

Sinteza i spektroskopska karakterizacija novih 2-amido supstituiranih benzimidazo[1,2-a]kinolina

Gulin, Marjana

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

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:149:345988>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-12**



Repository / Repozitorij:

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



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

Marjana Gulin

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan, 2016.

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

Marjana Gulin

**Sinteza i spektroskopska karakterizacija novih 2-
amido-supstituiranih benzimidazo[1,2-*a*]kinolina**

ZAVRŠNI RAD

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

Članovi ispitnog povjerenstva:

1. izv. dr. sc. Marijana Hranjec, FKIT
2. dr. sc. Irena Sović, poslijedoktorandica FKIT-a
3. doc. dr. sc. Šime Ukić, FKIT

Zagreb, rujan, 2016.

SAŽETAK

Sinteza i spektroskopska karakterizacija novih 2-amido supstituiranih benzimidazo[1,2-*a*]kinolina

U ovom radu opisana je sinteza i spektroskopska karakterizacija novih 2-amido supstituiranih benzimidazo[1,2-*a*]kinolina. Novi spojevi priređeni su klasičnim reakcijama organske sinteze. Aciklički prekursor *E*-2-[2-(*p*-cijanofenil)etenil]benzimidazol **3** pripremljen je iz 2-metilbenzimidazola i 4-cijanobenzaldehida. Fotokemijskom ciklizacijom etanolne otopine spoja **3** dobiven je 2-cijanobenzimidazo[1,2-*a*]kinolin **4**. Iz cijano supstituiranog derivata **4** u kiselj vodenoj otopini priređena je benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karboksilna kiselina **5** koja u reakciji sa SOCl₂ daje glavni prekursor za sintezu amida, benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karbonil-klorid **6**. 2-amido supstituirani benzimidazo[1,2-*a*]kinolini **7-9** dobiveni su reakcijom benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karbonil-klorida **6** s odgovarajućim aminima. Strukture novopriređenih spojeva okarakterizirane su UV/Vis i fluorimetrijskom spektroskopijom, te su potvrđene ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom.

Ključne riječi: amidi, benzimidazoli, benzimidazo[1,2-*a*]kinolini, UV/Vis i fluorimetrijska spektroskopija, ¹H i ¹³C NMR spektroskopija

SUMMARY

Synthesis and spectroscopic characterization of novel 2-amido substituted benzimidazo[1,2-*a*]quinolines

This work presents the synthesis and spectroscopic characterization of novel 2-amido substituted benzimidazo[1,2-*a*]quinolines. Novel compounds were prepared by classical reactions of organic chemistry. Acyclic precursor *E*-2-[2-(*p*-cyanophenyl)etenyl]benzimidazol **3** was prepared from 2-methylbenzimidazole and 4-cyanobenzaldehyde. 2-cyano-benzimidazo[1,2-*a*]quinoline **4** was prepared by photochemical cyclization of ethanolic solution of compound **3**. Benzimidazo[1,2-*a*]quinoline-2-carboxylic acid **5** was prepared by acidic hydrolysis from compound **4**. In the reaction of carboxylic acid **5** with SOCl₂ the corresponding benzimidazo[1,2-*a*]quinoline-2-carbonylchloride **6** as a main precursor for the synthesis of targeted amides, was prepared. 2-amido substituted benzimidazo[1,2-*a*]quinolines **7-9** are were obtained in the reaction with corresponding amines. All newly prepared compounds were characterized by UV/Vis and fluorimetric spectroscopic, while the structures were confirmed by means of ¹H i ¹³C NMR spectroscopy.

Key words: amides, benzimidazoles, benzimidazo[1,2-*a*]quinolines, UV/Vis and fluorimetric spectroscopy, ¹H i ¹³C NMR spectroscopy

Iznimno se zahvaljujem mentorici, izv. prof. dr. sc. Marijani Hranjec na odabranoj temi, pomoći, potpori i strpljenju koje mi je pruženo tijekom procesa pisanja i ispravljanja završnog rada.

Također, zahvaljujem se poslijedoktorandici dr. sc. Nataši Perin na razumijevanju, stručnoj susretljivosti i korisnim savjetima koji su mi pruženi tijekom izvođenja eksperimentalnog dijela.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Marijane Hranjec i neposrednim voditeljstvom dr. sc. Nataše Perin u sklopu projekta Hrvatske zaklade za znanost br. 5596 *Synthesis and cytostatic evaluations of novel nitrogen heterocycles library*.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	3
2.1. Općenito o amidnoj vezi	4
2.2. Sinteza cikličkih derivata benzimidazola	7
2.3. Biološka aktivnost cikličkih derivata benzimidazola	15
3. REZULTATI I RASPRAVA	25
3.1. Cilj rada	26
3.2. Sinteza priređenih spojeva	27
3.2. Spektroskopska karakterizacija priređenih spojeva	33
4. EKSPERIMENTALNI DIO	37
4.1. Opće napomene	38
4.2. Sinteza derivata benzimidazo[1,2- <i>a</i>]kinolina-2-karboksamida	39
5. ZAKLJUČAK	43
6. LITERATURA	45
7. PRILOZI	48
8. ŽIVOTOPIS	55

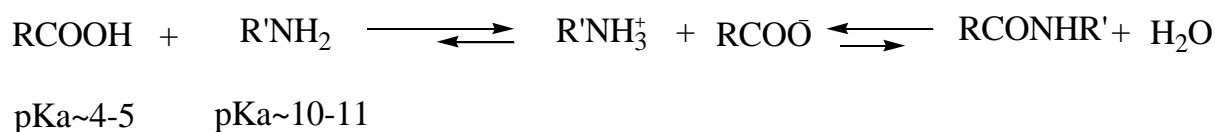
1. UVOD

Amidna skupina je jedna od temeljnih kemijskih strukturnih jedinica koja dolazi u strukturama jednostavnih i kompleksnih te prirodnih i sintetičkih organskih spojeva. U ljudskom organizmu dolazi u strukturi proteina kao amidna veza koja povezuje aminokiseline a oni imaju važnu ulogu u biološkim procesima poput enzimske katalize, prijenosa i pohrane tvari hemoglobinom, imunosne zaštite antitijelima te izgradnji tkiva za što je zaslužan kolagen. Sinteza proteina podrazumijeva stvaranje peptidne veze između α -aminokiselina ili peptida pri čemu se mora paziti na jedinstven i precizno određen slijed aminokiselina u proteinu što čini ovaj proces kompleksan, te ujedno nužan za ljudski organizam.¹ Amidi imaju važnu ulogu u medicinskoj kemiji, a utvrđeno je da 25% lijekova prisutnih na tržištu u svojoj strukturi posjeduje karboksamidnu grupu. Jedan od razloga navedene činjenice je stabilnost amida koji su neutralne molekule koje sadrže akceptorska i donorska svojstva. Procijenjeno je da je 16% svih reakcija uključenih u sintezu modernih farmaceutika upravo aciliranje amina kojim se priređuju amidi, što ju čini najčešće izvedenom kemijskom reakcijom na tom polju.² U svakodnevnom životu značajnu ulogu imaju i ostali prirodni ili sintetski polimeri povezani amidnom vezom, a služe za izradu materijala poput najlona, ljepila ili imaju ulogu u distribuciji lijekova te izradi supstanci za zacjeljivanje rana.³

2. OPĆI DIO

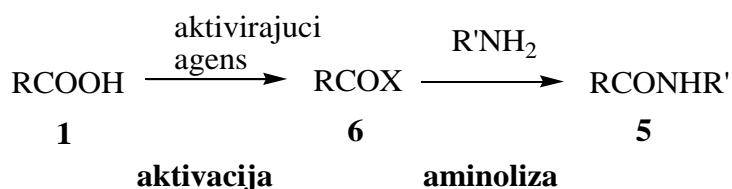
2.1. Općenito o amidnoj vezi

Sintezom proteina dolazi do povezivanja peptida u određeni slijed pri čemu se stvara amidna veza između dvije α -aminokiseline ili peptida. Preciznije, amidna veza nastaje kondenzacijom karboksilne kiseline ili njezinih derivata i amina uz otpuštanje ekvivalenta vode. Kako bi prilikom sinteze proteina očuvali jedinstven slijed aminokiselina, aktivacija istih provodi se uz enzime kao katalizatore gdje se aminokiselina prevodi u amino ester što je prikazano na shemi 1.⁴



Shema 1. Stvaranje amidne veze

Reakcijom kiseline i amina stvaraju se kiselo-bazni uvjeti pri čemu se formira stabilna sol. Direktna kondenzacija soli se provodi uz žestoke uvjete, pri visokim temperaturama (160-180°C) što nepovoljno djeluje na druge funkcionalne skupine. Nadalje, potrebno je aktivirati karboksilnu kiselinu određenim katalizatorom ili reagensom pri čemu dolazi do zamjene hidroksilne skupine dobro odlazećom amino skupinom.⁵

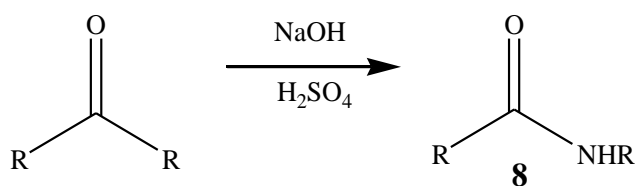


Shema 2. Aktivacija kiseline i aminoliza

2.1.1. Stvaranje amidne veze: metode i strategije

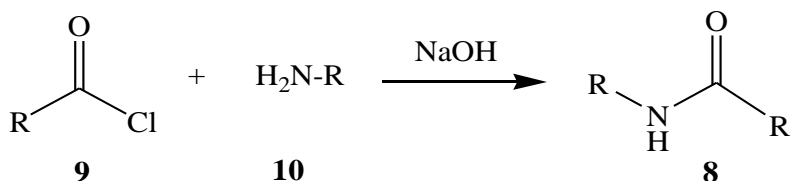
Najčešće laboratorijske sintetske metode za pripremu amida su Schmidtova reakcija, Schotten-Baumannova reakcija, Ugijeva reakcija te dobivanje amida iz acil-halogenida.

Schmidtova reakcija – kiselo katalizirana reakcija azida i elektrofilnih karbonilnih spojeva



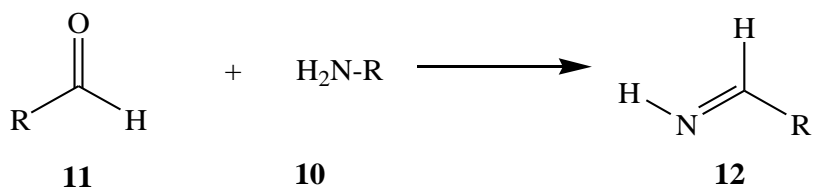
Shema 3. Schmidtova reakcija

Schotten-Baumannova reakcija - stvaranje ravnoteže za nastanak amida iz amina i acil klorida uz dodatak baze



Shema 4. Schotten-Baumannova reakcija

Ugijeva reakcija - kondenzacija aldehida, amina, karboksilne kiseline i izocijanata koja rezultira stvaranjem raznih α -aminoacil amidnih derivata



Shema 5. Ugijeva reakcija

Aktivacija se prevodi prevođenjem karboksilnih kiselina u acil-halogenide, acil-azide, acil-imidazole, anhidride, estere i druge spojeve s dobro odlazećim skupinama.

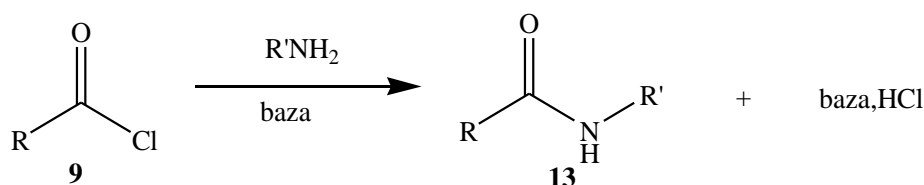
Postoje različiti načini kondenzacije reaktivnih karboksilnih derivata i amina:

- intermedijarni acilirajući agens se formira, nako čega podliježe aminolizi
- reaktivni acilirajući agens se formira iz kiseline u nekoliko odvojenih koraka, te reagira s aminom
- acilirajući agens se stvara iz kiseline u prisutnosti amina uz dodatak veznog ili aktivnog agensa

Reakcije stvaranja amidne veze često imaju nisko iskorištenje, dolazi do racemizacije, raspadanja produkata, otežanog pročišćavanja, a kako bi to spriječili koriste se blagi reagensi i metode s ciljem većeg iskorištenja i suzbijanja racemizacije susjednih kiralnih centara.

2.1.2. Priprava amida iz acil-klorida

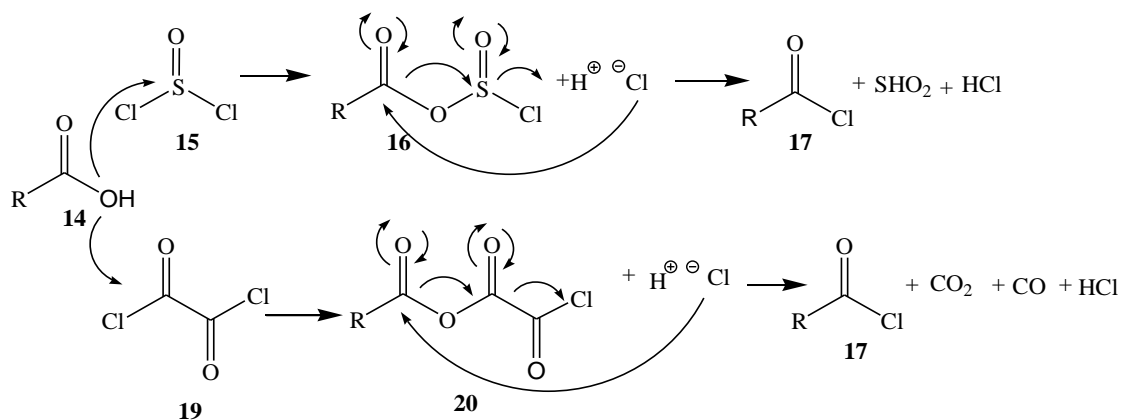
Acil-kloride koristimo kao reagense kojima možemo aktivirati karboksilnu kiselinu. Tionil-klorid (SOCl_2)⁶, oksalil-klorid (COCl_2)⁷, fosfor-triklorid (PCl_3)⁸, fosforoksi-klorid (POCl_3)⁹ i fosfor-pentaklorid (PCl_5)¹⁰ su najčešće korišteni spojevi za pretvorbu odgovarajućih kiselina u acil-kloride. Reakcije se često provode uz dodatak *N,N*-dimetilformamida (DMF) kao katalizatora. Jedan od glavnih nedostataka agensa za kloriranje je upravo stvaranje HCl kao nusprodukta. Neki spojevi, kao što je cijanurin-klorid su osjetljivi na kiselinske uvjete i zato daju acil-kloride u prisutnosti trietilamina. Zbog prisutnosti ove organske baze zadržavaju se bazični uvjeti tijekom reakcije.¹¹ Cijanurin-klorid je pogodan aktivirajući agens za stvaranje velikog broja amida. Neutralni uvjeti su također pogodni za blagu reakciju stvaranja acil-klorida iz karboksilnih kiselina. Primjerice, djelovanjem trifenilfosfina (TPP-a) i tetraklorugljika (CCl_4) uz nisku temperaturu, iz karboksilne kiseline nastaje acil-klorid, iako se CCl_4 , zbog njegovih toksičnih svojstava, može zamijeniti s heksakloracetonom. Za blagu i učinkovitu reakciju još se može koristiti trikloracetonitiril uz TPP.¹² Reakcijom acil-klorida i amina uz dodatak baze dobivamo amidnu vezu. (Shema 6)



Shema 6. Sinteza amina

Baza koju koristimo nam služi kako bi neutralizirali formirani HCl i spriječili konverziju amina u nereaktivnu sol. Reakcija se provodi u suhim, inertnim otapalima u prisutnosti tercijarnog amina koji nije nukleofil, kao što je trietilamin (Et_3N). Acil-kloridi su dovoljno otporni u takvim uvjetima tako da se mogu povezati s aminima uz djelovanje NaOH, što nam tumači Schotten-Baumannova kondenzacija.¹³ Ove reakcije se mogu ubrzati djelovanjem piridina koji nekad služi kao otapalo ili *N,N*-dimetilaminopiridina (DMAP).

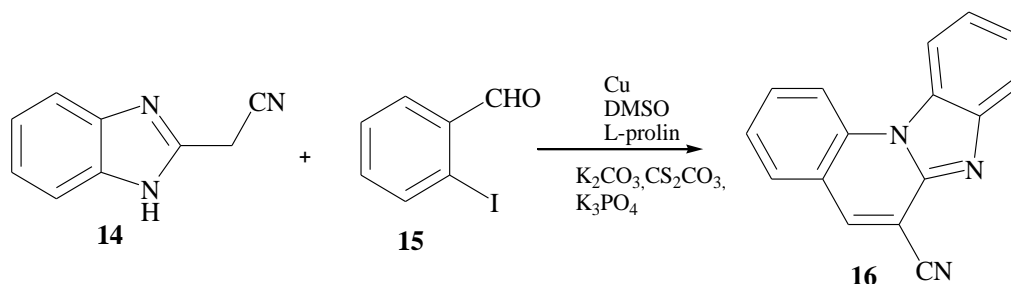
Cink se može koristiti kao katalizator za reakcije na sobnoj temperaturi, a primjenjuje se kod alkilnih i arilnih derivata, heterocikla, ugljikohidrata i aminokiselina gdje se dobivaju visoka iskorištenja.¹⁴



Shema 7. Mehanizam stvaranja acil klorida korištenjem tionil- i oksalil-klorida

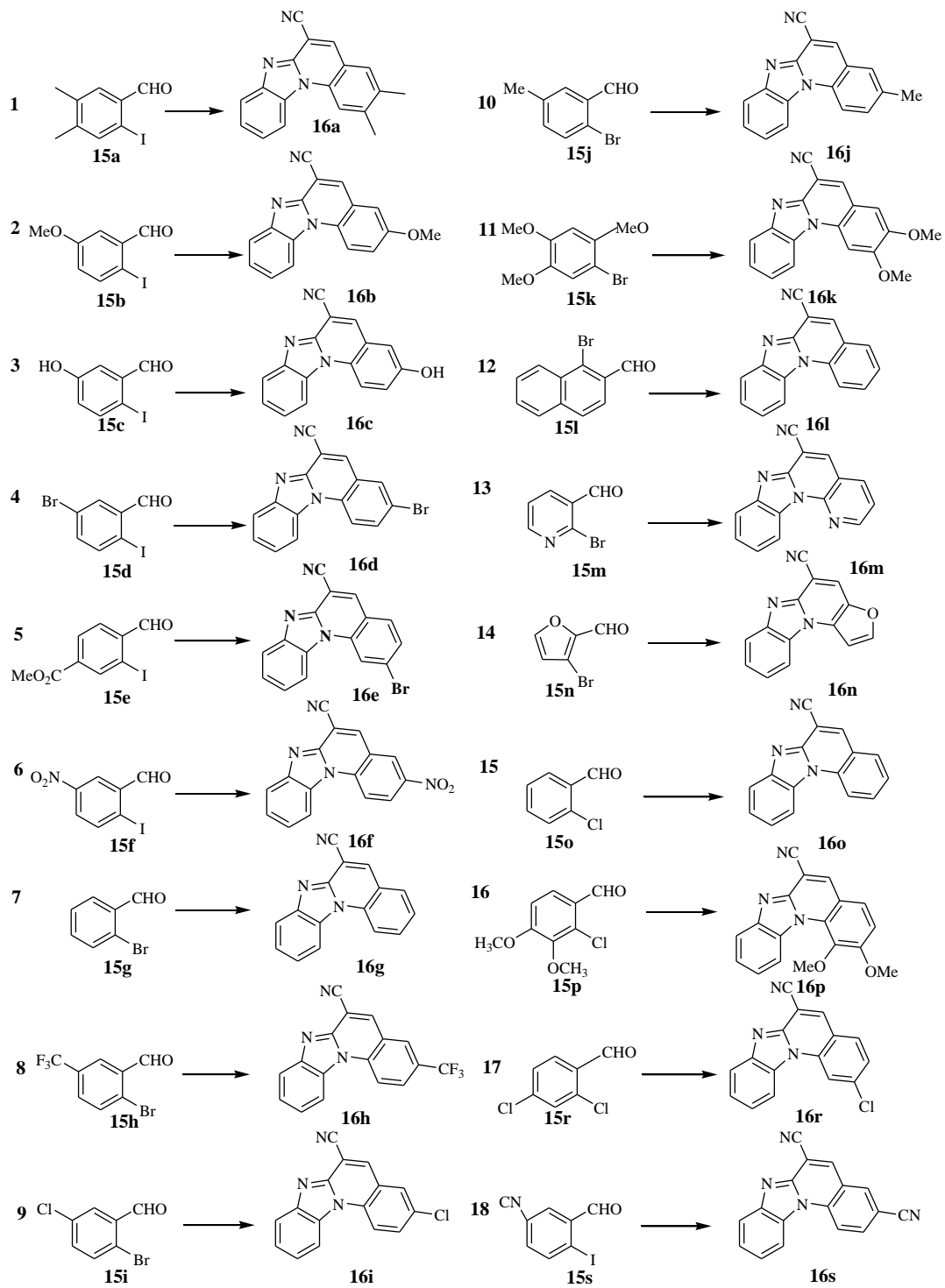
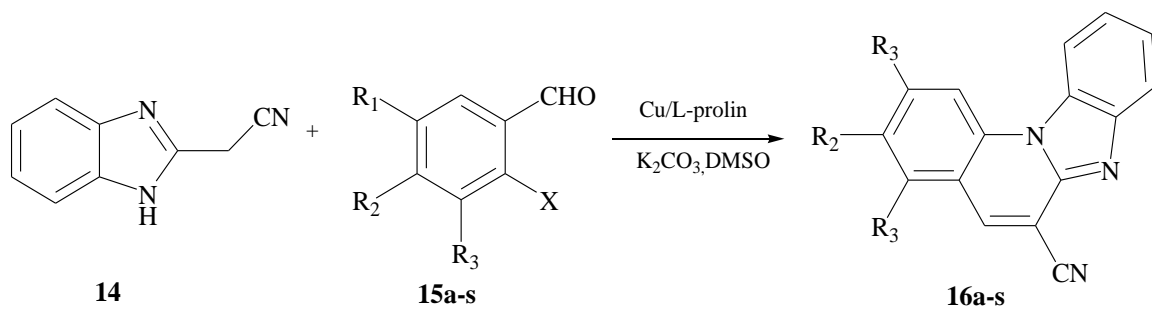
2.2. Sinteza cikličkih derivata benzimidazola

Supstituirani kinolini predstavljaju važnu klasu spojeva koji pokazuju širok spektar različitih bioloških aktivnosti i funkcija.¹⁵ Tradicionalno korištene metode njihovog dobivanja poput ciklizacije koja je katalizirana kiselinom¹⁶, fotokemijske dehidrociklizacije¹⁷ ili elektrofilne ciklizacije¹⁸ idu uz niska iskorištenja, pa su zbog tog razloga razvijene neke druge metode. Reakcije katalizirane metalima kao što su Pt, Pd i Cu su se pokazale vrlo uspješnima pri sintezi kinolina u visokom iskorištenju. Na Shemi 8 je prikazana reakcija između 2-jodobenzaldehida **14** i 2-cijanometilbenzimidazola **15** u optimiranim uvjetima, pri čemu dobivamo benzimidazo[1,2-*a*]kinolin **16** u iskorištenju od 92%.



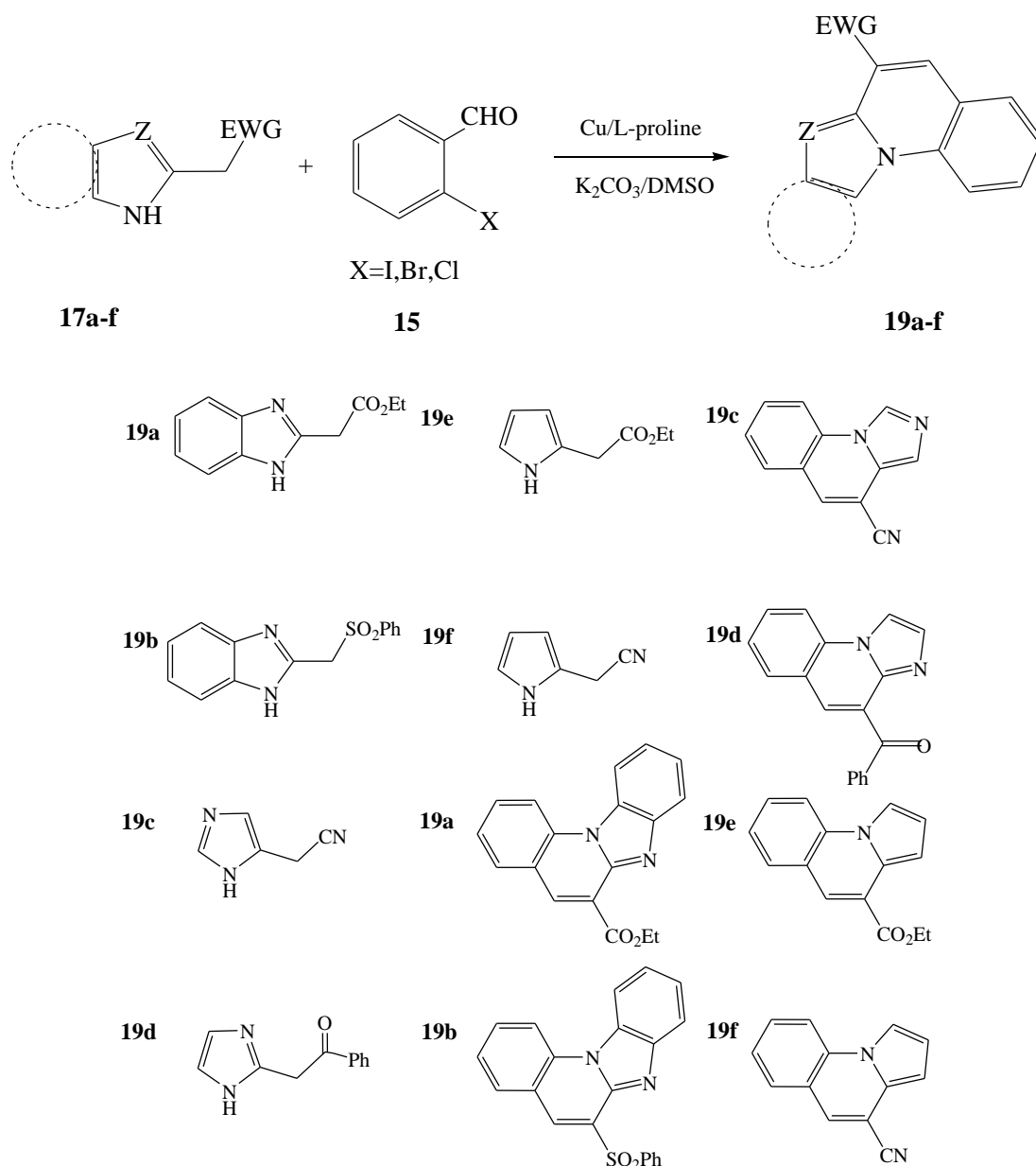
Shema 8. Dobivanje benzimidazo[1,2-*a*]kinolina

Daljnim istraživanjima optimirani su novi načini dobivanja derivata spoja **16** uz optimizirane reakcijske uvjete, kondezacijom 2-cijanometilbenzimidazola **14** i *o*-halogeniranih arilnih aldehida **15** pri čemu su ostvarena visoka iskorištenja. (Shema 9)



Schema 9.

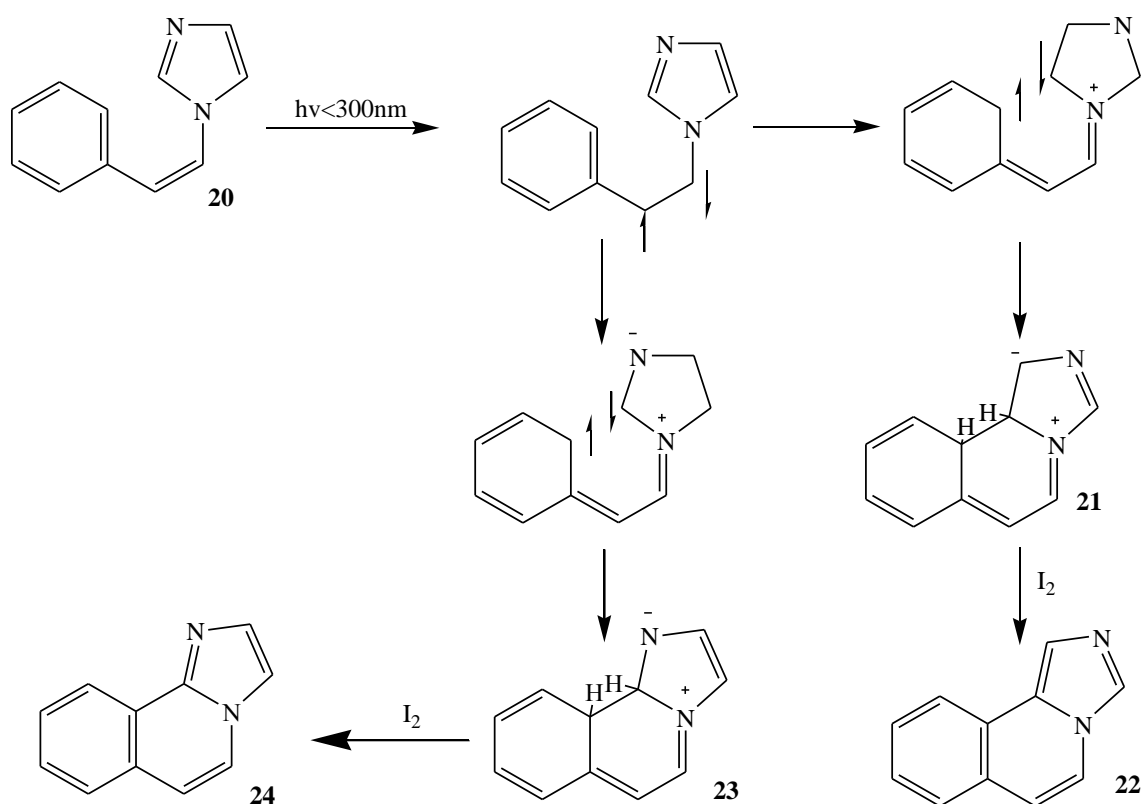
Na Shemi 10 prikazani su produkti dobiveni ciklokondenzacijom raznih heterocikličkih supstrata **17a-f** i aromatskih benzaldehida **15**. Većina benzimidazola **19a-19f** ili imidazola **17** koji su supstituirani elektron-odvlačećim skupinama kao što su CO₂Et, -SO₂Ph, -CN ili -COAr reagirali su s 2-halogeno supstituiranim arilnim aldehydima **15a**, **15h**, **15m** dajući odgovarajuće konačne produkte u visokim iskorištenjima. Druge heterocikličke jezgre poput supstituiranih pirola pokazale su se manje aktivnim u navedenoj reakciji te su produkti nastali u niskim iskorištenjima. Mogući razlog tome leži u činjenici da CH₂ grupe kod takvih spojeva imaju manju nukleofilnu aktivnost nego kod supstituiranih benzimidazola i imidazola.



Shema 10.

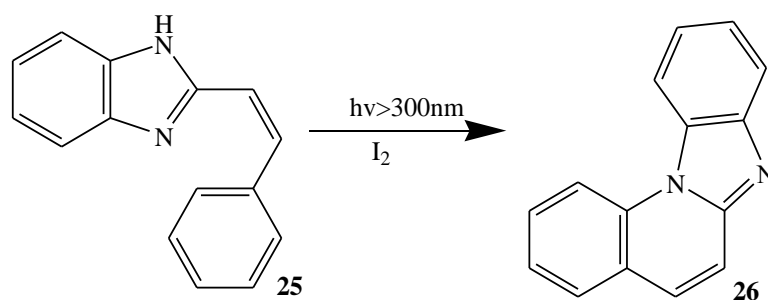
Sinteza imidazo[2,1-*a*]izokinolina, benzimidazo[2,1-*a*]izokinolina i njihovih derivata može se provesti fotoizomerizacijom *trans*-1-stirilimidazola, *trans*-1-stirilbenzimidazola i njihovih derivata, gdje se kao međuprodukti izoliraju *cis*-izomeri koji podliježu stereospecifičnoj fotodehidrociklizaciji koja uključuje 2-položaj imidazolnog ili benzimidazolnog prstena.

Jedan mogućih puteva fotociklizacije 1-stirilimidazola prikazan je na Shemi 11. *Cis*-1-stirilimidazol **20** podliježe polarizaciji imidazolnog prstena s ciljem formiranja dihidrointermedijara **21** i **23**. Selektivnost fotociklizacije ovisi o relativnoj stabilnosti ili lakoći formiranja dihidrointermedijara. Smatra se da su ovi intermedijari stabilizirani elektronodvlačćim supstituentima na 4-položaju imidazolnog prstena.



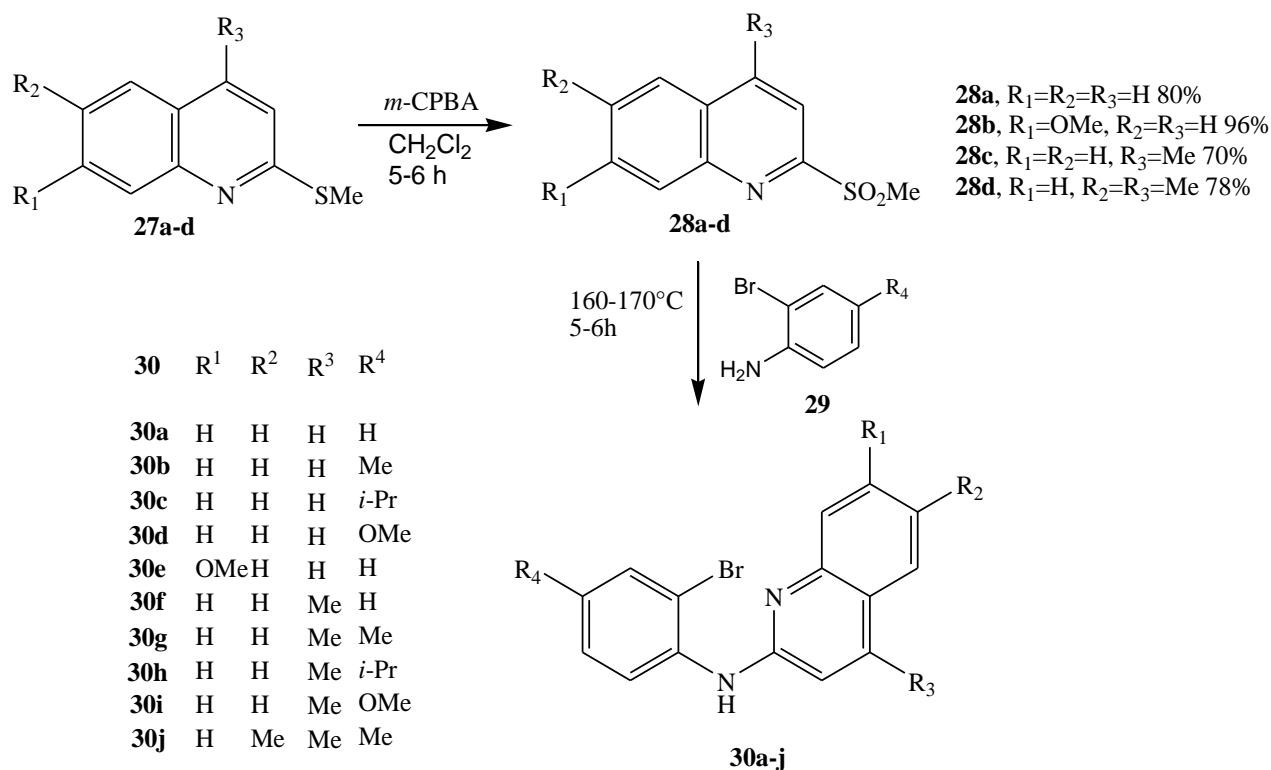
Shema 11.

Po prvi put je ovom metodom priređen i benzimidazo[1,2-*a*]kinolin **26** prema Shemi 12, reakcijom fotokemijske dehidrociklizacije *trans*-2-stiril benzimidazola **25**. Ovo je bio vrlo jednostavan i efikasan sintetski put za pripravu cikličkih molekula formiranjem C-N veze između *o*-C atoma fenilne i N atoma benzimidazolske jezgre.¹⁹



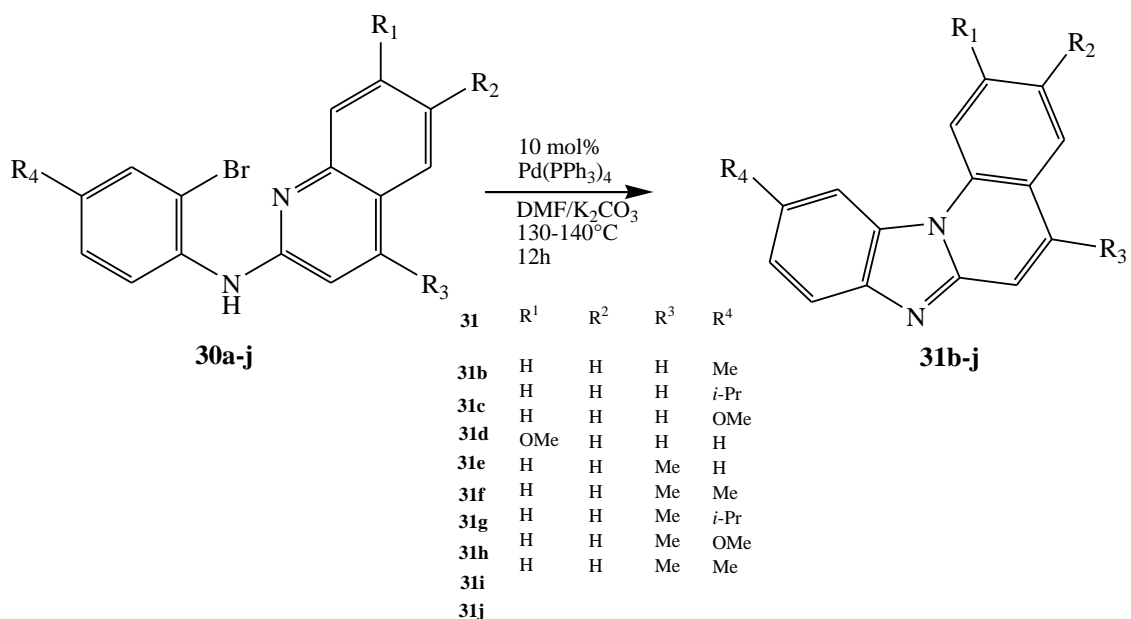
Shema 12.

Loones i suradnici razvili su novu i uspješnu metodu sinteze benzimidazo[1,2-*a*]kinolina putem intramolekularnog Buchwald-Harwingovog arilnog aminiranja 2-(2'-bromanilin)-kinolina, kataliziranog platinom.²⁰ Na shemi 13 prikazana je ciklizacija prekursora 2-(2-bromanilin)kinolina **30a-j** u željeni produkt. Oksidacija 2-(metiltio)kinolina **27a-d** s *m*-CPBA daje 2-(metilsulfonil)kinolin **28a-d** (70-96%) koji podliježe supstituciji metilsulfonilne skupine s raznim 2-bromanilinima **29** pri čemu nastaju ciljani derivati 2-(2-bromanilin)kinolina **30a-j** u vrlo visokim iskorištenjima.



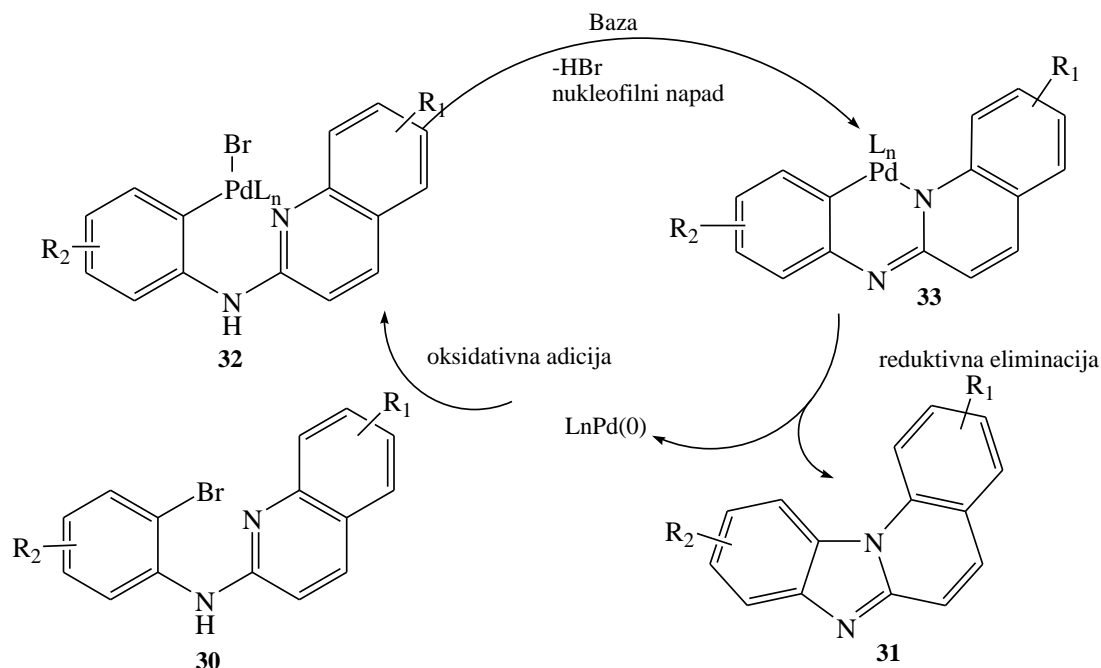
Shema 13.

Daljnijom reakcijom kinolina **30a-j** koji su supstituirani metilnom, izopropilnom i metoksi skupinom na različitim položajima kinolinskog prstena uz Pd-katalizator pri određenoj temperaturi dobivaju se benzimidazo[1,2-*a*]kinolini **31b-j** u vrlo visokim iskorištenjima 70-93% (Shema 14).



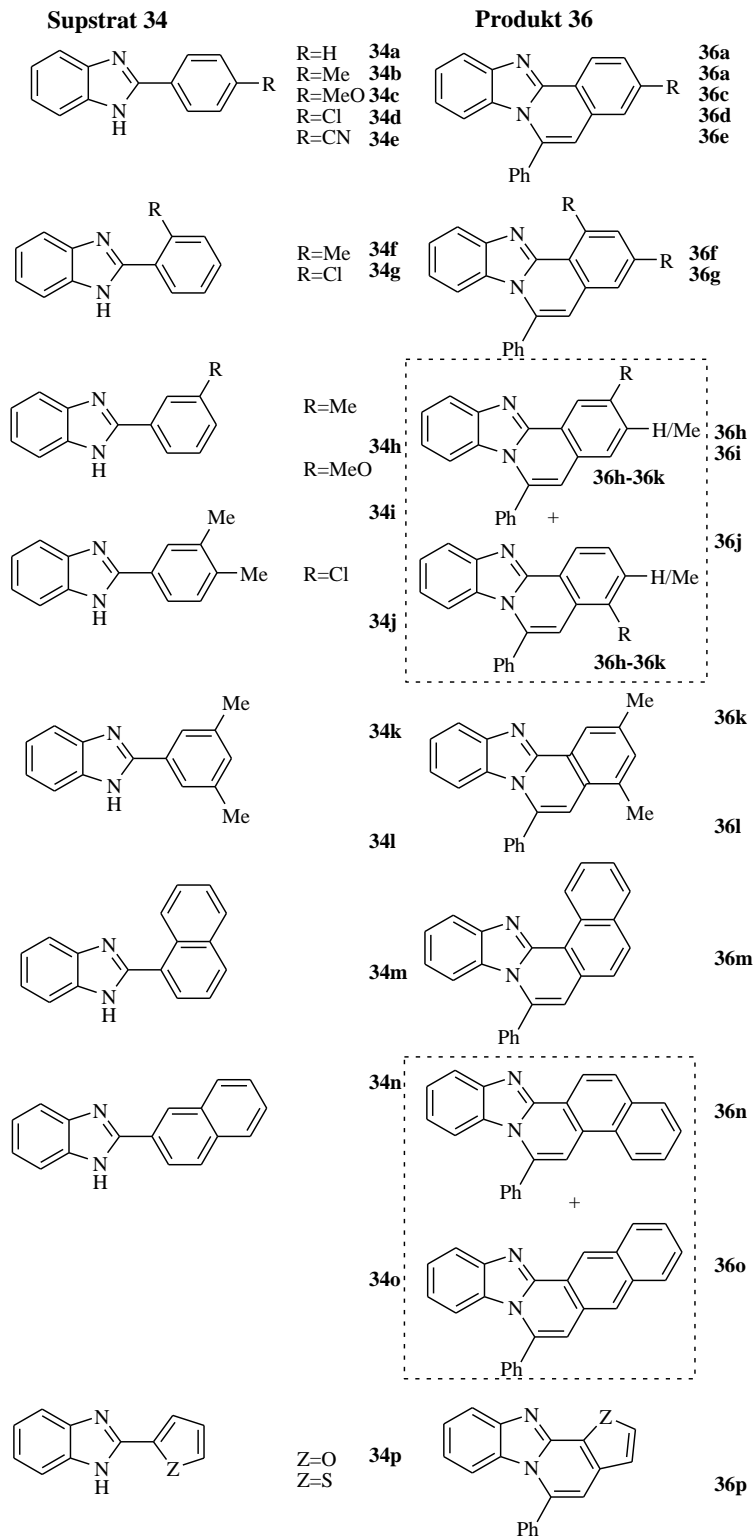
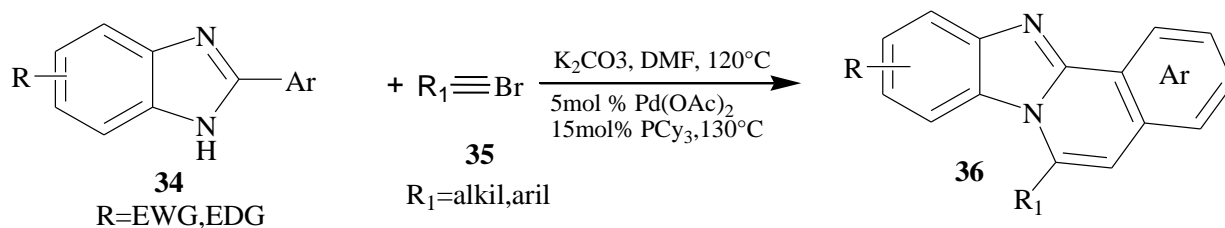
Shema 14. Sinteza benzimidazo[1,2-*a*]kinolina

Na Shemi 15 prikazan je mehanizam reakcije. Oksidativnom adicijom paladija nastaje intermedijar **32** koji podliježe bazičnom nukleofilnom napadu uz eliminaciju HBr dajući ciklički intermedijar s Pd nakon čega se reduktivnom eliminacijom C-N veze dobivaju željeni benzimidazo[1,2-*a*]kinolini **31a-j**.²¹



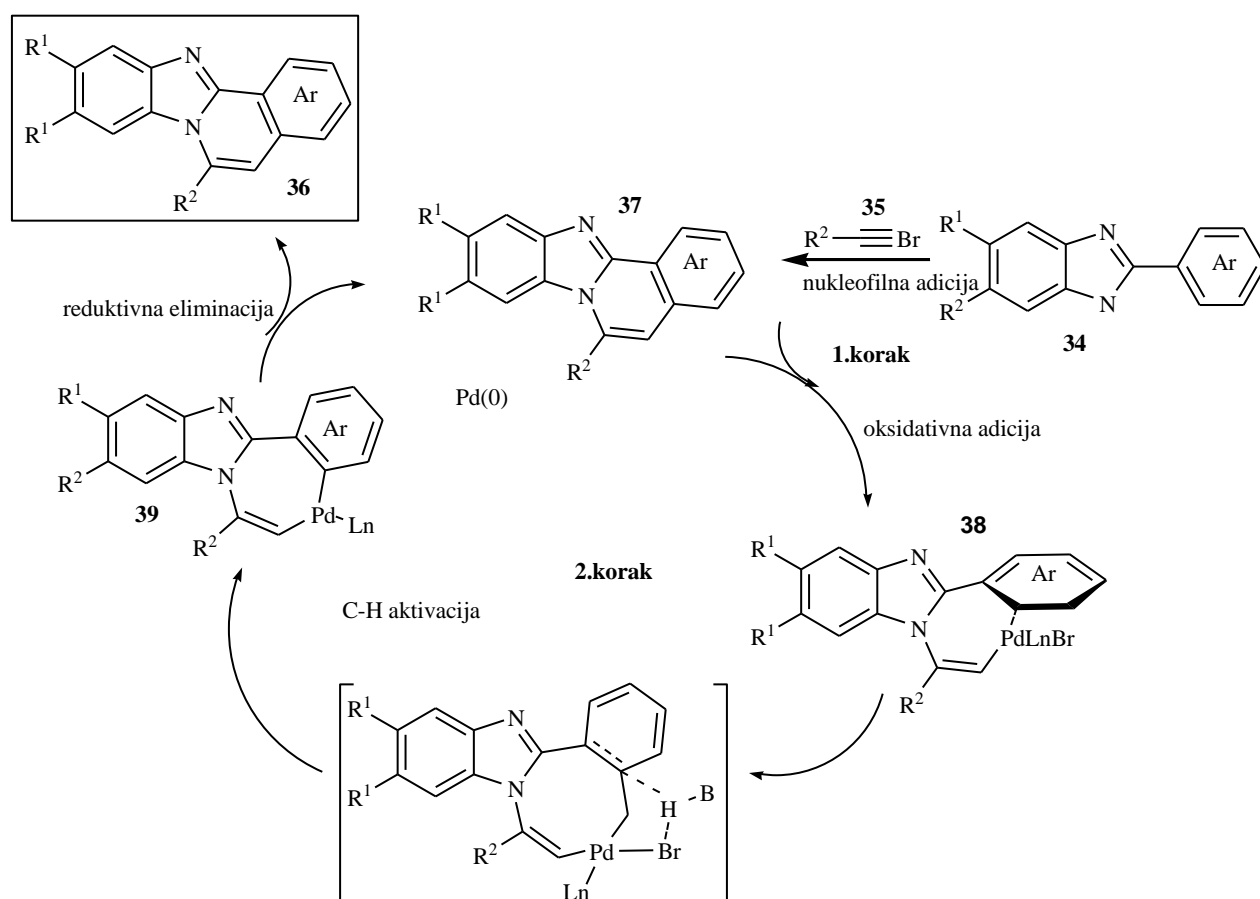
Shema 15.

Sinteza benzo[4,5]imidazo[2,1-*a*]izokinolina provedena je reakcijom nukleofilne adicije 2-aril benzimidazola **34** na alkinil-bromid uz intermolekularno C-H viniliranje katalizirano paladijem uz navedene reakcijske uvjete prema Shemi 16.



Shema 16. Sinteza benzo[4,5]imidazo[2,1-a]izokinolina

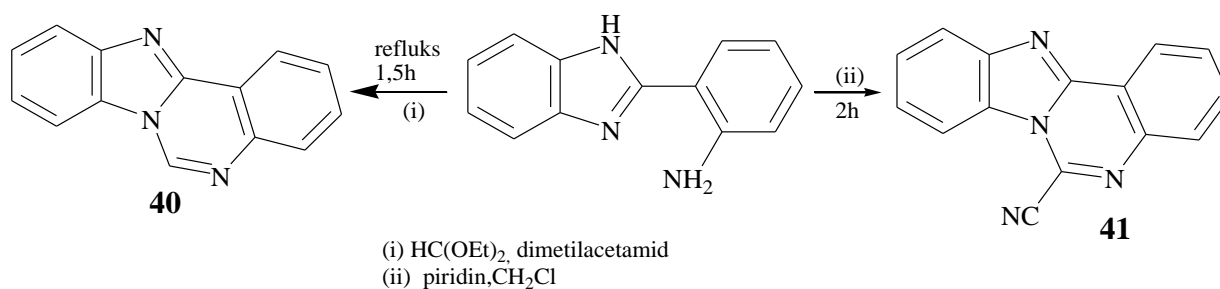
Primjenjujući različite uvjete utvrđeno je da se veća iskorištenja ciklizacije dobivaju pri dužem trajanju reakcije, te korištenjem $\text{PdO}(\text{Ac})_2/\text{Pcy}_3$ kao katalizatora. Priroda halogenih elemenata vezanih za alkinilnu skupinu je također bitna za ishod cjelokupne reakcije. Različiti supstituenti poput -Me, -OMe, -Cl ili -CN skupine na 2-arilbenzimidazolnoj jezgri uzrokuju povećanje iskorištenja reakcija. Mali alkilni supstituenti poput metilne grupe u *meta*-položajima omogućavaju provođenje glavne reakcije i viniliranja koje se odvija na najpogodnijem položaju kako bi nastali regioizomeri. S druge strane, veći supstituenti poput metoksi skupine daju samo jedan produkt ciklizacije. Cijeli mehanizam je prikazan na shemi 17. Nukleofilna adicija benzimidazola **34** na 1-brom-1-alkin **35** ukazuje na regio i stereoselektivnost dajući (*Z*)-alkenil-bromid **37**. Oksidativna adicija vinil-bromida **37** na paladij uz formiranje aromatičnog prstena odvija se posredstvom tranzicijskog stanja. Prsten s paladijem **38**, točnije njegova C-C veza podliježe redukcijskoj eliminaciji kako bi se dobio željeni benzo[4,5]imidazo[2,1-*a*]izokinolin **36** i regenerirali odgovarajući katalizatori.



Shema 17. Mehanizam nukleofilne adicije/ paladijem katalizirane C-H vinilacije

2.3. Biološka aktivnost cikličkih derivata benzimidazola

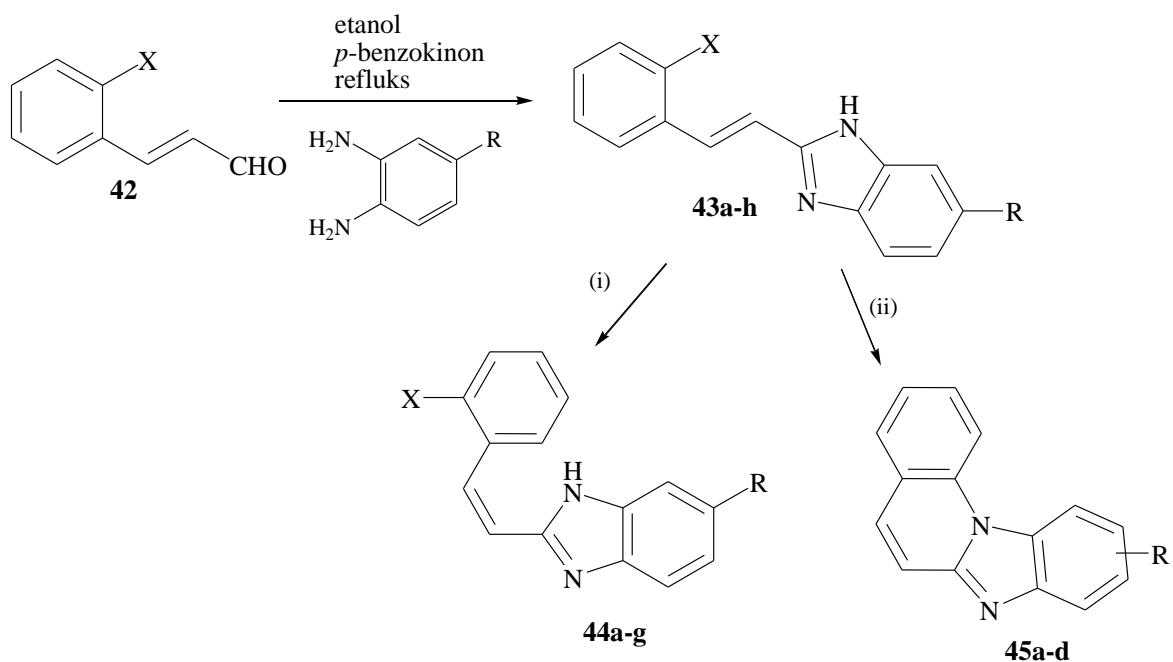
U posljednjih dvadesetak godina u području medicinske kemije postoji veliki interes za sintezu derivata benzimidazola prvenstveno zahvaljujući njihovom potencijalnom farmakološkom i biološkom djelovanju kojeg pokazuju, a od čega posebno valja istaknuti antitumorsku aktivnost. Benzimidazo[1,2-*c*]kinazolin **41** je priređen kondezacijom 2-(2-aminofenil) benzimidazola s 4,5-diklor-1,2,3-ditiazol-kloridom (Appel-ova sol) u iskorištenju od 50% (Shema 18).



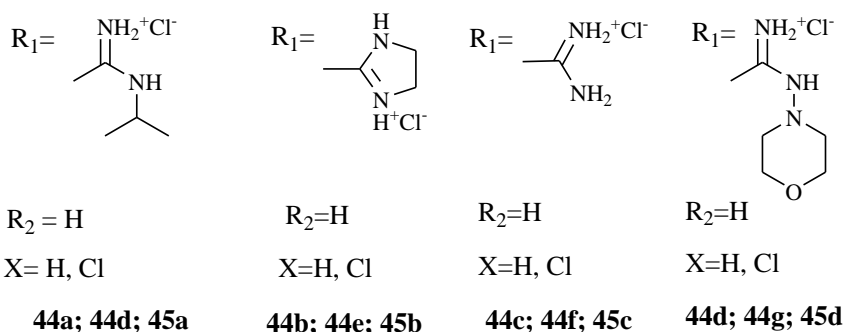
Shema 18.

Kako bi se proučavao utjecaj cijano skupine na biološku aktivnost prstena, priređen je benzimidazo[1,2-*c*]kinazolin **41** se dobije ciklokondezacijom 2-(2-aminofenil) benzimidazola u piridinu te je spoj **41** pokazao izraženiju antitumorsku aktivnost od spoja **40**. Antiproliferativna aktivnost ovih spojeva je ispitivana na mišjim L1210 stanicama leukemije, pri čemu su rezultati pokazali da spoj **41** značajno inhibira rast L1210 stanica u staničnom ciklusu. Uvodeći *N,N*-(dimetil)aminoetilni lanac na indolokinolinski sustav, antitumorska aktivnost je izraženija (submikromolarna koncentracija) na određene stanične linije.²²

M. Hranjec i autori objavili su sintezu cijano- i amidino-supstituiranih derivata stiril-2-benzimidazola i benzimidzo[1,2-*a*]kinolina koji su priređeni kondezacijskim reakcijama, fotokemijskim dehidrociklizacijama i dehidrohalogenacijskim reakcijama. Na Shemi 19. prikazana je sinteza amidino supstituiranih derivata *E*- i *Z*-stiril-2-benzimidazol **44a-g** i benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **45a-d** priređenih kondezacijom *o*-supstituiranih 3-fenil-propenala **42** s odgovarajućim 4-*N*-amidino-supstituiranim 1,2-fenilendiaminima, ranije priređenim iz cijano prekursora Pinnerovom reakcijom, u iskorištenju od 49-74%. Novi *N*-amidino-supstituirani *Z*-2-stiril-1*H*-benzimidazoli **44a-g** priređeni su fotokemijskom izomerizacijom etanolne otopine *N*-amidino-supstituiranih *E*-2-stiril-1*H*-benzimidazola **43a-h**, a tijekom reakcije je praćen UV/Vis spektroskopijom.



(i)- u etanolu ($c=1,3 \cdot 10^{-2}\text{M}$) osvjetljavanje lampom od 400W
 (ii)- u etanolu ($c=1,3 \cdot 10^{-3}\text{M}$) osvjetljavanje lampom od 400W uz dodatak joda

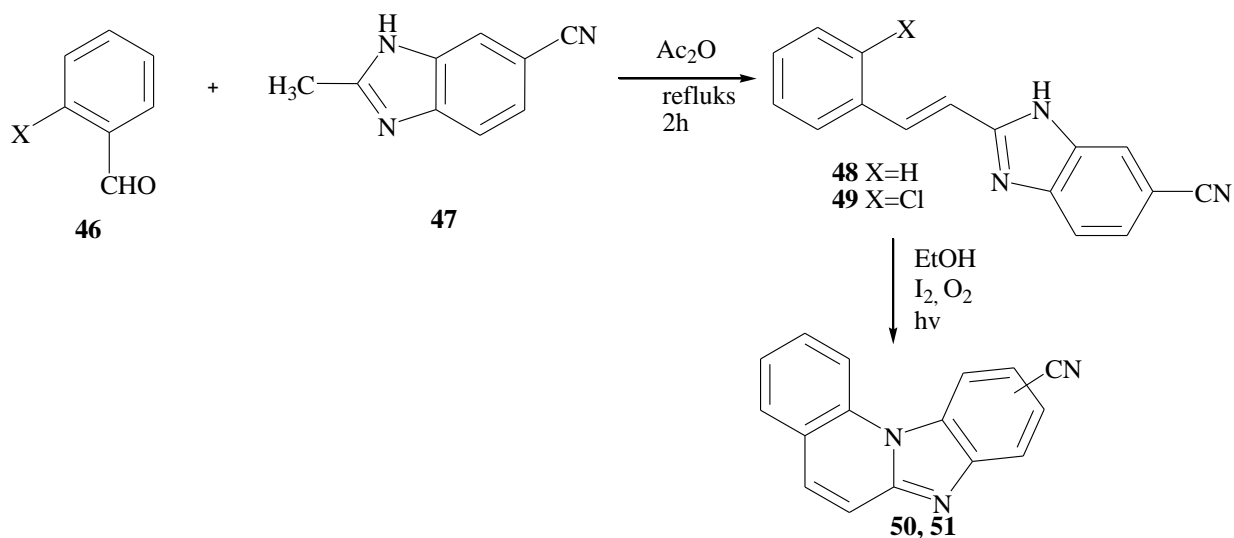


Shema 19. Sinteza amidino supstituiranih derivata *E*- i *Z*-stiril-2-benzimidazol **44a-g** i benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **45a-d**

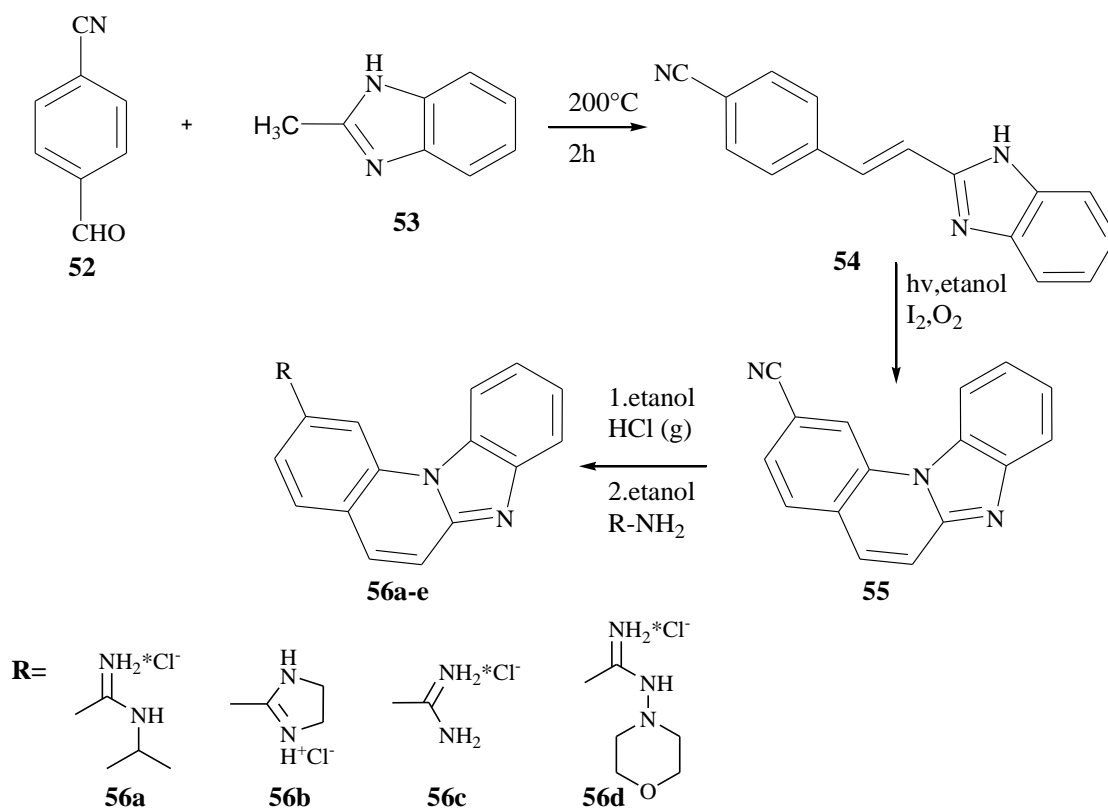
N-amidino-supstituirani benzimidazo[1,2-*a*]kinolini **45a-d** i cijano-supstituirani benzimidazo[1,2-*a*]kinolini **50**, **51** i **55** priređeni su fotokemijskom dehidrociklizacijom iz odgovarajućih acikličkih prekursora, dok se spojevi **45a-d** mogu prirediti i fotokemijskim dehidrohalogeniranjem (Sheme 20 i 21). Nadalje, 2-amidino supstituirani benzimidazo[1,2-*a*]kinolini su priređeni Pinnerovom reakcijom u kiselom mediju, u dva stupnja iz odgovarajućih cijano prekursora.

Priređenim spojevima ispitana je antiproliferativna aktivnost na sedam ljudskih staničnih linija, od kojih je šest različitih tumorskih stanica, uključujući HeLa (vratni karcinom), MCF-7 (rak dojke), SW620 (crijevni karcinom), MiaPaCa-2 (karcinom gušterače), Hep-2 (karcinom grla), H460 (karcinom pluća) i jedna stanična linija su normalni diploidni fibroblast WI 38.

Svi ispitivani spojevi su pokazali izraženu antiproliferativnu aktivnost. Ispitivanjem interakcije cikličkih i acikličkih derivata s ct-DNA potvrđeno je da ciklički derivati znatnije stabiliziraju dvostruku uzvojniju ct-DNA.



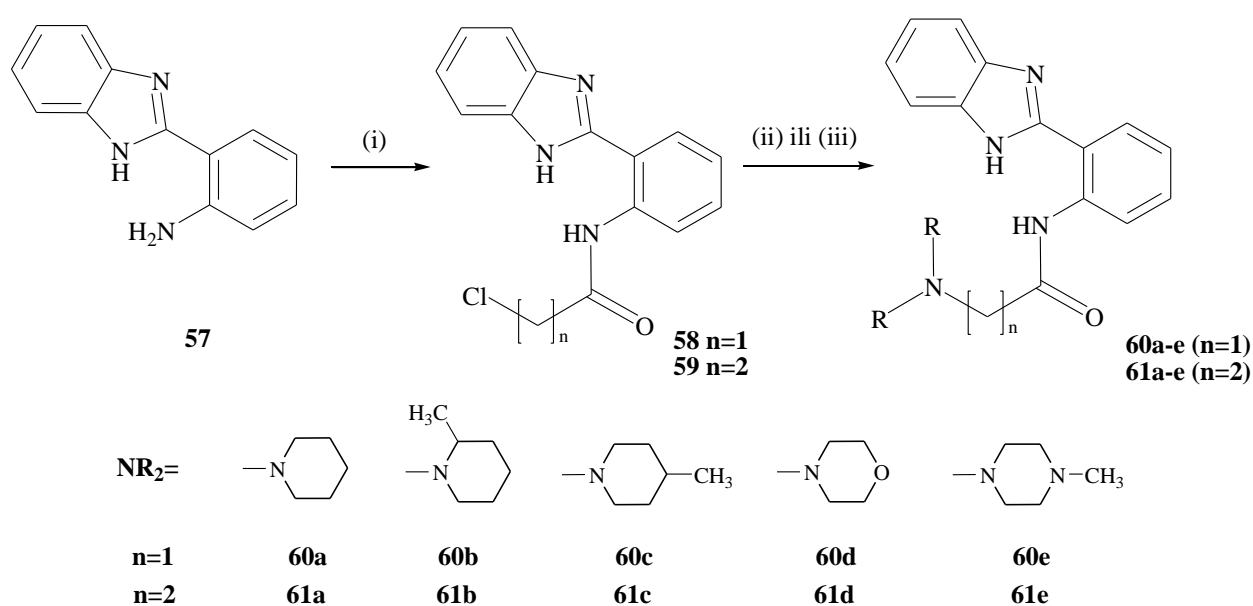
Shema 20. Sinteza cijano-supstituiranih derivata *E*-stiril-2-benzimidazola **48,49** i benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **50, 51**



Shema 21. Cijano i amidino-supstituirani benzimidazo[1,2-*a*]kinolin **55** i **56a-e**

Aciklički derivati puno slabije stabiliziraju dvostruku uzvojnica ct-DNA.²³ Aciklički spojevi su najveću selektivnu aktivnost pokazali prema staničnim linijama HeLa i MCF-7, dok su ciklički derivati pokazali jednaku aktivnost prema svim ispitivanim staničnim linijama, s niskom inhibitornom mikomolarnom IC₅₀ koncentracijom. Spomenuti derivati pokazali su još jedan mehanizam biološkog djelovanja, a to je katalitička inhibicija enzima topoizomeraze 2. Ovaj enzim je posebno aktivan tijekom G2 i M faze staničnog ciklusa te se istraživanjima došlo do zaključka da ciklički derivati, posebno u stanicama SW620, zaustavljaju mitotički proces što može biti posljedica inhibicije topoizomeraze 2 ili interkaliranja u dvostruku uzvojnica DNA molekule. Ispitivani aciklički analog pokazuje niži citotoksični efekt, vrlo vjerojatno zbog različitog načina vezivanja na ct-DNA.²⁴

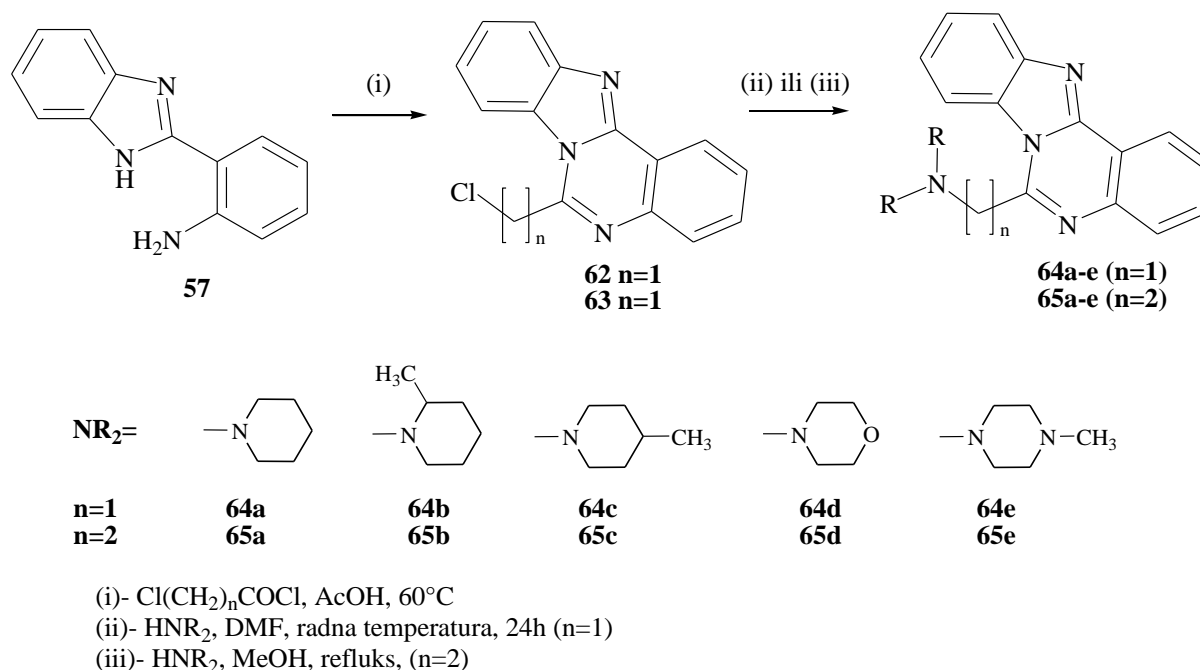
Skupina autora sintetizirala je nove derivate benzimidazo[1,2-c]kinolina supstituirane amidnim **60-61** ili aaminskim supstutientima **64-65** kao potencijalne stimulatore interferona i antivirusne agense.²⁵ Početni 2-(2-aminofenil)benzoimidazol **57** reagira s odgovarajućim kloracil-kloridom u hladnoj octenoj kiselinu uz prisutnosti soli spomenute kiseline te nastaju derivati **58-59**. Produkti **58** i **59** potom reagiraju sa sekundarnim aminima dajući dialkil-amino-alkilne derivate **60a-e** i **61a-e** (Shema 22).



(i)-Cl(CH₂)_nCOCl, AcOH, AcONa, radna temperatura
(ii)-HNR₂, DMF, radna temperatura, 24h (n=1)
(iii)-HNR₂, EtOH, refluks, 2h, (n=2)

Shema 22.

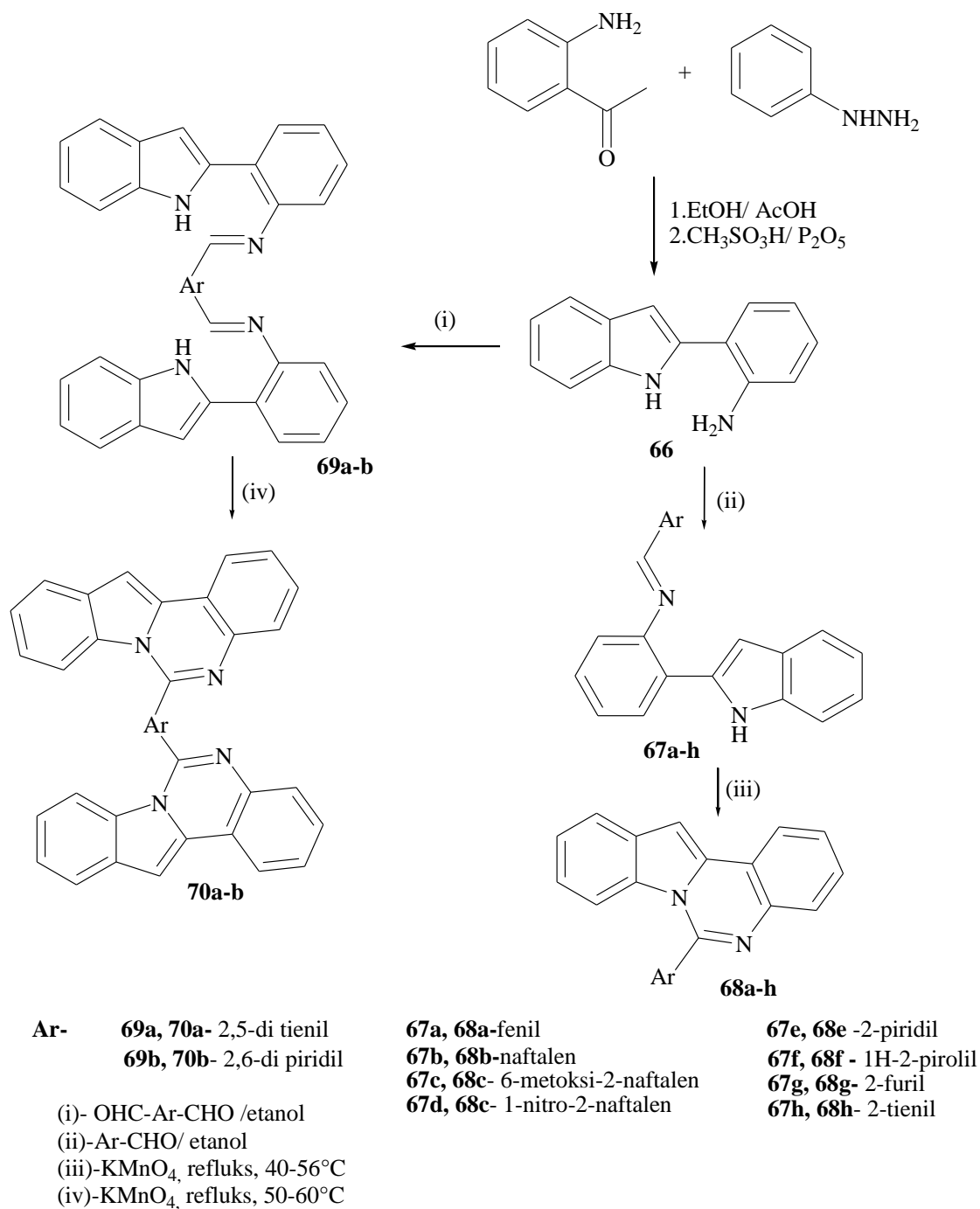
6-klor-alkilbenzimidazo[1,2-*c*]kinolini **62** i **63** su dobiveni alkiliranjem spoja **57** s kloracil-kloridom u hladnoj očetnoj kiselini na 60°C prema Shemi 23. Dialkil-amino-etilbenzimidazo[1,2-*c*]kinolin **65** je priređen u visokom iskorištenju na temperaturi refluksa u reakciji s odgovarajućim aminom.



Shema 23.

Kako bi utvrdili moguću razliku u afinitetu 2-fenilbenzimidazola i benzimidazo-kinolina prema DNA molekuli, autori su ispitivali interakciju s DNA korištenjem eksperimenta istiskivanja etidijevog bromida te su određivali i $\lg K_a$ vrijednosti. Zaključili su da spojevi koji sadrže tetracikličku benzimidazo[1,2-*c*]kinolinsku jezgru **64a-e** i **65a-e** za jedan red veličine bolji od acikličkih fenilbenzimidazolnih derivata **60a-e** i **61a-e**. Nadalje, u slučaju planarne konformacije **60a-e** i **61a-e**, ovi spojevi imaju više 'teških atoma' (C, N, O) koji su smješteni koplanarno u benzimidazolnom prstenu nego tetraciklički derivati **64a-e** i **65a-e**.

R. Rohini i koautori objavili su pogodnu strategiju za sintezu mono- i bis-indolo[1,2-*c*]kinazolina iz 2-(2-aminofenil)indola i različitih arilnih aldehida te je priređenim derivatima ispitana antibakterijska i antifungalna aktivnost.²⁶ Početni spoj 2-(2-aminofenil)indol **66** je priređen Fischerovom sintezom iz fenilhidrazin-hidroklorida i 2-aminoacetofenona uz korištenje metansulfonske kiseline i fosforovog pentoksida.²⁷ Kondenzacijom 2-(2-aminofenil)indola s aromatskim indolima (Ar-CHO/CHO-Ar-CHO) priređeni su mono- **68a-h** i bis-indolo[1,2-*c*]kinazolini **70a-b** u dobrim iskorištenjima. (Shema 24)



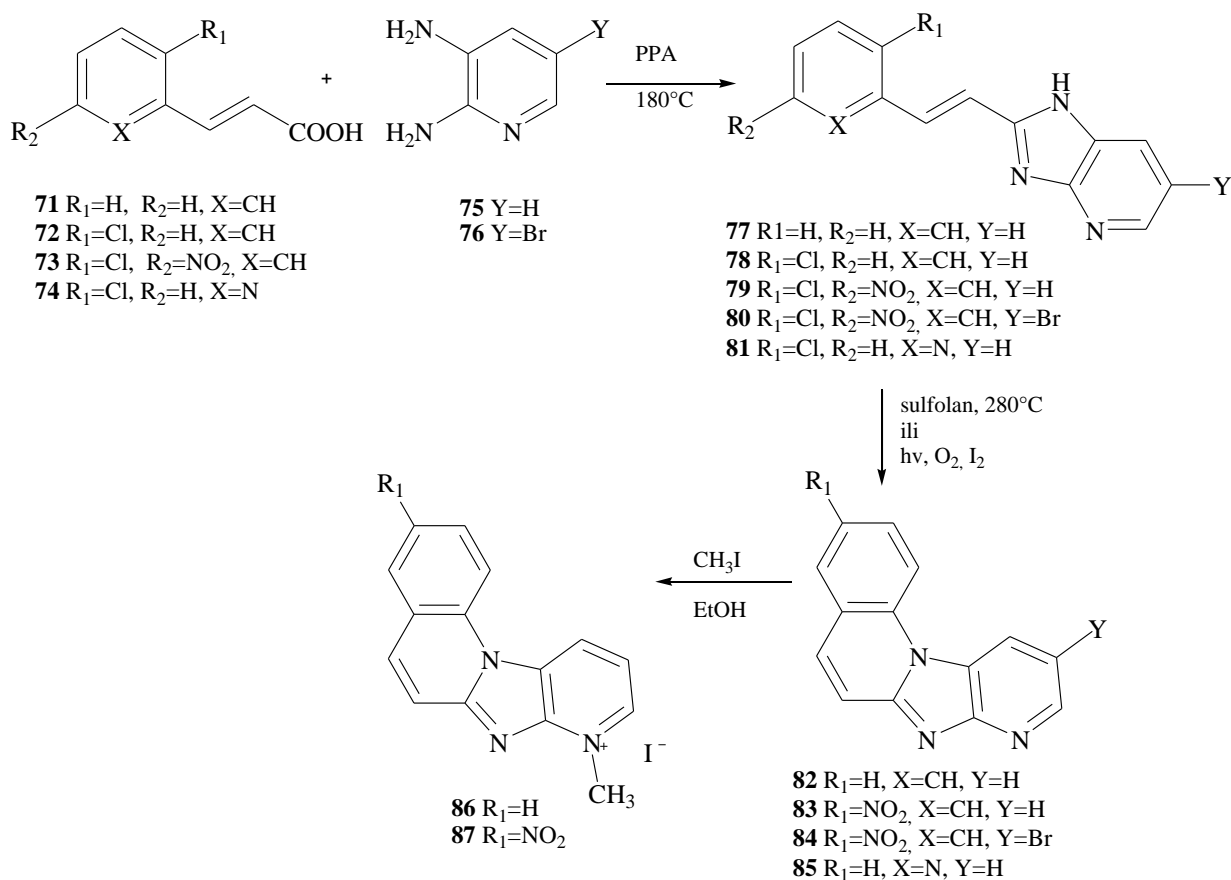
Shema 24. Sinteza 6-arilindolo[1,2-*c*]kinazolina **68a-h**

Indol je važni heterociklički sustav čiji derivati pokazuju različita farmakološka svojstva. Građevna je jedinica mnogih prirodnih i sintetskih produkata koji pokazuju različite biološke aktivnosti, od kojih treba istaknuti protuupalnu²⁸, antitumorsku²⁹, antibakterijsku³⁰ i antimalarijsku³¹ aktivnost.

Svim sintetiziranim derivatima je ispitana *in vitro* antibakterijska aktivnost protiv *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. pyogenes*, *S. typhimurium*, *E. coli*, *K. pneumonia* bakterija i *A. niger*, *C. albicans*, *T. viridae* gljivica³², pri čemu su Ampicilin i Ketokonazol su korišteni kao

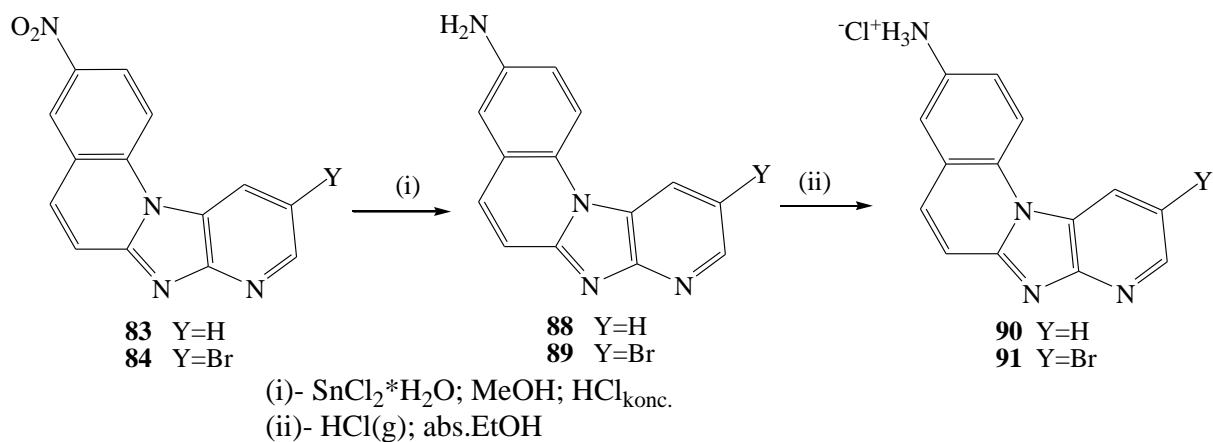
standardni lijekovi. Ovim ispitivanjima utvrđeno je da spojevi **68a-h** i **70a-b** pokazuju izraženu aktivnost protiv svih ispitivanih vrsta bakterija i gljivica, a posebno značajnu aktivnost su pokazali bis-indolo[1,2-*c*]kinolini **70a-b**. Nadalje, provedena su ispitivanja određivanja minimuma inhibitorske koncentracije spojeva (MIC) protiv svih bakterijskih i gljivičnih vrsta razrjeđivanjem otopina. Spojevi **68a-h** su pokazali najveću inhibitorsku aktivnost, gdje MIC vrijednost iznosi 2,5-15 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Osim toga, bis-indolo[1,2-*c*]kinazolini **70a-b** pokazao je veću inhibitorsku vrijednost (MIC 2,5-5 $\mu\text{g mL}^{-1}$) od Ampicilina i Ketokonazola koji su uzeti kao standard.

M. Hranjec i autori su objavili sintezu novih derivata imidazo[4,5-*b*]piridina i triaza-benzo[*c*]fluorena koji su pokazali izraženi citotoksični efekt na sedam ispitivanih, humanih tumorskih staničnih linija. Počevši od *E*-3-fenil-supstituirane akrilne kiseline, kondenzacijom 2,3-diaminopiridina **75-76** u polifosfornoj kiselini (PPA), priređeni su *E*-2-stiril-imidazo[4,5-*b*]piridini **77-81**. Njihovi ciklički derivati triaza-benzo[*c*]fluoreni **82-85** su priređeni kao smjesa dva regioizomera termalnom ciklizacijom u sulfolanu pri 280°C, dok su *N*-metilirani derivati **86-87** dobiveni iz derivata u reakciji s metil-jodidom (Shema 25).



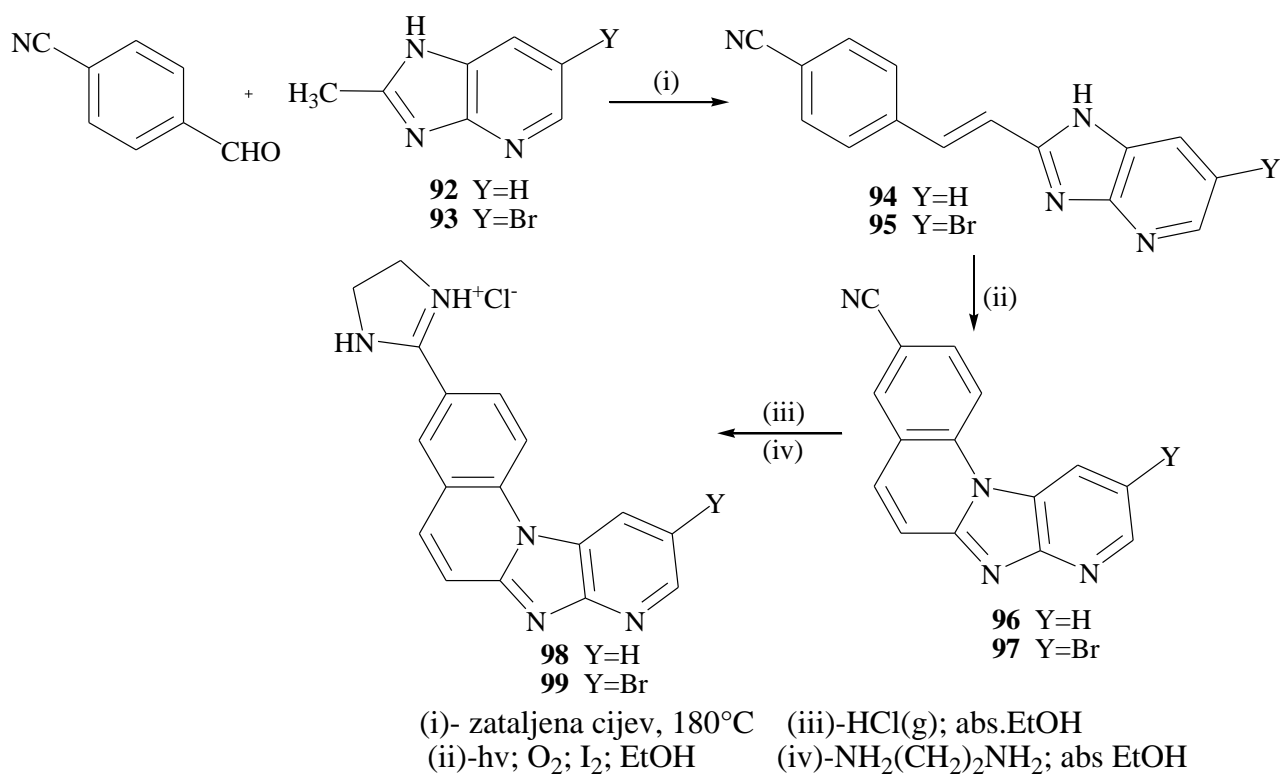
Shema 25.

Na Shemi 26 prikazana je sinteza amino-supstituiranih triaza-benzo[*c*]derivata **88-89**, priređenih redukcijom nitro-supstituiranih prekursora **86-87** s $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, dok su hidrokloridne soli amino derivata **90-91** dobivene protoniranjem s $\text{HCl}_{(\text{g})}$ u etanolnoj otopini.



Shema 26.

Kondezacijom 2-metil-imidazo[4,5-*b*]piridina **92-93** i *p*-cijanobenzaldehida u zatvorenoj cijevi na 180°C priređeni su *E*-2-stirilni derivati imidazo[4,5-*b*]piridini **94-95** u visokom iskorištenju. Fotokemijskom ciklizacijom dobivenih acikličkih derivata **94-95**, priređeni su cijano-supstituirani triaza-benzo[*c*]fluoreni **96-97**, iz kojih su Pinnerovom reakcijom priređeni 2-imidazolil-supstituirani triaza-benzo[*c*]fluoreni **98-99** kao hidrokloridne soli. (Shema 27)

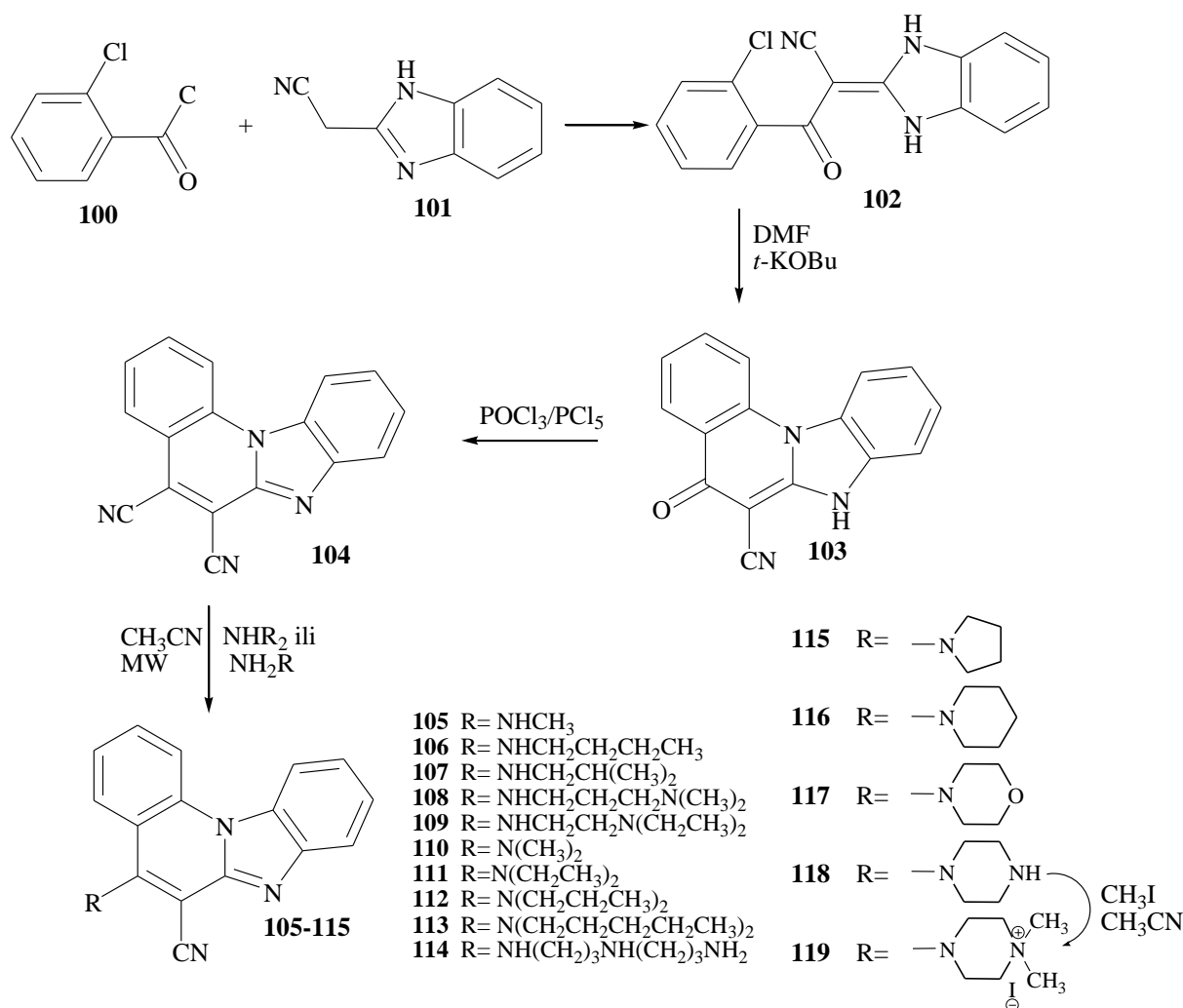


Shema 27.

Sve strukture novih derivata *E*-2-stirilimidazo[4,5-*b*]piridina **77-81** i **94-95** i derivata triaza-benzo[*c*]fluorena **82-85** i **96-97** su potvrđene NMR spektroskopijom.

Svi ispitani derivati pokazali su izraženu antiproliferativnu aktivnost na sve testirane stanične linije humanih karcinoma. Ispitivanje je provedeno *in vitro* na sedam humanih tumorskih staničnih linija uključujući HeLa (crijevni karcinom), SW620 (kolorektalni, metastatični karcinom), MiaPaCa-2 (karcinom gušterače), MCF-7 (prsni, epitelni, metastatični adenokarcinom), Hep-2 (epidermalni karcinom), SK-BR-3 (prsni adenokarcinom, metastatični), te na normalne ljudske diploidne fibroblaste (WI38). Njihov citostatski efekt je uspoređivan s dva kemoterapeutika, cisplatinom i 5-fluoruracilom (5-FU), pri čemu su najizraženiju aktivnost pokazali derivati **98** i **99** s 2-imidazolilnom skupinom, dok su **88** i **90** pokazali najnižu toksičnost prema normalnim, ljudskim fibroblastima. Ispitivanja su pokazala indukciju apoptoze u SW620 i MiaPaCa-2 staničnim linijama nakon tretiranja spojem **98** pri višoj koncentraciji, dok je pri nižoj koncentraciji povećavao zaustavljanje S-faze. Indukcija apoptoze je povezana direktno s mogućnošću interkaliranja u ds-DNA, što je potvrđeno spektroskopskim ispitivanjem interakcije s ct-DNA nakon čega je utvrđeno interkaliranje ispitivanih, cikličkih *N*-metil- i 2-imidazolilni-supstituiranih spojeva, u ds-DNA. Spoj **88** se veže na DNA neinterkalativnim načinom, što vjerovatno uzrokuje nižu citotoksičnost prema SK-BR-3 stanicama i kontroliranim normalnim fibroblastima. Postoji velika vjerojatnost da molekule spomenutog spoja formiraju aglomerate unutar manjeg utora DNA i/ili reagiraju s drugim biološki aktivnim molekulama uključenim u sintezu DNA.

Skupina autora sintetizirala je nove 5-aminobenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrile **105-115**, ispitala njihovu antiproliferativnu aktivnost *in vitro* te spektroskopski okarakterizirala vezanje najaktivnijih derivata na ct-DNA.³³ Na Shemi 28 prikazana je sinteza tih spojeva, pri čemu je aciklički prekursor **102** priređen u reakciji aldolne kondenzacije 2-klorbenzoilklorida **100** s 2-cijanometilbenzimidazolom **101** u apsolutnom etanolu, koristeći piperidin kao bazu, u iskorištenju od 44%. Termičkom ciklizacijom u DMF-u koristeći *t*-KOBu kao bazu dobiven je ciklički keto derivat **103**. Glavni prekursor za sintezu ranije spomenutih spojeva, klor-supstituirani benzimidazo[1,2-*a*]kinolin **104** je priređen u reakciji keto-supstituiranog derivata **103** s POCl₃ i PCl₅. Reakcije aminacije su provedene sintezom potpomognutom mikrovalovima, koristeći snagu od 800W, temperaturu 170°C i tlak 40 bara u acetonitrilu. Svi spojevi su dobiveni u niskim do umjerenim iskorištenjima (30-74%). Strukture svih pripremljenih derivata su potvrđene ¹H, ¹³C NMR spektroskopijom i masenom spektrometrijom.



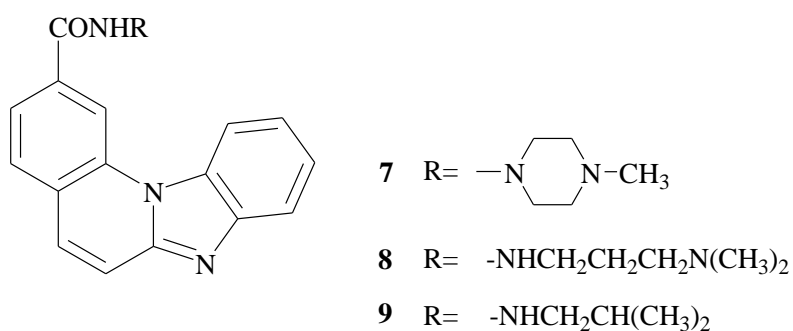
Shema 28.

Većina priređenih spojeva je pokazala izraženi i umjereni antiproliferativni efekt na testirane stanične linije humanih karcinoma. Autori su proučavali utjecaj vrste i dužine aminskog lanca na biološku aktivnost. Spojevi **108** i **118** su pokazali najzračajniju aktivnost prema svim trima testiranima staničnim linijama, dok je najslabiju pokazao *N,N*-dimetilpiperazinil-supstituirani derivat **119**. Razlog slabijoj aktivnosti spomenutog spoja mogu biti steričke smetnje uzrokovane dvjema metilnim skupinama koje smanjuju interakciju N heteroatoma s potencijalnom biološkom metom. S druge strane, izražena aktivnost piperazinil-supstituiranog derivata **118** se može objasniti prisutnošću još jednog N heteroatoma, koji može dodatno sudjelovati u interakciju s biološkom metom. Osim izražene biološke aktivnosti, spojevi **108** i **118** pokazuju izraženi afinitet vezanja na ct-DNA kao interkalatori. Spoj **108** je jedini koji ulazi u staničnu liniju i lokalizira se u staničnoj jezgri, dok je derivat **118** lokaliziran u citoplazmi, ukazujući na činjenicu da DNA nije njegova biološka meta.

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. Cilj rada

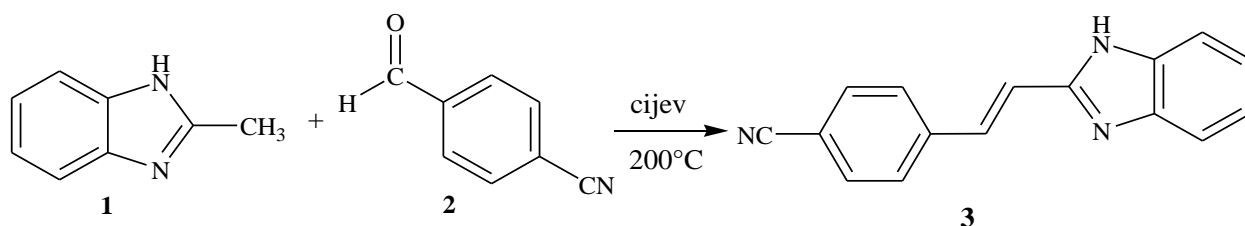
U ovom radu sintetizirani su potencijalno biološki aktivni derivati 2-amido supstituiranih benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **7-9** prikazani na Slici 1. Priređeni spojevi su spektroskopski okarakterizirani ^1H i ^{13}C NMR, UV/Vis i fluorimetrijskom spektroskopijom. Ciljani derivati priređeni su reakcijom glavnog prekursora, benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karbonil-klorida, s odgovarajućim aminima.



Slika 1. Priređeni supstituirani derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina

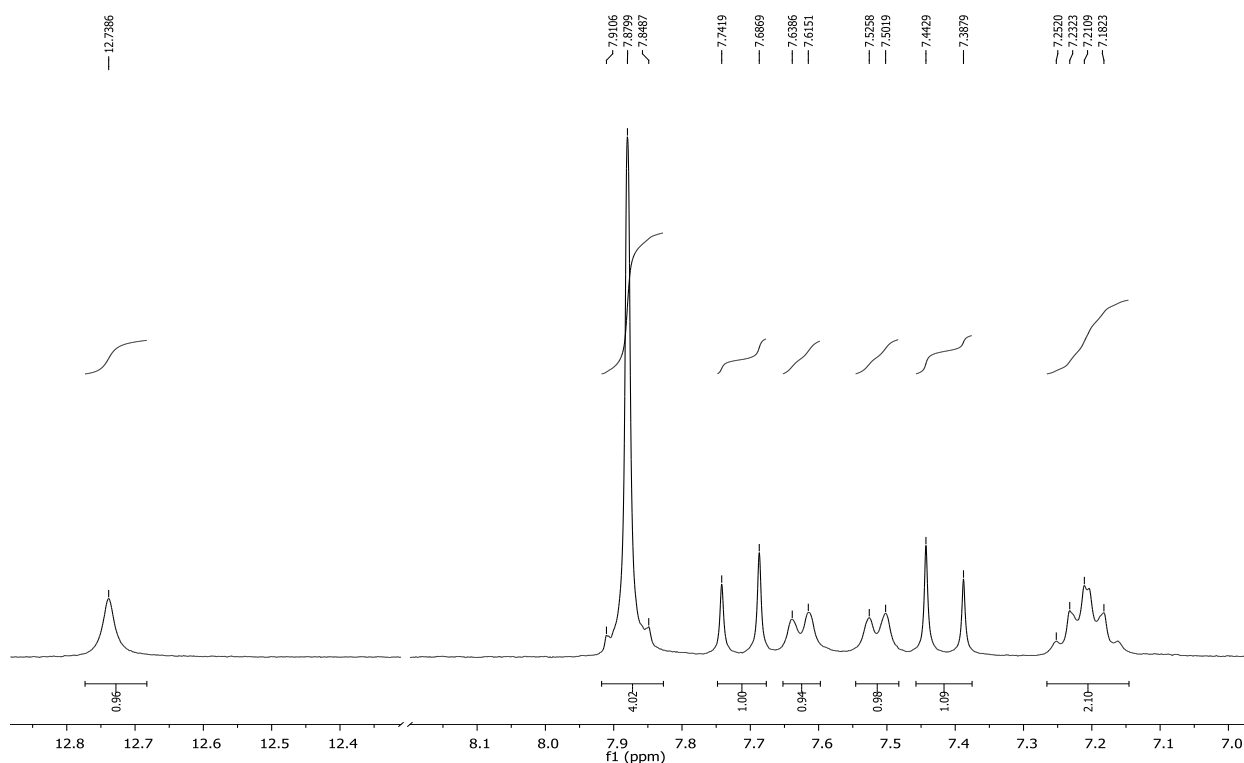
3.2. Sinteza priređenih spojeva

Za sintezu 2-amido supstituiranih cikličkih derivata benzimidazola prvi je korak u lineranoj sintezi priprava *E*-2-[2-(*p*-cijanofenil)etenil]benzimidazola **3** reakcijom kondenzacije 2-metilbenzimidazola **1** i 4-cijanobenzaldehida **2** u zataljenoj staklenoj cijevi pri visokoj temperaturi. Produkt je dobiven u iskorištenju od 47,4%.¹⁷



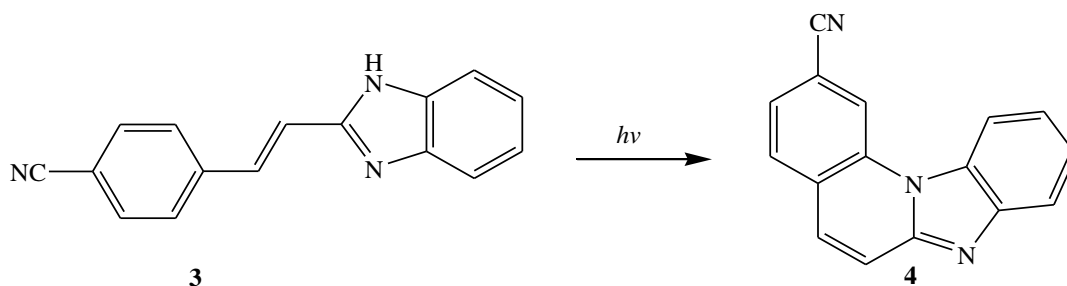
Shema 29.

Struktura priređenog spoja potvrđena je ¹H NMR spektroskopijom. Slika 2 prikazuje ¹H NMR spektar benzimidazola **3** iz kojeg se može uočiti odgovarajući broj signala aromatskih vodika u području 7,90-7,17 ppm. Na 12,74 ppm se nalazi singlet protona NH skupine benzimidazolne jezgre. Na 7,71 i 7,42 ppm nalaze se dubleti etenskih protona čija nam konstanta sprege u vrijednosti od 16,50 Hz ukazuje da se radi o *trans* izomeru.



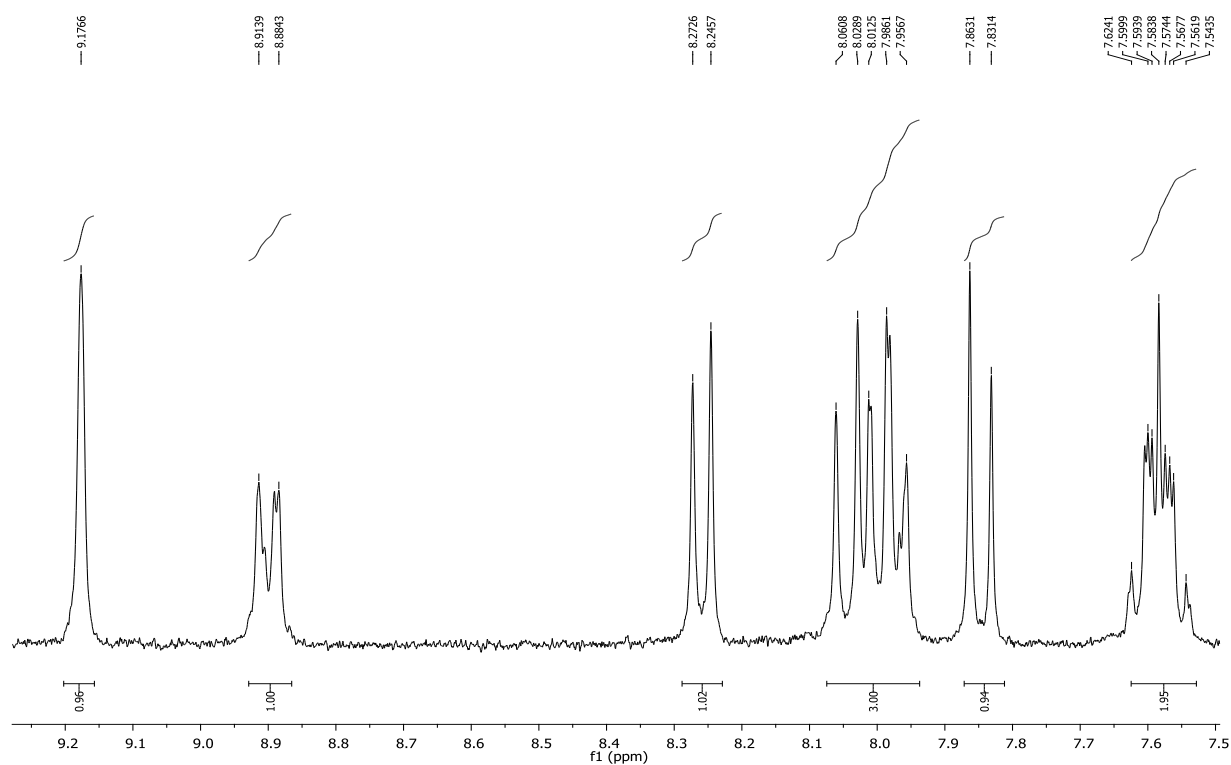
Slika 2. ¹H NMR spektar *E*-2-[2-(*p*-cijanofenil)etenil]benzimidazola **3**

Osvjetljavanjem prethodno pripravljenog *E*-2-[2-(*p*-cijanofenil)etenil]benzimidazola **3** visokotlačnom živinom lampom snage 400 W u trajanju od 17 h, nastaje ciklički derivat 2-cijanobenzimidazo[1,2-*a*]kinolin **4** u iskorištenju od 26,7%.¹⁷



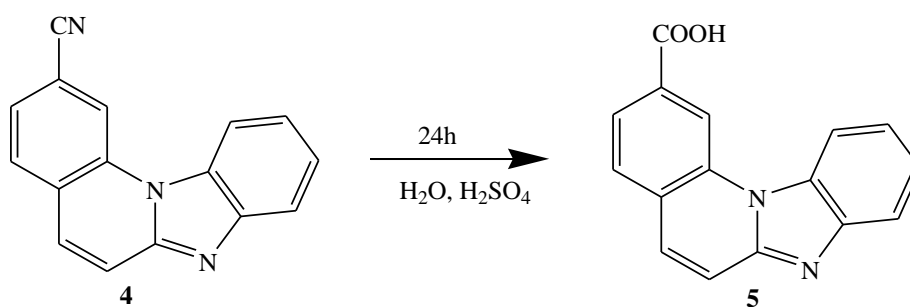
Shema 30.

Struktura cikličkog derivata **4** potvrđena je ¹H NMR spektroskopijom, a na Slici 3 prikazan je ¹H NMR spektar. U ovom spektru možemo uočiti određeni broj signala aromatskih protona u području od 9,13 do 7,53 ppm te nestanak protona NH skupine benzimidazolne jezgre.



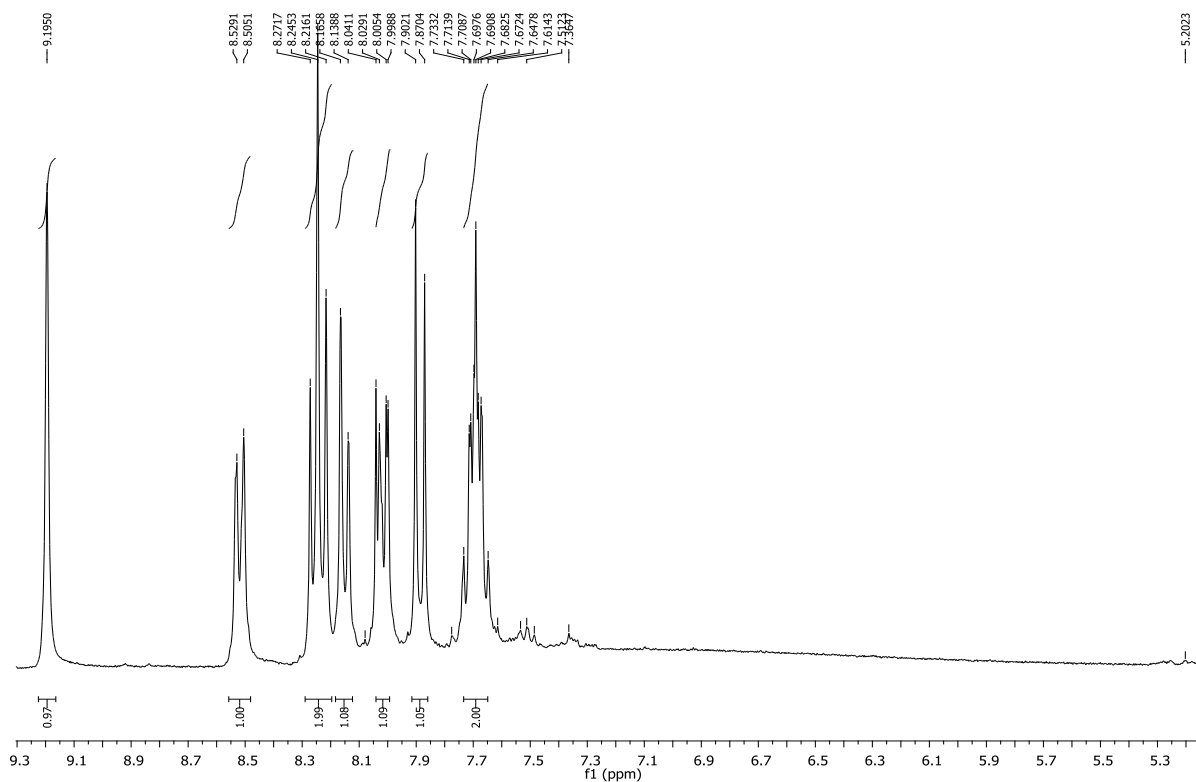
Slika 3. ¹H NMR spektar 2-cijanobenzimidazo[1,2-*a*]kinolin **4**

Nadalje, reakcijom 2-cijanobenzimidazo[1,2-*a*]kinolina **4** s vodenom otopinom sumporne kiseline priređena je benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karboksilna kiselina **5** u iskorištenju od 77,3%.



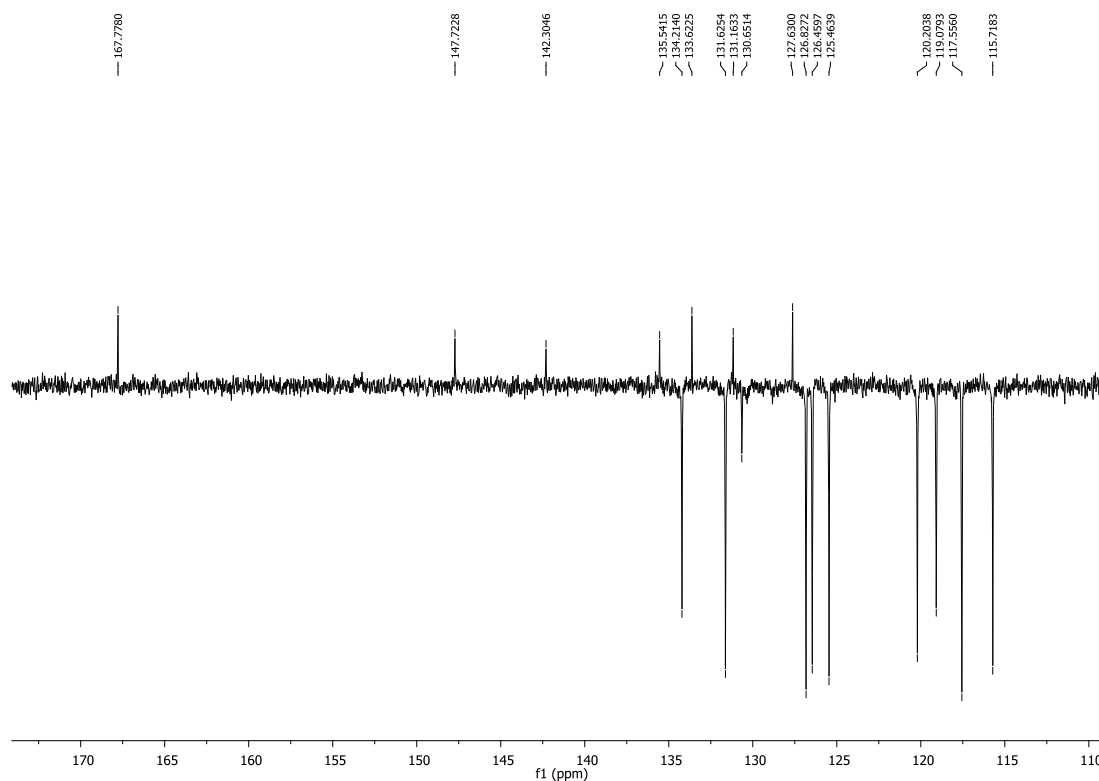
Shema 31.

Na Slici 4 prikazan je ^1H NMR spektar benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karboksilne kiseline **5** iz kojeg su vidljivi signali aromatskih protona u području od 9,20 do 7,65 ppm.



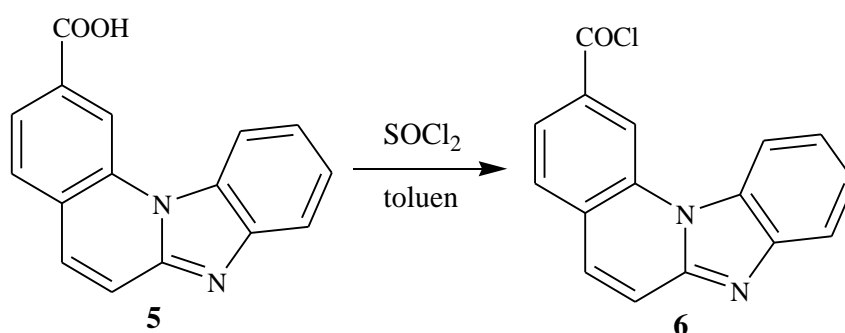
Slika 4. ^1H NMR spektar benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karboksilne kiseline **5**

Na Slici 5 prikazan je ^{13}C NMR spektar spoja **5** u kojem su vidljivi odgovarajući signali kvaternih i aromatskih ugljikovih atoma CH skupina.



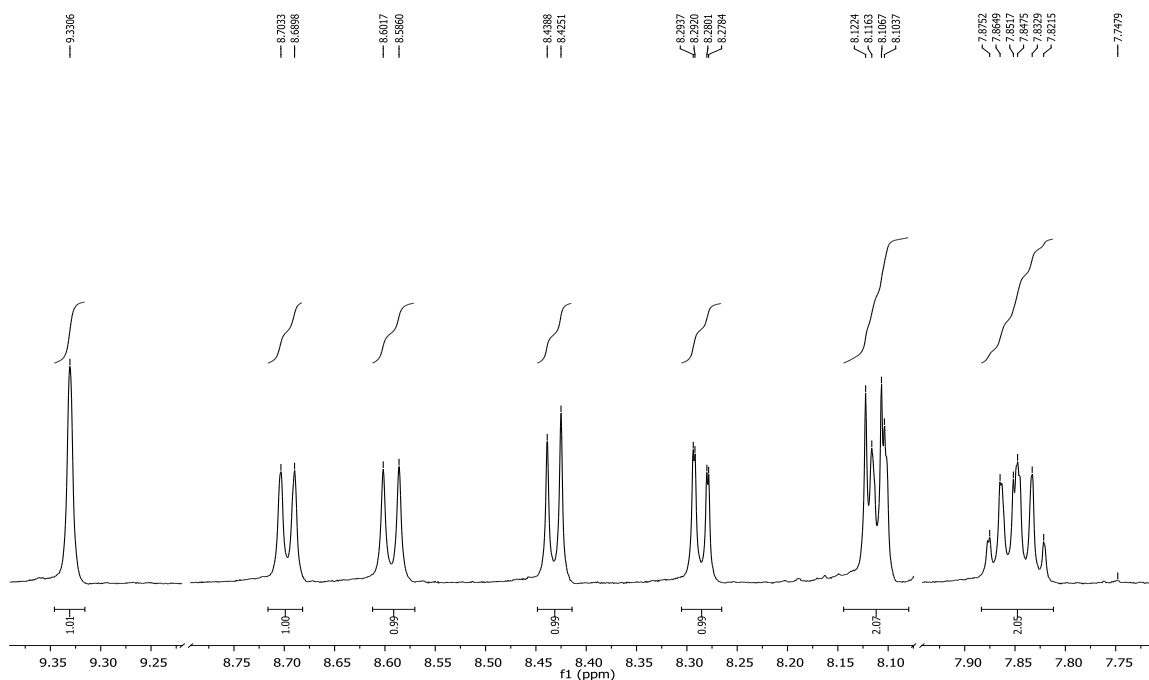
Slika 5. ^{13}C NMR benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karboksilne kiseline **5**

Sljedeći korak u sintezi bila je priprava glavnog prekursora, benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karbonil-klorida **6**.



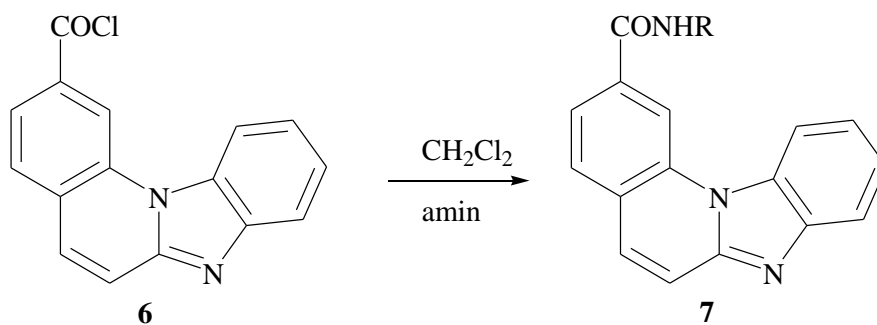
Shema 32.

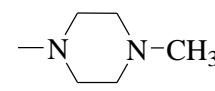
Benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karboksilna kiselina **5** u reakciji sa SOCl_2 i suhim toluenom, daje odgovarajući karbonil-klorid u iskorištenju od 88,1 %. Na Slici 6 je prikazan ^1H NMR spektar spoja **6** gdje su prikazani signali aromatskih protona u području od 9,33 do 7,83 ppm.



Slika 6. ^1H NMR benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karbonilklorida **6**

Reakcijom benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karbonil-klorida **6** i odgovarajućih amina u suhom CH_2Cl_2 , priređeni su željenih 2-amido supstituirani benzimidazo[1,2-*a*]kinolini **7-9** u iskorištenjima od 32,5, 29,2 i 18,6%.

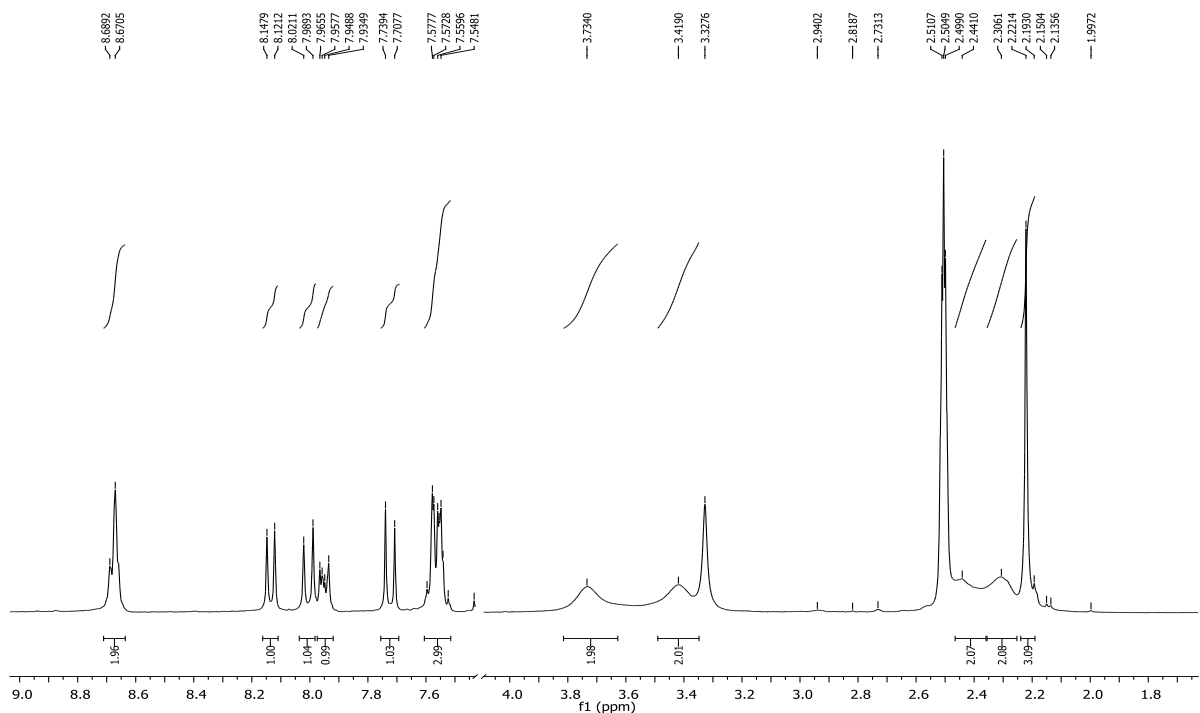


- 7 R= 
- 8 R= $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$
- 9 R= $-\text{NHCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$

Shema 33.

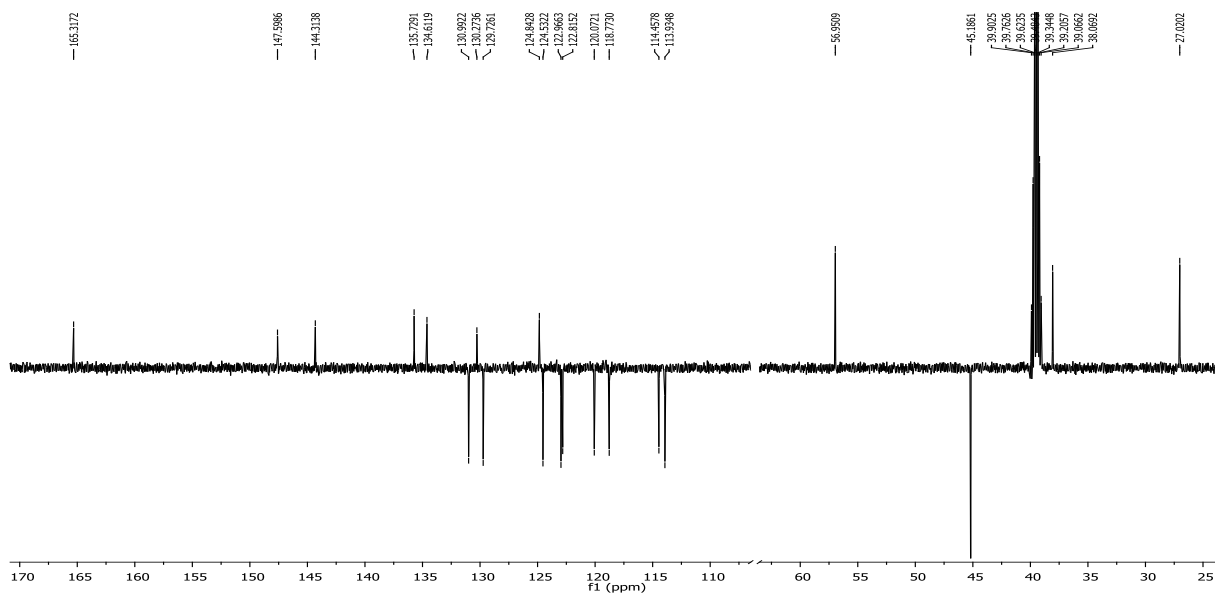
Struktura svih dobivenih amidnih derivata **7-9** je potvrđena ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom. Na Slici 7 je prikazan ^1H NMR spektar derivata **7** u kojem se mogu uočiti signali aromatskih protona i signali protona piperazinskog prstena. U području od 8,68 do 7,53 ppm se nalaze

signali aromatskih protona, a u području 3,73-2,31 ppm vidljivi signali protona piperazinske jezgre. Signal za protone metilne skupine na piperazinskoj jezgri nalazi se na 2,22 ppm.



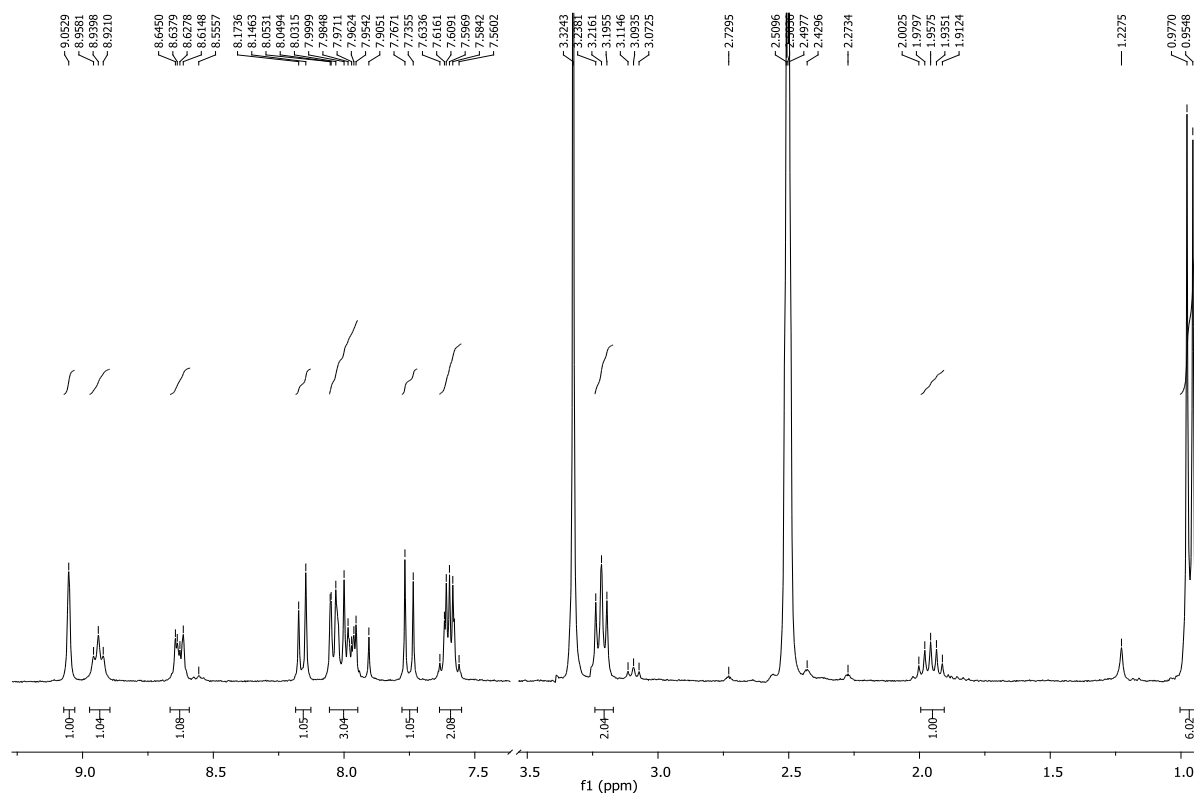
Slika 7. ^1H NMR spektar amidnog derivata **7**

Na Slici 8 prikazan je ^{13}C NMR spektar spoja **8** u kojem se može uočiti odgovarajući broj signala aromatskih ugljikovih atoma i ugljikovih atoma *N,N*-dimetilaminopropilaminskog supstituenta.



Slika 8. ^{13}C NMR spektar benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-(*N,N*-dimetilaminopropil-1-amino)karboksamida **8**

Na Slici 9 prikazan je ^1H NMR spektar spoja **9** gdje se u području 3,22-0,97 ppm mogu uočiti signali protona izobutilaminskog lanca, dok se u području od 9,05 do 7,57 ppm vidljivi signali aromatskih protona.

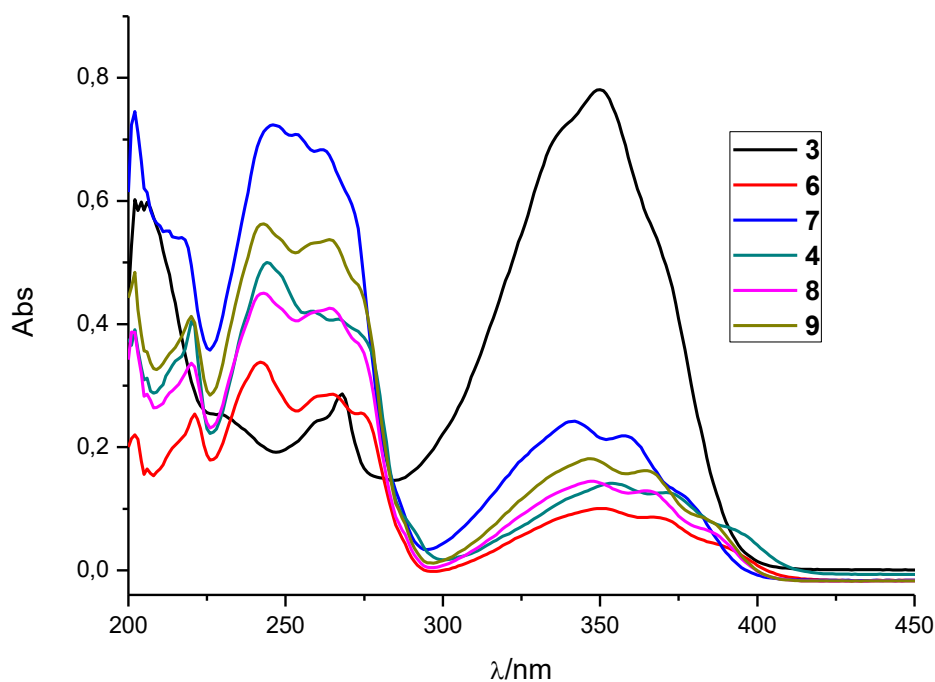


Slika 9. ^1H NMR spektar benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-izobutilaminokarboksamida **9**

3.2. Spektroskopska karakterizacija priređenih spojeva

3.2.1. UV/Vis spektroskopija

Svi priređeni derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina okarakterizirani su korištenjem UV/Vis spektroskopije pri istoj koncentraciji spojeva 2×10^{-5} mol dm^{-3} u etanolu, te pokazuju zanimljive spektroskopske karakteristike. Na Slici 22. prikazani su usporedni apsorpcijski spektri spojeva **3**, **4**, **6**, **7**, **8** i **9** čije su matične otopine priređene u etanolu.



Slika 10. Kvantitativni UV/Vis spektar spojeva **3**, **4**, **6**, **7**, **8** i **9**

Iz UV/Vis spektara spojeva može se uočiti da najizraženiji hiperkromni pomak inteziteta apsorbcije pokazuje početni spoj **3** s maksimumom apsorbcije na 350 nm u odnosu na ostale ispitivane spojeve. Ciklički spoj **7** pokazuje najizraženiji intenzitet apsorbcije u odnosu na cikličke derivate **8** i **9** s maksimumima apsorbcije na 342, 359 i 377 nm. Derivati **8** i **9** pokazuju blagi batokromni pomak maksimuma apsorbcije u odnosu na derivat **7**. Cijano supstituirani ciklički spoj **4** u odnosu na amido supstituirane derivate 7-9 pokazuje blagi batokromni pomak maksimuma apsorbcije. Spoj **6** pokazuje najmanji intezitet apsorbcije u usporedbi sa svim ispitivanim spojevima, tj, najveći hipokromni pomak maksimuma apsorbcije. U Tablici 1. prikazani su molarni ekstinkcijski koeficijenti ϵ za pripadajuće maksimume apsorbcije.

Tablica 1. Valne duljine maksimuma apsorbancije i pripadajući ekstincijski koeficijenti

Spoj	λ_{\max} /nm	ϵ / $\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$
3	350	38984
	267	14105
4	222	19211
	245	24825
	354	7200
	374	6200
	393	3350
6	221	12369
	242	16586
	266	13947
	358	5014
7	248	36064
	342	12030
	359	10900
	377	6200
8	220	16628
	243	22204
	264	20966
	347	7200
	367	6550
	384	3250
9	221	20273
	243	27984
	266	26760
	348	9037
	366	8250
	384	4150

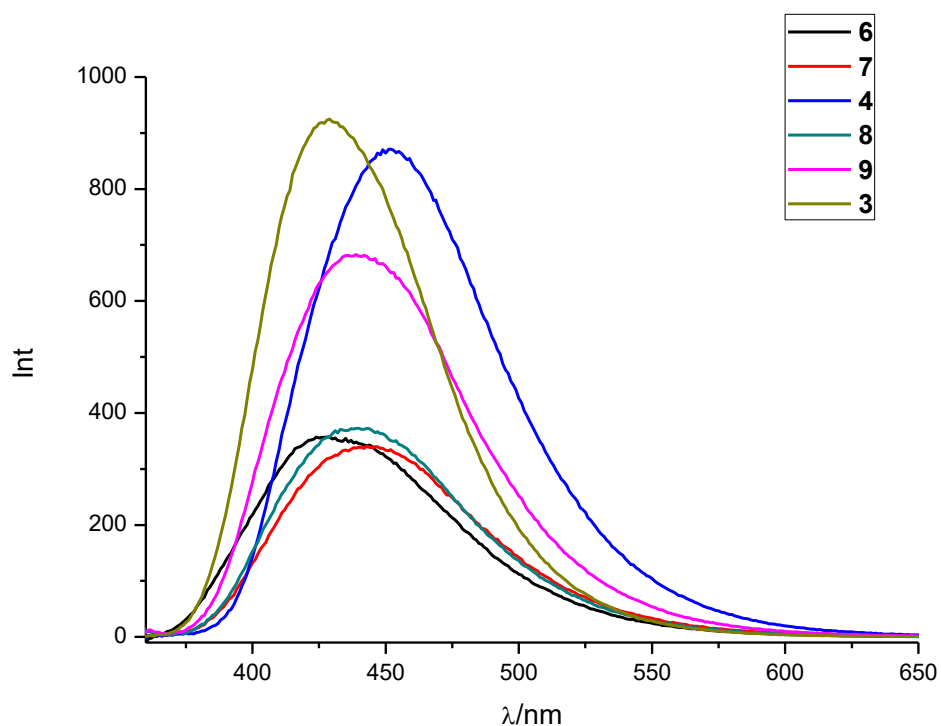
3.2.2. Fluorimetrijska spektroskopija

Fluorimetrijska spektroskopska ispitivanja, moguće je zbog visoke osjetljivosti metode provesti kod manjih koncentracija. Mjerenja su provedena pri koncentraciji spojeva $5 \times 10^{-8} \text{ mol dm}^{-3}$. Otopine priređenih spojeva pobuđene su svjetlošću valne duljine ekscitacije koja odgovara valnoj duljini maksimuma apsorbancije. U Tablici 2. dani su podaci o valnoj duljini emisije i intenziteti fluorescencije spojeva **3, 4, 6, 7, 8 i 9**.

Tablica 2. Intenzitet fluorescencije kod maksimuma emisije

Spoj	λ_{emis}/nm	$I/(a.u.)$
3	428	922
4	453	870
6	428	359
7	444	337
8	440	373
9	439	680

Na Slici 11. prikazani su emisijski spektri spojeva **3**, **4**, **6**, **7**, **8** i **9** te se može zaključiti da svi ispitivani spojevi pokazuju intenzitet fluorescencije pri danim uvjetima.



Slika 11. Fluorimetrijski emisijski spektri spojeva **3**, **4**, **6**, **7**, **8** i **9**

Spojevi **3** i **6** pokazuju hipsokromni pomak maksimuma emisije na 428 nm u odnosu na sve ostale ispitivane spojeve. Također, spojevi **3** i **4** pokazuju najveći hiperkromni pomak intenziteta emisije dok spoj **9** pokazuje nešto slabiji intenzitet fluorescencije pri danim uvjetima. Najniži intenzitet fluorescencije pokazuju ciklički deivati **6**, **7** i **8**.

4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. Opće napomene

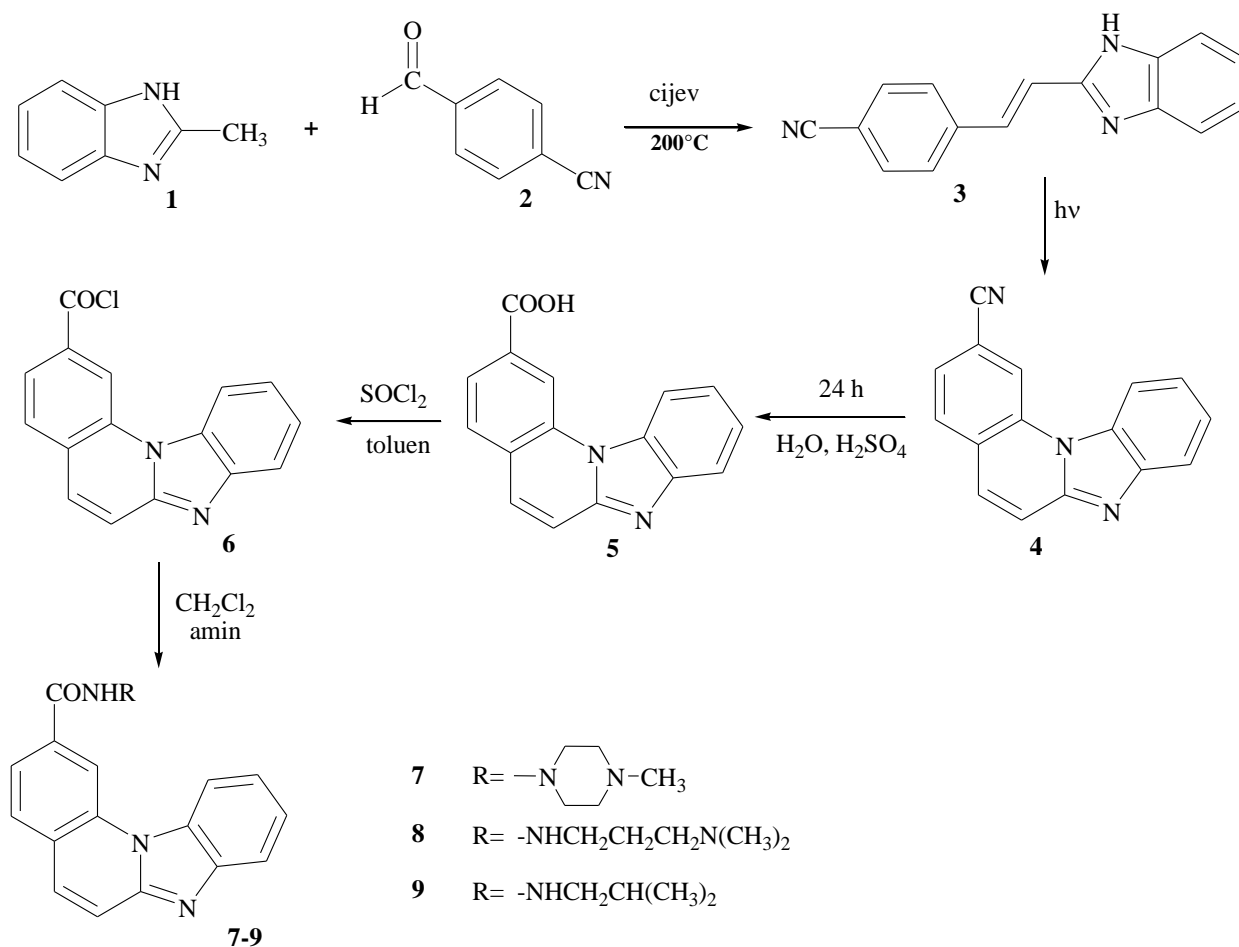
Tališta priređenih spojeva određena su na Kofler Mikroheiztisch aparatu i nisu korigirana.

^1H i ^{13}C NMR spektri snimljeni su na spektrometrima Bruker AV600 i Bruker AV300 na 300 i 600 MHz odnosno 75 i 150 MHz. Svi NMR spektri snimani su u $\text{DMSO-}d_6$ kao otapalu, koristeći tetrametilsilan kao interni standard. Kemijski pomaci (δ) izraženi su u ppm vrijednostima, a konstante sprege (J) u Hz.

UV/Vis spektri snimljeni su na spektrofotometru Varian Cary 50. Korištene su kvarcne kivete promjera 1 cm te volumena 3 cm^3 . Kao otapalo korišten je etanol.

Svi spojevi su rutinski provjeravani tankoslojnom kromatografijom (TLC) koristeći ploče presvučene silikagelom Merck 60F-254 te detektirani pod UV svjetlom (254 nm). Kromatografska odjeljivanja provedena su na kolonama punjenim silikagelom 0,063-0,2 nm (Kemika, Merck).

4.2. Sinteza derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina-2-karboksamida



Shema 34.

Priprava *E*-2-[2-(*p*-cijanofenil)etenil]benzimidazola **3**

Smjesa 5,00 g (37,80 mmol) 2-metilbenzimidazola **1** i 4,96 g (37,80 mmol) 4-cijano-benzaldehida **2** stavi se u cijev, zatali i zagrijava 2 h na 200 °C. Nakon hlađenja, kruti se produkt prekristalizira iz metanola (180 ml). Dobiven je žuti praškasti produkt u iskorištenju od 47,4% (4,390 g). T.t. 220–221 °C

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ/ppm = 12,74 (s, 1H, $\text{NH}_{\text{benz.}}$), 7,90–7,86 (m, 4H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,71 (d, 1H, J = 16,50 Hz, H_{etenil}), 7,63 (d, 1H, J = 7,05 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,51 (d, 1H, J = 7,17 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,42 (d, 1H, J = 16,50 Hz, H_{etenil}), 7,25–7,17 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$).

Priprava 2-cijanobenzimidazo[1,2-*a*]kinolina 4

0,40 g (1,63 mmol) *E*-2-[2-(*p*-cijanofenil)etenil]benzimidazola **3** otopi se u 400 ml etanola, uz zagrijavanje, te se doda par kristalića joda. Otopina se osvjetljava visokotlačnom živinom lampom snage 400 W 17 h. Reakcijska smjesa se upari na mali volumen, a dobiveni talog profiltrira. Dobiven je žuti praškasti produkt u iskorištenju 26,7% (0,200 g). T.t. 227-250°C

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ/ppm = 9,13 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,86 (d, 1H, J = 8,88, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,27 (d, 1H, J = 8,13, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,01–7,94 (m, 3H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,82 (d, 1H, J = 9,51, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,60–7,53 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$).

Priprava benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karboksilne kiseline 5

0,24 g (1,63 mmol) 2-cijanobenzimidazo[1,2-*a*]kinolina **4** se pomiješa sa smjesom 1,52 ml vode i 1,17 ml sumporne kiseline, nakon čega se reakcijska smjesa refluksira 24 h. Ohlađena reakcijska smjesa se prebaci na led, a nastali talog profiltrira i ispere s vodom. Dobiven je blijedo žuti praškasti produkt u iskorištenju od 77,3% (0,200 g). T.t. > 300 °C

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ/ppm = 9,20 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,52 (d, 1H, J = 7,14 Hz, $\text{H}_{\text{aromat.}}$), 8,27–8,22 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,15 (d, 1H, J = 8,10 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,04–8,00 (m, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,89 (d, 1H, J = 9,51 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,73–7,65 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz): δ/ppm = 167,78, 147,72, 142,31, 135,54, 134,22, 133,63, 131,63, 131,17, 127,63, 126,83, 126,46, 125,47, 120,21, 119,08, 117,56, 115,72.

Priprava benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karbonil-klorida 6

U okruglu tikvicu stavi se 0,20 g benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karboksilne kiseline **5**, 550 μl SOCl_2 i 10 ml suhog toluena. Reakcijska smjesa se miješa na temperaturi vrenja 19 h, nakon čega se otopina upari do suha te nekoliko puta ispere s toluenom. Dobiveno je 0,190 g (88,1%) svijetlo smeđeg praškastog produkta. T.t. > 300 °C

^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): δ/ppm = 9,33 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,70 (d, 1H, J = 8,16 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,60 (d, 1H, J = 9,42 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,43 (d, 1H, J = 8,22 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,28 (dd, 1H, J_1 = 1,02 Hz, J_2 = 8,16 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,12–8,10 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,86 (t, 1H, J = 7,05 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$),

7,83 (t, 1H, $J = 7,80$ Hz, $H_{\text{arom.}}$); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz): $\delta/\text{ppm} = 166,28, 144,65, 136,40, 133,61, 133,31, 130,97, 129,40, 129,02, 128,15, 127,22, 126,59, 126,17, 117,10, 116,47, 115,47, 114,78$.

Priprava (benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-il)(4-*N*-metilpiperazin-1-il)metanona 7

U okruglu tikvicu se stavi 0,10 g (0,36 mmol) benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karbonil-klorida **6**, 13 ml suhog CH_2Cl_2 i 120 μl (1,07 mmol) *N*-metilpiperazina. Reakcijska smjesa se miješa 24 h na sobnoj temperaturi, nakon čega se ispire s 5 ml 20% Na_2CO_3 i 6 ml vode. Organski sloj se suši iznad bezvodnog MgSO_4 , te upari do suha. Dobiven je svijetlo smeđi praškasti produkt u iskorištenju od 32,5% (0,040 g). T.t. 220-240 °C

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): $\delta/\text{ppm} = 8,68\text{--}8,66$ (m, 2H, $H_{\text{arom.}}$), 8,13 (d, 1H, $J = 8,01$ Hz, $H_{\text{arom.}}$), 8,00 (d, 1H, $J = 9,48$ Hz, $H_{\text{arom.}}$), 7,96–7,94 (m, 1H, $H_{\text{arom.}}$), 7,72 (d, 1H, $J = 9,48$ Hz, $H_{\text{arom.}}$), 7,59–7,53 (m, 3H, $H_{\text{arom.}}$), 3,73 (šs, 2H, CH_2), 3,42 (šs, 2H, CH_2), 2,43 (šs, 2H, CH_2), 2,31 (šs, 2H, CH_2), 2,22 (s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz): $\delta/\text{ppm} = 168,39, 148,10, 144,77, 138,03, 135,12, 131,62, 130,74, 130,44, 124,98, 123,97, 123,46, 123,24, 120,46, 118,78, 115,17, 114,07, 55,05, 54,68, 47,59, 46,09, 42,07$.

Priprava benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-(*N,N*-dimetilaminopropil-1-amino)karboksamida 8

U okruglu tikvicu se stavi 0,10 g (0,36 mmol) benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karbonil-klorida **6**, 13 ml suhog CH_2Cl_2 i 134 μl (1,07 mmol) *N,N*-dimetilaminopropilamina. Reakcijska smjesa se miješa 24 h na sobnoj temperaturi, nakon čega se ispire s 5 ml 20% Na_2CO_3 i 6 ml vode. Organski sloj se suši iznad bezvodnog MgSO_4 , te upari do suha. Dobiven je blijedo žuti praškasti produkt u iskorištenju od 29,2% (0,036 g). T.t. 184-198 °C.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): $\delta/\text{ppm} = 9,03$ (s, 1H, $H_{\text{arom.}}$), 8,97 (t, 1H, $J = 5,07$ Hz, NH_{amid}), 8,64 (m, 1H, $H_{\text{arom.}}$), 8,16 (d, 1H, $J = 8,13$ Hz, $H_{\text{arom.}}$), 8,02–7,95 (m, 3H, $H_{\text{arom.}}$), 7,75 (d, 1H, $J = 9,48$ Hz, $H_{\text{arom.}}$), 7,62–7,57 (m, 2H, $H_{\text{arom.}}$), 3,41 (q, 2H, $J = 6,52$ Hz, CH_2), 2,33 (t, 2H, $J = 7,00$ Hz, CH_2), 2,17 (s, 6H, CH_3), 1,76 (m, 2H, CH_2); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz): $\delta/\text{ppm} = 165,32, 147,60, 144,31, 135,73, 134,61, 130,99, 130,28, 129,73, 124,87, 124,53, 122,9, 122,82, 120,07, 118,77, 114,46, 113,94, 56,95, 45,19$ (2C), 38,07, 27,02.

Priprava benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-izobutilaminokarboksamida **9**

U okruglu tikivicu se stavi 0,10 g (0,36 mmol) benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karbonil-klorida **6**, 13 ml suhog CH₂Cl₂ i 106 μl (1,07 mmol) izobutilamina. Reakcijska smjesa se miješa 24 h na sobnoj temperaturi, nakon čega se ispiri s 5 ml 20% Na₂CO₃ i 6 ml vode. Organski sloj se suši iznad bezvodnog MgSO₄, te upari do suha. Dobiven je bijeli praškasti produkt u iskorištenju od 18,6% (0,021 g). T.t. 226-241 °C.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ/ppm = 9,05 (s, 1H, H_{arom.}), 8,94 (t, 1H, *J* = 5,55 Hz, NH_{amid}), 8,64–8,62 (m, 1H, H_{arom.}), 8,16 (d, 1H, *J* = 8,19 Hz, H_{arom.}), 8,04–7,96 (m, 3H, H_{arom.}), 7,75 (d, 1H, *J* = 9,51 Hz, H_{arom.}), 7,62–7,57 (m, 2H, H_{arom.}), 3,22 (t, 2H, *J* = 6,39 Hz, CH₂), 1,99–1,92 (m, 1H, CH), 0,97 (d, 6H, *J* = 6,66 Hz, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ/ppm = 165,99, 144,83, 136,32, 135,11, 131,50, 130,78, 130,20, 125,34, 125,03, 123,45, 123,40, 120,59, 119,29, 114,95, 114,52, 47,52, 28,65, 20,77 (2C).

5. ZAKLJUČAK

- U ovom radu priređeni su sljedeći spojevi: *E*-2-[2-(*p*-cijanofenil)etenil]benzimidazol **3**, 2-cijanobenzimidazo[1,2-*a*]kinolin **4**, benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karboksilna kiselina **5**, benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karbonil-klorid **6**, benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-(4-*N*-metilpiperazinil)karboksamid **7**, benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-(*N,N*-dimetilaminopropil-1-amino)karboksamid **8** i benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-izobutilaminokarboksamid **9**.
- *E*-2-[2-(*p*-cijanofenil)etenil]benzimidazol **3** priređen je reakcijom 2-metilbenzimidazola i 4-cijanobenzaldehida u zataljenoj cijevi na visokoj temperaturi.
- 2-cijanobenzimidazo[1,2-*a*]kinolin **4** priređen je fotokemijskom ciklizacijom, osvjetljavanjem otopine *E*-2-[2-(*p*-cijanofenil)etenil]benzimidazola **3** u etanolu, živinom lampom snage 400W.
- Benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karboksilna kiselina **5** priređena je kiselom hidrolizom 2-cijanobenzimidazo[1,2-*a*]kinolina **4**.
- Benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karbonil-klorid **6** pripremljen je reakcijom benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karboksilne kiseline **5** sa SOCl₂ u suhom toluenu.
- 2-amido supstituirani benzimidazo[1,2-*a*]kinolini **7-9** priređeni su reakcijom benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karbonil-klorida **6** s odgovarajućim aminima.
- Struktura novopriređenih spojeva potvrđena je ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom.
- Priređeni spojevi dodatno su okarakterizirani i korištenjem UV/Vis i fluorimetrijske spektroskopije.

6. LITERATURA

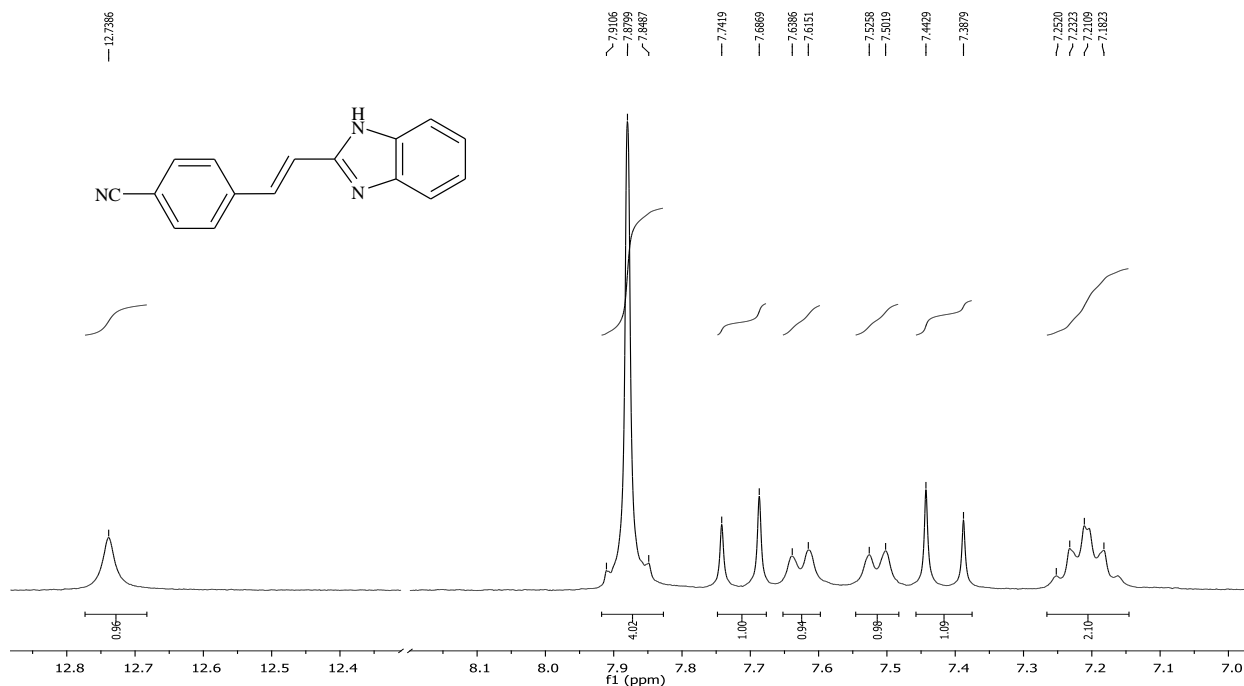
1. A. K. Ghose, V. N. Viswanadhan, J. J. Wendoloski, *J. Comb. Chem.* **1** (1999) 55-68.
2. S. D. Roughley, A. M. Jordan, *J. Med. Chem.* **54** (2011) 3451-3479.
3. T. J. Deaming, *Prog. Polym. Sci.* **32** (2007) 858-875.
4. R. V. Ulijn, B. D. Moore, A. E. M. Jansen, P. J. Halling, *J. Chem. Soc.* **2** (2002) 1024-1028.
5. B. S. Jursic, Z. Zdravkovski, *Synth. Commun.* **23** (1993) 2761-2770.
6. J. Pizey, S. Wiley, *Synthetic Reagents* **1** (1974) 321-357.
7. R. Adams, L. H. Ulrich, *J. Am. Chem. Soc.* **42** (1920) 599-611.
8. A. J. Pearson, W. Rough, R. Eds, *Wiley Handbook of Reagents for Organic Synthesis: Activating Agents and Protecting Groups* (1999) 333.
9. J. Klosa, *J. Prakt. Chem (Leipzig)* **19** (1962) 45-55.
10. M. F. Antell, S. Patai, *Interscience: Loudan* (1972) 40-44.
11. K. Veukatarman, D. R. Wagle, *Tetrahedron Lett.* **32** (1979) 3037-3040.
12. J. B. Lee, *J. Am. Chem. Soc.* **88** (1966) 3440.
13. E. Bouron, G. Goussard, C. Marchard, M. Bonin, X. Pannecoucke, J. C. Quinon, H. P. Husson, *Tetrahedron Lett.* **40** (1999) 7227-7230.
14. H. M. Meshram, G. S. Reddy, M. M. Reddy, J. S. Yadav, *Tetrahedron Lett.* **39** (1998) 4103-4106.
15. P. Chauhan, S. Srivastava, *Curr. Med. Chem.* **8** (2001) 1535.
16. T. Benincori, F. Sannicolo, *J. Heterocycl. Chem.* **25** (1988) 1029.
17. M. Hranjec, M. Kralj, I. Piantanida, M. Sedić, L. Šuman, K. Pavelić, G. Karminski-Zamola, *J. Med. Chem.* **50** (2007) 5696.
18. A. Li, T. M. Gilbert, D. A. Klumpp, *J. Org. Chem.* **73** (2008) 3654.
19. G. Cooper, W. J. Irwin, *Department of Pharmacy, University of Aston in Birmingham, Gosta Green, Birmingham B4 7ET*
20. K. T. J Loones, B. U. W. Maes, R. A. Dommissse, G. L. F. Lemiere, *Chem Commun.* (2004) 2466.
21. T. Iwaki, A. Yashuhara, T. Sakamoto; *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1** (1999) 1505.
22. C. Lamazzi, S. Leonce, B. Pfeiffer, P. Renard, G. Guillaument, C. W. Rees, T. Besson, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **10** (2000) 2183-2185.
23. M. Eriksson, N. B. Norde, *Methods Enzymol.* **68-70** (2001) 340.
24. M. Hranjec, M. Kralj, I. Piantanida, M. Sedić, L. Šuman, K. Pavelić, G. Karminski-Zamola, *J. Med. Chem.* **50** (2007) 5696-5711.
25. E. A. Lyakhova, Y. A. Gusyeva, J. V. Nekhoroshkova, L. M. Shafran, S. A. Lyakhov, *Eur. J. Med. Chem.* **44** (2009) 3305-3312.

26. R. Rohini, P. Muralidhar Reddy, K. Shanker, A.Hu, V.Ravinder, *J. Braz. Chem. Soc.* **5** (2010) 897-904
27. A.D. Billimoria, M.P. Cava, *J. Org. Chem.* **59** (1994) 6777.
28. S. K. Bhati, A. Kumar, *Eur. J. Med. Chem.* **43** (2008) 2323.
29. M. Prudhomme, *Eur. J. Med. Chem.* **38** (2003) 123.
30. E. Wincent, H. Shirani, J. Bergman, U. Rannug, T. Janosik, *Bioorg. Med. Chem.* **17** (2009) 1648.
31. S.V. Miert, S. Hostyn, B. U. M. Maes, K. Cimanga, R. Brun, M. Kaiser, P. Matyus, R. Dommissie, G. Lemiere, A. Vlietinck, L. Pieters, *J. Nat. Prod.* **68** (2005) 674.
32. P. M . Reddy, Y. P . Ho, K. Shanker, R. Rohini, V. Ravinder, *Eur. J. Med. Chem.* **44** (2009) 2621.
33. N. Perin, R. Nhili, K. Ester, W. Laine, G. Karminski-Zamola ,M. Kralj , M. H. David-Cordonnier , M. Hranjec, *Eur. J. Med. Chem.* **80** (2014) 218-227

7. PRILOZI

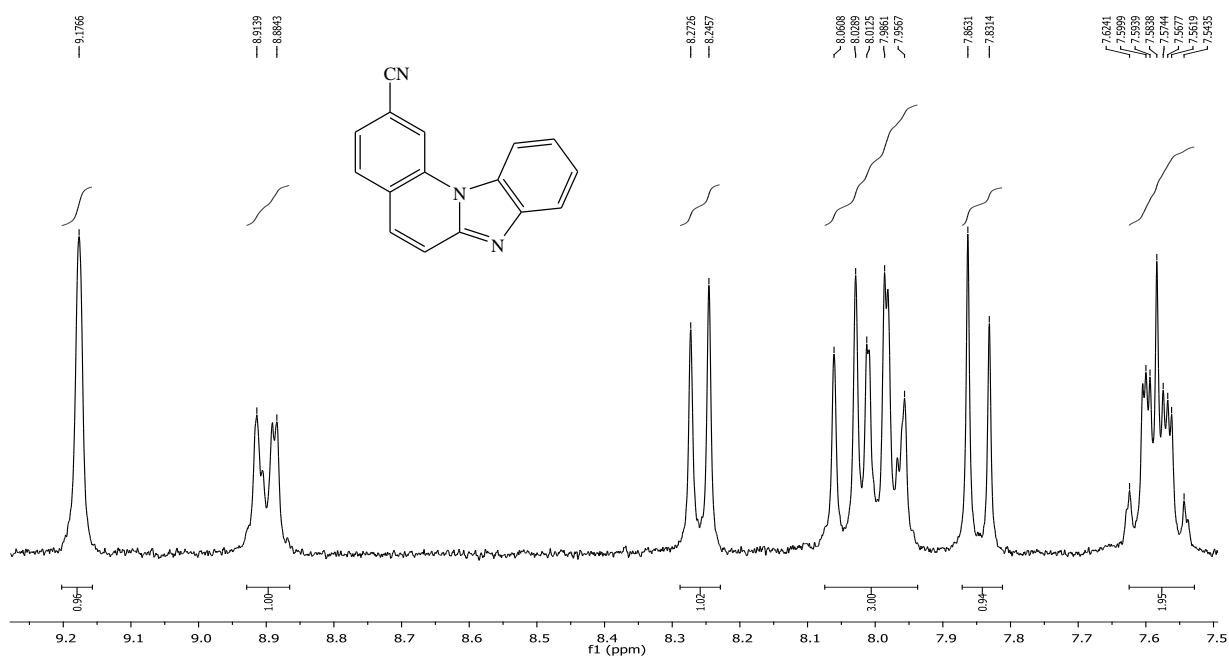
Prilog 1.

^1H NMR spektar *E*-2-[2-(*p*-cijanofenil)etenil]benzimidazola **3**



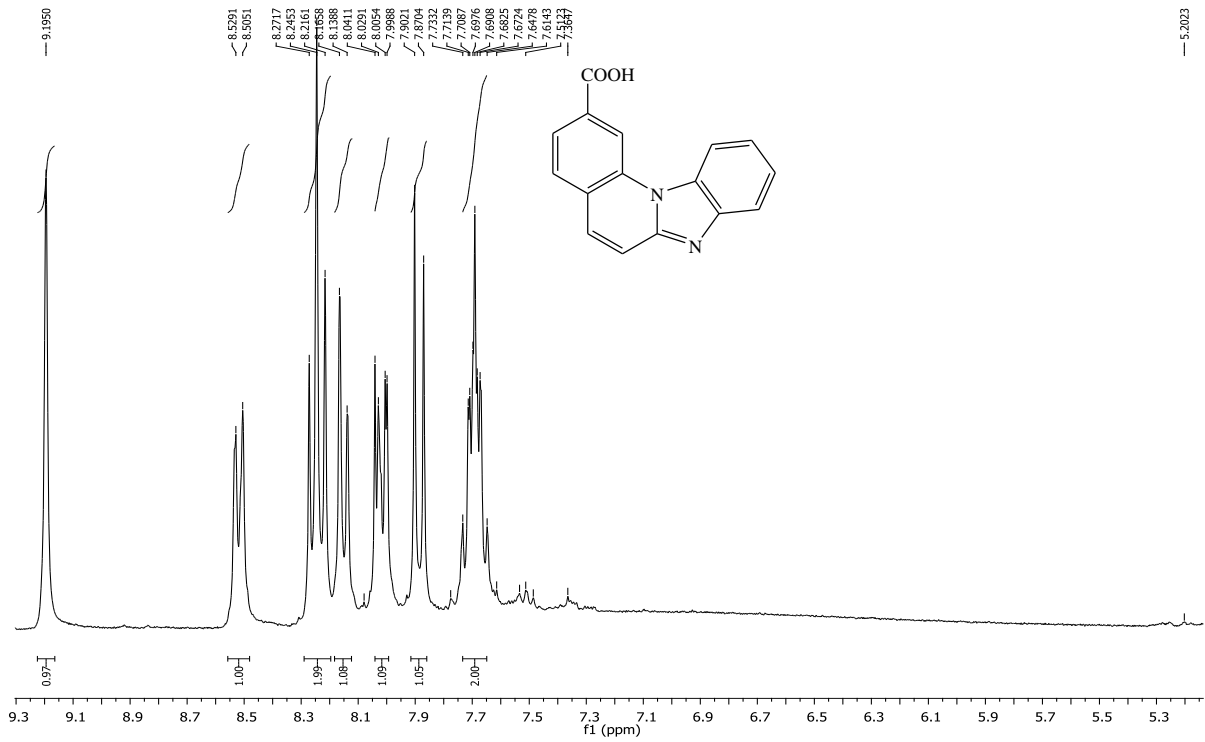
Prilog 2.

^1H NMR spektar 2-cijanobenzimidazo[1,2-*a*]kinolin **4**

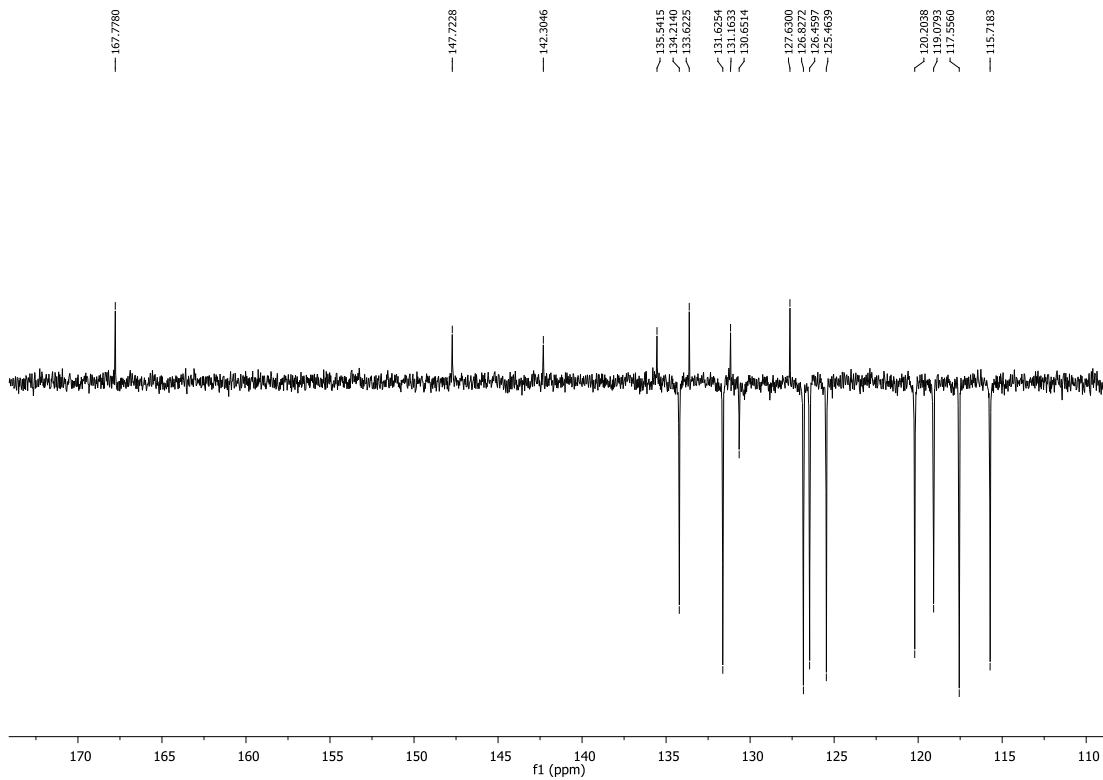


Prilog 3.

a) ^1H NMR spektar benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karboksilne kiseline **5**

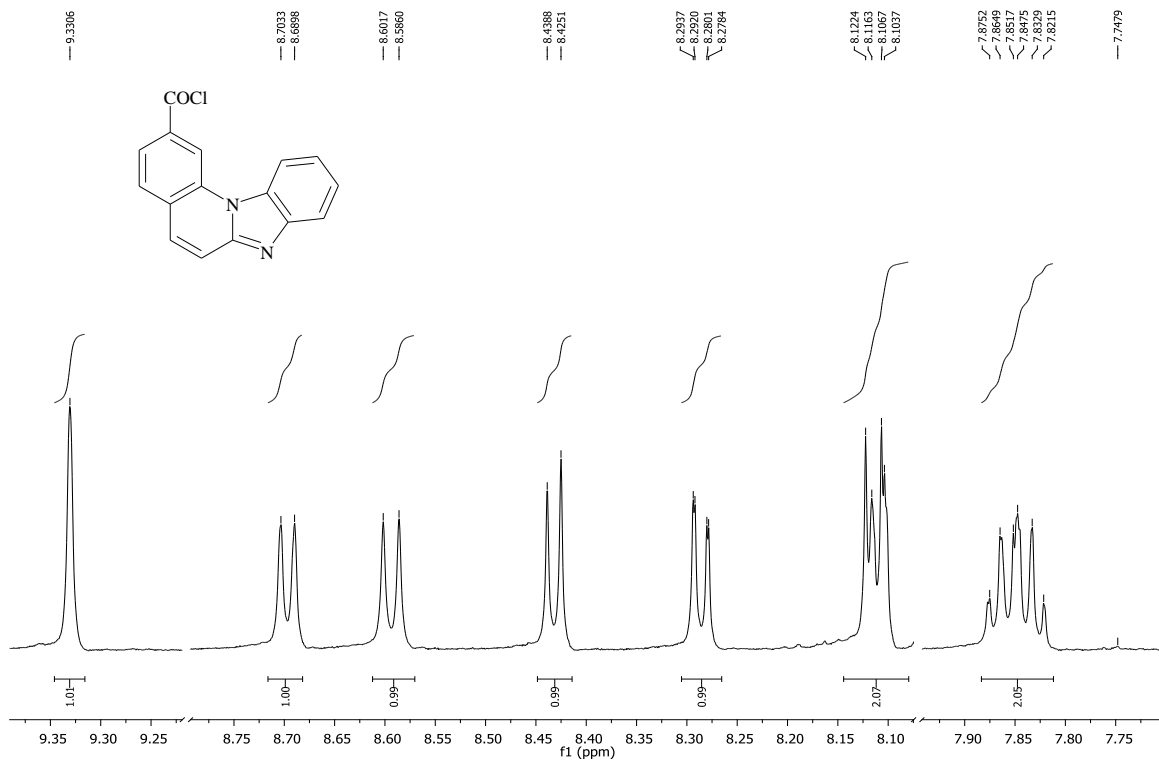


b) ^{13}C NMR spektar benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karboksilne kiseline **5**

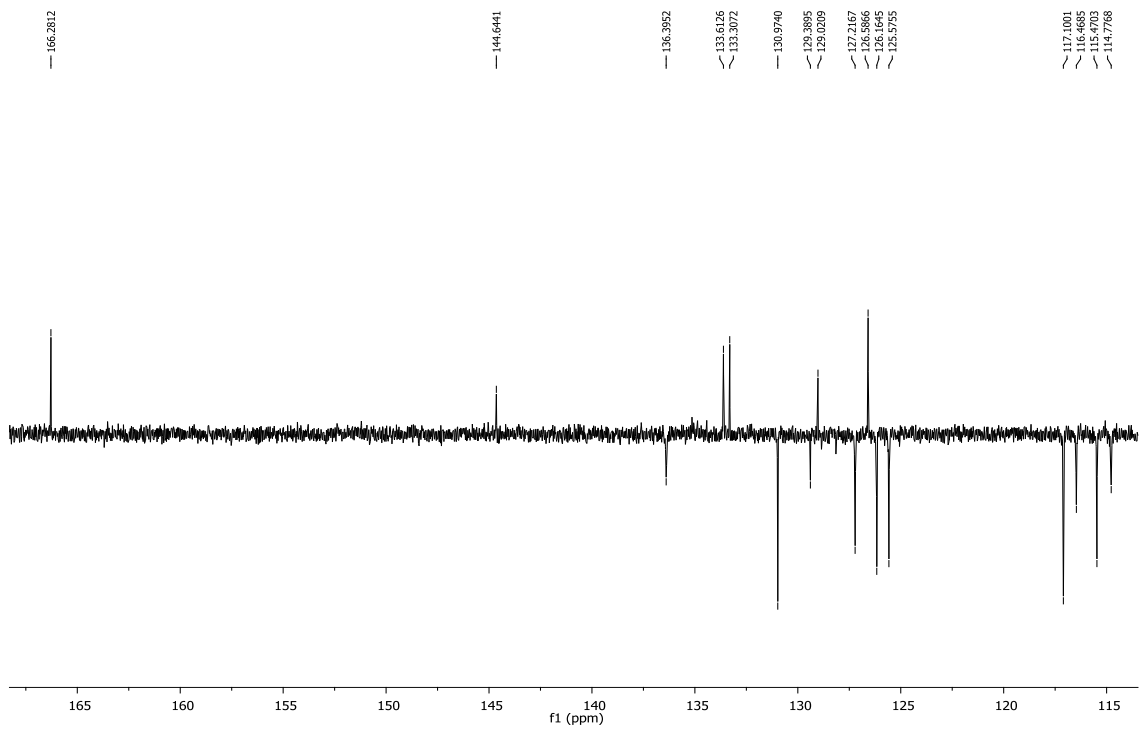


Prilog 4.

a) ^1H NMR benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karboniklorida **6**

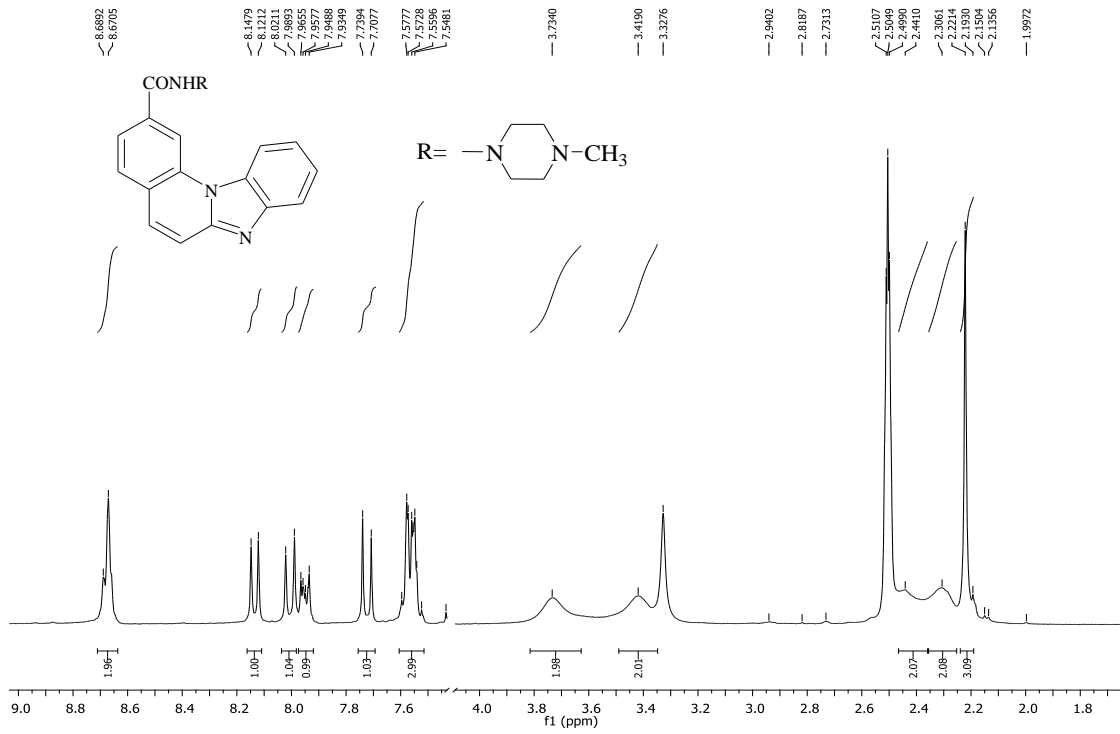


b) ^{13}C NMR benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karboniklorida **6**

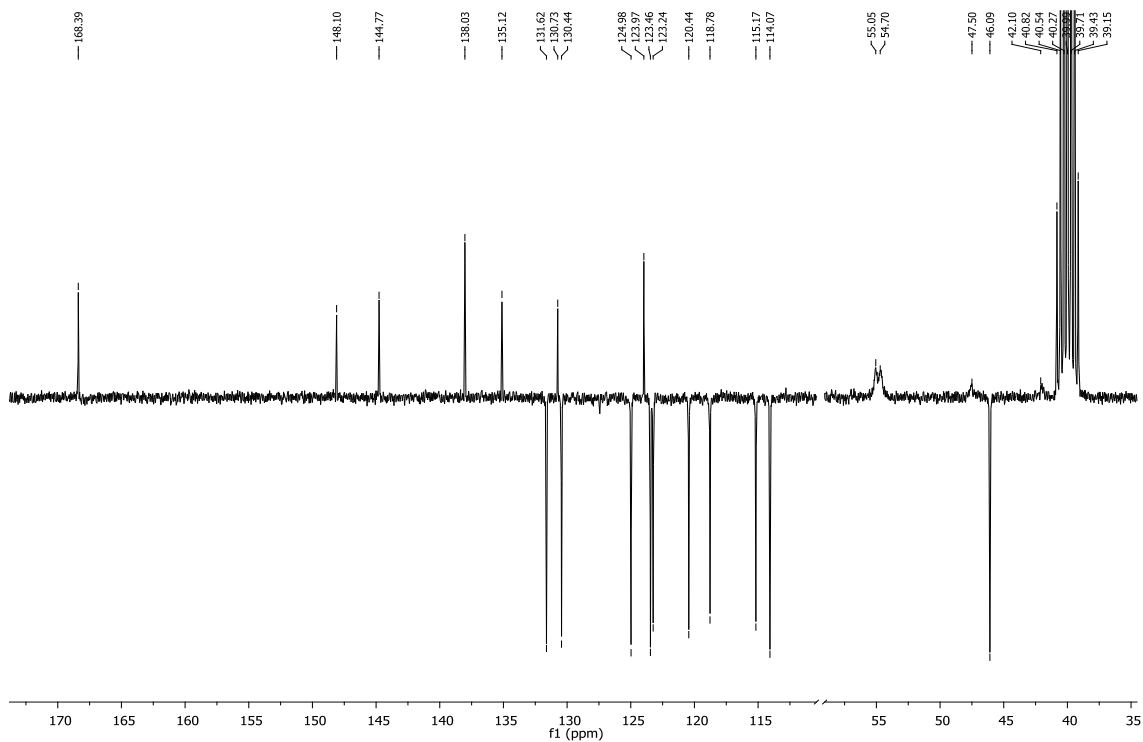


Prilog 5.

a) ^1H NMR benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-(4-*N*-metilpiperazinil)-karboksamid **7**

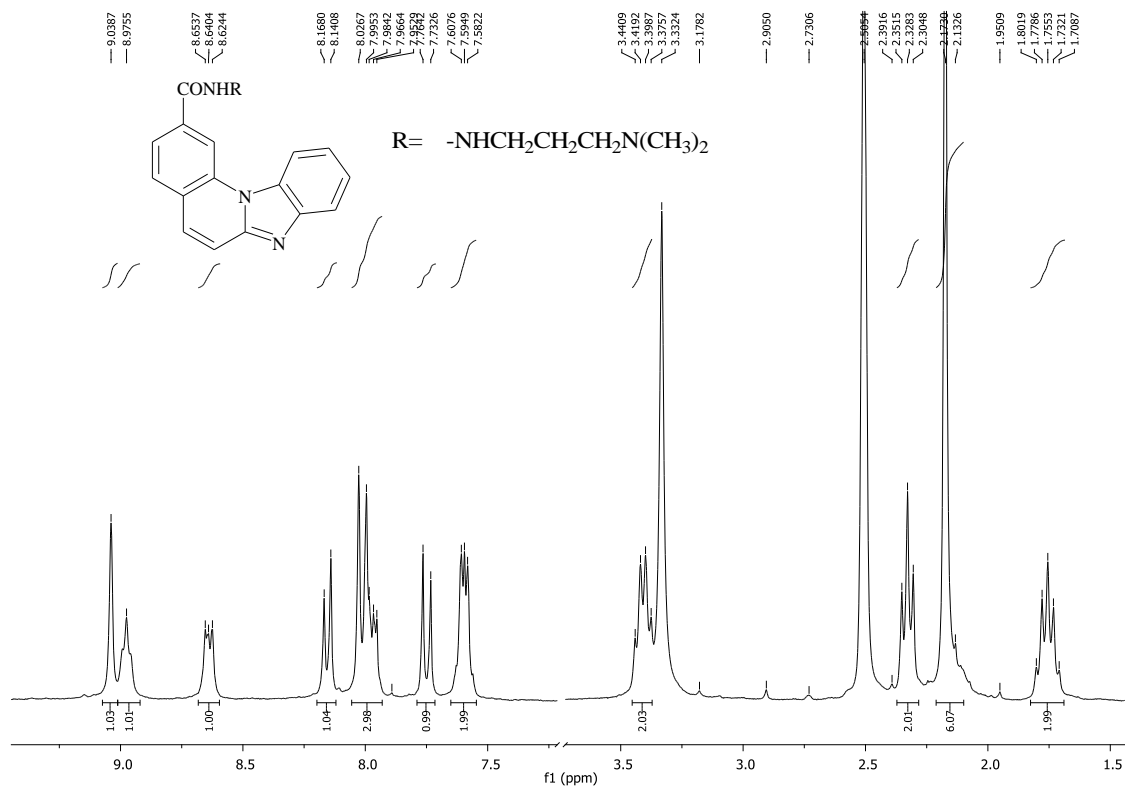


b) ^{13}C NMR benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-(4-*N*-metilpiperazinil)-karboksamid **7**

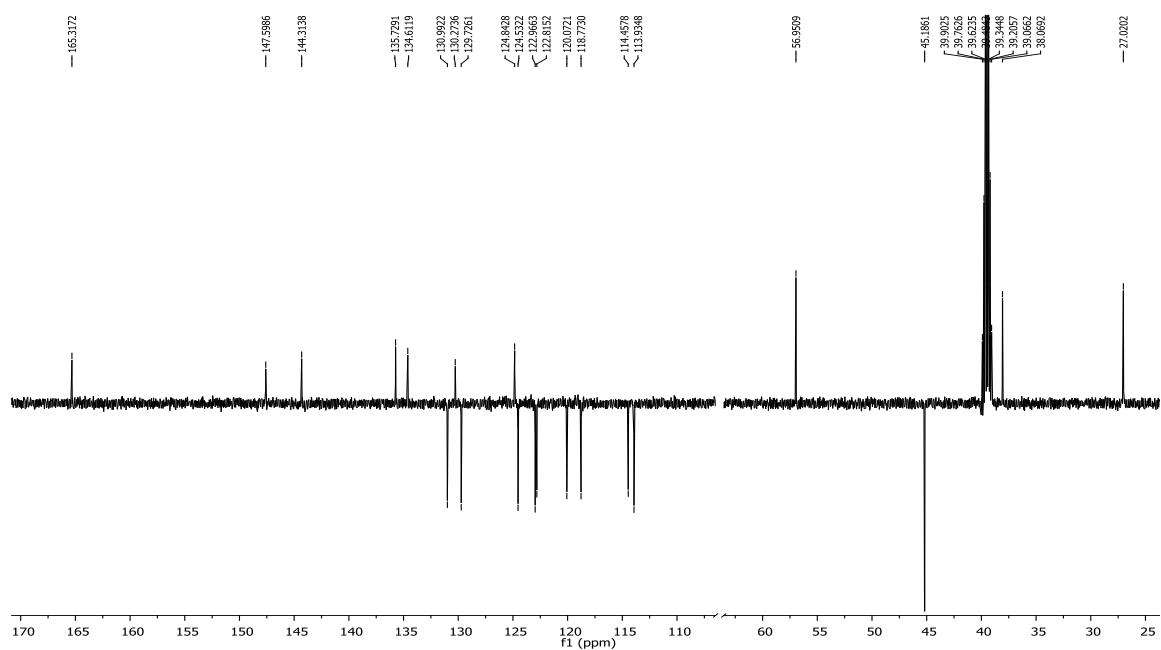


Prilog 6.

- a) ^1H NMR benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-(*N,N*-dimetilaminopropil-1-amino)karboksamid **8**

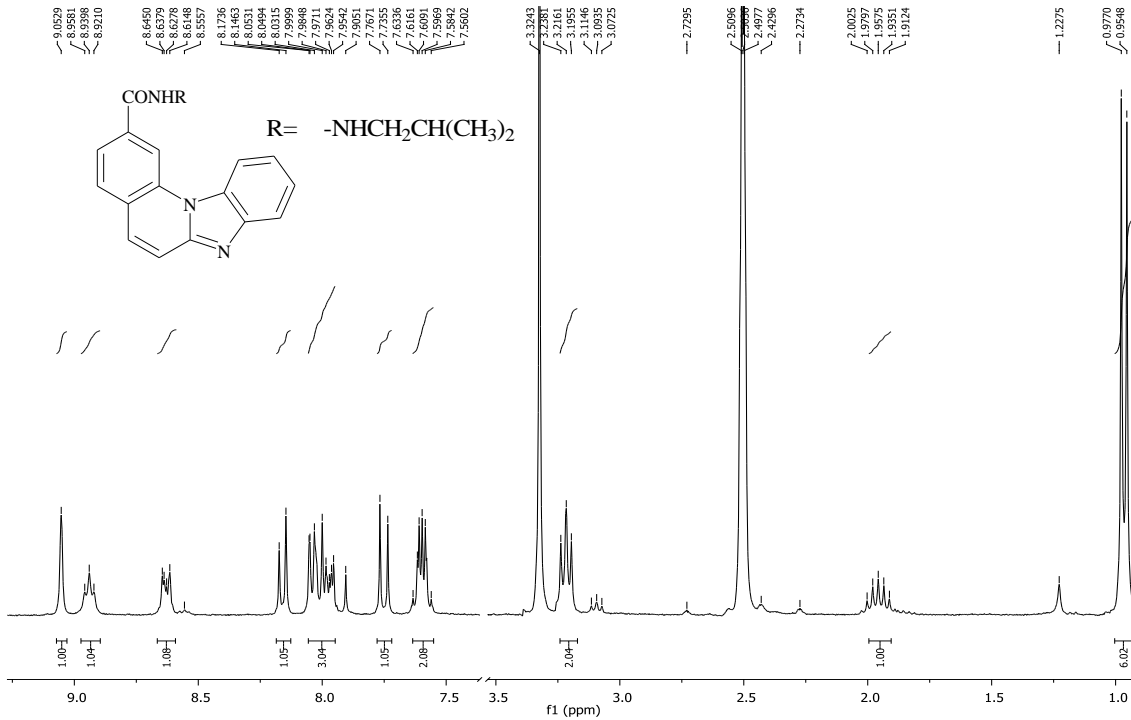


- b) ^{13}C NMR benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-(*N,N*-dimetilaminopropil-1-amino)karboksamid **8**

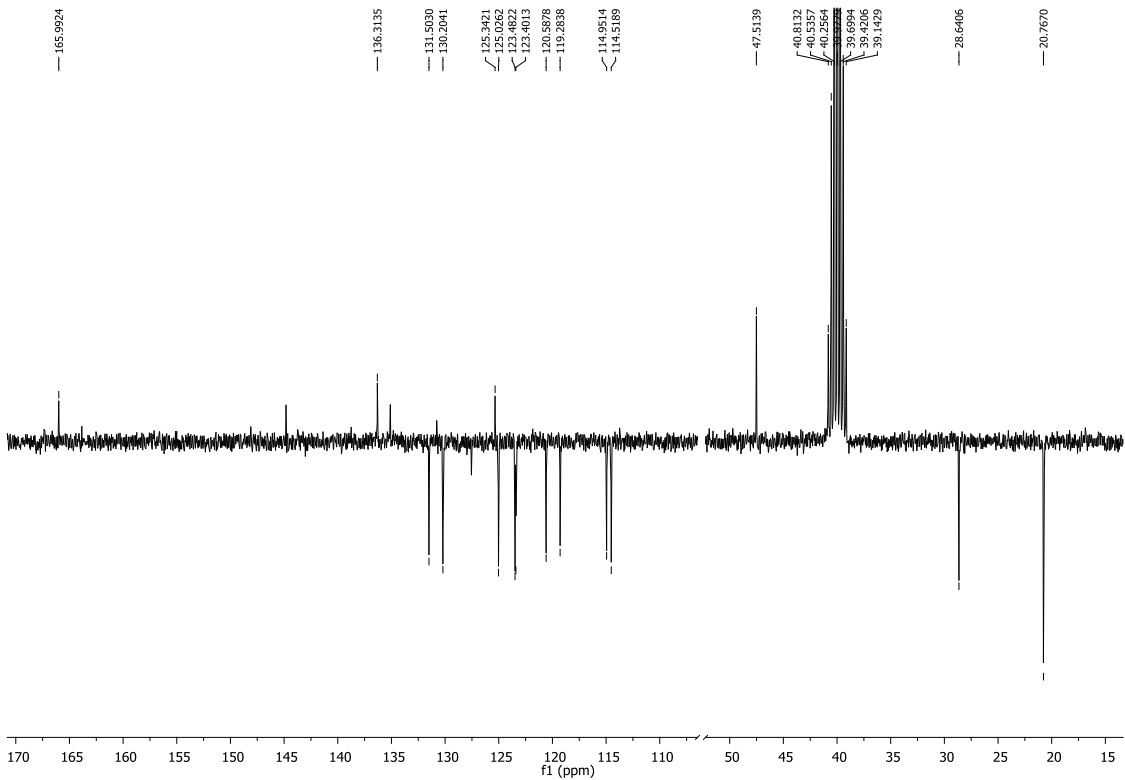


Prilog 7.

a) ^1H NMR benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-izobutilamino-karboksamid **9**



b) ^{13}C NMR benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-izobutilamino-karboksamid **9**



8. ŽIVOTOPIS

Marjana Gulin rođena je 15.02.1995. godine u Šibeniku. Osnovnu školu Vidici završila je 2009. godine, nakon čega je upisala Opću gimnaziju Antuna Vrančića u Šibeniku. Maturirala je 2013. godine, te potom upisala Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, smjer Primijenjena kemija. Tijekom dosadašnjeg obrazovanja osposobljena je za rad na računalu, aktivno se služi engleskim i talijanskim jezikom u govoru i pismu. Obavila je stručnu praksu na Institutu Ruđer Bošković.