

Sinteza i strukturna karakterizacija cikličkih derivata imidazo[4,5-b]piridina

Krmpotić, Edita

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

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:149:862815>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-02**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Edita Krmpotić

**Sinteza i strukturna karakterizacija cikličkih
derivata imidazo[4,5-*b*]piridina**

ZAVRŠNI RAD

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

Članovi ispitnog povjerenstva:

1. izv. dr. sc. Marijana Hranjec, FKIT
2. dr. sc. Nataša Perin, poslijedoktorand, FKIT
3. dr. sc. Lidija Furač, viši predavač, FKIT

Zagreb, srpanj, 2017.

SAŽETAK

Sinteza i strukturna karakterizacija cikličkih derivata imidazo[4,5-*b*]piridina

U ovome je radu opisana sinteza i strukturna karakterizacija novih cikličkih derivata imidazo[4,5-*b*]piridina. Novi spojevi priređeni su klasičnim reakcijama organske sinteze te mikrovalovima potpomognutom aminacijom. Aciklički prekursor 2-(1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)acetonitril **2** priređen je reakcijom 2,4-diaminopiridina **1** i 2-cijanoacetamida. Reakcijom kondenzacije 2-(1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)acetonitrila **2** i 4-fluor-2-klorbenzaldehida **3** priređen je aciklički derivat 3-(4-fluor-2-klorfenil)-2-(imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)akrilonitril **4**. Iz spoja **4** su u reakciji termičke ciklizacije u sulfolanu priređeni glavni prekursori, tetraciklički derivati kao smjesa dva regioizomera **5a:5b** u omjeru 1:1. Regioizomeri su uspješno razdvojeni kolonskom kromatografijom, a njihova je struktura potvrđena korištenjem 2D NOESY NMR spektara. Mikrovalovima potpomognutom aminacijom sa suviškom odgovarajućih amina su iz 6-cijano-2-fluorpirido[3'2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolina **5a** priređeni derivati **6-9**, a iz 6-cijano-2-fluorpirido[2'3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolina **5b**, derivati **10-13**. Struktura novopriređenih spojeva potvrđena je ¹H NMR i ¹³C NMR spektroskopijom. Priređeni spojevi dodatno su okarakterizirani i korištenjem UV/Vis i fluorimetrijske spektroskopije.

Ključne riječi: aminacija, imidazo[4,5-*b*]piridini, MW potpomognuta sinteza, ¹H NMR i ¹³C NMR spektroskopija, UV/Vis i fluorimetrijska spektroskopija

SUMMARY

Synthesis and structural characterization of cyclic derivatives of imidazo [4,5-*b*]pyridines

This work presents the synthesis and structural characterisation of novel cyclic derivatives of imidazo[4,5-*b*]pyridines. Novel compounds were prepared by classical reactions of organic synthesis and microwave-assisted amination. The acyclic precursor 2-(1*H*-imidazo [4,5-*b*]pyridin-2-yl)acetonitrile **2** was prepared by reaction of 2,4-diaminopyridine **1** and 2-cyanoacetamide. Acyclic compound 3-(4-fluoro-2-chlorophenyl)-2-(1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-yl)acrylonitrile **4** was prepared by condensation of 2-(1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-yl)acetonitrile **2** and 4-fluoro-2-chlorobenzaldehyde **3**. From the compound **4**, in the reaction of thermal cyclization in sulfolane, the major precursors were prepared, tetracyclic derivatives as a mixture of two regioisomers **5a**: **5b** in the ratio 1:1. The regioisomers were successfully separated by column chromatography and their structure was confirmed using 2D NOESY NMR spectra. Derivates **6-9** were prepared by microwave assisted amination with surplus of corresponding amines from 6-cyano-2-fluoro-pyrido[3'2':4,5]imidazo[1,2-*a*]quinoline **5a** and derivates **10-13** from 6-cyano-2-fluoropyrido[2'3':4,5]imidazo[1,2-*a*]quinoline **5b**. The structure of novel compounds was confirmed by ¹H NMR and ¹³C NMR spectroscopy. The prepared compounds are further characterised by the use of UV/Vis and fluorimetric spectroscopy.

Key words: amination, imidazo [4,5-*b*] pyridines, MW assisted synthesis, ¹H NMR and ¹³C NMR spectroscopy, UV / Vis and fluorimetric spectroscopy

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

Zahvaljujem se poslijedoktorandici dr. sc. Nataši Perin na velikoj potpori, stručnoj susretljivosti, pomoći i korisnim savjetima tijekom izvođenja i pisanja eksperimentalnog dijela završnog rada.

Također se zahvaljujem Borki Lončar na prekrasnoj radnoj atmosferi, profesionalnosti i susretljivosti koja mi je pružena pri izvođenju eksperimentalnog dijela u tvrtki PLIVA, TAPI R&D.

Konačno se zahvaljujem svojim roditeljima i osobama koje su bile uz mene kao najveća podrška i oslonac tijekom cijelokupnog studija, pa tako i kroz ovaj period izvođenja i pisanja završnog rada.

Ovaj rad je izrađen 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 projekata Hrvatske nacionalne zaklade br. 5596 (Synthesis and cytostatic evaluations of novel nitrogen heterocyclic library SCIENCENTRY).



SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	3
2.1. Općenito o imidazo[4,5- <i>b</i>]piridinima.....	4
2.2. Sinteza derivata piridina	4
2.3. Biološka aktivnost derivata imidazo[4,5- <i>b</i>]piridina.....	13
3. REZULTATI I RASPRAVA	27
3.1. Cilj rada	28
3.2. Sinteza priređenih spojeva.....	29
3.3. Spektroskopska karakterizacija priređenih spojeva.....	38
4. EKSPERIMENTALNI DIO	42
4.1. Opće napomene.....	43
4.2. Sinteza derivata imidazo[4,5- <i>b</i>]piridina.....	44
5. ZAKLJUČAK	50
6. LITERATURA	52
7. PRILOZI	55
8. ŽIVOTOPIS	67

1. UVOD

Derivati imidazo[4,5-*b*]piridina vrlo su zanimljivi organskim i medicinskim kemičarima te je njihova sinteza i potencijalna primjena do sada nedovoljno istraženo područje organske sinteze i medicinske kemije.¹ Interes za derivate imidazo[4,5-*b*]piridina vezan je uz činjenicu da je ova strukturna jedinica slična strukturi benzimidazola, za koje je dokazan i utvrđen vrlo široki spektar različitih bioloških aktivnosti.² Imidazo[4,5-*b*]piridin je heterociklički spoj aromatskog karaktera koji u svojoj strukturi sadrži dva kondenzirana prstena, imidazolski i piridinski prsten. Heterociklička jezgra imidazo[4,5-*b*]piridina može se smatrati izosteričkom zamjenom za biološki važnu heterocikličku jezgru purina, te je zbog toga izuzetno važan farmakofor u području medicinske kemije i dizajnu lijekova. Neki derivati imidazo[4,5-*b*]piridina pokazuju antitumorsku, antibakterijsku, antiviralnu, antiglikolizacijsku, anitoksidacijsku, β -glukuronidaznu aktivnost, a navedene aktivnosti značajno ovise o broju i vrsti supstituenta vezanih na jezgru.³ Također, ciklički derivati imidazo[4,5-*b*]piridina pokazuju antitumorsku aktivnost na nekoliko staničnih linija humanih karcinoma i interakciju s ct-DNK. Imidazo[4,5-*b*]piridini i njegovi derivati pokazali su se i kao važni prekursori za sintezu različitih drugih kompleksnijih biološki aktivnih molekula.

2. OPĆI DIO

2.1. Općenito o imidazo[4,5-*b*]piridinima

Imidazo[4,5-*b*]piridin je heterociklički spoj aromatskog karaktera koji u svojoj strukturi sadrži dva kondenzirana prstena, imidazolski i piridinski prsten.⁴ Njegova je struktura prikazana na Slici 1.

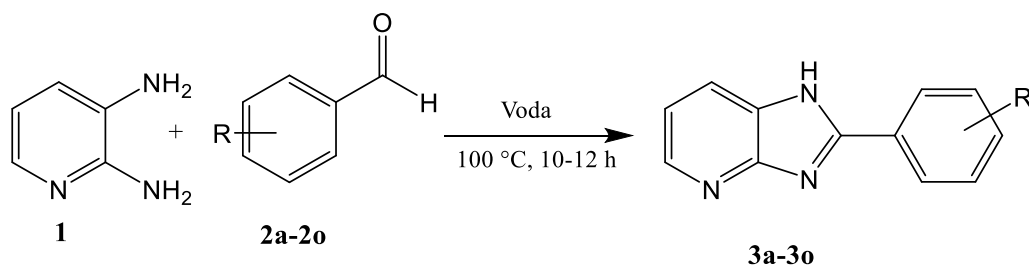


Slika 1. Struktura imidazo[4,5-*b*]piridina

Imidazo[4,5-*b*]piridini i njegovi derivati vrlo su zanimljivi organskim i medicinskim kemičarima te je njihova sinteza i potencijalna primjena do sada nedovoljno istraženo područje organske sinteze i medicinske kemije. Imidazo[4,5-*b*]piridini i 2,3-diaminopiridini pokazali su se kao dobri prekursori za sintezu različitih biološki aktivnih molekula. Heterociklički derivati priređeni iz ovih intermedijera pokazali su se kao antagonisti različitih bioloških receptora, uključujući angiotensin II ili aktivirajući faktor (PAF)². Supstituirani imidazo[4,5-*b*]piridini pokazuju široki spektar bioloških aktivnosti te se ponašaju kao potencijalni antitumorski ili selektivni antihistaminski agensi.

2.2. Sinteza derivata piridina

Budući da su derivati imidazo[4,5-*b*]piridina zbog svojih prvenstveno bioloških karakteristika vrlo zanimljivi medicinskim i organskim kemičarima, u literaturi je poznat čitav niz sintetskih metoda za sintezu takvih derivata. R. P. Kale je sa svojim timom znanstvenika⁵ razvio ekološki prihvatljivu metodu za sintezu 2-suptituiranih-1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina. Proučavao je reakciju 2,3-diaminopiridina sa supstituiranim arilnim aldehydima u vodi bez upotrebe ikakvih oksidacijskih reagensa. Reakcijom ciklokondenzacije uz oksidaciju na zraku priređeni su derivati 1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina **3a-3o**. Reakcija je provedena u jednom koraku a željeni produkti dobiveni su u vrlo dobrim iskorištenjima. Upotreba vodenog medija, jednostavni reakcijski uvjeti, izolacija i pročišćavanje čine ovu metodu jako zanimljivu iz ekološke i ekonomične perspektive. Sinteza je prikazana na Shemi 1.



Shema 1. Sinteza derivata imidazo[4,5-*b*]piridina **3a-3o**

Različite prijašnje metode za sintezu imidazo[4,5-*b*]piridina temeljile su se na ciklokondenzaciji 2,3-piridindiamida s derivatima karboksilne kiseline ili kondenzaciji s aldehidima. Međutim, primjećeno je da ovakve metode imaju različite nedostatke kao što su mala iskorištenja, produženo trajanje reakcije i korištenje štetnih organskih otapala kao što su POCl_3 , TMS-Cl i PPA. Osim toga, koriste se i reakcijski uvjeti koji koriste visoke temperature, upotrebu katalizatora ili oksidacijskih sredstava. Također, jedan od velikih nedostataka ovih metoda je sinteza u dva stupnja, najčešće izolacija baze kondenzacijom diamina s aldehidom u prvom koraku i dehidrogenirana ciklizacija u sljedećem stupnju za konačno dobivanje imidazo[4,5-*b*]piridina.

U Tablici 1. navedeni su različiti 2-supstituirani-1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridini **3a-3o** pripremljeni u reakciji prikazanoj na Shemi 1.

Tablica 1. Popis različitih 2-supstituiranih-1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina

Spoj	R
3a	C_6H_5
3b	3- CH_3 - C_6H_4
3c	4- CH_3 - C_6H_4
3d	4-OMe- C_6H_4
3e	4- <i>N,N</i> -(CH_3) ₂ - C_6H_4
3f	2-Cl- C_6H_4
3g	3-Cl- C_6H_4
3h	4-Cl- C_6H_4
3i	3-F- C_6H_4
3j	4-F- C_6H_4
3k	3-Br- C_6H_4
3l	4-Br- C_6H_4
3m	3- NO_2 - C_6H_4
3n	4- NO_2 - C_6H_4
3o	2-piridil

U Tablici 2. navedeni su reakcijski uvjeti koji su korišteni prilikom optimiranja ove reakcije te iskorištenja za svako korišteno otapalo pri određenoj temperaturi i vremenu reakcije.

Tablica 2. Utjecaj otapala na reakciju 2,3-diaminopiridina i benzaldehida

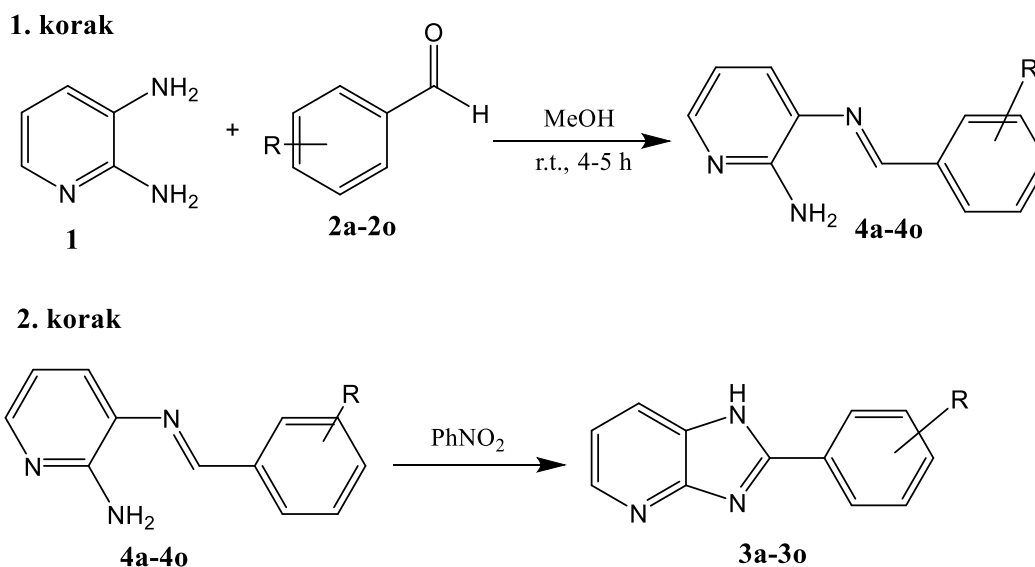
Otapalo	Temperatura (°C)	Vrijeme (h)	Iskorištenje ^a (%)
Metanol ^b	67	12	<40
Metanol ^b	67	24	<40
Etanol ^c	80	12	-
Etanol ^c	80	24	-
10% Etanol ^c	80	12	-
10% Etanol ^c	80	24	-
50% Etanol ^c	80	12	-
50% Etanol ^c	80	24	-
Voda	100	10-12	87

^a Izolirana iskorištenja.

^b Reakcija nije provedena do kraja, postoji neizreagirani 2,3-diaminopiridin.

^c Reakcija zaustavljena u iminskom stadiju, ne formira se produkt.

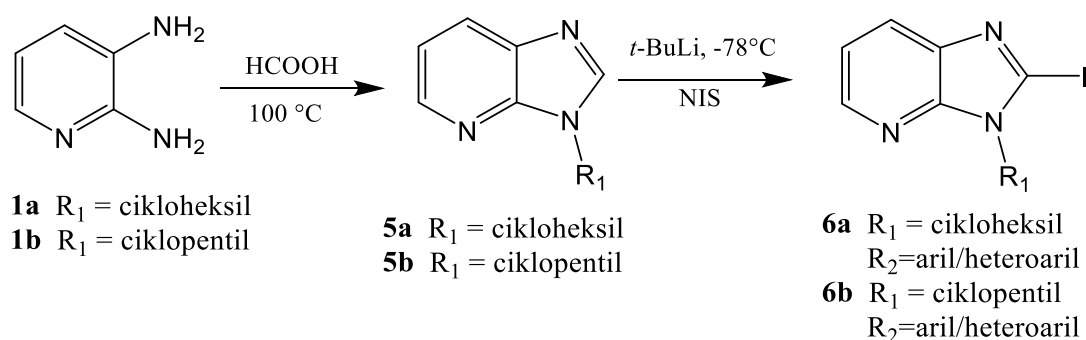
Iz ove je tablice jasno vidljivo kako je voda najbolje i najprikladnije otapalo za ovu reakciju budući da je pri tome produkt dobiven u iskorištenju od 87%. U etanolu je željeni produkt formiran, ali reakcija nije završila ni nakon 24 h. Produkt je nastao u slabijem iskorištenju (<40%). U navedenim slučajevima, reakcija je zaustavljena prilikom formiranja imina (Shema 2). Čak se ni duljim vremenom reakcije ne uspijeva dobiti željeni produkt.



Shema 2. Sinteza referentnih spojeva

Upotreba vode kao otapala i jednostavni reakcijski uvjeti za dobivanje ciljanih produkata u dobrim iskorištenjima značajne su prednosti ove razvijene metode u kojoj su primjenjivani raznoliki aromatski aldehidi. Ovo je bio prvi slučaj sinteze derivata 1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina u vodenom mediju.

Najčešća metoda za dobivanje ovih spojeva je kondenzacija 2,3-diaminopiridina s karboksilnim kiselinama ili aldehydima u prisustvu nekog oksidansa. Sinteza 3-supstituiranih-2-aril/heteroarilnih derivata imidazo[4,5-*b*]piridina iz *N*-supstituiranih piridin-2,3-diamina i karboksilne kiseline korištenjem polifosforne kiseline na 150 °C karakterizirana je malim reakcijskim iskorištenjima i teškoćama pri izolaciji čistog produkta. Stoga je razvijena nova metoda za sintezu ovakvih derivata a formiranje novih C-C veza temeljeno je na upotrebi unakrsnih reakcija korištenjem paladija kao katalizatora. Korištenje mikrovalnog zagrijavanja povećalo je brzinu i efikasnost ovih transformacija, pogotovo u slučaju aril-arilnih Suzukijevih reakcija. A. M. Sajith i A. Muralidharan razvili su efikasnu metodu za sintezu 3-supstituiranih-2-aril/heteroaril imidazo[4,5-*b*]piridinskih analoga iz uobičajenih prekursora.⁶ Krajnji cilj ovog istraživanja bio je razvoj sintetske metode za formiranje 3-supstituiranih-2-aril/heteroaril imidazo[4,5-*b*]piridina korištenjem Suzukijeve reakcije između supstituiranih aril/heteroarilnih bornih kiselina i derivata 3-supstituiranih-2-aril/heteroarilnih imidazo[4,5-*b*]piridina uz korištenje mikrovalnog zračenja. Metoda se zasniva na jednostavnoj sintezi jodidnih intermedijera **6a** i **6b** prikazanoj na Shemi 3.

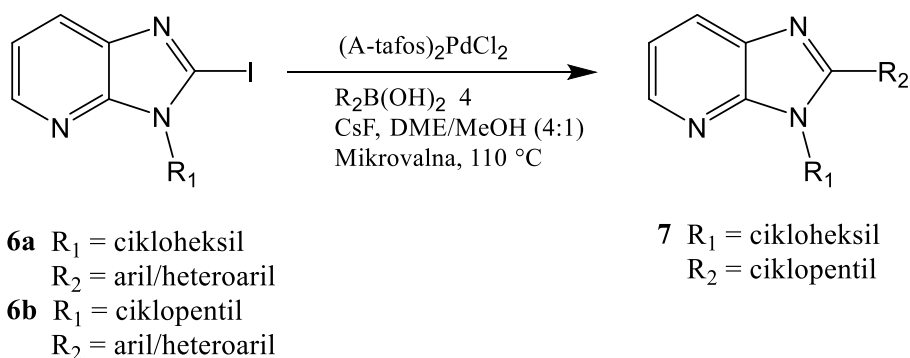


Shema 3. Sinteza 3-supstituiranih-2-jodo-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridinskih intermedijera

Jodidni intermedijeri sintetizirani su s vrlo dobrim iskorištenjem iz spojeva **5a** i **5b** u THF u reakciji s *tert*-butil litijem na -78 °C 30 minuta. Nakon toga, u reakcijsku se smjesu dodaje *N*-jodo- sukcinimid u bezvodnom THF na istoj temperaturi, te se miješa na -78 °C 1h.

Potom se reakcijska smjesa ozračava mikrovalnim zračenjem na 110 °C. Do potpune konverzije došlo je unutar 30 minuta. Konačni produkti dobiveni su u iskorištenjima većim od 85%.

Na Shemi 4 prikazana je mikrovalovima potpomognuta reakcija u kojoj je korišten (A-*tafos*)₂PdCl₂ kao katalizator zajedno s CsF kao bazom u kombinaciji otapala DME/MeOH.



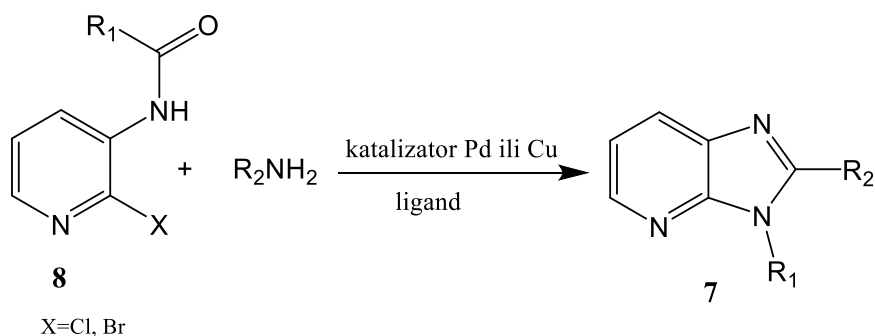
Shema 4. Sinteza 3-supstituiranih-2-aril/heteroarilnih imidazo[4,5-*b*]piridina

U ovom su istraživanju proučavani rezultati dobiveni upotrebom različitih katalizatora, anorganskih baza, kombinacija baza i odgovarajućih temperatura. Kada je CsF korišten kao baza, ostvarena je bolja konverzija reaktanata u produkte. Više reakcijske temperature s kraćim vremenom reakcije rezultirale su raspadanjem jodidnog intermedijera i nemogućnosti ponovnog dobivanja biarilnog produkta. Uočeno je i dehalogeniranje aromatskih spojeva u reakcijama kataliziranim paladijem. Uočeno je da su dehidrodehalogenirani produkti nekada međuprodukti takvih paladijem kataliziranih unakrsnih reakcija. U tim slučajevima voda ili tercijski amini imaju ulogu hidridnog donora. Ovi intermedijeri mogu se upotrijebiti kao sintoni za pripremu medicinski važnih agensa.

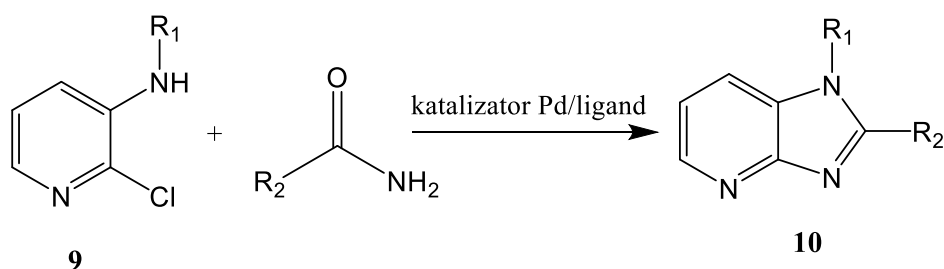
U zadnje je vrijeme veliki interes organskih sintetskih kemičara usmjeren na razvoj efikasnih katalitičkih metoda sinteze imidazo[4,5-*b*]piridina, posebno onih sa supstitucijom na prvom dušikovom atomu (N1). Interes za derivate imidazo[4,5-*b*]piridina vezan je uz činjenicu da je ova struktura slična strukturi benzimidazola, za koje je dokazan i utvrđen vrlo široki spektar bioloških aktivnosti. Unatoč važnosti ovakvih struktura, imidazo[4,5-*b*]piridini teško se sintetiziraju zbog svoje regioselektivnosti, pogotovo ako se govori o supstituciji na N1-poziciji. Zbog ovih su razloga znanstvenici A. J. Rosenberg, J. Zhao i D. A. Clark razvili praktičnu i selektivnu metodu za formiranje N1 supstituiranih imidazo[4,5-*b*]piridina.⁷

Druge literaturno poznate metode uglavnom su uključivale korištenje skupih 2,3-diaminopiridina kao polaznih spoja, a iskorištenje takvih reakcija bilo je umjereno ili slabo. Korištenje metalima kataliziranih unakrsnih reakcija omogućava dobivanje raznolikih produkata i upotrebu manje skupog 2-klor-3-aminopiridina kao početnog reaktanta. Unakrsne reakcije katalizirane prijelaznim metalima postale su pouzdane i efikasne metode za formiranje C-C i C-heteroatom veza a kod stvaranja C-N veza posebice je važan paladij kao katalizator. Nedavno su Buchwald i Ma samostalno razvili komplementarnu sintezu imidazo[4,5-*b*]piridina koristeći 2-halo-3-acilaminopiridine i amine kako bi dobili N3-supstituirane produkte, s alkilnim supstituentima na položaju C2. Nažalost, ovakav pristup i dalje nije dozvolio supstituciju na N1 ili supstituciju heteroatoma na položaj C2.⁸ Pristup koji su Buchwald i Ma koristili za sintezu derivata imidazo[4,5-*b*]piridina prikazan je na Shemi 5.

Pristup Buchwalda i Ma



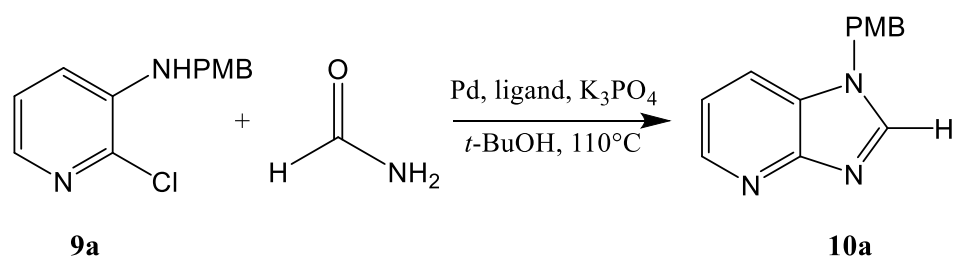
Pristup Rosenberga, Zhao-a i Clarka



Shema 5. Pristupi za reakcije katalizirane prijelaznim metalima za sintezu imidazo[4,5-*b*]piridina

Pristup koji su razvili Rosenberg, Zhao i Clark se konceptualno razlikuje od pristupa Buchwalda i Ma jer u reakciju ulazi zaštićeni 2-klor-3-aminopiridin s primarnim amidom. Zatim se događa *in situ* ciklizacija i dehidratacija kako bi se osiguralo dobivanje imidazo[4,5-*b*]piridina. Zaštićeni 2-klor-3-aminopiridini lako se generiraju reduktivnim aminiranjem pomoću klor-aminopiridina.

Nakon toga su istražene reakcije s ligandima koji su se nedavno pokazali vrlo djelotvornima u reakcijama arilnih halida i amida. Oba su liganda $\text{Me}_4\text{-}t\text{Bu-Xfos}$ i $t\text{BuBrettFos}$ osigurala nastajanje željenoga produkta **10a** u dobrom iskorištenju (Shema 6). „Bippyfos“ ligand osigurao je umjereno iskorištenje, a dodatna su istraživanja potvrdila da bez prisutnosti paladija nije došlo do reakcije, a reakcija s odsutnošću liganda nije osigurala nastajanje produkta.

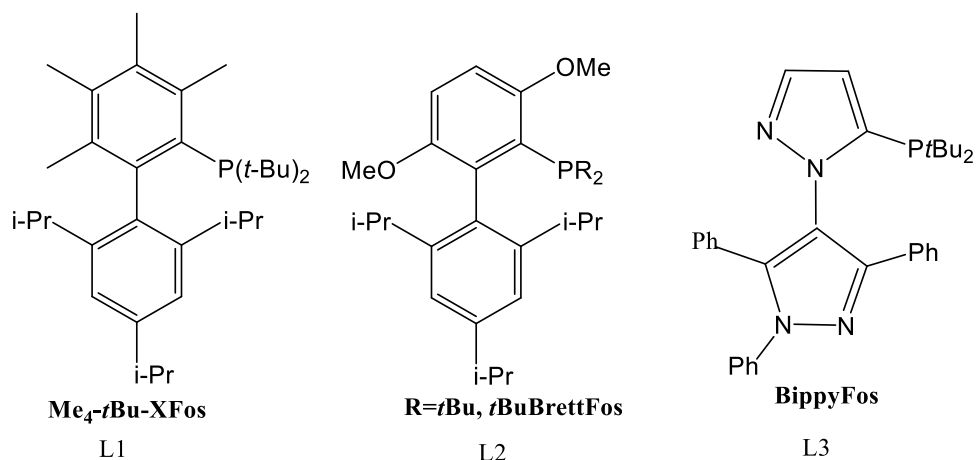


Shema 6. Optimizacija reakcije za dobivanje željenog produkta **10a**

U Tablici 3. navedena je reakcija optimizacije za sljedeće reakcijske uvjete: 0,4 mmola reaktanta **9a**, 0,004 mmola paladija, 0,02 mmol liganda, 2mL $t\text{-BuOH}$ na 110°C (4 h).

Tablica 3. Izvor paladija i liganada za reakciju prikazanu na Shemi 6, te reakcijsko iskorištenje

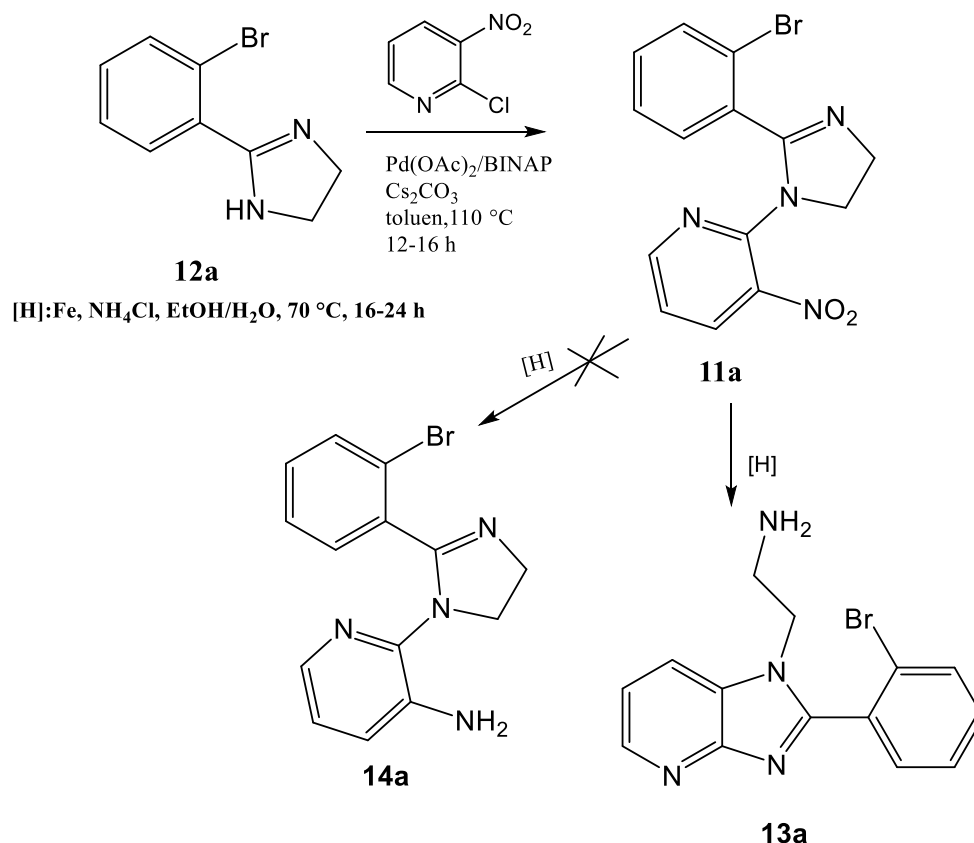
Spoj	Izvor paladija	Ligand	Iskorištenje (%)
7	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3 \times \text{CHCl}_3$	L3	59
8	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3 \times \text{CHCl}_3$	L1	85-90
9	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3 \times \text{CHCl}_3$	L2	86
10	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3 \times \text{CHCl}_3$	-	NR



Slika 2. Struktura fosfinskih liganada L1, L2 i L3

Uočena je i mogućnost pregrađivanja *N*-(hetero)arilnih 2-imidazolina u različito supstituirane imidazo[4,5-*b*]piridine i benzimidazole koristeći Bechampove redukcijske uvjete.⁹ Kombinirano s postupkom paladijem kataliziranog (hetero)ariliranja 2-imidazolina, ova mogućnost pruža jednostavan pristup sintezi derivata imidazo[4,5-*b*]piridina.

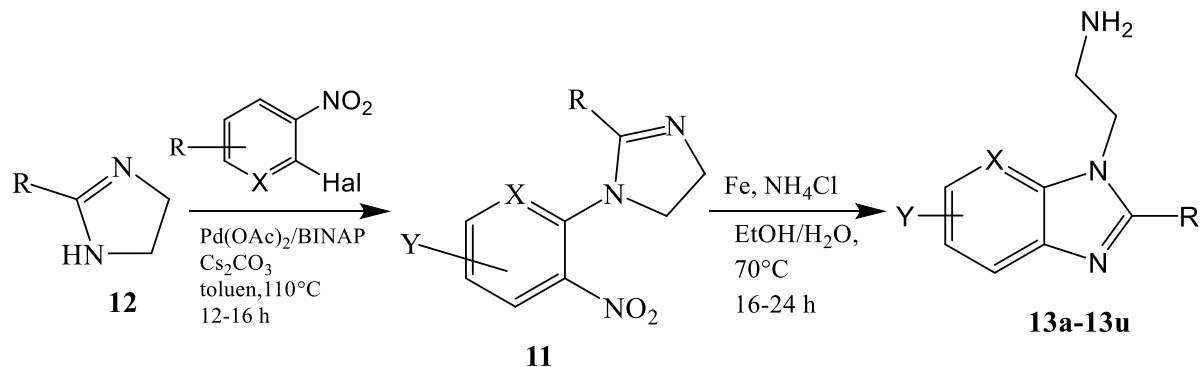
Nedavno je razvijena korisna metodologija za paladijem kataliziranu reakciju (hetero)ariliranja 2-imidazolina, koja je omogućila pristup širokom spektru biološki aktivnih spojeva poput *N*-(hetero)-aril-2-imidazolina (Shema 7).



Shema 7. Redukcija **11a** pomoću Fe/NH₄Cl u vodenoj otopini EtOH

Specifično, od velikog je interesa inkorporirati amino skupinu u *N*-arilni(2-piridilni) supstituent. Nakon upotrebe 2-klor-3-nitropiridina u imidazolinskom stupnju ariliranja slijedi redukcija nitro skupine. Spoj **11a** (R =2-bromfenil) priređen je iz 2-(2-bromfenil)imidazolina **12a** u 80%-tnom reakcijskom iskorištenju. Kada je spoj **11a** podvrgnut modificiranim Bechampovim redukcijskim uvjetima (Fe/NH₄Cl u vodenoj otopini EtOH), došlo je do efikasne konverzije u polarniji spoj.

U ovom je znanstvenom istraživanju razvijena praktična i jednostavna sintetska metoda za sintezu ovih važnih derivata iz raspoloživih 2-imidazolina **12** kao početnih prekursora. Nastavljeno je istraživanje transformacije u dva sintetska koraka (Shema 8) za sintezu različito supstituiranih imidazo[4,5-*b*]piridina **13a-o** kao i benzimidazola **13p-u**.



Shema 8. Pristup sintezi imidazo[4,5-*b*]piridina i benzimidazoa u dva koraka

Tablica 4. Popis supstituenata imidazo[4,5-*b*]piridina i benzimidazola

Spoj	R	Spoj	R	Spoj	R
13a		13h		13o	
13b		13i		13p	
13c		13j		13q	
13d		13k		13r	
13e		13l		13s	
13f		13m		13t	
13g		13n		13u	

Metoda je jednako djelotvorna za 2-alkilne, 2-arilne i 2-heteroarilne derivate imidazolina i omogućuje inkorporiranje velikog spektra supstituenata u imidazolne aromatske jezgre upotrebom prikladnih supstituiranih (hetero)arilnih halida.

2.3. Biološka aktivnost derivata imidazo[4,5-*b*]piridina

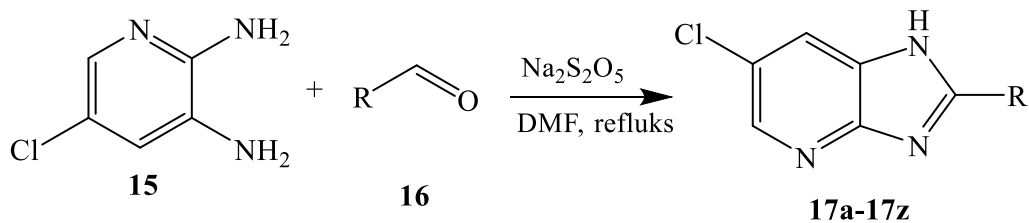
6-klor-2-aril-1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridini i njihovi strukturni analozi iznimno su važni u organskoj i medicinskoj kemiji zbog njihove biološke aktivnosti. M. Taha i njegov tim znanstvenika priredio je i proučavao derivate 6-klor-2-aril-1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina (**17a-17z**) kako bi se ispitala potencijalna antiglikolizacijska, anitoksidacijska i β -glukuronidazna aktivnost.¹⁰ U tu su svrhu upotrijebljeni raznoliki supstituenti kako bi se dokazalo da navedene aktivnosti značajno ovise o broju i vrsti supstituenta.

6-klor-2-aril-1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridini (**17a-17z**) priređeni su reakcijama 5-klorpiridin-2,3-diaminom i različitim aldehidima u *N,N*-dimetilformamidu. Dobiveni produkti imali su značajna iskorištenja (Shema 9).

Za sintezu je korišten natrijev-metabisulfit ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) sa smjesom 5-klorpiridin-2,3-diamina (3,12 mmol) i različito supstituiranih aromatskih aldehida (3,16 mmol) u *N,N*-dimetilformamidu. U Tablici 5. navedeni su supstituenti spojeva **17a-17z**.

Svim sintetiziranim spojevima **17a-17z** ispitana je antiglikolizacijska aktivnost a rezultati su uspoređeni sa standardom rutinom. U antiglikolizacijskom testu, svi derivati koji imaju hidroksilnu skupinu u strukturi pokazali su odgovarajuću aktivnost. Spojevi **17b** i **17d** pokazali su se kao najaktivniji, dok su spojevi **17c**, **17f** i **17m** i **17z** također pokazali vrlo dobru aktivnost. Svi navedeni ispitani derivati pokazali su se aktivnijim od standarda rutina. Većina derivata koja sadrži dvije hidroksilne skupine bila je aktivnija od mono supstituiranih derivata. Iznenadjući rezultat pokazao je spoj **17a** s hidroksilnim skupinama u 3,4-položaju fenilnog prstena te je bio manje aktivan od spomenutih derivata.

Nadalje, uočeno je da svi derivati koji su pokazali bolju aktivnost od standarda sadrže barem jednu hidroksilnu skupinu u *orto*-položaju. Iznimno, spoj **17z** koji ima hidroksilnu skupinu u *para*-položaju 4 fenilne jezgre pokazao je neznatno bolju aktivnost od standarda. Stoga se može zaključiti da je *orto*-položaj od velikog značaja za bolju antiglikolizacijsku aktivnost. Svi ostali derivati pokazali su se inaktivnim.



Shema 9. Sinteza derivata 6-klor-2-aril-1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin **17a-17z**

Tablica 5. Popis supstiuenata derivata 6-klor-2-aril-1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina **17a-17z**

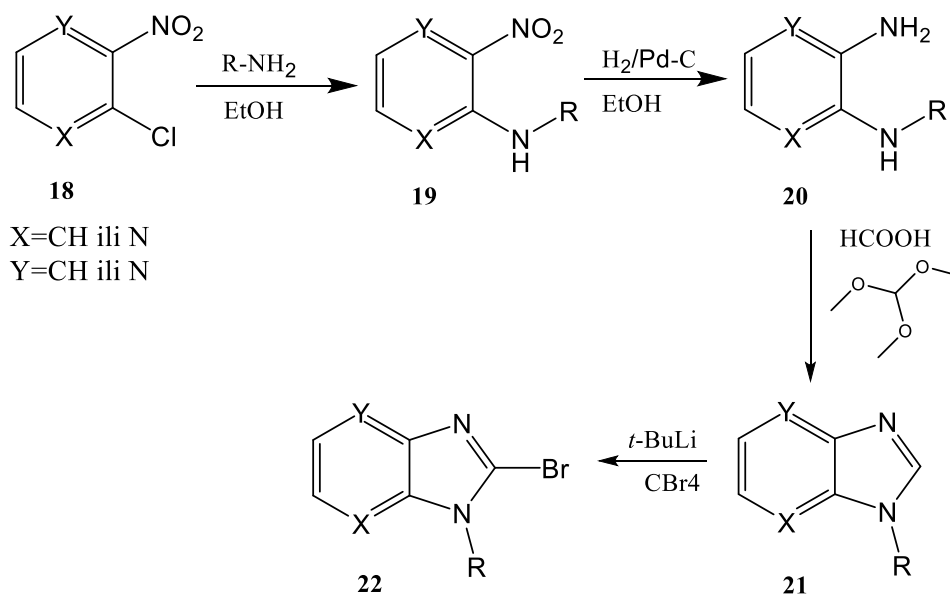
Spoj	R	Spoj	R	Spoj	R	Spoj	R
17a		17h		17o		17v	
17b		17i		17p		17w	
17c		17j		17q		17x	
17d		17k		17r		17y	
17e		17l		17s		17z	
17f		17m		17t			
17g		17n		17u			

Ispitana su i antioksidacijska svojstva a dobiveni su rezultati pokazali da svi derivati supstituirani hidroksilnim skupinama imaju dobar antioksidacijski potencijal. Među ispitanim derivatima, spojevi **17a**, **17b**, **17c** i **17d** pokazali su bolju antioksidativnu aktivnost od ostalih derivata. Dobiveni rezultati pokazali su da je aktivnost direktno povezana s brojem hidroksilnih skupina u molekuli. Nadalje, utvrđeno je da je spoj **17b** koji sadrži dvije hidroksilne skupine u položajima 2- i 4-fenilne jezgre najaktivniji, dok su spojevi **17a**, **17c** i **17d** pokazali dobra antioksidacijska svojstva. Pad u antioksidacijskoj aktivnosti uočen je kada je jedna hidroksilna skupina zamijenjena s vodikom ili metilnom skupinom, kao što je to slučaj kod spojeva **17f**, **17h**, **17m**, **17s** i **17z**. Također je primijećeno da metoksi skupina jače utječe na antioksidativnu aktivnost nego vodik. Ovi ispitani spojevi manje su aktivni od korištenog standarda, ali manja promjena u strukturi može rezultirati boljim antioksidacijskim svojstvima. Svi ostali derivati nisu pokazali nikakvu aktivnost.¹¹

Svim sintetiziranim spojevima **17a-17z** također je ispitana β -glukuronidazna aktivnost a rezultati su uspoređeni sa standardom. Odličnu aktivnost pokazali su spojevi **17a** i **17d**. Spojevi koji sadrže više od jedne hidroksilne skupine pokazali su najbolju aktivnost, iz čega je jasno da je broj hidroksilnih skupina direktno povezana s aktivnošću. Iz ispitane serije spojeva, najveću aktivnost pokazali su derivati **17c** s dvije hidroksilne skupine u položaju 2 i 3, **17a** s dvije hidroksilne skupine u položaju 3 i 4 i **17d** s dvije hidroksilne skupine u položaju 2 i 5. Svi ostali derivati nisu pokazali nikakvu aktivnost.¹²

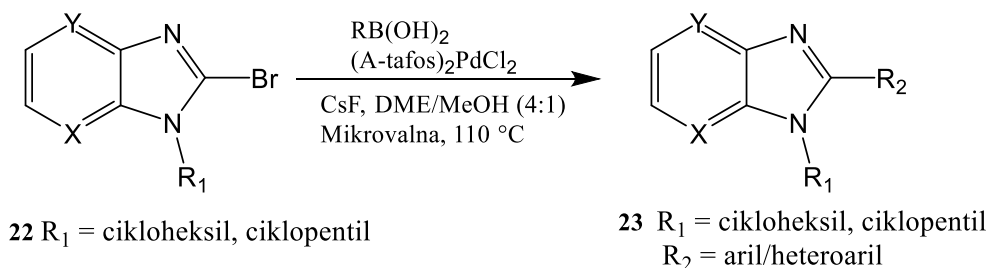
A. J. Sajith sa svojim je timom znanstvenika započeo razvoj i optimiranje sinteze regio-izomernih analoga imidazo[4,5-*b*]piridina u svrhu ispitivanja njihove citotoksične aktivnosti protiv niza stanica humanih karcinoma.¹³ Heterociklička jezgra imidazo[4,5-*b*]piridina može se smatrati izosteričkom zamjenom za biološki važnu heterocikličku jezgru purina, te je zbog toga izuzetno važan farmakofor u području medicinske kemije i dizajnu lijekova. Cilj ovog istraživanja bio je i definirati alternativne heterocikličke spojeve kao analoge purina koji će pokazati odgovarajuću citotoksičnu aktivnost.¹⁴

Brom-supstituirani intermedijar **22** dobiven je tretiranjem prekursora **21** s *t*-BuLi u THF-u na 78 °C, nakon čega je dodan CBr₄ u THF a reakcijska se smjesa miješala na 78 ° C tijekom 2 h (Shema 10).



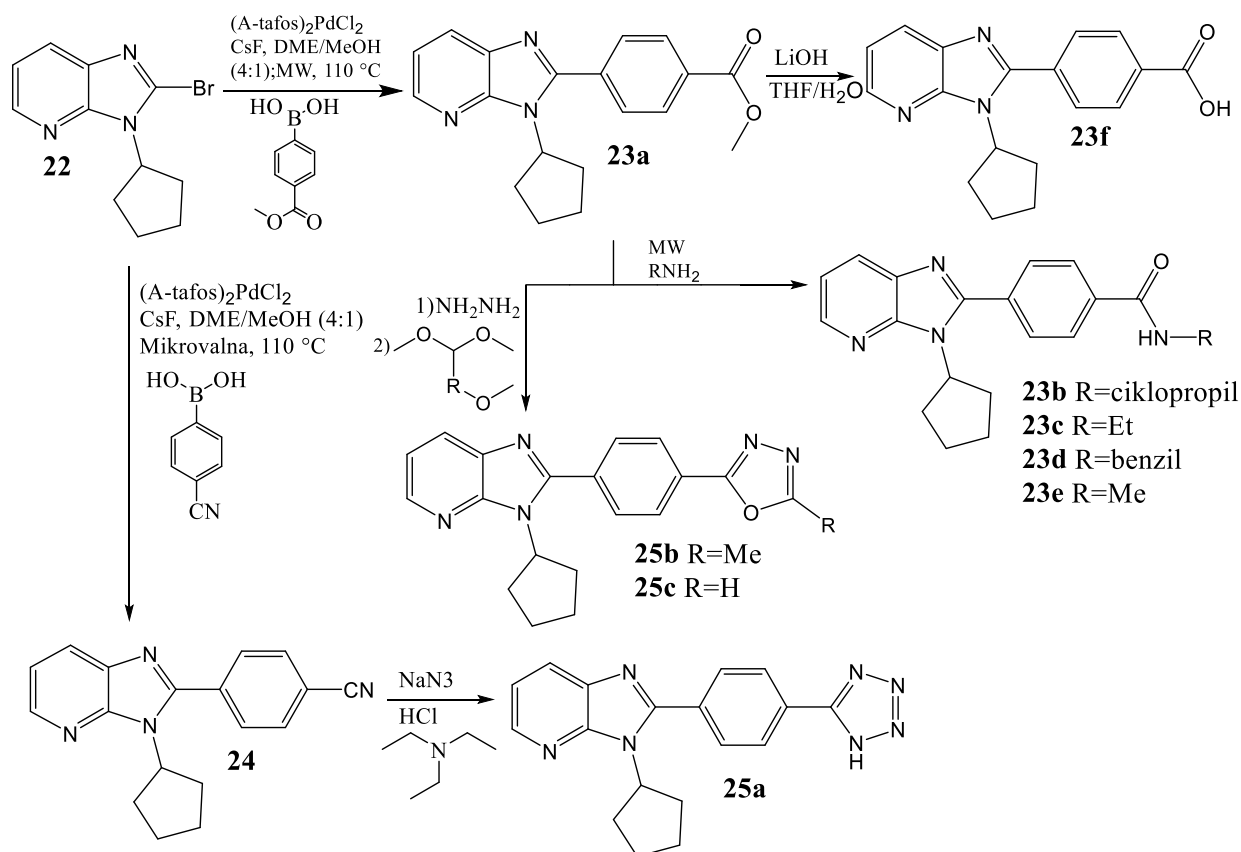
Shema 10. Opća shema sinteze za pripremu bromiranih intermedijera

Suzukijeva reakcija¹⁵ bromnog intermedijera **22** provedena je korištenjem mikrovalnog zračenja reakcijom s različitim arilnim/heteroarilnim bornim kiselinama u svrhu sinteze ciljanih spojeva **23** prema Shemi 11. Sve reakcije postigle su potpunu konverziju nakon 30 min.



Shema 11. Sinteza regioizomernih supstituiranih aril/heteroarilnih derivata

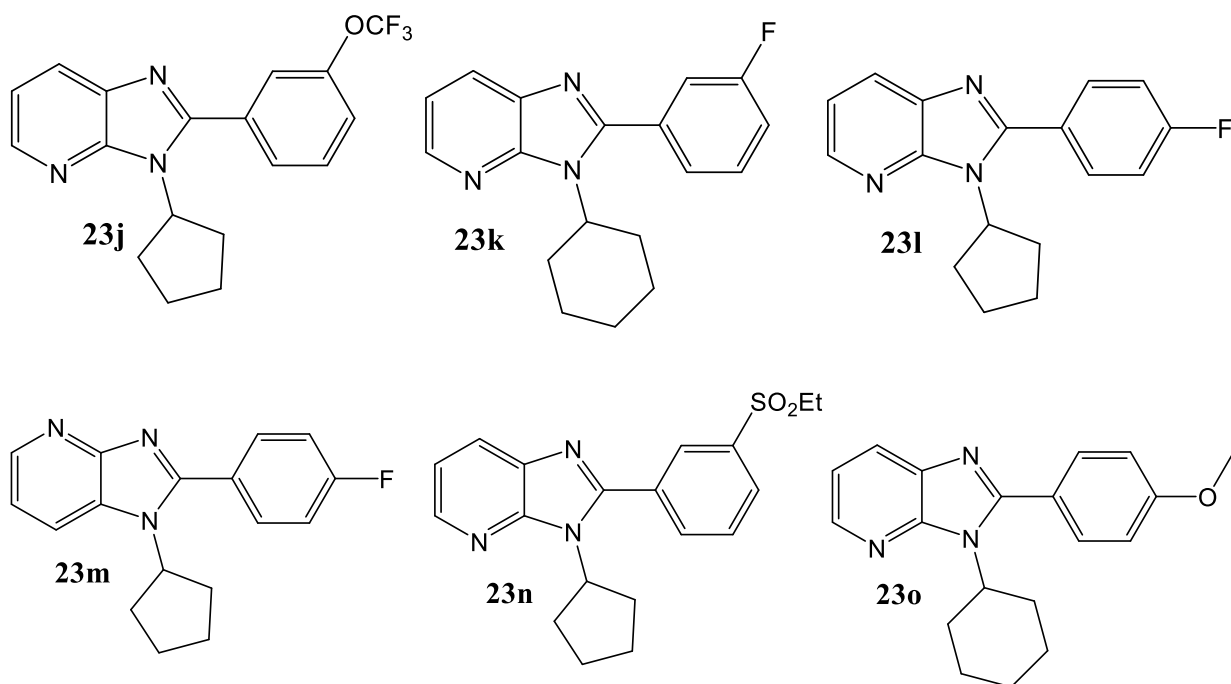
Za sintezu spojeva **25b** i **25c**, spoj **23a** tretiran je otopinom hidrazina u etanolu do nastanka odgovarajućeg hidrazinskog derivata. U slučaju tretiranja trimetil ortoacetatom i trimetil ortoformatom u prisustvu octene kiseline, ciklizirani oksadiazoli **25b** i **25c** dobiveni su u iskorištenju od 70 do 80%. Sinteza spoja **25a** provedena je tretiranjem bromo intermedijera (Shema 12) s 4-cijanofenilbromnom kiselinom kako bi se dobio odgovarajući cijano međuprodukt. Cijano intermedijer je zatim obrađen s natrijevim azidom i trietilamin hidrokloridom u DMF-u da bi se dobio spoj **25a** kao bjelkasta krutina.



Shema 12. Sintetska shema za pripremu ključnih spojeva **23a**, **23b**, **23c**, **23d**, **23e**, **23f**, **25a**, **25b** i **25c**

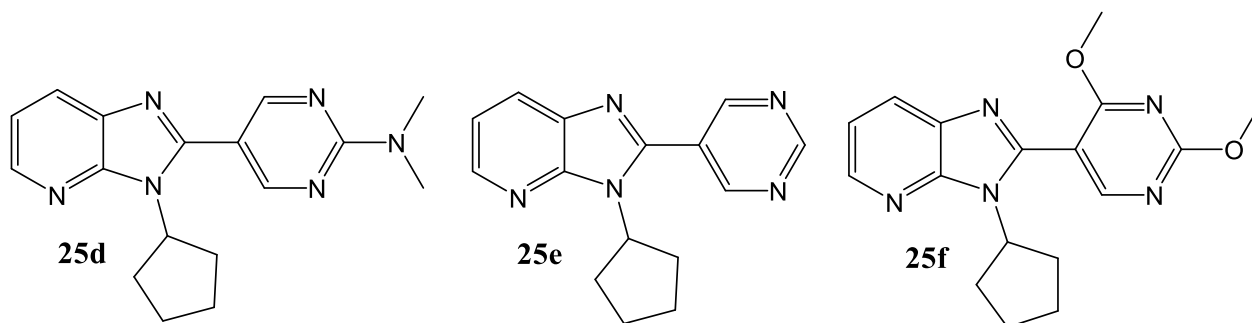
Nesupstituirani arilni prsten na drugom položaju **23g** pokazuje minimalnu aktivnost, ali supstitucija s određenim skupinama pridonosi aktivnosti. Istraživan je utjecaj različitih supstituenata na arilnom prstenu povezanih s položajem 2 heterocikličke jezgre na biološku aktivnost. Ispitivan je i utjecaj elektron-odvlačećih i elektron-donorskih skupina na arilnoj jezgri, ali njihov utjecaj na biološku aktivnost ciljanih spojeva je zanemariv. Uvođenje fluora kao supstituenta povećava lipofilnost konačnih spojeva **23h**, **23i**, **23j** i **23k**. Iznenadujuće je da je drugi regioizomer bio manje aktivan od **23l** i **23m**.

Alkilne skupine vezane na dušikov atom nisu pokazale nikakav značajan utjecaj na citotoksičnost ispitivanih spojeva. Ipak, utvrđeno je da su ciklopentilni analozi aktivniji u usporedbi s cikloheksilnim i metilnim analogima. Među raznim arilnim supstituentima koji su uvedeni na položaju 2, većina arilnih derivata vezana preko eterske veze **23j** i **23o** pokazali su obećavajuću aktivnost. Derivati karboksilne kiseline **23f** pokazali su minimalnu aktivnost, dok su derivati metilnog estera **23a** i amida **23b** pokazali jaku citotoksičnost.



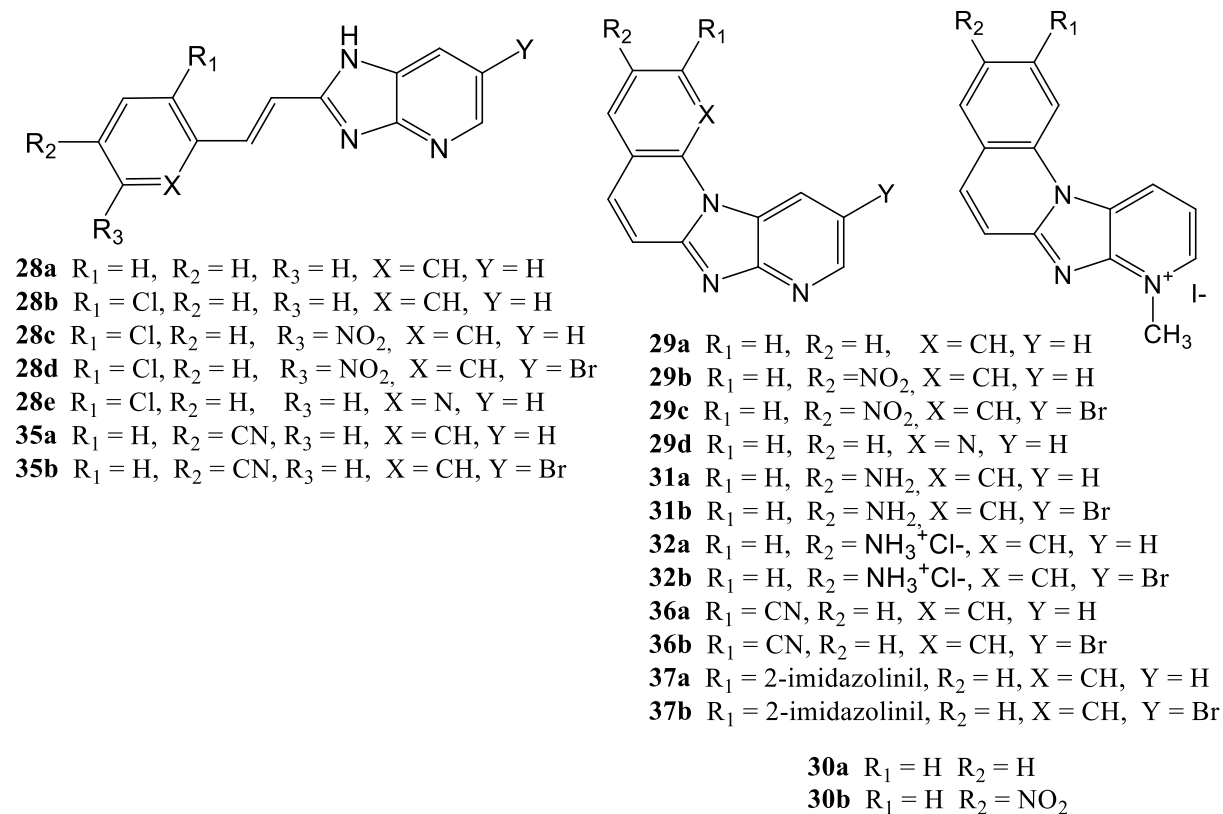
Slika 3. Struktura spojeva **23g-23o**

Nakon toga, istraživanje je usmjereno na uvođenje heteroarilnih analoga na položaj 2 imidazo[4,5-*b*]piridinske jezgre. Među sintetiziranim derivatima, pirimidin na položaju 2 imidazo[4,5-*b*]piridinskog sustava **25d** pokazuje najveći utjecaj na biološku aktivnost. Iznenadujuće, za druga dva analoga pirimidina **25e** i **25f** utvrđena je vrlo slaba citotoksična aktivnost. Prisutnost heteroarilnih skupina na C-2 položaju ove heterocikličke jezgre povećava citotoksičnu aktivnost spojeva u usporedbi s njihovim arilnim analogima. Većina analoga imidazo[4,5-*b*]piridina pokazuju bolju inhibiciju rasta tumorskih stanica u usporedbi sa standardom *taxolom* koji je korišten prilikom ispitivanja citotoksičnosti.



Slika 4. Struktura spojeva **25d-25f**

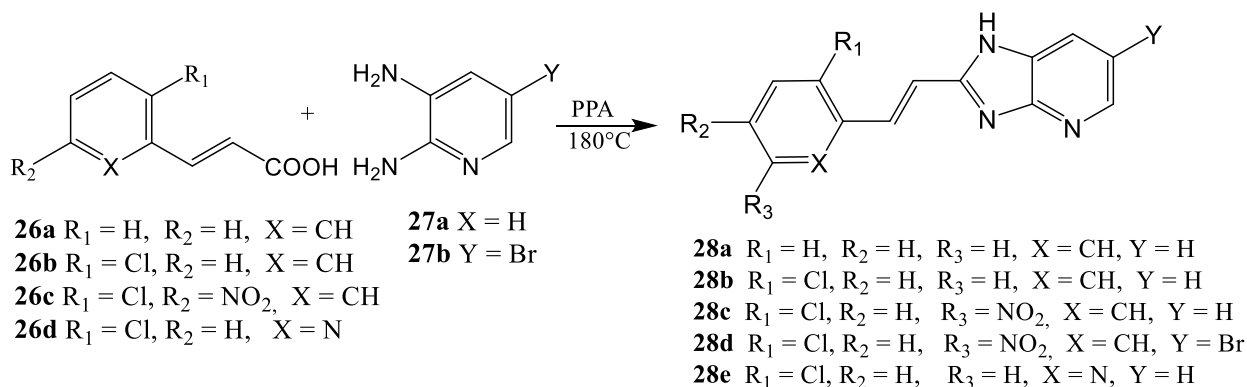
M. Hranjec sa svojim je timom znanstvenika sintetizirala različite derivate imidazo[4,5-*b*]piridina i triaza-benzo[*c*]fluorena.¹⁶ Istraživan je utjecaj supstituenata na različitim položajima heterocikličkog prstena (Slika 5) na antitumorsku aktivnost.



Slika 5. Supstituirani derivati imidazo[4,5-*b*]piridina **28a-e** i **35a-b** i derivati triaza-benzo[*c*]fluoreni **29a-d**, **31a-32b**, **36a-37b** i **30a-30b**

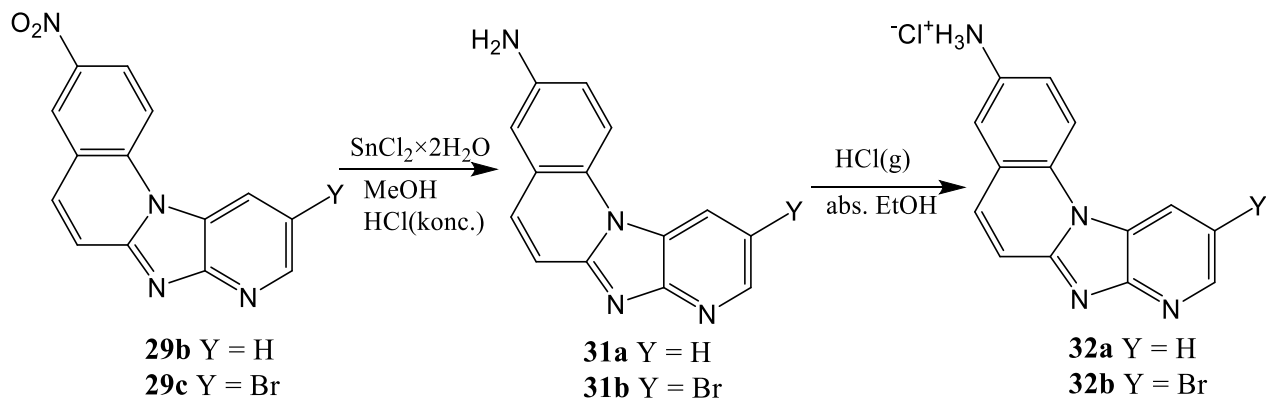
Ciklički derivati imidazo[4,5-*b*]piridina, triaza-benzo[*c*]fluoreni, pripremljeni su fotokemijskom sintezom, reakcijama dehidrociklizacije ili termalnim ciklizacijskim reakcijama. Većini novosintetiziranih spojeva testirana je antiproliferativna aktivnost *in vitro* na sedam ljudskih tumorskih staničnih linija. Osim toga, spojevima **30a**, **31a** i **37a** koji su pokazali značajnu antiproliferativnu aktivnost, ispitana je interakcija s ct-DNK.

Počevši od *E*-3-fenil-supstituiranih akrilnih kiselina **26a-26d** reakcijom ciklokondenzacije između 2,3-diaminopiridina **27a-27b** i polifosforne kiseline (PPA) priređeni su *E*-2-stiril-imidazo[4,5-*b*]piridini **28a-28e** prikazani na Shemi 13.



Shema 13. Sinteza *E*-2-stiril supstituiranih derivata imidazo[4,5-*b*]piridina **28a-28e**

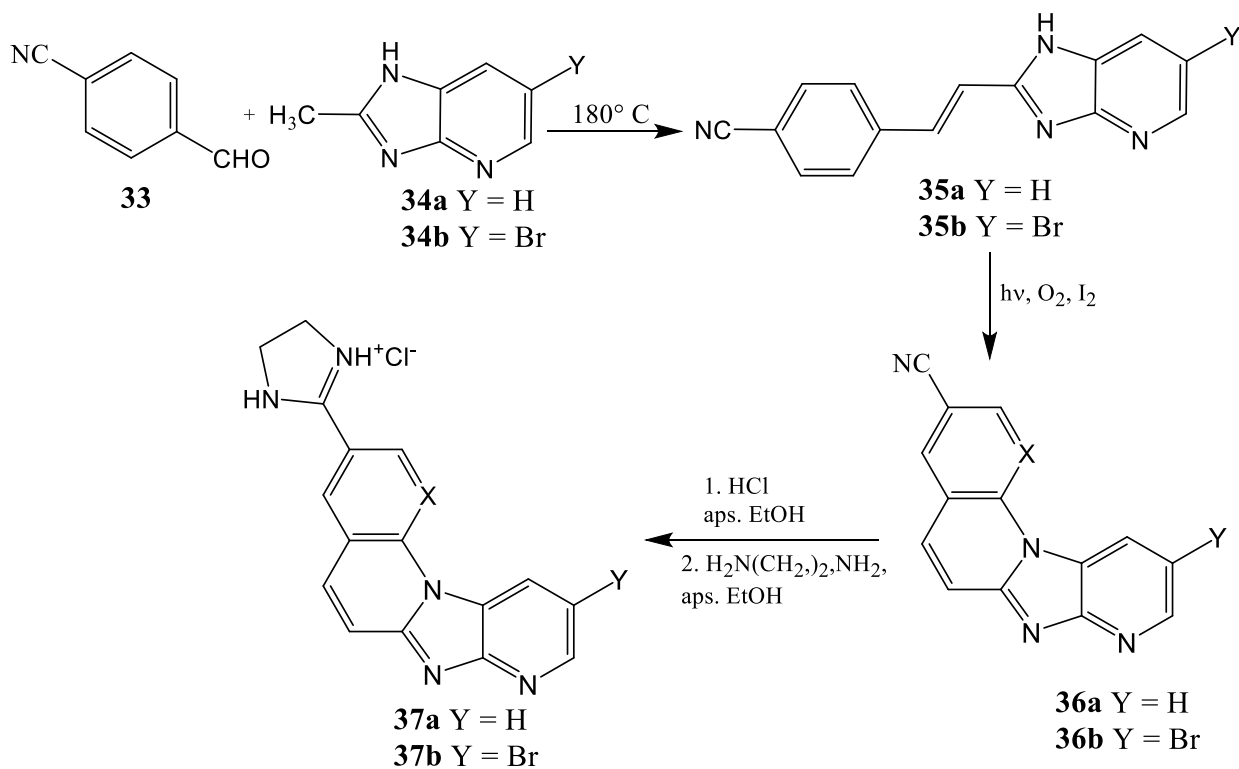
Triaza-benzo[*c*]fluoreni **29a-29d** priređeni su termalnom ciklizacijskom reakcijom na 280 °C u sulfolanu. Nesupstituirani ciklički derivat **29a** sintetiziran je reakcijom fotokemijske dehidrociklizacije etanolne otopine derivata **28a**. *N*-metilirani derivati **30a-30b** dobiveni su iz derivata **29a** i **29b** metiliranjem s metil-jodidom, dok metiliranje derivata **29c-29d** nije bilo uspješno. Amino-supstituirani derivati triaza-benzo[*c*]fluorena sintetizirani su u jako dobrom iskorištenju prema Shemi 14, reakcijom redukcije nitro-supstituiranih prekursora **30a-30b** sa $SnCl_2 \times 2H_2O$. Hidrokloridne soli iz gore spomenutih amino-derivata **32a-32b** pripremljene su protoniranjem korištenjem plinovitog HCl kako bi se osigurala bolja topljivost konačnih spojeva.



Shema 14. Sinteza amino supstituiranih derivata triaza-benzo[*c*]fluorena **31a-32b**

Cijano-supstituirani *E*-2-stiril-imidazo[4,5-*b*]piridini **35a-35b** dobiveni su u jako dobrom iskorištenju reakcijom ciklokondenzacije 2-metilimidazo[4,5-*b*]piridina **34a-34b** i *p*-cijanobenzaldehida **33** na 180 °C.¹⁷ Cijano-supstituirani triaza-benzo[*c*]fluoreni **36a-36b** pripremljeni su fotokemijskom ciklizacijom etanolne otopine spojeva **35a** i **35b** osvjetljavanjem s visokotlačnom živinom lampom.

Tijek fotokemijskih reakcija praćen je UV/Vis spektroskopijom. 2-imidazolinil-supstituirani triaza-benzo[*c*]fluoreni **37a-37b** priređeni su kao hidrokloridne soli Pinnerovom reakcijom za sintezu amidina iz dogovarajućih cijano-supstituiranih prekursora prema Shemi 15.¹⁸



Shema 15. Sinteza cijano-supstituiranih *E*-2-stiril-imidazo[4,5-*b*]piridina **35a-35b**, cijano-supstituiranih triaza-benzo[*c*]fluorena **36a-36b** i 2-imidazolinil supstituiranih triaza-benzo[*c*]fluorena **37a-37b**

Ispitana je antiproliferativna aktivnost priređenih derivata imidazo[4,5-*b*]piridina i triaza-benzo[*c*]fluorena na sedam ljudskih tumorskih staničnih linija uključujući HeLa (rak vrata maternice), SW620 (kolorektalni adenokarcinom), MiaPaCa-2 (rak gušterače), MCF-7 (rak dojke), Hep-2 (epidermalni karcinom), SK-BR-3 (adenokarcinom dojke) i WI38 (diploidni ljudski fibroblasti).

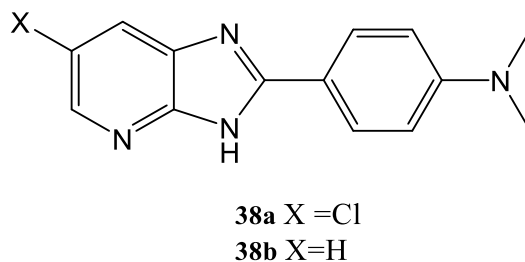
Većina testiranih spojeva pokazala je jaki citostatični efekt na sve stanične linije, ovisno o koncentraciji. Poseban je citostatični efekt uočen kod koncentracija od 1 do 10 μM za *E*-stiril supstituirane derivate imidazo[4,5-*b*]piridina **28a**, **28b**, **28d** i **35b** i za triaza-benzo[*c*]fluorene **30a**, **31a**, **31b**, **32a**, **37a** i **37b**. Iznimno, spoj **28e** i **29d** pokazao je nikakvu ili jako malu antiproliferativnu aktivnost. Spojevi **30a**, **31a** i **32a** pokazali su selektivni efekt na SK-BR-3 stanice. Spoj **30a** također je specifično zaustavljao rast MCF-7 i HeLa stanica.

Najveći nespecifični inhibitorski efekt na sve stanične linije u mikromolarnim koncentracijama uočen je kod triaza-benzo[*c*]fluorena **37a** i **37b** uzimajući u obzir da 2-imidazolinilni supstituent utječe na porast citotoksičnosti. Spojevi **31a** i **32a** pokazali su manju toksičnost prema normalnim ljudskim fibroblastima od drugih biološki aktivnih nosivih sinteziranih spojeva. Spoj **37a** pokazao je jaku selektivnost za dvije metastatske linije stanica, SK-BR-3 i SW620, koji su poznati po svojoj otpornosti na uobičajene kemoterapeutike.

Indukcija apoptoze detektirana je u SW620 i MiaPaCa-2 stanicama tretiranim s visokim koncentracijama spoja **37a**. Ova je indukcija ovisna o koncentraciji, a direktno je povezana sa mogućnošću umetanja u ds-DNK. To je potvrđeno spektrofotometrijskim ispitivanjem interakcije s ct-DNK, gdje je bilo vidljivo da se *N*-metil-supstituirani spoj **30a** i 2-imidazolinil-supstituirani triaza-benzo[*c*]derivati **37a** umeću u ds-DNK kao interkalatori. Slobodni amski analog **31a** veže se na DNK neinterkalirajućim načinom vezanja, što može biti djelomično odgovorno za uočenu nižu citotoksičnost u stanicama SK-BR-3 i kontrolnim fibroblastima. Najvjerojatnije je da molekule spoja **31a** tvore aglomerate unutar malog utora DNK i/ili međusobno djeluju s drugim biološki aktivnim molekulama uključenih u sintezu DNK, kao što je DNK replikacija enzima, što dovodi do zaustavljanja sinteze DNK.

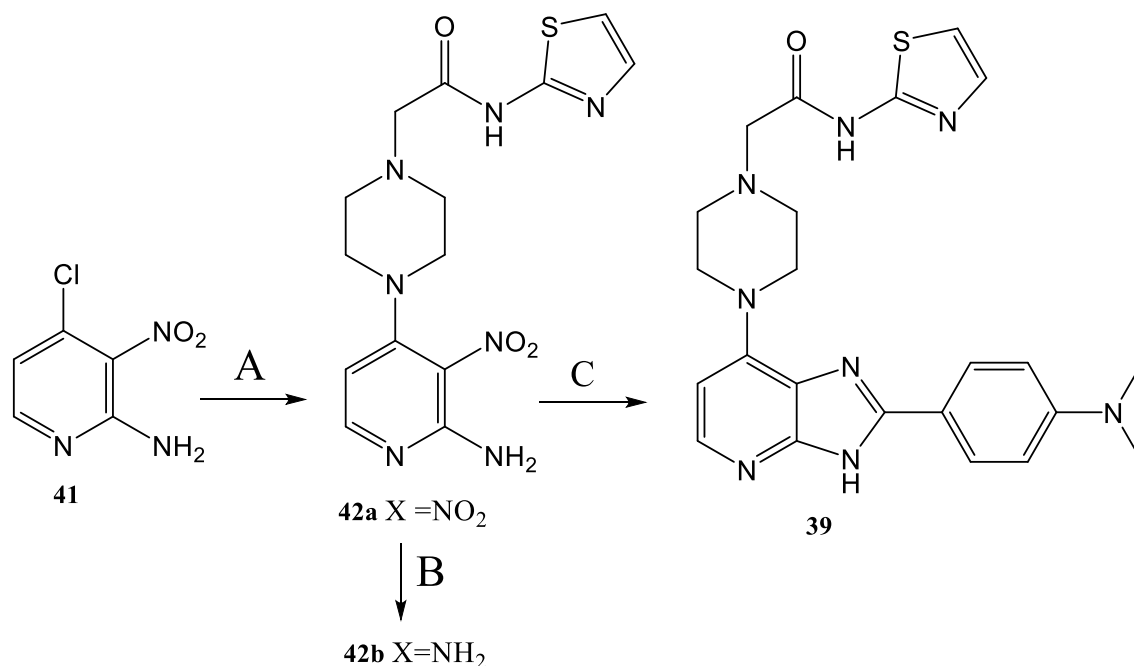
Znanstvenici predvođeni V. Bavetsiasom priredili su (2-[4-(6-klor-2-(4-(dimetilamino)fenil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-7-il]piperazin-1-il)-*N*-(tiazol-2-il)acetamid **40**, kao potencijalni inhibitor Aurora-A, Aurora-B i Aurora-C kinaza.¹⁹ Aurora proteini A, B i C su serin/treonin kinaze koji imaju glavnu ulogu u regulaciji mitoze, te sudjeluju u inicijaciji i progresiji raka.

Kao potencijalni inhibitori Aurora-A kinaze identificirani su imidazo[4,5-*b*]piridinski derivati **38a** i **38b** (Slika 6) koji su priređeni reakcijama oksidativne kondenzacije 2,3-diaminopiridina s aromatskim aldehydima u nitrobenzenu. Spoj **38a** pokazao je bolju inhibiciju Aurora-A kinaze od spoja **38b**. Smatra se da je razlog bolje inhibicije Aurora-A kinaze halogeni supstituent na položaju 6 u strukturi spoja **38a**.



Slika 6. Struktura spojeva **38a** i **38b**

Vodeći se time, nakon supstitucije na položaju 6, ideja je bila uvesti novi supstituent na položaju 7. Stoga se ispituje efekt supstituenata na položaj 7 te kombinacija supstituenata na položajima 6 i 7 na biološku aktivnost. Jedan od ciljeva sinteze piperazinskog derivata imidazo[4,5-*b*]piridina **39** (Shema 16) bila je mogućnost poboljšanja inhibicije kinaza uvođenjem dodatnih interakcija (piperazin-1-il)-*N*-(tiazol-2-il)acetamidne skupine u ciljanoj molekuli. Inkorporacija ovog fragmenta u strukturu konačnog spoja **39** dovela je do poboljšanja inhibicije Aurora-A, B i C kinaza.



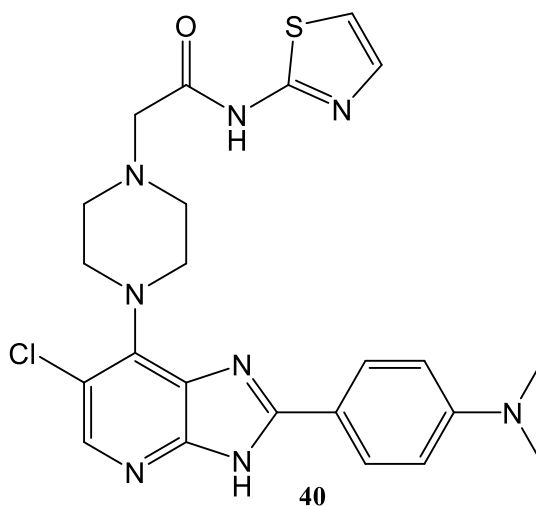
A 2-(piperazin-1-il)-*N*-(tiazol-2-il)acetamid, izopropanol, 90°C, 5h

B EtOH/EtOAc, 10% Pd/C, 1h

C 4-(dimetilamino)benzaldehyd, nitrobenzen, 140°C

Shema 16. Sinteza derivata **39**

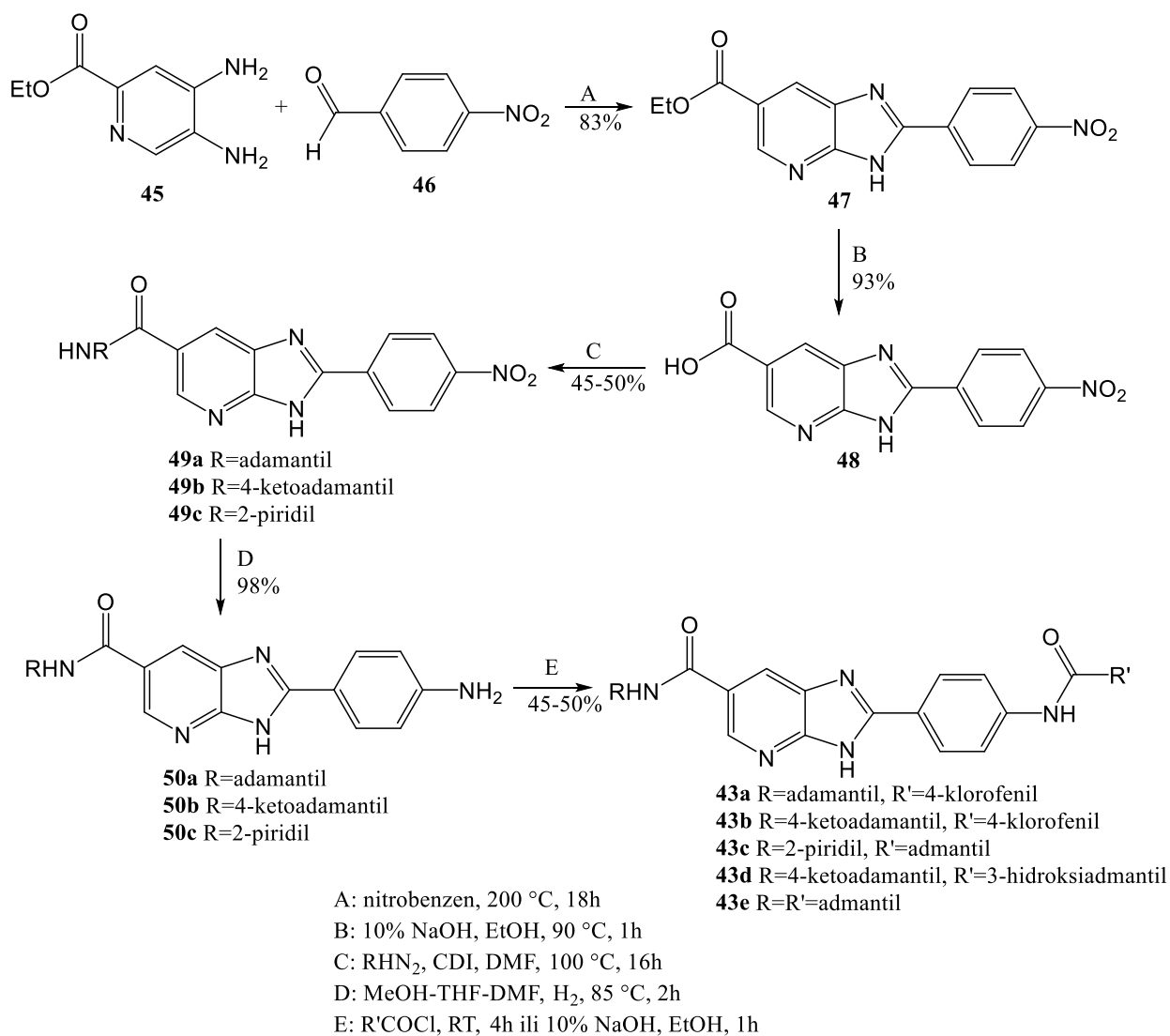
Posljedično, uključenje ovog fragmenta na položaj 7, uz halogeni supstituent na položaj 6 u strukturi spoja **40** utjecalo je na još bolju inhibiciju kinaza, pri čemu je ovaj spoj pokazao najbolje rezultate inhibicije Aurora-A, B i C kinaza (Slika 7). Osim toga, spoj **40** blokirao je proliferaciju stanica raka debelog crijeva, te posjeduje dobru mikrosomsku stabilnost i inhibitorsku aktivnost.



Slika 7. Struktura spoja **40**

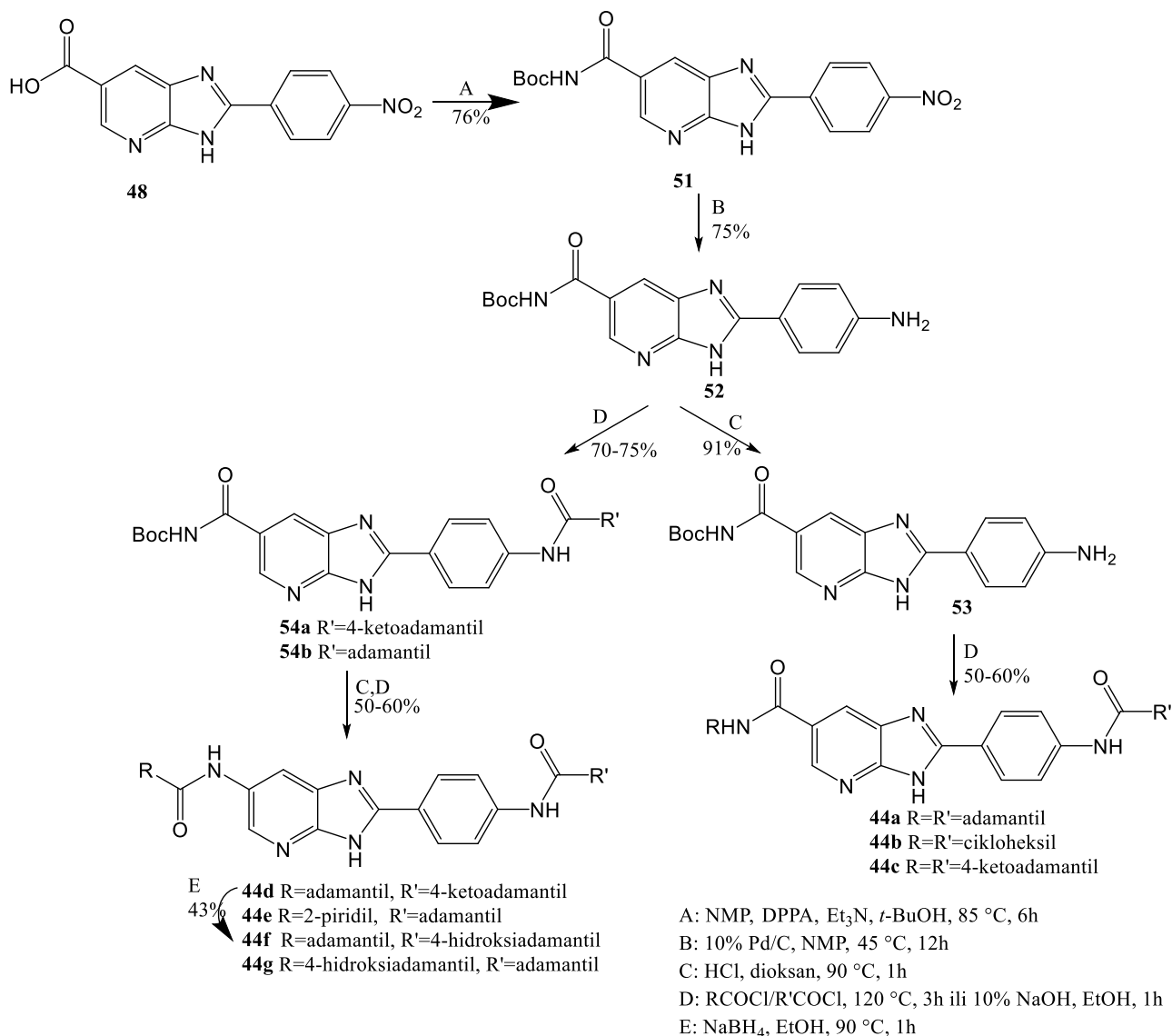
Predvođeni H. Baniem, grupa znanstvenika započela je istraživanje derivata 2-fenilimidazopiridina, koji su se pokazali efektivni za blokiranje širenja infekcije virusom herpesa na životinjskom modelu.²⁰ Ovi derivati pokazuju dobru antiviralnu aktivnost te bi se mogli dalje razvijati kao potencijalni antivirusici, posebno za liječenje otpornih sojeva virusa. Najbolju antivirusnu aktivnost pokazao je spoj **44a**, koji se pokazao efektivnim u spriječavanju razvijanja mjehurića infekcije virusom herpesa.

4-aminopikolinska kiselina pripravljena je reakcijom katalitičke hidrogenacije pikloram metil estera te podvrgnuta reakciji nitriranja. Otopini je dodana koncentrirana sulfatna kiselina i kalijev nitrat. Uslijedila je esterifikacija karboksilne skupine kako bi se dobio 4-amino-5-nitropiridin-1-karboksilat. Cikličkom hidrogenacijom uz paladij na ugljiku u 2-propanolu dobiven je etil-4,5-diaminopiridin-2-karboksilat **45**. Spoju **45** dodaje se 4-nitrobenzaldehyd **46** u nitrobenzenu na 200°C kako bi se dobio etil 2-(4-nitrofenil)-3*H*-imidazo[4,5-*c*]piridin-6-karboksilat **47**. Hidrolizom etilnog estera spoja **47** sa 10%-tnim etanolnim natrijevim hidroksidom na refluxu sintetizirana je 2-(4-nitrofenil)-3*H*-imidazo[4,5-*c*]piridin-6-karboksilna kiselina **48**. Reakcijom spoja **48** i alkilnih ili alifatskih amida u DMF-u pripremljen je nitroamid **49**. Nitro skupina reducirana je do amina **50**, a u reakciji sa kiselinskim kloridom konačno se dobivaju spojevi **43a-43e**. Reakcije su prikazane na Shemi 17.



Shema 17. Reakcijska shema dobivanja spojeva **43a-43e**

Drugom je metodom na Shemi 18 spoj **53** dobiven iz spoja **48**. U reakciji s DPPA, Et₃N i *t*-BuOH pripremljen je nitrokarbamat **51**. Nitro skupina reducirana je paladijem na ugljiku čime je dobiven amin **52**. Aminski karbamat **52** je kiselo kataliziranom hidrolizom preveden u aaminsku sol **53** koja u reakciji na 120 °C daje konačne spojeve **44a-44c**. Iz spoja **52** reakcijom se dobivaju spojevi **54a-54b**. Karbamatna skupina spojeva hidrolizirana je aminom i reakcijom u piridinu na 120 °C pri čemu su sintetizirani ostali konačni derivati **44d-44g**.



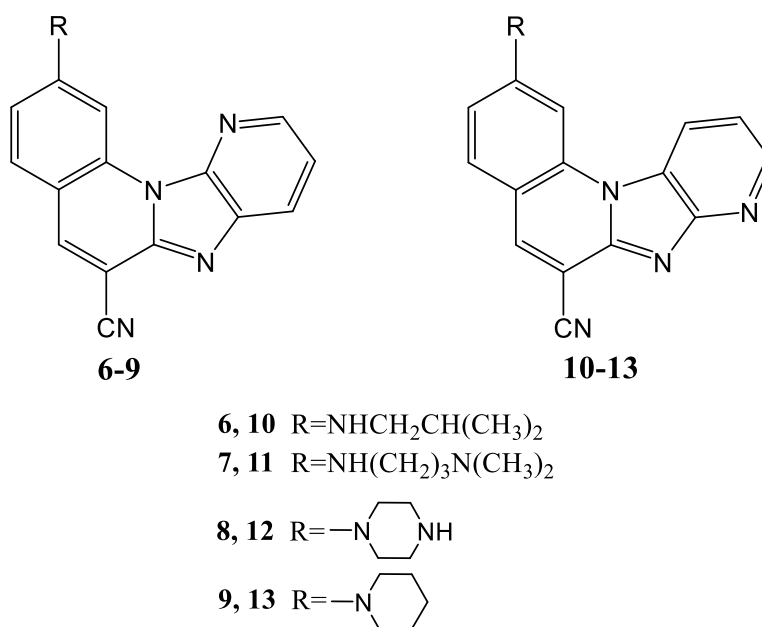
Shema 18. Reakcijska shema dobivanja spojeva **44a-44c** i **44d-44g**

Usporedbom dobivenih rezultata ispitivanja antivirusne aktivnosti spojeva **43b**, **44d**, **44f** i **44g** pokazalo se kako supstitucija kisika negativno utječe na antivirusnu aktivnost. Nadalje je primjećeno da ovi hidrofilniji analozi pokazuju mogućnost akumulacije u nižim unutarstaničnim koncentracijama nego njihove neoksidirane forme. Iako bi navedeni oksidirani analozi trebali pokazivati reduciranu staničnu penetraciju ili zadržavanje, taj efekt nije zamijećen. Kako bi se pokazalo da se antivirusna aktivnost može prenijeti na *in vivo* model, spoj **44a** testiran je na HSV infekciju. Efektivniji od do sada istraženih spojeva, zaključeno je da spoj **44a** ima novu potencijalnu ulogu u liječenju virusnih infekcija herpesa.

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. Cilj rada

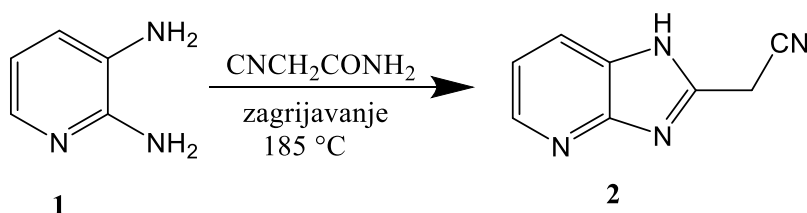
U ovom su radu sintetizirani potencijalni biološki aktivni tetraciklički derivati imidazo[4,5-*b*]piridina **6-13** supstituirani različitim aminskim lancima. Ciljani su derivati **6-9** i **10-13** priređeni mikrovalovima potpomognutom aminacijom iz glavnih halogeno supstituiranih prekursora, regioizomera 6-cijano-2-fluor-pirido[3'2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolina **5a** i 6-cijano-2-fluor-pirido[2'3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolina **5b**. Struktura priređenih spojeva potvrđena je ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom a neki priređeni derivati dodatno su okarakterizirani UV/Vis i fluorimetrijskom spektroskopijom.



Slika 1. Priređeni supstituirani tetraciklički derivati imidazo[4,5-*b*]piridina **6-9** i **10-13**

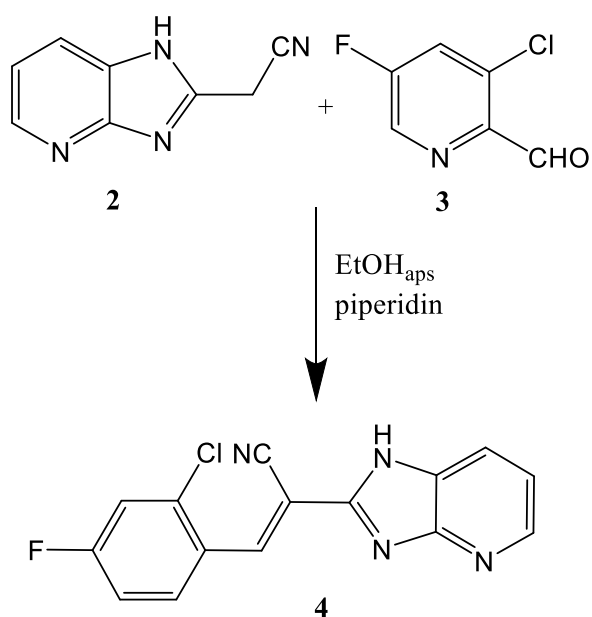
3.2. Sinteza priređenih spojeva

Za sintezu ciljanih amino supstituiranih tetracikličkih derivata imidazo[4,5-*b*]piridina, prvi je korak u njihovoj linearnoj sintezi, priprava 2-(1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)acetonitrila **2**.^{21,22} Na Shemi 19 prikazana je reakcija 2,4-diaminopiridina **1** i 2-cijanoacetamida kojom je zagrijavanjem na visokoj temperaturi i prekrystalizacijom smjese iz etanola priređen produkt **2** u iskorištenju od 84%.



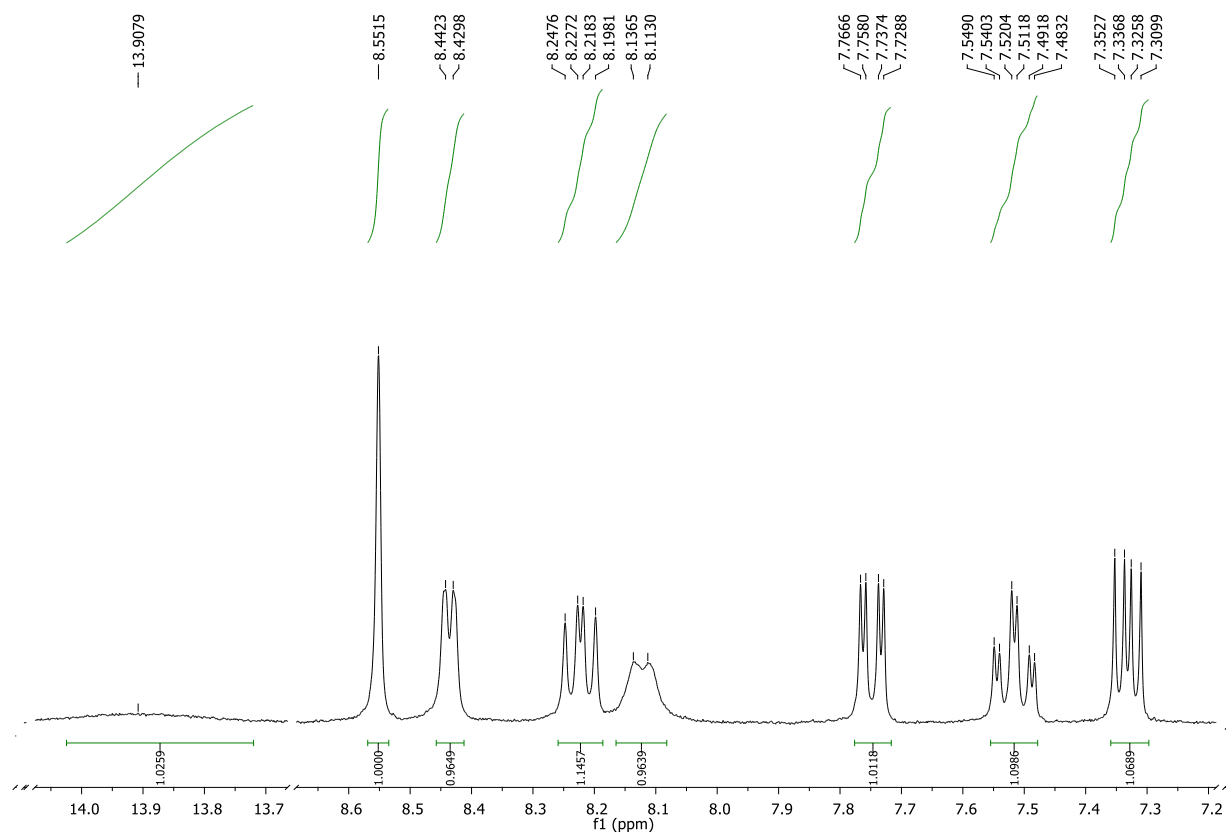
Shema 19.

U drugom se koraku provodi kondenzacija 2-(1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)acetonitrila **2** i 4-fluor-2-klorbenzaldehida **3** i u bazičnom mediju na temperaturi refluksa u trajanju od 1,5 h te nastaje 3-(4-fluor-2-klorfenil)-2-(imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)akrilonitril **4** u iskorištenju od 58%.



Shema 20.

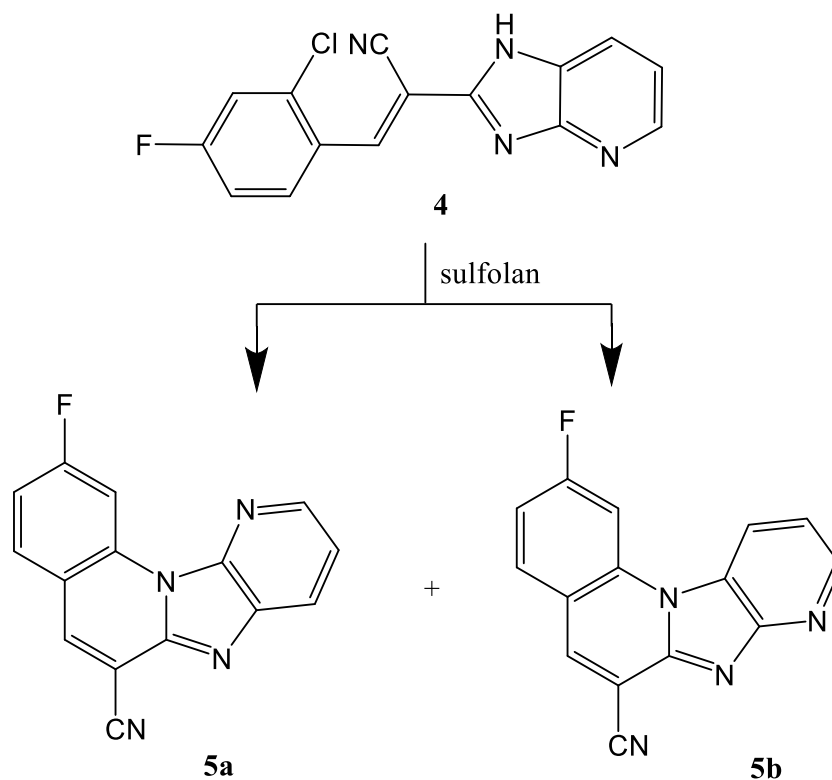
Struktura priređenog spoja **4** potvrđena je ^1H NMR spektroskopijom. Slika 2 prikazuje ^1H NMR spektar 3-(4-fluor-2-klorfenil)-2-(imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)akrilonitrila **4** u kojem se može uočiti odgovarajući broj signala aromatskih vodika u području 8,55-7,33 ppm. Na 13,91 ppm nalazi se singlet protona NH skupine imidazo[4,5-*b*]piridinske jezgre.



Slika 2. ^1H NMR spektar 3-(4-fluor-2-klorfenil)-2-(imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)akrilonitrila **4**

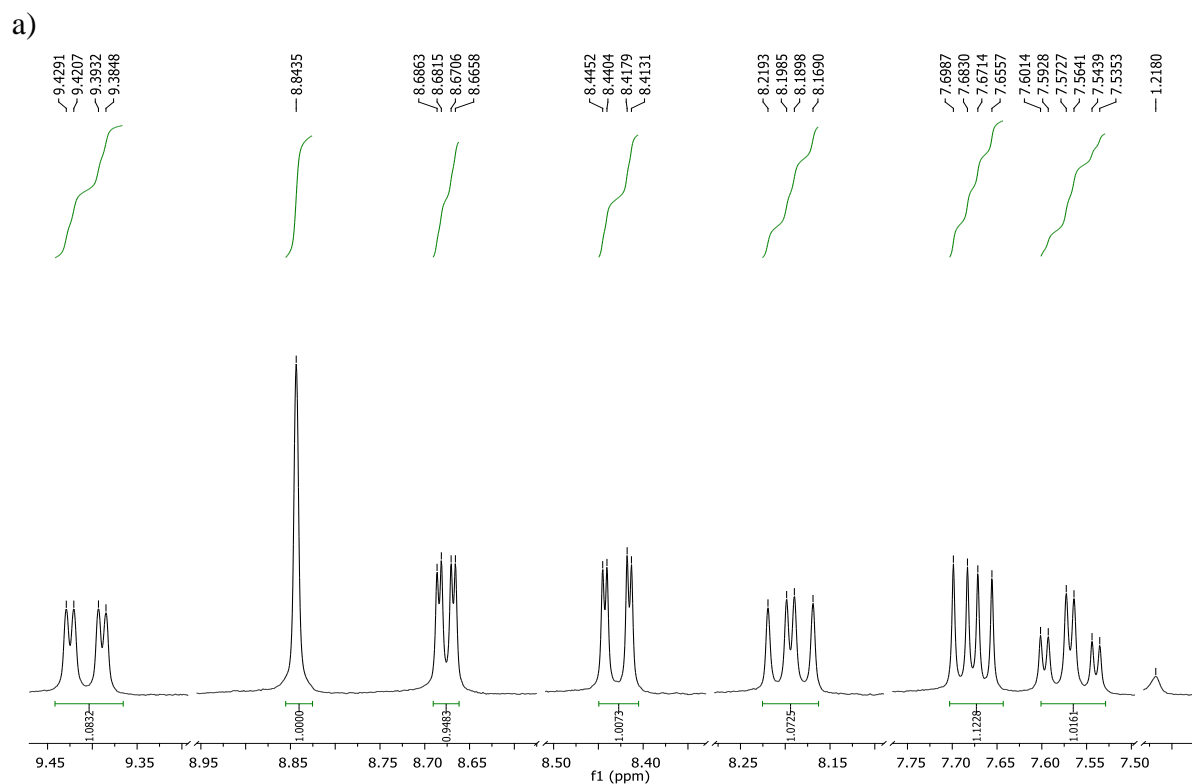
Sljedeći korak u sintezi bila je priprava glavnih prekursora za sintezu ciljanih spojeva, halogeno supstituiranih regioizomera 6-cijano-2-fluor-pirido[3'2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolina **5a** i 6-cijano-2-fluor-pirido[2'3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolina **5b**.

Termičkom ciklizacijom 3-(4-fluor-2-klorfenil)-2-(imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)akrilonitrila **4** u sulfolanu na visokoj temperaturi priređen je ciklički produkt u obliku smjese dva regioizomera **5a** i **5b** u omjeru 1:1.²³ Regioizomeri su odvojeni kolonskom kromatografijom na silikagelu. Spoj **5a** dobiven je u iskorištenju od 27%, a spoj **5b** u iskorištenju od 20%. Reakcija je prikazana na Shemi 21.

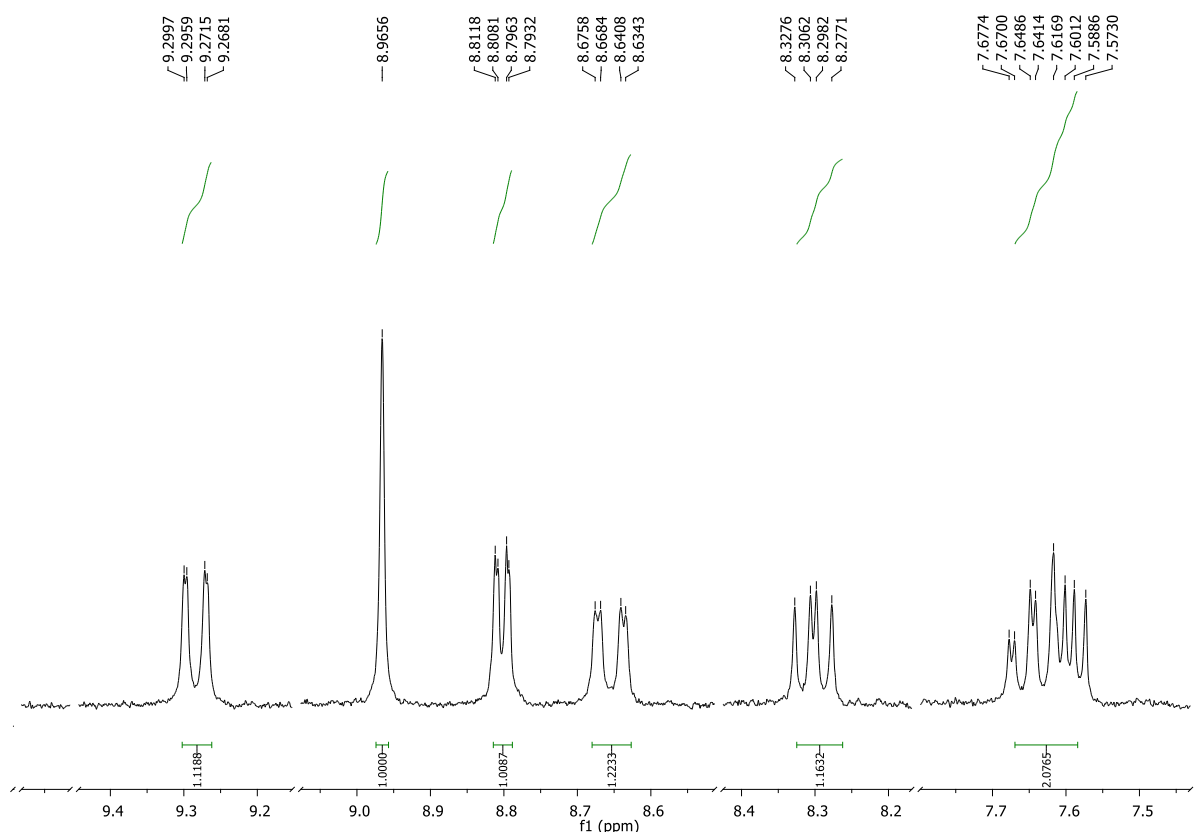


Shema 21.

Strukture regioizomera **5a** i **5b** potvrđene su ^1H NMR spektroskopijom a spektri su prikazani na Slici 3.



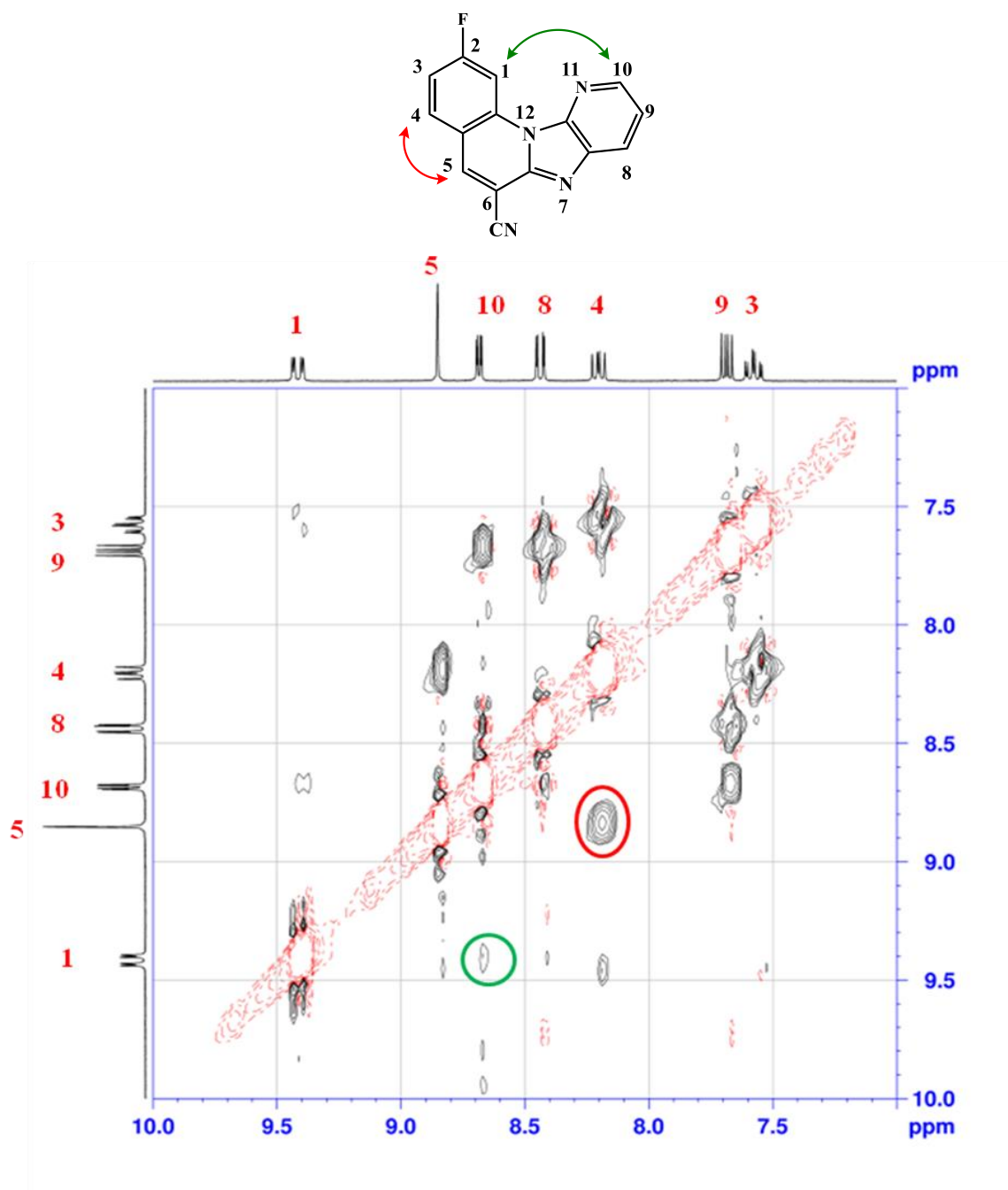
b)



Slika 3. a) ^1H NMR spektar 6-cijano-2-fluor-pirido[3'2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolina **5a** i b) spektar 6-cijano-2-fluor-pirido[2'3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolina **5b**

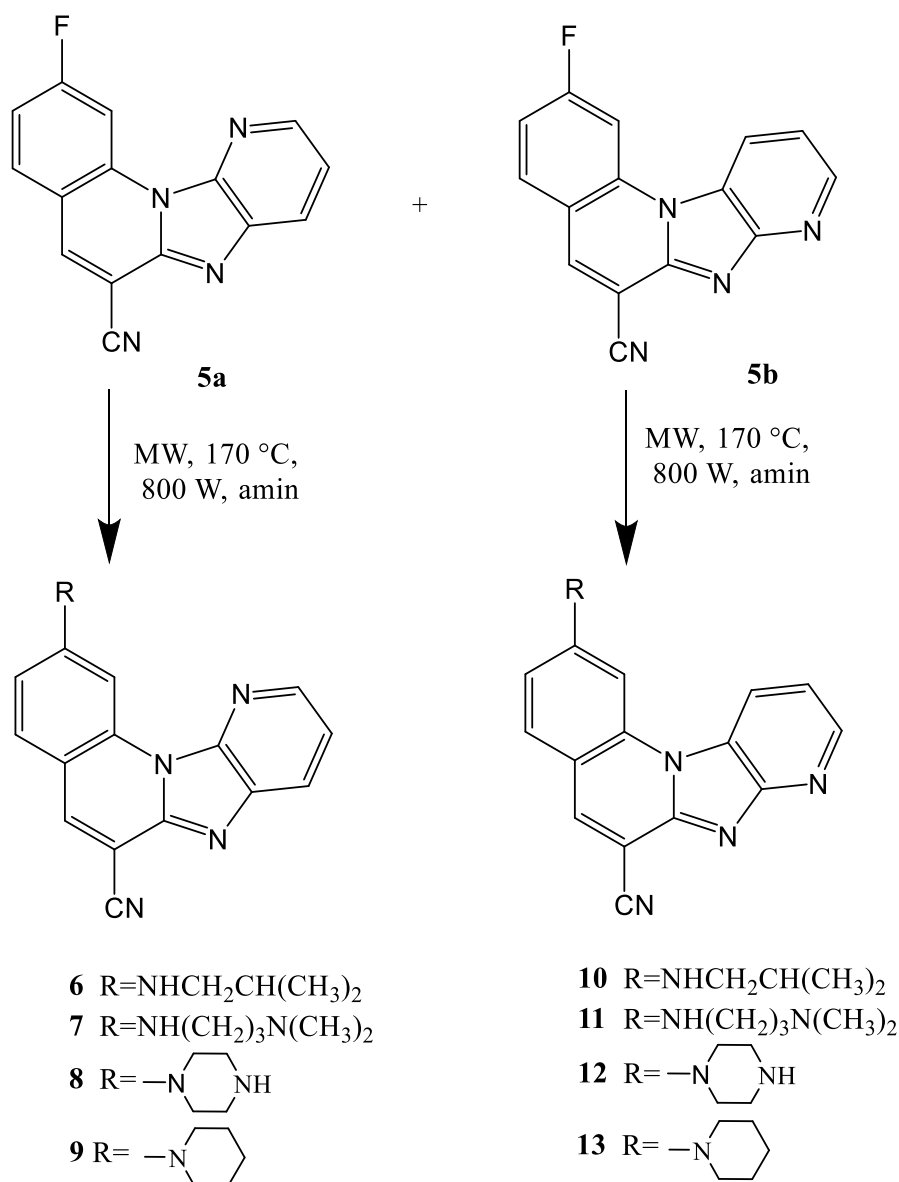
Na Slici 3a u ^1H NMR spektru vidljiv je određeni broj signala aromatskih protona u području od 9,41 do 7,56 ppm a uočen je i nestanak protona NH skupine imidazo[4,5-*b*]piridinske jezgre čime je dodatno potvrđena ciklizacija tj. nastanak tetracikličkog regioizomera. Na Slici 3b vidljiv je određeni broj signala aromatskih protona u području od 9,29 do 7,56 ppm te također nestanak protona NH skupine imidazopiridinske jezgre.

Struktura regioizomera **5a** dodatno je potvrđena korištenjem 2D NOESY NMR spektroskopije, a NOESY spektar je prikazan na Slici 4. U spektru se mogu uočiti prostorne interakcije između signala protona na C1 atomu i signala protona na C10 atomu piridinske jezgre. Dodatno su uočene i prostorne interakcije između signala protona na C4 atomu i protona na C5 atomu.



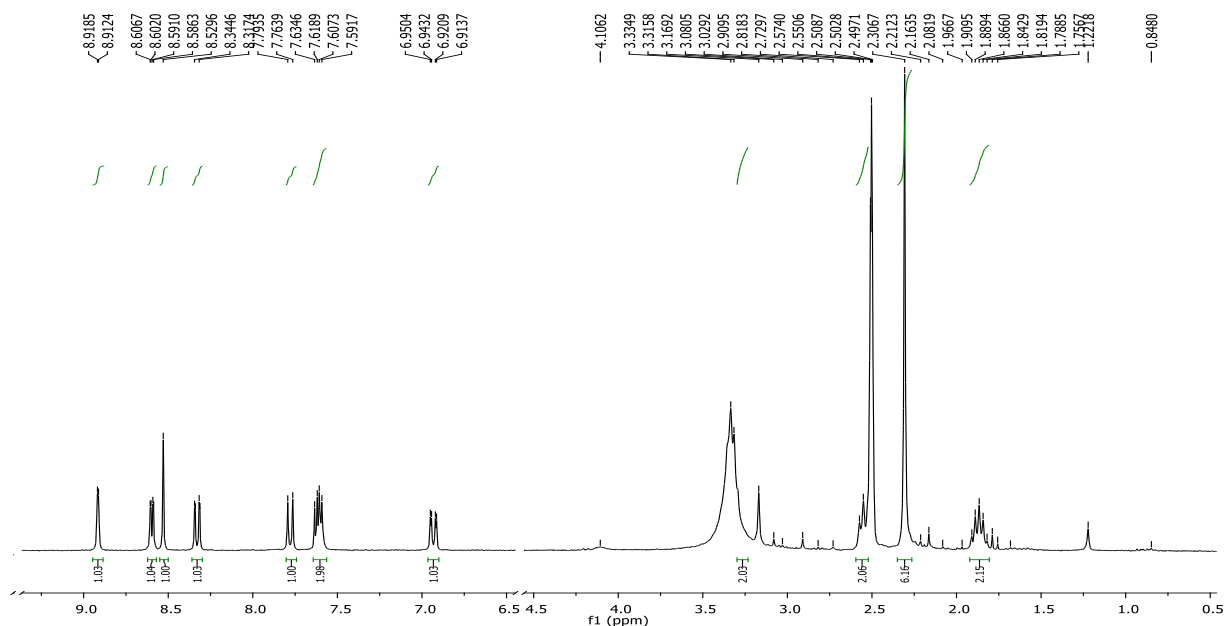
Slika 4. NOESY spektar regioizomera **5a**

Razdvojeni halogeno supstituirani regioizomeri **5a** i **5b**, kao glavni prekursori za sintezu ciljanih spojeva, podvrgnuti su aminaciji potpomognutoj mikrovalovima, korištenjem MW zračenja snage 800 W i visoke temperature kako bi se priredili odgovarajući 2-aminosupstituirani derivati **6-13**.^{24,25} Na Shemi 22 prikazan je postupak sinteze navedenih spojeva.



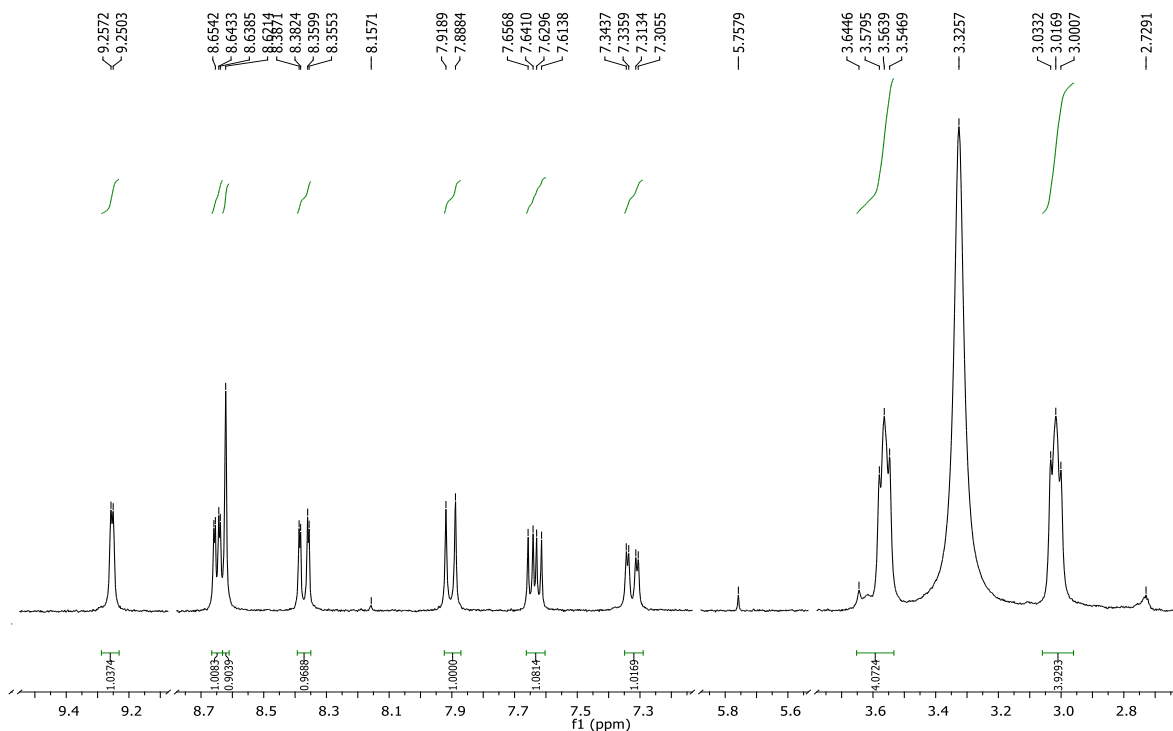
Shema 22.

Reakcijom 6-cijano-2-fluor-pirido[3'2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolina **5a** i odgovarajućih amina priređeni su željeni amino supstituirani derivati **6-9** u iskorištenjima od 54, 45, 45 i 51%. Struktura svih priređenih derivata **6-9** potvrđena je ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom. Na Slici 5 prikazan je ^1H NMR spektar 2-[(3-(*N,N*-dimetilamino)propil)amino]pirido[3',2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **7**. U ovome se spektru može uočiti odgovarajući broj signala aromatskih protona od 8,92-6,93 ppm te signali alifatskih protona u području od 3,30 do 1,81 ppm kao dva multiplleta i tripleta protona CH_2 skupine i šest vodikovih protona CH_3 skupina.



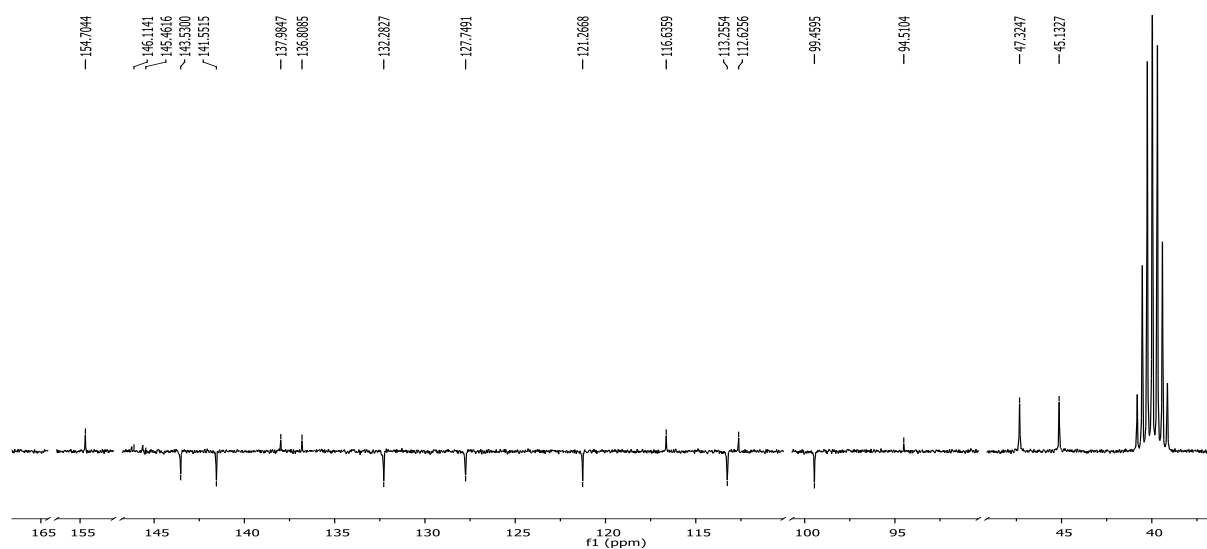
Slika 5. ^1H NMR spektar 2-[(3-(*N,N*-dimetilamino)propil)amino]pirido[3',2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **7**

Slika 6 prikazuje ^1H NMR spektar 2-(*N*-piperazin-1-il)pirido[3',2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **8** u kojem se mogu uočiti signali aromatskih protona u području od 9,25 do 7,32 ppm. U alifatskom dijelu spektra nalaze se dva tripleta protona CH_2 skupina piperazinske jezgre, na 3,58 ppm i 3,02 ppm.



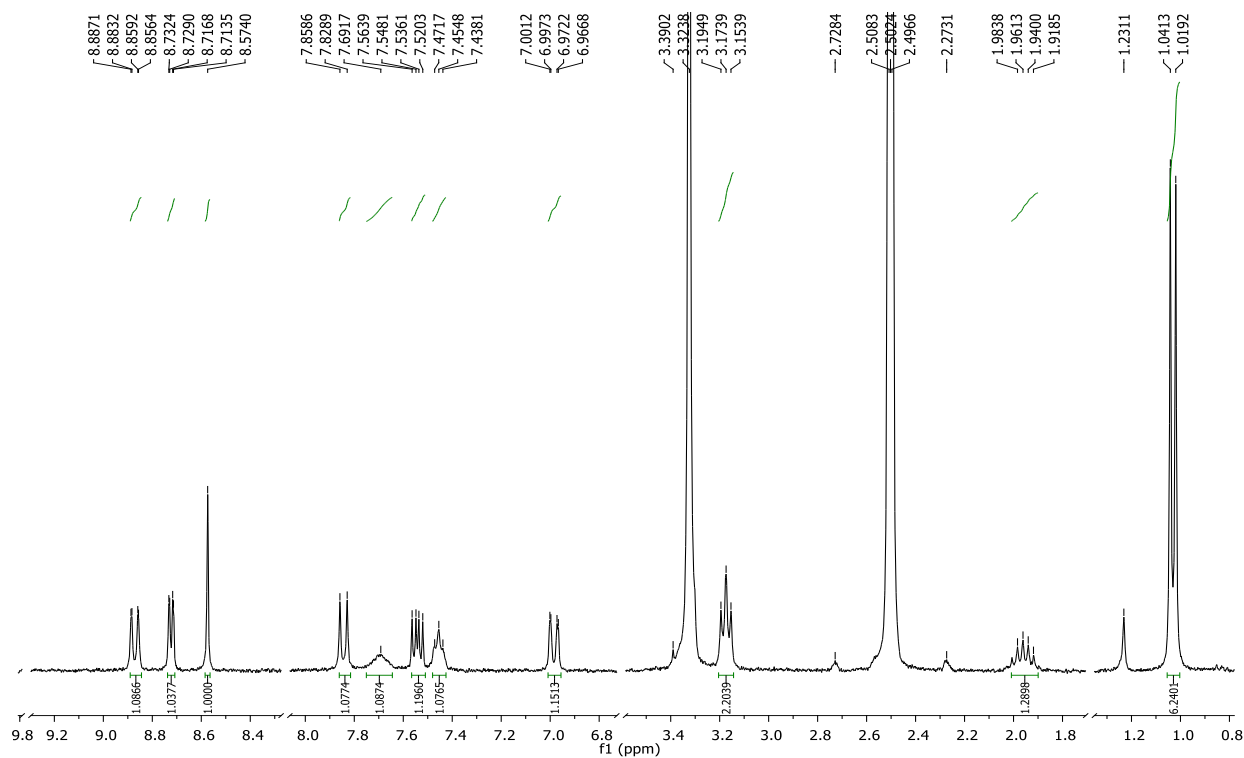
Slika 6. ^1H NMR spektar 2-(piperazin-1-il)pirido[3',2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **8**

Slika 7 prikazuje ^{13}C NMR spektar spoja **8** u kojem se uočavaju odgovarajući signali kvaternih i aromatskih ugljikovih atoma te signali CH_2 skupina piperazinskog supstituenta.



Slika 7. ^{13}C NMR spektar spoja **8**

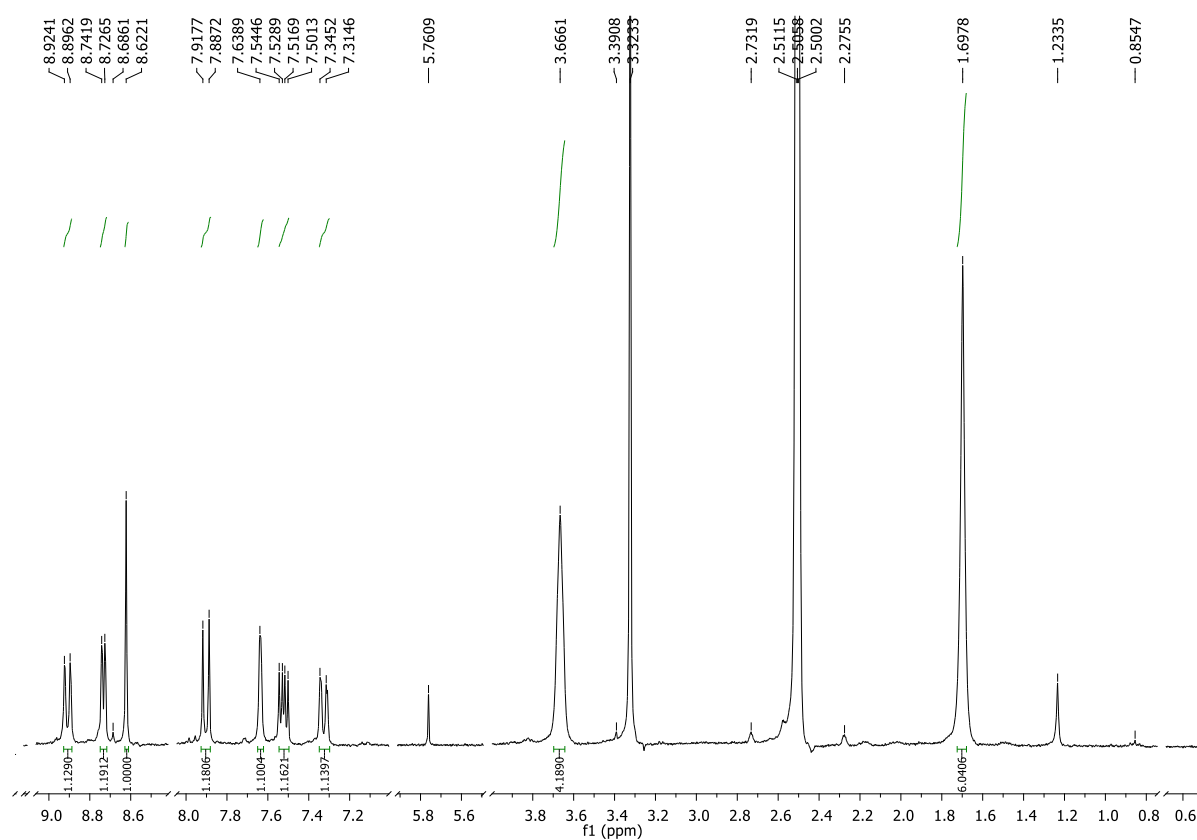
Na Slici 8 prikazan je ^1H NMR spektar 2-(*N*-izobutilamino)pirido[2',3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **10**.



Slika 8. ^1H NMR spektar 2-(*N*-izobutilamino)pirido[2',3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **10**

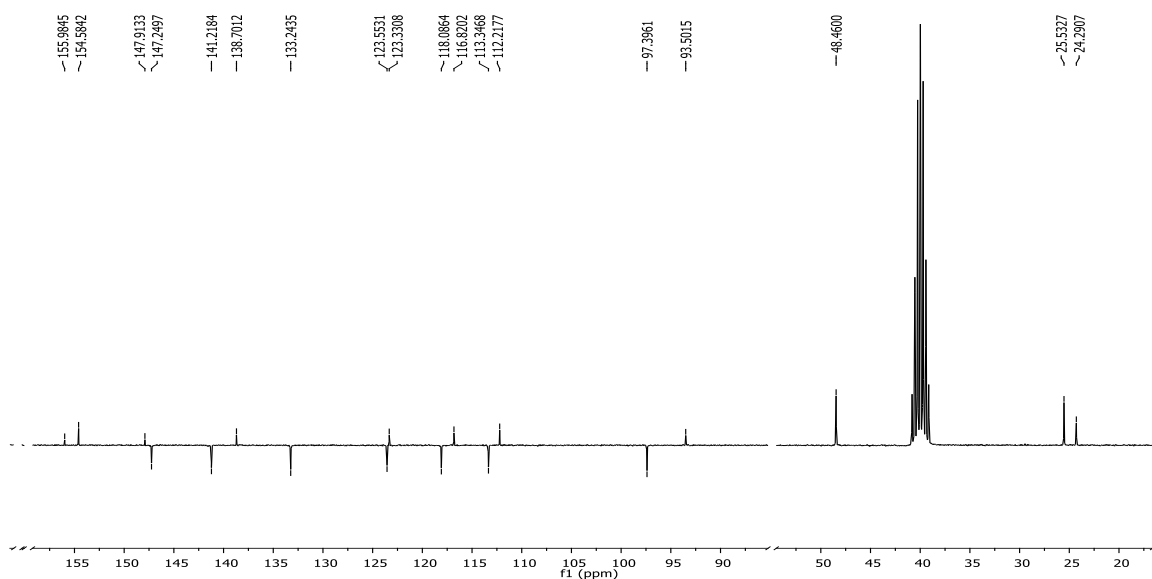
U spektru se u aromatskom dijelu uočavaju signali aromatskih protona u području od 8,87 do 6,99 ppm. U ovom je dijelu na 7,45 ppm vidljiv triplet protona NH aminske skupine, dok se ostatak signala protona izobutilaminskog supstituenta uočava kao triplet na 3,17 ppm, multiplet na 2,01-1,90 ppm te dublet na 1,03 ppm.

Na Slici 9 prikazan je ^1H NMR spektar 2-(*N*-piperidin-1-il)pirido[2',3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **13**. U području od 8,91 do 7,33 ppm nalaze se signali aromatskih protona, a u alifatskom dijelu nalaze se signali protona piperidinskog supstituenta. Na 3,67 ppma nalazi se singlet 4 protona CH_2 skupina piperidinske jezgre, a na 1,70 ppma singlet 6 protona preostalih CH_2 skupine piperidinske jezgre.



Slika 9. ^1H NMR spektar 2-(piperidin-1-il)pirido[2',3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **13**

Na Slici 10 prikazan je ^{13}C NMR spektar 2-(piperidin-1-il)pirido[2',3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **13** u kojem se može uočiti odgovarajući broj signala kvaternih i aromatskih ugljikovih atoma CH skupine te signali ugljikovih atoma CH_2 skupina piperidinskog supstituenta.



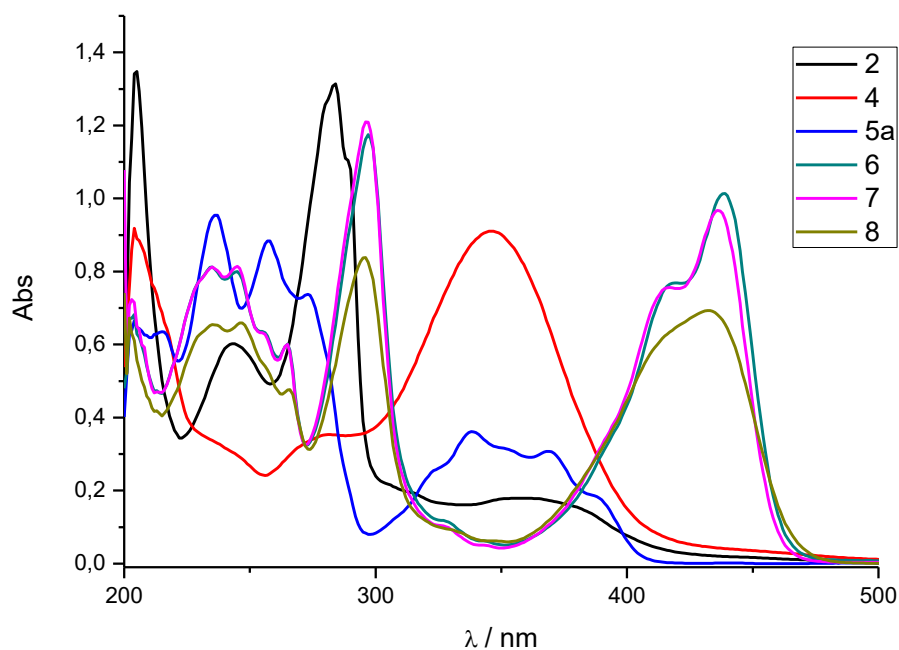
Slika 10. ^{13}C NMR spektar 2-(*N*-piperidin-1-il)pirido[2',3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **13**

3.3. Spektroskopska karakterizacija priređenih spojeva

3.3.1. UV/Vis spektroskopija

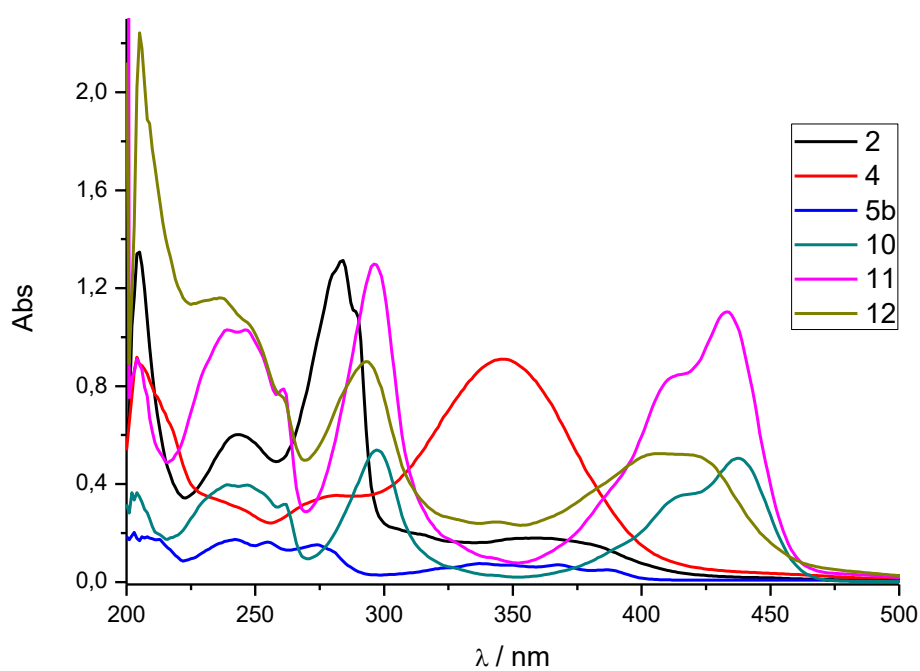
Svim priređenim spojevima ispitane su spektroskopske karakteristike korištenjem UV/Vis spektroskopije. Matične otopine spojeva priređene su u etanolu. Nekim spojevima kvantitativni apsorpcijski spektri snimani su pri koncentraciji od 2×10^{-5} mol dm $^{-3}$. Na Slici 11 prikazani su usporedni kvalitativni apsorpcijski spektri amino supstituiranih derivata imidazo[4,5-*b*]piridina **6**, **7** i **8** prvog regioizomera **5a**, te njihovih prekursora **2** i **4**.

Usporedbom apsorpcijskih spektara može se uočiti značajan batokromni pomak maksimuma apsorpcije akrilonitrilnog spoja **4** u odnosu na acetonitrilni prekursor **2** za ~ 50 nm. Ciklizacijom derivata **4** nastaju tetraciklički regioizomeri **5a** i **5b** koji su uspješno razdvojeni. U području od 235-275 nm može se uočiti da je zamjenom halogenog supstituenta s odgovarajućim amino supstituentima došlo do značajnog batokromnog pomaka s izraženim maksimumima apsorpcije na 440 nm. U području od 300-400 nm vidljivo je više maksimuma apsorpcije spoja **5a** u odnosu na spoj **4**. Amino supstituirani ciklički derivati **6** i **7** pokazuju dva maksimuma apsorpcije u području od 420-460 nm. Piperazinil supstituirani derivat **8**, za razliku od ostala dva derivata, pokazuje samo jedan maksimum apsorpcije.



Slika 11. Kvalitativni apsorpcijski spektri spojeva **2**, **4**, **5a**, **6**, **7** i **8** u etanolu

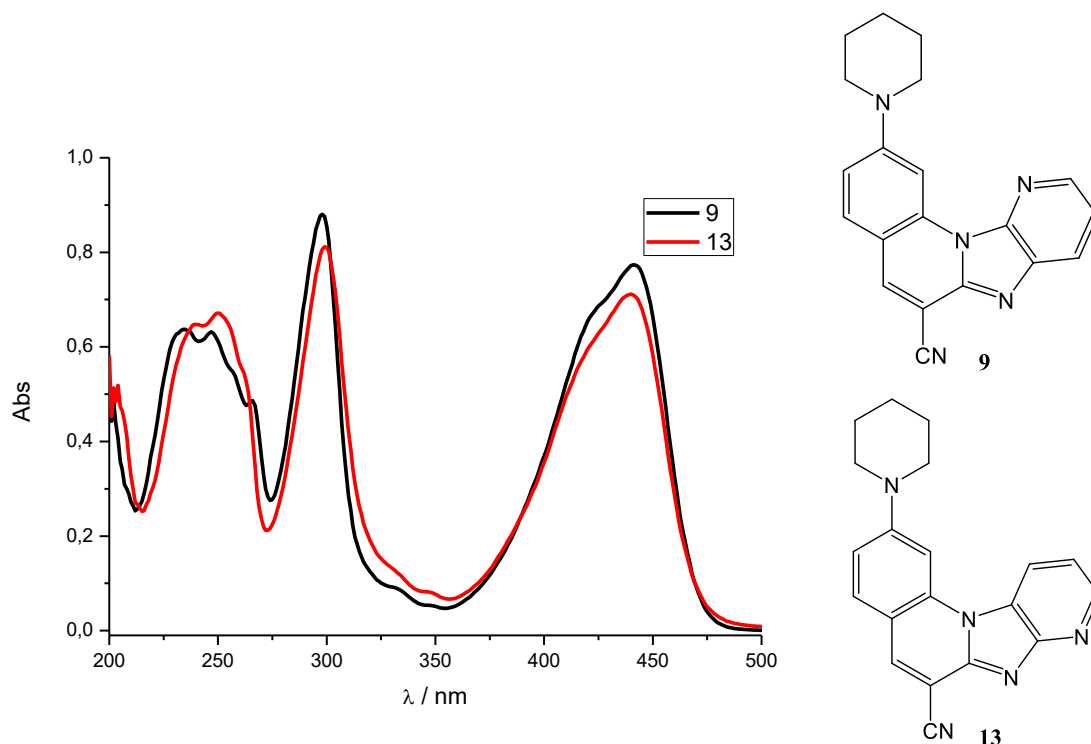
Na Slici 12 su prikazani usporedni kvalitativni apsorpcijski spektri amino supstituiranih derivata imidazo[4,5-*b*]piridina **10**, **11** i **12** drugog regioizomera **5b**, te acikličkih prekursora **2** i **4**.



Slika 12. Kvalitativni apsorpcijski spektri spojeva **2**, **4**, **5b**, **10**, **11** i **12** u etanolu

Ciljani amino supstituirani ciklički derivati **10-12** pokazuju izraziti batokromni pomak u odnosu na halogeno supstituirani prekursor **5b**.

Na Slici 13 prikazani su usporedni kvantitativni spektri spojeva **9** i **13**. Emisijski spektri oba spoja snimani su u etanolu pri koncentraciji $5 \times 10^{-8} \text{ mol dm}^{-3}$. Piperidinski ciklički derivat **13** pokazuje blagi hiperkromni pomak maksimuma apsorancije u području valnih duljina od 200 do 275 nm te blagi batokromni pomak u odnosu na piperidinski ciklički derivat **9**. U području 300 i ~440 nm vidljiv je batokromni i hiperkromni pomak spoja **9**.



Slika 13. Kvantitativni apsorpcijski spektar spojeva **9** i **13** u etanolu

Tablica 1. Valne duljine maksimuma apsorancije i pripadajući ekstincijski koeficijenti

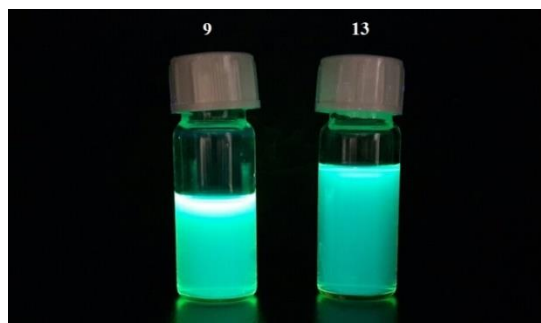
Spoj	$\lambda_{\text{max}} / \text{nm}$	$\epsilon / \text{dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$
9	440	38637
	298	44088
	265	24251
	247	31385
	232	31906
13	439	35480
	299	40514
	250	33485
	237	32338

3.3.2. Fluorimetrijska spektroskopija

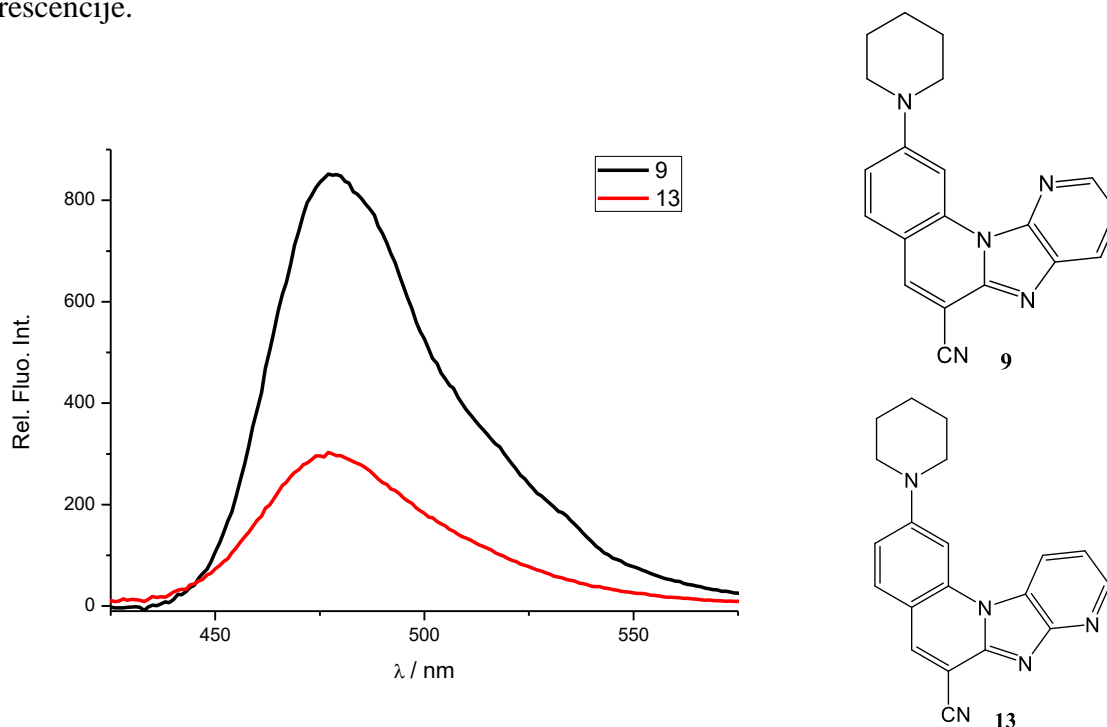
Zbog visoke osjetljivosti ove metode, fluorimetrijska spektroskopska ispitivanja mogu se provoditi pri manjim koncentracijama. Fluorimetrijski emisijski spektri snimani su za dva spoja, 2-(piperidin-1-il)pirido[3',2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril **9** i 2-(piperidin-1-il)pirido[2',3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril **13**. Mjerenja su provedena u etanolu pri koncentraciji spojeva 5×10^{-8} mol dm⁻³. Otopine priređenih spojeva pobuđene su svjetlošću valne duljine od 300 nm. U Tablici 2. navedeni su podaci o valnoj duljini emisije i intenzitetu fluorescencije spojeva **9** i **13**.

Tablica 2. Intenzitet fluorescencije spojeva

Spoj	λ_{emis} / nm	I / (a.u.)
9	478	854
13	477	301



Na Slici 14. prikazani su emisijski spektri spojeva **9** i **13** te se može zaključiti da oba spoja pokazuju intenzitet fluorescencije pri danim uvjetima. Spoj **9** u odnosu na spoj **13** pokazuje blagi batokromni pomak maksimuma emisije te izraziti hiperkromni pomak intenziteta fluorescencije.



Slika 14. Fluorimetrijski emisijski spektri spojeva **9** i **13** snimani u etanolu pri koncentraciji 5×10^{-8} mol dm⁻³

4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. Opće napomene

^1H i ^{13}C NMR spektri snimljeni su na spektrometrima Bruker AV600 i Bruker AV600. ^1H NMR spektri snimani su pri 300 i 600 MHz, dok su ^{13}C NMR spektri snimani pri 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.

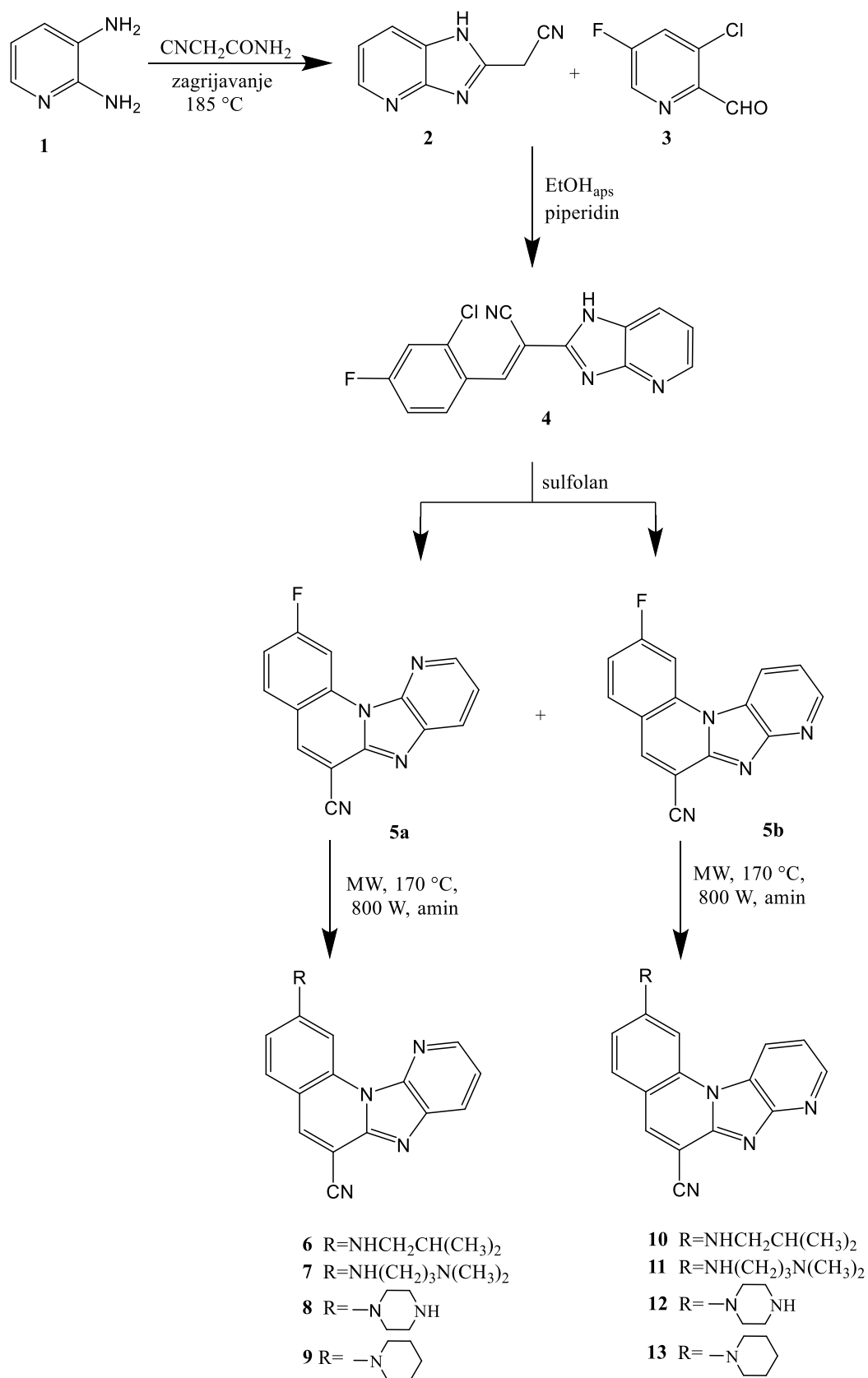
Tališta priređenih spojeva određena su na SMP11 Bibby i Büchi 535 aparatu te nisu korigirana.

UV/Vis spektri snimljeni su na Varian Cary 50 spektrofotometru. Fluorescencijski emisijski spektri snimljeni su na Cary Eclipse spektrofotometru. U oba slučaja korištene su kvarcne kivete promjera 0,5 cm te volumena 3 cm³.

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

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

4.2. Sinteza derivata imidazo[4,5-*b*]piridina



Shema 23.

Priprava 2-(1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)acetonitrila **2**

U okruglu tikvicu stavi se 2,800 g (25,70 mmol) 2,4-diaminopiridina **1** i 4,310 g (25,70 mmol) 2-cijanoacetamida, dobro se promiješa i zagrijava u uljnoj kupelji pri 190 °C 20 minuta. Smjesa se prekrystalizira iz 130 ml 50% etanola, kratko prokuha s aktivnim ugljenom i upari na mali volumen. Nastali talog se profiltrira. Dobiveno je 3,420 g (84%) svijetlo smeđeg praškastog produkta. T.t. 268–271 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ/ppm = 13,21 (s, 1H, NH), 8,34 (s, 1H, H_{arom}), 8,00 (s, 1H, H_{arom}), 7,25 (dd, *J*₁ = 8,03, *J*₂ = 4,79 Hz, 1H, H_{arom}), 4,42 (s, 2H, CH₂).

Priprava 3-(4-fluor-2-klorfenil)-2-(imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)akrilonitrila **4**

Reakcijska smjesa 1,000 g (6,27 mmol) 2-(1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)acetonitrila **2**, 7 ml apsolutnog etanola, par kapi piperidina i 1,000 g (6,27 mmol) 4-fluor-2-klorbenzaldehida **3** refluksira se 1,5 h. Po završetku reakcije ohlađena smjesa se profiltrira, a dobiveni talog prekrystalizira iz 70 ml etanola. Dobiveno je 1,080 g (58%) žutog praškastog produkta. T.t. 246–249 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ/ppm = 13,91 (s, 1H, NH), 8,55 (s, 1H, H_{arom}), 8,44 (d, *J* = 3,75 Hz, 1H, H_{arom}), 8,22 (dd, *J*₁ = 8,76 Hz, *J*₂ = 6,09 Hz, 1H, H_{arom}), 8,12 (d, *J* = 7,05 Hz, 1H, H_{arom}), 7,75 (dd, *J*₁ = 8,76 Hz, *J*₂ = 2,58 Hz, 1H, H_{arom}), 7,52 (td, *J*₁ = 8,57 Hz, *J*₂ = 2,59 Hz, 1H, H_{arom}), 7,33 (dd, *J* = 8,07 Hz, *J*₂ = 4,77 Hz, 1H, H_{arom}); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO): δ/ppm = 163,78 (d, *J*_{CF} = 256,02 Hz), 157,77, 144,38, 142,23, 135,95, 135,71, 132,21 (d, *J*_{CF} = 9,00 Hz), 128,35, 118,37 (d, *J*_{CF} = 25,50 Hz), 115,99 (d, *J*_{CF} = 21,10 Hz), 115,51.

Priprava 6-cijano-2-fluor-pirido[3'2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolina **5a** i 6-cijano-2-fluor-pirido[2'3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolina **5b**

Reakcijska smjesa 0,840 g (2,81 mmol) 3-(4-fluor-2-klorfenil)-2-(imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)akrilonitrila **4** i 6,5 mL sulfolana zagrijava se 25 minuta pri 280 °C. Po završetku reakcije smjesi se doda vode, nastali talog se profiltrira. Dobiveno je 0,711 g smeđeg praškastog produkta u obliku smjese regioizomera u omjeru **5a:5b** = 1:1 koji su odvojeni kolonskom kromatografijom na silikagelu uz eluens CH₂Cl₂/metanol.

6-cijano-2-fluor-pirido[3'2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin 5a

Dobiveno je 0,201 g žutog praškastog produkta **5a** u iskorištenju od 27%. T.t. 290–292 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ/ppm = 9,41 (dd, $J_1 = 10,77$, $J_2 = 2,52$ Hz, 1H, H_{arom}), 8,84 (s, 1H, H_{arom}), 8,68 (dd, $J_1 = 4,71$, $J_2 = 1,44$ Hz, 1H, H_{arom}), 8,43 (dd, $J_1 = 8,19$, $J_2 = 1,44$ Hz, 1H, H_{arom}), 8,19 (dd, $J_1 = 8,85$, $J_2 = 6,24$ Hz, 1H, H_{arom}), 7,68 (dd, $J_1 = 8,19$, $J_2 = 4,71$ Hz, 1H, H_{arom}), 7,56 (td, $J_1 = 8,61$ Hz, $J_2 = 2,59$ Hz, 1H, H_{arom}); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO): δ/ppm = 164,90 (d, $J_{CF} = 250,71$ Hz), 145,06, 144,59, 141,81, 136,84, 136,66, 136,49, 133,90 (d, $J_{CF} = 10,73$ Hz), 128,75, 121,78, 118,42, 115,42, 114,70 (d, $J_{CF} = 23,36$ Hz), 104,30 (d, $J_{CF} = 28,62$ Hz), 100,91.

6-cijano-2-fluor-pirido[2'3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin 5b

Dobiveno je 0,148 g žutog praškastog produkta **5b** u iskorištenju od 20 %. T.t. >300 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ/ppm = 9,29 (dd, $J_1 = 8,40$ Hz, $J_2 = 1,08$ Hz, 1H, H_{arom}), 8,97 (s, 1H, H_{arom}), 8,80 (dd, $J_1 = 4,56$ Hz, $J_2 = 1,02$ Hz, 1H, H_{arom}), 8,65 (dd, $J_1 = 10,37$ Hz, $J_2 = 2,09$ Hz, 1H, H_{arom}), 8,30 (dd, $J_1 = 8,78$, $J_2 = 6,38$ Hz, 1H, H_{arom}), 7,69 – 7,56 (m, 2H, H_{arom}); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO): δ/ppm = 165,44 (d, $J_{CF} = 258,09$ Hz), 147,99, 146,93, 141,91, 134,80 (d, $J_{CF} = 10,99$ Hz), 123,96, 123,70, 118,98, 118,76, 115,63, 114,72 (d, $J_{CF} = 23,34$ Hz), 104,14 (d, $J_{CF} = 27,60$ Hz), 100,77, 97,63.

Opći postupak pripreme spojeva 6–13

Spojevi **6–13** priređeni su sintezom potpomognutom mikrovalovima korištenjem MW zračenja snage 800 W i temperature 170 °C iz spojeva **5a** ili **5b** u 10 ml acetonitrila i uz suvišak odgovarajućeg amina. Reakcijska se smjesa nakon hlađenja profiltrira, ukoliko je potrebno prethodno se upari pod sniženim tlakom na manji volumen, a nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz CH₂Cl₂/CH₃OH kao eluens.

Priprava 2-(*N*-izobutilamino)pirido[3',2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila 6

Spoj **6** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **5a** (0,080 g, 0,30 mmol) i *i*-butilamina (0,15 ml, 1,52 mmol), nakon 4 h MW zračenja dobiveno je 0,052 g (54%) žutog praškastog produkta. T.t. 224–227 °C

^1H NMR (300 MHz, DMSO): $\delta/\text{ppm} = 8,96$ (d, $J = 1,95$ Hz, 1H, H_{arom}), 8,61 (dd, $J_1 = 1,46$ Hz, $J_2 = 4,73$ Hz, 1H, H_{arom}), 8,53 (s, 1H, H_{arom}), 8,33 (dd, $J_1 = 1,44$ Hz, $J_2 = 8,16$ Hz, 1H, H_{arom}), 7,78 (d, $J = 8,88$ Hz, 1H, H_{arom}), 7,65 (t, 1H, $J = 4,74$ Hz, NH_{amin}), 7,61 (dd, $J_1 = 4,71$ Hz, $J_2 = 8,13$ Hz, 1H, H_{arom}), 6,96 (dd, $J_1 = 2,18$ Hz, $J_2 = 8,87$ Hz, 1H, H_{arom}), 3,31 (t, 2H, $J = 6,17$ Hz, CH_2), 2,06 – 1,97 (m, 1H, CH), 1,03 (d, 6H, $J = 6,63$ Hz, CH_3); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO): $\delta/\text{ppm} = 154,16, 146,16, 145,21, 142,48, 141,20, 136,38, 126,85, 120,64, 116,55, 110,93, 91,37, 50,34, 27,31, 20,34$ (2C).

Priprava 2-[(3-(*N,N*-dimetilamino)propil)amino]pirido[3',2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila 7

Spoj **7** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **5a** (0,120 g, 0,46 mmol) i *N,N*-dimetilaminopropil-1-amina (0,40 ml, 3,92 mmol), nakon 10 h MW zračenja dobiveno je 0,070 g (45%) žutog praškastog produkta. T.t. 245–248 °C

^1H NMR (300 MHz, DMSO): $\delta/\text{ppm} = 8,92$ (d, $J = 1,83$ Hz, 1H, H_{arom}), 8,60 (dd, $J_1 = 4,71$ Hz, $J_2 = 1,41$ Hz, 1H, H_{arom}), 8,53 (s, 1H, H_{arom}), 8,33 (dd, $J_1 = 8,87$ Hz, $J_2 = 1,41$ Hz, 1H, H_{arom}), 7,78 (d, $J = 8,88$ Hz, 1H, H_{arom}), 7,63 – 7,59 (m, 2H, H_{arom}), 6,93 (dd, $J_1 = 8,85$ Hz, $J_2 = 2,16$ Hz, 1H, H_{arom}), 3,30 – 3,23 (m, 2H, CH_2), 2,56 (t, $J = 1,74$ Hz, 2H, CH_2), 2,31 (s, 6H, CH_3), 1,92 – 1,81 (m, 2H, CH_2); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO): $\delta/\text{ppm} = 153,88, 146,12, 145,19, 142,45, 141,20, 136,37, 126,85, 120,64, 116,50, 111,03, 91,54, 56,28, 44,61$ (2C), 40,58, 25,59.

Priprava 2-(*N*-piperazin-1-il)pirido[3',2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila 8

Spoj **8** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **5a** (0,120 g, 0,46 mmol) i piperazina (0,260 g, 3,02 mmol), nakon 10 h MW zračenja dobiveno je 0,068 g (45%) žutog praškastog produkta. T.t. 244–247 °C

^1H NMR (300 MHz, DMSO): $\delta/\text{ppm} = 9,25$ (d, $J = 2,07$ Hz, 1H, H_{arom}), 8,65 (dd, $J_1 = 4,71$ Hz, $J_2 = 1,44$ Hz, 1H, H_{arom}), 8,62 (s, 1H, H_{arom}), 8,37 (dd, $J_1 = 8,15$ Hz, $J_2 = 1,40$ Hz, 1H, H_{arom}), 7,90 (d, $J = 9,15$ Hz, 1H, H_{arom}), 7,64 (dd, $J_1 = 8,16$ Hz, $J_2 = 4,74$ Hz, 1H, H_{arom}), 7,32 (dd, $J_1 = 9,11$ Hz, $J_2 = 2,36$ Hz, 1H, H_{arom}), 3,58 (t, $J = 4,89$ Hz, CH_2), 3,02 (t, $J = 4,88$ Hz, CH_2); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO): $\delta/\text{ppm} = 154,70, 146,11, 145,46, 143,53, 141,55, 137,98, 136,81, 132,28, 127,75, 121,27, 116,64, 113,26, 112,63, 99,46, 94,51, 47,32$ (2C), 45,13 (2C).

Priprava 2-(*N*-piperidin-1-il)pirido[3',2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **9**

Spoj **9** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **5a** (0,080 g, 0,30 mmol) i piperidina (0,21 ml, 2,13 mmol), nakon 4 h MW zračenja dobiveno je 0,041 g (51%) žutog praškastog produkta. T.t. 262–265 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ/ppm = 9,26 (d, $J = 2,16$ Hz, 1H, H_{arom}), 8,65 (dd, $J_1 = 4,73$ Hz, $J_2 = 1,43$ Hz, 1H, H_{arom}), 8,59 (s, 1H, H_{arom}), 8,36 (dd, $J_1 = 8,18$ Hz, $J_2 = 1,43$ Hz, 1H, H_{arom}), 7,87 (d, $J = 9,15$ Hz, 1H, H_{arom}), 7,62 (dd, $J_1 = 8,16$ Hz, $J_2 = 4,74$ Hz, 1H, H_{arom}), 7,30 (dd, $J = 9,12$ Hz, $J_2 = 2,40$ Hz, 1H, H_{arom}), 3,63 (šs, 4H, CH₂), 1,70 (šs, 6H, CH₂); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO): δ/ppm = 154,49, 143,44, 141,49, 138,15, 132,44, 127,84, 127,65, 121,22, 116,79, 113,24, 111,96, 99,20, 48,35 (2C), 25,46 (2C), 24,36.

Priprava 2-(*N*-izobutilamino)pirido[2',3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **10**

Spoj **10** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **5b** (0,080 g, 0,30 mmol) i *i*-butilamina (0,15 ml, 1,52 mmol), nakon 4 h MW zračenja dobiveno je 0,056 g (70%) žutog praškastog produkta. T.t. 289–291 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ/ppm = 8,87 (dd, $J_1 = 8,21$ Hz, $J_2 = 1,01$ Hz, 1H, H_{arom}), 8,72 (dd, $J_1 = 4,67$ Hz, $J_2 = 1,01$ Hz, 1H, H_{arom}), 8,57 (s, 1H, H_{arom}), 7,84 (d, $J = 8,91$ Hz, 1H, H_{arom}), 7,69 (s, 1H, H_{arom}), 7,54 (dd, $J_1 = 8,34$ Hz, $J_2 = 4,74$ Hz, 1H, H_{arom}), 7,45 (t, $J = 5,04$ Hz, 1H, NH_{amin}), 6,99 (dd, $J_1 = 8,93$ Hz, $J_2 = 1,40$ Hz, 1H, H_{arom}), 3,17 (t, $J = 6,15$ Hz, 2H, CH₂), 2,01 – 1,90 (m, 1H, CH), 1,03 (d, $J = 6,63$ Hz, 6H, CH₃); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO): δ/ppm = 155,83, 154,42, 147,55, 146,63, 141,09, 133,24, 122,92, 122,34, 117,21, 116,55, 111,24, 91,27, 49,96, 27,64, 20,27 (2C).

Priprava 2-[(3-(*N,N*-dimetilamino)propil)amino]pirido[2',3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **11**

Spoj **11** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **5b** (0,045 g, 0,17 mmol) i *N,N*-dimetilaminopropil-1-amina (0,15 ml, 1,20 mmol), nakon 5 h MW zračenja dobiveno je 0,031 g (53%) žutog praškastog produkta. T.t. 250–254 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ/ppm = 8,90 (t, $J = 5,19$ Hz, 1H, NH_{arom}), 8,72 – 8,68 (m, 1H, H_{arom}), 8,54 (s, 1H, H_{arom}), 7,88 – 7,74 (m, 2H, H_{arom}), 7,55 – 7,48 (m, 2H, H_{arom}), 7,00 – 7,88 (m, 1H, H_{arom}), 3,66 (šs, 2H, CH₂), 3,45 (šs, 2H, CH₂), 3,29 (s, 6H, CH₃), 2,20 (šs, 2H, CH₂);

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO): $\delta/\text{ppm} = 155,96, 154,78, 154,34, 147,67, 147,12, 141,47, 133,26, 123,31, 123,04, 122,99, 117,74, 116,95, 111,84, 92,20, 67,25, 56,99, 45,53$ (2C), 22,85.

Priprava 2-(*N*-piperazin-1-il)pirido[2',3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila 12

Spoj **12** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **5b** (0,040 g, 0,15 mmol) i piperazina (0,150 g, 1,74 mmol), nakon 5 h MW zračenja dobiveno je 0,028 g (55%) žutog praškastog produkta. T.t. >300 °C

^1H NMR (300 MHz, DMSO): $\delta/\text{ppm} = 8,97$ (d, $J = 8,39$ Hz, 1H, H_{arom}), 8,75 – 8,74 (m, 1H, H_{arom}), 8,66 (s, 1H, H_{arom}), 7,97 (d, $J = 8,98$ Hz, 1H, H_{arom}), 7,69 (šs, 1H, H_{arom}), 7,52 (dd, $J_1 = 8,10$ Hz, $J_2 = 4,62$ Hz, 1H, H_{arom}), 7,36 (d, $J = 8,90$ Hz, 1H, H_{arom}), 3,83 (šs, 4H, CH_2), 3,62 (šs, 4H, CH_2).

Priprava 2-(*N*-piperidin-1-il)pirido[2',3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila 13

Spoj **13** priređen je prethodno opisanom metodom, iz spoja **5b** (0,080 g, 0,30 mmol) i piperidina (0,21 ml, 2,13 mmol), nakon 4 h MW zračenja dobiveno je 0,049 g (61%) žutog praškastog produkta. T.t. 290–293 °C

^1H NMR (300 MHz, DMSO): $\delta/\text{ppm} = 8,91$ (d, $J = 8,37$ Hz, 1H, H_{arom}), 8,73 (d, $J = 4,62$ Hz, 1H, H_{arom}), 8,62 (s, 1H, H_{arom}), 7,90 (d, $J = 7,35$ Hz, 1H, H_{arom}), 7,64 (šs, 1H, H_{arom}), 7,52 (dd, $J_1 = 8,30$ Hz, $J_2 = 4,70$ Hz, 1H, H_{arom}), 7,33 (d, $J = 9,18$ Hz, 1H, H_{arom}), 3,67 (s, 4H, CH_2), 1,70 (s, 6H, CH_2); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO): $\delta/\text{ppm} = 155,98, 154,58, 147,91, 147,25, 141,22, 138,70, 133,24, 123,55, 123,33, 118,09, 116,82, 113,35, 112,22, 97,40, 93,50, 48,46$ (2C), 25,53 (2C), 24,29.

5. ZAKLJUČAK

- U ovom su radu priređeni sljedeći spojevi: 2-(1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)acetonitril **2**, 3-(4-fluor-2-klorfenil)-2-(imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)akrilonitril **4**, 6-cijano-2-fluor-pirido[3'2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin **5a**, 6-cijano-2-fluor-pirido[2'3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin **5b**, 2-(isobutilamino)pirido[3',2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril **6**, 2-[(3-(dimetilamino)propil)amino]pirido[3',2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril **7**, 2-(piperazin-1-il)pirido[3',2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril **8**, 2-(piperidin-1-il)pirido[3',2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril **9**, 2-(isobutilamino)pirido[2',3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril **10**, 2-[(3-(dimetilamino)propil)amino]pirido[2',3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril **11**, 2-(piperazin-1-il)pirido[2',3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril **12** i 2-(piperidin-1-il)pirido[2',3':4,5]-imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril **13**.
- 2-(1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)acetonitril **2** priređen je reakcijom kondenzacije 2,4-diaminopiridina **1** i 2-cijanoacetamida zagrijavanjem na visokoj temperaturi.
- 3-(4-fluor-2-klorfenil)-2-(imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)akrilonitril **4** priređen je reakcijom 2-(1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)acetonitrila **2** i 4-fluor-2-klorbenzaldehida **3** u bazičnom mediju.
- Smjesa tetracikličkih regioizomera **5a** i **5b** u omjeru 1:1 dobivena je reakcijom termičke ciklizacije 3-(4-fluor-2-klorfenil)-2-(imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)akrilonitrila **4** pri visokoj temperaturi a regioizomeri su uspješno odvojeni kolonskom kromatografijom na silikagelu.
- Mikrovalovima potpomognutom reakcijom aminacije su iz 6-cijano-2-fluor-pirido[3'2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolina **5a** i 6-cijano-2-fluor-pirido[2'3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolina **5b**, s odgovarajućim aminima, priređeni 2-amino supstituirani derivati **6-9** i **10-13**.
- Struktura novopriređenih spojeva potvrđena je ¹H NMR i ¹³C NMR spektroskopijom a dodatno je struktura regioizomera potvrđena 2D NOESY spektrima.
- Priređeni spojevi dodatno su okarakterizirani su i korištenjem UV/Vis i fluorimetrijske spektroskopije.

6. LITERATURA

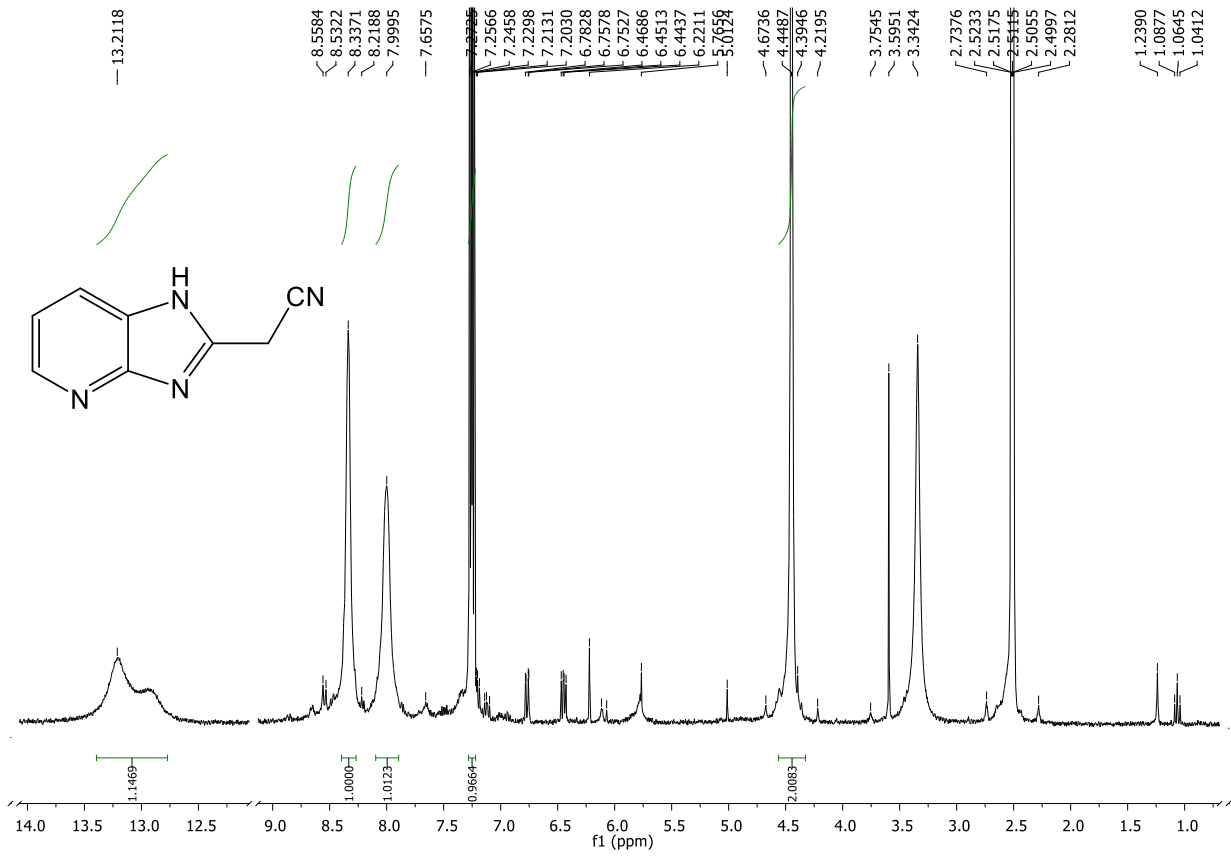
1. C. Avendano, J. C. Menéndez, *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs*, Elsevier B. V. (2008).
2. A. Kar, *Medicinal Chemistry*, New Age International (P) Ltd. Publishers, New Delhi, 2007.
3. D. A. Thurston, *Chemistry and Pharmacology of Anticancer Drugs*, CRC Press, 2007.
4. J. A. Joule, K. Mills, *Heterocyclic Chemistry*, 4th Ed., Blackwell Publishing (2007).
5. R. P. Kale, M. U. Shaikh, G. R. Jadhav, C. H. Gill, *Tetrahedron Letters* **50** (2009) 1780-1782
6. A. M. Sajith, A. Muralidharan, *Tetrahedron Letters* **53** (2012) 1036-1041.
7. A. J. Rosenberg, J. Zhao, D. A. Clark, *Organic Letters* **14** (2012) 1764-1767
8. T. Ikawa, T. E. Barder, M. R. Biscoe, S. L. Buchwald, *J. Am. Chem. Soc.* **129** (2007) 13001-13007
9. P. Mujumdar, T. Grkovic, M. Krasavin, *Tetrahedron Letters* **54** (2013) 3336-3340.
10. M. Taha, N. H. Ismail, S. Imran, H. Rashwan, W. Jamil, S. Ali, S. M. Kashif, F. Rahim, U. Salar, K. M. Khan, *Bioorganic Chemistry* **65** (2016) 48-56
11. M. Taha, H. Naz, S. Rasheed, N. H. Ismail, A. A. Rahman, S. Yousuf, M. I. Choudhary *Molecules* **19** (2014) 1286-1301
12. S. Jain, W. B. Drendel, Z. W. Chen, F. S. Mathews, W. S. Sly, J. H. Grubb, *Nat. Struct. Biol.* **4** (1996) 81-375
13. A. M. Sajith, K. K. A. Khader, N. Joshi, M. N. Reddy, M. S. A. Padusha, H. P. Nagaswarupa, M. N. Joy, Y. D. Bodke, R. P. Karuvalam, R. Banerjee, A. Muralidharan, P. Rajendra, *European Journal of Medicinal Chemistry* **89** (2015) 21-31
14. O. I. Viktor, S. Mkrtchyan, G. Ghazaryan, A. Hakobyan, A. Maalik, L. Supe, A. Villinger, A. Tolmachev, D. Ostrovskiy, Y. S. Vyacheslav, T. V. Ghochikyan, P. Langer, *Synthesis* **3** (2011) 469-479
15. A. Suzuki, *Chem. Commun.* (2005) 4759-4763
16. M. Hranjec, B. Lučić, I. Ratkaj, S. Kraljević Pavelić, I. Piantanida, K. Pavelić, G. Karminski-Zamola, *European Journal of Medicinal Chemistry* **46** (2011) 2748-2758
17. P. K. Dubey, C. V. Ratnam, *Ind. J. Chem.* **18** (1979) 428-431
18. T. A. Fairley, R. R. Tidwell, I. Donkor, N. A. Naiman, K. A. Ohemeng, R. J. Lombardy, J. A. Bentley, M. Cory, *J. Med. Chem.* **36** (1993) 1746
19. V. Bavetsias, C. Sun, N. Bouloc, J. Reynisson, P. Workman, S. Linardopoulos, E. McDonald, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **17** (2007) 6567-6571
20. H. Banie, A. Sinha, R. J. Thomas, J. C. Sircar, M. L. Richards, *J. Med. Chem.* **50** (2007) 5984-5993

21. M. Hranjec, G. Pavlović, M. Marjanović, M. Kralj, G. Karminski-Zamola, *Eur. J. Med. Chem.* **45** (2010) 2405-2417.
22. N. Perin, L. Uzelac, I. Piantanida, G. Karminski-Zamola, M. Kralj, M. Hranjec; *Bioorg. Med. Chem.* **19** (2011) 6329-6339.
23. N. Perin, I. Martin-Kleiner, R. Nhili, W. Laine, M. H. David-Cordonnier, O. Vugrek, G. Karminski-Zamola, M. Kralj, M. Hranjec, *Med. Chem. Commun.* **4** (2013) 1537-1550.
24. 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.
25. N. Perin, *Doktorska disertacija „Sinteza i biološka aktivnost novih amino supstituiranih benzimidazo[1,2-a]kinolina”* Zagreb (2014).

7. PRILOZI

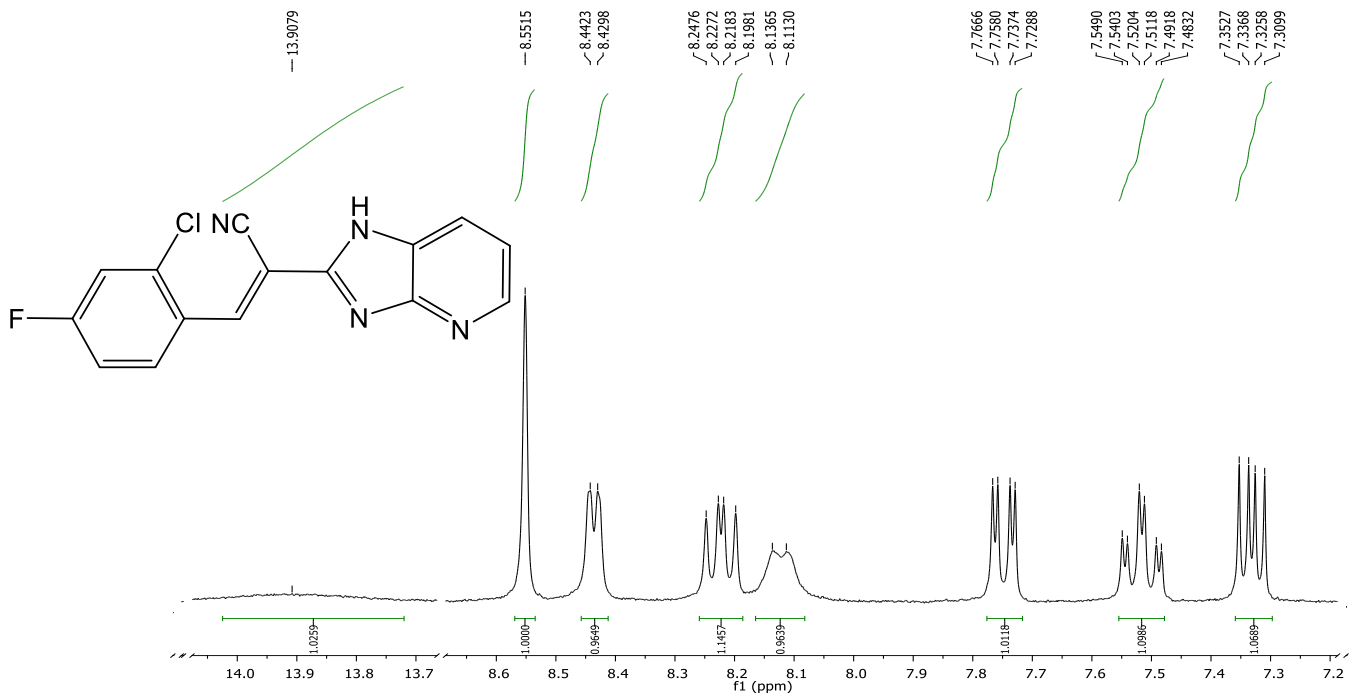
Prilog 1.

^1H NMR spektar 2-(1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)acetonitrila 2

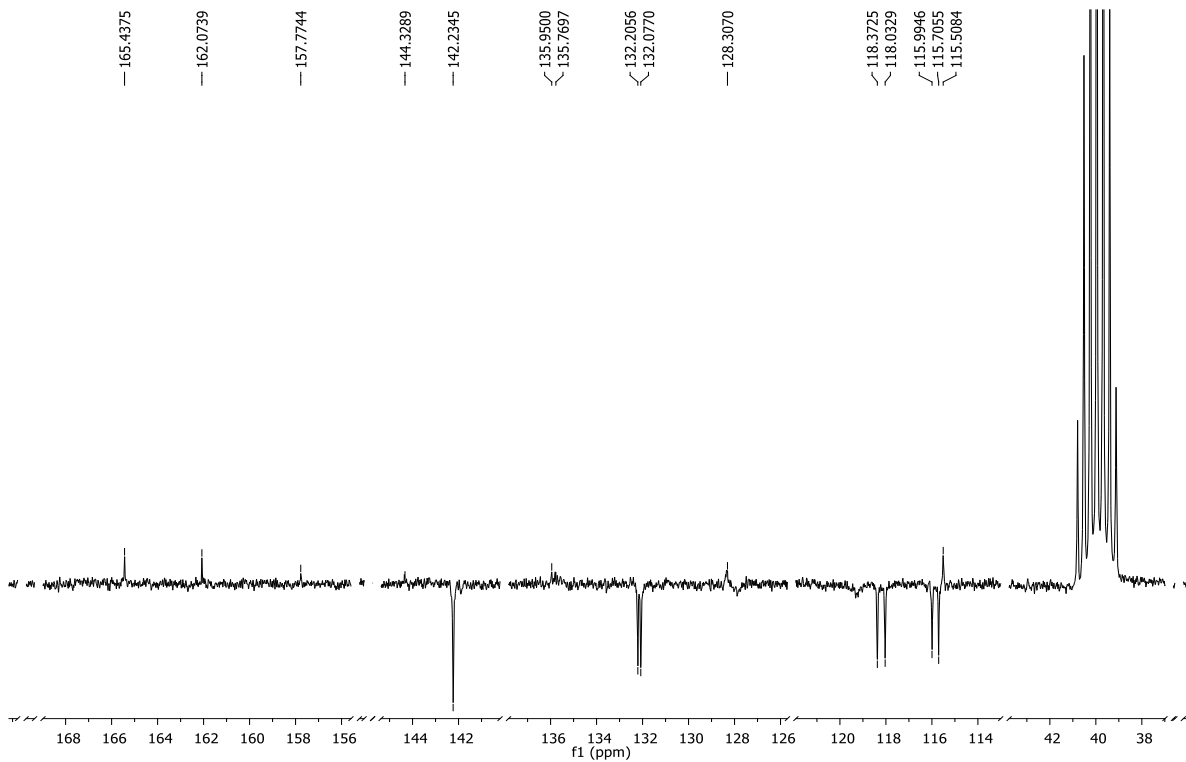


Prilog 2.

a) ^1H NMR spektar 3-(4-fluor-2-klorfenil)-2-(imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)akrilonitrila **4**

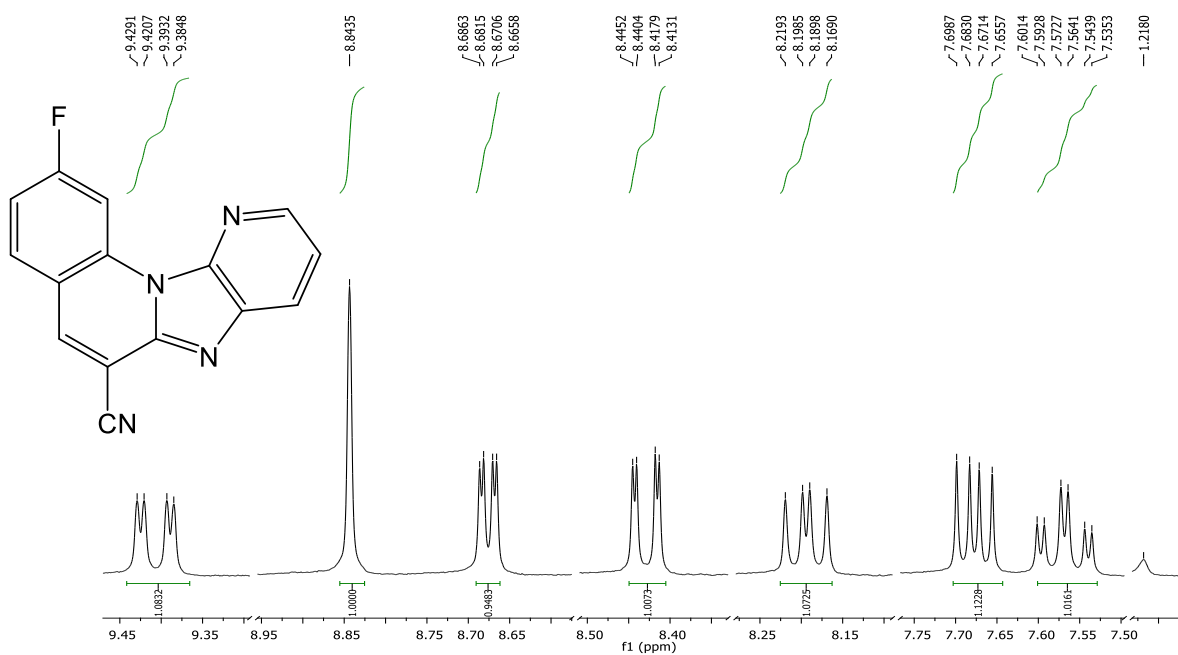


b) ^{13}C NMR spektar 3-(4-fluor-2-klorfenil)-2-(imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)akrilonitrila **4**

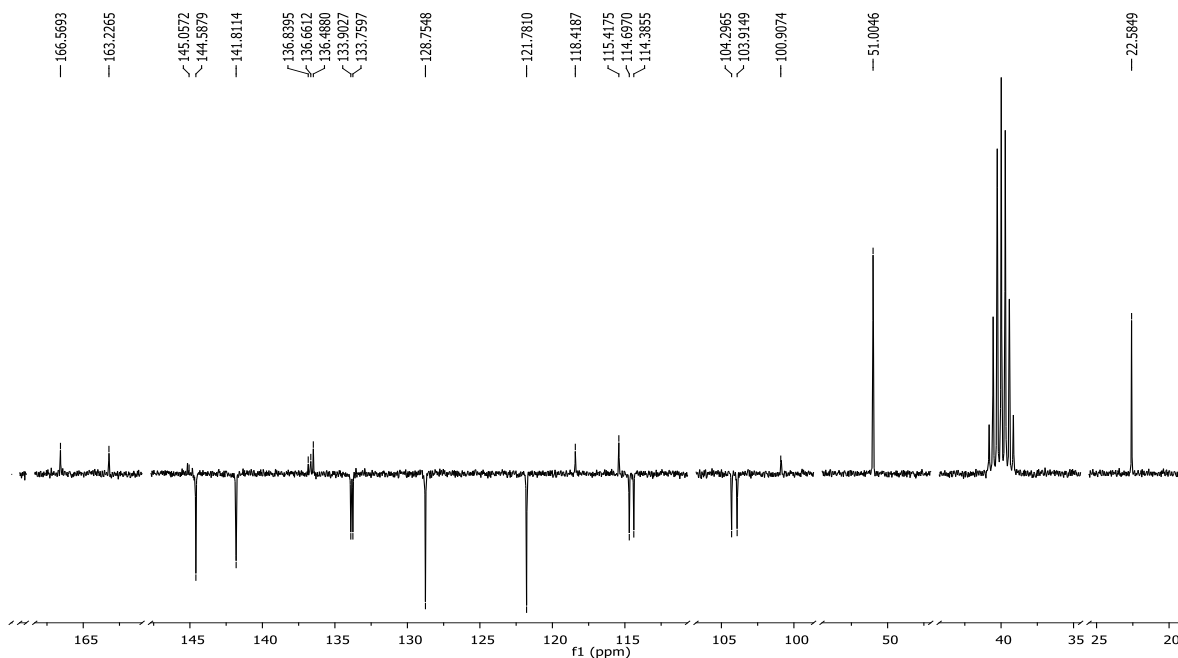


Prilog 3.

a) ^1H NMR spektar 6-cijano-2-fluor-pirido[3'2':4,5]imidazo[1,2-a]kinolina **5a**

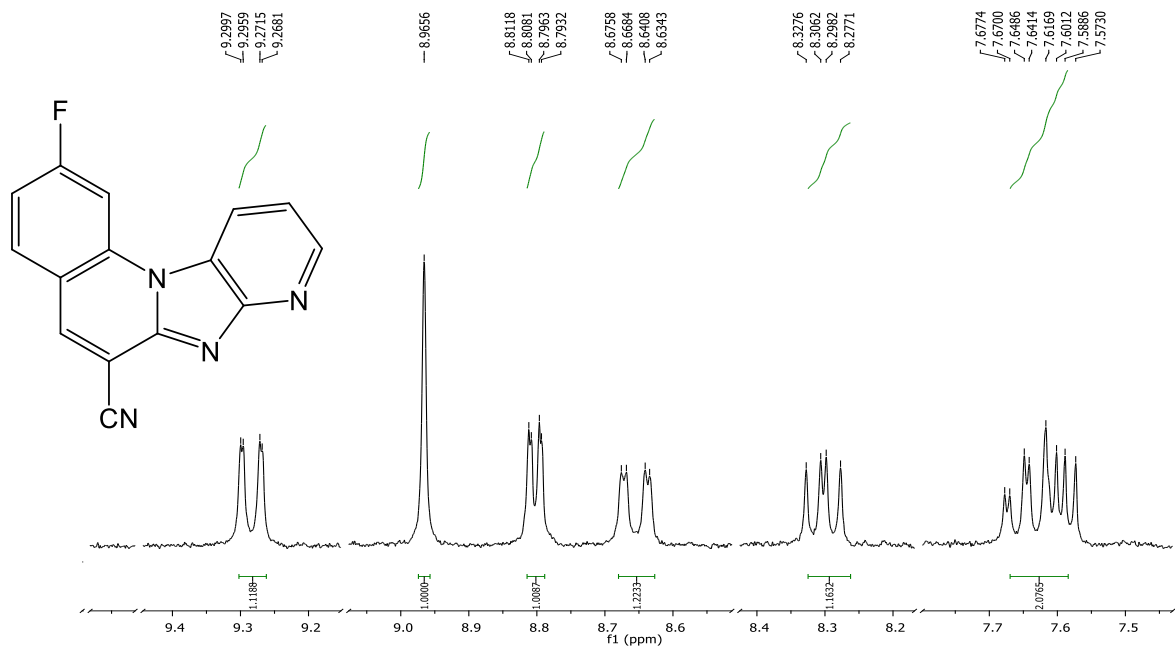


b) ^{13}C NMR spektar 6-cijano-2-fluor-pirido[3'2':4,5]imidazo[1,2-a]kinolina **5a**

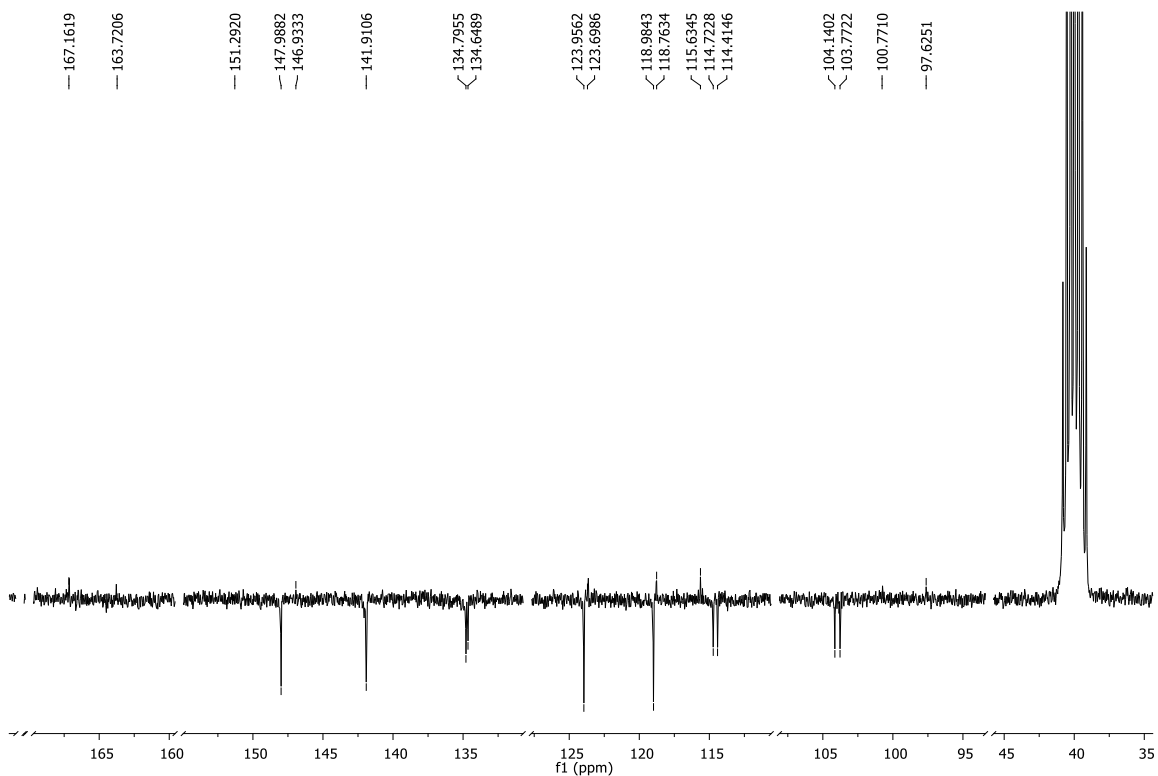


Prilog 4.

a) ^1H NMR spektar 6-cijano-2-fluor-pirido[2'3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolina **5b**

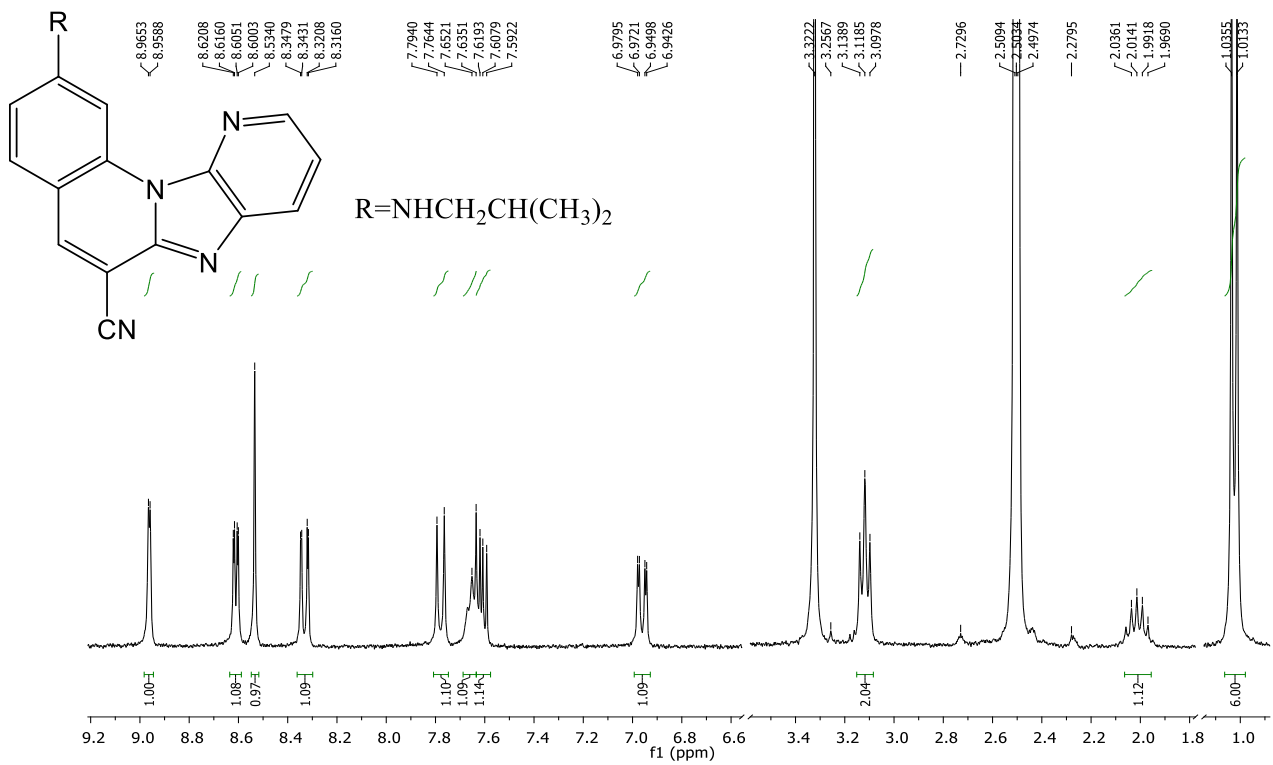


b) ^{13}C NMR spektar 6-cijano-2-fluor-pirido[2'3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolina **5b**

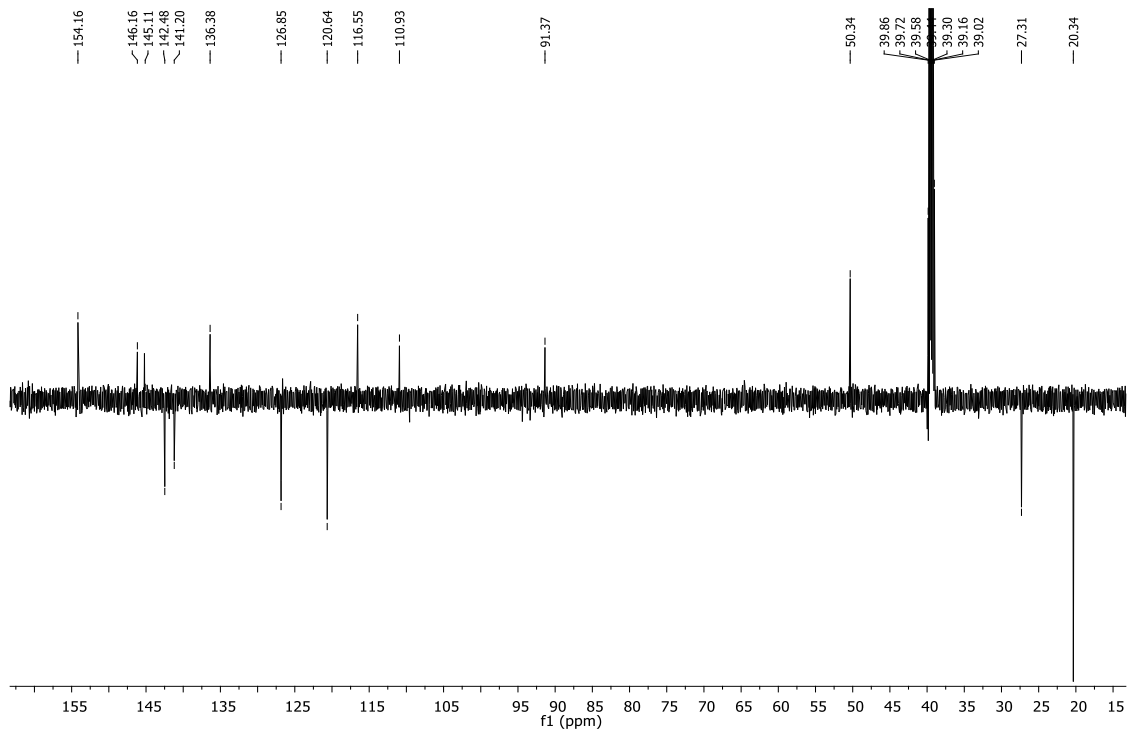


Prilog 5.

a) ^1H NMR spektar 2-(*N*-izobutilamino)pirido[3',2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **6**

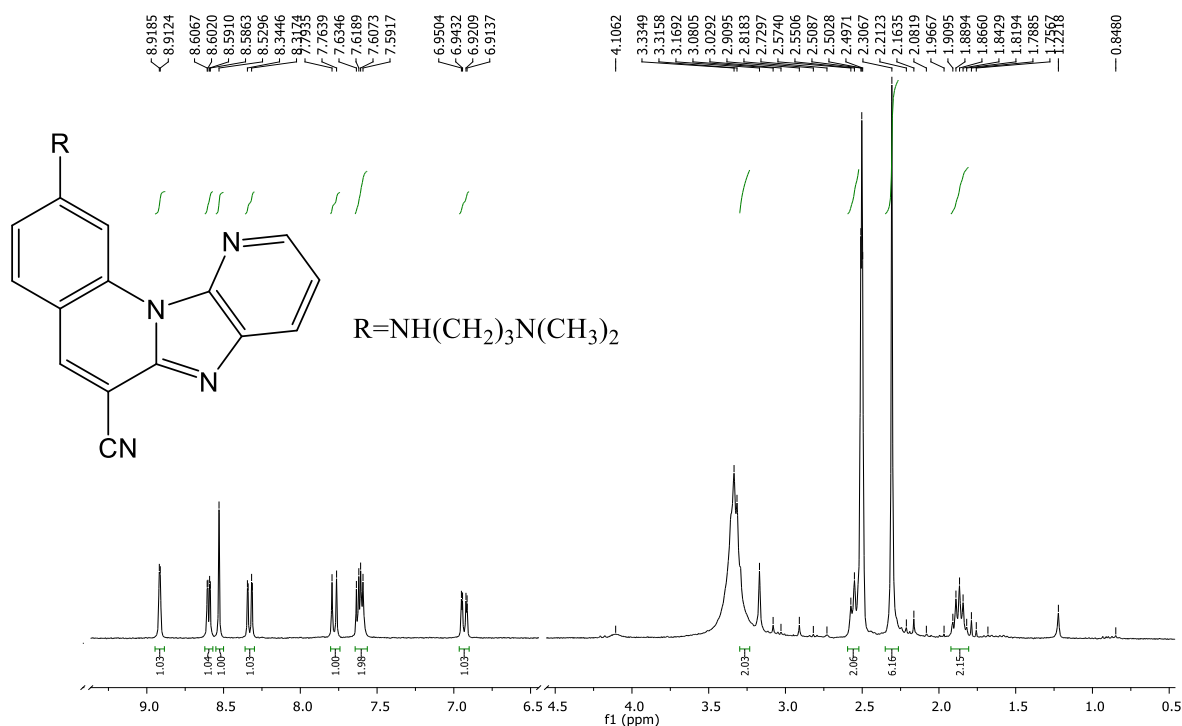


b) ^{13}C NMR spektar 2-(*N*-izobutilamino)pirido[3',2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **6**

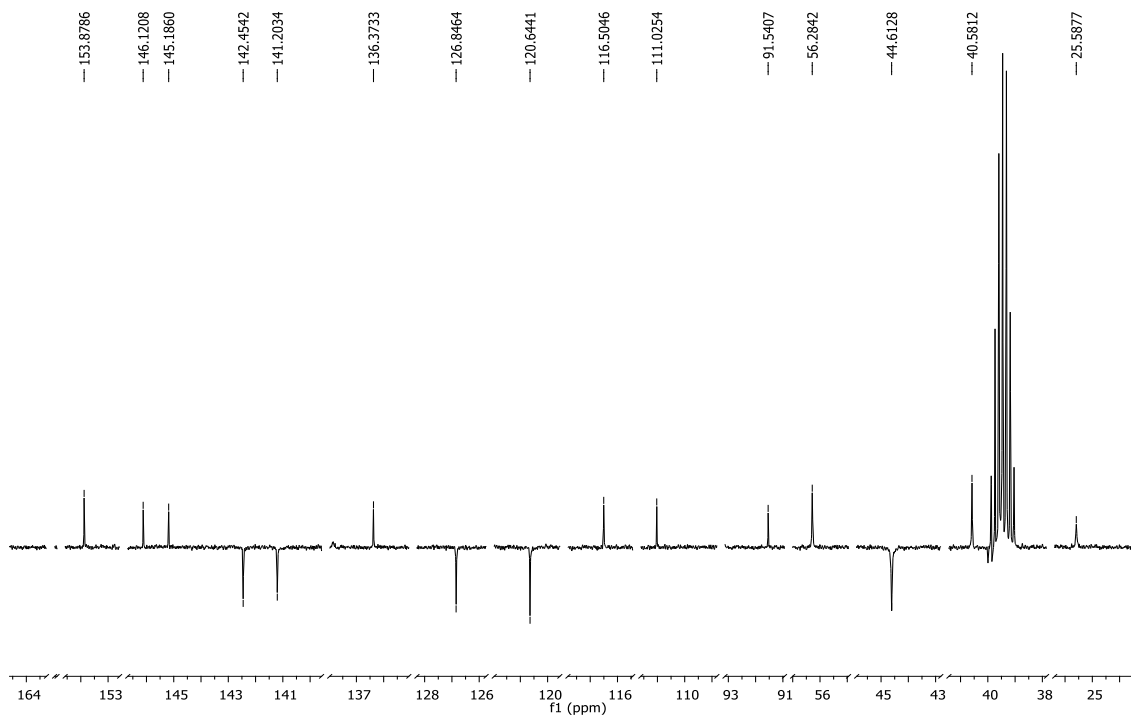


Prilog 6.

- a) ^1H NMR spektr 2-[(3-(*N,N*-dimetilamino)propil)amino]pirido[3',2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **7**

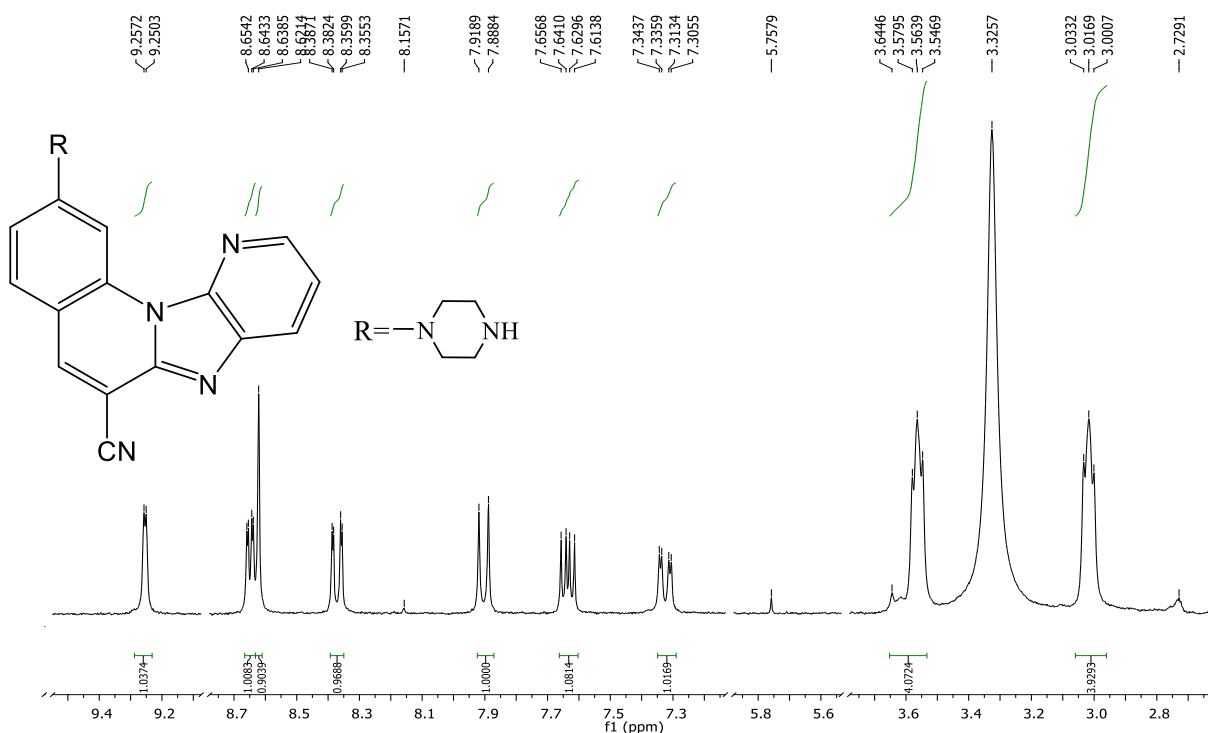


- b) ^{13}C NMR spektr 2-[(3-(*N,N*-dimetilamino)propil)amino]pirido[3',2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **7**

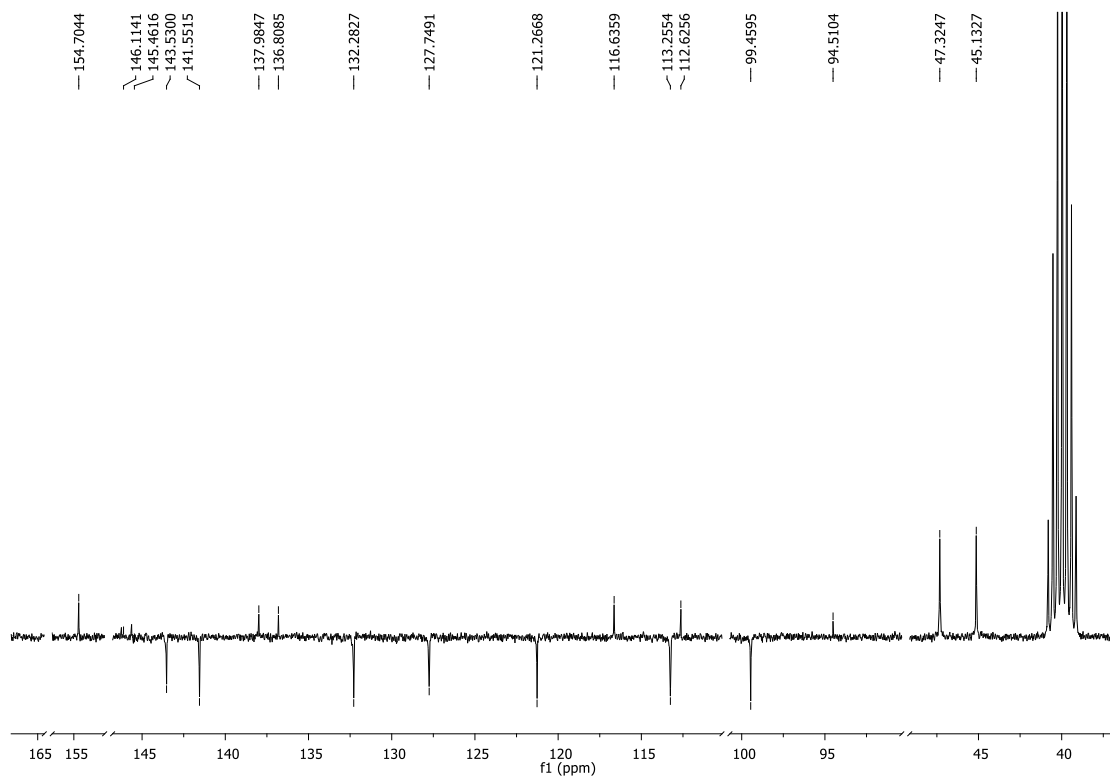


Prilog 7.

a) ^1H NMR spektar 2-(*N*-piperazin-1-il)pirido[3',2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **8**

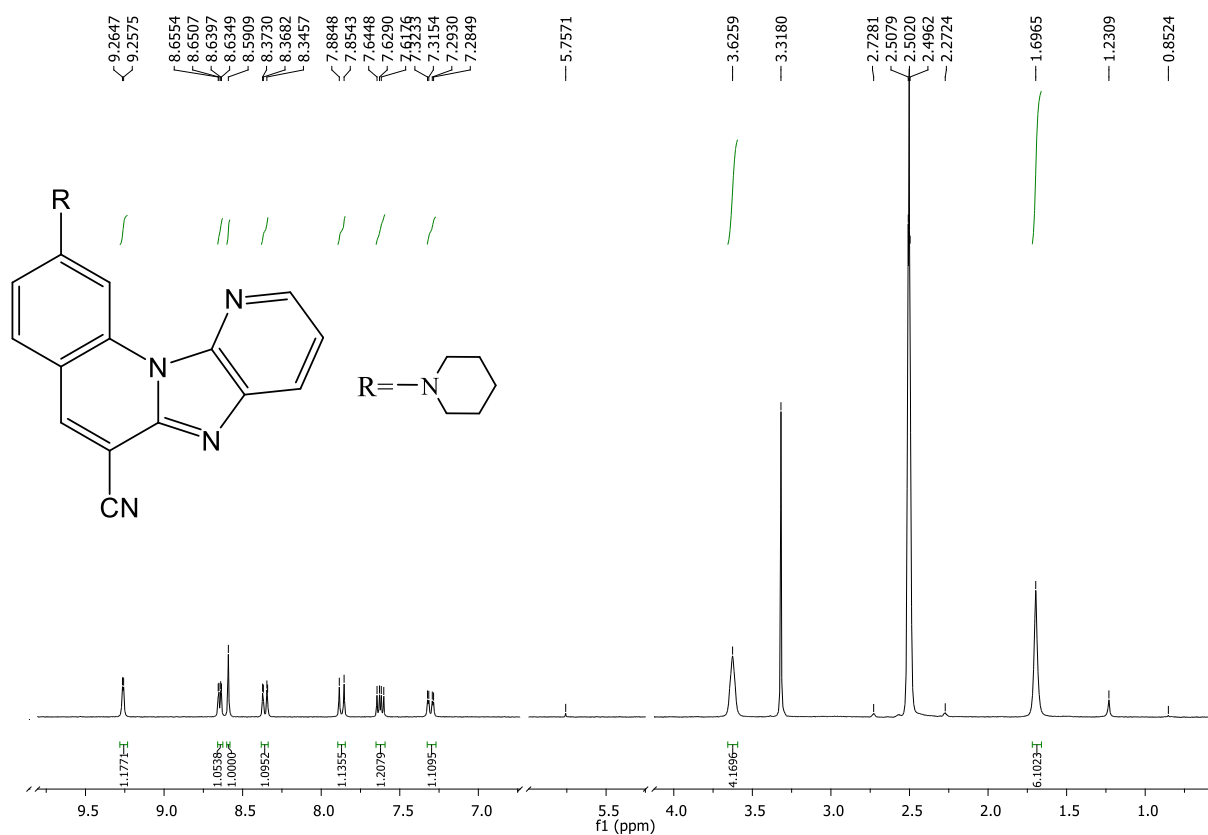


b) ^{13}C NMR spektar 2-(*N*-piperazin-1-il)pirido[3',2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **8**

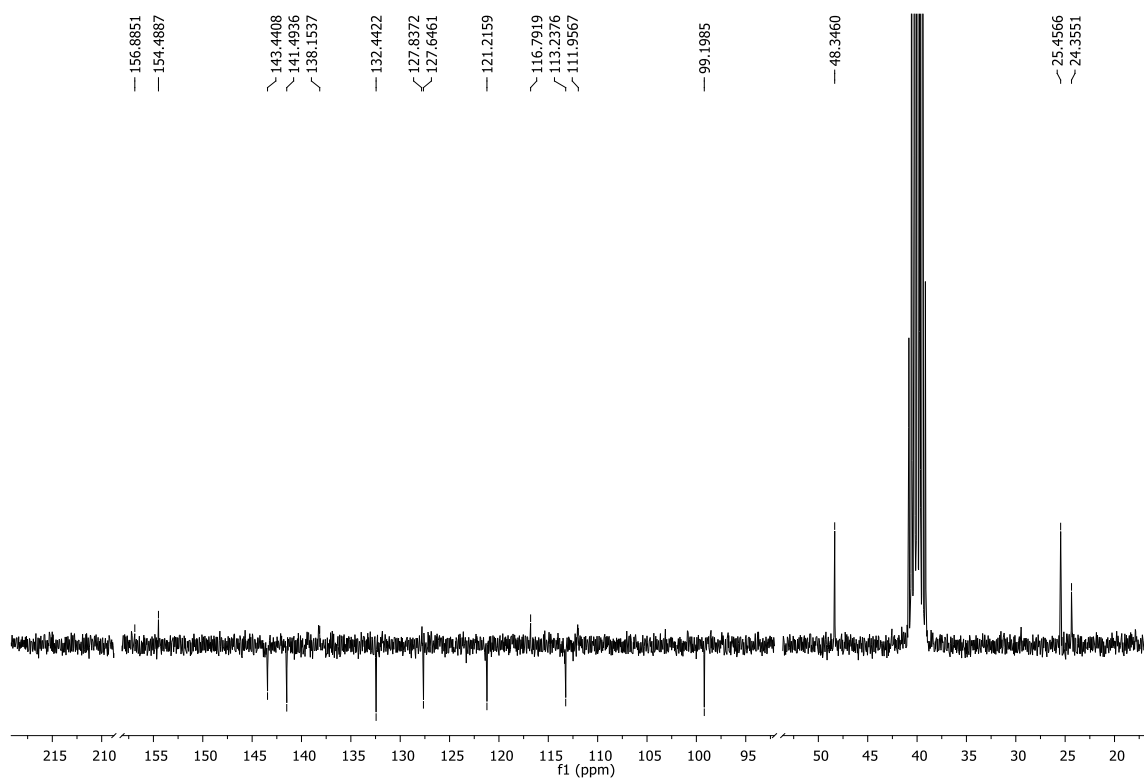


Prilog 8.

a) ^1H NMR spektar 2-(*N*-piperidin-1-il)pirido[3',2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **9**

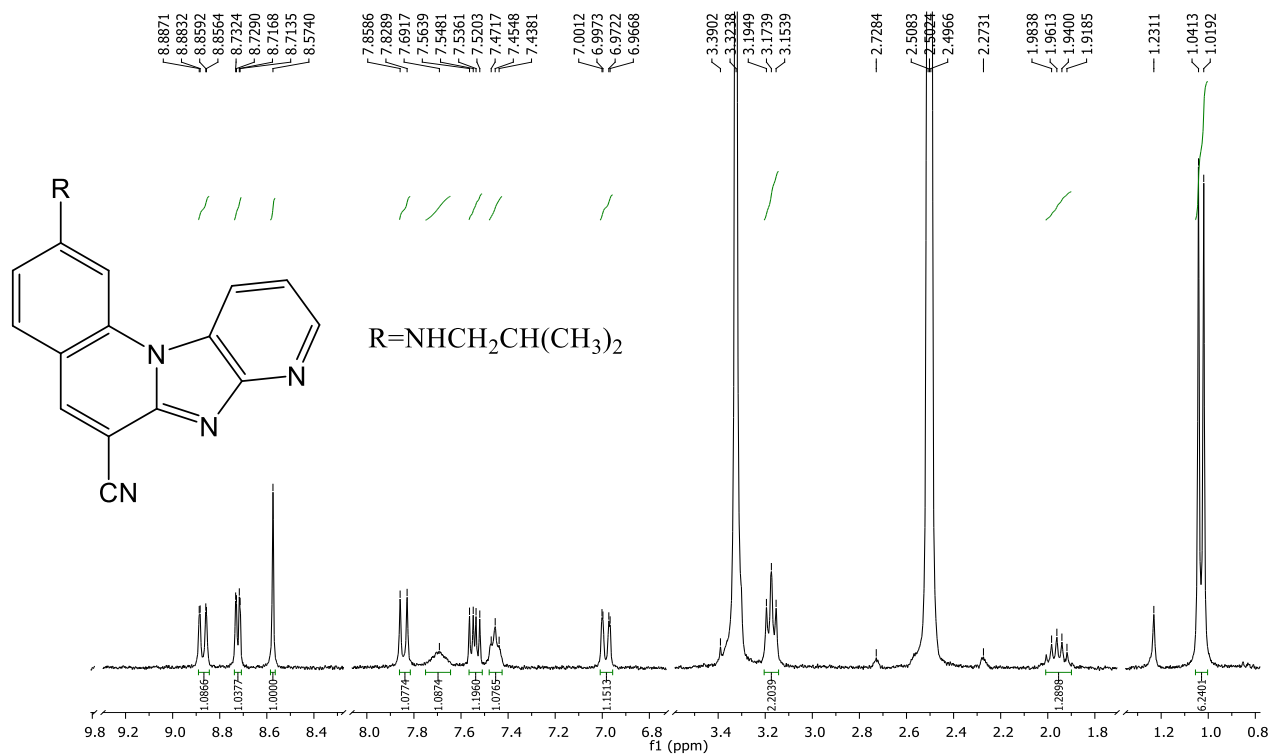


b) ^{13}C NMR spektar 2-(*N*-piperidin-1-il)pirido[3',2':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **9**

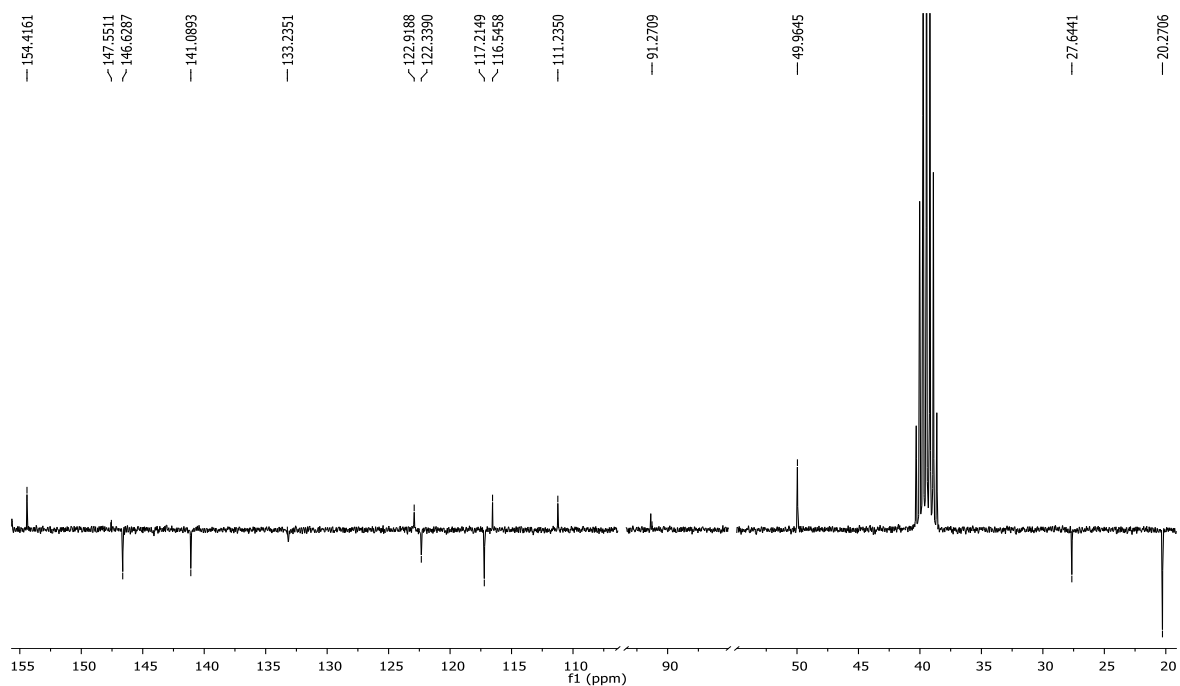


Prilog 9.

a) ^1H NMR spektar 2-(*N*-izobutilamino)pirido[2',3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **10**

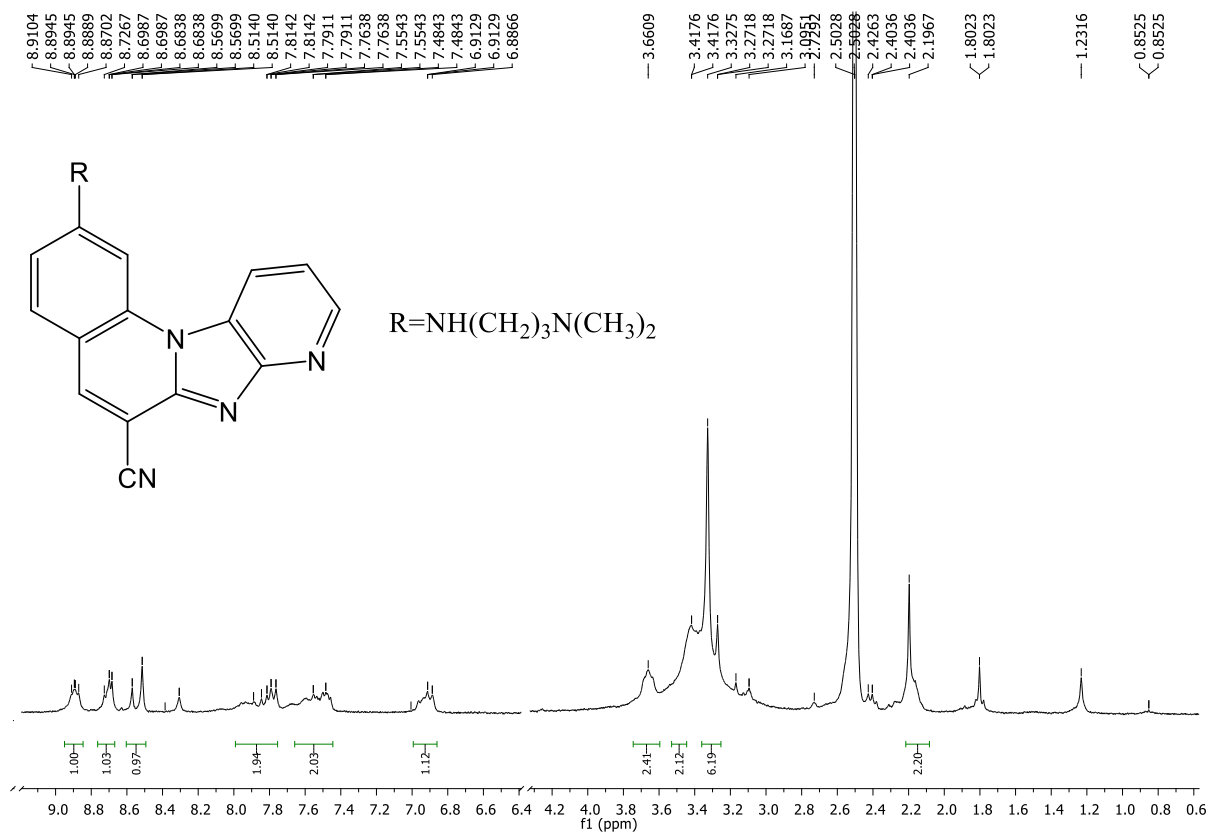


b) ^{13}C NMR spektar 2-(*N*-izobutilamino)pirido[2',3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **10**

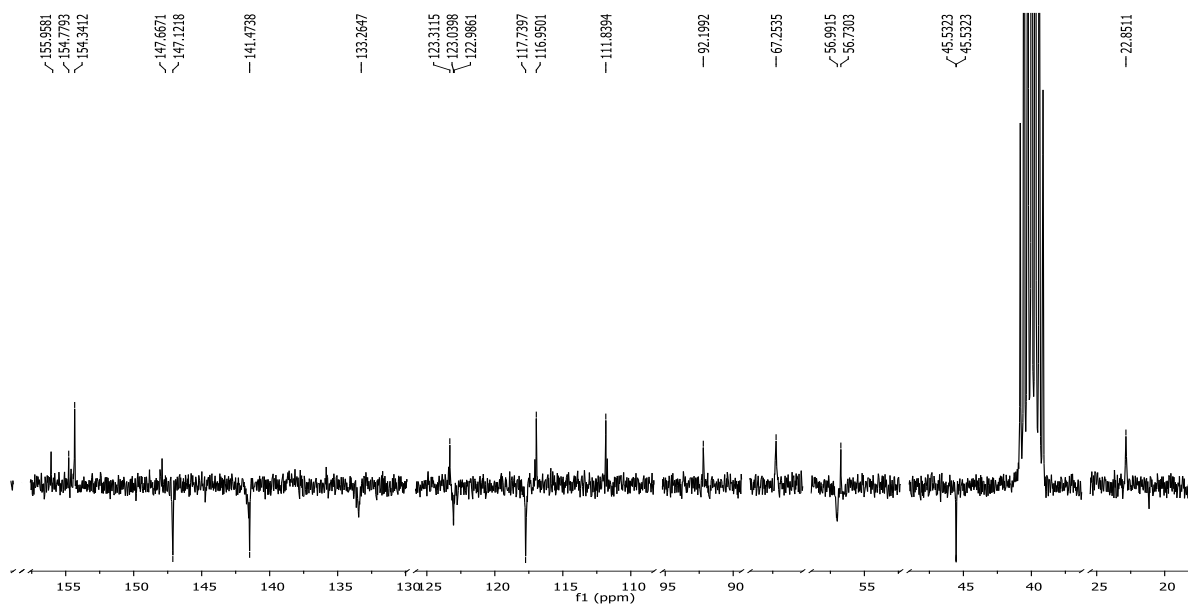


Prilog 10.

a) ^1H NMR spektar 2-[(3-(*N,N*-dimetilamino)propil)amino]pirido[2',3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **11**

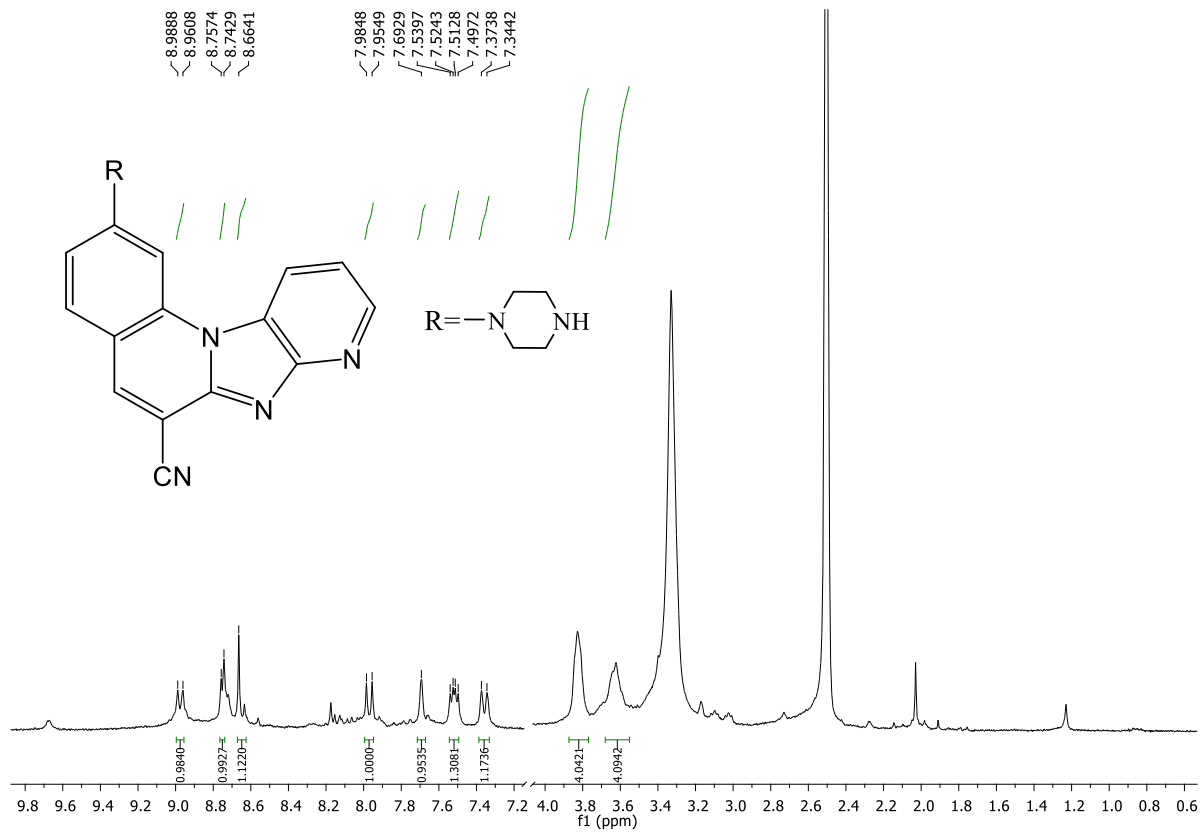


b) ^{13}C NMR spektar 2-[(3-(*N,N*-dimetilamino)propil)amino]pirido[2',3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **11**



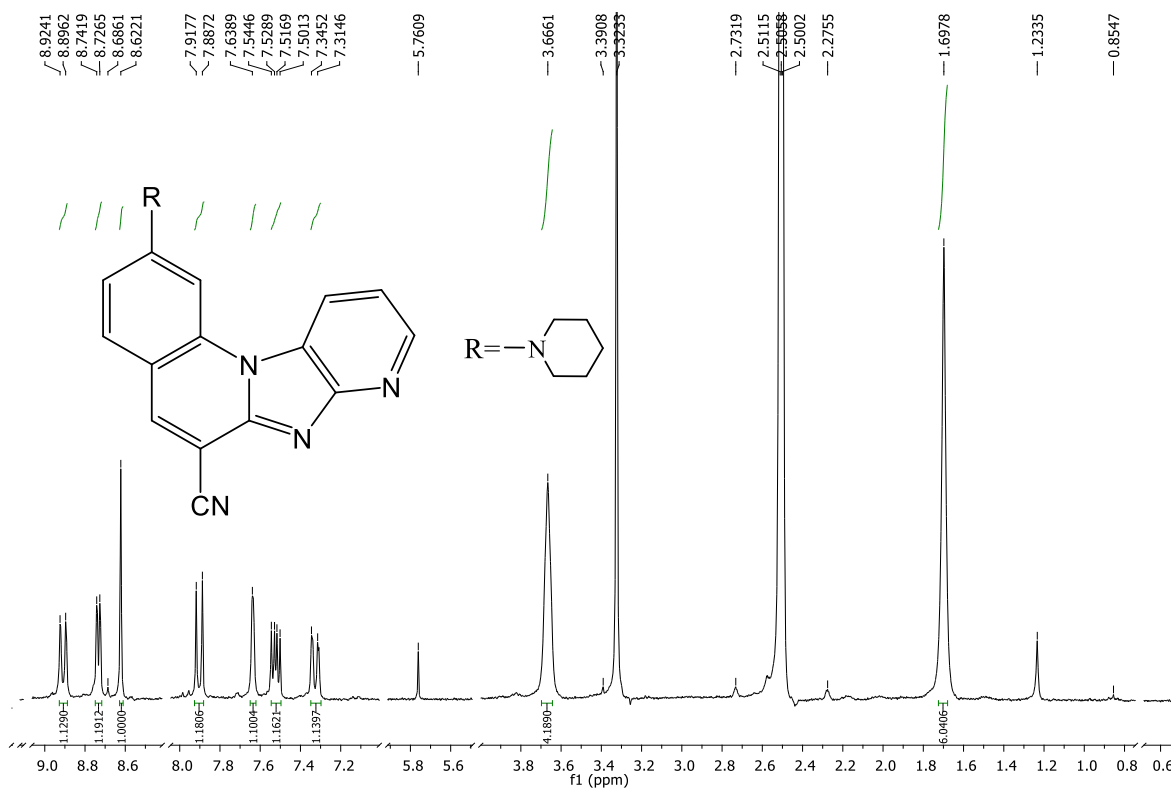
Prilog 11.

a) ^1H NMR spektar 2-(*N*-piperazin-1-il)pirido[2',3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila **12**

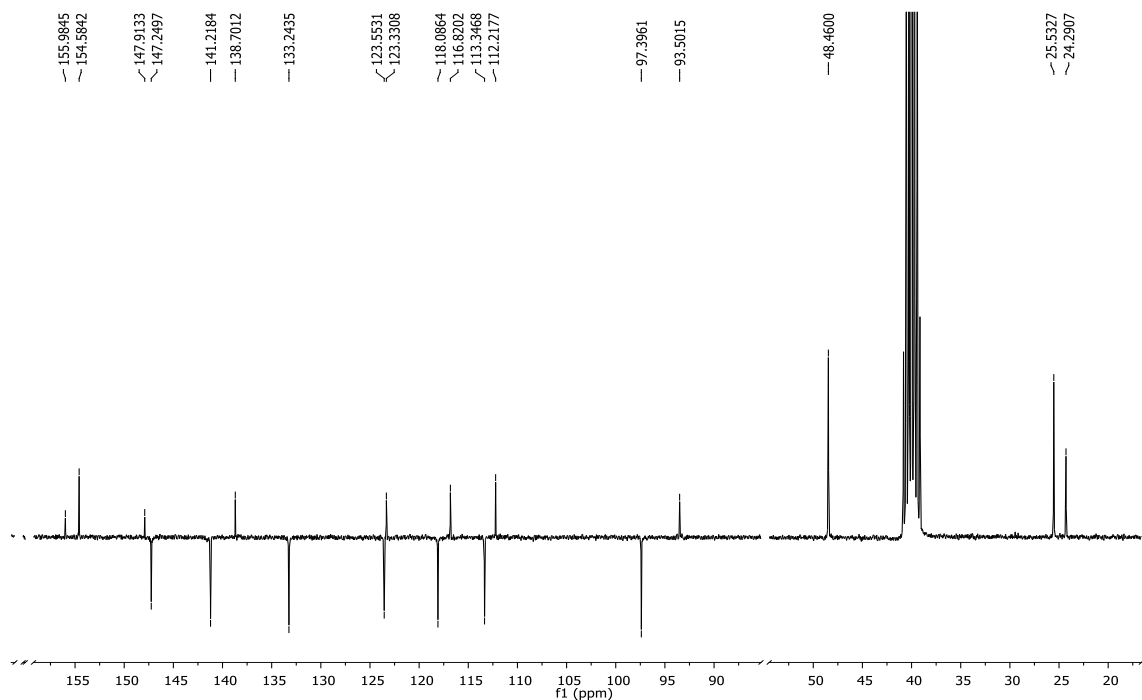


Prilog 12.

a) ¹H NMR spektar 2-(*N*-piperidin-1-il)pirido[2',3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila
13



b) ¹³C NMR spektar 2-(*N*-piperidin-1-il)pirido[2',3':4,5]imidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila
13



8. ŽIVOTOPIS

Edita Krmpotić

████████████████████ Osnovnu školu Kreativni razvoj pohađala je do 2009. godine, nakon čega upisuje Prvu privatnu gimnaziju u Zagrebu. Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije upisuje 2013. godine, te je trenutno redoviti student 3. godine preddiplomskog studija Primijenjena kemija. Tijekom studija dvije godine zaredom radi kao demonstratorica na Zavodu za opću i anorgansku kemiju na kolegiju Anorganska kemija. 2016. godine sudjeluje u radu za znanstveni rad na Zavodu za organsku kemiju, čiju produbljenu tematiku obrađuje za završni rad ove akademske godine. Iste 2016. godine, radi praksu u tvrtki Pliva Hrvatska d.o.o., TEVA TAPI R&D.

2017. godine dobitnica je Rektorove nagrade za individualni znanstveni i umjetnički rad. Rad za Rektorovu nagradu izrađen je na Zavodu za polimerno inženjerstvo i organsku kemijsku tehnologiju pod vodstvom prof. dr. sc. Emi Govorčin Bajsić. Tema rada dio je područja istraživanja koje se provodi u sklopu znanstveno-istraživačkog projekta "Ciljana izrada prototipa vlaknastog nosača za uzgoj tkivnih stanica kombiniranim elektroispredanjem – COMBOELECTROSPUN", IP-2016-06-6878, financiranog od Hrvatske zaklade za znanost.