

# Sinteza i spektroskopska karakterizacija novih derivata imidazo[4,5-b]piridina kao potencijalnih senzora za pH u otopinama

---

Jaklenec, Laura

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:995197>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-19**



FKITMCMXIX

Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE**  
**SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ**

**Laura Jaklenec**

**ZAVRŠNI RAD**

**Zagreb, rujan 2023.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE**  
**SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ**

**Laura Jaklenec**

**Sinteza i spektroskopska karakterizacija novih derivata imidazo[4,5-*b*]piridina kao potencijalnih senzora za pH u otopinama**

**ZAVRŠNI RAD**

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

**Članovi ispitnog povjerenstva:**

1. prof. dr. sc. Marijana Hranjec, FKIT
2. dr. sc. Ida Boček Pavlinac, FKIT
3. doc. dr. sc. Petar Kassal, FKIT

**Zagreb, rujan 2023.**

*Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Marijani Hranjec na predloženoj temi, savjetima i stručnoj pomoći koju mi je pružila tijekom pisanja završnog rada.*

*Zahvaljujem se dr. sc. Idi Boček Pavlinac na iznimnoj pomoći, strpljenju i savjetima prilikom rada u laboratoriju i prilikom pisanja eksperimentalnog dijela.*

*Posebna zahvala mojoj mentorici na stručnoj praksi Dariji Carević koja mi je predložila izradu završnog rada u sklopu Zavoda za organsku kemiju.*

*Zahvaljujem se i svojoj obitelji na potpori i pomoći koju mi je pružila u životu.*

# SAŽETAK

## Sinteza i spektroskopska karakterizacija novih derivata imidazo[4,5-*b*]piridina kao potencijalnih senzora za pH u otopinama

U ovom radu sintetizirane su Schiffove baze imidazo[4,5-*b*]piridina. Kako bi se priredili željeni derivati imidazo[4,5-*b*]piridina **10-12** korištene su klasične reakcije organske sinteze. Sinteza željenih spojeva započeta je sintezom *N*-metil-3-nitropiridin-2-amina **3** koji je priređen reakcijom 2-klor-3-nitropiridina **1** s metilaminom u etanolu uz zagrijavanje reakcijske smjese. Redukcijom, zagrijavanjem etanolne otopine spoja **3** s SnCl<sub>2</sub>×2H<sub>2</sub>O, priređen je 2-*N*-metilpiridin-2,3-diamin **4**. Iz spoja **4** i *p*-aminobenzojeve kiseline **5**, priređen je glavni amino-supstituirani prekursor **6**. Schiffove baze **10-12** priređene su iz prekursora **6** i odgovarajućih aldehida **7-9**, u apsolutnom etanolu uz dodatak octene kiseline. Strukture priređenih spojeva potvrđene su <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektroskopijom, a spojevi **10-12** dodatno su okarakterizirani UV/Vis spektroskopijom u otapalima različite polarnosti. Ispitana je i mogućnost primjene Schiffovih baza **10-12** kao optičkih pH senzora, praćenjem promjene intenziteta apsorbancije spojeva ovisno o različitim pH vrijednostima pufera. Provedenim ispitivanjima utvrđena je mogućnost korištenja priređenih Schiffovih baza **10-12** kao optičkih pH senzora.

**Ključne riječi:** Schiffove baze, imidazo[4,5-*b*]piridin, <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektroskopija, UV/Vis spektroskopija, pH, otapala, optički senzori

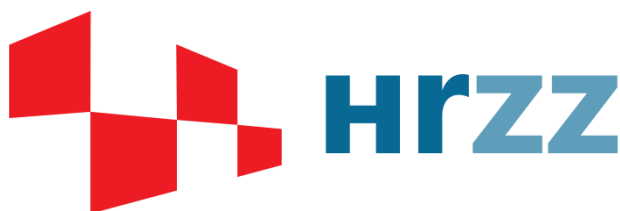
## SUMMARY

### Synthesis and spectroscopic characterization of novel imidazo[4,5-*b*]pyridine derivatives as potential pH sensors in solutions

The aim of this work was the synthesis of imidazo[4,5-*b*]pyridine Schiff bases. Classic organic reactions were used for preparation of novel imidazo[4,5-*b*]pyridine derivatives **10-12**. Their synthesis began with synthesis of *N*-methyl-3-nitropyridin-2-amine **3**, which was prepared from 2-chloro-3-nitropyridine **1** and methylamine in ethanol by heating the reaction mixture. Within the reduction of ethanol solution of compound **3** and SnCl<sub>2</sub>×2H<sub>2</sub>O, the 2-*N*-methylpyridine-2,3-diamine **4** was prepared. Furthermore, from compound **4** and *p*-aminobenzoic acid **5**, the main amino substituted precursor **6** was prepared. Schiff bases **10-12** were prepared from precursor **6** and aldehydes **7-9** in absolute ethanol with an addition of acetic acid. Structures of prepared compounds were confirmed with <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectroscopy. Schiff bases **10-12** were also characterized by UV/Vis spectroscopy in solvents with different polarity. The possibility of using prepared Schiff bases **10-12** as optical pH sensors was also tested by tracking change in absorbance intensity of the compounds depending on the different pH values of buffer solutions. Conducted experiments have proven possibility of using prepared Schiff bases **10-12** as optical pH sensors.

**Key words:** Schiff bases, imidazo[4,5-*b*]pyridine, <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectroscopy, UV/Vis spectroscopy, pH, solvents, optical sensors

Ovaj rad je izrađen na Zavodu za organsku kemiju Sveučilišta u Zagrebu Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije pod mentorstvom prof. dr. sc. Marijane Hranjec i neposrednim voditeljstvom dr. sc. Ide Boček Pavlinac u sklopu projekata Hrvatske nacionalne zaklade br. IP-2018-01-4379 *Istraživanje antioksidativnog djelovanja benzazolskog skeleta u dizajnu novih antitumorskih agensa* i IP-2020-02-8090 *Dizajn, sinteza i računalna analiza novih optičkih kemijskih pH osjetilnih derivate benzazola*.



## Sadržaj:

1. UVOD.....	1
2. OPĆI DIO .....	3
2.1. Schiffove baze.....	4
2.1.1. Mehanizam nastajanja Schiffovih baza .....	5
2.1.2. Različiti načini sinteze Schiffovih baza .....	6
2.1.3. Kemijska svojstva i reaktivnost Schiffovih baza .....	8
2.1.4. Primjena Schiffovih baza.....	9
2.2. Optički senzori .....	9
2.2.1. Dijelovi optičkog senzora .....	10
2.2.2. Djelovanje optičkog senzora.....	11
2.2.3. Indikatori .....	13
2.2.4. Imobilizacija indikatora .....	13
2.2.5. Imobilizacija matrice .....	14
2.2.6. Prijenos svjetlosti na velike udaljenosti .....	14
2.2.7. Optode za sensoriranje iona.....	14
2.3. Derivati imidazo[4,5- <i>b</i> ]piridina kao optički senzori.....	16
3. REZULTATI I RASPRAVA .....	28
3.1. Cilj rada.....	29
3.2. Sinteza priređenih spojeva.....	30
3.3. Spektroskopska karakterizacija Schiffovih baza imidazo[4,5- <i>b</i> ]piridina.....	36
3.4. Utjecaj pH na spektroskopska svojstva sintetiziranih spojeva .....	39
4. EKSPERIMENTALNI DIO .....	42
4.1. Opće napomene.....	43
4.2. Sinteza Schiffovih baza imidazo[4,5- <i>b</i> ]piridina 10-13.....	44
4.2.1. Priprava <i>N</i> -metil-3-nitropiridin-2-amina 3 .....	45
4.2.2. Priprava 2- <i>N</i> -metilpiridin-2,3-diamina 4.....	45
4.2.3. Priprava 4-(3-metil-3H-imidazo[4,5- <i>b</i> ]piridin-2-il)anilina 6.....	45
4.2.4. Opći postupak pripreme derivata Schiffovih baza 10-12.....	46
5. ZAKLJUČAK .....	48
6. LITERATURA .....	50
7. PRILOZI.....	54
8. ŽIVOTOPIS.....	61



## **1. UVOD**

Imini ili Schiffove baze organski su spojevi koji nastaju reakcijom aldehida ili ketona i amina. Schiffove baze imaju važnu ulogu u koordinativnoj kemiji, te se upotrebljavaju i kao katalizatori. Imaju široku mogućnost primjene i u medicinskoj kemiji jer mnogi derivati pokazuju različite biološke aktivnosti, posebice Schiffove baze benzazola i imidazo-piridina, koje imaju značajnu antimikrobnu i antitumorsku aktivnost. To svojstvo imidazo-piridina omogućilo je njihovo korištenje u razvoju i dizajnu novih lijekova za prevenciju mnogih bolesti. Strukturna sličnost imidazo-piridina s purinima omogućila je optimiranje skeleta tih molekula u potrazi za novim, selektivnijim i aktivnijim molekulama. Njihovo pozitivno biološko djelovanje, očituje se u farmaceutskoj industriji, gdje su imidazo-piridin i njegovi derivati ključni za otkrivanje lijekova za liječenje Parkinsonove bolesti. Osim u farmaceutskoj industriji, zbog njihove velike osjetljivosti koja se očituje u apsorpcijskim i emisijskim spektrima, imidazo-piridini i njegovi derivati imaju i povoljne optičke karakteristike, pa se mogu koristiti kao optički materijali, primjerice kao pH senzori u otopinama.

## **2. OPĆI DIO**

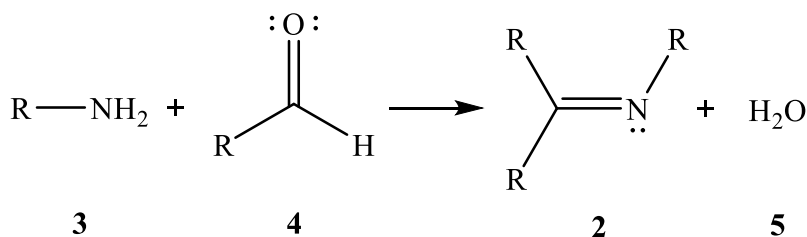
## 2.1. Schiffove baze

Schiffove baze su organski spojevi koji su dobili ime po Hugu Schiffu koji ih je detektirao 1864. godine. Schiffove baze, koje se još nazivaju i imini, nastaju reakcijama kondenzacije u kojima dolazi do reakcije između aldehida ili ketona i amina, pri čemu dolazi do izdvajanja vode ili neke druge manje molekule. U Schiffovim bazama karbonilna je skupina, u kojoj je ugljik vezan dvostrukom vezom za kisik (C=O), zamijenjena iminskom skupinom, gdje je ugljik vezan dvostrukom vezom na dušik (C=N) što je prikazano na Slici 1.<sup>1</sup> Kod karbonilne skupine R<sub>1</sub> i R<sub>2</sub> predstavljaju alkilnu ili arilnu skupinu, no mogu predstavljati i vezan atom vodika na karbonilnu skupinu ukoliko se radi o aldehydima. Kod iminske skupine R' predstavlja alkilnu ili arilnu skupinu.<sup>2</sup>



Slika 1. Karbonilna (1) i iminska skupina (2)<sup>3</sup>

To su spojevi koji nastaju nukleofilnom adicijom primarnog amina na karbonilni ugljik aldehida ili ketona. Kako je to povratna reakcija, za sintezu se mogu koristiti i dialdehidi i aminobenzojeve kiseline za njihovo sintetiziranje. Kako bi reakcija bila u što boljem iskorištenju te brža, potrebni su blago kiseli uvjeti u kojima će doći do gubitka vode, a ne i do protoniranja amina. Kada bi otopina bila prekisela došlo bi do protoniranja amina, koji su bazični spojevi, te time amin više ne bi mogao reagirati kao nukleofil, ne bi došlo do njegova napada na elektrofil – karbonilni ugljik (aldehyd ili keton), te ne bi došlo do reakcije. Reakcija nastajanja imina najbrža je pri pH 4,5. Na shemi 1 prikazana je općenita reakcija primarnog imina i aldeida, pri čemu nastaju imin i voda.<sup>4</sup>



Shema 1. Općeniti prikaz reakcije nastajanja imina

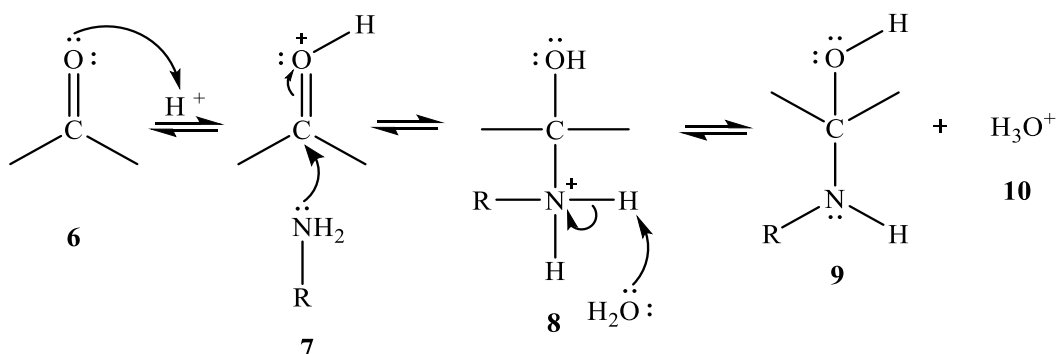
Općenito, amini će lakše reagirati s aldehidima zato što aldehidi imaju jednu elektron-donorsku skupinu (alkilnu skupinu), koja stabilizira karbonilni ugljik, dok ketoni imaju dvije alkilne skupine koje su elektron-donorske te smanjuju reaktivnost karbonilnog ugljika. Isto tako nukleofil, odnosno amin, lakše će napasti aldehyd jer ketoni imaju dvije alkilne skupine za razliku od aldehida koji imaju jednu alkilnu skupinu, te time dolazi do većih steričkih ometanja kod ketona. Ukoliko se Schiffove baze sintetiziraju iz aromatskih aldehida, nastat će stabilniji spojevi zato što će u svojoj strukturi posjedovati  $\pi$ -veze u kojima su elektroni delokalizirani te će se time dodatno stabilizirati veza u iminskoj skupini.<sup>2</sup> Nastajanje imina je reverzibilan proces jer se hidroliza odvija brzo, stoga se mnogi imini mogu hidrolizirati u aldehyd ili keton i amin pri istim uvjetima pri kojima je došlo do nastajanja imina.<sup>3</sup>

### 2.1.1. Mehanizam nastajanja Schiffovih baza

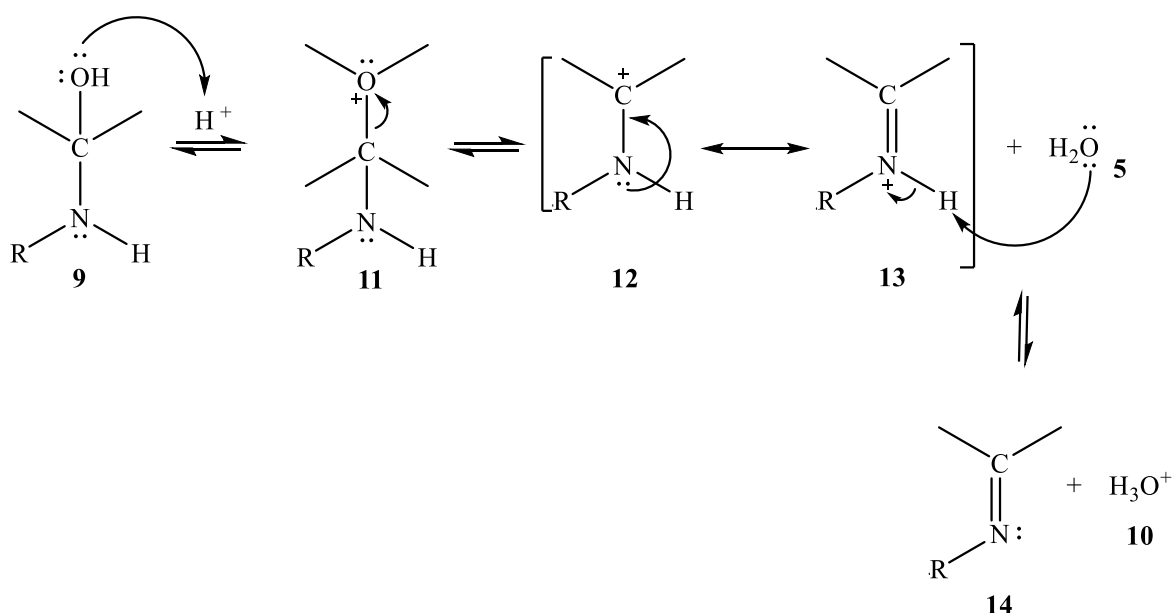
Sinteza Schiffovih baza odvija se u dva stupnja – adicija amina na karbonilnu skupinu i dehidracija. U prvom stupnju dolazi do adicije amina na karbonilnu skupinu koja se provodi u kiselokataliziranim uvjetima. U ovom stupnju protonira se karbonilni ugljikov atom, zatim dolazi do nukleofilne adicije amina na karbonilnu skupinu pri čemu nastaje tetraedarski intermedijer, a nakon toga slijedi deprotoniranje na dušikovom atomu te nastaje karbinolamin (nestabilan međuprodukt) prema shemi 2.

U drugom stupnju odvija se kiselinski katalizirana dehidracija gdje se protonira hidroksilna skupina nastalog nestabilnog međuprodukta, karbinolamina. Protonirana hidroksilna skupina dobra je odlazeća skupina te se odcjepljuje iz spoja. Odcjepljenjem hidroksilne skupine nastaje kationski intermedijer koji se stabilizira rezonancijom. Glavni doprinos je ona rezonancijska struktura s pozitivnim nabojem na dušiku, te elektronskim oktetima na svakom atomu (shema 2). Zatim deprotoniranjem dušika iz iminske skupine nastaje Schiffova baza ili imin. Cijeli mehanizam nastajanja Schiffovih baza prikazan je na shemi 2. Suvišak kiseline protoniranjem amina zaustavlja prvi stupanj bez obzira na to što je dehidriranje karbinolamina kiselinski kataliziran stupanj.

Prvi dio: adicija amina



Drugi dio: dehidratacija

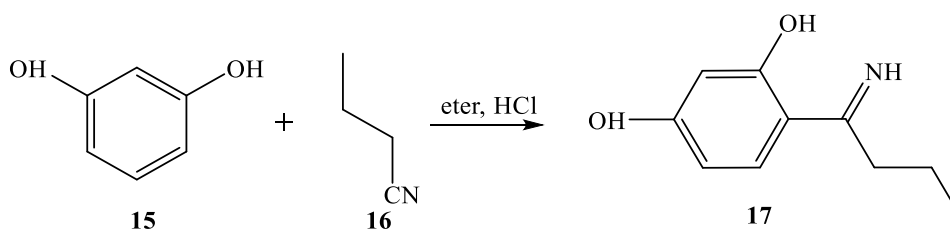


Shema 2. Mehanizam nastajanja imina

### 2.1.2. Različiti načini sinteze Schiffovih baza

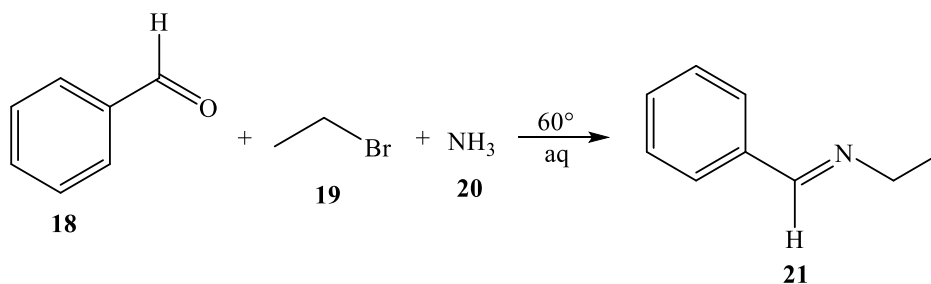
Osim klasične sinteze imina pomoću amina i aldehida ili ketona, postoje i drugi načini njihove pripreme. Reakcijom između fenola i alkil-cijanida, alkohola i *N*-feniluree ili reakcijom amonijaka, alkil-bromida i aromatskog aldehida isto tako nastaju imini. Reakcija nastajanja imina iz fenola i alkil-cijanida provodi se tako da se navedeni reaktanti otope u eteru, a zatim se u smjesu dodaje klorovodična kiselina. Ukoliko je fenol slabo reaktivan, osim navedene kiseline, u smjesu se dodaje i cinkov klorid.

Na shemi 3 prikazana je reakcija rezorcinola s butironitrilom u eteru, uz klorovodičnu kiselinu kao katalizator pri čemu nastaje 4-(1-iminobutil)benzen-1,3-diol.



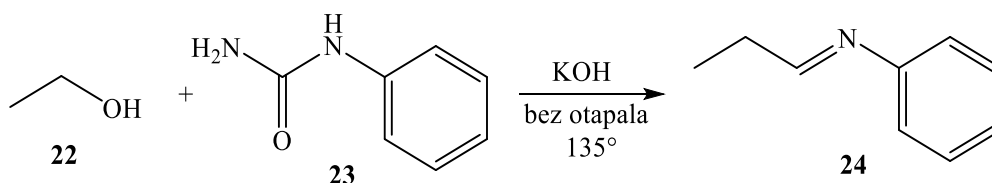
Shema 3. Nastajanje 4-(1-iminobutil)benzen-1,3-diol reakcijom rezorcinola s butironitrilom<sup>5</sup>

Ukoliko reagiraju aromatski aldehid, alkil-halogenid i vodena otopina amonijaka pri blagim uvjetima uz zagrijavanje, nastat će imin kojemu je izvor dušika bio amonijak. Na shemi 4 prikazana je reakcija benzaldehida, brommetana i amonijaka.



Shema 4. Nastajanje imina reakcijom benzaldehida, brommetana i amonijaka<sup>6</sup>

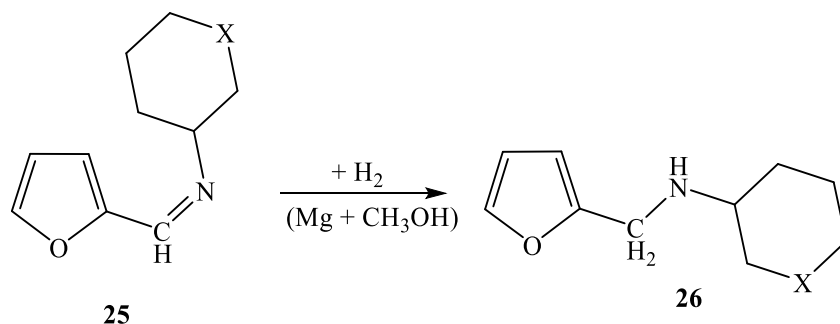
Reakcija alkohola i *N*-feniluree provodi se u bazičnim uvjetima pri atmosferskom tlaku pri čemu se smjesa zagrijava na povišenoj temperaturi. Produkt reakcije je imin te ovaj način nastajanja imina predstavlja zadovoljavajuću zamjenu uobičajenoj sintezi imina. Na shemi 5 prikazana je reakcija etanola i *N*-feniluree uz kalijev hidroksid kako bi se postigli bazični uvjeti.



Shema 5. Nastajanje imina reakcijom etanola i *N*-feniluree uz kalijev hidroksid

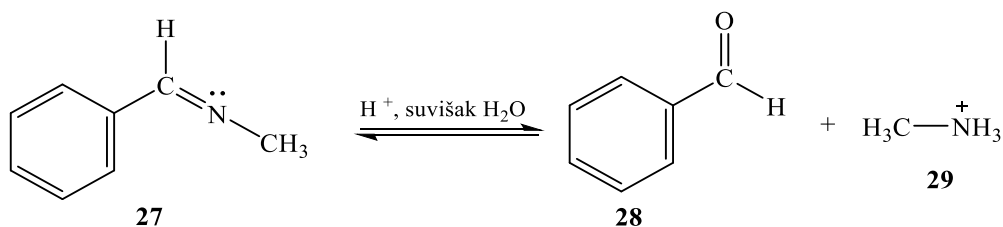
### 2.1.3. Kemijska svojstva i reaktivnost Schiffovih baza

Redukcija i hidroliza su reakcije koje se vežu uz imine, no imini su podložni i adiciji kod koje nastaju isti produkti kao i kod redukcije. Prilikom redukcije Schiffovih baza nastaju amini. Da bi došlo do navedene reakcije potrebno je koristiti katalizatore kao što su natrijev borhidrid, nikal ili litijev aluminijev hidrid.<sup>7</sup> Tako se redukcijom mogu pripraviti i sekundarni amini za što se koristi se metoda reduktivnog alkiliranja. Primjerice ukoliko se želi pripraviti *N*-furfuril-arilamin, Schiffovu bazu (npr. može se koristiti za sintezu furfuriliden – anilin ili furfuriliden–*o*–toluidin) potrebno je otopiti u bezvodnom metanolu, a zatim reducirati pomoću pet puta veće količine strugotina magnezija (po Grignardu), opranog u eteru i metanolu. Shema 6 prikazuje reakciju redukcije imina u kojoj nastaje sekundarni imin uz gore navedene uvjete. X predstavlja supstituente koji se pojavljuju u različitim *N*-furfuril-arilaminima.<sup>8</sup>



Shema 6. Redukcija imina

Prilikom hidrolize imina dolazi do nastanka aldehida i amina. Kada se dušik iminske skupine protonira, nastaje iminijev ion. Kako novonastali ion zbog manjka negativnog naboja djeluje kao elektrofil, u reakciji s vodom, koja ima svojstva nukleofila, voda napada ugljik u iminske skupine, kisik se deprotonira, a dušik protonira te nastaju aldehyd i alkilamin. Shema 7 prikazuje hidrolizu benzaldehid-metilimina do benzaldehida i metilamina.<sup>4</sup>



Shema 7. Hidroliza benzaldehid-metilimina



#### 2.1.4. Primjena Schiffovih baza

Schiffove baze i njihovi derivati zbog svojih različitih struktura i široke mogućnosti primjene njihovih metalnih kompleksa, važnu ulogu imaju u koordinacijskoj kemiji. Kompleksi koje stvaraju Schiffove baze mogu katalizirati reakcije hidrolize, oksidacije i elektro-redukcije. Njihovi kompleksi mogu se koristiti kao katalitički aktivne tvari, imaju antimikrobno i antitumorsko djelovanje pa se uvelike koriste i u farmaceutskoj industriji te medicinskoj kemiji u dizajnu novih biološki aktivnih spojeva.

Neke Schiffove baze djeluju i protiv sojeva *Escherichiae coli* i *Staphylococcusa aureusa*, dok neki metalni kompleksi nikla, cinka ili bakra i Schiffovih baza imaju antitumorsko djelovanje.<sup>4</sup> Od važnijih metalnih kompleksa Schiffovih baza ističu se oni na bazi pirazola. Ti ligandi stvaraju veze najviše s ionima prijelaznih metala, a struktura nastalih kompleksa ovisi o strukturi Schiffove baze, geometriji oko središta metala i fleksibilnosti koordinacijskog središta. U farmaceutskoj industriji, djelotvornost lijeka određena je iminskom skupinom i središnjim metalnim ionom te ukoliko dođe i do najmanjeg odstupanja u strukturi Schiffove baze, promijenit će se biološka svojstva molekule. Stoga se pažljivo moraju odabrati odgovarajuće baze.<sup>9</sup> Kao primjer pozitivnog djelovanja imina u farmaceutskoj industriji važno je navesti *zolpidem* (imidazopiridin). To je Schiffova baza za koju se vjeruje da bi mogla pomoći u liječenju Parkinsonove bolesti. Kako se *zolpidem* koristi kao induktor spavanja, on sadrži receptore koji olakšavaju neurotransmisiju. Istraživanja pokazuju da *zolpidem* kod bolesnika koji boluju od Parkinsonove bolesti može pozitivno utjecati na motoriku jer se veže na ganglije koje su prekomjerno aktivne kod bolesnika. No do problema dolazi jer navedeni imin uzrokuje pospanost te je stoga potrebno pacijentu pronaći odgovarajuću dozu.<sup>10</sup>

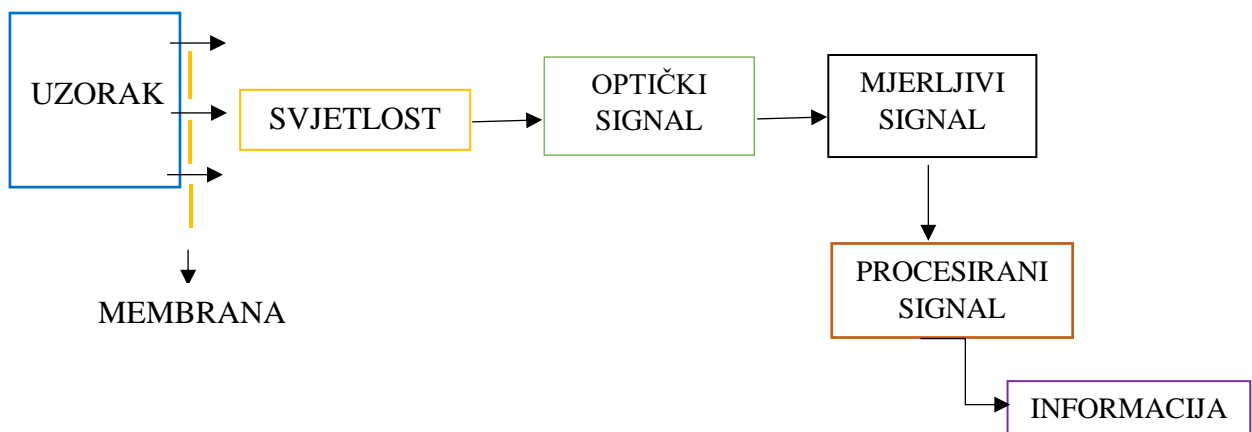
## 2.2. Optički senzori

Kako bi se dobili odgovarajući podaci o ispitivanoj tvari, koriste se uređaji koji daju točne informacije o prisutnom analitu. Analit je najčešće ion, a može biti i neki složeniji sustav. Takvi uređaji nazivaju se optički senzori. Oni detektiraju promjenu optičkih svojstva nakon što uređaj dođe u kontakt s ispitivanom tvari. Optički senzori bolji su od senzora koji koriste električnu energiju jer su selektivni, osjetljivi i jeftiniji te nije potrebna uporaba referentne ćelije.<sup>11</sup>

Optički senzori ne ovise o elektromagnetskim pojavama, a ukoliko je potrebno koristiti zapaljive i eksplozivne tvari, kod ispitivanja pomoću optičkih senzora moguće ih je upotrebljavati. Optički senzori mogu se podijeliti na izravne, gdje se analit prepoznaje pomoću apsorpcije i kemiluminiscencije, i senzore posredovane reagensom. Senzori posredovani reagensom rabe osjetljive molekule kako bi se analit detektirao te kako bi se pratila njegova koncentracija.<sup>12</sup>

### 2.2.1. Dijelovi optičkog senzora

Optičke senzore možemo podijeliti obzirom na dvije faze rada: fazu kemijskog prepoznavanja te fazu prevođenja signala u odgovarajuću informaciju (slika 2). Kada uzorak dođe na membranu receptora, receptor detektira parametar i provodi ga u optički signal. Kod odabira receptora potrebno je pronaći odgovarajuće indikatore, polimere i tehnike imobilizacije. Ovisno tehnici koja se koristi u optičkim sensorima, sensor može detektirati parametre poput koncentracije analita ili njegove pH vrijednosti. Nakon detekcije, optički signal se pomoću pretvornika provodi u signal koji je pogodan za daljnju obradu – mjerljivi signal koji mora biti točan, pouzdan i precizan. Kako bi signal imao navedene osobine, potrebno je da optički sensor ima dobru selektivnost, osjetljivost, točnost, preciznost i nisku granicu detekcije. Daljnjom obradom mjerljivog signala, analitičar dobiva informaciju o ispitivanom uzorku.<sup>11</sup>



Slika 2. Shematski prikaz pretvorbe početnog signala u informaciju

## 2.2.2. Djelovanje optičkog senzora

Djelovanje optičkih senzora temelji se na međudjelovanju tvari i svjetlosti. Kada se zraka svjetlosti propusti kroz sloj tvari, koja može biti u čvrstom, kapljevitom ili plinovitom agregatnom stanju, dolazi do odvijanja različitih procesa. Prilikom propuštanja svjetlosti može doći do njegove apsorpcije, refleksije, refrakcije te luminiscencije. Može doći i do polarizacije svjetlosti ukoliko se tvar u čvrstom ili kapljevitom stanju sastoji od prostorno orijentiranih dipola. Za provođenje svih navedenih tehnika koriste se samo određene valne duljine.<sup>13</sup>

### 2.2.2.1. Apsorpcija

Ukoliko materija apsorbira svjetlost, doći će do smanjenja intenziteta primarne zrake. Kod apsorpcije elektromagnetskog zračenja, elektroni se pobuđuju te prelaze iz osnovnog u pobuđeno stanje u kojem se molekula zadržava kratko. Takva molekula gubi energiju zbog sudara s ostalim molekulama u sustavu, predaje energiju drugim molekulama te se vraća u osnovno stanje. Apsorpcija elektromagnetskog zračenja razlikuje se za molekule i atome. Atomi u plinovitom agregacijskom stanju apsorbiraju točno određene kvante energije te daju linijski apsorpcijski spektar, dok molekule u plinovitom stanju apsorbiraju kvante bliske energije te zbog toga daju kontinuirani spektar sa širim područjem apsorpcije. Razlog većeg područja apsorpcije je taj da je kod molekule moguće da dođe do pobude velikog broja energetski različitih stanja, a ako je molekula u čvrstom ili kapljevitom agregatnom stanju, njen apsorpcijski spektar će se još više proširiti jer će se utjecaj susjednih molekula odraziti na vibraciju molekule.<sup>14</sup> Apsorpcija je glavna tehnika na kojoj se temelji rad većine optičkih senzora. U takvim instrumentima, mjeri se intenzitet pobude u odnosu na intenzitet propuštenog svjetla. Tu korelaciju opisuje Lambert – Beerov zakon, pomoću kojeg se može vidjeti ovisnost apsorpcije svjetlosti o karakteristikama molekula koje apsorbiraju svjetlost. Karakteristika molekula izražava se pomoću molarnog apsorpcijskog koeficijenta ( $\epsilon$ ), koncentracija molekula ( $c$ ) te optičkom putu prolaska svjetlosti kroz medij ( $l$ ).

$$\text{Lambert – Beerov zakon: } A = \log I_0 / I = \epsilon c l$$

Apsorbancija ( $A$ ) je veličina koja pokazuje smanjenje intenziteta svjetlosti pri prolasku kroz medij.<sup>15</sup>

### 2.2.2.2. Kemiluminiscencija

Kada dođe do pobude molekule zbog kemijske reakcije iz čega slijedi emisija fotona u osnovno stanje, takav mehanizam naziva se kemiluminiscencija. Kod kemiluminiscencije jedna tvar reagira s drugom pri čemu nastaje produkt u pobuđenom stanju te dolazi do slijedne emisije fotona. Prednost luminiscencije jest veća osjetljivost metode i postizanje nižih granica detekcije. Ova metoda jednostavna je i jeftina. Međutim jedan od glavnih nedostataka luminiscencije jest to da je pobuđivanje uzorka moguće korištenjem samo elektromagnetskog impulsa. Osim toga prilikom korištenja ove metode prilikom mjerenja intenziteta emitirane svjetlosti, njena preciznost i točnost ovisit će o čistoći uzorka, osjetljivosti detektora i unutrašnjim filterima.<sup>16</sup>

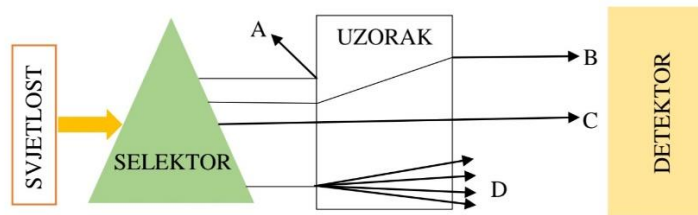
### 2.2.2.3. Refleksija i refrakcija

Kako bi došlo do stvaranja signala pobude pri interakciji molekulama analita sa svjetlošću, analize se provode u cilindričnim optičkim vlaknima ili svjetlovodima u kojima se svjetlosni snop pri stalnom međudjelovanju dodirnih površina medija različitih vrijednosti indeksa loma. Hoće li doći do refleksije ili refrakcije ovisi o upadnom kutu zrake svjetlosti, a do ovih mehanizma dolazi ako zraka kada putuje medijem većeg indeksa loma dospije na dodirnu graničnu zonu gdje se nalazi medij manjeg indeksa loma (slika 3).

Kod refleksije zraka se vraća natrag u medij, dok kod refrakcije zraka prelazi graničnu zonu i prelazi u drugi medij. Prilikom toga brzina zrake svjetlosti biti će veća u mediju koji ima veći indeks loma, a time i veću optičku gustoću.<sup>16</sup> Kod refleksije, reflektirani kut iste je veličine kao i upadni. Refraktirana zraka ima istu frekvenciju kao i upadna zraka te kako bi faze ostale usklađene, indeks loma zrake se mijenja što uzrokuje različite veličine kuta upadne i refraktirane zrake svjetlosti. Navedena ovisnost opisuje se Snellovom jednadžbom.

$$\text{Snellova jednadžba: } n_1 \sin\theta_1 = n_2 \sin\theta_2$$

gdje su  $n_1$  i  $n_2$  indeksi loma, a  $\theta_1$  i  $\theta_2$  kutevi upadne i refraktirane zrake.<sup>17</sup>



Slika 3. Shematski prikaz mjerenja (A – refleksija, B – refrakcija, C – apsorpcija, D – emisija)<sup>15</sup>

### 2.2.3. Indikatori

Mnogo optičkih senzora temelji se na korištenju indikatora kako bi se detektirao analit zato što mnogo analita ne pokazuje optička svojstva. Indikatori se dijele na kolorimetrijske i luminiscentne. Upotrebom kolorimetrijskih indikatora doći će do promjene njihove boje nakon što izreagiraju s analitom. Promjena koja se dogodila, iako je vidljiva samo promatranjem uzoraka, određuje se pomoću spektroskopa. Među kolorimetrijske indikatore spadaju redoks indikatori, kao što su anilinska kiselina i metilen-plavi, ftalati te azo-boje. Luminiscentni indikatori omogućuju određivanje koncentracije analita zbog promjene emisijskih svojstva koja se događa u luminoforima. Najčešće korišteni luminiscentni indikatori su rodamani, fluoresceini i cijanin boje.<sup>18</sup>

### 2.2.4. Imobilizacija indikatora

Kako bi se indikator imobilizirao na polimernu matricu, koriste se različite metode imobilizacije. To su metode u kojima se nanosi film, koji utječe na osjetljivost senzora, na supstrat. Pod metode imobilizacije spadaju impregnacija, dopiranje i kovalentno vezanje. Ukoliko se koristi kao tehnika imobilizacije indikatora impregnacija, indikator će se elektrostatskim vezanjem, fizikalnom adsorpcijom ili kemisorpcijom vezati na polimernu matricu. Dopiranje je tehnika u kojoj se indikator dodaje početnoj otopini polimera te polimerizacijom ostaje imobiliziran u matrici. Metoda se često koristi jer se mogu koristiti različiti indikatori i polimeri. Kod kovalentnog vezanja indikator se veže za polimernu matricu pri čemu je potrebno odabrati indikator koji ima skupinu koja se može kovalentnom vezom vezati za polimer ili stvoriti kopolimer polimerizacijom indikatora. Kovalentno vezanje je najstabilnije i trajnije, no prilikom te tehnike imobilizacije smanjuje se osjetljivost analita te se produljuje vrijeme odziva senzora.<sup>19</sup>

### **2.2.5. Imobilizacija matrice**

Matrica omogućava pohranu reagensa kako bi bio raspoloživ analitu te se ne bi mogao isprati. Reagens je imobiliziran na matrici u obliku tankog filma. Najčešće se kao matrice koriste sustav sol-gel i polimerni materijali, a sve se više počinju koristiti papirnate i tekstilne (polimerne) matrice.<sup>20</sup> U optičkim sensorima koriste se polimerne matrice kao što su polistiren i polivinil klorid. Razlog njihove široke primjene jest to što su pogodni za ispitivanja na visokim temperaturama. Koju ćemo polimernu matricu odabrati ovisi o njihovoj stabilnosti, poroznosti i imobilizaciji bojila.<sup>21</sup> S druge strane, sol-gel matrice fotokemijski su stabilnije od polimernih, a njihova poroznost omogućuje slobodnu difuziju analita. Glavni parametri za dobivanje željenih sol-gel matrica su pH, koncentracija, sadržaj vode i temperatura stvrdnjavanja. Podešavanjem tih parametara dobiva se materijal određene polarnosti i poroznosti. Najčešće se koriste za imobilizaciju reagensa i boja osjetljivih na analite. Kako postoji više tehnika njihove izrade i zbog toga što su optički prozirne, više se primjenjuju.<sup>22</sup>

### **2.2.6. Prijenos svjetlosti na velike udaljenosti**

Pomoću optičkih vlakana i svjetlovoda, može se prenositi snop svjetlosti na velike udaljenosti tako da smanjenje intenziteta snopa svjetlosti bude minimalno. Time je omogućeno udaljeno sensoriranje pa se primjenjuje kada je optička ćelija udaljena od mjernog instrumenta. Kako se optičko vlakno može lako savijati, pogodno je za promjenu smjera prenošenja. Takva mjerenja tipična su za spektrofotometar. Udaljeno sensoriranje može se primijeniti kod provjere koncentracija metana korištenjem u rudnicima infracrvenog spektrometra te kod nuklearnih postrojenja gdje se prati koncentracija plutonija i urana pomoću spektrofotometra. Na temelju mjesta odvijanja interakcija s analitom, optička vlakna mogu se podijeliti na unutarnja i vanjska. Kod unutarnjih interakcija se događa unutar svjetlosnog snopa, dok kod vanjskih do interakcije između optičkog vlakna i analita dolazi izvan snopa.<sup>16</sup>

### **2.2.7. Optode za sensoriranje iona**

Naziv optoda predstavlja optički aktivni dio optičkih senzora. Tako se razlikuju optode za sensoriranje iona (sensoriranje kod pH vrijednosti, plinova koji su potencijalne kiseline ili baze i metalnih iona), te optode za glukozu, penicilin i kisik i dr. Optode za sensoriranje iona zasnivaju se na reakciji između iona i molekula pri čemu dolazi do promjene boje.

Da bi se tvar bila određenog obojenja, ona mora apsorbirati elektromagnetsko zračenje u spektru vidljive svjetlosti. Ukoliko tvar apsorbira sve valne duljine vidljivog spektra, bit će crna, no ako propušta sve valne duljine vidljivog spektra, tada će tvar biti bezbojna. Kada se određuje koncentracija vodikovih iona pomoću optoda, koriste se kiselinsko – bazni indikatori koji u protoniranim i deprotoniranim oblicima daju različita obojenja. Takvi indikatori koriste slabe kiseline i baze gdje je pomoću vodikova iona definirano ravnotežno stanje otopine.<sup>23</sup> Osjetljiva polimerna membrana glavni je dio optoda za senziranje iona. Polimerna membrana je vrlo često neka jako viskozna tvar koja je nemješljiva s vodom te sadrži ionofore (nosač iona) i lipofilne soli (omogućuju elektroneutralnost membrane) koji imaju ulogu ionskih izmjenjivača.<sup>24</sup>

### **2.2.7.1. Optode za senziranje pH**

Optode za senziranje pH vrijednosti izvedene su kao minijaturni senzori. Komorna cijev za dijalizu načinjena je od celuloznog acetata te je spojena s optičkim vlaknom. Unutar komore nalazi se indikator fenol crveno koji se nalazi na površini mikrokuglica poliakrilamida i kuglica polistirena koje dovode do povećanja refleksije. Kako je indikator crvene boje, njegov maksimum apsorpcije je pri 560 nm pa se do optičke ćelije svjetlost te valne duljine dovodi pomoću optičkog kabla.<sup>16</sup>

Fenol crveno će jedan dio svjetlosti, ovisno o pH medija u ćeliji, apsorbirati, a drugi će se dio se reflektira i vraća pomoću iste optičke niti do detektora. Kada optoda uroni u otopinu, vodikovi ioni prolaze kroz membranu za dijalizu te sve do uspostavljanja ravnoteže dolazi do konstantne promjene pH vrijednosti u ćeliji. Promjena pH odnosi se kao razlika intenziteta pobuđene i reflektirane svjetlosti, a navedeni odnos se određuje baždarenjem standardnih otopina.<sup>13</sup> pH senzori koji se temelje na apsorpciji i prolazu svjetlosti koriste kiselinsko – bazne indikatore kojima je izmijenjena struktura kako bi došlo do njihovog ugrađivanja u hidrofobnu membranu koja se koristi kako bi se izdvojio analit iz otopine. Kod takvih senzora indikator apsorbira svjetlost karakteristične valne duljine za korišteni indikator, prilikom mjerenja uspostavlja se ravnoteža (ovisi o koncentraciji vodikovih iona u otopini) između neprotoniranog i protoniranog oblika indikatora u membrani. Indikator prelazi iz neprotoniranog u protonirani oblik i obratno kako bi i membrana i otopina ostala električki neutralna, a boja indikatora protoniranog i neprotoniranog stanja određena je aktivitetom vodikovih iona iz otopine.<sup>25</sup>

Primjer takvog indikatora je natrijev tetrafenilborat jer ima velik hidrofobni karakter. Na njegovu boju utječe reakcija izmjene natrijevih iona između membrane i otopine te stanje ravnoteže protoniranog i neprotoniranog oblika indikatora na koji utječe aktivitet vodikovih iona iz otopine.<sup>16</sup>

### **2.2.7.2. Optode za sensoriranje plinova koji su potencijalne baze ili kiseline**

Kada plinovi reagiraju s vodom, ionizacijom nastaju  $H^+$  ili  $OH^-$  ioni prilikom čega se može onda odrediti koncentracija plinova pomoću optoda za vodikove katione. Kod ovakvih senzora, pH otopine uz površinu optode, koja je prekrivena teflonskom membranom, se mijenja kada plin reagira s vodom. Promjena pH povezana je s koncentracijom plina u sustavu.<sup>16</sup>

### **2.2.7.3. Optode za sensoriranje metalnih iona**

Sposobnost metalnih iona da stvaraju obojene komplekse s ligandima, omogućuje korištenje UV/Vis spektrofotometara. Ističu se kompleksi koje stvaraju prijelazni metali jer prilikom pobude elektrona d bloka, dolazi do apsorpcije svjetlosti te nastaju kompleksi intenzivnog obojenja. Obojenje je jače što je veća koncentracija kompleksa. Koncentracija kompleksa ovisi o koncentraciji liganda i metalnog iona.<sup>26</sup>

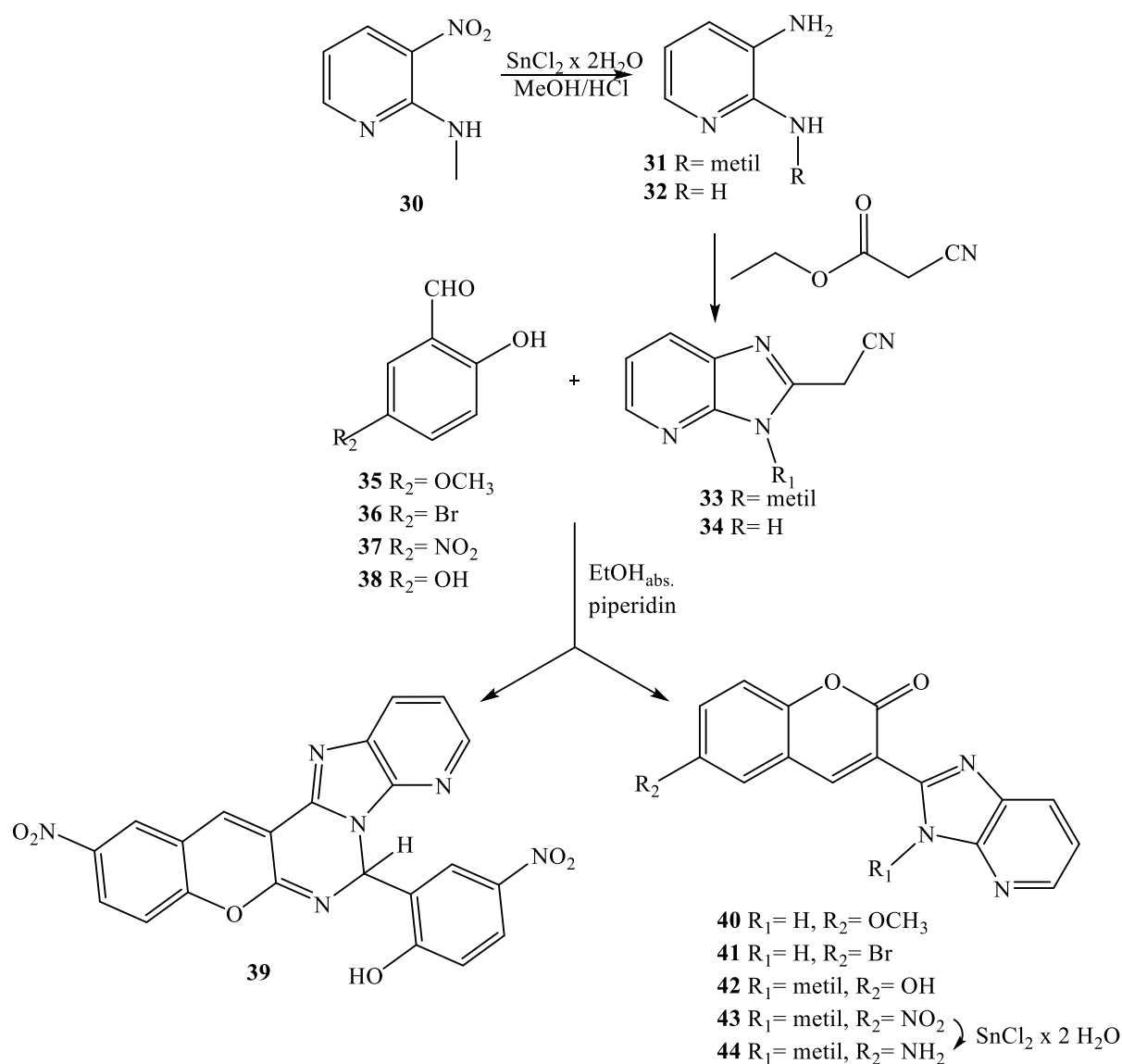
## **2.3. Derivati imidazo[4,5-*b*]piridina kao optički senzori**

U organskoj kemiji i medicini jedni od najvažnijih spojeva su heterocikli koji sadrže dušik, posebice piridin, benzimidazoli i imidazo[4,5-*b*]piridini. Oni su nezamjenjivi strukturni fragmenti kod sinteze biološki aktivnih molekula koje se koriste u farmaceutskoj industriji. Zahvaljujući dobroj topljivosti, stabilnosti i fotokemijskim karakteristikama, koriste se kao organski nelinearni optički materijali, laserska bojila i solarni kolektori. Zbog fluorescirajućih svojstava, 3-*H*-imidazo[4,5-*b*]piridinska jezgra koristi se za strukturnu analizu nukleinskih kiselina. Kako bi se ispitala svojstva derivata imidazo[4,5-*b*]piridina, provedena su brojna istraživanja.

I. Boček i grupa znanstvenika proveli su sintezu derivata imidazo[4,5-*b*]piridina nakon čega je provedena spektroskopska karakterizacija i računalna analiza kako bi se utvrdila njihova mogućnost uporabe kao pH senzora.



Fotofizikalne karakteristike derivata utvrđene su UV-Vis i fluorimetrijskom spektroskopijom u nekoliko polarnih i nepolarnih otapala te pufera s različitim pH vrijednostima. Za pripremu novih iminokumarina imidazo[4,5-*b*]piridina, kao polazni reaktant korišten je *N*-metil-2-nitroaminopiridin (**30**) prema shemi 8.



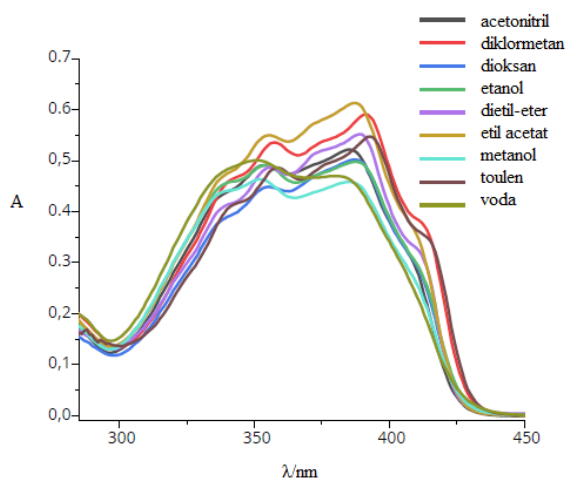
Shema 8. Sinteza derivata imidazo[4,5-*b*]piridina

Redukcijom navedenog reaktanta, pripremljen je *N*-metil-2,3-diaminopiridin **33**. Nadalje, za pripremu željenih iminokumarina, provedena je ciklokondenzacija prekursora **31** i **32** uz etilcijanoacetat kako bi se dobili odgovarajući 2-cijanometilimidazo[4,5-*b*]piridini. Kondenzacijom prekursora **33** i **34** sa salicilaldehydima **35-38**, priređeni su željeni iminokumarini **40-44**.

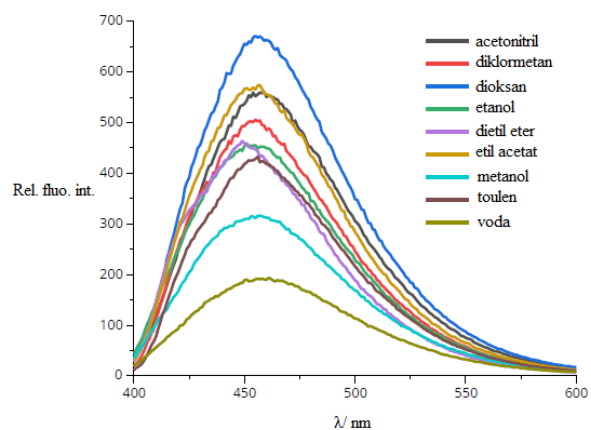
Reakcijom kondenzacije iz 5-nitrosalicilaldehida pripremljen je pentaciklički produkt **39**. Iminokumurin s amino supstituentom **44** priređen je redukcijom sa  $\text{SnCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$  u metanolu, dok su dobiveni produkti **40** i **41** smjesa dva tautomera koje nije moguće razdvojiti.

Da bi se provela spektroskopska karakterizacija odabranih spojeva, otopljeni su u otapalima različitog polariteta te su snimljeni apsorpcijski i emisijski spektri. Spektroskopska karakterizacija provedena je kako bi se utvrdio utjecaj položaja supstituenta te utjecaj otapala na spektroskopske karakteristike sintetiziranih derivata imidazo[4,5-*b*]piridina. Apsorpcijski spektri snimani su pri istoj koncentraciji spojeva od  $2 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$  u području od 200 do 500 nm. Na slici 4a prikazan je apsorpcijski spektar sintetiziranog derivata **40**. Navedeni spoj pokazuje najveći intenzitet apsorbancije s blagim hiperkromnim pomakom u etil-acetatu, a u metanolu je došlo do hipokromnog pomaka intenziteta apsorbancije. Obzirom na ostala otapala, u toluenu derivat **40** pokazuje blagi batokromni pomak maksimuma apsorbancije. Snimanje emisijskih spektara provedeno je pri različitim, manjim koncentracijama za pojedine derivate zbog njihove razlike u topljivosti. Za derivat **41** spektri su snimljeni pri koncentraciji od  $2 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$  te su prikazani na slici 4b. Valne duljine pobude određene su iz maksimuma apsorbancije. Emisijski spektar derivata **41** ukazuje na velik utjecaj polarnosti otapala na fluorescenciju. Polarna otapala pokazuju hipokromni pomak intenziteta emisije, dok nepolarna uzrokuju hiperkromni pomak intenziteta fluorescencije. Najveći intenzitet fluorescencije spoj **41** pokazuje u dioksanu.

a) UV-Vis spektar derivata **40**



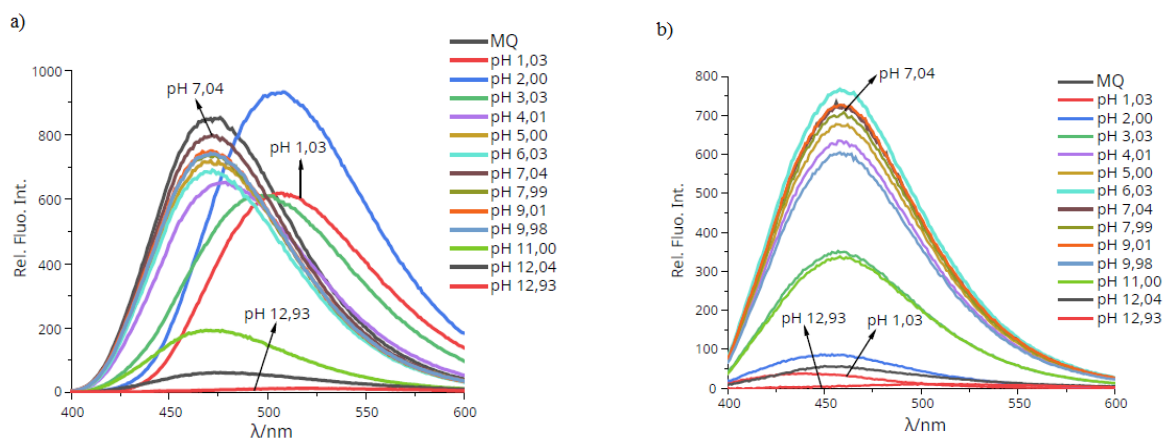
b) Emisijski spektar derivata **41**



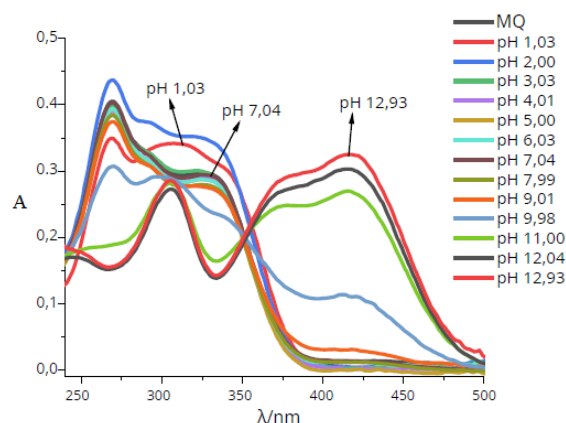
Slika 4. UV-Vis spektar derivata **40** (a) i emisijski spektar derivata **41** (b)

Kako bi se ispitala mogućnost primjene derivata od **39** do **44** kao optičkih pH senzora, promjena spektroskopskih karakteristika pri različitim pH vrijednostima praćena je pomoću spektroskopskih pH titracija. Smanjenje pH vrijednosti omogućilo je protoniranje ispitivanih spojeva i promjenu gustoće elektrona u cikličkim strukturama. Kako je došlo do promjene u apsorpcijskim i emisijskim spektrima, zaključeno je da proučavani spojevi imaju mogućnost primjene kao pH senzori. Kod derivata **40** (slika 5a) opažaju se promjene u emisijskom spektru. Protoniranje spoja **40** uzrokuje batokromni pomak maksimuma emisije, te hipokromni pomak intenziteta emisije, dok pri jako bazičnim uvjetima dolazi do gašenja fluorescencije. S druge strane, kod derivata **41** u vrlo bazičnim uvjetima isto tako dolazi do gašenja fluorescencije, dok kod jako kiselih uvjeta dolazi do hipokromnog pomaka intenziteta fluorescencije (slika 5b). Za derivat **43** izraženiji je apsorpcijski spektar kojeg obilježava stvaranje jednog novog maksimuma emisije na 310 nm, te hiperkromni pomak intenziteta emisije na ostala dva maksimuma (slika 6).

Ovim ispitivanjem pokazalo se da svi spojevi pokazuju i Stokesov pomak od 38 do 136 nm. To ukazuje na veliku razliku u energiji pobuđivanja, posebice za derivate **40** i **43**.

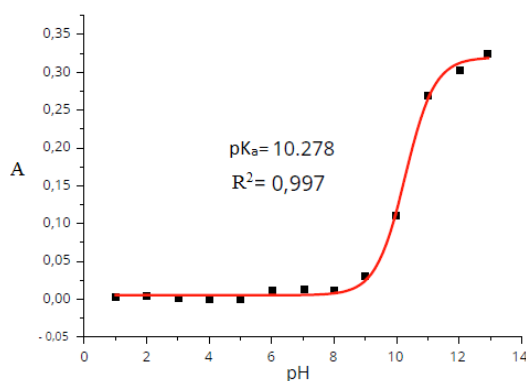


Slika 5. Emisijski spektar derivata **40** (a) i **41** (b)



Slika 6. Apsorpcijski spektar derivata **43**

Kako bi što bolje bila protumačena kiselinsko/bazna svojstva ispitanih derivata, provedena je i računalna analiza. Računalnom analizom dokazano je da kod derivata od **40** do **44** dolazi do prijelaza iz monoprotoniranih u diprotonirane oblike između pH vrijednosti od 3,4 do 4,4, dok pri pH vrijednostima od 10,4 do 13,7 prelaze iz monoprotoniranih u neutralne oblike. Na temelju prijelaza iz jednog oblika u drugi zaključuje se da se derivati mogu koristiti kao pH senzori. Analiza je provedena računanjem  $pK_a$  vrijednosti, no kako bi se dodatno potvrdili dobiveni rezultati, predviđeni su i teorijski UV-Vis spektri za različite protonirane oblike derivata od **39** do **44**. Na slici 7. prikazana je apsorpcijska pH titracijska krivulja za derivat **43** iz čega je dobivena  $pK_a$  korištenjem Boltzmannove krivulje.

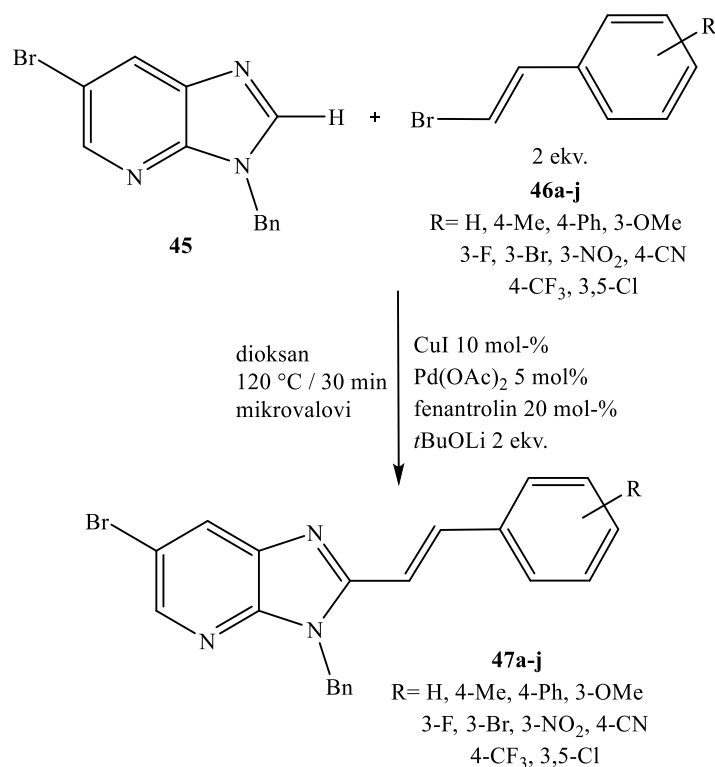


Slika 7. pH titracija krivulja

Iz dobivenih rezultata provedenog eksperimenta zaključeno je da polaritet značajno utječe na karakteristike spektara, a vrsta i položaj supstituenta utječe na fotofizičke značajke dobivenih spojeva.

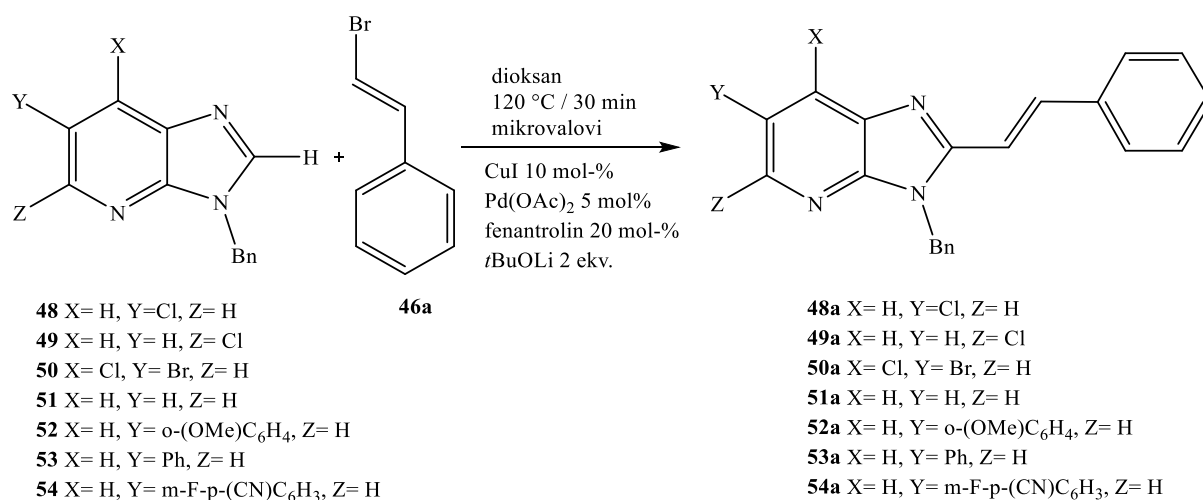
Isto tako rezultati su pokazali da promjena pH uvjeta značajno utječu na zabilježene spektralne promjene te da se spojevi od **40** do **44** mogu koristiti pri izradi pH sonde. To im omogućuju acido-bazna svojstva spojeva koja se mogu značajno mijenjati promjenom supstituenta na iminokumarinskoj jezgri.<sup>27</sup>

T. Baladi i suradnici proveli su prvo C-2 izravno alkeniliranje 3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina uz Pd/Cu katalizator, te potpomognuto mikrovalovima. Cilj ovog istraživanja bio je sintetizirati nove unakrsno konjugirane 2-vinil- i 2-alkinilimidazo[4,5-*b*]piridine sa zadovoljavajućim fluorescentnim i solvatofluorokromnim svojstvima. Ovakav tip spojeva od izrazite su važnosti u području medicine prilikom razvoja lijekova za liječenja dijabetesa, raka i hipertenzije. Za sintezu željenih derivata, kao početni reaktant uzet je 6-bromimidazo[4,5-*b*]piridin kako bi se kasnije mogli uvoditi razni supstituenti na heterocikličku jezgru. Korištenjem smjese Pd(OAc)<sub>2</sub> (5 mol-%), CuI (10 mol-%), fenantrolina (20 mol-%) i *t*-BuOLi (2 ekviv.) u dioksanu, pod uvjetima mikrovalnog zračenja na 120 °C i 30 minuta, dolazi do reakcije bromstirena u C-2 položaju imidazo[4,5-*b*]piridina. Najmanje iskorištenje je imala reakcija uvođenja nitro skupine.



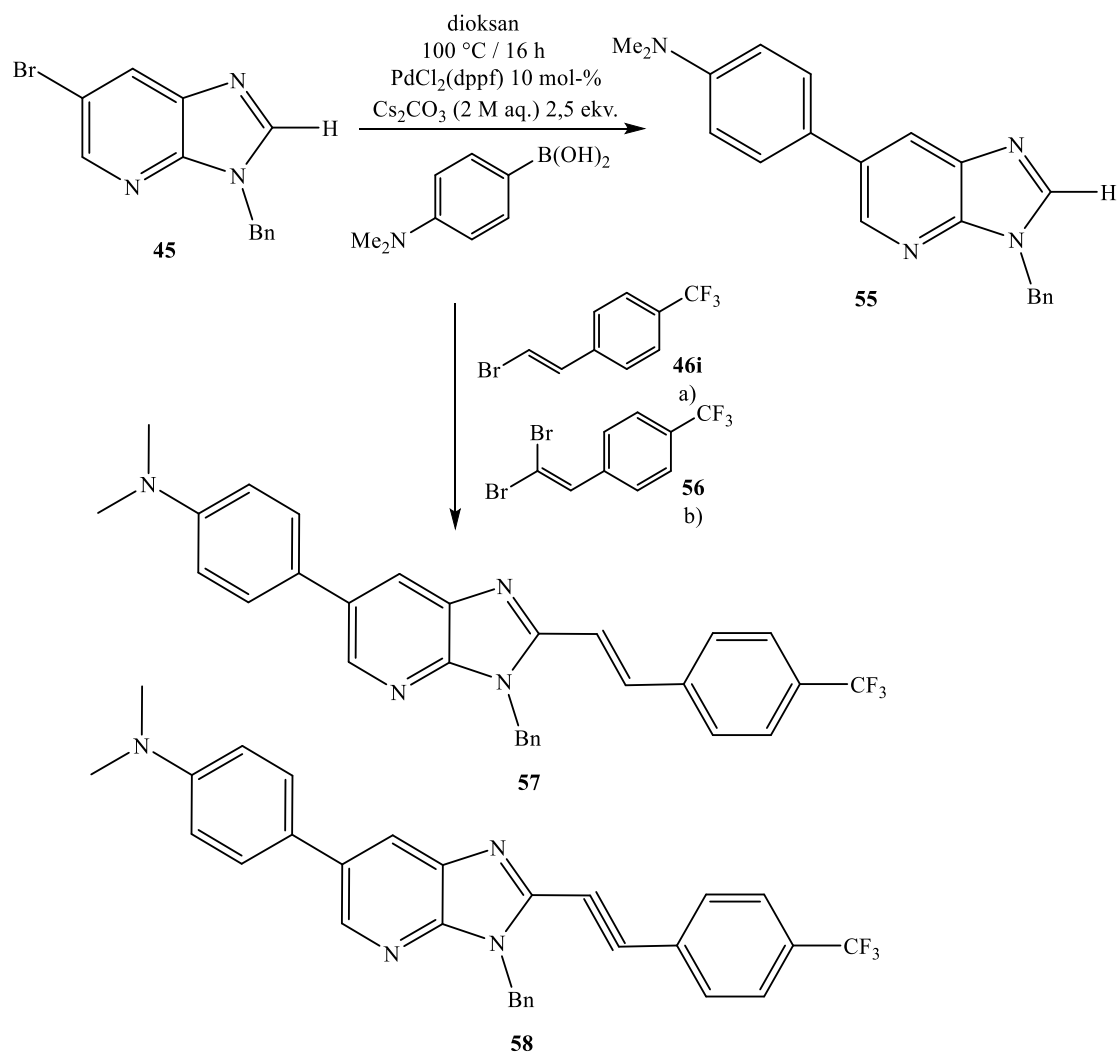
Schema 9. Alkeniliranje imidazo[4,5-*b*]piridina

Halogenirani imidazo[4,5-*b*]piridini uspješno su alkenilirani u položaju C-2 prilikom čega je halogenidna skupina ostala nepromijenjena. Isti uvjeti katalitičkog alkeniliranja potpomognutog mikrovalovima pogodni su i za reakciju sa 6-arilimidazo[4,5-*b*]piridinom. Na shemi 10 prikazano je alkeniliranje supstituiranih imidazo[4,5-*b*]piridina. Međutim, utvrđeno je da je prisutnost metoksi supstituenta nepovoljno utjecala na reakciju, što se očituje u malom iskorištenju reakcije.



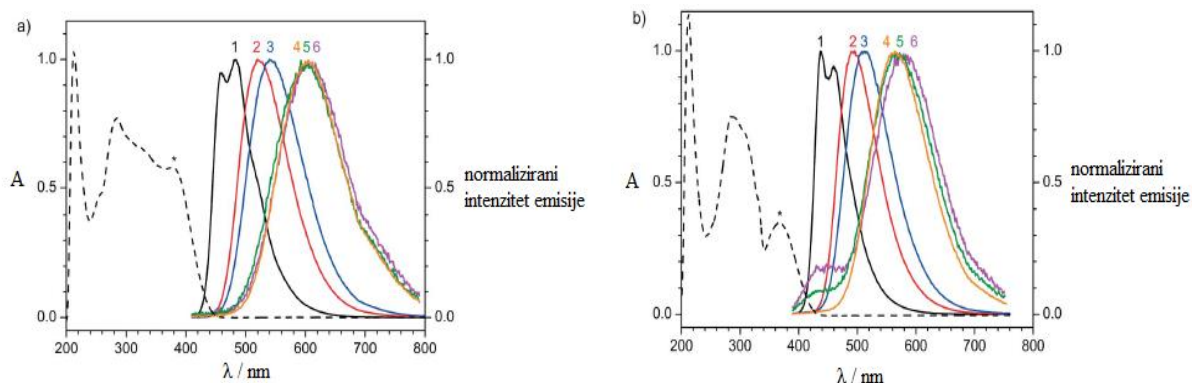
Shema 10. Alkeniliranje supstituiranih imidazo[4,5-*b*]piridina

U sklopu provedenog istraživanja sintetiziran je i 4-(*N,N*-dimetilamino)fenilimidazo[4,5-*b*]piridin. 4-(*N,N*-dimetilamino)fenilni supstituent je elektron-donor, a funkcija stilne skupine je privlačenje elektrona (CF<sub>3</sub>) (shema 11). Kako bi se priredile nove fluorescirajuće sonde, kao početna molekula za sintezu korišten je *N*-3-benzilimidazo[4,5-*b*]piridin. Sinteza je provedena u Suzuki uvjetima pri čemu je dobiven 6-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)imidazo[4,5-*b*]piridin (**55**). Zatim je 4-(trifluorometil)fenilvinil uveden izravnim C-2 alkeniliranjem.



Schema 11. Sinteza novih fluorescirajućih 2-vinil i 2-alkilimidazo[4,5-*b*]piridin, a) uvjeti: CuI (10 mol-%), 1,10-fenantrolin (20 mol-%), Pd(OAc)<sub>2</sub> (5 mol-%), *t*BuOLi (2 ekv.), dioksan, mikrovalno zračenje, 120 °C, 30 min, b) CuBr·SMe<sub>2</sub> (10 mol-%), DPEPhos (20 mol-%), *t*-BuOLi (6 ekv.), dioksan, refluks, 4 h

Fotofizička svojstva derivata **57** i **58** ispitana su u različitim otapalima. Derivati **57** i **58** apsorbiraju u bliskom području u UV spektru te ne pokazuju solvatokromizam. Međutim oba spoja jako fluoresciraju, te imaju jaka svojstva solvatofluorokromizma, u sličnom području maksimuma fluorescencije (slika 9a i 9b). Vrijednosti Stokesovog pomaka u istim otapalima također su bliske za oba spoja.



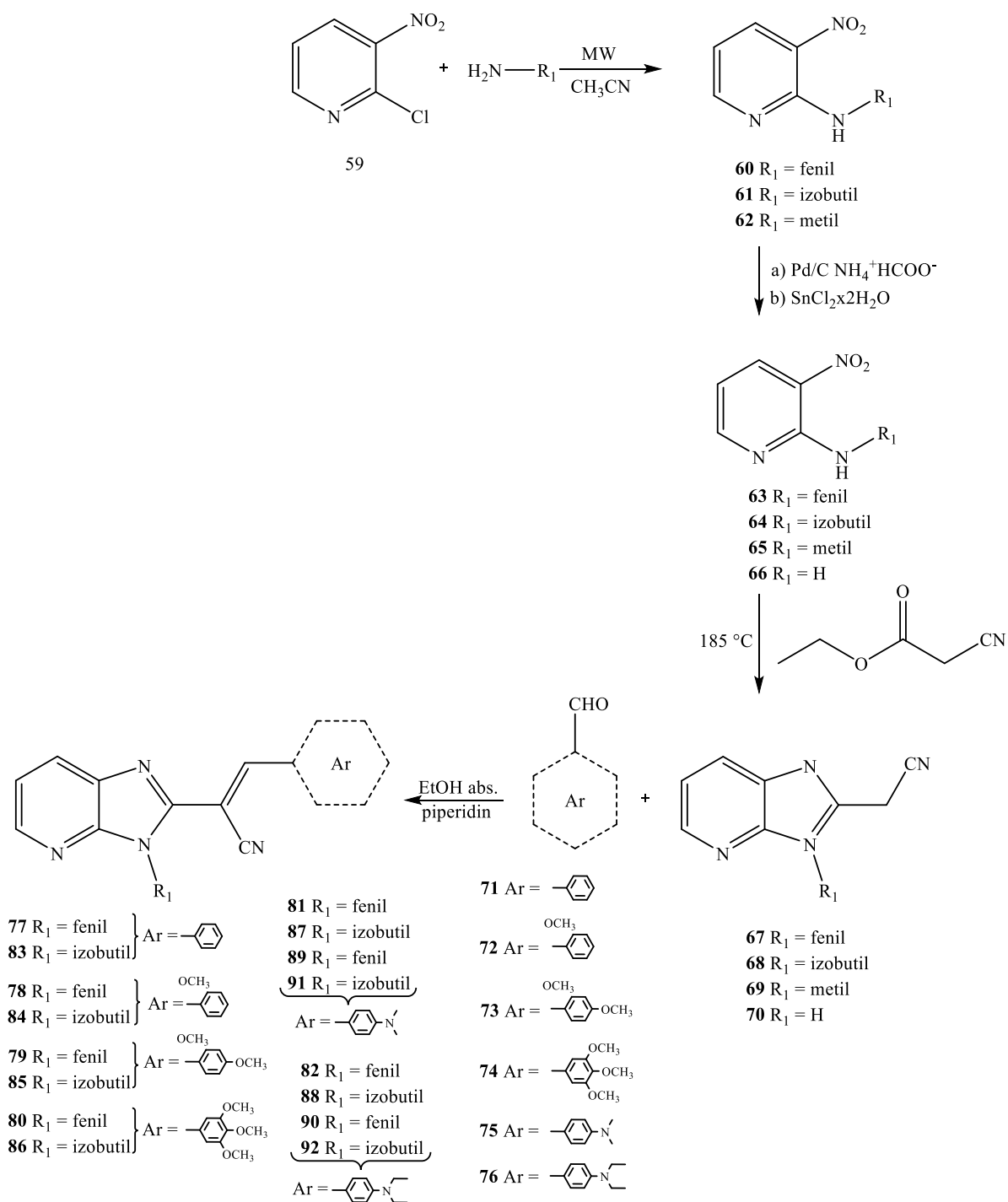
Slika 9. Apsorpcija (iscrčkane crte u cikloheksanu) i normalizirani intenzitet emisije derivata **57** (a) i **58** (b) u različitim otapalima: 1-cikloheksan, 2-toulen, 3-1,4-dioksan, 4-DCM, 5-AcOEt, 6- THF

Ovim eksperimentom je dokazano da je izravna C-2 alkenilacija potpomognuta mikrovalovima učinkovita metoda za izradu fluorescentnih sonda zbog velikih Stokesovih pomaka i izraženih solvatofluorokromnih svojstava.<sup>28</sup>

I. Boček i grupa znanstvenika proveli su sintezu novih nesupstituiranih i *N*-supstituiranih imidazo[4,5-*b*]piridina (akrilonitrila). Proučavan je njihov antioksidativni potencijal spektroskopskim metodama DPPH i ABTS, FRAP metodom, te mjerenjem elektrokemijskog oksidacijskog potencijala. Istraživanje je provedeno s ciljem proučavanja antioksidativnog djelovanja supstituenata, te utjecaj supstituenata i polarosti otapala na spektroskopske značajke. Rezultati su na kraju potvrđeni i računalnom analizom. Ispitana su svojstva metoksi, *N,N*-dimetilamino, te *N,N*-dietilamino supstituentima smještenim na fenilnim jezgrama.

Sinteza novih *N*-supstituiranih derivata imidazo[4,5-*b*]piridina prikazana je u shemi 12. Sintetizirane molekule **60-62** dobivene su uz veliko iskorištenje koristeći kao polaznu molekulu 2-klor-3-nitropiridin **59**. Do velikog iskorištenja reakcije došlo je zbog provođenja reakcije u nekatalitičkim uvjetima korištenjem metilamina, izobutilamina i anilina u suvišku, pri čemu je reakcija potpomognuta mikrovalovima. Za sintezu derivata **63-65** korišten je Pd/C i amonijev formijat ili SnCl<sub>2</sub>×2H<sub>2</sub>O čime se i smanjio utjecaj nitro skupine. Derivati **67-70** pripremljeni su termičkom ciklokondenzacijom s etilnim cijanoacetatom na 185 °C. Reakcijom spojeva **60-62** sa supstituiranim benzaldehidima **71-76**, u apsolutnom etanolu i dodatkom nekoliko kapi piperidina, priređeni su derivati akrilonitrila **77-91**.

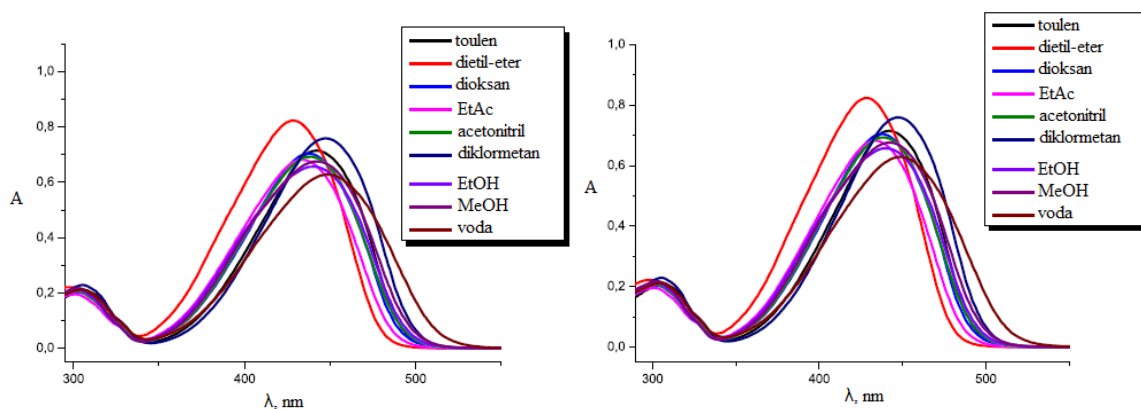




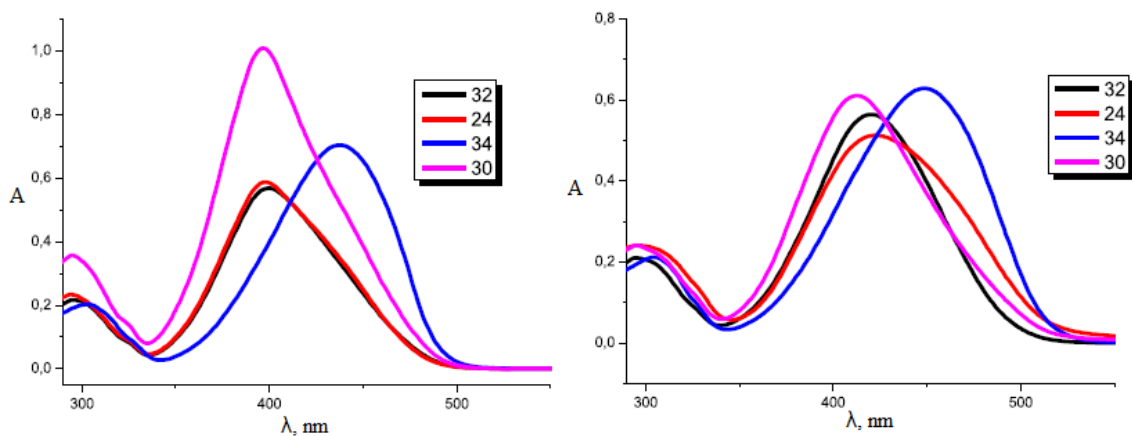
Shema 12. Sinteza akrilonitrilnih derivata imidazo[4,5-*b*]piridina **77-92**

Kako bi se odredio antioksidativni potencijal pripremljenih akrilonitrila **77-92** (osim **78**), korištene su metode temeljene na reakciji radikala s donorom vodika, DPPH i ABTS, te mogućnost redukciju željeza u željezni ion čime je potvrđen njihov antioksidativni potencijal.

Spektroskopska svojstva proučavana su za derivate **82**, **88**, **90** i **92**. Apsorpcijski spektri snimljeni su u nekoliko organskih otapala različite polarnosti. Kako bi se ispitaio učinak otapala na spektroskopske karakteristike ispitivanih spojeva, pripremljeno je pet polarnih i četiri nepolarna otapala te su spektri izmjereni u području od 280 do 550 nm pri koncentraciji  $2 \times 10^{-5}$  mol  $\text{dm}^{-3}$  (slika 10 i slika 11). Derivat **82**, pokazuje blagi hiperkromni, te blagi batokromni pomak u svim otapalima, osim u vodi, gdje pokazuje blagi batokromni i hipokromni pomak. Napolarna otapala uzrokovala su blagi hipsokromni pomak maksimuma apsorpcije. Najintenzivnija apsorpcija spoja **88** je u dioksanu gdje dolazi do hipsokromnog pomaka maksimuma apsorpcije za razliku od polarnih otapala. U dietil-eteru, etil-acetatu i vodi dolazi do hipokromnog pomaka intenziteta apsorpcije, a u vodi i metanolu dolazi do batokromnog pomaka apsorpcijskih maksimuma. U spektrima derivatima **90** i **92** najintenzivnija apsorpcija se očituje kod dietil-etera, dok je najmanji intenzitet u diklormetanu. Najznačajniji batokromni pomak kod oba spoja se očituje kada je otapalo voda. Slika 11. prikazuje apsorpcijske spektre navedenih spojeva u dioksanu (nepolarno otapalo) i vodi (polarno otapalo). Kako je spoj **90** supstituiran, a **92** nesupstituiran te pokazuju različit intenzitet apsorpcije, uočava se utjecaj supstituenta na spektroskopska svojstva.



Slika 10. UV/Vis spektri derivata **82** (lijevo) i **92** (desno) u otapalima različitog polariteta



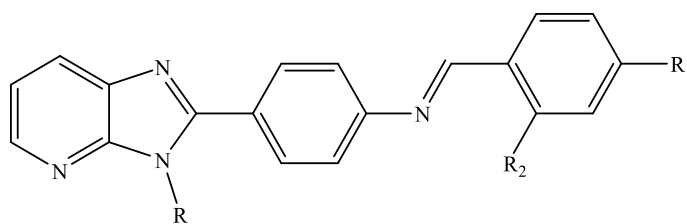
Slika 11. Apsorbancija derivata **82**, **88**, **90** i **92** u dioksanu (lijevo) i vodi (desno)

Proučavanjem spektroskopskih svojstva, iz dobivenih apsorpcijskih spektara očituje se da vrsta supstituenta i njegov položaj, te polarnost otapala utječu na spektroskopske karakteristike.<sup>29</sup>

### **3. REZULTATI I RASPRAVA**

### 3.1. Cilj rada

Cilj ovog rada bila je priprava i strukturna karakterizacija novih Schiffovih baza imidazo[4,5-*b*]piridina kao potencijalnih optičkih senzora za određivanje pH u otopinama. Sintetizirani spojevi prikazani su na shemi 13., te je njihova struktura potvrđena  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopijom. Provedena je i spektroskopska karakterizacija sintetiziranih spojeva u 6 otapala različite polarosti UV-Vis spektroskopijom, te su provedene i spektroskopske pH titracije korištenjem pufera različitih pH vrijednosti.

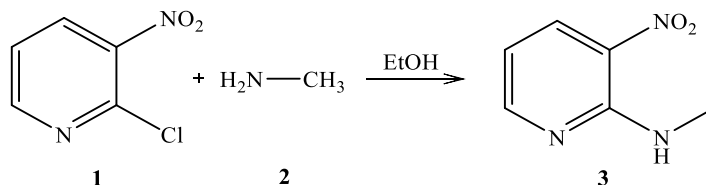


- 10** R = CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub> = *N,N*-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R<sub>2</sub> = H  
**11** R = CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub> = *N,N*-(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R<sub>2</sub> = H  
**12** R = CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub> = *N,N*-(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R<sub>2</sub> = OH

Shema 13. Sintetizirane Schiffove baze imidazo[4,5-*b*]piridina **10-12**

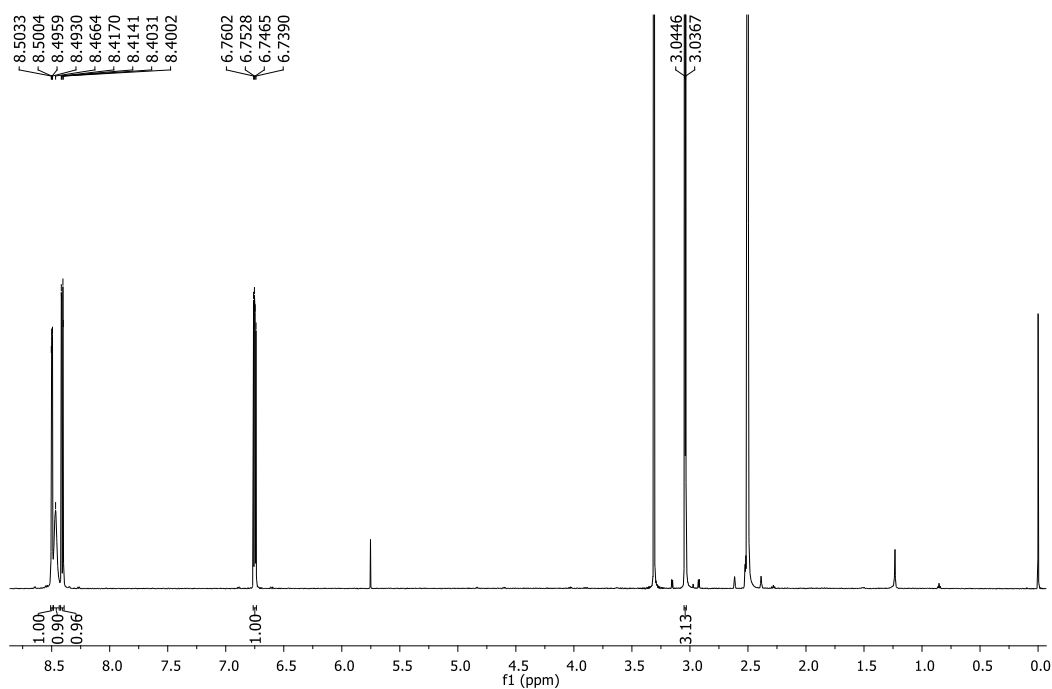
### 3.2. Sinteza priređenih spojeva

Ciljane Schiffove baze **10-12** pripravljene su višestupnjevitom sintezom, započevši sa sintezom *N*-metil-3-nitropiridin-2-amina **3**. Spoj **3** je pripremljen reakcijom 2-klor-3-nitropiridina **1** s metilaminom u etanolu, zagrijavanjem reakcijske smjese. Iskorištenje reakcije je 100%.



Shema 14. Sinteza *N*-metil-3-nitropiridin-2-amina **3**

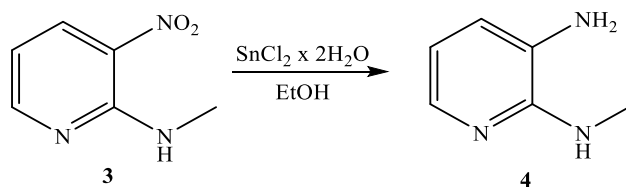
Korištenjem  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopije potvrđena je struktura *N*-metil-3-nitropiridin-2-amina **3**. Slika 12. prikazuje  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **3**.



Slika 12.  $^1\text{H}$  NMR spektar *N*-metil-3-nitropiridin-2-amina **3**

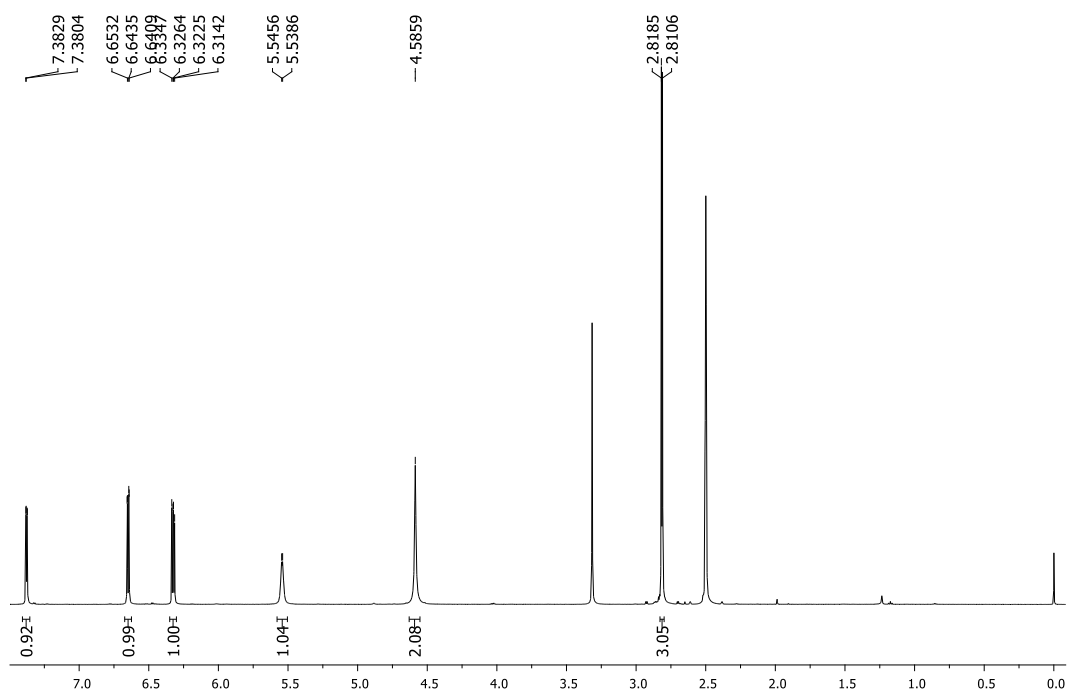
U spektru se uočava prisutnost signala aromatskih protona u području kemijskih pomaka od 6,75 ppm do 8,50 ppm, dok se signali protona metilne skupine nalazi na kemijskom pomaku 3,04 ppm.

Zatim je redukcijom, iz etanolne otopine spoja **3** i  $\text{SnCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ , zagrijavanjem na 150 °C, priređen 2-*N*-metilpiridin-2,3-diamin **4** uz iskorištenje reakcije 85,55%.<sup>30</sup>



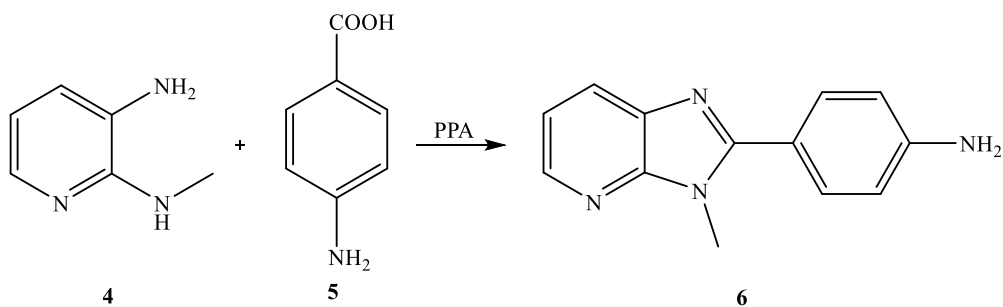
Shema 15. Sinteza 2-*N*-metilpiridin-2,3-diamina **4**

Struktura 2-*N*-metilpiridin-2,3-diamina **4** potvrđena je  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopijom. Slika 13. prikazuje  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **4**. U prikazanom spektru signali aromatskih protona nalaze se u rasponu kemijskih pomaka od 7,38 ppm do 6,32 ppm. Signali protona  $\text{NH}_2$  skupine nalaze se na kemijskom pomaku 4,59 ppm, a signali protona  $\text{NH}$  skupine na 5,54 ppm, dok se na 2,81 ppm nalazi signal protona metilne skupine.



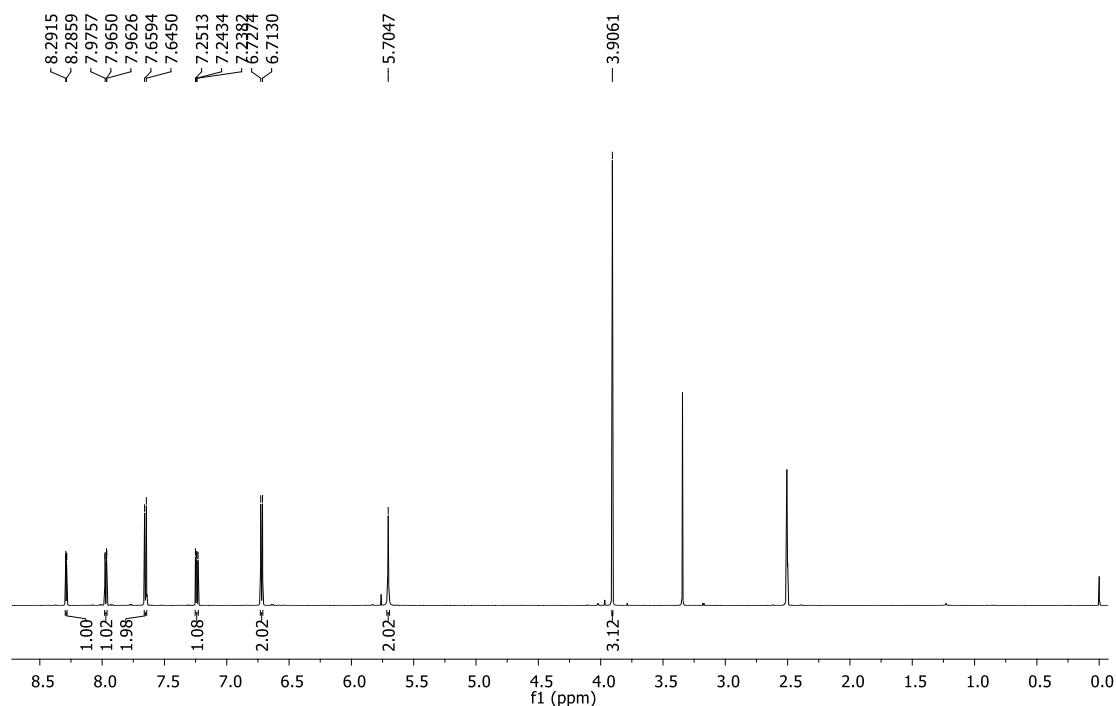
Slika 13.  $^1\text{H}$  NMR spektar 2-*N*-metilpiridin-2,3-diamina **4**

Nadalje je reakcijom spoja **4** i *p*-aminobenzojeve kiseline **5**, miješanjem na temperaturi od 220 °C provedena sinteza glavnog amino-supstituiranog prekursora **6**. Nakon dodatka vodene otopine natrijeva karbonata ohlađenoj reakcijskoj smjesi i nakon kolonske kromatografije na silikagelu uz  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$  kao eluens, dobiven je 4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)anilin **6**. Iskorištenje reakcije je 82,4%.<sup>31</sup>



Shema 16. Sinteza 4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)anilina **6**

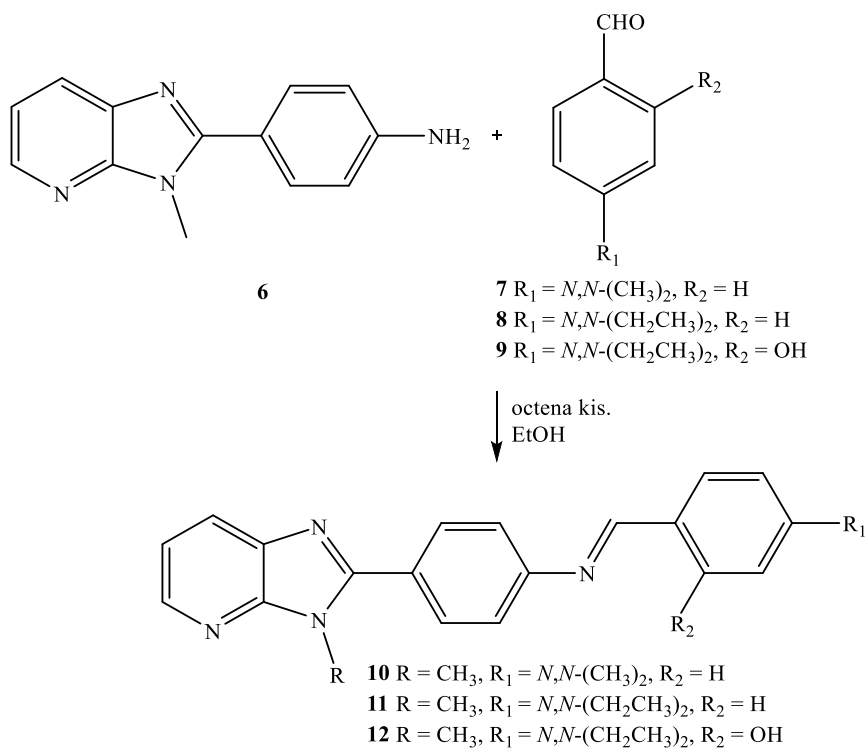
$^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopijom potvrđena je struktura 4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)anilina **6**. Slika 14. prikazuje  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **3**. Signali aromatskih protona nalaze se u rasponu kemijskih pomaka od 5,70 ppm do 7,24 ppm te od 7,97 ppm do 8,29 ppm, dok se signal protona  $\text{NH}_2$  skupine javlja kod 7,65 ppm. Signal protona metilne skupine je na kemijskom pomaku 3,91 ppm.



Slika 14.  $^1\text{H}$  NMR spektar 4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)anilina **6**

Željene Schiffove baze imidazo[4,5-*b*]piridina **10-12** sintetizirane su iz prethodno pripremljenog 4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)anilina **6** i odgovarajućeg aldehida, u apsolutnom etanolu i dodatak octene kiseline (shema 17). Iskorištenje reakcije za spoj **10** je 15,9%, **11** je 72,5%, a **12** je 0,5%.

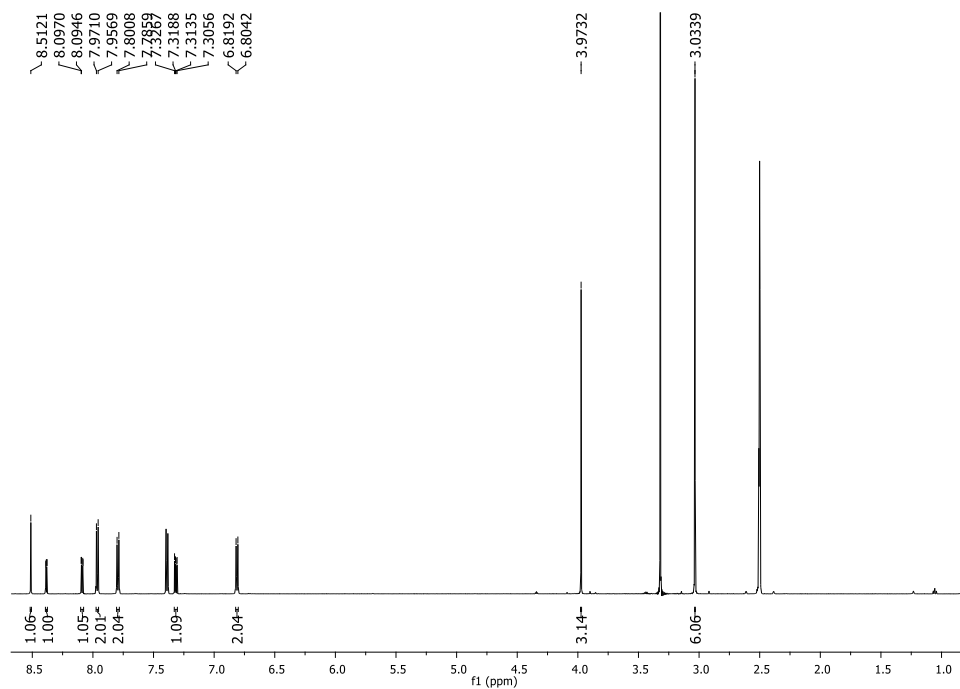




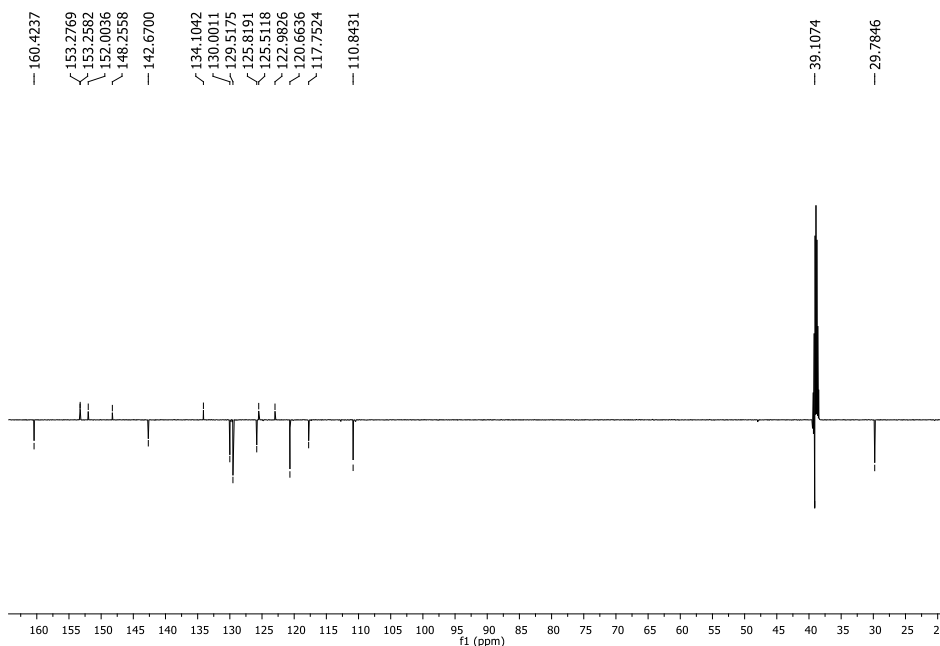
Shema 17. Sinteza Schiffovih baza imidazo[4,5-*b*]piridina **10-12**

Struktura derivata **10-12** potvrđena je  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopijom. Slika 15. a) prikazuje  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **10**. U spektru se signali aromatskih protona nalaze u području kemijskih pomaka od 7,32 ppm do 8,51 ppm.

a)

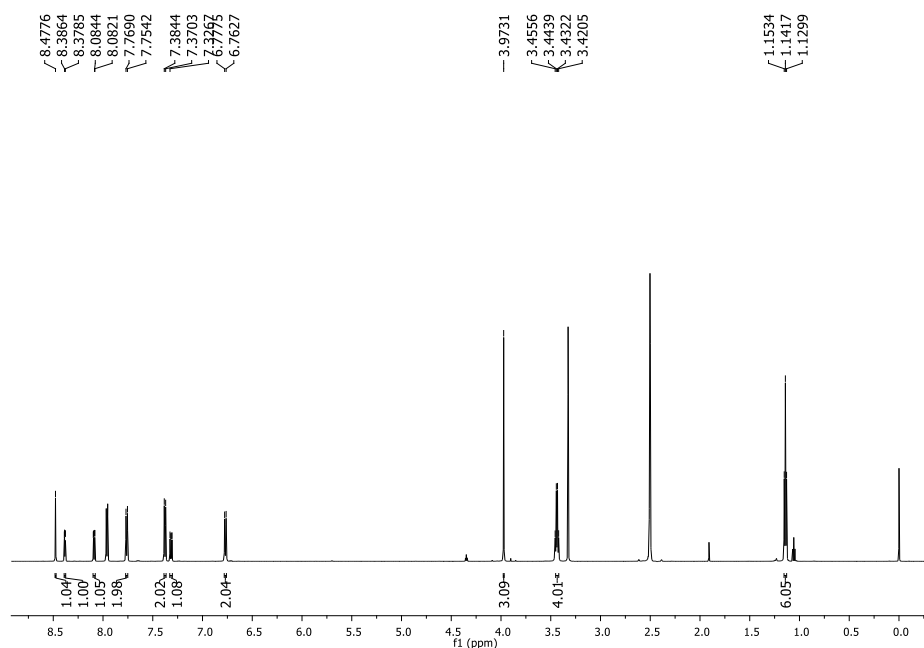


b)



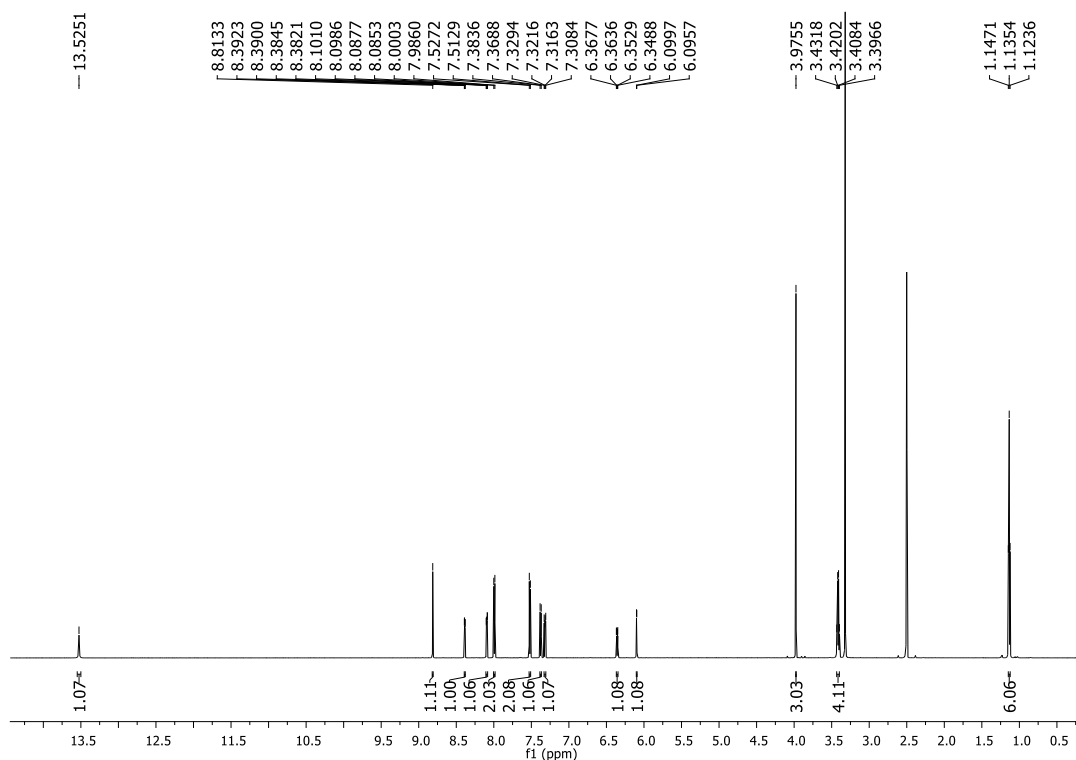
Slika 15. a)  $^1\text{H}$  NMR spektar i b)  $^{13}\text{C}$  NMR spektar (*E*)-*N,N*-dimetil-4-(((4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)fenil)imino)metil)anilina **10**

Signali metilnih skupina nalaze se na području 3,03 ppm i 3,97 ppm. Slika 15. b) prikazuje  $^{13}\text{C}$  NMR spektar koji prikazuje odgovarajući broj ugljikovih atoma te broj signala koji se odnose na ugljikove atome metilne skupine. Na slici 16. prikazan je  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **11**.



Slika 16.  $^1\text{H}$  NMR spektar (*E*)-*N,N*-dietil-4-(((4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)fenil)imino)metil)anilina **11**

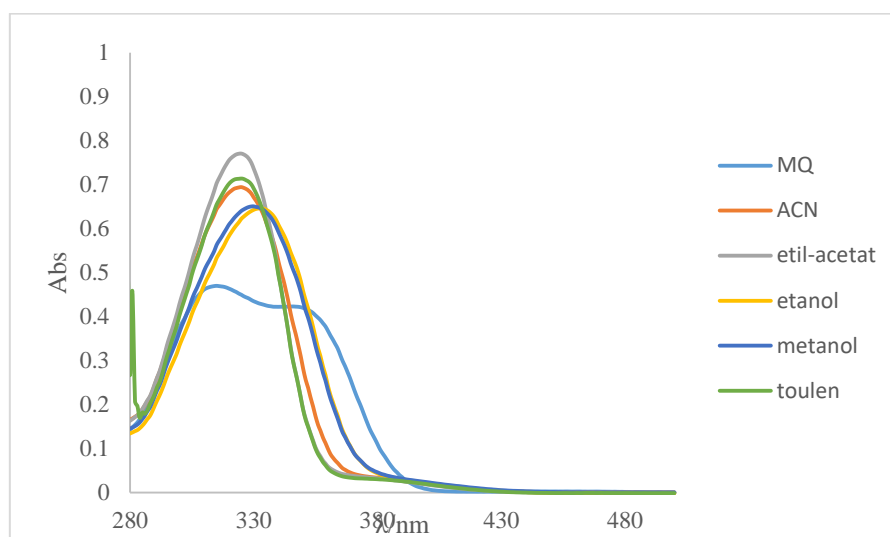
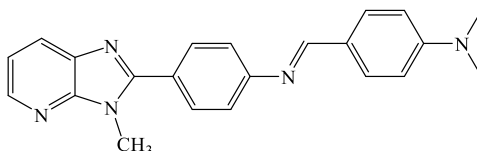
$^1\text{H}$  NMR spektar spoja **12** prikazan je na slici 17. Prisutnost hidroksilne skupine dokazana je zbog pojave signala na kemijskom pomaku 13,53 ppm. Aromatski protoni daju signale koji se nalaze u području kemijskih pomaka od 6,10 ppm do 8,81 ppm. Protoni metilnih skupina nalaze se na kemijskom pomnaku 3,98 ppm, a metilenske skupine od 3,43 ppm do 3,40 ppm. Na  $^{13}\text{C}$  NMR spektru koji prikazuje odgovarajući broj ugljikovih atoma te broj signala koji se odnose na ugljikove atome metilne skupine (13,03 ppm) te metilenske skupine (44,45 ppm).



Slika 17.  $^1\text{H}$  NMR spektar (*E*)-5-*N,N*-dietil-2-(((4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)fenil)imino)metil)fenola **12**

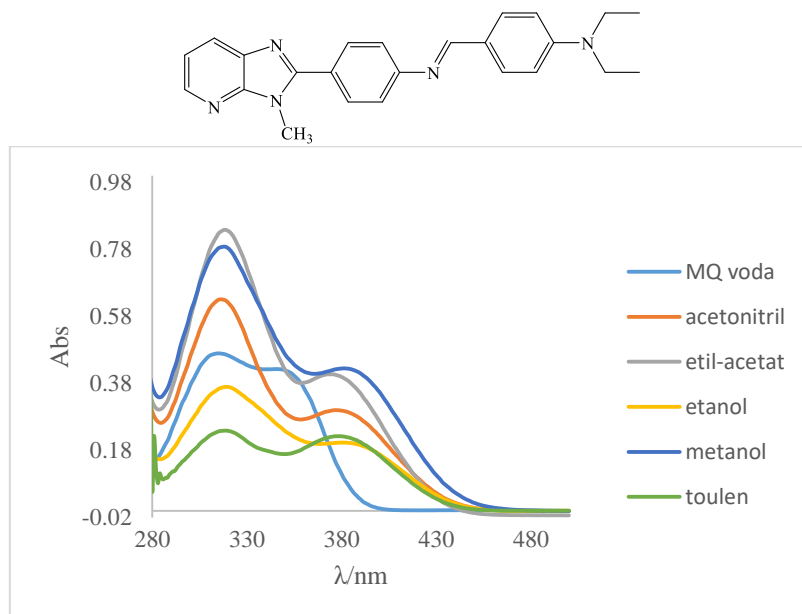
### 3.3. Spektroskopska karakterizacija Schiffovih baza imidazo[4,5-*b*]piridina

Spektroskopske karakteristike priređenih spojeva **10**, **11** i **12** proučavane su koristeći UV/Vis spektroskopiju. UV/Vis apsorpcijski spektri snimani su pri koncentraciji  $2 \times 10^{-5}$  mol dm<sup>-3</sup>. Korištena su organska otapala različite polarnosti – acetonitril, etil-acetat, etanol, metanol, toulen i MQ voda.



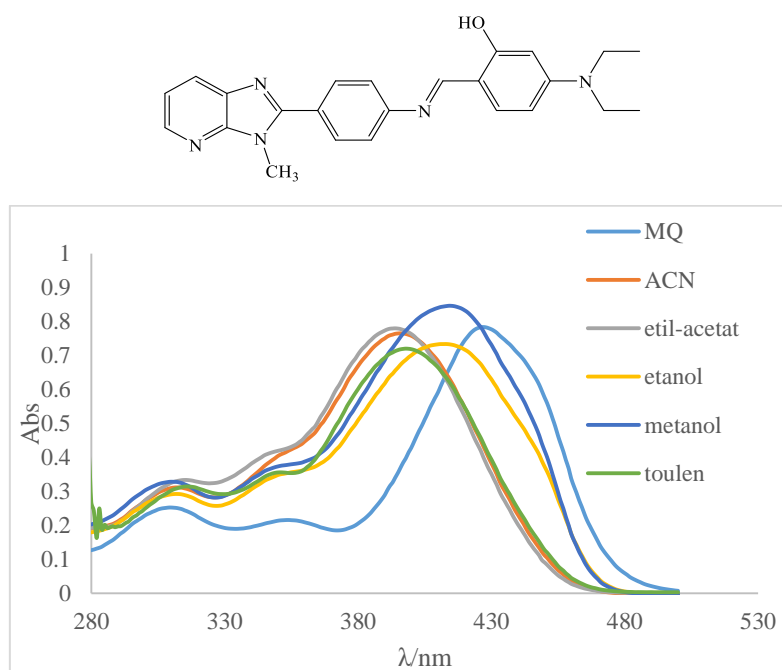
Slika 18. Apsorpcijski spektar spoja **10**

Apsorpcijski spektri spoja **10**, koji su snimani u navedenim otapalima, uspoređivani su u intervalu od 280 nm do 480 nm (slika 18.). Spoj **10** u svim otapalima pokazuje mali batokromni pomak maksimuma valne duljine u usporedbi s MQ vodom u kojoj spoj pokazuje dva apsorpcijska maksimuma. Najveći intenzitet apsorpcije pokazuje u etil-acetatu, a najmanji u MQ vodi. Porastom polarnosti, intenzitet apsorpcije se smanjuje. Intenzitet apsorpcije mijenja se u nizu: MQ < metanol < etanol < acetonitril < toulen < etil-acetat.



Slika 19. Apsorpcijski spektar spoja **11**

Na slici 19. prikazan je apsorpcijski spektar spoja **11** u otapalima različite polarnosti. Spektar je prikazan u području valnih duljina od 280 nm do 480 nm. Spoj **11** u svim otapalima pokazuje postojanje dva maksimuma apsorpcije, te u svim otapalima dolazi do batokromnog pomaka maksimuma apsorpcije u odnosu na spektar u MQ vodi. Najveći intenzitet apsorpcije opažava se u etil-acetatu, a najmanji u toulenu. Intenzitet apsorpcije mijenja se u nizu: toulenu < etanol < MQ voda < acetonitril < metanol < etil-acetat.



Slika 20. Apsorpcijski spektar spoja **12**

Usporedbom apsorpcijskih spektara spoja **12** u različitim otapalima, prikazanih na slici 20., u intervalu od 280 nm do 480 nm, uočava se hipsokromni pomak maksimuma apsorpcije u odnosu na spektar u MQ vodi. U odnosu na spojeve **10** i **11** koji pokazuju maksimume apsorpcije u području od 305 nm do 340 nm, spoj **12** pokazuje maksimume apsorpcije u području veći valnih duljina (od 380 nm do 430 nm), te je maksimum apsorpcije pomaknut prema vidljivom dijelu spektra. Najveći intenzitet apsorpcije spoj **12** pokazuje u metanolu, a najmanji u toluenu. Najizraženiji hipsokromni pomaci maksimuma apsorpcije uočavaju se u toluenu, etanolu i etil-acetatu. Porast intenziteta apsorpcije raste u nizu: toluen < etanol < acetonitril < etil-acetat < MQ voda < metanol.

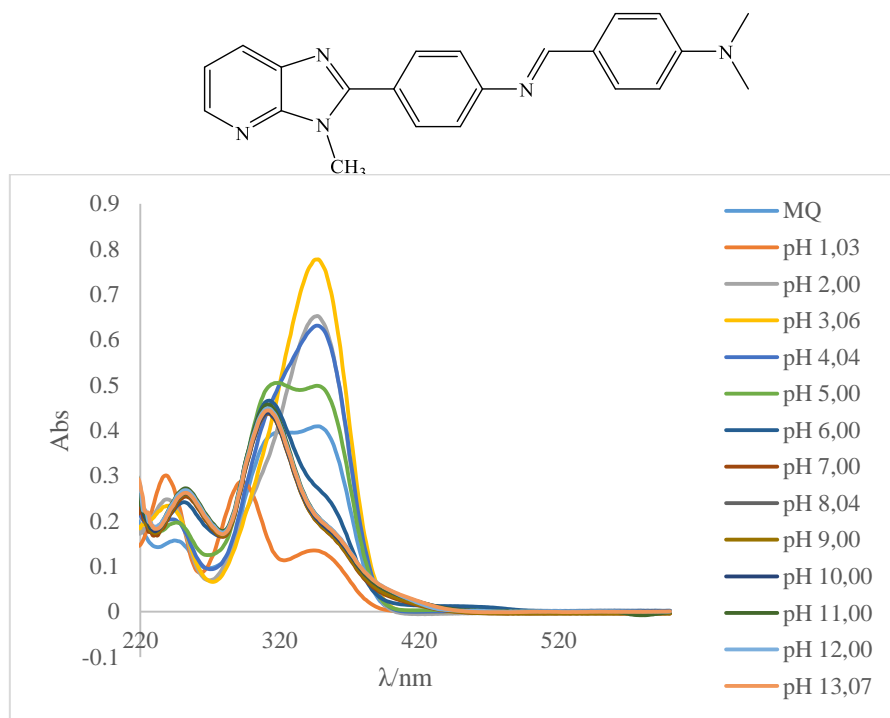
Tablica 1. prikazuje dobivene spektroskopske podatke ispitivanih spojeva **10**, **11** i **12** u različitim otapalima.

Tablica 1. UV/Vis podaci za ispitane spojeve **10**, **11** i **12** u različitim otapalima

OTAPALO	$E_T(30)$	10			11			12		
		$\lambda_{\max}$ /nm	$\epsilon \times 10^3$ / $\text{dm}^3$ $\text{mol}^{-1}$ $\text{cm}^{-1}$	Abs	$\lambda_{\max}$ /nm	$\epsilon \times 10^3$ / $\text{dm}^3$ $\text{mol}^{-1}$ $\text{cm}^{-1}$	Abs	$\lambda_{\max}$ /nm	$\epsilon \times 10^3$ / $\text{dm}^3$ $\text{mol}^{-1}$ $\text{cm}^{-1}$	Abs
toluen	33,9	327	35,50	0,710	320	11,95	0,239	416	42,25	0,845
					381	11,10	0,222			
etil-acetat	38,1	328	38,00	0,760	321	41,60	0,832	391	38,85	0,777
					375	21,00	0,420			
acetonitril	45,6	330	34,60	0,692	318	31,45	0,629	395	38,30	0,766
					378	15,00	0,300			
etanol	51,9	332	32,30	0,646	321	18,45	0,369	414	36,65	0,733
					391	10,05	0,201			
metanol	55,4	330	32,55	0,651	320	39,20	0,784	416	42,25	0,845
					384	21,20	0,424			
MQ voda	63,1	307	23,20	0,464	315	23,45	0,469	427	36,10	0,722
		351	20,65	0,413	354	22,10	0,442			

### 3.4. Utjecaj pH na spektroskopska svojstva sintetiziranih spojeva

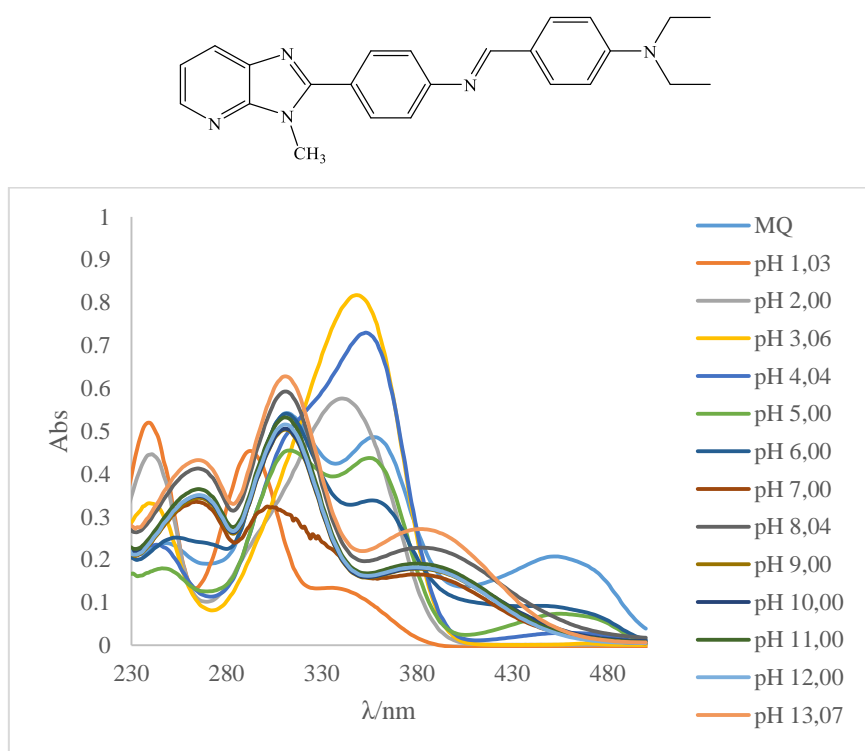
UV/Vis spektroskopijom ispitana je moguća primjena spojeva **10**, **11** i **12** kao optičkih pH senzora. Ispitivanje je provedeno u puferima različitih pH vrijednosti, a snimljeni su apsorpcijski spektri kako bi se pratila promjena spektroskopskih svojstva spojeva u otopinama različitih pH vrijednosti. Spektri su snimani pri koncentraciji  $2 \times 10^{-5}$  mol dm<sup>-3</sup>. Na slici 21. prikazani su apsorpcijski spektri spoja **10** u otopinama pufera različitih pH vrijednosti.



Slika 21. Apsorpcijski spektar spoja **10** u otopinama pufera različitih pH vrijednosti

U ispitivanom području valnih duljina do 600 nm, spektroskopske karakteristike značajno ovise o različitim vrijednostima pH otopina pufera. Najveći intenzitet apsorbancije spoj **10** pokazuje pri pH vrijednosti 3,06 na maksimum od 350 nm. Obzirom na spektar pri pH 3,06, spektri pri pH 2,00, pH 4,04, pH 5,00 i u MQ vodi pokazuju batokromni pomak maksimuma apsorbancije, dok apsorpcijski spektri kod preostalih ispitivanih pH vrijednosti pokazuju veliki hipsokromni pomak maksimuma apsorbancije. Najmanji intenzitet apsorbancije ima spoj **10** pri pH 1,03. Navedeni spoj pri svim pH vrijednostima pokazuje dva maksimuma apsorbancije, osim pri pH 1,03, pH 5,00 i u MQ vodi gdje se mogu uočiti tri maksimuma apsorbancije.

Apsorpcijski spektri spoja **11** u puferima različitih pH vrijednosti prikazani su na slici 22.

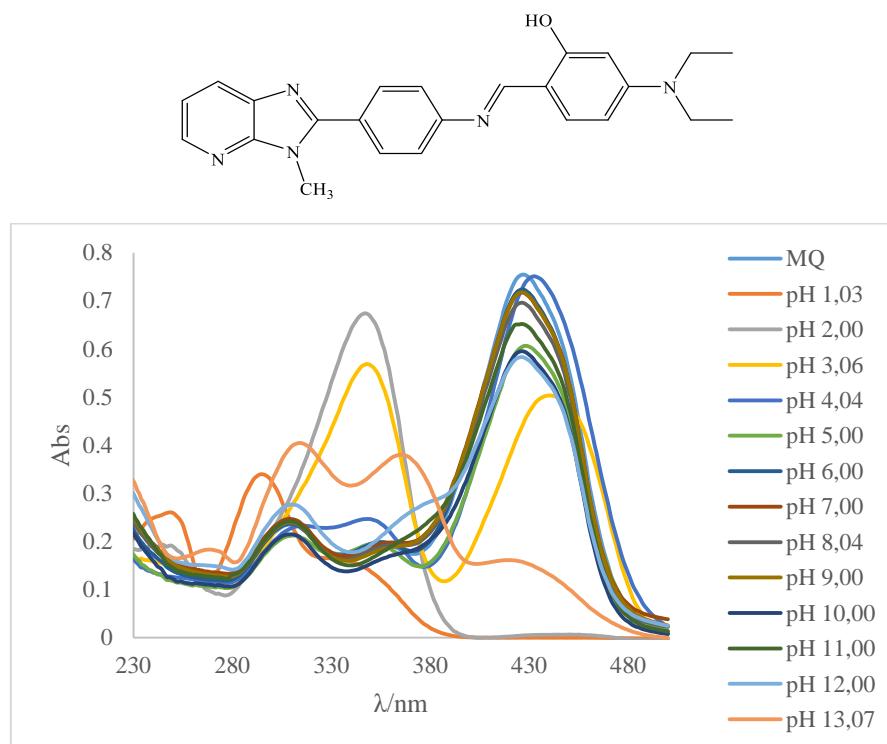


Slika 22. Apsorpcijski spektar spoja **11** u otopinama pufera različitih pH vrijednosti

Apsorpcijski spektri spoja **11** ponašaju se različito pri različitim vrijednostima pH pufera u području valnih duljina do 500 nm. Najveći intenzitet apsorbancije spoja **11** je uočen pri pH vrijednosti 3,06 s maksimumom apsorbancije na valnoj duljini od 352 nm. Obzirom na pH 3,06, spektar pri pH 4,04 pokazuje batokromni pomak, dok spektri pri preostalim pH vrijednostima pokazuju hipsokromni pomak. Najmanji intenzitet apsorbancije spoja **11** je pri pH 1,03. Navedeni spoj pri svim pH vrijednostima pokazuje tri maksimuma apsorbancije, osim pri pH 2,00, pH 3,06 i pH 4,04, gdje se u spektru uočavaju dva maksimuma apsorbancije.

Slika 23. prikazuje apsorpcijski spektar spoja **12** u otopinama pufera različitih pH vrijednosti.





Slika 23. Apsorpcijski spektar spoja **12** u otopinama pufera različitih pH vrijednosti

U puferima različitih pH vrijednosti, u području valnih duljina do 500 nm, spoj **12** pokazuje promjene spektroskopskih karakteristika. Pri pH 4,04 uočen je najveći intenzitet apsorbancije spoja **12** s maksimumom apsorbancije na valnoj duljini od 435 nm. Obzirom na intenzitet apsorbancije u spektru spoja **12** snimljenog u MQ vodi, batokromni pomak maksimuma apsorbancije uočeno je pri pH 3,06 i pH 4,04, dok kod preostalih ispitivanih pH vrijednosti spektri pokazuju hipsokromni pomak. Najmanji intenzitet apsorbancije spoja **12** je pri pH 1,03. Navedeni spoj kod svih pH vrijednosti pokazuje dva maksimuma apsorbancije, osim kod pH 13,07 gdje spektar ima tri maksimuma apsorbancije.

Dobiveni rezultati ukazuju na mogućnost korištenja priređenih spojeva **10**, **11** i **12** kao optičkih pH senzora za određivanje pH u otopinama budući da spektroskopske karakteristike spojeva značajno ovise o pH vrijednostima otopina pufera.

## **4. EKSPERIMENTALNI DIO**

## 4.1. Opće napomene

$^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektri snimljeni su na spektrometrima Bruker AV300, Bruker AV600 i Bruker Avance III HD 400 MHz/54 mm Ascend.  $^1\text{H}$  NMR spektri snimani su pri 300, 400 i 600 MHz, dok su  $^{13}\text{C}$  NMR spektri snimani pri 75 i 150 MHz. Svi NMR spektri snimani su u DMSO- $d_6$  kao otapalu, koristeći tetrametilsilan kao interni standard. Kemijski pomaci ( $\delta$ ) izraženi su u ppm vrijednostima, a konstante sprege ( $J$ ) u Hz.

Tališta priređenih spojeva određena su na SMP10 Bibby aparatu te nisu korigirana.

UV/Vis spektri snimljeni su na Varian Cary 50 spektrofotometru. Korištene su kvarcne kivete promjera 0,5 cm te volumena 3 cm<sup>3</sup>.

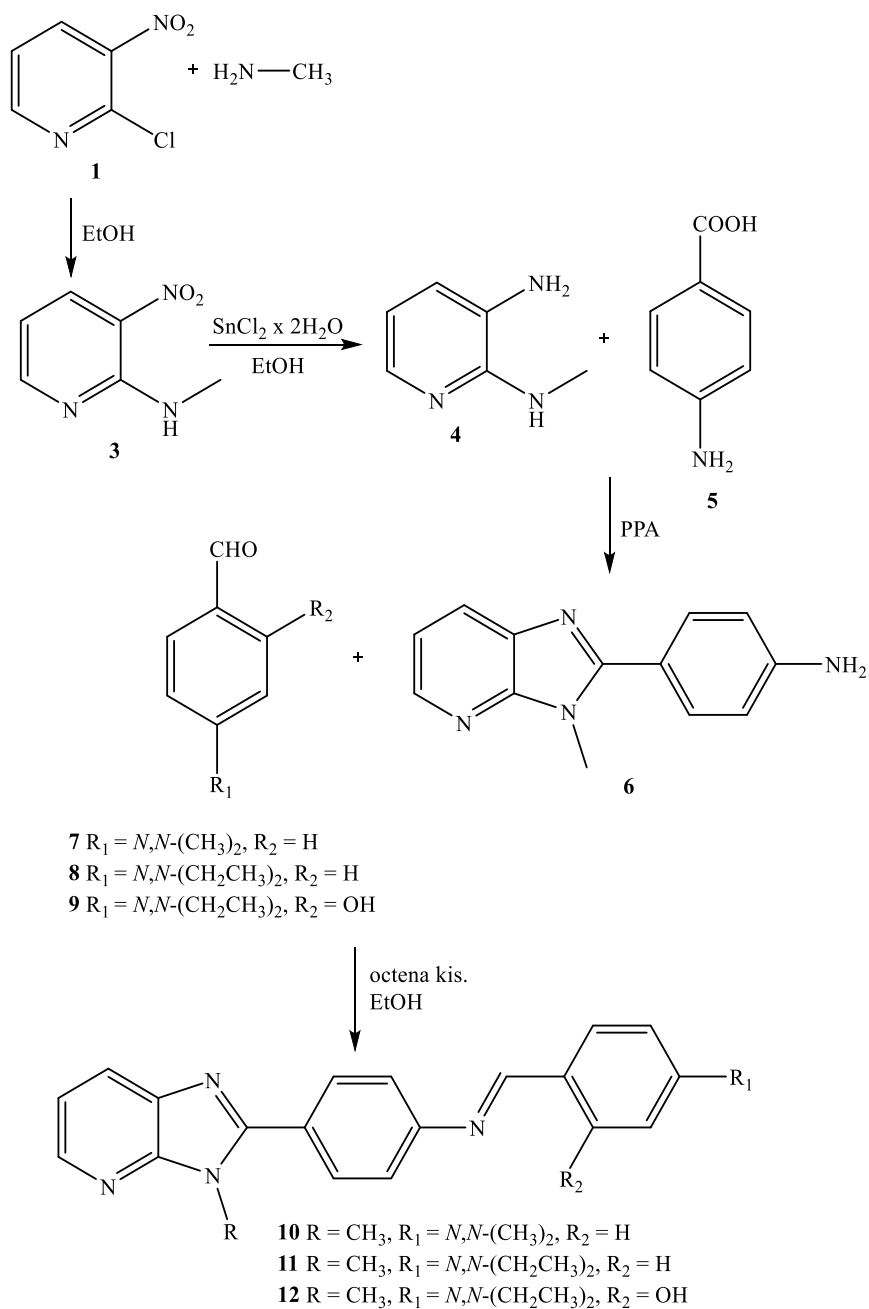
Kromatografska odjeljivanja provedena su na kolonama punjenim silikagelom 0,063–0,2 nm (Kemika, Merck).

Svi spojevi provjeravani su tankoslojnom kromatografijom (TLC) prilikom čega su upotrebljene pločice presvučene silikagelom Merck 60F-254, a detektirani su pod UV svjetlom (254 i 366 nm).

Sinteza Schiffovih baza imidazo[4,5-*b*]piridina provedena je u reaktoru za paralelnu sintezu Radleys Carousel 12 Plus.



## 4.2. Sinteza Schiffovih baza imidazo[4,5-*b*]piridina 10-12



Shema 13. Sinteza novih Schiffovih baza imidazo[4,5-*b*]piridina 10-12

#### 4.2.1. Priprava *N*-metil-3-nitropiridin-2-amina **3**

U tikvici od 250 ml otopi se 2,000 g (12,60 mmol) 2-klor-3-nitropiridina **1** u 100 mL etanola, te se doda 7,80 ml (63,10 mmol) metilamina **2**. Reakcijska smjesa zagrijava se 3 h na temperaturi vrenja. Nakon hlađenja, otapalo se ukloni destilacijom pod sniženim tlakom te se ostatak u tikvici ekstrahira etil-acetatom. Dobiveno je 1,930 g (100%) žutog kristaliničnog produkta.

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO) ( $\delta$ /ppm): 8,50 (dd, 1H,  $J_1 = 4,44$  Hz,  $J_2 = 1,74$  Hz,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 8,47 (s, 1H, NH), 8,41 (dd, 1H,  $J_1 = 8,34$  Hz,  $J_2 = 1,74$  Hz,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 6,75 (dd, 1H  $J_1 = 8,25$  Hz,  $J_2 = 4,47$  Hz,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 3,04 (d, 3H,  $J = 4,74$  Hz,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, DMSO) ( $\delta$ /ppm): 156,05, 152,41, 135,09, 111,48, 28,23.

#### 4.2.2. Priprava 2-*N*-metilpiridin-2,3-diamina **4**

Etanolnoj otopini spoja **3** doda se 11,370 g (50,40 mmol)  $\text{SnCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ , te se sadržaj tikvice zagrijava na 150 °C 30 minuta. Zatim se ukloni otapalo destilacijom pri sniženom tlaku. Doda se 50,0 ml destilirane vode te se zaluži do pH 14,00 sa 20%-tnom vodenom otopinom NaOH. Nakon ekstrakcije s etil-acetatom dobiveno je 1,326 g (85,55%) 2-*N*-metilpiridin-2,3-diamin **4**.

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO) ( $\delta$ /ppm): 7,38 (dd, 1H,  $J_1 = 4,95$  Hz,  $J_2 = 1,53$  Hz,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 6,65 (dd, 1H,  $J_1 = 7,35$  Hz,  $J_2 = 1,53$  Hz,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 6,32 (dd, 1H,  $J_1 = 7,32$  Hz,  $J_2 = 4,98$  Hz,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 5,54 (d, 1H  $J = 4,20$  Hz, NH), 4,59 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 2,81 (d, 3H,  $J = 4,74$  Hz,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, DMSO) ( $\delta$ /ppm): 148,58, 134,97, 130,25, 117,04, 111,99, 28,10.

#### 4.2.3. Priprava 4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)anilina **6**

U tikvicu s prethodno dobivenim 2-*N*-metilpiridin-2,3-diaminom **4**, doda se 25,000 g PPA i 1,480 g (10,80 mmol) *p*-aminobenzojeve kiseline **5**. Reakcijska smjesa zagrijava se 5 sati na temperaturi od 220 °C. Ohlađenoj reakcijskoj smjesi doda se 380,0 ml 10% vodene otopine natrijeva karbonata. Nastali talog se profiltrira te se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH kao eluens. Dobiveno je 0,425 g (82,4%) ljubičastog praškastog produkta 4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)anilina **6**.

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO) ( $\delta$ /ppm): 8,29 (dd, 1H,  $J_1 = 4,80$  Hz,  $J_2 = 1,44$  Hz,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7,97 (dd, 1H,  $J_1 = 7,86$  Hz,  $J_2 = 1,44$  Hz,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7,65 (d, 2H,  $J = 8,64$  Hz,  $\text{NH}_2$ ), 7,24 (dd, 1H,  $J_1 = 7,89$  Hz,  $J_2 = 4,77$  Hz,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 6,72 (d, 2H,  $J = 8,64$  Hz,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 5,70 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 3,91 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, DMSO) ( $\delta$ /ppm): 155,49, 151,27, 149,50, 142,73, 135,33, 130,74, 125,95, 118,42, 116,76, 113,84, 30,90.

#### 4.2.4. Opći postupak pripreme derivata Schiffovih baza 10-12

Za daljnju sintezu željenih Schiffovih baza, u kivetu reaktora za paralelnu sintezu doda se **6**, odgovarajući aldehid te 3,00 ml apsolutnog etanola i katalitička količina octene kiseline. Nakon 4 h zagrijavanja, nastali talog se profiltrira i, po potrebi, prekrizalizira iz etanola.

##### 4.2.4.1. Priprava (*E*)-*N,N*-dimetil-4-(((4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)fenil)imino)metil)anilina **10**

Spoj **10** priređen je prema općem postupku pripreme, iz 0,100 g (0,45 mmol) 4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)anilina **6** i 0,079 g (0,045 mmol), 4-(dimetilamino)benzaldehida **7**, nakon hlađenja, dobiveno je 0,025 g (15,9%) žutog kristaliničnog produkta. T.t. 168-171 °C.

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8,51 (s, 1H, CH), 8,38 (dd, 1H  $J_1 = 4,74$  Hz,  $J_2 = 1,44$  Hz, H<sub>arom.</sub>), 8,09 (dd, 1H,  $J_1 = 7,89$  Hz,  $J_2 = 1,47$  Hz, H<sub>arom.</sub>), 7,96 (d, 2H,  $J = 8,46$  Hz, H<sub>arom.</sub>), 7,79 (d, 2H,  $J = 8,94$  Hz, H<sub>arom.</sub>), 7,32 (dd, 1H,  $J_1 = 7,92$  Hz,  $J_2 = 4,74$  Hz, H<sub>arom.</sub>), 6,81 (d, 2H,  $J = 9,00$  Hz, H<sub>arom.</sub>), 3,97 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,03 (s, 6H, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO) (δ/ppm): 160,42, 153,28, 153,26, 152,00, 148,26, 142,67, 134,10, 130,00, 129,52, 125,82, 125,51, 122,98, 120,66, 117,75, 110,84, 39,11, 29,78.

##### 4.2.4.2. Priprava (*E*)-*N,N*-dietil-4-(((4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)fenil)imino)metil)anilina **11**

Spoj **11** priređen je prema općem postupku pripreme, iz 0,100 g (0,45 mmol) 4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)anilina **6** i 0,079 g (0,045 mmol) 4-(dietilamino)benzaldehida **8**, nakon hlađenja, dobiveno je 0,124 g (72,5%) žutog kristaliničnog produkta. T.t. 182-185 °C.

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO) (δ/ppm): 8,48 (s, 1H, CH), 8,38 (dd, 1H,  $J_1 = 4,74$  Hz,  $J_2 = 1,38$  Hz, H<sub>arom.</sub>), 8,09 (dd, 1H,  $J_1 = 7,92$  Hz,  $J_2 = 1,38$  Hz, H<sub>arom.</sub>), 7,76 (d, 2H,  $J = 8,88$  Hz, H<sub>arom.</sub>), 7,38 (d, 2H,  $J = 8,46$  Hz, H<sub>arom.</sub>), 7,32 (dd, 1H,  $J_1 = 7,89$  Hz,  $J_2 = 4,77$  Hz, H<sub>arom.</sub>), 6,77 (d, 2H,  $J = 8,88$  Hz, H<sub>arom.</sub>), 3,97 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,43 (t, 4H,  $J = 7,0$  Hz, CH<sub>2</sub>), 1,14 (t, 6H,  $J = 7,0$  Hz, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO) (δ/ppm): 160,25, 153,38, 153,28, 149,50, 148,26, 142,66, 134,11, 130,37, 129,51, 125,81, 125,40, 122,26, 120,65, 117,75, 110,27, 43,25, 29,79, 11,82.

#### 4.2.4.3. Priprava (*E*)-5-*N,N*-dietil-2-(((4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)fenil)imino)metil)fenola **12**

Spoj **12** priređen je prema općem postupku priprave, iz 0,100 g (0,45 mmol) 4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)anilina **6** i 0,086 g (0,045 mmol) 4-(dietilamino)-2-hidroksibenzaldehida **9**, nakon hlađenja, dobiveno je 0,001 g (0,5%) smeđeg kristaliničnog produkta.

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO) ( $\delta$ /ppm) 13,53 (s, 1H, OH), 8,81 (s, 1H, CH), 8,39 (dd, 1H,  $J_1 = 4,71$  Hz,  $J_2 = 1,41$  Hz,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 8,09 (dd, 1H,  $J_1 = 7,98$  Hz,  $J_2 = 1,44$  Hz,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7,99 (d, 2H,  $J = 8,58$  Hz,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7,52 (d, 2H,  $J = 8,58$  Hz,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7,38 (d, 1H,  $J = 8,88$  Hz,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7,32 (dd, 1H,  $J_1 = 7,89$  Hz,  $J_2 = 4,71$  Hz,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 6,36 (dd, 1H,  $J_1 = 8,88$  Hz,  $J_2 = 2,46$  Hz,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 6,10 (d, 1H,  $J = 2,40$  Hz,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 3,98 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,43 – 3,40 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 1,14 (t, 6H,  $J = 7,0$  Hz,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, DMSO) ( $\delta$ /ppm): 163,99, 162,73, 154,14, 152,36, 150,38, 149,33, 143,84, 135,18, 135,00, 130,81, 127,04, 126,95, 121,64, 118,88, 109,14, 104,60, 97,25, 44,45, 30,87, 13,03.

## **5. ZAKLJUČAK**



- U ovom radu priređeni su sljedeći spojevi: *N*-metil-3-nitropiridin-2-amina **3**, 2-*N*-metilpiridin-2,3-diamina **4**, 4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)anilina **6**, *E*-*N,N*-dimetil-4-(((4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)fenil)imino)metil)anilina **10**, (*E*)-*N,N*-dietil-4-(((4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)fenil)imino)metil)anilina **11**, (*E*)-5-*N,N*-dietil-2-(((4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)fenil)imino)metil)fenola **12**
- Kako bi se priredili odgovarajuće Schiffove baze imidazo[4,5-*b*]piridina, prvo je reakcijom 2-klor-3-nitropiridina **1** s metilaminom u etanolu, sintetiziran *N*-metil-3-nitropiridin-2-amina **3**.
- Redukcijom, iz etanolne otopine spoja **3** s SnCl<sub>2</sub>×2H<sub>2</sub>O, priređen je 2-*N*-metilpiridin-2,3-diamin **4** koji s *p*-aminobenzojevom kiselinom **5**, daje glavni amino-supstituirani prekursor 4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)anilin **6**.
- Željene Schiffove baze imidazo[4,5-*b*]piridina **10-12** sintetizirane su iz prethodno pripremljenog spoja **6** i odgovarajućih aldehida **7-9**, u apsolutnom etanolu i octenoj kiselini.
- Strukture svih priređenih spojeva potvrđene su <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektroskopijom.
- Spektroskopska karakterizacija Schiffovih baza **10-12** provedena je u šest otapala različite polarnosti UV/Vis spektroskopijom.
- Kako bi se ispitala mogućnost primjene sintetiziranih spojeva **10-12** kao optičkih pH senzora, praćene su promjene intenziteta apsorpcije spojeva u apsorpcijskim spektrima ovisno o promjeni pH pufera.
- Iz dobivenih rezultata pH titracija, zaključuje se da se Schiffove baze **10-12** mogu koristiti kao pH senzori jer se njihova spektroskopska svojstva značajno mijenjaju u ovisnosti o različitim pH vrijednostima.

## **6. LITERATURA**

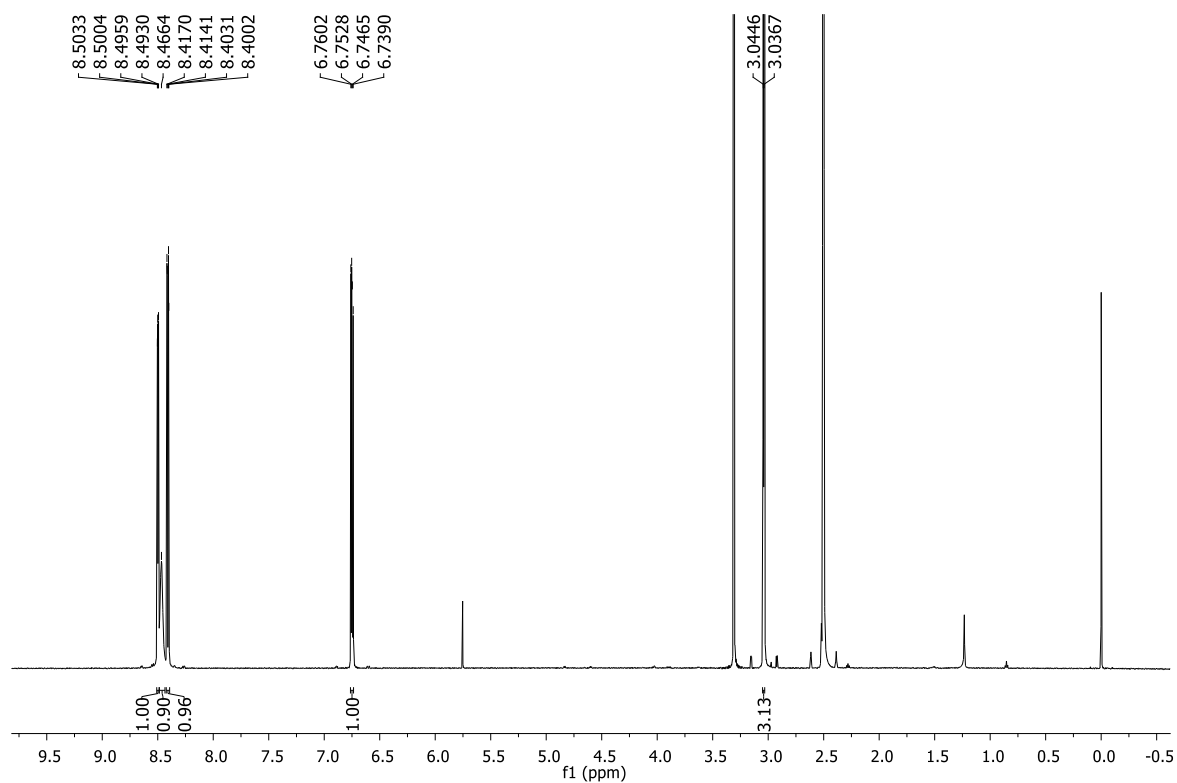
1. A. Kajal, S. Bala, S. Kamboj, N. Sharma, V. Saini, Schiff Bases: A Versatile Pharmacophore, *Journal of Catalysts* **2013** (2013) 1-14.
2. S. H. Pine, *Organska kemija*, Školska knjiga, 1994., Zagreb, 212-265.
3. T. W. Graham Solomons, C.B. Fryhle, *Organic Chemistry*, Wiley & Sons, 2016., New York 732–736.
4. L. G. Wade, *Organska kemija*, Školska knjiga, 2017., Zagreb, 842–845.
5. R. W. Layer, The Chemistry of Imines, *Chemical Review* **5** (1962) 488–510.
6. J. M. Huang, J.F. Zhang, Y. Dong, W. Gong, An effective method to prepare Imines from Aldehyde, Bromide/Epoxide and Aqueous Ammonia, *The Journal of Organic Chemistry* **76** (2011), 3511-3514.
7. D.K.T. Yadav, B.M. Bhanage, Base-Mediated Synthesis of Imines and Amines from N-Phenylureas and Alcohols, *Synlett* **25** (2014) 1611-1615.
8. V. Hahn, R. Hansal, I. Markovčić, D. Vargazon, Pripravljanje sekundarnih amina redukcijom Schiffovih baza 1., O nekim N-furfuril-arilaminima, *Arhiv za kemiju* **26** (1954) 22-24.
9. Priyanka Devi, Kiran Singh, Bhagavati Kubavat, Synthesis, spectroscopic, quantum, thermal and kinetics, antibacterial and antifungal studies: Novel Schiff base 5-methyl-3-((5-bromosalicylidene)amino) - pyrazole and its transition metal complexes, *Results in Chemistry* **5** (2023) 1-2.
10. A. Daniele, F. Panza, A. Greco, G. Logroscino, D. Seripa, Can a Positive Allosteric Modulation of GABAergic Receptors Improve Motor Symptoms in Patients with Parkinson's Disease? The Potential Role of Zolpidem in the Treatment of Parkinson's Disease, *PubMed Central, Parkinson's Disease* **2016** (2016) 1-14.
11. C. McDonagh, C. Burke, B. MacCraith, Optical Chemical Sensors, *Chemical Review* **108** (2008) 400-422.
12. S. Balasurya, S. Kokilavani, B. Janani, S. Sudheer Khan, Recent advances in bioelectronic noses based on olfactory receptors, *Fundamentals and Emerging Applications* **4** (2023) 125-141.
13. A. Lobnik, M. Turel, Š. Korent Urek, Optical Chemical Sensors: Design and Applications, *Advances in Chemical Sensors* (2012) 3.-5.
14. D. Wencel, T. Abel, C. McDonagh, Optical Chemical pH Sensors, *Analytical Chemistry* **86** (2014) 15-29.
15. Lloyd W. Burgess, Absorption-based sensors, *Sensors and Actuators B* **29** (1995) 10-15.

16. I. Piljac, *Senzori fizikalnih veličina i elektroanalitičke metode*, Media Print, Zagreb, 2010., 601-619.
17. Y. Koike, K. Koike, Optical Fibers, *Polymer Science: A Comprehensive Reference* **8** (2012) 283-304.
18. Hulanicki, A., Grab, S., Ingman, F., Chemical sensors - definition and classification *Pure&Applied Chemistry* **63** (1991) 1247-1250.
19. L. Zovko, Optički (bio)kemijski senzori na tekstilu i papiru, Završni rad (2017) 13-15.
20. A. Lukowiak, W. Strek, Sensing abilities of materials prepared by sol – gel technology, *Journal of Sol-Gel Science and Technology* **50** (2009) 201-215.
21. L.C. Hollaway, P.R. Head, Composite Materials and Structures in Civil Engineering, *Comprehensive Composite Materials* **6** (2000) 489-527.
22. J.D. Wright, N.A. Sommerdijk, Sol-gel Materials: Chemistry and Applications; *CRC Press: Boca Raton*, 2000., 68-80.
23. E. Bakkerr, Selectivity comparison of neutral carrier-based ion-selective optical and potentiometric sensing schemes, *Analytica Chimica Acta* **350** (1997) 329-340.
24. U. E. Spichiger, D. Freiner, E. Bakker, T. Rosatzin and W. Simon, Optodes in clinical chemistry: potential and limitations, *Sensors and Actuators B: Chemical* **11** (1993) 263-271.
25. M.J.P. Leiner, P. Hartmann, Theory and practice in optical pH sensing, *Sensors and Actuators B: Chemical* **11** (1993) 281-289.
26. I. Murković Steinberg, A. Lobnik, O. S. Wolfbeis, Characterisation of an optical sensor membrane based on the metal ion indicator Pyrocatechol Violet, *Sensors and Actuators B* **90** (2003) 230-235.
27. I. Boček, M. Hranjec, R. Vianello, Imidazo[4,5-*b*]pyridine derived iminocoumarins as potential pH probes: Synthesis, spectroscopic and computational studies of their protonation equilibria, *Journal of Molecular Liquids* **355** (2022) 118982.
28. T. Baladi, A. Granzhan, S. Piguel, Microwave-Assisted C-2 Direct Alkenylation of Imidazo[4,5-*b*]pyridines: Access to Fluorescent Purine Isosteres with Remarkably Large Stokes Shifts, *European Journal of Organic Chemistry* (2016) 2421-2434.
29. I. Boček, K. Starčević, I. Novak Jovanović, R. Vianello, M. Hranjec, Novel imidazo[4,5-*b*]pyridine derived acrylonitriles: A combined experimental and computational study of their antioxidative potential, *Journal of Molecular Liquids* **342** (2021) 117527.
30. I. Boček, L. Hok, L. Persoons, D. Daelemans, R. Vianello, M. Hranjec, Imidazo[4,5-*b*]pyridine derived tubulin polymerization inhibitors: Design, synthesis, biological activity *in vitro* and computational analysis, *Bioorganic Chemistry* **127** (2022) 106032.

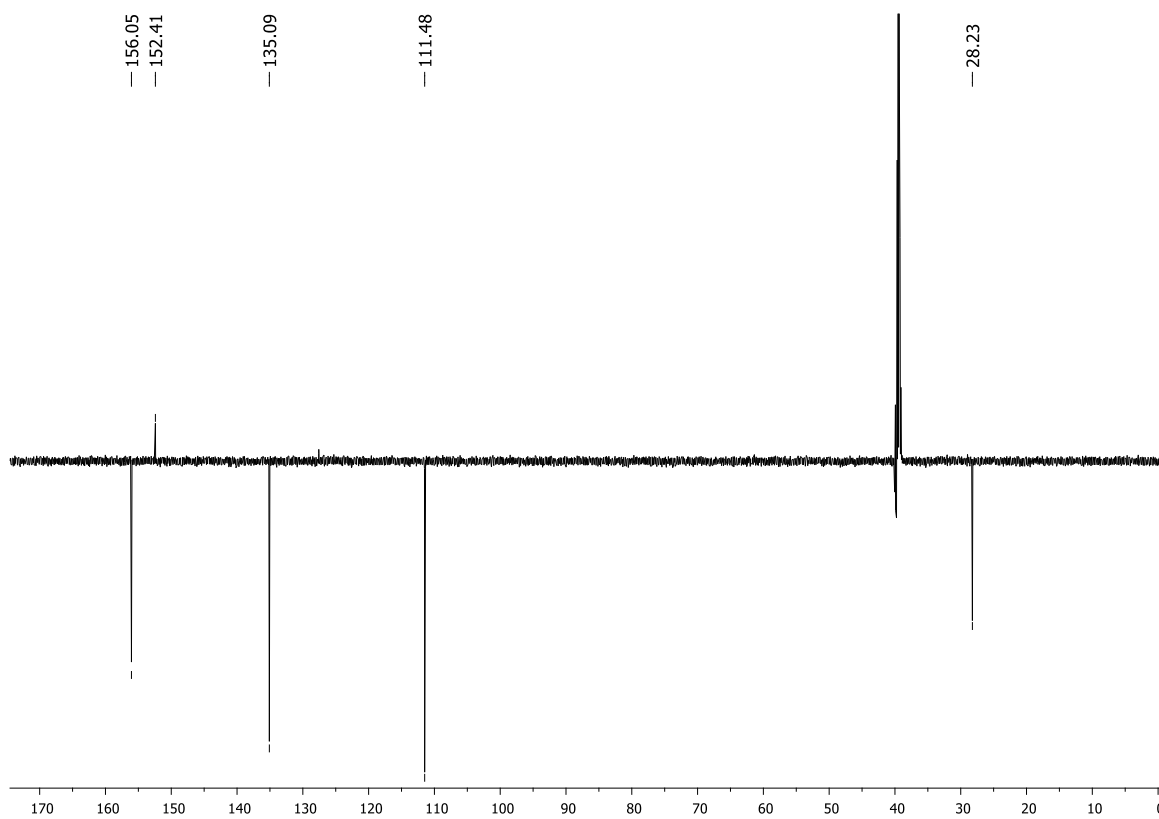
31. A. Jeyanthi, B. Kusuma, Dayakar Gade, Synthesis of novel benzamide and arylidene derivatives of 1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridines, *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences* **10** (2021) 1489-1497.

## **7. PRILOZI**

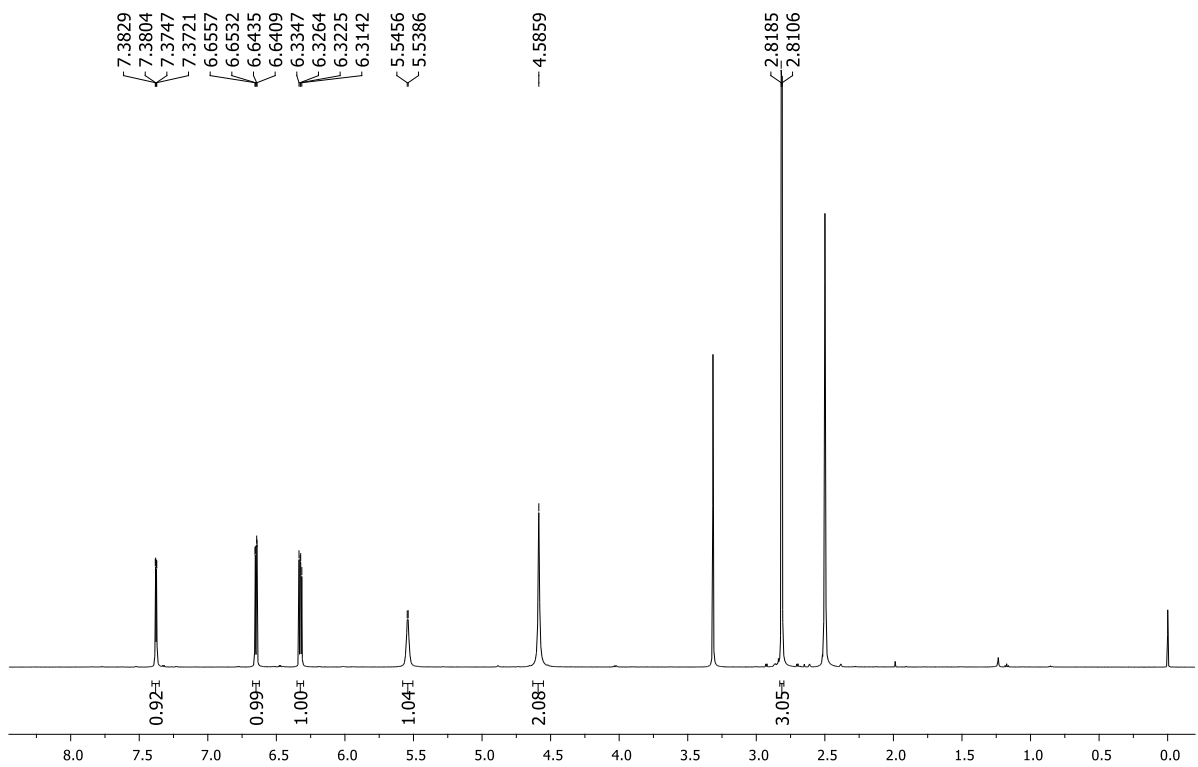
Prilog 1.  $^1\text{H}$  NMR spektar *N*-metil-3-nitropiridin-2-amina **3**



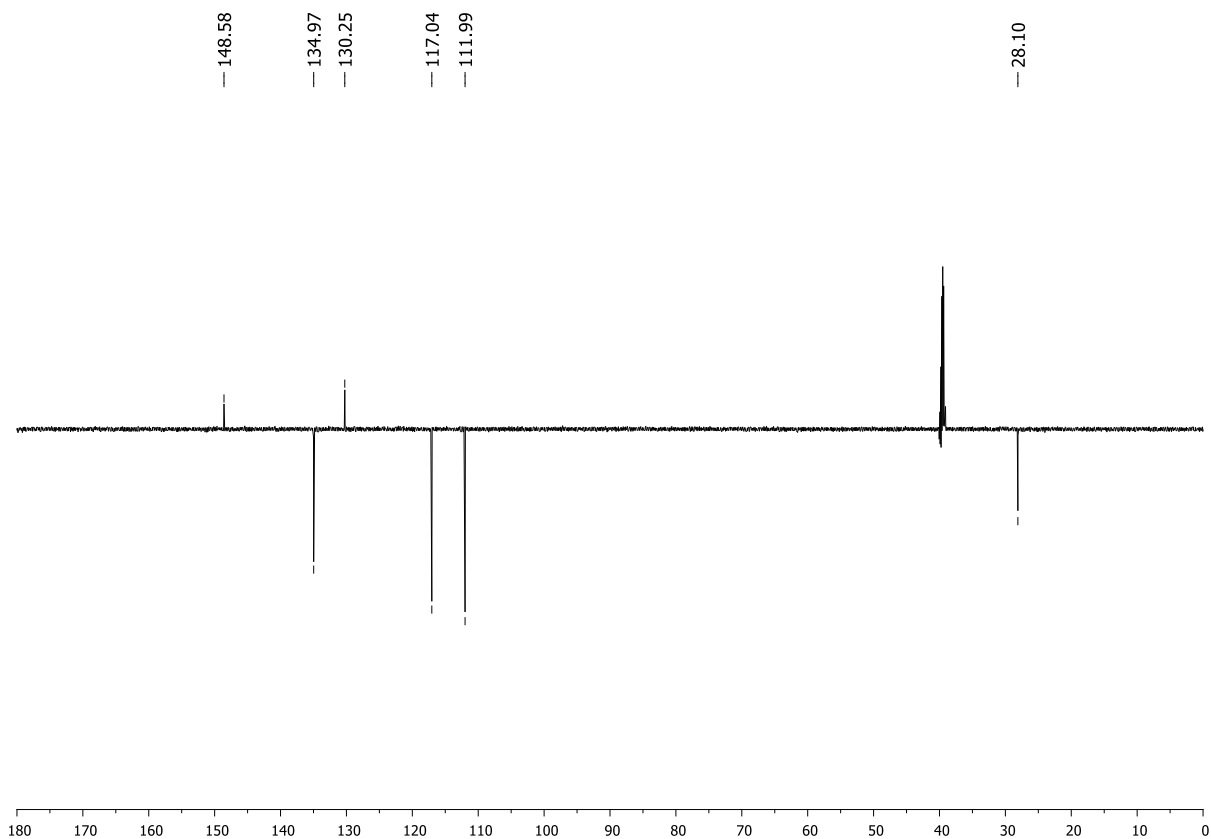
Prilog 2.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar *N*-metil-3-nitropiridin-2-amina **3**



Prilog 3.  $^1\text{H}$  NMR spektar 2-*N*-metilpiridin-2,3-diamina **4**

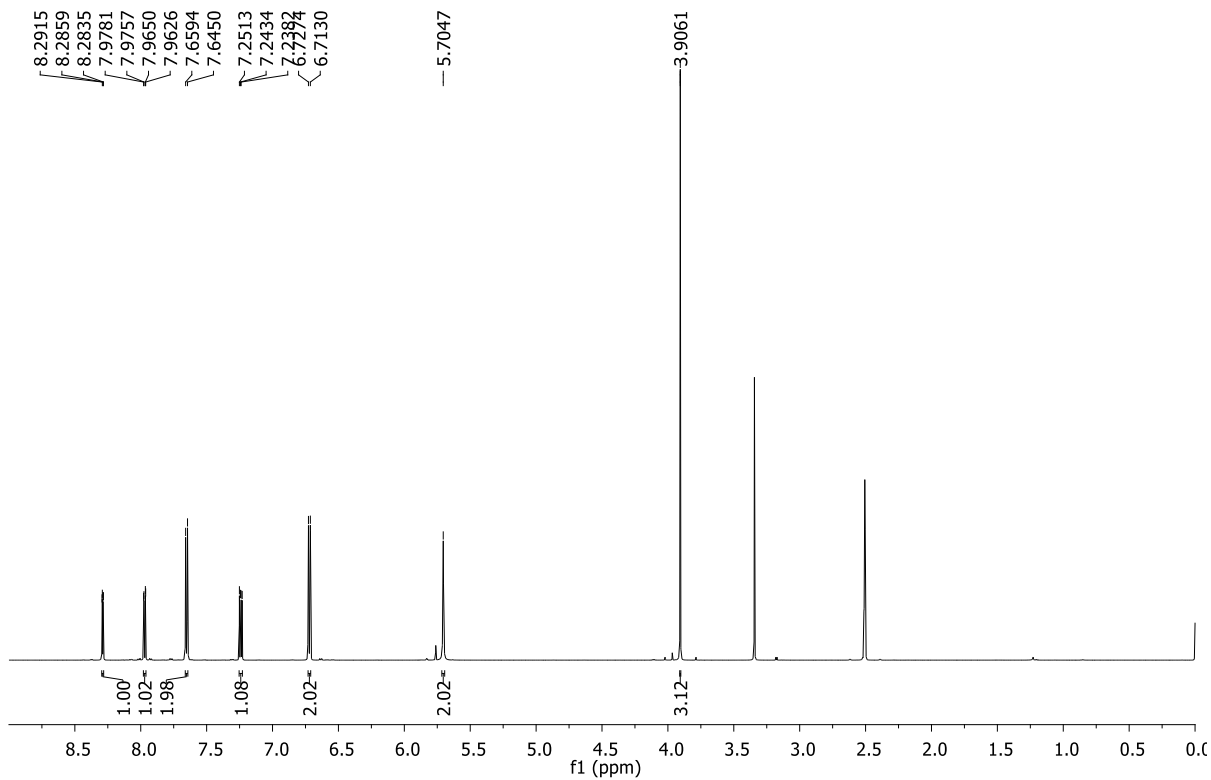


Prilog 4.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar 2-*N*-metilpiridin-2,3-diamina **4**

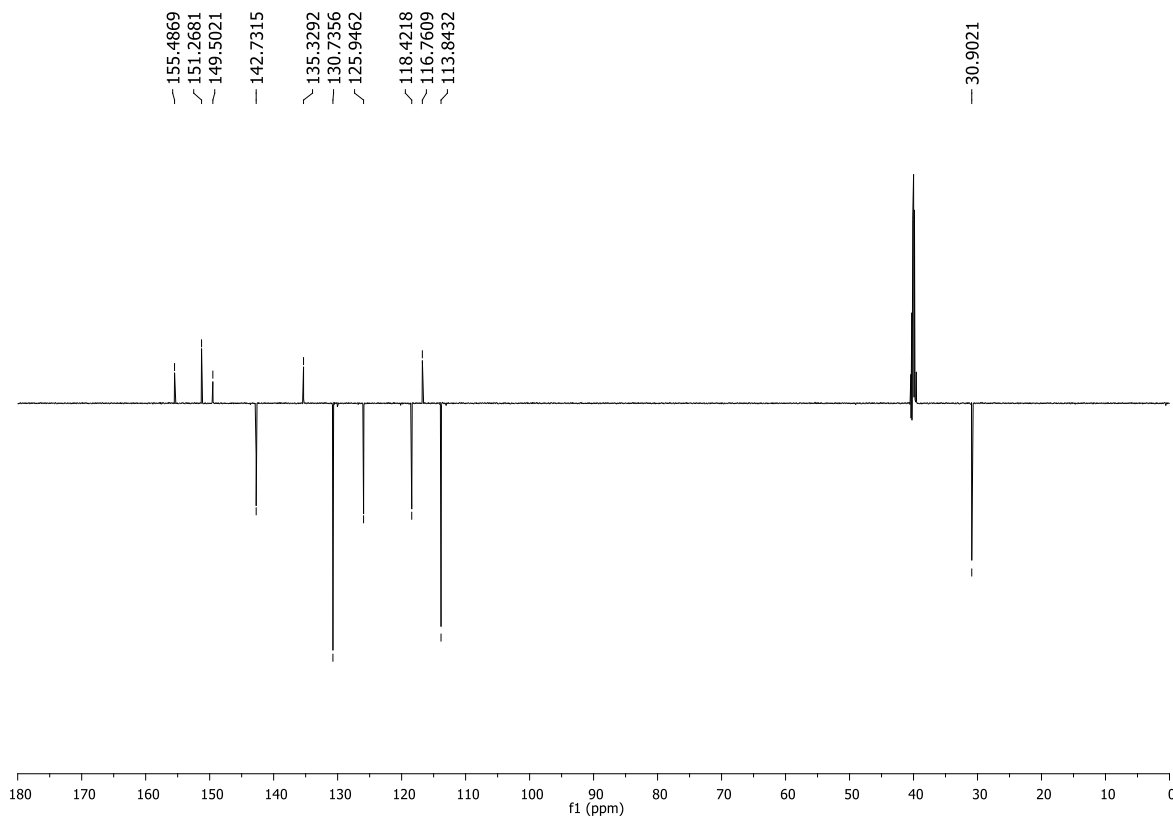


Prilog 5.  $^1\text{H}$  NMR spektar 4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)anilina **6**

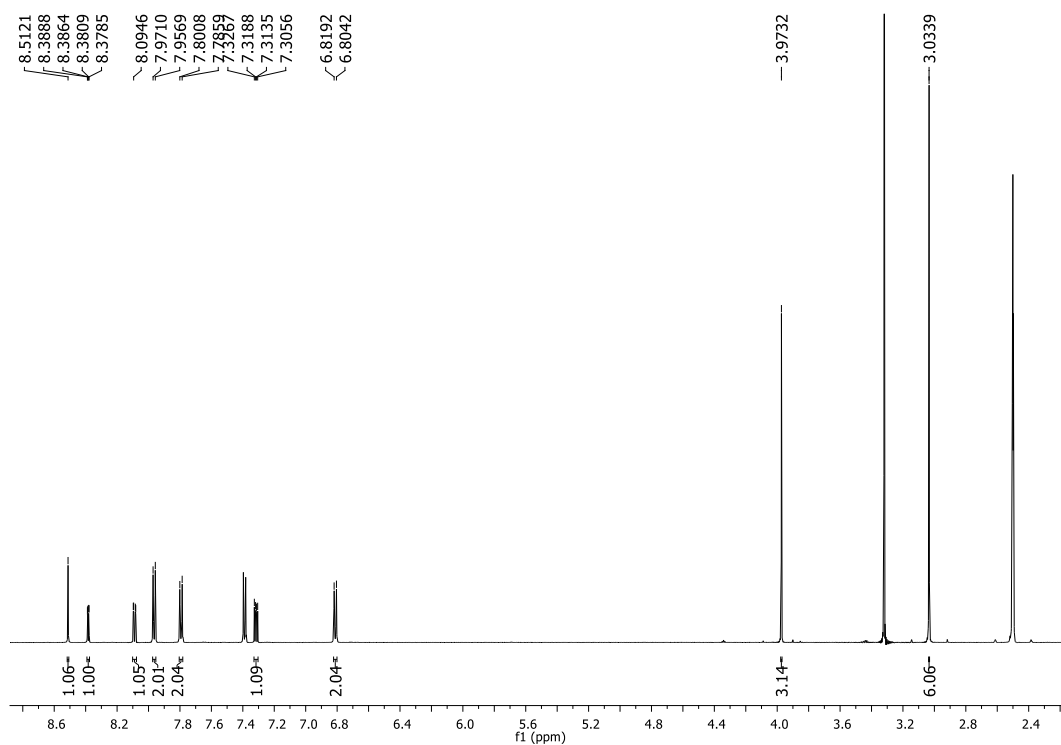




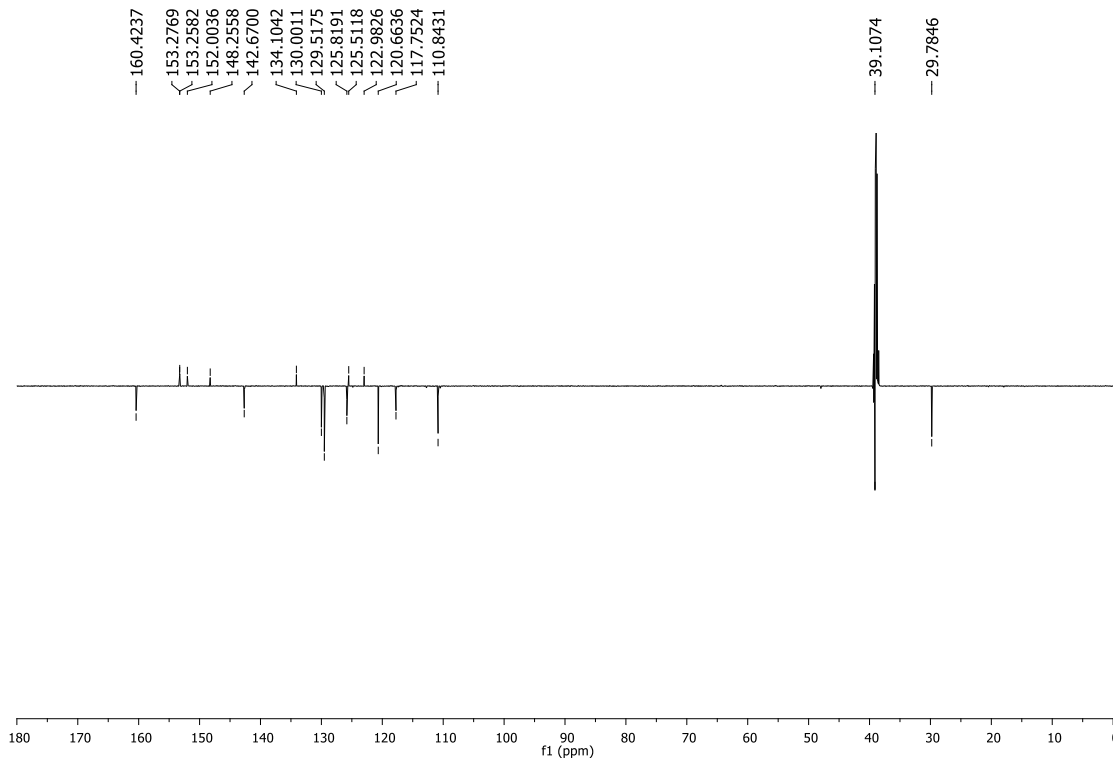
Prilog 6.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar 4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)anilina **6**



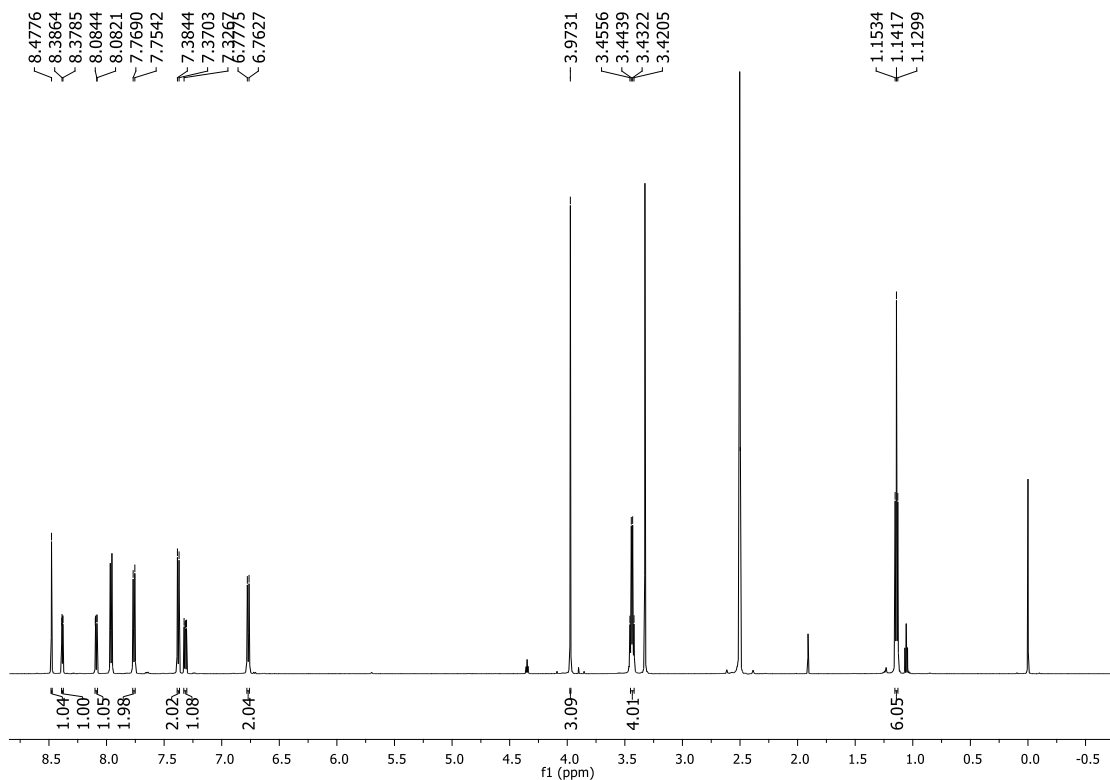
Prilog 7.  $^1\text{H}$  NMR spektar (*E*)-*N,N*-dimetil-4-(((4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)fenil)imino)metil)anilina **10**



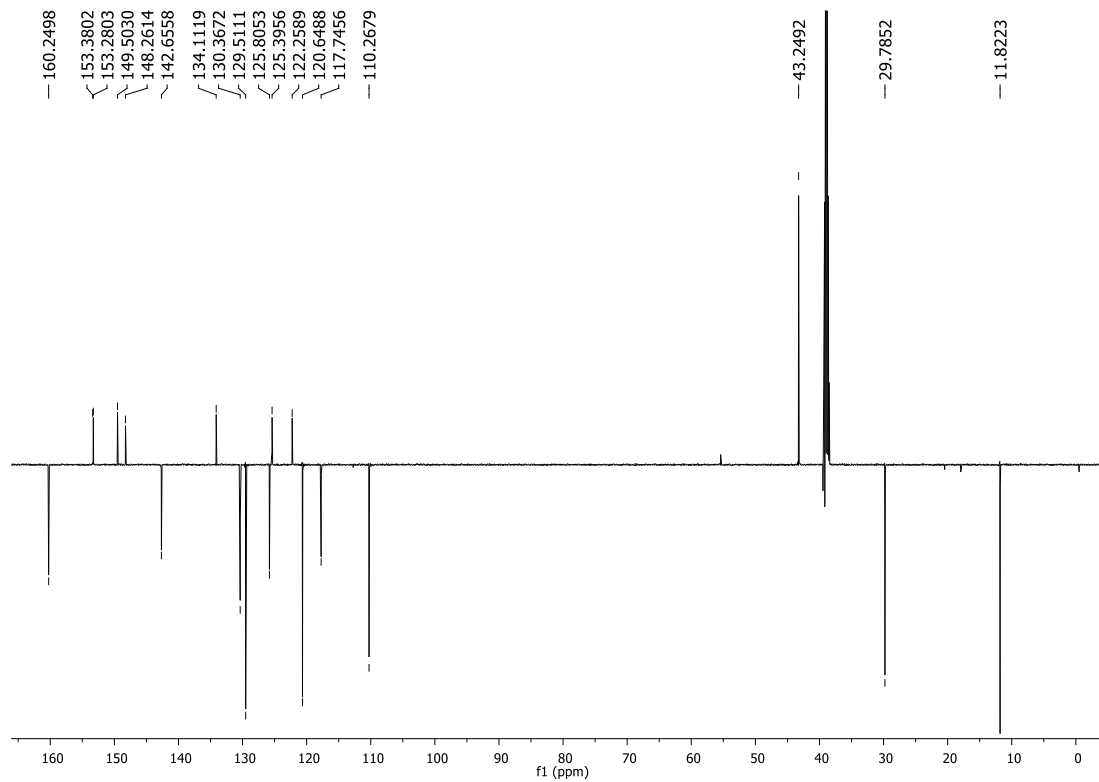
Prilog 8.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar (*E*)-*N,N*-dimetil-4-(((4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)fenil)imino)metil)anilina **10**



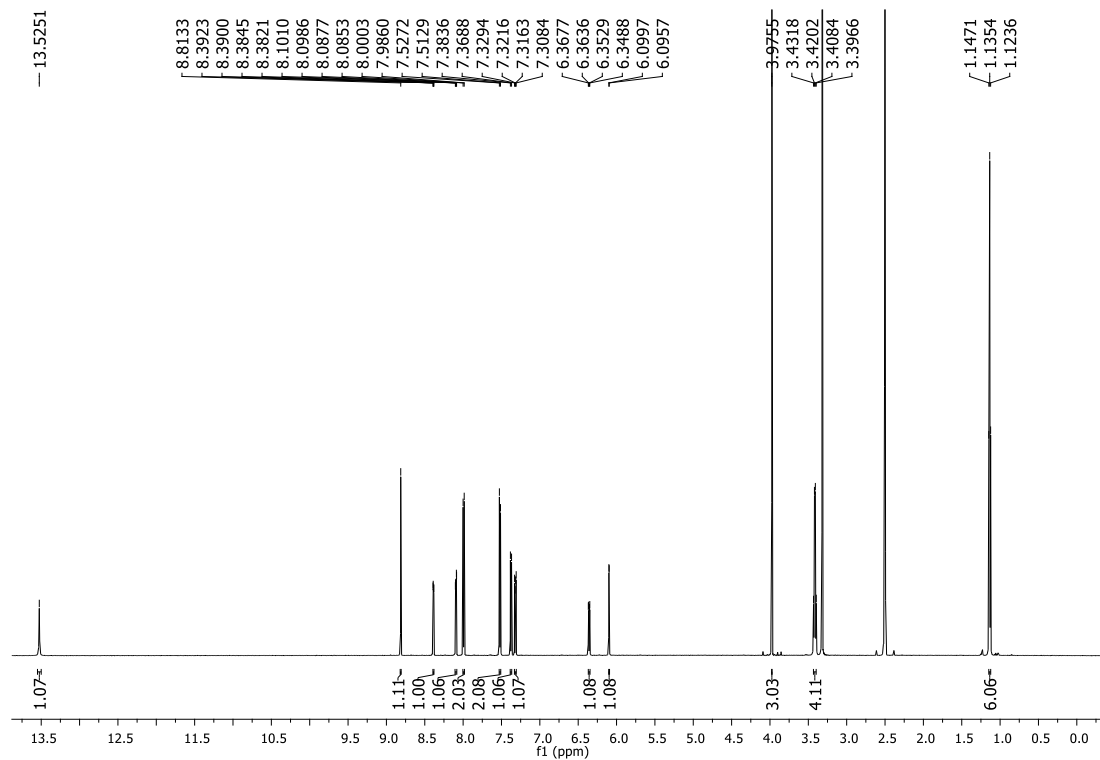
Prilog 9.  $^1\text{H}$  NMR spektar (*E*)-*N,N*-dietil-4-(((4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)fenil)imino)metil)-anilina **11**



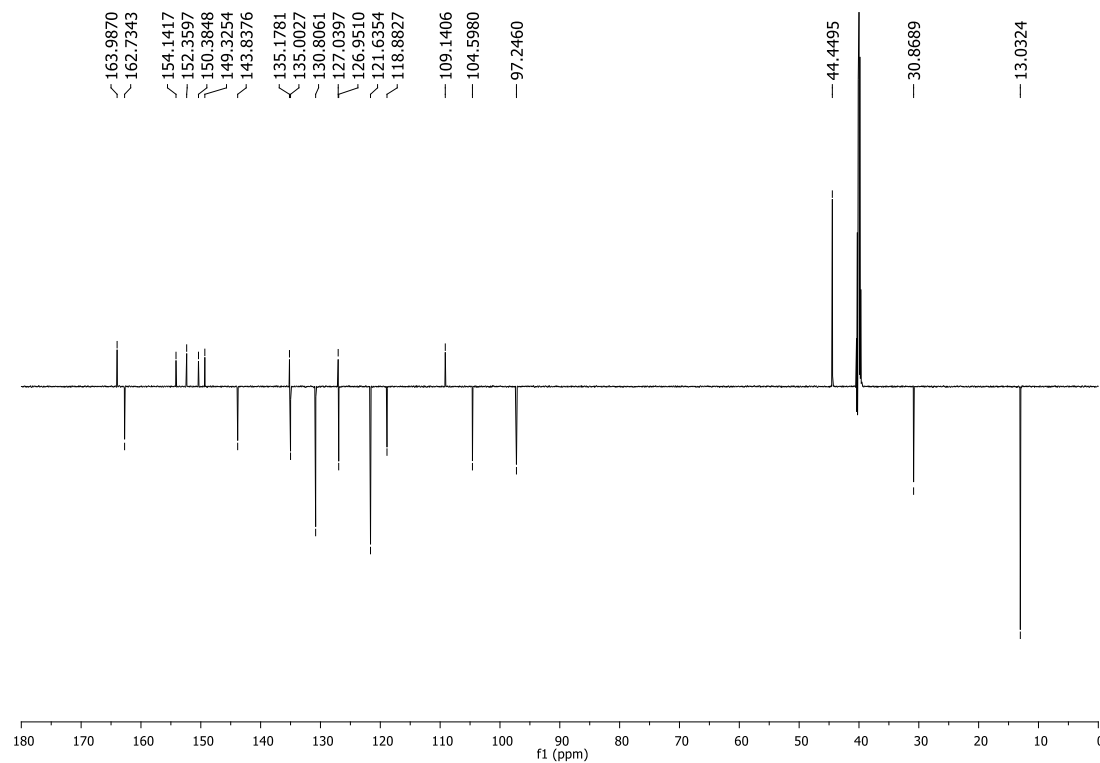
Prilog 10.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar (*E*)-*N,N*-dietil-4-(((4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)fenil)imino)metil)-anilina **11**



Prilog 11.  $^1\text{H}$  NMR spektar (*E*)-5-*N,N*-dietil-2-(((4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)fenil)-imino)metil)fenola **12**



Prilog 12.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar (*E*)-5-*N,N*-dietil-2-(((4-(3-metil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)fenil)-imino)metil)fenola **12**



## **8. ŽIVOTOPIS**

Laura Jaklenec [REDACTED] Od 2008. do 2016. je pohađala osnovnu školu OŠ Brezovica u Zagrebu, nakon čega je upisala IX. gimnaziju u Zagrebu. Nakon završene srednje škole 2020. godine, upisala je Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, smjer Kemijsko inženjerstvo. Tijekom studija odradila je praksu u Genera d.d.