

Sinteza derivata benzimidazo[1,2-a]kinolin-6-karbonitrila s potencijalnim citostatskim djelovanjem

Kljajić, Katarina

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:855718>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-29**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Katarina Kljajić

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, srpanj 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Katarina Kljajić

**Sinteza derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila s
potencijalnim citostatskim djelovanjem**

ZAVRŠNI RAD

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

Članovi ispitnog povjerenstva:

1. prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić
2. dr. sc. Andrea Bistrović
3. prof. dr. sc. Mirela Leskovic

Zagreb, srpanj 2018.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za organsku kemiju na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Silvani Raić-Malić što mi je omogućila izradu ovog rada i pomogla svojim iskustvom, znanjem i vodstvom.

Posebno se želim zahvaliti Seni Jorgić, mag. appl. chem. na njezinom velikom doprinosu u ispravljaju ovog rada te na ljudskoj i stručnoj potpori bez kojih izrada ovog završnog rada ne bi bila moguća.

Veliko hvala kolegi Silviu Jakopecu na pomoći prilikom izrade eksperimentalnog dijela u laboratoriju.

Zahvaljujem svojim roditeljima koji su mi omogućili ovaj studij i bili velika podrška.

Na kraju želim zahvaliti svim članovima Zavoda za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije na ugodnoj atmosferi pri izradi eksperimentalnog dijela.

SAŽETAK

*Sinteza derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila s potencijalnim citostatskim djelovanjem*

Cilj ovog rada bila je sinteza derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila (**4-7**) kao spojeva s potencijalnim antitumorskim djelovanjem. U tu svrhu iz 5-klor-2-fluorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila (**1**) sintetizirani su azidi benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila (**2, 3**). 1,2,3-triazolni derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (**4-7**) pripremljeni su reakcijom 1,3-dipolarne cikloadicije odgovarajućeg azida (**2, 3**) i različitih terminalnih alkina uz bakar(I) kao katalizator, prema načelima „klik“ kemije. Produkti reakcija su izolirani kolonskom kromatografijom. Strukture svih sintetiziranih spojeva potvrđene su ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom. Benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril koji sadrži 4-ciklopropil-1,2,3-triazolne supstituente u položajima 2 i 5 pokazao je snažno inhibitorno djelovanje na stanice karcinoma debelog crijeva HCT116 (GI₅₀ = 1,6 μM).

Ključne riječi: benzimidazo[1,2-*a*]kinolin, benzimidazol, „klik“ kemija, 1,2,3-triazoli, 1,3-dipolarna cikloadicija.

SUMMARY

*Synthesis of benzimidazo[1,2-*a*]quinoline-6-carbonitrile derivative with potentially cytostatic activity*

The aim of this work was the synthesis of novel benzimidazo[1,2-*a*]quinoline-6- carbonitrile with a potential antitumor activity. For this purpose, 5-chloro-2-fluorobenzimidazo[1,2-*a*]quinoline-6- carbonitrile (**1**) were converted to the corresponding azido derivatives of benzimidazo[1,2-*a*]quinoline (**2**, **3**). 1,2,3-Triazole derivatives of benzimidazo[1,2-*a*]quinoline (**4-7**) were prepared using the reaction of 1,3-dipolar cycloaddition of the corresponding azide derivatives (**2**, **3**) and terminal alkynes with Cu(I) as a catalyst, following the concept of “click“ chemistry. Reaction products were isolated by the column chromatography. The structures of all compounds have been confirmed by ¹H i ¹³C NMR spectroscopy. Benzimidazo[1,2-*a*]quinoline-6-carbonitrile with 4-cyclopropyl-1,2,3-triazole substituents at 2 and 5 positions exhibited strong inhibitory activity against colon carcinoma HCT116 cell line (GI₅₀ = 1,6 μM).

Keywords: benzimidazo[1,2-*a*]quinoline, benzimidazoles, “click“ chemistry, 1,2,3- triazoles, 1,3-dipolar cycloaddition.

Popis kratica

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

NMR – nuklearna magnetska rezonancija

TLC – tankoslojna kromatografija

UV (eng. ultraviolet) – ultraljubičasto zračenje

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	3
2.1. Benzimidazoli i njihova biološka aktivnost	4
2.1.1. Sinteza benzimidazo[1,2- <i>a</i>]kinolina.....	5
2.2. 1,2,3-triazoli	9
2.2.1. Svojstva triazola	9
2.3. „Klik“ kemija	10
2.4. Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija.....	10
2.5. Azid-alkin cikloadicija katalizirana bakrom (CuAAC).....	11
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	12
3.1. Opće napomene	13
3.2. Pregled sintetiziranih spojeva.....	14
3.3. Postupci za sintezu spojeva (2-7)	14
4. REZULTATI I RASPRAVA	17
4.1. Sinteza spojeva	18
4.2. Analiza spektara ¹ H i ¹³ C NMR	19
4.3. Rezultati bioloških ispitivanja	21
5. ZAKLJUČCI	22
6. LITERATURA.....	24
7. PRILOZI.....	27
8. ŽIVOTOPIS	30

1. UVOD

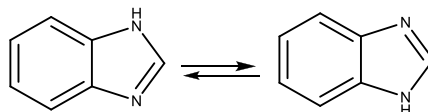
U današnjem svijetu javlja se velik broj karcinoma i bolesti za koje još uvijek ne postoji lijek te time raste potreba čovjeka za otkrivanjem novih spojeva s citostatskim djelovanjem. Karcinom (rak) razara strukturu i normalno funkcioniranje tkiva čovjeka i životinja. Točan uzrok raka još uvijek nije utvrđen, ali su poznate činjenice da različite zaraze i vanjski čimbenici poput zračenja i kemijskih tvari mogu izazvati preobrazbu normalnih stanica u zloćudne tvorevine.¹ Budući da je klasična kemoterapija, koja koristi male molekule ili bioaktivne prirodne tvari i dalje glavno sredstvo liječenja tumora, posljednjih godina bilježi se rast novih heterocikličkih molekula s antitumorskom aktivnošću. Mnoge kancerogene tvari uzrokuju abnormalan rast stanica i mogu izazvati nastanak nakupina stanica, koje jednim imenom zovemo tumor. Tvari koje uništavaju zloćudne stanice zaustavljajući njihov rast i diobu nazivaju se citostatici, a njihov glavni problem je neselektivnost, odnosno, ne uništavaju samo zloćudne stanice, već i one zdrave.

Benzimidazolna jezgra i njezini derivati ključne su jedinice mnogih heterocikličkih antitumorskih lijekova zbog svoje sličnosti s purinskim bazama. Upravo ta sličnost omogućava benzimidazolu vezanje na molekulu DNK. Osim antitumorskog djelovanja benzimidazoli i njihovi ciklički derivati imaju izraženu antimikrobnu, antivirusnu i antialergijsku aktivnost te mnoge druge.²

2. OPĆI DIO

2.1. Benzimidazoli i njihova biološka aktivnost

Benzimidazol je biciklički aromatski spoj koji nastaje povezivanjem benzenskog i imidazolnog prstena (Slika 1).³

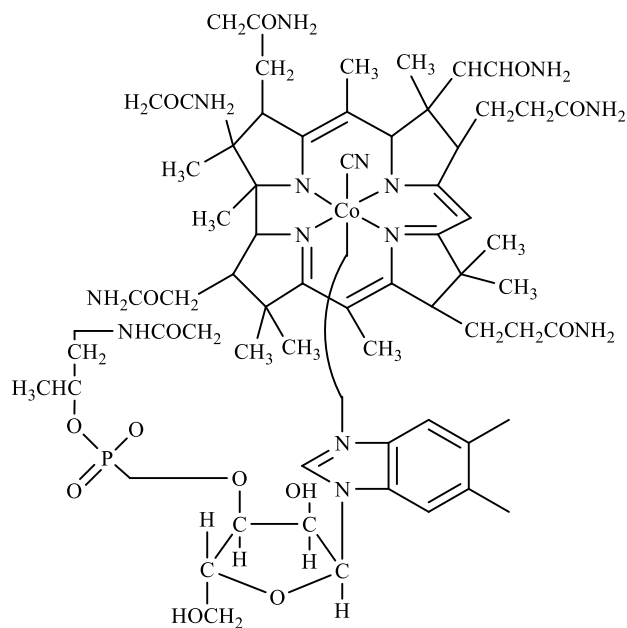


Slika 1. Struktura benzimidazola

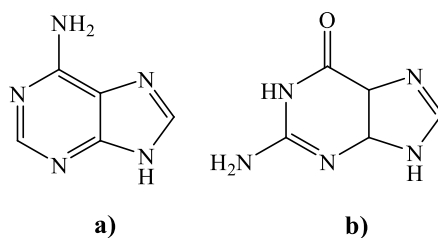
Kao biološki aktivna tvar primjenjuje se od sredine prošlog stoljeća kada je potvrđeno da je benzimidazolna struktura sastavni dio vitamina B₁₂ i njegovih derivata (Slika 2). 1990. godine sintetizirani su različiti derivati benzimidazola sa supstituiranim fluorom, klorom, propilenom i tetrahidrokinolinom što je rezultiralo povećanjem stabilnosti spoja i poboljšanjem biološke aktivnosti. Struktura benzimidazola slična je strukturi purinske baze nukleotida (Slika 3). Upravo ta sličnost omogućava benzimidazolu interakciju s biomolekulama poput DNK, RNK i proteina. Najčešće korištene klase kemoterapijskih agensa u terapiji raka obuhvaćaju molekule koje djeluju u interakciji s DNK kao što su sredstva za alkiliranje DNK ili interkalatori. Interkalatori se u većini slučajeva sastoje od dva ili više planarnih spojenih aromatskih ili heteroaromatskih prstenova koji se mogu umetnuti između susjednih parova baza DNK molekula bez narušavanja ukupnog slaganja. Aktivnost mnogih antitumorskih lijekova temelji se na interkalaciji, a selektivnost bi se mogla poboljšati uvođenjem specifičnih supstituenata na interkalativnu aromatsku jezgru. Supstituirani benzimidazoli i njihovi ciklički derivati privukli su veliku pažnju medicinskih i organskih kemičara zbog širokog raspona bioloških djelovanja iz ove klase spojeva.⁴

Povećanjem konjugacije benzimidazola dolazi do poboljšanja antitumorskih svojstava te tako spajanjem benzimidazola s drugim heterocikličkim molekulama nastaju visoko konjugirani planarni spojevi s poboljšanom biološkom aktivnošću.

Visoki intenzitet fluorescencije konjugiranih derivata benzimidazola i njihova mogućnost interakcije s biomolekulama omogućava upotrebu tih spojeva za detektiranje biološki važnih molekula. Jedan od važnijih derivata benzimidazola s proširenom konjugacijom je benzimidazo[1,2-*a*]kinolin.⁵



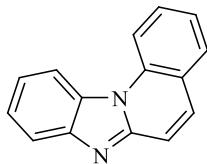
Slika 2. Vitamin B₁₂



Slika 3. Purinske baze molekule DNK; adenin (a) i gvanin (b)

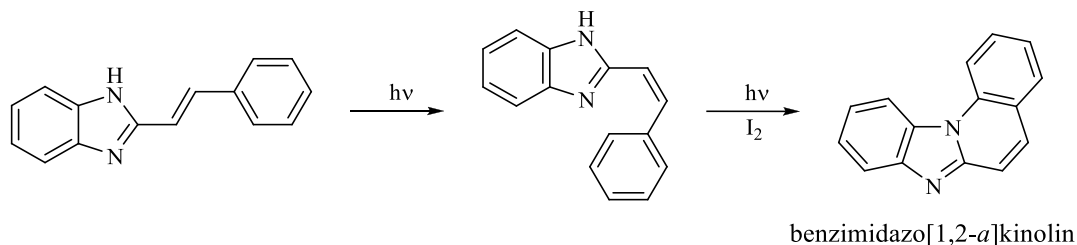
2.1.1. Sinteza benzimidazo[1,2-*a*]kinolina

Benzimidazo[1,2-*a*]kinolini (Slika 4) su ciklički derivati benzimidazola sastavljeni od kinolinske jezgre kondenzirane na benzimidazolni prsten.⁶



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

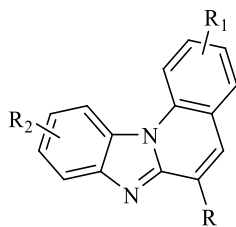
Prvi su ih put sintetizirali G. Cooper i W. J. Irwin reakcijom fotokemijske dehidrociklizacije *trans*-2-stirilbenzimidazola uz korištenje joda kao katalizatora i UV živine lampe (Shema 1).



Shema 1. G. Cooperova i W. J. Irwinova sinteza benzimidazo[1,2-*a*]kinolina

Reakcija se provodila osvjetljavanjem pod UV lampom čime je došlo do izomerizacije *trans*-izomera u *cis*-izomer nakon čega reakcijom ciklizacije nastaje benzimidazokinolin. Ova reakcija predstavlja jedan od sintetskih puteva za pripremu cikličkih molekula prilikom čega nastaje C-N veza između *o*-C-atoma fenilne i N-atoma benzimidazolne jezgre.

Njemački sintetičar D. Guenther⁷ je 1978. godine razvio i patentirao sintetsku metodu za izravno dobivanje dvadeset različito supstituiranih benzimidazo[1,2-*a*]kinolina reakcijom 2-alkoksibenzaldehida i 2-fenilsulfonilmetilbenzimidazola uz piperidinijev acetat kao bazu (Slika 5, Tablica 1).



Slika 5. Različito supstituirani benzimidazo[1,2-*a*]kinolini dobiveni reakcijom 2-alkoksibenzaldehida i 2-fenilsulfonilmetilbenzimidazola uz piperidinijev acetat kao bazu

Tablica 1. Prikaz sintetiziranih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina

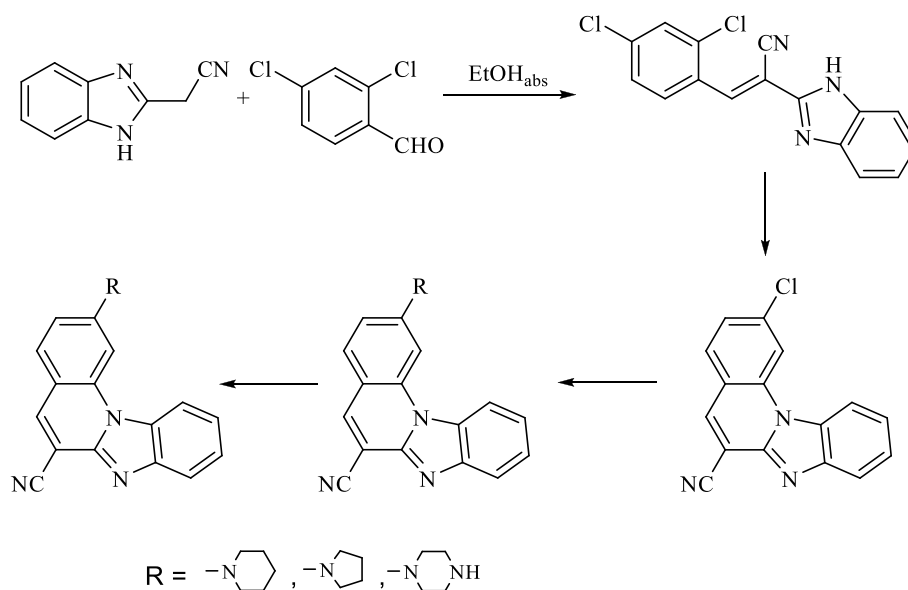
Spoj	R	R ₁	R ₂
1.	SO ₂ C ₆ H ₅	H	H
2.	CN	H	H
3.	CO ₂ HCO ₂ H	H	H
4.	SO ₂ C ₆ H ₅	4-CH ₃ O	H
5.	CN	4-CH ₃ O	H
6.	CH ₃ O	H	H
7.	5,6-difenil	H	5,6-difenil
8.	CN	H	5,6-difenil
9.	SO ₂ C ₆ H ₅	H	NHCOCH ₃
10.	SO ₂ C ₆ H ₅	H	CH ₃
11.	CN	4-OH	CH ₃
12.	SO ₂ C ₆ H ₅	4,5-diOCH ₃	H
13.	CN	4,5-diOCH ₃	H
14.	SO ₂ C ₆ H ₅	4-OH	H
15.	SO ₂ C ₆ H ₅	H	NO ₂
16.	SO ₂ C ₆ H ₅	H	NH ₂
17.	CN	H	NH ₂
18.	SO ₂ C ₆ H ₅	4-NHCOCH ₃	H
19.	COCH ₃	4-NHCOCH ₃	H
20.	SO ₂ C ₆ H ₅	4-NH ₂	H

Prema radu objavljenom 1979. V. U. Shenoy i S. Sesardi sintetizirali su derivate 7-dietilaminobenzimidazo[1,2-*a*]kinolina prema ranije objavljenom patentu iz 1975.godine.⁸ Kineski istraživači i suradnici objavili su 2010. godine znanstveni rad koji opisuje nešto noviji način pripreme benzimidazo[1,2-*a*]kinolina. Nova metoda sinteze temelji se na bakrom kataliziranim kaskadnim reakcijama, a u usporedbi s dosadašnjim načinom sinteze

benzimidazo[1,2-*a*]kinolina daje znatno bolje rezultate. Metoda je jednostavna i djelotvorna, a kao rezultat dobivaju se dobri prinosi produkata.⁹

Skupina japanskih istraživača¹⁰ opisala je učinkovitu metodu dobivanja 5-aminobenzimidazo[1,2-*a*]kinolina *one pot* kaskadnom reakcijom u dva koraka. Kaskadna reakcija uključuje aromatsku nukleofilnu supstituciju i Dieckmann-Thorpeovu ciklizaciju, a sinteza kreće od 2-fluorarilnitrila i supstituiranih benzimidazola. Kod pripremljenih spojeva zamijećena je fluorescencija.

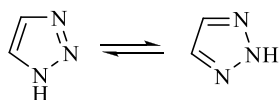
N. Perin, M. Hranjec i suradnici ispitivali su mogućnost upotrebe derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (Shema 2) kao fluorescentnih DNK proba. Provedene su sinteze benzimidazo[1,2-*a*]kinolina supstituiranih s piperidinom, pirolidinom i piperazinom koristeći nekatalitičku aminaciju potpomognutu mikrovalovima čime je znatno smanjeno vrijeme reakcije, postupak dobivanja željenog produkta je jednostavniji te nastaje u većem iskorištenju. Mogućnost korištenja spojeva kao fluorescencijskih DNK proba istražena je i utvrđena na temelju emisijske fluorescencijske spektroskopije. Na temelju rezultata emisijskih fluorescencijskih spektara utvrđeno je da bi se amino-supstituirani benzimidazokinolini zbog visokog intenziteta fluorescencije te jakog afiniteta vezanja za DNK mogli upotrijebiti kao DNK probe.¹¹



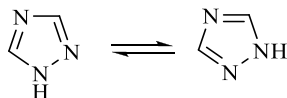
Shema 2. Sintaza benzimidazo[1,2-*a*]kinolina supstituiranih s piperidinom, pirolidinom, piperazinom

2.2. 1,2,3-triazoli

Triazoli su aromatski heterociklički spojevi koji se mogu pronaći u mnogim biološki aktivnim tvarima. Iako nisu pronađeni u prirodi, istraživanja pokazuju mogućnost njihove široke primjene. Triazolni prsten se sastoji od dva ugljikova i tri dušikova atoma koji mogu biti na pozicijama 1, 2 i 3 ili 1, 2 i 4 u prstenu te tada govorimo o 1,2,3-, odnosno 1,2,4-triazolima. Svaki od njih ima dvije tautomerne strukture koje se razlikuju u položaju vodikovih atoma i dvostrukih veza (Slika 6, 7).¹² Supstituirani 1,2,3-triazoli nastaju Huisgenovom 1,3-dipolarnom cikloadicijom, ali se reakcija mora provoditi u prisustvu bakra kao katalizatora kako bi ispunjavala kriterije „klik“ kemije.



Slika 6. Tautomerne strukture 1,2,3-triazolne jezgre



Slika 7. Tautomerne strukture 1,2,4-triazolne jezgre

2.2.1. Svojstva triazola

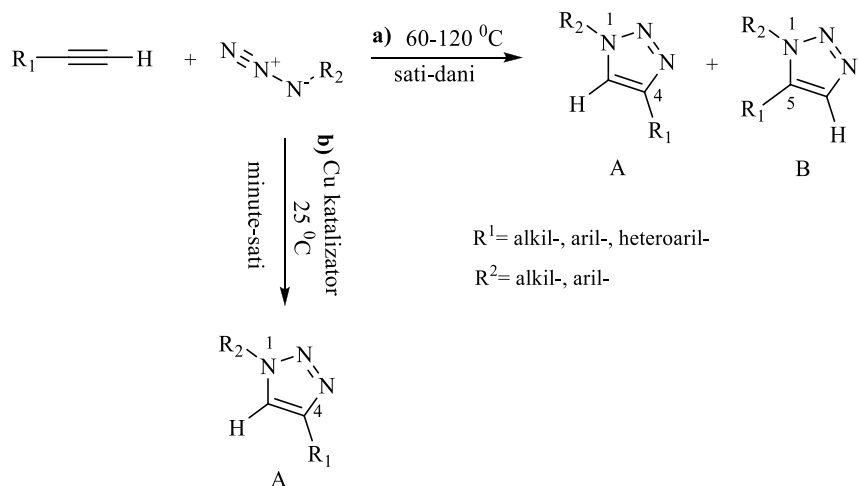
Derivati 1,2,3-triazola privlače veliku pozornost zbog svoje izuzetne stabilnosti. Otporni su na metaboličku i enzimsku razgradnju, te na hidrolitičke, redukcijske i oksidacijske uvjete. Osim toga, triazolni prsten ima visoki dipolni moment i aktivno sudjeluje u stvaranju vodikove veze kao i u dipol-dipol interakcijama. Posljedica tih interakcija jest dobra topljivost spojeva te mogućnost vezanja s različitim enzimima i receptorima u biološkom sustavu. Zbog navedenih svojstava 1,2,3-triazoli su vrlo važni biološki aktivni spojevi te su sastavni dio lijekova protiv gljivica, virusa i bakterija, a u novije vrijeme primjenjuju se kao antitumorska sredstva.¹³

2.3. „Klik“ kemija

Pojam „klik“ kemije prvi put je uveden 2001. godine od strane američkih znanstvenika Sharplessa, Kolba i Finna, a odnosi se na reakcije u kojima nastaju veze između atoma ugljika sa određenim heteroatomima te dolazi do nastajanja produkata s biološkim djelovanjem.¹⁴ „Klik“ reakcije moraju biti široko primjenjive, stereospecifične i davati visoka iskorištenja sa različitim početnim spojevima. Produkti se moraju moći jednostavno pročistiti bez potrebe za korištenjem kromatografskih metoda, a tražene karakteristike procesa uključuju: blage reakcijske uvjete bez osjetljivosti na kisik ili vodu, lako dostupne polazne spojeve i reagense, provođenje reakcije bez otapala ili korištenje zelenih otapala (primjerice voda).¹⁵

2.4. Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija

1,3-dipolarnu cikloadiciju između terminalnih alkina i azida prvi je izveo njemački kemičar R. Huisgen 1963. godine te nam je danas poznata kao Huisgenova reakcija. Zagrijavanjem alkina i azida izolirao je smjesu 1,4- i 1,5-regioizomera **A** i **B** (Shema 3a) u približnom omjeru 1:1.¹⁶ Reakcija je bila vrlo spora, zahtijevala visoku temperaturu ili visoki tlak te nije bila u skladu s načelima „klik“ kemije.¹⁷ Uvođenjem bakar(I) kao katalizatora, reakcija cikloadicije postala je regioselektivna, mogla se odvijati pri sobnoj temperaturi u vrlo kratkom vremenu, a kao produkt nastajao je izrazito stabilan 1,4-regioizomer (Shema 3b, **A**).



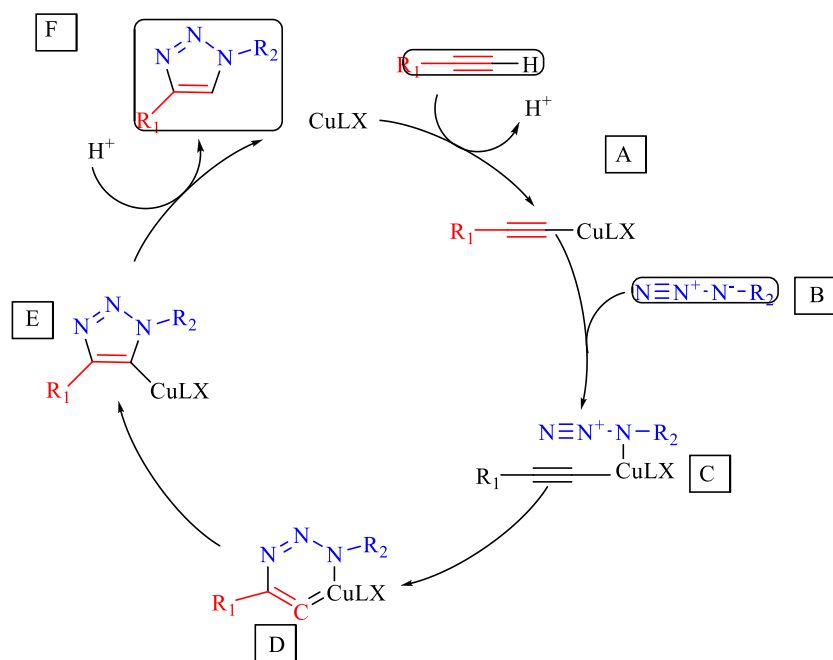
Shema 3. 1,3-dipolarna cikloadicija bez katalizatora (a) i u prisustvu katalizatora (b)

2.5. Azid-alkin cikloadicija katalizirana bakrom (CuAAC)

Početak 21. stoljeća Sharpless i suradnici razvili su koncept „klik“ kemije¹⁸ i otkrili pristup sintezi 1,2,3-triazola koji koristi bakar(I) kao katalizator, a rezultira stvaranjem 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazola s visokim iskorištenjima.

Bakrom katalizirana cikloadicija azida i alkina je regioselektivna, kemoselektivna i može se provoditi u vodenom mediju pri sobnoj temperaturi čime zadovoljava kriterije „klik“ kemije. Uvođenjem bakar(I) smanjuje se energija aktivacije reaktanata čime se ubrzava kemijska reakcija. Izvori bakar(I) iona mogu biti bakar(I) soli, od kojih se najčešće koriste bakrov jodid ili bromid, te bakar(II) soli, najčešće bakrov acetat ili sulfat, koje se reduciraju *in situ* u prisustvu nekog reducensa.¹⁹

U prvom stupnju mehanizma ove reakcije, bakar(I) koordinira π -elektrone alkina i nastaje π -kompleks bakar(I) i alkina (A). Koordinirani bakar(I) zatim omogućava deprotoniranje slabom bazom i nastanak bakar(I) acetilida (B) koji reagira s azidom dajući intermedijer (C). Nastali intermedijer s bakrom(I) pregrađuje se u šesteročlani prsten (D). U sljedećem stupnju nastaje 1,2,3-triazolni prsten (E) supstituiran bakrom(I) koji ga se oslobađa protoniranjem dajući 1,4-supstituirani 1,2,3-triazol (F) (Shema 4).¹⁴



Shema 4. Mehanizam Huisgenove 1,3-dipolarne cikloadicije

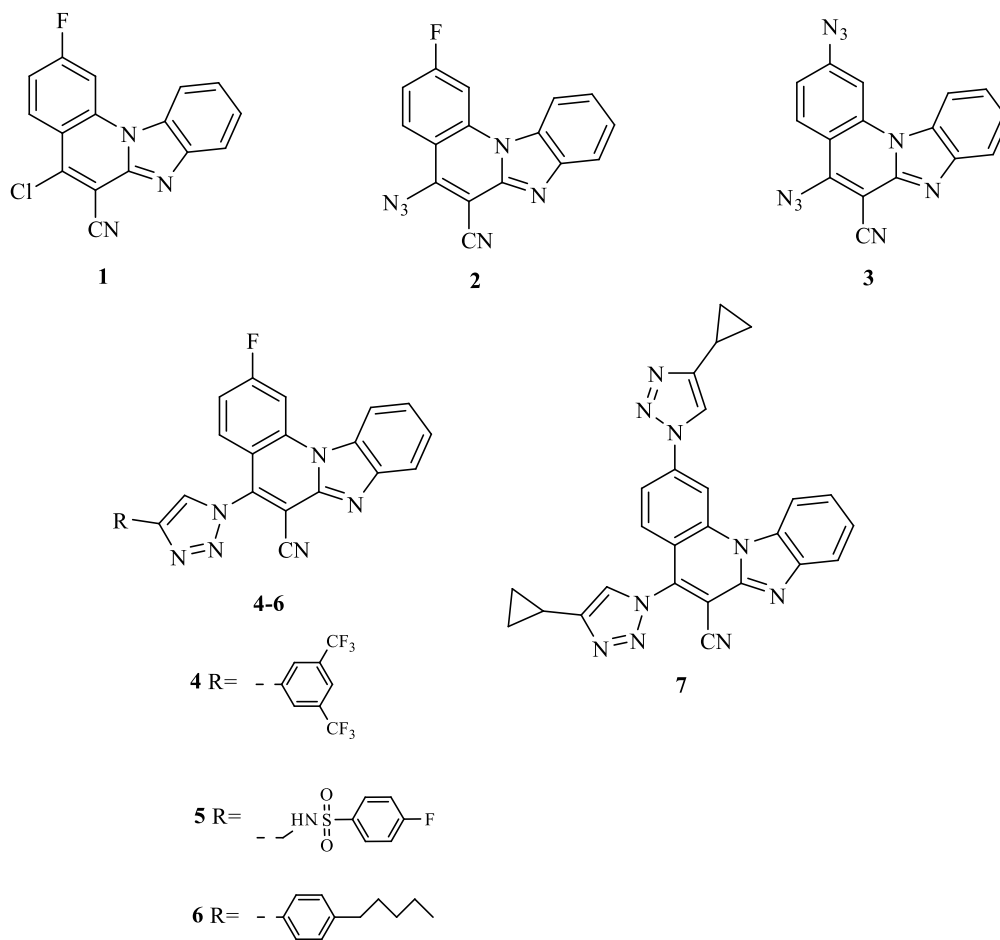
3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Opće napomene

Sva otapala su sušena/pročišćivana prema preporučenom postupku sušenja agensima i/ili destiliranjem preko molekulskih sita veličine 3Å. Za tankoslojnu kromatografiju (TLC) korištene su ploče 60F-254 prevučene slojem silikagela *Merck*, a za detekciju izoliranih komponenata korištena je UV svjetlost valne duljine 254 nm. Kromatografija na koloni provedena je na silikagelu (*Fluka*, 0,063-0,2 mm), staklene kolone punjene su pod utjecajem gravitacije, a kao eluens korištene su odgovarajuće smjese CH₂Cl₂/CH₃OH. Točke tališta sintetiziranih spojeva određene su na instrumentu Kofler (Reichert, Wien) i nisu korigirane. Spektri ¹H NMR i ¹³C NMR snimljeni su na spektrometru Bruker 300 i 600 MHz. Svi uzorci otopljeni su u DMSO-*d*₆ i mjereni pri 298 K. Kemijski pomaci (δ) u ¹H NMR spektrima i ¹³C NMR spektrima izraženi su u ppm u odnosu prema DMSO na δ 2,50 ppm. Pojedine rezonancije pridružene su na temelju kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta signala i H-H konstanti sprege.

Mehanokemijska reakcija provedena je u mlinu IST500 (InSolido Tehnologies, Hrvatska), pri 30 Hz u PTFE reakcijskim posudama koristeći kuglice od nehrđajućeg čelika.

3.2. Pregled sintetiziranih spojeva



Slika 8. Pregled sintetiziranih spojeva

3.3. Postupci za sintezu spojeva (2-7)

5-azido-2-fluorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (2) i 2,5-diazidobenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (3)

U suspenziju 5-klor-2-fluorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila (1) (200 mg, 0,720 mmol) u acetonu (50 ml), dodan je natrijev azid (116,8 mg, 0,942 mmol, 2,4 eq). Reakcijska smjesa miješana je na temperaturi refluksa 1h. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatak nakon uparavanja pročišćen je kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 50 : 1). Izolirana je smjesa u obliku smeđeg praškastog spoja (2) i (3) (174,8 mg, 87%).

5-(4-(3,5-di(trifluormetil)fenil-1,2,3-triazol-1-il)fluorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (4)

Suspenciji azidnog derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (2) i (3) (96,6 mg, 0,340 mmol) u metanolu (5 ml) doda se Cu(OAc)₂ (4,9 mg, 0,027 mmol, 0,08 eq) i dokapa se 1-etinil-3,5-di(trifluormetil)benzen (0,07 ml, 0,408 mmol, 1,2 eq). Reakcijska smjesa miješa se 48 h na refluku. Nakon završetka reakcije otapalo se upari pri sniženom tlaku i ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 100 : 1). Izoliran je žuti praškasti spoj **4** (132,8 mg, 94 %, t.t > 250 °C).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ/ppm: 9,76 (s, 1H, H-triaz.), 8,95 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 8,83 (dd, *J* = 10,4, 1,9 Hz, 1H), 8,75 (s, 2H, Ph-2', Ph-6'), 8,22 (s, 1H, Ph-4'), 8,17 – 8,11 (m, 1H), 7,76 – 7,57 (m, 4H). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO) δ/ppm: 167,55, 164,17, 145,29, 144,72, 144,22, 141,36, 138,01, 137,85, 132,60, 131,94, 131,50, 130,96, 130,21, 130,06, 129,14, 127,38, 126,52, 125,52, 125,25, 122,64, 121,91, 121,11, 118,29, 115,88, 115,45, 114,91, 114,60, 112,65, 104,61, 104,24, 100,39, 100,35.

5-(4-(4-fluorbenzensulfonamid)metilen-1,2,3-triazol-1-il)fluorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (5)

Suspenciji azidnog derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (2) i (3) (120,0 mg, 0,176 mmol) u metanolu (4 ml) doda se Cu(OAc)₂ (2,6 mg, 0,014 mmol, 0,08 eq) i doda se 4-fluor-N-(2-propinil)benzensulfonamid (187,0 mg, 0,211 mmol, 1,2eq). Reakcijska smjesa miješa se 1h na refluku. Nakon završetka reakcije otapalo se upari pri sniženom tlaku i ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 100 : 1). Izoliran je žuti praškasti spoj **6** (60,4 mg, 69%, t.t = 165-170 °C).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ/ppm: 8,91 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 8,80 (dd, *J* = 10,3, 2,1 Hz, 1H), 8,67 (s, 1H, H-triaz.), 8,47 (s, 1H, NH), 8,14 – 8,08 (m, 1H), 7,96 – 7,89 (m, 2H), 7,88 – 7,81 (m, 1H), 7,73 – 7,66 (m, 2H), 7,49 – 7,39 (m, 3H), 7,27 (dd, *J* = 9,1, 6,0 Hz, 1H), 4,34 (d, *J* = 5,1 Hz, 2H, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO) δ/ppm: 167,41, 166,28, 164,02, 162,96, 145,00, 144,65, 144,19, 141,70, 137,75, 137,59, 137,28, 130,87, 130,19, 130,06, 127,34, 126,49, 125,20, 121,06, 117,01, 116,71, 115,88, 115,80, 114,85, 114,53, 112,57, 104,58, 104,21, 38,25, 32,81.

5-(4-pentilfenil-1,2,3-triazol-1-il)fluorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (6)

Suspenciji azidnog derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (**2**) i (**3**) (100,0 mg, 0,352 mmol) u metanolu (5 ml) doda se Cu(OAc)₂ (5,1 mg, 0,028 mmol, 0,08 eq) i dokapa se 1-etinil-4-pentilbenzen (0,08 ml, 0,422 mmol, 1,2 eq). Reakcijska smjesa miješa se 1h na refluku. Nakon završetka reakcije otapalo se upari pri sniženom tlaku i ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 100 : 1). Izoliran je narančasti praškasti spoj **6** (114,1 mg, 71%, t.t= 245-250 °C).

¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ/ppm: 9,33 (s, 1H), 8,92 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 8,81 (dd, *J* = 10,3, 2,1 Hz, 1H), 8,14 – 8,12 (m, 1H), 7,95 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 7,74 – 7,66 (m, 4H), 7,61 – 7,57 (m, 1H), 7,38 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 2,68 – 2,63 (m, 3H), 1,66 – 1,60 (m, 2H), 1,39 – 1,26 (m, 6H). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO) δ/ppm: 167,49, 167,23, 164,11, 163,85, 150,88, 147,92, 147,92, 144,87, 144,70, 144,70, 143,65, 136,21, 136,21, 130,93, 129,67, 129,67, 129,54, 127,32, 126,88, 126,48, 126,40, 126,28, 126,14, 125,19, 124,90, 121,08, 120,91, 115,85, 115,79, 114,96, 114,64, 114,23, 113,23, 112,74, 104,57, 104,36, 104,20, 103,99, 35,40, 35,35, 31,30, 30,98, 30,93, 22,42, 14,40.

2,5-bis(4-ciklopropil-1,2,3-triazol-1-il)benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (7)

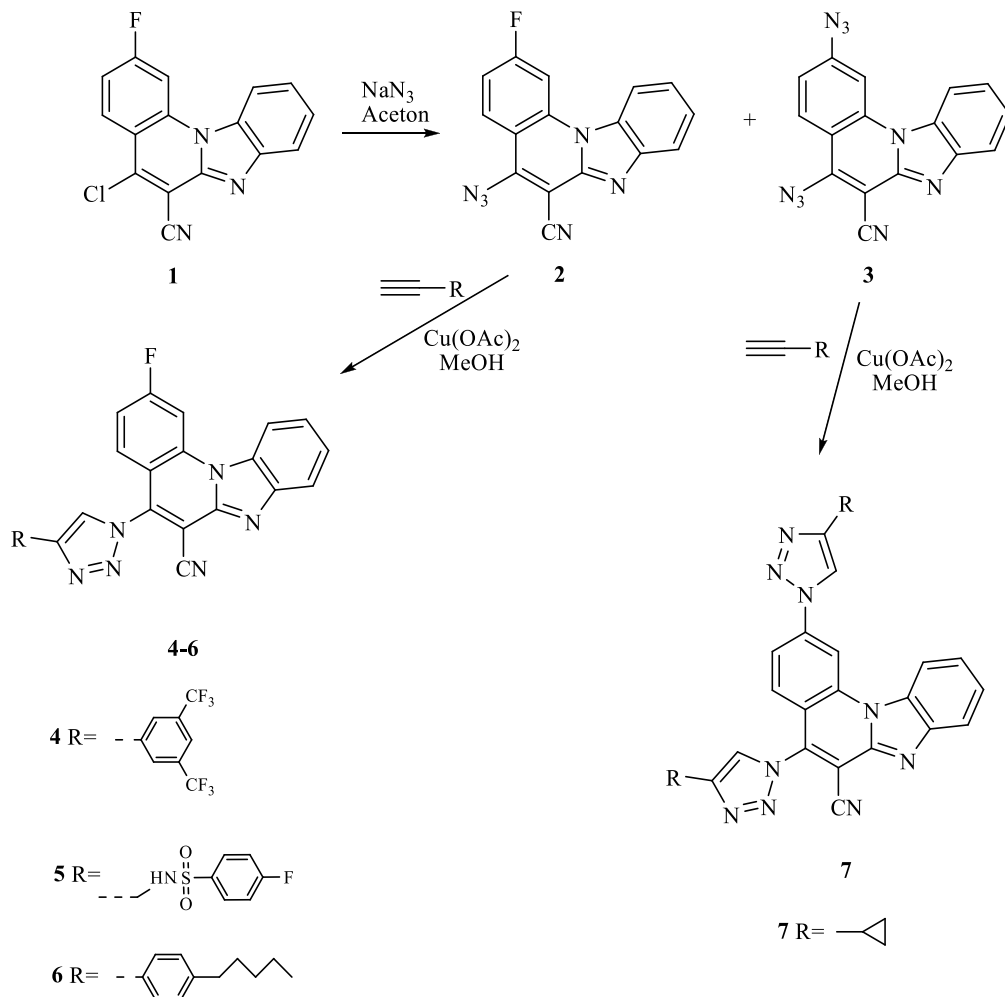
Suspenciji azidnog derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (**2**) i (**3**) (161,3 mg, 0,567 mmol) u metanolu (8 ml) doda se Cu(OAc)₂ (8,24 mg, 0,045 mmol) i dokapa se ciklopropilaceten (0,06 ml, 0,681 mmol). Reakcijska smjesa miješa se 1h na refluku. Nakon završetka reakcije otapalo se upari pri sniženom tlaku i ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu i aluminijevom oksidu (diklormetan : metanol = 100 : 1). Izoliran je žuti praškasti spoj **7** (84,8 mg, 43%, t.t > 250 °C).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ/ppm: 8,99 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, H-triaz.), 8,74 – 8,64 (m, 2H), 8,19 – 8,03 (m, 2H), 7,73 – 7,59 (m, 3H), 2,31 – 2,09 (m, 2H, CH-cikloprop.), 1,17 – 0,86 (m, 8H, CH₂-cikloprop.). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO) δ/ppm: 167,41, 166,28, 164,02, 162,96, 145,00, 144,65, 144,19, 141,70, 137,75, 137,59, 137,26, 130,87, 130,19, 130,06, 129,54, 129,39, 127,34, 126,49, 125,20, 121,06, 117,01, 116,71, 115,80, 114,85, 114,53, 112,57, 104,58, 104,21, 38,25.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Sinteza spojeva

Cilj ovog završnog rada bila je sinteza potencijalno biološki aktivnih 1,2,3-triazolnih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina regioselektivnom reakcijom 1,3-dipolarne cikloadicije uz Cu(I) kao katalizator. Sintetizirani su 2-fluor-5-(1,2,3)-triazolni derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila (4-6) s različitim supstumentima u položaju C-4 triazolnog prstena (Shema 5).



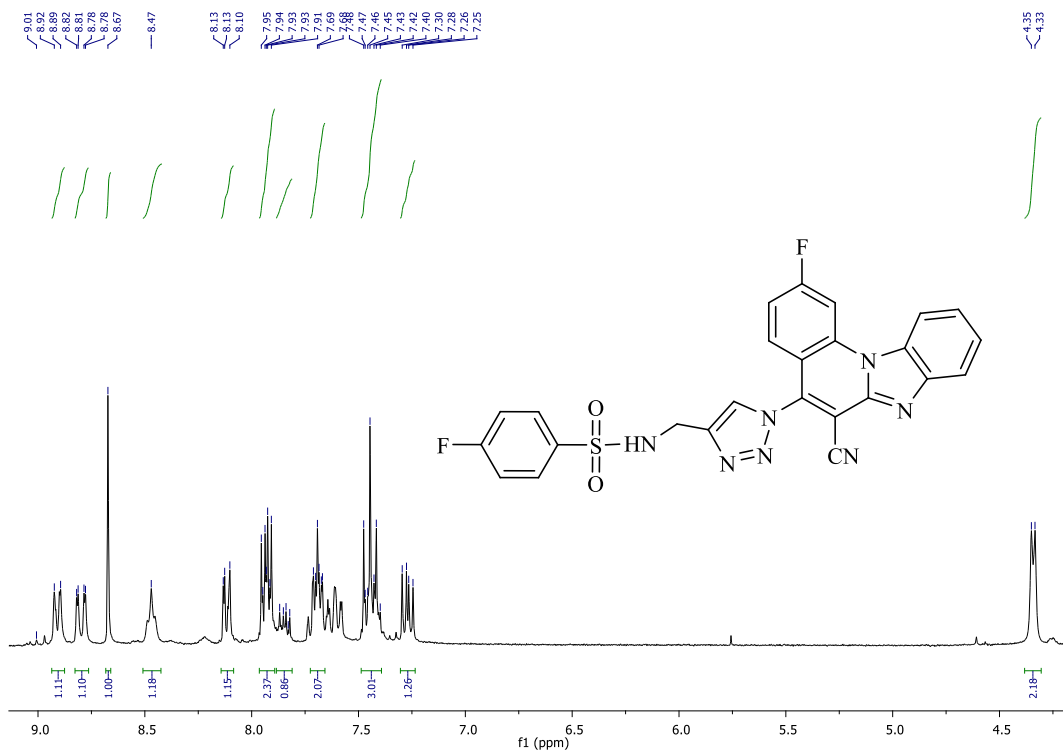
Shema 5. Sinteza 1,2,3-triazolnih 2-fluoriranih derivata benzimidazo [1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila (4-7)

U prvom stupnju reakcije 5-klor-2-fluorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (**1**) preveden je u azidne derivate 5-azido-2-fluorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (**2**) i 2,5-diazidobenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (**3**). Nastali azidni derivati **2** i **3** reagiraju s terminalnim alkinima pri čemu nastaju spojevi **4-7** s triazolnim prstenom supstituiranim u položaju 4. Ovisno o vrsti terminalnog alkina dobiveni su različito supstituirani derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila.

Reakcije 1,3-dipolarne cikloadicije katalizirane su s Cu(I), gdje je kao izvor korišten bakrov(II)acetat uz metanol kao redukcijsko sredstvo. Izolirani azidni derivati **2** i **3** termički su nestabilni, ali su pokazali dobro iskorištenje u reakciji s alkinima.

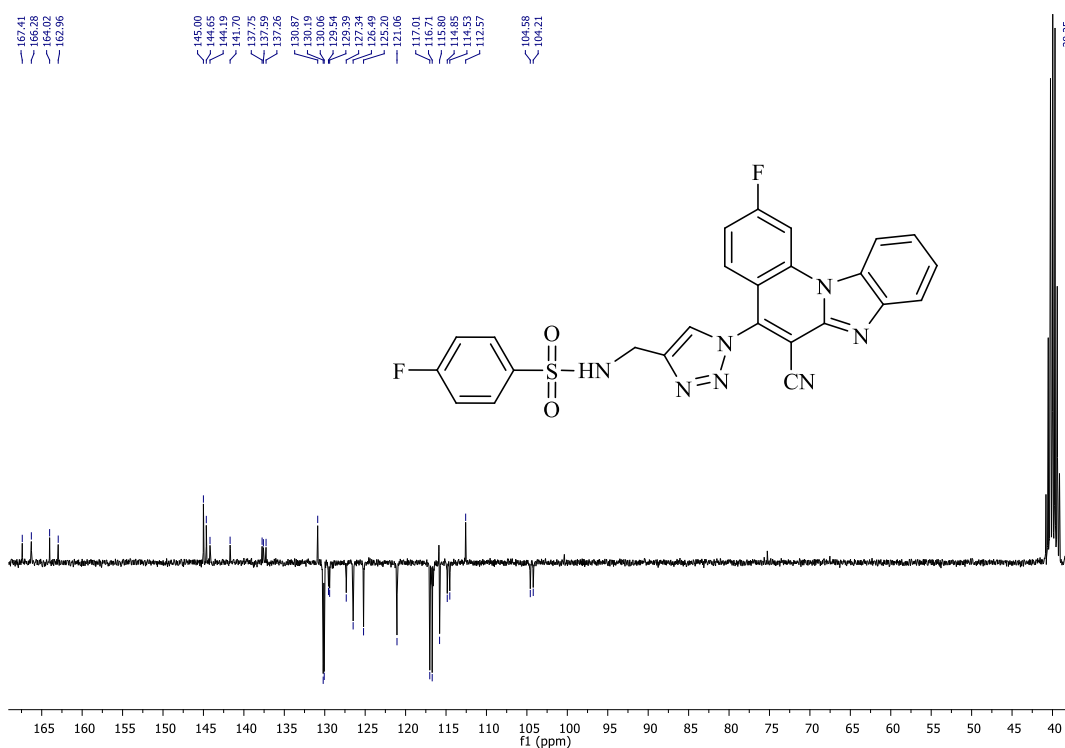
4.2. Analiza spektara ^1H i ^{13}C NMR

Analizom ^1H i ^{13}C NMR spektara spojeva **4-7** na temelju karakterističnih signala određenih skupina potvrđene su strukture dobivenih spojeva.



Slika 9. ^1H NMR spektar spoja **5**.

Iz spektra ^1H NMR spoja **5** vidljivo je ukupno 11 signala u području od 4,30-8,91 ppm. Sprezanja kao i broj protona potvrđuju strukturu spoja **5**. Singlet na 8,67 ppm odgovara karakterističnom cijepanju H-5 protona triazolnog prstena, dok singlet na 8,47 ppm odgovara cijepanju N-H protona sulfonamidne veze. Signali fenilnih protona javljaju se u području od 6,5-8 ppm, a dublet na 4,34 ppm odgovara alifatskim protonima u okolini sulfonamidne veze. Sukladno tome, iz spektra ^{13}C NMR spoja **5** (Slika 10) vidljiva su ukupno 25 signala (12 signala kvaternih C atoma, 12 signala neparnih CH atoma i 1 signal alifatskog CH_2 atoma).



Slika 10. ^{13}C NMR spoja **5**

4.3. Rezultati bioloških ispitivanja

Ispitivano je antiproliferativno djelovanje spojeva **4**, **6** i **7** na tri stanične linije zloćudnih tumora porijeklom iz čovjeka: karcinom debelog crijeva (HCT116), karcinom dojke (MCF-7) i karcinom pluća (H460) (Tablica 2). Spoj **6** pokazao je najslabije djelovanje na odabrane tumorske stanične linije, dok spoj **7** s ciklopropilnim supstituentom u C-4 položaju triazolnog prstena posjeduje najsnažnije inhibitorno djelovanje na stanice karcinoma debelog crijeva HCT116 ($GI_{50} = 1,6 \mu\text{M}$).

Tablica 2. Antiproliferativna aktivnost spojeva **4**, **6** i **7**

Spoj	GI_{50}^a (μM)		
	HCT116	MCF-7	H 460
4	$2 \pm 0,9$	4.5 ± 5	2 ± 0.8
6	7 ± 3	24 ± 7	32 ± 12
7	1.6 ± 0.09	3 ± 0.3	3 ± 0.3

a = koncentracija spoja koja inhibira rast stanica za 50%

5. ZAKLJUČCI

- Spojevi 5-azido-2-fluorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (**2**) i 2,5-diazidobenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (**3**) uspješno su sintetizirani reakcijom nukleofilne supstitucije iz spoja 5-klor-2-fluorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila (**1**) s natrijevim azidom.
- Spojevi **4-7** dobiveni su iz smjese spojeva **2** i **3** „klik“ reakcijom odgovarajućih alkina pomoću bakrovog acetata u metanolu. Strukture novopripremljenih spojeva potvrđene su spektrima ^1H i ^{13}C NMR.
- Novosintetiziranim spojevima **4**, **6** i **7** ispitano je antiproliferativno djelovanje.
- Spoj **6** pokazao je najslabije djelovanje na odabrane tumorske stanične linije, dok spoj **7** s ciklopropilnim supstituentom u C-4 položaju triazolnog prstena posjeduje najsnažnije inhibitorno djelovanje na stanice karcinoma debelog crijeva HCT116 ($\text{GI}_{50} = 1,6 \mu\text{M}$).

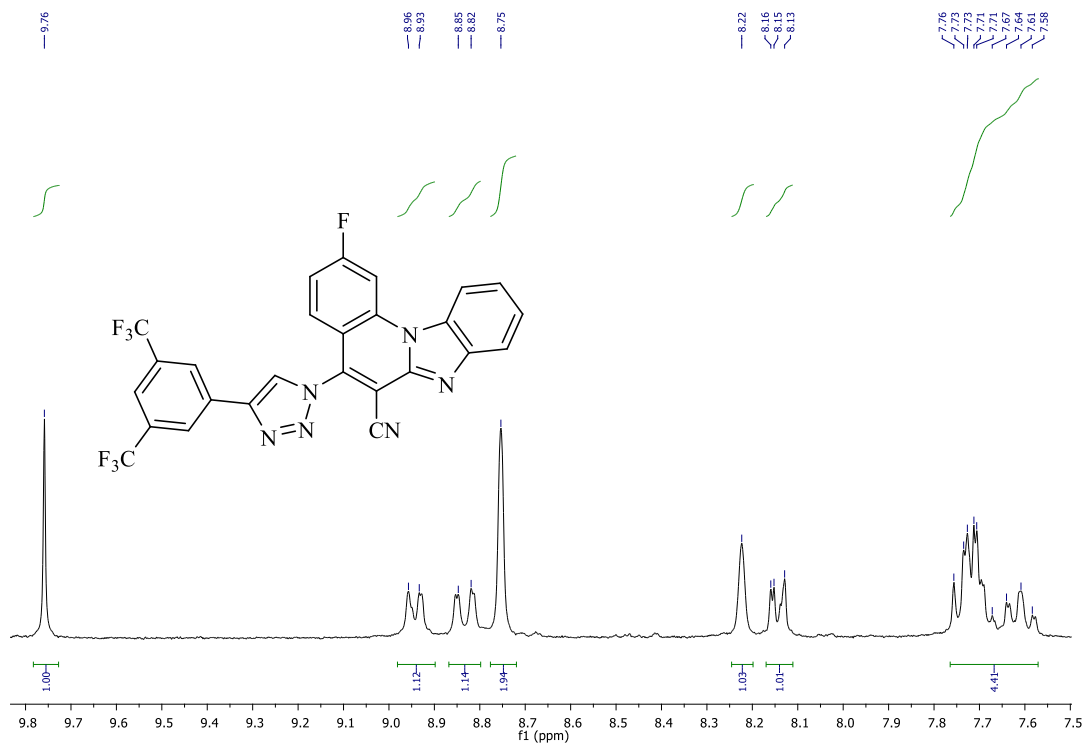
6. LITERATURA

1. Mintas M., Medicinska kemija protutumorskih lijekova, *Medicinska naklada*, Zagreb, 2013.
2. Perin N., Uzelac L., Piantanida I., Karminski-Zamola G., Kralj M., Hranjec M., Novel biologically active nitro and amino substituted benzimidazo [1,2 -a]quinolines. *J. Med. Chem.* 2007, 6329–6330.
3. Balasubramanian N., Deepika S., Pradeep K., Benzimidazole: A medicinally important heterocyclic moiety, *Med. Chem. Res.*, 2012, 270–273.
4. Haider S., Sarwar Alam M., Hamid H., 1,2,3-Triazoles: Scaffold with medicinal significance. *NCBI*, 2014, 1–4.
5. Hranjec M., Kralj M., Piantanida I., Sedić M., Šuman L., Pavelic K., Karminski-Zamola G., Novel Cyano- and Amidino- Substituted Derivatives of Styryl-2-Benzimidazoles and Benzimidazo[1,2- a]quinolines. Synthesis, Photochemical Synthesis, DNA Binding, and Antitumor Evaluation. *J. Med. Chem.*, 2007, 5696–5697.
6. Perin N., Sinteza, mikrovalna sinteza i spektroskopska karakterizacija novih potencijalnih biološki aktivnih derivata benzimidazo[1,2-a]kinolina, diplomski rad, Zagreb, 2009.
7. Gunther D., Erckel, R., Fruhbeis H., Benzimidazo-[1,2-a]-quinolines, *Google Patents*, 1980.
8. Hranjec M., Karminski-Zamola G., Derivati benzimidazola i antitumorsko djelovanje, *Kem.Ind.*, **57**, 2008, 299–306.
9. Cai Q., Li Z., Wei J., Fu L., Ha C., Pei D., Ding K., Synthesis of Aza-Fused Polycyclic Quinolines through Copper-Catalyzed Cascade Reactions, *Org. Lett.*, **12**, 2010, 1500–1503.
10. Kato J.-y., Ito Y., Ijuin R., Aoyama H., Yokomatsu T., Synthesis of 5-aminobenzimidazo[1,2-a]quinoline derivatives through one-pot two-step cascade reaction, *Heterocycles: an international journal for reviews and communications in heterocyclic chemistry*, **93**, 2016, 613–627.
11. Perin N., Hranjec M., Pavlović G., Karminski-Zamola G., Novel aminated benzimidazo[1,2- a]quinolines as potential fluorescent probes for DNA detection: Microwave-assisted synthesis, spectroscopic characterization and crystal structure determination, *Bioorg. Med. Chem.*, **91**, 2011, 79–88.

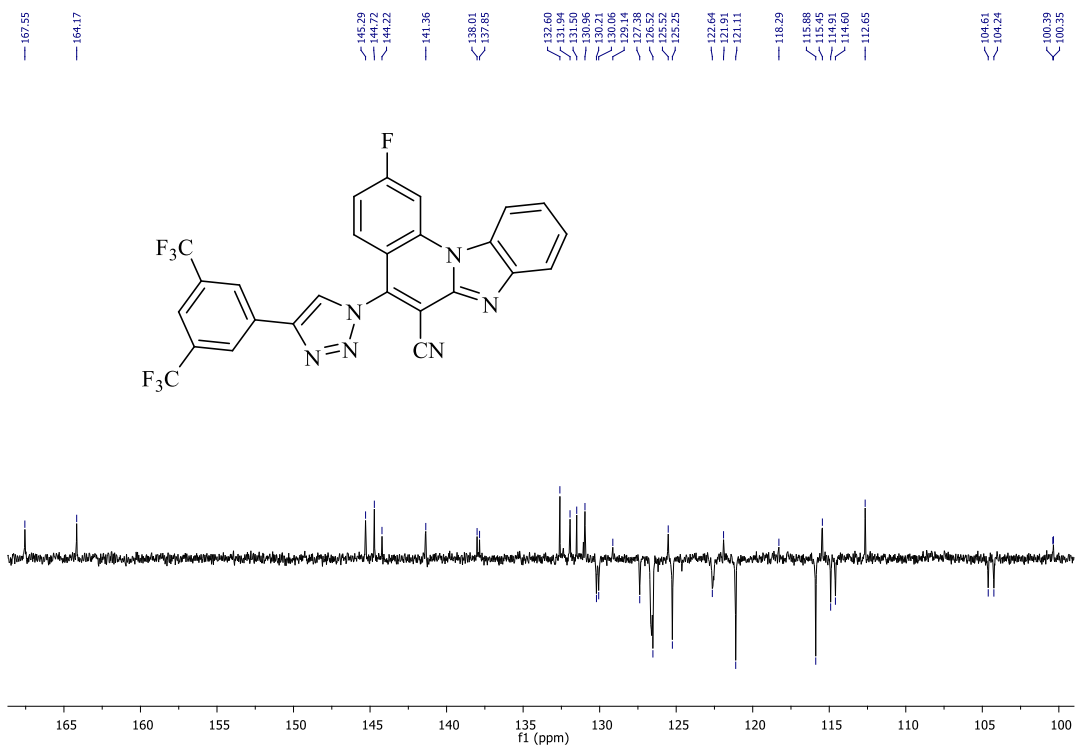
12. Cox J., Woodcock S., Hillier I., Vincent M., Tautomerism of 1,2,3- and 1,2,4-triazole in the gas phase and in aqueous solution, *The Journal of Physical Chemistry*, **94**, 1990, 5499–5501.
13. Haider S., Sarwar Alam M., Hamid H., 1,2,3-Triazoles: Scaffold with medicinal significance, *NCBI*, 2014, 1-4.
14. Saftić D., Krstulović L., Bajić M., Žinić B., 1,3-Dipolarna cikloadicija (I. dio): Dobivanje 1,2,3-triazolnih derivata u nukleozidnoj kemiji, *Kemija u Industriji*, **64**, 2015, 481–498.
15. Hartmuth K., Finn M.G., Sharpless K.B., Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions, *Angewandte Chemie International Edition*, **40**, 2001, 2004–2021.
16. Huisgen R., Szeimies G., Mobius L., *Chemische Berichte*, **100**, 1967, 2494–2507.
17. Rostovtsev V., Green L., Fokin V., Shaless K. B., Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective "Ligation" of Azides and Terminal Alkynes, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **41**, 2014, 2596–2599.
18. Cross R.M., Monastyrskyi A., Mutka T. S., Burrows J. N., Kyle D. E., Manetsch R., Endochin Optimization: Structure-Activity and Structure-Property Relationship Studies of 3-Substituted 2-Methyl-4(1H)-quinolones with Antimalarial Activity, *J. Med. Chem.*, **53**, 2010, 7076–7094.
19. Bock V.D, Hiemstra H., van Maarseveen J. H., Cu(I)-Catalyzed Alkyne–Azide “Click” Cycloadditions from a Mechanistic and Synthetic Perspective, *Eur. J. Org. Chem*, 2006, 51–68.

7. PRILOZI

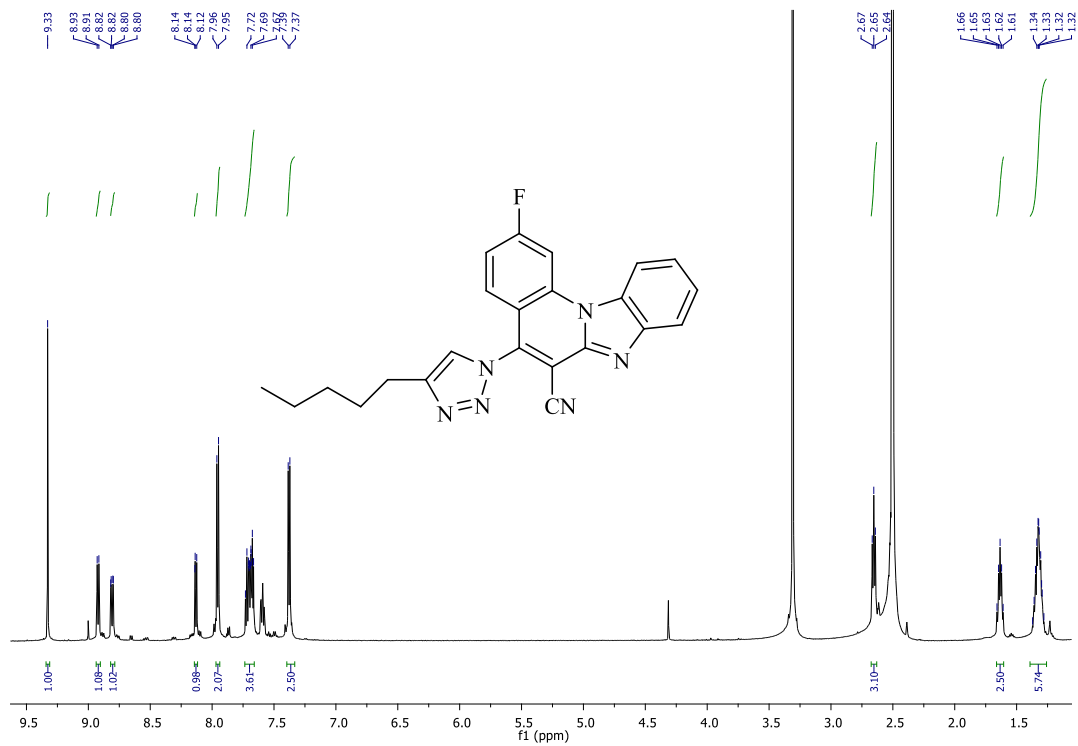
Prilog 1. a) $^1\text{H-NMR}$ spektar spoja **4**



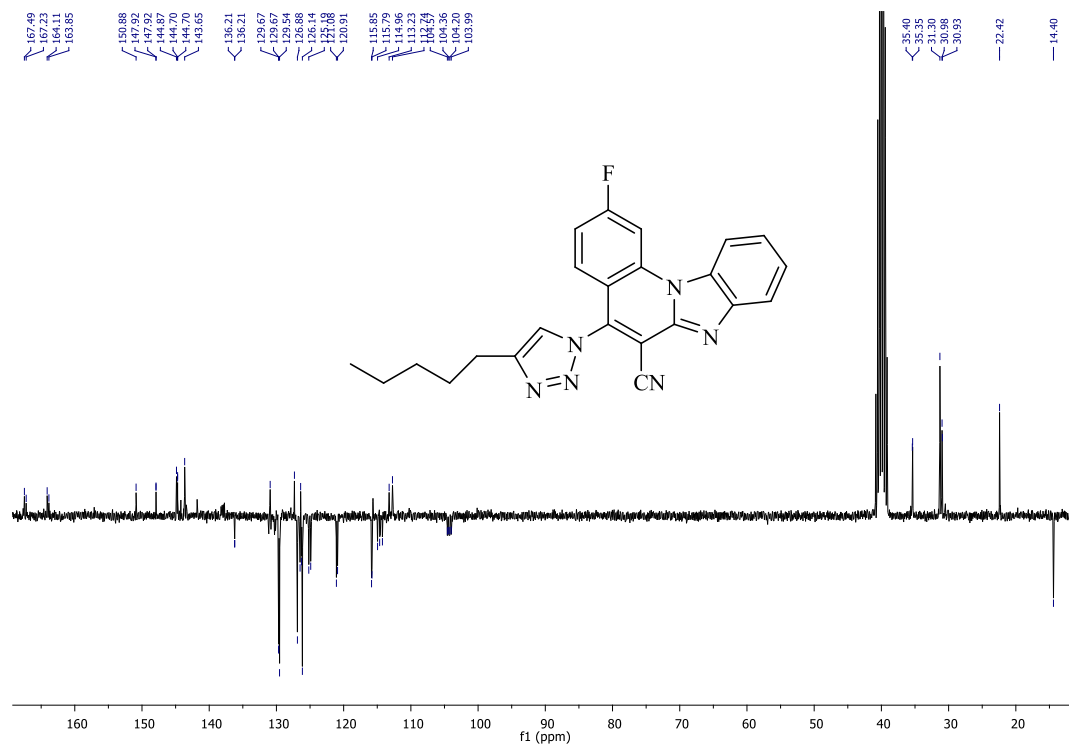
Prilog 1. b) $^{13}\text{C-NMR}$ spektar spoja **4**



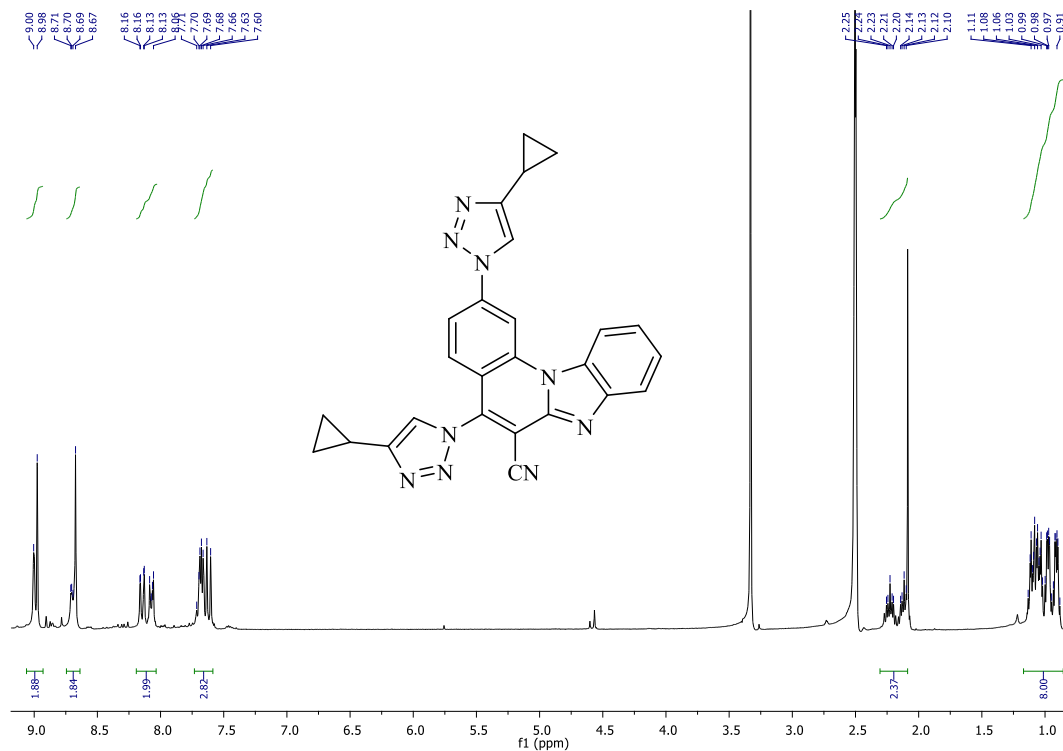
Prilog 2. a) ^1H - NMR spektar spoja **6**



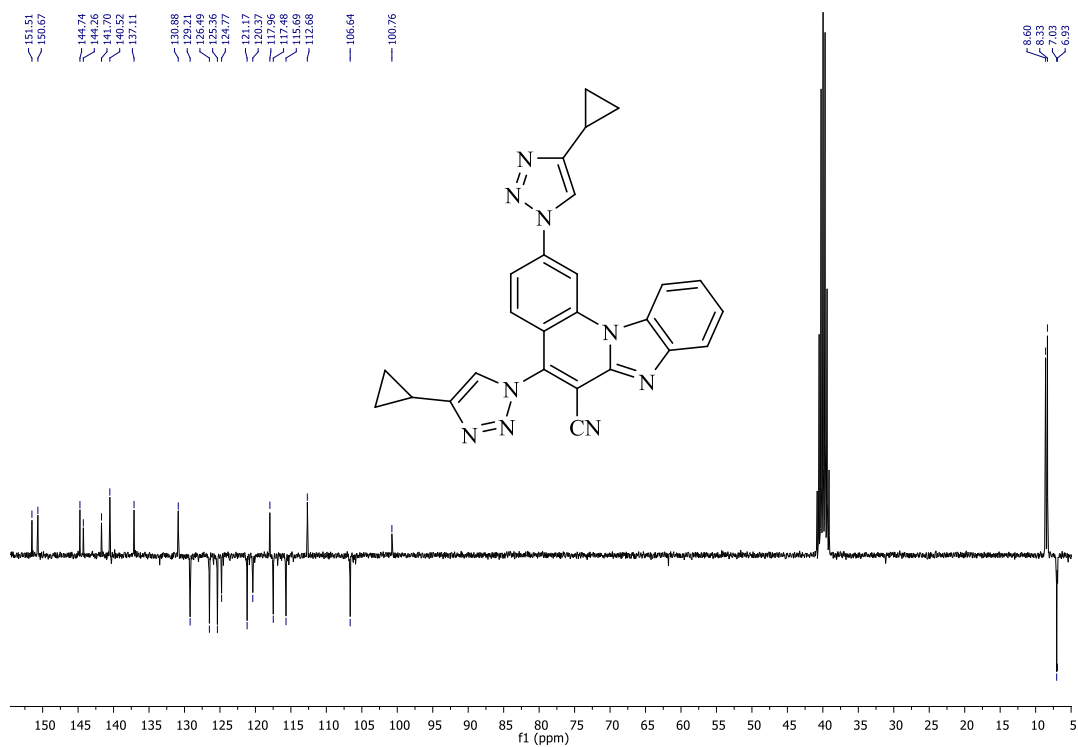
Prilog 2. b) ^{13}C - NMR spektar spoja **6**



Prilog 3. a) ^1H - NMR spektar spoja 7



Prilog 3. b) ^{13}C NMR spoja 7



8. ŽIVOTOPIS

Katarina Kljajić, [REDACTED] Osnovnu školu završila je u Zagrebu, a potom upisala “X. Gimnaziju Ivan Supek”, opći smjer. Maturirala je 2013. godine te je iste godine upisala Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, smjer Kemija i inženjerstvo materijala. Za vrijeme preddiplomskog studija odradila je stručnu praksu u laboratoriju za kontrolu kvalitete, INA MAZIVA d.o.o.