

Sinteza i spektroskopska karakterizacija Schiffove baze benzimidazola kao potencijalnog senzora za metalne katione i pH u otopinama

Ćurić, Marija

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:814379>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-12**



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

Marija Ćurić

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Marija Ćurić

**Sinteza i spektroskopska karakterizacija Schiffove baze
benzimidazola kao potencijalnog senzora za metalne katione
i 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. Maja Cindrić, poslijedoktorandica FKIT-a
3. prof. dr. sc. Jasna Prlić Kardum, FKIT

Zagreb, rujan 2018.

Zahvaljujem svojoj mentorici, prof. dr. sc. Marijani Hranjec na predloženoj temi kao i pomoći koju mi je pružila tijekom izrade i pisanja ovog rada, strpljenju i korisnim savjetima.

Također se zahvaljujem poslijedoktorandici dr. sc. Maji Cindrić na savjetima i stručnom vodstvu tijekom izrade eksperimentalnog dijela.

SAŽETAK

Sinteza i spektroskopska karakterizacija Schiffove baze benzimidazola kao potencijalnog senzora za metalne katione i pH u otopinama

U okviru ovog rada provedena je sinteza Schiffovih baza benzimidazola kao potencijalnih senzora za pH i metalne katione u otopinama. Za pripravu ciljanih molekula korištene su klasične reakcije organske sinteze te mikrovalovima potpomognuta sinteza. Ciljani produkti **8-10** priređeni su reakcijom kondenzacije odgovarajućih aldehida **5-7** i 2-amino-5-cijano-*N*-metilbenzimidazola **4**. Ciljani spojevi **9** i **10** su izolirani, dok je spoj **8** sintetiziran međutim nije uspješno izoliran. Strukture priređenih spojeva su potvrđene ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom te su dodatno okarakterizirani UV/Vid spektroskopijom. Kako bi se potvrdila mogućnost primjene ovih spojeva kao senzora za pH ili za određivanje metalnih kationa u otopinama provedene su UV/Vid titracije otopina spojeva s puferima različitog pH ili s otopinama metalnih soli.

Ključne riječi: benzimidazoli, Schiffove baze, organska sinteza, ^1H i ^{13}C NMR, UV/Vid spektroskopija, senzori, pH

SUMMARY

Synthesis and spectroscopic characterization of benzimidazole Schiff base as potential sensor for metal cations and pH in solution

The aim of this study was the synthesis of benzimidazole Schiff bases as potential sensors for pH and metal cations in solution. For the preparation of targeted molecules, classical reactions of organic synthesis and microwave-assisted synthesis were used. The target compounds **8-10** were prepared in the condensation of appropriate benzaldehydes **5-7** and 2-amino-5-cyano-*N*-methylbenzimidazole **4**. The targeted compounds **9** and **10** were isolated while compound **8** was synthesized but was not successfully isolated. The structures of all synthesized compounds were confirmed by ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy and were additionally characterized by UV/Vis spectroscopy. To explore the possibility of synthesized compounds for their application as sensors for pH or metal cations in solution, UV/Vis titrations of aqueous compounds solutions with aqueous solutions of metal chloride salts or with buffers having different pH were performed.

Key words: benzimidazoles, Schiff bases, organic synthesis, ^1H and ^{13}C NMR, UV/Vis spectroscopy, sensors, pH

Ovaj rad je izrađen na Zavodu za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije pod mentorstvom prof. dr. sc. Marijane Hranjec i neposrednim vodioštvom dr. sc. Maje Cindrić u sklopu projekta Hrvatske nacionalne zaklade br. 3386 (*Design and Synthesis of Novel Nitrogen-Containing Heterocyclic Fluorophores and Fluorescent Nanomaterials for pH and Metal- Ion Sensing*).



SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. OPĆI DIO	3
2.1. Schiffove baze	4
2.1.1. Općenito o Schiffovim bazama	4
2.1.2. Schiffove baze benzimidazola i ostalih aromatskih spojeva	5
2.2. Spektroskopija.....	21
2.2.1. Spektroskopija ultraljubičastog i vidljivog zračenja	24
2.2.2. Fluorimetrijska spektroskopija	26
3. REZULTATI I RASPRAVA	29
3.1. Cilj rada.....	30
3.2. Sinteza priređenih spojeva	31
3.3. Spektroskopska karakterizacija UV/Vid spektroskopijom	35
3.3.1. Kvantitativni UV/Vid spektri	35
3.3.2. UV/Vid spektroskopske titracije s otopinama metalnih kationa	37
3.4. Utjecaj pH na spektroskopska svojstva.....	40
4. EKSPERIMENTALNI DIO	42
4.1. Opće napomene	43
4.2. Priprava supstituiranih Schiffovih baza benzimidazola	44
4.2.1. Priprava 4-(<i>N</i> -metilamino)-3-nitrobenzonitrila 2	45
4.2.2. Priprava 3-amino-4-(<i>N</i> -metilamino)benzonitrila 3.....	45
4.2.3. Priprava 2-amino-5-cijano- <i>N</i> -metilbenzimidazola 4	45
4.2.4. Opći postupak pripreve supstituiranih Schiffovih baza 8-10	46
5. ZAKLJUČAK	48
6. LITERATURA.....	50
7. PRILOZI.....	53
8. ŽIVOTOPIS	59

1. UVOD

Osim anorganskih biogenih elemenata koji imaju presudnu ulogu u biološkim te biološko medicinskim procesima, velik utjecaj imaju i organski spojevi na koje utječu ioni metala. Takvi spojevi su primjerice Schiffove baze koje nastaju kao produkti u reakcijama primarnih amina i aldehida ili ketona. Na dušik u dvostrukoj vezi $C=N$ Schiffove baze vezana je alkilna ili arilna skupina.¹ Schiffove baze se jednostavno sintetiziraju te imaju široku primjenu u različitim biološkim i kemijskim procesima i zbog toga se istražuju još od sedamdesetih godina dvadesetog stoljeća. Zbog izražene selektivnosti Schiffove baze benzimidazola su našle veliku primjenu kao senzori za anione i katione što se ispituje UV/Vid te fluorimetrijskom spektroskopijom. Osim toga, pokazale su se i dobrim senzorima za pH jer se promjenom koncentracije H^+ iona mijenja emisijski spektar Schiffove baze benzimidazola. S prijelaznim metalima lako tvore komplekse koji također imaju široku primjenu u medicini, analitičkoj kemiji, polimernoj industriji, kao katalizatori *itd.*

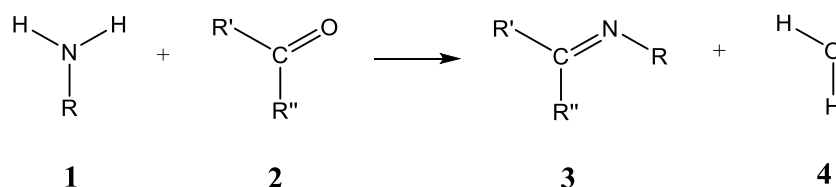
2. OPĆI DIO

2.1. Schiffove baze

Schiffove baze su spojevi koji sadrže azometinsku skupinu (-HC=N-) te su produkti reakcije adicije primarnih amina na ketone ili aldehide.² Prvi ih je detektirao Hugo Schiff 1864. godine po kojem su i dobili ime.³

2.1.1. Općenito o Schiffovim bazama

Schiffove baze su strukturno analogne aldehydima ili ketonima te je karbonilna C=O skupina zamijenjena s C=N-R skupinom gdje R označava najčešće alkilnu skupinu. Obično se dobivaju kondenzacijom aldehida ili ketona s primarnim aminima prema shemi 1, a R, R' i R'' su alkilne ili arilne skupine.



Shema 1. Reakcija nastajanja Schiffovih baza

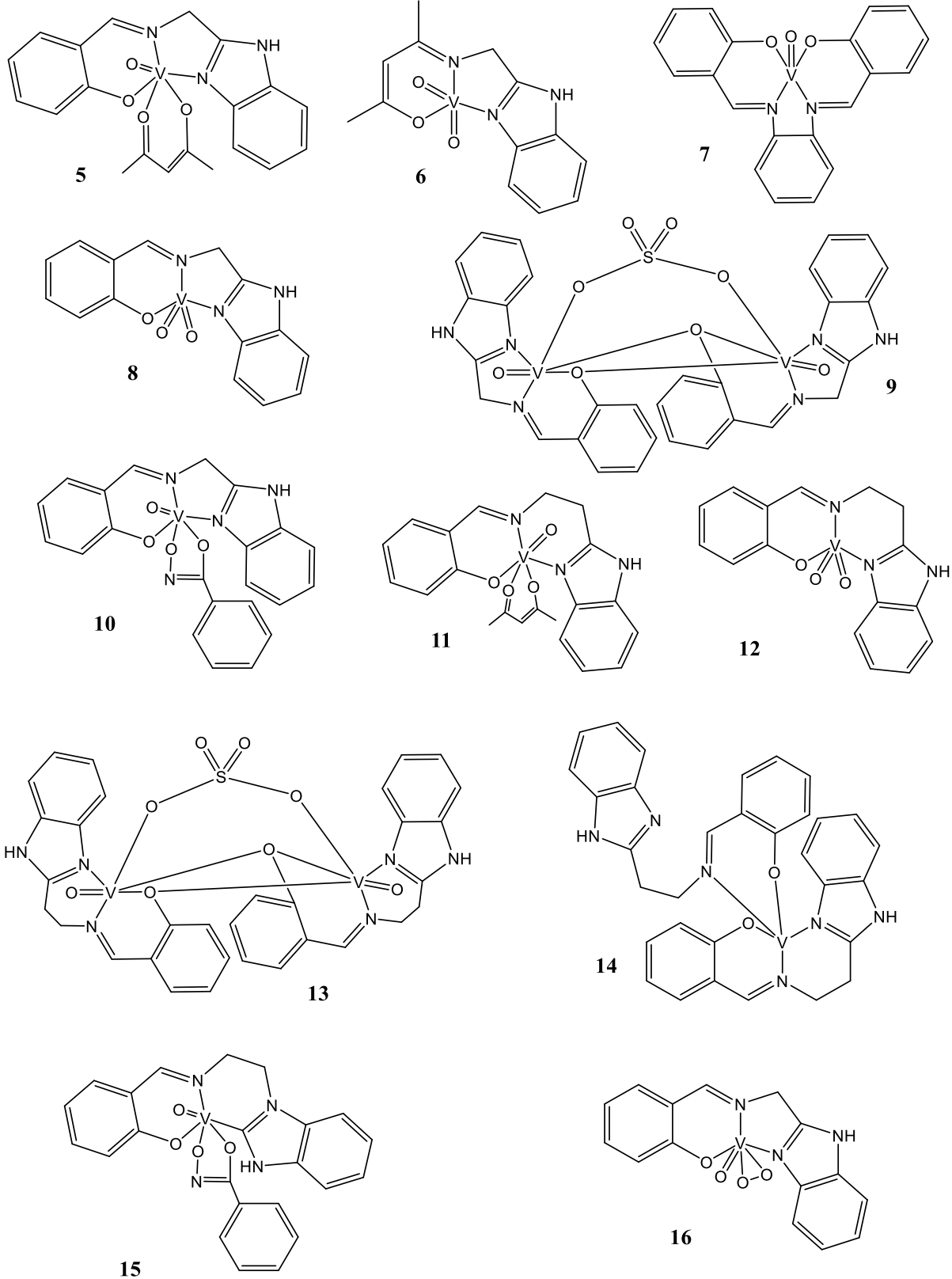
Schiffove baze mogu hidrolizirati natrag u aldehide ili ketone iz kojih su priređene u kiselo ili bazno-kataliziranoj hidrolizi.⁴ Mehanizam reakcije nastajanja Schiffove baze uključuje nukleofilnu adiciju na karbonilnu skupinu. Nukleofil je amin te u prvom stupnju reakcije napada ugljikov atom karbonilne skupine pri čemu nastaje nestabilni međuprodukt aminoalkohol. Aminoalkohol podliježe dehidraciji koja je katalizirana kiselinom čime se dobiva Schiffova baza. Reakcija je katalizirana upravo zato što je to najčešće korak koji određuje brzinu nastanka Schiffove baze. Međutim koncentracija kiseline ne smije biti prevelika jer su amini bazični te bi moglo doći do protoniranja što bi smanjilo njegovu nukleofilnost. Mnoge sinteze Schiffovih baza se zato najčešće provode pri blago kiselim uvjetima. Aromatski aldehidi, pogotovo oni s konjugiranim sustavom, tvore stabilne Schiffove baze dok su alifatski aldehidi nestabilni i skloni polimerizaciji tijekom reakcije.⁵ Amini lakše reagiraju s aldehydima u usporedbi s ketonima jer jedna elektron-donorska skupina kod aldehida manje stabilizira ugljik (smanjuje mu elektrofilnost) nego što to čine dvije elektron-donorske skupine kod ketona. Također reakcijom s aldehydima nastaje tetraedarski produkt koji je manje sterički ometan.^{6,7}

Schiffove baze se upotrebljavaju kao intermedijeri u reakcijama dobivanja aminokiselina te kao ligandi kod sinteze kompleksa različitih struktura.⁸ Ponašaju se ujedno i kao monodentantni i polidentantni ligandi, uobičajeno bi-, tri- i tetradentantni kelatni ligandi te formiraju s metalnim ionima jake stabilne komplekse.⁹ Interakcije reduciranih Schiffovih baza te prijelaznih metala spadaju u reakcije koje su od biološke važnosti. Također kompleksi Schiffovih baza pokazuju visoku katalitičku aktivnost u mnogim reakcijama koje se odvijaju na visokim temperaturama i u prisutnosti vlage.¹⁰ U sintezi analoga prirodnih produkata važne su reakcije aciliranja Schiffovih baza.¹¹ Na dušikov atom koji dijeli dvostruku vezu s ugljikovim dolazi do adicije reagensa za aciliranje što su najčešće anhidridi karboksilnih kiselina, acilni kloridi te acilni cijanidi. Schiffove baze su važni međuprodukti u enzimskim reakcijama koje uključuju interakcije enzima s amino ili karbonilnom skupinom supstrata. Jedna od najvažnijih reakcija je biokemijski proces koji uključuje kondenzaciju primarnog amina i karbonilne skupine supstrata uz enzime da bi se formirao imin odnosno Schiffova baza.¹²

2.1.2. Schiffove baze benzimidazola i ostalih aromatskih spojeva

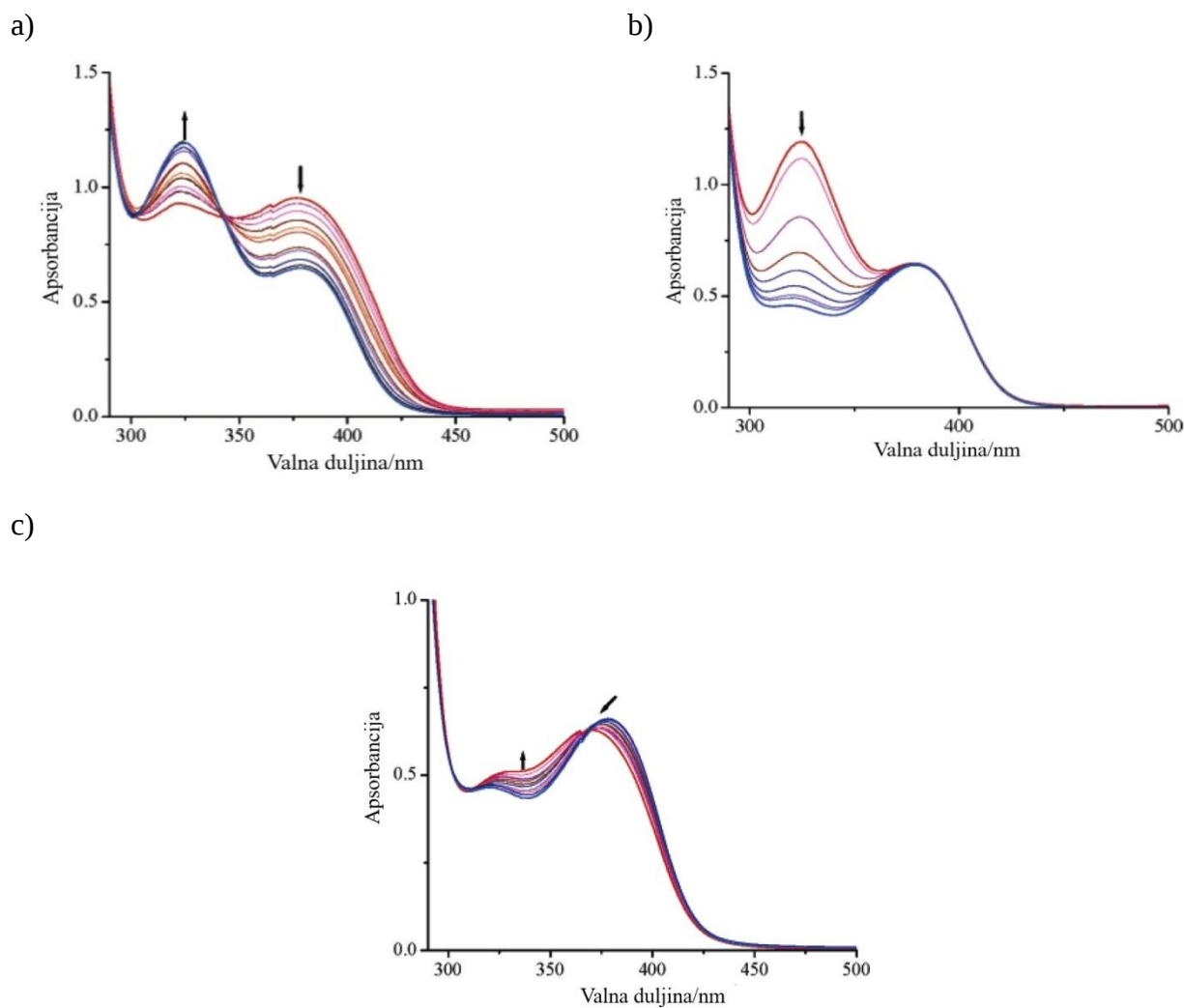
Kao što je ranije spomenuto, Schiffove baze benzimidazola su ligandi u određenim kompleksima. Upravo takvi kompleksi proučavani su od strane Mannar R. Maurya¹³ te njegovih suradnika. Kompleksi vanadija u kojima su ligandi imidazoli ili derivati imidazola su strukturni modeli vanadij haloperoksidaze. Također, kompleksi oksovanadija (IV) i dioksovanadija (V) s benzimidazolima kao ligandima su modeli za histidin u enzimima.

Različitim sintezama dobiveni su kompleksi koji su zatim karakterizirani metodama poput termogravimetrijske analize, IR i UV/Vid spektroskopije te ¹H, ¹³C i ⁵¹V NMR. Kompleksi koji su proučavani su prikazani na shemi 2.



Shema 2. Strukture vanadijevih kompleksa

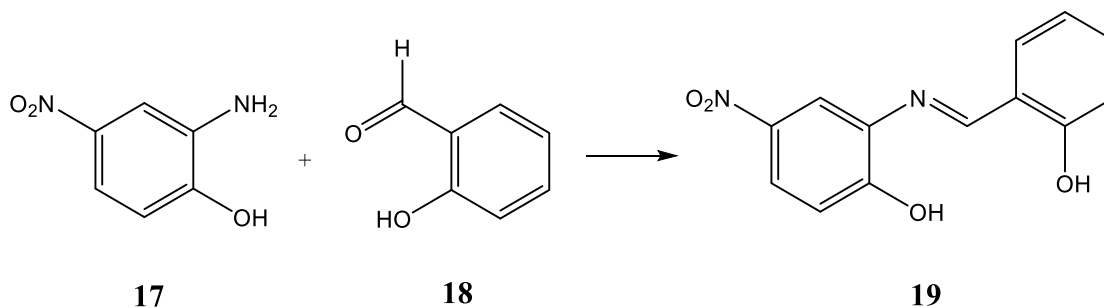
Kompleksi imaju različitu prostornu geometriju. Dioksovanadijevi kompleksi **6** i **12** imaju nepravilnu trigonalnu bipiramidalnu geometriju, oksovanadijev kompleks **7** je pravilne planarne kvadratne strukture, dok su kompleksi **11** i **14** oktaedarske strukture. Kako bi se utvrdila toplinska stabilnost spojeva provedena je termogravimetrijska analiza kojom dolazi do dekompozicije, a konačni produkt je V_2O_5 kod svih kompleksa. Dioksovanadijevi kompleksi se raspadaju u 3 koraka međutim manje su toplinski stabilni od oksovanadijevih kompleksa koji se raspadaju u dva koraka budući da se u potpunosti raspadnu na temperaturi do 395 °C, a oksovanadijevi do 500 °C. 1H , ^{13}C i ^{51}V NMR spektrima utvrđena je struktura pojedinih kompleksa. UV/Vid spektri su snimani na spektrofotometru. Kompleks **14** je otopljen u metanolu te su snimani spektri titracijom s klorovodičnom kiselinom što je prikazano na slici 1.



*Slika 1. UV/Vid spektri kompleksa **14** u metanolu dodatkom klorovodične kiseline*

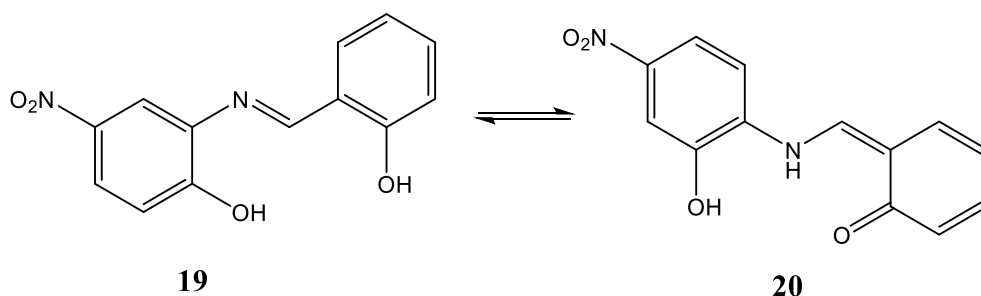
Dodavanjem HCl-a na prvom spektru (a) se može uočiti postupno pojačanje intenziteta apsorpcije na 321 nm, a smanjenje na 378 nm. Do toga dolazi zbog protoniranja dušikovog atoma u benzimidazolu. Daljnji dodatak HCl-a također uzrokuje promjene u spektru (b), intenzitet apsorpcije na 321 nm opada, dok na 378 nm ostaje jednak te se to pripisuje protoniranju NH u benzimidazolu. Naposljetku, dodatkom HCl-a dolazi do pomaka apsorpcijskih maksimuma s 321 nm do 325 nm te s 378 na 371 nm, a na 369 nm pojavljuje se izozbestična točka (c). Ispitana je i katalitička aktivnost kompleksa **6**, **8** i **12** za reakciju oksidacije sulfida uz vodikov peroksid do sulfoksida te konačno do sulfona. Uz komplekse dobivena je veća konverzija i veća selektivnost.

Istraživanjem koje je provedeno 2007. godine Yousef M. Hijji¹⁴ i suradnici ispitali su ponašanje Schiffovih baza kao senzora za određivanje aniona. Iz Schiffove baze sintetizirali su kolorimetrijski senzor aniona. Senzor nastaje kondenzacijom 2-amino-4-nitrofenola **17** te salicilaldehida **18** pod djelovanjem mikrovalnog zračenja u trajanju od 2 minute. Sintezom je dobiven *N*-(2-hidroksi-5-nitrofenil)saliciliden **19** kao potencijalni kolorimetrijski senzor.



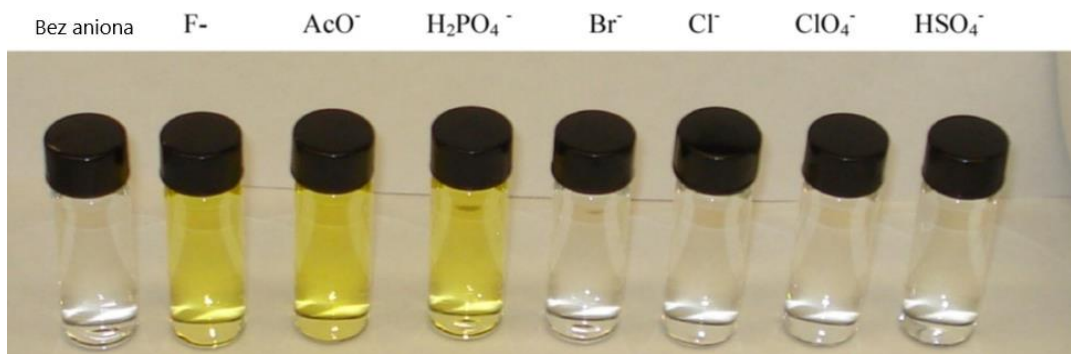
Shema 3. Sinteza N-(2-hidroksi-5-nitrofenil)salicilidena

Boja otopina senzora **19** u organskim otapalima kao što su acetonitril i DMSO (dimetilsulfoksid) je žuta, a isparavanjem otapala nastaju kristali tamno ljubičaste boje. Uz pomoć masene spektrometrije, spektra dobivenog utjecajem X zračenja te ¹H i ¹³C NMR spektara utvrđena je struktura senzora. Također, utvrđeno je da spoj postoji u keto i enolnom obliku (shema 4).



Shema 4. Keto i enolna forma senzora

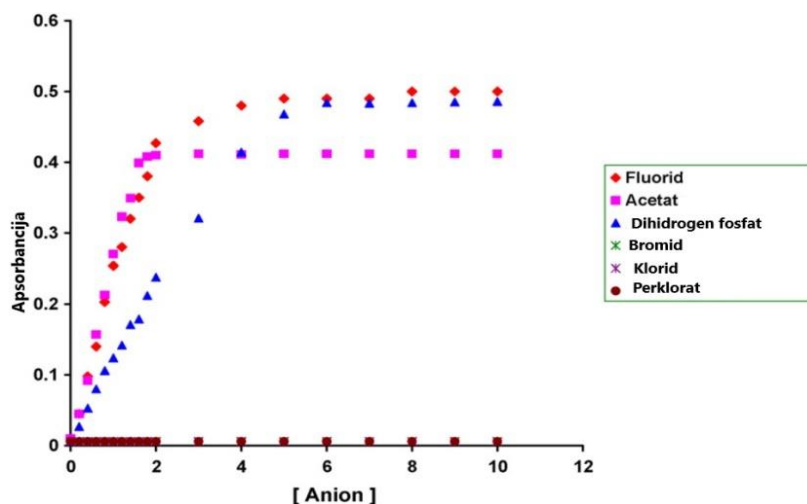
Naime, u ^{13}C NMR spektru je vidljiva odsutnost karbonilnog ugljika u vidu nedostatka signala koji je za karbonilni ugljik na 177 ppm ili više te je umjesto tog signala uočen signal koji je na 160,5 ppm što predstavlja fenolni ugljik. Dodavanjem tetrabutilamonijevih soli različitih aniona u otopinu senzora **19** (koncentracije $1,0 \times 10^{-5}$ M) i acetonitrila dolazi do velikih promjena u boji. U slučaju aniona Br^- , Cl^- , ClO_4^- i HSO_4^- nema uočljivih promjena boje, no u slučaju F^- , CH_3COO^- i H_2PO_4^- boja se mijenja i to od svijetložute do tamnožute ovisno o koncentraciji pojedinog aniona (slika 2). Intenzitet boje se smanjuje dodavanjem protičnih otapala (npr. voda, metanol, etanol) budući da dolazi do „natjecanja“ s anionom.



*Slika 2. Otopine senzora **19** i acetonitrila u prisutstvu aniona*

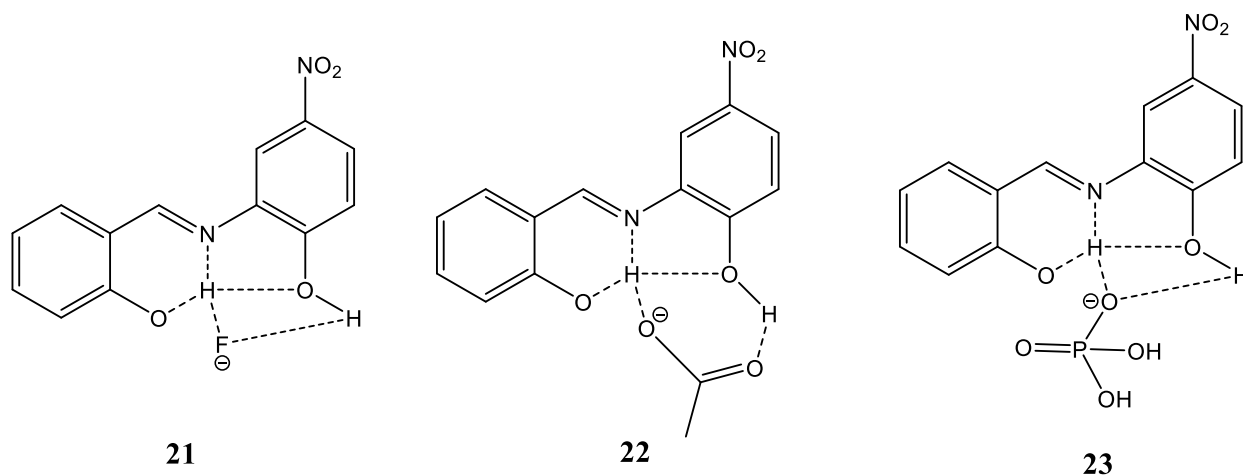
Interakcija senzora **19** s anionima je istražena spektrofotometrijski dodavanjem otopine tetrabutilamonijeve soli aniona i acetonitrila u otopinu senzora **19** i acetonitrila. U odsustvu aniona, UV/Vid apsorpcijski spektar je karakteriziran s tri apsorpcijska maksimuma na 229, 275 i 342 nm. Dodatkom F^- , CH_3COO^- i H_2PO_4^- dolazi do nestanka maksimuma na 342 nm te povećanjem njihove koncentracije, apsorpcijski maksimum na 450 nm sve više raste. Na 372 nm se pojavljuje izozbestična točka koja označava nastajanje kompleksa.

Senzor **19** s visokom osjetljivošću može selektivno detektirati fluore, acetate te dihidrogen-fosphate što je vidljivo na slici 3.



Slika 3. Graf ovisnosti apsorbancije senzora **19** o koncentraciji različitih aniona

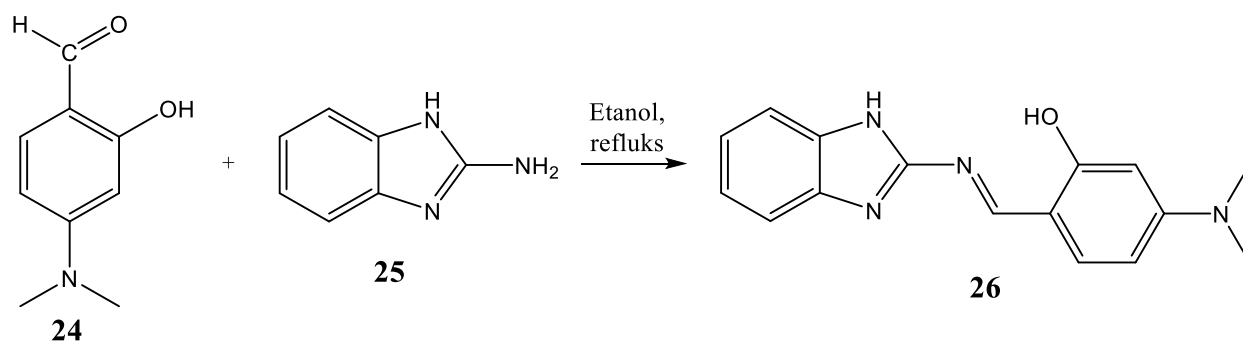
Jobova metoda je dobila ime po Paulu Jobu i predstavlja metodu u analitičkoj kemiji koja određuje stehiometriju u reakciji vezanja organske molekule i u ovom slučaju aniona. Korištenjem te metode pokazano je formiranje kompleksa s fluoridom, acetatom te dihidrogen fosfatom u omjeru 1:1 = receptor:anion.



Shema 5. Moguće strukture kompleksa senzora s anionima

Konstante vezanja su pokazale redosljed vezanja $\text{CH}_3\text{COO}^- \approx \text{F}^- \gg \text{H}_2\text{PO}_4^-$, a različite su zbog različite relativne bazičnosti aniona, dok se sličnost konstanti vezanja fluorida i acetata može pripisati dvostrukom vezanju vodika (ion oblika Y) što uzrokuje jače vezanje. Dihidrogen-fosfat se ne može vezati slično kao acetat te je to posljedica tetraedarske geometrije zbog čega ima slabiju konstantu vezanja.

2015. godine Kai Liu¹⁵ i suradnici su objavili sintezu te analizu fluorescentnog senzora (BIP) dobivenog kondenzacijom 4-(*N,N*-dimetilamino)salicilaldehida i 2-aminobenzimidazola.

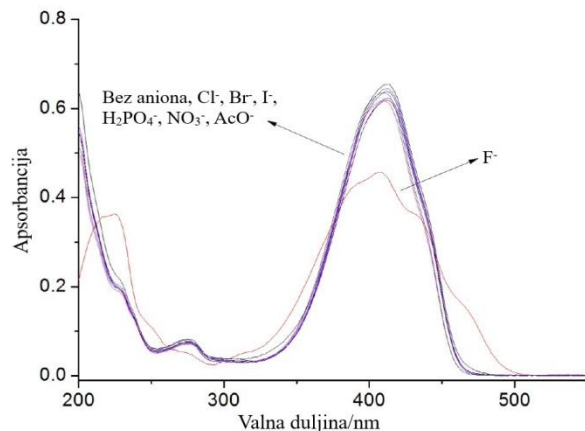


Shema 6. Sinteza BIP senzora

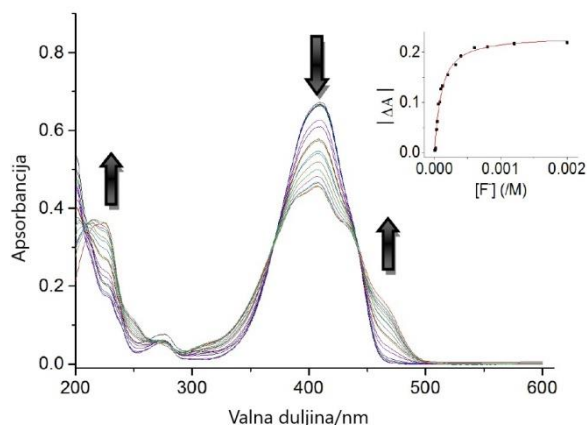
Senzorska svojstva BIP-a te anionsko vezanje istraženo je UV/Vid spektroskopijom. Bez dodatka aniona, spektar senzora u acetonitrilu ima tri apsorpcijska maksimuma na 228, 276 i 410 nm. Nakon dodavanja fluorida kao tetrabutilamonijeve soli intenzitet maksimuma na 410 nm je smanjen i proširen, a maksimum na 228 nm je povećan.

Dodatak drugih aniona (Cl^- , Br^- , I^- , H_2PO_4^- , NO_3^- , CH_3COO^-) nije uzrokovao veću promjenu spektra što je prikazano na slici 4. Dodatno je istraživana interakcija fluorida s BIP-om UV/Vid spektroskopskom titracijom te se na slici 4 može uočiti nastanak izozbestične točke što ukazuje na stvaranje kompleksa u omjeru 1:1. Iz spektra je izračunata konstanta vezanja na 410 nm koja iznosi $1,25 \times 10^4$. Za istraživanje fotofizikalnih svojstava BIP-a s različitim anionima provedena su fluorescencijska mjerenja. Pri 411 nm dobivena je slaba emisija fluorescencije što ukazuje na formiranje prijelaznog stanja BIP-a od geometrijski ograničenih šesteročlanih prstenova intramolekularnim vodikovim vezama. Vidljivo iz slike 4 ako se poveća koncentracija fluoridnog iona dodanog u otopinu BIP-a u acetonitrilu, povećat će se i intenzitet fluorescencije pri 411 nm zbog interakcije vodika između BIP-a i F^- .

a)



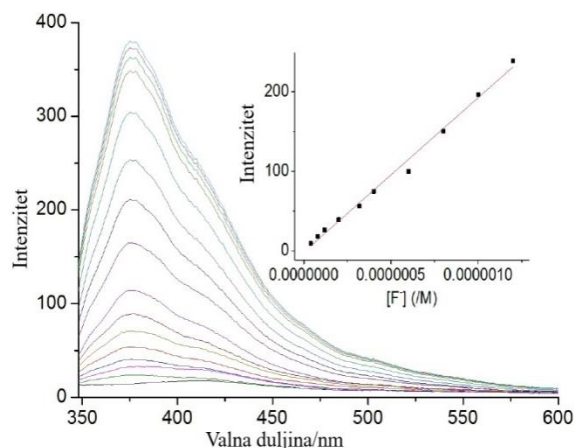
b)



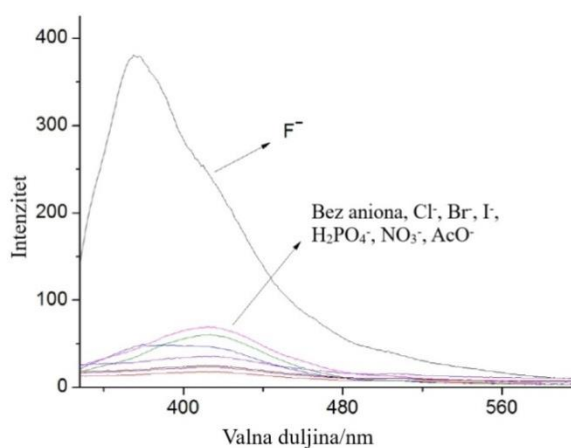
Slika 4. a) Promjena spektra BIP-a u acetonitrilu dodatkom aniona; b) UV/Vid apsorpcijski spektar BIP-a u acetonitrilu nakon dodavanja fluoridnog iona

U konačnici, na slici 5 može se uočiti da dodatak drugih iona slične količine kao F^- (Cl^- , Br^- , I^- , NO_3^- , $H_2PO_4^-$ i CH_3COO^-) nije uzrokovao emisiju fluorescencije. Pomoću ove analize dokazano je da ne postoje smetnje za detekciju F^- u obliku prisutnosti drugih aniona čime se pokazala velika selektivnost BIP-a za F^- ion.

a)

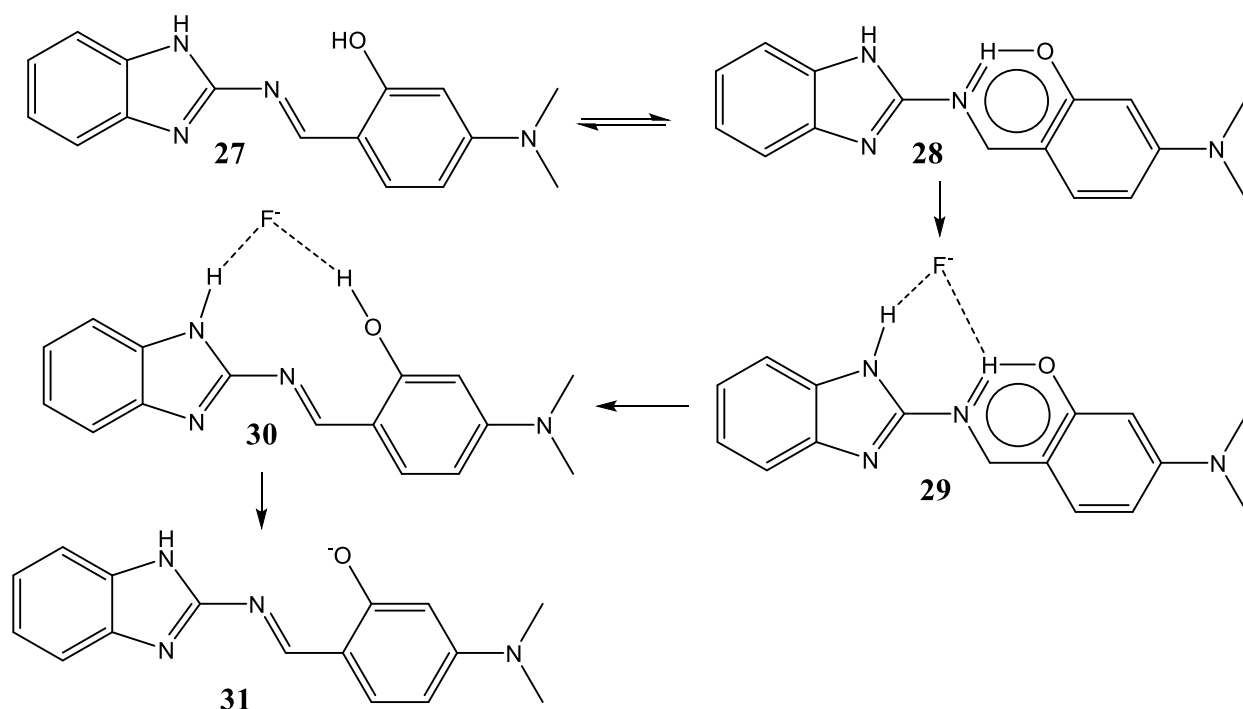


b)



Slika 5. a) Promjena emisijskog spektra BIP-a u acetonitrilu dodavanjem različitih koncentracija fluoridnog iona; b) promjena emisijskog spektra BIP-a u acetonitrilu dodatkom jednakih koncentracija različitih aniona

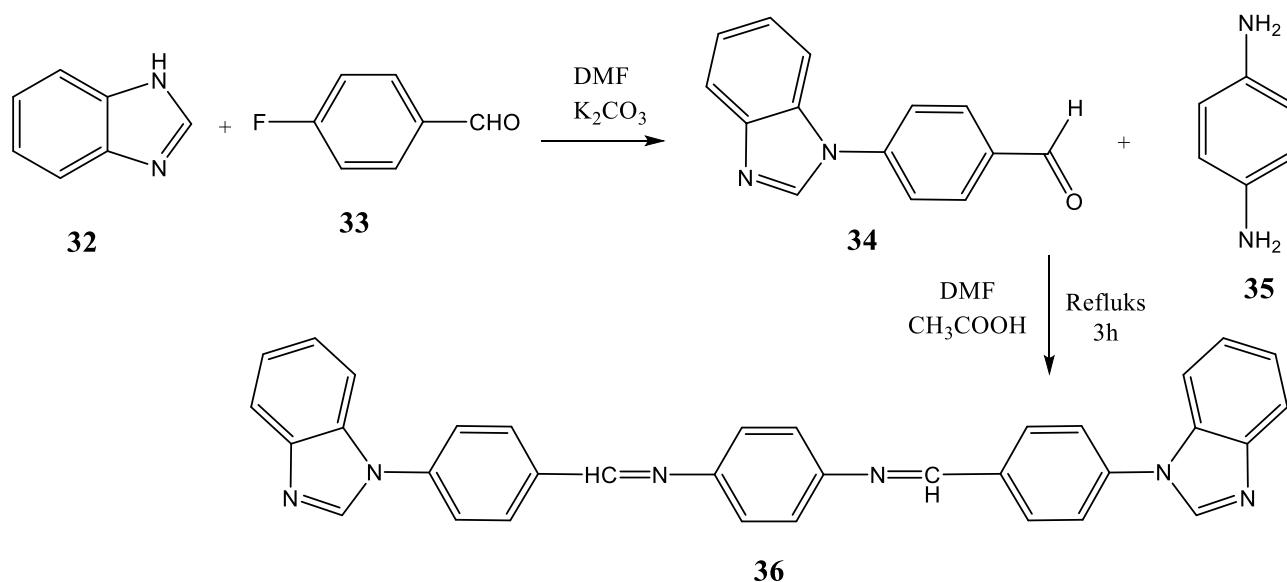
Na temelju gore navedenih UV/Vid te spektrofluorimetrijskih istraživanja predložen je mehanizam detekcije fluoridnog iona pomoću BIP-a prikazan na shemi 7.



Shema 7. Mogući mehanizam vezanja fluoridnog iona i BIP-a

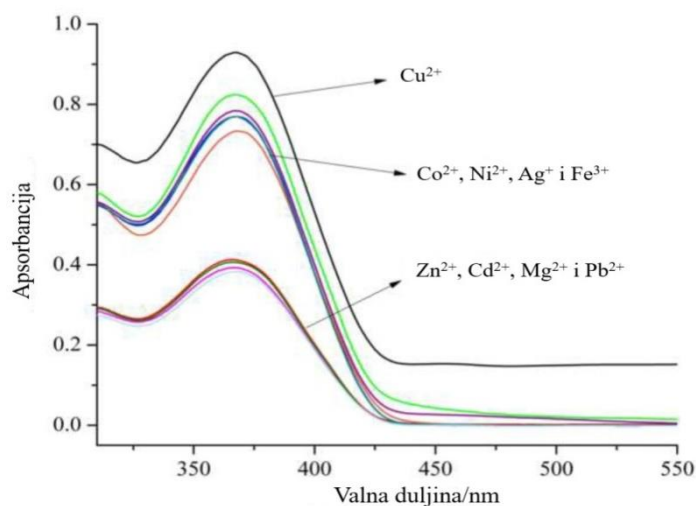
Vezanjem fluoridnog iona na BIP, izomerizacija BIP-a je ograničena, ali je time poboljšán intramolekularni prijenos naboja. Daljnim vezanjem fluoridnog iona intermolekularne vodikove veze ometaju intramolekularne vodikove veze i uništavaju geometrijski određenu strukturu.

Budući da prevelika koncentracija bakrovih iona negativno utječe na biljke, okoliš, a i na ljudsko zdravlje bitna je mogućnost njegove detekcije. Schiffova baza benzimidazola je pokazala puno veću selektivnost za ione bakra nego za ostale ispitivane ione u istraživanju koje je proveo Xingjian Wang¹⁶ zajedno sa svojim suradnicima 2015. godine. Detekcija se temelji na fluorescenciji Schiffove baze u prisutnosti bakra. Reakcijom *p*-fluorobenzaldehida s benzimidazolom sintetizirana je Schiffova baza benzimidazola što je prikazano na shemi 8.



Shema 8. Sinteza Schiffove baze benzimidazola

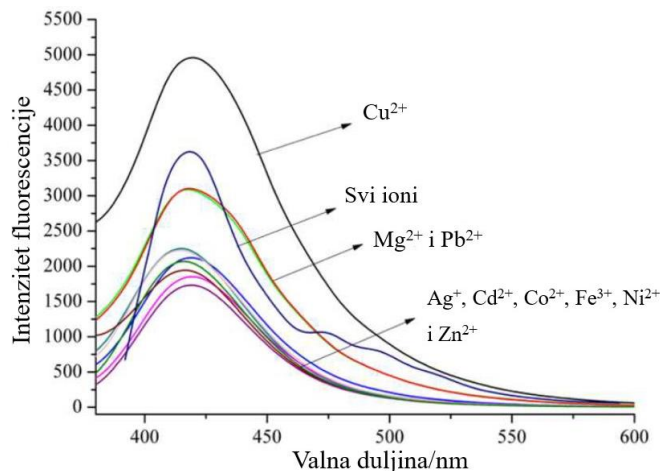
Selektivnost sintetiziranog spoja utvrđena je UV/Vid spektroskopijom proučavanjem apsorpcijskih spektara produkta **36** u DMF-u u odsustvu te prisustvu različitih metalnih kationa.



Slika 6. UV/Vid spektar **36** s različitim metalnim kationima

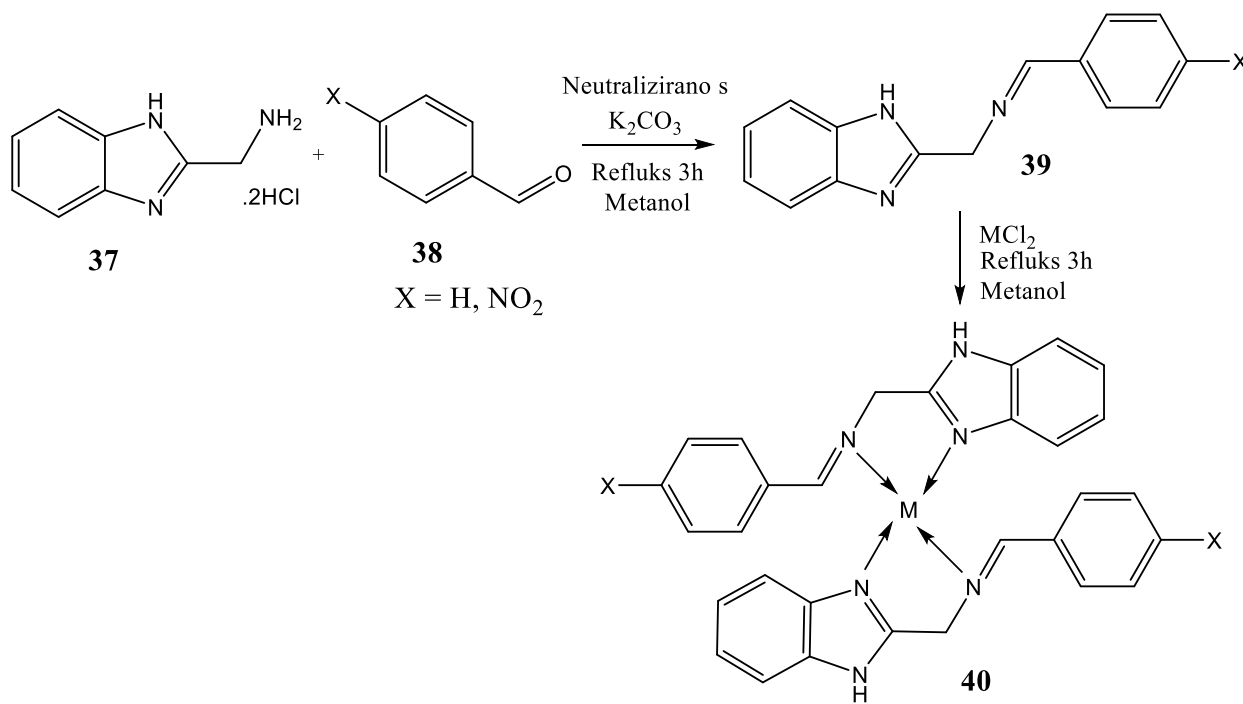
Vidljivo je da je najveću promjenu intenziteta apsorpcije uzrokovala prisutnost iona bakra u otopini u usporedbi s drugim ionima iz čega proizlazi da spoj najbolje koordinira s ionima bakra. Da bi se dobio emisijski spektar potrebno je spoj **36** u DMF-u pobuditi određenom valnom duljinom, a pobuđuje se valnom duljinom apsorpcijskog maksimuma soli koja se nalazi u otopini.

Veliko povećanje intenziteta fluorescencije događa se dodatkom Cu^{2+} iona, malo povećanje dodatkom Mg^{2+} i Pb^{2+} , a gotovo nema promjene dodatkom ostalih iona. Ovime je dokazana velika selektivnost Schiffove baze benzimidazola **36** za ione bakra.



Slika 7. Emisijski spektar **36** s različitim kationima

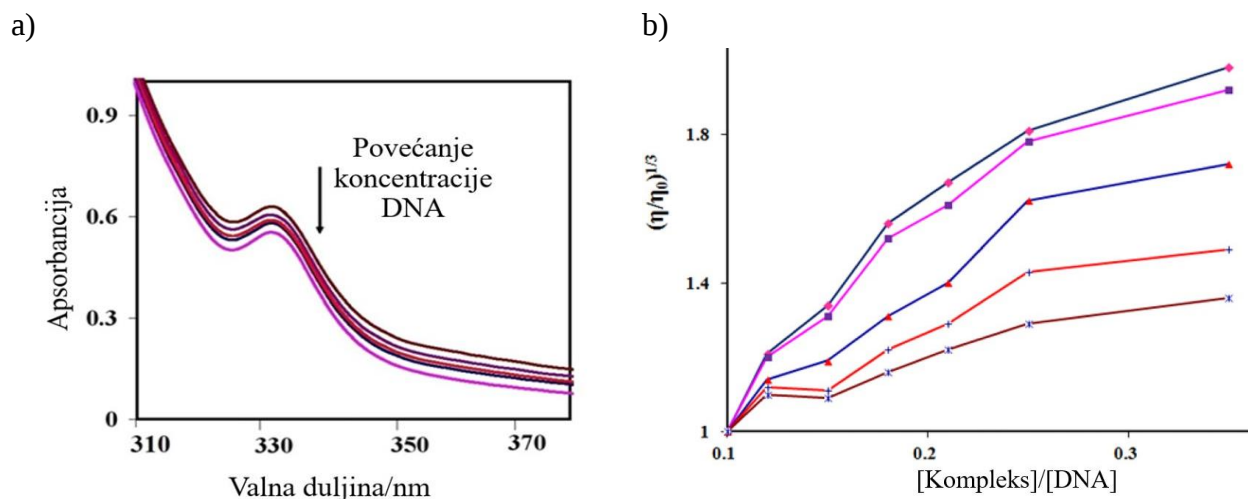
2016. godine Ganesan Kumaravel¹⁷ i njegov suradnik sintetizirali su i karakterizirali niz metalnih kompleksa dvije Schiffove baze benzimidazola. Sinteza Schiffovih baza te njihovih metalnih kompleksa je prikazana na shemi 9. gdje M označava metale bakar, nikal, kobalt i cink.



Shema 9. Sinteza metalnih kompleksa Schiffovih baza

Geometrija kompleksa istraživana je elektronskom spektroskopijom kako bi se utvrdila promjena elektronske konfiguracije molekule te određivanjem magnetskih momenata. Razlika između dobivenih spektara Schiffovih baza i njihovih kompleksa su frekvencije apsorpcijskih vrpca. U spektru kompleksa apsorpcijska vrpca se nalazi na nižim frekvencijama za što je odgovorna koordinacija liganada s metalnim ionom. Iz spektara, a i vrijednosti magnetskih momenata, zaključeno je da su ovi kompleksi planarne kvadratne geometrije.

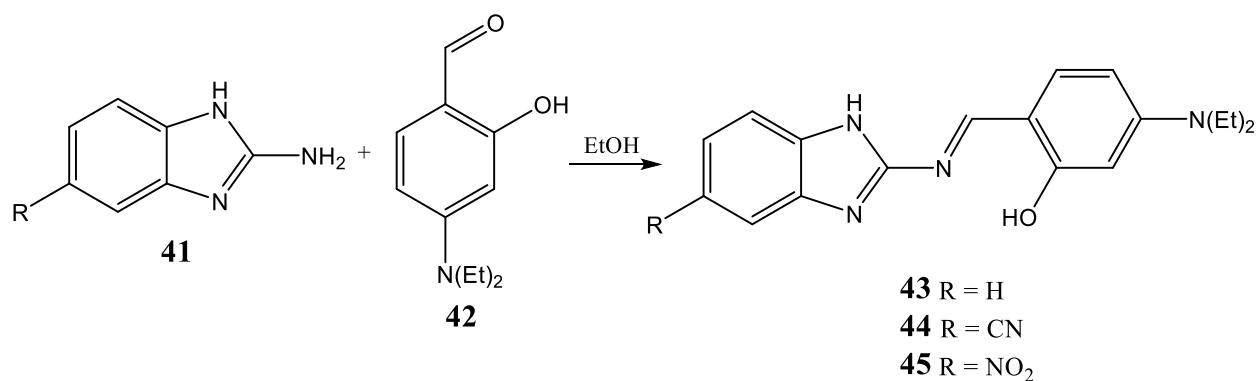
U svrhu proučavanja vezanja spomenutih kompleksa na molekulu DNA snimljen je apsorpcijski spektar liganada i njihovih kompleksa u prisutnosti i u odsutnosti DNA radi usporedbe. Apsorpcijski maksimum se pojavljuje pri većim valnim duljinama u prisutnosti DNA, ali s povećanjem koncentracije DNA dolazi do hipokromnog pomaka maksimuma što je vidljivo na slici 8. Ligandi su se pokazali kao slabi interkalatori, ali njihovi kompleksi kao veoma jaki DNA interkalatori. Vezanje kompleksa na molekulu DNA može se istražiti i određivanjem viskoznosti. Klasično DNA interkaliranje rezultira povećanjem duljine zavojnice uslijed vezanja kompleksa između dviju molekula dušičnih baza koje su tada separirane te dolazi do povećanja viskoznosti. Dode li do parcijalnog ili slabog interkaliranja, duljina zavojnice se smanjuje, a samim time smanjuje se i viskoznost. Na slici 8. uočava se povećanje viskoznosti porastom koncentracija različitih kompleksa.



Slika 8. a) Apsorpcijski spektar kompleksa u ovisnosti o povećanju koncentracije DNA; b) Utjecaj povećanja koncentracija kompleksa na viskoznost

Kada govorimo o biološkim svojstvima metalnih kompleksa Schiffovih baza benzimidazola, važno je napomenuti njihovo antimikrobno djelovanje, točnije antibakterijsko i antifungalno djelovanje. Takvo djelovanje je izraženije kod kompleksa, nego kod samih liganada. Također, pokazuju i antitumorsko te antivirusno djelovanje, antioksidativni su te djeluju protuupalno i kao antihistaminici.¹⁸

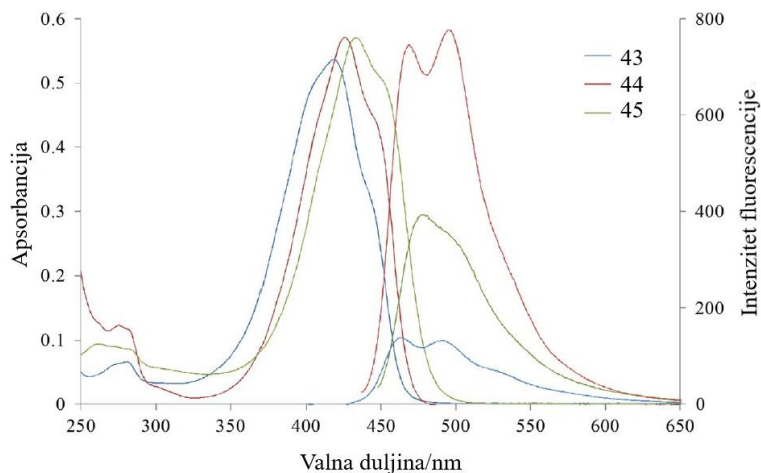
Još jedno važno svojstvo Schiffovih baza benzimidazola je njihova primjena kao fluorescentnih pH osjetljivih kromofora i fluorofora. Istraživanjem provedenim od strane Eme Horak¹⁹ te njenih suradnika 2017. godine opisano je takvo djelovanje triju Schiffovih baza benzimidazola. Sintetizirane su reakcijom aromatskih aldehida s odgovarajućim 2-aminobenzimidazolima. Sinteza Schiffovih baza benzimidazola prikazana je na shemi 10.



Shema 10. Sinteza Schiffovih baza benzimidazola

Općenito, pH senzori bazirani na Schiffovim bazama su jako rijetki zbog protoniranja imino veze u vodi tijekom hidrolize. U otopinama i tankim polimernim filmovima ispitivana su fotofizička i senzorska svojstva **43-45** te su također određene vrijednosti pK_a i pK_a^* . U smjesama etanola i vode provedene su kiselo-bazne titracije, a spektar je prikazan na slici 9.

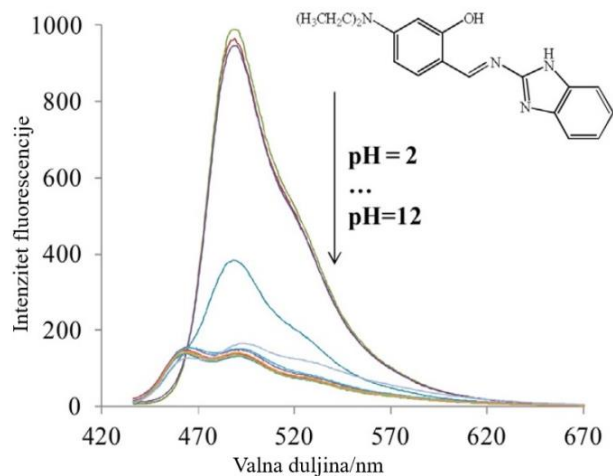
U otopinama etanol/voda Schiffove baze **43-45** pokazuju slabu fluorescenciju, a nakon protoniranja rezultiraju reverzibilnom promjenom boje koja je vidljiva golim okom ($\text{pK}_a \approx 4$). Protoniranje se može dogoditi na iminovom dušikovom atomu ili na atomu amino dušika i može dovesti do stvaranja monokationa ili diokationa. Pretpostavlja se da se protonira imino dušik benzimidazolskog dijela molekule. Utjecaj protoniranja je vidljiv na emisijskom spektru, ali se razlikuje učinak na **43** od onih na **44** i **45**.



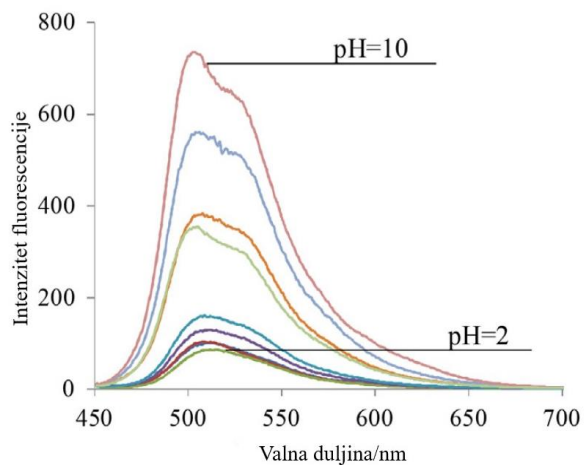
Slika 9. Ovisnost intenziteta fluorescencije o valnoj duljini za pojedine Schiffove baze benzimidazola

Spoj 43 pokazuje snažno povećanje, dok 44 i 45 pokazuju smanjenje fluorescencije što je prikazano na slici 10.

a)



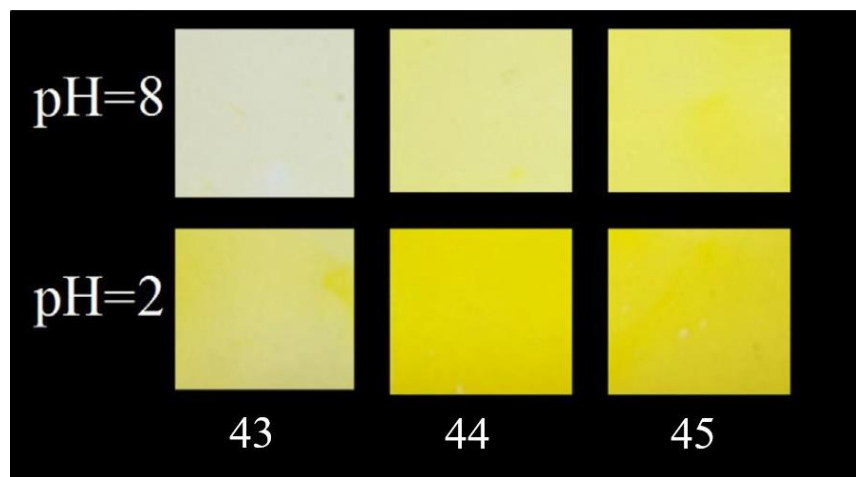
b)



Slika 10. a) Utjecaj pH na intenzitet fluorescencije spoja 43 b) Utjecaj pH na intenzitet fluorescencije spoja 45

Spojevi su zatim imobilizirani u plastificiranoj PVC matrici dobivenoj od tekuće smjese koja se ultrazvučno zagrijava i nakon toga nanosi na čvrsti prozirni sloj. Protoniranje spojeva u

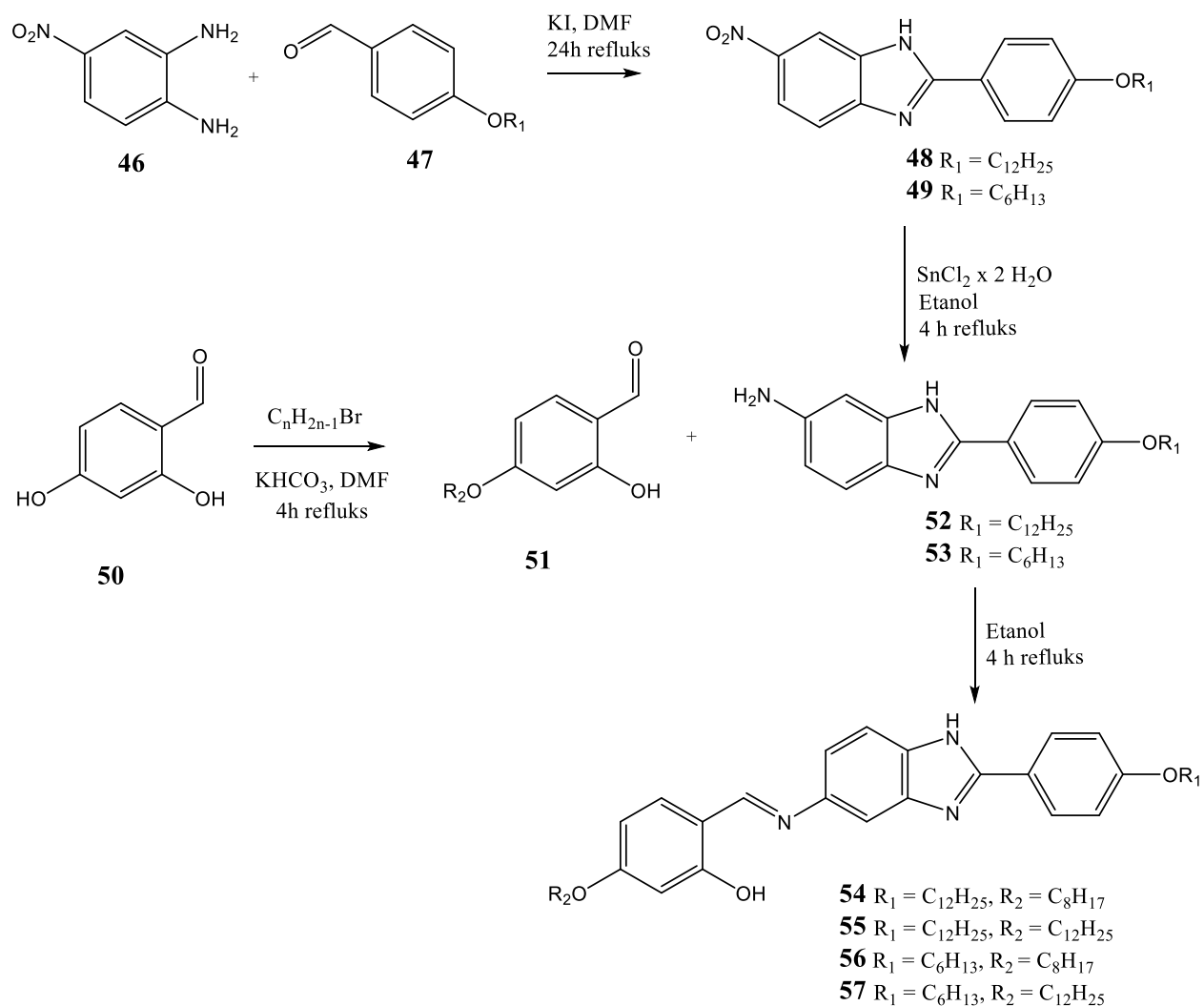
imobiliziranom stanju dovodi do spektralnih promjena. U apsorpcijskom spektru dolazi do batokromnog pomaka te se povećava apsorpcijski koeficijent što se očituje u promjeni boje od svijetložute do tamnožute-narančaste ovisno o pH.



Slika 11. Promjena boje Schiffovih baza 43-45 imobiliziranih u PVC filmu ovisno o pH

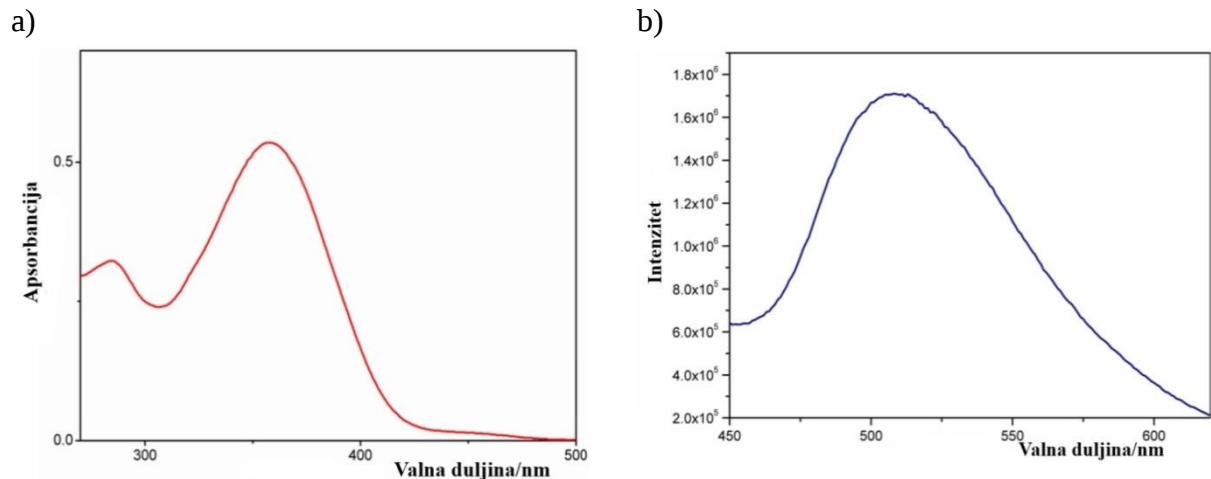
Protoniranje imobiliziranih spojeva ima utjecaj i na fluorescenciju koja se protoniranjem smanjuje. Spoj 45 je karakterističan zbog NO₂ elektron-odvlačeće skupine koja je u potpunosti ugasila fluorescenciju u otopini etanola i vode, ali imobilizacijom u PVC filmu dolazi do protoniranja dušika skupine koja je vezana na benzimidazolu čime imino dušik ostaje očuvan. Zbog protoniranja tog dušika spoj 45 pokazuje jaku zeleno-žutu emisiju što se lako može uočiti i golim okom. Ta Schiffova baza se uspješno primjenjuje kao fluoroionofor u kalijevoj selektivnoj optodi koja je osjetljiva na promjenu fluorescencije.

Rajasekhar Yerrasani²⁰ je zajedno sa svojim suradnicima sintetizirao te karakterizirao četiri Schiffove baze benzimidazola. Njihova sinteza prikazana je na shemi 10. Spojevi su karakterizirani termogravimetrijskom metodom, ¹H i ¹³C NMR, UV/Vid i fluorescencijskom spektroskopijom te masenom spektrometrijom. U ¹H NMR spektru uočena su dva tripleta koja odgovaraju protonima –CH₂CH₃ i –OCH₂-CH₂ skupinama, multipleti koji predstavljaju aromatske protone i singleti koji odgovaraju protonu u iminskoj skupini te protonu u –OH skupini fenola.



Shema 11. Sinteza Schiffovih baza benzimidazola

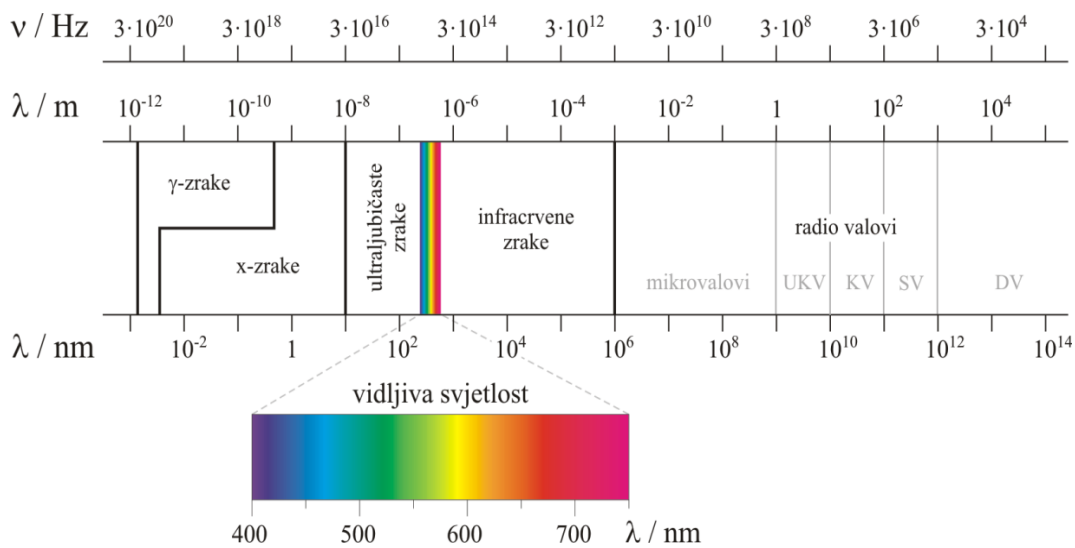
Fotofizikalna svojstva spojeva **54–57** određena su UV/Vid i fluorescencijskom spektroskopijom. UV/Vid spektar spoja **57** prikazan je na slici 12. Emisijski spektar spojeva otopljenih u kloroformu ukazuje na zelenu fluorescenciju centriranu na valnoj duljini 506–510 nm.



Slika 12. a) UV/Vid spektar spoja 57 b) Emisijski spektar spoja 57

2.2. Spektroskopija

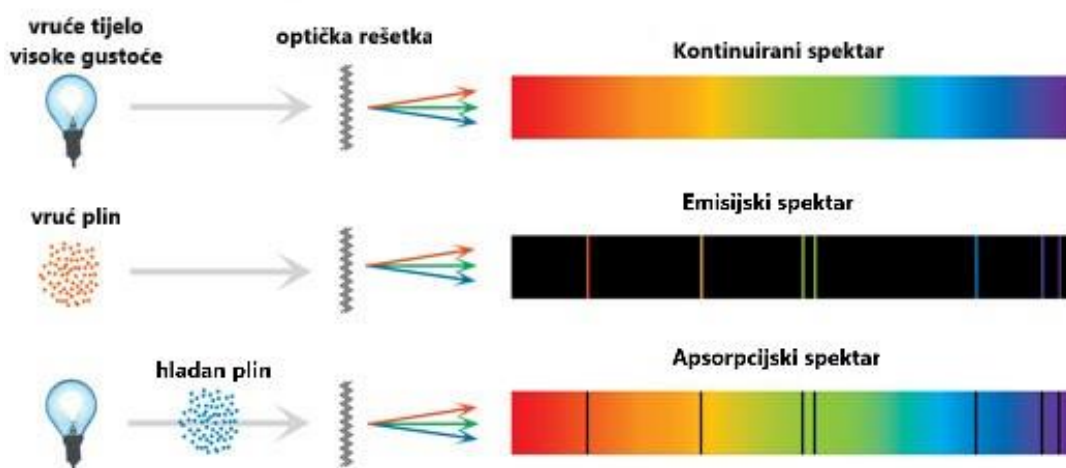
Elektromagnetsko zračenje predstavlja prostorno širenje električnih i magnetskih valova. Sastoji se od tzv. paketa energije (fotoni) koji su karakterizirani određenom frekvencijom te se gibaju brzinom svjetlosti ($3 \cdot 10^8$ m/s). Elektromagnetski valovi se mogu podijeliti u sedam vrsta zračenja ovisno o frekvenciji odnosno valnoj duljini te zajedno čine spektar elektromagnetskog zračenja. Vrste zračenja su gama zrake, X zrake, UV zrake, vidljive zrake, IR zrake i radiovalovi.²¹



Slika 13. Spektar elektromagnetskog zračenja

Spektroskopija je grana fizike te jedna od najstarijih znanstvenih metoda. Bavi se proučavanjem emisijskih i apsorpcijskih spektara koji nastaju uslijed energetskih ili strukturnih promjena u molekulama ili atomima nakon međudjelovanja subatomske čestice i elektromagnetskog zračenja. Atomi i molekule mogu apsorbirati i emitirati samo određene količine energije budući da su njihova energijska stanja kvantizirana te su zbog toga dobiveni apsorpcijski i emisijski spektri karakteristični za određenu tvar.

Užarena čvrsta tijela i tekućine emisijskom spektroskopijom daju kontinuirani spektar odnosno zrake svih mogućih valnih duljina. Međutim, užareni plinovi daju linijski spektar odnosno emitiraju zrake samo određenih valnih duljina, također i apsorbiraju zračenje istih tih valnih duljina. Uz pomoć staklene prizme ili optičke rešetke moguće je rastaviti vidljivu svjetlost na svjetla svih valnih duljina od 400 do 800 nm te se na taj način dobiva spektar vidljive svjetlosti.²²



Slika 14. Kontinuirani, linijski emisijski te linijski apsorpcijski spektar

Spektroskopija se može podijeliti s obzirom na spektralno područje te se kao rezultat dobiva odgovarajući spektar. Također može se podijeliti i s obzirom na vrstu interakcije s ispitivanom tvari na apsorpcijsku, emisijsku i interferencijsku spektroskopiju. Osnovno stanje atoma ili molekule odgovara stanju najniže dozvoljene energije.

U apsorpcijskoj spektroskopiji interakcijom s atomom ili molekulom elektron apsorbira energiju te atom prelazi u pobuđeno stanje. Na temelju rezultata apsorpcijske spektroskopske analize može se identificirati tvar, odrediti struktura, koncentracija te optička svojstva.

Emisijsku spektroskopiju karakterizira emitiranje elektromagnetskog zračenja relaksacijom pobuđenih atoma odnosno prelaskom elektrona iz višeg nivoa u niži. Pri interferencijskoj spektroskopiji upadno zračenje se ogiba na pravilnim strukturama, a zatim se analizira položaj interferencijskih maksimuma.

Energija koju tijelo emitira ili apsorbira može se odrediti izrazom (1) koji se naziva Bohrovo pravilo frekvencije:

$$E_2 - E_1 = h \cdot \nu \quad (1)$$

E_2 – energija elektrona na višem energijskom nivou

E_1 – energija elektrona na nižem energijskom nivou

h – Planckova konstanta ($6.626 \cdot 10^{-34}$ J s)

ν – frekvencija zračenja

Intenzitet elektromagnetskog zračenja smanjuje se prolaskom kroz otopinu koja može apsorbirati zračenje. Smanjenje intenziteta ovisi o koncentraciji otopine koja apsorbira zračenje (c), o svjetlosnom putu kroz uzorak (b) te molarnom apsorpcijskom koeficijentu (ϵ). Lambert, Beer i Bourguier su definirali zakon koji opisuje odnos intenziteta zračenja prije i poslije prolaska kroz uzorak (2):

$$\log \frac{I_0}{I} = A = \epsilon \cdot b \cdot c \quad (2)$$

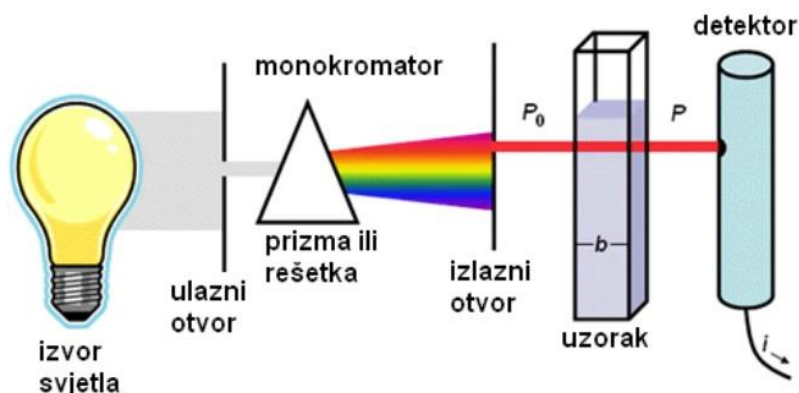
I_0 – intenzitet upadnog zračenja

I – intenzitet propuštenog zračenja

A – apsorbancija

Spektar se snima uz pomoć spektrofotometra čiji su osnovni dijelovi izvor zračenja, monokromator, prostor za uzorak (kivetu) i detektor.

Elektromagnetsko zračenje iz izvora se usmjerava prema uzorku koji može apsorbirati, raspršiti ili reflektirati zračenje. Ukoliko uzorak emitira zračenje tada je izvor zračenja sam uzorak. Zračenje se s izvora zračenja vodi prema monokromatoru. Monokromator je optički uređaj koji propušta samo jednu valnu duljinu prema uzorku. Rad mu se temelji na disperziji svjetlosti na jednoj ili više prizmi ili difrakcijskim rešetkama. Okretanjem rešetke ili prizme se odabire kut upada elektromagnetskog zračenja i time se postiže propuštanje samo jedne valne duljine. Detektor primljeno zračenje pretvara u signal koji se može zapisati kao spektar.²³



Slika 15. Shematski prikaz spektrofotometra

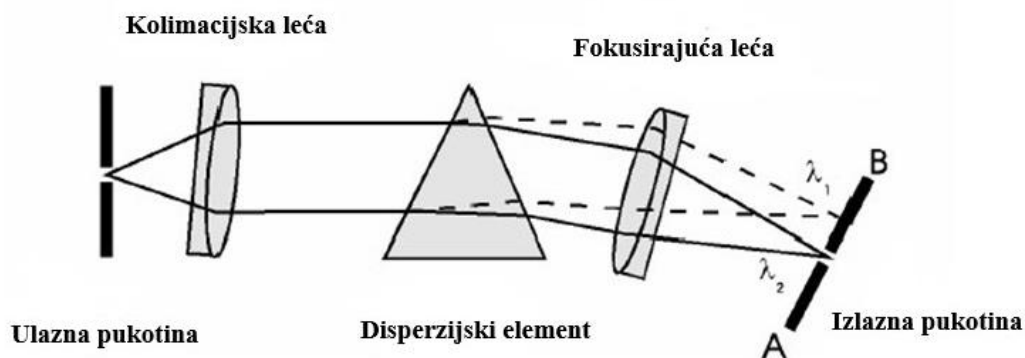
2.2.1. Spektroskopija ultraljubičastog i vidljivog zračenja

Kao medij proučavanja spektroskopija vidljivog zračenja koristi vidljivu svjetlost valnih duljina 400-800 nm te se proučavaju efekti koji su uzrokovani promjenom elektronske strukture atoma ili molekule te sama elektronska struktura jer vidljivo zračenje uzrokuje pobuđenje elektrona unutar atoma, molekula, kristalnih ili amorfnih tvari. Ova spektroskopija obuhvaća i blisko ultraljubičasto područje kojeg čine valne duljine 200-400 nm te se takva spektroskopija označava kraticom UV/Vid.²⁴

UV/Vid spektroskopija se koristi za analizu organskih molekula koje u sebi sadrže π elektrone. Da bi molekula apsorbirala zračenje u vidljivom ili bliskom ultraljubičastom dijelu spektra mora u strukturi sadržavati naizmjenični niz dvostrukih i jednostrukih veza što se naziva istegnuti π sustav. Dolazi do pobuđivanja elektrona između energijskih nivoa koji odgovaraju molekulskim orbitalama sustava.

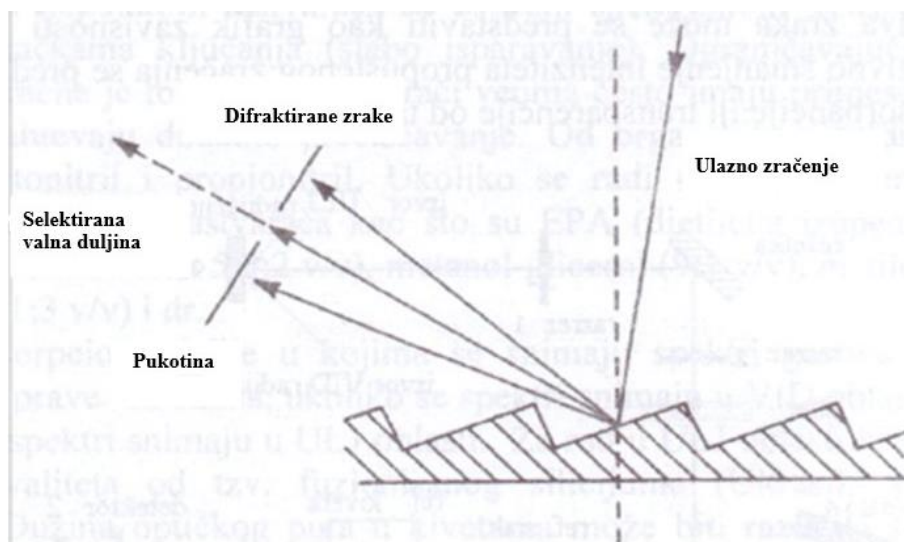
Spektroskopijom se dobiva apsorpcijski spektar u kojem postoji toliko apsorpcijskih vrpce koliko ima strukturnih skupina u molekuli. Jedinica u molekuli koja je zaslužna za apsorpciju se naziva kromofor. Na temelju dobivenog spektra može se zaključiti prisutnost konjugiranog sustava ili određene skupine u molekuli. Najčešći kromofori su karbonilna skupina ($-C=O$), nitrozo skupina ($-N=O$), nitro skupina ($-NO_2$), azo skupina ($-N=N-$) itd.²⁵

Kao i za ostale spektroskopije, za snimanje spektra koristi se spektrofotometar, instrument koji mjeri količinu zračenja koju je uzorak apsorbirao. Kao izvor zračenja kod UV/Vid spektroskopije koriste se vodikova i deuterijeva lampa te lampa s volframovom niti. Vodikova i deuterijeva lampa predstavljaju cijevi od kvarca u kojima se nalazi vodik ili deuterij pod tlakom te dolazi do pražnjenja. Lampa s volframovom niti se koristi za dobivanje spektra u vidljivom području. Monokromator se sastoji od ulazne pukotine, kolimacijske leće, disperzijskog elementa, fokusirajuće leće, izlazne pukotine te ulaznih i izlaznih prozora.



Slika 16. Dijelovi monokromatora

Kao disperzijski elementi najčešće se koriste prizma i difrakcijska rešetka. Funkcija disperzijskog elementa je suženje mjernog zračenja do uske vrpce koju uzorak apsorbira. Vrpca je zračenje određene valne duljine koje se izdvaja iz kontinuiranog zračenja zajedno sa susjednim valnim dužinama budući da ne postoji selektor koji bi izdvojio zračenje samo jedne valne duljine.²⁶



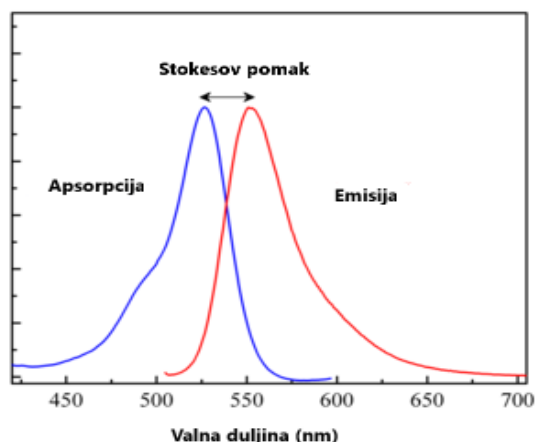
Slika 17. Difrakcijska rešetka i princip suženja mjernog područja

Detektor je instrument koji zračenje pretvara u signal koji se može zabilježiti. Prije dolaska u detektor zračenje prolazi kroz otopinu uzorka koje apsorbira dio zračenja. Ispitivanu tvar je nužno prije ispitivanja otopiti u pogodnom otapalu koje mora zadovoljavati određene kriterije. Tvar se mora dobro otapati u otapalu te otapalo mora biti kemijski inertno prema otopljenoj tvari. Najčešća polarna otapala su voda, etanol i metanol. Kivete u kojima se uzorak nalazi se izrađuju od stakla ukoliko se snima spektar u vidljivom području, a od kvarca ako se snima spektar u UV području. Širina kivete ovisi o zahtjevima mjerenja te uzorku koji se ispituje.

2.2.2. Fluorimetrijska spektroskopija

Fluorimetrijska spektroskopija je analitička metoda koja se temelji na određivanju intenziteta fluorescencije koje je uzrokovano ultraljubičastim zračenjem. Fluorescencija je, uz fosforescenciju, vrsta fotoluminiscencije. Molekula apsorbira dolazno ultraljubičasto zračenje te prelazi u pobuđeno stanje u kojem se zadržava vrlo kratko (10^{-8} s), prilikom povratka u osnovno stanje molekula emitira zračenje u vidljivom djelu spektra. Emitirano zračenje je veće valne duljine te manje energije od upadnog zračenja zato što se dio energije pobuđivanja troši na translacijsko i rotacijsko gibanje dok je molekula u pobuđenom stanju, a ostatak energije se troši na fotoemisiju. Molekule se pobuđuju u razna vibracijska stanja iz kojih se brzo vraćaju u najniže vibracijsko stanje iz kojeg se vraćaju u osnovno stanje te emitiraju zračenje.

Zbog toga dolazi do pomaka u valnoj duljini emitiranog zračenja te tu pojavu nazivamo Stokesov pomak. Fluorescencija i fosforescencija se razlikuju s obzirom na trajanje emisije zračenja. Prilikom fosforescencije zračenje se emitira i nakon prestanka primarnog zračenja, a prilikom fluorescencije prestankom primarnog zračenja prestaje i emisija zračenja.²⁷



Slika 18. Stokesov pomak

Učinkovitost fluorescencije može se izraziti veličinom koju nazivamo kvantno iskorištenje te se računa prema izrazu (3):

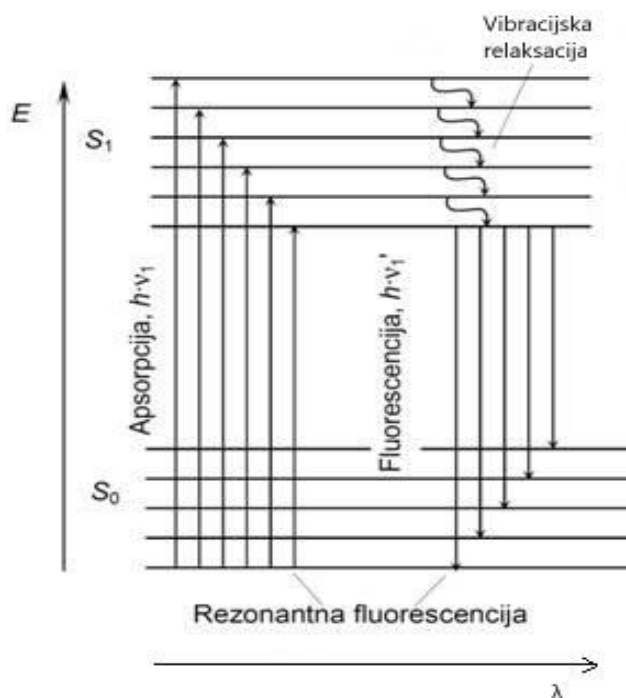
$$\Phi = \frac{N_e}{N_a} \quad (3)$$

N_e – broj emitiranih fotona

N_a – broj apsorbiranih fotona

Na temelju dobivenog spektra mogu se dobiti kvalitativne i kvantitativne informacije o ispitivanom uzorku. Boja i intenzitet fluorescencije su karakteristične veličine za pojedinu molekulu, a ovise o kemijskoj strukturi tvari, koncentraciji, pH, temperaturi te otapalu. Međutim, primjena je ograničena samo na one kemijske spojeve koji mogu fluorescirati ($\leq 15\%$ spojeva). Dio molekule koji je odgovoran za fluorescenciju naziva se fluorofor. Fluorofori su najčešće ciklički ugljikovodici sa nezasićenim vezama, polieni te spojevi koji sadrže karbonilnu skupinu. Tipični fluorofori su triptofan, fluorescein, rodamin B, kinin i drugi. Supstituenti koji pojačavaju intenzitet fluorescencije se nazivaju auksofori, a oni koji smanjuju intenzitet fluorescencije diminofori. Snimanje spektra provodi se na spektrofluorimetru.

Glavna razlika uređaja koji se koristi za fluorimetrijsku spektroskopiju i UV/Vid spektroskopiju je drugačiji monokromator. Neki spektrofluorimetri sadržavaju i dva monokromatora, jedan za pobudno zračenje, a drugi za fluorescenciju. Fluorescencijsko zračenje se širi u svim smjerovima pa je najpogodnije pratiti pod kutem od 90° u odnosu prema ulaznom zračenju. Takav dizajn isključuje neželjenu detekciju ulaznog zračenja.

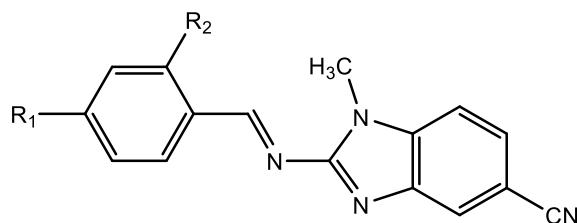


Slika 19. Dijagram fluorescencije

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. Cilj rada

Cilj ovog rada bila je priprava supstituiranih Schiffovih baza benzimidazola kao potencijalnih senzora za metalne katione i pH u otopinama. Strukture ciljanih spojeva prikazane su na slici 20. Spojevi **9** i **10** su uspješno sintetizirani te je njihova struktura potvrđena ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom, a spojevi su dodatno okarakterizirani UV/Vid spektroskopijom u različitim otapalima. Također provedene su i UV/Vid titracije otopina spojeva s vodenim otopinama metalnih soli i puferima različitih pH vrijednosti.



8 R₁ = CN R₂ = H

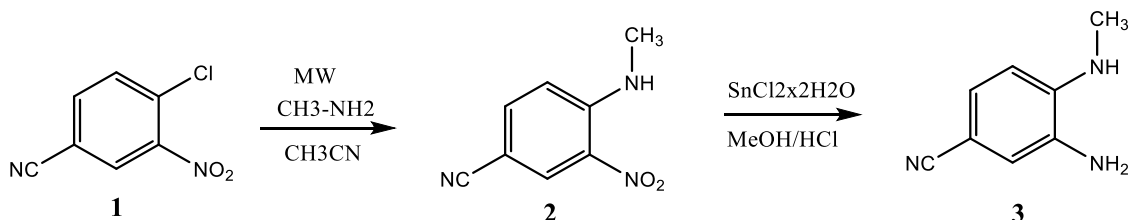
9 R₁ = N(CH₃)₂ R₂ = H

10 R₁ = N(CH₂CH₃)₂ R₂ = OH

Slika 20. Strukture ciljanih produkata sinteze 8-10

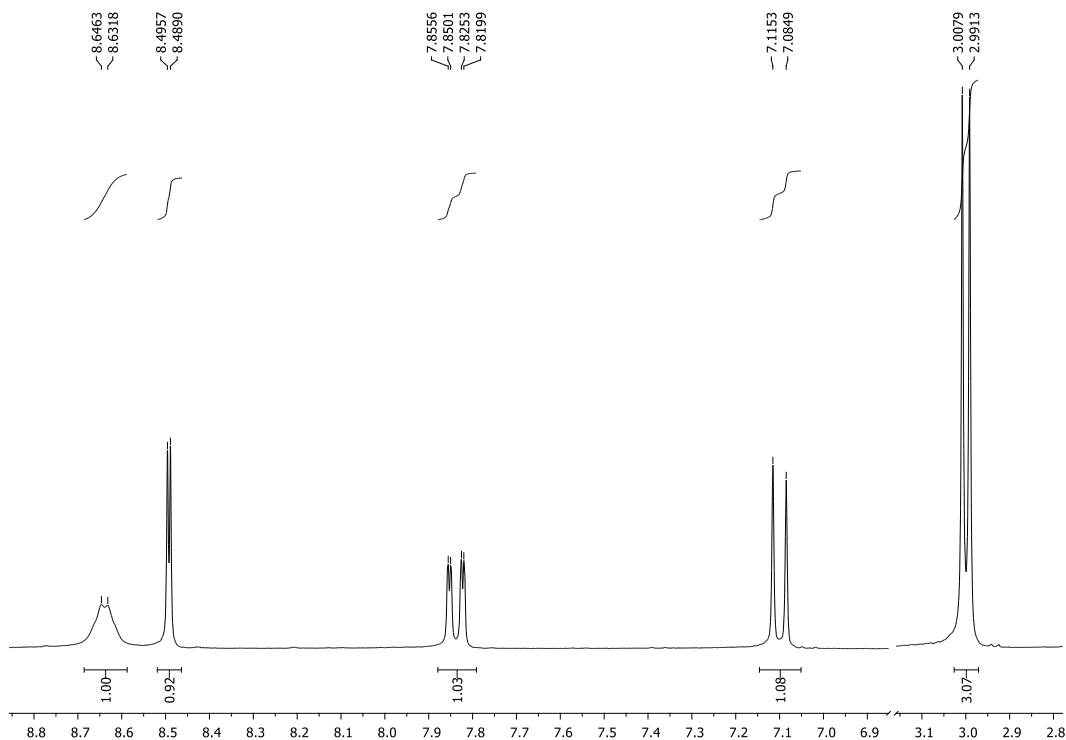
3.2. Sinteza priređenih spojeva

Za sintezu ciljanih Schiffovih baza prvo je bilo potrebno prirediti 3-amino-4-(*N*-metilamino)benzonitril **3**. Reakcijom 4-klor-3-nitrobenzonitrila **1** i suviška metilamina u acetonitrilu potpomognutom mikrovalovima priređen je 4-(*N*-metilamino)-3-nitrobenzonitril **2**. Iskorištenje provedene reakcije je 82%. Redukcijom spoja **2** s $\text{SnCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ u smjesi metanola i koncentrirane HCl priređen je spoj **3** uz iskorištenje reakcije 52%.^{28, 29, 30}



Shema 12. Sinteza 4-(*N*-metilamino)-3-nitrobenzonitrila **2** i 3-amino-4-(*N*-metilamino)benzonitrila **3**

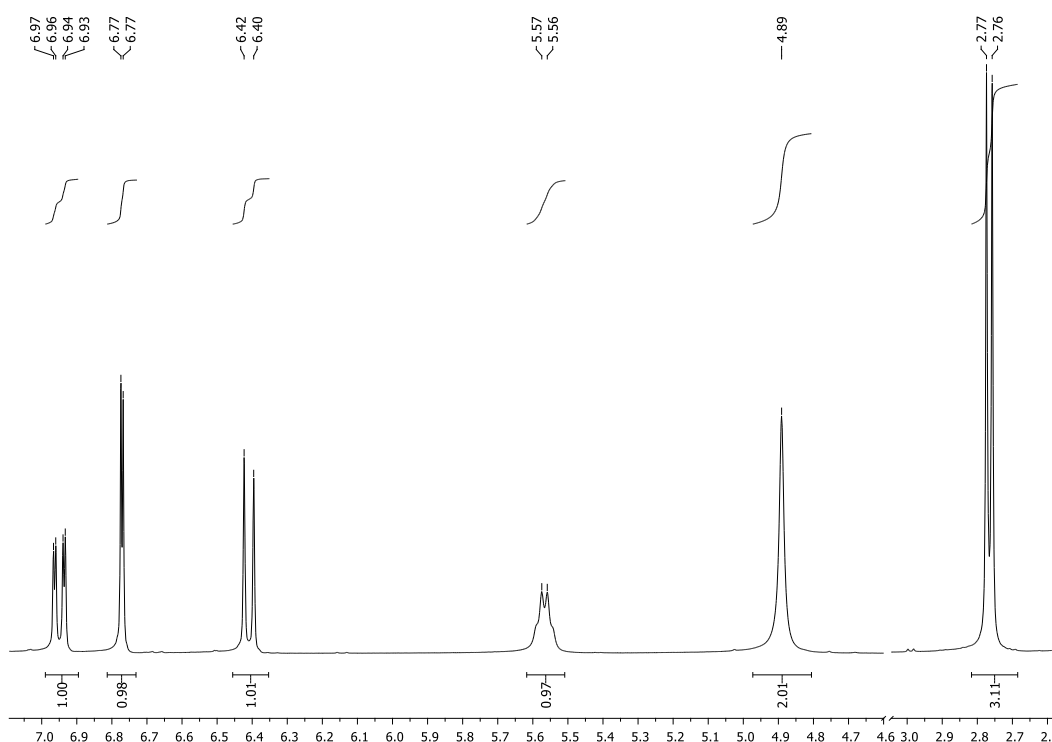
Strukture priređenih spojeva su potvrđene korištenjem ^1H i ^{13}C NMR spektroskopije. Na slici 21 prikazan je ^1H NMR spektar spoja **2**.



Slika 21. ^1H NMR spektar spoja **2**

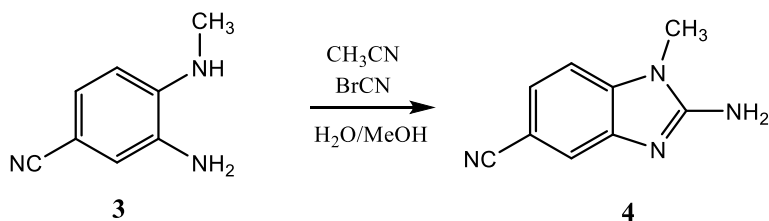
U spektru se može uočiti signal na 8,63 ppm koji odgovara protonu NH skupine, signal na 3,00 koji odgovara protonima CH₃ skupine dok ostali signali u području od 8,49 do 7,10 ppm odgovaraju aromatskim protonima.

Na slici 22 prikazan je ¹H NMR spektar spoja 3. Signal na 5,57 ppm odgovara protonu skupine NH, signal na 2,77 ppm odgovara protonima skupine CH₃, a signali od 6,95 ppm do 6,41 ppm odgovaraju aromatskim protonima. Vidljiv je i dodatan signal u odnosu na ¹H NMR spektar spoja 2, signal na 4,89 ppm koji odgovara protonima NH₂ skupine.



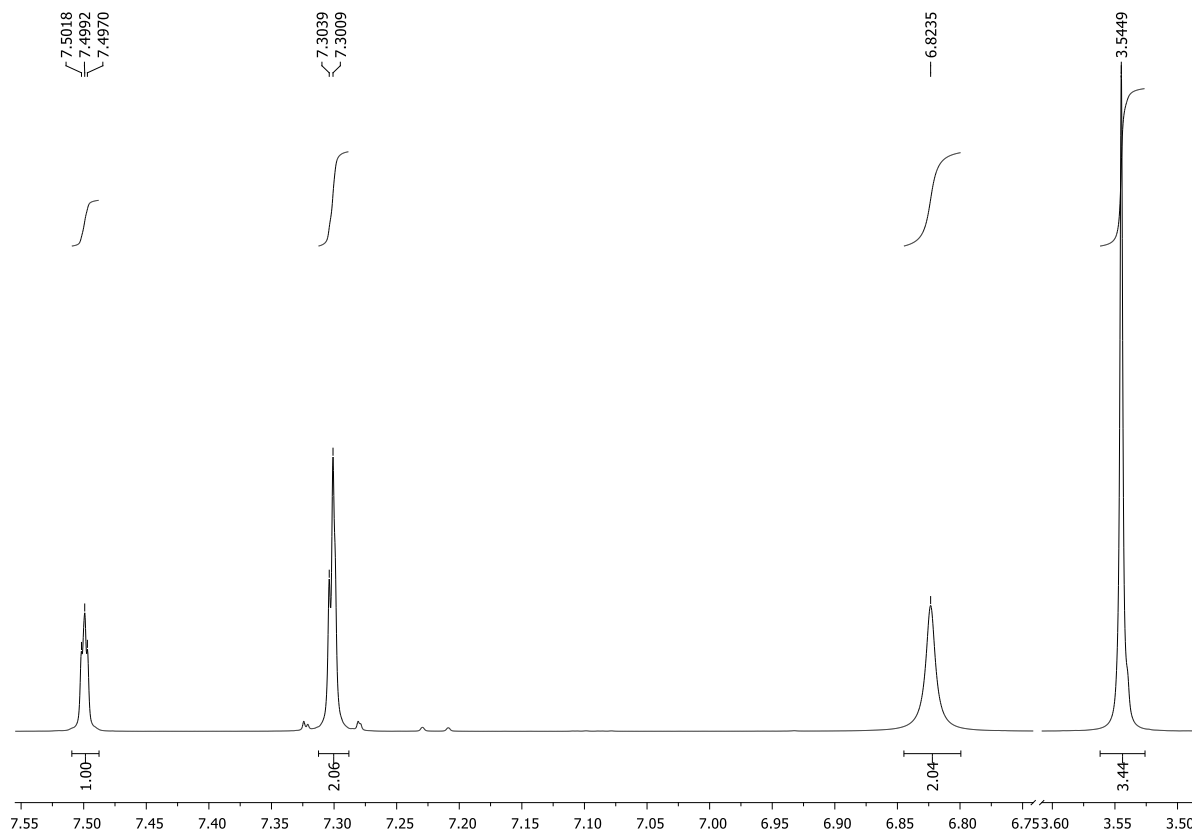
Slika 22. ¹H NMR spektar spoja 3

Za daljnju sintezu Schiffovih baza bilo je potrebno iz spoja 3 prirediti 2-amino-5-cijano-*N*-metilbenzimidazol 4 koji se dobiva reakcijom otopine spoja 3 u metanolu i vodi s otopinom BrCN u acetonitrilu. Iskorištenje provedene reakcije je 62%.



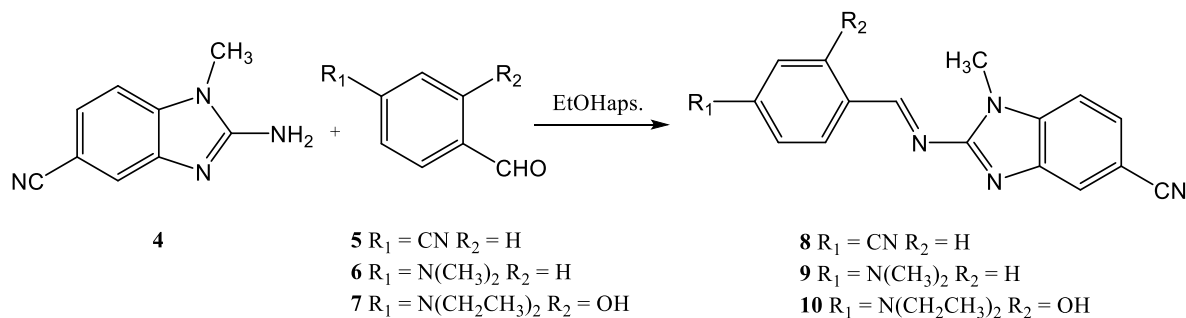
Shema 13. Sinteza 2-amino-5-cijano-*N*-metilbenzimidazola 4

Struktura priređenog spoja **4** je potvrđena korištenjem ^1H i ^{13}C NMR spektroskopije. Na slici 23 je prikazan ^1H NMR spektar spoja **4** u kojem se može uočiti signal na 6,82 ppm koji odgovara protonima skupine NH_2 , signal na 3,54 ppm odgovara protonima CH_3 skupine dok signali od 7,50 do 7,30 ppm odgovaraju aromatskim protonima.



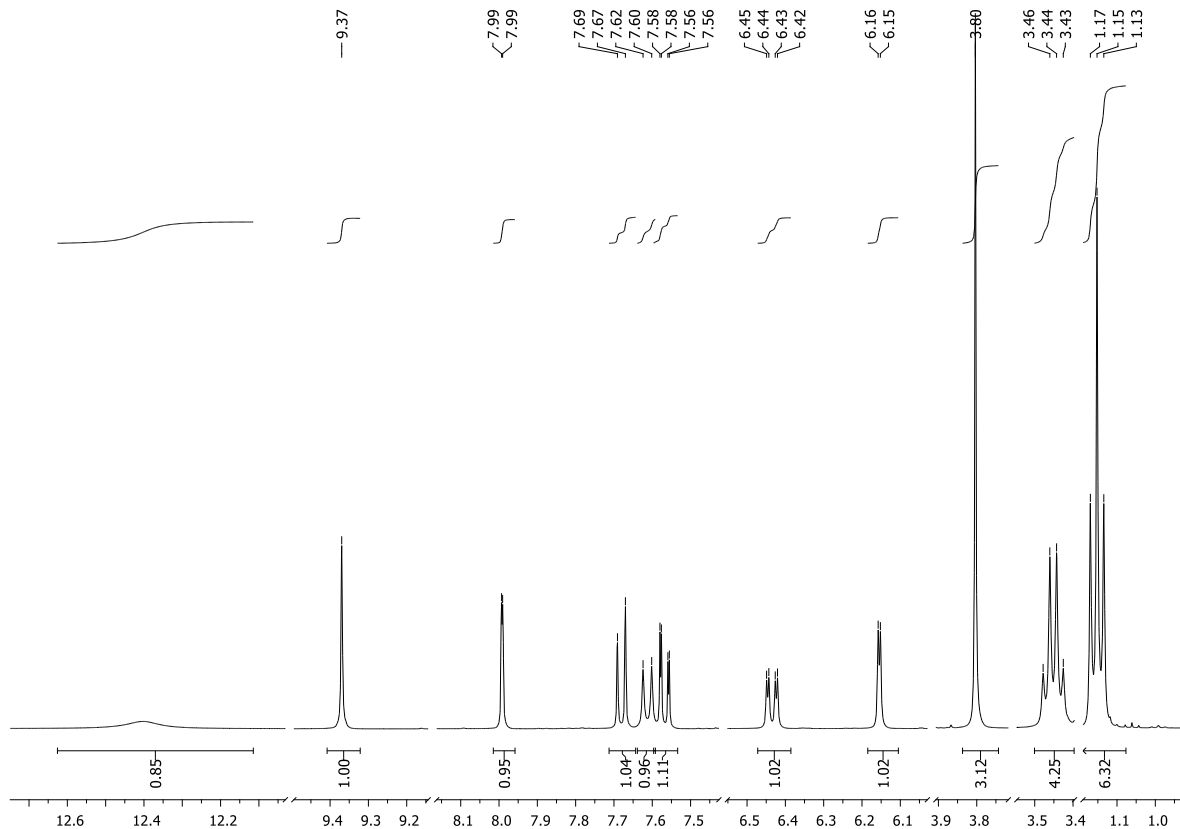
Slika 23. ^1H NMR spektar spoja **4**

Supstituirane Schiffove baze **8-10** su priređene reakcijom 2-amino-5-cijano-*N*-metilbenzimidazola **4** i odgovarajućih benzaldehida **5-7** u apsolutnom etanolu (Shema 14).



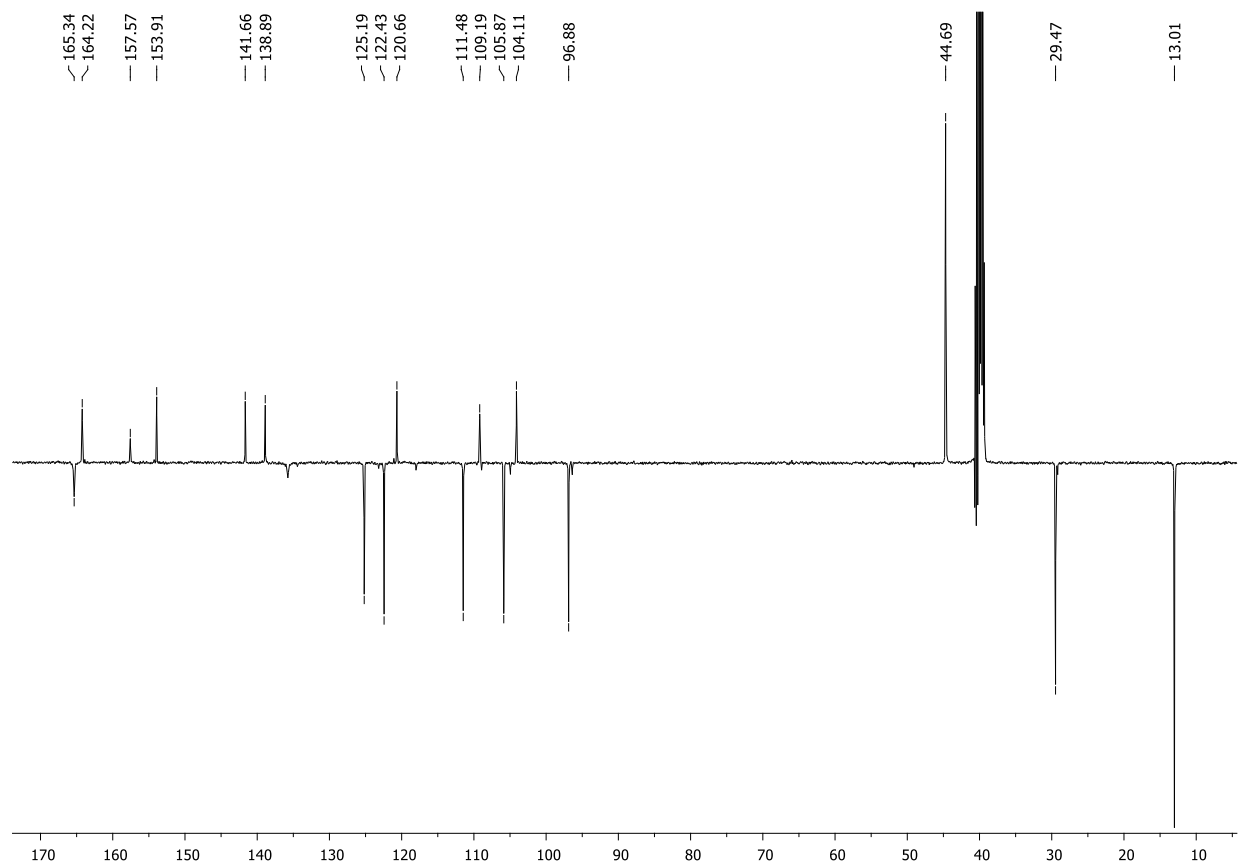
Shema 14. Sinteza supstituiranih Schiffovih baza **8-10**

Nakon zagrijavanja reakcijske smjese na temperaturi refluksa 48 sati spojevi **9** i **10** su uspješno priređeni uz iskorištenja reakcija 76% i 67%, a dobivena smjesa spoja **8** i reaktanta **4** je pročišćena kolonskom kromatografijom na silikagelu uz CH₂Cl₂ kao eluens, ali željeni produkt **8** nije uspješno izoliran. Strukture priređenih spojeva **9** i **10** su potvrđene ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom. Na slici 24 prikazan je ¹H NMR spektar spoja **10** u kojem se može uočiti karakterističan singlet protona iz OH skupine na 12,40 ppm, a signal na 3,80 ppm odgovara protonima vezane metilne skupine. Schiffova baza **10** se od **8** i **9** razlikuje po supstituentima i ima vezane dvije etilne skupine te hidroksilnu skupinu. Protoni etilnih skupina daju signale na 3,45 ppm i 1,15 ppm. Signali od 9,37 ppm do 6,15 ppm odgovaraju aromatskim protonima.



Slika 24. ¹H NMR spektar spoja **10**

Na slici 25 je prikazan ¹³C NMR spektar spoja **10** u kojem se može uočiti odgovarajući broj signala ugljikovih atoma. Signal na 44,69 ppm odgovara ugljikovim atomima dviju metilenskih skupina, dok ugljikovi atomi dviju metilnih skupina odgovaraju signalu na 13,01 ppm.



Slika 25. ^{13}C NMR spektar spoja **10**

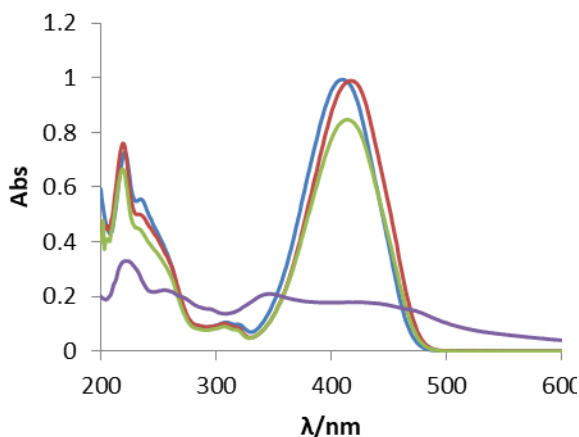
3.3. Spektroskopska karakterizacija UV/Vid spektroskopijom

3.3.1. Kvantitativni UV/Vid spektri

UV/Vid apsorpcijski spektri priređenih spojeva **9** i **10** snimani su pri istoj koncentraciji od 2×10^{-5} mol/dm³ u šest različitih otapala drugačijih polarnosti. Na slici 26 prikazani su usporedni apsorpcijski spektri spojeva **9** i **10** u različitim otapalima.³¹

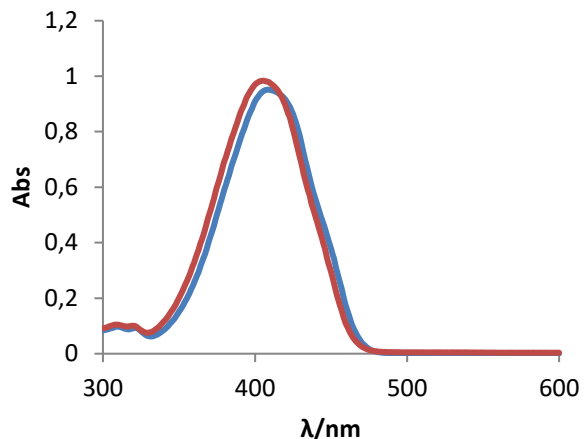
Dobiveni apsorpcijski spektri za spojeve **9** i **10** upućuju na utjecaj otapala različitih polarnosti na spektroskopska svojstva. Spoj **9** pokazuje u metanolu, a posebno u MQ vodi hipokromni pomak intenziteta apsorpcije te batokromni pomak maksimuma apsorpcije u etanolu i metanolu u odnosu na acetonitril. U toluenu spoj **9** pokazuje blagi hipokromni pomak intenziteta i batokromni pomak maksimuma apsorpcije.

a)



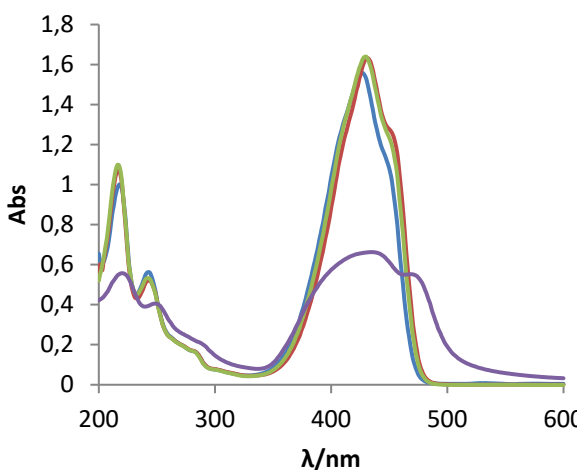
— Acetonitril — Etanol — Metanol — MQ

b)



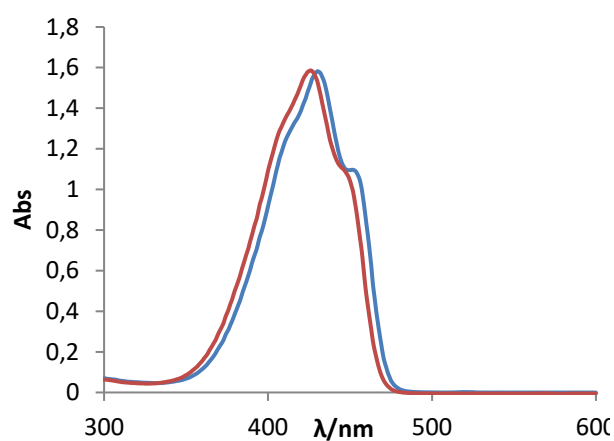
— Toluen — Etil-acetat

c)



— Acetonitril — Etanol — Metanol — M

d)



— Toluen — Etil-acetat

Slika 26. ApSORPCIJSKI SPEKTRI spojeva a) i b) **9** i c) i d) **10**

Kod spoja **10** možemo uočiti blagi hiperkromni pomak intenziteta apsorpcije u etanolu i metanolu uz pojavu novog maksimuma apsorpcije na 452 nm u odnosu na spektar spoja u acetonitrilu. U MQ vodi spoj **10** pokazuje hipokromni pomak intenziteta apsorpcije te pojavu novog maksimuma apsorpcije na 468 nm. U toluenu spoj **10** pokazuje blagi batokromni pomak maksimuma apsorpcije.

Iz prikazanih apsorpcijskih spektara za spojeve **9** i **10** može se uočiti batokromni pomak maksimuma apsorpcije te hiperkromni pomak intenziteta apsorpcije spoja **10** u etanolu u odnosu na spoj **9** u istom otapalu što vrijedi i za metanol, toluen, acetonitril te etil-acetat pri višim vrijednostima valnih duljina. Za spoj **10** je u metanolu iz apsorpcijskog spektra vidljiva pojava dodatnog apsorpcijskog maksimuma u odnosu na spoj **9** u metanolu, a također je vidljiv i blagi hipsokromni pomak maksimuma apsorpcije te hiperkromni pomak intenziteta apsorpcije. Slično se može zaključiti i za spoj **10** otopljen u etanolu i u acetonitrilu.

Tablica 1. UV/Vid podaci ispitanih spojeva 9 i 10 u različitim otapalima

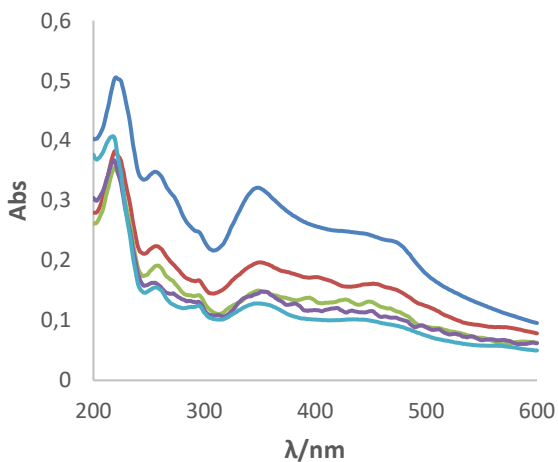
		9			10		
Otapalo	ET(30)	λ/nm	$\varepsilon \times 10^3$ ($\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$)	Abs	λ/nm	$\varepsilon \times 10^3$ ($\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$)	Abs
Etanol	51,9	417	49450	0,989	452	63100	1,262
		219	38000	0,760	431	81700	1,634
					243	26050	0,521
					217	53550	1,071
Metanol	55,4	415	42350	0,847	452	60100	1,202
		219	33350	0,667	430	82000	1,640
					242	26650	0,533
					217	54900	1,098
Acetonitril	45,6	410	49700	0,994	427	77950	1,559
		221	36400	0,728	243	28150	0,563
					218	50050	1,001
Etil-acetat	38,1	405	49200	0,984	426	79300	1,586
Toluen	33,9	409	47550	0,951	457	50350	1,007
					430	79050	1,581
Voda	63,1	423	8950	0,179	468	27650	0,553
		347	10500	0,210	435	33150	0,663
		256	11200	0,224	248	20300	0,406
		224	16450	0,329	220	27850	0,557

3.3.2. UV/Vid spektroskopske titracije s otopinama metalnih kationa

Kako bi se ispitala mogućnost primjene priređenih spojeva kao senzora za detekciju metalnih kationa u otopinama provedene su spektroskopske titracije. Titracije s vodenim otopinama

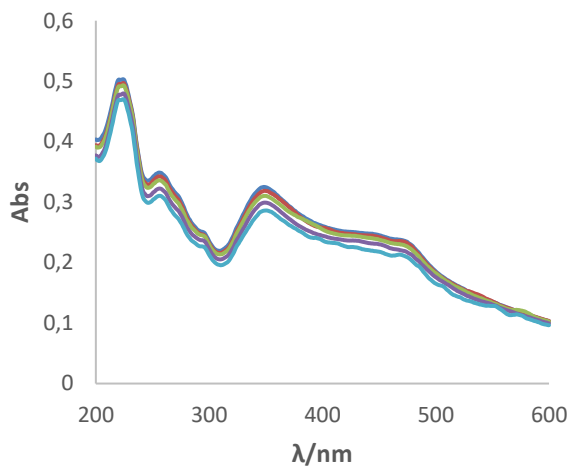
ZnCl₂, CoCl₂ i CuCl₂ provedene su kod koncentracije spojeva **9** i **10** od 2×10^{-5} mol/dm³ uz dodatak otopina metalnih soli određenih koncentracija (1×10^{-5} mol/dm³, 2×10^{-5} mol/dm³, 5×10^{-5} mol/dm³, 1×10^{-4} mol/dm³). Apsorpcijske krivulje titracija spoja **9** prikazane su na slici 27.^{31, 32}

a)



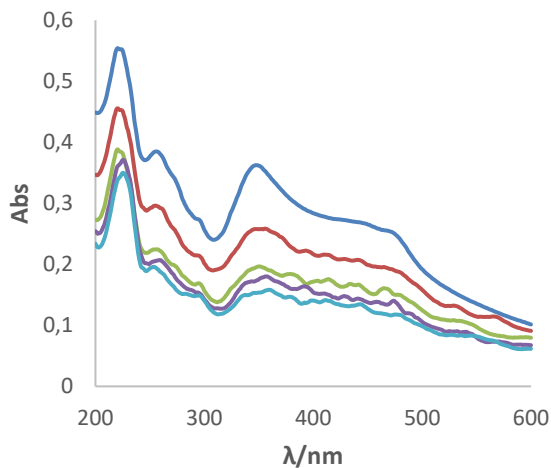
— $c(\text{spoj } 9) = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ — $c(\text{CuCl}_2) = 1 \times 10^{-5} \text{ M}$
— $c(\text{CuCl}_2) = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ — $c(\text{CuCl}_2) = 5 \times 10^{-5} \text{ M}$
— $c(\text{CuCl}_2) = 1 \times 10^{-4} \text{ M}$

b)



— $c(\text{spoj } 9) = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ — $c(\text{ZnCl}_2) = 1 \times 10^{-5} \text{ M}$
— $c(\text{ZnCl}_2) = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ — $c(\text{ZnCl}_2) = 5 \times 10^{-5} \text{ M}$
— $c(\text{ZnCl}_2) = 1 \times 10^{-4} \text{ M}$

c)

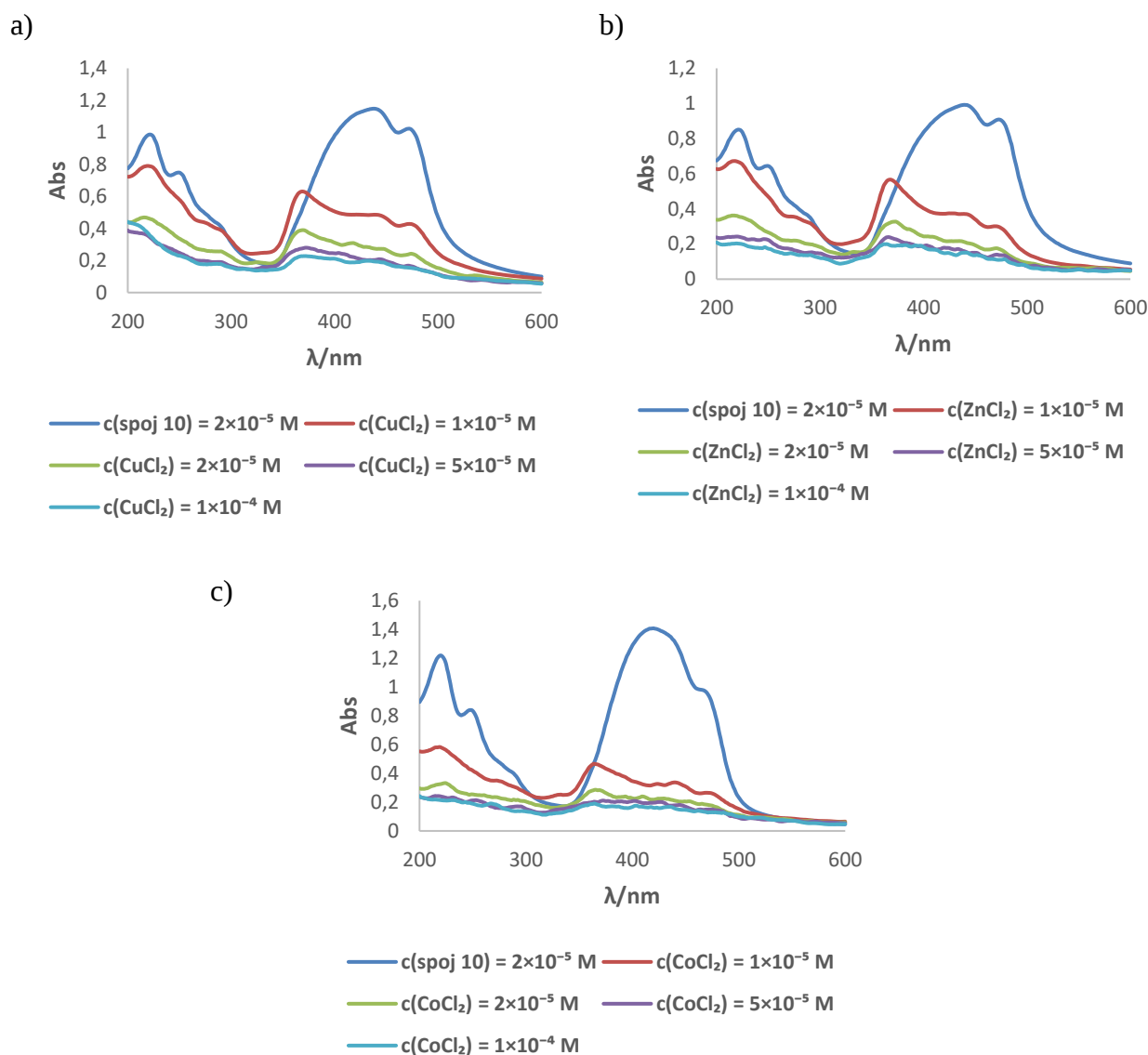


— $c(\text{spoj } 9) = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ — $c(\text{CoCl}_2) = 1 \times 10^{-5} \text{ M}$
— $c(\text{CoCl}_2) = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ — $c(\text{CoCl}_2) = 5 \times 10^{-5} \text{ M}$
— $c(\text{CoCl}_2) = 1 \times 10^{-4} \text{ M}$

Slika 27. Apsorpcijske krivulje ispitivanja interakcije spoja **9** s metalnim solima
a) CuCl₂; b) ZnCl₂; c) CoCl₂

Iz dobivenih apsorpcijskih krivulja može se zaključiti da dolazi do interakcije spoja **9** s Cu^{2+} kationima, međutim s povećanjem koncentracije otopine CuCl_2 vidljivo je smanjenje apsorbanije spoja. Pri koncentraciji $5 \times 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$ pojavljuje se nepravilan izgled krivulje što ukazuje na taloženje spoja u otopini. Vezanjem Zn^{2+} iona na spoj **9** dolazi do blagog smanjenja apsorbanije spoja s porastom koncentracije metalnih iona. Interakcijom spoja s Co^{2+} ionima također s povećanjem koncentracije otopine CoCl_2 dolazi do smanjenja apsorbanije spoja. Već pri koncentraciji $2 \times 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$ vidljivo je taloženje spoja.

Na slici 28 prikazane su apsorpcijske krivulje titracija spoja **10** s metalnim solima.

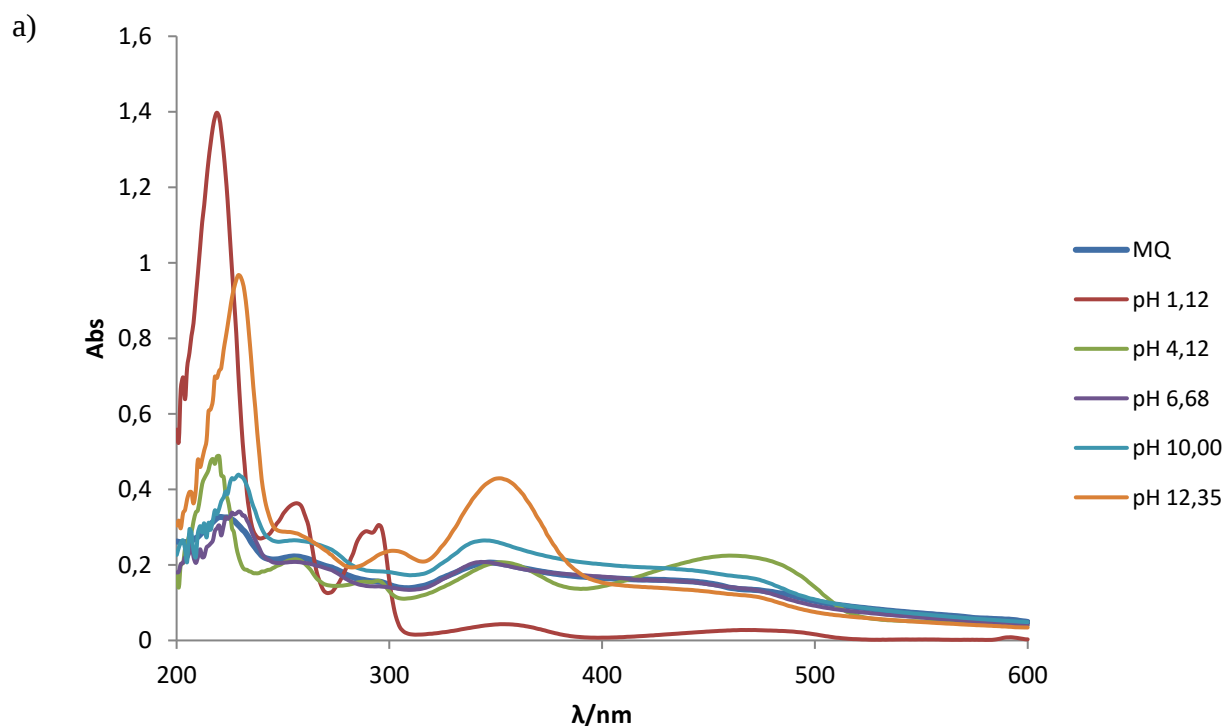


Slika 28. Apсорpcijske krivulje ispitivanja interakcije spoja **10** s metalnim solima
a) CuCl_2 ; b) ZnCl_2 ; c) CoCl_2

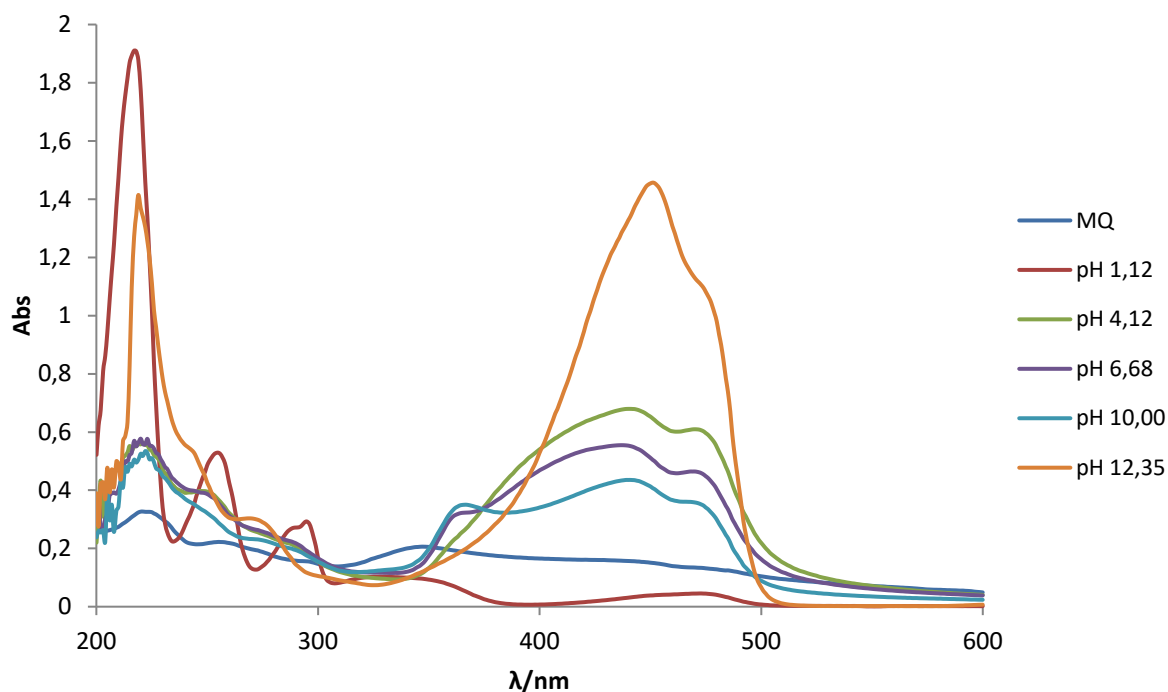
Iz apsorpcijske krivulje spoja **10** prilikom interakcije s Cu^{2+} ionima može se uočiti značajno smanjenje apsorbancije spoja pri prvom dodatku otopine CuCl_2 pri kojoj spoj počinje blago taložiti. Daljnjim povećanjem koncentracije apsorbancija se nastavlja smanjivati. Vezanjem Zn^{2+} iona dolazi do velike promjene u apsorbanciji spoja. Za razliku od spoja **9** koji u otopini ZnCl_2 nije taložio, apsorpcijska krivulja spoja **10** pri koncentraciji $2 \times 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$ ima nepravilan izgled zbog taloženja spoja. Najveće smanjenje apsorbancije povećanjem koncentracije uočeno je prilikom interakcije spoja **10** s ionima Co^{2+} , a već pri prvoj dodanoj koncentraciji spoj blago taloži.

3.4. Utjecaj pH na spektroskopska svojstva

Kako bi se ispitala mogućnost primjene spojeva **9** i **10** kao optičkih pH senzora ispitana je promjena spektroskopskih svojstava spojeva ovisno o pH vrijednosti otopine korištenjem UV/Vid spektroskopije. Snimljeni apsorpcijski spektri spojeva u otopinama univerzalnih pufera različitih vrijednosti pH prikazani su na slici 29.³¹



b)



Slika 29. Apsorpcijski spektar spoja a) **9** i b) **10** u otopinama univerzalnih pufera različitih vrijednosti pH

Iz dobivenih rezultata za spoj **9** može se uočiti da dolazi do promjene spektroskopskih svojstava s promjenom pH otopine. Dolazi do promjene intenziteta apsorbancije, a pri pH vrijednosti 1,12 vidljiv je hipokromni pomak u odnosu na druge pH vrijednosti te se pri tom pH pojavljuju dva dodatna apsorpcijska maksimuma. Pri višim valnim duljinama najveći intenzitet apsorbancije je u lužnatom mediju pri pH 12,35. Spoj **10** pokazuje povećanje intenziteta apsorbancije pri višim valnim duljinama s povećanjem pH vrijednosti uz pojavu novih maksimuma apsorbancije. Kod pH vrijednosti od 6,68 i 10,00 može se uočiti hipokromni pomak intenziteta apsorbancije u odnosu na pH 4,12.

4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. Opće napomene

Kemijske reakcije su provedene uobičajenim metodama sinteze. Svi spojevi su rutinski provjeravani tankoslojnom kromatografijom (TLC) koristeći ploče prevučene silikagelom te detektirani pod UV svjetlom (254 i 356 nm).

Reakcije potpomognute mikrovalnim zračenjem provedene su u Milestone Start Synth mikrovalnom reaktoru u kvarcnim posudama (40 bar).

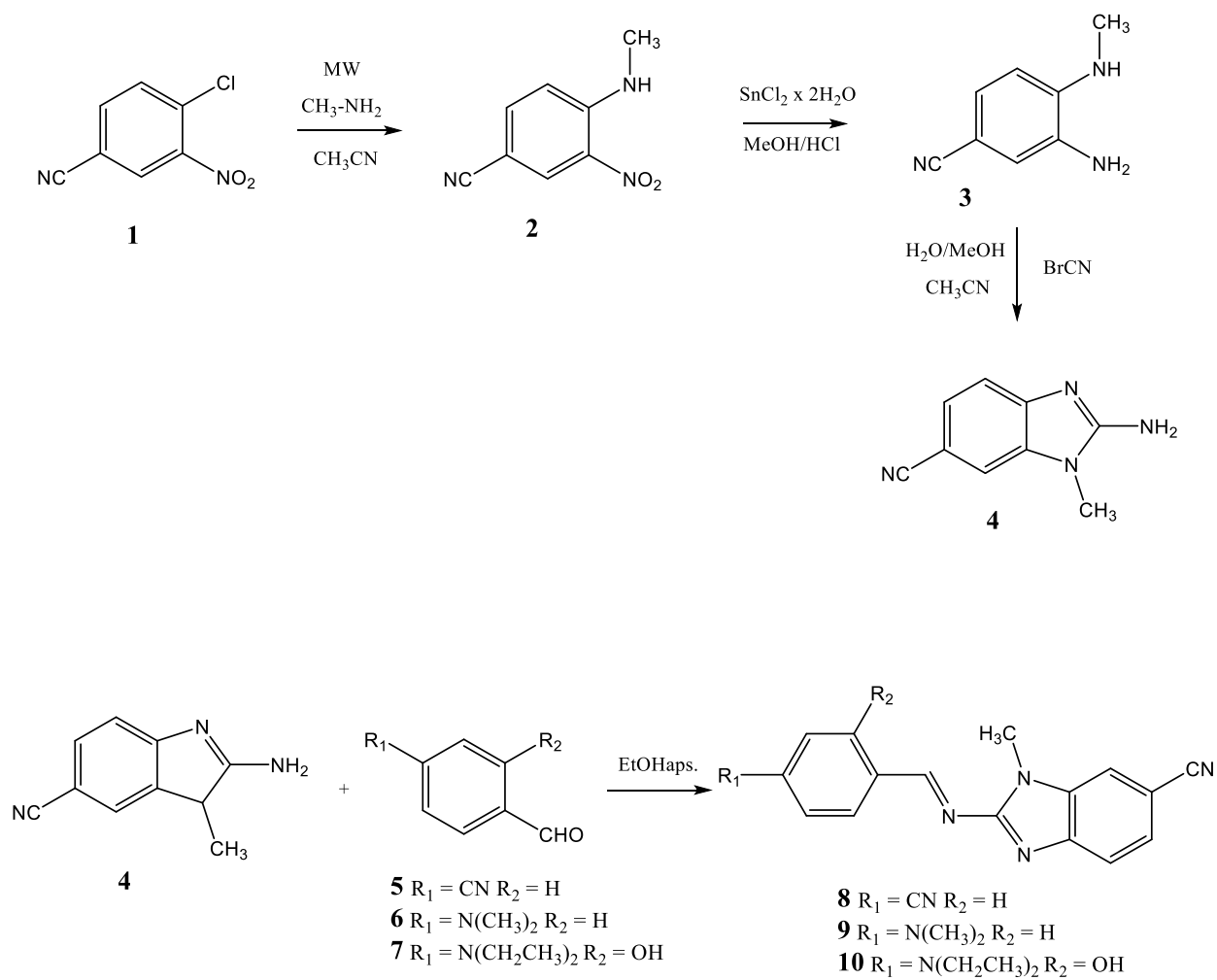
Tališta sintetiziranih spojeva su određena na SMP10 Bibby aparatu i nisu korigirana.

^1H i ^{13}C NMR spektri snimani su na spektrometru Bruker Avance III HD 400 MHz/54 mm Ascend. Svi NMR spektri snimani su u DMSO- d_6 kao otapalu, koristeći tetrametilsilan kao interni standard. Kemijski pomaci (δ) izraženi su u ppm vrijednostima, a konstante sprege (J) u Hz.

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

UV/Vid spektri snimljeni su na Varian Cary 50 spektrofotometru, a korištene su kvarcne kivete promjera 1 cm te volumena 3 cm³.

4.2. Priprava supstituiranih Schiffovih baza benzimidazola



Shema 12.

4.2.1. Priprava 4-(*N*-metilamino)-3-nitrobenzonitrila 2

Spoj 2 priređen je sintezom potpomognutom mikrovalovima korištenjem MW zračenja snage 800 W i temperature 170 °C. U svaku od 8 kiveta stavi se 0,50 g (2,74 mmol) 4-klor-3-nitrobenzonitrila 1, acetonitril (10 ml) i suvišak metilamina (2,60 ml). Nakon 2 sata mikrovalnog zračenja ohlađena reakcijska smjesa se pod sniženim tlakom upari na manji volumen, doda se mala količina metanola te se nastali talog profiltrira. Dobiveno je 3,19 g (81,7%) žutog kristaliničnog produkta. T.t. 173-179 °C.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 8,63 (m, 1H, NH), 8,49 (d, 1H, *J* = 2,0 Hz, H_{arom}), 7,84 (dd, 1H, *J*₁ = 9,1 Hz, *J*₂ = 1,6 Hz, H_{arom}), 7,10 (d, 1H, *J* = 9,1 Hz, H_{arom}), 3,00 (d, 3H, *J* = 5,0 Hz, CH₃); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 148,0, 138,1, 132,2, 131,0, 118,8, 116,1, 96,5, 30,4.

4.2.2. Priprava 3-amino-4-(*N*-metilamino)benzonitrila 3

Reakcijska smjesa 3,95 g (0,022 mol) 4-(*N*-metilamino)-3-nitrobenzonitrila 2 i 41,8 g (0,185 mol) SnCl₂·2H₂O u smjesi metanola (60,4 ml) i HCl_{konc.} (60,4 ml) refluksira 0,5 sati. Smjesa se zatim upari do suha i doda odgovarajuća količina vode te se zaluži s 20% otopinom NaOH do pH 14. Nastali talog se profiltrira i ispere s vrućim etanolom. Dobiveno je 1,70 g (51,8%) svjetlonarančastog kristaliničnog produkta. T.t. 149-151 °C.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 6,95 (dd, 1H, *J*₁ = 8,1 Hz, *J*₂ = 1,9 Hz, H_{arom.}), 6,77 (d, 1H, *J* = 2,0 Hz, H_{arom.}), 6,41 (d, 1H, *J* = 8,2 Hz, H_{arom.}), 5,57 (d, 1H, *J* = 4,7 Hz, NH), 4,89 (s, 2H, NH₂), 2,77 (d, 3H, *J* = 4,9 Hz, CH₃); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) (δ/ppm): 141,6, 135,6, 123,5, 121,6, 114,9, 108,5, 96,9, 30,0 (3C).

4.2.3. Priprava 2-amino-5-cijano-*N*-metilbenzimidazola 4

U smjesi metanola (40 ml) i vode (40 ml) otopi se 3-amino-4-(*N*-metilamino)benzonitril 3 te se doda prethodno pripremljena otopina 1,22 g (0,0115 mol) BrCN u acetonitrilu (2,6 ml). Reakcijska smjesa se miješa 48 h na sobnoj temperaturi. Zatim se doda aktivni ugljen, otopina se profiltrira i zaluži koncentriranom otopinom amonijaka do pH > 9. Nastali produkt se profiltrira i ispere malom količinom hladne vode. Dobiveno je 1,24 g (62,3%) bijelog praškastog produkta. T.t. 287-291 °C

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 7,50 (t, 1H, $J = 1,0$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,30 (d, 1H, $J = 1,2$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,30 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 6,82 (s, 2H, NH_2), 3,54 (s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 157,7, 143,4, 138,9, 122,9, 121,2, 118,2, 108,7, 102,5, 29,1.

4.2.4. Opći postupak pripreve supstituiranih Schiffovih baza 8-10

Otopini 2-amino-5-cijano-*N*-metilbenzimidazola **4** u apsolutnom etanolu doda se odgovarajući aldehid. Reakcijska smjesa se zagrijava na temperaturi refluksa. Hlađenjem dobiveni talog se filtrira.

Pokušaj pripreve *E*-2-[(4-cijanobenzilidin)amino]-1-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-karbonitrila **8**

Iz 0,200 g (1,20 mmol) 2-amino-5-cijano-*N*-metilbenzimidazola **4** i 0,152 g (1,20 mmol) 4-cijanobenzaldehida **5** u 10 ml apsolutnog etanola nakon 48 sati reakcijska smjesa se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz CH_2Cl_2 kao eluens, međutim željeni produkt nije uspješno izoliran.

Priprava *E*-2-[(4-(*N,N*-dimetilamino)benzilidin)amino]-1-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-karbonitrila **9**

Iz 0,200 g (1,20 mmol) 2-amino-5-cijano-*N*-metilbenzimidazola **4** i 0,173 g (1,20 mmol) 4-(*N,N*-dimetilamino)benzaldehida **6** u 10 ml apsolutnog etanola nakon 48 sati dobiveno je 0,266 g (75,5%) žutog praškastog produkta. T.t. 220-222 °C.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 9,27 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,01 (d, 1H, $J = 1,0$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,95 (d, 2H, $J = 8,9$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,68 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,57 (dd, 1H, $J = 8,3, 1,5$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 6,84 (d, 2H, $J = 9,1$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 3,88 (s, 3H, CH_3), 3,08 (s, 6H, CH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) (δ /ppm): 166,4, 158,9, 154,3, 141,7, 139,0, 132,8, 125,2, 122,8, 122,6, 120,7, 112,0 (2C), 111,6 (2C), 104,1, 29,5.

Priprava *E*-2-[(4-(*N,N*-dietilamino)benzilidin)amino]-1-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-karbonitrila **10**

Iz 0,200 g (1,20 mmol) 2-amino-5-cijano-*N*-metilbenzimidazola **4** i 0,224 g (1,20 mmol) 4-(*N,N*-dietilamino)salicilaldehid **7** u 10 ml apsolutnog etanola nakon 48 sati dobiveno je 0,272 g (67,4%) žutog praškastog produkta. T.t. 227-231 °C.

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (δ/ppm): 12,40 (s, 1H, OH), 9,37 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,99 (d, 1H, $J = 1,1$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,68 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,61 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,57 (dd, 1H, $J = 8,3, 1,5$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 6,43 (dd, 1H, $J = 9,0, 2,4$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 6,15 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 3,80 (s, 3H, CH_3), 3,45 (q, 4H, $J = 7,0$ Hz, CH_2), 1,15 (t, 6H, $J = 7,0$ Hz, CH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (δ/ppm): 165,3, 164,2, 157,6, 153,9, 141,7, 138,9, 125,2, 122,4, 120,7, 111,5, 109,2, 105,9, 104,1, 96,9, 44,7 (2C), 29,5, 13,0 (2C).

5. ZAKLJUČAK

- U ovom radu priređeni su sljedeći spojevi: 4-(*N*-metilamino)-3-nitrobenzonitril **2**, 3-amino-4-(*N*-metilamino)benzonitril **3**, 2-amino-5-cijano-*N*-metilbenzimidazol **4**, *E*-2-[(4-(*N,N*-dimetilamino)benzilidin)amino]-1-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-karbonitril **9**, *E*-2-[(4-(*N,N*-dietilamino)benzilidin)amino]-1-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-karbonitril **10**
- Za pripravu željenih Schiffovih baza prvotno je priređen 2-amino-5-cijano-*N*-metilbenzimidazol **4** sintezom počevši iz 4-klor-3-nitrobenzonitrila **1** koji reakcijom potpomognutom mikrovalovima u acetonitrilu i metilaminu daje 4-(*N*-metilamino)-3-nitrobenzonitril **2**; Redukcijom spoja **2** s kositar-kloridom dihidratom nastaje 3-amino-4-(*N*-metilamino)benzonitril **3** koji u reakciji s bromovim cijanidom u acetonitrilu i metanolu daje 2-amino-5-cijano-*N*-metilbenzimidazol **4**.
- Produkti **9** i **10** priređeni su reakcijom 2-amino-5-cijano-*N*-metilbenzimidazola **4** i odgovarajućih benzaldehida **5-7**.
- Struktura svih spojeva potvrđena je ¹H NMR i ¹³C NMR spektrima.
- Za priređene spojeve provedena je spektroskopska UV/Vid karakterizacija u otapalima različite polarnosti.
- Mogućnost primjene spojeva **9** i **10** kao senzora za detekciju metalnih kationa u otopinama ispitana je UV/Vid titracijama vodenih otopina spojeva s vodenim otopinama metalnih soli CuCl₂, ZnCl₂ i CoCl₂.
- Ispitana je promjena spektroskopskih svojstava spojeva **9** i **10** ovisno o vrijednosti pH otopine korištenjem UV/Vid spektroskopije kako bi se ispitala njihova mogućnost primjene kao pH senzora.
- Na temelju dobivenih spektara može se zaključiti da se najveće spektroskopske promjene kod oba spoja javljaju u jako kiselom (pH = 1,12) te u jako lužnatom mediju (pH = 12,35).

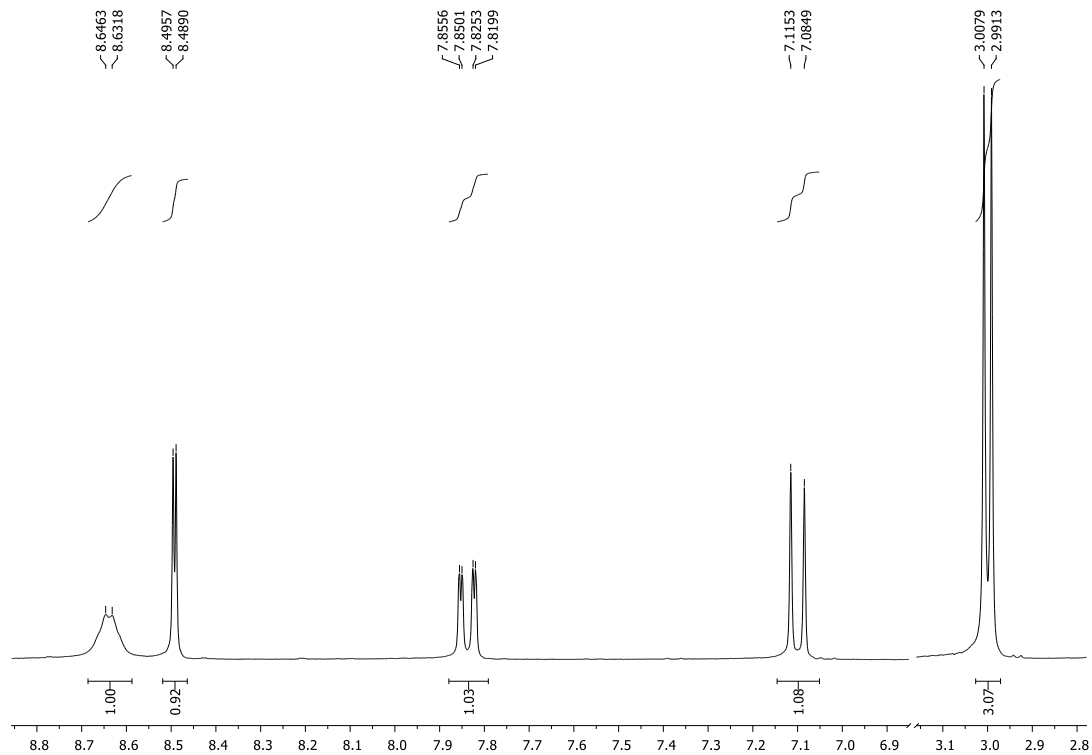
6. LITERATURA

1. H. Schiff, *Ann. Chem.* **131** (1864) 118-124.
2. D. Worku, M. Negussie, V. J. T. Raju, S. Theodros, J. A. Jonsson, R. Negussie, *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia* **17** (2002) 30
3. D. Worku, M. Negussie, V. J. T. Raju, S. Theodros, J. A. Jonsson, R. Negussie, *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia* **17** (2002) 29.
4. A. Solankee, I. Thakor, *Indian Journal of Chemistry* **45b** (2006) 517
5. P. Paul, *Proceedings of the Indian Academy of Sciences (Journal of Chemical Sciences)* **114** (2002) 269.
6. M. Yoshizawa, *Journal of the American Chemical Society* **127** (2005) 2798.
7. S. A. Zerkocski, C. T. Seto, G. M. Whitesiders, *Journal of American Chemical Society* **114** (1991) 5473.
8. P. Gamet, J. Reeds, *European Journal of Organic Chemistry* (2006) 29
9. L. A. Paquette, W. A. Benjamin, *Principles of Modern Heterocyclic Chemistry* (1968) 318.
10. S. R. Dighade, S. D. Patil, M. M. Chincholkar, N. R. Dighade, *Asian Journal of Chemistry* **15** (2003) 1184.
11. K. R. Desai, R.B. Patel, P. S. Desai, K. H. Chikhali, *Journal of the Indian Chemical Society* **80** (2003) 138
12. Dr. A. Xavier, N. Srividhya, Synthesis and Study of Schiff base Ligands, *Journal of Applied Chemistry* **7** (2014) 6-8.
13. M. R. Maurya, A. Kumar, M. Ebel, D. Rehder, *Inorg. Chem.* **45** (2006) 5924-5937
14. Y. M. Hijji, B. Barare, A. P. Kennedy, R. Butcher, *Sensors and Actuators B* **136** (2009) 297-302.
15. K. Liu, X. Zhao, Q. Liu, J. Huo, B. Zhu, S. Diao, *J. Org. Chem.* **11** (2015) 563-567.
16. X. Wang, T. Xu, H. Duan, *Sensors and Actuators B* **214** (2015) 138-143.
17. G. Kumaravel, N. Raman, *Materials Science and Engineering C* **70** (2017) 184-194.
18. R. R. Gupta, Kumar, V. Gupta, *Heterocyclic Chemistry 1* (1998)
19. E. Horak, P. Kassal, M. Hranjec, I. M. Steinberg, *Sensors and Actuators B* **258** (2018) 415-423.
20. R. Yerrasani, M. Karunakar, R. Dubey, A. K. Singh, T. R. Rao, *Journal of Molecular Liquids* **248** (2017) 214-218.
21. J. McMurphy, *Osnove organske kemije*, Zrinski d.d., 2016., Čakovec

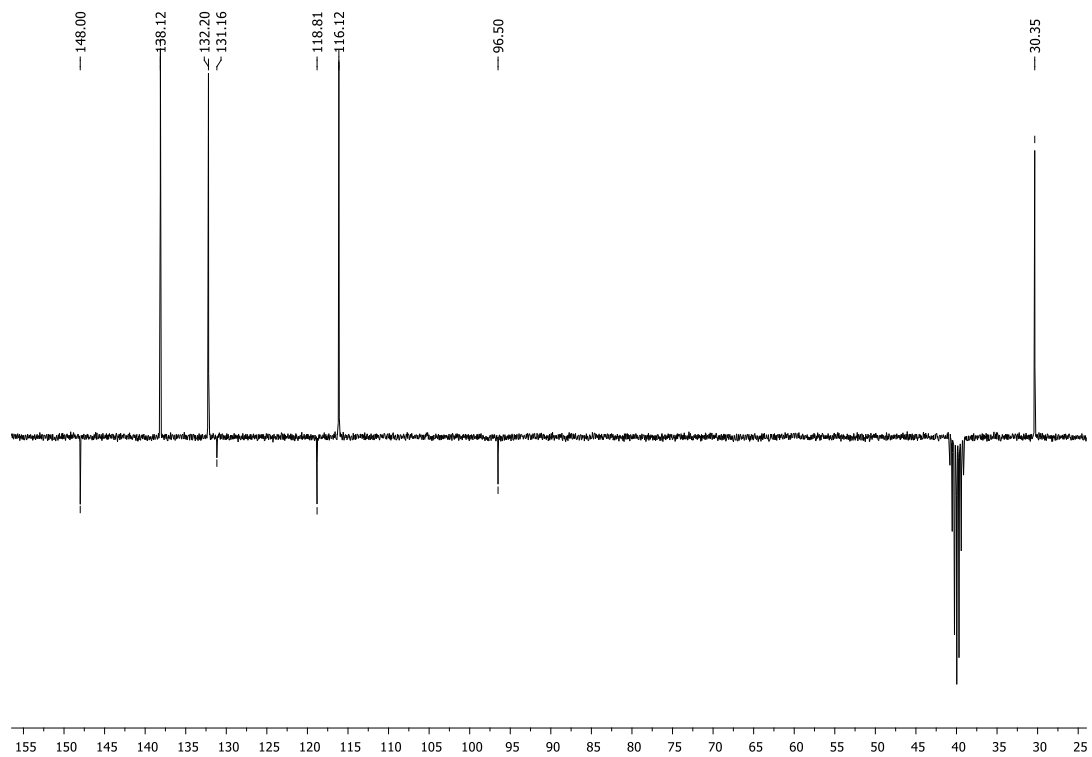
22. I. Filipović, S. Lipanović, *Opća i anorganska kemija*, Školska knjiga, 1985., Zagreb, 121-122.
23. https://www.phy.uniri.hr/files/nastava/stranice_kolegija/fizicki_praktikum_IV_ECTS_6/8%20Spektroskopija.pdf
24. https://www.academia.edu/7286315/Seminarski_rad_Spektroskopija?ends_sutd_reg_path=true
25. https://www.fkit.unizg.hr/_download/repository/Odredjivanje_struktura_organskih_spojeva_nastavni_tekst.pdf
26. D.C. Haris, *Quantitative Chemical Analysis*, Fifth Edition, W.H. Freeman and Company, New York, 1998.
27. http://free-zg.t-com.hr/Svjetlana_Luterotti/06/061.htm
28. M. Hranjec, K. Starčević, S. Kraljević Pavelić, P. Lučin, K. Pavelić, G. Karminski-Zamola, *Eur. J. Med. Chem.* **46** (2011) 2274-2279.
29. N. Perin, R. Nhili, K. Ester, W. Laine, G. Karminski-Zamola, M. Kralj, M. H. David-Cordonnier, M. Hranjec, *Eur. J. Med. Chem.* **80** (2014) 218-227.
30. N. Perin, R. Nhili, M. Cindrić, B. Bertoša, D. Vušak, I. Martin-Kleiner, W. Laine, G. Karminski-Zamola, M. Kralj, M. H. David-Cordonnier, M. Hranjec, *Eur. J. Med. Chem.* **122** (2016) 530-545.
31. E. Horak, P. Kassal, M. Hranjec, I. Murković Steinberg, *Sens. Actuator B-Chem.* **258** (2018) 415-423.
32. E. Horak, R. Vianello, M. Hranjec, S. Krištafor, G. Karminski Zamola, I. Murković Steinberg, *Spectrochim. Acta A, Mol. Biomol. Spectros.* **178** (2017) 225-233.

7. PRILOZI

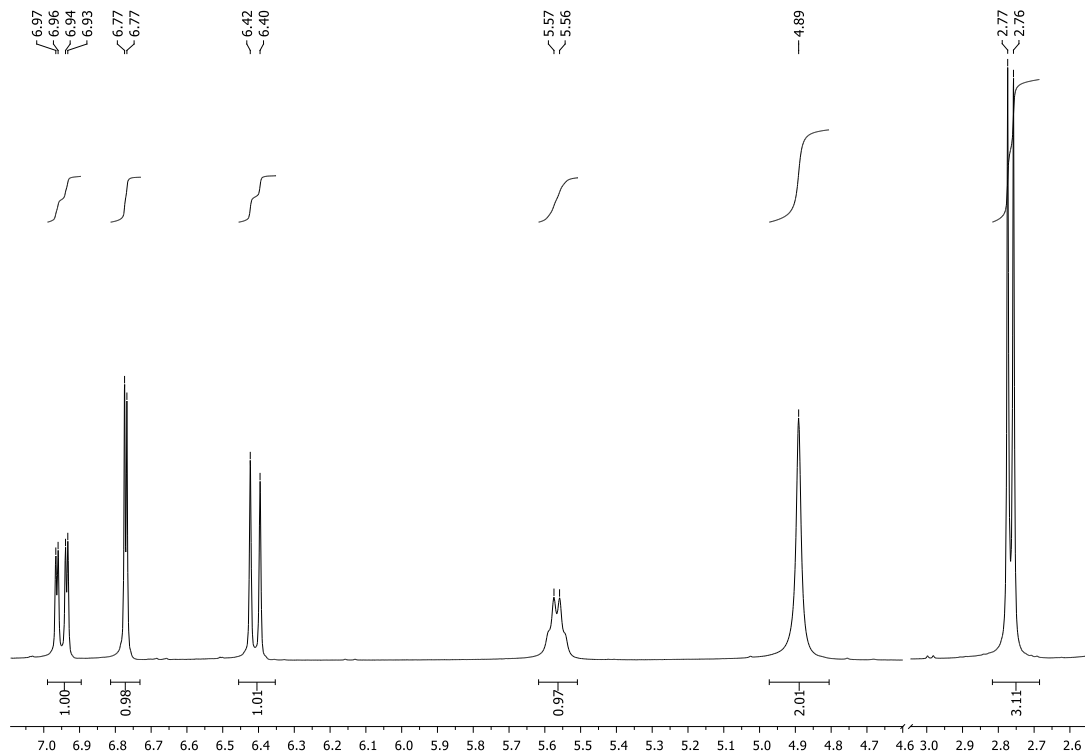
Prilog 1. ^1H NMR spektar 4-(*N*-metilamino)-3-nitrobenzonitrila 2



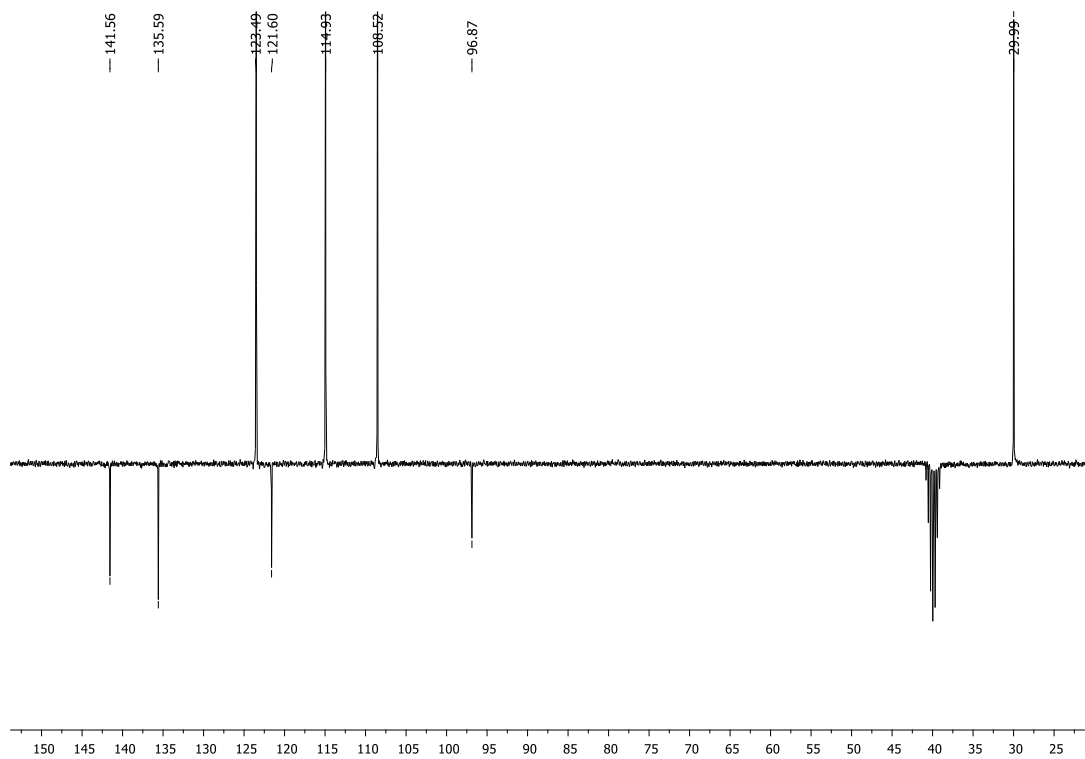
Prilog 2. ^{13}C NMR spektar 4-(*N*-metilamino)-3-nitrobenzonitrila 2



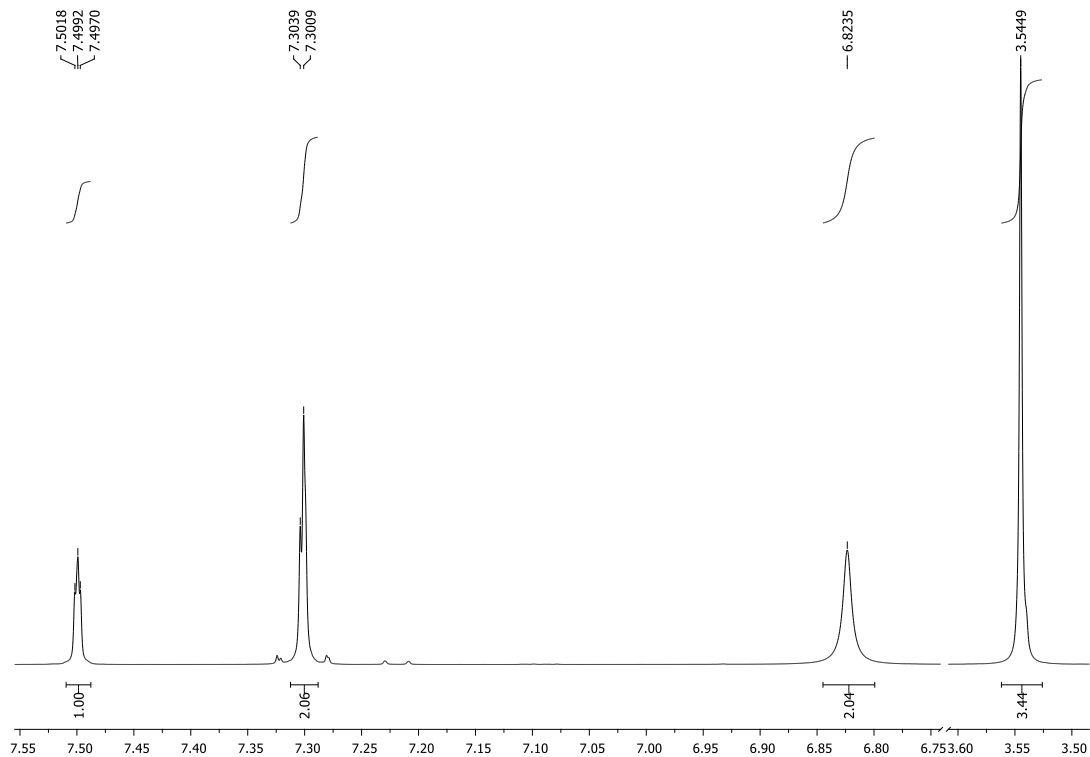
Prilog 3. ^1H NMR spektar 3-amino-4-(*N*-metilamino)benzonitrila **3**



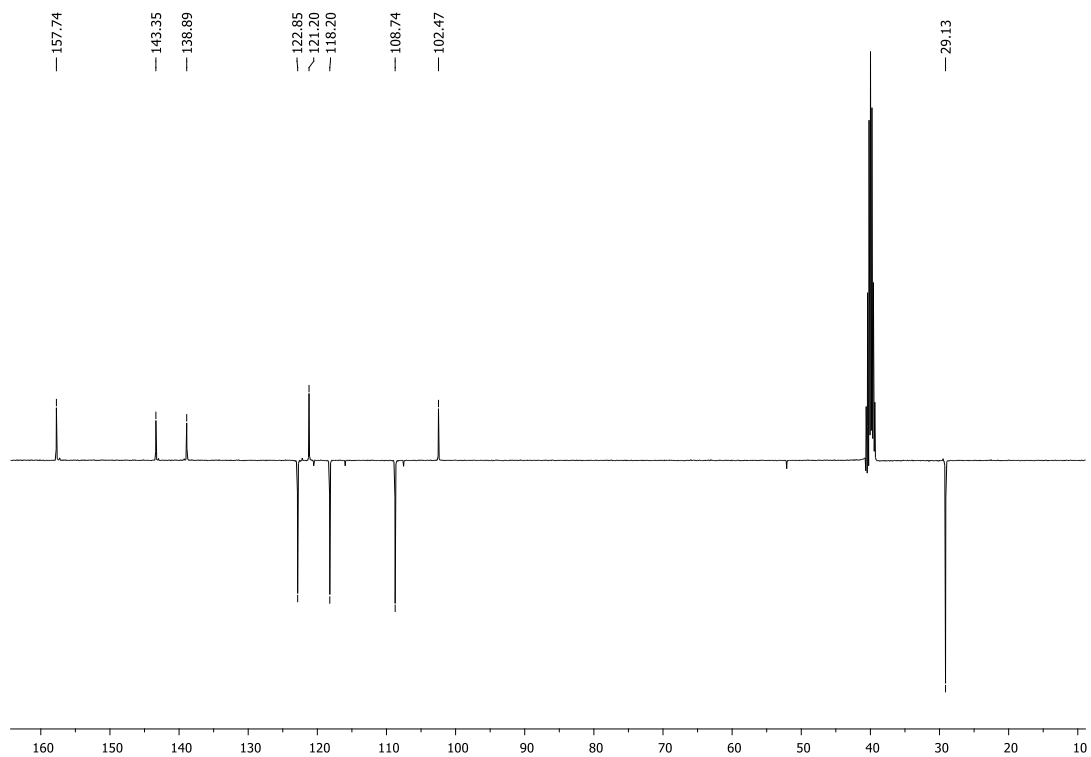
Prilog 4. ^{13}C NMR spektar 3-amino-4-(*N*-metilamino)benzonitrila **3**



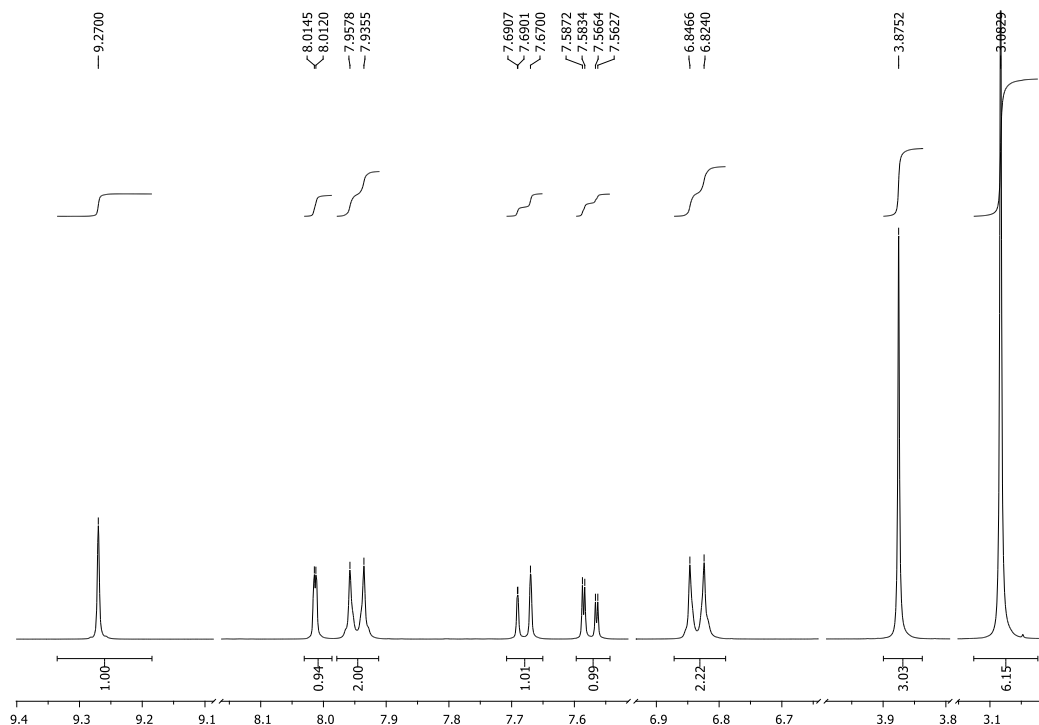
Prilog 5. ^1H NMR 2-amino-5-cijano-*N*-metilbenzimidazola **4**



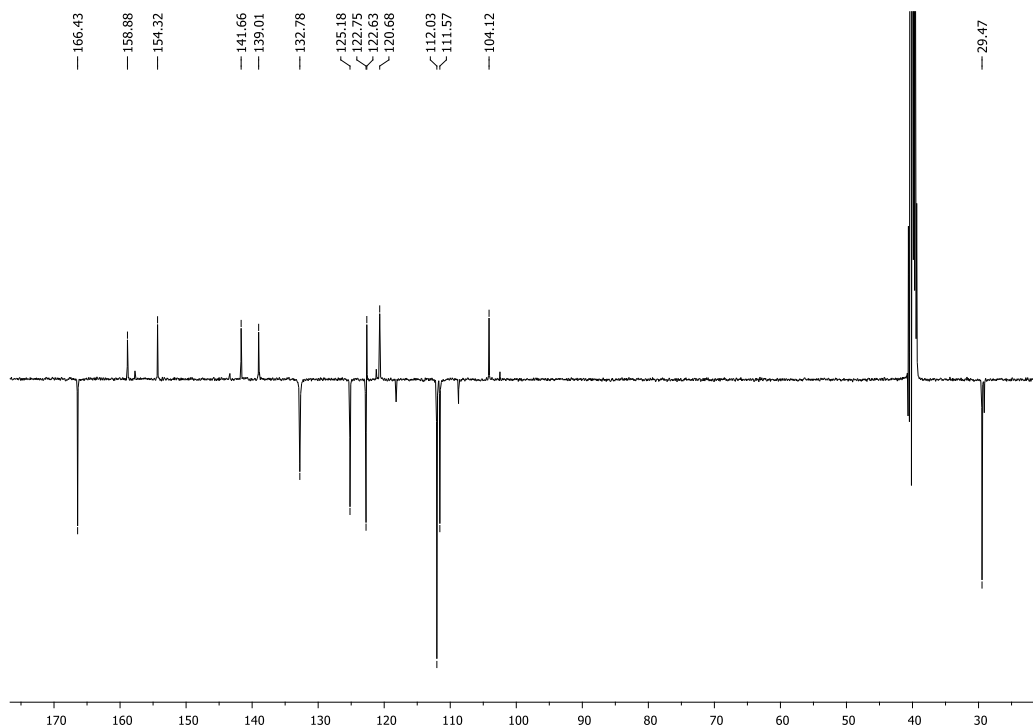
Prilog 6. ^{13}C NMR 2-amino-5-cijano-*N*-metilbenzimidazola **4**



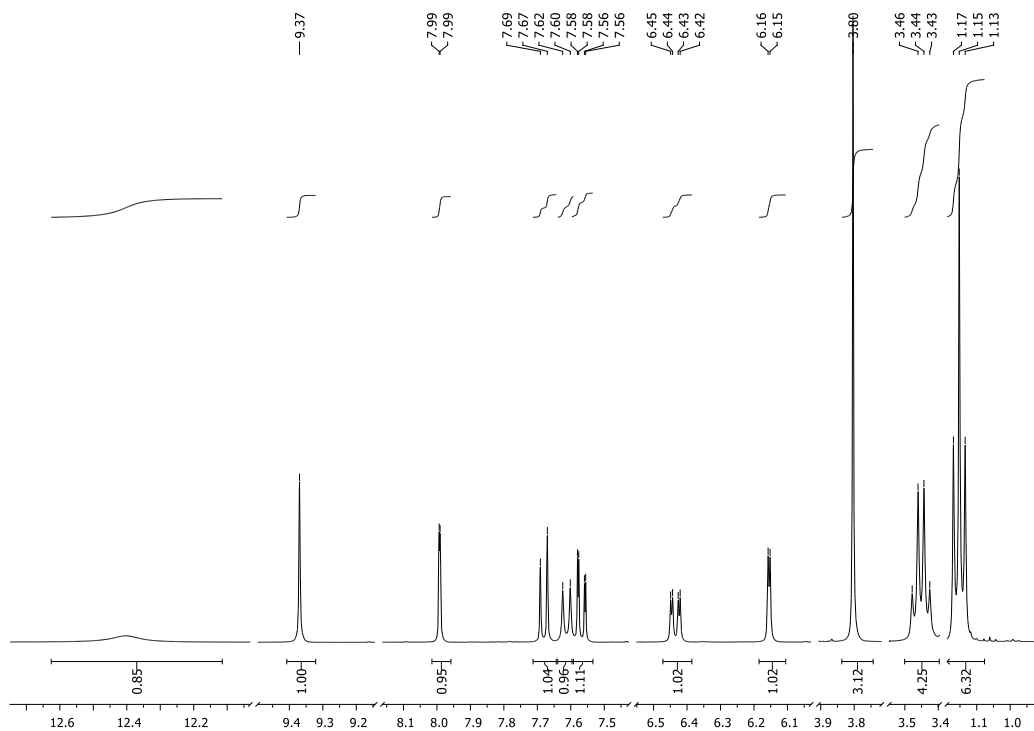
Prilog 7. ^1H NMR spektar E-2-[(4-(N,N-dimetilamino)benzilidin)amino]-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-karbonitrila **9**



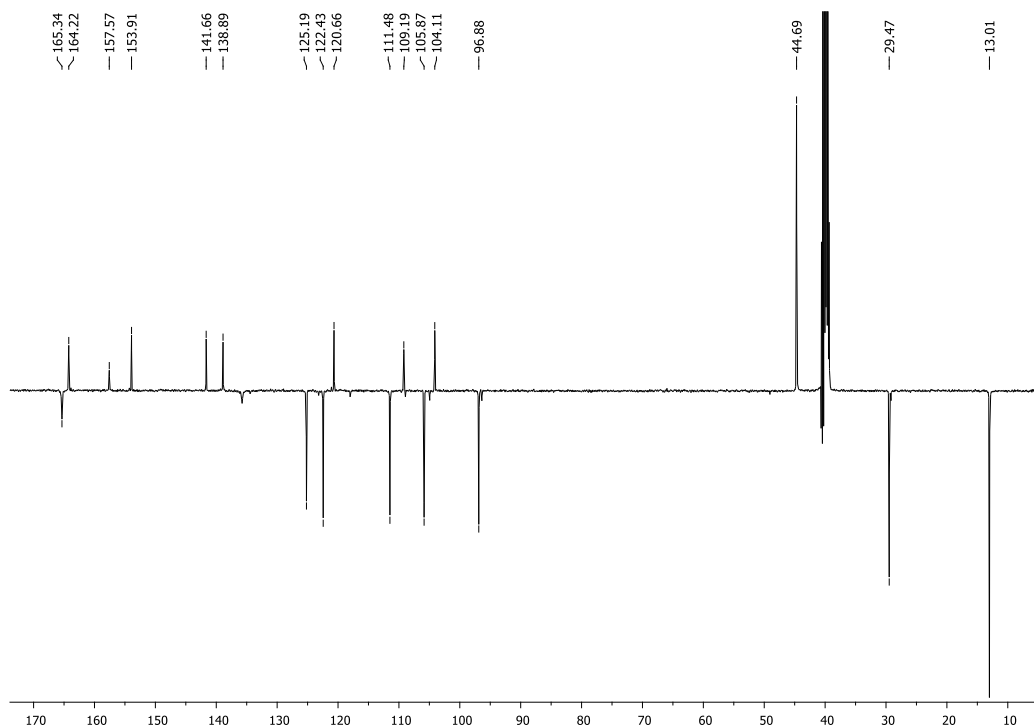
Prilog 8. ^{13}C NMR spektar E-2-[(4-(N,N-dimetilamino)benzilidin)amino]-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-karbonitrila **9**



Prilog 9. ^1H NMR spektar *E*-2-[(4-(*N,N*-dietilamino)benzilidin)amino]-1-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-karbonitrila **10**



Prilog 10. ^{13}C NMR spektar *E*-2-[(4-(*N,N*-dietilamino)benzilidin)amino]-1-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-karbonitrila **10**



8. ŽIVOTOPIS

Marija Ćurić [REDACTED] Od 2003. do 2011. godine pohađala je osnovnu školu u OŠ Dragutina Kušlana u Zagrebu, a zatim upisala srednju školu Zdravstveno učilište Zagreb, smjer Farmaceutski tehničar. Srednju školu završila je 2015. godine nakon čega je upisala Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, smjer Kemijsko inženjerstvo. Tijekom studija odradila je stručnu praksu u Pliva Hrvatska d.o.o.