kiselom mediju je taj N atom protoniran, dok se u lužnatom mediju deprotonira kao što je prikazano na Slici 2:



Slika 2. Ponašanje benzimidazola u kiselom i lužnatom mediju

Prvi benzimidazol, 2,5- ili 2,6-dimetilbenzimidazol, priredio je 1872. Hoebrecker redukcijom 4-metil-2-nitroacetanilida (Shema 1). Nekoliko godina kasnije Ladenburg je sintetizirao isti spoj refluksum 3,4-diaminotoluena sa octenom kiselinom (Shema 1).⁷



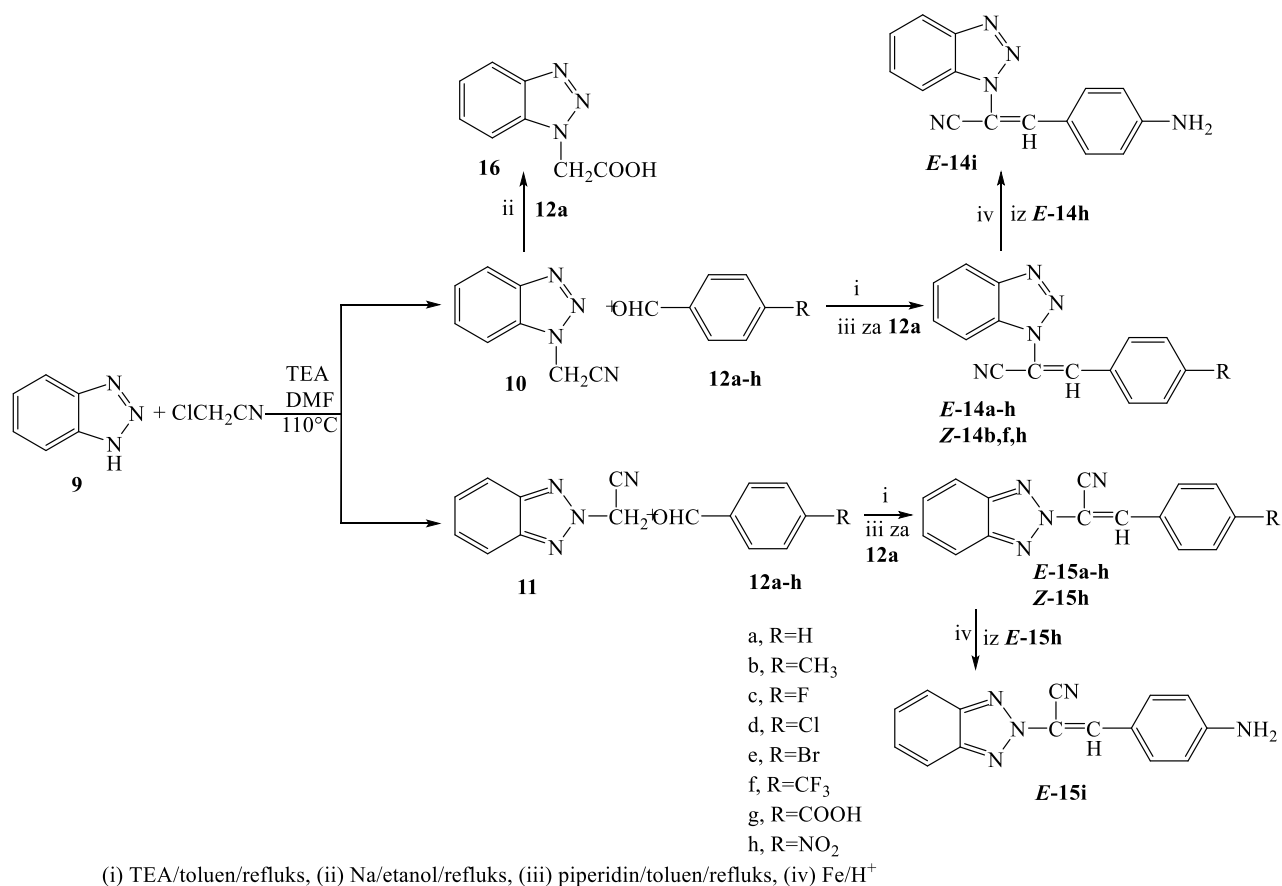
Shema 1. Hoebrecker-ova i Ladenburg-ova sinteza benzimidazola

Benzimidazolna jezgra predstavlja važan heterociklički sustav te strukturnu jedinicu mnogih spojeva koji djeluju na različite biološke mete pokazujući raznolike farmakološke karakteristike. Derivati benzimidazola su strukturni izosteri prirodnih nukleotida kao što su purini i imaju sposobnost interakcije s biomolekulama. Spojevi koji se mogu vezati na DNK molekulu interkalativnim ili neinterkalativnim mehanizmom imaju važnu ulogu u biološkim procesima kao što je transkripcija gena ili DNK replikacija.⁸

Tijekom godina istraživanja postali su prisutni u strukturama mnogih bioaktivnih spojeva kao što su antiparazitici, antikonvulzivi, analgetici, antihistaminici, antihipertenzivi, antiviroci, antineoplastici, antifungicidi, protuupalni lijekovi, inhibitori protonske pumpe i antikoagulansi. Iako svih sedam položaja na benzimidazolnoj jezgri može biti supstituirano različitim funkcionalnim skupinama, većina biološki aktivnih derivata benzimidazola sadrži funkcionalne skupine na položaju 1,2 i/ili 5 (ili 6). Optimizacija supstituenata na benzimidazolu rezultirala je mnogim lijekovima poput *albendazola*, *mebendazola*, *tiabendazola* (antihelmintici), *omeprazola*, *lanzoprazola* (inhibitori protonske pumpe), *astemizola* (antihelmintik) te mnogih drugih u širokom rasponu drugih terapijskih područja. Gotovo svi derivati benzimidazola u svojoj bicikličkoj strukturi sadrže različite funkcionalne skupine što rezultira promjenama u fizikalno-kemijskim, metaboličkim i farmakokinetičkim svojstvima ovih lijekova.⁹

2.2. Biološka aktivnost i sinteza heteroarilnih supstituiranih akrilonitrila

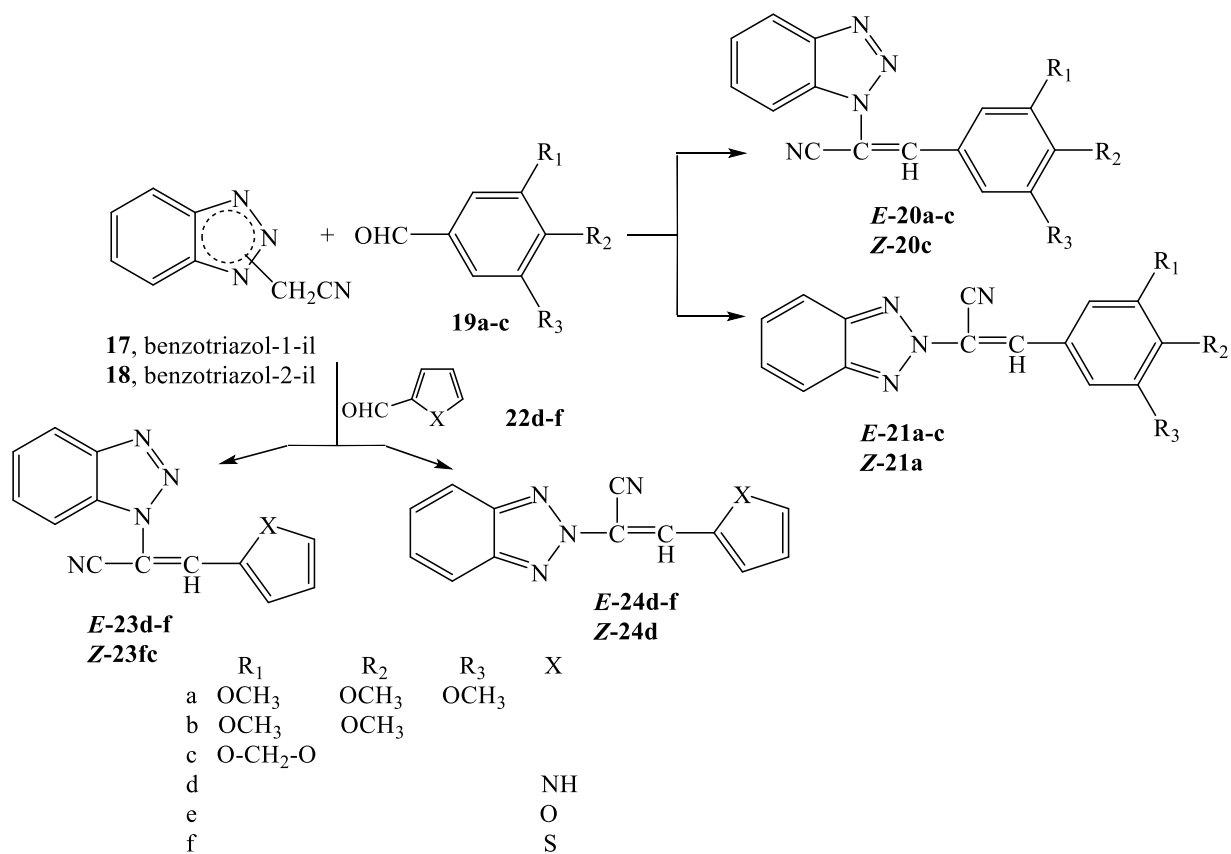
1999. godine P. Sanna i suradnici¹⁰ objavili su sintezu serije od 22 3-aril-2-[1*H*(2*H*)-benzotriazol-1(2)-il]akrilonitrila **14a–h** i **15a–h** na kojima su provedena preliminarna *in vitro* ispitivanja antituberkulozne aktivnosti protiv *M. tuberculosis*. Željeni spojevi **14a–h** i **15a–h** pripremljeni su Knoevenagelovom kondenzacijom prikladnih 2-(1*H*-benzotriazol-1-il) **10** i 2-(2*H*-benzotriazol-2-il)acetonitrila **11** sa odgovarajućim *para*-supstituiranim benzaldehidima **12a–h** refluksiranjem u toluenu uz bazični katalizator trietilamin. prema Shemi 2. Sinteza spojeva **14a** i **15a** provedena je pri različitim reakcijskim uvjetima. Utvrđeno je da je reakcijom prekursora **10** sa spojem **12a**, uz Na i etanol kao katalizator, izolirana 2-(1*H*-benzotriazol-1-il)octena kiselina **16** dok su istom reakcijom kondenzacije uz toluen i piperidin dobiveni spojevi **14a** i **15a**, ali u puno manjem iskorištenju.



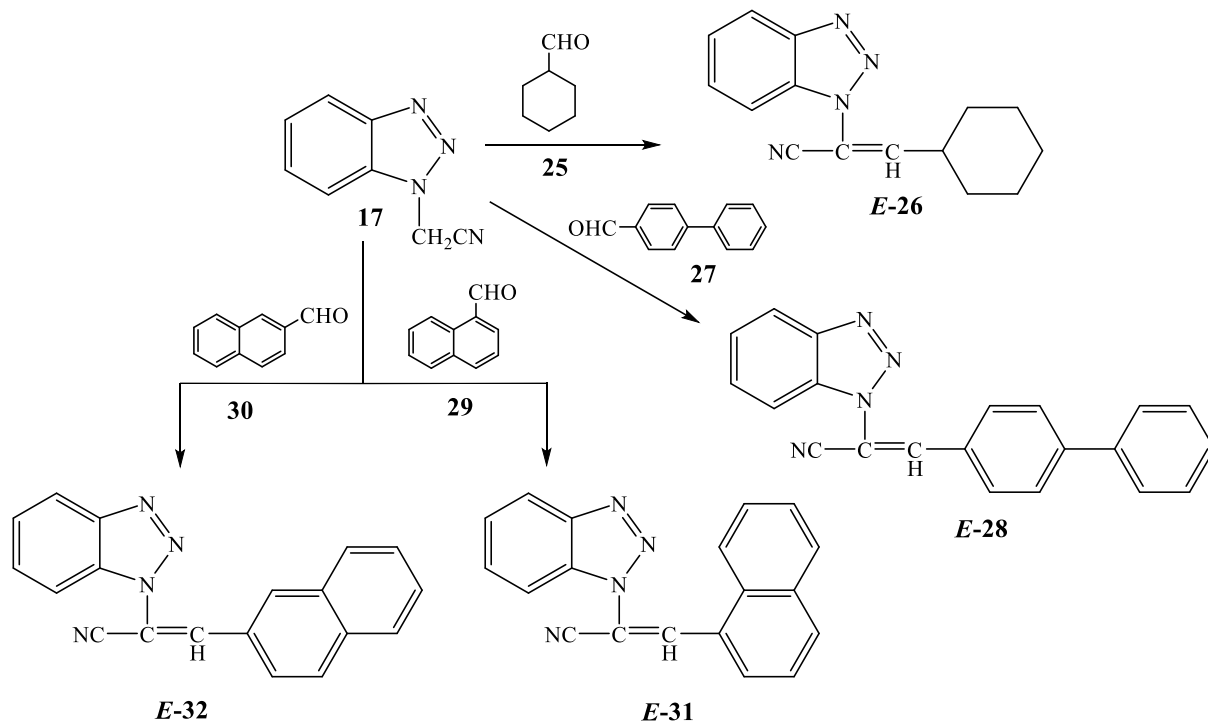
Shema 2. Sinteza 3-aril-2-[1*H*(2*H*)-benzotriazol-1(2)-il]akrilonitrila **14a–h** i **15a–h**

Na položaj 4 fenilnog prstena uvedeni su elektronegativni supstituenti F, Cl i Br, elektron-donorski supstituenti CH₃ i NH₂ te elektron-odvlačeći supstituenti NO₂ i CF₃ s odgovarajućom ravnotežom lipofilnih i hidrofilnih svojstava u molekuli. Također je uvedena i COOH skupina koja posjeduje elektron-odvlačeća i hidrofilna svojstva. U konačnici, strukturne značajke ovih spojeva omogućile su procjenu korelacije strukture i biološke aktivnosti (SAR) spojeva. Spojevi **E-14a**, **E-14b**, **E-14d**, **E-14e**, **E-14f**, **E-14h**, **Z-14h**, **E-15a** i **E-15h** pokazali su umjerenu do dobru inhibiciju rasta protiv *M. tuberculosis* u vrijednostima od 40-99% pri koncentraciji od 12.5 µg/mL. 1-supstituirani derivati benzotriazola **14a–h** pokazali su veću aktivnost od 2-supstituiranih derivata **15a–h**. Kao standard za usporedbu rezultata korišten je rifampicin koji je pokazao inhibiciju od 98% pri koncentraciji od 0.25 µg/mL. Spojevi **E-14a** i **E-14e**, koji su pokazali inhibiciju rasta veću od 90%, podvrgnuti su naprednim ispitivanjima kako bi se utvrdila njihova prava MIC (µg/mL) vrijednost i aktivnost protiv *M. avium* u usporedbi sa klaritromicinom kao standardnim lijekom. Najpotentnija aktivnost uočena je kod **E-14e** protiv *M. tuberculosis* i *M. avium*. Iz dobivenih rezultata zaključeno je da supstitucija fenilnog prstena hidrofilnom elektron-odvlačećom (COOH, NO₂) ili elektron-donorskom skupinom sa lipofilnim (CH₃) i hidrofilnim svojstvima (NH₂) smanjuje aktivnost u odnosu na nesupstituirane derivate **E-14a** i **E-15a**. Također je ustanovljeno da dobra aktivnost spojeva **E-14d–f** proizlazi iz dobre ravnoteže između lipofilnog i elektronegativnog učinka supstituenta na fenilnom prstenu.

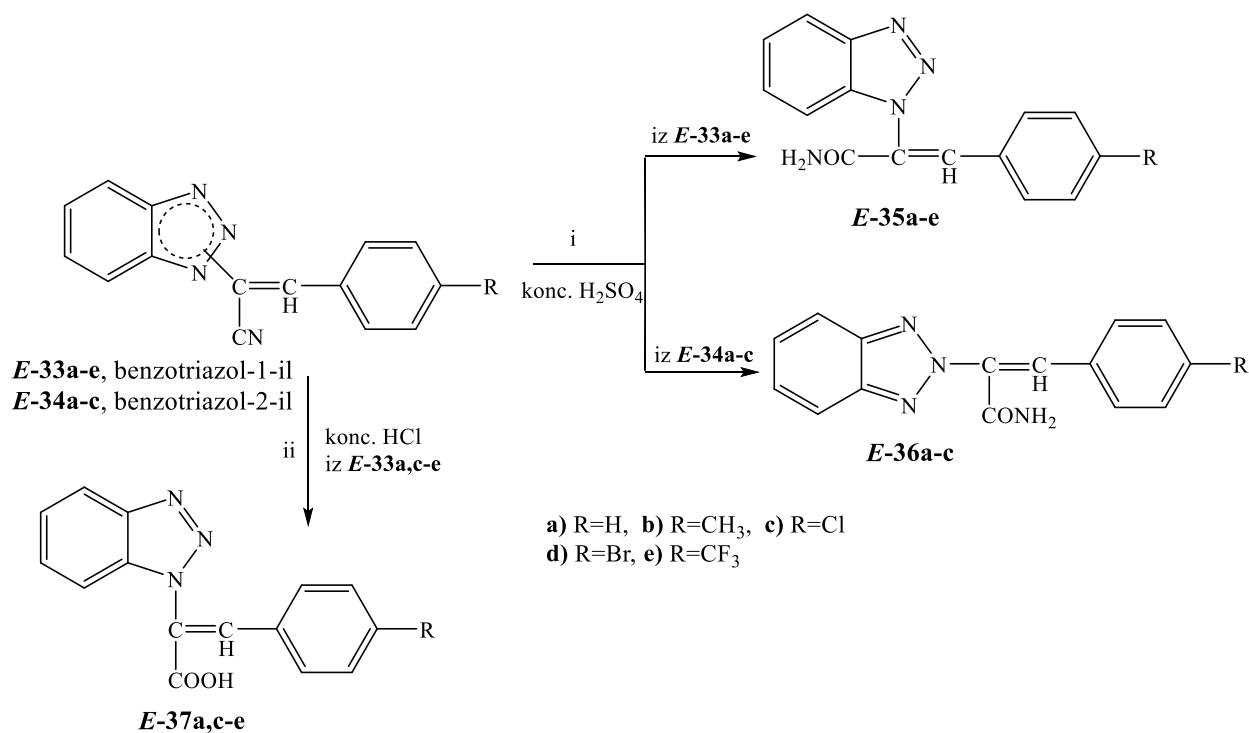
Ista skupina autora¹¹ je 2001. godine objavila sintezu nove serije od 32 3-aril, 3-cikloheksil i 3-heteroaril-2-(1*H*(2*H*)-benzotriazol-1(2)-il)-prop-2-ennitrila, prop-2-enamida i propenske kiseline. Željeni benzotriazolil-prop-2-ennitrili **20**, **21**, **23** i **24** pripremljeni su Knoevenagelovom kondenzacijom iz benzotriazol-1(2)-acetonitrila i aldehida prema Shemi 3. U istim uvjetima provedena je i sinteza spojeva **E-26**, **E-28**, **E-31** i **E-32** prema Shemi 4. Pretvorba odabranih nitrila **E-33a–e** i **E-34a–c** u odgovarajuće karboksamide **35a–e** i **36a–c** postignuta je hidrolizom sa konc. H₂SO₄, a ista reakcija između **E-33a,c–e** i konc. HCl dala je kiseline **E-37a,c–e** kao što je prikazano na Shemi 5.



Shema 3. Sintaza 1*H*(2*H*)-benzotriazol-1(2)-il)-prop-2-ennitrila **20**, **21**, **23** i **24**



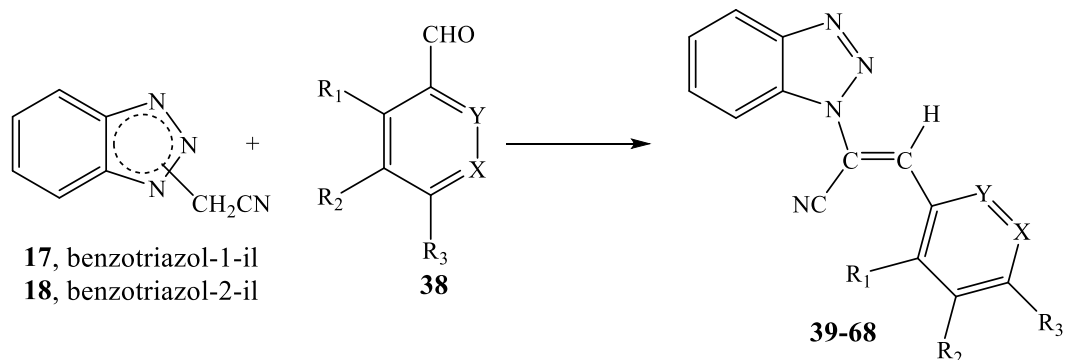
Shema 4. Sintaza spojeva **E-26**, **E-28**, **E-31** i **E-32**



Shema 5. Sinteza karboksamida **35a–e** i **36a–c** i kiseline **E-37a,c–e**

U svrhu povećanja lipofilnosti molekula, s obzirom na visok lipofilni karakter staničnog zida bakterije, elektron-odvlačeći supstituenti na fenilnom prstenu zamijenjeni su elektron-donorskim supstituentima dok je fenilni bočni lanac zamijenjen cikloheksilnim prstenom, većim aromatskim sustavom (bifenil, naftalen) ili manjim heterocikličkim prstenom (pirol, furan i tiofen). Cijano skupina prevedena je u karboksamidnu ili karboksilnu skupinu. Navedeni derivati testirani su protiv *M. tuberculosis* H37Rv u svrhu ispitivanja antituberkulozne aktivnosti, a kao referentni lijek za usporedbu aktivnosti spojeva korišten je rifampicin. *In vitro* ispitivanja pokazala su vrijednosti inhibicije rasta manje od 90 % te manju biološku aktivnost od serije spojeva objavljene u prethodnom istraživanju. Unatoč povećanom lipofilnom karakteru, ova serija spojeva pokazala je smanjenu antimikrobnu aktivnost iz čega se može zaključiti da sterički efekti, kao i priroda supstituenta, imaju važnu ulogu u aktivnosti spojeva.

2002. godine ista grupa suradnika na čelu s A. Carta¹² objavili su sintezu, antimikrobnu i antitumorsku aktivnost nove serije od 30 3-aryl-2-(1*H*-benzotriazol-1-il)akrilonitrila kao nastavak svog prethodnog istraživanja. Akrlonitrili **39–68** su priređeni kondenzacijom ključnog prekursora 2-(benzotriazol-1-il)acetonitrila s odgovarajućim aldehidima kao što je prikazano na Shemi 6.



	R ₁	R ₂	R ₃	X	Y		R ₁	R ₂	R ₃	X	Y
39	F	H	H	CH	CH	54	H	H	I	CH	CH
40	Cl	H	H	CH	CH	55	H	H	OCH ₃	CH	CH
41	Br	H	H	CH	CH	56	H	H	CN	CH	CH
42	I	H	H	CH	CH	57	Cl	Cl	H	CH	CH
43	CF ₃	H	H	CH	CH	58	Cl	H	Cl	CH	CH
44	NO ₂	H	H	CH	CH	59	Cl	H	H	CH	C-Cl
45	OCH ₃	H	H	CH	CH	60	H	Cl	Cl	CH	CH
46	H	F	H	CH	CH	61	H	Cl	H	C-Cl	CH
47	H	Cl	H	CH	CH	62	F	F	H	CH	CH
48	H	Br	H	CH	CH	63	F	H	F	CH	CH
49	H	I	H	CH	CH	64	F	H	H	CH	CH
50	H	CF ₃	H	CH	CH	65	H	F	F	CH	CH
51	H	NO ₂	H	CH	CH	66	H	F	H	C-F	CH
52	H	OCH ₃	H	CH	CH	67	CF ₃	H	CF ₃	CH	CH
53	H	CN	H	CH	CH	68	H	CF ₃	H	C-CF ₃	CH

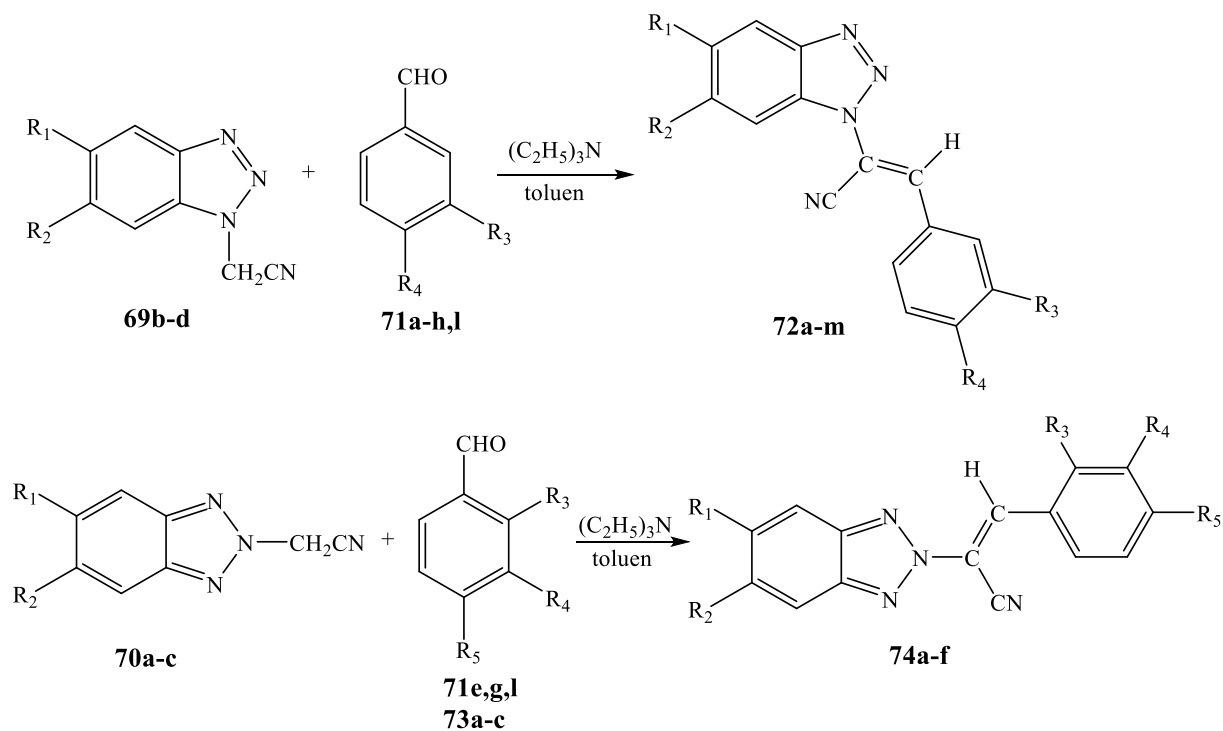
Shema 6. Sinteza 3-aryl-2-(1*H*-benzotriazol-1-il)akrilonitrila **39–68**

In vitro ispitivanja antimikrobnog djelovanja sintetiziranih spojeva provedena su na Gram-pozitivnim i Gram-negativnim bakterijama (*S.aureus*, *Salmonella spp*), mikobakterijama (*M. fortuitum*, *M. smegmatis* ATCC 19420 i *M. tuberculosis* ATCC 27294) te na gljivicama (*C. albicans* ATCC 10231 i *A. fumigatus*).

Za usporedbu rezultata antimikrobne aktivnosti korišteni su standardni lijekovi streptomycin, ciprofloksacin, ofloksacin, izoniazid, rifampicin i mikonazol.

Ispitivanja anti-HIV-1 i citotoksične aktivnosti provedena su na MT-4 stanicama uz 6-merkaptopurin (6-MP) i etopozid kao standardne lijekove. Antimikobakterijskim ispitivanjem većina spojeva pokazala se neaktivnim, osim spojeva **67** i **68** kod kojih je uočena blaga aktivnost protiv *M. smegmatis* ($MIC_{50} = 86.3-93.6 \mu M$). Iako je nekoliko derivata pokazalo značajnu aktivnost protiv *M. tuberculosis* ($MIC_{50} = 6.0-70 \mu M$), ne mogu se smatrati selektivnim inhibitorima jer su također pokazali citotoksičnu aktivnost na MT-4 stanicama u koncentracijama sličnim onima koji djeluju protiv mikobakterija. Iz tog razloga, spojevima s najizraženijom citotoksičnom aktivnošću ispitan je i antiproliferativni učinak na nekoliko staničnih linija hematoloških i "solid" tumora. Najpotentnija aktivnost uočena je kod spoja **52**, koji ima metoksi grupu na položaju 4 na fenilnom prstenu. Spoj **52** je pokazao inhibiciju proliferacije tumorskih stanica kao i veću učinkovitost od 6-merkaptopurina i etopozida koji su u ispitivanju korišteni kao standardni lijekovi.

Dvije godine kasnije ista skupina¹³ suradnika objavila je sintezu, antituberkulostatsku i antiproliferativnu aktivnost nove serije benzotriazol supstituiranih akrilonitrila [3-aril-2-(5- i/ili 6-1*H*-benzotriazol-1-il)akrilonitrila **72a–m** i [3-aril-2-(5- i/ili 6-2*H*-benzotriazol-2-il)akrilonitrila **74a–f**. Spojevi **72a–m** i **74a–f** priređeni su Knoevenagelovom kondenzacijom acetonitrila **69a–d** i **70a–c** s odgovarajućim aldehidima **71a–h,l** i **73a–c** miješanjem u toluenu na temperaturi refluksa i korištenje trietilamina prema Shemi 7. Navedenim spojevima ispitana je citotoksična aktivnost na MT-4 stanicama i antituberkulostatska aktivnost protiv sojeva *M. tuberculosis*. Spojevima **72a,g,i,j,l** i **74b**, koji su pokazali najveću aktivnost prema MT-4 stanicama ($CC_{50} < 3.0 \mu M$), ispitan je antiproliferativni učinak prema staničnim linijama hematoloških (CCRF-CEM, WIL-2NS i CCRF-SB) i „solid“ (SKMEL28, MCF7, SKMES-1, HepG2 i DU145) tumora. Spoj **72g** pokazao je bolju aktivnost od 6-merkaptopurina prema svim staničnim linijama, ali 2-14 puta slabiju aktivnost od etopozida. Rezultati ispitivanja citotoksične aktivnosti ukazuju na to da metilna grupa na položaju 5 i 6 benzotriazolnog prstena te nitro grupa na 3' položaju fenilnog prstena poboljšavaju antiproliferativnu aktivnost. Rezultati ispitivanja antimikrobnog djelovanja pokazali su da je samo spoj **74e** aktivan protiv mikobakterija, ali u koncentracijama usporedivima sa spojevima koji pokazuju dobru citotoksičnu aktivnost. Rezultati potvrđuju hipotezu o boljoj selektivnosti 3-aril-2-(2*H*-benzotriazol-2-il)akrilonitrila u usporedbi s 3-aril-2-(1*H*-benzotriazol-1-il)akrilonitrilima.

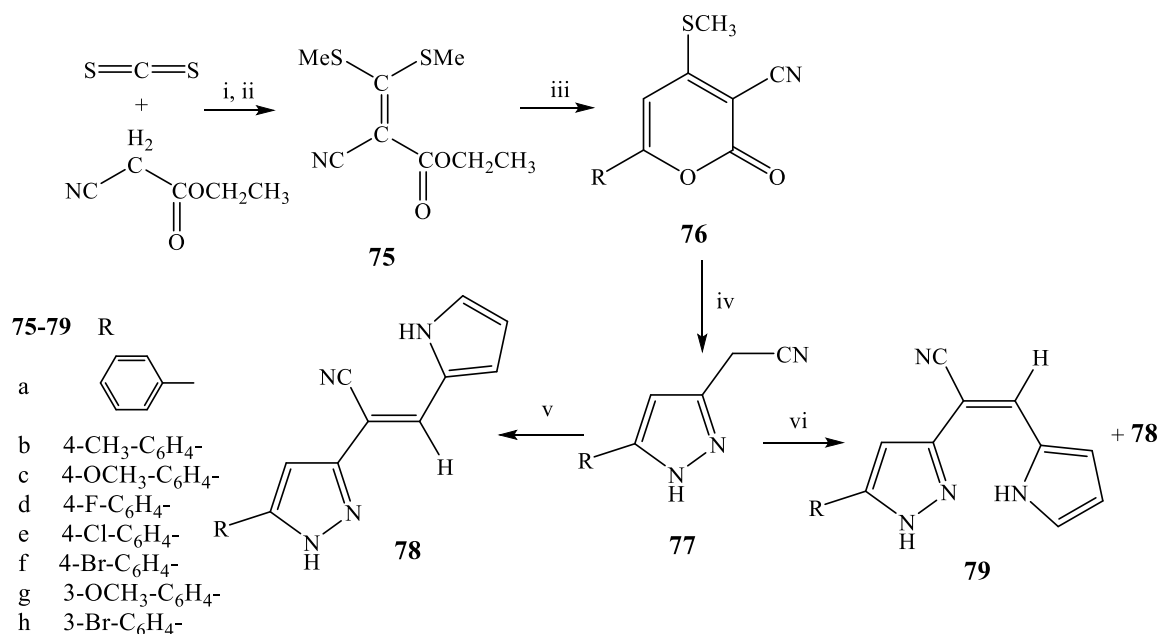


	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
a	CH ₃	CH ₃	H	H
b	CH ₃	CH ₃	H	Cl
c	CH ₃	CH ₃	H	Br
d	CH ₃	CH ₃	H	CH ₃
e	CH ₃	CH ₃	H	OCH ₃
f	CH ₃	CH ₃	H	CF ₃
g	CH ₃	CH ₃	NO ₂	H
h	CH ₃	CH ₃	CF ₃	H
i	CF ₃	H	NO ₂	H
j	H	CF ₃	NO ₂	H
k	CF ₃	H	H	OCH ₃
l	CH ₃	CH ₃	OCH ₂ O	
m	CF ₃	H	OCH ₂ O	

Shema 7. Sinteza spojeva **72a–m** i **74af**

1999. godine V. S. Parmar i suradnici¹⁴ objavili su sintezu *Z*- i *E*-2-(5-arilpirazol-3-il)-3-(pirol-2-il)akrilonitrila i *Z*-2-(1,3-diarilpirazol-5-il)-3-(pirol-2-il)akrilonitrila. Priređenim spojevima ispitan je antioksidativni učinak na proces NADPH-ovisne lipidne peroksidacije mikrosoma u jetri štakora. *Z*-2-(5-arilpirazol-3-il)-3-(pirol-2-il)akrilonitrili **78a–h** sintetizirani su reakcijom pirol-2-karboksaldehida s odgovarajućim 5-aril-3-cijanometilpirazolima **77a–h** prema Shemi 8.

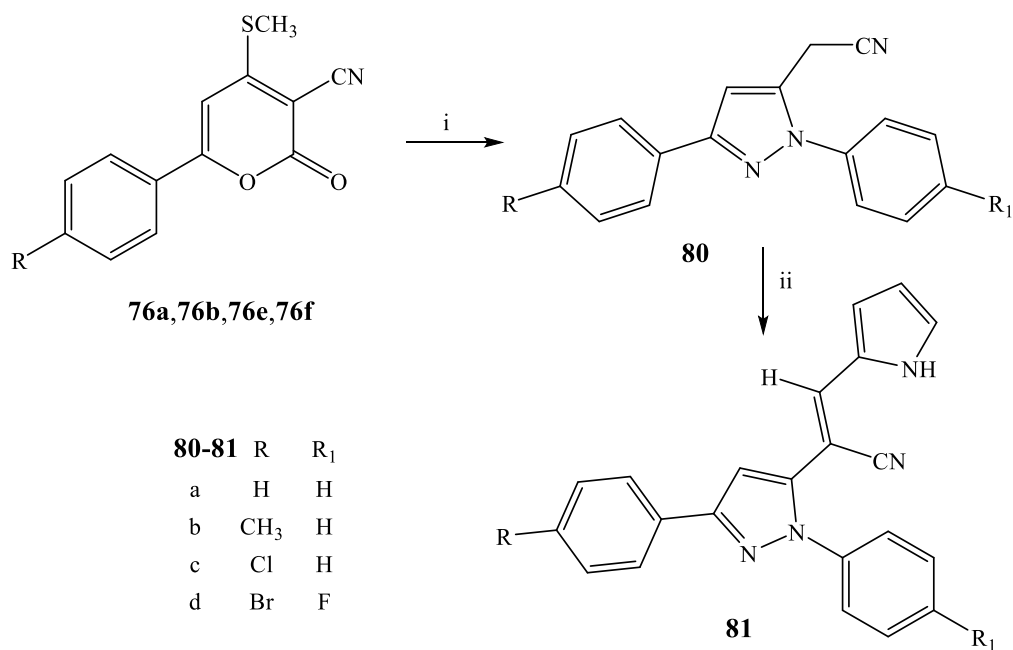
Arilpirazoli **77a–h** su pak pripremljeni u četiri sintetska koraka, najprije kondenzacijom etilcijanoacetata i ugljikovog disulfida uz natrijev etoksid, zatim metilacijom dinatrijeve soli te kondenzacijom nastalog etil 2-cijano-3,3-dimetiltioakrilata **75** s acetofenonima dajući piranone **76a–h** uz hidrazin i metanol (Shema 8).



(i) EtOH, Na, 0°C, miješanje 5-6 h; (ii) CH₃I, MeOH, 0°C, miješanje 2-3 h; (iii) DMF, acetofenon, KOH, 30°C, 6 h; (iv) MeOH, NH₂NH₂, refluks 5-6 h; (v) EtOH, NaOBu, pirol-2-karboksaldehid, miješanje 4-5 h; (vi) EtOH, NaOBu, pirol-2-karboksaldehid, refluks 20-25 h

Shema 8. Sinteza *Z*-2-(5-arilpirazol-3-il)-3-(pirol-2-il)akrilonitrila **78a–h**

Reakcija nastajanja akrilonitrila **78a–h** pri sobnoj temperaturi i kinetički kontroliranim uvjetima dala je *Z*-izomere u iskorištenju od 88-95 %. Izomerizacija *Z*-pirazolilakrilonitrila **78a–h** u odgovarajuće *E*-izomere provedena je miješanjem na temperaturi refluksa spojeva **78a–h** uz natrijev *tert*-butoksid u etanolu. *Z*-2-(1,3-diarilpirazol-5-il)-3-(pirol-2-il)akrilonitrili **81a–d** priređeni su reakcijom pirol-2-karboksaldehida i 5-cijano-metil-1,3-diarilpirazola **80a–d** prema Shemi 9. Spojevi **80a–d** pripremljeni su kondenzacijom arilhidrazina s odgovarajućim piranonima **76a**, **76b**, **76e** i **76f** (Shema 9).



i) PhNHNH₂ HCl/p-FC₆H₄NHNH₂HCl, MeOH/ piridin, refluks 5-6 h;

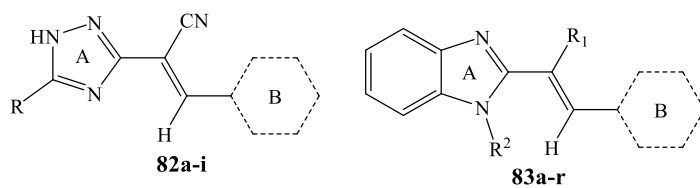
ii) EtOH, NaOBut, pirol-2-karboksaldehid, refluks 4-5 h

Schema 9. Sinteza Z-2-(1,3-diarilpirazol-5-il)-3-(pirol-2-il)akrilonitrila **81a–d**

Općenito, antioksidativna svojstva nekog spoja utvrđuju se prema njegovoj sposobnosti uklanjanja kisikovih radikala, inhibicije mikrosomalnih oksidacija mješovitih funkcija (MFO), koje su vezane uz katalitičko djelovanje enzima citokrom P450, te sprječavanju formiranja reaktivnih kisikovih čestica (ROS). Piranonima **76a**, **76b**, **76d**, **76g** i **76h**, 5-arilpirazolima **77a–f** i **77h**, 1,3-diarilpirazolima **80a–c** te akrilonitrilima **78a–h**, **79a–h** i **81a–d** ispitana su antioksidativna svojstva odnosno njihov utjecaj na mikrosomalnu lipidnu peroksidaciju u jetri štakora. Testovi su provedeni pri koncentraciji od 100 μM. Piranoni **76a**, **76b**, **76d**, **76g** i **76h** nisu pokazali značajan inhibicijski učinak u fazi inicijacije mikrosomalne lipidne peroksidacije. Značajnu antioksidativnu aktivnost pokazali su Z- and E-pirazolilakrilonitrili **78a–h** i **79a–h** te diarilpirazolilakrilonitril **81c** u odnosu na njihove prekursore. Od svih derivata laktona i pirazola, spojevi **79b** i **79g** pokazali su vrlo značajnu inhibiciju od 90 i 95 % u fazi inicijacije. Također su se pokazali kao bolji antioksidansi od nesupstituiranih, fluoro- ili kloro-supstituiranih fenilpirazolilakrilonitrila. Utvrđeno je da su E-akrilonitrili pokazali puno bolju antioksidativnu aktivnost zbog toga što stvaraju puno stabilniji kompleks s molekulom ADP-a i Fe²⁺ u odnosu na Z-akrilonitrile.

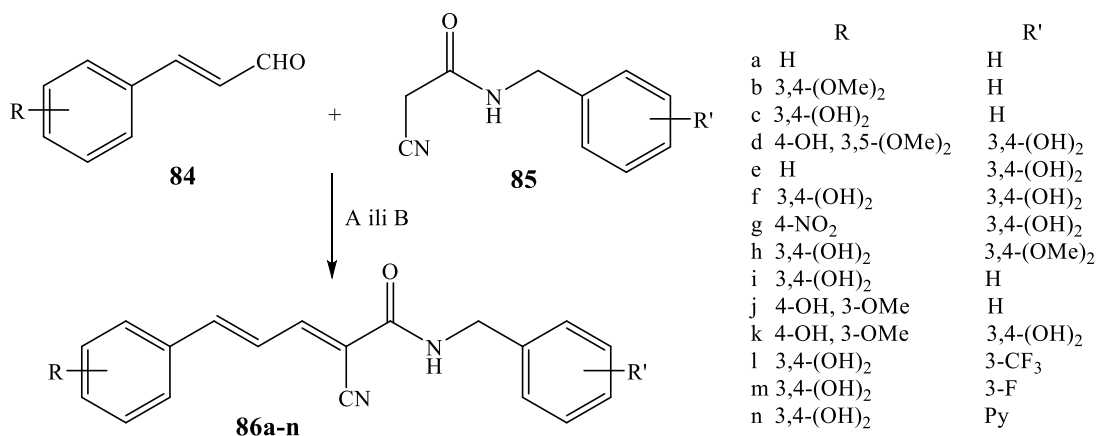
F. Sączewski i suradnici¹⁵ sintetizirali su dvije serije derivata akrilonitrila **82a–i** i **83a–r**, seriju A (spojevi **82a–i**, Tablica 1.) koja sadrži 1,2,4-triazol kao prsten A te arilne/heteroarilne supstituente kao prsten B, te seriju B (spojevi **83a–r**, Tablica 1.) koja sadrži benzimidazol kao prsten A te aromatske ili heteroaromatske prstenove kao prsten B. Svim priređenim derivatima akrilonitrila ispitana je *in vitro* citotoksična aktivnost na 11 staničnih linija humanih karcinoma. Mehanizam programirane stanične smrti također je proučavan praćenjem aktivnosti apoptotičkih enzima kaspaza 3 i 9. Akrilonitrili **82a–i** pripremljeni su Knoevenagelovom kondenzacijom odgovarajućih (1,2,4-triazol-3-il)acetonitrila s aldehidima u etanolu i korištenjem piperidina na temperaturi refluksa. Spojevi **83a–n** priređeni su kondenzacijom 2-cijanometilbenzimidazola s aromatskim aldehidima uz prisustvo KOH na sobnoj temperaturi. Spojevi bez cijano grupe, **83p** i **r**, priređeni su kondenzacijom 2-metil i 2-etil-benzimidazola s 5-nitrotiofen-2-karboksaldehidom u acetanhidridu. U slučaju 2-metilbenzimidazola, ova reakcija vodila je nastanku *N*-acetilnog derivata **83o** koji je nestabilan u vodenom mediju i djelomično hidrolizira u spoj **83p**, te je stoga neprikladan za biološka ispitivanja. Studija korelacije strukture i biološke aktivnosti (SAR) pokazala je da je položaj 2 pogodan za supstituciju s dušikovim heterociklima, dok je položaj 3 osjetljiv na promjene. Najaktivniji spojevi sadrže 5-nitrotiofenski prsten na položaju 3 ili benzimidazol te 5-benzil-1H-[1,2,4]-triazol na položaju 2. Zamjena 5-nitro grupe vodikom, klorom ili metilnom grupom kao i zamjena tiofenskog prstena s furanom pokazala je smanjenje aktivnosti. Zamjenom akrilonitrilne grupe vodikom ili metilnom grupom dala je također aktivne spojeve, stoga akrilonitrilna grupa nije neophodna za citotoksičnu aktivnost. Spoj **83b** pokazao je povećanje aktivnosti kaspaza 3 i 9 u HL-60 staničnim linijama te 10 puta veću učinkovitost od cisplatina i 3 puta veću učinkovitost od etopozida. Selektivnost spojeva prema tumorskim stanicama procijenjena je uspoređujući IC₅₀ vrijednosti zdrave epitelne stanične linije h-TERT-RPE1 sa IC₅₀ vrijednostima stanica tumora. Spoj **83b** pokazao je prosječno 1,7 puta veću selektivnost prema stanicama tumora.

Tablica 1. Struktura derivata akrilonitrila **82a-i** **83a-r**



Serija A				Serija B				
Spoj	R	Prsten B	Metoda	Spoj	R ¹	R ²	Prsten B	Metoda
a	CH ₃		A	a	CN	H		B
b	CH ₃		A	b	CN	H		B
c	CH ₃		A	c	CN	H		B
d	C ₆ H ₅		A	d	CN	H		B
e	C ₆ H ₅		A	e	CN	H		B
f	C ₆ H ₅		A	f	CN	H		B
g	C ₆ H ₅ CH ₂		A	g	CN	H		B
h	C ₆ H ₅ CH ₂		A	h	CN	H		B
i	C ₆ H ₅ CH ₂		A	i	CN	H		B
				j	CN	H		B
				k	CN	H		B
				l	CN	H		B
				m	CN	H		B
				n	CN	H		B
				o	H	COCH ₃		B
				p	H	H		B
				r	CH ₃	H		B

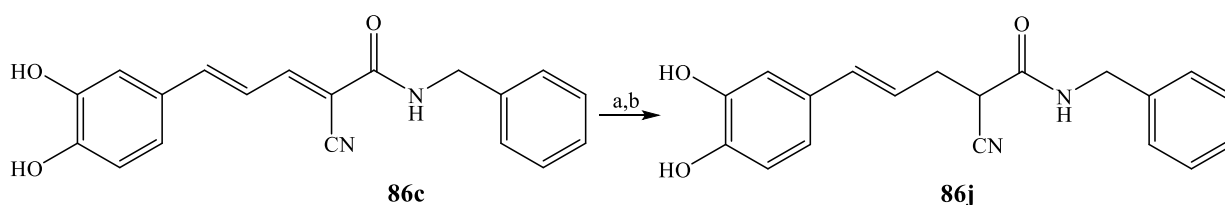
2004. godine su P. Damin i suradnici¹⁶ su objavili sintezu hidroksistirilnih derivata akrilonitrila kao potencijalnih antiproliferativnih agensa, tzv. tirena, koji posjeduju dvije glavne strukturne značajke: fenolne hidroksilne skupine kombinirane s produljenom konjugacijom koja može poslužiti kao efektivni akceptor elektrona u Michaelovoj adiciji. Prethodna istraživanja ove skupine spojeva pokazala su da hidroksistirilni derivati djeluju kao mimetici tirozina u procesu fosforilacije katalizirane protein tirozin kinazom (PTK). Fosforilacija proteina ključan je proces u nereguliranom rastu stanica. Povećana kiselost fenolne i kateholne skupine uzrokovana prisutnošću elektrofilnog akrilonitrila odgovorna je za vezanje takvih molekula na mjesto vezanja supstrata protein tirozin kinaze što ih čini učinkovitim antiproliferativnim agensima. Željeni hidroksistiril-akrilonitrili **86a–n** pripremljeni su Knoevenagelovom kondenzacijom aril-supstituiranih cimetnih aldehida **84** i *N*-benzil-2-cijanoacetamida **85** prema Shemi 10.



A) piperidin, EtOH, 0.5 h, 20 °C (R = OH); B) β-alanin, EtOH, 80 °C, 1–4 h (R = OH)

Shema 10. Sinteza spojeva **86a–n**

86j, monozasićeni analog **86c**, dobiven je reduciranjem α,β-dvostruke veze uz korištenje natrijevog borhidrida u metanolu prema Shemi 11.



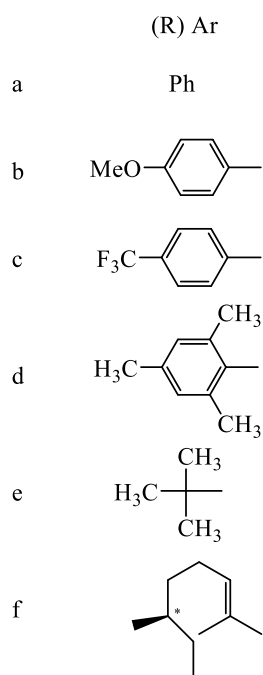
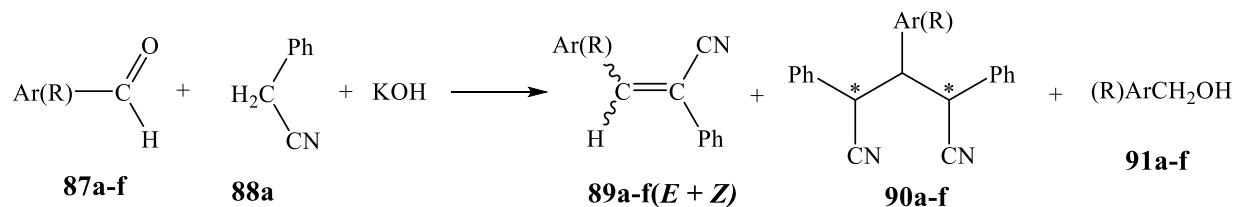
a) NaBH₄, MeOH, 1 h, 20 °C; b) HPLC, Nova-Pak C18 19.0 x 300 mm

Shema 11. Sinteza spoja **86j**

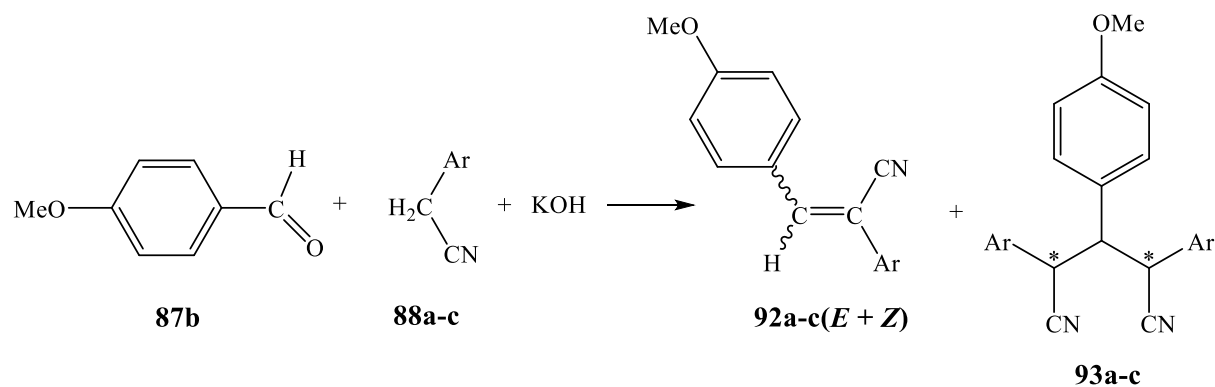
Sintetiziranim spojevima ispitana je antitumorska aktivnost *in vitro* prema staničnim linijama akutne limfocitne leukemije (ALL) te njihov toksični učinak na normalne stanice koštane srži (NBM). Spojevi s nesupstituiranom fenilnom i kateholnom skupinom pokazali su dobru aktivnost prema tretiranim stanicama leukemije. Najbolju aktivnost pokazao je 3,4-dihidroksi derivat **86c**, izazivajući inhibiciju stanica s inhibitornom koncentracijom IC_{50} od 0.12 μ M, za razliku od svog zasićenog analoga **86j** koji je pokazao puno slabiju aktivnost. *O*-metilni derivati pokazali su slabu aktivnost prema ALL stanicama (IC_{50} = 0.5-1.0 μ M), međutim pokazali su puno manju toksičnost prema normalnim stanicama koštane srži (IC_{50} > 10-15 μ M) kao i poticanje rasta stanica. Prema dobivenim rezultatima istraživanja može se utvrditi da je produljena konjugacija u susjedstvu elektron-odvlačećeg supstituenta odgovorna za inhibitornu aktivnost spojeva.

R. Guillot i suradnici¹⁷ proveli su "solvent free" kondenzaciju acetonitrila s odgovarajućim aldehidima u svrhu dobivanja raznih derivata akrilonitrila kao strukturnih jedinica korisnih prilikom sinteze mnogih biološki aktivnih molekula. Također su ispitani različiti reakcijski uvjeti koji uključuju alifatske i aromatske aldehide, supstituirane fenilne acetonitrile, mikrovalnu sintezu te međufaznu katalizu. Najprije su provedene reakcije ekvimolarnih količina fenilacetonitrila **88a** i aldehida **87a-f** uz KOH pri sobnoj temperaturi kao što je prikazano na Shemi 12. Kao većinski produkti nastali su α,β -nezasićeni nitrili **89** (*E+Z*), a kao manjinski produkti nastali su spoj **90** kao produkt Michaelove adicije između **88a** i **89** te spoj **91** kao produkt Cannizzarove reakcije. Vrijeme reakcije bilo je od 3-60 minuta ovisno o učinku steričkih smetnji u strukturi aldehida. Iste reakcije provedene su pri višim temperaturama ($\geq 110^{\circ}\text{C}$) mikrovalnim i konvencionalnim zagrijavanjem pri čemu su dobivena visoka iskorištenja ($\geq 80\%$) uz niže reakcijsko vrijeme (1-2 min) i manje sporednih produkata. Zatim je provedena kondenzacija između ekvimolarnih količina arilacetonitrila **88a-c** s 4-metoksibenzaldehidom **87b** uz KOH na sobnoj temperaturi prema Shemi 13. Time su priređeni α,β -nezasićeni nitrili **92** uz sporedni produkt **93a-c**. Ostvarena su zadovoljavajuća iskorištenja ($\geq 74\%$) uz kratko reakcijsko vrijeme (≤ 10 min), dok je upotrebom MW zagrijavanja došlo do ubrzanja reakcija i povećanja iskorištenja ($\geq 89\%$) osim kod spoja **92d** zbog steričkih smetnji u strukturi aldehida. Također, nije uočena razlika u iskorištenjima prilikom MW i konvencionalnog zagrijavanja.

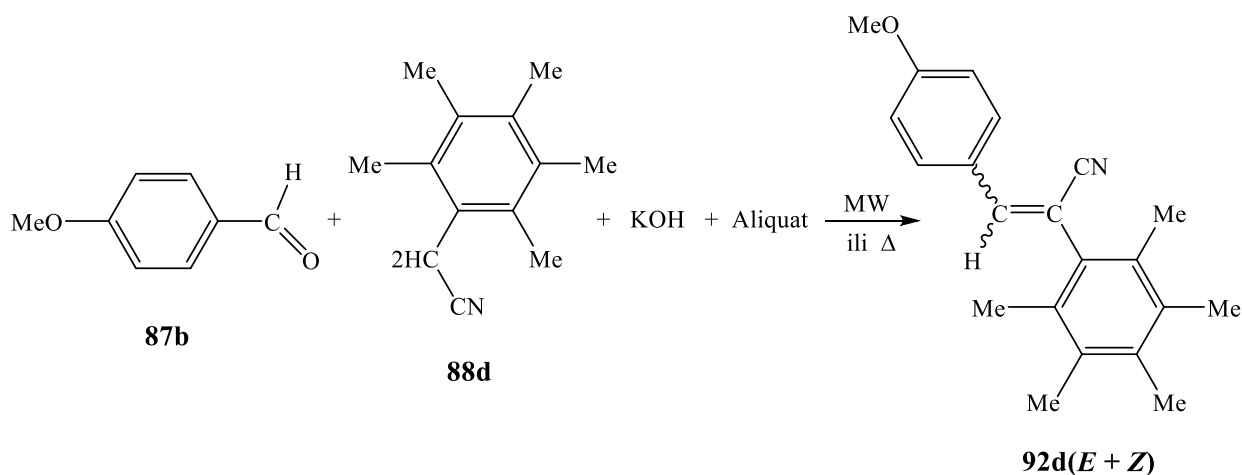
Kondenzacija pentametilfenilacetonitrila **88d** s **87b** korištenjem krutina-tekućina međufazne katalize uz upotrebu Aliquat 336 kao međufaznog katalizatora provedena je u kombinaciji s MW zračenjem prema Shemi 14. Korištenjem ovakve sintetske metode, produkti su dobiveni u višim iskorištenjima (56 %) u odnosu na reakciju provedenu bez katalizatora (33%).



Shema 12. Sinteza spojeva **89(E+Z)**

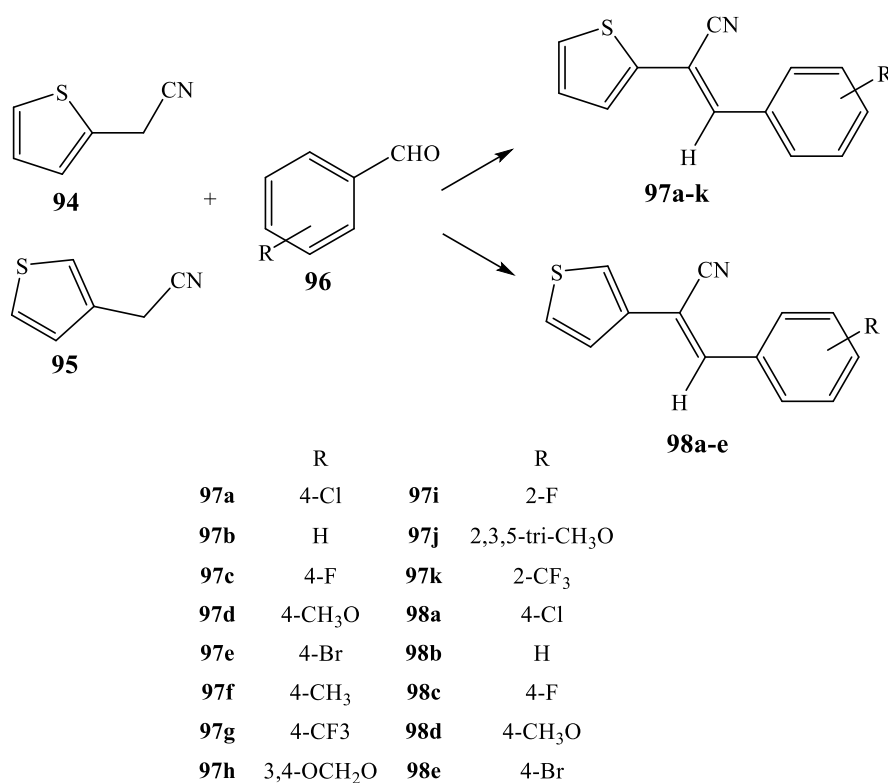


Shema 13. Sinteza spojeva **92(E+Z)**



Shema 14. Sinteza spoja **92d** (*E+Z*)

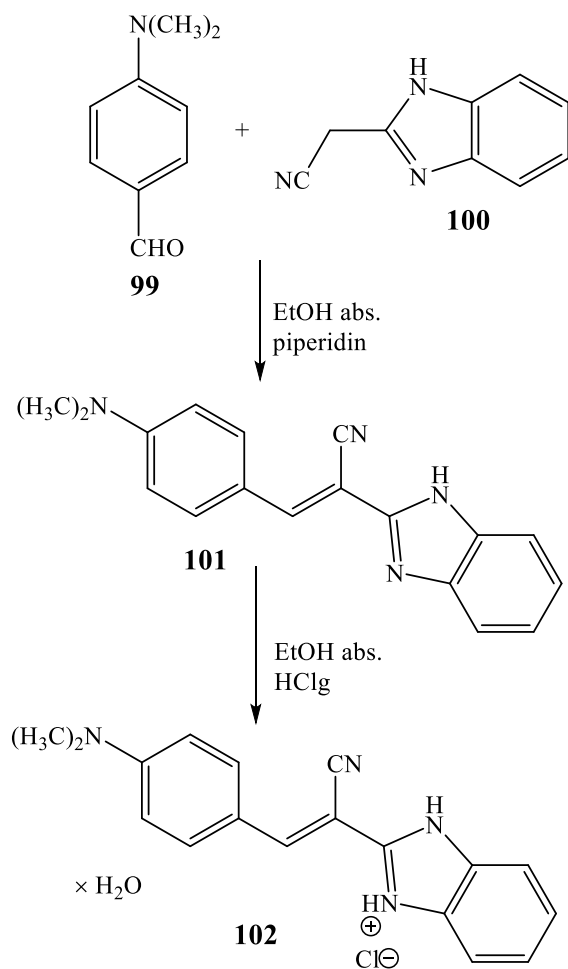
2007. godine J. Quiroga i suradnici¹⁸ objavili su sintezu nove serije 3-aryl-2-(2-tienil)akrilonitrila **97a–k** i 3-aryl-2-(3-tienil)akrilonitrila **98a–e**, a navedenim spojevima ispitana je antifungalna i antitumorska aktivnost. Sinteza akrilonitrila **97a–k** i **98a–e** provedena je Knoevenagelovom kondenzacijom 2- i 3-tienilacetonitrila s aldehydima, miješanjem na sobnoj temperaturi uz kalijev *tert*-butoksid u apsolutnom etanolu (Shema 15).



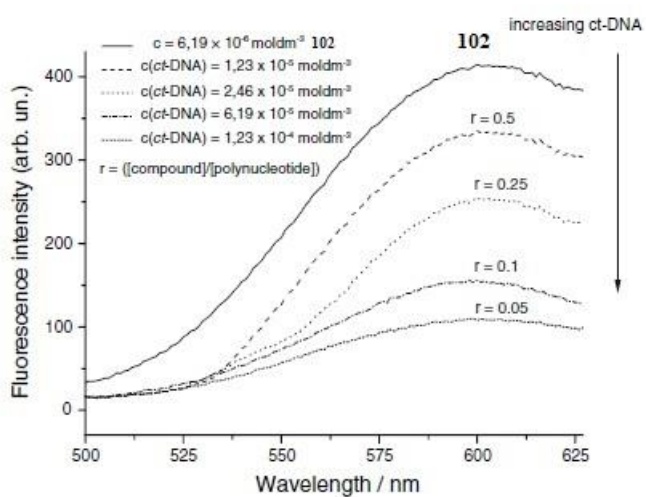
Shema 15. Sinteza spojeva **97a–k** i **98a–e**

Antitumorska aktivnost spojeva ispitana je *in vitro* na staničnim linijama karcinoma dojke (MCF-7), pluća (H-460) i središnjeg živčanog sustava (SF-268). Kao referentni lijek za usporedbu antitumorske aktivnosti sintetiziranih spojeva korišten je adriamicin. Najizraženiju aktivnost prema svim staničnim linijama pokazao je spoj **97f** koji sadrži 2-tienilnu skupinu na položaju 2. Rezultati također pokazuju da biološka aktivnost 2-tienilnih derivata ovisi o elektron-donorskim svojstvima supstituenata na aromatskom prstenu. S druge strane, kod 3-tienilnih derivata elektronska svojstva supstituenta na aromatskom prstenu ne utječu na biološku aktivnost spoja. Rezultati ispitivanja antifungalne aktivnosti pokazali su da spojevi nisu aktivni protiv sojeva gljivica *Candida*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces* i *Aspergillus* spp (MIC = 250 µg/mL). Međutim, spoj **98d** pokazao je aktivnost prema nekim sojevima dermatofita (*M. gypseum*, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum*) s MIC vrijednošću od 31.2 µg/mL što je 10 do 40 puta veće od koncentracije pri kojima su spojevi pokazali citotoksičnu aktivnost. Usporedbom antitumorske i antifungalne aktivnosti gore navedenih spojeva može se zaključiti kako 2-tienil i 3-tienilakrilonitrili pokazuju bolju antitumorsku aktivnost i selektivnost prema staničnim linijama karcinoma.

M. Hranjec i suradnici¹⁹ objavili su sintezu i sprektroskopsku karakterizaciju novih cijano supstituiranih derivata benzimidazola prema Shemi 16, te odredili njihovu kristalnu strukturu i interakciju s ct-DNK. Akrlonitrili **101** i **102** su dobiveni kondenzacijom 4-*N,N*-amino-dimetilbenzaldehida i 2-cijanometilbenzimidazola u apsolutnom etanolu uz piperidin kao bazu. Spoj **102** priređen je u obliku hidrokloridne soli u apsolutnom etanolu uvođenjem plinovitog HCl. Interakcija spoja **102** s ct-DNK određena je fluorescencijskom sprektroskopijom i određivanjem temperature taljenja. Emisijski spektri snimljeni su u odsutnosti i prisutnosti ct-DNK u otopini pufera pri različitim vrijednostima r [spoj]/[polinukleotid]. Spoj **102** pokazao je pad intenziteta fluorescencije te snažan hipokromni efekt kao što je prikazano na slici 3. Eksperimentom određivanja temperature taljenja DNK utvrđeno je da spoj **102** uzrokuje slabu stabilizaciju dvostruke uzvojnice DNK te se veže na DNK neinterkalativnim načinom vezanja.

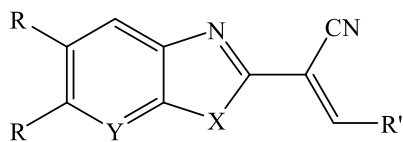


Shema 16. Sinteza akrilonitrila **101** i **102**



Slika 3. Emisijski spektar spoja **102** u prisutnosti ct-DNK pri raznim molarnim omjerima r [spoj]/[polinukleotid], pH=7 (pufer NaCaCo)

F. Sązewski i suradnici²⁰ sintetizirali su 18 novih 2,6-disupstituiranih akrilonitrila i 2 nova derivata (benzimidazol-1-il)-acetamida, i ispitali njihovu antibakterijsku i citotoksičnu aktivnost na 12 staničnih linija humanih karcinoma (Slika 3 i Slika 4). U svom radu također su opisali i detaljno studirali odnos strukture i biološke aktivnosti (SAR) priređenih spojeva.



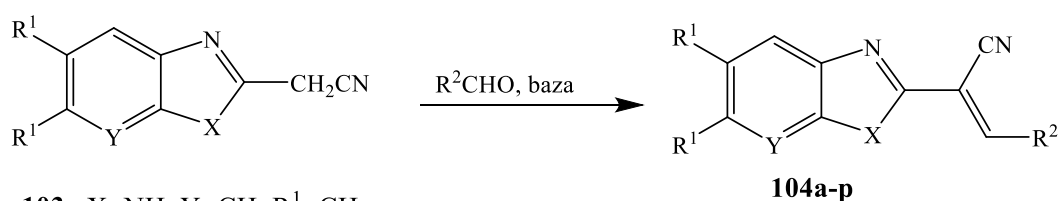
104

spoj	X	Y	R	R'	spoj	X	Y	R	R'
83b	NH	CH	H		104i	O	CH	H	
104a	NH	CH	CH ₃		104j	S	CH	H	
104b	NH	CH	H		104k	NH	N	H	
104c	NH	CH	H		104l	O	CH	H	
104d	NH	CH	H		104m	S	CH	H	
104e	NH	CH	H		104n	NH	N	H	
104f	NH	CH	H		104o	O	CH	H	
104g	NH	CH	H		104p	S	CH	H	
104h	NH	N	H						

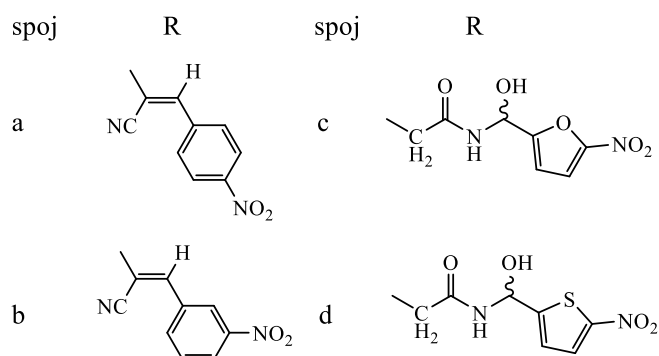
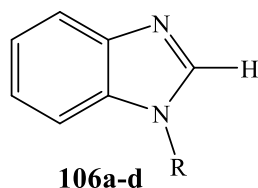
Slika 4. Struktura 2-azolil-3-heteroaril-akrilonitrila **104a–p**

2-azolil-3-heteroaril-akrilonitrili **104a–p** dobiveni su Knoevenagelovom kondenzacijom (azol-2-il)acetonitrila **103a–e** s odgovarajućim heteroaromatskim aldehydima, prema Shemi 17. 2-(benzimidazol-2-il)akrilonitrili **104a–h** priređeni su iz (benzimidazol-2-il)acetonitrila **103a–b** i aldehyda na sobnoj temperaturi uz KOH u etanolu.

S obzirom da Knoevenagelova kondenzacija ovisi o izboru otapala, za dobivanje akrilonitrila **104i**, **104l** i **104o** korišteno je jako dipolarno, aprotično otapalo DMF i piperidin kao katalizator. **104i**, **104l** i **104o** su dobiveni pri sobnoj temperaturi s iskorištenjima od 15–28 %. Spojevi **104j–k**, **104m–n** i **104p–r** dobiveni su u dobrim iskorištenjima reakcijom acetonitrila **103d–e** s odgovarajućim aldehidima u etanolu uz prisutnost trietilamina.

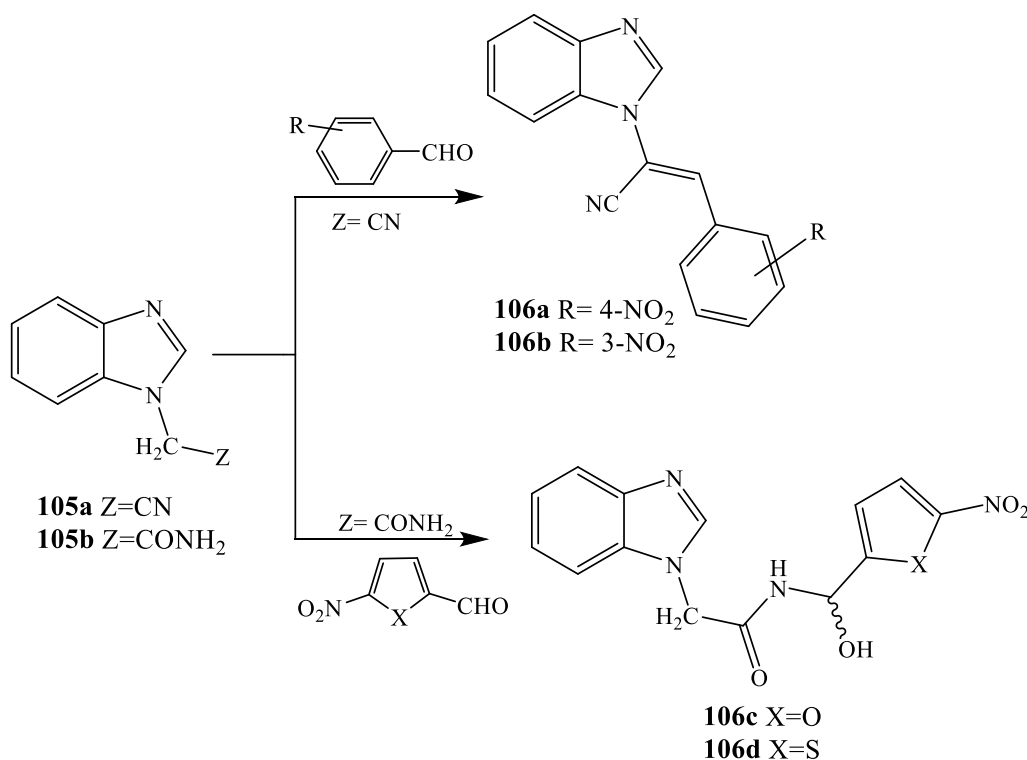


Shema 17. Sinteza 2-azolil-3-heteroaril-akrilonitrila **104a–p**



Slika 5. Struktura spojeva **106a–d**

Kao što je prikazano na Shemi 18, reakcijom (benzimidazol-1-il)acetonitrila **103f** s aromatskim aldehydima kao što su 4-nitro- i 3-nitrobenzaldehyd u toluenu na temperaturi refluksa i uz prisustvo trietilamina dobiveni su produkti **106a** i **106b** u 17 i 23%-tnom iskorištenju.

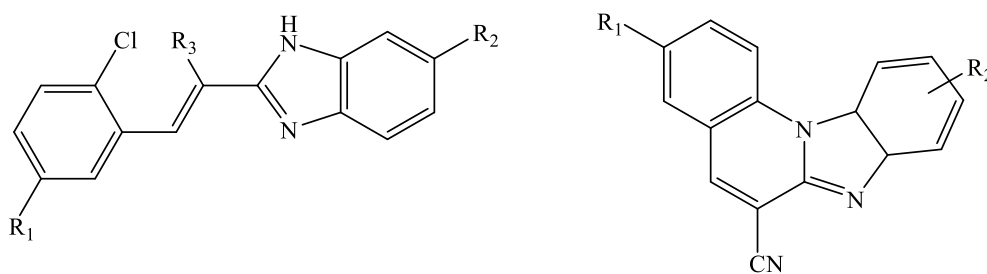


Shema 18. Sinteza spojeva **106a–d**

Studijom korelacije strukture i citotoksične aktivnosti utvrđeno je da na temeljnoj strukturi 2-(benzimidazol-2-il)-3-(5-nitrotiofen-2-il)akrilonitrila, metilne skupine na petom i šestom položaju benzimidazolnog prostena uzrokuju trostruko povećanje citotoksične aktivnosti. S druge strane, slabija aktivnost primijećena je prilikom zamjene benzimidazolskog prstena s imidazo[4,5-*b*]piridinskim ili benzotiazoloskim, zamjene nitrotiofenskog prstena s piridinskim te zamjene nitro skupine s metoksi skupinom ili atomom broma. Na citotoksičnu aktivnost može utjecati 1,4-nukleofilna adicija tiola na dvostruku vezu akrilonitrila, redoks aktivnost aromatske nitro grupe ili specifične interakcije sa staničnim receptorima i enzimima. Spojevima **83b**, **104f**, **104i**, **104j**, **104k**, **104m** i **104n** ispitana je antibakterijska aktivnost protiv *Enterococcus hirae*, *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus epidermidis*. Ovi rezultati odgovaraju rezultatima ispitivanja antibakterijske aktivnosti.

Zbog slabe topljivosti u vodi ovih spojeva, nije bilo moguće provesti djelotvorna ispitivanja antitumorske aktivnosti *in vivo*.

N. Perin i suradnici²¹ proveli su sintezu i biološka ispitivanja novih acikličkih nitro supstituiranih *E*-2-(2-benzimidazolil)-3-fenilakrilonitrila **114–117** te cikličkih nitro i amino supstituiranih benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **118–129** prikazanih na Slici 5.



114 R₁=NO₂, R₂=H, R₃=CN

115 R₁=H, R₂=NO₂, R₃=CN

116 R₁=NO₂, R₂=NO₂, R₃=CN

117 R₁=NO₂, R₂=CH₃, R₃=CN

118 R₁=NO₂, R₂=H

119 R₁=H, R₂=NO₂

120 R₁=NO₂, R₂=NO₂

121 R₁=NO₂, R₂=CH₃

122 R₁=NH₂, R₂=H

123 R₁=H, R₂=NH₂

124 R₁=NH₂, R₂=NH₂

125 R₁=NH₂, R₂=CH₃

126 R₁=NH₃⁺Cl⁻, R₂=H

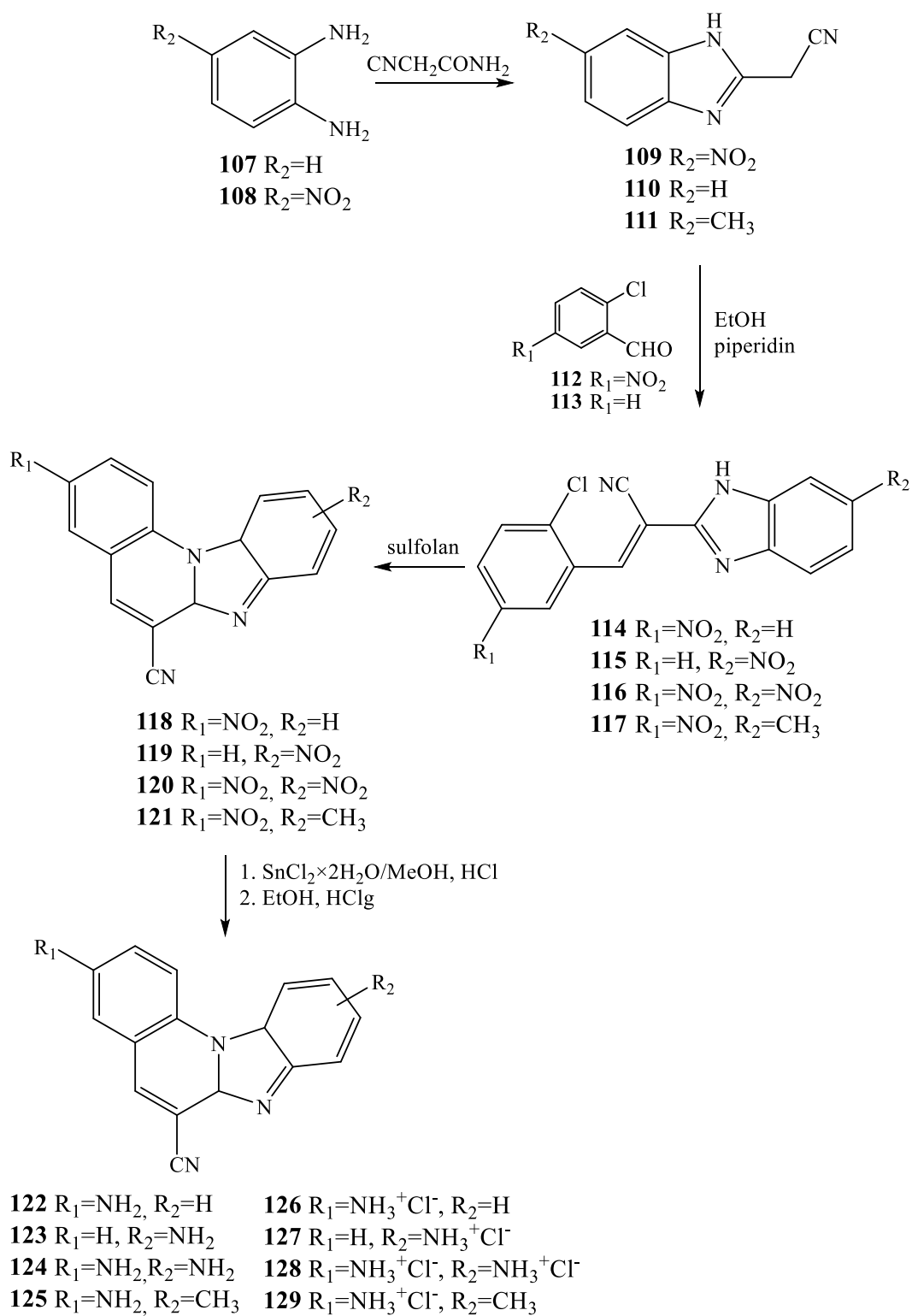
127 R₁=H, R₂=NH₃⁺Cl⁻

128 R₁=NH₃⁺Cl⁻, R₂=NH₃⁺Cl⁻

129 R₁=NH₃⁺Cl⁻, R₂=CH₃

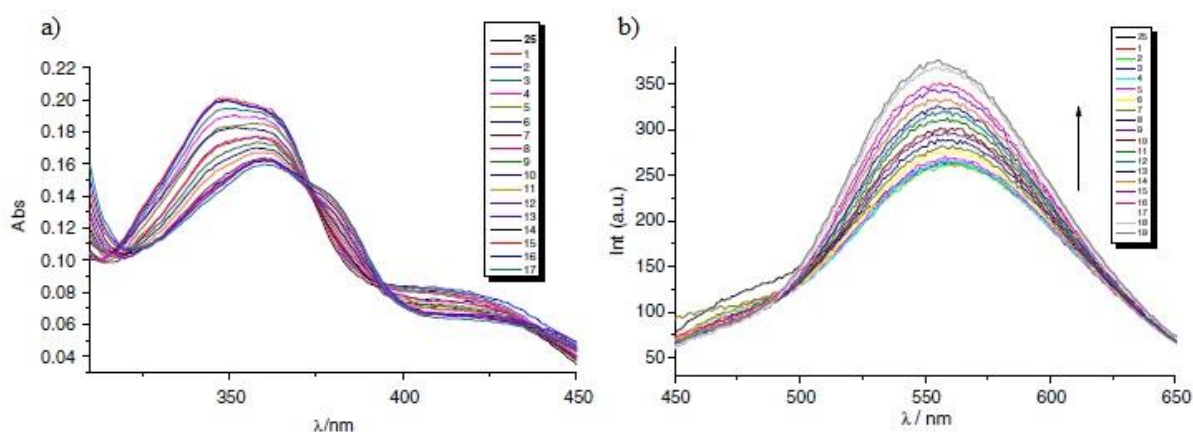
Slika 6. Pripravljeni *E*-2-(2-benzimidazolil)-3-fenilakrilonitrili **114–117** i benzimidazo[1,2-*a*]kinolini **118–129**

Svi spojevi priređeni su korištenjem uobičajenih metoda organske sinteze za pripravu sličnih heterocikličkih spojeva polazeći od odgovarajućih *o*-fenilendiamina prema Shemi 19. Reakcijom *o*-fenilendiamina **107** i **108** s 2-cijanoacetamidom priređeni su odgovarajući supstituirani 2-cijanometilbenzimidazoli **109–111** koji u reakciji aldolne kondenzacije s aromatskim aldehydima **112** i **113** daju *E*-2-(2-benzimidazolil)-3-fenilakrilonitrile **114–117**. Ciklički nitro supstituirani derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **118–121** priređeni su termičkom ciklizacijom akrilonitrila **114–117** u sulfolanu. Amino supstituirani ciklički derivati **122–125** dobiveni su redukcijom nitro supstituiranih derivata s SnCl₂ × 2H₂O u smjesi MeOH i HCl-a.



Shema 19. Sinteza spojeva **114–129**

Prirednim spojevima ispitana je antiproliferativna aktivnost *in vitro* na niz staničnih linija humanog karcinoma, pri čemu su spojevi **120** i **121** pokazali umjerenu, a spojevi **117**, **125**, **126**, **127** i **129** izrazitu antiproliferativnu aktivnost u mikromolarnom području koncentracija. Amino supstituiranim derivatima **122** i **126** ispitan je utjecaj na perturbaciju staničnog ciklusa protočnom citometrijom. Rezultati su pokazali da spojevi usporavaju progresiju G1 faze, akumulacijom stanica u G1 fazi te smanjenjem broja stanica u S fazi. Na spoju **126** provedena su ispitivanja fluorescencijskom mikroskopijom kako bi se utvrdila unutarstanična distribucija spoja u tumorskim stanicama. Prema rezultatima, spoj **126** je distribuiran kroz citoplazmu, lokaliziran u blizini jezgre, što upućuje na moguću kolokalizaciju s endoplazmatskim retikulumom. Spoju **126** ispitana je interakcija s ct-DNK korištenjem UV/Vis i fluorescencijske spektroskopije. Matična otopina spoja **126** priređena je u DMSO-u dok su ispitivanja s ct-DNK provedena u puferском vodenom mediju. Iz UV/Vis titracijske krivulje spoja **126** vidljivo je da tijekom dodavanja puferске otopine ct-DNK u puferску otopinu spoja 126 dolazi do hipokromnog i batokromnog pomaka. Fluorescencijske titracijske krivulje su pokazale da dodatkom ct-DNK dolazi do porasta intenziteta fluorescencije na 562 nm (Slika 7). Biološkim ispitivanjima je utvrđeno da DNK molekula nije primarna meta navedenih spojeva stoga je antiproliferativni učinak navedenih spojeva posljedica interakcija s drugim biološkim metama unutar stanica.

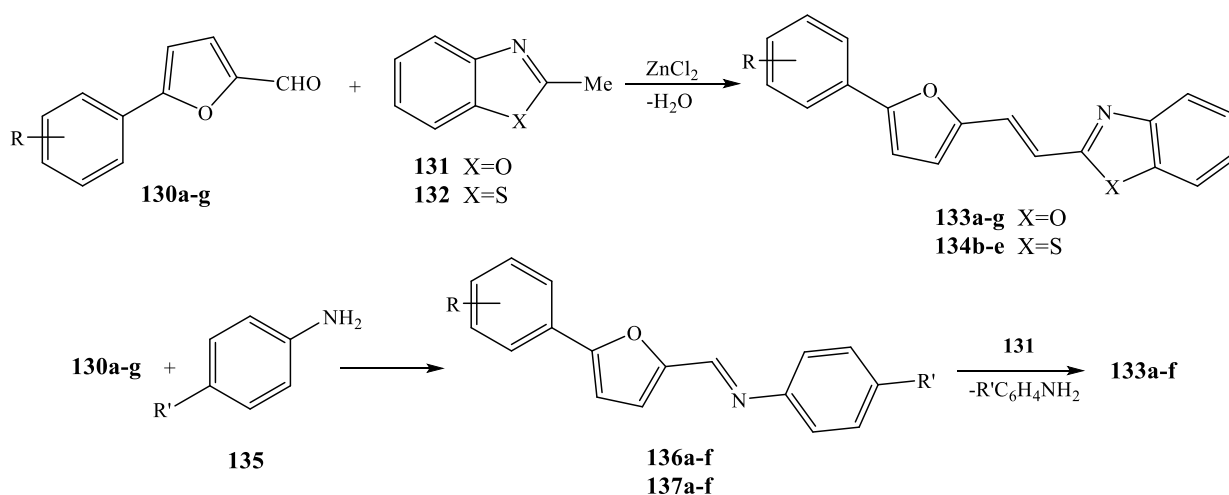


Slika 7. a) UV/Vis titracija spoja **126** ($c = 1.9 \times 10^{-5}$ M) s ct-DNK; b) fluorescencijska titracija spoja **126** ($c = 1.12 \times 10^{-6}$ M) s ct-DNK

2.3. Sinteza akrilonitrilnih derivata benzimidazola kao potencijalnih optičkih senzora

N. I. Ganushchak i suradnici²² sintetizirali su 2-[2-(5-aril-2-furil)etenil]-1,3-benzazole reakcijom 5-aril-2-furaldehida s 2-metilbenzoksazolom, 2-metilbenzotiazolom, 2-metilbenzimidazolom i 2-cijanometilbenzimidazolom. 2-Ariletetil-supstituirani benzazoli se upotrebljavaju kao organski luminofori i kao optički agensi za izbjeljivanje. Uvođenjem arilfurilne skupine na položaj 2 benzazolskog prstena može se produljiti π -konjugirani sustav što molekuli, uz dva fluoroforna fragmenta, daje zanimljiva luminiscentna svojstva.

Aldehidi **130a-g** reagiraju s 2-metilbenzoksazolom **131** i 2-metilbenzotiazolom **132** uz prisutnost cinkovog (II) klorida zagrijavanjem na 120–180 °C (ovisno o supstituentu R), bez otapala, dajući produkte prema Shemi 20. Reakcija je favorizirana uz prisustvo elektron-akceptorskog supstituenta R na aromatskom prstenu aldehida. Reakcijom 2-metilbenzoksazola **131** s 5-(4-metoksifenil)-2-furaldehidom, odgovarajući produkt kondenzacije nije uspješno izoliran, dok je benzoksazol **133a** u reakciji s 5-fenil-2-furaldehidom **130a** dobiven u malom iskorištenju. Provedena je i sinteza 2-supstituiranih benzazola **133a-f**, u blažim reakcijskim uvjetima (110–130 °C), iz Schiffovih baza **136a-f** i **137a-f** koje su prethodno dobivene reakcijom aldehida **130a-f** s anilinom i *p*-metoksianilinom (Shema 20).

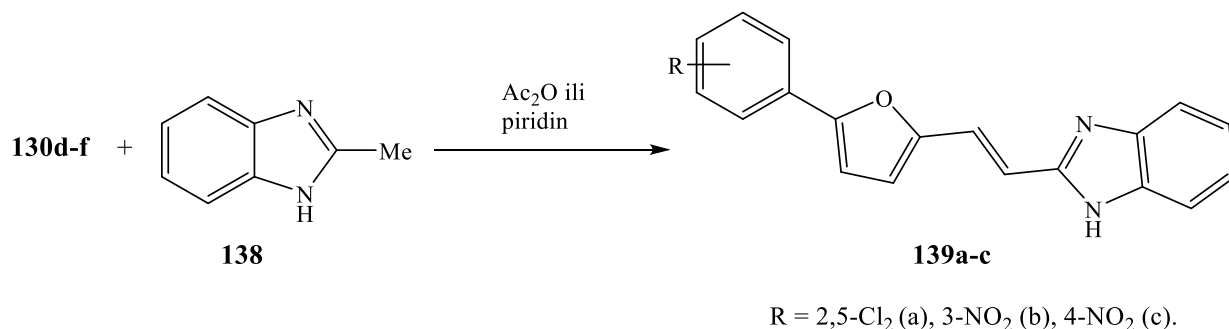


130,133,134,136,137, R = H (a), 4-Cl (b), 4-Br (c), 2,5-Cl₂ (d), 3-NO₂ (e), 4-NO₂ (f), 2-Cl (g); **136**, R' = H; **137**, R' = OMe

Shema 20. Sinteza benzazolnih **133a-g**, **134b-e** i benzoksazolnih derivata **133a-f**

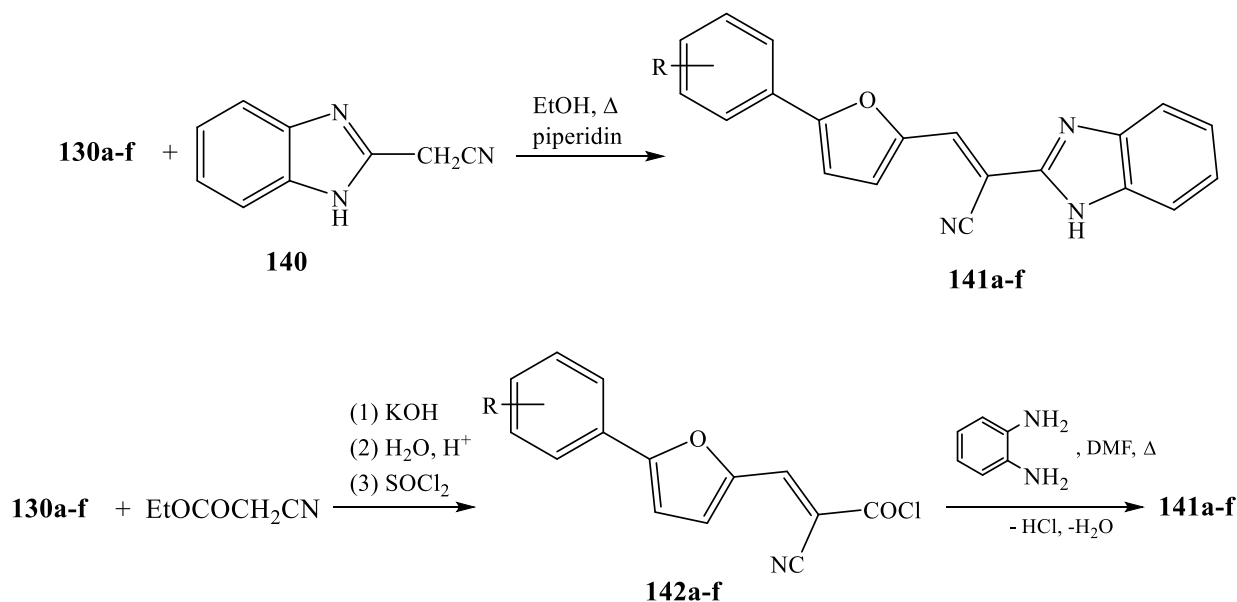
2-benzimidazolil supstituirani derivati **139a-c** izolirani su ako se reakcija 2-metilbenzimidazola **138** s aldehydima **130d-f** provodi u acetanhidridu ili piridinu (Shema 21).

U reakciji s arilfuraldehidima s elektron-donorskim supstituentima na aromatskom prstenu, ne mogu se izolirati odgovarajući produkti **139a-c**.



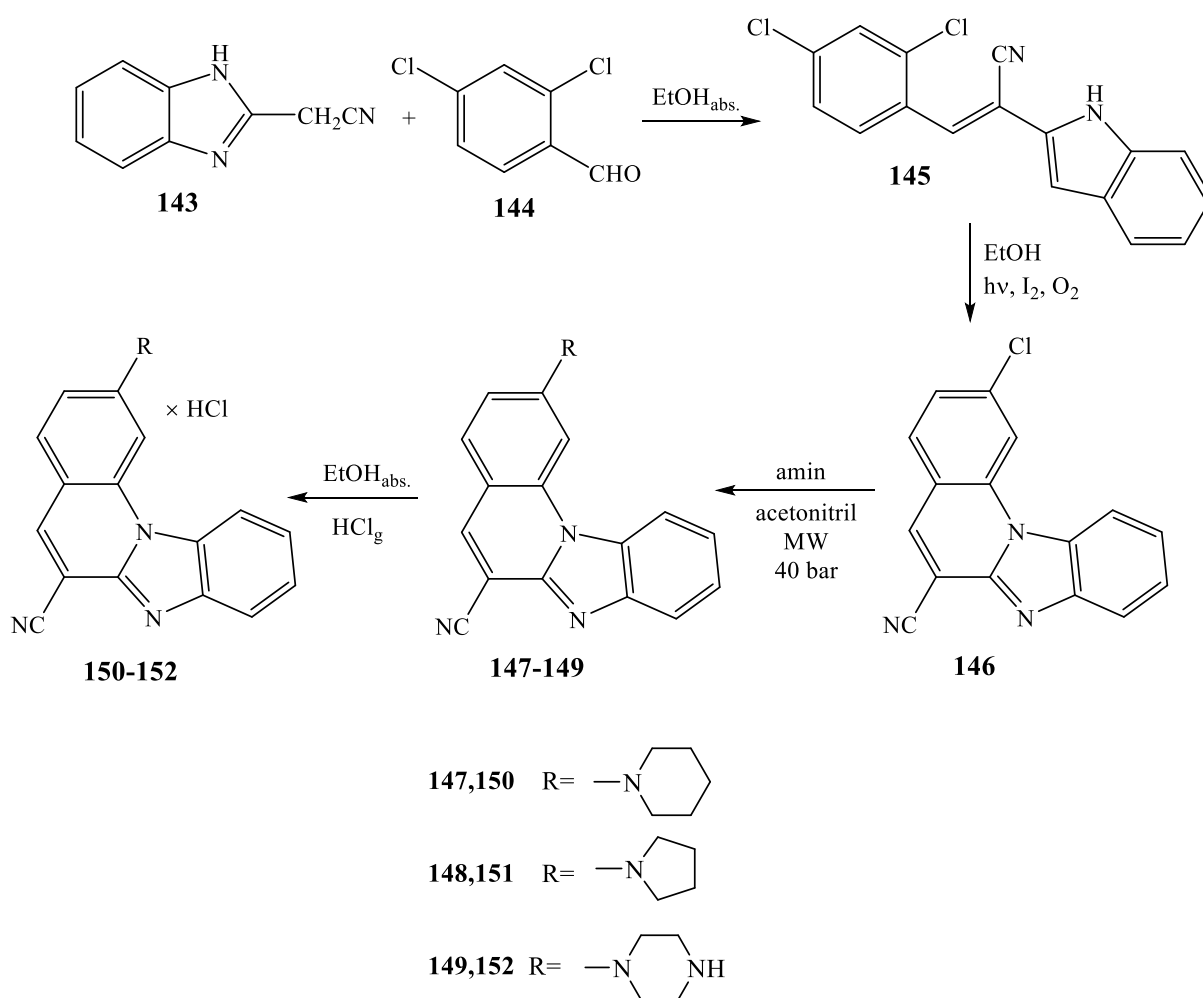
Shema 21. Sinteza 2-benzimidazolil supstituiranih derivata **139a-c**

S druge strane, 2-cijanometilbenzimidazol **140** u kojem je metilna skupina aktivirana cijano skupinom, lako reagira s aldehydima **130a-f** na sobnoj temperaturi dajući produkte kondenzacije **141a-f** u visokom iskorištenju prema Shemi 22. Spojevi **141a-f** također su priređeni iz *o*-fenilendiamina i kiselinskih klorida **142a-f**, koji su dobiveni iz estera 3-(5-aril-2-furil)-2-cijanopropenoinske kiseline, a koji su priređeni kondenzacijom 5-aril-2-furaldehida s etil-cijano acetatom (Shema 22).



Shema 22. Sinteza spojeva **141a-f**

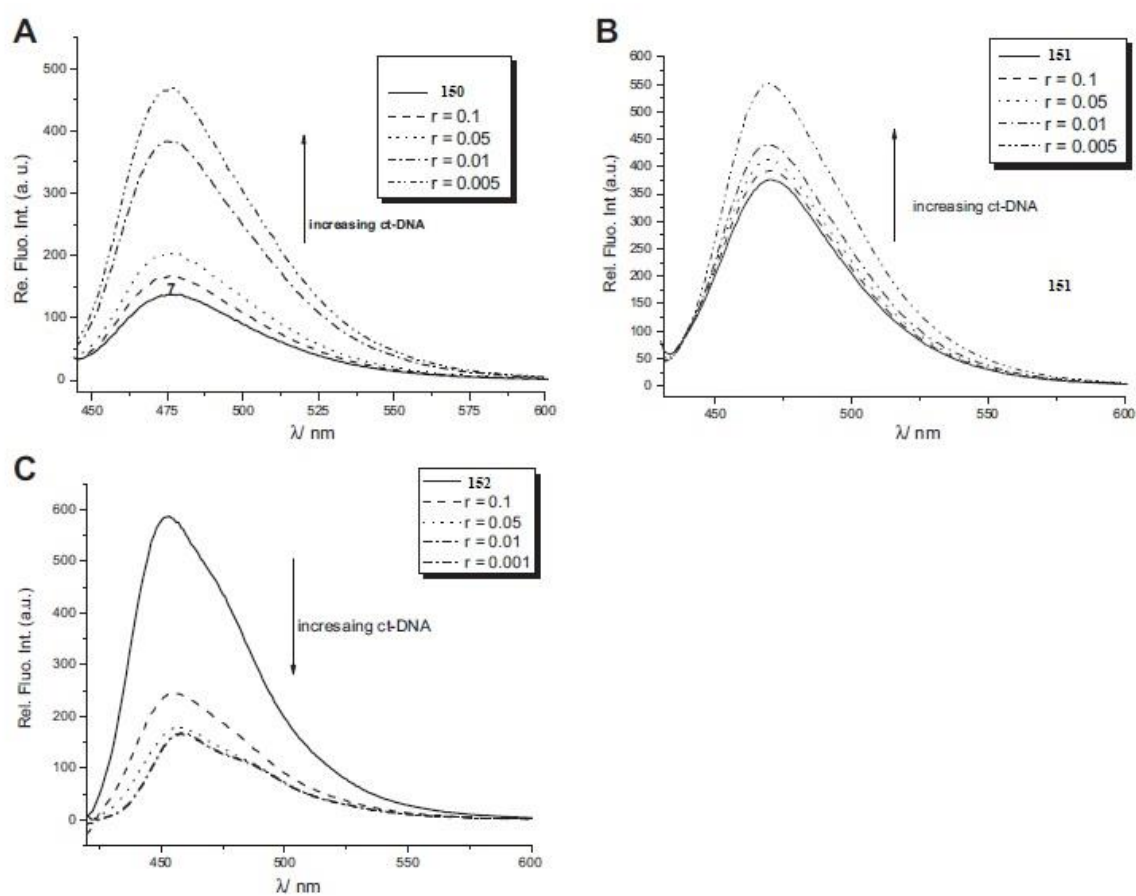
N. Perin i suradnici²³ su 2011. godine sintetizirali nove benzimidazo[1,2-*a*]kinoline supstituirane piperidinom, pirolidinom i piperazinom koristeći mikrovalovima potpomognutu nekatalitičku aminaciju uz dodatak suviška amina prema Shemi 23. 2-klorobenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril **146**, kao glavni prekursor u sintezi 2-amino supstituiranih benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **147–149**, priređen je fotokemijskim dehidrohalogeniranjem spoja **145**. Hidrokloridne soli amino supstituiranih benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **150–152** pripravljene su uvođenjem plinovitog HCl-a da bi se omogućila bolja topljivost.



Shema 23. Sintaza amino supstituiranih benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **147–152**

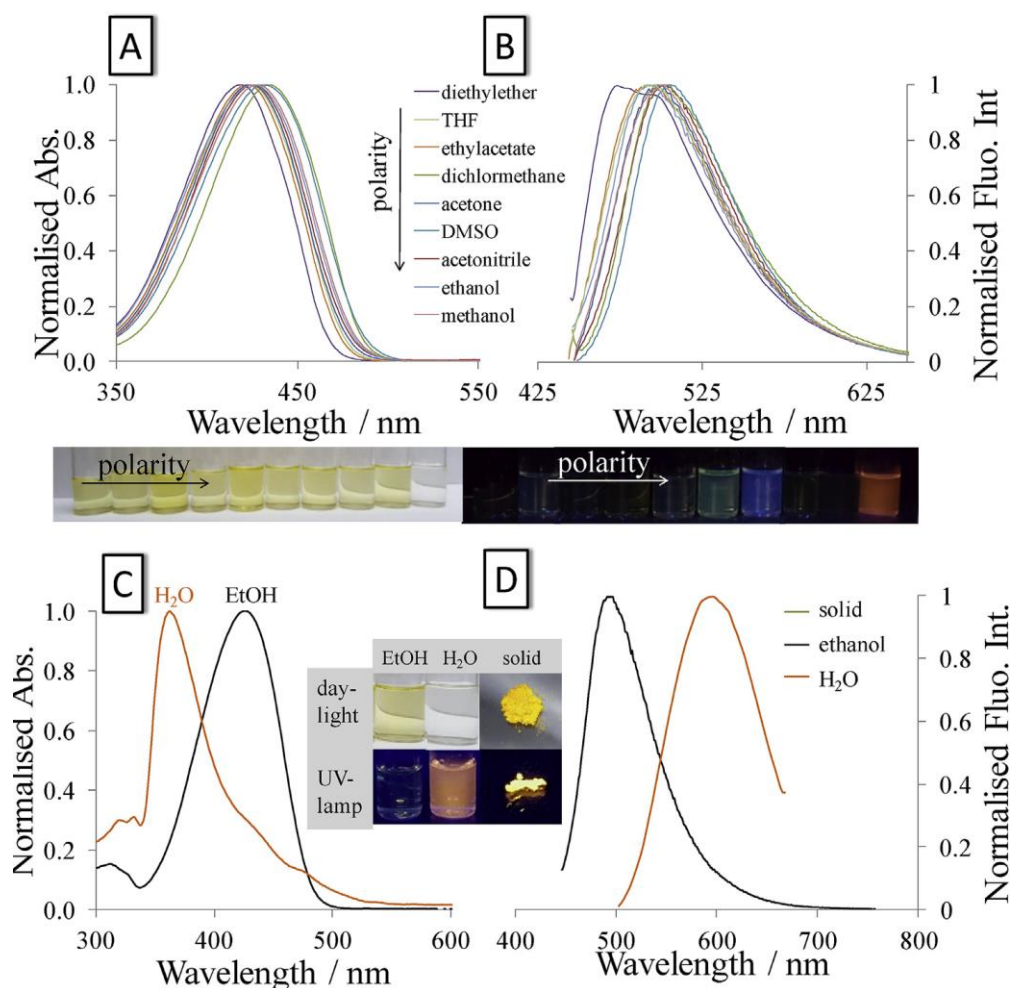
Spektroskopska svojstva dobivenih amino supstituiranih benzimidazo[1,2-*a*]kinolina te njihovih hidrokloridnih soli proučavana su fluorescencijskom spektroskopijom u prisutnosti ct-DNK.

Spojevi **146–151** pokazali su karakterističnu emisiju fluorescencije s maksimumom na 470 nm i jednom emisijskom vrpcom dok je spoj **152** pokazao dvije emisijske vrpce a ispitani su pri istoj koncentraciji u etanolu. Spojevi **150–152** pokazali su hipsokromni pomak maksimuma emisije u odnosu na spojeve **147–149** te hipsokromni pomak intenziteta fluorescencije. Priređeni spojevi pokazali su zanimljive spektroskopske karakteristike dobivene ispitivanjem interakcije s ct-DNK. Spojevi **150** i **151** pokazali su značajan rast intenziteta fluorescencije u prisutnosti DNK a time i mogućnost njihove primjene kao fluorescentnih proba za obilježavanje DNK. Spoj **152** je prilikom interakcije s DNK pokazao hipsokromni pomak intenziteta emisije te blagi batokromni pomak od 5 nm (Slika 8). Pozitivno nabijeni benzimidazo[1,2-*a*]kinolini posjeduju planarni i visoko konjugirani kromofor što im omogućuje interkaliranje između parova baza dvostruke uzvojnice DNK, stoga se vezanjem cikličkih amina na tetraciklički kromofor stvara mogućnost za dodatne interakcije s DNK molekulom.



Slika 8. Emisijski spektri spojeva **150** (A), **151** (B) i **152** (C) u prisutnosti ct-DNK

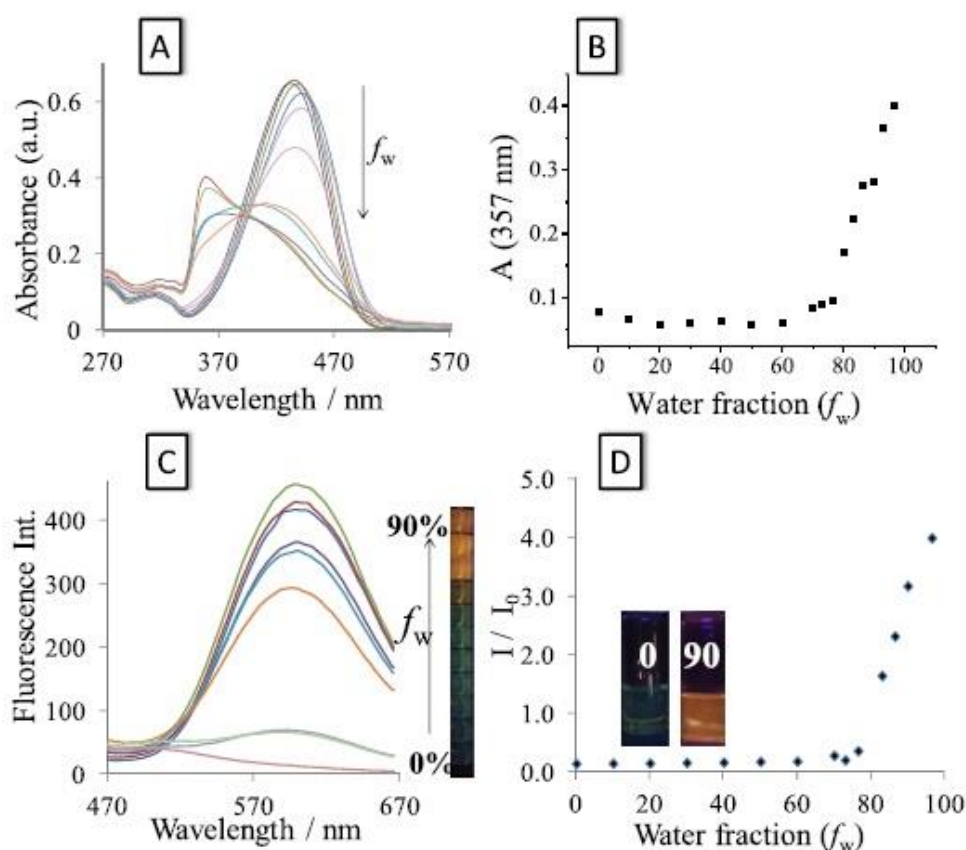
E. Horak i skupina istraživača²⁴ istražili su fenomen emisije izazvane agregacijom (engl. *aggregation induced emission*, AIE) akrilonitrilnog bojila temeljenog na benzimidazolu. Benzimidazolna jedinica predstavlja multifunkcionalnu gradivnu jedinicu u sintezi novih heterocikla za razvoj lijekova te pronalazi primjenu u razvoju optoelektroničkih uređaja kao kemosenzora. Primjena klasičnih fluorofora je ograničena na razrijeđene otopine zbog pojave gašenja emisije pri većim koncentracijama. Prilikom razvoja i dizajna novih AIE senzorskih molekula temeljenih na principu intramolekularnog prijenosa naboja (engl. *intramolecular charge transfer*, ICT), stiril-cijaninska bojila pokazala su se kao dobri kandidati zbog svoje izražene sposobnosti samoorganizacije. U sklopu njihovog istraživanja i razvoja novih ICT kromofora za određivanje metalnih iona i pH, otkriveno je da *E*-2-(2-benzimidazolil)-3-(4-*N*, *N*-dimetilaminofenil)akrilonitril (BIA) pokazuje jedinstvena AIE svojstva.



Slika 9. Normalizirani A) apsorpcijski i B) emisijski spektar BIA u otapalima različite polarnosti te C) apsorpcijski i D) emisijski spektar BIA u otopini H₂O i EtOH

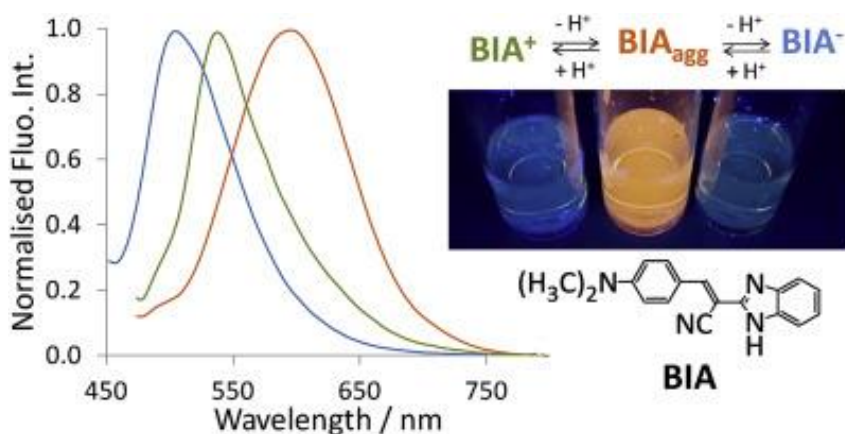
Benzimidazolna jezgra dio je donor- π -akceptor molekuskog sustava pri čemu djeluje kao elektron-akceptorska jedinica, povezana π -poveznicom s *N,N*-dimetilamino skupinom koja djeluje kao elektron-donorska jedinica. Na taj način naboj putuje duž molekule kroz π -konjugirani sustav promovirajući fluorescenciju. Fotofizikalna svojstva akrilonitrilne boje BIA ispitivana su u organskim otapalima različite polarnosti, binarnim smjesama otapala i neotapala te u čvrstom stanju. Zatim su snimljeni apsorpcijski i emisijski spektri. U svim organskim otapalima, BIA je pokazala maksimum apsorpcije u rasponu od 418 do 434 nm s općenito visokim vrijednostima molarnih apsorpcijskih koeficijenata. Emisijski spektri pokazali su fluorescenciju umjerenog do niskog intenziteta u plavom i zelenom spektralnom području, u rasponu od 471 nm u dietileteru do 506 nm u DMSO-u (Slika 9).

Ispitivanja u binarnim smjesama otapala i neotapala (etanol-H₂O, THF-H₂O, DMSO-H₂O) pokazala su hipsokromni pomak s maksimumom apsorbancije na 350 nm te intenzivnu fluorescenciju u crveno-narančastom spektralnom području pri 600 nm (Slika 9 i 10). U krutom stanju, BIA je pokazala snažnu fluorescenciju s maksimumom emisije na 595 nm.



Slika 10. A) apsorpcijski i C) emisijski spektar BIA u DMSO-u pri različitim vrijednostima volumena dodane vode

Tyndallovim fenomenom ispitano je stvaranje nanoagregata akrilonitrilne boje u vodenim otopinama. Mehanizam samoorganizacije molekula u nanoagregatne strukture ovisi o supramolekularnim interakcijama, osobito vodikovim vezama, te drugim dipol-dipol interakcijama kao i svojstvima otapala i neotapala. Stvaranjem nanoagregata ograničeno intramolekularno gibanje dovodi do čvršćeg rasporeda molekula s povećanom rigidnosti čime se smanjuje vjerojatnost prijelaza bez zračenja te povećava emisija izazvana agregacijom. BIA je pokazala batokromni pomak maksimuma apsorbancije te vrlo izraženu emisiju u agregiranom stanju. Utjecaj pH na mehanizam AIE ispitan je spektroskopskim pH titracijama u vodenim otopinama. Emisijski spektri protoniranog, deprotoniranog i neutralnog oblika BIA prikazani su na Slici 11.



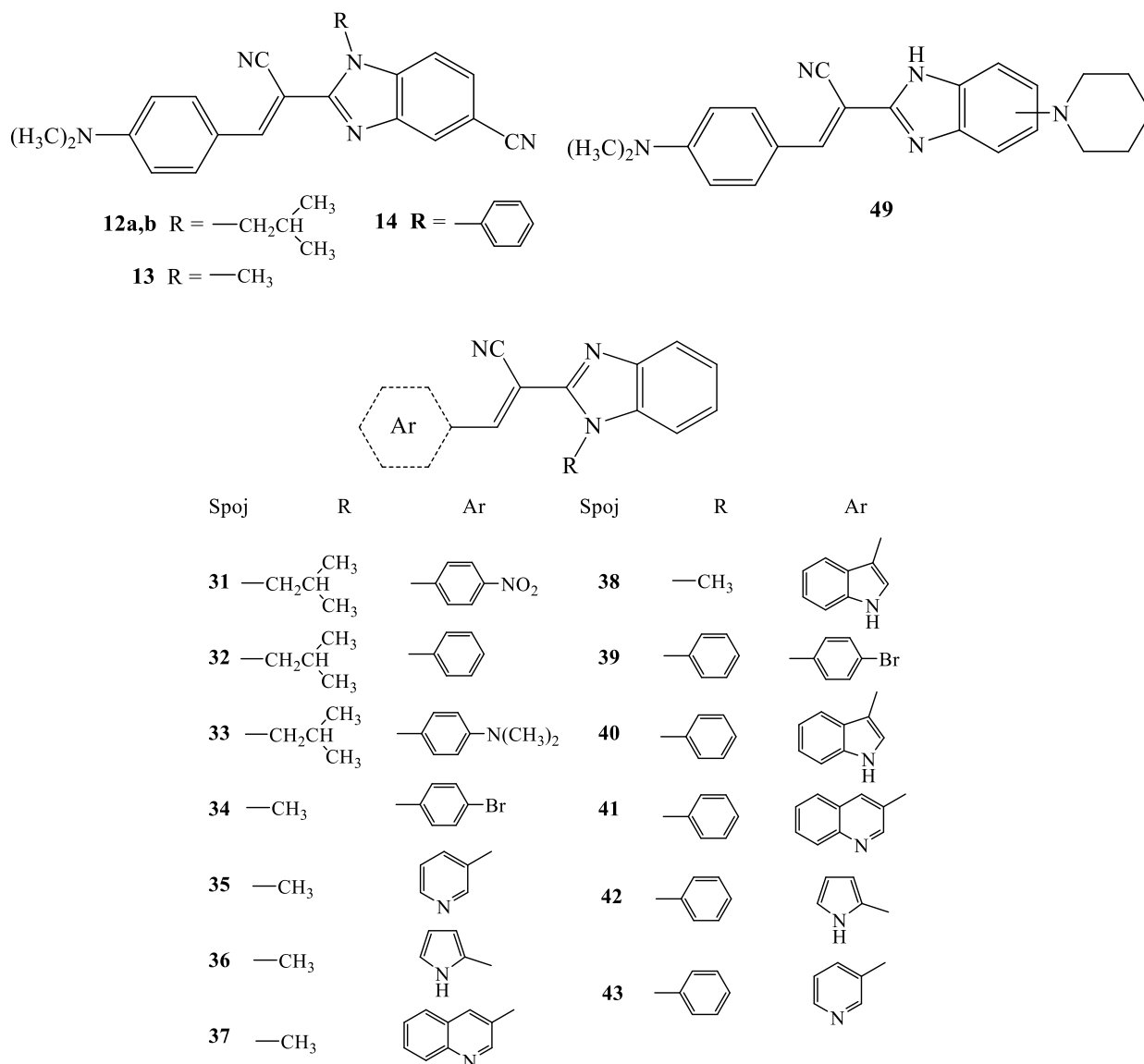
Slika 11. Normalizirani emisijski spektri te prikaz vodenih otopina protoniranog, deprotoniranog i neutralnog oblika BIA pod UV lampom

Protonirani agregirani oblik BIA pokazao je emisiju u plavom spektralnom području pri 537 nm, a deprotonirani oblik u zelenom spektralnom području pri 500 nm. Neutralni oblik BIA pokazao je sposobnost samoorganizacije u vodenom mediju te snažnu emisiju izazvanu agregacijom u crveno-narančastom spektralnom području u fiziološki relevantnom području pH (pH=5–8). Promjenom pH vrijednosti otopine moguće je reverzibilno utjecati na proces stvaranja nanoagregata u otopini te na taj način uključivati i isključivati pojavu emisije.

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. Cilj rada

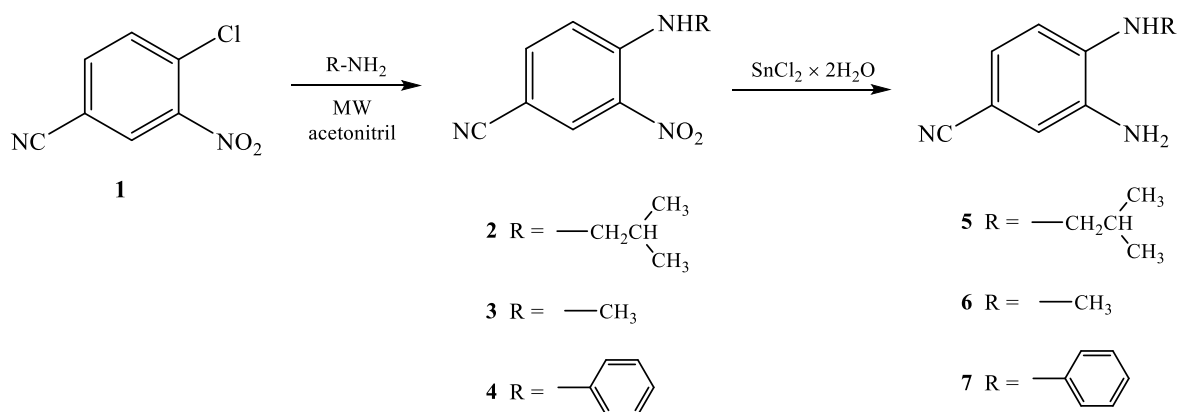
Zadatak ovog rada bila je priprava novih *N*-supstituiranih derivata benzimidazola **12–14** i **31–43** te piperidinil supstituiranog derivata akrilonitrila **49** kao potencijalnih biološki aktivnih spojeva, čije su strukture prikazane na Slici 12. Svi spojevi priređeni su korištenjem uobičajenih metoda organske sinteze za pripravu sličnih heterocikličkih spojeva. Akrilonitrilni derivati **12–14**, **31–43** i **49** priređeni su reakcijama kondenzacije glavnih prekursora *N*-supstituiranih derivata 5-cijano-2-cijanometilbenzimidazola, *N*-supstituiranih derivata 2-cijanometilbenzimidazola te 2-cijanometil-5(6)-piperidinilbenzimidazola s odgovarajućim aldehydima. Struktura svih novopriređenih spojeva potvrđena je ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom te MS spektrometrijom.



Slika 12. Strukture ciljanih spojeva

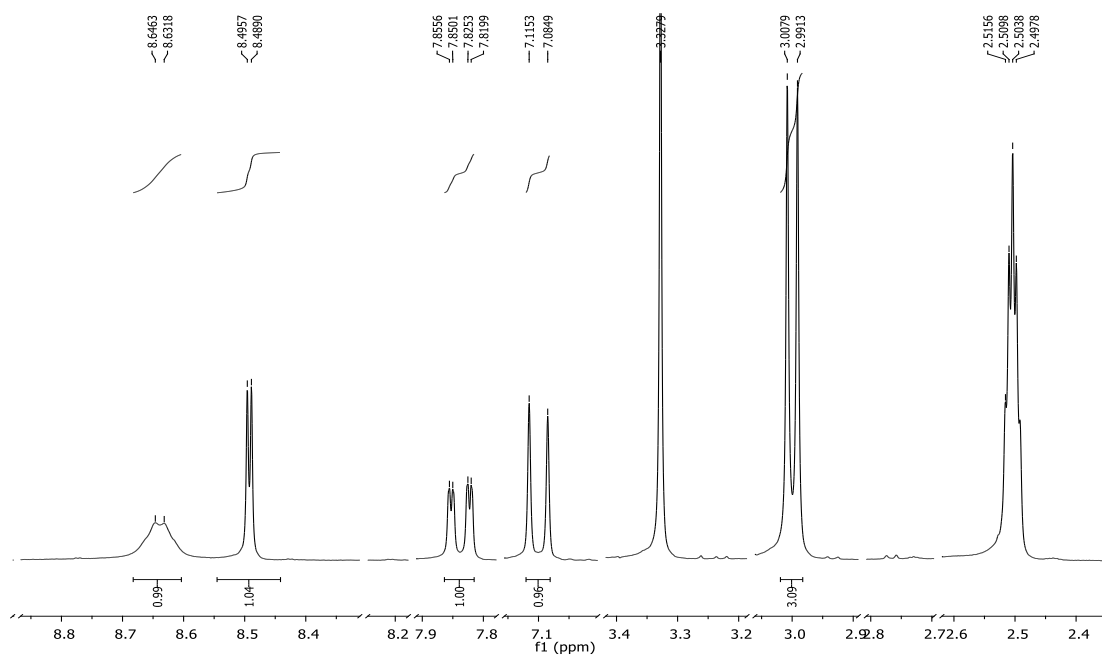
3.2. Sinteza priređenih spojeva

Sinteza ciljanih derivata akrilonitrila **12–14** provedena je višestupnjevitom sintezom počevši od sinteze derivata 3,4-diaminobenzonitrila **5–7** koji su priređeni redukcijom nitro supstituiranih prekursora **2–4** s kositar-kloridom dihidratom u metanolu i kiselom mediju uz iskorištenja od 88%, 94% i 86%. Spojevi **2–4** prethodno su priređeni mikrovalovima potpomognutom nekataliziranom aminacijom početnog 4-klor-3-nitrobenzonitrila **1** u acetonitrilu i uz suvišak amina u iskorištenjima od 79%, 61% i 89 % (Shema 24).²⁵ Strukture priređenih spojeva **2–4** potvrđene su ¹H NMR i ¹³C NMR spektroskopijom.



Shema 24. Sinteza spojeva **2–4** i **5–7**

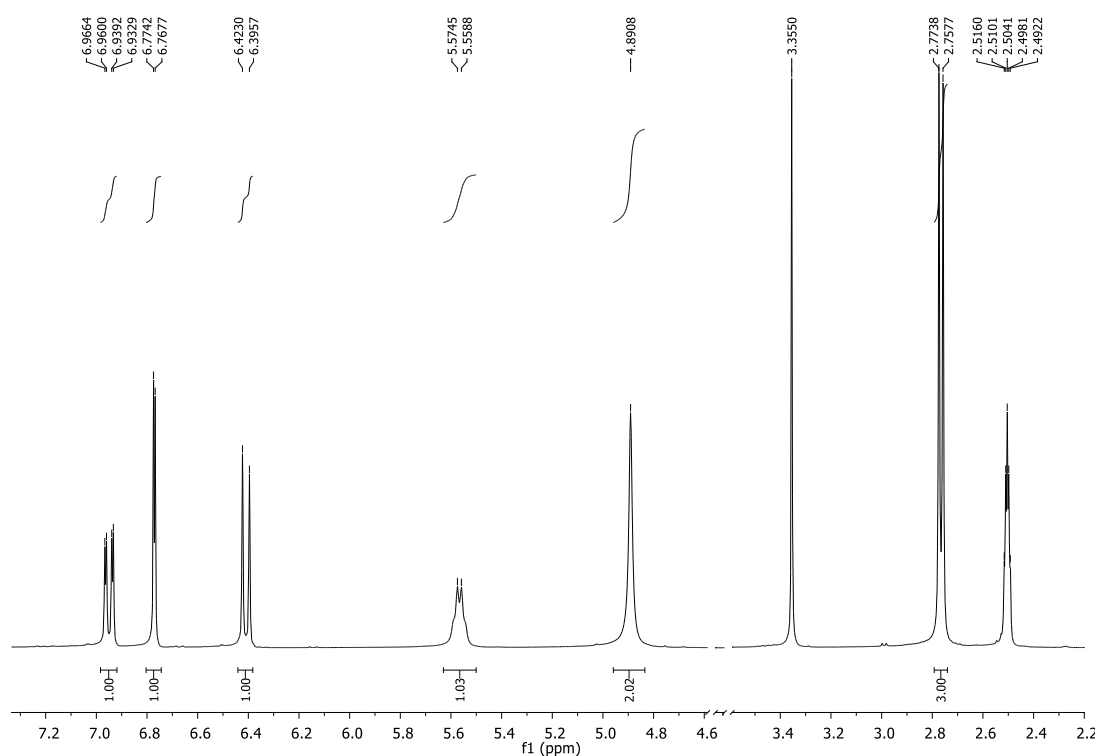
Na Slici 13. prikazan je ¹H NMR spektar spoja **3**.



Slika 13. ¹H NMR spektar spoja **3**

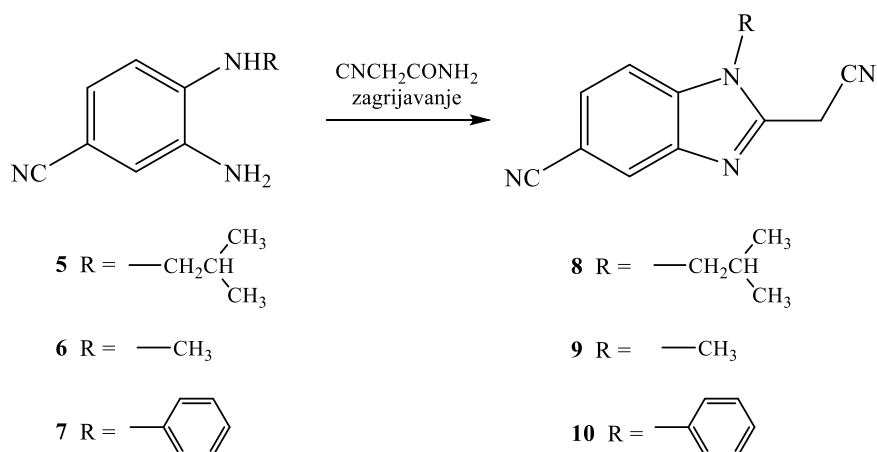
U spektru se mogu uočiti signal koji odgovara NH protonu na 8,64 ppm, odgovarajući broj signala aromatskih protona u području 8,49 – 7,10 ppm te signal alifatskih protona CH₃ skupine na 3,00 ppm. Signali su u odnosu na spektar spoja **6** pomaknuti u niže magnetsko polje jer elektronegativniji kisikovi atomi nitro skupine u spoju **3** uzrokuju jače odsjenjenje protona.

Strukture priređenih spojeva **5–7** potvrđene su ¹H NMR i ¹³C NMR spektroskopijom. U ¹H NMR spektru spoja **6** (Slika 14.) može se uočiti odgovarajući broj signala aromatskih protona u području 6,95 – 6,41 ppm, signal koji odgovara NH protonu na 5,57 ppm, signali dušikovih protona amino skupine na 4,89 ppm te signal alifatskih protona CH₃ skupine na 2,77 ppm.



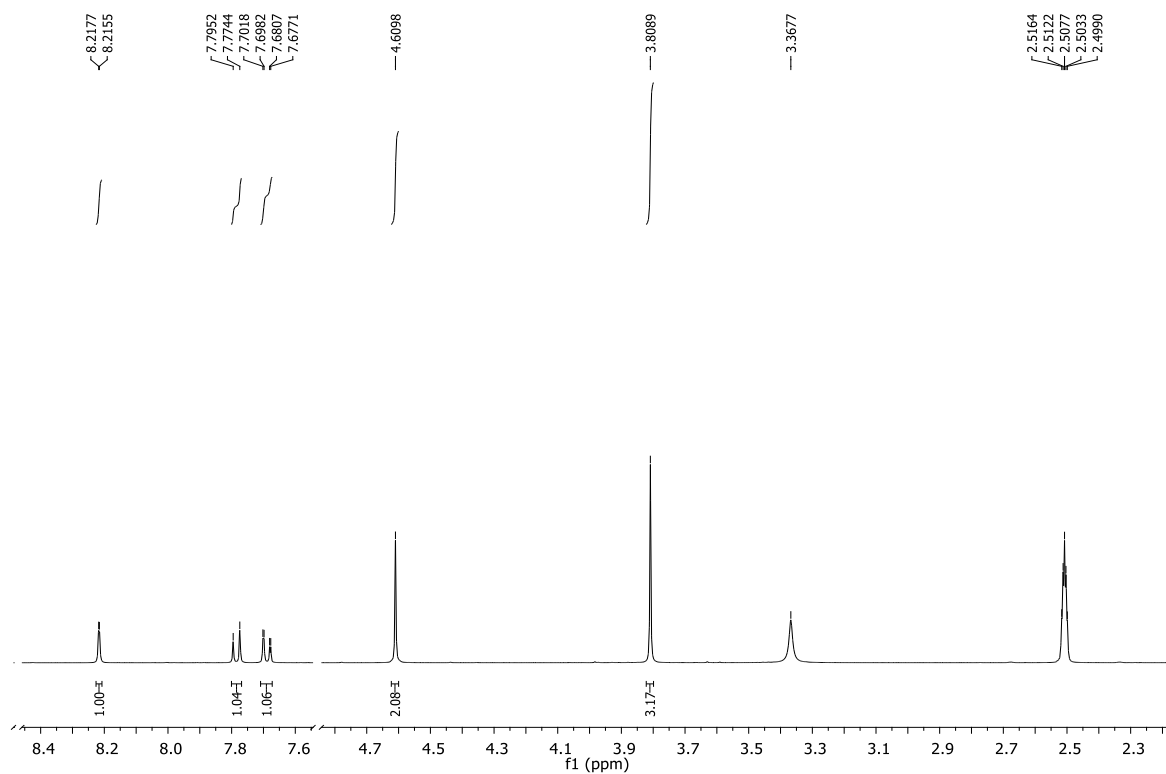
Slika 14. ¹H NMR spektar spoja **6**

N-supstituirani derivati 5-cijano-2-cijanometilbenzimidazola **8–10**, kao glavni prekursori za sintezu ciljanih spojeva, priređeni su zagrijavanjem derivata 3,4-diaminobenzonitrila **5–7** i 2-cijanoacetamida u 6%, 58% i 34%-tnim iskorištenjima. Sintetski put za pripravu derivata benzimidazola **8–10** prikazan je na Shemi 25.²⁶



Shema 25. Sinteza spojeva **8–10**

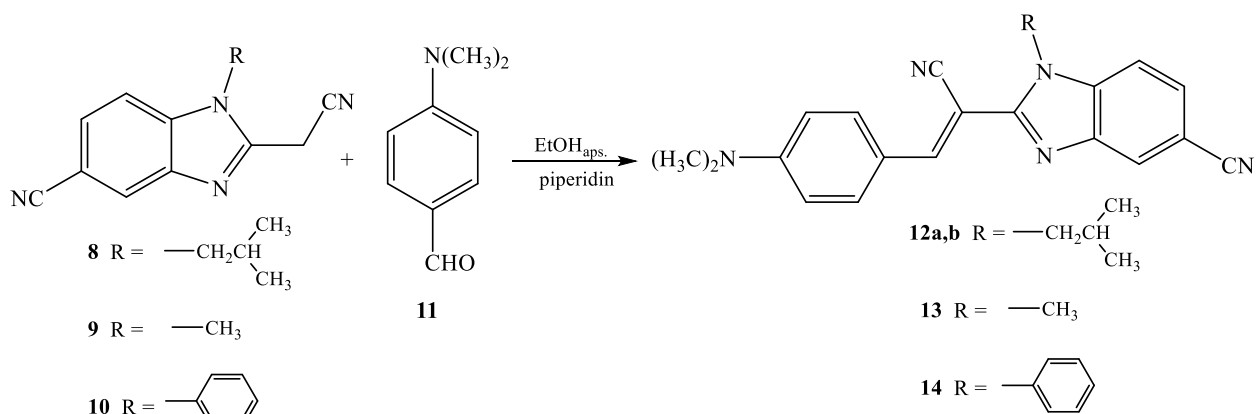
Strukture svih priređenih benzimidazola **8–10** potvrđene su ^1H NMR i ^{13}C NMR spektroskopijom. Na Slici 15. prikazan je ^1H NMR spektar spoja **9** u kojem možemo uočiti signale aromatskih protona (8,22 – 7,69 ppm) te u alifatskom dijelu spektra singlete CH_2 i CH_3 skupine vezanih na benzimidazolsku jezgru (4,61 – 3,81 ppm).



Slika 15. ^1H NMR spektar spoja **9**

Daljnijim kondenzacijama derivata benzimidazola **8–10** s 4-*N,N*-dimetilaminobenzaldehidom u apsolutnom etanolu i uz piperidin kao bazu priređeni su željeni benzimidazolil-supstituirani akrilonitrili **12–14** u malim iskorištenjima, 7 – 13% (Shema 26).²⁷

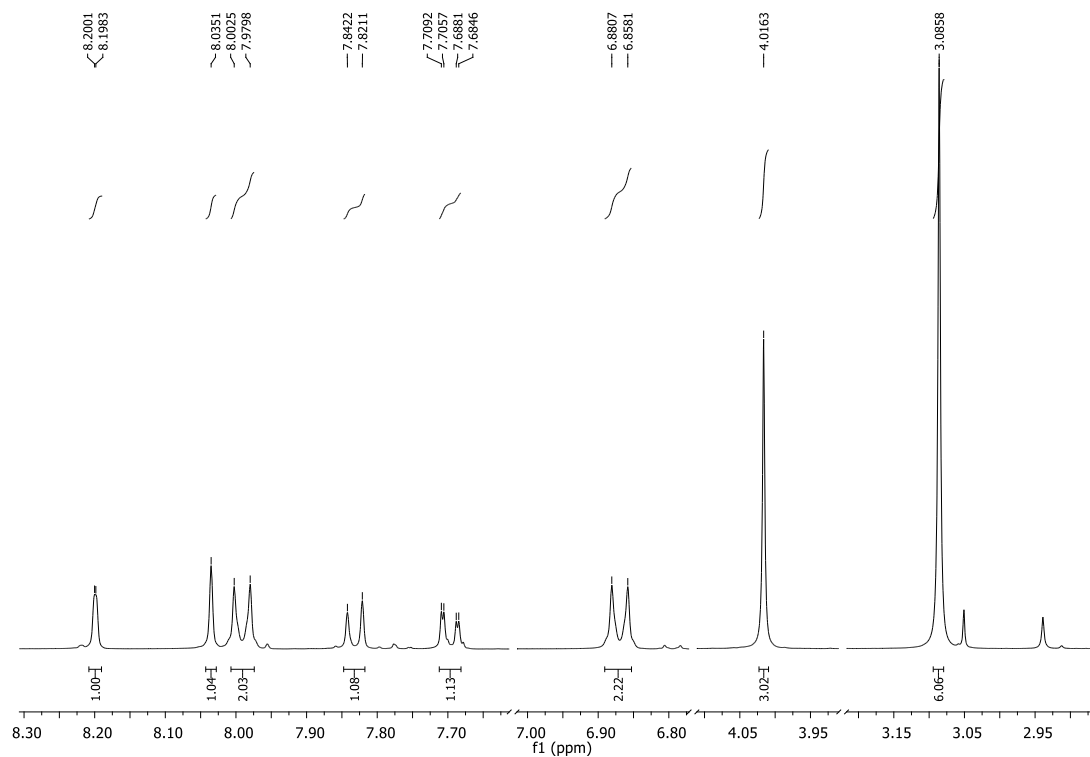
Spojevi **13** i **14** izolirani su kao *E*-izomeri dok je spoj **12** dobiven kao smjesa geometrijskih izomera u omjeru 1 (**12b**): 3 (**12a**) pri čemu je *E*-izomer većinski produkt. Strukture spojeva **12–14** potvrđene su ¹H NMR i ¹³C NMR spektroskopijom te MS spektrometrijom.



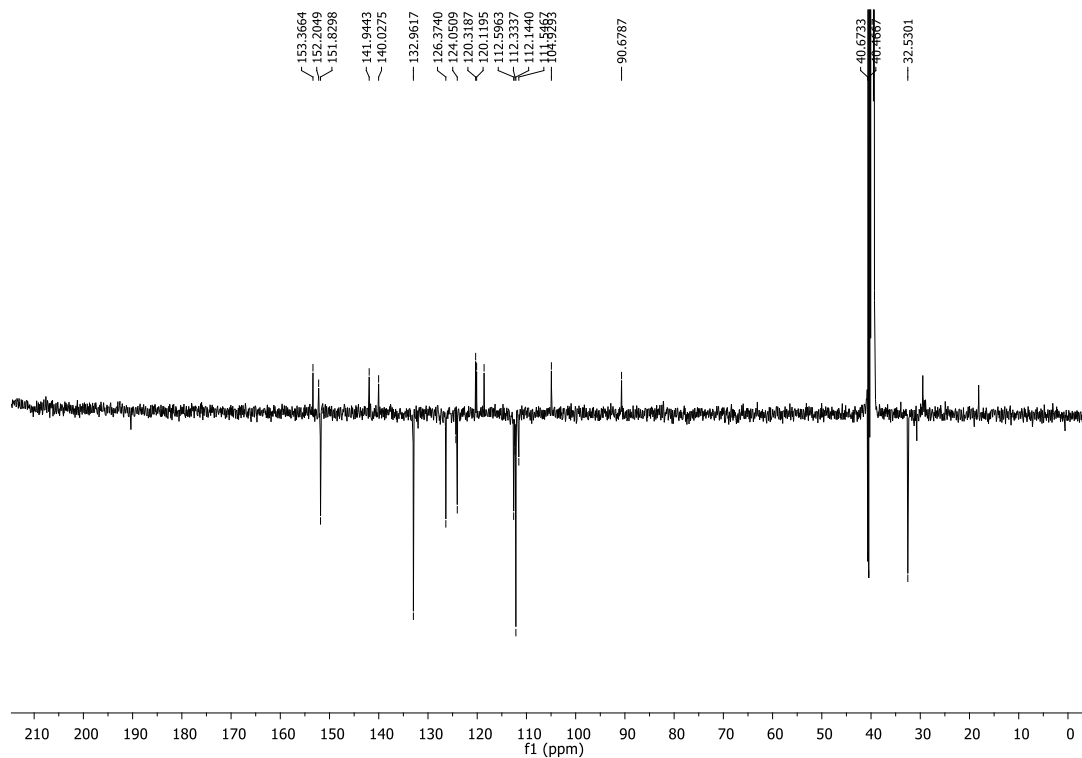
Shema 26. Sinteza spojeva **12–14**

Na Slici 16.a–c prikazani su ¹H i ¹³C NMR spektri te kromatogram i MS spektar spoja **13**. Na Slici 16.a prikazan je ¹H NMR spektar spoja **13** u kojem možemo uočiti odgovarajući broj signala aromatskih protona (8,20 – 6,87 ppm), singlet protona CH₃ skupine vezane na benzimidazolni dušikov atom na 4,02 ppm te singlet 6 protona dviju metilnih skupina *N,N*-dimetilamino skupine na 3,09 ppm u alifatskom dijelu spektra.

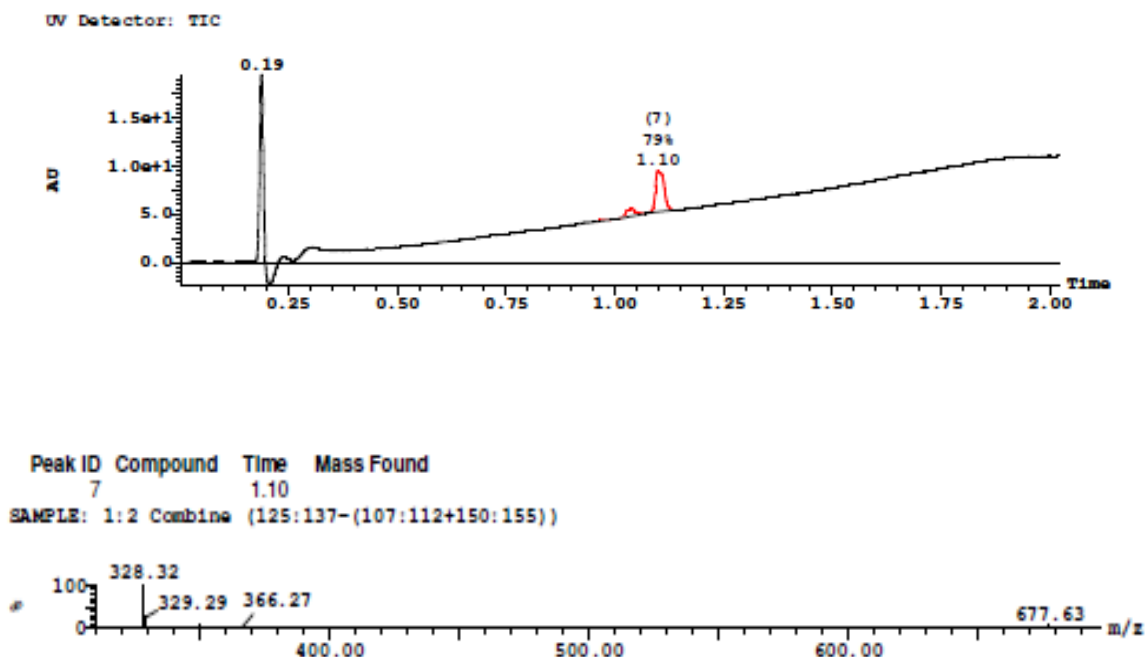
a)



b)



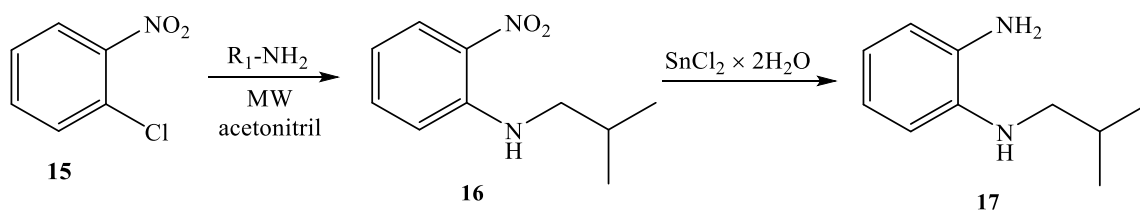
c)



Slika 16. a) ^1H NMR spektar; b) ^{13}C NMR spektar; c) kromatogram i MS spektar spoja **13**

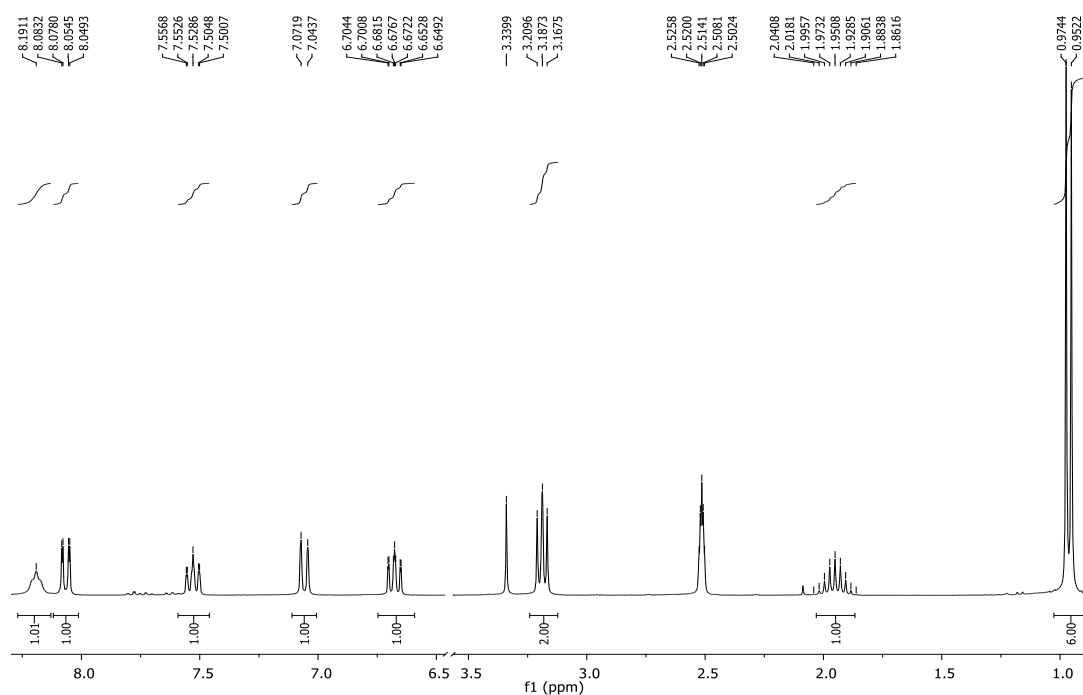
U ^{13}C NMR spektru spoja **13** na Slici 16.b može se uočiti 9 signala koji odgovaraju kvaternim C atomima te odgovarajući broj signala koji odgovaraju C atomima aromatskih CH skupina. U alifatskom dijelu spektra mogu se uočiti signali koji odgovaraju C atomima metilnih skupina. Na Slici 16.c prikazan je MS spektar i kromatogram spoja **13** u kojem se može uočiti odgovarajući molekularni pik koji odgovara masi spoja.

Sinteza ciljanih derivata akrilonitrila **31–43** provedena je višestupnjevitom sintezom počevši od sinteze *N*-izobutil-1,2-fenilendiamina **17** koji je priređen redukcijom nitro supstituiranog prekursora **16** s kositar-kloridom dihidratom u metanolu i kiseloj mediju u iskorištenju od 81%. Spoj **16** prethodno je priređen mikrovalovima potpomognutom aminacijom početnog 1-klor-2-nitrobenzena **15** u acetonitrilu i uz suvišak izobutilamina u 86%-tnom iskorištenju (Shema 27). Strukture priređenih spojeva **16** i **17** potvrđene su ^1H NMR i ^{13}C NMR spektroskopijom.



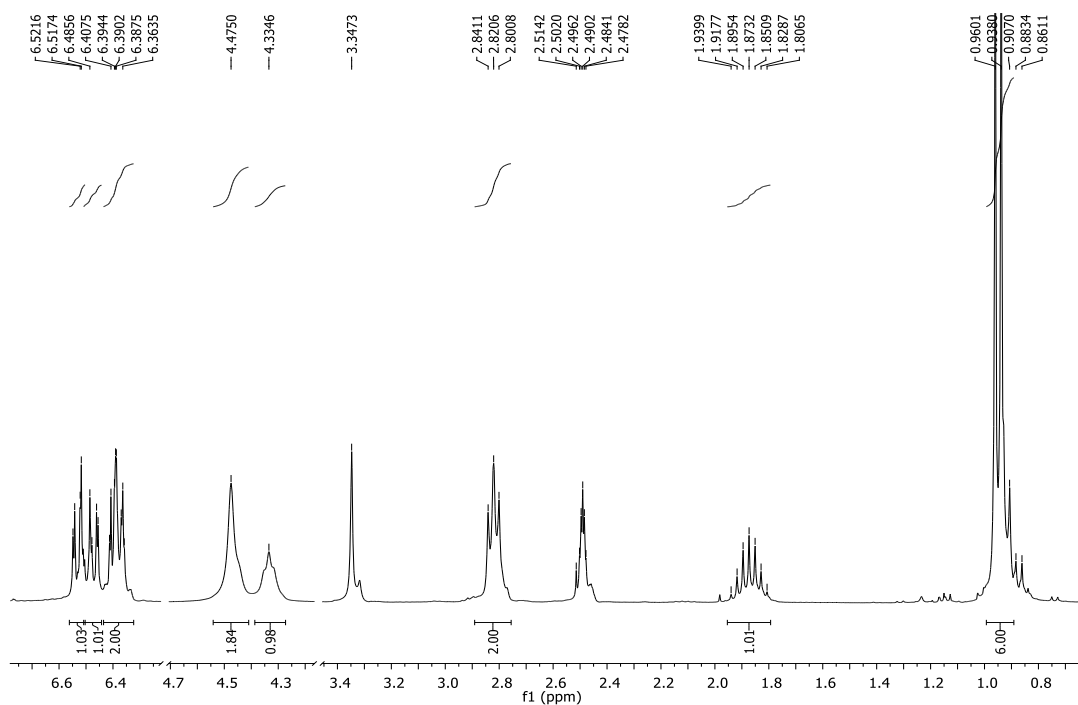
Shema 27. Sinteza spojeva **16** i **17**

U ^1H NMR spektru spoja **16** (Slika 17.) može se uočiti široki singlet koji odgovara dušikovom protonu amino skupine na 8,19 ppm te odgovarajući broj signala aromatskih protona u području 8,07 – 6,68 ppm. U alifatskom dijelu vidljivi su signali tripleta na 3,19 ppm koji odgovara CH_2 skupini, multiplet na 1,95 ppm koji odgovara protonu CH skupine te dublet na 0,96 ppm koji odgovara protonima dviju CH_3 skupina na izobutilnom supstituentu. Signali aromatskih protona su u odnosu na aromatske protone spoja **17** pomaknuti u niže magnetsko polje.



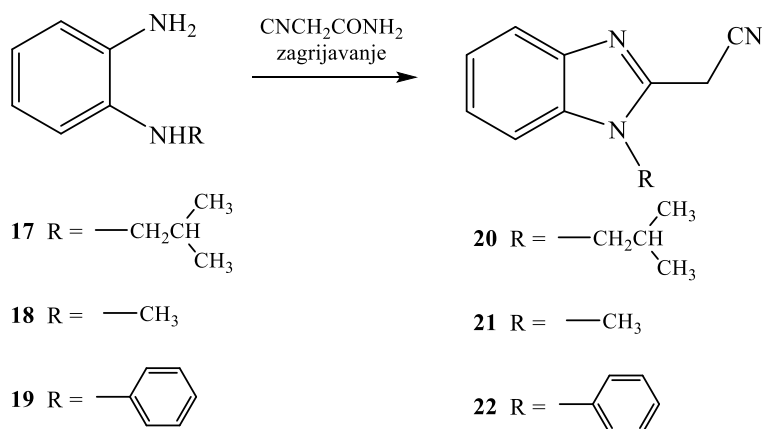
Slika 17. ^1H NMR spektar spoja **16**

U ^1H NMR spektru spoja **17** (Slika 18.) može se uočiti odgovarajući broj signala aromatskih protona u području 6,53 – 6,32 ppm, signali dušikovih protona dviju amino skupina na 4,48 ppm i 4,33 ppm te signali alifatskih protona izobutilne skupine u području 2,82 – 0,95 ppm.



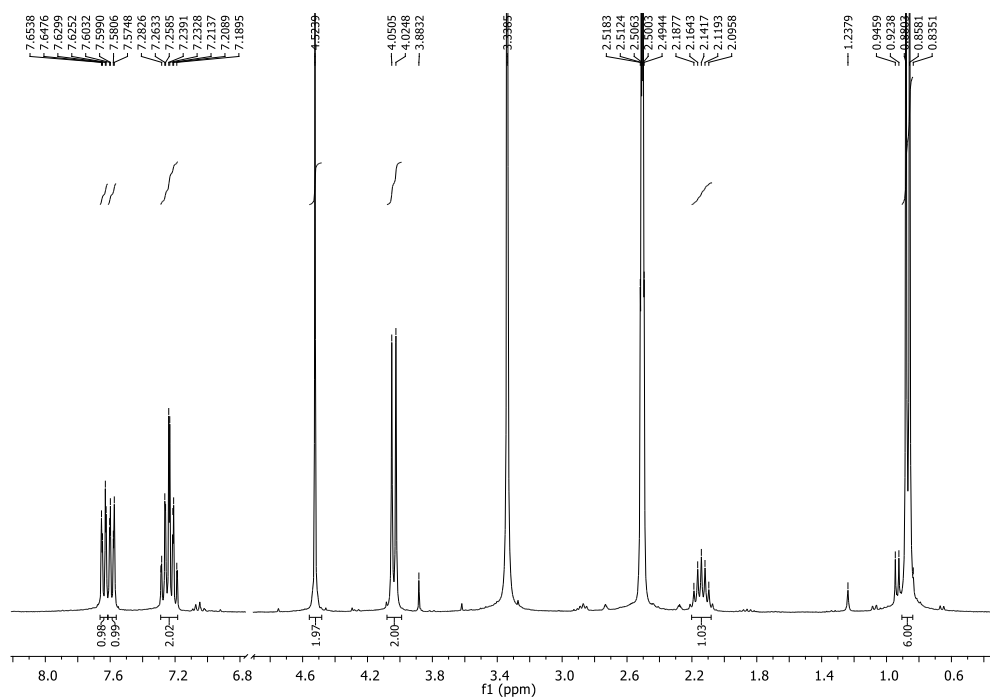
Slika 18. ^1H NMR spektar spoja **17**

N-supstituirani derivati 2-cijanometilbenzimidazola **20–22**, kao glavni prekursori za sintezu ciljanih spojeva, priređeni su zagrijavanjem *N*-supstituiranih derivata 1,2-fenilendiamina **17–19** i 2-cijanoacetamida u 54%, 50% i 30%-tnim iskorištenjima. Sintetski put za pripravu derivata benzimidazola **20–22** prikazan je na Shemi 28.²⁸ Strukture svih priređenih benzimidazola **20–22** potvrđene su ^1H NMR i ^{13}C NMR spektroskopijom.



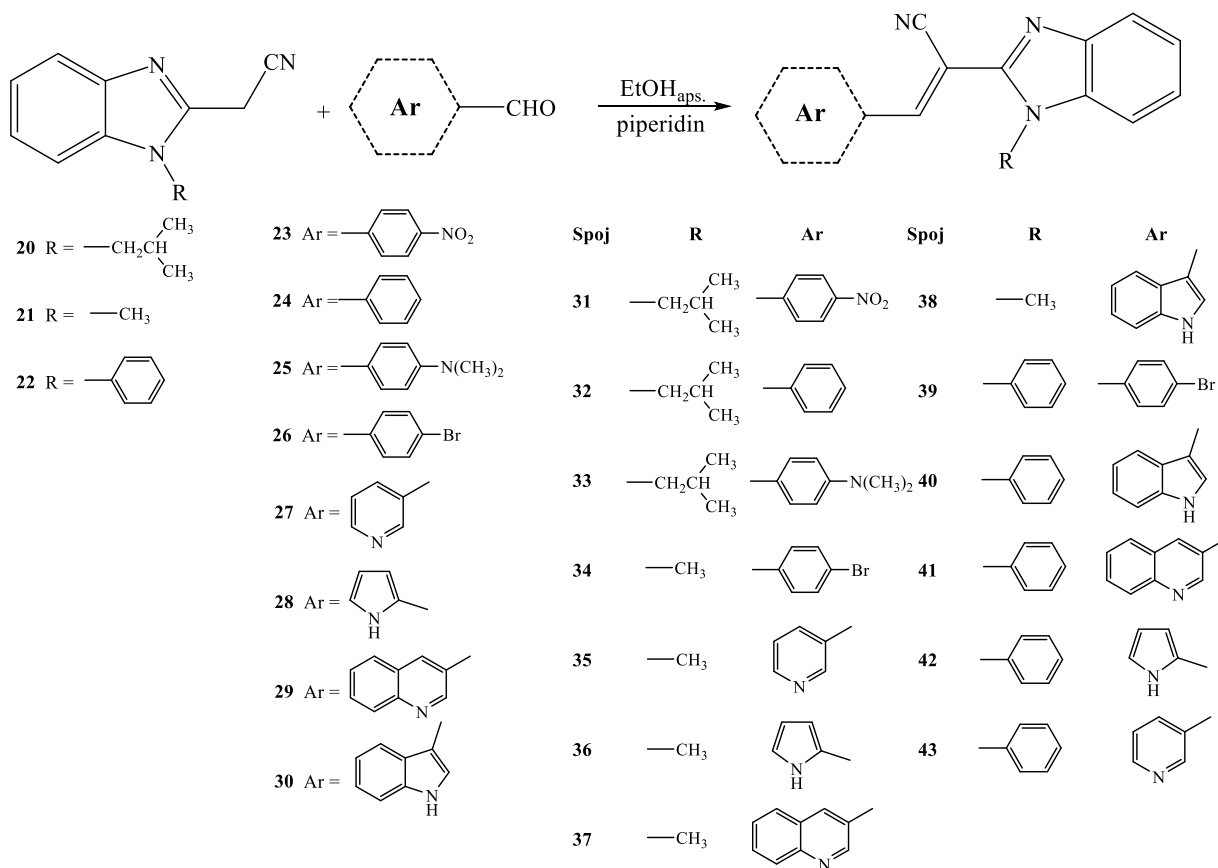
Shema 28. Sinteza spojeva **20–22**

Na Slici 19, prikazan je ^1H NMR spektar spoja **20** u kojem možemo uočiti signale aromatskih protona (7,64 – 7,18 ppm) te u alifatskom dijelu spektra signale protona izobutilnog supstituenta (4,05 – 0,87 ppm) kao i singlet CH_2 skupine vezane na benzimidazolsku jezgru na 4,52 ppm.



Slika 19. ^1H NMR spektar spoja **20**

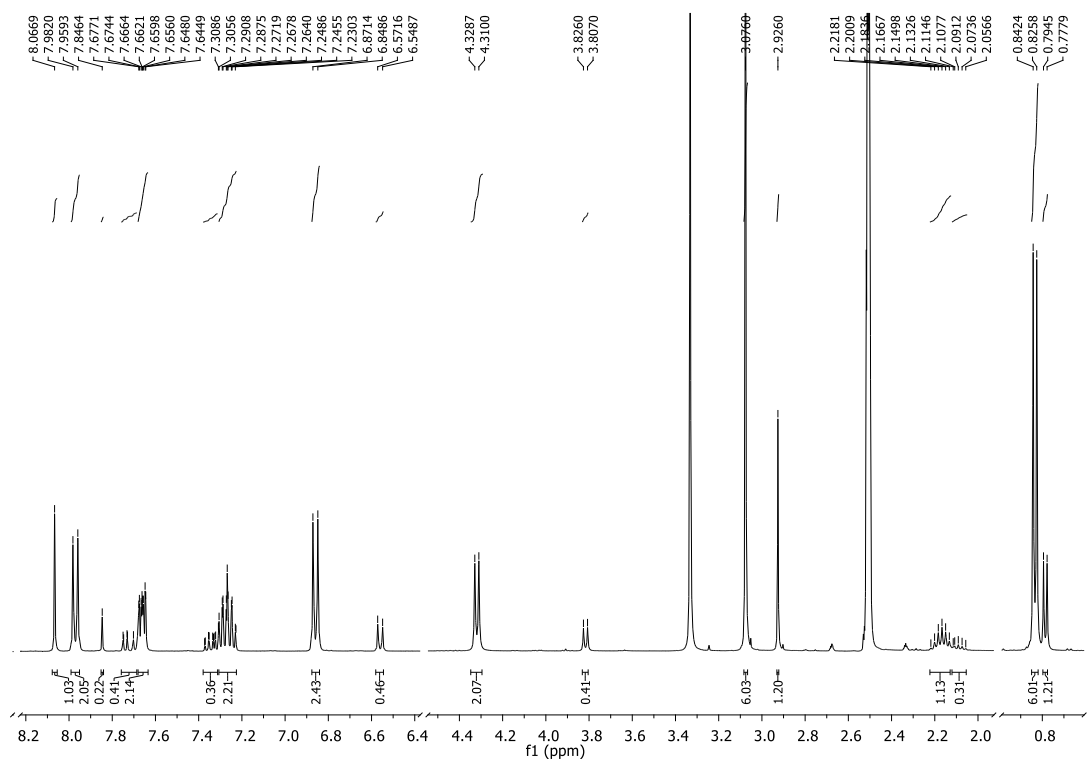
Daljnijm kondenzacijama derivata benzimidazola **20–22** s odgovarajućim aromatskim i heteroaromatskim aldehydima **23–30** u apsolutnom etanolu i uz piperidin kao bazu priređeni su željeni benzimidazolil-supstituirani akrilonitrili **31–43** u dobrim iskorištenjima, 37 – 94% (Shema 29). Akrilonitrili **32** i **34–43** su izolirani kao *E*-izomeri osim spojeva **31** i **33** koji su dobiveni kao smjesa geometrijskih izomera u omjeru 1 (**31b**): 2 (**31a**) i 1 (**33b**): 5 (**33a**) pri čemu je *E*-izomer većinski produkt. Strukture svih željenih spojeva **31–43** potvrđene su ^1H NMR i ^{13}C NMR spektroskopijom.



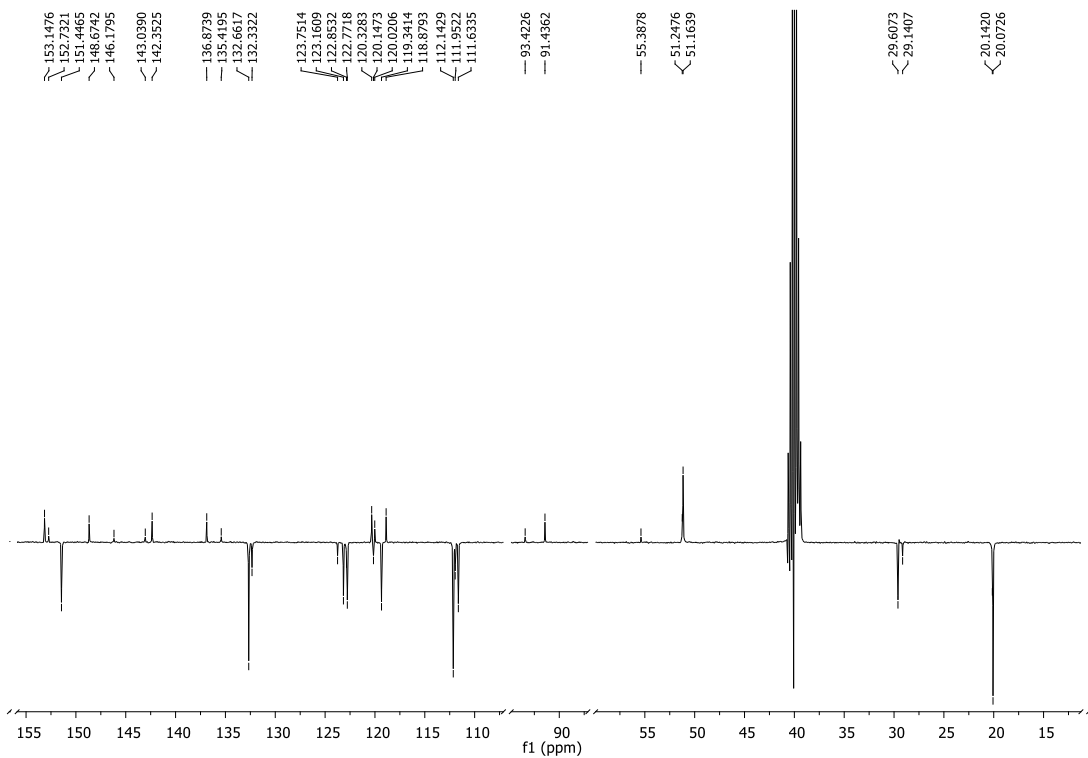
Shema 29. Sinteza spojeva **31–43**

Na Slici 20.a prikazan je ^1H NMR spektar spoja **33** u kojem je vidljiv dvostruki broj svih signala. Može se uočiti odgovarajući broj signala aromatskih protona (8,07 – 6,56 ppm), alifatski signali protona metilnih skupina *N,N*-dimetilamino skupina na 3,08 ppm i 2,93 ppm te signali protona izobutilnog supstituenta (2,22 – 0,79 ppm). Signali protona *E*-izomera, u čijoj se strukturi prioritelnije skupine nalaze sa suprotne strane dvostruke veze, su u odnosu na signale *Z*-izomera pomaknuti u niže magnetsko polje.

a)



b)

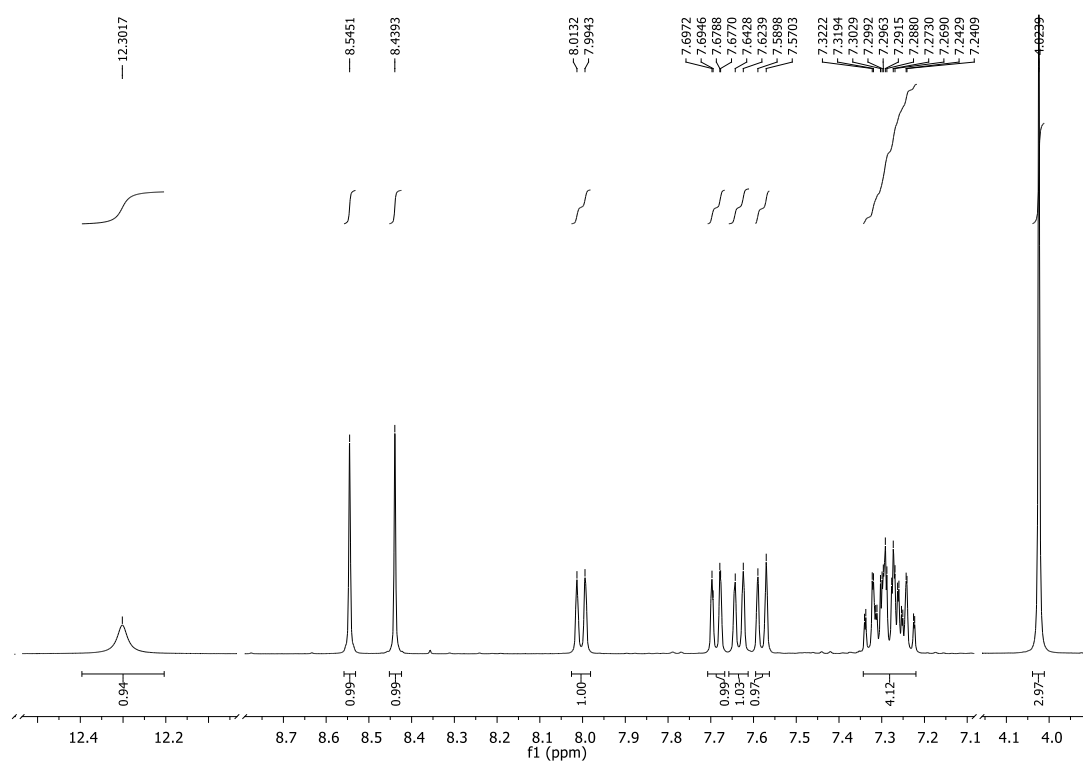


Slika 20. a) ^1H NMR spektar; b) ^{13}C NMR spektar spoja **33**

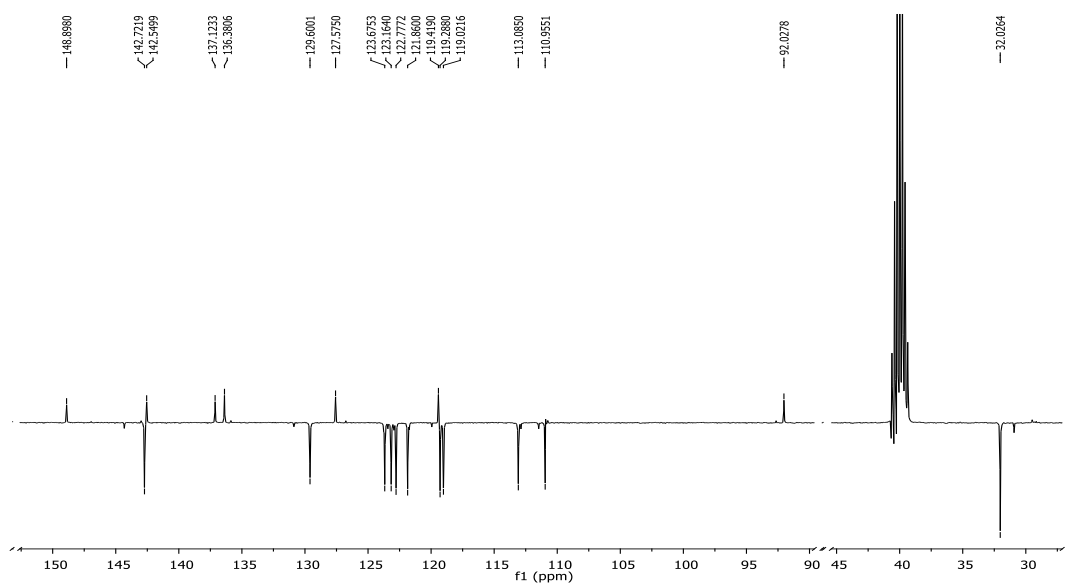
U ^{13}C NMR spektru spoja **33** na Slici 20.b može se uočiti odgovarajući broj signala koji odgovaraju kvaternim C atomima, odgovarajući broj signala koji odgovaraju aromatskim CH skupinama te signali koji odgovaraju ugljikovim atomima *N,N*-dimetilamino skupina. U alifatskom dijelu vidljiva su dva signala na 51,2 ppm i 55,4 ppm koji odgovaraju dvjema CH_2 skupinama, signali na 29,6 ppm i 29,1 ppm dviju CH skupina te na 20,0 ppm i 20,1 ppm koji odgovaraju ugljikovim atomima metilnih skupina izobutilnog supstituenta.

Na Slici 21.a, prikazan je ^1H NMR spektar spoja **38** u kojem možemo uočiti singlet koji odgovara protonu NH skupine indola na 12,30 ppm, odgovarajuće signale aromatskih protona (8,55 – 7,22 ppm), koji su zbog induktivnog efekta dušika u aromatskom prstenu pomaknuti u niže polje, te u alifatskom dijelu spektra singlet protona metilne skupine vezane na benzimidazolni dušik na 4,02 ppm.

a)



b)

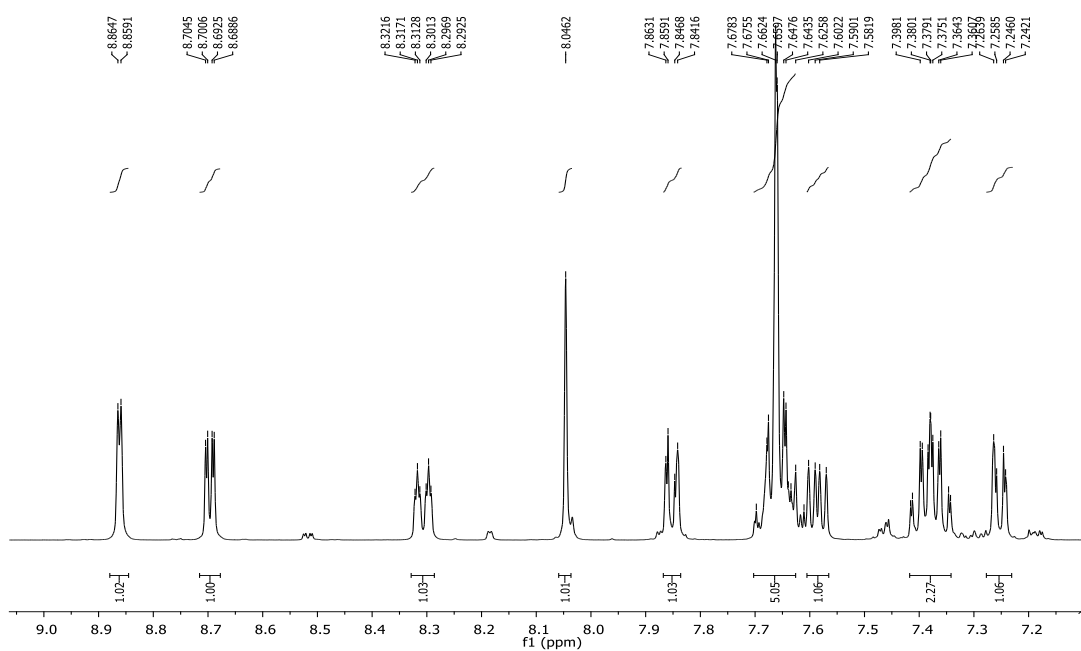


Slika 21. a) ^1H NMR spektar; b) ^{13}C NMR spektar spoja **38**

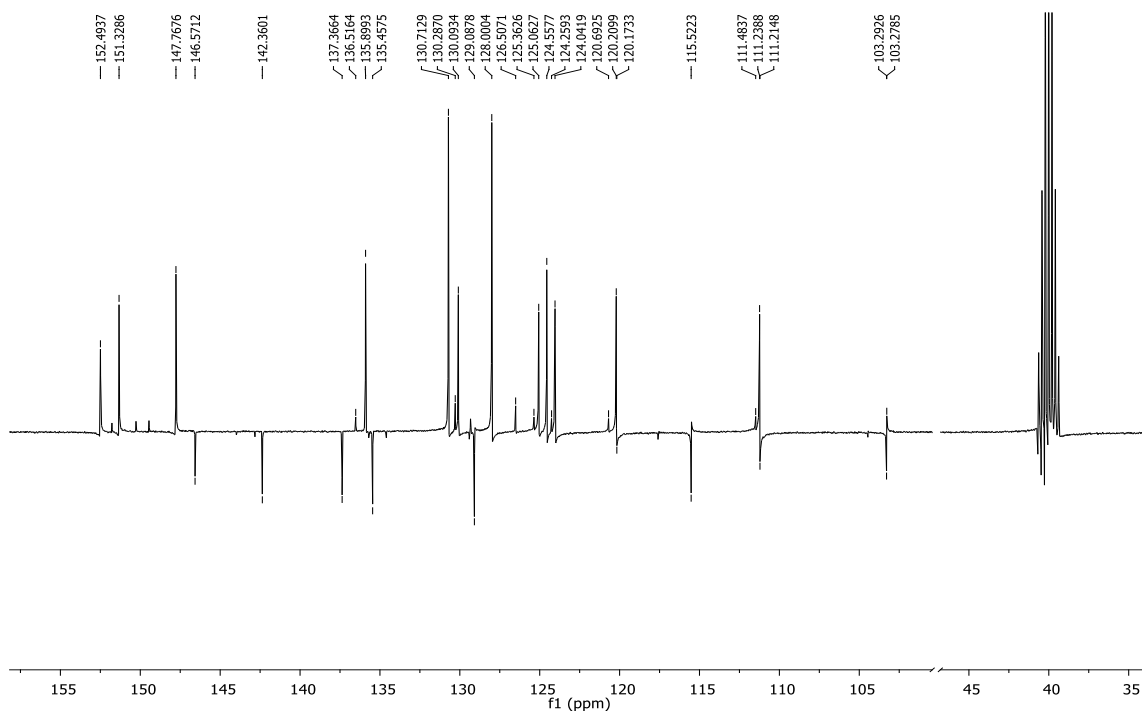
U ^{13}C NMR spektru spoja **38** na Slici 21.b može se uočiti odgovarajući broj signala koji odgovaraju kvaternim C atomima, odgovarajući broj signala koji odgovaraju aromatskim CH skupinama te signal na 32,0 ppm koji odgovara CH_3 skupini.

Na Slici 22.a prikazan je ^1H NMR spektar spoja **43** u kojem možemo uočiti odgovarajuće signale aromatskih protona (8,86 – 7,25 ppm) u nezasijenjenom dijelu spektra.

a)



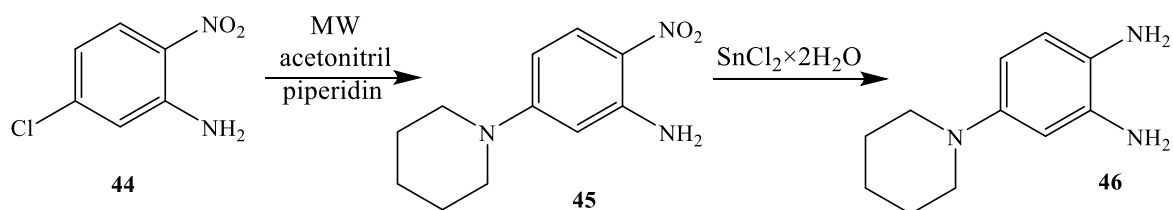
b)



Slika 22. a) ^1H NMR spektar; b) ^{13}C NMR spektar spoja **43**

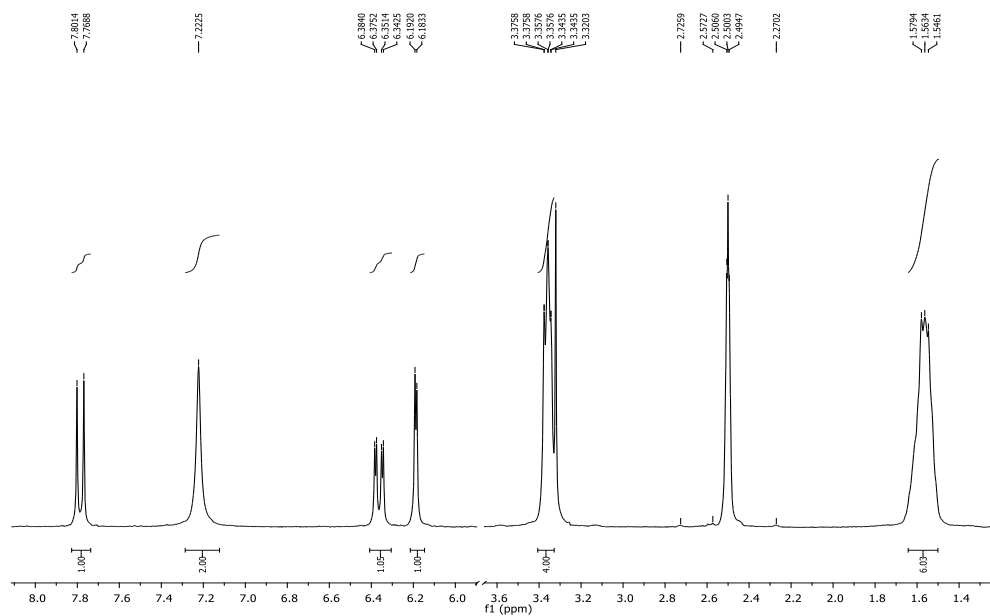
U ^{13}C NMR spektru spoja **43** na Slici 22.b može se uočiti odgovarajući broj signala koji odgovaraju kvaternim C atomima te odgovarajući broj signala koji odgovaraju aromatskim CH skupinama.

Za sintezu ciljanog derivata akrilonitrila potrebno je prvotno prirediti 4-piperidinil-1,2-fenilendiamin **46**, redukcijom s kositar-kloridom dihidratom u metanolu i kiselom mediju iz 2-nitro-5-piperidinilanilina **45** u iskorištenju od 65%. Spoj **45** je prethodno priređen mikrovalovima potpomognutom aminacijom klor-supstituiranog derivata **44** u acetonitrilu sa suviškom piperidina u iskorištenju od 90%. Struktura spojeva **45** i **46** potvrđena je ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom.



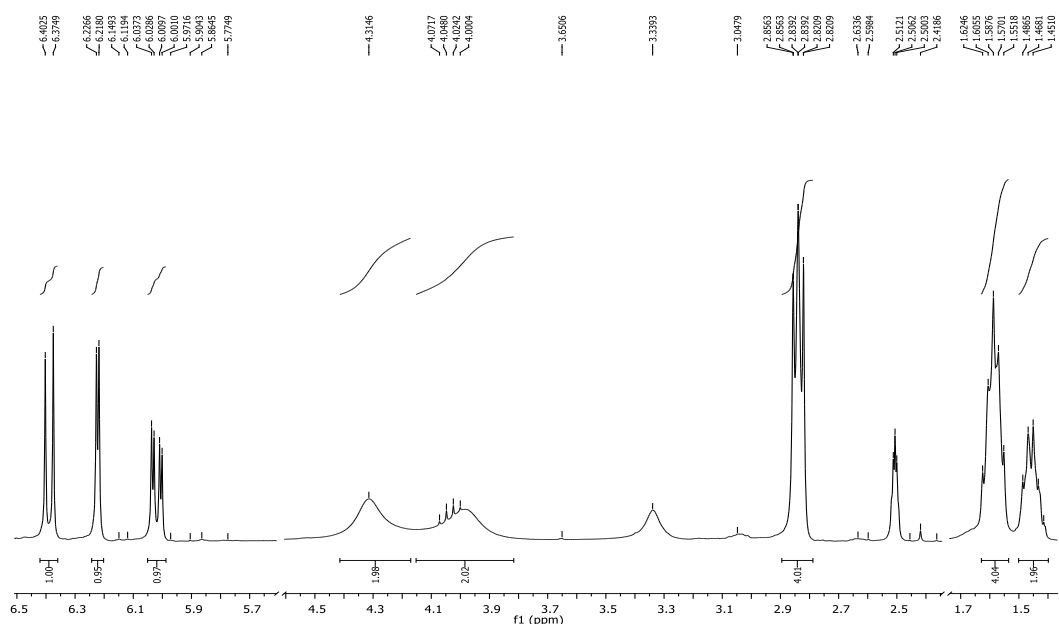
Schema 30. Sinteza spojeva **45** i **46**

U ^1H NMR spektru spoja **45** (Slika 23.) može se uočiti široki singlet koji odgovara dušikovom protonu amino skupine na 7,22 ppm, odgovarajući broj signala aromatskih protona u području 7,79 – 6,19 ppm, te signali alifatskih protona piperidinske jezgre u području 3,58 – 1,49 ppm. Signali su u odnosu na spektar spoja **46** pomaknuti u niže magnetsko polje.



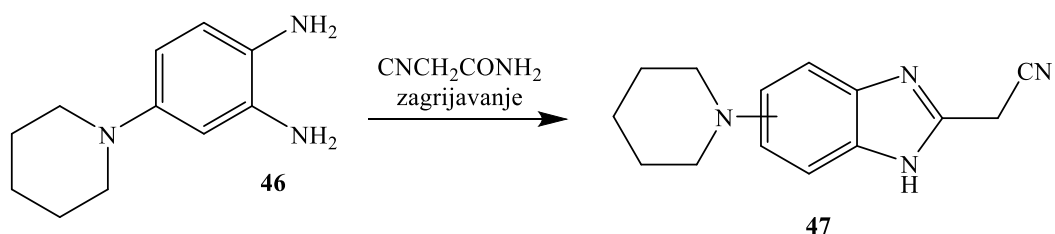
Slika 23. ^1H NMR spektar spoja **45**

U ^1H NMR spektru spoja **46** (Slika 24.) može se uočiti odgovarajući broj signala aromatskih protona u području 6,38 – 6,01 ppm, signali dušikovitih protona dviju amino skupina na 4,31 ppm i 3,95 ppm te signali alifatskih protona piperidinske jezgre u području 2,83 – 1,40 ppm.



Slika 24. ^1H NMR spektar spoja **46**

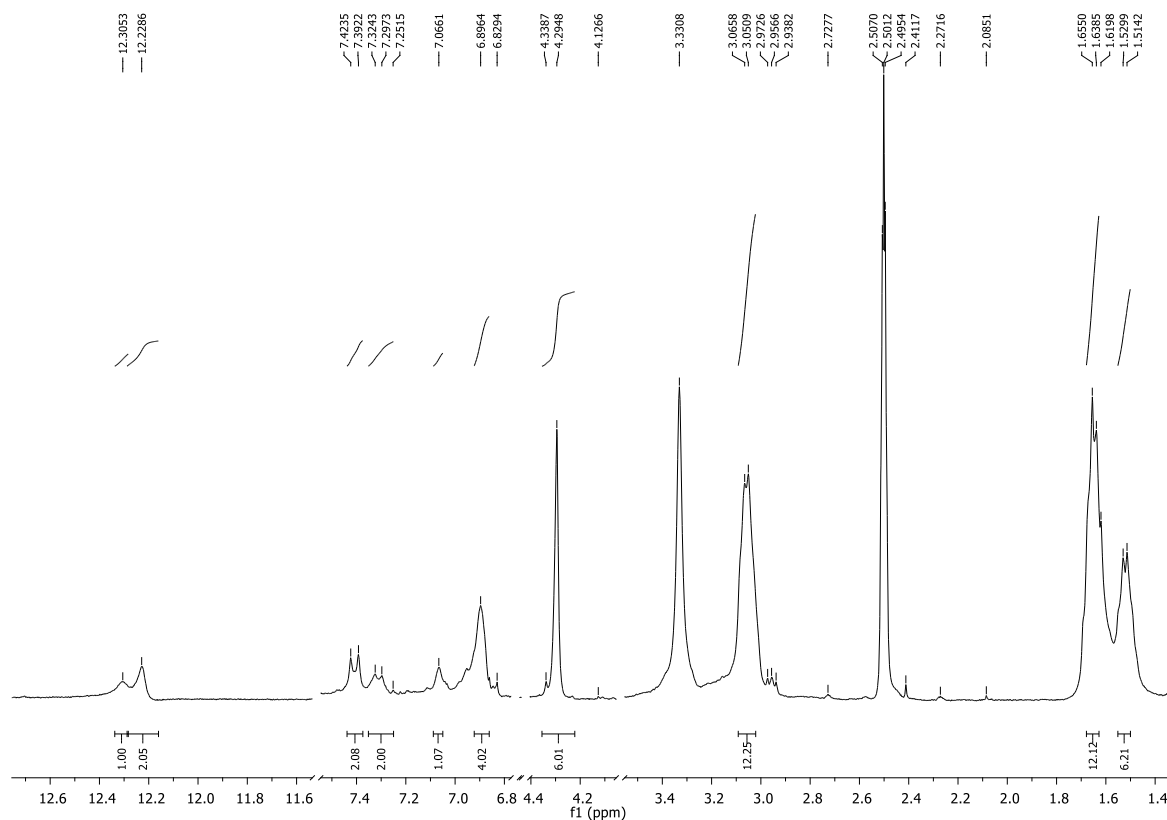
4-piperidinil-1,2-fenilendiamin **46** zagrijavanjem u reakciji s 2-cijanoacetamidom daje 2-cijanometil-5(6)-piperidinilbenzimidazol **47**, glavni prekursor za sintezu akrilonitrila **49**, u obliku smjese dva tautomera 2-cijanometil-5-piperidinilbenzimidazola **47a** i 2-cijanometil-6-piperidinilbenzimidazola **47b**. Struktura spoja okarakterizirana je ^1H NMR spektroskopijom.



Shema 31. Sintaza spoja **47**

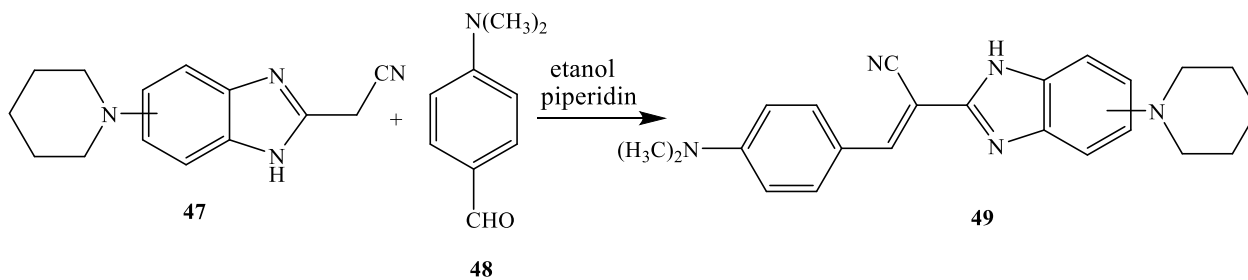
Prema ^1H NMR spektru, prikazanom na Slici 25., tautomeri su dobiveni u omjeru 1 (**47b**): 2 (**47a**), a u spektru je vidljiv dvostruki broj signala svih protona.

Može se uočiti odgovarajući broj signala aromatskih protona u području 7,42 – 6,86 ppm, dva singleta dušikovog protona benzimidazolske skupine na 12,22 ppm i 12,30 ppm te signali alifatskih protona metilenske skupine i piperidinske jezgre u području 4,29 – 1,51 ppm.



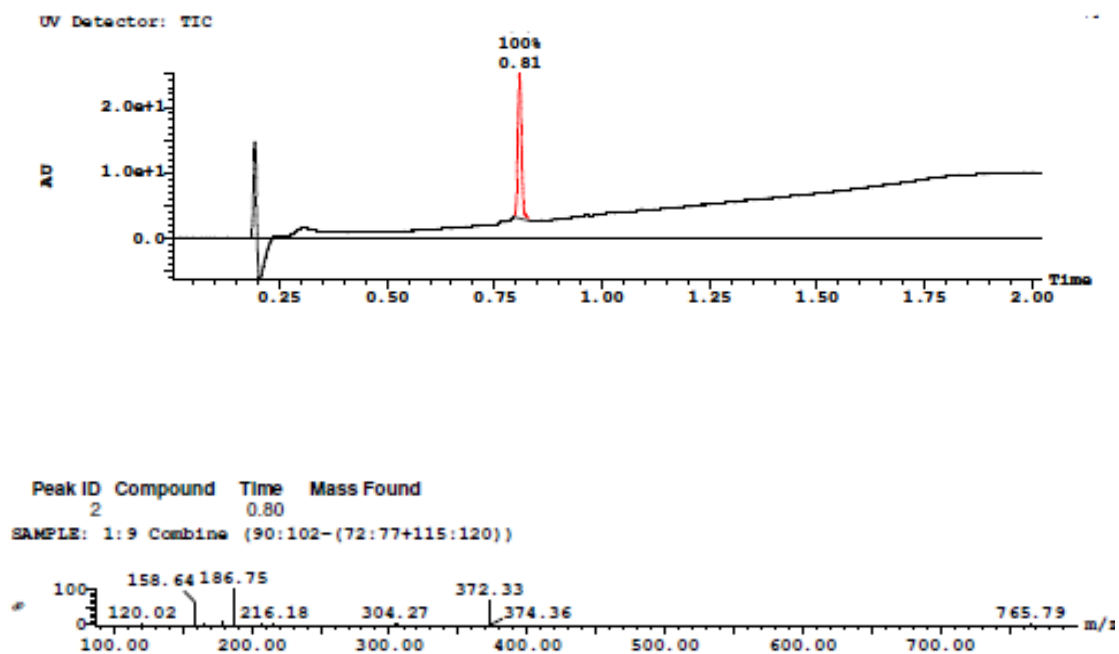
Slika 25. ^1H NMR spektar smjese tautomera spoja **47**

E-2-[5(6)-piperidinilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)akrilonitril **49** priređen je reakcijom aldolne kondenzacije iz 2-cijanometil-5(6)-piperidinilbenzimidazola **47** i 4-*N,N*-dimetilaminobenzaldehida **48** u obliku tautomera *E*-2-[5-piperidinilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)akrilonitril **49a** i *E*-2-[6-piperidinilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)akrilonitril **49b** prema Shemi 32.



Shema 32. Sinteza spoja **49**

Struktura spoja **49** potvrđena je ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom te MS spektrometrijom. Na Slici 26 prikazan je kromatogram i MS spektar spoja **49** u kojem se može uočiti odgovarajući molekularni pik ciljanog produkta **49**.



Slika 26. Kromatogram i MS spektar spoja **49**

4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. Opće napomene

^1H i ^{13}C NMR spektri snimljeni su na spektrometru Bruker Avance III HD 400 MHz/54 mm Ascend. Svi NMR spektri snimani su u DMSO- d_6 kao otapalu, koristeći tetrametilsilan kao interni standard. Kemijski pomaci (δ) izraženi su u ppm vrijednostima, a konstante sprege (J) u Hz.

Tališta priređenih spojeva određena su na SMP11 Bibby i Büchi 535 aparatu te nisu korigirana.

Maseni spektri snimani su na Waters Acquity UltraPerformans LC uređaju.

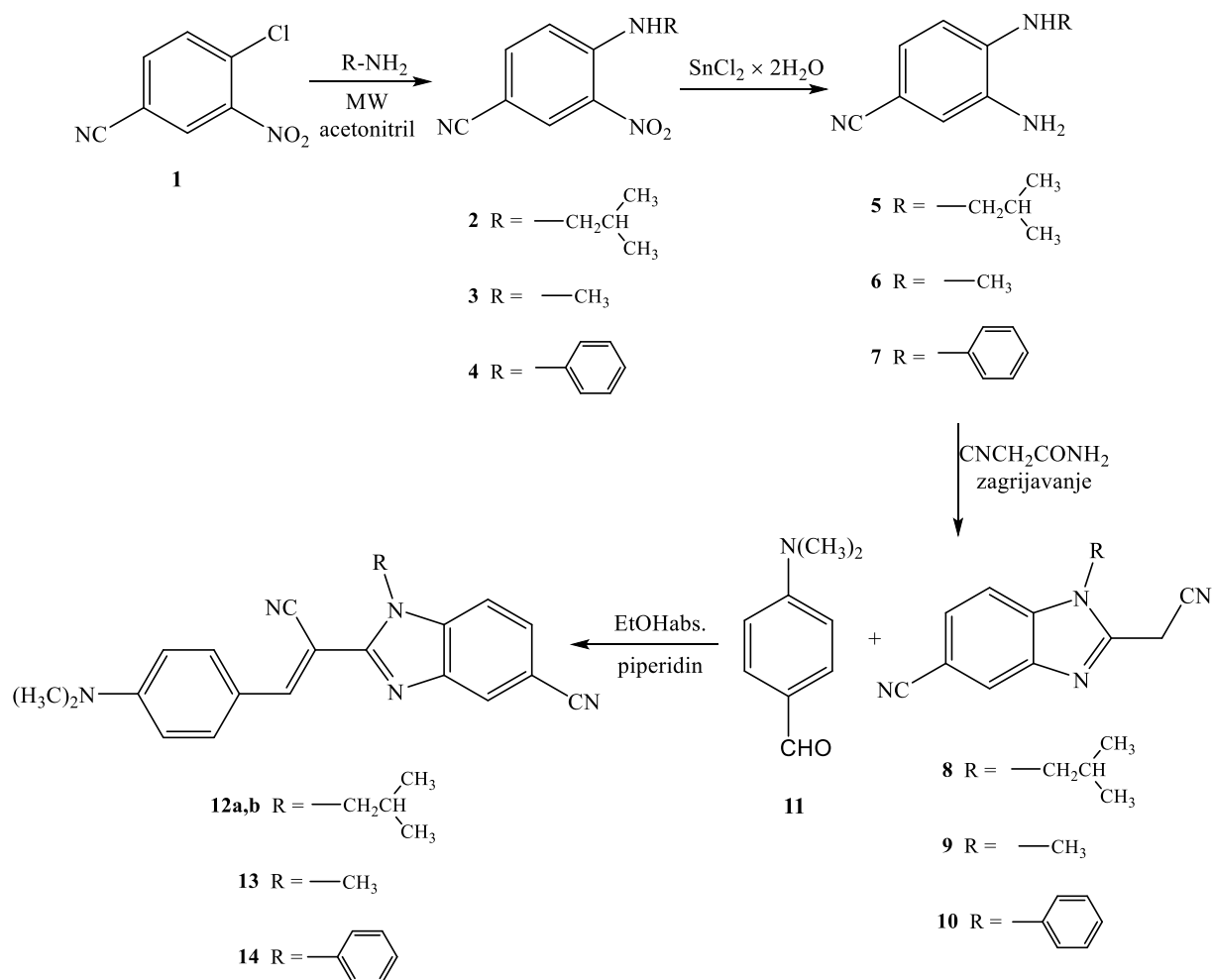
UV/Vis spektri snimljeni su na Varian Cary 50 spektrofotometru.

Reakcije potpomognute mikrovalnim zračenjem provedene su u Milestone Start Synth mikrovalnom reaktoru u kvarcnim posudama (40 bar).

Kromatografska odjeljivanja provedena su na kolonama punjenim silikagelom 0,063–0,2 nm (Kemika, Merck).

Svi spojevi provjeravani su tankoslojnom kromatografijom (TLC) prilikom čega su upotrebene pločice presvučene silikagelom Merck 60F-254, a detektirani su pod UV svjetlom (254 i 366 nm).

4.2. Sinteza *N*-supstituiranih derivata 5-cijano-2-cijanometilbenzimidazola



Shema 33. Sinteza spojeva 12–14

4.2.1. Priprava 4-izobutilamino-3-nitrobenzonitrila 2

Spoj 2 priređen je sintezom potpomognutom mikrovalovima korištenjem MW zračenja snage 800 W i temperature 170 °C, iz 4-klor-3-nitrobenzonitrila **1** (0,50 g, 2,7 mmol) u 10 ml acetonitrila i uz suvišak izobutilamina (1,90 ml, 19,2 mmol). Nakon 2 h MW zračenja nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz CH₂Cl₂ kao eluens. Dobiveno je 0,53 g (88%) žutog kristaliničnog produkta. T.t. 99–101 °C.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ/ppm = 8,62 (t, 1H, *J* = 5,54 Hz, NH), 8,51 (d, 1H, *J* = 2,01 Hz, H_{arom}), 7,81 (dd, 1H, *J*₁ = 1,80 Hz, *J*₂ = 9,03 Hz, H_{arom}), 7,21 (d, 1H, *J* = 9,18 Hz, H_{arom}), 3,27 (t, 2H, *J* = 6,50 Hz, CH₂), 2,03–1,88 (m, 1H, CH), 0,95 (d, 6H, *J* = 6,66 Hz, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 151 MHz): δ/ppm = 147,0, 137,5, 131,9, 130,7, 118,2, 115,9, 96,2, 49,5, 27,2, 19,8 (2C).

4.2.2. Priprava 4-*N*-metilamino-3-nitrobenzonitrila 3

Spoj 3 priređen je sintezom potpomognutom mikrovalovima korištenjem MW zračenja snage 800 W i temperature 170 °C, iz 4-klor-3-nitrobenzonitrila **1** (0,50 g, 2,7 mmol) u 10 ml acetonitrila i uz suvišak metilamina (2,60 ml, 58,3 mmol). Nakon 2 h MW zračenja reakcijska smjesa se pod sniženim tlakom upari na manji volumen, doda se mala količina metanola te se nastali talog profiltrira. Dobiveno je 0,46 g (94%) žutog kristaliničnog produkta. T.t. 173–179 °C.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ/ppm = 8,64 (q, 1H, *J* = 5,50 Hz, NH), 8,49 (d, 1H, *J* = 2,01 Hz, H_{arom}), 7,84 (dd, 1H, *J*₁ = 1,64 Hz, *J*₂ = 9,08 Hz, H_{arom}), 7,10 (d, 1H, *J* = 9,12 Hz, H_{arom}), 3,00 (d, 3H, *J* = 4,98 Hz, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ/ppm = 148,0, 138,1, 132,2, 131,2, 118,8, 116,1, 96,5, 30,4.

4.2.3. Priprava 4-*N*-fenilamino-3-nitrobenzonitrila 4

Spoj 4 priređen je sintezom potpomognutom mikrovalovima korištenjem MW zračenja snage 800 W i temperature 170 °C, iz 4-klor-3-nitrobenzonitrila **1** (0,50 g, 2,7 mmol) u 10 ml acetonitrila i uz suvišak anilina (1,0 ml, 10,0 mmol). Nakon 2 h MW zračenja reakcijska smjesa se pod sniženim tlakom upari na manji volumen, doda se mala količina metanola te se nastali talog profiltrira. Dobiveno je 0,57 g (86%) narančastog kristaliničnog produkta. T.t. 131–135 °C.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): $\delta/\text{ppm} = 9,90$ (s, 1H, NH), 8,59 (d, 1H, $J = 1,98$ Hz, H_{arom}), 7,77 (dd, 1H, $J_1 = 1,88$ Hz, $J_2 = 8,99$ Hz, H_{arom}), 7,51–7,46 (m, 2H, H_{arom}), 7,37–7,30 (m, 3H, H_{arom}), 7,09 (d, 1H, $J = 9,03$ Hz, H_{arom}); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz): $\delta/\text{ppm} = 145,6$, 138,3, 138,0, 132,9, 132,3, 130,2, 127,0, 126,0, 118,4, 117,7, 99,0.

4.2.4. Priprava 3-amino-4-*N*-izobutilaminobenzonitrila 5

2,64 g (12,0 mmol) 4-*N*-izobutilamino-3-nitrobenzonitrila **2** stavi se u okruglu tikvicu te se doda otopina 21,75 g (96,4 mmol) $\text{SnCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ u smjesi 32 ml metanola i 32 ml $\text{HCl}_{\text{konc.}}$. Reakcijska smjesa refluxira pola sata na 100 °C. Smjesa se zatim upari do suha i doda se 70 ml vode te se zaluži sa 20% otopinom NaOH do pH 14. Nastali bijeli talog se profiltrira, ispire s vrućim etanolom i profiltrira. Filtrat se upari pod sniženim tlakom do suha, doda se mala količina vode te se nastali talog profiltrira. Dobiveno je 1,81 g (79%) bijelog praškastog produkta.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): $\delta/\text{ppm} = 6,89$ (dd, 1H, $J_1 = 1,90$ Hz, $J_2 = 8,20$ Hz, H_{arom}), 6,76 (d, 1H, $J = 1,95$ Hz, H_{arom}), 6,43 (d, 1H, $J = 8,25$ Hz, H_{arom}), 5,44 (šs, 1H, NH), 5,03 (s, 2H, NH_2), 2,91 (t, 2H, $J = 6,18$ Hz, NH), 1,95–1,82 (m, 1H, CH), 0,94 (d, 6H, $J = 6,63$ Hz, CH_3); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz): $\delta/\text{ppm} = 140,5$, 135,5, 123,2, 121,6, 115,1, 108,8, 96,6, 51,0, 27,4, 20,9 (2C).

4.2.5. Priprava 3-amino-4-*N*-metilaminobenzonitrila 6

3,19 g (18,0 mmol) 4-*N*-metilamino-3-nitrobenzonitrila **3** stavi se u okruglu tikvicu te se doda otopina 33,70 g (149,4 mmol) $\text{SnCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ u smjesi 49 ml metanola i 49 ml $\text{HCl}_{\text{konc.}}$. Reakcijska smjesa refluxira pola sata na 100 °C. Smjesa se zatim upari do suha i doda se 70 ml vode te se zaluži sa 20% otopinom NaOH do pH 14. Nastali bijeli talog se profiltrira, ispire s vrućim etanolom i profiltrira. Filtrat se upari pod sniženim tlakom do suha i doda se mala količina vode. Nastali talog se profiltrira, a filtrat se ekstrahira sa etil-acetatom. Organski sloj suši se iznad bezvodnog MgSO_4 , profiltrira se i upari do suha. Dobiveno je 1,62 g (61%) svijetlo narančastog praškastog produkta. T.t. 149–151 °C.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): $\delta/\text{ppm} = 6,95$ (dd, 1H, $J_1 = 1,90$ Hz, $J_2 = 8,15$ Hz, H_{arom}), 6,77 (d, 1H, $J = 1,95$ Hz, H_{arom}), 6,41 (d, 1H, $J = 8,19$ Hz, H_{arom}), 5,57 (q, 1H, $J = 5,82$ Hz, NH), 4,89 (s, 2H, NH_2), 2,77 (d, 3H, $J = 4,83$ Hz, CH_3); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz): $\delta/\text{ppm} = 141,6, 135,6, 123,5, 121,6, 114,9, 108,5, 96,9, 30,0$.

4.2.6. Priprava 3-amino-4-*N*-fenilaminobenzonitrila 7

2,64 g (12,0 mmol) 4-*N*-fenilamino-3-nitrobenzonitrila **4** stavi se u okruglu tikvicu te se doda otopina 22,15 g (98,2 mmol) $\text{SnCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ u smjesi 32 ml metanola i 32 ml $\text{HCl}_{\text{konc.}}$. Reakcijska smjesa refluxira pola sata na 100 °C. Smjesa se zatim upari do suha i doda se 70 ml vode te se zaluži sa 20% otopinom NaOH do pH 14. Nastali bijeli talog se profiltrira, ispire s vrućim etanolom i profiltrira. Filtrat se upari pod sniženim tlakom do suha, doda se mala količina vode te se nastali talog profiltrira. Dobiveno je 2,20 g (89%) svijetlo žutog praškastog produkta. T.t. 150–153 °C.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): $\delta/\text{ppm} = 7,52$ (s, 1H, NH), 7,29–7,24 (m, 2H, H_{arom}), 7,09 (d, 1H, $J = 8,19$ Hz, H_{arom}), 7,03 (d, 2H, $J = 7,56$ Hz, H_{arom}), 7,00 (d, 1H, $J = 1,92$ Hz, H_{arom}), 6,94–6,87 (m, 2H, H_{arom}), 5,25 (s, 2H, NH_2); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz): $\delta/\text{ppm} = 142,9, 139,7, 134,7, 129,7, 121,6, 121,3, 120,6, 118,8, 117,2, 116,8, 102,5$.

4.2.7. Priprava 5-cijano-2-cijanometil-*N*-izobutilbenzimidazola 8

U okruglu tikvicu stavi se 1,81 (9,6 mmol) 3-amino-4-*N*-izobutilaminobenzonitrila **5** i 1,60 g (19,1 mmol) 2-cijanoacetamida, dobro promiješa te se pažljivo grije u pješčanoj kupelji na 250 °C 20 min. Tijek reakcije se provjerava UV/Vis spektroskopijom. Nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ kao eluens. Dobiveno je 0,14 g (6%) narančastog praškastog produkta. T.t. 159–162 °C.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): $\delta/\text{ppm} = 8,23$ (d, 1H, $J = 1,04$ Hz, H_{arom}), 7,85 (d, 1H, $J = 8,44$ Hz, H_{arom}), 7,68 (dd, 1H, $J_1 = 1,52$ Hz, $J_2 = 8,44$ Hz, H_{arom}), 4,62 (s, 2H, CH_2), 4,10 (d, 2H, $J = 7,76$ Hz, CH_2), 2,20–2,07 (m, 1H, CH), 0,86 (d, 6H, $J = 6,64$ Hz, CH_3); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 101 MHz): $\delta/\text{ppm} = 149,3, 141,7, 139,1, 126,4, 124,5, 120,2, 116,5, 113,0, 104,7, 50,8, 29,0, 20,0$ (2C), 18,2.

4.2.8. Priprava 5-cijano-2-cijanometil-*N*-metilbenzimidazola 9

U okruglu tikvicu stavi se 1,58 g (10,7 mmol) 3-amino-4-*N*-metilaminobenzonitrila **6** i 1,80 g (21,4 mmol) 2-cijanoacetamida, dobro promiješa te se pažljivo grije u pješčanoj kupelji na 250 °C 10 min. Tijek reakcije se provjerava UV/Vis spektroskopijom. Po završetku reakcije smjesa se prekrizalizira iz 50%-tnog etanola. Dobiveno je 1,23 g (58%) zelenog praškastog produkta. T.t. 248–252 °C.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ/ppm = 8,22 (d, 1H, *J* = 0,88 Hz, H_{arom}), 7,78 (d, 1H, *J* = 8,32 Hz, H_{arom}), 7,69 (dd, 1H, *J*₁ = 1,44 Hz, *J*₂ = 8,44 Hz, H_{arom}), 4,61 (s, 2H, CH₂), 3,81 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ/ppm = 149,6, 141,7, 139,3, 126,3, 124,3, 120,3, 116,4, 112,3, 104,5, 30,7, 18,1.

4.2.9. Priprava 5-cijano-2-cijanometil-*N*-fenilbenzimidazola 10

U okruglu tikvicu stavi se 2,20 (10,5 mmol) 3-amino-4-*N*-fenilaminobenzonitrila **7** i 1,77 g (21,0 mmol) 2-cijanoacetamida, dobro promiješa te se pažljivo grije u pješčanoj kupelji na 250 °C 5 min. Tijek reakcije se provjerava UV/Vis spektroskopijom. Nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz CH₂Cl₂ kao eluens. Dobiveno je 0,93 g (34%) svijetlo žutog praškastog produkta. T.t. 136–139 °C.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ/ppm = 8,37 (d, 1H, *J* = 0,92 Hz, H_{arom}), 7,72–7,61 (m, 6H, H_{arom}), 7,33 (dd, 1H, *J*₁ = 0,46 Hz, *J*₂ = 8,42 Hz, H_{arom}), 4,43 (s, 2H, CH₂); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ/ppm = 149,0, 141,8, 139,5, 134,0, 130,8 (2C), 130,3, 127,5 (2C), 127,5, 124,8, 120,0, 116,1, 112,3, 105,4, 18,9.

4.3.10. Opći postupak priprave akrilonitrila 12–14

Reakcijska smjesa derivata benzimidazola **8**, **9** ili **10**, 4-*N,N*-dimetilaminobenzaldehida **11**, 2,5 ml apsolutnog etanola i kap piperidina zagrijava se na temperaturi vrenja. Hlađenjem nastali talog se profiltrira te ako je potrebno pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz CH₂Cl₂/CH₃OH kao eluens.

***E(Z)*-2-[5-cijano-*N*-izobutilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil) akrilonitril 12a,b**

Spoj **12** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **8** (0,10 g, 0,4 mmol) i spoja **11** (0,06 g, 0,4 mmol), nakon 1,5 h zagrijavanja nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz CH₂Cl₂/CH₃OH kao eluens. Dobiveno je 0,01 g (8%) narančastog uljastog produkta u obliku smjese dva *Z*- i *E*- izomera u omjeru 1 (**12b**) : 3 (**12a**).

12a: ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ/ppm = 8,34 (d, 1H, *J* = 0,92 Hz, H_{arom}), 7,95 (d, 1H, *J* = 8,48 Hz, H_{arom}), 7,91 (s, 1H, H_{arom}), 7,77 (dd, 1H, *J*₁ = 1,52 Hz, *J*₂ = 8,48 Hz, H_{arom}), 6,86 (d, 2H, *J* = 9,24 Hz, H_{arom}), 6,58 (d, 2H, *J* = 9,20 Hz, H_{arom}), 3,88 (d, 2H, *J* = 7,60 Hz, CH₂), 2,94 (s, 6H, CH₃), 2,10–2,02 (m, 1H, CH), 0,78 (d, 6H, *J* = 6,64 Hz, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ/ppm = 152,9, 152,2, 149,2, 142,4, 138,4, 132,5 (2C), 127,0, 125,3, 120,0, 119,7 (2C), 113,8, 112,0 (2C), 105,3, 92,0, 51,5, 29,2, 20,0 (2C); MS (ESI): *m/z* = 370,37 ([M+1]⁺).

12b: ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ/ppm = 8,24 (d, 1H, *J* = 1,00 Hz, H_{arom}), 8,17 (s, 1H, H_{arom}), 7,99 (d, 2H, *J* = 9,12 Hz, H_{arom}), 7,91 (d, 1H, *J* = 8,16 Hz, H_{arom}), 7,69 (dd, 1H, *J*₁ = 1,50 Hz, *J*₂ = 8,50 Hz, H_{arom}), 6,87 (d, 2H, *J* = 9,32 Hz, H_{arom}), 4,39 (d, 2H, *J* = 7,56 Hz, CH₂), 3,09 (s, 6H, CH₃), 2,19–2,13 (m, 1H, CH), 0,84 (d, 6H, *J* = 6,68 Hz, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ/ppm = 153,5, 152,5, 151,5, 141,8, 139,9, 133,0 (2C), 126,4, 124,1, 120,2, 118,6 (2C), 113,2, 112,2 (2C), 105,0, 90,1, 51,4, 29,7, 19,9 (2C); MS (ESI): *m/z* = 370,37 ([M+1]⁺).

E-2-[5-cijano-*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)-akrilonitril 13

Spoj **13** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **9** (0,15 g, 0,7 mmol) i spoja **11** (0,12 g, 0,7 mmol), nakon 2 h zagrijavanja hlađenjem se nastali talog profiltrira. Dobiveno je 0,03 g (13%) narančastog praškastog produkta. T.t. 290–293 °C.

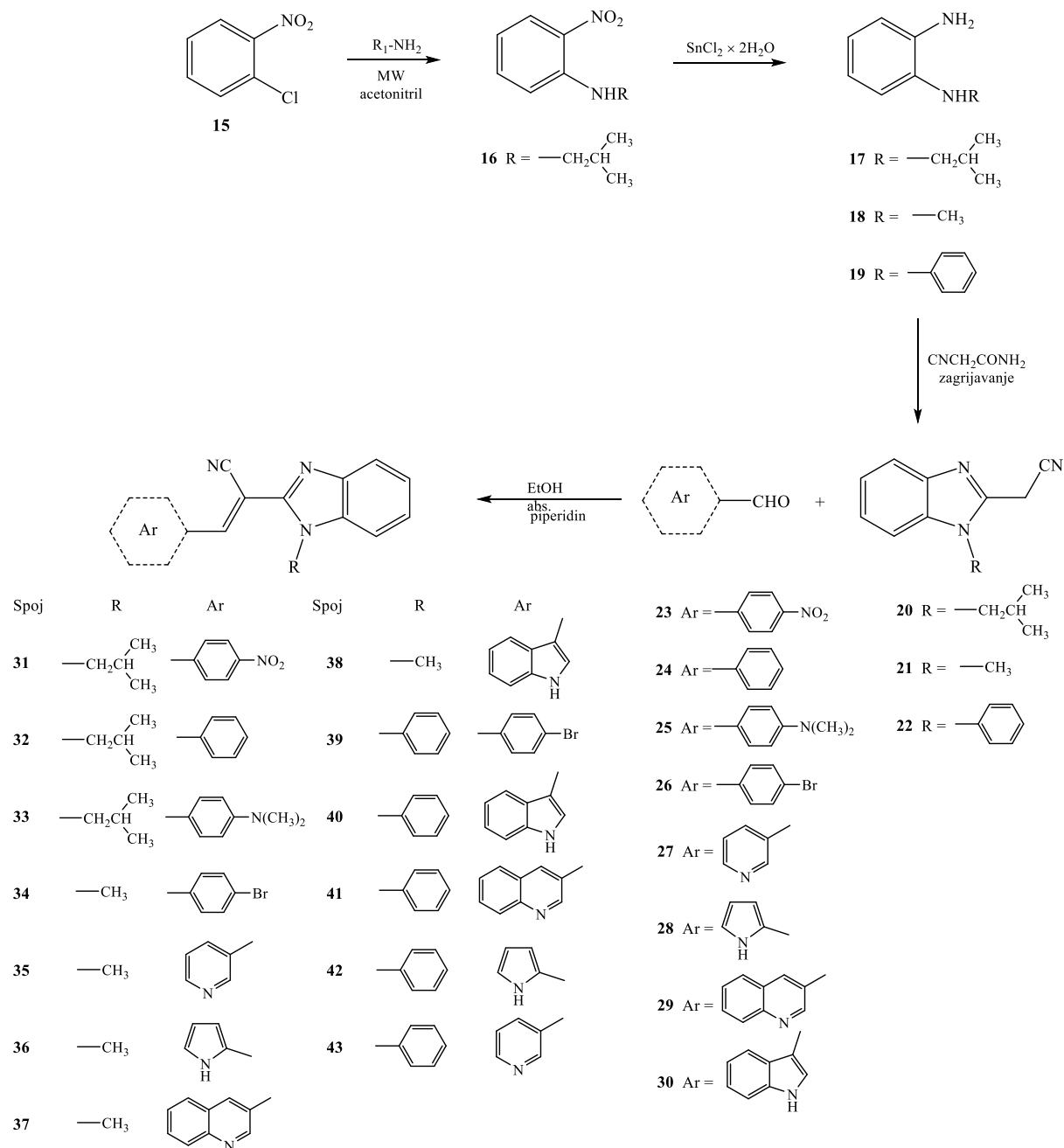
¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ/ppm = 8,20 (d, 1H, *J* = 0,72 Hz, H_{arom}), 8,04 (s, 1H, H_{arom}), 7,99 (d, 2H, *J* = 9,08 Hz, H_{arom}), 7,83 (d, 1H, *J* = 8,44 Hz, H_{arom}), 7,70 (dd, 1H, *J*₁ = 1,40 Hz, *J*₂ = 8,40 Hz, H_{arom}), 6,87 (d, 2H, *J* = 9,04 Hz, H_{arom}), 4,02 (s, 3H, CH₃), 3,09 (s, 6H, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ/ppm = 153,4, 151,8, 141,9, 140,0, 133,1, 132,9, 126,4, 124,3, 124,0, 120,3, 120,1, 118,6, 112,6, 112,3, 112,1, 111,5, 104,9, 90,7, 40,6, 40,4, 32,5; MS (ESI): *m/z* = 328,32 ([M+1]⁺).

E-2-[5-cijano-*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)-akrilonitril 14

Spoj **14** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **10** (0,10 g, 0,4 mmol) i spoja **11** (0,06 g, 0,4 mmol), nakon 1,5 h zagrijavanja hlađenjem se nastali talog profiltrira. Dobiveno je 0,01 g (7%) žutog praškastog produkta. T.t. 242–248 °C.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ/ppm = 8,32 (d, 1H, *J* = 0,92 Hz, H_{arom}), 7,77 (s, 1H, H_{arom}), 7,73 (d, 2H, *J* = 9,12 Hz, H_{arom}), 7,70–7,61 (m, 6H, H_{arom}), 7,29 (dd, 1H, *J*₁ = 0,38 Hz, *J*₂ = 8,42 Hz, H_{arom}), 6,79 (d, 2H, *J* = 9,16 Hz, H_{arom}), 3,05 (s, 6H, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ/ppm = 153,4, 151,6, 151,5, 142,1, 140,3, 135,2, 132,9 (2C), 130,7 (2C), 130,3, 128,1 (2C), 127,3, 124,3, 120,1, 119,8, 117,3, 112,2, 112,1 (2C), 105,7, 90,7 (2C); MS (ESI): *m/z* = 390,35 ([M+1]⁺).

4.3. Sinteza *N*-supstituiranih derivata 2-cijanometilbenzimidazola



Shema 34. Sinteza spojeva **31–43**

4.3.1. Priprava *N*-izobutil-2-nitroanilina **16**

Spoj **16** priređen je sintezom potpomognutom mikrovalovima korištenjem MW zračenja snage 800 W i temperature 170 °C, iz 1-klor-2-nitrobenzena **15** (0,50 g, 3,2 mmol) u 10 ml acetonitrila i uz suvišak izobutilamina (3,15 ml, 31,8 mmol). Nakon 3 h MW zračenja nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz CH₂Cl₂ kao eluens. Dobiveno je 0,64 g (86%) narančastog uljastog produkta.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ/ppm = 8,19 (šs, 1H, NH), 8,07 (dd, 1H, $J_1 = 1,56$ Hz, $J_2 = 8,61$ Hz, H_{arom}), 7,53 (td, 1H, $J_1 = 1,25$ Hz, $J_2 = 8,42$ Hz, H_{arom}), 7,06 (d, 1H, $J = 8,46$ Hz, H_{arom}), 6,68 (td, 1H, $J_1 = 1,17$ Hz, $J_2 = 7,74$ Hz, H_{arom}), 3,19 (t, 2H, $J = 6,32$ Hz, CH₂), 2,05–1,85 (m, 1H, CH), 0,96 (d, 6H, $J = 6,66$ Hz, CH₃).

4.3.2. Priprava *N*-izobutil-1,2-fenilendiamina **17**

3,20 g (16,5 mmol) *N*-izobutil-2-nitroanilina **16** stavi se u okruglu tikvicu te se doda otopina 22,30 g (98,8 mmol) SnCl₂×2H₂O u smjesi 43 ml metanola i 43 ml HCl_{konc.}. Reakcijska smjesa refluxira pola sata na 100 °C. Smjesa se zatim upari do suha i doda se 70 ml vode te se zaluži sa 20% otopinom NaOH do pH 14. Nastali talog se profiltrira, a filtrat se ekstrahira sa etil-acetatom. Organski sloj suši se iznad bezvodnog MgSO₄, profiltrira se i upari do suha. Dobiveno je 2,19 g (81%) smeđeg kristaliničnog produkta.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ/ppm = 6,53 (dd, 1H, $J_1 = 1,60$ Hz, $J_2 = 7,70$ Hz, H_{arom}), 6,47 (dd, 1H, $J_1 = 1,97$ Hz, $J_2 = 7,13$ Hz, H_{arom}), 6,43–6,32 (m, 2H, H_{arom}), 4,48 (s, 2H, NH₂), 4,33 (šs, 1H, NH), 2,82 (t, 2H, $J = 6,05$ Hz, CH₂), 1,95–1,78 (m, 1H, CH), 0,95 (d, 6H, $J = 6,63$ Hz, CH₃).

4.3.3. Priprava 2-cijanometil-*N*-izobutilbenzimidazola **20**

U okruglu tikvicu stavi se 2,19 g (13,3 mmol) *N*-izobutil-1,2-fenilendiamina **17** i 2,23 g (26,6 mmol) 2-cijanoacetamida, dobro promiješa te se pažljivo grije na 185 °C 45 min. Tijek reakcije se provjerava UV/Vis spektroskopijom. Nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz CH₂Cl₂/CH₃OH kao eluens. Dobiveno je 1,52 g (54%) smeđeg kristaliničnog produkta.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): $\delta/\text{ppm} = 7,64$ (dd, 1H, $J_1 = 1,64$ Hz, $J_2 = 6,95$ Hz, H_{arom}), 7,59 (dd, 1H, $J_1 = 1,50$ Hz, $J_2 = 7,02$ Hz, H_{arom}), 7,29–7,18 (m, 2H, H_{arom}), 4,52 (s, 2H, CH_2), 4,04 (d, 2H, $J = 7,71$ Hz, CH_2), 2,22–2,07 (m, 1H, CH), 0,87 (d, 6H, $J = 6,66$ Hz, CH_3); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz): $\delta/\text{ppm} = 145,9$, 142,2, 136,1, 122,9, 122,3, 119,3, 116,9, 111,3, 50,6, 29,0, 20,0, 17,9 (2C); MS (ESI): $m/z = 214,19$ ($[\text{M}+1]^+$).

4.3.4. Priprava 2-cijanometil-*N*-metilbenzimidazola 21

U okruglu tikvicu stavi se 1,00 ml (8,8 mmol) *N*-metil-1,2-fenilendiamina **18** i 1,48 g (17,6 mmol) 2-cijanoacetamida, dobro promiješa te se pažljivo grije na 185 °C 35 min. Tijek reakcije se provjerava UV/Vis spektroskopijom. Po završetku reakcije smjesa se prekrystalizira iz 25%-tnog etanola. Dobiveno je 0,76 g (50%) tamno crvenog kristaliničnog produkta. T.t. 138–141 °C.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): $\delta/\text{ppm} = 7,63$ (dd, 1H, $J_1 = 1,23$ Hz, $J_2 = 7,14$ Hz, H_{arom}), 7,55 (dd, 1H, $J_1 = 1,04$ Hz, $J_2 = 7,10$ Hz, H_{arom}), 7,27 (td, 1H, $J_1 = 1,39$ Hz, $J_2 = 7,52$ Hz, H_{arom}), 7,21 (td, 1H, $J_1 = 1,38$ Hz, $J_2 = 7,45$ Hz, H_{arom}), 4,53 (s, 2H, CH_2), 3,76 (s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz): $\delta/\text{ppm} = 146,1$, 142,2, 136,4, 122,9, 122,2, 119,3, 116,7, 110,6, 30,3, 17,8.

4.3.5. Priprava 2-cijanometil-*N*-fenilbenzimidazola 22

U okruglu tikvicu stavi se 4,20 g (22,8 mmol) *N*-fenil-1,2-fenilendiamina **19** i 4,79 g (57,0 mmol) 2-cijanoacetamida, dobro promiješa te se pažljivo grije na 185 °C 50 min. Tijek reakcije se provjerava UV/Vis spektroskopijom. Nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ kao eluens. Dobiveno je 1,57 g (30%) smeđeg kristaliničnog produkta. T.t. 130–135 °C.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): $\delta/\text{ppm} = 7,76$ (d, 1H, $J = 7,62$ Hz, H_{arom}), 7,68–7,66 (m, 2H, H_{arom}), 7,61 (d, 1H, $J = 7,26$ Hz, H_{arom}), 7,58 (d, 2H, $J = 7,26$ Hz, H_{arom}), 7,30 (td, 1H, $J_1 = 1,04$ Hz, $J_2 = 7,44$ Hz, H_{arom}), 7,27 (td, 1H, $J_1 = 0,94$ Hz, $J_2 = 7,50$ Hz, H_{arom}), 7,17 (d, 1H, $J = 7,50$ Hz, H_{arom}), 4,36 (s, 2H, CH_2); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz): $\delta/\text{ppm} = 145,6$, 142,2, 136,7, 134,9, 130,7 (2C), 129,7, 127,4 (2C), 123,9, 123,1, 119,7, 116,5, 110,7, 18,6.

4.3.6. Opći postupak pripreve akrilonitrila 31–43

Reakcijska smjesa derivata benzimidazola **20**, **21** ili **22**, odgovarajućeg aldehida, 4,0 ml apsolutnog etanola i par kapi piperidina zagrijava se na temperaturi vrenja. Hlađenjem nastali talog se profiltrira te ako je potrebno pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz CH₂Cl₂/CH₃OH kao eluens.

***E(Z)*-2-[*N*-izobutilbenzimidazol-2-il]-3-(4-nitrofenil)akrilonitril 31**

Spoj **31** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **20** (0,15 g, 0,7 mmol) i 4-nitrobenzaldehyda **23** (0,11 g, 0,7 mmol), nakon 2 h zagrijavanja nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz CH₂Cl₂/CH₃OH kao eluens. Dobiveno je 0,11 g (47%) crvenog uljastog produkta u obliku smjese dva *Z*- i *E*- izomera u omjeru 1 (**31b**) : 2 (**31a**).

31a: ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ/ppm = 8,49 (s, 1H, H_{arom}), 8,43 (d, 2H, *J* = 8,84 Hz, H_{arom}), 8,25 (d, 2H, *J* = 8,72 Hz, H_{arom}), 7,75–7,73 (m, 2H, H_{arom}), 7,41–7,23 (m, 2H, H_{arom}), 4,39 (d, 2H, *J* = 7,52 Hz, CH₂), 2,25–2,12 (m, 1H, CH), 0,85 (d, 6H, *J* = 6,68 Hz, CH₃); MS (ESI): *m/z* = 347,27 ([M+1]⁺).

31b: ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ/ppm = 7,86 (d, 1H, *J* = 8,04 Hz, H_{arom}), 7,75–7,73 (m, 1H, H_{arom}), 7,46 (d, 1H, *J* = 8,00 Hz, H_{arom}), 7,41–7,23 (m, 2H, H_{arom}), 7,27–7,25 (m, 1H, H_{arom}), 7,10 (t, 1H, *J* = 8,18 Hz, H_{arom}), 6,75 (t, 1H, *J* = 7,86 Hz, H_{arom}), 6,67 (s, 1H, H_{arom}), 1,10 (d, 3H, *J* = 6,68 Hz, CH₃), 1,01 (d, 3H, *J* = 6,64 Hz, CH₃), 0,92 (d, 1H, *J* = 6,68 Hz, CH), 0,24 (d, 2H, *J* = 6,60 Hz, CH₂); MS (ESI): *m/z* = 347,27 ([M+1]⁺).

***E*-2-[*N*-izobutilbenzimidazol-2-il]-3-fenilakrilonitril 32**

Spoj **32** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **20** (0,15 g, 0,7 mmol) i benzaldehyda **24** (0,08 g, 0,7 mmol), nakon 2 h zagrijavanja nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz CH₂Cl₂/CH₃OH kao eluens. Dobiveno je 0,15 g (70%) narančastog uljastog produkta.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): $\delta/\text{ppm} = 8,31$ (s, 1H, H_{arom}), 8,08–8,02 (m, 2H, H_{arom}), 7,76–7,71 (m, 2H, H_{arom}), 7,64–7,58 (m, 3H, H_{arom}), 7,35 (td, 1H, $J_1 = 1,21$ Hz, $J_2 = 7,60$ Hz, H_{arom}), 7,30 (td, 1H, $J_1 = 1,13$ Hz, $J_2 = 7,56$ Hz, H_{arom}), 4,36 (d, 2H, $J = 7,50$ Hz, CH_2), 2,23–2,12 (m, 1H, CH), 0,84 (d, 6H, $J = 6,73$ Hz, CH_3); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 101 MHz): $\delta/\text{ppm} = 151,7$, 147,2, 142,2, 136,8, 133,2, 132,5, 130,2 (2C), 129,7 (2C), 123,9, 123,2, 119,9, 117,2, 112,0, 100,9, 51,3, 29,7, 20,0 (2C).

***E*(*Z*)-2-[*N*-izobutilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)-akrilonitril 33**

Spoj **33** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **20** (0,15 g, 0,7 mmol) i 4-dimetilaminobenzaldehida **25** (0,10 g, 0,7 mmol), nakon 2 h zagrijavanja nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ kao eluens. Dobiveno je 0,21 g (88%) narančastog uljastog produkta u obliku smjese dva *Z*- i *E*- izomera u omjeru 1 (**33b**): 5 (**33a**).

33a: ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): $\delta/\text{ppm} = 8,07$ (s, 1H, H_{arom}), 7,97 (d, 2H, $J = 9,08$ Hz, H_{arom}), 7,68–7,63 (m, 2H, H_{arom}), 7,31–7,22 (m, 2H, H_{arom}), 6,86 (d, 2H, $J = 9,12$ Hz, H_{arom}), 4,32 (d, 2H, $J = 7,48$ Hz, CH_2), 3,08 (s, 6H, CH_3), 2,22–2,13 (m, 1H, CH), 0,83 (d, 6H, $J = 6,64$ Hz, CH_3); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 101 MHz): $\delta/\text{ppm} = 153,2$, 151,5 (2C), 148,7, 142,4, 136,9, 132,7, 123,2, 122,8, 120,3, 119,3, 118,9, 112,1, 111,6, 91,4, 51,2, 29,6, 20,0 (2C).

33b: ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): $\delta/\text{ppm} = 7,85$ (s, 1H, H_{arom}), 7,75–7,70 (m, 2H, H_{arom}), 7,35–7,30 (m, 2H, H_{arom}), 6,86 (d, 2H, $J = 9,12$ Hz, H_{arom}), 6,56 (d, 2H, $J = 9,16$ Hz, H_{arom}), 3,82 (d, 2H, $J = 7,60$ Hz, CH_2), 2,93 (s, 6H, CH_3), 2,12–2,04 (m, 1H, CH), 0,79 (d, 6H, $J = 6,64$ Hz, CH_3); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 101 MHz): $\delta/\text{ppm} = 152,7$, 151,4 (2C), 146,2, 143,0, 135,4, 132,3, 123,8, 122,8, 120,2, 120,0, 111,9, 111,6, 93,4, 55,4, 29,1, 20,1 (2C).

***E*-2-[*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(4-bromfenil)akrilonitril 34**

Spoj **34** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **21** (0,10 g, 0,6 mmol) i 4-brombenzaldehyda **26** (0,11 g, 0,6 mmol), nakon 2 h zagrijavanja nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ kao eluens. Dobiveno je 0,09 g (45%) žutog praškastog produkta.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): $\delta/\text{ppm} = 8,18$ (s, 1H, H_{arom}), 7,99 (d, 2H, $J = 8,52$ Hz, H_{arom}), 7,84 (d, 2H, $J = 8,44$ Hz, H_{arom}), 7,72 (d, 1H, $J = 7,96$ Hz, H_{arom}), 7,67 (d, 1H, $J = 8,12$ Hz, H_{arom}), 7,37 (t, 1H, $J = 7,58$ Hz, H_{arom}), 7,31 (t, 1H, $J = 7,56$ Hz, H_{arom}), 4,02 (s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 101 MHz): $\delta/\text{ppm} = 149,3, 147,6, 142,3, 137,1, 132,7$ (2C), 132,5, 132,0 (2C), 125,8, 124,0, 123,2, 119,8, 117,0, 111,4, 102,0, 32,2.

***E*-2-[*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(piridin-3-il)akrilonitril 35**

Spoj **35** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **21** (0,10 g, 0,3 mmol) i piridin-3-karbaldehida **27** (0,04 g, 0,3 mmol), nakon 2 h zagrijavanja nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ kao eluens. Dobiveno je 0,07 g (74%) žutog praškastog produkta.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): $\delta/\text{ppm} = 9,10$ (d, 1H, $J = 2,16$ Hz, H_{arom}), 8,74 (dd, 1H, $J_1 = 1,50$ Hz, $J_2 = 4,78$ Hz, H_{arom}), 8,49 (dt, 1H, $J_1 = 1,69$ Hz, $J_2 = 8,08$ Hz, H_{arom}), 8,26 (s, 1H, H_{arom}), 7,73 (d, 1H, $J = 7,88$ Hz, H_{arom}), 7,70–7,64 (m, 2H, H_{arom}), 7,38 (td, 1H, $J_1 = 1,08$ Hz, $J_2 = 7,61$ Hz, H_{arom}), 7,31 (td, 1H, $J_1 = 1,12$ Hz, $J_2 = 8,12$ Hz, H_{arom}), 4,04 (s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 101 MHz): $\delta/\text{ppm} = 152,3, 151,5, 147,4, 147,3, 142,3, 137,1, 136,1, 129,5, 124,5, 124,1, 123,3, 119,9, 116,8, 111,4, 103,7, 32,2$.

***E*-2-[*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(1*H*-pirol-2-il)akrilonitril 36**

Spoj **36** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **21** (0,10 g, 0,6 mmol) i 1*H*-pirol-2-karbaldehida **28** (0,05 g, 0,6 mmol), nakon 2 h zagrijavanja hlađenjem se nastali talog profiltrira. Dobiveno je 0,10 g (65%) smeđeg praškastog produkta. T.t. 185–189 °C.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): $\delta/\text{ppm} = 11,84$ (s, 1H, NH), 8,13 (s, 1H, H_{arom}), 7,64 (dd, 1H, $J_1 = 1,16$ Hz, $J_2 = 7,20$ Hz, H_{arom}), 7,60 (dd, 1H, $J_1 = 1,06$ Hz, $J_2 = 7,26$ Hz, H_{arom}), 7,38 (šs, 1H, H_{arom}), 7,32 (šs, 1H, H_{arom}), 7,29 (td, 1H, $J_1 = 1,38$ Hz, $J_2 = 7,82$ Hz, H_{arom}), 7,25 (td, 1H, $J_1 = 1,32$ Hz, $J_2 = 7,45$ Hz, H_{arom}), 6,45 (šs, 1H, H_{arom}), 3,99 (s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 101 MHz): $\delta/\text{ppm} = 148,6, 142,5, 139,6, 137,2, 127,7, 126,0, 123,1, 122,8, 119,1, 118,6, 114,7, 112,7, 112,0, 90,3, 32,0$.

***E*-2-[*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(kinolin-3-il)akrilonitril 37**

Spoj **37** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **21** (0,10 g, 0,6 mmol) i kinolin-3-karbaldehida **29** (0,09 g, 0,6 mmol), nakon 2 h zagrijavanja nastali produkt se profiltrira te pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz CH₂Cl₂/CH₃OH kao eluens. Dobiveno je 0,07 g (37%) žutog praškastog produkta. T.t. 165–170 °C.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ/ppm = 9,41 (d, 1H, *J* = 2,28 Hz, H_{arom}), 9,03 (d, 1H, *J* = 2,16 Hz, H_{arom}), 8,44 (s, 1H, H_{arom}), 8,16–8,11 (m, 2H, H_{arom}), 7,93 (td, 1H, *J*₁ = 1,39 Hz, *J*₂ = 7,71 Hz, H_{arom}), 7,75 (d, 2H, *J* = 7,44 Hz, H_{arom}), 7,71 (d, 1H, *J* = 7,96 Hz, H_{arom}), 7,39 (td, 1H, *J*₁ = 1,13 Hz, *J*₂ = 7,61 Hz, H_{arom}), 7,33 (td, 1H, *J*₁ = 1,12 Hz, *J*₂ = 7,57 Hz, H_{arom}), 3,99 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ/ppm = 148,6, 142,5, 139,6, 137,2, 127,7, 126,0, 123,1, 122,8, 119,1, 118,6, 114,7, 112,7, 110,9, 90,3, 32,0.

***E*-2-[*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(1*H*-indol-3-il)akrilonitril 38**

Spoj **38** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **21** (0,10 g, 0,6 mmol) i 1*H*-indol-3-karbaldehida **30** (0,08 g, 0,6 mmol), nakon 3 h zagrijavanja hlađenjem se nastali produkt profiltrira. Dobiveno je 0,16 g (94%) svijetlo zelenog praškastog produkta. T.t. 139–242 °C.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ/ppm = 12,30 (s, 1H, NH), 8,55 (s, 1H, H_{arom}), 8,44 (s, 1H, H_{arom}), 8,00 (d, 1H, *J* = 7,56 Hz, H_{arom}), 7,69 (d, 1H, *J* = 7,36 Hz, H_{arom}), 7,63 (d, 1H, *J* = 7,56 Hz, H_{arom}), 7,58 (d, 1H, *J* = 7,80 Hz, H_{arom}), 7,34–7,29 (m, 2H, H_{arom}), 7,28–7,22 (m, 2H, H_{arom}), 4,02 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ/ppm = 148,9, 142,7, 142,5, 137,1, 136,4, 129,6, 127,6, 123,7, 123,1, 122,8, 121,9, 119,4, 119,3, 119,0, 113,1, 111,0, 92,0, 56,5, 32,0.

***E*-2-[*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(4-bromfenil)akrilonitril 39**

Spoj **39** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **22** (0,13 g, 0,5 mmol) i 4-brombenzaldehida **26** (0,19 g, 0,5 mmol), nakon 2 h zagrijavanja hlađenjem se nastali produkt profiltrira. Dobiveno je 0,15 g (70%) svijetlo žutog praškastog produkta. T.t. 154–157 °C.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ/ppm = 7,92 (s, 1H, H_{arom}), 7,84 (dd, 1H, *J*₁ = 2,45 Hz, *J*₂ = 6,23 Hz, H_{arom}), 7,75 (s, 4H, H_{arom}), 7,70–7,58 (m, 5H, H_{arom}), 7,41–7,32 (m, 2H, H_{arom}), 7,23 (dd, 1H, *J*₁ = 2,46 Hz, *J*₂ = 6,36 Hz, H_{arom}).

***E*-2-[*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(1*H*-indol-3-il)akrilonitril 40**

Spoj **40** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **22** (0,16 g, 0,7 mmol) i 1*H*-indol-3-karbaldehida **30** (0,1 g, 0,7 mmol), nakon 5 h zagrijavanja dobiveno je 0,20 g (82%) žutog praškastog produkta. T.t. 238–242 °C.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ/ppm = 12,26 (s, 1H, NH), 8,40 (s, 1H, H_{arom}), 7,95 (s, 1H, H_{arom}), 7,80 (d, 1H, *J* = 7,52 Hz, H_{arom}), 7,73–7,64 (m, 5H, H_{arom}), 7,53 (d, 1H, *J* = 8,08 Hz, H_{arom}), 7,37–7,30 (m, 2H, H_{arom}), 7,28 (td, 1H, *J*₁ = 1,24 Hz, *J*₂ = 7,28 Hz, H_{arom}), 7,24 (td, 1H, *J*₁ = 1,00 Hz, *J*₂ = 8,08 Hz, H_{arom}), 7,16 (t, 2H, *J* = 7,42 Hz, H_{arom}); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ/ppm = 148,2, 142,7, 141,5, 137,7, 136,3, 136,2, 130,8 (2C), 130,0, 129,4, 128,3 (2C), 127,4, 124,0, 123,7, 123,5, 121,9, 119,6, 118,4, 118,0, 113,2, 110,7, 110,4, 92,6.

***E*-2-[*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(kinolin-3-il)akrilonitril 41**

Spoj **41** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **22** (0,10 g, 0,4 mmol) i kinolin-3-karbaldehida **29** (0,07 g, 0,4 mmol), nakon 5 h zagrijavanja dobiveno je 0,12 g (72%) svijetlo žutog praškastog produkta. T.t. 177–179 °C.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ/ppm = 9,18 (d, 1H, *J* = 2,28 Hz, H_{arom}), 8,87 (d, 1H, *J* = 2,00 Hz, H_{arom}), 8,23 (s, 1H, H_{arom}), 8,08 (d, 2H, *J* = 9,40 Hz, H_{arom}), 7,92–7,86 (m, 2H, H_{arom}), 7,73–7,63 (m, 6H, H_{arom}), 7,41 (td, 1H, *J*₁ = 1,37 Hz, *J*₂ = 7,11 Hz, H_{arom}), 7,37 (td, 1H, *J*₁ = 1,35 Hz, *J*₂ = 7,17 Hz, H_{arom}), 7,26 (dd, 1H, *J*₁ = 1,68 Hz, *J*₂ = 6,96 Hz, H_{arom}); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ/ppm = 150,8, 148,5, 147,7, 146,7, 142,4, 137,4, 137,2, 135,5, 132,4, 130,7 (2C), 130,1, 129,7, 129,3, 128,3, 128,0 (2C), 127,1, 126,5, 125,0, 124,1, 120,2, 115,7, 111,2, 103,1.

***E*-2-[*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(1*H*-pirol-2-il)akrilonitril 42**

Spoj **42** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **22** (0,24 g, 1,0 mmol) i 1*H*-pirol-2-karbaldehida **28** (0,10 g, 1,0 mmol), nakon 2 h zagrijavanja dobiveno je 0,25 g (78%) svijetlo zelenog praškastog produkta. T.t. 181–186 °C.

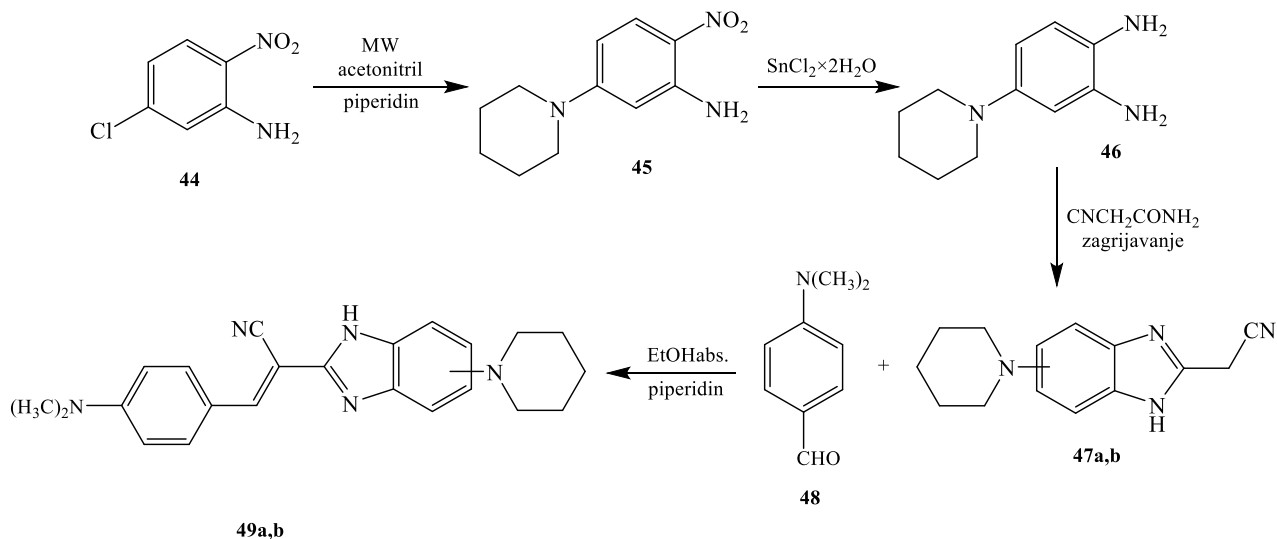
¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ/ppm = 11,82 (s, 1H, NH), 8,06 (s, 1H, H_{arom}), 7,74 (d, 1H, *J* = 7,72 Hz, H_{arom}), 7,68–7,57 (m, 5H, H_{arom}), 7,32 (td, 1H, *J*₁ = 1,15 Hz, *J*₂ = 7,54 Hz, H_{arom}), 7,29–7,25 (m, 2H, H_{arom}), 7,21 (d, 1H, *J* = 3,72 Hz, H_{arom}), 7,14 (d, 1H, *J* = 7,72 Hz, H_{arom}), 6,38 (t, 1H, *J* = 2,96 Hz, H_{arom}); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ/ppm = 148,3, 142,5, 139,7, 137,5, 135,7, 130,5 (2C), 129,9, 128,1 (2C), 127,6, 126,1, 123,9, 123,5, 119,3, 117,1, 114,8, 112,7, 110,8, 90,3.

***E*-2-[*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(piridin-3-il)akrilonitril 43**

Spoj **43** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **22** (0,22 g, 0,9 mmol) i piridin-3-karbaldehida **27** (0,10 g, 0,9 mmol), nakon 2 h zagrijavanja dobiveno je 0,22 g (73%) žutog praškastog produkta. T.t. 164–168 °C.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ/ppm = 8,86 (d, 1H, *J* = 2,24 Hz, H_{arom}), 8,70 (dd, 1H, *J*₁ = 1,56 Hz, *J*₂ = 4,80 Hz, H_{arom}), 8,31 (dt, 1H, *J*₁ = 1,76 Hz, *J*₂ = 8,08 Hz, H_{arom}), 8,05 (s, 1H, H_{arom}), 7,85 (dd, 1H, *J*₁ = 1,84 Hz, *J*₂ = 6,76 Hz, H_{arom}), 7,70–7,63 (m, 5H, H_{arom}), 7,59 (dd, 1H, *J*₁ = 4,82 Hz, *J*₂ = 8,10 Hz, H_{arom}), 7,42–7,34 (m, 2H, H_{arom}), 7,25 (dd, 1H, *J*₁ = 1,86 Hz, *J*₂ = 6,86 Hz, H_{arom}); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ/ppm = 152,5, 151,3, 147,8, 146,6, 142,4, 137,4, 135,9, 135,5, 130,7 (2C), 130,1, 129,1, 128,0 (2C), 125,0, 124,6, 124,0, 120,2, 115,5, 111,2, 103,3.

4.4. Sinteza derivata benzimidazola 49a,b



Shema 35. Sinteza spoja 49

4.4.1. Priprava 2-nitro-5-piperidinilanilina 45

Spoj 45 priređen je sintezom potpomognutom mikrovalovima korištenjem MW zračenja snage 800 W i temperature 170 °C, iz 5-klor-2-nitroanilina 44 (0,50 g, 2,9 mmol) u u 10 ml acetonitrila i uz suvišak piperidina (1,43 ml, 14,5 mmol). Nakon 3 h MW zračenja nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz CH_2Cl_2 kao eluens. Dobiveno je 0,58 g (90%) narančastog kristaliničnog produkta. T.t. 105–110 °C.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ/ppm = 7,79 (d, 1H, J = 9,78 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,22 (šs, 2H, NH_2), 6,36 (dd, 1H, J_1 = 2,66 Hz, J_2 = 9,78 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 6,19 (d, 1H, J = 2,61 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 3,58 (t, 4H, J = 4,86 Hz, CH_2), 1,65–1,49 (m, 6H, CH_2); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz): δ/ppm = 154,7, 148,5, 127,3, 122,3, 105,4, 96,7, 47,4 (2C), 24,9 (2C), 23,9.

4.4.2. Priprava 4-piperidinil-1,2-fenilendiamina **46**

3,48 g (15,8 mmol) 2-nitro-5-piperidinilanilina **45** se u okruglu tikvicu od 250 ml te se doda otopina 29,0 g (128,5 mmol) $\text{SnCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ u smjesi 48 ml metanola i 48 ml $\text{HCl}_{\text{konc.}}$. Reakcijska smjesa refluksira pola sata na 100 °C. Smjesa se zatim upari do suha i doda se 70 ml vode te se zaluži sa 20% otopinom NaOH do pH 14. Nastali talog se profiltrira, a filtrat se ekstrahira sa etil-acetatom. Organski sloj suši se iznad bezvodnog MgSO_4 , profiltrira se i upari do suha. Dobiveno je 1,92 g (63,54%) tamno smeđeg kristaliničnog produkta. T.t. 70–75 °C.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): $\delta/\text{ppm} = 6,38$ (d, 1H, $J = 8,28$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 6,21 (d, 1H, $J = 2,55$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 6,01 (dd, 1H, $J_1 = 2,58$ Hz, $J_2 = 8,25$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 4,31 (šs, 2H, NH_2), 3,95 (šs, 2H, NH_2), 2,83 (t, 4H, $J = 5,28$ Hz, CH_2), 1,53–1,63 (m, 4H, CH_2), 1,40–1,50 (m, 2H, CH_2); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz): $\delta/\text{ppm} = 145,5$, 136,3, 128,8, 115,8, 107,0, 105,8, 52,4 (2C), 26,3 (2C), 24,5.

4.4.3. Priprava 2-cijanometil-5(6)-piperidinilbenzimidazola **47a,b**

U okruglu tikvicu stavi se 1,92 g (10,0 mmol) 4-piperidinil-1,2-fenilendiamina **46** i 1,70 g (20,0 mmol) 2-cijanoacetamida, dobro promiješa te pažljivo grije u uljnoj kupelji uz miješanje na 185 °C 20 min. Tijek reakcije se provjerava UV/Vis spektroskopijom. Po završetku reakcije smjesa se prekrizalizira iz 25%-tnog etanola, profiltrira i upari do suha. Nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ kao eluens. Dobiveno je 0,10 g (7%) tamnocrvenog praškastog produkta u obliku smjese dva tautomera u omjeru 1 (**47b**): 2 (**47a**). T.t. 119–123 °C.

47a: ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): $\delta/\text{ppm} = 12,22$ (s, 1H, NH), 7,34–7,28 (m, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 6,94–6,86 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 4,29 (šs, 2H, CH_2), 3,11–3,00 (m, 4H, CH_2), 1,68–1,62 (m, 4H, CH_2), 1,54–1,51 (m, 2H, CH_2).

47b: ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): $\delta/\text{ppm} = 12,30$ (s, 1H, NH), 7,42–7,39 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,06 (šs, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 4,29 (šs, 2H, CH_2), 3,11–3,00 (m, 4H, CH_2), 1,68–1,62 (m, 4H, CH_2), 1,54–1,51 (m, 2H, CH_2).

4.4.4. Priprava *E*-2-[5(6)-piperidinilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)akrilonitrila 49a,b

Reakcijska smjesa 0,15 g (0,62 mmol) 2-cijanometil-5(6)-piperidinilbenzimidazola **47a,b**, 0,93 g (0,62 mmol) 4-dimetilaminobenzaldehida **48**, 2,5 ml apsolutnog etanola i kap piperidina refluksira 2 h. Nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz CH₂Cl₂/CH₃OH kao eluens. Dobiveno je 0,14 g (60%) narančastog kristaliničnog produkta.

MS (ESI): $m/z = 372,33$ ([M+1]⁺).

5. ZAKLJUČAK

- U ovom radu priređeni u sljedeći spojevi: *E(Z)*-2-[5-cijano-*N*-izobutilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil) akrilonitril **12a,b**, *E*-2-[5-cijano-*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil) akrilonitril **13**, *E*-2-[5-cijano-*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil) akrilonitril **14**, *E*-2-[*N*-izobutilbenzimidazol-2-il]-3-(4-nitrofenil) akrilonitril **31**, *E*-2-[*N*-izobutilbenzimidazol-2-il]-3-fenilakrilonitril **32**, *E(Z)*-2-[*N*-izobutilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil) akrilonitril **33a,b**, *E*-2-[*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(4-bromfenil) akrilonitril **34**, *E*-2-[*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(piridin-3-il) akrilonitril **35**, *E*-2-[*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(1*H*-pirol-2-il) akrilonitril **36**, *E*-2-[*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(kinolin-3-il) akrilonitril **37**, *E*-2-[*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(1*H*-indol-3-il) akrilonitril **38**, *E*-2-[*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(4-bromfenil) akrilonitril **39**, *E*-2-[*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(1*H*-indol-3-il) akrilonitril **40**, *E*-2-[*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(kinolin-3-il) akrilonitril **41**, *E*-2-[*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(1*H*-pirol-2-il) akrilonitril **42**, *E*-2-[*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(piridin-3-il) akrilonitril **43**, *E*-2-[5(6)-piperidinilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil) akrilonitril **49a,b**.
- Za pripremu željenih derivata akrilonitrila **12–14** prvotno su priređeni derivati 3,4-diaminobenzonitrila **5–7** linearnom sintezom počevši iz 4-klor-3-nitrobenzonitrila **1** koji u reakciji nekatalizirane aminacije potpomognute mikrovalovima daje derivate **2–4** čijom redukcijom s kositar-kloridom dihidratom nastaju derivati 3,4-diaminobenzonitrila **5–7**.
- Spojevi **5–7** u reakciji ciklokondenzacije s 2-cijanoacetamidom uz zagrijavanje daju *N*-supstituirane derivate 5-cijano-2-cijanometilbenzimidazola **8–10**, glavne prekursore za sintezu ciljanih akrilonitrila.
- Derivati akrilonitrila s cijano grupom **12–14** priređeni su reakcijama aldolne kondenzacije *N*-supstituiranih derivata 5-cijano-2-cijanometilbenzimidazola **8–10** s 4-*N,N*-dimetilaminobenzaldehidom **11** uz apsolutni etanol i piperidin kao bazu.
- Za pripremu željenih derivata akrilonitrila **31–43** prvotno je priređen *N*-izobutil-1,2-fenilendiamin **17** linearnom sintezom počevši iz 1-klor-2-nitrobenzena **15** koji u reakciji nekatalizirane aminacije potpomognute mikrovalovima daje spoj **16** čijom redukcijom s kositar-kloridom dihidratom nastaje *N*-izobutil-1,2-fenilendiamin **17**.
- Spojevi **8–10** u reakciji ciklokondenzacije s 2-cijanoacetamidom uz zagrijavanje daju *N*-supstituirane derivate 2-cijanometilbenzimidazola **20–22**, glavne prekursore za sintezu ciljanih akrilonitrila.

- Derivati akrilonitrila **31–43** priređeni su reakcijama aldolne kondenzacije *N*-supstituiranih derivata 2-cijanometilbenzimidazola **20–22** s odgovarajućim aromatskim i heteroaromatskim aldehydima **23–30** uz apsolutni etanol i piperidin kao bazu.
- Za pripravu ciljanog derivata akrilonitrila **49** prvotno je priređen 4-piperidinil-1,2-fenilendiamin **46** linearnom sintezom počevši iz 5-klor-2-nitroanilina **44** koji u reakciji nekatalizirane aminacije potpomognute mikrovalovima u acetonitrilu daje 2-nitro-5-piperidinilanilin **45**; Redukcijom derivata **45** sa kositar-kloridom dihidratom nastaje 4-piperidinil-1,2-fenilendiamin **46**.
- Spoj **46** u reakciji ciklokondenzacije s 2-cijanoacetamidom uz zagrijavanje daje 2-cijanometil-5(6)-piperidinilbenzimidazol **47**, glavni prekursor za sintezu akrilonitrila **49**.
- Piperidinil-supstituirani derivat akrilonitrila **49** priređen je reakcijom aldolne kondenzacije između 2-cijanometil-5(6)-piperidinilbenzimidazola i 4-dimetilaminobenzaldehida **48** u obliku tautomera **49a** i **49b**.
- Struktura svih novopriređenih spojeva potvrđena je ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom te MS spektrometrijom.

6. LITERATURA

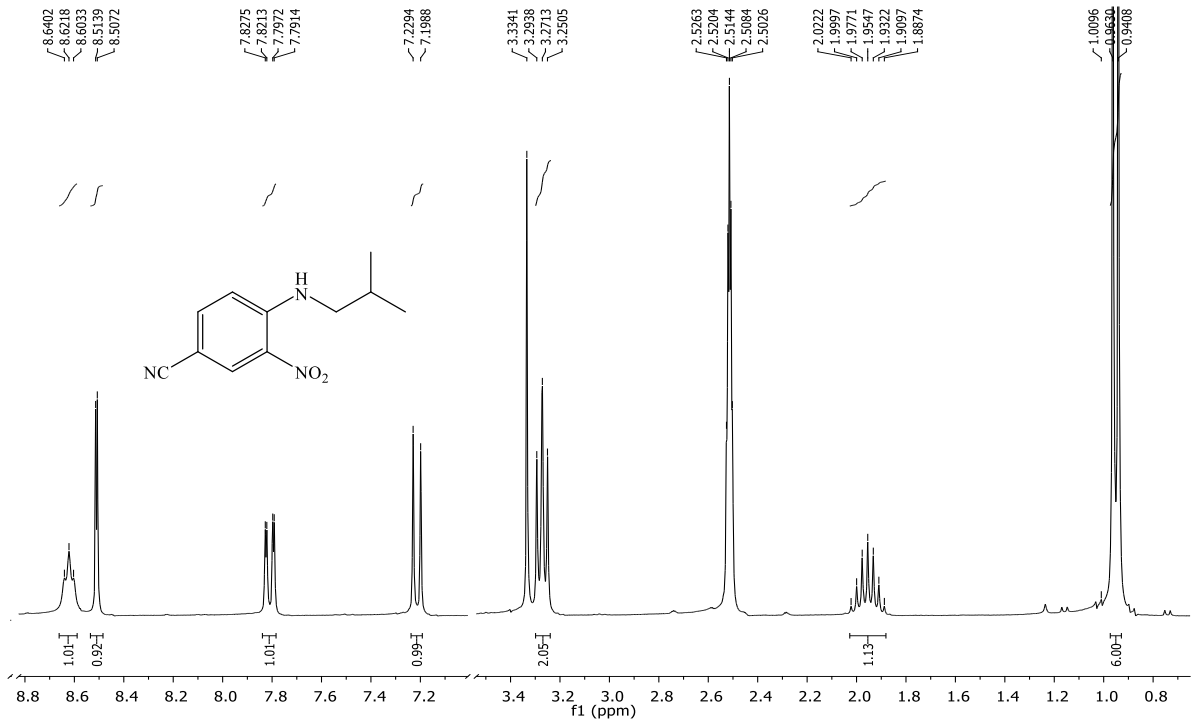
1. R. B. Silverman, *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action*, Elsevier Academic Press, Second Edition, 2004.
2. M. Demeunynck, C. Bailly, W. D. Wilson, In *DNA and RNA Binders*, Wiley-VCH, Weinheim, 2002.
3. Y. Bansal, O. Silakari, *Bioorg. Med. Chem.* **20** (2012) 6208-6236.
4. N. Perin, I. Martin-Kleiner, R. Nhili, W. Laine, M. H. David-Cordonnier, O. Vugrek, G. Karminski-Zamola, M. Kralj, M. Hranjec, *Med. Chem. Commun.* **4** (2013)1537–1550.
5. N. Perin, R. Nhili, K. Ester, W. Laine, G. Karminski-Zamola, M. Kralj, M. H. David-Cordonnier, M. Hranjec, *Eur. J. Med. Chem.* **80** (2014) 218-227.
6. E. Horak, P. Kassal, M. Hranjec, I. Murković Steinberg, *Sens. Actuator B-Chem.* **258** (2018) 415-423.
7. Y. Bansal, O. Silakari, *Bioorg. Med. Chem.* **20** (2012) 6208-6236.
8. M. Hranjec, G. Karminski-Zamola, *Kem. Ind.* **57** (2008) 299-306.
9. S. Gurvinder, K. Maninderjit, C. Mohan, *Int. Res. J. Pharm.* **4** (2013) 82-87.
10. P. Sanna, A. Carta, M.E. Rahbar Nikookar, *Eur. J. Med. Chem.* **35** (2000) 535-543.
11. P. Sanna, A. Carta, L. Gherardini, M.E. Rahbar Nikookar, *Farmaco* **57** (2002) 79-87.
12. A. Carta, P. Sanna, M. Palomba, L. Vargiu, M. La Colla, R. Loddo, *Eur. J. Med. Chem.* **37** (2002) 891–900.
13. A. Carta, M. Palomba, G. Boatto, B. Busonera, M. Murreddu, R. Loddo, *Farmaco* **59** (2004) 637–644.
14. V. S. Parmar, A. Kumar, A. K. Prasad, S. K. Singh, N. Kumar, S. Mukherjee, H. G. Raj, S. Goel, W. Errington, M. S. Puar, *Bioorg. Med. Chem.* **7** (1999) 1425-1436.
15. F. Saczewski, P. Reszka, M. Gdaniec, R. Gruńert, P. J. Bednarski, *J. Med. Chem.* **47** (2004) 3438-3449.
16. P. Demin, O. Rounova, T. Grunberger, L. Cimpean, N. Sharfe, C. M. Roifman, *Bioorg. Med. Chem.* **12** (2004) 3019-3026.
17. R. Guillot, A. Loupy, A. Meddour, M. Pellet, A. Petit, *Tetrahedron*, **61** (2005) 10129-10137.
18. J. Quiroga, D. Cobo, B. Insuasty, R. Abonía, M. Nogueras, J. Cobo, Y. Vásquez, M. Gupta, M. Derita, S. Zacchino, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **340** (2007) 603-606.
19. M. Hranjec, G. Pavlović, G. Karminski-Zamola, *Struct. Chem.* **18** (2009) 943–949.
20. F. Saczewski, A. Stencel, A. M. Bienczak, K. A. Langowska, M. Michaelis, W. Werel, R. Hałasa, P. Reszka, P. J. Bednarski, *Eur. J. Med. Chem.* **43** (2008) 1847-1857.

21. N. Perin, L. Uzelac, I. Piantanida, G. Karminski-Zamola, M. Kralj, M. Hranjec, *Bioorg. Med. Chem.* **19** (2011) 6329-6339.
22. N. I. Ganushchak, A. I. Lesyuk, I. S. Fedorovich, N. D. Obushak, i V. N. Andrushko, *Russ. J. Org. Chem.*, **39** (2003) 1295-1300.
23. N. Perin, M. Hranjec, G. Pavlović, G. Karminski-Zamola, *Dyes and Pigments* **91** (2011) 79-88.
24. E. Horak, M. Hranjec, R. Vianello, I. M. Steinberg, *Dyes and Pigments* **142** (2017) 108-115.
25. N. Perin, R. Nhili, M. Cindrić, B. Bertoša, D. Vušak, I. Martin-Kleiner, W. Laine, G. Karminski-Zamola, M. Kralj, M. H. David-Cordonnier, M. Hranjec, *Eur. J. Med. Chem.* **122** (2016) 530-545.
26. M. Hranjec, G. Pavlović, M. Marjanović, G. Karminski-Zamola, *Eur. J. Med. Chem.* **45** (2010) 2405-2417.
27. M. Hranjec, G. Karminski-Zamola, *Molecules* **12** (2007) 1817-1828.
28. D. Vušak, N. Perin, I. Martin-Kleiner, M. Kralj, G. Karminski-Zamola, M. Hranjec, B. Bertoša, *Mol. Divers.* **21** (2017) 621-636.

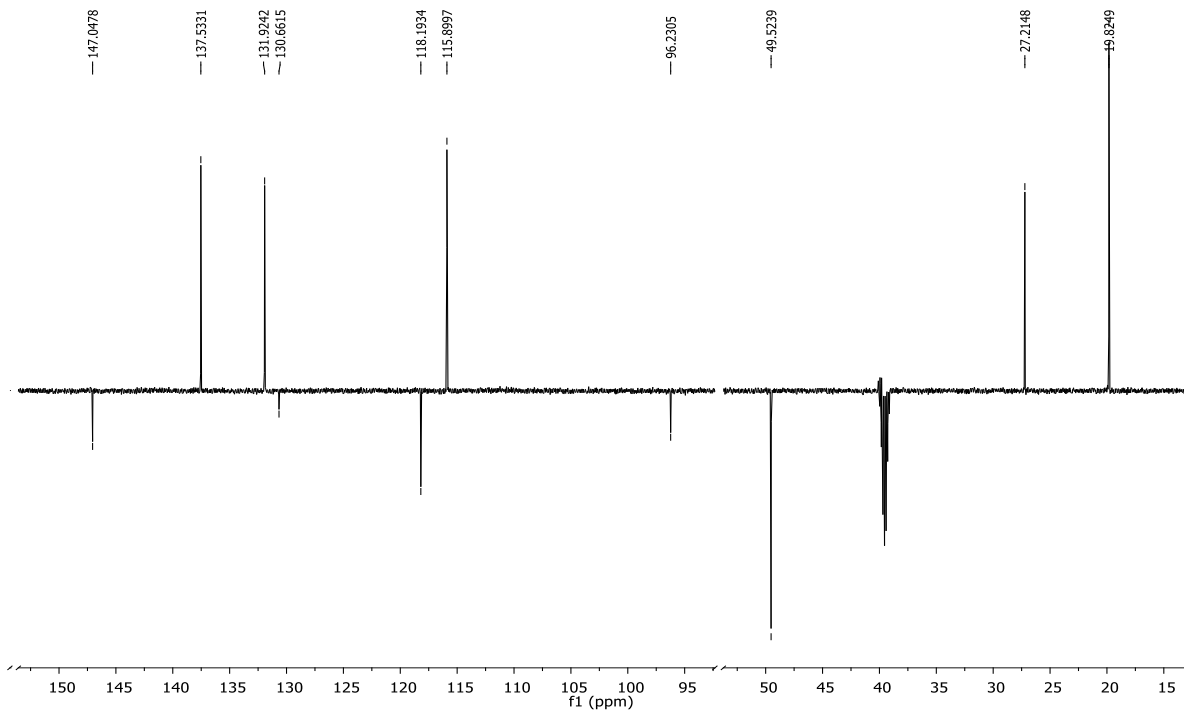
7. PRILOZI

Prilog 1.

a) ^1H NMR spektar 4-izobutilamino-3-nitrobenzonitrila **2**

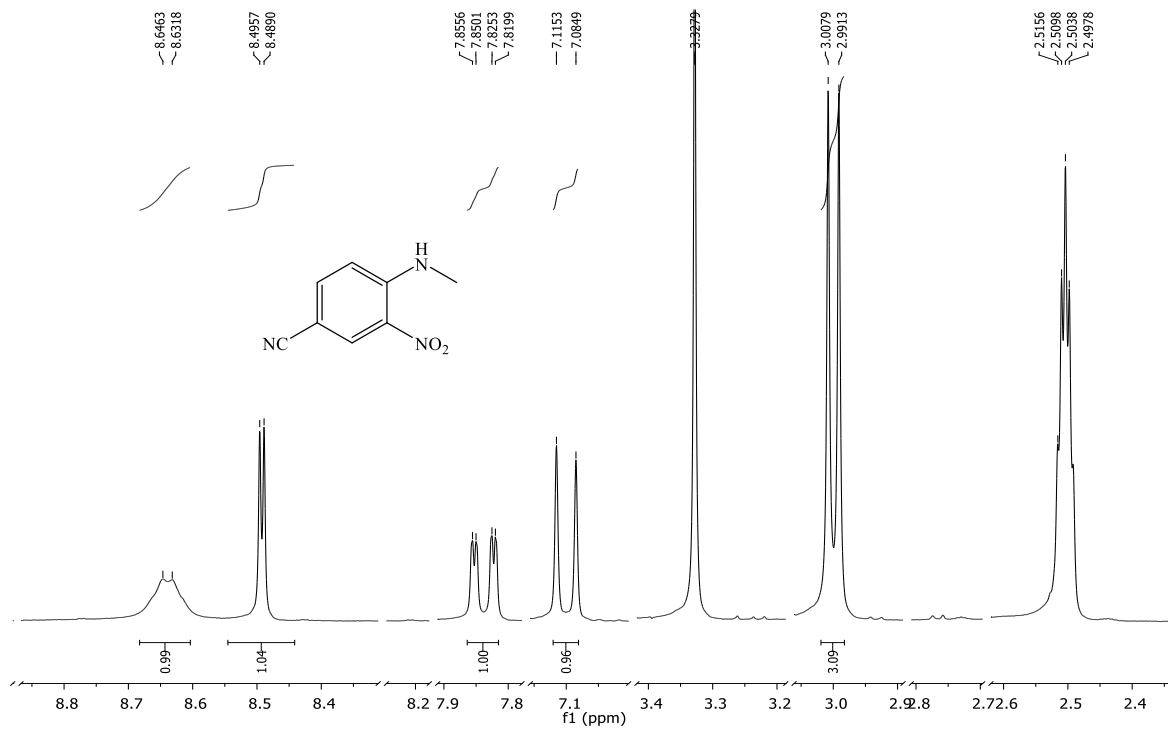


b) ^{13}C NMR spektar 4-izobutilamino-3-nitrobenzonitrila **2**

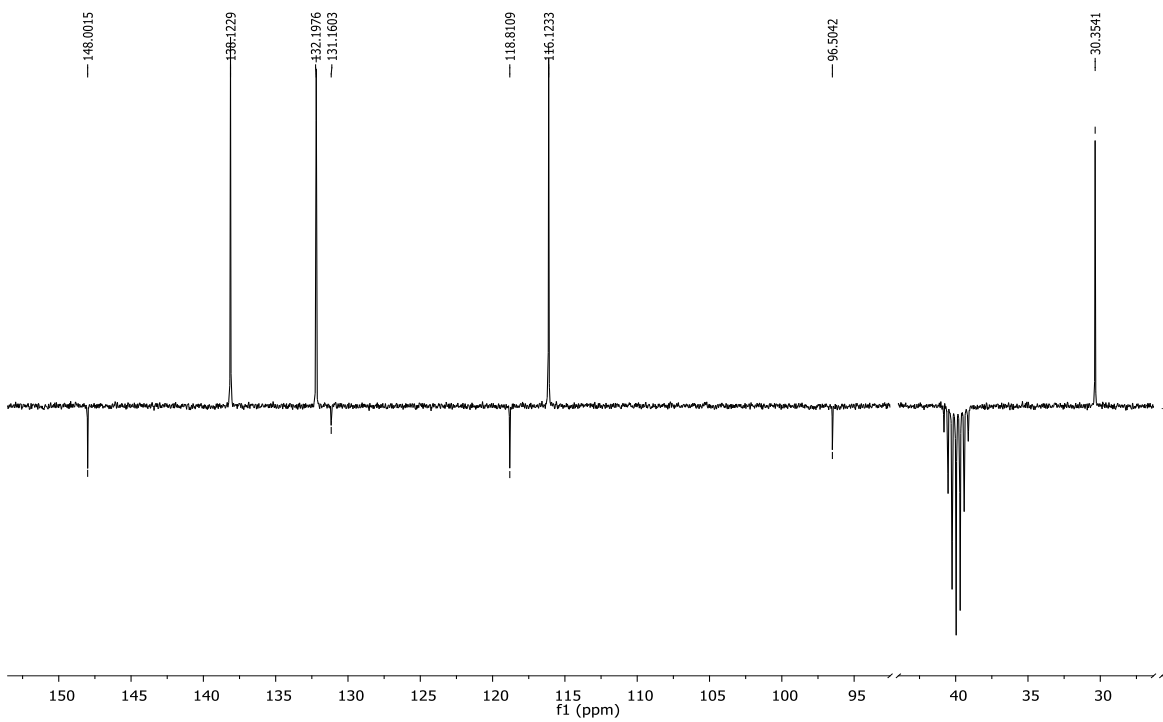


Prilog 2.

a) ^1H NMR spektar 4-metilamino-3-nitrobenzonitrila **3**

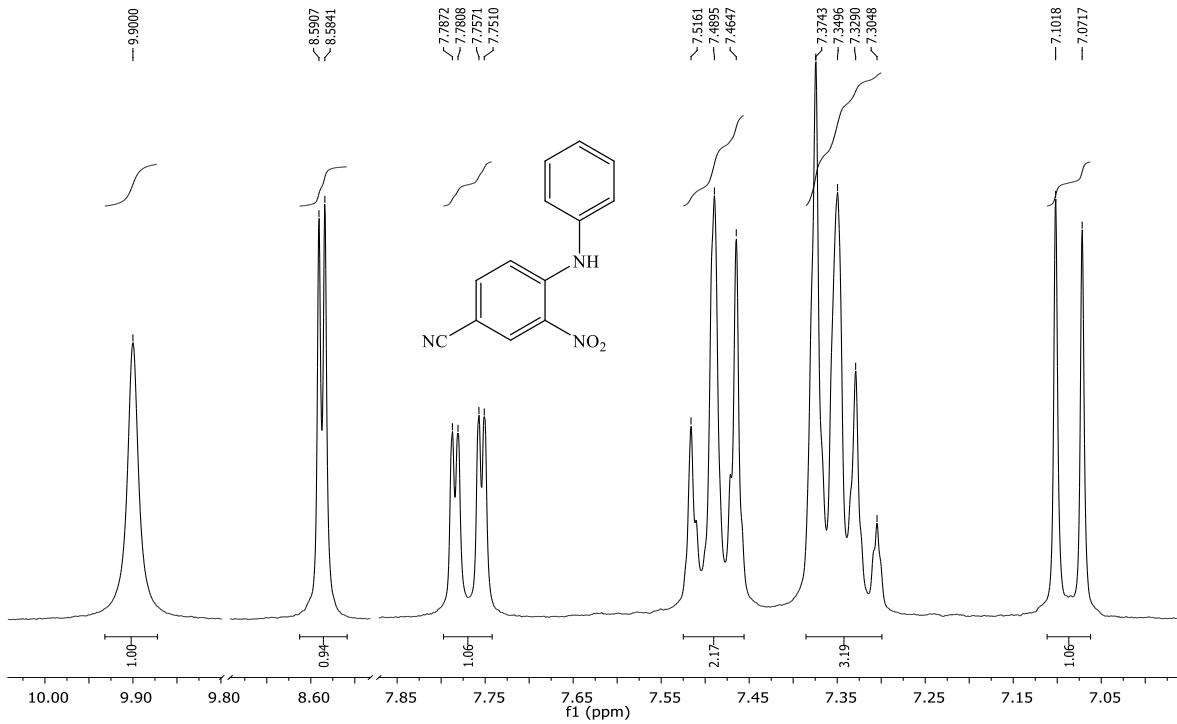


b) ^{13}C NMR spektar 4-metilamino-3-nitrobenzonitrila **3**

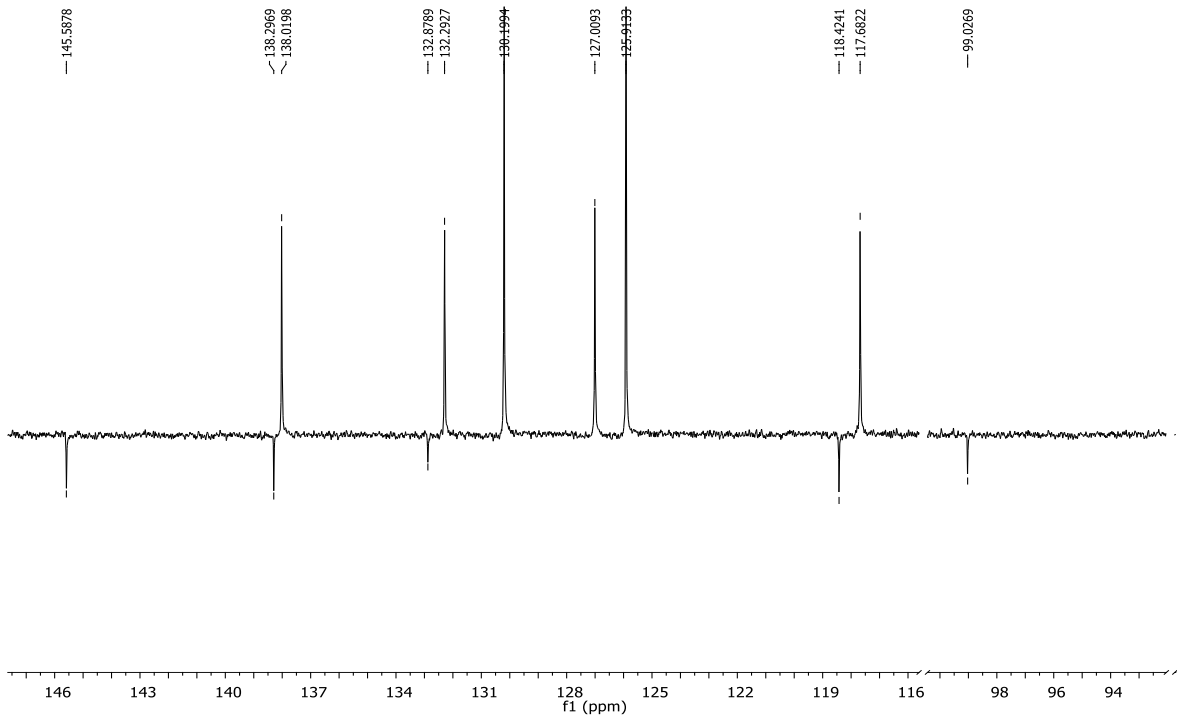


Prilog 3.

a) ^1H NMR spektar 4-fenilamino-3-nitrobenzonitrila **4**

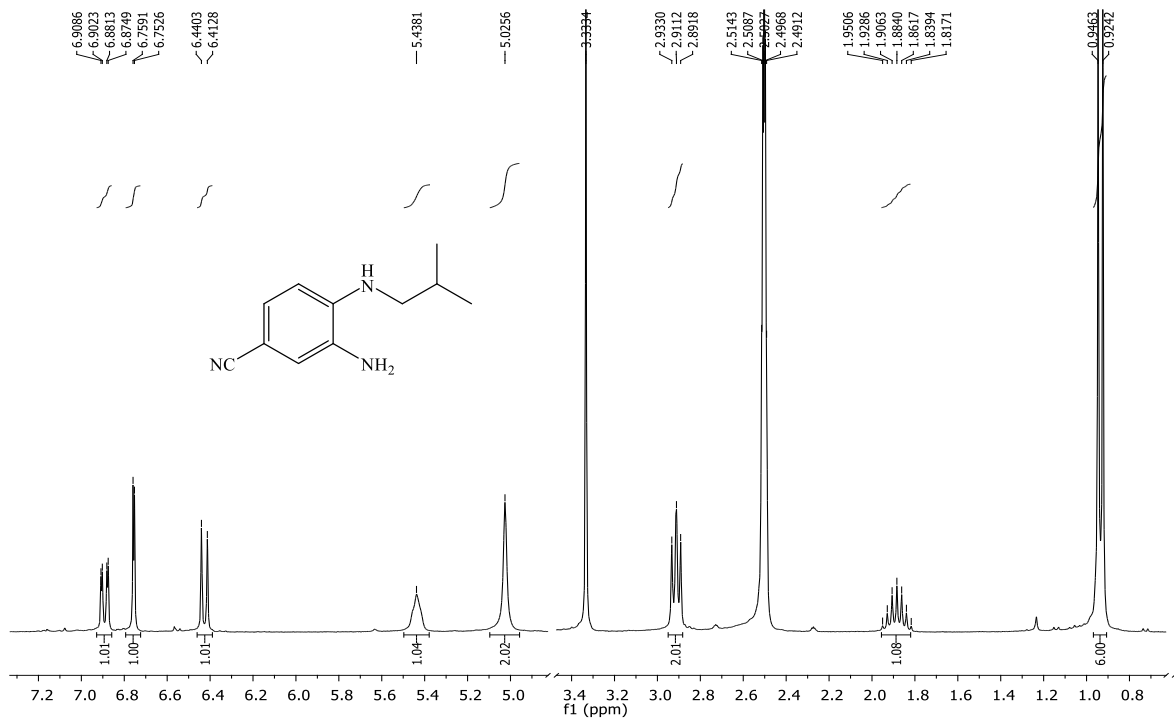


b) ^{13}C NMR spektar 4-fenilamino-3-nitrobenzonitrila **4**

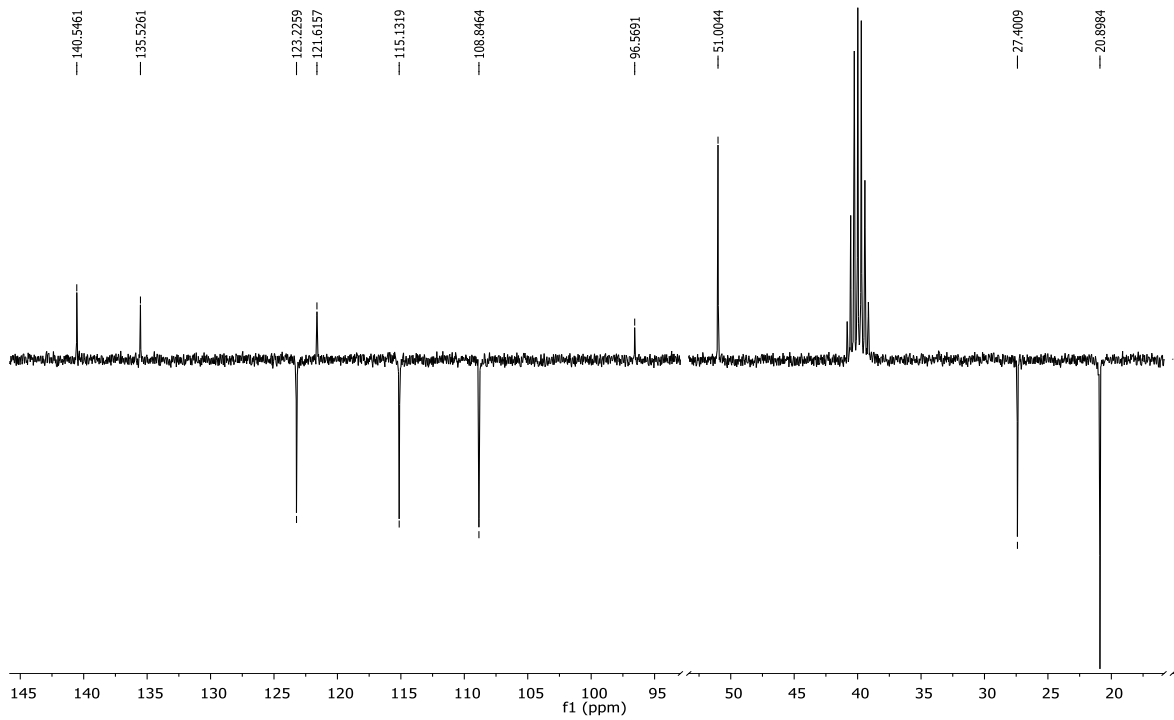


Prilog 4.

a) ^1H NMR spektar 3-amino-4-izobutilaminobenzonitrila **5**

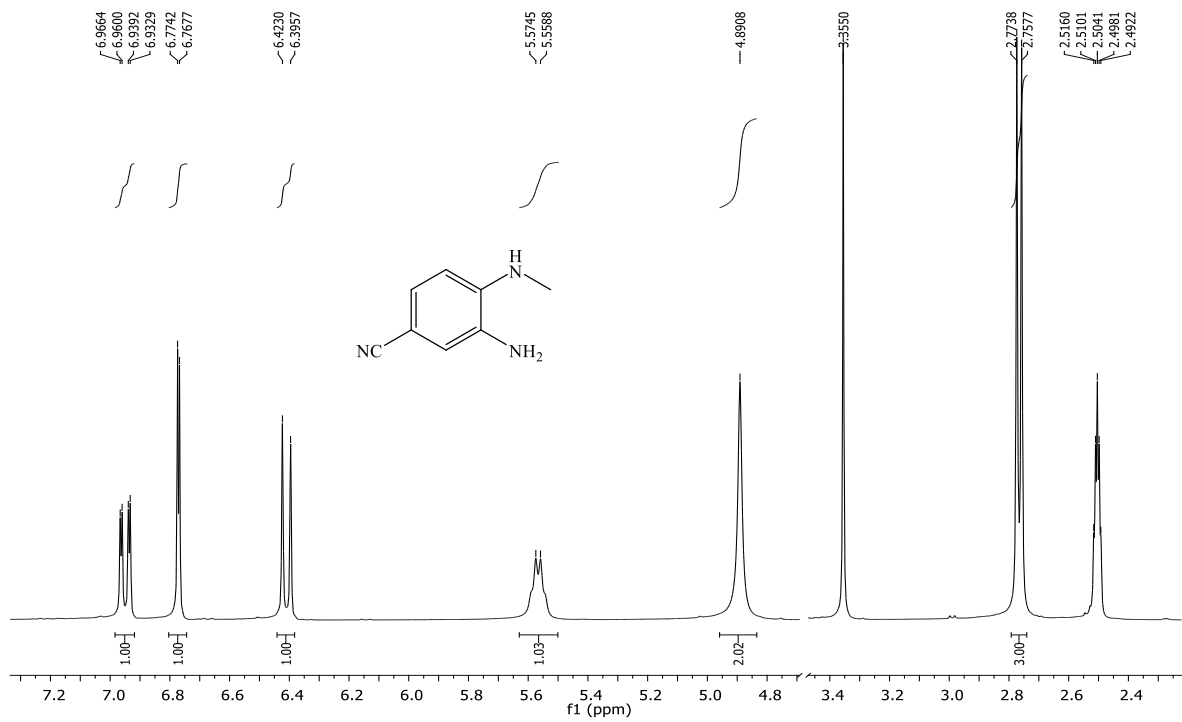


b) ^{13}C NMR spektar 3-amino-4-izobutilaminobenzonitrila **5**

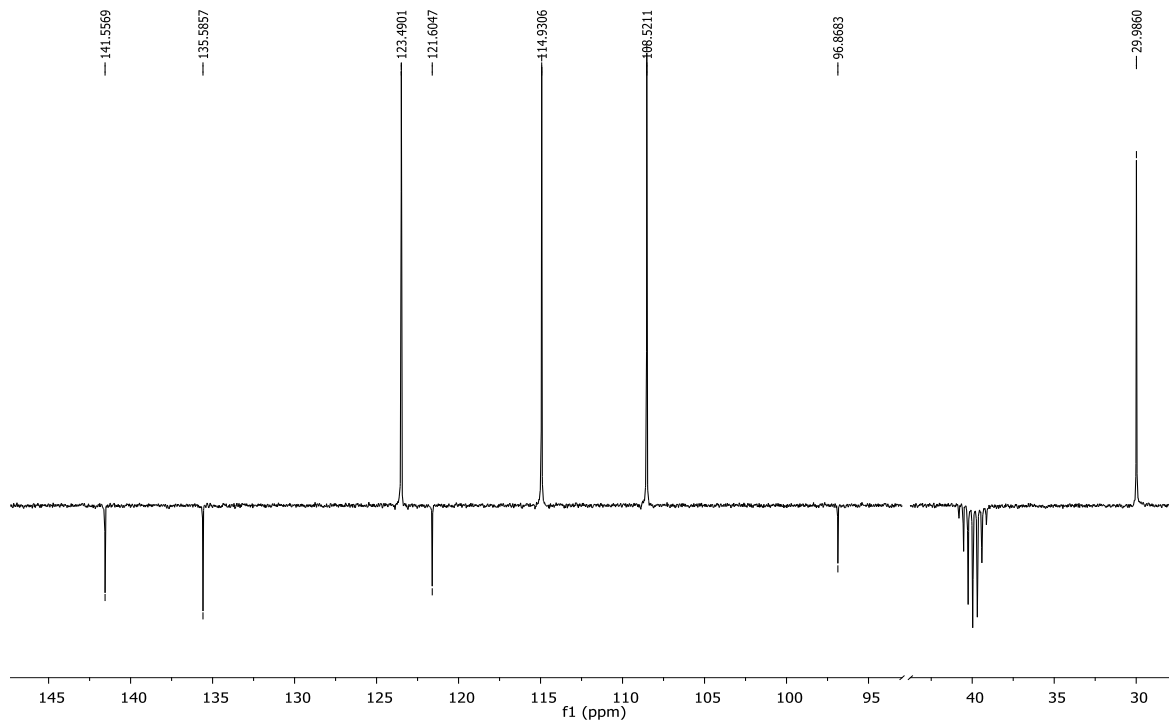


Prilog 5.

a) ^1H NMR spektar 3-amino-4-metilaminobenzonitrila **6**

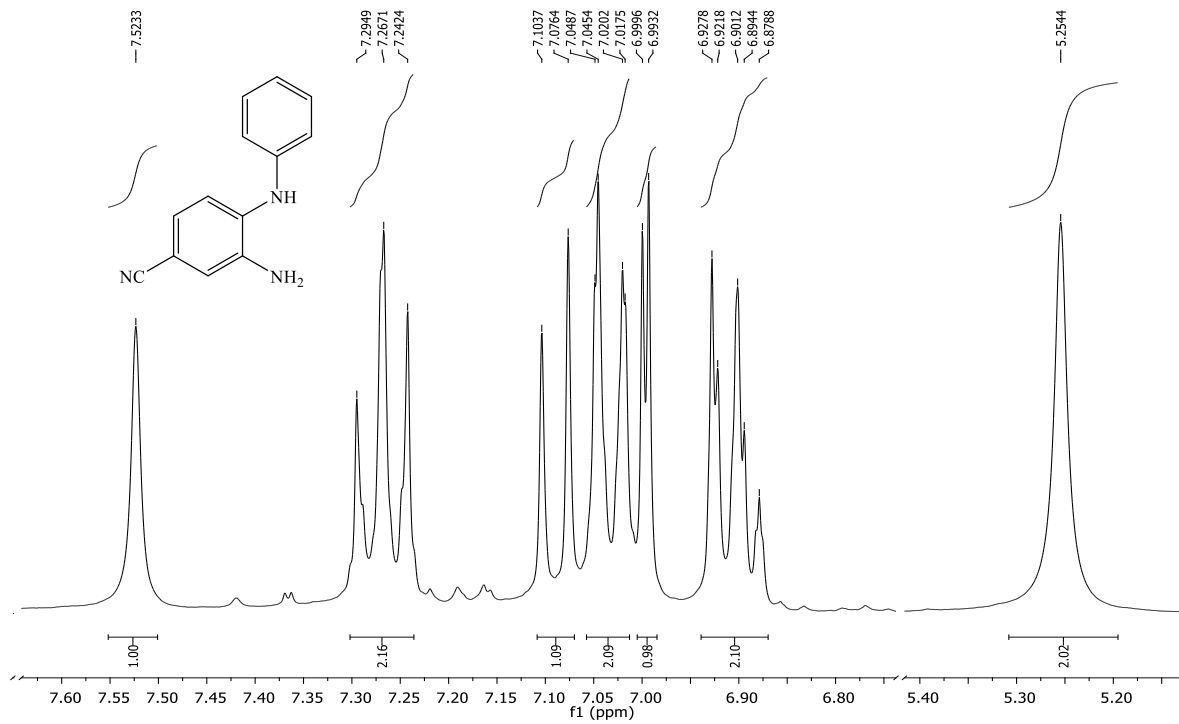


b) ^{13}C NMR spektar 3-amino-4-metilaminobenzonitrila **6**

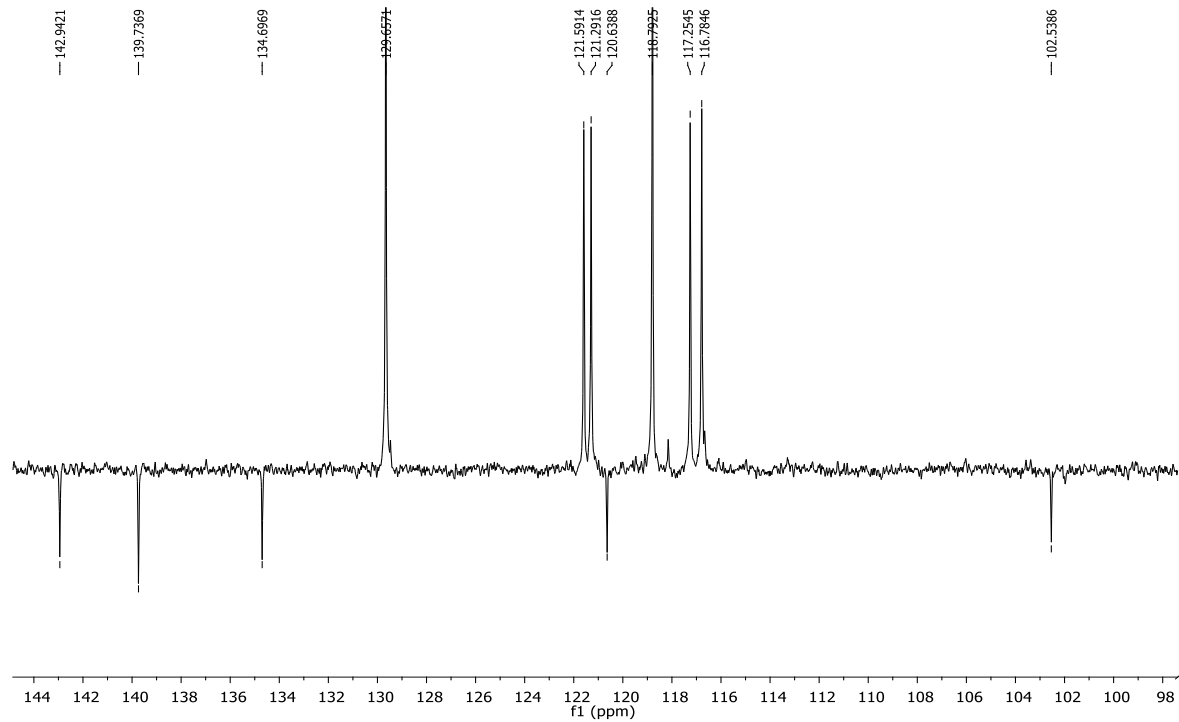


Prilog 6.

a) ^1H NMR spektar 3-amino-4-fenilaminobenzonitrila **7**

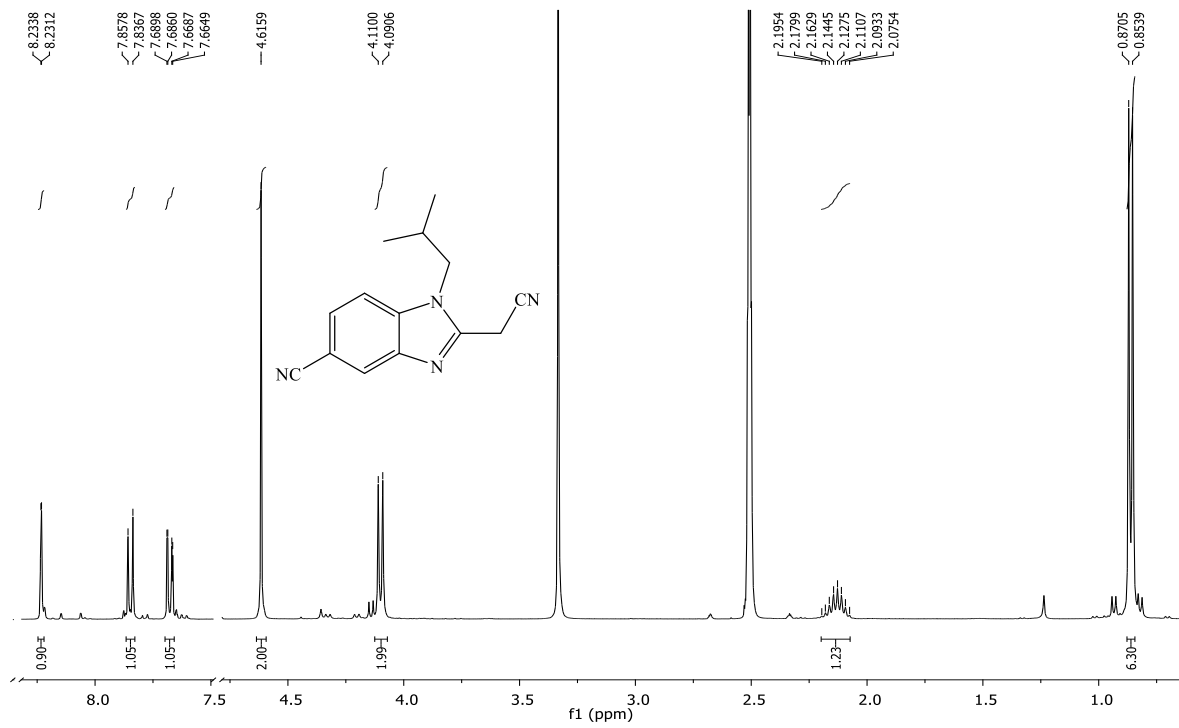


b) ^{13}C NMR spektar 3-amino-4-fenilaminobenzonitrila **7**

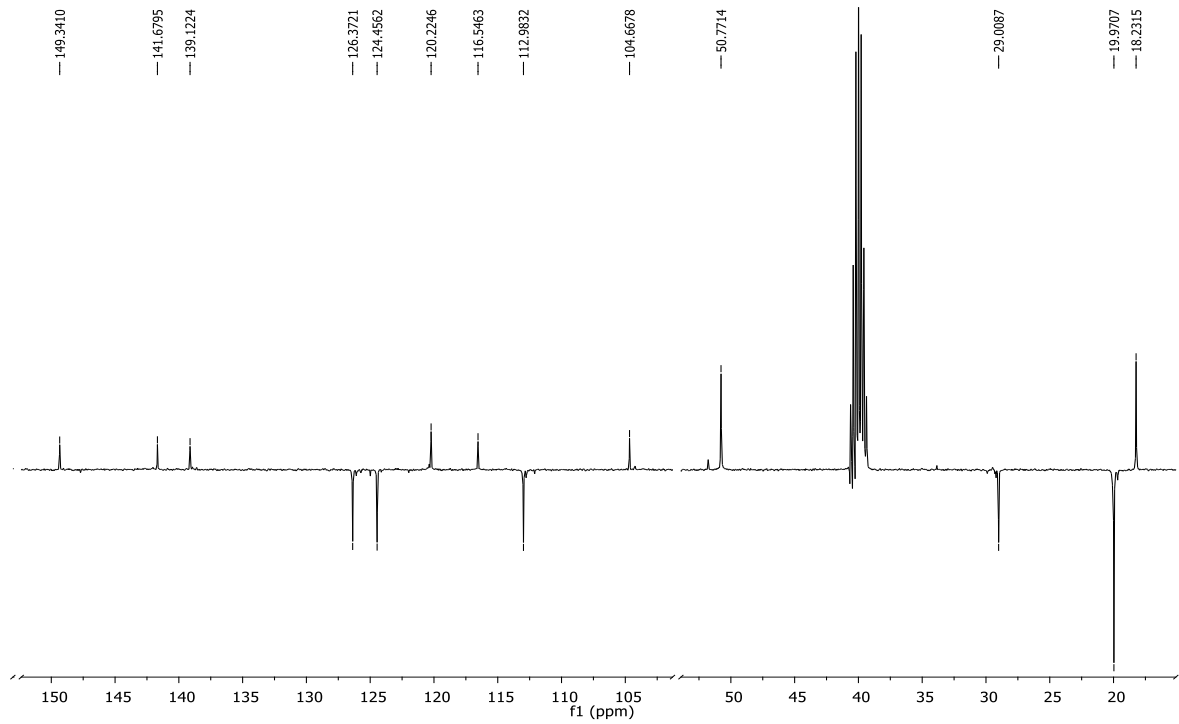


Prilog 7.

a) ^1H NMR spektar 5-cijano-2-cijanometil-*N*-izobutilbenzimidazola **8**

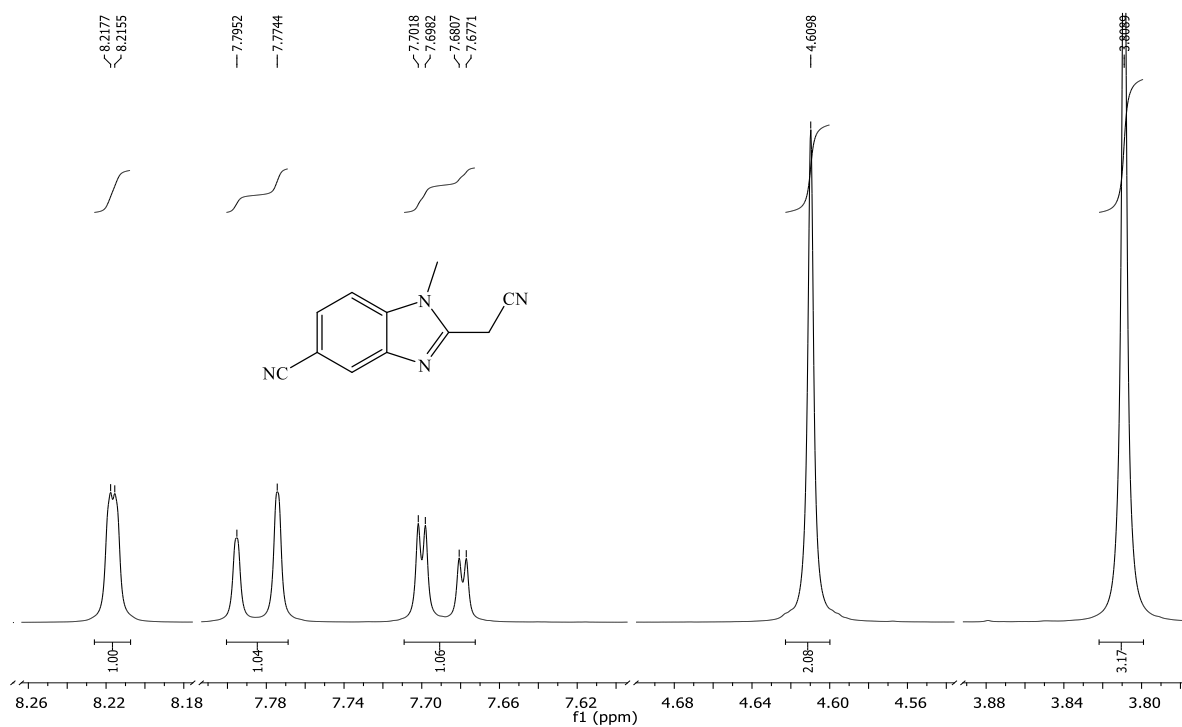


b) ^{13}C NMR spektar 5-cijano-2-cijanometil-*N*-izobutilbenzimidazola **8**

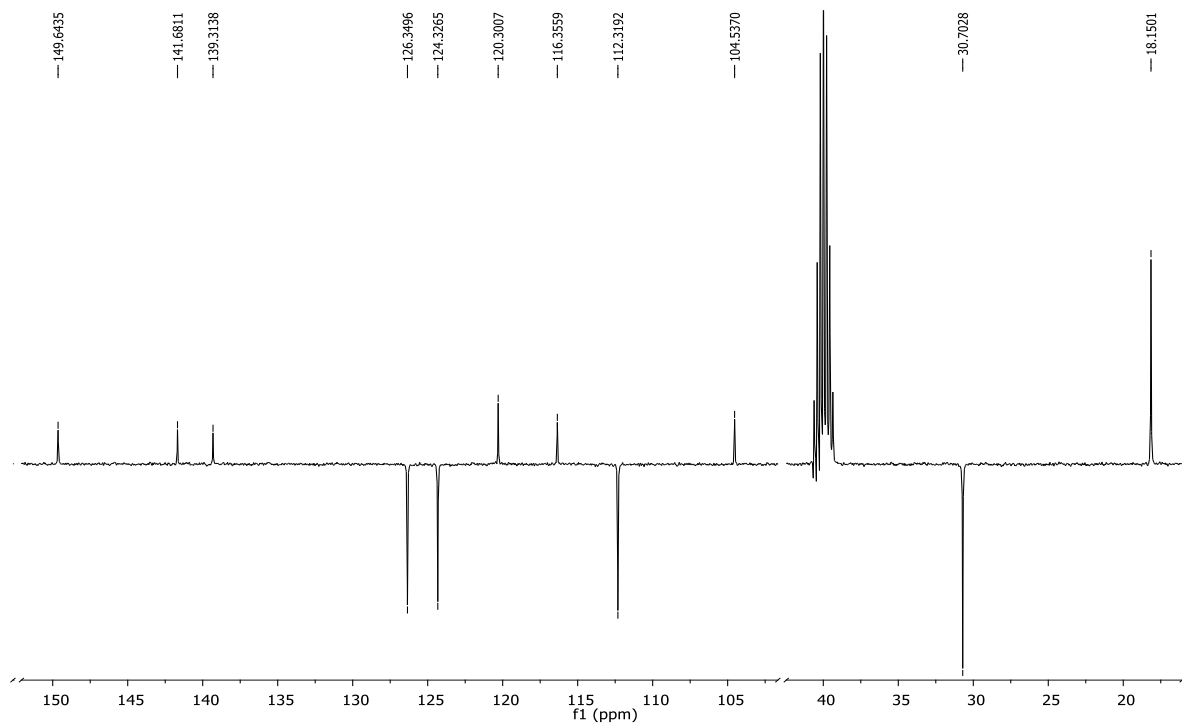


Prilog 8.

a) ^1H NMR spektar 5-cijano-2-cijanometil-*N*-metilbenzimidazola **9**

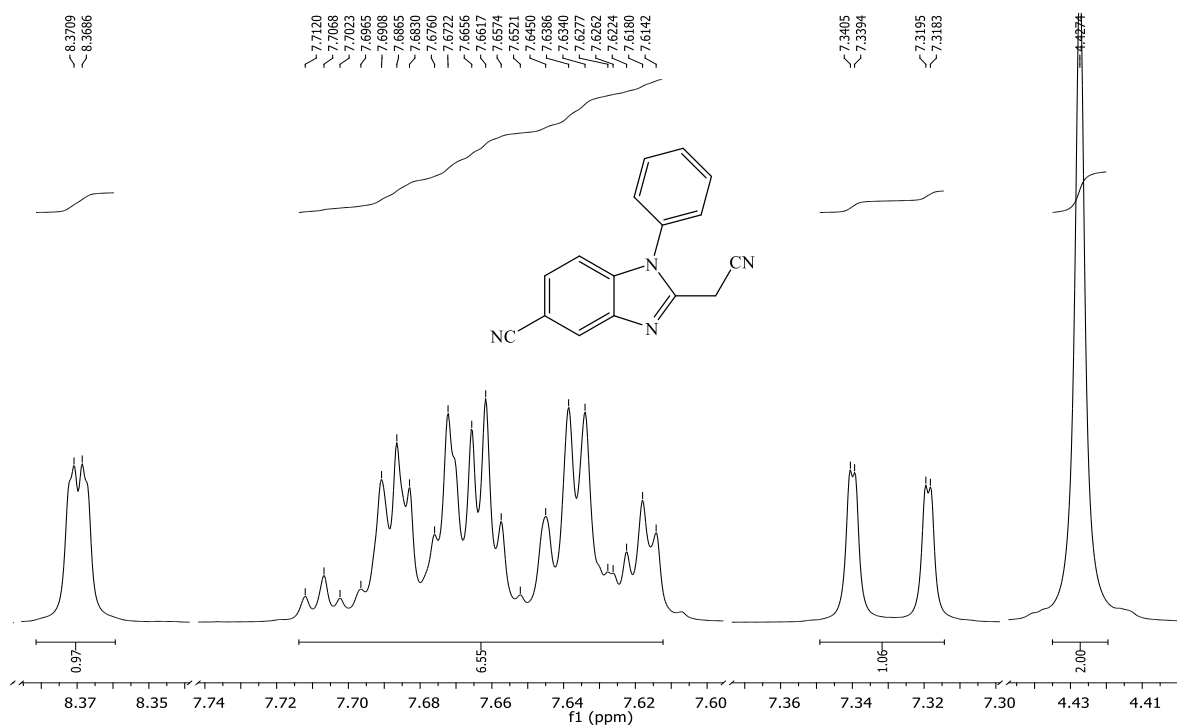


b) ^{13}C NMR spektar 5-cijano-2-cijanometil-*N*-metilbenzimidazola **9**

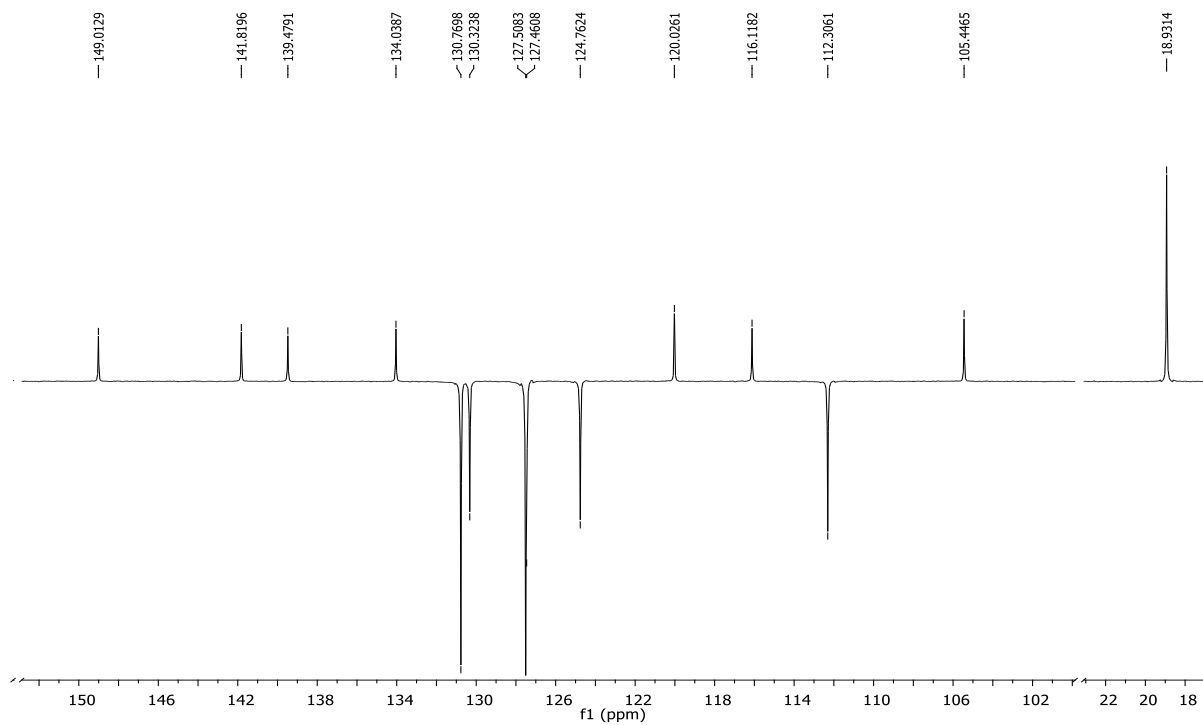


Prilog 9.

a) ^1H NMR spektar 5-cijano-2-cijanometil-*N*-fenilbenzimidazola **10**

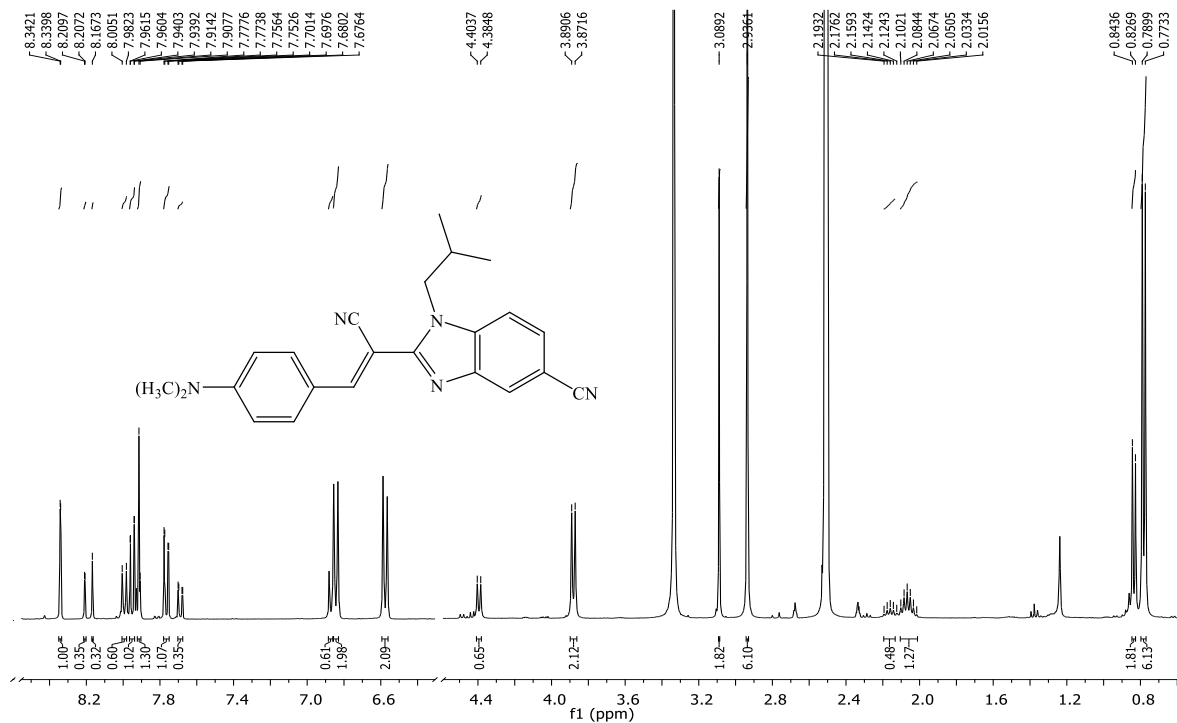


b) ^{13}C NMR spektar 5-cijano-2-cijanometil-*N*-fenilbenzimidazola **10**

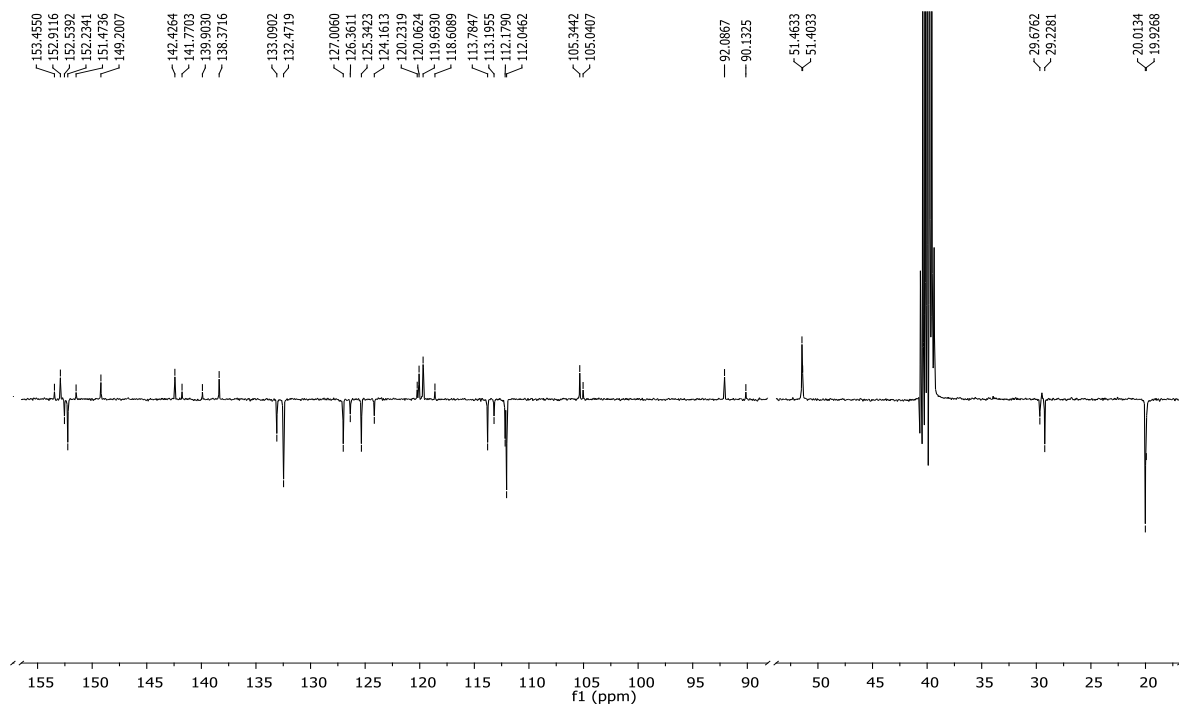


Prilog 10.

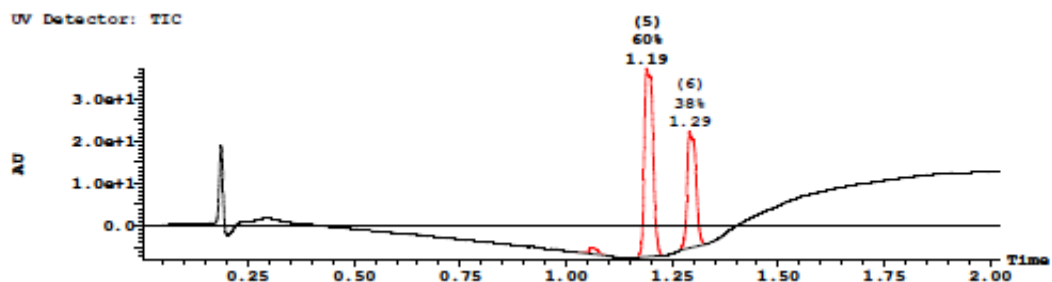
a) ^1H NMR spektar *E(Z)*-2-[5-cijano-*N*-izobutilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)akrilonitrila **12a,b**



b) ^{13}C NMR spektar *E(Z)*-2-[5-cijano-*N*-izobutilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)akrilonitrila **12a,b**

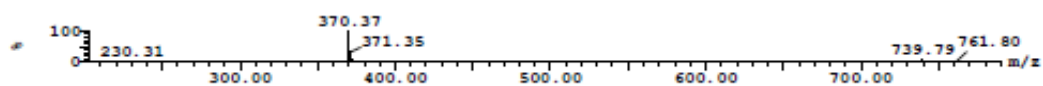


c) Kromatogram i MS spektar *E(Z)*-2-[5-cijano-*N*-izobutilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)akrilonitrila **12a,b**



Peak ID	Compound	Time	Mass Found
5		1.19	

SAMPLE: 1:1 Combine (136:148-(118:123+161:166))



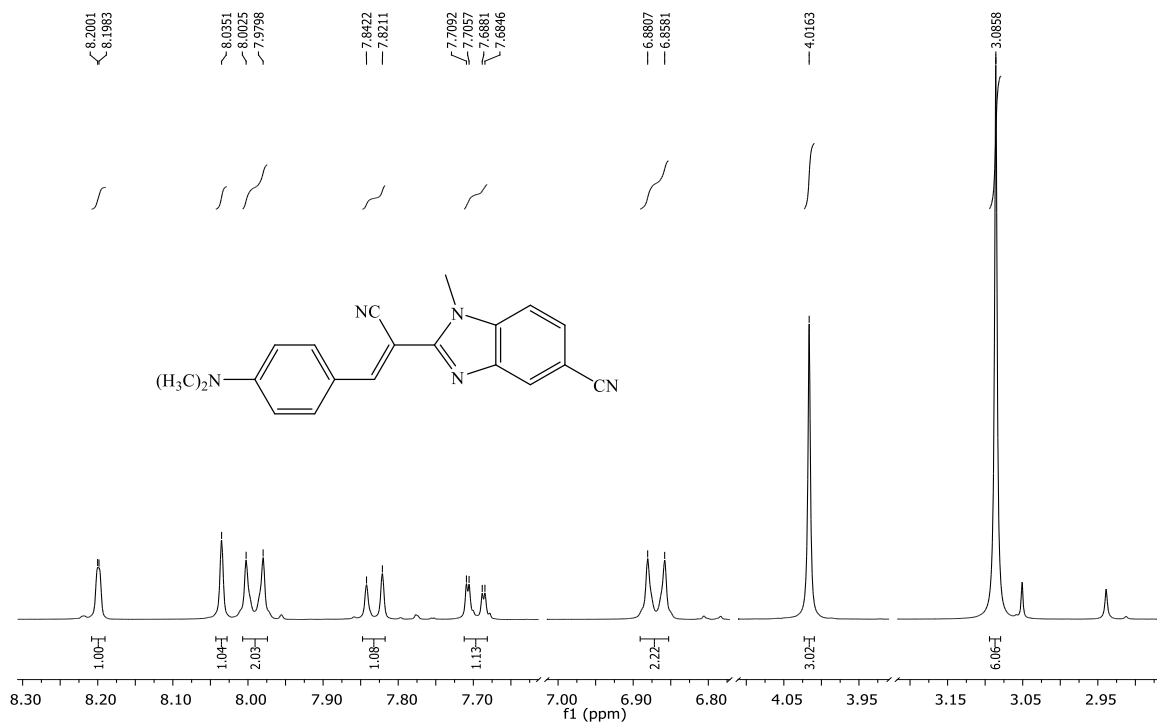
Peak ID	Compound	Time	Mass Found
6		1.29	

SAMPLE: 1:1 Combine (148:160-(130:135+173:178))

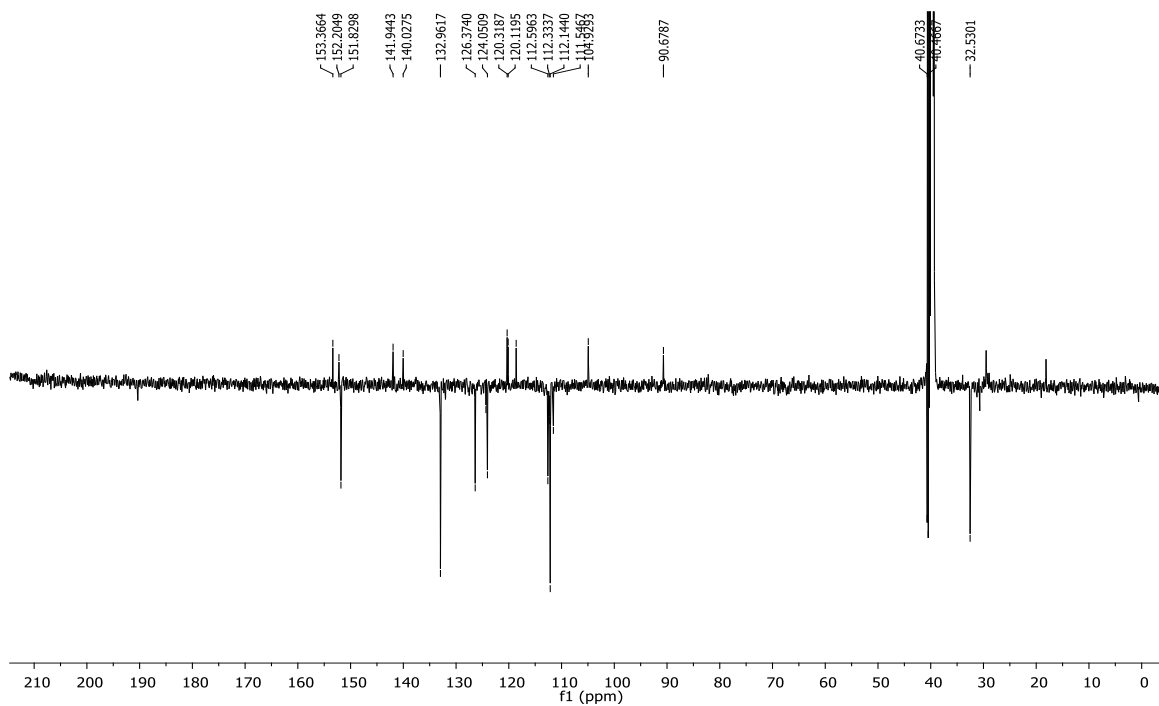


Prilog 11.

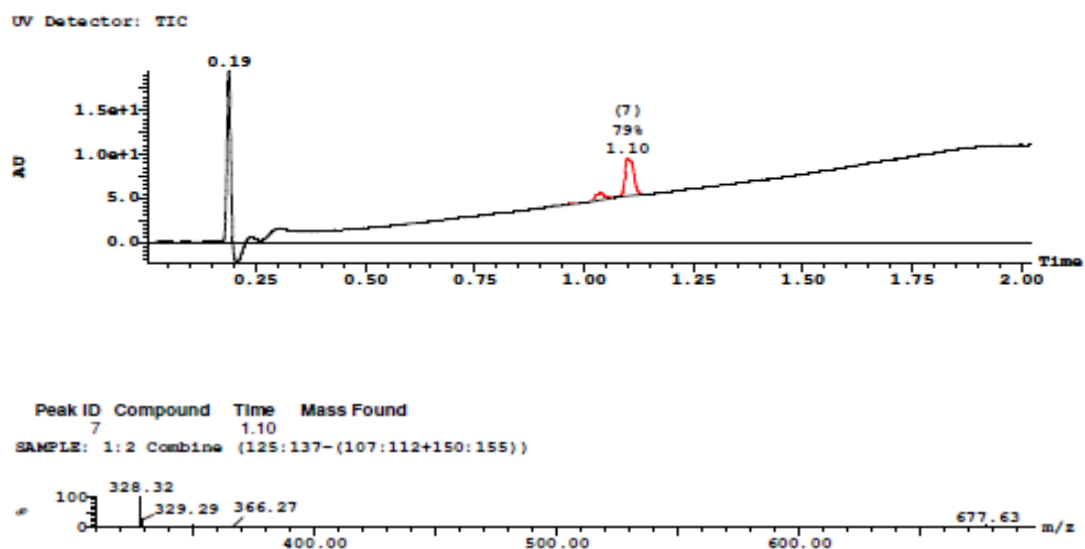
a) ^1H NMR spektar *E*-2-[5-cijano-*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)akrilonitrila **13**



b) ^{13}C NMR spektar *E*-2-[5-cijano-*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)akrilonitrila **13**

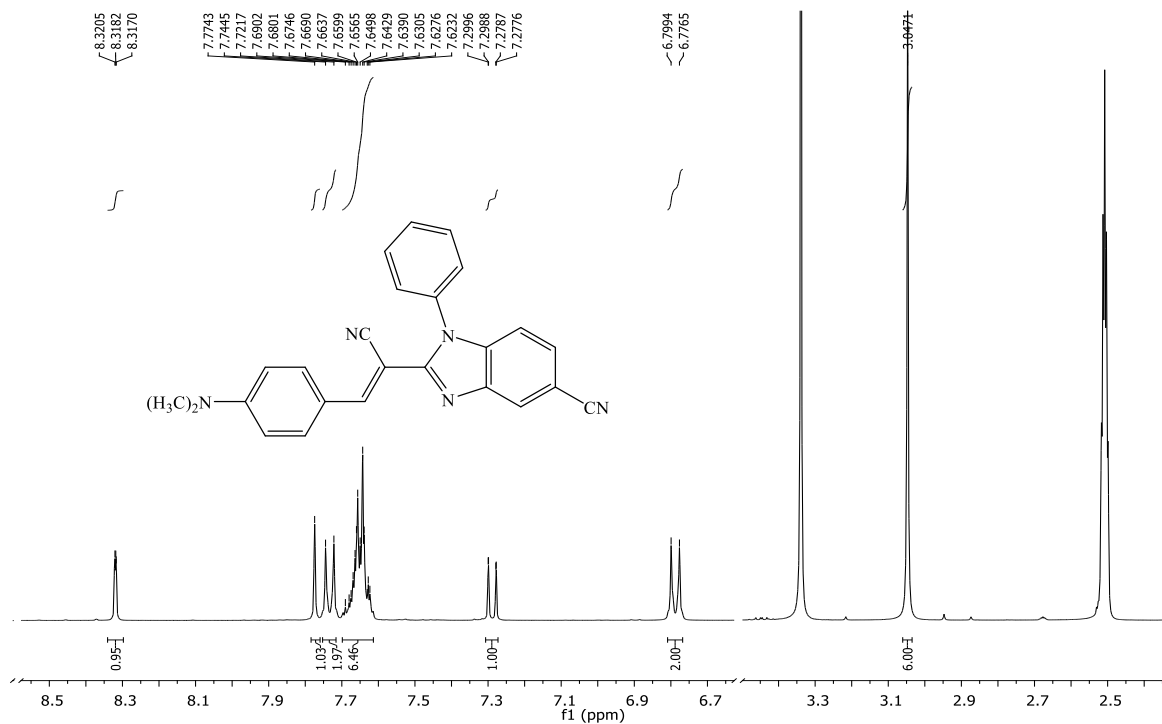


c) Kromatogram i MS spektar *E*-2-[5-cijano-*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)akrilonitrila **13**

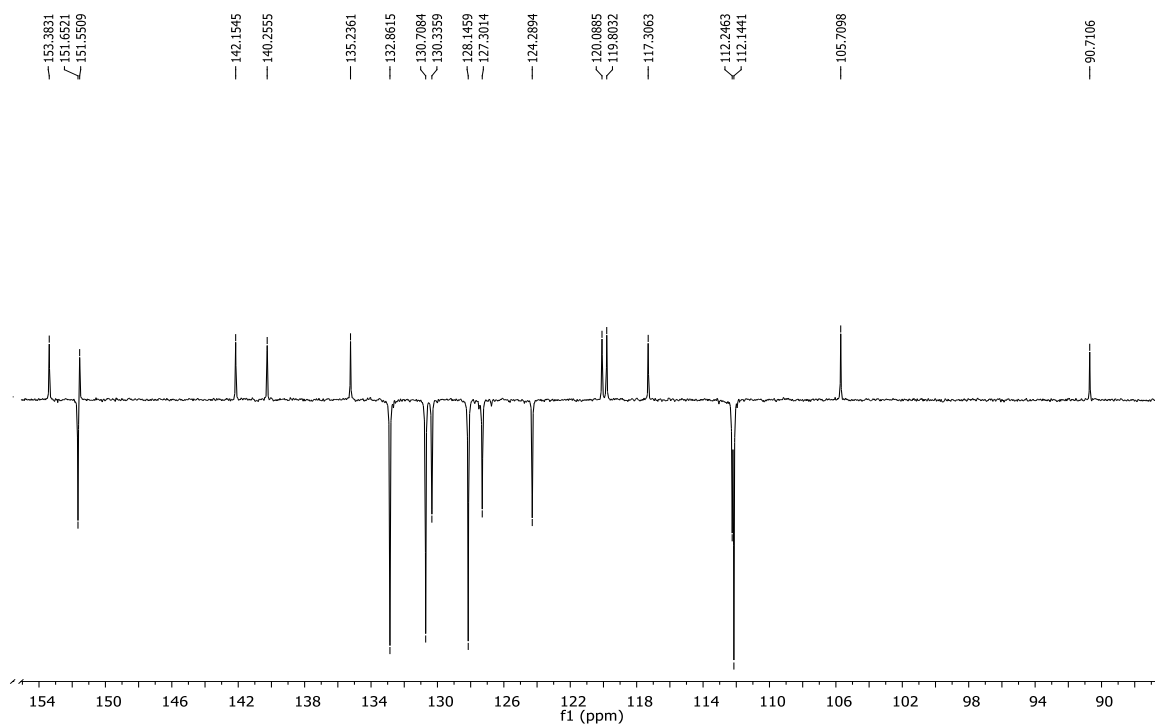


Prilog 12.

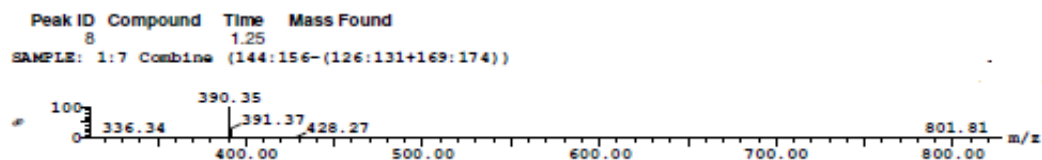
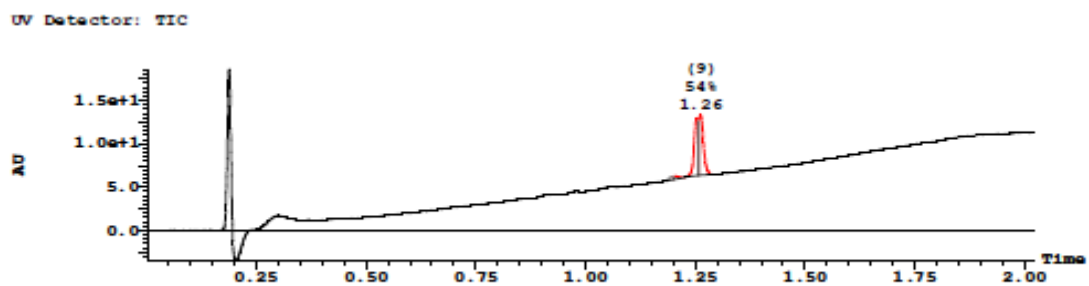
a) ^1H NMR spektar *E*-2-[5-cijano-*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)akrilonitrila **14**



b) ^{13}C NMR spektar *E*-2-[5-cijano-*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)akrilonitrila **14**

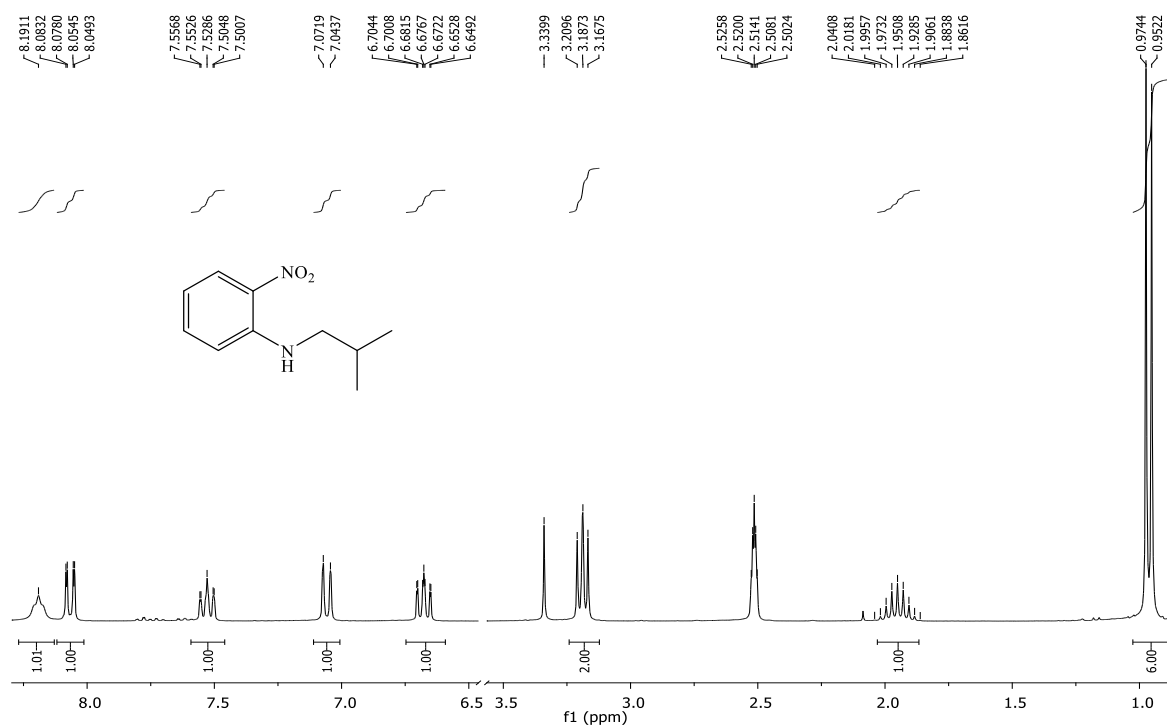


c) Kromatogram i MS spektar *E*-2-[5-cijano-*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)akrilonitrila **14**



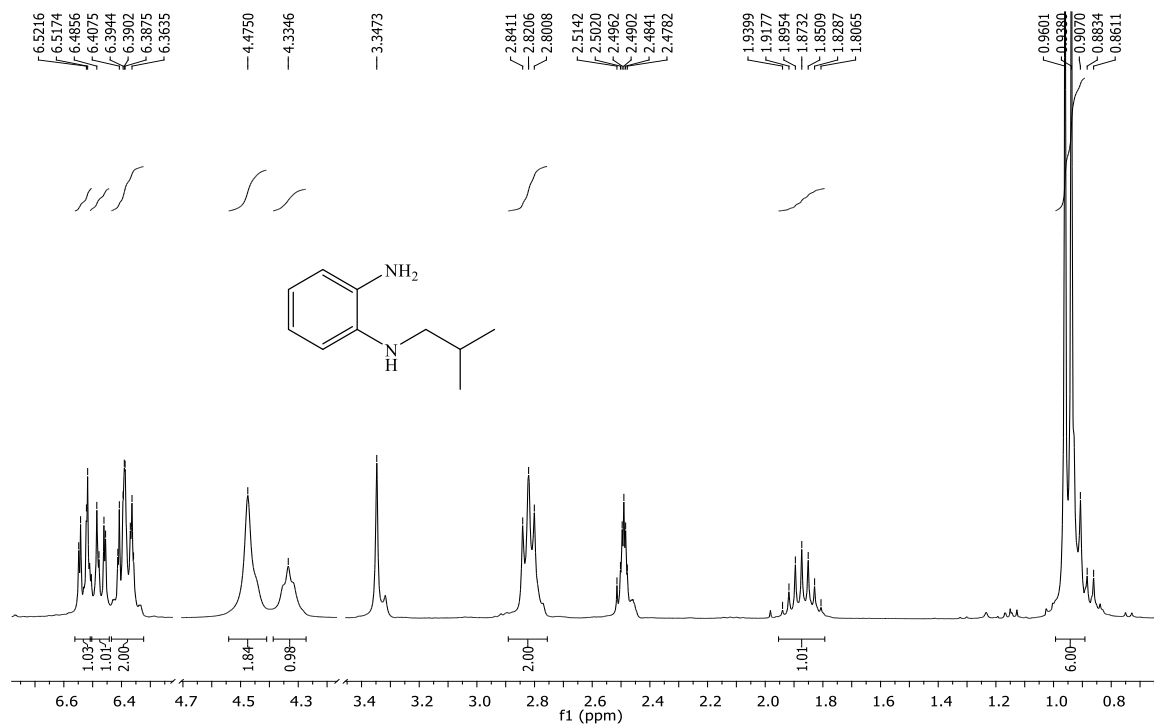
Prilog 13.

^1H NMR spektar *N*-izobutil-2-nitroanilina **16**



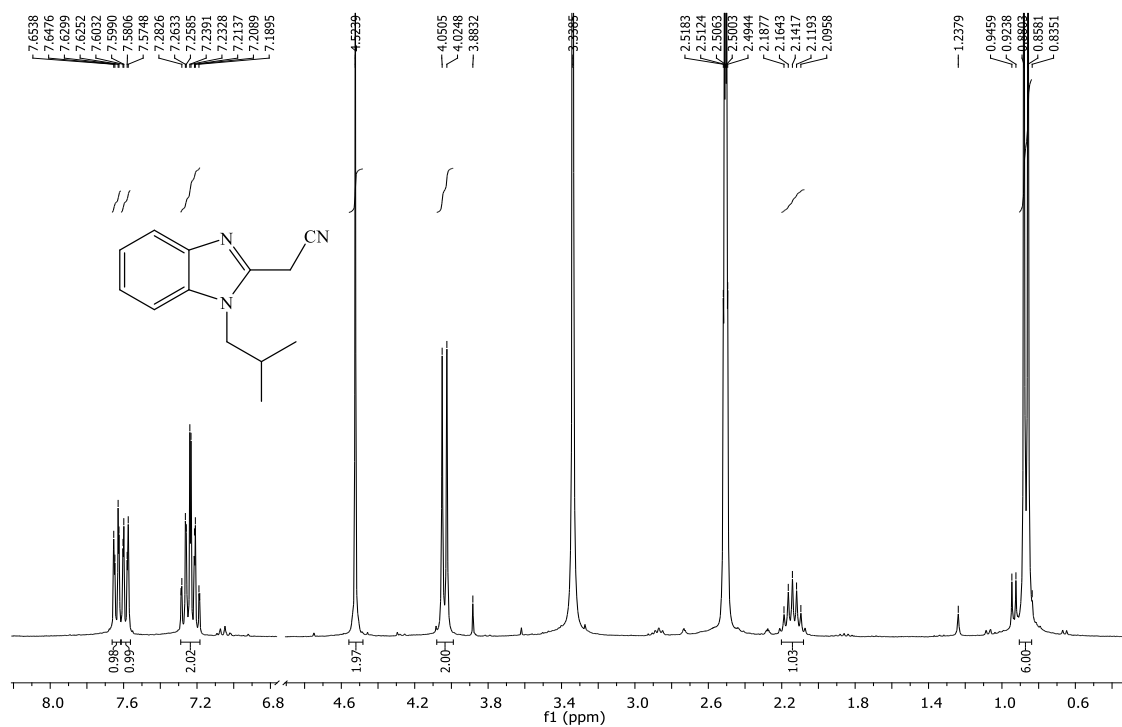
Prilog 14.

^1H NMR spektar *N*-izobutil-1,2-fenilendiamina **17**

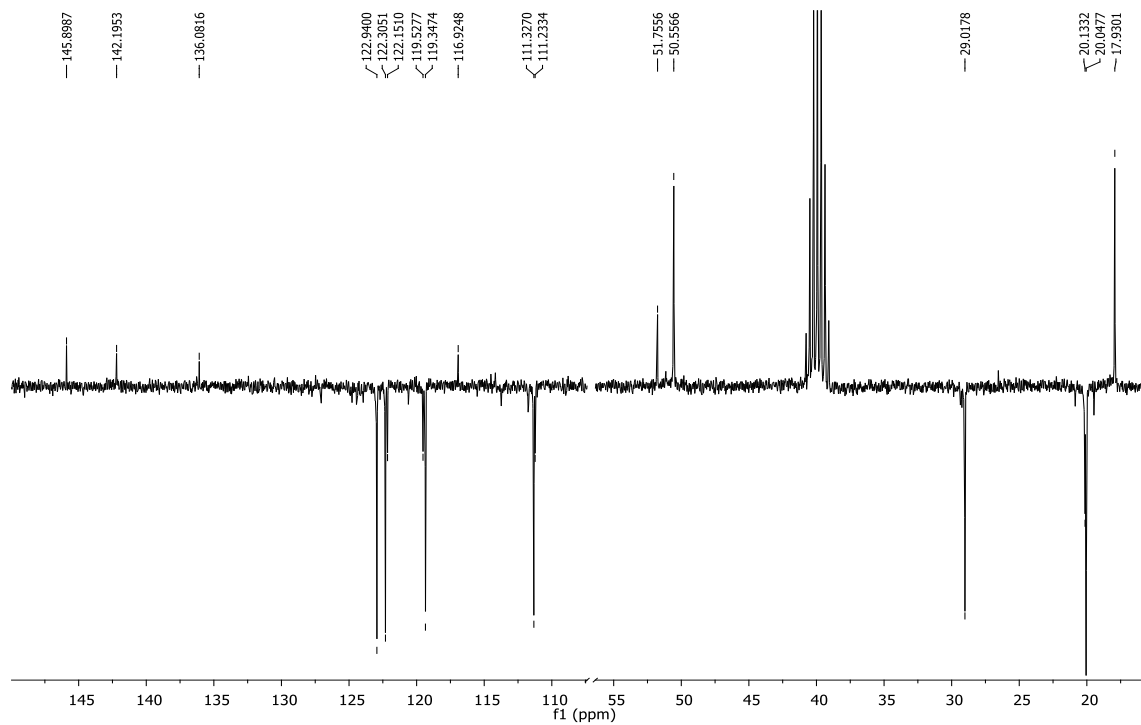


Prilog 15.

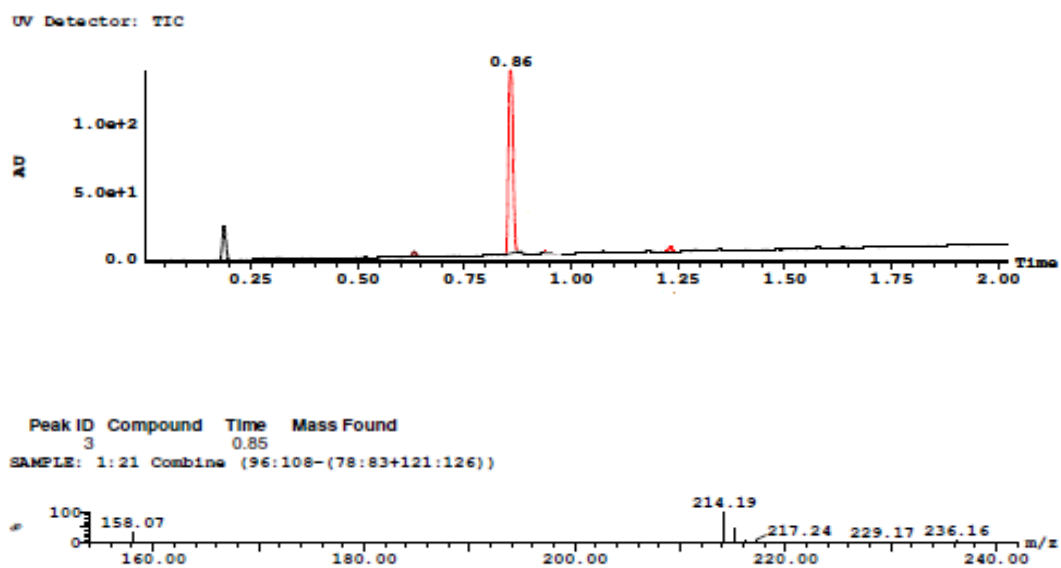
a) ^1H NMR spektar 2-cijanometil-*N*-izobutilbenzimidazola **20**



b) ^{13}C NMR spektar 2-cijanometil-*N*-izobutilbenzimidazola **20**

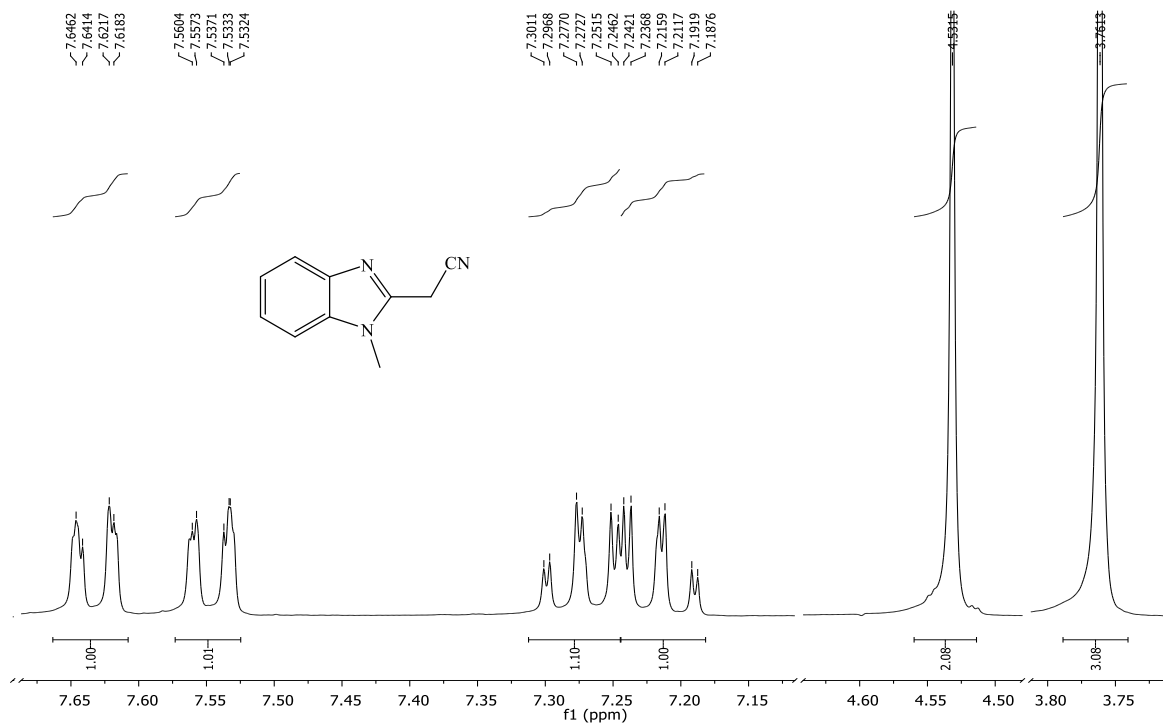


c) Kromatogram i MS spektar 2-cijanometil-*N*-izobutilbenzimidazola **20**

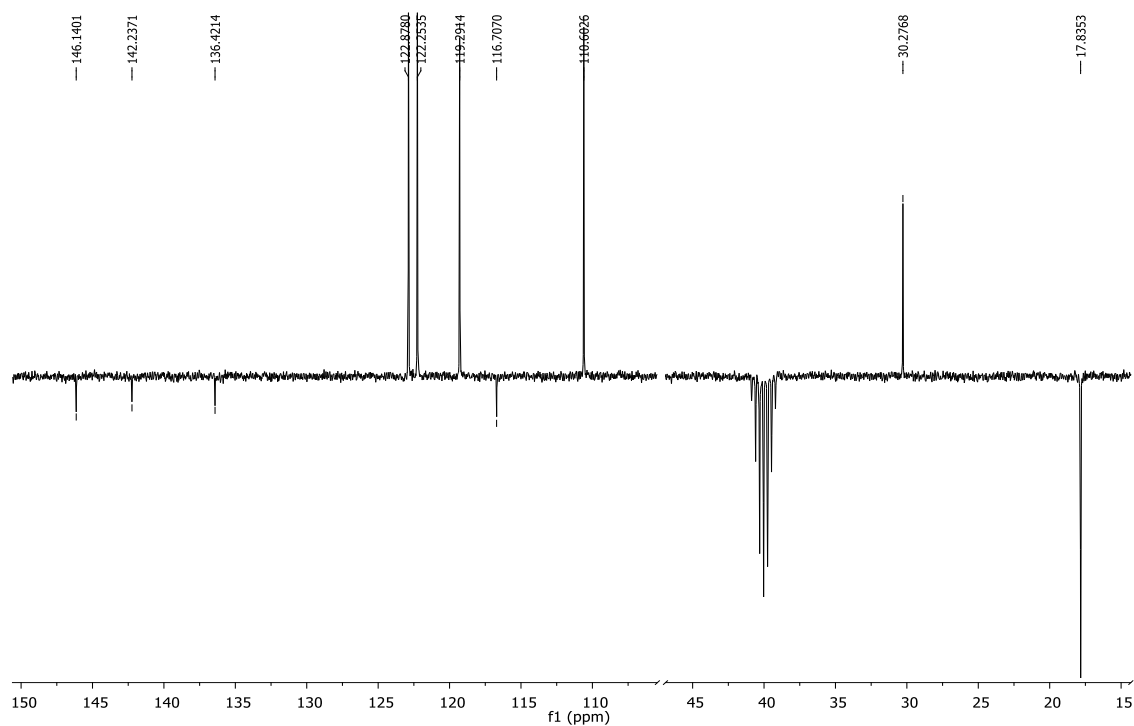


Prilog 16.

a) ^1H NMR spektar 2-cijanometil-*N*-metilbenzimidazola **21**

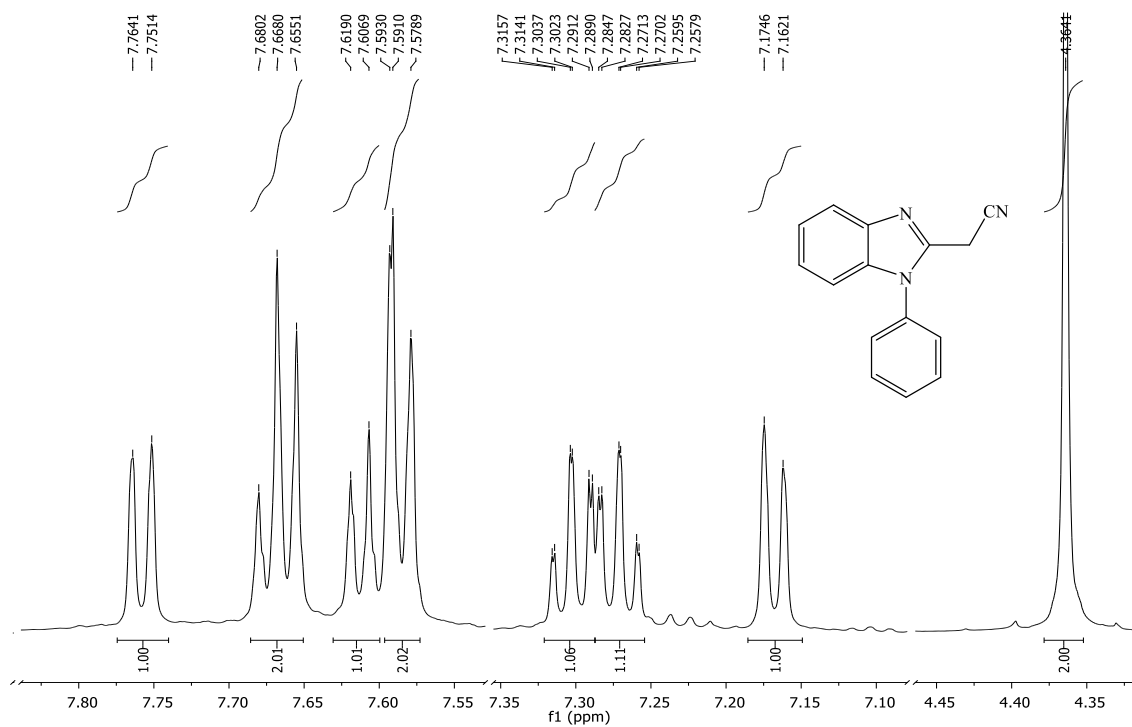


b) ^{13}C NMR spektar 2-cijanometil-*N*-metilbenzimidazola **21**

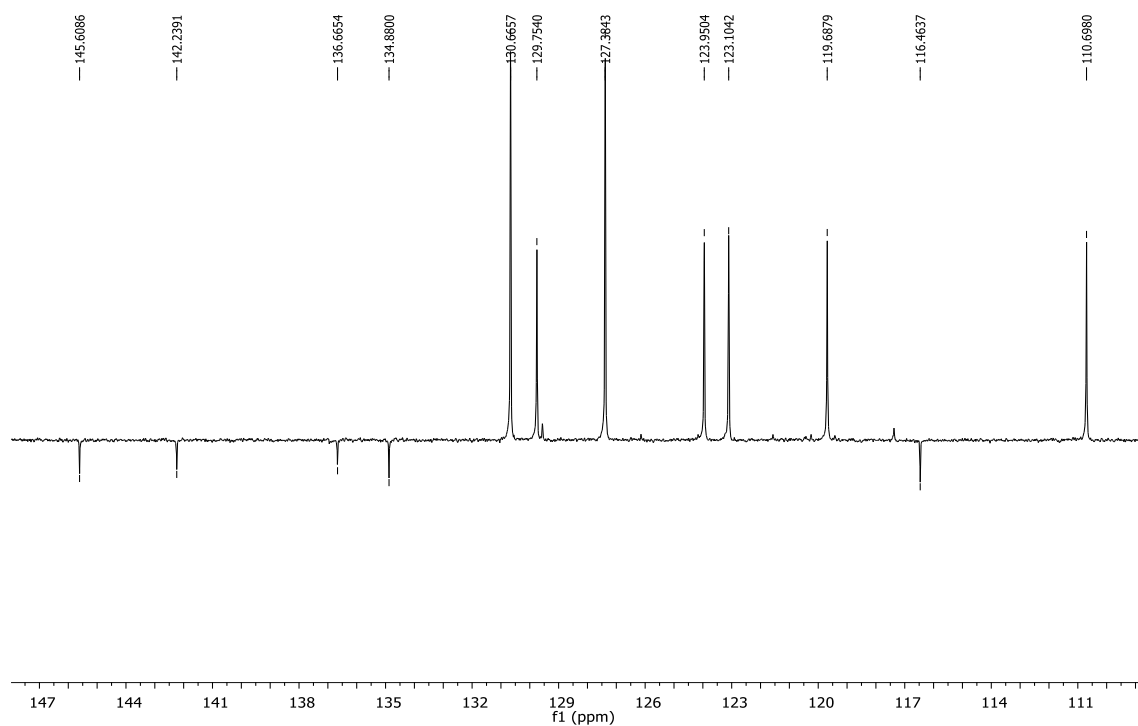


Prilog 17.

a) ^1H NMR spektar 2-cijanometil-*N*-fenilbenzimidazola **22**

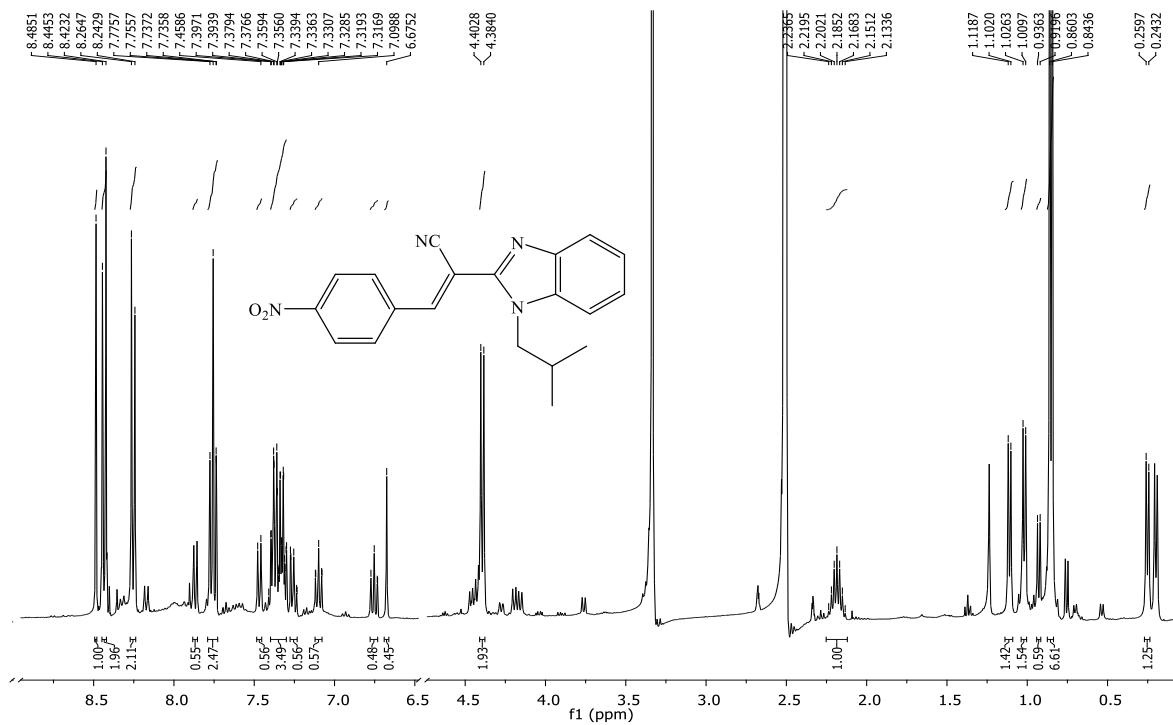


b) ^{13}C NMR spektr 2-cijanometil-*N*-fenilbenzimidazola **22**

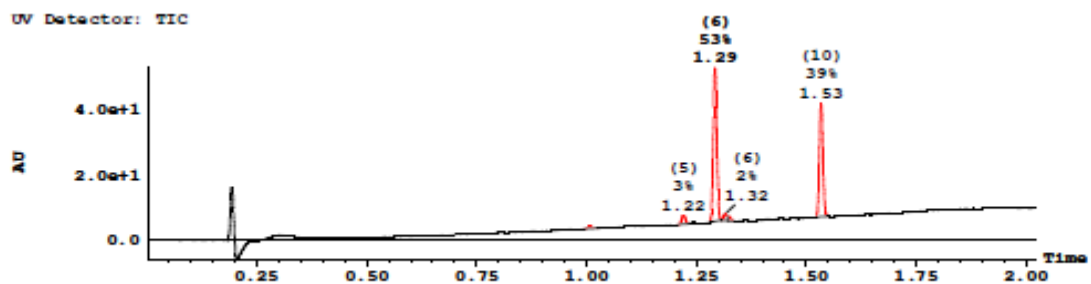


Prilog 18.

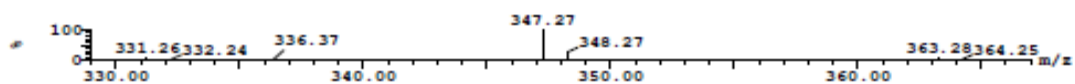
a) ^1H NMR spektr *E*(*Z*)-2-[*N*-izobutilbenzimidazol-2-il]-3-(4-nitrofenil)akrilonitrila **31a,b**



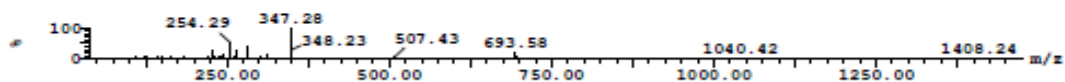
b) Kromatogram i MS spektar *E(Z)*-2-[*N*-izobutilbenzimidazol-2-il]-3-(4-nitrofenil)akrilonitrila **31a,b**



Peak ID Compound Time Mass Found
 6 1.29
 SAMPLE: 1:10 Combine (148:160-(130:135+173:178))

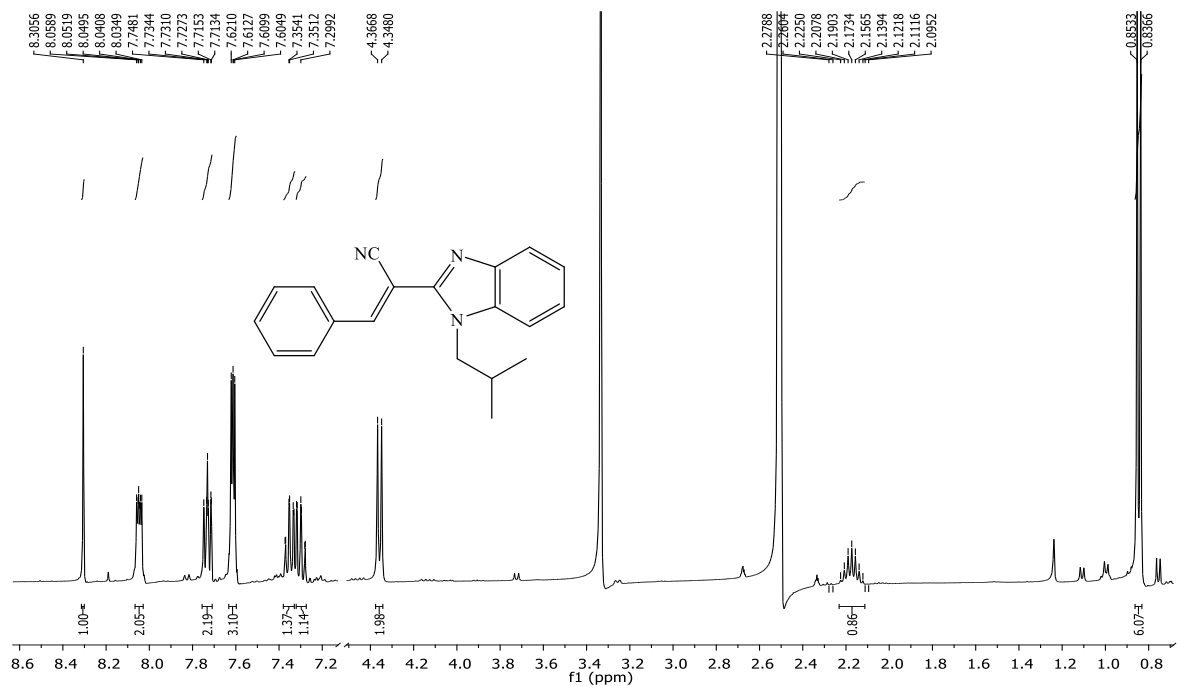


Peak ID Compound Time Mass Found
 10 1.52
 SAMPLE: 1:10 Combine (175:187-(157:162+200:205))

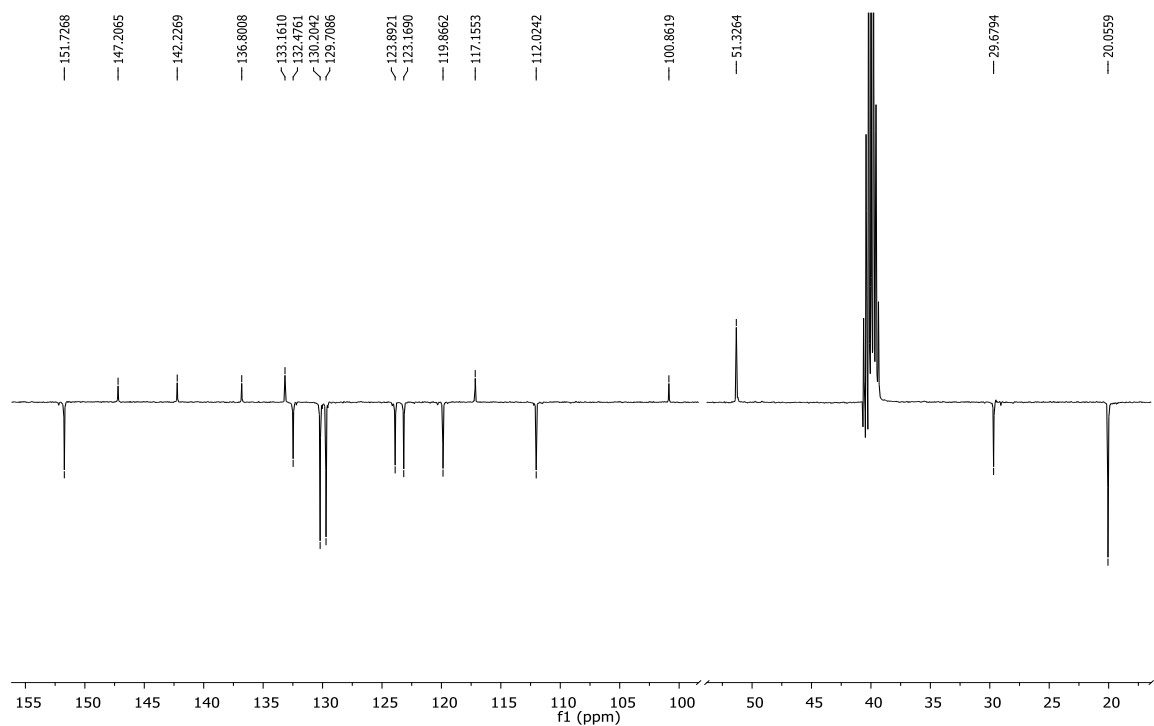


Prilog 19.

a) ¹H NMR spektar *E*-2-[*N*-izobutilbenzimidazol-2-il]-3-fenilakrilonitrila **32**

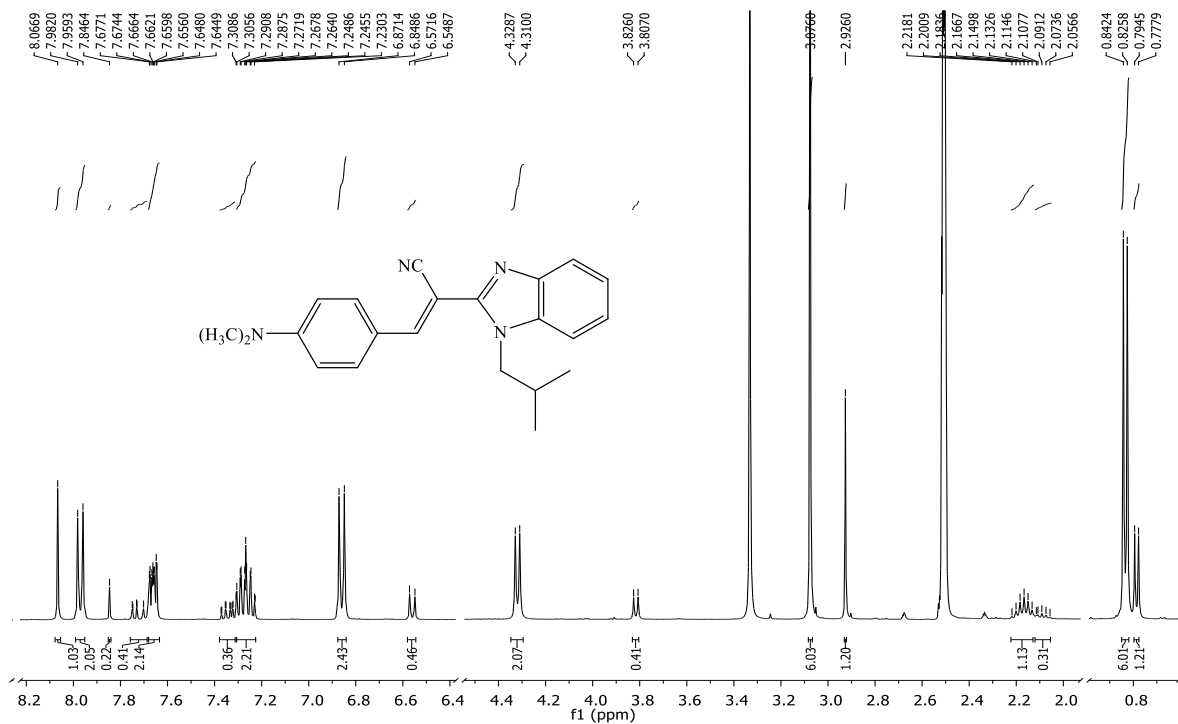


b) ^{13}C NMR spektr *E*-2-[*N*-izobutilbenzimidazol-2-il]-3-fenilakrilonitrila **32**

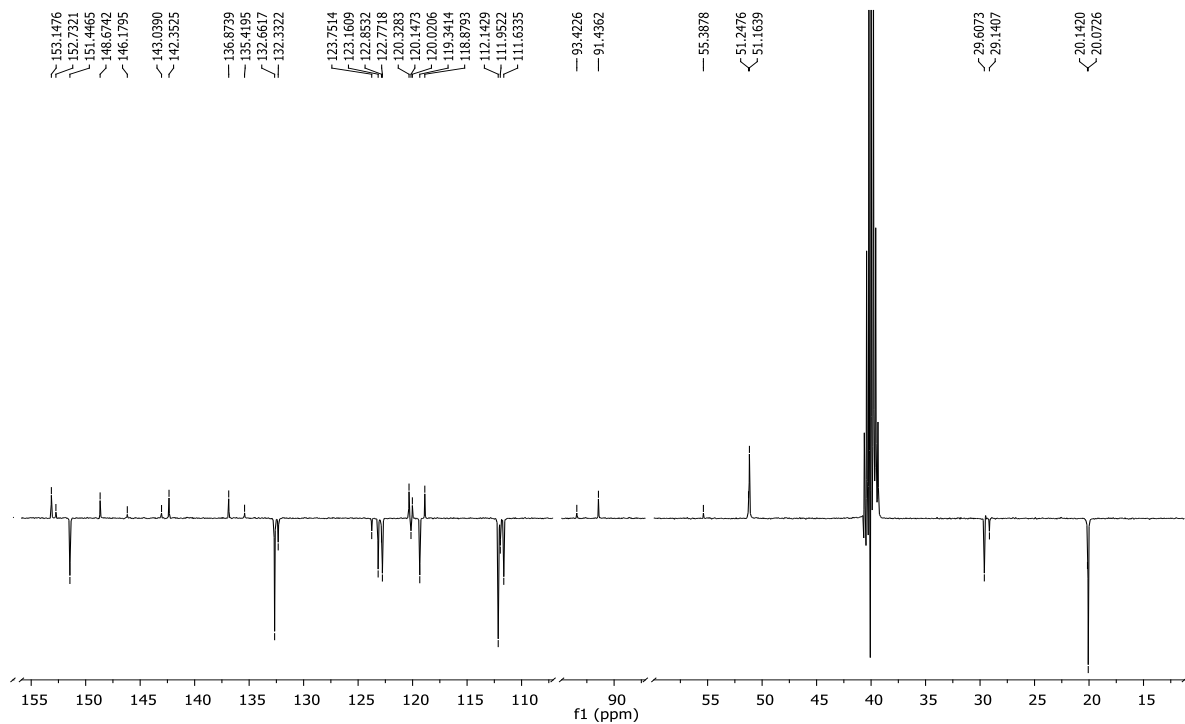


Prilog 20.

a) ^1H NMR spektr *E*(*Z*)-2-[*N*-izobutilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)akrilonitrila **33a,b**

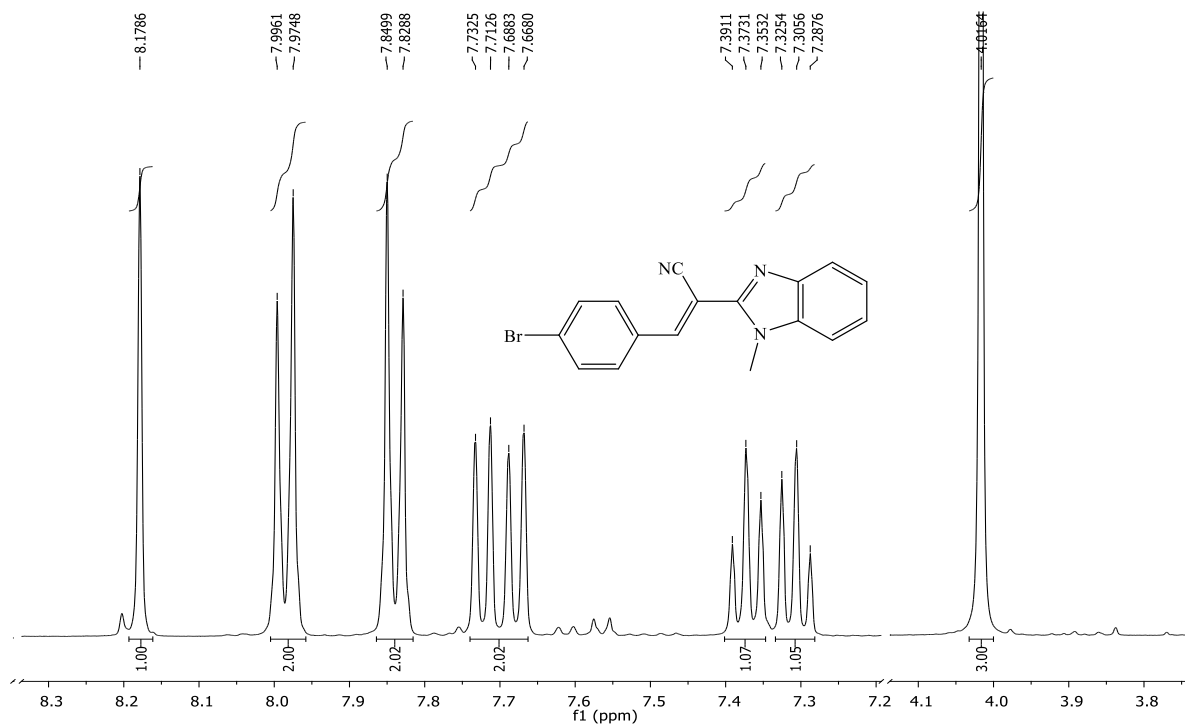


b) ^{13}C NMR spektar *E(Z)*-2-[*N*-izobutilbenzimidazol-2-il]-3-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)akrilonitrila **33a,b**

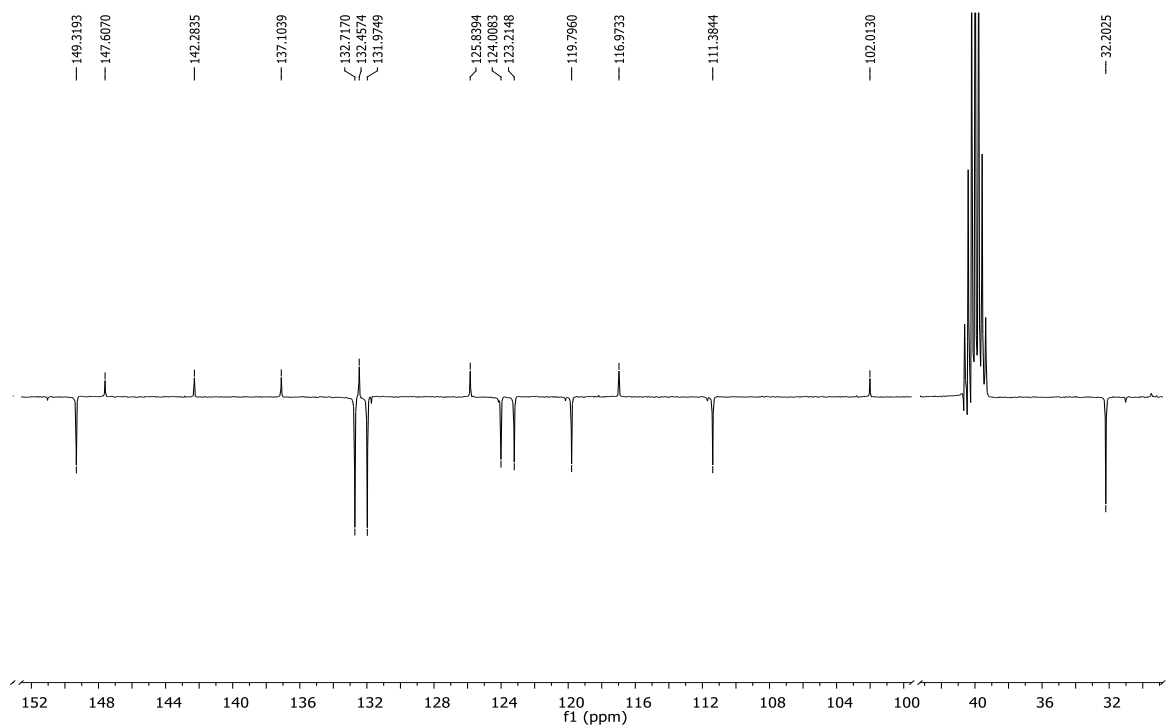


Prilog 21.

a) ^1H NMR spektar *E*-2-[*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(4-bromfenil)akrilonitrila **34**

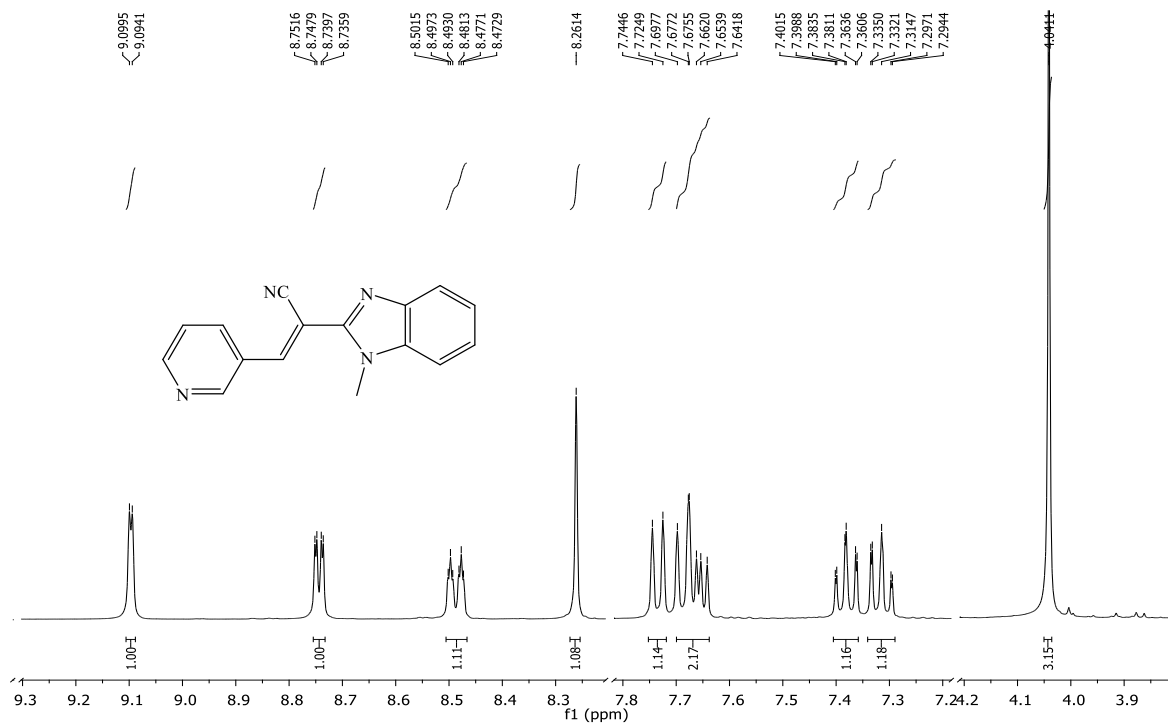


b) ^{13}C NMR spektar *E*-2-[*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(4-bromfenil)akrilonitrila **34**

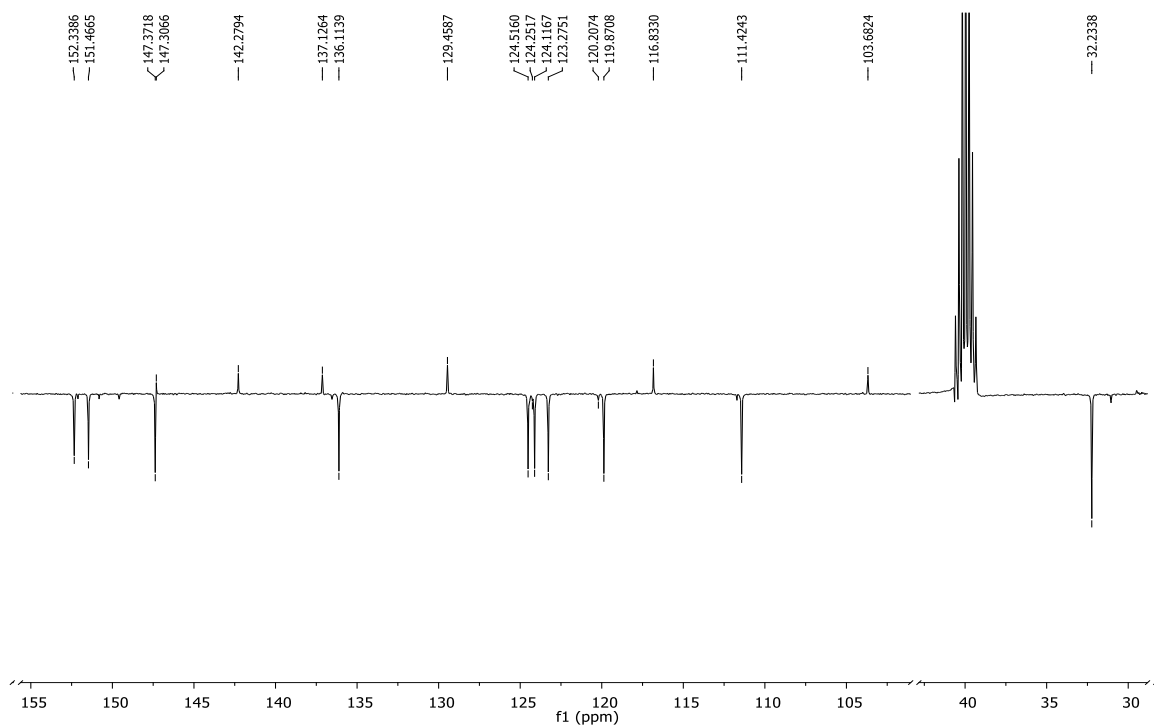


Prilog 22.

a) ^1H NMR spektar *E*-2-[*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(piridin-3-il)akrilonitrila **35**

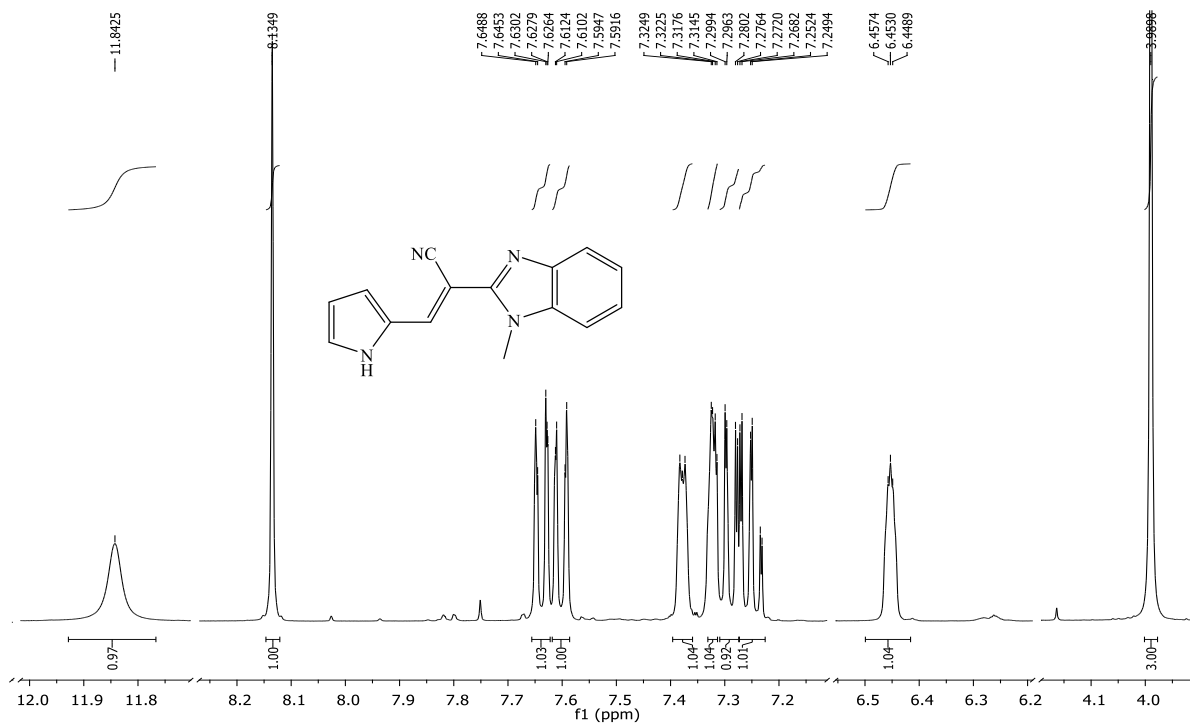


b) ^{13}C NMR spektar *E*-2-[*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(piridin-3-il)akrilonitrila **35**

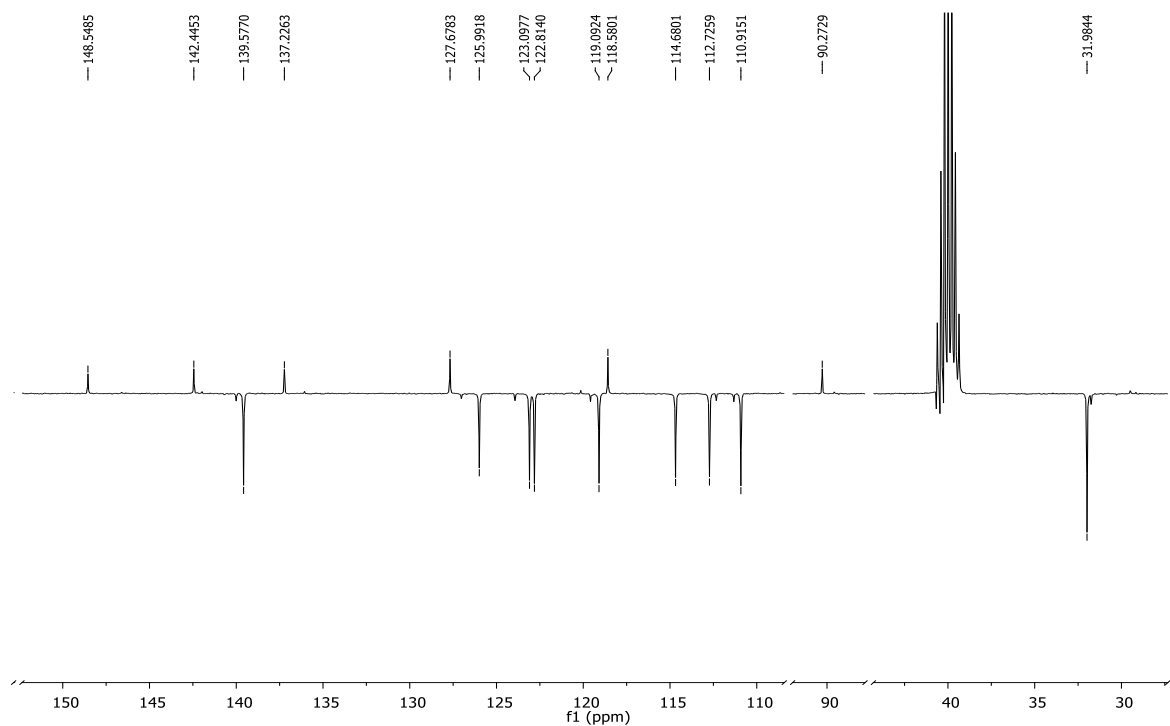


Prilog 23.

a) ^1H NMR spektar *E*-2-[*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(1*H*-pirol-2-il)akrilonitrila **36**

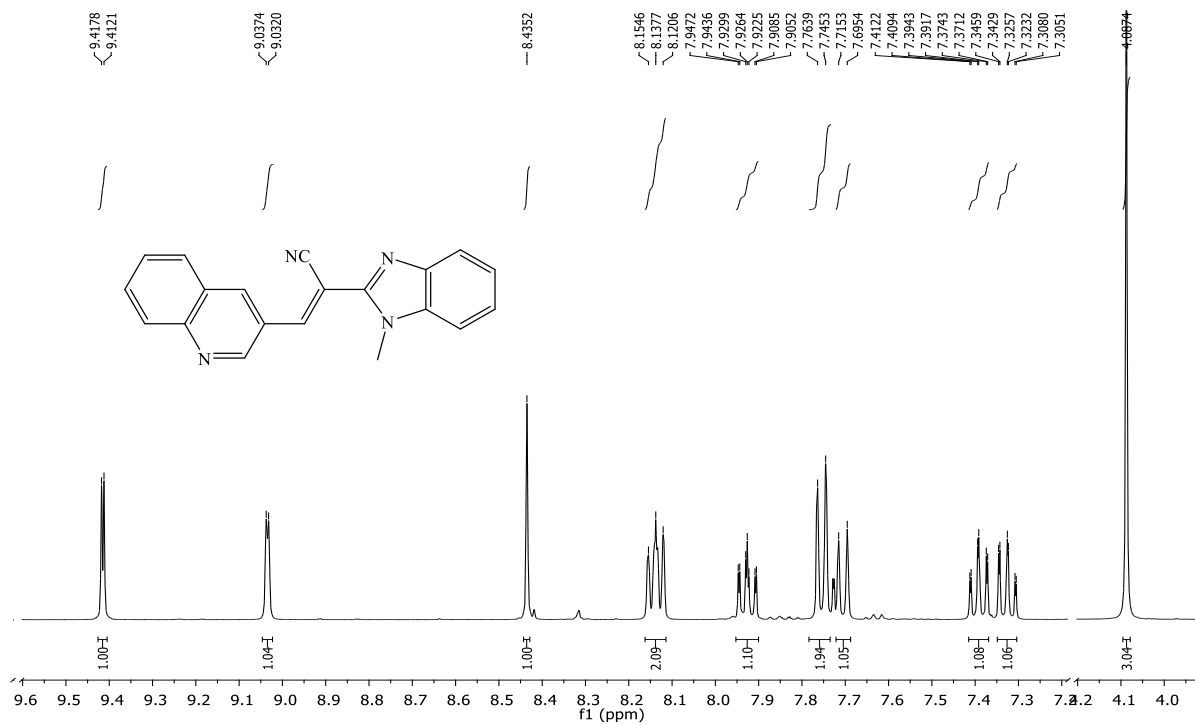


b) ^{13}C NMR spektar *E*-2-[*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(1*H*-pirol-2-il)akrilonitrila **36**

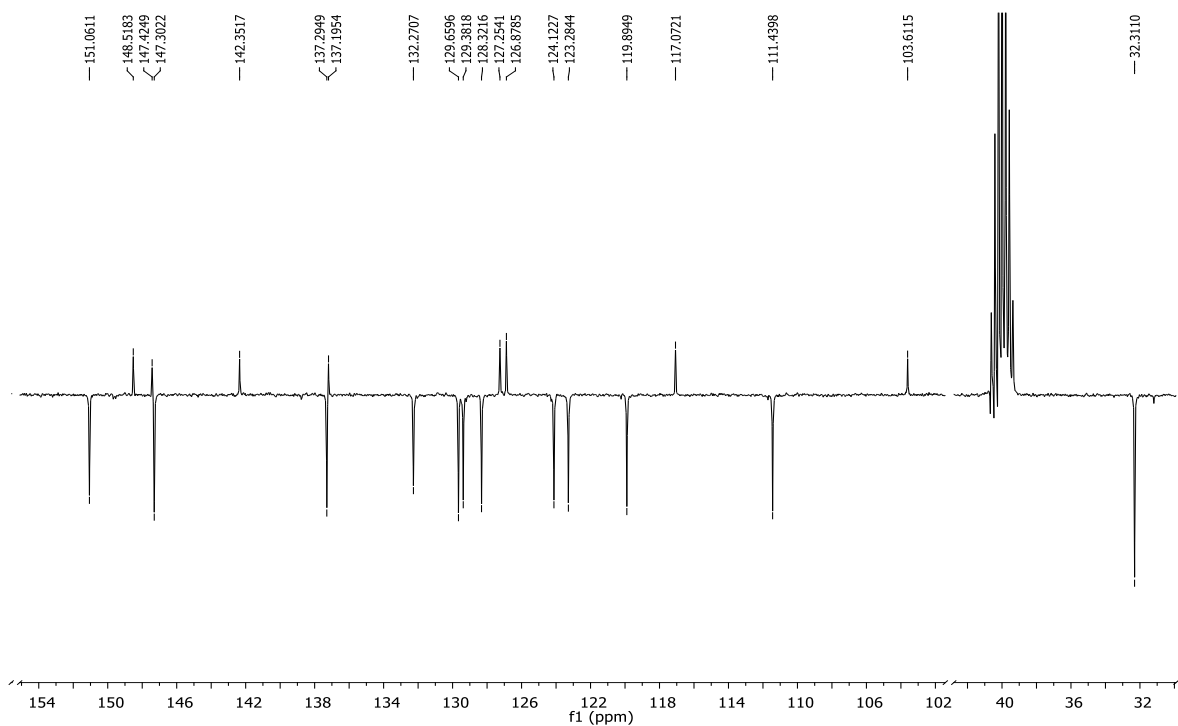


Prilog 24.

a) ^1H NMR spektar *E*-2-[*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(kinolin-3-il)akrilonitrila **37**

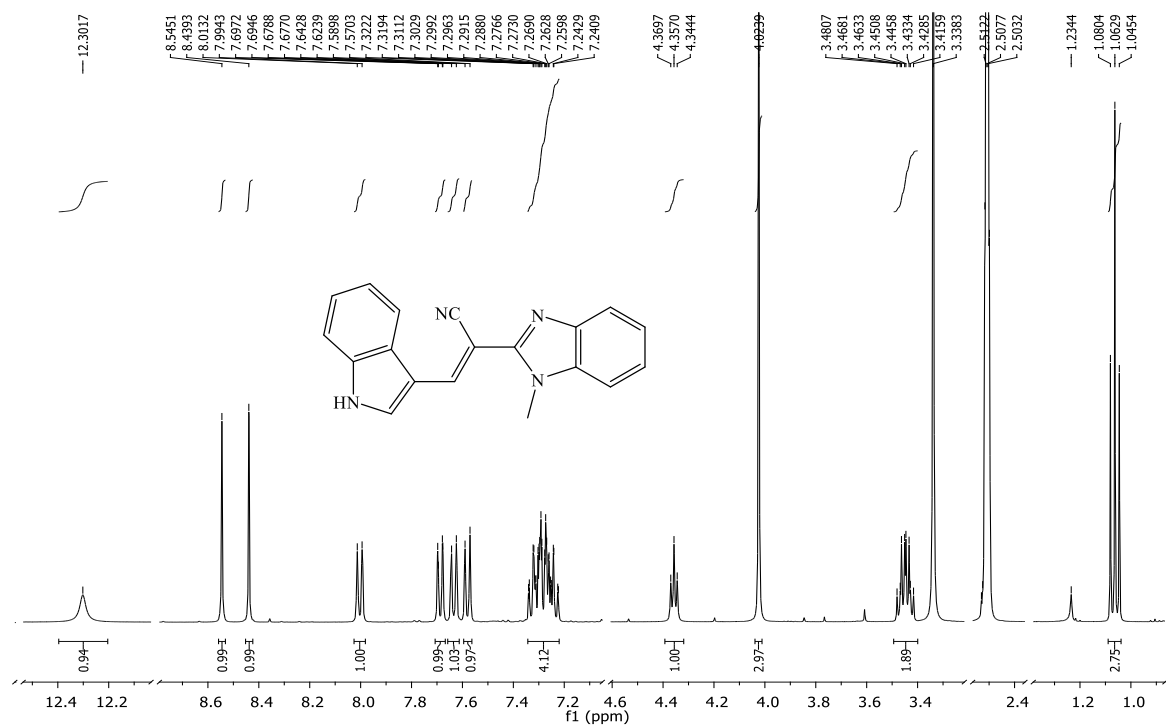


b) ^{13}C NMR spektr *E*-2-[*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(kinolin-3-il)akrilonitrila **37**

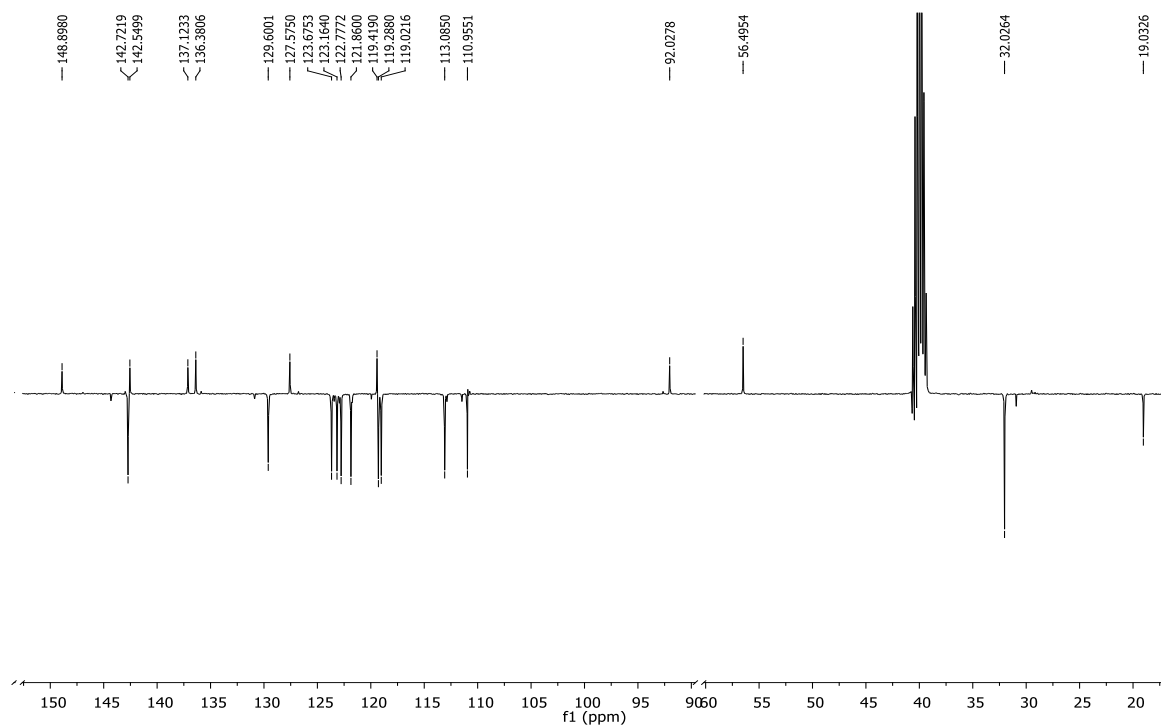


Prilog 25.

a) ^1H NMR spektr *E*-2-[*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(1*H*-indol-3-il)akrilonitrila **38**

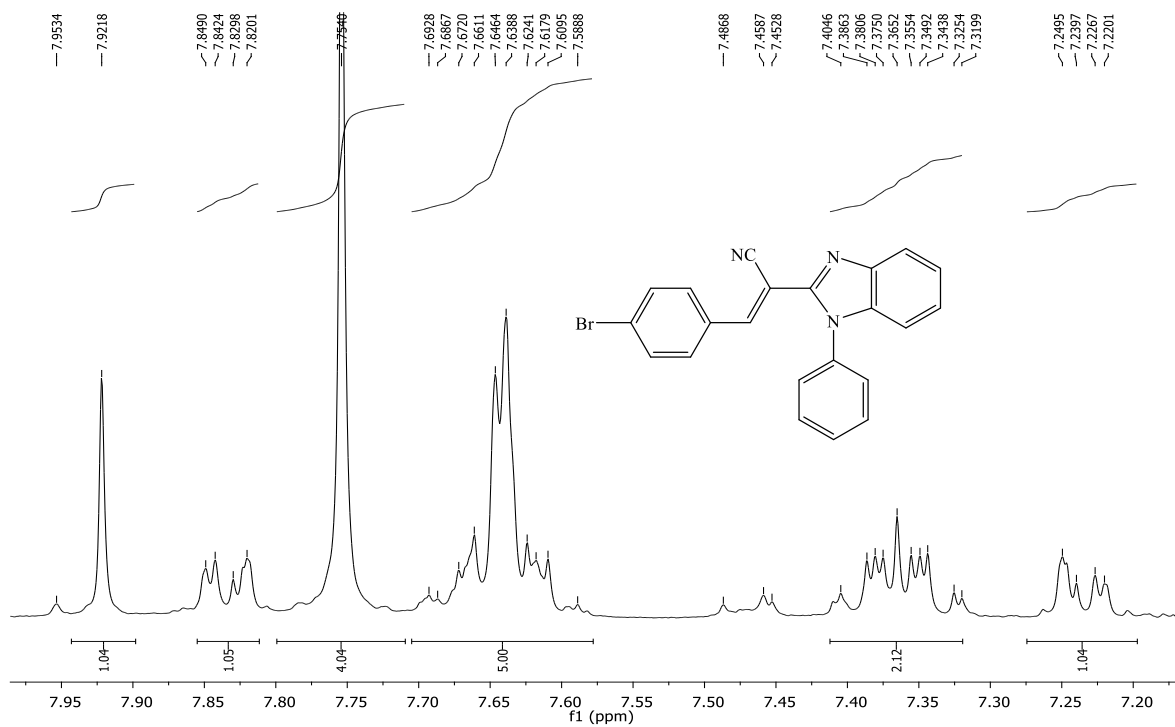


b) ^{13}C NMR spektar *E*-2-[*N*-metilbenzimidazol-2-il]-3-(1*H*-indol-3-il)akrilonitrila **38**



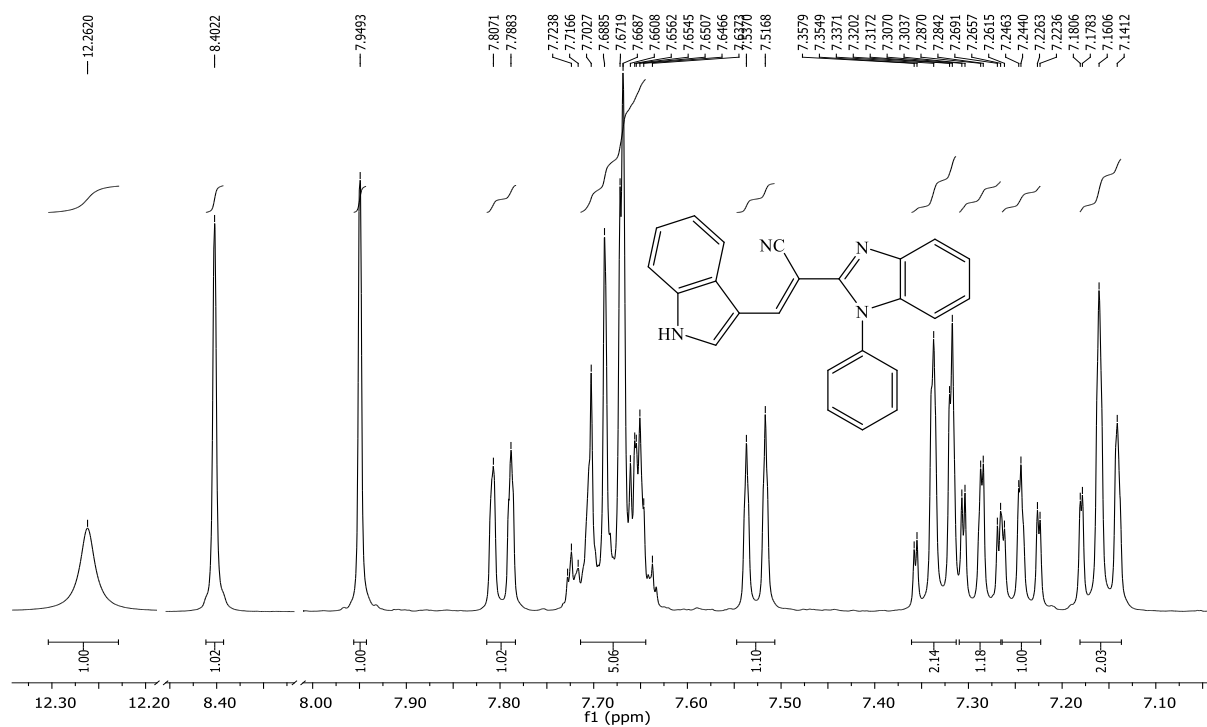
Prilog 26.

^1H NMR spektar *E*-2-[*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(4-bromfenil)akrilonitrila **39**

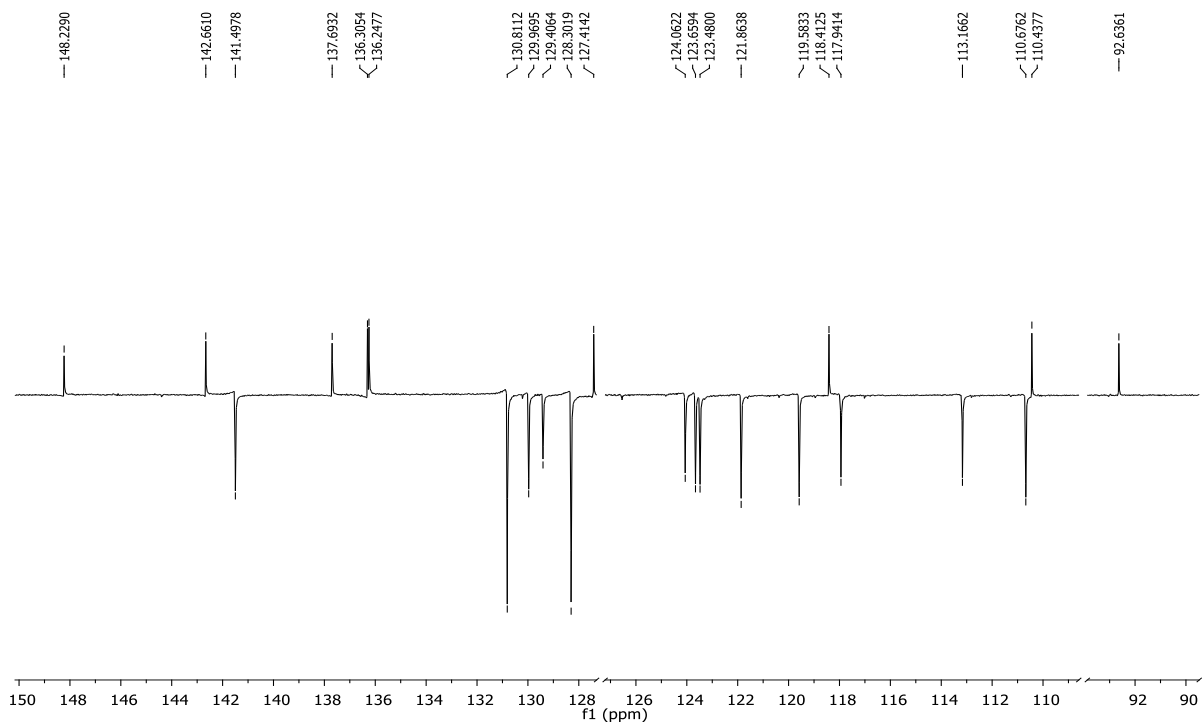


Prilog 27.

a) ^1H NMR spektar *E*-2-[*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(1*H*-indol-3-il)akrilonitrila **40**

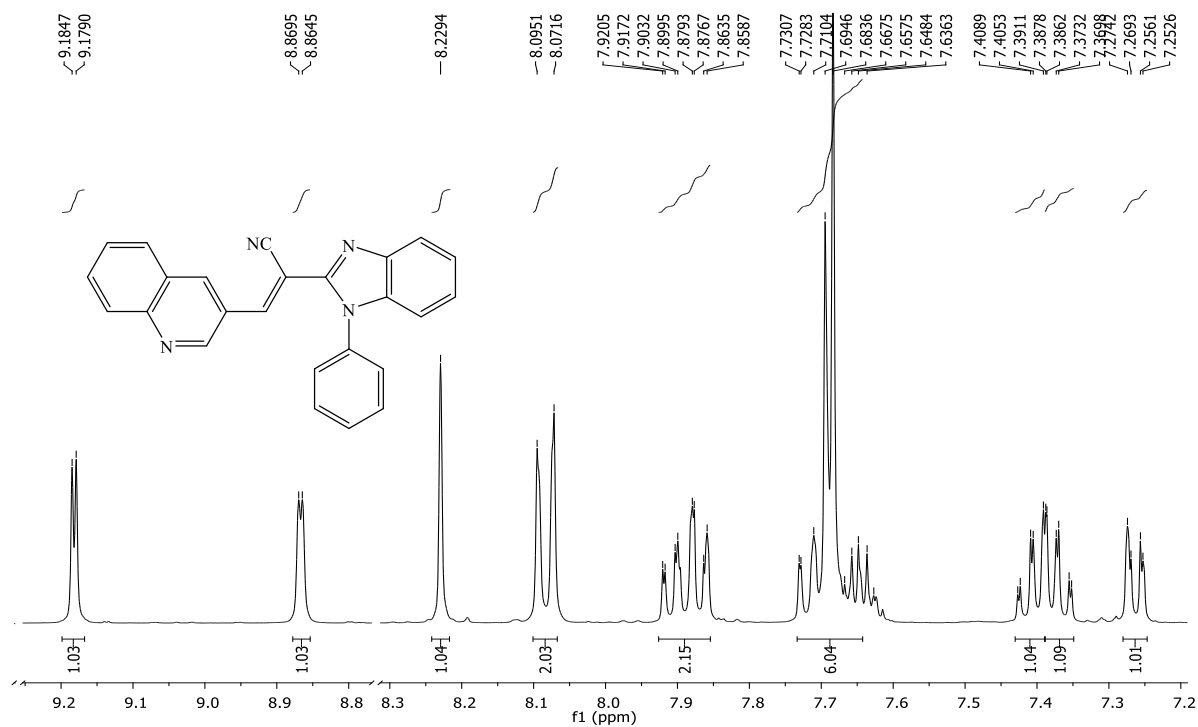


b) ^{13}C NMR spektar *E*-2-[*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(1*H*-indol-3-il)akrilonitrila **40**

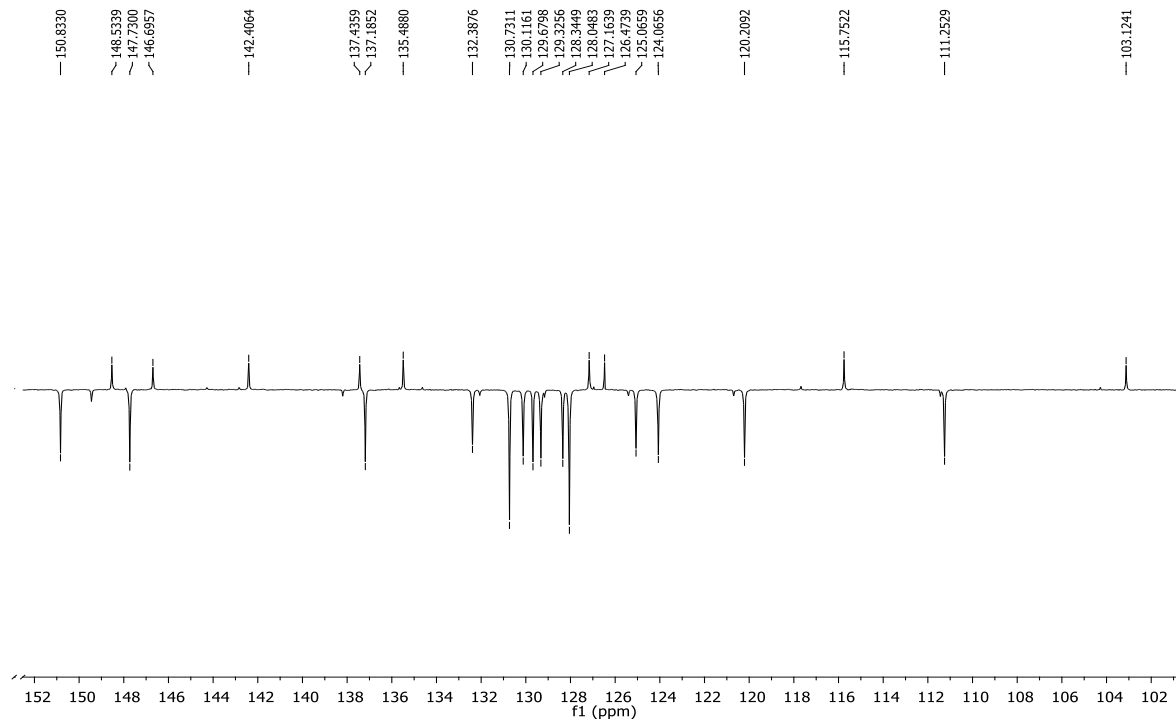


Prilog 28.

a) ^1H NMR spektar *E*-2-[*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(kinolin-3-il)akrilonitrila **41**

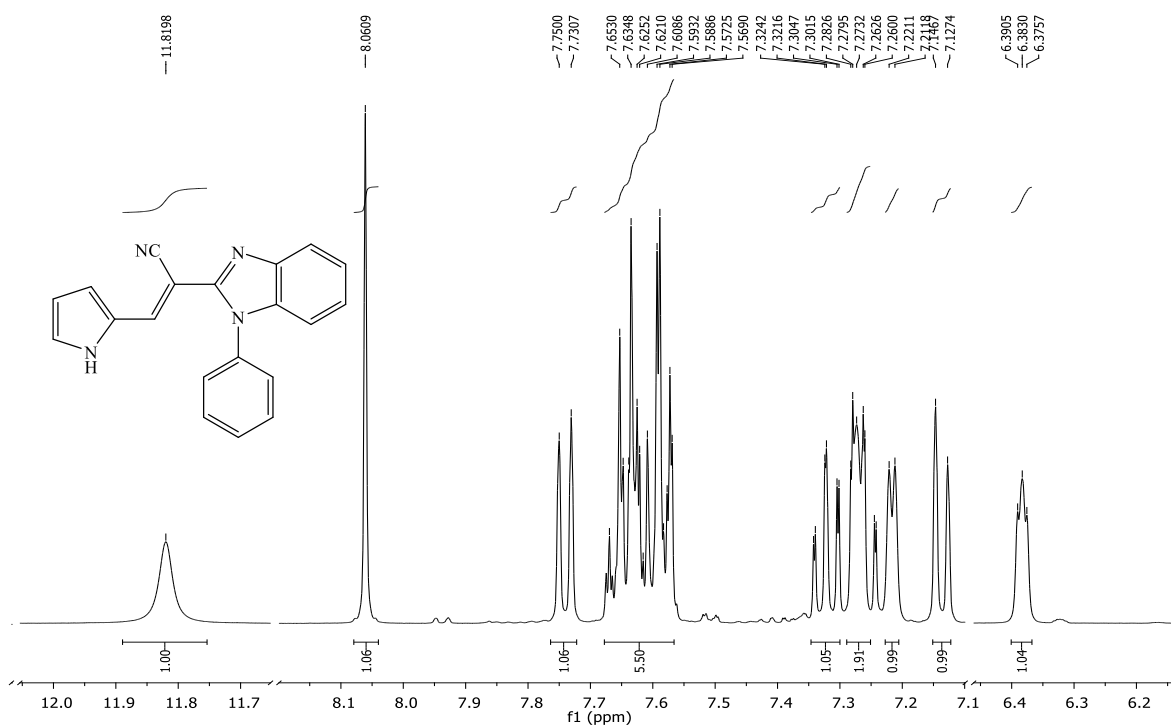


b) ^{13}C NMR spektar *E*-2-[*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(kinolin-3-il)akrilonitrila **41**

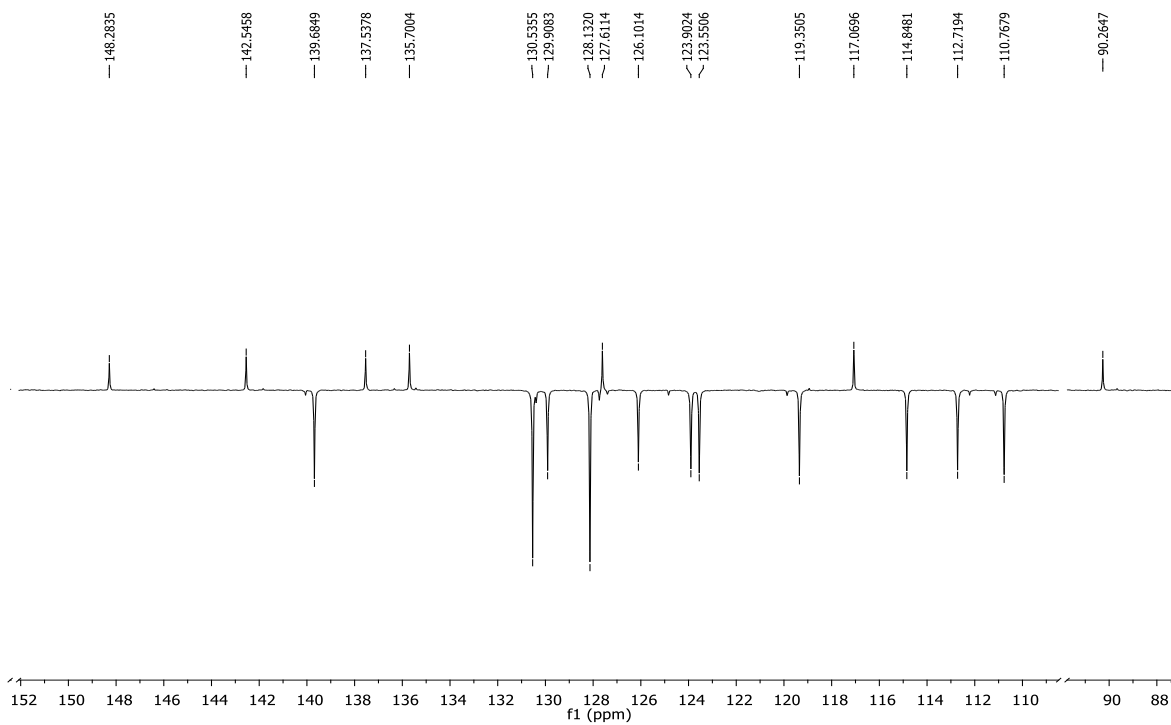


Prilog 29.

a) ^1H NMR spektar *E*-2-[*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(1*H*-pirol-2-il)akrilonitrila **42**

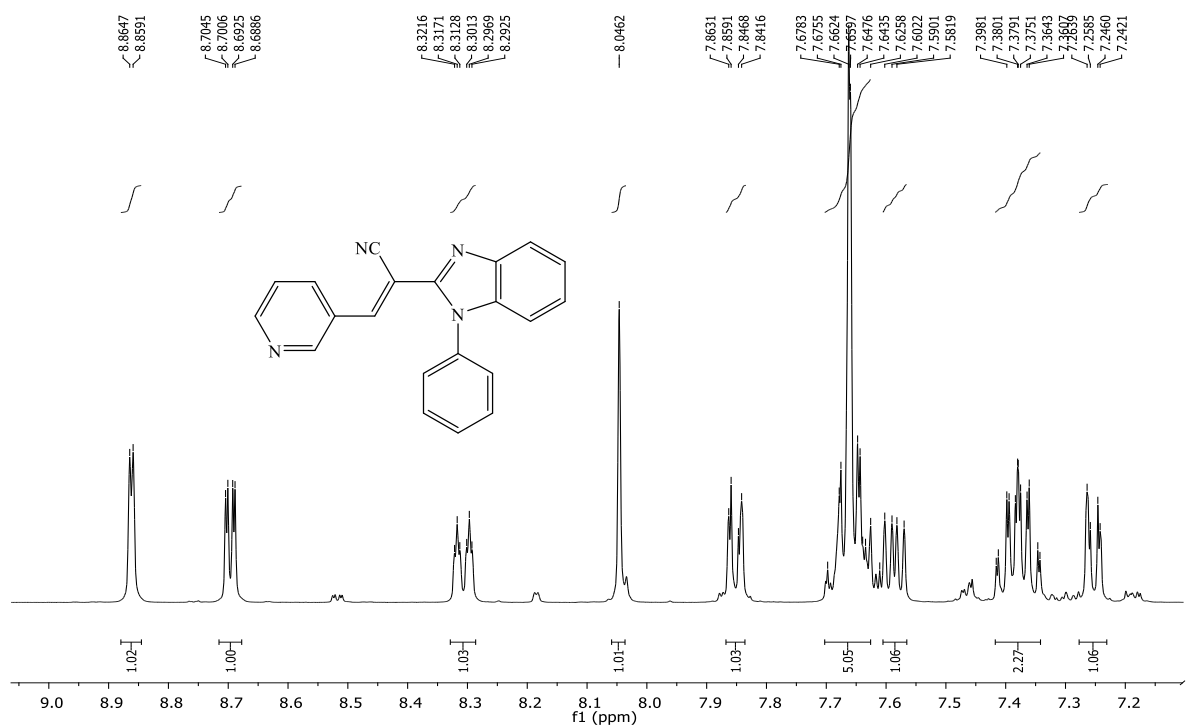


b) ^{13}C NMR spektar *E*-2-[*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(1*H*-pirol-2-il)akrilonitrila **42**

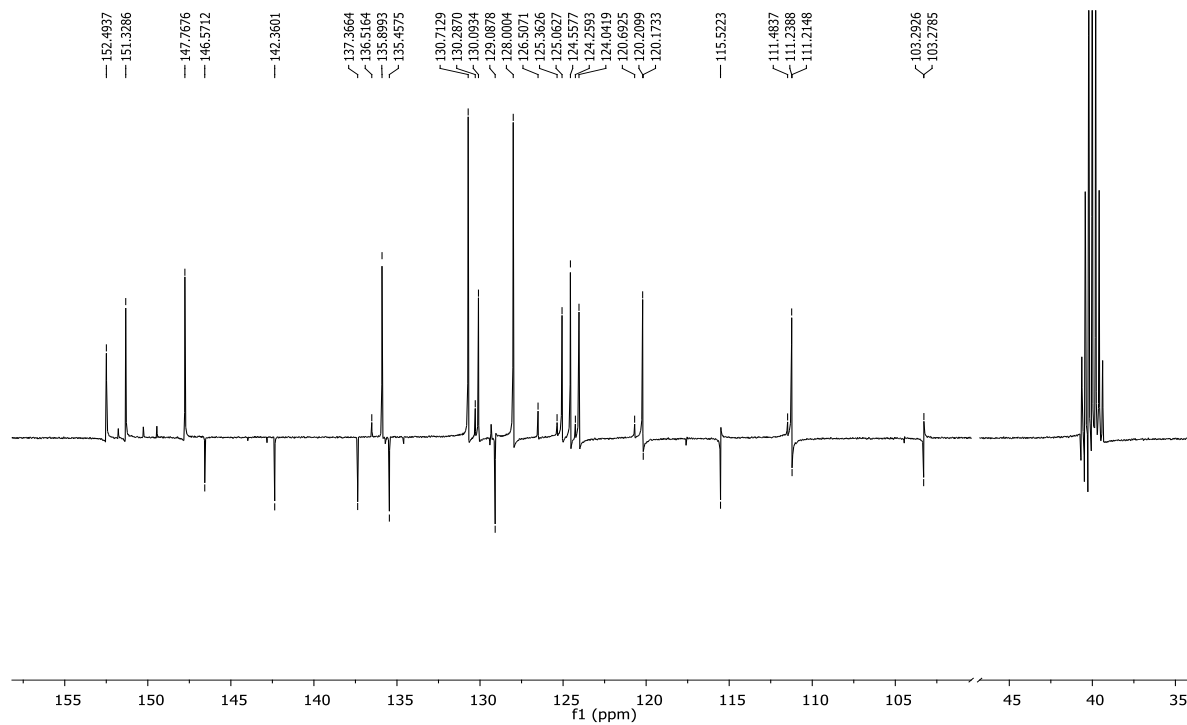


Prilog 30.

a) ^1H NMR spektar *E*-2-[*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(piridin-3-il)akrilonitrila **43**

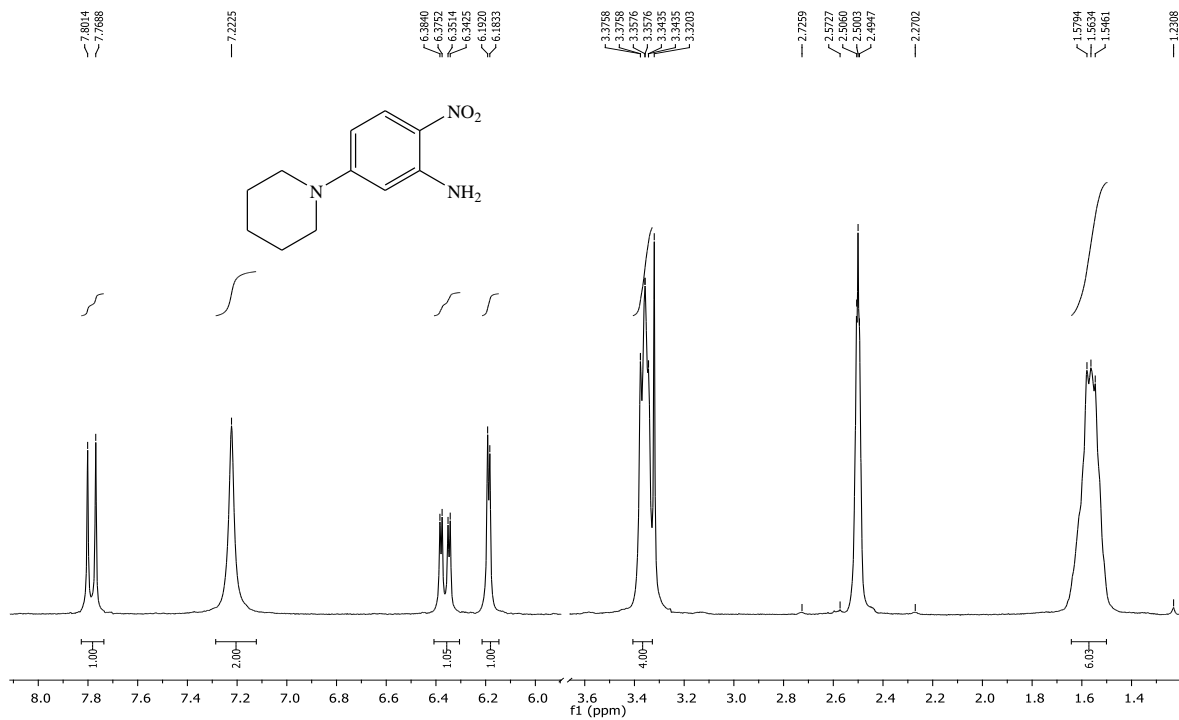


b) ^{13}C NMR spektar *E*-2-[*N*-fenilbenzimidazol-2-il]-3-(piridin-3-il)akrilonitrila **43**

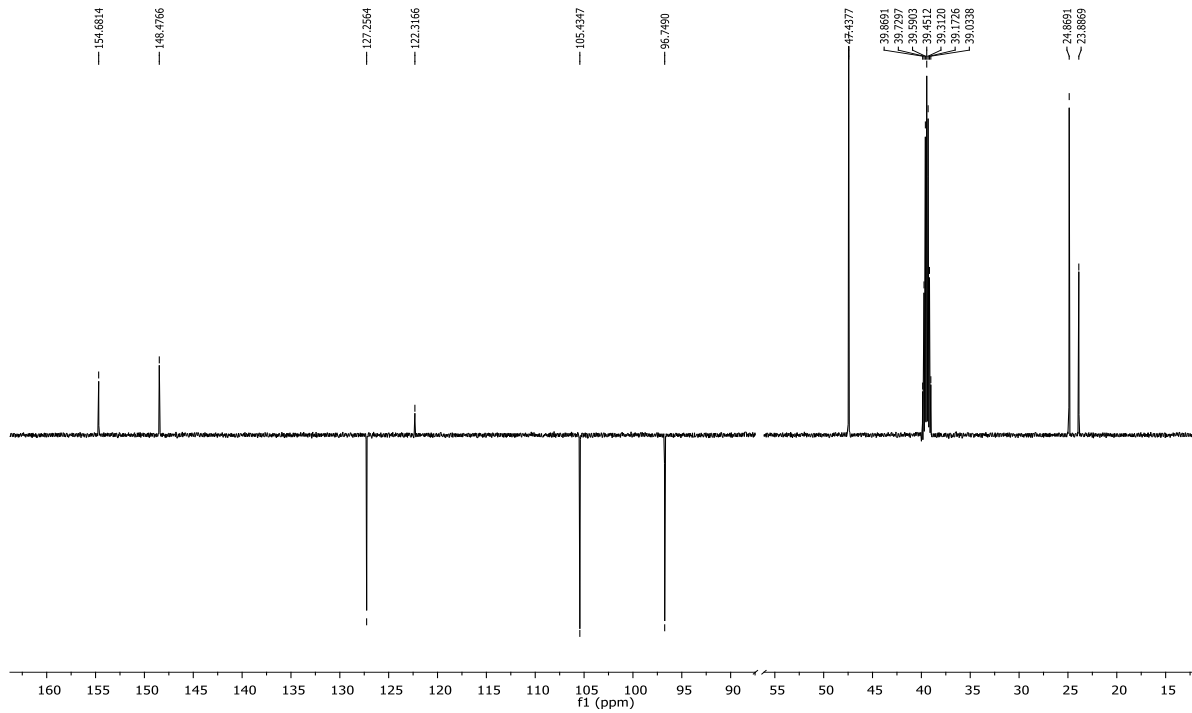


Prilog 31.

a) ^1H NMR spektar 2-nitro-5-piperidinilanilina **45**

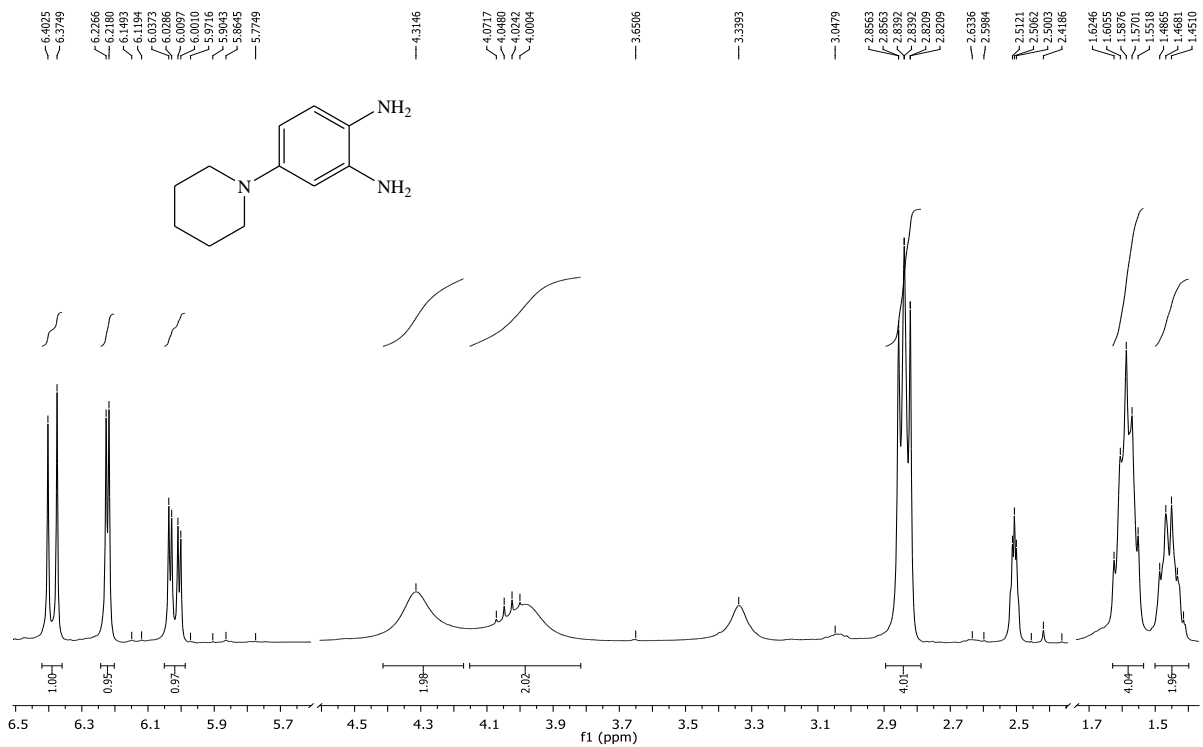


b) ^{13}C NMR spektar 2-nitro-5-piperidinilanilina **45**

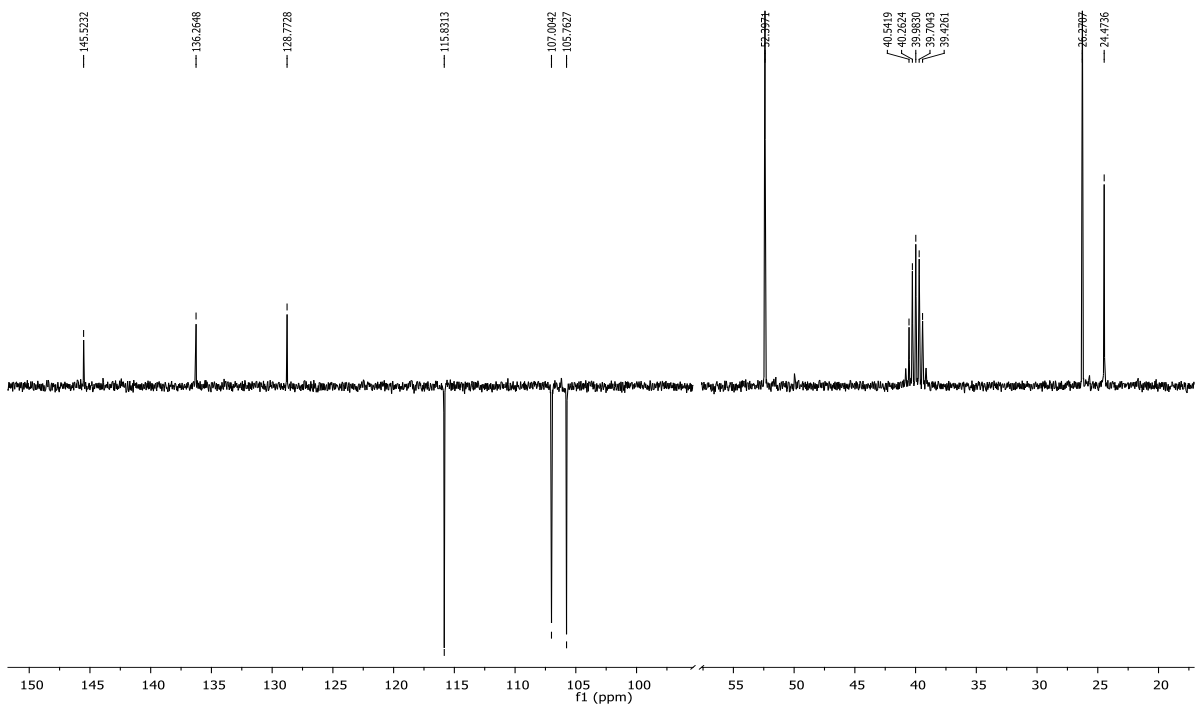


Prilog 32.

a) ^1H NMR spektar 4-piperidinil-1,2-fenilendiamina **46**

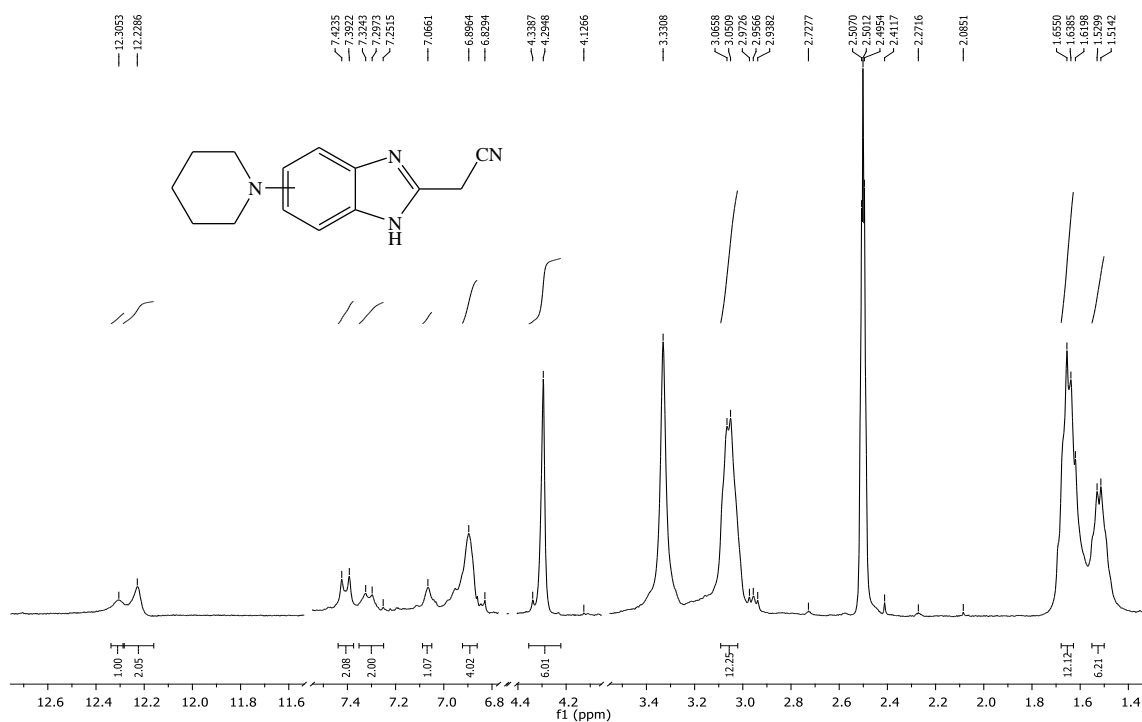


b) ^{13}C NMR spektar 4-piperidinil-1,2-fenilendiamina **46**



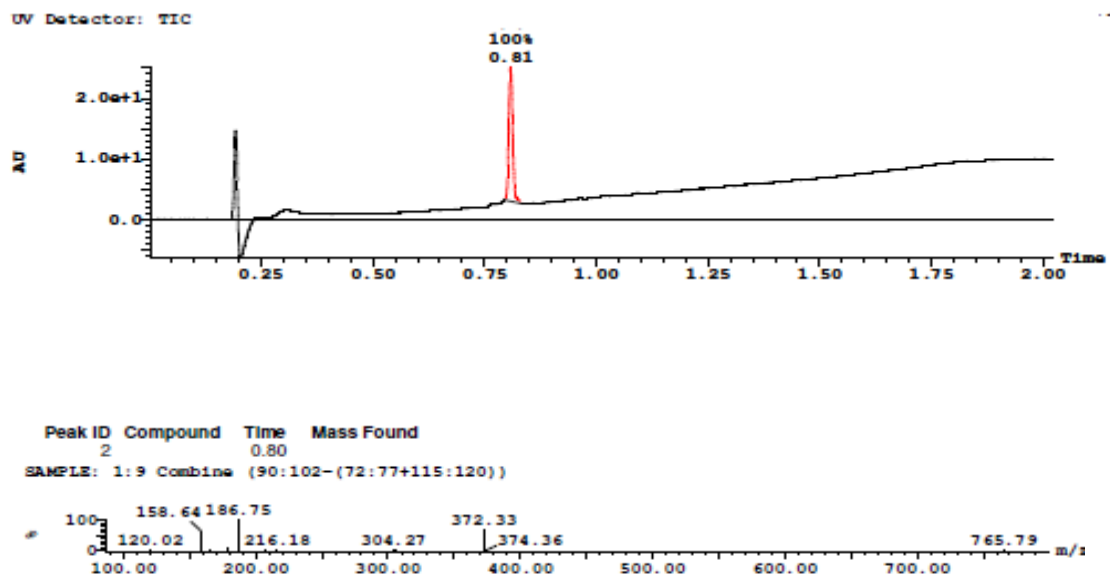
Prilog 33.

¹H NMR spektar 2-cijanometil-5(6)-piperidinilbenzimidazola 47a,b



Prilog 34.

Kromaogram i MS spektar E-2-[5(6)-piperidinilbenzimidazol-2-il]-3-(4-N,N-dimetilaminofenil)akrilonitrila 49a,b



8. ŽIVOTOPIS

Anja Beč [REDACTED] Osnovnu školu završila je u Ivanovcu 2009. godine i te iste godine upisuje 1. Gimnaziju u Varaždinu. Maturirala je 2013. godine s odličnim uspjehom i iste godine upisala preddiplomski studij na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije, smjer Primijenjena kemija. Tijekom studiranja na preddiplomskom studiju stručnu praksu odradila je u Bioinstitutu d.o.o. u laboratoriju za ekologiju, kemiju hrane te predmete opće uporabe. Završni rad izradila je na Zavodu za organsku kemiju uz mentorstvo izv. prof. dr. sc. Marijane Hranjec s temom *Sinteza biološki aktivnih cikličkih derivata 5(6)-amino supstituiranih benzimidazola*. 2016. godine upisala je diplomski studij Primijenjene kemije na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije. Tijekom dosadašnjeg obrazovanja osposobljena je za rad na računalu i aktivno se služi engleskim jezikom i pismom.