

Priprava derivata 4-brom-1,8-naftalanhidrida

Som, Terezija

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:182:050741>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-26**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Department of Chemistry, Osijek](#)



Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku - Odjel za kemiju

Sveučilišni prijediplomski studij Kemija

Terezija Som

**PRIPRAVA DERIVATA 4-BROM-1,8-
NAFTALANHIDRIDA**

Završni rad

doc. dr. sc. Aleksandar Sečenji

Neposredni voditelj: Andrea Dandić, dr.sc.

Osijek, 2024.

Naziv sveučilišta: **Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku – Odjel za kemiju**

Naziv studija: **Sveučilišni prijediplomski studij Kemija**

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Kemija

Znanstvena grana: Organska kemija

PRIPRAVA DERIVATA 4-BROM-1,8-NAFTALANHIDRIDA

TEREZIJA SOM

Rad je izrađen na: Sveučilištu u Osijeku – Odjel za kemiju

Mentor: doc. dr. sc. Aleksandar Sečenji

Sažetak: U ovome završnom radu opisana je priprava derivata 4-brom-1,8-naftalanhdrida koja je uključivala reakcije nukleofilne aromatske supstitucije te adicijsko-eliminacijske reakcije naftalanhidridnog derivata s odgovarajućim anilinskim derivatima. Reakcija nukleofilne aromatske supstitucije na polaznom, 4-brom-1,8-naftalanhidridu rezultirala je pripravom azidnog derivata spoja **1** koji je korišten kao polazni spoj u drugom reakcijskom koraku za adicijsko-eliminacijsku reakciju s odabranim anilinskim derivatima. S ciljem ispitivanja utjecaja elektron-donorskih, odnosno elektron-akceptorskih skupina, na prinos reakcije kao polazni anilinski derivati odabrani su *para*-nitroanilin te *para*-fenilendiamin. Predloženim sintetskim putem uspješno je pripremljen amino derivat, spoj **2**, dok se spoj **A** pokušalo pripremiti, korištenjem dvije metode: i) koja je identična metodi pripreme spoja **2** i ii) koja podrazumijeva drugi sintetski put. U svrhu ispitivanja upotrebe spoja **2** kao indikatora za određivanje koncentracije unutarstaničnog H₂S, spoj **2** pokušalo se reducirati uvođenjem H₂S u suvišku u otopinu spoja **2**. Reakcija redukcije uspješno je provedena što je pretpostavljeno usporedbom otopine nereduciranog i reduciranog oblika spoja **2** pod UV lampom (365 nm). Strukture spojeva **1** i **2** pretpostavljene su ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom.

Ključne riječi: fluorescentne probe, naftalimidni derivati, sumporovodik.

Jezik izvornika: hrvatski jezik

Završni rad obuhvaća: 43 stranice, 38 slika, 57 literaturnih navoda i 7 priloga

Rad prihvaćen: 29. kolovoza 2024.

Stručno povjerenstvo za ocjenu rada:

1. doc. dr. sc. Mateja Budetić, predsjednica
2. doc. dr. sc. Aleksandar Sečenji, mentor i član
3. izv. prof. dr. sc. Marija Jozanović, članica
4. izv. prof. dr. sc. Martina Šrajer Gajdošik, zamjena člana

Rad je pohranjen: Knjižnica Odjela za kemiju, Ulica Franje Kuhača 20, 31000 Osijek

Repozitorij Odjela za kemiju, Osijek

University Name: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek – Department of Chemistry**

Name of study programme: **University Undergraduate study programme in Chemistry**

Scientific area: Natural sciences

Scientific field: Chemistry

Scientific branch: Organic chemistry

PREPARATION OF 4-BROMO-1,8-NAPHTHALICANHYDRIDE DERIVATIVES

TEREZIJA SOM

The paper was created on: University of Osijek - Department of Chemistry

Supervisor: Aleksandar Sečenji, PhD., assistant prof.

Abstract: In this thesis the preparation of 4-Bromo-1,8-Naphthalic anhydride derivatives was described which included nucleophilic aromatic substitution and addition-elimination reactions of naphthalic anhydride derivative with selected aniline derivatives. The reaction of nucleophilic aromatic substitution on the starting compound, 4-Bromo-1,8-Naphthalic anhydride resulted with the preparation of an azide derivative, compound **1** which was used as a starting compound in the second reaction step that involved addition-elimination reaction with the selected aniline derivatives. With the aim of investigation of influence electron-acceptor and electron-donor groups on the reaction yield, as starting aniline derivatives *para*-phenylenediamine and *para*-nitroaniline were chosen. Only the amino derivative, compound **2** was prepared using the proposed synthetic route, while for the synthesis of compound **A** two synthetic pathways were proposed. Method i) which is identical to method used to prepare compound **2** and method ii) which implies another synthetic route. To investigate the use of compound **2** as an indicator for intracellular H₂S, compound **2** was tried to be reduced with an excess H₂S. The reduction was carried out successfully which was assumed by comparing the solutions of reduced and non-reduced forms of compound **2** under UV lamp (365 nm). Structures of compounds **1** and **2** were assumed by ¹H and ¹³C NMR spectroscopy.

Keywords: fluorescent probes, hydrogen sulfide, naphthalimide derivatives.

Original language: Croatian language

Thesis includes: 43 pages, 38 figures, 57 references and 7 attachment

Thesis accepted: August 29, 2024

Reviewers:

1. Mateja Budetić, PhD., assistant prof., chairmen
2. Aleksandar Sečenji, PhD., assistant prof., mentor and member
3. Marija Jozanović, PhD., associate prof., member
4. Martina Šrajer Gajdošik, PhD., associate prof., alternate member

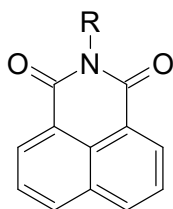
Thesis deposited in: Library of the Department of Chemistry, Ulica Franje Kuhača 20, Osijek
Repository of the Department of Chemistry, Osijek

Sadržaj

1. UVOD	1
2. LITERATURNI PREGLED	2
2.1. Struktura, reaktivnost i stabilnost naftalanhidrida	2
2.2. Naftalimidni derivati	3
2.2.1. Priprava naftalimidnih derivata - reakcije i reakcijski mehanizmi	4
2.2.2. Struktura i reaktivnost naftalimidnih derivata	7
2.2.3. Biološka aktivnost naftalimidnih derivata	14
2.2.4. Naftalimidni derivati kao fluorescentne probe	18
2.3. Naftalimidni derivati koji se koriste za vizualizaciju stanica	23
3. EKSPERIMENTALNI DIO	27
3.1. Materijali i metode	27
3.2. Priprava 6-azido-1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> -benzo[<i>de</i>]izokromen-1,3-diona (1)	27
3.3. Priprava 2-(4-aminofenil)-6-azido-1 <i>H</i> -benzo[<i>de</i>]izokinolin-1,3(2 <i>H</i>)-diona (2)	28
3.4. Pokušaj pripreve 2-(4-nitrofenil)-6-azido-1 <i>H</i> -benzo[<i>de</i>]izokinolin-1,3(2 <i>H</i>)-diona (A) sintetskim putem i)	29
3.5. Pokušaj pripreve 2-(4-nitrofenil)-6-azido-1 <i>H</i> -benzo[<i>de</i>]izokinolin-1,3(2 <i>H</i>)-diona (A) sintetskim putem ii)	29
3.5.1. Pokušaj pripreve 2-(4-nitrofenil)-6-brom-1 <i>H</i> -benzo[<i>de</i>]izokinolin-1,3(2 <i>H</i>)-diona (B)	29
3.5.2. Pokušaj pripreve 2-(4-nitrofenil)-6-azido-1 <i>H</i> -benzo[<i>de</i>]izokinolin-1,3(2 <i>H</i>)-diona (A)	30
3.6. Redukcija Spoja 2 s H ₂ S	30
4. REZULTATI I RASPRAVA	31
4.1. Uvod	31
4.2. Priprava spoja 2 i pokušaj pripreve spoja A sintetskim putem i)	33
4.3. Pokušaj pripreve spoja A sintetskim putem ii)	36
4.4. Uvođenje H ₂ S u otopinu spoja 2	36
5. ZAKLJUČAK	38
6. LITERATURNI IZVORI	39
7. PRILOZI	I
7.1. Popis kratica i simbola	I
7.2. ¹ H i ¹³ C NMR spektri pripremljenih spojeva	III

1. UVOD

1H-benzo[*de*]izokinolin-1,3-(2*H*)-dioni - naftalimidi vrsta su cikličkih imida, općenite strukturne formule prikazane na Slici 1. Naftalimidini derivati jedni su od klasičnih boja, fluorescentnih molekula, a pronašli su široku primjenu kao fluorescentne probe u medicini i analitičkoj kemiji kao molekule za detekciju kationa, aniona i različitih bioloških molekula te u proizvodnji polimera [1–3]. Zbog svojih fluorescentnih svojstava poput velikog Stokesovog pomaka te jednostavne sinteze i strukturne modifikacije koriste se za detekciju biološki važnih molekula i vizualizaciju stanica [1,4]. Otkada je otkriveno da je sumporovodik (H₂S) endogena signalna molekula u organizmu, naftalimidni derivati aktivno se sintetiziraju kako bi se koristili i za detekciju sumporovodika (H₂S) u stanicama [5].



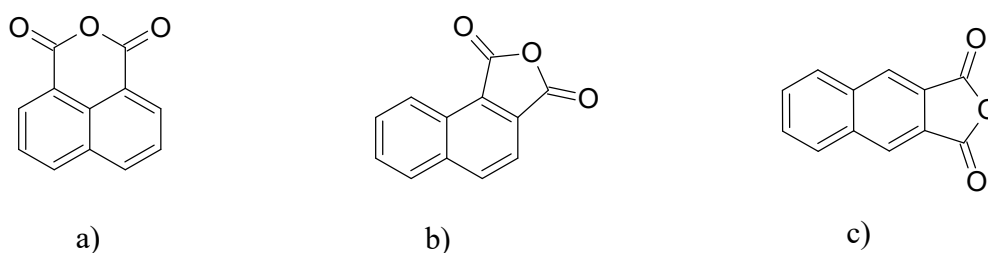
Slika 1. Općenita strukturna formula molekule naftalimida [1]

Cilj ovog završnog rada je dizajn, priprava i strukturna karakterizacija dvije fluorescentne probe koje će se u daljnjem istraživanju koristiti za selektivno određivanje koncentracije H₂S. Dvije fluorescentne probe koje su se pokušale pripremiti u okviru rada su 2-(4-aminofenil)-6-azido-1*H*-benzo[*de*]izokinolin-1,3(2*H*)-dion - spoj **2** i 2-(4-nitrofenil)-6-azido-1*H*-benzo[*de*]izokinolin-1,3(2*H*)-dion - spoj **A** koji se razlikuju po elektronskim svojstvima skupina u *para*- položaju arilnog dijela molekule. Elektron-donirajuća amino skupina nalazi se na arilnom dijelu spoja **2**, a spoj **A** u svojoj strukturi sadrži elektron-odvlačeću nitro skupinu. Ciljni produkti dizajnirani su na ovaj način u svrhu ispitivanja utjecaja elektronske prirode supstituenta na arilnom dijelu molekule na prinos reakcije te u konačnici na fluorescencijska svojstva naftalimidnih derivata nakon njihove reakcije s H₂S.

2. LITERATURNI PREGLED

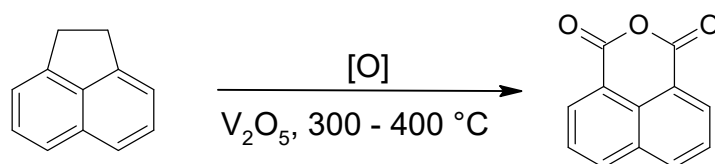
2.1. Struktura, reaktivnost i stabilnost naftalanhidrida

Naftalanhidridi organski su spojevi čija je kemijska formula $C_{12}H_6O_3$. Literaturno su poznata tri konstitucijska izomera naftalanhidrida: 1,8-naftalanhidrid (Slika 2a)), 1,2-naftalanhidrid (Slika 2b)) i 2,3-naftalanhidrid (Slika 2c)) [6–8].



Slika 2. Strukturna formula molekula spojeva: a) 1,8-naftalanhidrida, b) 1,2-naftalanhidrida i c) 2,3-naftalanhidrida [6–8]

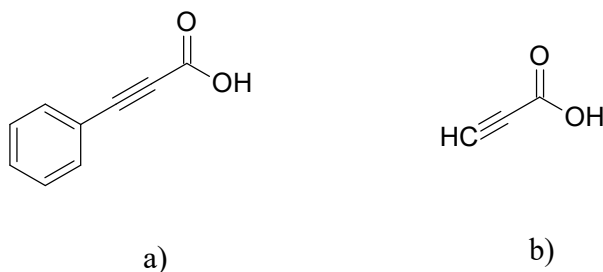
Jedan od najčešćih načina pripreve 1,8-naftalanhidrida podrazumijeva katalitičku oksidaciju acenaftena u plinskoj fazi pri temperaturama od 300 do 400 °C uz vanadijev pentoksid kao katalizator (Slika 3) [9,10]. 1,8-naftalanhidrid bitan je intermedijer u proizvodnji naftalimida, koji se pripremaju adicijsko-eliminacijskom reakcijom s različitim aminskim derivatima, o čemu će biti riječ u poglavlju 2.2. [11].



Slika 3. Kemijska reakcija katalitičke oksidacije acenaftena [9,10]

Također, u literaturi je opisana i spontana ciklizacija naftalen-1,8-dikarboksilne kiseline u vodenoj otopini pri $pH < 5$ koja rezultira pripravom 1,8-naftalanhidrida, dok u slučaju naftalen-2,3-dikarboksilne kiseline ne dolazi do pripreve odgovarajućeg 2,3-naftalanhidrida ni u kiselim ni u bazičnim uvjetima. 1,8-naftalanhidrid relativno je otporan na hidrolizu [12]. Moguće objašnjenje leži u činjenici da u slučaju 1,8-naftalanhidrida karboksilne skupine

odgovarajuće kiseline nalaze u tzv. *peri*- položaju na naftalenskom prstenu dok se kod 2,3-dikarboksilne kiseline nalaze u *ortho*- položaju jedna u odnosu na drugu. Skupine koje se nalaze u *peri*- položaju bliže su jedna drugoj od onih koje se nalaze u *ortho*- položaju, a karboksilne skupine koje su bliže, s većom će vjerojatnošću formirati odgovarajući anhidrid [13,14]. Iako ne nastaje iz odgovarajuće dikarboksilne kiseline, 2,3-naftalanhidrid moguće je sintetizirati ireverzibilnom reakcijom 3-fenilprop-2-inske kiseline i prop-2-inske kiseline (Slika 4). Smjesa navedenih kiselina kratko se zagrijava u anhidridu octene kiseline na 70 °C, a potom duže vremena na 100 °C. Vrsta reakcije je Diels-Alderova reakcija, a ireverzibilna je jer nastaje novi aromatski prsten [15].



Slika 4. Strukturne formule molekula a) 3-fenilprop-2-inske kiseline i b) prop-2-inske kiseline [15]

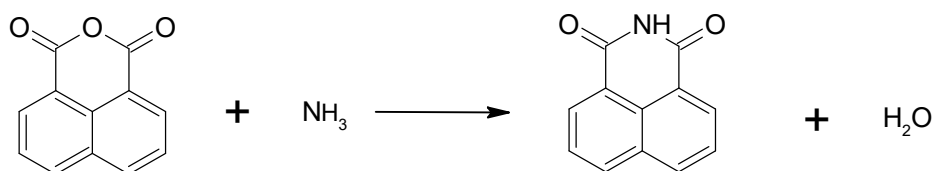
2.2. Naftalimidni derivati

Naftalanhidridi su najčešće korišteni polazni spojevi za pripravu naftalimidnih derivata, reakcijom polaznog naftalanhidrida s odgovarajućim aminskim derivatima. Naftalimidni derivati se vrlo često koriste kao fluorescentne boje, korišteni su u analitičkoj kemiji za detekciju kationa i aniona te su vrlo učinkoviti u vizualizaciji stanica. Zahvaljujući svojim fizikalnim i kemijskim svojstvima vrlo često se koriste u procesu dizajna i priprave bioloških senzora. Naftalimidi općenito vrlo su termostabilne i fotostabilne molekule, apsorbiraju te emitiraju svjetlost u vidljivom dijelu elektromagnetskog spektra. Njihova sinteza relativno je jednostavna, a vrlo se lako mogu strukturno modificirati na poziciji 4 naftalenskog prstena te na dušikovom atomu imidne skupine reakcijom s različitim aminima što omogućuje pripravu velikog broja različitih derivata koji u konačnici mogu imati različite primjene. Također, neki naftalimidni derivati pokazali su se kao učinkovite molekule za prepoznavanje i vizualizaciju molekula poput H₂S, vodikovog peroksida (H₂O₂), ugljikovog(II) oksida (CO), dušikova(II)

oksida (NO) te nekih bioloških makromolekula [1,4,5,16]. Osim navedenog literaturno je poznata i potencijalna antitumorska aktivnost naftalimidnih derivata [17].

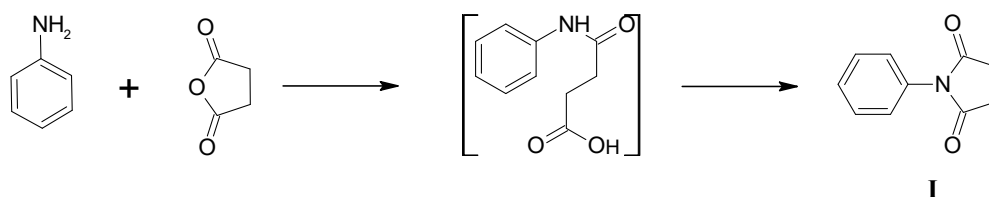
2.2.1. Priprava naftalimidnih derivata - reakcije i reakcijski mehanizmi

Jedna od najčešće korištenih metoda priprave cikličkih imida uključuje reakciju cikličkog anhidrida karboksilne kiseline i amina [18]. Najjednostavniji primjer takve reakcije jest reakcija 1,8-naftalanhidrida s amonijakom (Slika 5) ili primarnim aminima [11].



Slika 5. Reakcija 1,8-naftalanhidrida s amonijakom [11]

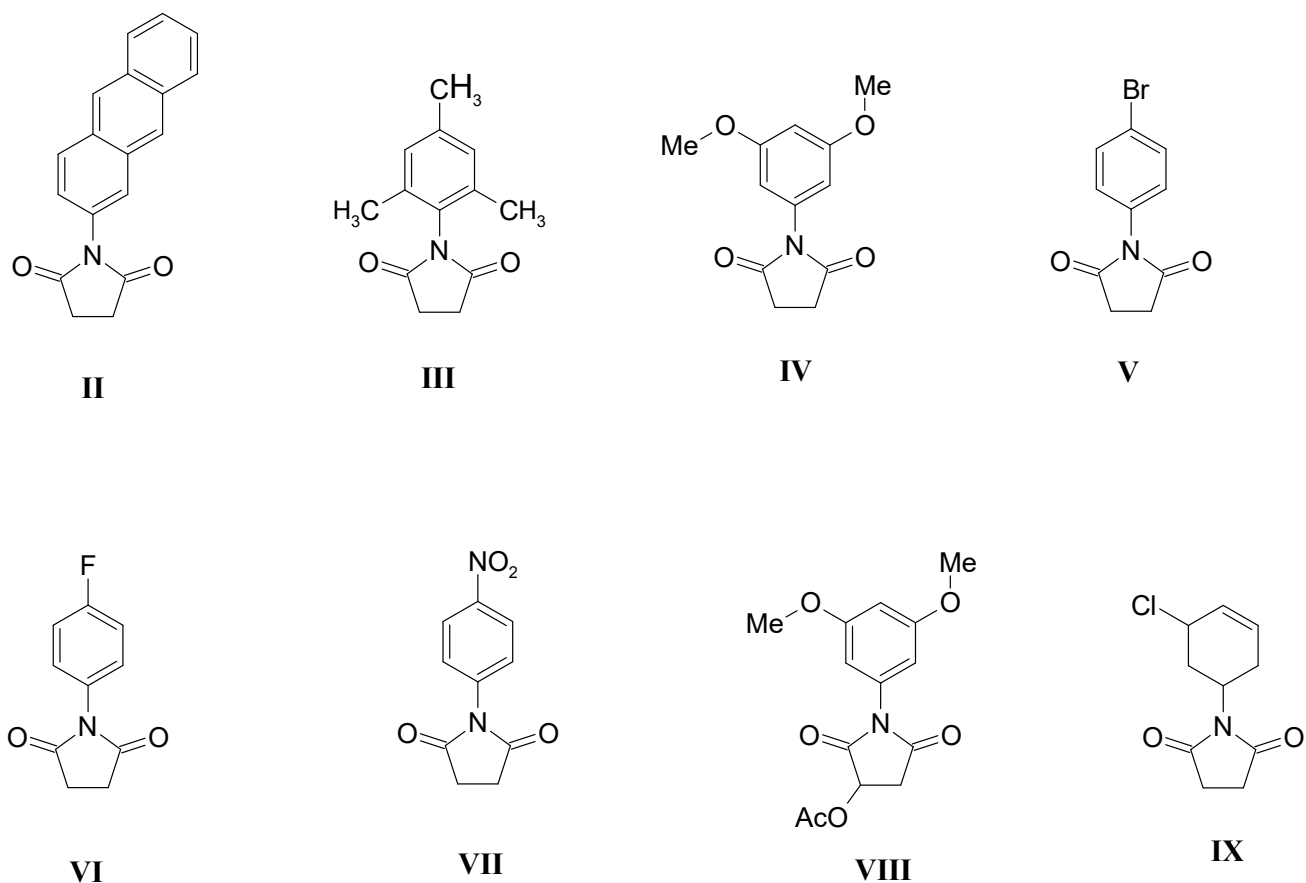
Garad i suradnici [19] pripravili su seriju cikličkih imida uz upotrebu amonijeva persulfata (APS) u dimetilsulfoksidu (DMSO) kao oksidansa. Nakon optimiziranja reakcijskih uvjeta u reakciji anhidrida sukcinjske kiseline i anilina (Slika 6) zaključeno je da najpogodniji reakcijski uvjeti podrazumijevaju upotrebu dioksana kao otapala i 2 ekvivalenta APS u DMSO. U ovakvim reakcijskim uvjetima ciljni produkt, spoj **I** pripremljen je uz prinos od 93 %.



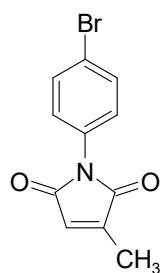
Slika 6. Reakcija priprave spoja **I** [19]

Nakon uspješne priprave spoja **I**, provedena je sinteza imidnih derivata pri čemu su kao polazni spojevi uz anhidrid sukcinjske kiseline korišteni alkil- i aril- supstituirani anilini kao i halogeni anilinski derivati (Slika 7), a ciljni produkti pripremljeni su uz prinos u rasponu 76 %(**II**)–95

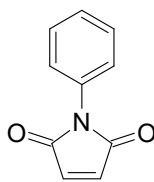
%**(IX)**. Elektronska svojstva supstituenata na anilinskim derivatima nisu imale utjecaja na konačni prinos reakcije. U istim reakcijskim uvjetima provedena je reakcija pripreve nezasićenih cikličkih imida korištenjem anhidrida maleinske kiseline i njegovih derivata i različitih derivata anilina. Svi spojevi čije su strukturne formule prikazane na Slici 8 uspješno su sintetizirani s visokim prinosima u rasponu 80 %**(X)**–96 %**(XV)**. Također, pokušaj sinteze cikličkih imida iz zasićenih anhidrida karboksilnih kiselina i alifatskih amina bio je uspješan. I primarni alifatski amini s dugim ugljikovodičnim lancima i oni s kratkima dali su uspješne rezultate pa su tako svi spojevi (Slika 9) pripremljeni uz visoke prinose u rasponu 65 %**(XVI)**–99 %**(XX)**. Ciklički imidi nisu uspješno sintetizirani iz alifatskih amina i nezasićenih anhidrida [19].



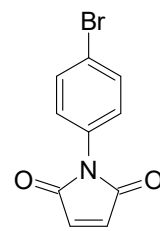
Slika 7. Strukturne formule molekula spojeva **II–IX** [19]



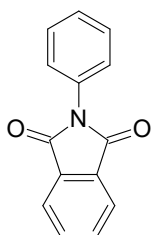
X



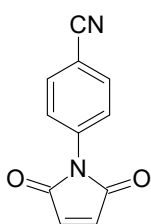
XI



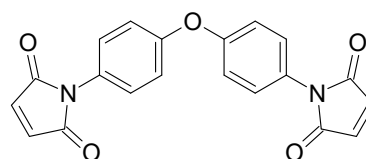
XII



XIII

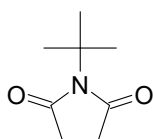


XIV

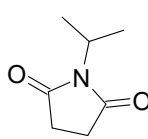


XV

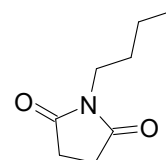
Slika 8. Strukturne formule molekula spojeva **X–XV** [19]



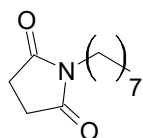
XVI



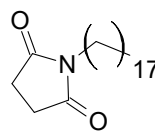
XVII



XVIII



XIX

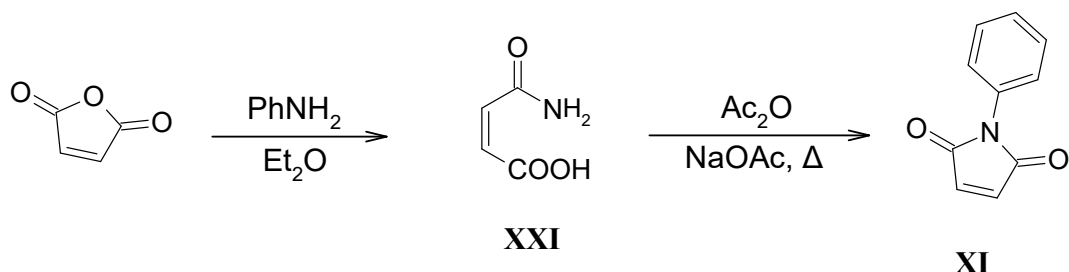


XX

Slika 9. Strukturne formule molekula spojeva **XVI–XX** [19]

Cava i suradnici [20] pripravili su ciklički imid **XI** korištenjem sintetskog puta koji podrazumijeva pripremu spoja **XXI** reakcijom anhidrida maleinske kiseline i anilina u

dietileteru pri čemu je međuprodukt **XXI** pripremljen uz prinos od 97 %. U sljedećem reakcijskom koraku međuprodukt **XXI** ciklizira uz anhidrid octene kiseline i natrijev acetat uz zagrijavanje u spoj **XI** koji je pripremljen uz prinos od 75 % (Slika 10).



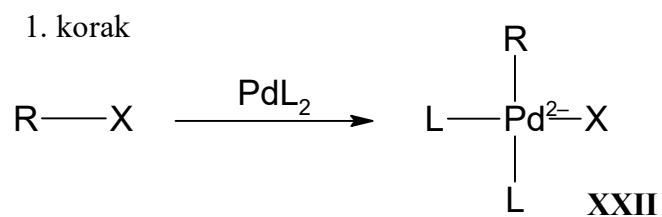
Slika 10. Reakcija priprave spoja **XI** [20]

2.2.2. Struktura i reaktivnost naftalimidnih derivata

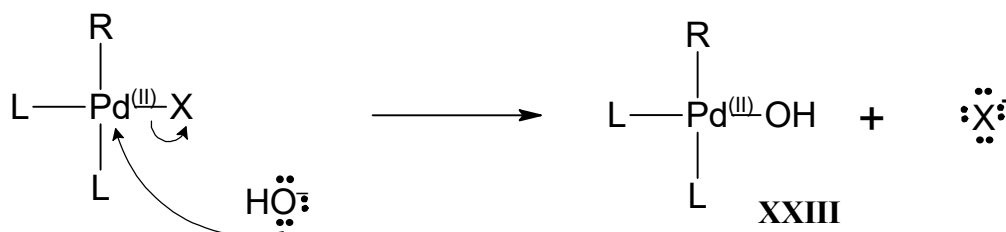
Naftalimidi kao skupina spojeva podložni su strukturalnoj modifikaciji, odnosno njihova struktura omogućava pripremu velikog broja derivata koji u konačnici, ovisno o svojoj strukturi, mogu imati primjene u različitim područjima. Najčešće reakcije strukturalne modifikacije osnovnog naftalimidnog skeleta podrazumijevaju supstituciju na položaju 4 naftalenskog prstena [4]. Neke od reakcija koje se koriste za strukturalnu modifikaciju naftalimidnih derivata na položaju 4 su Suzuki kopulacija [4], Heckova reakcija [4] i nukleofilna aromatska supstitucija [16].

Suzuki kopulacija ili Suzuki-Miyaura kopulacija reakcija je katalizirana metalom, a koristi se u svrhu formiranja nove ugljik-ugljik veze kako bi se pripravile molekule s konjugiranim dvostrukim vezama. Najčešći metal koji se koristi kao katalizator u Suzuki kopulaciji je paladij (Pd), a reakcija se odvija između aril, alkenil ili alkinil halogenida i aril, alkenil ili alkinil organoborana u bazičnim reakcijskim uvjetima. Mehanizam Suzuki kopulacije prikazan je na Slici 11. Prvi korak Suzuki reakcije podrazumijeva oksidativnu adiciju u kojoj reagiraju aril/alkenil/alkinil halogenid i Pd(0) kompleks - PdL₂ s ciljem priprave intermedijera **XXII**. U drugom koraku hidroksidni ion koji se nalazi u otopini vrši nukleofilni napad na Pd intermedijera **XXII** pri čemu halogenidni anion izlazi kao dobra izlazna skupina te nastaje **XXIII** čija hidroksidna skupina (Lewisova baza) napada organoboran **XXIV** (Lewisovu kiselinu) u trećem koraku pri čemu nastaje nestabilni intermedijer **XXV** koji u četvrtom koraku

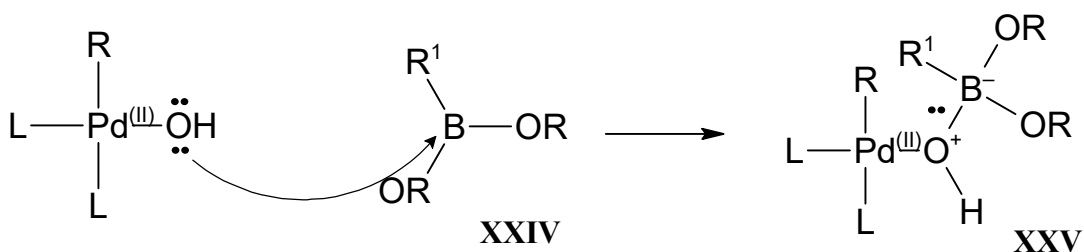
transmetalacijom daje **XXVI** i **XXVII**. Reduktivnom eliminacijom spoja **XXVI** obnavlja se katalizator PdL₂ i nastaje produkt **XXVIII** s novom ugljik-ugljik vezom [21].



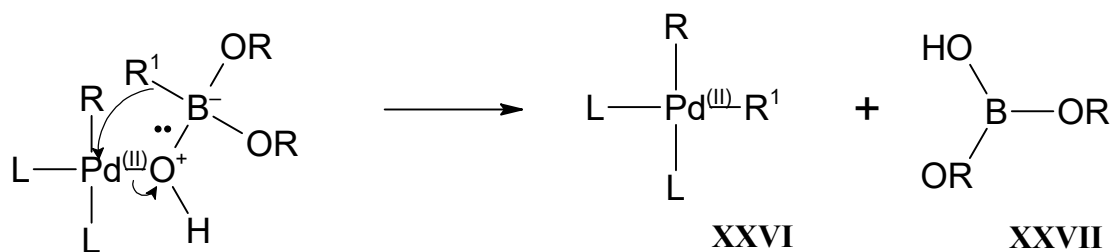
2. korak



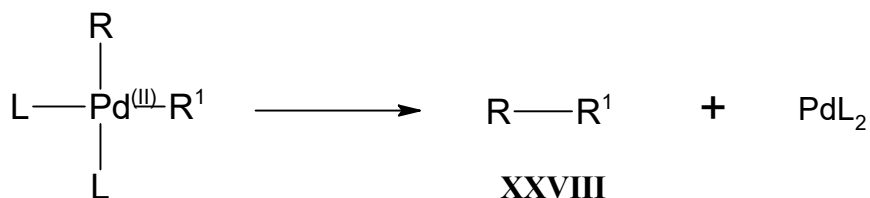
3. korak



4. korak



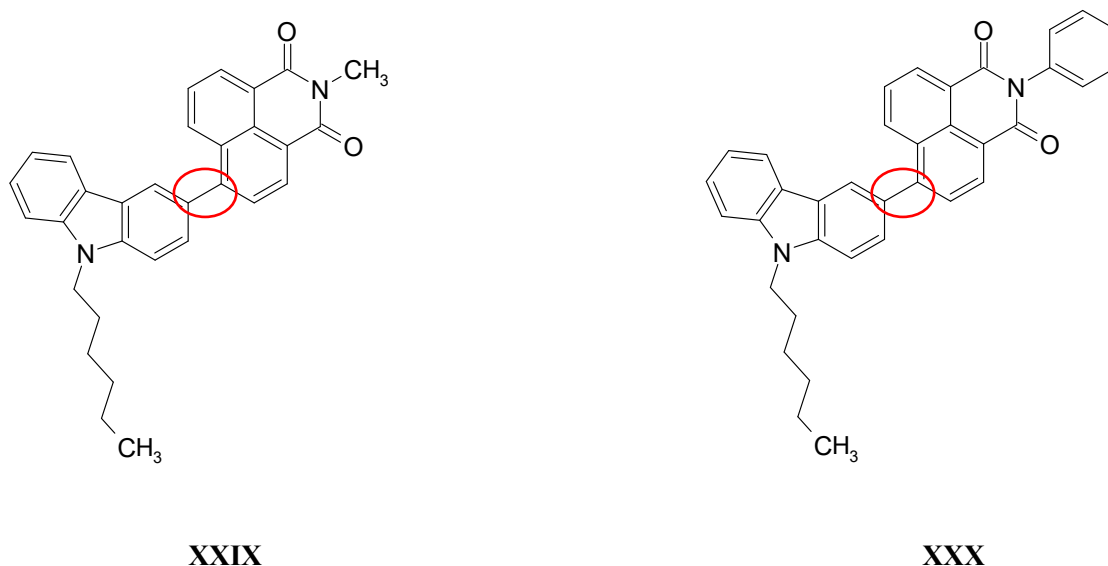
5. korak



R, R¹ = aril, alkenil, alkinil

Slika 11. Općeniti mehanizam Suzuki kopulacije [21,22]

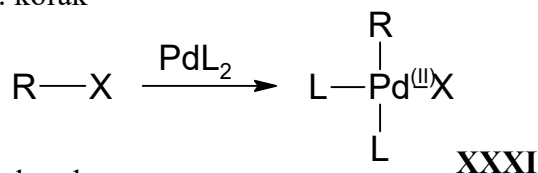
Feng i suradnici Suzuki kopulacijom sintetizirali su niz naftalimidnih derivata pri čemu dolazi do formiranja nove ugljik-ugljik veze između karbazola i naftalimida. Spojevi **XXIX** i **XXX** neki su od pripremljenih spojeva u sklopu tog rada, a njihove su strukturne formule s označenom novom ugljik-ugljik vezom prikazane na Slici 12. Spojevi **XXIX** i **XXX** razlikuju se samo u metilnoj i fenilnoj skupini na dušikovim atomima imidne skupine, a spoj **XXX** više apsorbira svjetlost u crvenom dijelu vidljivog spektra od spoja **XXIX** jer spojevi koji su više konjugirani obično više apsorbiraju u crvenom dijelu spektra od onih koji su manje konjugirani. Spojevi imaju emisijski maksimum na valnim duljinama svjetlosti 514–542 nm te bi se mogli koristiti kao materijali koji emitiraju zelenu svjetlost [23,24].



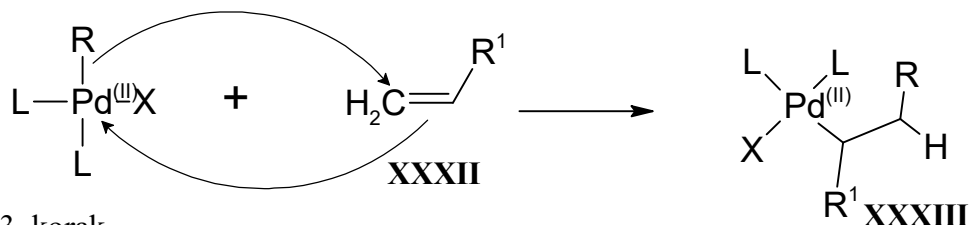
Slika 12. Strukturne formule molekula spojeva **XXIX** i **XXX** [23]

Heckova reakcija je reakcija kopulacije između aril ili vinil halogenida i aktiviranih alkena uz Pd kao katalizator, a odvija se u bazičnim reakcijskim uvjetima [25]. Mehanizam reakcije prikazan je na Slici 13. Prvi korak reakcije identičan je kao kod Suzuki kopulacije. Oksidativnom adicijom nastaje kompleks Pd katalizatora i aril/vinil halogenida **XXXI**. Zatim u drugom koraku **XXXI** reagira s alkenom **XXXII** kako bi nastao spoj **XXXIII**. Iz spoja **XXXIII** u trećem koraku nastaju **XXXIV** i produkt **XXXV**. U zadnja dva koraka obnavlja se katalizator PdL₂ te nastaje halogenvodična kiselina HX koja u petom koraku reagira s bazom - trietilaminom (Et₃N) kako bi se neutralizirala kiselina koja bi se u protivnom adirala na produkt **XXXV** [26].

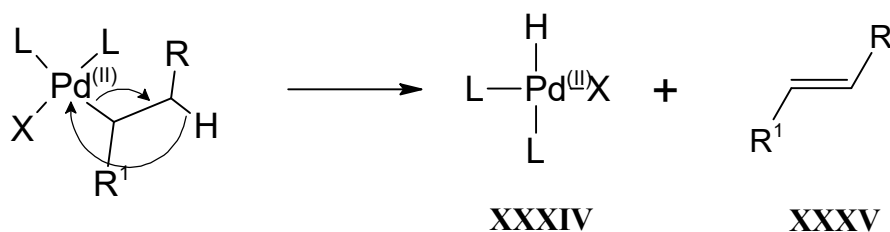
1. korak



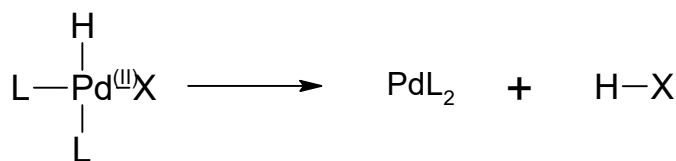
2. korak



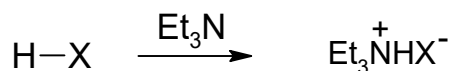
3. korak



4. korak

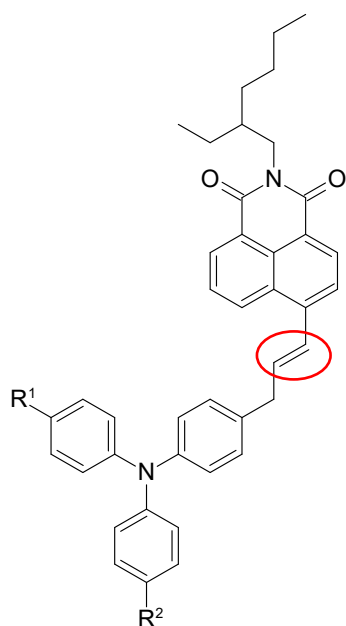


5. korak

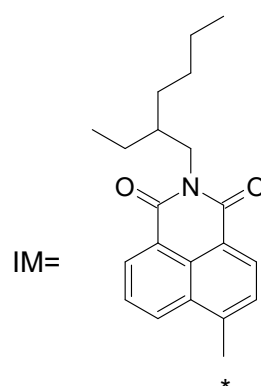


Slika 13. Općeniti mehanizam Heckove reakcije [25]

Heckovom reakcijom Gudeika i suradnici [27] sintetizirali su spojeve **XXXVI-XXXVIII**, a označena veza je ona koja je nastala Heckovom reakcijom (Slika 14). Sintetizirani spojevi stvarali su stakla i pokazali visoku stabilnost pri povišenim temperaturama, a temperature na kojima su se počeli raspadati bile su u rasponu 431–448 °C. Svi spojevi apsorbirali su u vidljivom dijelu spektra, a otopina svih spojeva emitirala je narančastu svjetlost s visokom kvantnom iskoristivošću u rasponu 0.45–0.70.

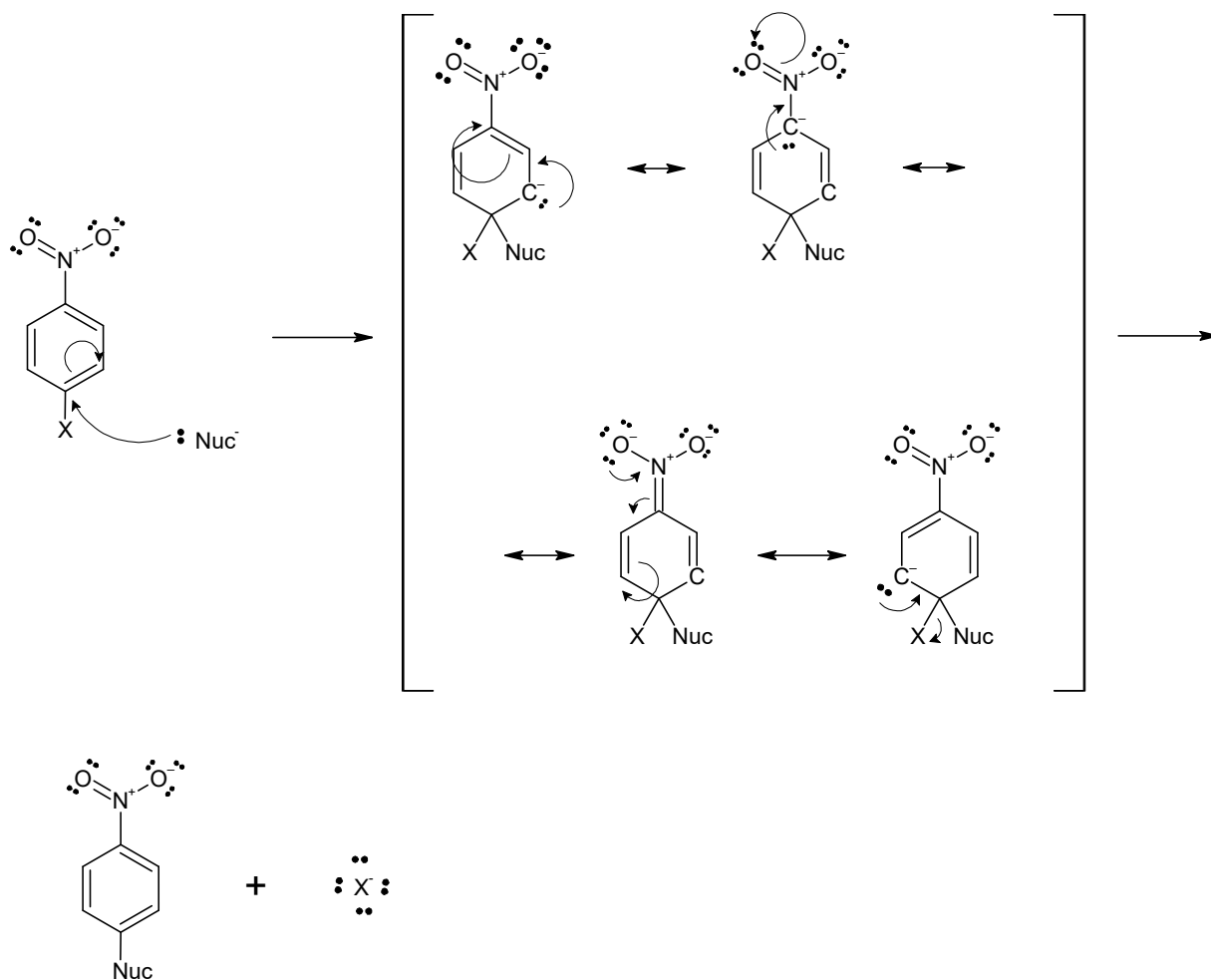


XXXVI: R1= H, R2= H
XXXVII: R1= H, R2= CH=CH-IM
XXXVIII: R1= CH=CH-IM, R2= CH=CH-IM



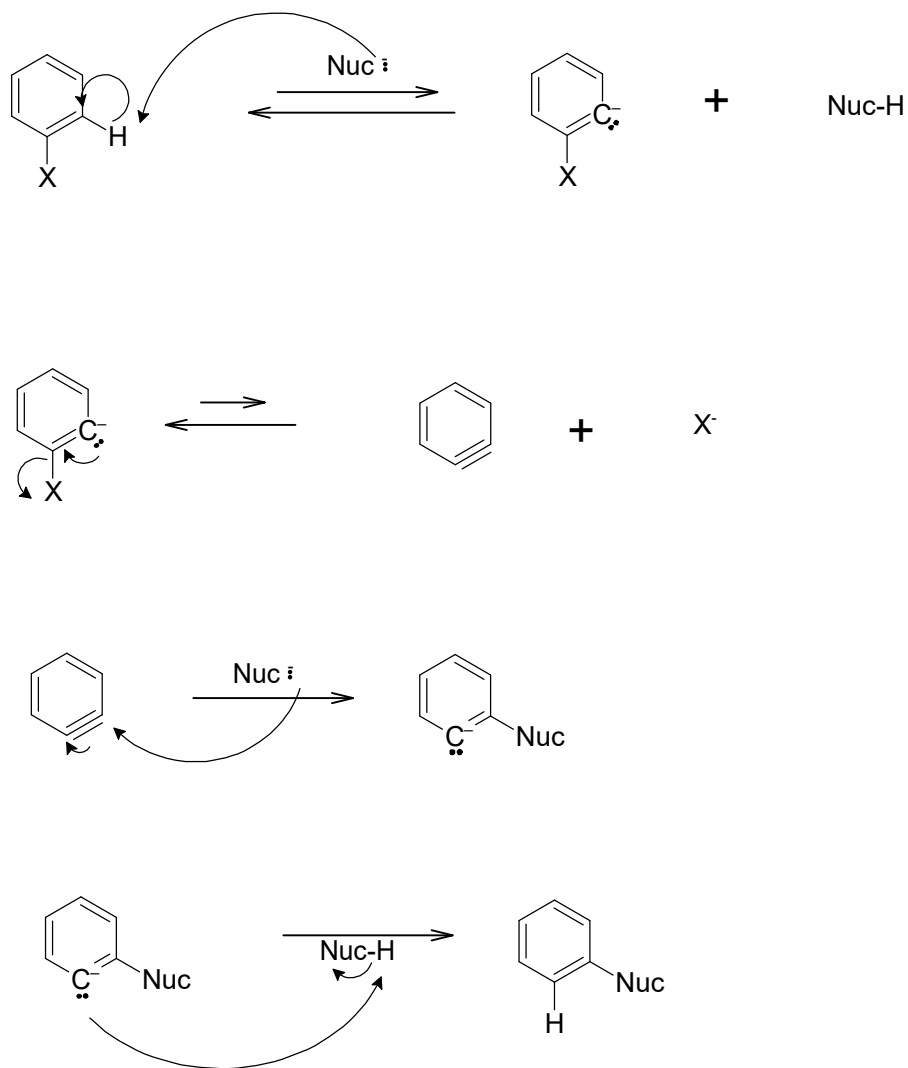
Slika 14. Strukturne formule spojeva: **XXXVI-XXXVIII** [27]

Jedan od načina strukturne modifikacije aromatskog prstena naftalimidne strukture je i reakcija nukleofilne aromatske supstitucije (S_NAr). Atom halogenog elementa na benzenskoj jezgri može se supstituirati jakim nukleofilom ako se na prstenu nalazi jaka elektron-odvlačeća skupina koja se nalazi u *ortho*- ili *para*- položaju u odnosu na halogeni element poput nitro skupine. Elektron-odvlačeća skupina stabilizira karbanionski intermedijer koji nastaje adicijom nukleofila. S_NAr može se odvijati adicijsko-eliminacijskim mehanizmom u kojem se nukleofil prvo adira na aromatski prsten na isti položaj na kojem se nalazi halogeni element pri čemu nastaje karbanion. Nakon toga halogenidni anion izlazi kao dobra izlazna skupina i nastaje produkt (Slika 15) [28].



Slika 15. Adicijsko-eliminacijski mehanizam S_NAr [28]

Drugi mehanizam kojim se može odvijati S_NAr je eliminacijsko-adicijski koji će se odvijati ako na aromatskom prstenu nema jakih elektron-odvlačećih skupina te zahtijeva žestoke reakcijske uvjete poput jake baze ili visoke temperature. Mehanizam se odvija preko benzinskog međuprodukta (Slika 16) koji nastaje nakon što nukleofil reagira kao baza i odcijepi proton s aromatskog prstena pri čemu nastaje karbanionski intermedijer, a tada će elektroni biti lokalizirani u sp^2 orbitali koja je bila dio ugljik-vodik veze. Benzin nastaje odlaskom halogena iz strukture karbaniona na način da halogen uzme vezne elektrone te za njim ostaje prazna sp^2 orbitala koja se djelomično preklapa s sp^2 orbitalom koja sadrži nevezni elektronski par. Djelomičnim preklapanjem tih dviju orbitala nastaje benzin. Nukleofil potom napada benzin s bilo koje strane trostruke veze i ponovnim protoniranjem aromatskog prstena nastaje produkt [28].



Slika 16. Eliminacijsko-adicijski mehanizam S_NAr [28]

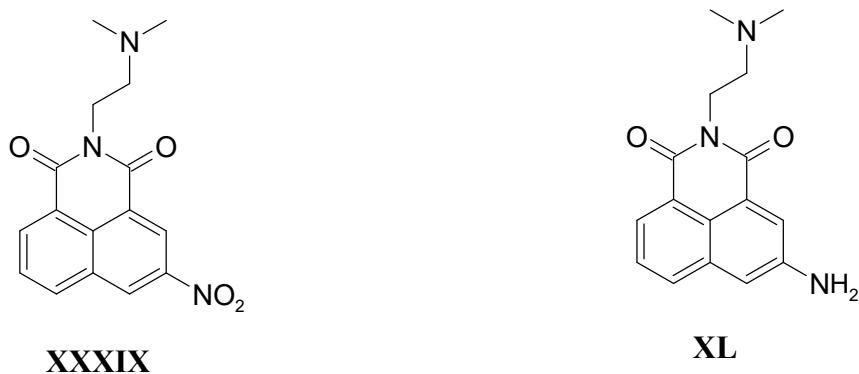
2.2.3. Biološka aktivnost naftalimidnih derivata

Budući da pokazuju niz različitih bioloških aktivnosti poput antitumorske [29], antimikrobne i antifungalne [30], senzorske [31], antivirusne i antibakterijske [32] te aktivnosti kao fluorescentne probe [33], naftalimidni derivati jedni su od važnijih molekula u farmaceutskoj industriji te služe kao podloga za sintezu mnogih lijekova zbog svoje relativno jednostavne strukture, obećavajućih bioloških aktivnosti te zbog toga što je derivate jednostavno sintetizirati.

2.2.3.1. Antitumorska aktivnost

Zloćudni tumori velika su skupina bolesti koje mogu zahvatiti svako tkivo ili organ u organizmu uslijed nekontrolirane diobe mutiranih stanica te njihovog širenja u druga tkiva putem limfe ili krvi [34]. Iako pokazuje mnoge neugodne nuspojave poput mučnine, gubitka kose i apetita, gubitak tjelesne mase i drugih, kemoterapija je i dalje glavni način liječenja raka. Također, mnogi lijekovi protiv raka imaju različita ograničenja, a neka od njih su manjak selektivnosti, mogućnost da se razvije otpornost na lijek, neugodne nuspojave te mala terapijska širina (veće količine lijeka postaju toksične pa se doze ne smiju povećavati, stoga lijek postaje beskoristan). Zbog tih razloga proizvodnja novih, selektivnih, sigurnih i efikasnih lijekova glavni je prioritet u medicinskim istraživanjima. Naftalimidni derivati samo su jedna skupina molekula na temelju kojih se proizvode novi lijekovi [35].

Budući da je DNA ključna u nekontroliranom rastu i opstanku tumora, ona je ciljna molekula za antitumorske lijekove. Naftalimidni derivati zbog svoje planarne strukture lako se mogu umetnuti u DNA uzvojnici i zaustaviti diobu stanice. Jedni od mnogih lijekova čiji je temelj naftalimid su spoj **XXXIX**, mitonafid (Slika 17a)) i spoj **XL**, amonafid (Slika 17b)) [29].



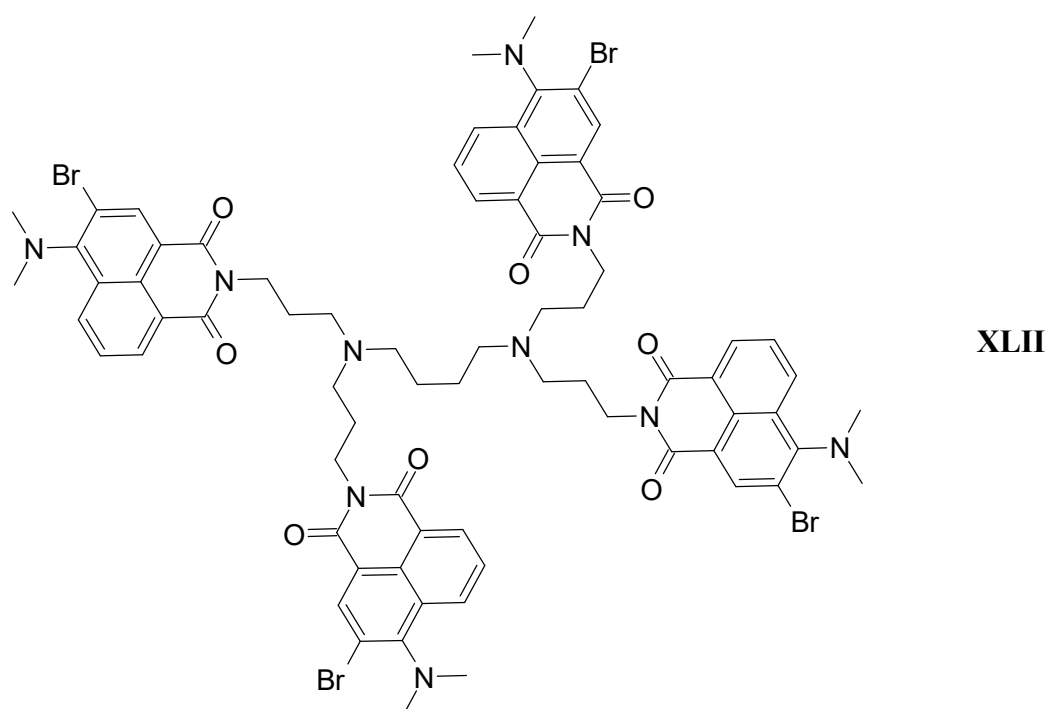
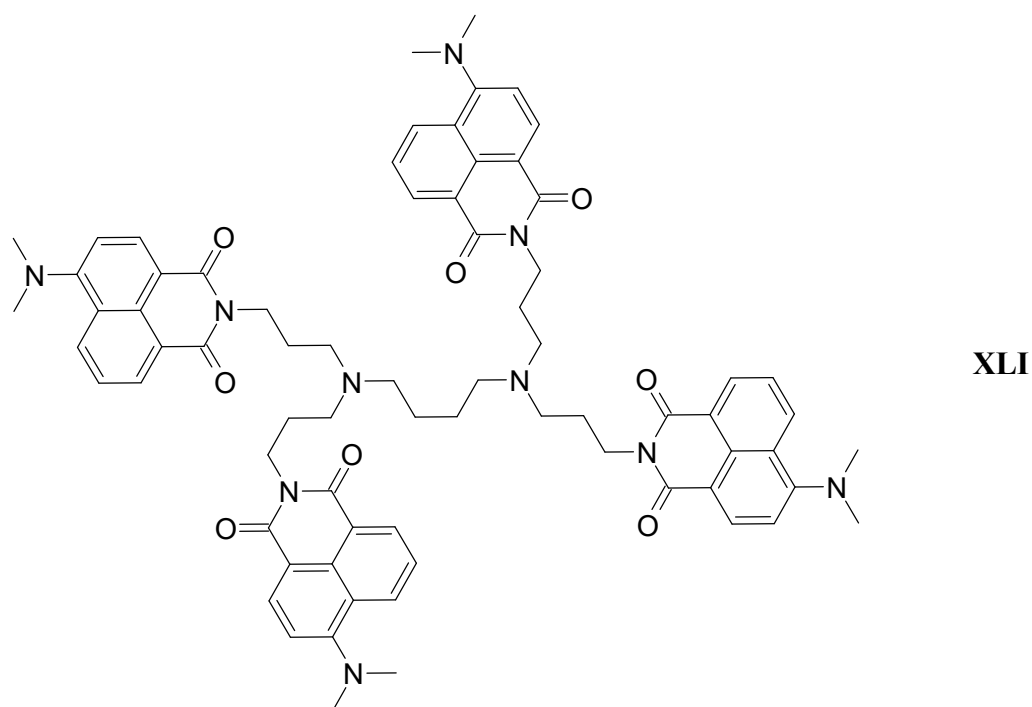
Slika 18. Strukturne formule spojeva **XXXIX** i **XL** [29]

I spoj **XXXIX** i spoj **XL** umeću se u DNA uzvojnici i mogu inhibirati djelovanje topoizomerze II, a antitumorske aktivnosti, IC_{50} im iznose $8.80 \mu\text{mol dm}^{-3}$ za spoj **XXXIX**, a za **XL** $0.47 \mu\text{mol dm}^{-3}$ na HeLa stanicama. Općenito vrijedi za lijekove slične strukture da 3-nitro derivati pokazuju veću antitumorsku aktivnost od 4-nitro derivata [36,37]. Spoj **XXXIX** i **XL** samo su jedni od mnogih lijekova koji kao podlogu koriste naftalimide, a i dalje se dizajniraju novi spojevi kojima bi se poboljšala antitumorska aktivnost.

2.2.3.2. Antibakterijska i antivirusna aktivnost

Bakterijske bolesti liječe se antibioticima, međutim zbog neodgovorne upotrebe antibiotika sve je češća pojava antibiotska rezistencija koja predstavlja prijetnju sveopćem zdravlju svjetske populacije jer onemogućuje učinkovito liječenje bakterijskih oboljenja [38]. Zbog toga se traže novi spojevi koji bi pomogli u suzbijanju bakterijskih bolesti. Staneva i suradnici [32] sintetizirali su naftalimidne derivate **XLI** i **XLII** (Slika 18). Testirali su antibakterijsku aktivnost spojeva **XLI** i **XLII** na gram-pozitivnim (*B. cereus*) i gram-negativnim bakterijama (*P. aeruginosa*). Oba spoja pokazala su bolju antibakterijsku aktivnost kada bi se osvijetlili, a bili su učinkovitiji protiv gram-pozitivnih bakterija, točnije u potpunosti su inhibirali rast gram-pozitivnih bakterija. Spoj **XLII** učinkovitije je inhibirao rast gram-negativnih bakterija od spoja **XLI** prilikom osvijetljenja.

Također, Staneva i suradnici [32] ispitali su antivirusno djelovanje naftalimidnih derivata **XLI** i **XLII** na replikaciji herpes simplex virusa tipa 1. Samo je derivat **XLII** pokazao antivirusno djelovanje dok je utjecaj spoja **XLI** na replikaciju virusa bio zanemariv.

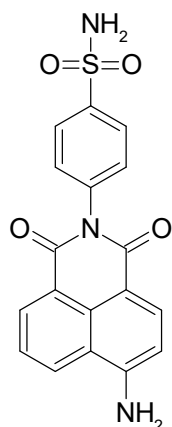


Slika 18. Strukturne formule naftalimidnih derivata **XLI** i **XLII** [32]

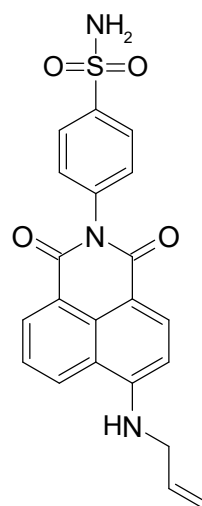
2.2.3.3. Antifungalna aktivnost

Gljivične infekcije ili mikoze su bolesti koje uzrokuju gljivice, a liječe se antifungalnim lijekovima [39]. Uzrok mnogih gljivičnih infekcija na koži i mukoznim membranama su gljivice roda *Candida*, najčešće *C. albicans*. *C. albicans* prirodno je prisutna u tijelu i na koži,

a prekomjerno razmnožavanje gljivica može uzrokovati neugodne simptome poput svrbeža i iritacije na zahvaćenom dijelu tijela [40]. Shaki i suradnici [41] sintetizirali su naftalimidne derivate **XLIII** i **XLIV** (Slika 19) koji su inhibirali rast *C. albicans*. Derivat **XLIV** lipofilniji je od derivata **XLIII** i stoga pokazuje bolju antifungalnu aktivnost jer lakše prolazi kroz staničnu membranu.



XLIII



XLIV

Slika 19. Strukturne formule molekula naftalimidnih derivata **XLIII** i **XLIV** [41]

2.2.4. Naftalimidni derivati kao fluorescentne probe

2.2.4.1. Fluorescencija

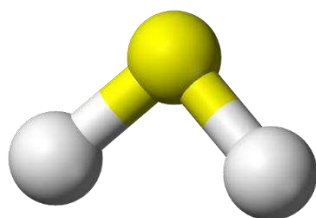
Fluorescencija je oblik fotoluminiscencije kod kojeg dolazi do vrlo brze spontane emisije zračenja nakon prestanka pobude. Proces se sastoji od pobude elektrona elektromagnetskim zračenjem iz singletnog osnovnog stanja u singletno pobuđeno stanje, a pri vraćanju elektrona u singletno osnovno stanje emitira se energija i dolazi do fluorescencije. Fluorescencija neke molekule ili materijala traje sve dok traje pobuda. Emitirano zračenje manje je energije i valne duljine od apsorbiranog zračenja zbog toga što elektroni u pobuđenom singletnom stanju gube energiju neradijativnim prijelazima. Razlika između valne duljine emitiranog zračenja i valne duljine apsorbiranog zračenja naziva se Stokesov pomak, a omjer broja emitiranih i apsorbiranih fotona naziva se kvantna iskoristivost (engl. *Quantum Yield*) pa ako molekula emitira sve fotone koje je apsorbirala, kvantna iskoristivost bit će joj 1 ili 100 % [42].

Molekula koja reemitira elektromagnetsko zračenje nakon pobude naziva se fluorofor [43]. Fluorofori u svojoj strukturi sadrže konjugirane dvostruke veze. Kod konjugiranih molekula energijski prijelaz elektrona odvija se najčešće između π -vezne (π) i π -protuvezne (π^*) orbitale. Konjugacija molekule smanjuje π - π^* energijsku barijeru i uzrokuje da se apsorpcija molekule pomakne prema crvenom dijelu spektra, dok smanjenje konjugacije uzrokuje pomicanje apsorpcije prema plavom dijelu spektra [24]. Već je spomenuto da su derivati naftalena, točnije naftalimida jedni od često korištenih fluorofora.

Posebna vrsta fluorofora su donor- π -akceptor (D- π -A) fluorofori. U svojoj strukturi posjeduju skupinu koja donira elektrone (D) akceptoru (A), a povezane su preko tzv. π -mosta (engl. *π -Bridge*). U takvoj molekuli omogućen je intramolekularni prijenos elektrona (engl. *Intramolecular Charge Transfer - ICT*) [41]. ICT podrazumijeva prijenos elektrona s D na A preko konjugiranog π -mosta. ICT se odvija u pobuđenom stanju molekule. Mijenjanjem D ili A mogu se mijenjati svojstva fluorescentne molekule. Primjerice, povećanjem konjugacije molekule, apsorpcija se pomiče prema crvenom dijelu spektra kao kod molekula **XXIX** i **XXX**. Također, može doći do gašenja fluorescencije (engl. *Quenching*) mijenjanjem skupina na fluoroforu [45].

2.2.4.2. Naftalimidni derivati kao fluorescentne probe za detekciju H₂S

Sumporovodik (Slika 20), H₂S, pri standardnim uvjetima okoliša plin je bez boje, ali vrlo neugodna mirisa trulih jaja koji se može detektirati već pri koncentraciji od 0.5 ppb; zapaljiv je i otrovan. Prirodno nastaje raspadom biološkog materijala te u nekim industrijskim procesima, a već u malim koncentracijama (50 ppb) iritira sluznicu nosa, grla i donjih dišnih puteva. Može izazvati gubitak svijesti, komu, napadaje te smrt u najgorem slučaju [46].



Slika 20. Kalotni model molekule H₂S [47]

Unatoč svim lošim posljedicama koje se javljaju uslijed izloženosti H₂S, otkriveno je da je H₂S bitna endogena signalna molekula, zajedno s CO i NO, u organizmu. Proizvodnja ovih signalnih molekula u organizmu regulirana je enzimskom aktivnošću [5]. Endogeni H₂S može se

sintetizirati iz cisteina djelovanjem enzima koju su ovisni o piridoksal-5'-fosfatu poput cistationin- β -sintaze i cistationin- γ -liaze. Pretpostavka je da H₂S djeluje kao neuromodulator u mozgu. Također, djeluje kao vazodilatator [48]. Literaturno je poznata uloga H₂S kao antioksidansa u organizmu. Reaktivne kisikove vrste (engl. *Reactive Oxygen Species*, ROS) stalno nastaju u organizmu prilikom anaerobnog metabolizma te oštećuju sve vrste makromolekula. Zbog toga je važno da su u organizmu prisutni i antioksidansi koji neutraliziraju nastale ROS vrste [49]. Međutim, iako je dokazano da H₂S posjeduje i pozitivne uloge u organizmu, literaturno je opisano, da izaziva i mnogo negativnih učinaka. Primjerice, visoke koncentracije H₂S mogu inhibirati oksidazu citokroma c, kompleks IV respiratornog lanca te može spriječiti vezanje kisika na hemoglobin i mioglobin i na taj način smanjiti opskrbu tkiva kisikom [50]. Također, povezan je s razvojem neurodegenerativnih bolesti, ciroze jetre i tumora, stoga je potrebno pronaći načine za otkrivanje njegove prisutnosti u stanicama. Iako se za grubo određivanje H₂S u stanicama može koristiti plinska kromatografija, elektronska paramagnetna rezonancija ili neke elektrokemijske metode, fluorescentne probe pokazale su se kao vrlo dobar izbor metode određivanja prisutnosti molekule u stanicama zbog jednostavnosti sinteze i modifikacije te zbog njihove nedestruktivne prirode [5, 51].

Potencijalna fluorescentna proba u svojoj strukturi posjeduje fluorofor te receptor odgovoran za prepoznavanje analita (engl. *Recognition Group*). Uz navedene strukturne motive fluorescentna proba može u strukturi sadržavati i skupinu koja povezuje fluorofor sa receptorom odgovornim za prepoznavanje analita (engl. *Linker*). Fluorofori su molekule koje reemitiraju svjetlost nakon pobude koju je uzrokovao neki vanjski izvor elektromagnetskog zračenja (najčešće ultraljubičastog ili vidljivog zračenja). Naftalimidi su, uz primjerice rodamine i kumarine, jedni od najčešće upotrebljivanih fluorofora prilikom dizajna i sinteze fluorescentne molekule. Receptor odgovoran za prepoznavanje analita prepoznaje analit na način da ili stvori slabe interakcije s analitom ili da stupi u kemijsku reakciju s njim. Linker je grupa koja povezuje fluorofor i aktivacijsku grupu, a može i ne mora biti prisutan u fluorescentnoj molekuli, stoga aktivacijska grupa može biti direktno vezana na fluorofor [43].

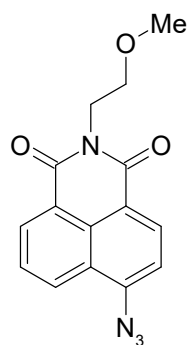
Fluorescentne probe za detekciju H₂S u stanicama dijele se na 3 kategorije s obzirom na reakciju koja se odvija u prisutnosti H₂S:

- a) Fluorescentne probe čija se aktivnost zasniva na redukciji azidne skupine u amino skupinu

- b) Fluorescentne probe čija se aktivnost zasniva na redukciji nitro skupine u amino skupinu
- c) Fluorescentne probe koje se zasnivaju na reakciji izmjene bakra (engl. *Copper Displacement*) [5].

2.2.4.2.1. Fluorescentne probe čija se aktivnost zasniva na redukciji azidne skupine u amino skupinu

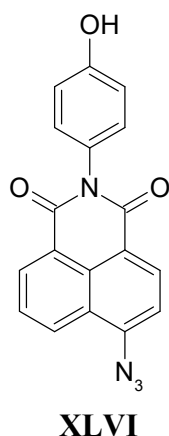
Kod ove vrste proba H₂S reducira azidnu skupinu koja je vezana za fluorofor u amino skupinu kako bi se promijenila fluorescentna svojstva molekule. Pluth i suradnici [52] sintetizirali su naftalimidnu fluorescentnu probu **XLV** (Slika 21) koja je selektivna za H₂S, no ne i za druge reaktivne sumporne vrste (RSS), reaktivne dušikove vrste (RNS) te ROS kao ni za cistein i glutation. Nakon redukcije azidne skupine u amino skupinu molekula je fluorescirala.



XLV

Slika 21. Strukturna formula molekule spoja **XLV** [52]

Isto tako, Zhang i suradnici [53] sintetizirali su fluorescentnu probu za H₂S **XLVI** (Slika 22) koja je topljiva u vodi i funkcionira po istom principu kao spoj **XLV**, a iskoristili su ju za detekciju H₂S u HepG-2 stanicama.

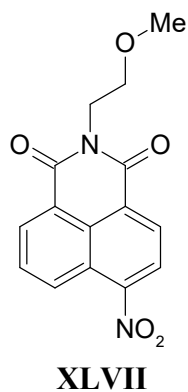


Slika 22. Strukturna formula molekule spoja **XLVI** [53]

Fluorescentne probe koje funkcioniraju na principu redukcije azidne u amino skupinu sintetizirane su u sklopu ovog završnog rada.

2.2.4.2.2. Fluorescentne probe čija se aktivnost zasniva na redukciji nitro skupine u amino skupinu

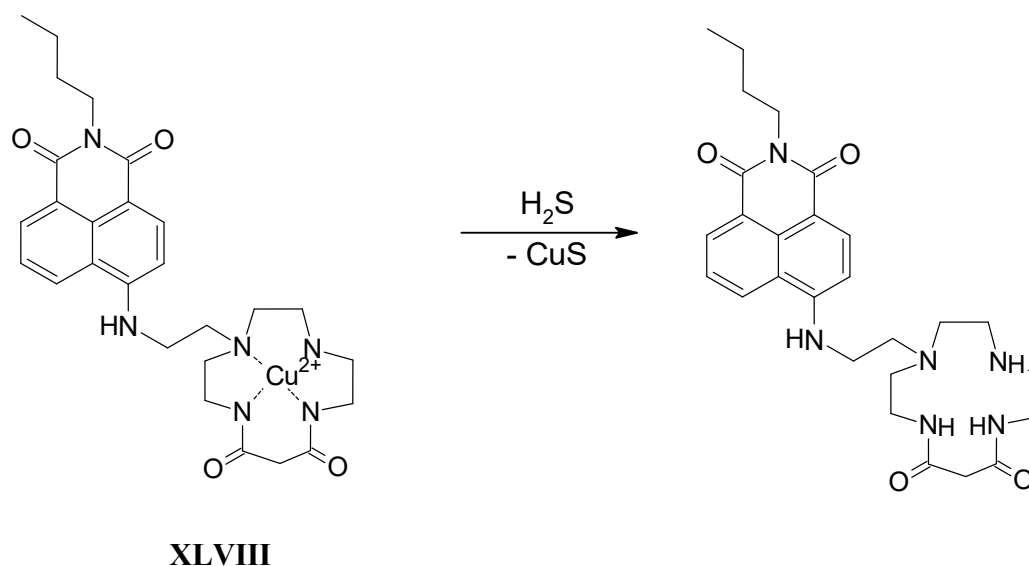
Ova metoda zasniva se na redukciji nitro skupine pomoću H_2S u amino skupinu kako bi se potaknula fluorescencija molekule. Pluth i suradnici [52] također su sintetizirali i naftalimidni derivat, spoj **XLVII** (Slika 23) koji na položaju 4 naftalimidnog skeleta ima nitro skupinu koja se reducira u amino skupinu u reakciji s H_2S . Kao i spoj **XLV**, spoj **XLVII** pokazao je izrazitu selektivnost prema H_2S , dok nije bio selektivan za glutation i cistein kao ni za ROS, RSS i RNS.



Slika 23. Strukturna formula molekule spoja **XLVII** [52]

2.2.4.2.3. Fluorescentne probe koje se zasnivaju na reakciji izmjene bakra (engl. *Copper Displacement*)

Reakcija izmjene bakra podrazumijeva istiskivanje Cu^{2+} iona iz fluorofora na način da se bakar istaloži kao bakrov(II) sulfid pomoću H_2S . Prisutnost paramagnetičnog Cu^{2+} iona gasi fluorescenciju spoja, dok se taloženjem bakra ponovno pojavljuje fluorescencija [5]. Koristeći ovaj pristup Li i suradnici [54] sintetizirali su fluorescentnu probu, spoj **XLVIII** (Slika 24) koji bi se trebao koristiti za detekciju H_2S , tj. za sulfidni anion (S^{2-}). Otopina spoja **XLVIII** zbog prisutnosti Cu^{2+} iona u strukturi spoja **XLVIII** nije fluorescirala, međutim kad je u otopinu spoja uveden H_2S otopina je počela fluorescirati. Spoj **XLVIII** osjetljiv je na vrlo niske koncentracije H_2S (7×10^{-7} M) i pokazao je visoku specifičnost za $\text{H}_2\text{S}/\text{S}^{2-}$ dok nije bio specifičan za ostale anione (HCO_3^- , SO_3^{2-} , HSO_3^- , SO_4^{2-} , CN^- , F^- , Cl^- , Br^- itd.).



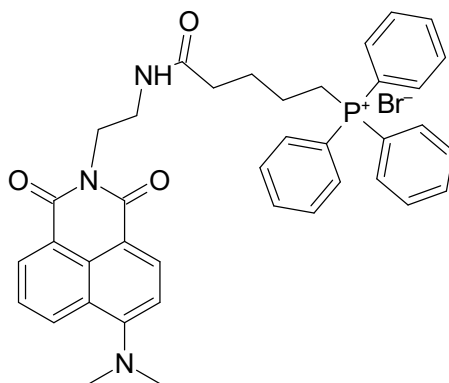
Slika 24. Reakcija izmjene bakra spoja **XLVIII** [54]

2.3. Naftalimidni derivati koji se koriste za vizualizaciju stanica

Organeli u stanicama poput lizosoma, mitohondrija, ribosoma, Golgijevog tijela i dr. imaju specifične i neophodne uloge u stanici. Primjerice mitohondriji su zaduženi za sintezu adenozin trifosfata (ATP) kako bi se zadovoljile energetske potrebe stanice, lizosomi razgrađuju i recikliraju citoplazmatski otpad poput nekih drugih organela i makromolekula koje dospijevaju u stanicu endocitozom ili fagocitozom i tako dalje, stoga je nužno razviti metode koje bi omogućile praćenje staničnih aktivnosti i organela kao i interakciju organela i njihove mikrookoline (viskoznost, polarnost, pH, temperatura, koncentracija kisika), a na kraju i kako

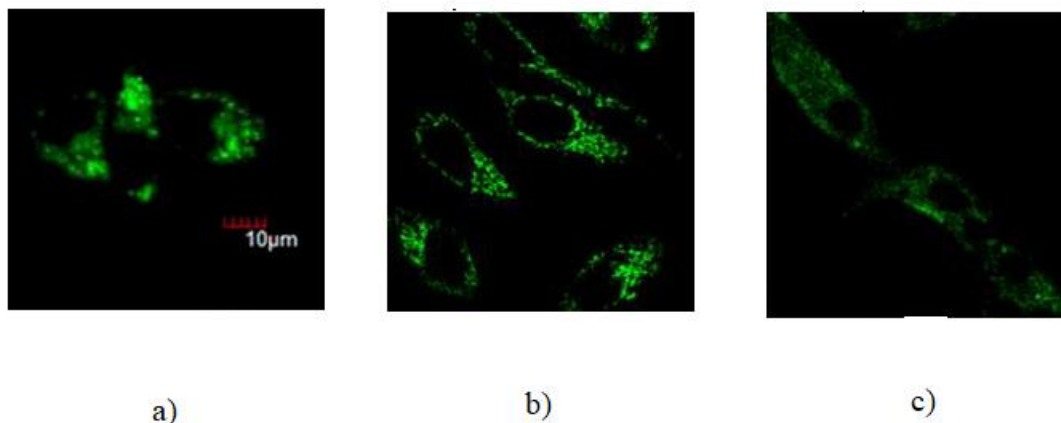
bi se proširilo znanje o njihovim pojedinim ulogama u stanici. Za vizualizaciju stanica i staničnih organela fluorescentne probe pokazale su se kao moćan i pouzdan alat zbog toga što su visokospecifične i osjetljive za određeni organel. Prilikom dizajna fluorescentnih proba mora se voditi računa o tome da fluorescentna proba ne smije biti citotoksična i mora biti fotostabilna [55].

Neke bolesti poput Alzheimerove bolesti, raznih vrsta tumora i dijabetesa povezane su s nepravilnim radom mitohondrija, a abnormalan izgled mitohondrija glavna je indikacija tih bolesti. Zbog toga, praćenje morfoloških promjena mitohondrija u realnom vremenu može uvelike pomoći u prevenciji, dijagnozi i liječenju bolesti koje su povezane s disfunkcijom mitohondrija. Postoje komercijalno dostupni spojevi za označavanje i vizualizaciju mitohondrija, međutim većina njih gubi svoja fotokemijska svojstva s vremenom i citotoksični su u određenoj mjeri, stoga su Huang i suradnici [56] sintetizirali naftalimidni derivat **XLIX** (Slika 25) koji se selektivno nakuplja u mitohondrijima i iako mu je kvantna iskoristivost od 0.0435 vrlo niska, izrazito je fotostabilan što omogućuje praćenje mitohondrija u realnom vremenu, hidrofilan je i citotoksičnost mu je niska, a sinteza jednostavna i jeftina. Pomoću spoja **XLIX**, mitohondriji su uspješno vizualizirani *in vitro* u HeLa stanicama, MCF-7 i NIH-3T3 stanicama (Slika 26).



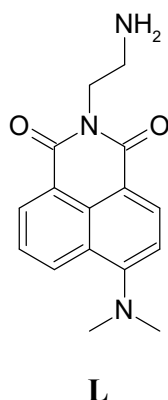
XLIX

Slika 25. Strukturna formula molekule naftalimidnog derivata **XLIX** za vizualizaciju mitohondrija [56]

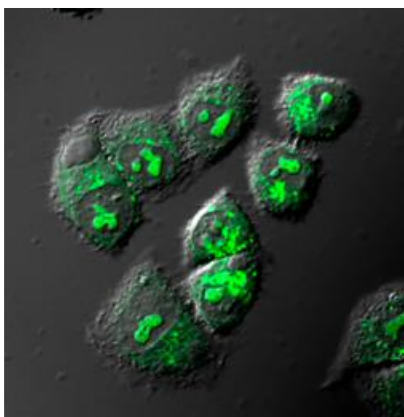


Slika 26. Vizualizacija: a) HeLa stanica; b) MCF-7 stanica i c) NIH-3T3 stanica pomoću **XLIX** [56]

Yi i suradnici [57] sintetizirali su fluorescentnu probu koja se selektivno veže za rRNA u živim stanicama i služi za vizualizaciju jezgrice. Komercijalno dostupne probe nisu selektivne za rRNA i konstantno se vežu za DNA, mRNA i tRNA, a potrebno je određivati koncentraciju i detaljniju strukturu rRNA. Stoga je sintetiziran spoj **L** (Slika 27) koji je visokospecifičan za rRNA te bez poteškoća prolazi kroz staničnu membranu i jezgrine pore, a vizualizacija je provedena na živućim HeLa stanicama (Slika 28). Spoj **L** ima D- π -A strukturu, gdje je dimetilamino skupina elektron-donorska, a karbonilne skupine su elektron-akceptorske što omogućuje ICT.



Slika 27. Strukturna formula molekule spoja **L** [57]



Slika 28. Vizualizacija HeLa stanica pomoću spoja **L** [57]

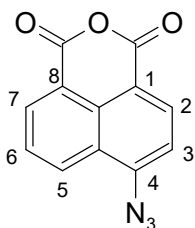
3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali i metode

Za sinteze su korišteni komercijalno dostupni spojevi i otapala: 4-brom-1,8-naftalanhidrid (*Sigma-Aldrich*), natrijev azid (*BDH Prolabo*), etanol (*Carlo Erba Reagents*), etil-acetat (*Across organics*), heksan (*BDH Prolabo*), dimetilformamid (DMF, *Across Organics*), *para*-fenilendiamin (*Fisher Scientific*), *para*-nitroanilin (*Across organics*). Tankoslojna kromatografija na pločicama silikagela (60 F, 254, 0,25 mm, *Fluka*) korištena je za praćenje tijeka reakcije te za provjeru čistoće spojeva i preliminarnu identifikaciju produkata. Sustav otapala korišten za tankoslojnu kromatografiju je etil-acetat/heksan, 1 : 1 (EtOAc/heksan, 1 : 1). Vizualizacija je provedena apsorbacijom UV zračenja (254 nm). Otapala su uparavana na rotacijskom uparivaču uz snižen tlak. ¹H i ¹³C NMR spektri snimljeni su na instrumentu *Bruker* na sobnoj temperaturi pri 500 MHz i 125 MHz. IR spektri snimljeni su na uređaju *Shimadzu FTIR 88400S* u području 4000–400 cm⁻¹.

3.2. Priprava 6-azido-1*H*,3*H*-benzo[*de*]izokromen-1,3-diona (**1**)

Natrijev azid (142 mg, 2,1 mmol) u obrocima je dodan u otopinu 4-brom-1,8-naftalanhidrida (200 mg, 0,7 mmol) u DMF-u (3 mL). Reakcijska smjesa je ostavljena na magnetskoj mješalici u trajanju od 2 sata. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom (EtOAc/heksan = 1:1) uz UV detekciju. Nakon 2 h u reakcijsku smjesu dodana je voda što je rezultiralo stvaranjem taloga, koji je izdvojen iz reakcijske smjese vakuum filtracijom. Dobivena je žuta krutina, spoj **1** (128 mg, 74 %) (Slika 29); t.t. = 179,2–186,3 °C; *R*_f = 0.66 (EtOAc/heksan, 1 : 1).



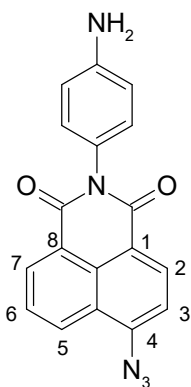
Slika 29. Strukturna formula molekule spoja **1**

^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ / ppm: 7.80 (d, 1H, J = 8.0 Hz, H-3), 7.92 (t, 1H, J = 7.8 Hz, H-6), 8.52 (dd, 2H, J = 3.3, 8.2 Hz, H-5, H-7), 8.57 (d, 1H, J = 7.1 Hz, H-2).

^{13}C NMR (125 MHz, DMSO) δ / ppm: 115.244, 116.841, 119.712, 124.117, 128.120, 129.994, 131.274, 133.780, 133.809, 144.644, 160.577, 161.160.

3.3. Priprava 2-(4-aminofenil)-6-azido-1*H*-benzo[*de*]izokinolin-1,3(2*H*)-diona (**2**)

Spoj **1** (59 mg, 0,2 mmol) otopljen je u etanolu (7 mL) zagrijavanjem uz povratno hladilo uz miješanje na magnetnoj mješalici. Kada je otopina zagrijana do temperature pri kojoj otapalo počne refluksirati u otopinu je dodan *para*-fenilendiamin (22,6 mg, 0,2 mmol), Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom (EtOAc/heksan, 1:1) uz UV detekciju. Reakcija je prekinuta nakon 5 sati. Hlađenjem reakcijske smjese došlo je do stvaranja taloga koji je izdvojen iz reakcijske smjese vakuum filtracijom uz ispiranje taloga etanolom. Reakcijska smjesa ostavljena je preko noći na sobnoj temperaturi kako bi se produkt što više istaložio. Nakon što je talog ofiltriran pomoću vakuum pumpe, ispran je etanolom. Dobivena je krutina smeđe boje, spoj **2** (Slika 30) (40 mg, 34 %); R_f = 0.28 (EtOAc/heksan, 1 : 1).



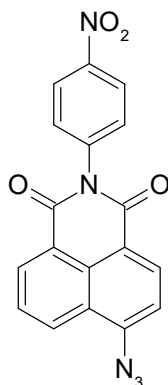
Slika 30. Strukturna formula molekule spoja **2**

^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ / ppm: 5.27 (s, 2H, NH_2), 6.65 (d, 2H, J = 8.4 Hz, H-Ar), 6.95 (d, 2H, J = 8.4 Hz H-Ar), 7.80 (d, 1H, J = 7.8 Hz H-3), 7.90 (t, 1H, J = 7.7 Hz, H-6), 8.49 (dd, 2H, J = 4.6, 7.9 Hz, H-5, H-7), 8.54 (d, 1H, J = 8.0 Hz, H-2).

^{13}C NMR (125MHz, DMSO) δ / ppm: 114.190, 116.476, 119.408, 123.397, 124.207, 127.820, 128.811, 129.649, 131.996, 132.097, 143.252, 149.028, 163.837, 164.427.

3.4. Pokušaj priprave 2-(4-nitrofenil)-6-azido-1*H*-benzo[*de*]izokinolin-1,3(2*H*)-diona (**A**) sintetskim putem i)

Spoj **1** (50 mg, 0,2 mmol) otopljen je u etanolu (7 mL) zagrijavanjem uz povratno hladilo i uz miješanje na magnetnoj mješalici. Kada je otopina zagrijana do temperature pri kojoj otapalo počinje refluksirati otopini je dodan *para*-nitroanilin (27,63 mg, 0,2 mmol). Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom (EtOAc/heksan, 1:1) uz UV detekciju. Nakon 24 sata reakcija je prekinuta, a hlađenjem reakcijske smjese došlo je do taloženja krutine koja je iz reakcijske smjese izdvojena vakuum filtracijom. ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom potvrđeno je da izolirana krutina nije ciljani produkt, **A** (Slika 31).

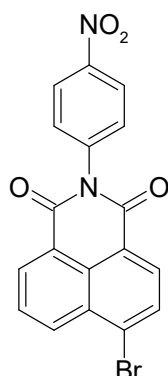


Slika 31. Pretpostavljena strukturna formula molekule spoja **A**

3.5. Pokušaj priprave 2-(4-nitrofenil)-6-azido-1*H*-benzo[*de*]izokinolin-1,3(2*H*)-diona (**A**) sintetskim putem ii)

3.5.1. Pokušaj priprave 2-(4-nitrofenil)-6-brom-1*H*-benzo[*de*]izokinolin-1,3(2*H*)-diona (**B**)

4-brom-1,8-naftalanhidrid (50 mg, 0,2 mmol) otopljen je u etanolu (7 mL) zagrijavanjem uz povratno hladilo uz miješanje na magnetnoj mješalici. Kad je otopina zagrijana do temperature pri kojoj otapalo počinje refluksirati otopini je dodan *para*-nitroanilin (24,9 mg, 2 mmol). Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom (EtOAc/heksan, 1:1) uz UV detekciju. Nakon 24 sata dodano je pola ekvivalenta *para*-nitrofenilamina (12,6 mg, 0,1 mmol). Produkt se taložio u reakcijskoj smjesi. Nakon što je talog odfiltriran pomoću vakuum pumpe, ispran je etanolom. IR spektroskopijom pretpostavljeno je da spoj **B** (Slika 32) nije uspješno pripremljen.



Slika 32. Pretpostavljena strukturna formula molekule spoja **B**

3.5.2. Pokušaj pripreve 2-(4-nitrofenil)-6-azido-1*H*-benzo[*de*]izokinolin-1,3(2*H*)-diona (**A**)

NaN₃ (8,8 mg, 0,1 mmol) u obrocima je dodan otopini spoja **B** (18 mg, 0,05 mmol) u suhom DMF-u (3 mL). Reakcijska smjesa je ostavljena na magnetskoj mješalici u trajanju od 2 sata. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom (EtOAc/heksan, 1:1) uz UV detekciju. Reakcija je zaustavljena nakon 2 h, a reakcijska smjesa uparena je na vodenoj kupelji i zatim ohlađena u ledenoj kupelji. Produkt se taloži hlađenjem. Talog je ofiltriran pomoću vakuum pumpe; produkt je dobiven u tragovima, IR spektroskopijom potvrđeno je da izolirana krutina nije ciljani produkt, **A** (Slika 31).

3.6.Redukcija Spoja **2** s H₂S

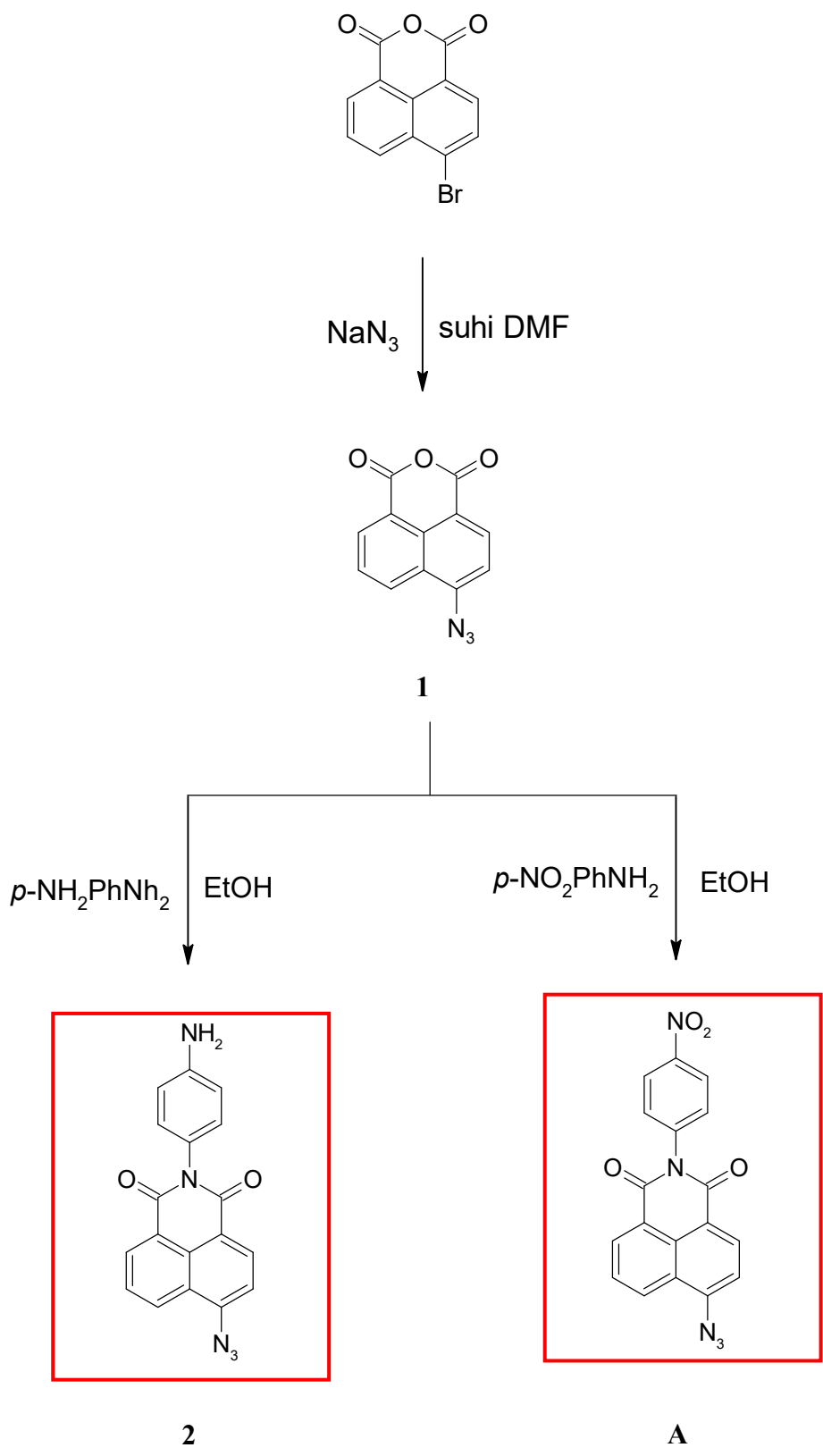
Spoj **2** (1 mg) otopljen je u etanolu (5 mL) u staklenoj bočici, a u drugoj staklenoj bočici razvijen je H₂S reakcijom željezova(II) sulfida (FeS) i koncentrirane klorovodične kiseline (HCl). Obje staklene bočice povezane su plastičnom cjevčicom koja omogućava uvođenje generiranog H₂S u suvišku u otopinu spoja **2**. Generirani H₂S uvođen je u otopinu spoja **2** u trajanju od 1 h.

4. REZULTATI I RASPRAVA

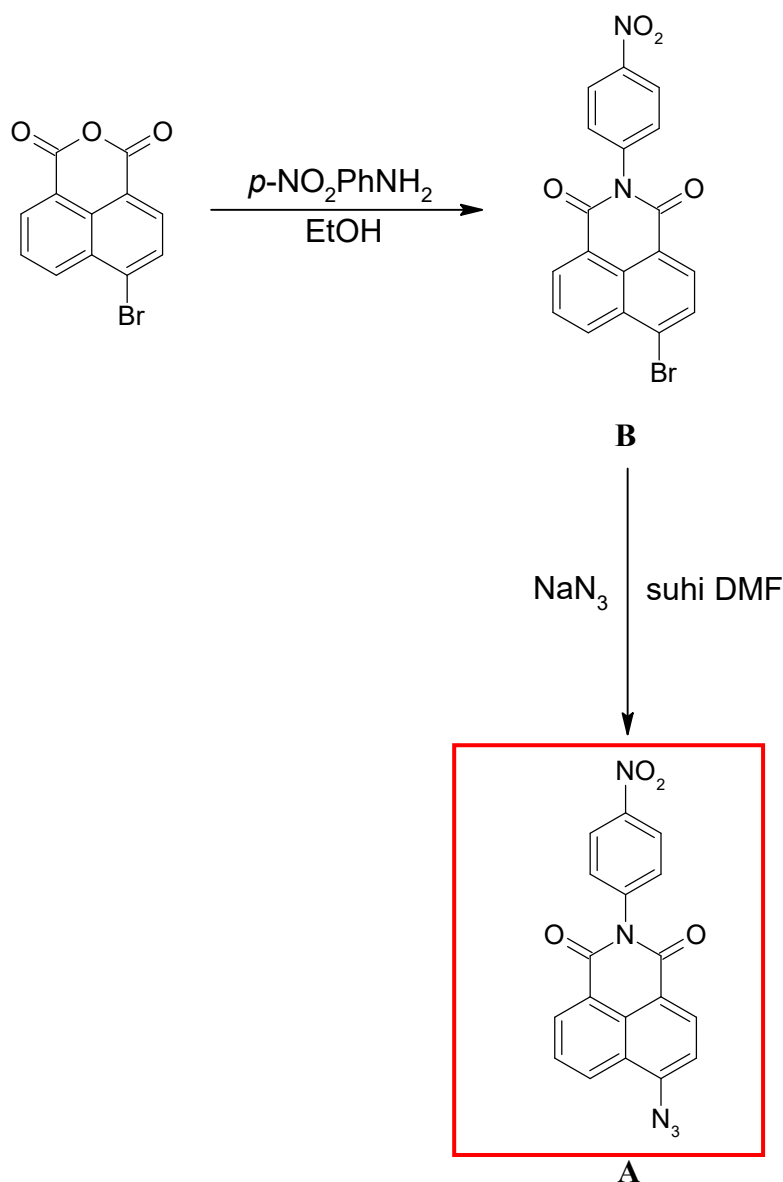
4.1. Uvod

Derivat naftalanhidrida, komercijalno dostupni, 4-brom-1,8-naftalanhidrid korišten je kao polazni spoj u literaturno opisanom [53] sintetskom putu za pripravu dva derivata, spoja **2** i spoja **A** (Slika 33). Adicijsko-eliminacijskom reakcijom azidnog derivata 4-brom-1,8-naftalanhidrida s odabranim anilinskim derivatima pokušalo se pripremiti naftalimidne derivate. U okviru ovoga završnog rada pokušalo se pripremiti dva naftalimidna derivata koji se razlikuju po elektronskoj prirodi supstituenta na arilnom dijelu molekule; spoj **2** i spoj **A**. Na ovaj način, moguće je ispitati utjecaj elektronske prirode supstituenta na arilnom dijelu molekule na prinos reakcije te fluorescencijska svojstva naftalimidnih derivata nakon reakcije ciljnih naftalimidnih derivata s H₂S. Na temelju rezultata ¹H i ¹³C NMR spektroskopije zaključeno je kako je priprava spoja **2** bila uspješna, dok spoj **A** nije uspješno pripremljen predloženim sintetskim putem. Temeljem navedenog, za pripravu spoja **A** predložen je novi sintetski put (Slika 34), no IR spektroskopijom pretpostavljeno je kako niti u ovom slučaju priprava spoja **A** nije bila uspješna.

Iz literature [5] je poznata upotreba naftalimidnih derivata kao fluorescentnih proba za detekciju malih signalnih molekula među kojima je i molekula H₂S (poglavlje 2.2.4.2.). Spoj **2**, derivat uspješno pripremljen u okviru ovoga istraživanja u preliminarnim ispitivanjima korišten je za pokušaj detekcije generiranog H₂S. Rezultati provedenog eksperimenta pokazuju mogućnost upotrebe spoja **2** kao indikatora za detekciju H₂S, na što će fokus biti stavljen u nastavku ovoga istraživanja.



Slika 33. Reakcije priprave spojeva **2** i **A** sintetskim putem i)



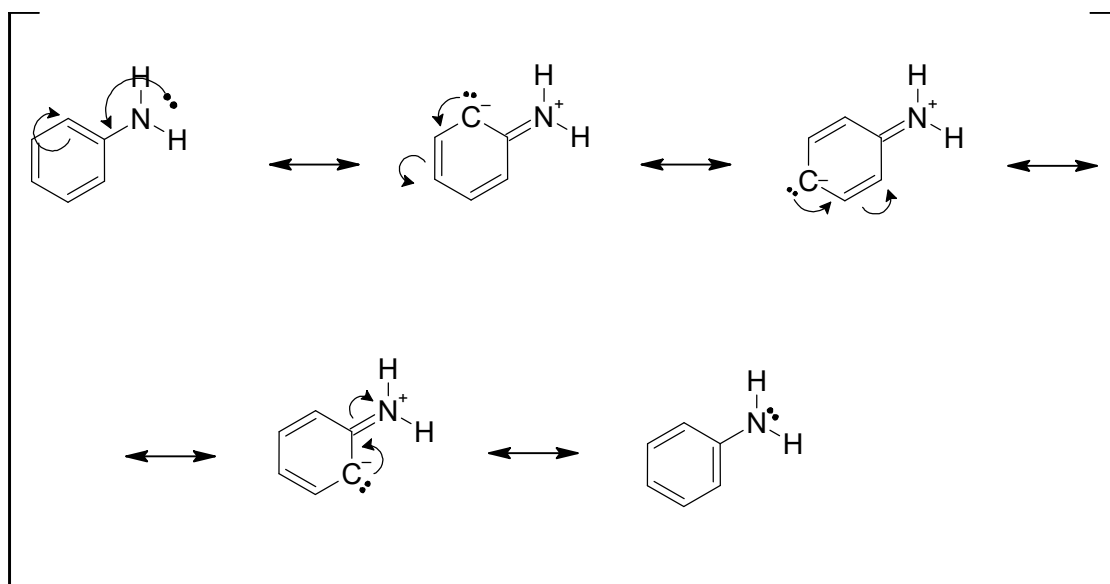
Slika 34. Pokušaj priprave spoja **A** sintetskim putem ii)

4.2. Priprava spoja **2** i pokušaj priprave spoja **A** sintetskim putem i)

Za pripravu spoja **2** najprije je pripravljen spoj **1** (Slika 33). Spoj **1** u svojoj strukturi posjeduje azidnu skupinu na položaju 4 osnovnog naftalenskog skeleta. Kao polazni spoj za pripravu spoja **1** poslužio je komercijalno dostupni 4-brom-1,8-naftalanhidrid. Bromidna skupina supstituirana je azidnom skupinom reakcijom nukleofilne aromatske supstitucije (poglavlje 2.2.2.). Literaturno opisani postupak [53] modificiran je na način da je dodana dva puta veća količina NaN_3 . Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom (EtOAc/heksan, 1:1) uz vizualizaciju apsorbacijom UV zračenja (254 nm). Spoj **1** uspješno je pripravljen uz prinos od 74 %. Spoj **2**, naftalimidni derivat s amino skupinom na arilnom dijelu molekule, pripravljen je

reakcijom spoja **1** i *para*-fenilendiamina (1 ekv.) zagrijavanjem uz povratno hladilo u etanolu kao otapalu. Spoj **2** pripremljen je uz prinos od 34 %. Analogno sintetskom putu reakcije pripreme spoja **2**, pokušalo se pripremiti spoj **A**, koji u svojoj strukturi posjeduje nitro skupinu na arilnom dijelu molekule. Priprava spoja **A** predloženim sintetskim putem i) nije bila uspješna što je zaključeno na temelju rezultata ^1H i ^{13}C NMR spektroskopije.

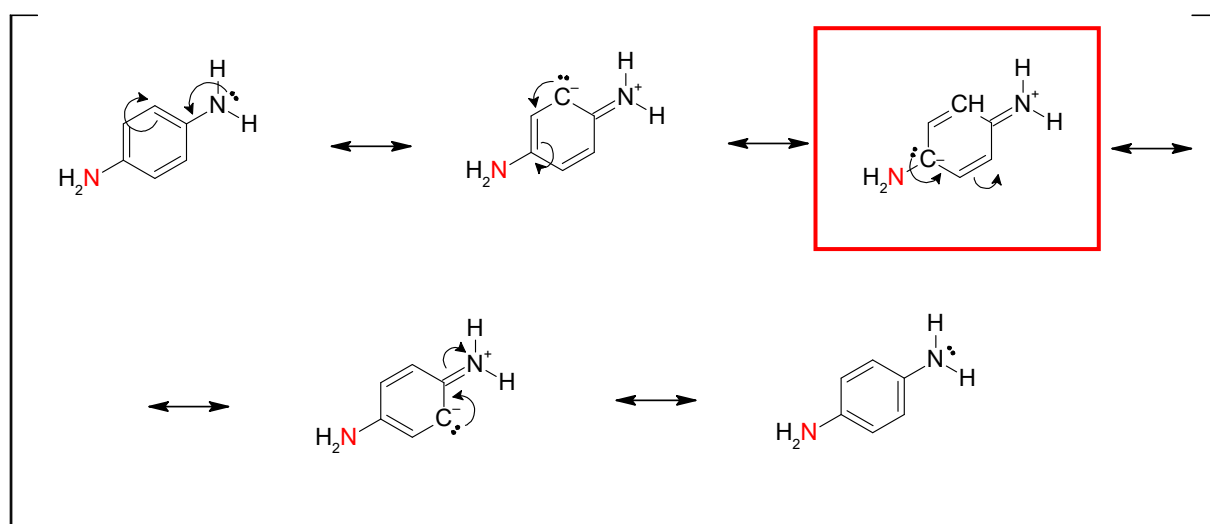
Amini su organski derivati amonijaka (NH_3) u kojima je jedna ili više alkilnih ili arilnih skupina vezana za dušikov atom. Amini su dobri nukleofili i baze. S druge strane, aromatski amini poput anilina i njegovih derivata slabije su baze i nukleofili od alifatskih amina. Slobodni elektronski par na dušiku delokaliziran je (Slika 35) po cijeloj molekuli, što ju stabilizira, jer se dušikova sp^3 orbitala koja sadrži slobodni elektronski par preklapa s π molekulskom orbitalom aromatskog prstena. Zbog delokalizacije slobodni elektronski par na dušikovom atomu nije toliko dostupan za protoniranje što anilin čini slabijom bazom od alifatskih amina [28].



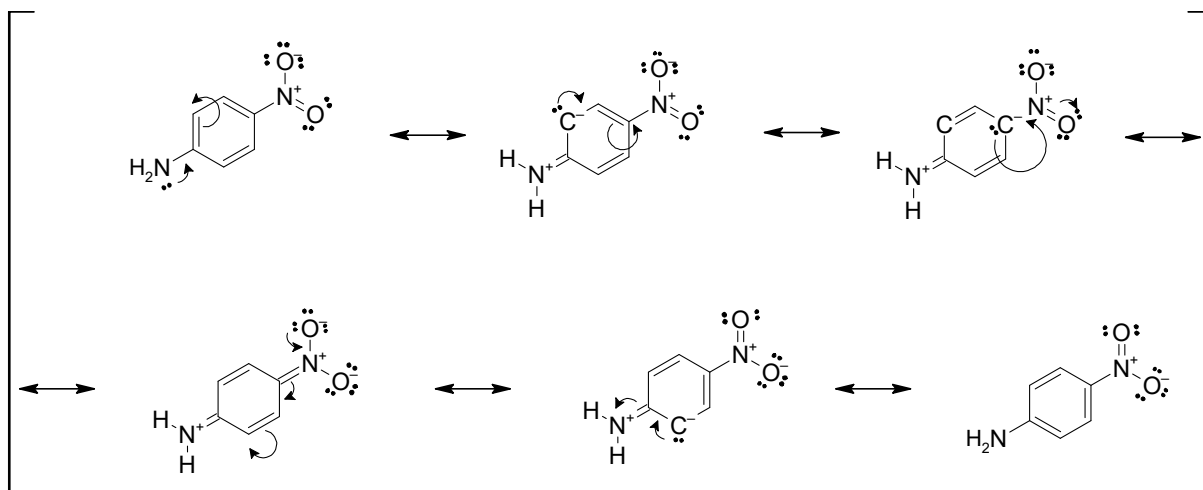
Slika 35. Rezonancijske strukturne formule anilina [28]

Nadalje, ako se anilin protonira, on će izgubiti svoju rezonancijsku stabilizaciju, a nastala konjugirana kiselina bit će jaka što znači da je početna baza slaba. Međutim, anilinski derivati mogu biti jače ili slabije baze i nukleofili ovisno o vrsti supstituenta koji se nalazi na benzenskom prstenu. Tako će elektron-donirajuća skupina u *para*- položaju u odnosu na amino skupinu učiniti tu amino skupinu nukleofilnijom jer će povećavati elektronsku gustoću na nukleofilnom dušiku rezonancijskim efektom [28]. U slučaju *para*-fenilendiamina konjugacija neveznog elektronskog para atoma dušika amino skupine (označen crnom bojom) s π -

elektronima aromatskog prstena rezultira rezonancijskom strukturom (Slika 36) u kojoj je elektron-donirajuća skupina vezana na atom ugljika s negativnim nabojem. Takva rezonancijska struktura daje najmanji doprinos rezonancijskom hibridu, no atom dušika anilina (označen crvenom bojom) čini nukleofilnijim za napad na elektron-akceptorski sustav azidnog derivata **1**. U slučaju *para*-nitroanilina, koji je korišten kao polazni spoj za pripremu spoja **A**, može se opaziti suprotan efekt (Slika 37). Konjugacija neveznog elektronskog para atoma dušika anilina s π -elektronima aromatskog prstena rezultira rezonancijskom strukturom u kojoj je na negativno nabijeni atom ugljika vezana nitro skupina kao elektron odvlačeća skupina. Takva rezonancijska struktura daje veći doprinos rezonancijskom hibridu no u konačnici smanjuje nukleofilnost atoma dušika anilina za napad na elektron-akceptorski azidni derivat **1**. Navedeno objašnjenje može predstavljati jedan od potencijalnih razloga neuspješne pripreve spoja **A** sintetskim putem i).



Slika 36. Rezonancijske strukturne formule *para*-fenilendiamina [28]



Slika 37. Rezonancijske strukturne formule *para*-nitroanilina [28]

4.3. Pokušaj pripreve spoja **A** sintetskim putem ii)

Spoj **A** nije uspješno pripravljen sintetskim putem i), prema tome sintezi spoja **A** pokušalo se pristupiti primjenom sintetskog puta ii). U sintetskom putu ii) prvi korak podrazumijeva prevođenje polaznog 4-brom-1,8-naftalanhidrida u odgovarajući naftalimidni derivat **B**. U drugom reakcijskom koraku, imidni derivat **B** koji u svojoj strukturi na položaju 4 posjeduje atom broma reagira s NaN_3 s ciljem pripreve ciljnog produkta **A**. Niti u ovome slučaju, primjenom drugog sintetskog puta, pripreva spoja **A** nije bila uspješna (Slika 34). Kao jedan od potencijalnih razloga neuspješne pripreve spoja **A** predložena je smanjena nukleofilnost atoma dušika polaznog spoja *para*-nitroanilina, što u konačnici onemogućava nukleofilni napad atoma dušika anilinskog derivata na elektrofilni derivat naftalanhidrida (poglavlje 4.2.). Sintetskim putem ii) može se pretpostaviti kako niti u slučaju kada je elektron-akceptorski sustav 4-brom-1,8-naftalanhidrid, u usporedbi sa azidnim derivatom **1** koji je elektron-akceptorski sustav u sintetskom putu i), dušikov atom *para*-nitroanilina nije dovoljno jak nukleofil.

4.4. Uvođenje H_2S u otopinu spoja **2**

Naftalimidni derivat, spoj **2** uspješno pripravljen u okviru ovoga završnog rada korišten je u preliminarnim ispitivanjima s ciljem upotrebe pripravljenog spoja kao indikatora za H_2S . Spoj **2** u svojoj strukturi posjeduje azidnu, elektron-akceptorsku skupinu, dok nakon reakcije s H_2S dolazi do redukcije azidne skupine u elektron-donirajuću amino skupinu. Elektron-donirajuća skupina na položaju 4 u strukturi naftalimidnog derivata povećava njegova fluorescencijska svojstva [5]. Otopina spoja **2** prije uvođenja H_2S i nakon uvođenja H_2S stavljene su pod UV

lampu (365 nm) pri čemu je vidljiva fluorescencija spoja **2** nakon uvođenja H_2S dok spoj **2** prije uvođenja H_2S nije fluorescirao. Ovakvi rezultati pokazuju mogućnost upotrebe spoja **2** kao potencijalnog inidkatora za H_2S što će biti tema nastavka istraživanja.



Slika 38. Ispitivanje fluorescencije spoja **2** prije i nakon redukcije s H_2S

5. ZAKLJUČAK

- 1) Spoj **2**, naftalimidni derivat s azidnom skupinom na položaju 4, uspješno je pripremljen sintetskim putem i). Predloženi sintetski put podrazumijeva pripremu azidnog derivata **1** koji reakcijom s *para*-fenilendiaminom u etanolu daje spoj **2**. S ciljem ispitivanja utjecaja elektronske prirode supstituenta anilinskog derivata na prinos reakcije te u konačnici na fluorescencijska svojstva naftalimidnih derivata nakon reakcije s H₂S, kao drugi anilinski derivat za reakciju sa spojem **1** odabran je *para*-nitroanilin. Spoj **A** nije uspješno pripremljen predloženim sintetskim putem i).
- 2) S obzirom na neuspješnu pripremu spoja **A** sintetskim putem i), sintezi spoja **A** pokušalo se pristupiti primjenom sintetskog puta ii). Sintetski put ii) podrazumijeva prevođenje polaznog spoja, 4-brom-1,8-naftalanhidrida u spoj **B** koji u svojoj strukturi na položaju 4 posjeduje atom broma, nakon čega u sljedećem reakcijskom koraku slijedi supstitucija atoma broma azidnom skupinom. Priprema spoja **A** nije bila uspješna niti u ovome slučaju. Jedno od potencijalnih objašnjenja predstavlja smanjena nukleofilnost atoma dušika anilinskog derivata zbog prisutnosti nitro skupine u njegovoj strukturi. Zahvaljujući tome atom dušika nije dovoljno jak nukleofil niti za nukleofilni napad na elektron akceptorski sustav polaznog 4-brom-1,8-naftalanhidrida niti u slučaju nukleofilnog napada na elektron akceptorski sustav azidnog derivata naftalanhidrida, spoja **1**.
- 3) Spoj **2**, uspješno pripremljen u okviru ovoga završnog rada korišten je u preliminarnim ispitivanjima koja podrazumijevaju uvođenje H₂S u otopinu spoja **2**. Cilj ovakvih ispitivanja je ispitati mogućnost upotrebe spoja **2** kao potencijalnog indikatora za H₂S. Otopina spoja **2** nakon uvođenja H₂S fluorescira pod UV lampom (365 nm) što ukazuje na mogućnost redukcije azidne skupine u amino skupinu, a u konačnici utječe na povećanje intenziteta fluorescencije. Ispitivanje fluorescencijskih svojstava reduciranog oblika spoja **2** predstavljat će nastavak ovoga istraživanja.

6. LITERATURNI IZVORI

1. H.-Q. Dong, Q. Lin, X.-Q. Ma, B.-B. Shi, Y.-J. Sun, Y.-F. Zhang, Y.-M. Zhang, T.-B. Wei, Q.-Y. Yang, H. Yao, 1,8-Naphthalimide-based fluorescent chemosensors: recent advances and perspectives. *J. Mater. Chem. C.* **2020**, *8*, 13501-13529.
2. H. Fan, X.-W. Guan, Q. Lin, S.-S. Song, Y.-M. Zhang, T.-B. Wei, H. Yao, A novel supramolecular polymer π -gel based on bis-naphthalimide functionalized-pillar[5]arene for fluorescence detection and separation of aromatic acid isomers. *Polym. Chem.* **2019**, *10*, 253-259.
3. F. Dumur, G. Noirbent, Recent advances on naphthalic anhydrides and 1,8-naphthalimide-based photoinitiators of polymerization. *Eur. Polym. J.* **2020**, *132*, 1-31.
4. R. Misra, M. Poddar, G. Sivakumar, Donor-acceptor substituted 1,8-naphthalimides: design, synthesis, and structure-property relationship. *J. Mater. Chem. C.* **2019**, *7*, 14798-14815.
5. V. Bhalla, M. Kumar, N. Kumar. Recent developments of fluorescent probes for the detection of gasotransmitters (NO, CO and H₂S), *Coord. Chem. Rev.* **2013**, *257*, 2335-2347.
6. PubChem. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6693> (24. 7. 2024.)
7. PubChem. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/21437> (24. 7. 2024.)
8. PubChem. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/21437> (23.7.2024.)
9. W. Herbst, K. Hunger. *Pigments, Organic*. Weinheim, Wiley-VCH, **2004**.
10. A. Behr, D. Biedenkapp, G. Collin, D. Garbe, K. Griesbaum, D. Mayer, C. Paetz, H. Voges. *Hydrocarbons*. Weinheim, Wiley-VCH, **2005**.
11. S. Haremsa. *Naphthalimide Dyes and Pigments*. Weinheim, Wiley-VCH, **2000**.
12. T. C. Barros, H. Chaimovich, I. M. Cuccovia, L. G. Dias, G. Menegon, F. Nome, M J. Politi, S. Yunes, Hydrolysis of 1,8- and 2,3-naphthalic anhydrides and the mechanism of cyclization of 1,8-naphthalic acid in aqueous solutions. *J. Chem. Soc.* **2001**, *2*, 2342-2350.
13. V. Balasubramaniyan, peri INTERACTION IN NAPHTHALENE DERIVATIVES. *Chem. Rev.* **1966**, *19*, 567-641.

14. L. Ebersson, L Landström, Studies on Cyclic Anhydrides IV. Rate Constants of the Hydrolysis of Some Cyclic Anhydrides Exhibiting Ring Strain. *Acta. Chem. Scand.* **1972**, *26*, 239-249.
15. A. D. Campbell, M. R. Grimmett, Addition of propiolic acid to aryl-substituted propiolic acids, *Aust. J. Chem.* **1963**, *16*, 854-857.
16. X. Guo, W. Zhu, J. Qian, X. Qian, Y. Xiao, Y. Xu, "Alive" dyes as fluorescent sensors: fluorophore, mechanism, receptor and images in living cells. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 6418-6436.
17. M. F. Brana, A. Ramos, Naphthalimides as Anticancer Agents: Synthesis and Biological Activity. *Curr. Med. Chem.* **2001**, *1*, 237-255.
18. Imides: Medicinal, Agricultural, Synthetic Applications and Natural Products Chemistry (Ed.: F. A. Luzzio), Elsevier, Amsterdam, **2019**, 1-28.
19. D. N. Garad, S. B. Mhaske, S. D. Tanpure, Radical-mediated dehydrative preparation of cyclic imides using $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ -DMSO: application to the synthesis of vernakalant. *Beilstein J. Org. Chem.* **2015**, *11*, 1008-1016.
20. M. P. Cava, A. Deana, K. Muth., M. J. Mitchel, N-Phenylmaleimide. *Org. Synth.* **1961**, *41*, 93.
21. Chemistry LibreTexts. URL: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Inorganic_Chemistry/Supplemental_Modules_and_Websites_\(Inorganic_Chemistry\)/Catalysis/Catalyst_Examples/Suzuki-Miyaura_Coupling](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Inorganic_Chemistry/Supplemental_Modules_and_Websites_(Inorganic_Chemistry)/Catalysis/Catalyst_Examples/Suzuki-Miyaura_Coupling) (29. 6. 2024.)
22. X. Guo, F. Mo, C. Yang, L. Zhang, Research Progress of Suzuki-Miyaura Cross-Coupling Reaction Mechanism. *Chin. J. Org. Chem.* **2021**, *41*, 3492-3510.
23. B. Bian, G.-L. Feng, L.-J. Geng, S.-J. Ji, Y. Liu, Synthesis and optical properties of novel compounds containing carbazole and 1, 8-naphthalimide groups. *J. Chem. Res.* **2008**, *2008*, 137-140.
24. D. M. Jameson, *Introduction to Fluorescence*, Boca Raton: CRC Press, **2014**.
25. Organic Chemistry Portal. URL: <https://www.organic-chemistry.org/namedreactions/heck-reaction.shtml> (30. 6. 2024.)

26. Organic Chemistry Portal. URL: <https://www.organic-chemistry.org/namedreactions/heck-reaction.shtm> (30. 6. 2024.)
27. J. V. Grazulevicius, S. Grigalevicius, D. Gudeika, V. Jankauskas, S. Jursenas, R. Lygaitis, A. Miasojedovas, A. Michaleviciute, G. Sini, Structure Properties Relationship of Donor-Acceptor Derivatives of Triphenylamine and 1,8-Naphthalimide. *J. Phys. Chem. C* **2012**, *116*, 14811-14819.
28. L. G. Wade, *Organic Chemistry*. 8. izdanje. London: Pearson, **2013**.
29. A. Kamal, N. Rao Bolla, P. Sindayla Srikanth, A. K. Srivastava, Naphthalimide derivatives with therapeutic characteristics: a patent review. *Expert Opin. Ther. Patents*. **2013**, *23*, 299-317.
30. K. Gharanjig, A. Khosravi, A. Mahboubi, H. Shaki, Investigation of synthesis, characterization, photophysical and biological properties of novel antimicrobial fluorescent naphthalimide derivatives. *Mater. Technol.* **2016**, *31*, 322-331.
31. R. Betcheva, I. Grabchev, D. Staneva, Sensor activity, photodegradation and photostabilisation of a PAMAM dendrimer comprising 1,8-naphthalimide functional groups in its periphery. *Polym. Degrad. Stab.* **2006**, *91*, 2257-2264.
32. I. Grabchev, P. Grozdanov, I. Nikolova, D. Staneva, E. Vadileva-Tonkova, N. Vilhelmova-Ilieva, Synthesis and photophysical characterisation of 3-bromo-4-dimethylamino-1,8-naphthalimides and their evaluation as agents for antibacterial photodynamic therapy. *J. Photochem. Photobiol., A* **2020**, *112730*, 1-19.
33. K. Kawabata, K. Kawai, T. Majima, S. Tojo, Synthesis of ODNs Containing 4-Methylamino-1,8-naphthalimide as a Fluorescence Probe in DNA. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *12*, 2363-2366.
34. World Health Organization. URL: https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1 (23. 6. 2024.)
35. M. Lv, H. Xu, Overview of Naphthalimide Analogs as Anticancer Agents. *Curr. Med. Chem.* **2009**, *16*, 4797-4813.
36. S. Banerjee, D. O. Frimannsson, L. J. Gillespie, T. Gunnlaugsson, J. M. Kelly, S. A. Murphy, C. M. Phelan, G. M. Tocci, E. B. Veale, Recent advances in the development of 1,8-

naphthalimide based DNA targeting binders, anticancer and fluorescent cellular imaging agents. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 1601-1618.

37. D. W. Boykin, K. A. Stevenson, W. D. Wilson, N.-C. Yang, S.-F. Yen, A Substituent Constant Analysis of the Interaction of Substituted Naphthalene Monoimides with DNA. *J. Med. Chem.* **1984**, *27*, 1677-1682.

38. Z. Baharoglu, G. Garriss, D. Mazel, Multiple Pathways of Genome Plasticity Leading to 606 Development of Antibiotic Resistance, *Antibiotics.* **2013**, *2*, 288–315.

39 Cleveland clinic. URL: <https://my.clevelandclinic.org/health/diseases/24401-fungal-infections-mycosis> (19. 7. 2024.)

40. National Institute of Allergy and Infectious Diseases. URL: <https://www.niaid.nih.gov/diseases-conditions/fungal-disease-specific-research> (19. 7. 2024.)

41. K. Gharanjig, A. Khosravi, A. Mahboubi, H. Shaki, Investigation of synthesis, characterization, photophysical and biological properties of novel antimicrobial fluorescent naphthalimide derivatives. *Adv. Perform. Mater.* **2016**, *31*, 322-331.

42. Edinburgh Instruments. URL: <https://www.edinst.com/blog/what-is-the-stokes-shift/> (2. 7. 2024.)
Chemistry LibreTexts. URL: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_\(Physical_and_Theoretical_Chemistry\)/Spectroscopy/Electronic_Spectroscopy/Radiative_Decay/Fluorescence](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Spectroscopy/Electronic_Spectroscopy/Radiative_Decay/Fluorescence) (2. 7. 2024.)

43. T. D. James, L. Jiang, Z. Jiaying, Z. Mingguang, W. Zhuo, G. Yujie, Recent progress in the development of fluorescent probes for imaging pathological oxidative stress. *Chem. Soc. Rev.* **2023**, *52*, 3873-3926.

44. E. M. Abd El-Aal, R. Aneja, G. Ersoy Ozmen, Z. M. Essam, D. Hamekberg, R. R. Hamid, M. Henary, D. Setiawan, Donor acceptor fluorophores: synthesis, optical properties, TD-DFT and cytotoxicity studies. *Org. Biomol. Chem.* **2021**, *19*, 1835-1846.

45. S. P. Bhattacharyya, R. Misra. *Intramolecular Charge Transfer: Theory and Applications*, 1. izdanje. Hoboken: Wiley, **2018**, 1-27.

46. Centers for Disease Control and Prevention. URL: <https://www.cdc.gov/TSP/MMG/MMGDetails.aspx?mmgid=385&toxid=67> (24. 6. 2024.)

47. Wikipedia. URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Hydrogen_sulfide#/media/File:Hydrogen-sulfide-3D-balls.png (24. 6. 2024.)

48. R. Hosoki, H. Kimura, N. Matsuki, The Possible Role of Hydrogen Sulfide as an Endogenous Smooth Muscle Relaxant in Synergy with Nitric Oxide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1997**, *237*, 527-531.
49. M. D. Hartle, M. D. Pluth, A practical guide to working with H₂S at the interface of chemistry and biology. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 6108-6117.
50. U. Barayeu, T. P. Dick, D. Ezerina, B. Pedre, The mechanism of action of N-acetylcysteine (NAC): The emerging role of H₂S and sulfane sulfur species. *Pharmacol. Ther.* **2021**, *228*, 1-22.
51. J.T. Hou, T.-T. Jia, H. Niu, Y. Zhang, S. Wang, H₂S-based fluorescent imaging for pathophysiological processes. *Front. Chem.* **2023**, *11*, 1-18.
52. L. A. Montoya, M. D. Pluth, Selective turn-on fluorescent probes for imaging hydrogen sulfide in living cells. *Chem. Comm.* **2012**, *48*, 4767-4769.
53. L. Zhang, Y. Zhang, A novel "turn-on" fluorescent probe based on hydroxy functionalized naphthalimide as a logic platform for visual recognition of H₂S in environment and living cells. *Spectrochim. Acta. A.* **2020** *235*, 1-8.
54. E. Fu, R. Gong, Z. Li, X. Lou, H. Mu, J. Qin, Displacement method to develop highly sensitive and selective dual chemosensor towards sulfide anion, *Analyst.* **2011**, *136*, 684-687
55. Y. Guo, K. Havener, H. Yu, X. Zheng, W. Zhu, Recent advances in 1,8-naphthalimide-based small-molecule fluorescent probes for organelles imaging and tracking in living cells. *Coord. Chem. Rev.* **2021**, *444*, 1-29.
56. L. Du, R. Han S. Huang, H. Jia, Y. Liu, Y. Liu, Q. Zhuang, New photostable naphthalimide-based fluorescent probe for mitochondrial imaging and tracking. *Biosens. Bioelectron.* **2015**, *71*, 313-321.
57. C. Cao, R. Li, X. Li, Y. Shi, P. Wei, F. Xue, T. Yi Y. Zhong, Ribosomal RNA-Selective Light-Up Fluorescent Probe for RNA Imaging the Nucleolus in Live Cells. *ACS Sens.* **2019**, *4*, 1409-1416.

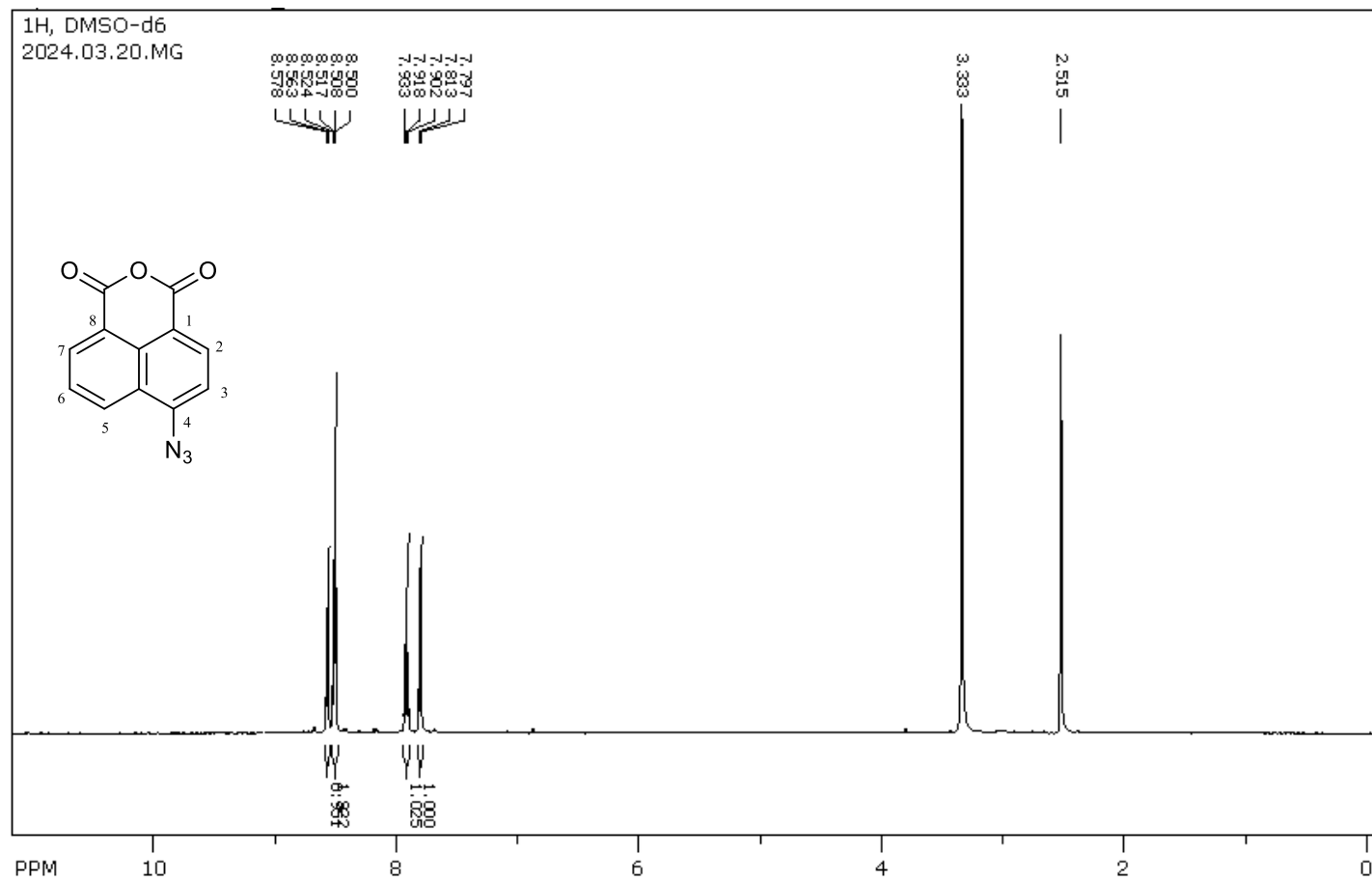
7. PRILOZI

7.1. Popis kratica i simbola

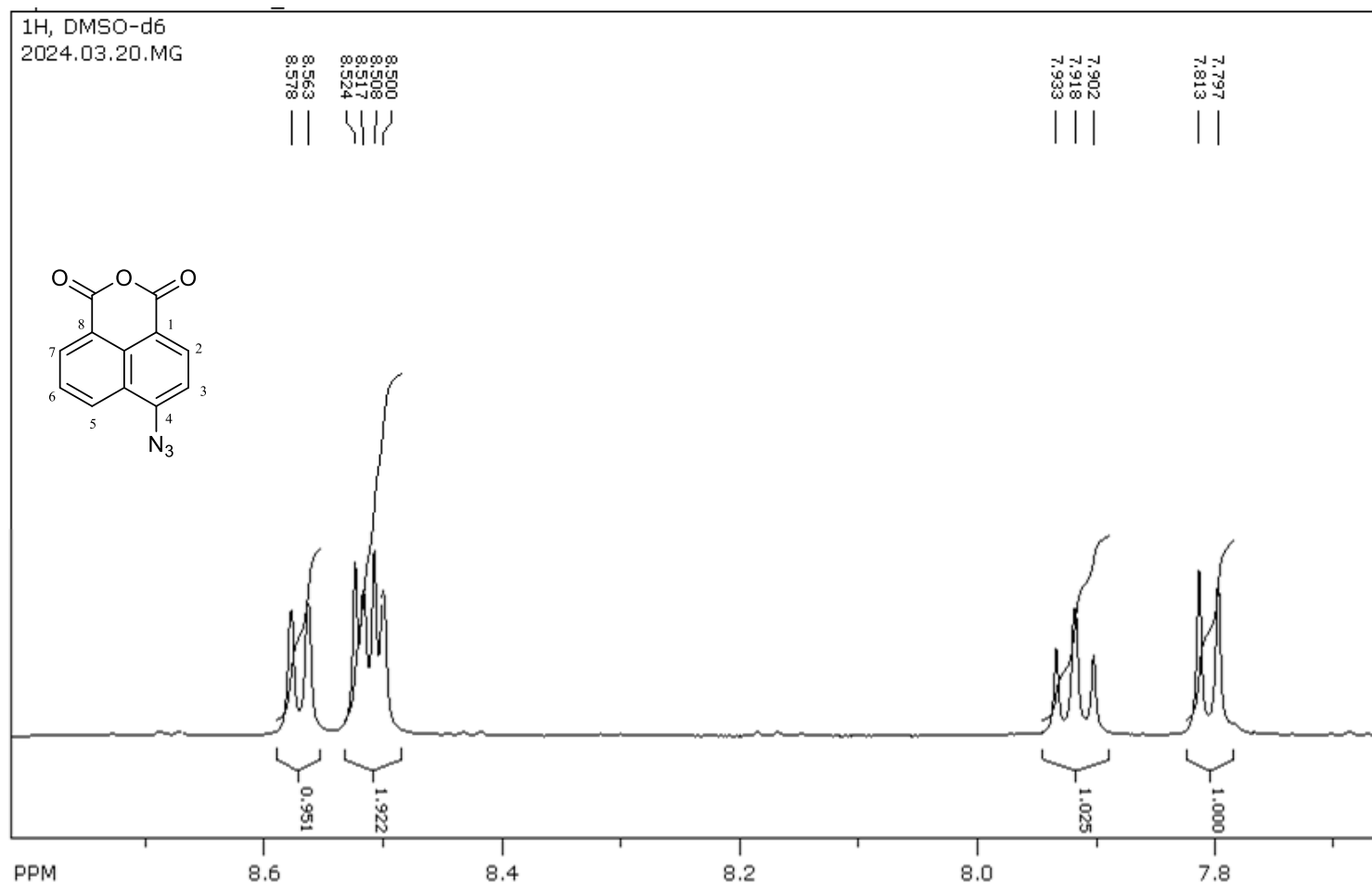
A	Akceptor
APS	Amonijev persulfat
ATP	Adenozin-trifosfat
CO	Ugljikov(II) oksid
D	Donor
d	Dublet
dd	Dublet dubleta
DMF	Dimetilformamid
DMSO	Dimetilsulfoksid
D- π -A	Donor- π -akceptor
Et ₃ N	Trietilamin
EtOAc	Etil-acetat
FeS	Željezov(II) sulfid
HCl	Klorovodična kiselina
H ₂ O ₂	Vodikov peroksid
H ₂ S	Sumporovodik
ICT	Intramolekularni prijenos elektrona (engl. <i>Intramolecular Charge Transfer</i>)
IR	Infracrveno (engl. <i>Infrared</i>)
NaN ₃	Natrijev azid
NMR	Nuklearna magnetska rezonancija
NO	Dušikov(II) oksid

Pd	Paladij
RNS	Reaktivne dušikove vrste (engl. <i>Reactive Nitrogen Species</i>)
ROS	Reaktivne kisikove vrste (engl. <i>Reactive Oxygen Species</i>)
RSS	Reaktivne sumporove vrste (engl. <i>Reactive Sulphur Species</i>)
s	Singlet
S ²⁻	Sulfidni anion
S _N Ar	Nukleofilna aromatska supstitucija
t	Triplet
UV	Ultraljubičasto (engl. <i>Ultraviolet</i>)

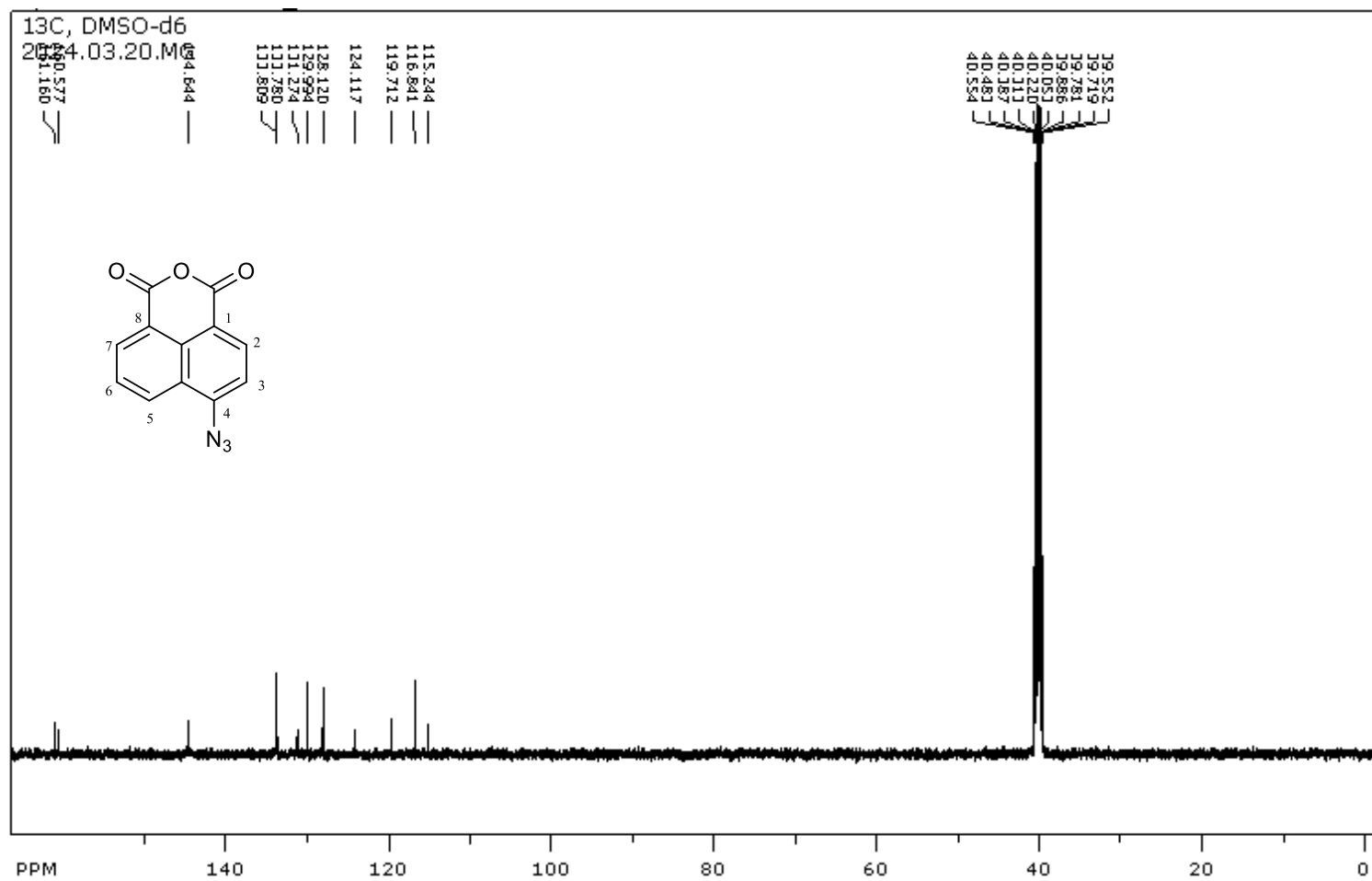
7.2 ^1H i ^{13}C NMR spektri pripravljenih spojeva



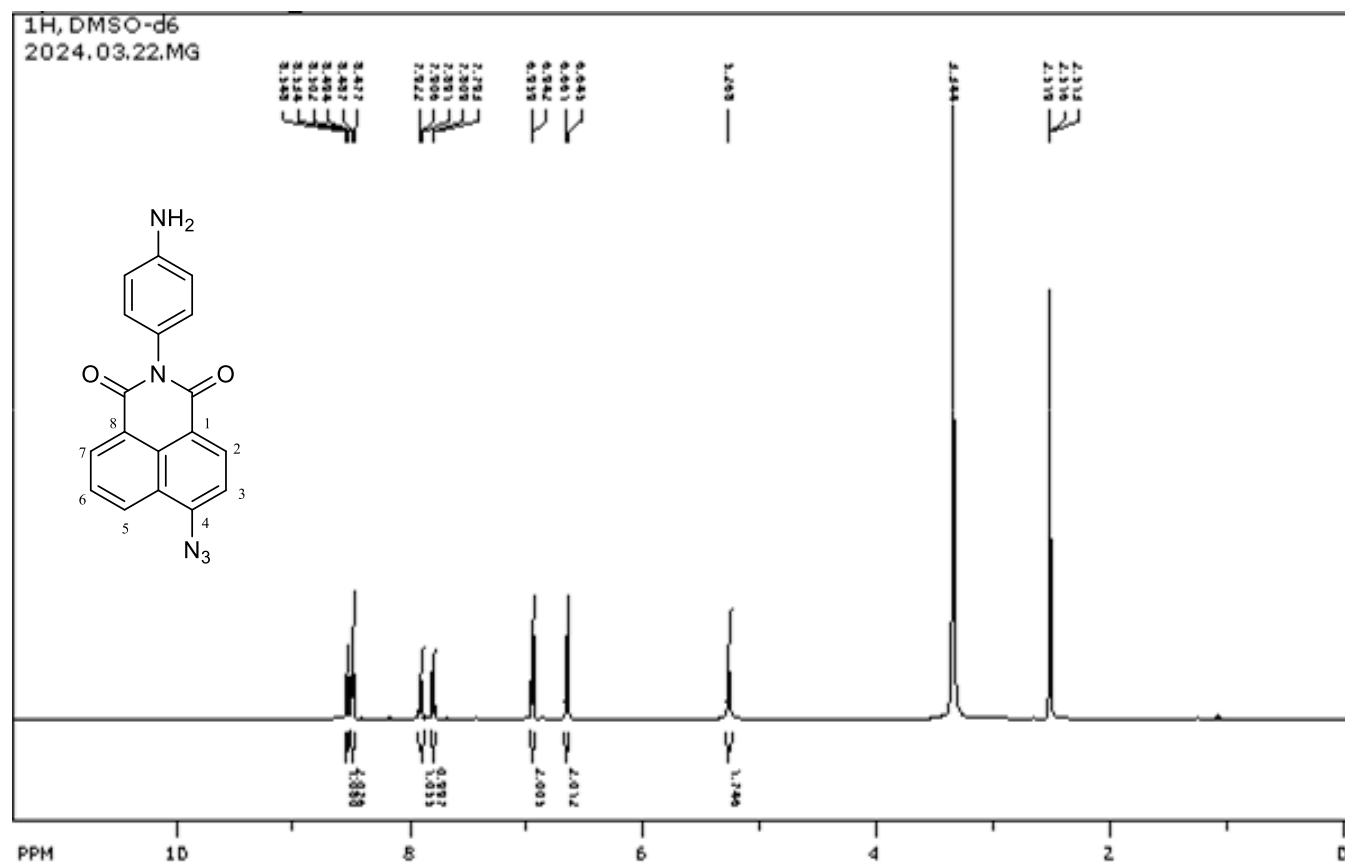
Slika P1. ^1H NMR spektar spoja 1



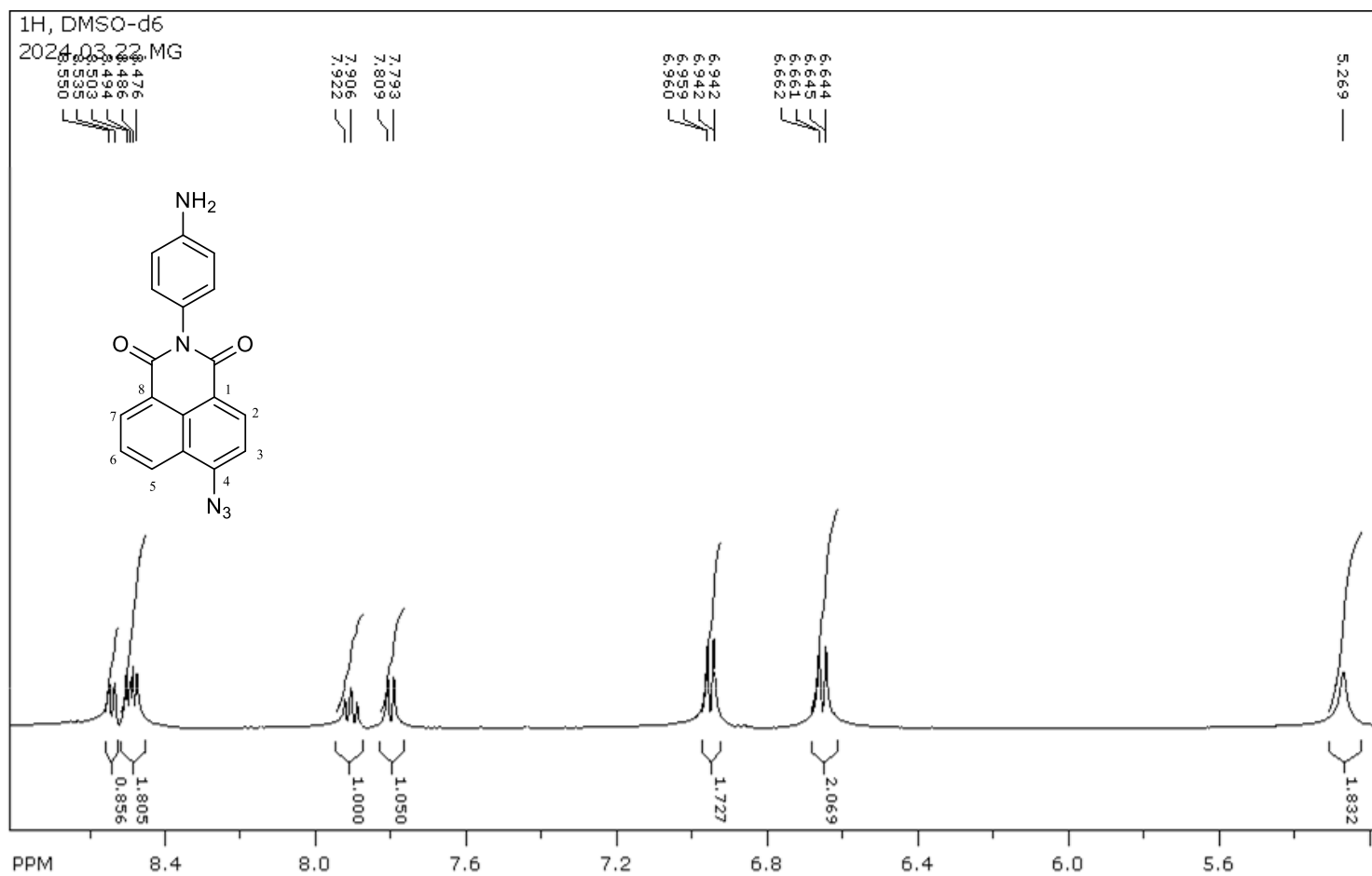
Slika P2. ¹H NMR spektar spoja 1



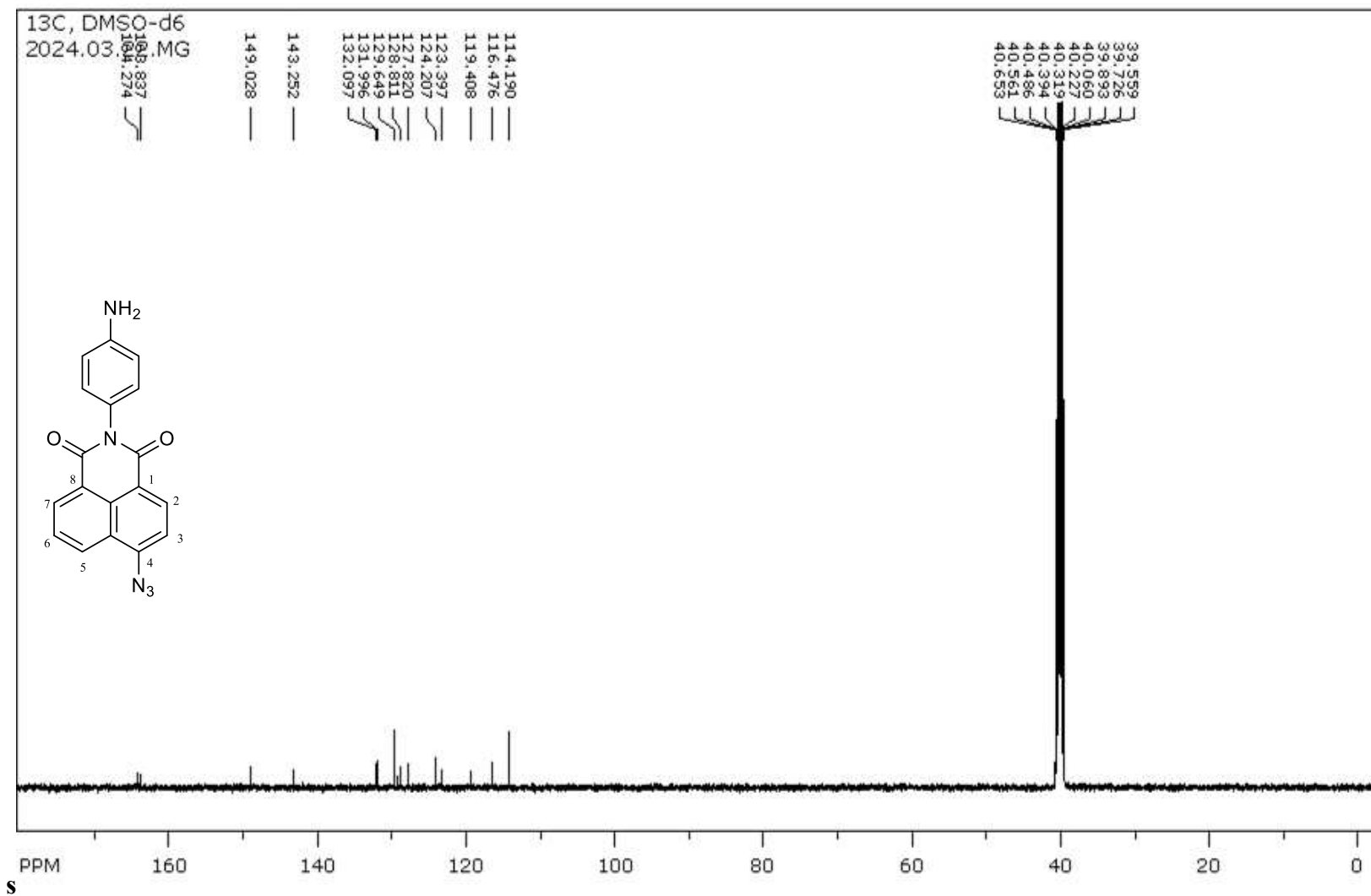
Slika P3. ¹³C NMR spektar spoja 1



Slika P4. ¹H NMR spektar spoja 2



Slika P5. ^1H NMR spektar spoja 2



Slika P6. ¹³C NMR spektar spoja 2