

# Mono- i bis-1,2,3-triazolilni derivati benzimidazo[1,2-a]kinolina: sinteza i biološka ispitivanja

---

Jakopec, Silvio

Undergraduate thesis / Završni 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:149:556735>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-28**



Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE**  
**SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ**

**Silvio Jakopec**

**ZAVRŠNI RAD**

Zagreb, rujan 2018.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE**  
**SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ**

**Silvio Jakopec**

**Mono- i bis-1,2,3-triazolilni derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina:  
sinteza i biološka ispitivanja**

**ZAVRŠNI RAD**

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

**Članovi ispitnog povjerenstva:**

1. prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić
2. prof. dr. sc. Marijana Hranjec
3. doc. dr. sc. Svjetlana Krištafor

Zagreb, rujan 2018.

*Zahvaljujem se mentorici, prof. dr. sc. Silvani Raić-Malić na predloženoj temi, stručnom vođenju i pomoći pri radu, kao i asistentici dr. sc. Andrijani Meščić Macan na ugodnom druženju i pomoći pri izvođenju eksperimentalnog dijela rada. Asistentici Seni Jorgić, mag. appl. chem. mnogo zahvaljujem na brojnim savjetima i pomoći pri pisanju rada.*

*Svim članovima Zavodu za organsku kemiju mnogo hvala na ugodnoj radnoj atmosferi.*

*Veliko hvala djelatnicama Laboratorija za eksperimentalnu terapiju na izvođenju ispitivanja biološke aktivnosti.*

*Posebne zahvale obitelji te prijateljima na podršci i strpljenju.*

## SAŽETAK RADA

*Mono- i bis-1,2,3-triazolilni derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina: sinteza i biološka ispitivanja*

Benzimidazo[1,2-*a*]kinolini su tetraciklički heteroaromatski spojevi s izraženom biološkom aktivnošću. U ovom radu priređeni su njihovi novi mono- i bis-1,2,3-triazolilni derivati i ispitana je njihova antitumorska aktivnost. Prekursor **5** za sintezu azida priređen je sintezom u tri stupnja. Azidi **6** i **7** izolirani su kao smjesa te su takvi korišteni za sintezu ciljanih spojeva Huisgenovom 1,3-dipolarnom cikloadicijom s raznim alkinima (**8–13**). Reakcije su provedene prema načelima *click* kemije, korištenjem bakrovog acetata monohidrata u metanolu pri čemu su izolirani 1,2,3-triazolilni derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (**14–25**). Strukture priređenih spojeva potvrđene su <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektroskopijom. Biološka aktivnost ispitana je na staničnim linijama karcinoma debelog crijeva (HCT116), karcinoma dojke (MCF-7) i karcinoma pluća (H460). Mono-1,2,3-triazolilni derivati pokazali su izraženiju antitumorsku aktivnost od odgovarajućih bis-1,2,3-triazolnih analoga. Derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **18** i **19** koji sadrže 3-klorpropilni i 2-hidroksietilni lanac na triazolu pokazuju antiproliferativnu aktivnost u nanomolarnim koncentracijama.

Ključne riječi: benzimidazo[1,2-*a*]kinolin, *click* kemija, bakrom(I) katalizirana azid-alkin cikloadicija, 1,2,3-triazol

## SUMMARY

### *Mono- and bis-1,2,3-triazolyl derivatives of benzimidazo[1,2-*a*]quinolines: synthesis and biological evaluations*

Benzimidazo[1,2-*a*]quinolines are tetracyclic heteroaromatic compounds with pronounced biological activity. In this work, their new mono- and bis-1,2,3-triazolyl derivatives are prepared and their antitumor activity was evaluated. Precursor **5** for the azide synthesis was prepared by three-step synthesis. Azides **6** and **7** were isolated as mixture and they were used for the synthesis of target compounds by Huisgen's 1,3-dipolar cycloaddition with various alkynes (**8–13**). The reaction was carried out according to the principles of *click* chemistry, using copper acetate monohydrate in methanol, whereby 1,2,3-triazolyl derivatives of benzimidazo[1,2-*a*]quinoline (**14–25**) were isolated. The structures of the prepared compounds were confirmed by the <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectroscopy. Biological activity was evaluated on colon cancer (HCT116), breast cancer (MCF-7) and lung cancer (H460) cell lines. Mono-1,2,3-triazolyl derivatives showed more pronounced antitumor activity compared to corresponding bis-1,2,3-triazolyl analogs. Benzimidazo[1,2-*a*]quinoline derivatives **18** and **19** with chloropropyl and hydroxyethyl side-chain at 1,2,3-triazole ring exhibit antiproliferative activity at nanomolar concentrations.

Keywords: benzimidazo[1,2-*a*]quinoline, *click* chemistry, copper(i)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition, 1,2,3-triazole

## Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. OPĆI DIO.....	3
2.1. Benzimidazoli i njihova biološka aktivnost .....	4
2.2. Kinolini i njihova biološka aktivnost .....	6
2.3. Benzimidazo[1,2- <i>a</i> ]kinolini i njihova biološka aktivnost.....	8
2.4. Triazoli i <i>click</i> kemija.....	13
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	16
3.1. Pregled sintetiziranih spojeva .....	17
3.2. Opće napomene .....	18
3.3. Priprava prekursora za sintezu azidnih derivata benzimidazo[1,2- <i>a</i> ]kinolin-6-karbonitrila ( <b>5</b> ).....	19
3.3.1. 2-(2-benzimidazolil)-3-keto-(4-fluor-2-klorfenil)akrilonitril ( <b>3</b> ).....	19
3.3.2. 2-fluor-5-oksobenzimidazo[1,2- <i>a</i> ]kinolin-6-karbonitril ( <b>4</b> ) .....	19
3.3.3. 5-klor-2-fluorbenzimidazo[1,2- <i>a</i> ]kinolin-6-karbonitril ( <b>5</b> ).....	19
3.4. Sinteza azidnih derivata: 5-azido-2-fluorbenzimidazo[1,2- <i>a</i> ]kinolin-6-karbonitril ( <b>6</b> ) i 2,5-diazidobenzimidazo[1,2- <i>a</i> ]kinolin-6-karbonitril ( <b>7</b> ) .....	20
3.5. Sinteza mono- i bis-1,2,3-triazolilnih derivata benzimidazo[1,2- <i>a</i> ]kinolin-6-karbonitrila ( <b>14–25</b> ) .....	20
3.5.1. <i>N</i> -((1-(6-cijano-2-fluorbenzimidazo[1,2- <i>a</i> ]kinolin-5-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-4-fluorbenzensulfonamid ( <b>14</b> ) i <i>N,N'</i> -(((6-cijanobenzimidazo[1,2- <i>a</i> ]kinolin-2,5-diil)bis(1H-1,2,3-triazol-1,4-diil))bis(metilen))bis(4-fluorbenzensulfonamid) ( <b>20</b> ) .....	20
3.5.2. 2-fluor-5-(4-(4-pentilfenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzimidazo[1,2- <i>a</i> ]kinolin-6-karbonitril ( <b>15</b> ) i 2,5-bis(4-(4-pentilfenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzimidazo[1,2- <i>a</i> ]kinolin-6-karbonitril ( <b>21</b> ).....	21
3.5.3. 5-(4-(4-bromfenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-2-fluorbenzimidazo[1,2- <i>a</i> ]kinolin-6-karbonitril ( <b>16</b> ) i 2,5-bis(4-(4-bromfenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzimidazo[1,2- <i>a</i> ]kinolin-6-karbonitril ( <b>22</b> ).....	22

3.5.4.	5-(4-decil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-2-fluorbenzimidazo[1,2- <i>a</i> ]kinolin-6-karbonitril (17) i 2,5-bis(4-decil-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzimidazo[1,2- <i>a</i> ]kinolin-6-karbonitril (23) ..	22
3.5.5.	5-(4-(3-klorpropil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-2-fluorbenzimidazo[1,2- <i>a</i> ]kinolin-6-karbonitril (18) i 2,5-bis(4-(3-klorpropil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzimidazo[1,2- <i>a</i> ]kinolin-6-karbonitril (24).....	23
3.5.6.	2-fluor-5-(4-(2-hidroksietil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzimidazo[1,2- <i>a</i> ]kinolin-6-karbonitril (19) i 2,5-bis(4-(2-hidroksietil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzimidazo[1,2- <i>a</i> ]kinolin-6-karbonitril (25).....	24
4.	<b>REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	25
4.1.	Sinteza spojeva.....	26
4.1.1.	Sinteza 2-fluor-5-klorbenzimidazo[1,2- <i>a</i> ]kinolin-6-karbonitrila (5).....	26
4.1.2.	Sinteza azidnih derivata 6 i 7.....	29
4.1.3.	Sinteza mono- i bis-1,2,3-triazolilnih derivata benzimidazo[1,2- <i>a</i> ]kinolin-6-karbonitrila (14–25) .....	31
4.2.	Spektroskopska karakterizacija .....	33
4.3.	Ispitivanje biološke aktivnosti priređenih spojeva .....	39
5.	<b>ZAKLJUČAK</b> .....	41
6.	<b>POPIS KORIŠTENIH KRATICA</b> .....	43
7.	<b>LITERATURA</b> .....	44
8.	<b>PRILOZI</b> .....	51
9.	<b>ŽIVOTOPIS</b> .....	62



# **1. UVOD**

Neoplazma je skup bolesti koje karakteriziraju abnormalne stanice koje se brzo dijele te razaraju strukturu i funkciju zdravog tkiva.<sup>1</sup> One nastaju oštećenjem genetskog materijala pri čemu nastaje mutacija kojom se gube kontrolni mehanizmi rasta i dijeljenje normalnih stanica.<sup>2</sup> Uz kardiovaskularna oboljenja predstavlja glavni zdravstveni problem u modernoj medicini.<sup>3</sup> Poznato je da u Hrvatskoj svaka četvrta osoba oboli od neke zloćudne bolesti. Godišnje se pojavi 21 000 novooboljelih, a poražavajuća statistika pokazuje da polovica slučajeva ima smrtni ishod. Najučestaliji tipovi su rak pluća, debelog crijeva i dojke. Stopa pojave raka u konstantnom je porastu.<sup>4</sup>

Kemoterapijski pristup liječenju raka uključuje primjenu biološki aktivnih spojeva iz skupine citostatika koji koče rast i diobu zloćudnih stanica. Njihovo djelovanje ne isključuje zdrave stanice pa dolazi do neželjenih nuspojava. Osim selektivnosti, problem predstavlja razvoj rezistentnosti tumorskih stanica. Različitim metodama, medicinska kemija bavi se istraživanjem novih biološki aktivnih spojeva s potencijalnim citostatskim svojstvima. Dizajniranjem novih lijekova cilj je smanjiti citotoksičnost na normalne stanice i rezistentnost te povećati broj slučajeva s ishodom remisije ili potpune stabilnosti bolesti.

Analiza struktura odobrenih lijekova pokazala je da 60 % malih biološki aktivnih molekula sadrže dušikove heterocikle.<sup>5</sup> Prosječan broj atoma dušika po molekuli lijeka iznosi 2,3 uz 3,1 dušikov atom po molekuli kod lijekova heterocikličke strukture. Novi heterociklički spojevi željenih kemijskih i farmakoloških svojstava dizajniraju se međusobnim fuzioniranjem. Istaknuti molekularni fragmenti su pirolna i imidazolna jezgra te njihovi benzofuzionirani analozi te triazoli i tetrazol.<sup>6,7</sup>

1,2,3-triazol je peteročlani dušikov heterocikl sa svojstvima idealne prenosnice poput velikog dipolnog karaktera, mogućnosti stvaranja vodikovih veza i stabilnosti *in vivo*. Jaki dipolni moment 1,4-disupstituiranih triazola čini ih akceptorima vodikovih veza pa su skloni vezanju za biološke mete i poboljšavaju topljivost.

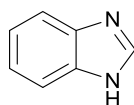
U okviru moderne sintetske kemije razvijena je *click* kemija pored interesa za pronalaskom novih farmaceutika i razvojem biblioteka spojeva za *screening* u istraživanju lijekova. Koncept uključuje određeni skup termodinamički favoriziranih reakcija kojima nastaje samo jedan produkt, a reakcijski uvjeti nisu zahtjevni. Sharpless je, u okviru *click* kemije, opisao bakrom(I) kataliziranu cikloadiciju azida i alkina pri čemu nastaje 1,2,3-triazol.

U ovom radu pristupom *click* kemije pripremljeni su novi 1,2,3-triazolilni derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina te je ispitana njihova biološka aktivnost i utjecaj supstituenata na tetracikličkoj jezgri na antitumorsku aktivnost.

## **2. OPĆI DIO**

## 2.1. Benzimidazoli i njihova biološka aktivnost

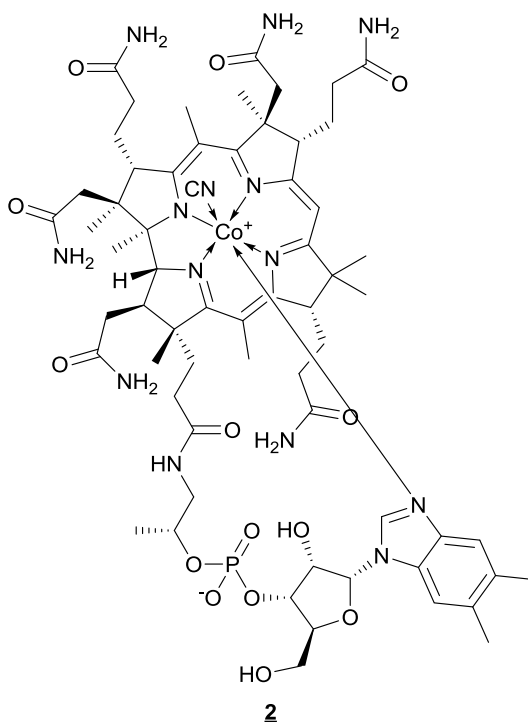
Benzimidazol (**1**) je heterociklički aromatski spoj nastao fuzijom benzenske i imidazolne jezgre (Slika 1).



**1**

Slika 1. Struktura benzimidazola (**1**)

Zbog širokog spektra bioaktivnosti zauzima posebno mjesto u medicinskoj kemiji, što je utjecalo na razvoj mnogih sintetskih pristupa dobivanju supstituiranih benzimidazola. Primjer benzimidazola u biološki važnim spojevima prisutan je u vitaminu B<sub>12</sub> (**2**), gdje se nalazi u strukturi 5,6-dimetil-1-( $\alpha$ -D-ribofuranozil)-benzimidazola. D. Hodgkin<sup>8</sup> 1950. godine odredila je strukturu vitamina B<sub>12</sub> primjenom kristalografije X-zrakama, nakon čega je benzimidazol pronašao široku primjenu u medicinskoj kemiji, medicini i farmaciji.



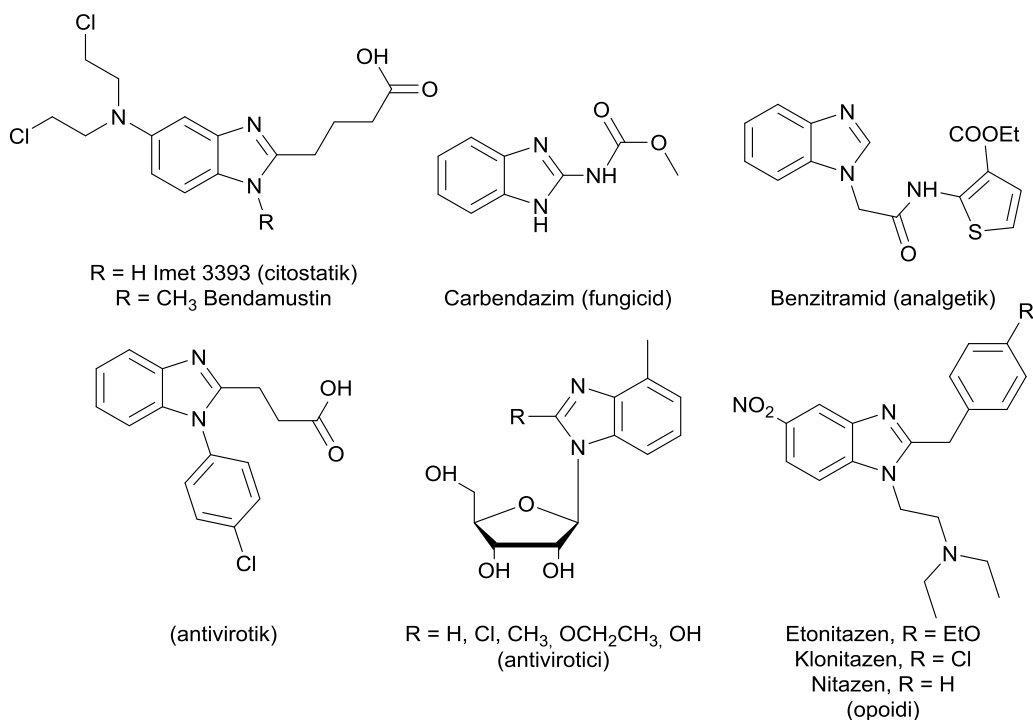
**2**

Slika 2. Struktura vitamina B<sub>12</sub> (**12**)

Metode sinteze benzimidazola uključuju kondenzaciju *o*-fenilendiamina s raznim reagensima (formijatnom kiselinom<sup>9</sup>; ugljikovim disulfidom u alkalnoj alkoholnoj otopini<sup>10</sup>; cijanogen bromidom<sup>11</sup>). Opisana je i reakcija *o*-fenilendiamina s aromatskim i alifatskim aldehidima.<sup>12-14</sup>

Interes za benzimidazolnim farmakoforom započeto je istraživanjem D. W. Woolleya.<sup>15</sup> Zamijetio je antifungalno djelovanje benzimidazola na kvašćevim gljivicama te istaknuo

antiproliferativno djelovanje i opisao kompeticiju sa strukturno sličnim dušičnim bazama. Danas su poznate razne skupine heterocikličkih spojeva s benzimidazolom koje se koriste kao lijekovi ili su potencijalni lijekovi jer imaju široki spektar djelovanja: antimikrobno, antitumorsko, antivirusno, antiparazitsko, antihipertenzivno i protuupalno (Slika 3).<sup>16, 17</sup>

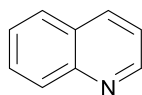


Slika 3. Biološki aktivni spojevi s benzimidazolnom jezgrom<sup>16, 17</sup>

Takva svojstva benzimidazola i njegovih derivata proizlaze iz njegove strukture gdje planarni biciklički prsten predstavlja nekласičan bioizoster katehola<sup>18</sup> i njemu sličnih spojeva, a ima sedam mjesta supstitucije što otvara mnoge mogućnosti prilikom dizajna lijekova i optimiranja strukture. Važni su i nukleozidni analozi u kojima je purinska nukleobaza zamijenjena benzimidazolnom jezgrom među kojima su halogenirani derivati pokazali antiviralnu aktivnost na RNA i DNA viruse (HIV-1, YFV, DENV-2, WNV, HBV).<sup>19, 20</sup> Potencijal benzimidazolne jezgre u biološki aktivnim tvarima antitumorskog djelovanja proizlazi iz oponašanja purinskih baza nukleinskih kiselina. Jedan od najpoznatijih derivata benzimidazola koji je u kliničkoj upotrebi je Bendamustin. To je kemoterapeutik benzimidazolne strukture s bis(2-kloretil)amino skupinom u 5-položaju i biološki je aktivan spoj koji posjeduje strukturne karakteristike alkilirajućih agensa i antimetabolita.<sup>21</sup> U organizmu oštećuje genetski materijal, uzrokuje intrizičnu apoptozu, inhibira kontrolne točke mitoze, aktivira stanične mehanizme popravka cijepanjem nukleobaza za razliku od drugih alkilirajućih agensa kod kojih se popravak DNA odvija alkiltransferazama.<sup>22</sup>

## 2.2. Kinolini i njihova biološka aktivnost

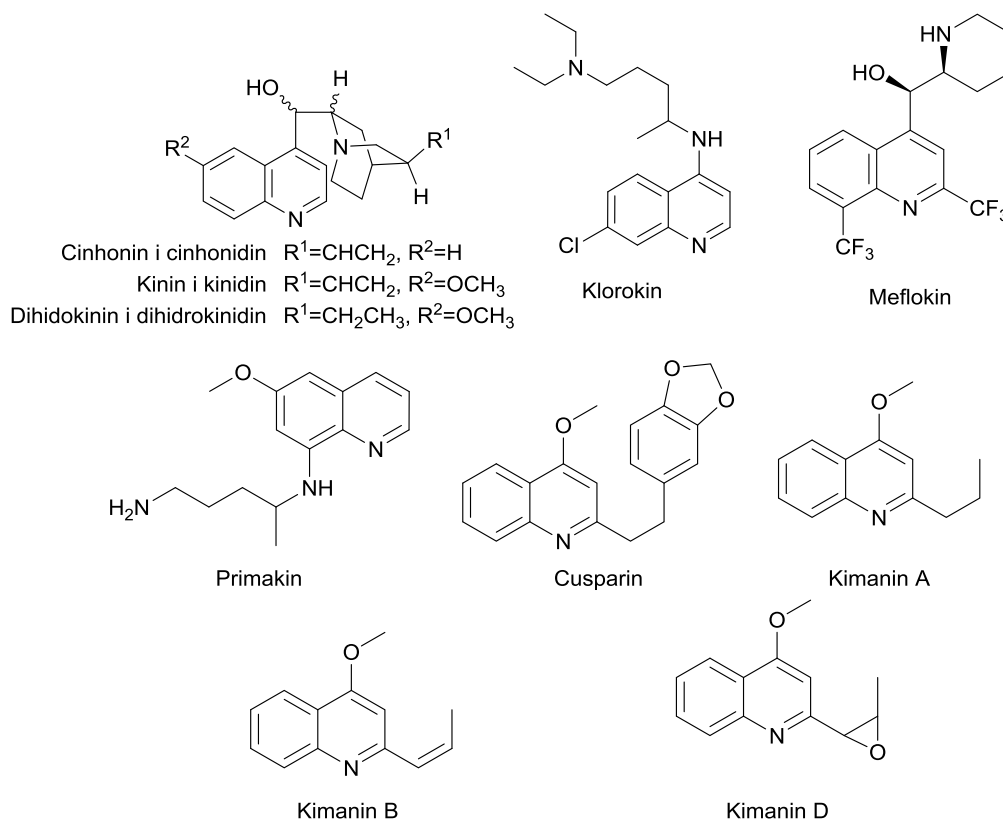
Kinolinska jezgra (3) je heterociklički aromatski spoj nastao fuzioniranjem piridinske i benzenske jezgre (Slika 4). Kinolinski prsten moguće je pripremiti Skraupovom, Doebner-von Millerovom, Friedlanderovom, Pfitzingerovom, Conrad-Limpachovom i Combesovom sintezom.<sup>23</sup>



3

Slika 4. Struktura kinolina (3)

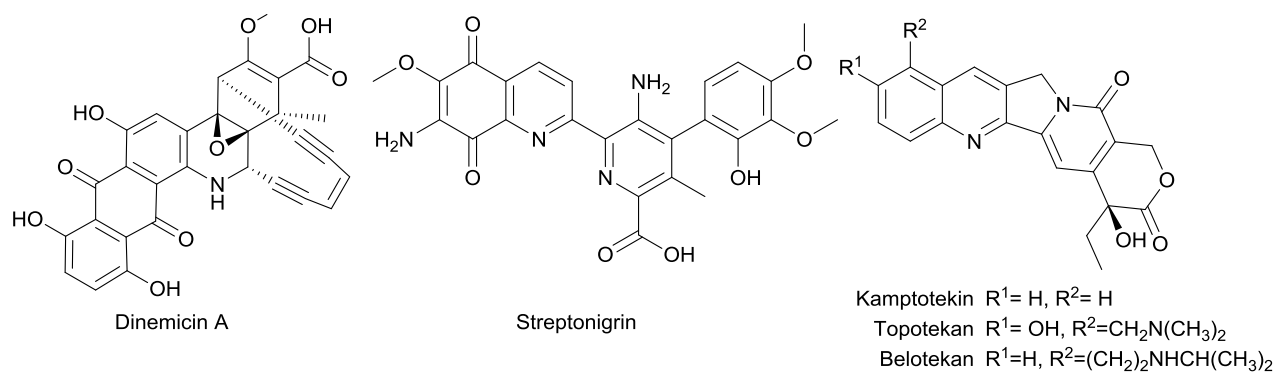
Kinolinska jezgra pojavljuje se u velikom broju različitih prirodnih spojeva sa širokim spektrom djelovanja (Slika 5).<sup>24</sup> Najpoznatiji su kinolinski alkaloidi dobiveni iz kore drveta kininovca (*Cinchona*) s izraženim antimalarijskim učinkom.<sup>25</sup> Odnosom strukture i aktivnosti (SAR) dobiveni su antimalarici Klorokin, Primakin i Meflokin.<sup>26, 27</sup> Iz kore drveća vrste *Galipea longiflora* izolirani su mnogi alkaloidi koji se koriste kao antiprotozoici za tretiranje lišmanijaze (Cusparin, Kimanin A, B i D).



Slika 5. Biološki aktivni derivati kinolina<sup>24, 28</sup>

Derivati kinolina i fuzionirani derivati kinolina pokazuju antitumorsku aktivnost. Biološke mete su im razni enzimi poput topoizomeraze I, telomeraze, farnazil transferaze, Src tirozin kinaze, kreatin kinaze i mnogih drugih.<sup>28, 29</sup> Dinemicin A i Streptonigrin su prirodni antitumorski

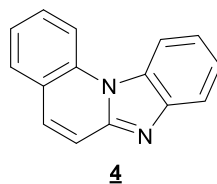
antibiotici, a iz kore vrste *Camptotheca acuminata* dobiven je inhibitor topoizomeraze Kamptotekin (Slika 6).<sup>30, 31</sup> Kako bi se poboljšala antitumorska aktivnost, priređeni su polusintetski kamptotekinski derivati Belotekan i Topotekan.<sup>32</sup>



Slika 6. Struktura fuzioniranih kinolinskih antitumorskih lijekova<sup>31, 32</sup>

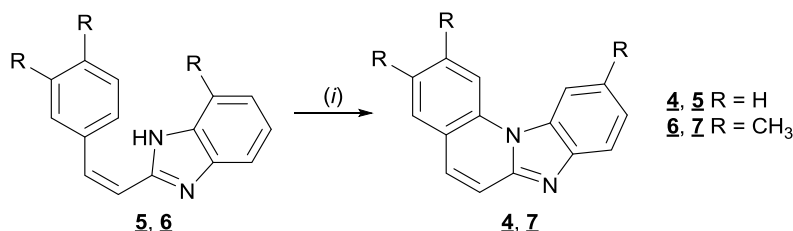
### 2.3. Benzimidazo[1,2-*a*]kinolini i njihova biološka aktivnost

Benzimidazo[1,2-*a*]kinolini (**4**) su heterociklički aromatski spojevi. Struktura im je tetraciklička, a nastaje fuzioniranjem benzimidazola na kinolinsku jezgru (Slika 7).



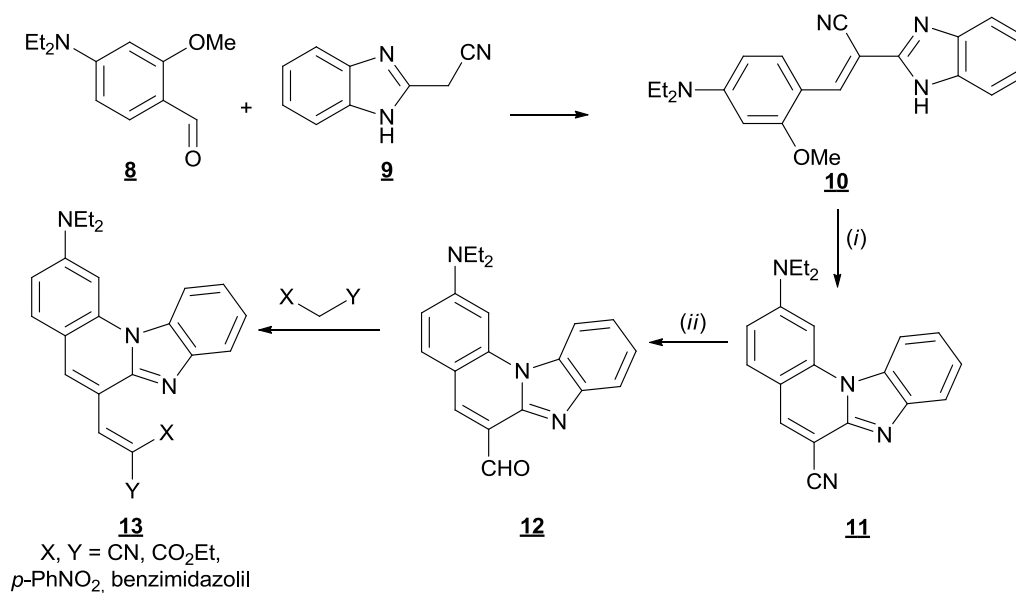
Slika 7. Struktura benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (**4**)

G. Cooper i W. J. Irwin<sup>32</sup> priredili su benzimidazo[1,2-*a*]kinolinske derivate (**4**, **7**) fotodehidrociklizacijom 2-stirilbenzimidazola **5** prema reakcijskoj Shemi 1. Reakcija je provedena u metanolu osvjetljivanjem srednjetačnom živinom lampom (100 W) uz jod kao katalizator.



Shema 1. Fotokemijska dehidrociklizacija 2-stirilbenzimidazola (**5**, **6**). Reagensi i uvjeti: (i) I<sub>2</sub>, hv<sup>34</sup>

V. U. Shenoy i S. Sesardi<sup>33</sup> priredili su 2-dietilaminobenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (**11**), fluorescentnu krutinu žute boje. Kako bi razvili novu klasu bojila, reducirali su dobiveni spoj **11** u formilni derivat **12** pomoću Raney-Ni i formijatne kiseline. Daljnjom kondenzacijom priređeni su derivati ishodnog spoja (**13**) prema Shemi 2.

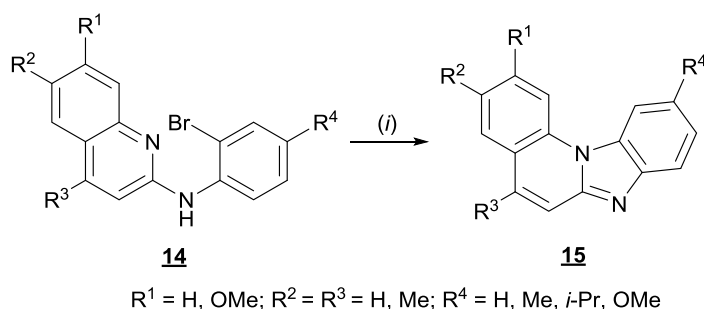


Shema 2. Sinteza 2-dietilaminobenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila (**10**).<sup>33</sup> Reagensi i uvjeti: (i) *o*-diklorbenzen, piperidin acetat, (ii) Raney Ni, formijatna kiselina



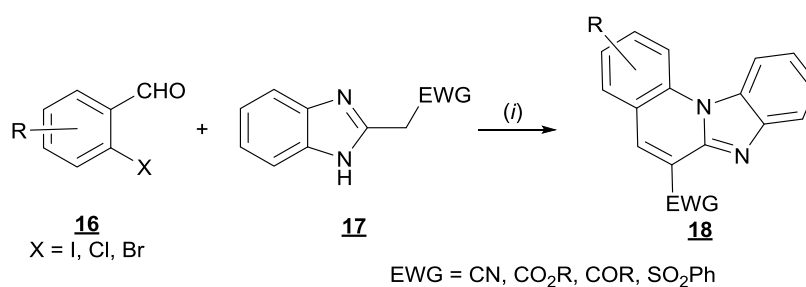
D. Günter<sup>34</sup> 1980. pripravo je supstituirane benzimidazo[1,2-*a*]kinoline sa svojstvima fluorescentnih bojila iz 2-alkoksibenzaldehida i 2-fenilsulfonilmetilenbenzimidazola uz piperidinijev acetat kao bazu. Aldolnom kondenzacijom nastaje 2-stirilbenzimidazol koji se ne izolira, već ciklizacijom u *o*-diklorbenzenu daje benzimidazo[1,2-*a*]kinolin.

C. Venkatesh i suradnici<sup>35</sup> razvili su metodu dobivanja benzimidazo[1,2-*a*]kinolinskih derivata (**15**) unutarmolekulskom Buchwald-Hartwigovom reakcijom aminiranja arila (Shema 3). Reakcijom kataliziranom paladijem u 2-(2-bromanilino)kinolinu (**14**) nastaje C-N veza uslijed čega dolazi do zatvaranja strukture uz nastajanje željenog benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (**15**).



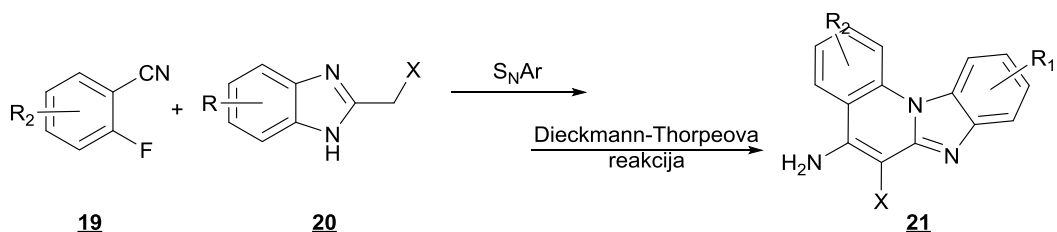
Shema 3. Unutarmolekulska Buchwald-Hartwigova reakcija 2-(2-bromanilino)kinolina (**13**).<sup>35</sup>  
Reagensi i uvjeti: (i) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, DMF, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

Grupa<sup>36</sup> kineskih istraživača otkrila je učinkovitu metodu za sintezu benzimidazo[1,2-*a*]kinolina prema kojoj dolazi do kondenzacije popraćene bakrom kataliziranom unutarmolekulskom *coupling* reakcijom (Shema 4). Pretpostavlja se da je kopuliranje nalik na Ullmannovu reakciju. Reakcija je ispitana na 2-jod, 2-brom i 2-klor benzaldehydima (**16**) uz bakrov(I) jodid kompleksiran različitim ligandima (kinolin-8-ol, pikolinska kiselina, L-prolin).



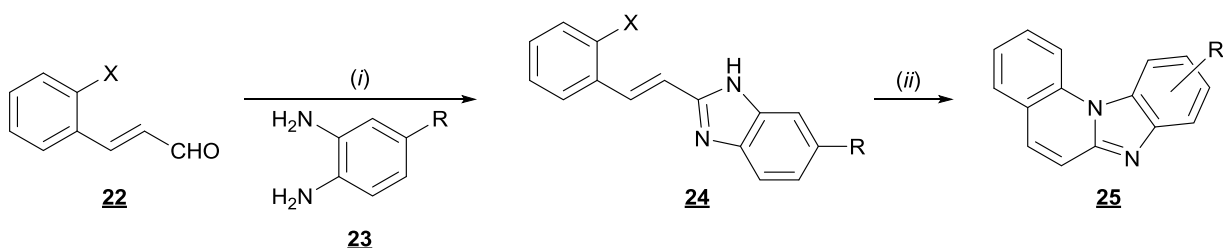
Shema 4. Sintaza benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (**18**) katalizirana bakrom.<sup>36</sup>  
Reagensi i uvjeti: (i) [Cu]/ligand, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMSO, s.t.–80°C

Skupina japanskih istraživača<sup>37</sup> opisala je učinkovitu metodu dobivanja novih fluorescentnih 5-aminobenzimidazo[1,2-*a*]kinolina (**21**) *one-pot* sintezom iz 2-fluorarilnitrila (**19**) i supstituiranih benzimidazola (**20**). Kaskadna reakcija uključuje aromatsku nukleofilnu supstituciju i Dieckmann-Thorpeovu ciklizaciju.



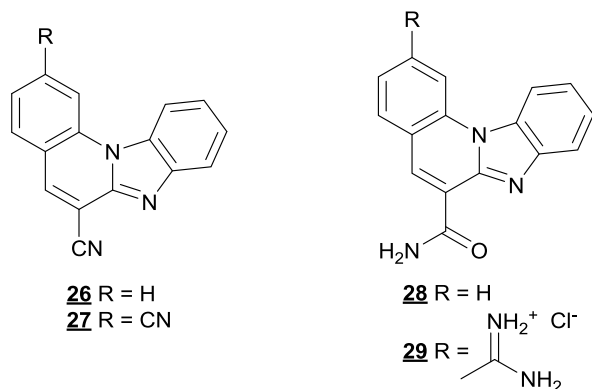
Shema 5. Sintaza 5-aminobenzimidazo[1,2-*a*]kinolina (**21**) iz 2-fluorarilnitrila (**19**) i supstituiranih benzimidazola (**20**)<sup>37</sup>

M. Hranjec, G. Karminski-Zamola i suradnici<sup>38</sup> 2007. priredili su cijano- i amidino- stiril-2-benzimidazole (**24**) i njihove cikličke fuzionirane derivate, benzimidazo[1,2-*a*]kinoline (**25**) s različito supstituiranim prstenom kako bi ispitali njihovu biološku aktivnost (Shema 6). Ciklički derivat s imidazolilnim supstituentom pokazao je izrazitu aktivnost, inhibiciju topoizomerase II i zaustavljanje staničnog ciklusa.



Shema 6. Sintaza biološki aktivnih cijano- i amidino- stiril-2-benzimidazola (**24**) i njihovih cikličkih fuzioniranih analoga **25**.<sup>38</sup> Reagensi i uvjeti: etanol, *p*-benzokinon, (ii) I<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, hv

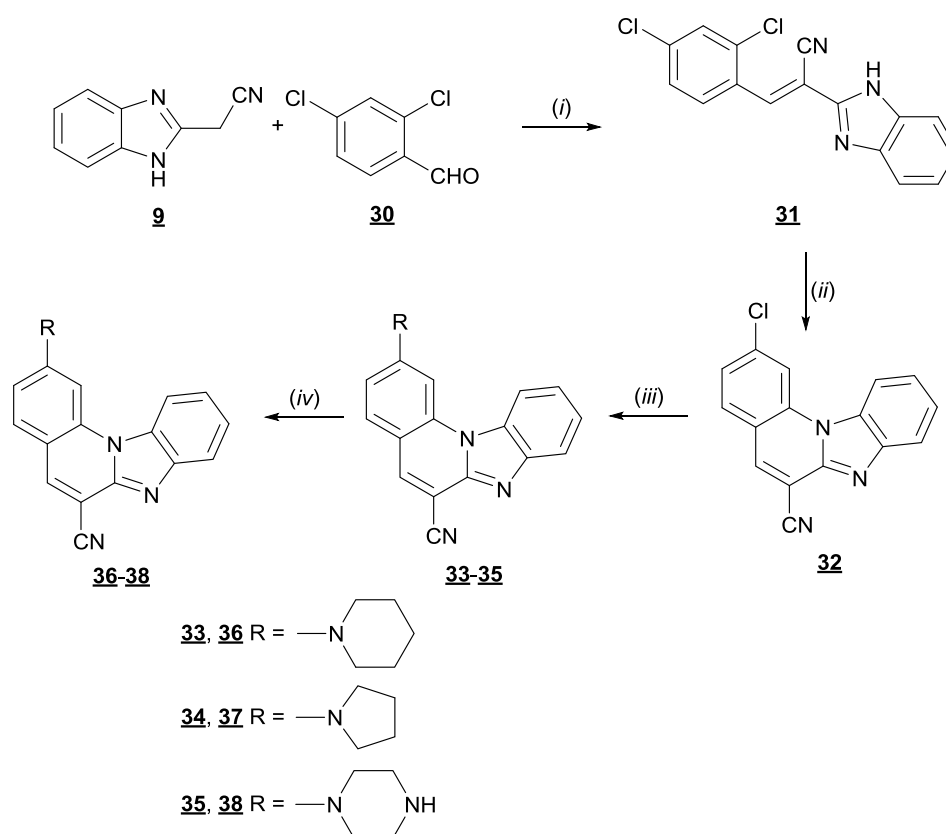
U nastavku istraživanja od iste grupe istraživača pripremljeni su akrilonitrilni derivati benzimidazola te njihovi mono- i dicijano- ciklički analozi fotodehidrociklizacijom. Pokušaj dobivanja diamidina Pinnerovom reakcijom nije uspio, već je u 2-položaju nakon prve faze reakcije dobiven imino-ester, a nakon druge faze amidin. Kod 6-cijano skupine već u prvoj fazi reakcije dolazi do stvaranja nesupstituiranog amida. Pripremljeni su spojevi pokazali značajnu biološku aktivnost, a posebice nitrilni derivati **26** i **27** te amidi **28** i **29** (Slika 8).<sup>39</sup>



Slika 8. Biološki aktivni nitrilni i amidni derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (**26-29**)<sup>39</sup>

Nadalje, benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrili supstituirani metilnom, nitrilnom i metoksi skupinom u 2-položaju pokazali su antiproliferativno djelovanje. Ispitivanje stabilnosti ctDNA u UV/Vis i fluorescencijsko-emisijskim titracijama u prisutnosti sintetiziranih spojeva pokazala su da njihova antitumorska aktivnosti proizlazi iz interakcije s genetskim materijalom.<sup>40</sup>

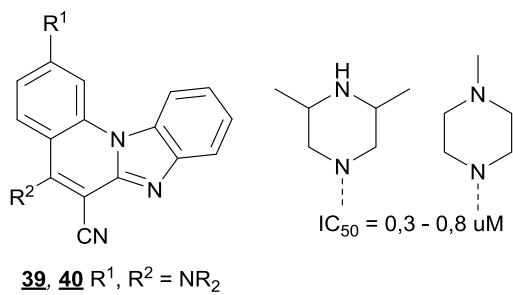
N. Perin i M. Hranjec pripremile su amino-supstituirane benzimidazo[1,2-*a*]kinoline. Zajednički prekursor pripremljen je prema Shemi 7, kondenzacijom supstituiranog benzaldehida (**30**) i 2-cijanometilbenzimidazola (**9**) u apsolutnom etanolu dobiven je aciklički produkt **31** koji je preveden u benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (**32**) fotokemijskom dehidrociklizacijom.<sup>41</sup> Aminiranje je provedeno bez katalizatora, supstitucijom klora potpomognuto mikrovalnim zračenjem, a kako bi im se poboljšala topljivost u vodi, amini **33–35** su prevedeni u hidrokloridne soli. 2-piperidinilni (**33**) i 2-pirolidinilni (**34**) derivati pokazali su se kao potencijalne fluorescentne DNA probe.



Shema 7. Sinteza amino-supstituiranih benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (**33–38**).<sup>41</sup> Reagensi i uvjeti: (i) etanol, aps., (ii) etanol, I<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, hv, (iii) amin, acetonitril, MW, 40 bar, (iv) HCl(g), etanol, aps.

Na sličan su način priredile 2- i 5-supstituirane i 2,5-disupstituirane benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrile i (Slika 9).<sup>42</sup> Disupstituirani piperazilni derivati **39** i **40** pokazali su najizraženiju biološku aktivnost sa submikromolarnom IC<sub>50</sub> vrijednošću. Biološka ispitivanja

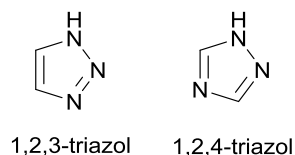
pokazala su da se spojevi ponašaju kao interkalatori i inhibitori topoizomeraze I s boljom selektivnošću od Etoposida i Doksorubicina.



Slika 9. 2,5-disupstituirani benzimidazo[1,2-a]kinolin-6-karbonitrilni derivati **39** i **40** s izraženom biološkom aktivnošću<sup>42</sup>

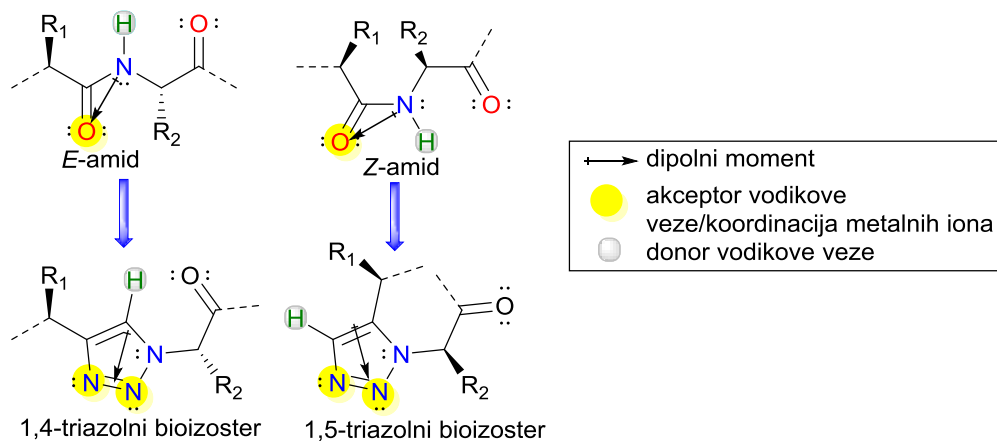
## 2.4. Triazoli i *click* kemija

Triazoli su heterociklički aromati molekulske formule  $C_2H_3N_3$  poznati u obliku 1,2,3- i 1,2,4-izomera (Slika 10). Pripadaju skupini dušikovih heterocikličkih spojeva koji se često nalaze u biološki aktivnim spojevima te predstavljaju vrlo važnu strukturnu jedinicu u dizajnu lijekova<sup>43</sup>. 1,2,3-triazolni derivati primjenjuju se u agrokemikalijama, kao korozijski inhibitori, aditivi, dendrimeri, polimeri, fotostabilizatori, pigmenti i metalni ligandi.<sup>44</sup>



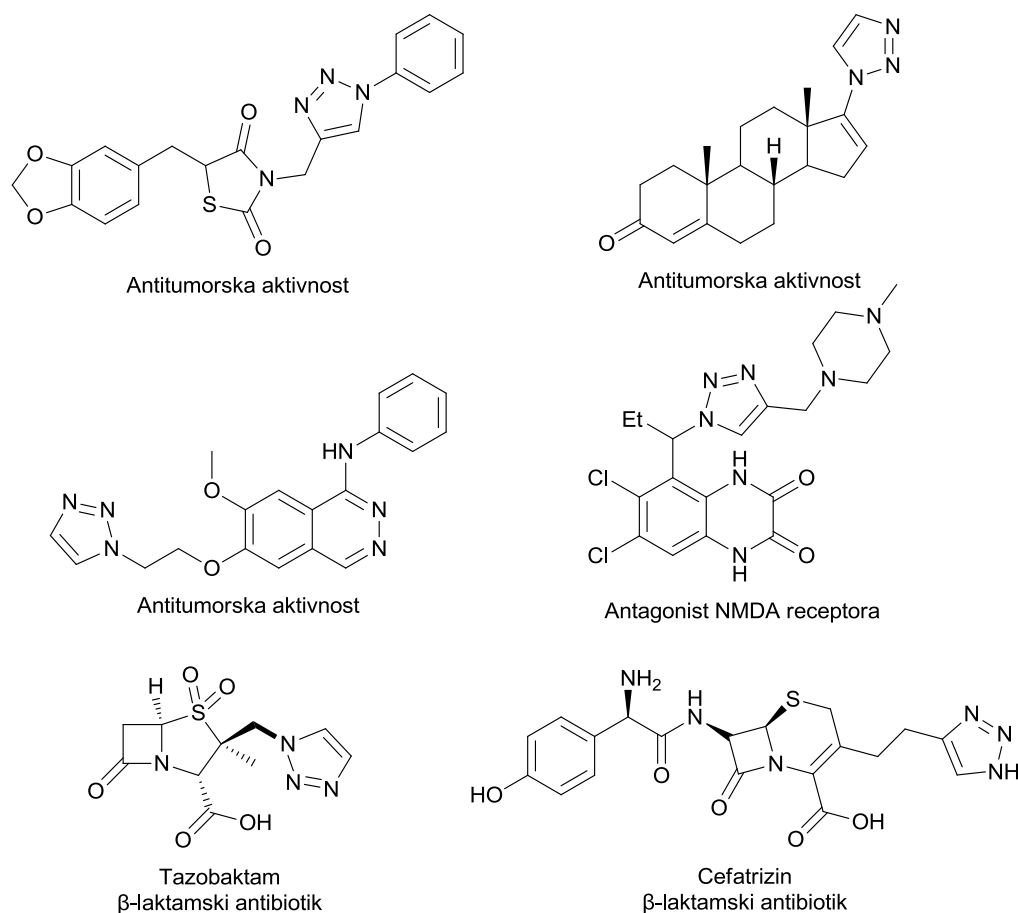
Slika 10. Izomerni oblici triazola

Triazolni derivati imaju širok spektar biološke aktivnosti, a kao bioizosteri oponašaju amidnu vezu (Slika 11). Mogućnost stvaranja vodikovih veza i povećana topljivost posljedica su snažnog dipolnog momenta. 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazoli oponašaju *Z*-amide tako da se nespareni elektroni na N-3 1,2,3-triazola ponašaju analogno elektronima karbonilne skupine u amidu. Uz to C-5 triazola donor je vodikove veze slično NH skupini amida, a C-4 podsjeća na karbonilni ugljik u amidu. Na analogan način 1,5-disupstituirani 1,2,3-triazoli oponašaju *E*-amidnu vezu.<sup>46-49</sup>



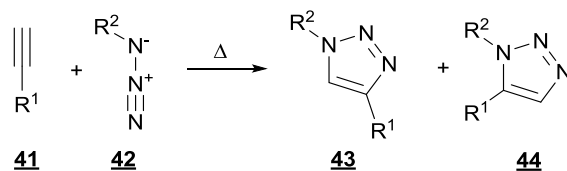
Slika 11. Izosteri 1,2,3-triazola

Osim visokog dipolnog momenta i stvaranja vodikovih veza, s biološkim metama dolazi do  $\pi$ -slaganja. 1,2,3-triazolni derivati stabilni su prema metaboličkoj i kemijskoj razgradnji, oksidativnim i reduktivnim uvjetima te hidrolizi. Slika 12 prikazuje 1,2,3-triazolne derivate s različitim biološkim aktivnostima.<sup>49</sup>



Slika 12. Primjeri 1,2,3-triazolnih derivata u biološki aktivnim spojevima i komercijalno dostupnim lijekovima<sup>49</sup>

R. Huisgen je prilikom proučavanja cikloadicijskih reakcija opisao sintezu 1,2,3-triazola iz azida i alkina (Shema 8).<sup>50</sup> Unatoč tome što se takav pristup sintezi naizgled čini jednostavan te je moguće prirediti mnogo produkata promjenom supstitucije alkina (**41**) i azida (**42**), reakcija se odvija pri povišenim temperaturama i nije selektivna. Iz smjese 1,4- i 1,5-regioizomera potrebno je klasičnim kromatografskim metodama odijeliti produkte.



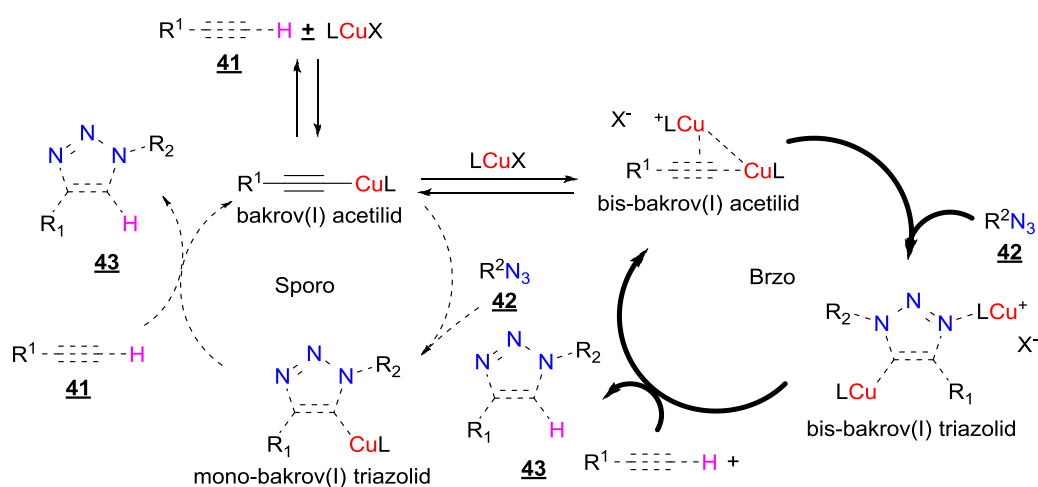
Shema 8. Huisgenova cikloadicija kojom nastaje smjesa 1,4- (**43**) i 1,5- (**44**) regioizomera<sup>50</sup>

K. B. Sharpless opisao je moderni pristup organskoj sintezi u kojem se primjenjuju stereospecifične reakcije s visokim iskorištenjem, širokim rasponom supstitucije reaktanata, jednostavne izvedbe i bez potrebe za kromatografskim odvajanjem produkata uz korištenje ekološki prihvatljivih otapala koja se lako uklanjaju.<sup>51</sup> To su termodinamički favorizirane reakcije u kojima nastaje samo jedan produkt: reakcije nukleofilnog otvaranja epoksida i aziridina,

nealdolne reakcije karbonila, adicijske reakcije na višestruke veze, Michaelove adicije i cikloadicijske reakcije.

S obzirom da Huisgenovom 1,3-dipolarnom cikloadicijom nastaje smjesa regioizomera te reakcija ne ispunjava opisana svojstva *click* reakcije, promjenom reakcijskih uvjeta Sharpless je poboljšao pristup sintezi 1,2,3-triazola. Uvođenjem bakrovih(I) soli kao katalizatora poboljšao je regioselektivnost reakcije u korist nastanka 1,4-disupstituiranog izomera (**44**).<sup>50</sup>

Unatoč širokoj primjeni reakcije cikloadicije azida i alkina katalizirane bakrom(I), zbog velikog broja različitih ravnotežnih koraka, problematično je opisati mehanizam reakcije. Fokin i suradnici su primjenom kalorimetrije otkrili da se monomerne vrste bakrovog(I) acetilida ponašaju inertno prema azidima bez prisutnosti katalitičkih količina soli bakra(I) dodanih u reakcijsku smjesu.<sup>52</sup> Uloga i nastajanje bakrovih kompleksa predmet je ispitivanja više istraživačkih skupina,<sup>53–58</sup> no Bertrand i suradnici<sup>53</sup> izolirali su i okarakterizirali  $\sigma,\pi$ -bis(bakar)-acetilidne i bis-metalne triazolne intermedijere. Daljnjim su ispitivanjima dokazali da se mehanizam reakcije odvija u dva katalitička ciklusa, od kojih je brži put preko bis-metalnih kompleksa (Shema 9).



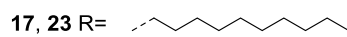
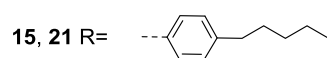
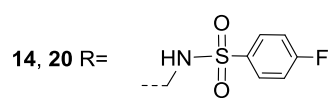
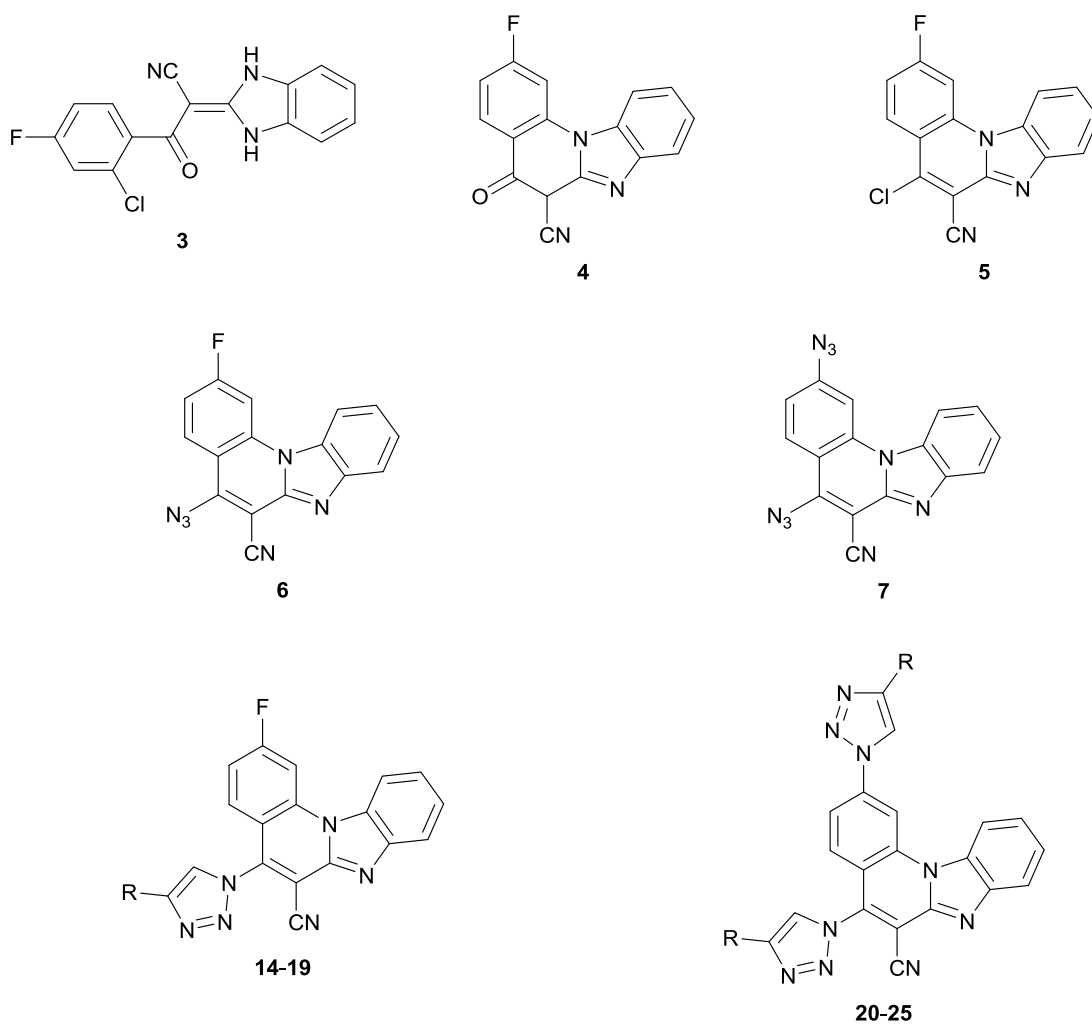
Shema 9. Mehanizam 1,3-dipolarne cikloadicije katalizirane bakrom(I)<sup>53</sup>

Demetaliranje mono- i bis-bakrovih triazolida odvija se uz trošenje alkina, pri čemu nastaju mono- i bis-bakrovi acetilidi te 1,4-disupstituiran 1,2,3-triazolni produkt. Kod bis-bakrovog(I) acetilida,  $\sigma$ -vezani metalni atom utječe na nukleofilna svojstva acetilida, a  $\pi$ -vezani koordinira cikloadiciju.

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**



### 3.1. Pregled sintetiziranih spojeva



### 3.2. Opće napomene

Sva otapala su sušena/pročišćavana prema preporučenom postupku sušenja agensima i/ili destiliranjem preko molekularnih sita veličine 3 Å. Za tankoslojnu kromatografiju (TLC) korištene su ploče 60F-254 prevučene slojem silika-gela *Merck*, a za detekciju izoliranih komponenata korištena je UV svjetlost valne duljine 254 nm.

Kromatografija na koloni provedena je na silika-gelu (*Fluka*, 0,063-0,2 mm). Staklene kolone su punjene pod utjecajem gravitacije, a kao eluens je korištena odgovarajuća smjesa CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH.

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

Spektri <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR snimljeni su na spektrometru Bruker 300 i 600 MHz. Svi uzorci otopljeni su u DMSO-*d*<sub>6</sub> i mjereni pri 298 K. Kemijski pomaci (δ) u <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektrima izraženi su u ppm u odnosu na signal tetrametilsilana na δ 0,0 ppm za <sup>1</sup>H i na signal DMSO na δ 39.50 ppm za <sup>13</sup>C NMR. Pojedine rezonancije pridružene su na temelju kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta signala i H-H konstanti sprega.

### 3.3. Priprava prekursora za sintezu azidnih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila (**5**)

#### 3.3.1. 2-(2-benzimidazolil)-3-keto-(4-fluor-2-klorfenil)akrilonitril (**3**)

Otopina 2-cijanometilbenzimidazola **1** (1,63 g, 10,40 mmol) i 4-fluor-2-klorbenzoil-klorida **2** (1,63 g, 10,40 mmol) u piridinu (13 ml) održavana je na temperaturi refluksa 1,5 h. Ohlađena reakcijska smjesa izlivena je u destiliranu vodu (100 ml), a nastali produkt je profiltriran i prekrizaliziran u etanolu (400 ml). Produkt **3** izoliran je u obliku smeđeg praška (1,36 g, 49,0 %, t. t. > 300 °C).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ/ppm: 13,10 (bs, 2H, NH), 7,59–7,51 (m, 4H, H<sub>arom.</sub>), 7,36–7,30 (m, 3H, H<sub>arom.</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ/ppm: 184,75, 162,40 (s, *J*<sub>CF</sub> = 247,17 Hz), 150,84, 137,56 (s, *J*<sub>CF</sub> = 3,50 Hz), 131,24 (s, *J*<sub>CF</sub> = 10,75 Hz), 130,86, 130,65 (d, *J*<sub>CF</sub> = 9,17 Hz), 124,14 (d, 2C), 120,30, 117,46 (d, *J*<sub>CF</sub> = 25,01 Hz), 114,83 (d, *J*<sub>CF</sub> = 21,13 Hz), 112,74 (d, 2C), 67,77.

#### 3.3.2. 2-fluor-5-oksobenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (**4**)

Otopina 2-(2-benzimidazolil)-3-keto-(4-fluor-2-klorfenil)akrilonitrila **3** (1,00 g, 3,37 mmol) i kalijevog *tert*-butoksida (0,88 g) u bezvodnom DMF-u (12 ml) održavana je na temperaturi refluksa 2 h. Ohlađena reakcijska smjesa uparena je pri sniženom tlaku i suspendirana u destiliranoj vodi (50 ml). Nastali produkt je profiltriran i prekrizaliziran iz etanola (500 ml). Produkt **4** izoliran je u obliku bijelog praška (0,85 g, 96,0 %, t. t. > 300 °C).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ/ppm: 8,29 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 6,99 Hz, *J*<sub>2</sub> = 8,79 Hz, H<sub>arom.</sub>), 8,19 (d, 1H, *J* = 8,10 Hz, H<sub>arom.</sub>), 8,13 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 2,30 Hz, *J*<sub>2</sub> = 11,06 Hz, H<sub>arom.</sub>), 7,48 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 0,84 Hz, *J*<sub>2</sub> = 7,86 Hz, H<sub>arom.</sub>), 7,27 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 0,95 Hz, *J*<sub>2</sub> = 6,20 Hz, H<sub>arom.</sub>), 7,23 (dt, 1H, *J*<sub>1</sub> = 2,19 Hz, *J*<sub>2</sub> = 8,53 Hz, H<sub>arom.</sub>), 7,11 (dt, 1H, *J*<sub>1</sub> = 1,10 Hz, *J*<sub>2</sub> = 7,87 Hz, H<sub>arom.</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ/ppm: 171,64, 163,59 (s, *J*<sub>CF</sub> = 245,44 Hz), 154,08, 137,13 (s, *J*<sub>CF</sub> = 5,85 Hz), 130,90, 128,02 (d, *J*<sub>CF</sub> = 10,45 Hz), 122,99 (d), 121,30, 120,27, 119,06 (d), 116,35 (d), 112,31 (d), 110,33 (d, *J*<sub>CF</sub> = 21,68 Hz), 101,83 (d, *J*<sub>CF</sub> = 27,06 Hz), 73,59 .

#### 3.3.3. 5-klor-2-fluorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (**5**)

Otopina 2-fluor-5-oksobenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **10** (0,60 g, 2,15 mmol) i 0,24 g fosforovog(V) klorida (0,24 g, 1,15 mmol) u POCl<sub>3</sub> (12 ml) održavana je na temperaturi refluksa 1,5 h. Ohlađena reakcijska smjesa uparena je pri sniženom tlaku i suspendirana u

destiliranoj vodi (10 ml). Nastali produkt je profiltriran i ispran s destiliranom vodom. Produkt **5** izoliran je u obliku žutog praška (0,62 g, 96,0 %, t. t. 250–257 °C).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ/ppm: 8,71 (d, 1H, *J* = 8,49 Hz, H<sub>arom.</sub>), 8,58 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 2,27 Hz, *J*<sub>2</sub> = 10,37 Hz, H<sub>arom.</sub>), 8,41 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 6,06 Hz, *J*<sub>2</sub> = 9,12 Hz, H<sub>arom.</sub>), 8,00 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 1,32 Hz, *J*<sub>2</sub> = 7,67 Hz, H<sub>arom.</sub>), 7,67–7,60 (m, 2H, H<sub>arom.</sub>), 7,57 (dt, 1H, *J*<sub>1</sub> = 1,34 Hz, *J*<sub>2</sub> = 7,61 Hz, H<sub>arom.</sub>);

<sup>13</sup>C NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ/ppm = 165,29 (s, *J*<sub>CF</sub> = 253,77 Hz), 144,34, 143,82, 142,18, 136,82 (s, *J*<sub>CF</sub> = 12,18 Hz), 130,91 (d, *J*<sub>CF</sub> = 10,95 Hz), 130,21, 125,66 (d), 124,13 (d), 120,27 (d), 116,32 (s, *J*<sub>CF</sub> = 1,61 Hz), 114,99 (d), 114,01 (d, *J*<sub>CF</sub> = 23,40 Hz), 113,32, 103,43 (d, *J*<sub>CF</sub> = 27,53 Hz), 101,64 .

#### **3.4. Sinteza azidnih derivata: 5-azido-2-fluorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (6) i 2,5-diazidobenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (7)**

U suspenziju spoja **5** (200,0 mg, 0,678 mmol) u acetonu (25 ml), dodan je natrijev azid (90,0 mg, 1,36 mmol, 2 eq) otopljen u destiliranoj vodi (1,5 ml). Reakcijska smjesa miješana je na temperaturi refluksa 24 h. U reakcijsku smjesu dodana je otopina natrijevog azida (50,0 mg, 0,77 mmol, 1,13 eq). Reakcijska smjesa miješana je na temperaturi refluksa 24 h. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatak nakon uparavanja pročišćen je kolonskom kromatografijom na silika-gelu (diklormetan:metanol = 50:1). Izolirana je smjesa monosupstituiranog (180,0 mg, 0,595 mmol) i disupstituiranog azidnog derivata (20,0 mg, 0,061 mmol) u obliku smeđeg praška.

#### **3.5. Sinteza mono- i bis-1,2,3-triazolilnih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila (14–25)**

##### *3.5.1. N-((1-(6-cijano-2-fluorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-5-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-4-fluorbenzensulfonamid (14) i N,N'-(((6-cijanobenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2,5-diil)bis(1*H*-1,2,3-triazol-1,4-diil))bis(metilen))bis(4-fluorbenzensulfonamid) (20)*

Suspenziji smjese azidnih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (**6**, **7**) (150,0 mg) u metanolu (4 ml) dodan je bakrov(II) acetat monohidrat (8,5 mg, 0,043 mmol) i 4-fluor-*N*-(prop-2-in-1-il)benzensulfonamid (329,50 mg, 1,65 mmol, 2,5 eq). Reakcijska smjesa miješana je 48 h na temperaturi refluksa. Nakon završetka reakcije otapalo je upareno pri sniženom tlaku i ostatak nakon uparavanja pročišćen je kolonskom kromatografijom na silika-gelu i aluminijevom oksidu (diklormetan:etil-acetat = 50:1; diklormetan:metanol = 100:1). Izoliran je žuti praškasti spoj **14** (249,2 mg, 83,6 %, t. t. 255–259 °C).

**14**;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$ /ppm: 8,91 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 8,80 (dd,  $J = 10,3, 2,1$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 8,67 (s, 1H,  $\text{H}_{\text{triaz.}}$ ), 8,47 (t,  $J = 5,0$  Hz, 1H,  $\text{NH}_{\text{sulfonamid}}$ ), 8,14–8,08 (m, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7,97–7,89 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7,89–7,81 (m, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7,66 (dtd,  $J = 17,2, 10,2, 4,6$  Hz, 3H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7,50–7,23 (m, 4H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 4,34 (d,  $J = 5,1$  Hz, 2H, 2H-1").

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO)  $\delta$ /ppm: 165,71 (d,  $J_{\text{CF}} = 255,4$  Hz), 164,62 (d,  $J = 250,8$  Hz), 145,00, 144,65, 144,19, 141,70, 137,75, 137,59, 130,87, 130,19, 130,06, 126,49, 125,20, 121,06, 117,01, 116,71, 115,88, 115,80, 112,57, 38,25.

3.5.2. *2-fluor-5-(4-(4-pentilfenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzimidazo[1,2-a]kinolin-6-karbonitril (15) i 2,5-bis(4-(4-pentilfenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzimidazo[1,2-a]kinolin-6-karbonitril (21)*

Suspenciji smjese azidnih derivata benzimidazo[1,2-a]kinolina (**6**, **7**) (144 mg) u metanolu (5 ml) dodan je bakrov(II) acetat monohidrat (6,4 mg, 0,035 mmol) i dokapan je 1-etinil-4-pentilbenzen (0,24 ml, 1,19 mmol, 2,5 eq). Reakcijska smjesa miješana je 48 h na temperaturi refluksa. Nakon završetka reakcije otapalo je upareno pri sniženom tlaku i ostatak nakon uparavanja pročišćen je kolonskom kromatografijom na silika-gelu i aluminijevom oksidu (diklormetan:etil-acetat = 50:1; diklormetan:metanol = 100:1). Izoliran je žuti praškasti spoj **21** (27,6 mg, 91,8 %, t. t. 234–237 °C).

**15**;  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO)  $\delta$ /ppm: 9,33 (s, 1H,  $\text{H}_{\text{triaz.}}$ ), 8,92 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 8,81 (dd,  $J = 10,3, 2,1$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 8,15–8,09 (m, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7,95 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7,74–7,53 (m, 4H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7,38 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 2,69–2,61 (m, 2H), 1,66–1,60 (m, 2H), 1,36–1,29 (m, 4H), 0,89 (t,  $J = 7,0$  Hz, 3H, C-5").

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO)  $\delta$  165,67 (d,  $J_{\text{CF}} = 235,4$  Hz), 150,88, 147,92, 144,87, 144,70, 143,65, 136,21, 130,93, 129,67, 129,54, 127,32, 126,88, 126,48, 126,40, 126,14, 125,19, 124,90, 121,08, 120,91, 115,85, 115,79, 115,63, 113,23, 112,74, 35,35, 31,30, 30,98, 22,42, 14,40.

**21**;  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO)  $\delta$ /ppm: 9,68 (s, 1H,  $\text{H}_{\text{triaz.}}$ ), 9,36 (s, 1H,  $\text{H}_{\text{triaz.}}$ ), 9,22 (d,  $J = 1,7$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 8,88 (d,  $J = 8,5$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 8,28 (dd,  $J = 8,9, 1,8$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 8,17 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7,98 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H, Ph"), 7,93 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H, Ph"), 7,86 (d,  $J = 8,9$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7,81–7,73 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7,39 (d,  $J = 8,2$  Hz, 2H, Ph"), 7,35 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H, Ph"), 2,74–2,59 (m, 4H), 2,09 (s, 1H), 1,63 (qd,  $J = 15,1, 7,6$  Hz, 4H), 1,40–1,26 (m, 8H), 0,89 (td,  $J = 7,0, 3,3$  Hz, H-5").

$^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, DMSO)  $\delta$ /ppm: 147,75, 147,18, 144,15, 143,35, 142,80, 142,57, 140,65, 139,85, 136,38, 130,25, 128,50, 128,35, 126,95, 126,57, 125,63, 125,39, 125,26, 124,59, 123,76, 120,42, 117,41, 116,97, 114,75, 111,52, 106,37, 100,40, 34,45, 30,36, 30,33, 29,76, 21,33, 13,21.

3.5.3. *5-(4-(4-bromfenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-2-fluorbenzimidazo[1,2-a]kinolin-6-karbonitril (16) i 2,5-bis(4-(4-bromfenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzimidazo[1,2-a]kinolin-6-karbonitril (22)*

Suspenziji smjese azidnih derivata benzimidazo[1,2-a]kinolina (**6**, **7**) (220,0 mg) u metanolu (5 ml) dodan je bakrov(II) acetat monohidrat (8,0 mg, 0,041 mmol) i 1-brom-4-etinilbenzen (300,0 mg, 1,65 mmol, 2,5 eq). Reakcijska smjesa miješana je 48 h na temperaturi refluksa. Nakon završetka reakcije otapalo je upareno pri sniženom tlaku i ostatak nakon uparavanja pročišćen je kolonskom kromatografijom na silika-gelu i aluminijevom oksidu (diklormetan:etil-acetat = 50:1; diklormetan:metanol = 100:1). Izoliran je žuti praškasti spoj **16** (231,73 mg, 73,2 %, t. t. > 250 °C).

**16**;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$ /ppm: 9,45 (s, 1H), 8,83 (dd,  $J = 10,4, 2,0$  Hz, 1H<sub>triaz.</sub>), 8,15 (dd,  $J = 6,7, 2,4$  Hz, 1H, H<sub>arom.</sub>), 8,02 (d,  $J = 8,5$  Hz, 2H, Ph"), 7,78 (d,  $J = 8,5$  Hz, 2H, Ph"), 7,70 (dd,  $J = 10,3, 5,4$  Hz, 3H, H<sub>arom.</sub>), 7,64–7,55 (m, 2H, H<sub>arom.</sub>).

3.5.4. *5-(4-decil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-2-fluorbenzimidazo[1,2-a]kinolin-6-karbonitril (17) i 2,5-bis(4-decil-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzimidazo[1,2-a]kinolin-6-karbonitril (23)*

Suspenziji smjese azidnih derivata benzimidazo[1,2-a]kinolina (**6**, **7**) (150,0 mg) u metanolu (4 ml) dodan je bakrov(II) acetat monohidrat (8,5 mg, 0,043 mmol) i dokapan je dodec-1-in (0,27 ml, 1,24 mmol, 2,5 eq). Reakcijska smjesa miješana je 48 h na temperaturi refluksa. Nakon završetka reakcije otapalo je upareno pri sniženom tlaku i ostatak nakon uparavanja pročišćen je kolonskom kromatografijom na silika-gelu i aluminijevom oksidu (diklormetan:etil-acetat = 50:1; diklormetan:metanol = 100:1). Izolirani su žuti praškasti spojevi **17** (190,8 mg, 91,2 %, t. t. 176–179 °C) i **23** (27,2 mg, 89,8 %, t. t. 200–202 °C).

**17**;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$ /ppm: 8,95–8,82 (m, 1H, H<sub>arom.</sub>), 8,77 (dd,  $J = 10,3, 2,0$  Hz, 1H, H<sub>arom.</sub>), 8,65 (s, 1H, H<sub>triaz.</sub>), 8,10 (dd,  $J = 6,9, 2,2$  Hz, 1H, H<sub>arom.</sub>), 7,72–7,44 (m, 4H, H<sub>arom.</sub>), 2,85 (t,  $J = 7,4$  Hz, 2H, H-1"), 1,75 (dt,  $J = 14,7, 7,3$  Hz, 2H, H-2"), 1,58–1,03 (m, 16H), 0,85 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, H-10").

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO)  $\delta$ /ppm: 165,71 (d,  $J_{\text{CF}} = 255,2$  Hz), 149,84–149,33, 148,53, 147,22–146,50, 144,67, 144,28, 142,18, 135,03–134,58, 130,91, 130,10–129,90, 126,46, 125,93, 125,14,

121,01–120,22, 115,90 (d,  $J_{CF} = 2,1$  Hz), 115,82, 114,75 (d,  $J_{CF} = 23,4$  Hz), 112,71, 104,17–104,14, 31,76, 29,45, 29,19, 28,89, 25,24, 22,56, 14,42.

**23**;  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO)  $\delta/\text{ppm}$ : 9,18 (s, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 9,07 (s, 1H,  $\text{H}_{\text{triaz.}}$ ), 8,82 (d,  $J = 7,7$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 8,68 (s, 1H,  $\text{H}_{\text{triaz.}}$ ), 8,24 (dd,  $J = 8,9, 1,8$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 8,16 (d,  $J = 7,4$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7,81–7,70 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7,64 (d,  $J = 8,9$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 2,87 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H), 2,79 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H), 1,82–1,72 (m, 4H), 1,44–1,22 (m, 28H), 0,89–0,80 (m, 6H, H-10").

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO)  $\delta/\text{ppm}$ : 149,53, 148,64, 144,91, 144,32, 141,94, 140,75, 137,23, 131,05, 129,06, 126,52, 125,84, 125,41, 121,46, 121,27, 118,23, 117,58, 115,60, 112,52, 106,88, 101,01, 31,69, 29,37, 29,17, 29,08, 29,05, 29,02, 28,85, 25,49, 25,28, 22,44, 14,26,

3.5.5. 5-(4-(3-klorpropil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-2-fluorbenzimidazo[1,2-a]kinolin-6-karbonitril (**18**) i 2,5-bis(4-(3-klorpropil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzimidazo[1,2-a]kinolin-6-karbonitril (**24**)

Suspenziji smjese azidnih derivata benzimidazo[1,2-a]kinolina (**6**, **7**) (150,0 mg) u metanolu (4 ml) dodan je bakrov(II) acetat monohidrat (7,3 mg, 0,036 mmol) i dokapan je 5-klorpent-1-in (0,13 ml, 1,24 mmol, 2,5 eq). Reakcijska smjesa miješana je 48 h na temperaturi refluksa. Nakon završetka reakcije otapalo je upareno pri sniženom tlaku i ostatak nakon uparavanja pročišćen je kolonskom kromatografijom na silika-gelu i aluminijevom oksidu (diklormetan:etil-acetat = 50:1; diklormetan:metanol = 100:1). Izolirani su žuti praškasti spoj **18** (162,0 mg, 89,6 %, t. t. > 250 °C) i **24** (21,3 mg, 87,2 %, t. t. 226–230 °C).

**18**;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta/\text{ppm}$ : 8,92 (d,  $J = 7,4$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 8,80 (dd,  $J = 10,4, 1,8$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 8,72 (s, 1H,  $\text{H}_{\text{triaz.}}$ ), 8,12 (dd,  $J = 6,9, 2,2$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7,80–7,48 (m, 4H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 3,80 (t,  $J = 6,5$  Hz, 2H, H-3"), 3,02 (t,  $J = 7,4$  Hz, 2H, H-1"), 2,29–2,18 (m, 2H, H-2").

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO)  $\delta/\text{ppm}$ : 165,73 (d,  $J_{CF} = 255,4$  Hz), 147,20, 144,65, 144,23, 142,09, 137,73 (d,  $J_{CF} = 12,4$  Hz), 130,89, 130,10 (d,  $J_{CF} = 11,2$  Hz), 126,45, 126,24, 125,15, 121,03, 115,85, 115,79, 114,74 (d,  $J_{CF} = 23,6$  Hz), 112,70, 104,31 (d,  $J_{CF} = 28,0$  Hz), 45,04, 32,04, 22,67.

**24**;  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO)  $\delta/\text{ppm}$ : 9,18 (d,  $J = 1,8$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 9,14 (s, 1H,  $\text{H}_{\text{triaz.}}$ ), 8,83 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 8,75 (s, 1H,  $\text{H}_{\text{triaz.}}$ ), 8,24 (dd,  $J = 8,9, 1,9$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 8,18–8,13 (m, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7,76 (dd,  $J = 10,3, 8,5$  Hz, 2H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7,70 (d,  $J = 8,9$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 3,80 (td,  $J = 6,5, 3,7$  Hz, 4H), 3,04 (t,  $J = 7,4$  Hz, 2H), 2,98–2,93 (m, 2H), 2,28–2,16 (m, 4H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO)  $\delta/\text{ppm}$ : 148,07, 147,90, 147,24, 144,78, 144,28, 141,83, 140,59, 140,36, 139,89, 137,15, 133,54, 130,93, 129,27, 126,54, 126,27, 125,94, 125,41, 124,54, 122,01,

121,83, 121,23, 120,89, 118,14, 117,58, 117,02, 115,74, 115,35, 112,68, 106,83, 106,41, 102,08, 101,02, 69,75, 65,95, 63,09, 45,18, 45,06, 33,94, 32,06, 31,75, 29,48, 29,16, 24,91, 22,87, 22,71, 22,55, 14,41.

3.5.6. *2-fluor-5-(4-(2-hidroksietil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzimidazo[1,2-a]kinolin-6-karbonitril (19) i 2,5-bis(4-(2-hidroksietil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzimidazo[1,2-a]kinolin-6-karbonitril (25)*

Suspenciji smjese azidnih derivata benzimidazo[1,2-a]kinolina (**6**, **7**) (145,0 mg) u metanolu (5 ml) dodan je bakrov(II) acetat monohidrat (6,4 mg, 0,032 mmol) i dokapan je but-3-in-1-ol (94 ml, 1,20 mmol, 2,5 eq). Reakcijska smjesa miješana je 48 h na temperaturi refluksa. Nakon završetka reakcije otapalo je upareno pri sniženom tlaku i ostatak nakon uparavanja pročišćen je kolonskom kromatografijom na silika-gelu i aluminijevom oksidu (diklormetan:metanol = 20:1). Izolirani su žuti praškasti spoj **19** (153,36 mg, 95,4 %, t. t. 245–248 °C) i **25** (19,1 mg, 91,8 %, t. t. 222–228 °C).

**19**; <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO) δ/ppm: 8,90 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, H<sub>arom.</sub>), 8,78 (dd, *J* = 10,3, 2,2 Hz, 1H, H<sub>arom.</sub>), 8,64 (s, 1H, H<sub>triaz.</sub>), 8,20–8,05 (m, 1H, H<sub>arom.</sub>), 7,73–7,64 (m, 2H, H<sub>arom.</sub>), 7,62–7,57 (m, 1H, H<sub>arom.</sub>), 7,50 (dd, *J* = 9,1, 6,0 Hz, 1H, H<sub>arom.</sub>), 4,84 (t, *J* = 5,3 Hz, 1H, OH), 3,81 (dd, *J* = 12,1, 6,7 Hz, 2H, H-2"), 3,02 (t, *J* = 6,7 Hz, 2H, H-1').

<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO) δ/ppm: 165,20 (d, *J* = 255,3 Hz), 145,67, 144,17, 143,80, 141,66, 137,20 (d, *J* = 12,1 Hz), 130,39, 129,49 (d, *J* = 11,2 Hz), 126,02, 125,93, 124,61, 120,53, 115,44, 115,28, 114,20 (d, *J* = 23,5 Hz), 112,21, 103,81 (d, *J* = 27,8 Hz), 99,62 (d, *J* = 2,9 Hz), 60,04, 28,95,

**25**; <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO) δ/ppm: 9,15 (s, 1H, H<sub>arom.</sub>), 9,07 (s, 1H, H<sub>triaz.</sub>), 8,79 (d, *J*<sub>CF</sub> = 8,0 Hz, 1H, H<sub>arom.</sub>), 8,68 (s, 1H, H<sub>triaz.</sub>), 8,23 (dd, *J*<sub>CF</sub> = 8,9, 1,7 Hz, 1H, H<sub>arom.</sub>), 8,14 (d, *J*<sub>CF</sub> = 7,2 Hz, 1H, H<sub>arom.</sub>), 7,83–7,68 (m, 1H, H<sub>arom.</sub>), 7,64 (d, *J*<sub>CF</sub> = 8,9 Hz, 1H, H<sub>arom.</sub>), 5,11 (s, 1H), 4,85 (dt, *J*<sub>CF</sub> = 23,6, 5,3 Hz, 1H), 4,60 (s, 1H), 3,81 (ddd, *J*<sub>CF</sub> = 22,1, 12,2, 6,7 Hz, 1H), 3,00 (dt, *J*<sub>CF</sub> = 48,9, 6,8 Hz, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ/ppm: 146,98, 146,23, 144,78, 144,35, 141,90, 140,59, 137,17, 130,95, 129,18, 126,53, 125,39, 122,29, 121,22, 118,20, 117,50, 115,71, 112,70, 106,78, 100,94, 60,61, 60,53, 29,67, 29,47,



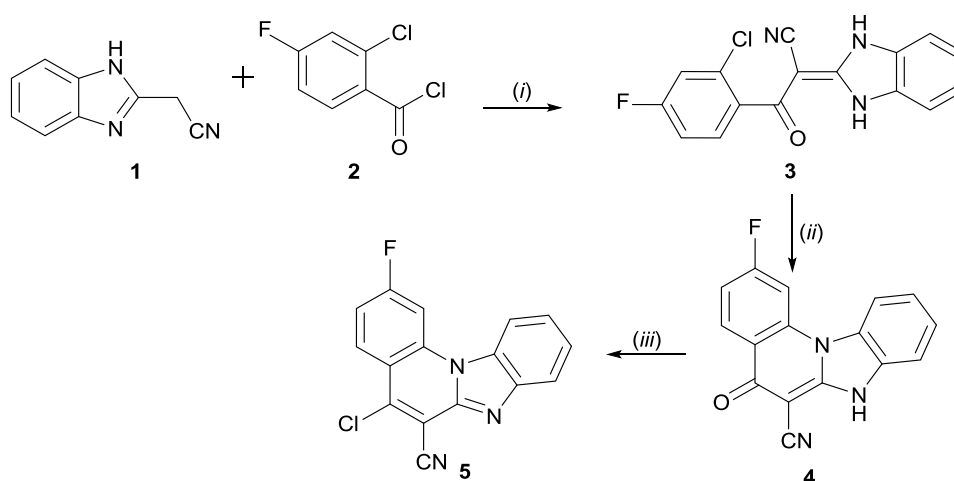
## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

## 4.1. Sinteza spojeva

U ovom radu pripremljeni su potencijalno biološki aktivni mono- i bis-1,2,3-triazolilni derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina-6-karbonitrila (**14–25**) te su na dobivenim spojevima provedena biološka ispitivanja. Ciljani spojevi dobiveni su regioselektivnom bakar(I)-kataliziranom cikloadicijom azidnih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina-6-karbonitrila (**6, 7**) i različitih terminalnih alkina (**8–13**). Kako bi se usporedio odnos strukture i citostatskog djelovanja, priređeni su mono-1,2,3-triazolilni derivati (**14–19**) supstituirani u položaju 2 te bis-1,2,3-triazolilni derivati (**20–25**) s 1,2,3-triazolomu položajima 2 i 5. 1,2,3-triazolna prenosnica u priređenim spojevima supstituirana je u položaju 4 različitim alifatskim i aromatskim supstituentima.

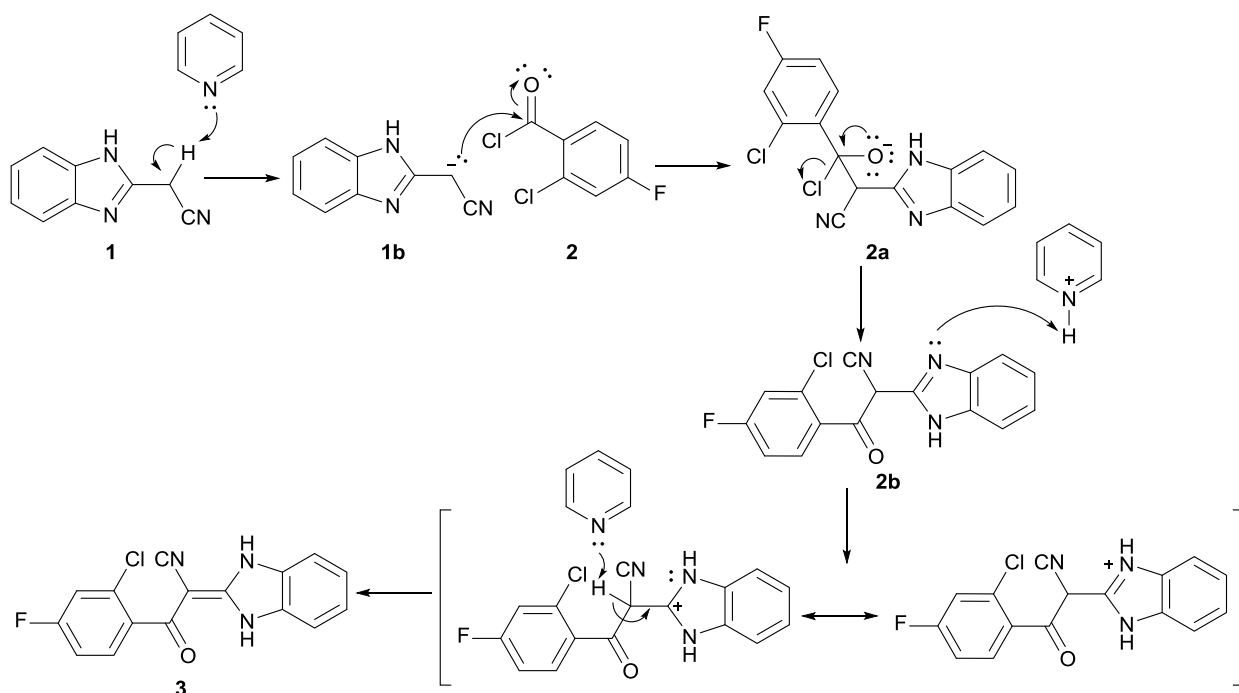
### 4.1.1. Sinteza 2-fluor-5-klorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila (**5**)

Prekursor za sintezu azida **6** i **7** priređen je u tri sintetska stupnja (Shema 10).



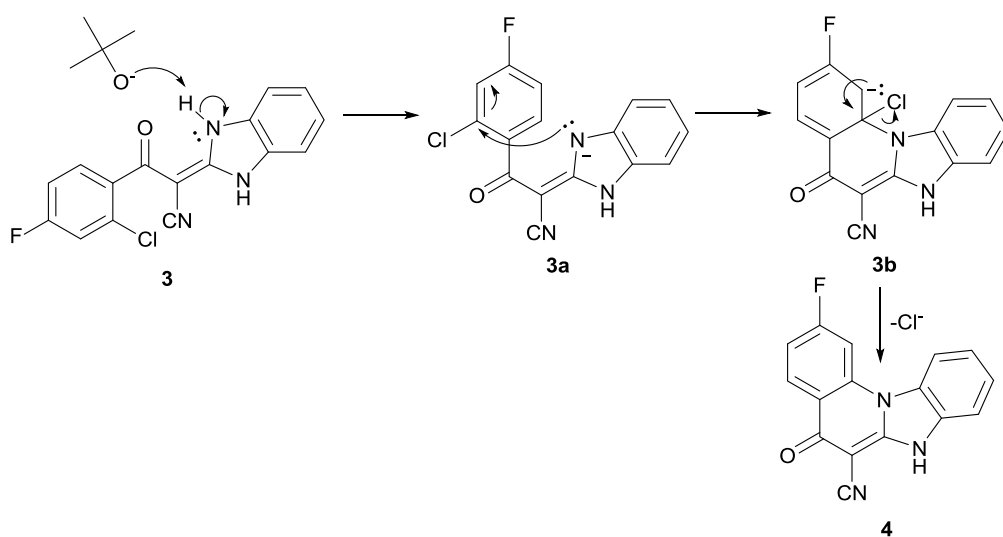
Shema 10. Sinteza 2-fluor-5-klorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila (**5**).  
Reagensi i uvjeti: (i) piridin, (ii) *t*-KOBu, DMF, (iii) PCl<sub>5</sub>, POCl<sub>3</sub>

U prvom koraku provedeno je aciliranje 2-cijanometilbenzimidazola (**1**) uz bazu piridin koji služi i kao otapalo. Uklanjanjem kiselog  $\alpha$ -vodika prekursora **1** nastaje  $\alpha$ -karbanion (**1a**) koji nukleofilnim napadom na acil-klorid (**2**) daje tetraedarski intermedijer (**2a**). Izlaskom klorida kao dobre izlazeće skupine nastaje tautomer konačnog produkta (**2b**). Prototropnim pomakom nastaje tautomer (**3**) favoriziran uslijed bolje konjugacije sustava (Shema 12).



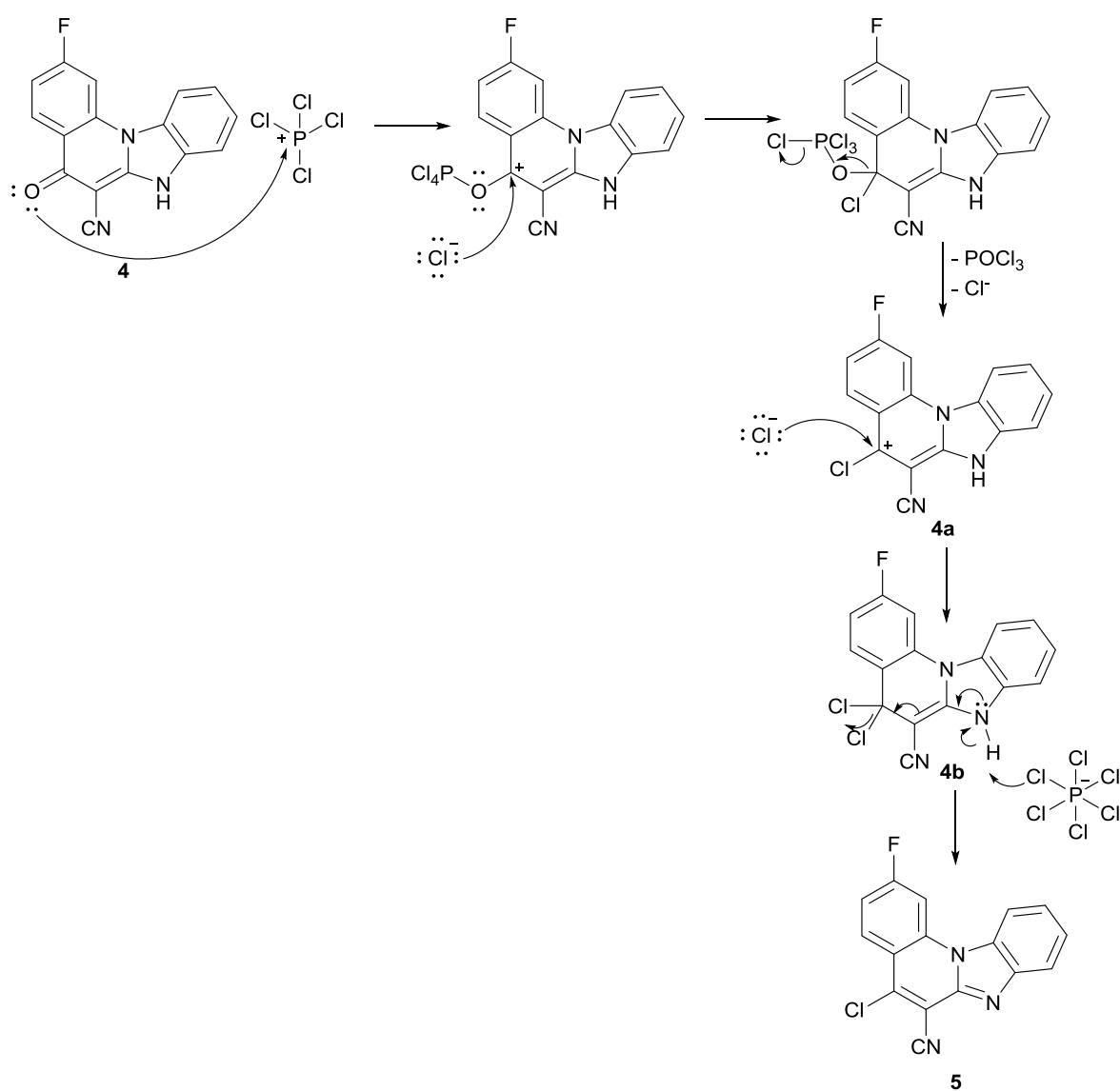
Shema 11. Predloženi mehanizam aciliranja 2-cijanometilbenzimidazola (2)

U drugom koraku sinteze provedena je ciklizacija akrilonitrilnog derivata **3** uz bazu kalijev *tert*-butoksid pri povišenoj temperaturi. Reakcija se odvija prema mehanizmu nukleofilne aromatske supstitucije. Baza odcjepljuje proton benzimidazolne jezgre spoja **3** pri čemu nastaje dobar nukleofil (**3a**) koji napada ugljikov atom aromatskog prstena na kojem je vezan klor, a u orto-položaju mu je vezana elektron-odvlačeća karbonilna skupina. Izlaskom klora kao dobre izlazeće skupine iz tetraedarskog intermedijera (**3b**) dolazi do formiranja tetracikličkog ketona **4** (Shema 12).



Shema 12. Predloženi mehanizam ciklizacije spoja 3

Produkt nukleofilne aromatske supstitucije **4** kloriran je klasičnom metodom<sup>59</sup> fosforovim(V) kloridom u fosforil-kloridu u svrhu dobivanja željenog dihalogenidnog prekursora (**5**) za sintezu azida. Na Shemi 13 predložen je mehanizam te reakcije.<sup>60, 61</sup> Reakcija se odvija preko gem-dihalidnog intermedijera (**4b**) koji eliminacijom klorovodika daje konačni produkt (**5**). Kisikov atom karbonilne skupine ponaša se kao Lewisova baza te donira par elektrona  $\text{PCl}_4^+$  kationu nakon čega dolazi do adicije klorida. Izlaskom  $\text{POCl}_3$  nastaje karbokation **4a** koji tvori vezu s klorovim atomom uz nastajanje vicinalnog diklorida **4b**. Prisutne  $\text{PCl}_6^-$  ionske vrste izvor su kloridnog iona koji se ponaša kao baza te reakcijom s **4a** daje željeni produkt **5**. Pokretačka sila reakcije je nastajanje aromatskog prstena.

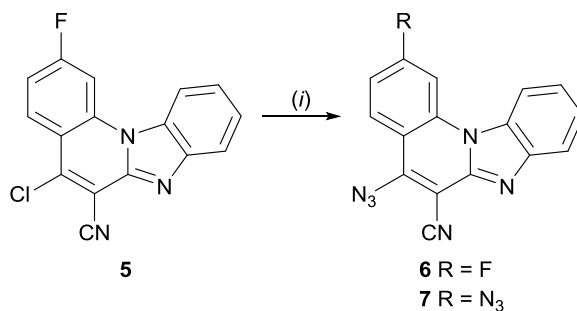


13. Predloženi mehanizam kloriranja spoja **4**

Shema

#### 4.1.2. Sinteza azidnih derivata 6 i 7

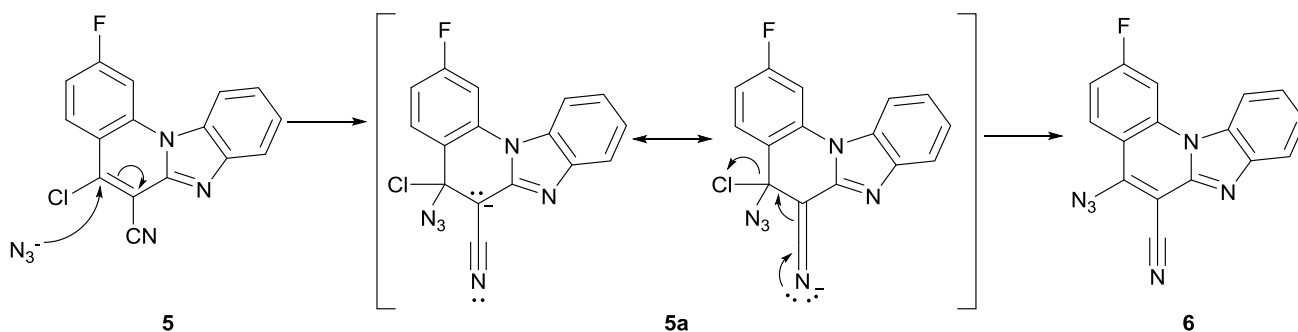
Monoazidni derivat (6) i diazidni derivat (7) priređeni su reakcijom 2-fluor-5-klorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila (5) s natrijevim azidom u acetonu prema Shemi 14.



Shema 14. Sinteza monoazidnog derivata 6 i diazidnog derivata 7. Reagensi i uvjeti: (i) NaN<sub>3</sub>, aceton

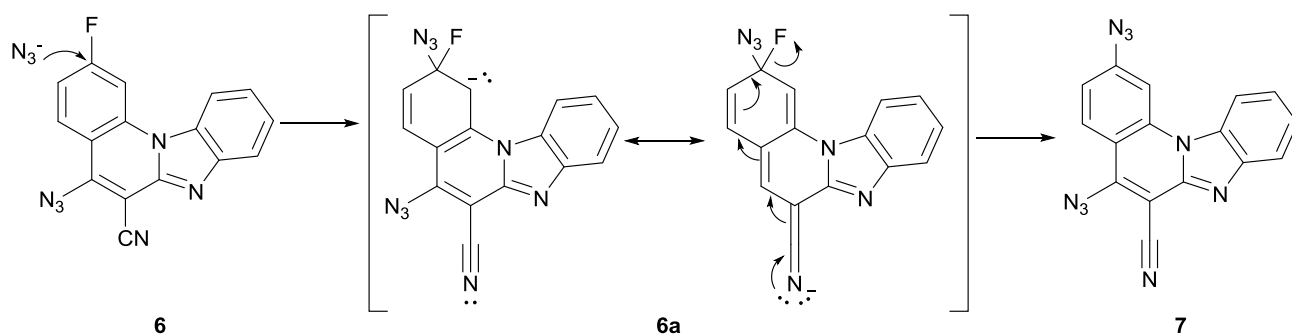
Produkti reakcije nastaju nukleofilnom aromatskom supstitucijom uz fluoridni i kloridni ion kao izlazne skupine. Reakcija se odvija prema adicijsko-eliminacijskom mehanizmu za koju je poznato da je napad nukleofila korak koji određuje brzinu reakcije. Iz iskorištenja reakcija vidljiv je utjecaj dvaju čimbenika na uspješnost reakcije—utjecaj elektron-odvlačeće skupine i efekt izlazne skupine.

Prilikom nastajanja derivata 6, u prvom koraku reakcije dolazi do nukleofilnog napada azidnog iona na C-5 atom tetracikličkog aromatskog prstena 5, a prisutnost nitrilne skupine omogućuje stvaranje tetraedarskog intermedijera 5a unatoč gubitku aromatskog svojstva. Ta se reakcija odvija dovoljno brzo zbog elektron-odvlačećeg svojstva nitrilne skupine. Ona sudjeluje u rezonanciji anionskog intermedijera te tako smanjuje energiju aktivacije njegovog nastajanja. Klor kao umjereno dobra izlazna skupina za nukleofilnu aromatsku supstituciju također doprinosi polarizacijom Cl-C veze (Shema 15).



Shema 15. Predloženi mehanizam nastanka monoazidnog derivata (6)

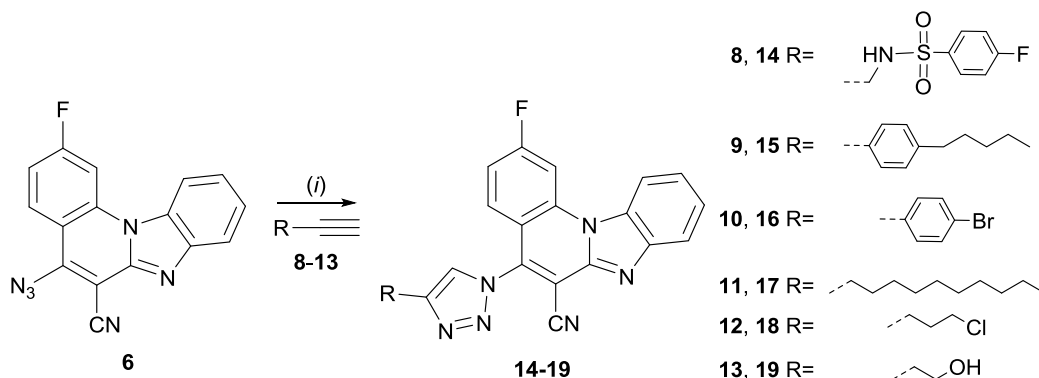
Nastajanje derivata **7** omogućeno je prisutnošću nitrilne skupine, no za stabilizaciju rezonancijom potrebna je dulja konjugacija. Unatoč tome, reakcija se odvija zbog prisutnosti fluora koji je najbolja izlazeća skupina u nukleofilnoj aromatskoj supstituciji. Zbog svoje najveće elektronegativnosti atom fluora najjače polarizira vezu s ugljikom te tako stabilizira anionski intermedijer (**6a**). Kad bi se reakcija izvodila s drugim halogenima vezanima u tom položaju reakcija ne bi bila uspješna. Mehanizam reakcije nastajanja diazidnog derivata **7** predložen je na Shemi 16.



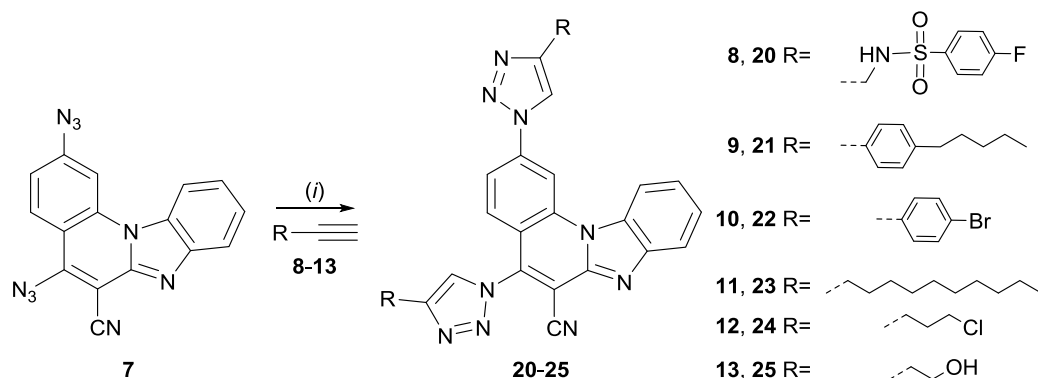
Shema 16. Predloženi mehanizam nastanka bis-azidnog derivata (**7**)

#### 4.1.3. Sinteza mono- i bis-1,2,3-triazolilnih derivata benzimidazo[1,2-a]kinolin-6-karbonitrila (14–25)

Ciljani triazolni derivati (**8–19**) priređeni su Husigenovom 1,3-dipolarnom cikloadicijom iz priređenih mono- i diazidnih 1,3-dipola (**6, 7**) i terminalnih alkina (**8–13**) kataliziranom bakrom(I) kako je prikazano na Shemama 17 i 18.



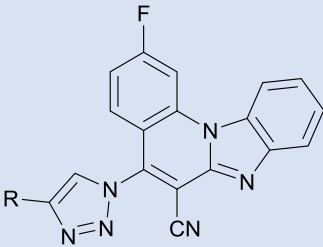
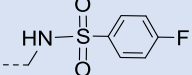
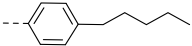

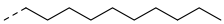


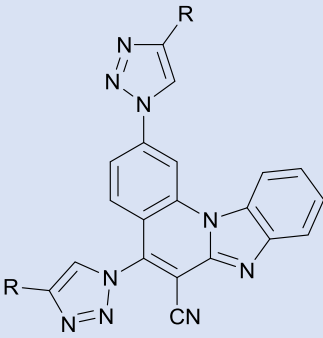
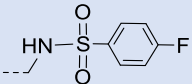
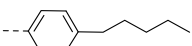

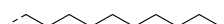


Shema 17. Sinteza mono-1,2,3-triazolilnih derivata benzimidazo[1,2-a]kinolin-6-karbonitrila (**14–19**). Reagensi i uvjeti: (i) Cu(OAc)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, metanol



Shema 18. Sinteza bis-1,2,3-triazolilnih derivata benzimidazo[1,2-a]kinolin-6-karbonitrila (**20–25**). Reagensi i uvjeti: (i) Cu(OAc)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, metanol

Click reakcija provedena je u metanolu uz bakar(II) acetat monohidrat kao prokatalizator. Redukcijom bakrovih(II) iona metanolom nastaje bakrov(I) kation koji se ponaša kao katalizator. Metanol u reakcijskoj smjesi ima ulogu reducensa i otapala. U Tablici 1 prikazana su iskorištenja reakcija.

Tablica 1. Iskorištenja *click* reakcija za dobivanje 1,2,3-triazolinskih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila

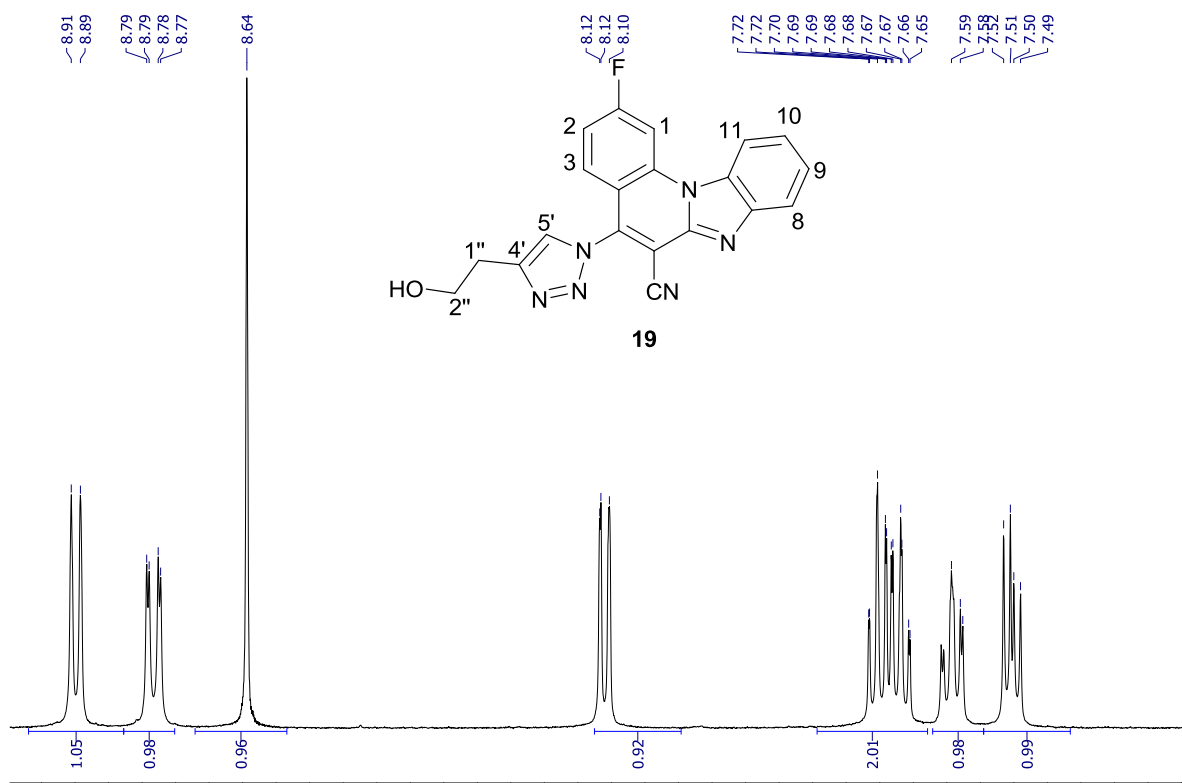
Struktura spoja	Spoj	Supstituent 1,2,3-triazolnog prstena	Iskorištenje <i>click</i> reakcije, %
 <p>14-19</p>	14		83,6
	15		0 <sup>1</sup>
	16		73,2
	17		91,2
	18		89,6
	19		95,4
 <p>20-25</p>	20		0 <sup>1</sup>
	21		92,3
	22		0 <sup>1</sup>
	23		89,8
	24		87,2
	25		91,8

<sup>1</sup> Gubitak produkta zbog zadržavanja na stacionarnoj fazi prilikom kolonske kromatografije.



## 4.2. Spektroskopska karakterizacija

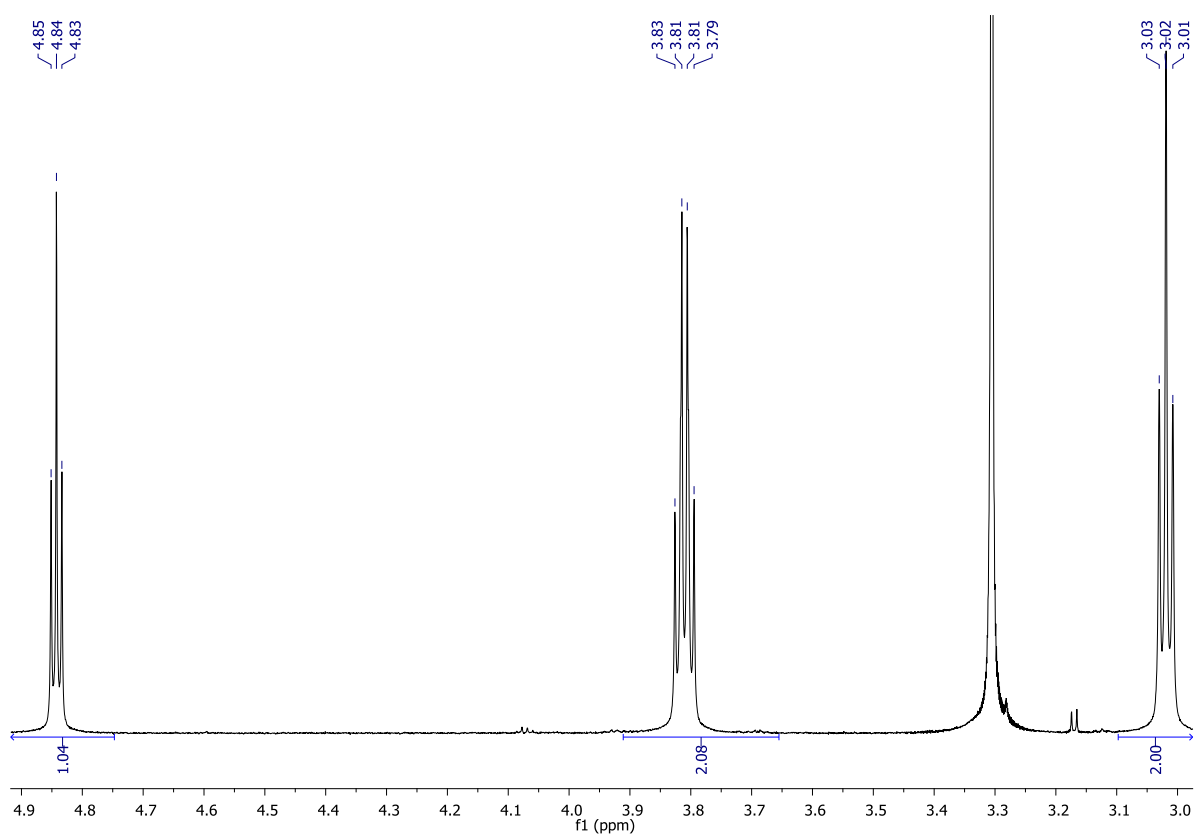
Strukture svih priređenih spojeva određene su  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopijom na temelju kemijskih pomaka, veličine signala, veličine i multipliciteta rezonancija te H-H konstanti sprega. Na Slici 13 prikazano je aromatsko područje  $^1\text{H}$  NMR spektra spoja **19**. Vidljivo je šest signala s ukupnim integralom 7 za jezgre protona benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrilnog prstena. Signali protona s kemijskim pomakom 8,10–8,12 ppm te 8,77–8,91 ppm odgovaraju H-1, H-3 i H-5 protonima kinolinskog prstena dok kompleksni multipleti koji se pojavljuju u području 7,49–7,72 ppm odgovaraju protonima fuzionirane benzimidazolne jezgre. Intenzivan singlet na 8,64 ppm H-5 protona 1,2,3-triazolnog prstena potvrđuje njegovo formiranje *click* reakcijom. U spektrima ostalih mono-1,2,3-triazolilnih derivata pojavljuju se analogni signali.



Slika 13. Aromatsko područje  $^1\text{H}$  NMR spektra mono-1,2,3-triazolilnog derivata **19**

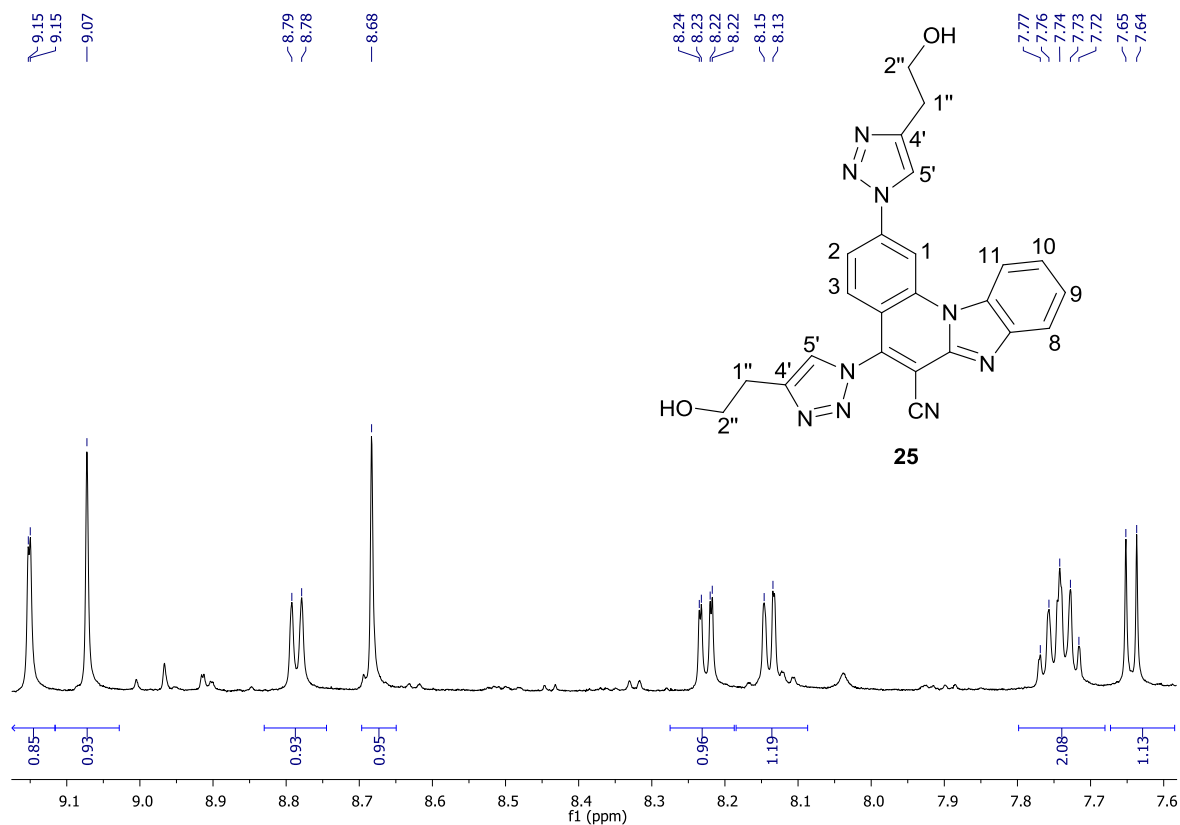
3

Na Slici 14 prikazano je alifatsko područje  $^1\text{H}$  NMR spektra spoja **19** u kojem se pojavljuju signali protona hidroksietilne skupine vezane u 4-položaju 1,2,3-triazolnog prstena. Signal hidroksilne skupine javlja se na 4,84 ppm te se spreže s vicinalnim protonima u triplet. To ukazuje da ne dolazi do izmjene protona vezanog na kisik. Odgovarajući protoni metilenskih skupina prisutni su na pomacima 3,02 i 3,81 ppm. U  $^1\text{H}$  NMR spektrima ostalih mono-1,2,3-triazolilnih derivata pojavljuju se odgovarajući signali za skupinu vezanu na C-4' atom 1,2,3-triazolnog prstena ovisno o prirodi supstituenta.



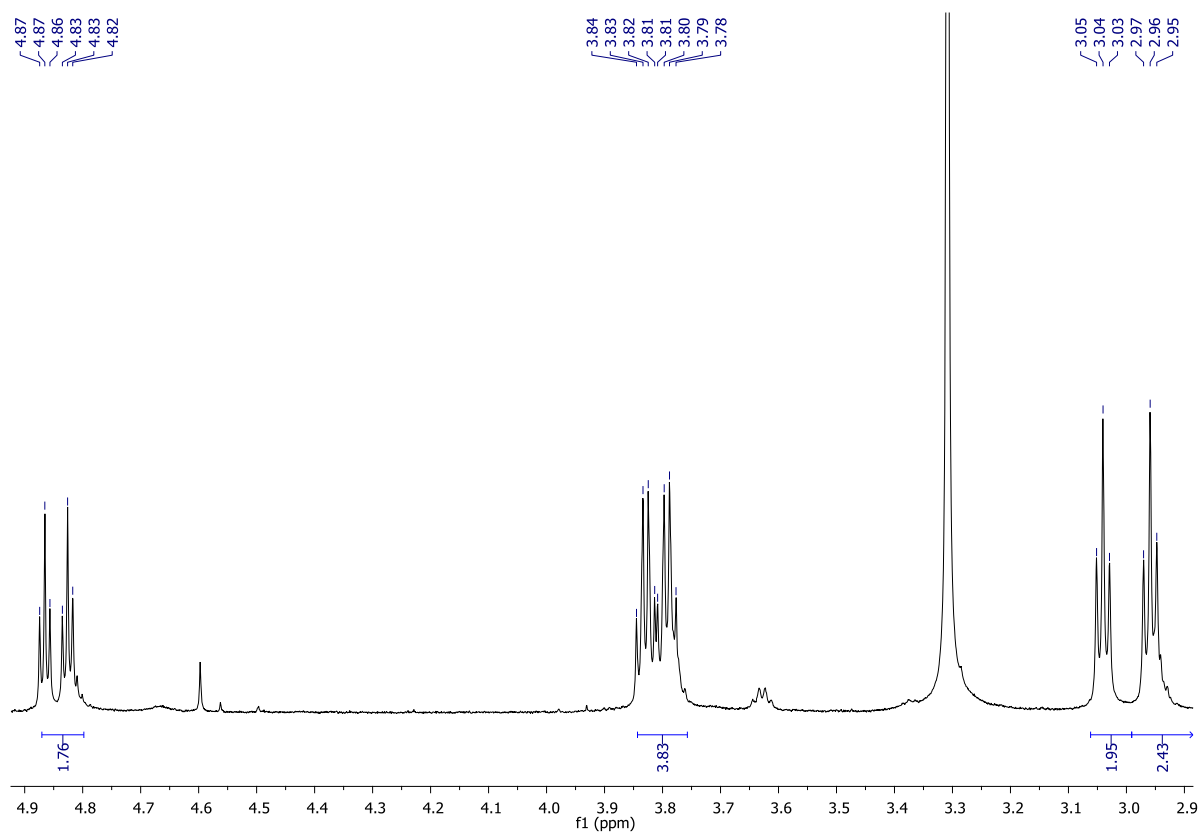
Slika 14. Alifatsko područje  $^1\text{H}$  NMR spektra mono-1,2,3-triazolilnog derivata **19**

Slika 15 prikazuje aromatsko područje  $^1\text{H}$  NMR spektra bis-1,2,3-triazolnog derivata **25**. U spektru je vidljivo da se pojavljuju dva singleta na 8,68 i 9,07 ppm za H-5' vezane protone 1,2,3-triazolne jezgre što je dokaz uspješnog nastanka dvaju 1,2,3-triazolnih prstena *click* reakcijom. Vidljivi su karakteristični protoni benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrilnog sustava.



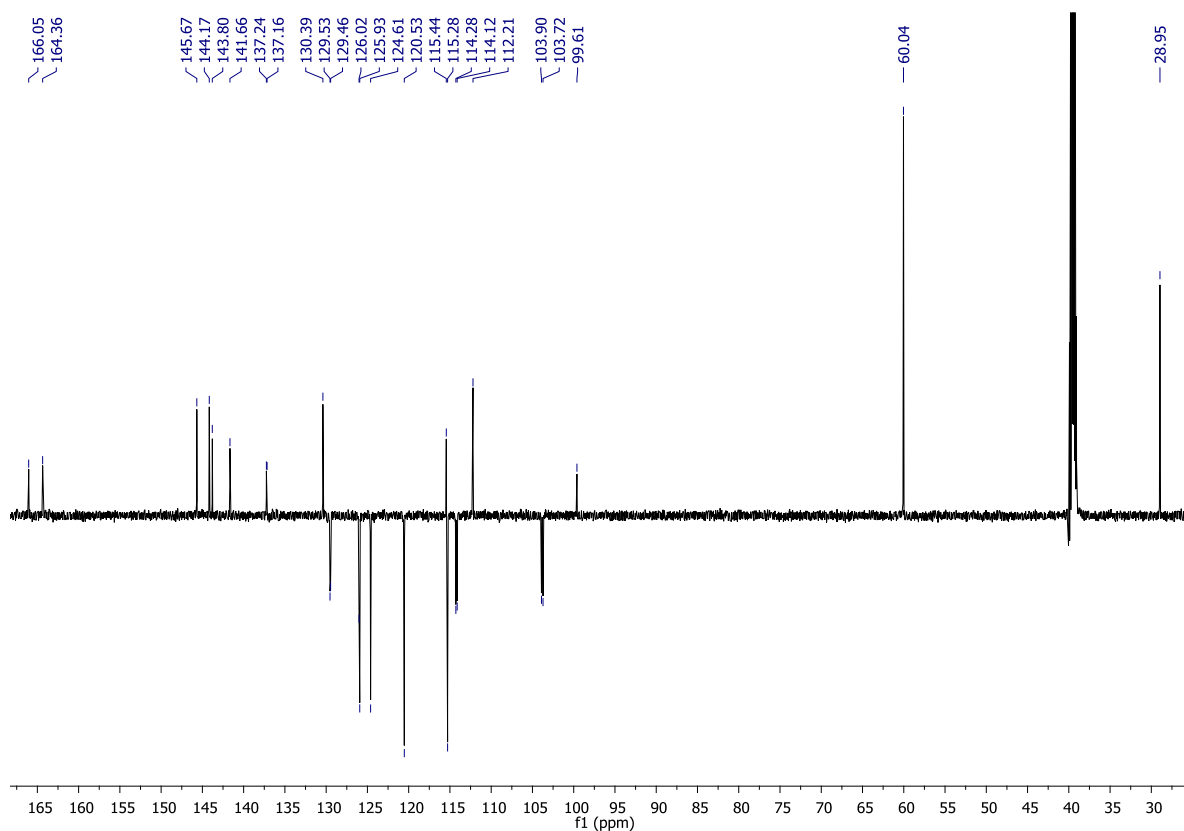
Slika 15. Aromatsko područje  $^1\text{H}$  NMR spektra bis-1,2,3-triazolnog derivata **25**

Alifatsko područje  $^1\text{H}$  NMR spektra spoja **25** prikazano je na Slici 16. Vidljivi su signali za protone hidroksilne skupine na 4,85 ppm te metilenske protone na 3,81 i 3,00 ppm.



Slika 16. Alifatsko područje  $^1\text{H}$  NMR spektra bis-1,2,3-triazolilnog derivata **25**

Na Slici 17 prikazan je  $^{13}\text{C}$  NMR spektar mono-1,2,3-triazolilnog derivata **19**. U spektru je prisutno dvanaest signala pozitivnog intenziteta i osam signala negativnog intenziteta.



Slika 17.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar mono-1,2,3-triazolilnog derivata **19**

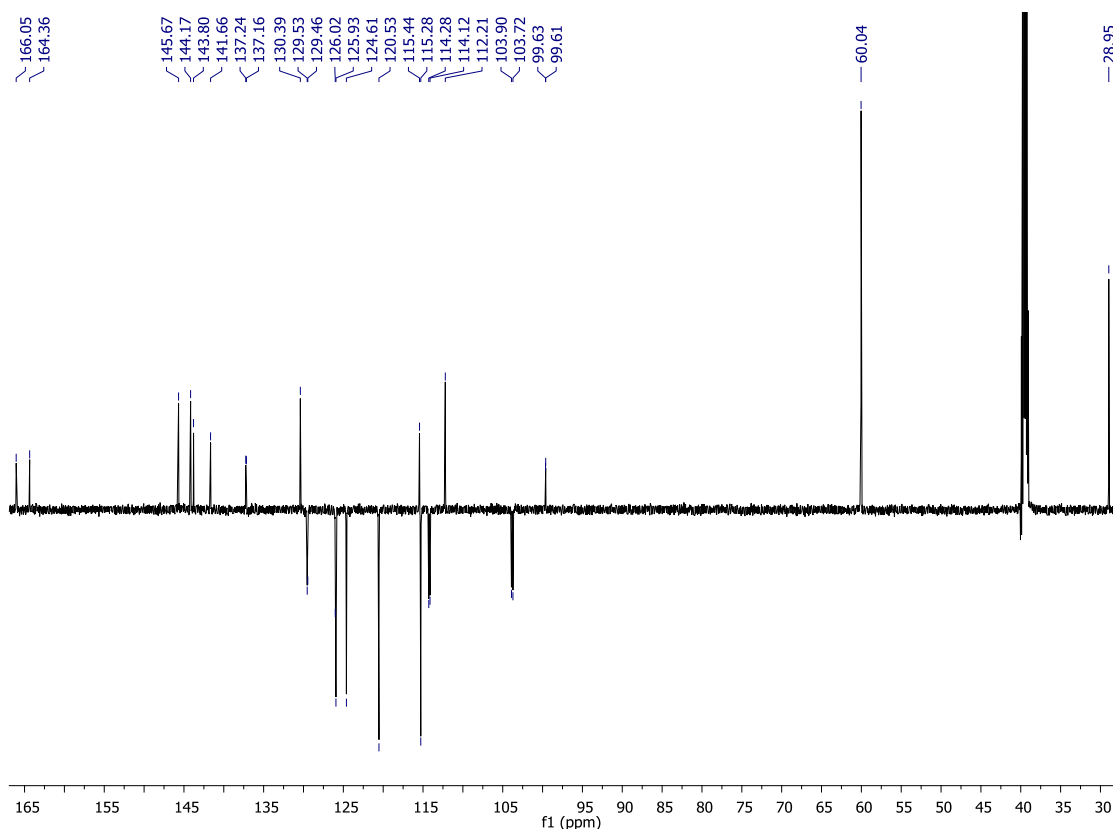
Važnu informaciju o strukturi spoja daju signali prikazani u Tablici 2.

Tablica 2. Signali  $^{13}\text{C}$  NMR APT spektra mono-1,2,3-triazolilnog derivata **19**

Kemijski pomak (ppm)	Oblik signala	Konstanta sprege, $J_{\text{CF}}$ (Hz)	$^{13}\text{C}$ jezgra
99,62	dublet	2,91	C-4a
103,81	dublet	27,77	C-1 ili C-3
114,20	dublet	23,49	C-1 ili C-3
129,49	dublet	11,17	C-4
137,20	dublet	12,15	C-12a
165,20	dublet	255,34	C-2

S obzirom da dolazi do spin-spin sprege  $^{13}\text{C}$  i  $^{19}\text{F}$  jezgri, na temelju kemijskog pomaka pojedinog signala i konstanti sprege, moguće je asignirati pojedine jezgre na aromatskom prstenu na koji je vezan fluor na temelju literaturnih podataka.<sup>62</sup> To je također potvrda da prilikom supstitucije dolazi do izmjene klora u položaju C-5 spoja **5** azidom te da se u tom položaju formira 1,2,3-triazolni prsten *click* reakcijom.

Slika 18 prikazuje spektar bis-1,2,3-triazolilnog spoja **25**. U spektru je prisutno devet negativnih i petnaest pozitivnih signala kao što je i očekivano s obzirom na pretpostavljenu strukturu spoja. Ne dolazi do cijepanja signala što je dokaz izlaska fluora iz molekule prilikom supstitucije azidom te formiranja dva 1,2,3-triazolna prstena vezanih na C-2 i C-5 položajima.

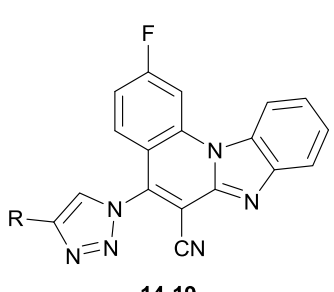
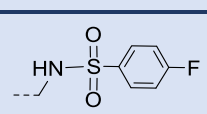
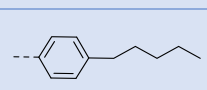
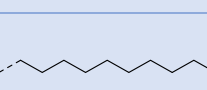
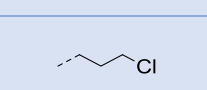
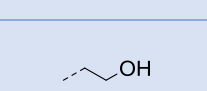
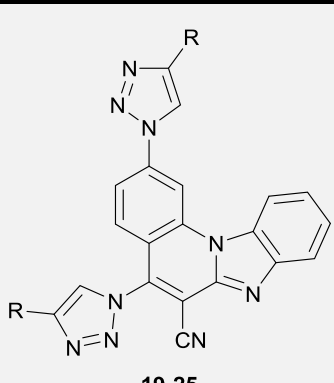
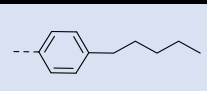
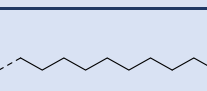
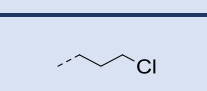
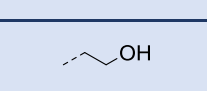


Slika 18.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar bis-1,2,3-triazolilnog derivata **25**

### 4.3. Ispitivanje biološke aktivnosti priređenih spojeva

Mono- i bis-1,2,3-triazolilnim derivatima benzimidazo[1,2-*a*]kinolina-6-karbonitrila ispitana je antiproliferativna aktivnost *in vitro*. Aktivnost je ispitana na staničnim linijama karcinoma debelog crijeva (HCT116), karcinoma dojke (MCF-7) i karcinoma pluća (H460). Rezultati ispitivanja biološke aktivnosti prikazani su u Tablici 3.

Tablica 3. Rezultati ispitivanja biološke aktivnosti priređenih mono- i bis-1,2,3-triazolilnih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina-6-karbonitrila

Spoj	Struktura ispitivanog spoja	Supstituent 1,2,3-triazolnog prstena	GI <sub>50</sub> <sup>2</sup> (μM)		
			Stanična linija		
			HCT116	MCF-7	H460
14	 <p>14-19</p>		2,0±0,01	3,9±1,00	3,4±0,70
15			7,0±3,00	24,0±7,00	32,0±12,00
17			3,0±1,80	5,0±0,05	7,0±1,70
18			0,5±0,30	2,0±0,16	0,7±0,30
19			0,6±0,60	2,0±0,40	1,0±0,20
21	 <p>19-25</p>		8,0±7,00	18,0±3,00	16,0±1,80
23			16,0±2,00	15,0±3,00	17,0±3,00
24			2,5±0,40	6,9±12,00	3,0±1,00
25			59,0±16,00	35,0±21,00	≥100,00

<sup>2</sup> GI<sub>50</sub> vrijednost odnosi se na koncentraciju ispitivane tvari koja smanjuje proliferaciju stanica tumora 50%.

Iz podataka prikazanih u Tablici 3 vidljivo je da ispitani spojevi pokazuju najizraženiju aktivnost na stanice kolorektalnog karcinoma, osim za spojeve **23** i **25**. Najaktivniji su spojevi **18** i **19** u nanomolarnoj koncentraciji. Bolju aktivnost pokazali su mono-1,2,3-triazolilni od bis-1,2,3-triazolilnih derivata. Kod mono- i bis-1,2,3-triazolilnih spojeva, derivati s malim polarnim skupinama pokazali su bolju aktivnost od derivata s velikim aromatskim ili alifatskim supstituentima vezanim na C-4 položaj 1,2,3-triazolnog prstena. Važno je spomenuti i prisutnost fluora u monosupstituiranim derivatima. Atom fluora igra važnu ulogu u dizajnu novih lijekova s obzirom da se ponaša kao bioizoster vodika.<sup>63</sup> Kao supstituent odlikuje se malim radijusom i molarnom masom te velikom elektronegativnošću. Veza između fluora i ugljika vrlo je snažna, jako polarizirana i ima malu energiju  $\sigma^*$  orbitale što se odražava na induktivne efekte i elektrostatske interakcije s biomolekulama.



## **5. ZAKLJUČAK**

- Provedena je sinteza mono- i bis-1,2,3-triazolilnih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina.
- Prekursor za sintezu azida **5** pripremljen je sintezom u tri koraka. Aciliranjem spoja **1** je dobiven akrilonitrilni derivat **3** čijom ciklizacijom nastaje spoj **4**. Njegovim kloriranjem dobiven je željeni prekursor **5**.
- Azidni prekursori **6** i **7** koji služe kao 1,3-dipoli u sintezi ciljanih 1,2,3-triazolnih derivata dobiveni su kao smjesa produkata reakcijom spoja **5** s natrijevim azidom.
- Regioselektivnom Huisgenovom 1,3-dipolarnom cikloadicijom azida **6** i **7** s komercijalno dostupnim terminalnim alkinima (**1–5**) priređeni su odgovarajući 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazolni derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (**14–25**) uz Cu(I) katalizator. Sintaza 1,2,3-triazolnih derivata izvedena je prema načelima *click* kemije.
- Novopripravljenim spojevima struktura je potvrđena primjenom <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektroskopije.
- Antitumorska aktivnost ispitana je na staničnim linijama karcinoma debelog crijeva (HCT116), karcinoma dojke (MCF-7) i karcinoma pluća (H460). Mono-1,2,3-triazolilni derivati pokazuju izraženiju antitumorsku aktivnost od bis-1,2,3-triazolilnih derivata. Derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **18** i **19** koji sadrže 3-klorpropilni i 2-hidroksietilni lanac u položaju 4 triazola imaju antiproliferativnu aktivnost u nanomolarnim koncentracijama.

## 6. POPIS KORIŠTENIH KRATICA

ctDNA	cirkulirajuća tumorska DNA
DENV	dengue virus
DNA	deoksiribonukleinska kiselina
HBV	virus hepatitisa b
HIV	virus humane imunodeficijencije
IC50	polovina maksimalne inhibitorne koncentracije
NMR	nuklearna magnetska rezonancija
RNA	ribonukleinska kiselina
TLC	tankoslojna kromatografija
UV/Vis	ultraljubičasta vidljiva spektroskopija
WNV	virus Zapadnog Nila
YFV	virus žute groznice

## **7. LITERATURA**

1. Mintas, M. (2013). *Medicinska kemija protutumorskih lijekova*. Zagreb: Medicinska naklada, 2.
2. Patrick, G. (2013). *An introduction to medicinal chemistry*. 5th ed. Oxford: Oxford University Press, 514.
3. Koene, R., Prizment, A., Blaes, A. and Konety, S. (2016). Shared Risk Factors in Cardiovascular Disease and Cancer. *Circulation*, **133** (11), 1104-1114.
4. Onkologija. (2018). *Home - Onkologija*. [online] Dostupno na: <http://www.onkologija.hr/> [07.09.2018].
5. Martins, P., Jesus, J., Santos, S., Raposo, L., Roma-Rodrigues, C., Baptista, P. and Fernandes, A. (2015). Heterocyclic Anticancer Compounds: Recent Advances and the Paradigm Shift towards the Use of Nanomedicine's Tool Box. *Molecules*, **20** (9), 16852-16891.
6. Shafakat Ali, N., Dar, B., Pradhan, V. and Farooqui, M. (2013). Chemistry and Biology of Indoles and Indazoles: A Mini-Review. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, **13** (12), 1792-1800.
7. Kaushik, N., Kaushik, N., Attri, P., Kumar, N., Kim, C., Verma, A. and Choi, E. (2013). Biomedical Importance of Indoles. *Molecules*, **18** (6), 6620-6662.
8. Howard, J. (2003). Dorothy Hodgkin and her contributions to biochemistry. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **4** (11), 891-896.
9. Tunçbilek, M., Kiper, T. and Altanlar, N. (2009). Synthesis and in vitro antimicrobial activity of some novel substituted benzimidazole derivatives having potent activity against MRSA. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **44** (3), 1024-1033.
10. Shingalapur, R., Hosamani, K., Keri, R. and Hugar, M. (2010). Derivatives of benzimidazole pharmacophore: Synthesis, anticonvulsant, antidiabetic and DNA cleavage studies. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **45** (5), 1753-1759.
11. Hranjec, M., Starčević, K., Pavelić, S., Lučin, P., Pavelić, K. and Karminski Zamola, G. (2011). Synthesis, spectroscopic characterization and antiproliferative evaluation in vitro of novel Schiff bases related to benzimidazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **46** (6), 2274-2279.
12. Camacho, J., Barazarte, A., Gamboa, N., Rodrigues, J., Rojas, R., Vaisberg, A., Gilman, R. and Charris, J. (2011). Synthesis and biological evaluation of benzimidazole-5-carbohydrazide derivatives as antimalarial, cytotoxic and antitubercular agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **19** (6), 2023-2029.

13. Kuş, C., Ayhan-Kılıçgil, G., Özbey, S., Kaynak, F., Kaya, M., Çoban, T. and Can-Eke, B. (2008). Synthesis and antioxidant properties of novel N-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-amine and 4-methyl-2H-1,2,4-triazole-3(4H)-thione derivatives of benzimidazole class. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **16** (8), 4294-4303.
14. Starčević, K., Kralj, M., Ester, K., Sabol, I., Grce, M., Pavelić, K. and Karminski-Zamola, G. (2007). Synthesis, antiviral and antitumor activity of 2-substituted-5-amidino-benzimidazoles. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **15** (13), 4419-4426.
15. Woolley, D. (1944). Some biological effects produced by benzimidazole and their reversal by purines. *Journal of Biological Chemistry*, **152** (2), 255-232.
16. Budow, S., Kozłowska, M., Gorska, A., Kazimierczuk, Z., Eickmeier, H., La Colla, P., Gosselin, G. and Seela, F. (2008). Substituted benzimidazoles: antiviral activity and synthesis of nucleosides. *Archive for Organic Chemistry*, **2009**(3), 225.
17. Ji, Q., Li, J., Ding, F., Han, J., Pang, M., Liu, S. and Meng, J. (2006). Regio- and stereocontrolled synthesis and conformational analysis of benzimidazole nucleosides. *Tetrahedron*, **62** (11), 2529-2536.
18. Soskic, V. and Joksimovic, J. (1998). Bioisosteric approach in the design of new dopaminergic/serotonergic ligands. *Current medicinal chemistry*, **5** (6), 493-512.
19. North, T., Sequer, G., Townsend, L., Drach, J. and Barry, P. (2004). Rhesus Cytomegalovirus Is Similar to Human Cytomegalovirus in Susceptibility to Benzimidazole Nucleosides. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **48** (7), 2760-2765.
20. Martinez, A., Castro, A., Gil, C. and Perez, C. (2001). Recent strategies in the development of new human cytomegalovirus inhibitors. *Medicinal Research Reviews*, **21** (3), 227-244.
21. Leoni, L., Bailey, B., Reifert, J., Bendall, H., Zeller, R., Corbeil, J., Elliott, G. and Niemeyer, C. (2008). Bendamustine (Treanda) Displays a Distinct Pattern of Cytotoxicity and Unique Mechanistic Features Compared with Other Alkylating Agents. *Clinical Cancer Research*, **14** (1), 309-317.
22. Strumberg, D., Harstrick, A., Doll, K., Hoffmann, B. and Seeber, S. (1996). Bendamustine hydrochloride activity against doxorubicin-resistant human breast carcinoma cell lines. *Anti-Cancer Drugs*, **7** (4), 415-421.
23. Ji, Q., Li, J., Ding, F., Han, J., Pang, M., Liu, S. and Meng, J. (2006). Regio- and stereocontrolled synthesis and conformational analysis of benzimidazole nucleosides. *Tetrahedron*, **62** (11), 2529-2536.

24. Yamashkin, S. and Oreshkina, E. (2006). Traditional and modern approaches to the synthesis of quinoline systems by the Skraup and Doebner-Miller methods. (Review). *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, **42** (6), 701-718
25. Wiesner, J., Ortmann, R., Jomaa, H. and Schlitzer, M. (2003). New Antimalarial Drugs. *Angewandte Chemie International Edition*, **42** (43), 5274-5293.
26. Nqoro, X., Tobeka, N. and Aderibigbe, B. (2017). Quinoline-Based Hybrid Compounds with Antimalarial Activity. *Molecules*, **22** (12), 2268.
27. Bhattacharjee, M. (2016). *Chemistry of Antibiotics and Related Drugs*. 1st ed. Switzerland: Springer, Cham, 184-186.
28. Cheuka, P., Mayoka, G., Mutai, P. and Chibale, K. (2016). The Role of Natural Products in Drug Discovery and Development against Neglected Tropical Diseases. *Molecules*, **22** (1), 58.
29. Afzal, O., Kumar, S., Haider, M., Ali, M., Kumar, R., Jaggi, M. and Bawa, S. (2015). A review on anticancer potential of bioactive heterocycle quinoline. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **97**, 871-910.
30. Kumar, S., Bawa, S. and Gupta, H. (2009). Biological Activities of Quinoline Derivatives. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, **9** (14), 1648-1654.
31. R. Solomon, V. and Lee, H. (2011). Quinoline as a Privileged Scaffold in Cancer Drug Discovery. *Current Medicinal Chemistry*, **18** (10), 1488-1508.
32. Musiol, R. (2017). An overview of quinoline as a privileged scaffold in cancer drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*, **12** (6), 583-597.
33. Cooper, G. and Irwin, W. (1976). Photocyclisation of 1-styrylimidazoles. A novel route to N-bridgehead compounds. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, (1), 75.
34. Shenoy, V. (1989). Synthesis of benzimidazo-[1,2-*a*]-quinolines: fluorescent disperse dyes. *Dyes and Pigments*, **11** (2), 137-145.
35. Günter, D., Erckel, R. and Fruhbeis, H. (1978). *Benzimidazo-[1,2-*a*]-quinolines*. US 4,124,589.
36. Venkatesh, C., Sundaram, G., Ila, H. and Junjappa, H. (2006). Palladium-Catalyzed Intramolecular N-Arylation of Heteroarenes: A Novel and Efficient Route to Benzimidazo[1,2-*a*]quinolines. *The Journal of Organic chemistry*, **71** (3), 1280-1283.
37. Cai, Q., Li, Z., Wei, J., Fu, L., Ha, C., Pei, D. and Ding, K. (2010). Synthesis of Aza-Fused Polycyclic Quinolines through Copper-Catalyzed Cascade Reactions. *Organic Letters*, **12** (7), 1500-1503.

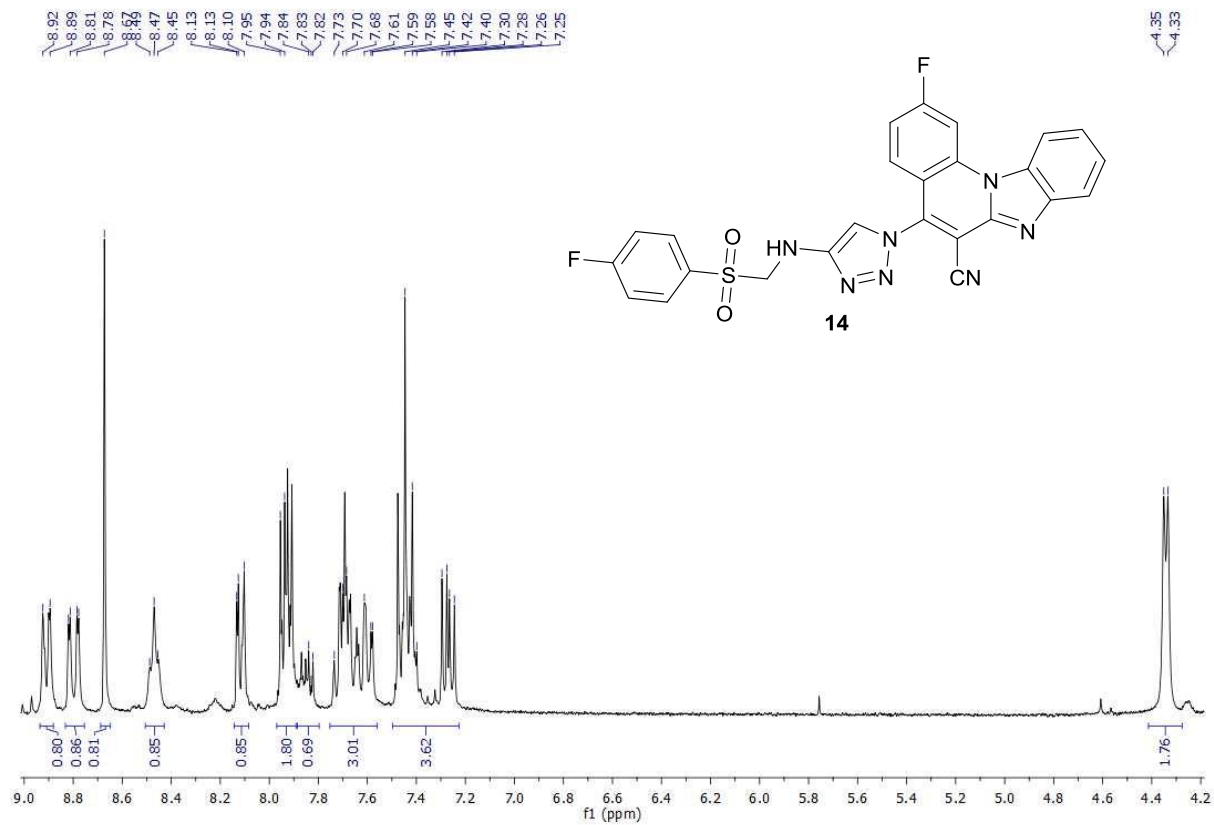
38. Yokomatsu, T., Kato, J., Ito, Y., Ijuin, R. and Aoyama, H. (2016). Synthesis of 5-Aminobenzimidazo[1,2-a]Quinoline Derivatives Through One-Pot Two-Step Cascade Reaction. *Heterocycles*, **93** (2), 613.
39. Hranjec, M., Kralj, M., Piantanida, I., Sedić, M., Šuman, L., Pavelić, K. and Karminski-Zamola, G. (2007). Novel Cyano- and Amidino-Substituted Derivatives of Styryl-2-Benzimidazoles and Benzimidazo[1,2-*a*]quinolines. Synthesis, Photochemical Synthesis, DNA Binding, and Antitumor Evaluation, Part 3. *Journal of Medicinal Chemistry*, **50** (23), 5696-5711.
40. Hranjec, M. and Karminski-Zamola, G. (2007). Synthesis of Novel Benzimidazolyl-substituted Acrylonitriles and Amidino-substituted Benzimidazo[1,2-*a*]Quinolines. *Molecules*, **12** (8), 1817-1828.
41. Hranjec, M., Pavlović, G., Marjanović, M., Kralj, M. and Karminski-Zamola, G. (2010). Benzimidazole derivatives related to 2,3-acrylonitriles, benzimidazo[1,2-*a*]quinolines and fluorenes: Synthesis, antitumor evaluation in vitro and crystal structure determination. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **45** (6), 2405-2417.
42. Perin, N., Hranjec, M., Pavlović, G. and Karminski-Zamola, G. (2011). Novel aminated benzimidazo[1,2-*a*]quinolines as potential fluorescent probes for DNA detection: Microwave-assisted synthesis, spectroscopic characterization and crystal structure determination. *Dyes and Pigments*, **91** (1), 79-88.
43. Perin, N., Nhili, R., Cindrić, M., Bertoša, B., Vušak, D., Martin-Kleiner, I., Laine, W., Karminski-Zamola, G., Kralj, M., David-Cordonnier, M. and Hranjec, M. (2016). Amino substituted benzimidazo[1,2-*a*]quinolines: Antiproliferative potency, 3D QSAR study and DNA binding properties. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **122**, 530-545.
44. Vitaku, E., Smith, D. and Njardarson, J. (2014). Analysis of the Structural Diversity, Substitution Patterns, and Frequency of Nitrogen Heterocycles among U.S. FDA Approved Pharmaceuticals. *Journal of Medicinal Chemistry*, **57** (24), 10257-10274.
45. Krivopalov, V. and Shkurko, O. (2005). 1,2,3-Triazole and its derivatives. Development of methods for the formation of the triazole ring. *Russian Chemical Reviews*, **74** (4), 339-379.
46. Bonandi, E., Christodoulou, M., Fumagalli, G., Perdicchia, D., Rastelli, G. and Passarella, D. (2017). The 1,2,3-triazole ring as a bioisostere in medicinal chemistry. *Drug Discovery Today*, **22** (10), 1572-1581.
47. Agalave, S., Maujan, S. and Pore, V. (2011). Click Chemistry: 1,2,3-Triazoles as Pharmacophores. *Chemistry - An Asian Journal*, **6** (10), 2696-2718.



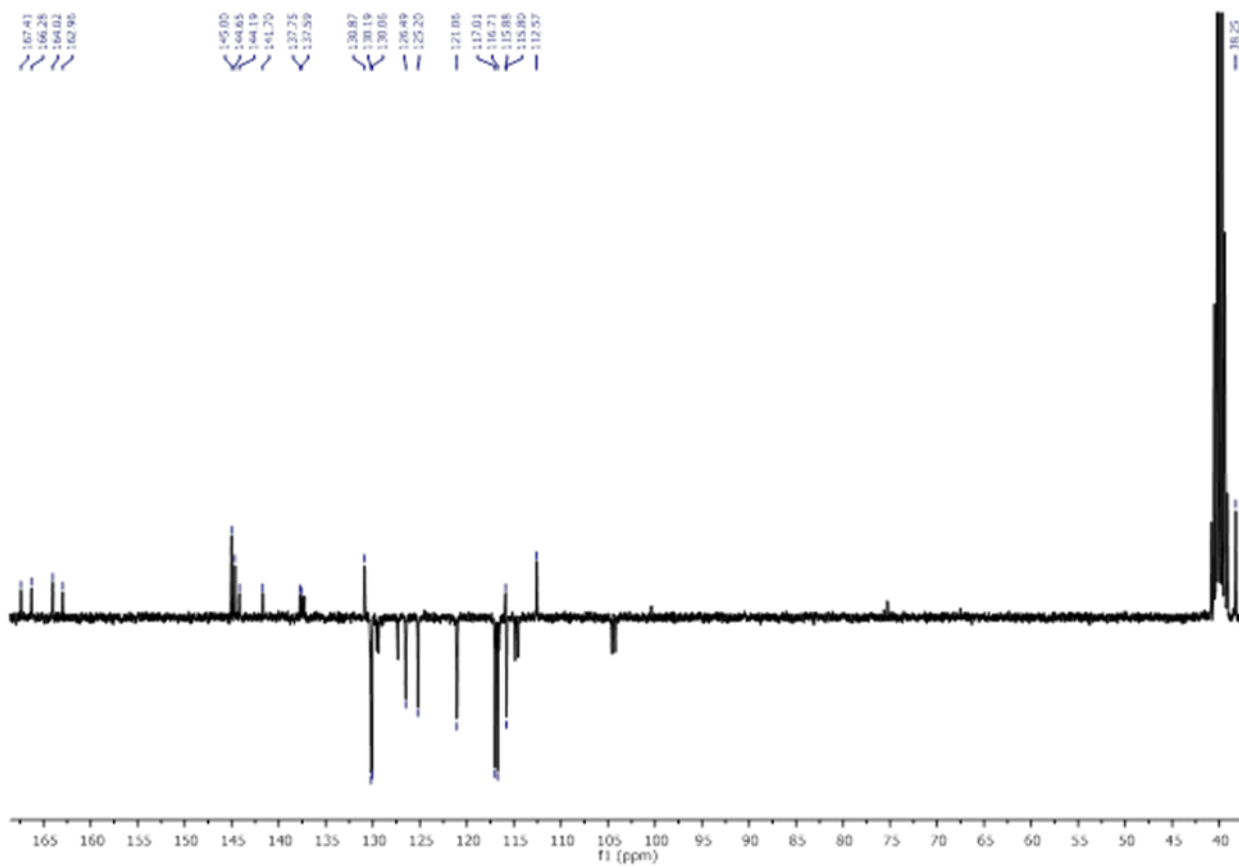
48. Haider, S., Sarwar Alam, M. and Hamid, H. (2014). 1,2,3-Triazoles: Scaffold With Medicinal Significance. *Inflammation and Cell Signaling*, 1.
49. Xia, Y., Qu, F. and Peng, L. (2010). Triazole Nucleoside Derivatives Bearing Aryl Functionalities on the Nucleobases Show Antiviral and Anticancer Activity. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, **10** (9), 806-821.
50. Dheer, D., Singh, V. and Shankar, R. (2017). Medicinal attributes of 1,2,3-triazoles: Current developments. *Bioorganic Chemistry*, **71**, 30-54.
51. Rostovtsev, V., Green, L., Fokin, V. and Sharpless, K. (2002). A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective "Ligation" of Azides and Terminal Alkynes. *Angewandte Chemie International Edition*, **41** (14), 2596-2599
52. Kolb, H. and Sharpless, K. (2003). The growing impact of click chemistry on drug discovery. *Drug Discovery Today*, **8** (24), 1128-1137.
53. Worrell, B., Malik, J. and Fokin, V. (2013). Direct Evidence of a Dinuclear Copper Intermediate in Cu(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloadditions. *Science*, **340** (6131), 457-460.
54. Straub, B. (2007).  $\mu$ -Acetylide and  $\mu$ -alkenylidene ligands in "click" triazole syntheses. *Chemical Communications*, (37), 3868.
55. Nolte, C., Mayer, P. and Straub, B. (2007). Isolation of a Copper(I) Triazolide: A "Click" Intermediate. *Angewandte Chemie International Edition*, **46** (12), 2101-2103.
56. Zhu, L., Brassard, C., Zhang, X., Guha, P. and Clark, R. (2016). On the Mechanism of Copper(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition. *The Chemical Record*, **16** (3), 1501-1517.
57. Jin, L., Tolentino, D., Melaimi, M. and Bertrand, G. (2015). Isolation of bis(copper) key intermediates in Cu-catalyzed azide-alkyne "click reaction." *Science Advances*, **1** (5), e1500304-e1500304.
58. Worrell, B., Malik, J. and Fokin, V. (2013). Direct Evidence of a Dinuclear Copper Intermediate in Cu(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloadditions. *Science*, **340** (6131), 457-460.
59. Iacobucci, C., Reale, S., Gal, J. and De Angelis, F. (2015). Dinuclear Copper Intermediates in Copper(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition Directly Observed by Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Angewandte Chemie*, **127** (10), 3108-3111
60. Larock, R. (1999). *Comprehensive organic transformations*. 2nd ed. New York: Wiley-VHC, 722.

61. March, J. (2005). *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*. 7th ed. New York: Wiley, 1105-1107.
62. Newman, M. and Wood, L. (1959). Concerning the Mechanism of the Reaction of Phosphorus Pentachloride with Ketones. *Journal of the American Chemical Society*, **81** (16), 4300-4303.
63. Pretsch, E., Bühlmann, P. and Badertscher, M. (2009). *Structure determination of organic compounds*. 4th ed. Berlin: Springer, 110.
64. Meanwell, N. (2018). Fluorine and Fluorinated Motifs in the Design and Application of Bioisosteres for Drug Design. *Journal of Medicinal Chemistry*, **61** (14), 5822-5880.

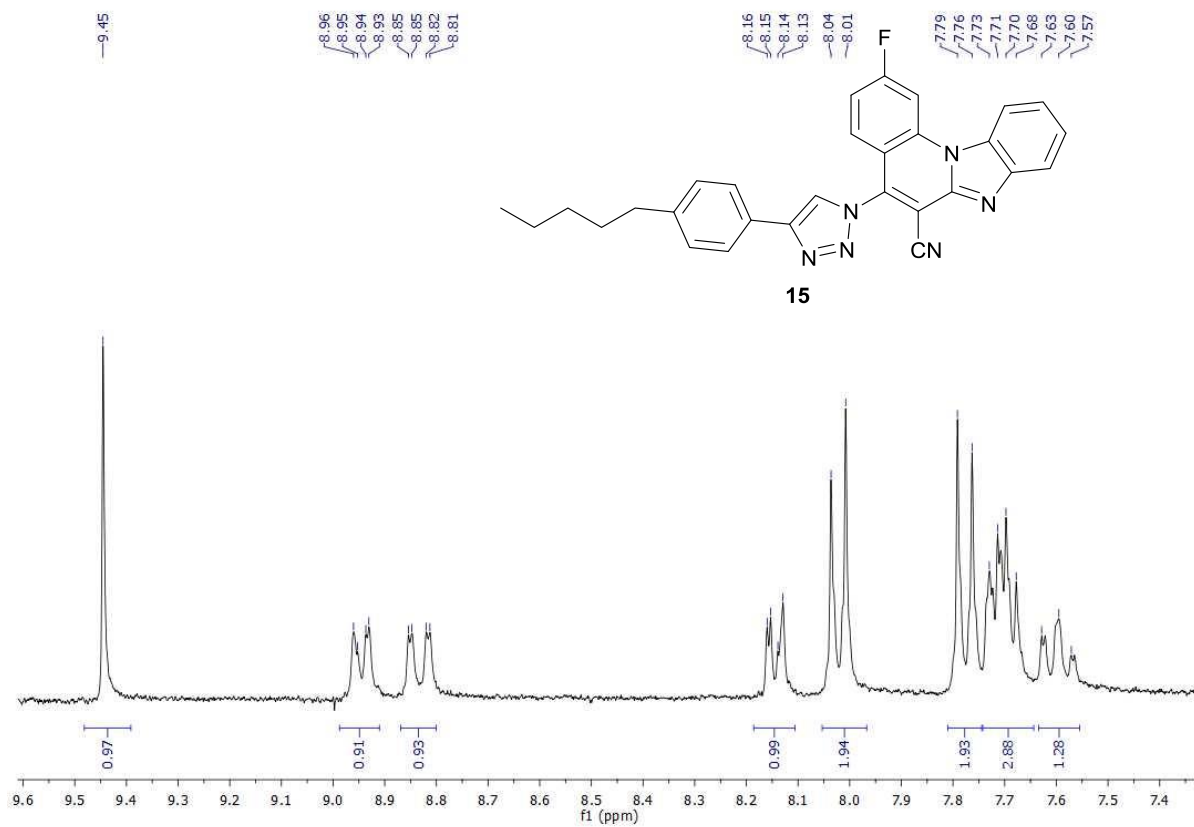
## **8. PRILOZI**



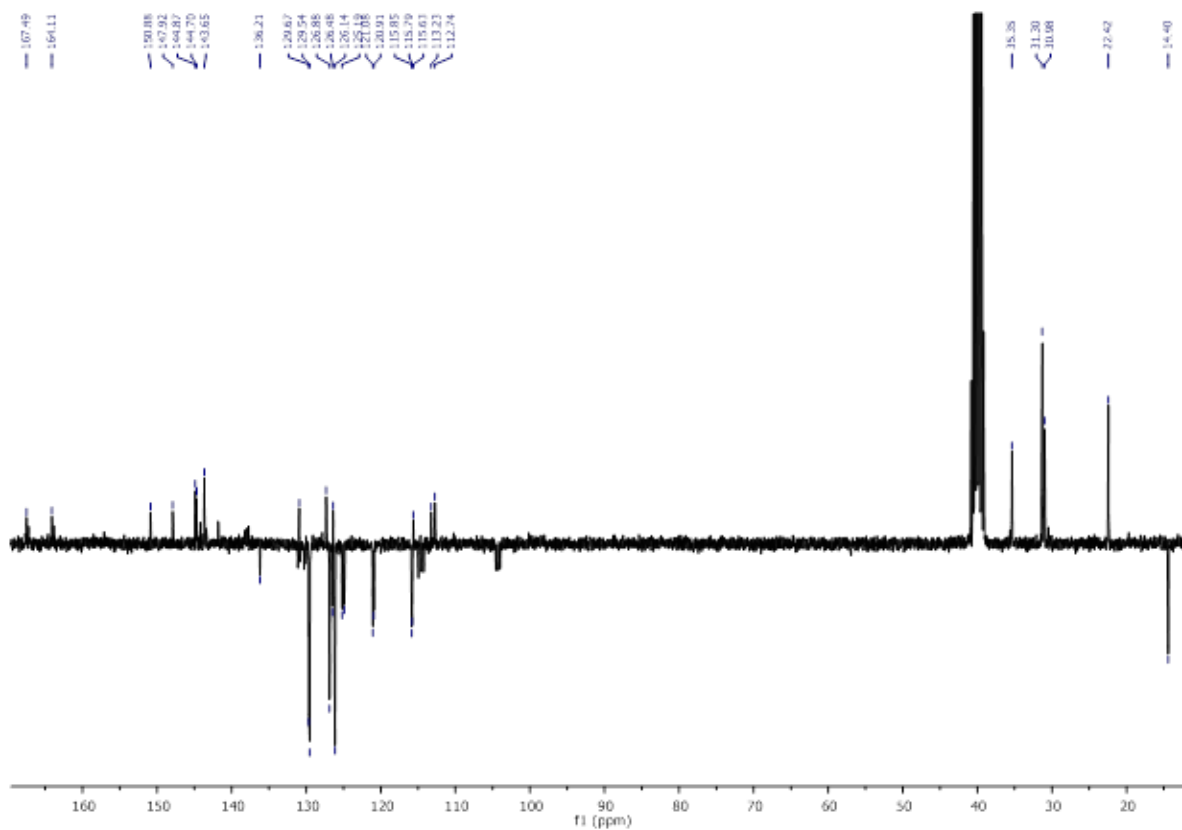
Slika 19. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 14



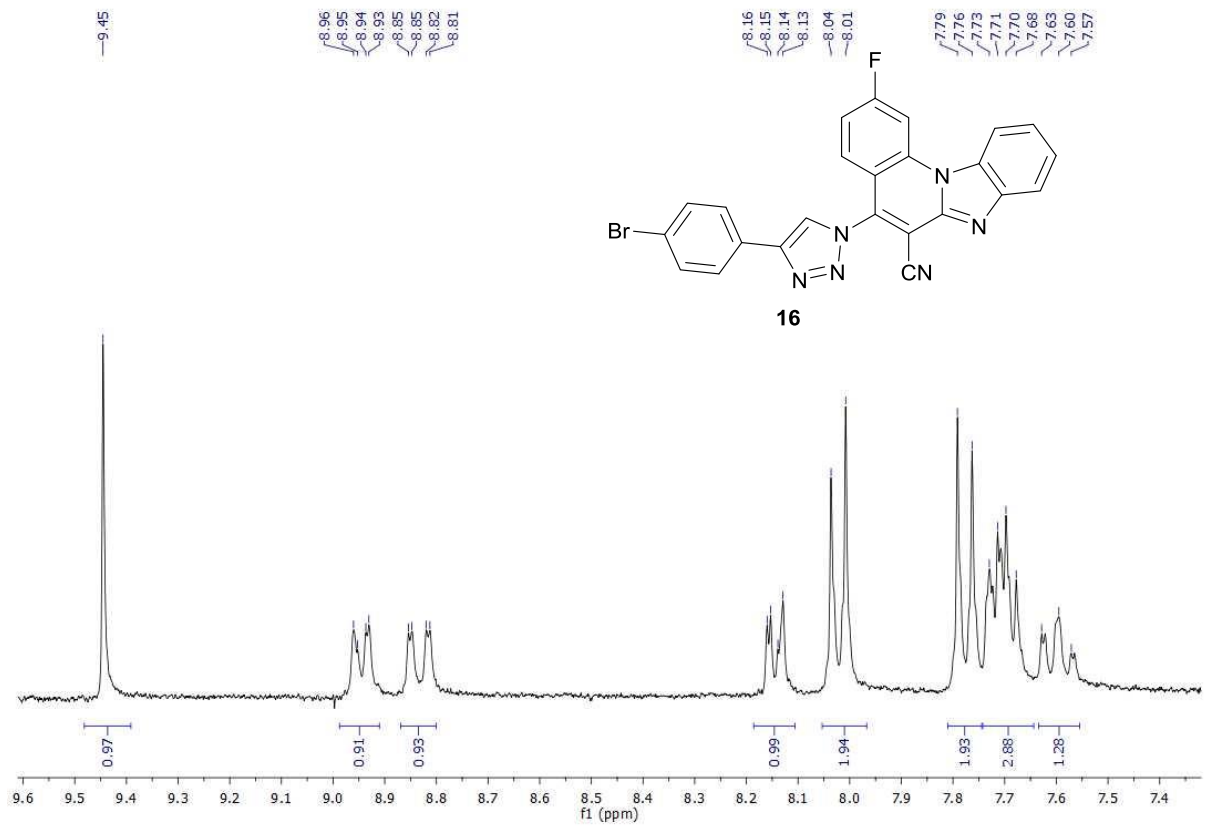
Slika 20. <sup>13</sup>C NMR spektar spoja 14



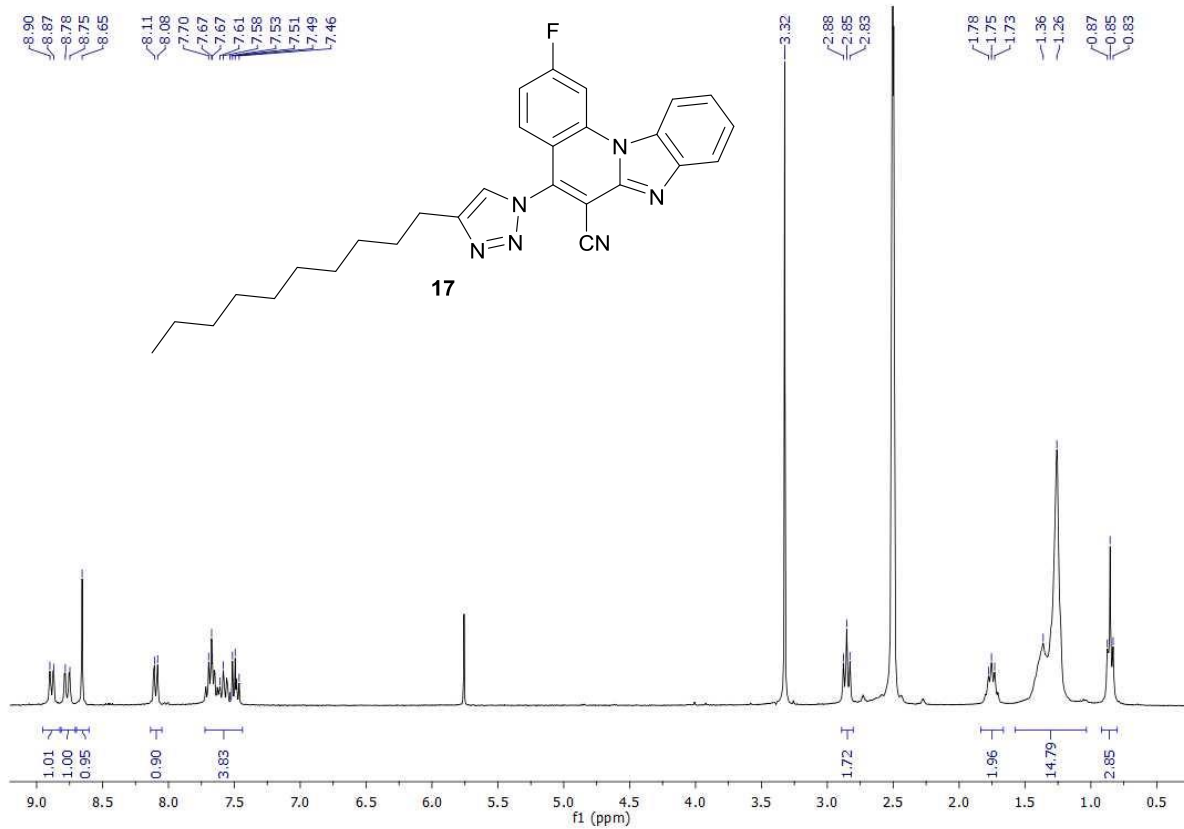
Slika 21. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja **15**



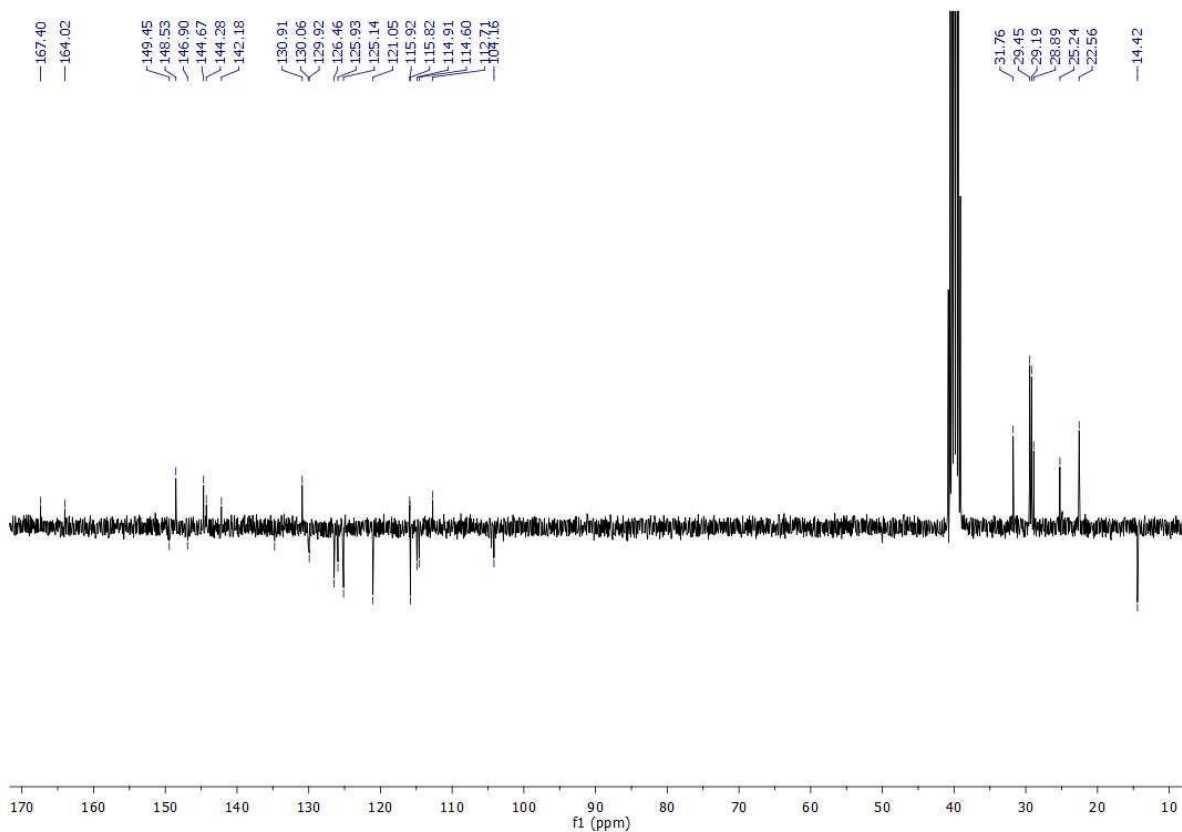
Slika 22. <sup>13</sup>C NMR spektar spoja **15**



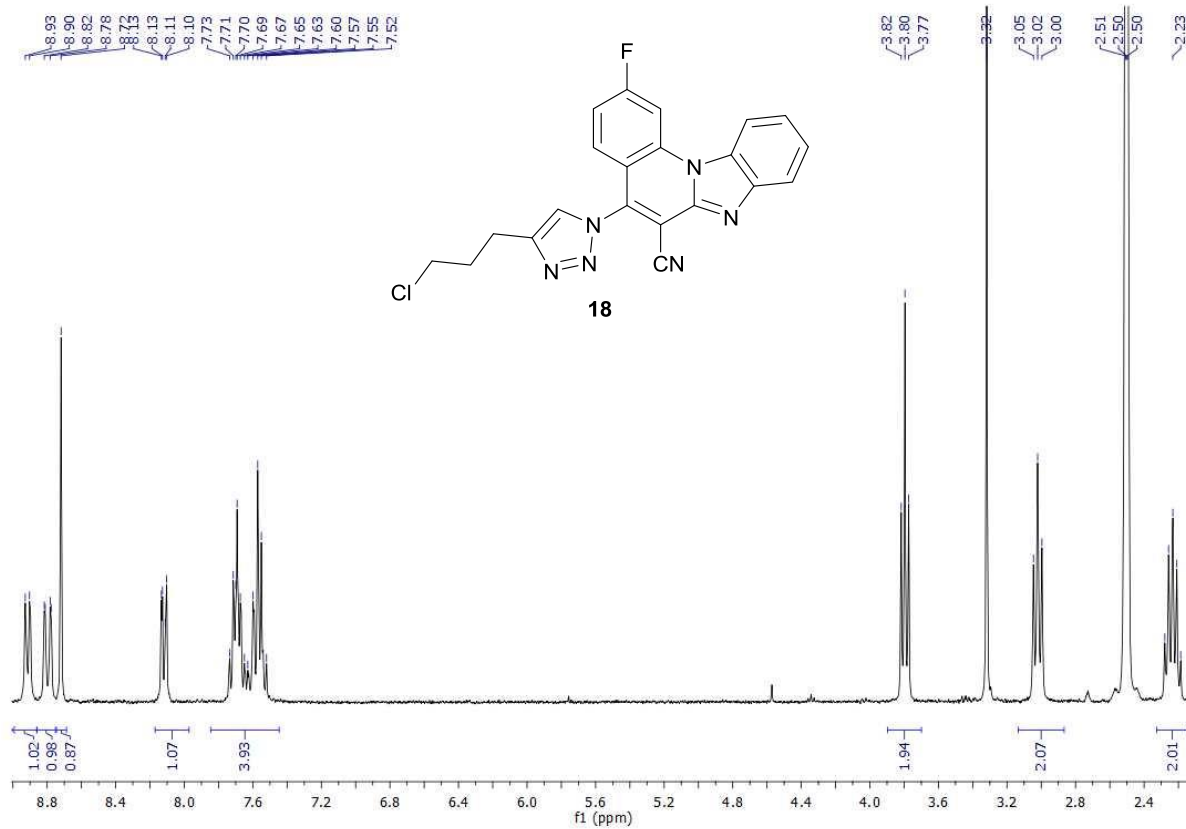
Slika 23.  $^1\text{H NMR}$  spektar spoja **16**



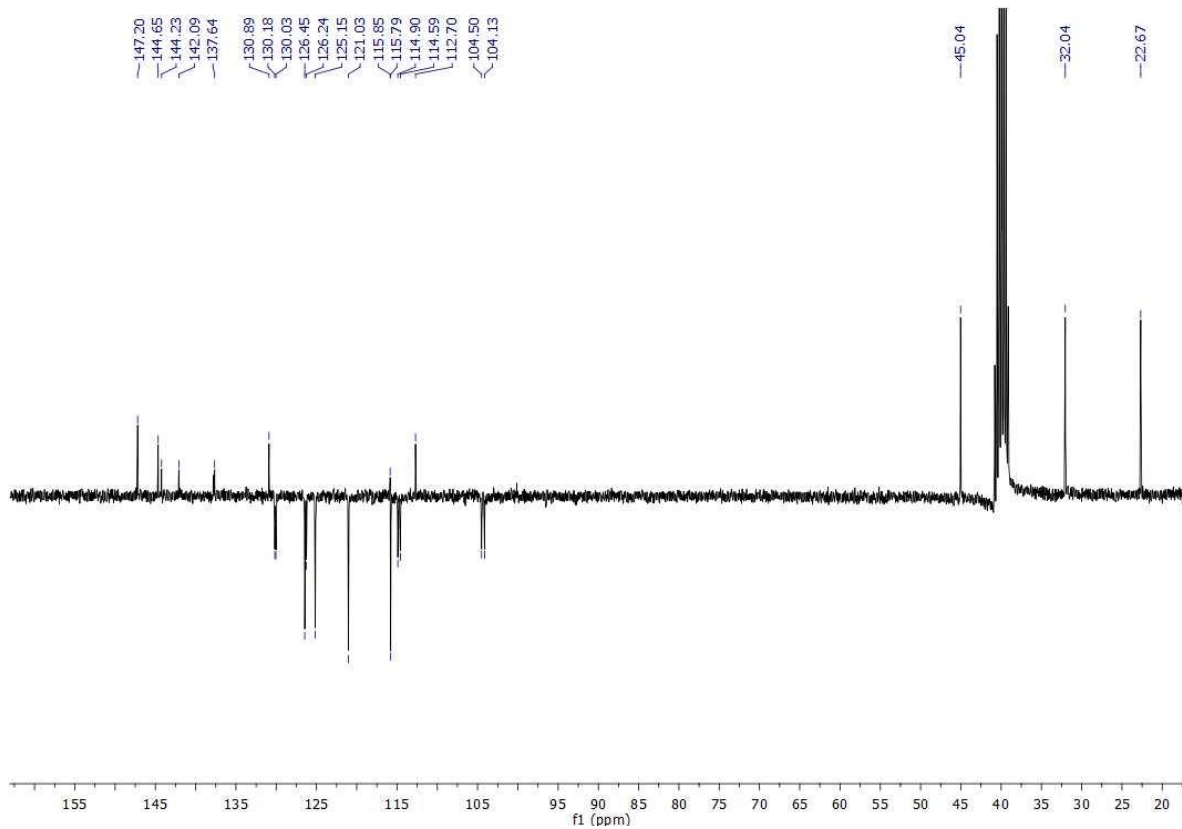
Slika 24. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 17



Slika 25. <sup>13</sup>C NMR spektar spoja 17

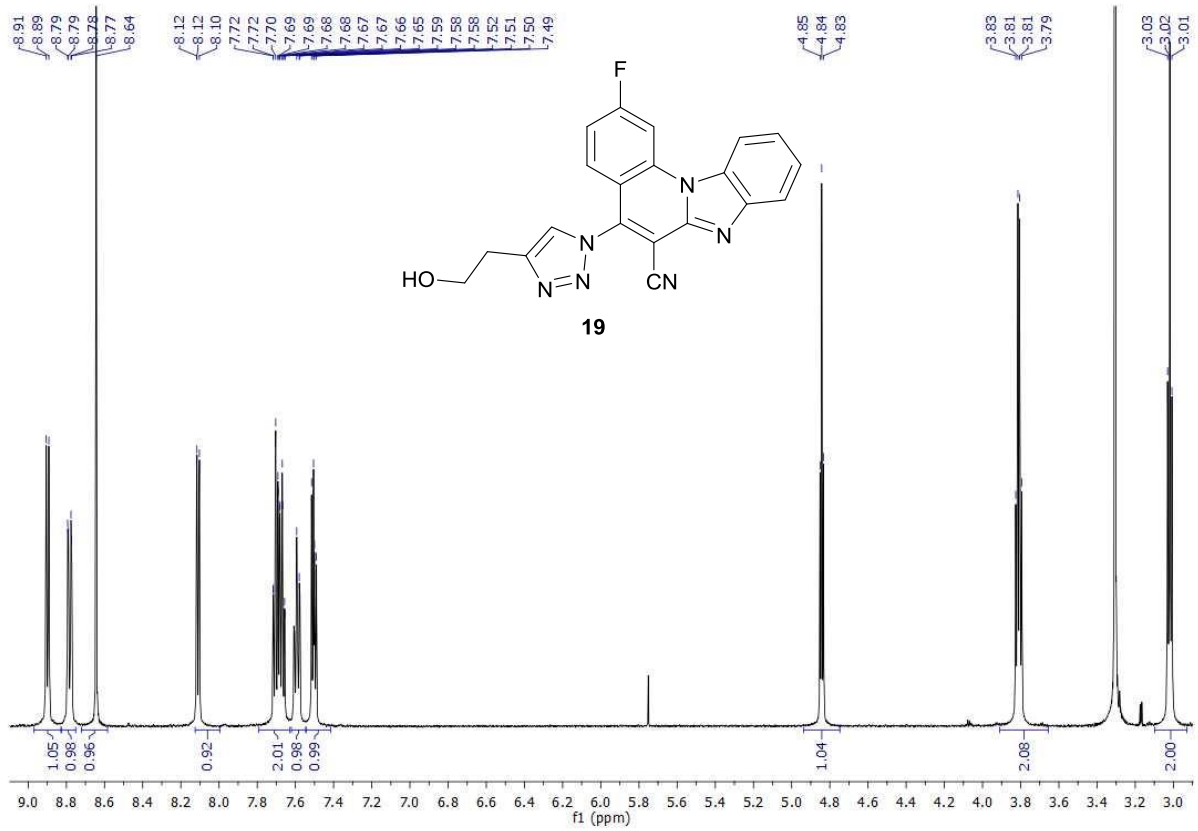


Slika 26. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja **18**

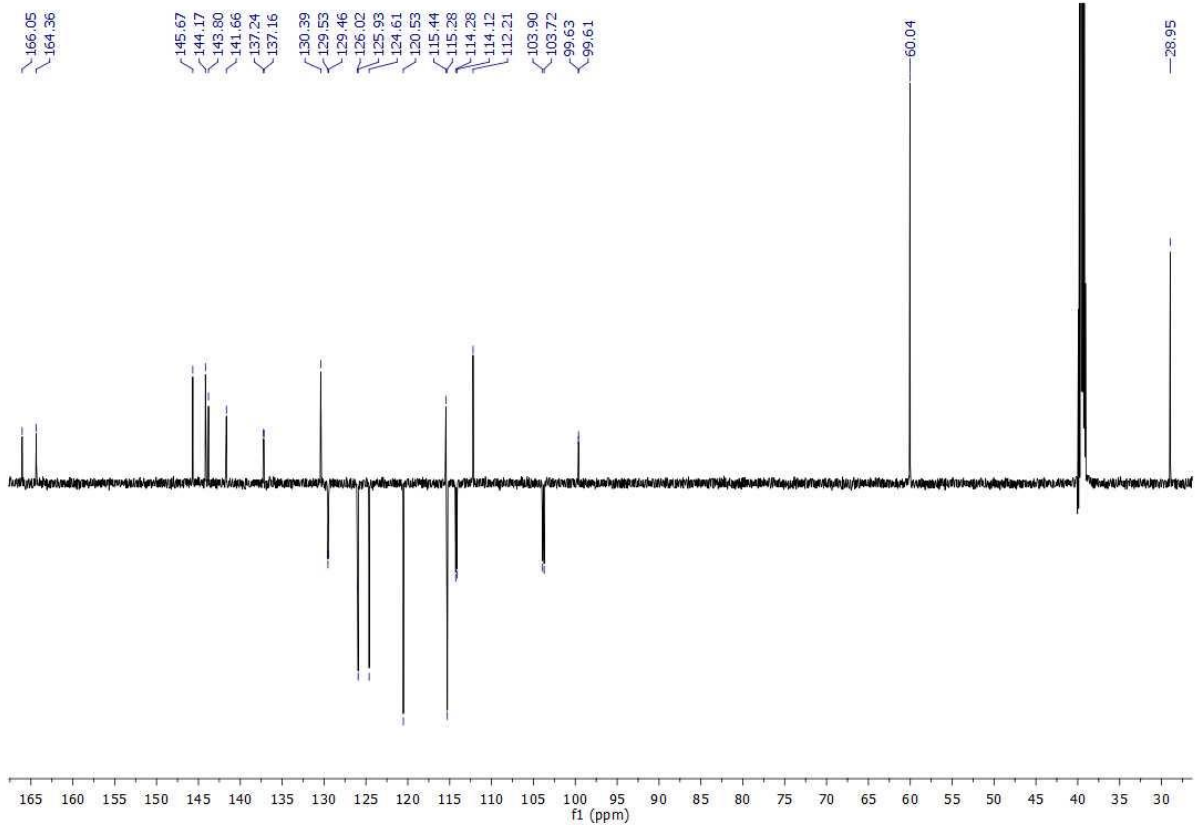


Slika 27. <sup>13</sup>C NMR spektar spoja **18**

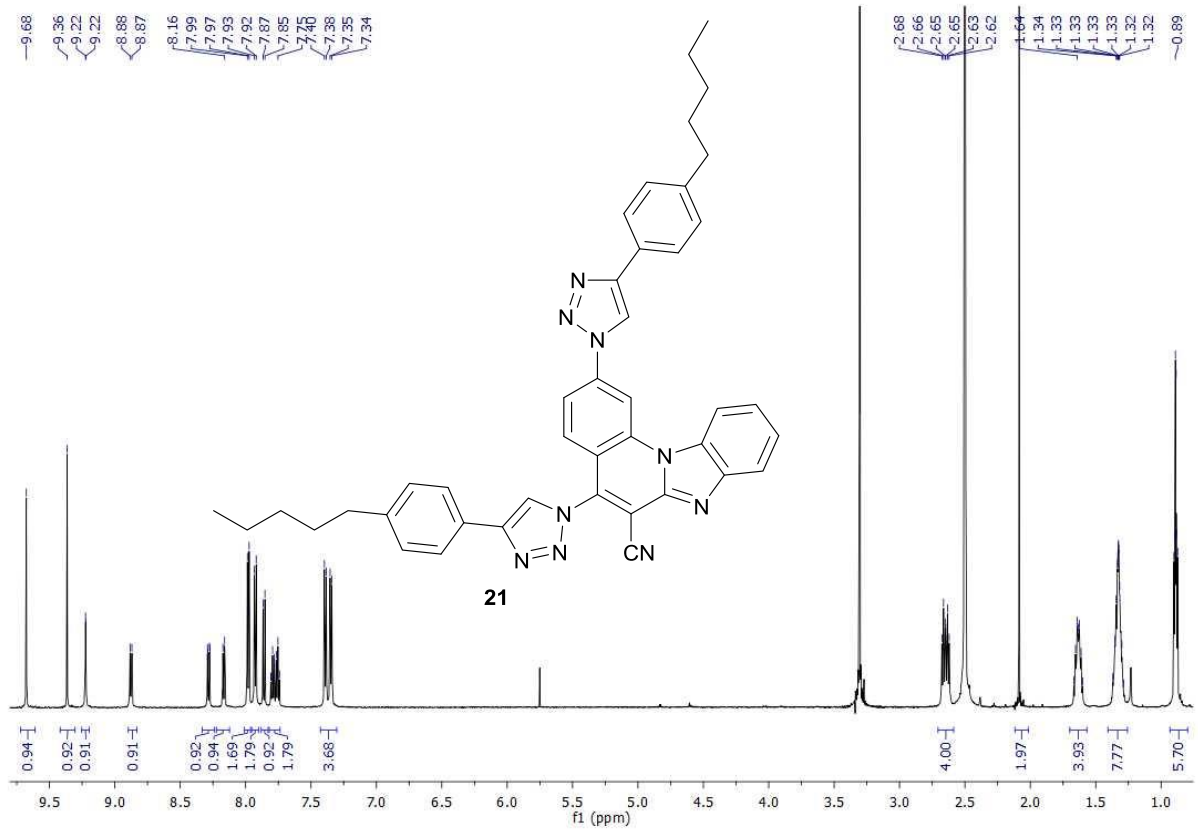




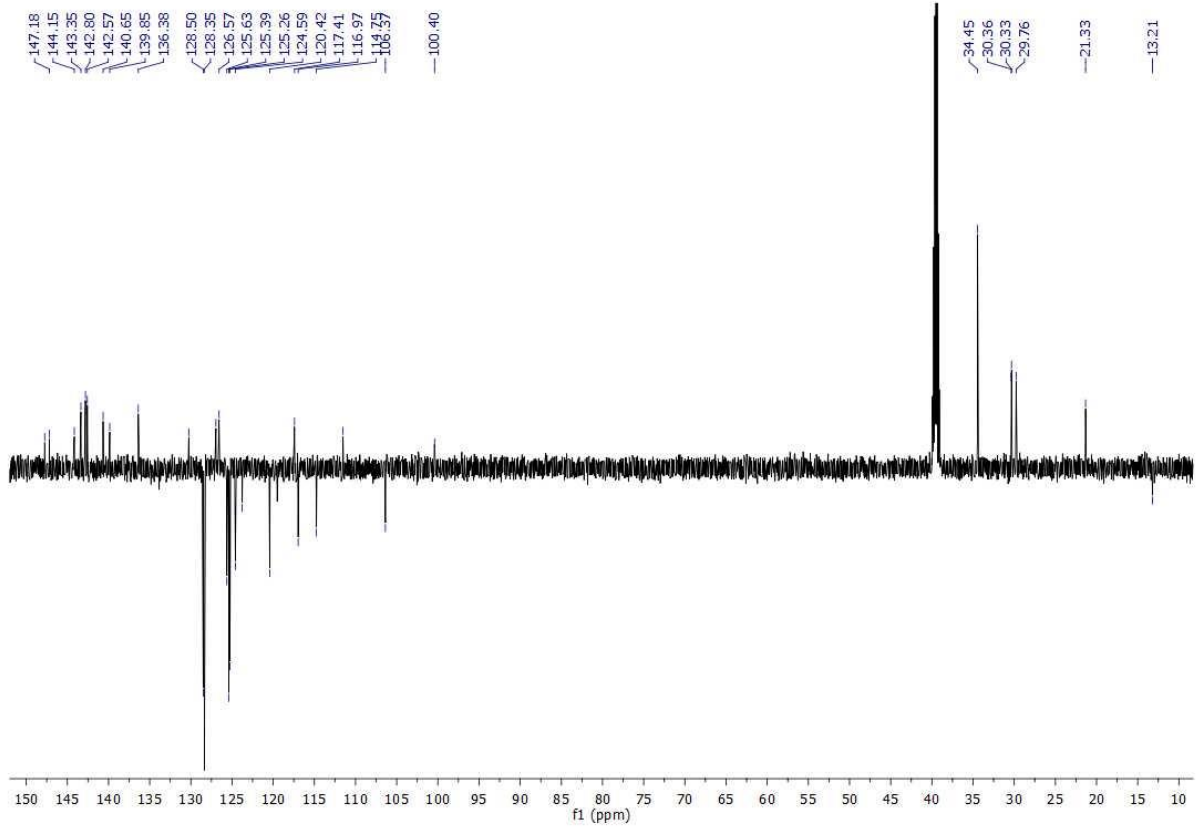
Slika 28. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 19



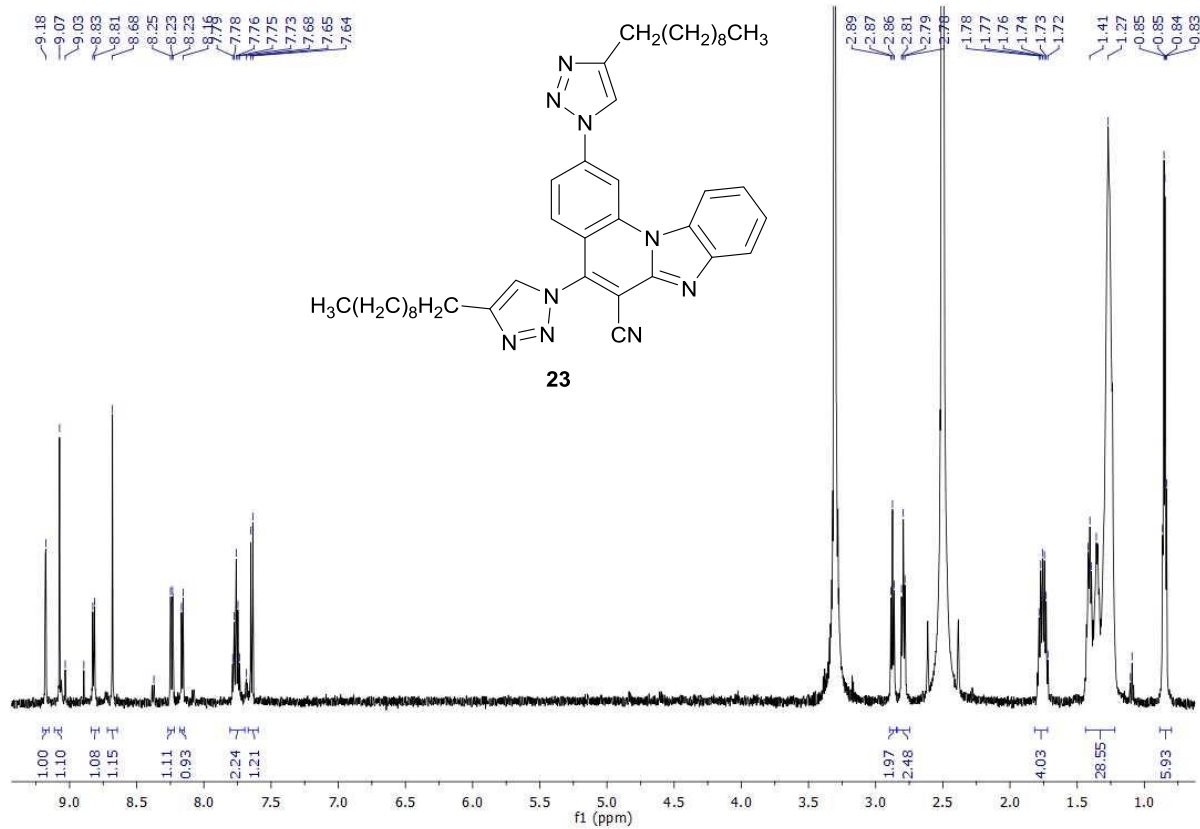
Slika 29. <sup>13</sup>C NMR spektar spoja 19



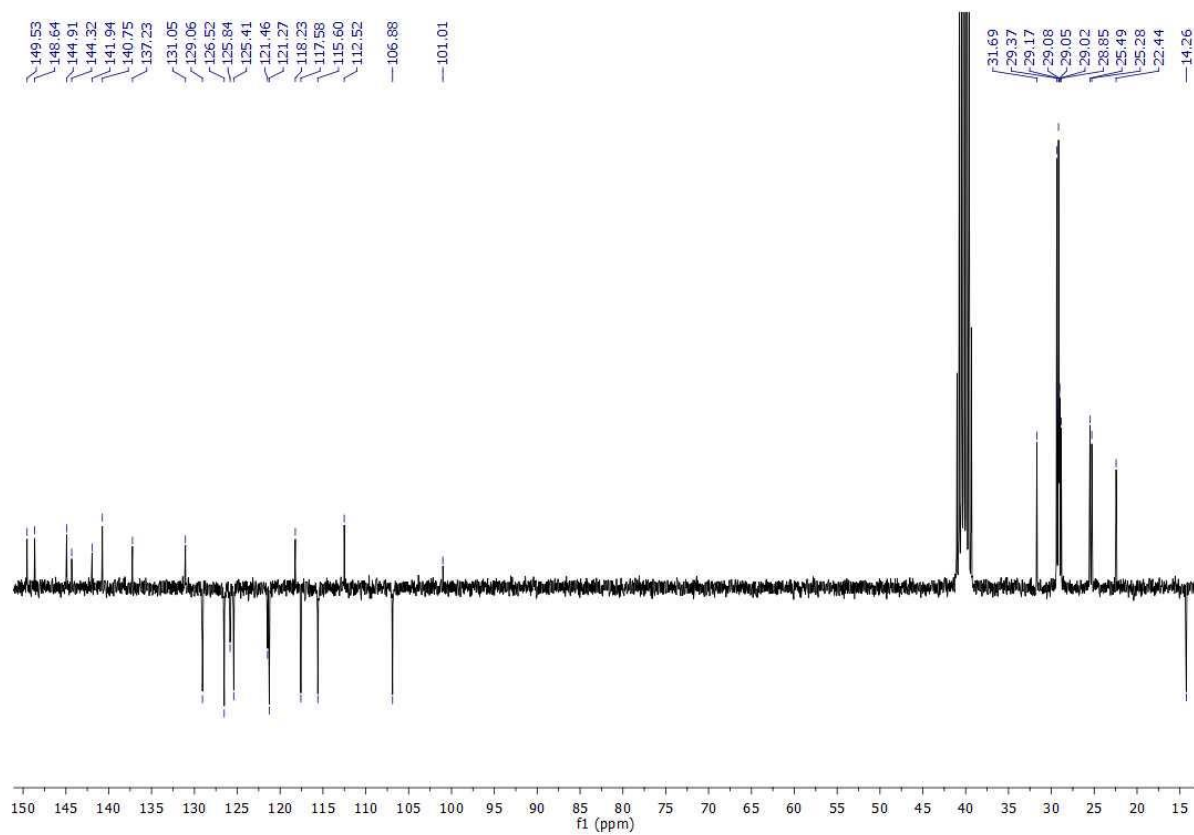
Slika 30. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 21



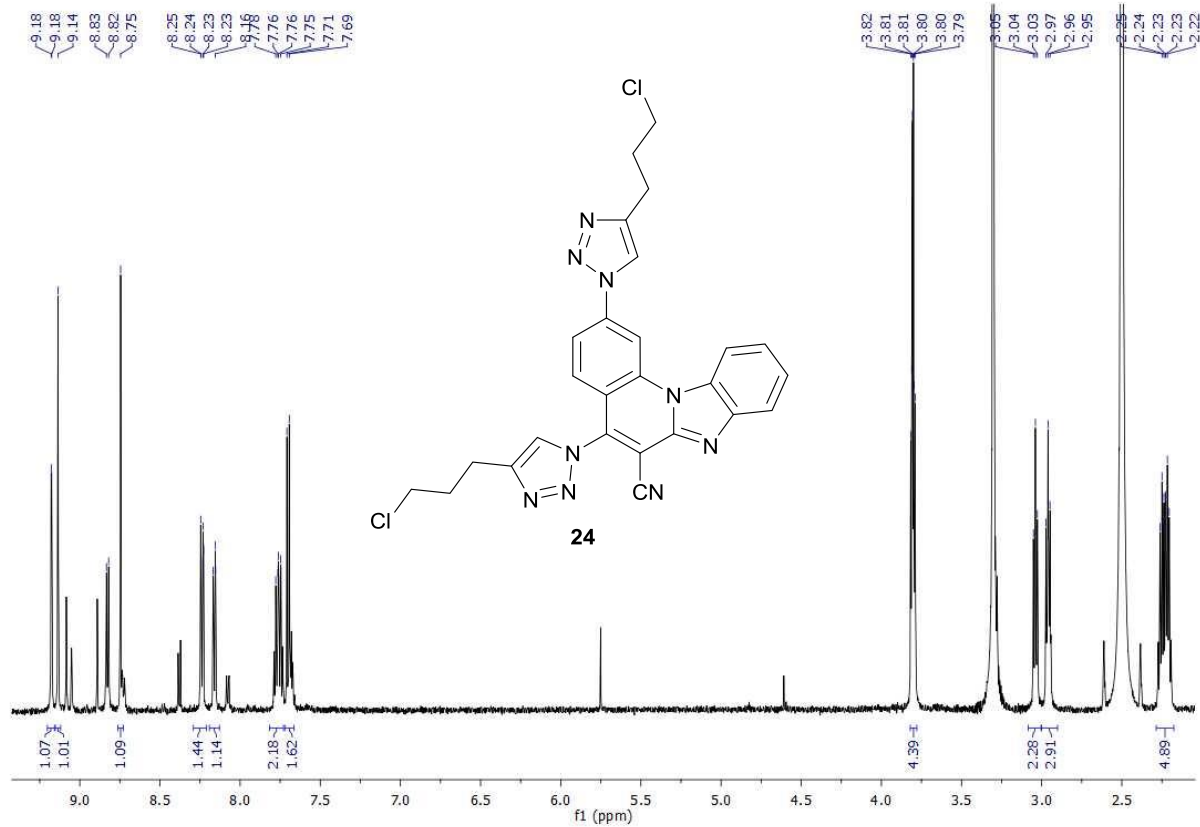
Slika 31. <sup>13</sup>C NMR spektar spoja 21



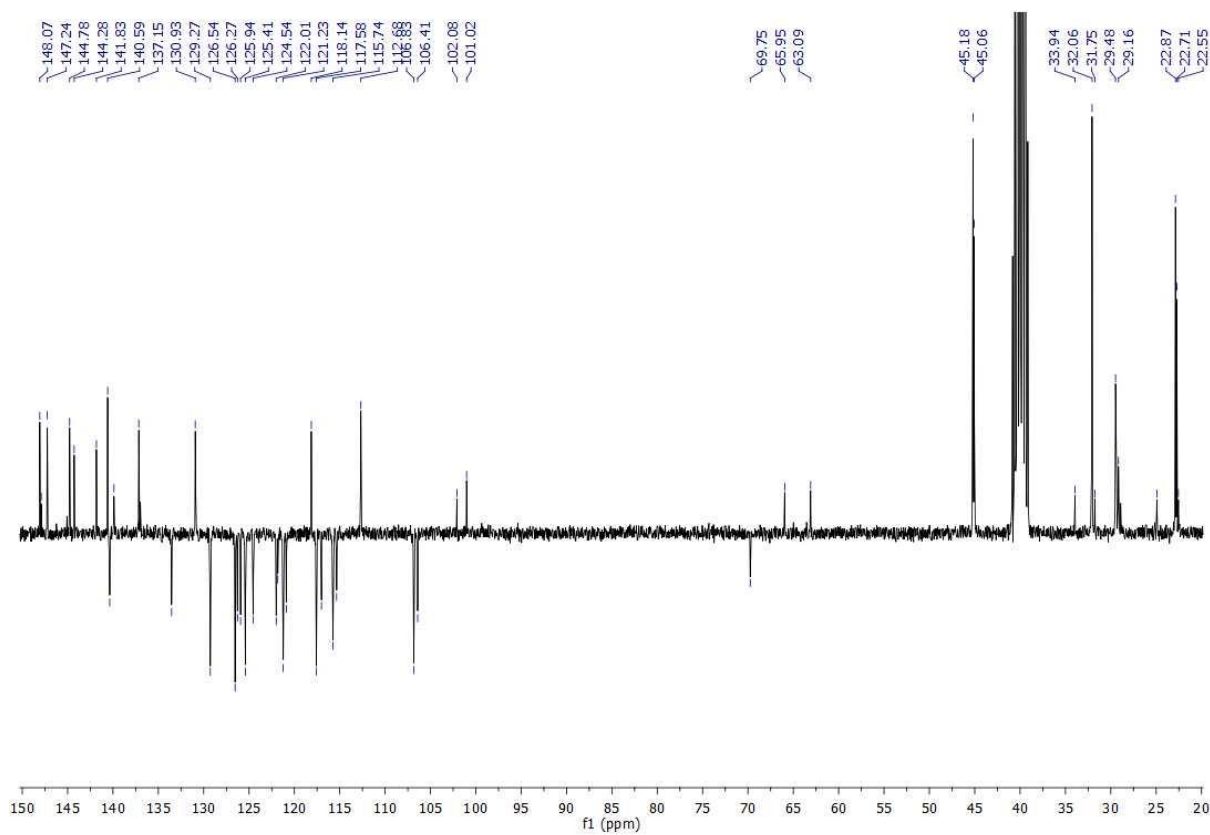
Slika 32. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 23



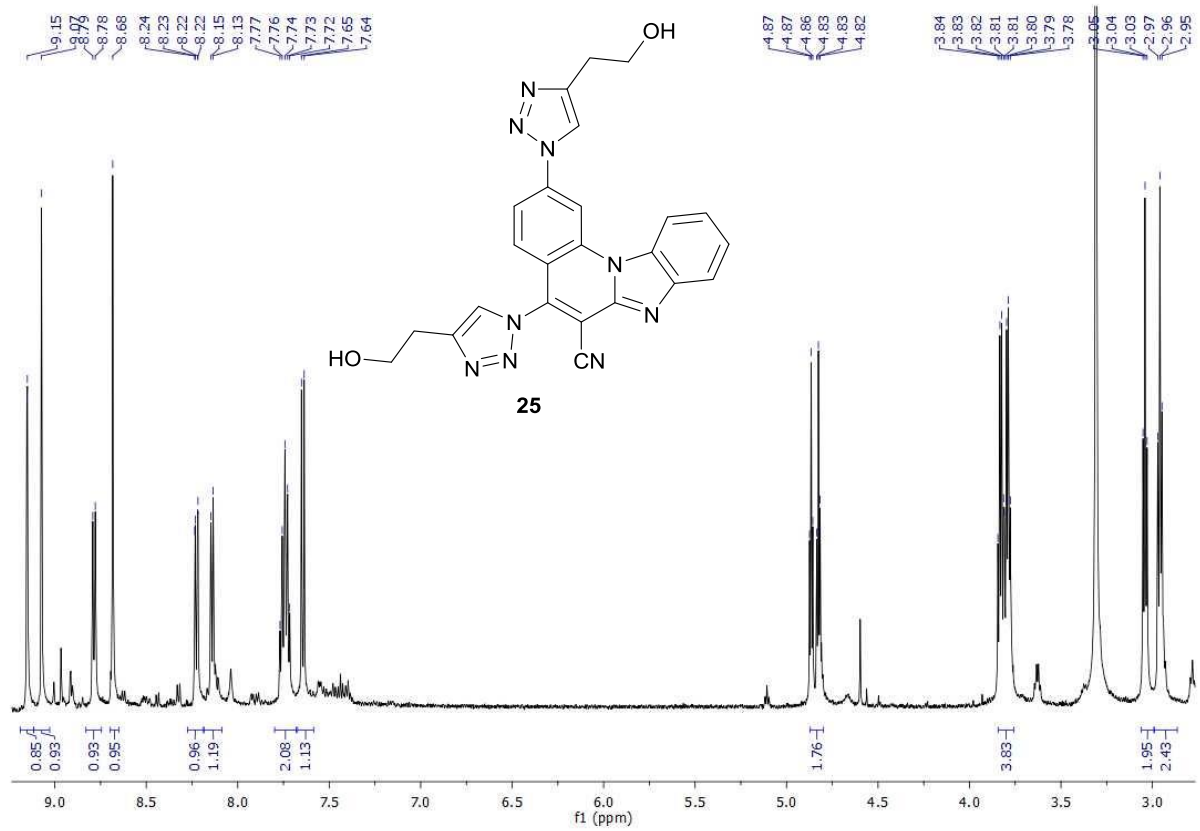
Slika 33. <sup>13</sup>C NMR spektar spoja 23



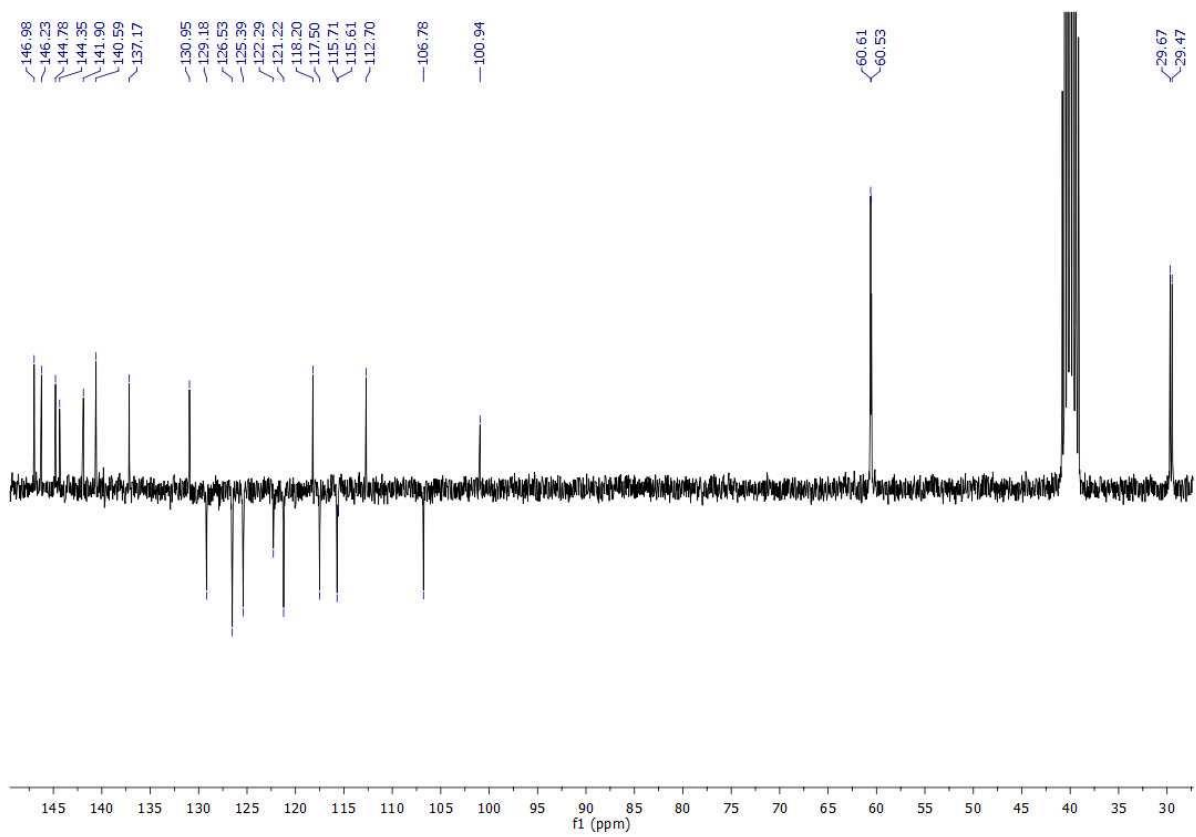
Slika 34.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 24



Slika 35.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja 24



Slika 36. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 25



Slika 37. <sup>13</sup>C NMR spektar spoja 25

## **9. ŽIVOTOPIS**

Silvio Jakopec [REDACTED] Od 2003. do 2011. pohađao je Osnovnu školu Donja Stubica, nakon čega je 2011. upisao strukovni program kemijski tehničar u Prirodoslovnoj školi Vladimira Preloga te maturirao 2015. s odličnim uspjehom. Iste godine upisuje Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, smjer Primijenjena kemija. Stručnu praksu odradio je na Institutu Ruđer Bošković u Laboratoriju za kemiju čvrstog stanja i kompleksnih spojeva. Završni i znanstveni rad radio je na Zavodu za organsku kemiju. U akademskoj godini 2017./18. dobitnik je Rektorove nagrade.