

# Bis(benzimidazol-triazolil)benzeni kao potencijalni kemijski senzori u koordiniranju iona metala

---

Leženić, Ines

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:149:479770>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-28**



*Repository / Repozitorij:*

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



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

**Ines Leženić**

**ZAVRŠNI RAD**

**Zagreb, 2018.**

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

Ines Leženić

**Bis(benzimidazol-triazolil)benzeni kao potencijalni kemijski  
senzori u koordiniranju iona metala**

**ZAVRŠNI RAD**

**Voditelj rada:** Doc. dr. sc. Svjetlana Krištafor

**Članovi ispitnog povjerenstva:** Doc. dr. sc. Svjetlana Krištafor

Dr. sc. Lidija Furač, v. pred.

Dr. sc. Maja Cindrić

Zagreb, 2018.

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).



Veliku zahvalnost dugujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Svjetlani Krištafor na zanimljivoj predloženoj temi i susretljivosti prilikom rada. Posebno zahvaljujem Kristini Bobanović, mag.appl.chem. na znanstvenim i stručnim savjetima i pristupačnosti te što je uvijek imala strpljenja za moje brojne upite prilikom izrade ovog završnog rada.

Posebnu zahvalnost iskazujem cijeloj svojoj obitelji koja me je uvijek podržavala i upućivala na pravi put. Najveću zaslugu za ono što sam postigla pripisujem svojim roditeljima koji su mi bili siguran oslonac i velika potpora.

## **Bis(benzimidazol-triazolil)benzeni kao potencijalni kemijski senzori u koordiniranju iona metala**

### **SAŽETAK**

Triazoli su peteročlani heterociklički prsteni koji sadrže tri dušikova atoma. Benzimidazoli su biciklički prsteni koji u strukturi posjeduju dva dušikova atoma. Obje molekule su zbog svojih spektralnih svojstava i mogućnosti da koordiniraju različite metalne ione, česte funkcionalne jedinice u kemosenzorskim molekulama.

Cilj ovog rada bio je ispitati potencijalnu primjenu novih derivata 1,3- i 1,4-bis(1,2,3-triazolil-benzimidazolil)benzena kao potencijalnih kemijskih optičkih senzora za metalne ione istraživanjem njihovih spektroskopskih svojstava u otopinama.

UV-vidljivom apsorpcijskom i fluorescencijskom spektrofotometrijom ispitana su svojstva spojeva u etanolnim otopinama u prisutnosti različitih metalnih kationa pri koncentraciji spoja  $1 \times 10^{-5}$  M.

Oba spoja pokazuju smanjenje intenziteta fluorescencije u prisutnosti  $\text{Fe}^{3+}$  i  $\text{Cu}^{2+}$  iona, a u prisutnosti  $\text{Zn}^{2+}$  povećanje intenziteta i batokromni pomak u emisijskom spektru, što ukazuje na njihovu potencijalnu primjenu kao senzora za određivanje navedenih kationa u otopinama. Provedene su fluorescencijske titracije spojeva s navedenim kationima, te je 1,3-bis(1,2,3-triazolil-benzimidazolil)benzen **1** detaljnije ispitan kao potencijalni senzor za Fe(III) ione.

Rezultati su pokazali da spoj **1** može brzo i uspješno određivati Fe(III) ione u etanolu i univerzalnom puferu pH=7 i selektivan je za Fe(III) u prisutnosti ostalih ispitivanih kationa.

**Ključne riječi:** benzimidazol, 1,2,3-triazol, UV-vidljiva i fluorescencijska spektroskopija, senzor

## **Bis(benzimidazole-triazolyl)benzenes as chemosensors in metal ion coordination**

### **SUMMARY**

Triazoles and benzimidazoles are heterocyclic molecules with nitrogen atoms which allow them the ability to coordinate different metal cations. Because of their spectroscopic properties, they are often used as functional moieties in design of chemosensing probes.

The aim of this work was spectroscopic characterisation of novel 1,3- and 1,4-bis(benzimidazole-1,2,3-triazolyl)benzenes as potential chemosensing molecules for metal ions.

In order to determine the sensing possibility of studied compounds, the changes of their spectroscopic properties were studied by UV-visible and fluorescence spectroscopy in the presence of different metal cations in ethanol solution, by compound concentration of  $1 \times 10^{-5}$  M.

The presence of  $\text{Fe}^{3+}$  and  $\text{Cu}^{2+}$  causes fluorescence quenching in both spectrum of studied compounds, while in the presence of  $\text{Zn}^{2+}$ , fluorescence intensity of compound 2 is notably increased, followed by bathochromic shift, implying their possible chemosensing ability to determine Fe(III), Cu(II) and Zn(II) ions in ethanol solutions.

In addition, detailed spectroscopic titration experiments of compounds with  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  were carried out. Results showed that 1,3-bis(benzimidazole-1,2,3-triazolyl)benzene 1 shows pronounced fluorescence quenching in the presence of  $\text{Fe}^{3+}$  compared with 1,4-bis-derivative 2.

**Key words:** benzimidazole, 1,2,3-triazole, UV-visible and fluorescence spectroscopy, sensor

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. OPĆI DIO</b> .....	<b>3</b>
2.1. Kemijski senzori .....	4
2.1.1. Kemijski optički senzori .....	4
2.1.2. Dizajn optičkog kemijskog senzora .....	5
2.2. Spektroskopske metode karakterizacije optičkih kemijskih senzora .....	6
2.3. Kemijski fluorescencijski senzori za ione metala .....	7
2.3.1. Mehanizmi koordiniranja .....	8
2.3.1.1. Fotoinducirani prijenos elektrona .....	8
2.3.1.2. Fotoinducirani prijenos protona .....	10
2.3.1.3. Fluorescentni rezonancijski prijenos energije .....	11
2.3.1.4. Stvaranje ekscimera ili ekscipleksa .....	12
2.4. Benzimidazoli .....	12
2.4.1. Uloga benzimidazola u koordiniranju metalnih iona .....	13
2.5. 1,2,3-triazoli i click kemija .....	16
2.5.1. 1,2,3-triazoli u koordiniranju metalnih iona .....	17
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>23</b>
3.1. Instrumenti .....	24
3.2. Priprava otopina .....	24
3.3. Mjerenja .....	26
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	<b>29</b>
4.1. Fotofizička karakterizacija spojeva .....	30
4.2. Utjecaj prisutnosti metalnih iona .....	32
4.3. Spektrofotometrijske titracije spojeva <b>1</b> i <b>2</b> s metalnim kationima .....	35
4.4. Spoj <b>1</b> kao potencijalni senzor za Fe(III) ione .....	42
4.4.1. Utjecaj otapala .....	42
4.4.2. Utjecaj interferirajućih kationa .....	44
4.4.3. Vrijeme odziva .....	45
4.4.4. Reverzibilnost .....	46
<b>5. ZAKLJUČAK</b> .....	<b>48</b>
<b>6. LITERATURA</b> .....	<b>50</b>
<b>ŽIVOTOPIS</b> .....	<b>53</b>



# 1. Uvod

Zahvaljujući kemijskim sensorima moguće je iz kemijske informacije dobiti analitički signal. Princip rada optičkih kemijskih senzora temelji se na interakciji zračenja s uzorkom. Optički kemijski senzori temeljeni na fluorescenciji od velikog su značaja za detekciju različitih iona metala prisutnim u otopinama.

Teški metali štetno utječu na zdravlje čovjeka, ali također mogu u okoliš dospjeti djelovanjem čovjeka. Nastaju sagorijevanjem fosilnih goriva i smeća te kao nusprodukti u raznim granama industrije. Neophodno je sintetizirati odgovarajuće kemosenzore kako bi bilo moguće kontinuirano pratiti koncentracije prisutnih iona metala.

Fluorescentni kemosenzori za koordiniranje iona metala sastoje se od ionofora; jedinice zadužene za koordiniranje iona metala i jedinice zaslužne za prijenos fluorescentnog signala, fluorofora. Metalni ioni se vežu na ionofor, a to dovodi do pojačavanja ili gašenja fluorescencije kemosenzora. Na tom se principu temelji detekcija raznih metalnih iona u otopinama.

Benzimidazoli i 1,2,3-triazoli su potencijalni kemijski senzori za koordiniranje iona različitih metala. Zbog svojih elektron-donorskih svojstava koja duguju dušikovom atomu, imaju mogućnosti vezanja metalnih iona različitim mehanizmima. Stoga je sintetiziran bis(benzimidazol-triazolil)benzen alkin-azid cikloadicijom uz bakar kao katalizator iz 2-azidobenzimidazola i 1,3- i 1,4- dietinilbenzena.

## 2. Opći dio

## 2.1. Kemijski senzor

Kemijski senzor je uređaj koji pretvara kemijsku informaciju u analitički signal. Kemijska informacija može biti posljedica kemijske reakcije analita ili fizikalnog svojstva ispitivanog sustava. Kemijski senzor sadrži dvije glavne funkcionalne jedinice: receptorski dio i pretvornički dio. U receptoru se kemijska informacija transformira u pogodan oblik energije, a pretvornik pretvara kemijsku informaciju u analitički signal.

Kemijski senzori prema principu djelovanja pretvornika dijele se na: optičke senzore, elektrokemijske senzore, električne senzore, senzore osjetljive na promjenu mase, magnetske i termometrijske senzore. [1.]

### 2.1.1. Optički kemijski senzori

Optički senzori predstavljaju grupu kemijskih senzora u kojima elektromagnetsko zračenje generira analitički signal. Interakcija zračenja s uzorkom procjenjuje se na temelju promjene određenog promatranog optičkog svojstva i usko je povezana sa koncentracijom analita. Receptorski dio senzora prepoznaje promatrano svojstvo (primjerice pH ili koncentraciju) i osigurava optički signal proporcionalan promatranom svojstvu. Pretvornik prevodi optički signal proizveden u receptoru u mjerljiv signal prigodan za obradu.

Optički senzori se mogu temeljiti na različitim optičkim svojstvima poput apsorbancije i refleksije, luminiscencije i fluorescencije te mogu pokrivati različite dijelove spektra (UV, IR, vidljivi). Osim intenziteta svjetla, optički senzori mogu mjeriti i indeks loma, raspršenje, difrakciju i polarizaciju. Primjerice, luminiscencijski senzor temelji se na principu mjerenja emisije svjetlosti kada je u kontaktu sa specifičnim analitom pomoću fotodiode koja pretvara energiju u mjerljiv signal.

Samo određena područja valnih duljina su korisna prilikom primjene načela optičkog prepoznavanja u sensorima. Zračenje može djelovati na analitički uzorak apsorpcijom, emisijom, refleksijom i refrakcijom. Najčešće metode za karakterizaciju optičkih senzora su one temeljene na apsorpciji i emisiji svjetla (fluorescencija, fosforescencija).

Visoka osjetljivost jedna je od glavnih prednosti senzora temeljenih na fluorescenciji. Osjetljivost fluorescencije je 1000 puta veća nego kod uobičajenih spektroskopskih metoda.

Mjerenje intenziteta fluorescencije je popularna metoda jer nema zahtjevnu instrumentaciju, jednostavna je i jeftina. [2.]

### 2.1.2. Dizajn optičkog kemijskog senzora:

Optička detekcija se može bazirati na direktnom mjerenju ili mjerenju pomoću indikatora. U direktnom optičkom senzoru analit se detektira direktno pomoću nekog optičkog svojstva poput apsorpcije, dok se u indikatorskom optičkom senzoru promjena optičkog svojstva posrednog sredstva (uobičajeno je to obojena molekula osjetljiva na analit-indikator) koristi za određivanje koncentracije analita. Indikator se koristi jer mjereni analiti često nemaju izražena optička svojstva.

Funkcija indikatora u kemijskom senzoru je transformacija mjerene koncentracije analita u analitički signal. Koncentracija analita mjeri se indirektno kroz promjenu optičkih svojstava indikatora.

Indikatori se mogu podijeliti na:

1. Kolorimetrijski indikatori kod kojih indikator mijenja boju uslijed vezanja analita te se ta pojava određuje spektroskopski. Važni kolorimetrijski indikatori su metalni indikatori koji formiraju obojene komplekse. Ionofori su ligandi koji selektivno vežu ione metala. Obojeni ionofori pokazuju određenu promjenu u boji prilikom interakcije sa metalnim kationom.
2. Luminiscencijski indikatori kojima se koncentracija analita određuje mjerenjem promjene emisije luminofora. Luminofor je dio molekule ili funkcionalna grupa u molekuli zbog koje molekula posjeduje luminiscencijska svojstva.

Indikator se može imobilizirati na film, gel, ali se može i povezati sa optičkim vlaknima i nanočesticama. Najučestaliji su polimerni filmovi ili membrane. Ovakvi materijali reagiraju na odgovarajuće vrste molekula promjenom optičkog svojstva. Odabrana tehnika imobilizacije utjecat će na osjetljivost analize.

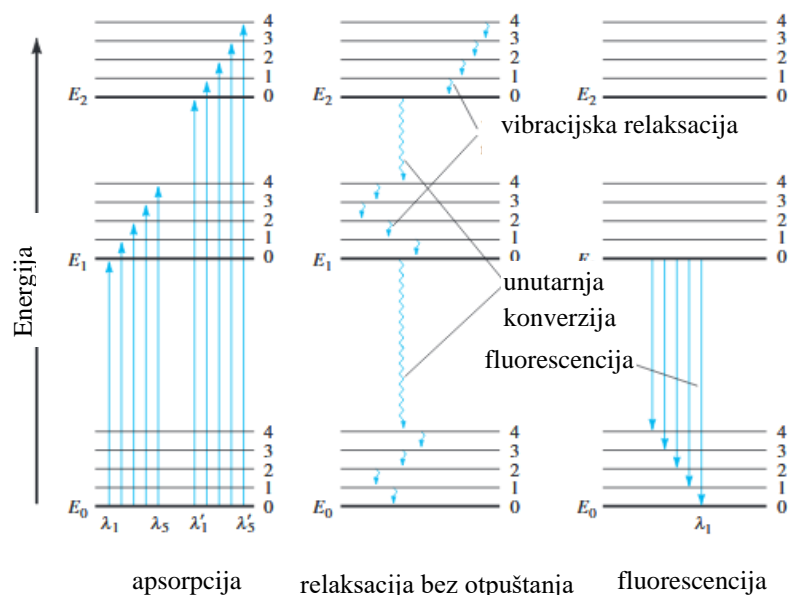
Tehnike su sljedeće:

1. Impregnacija: indikator je imobiliziran u polimernu matricu pomoću fizikalne adsorpcije, kemisorpcije i elektrostatskog vezanja. Tanki film polimera je umočen u otopinu indikatora i otapalo je potom ostavljeno da ispari.

2. Kovalentno vezanje: indikator je kovalentno vezan za polimernu matricu. To se može ostvariti odabirom indikatora koji sadrži funkcionalnu grupu za kovalentno vezanje sa polimerom ali koja je ujedno neosjetljiva na ispitivani analit ili polimerizacijom indikatora.
3. Dopiranje: indikator je zarobljen u matrici tijekom procesa polimerizacije te je indikator dodan početnoj polimernoj otopini. [2.]

## 2.2. Spektroskopske metode karakterizacije optičkih kemijskih senzora

Molekule podliježu trima vrstama kvantiziranih prijelaza pri apsorpciji ultraljubičastog zračenja. Pobuđivanje ultraljubičastim zračenjem uključuje prijelaz elektrona koji prebiva u molekularnoj orbitali niske energije u orbitalu više energije te energija fotona mora biti točno jednaka energijskoj razlici dviju orbitala. Osim elektronskih, u molekuli se pojavljuju još dvije vrste prijelaza koji su inducirani zračenjem: vibracijski i rotacijski prijelazi. Vibracijski prijelazi se pojavljuju jer molekula sadrži mnoštvo kvantiziranih energijskih stanja.



Slika 1. Dijagram energijskih stanja procesa apsorpcije, relaksacije bez otpuštanja zračenja, fluorescencije [18.]

Relaksacija elektrona se prikazuje emisijskim spektrom koji je prikaz relativne snage emitiranog zračenja kao funkcije valne duljine. Moguća je relaksacija elektrona sa i bez otpuštanja zračenja. Relaksacijom sa otpuštanjem zračenja dolazi do fluorescencije. Linije kojima završavaju dvije fluorescencijske vrpce sa strane kratkih valnih duljina ( $\lambda_1'$  i  $\lambda_1''$ ) energijski su istovjetne linijama označenima  $\lambda_1'$  i  $\lambda_1''$  u apsorpcijskom dijagramu (Slika 1.) Te se linije nazivaju rezonancijskim linijama, jer su fluorescencijske i apsorpcijske valne duljine jednake. Molekulske fluorescencijske vrpce sastavljene su uglavnom od linija većih valnih duljina od onih apsorbiranog zračenja odgovornoga za njihovo pobuđivanje. Taj pomak prema većim valnim duljinama katkad se naziva Stokesovim pomakom. Kad se promatrana molekula ozrači valnom duljinom  $\lambda_5''$  elektron apsorbira energiju i pomiče se u četvrtu vibracijsku razinu drugog pobuđenog stanja. Ubrzo se dogodi vibracijska relaksacija u nultu vibracijsku razinu stanja E2. Molekula se može relaksirati u bilo koju vibracijsku razinu osnovnog stanja E0 i nastaje vrpca 2 pri čemu sve te linije imaju manju energiju od pobudne linije  $\lambda_5''$ .

Broj molekula koje fluoresciraju relativno je malen. Fluorescencija zahtijeva strukturna svojstva koja usporavaju brzinu relaksacijskih procesa bez otpuštanja zračenja, a povećavaju brzinu fluorescencijske relaksacije. Većina molekula ne posjeduje takve strukture, čime je isključena mogućnost fluorescencije.[18.]

### 2.3. Kemijski fluorescencijski senzori za ione metala

Teški metali štetno utječu na zdravlje čovjeka. U teške metale spadaju krom, arsen, nikal, kadmij, olovo, molibden, živa, željezo. Razlikujemo esencijalne i neesencijalne teške metale. Esencijalni metali su neophodni za mnogobrojne funkcije u ljudskom organizmu (Cu, Zn, Mn, Fe). Nedostatak željeza očituje se kao anemija, nedostatak kroma kao dijabetes, a nedostatak nikla uzrokuje probleme u rastu. Teški metali mogu u okoliš dospjeti djelovanjem čovjeka. Nastaju sagorijevanjem fosilnih goriva i smeća te kao nusprodukt u metalnoj i kemijskoj industriji. [17.] Postoje propisi o dopuštenim koncentracijama iona metala u pitkoj vodi, određenim lijekovima te kako bi se njihova prisutnost mogla detektirati jako je bitno sintetizirati odgovarajuće senzore koji omogućuju kontinuirano praćenje koncentracije iona metala. Prilikom odabira senzora za ione metala treba voditi računa o valnoj duljini apsorpcije. Cilj je da ona bude što bliža UV području (300-400 nm) jer je za to područje

dostupan širok spektar LED lampi kao i snažna emisija u vidljivom dijelu spektra. Senzori za određivanje iona metala moraju biti komercijalno dostupni i jednostavni za sintetizirati. [5.]

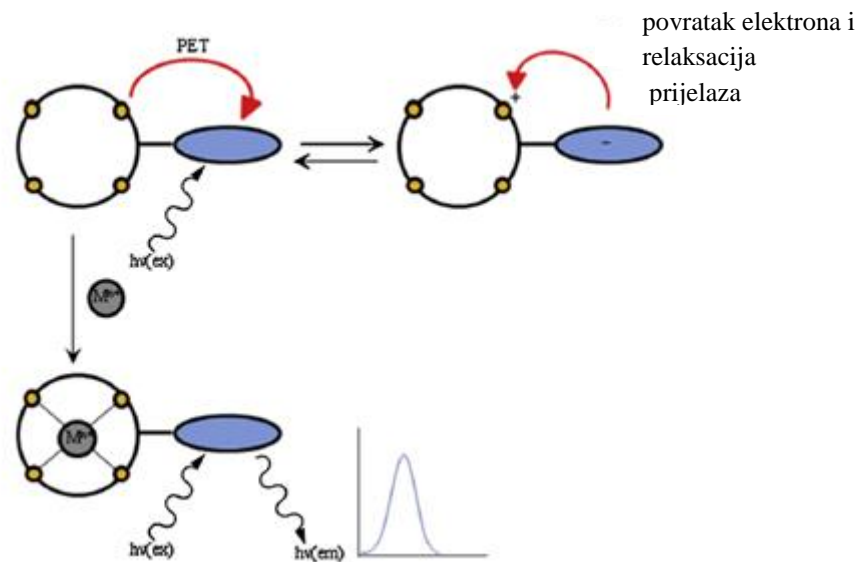
### 2.3.1. Mehanizmi koordiniranja metala

Fluorescentni kemosenzori za koordiniranje iona metala sadrže jedan ili više fluorofora i jedinicu zaduženu za koordiniranje iona metala. Koordinacijski aktivna jedinica senzora (ionofor) omogućava vezanje metalnih iona te sadrži funkcionalne jedinice poput poliamina, polietera, polisulfida, karboksilnih kiselina, a može imati otvorene lance ili makrocikličke strukture. Vezanje iona metala može uzrokovati pojačavanje intenziteta fluorescencije (engl. *chelation enhanced fluorescence*, CHEF) ili gašenje fluorescencije molekule (CHEQ, engl. *chelation enhancement quenching effect*).

#### 2.3.1.1. Fotoinducirani prijenos elektrona (PET)

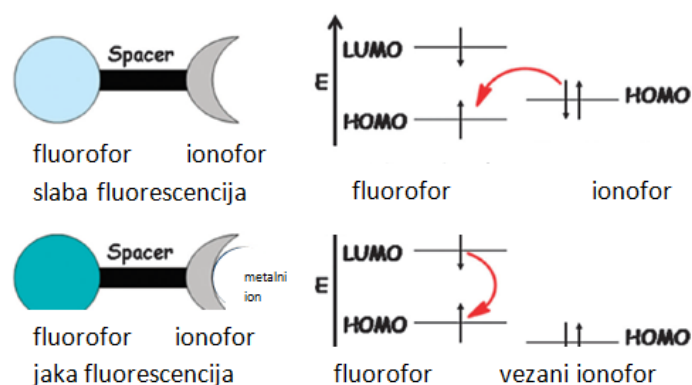
Molekula koja ima mogućnost fotoinduciranog prijenosa elektrona (engl. *photoinduced electron transfer*, PET) sastoji se od fluorofora, ionofora i prenosnice. Ionofori su elektron-donori, a fluorofori su elektron-akceptori. To je proces deaktivacije koji uključuje redoks reakciju između pobuđenog fluorofora i druge komponente koja može donirati ili primiti elektron. Svojstva molekule se razlikuju ovisno o tome je li ona u osnovnom ili pobuđenom stanju. Molekula je u pobuđenom stanju jače oksidacijsko i redukcijsko sredstvo nego u osnovnom stanju. PET proces se odvija prijelazima slobodnog elektronskog para sa koordinacijskog atoma (N, O, S, P) u najvišu popunjenu molekulsku orbitalu fluorofora. Prisutnost metalnog iona smanjuje energiju elektronskog para koordinacijskog atoma te sprječava fotoinducirani prijenos elektrona i uzrokuje pojavu fluorescencije. PET za razliku od paramagnetičkog gašenja fluorescencije, ne uzrokuje spektroskopske pomake spektra uslijed vezanja metalnog iona.





Slika 2. Fotoinducirani prijenos elektrona

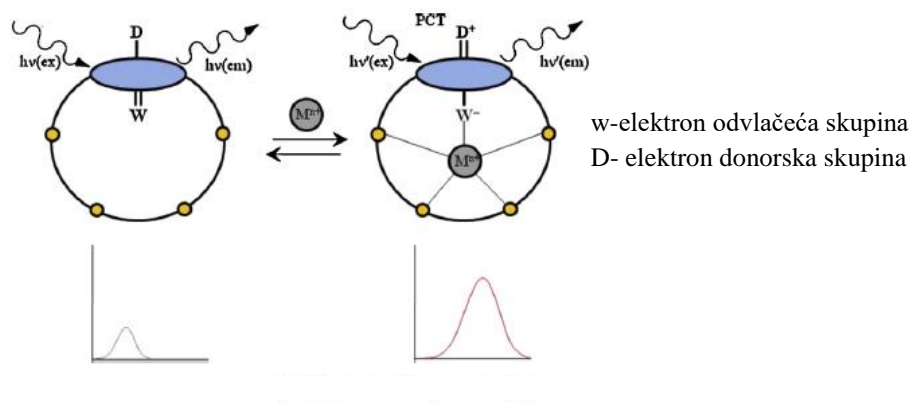
Apsorpcijom fotona elektron fluorofora u najvišoj popunjenoj molekularnoj orbitali može prijeći u najnižu nepopunjenu molekularnu orbitalu. Ako je energija najviše popunjene molekularne orbitale ionofora malo viša od energije najviše popunjene orbitale fluorofora, tada će elektron iz HOMO ionofora prijeći u HOMO fluorofora. Osim toga, povratak elektrona iz LUMO fluorofora u HOMO fluorofora će biti onemogućen te će doći do gašenja fluorescencije. Vezanjem metalnog iona energija HOMO ionofora pada ispod energije HOMO fluorofora pa je fotoinducirani prijenos elektrona onemogućen i dolazi do pojačavanja fluorescencije.



Slika 3. Fotoinducirani prijenos elektrona s prikazom molekularnih orbitala [6.]

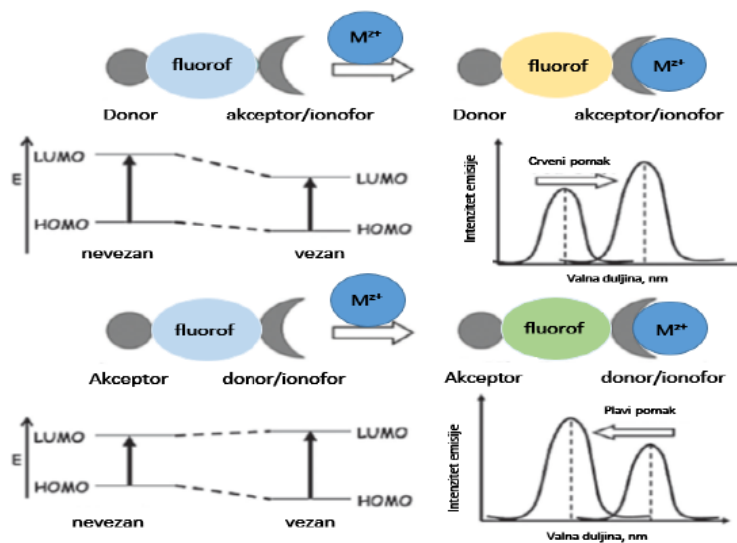
### 2.3.1.2. Fotoinducirani prijenos protona (PCT)

Fotoinducirani prijenos elektrona uključuje prijenos elektrona iz elektron donorske u elektron akceptorsku grupu te pojačavanje fluorescencije. Kod PCT mehanizma (engl. *photoinduced charge transfer*) senzora dolazi do prijelaza parcijalnog naboja unutar potpuno konjugiranog  $\pi$ -sustava. Za razliku od PET-a kod kojeg su fluorofor i ionofor razdvojeni razmakom, kod PCT senzora su fluorofor i ionofor integrirani.



Slika 4. Fotoinducirani prijenos naboja [7.]

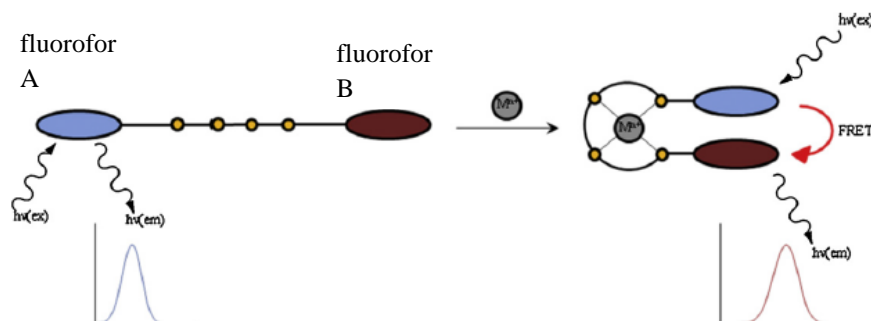
Uslijed vezanja metalnog iona u PCT senzoru dolazi do povećavanja/snižavanja energije elektrona što uzrokuje gašenje ili pojačavanje fluorescencije fluorofora i promjenu u valnoj duljini emisije i apsorpcije (plavi i crveni pomaci u valnoj duljini) ovisno o vrsti fluorofora i metalnog iona. [7.] Vezanjem metalnog iona na donor dolazi do snižavanja energije HOMO što uzrokuje plavi pomak valne duljine emisije fluorofora. Ukoliko dođe do vezanja metalnog iona na akceptor dolazi do crvenog pomaka valne duljine emisije fluorofora. [6.]



Slika 5. Fotoinducirani prijenos naboja s prikazom molekularnih orbitala [6.]

### 2.3.1.3. Fluorescentni rezonancijski prijenos energije (FRET)

Fluorescentni rezonancijski prijenos energije uključuje interakciju između elektronski pobuđenog stanja fluorofora i drugog fluorofora unutar kojeg se pobuda prenosi iz donora u akceptor bez emisije fotona. Ukoliko FRET (*engl. fluorescence resonance energy transfer*) uzrokuje pobudu jednog fluorofora detektira se emisija drugog fluorofora. Za fluorescentni rezonancijski prijenos energije potrebno je da su donorska i akceptorska grupa u neposrednoj blizini, a apsorpcijski spektar akceptora mora se poklapati sa fluorescencijskim emisijskim spektrom donora.

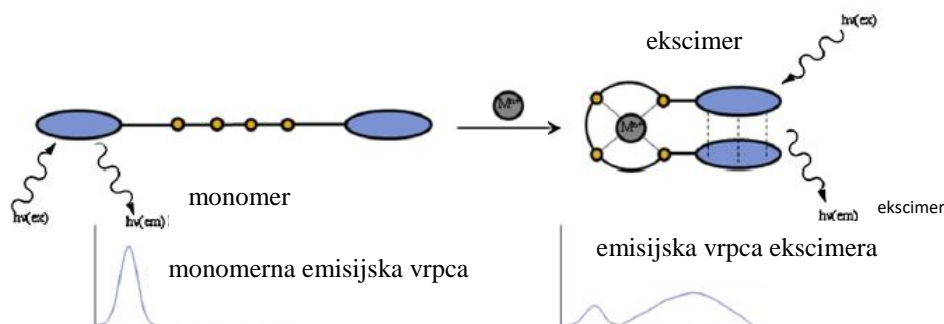


Slika 6. Fluorescencijski rezonancijski prijenos energije [7.]

Prisutnost metalnog iona uzrokuje zbližavanje ili udaljavanje dvaju fluorofora. U prvom slučaju pobudom fluorofora A prati se emisijski spektar fluorofora A jer je fluorescentni rezonancijski prijenos energije onemogućen zbog velike udaljenost fluorofora A i fluorofora B (Slika 6.). Međutim ukoliko dođe do vezanja metalnog iona doć će do približavanja fluorofora A i fluorofora B te će fluorescentni rezonancijski prijenos energije biti moguć i prilikom pobude fluorofora A moguće je pratiti emisiju fluorofora B. [7.]

#### 2.3.1.4. Stvaranje ekscimera ili ekscipleksa

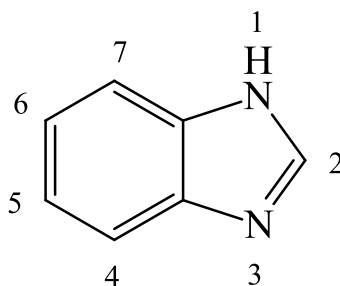
Kada je interakcija između jednog fluorofora u pobuđenom i drugog fluorofora u osnovnom stanju u senzoru izrazito jaka dolazi do formiranja nove kemijske vrste ekscimera ili ekscipleksa. Emisija ekscimera ili ekscipleksa uvijek se odvija pri nižoj energiji u odnosu na energiju emisije monomera. Omjer intenziteta emisije monomera i ekscimera daje kvantitativnu mjeru količine metalnog iona prisutnog u otopini. Takvi senzori zovu se ratiometrijski senzori.[7.]



Slika 7. Stvaranje ekscimera ili ekscipleksa [7]

#### 2.4. Benzimidazoli

Heterociklički kromofori su jedni od najviše istraživanih skupina optičkih senzorskih molekula zbog odličnih spektralnih svojstava i njihove mogućnosti da detektiraju različite analite. Benzimidazoli su terapijski aktivni te imaju široku primjenu u medicinskim istraživanjima lijekova, a njegovi derivati imaju jako bitnu ulogu prilikom razvoja optičkih kemijskih senzora.



Slika 8. Struktura benzimidazola

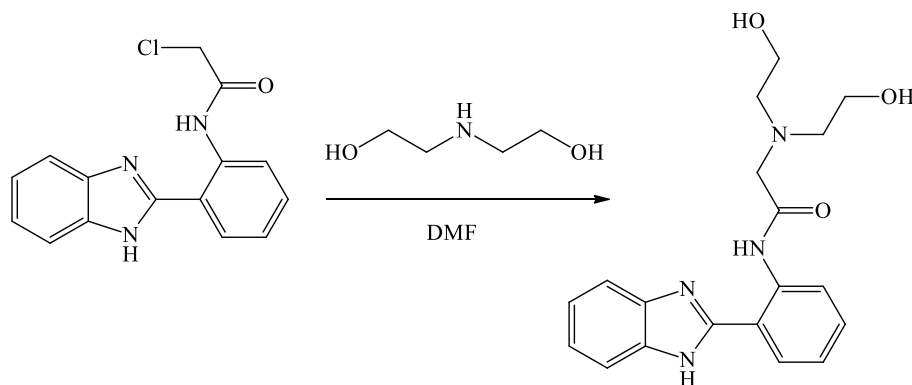
Elektron-akceptorska svojstva benzimidazola kombinirana sa kromogenom pH osjetljivošću, metal-ion kelatnim svojstvima i kompatibilnošću sa biomolekulama čini ga molekulom sa širokim spektrom primjene. [4.]

#### 2.4.1. Uloga benzimidazola u koordiniranju iona metala

Mnogi optički senzori temeljeni na benzimidazolu posjeduju visoku selektivnost i osjetljivost te se koriste kao senzori za alkalijske i zemnoalkalijske metale kao i za prijelazne metale ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ). Benzimidazoli su biciklički spojevi koji u svojoj strukturi sadrže dva dušikova atoma. Zbog dušikovih atoma prisutnih u strukturi, sve češće su prisutni kao funkcionalne jedinice u kemosenzorskim molekulama. Naime, zbog slobodnog elektronskog para koji se nalazi na dušiku N3 (Slika 8) moguća je interakcija sa kationom pa su derivati benzimidazoli sve češće ispitivani kao senzori za koordiniranje iona metala. Zbog elektron-akceptorskih svojstava, konjugiranih  $\pi$  veza i planarne strukture, benzimidazol je odgovarajuća molekula za dizajn donor- $\pi$ -akceptorskog sustava. Jedan od mogućih mehanizama koordiniranja iona je ICT mehanizam. Benzimidazol je jedinstvena struktura zahvaljujući višestrukim  $\pi$  vezama. Vezanjem metalnog iona mijenja se stupanj konjugacije molekule što utječe na elektron akceptorska svojstva benzimidazola i uzrokuje promjene u boji i intenzitetu optičkog signala. [4.]

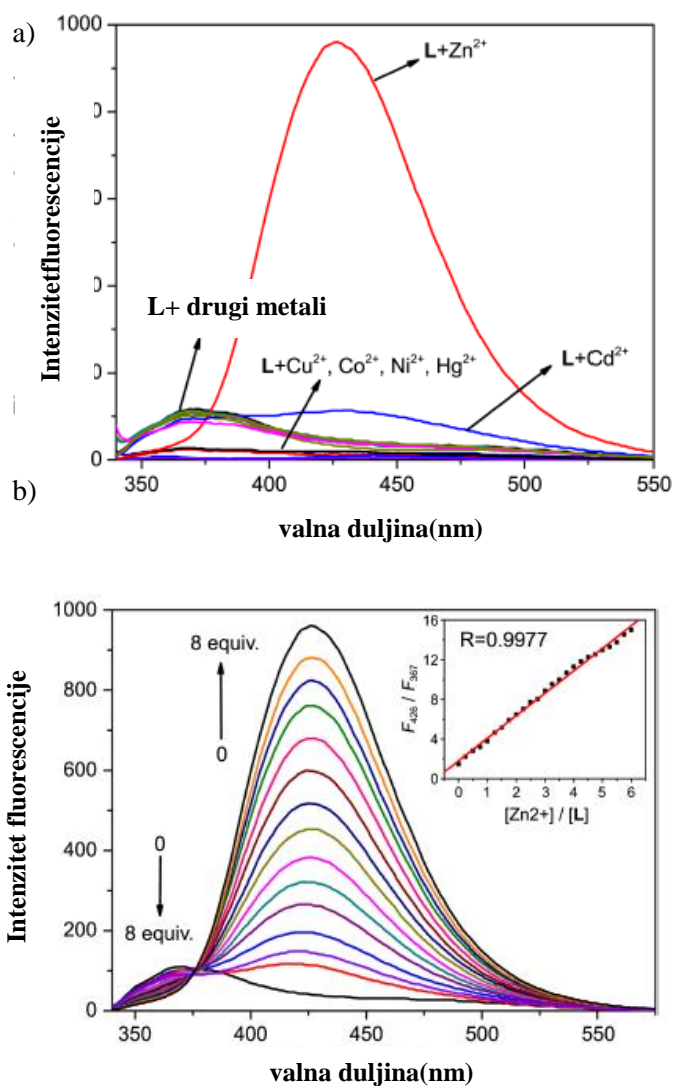
Drugi najvažniji prijelazni metalni ion u ljudskom organizmu je upravo  $\text{Zn}^{2+}$  ion. Ima veliki utjecaj na aktivnost mozga te prijenos živčanih signala, a njegov deficit između ostalog može uzrokovati rak prostate ili dijabetes. Skupina autora 2014. godine sintetizirala je

benzimidazolni kemosenzor za određivanje Zn(II) iona reakcijom dietanol-amina i *N*-[2-(1*H*-benzimidazol-2-il)fenil]-2-kloroacetamida u DMF-u.

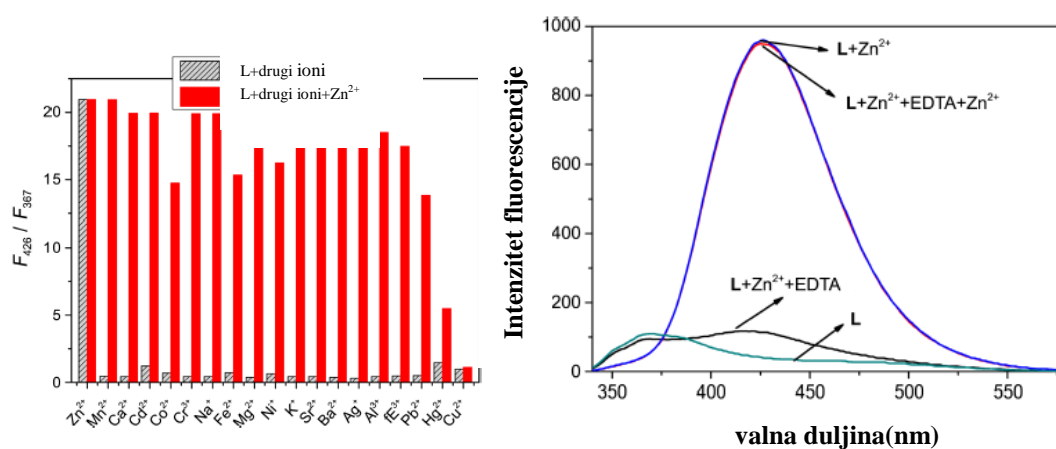


Slika 9. Sinteza senzora **L** temeljenog na benzimidazolu [8.]

Sintetizirani senzor dobro je topljiv u vodi, a dodatkom  $80 \mu\text{M}$   $\text{Zn}^{2+}$  iona u  $10 \mu\text{M}$  otopinu spoja **L** dolazi do povećanja intenziteta fluorescencije. U prisutnosti  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  iona fluorescencija se gasi, dok ostali ispitivani ioni ( $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^+$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ) ne uzrokuju nikakve promjene u spektru. Provedena je titracija otopine spoja **L** sa  $\text{Zn}^{2+}$  ionima ( $0\text{--}80 \mu\text{M}$ ) pri čemu intenzitet fluorescencije postupno raste što je prikazano na Slici 10. Ispitana je reverzibilnost potencijalnog senzora dodatkom  $100 \mu\text{M}$   $\text{EDTANa}_2$  u otopinu senzora i  $\text{Zn}^{2+}$  iona pri čemu je došlo do gašenja fluorescencije, a intenzitet je bio približno jednak početnom intenzitetu same otopine spoja **L** (Slika 11). Provjeren je i utjecaj drugih metala na selektivnost senzora na  $\text{Zn}^{2+}$  ione. Dodatkom  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  iona u otopinu senzora i  $\text{Zn}^{2+}$  iona došlo je promjene u intenzitetu fluorescencije dok prisutnost drugih iona nije uzrokovala nikakve spektralne promjene (Slika 10).



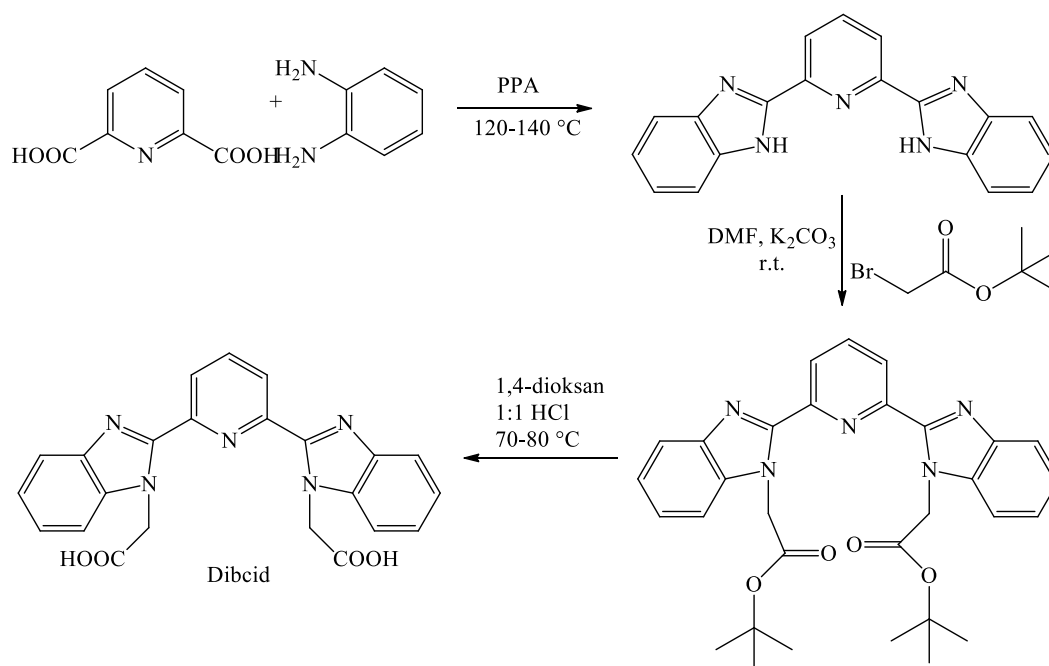
Slika 10. a) Promjene u emisijskom spektru spoja L dodatkom različitih metalnih kationa; b) Povećanje intenziteta fluorescencije postupnim dodatkom  $Zn^{2+}$  iona u otopinu spoja L. [8]



Slika 11. Promjene u intenzitetu fluorescencije otopine spoja L i  $Zn^{2+}$  u prisutnosti interferirajućih kationa (lijevo); otopine senzora i  $Zn^{2+}$  uz dodatak i bez EDTANa<sub>2</sub> (desno) [8]

Može se zaključiti da spoj **L** pokazuje visoku selektivnost na  $Zn^{2+}$  ione, reverzibilan je i da bi se mogao koristiti kao fluorescencijski senzor za  $Zn^{2+}$  ione u vodenim otopinama. [8.]

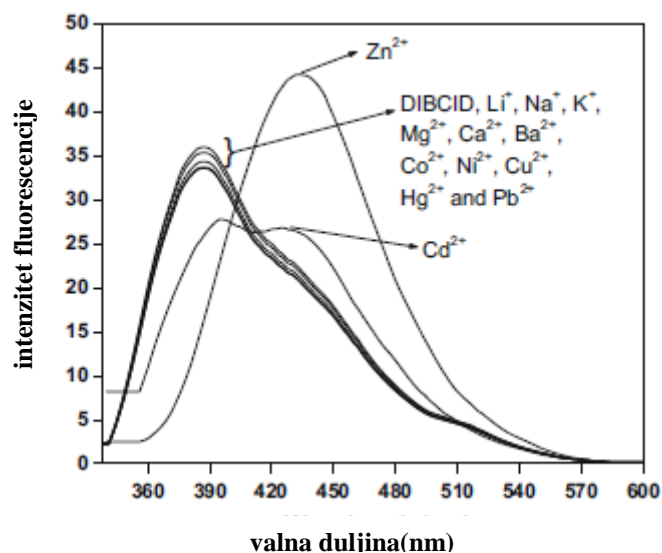
Osim benzimidazola, kao kemosenzori za  $Zn^{2+}$  ione koriste se i bis-benzimidazoli. 2015. godine sintetiziran je senzor za  $Zn^{2+}$  ione temeljen na bis-benzimidazolu. 2,6-Bis(2-benzimidazol)piridin (BBP) je poznati tridentalni ligand. Sintetiziran je kemosenzor Dibcid koji se temelji na BBP-u.



**Slika 12.** Sinteza kemosenzora Dibcid [9.]

Istraživanja su pokazala kako je Dibcid selektivan na  $Zn^{2+}$  ione te da dodatkom  $Zn^{2+}$  iona dolazi do povećanja intenziteta fluorescencije spoja Dibcid. U prisutnosti ostalih iona nisu uočene značajne promjene u apsorpcijskom i emisijskom spektru spoja Dibcid. [9.]

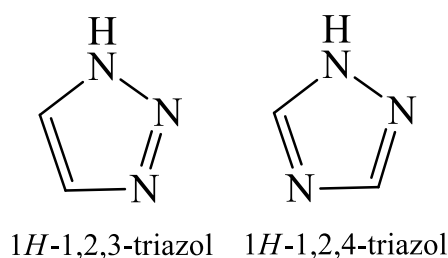




Slika 13. Promjene u emisijskom spektru spoja Dibcid dodatkom različitih metalnih kationa [9.]

## 2.5. Triazoli

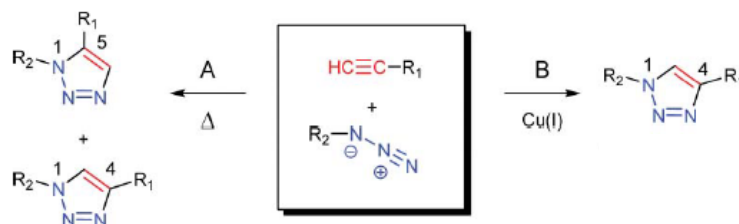
Triazoli su peteročlani heterociklički prsteni koji sadrže tri dušikova atoma, a struktura dvaju izomera, 1,2,3- i 1,2,4-triazola prikazana je na slici 14. U posljednjih desetak godina, 1,2,3-triazoli su sve češće korišteni u medicini, katalizi, organskoj sintetskoj kemiji, te kao funkcionalne jedinice u senzorskim molekulama. [10.]



Slika 14. Strukture triazola

Triazoli se mogu pripraviti 1,3-dipolarnom cikloadicijom azida i alkina, tzv. Huisgen-ovom cikloadicijom i najzastupljenija je od reakcija "klik-tipa". Sintezom bez prisutnosti katalizatora nastaje smjesa 1,2,3- i 1,2,4-triazola, a reakcija zahtijeva visoku temperaturu.

2001. godine Tornøe i Meldal su upotrijebili bakar(I) kao katalizator i ta reakcija, pri čemu nastaju samo 1,2,3-triazoli, poznata je kao Cu(I)-katalizirana 1,3-cikloadicija. Reakcija je karakterizirana visokim iskorištenjima, blagim reakcijskim uvjetima, odvija se pri temperaturi 0 – 25 °C, brža je od nekatalizirane, sterička i elektronska svojstva supstituenata ne utječu bitno na tijek reakcije, a reakcijom regioselektivno nastaju samo 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazoli. [11]

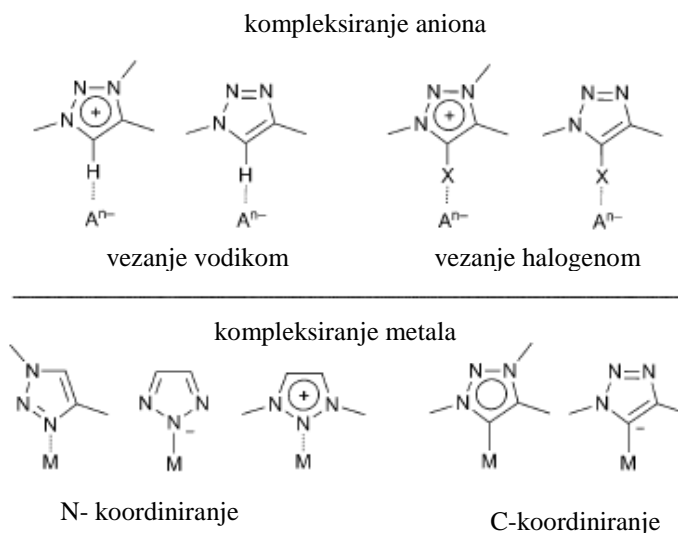


Slika 15. Sinteza triazola [11.]

### 2.5.1. Uloga 1,2,3-triazola u koordiniranju iona metala

Triazoli posjeduju tri atoma dušika koji imaju slobodne elektronske parove, koji im omogućuju interakciju s metalnim kationima, pa su triazolne jedinice sve više korištene u dizajnu kemosenzorskih molekula za koordiniranje metalnih iona. [12.]

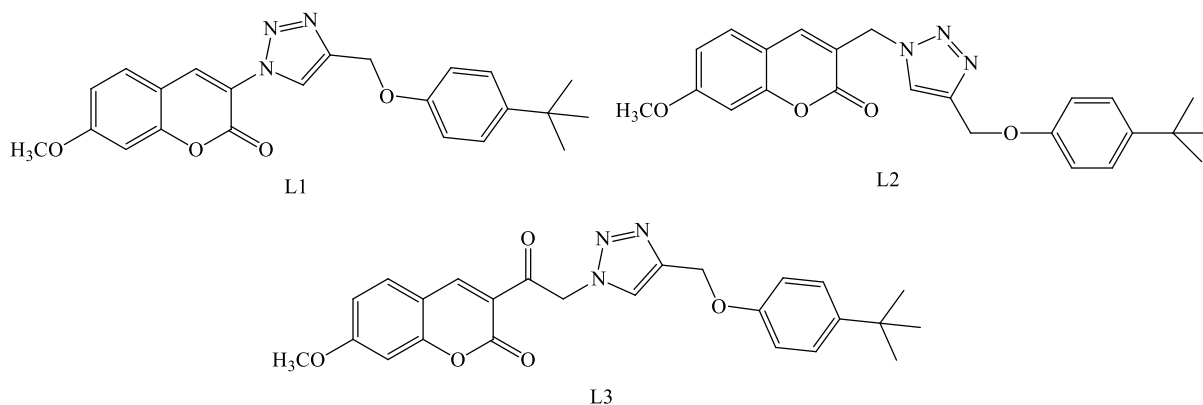
Triazoli imaju mogućnost supramolekulskih interakcija od anionskog kompleksiranja pomoću vodika i halogena, do metalnog koordiniranja pomoću anionskih, neutralnih ili kationskih dušikovih donora kao i karbanionskih i mezoionskih donora ugljika. [13.]



Slika 16. Odabrane supramolekulske interakcije 1,2,3-triazola i njihovih derivata [13]

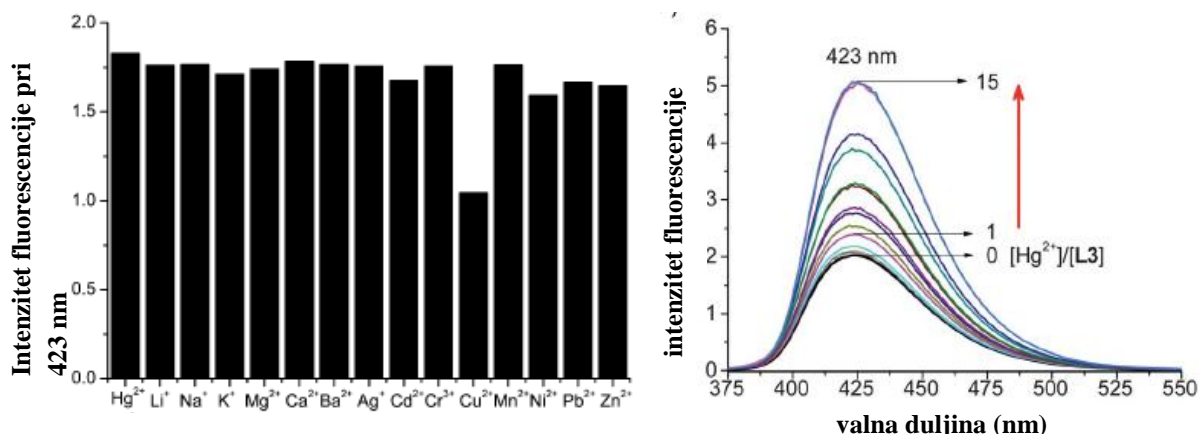
Skupina autora sintetizirala je 2012. godine kemosenzor koji u svojoj strukturi posjeduje 1,2,3-triazolnu jedinicu i koristi se kao senzor za detekciju iona žive.

Važnost detekcije iona žive leži u činjenici da imaju iznimno štetan utjecaj na zdravlje čovjeka. Živa(II) se smatra toksičnim i opasnim elementom jer u okoliš ulazi zahvaljujući ljudskom djelovanju, oceanskim i vulkanskim erupcijama, eroziji uzrokovanom vjetrom i vodom, šumskim požarima te izgaranjem fosilnih goriva. Bakterije u okolišu prevode  $\text{Hg}^{2+}$  u metil živu koja se akumulira u biljkama i životinjama te na posljetku dolazi preko hranidbenog lanca i do čovjeka. Metil-živa znatno utječe na zdravlje čovjeka jer uzrokuje trajno oštećenje živčanog sustava, probleme s probavom i radom bubrega te oštećenje DNA [16]. Stoga se veliki napor ulaže u sintezu kemosenzora koji omogućavaju detekciju iona žive. Bakrom(I) kataliziranom azid-alkin cikloadicijom sintetizirani su 1,2,3-triazolni derivati kumarina (L1, L2, L3).



Slika 17. Strukture senzora triazolil-kumarina [14.]

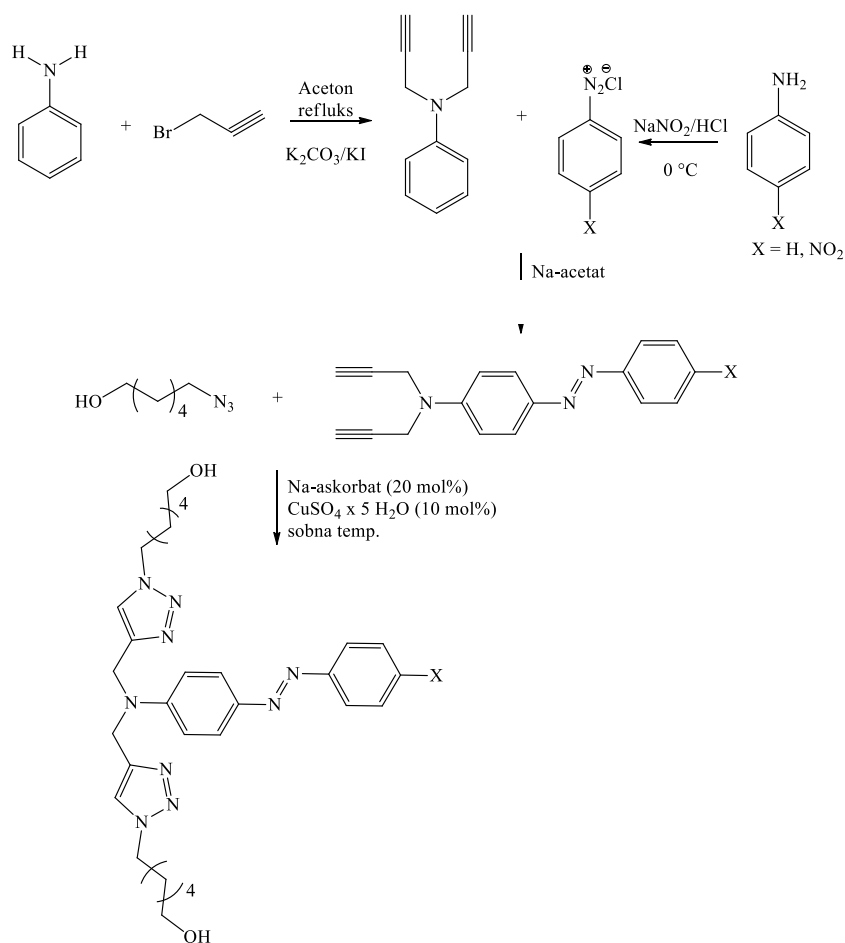
Među tri sintetizirana senzora najveću selektivnost na  $\text{Hg}^{2+}$  ione pokazao je senzor L3. Vezanjem iona žive došlo je do pojačavanja fluorescencije. Senzor L3 pokazao je iznimnu selektivnost na ione žive unatoč prisutnosti različitih iona ( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^+$ ).



Slika 18. Intenzitet fluorescencije senzora L3 u prisutnosti  $\text{Hg}^{2+}$  i dodatkom različitih metala (lijevo); promjene u fluorescencijskom spektru senzora dodatkom različitih količina  $\text{Hg}^{2+}$  iona (desno) [14.]

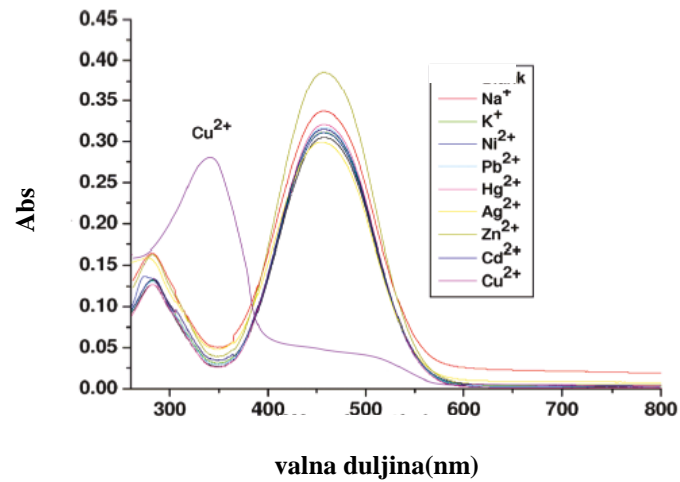
Budući da je dodatak iona žive uzrokovao promjenu u fluorescencijskom spektru senzora obavljena je titracija dodatkom različitih količina iona žive što je prikazano na Slici 18. (desno). Dodatnim ispitivanjima utvrđeno je da se ioni  $\text{Hg}^{2+}$  koordiniraju upravo na 1,2,3-triazol. [14]

2012. godine sintetiziran je bis-triazolni derivat za određivanje  $\text{Cu}^{2+}$  iona koji sadrži azobenzen. Bis-triazol predstavlja dio molekule koji koordinira ione metala, a azobenzen zadužen je za prijenos signala tijekom spektrometrijskih ispitivanja. Bis-triazolni receptori su odabrani kao elektron-donori, a nitro skupina kao elektron-akceptor. U prvom stupnju pripremljeni su alkini i azid, N-alkilacijom anilina sa propargil bromidom, odnosno, reakcijom odgovarajućeg Br-supstituiranog alkohola sa  $\text{NaN}_3$ . Ciljani receptori I i II su pripremljeni CuAAC reakcijom azida i alkina 5 i 6.

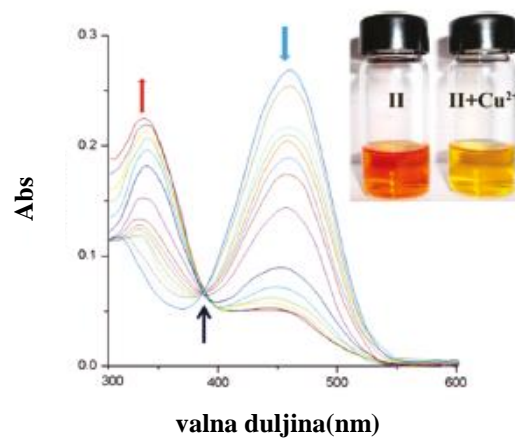


Slika 19. Sinteza receptora I i II [15.]

Koordiniranjem iona  $\text{Cu}^{2+}$  dolazi do velikih promjena u boji koje su vidljive golim okom. Boja se mijenja od crvene do svijetložute.



Slika 20. Apsorpcijski spektar receptora II dodatkom različitih metalnih iona. [15.]



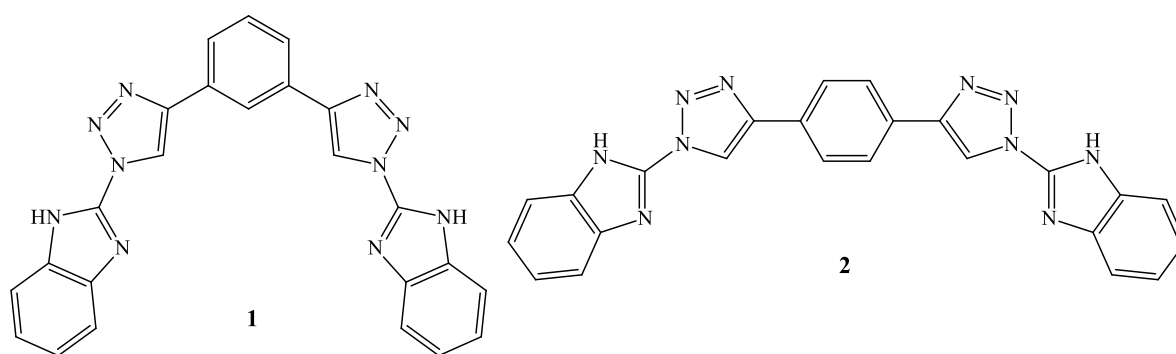
Slika 21. Promjena u apsorpcijskom spektru receptora II dodatkom Cu<sup>2+</sup> iona od 0-3 eq[15.]

Prema slici 21. vidljivo je kako je receptor II selektivan na ione Cu<sup>2+</sup> te kako dodatkom Cu<sup>2+</sup> iona dolazi do povećanja apsorpcije dok u prisutnosti drugih metalnih iona nema značajnih promjena u apsorpcijskom spektru.[15.]

### 3. Eksperimentalni dio

U ovom radu ispitani su novi derivati bis(benzimidazolil-1,2,3-triazolil)benzena, 1,3-bis(1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzen **1** i 1,4-bis(1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzen **2** kao potencijalne fluorescentne senzorske molekule za koordiniranje metalnih iona. Mjerenja su provedena pri koncentraciji spojeva  $1 \times 10^{-5}$  M u etanolu i univerzalnom puferu (pH = 7).

Na Slici 22. prikazane su strukture ispitivanih spojeva.



Slika 22. Bis(benzimidazolil-1,2,3-triazolil)benzeni **1** i **2**

### 3.1. Instrumenti

Pri izvedbi eksperimenata rabljeni su sljedeći instrumenti:

- analitička vaga *KERN & Sohn GmbH, D-72336 Balingen, Germany*;
- UV-vidljivi spektrofotometar, *Cary 100 Scan*;
- UV-vidljivi spektrofluorimetar, *Cary Eclipse*.

### 3.2. Priprava otopina

Za provedbu eksperimenata pripravljene su sljedeće otopine: matične (stock) otopine spojeva **1** i **2** u etanolu, matične otopine metalnih soli ( $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnCl}_2$ ,  $\text{AlCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{LiCl}$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{HgCl}_2$ ,  $\text{CuCl}_2$ ) u etanolu i otopina univerzalnog pufera pH = 7. Ispitan je utjecaj pripremljenih metalnih iona na spektralna svojstva spojeva **1** i **2**.



**Matične otopine spojeva 1 i 2**

Izvan je 1,0 mg spoja i otopljen u 3 mL etanola. Molarna masa spojeva **1** i **2** iznosi 444,45 g/mol. Koncentracije matičnih otopina spojeva izračunata je prema formuli (1) i iznosile su  $7,5 \times 10^{-4}$  mol/L. :

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

**Matične otopine metalnih soli**

Odvagane su odgovarajuće mase metalnih soli između 5,4 i 9,9 mg te su otopljene u 3mL etanola. Koncentracije otopina izračunate su prema formuli (1) i prikazane u Tablici 1. Ove otopine su po potrebi za titracije spojeva **1** i **2** razrijeđene na koncentraciju  $1 \times 10^{-5}$  M.

**Tablica 1.** Odvage krutina metalnih soli i pripadajuće koncentracije pripremljenih matičnih otopina metalnih soli

Metalne soli	$m$ / mg	$M$ / $\text{g mol}^{-1}$	$n$ ( $\text{Me}^{z+}$ ) / mol	$c$ ( $\text{Me}^{z+}$ ) / $\text{mol L}^{-1}$
$\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$	9,60	270,30	$3,55 \times 10^{-5}$	$7,85 \times 10^{-3}$
$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	7,80	331,21	$2,36 \times 10^{-5}$	$7,85 \times 10^{-3}$
$\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	5,70	241,93	$2,36 \times 10^{-5}$	$2,51 \times 10^{-2}$
$\text{ZnCl}_2$	9,50	126,38	$7,52 \times 10^{-5}$	$1,16 \times 10^{-2}$
$\text{AlCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$	8,40	241,45	$3,48 \times 10^{-5}$	$4,62 \times 10^{-2}$
LiCl	8,30	42,39	$1,96 \times 10^{-4}$	$6,53 \times 10^{-2}$
KCl	9,90	74,55	$1,33 \times 10^{-4}$	$4,43 \times 10^{-2}$
$\text{HgCl}_2$	5,80	271,50	$2,70 \times 10^{-4}$	$8,99 \times 10^{-2}$
$\text{CuCl}_2$	5,40	134,45	$4,02 \times 10^{-5}$	$1,34 \times 10^{-2}$
NaCl	8,10	58,44	$1,39 \times 10^{-4}$	$4,62 \times 10^{-2}$

### Otopina univerzalnog pufera pH = 7

Otopine univerzalnog pufera pripremaju se miješanjem citratne otopine i određenog volumena 0,1 M otopine klorovodične kiseline. Citratna otopina sastoji se od 100,00 mL 0,33 M citratne kiseline (6,93 g citratne kiseline u 100,00 mL demineralizirane vode), borne kiseline mase 3,54 g, 100,00 mL 0,33 M fosfatne kiseline (98%, 2,30 mL u 100,00 mL) te 343,00 mL 1 M natrijeva hidroksida (20,00g na 0,50 L). Citratna otopina (A) i klorovodična kiselina (B) se miješaju u odmjernoj tikvici prema jednadžbi (2) :

$$20,00 \text{ ml A} + x \text{ ml B (u 100,00 ml)} \quad (2)$$

gdje je x (B) volumen klorovodične kiseline (mL).

Za pripravu pufera pH = 7 dodano je 32,9 mL 0,1 M HCl.

### 3.3. Mjerenja

Preliminarno su snimljeni apsorpcijski i emisijski spektri spojeva **1** i **2** u etanolu i puferu pri koncentraciji spojeva  $1 \times 10^{-5}$  M koja je dobivena razrjeđenjem matičnih otopina spojeva. Mjerene otopine su pripravljene dodatkom određenog alikvota matične otopine u kivetu u kojoj se nalazi 3,0 mL etanola, odnosno pufera. Iz matičnih otopina spojeva automatskom pipetom su uzeti alikvoti od 40,0  $\mu$ L otopine.

Apsorpcijski spektri snimljeni su u rasponu 200 – 500 nm. Mjerne otopine pripravljene su u kvarcnoj kiveti optičkog puta 10 mm. Prije svakog snimanja spektra, snimljena je bazna linija čistog otapala.

Emisijski spektri snimljeni su pri valnoj duljini pobude koja odgovara valnoj duljini maksimuma apsorpcije, očitanoj iz snimljenih apsorpcijskih spektara. Pri snimanju emisijskih spektara, ovisno o intenzitetu fluorescencije, potrebno je odabrati određenu širinu otvora (engl. *slit width*) koja određuje rezoluciju spektra, odnosno veličinu ulaznog i izlaznog otvora, koji se označavaju s dva broja izražena u nanometrima. Spektri su snimani pri slitovima 10-10 i 10-20. Prije snimanja svakog apsorpcijskog i emisijskog spektra otopina u kiveti je miješana 2 minute, a valna duljina pobude za emisijske spektre bila je valna duljina maksimuma apsorpcije.

### Utjecaj prisutnosti različitih metalnih iona

Ispitivanje utjecaja različitih metalnih iona u interakciji sa spojevima provedeno je dodatkom određenog alikvota metalnih soli aluminija, bakra, cinka, kalija, kobalta, litija, natrija, olova, željeza i žive, pri koncentraciji spoja  $1 \times 10^{-5}$  M. U kvarcnu kivetu u kojoj se nalazilo 3,0 mL etanola dodan je odgovarajući alikvot otopine spoja te odgovarajući volumen otopine metalne soli.

### Titracije spojeva s metalnim ionima

Titracije spojeva s metalnim solima koje su uzrokovale promjene u spektrima spojeva **1 i 2** provedene su pri koncentraciji spojeva  $1 \times 10^{-5}$  M, a koncentracija metalnih iona se postupno povećavala dodatkom novog alikvota otopine metalnog iona ( $c=1 \times 10^{-3}$  M) u kivetu (0 – 50 eq), prema Tablici 2.

**Tablica 2.** Koncentracije otopina metalnih iona pri kojima je izvršena titracija spojeva.

dodatak $\text{Me}^{z+}$	eq	$c(\text{Me}^{z+}) / \text{M}$	$V(\text{Me}^{z+}, \text{dodani}) / \mu\text{L}$
Me0	0	0	0,0
Me1	0,1	$1,0 \times 10^{-6}$	3,0
Me2	0,2	$2,0 \times 10^{-6}$	3,0
Me3	0,5	$5,0 \times 10^{-6}$	9,0
Me4	1,0	$1,0 \times 10^{-5}$	15,0
Me5	1,2	$1,2 \times 10^{-5}$	6,0
Me6	1,5	$1,5 \times 10^{-5}$	9,0
Me7	2,0	$2,0 \times 10^{-5}$	15,0
Me8	5,0	$5,0 \times 10^{-5}$	90,0
Me9	10,0	$1,0 \times 10^{-4}$	150,0
Me10	20,0	$2,0 \times 10^{-4}$	150,0
Me11	50,0	$5,0 \times 10^{-4}$	450,0

### **Reverzibilnost i selektivnost spoja 1 za određivanje Fe<sup>3+</sup> iona**

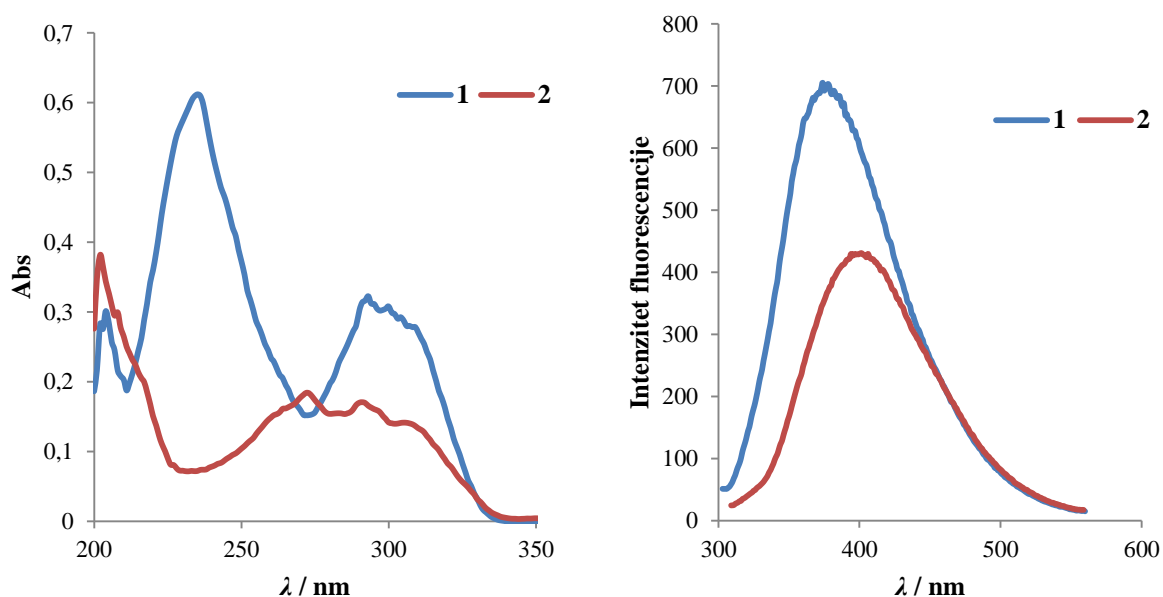
Reverzibilnost je ispitana dodatkom 60,4 μL (20 eq) otopine EDTANa<sub>2</sub> ( $c=1,02 \times 10^{-2}$  M) u kivetu koja je sadržavala  $1 \times 10^{-5}$  M otopinu spoja 1 i 50,0 μL (20 eq) otopine Fe<sup>3+</sup> iona.

Selektivnost je ispitana snimanjem emisijskih spektara otopine spoja i Fe<sup>3+</sup> iona (20 eq) u etanolu uz dodatak određenog volumena (20 eq) interferirajućih kationa.

## 4. Rezultati i rasprava

#### 4.1. Fotofizička karakterizacija spojeva

Preliminarno su ispitana fotofizička svojstva spojeva **1** i **2** u etanolu. Na slici 23. prikazana je usporedba apsorpcije i emisije spojeva u etanolu, pri koncentraciji spojeva  $c = 1 \times 10^{-5}$  M, a radi lakše usporedbe apsorpcije i emisije spojeva, spektri su prikazani u normaliziranim vrijednostima na slici 24.

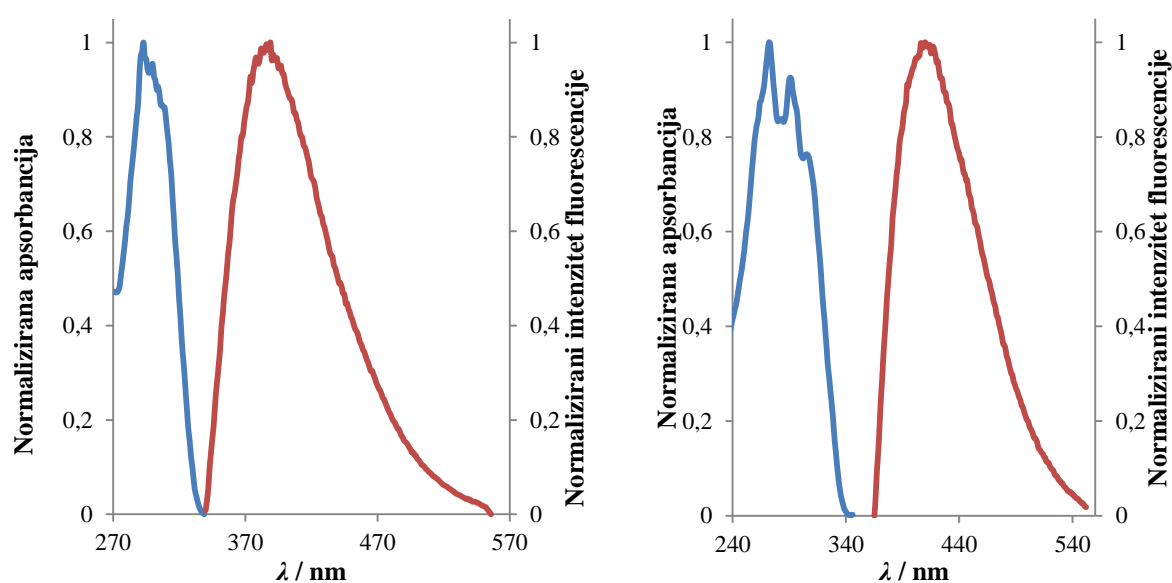


Slika 23. Apsorpcijski (lijevo) i emisijski (desno) spektri spojeva **1** i **2**

Apsorpcija UV ili Vis zračenja uzrokuje prelazak elektrona iz popunjene orbitale niže energije u nepopunjenu orbitalu više energije. Najčešći elektronski prijelazi u organskim molekulama su  $\pi \rightarrow \pi^*$  i  $n \rightarrow \pi^*$ . Apsorpcijske vrpce pri većim valnim duljinama mogu se pripisati  $n \rightarrow \pi^*$  prijelazima kojima je potrebna manja energija, dok se  $\pi \rightarrow \pi^*$  prijelazi javljaju pri kraćim valnim duljinama. Spojevi **1** i **2** apsorbiraju svjetlo u UV području (200 – 380 nm) zbog prisutnosti konjugiranog  $\pi$ -sustava, a matične otopine spojeva su bezbojne što odgovara njihovom apsorpcijskom spektru.

Valna duljina emisije uvijek je dulja od valne duljine pobude jer dolazi do gubitka dijela energije zbog prijelaza elektrona sa viših na najniži vibracijski nivo pobuđenog stanja s kojeg se zatim elektron vraća u osnovno stanje. 1,3-bis(benzimidazolil-triazolil)benzen **1** emitira pri 390 nm, dok je maksimum emisije 1,4-bis(benzimidazolil-triazolil)benzena **2** pri 410 nm.

Spektrofotometrijska svojstva ispitivanih spojeva prikazana su na istom grafu (Slika 22.) u normaliziranim vrijednostima, kako bi se usporedila apsorpcija i emisija te uočili Stokesovi pomaci, odnosno udaljenosti između valne duljine maksimalne apsorpcije i valne duljine emisije, koji iznose 95 nm za **1** i 103 nm za **2**. Za senzorsku primjenu poželjno je da taj pomak bude što veći, odnosno da preklapanje apsorpcijskog i emisijskog spektra bude što manje, jer to smanjuje raspršenje svjetla i mogućnost gašenja fluorescencije a time i učinkovitiju detekciju emitiranog svjetla. U literaturi je navedeno da je već pomak od 57 nm prihvatljiv za senzorsku primjenu [19.]. Fotofizička svojstva spojeva prikazana su u tablici 3.



Slika 24. Normalizirani apsorpcijski i emisijski spektri **1**(lijevo) i **2**(desno) ( $c = 1 \times 10^{-5}$  M).

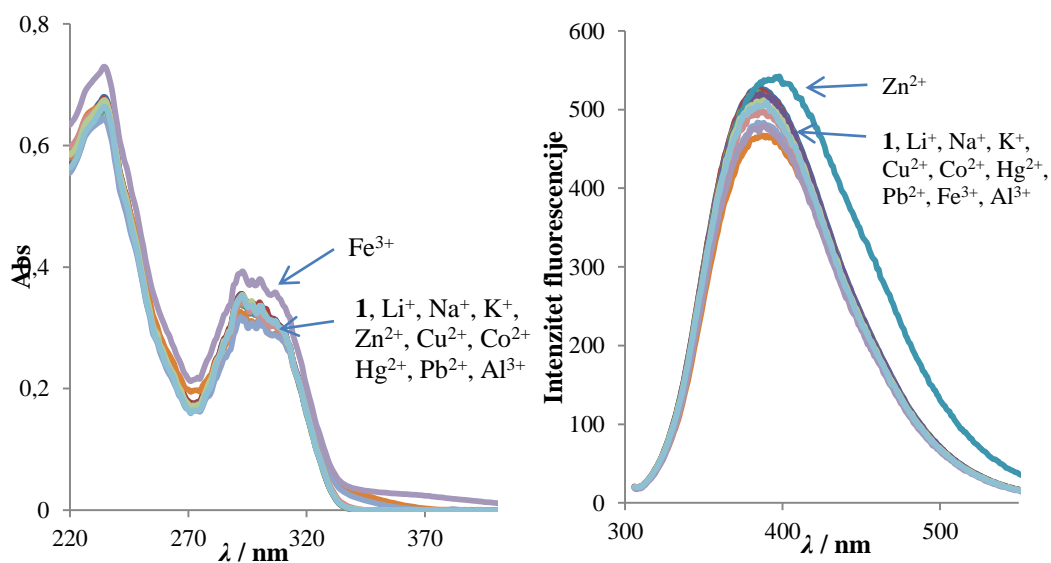
Tablica 3. Fotofizička svojstva spojeva **1** i **2** u etanolu pri  $c = 1 \times 10^{-5}$  M

Spoj	$\lambda_{abs}/nm$	<i>Abs</i>	$\epsilon$ /Lmol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup>	$\lambda_{emis}/nm$	<i>Intenzitet</i>	<i>Stokesov pomak</i> / nm
<b>1</b>	292	0,320	$3,2 \times 10^4$	387	697	95
	235	0,612	$6,12 \times 10^4$			
<b>2</b>	292	0,170	$1,7 \times 10^4$	395	420	103
	273	0,184	$1,84 \times 10^4$			

## 4.2. Utjecaj prisutnosti metalnih iona

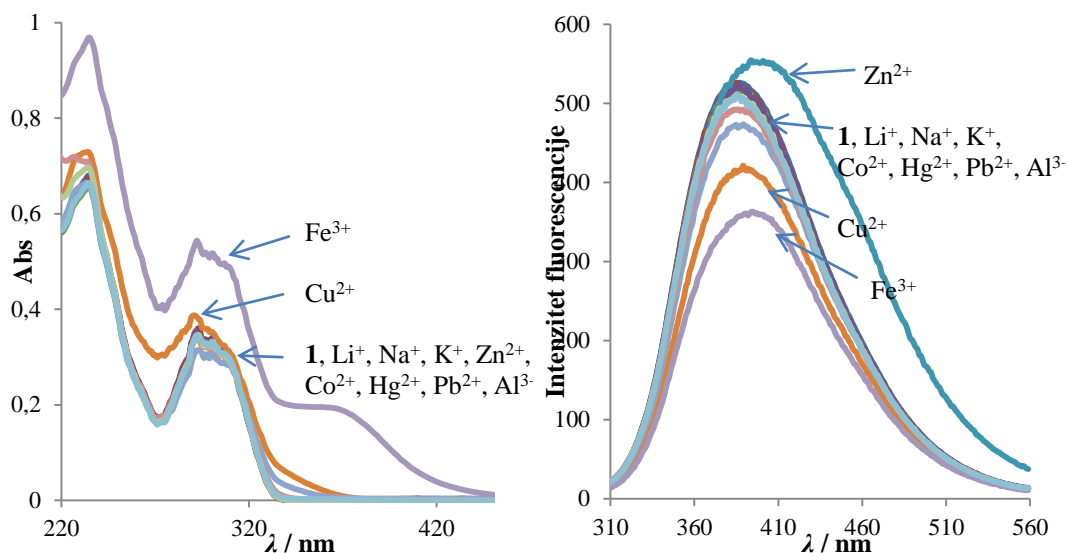
Fluorescentne kemosenzorske molekule za određivanje metalnih iona u strukturi sadrže funkcionalne jedinice koje im omogućuju koordiniranje iona. Benzimidazoli i 1,2,3-triazoli, kao i njihovi bis-derivati pokazali su se kao obećavajuće molekule za koordiniranje metalnih iona zahvaljujući slobodnim elektronskim parovima na dušiku N3 benzimidazola i triazola. Vežanje iona metala može uzrokovati pojačavanje ili smanjenje intenziteta fluorescencije, odnosno batokromni ili hipsokromni pomak fluorescencijske vrpce, ovisno o mehanizmu vežanja iona.

Da bi se ispitala potencijalna primjena ovih dvaju spojeva kao senzora za metalne ione, provedena su ispitivanja promjene spektrofotometrijskih svojstava spojeva u etanolu dodatkom različitih metalnih soli u omjeru množina spoja i metalnog iona 1:1 i 1:5, što je prikazano na slikama 25. i 26.



Slika 25. UV-Vis (lijevo) i emisijski (desno) spektar spoja **1** ( $c = 1 \times 10^{-5}$  M) u prisutnosti različitih metalnih iona u omjeru  $1:Me^{z+} = 1:1$ ,  $\lambda = 292$  nm.

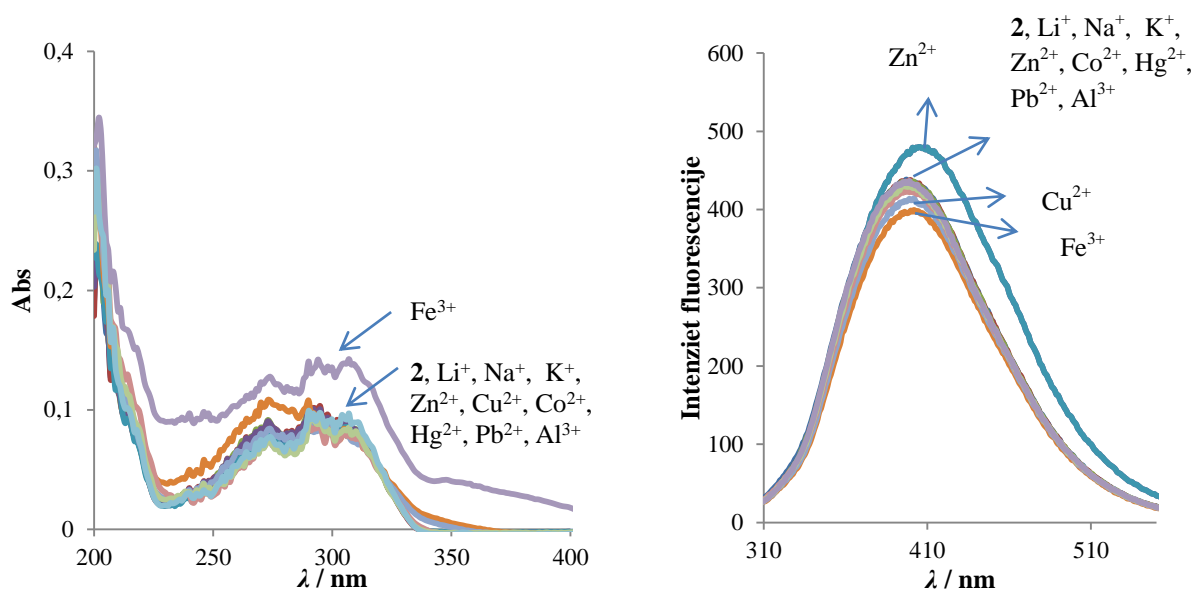




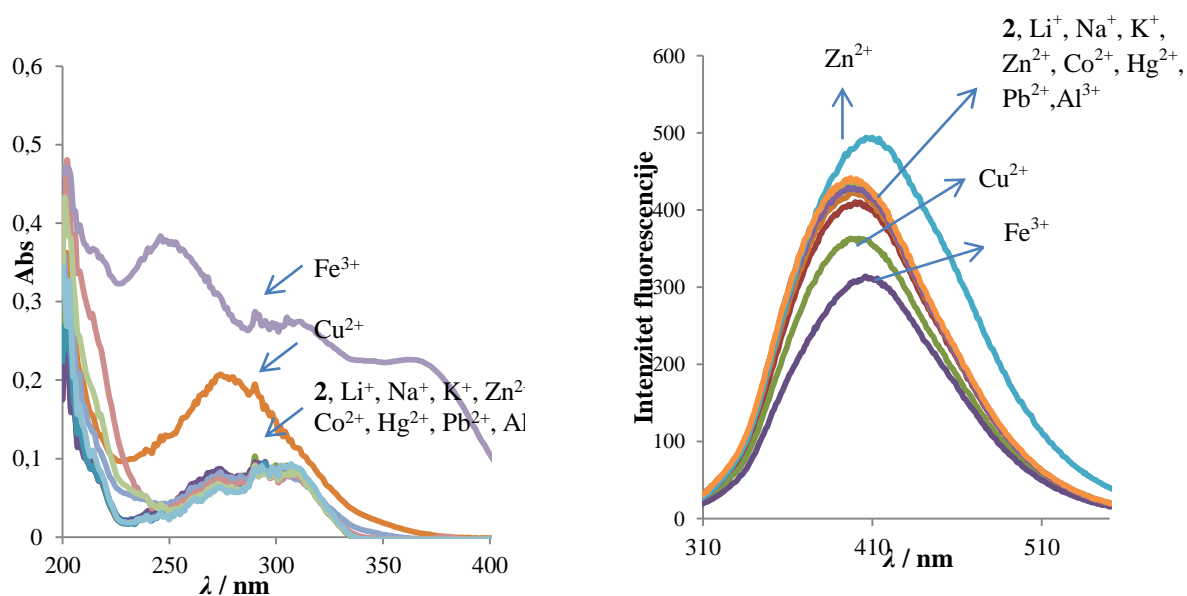
Slika 26. UV-Vis (lijevo) i emisijski (desno) spektri spoja **1** ( $c = 1 \times 10^{-5}$  M) u prisutnosti različitih metalnih iona u omjeru  $1:Me^{Z+} = 1:5$ ,  $\lambda = 292$  nm.

Na Slikama 25. i 26. je vidljivo da dodatkom  $Fe^{3+}$ ,  $Cu^{2+}$  iona u otopinu spoja **1** dolazi do promjena i u apsorpcijskom i emisijskom spektru. U apsorpcijskom spektru dolazi do hiperkromnog pomaka apsorpcijske vrpce u području 280–300 nm dodatkom  $Fe^{3+}$  i  $Cu^{2+}$  iona, dok u fluorescencijskom spektru prisutnost ovih dvaju kationa uzrokuje hipokromni pomak emisijske vrpce, odnosno gašenje fluorescencije. Može se primijetiti da je spoj **1** osjetljiviji na  $Fe(III)$  ione nego na prisutnost iste količine  $Cu^{2+}$  iona, odnosno, dodatak  $Fe^{3+}$  iona uzrokuje značajnije smanjenje intenziteta fluorescencije i blagi batokromni pomak maksimuma emisije ( $\sim 10$  nm). Dodatkom 1 i 5 eq  $Zn(II)$  iona u apsorpcijskom spektru nema promjene, dok u emisijskom dolazi do blagog hiperkromnog i batokromnog pomaka maksimuma emisije ( $\sim 15$  nm). Dodatak ostalih ispitanih metalnih kationa ( $Li^+$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$  i  $Al^{3+}$ ) u otopinu spoja **1** nije uzrokovao značajnije promjene u spektrima.

Promjene u spektrima spoja **2** dodatkom 1 i 5 eq metalnog kationa, prikazane su na Slikama 27. i 28.



Slika 27. UV-Vis (lijevo) i emisijski (desno) spektar spoja **2** ( $c = 1 \times 10^{-5}$  M) u prisutnosti različitih metalnih iona u omjeru  $2:Me^{z+} = 1:1$  u etanolu,  $\lambda = 292$  nm



Slika 28. UV-Vis (lijevo) i emisijski (desno) spektar spoja **2** ( $c = 1 \times 10^{-5}$  M) u prisutnosti različitih metalnih iona u omjeru  $2:Me^{z+} = 1:5$ ,  $\lambda = 292$  nm

Dodatkom  $Fe^{3+}$  iona dolazi do hiperkromnog pomaka u apsorpcijskom spektru u području od 200 do 400 nm, dok u emisijskom spektru dolazi do hipokromnog i blagog batokromnog

pomaka (~10 nm). Dodatak  $Zn^{2+}$  iona ne uzrokuje promjene u apsorpcijskom spektru, ali uzrokuje hiperkromni pomak i batokromni pomak maksimuma emisije (~10 nm). Dodatkom  $Cu^{2+}$  iona dolazi do hiperkromnog pomaka u apsorpcijskom spektru te do hipokromnog pomaka u emisijskom spektru. Kao i kod spoja **1**, dodatak  $Fe^{3+}$  iona značajnije gasi fluorescenciju spoja nego dodatak  $Cu^{2+}$  iona. Dodatkom ostalih metalnih iona ( $Li^+$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$  i  $Al^{3+}$ ) nije došlo do značajnih promjena u apsorpcijskom i emisijskom spektru.

Na temelju ovih rezultata, da bi se dalje ispitala potencijalna senzorska primjena, provedene su fluorescencijske titracije spojeva **1** i **2** sa solima iona Fe(III), Cu(II) i Zn(II) koji su uzrokovali promjene u spektrima.

### **4.3. Spektrofotometrijske titracije spojeva 1 i 2**

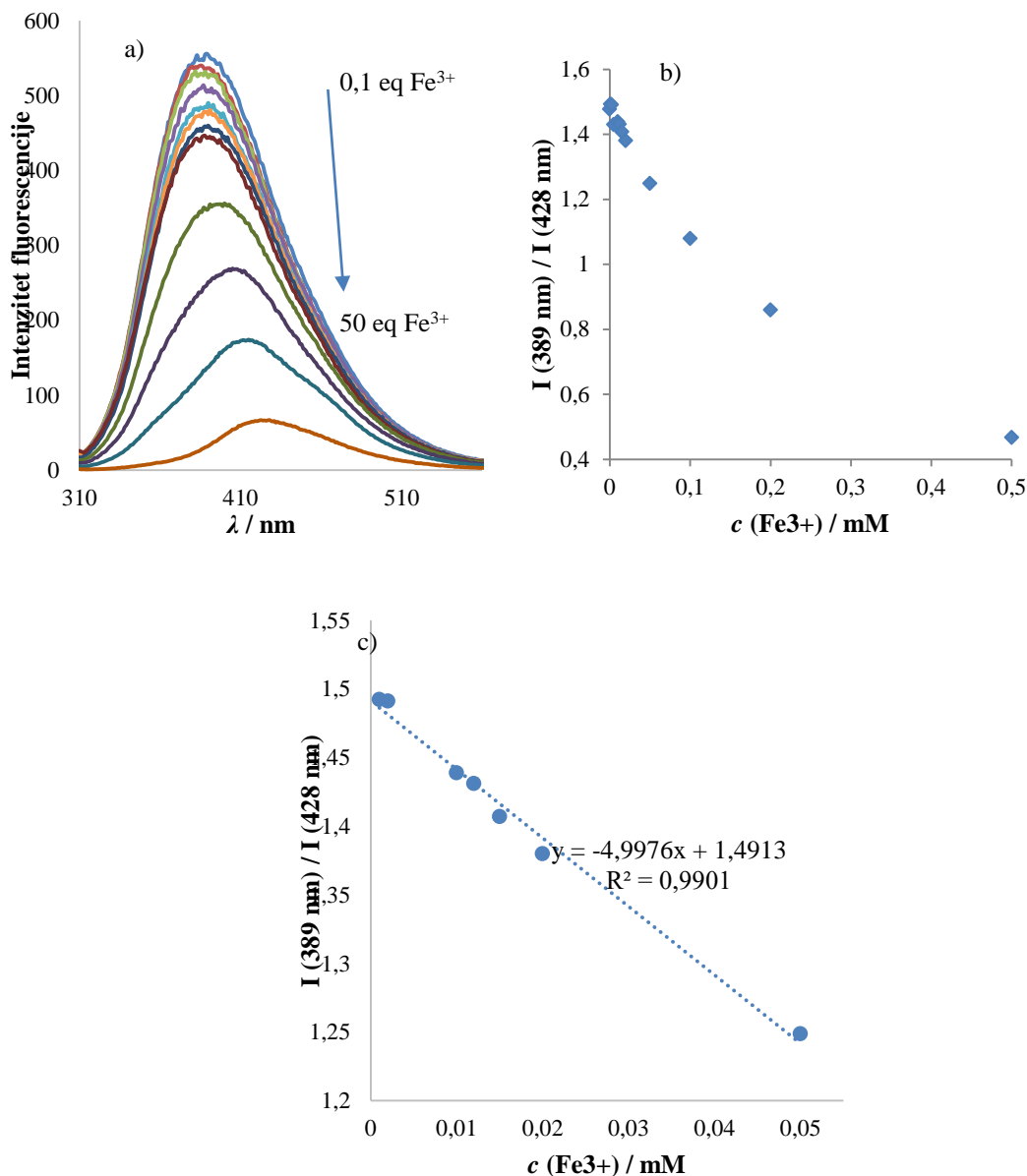
Koordinacijska kemija igra ključnu ulogu u dizajniranju fotoluminiscencijskih proba za ione metala. Koordiniranje iona metala inducira optičku promjenu koja signalizira prisutnost iona metala. Kompleksi prijelaznih metala imaju jedinstvena luminiscencijska svojstva poput visokog kvantnog doprinosa, velikih Stokesovih pomaka, duge valne duljine emisije i dugi životni vijek emisije te stoga mogu poslužiti kao probe za metalne ione, anione i neutralne molekule. [6.]

S obzirom da je dodatak Cu(II), Fe(III) i Zn(II) iona u koncentracijama  $1 \times 10^{-5}$  i  $5 \times 10^{-5}$  uzrokovao vidljive promjene u emisijskim spektrima ispitivanih derivata, provedena je spektroskopska titracija spojeva dodatkom metalnih soli (0,1-50 eq) u etanolu pri koncentraciji spoja  $1 \times 10^{-5}$  M.

#### **Titracije spoja 1**

Emisijski spektar titracije **1** sa Fe(III) prikazan je na slici 29. a). Rezultati su pokazali da do značajnog smanjenja intenziteta fluorescencije spoja **1** dolazi dodatkom 50,0 eq Fe, odnosno pri koncentraciji Fe(III)  $5 \times 10^{-4}$  M. Osim toga, dolazi do crvenog pomaka emisijske vrpce sa 389 nm na 428 nm (29 nm). Prema tome, na slici 29. b) prikazana je ovisnost omjera intenziteta fluorescencije na ovim dvjema valnim duljinama (389 i 428 nm) o povećanju

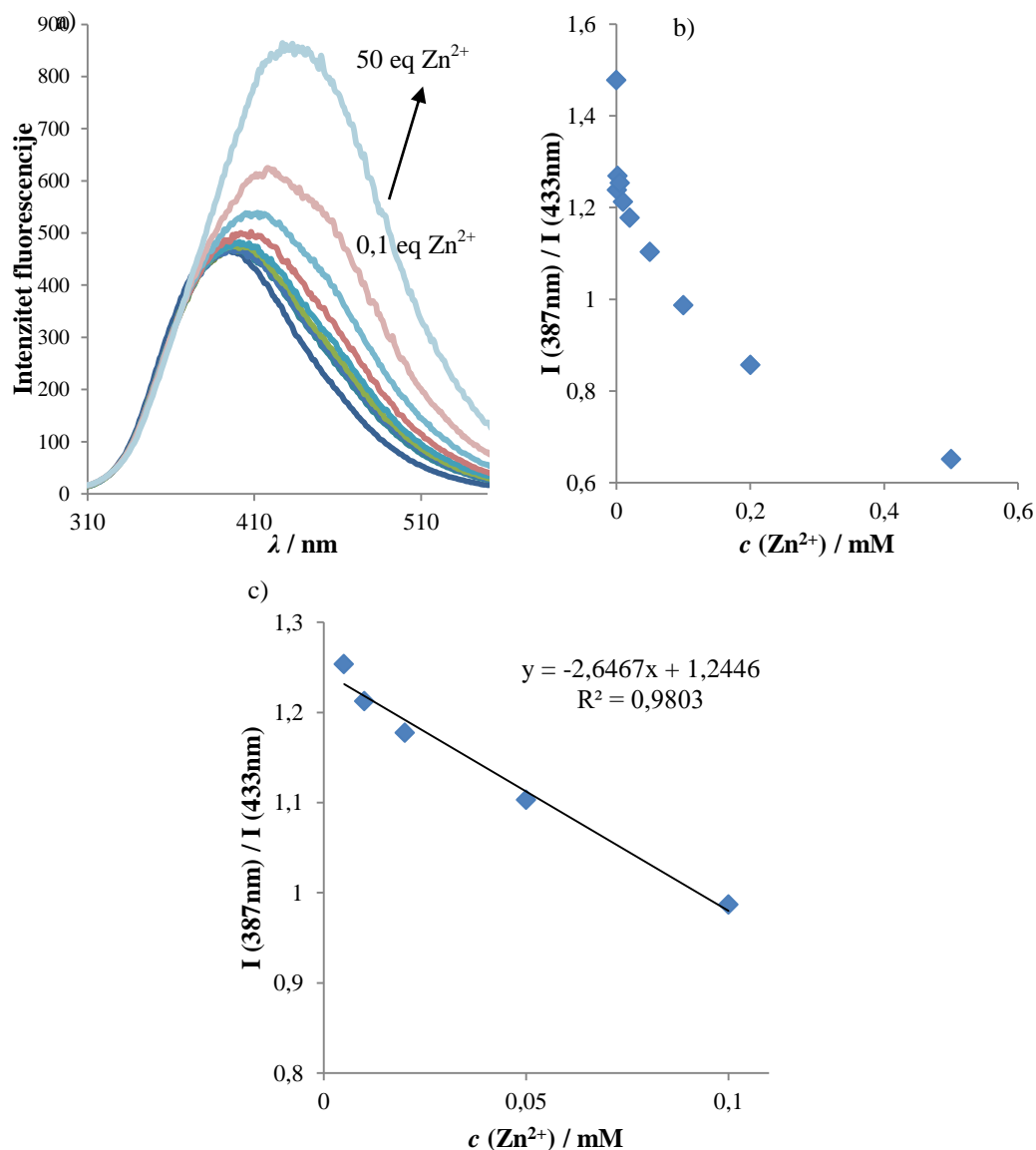
koncentracije Fe(III) iona. Spoj **1** pokazao je dobru linearnu ovisnost omjera intenziteta o koncentraciji u prisutnosti 0 do 0,05 mM Fe(III), što je prikazano na slici 29. c).



Slika 29. a) Fluorencijski spektar spoja **1** dodatkom 0,1-50 eq Fe<sup>3+</sup> iona; b) Ovisnost omjera intenziteta fluorescencije pri 389 i 428 nm o povećanju koncentracije Fe<sup>3+</sup>; c) Linearna ovisnost omjera intenziteta fluorescencije na 389 i 428 nm u području koncentracija Fe<sup>3+</sup> od 0 do 0,05 mM.

Titracijom spoja **1** sa Zn<sup>2+</sup> ionima tj. dodatkom 50 eq ( $c=5 \times 10^{-4}$  M) dolazi do hiperkromnog pomaka i blagog batokromnog pomaka maksimuma emisije sa 387 nm na 433 nm. Stoga je na slici 30. b) prikazana ovisnost omjera inteziteta pri danim valnim duljinama o povećanju

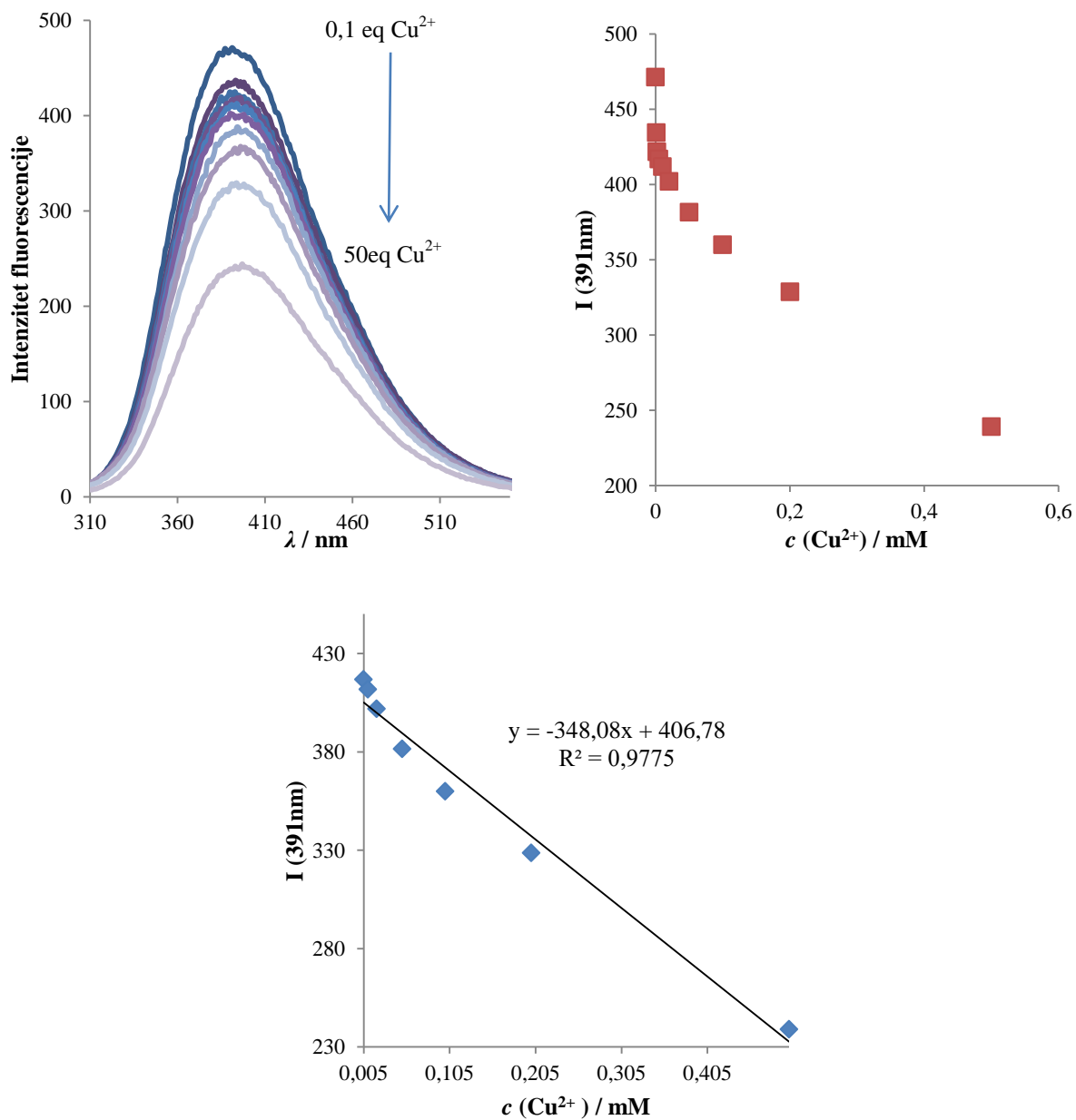
koncentracije  $\text{Zn}^{2+}$  iona. Iz slike 30. c) vidljivo je kako spoj **1** ima dobru osjetljivost na prisutnost  $\text{Zn}^{2+}$  iona u području koncentracija od 0-0,1 mM



Slika 30. a) Fluorencijski spektar spoja **1** dodatkom 0,1-50 eq  $\text{Zn}^{2+}$  iona; b) Ovisnost omjera intenziteta fluorescencije pri 387 i 433 nm o povećanju koncentracije  $\text{Zn}^{2+}$ ; c) Linearna ovisnost omjera intenziteta fluorescencije na 387 i 433 nm u području koncentracija  $\text{Zn}^{2+}$  od 0 do 0,1 mM.

Budući da titracijom spoja **1** sa  $\text{Cu}^{2+}$  ionima dolazi do hipokromnog pomaka u emisijskom spektru, odnosno dolazi do gašenja fluorescencije te ne postoji batokromni pomak, na slici 31 b) prikazana je ovisnost intenziteta fluorescencije pri 391 nm o povećanju koncentracije  $\text{Cu}^{2+}$

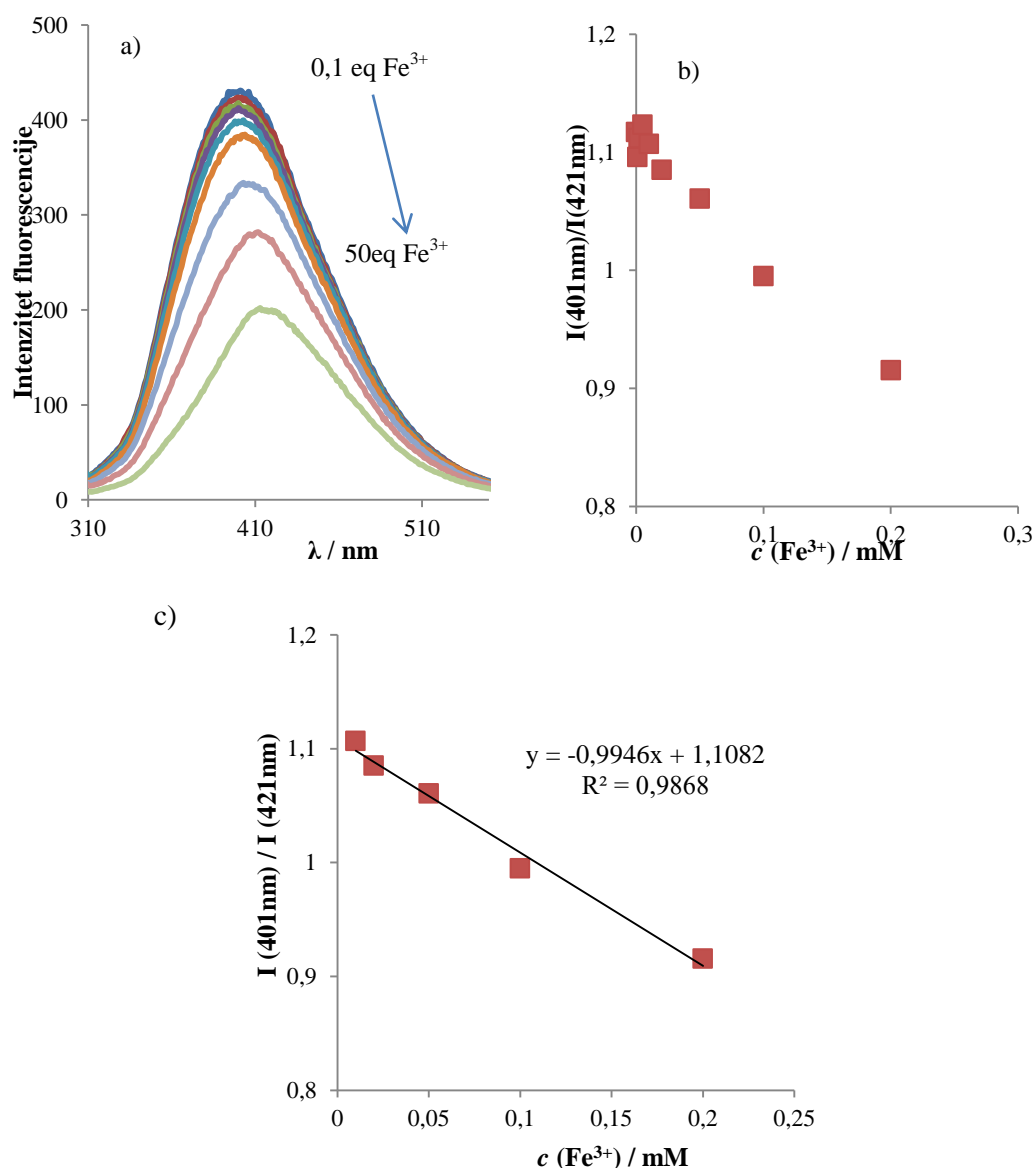
iona. Iz slike 31. c) zaključuje se kako je spoj **1** pokazao dobru linearnu ovisnost intenziteta fluorescencije pri 391 nm na području koncentracija od 0,005 do 0,5 mM.



Slika 31. a) Fluorescencijski spektar spoja **1** dodatkom 0,1-50 eq  $\text{Cu}^{2+}$  iona; b) Ovisnost intenziteta fluorescencije pri 391 nm o povećanju koncentracije  $\text{Cu}^{2+}$ ; c) Linearna ovisnost intenziteta fluorescencije na 391 nm u području koncentracija  $\text{Zn}^{2+}$  od 0,005 do 0,5 mM.

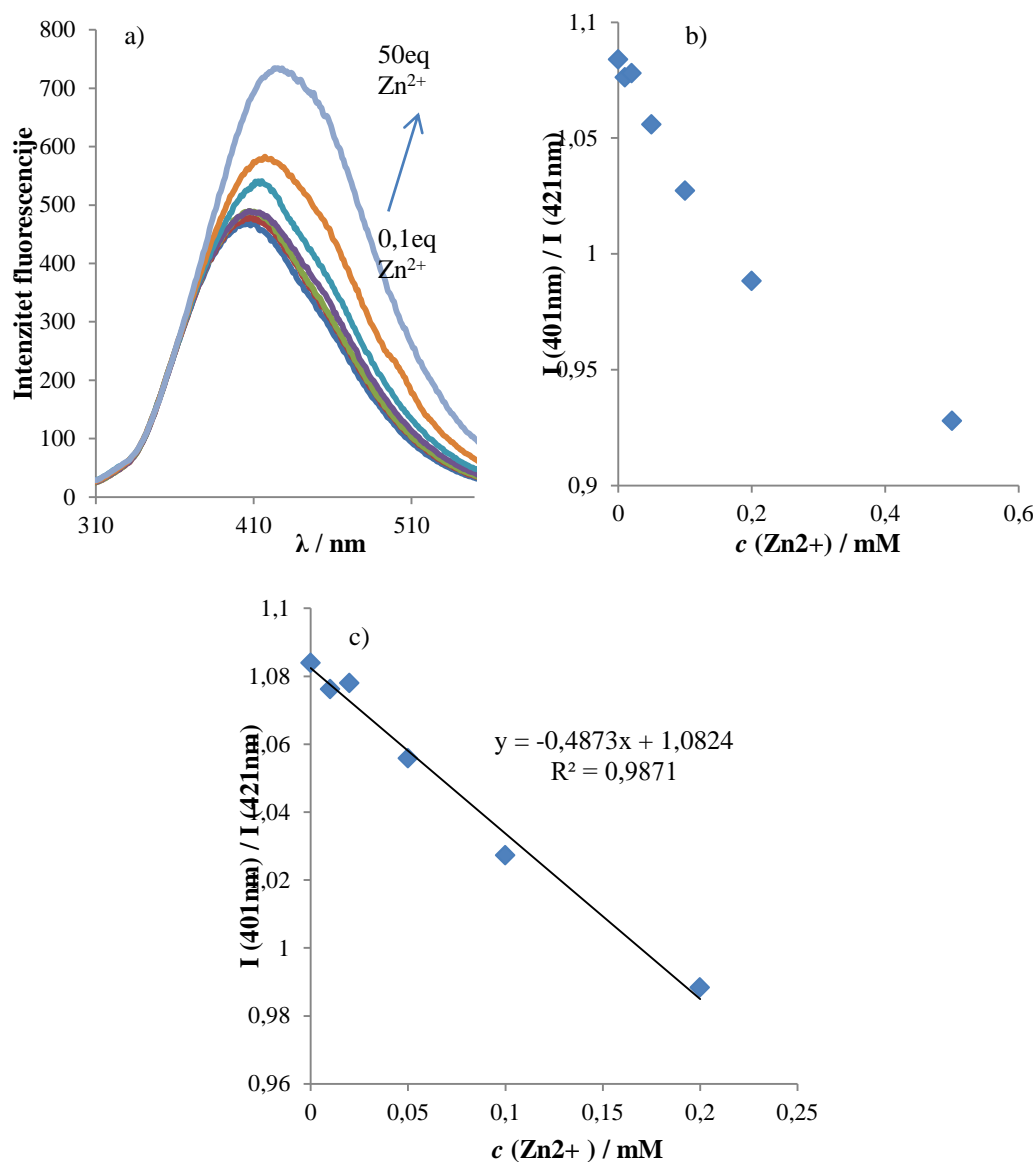
## Titracije spoja 2

Titracijom spoja **2** sa  $\text{Fe}^{3+}$  ionima dolazi do gašenja fluorescencije te blagog batokromnog pomaka. Stoga je na slici 32 b) prikazana ovisnost omjera intenziteta fluorescencije pri 401 nm i 421 nm o koncentraciji iona. Linearno područje za korištenje spoja **2** kao senzora za  $\text{Fe}^{3+}$  ione je od 0-0,2 mM.



Slika 32. a) Fluorescencijski spektar spoja **2** dodatkom 0,1-50 eq  $\text{Fe}^{3+}$  iona ; b) Ovisnost omjera intenziteta fluorescencije pri 401 i 421 nm o povećanju koncentracije  $\text{Fe}^{3+}$  ; c) Linearna ovisnost omjera intenziteta fluorescencije na 401 i 428 nm u području koncentracija  $\text{Fe}^{3+}$  od 0 do 0,2 mM.

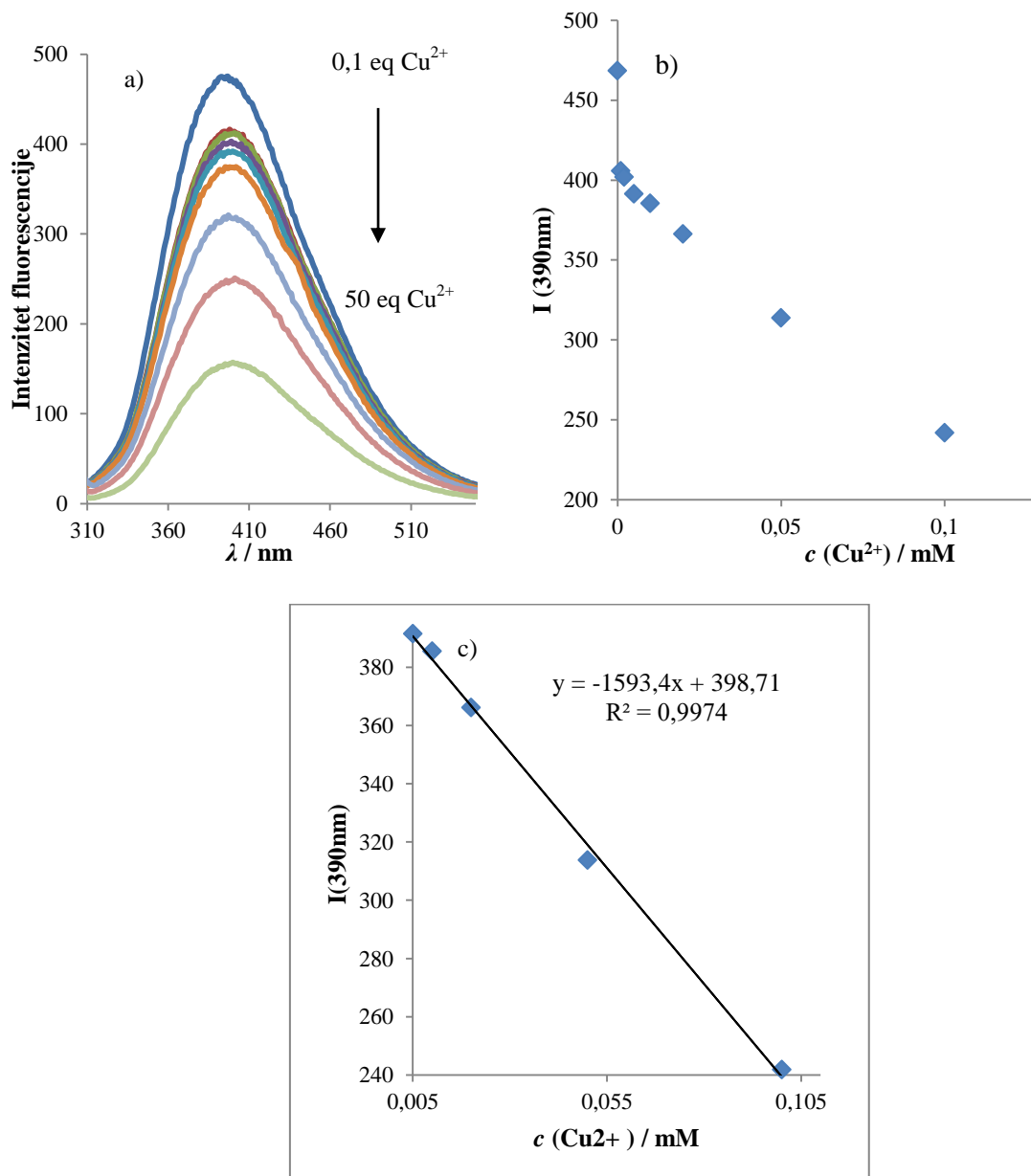
Iz slike 33. a) vidljivo je kako dodatkom  $\text{Zn}^{2+}$  iona dolazi do povećanja fluorescencije i blagog batokromnog pomaka. Budući da titracijom spoja **2** sa  $\text{Zn}^{2+}$  ionima ( $c=5 \times 10^{-4}$  M) dolazi do batokromnog pomaka u emisijskom spektru od  $\sim 20$  nm, na slici 33. b) prikazana je ovisnost omjera intenziteta fluorescencije pri 401 i 421 nm o koncentraciji  $\text{Zn}^{2+}$  iona. Rezultati su pokazali da je linearno područje je od 0-0,2 mM.



Slika 33. a) Fluorescencijski spektar spoja **2** dodatkom 0,1-50 eq  $\text{Zn}^{2+}$  iona; b) Ovisnost omjera intenziteta fluorescencije pri 401 i 421 nm o povećanju koncentracije  $\text{Zn}^{2+}$ ; c) Linearna ovisnost omjera intenziteta fluorescencije na 401 i 421 nm u području koncentracija  $\text{Zn}^{2+}$  od 0 do 0,2 mM.



Titracijom spoja **2** sa  $\text{Cu}^{2+}$  ionima dolazi do hipokromnog pomaka u emisijskom spektru. Budući da batokromnog pomaka nema, ispitana je ovisnost intenziteta fluorescencije pri 390 nm o povećanju koncentracije  $\text{Cu}^{2+}$  iona. Prema rezultatima, linearno područje je od 0,005 do 0,1 mM  $\text{Cu}^{2+}$ .



Slika 34. a) Fluorescencijski spektar spoja **2** dodatkom 0,1-50 eq  $\text{Cu}^{2+}$  iona; b) Ovisnost intenziteta fluorescencije pri 390 nm o povećanju koncentracije  $\text{Cu}^{2+}$ ; c) Linearna ovisnost intenziteta fluorescencije na 390 nm u području koncentracija  $\text{Cu}^{2+}$  od 0 do 0,1 mM.

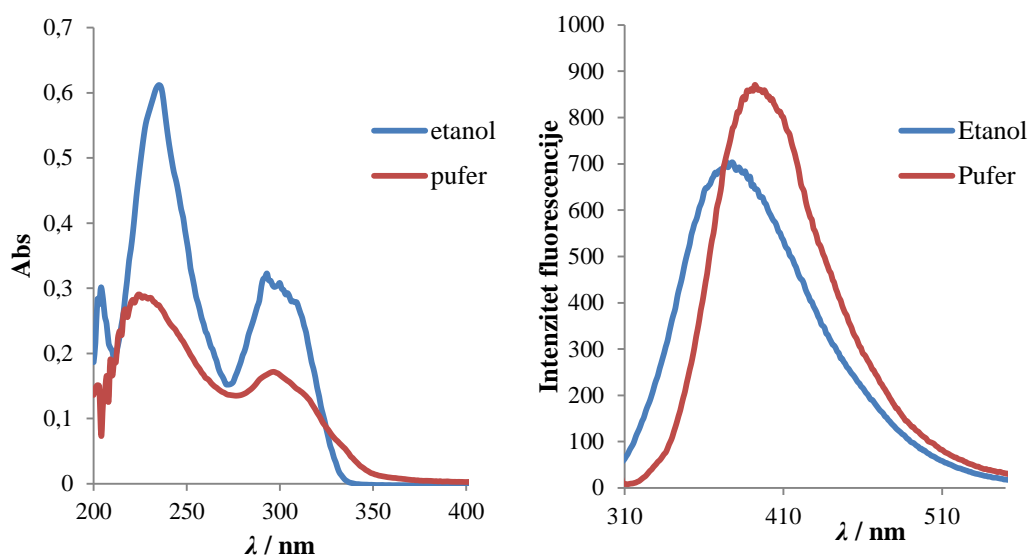
Titracije spoja **1** i **2** su provedene pri istoj koncentraciji spoja dodatkom jednakih količina metalnog iona ( $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ) u otopinu spoja (0,1 – 50 eq). Rezultati titracija spoja **1** su pokazali da dodatkom 50 eq  $\text{Fe}^{3+}$  u otopinu spoja **1** u etanolu, dolazi do smanjenja intenziteta fluorescencije za 70% u odnosu na intenzitet čistog spoja. Dodatkom 50 eq  $\text{Zn}^{2+}$  iona dolazi do povećanja intenziteta fluorescencije spoja **1** za 20 %, a dodatkom maksimalne količine  $\text{Cu}^{2+}$  iona (50 eq) intenzitet fluorescencije se smanji za 50% u odnosu na spoj **1**. Rezultati titracija spoja **2** su pokazali da dodatak 50 eq  $\text{Fe}^{3+}$  u otopinu spoja **2** u etanolu uzrokuje smanjenje intenziteta fluorescencije za 50% u odnosu na intenzitet čistog spoja. Dodatkom 50 eq  $\text{Zn}^{2+}$  u otopinu spoja **2** u etanolu intenzitet fluorescencije se povećao za 50% u odnosu na čisti spoj, a dodatkom 50 eq  $\text{Cu}^{2+}$  iona dolazi do smanjenja intenziteta fluorescencije za 65% u odnosu na čisti spoj **2**. Budući da su rezultati pokazali kako titracijom spoja **1** sa  $\text{Fe}^{3+}$  ionima dolazi do najveće promjene u intenzitetu fluorescencije spoja, provedena su daljnja ispitivanja kako bi se utvrdila pouzdanost korištenja spoja **1** kao potencijalnog senzora za  $\text{Fe}^{3+}$  ione.

#### **4.4. Spoj 1 kao potencijalni senzor za Fe(III) ione**

Ispitivanja su pokazala kako je spoj **1** najviše osjetljiv na prisutnost  $\text{Fe}^{3+}$  ione te kako dodatkom tih iona dolazi najveće promjene u intenzitetu emisije. Dodatno je ispitana mogućnost korištenja spoja **1** kao senzora za  $\text{Fe}^{3+}$  ione.

##### 4.4.1. Utjecaj otapala

Ispitan je utjecaj otapala na apsorpciju i emisiju spoja **1** pri  $c = 1,0 \times 10^{-5}$  M snimanjem apsorpcijskih i emisijskih spektara u etanolnom i vodenom mediju (univerzalni pufer) pri pH=7, a dobiveni spektri prikazani su na Slici 35.



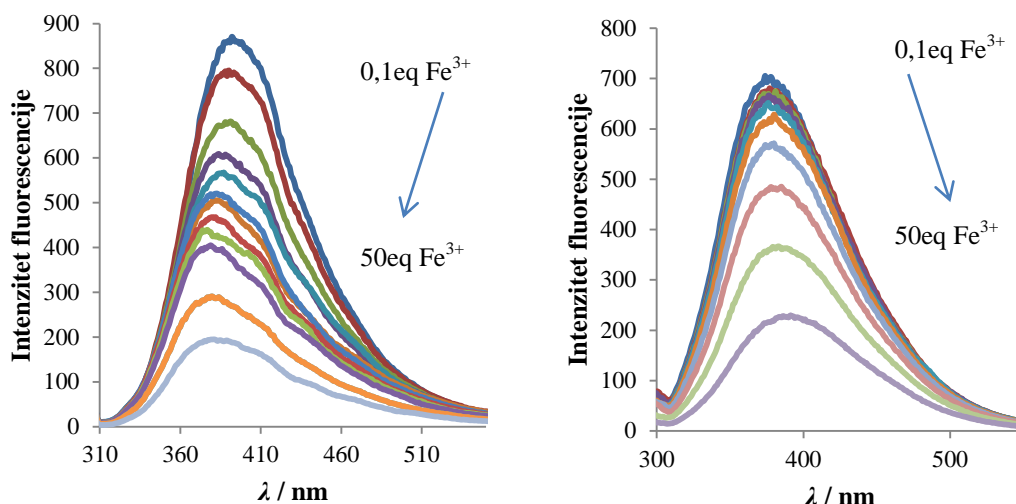
Slika 35. ApSORpcijski (lijevo) i emisijski (desno) spektri spoja **1** u etanolu i puferu pri koncentraciji  $1,0 \times 10^{-5}$  M

Iz slike 35. vidljiva je veća apsorbanacija spoja **1** u etanolu nego u puferu. Intenzitet fluorescencije spoja **1** u puferu veći je nego u etanolu. Maksimum emisije spoja **1** u puferu je blago batokromno pomaknut u odnosu na maksimum emisije spoja **1** u etanolu. U tablici 4 su prikazana fotofizička svojstva spoja **1** u etanolu i puferu.

Tablica 4. Fotofizička svojstva spoja **1** u etanolu i puferu pri  $c = 1 \times 10^{-5}$  M

otapalo	$\lambda_{abs} / \text{nm}$	Abs	$\varepsilon / \text{Lmol}^{-1} \text{cm}^{-1}$	$\lambda_{emis} / \text{nm}$	Intenzitet	Stokesov pomak / nm
etanol	235	0,599	$6,0 \times 10^4$	387	680	95
	292	0,299	$3,0 \times 10^4$			
pufer	232	0,278	$2,8 \times 10^4$	390	839	92
	298	0,156	$1,6 \times 10^4$			

Provedena je titracija spoja **1** sa  $\text{Fe}^{3+}$  ionima u puferu i etanolu kako bi ispitali utjecaj otapala na osjetljivost spoja **1** kao senzora za  $\text{Fe}^{3+}$  ione.



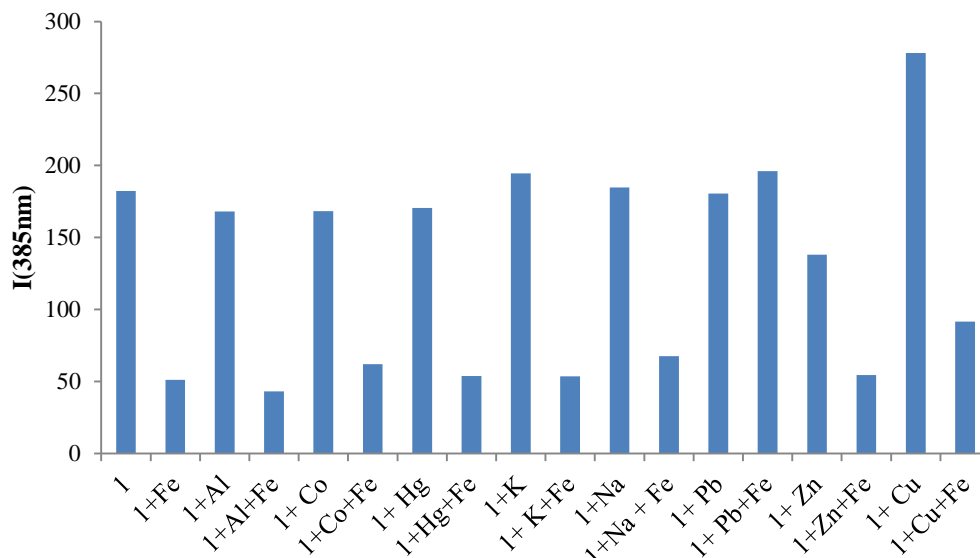
Slika 36. Emisijski spektri titracije spoja **1** u puferu (lijevo) i etanolu (desno) sa  $\text{Fe}^{3+}$  (0-50 eq)

Na slici 36. vidljivo je kako titracijom spoja **1** sa  $\text{Fe}^{3+}$  ionima u puferu dolazi do gašenja fluorescencije te blagog hipsokromnog pomaka ( $\sim 10$  nm). Titracijom spoja **1** u etanolu također dolazi do gašenja fluorescencije, ali u etanolu dolazi do blagog batokromnog pomaka maksimuma emisije ( $\sim 15$  nm). Titracijom u puferu dolazi do gašenja fluorescencije za  $\sim 80\%$  u odnosu na čisti spoj, dok titracijom u etanolu dolazi do gašenja fluorescencije za  $\sim 65\%$  u odnosu na čisti spoj. Budući da pufer uzrokuje veću promjenu u intenzitetu fluorescencije nego etanol, te ima veći Stokesov pomak, pogodnije je otapalo za spoj **1** nego etanol.

#### 4.4.2. Utjecaj interferirajućih kationa na određivanje $\text{Fe(III)}$

Potrebno je ispitati utjecaj interferirajućih kationa na određivanje  $\text{Fe}^{3+}$  iona jer u realnim otopinama često će osim  $\text{Fe}^{3+}$  iona biti prisutni i razni drugi ioni koji mogu utjecati na selektivnost spoja **1** kao senzora.

Kako bi se utvrdila selektivnost spoja **1** na  $\text{Fe}^{3+}$  ione ispitan je utjecaj prisutnosti 20 eq različitih iona metala u otopinu spoja koja sadrži 20 eq  $\text{Fe}^{3+}$  iona.

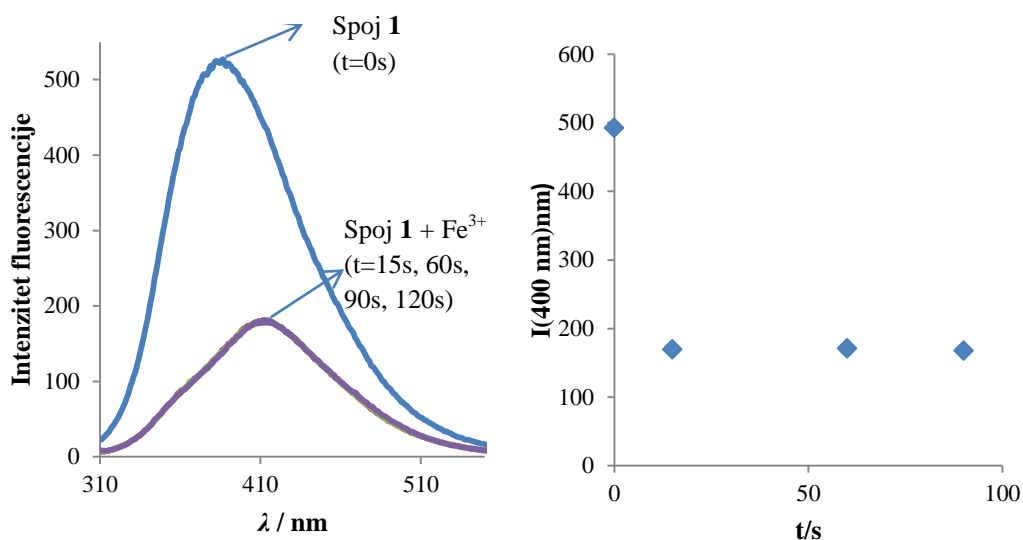


Slika 37. Intenzitet fluorescencije spoja **1** ( $1 \times 10^{-5}$  M) u etanolu pri 385 nm dodatkom 20 eq različitih kationa i nakon dodatka 20 eq  $\text{Fe}^{3+}$

Iz slike 37. vidljivo je kako dodatak  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  iona ne uzrokuje značajne promjene u intenzitetu fluorescencije te iz toga slijedi da je **1** iznimno selektivan na  $\text{Fe}^{3+}$  ione unatoč prisutnosti navedenih metala. Međutim, u prisutnosti  $\text{Cu}^{2+}$  i  $\text{Pb}^{2+}$  iona dolazi do pojačavanja fluorescencije otopine spoja **1** i  $\text{Fe}^{3+}$  iona stoga se  $\text{Cu}^{2+}$  i  $\text{Pb}^{2+}$  ioni smatraju interferirajućim ionima.

#### 4.4.3. Vrijeme odziva senzora

Vrijeme odziva je jedan od ključnih parametara kemosenzora, pa je u tu svrhu ispitana brzina reakcije vezanja  $\text{Fe}^{3+}$  i **1** pri sobnoj temperaturi. Dobiveni rezultati prikazani su na Slici 38.

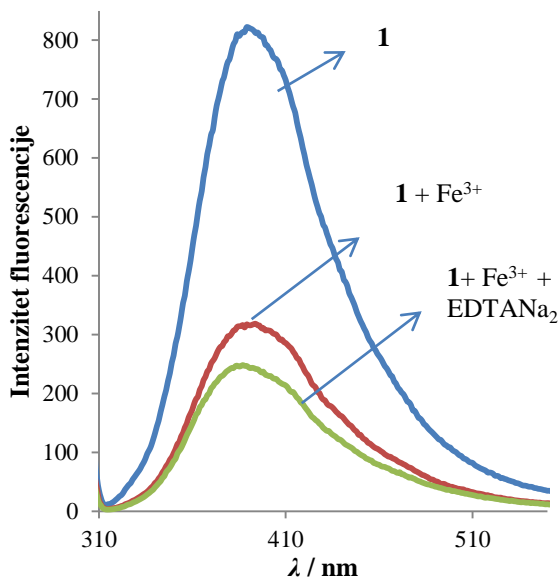


Slika 38. Ovisnost intenziteta fluorescencije spoja **1** u etanolu dodatkom 20eq Fe<sup>3+</sup> o valnoj duljini(lijevo) i vremenu pri 400 nm (desno)

Budući da nema promjene u intenzitetu fluorescencije nakon 15 s, otopinu je dovoljno miješati 15 s jer se tad već uspostavlja ravnoteža i dolazi do vezanja Fe(III) na spoj **1**

#### 4.4.4. Reverzibilnost određivanja Fe(III)

Potrebno je ispitati reverzibilnost senzora dodatkom EDTANa<sub>2</sub>. Ukoliko je senzor **1** reverzibilan, dodatkom EDTANa<sub>2</sub> treba doći do ponovnog pojačavanja fluorescencije na početni intenzitet fluorescencije spoja **1**. Međutim, budući da dodatkom EDTANa<sub>2</sub> nije došlo do vraćanja intenziteta fluorescencije na intenzitet spoja **1**, reverzibilnost senzora **1** nije utvrđena.



Slika 39. Ispitivanje reverzibilnosti spoja **1** u puferu kao potencijalnog senzora za Fe(III) iona dodatkom EDTANa<sub>2</sub>

Iz navedenih eksperimenata može se zaključiti kako je 1,3-bis(1,2,3-triazolil-benzimidazolil)benzen **1** moguće koristiti kao "turn-off" kemosenzor za određivanje Fe<sup>3+</sup> iona u etanolu i puferu (pH=7) jer se dodatkom Fe(III) iona značajno gasi fluorescencija spoja **1**. Spoju **1** nije utvrđena reverzibilnost dodatkom EDTA, ali pokazuje brz i stabilan odziv nakon 15 s kad se uspostavlja ravnoteža.

## 5. Zaključak



Cilj rada bilo je ispitati potencijalnu primjenu novih bis(1,2,3-triazolil-benzimidazolil)benzena, 1,3-bis(1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzena **1** i 1,4-bis(1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzena **2** kao potencijalnih fluorescentnih kemosenzora za metalne ione.

UV-vidljivom apsorpcijskom i fluorescencijskom spektrofotometrijom ispitana su spektroskopska svojstva spojeva u etanolu pri koncentraciji spojeva  $1,0 \times 10^{-5}$  M.

Provedena su preliminarna ispitivanja spojeva **1** i **2** kao potencijalnih senzora. U tu svrhu ispitana je promjena spektrofotometrijskih svojstava spojeva u etanolu u prisutnosti 1 i 5 eq izabranih metalnih soli, čime je uočeno da dodatak Fe(III), Cu(II) i Zn(II) iona uzrokuje promjene u spektrima.

Fluorescencijske titracije spojeva pokazale su da u prisutnosti Fe<sup>3+</sup> i Cu<sup>2+</sup> iona dolazi do smanjenja intenziteta fluorescencije kod oba spoja, dok prisutnost Zn<sup>2+</sup> iona uzrokuje povećanje intenziteta i batokromni pomak emisijske vrpce spojeva **1** i **2**.

1,3-bis(1,2,3-triazolil-benzimidazoli)benzen **1** je izabran za daljnja ispitivanja kemosenzorskih svojstava. U tu svrhu provedena je titracija spoja s Fe<sup>3+</sup> ionima u etanolu i puferu pri pH=7. Smanjenje intenziteta spoja **1** linearno ovisi o povećanju koncentracije Fe(III) iona u rasponu koncentracija Fe(III) od 0 do 0,005 mM.

Ispitan je utjecaj prisutnosti interferirajućih kationa na smanjenje intenziteta fluorescencije spoja **1** dodatkom 20 eq Fe i 20 eq drugog kationa. Rezultati su pokazali da dodatak Al<sup>3+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Hg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> i Zn<sup>2+</sup> iona ne utječe značajno na intenzitet fluorescencije. Izuzetak su Cu<sup>2+</sup> i Pb<sup>2+</sup> ioni u čijoj se prisutnosti povećava intenzitet fluorescencije otopine spoja **1** i Fe<sup>3+</sup>.

Ispitana je i reverzibilnost vezanja Fe(III) iona dodatkom otopine EDTANa<sub>2</sub> u otopinu spoja **1** u prisutnosti 20 eq Fe(III) iona i vrijeme odziva. Ispitivanja su pokazala da se ravnoteža uspostavlja nakon 15s, a dodatkom otopine EDTANa<sub>2</sub> nije došlo do ponovnog povećanja intenziteta fluorescencije te se senzor ne može smatrati reverzibilnim.

## 6. Literatura

1. Hulanicki, A., Glab, S., Ingman, F., Chemical sensors definitions and classification, *Pure & Appl. Chem.* **63**(9) (1991) 1247-1250.
2. Lobnik, A., Turel, M., Urek, Š.K., Optical Chemical Sensors: Design and Applications, *Advances in Chemical sensors*, Wen Wang, InTech(Rijeka) (2011) 3-8.
3. Hu, J., Li, J., Qi, J., Chen, J., Highly selective and effective mercury(II) fluorescent sensors, *New J. Chem.*, **39**(2) (2015) 843-848.
4. Horak, E., Kassal, P., Steinberg, Murković I., Benzimidazole as a structural unit in fluorescent chemical sensors: the hidden properties of a multifunctional heterocyclic scaffold, *Supramolecular Chemistry*, (2017) 1-20.
5. Wang, Z., Palacios, M. A., Anzenbacher, Jr. P., Fluorescence Sensor Array For Metal Ion Detection Based On Various Coordination Chemistries: General Performance And Potential Application, *Analytical Chemistry*, **80**(19) (2008) 7451- 7459.
6. Liu, Z., He, W., Guo, Z., Metal coordination in photoluminescent sensing, *Chem Soc Rev*, **42**(4) (2013) 1568-1600.
7. Formica, M., Fusi, V., Giorgi, L., Micheloni, M., New fluorescent chemosensors for metal ions in solution, *Coordination Chemistry Reviews* **256**(1) (2012) 170-192.
8. Zhong, K., Cai, M., Hou, S., Bian, Y., Tang, L., A Simple Benzimidazole Based Fluorescent Sensor for Ratiometric Recognition of  $Zn^{2+}$  in Water, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **35**(2) (2014) 489-492.
9. Mashraqui, S.H., Chaniramani, M., Ghorpade, S., Upathayay, J., Mestri, R., Chilekar, A., A simple 2,6-bis(2-benzimidazole)pyridyl incorporated optical probe affording selective ratiometric targeting of biologically and environmentally significant  $Zn^{2+}$  under buffer condition, *J Incl Phenom Macrocycl Chem*, **84**(1-2) (2016) 129-135.
10. Li, Y., Yia, C., Zhang, S., Fei, T., Pang, S., Thermogravimetric analysis, kinetic study, and pyrolysis- GC/MS analysis of 1,1'-azobis-1,2,3-triazole and 4,4'-azobis-1,2,4-triazole, *Chemistry Central Journal*, **12** (2018) 1-13.
11. Struthers, H., Mindt, T.L., Schibli, R., Metal Chelating systems synthesized using the copper(I) catalyzed azide-alkyne cycloaddition, *Dalton Transactions*, **39**(3) (2010) 657-964.
12. Watkinson, M., Click Triazoles as Chemosensors, *Top Heterocycl Chem*, **28** (2012) 109-136.

13. Schulze, B., Ulrich, S. S., Beyond click chemistry- supramolecular interactions of 1,2,3-triazoles, *Chem. Soc Rev.*, **43**(8) (2014) 2522-2560.
14. Ho, I., Lai, T., Wu, R., Tsai, M., Wu, C., Lee, G., Chung, W., Design and synthesis of triazolyl coumarins as Hg<sup>2+</sup> selective fluorescent chemosensors, *Analyst*, **137**(24) (2012) 5770-5776.
15. Hrischikesan, E., Saravanan, C., Kannan, P., Bis-Triazole-Appended Azobenzene Chromophore for Selective Sensing of Copper(II) Ion, *I&EC research*, **50**(13) (2011) 8225-8229.
16. Hu, J., Li, J., Qi, J., Chen, J., Highly selective and effective mercury(II) fluorescent sensors, *New Journal of Chemistry*, **39**(2) (2015) 843-848.
17. [http://www.pbf.unizg.hr/zavodi/zavod\\_za\\_kemiju\\_i\\_biokemiju/laboratorij\\_za\\_fizikalnu\\_kemiju\\_i\\_koroziju/odabrana\\_poglavlja\\_zelene\\_kemije/nastavni\\_materijali/studentски\\_seminari/2008\\_2009](http://www.pbf.unizg.hr/zavodi/zavod_za_kemiju_i_biokemiju/laboratorij_za_fizikalnu_kemiju_i_koroziju/odabrana_poglavlja_zelene_kemije/nastavni_materijali/studentски_seminari/2008_2009) (pristup: 14. svibnja 2018.)
18. Skoog, D. A., Crouch, S.R., Holler, F.J. West, D.M., *Osnove analitičke kemije*, Školska knjiga(Zagreb), (1999) 1-951.
19. Wolfbeis, O.S.E.F., Kroneis, H., Marsoner, H., *Fluorimetric Analysis, A study on Fluorescent Indicators for Measuring Near Neutral ("Physiological" ) pH-Values.*, *Analytische Chemie*, 312(1983) 119-124

## **ŽIVOTOPIS**

Ines Leženić [REDACTED] Osnovnu školu završila je u Neumu (Bosna i Hercegovina). 2011. godine upisuje Prirodoslovno-matematičku gimnaziju u Metkoviću. Po završetku srednjoškolskog obrazovanja upisuje 2014. godine preddiplomski studij Kemijskog inženjerstva na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu. Studentsku praksu odradila je u Plivi, u laboratoriju kemije čvrstog stanja. Godine 2018. obranila je završni rad na temu “Bis(benzimidazol-triazolil)benzeni kao potencijalni kemijski senzori u koordiniranju iona metala“ čime je stekla titulu sveučilišnog prvostupnika kemijskog inženjerstva.