

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Josipa Milošević

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, srpanj 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Josipa Milošević

*Sinteza i biološka ispitivanja novih 4-alkil-1,2,3-triazolnih derivata
benzimidazo[1,2-a]kinolina*

*Synthesis and biological evaluation of new 4-alkyl-1,2,3-triazolyl substituted benzimidazo[1,2-
a]quinolines*

DIPLOMSKI RAD

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

Članovi ispitnog povjerenstva:

1. prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić
2. dr. sc. Andrijana Meščić
3. izv. prof. dr. sc. Danijela Ašperger

Zagreb, srpanj 2017.

Zahvalila bih se mentorici prof. dr. sc. Silvani Raić-Malić na predloženoj temi, što mi je omogućila izradu ovog rada te na iskazanom povjerenju i vodstvu tijekom izrade rada.

Izričito bi se željela zahvaliti dr. sc. Andrijani Meščić koja mi je pomogla u izradi ovog rada, što mi je svojim iskustvom, znanjem i strpljenjem pomogla te me usmjerila i vodila u eksperimentalnom dijelu rada.

Zahvalila bih se svim članovima Zavoda za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu na ugodnoj atmosferi, koji su mi svojim društvom uljepšali boravak u laboratoriju.

Posebno bih se voljela zahvaliti svojim roditeljima koji su mi omogućili školovanje i bili mi potpora tijekom boravka i studiranja u Zagrebu.

Voljela bih se zahvaliti svim prijateljima, rodbini, zaručniku, ljudima koji su bili uz mene i bili mi potpora tijekom školovanja.

Na kraju voljela bih se zahvaliti i svojoj baki Jeleni koja mi je svojom prisutnosti, tijekom prve godine studija uljepšala boravak u Zagrebu i bila mi izrazita potpora u samim počecima studiranja.

SAŽETAK RADA

Sinteza i biološka ispitivanja novih 4-alkil-1,2,3-triazolnih derivata

*benzimidazo[1,2-*a*]kinolina*

Cilj ovog diplomskog rada bila je sinteza novih 4-alkil-1,2,3-triazolnih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina s potencijalnim biološkim djelovanjem s posebnim naglaskom na antitumorsko djelovanje. U tu svrhu provedena je sinteza spojeva **2–10** koji u svojoj strukturi sadrže triazolni, benzimidazolni i kinolinski prsten koji samostalno ili u kombinaciji čine strukturu mnogih lijekova. Ciljani spojevi su pripremljeni reakcijom 1,3-dipolarne cikloadicije uz Cu(I), kao katalizator. Sinteza je provedena uz nastajanje azidnog derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (spojevi **2**, **7** i **9**) iz kojih su reakcijom uz Cu(OAc)₂ kao katalizator i metanol s različitim alkinima dobiveni 4-alkil-1,2,3-triazolni derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina, čija sinteza predstavlja krajnji cilj ovog rada. Strukture svih novopriređenih spojeva potvrđene su spektrima ¹H i ¹³C NMR.

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

SUMMARY

Synthesis and biological evaluation of new 4-alkyl-1,2,3-triazolyl substituted benzimidazo[1,2-a]quinolines

The aim of this work was the synthesis of novel 4-alkyl-1,2,3-triazolyl substituted benzimidazo[1,2-*a*] quinolines with potential biological activity with special emphasis on the antitumor activity. The synthesized compounds **2–10** contain in their structure the triazole, benzimidazole and quinoline ring, which alone or in combination are building blocks of many known drugs. The target compounds were prepared by 1,3-dipolar cycloaddition reaction with Cu(I), as a catalyst. Firstly, the synthesis of azide derivatives of benzimidazo[1,2-*a*]quinoline (compounds **2**, **7** and **9**) was carried out that subsequently with various terminal alkynes in the presence of Cu(OAc)₂ gave 4-alkyl-1,2,3-triazolylbenzimidazo[1,2-*a*]quinolones, as target compounds. The structures of all newly synthesized compounds were confirmed by ¹H- and ¹³C-NMR spectroscopy.

Key words: benzimidazo[1,2-*a*]quinoline, benzimidazole, click chemistry, 1,3-dipolar cycloaddition, 1,2,3-triazole.

POPIS KRATICA KORIŠTENIH U RADU:

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

ctDNK (cirkulirajuća tumorska DNK) – polinukleotid iz timusa teleta

dsDNK – dvostruka uzvojnica DNK

NMR – nuklearna magnetska rezonancija

EC₅₀ (eng. effective concentration) – koncentracija spoja koja rezultira 50%-tni citostatski učinak

ITU – infekcija urinarnog trakta

CNS – središnji živčani sustav

UV (eng. ultraviolet) – ultraljubičasto zračenje

UV/VIS (eng. ultraviolet-visible) – ultraljubičasta vidljiva spektroskopija

HIV – virus humane imunodeficijencije

TLC – tankoslojna kromatografija

SADRŽAJ

1. UVOD.....	2
2. OPĆI DIO	
2.1. Benzimidazol: struktura, svojstva i osnovne metode za sintezu benzimidazola.....	6
2.2. Antimikrobna svojstva benzimidazola.....	10
2.3. Antivirusna svojstva benzimidazola.....	12
2.4. Antitumorska svojstva benzimidazola	14
2.5. Struktura i biološka važnost kinolina	17
2.6. Benzimidazo[1,2- <i>a</i>]kinolini: struktura, svojstva i osnovne metode za sintezu.....	18
2.7. Svojstvo fluorescencije benzimidazo[1,2- <i>a</i>]kinolina	22
2.8. Antitumorsko djelovanje benzimidazo[1,2- <i>a</i>]kinolina	24
2.9. Klik kemija	27
2.10. Triazolni prsten i triazoli	28
2.11. 1,3-dipolarna cikloadicija azida i terminalnog alkina	30
2.10. Mehanizam djelovanja 1,3-dipolarne cikloadicije	32
3. EKSPERIMENTALNI DIO	
3.1. Opće napomene	34
3.2. Pregled sintetiziranih spojeva.....	35
3.3. Postupci za pripravu spojeva 2-10	36
4. REZULTATI I RASPRAVA	
4.1. Cilj rada i sinteza spojeva.....	42
4.2. Analiza spektara ¹ H-NMR	46
5. ZAKLJUČCI.....	53
6. LITERATURA	55
7. PRILOZI	60
8. ŽIVOTOPIS.....	66

1. UVOD

1. UVOD

S obzirom da se medicinska kemija bavi kemijskim promjenama u organizmu može se smatrati nekom vrstom primijenjene biokemije. Zadaća medicinske kemije je dizajnirati i pripremiti farmakološki aktivne supstance odnosno lijekove za liječenje i prevenciju bolesti kod ljudi i životinja.¹ S obzirom na povećanu pojavu različitih vrsta karcinoma 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 nije utvrđen, međutim poznate su činjenice da različite zaraze i vanjski čimbenici poput zračenja i kemijskih tvari mogu izazvati preobrazbu normalnih stanica u zloćudne tvorevine.²

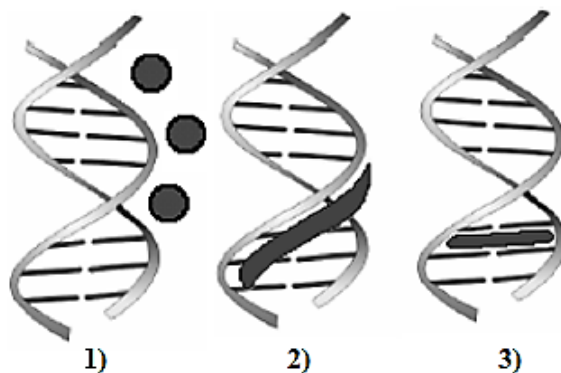
S ciljem otkrivanja novih lijekova u ovom slučaju citostatika, raste broj objavljenih znanstvenih radova i obujam istraživanja usredotočen na razrješavanje osnova djelovanja lijekova koji se vežu za DNK, određivanje prirode DNK, otkrivanje mogućih uzroka promjena DNK pod utjecajem okoliša te mogućnost kontrole osnovnih funkcija DNK radi primjene u dijagnostici te genskoj terapiji.³

Lijekovi ulaze u reakciju s molekulom DNK putem kovalentnih i nekovalentnih interakcija. Govorimo li o kovalentnom vezanju lijeka za DNK govorimo o kompletnoj inhibiciji funkcija DNK, što dovodi do smrti stanice. Nekovalentno vezanje lijeka za DNK je reverzibilno i znatno poželjnije od kovalentnog, uzimajući u obzir metabolizam lijeka i potencijalno toksično djelovanje. Jedan od glavnih principa kemije DNK je molekularno prepoznavanje što predstavlja proces pri kojemu molekule selektivno prepoznaju jedna drugu. Molekularno prepoznavanje obuhvaća nekoliko tipova interakcija: elektrostatske interakcije, Van der Walsove i vodikove veze. Stabilnost određenog lijeka ovisi o intenzitetu tih interakcija.⁴

Općenito, male se molekule vežu s molekulom DNK na 3 načina (slika 1):

- 1) elektrostatsko vezanje između kationskih vrsta i negativno nabijene fosfatne skupine DNK
- 2) vezanje u utore DNK Van der Walsovima silama ili vodikovim vezama
- 3) interkalacijsko vezanje lijeka između parova baza.

Osim toga, postoji mogućnost kombinacije interkaliranja s vezanjem u mali utor DNK, pri čemu molekula koja se veže sadrži skupine koje interkaliraju i skupine koje se vežu u mali utor DNK.



Slika 1. Načini vezanja s molekulom DNK⁵

U pronalasku farmakološki aktivnih supstanci s antitumorskim djelovanjem veliku važnost imaju heterociklički spojevi, koji su prisutni u gotovo svim strukturama lijekova koji se nalaze u različitim fazama kliničke upotrebe.⁶ U novije vrijeme sve više i više raste interes za proučavanjem spojeva i otkrivanjem novih derivata benzimidazola koji se zbog svoje biološke aktivnosti i mogućnosti interkalacije u molekulu DNK te sličnosti sa purinom upotrebljavaju kao farmakološki aktivne supstance.⁷ S obzirom da je meta većine supstanci s antitumorskim djelovanjem molekula DNK, nastoje se razviti lijekovi koji su selektivni s obzirom na mjesto vezanja na dvostruku uzvojnica DNK. Od izuzetne važnosti je da potencijalni citostatik bude selektivan prema tumorskim stanicama u odnosu na normalne stanice, da je toksičan u što manjoj

mjeri, važno je poznavati njegova fizikalna i kemijska svojstva, te način i mehanizam vezanja za molekulu DNK.⁸ Vezanje molekule lijeka s DNK predstavlja ključan faktor za ispitivanje aktivnosti molekule kao potencijalnog citostatika.⁹

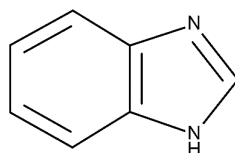
Imajući na umu kako su 1,2,3-triazolni prsten te benzimidazolni i kinolinski prsten sastavni dio strukture mnogih lijekova cilj ovog istraživanja je bio prirediti 4-alkil-1,2,3-triazolne derivate benzimidazo[1,2-*a*]kinolina kako bi se ispitala njihova biološka aktivnost.

2. OPĆI DIO

2. OPĆI DIO

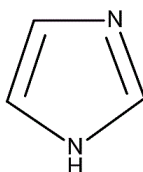
2. 1. Benzimidazol: struktura, svojstva i osnovne metode za sintezu benzimidazola

Benzimidazol pripada skupini benzazola⁷ odnosno heterocikličkih aromatskih spojeva (slika 2) sastavljenih od peteročlanog prstena s dva dušikova atoma koji čine imidazolni prsten kondenziran na aromatsku benzensku jezgru.¹⁰



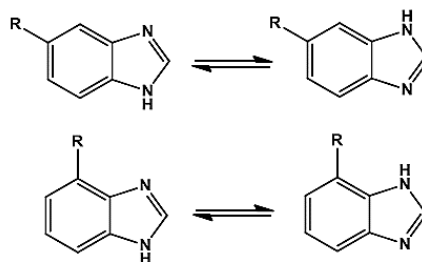
Slika 2. Struktura benzimidazolnog prstena

Benzimidazol je kristaliničan spoj, slabo topljiv u vodi, a vrlo dobro topljiv u organskom otapalu poput etanola. U odnosu na imidazol (slika 3) nešto je manje bazičan sa konstantom pK baze u vrijednosti od 5,68.



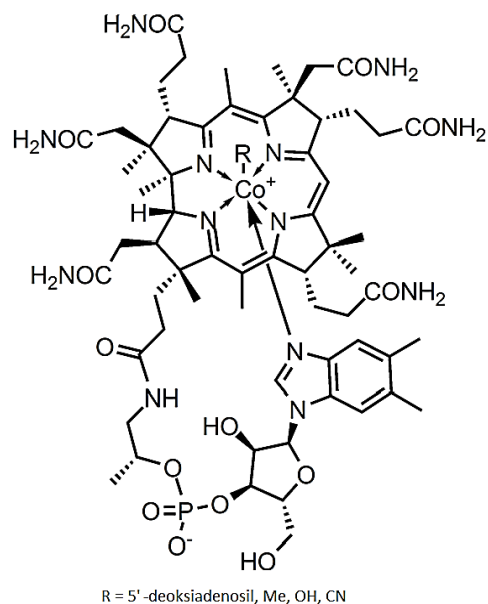
Slika 3. Imidazolni prsten

Supstituirani benzimidazoli pokazuju anularnu tautomeriju (slika 4).¹¹



Slika 4. Anularna tautomerija supstituiranih benzimidazola

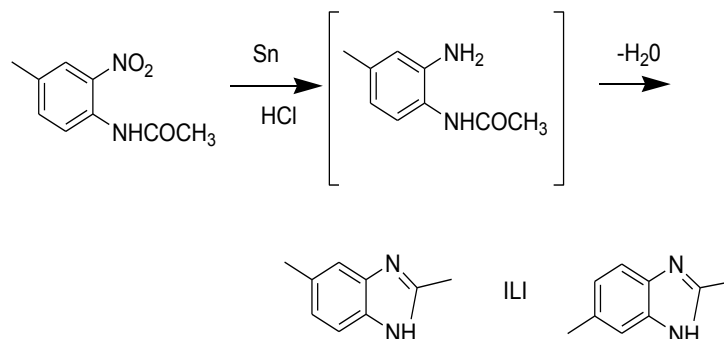
Interes za proučavanjem benzimidazola potječe još iz 40-ih godina prošlog stoljeća⁶ kada je njegova struktura potvrđena u mnogim prirodnim spojevima od kojih se najviše ističe njegova struktura u *N*-ribozildimetilbenzimidazolu gdje služi kao aksijalni ligand atomu kobalta u vitaminu B₁₂ (slika 5).



Slika 5. Struktura vitamina B₁₂

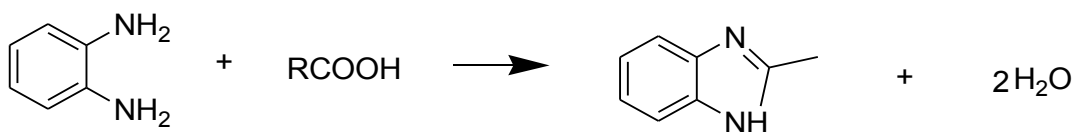
Benzimidazol i njegovi derivati osobito su važni za područje farmacije i medicine s obzirom da pokazuju antimikrobnu, antiparazitsku, antiviralnu i antitumorsku aktivnost.¹²

Benzimidazol je prvi sintetizirao Hoebrecke 1872. redukcijom 2-nitro-4-metilacetanilida na koji su bile vezane dvije metilne skupine na drugom i petom te drugom i šestom mjestu (slika 6).



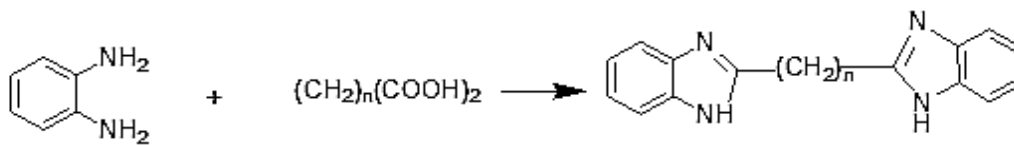
Slika 6. Hoebrecherova sinteza benzimidazola

Benzimidazoli se još mogu dobiti i iz *o*-fenilendiamina u reakciji sa karboksilnim kiselinama, koji se lako dalje pretvara u odgovarajući benzimidazol pod utjecajem topline. Kao produkt reakcije se dobivaju 2-supstituirani benzimidazoli u vrlo visokim prinosima (slika 7).



Slika 7. Reakcija dobivanja benzimidazola iz *o*-fenilendiamina

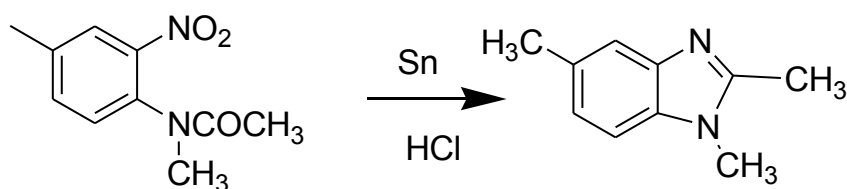
Umjesto karboksilnih kiselina za sintezu benzimidazola možemo koristiti i dibazične kiseline. Tim načinom sinteze benzimidazola koristio se Fischer 1905. godine provodeći sintezu benzimidazola reakcijom *o*-fenilendiamina s viškom kiseline uz zagrijavanje. Kada se 2 ili više molova *o*-fenilendiamina se zagrijavaju s 1 molom dibazične kiseline kao produkt reakcije u većini slučajeva su bisbenzimidazoli (slika 8).¹⁰



Slika 8. Reakcija dobivanja bisbenzimidazola reakcijom *o*-fenilenamina s dibazičnim kiselinama

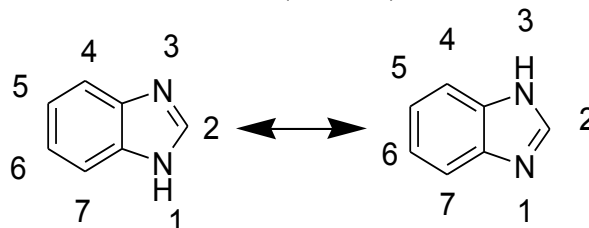
Metodu je dvadeset i tri godine kasnije modificirao Philips uvođenjem postupka u kojemu dolazi do refluksa s mono-bazičnom i *o*-fenilendiaminom kiselinom u 4 N klorovodičnoj kiselini. Nedostatak metode bio je nemogućnost primjene aromatske monobazne kiseline.

Nadalje, benzimidazol možemo dobiti i redukcijom iz aciliranih *o*-nitroanilina. Ako u reakciji koristimo *N*-supstituirane acilirane *o*-nitroaniline tada kao produkt dobivamo 1-supstituirane benzimidazole. Kao primjer možemo dati dobivanje 1,2,5-trimetilbenzimidazola redukcijom *N*-metil-2-nitro-4-metilacetanilida (slika 9).^{10, 12}



Slika 9. Dobivanje 1,2,5-trimetilbenzimidazola redukcijom *N*-metil-2-nitro-4-metilacetanilida

Benzimidazol tvori dvije tautomerne strukture (slika 10).



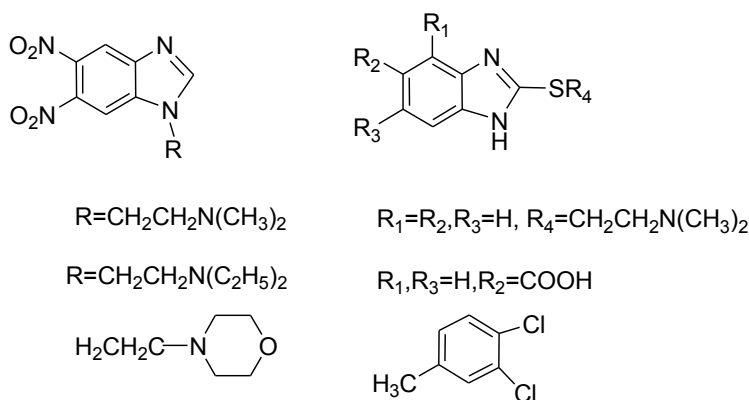
Slika 10. Tautomerne strukture benzimidazola

Dušik na koji je vezan vodikov atom može se alkilirati ili acilirati, dok se drugi dušikov atom može samo protonirati.¹⁰

Benzimidazol ima velik značaj u farmaciji i medicinskoj kemiji posebice zbog svoje sličnosti sa purinom zbog čega se derivati benzimidazola koriste kao antibiotici.⁷

2. 2. Antimikrobna svojstva benzimidazola

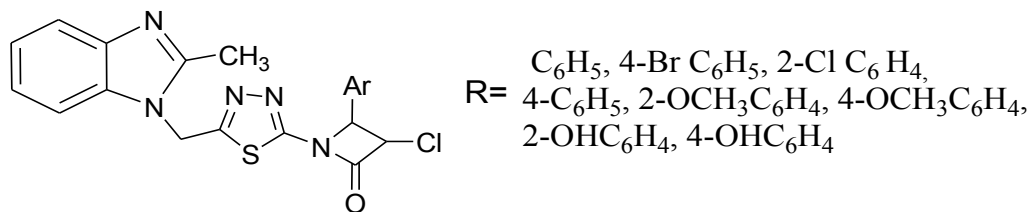
Godine 2002. objavljen je rad na temelju provedenih ispitivanja na Institutu za kemiju u Poljskoj gdje se ispitivala antibakterijska i antiprotozalna aktivnost nitro i halogeno-supstituiranih benzimidazolnih derivata (slika 11).



Slika 11. Nitro i halogeno-supstituirani benzimidazolni derivati istraženi na Institutu u Poljskoj

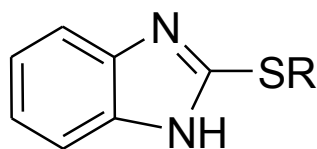
Neki od tioalkilnih derivata pokazali su izvanrednu aktivnost u borbi protiv bakterije roda *Stenotrophomonas malthophilia* koja je uzročnik meningitisa, pneumonije, ITU i infekcije rana, čija je pojava česta u bolničkim uvjetima.¹²⁻¹⁴

Nadalje, ispitivala se antibakterijska aktivnost derivata benzimidazola protiv *Bacillus subtilis*, *Escherichie coli*, *Candide albicans*, *Aspergillus niger* i *Aspergillus flavus*. Testirani derivati prikazani su na slici 12. Derivati su pokazali veću učinkovitost u borbi protiv gram-pozitivnih bakterija. Jaki lipofilni karakter molekula igrao je bitnu ulogu u antibakterijskoj aktivnosti.



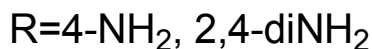
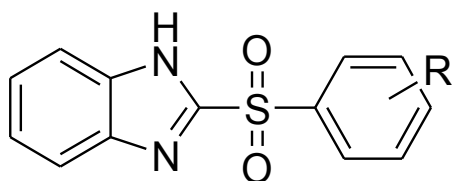
Slika 12. Testirani derivati benzimidazola protiv *Bacillus subtilis*, *Escherichie coli*, *Candide albicans*, *Aspergillus niger* i *Aspergillus flavus*

Kod 2-tiohalogenonitrofenil benzimidazolnih derivata (slika 13) testirana je antifugalna aktivnost prema *Helmithosporium sativum*, *A. niger* i *Fusarium oxysporum* metodom germinacije spora. Zabilježen je postotak inhibicije spora kod 10 ppm-a.

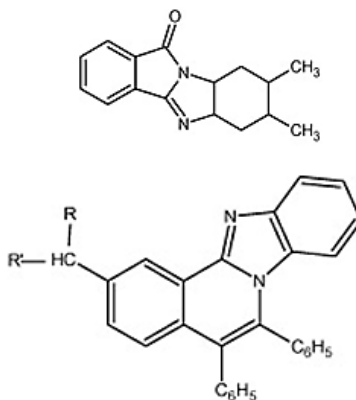


Slika 13. 2-tiohalogenonitrofenil benzimidazolni derivati kojima je testirana antifugalna Aktivnost

Ghoneim i tim istraživača proveli su sintezu 2-[(4-aminofenil)sulfonyl] derivata benzimidazola testirajući antimikrobnu aktivnost analiziranih spojeva protiv *E. coli* koristeći agar difuzijsku metodu. Svi testirani 2,4-diaminofenilsulfonyl i 4-amino benzimidazolni derivati pokazali su antimikrobnu aktivnost (slika 14).¹²



Slika 14. 2-[(4-aminofenil)sulfonyl] derivati benzimidazola

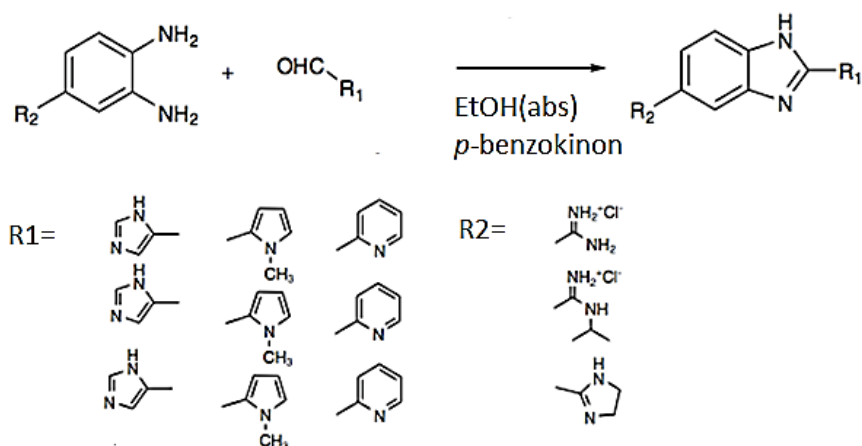


R=H, R' =salicilamido

Slika 16. 7-(arilamidoalkil) -3,4-difenil-izokinolinil- [1, 5-c] –benzimidazoli testirani protiv virusa influence *in vivo*

Od ispitanih spojeva najveću antivirusnu aktivnost pokazao je derivat izokinonil benzimidazola s nikotinamidnom skupinom.¹⁶

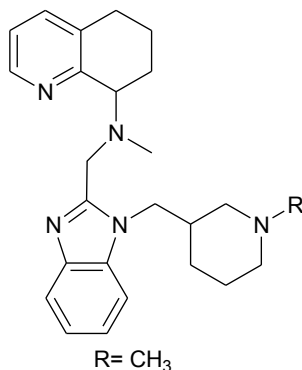
Nadalje, K. Starčević i ostali suradnici proveli su sintezu serije 2-supstituiranih-5-amidino-benzimidazola (slika 17) koji sadrže amidino supstuent na C-5 položaju benzimidazalnog prstena i različitu heterocikličku jezgru na C-2 mjestu te su ispitali njihovu antivirusnu i antitumorsku aktivnost.



Slika 17. 2-supstituirani-5-amidino-benzimidazoli

Testirana je aktivnost spojeva na coxsackie i echo virus. Najveća aktivnost prema coxsackie i echo virusu utvrđena je kod spoja koji sadrži vezani piridinski prsten na položaju C-2.¹⁷

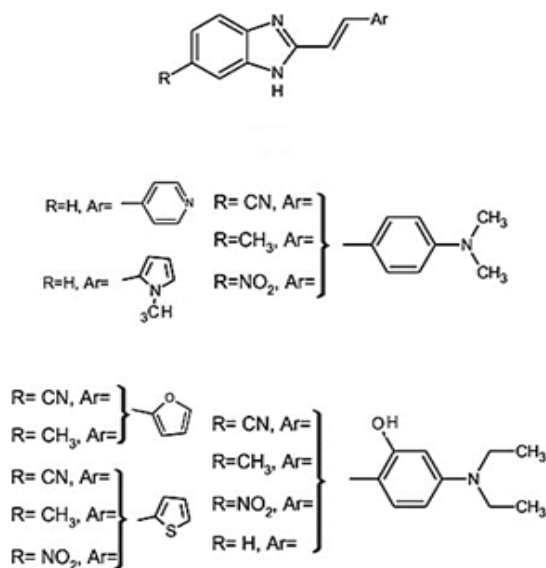
2010. godine Miller i suradnici proveli su sintezu novih tipova *N*-supstituiranih benzimidazola koji sadrže cikličke aminske lance i testirani su kao potencijalni anti-HIV agensi. Spoj prikazan na slici 18 pokazao je visoku anti-HIV aktivnost.¹⁸



Slika 18. Struktura *N*-supstituiranog benzimidazola s anti-HIV aktivnosti

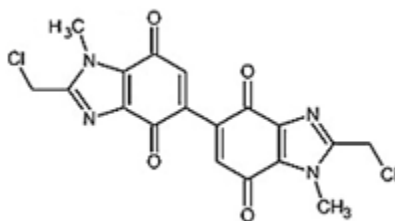
2. 3. Antitumorska svojstva benzimidazola

Hranjec i suradnici 2011. godine proveli su sintezu benzimidazola supstituiranih Schiffovim bazama reakcijom aromatskih aldehida s odgovarajućim 2-aminobenzimidazolima. (slika 19). Testirana je antiproliferativna aktivnost supstituiranih Schiffovih baza *in vitro* i prema rezultatima vidljiva je nespecifična antiproliferativna aktivnost spojeva na testiranim staničnim linijama pri najvišim testiranim koncentracijama.¹⁹



Slika 19. Sinteza benzimidazola supstituiranih Schiffovim bazama

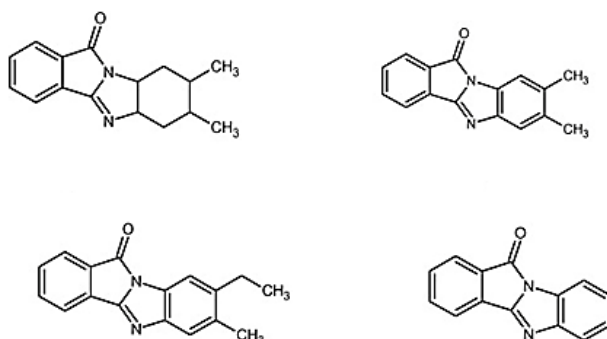
Nadalje, Gellis i suradnici 2008. godine proveli su sintezu serije benzimidazol-4,7-diona supstituiranih na položaju 2 (slika 20) reakcijom potpomognutom mikrovalovima. Spojevi su testirani na stanične linije karcinoma debelog crijeva, dojke i pluća. Rezultati su pokazali da je citotoksičnost dobivenih spojeva usporediva s citostatikom mitomicinom C. Mitomicin C je citostatik koji pripada u skupinu alkilirajućih agensa koji djeluju uzrokujući ukriženo povezivanje lanca. Potiče se stvaranje slobodnih radikala i lomova DNK. Na taj način inhibira sintezu i funkciju DNK, a u višim koncentracijama i RNK.²⁰



Slika 20. Sinteza serije benzimidazol-4,7-diona supstituiranih na položaju 2

Sondhi i suradnici 2010. godine proveli su sintezu različitih heterocikličkih derivata benzimidazola (slika 21) sintetiziranih kondenzacijom sukcinatne kiseline, homopalinske kiseline i 2,3-pirazindikarboksilne kiseline s različitim supstituiranim diaminom koristeći reakciju potpo-

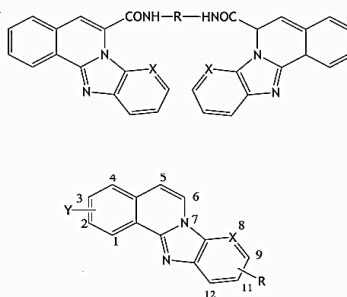
mognutu mikrovalovima. Svi spojevi pokazali su antikarcenogenu aktivnost 50 mg/kg pokazujući tako dobru kancerogenu aktivnost na stanične linije karcinoma jajnika, dojke i CNS-a.²¹



Slika 21. Heterociklički derivati benzimidazola sintetizirani kondenzacijom sukcinatne kiseline, homopalinske kiseline i 2,3-pirazindikarboksilne kiseline s različitim supstituiranim diaminom koristeći reakciju potpomognutu mikrovalovima.

U novije vrijeme vrše se ispitivanja cikličkih derivata benzimidazola poput benzimidazo[1,2-*a*]kinolina, benzimidazo[1,2-*c*]kinazolina, benzimidazo[2,1-*b*]izokinolina i ispituje njihovo antitumorsko djelovanje (slika 22). Ciklički derivati benzimidazola postali su zanimljivi ponajviše zbog vrlo dobrog antitumorskog djelovanja. Zbog svoje planarne strukturu mogu interkalirati između parova baza dvostruke uzvojnice DNK i na taj način djelovati kao antitumorski lijekovi.⁶

Spoj	X	Y	R	Iskorištenje (%)
1	CH	-	6-CONH(CH ₂) ₂ NMe ₂	79
2	CH	-	6-CONH(CH ₂) ₂ Npiperidin	81
3	N	-	6-CONH(CH ₂) ₂ NMe ₂	26
4	CH	6-Me	1-CONH(CH ₂) ₂ NMe ₂	72
5	CH	6,11-diMe	1-CONH(CH ₂) ₂ NMe ₂	85
6	CH	5-CN, 6-Me	9-CONH(CH ₂) ₂ NMe ₂	53
7	CH	5-CN, 6-Me	11-CONH(CH ₂) ₂ NMe ₂	55
8	CH	5-CN, 6-Me, 9-Cl	11-CONH(CH ₂) ₂ NMe ₂	77
9	CH	-	(CH ₂) ₂ NH(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₂	21
	N	-	(CH ₂) ₂ NH(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₂	17

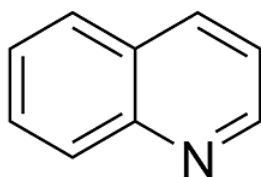


Slika 22. Ispitivani ciklički derivati benzimidazola

2. 5. Struktura i biološka važnost kinolina

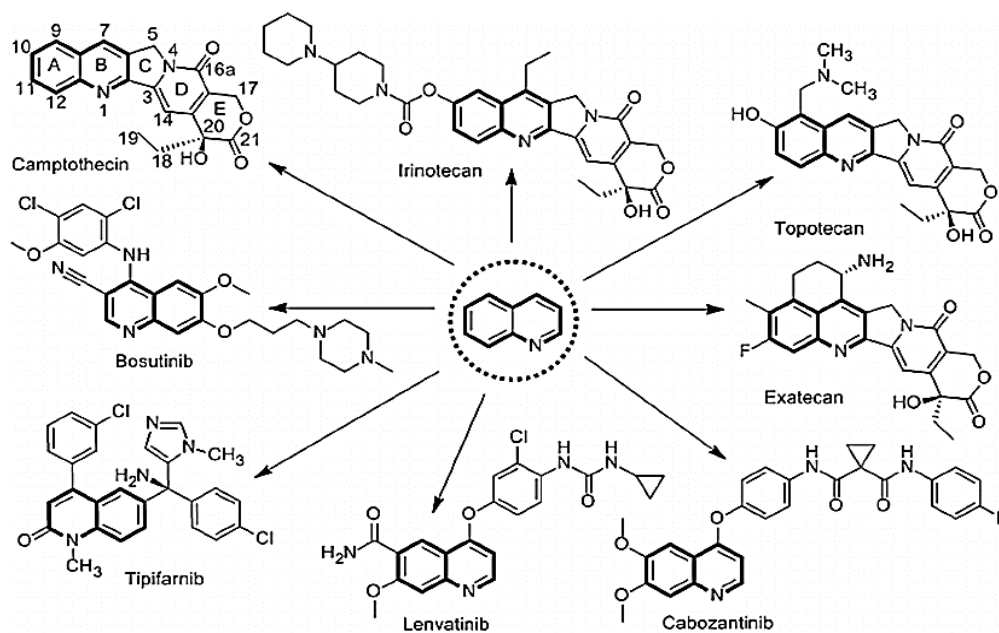
O važnosti kinolina i njihovih derivata govore mnogi znanstveni članci. Sam kinolinski prsten nema djelovanja, međutim njegovi derivati pokazali su značajnu farmakološku aktivnost. Tako se derivati kinolina koriste kao antimalarici, antivirusici, antibakterijski agensi, kao lokalni anestetici, antipsihotici, citostatici i drugo.

Kinolinski prsten (slika 23) ima važnu ulogu u razvoju citostatika, jer su njegovi derivati pokazali antitumorsko djelovanje na različite stanične linije tumora.



Slika 23. Struktura kinolinskog prstena

Neki od trenutno dostupnih antitumorskih lijekova poput Camptothecina, Topotecana i Irinotecana kao dio strukture sadrže kinolinski prsten (slika 24).

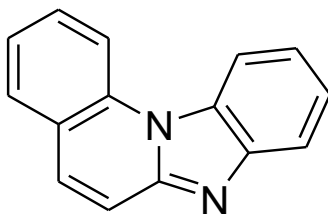


Slika 24. Dostupni antitumorski lijekovi koji sadrže kinolinski prsten

Postoji velik broj znanstvenih radova koji naglašavaju potencijal derivata za razvoj antitumorskih lijekova sa različitim mehanizmom djelovanja djelujući kao inhibitori topoizomeraze, inhibitori protein kinaze, inhibitori telomeraze, inhibitor farnezil-transferaze, inhibitori ugljične anhidraze i drugo.²²

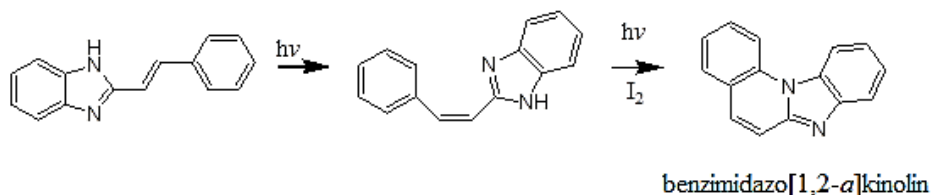
2. 6. Benzimidazo[1,2-*a*]kinolini: struktura, svojstva i osnovne metode za sintezu

Benzimidazo[1,2-*a*]kinolini (slika 25) su ciklički derivati benzimidazola sastavljeni od kinolinske jezgre kondenzirane na benzimidazolni prsten.²³



Slika 25. Struktura benzimidazo[1,2-*a*]kinolina

Benzimidazo[1,2-*a*]kinolin su prvi put sintetizirali G. Cooper i W. J. Irwin reakcijom fotokemijske dehidrociklizacije *trans*-2-stirilbenzimidazola uz korištenje joda kao katalizatora i UV živine lampe prema reakciji prikazanoj na slici 26.



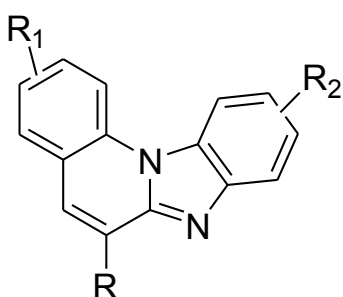
Slika 26. G. Cooperova i W. J. Irwinova sinteza benzimidazo[1,2-*a*]kinolina

Reakcija se provodila pomoću UV lampe koja je osvjetljavanjem uzrokovala reakciju izomerizacije kojom je *trans*-izomer presao u *cis*-izomer nakon čega je došlo do reakcije ciklizacije i nastajanja benzimidazokinolina kao produkta. Ova reakcija predstavlja jedan od

sintetskih puteva za pripravu cikličkih molekula prilikom čega se stvara C-N veza između o-C-atoma fenilne i N-atoma benzimidazolne jezgre.

1939. benzimidazo[1,2-*a*]kinolini su dobiveni klasičnim putem reakcijom pikrinske kiseline i 2-aminokinolina.⁶

Njemački sintetičar D. Gienther 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 27, tablica 1).



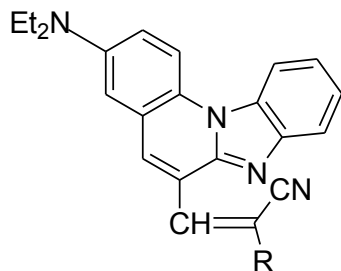
Slika 27. Različito supstituirani benzimidazo[1,2-*a*]kinolini dobiveni reakcijom 2-alkoksibenzaldehida i 2-fenilsulfonilmetilbenzimidazola uz piperidinijev acetat kao bazu

Novi derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina dobiveni su uz jako dobra iskorištenja od 70–93 % .

Tablica 1. Prikaz sintetiziranih spojeva 1978. godine

Spoj	R	R ₁	R ₂
1.	SO ₂ C ₆ H ₅	H	H
2.	CN	H	H
3.	COOHCOOH	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

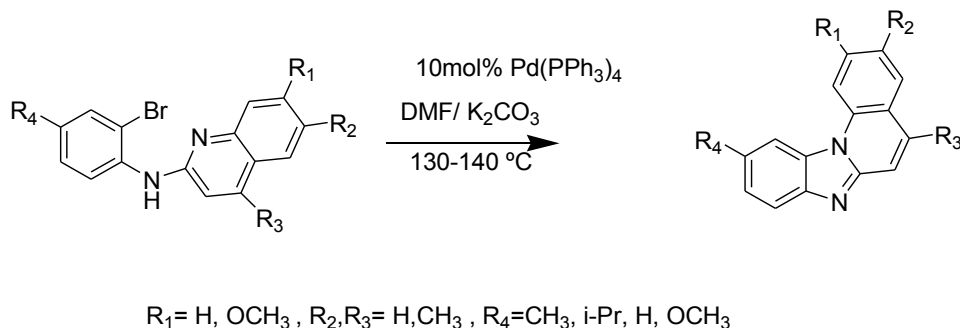
Prema radu objavljenom 1979. V. U. Shenoy i S. Sesardi sintetizirali su derivate 7-dietilaminobenzimidazo[1,2-*a*]kinolina (slika 28) prema ranije objavljenom patentu iz 1975. godine.^{6, 24}



R=CO₂Et, *p*-nitrofenil, 2-benzimidazolil

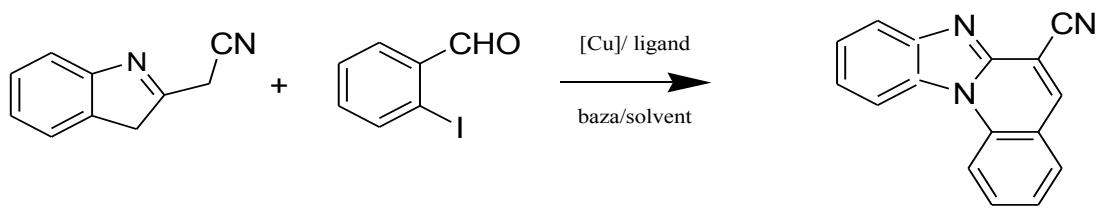
Slika 28. Derivati 7-dietilaminobenzimidazo[1,2-*a*] kinolina (V. U. Shenoy i S. Sesardi, 1979.)

Nadalje, C. Venkatesha je zajedno sa suradnicima razvio novu sintetsku metodu za dobivanje derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina uz upotrebu paladija kao katalizatora objavljenu u radu 2005. godine razvijenu od strane odjela za kemiju na Indijskom institutu za tehnologiju. Kao početni prekursori korišteni su novosintetizirani 2-(2'-bromanilino)kinolini koji kataliziranom intramolekulskom Buchwald-Harwigovom aminacijom uz paladij kao katalizator daju ciklizirane derivate benzimidazo[1,2-*a*]kinolina prikazano na slici 29.²⁵



Slika 29. Derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (C. Venkatesha i suradnici, 2005.)

Qian Cai, Zhengqiu Li i suradnici objavili su 2010. godine još jedan rad koji opisuje nešto noviji način priprave benzimidazo[1,2-*a*]kinolina. Nova metoda sinteze benzimidazo[1,2-*a*]kinolina temelji se na bakrom kataliziranim kaskadnim reakcijama (slika 30). U usporedbi s dosadašnjim načinom sinteze benzimidazo[1,2-*a*]kinolina ova metoda daje znatno bolje rezultate. Metoda je jednostavna i djelotvorna, a kao rezultat dobivaju se dobri prinosi produkata.²⁶

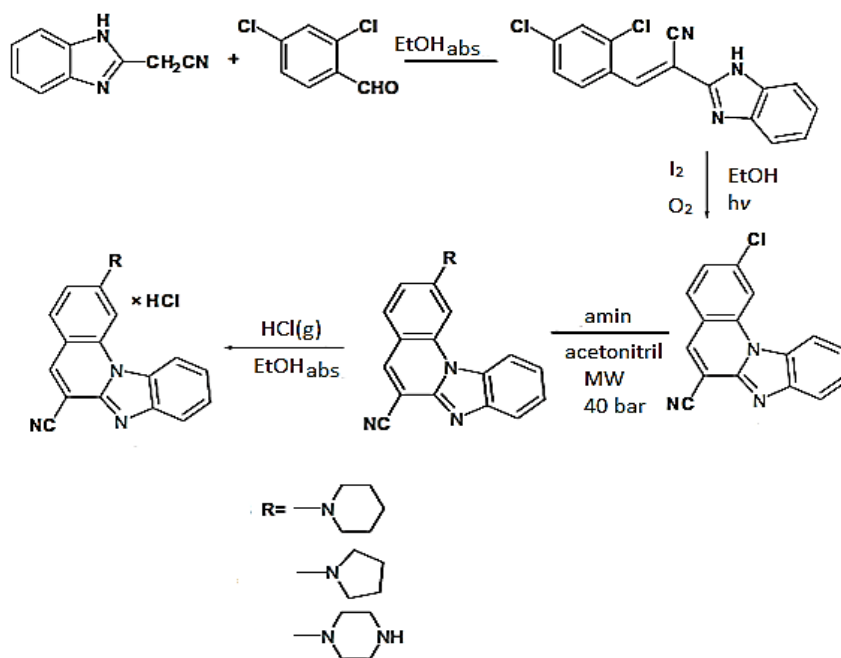


Slika 30. Sinteza benzimidazo[1,2-*a*]kinolina temeljena na bakrom kataliziranim kaskadnim reakcijama

2. 7. Svojtvo fluorescencije benzimidazo[1,2-*a*]kinolina

Ispitivanje spektroskopskih karakteristika benzimidazo[1,2-*a*]kinolina potvrdilo je njihovu moguću primjenu kao laserskih boja zbog njihove jake zeleno-žute, odnosno crveno-narančaste fluorescencije.⁶

Sukladno s time 2011. godine Nataša Perin zajedno s M. Hranjec i suradnicima ispitivali su mogućnost upotrebe derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (slika 31) kao fluorescentnih DNK proba. Proveli su sintezu benzimidazo[1,2-*a*]kinolina supstituiranih sa piperidinom, pirolidinom, piperazinom koristeći nekatalitičku aminaciju potpomognutu mikrovalovima. Sinteza potpomognuta mikrovalovima smanjuje vrijeme reakcije potrebno za dobivanje produkta, postupak dobivanja željenog produkta je time jednostavniji te se spojevi dobivaju s većim prinosom.



Slika 31. Sinteza benzimidazo[1,2-*a*]kinolina supstituiranih sa piperidinom, pirolidinom, piperazinom

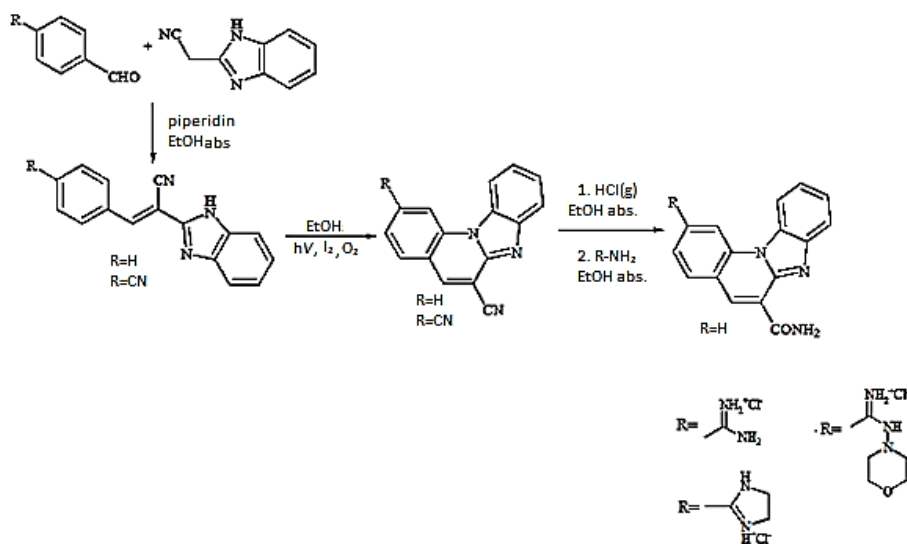
Mogućnost korištenja spojeva kao fluorescencijskih DNK proba istražena je i utvrđena na temelju emisijske fluorescencijske spektroskopije. Na temelju rezultata emisijskih fluorescencijskih spektara utvrđeno je da bi se amino-supstituiranih benzimidazokinolini zbog visokog intenziteta fluorescencije te jakog afiniteta vezanja za DNK mogli upotrebiti kao DNK probe.²⁷

2. 8 Antitumorsko djelovanje benzimidazo[1,2-*a*]kinolina

Objavljeni su mnogi radovi kojim se istraživalo djelovanje derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina kao potencijalnih antitumorskih agensa te se istraživao njihov način vezanja i interakcije s DNK.

Neki od radova objavljenih na tu temu provodile su znanstvenice M. Hranjec i G. Karminski-Zamola sa nizom suradnika.

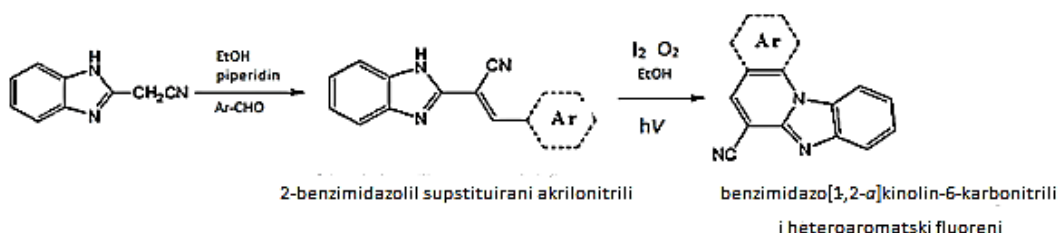
M. Hranjec i G. Karminski-Zamola provele su sintezu benzimidazolil-supstituiranih akrilonitrila (slika 32.) objavljenu u radu 2007. godine koji reakcijom fotokemijske dehidrociklizacije daju određene mono- i dicijano-supstituirane benzimidazo[1,2-*a*]kinoline. Svi sintetizirani benzimidazo[1,2-*a*]kinolini posebice ciklički benzimidazo[1,2-*a*]kinolini pokazali su se kao potencijalno biološki aktivni agensi uz pretpostavku da djeluju kao DNK interkalatori.²⁸



Slika 32. Sinteza benzimidazolil-supstituiranih akrilonitrila (Hranjec; Zamola, 2007.)

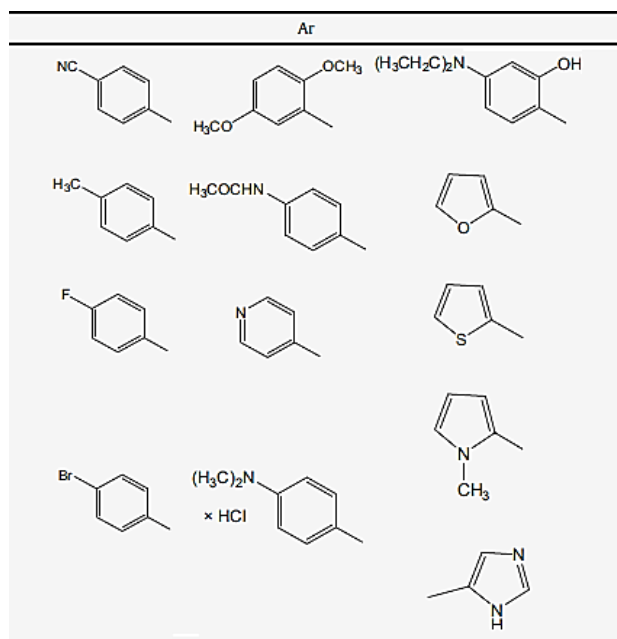
Iste godine objavljen je još jedan rad M. Hranjec i G. Karminski-Zamole sa timom suradnika gdje je opisan postupak provođenja sinteze ciano- i amidino- supstituiranih derivata stiril-2-benzimidazola i benzimidazo[1,2-*a*]kinolina. Istraženo je njihovo antitumorsko djelovanje te DNK vezanje. Sinteza spojeva je provedena kondenzacijskim reakcijama, fotokemijskom dehidrociklizacijom i dehidrohalogenom ciklizacijom. Rezultati provedenog istaživanja su pokazali da ciklički spojevi benzimidazo[1,2-*a*]kinolina, odnosno njihovi pozitivno nabijeni analozi interkaliraju u dsDNK što otvara mogućnost značajnog antiproliferativnog djelovanja. Osim toga, radom je utvrđena jaka citostatska aktivnost amidno-supstituiranih benzimidazo[1,2-*a*]kinolina u usporedbi s komercijalno tada dostupnim citostatskim agensima što je otvorilo mogućnost daljnjeg istraživanja te klase spojeva kao budućih interkalatora i inhibitora topoizomeraze II.²⁹

Nadalje, 2010. godine objavljen je još jedan od značajnih radova M. Hranjec i G. K.-Zamolom sa suradnicima. Provedena je sinteza 2,3-disupstituiranih akrilonitrilnih derivata benzimidazola, benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila te heteroaromatskih fluorena dobivenih prema slici 33. s različito vezanim supstuentima prikazanih u tablici 2.



Slika 33. Sinteza 2,3-disupstituiranih akrilonitrilnih derivata benzimidazola, benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila te heteroaromatskih fluorena

Tablica 2. Supstituenti vezani za spojeve prikazane na slici 33.



Spojevi su testirani na pet staničnih linija tumorskih stanica: karcinoma vrata maternice (HeLa), karcinoma gušterače, karcinoma debelog crijeva, karcinoma dojke i karcinoma pluća. Od ukupnog broja ispitanih spojeva samo 2 nisu pokazali antiproliferativnu aktivnost na svih 5 staničnih linija tumorskih stanica. Istraživanje je pokazalo da ne postoji značajna razlika u biološkoj aktivnosti između fuziranih i ne-fuziranih derivata benzimidazola. Studijom je jasno utvrđeno da cijano skupina predstavlja važan čimbenik koji daje dobru aktivnost ispitivanih spojeva, međutim prisutnost cijano skupine ne utječe na selektivnost spojeva pri inhibiciji rasta tumorskih stanica. Svi spojevi dobiveni studijom pokazali su značajan afinitet vezanja s ctDNK. Sintetizirani fuzirani spojevi pokazali su značajno stabilizirajuće djelovanje prema ctDNK. Prema rezultatima svi spojevi dobiveni tijekom istraživanja ulaze u interakciju s ctDNK, što je potvrđeno na temelju UV/VIS i fluorescentne emisijske titracije.

Nadalje, važno je spomeniti da je struktura molekula benzimidazo[1,2-*a*]kinolina planarna što im omogućuje da se smjeste između parova baza u molekuli DNK te se kao takve mogu primjeniti i kao fluorescentne probe koje služe za obilježavanje bioloških molekula poput DNK, RNK, proteina i enzima te za njihovu detekciju.³⁰

2. 9. Klik kemija

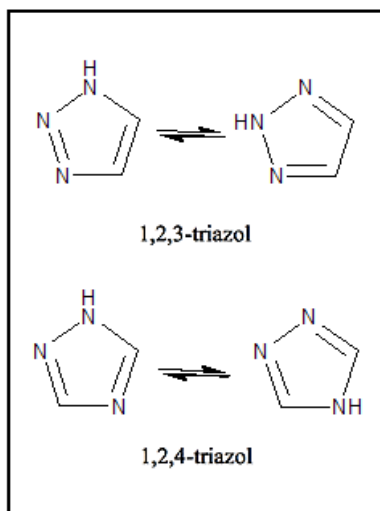
Pojam klik kemije je prvi put spomenuo i opisao K. B. Sharpless na istraživačkom institutu u Kaliforniji 2001. godine. Klik kemija nedvojbeno predstavlja jedan o najpopularnijih pristupa u organskoj kemiji, a obuhvaća niz jednostavnih široko primjenjivih klik reakcija kojima dobivamo stabilne produkte uz visoka iskorištenja reakcije te malu količinu nusporodukata koji se lako mogu ukloniti nekromatografskim metodama.

Postavljeni su određeni kriteriji koje reakcija mora imati da bi se smatrala klik reakcijom. Osim već navedenih svojstava važno je da klik reakcije zahtjevaju jednostavne reakcijske uvjete, da reakcije nisu osjetljive na vodu i kisik, da su stereospecifične, da koriste lako dostupne reagense, da zahtjevaju otapala koja se lako mogu ukloniti ili da su benigna poput vode te nam omogućuju laku izolaciju produkata. Neke od reakcija koje zadovoljavaju te navedene uvijete su: nukleofilna reakcija otvaranja prstena i reakcije cikloadicije kao što su hetero-Diels-Alderova reakcija i 1,3-dipolarna cikloadicija.^{31, 32}

Od posebne važnosti je Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija alkina i azida koja je prvi put provedena 2001. godine, a dobila je poseban značaj uvođenjem bakra kao katalizatora 2002. godine.³³ Kao produkt reakcije dobivamo 1,2,3-triazol.

2. 10. Triazolni prsten i triazoli

Strukturu triazolnog prstena čine 3 atoma dušika i 2 atoma ugljika povezana u jednu cjelinu.³⁴ S obzirom na položaj dušikovih atoma unutar triazolnog prstena razlikujemo 2 izomera triazola (1,2,3-triazol i 1,2,4-triazol) od kojih svaki sadrži 2 tautomera prikazana na slici 34.³⁵



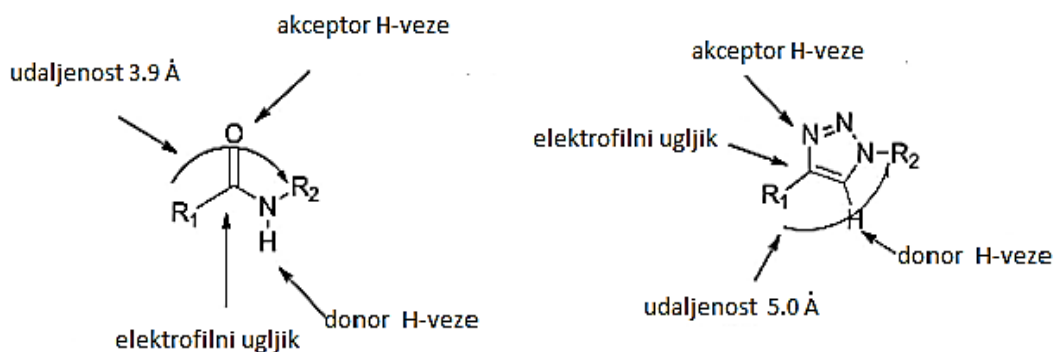
Slika 34. Tautomerne strukture triazola

Zbog specifičnih svojstava 1,2,3-triazola njihova upotreba u otkrivanju potencijanih lijekova sve više i više raste. Od izrazite važnosti je primjena triazolnog prstena kao poveznice dviju farmakoloških supstanci.³⁶

Jedno od specifičnih svojstava 1,2,3-triazolnog prstena je njegova visoko stabilna aromatska struktura koja nije podložna bazičnoj i kiseljoj hidrolizi, stabilna je u oksidativnim i reduktivnim uvjetima i otporna je prema metaboličkoj degradaciji.

Osim toga triazolni prsten ima i visoki dipolni moment i aktivno sudjeluje u stvaranju vodikove veze kao i u dipol-dipol interakcijama. Triazolni prsten strukturno je sličan amidnoj vezi te kao takav može oponašati Z ili E amidnu vezu ovisno o vezanim supstituentima što otvara mogućnost oponašanja i peptidne veze.

U odnosu na amidnu vezu (slika 35.) vidimo da ulogu karbonilnog kisika kao akceptora vodikove veze kod triazolnog prstena “zamjenjuju” tri dušikova atoma, polarizirana C-H veza u položaju 5 kod triazola djeluje kao donor vodikovih veza na isti način kao i amidna N-H veza, dok elektrofilni i polarizirani C4 je elektronski sličan karbonilnom ugljiku. U odnosu na amidnu vezu ukupni dipolni moment triazolnog sustava je nešto veći dipolnog momenta amidne veze. Prema slici 35 vidimo da je i udaljenost između supstituenata zbog cikličke strukture triazola nešto veća nego kod amidne veze.



Slika 35. Usporedba amidne veze i veza triazolnog prstena

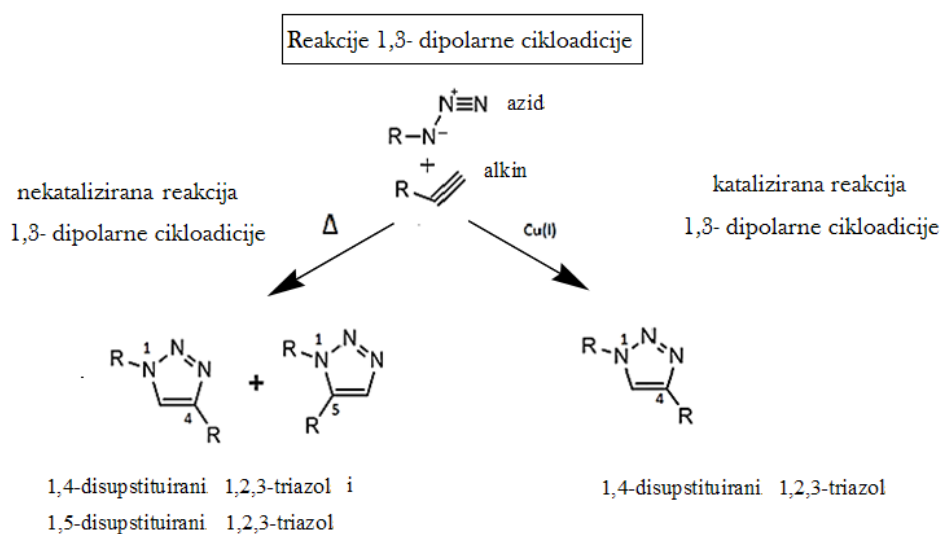
Triazolni prsten služi kao idealna poveznica molekula s obzirom da osigurava dobru topljivost u vodi, strukturno je sličan amidnoj vezi i relativno je otporan na hidrolizu pa je kao takav dovoljno stabilan u biološkim uvjetima. Osim toga triazolni prsten je iznimno krut zbog čega dvije povezane tvari ne mogu međusobno djelovati. Zbog tih osobina triazolni prsten se promatra kao neaktivan linker ili poveznica, iako nije isključena ni mogućnost njegova djelovanja kao samostalne biološke jedinice.³⁷

2. 11. 1,3-dipolarna cikloadicija azida i terminalnog alkina

Dipolarna cikloadicija predstavlja jednu od najzastupljenijih reakcija unutar koncepta klik kemije kod koje kao produkt dobivamo 1,2,3-triazol. Reakcija uključuje reakciju terminalnog ili internog alkina i azida poznatu već više od stotinu godina.³¹

Prvi 1,2,3-triazol sintetiziran je 1893. godine iz fenil-azida i acetilen-dikarboksilata. Istraživanjem reakcije dipolarne cikloadicije 50-ih godina prošlog stoljeća Huisgen i suradnici utvrdili su da je reakcija u termodinamičkom smislu egzotermna s relativno visokom energijom aktivacije što značajno utječe na brzinu reakcije te je ona za neaktivne reaktante na sobnoj temperaturi vrlo spora. Alkin i azid vrlo su selektivni prema reaktivnosti, inertni su prema većini funkcionalnih skupina i stabilni u velikom broju otapala pri različitim temperaturama i pH vrijednostima.

Nekatalizirana reakcija prema tome zahtijeva visoku temperaturu i određeno vrijeme trajanja reakcije te kao produkt nastaje smjesa dvaju regioizomera: 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazola i 1,5-disupstituiranih 1,2,3-triazola (slika 36). Kako bi izbjegli nastajanje dvaju regioizomera te ubrzali i pojednostavili reakciju, kao katalizator uveo se bakar.



Slika 36. Reakcije 1,3-dipolarne cikloadicije

Bakrom katalizirana reakcija ulazi u žarište interesa sintetske organske kemije. Ova reakcija je od tada poznata kao Cu(I)-katalizirana azid-alkinska cikloadicija (*krat. Cu-AAC, engl. Copper Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition*). Istraživanja su pokazala da Cu(I)-katalizirana 1,3-cikloadicija je do 10^7 puta brža od nekatalizirane reakcije.

Za odvijanje reakcije nije potrebna povišena temperatura već se reakcija odvija pri temperaturi od 0- 25 °C, pri čemu sterička i elektronska svojstva supstituenata ne utječu znatno na tijek katalizirane reakcije.³⁸

Cu(I)-kataliziranom azid-alkinskom cikloadicijom tako regioselektivno nastaju 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazoli koji su stabilni u hidrolitičkim i oksidoredukcijskim uvjetima te pri visokim temperaturama.³⁹

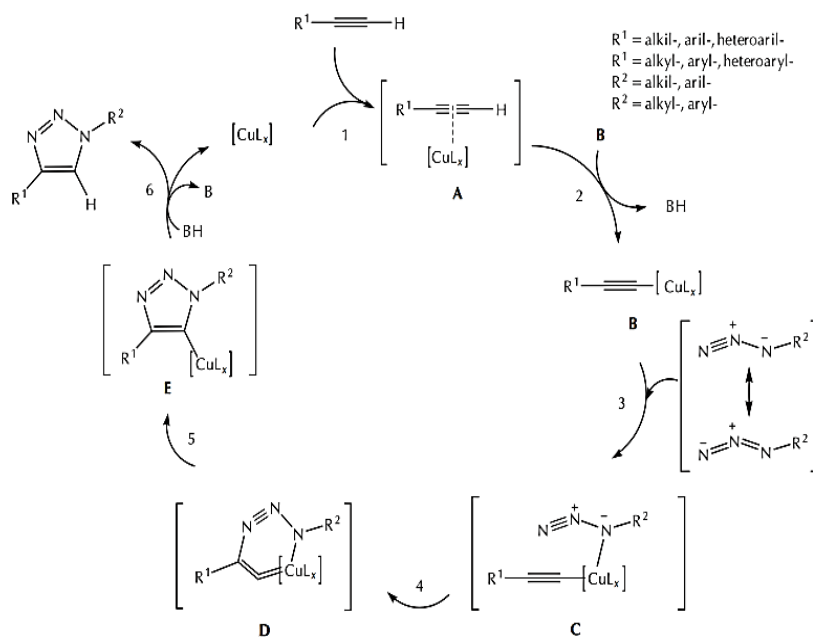
Bakar(I) kao katalizator u reakciji dipolarne cikloadicije se uvodi u reakciju izravno ili se može pripremiti in situ. Ovisno o reakcijskim uvjetima izabire se i odgovarajući bakrov katalizator. Ako je supstrat polaran, najčešće se primjenjuje vodeni medij te CuSO_4 uz odgovarajuće redukcijsko sredstvo, koje će in situ generirati potrebni Cu(I). Osim već navedenog bakrovog sulfata kao izvor bakra mogu biti soli poput CuI ili kao u našem slučaju možemo koristiti bakrov acetat. U većini slučajeva zbog svojstva soli Cu(I) da podliježu redukcijskim procesima pri normalnoj atmosferi nastajanje Cu(I) uglavnom je posljedica oksido-redukcijskih reakcija.⁴⁰

Nadalje, važno je napomeniti da rad s bakrom kao katalizatorom zahtijeva rad u inertnoj atmosferi, dok in situ priprava Cu(I) iona nastalog kao posljedica oksido-redukcijskih procesa ne zahtijeva inertnu atmosferu.⁴¹

Neke od prednosti korištenja bakra kao katalizatora su te da se reakcija može odvijati se u širokom rasponu pH vrijednosti te da je Cu(I) kao katalizator vrlo jeftin i jednostavan za rukovanje.⁴²

2. 12. Mehanizam djelovanja 1,3-dipolarne cikloadicije

Govorimo li o mehanizmu djelovanja 1,3-dipolarne cikloadicije (slika 39) važno je napomenuti da u reakciji sudjeluje isključivo terminalni alkin.



Slika 37. Mehanizam djelovanja 1,3-dipolarne cikloadicije

U prvom koraku navedene klik reakcije Cu^+ koordinira π -elektrone alkina i nastaje π -kompleks bakra i alkina (A). Koordinacijom iona Cu^+ na trostruku vezu ugljik-ugljik smanjuje se pKa terminalnog protona alkina te dolazi do deprotonacije i nastanka bakrovog acetilida (B). Nastali kompleks bakrovog acetilida dalje koordinira azid, pri čemu nastaje intermedijar (C), iz kojeg pregradnjom nastaje šesteročlani prsten (D) koji u sebi sadrži bakar iz kojeg dalje nastaje triazol.(E). Protoniranjem triazolila (E) oslobađa se bakar i nastaje produkt 1,4-supstituirani-1,2,3-triazol.³⁸

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3. 1. Opće napomene

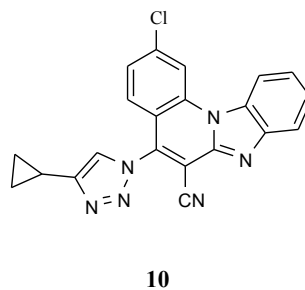
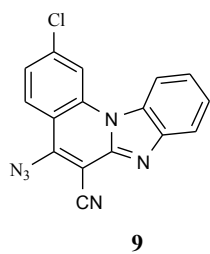
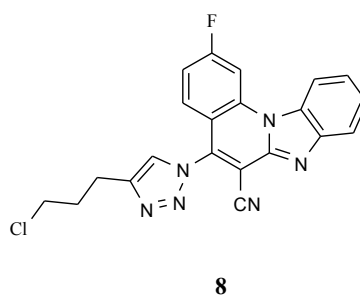
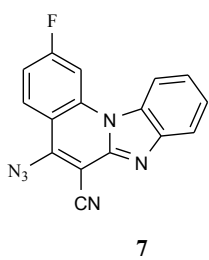
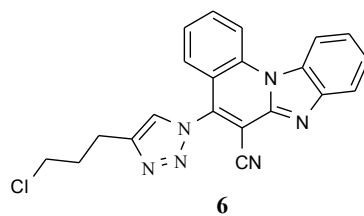
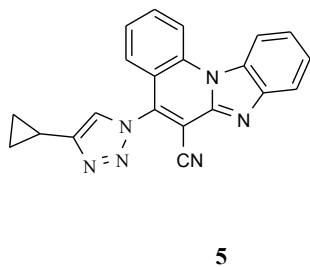
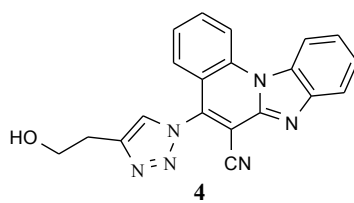
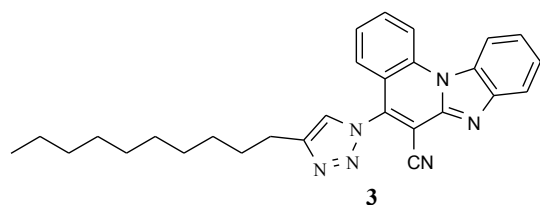
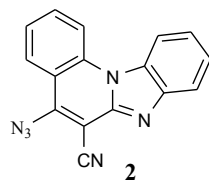
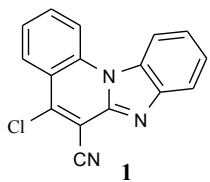
Sva otapala su sušena te pročišćavana prema preporučenom postupku sušenja agensima i/ili destiliranjem preko molekulskih sita veličine 3 Å. Za tankoslojnu kromatografiju (TLC) korištene su ploče 60F-254 prevučene slojem silikagela Merck, a za detekciju izoliranih komponenata korištena je UV svjetlost valnih duljina 254 nm i 366 nm.

Kromatografija na koloni provedena je na silikagelu (Fluka, 0,063-0,2 mm). Korištene su staklene kolone punjene pod utjecajem gravitacije, a kao eluens korištena je smjesa otapala diklormetan/metanol dodana u različitim omjerima.

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

Spektri ^1H i ^{13}C NMR snimljeni su na spektrometru Bruker 300 i 600 MHz. Svi uzorci su otopljeni u DMSO- d_6 i mjereni pri 298 K. Kemijski pomaci (δ) u ^1H i ^{13}C NMR spektrima izraženi su u ppm u odnosu prema signalu tetrametilsilana na δ 0,0 ppm za ^1H i prema signalu DMSO δ 39.50 ppm za ^{13}C . Pojedine rezonancije su pridružene na temelju kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta signala i H-H konstante sprege.

3. 2. Pregled sintetiziranih spojeva



3. 3. Postupci za pripravu spojeva 2-10

5-azido-benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (2)

U suspenziju 5-klorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila (**1**) (148.0 mg, 0.533 mmol) u acetonitrilu (25 ml), dodan je natrijev azid (77.0 mg, 1.184 mmol, 2.22 eq). Reakcijska smjesa je homogenizirana u ultrazvučnoj kupelji te potom miješana na temperaturi refluksa 2h. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatak nakon uparavanja pročišćen je kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 50 : 1). Izoliran je smeđi praškasti spoj **2** (121.2 mg, 80%).

¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.85 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.69 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.30 (dd, *J* = 8.1, 1.2 Hz, 1H), 8.05 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.98 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.68 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.59 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.55 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO) δ 145.09, 145.01, 144.11, 135.41, 134.45, 130.56, 130.05, 125.78, 125.20, 125.06, 123.38, 119.90, 116.91, 116.22, 114.63, 112.31.

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

Suspenziji azidnog derivata benzimidazo[1,2-*a*] kinolina (**2**) (100 mg, 0.352 mmol) u metanolu (5 ml) doda se Cu(OAc)₂ (5.1 mg, 0.028 mmol) i dokapa se 1-dodecin (0.09 ml, 0.422 mmol). Reakcijska smjesa miješa se 1h na temperaturi refluksa. Nakon završetka reakcije otapalo se upari pri sniženom tlaku i ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu i aluminijskom oksidu (diklormetan : etil-acetat = 50 : 1; diklormetan : metanol = 100 : 1). Izoliran je žuti praškasti spoj **3** (91.6 mg, 56%, *T*_f = 212–213 °C).

¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 9.02 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.84 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.60 (s, 1H, H-triaz.), 8.21 – 7.96 (m, 2H), 7.81 – 7.62 (m, 3H), 7.41 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 2.86 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.88 – 1.67 (m, 2H), 1.48 – 1.15 (m, 14H), 0.86 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 147.94, 144.24, 143.52, 142.04, 135.86, 134.74, 130.58, 126.34, 125.88, 125.69, 125.37, 124.50, 120.61, 118.34, 116.60, 115.20, 112.23, 100.43, 31.23, 28.93, 28.91, 28.69, 28.65, 28.37, 24.73, 22.03, 13.89.

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

Suspenciji azidnog derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (**2**) (100 mg, 0.352 mmol) u metanolu (5 ml) doda se $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (5.1 mg, 0.028 mmol) i dokapa se 3-butin-1-ol (0.03 ml, 0.422 mmol). Reakcijska smjesa miješa se 1h na temperaturi refluksa. Nakon završetka reakcije otapalo se upari pri sniženom tlaku i ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu i aluminijevom oksidu (diklormetan : etil-acetat = 50 : 1; diklormetan : metanol = 100 : 1). Izoliran je žuti praškasti spoj **4** (84.6 mg, 68%, $T_f = 250\text{--}251\text{ }^\circ\text{C}$).

^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.04 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 8.93 – 8.81 (m, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.13 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.82 – 7.60 (m, 3H), 7.42 (dd, $J = 8.2, 1.2$ Hz, 1H), 4.87 (t, $J = 5.3$ Hz, 1H), 3.82 (dd, $J = 12.1, 6.7$ Hz, 2H), 3.03 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 145.62, 144.24, 143.61, 142.07, 135.87, 134.76, 130.59, 126.42, 126.03, 125.89, 125.72, 124.53, 120.63, 118.38, 116.61, 115.23, 112.32, 100.44, 60.07, 28.98.

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

Suspenciji azidnog derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (**2**) (161.3 mg, 0.567 mmol) u metanolu (8 ml) doda se $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (8.24 mg, 0.045 mmol) i dokapa se ciklopropilaceten (0.06 ml, 0.681 mmol). Reakcijska smjesa miješa se 1h na temperaturi refluksa. Nakon završetka reakcije otapalo se upari pri sniženom tlaku i ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu i aluminijevom oksidu (diklormetan : etil-acetat = 50 : 1; diklormetan : metanol = 100 : 1). Izoliran je žuti praškasti spoj **5** (84.8 mg, 43%, $T_f > 270\text{ }^\circ\text{C}$).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.03 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.86 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 8.65 (s, 1H, H-triaz.), 8.13 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.78 – 7.59 (m, 2H), 7.43 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 2.28 – 1.99 (m, 1H, H-1'), 1.32 – 1.03 (m, 2H), 1.00 – 0.83 (m, 2H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO) δ 150.06, 144.23, 143.51, 141.90, 135.86, 134.76, 130.57, 126.43, 125.93, 125.69, 124.51, 124.26, 120.61, 118.23, 116.58, 115.20, 112.29, 100.33, 8.04, 6.40.

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

Suspenciji azidnog derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (**2**) (62 mg, 0.218 mmol) u metanolu (5 ml) doda se Cu(OAc)₂ (3.2 mg, 0.018 mmol) i dokapa se 5-klor-1-pentin (0.03 ml, 0.262 mmol). Reakcijska smjesa miješa se 1h na temperaturi refluksa. Nakon završetka reakcije otapalo se upari pri sniženom tlaku i ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu i aluminijevom oksidu (diklormetan : etil-acetat = 50 : 1; diklormetan : metanol = 100 : 1). Izoliran je žuti praškasti spoj **6** (55 mg, 65% , *T*_f = 237–238 °C)

¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 9.03 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.85 (dd, *J* = 6.9, 1.9 Hz, 1H), 8.71 (s, 1H, H-triaz.), 8.28 – 8.07 (m, 2H), 7.76 – 7.61 (m, 3H), 7.45 (dd, *J* = 8.2, 1.2 Hz, 1H), 3.80 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.03 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 2.37 – 2.05 (m, 2H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO) δ 146.58, 144.20, 143.43, 141.93, 135.82, 134.70, 130.53, 126.40, 125.85, 125.64, 124.46, 120.57, 118.25, 116.52, 115.14, 112.18, 100.44, 44.48, 31.53, 22.15.

5-azido-2-fluorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (7)

U suspenziju 2-fluor-5-klorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila (116.0 mg, 0.392 mmol) u acetonitrilu (20 ml), dodan je natrijev azid (61.2 mg, 0.9415 mmol, 2.4 eq). Reakcijska smjesa je homogenizirana u ultrazvučnoj kupelji te potom miješana na temperaturi refluksa 2h. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatak nakon uparavanja pročišćen je kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 50 : 1). Izoliran je smeđi praškasti spoj **7** (83.0 mg, 70%).

^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.71 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H-8), 8.57 (dd, J = 10.4, 2.2 Hz, 1H, H-5), 8.35 (dd, J = 9.1, 6.2 Hz, 1H, H-3 vjerojatno), 7.97 (d, J = 7.8 Hz, 1H, H-11), 7.65 – 7.47 (m, 3H).

2-fluor-5-(4-(3-klorpropil)-1,2,3-triazol-1-il)benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (8)

Suspenziji spoja **7** (100 mg, 0.331 mmol) u metanolu (5 ml) doda se $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (4.8 mg, 0.027 mmol) i dokapa se 5-klor-1-pentin (0.04 mL, 0.397 mmol). Reakcijska smjesa miješa se 1h na temperaturi refluksa. Nakon završetka reakcije otapalo se upari pri sniženom tlaku i ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu i aluminijevom oksidu (diklormetan : etil-acetat = 50 : 1; diklormetan : metanol = 100 : 1). Izoliran je žuti praškasti spoj **8** (78 mg, 58%).

^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.92 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 8.80 (dd, J = 10.4, 1.8 Hz, 1H), 8.72 (s, 1H, H-triaz.), 8.12 (dd, J = 6.9, 2.2 Hz, 1H), 7.84 – 7.51 (m, 4H), 3.80 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.02 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.32 – 2.16 (m, 2H).

5-azido-2-klorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (9)

U suspenziju 2,5-diklorobenzimidazo [1,2-*a*] kinolin-6-karbonitrila (100 mg; 0.320 mmol) u acetonitrilu (30 ml), dodan je natrijev azid (41.7 mg, 0.641 mmol, 2 eq). Reakcijska smjesa je homogenizirana u ultrazvučnoj kupelji te potom miješana na temperaturi refluksa 2h. Otapalo je upareno pri sniženom tlaku, a ostatak nakon uparavanja pročišćen je kolonskom kromatografijom na silikagelu (diklormetan : metanol = 100 : 1). Izoliran je smeđi praškasti spoj **9** (76.4 mg, 75%).

^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.71 (d, J = 1.7 Hz, 1H, H-5), 8.67 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H-8), 8.29 (d, J = 8.8 Hz, 1H, H-2), 7.98 (d, J = 7.9 Hz, 1H, H-11), 7.74 (dd, J = 8.7, 1.7 Hz, 2H, H-3), 7.60 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 7.56 (t, J = 7.1 Hz, 1H).

5-(ciklopropil-1,2,3-triazol-1-il)-2-klorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (10)

Suspenziji spoja **9** (50 mg, 0.158 mmol) u metanolu (2.5 mL) doda se Cu(OAc)₂ (2.3 mg, 0.013 mmol) i dokapa se ciklopropilaceten (0.02 mL, 0.189 mmol). Reakcijska smjesa miješa se 1h na temperaturi refluksa. Nakon završetka reakcije otapalo se upari pri sniženom tlaku i ostatak nakon uparavanja se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu i aluminijevom oksidu (diklormetan : etil-acetat = 50 : 1; diklormetan : metanol = 100 : 1). Izoliran je žuti praškasti spoj **10** (30 mg, 50%).

¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.92 – 8.84 (m, 2H), 8.64 (s, 1H), 8.15 – 8.08 (m, 1H), 7.90 – 7.63 (m, 3H), 7.45 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 2.26 – 2.15 (m, 1H), 1.13 – 1.00 (m, 2H), 0.99 – 0.84 (m, 2H).

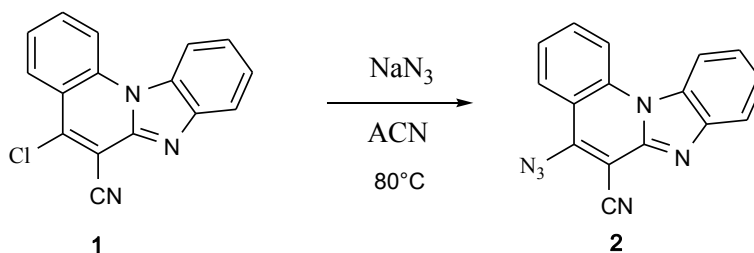
¹³C NMR (151 MHz, DMSO) δ 150.16, 144.17, 143.71, 141.36, 139.55, 136.50, 130.42, 128.22, 126.25, 125.98, 124.84, 124.28, 120.61, 117.22, 115.92, 115.40, 112.16, 100.47, 8.07, 6.40.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4. 1 Cilj rada i sinteza spojeva

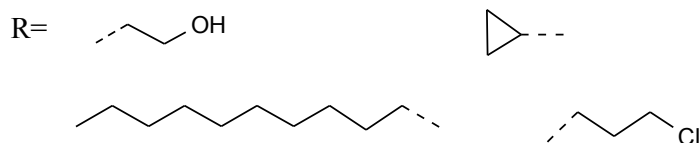
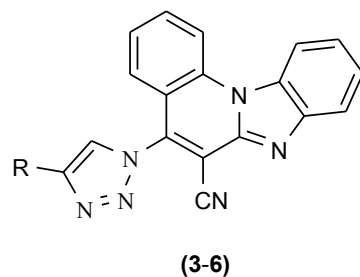
Cilj ovog diplomskog rada bila je sinteza novih 4-alkil-1,2,3-triazolnih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina s ciljem utvrđivanja njihove biološke aktivnosti. Spojevi u svojoj strukturi sadrže tri heterociklička prstena (triazolni, benzimidazolni i kinolinski prsten) koji samostalno ili u kombinaciji čine strukturne jedinice mnogih lijekova od kojih su od posebne važnosti lijekovi protiv karcinoma.

Reakcijom 5-klorbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila (**1**) s natrijevim azidom u acetonitrilu dobiven je 5-azido-benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (**2**) (shema 1) kao prekursor za sintezu 1,2,3-triazolnih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **3–6**.



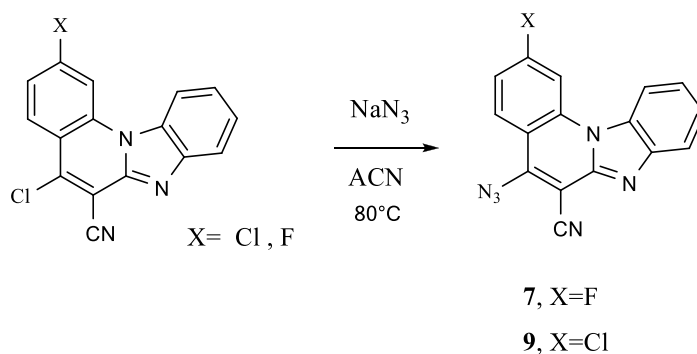
Shema 1. Prikaz sinteze spoja **2**

Reakcijom 1,3-dipolarne cikloadicije uz Cu(OAc)₂ kao katalizator u reakciji s terminalnim alkinima sintetizirani su 1,2,3-triazolni derivati **3–6** (shema 5, sintetski put A). Temeljna razlika u strukturi sintetiziranih spojeva (**3–6**) su različiti supstituenti vezani na položaju 4 triazolnog prstena (shema 2) izabrani kako bi se istražio odnos strukture i aktivnosti.



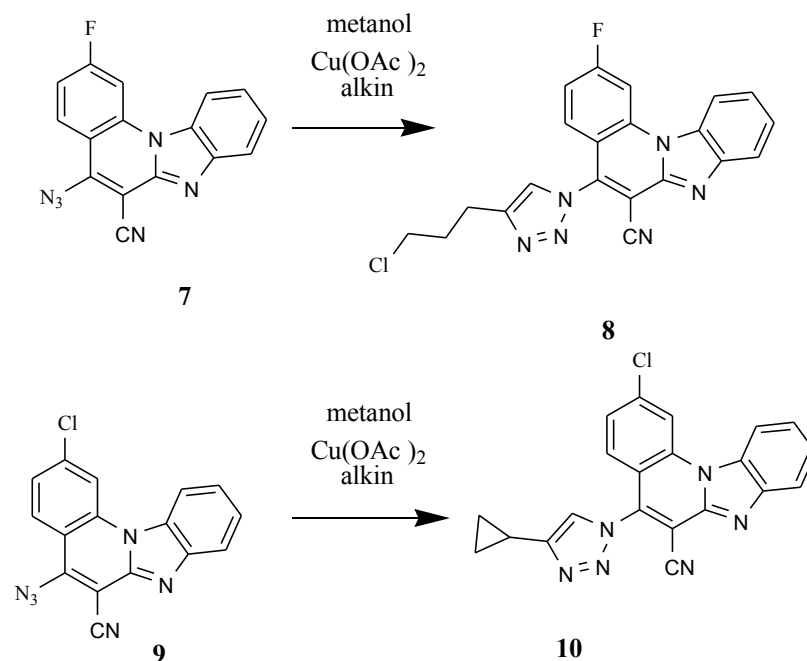
Shema 2. Strukture spojeva **3–6**

Nadalje, u reakciji 2-klornog ili 2-fluornog derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila s natrijevim azidom sintetizirani su odgovarajući azidni derivati **7** i **9** (shema 3) koji predstavljaju intermedijare u reakciji dobivanja 1,2,3-triazolnih derivata **8** i **10**. Spojevi **7** i **9** u usporedbi sa spojem **2** sadrže halogeni atom (Cl ili F) vezan na položaj 2 benzimidazo[1,2-*a*]kinolinskog prstena.



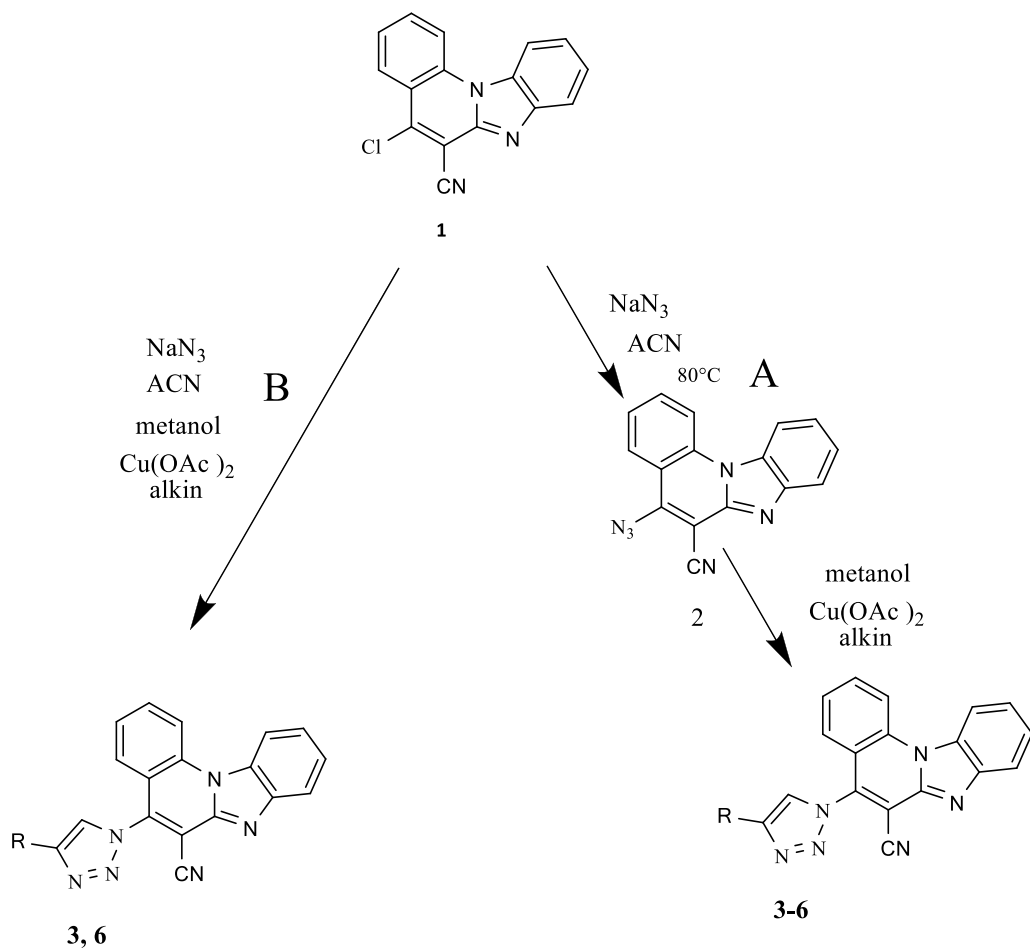
Shema 3. Sinteza spojeva **7** i **9**

Nadalje, spojevi **8** i **10** dobiveni su na isti način kao i spojevi **3–6** reakcijom 1,3-dipolarne cikloadicije (shema 4) uz bakar kao katalizator iz pripadajućih azidnih derivata benzimidazo[1,2-*a*] kinolina (spojeva **7** i **9**).



Shema 4. Sinteza spojeva **8** i **10**

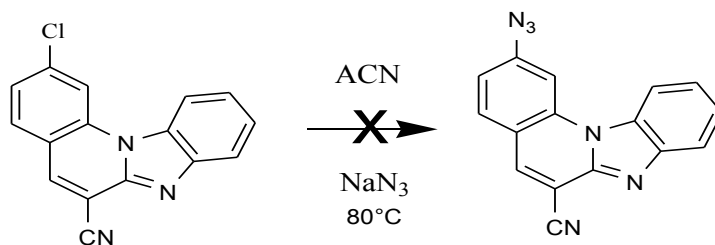
Kako bi se poboljšalo iskorištenje ciljanih produkata te imajući na umunestabilnost azidnog derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **2**, sintezi triazolnih derivata se pristupilo na dva načina (shema 5). U prvom sintetskom putu A provodila se sinteza i izolacija azidnog derivata **2**, a potom sinteza uz bakrov acetat i odgovarajući terminalni alkin i izolacija ciljanih produkata **3–6**. Drugi sintetski put B bila je tandemska reakcija prevođenja 5-klor derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (**1**) u azid a potom klik kemija *in situ* nastalog azida u odgovarajuće triazolne derivate.



Shema 5. Pristupi u sintezi spojeva

S obzirom da je sintetskim putem B dobivena mala količina produkta možemo reći da za dobivanje ciljanih triazolnih derivata **3** i **6** nije prikladno koristiti tandemsku reakciju opisanu u sintetskom putu B.

Osim toga pokušali smo provesti sintezu spoja prikazanog na shemi 6.



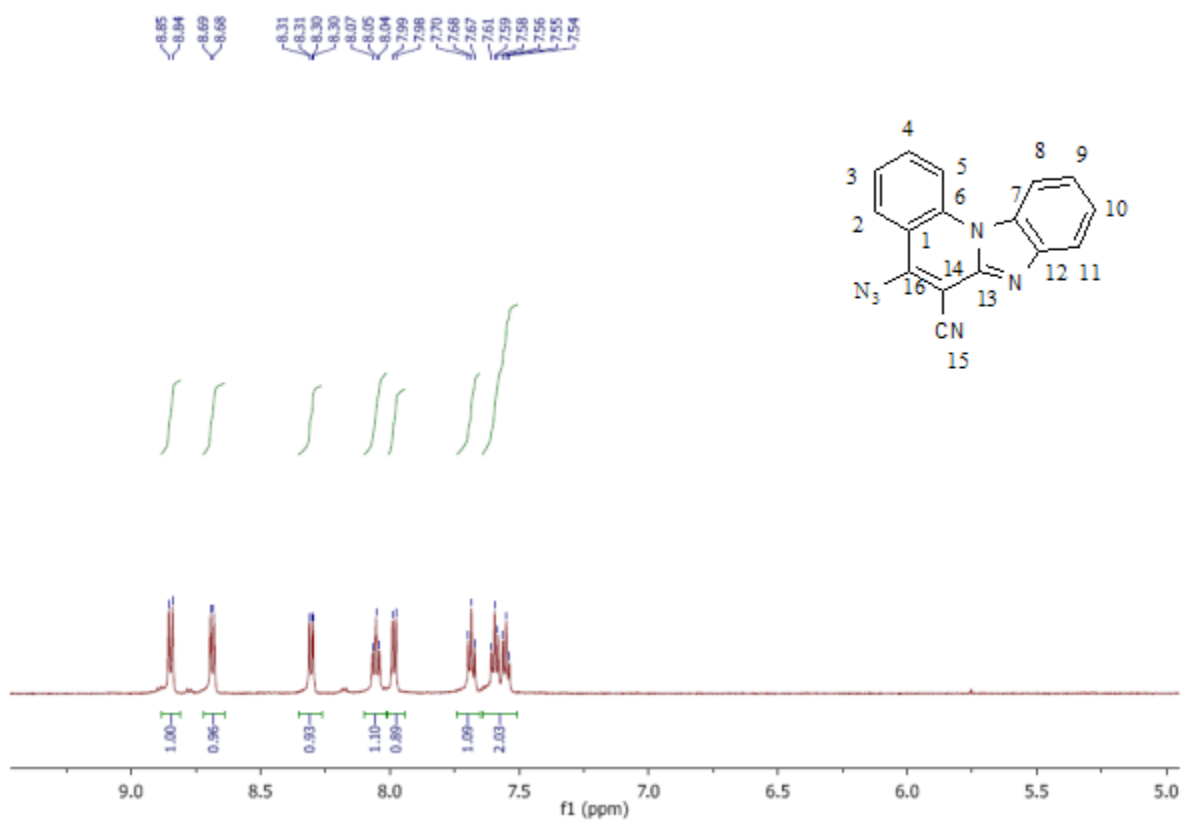
Shema 6. Provedena neuspjela sinteza 2-azidobenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitrila

Na temelju dobivenih spektara NMR (^1H i ^{13}C) utvrdili smo da reakcija nije uspjela i da nismo dobili željeni produkt.

4. 2. Analiza spektara ^1H NMR

Proveli smo analizu spektara sintetiziranih spojeva (**2–10**) i s obzirom na dobivene rezultate potvrdili strukturu sintetiziranih spojeva.

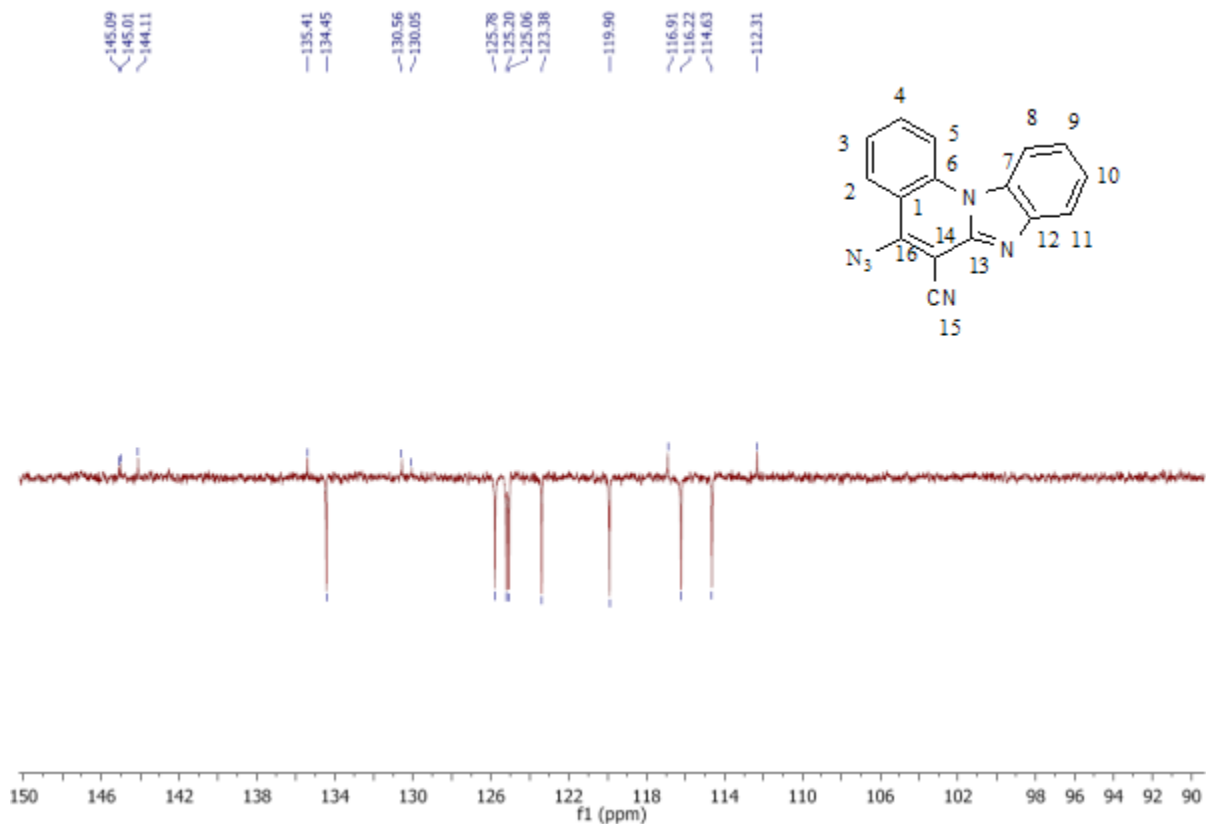
Na slici 38 prikazan je spektar ^1H NMR spoja **2**.



Slika 38. Spektar ^1H NMR spoja **2**

Iz spektra ^1H NMR spoja **2** vidljivo je ukupno 8 signala (3 dubleta, 4 tripleta i 1 dublet dubleta) u području od 7–9 ppm-a. Sprezanja kao i broj protona odgovaraju pretpostavljenoj strukturi spoja **2**.

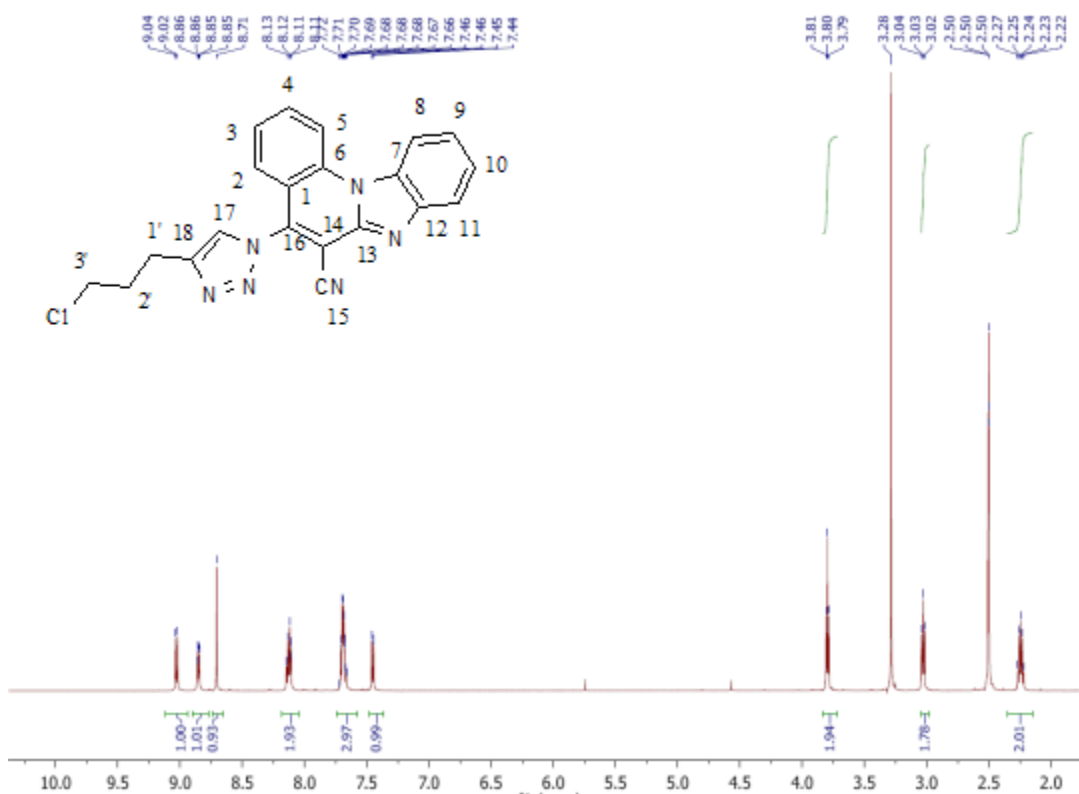
Sukladno tome, iz spektra ^{13}C NMR spoja **2** (slika 39) vidljivo je ukupno 16 signala (8 singleta od kvarternih C atoma i 8 signala neparnih CH atoma).



Slika 39. ^{13}C NMR spoja **2**

Signali za kvarterne ugljikove atome u uglavnom su slabijeg intenziteta od signala za neparne ugljikove atome. Na temelju analize spektara ^1H i ^{13}C NMR jasno vidimo da spektri opisuju strukturu spoja **2**.

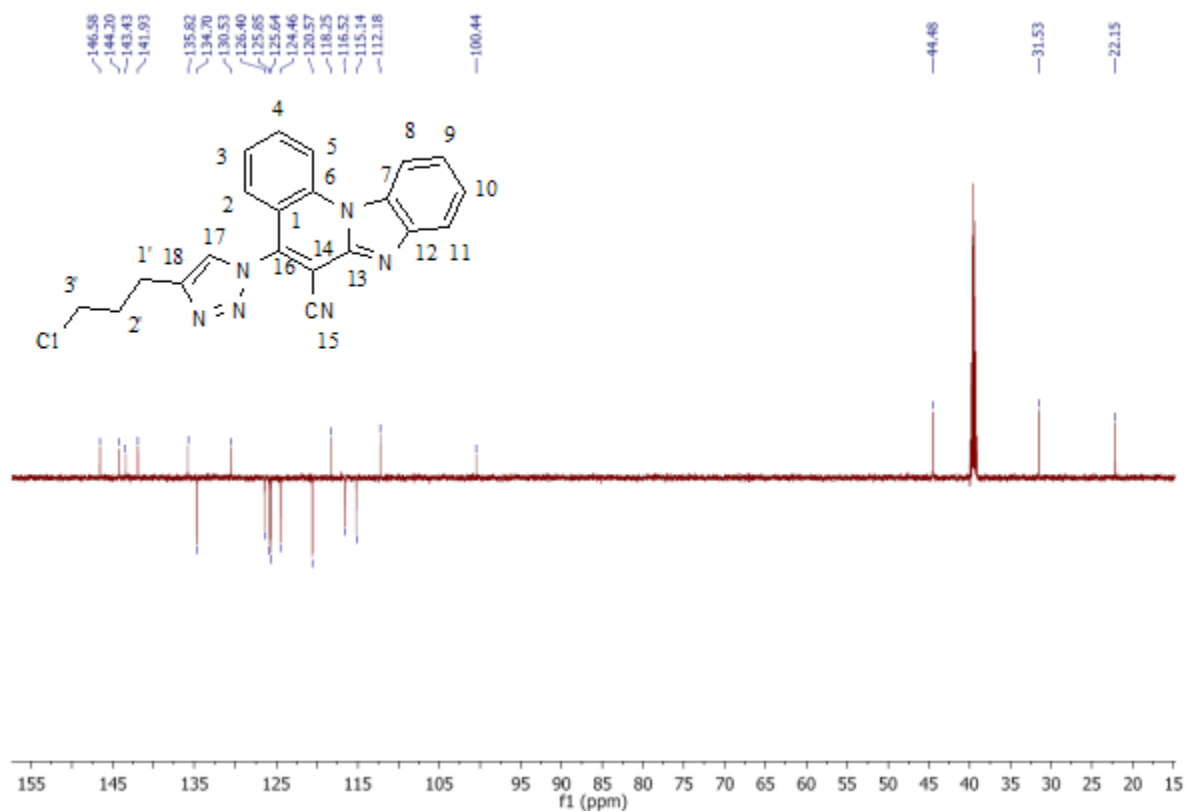
Nadalje, na slici 40 prikazan je spektar ^1H NMR 4-klorpropilnog triazolnog derivata **6**.



Slika 40. Spektar ^1H NMR spoja **6**

Iz spektra ^1H NMR vidljiv je signal vodika vezanog za ugljik triazolnog prstena koji je prema multiplicitetu singlet, pomaka 8.71 ppm. Nadalje, vidljivi su signali koji potvrđuju prisutnost alkilnog supstituenta: CH_2 (triplet) na 3,03 ppm, CH_2 (multiplet) na 2,37-2,05 ppm te CH_2 (triplet) na 3,80 ppm. Osim toga, vidimo signale aromatskih protona koji se nalaze unutar područja 7-9 ppm.

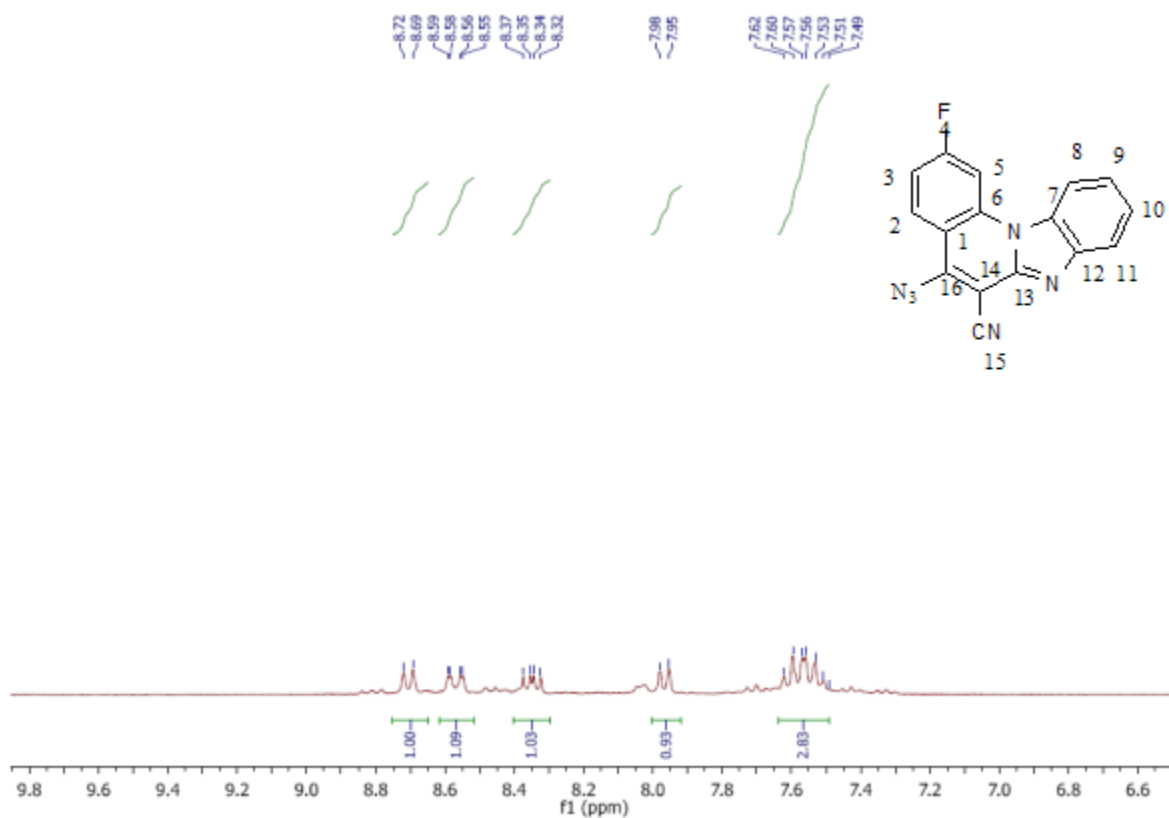
Struktura spoja **6** dodatno je potvrđena na temelju spektra ^{13}C NMR prikazanog na slici 41.



Slika 41. Spektar ^{13}C NMR spoja 6

Iz spektra ^{13}C NMR vidimo dvadeset signala od kojih 3 signala sa pomacima: 44.48, 31.53, 22.15 ppm ukazuju na prisutnost supstituenta (3-klorpropil). Na spektru je vidljivo i dodatnih 9 parnih signala koji odgovaraju ugljikovim atomima benzimidazo[1,2-*a*]kinolinskog i 1,2,3-trizolnog prstena.

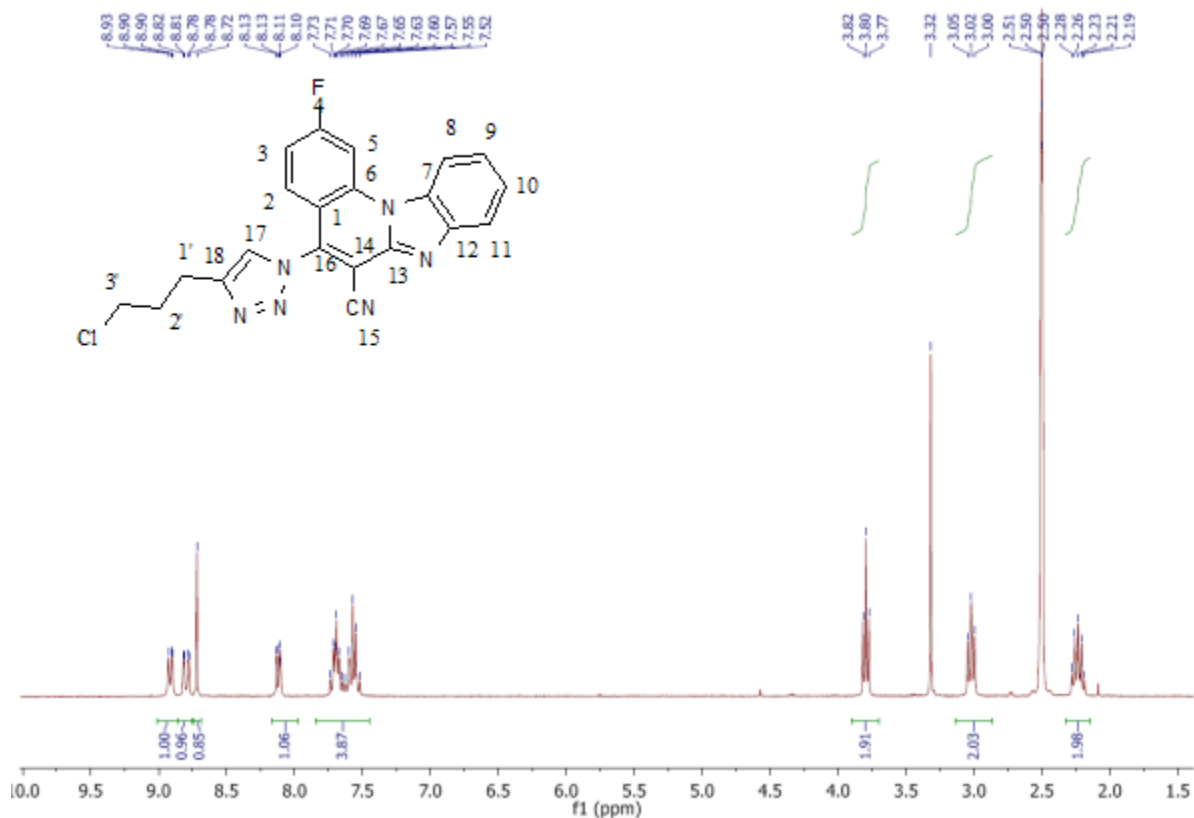
Na slici 42 prikazan je spektar ^1H NMR spoja **7** koji je strukturno sličan spoju **2**.



Slika 42. ^1H NMR spoja **7**

Iz spektra ^1H NMR vidljivo je 7 signala koji pripadaju protonima benzimidazo[1,2-*a*]kinolinskog prstena. U usporedbi s spektrom ^1H NMR spoja **2** vidimo da imamo jedan signal manje u odnosu na spektar spoja **2** što ukazuje na prisutnost vezanog supstituenta odnosno atoma fluora.

Na slici 43 prikazan je spektar ^1H NMR spoja **8** koji je strukturno sličan spoju **6**.



Slika 43. ^1H NMR spoja **8**

U odnosu na spektar ^1H NMR spoja **6** jasno vidimo da nedostaje jedan signal koji pripada protonu benzimidazo[1,2-*a*]kinolinskog prstena, odnosno postoji ukupno 7 signala protona benzimidazo[1,2-*a*]kinolinskog prstena što zajedno sa izraženijim cijepanjem signala ukazuje na vezani fluor.

5. ZAKLJUČCI

5. ZAKLJUČCI

- Uspješno je provedena sinteza azidnih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (spojevi **2**, **7**, **9**) kao intermedijara u reakciji dobivanja 4-alkil-1,2,3-triazolnih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina
- Spojevi **3–6** s alkilnim i ciklopropilnim supstituentima u položaju C-4 triazolnog prstena uspješno su sintetizirani iz spoja **2** reakcijom 1,3-dipolarne cikloadicije kataliziranom bakrom.
- 4-kloropropilni i 4-ciklopropilni 1,2,3-triazolni derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **8** i **10** s halogenim supstituentima u položaju 2 pripremljeni su klik reakcijom odgovarajućih azidnih derivata (spoj **7** za dobivanje spoja **8** i spoj **9** za dobivanje spoja **10**) i alkina pomoću bakrovog acetata u metanolu
- Strukture novopripremljenih spojeva potvrđene su spektrima ¹H- i ¹³C-NMR.
- Provedena je i tandemna reakcija za dobivanje spojeva **3** i **6** koja zbog malog iskorištenja nije pogodna za sintezu ovih spojeva.
- Ispitivanja biološke aktivnosti novosintetiziranih 4-alkil-1,2,3-triazolnih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina (**3–6**, **8**, **10**) su u tijeku.

6. LITERATURA

6. LITERATURA

1. M. Mintas, S. Raić-Malić: Medicinska kemija, *Medicinska naklada*, Zagreb, 2009.
2. M. Mintas: Medicinska kemija protutumorskih lijekova, *Medicinska naklada*, Zagreb, 2013.
3. I. Piantanida: Interakcija malih molekula s DNA i RNA, *Kem. Ind.*, 2003, **52**, 545–552.
4. M. M. Aleksić, V. Kapetanović: Interakcije lekova i DNK– osobine i detekcija, *Arh. farm.*, 2013, **63**, 279–292.
5. G. K.-Zamola, K. Starčević: Heterociklički aromati i antitumorsko djelovanje, *Kem. Ind.*, 2007, **56**, 257–253.
6. M. Hranjec, G. K.-Zamola: Derivati benzimidazola i antitumorsko djelovanje, *Kem. Ind.*, 2008, **57**, 299–306.
7. R. Walia, Md. Hedaitullah, S. F. Naaz, K. Iqbal, HS. Lamba: Benzimidazole derivatives - an overview, *Int. J. Res. Pharm. Chem.*, 2011, **1**, 565–574.
8. <http://www.plivazdravlje.hr/aktualno/clanak/27160/Kemoterapija-u-lijecenju-zlocudnih-bolesti.html> (pristupljeno 13. 06. 2017.).
9. D. Khare, R. Pande: Experimental and molecular docking study on dna binding interaction of N-phenylbenzohydroxamic acid, *Der Pharma Chemica*, 2012, **4**, 66–75.
10. J. B. Wright : The chemistry of the benzimidazoles, Michigan, 1951.
11. T. Eicher, S. Hauptmann, A. Speicher: The Chemistry of Heterocycles: Structure, Reactions, Syntheses, and Applications , Second Edition, Weinheim, 2004.
12. Salahuddin, M. Shaharyar, A. Mazumder: Benzimidazoles: A biologically active compounds, *Arab. J. Chem.*, 2017, **10**, 157–173.
13. Z. Kazimierczuk, J.A. Upcroft, P. Upcroft, A. Gorska, B. Starosciak, A. Laudy: Synthesis, antiprotozoal and antibacterial activity of nitro- and halogeno-substituted benzimidazole derivatives, *Acta Biochim.*, 2002, **49**, 185–195.
14. J. S. Brooke: *Stenotrophomonas maltophilia*: an Emerging Global Opportunistic Pathogen, *Clin. Microbiol. Rev.*, 2012, **25**, 2–41.
15. A. Ashraf, W. A. Siddiqui, J. Akbar, G. Mustafa, H. Krautscheid, N. Ullah, B. Mirza, F. Sher, M. Hanif : Metal complexes of benzimidazole derived sulfonamide: Synthesis, molecular structures and antimicrobial activity, *Inorg. Chim. Acta*, 2016, **43**, 179–185.

16. V. K. Pandey, A. Shukla: Synthesis and biological activity of isoquinolinyl benzimidazoles, *Ind. J. Chem.*, 1999, **38**, 1381–1383.
17. K. Starčević, M. Kralj, K. Ester, I. Sobol, M. Grace, K. Pavelić, G. Karminski-Zamola: Synthesis, antiviral and antitumor activity of 2-substituted-5-amidino-benzimidazoles, *Biorg. Med. Chem.*, 2007, **15**, 4419–4426.
18. J. F. Miller, E. M. Turner, K. S. Gudmundsson, S. Jenkinson, A. Spaltenstein, M. Thomson, P. Wheelan: Novel N-substituted benzimidazole CXCR4 antagonists as potential anti-HIV agents, *Biorg. Med. Chem.*, 2010, **20**, 2125–2128.
19. M. Hranjec, K. Starčević, S. K. Pavelić, P. Lučin, K. Pavelić, G. K.-Zamola: Synthesis, spectroscopic characterization and antiproliferative evaluation *in vitro* of novel Schiff bases related to benzimidazoles, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, **46**, 2274–2279.
20. A. Gellis, H. Kovacic, N. Boufatah, P. Vanelle: Synthesis and cytotoxicity evaluation of some benzimidazole-4,7-diones as bioreductive anticancer agents, *Eur. J. Med. Chem.*, 2008, **43**, 1858–1864.
21. S. M. Sondhi, R. Rani, J. Singh, P. Roy, S.K. Agrawal, A.K. Saxena: Solvent free synthesis, anti-inflammatory and anticancer activity evaluation of tricyclic and tetracyclic benzimidazole derivatives, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, **20**, 2306–2310.
22. O. Afzal, S. Kumar, M. R. Haider, M. R. Ali, R. Kumar, M. Jaggi, S. Bawa: A review on anticancer potential of bioactive heterocycle quinolone, *Eur. J. Med. Chem.*, 2015, **97**, 871–910.
23. N. Perin: Sinteza, mikrovalna sinteza i spektroskopska karakterizacija novih potencijalnih biološki aktivnih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina, diplomski rad, Zagreb, 2009.
24. V. U. Shenoy i S. Seshadri: Synthesis of benzimidazo-[1,2-*a*]-quinolines: fluorescent disperse dyes, *Dyes and Pigments*, 1989, **11**, 137–145.
25. C. Venkatesh, G. S. M. Sundaram, H. Ila, H. Junjappa: Palladium-Catalyzed Intramolecular N-Arylation of Heteroarenes: A Novel and Efficient Route to Benzimidazo[1,2-*a*]quinolones, *J. Org. Chem.*, 2006, **71**, 1280–1283.
26. Q. Cai, Z. Li, J. Wei, L. Fu, C. Ha, D. Pei, K. Ding: Synthesis of Aza-Fused Polycyclic Quinolines through Copper-Catalyzed Cascade Reactions, *Org. Lett.*, 2010, **12**, 1500–

1503.

27. N. Perin, M. Hranjec, G. Pavlović, G. Karminski-Zamola: 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.*, 2011, **91**, 79–88.
28. M. Hranjec, G. Karminski-Zamola: Synthesis of Novel Benzimidazolyl-substituted Acrylonitriles and Amidino-substituted Benzimidazo[1,2-*a*]Quinolines, *Molecules*, 2007, **12**, 1817–1828.
29. M. Hranjec, M. Kralj, I. Piantanida, M. Sedić, L. Šuman, K. Pavelić, G. Karminski-Zamola: Novel Cyano- and Amidino-Substituted Derivatives of Styryl-2-Benzimidazoles and Benzimidazo[1,2-*a*]quinolines. Synthesis, Photochemical Synthesis, DNA Binding, and Antitumor Evaluation, Part 3, *J. Med. Chem.*, 2007, **50**, 5696–5711.
30. M. Hranjec, G. Pavlović, M. Marijanović, M. Kralj, G. Karminski-Zamola: Benzimidazole derivatives related to 2,3-acrylonitriles, benzimidazo[1,2-*a*] quinolines and fluorenes: Synthesis, antitumor evaluation in vitro and crystal structure determination, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**, 2405–2417.
31. H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, **40**, 2004–2021.
32. J. E. Moses, A. D. Moorhouse: The growing applications of click chemistry, *Chem. Soc.*, 2007, **36**, 1262–62.
33. W. D. G. Brittain, B. R. Buckley, J. S. Fossey: Asymmetric Copper-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloadditions, *ACS Catal.*, 2016, **6**, 3629–3636.
34. S. G. Agalave, S. R. Maujan, V. S: Click Chemistry: 1,2,3-Triazoles as Pharmacophores, *Chem. Asian J.*, 2011, **6**, 2696–2718.
35. A. Chawla, P. Kaur: A systemic review: Microwave Synthesis as a part of Green Chemistry for the synthesis of novel 1,2,4-triazole derivatives, *Int. J. Pharm.*, 2013, **4**, 49–72.
36. R. P. Jadhav, H. N. Raundal, A. A. Patil, V. D. Bobade: Synthesis and biological evaluation of a series of 1,4-disubstituted 1,2,3-triazole derivatives as possible antimicrobial agents, *Jour. Saudi. Chem. Soc.*, 2017, **21**, 152–159.

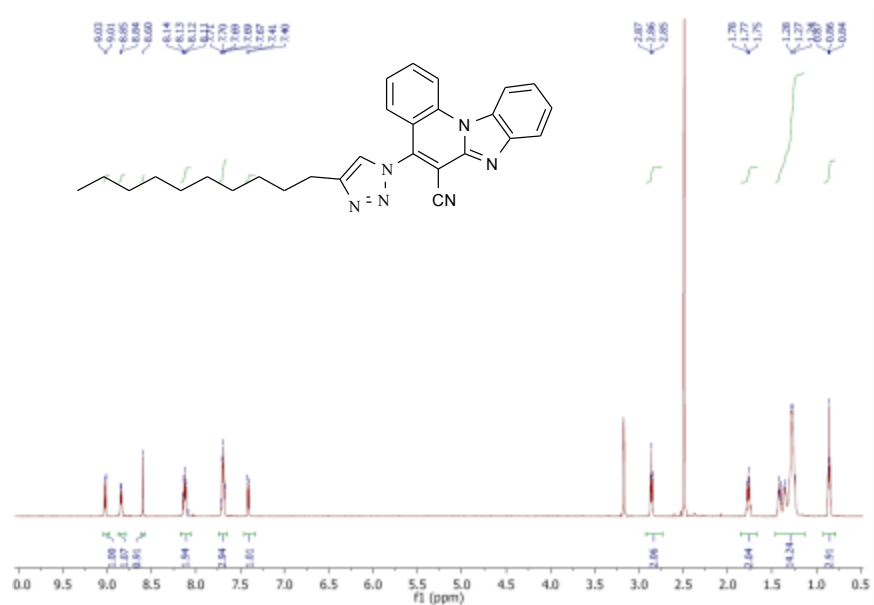
37. A. Lauria, R. Delisi, F. Mingoia, A. Terenzi, A. Martorana, G. Barone, A. M. Almerico: 1,2,3-Triazole in Heterocyclic Compounds, Endowed with Biological Activity, through 1,3-Dipolar Cycloadditions, *Eur. J. Org. Chem.*, 2014, **16**, 3289–3306.
38. D. Saftić, L. Krstulović, M. Bajić, B. Žinić : 1,3-Dipolarna cikloadicija (I. dio): Dobivanje 1,2,3-triazolnih derivata u nukleozidnoj kemiji, *Kem. Ind.*, 2015, **64**, 481–498.
39. A. H. Kategaonkar, P. V. Shinde, S. K. Pasale, B. B. Shingate, M. S. Shingare, Synthesis of novel triazole-linked mefloquine derivatives: Biological evaluation against *Plasmodium falciparum* *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2014, **23**, 5466–5469.
40. V. D. Bock, H. Hiemstra, J. H. V. Maarseveen : CuI-Catalyzed Alkyne–Azide “Click” Cycloadditions from a Mechanistic and Synthetic Perspective, *Eur. J. Org. Chem.*, 2006, **1**, 51-68.
41. M. Arseneault, C. Wafer, J. F. Morin: Recent Advances in Click Chemistry Applied to Dendrimer Synthesis, *Molecules*, 2015, **20**, 9263–9294.
42. F. Amblard, J. H. Cho, R. F. Schinazicor : The Cu(I)-catalyzed Huisgen azide-alkyne 1,3- dipolar cycloaddition reaction in nucleoside, nucleotide and oligonucleotide chemistry, *Chem. Rev.*, 2009, **109**, 420–720.

7. PRILOZI

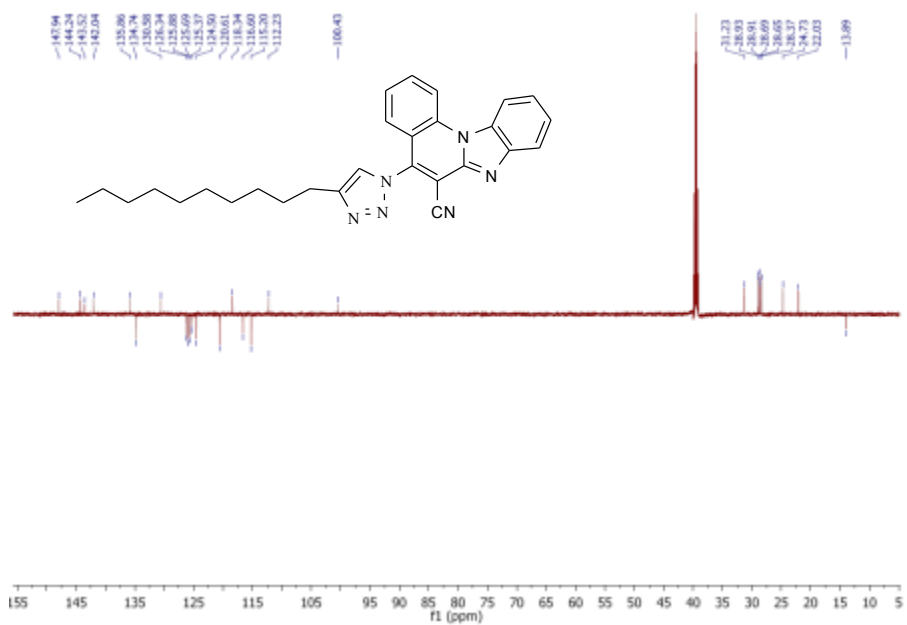
7. PRILOZI

Prilog 1

a) Spektar $^1\text{H-NMR}$ spoja **3**

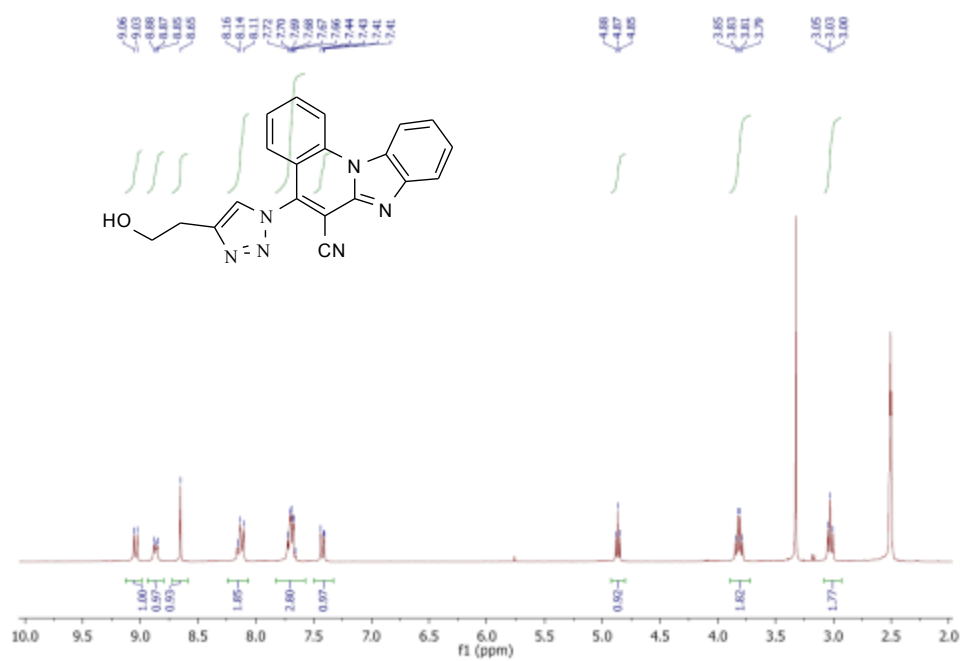


b) Spektar $^{13}\text{C-NMR}$ spoja **3**

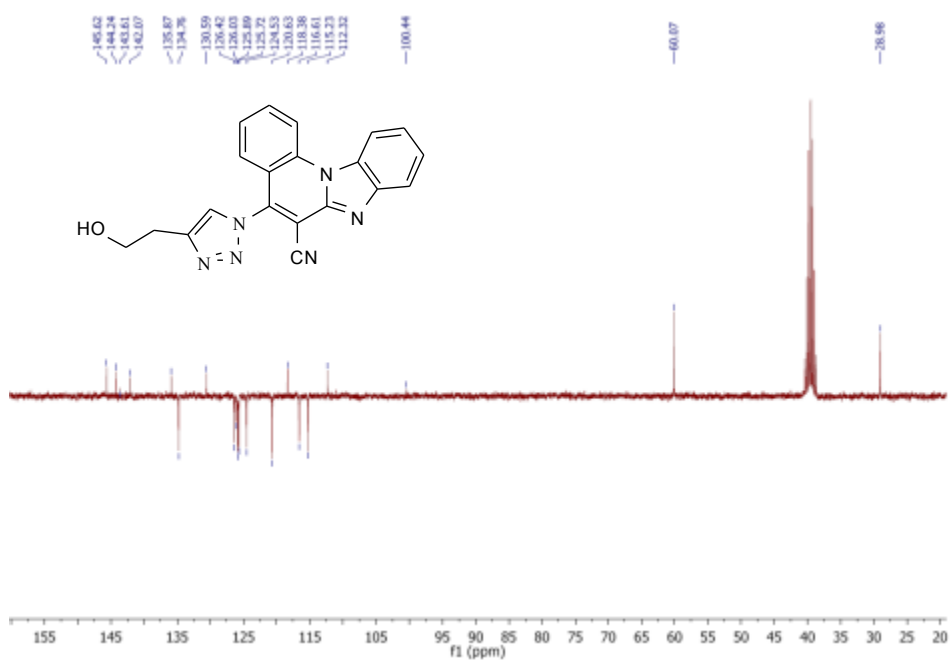


Prilog 2

a) Spektar $^1\text{H-NMR}$ spoja 4

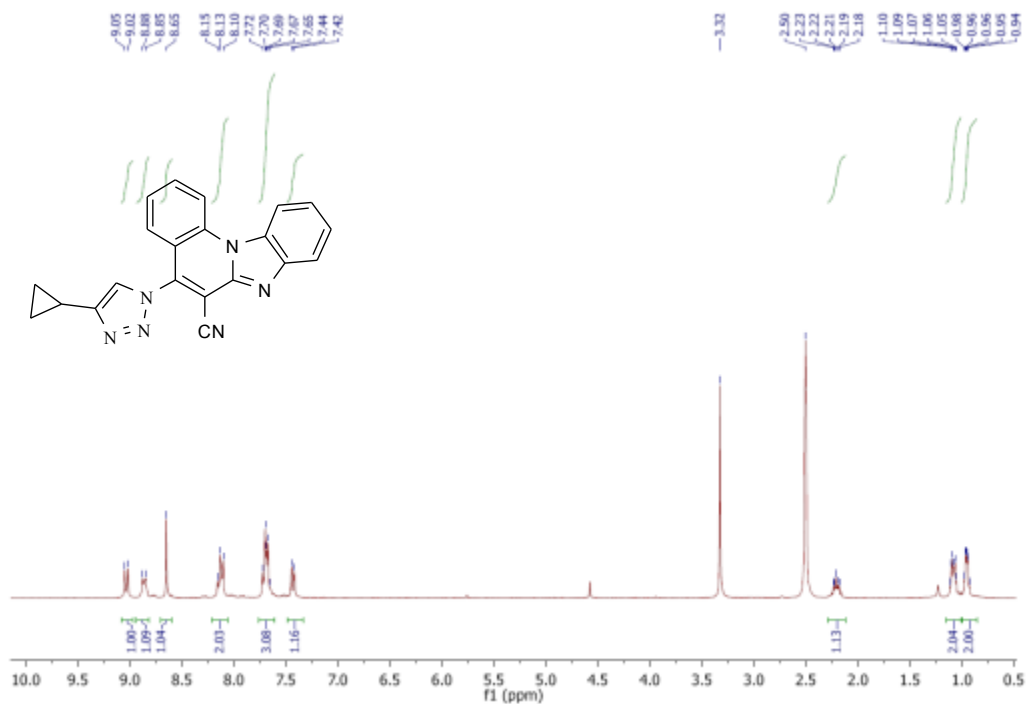


b) Spektar $^{13}\text{C-NMR}$ spoja 4

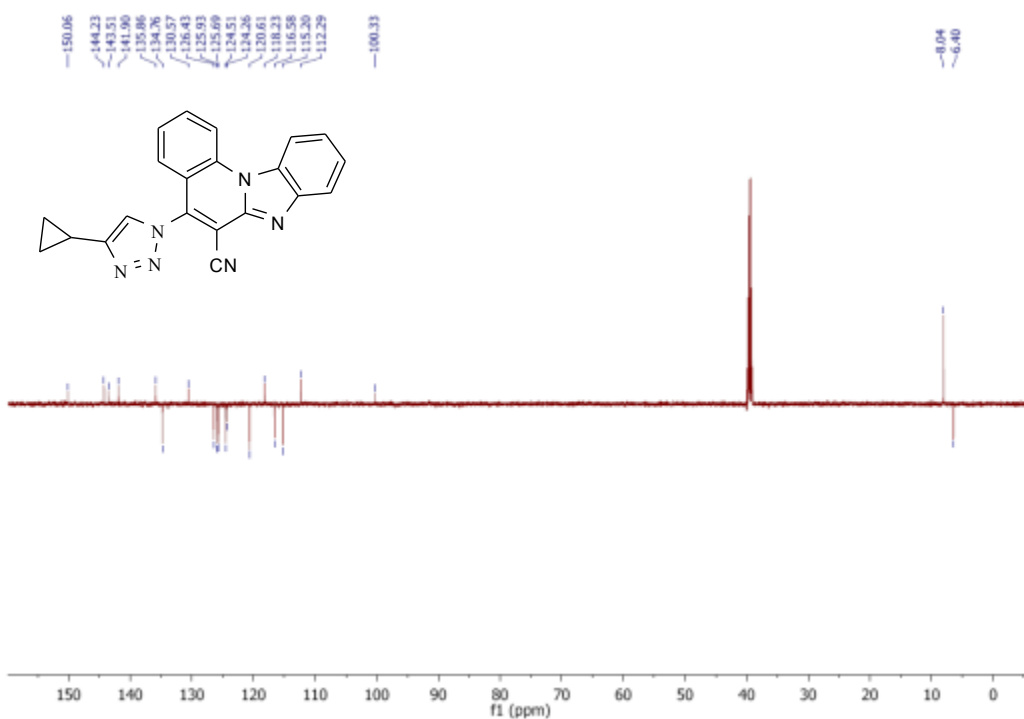


Prilog 3.

a) Spektar $^1\text{H-NMR}$ spoja 5

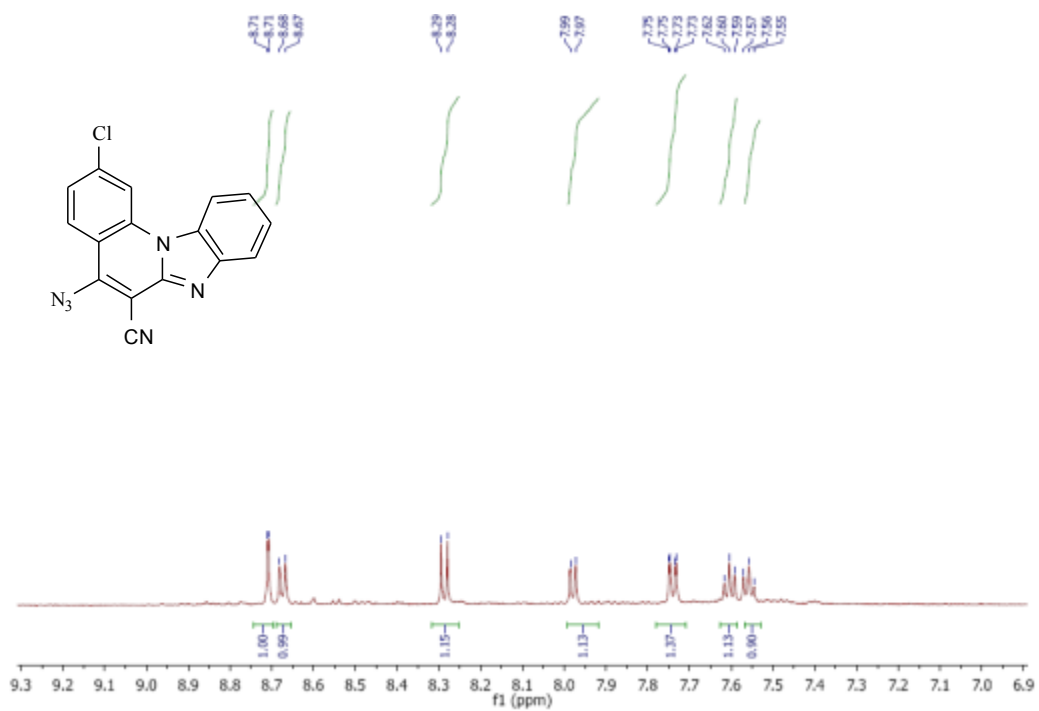


b) Spektar $^{13}\text{C-NMR}$ spoja 5



Prilog 4

a) Spektar $^1\text{H-NMR}$ spoja **9**



8. ŽIVOTOPIS

8. ŽIVOTOPIS:

Zovem se Josipa Milošević. Rođena sam u Osijeku 18. 12. 1992. godine. Osnovnu školu završila sam u Osijeku, a potom sam upisala Tehničku školu i prirodoslovnu gimnaziju Ruđer Bošković u Osijeku. Maturirala sam 2011. godine i stekla zanimanje ekološki tehničar i te iste godine upisala Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, smjer Primijenjena kemija. Za vrijeme fakultetskog obrazovanja odradila sam stručnu praksu u Hep Toplinarstvo u Osijeku te godinu dana kasnije dobila želju i odradila još jednu jednu praksu u Zagrebačkim otpadnim vodama.