

Priprava i strukturna karakterizacija derivata naftalanhidrida

Šipoš, Filip

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:182:906872>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-07**

Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku – Odjel za kemiju

Sveučilišni prijediplomski studij Kemija

Filip Šipoš

**Priprava i strukturna karakterizacija derivata
naftalanhidrida**

Završni rad

Mentor: 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 I STRUKTURNA KARAKTERIZACIJA DERIVATA NAFTALANHIDRIDA

Filip Šipoš

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

Mentor: doc.dr.sc. Aleksandar Sečenji

Sažetak: U ovome završnom radu opisana je priprava 5,6-diamino-1*H*,3*H*-benzo[de]izokromen-1,3-diona, derivata naftalanhidrida, spoja **3**. Ciljni produkt, spoj **3**, će se koristiti kao polazni spoj za reakciju s alifatskim i aromatskim aminima s ciljem pripreme odgovarajućeg imidnog derivata. Pripremljeni imidni derivat će se u nastavku ovoga istraživanja koristiti kao indikator za određivanje koncentracije selenija. Za pripravu spoja **3**, predložen je sintetski put koji se sastoji od tri reakcijska koraka. U prvom koraku predloženog sintetskog puta, polazni spoj 6-brom-1*H*,3*H*-benzo[de]izokromen-1,3-dion podvrgnut je reakciji elektrofilne aromatske supstitucije pri čemu je uspješno pripremljen nitro derivat, spoj **1**. Drugi korak predloženog sintetskog puta podrazumijeva nukleofilnu aromatsku supstituciju spoja **1**, što rezultira uvođenjem azidne skupine u naftalanhidridnu strukturu, odnosno pripremom spoja **2**. Spoj **2** u svojoj strukturi posjeduje azidnu i nitro skupinu koje su uspješno reducirane u amino skupinu reakcijom katalitičkog hidrogeniranja, a takva reakcija rezultirala je uspješnom pripremom spoja **3**. Strukture pripremljenih spojeva pretpostavljene su ¹H i ¹³CNMR spektroskopijom.

Ključne riječi: derivati naftalanhidrida, fluorescencija, indikator, selenij.

Jezik izvornika: hrvatski jezik

Završni rad obuhvaća: 38 stranica, 26 slika, 1 tablica, 55 literaturnih navoda i 6 priloga

Rad prihvaćen: 12. rujna, 2024.g.

Stručno povjerenstvo za ocjenu rada:

1. izv. prof. dr.sc. Marija Jozanović, predsjednica
2. doc.dr.sc. Aleksandar Sečenji, mentor i član
3. prof. dr.sc. Igor Đerđ, član
4. doc.dr.sc. Ana Amić, zamjena člana

Rad je pohranjen: Knjižnica Odjela za kemiju, Kuhačeva 20, 31000 Osijek

Repozitorij Odjel za kemiju, Osijek

University name: **Josip Juraj Strossmayer 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

SYNTHESIS AND STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF NAPHTHALANNHYDRIDE DERIVATIVES

Filip Šipoš

The paper was created on: Department of Chemistry
Supervisor: Aleksandar Sečenji, PhD, Assistant professor

Abstract: In this thesis preparation of 5,6-diamino-1*H*,3*H*-benzo[de]isochromene-1,3-dione, naphthalic anhydride derivative, compound **3** is described. Compound **3** will be used as a starting compound for the reaction with aliphatic and aromatic amines with the aim of preparation of the corresponding imide derivative. The prepared imide derivative will be used in the continuation of this research as an indicator for determination of selenium concentration. A synthetic route consisting of three reaction steps was proposed. In the first step of the proposed synthetic route, the starting compound 6-bromo-1*H*,3*H*-benzo[de]isochromene-1,3-dione was subjected to an electrophilic aromatic substitution reaction, during which the nitro derivative, compound **1**, was successfully prepared. The second step of the proposed synthetic route implied the nucleophilic aromatic substitution of compound **1**, which resulted in the introduction of an azide group into the naphthalene anhydride structure, respectively preparation of compound **2**. Compound **2** possess an azide and nitro group in its structure which were successfully reduced to a vicinal amino groups by a catalytic hydrogenation reaction. This reaction resulted in formation of compound **3**. The structures of the prepared compounds were assumed by ¹H and ¹³CNMR spectroscopy.

Keywords: naphthalanhydride derivatives, fluorescence, indicator, selenium.

Original language: Croatian language

Thesis includes: 38 pages, 27 figures, 1 table, 55 references and 6 attachments

Thesis accepted: 12 september 2024

Reviewers:

1. Marija Jozanović, associate professor, chairman
2. Aleksandar Sečenji, assistant professor, mentor and member
3. Igor Đerđ, full professor, member
4. Ana Amić, assistant professor, 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	3
2.1. Selenij	3
2.1.1. Biološka važnost selenija	5
2.1.2. Određivanje koncentracije selenija	5
2.1.2.1. Atomska apsorpcijska spektroskopija (AAS)	6
2.1.2.2. Spektrofluorimetrija	7
2.1.2.2.1. Fluorescentni indikatori za određivanje koncentracije selenija	7
2.2. Strukturna modifikacija 4-brom-1,8-naftalanhidrida	10
2.2.1. Elektrofилна aromatska supstitucija	10
2.2.1.1. Reakcije nitriranja	11
2.2.2. Nukleofilna aromatska supstitucija	16
2.2.2.1. Reakcije azidiranja	17
2.2.3. Hidrogeniranje nitro skupina	18
2.2.4. Hidrogeniranje azido skupina	21
3. EKSPERIMENTALNI PODATCI	25
3.1. Materijali i metode	25
3.2. Priprava derivata 4-brom-1,8-naftalanhidrida	25
3.2.1. Priprava 6-brom-5-nitro-1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> ,-benzo[de]izokromen-1,3-diona (1)	25
3.2.2. Priprava 6-azido-5-nitro-1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> ,-benzo[de]izokromen-1,3-diona (2)	26
3.2.3. Priprava 5,6-diamino-1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> -benzo[de]izokromen-1,3-diona (3)	27
3.2.4. Pokušaj pripreve spoja 3 redukcijom uz SnCl ₂	27
4. REZULTATI I RASPRAVA	28
4.1. Uvod	28
4.2. Priprava derivata naftalanhidrida	29
4.2.1. Priprava 6-brom-5-nitro-1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> ,-benzo[de]izokromen-1,3-diona (1)	29
4.2.2. Priprava 6-azido-5-nitro-1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> ,-benzo[de]izokromen-1,3-diona (2)	30
4.2.3. Priprava 5,6-diamino-1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> -benzo[de]izokromen-1,3-diona (3)	31
5. ZAKLJUČAK	33
6. POPIS LITERATURE	34
7. PRILOZI	I
7.1. Popis kratica i simbola	I
7.2. NMR spektri pripremljenih spojeva	III

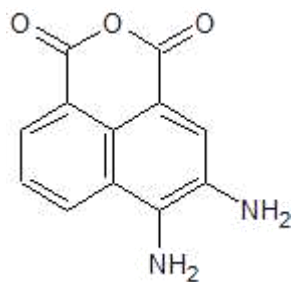
1. UVOD

Selenij je kemijski element 16. skupine periodnog sustava elemenata te biogeni element u tragovima. Kao biogeni element, sudjeluje u brojnim biokemijskim reakcijama a osim toga ima učinak na zdravlje čovjeka. Određivanje koncentracije selenija u različitim biološkim uzorcima od iznimne je važnosti. Kao i svaki element, selenij ima pozitivne i negativne učinke. Niske doze selenija potrebne su za održavanje dobrog zdravlja. Naprotiv, izloženost visokim koncentracijama može uzrokovati štetne učinke na zdravlje. Razvijanjem znanosti usavršene su brojne metode određivanja koncentracije selenija u raznim uzorcima kao što su atomska apsorpcijska spektroskopija i fluorimetrija [1]. Međutim, kako bi se odredile vrlo niske razine selenija u tijelu, potrebne su nove metode koje će biti selektivnije i osjetljivije od postojećih [1, 2].

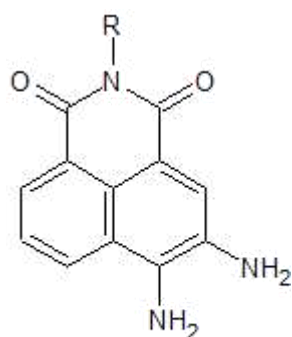
Najčešće korištena metoda za određivanje koncentracije selenija je atomska apsorpcijska spektroskopija (AAS). Ova relativno jednostavna, brza, osjetljiva i precizna tehnika ima i nedostatke, naime ne može detektirati nemetale, destruktivna je, ima ograničenu osjetljivost pri vrlo niskim koncentracijama selenija te prisutnost drugih tvari u uzorku može utjecati na rezultate mjerenja [3]. Prema tome, fluorimetrijsko određivanje koncentracije selenija nudi značajne prednosti, omogućuje detekciju vrlo niskih koncentracija selenija, veću selektivnost te simultanu analizu više elemenata. Najzastupljeniji fluorescentni indikator za određivanje koncentracije selenija je 2,3-diaminonaftalen (DAN). Općenito, prednosti fluorimetrijske metode su jednostavnost, raznolikost upotrebe te mogućnost određivanja velikog broja različitih analita. No, uz navedene prednosti, fluorimetrijske metode pokazuju i određene nedostatke među kojima se može izdvojiti izostanak selektivnosti i osjetljivosti postojećih fluorescentnih indikatora te slaba topljivost u vodi što ograničava njihovu upotrebu u analizi bioloških uzoraka. Upravo zbog navedenih razloga fluorimetrijsko određivanje koncentracije selenija ne može u potpunosti zamijeniti AAS [4].

Cilj ovoga rada jest priprava indikatora čija je funkcija detekcija selenija. Formiranjem kompleksa sa selenijem, indikator pokazuje svojstvo fluorescencije, te se može koristiti za njegovu kvantifikaciju. Kao polazni spoj za pripravu ciljnog spoja **3** (slika 1), odabran je 4-brom-1,8-naftalanhidrid. Za pripravu ciljnog spoja **3**, predložen je sintetski put koji je uključio nitriranje 4-brom-1,8-naftalanhidrida, supstituciju atoma broma azidnom skupinom, te u konačnici redukciju nitro i azidne skupine katalitičkim hidrogeniranjem. Ciljni produkt **3** u

nastavku istraživanja koristit će se za pripremu odgovarajućeg imidnog derivata (slika 2), koji će se u konačnici koristiti za određivanje koncentracije selenija.



Slika 1. Strukturna formula molekule ciljnog produkta **3**



R= alkil, arilamid

Slika 2. Strukturna formula imidnog derivata

2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Selenij

Selenij (Se) je kemijski element atomskog broja 34, smješten je u 16. skupini i 4. periodu periodnog sustava elemenata. Selenij (tablica 1.) pripada metaloidima zbog svojih karakteristika metala i nemetala, s atomskom masom od 78,96 Da. Gustoća selenija je 4,809 g/cm³, a pri sobnoj temperaturi je krutina. Elementarni selenij je relativno netoksičan, tek u većim koncentracijama je otrovan. Selenij ima četiri oksidacijska stanja: -II, I, II i IV [5]. U oksidacijskom stanju -II selenij postoji kao vodikov selenid, H₂Se, koji je otrovan plin na sobnoj temperaturi, a termodinamički je nestabilan u vodenim otopinama. Nadalje, pojavljuje se u obliku selenida, soli selenija, s teških metalima pri čemu nastaju jedne od najteže topljivih soli u tlima.

Elementarni selenij, Se⁰, postoji samo u nekolicini alotropnih oblika. Vrlo je stabilan i netopljiv, ali može imati koloidne oblike. Selenij u +IV stanju javlja se kao selenit (HSeO₃⁻ ili SeO₃²⁻) u prirodnim medijima. Selenij u +VI stanju ili selenat (SeO₄²⁻) je stabilan u alkalnim i oksidacijskim uvjetima. Relativna važnost ovih različitih oksidacijskih stanja je različita u prirodnim uvjetima u okolišu [3]. U prirodi, selenij se rijetko nalazi u elementarnom stanju, uglavnom je dio minerala kao što su CuAgSe i CuThSe [6]. Otkrio ga je švedski kemičar J. J. Berzelius 1817. godine, uz pomoć švedskog kemičara J. G. Gahnoma, nakon postupka dobivanja sumporne kiseline u olovnim komorama. Zagrijavanjem sumpora nastao je crvenkasti talog kojega su analizirali uz pomoć različitih analitičkih tehnika. Prvi rezultati analize su pokazali da bi talog mogao potencijalno sadržavati telurij, ali ponavljanjem eksperimenta je zaključeno kako se radi o novom kemijskom elementu. Novi kemijski element imao je svojstva metala i nalikovao je sumporu. Imao je miris po hrenu, kao i tipičan miris telurija, gorio je plavim plamenom i imao je sivi sjaj. Berzelius je novi element nazvao selenij prema grčkoj riječi za mjesec, selene. Ustanovio je svojstva elementa i svojstva spojeva s metalima, kisikom, vodikom, sumporom, fosforom te različitim solima kako bi potvrdio da se radi o novom kemijskom elementu. Danas mu je glavni izvor anodni mulj koji nastaje pri elektrolitičkom dobivanju bakra. Selenij se industrijski najčešće dobiva iz minerala selenida iz ruda bakra, srebra ili olova te nastaje kao nusprodukt u obradi ovih ruda. Također nastaje u proizvodnji sumporne kiseline.

ATOMSKI BROJ**34**

ATOMSKA MASA	78,963 Da
ELEKTRONSKA KONFIGURACIJA	[Ar] 4s ² 4p ⁴
ATOMSKI RADIJUS	103 pm
KOVALENTNI RADIJUS	116 pm
VAN DER WAALSOV RADIJUS	190 pm
UOBIČAJENA OKSIDACIJSKA STANJA	-2, 0, +4, +6
ENERGIJA VEZE M-M	44 kcal/mol
ENERGIJA VEZE M-M	67 kcal/mol
IONIZACIJSKI POTENCIJAL	1. 941,0 kJ/mol 2. 2045,0 kJ/mol 3. 2973,7 kJ/mol
ELEKTRONSKI AFINITET	-4,21 eV
ELEKTRONEGATIVNOST (PAULINGOVA SKALA)	2,55
TEMPERATURA TALIŠTA	494 K, 221°C
TEMPERATURA VRELIŠTA	958 K, 685°C

Tablica 1. Atomske i fizikalne karakteristike selenija [7]

Prirodni izotopi selenija su: ⁷⁴Se, ⁷⁶Se, ⁷⁷Se, ⁷⁸Se, ⁸⁰Se i ⁸²Se. Selenij ima tri alotropske modifikacije: amorfni crni selenij, metalni sivi selenij te amorfni crveni selenij. Oni imaju različite molekulske oblike zbog čega imaju različita fizikalna svojstva. Metalni sivi selenij je stabilan zbog svoje kristalno heksagonalne strukture, a crveni amorfni selenij nema kristalnu strukturu. Najvećim dijelom selenij se dobiva procesom elektrolitičkog oplemenjivanja bakra pri čemu nastaje amorfni crveni selenij [8].

2.1.1. Biološka važnost selenija

Selenij se smatra esencijalnim za stanice većine životinja, budući da se nalazi u strukturi enzima glutation peroksidaze i tioredoksina reduktaze, kao i tri enzima dejodinaze, koji su sastavni dio hormona štitnjače [7]. Selenij se nalazi kao komponenta u proteinima selenoprotein N (SePN) i selenoprotein P (SePP) [9]. SePP se nalazi u plazmi i najzastupljeniji je protein koji sadrži selenij. Pri nedostatku selenija i nedostatku SePN, može doći do raznih poremećaja kao što su distrofija mišića kralježnice i miopatija. Otkriveno je kako su miopatije uzrokovane nedostatkom SePN povezane s atrofijom ili slabosti mišića, dišnim problemima i skoliozom [7]. Selenij je mikronutrijent koji se može koristiti u prevenciji i liječenju bolesti. Također, selenij ima velik utjecaj na uništavanje tumorskih stanica. Selenij pozitivno utječe na stvaranje superoksidnih radikala uz ili u mitohondriju što posljedično dovodi do apoptoze i smrti stanice tumora [10, 11].

Wang i suradnici [12] otkrili su na laboratorijskim miševima kako metilirani selenijevi spojevi, metilselenocistein i metilselenska kiselina, inhibiraju rast i metastaziranje tumora prostate i produžuju životni vijek tijekom liječenja tumora. Nadalje, Ishrat i suradnici [13] ustanovili su na štakorima koji imaju sporadičnu demenciju Alzheimerovog tipa da je dodatak selenita uklonio oksidativni stres, morfološke promjene štakora uzrokovane demencijom i pad kognitivnih sposobnosti. Daljnji utjecaj selenija na neurodegenerativne poremećaje utvrdili su van Eersel i suradnici [14] spoznajom da selenat smanjuje gubitak memorije i motorna ograničenja tijela. Osim što utječe na stanice tumora i živčane poremećaje, selenij se također koristi kao antidot za intoksikaciju živom u tijelu na način da smanjuje taloženje žive u tkivu [15]. Unos selenija varira diljem svijeta (7–4990 mg dnevno) i često ovisi o sadržaju selenija u tlima na kojima se uzgajaju usjevi. Prosječno preporučeni dnevni unos selenija za odrasle je 53 mg dnevno za žene i 60 mg dnevno za muškarce [16].

Zbog nedostatka selenija može doći i do pojave kardiovaskularnih bolesti, te slabljenja imunskog sustava. Nedostatak selenija također uzrokuje nemogućnost proliferacije stanice te posljedično smrt [17]. Višak selenija u organizmu može uzrokovati selenozu to jest kronično trovanje selenijem, čiji simptomi mogu uključivati smetnje u gastrointestinalnom sistemu, lezije kože, gubitak kose i noktiju, a u ekstremnim slučajevima i neurološke poremećaje [9, 10].

2.1.2. Određivanje koncentracije selenija

Određivanje koncentracije selenija u različitim uzorcima (biološkim, prehrambenim, industrijskim, okolišnim) ključno je zbog njegovog biološkog značaja i potencijalne

toksičnosti. Postoji nekoliko analitičkih metoda koji se koriste za određivanje koncentracija selenija, a dvije najčešće korištene metode su izdvojene i opisane u okviru ovoga poglavlja.

2.1.2.1. Atomska apsorpcijska spektroskopija (AAS)

Atomska apsorpcijska spektroskopija (AAS) relativno je jednostavna, brza, osjetljiva te precizna tehnika koja je zamijenila analitičke metode poput kalorimetrije i fluorimetrije. Usprkos dostupnim osjetljivijim metodama kao što su analiza neutronske aktivacije ili masena spektrometrija AAS je i dalje ostala atraktivan način metode kvantifikacije elemenata. Navedene metode zahtijevaju skupu opremu i nisu lako dostupne većini analitičkih laboratorija. Budući da su koncentracije selenija u bioloških uzorcima niske, teško je odrediti točnu koncentraciju elementa bez prvotne pripreme uzorka radi lakšeg određivanja koncentracije. Procesom generiranja hidrida (engl. *hydride generation*) povećava se osjetljivost AAS na selenij smanjenjem granice detekcije [18, 19]. Generiranje hidrida je postalo jedno od najmoćnijih i dobro utvrđenih tehnika za određivanje arsena, antinoma, bizmuta, germanija, olova, selenija, telura, kositra, indija i talija. Hegedűs i suradnici [20] odredili su koncentraciju selenija u rajčicama putem metode generiranja hidrida. Minerali koji sadrže selenij nakon digestije rajčice su u okrugloj tikvici razoreni sa 4 mL 7 mol/L HCl te su zagrijavani 30 min na 80 °C, a nakon hlađenja dodana je 1,7 mol/L HCl do oznake na tikvici [20]. Dobivena vrijednost za količinu selenija iznosila je 0,021 mg/L što je u skladu sa literaturno opisanim vrijednostima [20].

Li i suradnici [21] određivali su razinu selenija u serumu austrijskih i slovenskih trudnica prije poroda te njihovih novorođenčadi pomoću AAS generiranjem hidrida protočnim injektiranjem (engl. *flow injection-hydride generation AAS*, FI-HG-AAS). Digestija seruma odrađena je pomoću 65 % HNO₃ i 30 % H₂O₂ pri čemu su uzorci digestirani u mikrovalnoj peći u rasponu 250–600 W te su nakon hlađenja tretirani sa 32 % HCl [21]. Ustanovljeno je kako je količina selenija kod austrijskih trudnica 71 ± 14 µg/L, a kod novorođenčadi 42 ± 6 µg/L. U slučaju slovenskih trudnica količina selenija je 62 ± 15 µg/L, dok je kod novorođenčadi 34 ± 7 µg/L [21]. Zaključeno je kako su trudnice prije poroda imaju veće količine selenija nego novorođenčad [21]. Također, preračunavanjem količine selenija u tijelu izračunate su količine selenija koje se unose u tijelo te one iznose 46 µg/dan kod austrijskih trudnica i 32 µg/dan kod slovenskih trudnica [21]. AAS metodom ne mogu se direktno odrediti koncentracije Se(IV) i Se(VI) nego indirektno korištenjem različitih koncentracija HCl i natrijevog borhidrida, NaBH₄, za redukciju Se(VI) u Se(IV) [22]. Korištenjem NaBH₄ u HG-AAS metodi Se(IV) se detektira u obliku H₂Se dok se Se(VI) izračuna nakon redukcije iz razlike ukupne količine

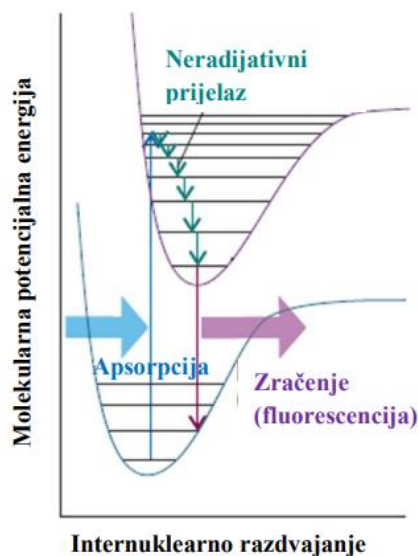
selenija [22]. Carrero i suradnici [23] odredili su koncentraciju selenija u riječnoj (Fort) i jezerskoj (Puffers Pond) vodi i vodi iz slavine (Amherst) pomoću HG-AAS metode. Uzorci vode tretirani su sa 0,05 % NaBH₄, mineralizirani te otopljeni u 4 mol/L HCl. Rezultati analize pokazali su da je koncentracija selenija u jezerskoj vodi i vodi iz slavine ispod granice detekcije za selenij koja iznosi 0,12 µg/L, dok je u riječnoj vodi izmjerena koncentracija od 0,14 ± 0,01 µg/L [23].

2.1.2.2. Spektrofluorimetrija

Spektrofluorimetrija je visoko osjetljiva analitička tehnika koja se koristi za kvantitativno određivanje koncentracija selenija u različitim uzorcima. Temelji se na principu ekscitacije molekula fluorescentnog indikatora pomoću svjetlosti određene valne duljine i mjerenju intenziteta emitirane fluorescentne svjetlosti, koja je proporcionalna koncentraciji analita. Kada je selenij prisutan u uzorku, reagira s fluorescentnim indikatorom, kao što je DAN, stvarajući kompleks koji emitira fluorescentnu svjetlost kada je ozračen svjetlom određene valne duljine. Intenzitet emitirane svjetlosti mjeri se pomoću spektrofluorimetra i koristi se za izračunavanje koncentracije selenija u uzorku. Spektrofluorimetrijom mogu se detektirati vrlo niske koncentracije selenija, što je korisno u određivanju tragova analita. Korištenjem specifičnih fluorescentnih indikatora, spektrofluorimetrija može biti visoko selektivna za selenij, čak i u prisutnosti drugih elemenata. Nadalje, omogućava brzo određivanje koncentracije selenija, što je ključno za analizu velikog broja uzoraka u kratkom vremenskom razdoblju.

2.1.2.2.1. Fluorescentni indikatori za određivanje koncentracije selenija

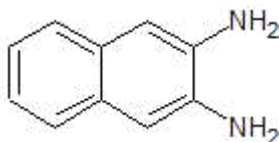
Fluorescencija je oblik fotoluminiscencije, odnosno posljedica obasjavanja tvari svjetlošću svih valnih duljina. Pobuđene vrste vraćaju se u osnovno stanje otpuštanjem jednog dijela energije u obliku fotona (slika 3) [24]. Iako selenij ima mnoga svojstva, sam po sebi nije fluorescentan, pa je potrebno dodati reagens koji će s njim stvoriti fluorescentan spoj kako bi se mogao analizirati fluorescentnom spektrometrijom.



Slika 3. Koraci koji dovode do pojave fluorescencije (preuzeto i prilagođeno iz [25])

Nakon početne apsorpcije, molekula prelazi iz osnovnog u pobuđeno elektronsko stanje. Zatim pobuđena molekula može gubiti energiju neradijacijskim prijelazom. Unutrašnja konverzija u sudarima s drugim molekulama u, gornjim vibracijskim razinama, predaje energiju susjednim molekulama te prelazi u najnižu vibracijsku razinu pobuđenog stanja. Fluorescencija se javlja pri nižim frekvencijama, odnosno pri višim valnim duljinama od induciranog zračenja jer se prijelaz emisije odvija nakon što se dio vibracijske energije otpustio u okolinu [25]. Kada su na apsorpcijskom dijagramu fluorescencijske i apsorpcijske valne duljine jednake, linije kojima su označene nazivaju se rezonancijskim linijama. Fluorescencijske vrpce molekulskih vrsta su uobičajeno sastavljene od linija većih valnih duljina, odnosno manjih frekvencija. Takav pomak prema valnim duljinama većih vrijednosti naziva se Stokesovim pomakom [24]. Budući da je fluorescencija jedan od mehanizama povratka molekule u osnovno stanje, sve molekule koje apsorbiraju energiju mogle bi potencijalno fluorescirati. Međutim, mogućnost fluoresciranja ovisi o strukturi molekule. Aromatski spojevi imaju najintenzivnije fluorescencijske emisije i stoga se najčešće upotrebljavaju u analizama. Fluorescencija nesupstituiranih aromatskih ugljikovodika se može povećati povećanjem broja aromatskih prstenova te stupnjem kondenzacije. Pomaci u valnim duljinama apsorpcijskih i fluorescencijskih maksimuma uzrokovani su supstitucijama na aromatskom prstenu. Na povećanje fluorescencijske djelotvornosti utječe i rigidnost strukture molekula, jer rigidnost smanjuje brzinu relaksacije bez pojave zračenja [24].

Jedan od najčešće korištenih fluorescentnih indikatora za određivanje koncentracije selenija je DAN (slika 4). Ovaj spoj reagira sa selenijem pri čemu nastaje fluorescentni derivat koji se može kvantitativno analizirati pomoću spektrofluorimetrije. Hubert i suradnici [26] razvili su metodu za determinaciju selenija u hrani i biološkim materijalima. Metoda uključuje razgradnju uzorka u zatvorenom sustavu pri 150 °C uz dušičnu kiselinu, razgradnju uz perklornu kiselinu, redukciju selenija do tetravalentnog stanja s klorovodičnom kiselinom pri čemu dolazi do formiranja kompleksa selenija s DAN-om i ekstrakciju u jednom koraku [26]. Analizirani su uzorci mlijeka u prahu, špinata, listovi rajčice, paprenjak, morske biljke, rižino brašno, brašno od žita, goveđa jetra i kopepadi (veslonošci) [26]. Rezultati analize pokazali su kako mlijeko u prahu sadrži najmanju količinu selenija, 0,031 µg/g, dok najveću količinu selenija sadrže kopepadi, 3,002 µg/g [26]. Nadalje, DAN se koristi također u određivanju količine selenija u prirodnim vodama što su pokazali Takayanagi i suradnici [27]. Selenij je iz uzoraka Sargaškog mora ekstrahiran pomoću 1-pirolidintiokarbamata u kloroformu te u dušičnoj kiselini [27]. Zatim je selenij kompleksiran s DAN-om te je određen fluorimetrijski [27]. Analizom je utvrđeno da je količina selenija u Sargaškom moru na dubinama 0–500 m 500 pmol/kg, dok je na dubinama 1000–2000 m 1000 pmol/kg [27].



Slika 4. Strukturna formula 2,3-diaminonaftalena [28]

Liang i suradnici [29] opisali su novi tip fluorescentnog nanomaterijala, fluorescentnu nanosonda, koja ima mogućnost ciljane inducirane signalizacije za „in situ“ detekcije selenija. Ova nanosonda je dizajnirana imobilizacijom velikog broja 3,3'-diaminobenzidina (DAB) na površinu nanočestica silicija modificiranih karboksilnom skupinom. DAB molekule stvaraju sitne fluorescencijske signale iz razloga što DAB nema dovoljno konjugirane planarne π veze [29]. Nakon reakcije sa selenijem(IV), nastaje fluorescentni kompleks DAB-Se, 3,4'-diaminofenilpiaszelenol [29]. Intenzitet fluorescencije ovisi o koncentraciji selenija vezanog na nanočesticu, a nanočestica je pokazala niske ili 0,00 fluorescencijske signale u odsutnosti selenija [29].

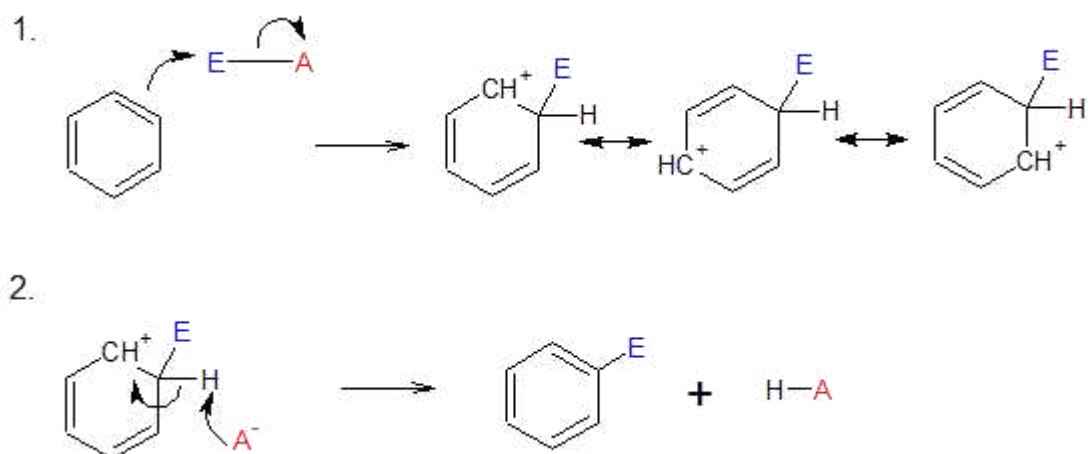
Imai i suradnici [30] proučavali su mogućnost fluorescencije kompleksnog spoja selenija i monoklorbimana (MCB). Vezanjem MCB-a na glutation, GSH, nastaje fluorescentni konjugat bisman-GSH [30]. Cilj ovog rada bio je stvoriti kompleks MCB i selenocisteina, *sin*-(metil, metil)biman, pomoću kojeg će se odrediti koncentracija selenija [30]. Sintetizirani kompleks podvrgnut je fluorimetrijskoj analizi pri čemu je ustanovljena linearna ovisnost koncentracije selenija o intenzitetu fluorescencije pri nano- i mikromolarnom rasponu, što ovu metodu određivanja selenija čini kvantitativnom i visoko osjetljivom [30]. Nova metoda primijenjena je na određivanje koncentracije selenija u Hepal-6 stanicama te je ustanovljeno da je koncentracija selenija 1200 nmol/L [30].

Shi i suradnici [31] opisali su način određivanja koncentracije selenija u biljci *Cardamine violifolia* pomoću g-C₃N₄-MnO₂ nanoploča. Selenij se u biljci nalazi u obliku *L*-selenij-metilselenocisteinu (*L*-SeMC) koji reagira sa vezanim MnO₂ na površini nanoploča pri čemu dolazi do redukcije MnO₂ u Mn²⁺ [31]. Kada je Mn²⁺ oblik vezan na nanoploče moguć je fluorescencijski efekt čiji je intenzitet linearno ovisan o koncentraciji *L*-SeMC [31]. U rasponu 0–45 µg/mL postignut je linearni odziv te se da zaključiti kako je predložena metoda idealna za određivanje koncentracija selenija u stanicama gdje su koncentracije selenija manje [31].

2.2. Strukturna modifikacija 4-brom-1,8-naftalanhidrida

2.2.1. Elektrofилna aromatska supstitucija

Elektrofилna aromatska supstitucija (EAS) je reakcija supstitucije u kojoj se funkcionalna skupina na aromatskome prstenu zamjenjuje elektrofилnim atomom ili skupinom. Elektrofил je atom ili molekula koja ima malu elektronsku gustoću, tj. može imati cijeli ili parcijalan pozitivan naboj ili može biti neutralno nabijena vrsta. Može prihvatiti elektrone iz vrsta bogatih elektronima. Pozitivno nabijen elektrofил privlači elektrone kako bi neutralizirao naboj. Neutralne vrste mogu vezati elektrone kako bi popunili slobodne *p*-orbitale i stvorile stabilnu elektronsku konfiguraciju okteta. Mehanizam reakcije elektrofилne aromatske supstitucije može se objasniti na primjeru benzena. Benzen reagira s elektrofилom koristeći dva π elektrona te je prvi korak adicija na dvostruku vezu. Različito od adicije, benzenski prsten dalje reagira tako da obnovi veoma stabilni aromatski sustav. U prvom koraku (slika 5) elektrofил reagira s dva π elektrona iz aromatskog prstena i nastaje arenijev ion koji je stabiliziran rezonancijom (delokaliziran naboj). U drugom koraku uklanja se proton i obnavlja aromatski sustav [32].



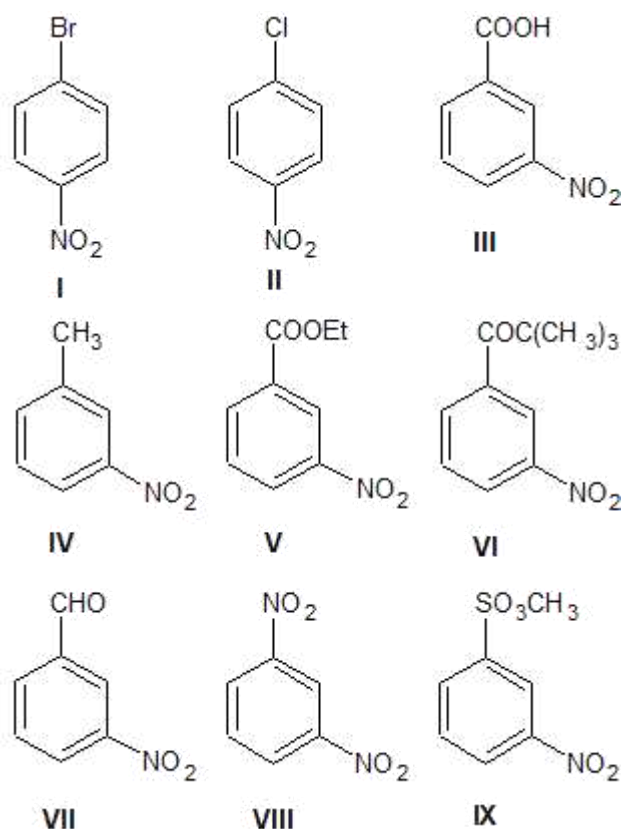
Slika 5. Koraci mehanizma elektrofilne aromatske supstitucije [32]

2.2.1.1. Reakcije nitiranja

Nitro skupina u aromatski sustav uvodi se reakcijom elektrofilne aromatske supstitucije. Kao izvor nitro skupine koristi se dušična kiselina. Sama dušična kiselina nije dobar elektrofil zbog velike elektronske gustoće kisikovih atoma oko atoma dušika. Iz tog razloga se koristi koncentrirana sumporna kiselina koja dehidratizira dušičnu kiselinu pri čemu nastaje snažni nitro elektrofil, NO_2^+ [32]. Dušikov atom nitro skupine vezat će π -elektroni aromatskog benzenskog prstena što dovodi do stvaranja delokaliziranog pozitivnog naboja unutar benzenskog prstena i nitro skupine. Kako bi se obnovio aromatski sustav benzena uklanja se vodikov atom s ugljikovog atoma gdje je vezana nitro skupina pomoću nukleofilnog hidrogensulfatnog iona. Nitro skupine se mogu lako reducirati u amino ($-\text{NH}_2$) skupine te se često proces nitiranja koristi za uvođenje amino skupine na aromatsku jezgru [32]. Sustavi nitiranja s miješanim kiselinama imaju mnogo nedostataka. Nisu selektivni, naročito ako je *para*-izomer komercijalno više poželjniji izomer, jako su korozivni i koriste se u suvišku, često dolazi do nastanka polinitiranih produkata ili do nastanka oksidiranih nusprodukata. Uz navedeno nakon završetka reakcije pripremljeni produkt se ispire vodom što rezultira nastankom ekološki neprihvatljivog anorganskog kiselinskog otpada. Prema tome, postoji velika potreba za novim metodama nitiranja koje nadilaze opisane nedostatke.

Wu i suradnici [33] mehanokemijskom metodom nitirali su deaktivirane derivate benzena pri čemu su nastale smjese *ortho*-, *meta*- i *para*- izomera benzenskih derivata. Benzojeva kiselina podvrgnuta je kugličnom mlinu visoke brzine (engl. *high-speed ball milling*, HSBM) sa željezovim(III) nitratom nonahidratom, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \times 9\text{H}_2\text{O}$, kao izvorom nitro skupine te fosforovim(V) oksidom, P_2O_5 , kao reagensom pri uvjetima od 6 h i frekvencijom

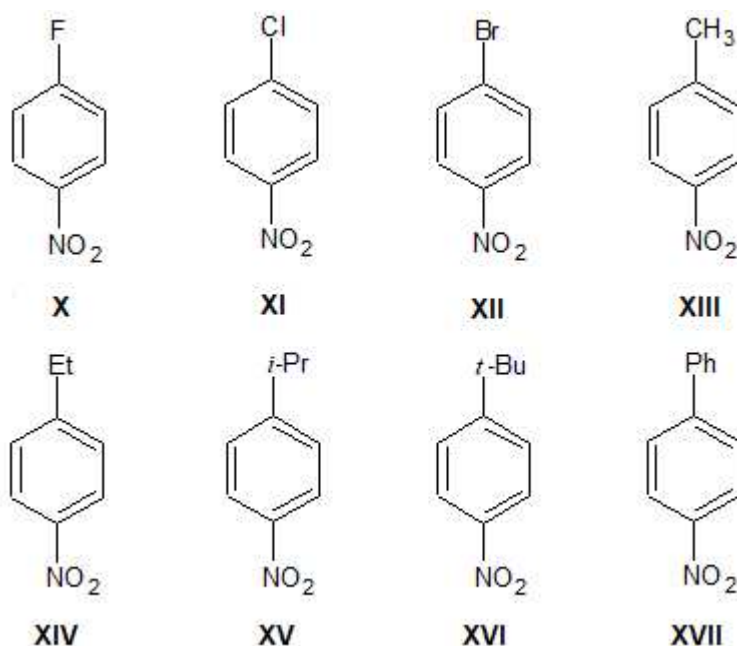
mljevenja od 28 Hz [33]. U slučaju omjera benzojeva kiselina: $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \times 9\text{H}_2\text{O} : \text{P}_2\text{O}_5 = 1 : 2,5 : 7,5$ rezultat konverzije benzojeve kiseline u nitro-produte iznosio je 100 %, od čega je 73,3 % iznosila *meta*-nitrobenzojeva kiselina, 20,0 % *ortho*-nitrobenzojeva kiselina i 6,3 % *para*-nitrobenzojeva kiselina [33]. Promjenom vremenskog perioda (5 h) i frekvencije (20, 25 i 28 Hz) mljevenja uočeno je smanjenje iskorištenja reakcije za *meta*-nitrobenzojevu kiselinu (50 %, 55 % i 58 %) [33]. Osim benzojeve kiseline, nitrirani su derivati benzena koji sadrže brom, klor, estersku skupinu, aldehid, etersku, cijano, nitro i sulfoksidnu skupinu. Opisane reakcije rezultirale su pripremom ciljnih produkata s prinosom u rasponu od 90–98 %. U slučaju benzenskih derivata s elektron-akceptorskim skupinama (**III – IX**) očekivano je prevladavao *meta*-produkt dok u slučaju benzenskih derivata s elektron-donirajućim skupinama u strukturi (**I i II**) prevladavao je *para*-produkt (slika 6) [33].



Slika 6. Strukturne formule molekula benzenskih derivata **I – IX** [33]

Smith i suradnici [34] u svom radu su razvili metodu nitriranja u blažim reakcijskim uvjetima korištenjem zeolit $\text{H}^+ \beta$ kao katalizatora i stehiometrijske količine dušične kiseline i anhidrida octene kiseline sa ciljem postizanja regioselektivnosti *para*-produkata. Kao supstrat za nitriranje korišteni su jednostavni derivati benzena te disupstituirani benzen [34]. U radu je testirano više vrsta zeolita s različitim omjerima Si/Al i dodatnim supstituiranim elementima

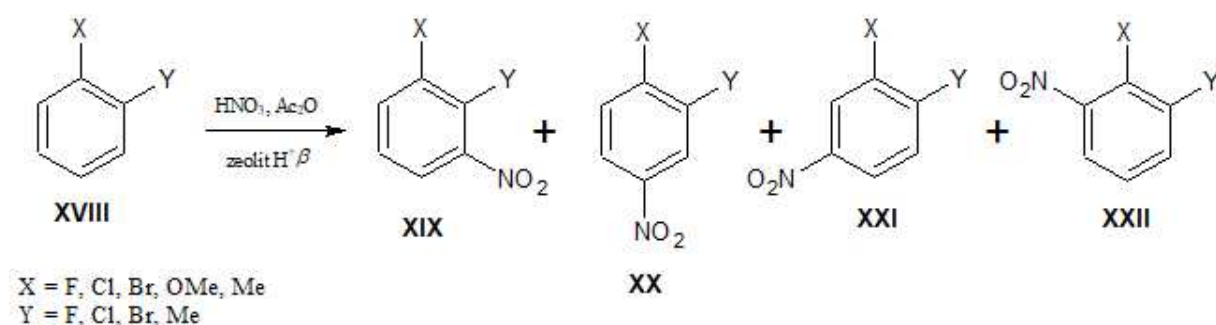
kao što su željezo, aluminij i natrij, no najveća iskorištenja dobivena su u slučaju korištenja zeolita koji sadrži vodikov ion [34]. Nadalje, uočeno je kako veličina i oblik pora zeolita ima veliki utjecaj na formiranje *para*-produkata. Zeoliti sa srednjom veličinom pora pokazali su slabu *para*-selektivnost produkata te nisku brzinu reakcija [34]. Zatim, zeoliti s većim porama, npr. mordenit, pokazali su bolju *para*-selektivnost, ali nisku brzinu reakcije [34]. Zeolit H⁺ β zbog specifičnog oblika pora omogućuje laku difuziju reaktanata te otežava sintezu *ortho*- i *meta*-izomera produkata [34]. Produkti su pripremljeni uz prinos >99 % i s visokom regioselektivnosti [34]. Funkcionalne skupine koje su korištene u sintezi nitro spojeva su fluor, klor, brom, metilna, etilna, *izo*-propilna, *tert*-butilna i fenilna skupina [34]. Kod svake sinteze *para*-produkti su pripremljeni u najvećem prinosu (slika 7, **X** – **XVII**) s minimalnim iskorištenjem od 79 % u slučaju metilbenzena **XIII**, i maksimalnim iskorištenjem od >99 % u slučaju fenilbenzena **XVII** [34].



Slika 7. Strukturne formule *para*-produkata sinteze sa zeolitom **X** - **XVII** [34]

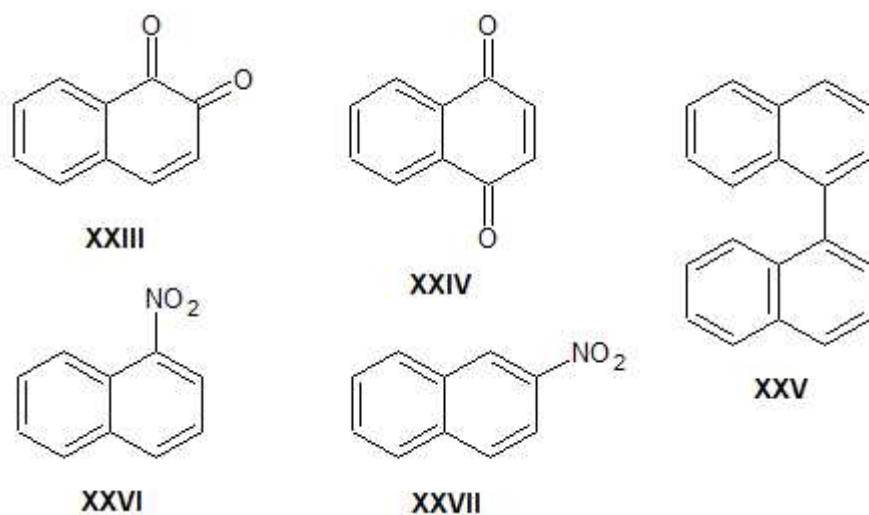
U slučaju disupstituiranih benzena **XVIII** ovisno o strukturi funkcionalnih skupina nastala su četiri produkta prikazana na slici 8. Nastanak produkta strukture **XIX** detektiran je u slučaju dimetiliranog benzena, dok u ostalim slučajevima nije detektiran [34]. Također, produkt strukture **XX** prisutan je u malim količinama u slučaju X = metoksi-skupina (OMe), Y = fluor (F), dok u ostalim slučajevima opisani produkt nije nastao [34]. Dominantni su produkti struktura **XXI** i **XXII**, odnosno *para*-produkti disupstituiranog benzena u kojima je nastanak pojedine strukture ovisio o kombinaciji funkcionalnih skupina vezanih za benzen [34]. Zeolit

može biti recikliran, a jedini nusprodukt je octena kiselina koja se iz nitriranog produkta može ukloniti pomoću destilacije. Opisani proces je jeftin i predstavlja dobru potencijalnu metodu za pripremu nitro derivata širokog spektra organskih spojeva [34].



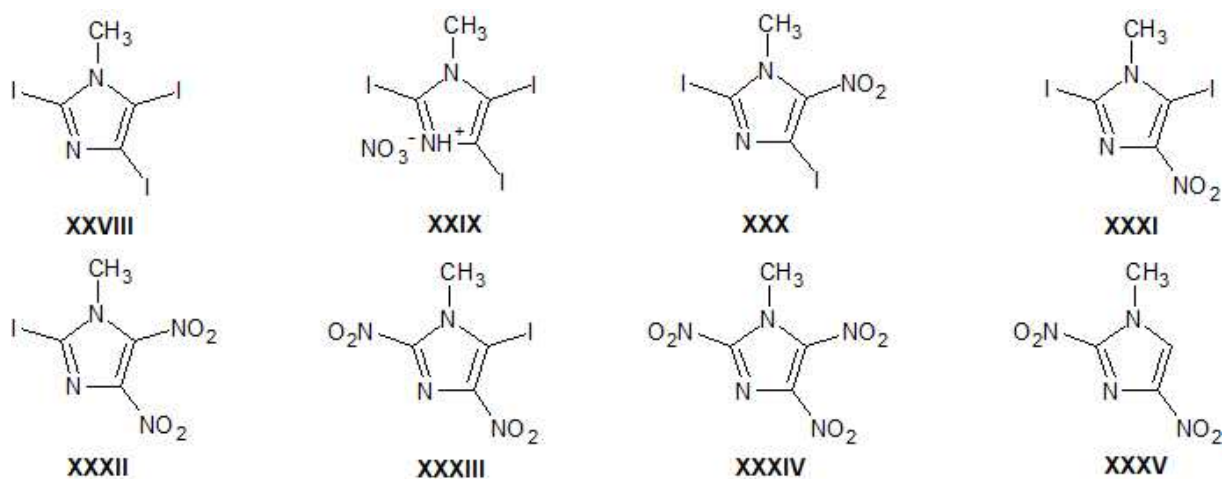
Slika 8. Shema: Reakcije nitriranja disupstituiranih benzenskih derivata i prikaz mogućih produkata [34]

Cortona i suradnici [35] u svome radu proučavali su mogućnost elektrokemijskog nitriranja naftalena (NapH) pomoću Pt elektrode i vodene otopine natrijevog nitrita, NaNO_2 s i bez prisutnosti neionskog tenzida polioksietilen dodekanola, komercijalnog naziva Brij 35. Elektrokemijske reakcije provodile su se u osnovnoj neutralnoj otopini $0,4 \text{ mol/L NaClO}_4$ ($\text{pH} \approx 7$) i pri jakosti struje od $1,45 \text{ V}$ tijekom 2 h [35]. Pomoću cikličke voltametrije prvo su određene točke oksidacije NapH i NO_2^- jedinici u vodenom i micelarnom mediju kako bi se odredilo dolazi li do promjena oksidacijskih stanja i pri kojim vrijednostima struje tijekom elektrokemijskih reakcija. U vodenom mediju NO_2^- se oksidirao u NO_3^- pri $0,80 \text{ V}$, dok se NapH oksidirao u NapH^+ pri $0,986 \text{ V}$ [35]. U micelarnom mediju NO_2^- je oksidirao pri istoj vrijednosti kao u vodenom mediju, ali se oksidiralo 80% od iste količine iz vodenog medija, dok NapH oksidira u kratkom vremenskom periodu u NapH^+ pri $1,40 \text{ V}$ [35]. Elektrokemijskom reakcijom $1,58 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ NapH i $0,02 \text{ mol/L NaNO}_2$ u vodenom mediju nastali su produkti **XXIII** ($5,6 \%$), **XXIV** ($16,6 \%$) te **XXV** ($38,9 \%$) [35]. Nastanak navedenih produkata objašnjen je nukleofilnim napadom molekula vode na radikalne jedinice NapH^+ koji je brži od nitriranja naftalena te dimerizacijom radikala NapH^+ i BinapH [35]. U micelarnom mediju sadržaj Brij 35 iznosi $0,025 \text{ mol/L}$, $1,75 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ NapH i $0,2 \text{ mol/L NaNO}_2$ u osnovnoj otopini pri istim uvjetima jakosti struje i vremenskog perioda kao u vodenom mediju [35]. Pripravljeni su produkti 1-nitronaftalen ($1\text{-NO}_2\text{NapH}$) **XXVI** ($32,4 \%$), 2-nitronaftalen ($2\text{-NO}_2\text{NapH}$) **XXVII** ($1,80 \%$), **XXIII** ($4,2 \%$), **XXIV** ($12,7 \%$) i **XXV** ($24,5 \%$) [35]. Svi sintetizirani produkti prikazani su na slici 9. Ustanovljeno je kako se povećanjem koncentracije tenzida smanjuje iskorištenje reakcija zbog smanjenog broja radikala NapH^+ [35].



Slika 9. Strukturne formule produkata elektrokemijske reakcije NapH i NaNO₂ u vodenom i micelarnom mediju [35]

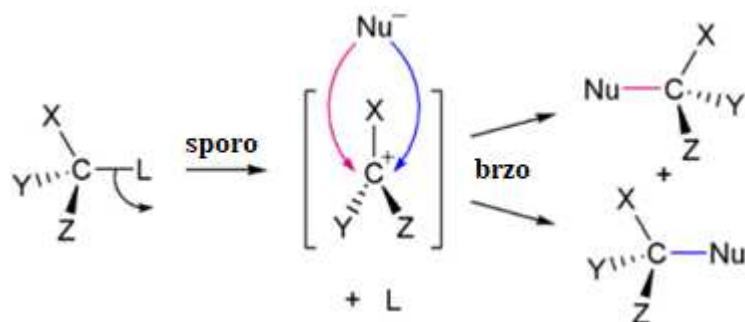
Lian i suradnici [36] u svom radu su opisali nitiranje spoja **XXVIII** uz različite koncentracije dušične kiseline te uz smjesu dušične i sumporne kiseline. Koncentracije dušične kiseline koje su korištene su 20 %, 50 %, 80 %, 98 % i 100 % te smjesa 98 % dušične i 98 % sumporne kiseline pri čemu su nastali strukturno različiti nitro produkti [36]. Reakcije su provedene u temperaturnim rasponima 78–110 °C i vremenskom periodu 2–2,5 h, ovisno o koncentraciji dušične kiseline [36]. Nitiranjem **XXVIII** sa 20 % HNO₃ nastao je spoj **XXIX** uz prinos od 96 % (slika 10) [36]. Nitiranje istog spoja s 50 % HNO₃ rezultiralo je pripremom dva spoja, **XXX** (13 %) i **XXXI** (79 %) [36]. Uz 80 % HNO₃ pripremljen je spoj **XXXII** (37 %) (slika 10) [36]. Reakcija spoja **XXVIII** i 98 % HNO₃ rezultirala je sintezom dva produkta **XXXIII** (40 %) i **XXXIV** (43 %) (slika 10) [36]. Nitiranje spoja **XXVIII** smjesom dušične i sumporne kiseline rezultiralo je pripremom spoja **XXXV** (36 %) [36]. Temeljem navedenih rezultata zaključeno je kako se povećanjem koncentracije dušične kiseline povećava broj nitro skupina u strukturi pripremljenih produkata [36].



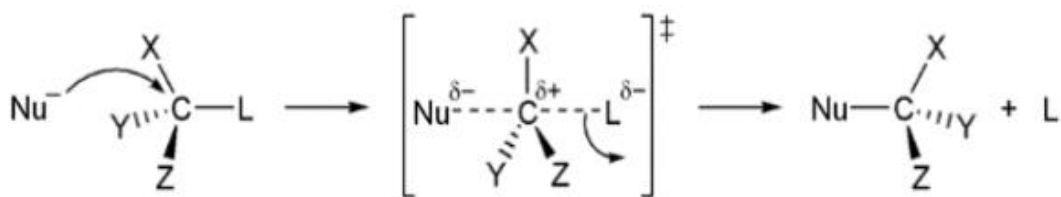
Slika 10. Strukturne formule molekula reaktanta **XXVIII** i produkata nitiranja **XXIX** - **XXXV** različitim koncentracijama HNO_3 [36]

2.2.2. Nukleofilna aromatska supstitucija

Nukleofilna aromatska supstitucija je vrsta kemijske reakcije u kojoj nukleofil supstituira izlaznu skupinu benzenskog prstena. Ovakva reakcija je moguća kada se koristi jaki nukleofilni reagens. Postoje dva moguća reakcijska mehanizma nukleofilne supstitucije na zasićenom ugljikovom atomu: $\text{S}_{\text{N}}1$ mehanizam, koji se odvija u najmanje dva stupnja, te $\text{S}_{\text{N}}2$ mehanizam koji se odvija u jednom stupnju. Prvi stupanj $\text{S}_{\text{N}}1$ reakcije je heterolitička disocijacija. Taj stupanj, spor i endoterman, određuje brzinu reakcije. Drugi stupanj uključuje nukleofilni napad na karbokation te dolazi do adicije nukleofila (slika 11). $\text{S}_{\text{N}}2$ reakcije su jednostupanjske jer se u prijelaznom stanju nukleofil adira na zasićeni ugljikov atom u vrijeme kada se cijepa veza ugljikovog atoma s izlaznom skupinom (slika 12.). Kinetika ove reakcije je drugog reda te ovisi o koncentracijama supstrata i nukleofila. Zbog približavanja nukleofila ugljiku sa suprotne strane od izlazne skupine nastaje približno koplanarna struktura te je reakcija popraćena inverzijom konfiguracije produkta [32, 37, 38].



Slika 11. $\text{S}_{\text{N}}1$ dvostupanjska reakcija s racemičnom smjesom produkata (X, Y, Z – supstituenti, L – izlazna skupina, Nu^- – nukleofil (preuzeto i prilagođeno iz [32]))

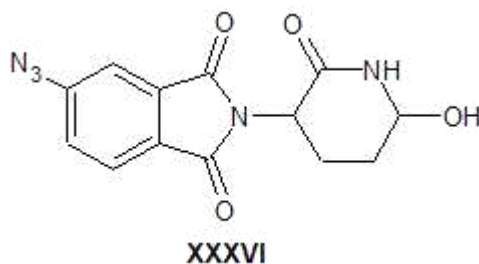


Slika 12. S_N2 jednostupanjska reakcija u kojoj nastane produkt inverzne konfiguracije (preuzeto i prilagođeno iz [32])

2.2.2.1. Reakcije azidiranja

Azidni ion je konjugirana baza dušikovodične ili azidne kiseline, HN₃. Usprkos njegovoj slaboj bazičnosti (pK_a HN₃ je 4,6) N₃⁻ je jako dobar nukleofil [39]. Azidni ion sadrži nukleofilne elektronske parove smještene u vrlo malom volumenu što povećava šanse za sudaranje s elektrofilima koji rezultiraju željenim produktima, u usporedbi s aminima koji posjeduju dugačke i voluminozne alifatske lance [39]. Kod S_N2 reakcija, primarni i sekundarni alkil-halogenidi i sulfonati supstitucijom s N₃⁻ rezultiraju pripravom alkil-azida. Azidi se mogu pripremiti iz diazonijevih soli, reakcijama nukleofilne aromatske supstitucije, pomoću litijevog reagensa, aril-hidrazina itd [40].

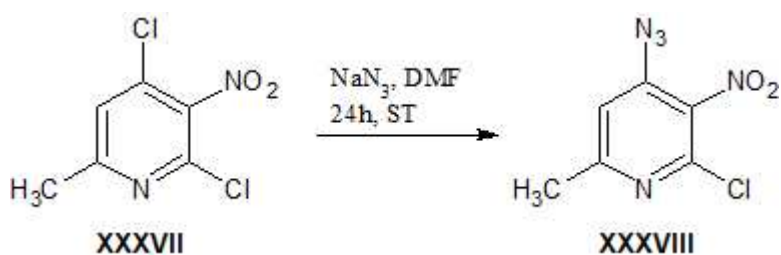
Capitosti i suradnici [41] uspješno su azidirali talidomid, lijek koji ima imunosupresivna djelovanja, u svrhu daljnjih razvijanja analoga lijeka. Kako bi se moglo provesti azidiranje talidomida prvo je u strukturu uvedena nitro skupina. Nitro skupina uvedena je u strukturu s ciljem redukcije u amino skupinu, koja je dobra izlazna skupina u nukleofilnoj aromatskoj supstituciji, te se konačno supstituirati sa azidnom skupinom. Azidiranje je provedeno pomoću natrijevog nitrita (NaNO₂) s razrijeđenom HCl na 0 °C te dodatkom natrijevog azida pri čemu je nastao azidni derivat talidomida **XXXVI** (slika 13) s iskorištenjem od 35% [41].



Slika 13. Strukturne formule molekule azidnog derivata talidomida **XXXVI** [41]

Stadlbauer i suradnici [42] istraživali su termalnu ciklizaciju konverzije 4-azido-3-nitropiridina u furoksane koja je kao jedan od koraka sinteze uključila azidiranje derivata

piridina. U strukturi spoja **XXXVII** supstituiran je atom klora na položaju C-4 aromatskog prstena s azidnim ionom pomoću natrijevog azida, NaN_3 u otapalu dimetilformamid, DMF, pri sobnoj temperaturi u trajanju od 24 h pri čemu je nastao spoj **XXXVIII** uz prinos od 45 % (slika 14).



Slika 14. Shema: Sinteza azidnog derivata piridina **XXXVIII** [42]

Jedan od reagenasa korišten za azidiranje jest *para*-toluensulfonilazid (TsN_3) kojeg su koristili Gavenonis i suradnici [43] u međukoracima sinteze liganda za kompleksne spojeve tantala. Jodidni derivat benzena u prvom koraku podvrgnut je reakciji s litijevim reagensom *n*-BuLi pri 0 °C u heksanu s ciljem pripreve litijeve soli benzenskog derivata [43]. U sljedećem koraku soli je dodan TsN_3 pri čemu dolazi do supstitucije joda s azidnom skupinom i nastanka azidnog derivata [43].

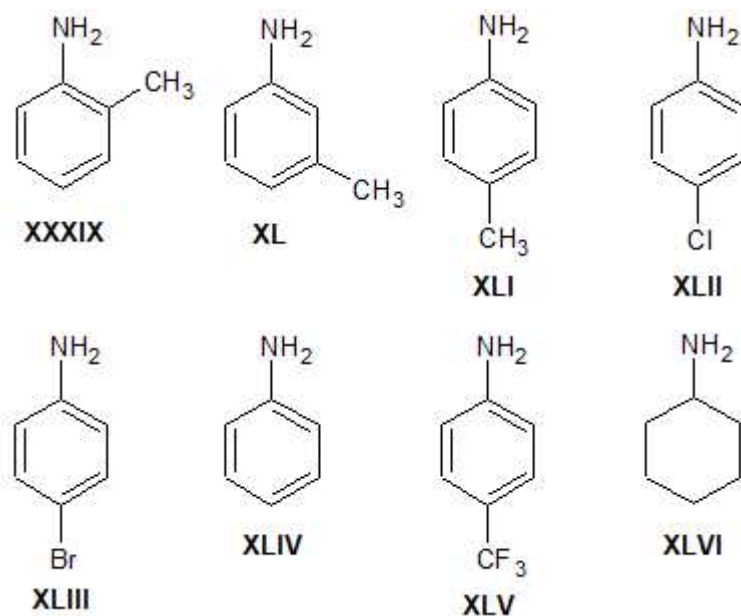
2.2.3. Hidrogeniranje nitro skupina

Jedan od najčešćih reakcija redukcije nitro skupine uključuje hidrogeniranje nitro skupine pomoću paladija na ugljiku (Pd / C). Ovom se metodom nitro skupine na alifatskim i aromatskim spojevima mogu reducirati u amino skupine, ali navedena metoda nije selektivna za nitro skupinu pa se u ovakvim reakcijskim uvjetima mogu reducirati i ostale funkcionalne skupine nekog spoja [32]. Hidrogeniranje se može provesti i korištenjem Raney nikal (Ra-Ni) katalizatora [44]. Za redukciju nitro skupina na alifatskim i aromatskim spojevima koriste se i reagensi kao što su željezo i cink u kiselim reakcijskim uvjetima. Pri takvim uvjetima nitro skupina će se selektivno reducirati u prisutnosti ostalih funkcionalnih skupina. Za redukciju nitro skupine mogu se koristiti reagensi poput kositrovog(II) klorida(SnCl_2) i natrijevog sulfida(Na_2S), koji u nekim slučajevima mogu selektivno reducirati nitro skupinu, u prisustvu ostalih nitro skupina, u amino spojeve [45].

Primjer korištenja Ra-Ni katalizatora vidljiv je u radu Khorshidija i suradnika [46] koji su koristili srebrov Ra-Ni katalizator (Ag-Ra-Ni) za redukciju nitrofurazona i aromatskih nitro spojeva. Srebrov Ra-Ni katalizator pripremljen je miješanjem srebrnih nanočestica i Ra-Ni katalizatora što je rezultiralo adsorpcijom nanočestica srebra na površinu katalizatora.

Redukcije nitro spojeva u koncentraciji od 0,2 mmol/L provedene su pri 35 °C u vodenom mediju pomoću 5 mg Ag-Ra-Ni i 0,04 mol/L NaBH₄ [46]. Rezultati analize produkata pokazali su kako su se sve vezane nitro skupine spojeva reducirale u amino skupine u prisustvu Ag-Ra-Ni katalizatora u vodenom mediju pri blagim reakcijskim uvjetima [46]. Ispitano je ponovno korištenje katalizatora usporedno s literaturno opisanim katalizatorom koji se može ponovno koristiti te je uočeno kako efikasnost Ag-Ra-Ni katalizatora opada nakon šest korištenja samo za 5 %, što ga čini odličnim katalizatorom za redukciju nitro skupina [46].

Porwal i suradnici [47] u svom radu pokazali su kako se redukcija nitro skupina može provesti sa katalizatorom koji ne sadrži atome metala u svom sastavu. Kao katalizatori korišteni su različiti hidrosilani, RSiH_x, koje aktivira tris-(1,2,3,4,5-pentafluorofenil)boran, B(C₆F₅)₃ [47]. Redukcija je ispitana na više vrsta hidrosilanskih derivata sa 10 % B(C₆F₅)₃ u vremenskom periodu od 16 h s ili bez prisustva toluena kao otapala na nitrobenzenu pri temperaturi 100 °C pri čemu se pratio postotak konverzije u aminobenzen [47]. Testirani su fenilsilan (PhSiH₃), trietoksisilan ((EtO)₃SiH), tetrametildisiloksan (TMDS), polimetilhidrosiloksan (PMHS) i trietilsilan (Et₃SiH) [47]. Najbolje rezultate konverzije nitrobenzena u aminobenzen pokazao je Et₃SiH bez prisustva otapala gdje je konverzija bila 100 %, dok je u toluenu iznosila 73 % [47]. Najlošijim se pokazao (EtO)₃SiH koji nije rezultirao pripravom odgovarajućeg aminobenzena s i bez toluena kao otapala [47]. Osim na nitrobenzenu, proučavana je redukcija na strukturno složenijim molekulama kao što su *ortho*-, *meta*- i *para*-metilnitrobenzen, *para*-X-nitrobenzeni (X = Cl, Br, I), *para*-(trifluorometil)nitrobenzen i nitrocikloheksan [47]. Rezultati sinteze pokazali su uspješnu redukciju nitro skupine u amino skupinu (slika 15, **XXXIX** – **XLV**) uz raspon iskorištenja reakcija od 72 % (**XXXIX**) do 100 % (**XLIV**), pri čemu nije došlo do stvaranja nusprodukata [47]. Iznimku predstavlja redukcija *para*-jodnitrobenzena u čijem slučaju uz redukciju nitro skupine u amino skupinu dolazi do supstitucije joda s vodikom pri čemu nastaje aminocikloheksan **XLVI** uz prinos od 100 % [47].

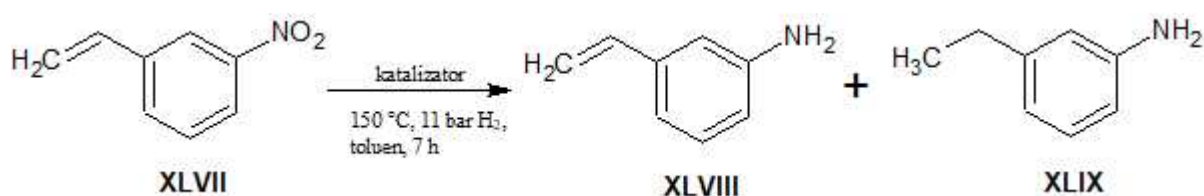


Slika 15. Strukturne formule molekula produkata redukcije nitro benzenskih derivata s $\text{Et}_3\text{SiH}/\text{B}(\text{C}_6\text{F}_5)_3$ [47]

Redukcija nitro skupine u amino skupinu, osim kositra, moguća je korištenjem drugih metalnih kationa. Lauwiner i suradnici [48] razvili su katalizator na osnovi željeza koji je korišten za redukciju nitro skupine u amino skupinu pri čemu su pripremljeni odgovarajući amino derivati uz visok prinos. Kao katalizator je korišten željezov(III) oksid hidroksid, $\text{FeO}(\text{OH})$, koji se aktivira dodatkom vode, a kao izvor vodikovih iona korišten je hidrazin hidrat, $\text{N}_2\text{H}_2 \times \text{H}_2\text{O}$ [48]. Reduciranju je podvrgnut veliki broj nitro spojeva, a u svim slučajevima nitro skupina uspješno je reducirana u amino skupinu [48]. Reakcije su provedene pri temperaturama u rasponu $55 - 78\text{ }^\circ\text{C}$, količina katalizatora je iznosila $0,1 - 0,4\text{ g}$ te su sinteze trajale $50-300\text{ min}$, ovisno o strukturi polaznog nitro spoja [48]. Najmanji prinos redukcije pokazao se u slučaju 4,4'-dinitrobenzanilida (68 %) 1-metil-5-nitronaftalena (76 %) i 2-nitrobenzojeve kiseline (80 %), dok je kod ostalih spojeva prinos reakcija bio iznad 90 % (90 – 99%) [48].

Sorribes i suradnici [49] koristili su molibdenov disulfid kobalt, Co-Mo-S katalizator u čijoj strukturi su slojevi povezani disulfidnim vezama. Supstitucija molibdena s kobaltom rezultira povećanjem broja aktivnih mjesta na rubovima slojeva što za posljedicu ima povećanje katalitičkih svojstava molibdenovog sulfida [49]. Sintetizirano je nekoliko Co-Mo-S katalizatora s različitim molarnim udjelima kobalta u strukturi te pri različitim temperaturama [49]. Katalitička svojstva katalizatora ispitana su na 3-nitrostirenu **XLVII** pri reakcijskim uvjetima od $150\text{ }^\circ\text{C}$, 11 bar H_2 u toluenu kao otapalu tijekom 7 h, pri čemu su nastala dva

produkta: 3-vinilaminobenzen **XLVIII** i 3-etilaminobenzen **XLIX** (slika 16) [49]. Svi testirani oblici Co-Mo-S katalizatora pokazali su sposobnost redukcije nitro spojeva u amino spojeve, no najlošiji prinos reakciji dobiven je u slučaju Co-Mo-S-0,21 (molarni udio kobalta 0,21) od 20 %, dok je najbolji prinos pokazao Co-Mo-S-0,39-180 (molarni udio kobalta 0,39 i sinteza katalizatora na 180 °C) od >99 % [49]. U opisanoj reakciji 3-vinilaminobenzen je glavni reakcijski produkt (91 %), dok 3-etilaminobenzen predstavlja 3 % ukupnih produkata [49]. S obzirom da u slučaju korištenja Co-Mo-S-0,39-180 je dobiven najveći prinos, navedeni spoj izabran je za daljnja testiranja na ostalim nitrobenzenskim spojevima pri istim reakcijskim uvjetima kao za spoj **XLVII** [49]. Sva tri slučaja rezultirala su potpunom redukcijom nitro skupina u amino skupine (**L** – **LII**) sa sljedećim iskorištenjima: **L** (99%), **LI** (86 %) i **LII** (95 %) (slika 17) [49]. Također, pripremljeni katalizator uz redukciju nitro skupine u amino skupinu pokazao je aktivnost i u reakcijama amina i karboksilnih kiselina pri čemu nastaje peptidna veza [49].



Slika 16. Shema: Redukcija 3-vinilnitrobenzena **XLVII** s različitim Co-Mo-S katalizatorima u 3-vinilaminobenzen **XLVIII** i 3-etilaminobenzen **XLIX** [49]



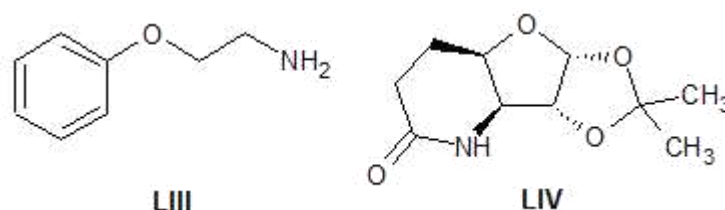
Slika 17. Strukturne formule molekula reduciranih produkata nitrobenzenskih spojeva **L** - **LII** [49]

2.2.4. Hidrogeniranje azido skupina

Hidrogeniranje azidnih skupina (N₃⁻) je kemijska reakcija u kojoj se azidna funkcionalna skupina reducira u aminsku skupinu (-NH₂) uz upotrebu vodika kao reducensa. Ova reakcija je

korisna za pripremu aaminskih spojeva iz azida, često kao dio sinteze organskih spojeva. Glavni korak u hidrogeniranju azidne skupine uključuje dodavanje molekula vodika u prisutnosti katalizatora koji olakšava redukciju. Obično se koriste metalni katalizatori poput paladija (Pd) [50], platine (Pt) [51] ili nikla (Ni) [52] koji potiču reakciju vodika s azidnom skupinom.

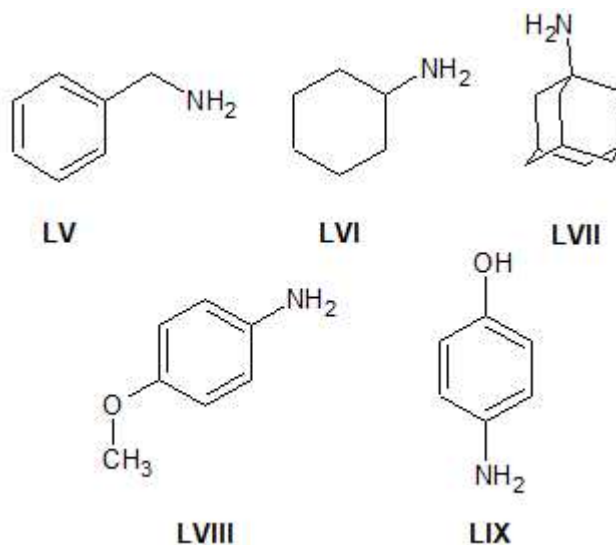
Sajki i suradnici [50] u svom su radu koristili (Pd / C) katalizator u svrhu redukcije azidne skupine u amino skupinu. Reakcija je provedena u metanolu pri sobnoj temperaturi u vremenskom periodu od 15 h, dok je količina katalizatora iznosila 5 % Pd/C te je kao aditiv korišten amonijak [50]. Hidrogeniranje azida provedeno je na (2-azidoetoksi)benzenu pri čemu je nastao 2-fenoksietan-1-amin **LIII** (95 %) (slika 18#) [50]. Nadalje, Chandrasekhar i suradnici [51] koristili su oksid platine, PtO₂, u poli(etilenglikolu) za hidrogeniranje azidne skupine. Reakcija se odvijala na furanoznom derivatu pri sobnoj temperaturi te je korišten molekularni vodik kao izvod vodikovih atoma [51]. Rezultat redukcije furanoznog derivata bila je redukcija azido i olefinske skupine te intramolekularna ciklizacija i stvaranje tricikličkog produkta **LIV** (95 %) (slika 18#) [51].



Slika 18. Strukturne formule molekula produkta redukcije pomoći Pd/C **LIII** [50] i PtO₂ katalizatora **LIV** [51]

Proietti i suradnici [52] koristili su katalizator na osnovi niklova borida *in situ* pripremljenog reakcijom niklovog(II) klorida (NiCl₂) i natrijevog borhidrida (NaBH₄) s ciljem upotrebe u reakcijama redukcije azidne u amino skupinu. Utjecaj katalizatora ispitan je u tri različita sustava: katalizator raspršen zajedno sa 2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oksil - oksidiranom celulozom (TEMPO - 2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oksil), katalizator ugrađen u kristalnu bakterijsku nanoceluloznu potporu i katalizator u metanolu. Nitroceluloza se ispituje kao potencijalni katalizator redukcijских reakcija zbog velikog broja hidroksilnih skupina i velike specifične površine [47], dok je TEMPO dodan na nitrocelulozu kako bi se ona iz glomaznog oblika rastavila na niti [52]. Istraživanje je pokazalo kako reakcije s nitrocelulozom rezultiraju sličnim prinosom kao reakciju u čistom metanolu te su se ostala istraživanja odvijala u sustavu s metanolom [52]. Kod alifatskih azida uočeno je kako nastaju nusprodukti kondenziranih amina, pri čemu se smanjio prinos željenih amina, te se zbog toga uvela zaštitna

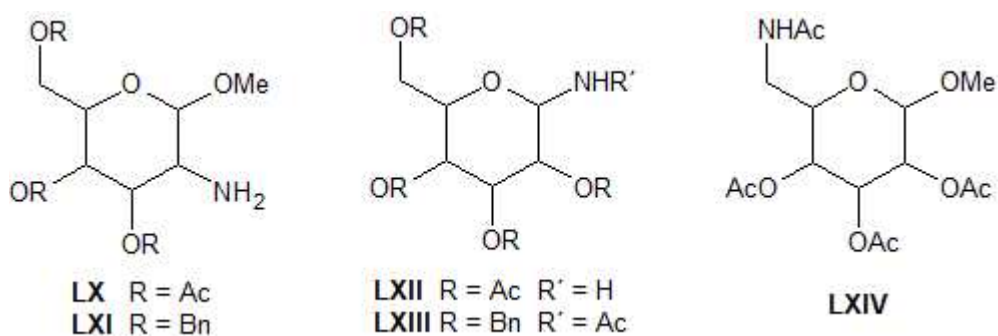
benzilna skupina na amino skupinu kako bi se smanjio udio nusprodukata [52]. Reakcija benzilazida provedena u metanolu rezultirala je potpunom redukcijom azida u amin **LV** uz malu količinu katalizatora (0,5 % molarnog udjela). Na temelju dobivenih rezultata, provedene su reakcije na strukturno različitim supstratima: cikloheksanazid, adamantan-1-azid, (4-azidofenil)-metil-eter i 4-azidofenol u metanolu pri sobnoj temperaturi tijekom 3 h [52]. Redukcije azida rezultirale su pripremom odgovarajućih amino derivata odnosno pripremom spojeva **LVI** (76 %), **LVII** (55 %), **LVIII** (89 %) **LIX** (85 %) (slika 19) [52]. Halogenirani azido spojevi osim hidrogeniranju azido skupine podliježu dehalogenaciji djelovanjem Ni-B katalizatora [52]. Snižavanjem temperature sinteze na -20 °C inhibirano se dehalogeniranje što je rezultiralo povećanim udjelom redukcije azidne u amino skupinu [52]. Kako bi se katalizator mogao više puta koristiti nanočestice Ni-B pričvršćene su na kristalnu bakterijsku nanocelulozu koja služi kao potpora nanočesticama te omogućuje lako filtriranje katalizatora [52]. Ustanovljeno je kako katalizator može učinkovito katalizirati redukciju kroz tri ciklusa te mu nakon toga opada učinkovitost [52]. Također, uočeno je kako izlaganjem na zraku učinkovitost Ni-B katalizatora ubrzano opada [52].



Slika 19. Strukturne formule produkata hidrogeniranja azidnih spojeva pomoću Ni-B katalizatora [52]

Ghirardello i suradnici [53] u svome radu koristili su katalizator koji u strukturi posjeduje atom rodija te aluminijev oksid, Rh/Al₂O₃. S obzirom da platinasti i paladijevi katalizatori često nisu kemoselektivni, korišten je rodij u blažim reakcijskim uvjetima reakcija pri čemu je moguće kemoselektivno hidrogenirati azidnu skupinu [53]. Istraživanje je provedeno na glikozidnim derivatima koji posjeduju benzilne i acetilne zaštitne skupine [53].

Hidrogeniranje je provedeno s molekularnim vodikom pri 1 atm, 10 mol % Rh/Al₂O₃, octenom kiselinom (AcOH), toluen : etil-acetat, 6:1 kao otapalu, tijekom 6 h [53]. Glikozidni amini **LX** – **LXIV**, produkti hidrogeniranja glikozidnih azida, prikazani na slici 20, sintetizirani su u rasponu prinosa od najmanjeg koji iznosi 36 % za **LXIII** do najvećeg koji iznosi 86 % za **LXI** [53]. Zaključeno je kako rodijev katalizator ima odličnu kemoselektivnost prema azido skupinama pri čemu se ne uklanjaju zaštitne skupine hidroksilnih skupina glikozida [53]. Zbog toga se može koristiti kao katalizator u reakcijama gdje je potrebna visoka kemoselektivnost [53].



Slika 20. Strukturne formule produkata hidrogenacije glikozidnih azida **LX** – **LXIV** [53]

3. EKSPERIMENTALNI PODATCI

3.1. Materijali i metode

Za sintezu navedenih spojeva korištene su komercijalno dostupni polazni spojevi, reagensi i otapala: 4-brom-1,8,-naftalanhidrid (*Sigma-Aldrich*), koncentrirana sumporna kiselina (*BDH Prolabo*), natrijev nitrat (*BDH Prolabo*), natrijev azid (*BDH Prolabo*), etil-acetat (*Across organics*), bezvodni natrijev sulfat (*Across organics*), suhi dimetilformamid (DMF, *Across Organics*), heksan (*BDH Prolabo*). Pripravljene su proizvodi pročišćeni su prekrizacijom u odgovarajućem otapalu. Tijek reakcija, čistoća produkata i preliminarna identifikacija produkata provedene su pomoću tankoslojne kromatografije na pločicama silikagela (60 F 254, 0,24 mm, *Fluka*). Vizualizacija je provedena apsorbacijom UV zračenja (254 nm) te prskanjem ninhidrinom uz naknadno zagrijavanje. Kao sustav otapala za tankoslojnu kromatografiju korišten je EtOAc / heksan, 1 : 1. Otapala su uparavana na rotacijskom uparivaču uz sniženi tlak. ¹H NMR i ¹³C NMR spektri snimljeni su na instrumentu Bruker AV 600 na sobnoj temperaturi pri 600 MHz i 150 MHz u dimetilsulfoksidu (DMSO) kao otapalu. Kemijski pomaci u NMR spektrima izraženi su u usporedbi s tetrametilsilanom (TMS) koji je korišten kao unutarnji standard.

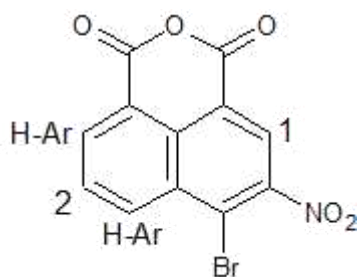
3.2. Priprava derivata 4-brom-1,8-naftalanhidrida

3.2.1. Priprava 6-brom-5-nitro-1*H*,3*H*,-benzo[de]izokromen-1,3-diona (**1**)

4-brom-1,8-naftalanhidrid (150 mg, 0,54 mol) otopljen je u koncentriranoj sumpornoj kiselini (770,16 μL, 14,45 mmol). Na okruglu tikvicu postavljena je klor-kalcijeva cijev, a otopina je miješana na magnetskoj miješalici. Tijekom pola sata u manjim obrocima dodavan je natrijev nitrat (92,7 mg, 1,09 mmol). Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom (EtOAc / heksan, 1 : 1). Nakon 24 h u reakcijsku smjesu dodana je voda prilikom čega dolazi do promjene boje iz žuto-smeđe u svijetložutu. Talog iz reakcijske smjese izoliran je filtracijom te pročišćen prekrizacijom u etil-acetatu. Dobiven je kruti produkt svijetložute boje, spoj **1** (slika 21) (127 mg, 73 %); $R_f = 0,67$ (EtOAc / heksan, 1 : 1).

¹H NMR (DMSO) δ / ppm: 8,21 (t, 1H, H-2, $J = 8,043$ Hz), 8,76 (dd, 1H, H-Ar, $J = 7,28, 0,75$ Hz), 8,86 (dd, 1H, H-Ar, $J = 8,57, 0,66$ Hz), 8,94 (s, 1H, H-1).

¹³C NMR (DMSO) δ / ppm: 120,94 (C⁴), 121,59 (C⁴), 122,26 (C⁴), 126,05 (CH-Ar), 131,03, 131,05 (C⁴+C-Br), 131,42 (CH-Ar), 135,40 (CH-Ar), 135,73 (CH-Ar), 149,89 (C-NO₂), 159,51 (C=O), 160,09 (C=O).



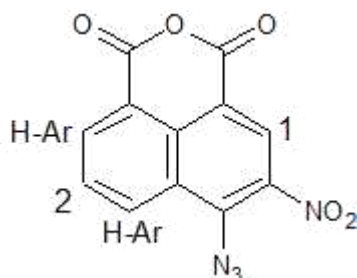
Slika 21. Strukturna formula spoja **1**

3.2.2. Priprava 6-azido-5-nitro-1*H*,3*H*,-benzo[de]izokromen-1,3-diona (**2**)

Spoj **1** (100 mg, 0,31 mmol) otopljen je u suhom dimetilformamidu (DMF) (4 ml) te je u tikvicu dodan natrijev azid (100 mg, 2,30 mmol). Reakcijska smjesa miješana je na magnetskoj miješalici uz klor-kalcijevu cijev 1,5 h, nakon čega je dodana još NaN₃ (42 mg) te je reakcijska smjesa miješana još 1 h. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom (EtOAc / heksan, 1 : 1). Nakon završetka reakcije, u reakcijsku smjesu je dodana voda prilikom čega boja iz tamnosmeđe je promijenjena u žutu. Reakcijska smjesa je ekstrahirana s EtOAc (2 × 20 ml), a organski sloj sušen s bezvodnim Na₂SO₄. Nakon sušenja Na₂SO₄ je izdvojen filtracijom, a organski sloj uparen. Izoliran je kruti produkt, spoj **2** (slika 22) (40 mg, 45 %); *R_f* = 0,65 (EtOAc / heksan, 1 : 1).

¹H NMR (DMSO) δ / ppm: 8,07 (t, 1H, H-2, *J* = 7,39 Hz), 8,71 (dd, 1H, H-Ar, *J* = 7,31, 0,95 Hz), 8,86 (s, 1H, H-1), 8,90 (dd, 1H, H-Ar, *J* = 8,55, 0,94 Hz).

¹³C NMR (DMSO) δ / ppm: 116,28 (C⁴), 120,36 (C⁴), 126,70 (C⁴), 127,93 (CH-Ar), 129,84 (CH-Ar), 131,90 (C⁴), 132,20 (CH-Ar), 135,78 (CH-Ar), 138,39, 140,24 (2C, C-N₃+C-NO₂), 159,66 (C=O), 160,44 (C=O).



Slika 22. Strukturna formula spoja **2**

3.2.3. Priprava 5,6-diamino-1*H*,3*H*-benzo[de]izokromen-1,3-diona (3)

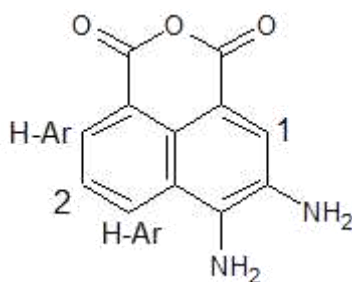
Hidrogeniranje spoja **2** provedeno je prema literaturno opisanom postupku [14]. Spoju **2** (100 mg, 0,35 mmol) dodani su 10 % Pd / C (5 mg) i DMF (3,5 mL). Hidrogeniranje je provedeno molekularnim vodikom pod tlakom od 40 psi u trajanju od 24 h. Nakon završetka reakcije reakcijska smjesa je analizirana tankoslojnom kromatografijom (EtOAc / heksan, 1 : 1) uz UV detekciju i prskanje ninhidrinom uz naknadno zagrijavanje. Reakcijska smjesa je profiltrirana, a nakon filtriranja filtratu je dodan etil-acetat i voda. Dobivena reakcijska smjesa je ekstrahirana, a nakon sušenja organskog sloja na bezvodnom natrijevom sulfatu, otapalo je upareno. Dobiven je kruti produkt smeđe boje, spoj **3** (slika 23) (20 mg, 18 %); $R_f = 0,35$ (EtOAc / heksan, 1 : 1).

$^1\text{H NMR}$ (DMSO) δ / ppm: 5,3 (s, 2H, NH_2), 6,88 (s, 2H, NH_2), 7,59 (t, 1H, H-2, $J=7,31$ Hz), 7,89 (s, 1H, H-1), 8,20 (d, 1H, H-Ar, $J=6,8$ Hz), 8,58 (d, 1H, H-Ar, $J=8,19$ Hz).

3.2.4. Pokušaj priprave spoja **3** redukcijom uz SnCl_2

Pokušaj hidrogeniranja spoja **2** proveden je prema literaturno opisanom postupku [15]. Smjesa SnCl_2 (300 mg, 1,33 mmol) i koncentrirane HCl (800 μL) miješana je na sobnoj temperaturi 10 min, nakon čega je smjesi dodan spoj **2** (120 mg, 0,33 mg). Reakcijska smjesa je miješana 40 min uz zagrijavanje na 50 °C. Nakon miješanja, smjesi je dodan etanol, a reakcijska smjesa se nastavlja miješati još 3 h na temperaturi 80 °C. Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom (EtOAc / heksan, 1 : 1) uz UV detekciju i prskanje ninhidrinom uz naknadno zagrijavanje. Nakon završetka reakcije, reakcijska smjesa je ohlađena na sobnu temperaturu. Nastali talog je odfiltriran, a $^1\text{H NMR}$ spektroskopijom je utvrđeno kako nastali spoj nije ciljani produkt, spoj **3**.

$^1\text{H NMR}$ (DMSO) δ / ppm: 5,3 (s, 2H, NH_2), 6,88 (s, 2H, NH_2), 7,59 (t, 1H, H-2, $J=7,31$ Hz), 7,89 (s, 1H, H-1), 8,20 (d, 1H, H-Ar, $J=6,8$ Hz), 8,58 (d, 1H, H-Ar, $J=8,19$ Hz).



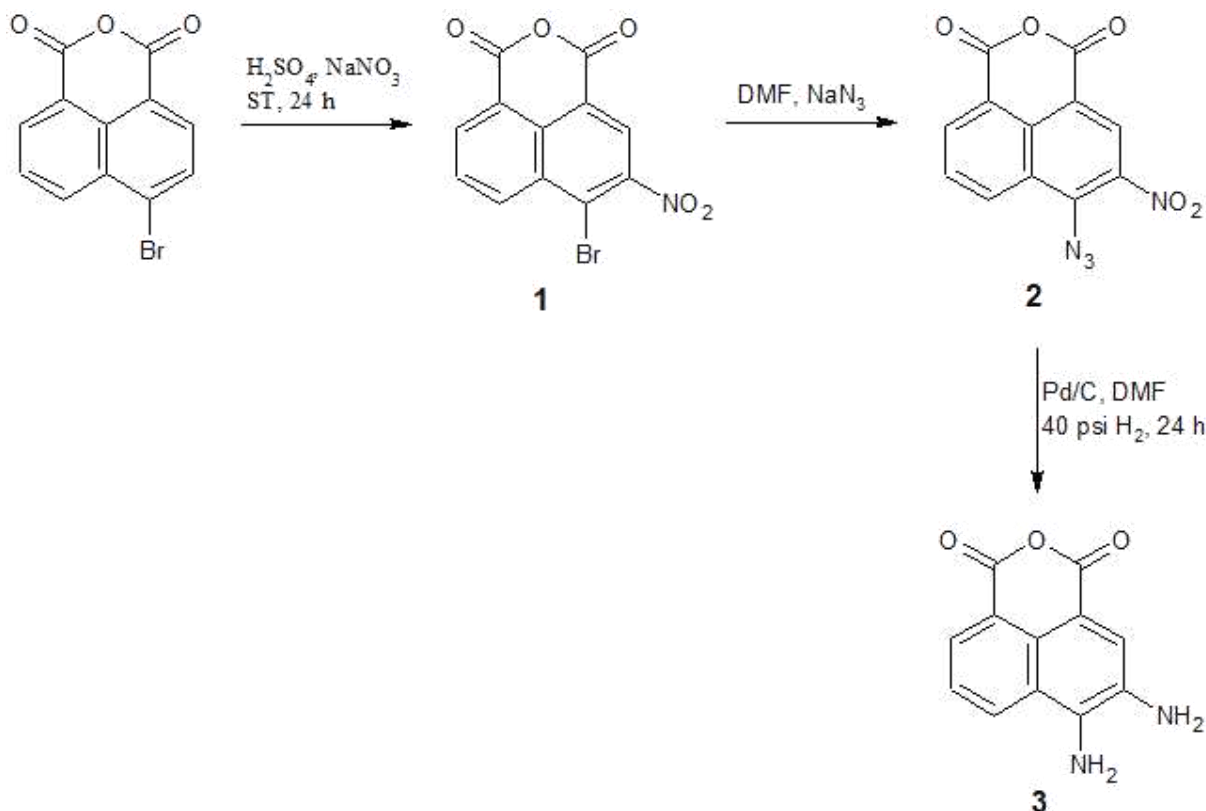
Slika 23. Strukturna formula spoja **3**

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Uvod

Selenij je element u tragovima, koji je u niskim koncentracijama važan mikroelement u živim organizmima, a u visokim koncentracijama može biti toksičan. Najčešće metode određivanja koncentracija selenija u uzorcima su putem atomske apsorpcije spektroskopije i spektrofluorimetrije. AAS je najčešće korištena metoda identifikacije i kvantifikacije metalnih kationa s niskom granicom detekcije koncentracije elemenata. Unatoč svojoj osjetljivosti, za određivanje koncentracije selenija potrebna je prvotna priprema uzorka putem generiranja hidrida pomoću kojih se povećava osjetljivost AAS metode na niske koncentracije selenija u biološkim uzorcima [19]. Spektrofluorimetrijskom metodom koncentracija selenija određuje se na principu fluorescencije molekula vezanih na selenij koje su pobuđene zračenjem određene valne duljine. Jedna od takvih molekula jest DAN. Vezanjem na selenij stvara se kompleks koji ima svojstvo fluorescencije pomoću čega se može odrediti koncentracija selenija [27].

Jedan od najčešće korištenih fluorescentnih indikatora za određivanje koncentracije selenija jest DAN, koji, kako je spomenuto u uvodnom dijelu rada pokazuje nekoliko nedostataka. Navedeni nedostaci podrazumijevaju izostanak selektivnosti i osjetljivosti te slabu topljivost u vodi što onemogućava njihovu upotrebu u analizi bioloških uzoraka [4]. Prema tome, cilj ovoga rada podrazumijevao je pripremu derivata naftalanhidrida, s dvije vicinalne amino skupine u njegovoj strukturi, koje mogu kompleksirati atom selenija. U okviru rada uspješno je pripremljen derivat naftalanhidrida, spoj **3**, korištenjem sintetskog puta koji se sastojao od tri reakcijska koraka (slika 24). Pripremljeni produkt, će se u nastavku istraživanja koristiti kao polazni spoj za reakciju s odgovarajućim alifatskim ili aromatskim aminima s ciljem pripreme odgovarajućeg imidnog derivata.



Slika 24. Shema: Sintetski put priprave spoja **3**

4.2. Priprava derivata naftalanhidrida

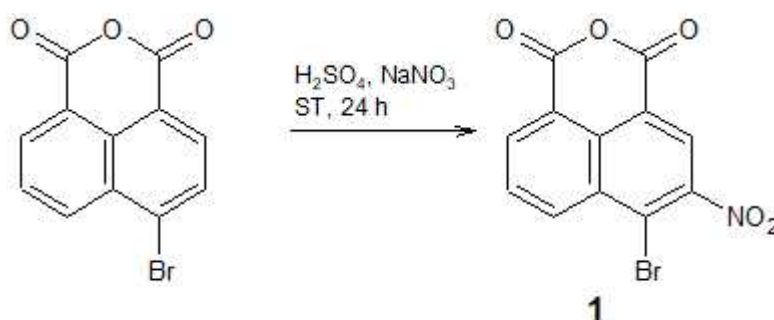
4.2.1. Priprava 6-brom-5-nitro-1*H*,3*H*,-benzo[de]izokromen-1,3-diona (**1**)

Spoj **1** (6-brom-5-nitro-1*H*,3*H*,-benzo[de]izokromen-1,3-dion) pripremljen je reakcijom nitiranja polaznog spoja 4-brom-1,8-naftalanhidrida (slika 25). Sumporna kiselina korištena je za generiranje elektrofila NO_2^+ pri čemu dolazi do eliminacije molekule vode. Reakcija je provedena u trajanju od 24 h uz praćenje reakcijom tankoslojnom kromatografijom (Etil-acetat / heksan, 1 : 1).

Nitriranje aromatskih spojeva jedna je od najvažnijih i najproučavanijih kemijskih reakcija [34], a kao izvor nitro skupine najčešće je korištena smjesa dušične i sumporne kiseline. U ovome radu provedena je reakcija nitiranja polaznog spoja, 4-brom-1,8-naftalanhidrida u blažim reakcijskim uvjetima, korištenjem NaNO_3 kao izvora nitro skupine. Reakcije nitiranja aromatskih spojeva korištenjem smjese sumporne kiseline i dušične kiseline su najčešće korištene reakcije i za industrijsku pripravu brojnih derivata. Njihov nedostatak je neselektivnost, odnosno u navedenim reakcijskim uvjetima vrlo često dolazi do nastanka

polinitriranih produkata ili smjese produkata, kao i do nastanka produkata oksidacije. Osim navedenog nedostatak upotrebe kiselina za uvođenje nitro skupine su njihova korozivnost, a s obzirom da se kiseline koriste u suvišku takve reakcije nisu ekološki prihvatljive [34].

Polazni spoj 4-brom 1,8-naftalanhidrid u svojoj strukturi posjeduje atom broma. Atom broma, odnosno općenito halogeni elementi, deaktiviraju aromatsku jezgru prema elektrofilnoj aromatskoj supstituciji, ali djeluju kao *ortho/para* usmjerivači [32]. Razlog tomu leži u činjenici da halogeni elementi pokazuju dva suprotna efekta. Halogeni elementi pokazuju induktivni elektron-odvlačeći efekt, koji podrazumijeva odvlačenje elektrona kroz σ -veze zahvaljujući njihovoj velikoj elektronegativnosti, a doniraju elektrone konjugacijom ne veznog elektronskog para s π -elektronima aromatskog prstena zbog čega djeluju kao *ortho/para* usmjerivači [32]. Na temelju navedenog pretpostavljeno je kako će nitriranjem polaznog spoja 4-brom-1,8-naftalanhidrida spoj **1** biti glavni reakcijski produkt, što je potvrđeno preliminarnom identifikacijom produkta koja podrazumijeva tankoslojnu kromatografiju (Etil-acetat / heksan, 1 : 1) te u konačnici ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom. Spoj **1** opisanom reakcijom pripremljen je uz zadovoljavajući prinos od 73 %, a korišten je kao polazni spoj za pripravu azido derivata, spoja **2**.



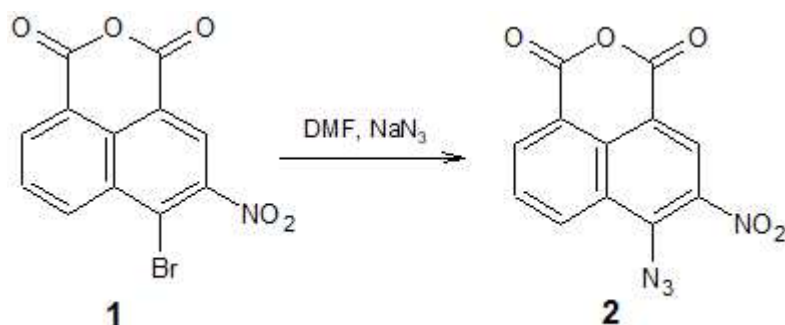
Slika 25. Shema: Sinteza 6-brom-5-nitro-1*H*,3*H*,-benzo[de]izokromen-1,3-diona **1**

4.2.2. Priprava 6-azido-5-nitro-1*H*,3*H*,-benzo[de]izokromen-1,3-diona (**2**)

Spoj **2** pripremljen je u jednom reakcijskom koraku, reakcijom spoja **1** s NaN_3 u suhom DMF-u kao otapalu. Nakon završetka reakcije, reakcijskoj smjesi dodana je voda pri čemu dolazi do promjene boje reakcijske smjese (slika 26). Reakcija je obrađena ekstrakcijom s EtOAc, a nakon sušenja organskog sloja te uparavanja otapala izoliran je spoj **2** uz umjeren prinos od 45 %.

Azidna skupina je u ovoj reakciji nukleofil koji se supstituira s bromom pri čemu nastaje spoj **2**. Azidiranje organskih spojeva relativno je jednostavna reakcija budući da se odvija u

jednom koraku, često se odvija pri sobnoj temperaturi i ima visoka iskorištenja reakcije [54]. Najčešći izvor azidne skupine je natrijev azid, NaN_3 , no posjeduje eksplozivna svojstva. S obzirom na navedena svojstva NaN_3 , razvijaju se nove metode sinteze diazonijevih spojeva. Jedan od tih načina je korištenje manje eksplozivnog reagensa *tert*-butilnitrita (*t*-BuONO) i azidotrimetilsilana (TMSN_3) [54].



Slika 26. Shema: Sinteza 6-azido-5-nitro-1*H*,3*H*,-benzo[de]izokromen-1,3-diona **2**

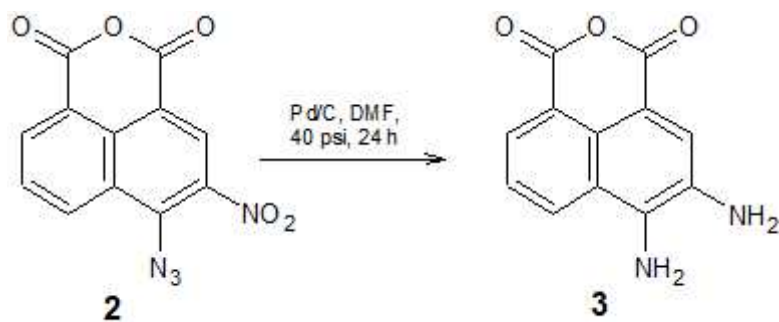
4.2.3. Priprava 5,6-diamino-1*H*,3*H*-benzo[de]izokromen-1,3-diona (**3**)

Spoj **3** sintetiziran je reakcijom hidrogeniranja korištenjem paladija na ugljiku (Pd/C) kao katalizatora (slika 27). Hidrogeniranje je provedeno pod tlakom od 40 psi, a reakcijska smjesa je nakon završetka reakcije analizirana tankoslojnom kromatografijom (EtOAc : heksan, 1:1) te UV detekcijom i prskanjem ninhidridnom uz naknadno zagrijavanje. Spoj **3**, izoliran je iz reakcijske smjese ekstrakcijom s EtOAc, a pripravljen je uz prinos od 18 %.

Katalitičko hidrogeniranje je najčešće korišten način redukcije zasićenih ugljičnih veza, kao i različitih funkcijskih skupina, u ovome slučaju nitro i azidne skupine, ali navedena reakcija nije selektivna. Suprotno tome, ciljana redukcija uz upotrebu katalizatora omogućuje selektivnu redukciju pojedine funkcionalne skupine u prisustvu drugih funkcijskih skupina koje se istovremeno mogu reducirati [55]. Katalizator koji se najčešće koristi za hidrogeniranje jest paladij (Pd) s različitim adsorbiranim atomima ili molekulama, ovisno o tome što se želi reducirati.

U okviru ovoga rada katalitičko hidrogeniranje je korišteno za redukciju nitro i azidne skupine. Navedenom reakcijom u jednom reakcijskom koraku uspješno su reducirane obje funkcijske skupine. Na ovaj način uvođenjem dvije vicinalne amino skupine u osnovnu naftalanhidridnu strukturu generira se potencijalno vezno mjesto za atom selenija. Pripravljeni spoj **3**, u nastavku istraživanja koristit će se kao polazni spoj za pripremu odgovarajućeg

imidnog derivata. S ciljem povećanja prinosa spoja **3** (18 %), u okviru rada pokušalo se nitro i azidnu skupinu reducirati korištenjem SnCl₂ u kiselim reakcijskim uvjetima, no navedena reakcija nije rezultirala uspješnom pripravom spoja **3**.



Slika 27. Shema: Sinteza 5,6-diamino-1*H*,3*H*-benzo[de]izokromen-1,3-diona **3**

5. ZAKLJUČAK

- U jednom reakcijskom koraku, uz miješanje magnetskom miješalicom, reakcijom polaznog spoja 4-brom-1,8-naftalanhidrida i natrijevog nitrata uz koncentriranu sumpornu kiselinu pripremljen je spoj **1** (6-brom-5-nitro-1*H*,3*H*,-benzo[de]izokromen-1,3-dion).
- Također, u jednom reakcijskom koraku, uz miješanje magnetskom miješalicom, reakcijom spoja **1** i natrijevog azida uz otapalo DMF kao otapalo u zatvorenoj okrugloj tikvici s klor-kalcijevom cijevi pripremljen je spoj **2** (6-azido-5-nitro-1*H*,3*H*,-benzo[de]izokromen-1,3-dion).
- Spoj **3** uspješno je pripremljen katalitičkim hidrogeniranjem spoja **2** uz korištenje Pd/C kao katalizatora. Opisanoj reakcijom, u jednom reakcijskom koraku reducirane su azidna i nitro skupina. Na ovaj način u strukturu osnovnog naftalanhidrida uvedene su dvije vicinalne amino skupine čime se omogućava uvođenje veznog mjesta za atom selenija.
- Spoj **3** pokušalo se pripremiti i redukcijom spoja **2** uz SnCl₂ kao katalizator u kiselim reakcijskim uvjetima, no navedena reakcija nije rezultirala pripremom ciljnog produkta.
- Pripremljeni spoj **3** će se u nastavku istraživanja koristiti kao polazni spoj za reakciju s arilaminima ili alifatskim aminima s ciljem pripreme imidnog derivata koji će u svojoj strukturi na položajima 3 i 4 posjedovati amino skupine. U konačnici imidni derivat će se koristiti kao indikator za određivanje koncentracije selenija.

6. POPIS LITERATURE

- [1] M. Weller, T. Overton, J. Rourke, F. Armstrong, *Inorganic Chemistry*, 6th ed, Oxford University Press, Oxford, **2014**.
- [2] Lenntech. URL: <https://www.lenntech.com/periodic/elements/se.htm> (18.09.2023.)
- [3] X. Dauchy, M. Potin-Gautier, A. Astruc, M., Analytical methods for the speciation of selenium compounds: a review. *J Anal Chem.* **1998**, 348, 792-805.
- [4] M. Hof, R. Hutterer, V. Thomas, *Flourescence Spectroscopy in Biology: Advanced Methods and their Applications to Membranes, Proteins, DNA, and Cells*, Springer, London, **2004**.
- [5] Periodni sustav elemenata. URL: <http://www.pse.pbf.hr/hrvatski/elementi/se/index.html> (31.07.2024.)
- [6] J. Trofast, *Berzelius' Discovery of Selenium*, Chemistry International, IUPAC, **2011**.
- [7] V.R. Preedy, *Food & Nutritional Components in Focus, Selenium: Chemistry, Analysis, Function and Effects*, The Royal Society of Chemistry, London, **2015**.
- [8] Royal Society of Chemistry. URL: <http://www.rsc.org/newsevents/features/2017/aug/200-years-selenium-research/> (18.09.2023.)
- [9] T. M. T. Sheehan, D. J. Halls, Measurement of selenium in clinical specimens, *Ann. Clin. Biochem.* **1999**, 36, 301-315.
- [10] C. M. Weekley, H. H. Harris, Which form is that? The importance of selenium speciation and metabolism in the prevention and treatment of disease. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 8870-8894.
- [11] B. Hosnedlova, M. Kepinska, S. Skalickova, C. Fernandez, B. Ruttkay-Nedecky, T. D. Malevu, J. Sochor, M. Baron, M. Melcova, J. Zidkova, R. Kizek, A Summary of New Findings on the Biological Effects of Selenium in Selected Animal Species - A Critical Review. *Int. J. Mol. Sci.* **2017**, 18, 2209-2256.
- [12] L. Wang, M. J. L. Bonorden, G. X. Li, H. J. Lee, H. Hu, Y. Zhang, J. D. Liao, M. P. Cleary, J. Lu, Methyl-Selenium Compounds Inhibit Prostate Carcinogenesis in the Transgenic Adenocarcinoma of Mouse Prostate Model with Survival Benefit. *Cancer Prev. Res.* **2009**, 2, 484-495.
- [13] T. Ishrat, K. Parveen, M. M. Khan, G. Khuwaja, M. B. Khan, S. Yousuf, A. Ahmad, P. Shrivastav, F. Islam, Selenium prevents cognitive decline and oxidative damage in rat model

of streptozotocin-induced experimental dementia of Alzheimer's type. *Brain Res.* **2009**, *1281*, 117–127.

[14] J. van Eersel, Y. D. Ke, X. Liu, F. Delerue, J. J. Kril, J. Götz, L. M. Ittner, Sodium selenate mitigates tau pathology, neurodegeneration, and functional deficits in Alzheimer's disease models. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2010**, *107*, 13888–13893.

[15] G. Bjørklund, Selenium as an antidote in the treatment of mercury intoxication. *Biometals* **2015**, *28*, 605–614.

[16] M. P. Rayman, Selenium and human health. *Lancet.* **2012**, *379*, 1256–1268.

[17] Y. Saito, Y. Yoshida, T. Akazawa, K. Takahashi, E. Niki, Cell Death Caused by Selenium Deficiency and Protective Effect of Antioxidants, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 39428–39434.

[18] A. Walsh, The application of atomic absorption spectra to chemical analysis, *Spectrochim. Acta*, **1955**, *7*, 108-117.

[19] A. Hineman, *Determination of As, Se and Hg in Waters by Hydride Generation/ Cold Vapor Atomic Absorption Spectroscopy*, Perkin Elmer Inc., **2012**.

[20] O. Hegedűs, A. Hegedűsová, S. Šimková, V. Pavlík, K. Jomová, Evaluation of the ET-AAS and HG-AAS methods of selenium determination in vegetables. *J. Biochem. Bioph. Methods.* **2008**, *70*, 1287–1291.

[21] F. Li, E. Rossipal, D. Micetic-Turk, Determination of Selenium in Serum by FI-HG-AAS and Calculation of Dietary Intake. *Biol. Trace Elem. Res.* **2000**, *73*, 201–210.

[22] M. Atasoy, İ. Kula, Speciation and determination of inorganic selenium species in certain fish and food samples by gold-coated W-coil atom trap hydride generation atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry.* **2022**, *369*, 130938.

[23] P. E. Carrerot, J. F. Tyson, Determination of Selenium by Atomic Absorption Spectrometry With Simultaneous Retention of Selenium(IV) and Tetrahydroborate(III) on an Anion-exchange Resin Followed by Flow Injection Hydride Generation From the Solid Phase. *Analyst.* 1997, **122**, 915-919.

[24] D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, *Osnove analitičke kemije*, Školska knjiga, Zagreb, **1999**

[25] Atkins, J. de Paula, *Physical Chemistry, 8th Edition*, Oxford University Press, **2006**

- [26] H. A. M. G. Vaessen, A. van Ooik, J. Zuydendorp, Simple fluorimetric determination of selenium in food and biological materials A validation study, *National Institute of Public Health and Environmental Hygiene*, **1985**, *181*, 189-193.
- [27] K. Takayanagi, G. T. F. Wong, Fluorimetric determination of selenium(IV) and total selenium in natural waters. *Anal. Chim. Acta.* **1983**, *148*, 263–269.
- [28] TCI America. URL: <https://www.tcichemicals.com/IN/en/p/D1045> (30.08.2024.)
- [29] S.Liang, J.Chen, D.T.Pierce, J.X. Zhao, A turn-on fluorescent nanoprobe for selective determination of selenium (IV). *ACS Appl. Mater. Interfaces.* **2013**, *11*, 5165-5173.
- [30] T. Imai, T. Kurihara, N. Esaki, H. Mihara, Selective fluorescence detection method for selenide and selenol using monochlorobimane. *Anal. Biochem.* **2017**, *532*, 1–8.
- [31] X. Shi, H. Zhao, H. Zhang, Q. Li, F. Lou, Highly selective fluorescence detection of l-selenium-methylselenocysteine in selenium-enriched Cardamine violifolia. *Anal. Methods.* **2024**, *16*, 4373-4380.
- [32] L. G. Wade, *Organic chemistry*, Pearson Publishing, Boston, **2013**
- [33] J.-W. Wu, P. Zhang, Z.-X. Guo, Nitration of deactivated aromatic compounds via mechanochemical reaction. *Tetrahedron Lett.* **2021**, *72*, 153087.
- [34] K. Smith, A. Musson, G.A. DeBoos, A novel method for the nitration of simple aromatic compounds. *J.Org. Chem.* **1998**, *63*, 8448-8454.
- [35] M. N. Cortona, N. R. Vettorazzi, J. J. Silber, L. E. Sereno, Electrochemical nitration of naphthalene in the presence of nitrite ion in aqueous non-ionic surfactant solutions. *J. Electroanal. Chem.* **1999**, *470*, 157–165.
- [36] P. Lian, L. Chen, J. Chen, J. Wang, J. Wang, J. Chen, The nitration of 1-methyl-2,4,5-triiodoimidazole and its oxidation by-product under nitration conditions. *J. Energetic Mater.* **2022**, *40*, 46-60.
- [37] S. H. Pine, *Organska kemija*. Zagreb, Školska knjiga, **1994**
- [38] K. Humski, *Nukleofilna supstitucija na zasićenom ugljikovu atomu. U: Reakcijski mehanizmi u organskoj kemiji*. Školska knjiga, Zagreb, **1974**
- [39] Master organic of chemistry – Some Reactions of Azides. URL: <https://www.masterorganicchemistry.com/2018/06/29/some-reactions-of-azides/> (30.07.2024.)

- [40] A. A. Nayl, A. A. Aly, W. A. A. Arafa, I. M. Ahmed, A. I. Abd-Elhamid, E. M. El-Fakharany, M. A. Abdelgawad, H. N. Tawfeek, S. Bräse, Azides in the Synthesis of Various Heterocycles. *Molecules*. **2022**, *27*, 3716-3789.
- [41] S. M. Capitosti, T. P. Hansen, M. L. Brown, Facile Synthesis of an Azido-Labeled Thalidomide Analogue. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2865–2867.
- [42] W. Stadlbauer, W. Fiala, M. Fischer, G. Hojas, Thermal cyclization of 4-azido-3-nitropyridines to furoxanes. *J. Heterocycl. Chem.* **2000**, *37*, 1253–1256.
- [43] J. Gavenonis, T. Don Tilley, Tantalum Alkyl and Silyl Complexes of the Bulky (Terphenyl)imido Ligand $[2,6-(2,4,6\text{-Me}_3\text{C}_6\text{H}_2)_2\text{C}_6\text{H}_3\text{N}=\text{N}]^{2-}$ ($[\text{Ar}^*\text{N}=\text{N}]^{2-}$). Generation and Reactivity of $[(\text{Ar}^*\text{N}=\text{N})(\text{Ar}^*\text{NH})\text{Ta}(\text{H})(\text{OSO}_2\text{CF}_3)]$, Which Reversibly Transfers Hydride to an Aromatic Ring of the Arylamide Ligand. *Organometallics*. **2002**, *21*, 5549–5563.
- [44] M. B. Smith, J. March, *March's Advanced Organic Chemistry- Reactions, Mechanisms, and Structure, 6th ed*, A John Wiley & Sons Inc. Publication, Hoboken, New Jersey, **2007**
- [45] Common Organic Chemistry. URL: https://commonorganicchemistry.com/Rxn_Pages/Nitro_Reduction/Nitro_Reduction_Index.htm (30.07.2024.)
- [46] A. Khorshidi, B. Ghorbannezhad, A highly effective Ag–RANEY® nickel hybrid catalyst for reduction of nitrofurazone and aromatic nitro compounds in aqueous solution. *RSC Adv.* **2017**, *7*, 29938–29943.
- [47] D. Porwal, M. Oestreich, $\text{B}(\text{C}_6\text{F}_5)_3$ -Catalyzed Reduction of Aromatic and Aliphatic Nitro Groups with Hydrosilanes. *Eur. J. Org. Chem.* **2016**, *20*, 3307–3309.
- [48] M. Lauwiner, P. Rys, J. Wissmann, Reduction of aromatic nitro compounds with hydrazine hydrate in the presence of an iron oxide hydroxide catalyst. I. The reduction of monosubstituted nitrobenzenes with hydrazine hydrate in the presence of ferrihydrite. *Appl. Catal., A*. **1998**, *172*, 141–148.
- [49] I. Sorribes, L. Liu, A. Corma, Nanolayered Co–Mo–S Catalysts for the Chemoselective Hydrogenation of Nitroarenes. *ACS Catal.* **2017**, *7*, 2698–2708.
- [50] H. Sajiki, Selective inhibition of benzyl ether hydrogenolysis with Pd/C due to the presence of ammonia, pyridine or ammonium acetate. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3465-3468.

- [51] S. Chandrasekhar, S. Y. Prakash, C. L. Rao, J., Poly(ethylene Glycol) (400) as Superior Solvent Medium against Ionic Liquids for Catalytic Hydrogenations with PtO₂. *Org. Chem.* **2006**, *71*, 2196-2199.
- [52] G. Proietti, K. J. Prathap, X. Yu, R. T. Olsson, P. Dinér, Nickel boride catalyzed reductions of nitro compounds and azides: nanocellulose-supported catalysts in tandem reactions. *Synthesis*. **2022**, *54*, 133-146.
- [53] M. Ghirardello, H. Ledru, A. Sau, M. C. Galan, Chemo-selective Rh-catalysed hydrogenation of azides into amines. *Carbohydr. Res.* **2020**, *489*, 107948.
- [54] K. Barral, A. D. Moorhouse, J. E. Moses, Efficient conversion of aromatic amines into azides: A one-pot synthesis of triazole linkages. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1809-1811.
- [55] J. G. de Vriesd, *Science of Synthesis: Catalytic Reduction in Organic Synthesis Vol 2*, Thieme Chemistry, London, **2018**

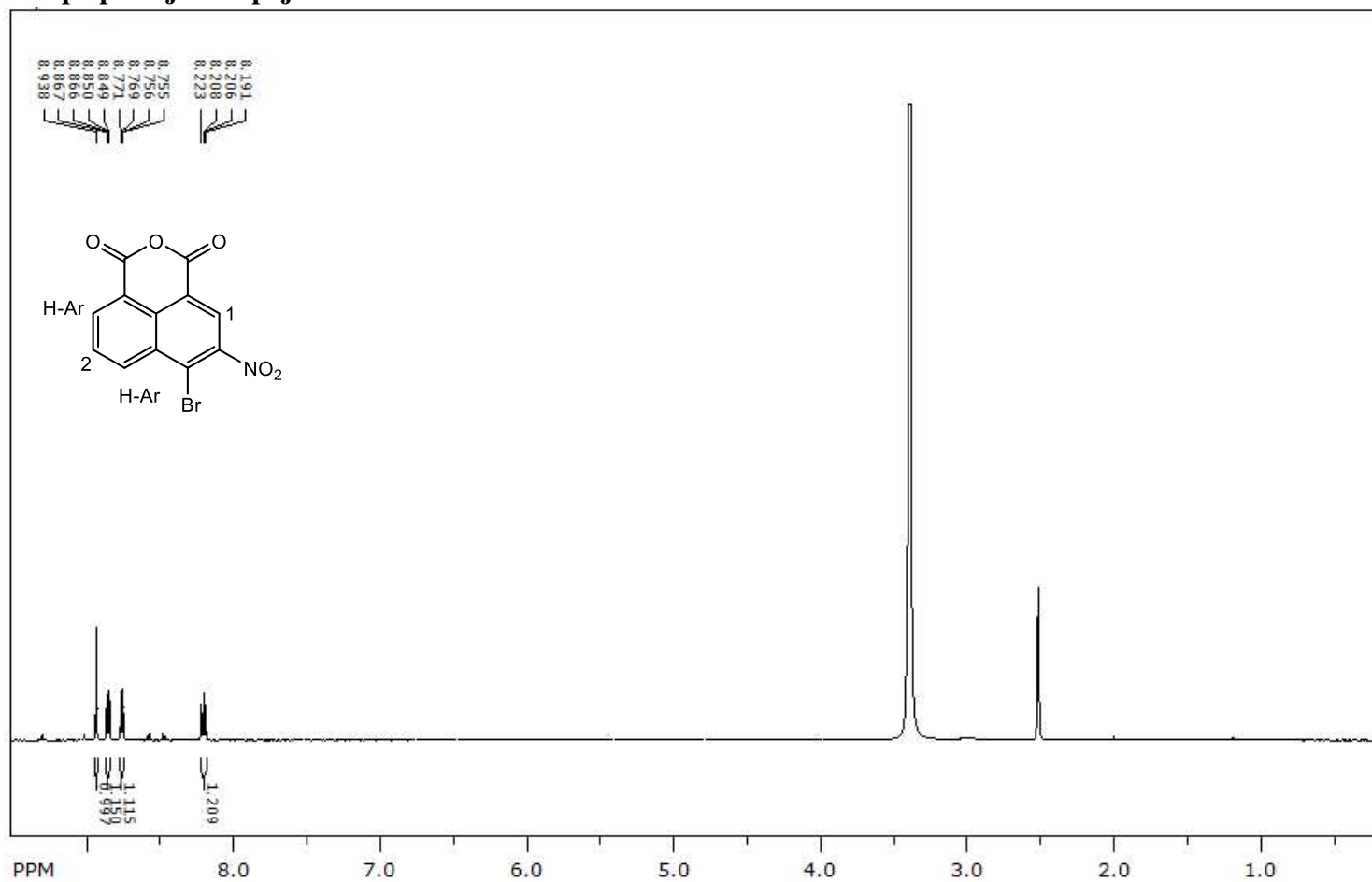
7. PRILOZI

7.1. Popis kratica i simbola

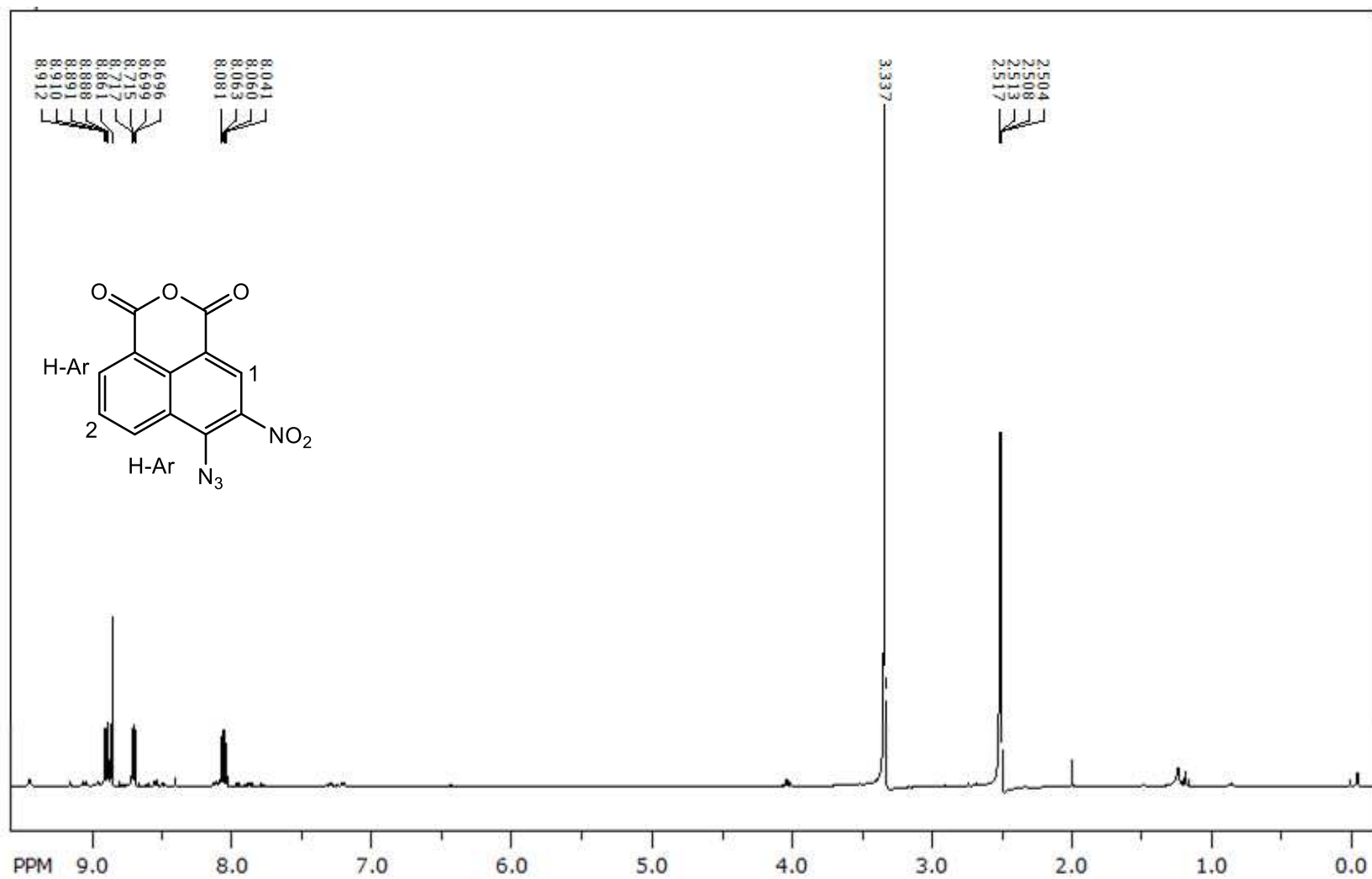
d	dublet
dd	dublet dubleta
DMF	dimetilformamid
DMSO	dimetilsulfoksid
EAS	elektrofilna aromatska supstitucija
EtOAc	etil-acetat
EtOH	etanol
LiAlH ₄	litijev aluminijev hidrid
MeOH	metanol
Na ₂ SO ₄	natrijev sulfat
Na ₂ S	natrijev sulfid
NaN ₃	natrijev azid
NaNO ₃	natrijev nitrat
NAS	nukleofilna aromatska supstitucija
NMR	nuklearna magnetska rezonancija
Ra-Ni	Raney nikal
s	singlet
S _N 1	nukleofilna supstitucija prvog reda
S _N 2	nukleofilna supstitucija drugog reda
SnCl ₂	kositrov (II) klorid
SePN	selenoprotein N
SePP	selenoprotein P

t	triplet
TMSN ₃	azidotrimetilsilan
UV	ultraljubičasto zračenje

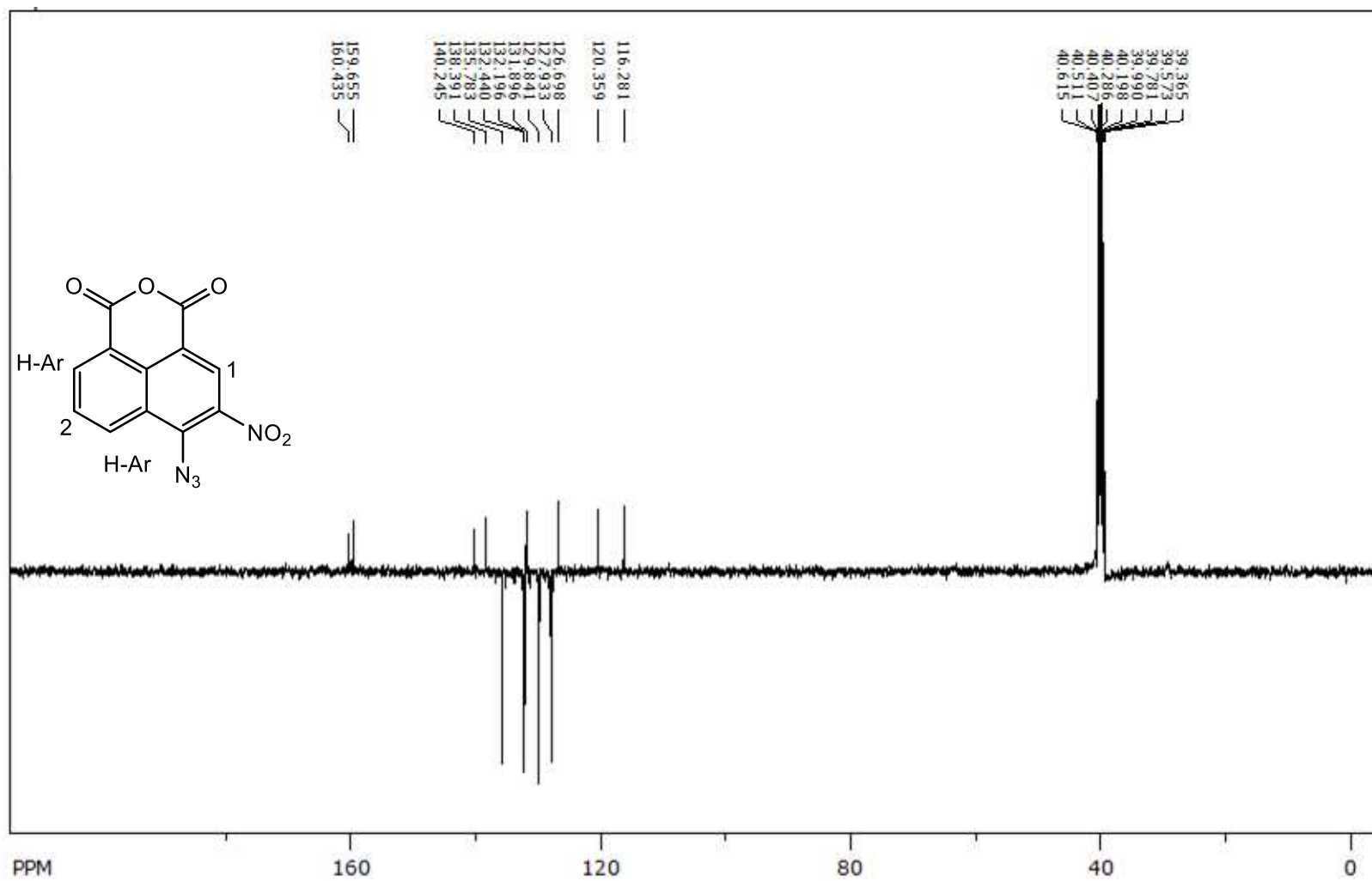
7.2. NMR spektri pripravljenih spojeva



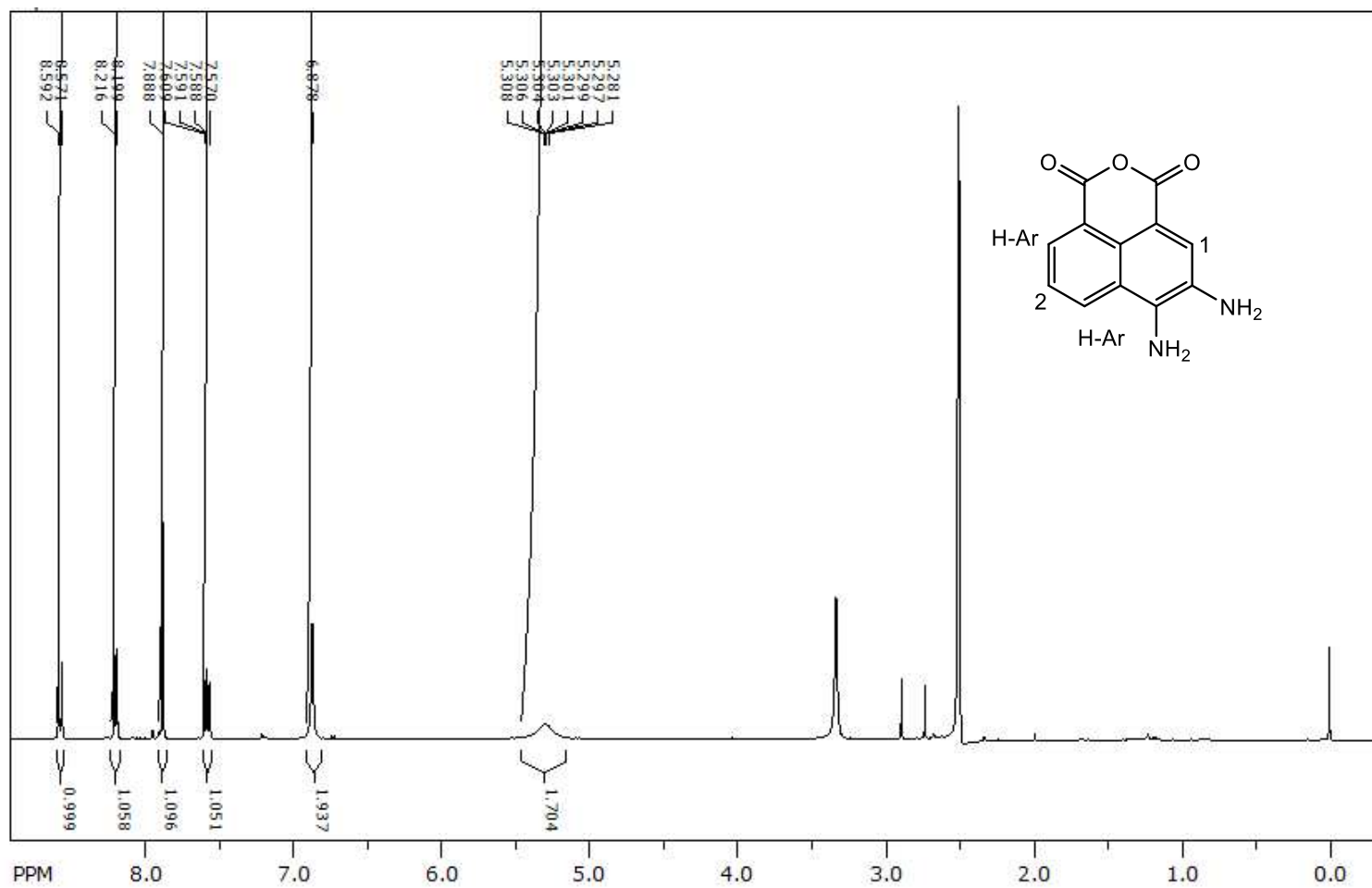
Slika P1. ^1H NMR spektar spoja **1**



Slika P3. ^1H NMR spektar spoja 2



Slika P4. ¹³C NMR spektar spoja 2



Slika P5. ¹H NMR spektar spoja 3