

Spektroskopska ispitivanja novih fluorescentnih probi temeljenih na benzimidazolu za određivanje pH i metalnih iona

Dorogi, Leo

Master's thesis / Diplomski rad

2017

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:149:120424>

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 DIPLOMSKI STUDIJ

Leo Dorogi

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Leo Dorogi

SPEKTROSKOPSKA ISPITIVANJA NOVIH FLUORESCENTNIH PROBA
TEMELJENIH NA BENZIMIDAZOLU ZA ODREĐIVANJE pH I
METALNIH IONA

DIPLOMSKI RAD

Voditelj rada: doc. dr. sc. Svjetlana Krištafor

Članovi ispitnog povjerenstva: doc. dr. sc. Svjetlana Krištafor
dr. sc. Ema Horak, asistent
izv. prof. dr. sc. Marijana Hranjec

Zagreb, rujan 2017.

Ovaj rad je izrađen u sklopu projekta Hrvatske zaklade za znanost (HrZZ) pod nazivom „*Design and Synthesis of Novel Nitrogen-Containing Heterocyclic Fluorophores and Fluorescent Nanomaterials for pH and Metal-Ion Sensing*“ (projekt HRZZ-3386, iNFiNiTE-SENS).

Zahvaljujem svojoj mentorici dr. sc. Svjetlani Krištafor na vodstvu i odabiru teme diplomskog rada. Srdačno zahvaljujem mag. appl. chem. Kristini Bobanović, na strpljenju i nesebičnoj pomoći, te brojnim uputama i savjetima prilikom pisanja i izrade diplomskog rada. Također, zahvaljujem i ostalim djelatnicima Zavoda za opću i anorgansku kemiju.

Osim toga, zahvaljujem svojim roditeljima i sestri, kolegama i prijateljima koji su bili iznimna podrška tijekom mog studija.

SAŽETAK

Cilj ovog rada je predstavljanje derivata benzimidazola kao kemijskih senzora i klik kemije kao jednostavne, brze i pouzdane metode sinteze organskih spojeva. Osim toga u okviru rada provedena je sinteza i optička karakterizacija novog potencijalnog kemijskog senzora temeljenog na benzimidazolu sa 1,2,3-triazolnom poveznicom.

Sinteza spoja **5** uspješno je provedena klik reakcijom terminalnog alkina i odgovarajućeg azida u jednom stupnju. Pripravljenom spoju ispitane su spektroskopske karakteristike UV/Vis apsorpcijskom i fluorescencijskom emisijskom spektroskopijom u otapalima različite polarnosti. Da bi se ispitala mogućnost korištenja novo pripremljenog spoja kao pH senzora, provedena su spektroskopska ispitivanja u otopinama univerzalnog pufera u rasponu pH od 1 do 13. Ispitan je i utjecaj različitih metalnih iona na spektroskopske karakteristike spoja **5**.

Sintetizirani spoj **5** potencijalni je pH senzor u području pH od 6 – 9, osim toga spoj reagira sa svim ispitivanim metalima te stoga nije potencijalni senzor za ione metala.

Ključne riječi: 1,2,3-triazol, benzimidazol, kemijski optički senzor, fluorescencija, klik kemija

SUMMARY

Aim of this work is to present benzimidazole derivatives as chemical sensors and click chemistry as simple, fast and reliable method of organic synthesis.

The synthesis and optical characterisation of new potential chemical sensor based on benzimidazole with 1,2,3-triazole link is also presented. Synthesis of compound **5** was successfully carried out by click reaction between terminal alkyne and azide in one step. Synthesised compound has been characterised by UV/Vis absorption and fluorescence emission spectroscopy in solutions with different polarity. To test the use of the new compound as pH sensor, it was tested in solutions of universal buffer in pH range of 1 – 13. The compound was also tested in solutions of different metal ions.

Compound **5** was proven to be a potential sensor for pH in range of 6 – 9, besides that compound **5** interacts with all tested metal ions and therefore is not a potential sensor for metal ions.

Keywords: 1,2,3-triazole, benzimidazole, optical chemical sensor, fluorescence, click chemistry

SADRŽAJ

1. Uvod	1
2. Opći dio	3
2.1. Benzimidazoli i njihovi derivati	4
2.2. Klik kemija	4
2.2.1. Bakrom(I) katalizirana Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija	5
2.3. 1,2,3-triazoli	7
2.4. Kemijski senzori	8
2.4.1. Optički kemijski senzori	9
2.5. Spektroskopske metode u ispitivanju optičkih kemijskih senzora	10
2.5.1. UV-Vis spektroskopija	10
2.5.2. Fluorescentna spektroskopija	11
2.6. Fluorescentni senzori temeljeni na benzimidazolu i triazolu	11
3. Eksperimentalni dio	16
3.1. Opće napomene	17
3.2. Korišteni materijali	17
3.3. Instrumenti	18
3.4. Sinteza spoja	18
3.5. Priprava otopina	20
3.6. Mjerenja	20
3.6.1. Utjecaj promjene pH	21
3.6.2. Utjecaj otapala	21
3.6.3. Utjecaj metalnih iona	22
4. Rezultati i rasprava	24
4.1. Sinteza spoja	25
4.2. Analiza H ¹ NMR spektra	25
4.3. Spektrofotometrijska karakterizacija spoja u otopini	26
4.3.1. Fotofizička karakterizacija ispitivanog spoja	26
4.3.2. Utjecaj promjene pH vrijednosti na apsorpcijske i emisijske spektre	28
4.3.3. Otopine različitih metalnih iona	31
4.3.3.1. Utjecaj iona željeza na fotofizička svojstva spoja 5	31
4.3.3.2. Utjecaj iona kobalta na fotofizička svojstva spoja 5	32

4.3.3.3. Utjecaj iona srebra na fotofizička svojstva spoja 5.....	33
4.3.3.4. Utjecaj iona bakra na fotofizička svojstva spoja 5.....	33
4.3.3.5. Utjecaj iona žive na fotofizička svojstva spoja 5.....	34
4.3.3.6. Utjecaj iona litija na fotofizička svojstva spoja 5.....	35
4.3.3.7. Utjecaj iona olova na fotofizička svojstva spoja 5.....	36
4.3.3.8. Utjecaj iona kositra na fotofizička svojstva spoja 5.....	37
4.3.3.9. Utjecaj iona cinka na fotofizička svojstva spoja 5.....	38
5. Zaključak.....	40
6. Literatura	42
7. Životopis	45
8. Prilozi.....	47

1. Uvod

Utjecaj čovjeka na okoliš doveo je do povećanja koncentracije raznih metala i zagađivala u okolišu. Narušavanjem ravnoteže promjenom koncentracije metala u prirodi dolazi do štetnih utjecaja na živi svijet koji nas okružuje. Širenjem svijesti o utjecaju metala i pH na okoliš nastala je potreba za njihovu detekciju i kvantifikaciju u različitim sustavima. Najpogodniji način za detekciju tvari u okolišu su kemijski optički senzori, stoga nije čudo da se to područje ubrzano razvija.

Optički kemijski senzori su tvari koje selektivno ili specifično vežu ione čime im se mijenjaju lako mjerljiva optička svojstva.

Benzimidazoli i triazoli su odavna poznati po njihovom svojstvu da vežu metalne i vodikove ione u svoju strukturu čime im se mijenjaju optička svojstva. Ta svojstva, uz kemijsku stabilnost i jednostavnu sintezu njihovih derivata pogoduju razvoju optičkih kemijskih senzora koji se temelje na benzimidazolu i triazolu.

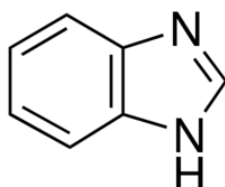
U ovom radu predstavljena je jedna od najboljih metoda sinteze kemijskih senzora i način kako se oni mogu optički karakterizirati te kratak pregled već sintetiziranih i okarakteriziranih senzora temeljenih na benzimidazolu i triazolu. Uz pregled literature predstavljena je sinteza i optička karakterizacija potencijalnog kemijskog senzora za pH.

2. Opći dio

2.1. Benzimidazoli i njihovi derivati

Benzimidazol je heterociklička aromatska molekula sastavljena od benzenske jezgre fuzionirane sa imidazolnim prstenom. Benzimidazoli se uobičajeno koriste za molekularno prepoznavanje kationa, aniona kao i neutralnih molekula zbog svojih fluorescentnih svojstava koja proizlaze iz elektron donorskih svojstava atoma dušika i iz π -konjugiranih veza benzenskog dijela molekule. Benzimidazolni prsten sadrži i kiseli atom vodika NH skupine čija je kiselost povećana elektron donorskim djelovanjem benzenskog dijela molekule. Stoga se može očekivati promjena svojstava derivata koji sadrži benzimidazolni prsten ovisno o pH sustava. [1]

Kako bi se povećala reaktivnost derivata benzimidazola na prsten se često supstituiraju reaktivne skupine, poput halogena, azida ili OH skupina. Derivati benzimidazola često se koriste u medicini i farmaciji kao antibiotici, antivirolici, antidiabetici i antitumorski agensi. Struktura benzimidazola slična je strukturi purinske baze zbog čega je osobito zanimljiva farmaceutima pri izradi novih lijekova. [2]



Slika 1. Benzimidazolni prsten

2.2. Klik kemija

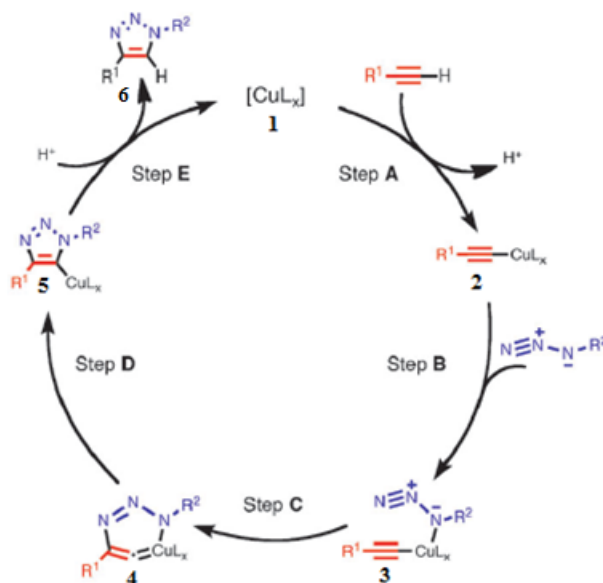
Pojam “klik kemija” uveli su 2001. godine Sharpless, Kolb i Finn, a on uključuje niz kemijskih reakcija u kojima dolazi do brzog i pouzdanog nastajanja kemijske veze između ugljikovih atoma i heteroatoma. Tako produkti nastaju spajanjem više manjih jedinica i molekula. [3]

Da bi reakcija bila “klik” reakcija mora imati neškodljive i lako uklonjive nusprodukte, blage reakcijske uvjete, mora biti stereospecifična, neosjetljiva na vodu i kisik, mora upotrebljavati pristupačne reagense i ekološki prihvatljiva otapala te mora nastajati stabilni produkt u velikom iskorištenju uz korištenje jednostavnih tehnika za izolaciju (primjerice kristalizacija i filtracija). [4] Od mnogih vrsta reakcija koje odgovaraju navedenim uvjetima najčešća je Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija azida i terminalnog alkina kojom nastaje 1,2,3 triazol.

2.2.1. Bakrom(I) katalizirana Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija

Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija je egzotermna reakcija, ali ima relativno visoku energiju aktivacije. Zato su potrebne visoke temperature za odvijanje nekatalizirane reakcije. Kao nekatalizirana reakcija Huisgenova 1,3-cikloadicija ne spada u klik reakcije, no korištenjem katalizatora kao što je bakar(I) reakcija se može odvijati na sobnoj temperaturi. Osim toga, korištenjem bakra(I) kao katalizatora reakcija se ubrzava do 10^7 puta. Reakcijom nastaju termički i oksidativno stabilni regioselektivni 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazoli.

Mehanizam CuAAC reakcije prikazan je na **slici 2**. Alkin se u prvom stupnju veže na Cu(I), izdvaje se jedan ligand te nastaje bakrov acetilid **2**. U drugom stupnju, azid zamjenjuje jedan od liganada i bakrov kompleks veže dušik vezan na supstituent R stvarajući intermedijer **3**. Terminalni dušik u intermedijeru **3** se veže na C-2 položaj acetilida pri čemu nastaje šesteročlani Cu(III) kompleks **4**. Konačni produkt **6** nastaje nakon preuređivanja kompleksa **4** i proteolize peteročlanog prstena **5**. [5]

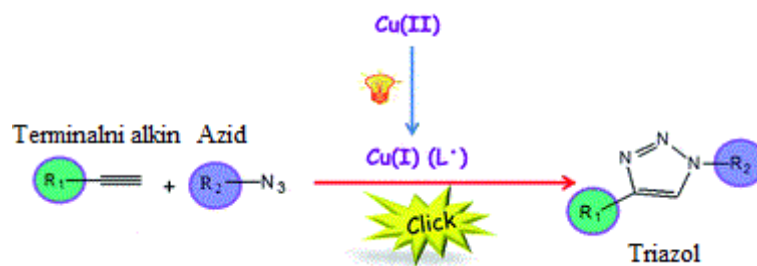


Slika 2. Mehanizam CuAAC reakcije, [5]

Prilikom izvođenja bakrom(I) katalizirane Huisgenove 1,3-dipolarne cikloadicije važan je pogodan odabir izvora bakrovih(I) iona. Kao izvor bakrovih(I) iona najčešće se upotrebljavaju bakrove(I) soli (primjerice CuI ili CuBr) ili bakrovi(I) kompleksi kao što su $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_3]\text{Br}$ ili $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$. Bakrovi(I) ioni su nestabilni u oksidativnim uvjetima pa se moraju stabilizirati ligandima. Najčešće korišteni ligandi za Huisgenovu 1,3-dipolarnu cikloadiciju su TBTA (tris[(1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil] amin), THPTA (tris(hidroksipropil - triazolilmetil) amin), BTTES (2-[4-{(bis(1-*tert*-utiltriazolil) metil] amino) metil}-triazolil]etil hidrogen sulfat), BTAA (2-[4-{(bis(1-*tert*-butiltriazolil) methyl] amino) methyl}-triazolil] octena kiselina), [25] tris(2-aminometil) amin, $[\text{PdCl}_2(\text{PhCN})_2]$ i slični kompleksi paladija, te kompleksi bakra koji zamjenjuju druge izvore bakra primjerice $\text{Cu}(\text{P}(\text{OMe})_3)_3\text{Br}$ i $\text{Cu}(\text{PPh}_3)_3\text{Br}$ te batofenantrolin i PMEDTA (*N*1-(2-(dimetilamino) etil)-*N*1,*N*2,*N*2-trimetiletan-1,2-diamin), koji se koriste u sintezi polimera. [3] [24]

Osim bakrovih(I) soli kao izvor bakrovih(I) iona se može koristiti i bakrove(II) soli (primjerice CuSO_4) uz korištenje natrijevog askorbata kao redukcijskog sredstva. Također je moguća upotreba bakrove žice ili praha te nanočestica bakra kao katalizatora.

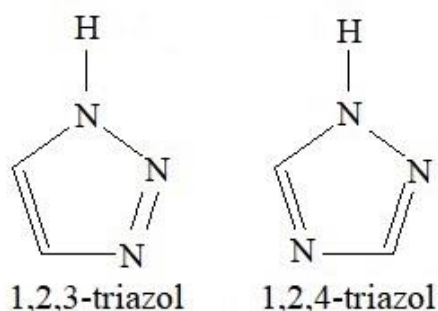
Kao otapala mogu se koristiti toluen, 1,4-dioksan, CHCl_3 , CH_2Cl_2 , THF, DMF, CH_3CN , DMSO, NMP, *t*BuOH, EtOH, MeOH te voda u kombinaciji sa *t*-BuOH ili EtOH. [3]



Slika 2. Pojednostavljena reakcijska shema bakrom kataliziranih klik reakcija [6]

2.3. 1,2,3-triazoli

Triazoli su heterocikličke aromatske molekule sa tri atoma dušika u prstenu. Pojavljuju se u dva oblika: 1,2,3-triazoli i 1,2,4-triazoli. 1,2,3-triazolni prsten ili privlači pažnju znanstvenika zato što je kemijski, oksidativno i hidrolitički stabilan, posjeduje snažan dipolni moment i mogućnost vezanja vodikovom vezom na atomima dušika u položaju 2 i 3, te na vodikovom atomu u položaju 5. Ta svojstva omogućuju spojevima koji sadrže triazolni prsten da budu stabilni u i biološkim sustavima. 1,2,3-triazolni prsten u molekulama može imati ulogu poveznice dijelova makromolekula, a može i koordinirati metalne ione te vezati različite anione zahvaljujući ion – dipolnim interakcijama. Osim toga 1,2,3-triazolni prsten pospješuje razdvajanje naboja u makromolekulama, pa se stoga koriste i u dizajnu konjugiranih materijala i kemijskih senzora. [6], [7]



Slika 3. 1,2,3-triazol i 1,2,4-triazol

2.4. Kemijski senzori

Senzori su uređaji koji pretvaraju mjerenu fizičku u neku drugu veličinu koja se lako obrađuje (primjerice električni signal ili apsorbanciju). Kemijski senzori pretvaraju kemijski signal (koncentraciju analita) u mjerljivu i lako obradiv fizički signal. [8]

Kako bi kemijski senzori bili pogodni za korištenje moraju biti selektivni (moraju reagirati na mali broj analita), osjetljivi (za malu promjenu koncentracije moraju pokazati mjerljivu promjenu mjerene veličine), reverzibilni (kako bi se mogli upotrijebiti više puta), pouzdani (moraju davati točne rezultate bez obzira na uvjete u sustavu) i moraju omogućavati kontinuirana i reverzibilna mjerenja. [8]

Kemijske senzore možemo podijeliti s obzirom na mjerenu veličinu na:

1. Elektrokemijske – pretvaraju signal elektrokemijske interakcije analita sa elektrodom u mjerljiv signal. Mogu se podijeliti na:

- a) Voltometrijske i amperometrijske senzore
- b) Potenciometrijske senzore
- c) Kemijski senzibilizirane tranzistore emisije polja (CHEMFET)
- d) Potenciometrijske senzore za plin

2. Električne – temeljene na mjerenjima koja ne proizlaze iz elektrokemijskih interakcija nego iz električnih promjena zbog interakcija sa analitom. Dije se na:

- a) Metal oksidne poluvodičke senzore
- b) Organske poluvodičke senzore
- c) Senzore provodnosti elektrolita
- d) Senzore električne permeabilnosti

3. Senzori osjetljivi na promjenu mase – koriste modificirane površine osjetljive na promjene mase. Dije se na:

- a) Piezoelektrične
- b) Senzore koji mjere zvučne valove na površini

4. Senzori koji mjere promjenu magnetskog polja – najčešće se koriste za detekciju plinova (primjerice kisika)

5. Termometrijske – senzori osjetljivi na promjenu temperature uzrokovane kemijskom reakcijom između analita i senzorne molekule

6. Optičke – senzori osjetljivi na promjenu optičkih svojstava promatranog sustava. Dijele se temeljeno na mjerenoj svojstvu na:

- a) Fluorescencijske senzore
- b) Apsorbancijske senzore
- c) Refraktancijske senzore
- d) Luminiscencijske senzore
- e) Senzore koji mjere raspršenje svjetla
- f) Senzori koji mjere indeks refrakcije
- g) Senzori koji mjere optotermalni efekt

7. Senzori koji mjere ostala fizikalna svojstva – poput zračenja, zvučnih valova, i dr. [9]

2.4.1. Optički kemijski senzori

Optički kemijski senzori su senzori bazirani na interakciji elektromagnetskog zračenja sa analitom. Oni mjere refrakciju, apsorpciju, difrakciju, luminiscenciju, fosforescenciju i slično.

Optički kemijski senzori osobito su zanimljivi kemičarima diljem svijeta jer se informacija o traženom analitu može dobiti brzo, točno, na licu mjesta i sa minimalnom promjenom ispitivanog uzorka. Stoga ne čudi da je to polje istraživanja veoma popularno zadnjih godina.

Najzanimljiviji optički kemijski senzori su ion-selektivni optički senzori. Oni pokazuju interakciju samo sa jednom ionskom vrstom čime omogućavaju njihovu detekciju u kompleksnim sustavima bez smetnje ostalih iona. [10],[11]

Kako bi optičke kemijske senzore mogli koristiti za detekciju traženog svojstva, moramo ispitati njihova svojstva, a to se najčešće radi spektroskopskim metodama.

2.5. Spektroskopske metode u ispitivanju optičkih kemijskih senzora

Spektroskopija je grana znanosti koja se bavi interakcijom elektromagnetskog zračenja sa materijom. U povijesti spektroskopija se bavila samo vidljivim dijelom spektra, no razvojem znanosti spektroskopija se počela baviti promatranjem cijelog spektra elektromagnetskog zračenja. Elektromagnetsko zračenje podrazumijeva vrstu energije koja velikom brzinom prolazi prostorom. Spektroskopske metode se često koriste u kvantitativnoj i kvalitativnoj analizi tvari jer slijede *Beerov* zakon. U spektroskopske metode spadaju fluorescencijska spektroskopija, UV-Vis spektroskopija, NMR-spektroskopija i mnoge druge. [12]

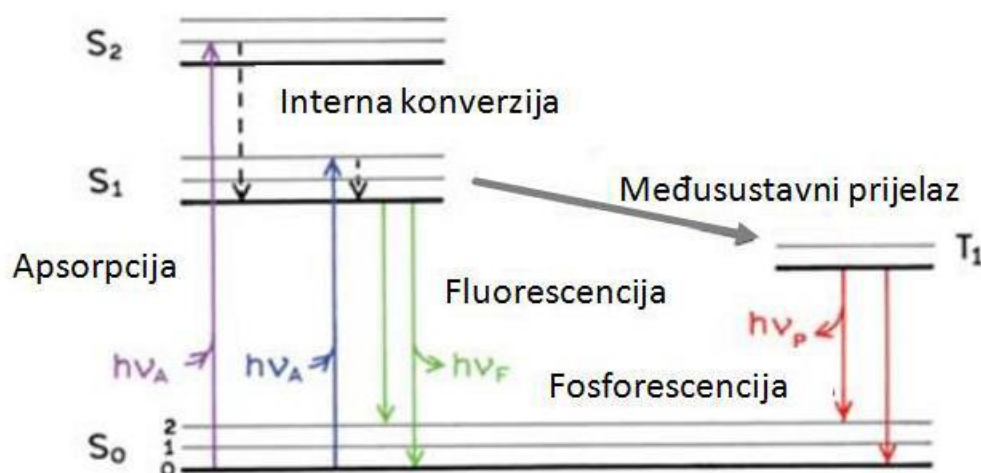
Za ispitivanje svojstava optičkih kemijskih senzora, te u ovom radu za ispitivanje svojstava sintetiziranog potencijalnog kemijskog senzora korištene su UV-Vis i fluorescencijska spektroskopija.

2.5.1. UV-Vis spektroskopija

UV-Vis spektrometrija bavi se promatranjem interakcije elektromagnetskog zračenja koje pripada UV (engl. *ultraviolet*, odnosno ultraljubičastom) dijelu spektra (valne duljine od 10 nm do 380 nm) i vidljivom dijelu spektra (valne duljine od 380 nm do 760 nm). UV-Vis spektrometrija je apsorpcijska spektrometrija, najčešće se primjenjuje za kvantitativno određivanje organskih i anorganskih spojeva. U UV-Vis apsorpciji organskih spojeva sudjeluju dvije vrste elektrona: zajednički elektroni koji sudjeluju u stvaranju veze i nepodijeljeni vanjski elektroni koji se nalaze uglavnom oko atoma kisika, halogenih elemenata, sumpora ili dušika. Zbog toga što su jednostruke veze između atoma veoma čvrste potrebna je visoka energija pobude elektromagnetskim zrakama (sa valnim duljinama ispod 180nm) što je tehnički nepraktično za svakodnevnu upotrebu. Stoga se uglavnom promatraju apsorpcije dvostrukih i trostrukih veza čiji je apsorpcijski maksimum u lako dostupnom ultraljubičastom i vidljivom području spektra. Te nezasićene funkcionalne skupine koje apsorbiraju u tim područjima nazivamo kromoforima. [12]

2.5.2. Fluorescentna spektroskopija

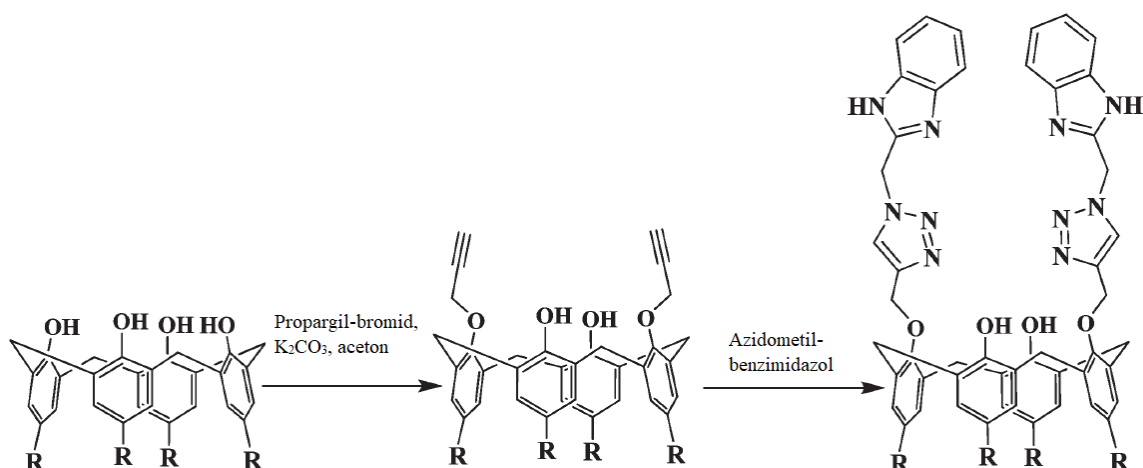
Fluorescencija je važan emisijski proces u kojemu se atomi ili molekule pobuđuju apsorpcijom snopa elektromagnetskog zračenja. Pobuđene se vrste relaksiraju u osnovno stanje otpuštanjem viška energije vibracijom ili emisijom fotona. Upravo emisija fotona je pojava fluorescencije. Valna duljina fluorescencije je veća od valne duljine apsorbiranog zračenja, a razlika između maksimuma emisije i apsorpcije naziva se Stokesovim pomakom. Molekule koje fluoresciraju su najčešće one koje sadrže aromatske prstene ili visoko konjugirane dvostruke veze. Osim toga na promjenu valne duljine fluorescencije utječu i supstituirane skupine. Promjena u fluorescenciji služi za određivanje raznih anorganskih i organskih molekula. Anorganske molekule (odnosno njihovi ioni u otopini) često kompleksiraju sa fluorescentnim molekulama čime dolazi do promjene valne duljine fluorescencije ili do pojave gašenja fluorescencije. [12]



Slika 4.: Jablonski dijagram

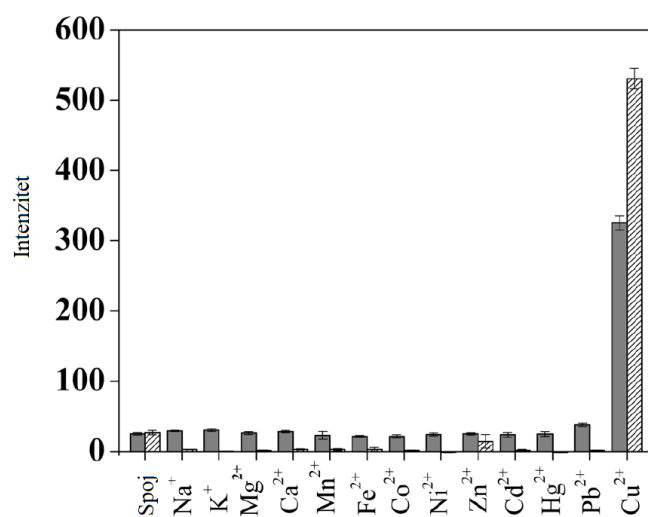
2.6. Fluorescentni senzori temeljeni na benzimidazolu i triazolu

Bakrom(I) kataliziranom klik reakcijom sintetizirani je spoj **1** temeljen na benzimidazolu i kaliks[4]arenu koji pokazuje dobru selektivnost prema ionima bakra (II).



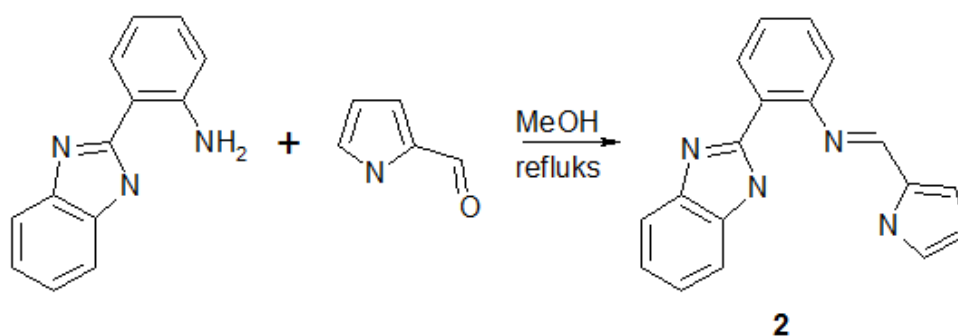
Slika 5. Sinteza spoja **1** klik reakcijom[13]

Bakar(II) u kompleksu sa sintetiziranim spojem **1** povećava fluorescenciju spoja za razliku od drugih iona metala koji ne utječu na fluorescenciju (slika 6.). Vidljivo je veliko povećanje intenziteta fluorescencije u metanolnoj otopini bakra (iscrtano) i nešto manje povećanje intenziteta u vodenoj otopini bakra (sivo). [13]



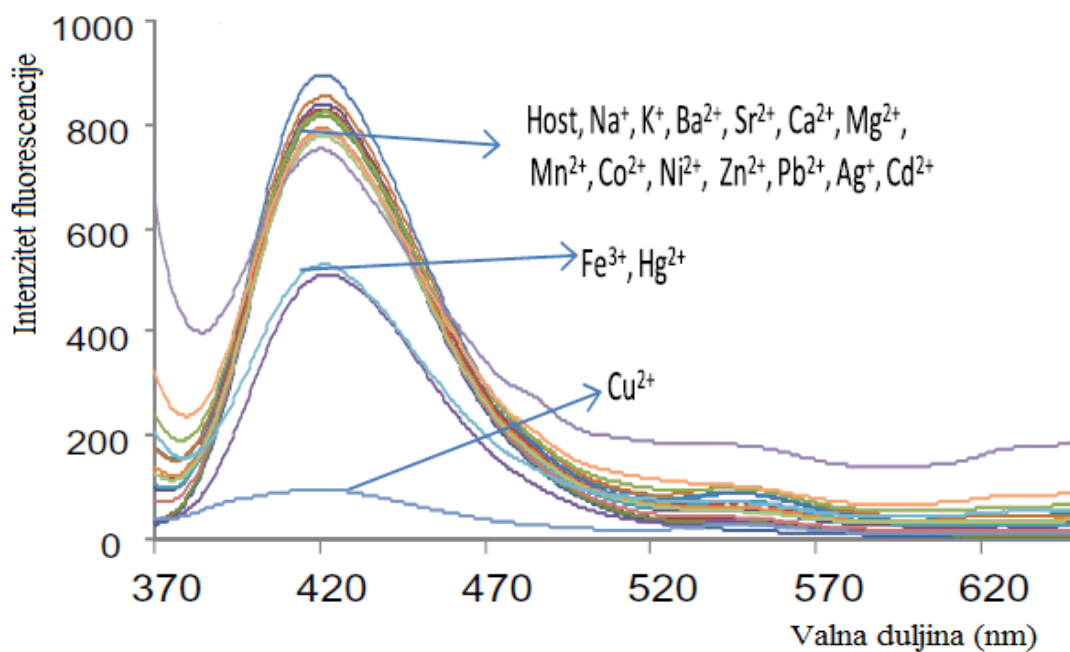
Slika 6.: Fluorescencija spoja **1** u otopinama različitih metala [13]

Spoj **2** pripravljen je reakcijom kondenzacije 2-(2-aminofenil)-benzimidazola i pirol-2-karbaldehida u metanolu (slika 5.) [14].



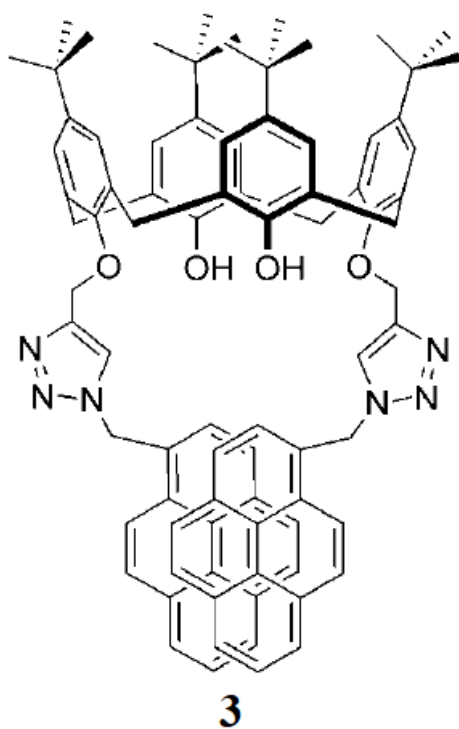
Slika 7. Sinteza spoja **2** [14].

Spoj **2** reagira sa mnogim ionima metala, no pokazuje najveće gašenje fluorescencije u otopini koja sadrži bakrove ione.

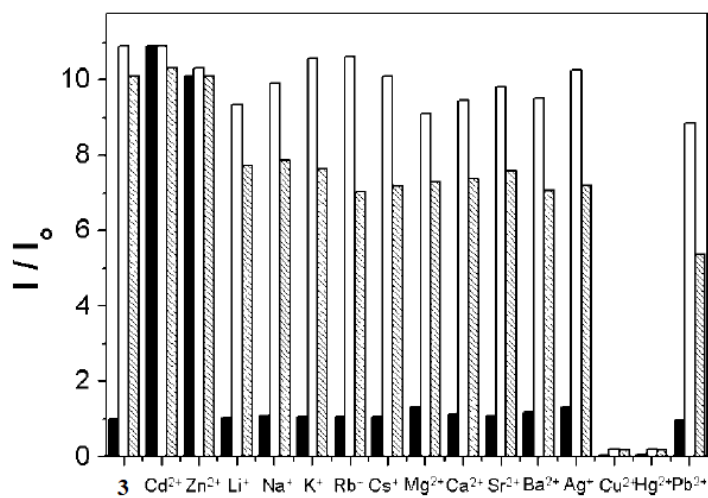


Slika 8. Prikaz gašenja fluorescencije spoja **2** u otopinama raznih iona [14].

Spoj **3** je temeljen na triazolnoj poveznici (**slika 9.**). Pokazuje selektivnost prema ionima bakra (II) i žive (**slika 10.**). [15]

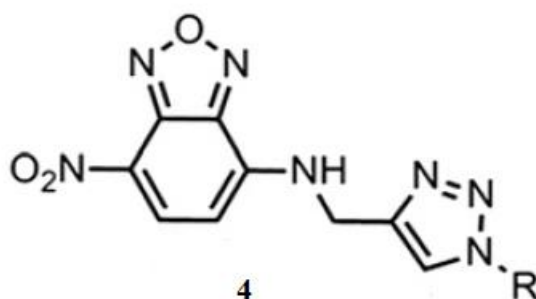


Slika 9. struktura spoja **3**, [15]

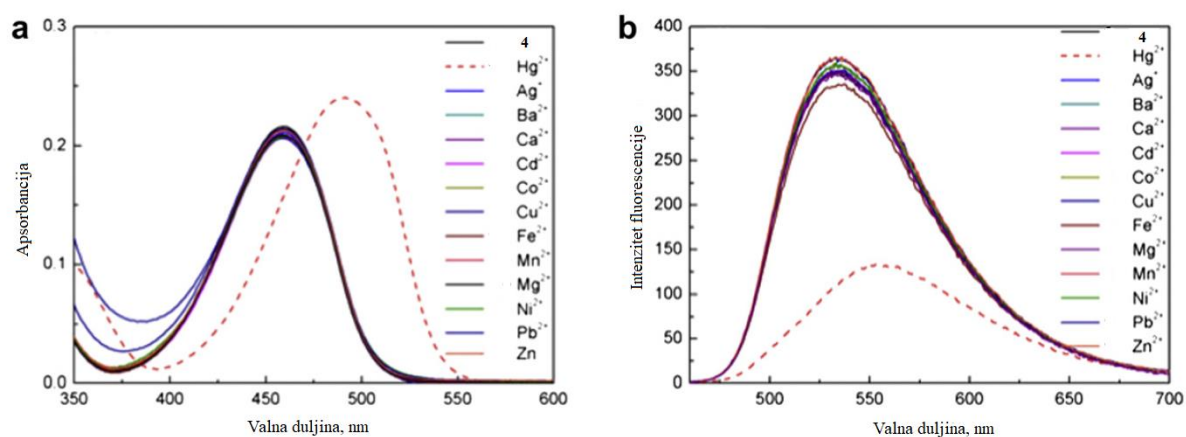


Slika 10. gašenje fluorescencije spoja **3** u otopinama iona različitih koncentracija, [15]

Spoj **4**. baziran je na triazolnoj poveznici i pokazuje selektivnost prema ionima žive.
[16]



Slika 11. Struktura spoja **4**, [16]



Slika 12. a) apsorbancija spoja **4** b) fluorescencija spoja **4** u otopinama različitih metalnih iona, [16]

3. Eksperimentalni dio

3.1. Opće napomene

Kemijske reakcije provedene su uobičajenim metodama organske sinteze. Za tankoslojnu kromatografiju (TLC) korištene su ploče prevučene slojem silikagela, a za detekciju izoliranih komponenata korištena je UV svjetlost valne duljine 254 nm. Kromatografija na koloni provedena je na silikagelu, staklene kolone punjene su pod utjecajem gravitacije, a kao eluens korištene su odgovarajuće smjese CH₂Cl₂/CH₃OH. Spektri ¹H-NMR snimljeni su na spektrometru Bruker 300 i 600 MHz. Uzorak je otopljen u DMSO i mjeran pri 298 K. Kemijski pomaci (δ) u ¹H-NMR spektrima izraženi su u ppm u odnosu prema signalu DMSO na δ 2,50 ppm za 1H. Pojedine rezonancije pridružene su na temelju kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta signala i H-H konstante sprege.

3.2. Korišteni materijali

U radu su korišteni sljedeći materijali:

2-azido-1H-benzimidazol, *Sigma Aldrich*

fenilaceten, *Acros organics*

bakrov(II) sulfat, *Acros organics*

l-askorbinska kiselina, *Acros organics*

terc-butilni alkohol, *Acros organics*

TBTA, *Acros organics*

bakrov(I) jodid, *Acros organics*

diklormetan, *T.T.T.doo*

THF, *Acros organics*

trietilenamin, *Acros organics*

3.3. Instrumenti

U radu su rabljeni sljedeći instrumenti:

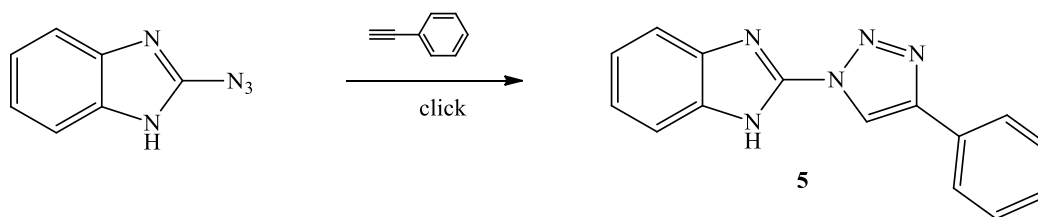
- pH metar, MA 5740, *Iskra d.d.*;
- UV-vidljivi spektrofotometar, *Cary 100 Scan*;
- UV-vidljivi spektrofluorimetar, *Cary Eclipse*.



Slika 13. a) UV-vidljivi apsorpcijski spektrofotometar; b) fluorescencijski spektrofotometar, c) pH metar *Iskra* MA 5740

3.4. Sinteza spoja

Ciljani derivat benzimidazola 2-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1*H*-benzo[d]imidazol 5 pripravljen je klik reakcijom iz odgovarajućeg azida i terminalnog alkina korištenjem dviju bakrovih soli kao katalizatori.



Slika 15. sinteza spoja 5

Priprava 2-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1*H*-benzo[d]imidazola 5

1. način:

U 3 ml THF-a dodano je 25 mg ($1,57 \times 10^{-4}$ mol) 2-azido-1*H*-benzimidazola, 15 μ l ($1,34 \times 10^{-4}$ mol) fenilacetilena, 4,75 mg ($2,494 \times 10^{-5}$ mol) CuI i 135 μ l ($9,81 \times 10^{-4}$ mol) trietilenamina, Et₃N. Reakcijska smjesa miješana je 5 dana na 50 °C. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom (TLC). Reakcijska smjesa pročišćena je kolonskom kromatografijom uz eluens diklormetan/metanol (200:1). Pokušaj sinteze spoja 5 opisanom metodom nije bio uspješan.

2. način:

25 mg ($1,57 \times 10^{-4}$ mol) 2-azido-1*H*-benzimidazola, 15 μ l ($1,34 \times 10^{-4}$ mol) fenilacetilena i 8,3 mg ($1,56 \times 10^{-5}$ mol) TBTA otopljeno je u smjesi otapala H₂O:*t*-BuOH:diklormetan = 1:2:1. U reakcijsku smjesu dodano je 12,5 mg ($6,31 \times 10^{-6}$ mol) natrij-askorbata i 10 mg ($6,27 \times 10^{-6}$ mol) CuSO₄ prethodno otopljenih u 0,3 ml vode. Reakcijska smjesa se miješala 3 dana u mraku na sobnoj temperaturi. Tijek reakcije je praćen tankoslojnom kromatografijom. Reakcijska smjesa je pročišćena kolonskom kromatografijom uz eluens diklormetan/metanol (200:1). Dobiveno je 6 mg spoja (14,63%).

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz): δ /ppm = 13,78 (šs, 1H, NH), 9,49 (s, 1H, H_{triazol}), 8,06 (d, 2H, $J=7,26$ Hz, H_{arom.}), 7,52 (t, 2H, $J=7,62$ Hz, H_{arom.}), 7,42 (t, 1H, $J=7,26$ Hz, H_{arom.}), 7,32-7,28 (m, 2H, H_{arom.}), 7,16-7,12 (m, 2H, H_{arom.})

3.5. Priprava otopina

Matična otopina napravljena je otapanjem 1 mg spoja u 3 ml DMSO. Koncentracija spoja u otopini DMSO izračunata je prema jednadžbi (1):

$$c = \frac{m}{M \cdot V} \quad (1)$$

gdje je c koncentracija spoja izražena u $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$; m masa spoja (1 mg); M molarna masa spoja izražena u $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$; a V volumen izražen u l. Koncentracije radnih otopina priređene su razrjeđivanjem matične otopine.

Otopine univerzalnog pufera različitih vrijednosti pH pripravljene su miješanjem otopine A koja se sastoji od 100 mL 0,33 M otopine citratne kiseline, 100 mL 0,39 M otopine fosforne kiseline, 343 mL 1 M otopine NaOH i 3,54 g borne kiseline. Određeni volumen otopine A i otopine B (0,1 M otopina HCl) stavlja se u odmjernu tikvicu prema jednadžbi (2), te se nadopuni do oznake deioniziranom vodom.

$$20 \text{ mL } A + x \text{ mL } B \text{ (u 100 mL)} \quad (2)$$

gdje je x (B) = volumen klorovodične kiseline (mL). [17]

Otopine metalnih soli LiCl, HgCl₂, FeCl₃, AgNO₃, CuCl₂, ZnCl₂, SnCl₂, PbCl₂ i CoCl₂ pripravljene su u etanolu. Otapanjem odvage krutina soli dobivene su otopine određene koncentracije čijim su daljnjim razrjeđenjem pripravljene radne otopine koncentracije $c = 1 \times 10^{-5}$ M i $c = 5 \times 10^{-6}$ M.

3.6. Mjerenja

Otopine spojeva **3** i **4** spektralno su okarakterizirane UV-vidljivom apsorpcijskom i fluorescencijskom spektrofotometrijom. Snimani su apsorpcijski i emisijski spektri u univerzalnim puferima i etanolnim otopinama različitih vrijednosti pH. Također je ispitan utjecaj različitih organskih otapala i metalnih iona na njihova spektralna svojstva.

Spektri su snimani pri koncentracijama u rasponu od $c = 1 \times 10^{-6}$ M do $c = 1 \times 10^{-4}$ M za apsorpcijsku i za fluorescencijsku spektrofotometriju. Željene koncentracije dobivene su

razrjeđivanjem matičnih otopina spojeva. Prije svakog snimanja spektra, snimljena je bazna linija čistog otapala.

3.6.1. Utjecaj promjene pH

Ispitivan je utjecaj pH na promjenu apsorpcijskih i fluorescentnih spektara otopine spoja **5**. Korištene su otopine univerzalnog pufera u rasponu pH od 2 do 13. Alikvot spoja **5** dodan je u otopinu pufera tako da koncentracija bude $c = 1 \times 10^{-5}$ M. Nakon 2 minute miješanja snimljeni su apsorpcijski i emisijski spektri na valnim duljinama od 200 do 800 nm u kvarcnoj kiveti optičkog puta 10 mm. Kao valna duljina pobude korištena je valna duljina maksimuma apsorpcije.

3.6.2. Utjecaj otapala

Ispitivan je utjecaj različitih otapala na apsorpcijske i emisijske spektre spoja **5**. Korištena otapala su: etil acetat, dietil-eter, aceton, etanol, metanol, voda, acetonitril, tetrahidrofuran, diklormetan i dimetilsulfoksid. Otapala su odabrana prema parametru polarnosti *ET*(30) (**Tablica 1**). Koncentracija ispitivanog spoja **5** je $c = 1 \times 10^{-5}$ M. Snimani su apsorpcijski i emisijski spektri pri valnim duljinama od 200 do 800 nm. Alikvot matične otopine spoja dodan je u kivetu s određenim otapalom te je nakon 2 minute snimljen spektar. Kao valna duljina pobude korištena je valna duljina maksimuma apsorpcije. Slitovi korišteni pri snimanju emisijskih spektara su 5-10.

Tablica 1. Otapala različite polarnosti

OTAPALO	$E_T(30)/(\text{kcalmol}^{-1})$	$E_T^N(30)$
Dietil-eter	34,5	0,117
THF	37,4	0,207
Etil acetat	38,1	0,228
Diklormetan	40,7	0,309
Aceton	42,2	0,355
DMSO	45,1	0,444
Acetonitril	45,6	0,460
Etanol	51,9	0,645
metanol	55,4	0,760
Voda	63,1	1,000

3.6.3. Utjecaj metalnih iona

Ispitivan je utjecaj različitih metalnih iona na intenzitet fluorescencije spoja **5**. Korištene su otopine metalnih soli žive, aluminija, bakra, cinka, srebra, litija, kobalta, olova, kositra i željeza. U kvarcnu kivetu, u kojoj je čisti etanol, dodavan je alikvot matične otopine spoja tako da koncentracija spoja bude $c = 1 \times 10^{-5}$ M. Radne otopine metalnih soli određenih koncentracija pripravljene su razrjeđivanjem matičnih otopina. Koncentracija metalnih iona se postepeno povećavala dodatkom novog alikvota u kivetu. Prije svakog snimanja intenziteta fluorescencije otopina se miješala 2 minute. Kao valna duljina pobude korištena je valna duljina maksimuma apsorpcije u etanolu. Bitno je naglasiti da su svi spektri snimani pri istim eksperimentalnim uvjetima (slitovi, valna duljina pobude).

Tablica 2. Volumeni metalnih soli dodvanih u kivetu sa otopinom spoja u etanolu

Dodatak Me	$c(\text{Me}) / \text{mol dm}^{-3}$	$c(\text{Me}) / c(\text{spoj})$
0	0	0
1	1×10^{-6}	1:10
2	2×10^{-6}	1:5
3	5×10^{-6}	1:2
4	1×10^{-5}	1:1
5	5×10^{-5}	5:1

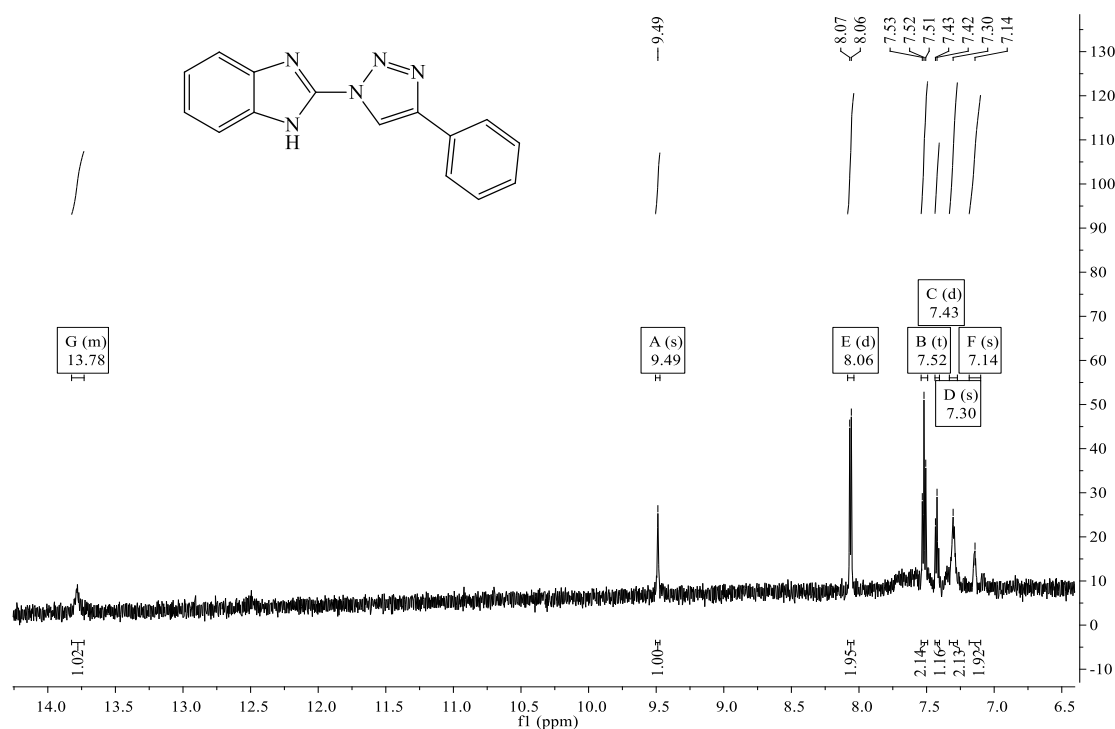
4. Rezultati i rasprava

4.1. Sinteza spoja

Spoj **5** je uspješno sintetiziran klik reakcijom u jednom stupnju u smjesu otapala H₂O:terc-butilni alkohol:diklormetan = 1:2:1 dodan je 2-azido-1*H*-benzimidazol i fenilacetilen. Kao katalizator korišteni su Cu(I) ioni pripremljeni otapanjem natrij-askorbata i CuSO₄ u 0,3ml vode. Kao stabilizator Cu(I) iona upotrebljavao se TBTA. Reakcijska smjesa se miješala 3 dana u mraku na sobnoj temperaturi nakon čega je pročišćena kolonskom kromatografijom uz eluens diklormetan/metanol (200:1). Struktura spoja potvrđena je ¹H-NMR analizom. Dobiveno je 6 mg spoja (14,63%)

4.2. Analiza H¹ NMR spektra

Za identifikaciju sintetiziranog spoja **5** snimljeni su ¹H-NMR spektri na spektrometrima tvrtke Bruker AV-600 i AV-300 na 600 odnosno 300 MHz. Uzorak je otopljen u DMSO-*d*₆ i mjereno pri 298 K. Kemijski pomaci (δ) u spektrima izraženi su u ppm (*part per million*) u odnosu prema signalu DMSO: δ 2,50 ppm za 1H, a konstante sprege (*J*) u Hz). Struktura sintetiziranog spoja **5** određena je na temelju kemijskih pomaka, veličine signala i multipliciteta spin-spin sprege između jezgara H-H.



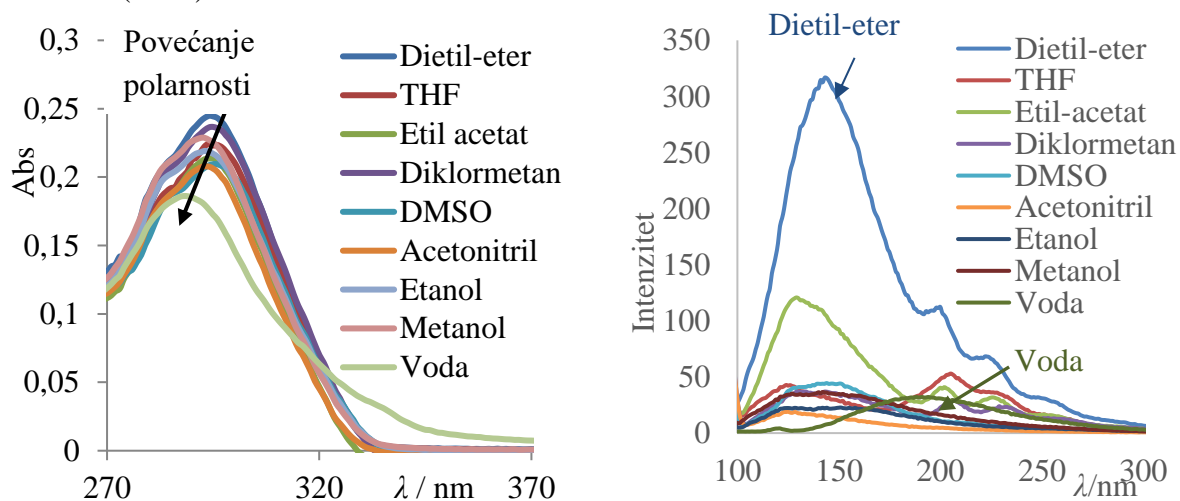
Slika 16.: ¹H-NMR spektar spoja

U $^1\text{H-NMR}$ spektru vidljiv je signal na 13,78 ppm koji odgovara protonu NH benzimidazola, singlet protona triazola na 9,49 ppm, te odgovarajući broj signala aromatskih vodika u području 8,06 – 7,14 ppm.

4.3. Spektrofotometrijska karakterizacija spoja u otopini

4.3.1. Fotofizička karakterizacija ispitivanog spoja

Matična otopina spoja pripravljena je u dimetil sulfoksidu (DMSO). Snimljeni su apsorpcijski i emisijski spektri spoja u različitim otapalima, odabranima prema parametru polarnosti (E_T30).



Slika 17.: Apсорpcijski i emisijski spektri spoja u različitim otapalima

Na **slici 17. a)** prikazan je apсорpcijski spektar spoja u različitim otapalima. Spoj u većini otapala ima maksimum apсорpcije svjetlosti pri valnoj duljini 295 nm a sa povećanjem polarnosti otapala dolazi do hipsokromnog i hipokromnog pomaka maksimuma valne duljine apсорpcije.

Na **slici 17. b)** prikazan je emisijski spektar spoja u različitim otapalima pri valnoj duljini pobude odabranoj prema maksimumu apсорpcije očitane iz apсорpcijskog spektra. Uspoređujući sa vodom kao najpolarnijim otapalom vidimo da u manje polarnim otapalima dolazi do hipsokromnog pomaka maksimuma emisije, a u dietil-eteru i etil acetatu dolazi do

izrazitog hiperkromnog i hipsokromnog pomaka maksimuma emisije. Slabo polarni spojevi poput diklormetana, THF-a, etil acetata i dietil-etera imaju još dodatna dva maksimuma emisije koji su batokromno pomaknuti od maksimuma emisije vode.

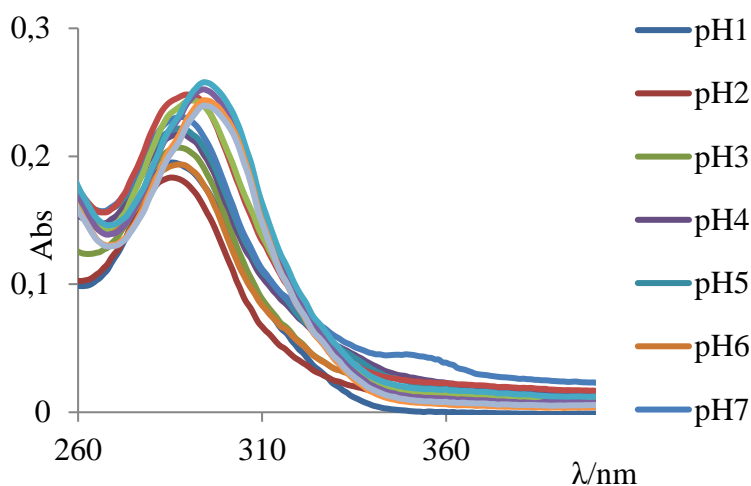
Spektrofotometrijska svojstva spoja u različitim otapalima tj. valne duljine maksimuma apsorpcije i emisije, te pripadajuća apsorbancija i intenzitet emitirane svjetlosti prikazani su u **Tablici 3**. Molarni apsorpcijski koeficijent, ϵ , izračunat je iz Lambert-Beerova zakona.

Tablica 3. Prikaz vrijednosti apsorbancije i molarnog ekstincijskog koeficijenta za spoj **3** u različitim otapalima

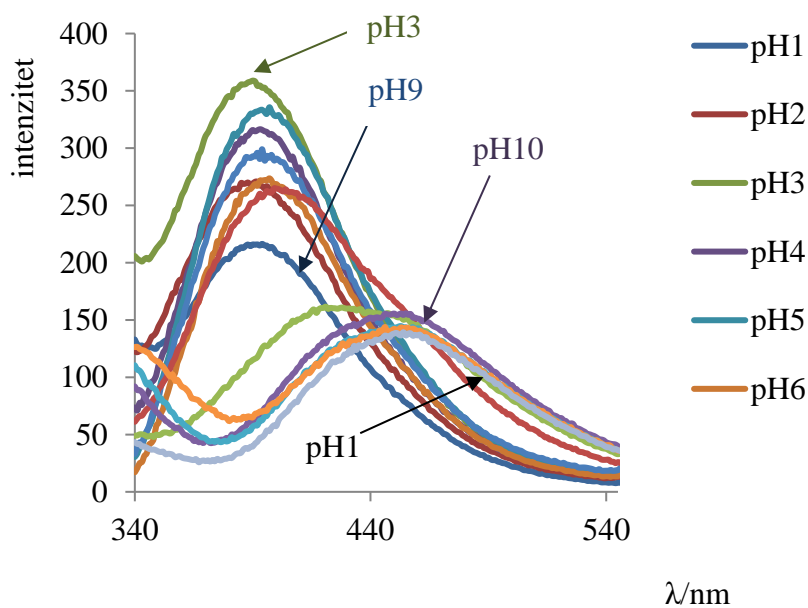
	λ_{abs}/nm	Apsorbancija	λ_{emis}/nm	I	$\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$	Stokesov pomak/nm
Dietileter	295	0,244	349	22,813	24400	54
THF	295	0,224	323	19,019	24400	28
Etil acetat	295	0,213	341	316,656	21300	46
Diklormetan	295	0,236	341	37,02361	23600	46
DMSO	295	0,209	342	44,664	20900	47
Acetonitril	295	0,207	327	120,859	20700	32
Etanol	293	0,219	340	36,659	21900	47
Metanol	293	0,228	403	53,108	22800	110
Voda	288	0,186	386	32,372	18600	98

4.3.2. Utjecaj promjene pH vrijednosti na apsorpcijske i emisijske spektre

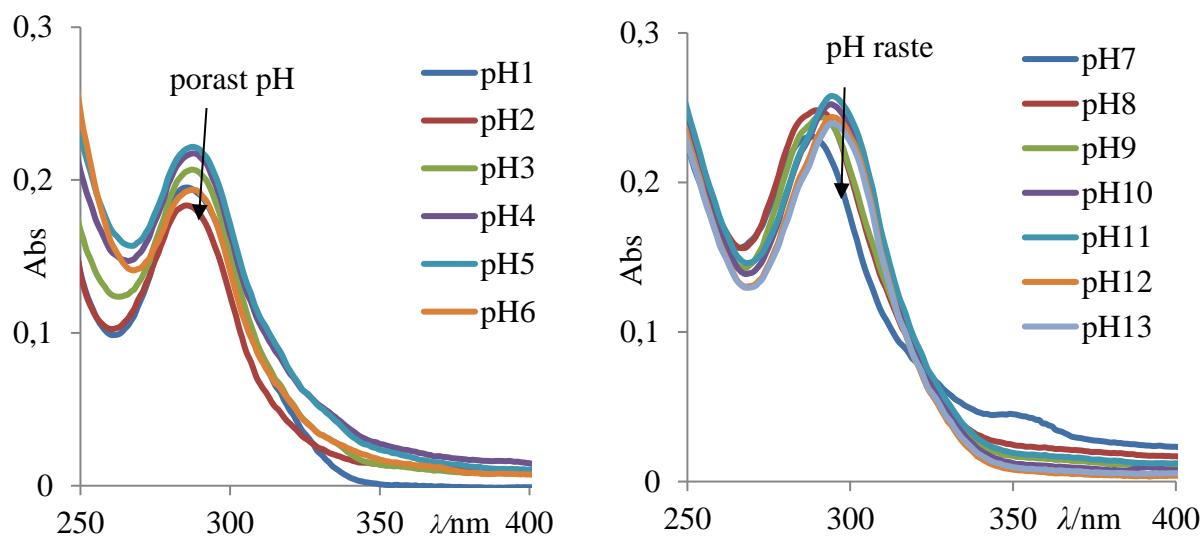
Promjena fotofizičkih svojstava spoja glavno je svojstvo optičkih pH senzora. Snimljeni su apsorpcijski i emisijski spektri spoja u ovisnosti o pH univerzalnih pufera.



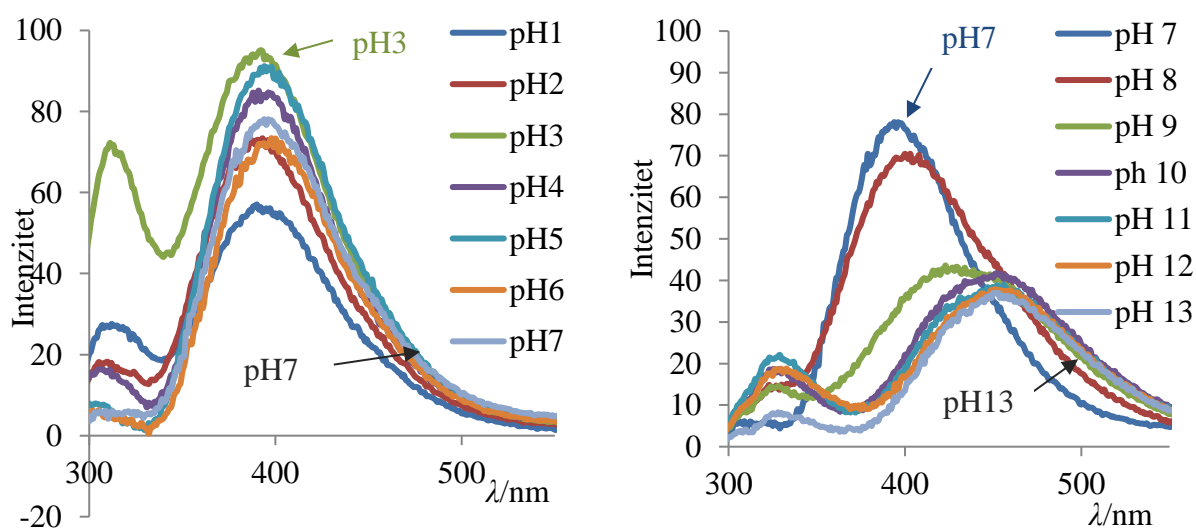
Slika 18.: Apсорpcijski spektri spoja u otopinama univerzalnog pufera različitog pH



Slika 19. Emisijski spektri spoja u otopinama univerzalnog pufera različitog pH



Slika 20. Apsorpcijski spektri spoja u otopinama univerzalnog pufera **a)** u kiselim području i **b)** u lužnatom području



Slika 21. Emisijski spektri spoja u otopinama univerzalnog pufera različitog pH **a)** u kiselim području i **b)** u lužnatom području

Na **slici 18.** prikazani su apsorpcijski spektri spoja u otopinama univerzalnog pufera različitih pH. Vidljiv je mali batokromni pomak maksimuma apsorpcije svjetlosti sa povećanjem univerzalnog pH pufera.

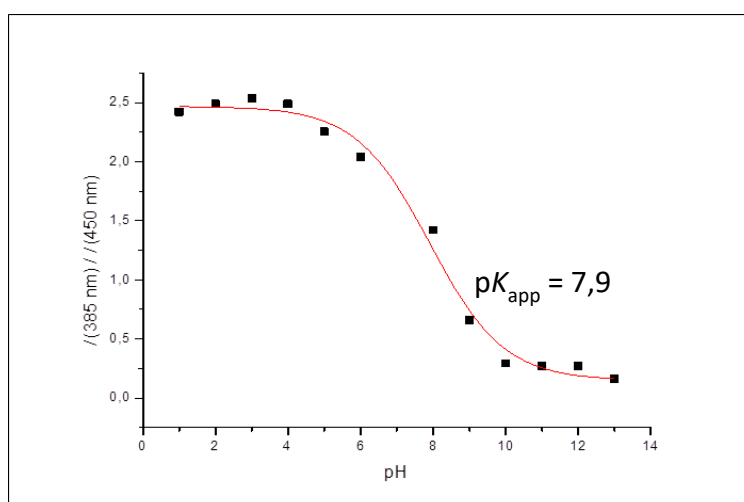
Na **slici 19.** prikazani su emisijski spektri spoja u otopinama univerzalnog pufera različitih pH. Povećanjem pH dolazi do batokromnog i hipokromnog pomaka maksimuma

emisije. Na **slici 20.** prikazani su apsorpcijski spektri spoja u otopinama univerzalnog pufera različitog pH razdvojeni prema području kiselo-lužnato. Na **slici 21.** prikazani su emisijski spektri spoja u otopinama univerzalnog pufera različitog pH razdvojeni prema području kiselo-lužnato. Na **slici 21.b** se jasno vidi batokromni i hipokromni pomak maksimuma intenziteta fluorescencije. Promjena maksimuma emisije je intenzivna i spoj je potencijalni senzor za pH.

Za optičke kemijske senzore za pH veoma je važna konstanta disocijacije K_a . Konstanta disocijacije nam govori o ravnotežnim koncentracijama iona u otopini, odnosno negativni logaritam konstante disocijacije kiseline (pK_a) nam govori pri kojem pH naš optički senzor postiže ravnotežu (jednaku koncentraciju) disociranog i nedisociranog oblika u otopini. U blizini pK_a najveća je osjetljivost optičkog senzora na promjenu pH otopine, prema tome pri $pH = pK_a$ se najtočnije određuje promjena pH.

pK_a se grafički može odrediti iz titracijske krivulje (takozvane „S krivulje“) koja prikazuje ovisnost pH o mjerenom svojstvu (volumenu dodane baze, apsorbancije ili emisije elektromagnetskog zračenja i sl.) tako da se prati promjena pH u ovisnosti o promjeni mjenog svojstva (prva derivacija krivulje). [18]

Na **slici 22.** prikazana je titracijska krivulja spoja **5** dobivena tako da se za svaki pH odredio intenzitet emisije na 385 nm i 450 nm (što odgovara maksimumima intenziteta fluorescencije u kiselom i lužnatom području), te su se intenziteti stavili u omjer. Iz prikazane krivulje izračunala se pK_{app} konstanta spoja koja iznosi 7,9.



Slika 22. Titracijska krivulja za pH titraciju

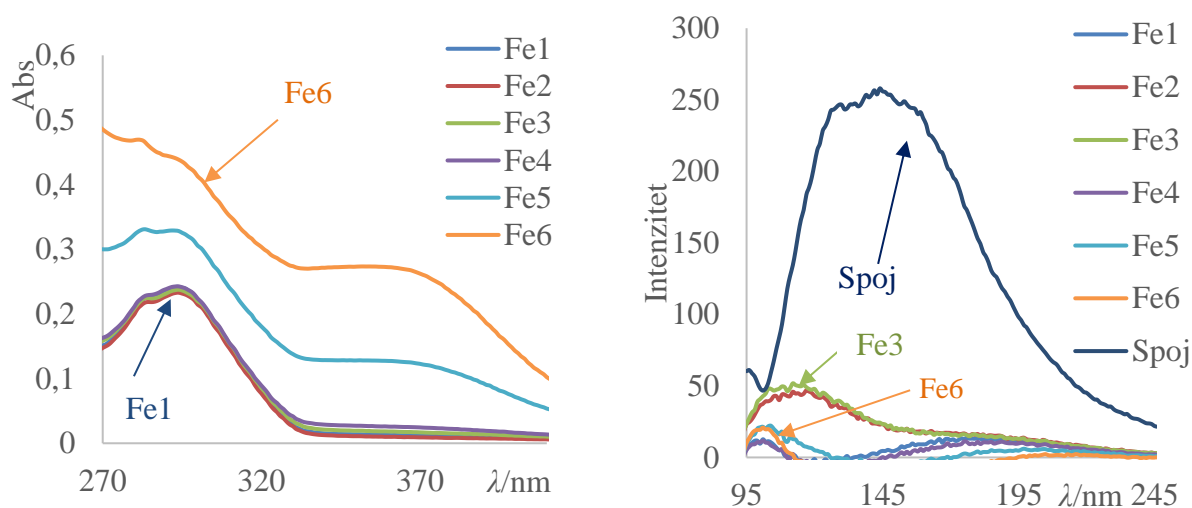
4.3.3. Otopine različitih metalnih iona

Zbog sve većeg ljudskog utjecaja na okoliš povećala se potreba za brzo i točno određivanje koncentracije raznih zagađivala u okolišu. Metali su jedni od najzačajnijih zagađivala čija je toksičnost i štetnost detaljno istraživana zadnjih desetljeća. Stoga ne čudi što raste zanimanje za pronalazak optičkih kemijskih senzora koji su selektivni za pojedine metale.

Ispitivan je utjecaj otopina metalnih iona različitih koncentracija na fotofizička svojstva spoja. Ispitivani ioni su Co^{2+} , Fe^{3+} , Li^+ , Hg^{2+} , Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Sn^{2+} i Pb^{2+} . Snimani su emisijski i apsorpcijski spektri otopina metalnih iona i spoja.

4.3.3.1. Utjecaj iona željeza na fotofizička svojstva spoja 5

Željezo je najvažniji tehnički metal. Ima široku primjenu, najčešće u obliku raznih legura čelika. Željezo je iznimno važno u organizmu čovjeka jer je sastavni dio hema i koordinativno prenosi kisik u krvi.



Slika 23. a) Apсорpcijski spektrar spoja u kompleksu sa željeznim ionima različitih koncentracija **b)** Emisijski spektrar spoja u kompleksu sa željeznim ionima različitih koncentracija

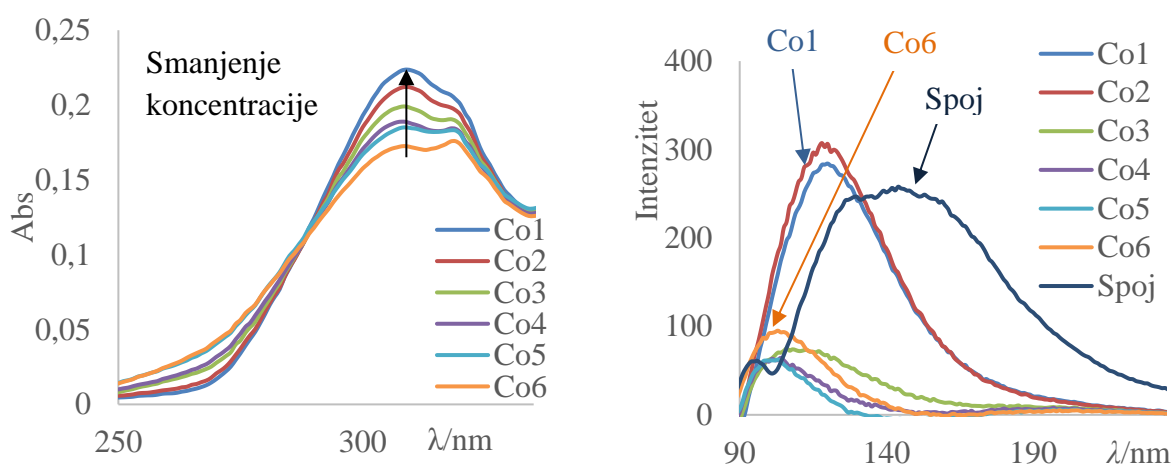
Na **slici 23. a)** prikazan je apсорpcijski spektrar kompleksa spoja i iona željeza (III). Vidljiv je batokromni i hiperkromni pomak maksimuma adsorpcije koji se povećava sa povećanjem koncentracije željeznih iona u otopini kao i pojava novog apсорpcijskog maksimuma na većim

valnim duljinama. Moguće je da do pojave novog apsorpcijskog maksimuma dolazi zbog pojave zamućenja otopine spoja.

Na **slici 23. b)** prikazan je emisijski spektar kompleksa spoja i iona željeza. Vidljiv je hipokromni i hipsokromni pomak koji se povećava sa povećanjem koncentracije iona željeza.

4.3.3.2. Utjecaj iona kobalta na fotofizička svojstva spoja 5

Kobalt je centralni atom vitamina B12 i kao takav je neophodan u organizmu, no njegove veće količine su veoma toksične za više organizme. Veća količina kobalta u organizmu uzrokuje srčana i bubrežna oštećenja. Kobalt se u okolišu nakuplja uglavnom u biljkama, osobito u korijenu biljaka.

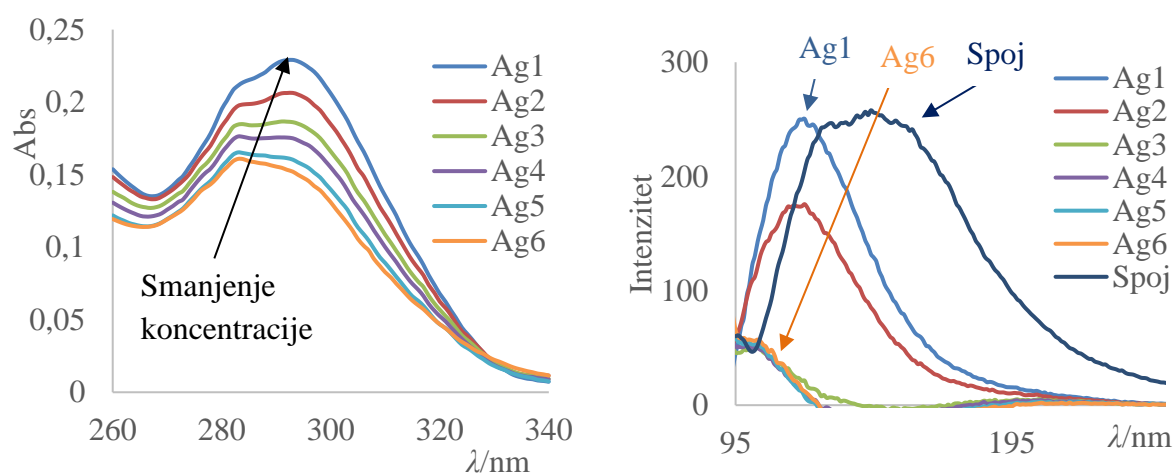


Slika 24.a) Apсорpcijski spektri kompleksa spoja sa ionima kobalta **b)** emisijski spektri kompleksa spoja sa ionima kobalta

Na **slici 24. a)** vidimo apсорpcijske spektre kompleksa spoja sa ionima kobalta. Vidimo da povećanjem koncentracije iona kobalta dolazi do pojave novog maksimuma apсорpcije kompleksa koji je hipsokromno pomaknut u usporedbi sa manje koncentriranim otopinama. Zanimljiv je utjecaj povećanja koncentracije iona kobalta na emisiju kompleksa spoja prikazano na **slici 24. b)** u usporedbi sa fluorescentnom emisijom čistog spoja dodatkom iona kobalta dolazi do hipsokromnog pomaka maksimuma emisije, a povećanjem koncentracije iona kobalta dolazi do hipokromnog pomaka, za razliku od koncentracija Co1 i Co2 kada dolazi do hiperkromnog pomaka maksimuma emisije.

4.3.3.3. Utjecaj iona srebra na fotofizička svojstva spoja 5

Srebro je važan tehnički metal, primjenjuje se u elektronici, raznim ukrasima i drugdje. Pokazuje bakteriostatska svojstva te pronalazi primjenu u hladnjacima, čarapama ili zavojima. Toksičnost srebra se još istražuje, a poznato je da izaziva sivo-plavo obojenje kože. [19]

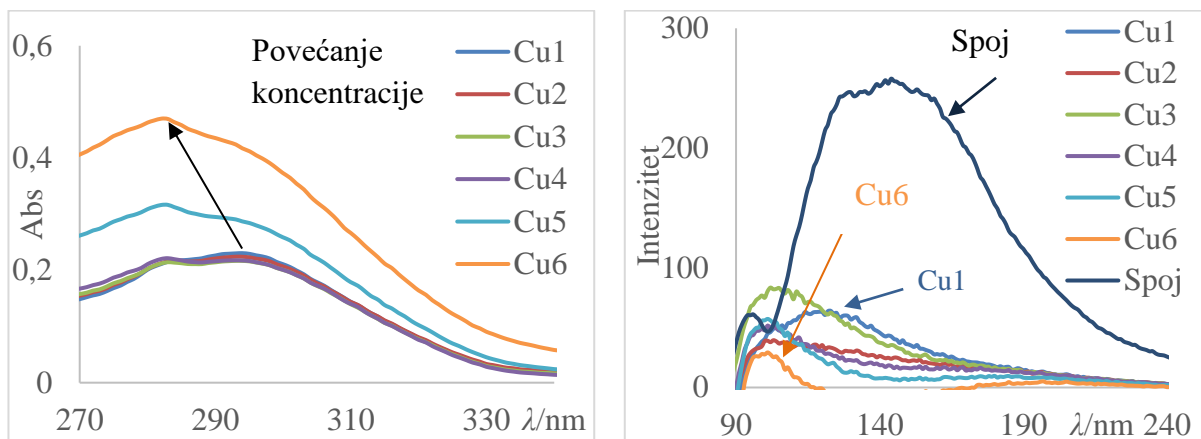


Slika 25.a) Apsorpcijski spektri kompleksa iona srebra i spoja **b)** Emisijski spektri kompleksa iona srebra i spoja

Na **slici 25. a)** vidimo utjecaj iona srebra na apsorpciju kompleksa. Vidimo da povećanjem koncentracije iona srebra u otopini dolazi do hipsokromnog i hipokromnog pomaka maksimuma apsorpcije. Uspoređujući sa emisijom čistog spoja vidimo da dolazi do hipsokromnog pomaka emisije kompleksa spoja sa srebrom a povećanjem koncentracije iona srebra dolazi do daljnjeg hipsokromnog i hipokromnog pomaka maksimuma emisije što je vidljivo na **slici 25. b)**.

4.3.3.4. Utjecaj iona bakra na fotofizička svojstva spoja 5

Bakar je jedan od esencijalnih elemenata u ljudskom organizmu. Aktivator je i sastavni dio mnogih enzima. Osim toga, bakar ima široku upotrebu u mnogim legurama, kao vodič električne energije, kao vodič topline i drugo.



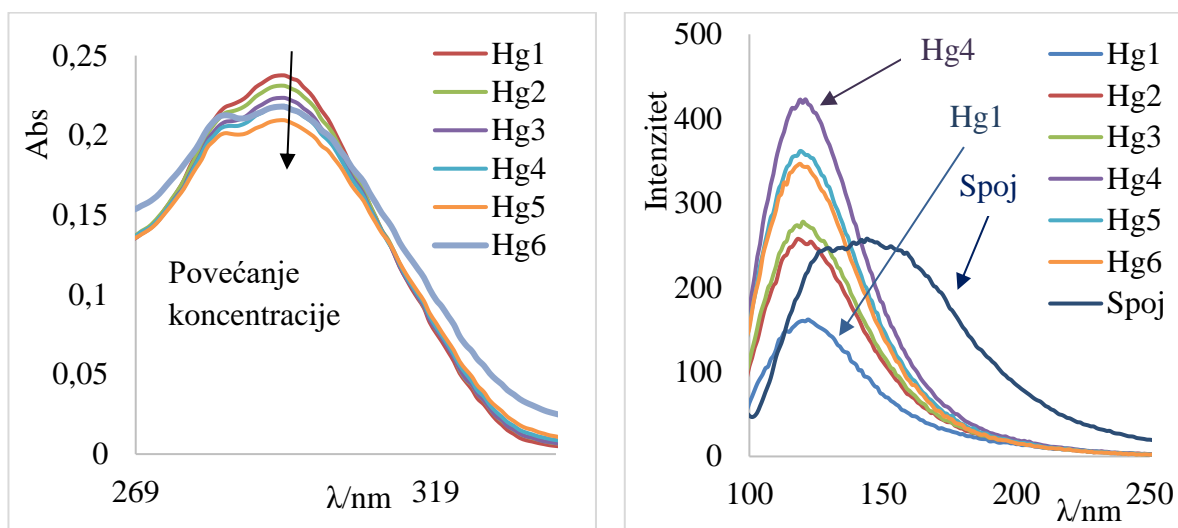
Slika 26. a) Apsorpcijski spektri kompleksa spoja i iona bakra **b)** Emisijski spektri kompleksa spoja i iona bakra

Na **slici 26. a)** vidimo utjecaj koncentracije iona bakra na apsorpciju kompleksa spoja sa ionima bakra. Vidljiv je hiperkromni i hipsokromni pomak maksimuma apsorpcije sa povećanjem koncentracije iona bakra.

Na **slici 26. b)** vidljiv je utjecaj koncentracije iona bakra na emisiju kompleksa spoja. Vidljiv je hipokromni i hipsokromni pomak maksimuma emisije uspoređujući sa emisijom spoja.

4.3.3.5. Utjecaj iona žive na fotofizička svojstva spoja 5

Živa je teški metal koji je veoma toksičan za ljude i okoliš. Svi živini spojevi su toksični, a prema toksičnosti se ističe metil-živa koja ima svojstvo akumulacije u organizmima. Živa i spojevi žive utječu na središnji živčani sustav i teratogeni su. Stoga je važno točno odrediti koncentraciju žive u okolišu.



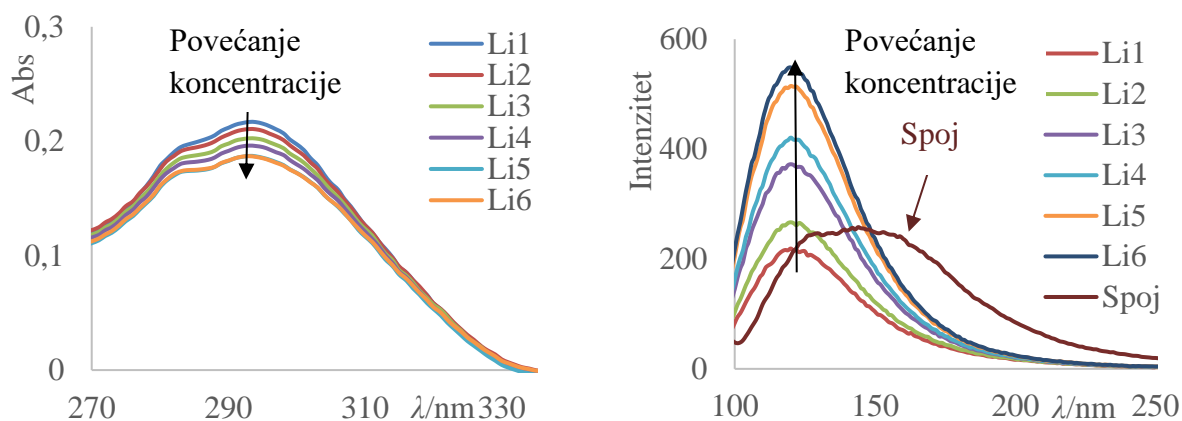
Slika 27.a) Apsorpcijski spektri kompleksa spoja sa ionima žive **b)** Emisijski spektri kompleksa spoja sa ionima žive

Na **slici 27. a)** vidljiv je utjecaj iona žive na apsorpciju spoja. Povećanjem koncentracije iona žive dolazi do hipokromnog pomaka maksimuma apsorpcije.

Na **slici 27. b)** prikazan je utjecaj iona žive na emisiju spoja. U usporedbi s emisijom spoja vidljiv je hipsokromni pomak maksimuma emisije u prisutnosti iona žive. Daljnjim povećanjem koncentracije iona žive dolazi do hiperkromnog pomaka maksimuma emisije.

4.3.3.6. Utjecaj iona litija na fotofizička svojstva spoja 5

Litij je 27. metal po rasprostranjenosti u zemljinoj kori. Najčešće se upotrebljava u baterijama (litij-ionske baterije) i u farmaciji i medicini za liječenje raznih mentalnih bolesti. Upotreba i toksičnost litija proizlazi iz njegovog utjecaja na centralni živčani sustav. Povećani unos litija može dovesti do teškoća pri govoru i dezorijentacije, a veće količine litija mogu dovesti i do smrti. [20]



Slika 28.a) Apsorpcijski spektri kompleksa spoja i iona litija **b)** Emisijski spektri kompleksa spoja i iona litija

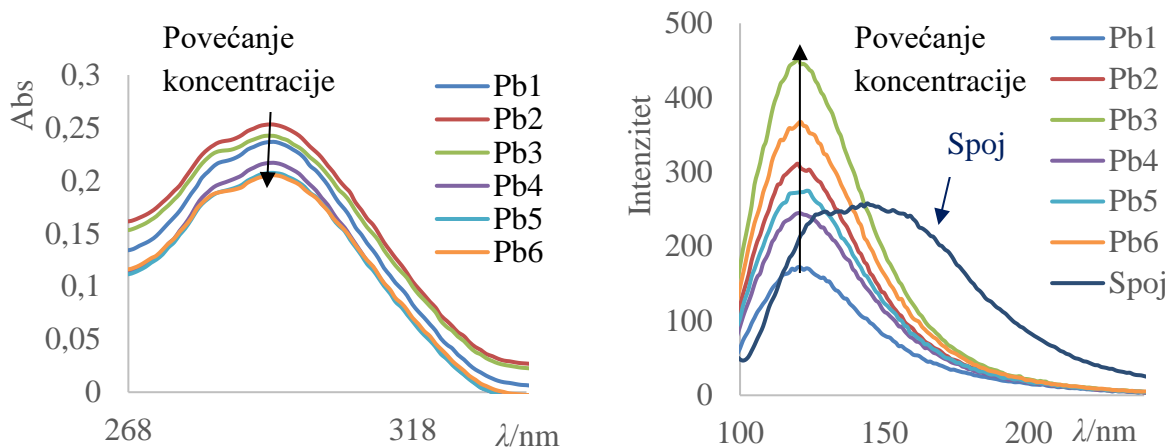
Na **slici 28. a)** vidljivi su apsorpcijski spektri kompleksa spoja i iona litija.

Povećanjem koncentracije iona litija dolazi do hipokromnog pomaka maksimuma apsorpcije.

Na **slici 28. b)** prikazani su emisijski spektri kompleksa spoja i iona litija. Uspoređujući emisiju spoja i kompleksa vidljiv je hipsokromni i hipokromni pomak s dodatkom iona litija. Daljnjim povećanjem koncentracije litija dolazi do hiperkromnog pomaka maksimuma emisije.

4.3.3.7. Utjecaj iona olova na fotofizička svojstva spoja 5

Olovo je od davnina poznat po svojoj toksičnosti za organizme. U okoliš najčešće dolazi iz ispušnih plinova vozila, a olovne cijevi su se često koristile za prijenos vode. Osobito je opasan zbog akumulacije u okolišu. Olovo izaziva razne neurološke probleme kod ljudi, a osobito je toksičan za vodene organizme. [21]



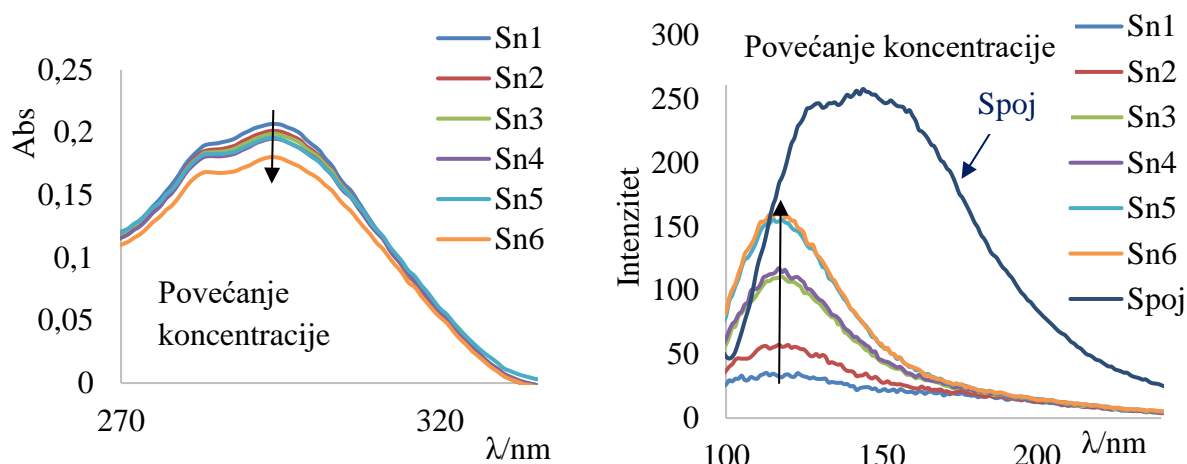
Slika 29. a) Apsorpcijski spektri kompleksa spoja sa ionima olova **b)** Emisijski spektri kompleksa spoja sa ionima olova

Na **slici 29. a)** prikazani su apsorpcijski spektri kompleksa spoja i iona olova. Vidljiv je hipokromni pomak maksimuma apsorpcije sa povećanjem koncentracije iona olova.

Na **slici 29. b)** prikazani su emisijski spektri kompleksa spoja i iona olova. U usporedbi sa emisijom spoja došlo je do hipokromnog i hipsokromnog pomaka maksimuma emisije sa dodatkom iona olova. Kako se koncentracija olova povećava dolazi do hiperkromnog pomaka maksimuma emisije kompleksa.

4.3.3.8. Utjecaj iona kositra na fotofizička svojstva spoja 5

Kositar je važan tehnički metal. Koristi se mnogim legurama (mjed, bronca,...) i tako dolazi u okoliš. Kositar nije veoma toksičan za ljude, a u organizam prvenstveno dolazi konzumacijom konzervi hrane. Za razliku od anorganskih spojeva kositra organski spojevi s kositrom su nagrizajući osobito za oči, kožu i pluća. [22]



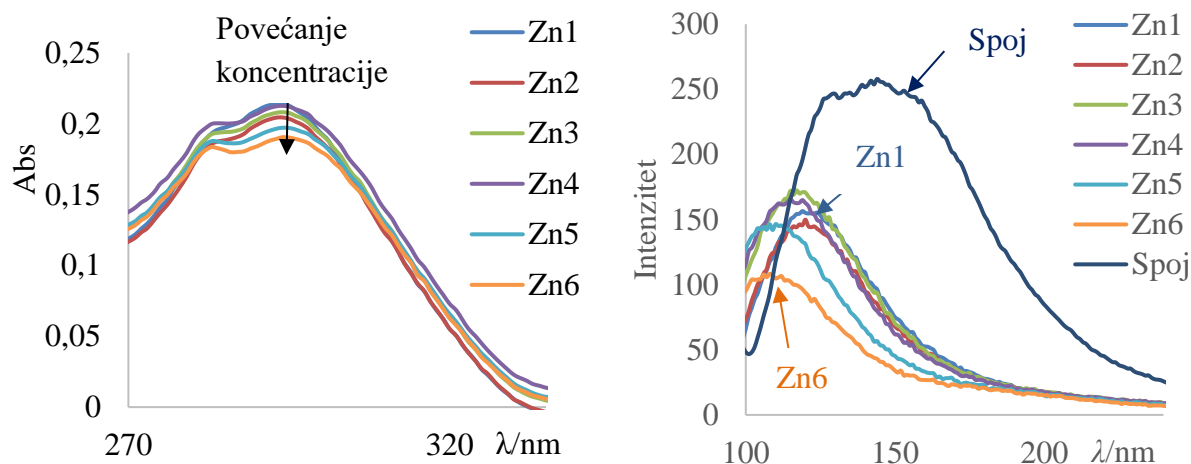
Slika 30. a) Apсорpcijski spektri kompleksa spoja i iona kositra **b)** Emisijski spektri kompleksa spoja i iona kositra

Na **slici 30. a)** prikazani su apсорpcijski spektri kompleksa spoja i iona kositra. Vidljiv je hipokromni pomak maksimuma apсорpcije kompleksa sa povećanjem iona kositra.

Na **slici 30. b)** su prikazani emisijski spektri kompleksa spoja i iona kositra. U usporedbi sa emisijom spoja vidljiv je hipokromni i hipsokromni pomak maksimuma emisije dodatkom iona kositra. Daljnjim povećanjem koncentracije iona kositra dolazi do hiperkromnog pomaka maksimuma emisije, no uspoređujući sa emisijom kompleksa spoja sa ionima olova na **slici 29. b)** hiperkromni pomak je manje intenzivan.

4.3.3.9. Utjecaj iona cinka na fotofizička svojstva spoja 5

Cink je iznimno važan metal za normalno funkcioniranje viših organizama. Sudjeluje u sintezi DNA i RNA, regulira rast stanica i zarastanje rana te je povezan s raznim neurološkim poremećajima, poput Alzheimerove bolesti i epilepsije. Unatoč korisnosti cinka, njegove visoke koncentracije u organizmu mogu dovesti do dijabetesa, bolesti kože i karcinoma. [23] Cink se također koristi za katodnu zaštitu željeza, u legurama i za proizvodnju baterija.



Slika 31. a) Apsorpcijski spektri kompleksa spoja i iona cinka **b)** Emisijski spektri kompleksa spoja i iona cinka

Na **slici 31. a)** prikazani su apsorpcijski spektri kompleksa spoja i iona cinka. Vidljiv je hipokromni pomak maksimuma apsorpcije sa povećanjem koncentracije iona cinka.

Na **slici 31. b)** prikazani su emisijski spektri kompleksa spoja i iona cinka. U usporedbi sa emisijom spoja dolazi do hipokromnog i hipsokromnog pomaka sa dodatkom iona cinka. Povećanjem koncentracije iona cinka dolazi do daljnjeg hipsokromnog i hipokromnog pomaka emisijskog maksimuma.

5. Zaključak

Sintetiziran je spoj **5** klik reakcijom u jednom stupnju. Njegova struktura potvrđena je ^1H NMR spektroskopijom i ispitana su njegova fotofizička svojstva u različitim otapalima, otopinama univerzalnog pufera različitog pH i u otopinama različitih metala.

Spoj **5** pokazuje povećanje intenziteta fluorescencije u otapalima male polarnosti kao što su dietil-eter i etil acetat. Osim toga spoj **5** pokazuje dobru ovisnost o pH vrijednosti sustava u kojem se nalazi, linearnu u području od pH=6 do pH=9 te se potencijalno može koristiti kao pH senzor. Spoj **5** veže na sebe ione željeza, žive, olova, cinka, srebra, litija, kositra, kobalta i bakra te zbog neselektivnosti nije potencijalni senzor za ione metala.

6. Literatura

-
- [1] Molina, P., Tárraga, A., Otón F., Imidazole derivatives: A comprehensive survey of their recognition properties, *Organic & Biomolecular Chemistry*, 10 (2012.) 1711-1724.
- [2] Ramanpreet Walia, Hedaitullah, M., Syeda Farha Naaz, Khalid Iqbal, Lamba, HS., Benzimidazole derivatives - an overview, *International journal of research in pharmacy and chemistry*, 1 (2011.) 565 - 574.
- [3] Saftić, D., Krstulović, L., Bajić, M., Žinić, B., 1,3-Dipolarna cikloadicija (I. dio): Dobivanje 1,2,3-triazolnih derivata u nukleozidnoj kemiji, *Kemija u industriji*, 64 (2015.) 481-498.
- [4] Krstulović, L., Saftić, D., Matic, J., Bajić, Žinić, M., B., 1,3-Dipolarna cikloadicija (II. dio): Trokomponentne Cu(I) katalizirane klik-reakcije, *Kemija u industriji*, 64 (2015.) 499-512.
- [5] Hein, J. E., Valery, V. F., Copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC) and beyond: new reactivity of copper(I) acetylides, *Chem Soc Rev.*, 39 (2010) 1302-1315.
- [6] Alzahrani, A. A., Erbse, A. H., Bowman, C. N., Evaluation and development of novel photoinitiator complexes for photoinitiating the copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition reaction, *Polymer Chemistry*, 5, (2014.), 1874-1882.
- [7] Juriček, M., Kouwer, P. H. J., Rowan, A. E., Triazole: a unique building block for the construction of functional materials, *Chemical communications*, 47 (2011.), 8740-8749.
- [8] Bai, H., Gaoquan, S., Gas Sensors Based on Conducting Polymers, *Sensors*, 7 (2007.) 267-307.
- [9] Adam, H., Stanisław, G., Folke, I., Chemical sensors definitions and classification. *Pure Applied Chem*, **63** (1991.) 1250 - 1247.
- [10] Hummad Habib Qazi, Abu Bakar bin Mohammad, Muhammad Akram, Recent Progress in Optical Chemical Sensors, *Sensors* **12** (2012), 16522-16556.
- [11] Hisamoto, H., Suzuki, K., Ion-selective optodes: current developments and future prospects, *Trends in analytical chemistry*, **18** (1999.) 513 - 524.
- [12] Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., *Osnove analitičke kemije*, Školska knjiga, Zagreb, 1999., 489-584.
- [13] Rakesh Kumar Pathak, Vijaya Kumar Hinge, Prasenjit Mondala, Chebrolu Pulla Rao Ratiometric fluorescence off-on-off sensor for Cu²⁺ in aqueous buffer by a lower rim triazole linked benzimidazole conjugate of calix[4]arene, *Dalton transactions*, **41** (2012) 10652-10660.
- [15] Sun Young Park, Jung Hee Yoon, Chang Seop Hong, Rachid Souane, Jong Seung Kim, Matthews, S. E., Vicens J., A Pyrenyl-Appended Triazole-Based Calix[4]arene as a Fluorescent Sensor for Cd²⁺ and Zn²⁺, *The Journal of Organic Chemistry*, **73** (2008), 8212-8218

-
- [16] Yi-Bin Ruan, Maisonneuve, S., Juan Xie, Highly selective fluorescent and colorimetric sensor for Hg²⁺ based on triazole-linked NBD, *Dyes and Pigments* **90** (2011) 239-244.
- [17] Ciba-Geigy, A.G., *Wissenschaftliche Tabellen Geigy: Physikalisch Chemie, Blut, Humangenetik, Stoffwechsel von Xenobiotika (Gebundene Ausgabe)*, Basel, (1979).
- [18] Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., *Osnove analitičke kemije, Školska knjiga, Zagreb, 1999.*, 120-130.
- [19] Hadrup, N., Lam, H. R., Oral toxicity of silver ions, silver nanoparticles and colloidal silver – A review, *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **68** (2014) 1–7.
- [20] Aral, H., Vecchio-Sadus, A., Toxicity of lithium to humans and the environment—A literature review, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **70** (2008) 349– 356.
- [21] Gnassia-Barelli, M., Romeo, M., Some aspects of lead ecotoxicology in the marine environment, *Aquatic Toxicology*, **26** (1993) 163-170.
- [22] Gad, S.C., Pham, T., *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)*, Elsevier, 2014, str. 574–576
- [23] Ming-Joung, Kamalpreet, K., Singh, K., N., Jang D. O., Benzimidazole-based receptor for Zn²⁺ recognition in a biological system: a chemosensor operated by retarding the excited state proton transfer, *Tetrahedron*, **68** (2012.) 5429-5433.
- [24] Hein, J. E., Fokin, V. V., Copper-catalyzed azide–alkyne cycloaddition (CuAAC) and beyond: new reactivity of copper(I) acetylides *Chemical Society Reviews* **39** (2010), 1302–1315.
- [25] Haldón, E., Nicasio, M. C., Pérez, P. J., Copper-catalysed azide–alkyne cycloadditions (CuAAC): an update, *Organic & Biomolecular Chemistry*, **13** (2015.) 9528-9550.

7. Životopis

████████████████████ Pohadao sam osnovnu školu "Kloštar Podravski" u Kloštru Podravskom, a zatim maturirao sa odličnim uspjehom u Gimnaziji Petra Preradovića u Virovitici. Godine 2010. upisao sam Farmaceutsko – biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, a 2012. godine upisao sam Fakultet kemijskog inženjerstva Sveučilišta u Zagrebu. Stručnu praksu odradio sam u Koprivničkim vodama u Koprivnici. Godine 2015. obranio sam završni rad iz polja primijenjene kemije pod naslovom „Optički senzori za određivanje iona teških metala temeljeni na benzimidazolu i benzotiazolu“ čime sam stekao titulu sveučilišnog prvostupnika primijenjene kemije. Akademske godine 2015/2016. upisao sam sveučilišni diplomski studij Primijenjena kemija na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije.

8. Prilozi

Prilog 1. Volumeni metalnih soli prilikom titracije spoja 5

Dodatak	V _{dodano} /μl	V _{uk} /μl	c(Me)/mol dm ⁻³	c(Me)/c(5)
Pb1	0,5	0,5	1×10 ⁻⁶	1:10
Pb2	0,5	1	2×10 ⁻⁶	1:5
Pb3	1,5	2,5	5×10 ⁻⁶	1:2
Pb4	2,5	5	1×10 ⁻⁵	1:1
Pb5	20	25	5×10 ⁻⁵	5:1
Pb6	25	50	1×10 ⁻⁴	10:1

Dodatak	V _{dodano} /μl	V _{uk} /μl	c(Me)/mol dm ⁻³	c(Me)/c(5)
Fe	0,58	0,58	1×10 ⁻⁶	1:10
Fe	0,58	1,16	2×10 ⁻⁶	1:5
Fe	1,75	2,91	5×10 ⁻⁶	1:2
Fe	2,9	5,81	1×10 ⁻⁵	1:1
Fe	23,26	29,07	5×10 ⁻⁵	5:1
Fe	29,07	58,14	1×10 ⁻⁴	10:1

Dodatak	V _{dodano} /μl	V _{uk} /μl	c(Me)/mol dm ⁻³	c(Me)/c(5)
Sn	1,33	1,33	1×10 ⁻⁶	1:10
Sn	1,32	2,65	2×10 ⁻⁶	1:5
Sn	5,32	6,64	5×10 ⁻⁶	1:2
Sn	6,63	13,27	1×10 ⁻⁵	1:1
Sn	53,1	66,37	5×10 ⁻⁵	5:1
Sn	66,37	132,74	1×10 ⁻⁴	10:1

Dodatak	V _{dodano} /μl	V _{uk} /μl	c(Me)/mol dm ⁻³	c(Me)/c(5)
Li	1,34	1,34	1×10 ⁻⁶	1:10
Li	1,35	2,69	2×10 ⁻⁶	1:5
Li	4,03	3,72	5×10 ⁻⁶	1:2
Li	6,73	13,45	1×10 ⁻⁵	1:1
Li	53,81	67,26	5×10 ⁻⁵	5:1
Li	67,26	134,52	1×10 ⁻⁴	10:1

Dodatak	V _{dodano} /μl	V _{uk} /μl	c(Me)/mol dm ⁻³	c(Me)/c(5)
Zn	0,7	0,7	1×10 ⁻⁶	1:10
Zn	0,73	1,43	2×10 ⁻⁶	1:5
Zn	2,14	3,57	5×10 ⁻⁶	1:2
Zn	3,57	7,14	1×10 ⁻⁵	1:1
Zn	28,57	35,71	5×10 ⁻⁵	5:1
Zn	35,72	70,43	1×10 ⁻⁴	10:1

Dodatak	V _{dodano} /μl	V _{uk} /μl	c(Me)/mol dm ⁻³	c(Me)/c(5)
Cu	0,57	0,57	1×10 ⁻⁶	1:10
Cu	0,57	1,14	2×10 ⁻⁶	1:5
Cu	1,72	2,86	5×10 ⁻⁶	1:2
Cu	2,85	5,71	1×10 ⁻⁵	1:1
Cu	22,86	28,57	5×10 ⁻⁵	5:1
Cu	28,57	57,14	1×10 ⁻⁴	10:1

Dodatak	V _{dodano} /μl	V _{uk} /μl	c(Me)/mol dm ⁻³	c(Me)/c(5)
Hg	0,58	0,58	1×10 ⁻⁶	1:10
Hg	0,58	1,16	2×10 ⁻⁶	1:5
Hg	1,75	2,91	5×10 ⁻⁶	1:2
Hg	2,9	5,81	1×10 ⁻⁵	1:1
Hg	23,26	29,07	5×10 ⁻⁵	5:1
Hg	29,07	58,14	1×10 ⁻⁴	10:1

Dodatak	V _{dodano} /μl	V _{uk} /μl	c(Me)/mol dm ⁻³	c(Me)/c(5)
Ag	0,78	0,78	1×10 ⁻⁶	1:10
Ag	0,78	1,56	2×10 ⁻⁶	1:5
Ag	2,35	3,91	5×10 ⁻⁶	1:2
Ag	3,9	7,81	1×10 ⁻⁵	1:1
Ag	31,25	39,06	5×10 ⁻⁵	5:1
Ag	39,07	78,13	1×10 ⁻⁴	10:1

Dodatak	V _{dodano} /μl	V _{uk} /μl	c(Me)/mol dm ⁻³	c(Me)/c(5)
Co	0,63	0,63	1×10 ⁻⁶	1:10
Co	0,63	1,26	2×10 ⁻⁶	1:5
Co	1,9	3,16	5×10 ⁻⁶	1:2
Co	3,16	6,32	1×10 ⁻⁵	1:1
Co	25,26	31,58	5×10 ⁻⁵	5:1
Co	31,58	63,16	1×10 ⁻⁴	10:1