

Sinteza i strukturna karakterizacija novih konjugata N-supstituiranih benzimidazola

Ravlić, Viktoria

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

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:149:594711>

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

Viktorija Ravlić

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2023.

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

Kandidatkinja **Viktorija Ravlić**

Predala je izrađen završni rad dana: 12. rujna 2023.

Povjerenstvo u sastavu:

prof. dr. sc. Marijana Hranjec, Sveučilište u Zagrebu Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

dr. sc. Ida Boček Pavlinac, asistent, Sveučilište u Zagrebu Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

dr. sc. Lidija Furač, viša predavačica, Sveučilište u Zagrebu Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

prof. dr. sc. Dragana Mutavdžić Pavlović, Sveučilište u Zagrebu Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije (zamjena)

povoljno je ocijenilo završni rad i odobrilo obranu završnog rada pred povjerenstvom u istom sastavu.

Završni ispit održat će se dana: 15. rujna 2023.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Viktorija Ravlić

**Sinteza i strukturna karakterizacija novih konjugata
N-supstituiranih benzimidazola**

ZAVRŠNI RAD

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

Članovi ispitnog povjerenstva:

1. prof. dr. sc. Marijana Hranjec, FKIT
2. dr. sc. Ida Boček Pavlinac, FKIT
3. dr. sc. Lidija Furač, viša predavačica, FKIT

Zagreb, rujan 2023.

SAŽETAK

Sinteza i strukturna karakterizacija novih konjugata

N-supstituiranih benzimidazola

U okviru ovog rada provedena je sinteza i strukturna karakterizacija novih konjugata *N*-supstituiranih benzimidazola. Ciljani amidino supstituirani benzamidi priređeni su uobičajenim metodama organske sinteze i mikrovalovima potpomognutom sintezom. U prvom sintetskom koraku 4-*N* supstituirani 3-nitrobenzonitrili **2** i **3** priređeni su mikrovalovima potpomognutom aminacijom 4-klor-3-nitrobenzonitrila **1** uz korištenje odgovarajućeg amina. U drugom koraku spojevi **2** i **3** reducirani su u diamino supstituirane benzonitrile **4** i **5** korištenjem $\text{SnCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$. 2-aminobenzimidazoli **6** i **7** priređeni su ciklokondenzacijom spojeva **4** i **5** korištenjem BrCN-a. U zadnjem koraku sinteze priređeni su 2-benzimidazolil supstituirani benzamidi **10**, **11** i **12** kondenzacijom spojeva **6** i **7** s odgovarajućim karboksilnim kiselinama **8** i **9**. Ciljani amidino supstituirani spojevi **13** i **14** sintetizirani su Pinnerovom reakcijom u kiselom mediju iz odgovarajućeg cijano supstituiranog spoja **10**. Strukture priređenih spojeva potvrđene su ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom, a tijekom Pinnerove reakcije praćen je IR spektroskopijom.

Ključne riječi: amidi, amidini, benzimidazoli, ^1H i ^{13}C NMR spektroskopija, IR spektroskopija, mikrovalna sinteza

SUMMARY

Synthesis and structural characterization of novel conjugates of *N*-substituted benzimidazoles

This work presents the synthesis and structural characterization of novel conjugates of *N*-substituted benzimidazoles. Targeted amidino substituted benzamides were prepared by usual methods of organic chemistry and by microwave-assisted reactions. In first step of synthesis, 4-*N* substituted 3-nitrobenzonitriles **2** and **3** were prepared by microwave-assisted amination of 4-chloro-3-nitrobenzonitrile **1** using the corresponding amines. In second step, compounds **2** and **3** were reduced to diamino-substituted benzonitriles **4** and **5** using $\text{SnCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$. 2-aminobenzimidazoles **6** and **7** were prepared by cyclocondensation of compounds **4** and **5** with BrCN . In the last step of synthesis, 2-benzimidazolyl-substituted benzamides **10**, **11**, and **12** were prepared by condensation of compounds **6** and **7** with the corresponding carboxylic acids **8** and **9**. Targeted amidino substituted compounds **13** and **14** were synthesized by Pinner reaction in acidic medium from corresponding cyano substituted **10**. Structures of prepared compounds were confirmed with ^1H i ^{13}C NMR spectroscopy, while Pinner reaction was monitored by IR spectroscopy.

Key words: amides, amidines, benzimidazoles, ^1H i ^{13}C NMR spectroscopy, IR spectroscopy, microwave assisted synthesis

Zahvaljujem svojoj mentorici, prof. dr. sc. Marijani Hranjec, na predloženoj temi, stručnim savjetima, uloženom vremenu i strpljenju tijekom izrade i pisanja ovog rada.

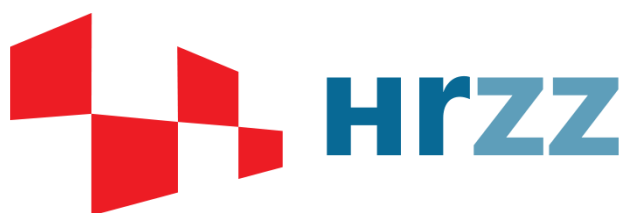
Zahvaljujem dr. sc. Anji Beč, neposrednoj voditeljici, na pomoći, smjernicama i strpljenju tijekom izvođenja eksperimentalnog dijela kao i pisanju završnog rada.

Također, zahvaljujem svojoj obitelji i bližnjima na podršci i razumijevanju tijekom studiranja.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	3
2.1. Strukturna i fizikalno-kemijska svojstva amida	4
2.2. Priprava i reakcije amida	5
2.2.1. Priprava amida iz acil-klorida	5
2.2.2. Priprava amida iz kiselinskog anhidrida	6
2.2.3. Priprava amida iz estera	6
2.2.4. Priprava amida iz karboksilne kiseline i amonijevog karboksilata.....	7
2.2.5. Priprava amida hidrolizom nitrila s vodikovim peroksidom	7
2.2.6. Priprava <i>N</i> -arilamida iz nitroarena.....	8
2.2.7. Hidroliza amida.....	8
2.2.8. Dehidracija amida	9
2.2.9. Hofmannovo pregrađivanje amida.....	9
2.2.10. Redukcija amida u amin.....	10
2.3. Općenito o amidinima	10
2.4. Priprava amidina.....	12
2.4.1. Priprava amidina iz amida/karboksilnih kiselina	12
2.4.2. Priprava amidina iz nitrila.....	13
2.5. Biološka aktivnost benzamida benzimidazola.....	15
3. REZULTATI I RASPRAVA	23
3.1. Cilj rada	24
3.2. Priprava ciljanih spojeva	25
4. EKSPERIMENTALNI DIO	34
4.1. Opće napomene	35
4.2. Priprava amidino-supstituiranih derivata benzamida <i>N</i> -supstituiranih benzimidazola 13–16	36
5. ZAKLJUČAK	42
6. PRILOZI	44
7. LITERATURA	57
8. ŽIVOTOPIS	60

Ovaj rad je izrađen na Zavodu za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije pod mentorstvom prof. dr. sc. Marijane Hranjec i neposrednim voditeljstvom dr. sc. Anje Beč u sklopu projekta Hrvatske nacionalne zaklade IP-2018-01-4379 *Istraživanje antioksidativnog djelovanja benzazolskog skeleta u dizajnu novih antitumorskih agensa.*



1. UVOD

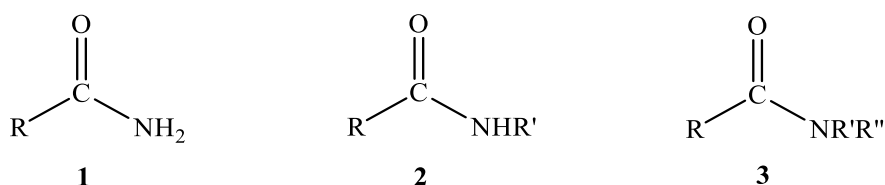
Amidne veze su najraširenije strukturne podjedinice koje se nalaze u organskim spojevima i raznim biomolekulama kao što su peptidi, proteini, DNA i RNA.¹ Reakcije stvaranja amidnih veza smatraju se jednim od najvažnijih reakcija u organskoj kemiji i biokemiji zbog prisutnosti amidnih skupina u strukturi mnogih lijekova, prirodnih i farmaceutskih proizvoda, te biološki aktivnih spojeva. Amidne skupine se također nalaze u velikom broju industrijskih materijala uključujući polimere, nanomaterijale, deterdžente i maziva.²

U području medicinske kemije interes za proučavanjem i istraživanjem heterocikličkih spojeva raste iz dana u dan jer je u mnogim biološki aktivnim molekulama heterociklička jezgra dio strukture koji je odgovoran za biološku aktivnost. Jedan od takvih važnih heterocikala je benzimidazol čiji derivati pokazuju mnoga farmakološka djelovanja kao što su antihipertenzivna, antitumorska, antivirusna, antidijabetička, antimikrobna, te mnoga druga.³ U proteklom desetljeću posebna pažnja i fokus su posvećeni ispitivanju antioksidativnog i antiproliferativnog potencijala derivata benzimidazola.⁴ Poznato je da reaktivne kisikove vrste (ROS), koje nastaju u brojnim patofiziološkim i biokemijskim procesima u tijelu čovjeka, mogu uzrokovati oksidativno oštećenje važnih biomolekula poput nukleinskih kiselina, proteina ili lipida.⁵ Posljedično, to dovodi do razvoja nekih kroničnih bolesti poput raka, dijabetesa, upala, neurodegenerativnog sindroma ili starenja.^{6,7}

2. OPĆI DIO

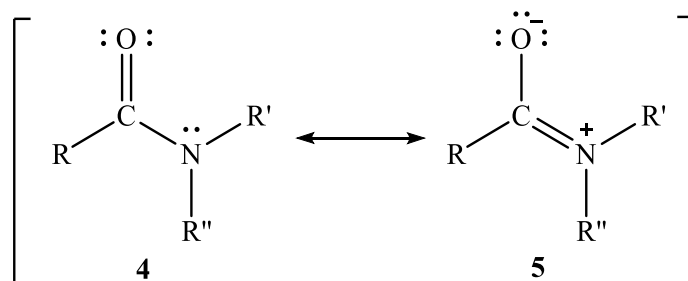
2.1. Strukturna i fizikalno-kemijska svojstva amida

Amidi su derivati karboksilnih kiselina u kojima je hidroksilna skupina zamijenjena amino skupinom. Priređuju se iz karboksilnih kiselina i amonijaka ili amina. Reakcijom tih komponenata najprije nastaju amonijevi karboksilati koji zagrijavanjem prelaze u amide uz izdvajanje vode. Amidi se također mogu dobiti iz derivata karboksilnih kiselina i odgovarajućih amina ili amonijaka te hidrolizom nitrila. Amidi mogu biti primarni, sekundarni i tercijarni, ovisno o tome koliko je ugljikovih atoma vezano na amidni dušikov atom (slika 1).⁸



Slika 1. Struktura amida: 1-primarni amid, 2-sekundarni amid, 3-tercijarni amid

Slobodni elektronski par na dušikovu atomu amida omogućuje postojanje rezonantne strukture (shema 1). Vrlo slaba bazičnost amida u odnosu na amine prozlaži iz strukture amida koja je hibrid dviju rezonantnih struktura. Za protoniranje amida potrebno je djelovanje koncentriranih jakih kiselina.⁸



Shema 1. Rezonantna struktura amida

Iz rezonancijskih struktura može se uočiti da je sp^2 hibridizirani dušikov atom planaran. Pozitivno nabijeni dušikov atom polarizira vezu N-H i čini vodikov atom mnogo elektrofilnijim zbog čega se između molekula primarnih i sekundarnih amida pojavljuju jake vodikove veze. Amidi imaju visoka tališta i vrelišta zahvaljujući formiranim vodikovim vezama.⁸

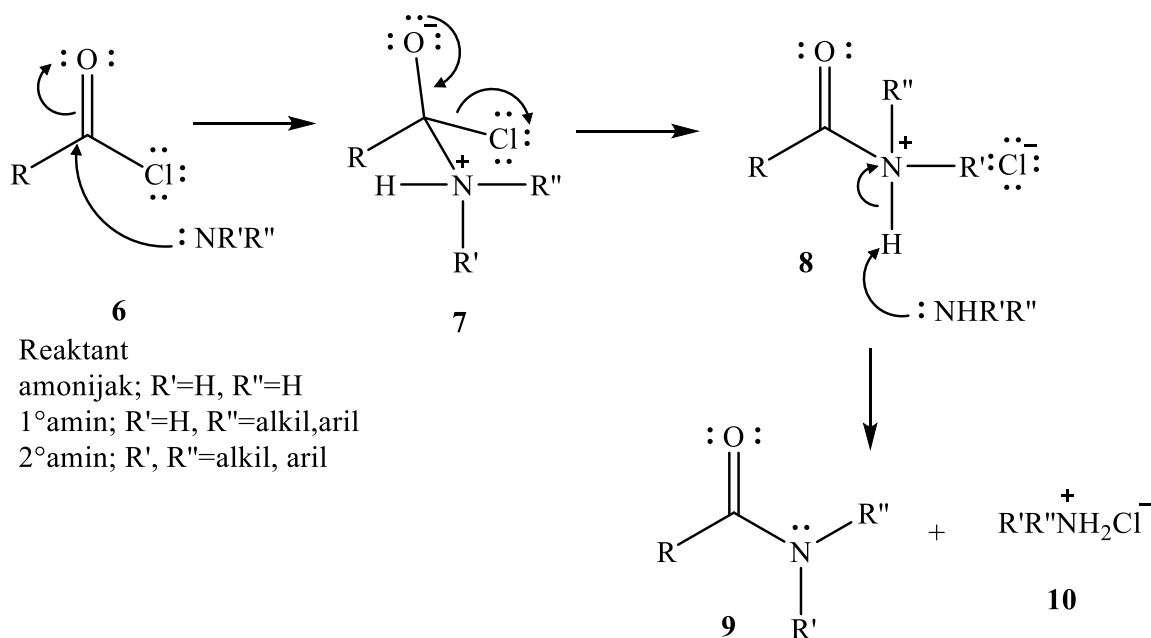
Svi su amidi, osim formamida i njegovih nižih N-derivata, čvrste tvari. Niži članovi su topljivi u vodi i u otapalima koja sadrže kisik. Također, odlična su otapala za druge organske spojeve.⁹

2.2. Priprava i reakcije amida

Amidi su najmanje reaktivni derivati karboksilnih kiselina pa se mogu sintetizirati iz reaktivnijih derivata kao što su acil-halogenidi, anhidridi i esteri, te iz samih karboksilnih kiselina u reakciji s amonijakom ili aminom, i to reakcijom nukleofilne acilne supstitucije koja se odvija adicijsko-eliminacijskim mehanizmom.¹⁰

2.2.1. Priprava amida iz acil-klorida

Amonijak, te primarni i sekundarni amini u suvišku brzo reagiraju s acil-kloridima dajući amide (shema 2). Acil-kloridi se lako pripremaju iz karboksilnih kiselina, te je ova reakcija jedna od najčešće korištenih laboratorijskih metoda sinteze amida. Reakcija se odvija pri sobnoj temperaturi uz visoko iskorištenje.¹⁰

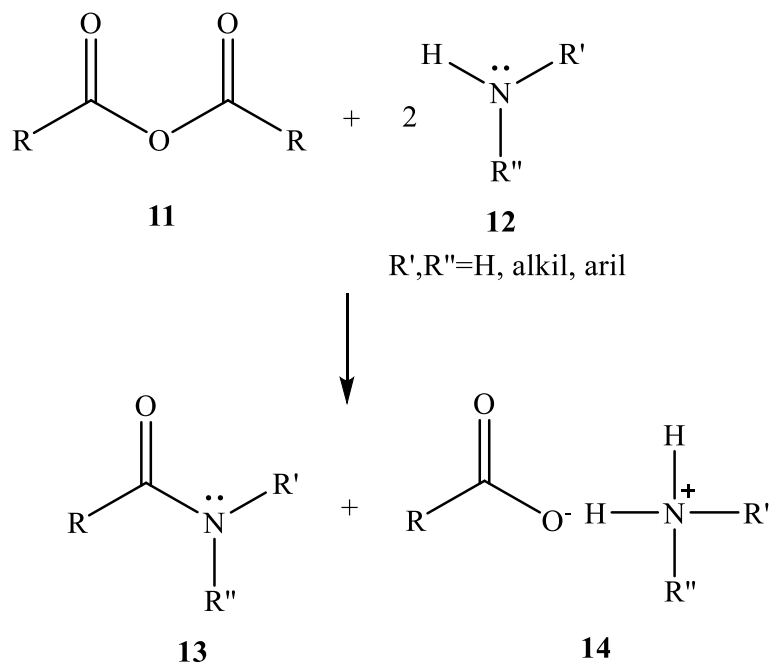


Produkt
Nesupstituirani amid; R', R''=H
N-supstituirani amid; R'=H, R''=alkil, aril
N,N-disupstituirani amid; R', R''=alkil, aril

Shema 2. Mehanizam priprave amida iz acil-klorida

2.2.2. Priprava amida iz kiselinskog anhidrida

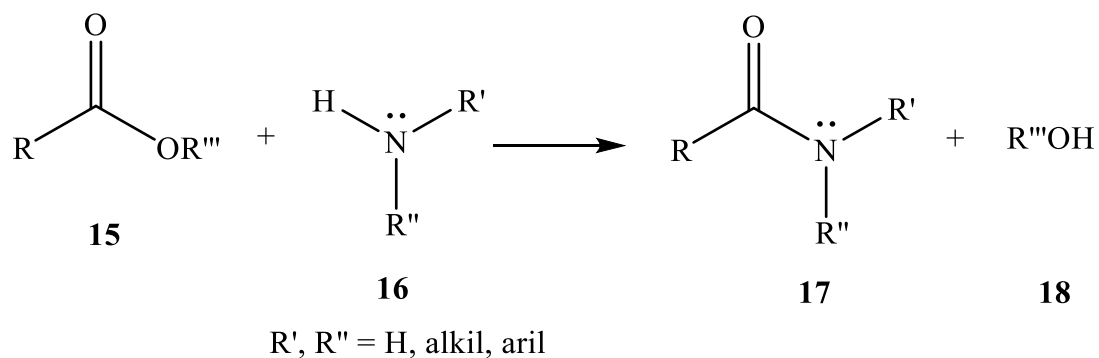
Kiselinski anhidridi reagiraju s amonijakom, te s primarnim i sekundarnim aminima dajući amide na identičan način kao i acil-kloridi.¹⁰



Shema 3. Priprava amida iz kiselinskog anhidrida

2.2.3. Priprava amida iz estera

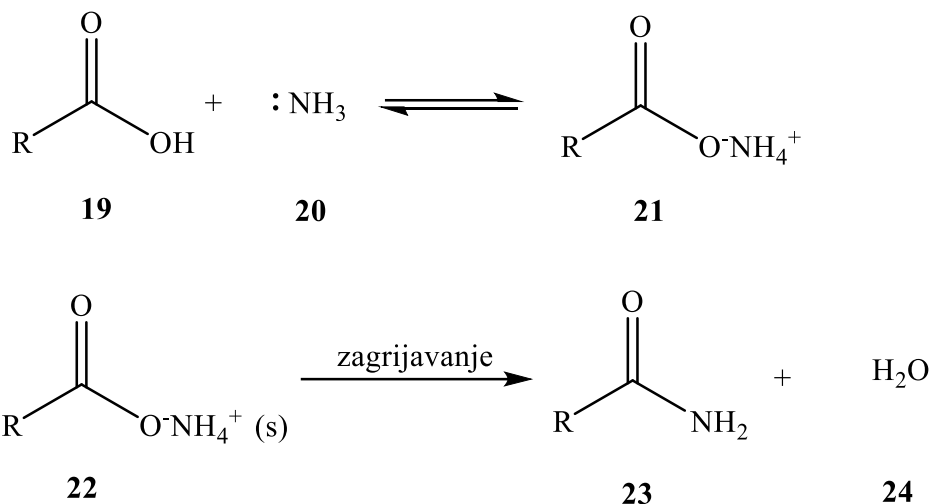
Esteri preko acilnog ugljikovog atoma podliježu nukleofilnoj adicijsko-eliminacijskoj reakciji s amonijakom, te primarnim i sekundarnim aminima. Esteri su manje reaktivni od acil-klorida i kiselinskih anhidrida, pa je ova reakcija nešto sporija u odnosu na prethodno navedene (shema 4).¹⁰



Shema 4. Priprava amida iz estera

2.2.4. Priprava amida iz karboksilne kiseline i amonijevog karboksilata

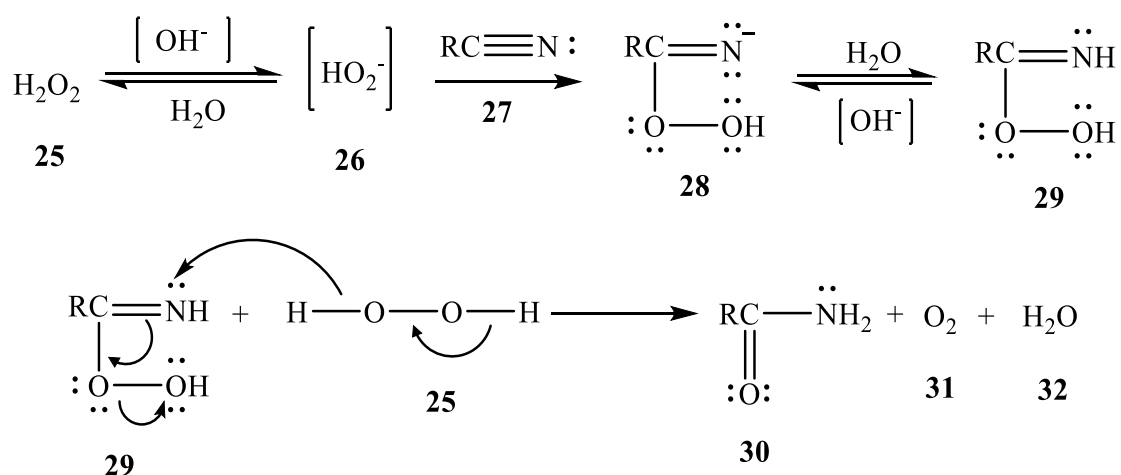
Karboksilne kiseline reagiraju s vodenom otopinom amonijaka pri čemu nastaje sol, amonijev karboksilat. Karboksilatni ion slabo reagira u nukleofilnoj adicijsko-eliminacijskoj reakciji pa se daljnja reakcija ne odvija u vodenoj otopini. Uklanjanjem vode i zagrijavanjem suhe soli nastaje amid (shema 5). No, ova metoda nije najbolja za sintezu amida.¹⁰



Shema 5. Priprava amida iz karboksilne kiseline i amonijevog karboksilata

2.2.5. Priprava amida hidrolizom nitrila s vodikovim peroksidom

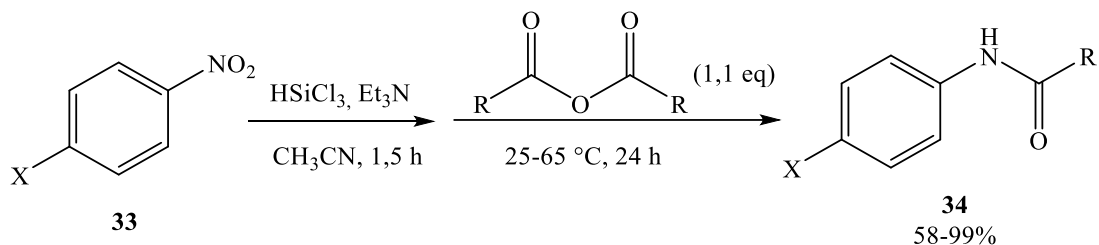
Alkalni vodikov peroksid prevodi nitrile u amide uz visoko iskorištenje reakcije. Djelotvorni reagens u ovoj reakciji je ion vodikova peroksida (shema 6).¹¹



Shema 6. Priprava amida hidrolizom nitrila vodikovim peroksidom

2.2.6. Priprava *N*-arilamida iz nitroarena

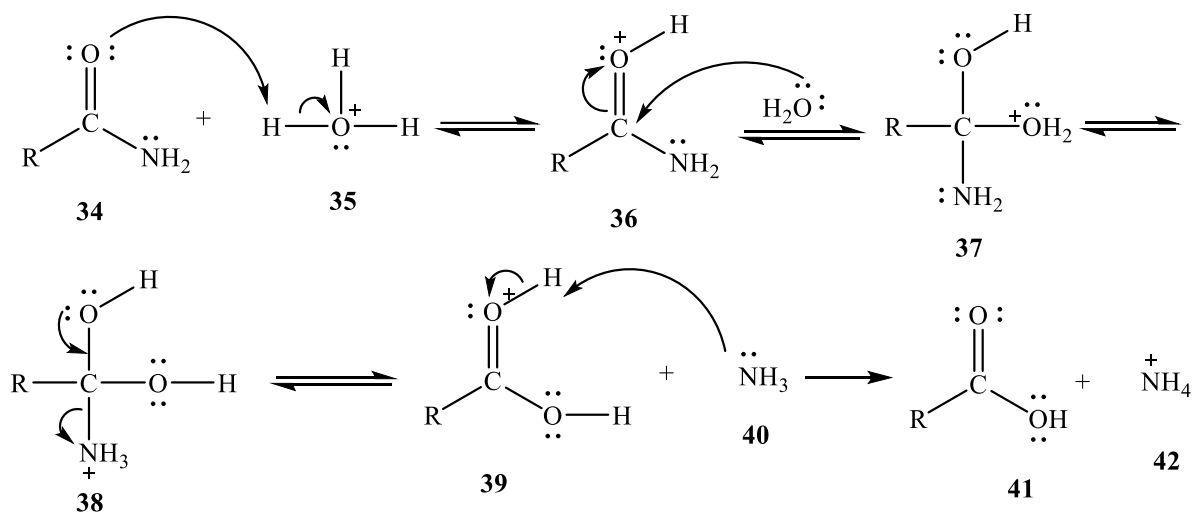
N-arilamidi se eksperimentalno mogu pripraviti izravno iz nitroarena u dva koraka, bez rukovanja toksičnim i kancerogenim derivatima anilina (shema 7). Redukcija nitro skupine odvija se bez metala, u prisutnosti triklorsilana i anhidrida, što daje odgovarajući *N*-arilkarboksamid, koji se izolira nakon jednostavne obrade u izvrsnim iskorištenjima.¹²



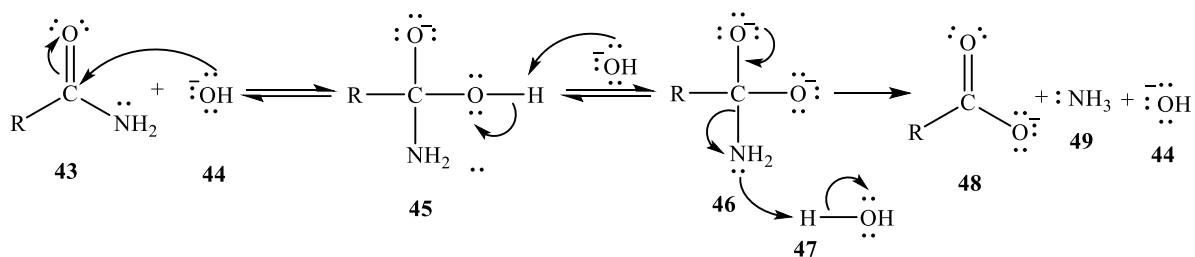
Shema 7. Priprava *N*-arilamida iz nitroarena

2.2.7. Hidroliza amida

Hidroliza amida zahtijeva jače uvjete nego hidroliza estera, odnosno zagrijavanje u koncentriranijem kiselom ili bazičnom mediju. Nukleofil je voda, a odlazeća skupina je amino skupina (sheme 8 i 9).¹⁰



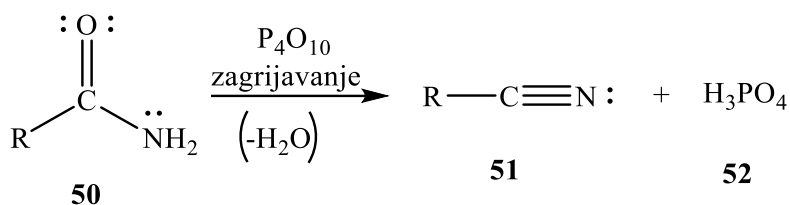
Shema 8. Kiselo katalizirana hidroliza amida



Shema 9. Bazno katalizirana hidroliza amida

2.2.8. Dehidracija amida

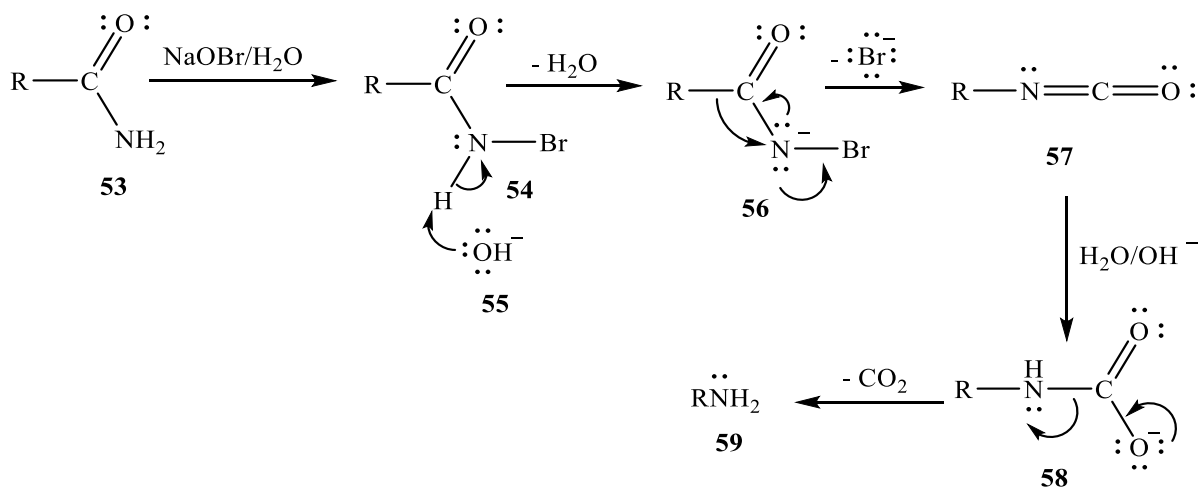
Amidi mogu reagirati s dehidrirajućim sredstvom kao što je fosforov(V) oksid P_4O_{10} dajući nitrile prema shemi 10.¹⁰



Shema 10. Dehidracija amida

2.2.9. Hofmannovo pregrađivanje amida

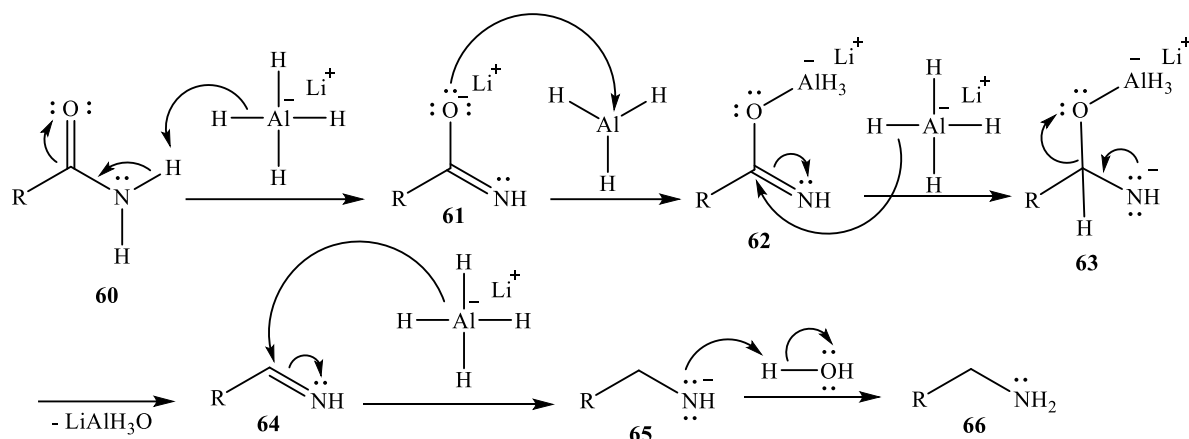
Hofmannovo pregrađivanje reakcija je u kojoj se amid pretvara u amin s jednim atomom ugljika manje. Odvija se uz nastajanje *N*-halogen-amidnog aniona koji se gubitkom broma pregrađuje u izocijanat. Adicijom vode na izocijanat nastaje karbaminska kiselina koja lako otpušta CO_2 i nastaje amin (shema 11).¹³



Shema 11. Hofmannovo pregrađivanje amida

2.2.10. Redukcija amida u amin

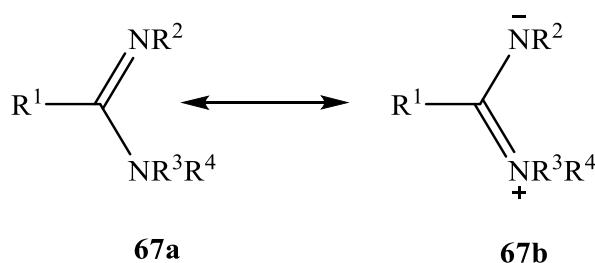
Primarni i sekundarni amidi imaju proton vezan za dušikov atom koji je dovoljno kiseo za napad hidrida pri čemu se izdvaja vodik. Ovaj korak prethodi nukleofilnoj adiciji hidrida na karbonilni ugljikov atom. Nakon reakcije s AlH_3 , karbonilni kisik se pretvara u dobru izlaznu skupinu i eliminira se. Nastala imino skupina reducira se hidridnim ionom prema shemi 12.¹⁴



Shema 12. Redukcija amida u amin

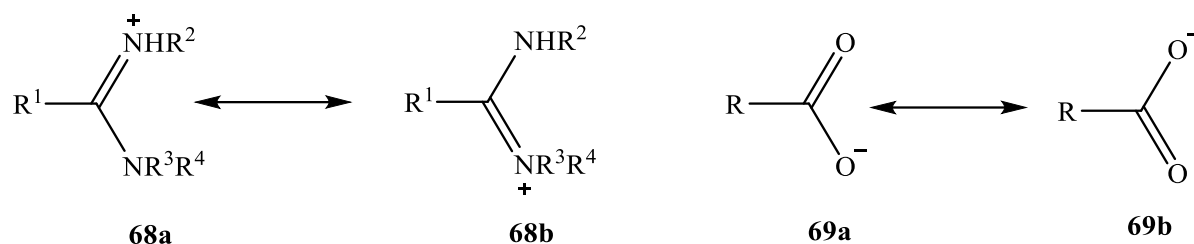
2.3. Općenito o amidinima

Amidino skupina u strukturi spoja **67a**, koja sadrži amino dušikov atom sa slobodnim elektronskim parom konjugiranim s π elektronima $\text{C}=\text{N}$ dvostruke veze, je bis-dušikov analog karboksilne kiseline i estera.¹⁵ Ima karakteristike azometina zbog $\text{C}=\text{N}$ dvostruke veze, te amida zbog $\text{C}-\text{N}$ jednostruke veze s djelomičnim karakterom dvostruke veze što pokazuje rezonantna struktura u shemi 13.^{16,17}



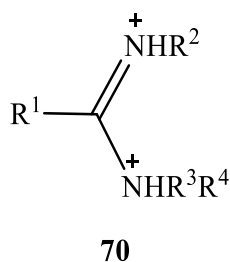
Shema 13. Rezonantna struktura amidina

Amidini su jake baze čiji pK_a varira od 5 do 12. Protoniranje se odvija na iminskom dušikovom atomu čime nastaje simetrični amidinijev ion (**68a** i **68b**) koji je stabiliziran rezonancijom kao i izoelektronski karboksilatni anion (**69a** i **69b**).^{18,19}

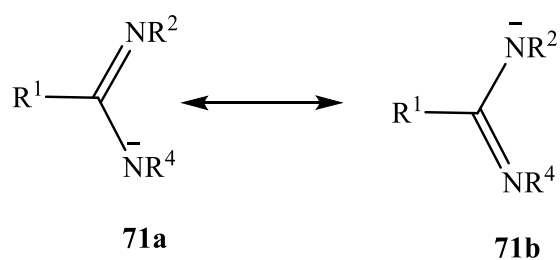


Shema 14. Usporedba amidinijevog i karboksilatnog iona

U jako kiselom mediju nastaje dikation **70** (slika 2) s lokaliziranom ugljik-dušik dvostrukom vezom. U jako lužnatom mediju formira se anion prikazan na shemi 15.^{20,21,22}



Slika 2. Dikation u jako kiselom mediju



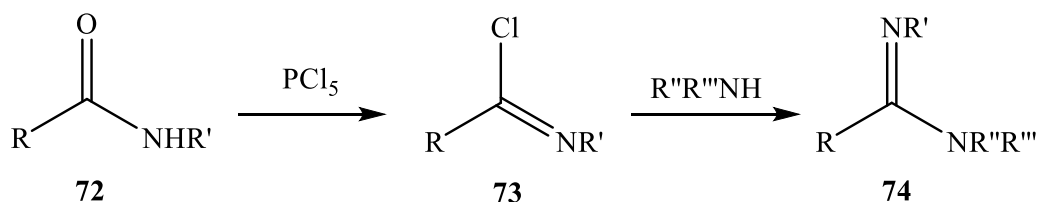
Shema 15. Rezonantna struktura amidinijevog iona u jako lužnatom mediju

2.4. Priprava amidina

Postoje mnogi načini priprave amidina, a najčešći su iz amida, nitrila i/ili tioamida.²³

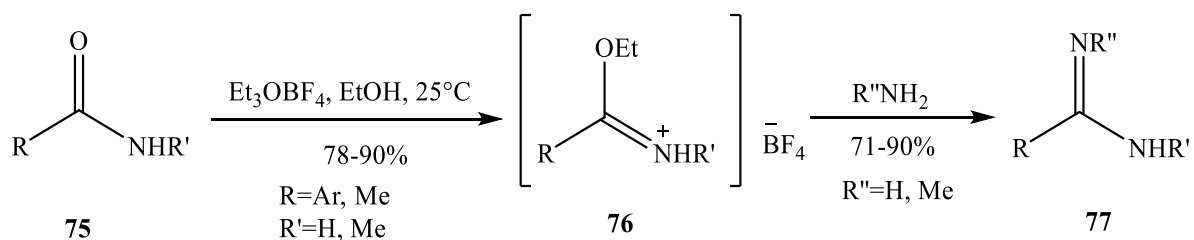
2.4.1. Priprava amidina iz amida/karboksilnih kiselina

Amidi se mogu pretvoriti u imidoilni klorid pomoću fosforog pentaklorida. Formirani imidoilni klorid može reagirati s primarnim ili sekundarnim aminima dajući amidine (shema 16).²⁴ Ova metoda je općenito loša za pripravu nesupstituiranih amidina iz primarnih amida, ali je izvrsna opća metoda za pripravu di- i tri-supstituiranih amidina. Ostali reagensi poput fosforova oksiklorida ili tionil-klorida mogu se koristiti u sintezi imidoil-klorida, ali uz niže iskorištenje.



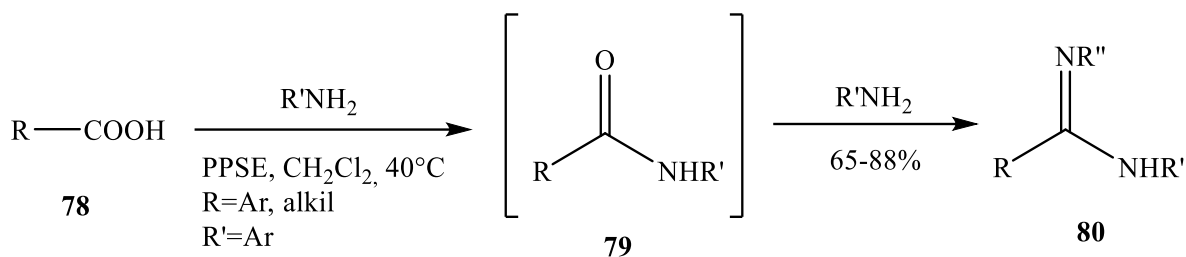
Shema 16. Priprava amidina iz amida i fosforovog(V) klorida

Amidi se mogu o-alkilirati trietiloksonijevim fluorboratom na sobnoj temperaturi do odgovarajućih imidoesterskih fluorborata koji reagiraju s aminima dajući amidine (shema 17).²⁵



Shema 17. Priprava amidina iz amida i trietiloksonijeva fluorborata

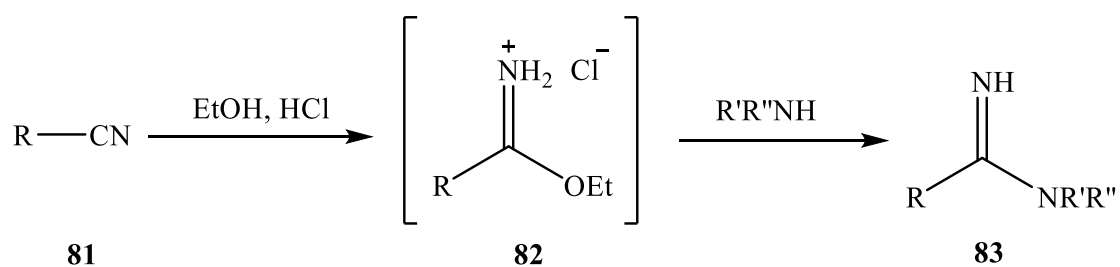
Izravna sinteza amidina iz karboksilnih kiselina i amina može se izvesti putem intermedijarnog amida koristeći ester trimetilsilila i polifosforne kiseline (PPSE), proizvedenog *in situ* iz reakcije fosforog pentoksida s heksametilodisiloksanom kao sredstvom za kondenzaciju (shema 18).²⁶



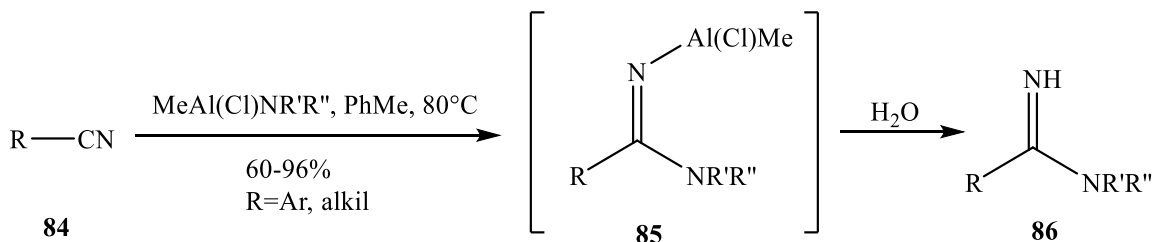
Shema 18. Izravna priprava amidina iz karboksilne kiseline

2.4.2. Priprava amidina iz nitrila

Nitrili se aktiviraju u intermedijarne soli u prisutnosti etanola i klorovodika u bezvodnim uvjetima. Odvojene soli zatim reagiraju s aminima dajući amidine (shema 19).^{27,28} Ova se metoda može smatrati najčešće korištenom i za dobivanje nesupstituiranih amidina. Izravna sinteza amidina iz nitrila i amina može se postići samo ako su nitrili supstituirani elektronodvlačećim skupinama.²⁹ Nereaktivni nitrili korišteni su za pripravu amidina u prisutnosti Lewisovih kiselina kao što je AlCl_3 ili ZnCl_2 na povišenim temperaturama od 150–200 °C.³⁰ Pokazano je da su alkilkloraluminijevi amidi, koji nastaju reakcijom iz trimetilaluminija i amonijeva klorida, korisni reagensi za konverziju nitrila u amidine u blažim uvjetima. Adicijom alkilkloraluminijevog amida na nitril u zagrijanom toluenu, nastaju amidini nakon hidrolize aluminijske specije (sheme 20 i 21).³¹

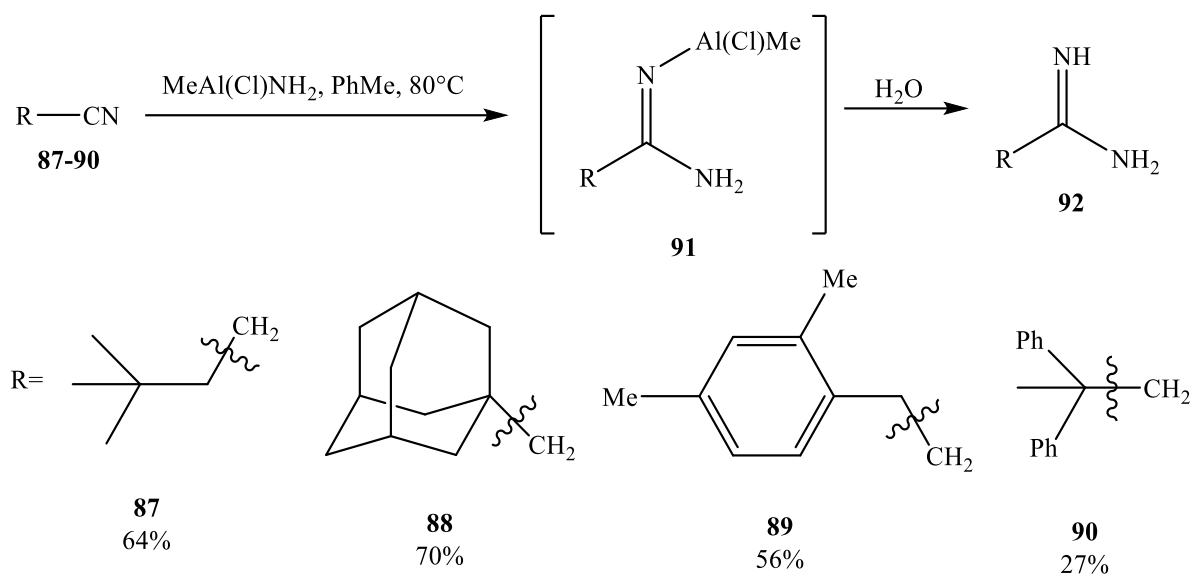


Shema 19. Priprava amidina iz nitrila preko intermedijarne soli



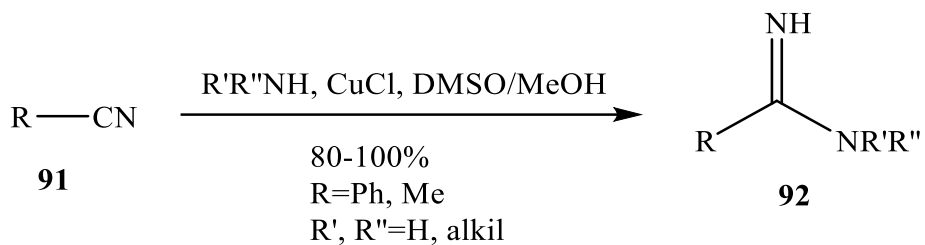
Shema 20. Priprava amidina iz nitrila i metilkloraluminijeva amida

Odgovarajući amidini mogu nastati i reakcijom metilkloraluminijevog amida sa sterički ometanim nitrilima (shema 21).³²



Shema 21. Priprava amidina iz sterički ometanih nitrila

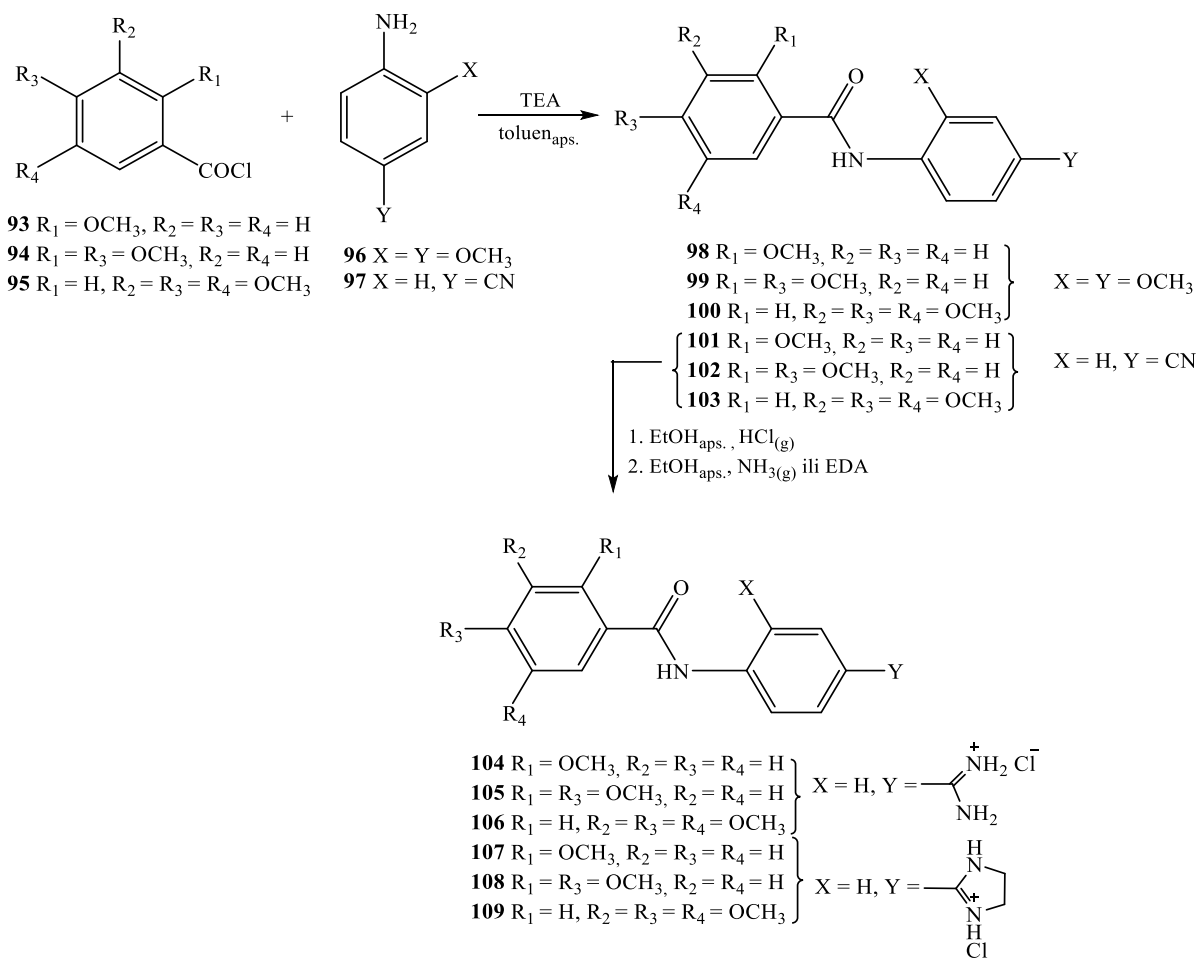
Amidini se također mogu pripremiti iz neaktiviranog nitrila i bakrova(I) klorida koji inducira adiciju različitih amina na nitrile u izvrsnim iskorištenjima (shema 22).³³



Shema 22. Priprava amidina iz nitrila i bakrova(I) klorida

2.5. Biološka aktivnost benzamida benzimidazola

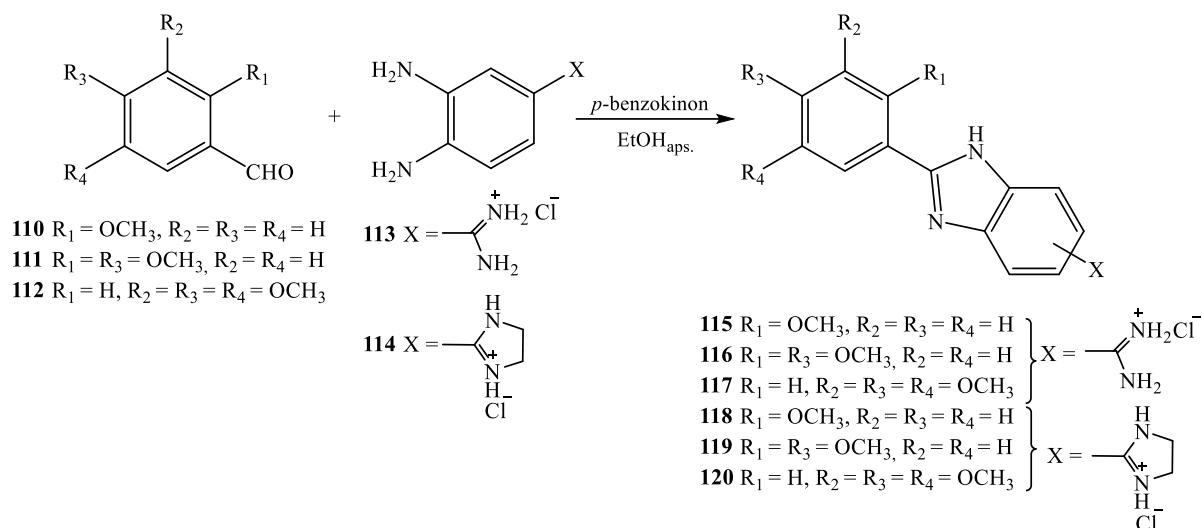
M. Cindrić i suradnici ispitivali su utjecaj broja metoksi skupina i vrste amidinskog supstituenta na antioksidativnu i antiproliferativnu aktivnost metoksi supstituiranih benzamida **98-109**, te benzimidazola **115-120** i **122-127**. Postupci pripreve tih spojeva prikazani su u shemama 23-25.



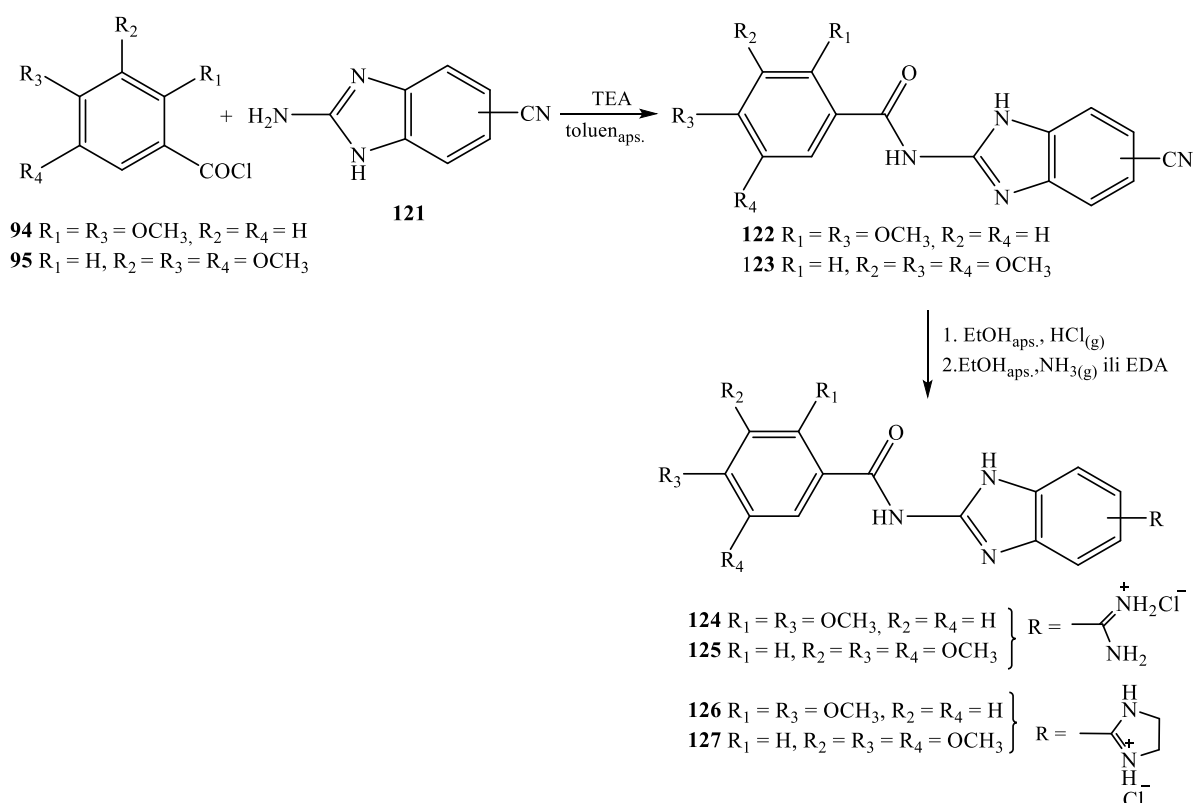
Shema 23. Pripreva derivata benzamida **98-109**

Monometoksi, dimetoksi i trimetoksi supstituirani benzamidi **98-103** priređeni su kondenzacijom iz benzoil-klorida **93-95** i odgovarajućih 4-supstituiranih anilina u apsolutnom toluenu i trietilaminu. Na isti način priređeni su 2-benzimidazolil supstituirani benzamidi **122-123**. Pinnerovom reakcijom cijano-supstituirani benzamidi **101-103** i **122-123** daju amidino **104-106** i **124-125** odnosno 2-imidazolinil **107-109** i **126-127** supstituirane benzamide. Kako bi se osigurala bolja topljivost, svi amidino supstituirani derivati priređeni su kao hidrokloridne soli.

Amidino i 2-imidazolinil supstituirani benzimidazoli **115-120** priređeni su prema shemi 24 kondenzacijom iz odgovarajućih benzaldehida **110-112** i 4-amidino ili 4-(2-imidazolinil)-1,2-fenilendiamin-hidroklorida **113-114** s *p*-benzokinonom kao oksidirajućim sredstvom u apsolutnom etanolu. Uslijed poteškoća u sintezi, monometoksi supstituirani analog spojeva **124-127** nije uspješno sintetiziran.

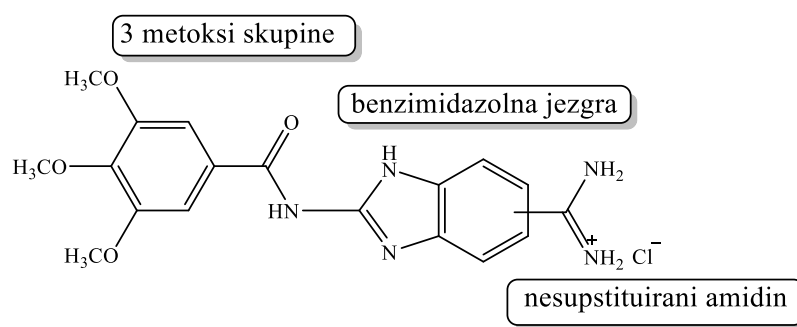


Shema 24. Priprava derivata benzimidazola **115-120**



Shema 25. Priprava derivata benzimidazola **122-127**

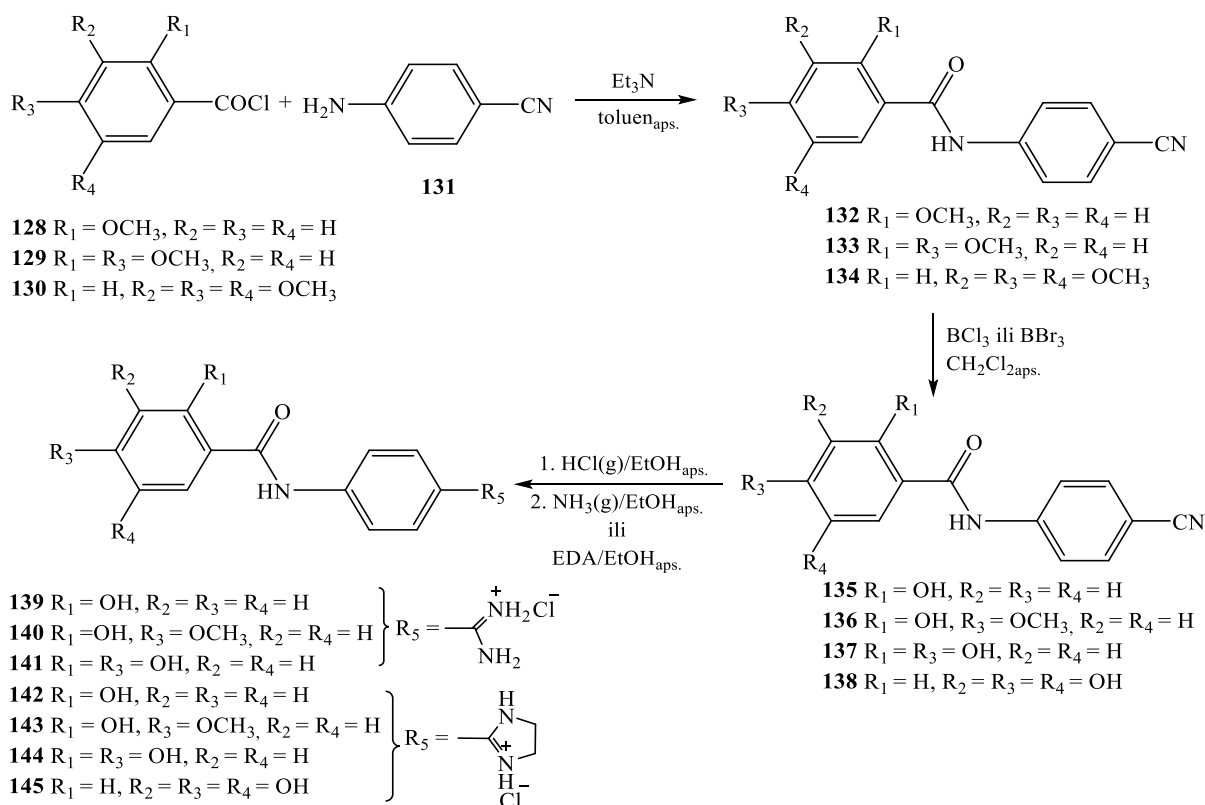
Rezultati su pokazali da 2-supstituirani benzimidazoli **115-120** imaju izraženu antioksidativnu aktivnost, dok je trimetoksi supstituirani benzimidazol s 2-imidazolinilnom skupinom **120** najaktivniji. Ti spojevi imaju vrlo slabu antiproliferativnu aktivnost. Monometoksi, dimetoksi i trimetoksi supstituirani benzamidni derivati s 2-imidazolinilnom skupinom **107-109** pokazuju poboljšanje antiproliferativne aktivnosti u usporedbi s njihovim amidino supstituiranim analogima, ali bez ikakvih selektivnosti prema testiranim staničnim linijama. Najizraženija antiproliferativna aktivnost uočena je kod spoja **125** s 3 metoksi skupine, te amidino skupinom i to prema staničnoj liniji MCF-7 ($IC_{50} = 9 \mu M$).³⁴



Slika 3. Struktura derivata **125** s najboljom antiproliferativnom aktivnosti

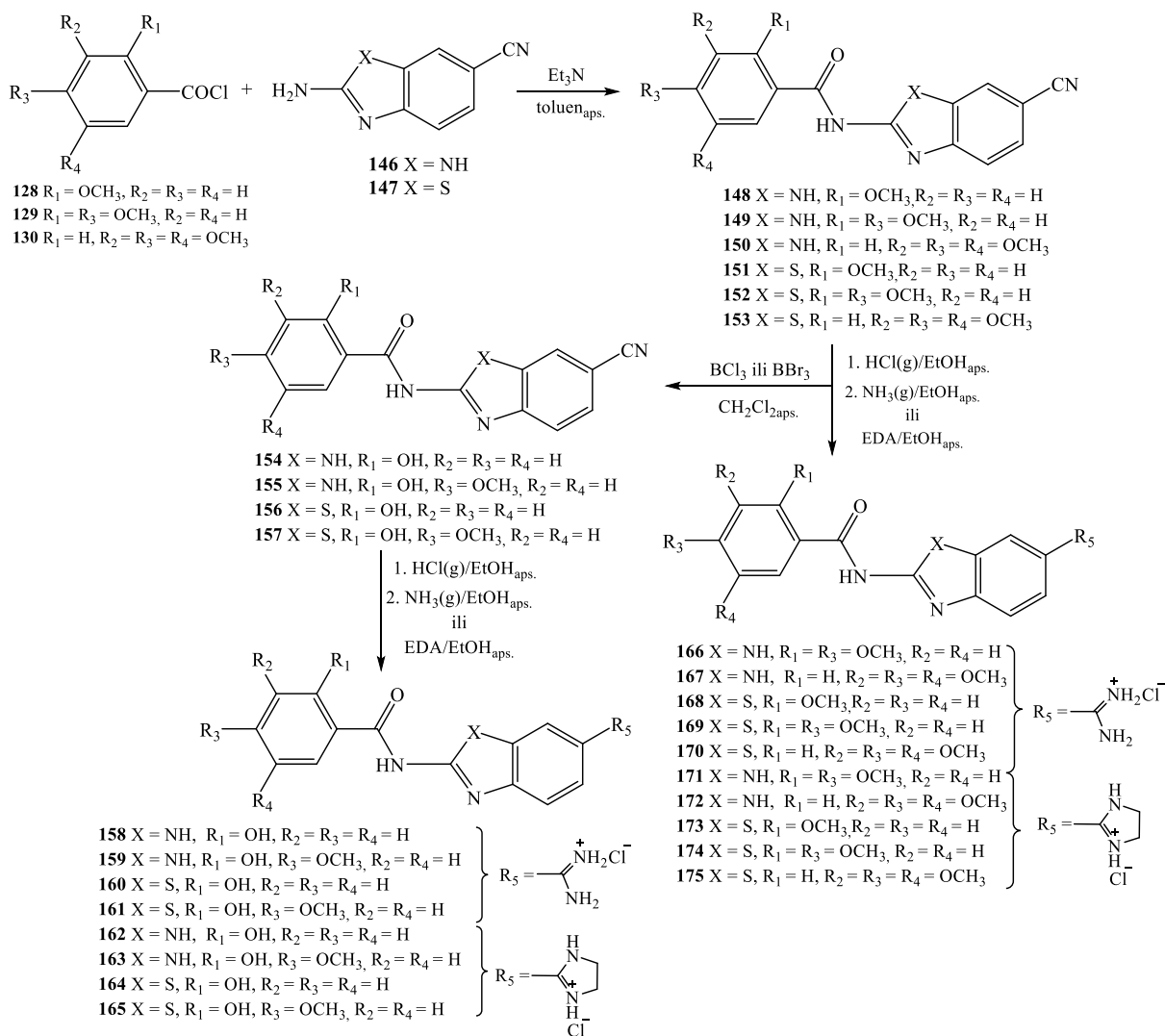
I. Sović i suradnici također su ispitali su antioksidativnu i biološku aktivnost amidino supstituiranih benzamida koji se razlikuju u vezanim heteroatomskim jezgrama, te broju metoksi i hidroksi supstituenata na fenilnoj jezgri.³⁵

Reakcije pripreme derivata amida prikazane su na shemama 26 i 27. Cijano supstituirani benzamidi **132-134** i 2-benzimidazolil/2-benzotiazolil supstituirani benzamidi **148-153** priređeni su iz metoksi supstituiranih acil-halogenida **128-130** i *p*-cijanoanilina **131** odnosno cijano supstituiranog 2-aminobenzimidazola **146** ili 2-aminobenzotiazola **147**. Kako bi se dobili odgovarajući hidroksi supstituirani benzamidi s cijano skupinom **135-138** i **154-157**, za uklanjanje metoksi zaštitinih skupina korišten je borov triklorid ili borov tribromid u apsolutnom diklormetanu pri temperaturi od $-75 \text{ }^\circ\text{C}$. Korištenjem borovog triklorida uklonjena je samo jedna metoksi skupina iz spojeva **133**, **149** i **152**, što omogućuje pripremu spojeva **136**, **155** i **157** koji sadrže jednu metoksi i jednu hidroksi skupinu.



Shema 26. Priprava derivata benzamida **139-145**

Ciljani spojevi s različitim brojem hidroksi (**139-145** i **158-165**) i metoksi skupina (**166-175**) koji imaju amidino ili 2-imidazolinilni supstituent dobiveni su Pinnerovom reakcijom u kiselim uvjetima iz odgovarajućih cijano prekursora. Tijek reakcije pratio se IR spektroskopijom. Kako bi se osigurala bolja topljivost, svi amidino supstituirani derivati pripremljeni su kao hidrokloridne soli. Zbog poteškoća u provedbi Pinnerove reakcije, monometoksi supstituirani analozi amidino spojeva **166-175** nisu uspješno sintetizirani.



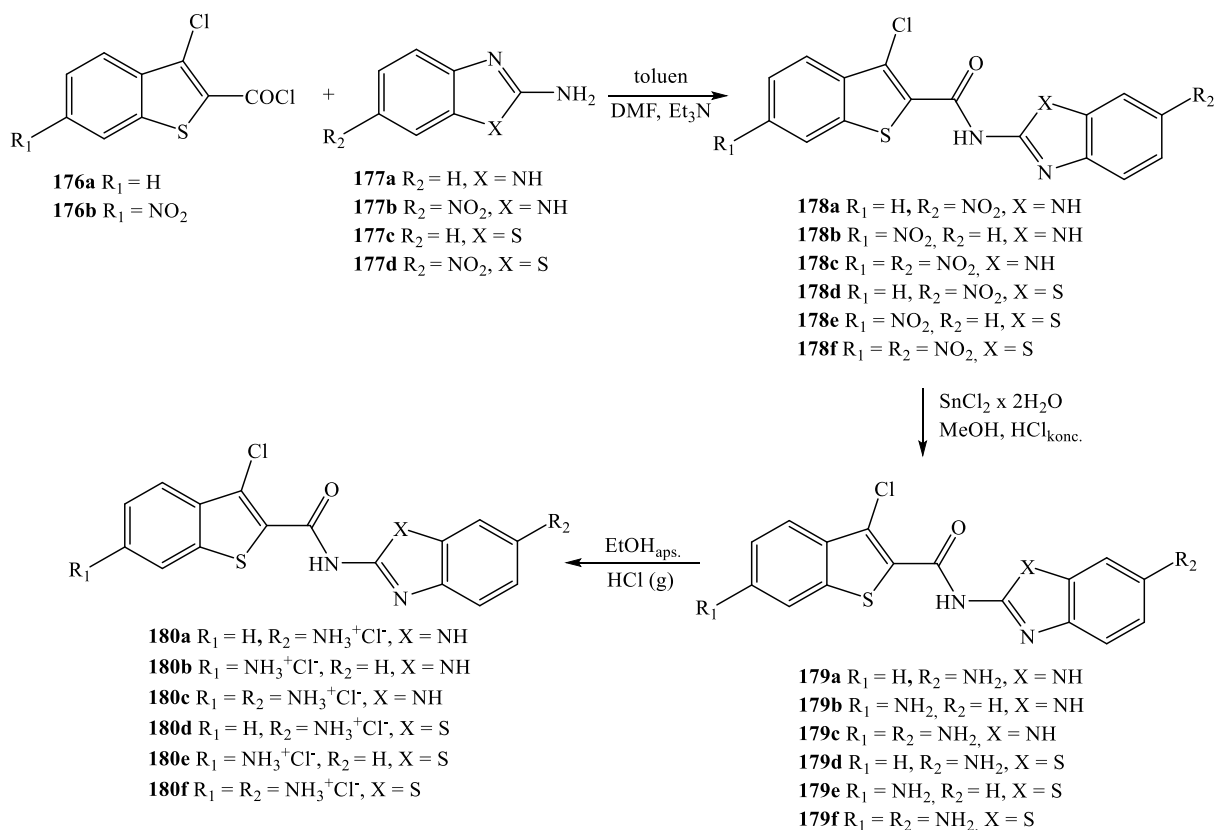
Shema 27. Priprava derivata benzamida **158-165** i **166-175**

Antioksidativna aktivnost ispitivana je *in vitro* spektrofotometrijski korištenjem metoda DPPH, FRAP i ABTS. Rezultati ispitivanja antioksidativne aktivnosti pokazali su da su hidroksi skupine bitne u pronalasku i prikupljanju slobodnih radikala, a najizraženija antioksidativna aktivnost zapažena je kod spoja **141** s dvije hidroksi skupine u položajima 2 i 4 na fenilnoj jezgri, te *N*-4-amidino skupinom. DPPH testovi pokazali su da priređeni spojevi pokazuju poboljšanu ili sličnu antioksidativnu aktivnost kao i L-askorbinska kiselina koja je korištena kao standardni antioksidans. Kod većine spojeva uočena je i umjerena do slaba antiproliferativna aktivnost pri mikromolarnim inhibicijskim koncentracijama prema odabranim staničnim linijama humanih karcinoma. Kao standardni antitumorski lijek pri ispitivanju antiproliferativne aktivnosti korišten je cisplatin.

Općenito se može zaključiti da benzotiazolni derivati pokazuju veću antiproliferativnu aktivnost u odnosu na benzimidazolne analoge. Iznimku čini 2,4-dimetoksi supstituirani benzimidazol s 2-imidazolinilnom skupinom **171**. 2-metoksi supstituirani benzotiazol s 2-imidazolinilnom skupinom **173** pokazao je najveću antiproliferativnu aktivnost prema HeLa staničnoj liniji raka ($IC_{50}=13,6 \pm 1,24 \mu M$).

Ispitane su i antibakterijska i antifungalna aktivnost spojeva prema odabranim sojevima bakterija i gljivica. Kao standardni antibiotik pri ispitivanju antibakterijske aktivnosti korišten je amikacin. Spoj **167** koji je 3,4,5-trimetoksi supstituirani benzimidazol s *N*-6-amidino skupinom pokazao je najznačajniju *in vitro* antibakterijsku aktivnost bez izražene selektivnosti prema gram-negativnim i gram-pozitivnim bakterijama. U ispitivanju prema 8 sojeva bakterija (*S. aureus*, *M. luteus*, *B. subtilis*, *C. sporogenes*, *E. coli*, *P. hauseri*, *P. aeruginosa*, *K. pneumonia*) minimalna inhibicijska koncentracija (MIC_{50}) spoja **167** bila je u rasponu 0,37-1,54 $\mu g/mL$. Rezultati su pokazali da neki spojevi imaju bolju antifungalnu aktivnost u odnosu na antibakterijsku aktivnost. Također, većina je spojeva pokazala bolju antifungalnu aktivnost od standarda nistatina prema sojevima *C. albicans* i *S. cerevisiae*. Kao najaktivniji spoj pokazao se 2-hidroksi supstituirani benzimidazol s 2-imidazolinilnom skupinom **162** ($MIC_{50} = 0,11 \mu g/mL$). Općenito, benzimidazolni derivati pokazali su bolju antifungalnu aktivnost od benzotiazolnih derivata.

M. Cindrić i suradnici priredili su nove nitro (**178a–178f**) i amino (**179a–179f** i **180a–180f**) supstituirane 2-benzimidazolilne i 2-benzotiazolilne benzo[*b*]tieno-2-karboksamide kao potencijalne antibakterijske agense. Ti su spojevi priređeni uobičajenim eksperimentalnim postupcima prikazanim na shemi 28.³⁶ Reakcije kondenzacija 3-klorbenzo[*b*]tiofen-2-karbonil-klorida **176a–176b** s 2-aminobenzimidazolima **177a–177b** i 2-aminobenzotiazolima **177c–177d** dale su odgovarajuće benzo[*b*]tieno-2-karboksamide **178a–178f**. Nitro-supstituirani derivati **178a–178f** reducirani su u odgovarajuće amino-supstituirane benzo[*b*]tieno-2-karboksamide **179a–179f** korištenjem $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ u metanolu i koncentriranoj klorovodičnoj kiselini. Hidrokloridne soli **180a–180f** priređene su korištenjem klorovodika kako bi se povećala topljivost spojeva **179a–179f**.

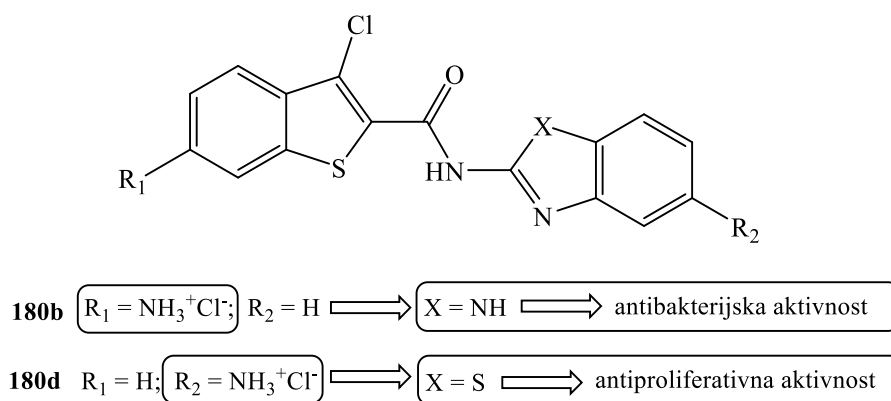


Shema 28. Priprava 2-benzimidazolil- i 2-benzotiazolil-supstituiranih benzo[*b*]tieno-2-karboksamida

Antibakterijska aktivnost spojeva **178a–178e**, **179a,179d** i **180a–180f** ispitana je *in vitro* prema 4 soja bakterija osjetljivih na antibiotike: *S. aureus* i *Enterococcus faecalis* (gram-pozitivne bakterije), te *E. coli* i *Moraxella catarrhalis* (gram-negativne bakterije). Kao standard u ispitivanju antibakterijske aktivnosti korišten je antibiotik azitromicin. Rezultati su pokazali da svi ispitivani spojevi ne pokazuju antibakterijsku aktivnost prema *S. aureus* i *E. coli* ($\text{MIC} > 128 \mu\text{g/mL}$), osim derivata benzimidazola **180a** i **180b** koji imaju MIC vrijednosti od 32 i 64 $\mu\text{g/mL}$ prema *E. coli*. Prema soju *E. faecalis* uočena je umjerena antibakterijska aktivnost ($\text{MIC} = 8\text{--}64 \mu\text{g/mL}$). Općenito amino-supstituirani benzimidazoli **179a**, **180a–180c**, te benzotiazoli **179d**, **180d–180f** pokazali su izraženiju antibakterijsku aktivnost u usporedbi s njihovim nitro-supstituiranim analogima. Najmanju vrijednost minimalne inhibicijske koncentracije pokazao je benzimidazolni derivat benzo[*b*]tieno-2-karboksamida u obliku hidrokloridne soli **180b** prema soju *M. catarrhalis* ($\text{MIC} = 2 \mu\text{g/mL}$).

Antiproliferativno djelovanje benzimidazolil- i benzotiazolil-supstituiranih benzo[*b*]tieno-2-karboksamida **178a**, **178b**, **178d**, **179d** i **180d–180f** ispitano je prema staničnim linijama HCT116, MCF-7 i H460 uz korištenje antitumorskog lijeka etopozida kao standarda. Spojevi **178b**, **178d** i **180d** su najviše inhibirali rast stanica raka dojke MCF-7 i stanica raka pluća H460. Među njima se najviše iskazao amino-supstituirani benzotiazolni derivat u obliku hidrokloridne soli **180d** ($IC_{50} = 40$ nM). Najslabiju aktivnost prema sve tri linije stanica pokazali su amino-supstituirani benzotiazol **180e** koji nosi amino protoniranu skupinu na jezgri benzo[*b*]tiofena i diamino-supstituirani benzotiazol **180f**.

Također, ispitano je vezanje protoniranih derivata **180a–180f** na DNA kako bi se istražio potencijalni mehanizam biološkog djelovanja. Očekivalo se da će pozitivno nabijeni benzo[*b*]tiofen-2-karboksamidi stupiti u interakciju s negativnim ograncima DNA uzvojnice. Njihova sklonost interakciji s ct-DNA i stabilizaciji DNA uzvojnice procijenjena je uporabom eksperimenta određivanja temperature taljenja DNA. Temperatura taljenja DNA mijenja se ovisno o načinu vezivanja spojeva **180a–180f** za DNA. Povećanje temperature taljenja je tipično opaženo nakon vezanja spojeva u manji utor DNA ili ugrađivanjem dok je značajno smanjenje temperature taljenja uočeno nakon vezanja na DNA. Međutim, nijedan od odabranih derivata nije značajno utjecao na stabilnost DNA uzvojnice.

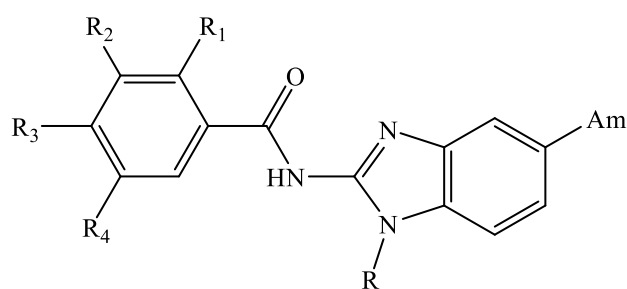


Slika 4. Strukture derivata **180b** i **180d** s najboljom antibakterijskom i antiproliferativnom aktivnosti

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. Cilj rada

Cilj ovog rada bila je priprava novih *N*-supstituiranih benzimidazola **13-16**. Svi su spojevi priređeni uobičajenim metodama organske sinteze uz sintezu potpomognutu mikrovalovima. Prvi korak u pripravi bila je nukleofilna supstitucija 4-klor-3-nitrobenzonitrila koja je provedena korištenjem odgovarajućih amina. Nitro skupina priređenih spojeva **2** i **3** je reducirana u amino skupinu (**4** i **5**) i provedena je ciklokondenzacija kako bi se dobili odgovarajući benzimidazoli **6** i **7**. Reakcijama kondenzacije s odgovarajućim karboksilnim kiselinama priređeni su glavni 2-benzimidazolil supstituirani benzamidi **10-12** iz kojih su priređeni željeni amidino-supstituirani derivati **13-16**. Struktura priređenih spojeva potvrđena je ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom.

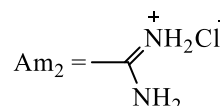
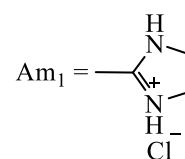


13 R = CH₃, R₁ = OCH₃, R₂ = R₃ = R₄ = H, Am₁

14 R = CH₃, R₁ = OCH₃, R₂ = R₃ = R₄ = H, Am₂

15 R = CH₃, R₁ = H, R₂ = R₃ = R₄ = OCH₃, Am₂

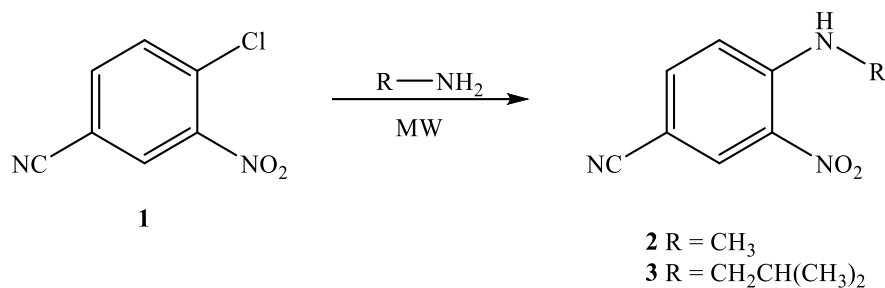
16 R = CH₂CH(CH₃)₂, R₁ = OCH₃, R₂ = R₃ = R₄ = H, Am₁



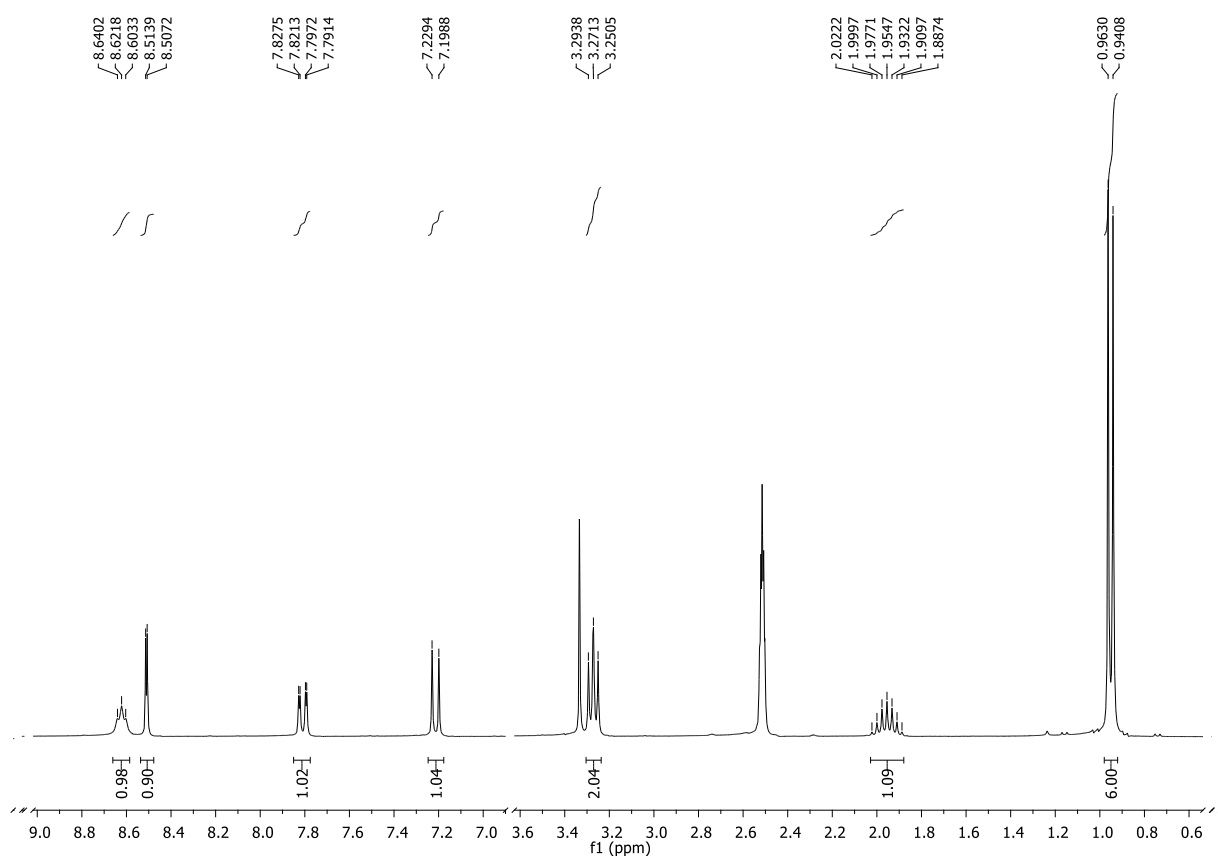
Slika 5. Strukture ciljanih spojeva **13-16**

3.2. Priprava ciljanih spojeva

U prvom koraku priprave ciljanih spojeva provedena je mikrovalnim zračenjem potpomognuta nukleofilna supstitucija čime je priređen 4-*N*-(izobutilamino)-3-nitrobenzonitril **3** u iskorištenju od 76%. Atom klora ima ulogu izlazeće skupine, dok izobutilamin sa slobodnim elektronskim parom ima ulogu nukleofila koji napada parcijalno pozitivan atom ugljika u položaju 4. Iskorištenje priprave spoja **2** iznosilo je 62%. Reakcija je prikazana na shemi 29. Struktura spoja **3** potvrđena je ¹H NMR spektrom koji je prikazan na slici 6.



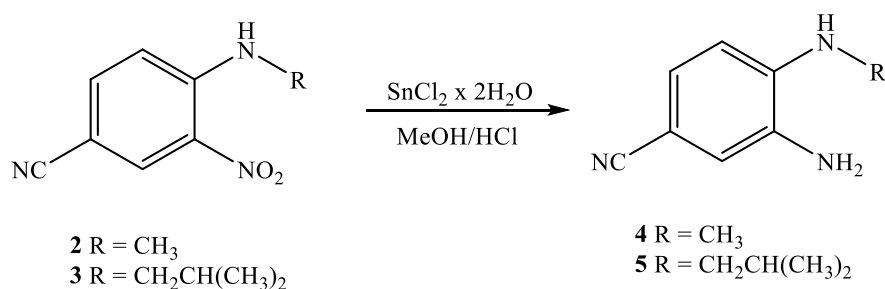
Shema 29. Priprava spojeva **2** i **3**



Slika 6. ¹H NMR spektar 4-*N*-(izobutilamino)-3-nitrobenzonitrila **3**

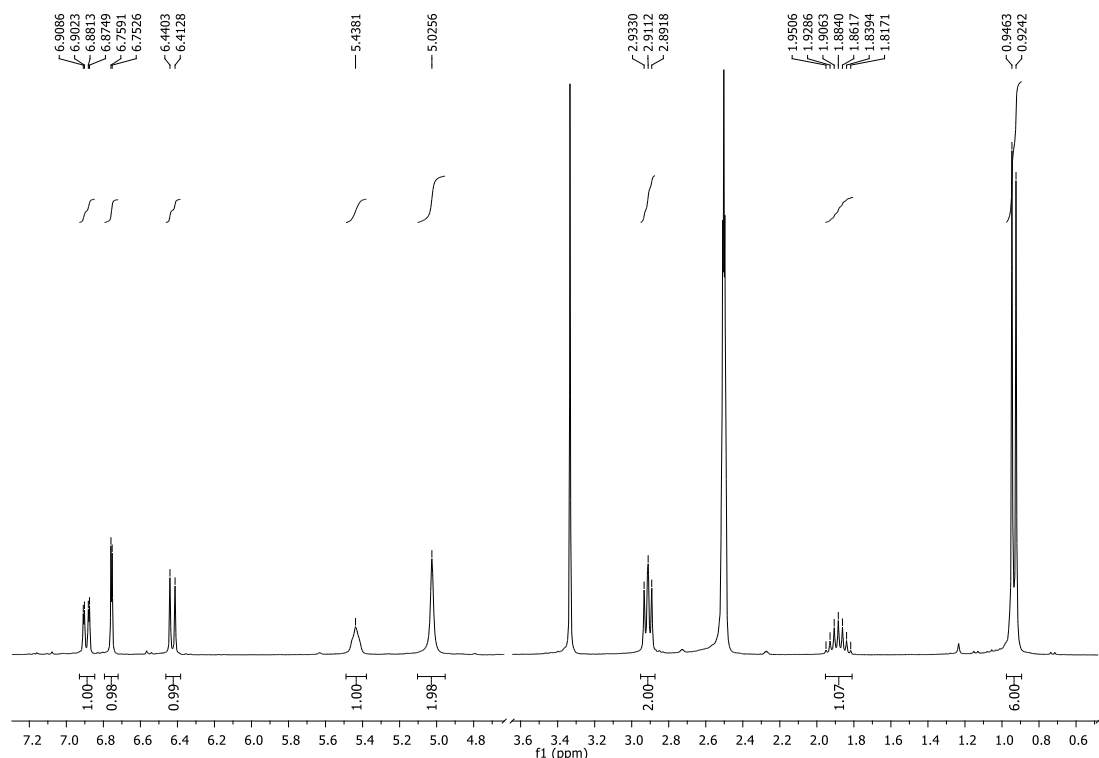
U ^1H NMR spektru spoja **3** na pomaku od 8,62 ppm nalazi se signal protona NH skupine koji potvrđuje uspješno provedenu reakciju nukleofilne supstitucije. Signal je u obliku tripleta jer se spreže s 2 protona CH_2 skupine. U području od 8,51-7,21 ppm nalaze se signali aromatskih vodika od kojih su 2 u obliku dubleta i 1 u obliku dubleta-dubleta. Na pomaku od 3,27 ppm nalazi se signal protona CH_2 skupine u obliku tripleta zbog sprege s 1 protonom NH skupine, te 1 protonom CH skupine koja ima oblik multiplleta u području od 2,03-1,88 ppm. Multiplet CH skupine posljedica je sprezanja s 2 protona CH_2 skupine, te 6 protona dviju CH_3 skupina.

U drugom koraku nitro skupina u položaju C-3 reducirana je u amino skupinu korištenjem kositrovog(II) klorida dihidrata otopljenog u smjesi klorovodične kiseline i metanola. Prilikom redoks reakcije kositrov(II) klorid oksidira se u kositrov(IV) klorid, a klorovodična kiselina donirala je protone u reakciji. Kao produkt reakcije nastao je 3-amino-4-*N*-(izobutilamino)benzonitril **5** u iskorištenju od 42%. Spoj **4** dobiven je u iskorištenju od 41%. Reakcija je prikazana na shemi 30.



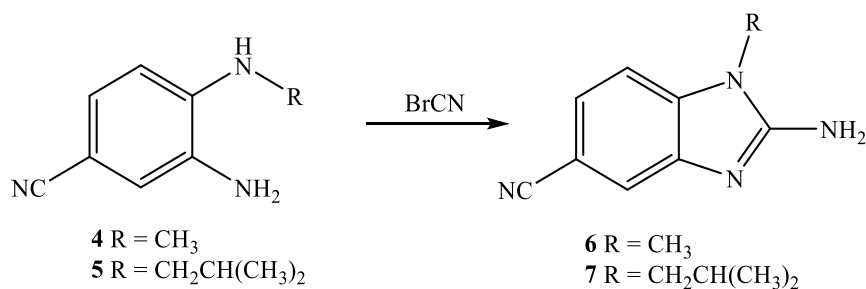
Shema 30. Priprava spojeva **4** i **5**

Struktura spoja **5** potvrđena je ^1H NMR spektrom koji je prikazan na slici 7. U području od 6,89-6,43 ppm nalaze se signali aromatskih vodika od kojih su 2 u obliku dubleta i 1 u obliku dubleta dubleta. Na pomaku od 5,44 ppm nalazi se signal protona NH skupine u obliku širokog singleta. Na 5,03 ppm vidi se signal protona NH_2 skupine koji potvrđuje provedenu reakciju redukcije nitro skupine u amino skupinu. Signal NH_2 je u obliku singleta jer nema susjednih protona s kojima bi se sprezao. Na 2,91 ppm vidljiv je triplet protona CH_2 zbog sprezanja s protonom NH skupine te s protonom CH skupine koja ima multiplet u području 1,95-1,81 ppm. Dvije CH_3 skupine imaju signal na 0,94 ppm u obliku dubleta zbog sprezanja s protonom CH skupine.



Slika 7. ^1H NMR spektar 3-amino-4-*N*-(izobutilamino)benzotrila **5**

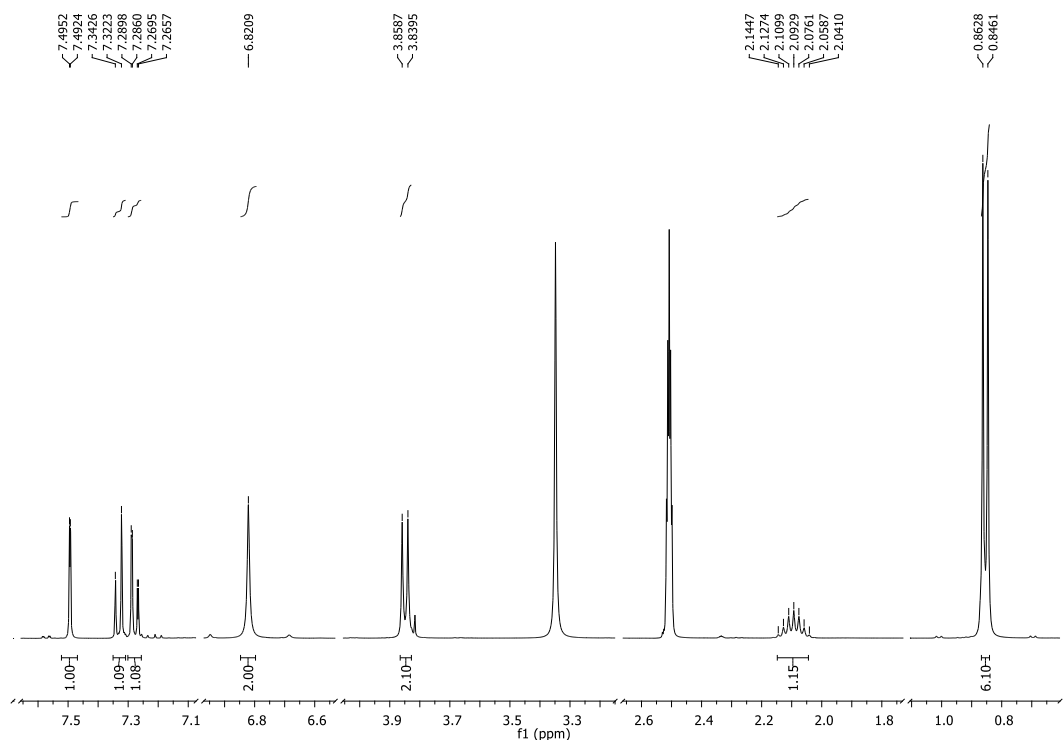
U trećem koraku provedena je ciklokondenzacija korištenjem bromovog cijanida otopljenog u acetonitrilu čime je nastao 2-amino-5-cijano-1-izobutilbenzimidazol **7** u iskorištenju od 36%. *N*-metil supstituirani derivat **6** dobiven je u iskorištenju od 22%. Reakcija ciklokondenzacije kojom su priređeni glavni prekursori za pripravu ciljanih spojeva, 2-aminobenzimidazoli, prikazana je na shemi 31.



Shema 31. Priprava spojeva **6** i **7**

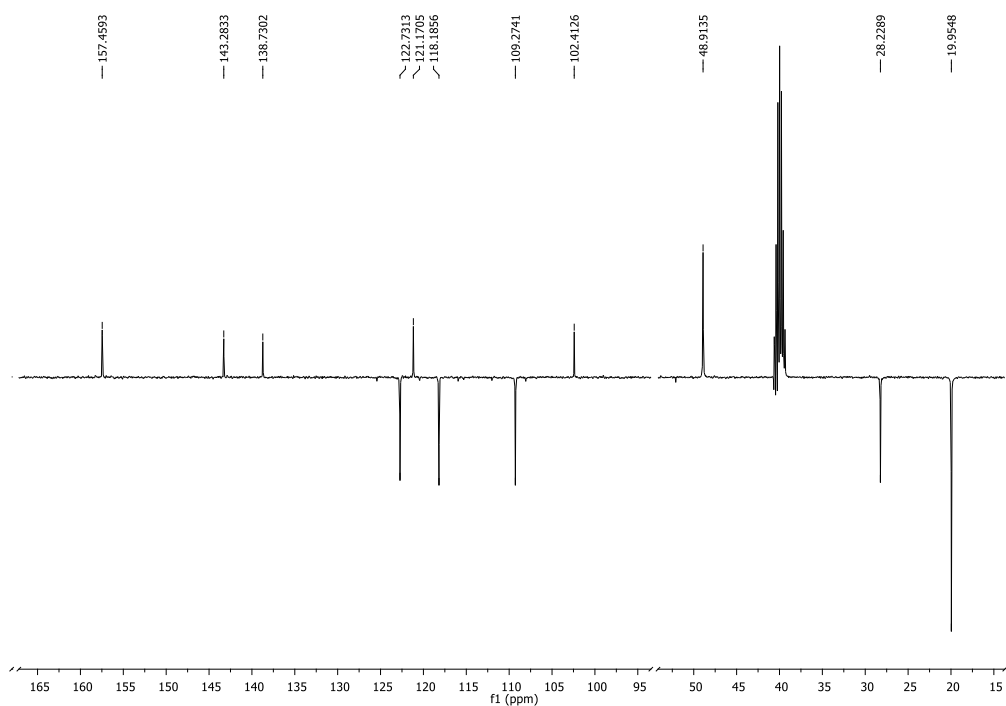
Struktura spoja **7** potvrđena je ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom, a spektri su prikazani na slikama 8 i 9. U ^1H NMR spektru u području 7,49-7,28 ppm nalaze se signali 3 aromatska protona. Pri 6,82 ppm vidljiv je signal protona NH_2 u obliku singleta jer u okolini nema protona s kojima bi se sprežali. Protoni CH_2 skupine vidljivi su na 3,85 ppm kao dublet zbog sprege s protonom CH skupine koja ima multiplet u području 2,15-2,04 ppm.

Signal za 6 protona dviju CH₃ skupina nalazi se na 0,85 ppm kao dublet. Uspješno provedenu ciklizaciju potvrđuje gubitak signala prethodno postojeće NH skupine.



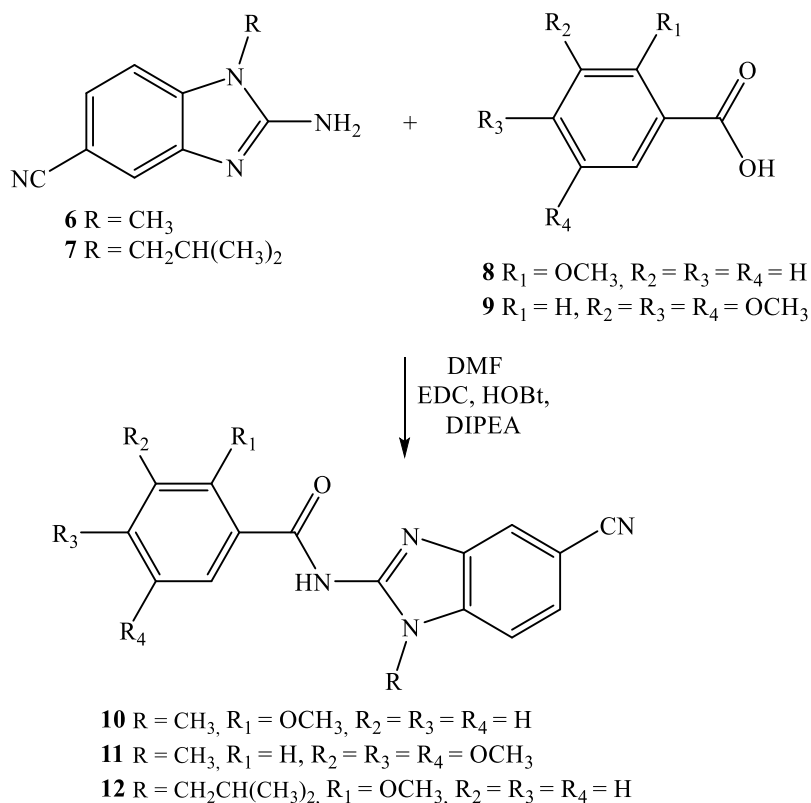
Slika 8. ¹H NMR spektar 2-amino-5-cijano-1-izobutilbenzimidazola **7**

U ¹³C NMR spektru vidi se 5 signala koji pripadaju kvaternim ugljikovim atomima, 3 signala aromatskih ugljikovih atoma, te 3 signala koji su u području alifatskih ugljika.



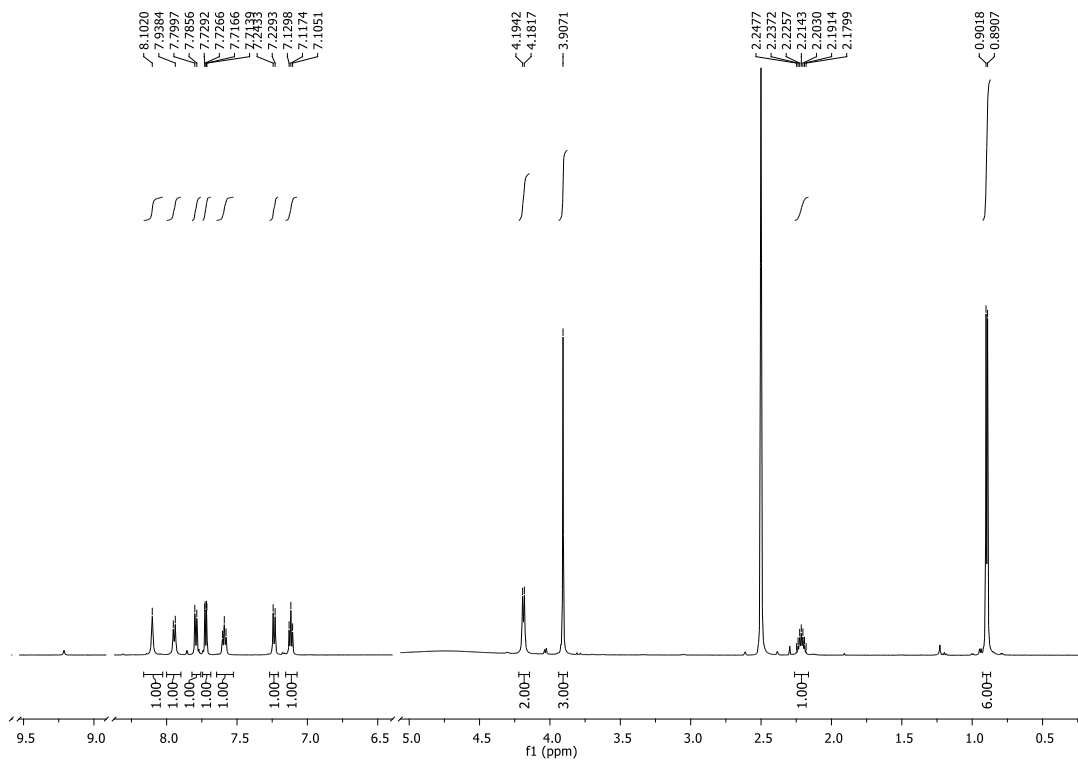
Slika 9. ¹³C NMR spektar 2-amino-5-cijano-1-izobutilbenzimidazola **7**

Četvrti korak u sintezi bila je kondenzacija nastalih 2-aminobenzimidazola (**6** i **7**) s odgovarajućim karboksilnim kiselinama (**8** i **9**) uz korištenje regenasa EDC, HOBt i DIPEA za stvaranje amidne veze čime su nastali odgovarajući karboksamidni derivati, 2-benzimidazolil supstituirani benzamidi **10** (56%), **11** (70%) i **12** (71%). Reakcija kondenzacije prikazana je na shemi 32.



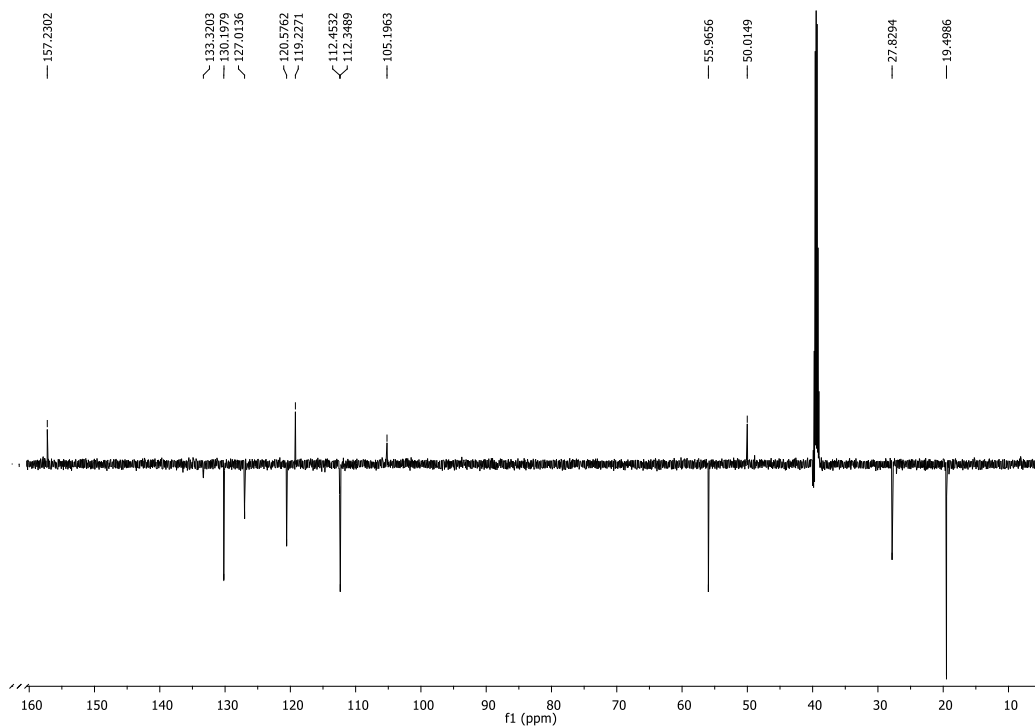
Shema 32. Priprava spojeva **10-12**

Struktura *N*-(5-cijano-1-izobutil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)-2-metoksibenzamida **12** potvrđena je ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom, a spektri su prikazani na slikama 10 i 11. U ^1H NMR spektru može se uočiti 7 signala aromatskih protona u području kemijskih pomaka 8,10-7,12 ppm. Na kemijskom pomaku od 4,19 ppm vidljiv je signal protona CH_2 skupine kao dublet jer se spreže s 1 protonom CH skupine koja ima signal oblika multiplleta u području 2,26-2,16 ppm. Proton CH skupine spreže se i sa 6 protona dviju CH_3 skupina čiji je dublet na kemijskom pomaku 0,90 ppm. Protoni metoksi skupine OCH_3 nalaze se na 3,91 ppm i odsjenjeniji su od protona CH_3 skupine zbog veće elektronegativnosti atoma kisika.



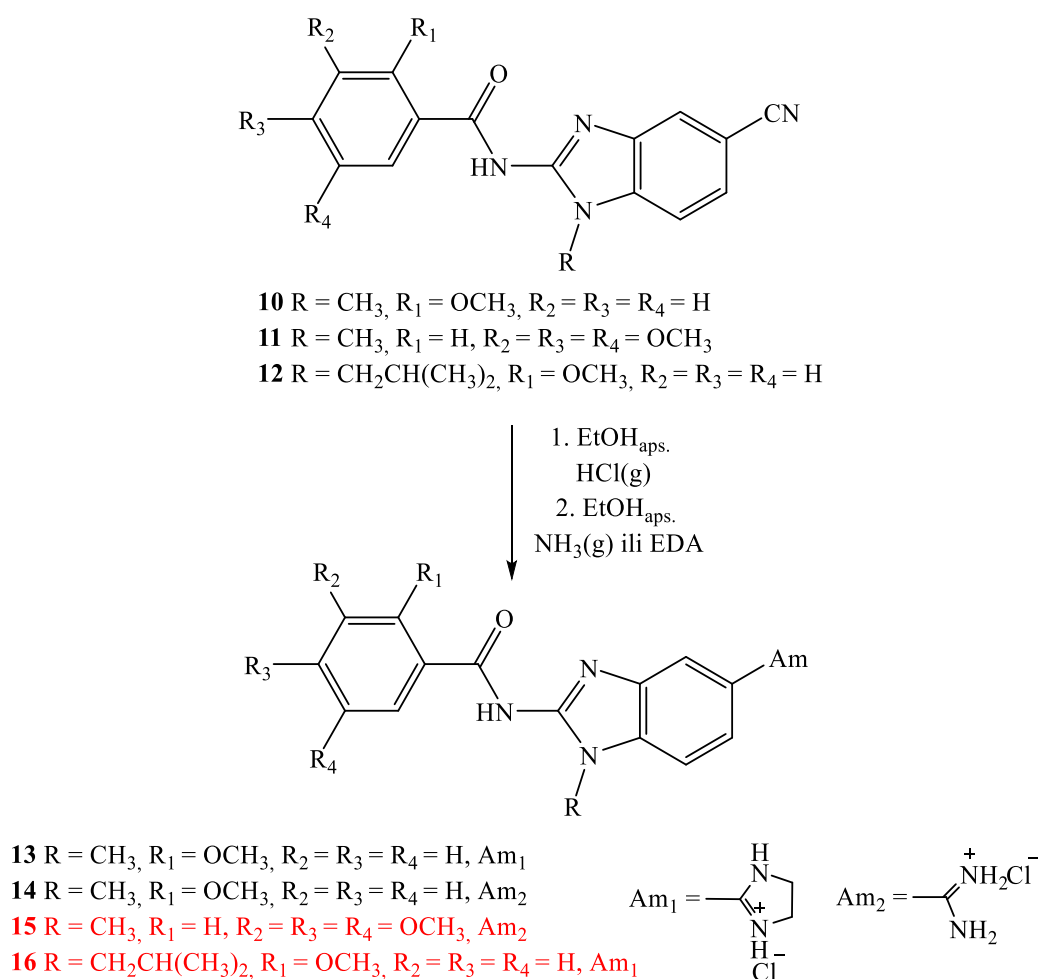
Slika 10. ^1H NMR spektar benzamida **12**

U ^{13}C NMR spektru pri 157,2 ppm vidi se signal kvaternog ugljika koji pripada ugljiku amidne veze nastale kondenzacijom s karboksilnom kiselinom. U području od 133,3-112,4 su signali aromatskih ugljika, dok su signali alifatskih ugljika vidljivi u području 56,0-19,5 ppm.



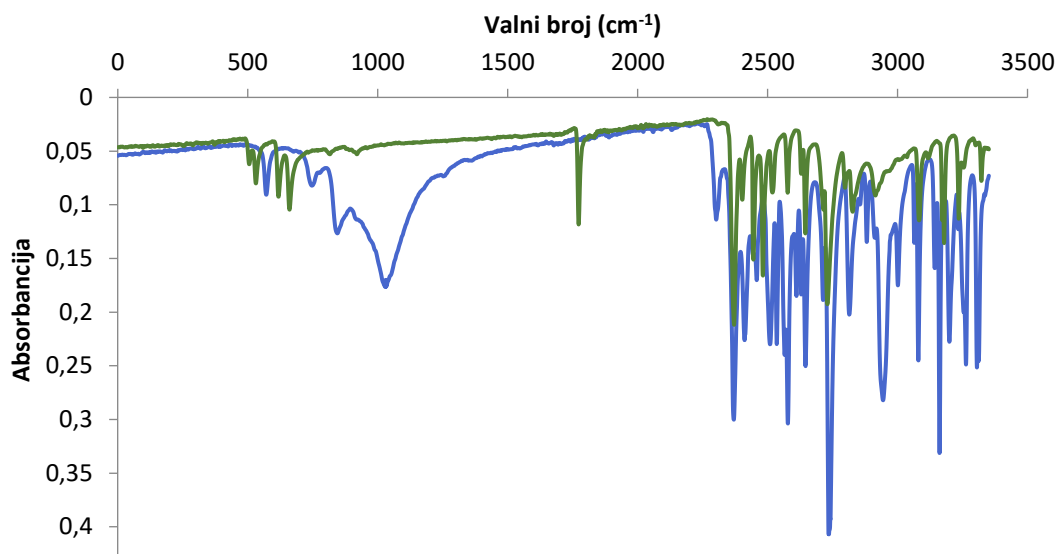
Slika 11. ^{13}C NMR spektar benzamida **12**

U zadnjem koraku sinteze nastali cijano-supstituirani benzamidi **10-12** prevedeni su u amidino-supstituirane derivate benzamida *N*-supstituiranih benzimidazola, Pinnerovom reakcijom u kiselom mediju. Nukleofilna adicija etanola na cijano skupinu katalizirana je kiselinom, te je kao glavni međuprodukt nastao iminoester. Zatim se dobivenom iminoesteru uvodi odgovarajući amin kao nukleofil čime nastaju amidino-supstituirani karboksamidni derivati benzimidazola **13** (19%) i **14** (20%). Spojevi **15** i **16** nisu uspješno priređeni ovom metodom. Reakcija je prikazana na shemi 33, a strukture svih priređenih spojeva potvrđene su NMR spektroskopijom.



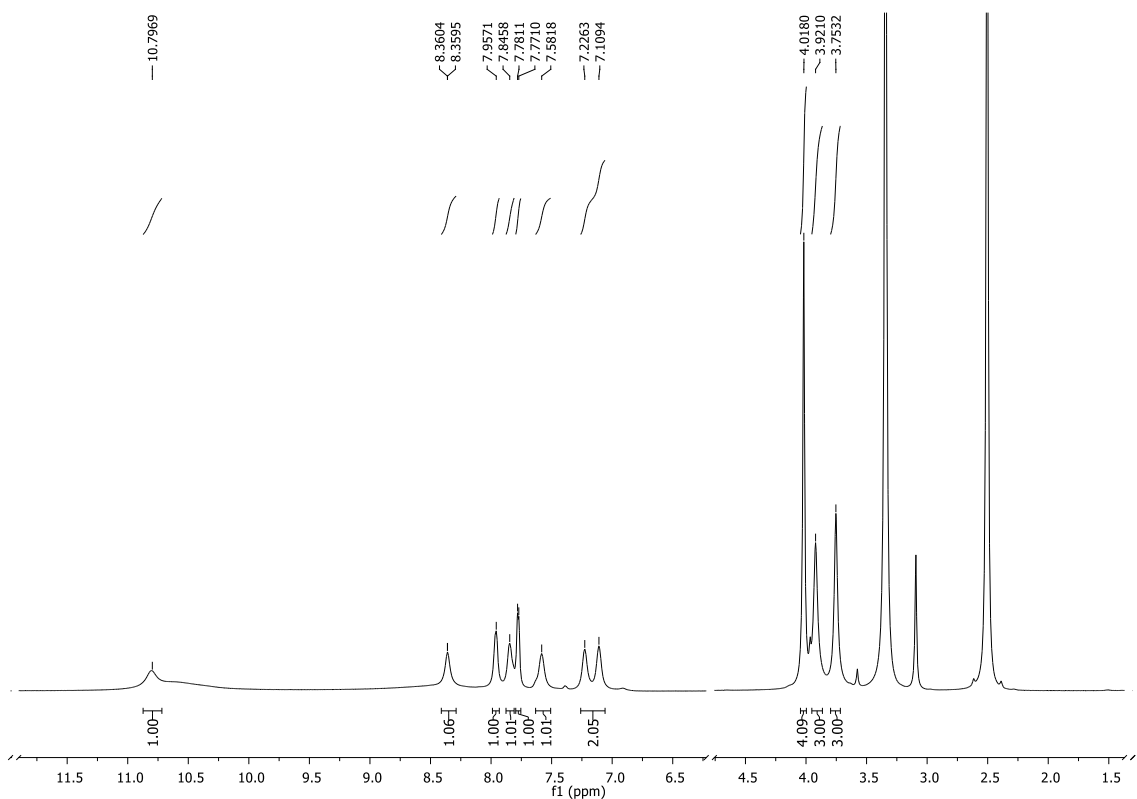
Shema 33. Priprava spojeva **13-16**

Za praćenje tijeka Pinnerove reakcije korištena je IR spektroskopija i to za potvrđivanje nastanka iminoestera (zelena boja) nestanskom vrpce na 2200 cm⁻¹ koja odgovara CN skupini (plava boja), što je prikazano na slici 12.



Slika 12. IR spektar spojeva **10** (plavo) i **13** (zeleno) – nestanak cijano vrpce spoja **10** na $\sim 2200\text{ cm}^{-1}$

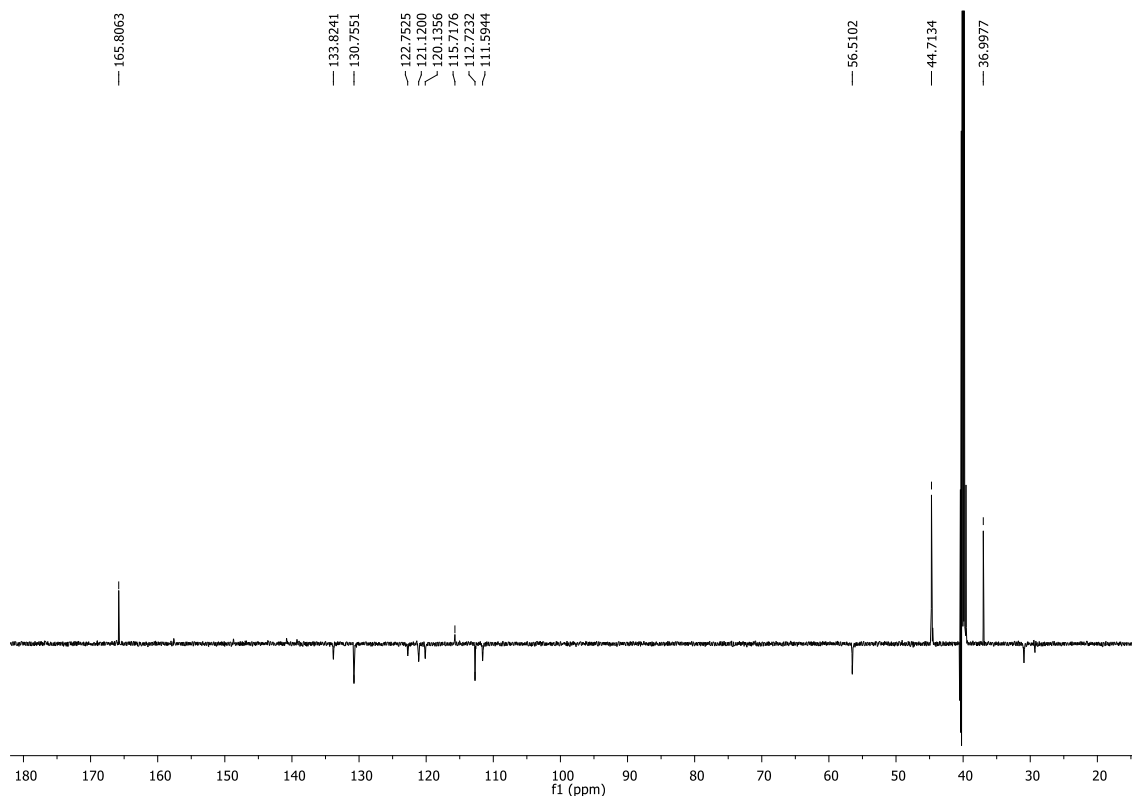
^1H i ^{13}C NMR spektri 2-(2-(2-metoksibenzamido)-1-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-il)-4,5-dihidro-1*H*-imidazol-3-ium klorida **13** prikazani su na slikama 13 i 14.



Slika 13. ^1H NMR spektar 2-(2-(2-Metoksibenzamido)-1-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-il)-4,5-dihidro-1*H*-imidazol-3-ium klorida **13**

U ^1H NMR spektru pri kemijskom pomaku 10,80 ppm može se uočiti široki singlet protona NH skupine amidina. U području od 8,36-7,06 nalaze signali 7 aromatskih protona od kojih su 4 singleta, 1 dublet, te 2 multiplleta. Pri pomaku 4,02 ppm nalazi se singlet 4 protona dviju CH_2 skupina 2-imidazolilnog supstituenta. Ti protoni ne osjećaju međusobnu spregu, te imaju oblik singleta. Protoni metoksi skupine OCH_3 nemaju u blizini protone s kojima bi se sprežali pa se pojavljuju kao singlet na 3,92 ppm. Protoni CH_3 skupine vezane na dušikov atom benzimidazolne jezgre pokazuju također singlet, no pri nižem pomaku (3,75 ppm) od protona metoksi skupine.

U ^{13}C NMR spektru karakterističan je signal kvaternog ugljika amidne veze pri kemijskom pomaku 165,8 ppm. U području 133,8-111,6 ppm uočavaju se signali aromatskih ugljika. Alifatski ugljici su u području ispod 56,5 ppm.



Slika 14. ^{13}C NMR spektar 2-(2-(2-Metoksibenzamido)-1-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-il)-4,5-dihidro-1*H*-imidazol-3-ium klorida **13**

4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. Opće napomene

^1H i ^{13}C NMR spektri snimljeni su na spektrometrima Bruker AV600 i Bruker AV300. ^1H NMR spektri snimani su pri 300, 400 i 600 MHz, dok su ^{13}C NMR spektri snimani pri 75, 101 i 151 MHz. 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 aparatu i nisu korigirana.

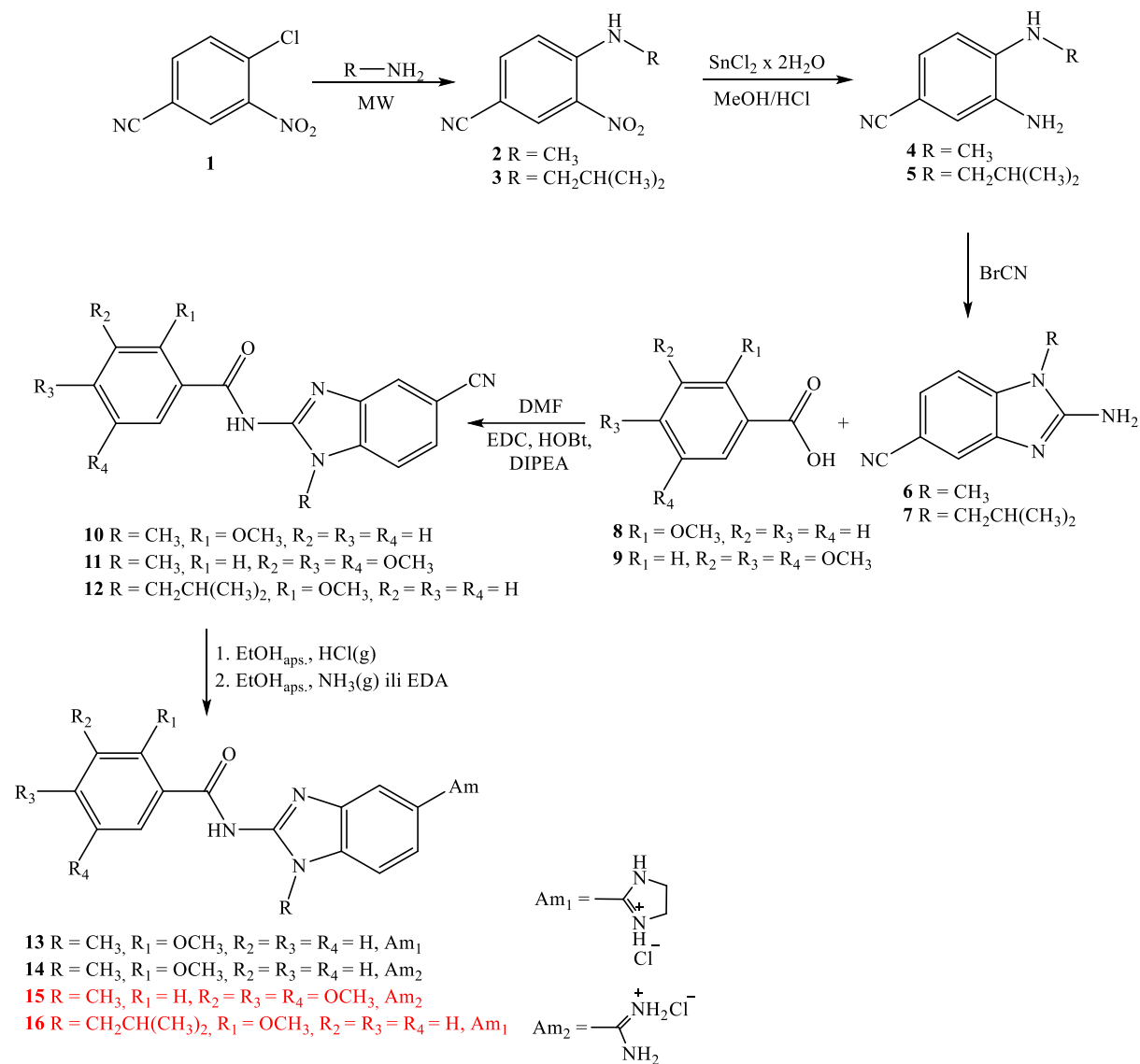
Kromatografska odjeljivanja provedena su na kolonama punjenim silikagelom 0,063–0,2 nm (Kemika, Merck).

Tijek reakcija, sastav i čistoća priređenih spojeva provjeravani su tankoslojnom kromatografijom (TLC) prilikom čega su upotrebljene pločice presvučene silikagelom Merck 60F-254, a detektirani su pod UV svjetlom (254 i 366 nm).

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

IR spektri snimani su na Perkin-Elmer model 2000, a uzorci su pripremani u obliku KBr pastila.

4.2. Priprava amidino-supstituuiranih derivata benzamida *N*-supstituuiranih benzimidazola 13–16



Shema 34. Priprava amidino-supstituuiranih benzamidnih derivata *N*-supstituuiranih benzimidazola 13-16

4.2.1. Priprava 4-*N*-(metilamino)-3-nitrobenzonitrila 2

Spoj 2 priređen je sintezom potpomognutom mikrovalovima korištenjem MW zračenja snage 800 W pri temperaturi od 170 °C u trajanju od 2 h. U svaku od 3 kivete stavi se 0,50 g (2,7 mmol) spoja 1, 10,0 mL acetonitrila te 2,60 mL metilamina u suvišku (58,3 mmol). Nakon 2 h reakcijska smjesa uparena je do suha, dodana je mala količina metanola, a nastali talog profiltriran. Dobiveno je 0,91 g (62%) žutog praškastog produkta. T.t.173–179 °C.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm = 8,64 (q, 1H, *J* = 4,35 Hz, NH), 8,49 (d, 1H, *J* = 2,01 Hz, H_{ar}), 7,84 (dd, 1H, *J*₁ = 1,64 Hz, *J*₂ = 9,08 Hz, H_{ar}), 7,10 (d, 1H, *J* = 9,12 Hz, H_{ar}), 3,00 (d, 3H, *J* = 4,98 Hz, CH₃); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm = 148,0, 138,1, 132,2, 131,2, 118,8, 116,3, 96,3, 30,5.

4.2.2. Priprava 4-*N*-(izobutilamino)-3-nitrobenzonitrila 3

Spoj 3 priređen je sintezom potpomognutom mikrovalovima korištenjem MW zračenja snage 800 W pri temperaturi od 170 °C u trajanju od 2 h. U svaku od 4 kivete stavi se 0,50 g (2,7 mmol) spoja 1, 10,0 mL acetonitrila te 1,90 mL izobutilamina u suvišku (19,2 mmol). Nakon 2 h nastali produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom na silikagelu uz diklormetan kao eluens. Dobiveno je 1,84 g (76%) žutog praškastog produkta. T.t.:99–101 °C.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm = 8,62 (t, 1H, *J* = 5,54 Hz, NH), 8,51 (d, 1H, *J* = 2,01 Hz, H_{ar}), 7,81 (dd, 1H, *J*₁ = 1,80 Hz, *J*₂ = 9,03 Hz, H_{ar}), 7,21 (d, 1H, *J* = 9,18 Hz, H_{ar}), 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 (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm = 147,0, 137,5, 131,9, 130,7, 118,2, 115,9, 96,2, 49,5, 27,2, 19,8 (2C).

4.2.3. Priprava 3-amino-4-*N*-(metilamino)benzonitrila 4

U okrugloj tikvici otopi se 0,91 g (5,1 mmol) spoja 2 u 14,0 mL metanola i 14,0 mL klorovodične kiseline te se doda 9,61 g (42,6 mmol) SnCl₂ x 2H₂O. Reakcijska smjesa refluxira 30 minuta pri 100 °C te se uparava do suha. Nastali talog otopi se u destiliranoj vodi i zaluži sa 20%-tnom otopinom NaOH do pH=14. Nastali bijeli talog se profiltrira i ispire s vrućim etanolom. Filtrat se upari do suha, doda mala količina vode, te se nastali talog profiltrira. Dobiveno 0,31 g (41 %) svijetloružičastog praškastog produkta. T.t.:149–151 °C.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ/ppm = 6,95 (dd, 1H, J_1 = 1,91 Hz, J_2 = 8,15 Hz, H_{ar}), 6,77 (d, 1H, J = 1,95 Hz, H_{ar}), 6,41 (d, 1H, J = 8,19 Hz, H_{ar}), 5,57 (d, 1H, J = 4,71 Hz, NH), 4,89 (s, 2H, NH₂), 2,77 (d, 3H, J = 4,83 Hz, CH₃); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ/ppm = 141,6, 135,6, 123,5, 121,6, 114,9, 108,5, 96,9, 30,0.

4.2.4. Priprava 3-amino-4-N-(izobutilamino)benzonitrila 5

U okrugloj tikvici otopi se 1,84 g (8,4 mmol) spoja **3** u 22,0 mL metanola i 22,0 mL klorovodične kiseline te se doda 15,14 g (67,1 mmol) SnCl₂ x 2H₂O. Reakcijska smjesa refluksira 30 minuta pri 100 °C te se uparava do suha. Nastali talog otopi se u destiliranoj vodi i zaluži sa 20%-tnom otopinom NaOH do pH=14. Nastali bijeli talog se profiltrira i ispire s vrućim etanolom. Filtrat se upari do suha, doda mala količina vode, te se nastali talog profiltrira. Dobiveno je 0,66 g (42 %) svijetloružičastog praškastog produkta. T.t.:120–125 °C.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ/ppm = 6,89 (dd, 1H, J_1 = 1,91 Hz, J_2 = 8,21 Hz, H_{ar}), 6,76 (d, 1H, J = 1,95 Hz, H_{ar}), 6,43 (d, 1H, J = 8,25 Hz, H_{ar}), 5,44 (šs, 1H, NH), 5,03 (s, 2H, NH₂), 2,91 (t, 2H, J = 6,18 Hz, CH₂), 1,95-1,81 (m, 1H, CH), 0,94 (d, 6H, J = 6,63 Hz, CH₃); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ/ppm = 140,6, 135,5, 123,2, 121,6, 115,1, 108,9, 96,6, 51,0, 27,4, 20,9 (2C).

4.2.5. Priprava 2-amino-5-cijano-1-metilbenzimidazola 6

U okruglu tikvicu doda se 0,31 g (2,1 mmol) spoja **4**, 4,6 mL metanola i 4,6 mL vode. U reakcijsku smjesu doda se 0,23 g (2,1 mmol) BrCN-a otopljenog u 0,5 mL acetonitrila. Smjesa se miješa 24 h pri sobnoj temperaturi. U reakcijsku smjesu doda se aktivni ugljen i otopina se filtrira te zaluži s otopinom NH₃, a nastali talog se profiltrira. Dobiveno je 0,08 g (22 %) bijelog praškastog produkta. T.t.:276–280 °C.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ/ppm = 7,52-7,48 (m, 1H, H_{ar}), 7,33-7,28 (m, 2H, H_{ar}), 6,83 (s, 2H, NH₂), 3,55 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ/ppm = 157,7, 143,3, 138,9, 122,9, 121,2, 118,2, 108,8, 102,5, 29,1.

4.2.6. Priprava 2-amino-5-cijano-1-izobutilbenzimidazola 7

U okruglu tikvicu doda se 0,66 g (3,5 mmol) spoja **5**, 7,6 mL metanola i 7,6 mL vode. U reakcijsku smjesu doda se 0,37 g (3,5 mmol) BrCN-a otopljenog u 0,7 mL acetonitrila. Smjesa se miješa 24 h pri sobnoj temperaturi.

U reakcijsku smjesu doda se aktivni ugljen i otopina se filtrira te zaluži s otopinom NH₃, a nastali talog se profiltrira. Dobiveno je 0,27 g (36 %) svijetloružičastog praškastog produkta. T.t.:262–266 °C.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm = 7,49 (d, 1H, *J* = 1,12 Hz), 7,33 (d, 1H, *J* = 8,12 Hz, H_{ar}), 7,28 (dd, 1H, *J*₁ = 1,52 Hz, *J*₂ = 8,12 Hz, H_{ar}), 6,82 (s, 2H, NH₂), 3,85 (d, 2H, *J* = 7,68 Hz, CH₂), 2,15-2,04 (m, 1H, CH), 0,85 (d, 6H, *J* = 6,68 Hz, CH₃); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm = 157,5, 143,3, 138,7, 122,7, 121,2, 118,2, 109,3, 102,4, 48,9, 28,2, 20,0 (2C).

4.2.7. Priprava *N*-(5-cijano-1-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)-2-metoksi-benzamida 10

U okruglu tikvicu stavi se 200,36 mg (1,0 mmol) EDC.HCl, 117,70 mg HOBt (0,9 mmol), 145,80 mg (1,0 mmol) *o*-metoksibenzojeve kiseline **8** i otopi u 5,0 mL dimetilformamida. Doda se 150,00 mg (0,9 mmol) spoja **6** i 303,4 μL DIPEA. Reakcijska smjesa miješa se 24 h na sobnoj temperaturi. U reakcijsku smjesu doda se mala količina vode, te se nastali talog profiltrira. Dobiveno je 0,15 g (56 %) bijelog praškastog produkta. T.t.:283–288 °C.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm = 8,11 (s, 1H, H_{ar}), 7,89 (d, 1H, *J* = 8,44 Hz, H_{ar}), 7,83-7,77 (m, 2H, H_{ar}), 7,64-7,59 (m, 1H, H_{ar}), 7,26 (d, 1H, *J* = 8,32 Hz, H_{ar}), 7,14 (t, 1H, *J* = 7,45 Hz, H_{ar}), 3,94 (s, 3H, CH₃), 3,82 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm = 157,8, 135,8, 134,1, 130,9, 127,6, 121,1 (2C), 119,8, 112,9, 112,6, 105,7, 56,6, 30,9.

4.2.8. Priprava *N*-(5-cijano-1-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)-3,4,5-trimetoksi-benzamida 11

U okruglu tikvicu stavi se 169,80 mg (0,9 mmol) EDC.HCl, 99,70 mg (0,7 mmol) HOBt, 172,20 mg (0,8 mmol) 3,4,5-trimetoksibenzojeve kiseline **9** i otopi u 5,0 mL dimetilformamida. Doda se 127,00 mg spoja **6** (0,7 mmol) i 258,0 μL DIPEA. Reakcijska smjesa miješa se 24 h na sobnoj temperaturi. U reakcijsku smjesu doda se mala količina vode te se nastali talog profiltrira. Dobiveno je 0,19 g (70 %) bijelog praškastog produkta. T.t.:290–295 °C.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm = 12,88 (s, 1H, NH_{amid}), 7,82 (s, 1H, H_{ar}), 7,71 (d, 1H, *J* = 7,52 Hz, H_{ar}), 7,65 (d, 1H, *J* = 8,32 Hz, H_{ar}), 7,59 (s, 2H, H_{ar}), 3,87 (s, 9H, OCH₃), 3,74 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm = 173,9, 153,8, 152,8 (2C), 141,0, 134,1, 133,6, 129,6, 127,5, 119,9, 115,5, 111,1, 106,7 (2C), 104,6, 60,6, 56,3 (2C), 29,1.

4.2.9. Priprava *N*-(5-cijano-1-izobutil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)-2-metoksi-benzamida **12**

U okruglu tikvicu stavi se 161,00 mg (0,8 mmol) EDC.HCl, 94,60 mg HOBt (0,7 mmol), 140,30 mg (0,8 mmol) *o*-metoksibenzojeve kiseline **8** i otopi u 5,0 mL dimetilformamida. Doda se 150,00 mg spoja **7** (0,7 mmol) i 244,0 μ L DIPEA. Reakcijska smjesa miješa se 24 h pri sobnoj temperaturi. Doda se mala količina vode te se reakcijska smjesa ekstrahira s etil-acetatom. Organski sloj se suši iznad bezvodnog magnezijevog sulfata i uparava do suha.. Dobiveno je 0,17 g (71 %) bijelog praškastog produkta. T.t.:196–199 °C.

^1H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ /ppm = 8,10 (s, 1H, H_{ar}), 7,95 (d, 1H, $J = 8,40$ Hz, H_{ar}), 7,79 (d, 1H, $J = 8,46$ Hz, H_{ar}), 7,72 (dd, 1H, $J_1 = 1,59$ Hz, $J_2 = 7,59$ Hz, H_{ar}), 7,59 (t, 1H, $J = 7,50$ Hz, H_{ar}), 7,24 (d, 1H, $J = 8,49$ Hz, H_{ar}), 7,12 (t, 1H, $J = 7,41$ Hz, H_{ar}), 4,19 (d, 2H, $J = 7,50$ Hz, CH₂), 3,91 (s, 3H, OCH₃), 2,26-2,16 (m, 1H, CH), 0,90 (d, 6H, $J = 6,66$ Hz, CH₃); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ /ppm = 157,2, 133,3, 130,2, 127,0, 120,6, 119,2, 112,5, 112,4, 105,2, 56,0, 50,0, 27,8, 19,5 (2C).

4.2.10. Opći postupak pripreme amidino-supstituiranih derivata benzamida *N*-supstituiranih benzimidazola **13–16**

U suspenziju odgovarajućeg cijano-supstituiranog benzamida **10–12** u apsolutnom etanolu uvodi se plinoviti klorovodik uz održavanje temperature 0–5 °C do zasićenja reakcijske smjese. Suspenzija se miješa na sobnoj temperaturi do nestanka cijano vrpce na ~ 2200 cm⁻¹ u IR spektru. Nastali iminoester se filtrira i dobro ispere suhim dietil-eterom. Suspenziji iminoestera u apsolutnom etanolu dodan je odgovarajući amin. Nakon završetka reakcije, nastali talog se filtrira i ispere dietil-eterom.

4.2.10.1. 2-(2-(2-Metoksibenzamido)-1-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-il)-4,5-dihidro-1*H*-imidazol-3-ium klorid **13**

U 0,10 g (0,3 mmol) prethodno priređenog iminoestera doda se 2,5 mL apsolutnog etanola i 54,6 μ L etilendiamina u suvišku. Reakcijska smjesa miješa se na temperaturi refluksa 24 h. Nastali talog je filtriran, ispran dietil-eterom te pročišćen prekrizacijom iz 50%-tnog metanola. Dobiveno je 18,8 mg (19 %) bijelog praškastog produkta. T.t.:280–291 °C.

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ /ppm = 10,80 (šs, 1H, $\text{NH}_{\text{amidin}}$), 8,36 (s, 1H, H_{ar}), 7,96 (s, 1H, H_{ar}), 7,85 (s, 1H, H_{ar}), 7,78 (d, 1H, $J = 6,06$ Hz, H_{ar}), 7,58 (s, 1H, H_{ar}), 7,30-7,06 (m, 2H, H_{ar}), 4,02 (s, 4H, CH_2), 3,92 (s, 3H, OCH_3), 3,75 (s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ /ppm = 165,8, 133,8, 130,8, 122,7, 121,1, 120,1, 115,7, 112,7, 111,6, 56,5, 44,7, 37,0.

4.2.10.2. Amino(2-(2-metoksibenzamido)-1-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-il)metaniminijev klorid 14

U 0,10 g (0,3 mmol) prethodno priređenog iminoestera doda se 10,0 mL apsolutnog etanola i uvodi se plinoviti amonijak 1 h uz održavanje temperature 0–5 °C. Reakcijska smjesa se miješa na sobnoj temperaturi tri dana. Nastali talog je profiltriran i ispran dietil-eterom. Dobiveno je 18,90 mg (20%) bijelog praškastog produkta **14**. T.t.: 158–165 °C.

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ /ppm = 9,44 (šs, 4H, $\text{NH}_{\text{amidin}}$), 8,17 (s, 1H, H_{ar}), 7,71 (dd, 1H, $J_1 = 1,50$ Hz, $J_2 = 7,50$ Hz, H_{ar}), 7,68 (dd, 1H, $J_1 = 1,35$ Hz, $J_2 = 8,49$ Hz, H_{ar}), 7,60 (d, 1H, $J = 8,40$ Hz, H_{ar}), 7,47-7,40 (m, 1H, H_{ar}), 7,12 (d, 1H, $J = 8,34$ Hz, H_{ar}), 7,02 (t, 1H, $J = 7,41$ Hz, H_{ar}), 3,86 (s, 3H, OCH_3), 3,69 (s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ /ppm = 166,2, 157,5, 132,3, 130,5, 121,6, 120,8, 112,6, 110,0, 56,3, 30,2.

4.2.10.3. Pokušaj priprave amino(1-metil-2-(3,4,5-trimetoksibenzamido)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-il)metaniminijevog klorida 15

U 82,00 mg (0,2 mmol) prethodno priređenog iminoestera dodaje se 4,0 mL apsolutnog etanola i uvodi se plinoviti amonijak 1 h uz održavanje temperature 0–5 °C. Reakcijska smjesa se miješa na sobnoj temperaturi tri dana. Nastali talog je profiltriran i ispran dietil-eterom. Željeni produkt **15** nije uspješno priređen.

4.2.10.4. Pokušaj priprave 2-(1-izobutil-2-(2-metoksibenzamido)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-il)-4,5-dihidro-1*H*-imidazol-3-ium klorida 16

U 84,8 mg (0,2 mmol) priređenog iminoestera dodaje se 2,0 mL apsolutnog etanola i 41,8 μL etilendiamina u suvišku. Reakcijska smjesa se miješa na temperaturi refluksa 24 h. Nastali talog je profiltriran i ispran dietil-eterom. Željeni produkt **16** nije uspješno priređen.

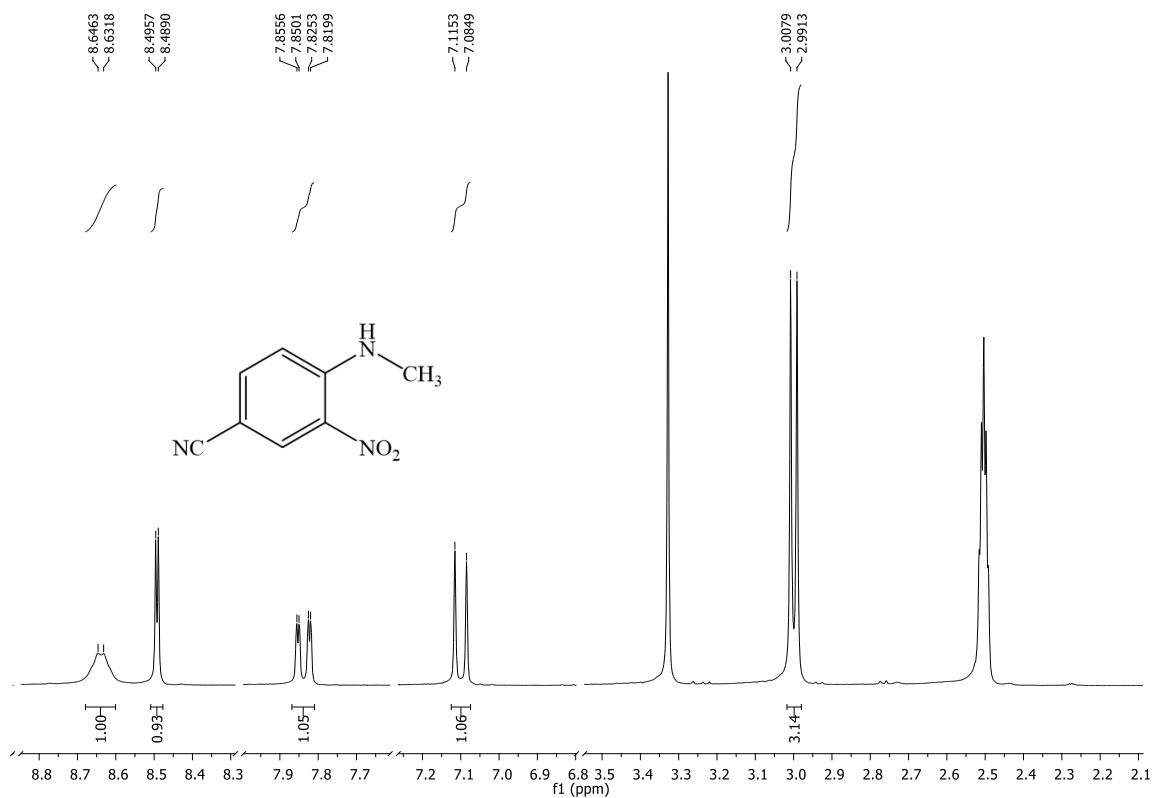
5. ZAKLJUČAK

- U ovom radu priređeni su sljedeći spojevi: 2-(2-(2-metoksibenzamido)-1-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-il)-4,5-dihidro-1*H*-imidazol-3-ium klorid **13** i amino(2-(2-metoksibenzamido)-1-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-il)metaniminijev klorid **14**.
- 4-*N*-(metilamino)-3-nitrobenzonitril **2** i 4-*N*-(izobutilamino)-3-nitrobenzonitril **3** priređeni su mikrovalovima potpomognutom nukleofilnom supstitucijom 4-klor-3-nitrobenzonitrila **1**.
- Nitrobenzonitrili **2** i **3** reducirani su u diamino-supstituirane benzonitrile **4** i **5** pomoću SnCl₂ x 2H₂O.
- Glavni prekursori 2-amino-5-cijano-1-metilbenzimidazol **6** i 2-amino-5-cijano-1-izobutilbenzimidazol **7** priređeni su ciklokondenzacijom iz spojeva **4** i **5** uz BrCN.
- Kondenzacijom 2-aminobenzimidazola **6** i **7** s odgovarajućim karboksilnim kiselinama **8** i **9** dobiveni su 2-benzimidazolil supstituirani benzamidi **10**, **11** i **12**.
- Pinnerovom reakcijom u kiselom mediju priređeni su ciljani spojevi **13** i **14** u obliku hidrokloridnih soli.
- Spojevi amino(1-metil-2-(3,4,5-trimetoksibenzamido)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-il)metaniminijev klorid **15** i 2-(1-izobutil-2-(2-metoksibenzamido)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-il)-4,5-dihidro-1*H*-imidazol-3-ium klorid **16** nisu uspješno priređeni.
- Strukture priređenih spojeva potvrđene su ¹H i ¹³C NMR, a tijekom Pinnerove reakcije praćen je IR spektroskopijom.

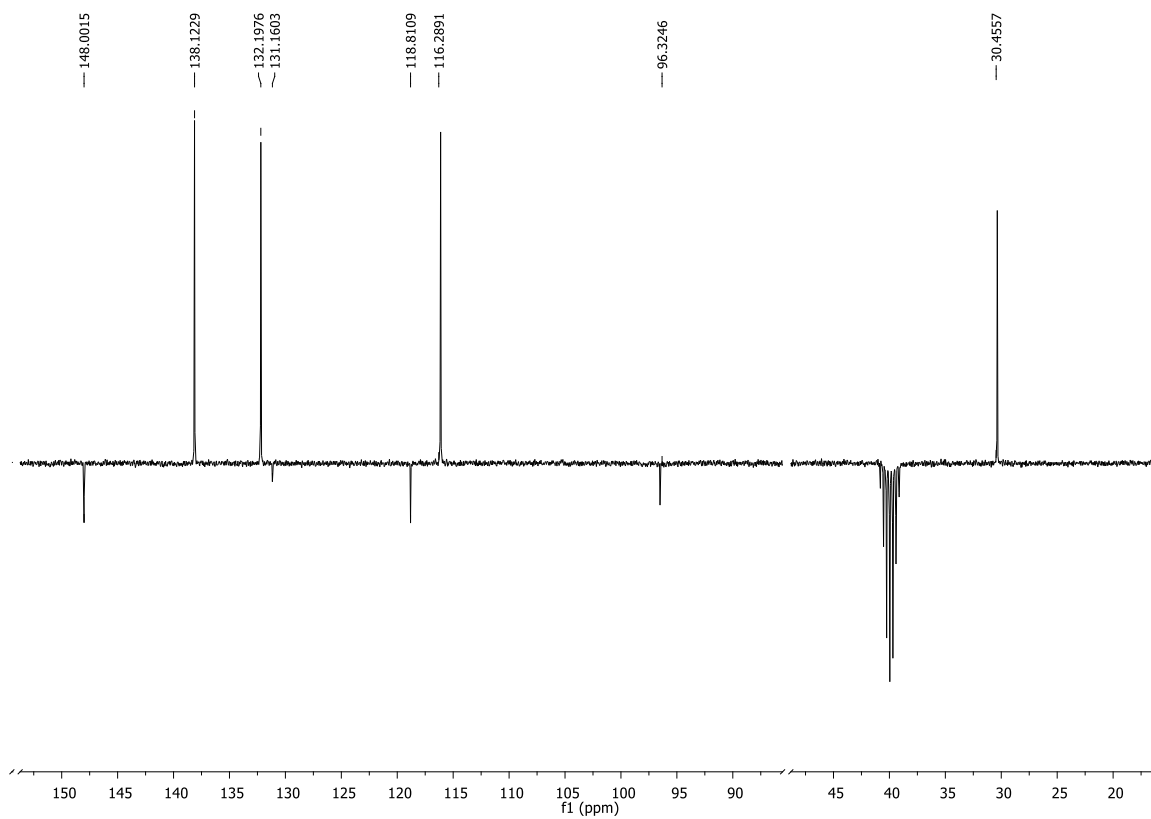
6. PRILOZI

Prilog 1.

a) ^1H NMR spektar spoja 2

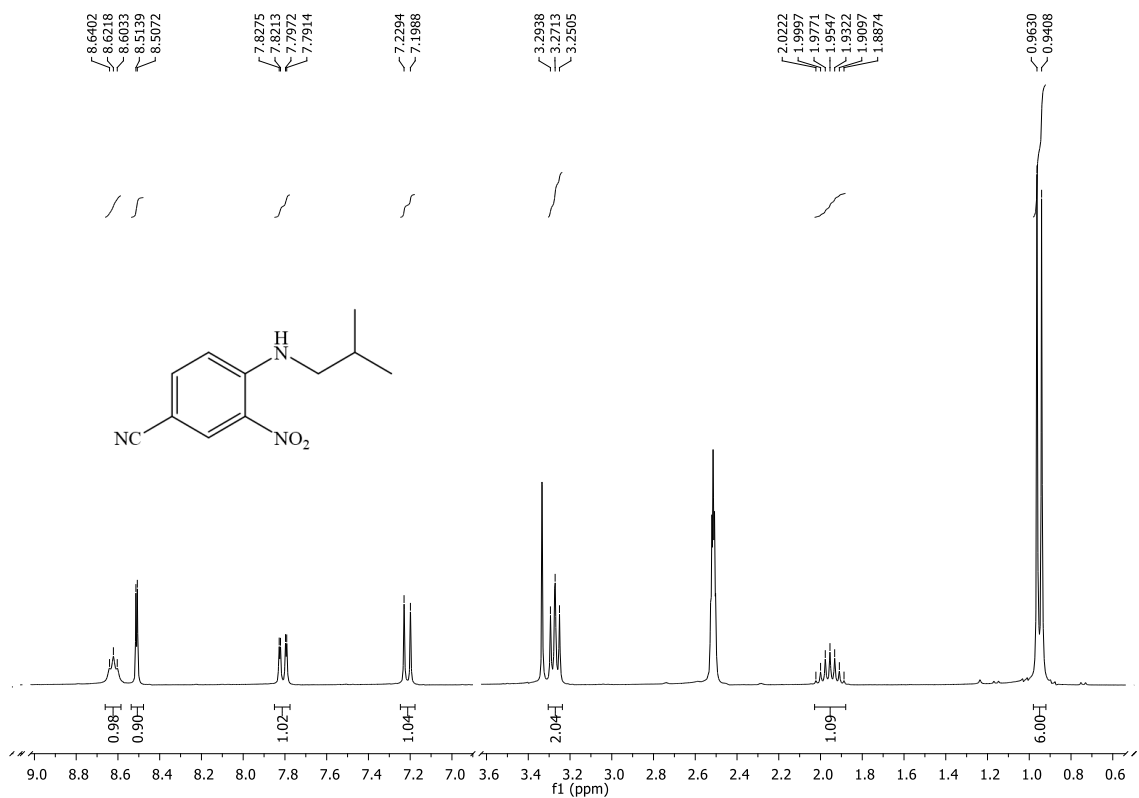


b) ^{13}C NMR spektar spoja 2

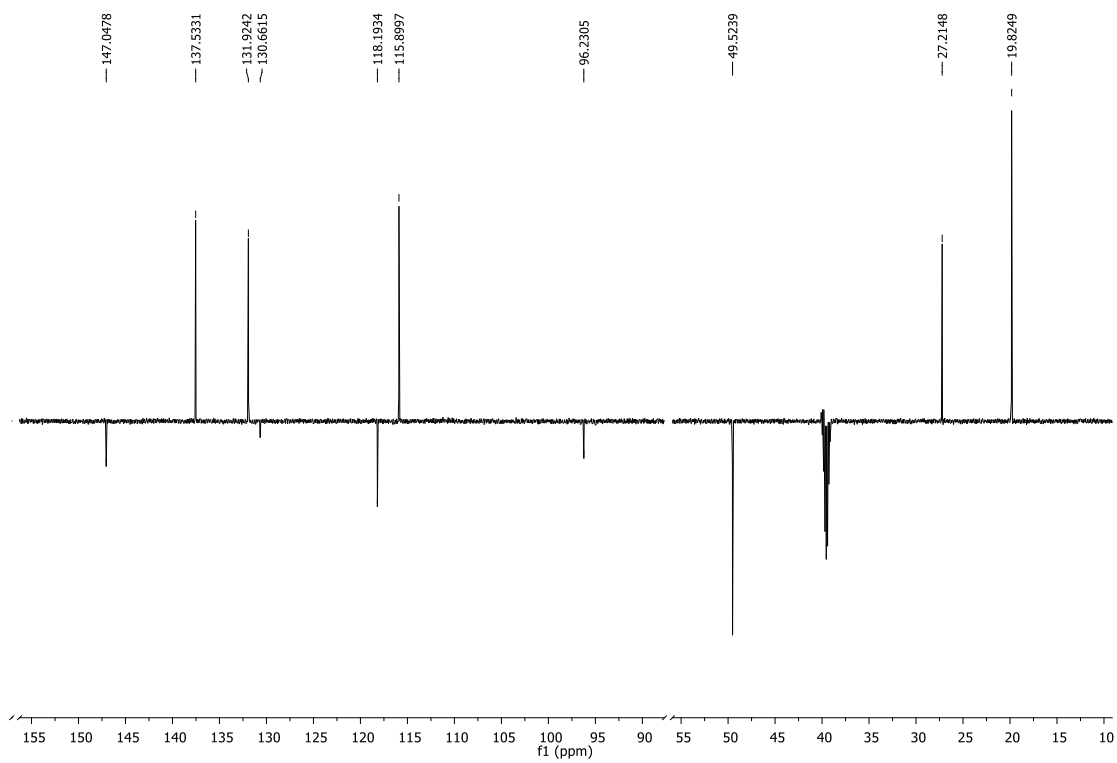


Prilog 2.

a) ^1H NMR spektar spoja **3**

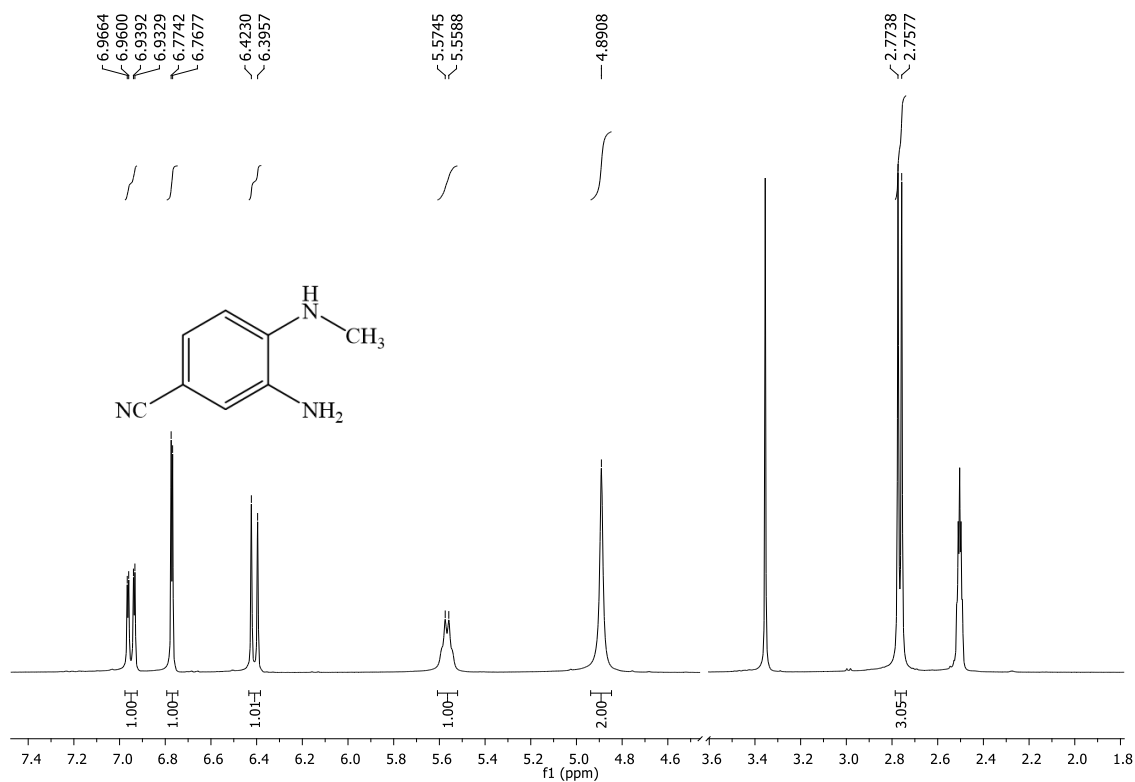


b) ^{13}C NMR spektar spoja **3**

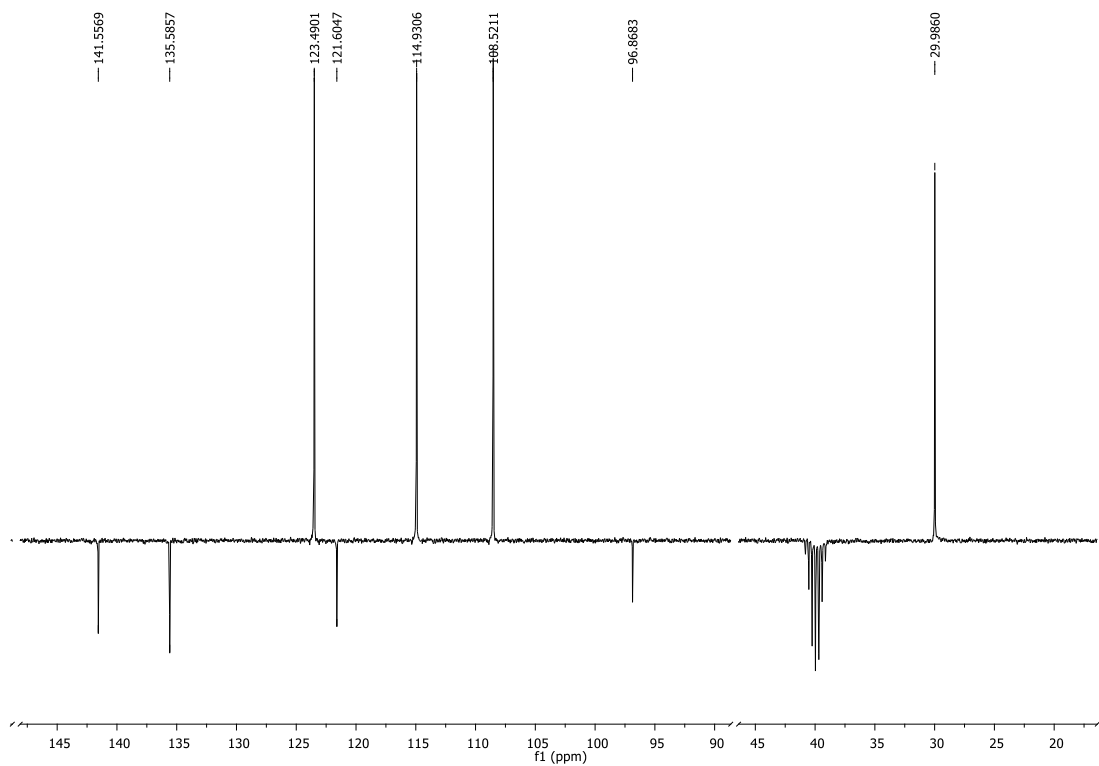


Prilog 3.

a) ^1H NMR spektar spoja 4

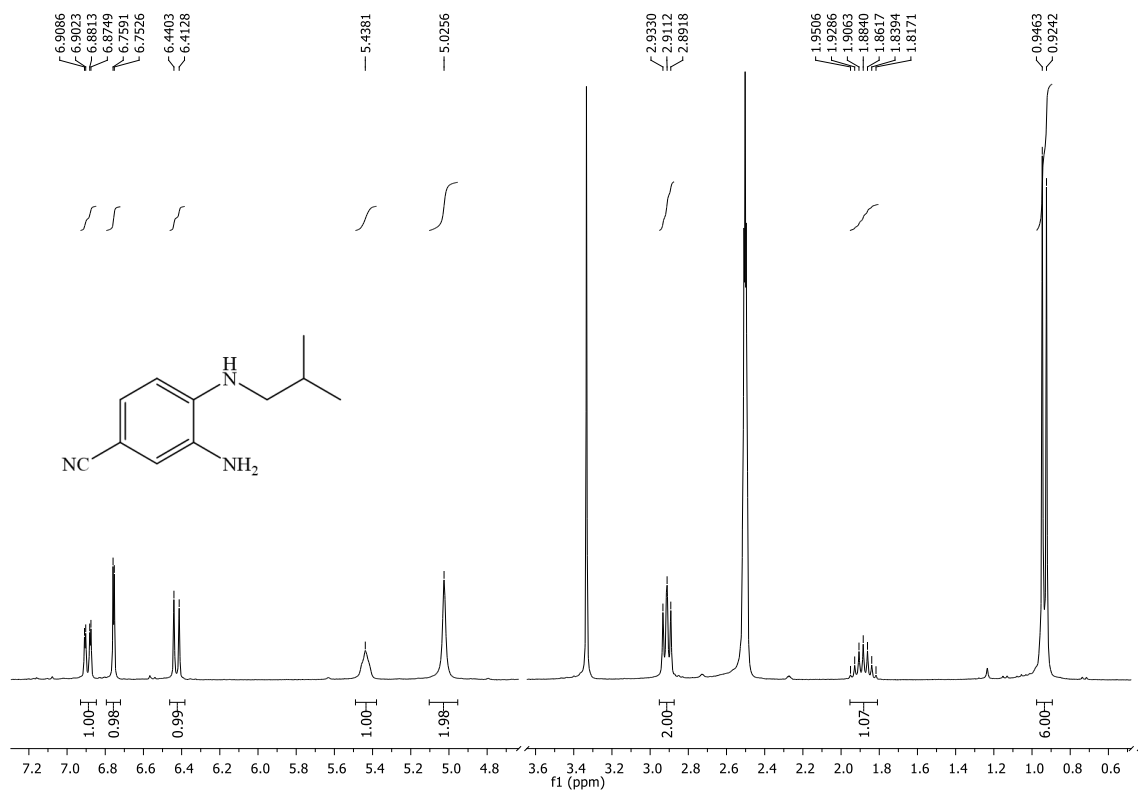


b) ^{13}C NMR spektar spoja 4

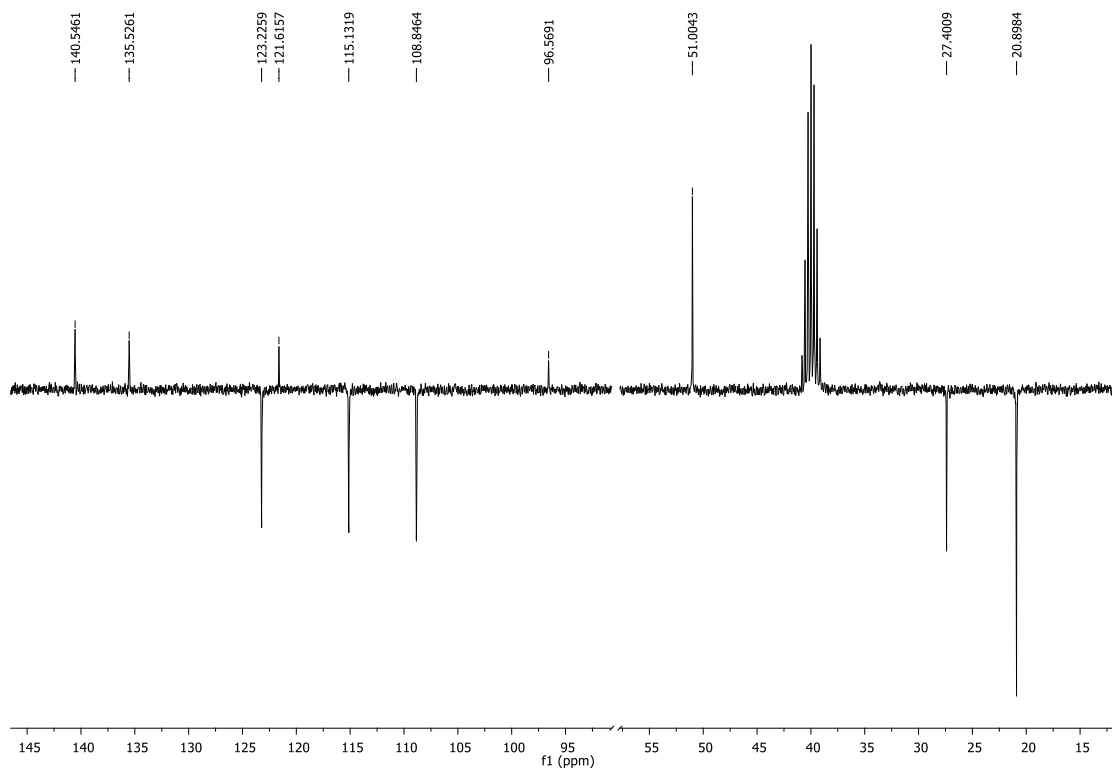


Prilog 4.

a) ^1H NMR spektar spoja 5

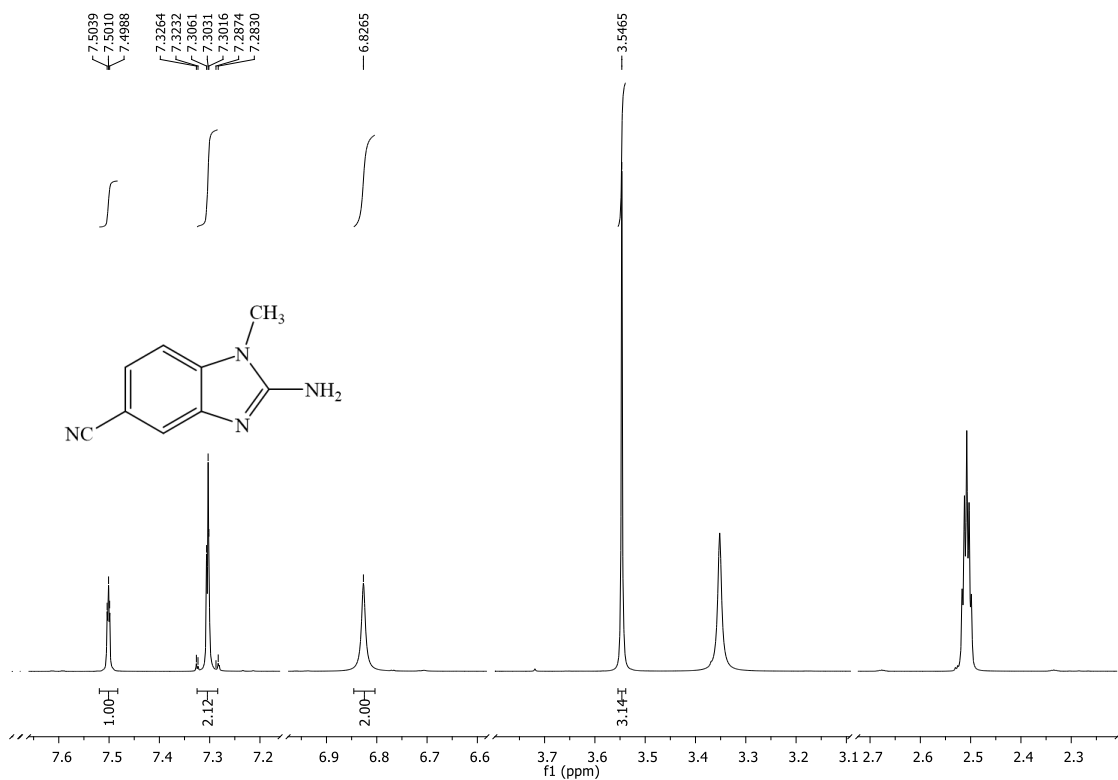


b) ^{13}C NMR spektar spoja 5

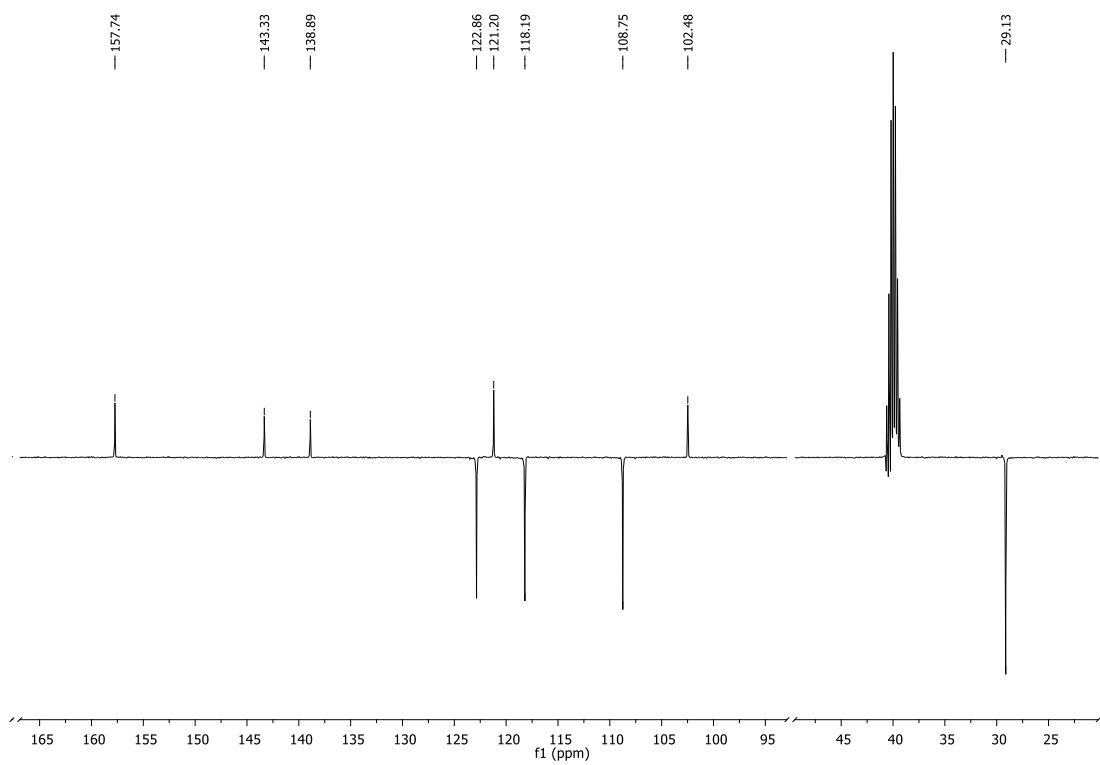


Prilog 5.

a) ^1H NMR spektar spoja 6

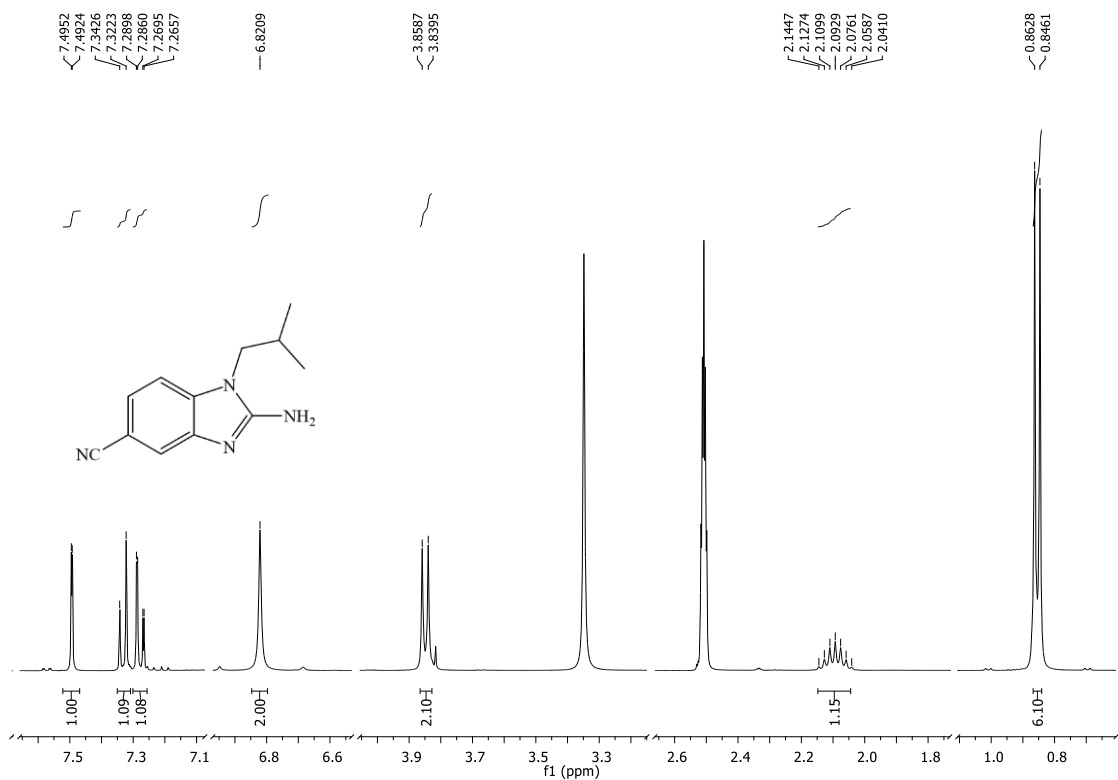


b) ^{13}C NMR spektar spoja 6

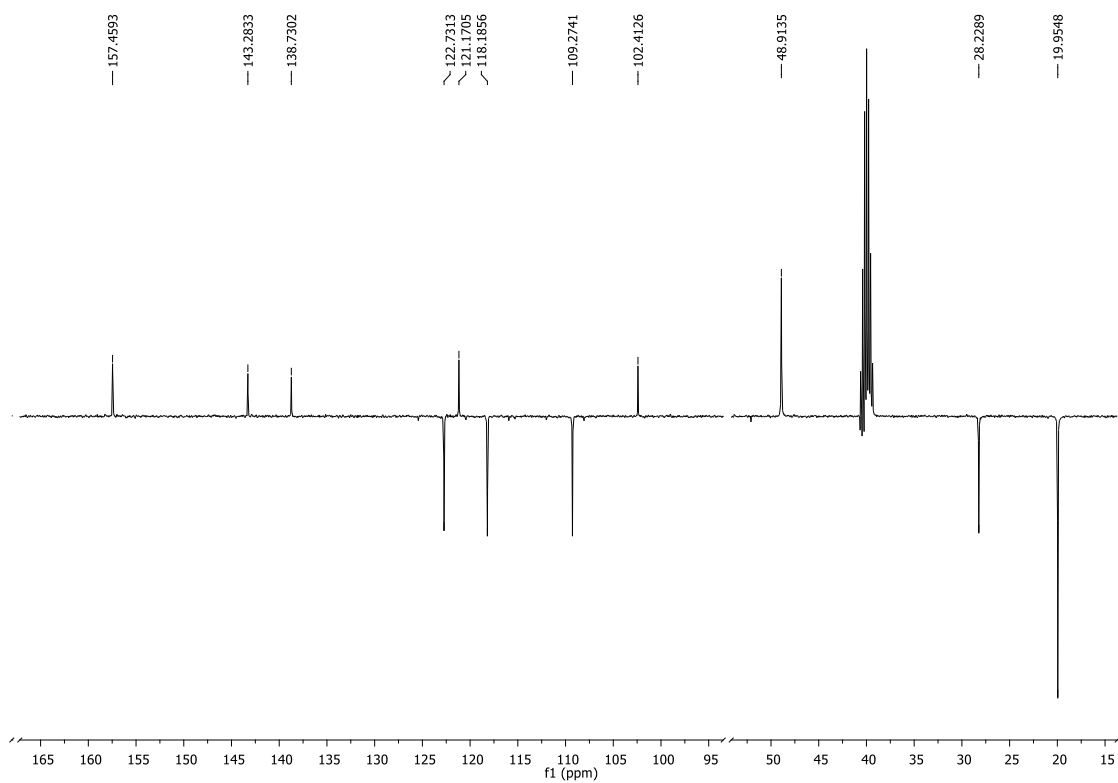


Prilog 6.

a) ^1H NMR spektar spoja 7

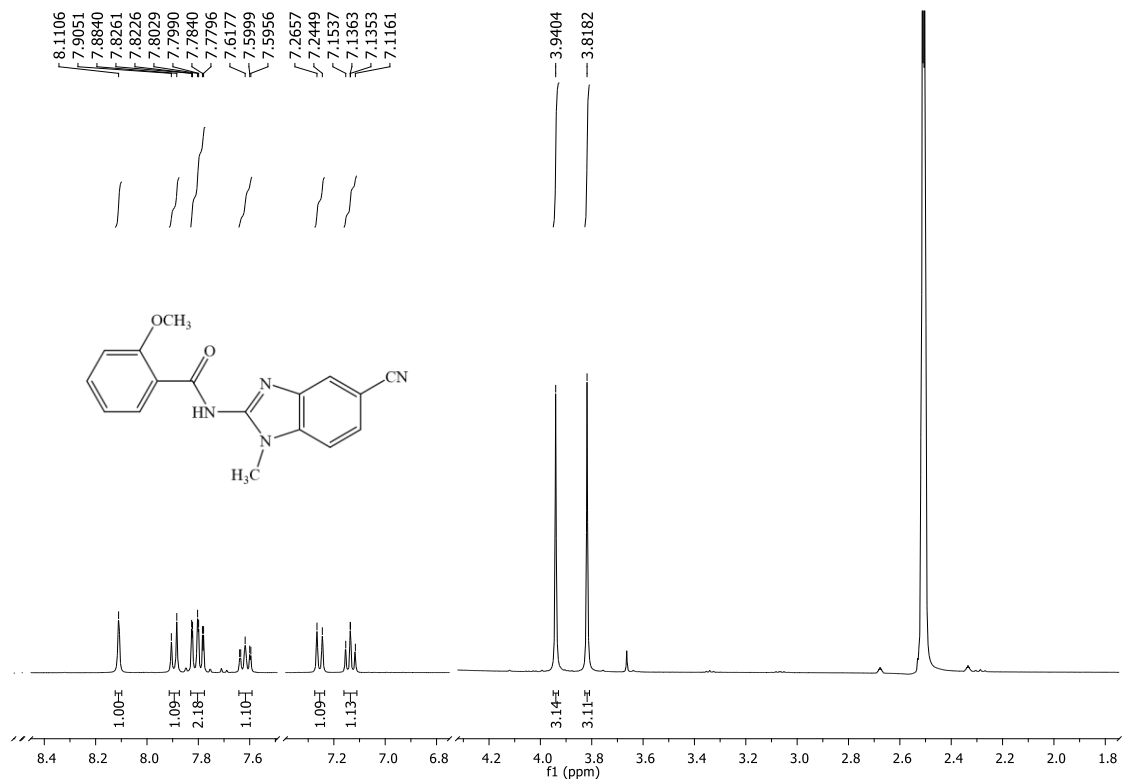


b) ^{13}C NMR spektar spoja 7

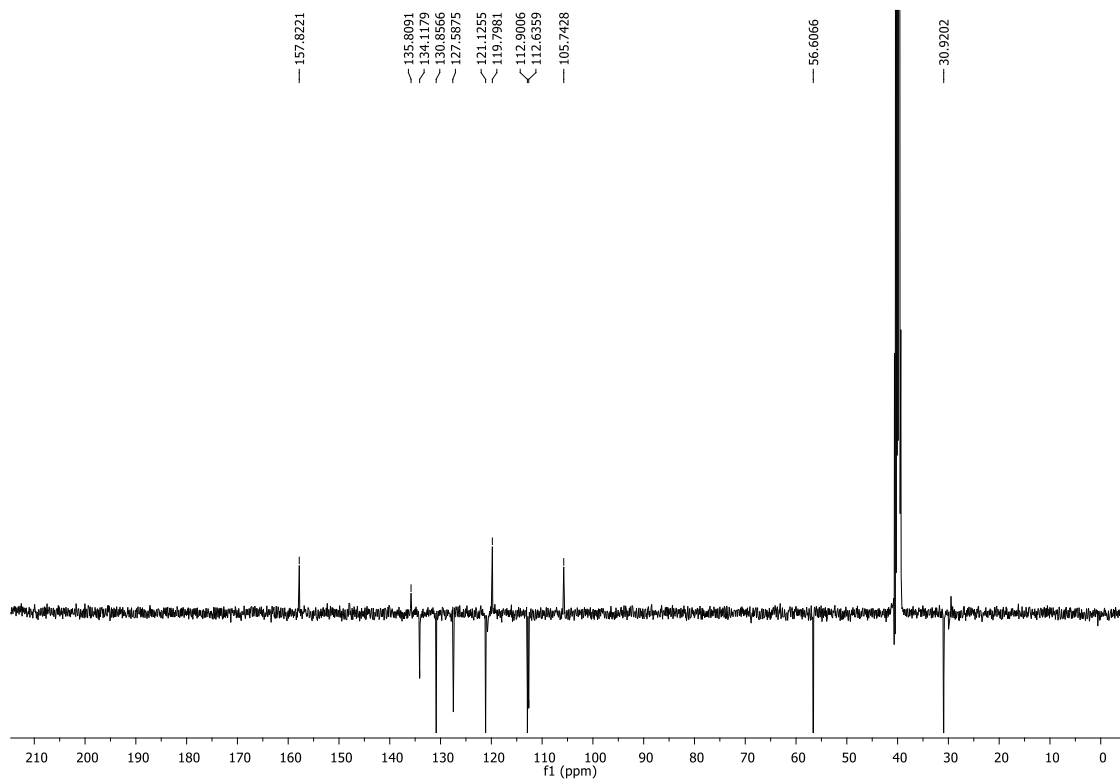


Prilog 7.

a) ^1H NMR spektar spoja 10

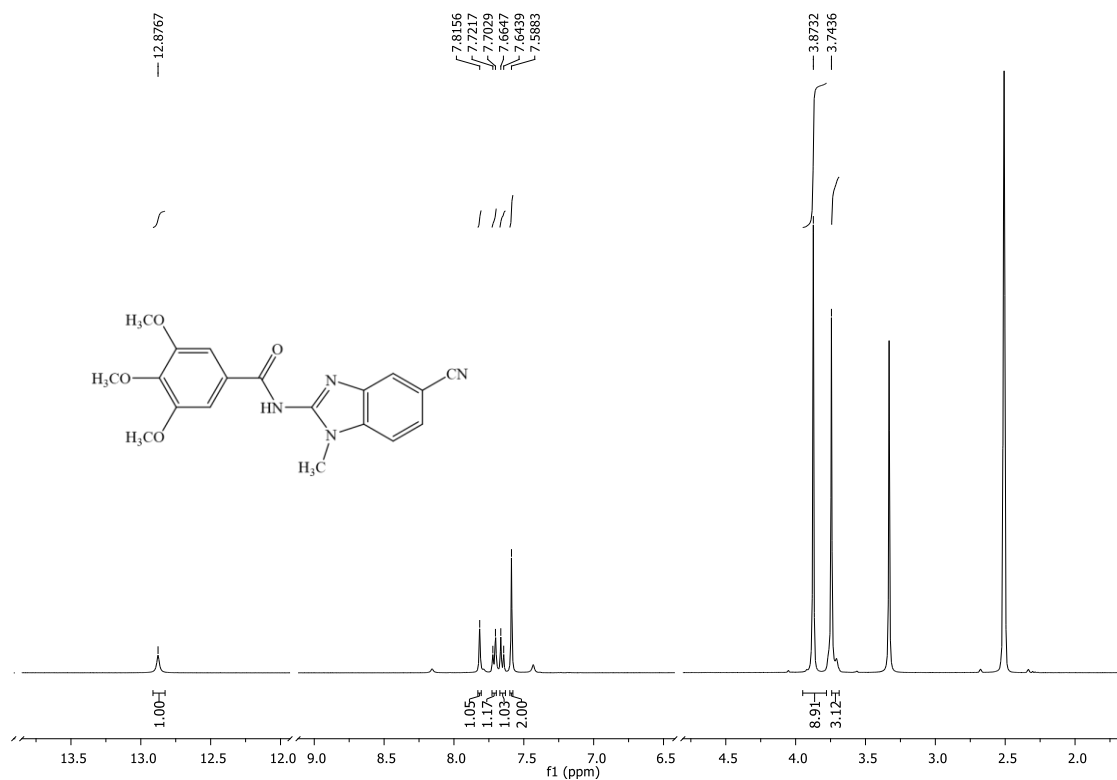


b) ^{13}C NMR spektar spoja 10

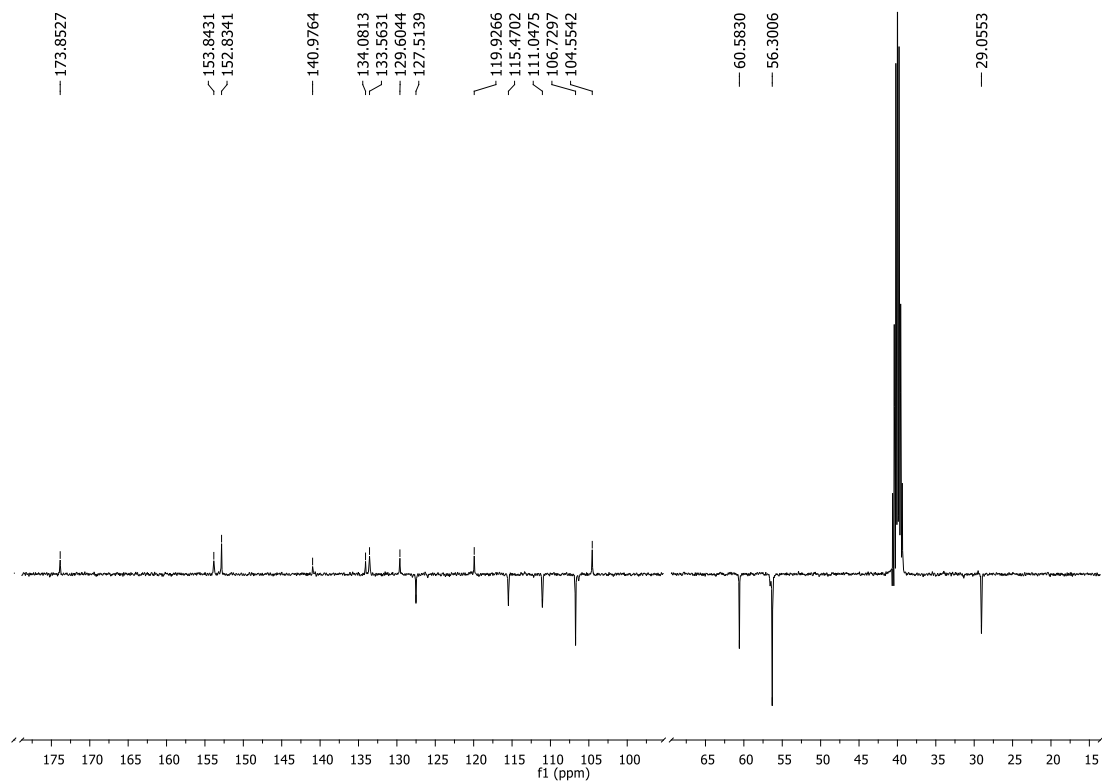


Prilog 8.

a) ^1H NMR spektar spoja **11**

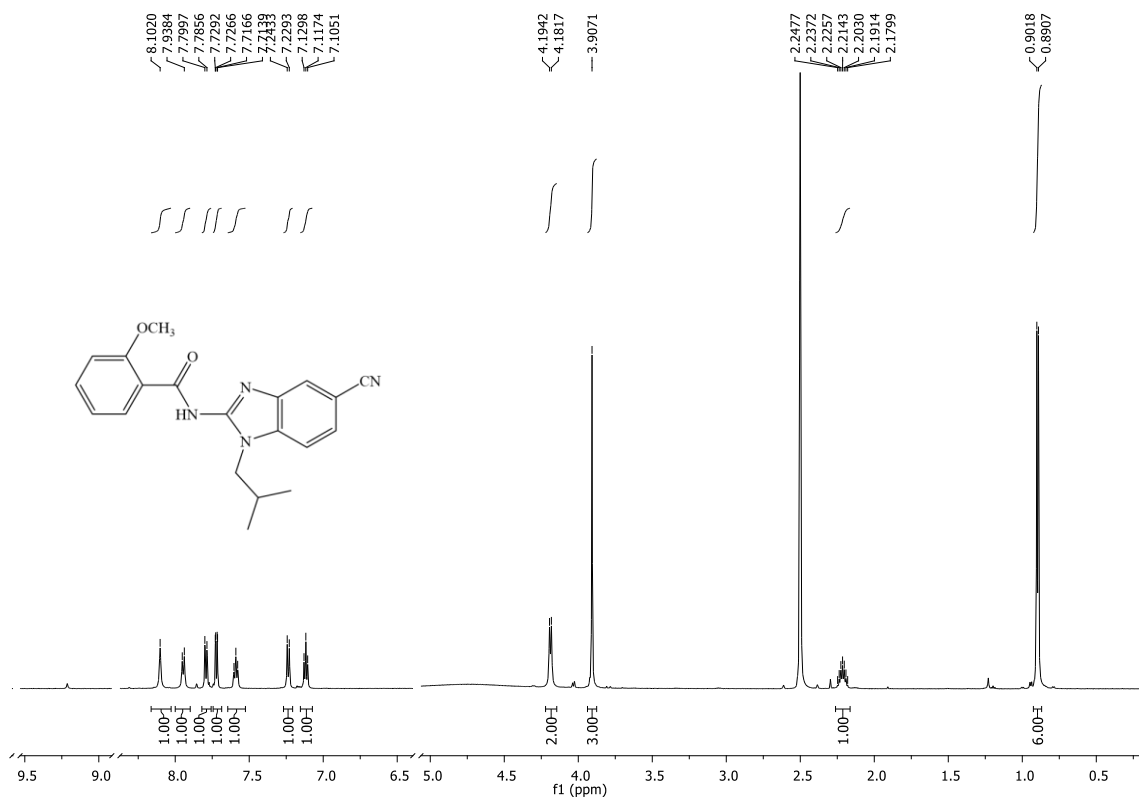


b) ^{13}C NMR spektar spoja **11**

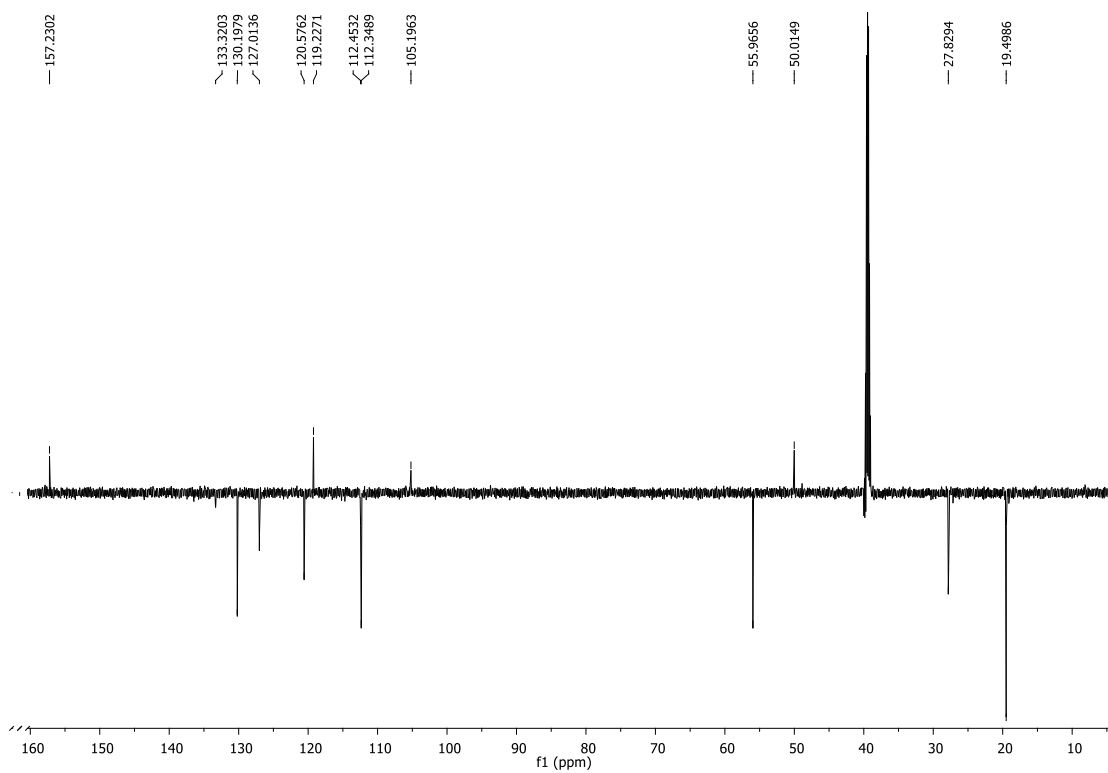


Prilog 9.

a) ^1H NMR spektar spoja 12

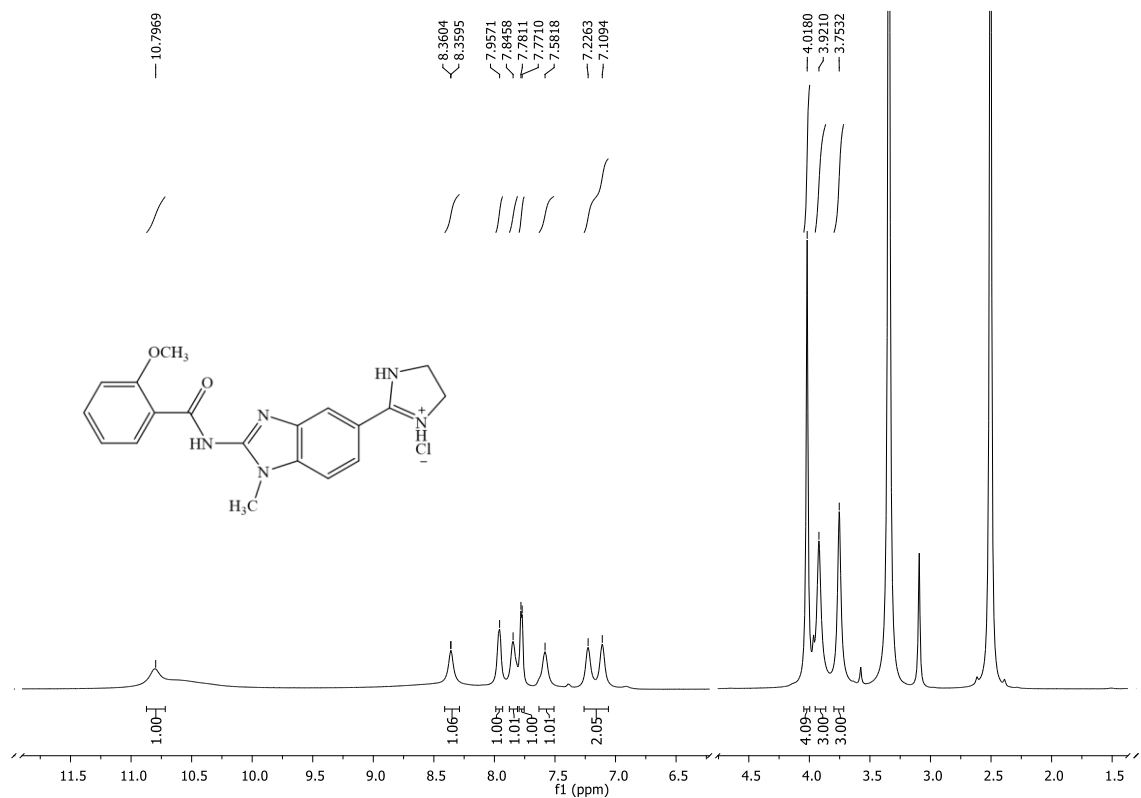


b) ^{13}C NMR spektar spoja 12

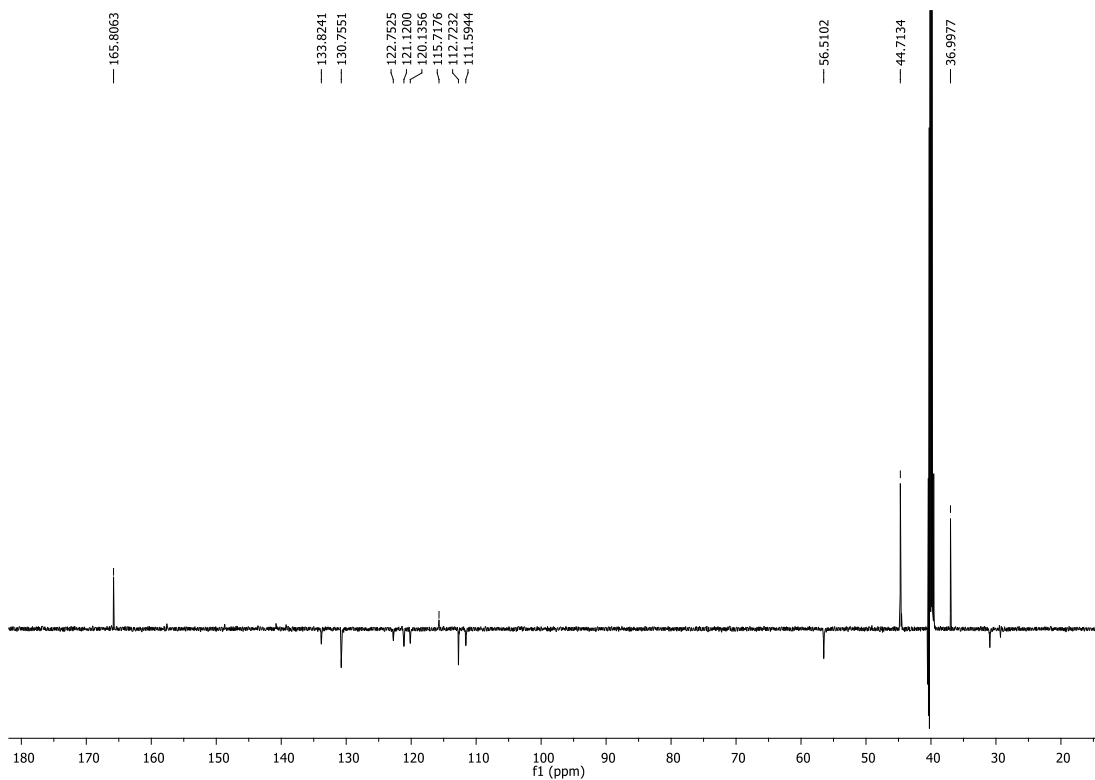


Prilog 10.

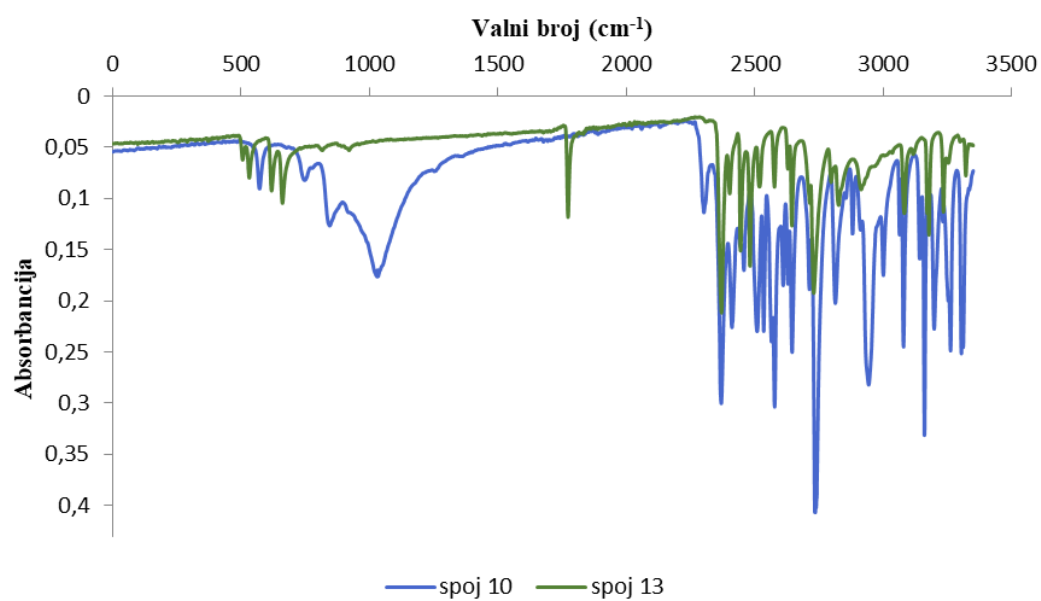
a) ^1H NMR spektar spoja **13**



b) ^{13}C NMR spektar spoja **13**

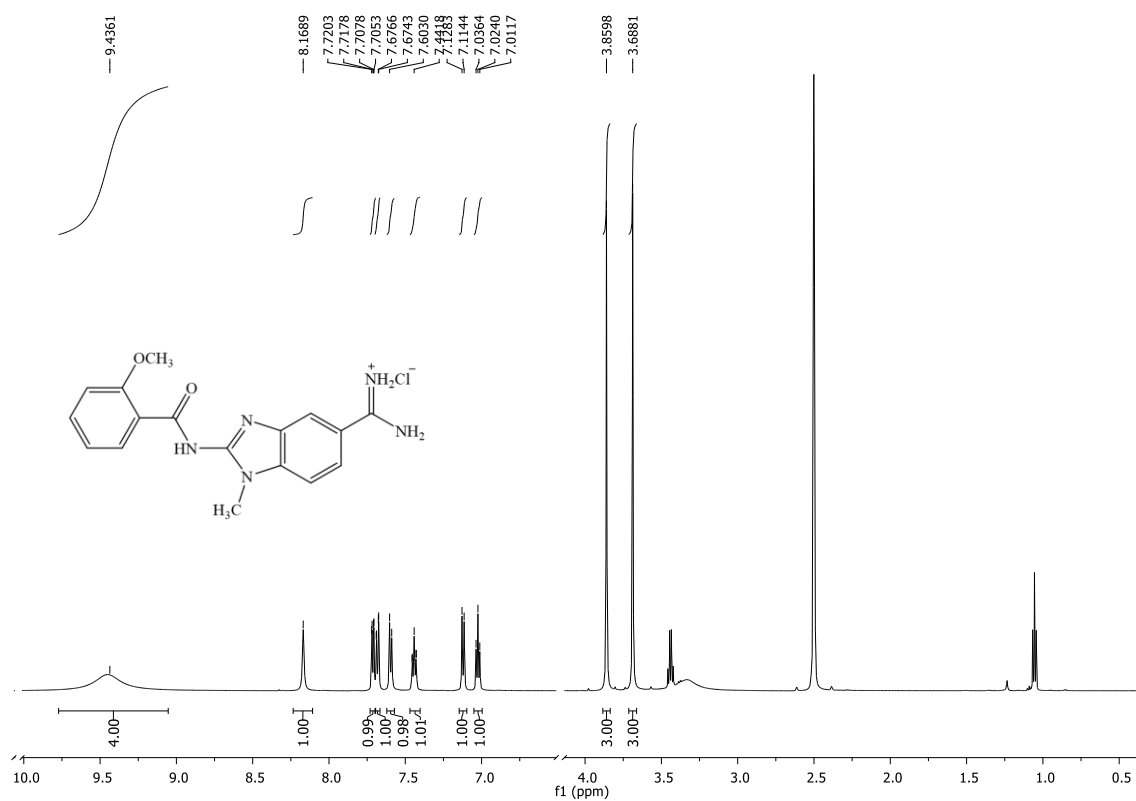


c) IR spektar spoja 13

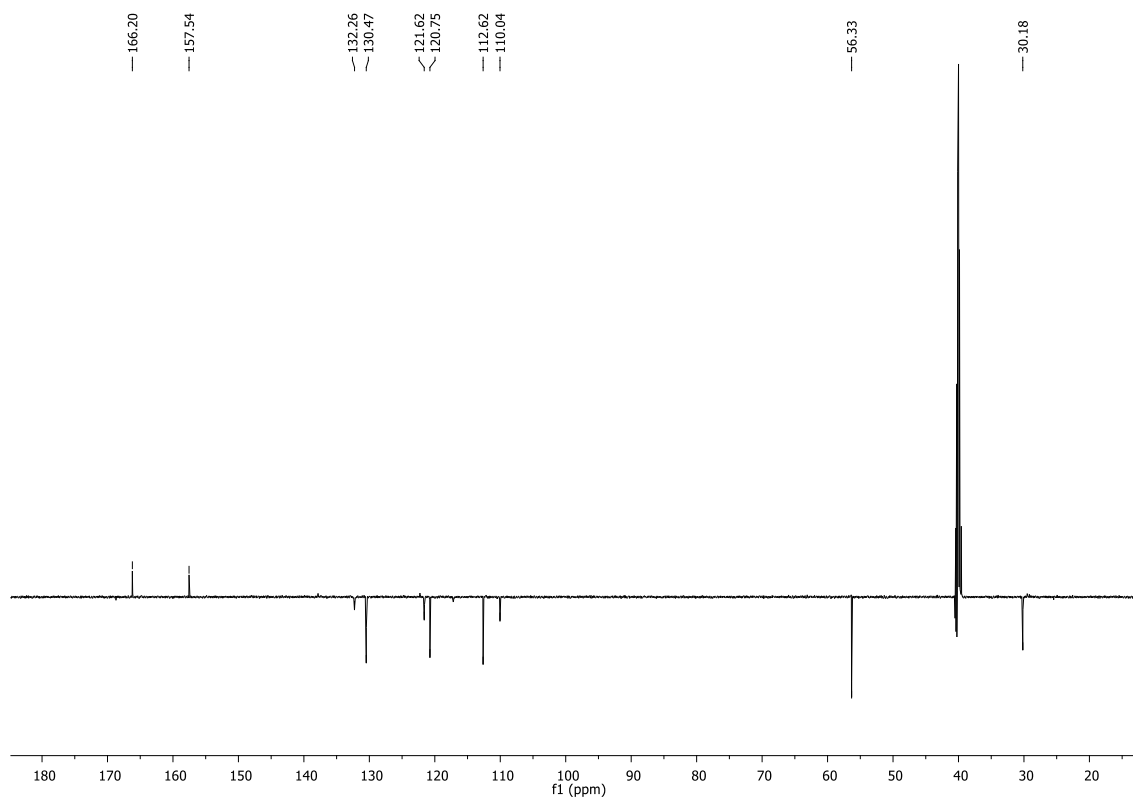


Prilog 11.

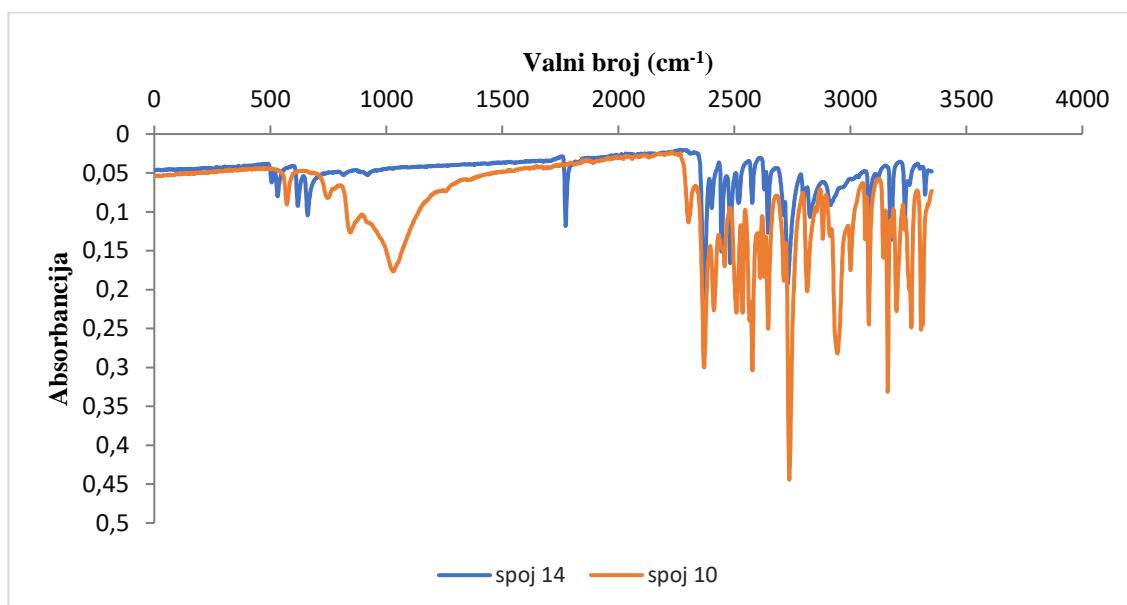
a) ¹H NMR spektar spoja 14



b) ^{13}C NMR spektar spoja 14



c) IR spektar spoja 14



7. LITERATURA

1. S. Mahesh,,K.-C. Tang, M. Raj, *Molecules* **23** (2018) 2615.
2. P. Rajput, A. Sharma, *J. Pharmacol Med Chem*, **2** (2018) 22–31.
3. B. Pathare, T. Bansode, *Results in Chemistry* **3** (2021) 2211-7156.
4. M. Tireli,, K. Starcevič, T. Martinović, S. Kraljević Pavelić,G. Karminski- Zamola, M. Hranjec, *Mol. Divers.* **21** (2017) 201–210.
5. V. Lobo, A. Patil, A. Phatak, N. Chandra, *Pharmacogn. Rev.* **4** (2010) 118–126.
6. J. M. Mates, J. A. Segura, F. J. Alonso, J. Márquez, *Arch. Toxicol.* **86** (2012) 1649–1665.
7. E. R. Stadtman, *Curr. Med. Chem.*, **11** (2004) 1105–1112.
8. L. G. Wade, ml., *Organska kemija*, prijevod 7. engleskog izdanja, prevoditelji O. Kronja, V. Rapić, I. Bregovec, 1. hrvatsko izdanje, Školska knjiga 2017.
9. <https://tehnika.lzmk.hr/tehnickaenciklopedija/amidi.pdf>
10. T. W. G. Solomons, C. B. Fryhle, S. A. Snyder, *Organic Chemistry*, 11th Edition, Wiley, USA, 2014.
11. C. R. Noller, *Kemija organskih spojeva*, Tehnička knjiga, Zagreb, 1968.
12. E. Massolo, M. Pirola, M. Benaglia, *Eur. J. Org. Chem.* (2020) 4641–4651.
13. S.H. Pine, *Organska kemija*, Školska knjiga. Zagreb, 1994.
14. <https://www.chemistrysteps.com/amide-reduction-mechanism-by-lialh4/>
15. S. Patai, *The Chemistry of Carboxylic Acids and Esters; Interscience*: London, 1969.
16. S. Patai, *The Chemistry of the Carbon-Nitrogen Double Bond; Interscience*: London, 1970.
17. J. Zabicky, *The Chemistry of Amides; Interscience*: London, 1972.
18. A. Kotera, T. Morita, S. Aoyagi, Y. Kakiuchi, S. Nagakura, K. Kume, *Nippon Kagaku Zasshi* **82** (1961) 298; *Chem. Abstr.* **55** (1961) 15128e.
19. Z. B. Kiro, Yu. A. Teterin, L. N . Nikolenko, B. I. Stepanov, *Zh. Org. Khim.* **8** (1972) 2573; *Chem. Abstr.* **78** (1973) 135210z.
20. A. Hantzsch, W. Geidel, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **63** (1930) 1782.
21. M. E. Runner, M. L. Kilpatrick, E. C. Wagner, *J. Am. Chem. Soc.* **69** (1947) 1406.
22. R. C. Neuman, G. S. Hammond, *J. Phys. Chem.* **67** (1963) 1659.
23. S. Patai, *The Chemistry of Amidines and Imidates, Vol. 1*, John Wiley & Sons: New York, 1975.
24. M. W. Partridge, A. Smith, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* (1973) 453.
25. L. Weintraub, S. R. Oles, N. Kalish, *J. Org. Chem.* **33** (1968) 1679.
26. M. Kakimoto, S. Ogata, A. Mochizuki, Y. Imai, *Chem. Lett.* (1984) 821.
27. R. Roger, D. G. Neilson, *Chem. Rev.* **61** (1961) 179.
28. F. C. Schaefer, G. A. Peters, *J. Org. Chem.* **26** (1961) 412.

29. J. C. Grivas, A. Taurins, *Can. J. Chem.* **39** (1961) 761.
30. P. Oxley, M. W. Partridge, W. F. Short, *J. Chem. Soc.* (1947) 1110.
31. R.S. Garigipati, *Tet. Lett.* **31** (1990) 1969.
32. R. A. Moss, W. Ma, D. C. Merrer, S. Xue, *Tet. Lett.* **36** (1995) 8761.
33. G. Rousselet, P. Capdevielle, M. Maumy, *Tet. Lett.* **34** (1993) 6395.
34. M. Cindrić, I. Sović, I. Martin-Kleiner, M. Kralj, T. Mašek, M. Hranjec, K. Starčević, *Med Chem. Res.* **26** (2017) 2024–2037.
35. I. Sović, M. Cindrić, N. Perin, I. Boček, I. Novaković, A. Damjanović, T. Stanojković, M. Zlatović, M. Hranjec, B. Bertoša, *Chem. Res. Toxicol.* **32** (2019) 1880–1892.
36. M. Cindrić, M. Perić, M. Kralj, I. Martin-Kleiner, M. David-Cordonnier, H. Čipčić Paljetak, M. Matijašić, D. Verbanac, G. Karminski-Zamola, M. Hranjec, *Mol. Divers.* **22** (2018) 637–646.

8. ŽIVOTOPIS

