

# Novi heteroaromatski kromofori za primjenu u optičkim kemijskim sustavima

---

Vujević, Lucija

Master's thesis / Diplomski 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:149:946552>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-17**



*Repository / Repozitorij:*

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



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

**Lucija Vujević**

**DIPLOMSKI RAD**

**Zagreb, rujan 2018.**

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Lucija Vujević

**Novi heteroaromatski kromofori za primjenu  
u optičkim kemijskim sustavima**

**DIPLOMSKI RAD**

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

**Članovi ispitnog povjerenstva:** doc. dr. sc. Svjetlana Krištafor, FKIT

dr. sc. Lidija Furač, viši predavač, FKIT

dr. sc. Ema Horak, poslijedoktorand, IRB

Zagreb, rujan 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).

## SAŽETAK

Cilj ovog rada je sinteza i optička karakterizacija novih derivata benzimidazola, koji u svojoj strukturi sadrže 1,2,3-triazolni prsten i imino skupinu, u svrhu određivanja njihove senzorske aktivnosti. Imino derivati, Schiffove baze **3**, **8** i **10** su uspješno pripremljeni reakcijama klasične sintetske kemije te su njihove strukture potvrđene  $^1\text{H-NMR}$  i  $^{13}\text{C-NMR}$  spektroskopijom. Navedeni spojevi su korišteni kao polazne molekule za sintezu triazolnih derivata **6** i **11** metodama *click* kemije. Spoj **6** je uspješno pripremljen, no postupak pripreme spoja je potrebno poboljšati zbog vrlo malog iskorištenja reakcije. Produkt *click* reakcije za pripremu spoja **11** je zeleni praškasti spoj, netopiv u organskim otapalima zbog čega su njegovo pročišćavanje i karakterizacija bili otežani.

Detaljna karakterizacija fotofizičkih i kiselo-baznih svojstava u svrhu ispitivanja potencijalne primjene u optičkim kemijskim sensorima je provedena za spojeve **8** i **10**. Spojevi su okarakterizirani UV-vidljivom i fluorescencijskom spektrofotometrijom u otapalima različite polarnosti, u univerzalnim puferima pri graničnim pH vrijednostima od 2, 7 i 12 te u prisustvu različitih metalnih iona. Spojevi **6** i **11** nisu karakterizirani u smislu razvoja novih optičkih senzorskih molekula zbog izrazito slabe topivosti spojeva u većini otapala te nemogućnosti izoliranja potpuno čistog produkta iz reakcijske smjese.

Dobiveni rezultati, pogotovo promjene intenziteta apsorpcijskih maksimuma, ukazuju da bi bilo korisno provesti daljnja istraživanja u karakterizaciji spojeva **8** i **10** kao pH senzora. Spoj **8** pokazao je jaku senzorsku aktivnost za  $\text{Zn}^{2+}$  i  $\text{Pb}^{2+}$  dok je ispitivani spoj **10** pokazao jaku senzorsku aktivnost za  $\text{Zn}^{2+}$ .

### Ključne riječi:

Fluorescentni molekularni senzori, heteroaromatski kromofori, benzimidazol, Schiffove baze, 1,2,3-triazoli, *click* reakcije

## SUMMARY

The aim of this thesis was synthesis and optical characterization of novel benzimidazole derivatives which incorporate 1,2,3-triazole ring and imine group in their structure, to prove their sensing activity. Imino derivatives, Schiff's bases **3**, **8** and **10** are successfully prepared by classical synthetic chemistry reactions and their structures are confirmed by  $^1\text{H-NMR}$  and  $^{13}\text{C-NMR}$  spectroscopy. These compounds were used as starting molecules for the synthesis of triazole derivatives **6** and **11** by the click chemistry methods. Compound **6** has been successfully prepared but the process of preparing the compound need to be improved due to the low utilization of the reaction. The click reaction product of the synthesis of compound **11** is a green powder, insoluble in organic solvent which are due to its purification and characterization were difficult.

Detailed characterization of photophysical and acid-base properties of compounds **8** and **10** was carried out for the purpose of testing the potential application in optical chemical sensors. Compounds were characterized with UV-visible and fluorescence spectrophotometry in solvents of different polarity, universal buffers in marginal values of pH (2, 7 and 12) and in presence of different metal ions. Compounds **6** and **11** have not been characterized in terms of the development of new optical sensor molecules due to their extremely poor solubility in most solvents and the inability to isolate the completely pure product from the reaction mixture.

The obtained results, particularly changes in the absorption peak intensity, indicate that it would be useful to conduct further research into the characterization of compounds **8** and **10** as a pH sensor. Compound **8** showed strong sensory activity for  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Pb}^{2+}$  while test compound **10** showed strong sensory activity for  $\text{Zn}^{2+}$ .

Keywords:

Fluorescent molecular sensors, heteroaromatic chromophores, benzimidazole, Schiff base, 1,2,3-triazole, click reactions

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. OPĆI DIO</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1. KEMIJSKI SENZORI</b> .....	<b>4</b>
<b>2.2. OPTIČKI KEMIJSKI SENZORI</b> .....	<b>5</b>
2.2.1. Apsorpcija svjetlosti.....	6
2.2.2. Fluorescencija .....	7
<b>2.3. OPTIČKI MOLEKULSKI SENZORI</b> .....	<b>11</b>
2.3.1. Fluorescentni molekularni senzori .....	11
2.3.2. Mehanizmi djelovanja fluorescentnih molekularnih senzora za katione .....	13
2.3.2.1. Fotoinducirani prijenos elektrona (PET).....	13
2.3.2.2. Intramolekularni prijenos naboja (ICT) .....	15
2.3.2.3. Prijenos energije (ET) .....	16
<b>2.4. HETEROAROMATSKI KROMOFORI</b> .....	<b>17</b>
2.4.1. Benzimidazolni kromofori .....	17
2.4.2. Triazolni derivati.....	18
2.4.2.1. Click reakcije .....	18
2.4.3. Schiffove baze .....	21
<b>2.5. PRIMJERI HETEROAROMATSKIH MOLEKULSKIH SENZORA</b> .....	<b>22</b>
2.5.1. Primjer molekularnog „on“ senzora .....	22
2.5.2. Primjeri molekularnih „off“ senzora .....	24
2.5.3. Primjer molekule koja može biti „on“ i „off“ senzor .....	25
2.5.4. Primjeri ratiometrijskih senzora .....	26
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>28</b>
<b>3.1. OPĆE NAPOMENE</b> .....	<b>29</b>
<b>3.2. MATERIJALI</b> .....	<b>29</b>
<b>3.3. INSTRUMENTI</b> .....	<b>30</b>
<b>3.4. SHEMATSKI PRIKAZ PRIPRAVE CILJANIH MOLEKULA</b> .....	<b>30</b>
3.4.1. Priprava triazolnog derivata CuAAC reakcijom iz amino-supstituirane Schiffove baze .....	30
3.4.2. Priprava triazolnog derivata CuAAC reakcijom iz brom-supstituirane Schiffove baze .....	31
3.4.3. Priprava triazolnog derivata CuAAC reakcijom iz klor-supstituirane Schiffove baze.....	31
<b>3.5. POSTUPCI PRIPRAVE CILJANIH MOLEKULA</b> .....	<b>32</b>

3.5.1. Priprava spoja ( <i>E</i> )- <i>N</i> -(4-aminobenziliden)-1 <i>H</i> -benzo[d]imidazol-2-amina 3 .....	32
3.5.2. Priprava spoja ( <i>E</i> )- <i>N</i> -(4-bromobenziliden)-1 <i>H</i> -benzo[d]imidazol-2-amina 8 .....	32
3.5.3. Priprava spoja ( <i>E</i> )- <i>N</i> -(4-klorobenziliden)-1 <i>H</i> -benzo[d]imidazol-2-amina 10 .....	32
3.5.4. Priprava spoja 6 .....	33
3.5.5. Priprava spoja 11 .....	34
<b>3.6. OPTIČKA KARAKTERIZACIJA SPOJEVA 8 I 10 .....</b>	<b>36</b>
3.6.1. Optička karakterizacija ispitivanih spojeva u otopini .....	36
3.6.2. Utjecaj vrijednosti pH .....	37
3.6.3. Utjecaj metalnih iona .....	37
3.6.4. Utjecaj otapala .....	38
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA.....</b>	<b>39</b>
4.1. SINTEZA SPOJEVA .....	40
4.1.1. Priprava spojeva 3, 8 i 10 .....	41
4.1.2. Priprava spojeva 6 i 11 .....	47
4.2. OPĆA SPEKTROSKOPSKA SVOJSTVA SINTETIZIRANIH SPOJEVA .....	52
4.3. SPEKTRALNA KARAKTERIZACIJA SPOJEVA 8 I 10 .....	54
4.3.1. Utjecaj otapala .....	54
4.3.2. Utjecaj promjene pH vrijednosti .....	59
4.3.3. Utjecaj različitih metalnih iona .....	62
<b>5. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>67</b>
<b>6. LITERATURA .....</b>	<b>69</b>



# 1. UVOD

Senzor je uređaj koji informaciju pohranjenu u analitu pretvara u analitički koristan signal. Osnovni dijelovi svakog kemijskog senzora su receptor i pretvornik. Receptor je dio senzora koji selektivno prepoznaje analit (kemijsku ili biokemijsku tvar) iz uzorka te kemijsku informaciju (najčešće koncentraciju analita) iz uzorka pretvara u oblik energije koju pretvornik transformira u analitički koristan signal [1,2]. Kako je receptor ključni dio kemijskog senzora, najčešći fokus u razvoju kemijskih senzora upravo je na istraživanju senzorskih molekula (*molekulskih senzora* ili *kemosenzora*) koje imaju sposobnost selektivnog vezanja jedne (ili više) ionskih ili molekulskih struktura preko nekovalentnih interakcija. Molekulski senzori primjer su prijenosa senzorskog mehanizma na molekulski nivo. Takav prijenos je omogućen kombinacijom receptorskog i reporterskog dijela senzora unutar jedne senzorske molekule. Vezanjem odgovarajućeg analita na senzorsku molekulu nastaje kompleks čije promjene elektrokemijskih ili spektroskopskih svojstava omogućuju kvalitativno i/ili kvantitativno određivanje ispitivanog analita [3,4].

Optički molekulski senzori su vrlo široko i atraktivno područje istraživanja. Najčešće primijenjene metode za detekciju analita u optičkim sensorima su one temeljene na apsorpciji ili emisiji (fluorescenciji) svjetlosti, pri čemu su metode bazirane na emisiji osobito važne zbog svoje ekstremne osjetljivosti i visoke specifičnosti [5].

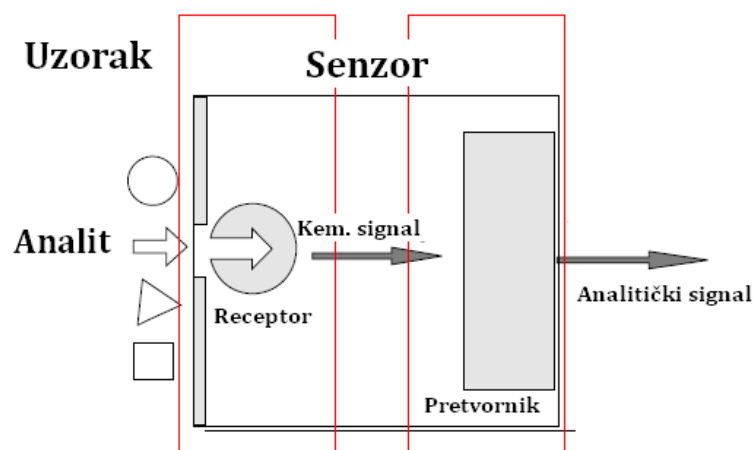
Heteroaromatski kromofori su jedna od najčešće proučavanih klasa optičkih molekulskih senzora zbog svojih izvrsnih spektralnih svojstava i sposobnosti otkrivanja različitih iona. Među istraživanim spojevima koji su pokazali obećavajuću senzorsku aktivnost nalaze se brojni heteroaromatski kromofori poput derivata benzimidazola, triazola i Schiffove baze. Upravo zbog toga je cilj ovog rada sinteza i spektralna karakterizacija derivata koji u svojoj strukturi sadrže benzimidazolni i triazolni prsten te imino skupinu, kao potencijalnih senzorskih molekula. Fotofizička svojstva sintetiziranih spojeva su ispitana u različitim vrijednostima pH, u otapalima različite polarosti te u interakciji sa različitim metalnim ionima.

## 2. OPĆI DIO

## 2.1. KEMIJSKI SENZORI

Senzor je uređaj koji informaciju pohranjenu u analitu pretvara u analitički koristan signal. Obzirom na izvor analitičkog signala senzore možemo podijeliti na kemijske senzore, gdje je izvor signala kemijska reakcija u kojoj sudjeluje analit, biokemijske senzore, gdje je izvor biokemijska reakcija u kojoj sudjeluje analit te fizikalne senzore, gdje se signal dobiva mjerenjem određene fizikalne veličine ispitivanog sustava u kojem se ne odvija reakcija [1].

Osnovni dijelovi svakog kemijskog senzora su receptor i pretvornik. Receptor je dio senzora koji selektivno prepoznaje analit (kemijsku ili biokemijsku tvar) iz uzorka te kemijsku informaciju (najčešće koncentraciju analita) pretvara u oblik energije koji se može mjeriti (kemijski signal). Pretvornik zatim tu energiju transformira u analitički koristan signal [1,2]. Shematski prikaz kemijskog senzora je prikazan na **slici 1**.



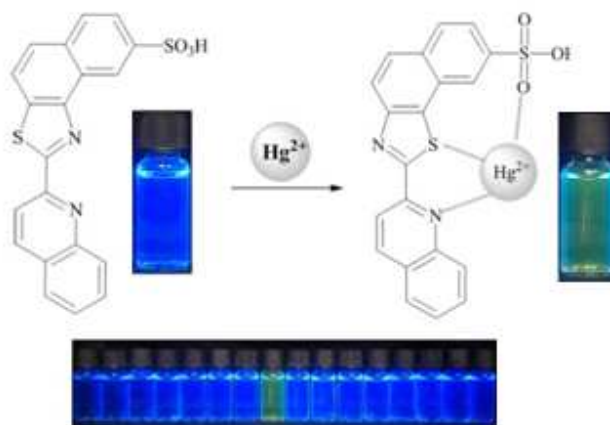
**Slika 1.** Shematski prikaz kemijskog senzora [2].

Osim prethodno opisanog analitičkog uređaja, pojam *kemijskog senzora* često se odnosi i na sam receptor, odnosno senzorsku molekulu. Receptor je ključni dio kemijskog senzora, zaslužan za selektivno i specifično prepoznavanje analita, stoga je razumljivo zbog čega je najčešći fokus u razvoju kemijskih senzora upravo na istraživanju senzorskih molekula, odnosno malih organskih molekula koje imaju sposobnost selektivnog vezanja jedne (ili više) ionskih ili molekulskih struktura preko nekovalentnih interakcija. Vezanjem odgovarajućeg analita na senzorsku molekulu nastaje kompleks čije promjene elektrokemijskih ili spektroskopskih svojstava omogućuju

kvalitativno i/ili kvantitativno određivanje ispitivanog analita. Takvu vrstu senzora nazivamo *molekulski senzor* ili *kemosenzori* njime ćemo se baviti u nastavku ovoga rada [3,4].

## 2.2. OPTIČKI KEMIJSKI SENZORI

Optički senzori su grupa kemijskih senzora čiji se rad zasniva na mjerenju promjena optičkih svojstava ispitivanog sustava, a koje su posljedica interakcije elektromagnetskog zračenja i uzorka. Uporišta njihova djelovanja su različiti optički principi poput apsorbancije, refleksije ili luminescencije. Prednosti optičkih senzora u odnosu na druge vrste senzora su selektivnost, osjetljivost, nedestruktivnost, sigurnost tijekom rada s zapaljivim i eksplozivnim spojevima te niska cijena [5]. Primjer fluorescentnog kemosenzora dan je na **sluci 2**. Vezanjem  $\text{Hg}^{2+}$  kationa na prikazanu molekulu **1** dolazi do promjene njezinih optičkih svojstava. Prilikom stvaranja kompleksa molekule **1** i kationa žive, plava fluorescencija molekule **1** se gasi, a istovremeno se uočava novi maksimum emisije (zelena fluorescencija), na temelju čega je uspješno razvijen novi senzor za  $\text{Hg}^{2+}$  [6].



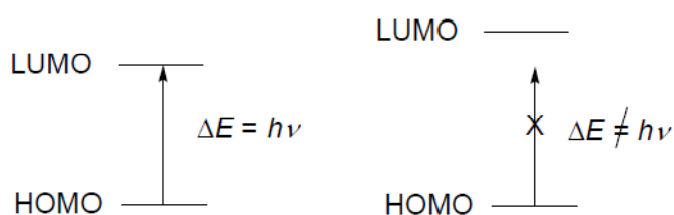
**Slika 2.** Prikaz molekule **1** i promjene njezine fluorescencije nastale vezanjem  $\text{Hg}^{2+}$  [6].

Najčešće primijenjene metode u optičkim sensorima su one temeljene na apsorpciji ili emisiji (fluorescenciji) svjetlosti. Metode bazirane na molekularnoj emisiji su osobito važne zbog svoje

ekstremne osjetljivosti i visoke specifičnosti. Najčešće ispitivani optički parametar je intenzitet svjetlosti. Osim intenziteta svjetlosti mogu se mjeriti i drugi optički parametri kao što su životni vijek fluorescencije, indeks refrakcije, raspršenje, difrakcija i polarizacija svjetlosti [5].

### 2.2.1. Apsorpcija svjetlosti

Apsorpcija elektromagnetskog zračenja koje odgovara energijama ultraljubičastog (UV) te vidljivog (Vis) dijela spektra kod apsorbirajuće molekule uzrokuje prelazak elektrona iz popunjene orbitale niže energije u nepopunjenu orbitalu više energije. Molekula apsorpcijom fotona prelazi iz osnovnog u pobuđeno stanje ( $R + h\nu \rightarrow R^*$ ). Kako bi molekula mogla apsorbirati svjetlo, energija pobuđivanja molekule (razlika energija između orbitala u pobuđenom i osnovnom stanju) mora se podudarati s energijom fotona ( $\Delta E = h\nu$ ) [7]. Taj uvjet shematski je prikazan na **slici 3**.

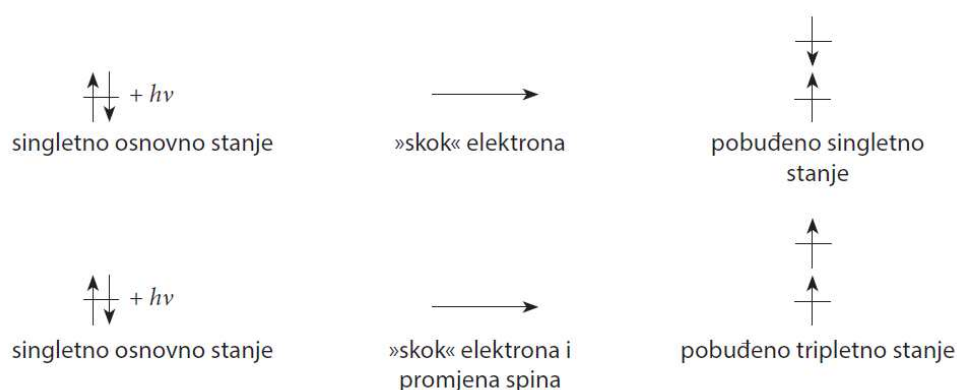


**Slika 3.** Uvjet apsorpcije fotona organske molekule [7].

Dio molekule odgovoran za apsorpciju svjetla zove se kromofor. Iako organske molekule sadrže velik broj orbitala, u pravilu se razmatraju samo dvije granične orbitale: najviša popunjena molekulska orbitala ili HOMO (*highest occupied molecular orbital*) i najniža nepopunjena molekulska orbitala ili LUMO (*lowest unoccupied molecular orbital*). Elektronski prijelaz između tih orbitala je najlakši zbog najmanje energijske razlike. Osim apsorpcijom kvanta svjetlosti (fotona) molekula se može pobuditi i procesom prijenosa energije te kemijskom ili biokemijskom reakcijom i sl [7].

Raspodjelu elektrona u molekuli opisujemo elektronskom konfiguracijom. Upravo elektronska konfiguracija molekula određuje njihovo ponašanje i svojstva. U osnovnom stanju organske molekule imaju konfiguraciju popunjene ljuske s po dva sparena elektrona antiparalelnih spinova

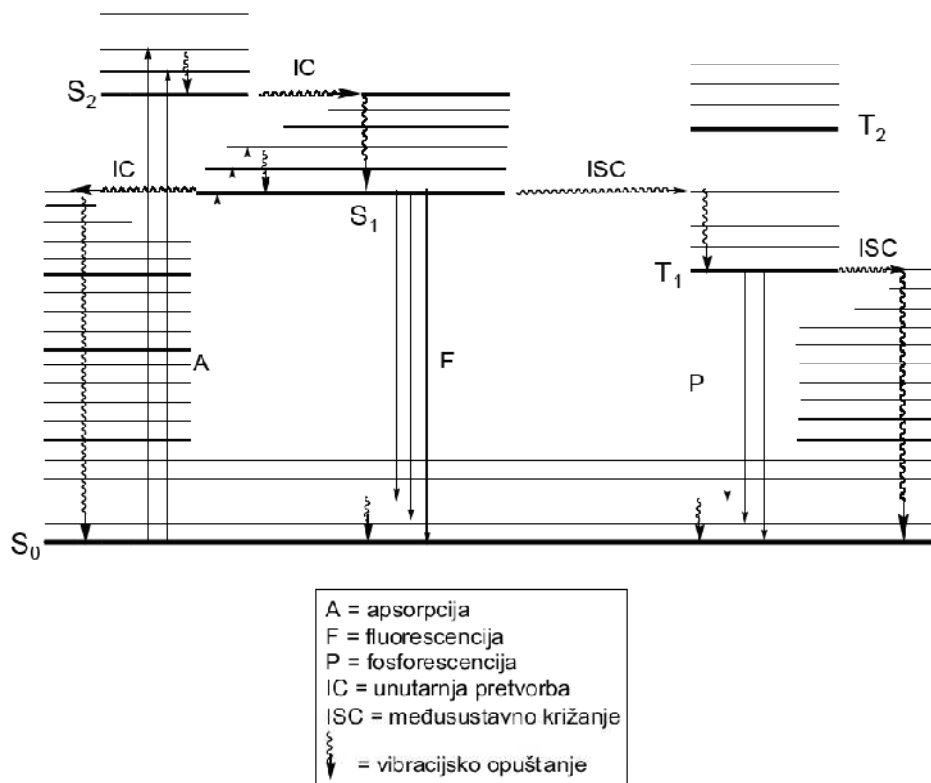
pa se molekula nalazi u osnovnom singletnom stanju  $S_0$ . Apsorpcijom kvanta energije elektron prelazi u praznu orbitalu više energije pri čemu zauzima paralelni ili antiparalelni spin. Stanje sa sparenim odnosno antiparalelnim spinovima zove se pobuđeno singletno stanje (S) dok se stanje s paralelnim odnosno nesparenim spinovima zove pobuđeno tripletno stanje (T). Dva različita stanja posljedica su različitog ponašanja u primijenjenom magnetskom polju [7]. Prijelazi prilikom kojih nastaju ova stanja prikazana su na **slici 4**.



**Slika 4.** Prijelazi elektrona prilikom nastanka singletnog i tripletnog pobuđenog stanja [7].

### 2.2.2. Fluorescencija

Fluorescencija je proces emisije fotona relaksacijom molekule iz pobuđenog stanja. Elektronska stanja molekule te prijelazi među njima su opisani dijagramom Jablonskog, prikazanom na **slici 5**. [7].



**Slika 5.** Dijagram Jablonskog [7].

Deblje horizontalne linije na dijagramu Jablonskog predstavljaju elektronska stanja (singletna  $S_0$ ,  $S_1$ ,  $S_2$  itd. i tripletna  $T_1$ ,  $T_2$  itd.) dok tanke horizontalne linije predstavljaju vibracijske razine ( $v=0$ ,  $v=1$ , itd.). Fotofizički prijelazi kod kojih prilikom relaksacije elektrona nedolazi do emisije fotona zovu se prijelazi bez zračenja i označuju se valovitim strelicama. Ako pri povratku u osnovno stanje pobuđena molekula emitira foton, takve prijelaze nazivamo prijelazima uz zračenje te ih označujemo ravnim strelicama [7].

Dijagramom Jablonskog prikazani su sljedeći procesi:

1. Vibracijska relaksacija je proces prijelaza molekule iz pobuđenog vibracijskog stanja određenoga elektronskog stanja ( $v>0$ ) u osnovno vibracijsko stanje istoga elektronskog stanja ( $v=0$ ). Prilikom apsorpcije fotona molekula obično sadrži višak vibracijske energije te se nalazi u pobuđenom vibracijskom stanju ( $v>0$ ) određenoga elektronskog stanja ( $S_n$ ,  $T_n$ ). Takav višak energije molekula prenosi na okolni medij sudarima sa susjednim molekulama u obliku topline [7].



2. Unutarnja pretvorba (IC) je horizontalna promjena opuštanja između dva stanja iste multipletnosti, npr. iz  $S_2$  ( $v = 0$ ) u  $S_1$  ( $v = n$ ). Takvi prijelazi su vrlo brzi jer se više pobuđeno stanje ( $S_2$ ) nalazi vrlo blizu najviše vibracijske razine nižeg pobuđenog elektronskog stanja ( $S_1$ ). Prijelaz između pobuđenog i osnovnog stanja iste multipletnosti neće biti tako brz kao između dva pobuđena stanja jer su ta dva stanja energijski znatno udaljenija [7].
3. Međusustavno križanje (Intersystem crossing, ISC) je proces prijelaza između dva stanja različite multipletnosti, a iste energije (singlet  $\rightarrow$  triplet ili triplet  $\rightarrow$  singlet) [7].
4. Fluorescencija je proces emisije fotona iz pobuđenog stanja, bez promjene multipletnosti. Najčešće se odvija iz  $S_1$  stanja vibracijske razine  $v = 0$  [7].
5. Fosforescencija je proces emisije fotona iz pobuđenog stanja, uz promjenu multipletnosti. Najčešće se odvija iz  $T_1$  stanja u  $S_0$  (rjeđe iz  $S_1$  u  $T_1$  stanje). Ovom procesu prethodi međusustavno križanje s obzirom na to da je  $S \rightarrow T$  apsorpcija zabranjena. Kada međusustavno križanje vodi do nekoga višeg pobuđenog tripletnog stanja ili više vibracijske razine  $T_1$  stanja, tada molekula vibracijskom relaksacijom ili unutarnjom konverzijom prelazi u  $T_1$  ( $v = 0$ ) stanje odakle se odvija fosforescencija [7].

Iz analize Jablonskog dijagrama vidljivo je da se fluorescencija sastoji od tri povezana procesa:

1. pobuđivanja fluorofora apsorpcijom fotona iz vanjskog izvora
2. vibracijskih prijelaza tijekom bivanja molekule u pobuđenom stanju
3. emisije fotona prilikom vraćanja fluorofora u osnovno stanje [8].

Zbog rasipanja energije tijekom boravka molekule u pobuđenom stanju procesima vibracijske relaksacije, energija emitiranog fotona je niža od energije apsorbiranog fotona te je emitirani foton veće valne duljine od apsorbiranog fotona. Razlika energije je povezana sa Stokesovim

pomakom, koji je razlika u valnim duljinama između maksimuma apsorpcije i maksimuma emisije [8]:

$$\Delta\lambda_{Stokes} = \lambda_{maksimum\ emisije} - \lambda_{maksimum\ apsorpcije}$$

Primjer apsorpcijskog i fluorescencijskog spektra dan je na **slici 6**.



**Slika 6.** Prikaz apsorpcijskog i fluorescencijskog spektra [8].

Fluorescentni spektri pokazuju veću ovisnost o okolišu od apsorpcijskih spektara. Najvažniji čimbenici koji utječu na fluorescenciju su polarnost otapala, koncentracija molekula gasitelja, pH vodenog medija i temperatura [8].

## 2.3. OPTIČKI MOLEKULSKI SENZORI

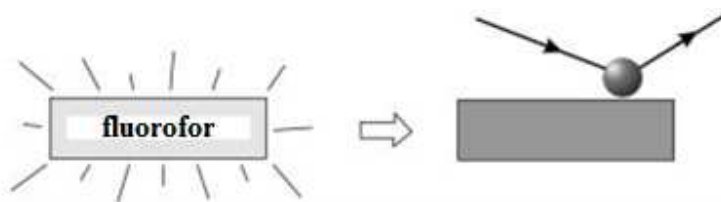
Molekulski senzori primjer su prijenosa senzorskog mehanizma na molekulski nivo. Takav prijenos je omogućen kombinacijom receptorskog i reporterskog dijela senzora unutar jedne senzorske molekule. Receptor je dio molekule koji omogućuje selektivno vezanje nekovaletnim interakcijama određenih ionskih ili molekulskih supstrata na senzorsku molekulu dok je uloga reporterskog dijela molekule vizualizacija takve interakcije osiguravanjem signala koji se može analitički interpretirati. Izabrana grupa odgovorna za stvaranje signala mora imati elektrokemijske ili spektroskopske značajke koje se mijenjaju interakcijom molekule s odgovarajućim analitom. Najčešće korišteni optički molekulski senzori su temeljeni na pojavi fluorescencije i nazivaju se fluorescentni molekulski senzori [3].

### 2.3.1. Fluorescentni molekulski senzori

Svi tipovi fluorescentnih molekulskih senzora sadrže fluorofor koji signalizira prisustvo analita promjenom svojih fluorescencijskih parametara. Prednosti fluorescentnih senzora u odnosu na druge su visoka selektivnost i osjetljivost, brzina i sigurnost. Brojni analiti poput kationa, aniona, neutralnih molekula i plinova ( $O_2$ ,  $CO_2$  i dr.) mogu se detektirati ovom vrstom senzora [3].

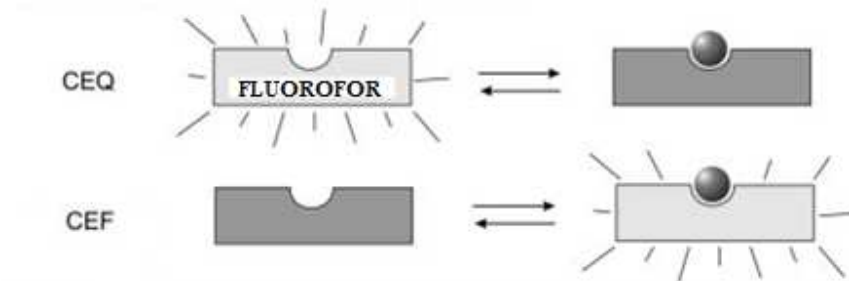
Postoje tri klase fluorescentnih molekulskih senzora [4]:

1. Klasa 1 (prikazana na **slici 7.**) koju čine fluorofori čija se fluorescencija gasi nakon sudara s analitom (npr.  $O_2$ , Cl) [4].



**Slika 7.** Prikaz prve klase fluorescentnih molekulskih senzora [4].

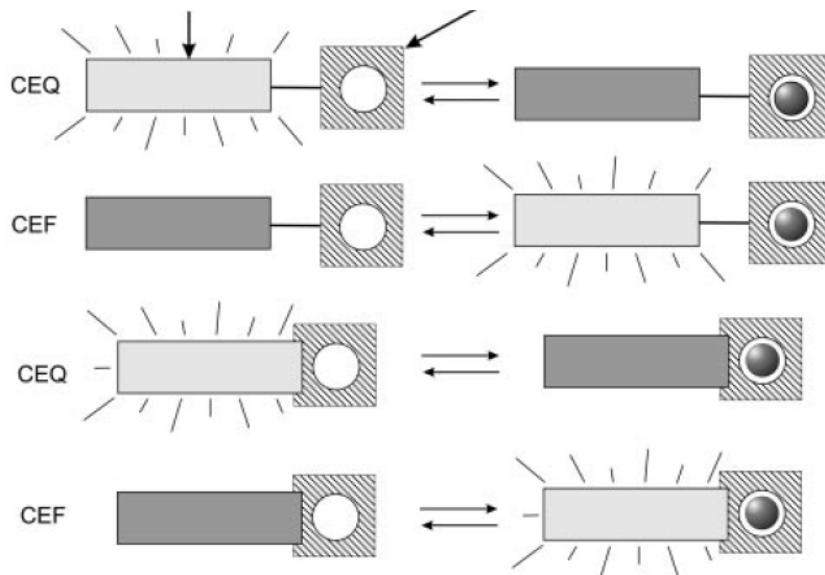
2. Klasa 2 (prikazana na **slici 8.**) koju čine fluorofori koji reverzibilno vežu analit [4].



**Slika 8.** Prikaz druge klase fluorescentnih molekularnih senzora [4].

Pojam fluorescentni pH-indikator koristi se ako je analit proton dok se pojam fluorescentno kelacijsko sredstvo koristi ako je analit ion. Ukoliko dolazi do gašenja fluorescencije vezanjem analita u pitanju je CEQ (engl. *Chelation Enhancement of Quenching*) tip senzora dok je pojačavanje fluorescencije vezanjem analita (fluorogena) karakteristika CEF (engl. *Chelation Enhancement of Fluorescence*) tipa senzora [4].

3. Klasa 3 (prikazana na **slici 9.**) koji čine fluorofori povezani (preko poveznice ili izravno) na receptor [4,9].



**Slika 9.** Prikaz treće klase fluorescentnih molekularnih senzora [4].

Ukoliko receptor prepoznaje ione (najčešće katione) naziva se ionofor, a ukoliko ujedno i proizvodi fluorescencijski signal, cijeli molekularni senzor se naziva fluoroionfor [4,9]. Ionofor je odgovoran je za selektivno i učinkovito vezanje kationa koje ovisi o topologiji liganda, karakteristikama kationa i prirodni otapala. Važno je naglasiti da u procesu vezanja kationa ponekad sudjeluju i dijelovi fluorofora tako da je za selektivnost molekularnog senzora često odgovorna struktura cijele molekule. Promjene u fotofizičkim svojstvima fluorofora posljedica su utjecaja vezanja kationa na fotoinducirane procese poput prijenosa elektrona, prijenosa naboja, prijenosa energije, stvaranja ili nestajanja ekscimerskih i eksciplekskih kompleksa i drugih [9]. Poput primjera u prethodnoj klasi i ovdje se fluorescencija može ugasiti (CEQ) ili pojačati (CEF) vezanjem analita na senzorsku molekulu [4].

### **2.3.2. Mehanizmi djelovanja fluorescentnih molekularnih senzora za katione**

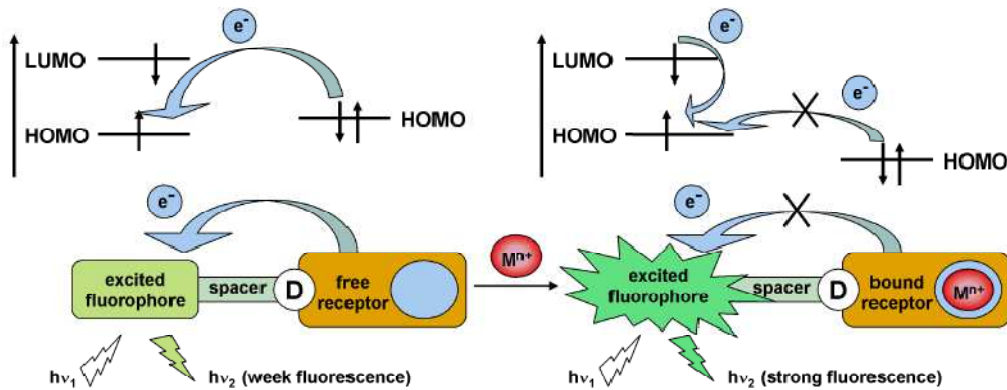
Tri glavna mehanizma kojim djeluju fluorescentni molekularni senzori su fotoinducirani prijenos elektrona (engl. *Photoinduced electron transfer*, PET), intramolekularni prijenos naboja (engl. *intramolecular charge transfer*, ICT) i prijenos energije (engl. *Energy transfer*, ET). Također postoje molekularni senzori koji djeluju kombinacijom ovih mehanizama ili drugim manje zastupljenim mehanizmima [3].

#### *2.3.2.1. Fotoinducirani prijenos elektrona (PET)*

Mehanizam fotoinduciranog prijenosa elektrona (PET) prikazan je na **slici 10**.

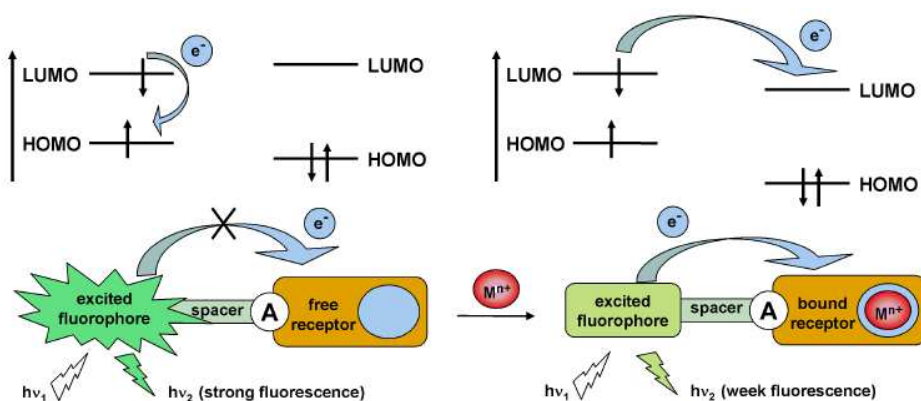
Prikazani fluoroionfor sastoji se od fluorofora koji ima ulogu akceptora dok je receptor (ionofor) elektron donor (obično amino skupina). Prilikom pobuđivanja fluorofora, elektron iz najviše popunjene molekularne orbitale (HOMO) fluorofora prelazi u najnižu nepopunjenu molekularnu orbitalu (LUMO) fluorofora. Time je omogućen prijenos elektrona iz HOMO orbitale slobodnog ionofora u energijski nižu HOMO orbitalu fluorofora čime dolazi do gašenja fluorescencije fluorofora. Vezanjem kationa na ionofor redoks potencijal donora se povećava tako da HOMO orbitala ionofora postaje energijski niža od HOMO orbitale fluorofora, čime se sprječava

fotoinducirani prijenos elektrona i njime izazvano gašenje fluorescencije fluorofora. Intenzitet fluorescencije molekuskog senzora povećava se vezanjem odgovarajućeg kationa [3,9].



Slika 10. Prikaz PET mehanizma [3].

Vezanjem kationa može doći i do gašenja fluorescencije fluorofora ukoliko senzor djeluje oksidativnim PET mehanizmom (slika 11.). HOMO orbitala slobodnog ionofora energijski je niža od HOMO orbitale fluorofora zbog čega ne dolazi do prijenosa elektrona i slobodna senzorska molekula fluorescira. LUMO orbitala ionofora vezanjem kationa na njega postaje energijski niža od LUMO orbitale fluorofora čime je omogućen prijenos elektrona između tih dviju orbitala i slabljenje intenziteta fluorescencije senzorske molekule [3].



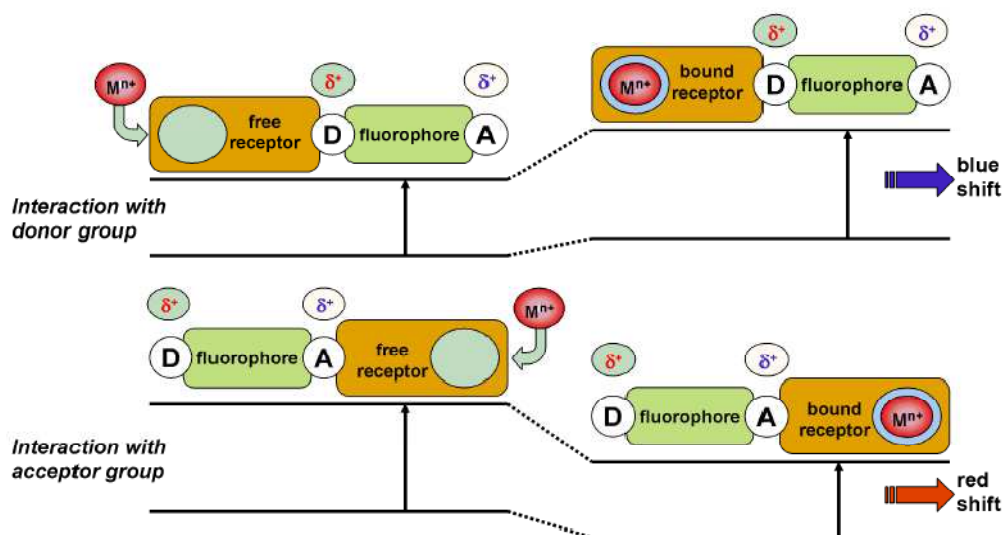
Slika 11. Prikaz oksidativnog PET mehanizma [3].

### 2.3.2.2. Intramolekulski prijenos naboja (ICT)

Mehanizam intramolekulskog prijenosa naboja (ICT) prikazan je na **slici 12**.

Kod molekularnih senzora koji djeluju prema ovome mehanizmu receptor je direktno vezan na elektron donorsku/akceptorsku skupinu koja je sjedinjena s fluoroforom i na njega vezanu elektron akceptorsku/donorsku skupinu. Tijekom pobuđivanja sustava, intramolekulski prijenos naboja (ICT) se odvija u molekuli fluorofora. Prijenos naboja uzrokuje promjenu dipolnog momenta fluorofora što rezultira izraženim Stokesovim pomacima. Efikasnost intramolekulskog prijenosa naboja (ICT) direktno ovisi o prisutnosti iona u blizini donor/akceptorskih dijelova molekule [3].

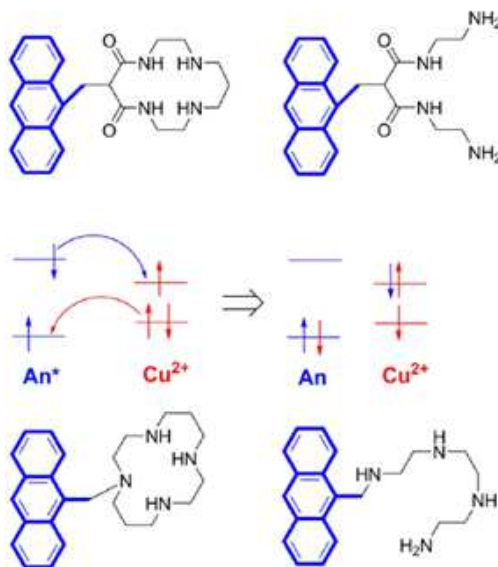
Kada elektron donorska skupina (obično amino skupina) na fluoroforu stupa u interakciju s kationom, dolazi do smanjenja elektron donorskog karaktera donorske skupine što rezultira plavim pomakom apsorpcijskog i fluorescencijskog spektra te smanjenjem molarnog apsorpcijskog koeficijenta. Nasuprot tome, kada elektron akceptorska skupina na fluoroforu stupa u interakciju s kationom, dolazi do povećanja elektron akceptorskog karaktera akceptorske skupine što rezultira crvenim pomakom apsorpcijskog i fluorescencijskog spektra te povećanjem molarnog apsorpcijskog koeficijenta. Suprotni efekti biti će postignuti vezanjem aniona [3,9].



**Slika 12.** Prikaz ICT mehanizma [3].

### 2.3.2.3. Prijenos energije (ET)

Proces prijenosa energije događa se kada se emisijski spektar fluorofora koji je donor preklapa s apsorpcijskim spektrom druge molekule (ili iona) koja je akceptor. Važno je naglasiti da ovakav proces ne uključuje emisiju svjetlosti donora prema akceptoru. Drugi naziv ovog procesa je Försterov rezonancijski prijenos energije (FRET). Mehanizam prijenosa energije (ET) na primjeru senzora za  $\text{Cu}^{2+}$  ione baziranih na antracenu prikazan je na **slici 13**. Kako je vidljivo iz prikazanih primjera, prijenos energije iz pobuđenog stanja antracena (fluorofor u danim primjerima molekulskih senzora) na  $\text{Cu}^{2+}$  ione uzrokuje gašenje fluorescencije kod signalne molekule [3].



**Slika 13.** Prikaz senzora za  $\text{Cu}^{2+}$  baziranih na antracenu koji djeluju preko ET mehanizma [3].

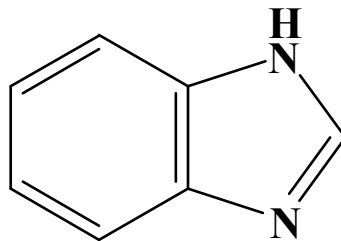


## 2.4. HETEROAROMATSKI KROMOFORI

Heteroaromatski kromofori su jedna od najčešće proučavanih klasa optičkih molekulskih senzora zbog svojih izvrsnih spektralnih svojstava i sposobnosti otkrivanja različitih iona [10,11]. Među istraživanim spojevima koji su pokazali obećavajuću senzorsku aktivnost nalaze se i derivati benzimidazola, triazola i Schiffove baze. Spojevi sintentizirani kao potencijalni senzori u sklopu ovog diplomskog rada sadrže sve tri navedene kromoforne jedinice u svojoj strukturi.

### 2.4.1. Benzimidazolni kromofori

Struktura benzimidazola je prikazana na **slici 14**.



**Slika 14.** Struktura benzimidazola.

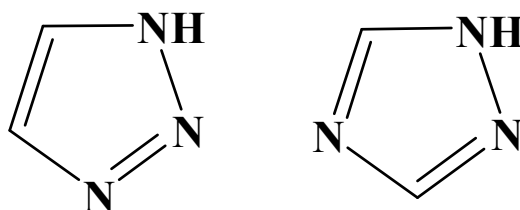
Svojstva derivata benzimidazola koja ukazuju na njihovu moguću senzorsku primjenu su elektron-donorski karakter benzimidazola te planarnost i konjugiranost molekule te visok intenzitet fluorescencije. Među prednosti ovih derivata ubrajaju se jednostavnost i niska cijena njihove sinteze [11].

Benzimidazolni prsten kao dio senzorske molekule može imati ulogu fluorofora zbog svojih povoljnih fotofizičkih svojstava ili receptora zbog potencijalno selektivnih veznih mjesta za velik broj analita. Dosadašnja istraživanja pokazala su da su derivati benzimidazola efikasni i selektivni senzori za detekciju kationa i aniona dok se rijetko koriste pri detekciji neutralnih molekula. Derivati koji se koriste kao molekulski pH senzori temelje svoj rad na protonaciji imino dušika i najčešće se rabe u kiselom i neutralnom pH području. Senzori za detekciju iona koji su bazirani na benzimidazolu najčešće detektiraju katione prijelaznih metala poput  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  i  $\text{Zn}^{2+}$  dok se njima u manjoj mjeri detektiraju kationi alkalijskih i

zemnoalkalijskih metala te anioni. Ključnu ulogu u detekciji kationa ima slobodan elektronski par dušikova atoma benzimidazalnog prstena koji sudjeluje u koordinacijskom vezanju metalnih kationa kao dio receptora [10].

## 2.4.2. Triazolni derivati

Triazolni derivati su spojevi koji u svojoj strukturi sadrže triazolni peteročlani prsten koji se sastoji od tri dušikova i dva ugljikova atoma.



**Slika 15.** Struktura 1,2,3-triazola i 1,2,4-triazola.

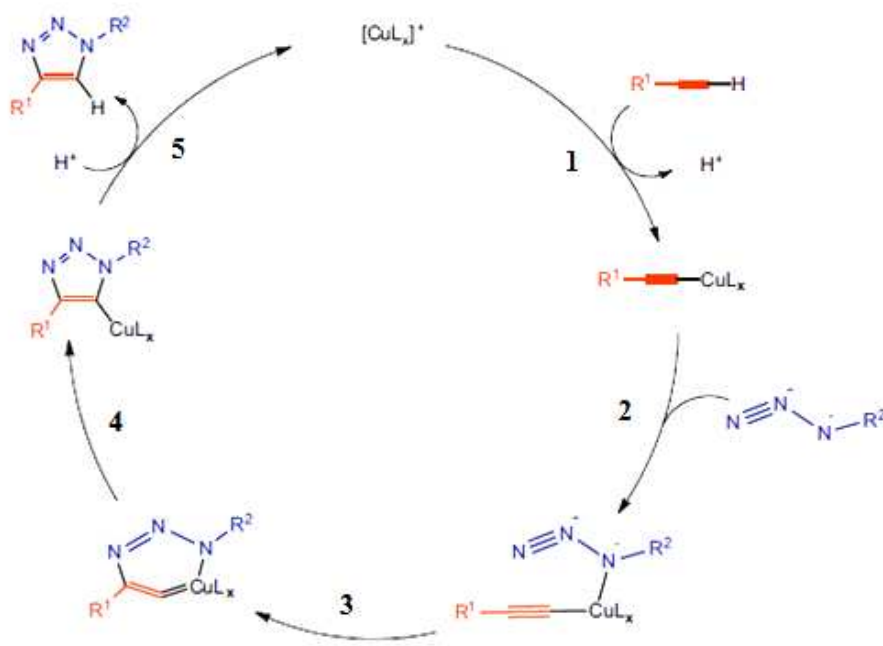
1,2,3-triazoli mogu imati različite uloge kao dio molekuskog senzora poput sudjelovanja u vezanju ciljnog analita, poveznice između receptora i fluorofora ili kao dio konjugiranog fluorofora [12]. Triazoli su najčešće sintetizirani kao smjesa izomera 1,2,3-triazola i 1,2,4-triazola čija je struktura prikazana na **slici 15.**, iako su danas razvijene nove metode sinteze kojima nastaju isključivo 1,2,3-triazoli [13]. U posljednje vrijeme se često koristi moderna i jednostavna metoda dobivanja 1,2,3-triazola temeljena na *click* kemiji.

### 2.4.2.1. Click reakcije

*Click* reakcije su skupina reakcija u kojima se molekularni gradivni blokovi vežu jednostavnim sintetskim putem, a koje karakterizira visoka selektivnost, visoko iskorištenje kemijske reakcije, blagi reakcijski uvjeti tolerantni na prisutnost vode te nastanak male količine nusprodukata ili potpun izostanak istih. Najpoznatija *click* reakcija je bakrom (I) katalizirana azid-alkilna cikloadicija (CuAAC) kojom nastaju 1,4-disupstituirani triazoli. Navedena reakcija je



redukcijskim sredstvom (natrijevim askorbatom) kako bi se inhibirala aerobna oksidacija u bakrov (II) spoj ili elementarni bakar u obliku žica, strugotina, praha ili nanočestica čija površina tvori potrebne bakrove (I) vrste. Najčešće korišteni uvjeti su  $\text{CuSO}_4$  i natrijev askorbat u vodenom otapalu kao što je voda uz dodatak alkohola (t-BuOH, MeOH ili EtOH) [14, 15]. Mehanizam CuAAC reakcije prikazan je na **slici 17**.

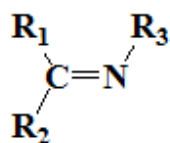


**Slika 17.** Mehanizam CuAAC reakcije [14].

Kako je vidljivo iz prikazanog mehanizma, u prvom koraku reagira alkin s bakrenim katalizatorom uz izdvajanje jednog liganda pri čemu nastaje bakrov acetilid. Tako nastali bakrov acetilid zatim reagira s azidom pri čemu se izdvaja drugi ligand. Krajni dušikov atom nastalog kompleksa u trećem koraku reagira s C-2 atomom istog kompleksa pri čemu nastaje nestabilni ciklički šesteročlani C(III) kompleks koji se pregrađuje u peteročlani ciklički derivat. Zadnji korak u reakciji je izmjena zaostalog katalizatora unutar kompleksa vodikom čime nastaje konačni produkt 1,4-supstituirani 1,2,3-triazol [14,16]. Benzimidazolni ligandi pokazali su se kao iznimno učinkovita skupina liganada u ovoj vrsti reakcija [17].

### 2.4.3. Schiffove baze

Strukturno, Schiffova baza (također poznata kao imin ili azometin) je analog ketona ili aldehida u kojem je karbonilna skupina (C = O) zamijenjena s iminskom ili azometinskom skupinom [18, 19]. Opća struktura Schiffovih baza prikazana je na **slici 18**.



**R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> = alkil ili aril**

**Slika 18.** Opća struktura Schiffovih baza.

Schiffove baze kao ligandi su neophodni u području koordinacijske kemije, osobito u razvoju kompleksa Schiffovih baza, jer takvi su spojevi potencijalno sposobni za stvaranje stabilnih kompleksa s metalnim ionima. Zbog izvrsne selektivnosti, osjetljivosti i stabilnosti Schiffovih baza za specifične metalne ione poput Ag<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Gd<sup>3+</sup>, Hg<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> i Zn<sup>2+</sup> veliki broj različitih liganada Schiffih baza upotrijebljava se kao kationski nosači u potenciometrijskim sensorima [18, 19].

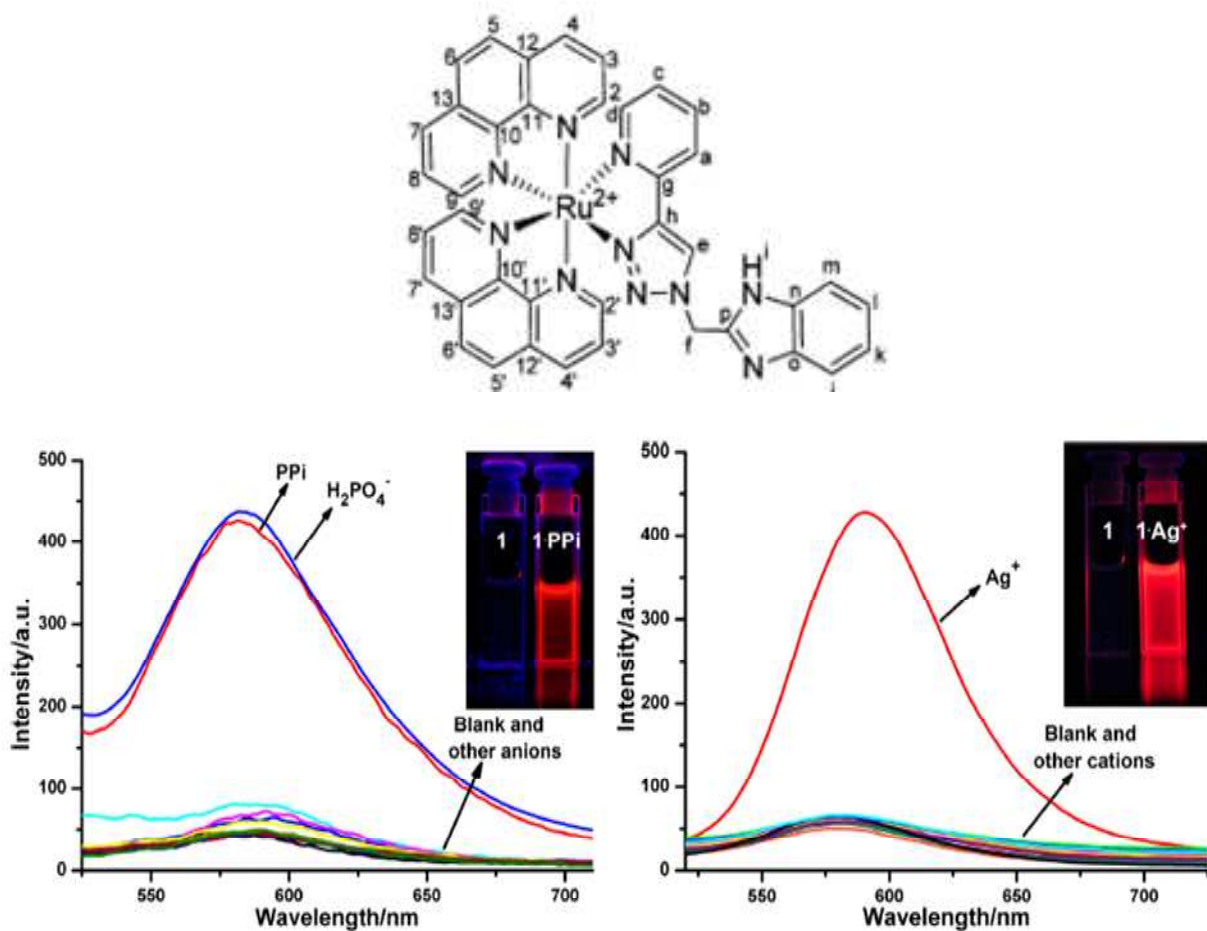
## 2.5. PRIMJERI HETEROAROMATSKIH MOLEKULSKIH SENZORA

Fluorescentni molekularni senzori za ione mogu se podijeliti na tri osnovne vrste: „on“ senzori (vezanje iona pojačava fluorescenciju), „off“ senzori (vezanje iona gasi fluorescenciju) i ratiometrijski senzori (vezanje iona uzrokuje promjenu intenziteta dvaju maksimuma fluorescencije). Ratiometrijski senzori imaju prednost nad konvencionalnim sensorima koji prate intenzitet fluorescencije na jednoj valnoj duljini jer se omjer dva intenziteta fluorescencije koristi za mjerenje koncentracije analita. Glavni nedostatak ove vrste senzora je složenost njihove pripreme [20].

Sljedeći primjeri senzorskih molekula sadrže barem jedan od kromofora navedenih u prethodnom poglavlju i pripadaju jednoj od gore navedenih skupina.

### 2.5.1. Primjer molekularnog „on“ senzora

Rutenijev kompleks **2** koji je dan za primjer „on“ senzora u svojoj strukturi sadrži benzimidazolni prsten, 1,2,3-triazolni prsten i nekoliko Schiffovih baza (**slika 19.**). Kako je vidljivo iz priloženih fluorescencijskih spektara (**slika 19.**) provedena ispitivanja pokazala su značajno povećanje intenziteta fluorescencije ovog spoja u prisustvu  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  i  $\text{HP}_2\text{O}_7^{3-}$  iona uz batokromni pomak maksimuma fluorescencije od  $\lambda = 575$  nm do  $\lambda = 583$  nm. Također je zabilježeno značajno povećanje intenziteta fluorescencije u prisustvu  $\text{Ag}^+$  iona uz batokromni pomak maksimuma fluorescencije  $\lambda = 580$  nm do  $\lambda = 591$  nm. Navedeni rezultati ukazuju da je spoj **2** dobar senzor za navedene ione [21].

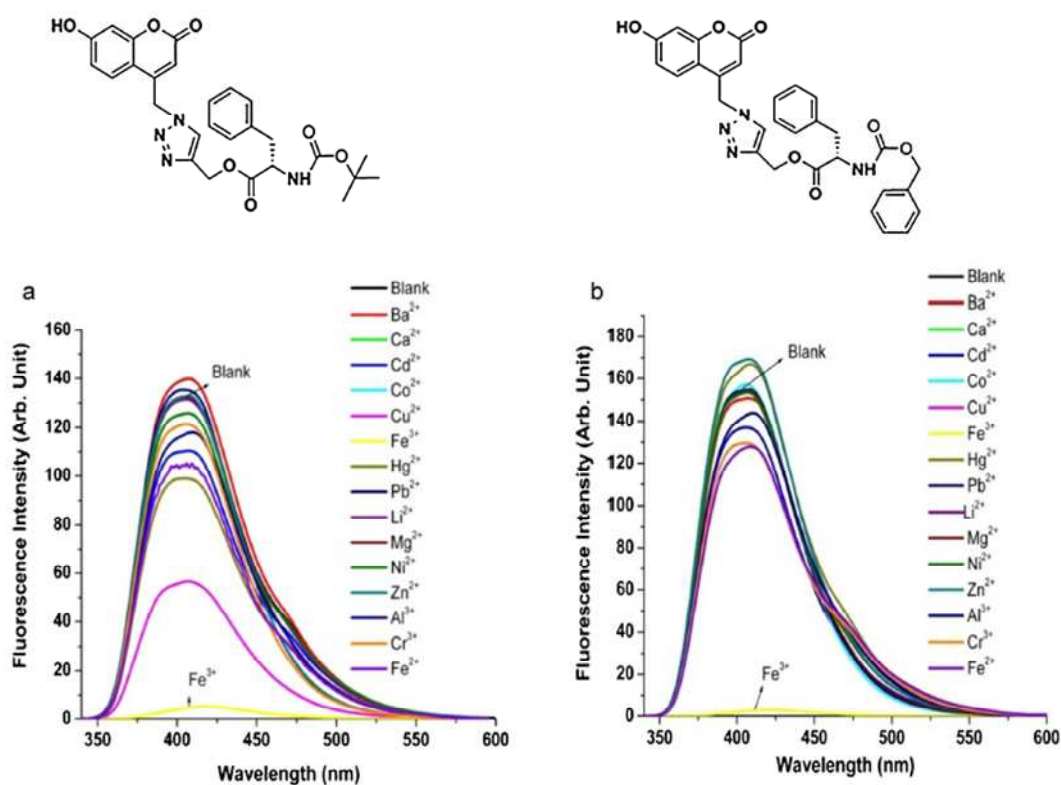


**Slika 19.** Prikaz strukture rutenijeveg kompleksa **2** i njegovih fluorescencijskih spektara u otopinama ispitivanih kationa i aniona [21].

Fosfati se u čistom organskom mediju detektiraju preko stvaranja vodikove veze s senzorskom molekulom dok se srebro u vodenom puferskom mediju detektira preko stvaranja kompleksa s triazolom. Najveća prednost ove senzorske molekule je sposobnost detektiranja  $\text{Ag}^+$  iona uz prisustvo kompeticijskih iona poput  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  i  $\text{Pb}^{2+}$  [21].

## 2.5.2. Primjeri molekulskih „off“ senzora

Kumarinski derivati **3** i **4** koji su dani za primjer „off“ senzora u svojoj strukturi sadrže 1,2,3-triazolini prsten (slika 20.). Kako je vidljivo iz priloženih fluorescencijskih spektara (slika 20.) intenzitet maksimuma fluorescencije pri valnoj duljini od 410 nm spojeva **3** i **4** se značajno smanjuje u prisutnosti  $\text{Fe}^{3+}$  iona. Ispitivanja su također pokazala veliku sposobnost detektiranja ovog iona uz prisustvo drugih obično interferirajućih iona. Svi navedeni rezultati ukazuju da su oba ispitivana spoja dobri senzori za  $\text{Fe}^{3+}$  ion [22].

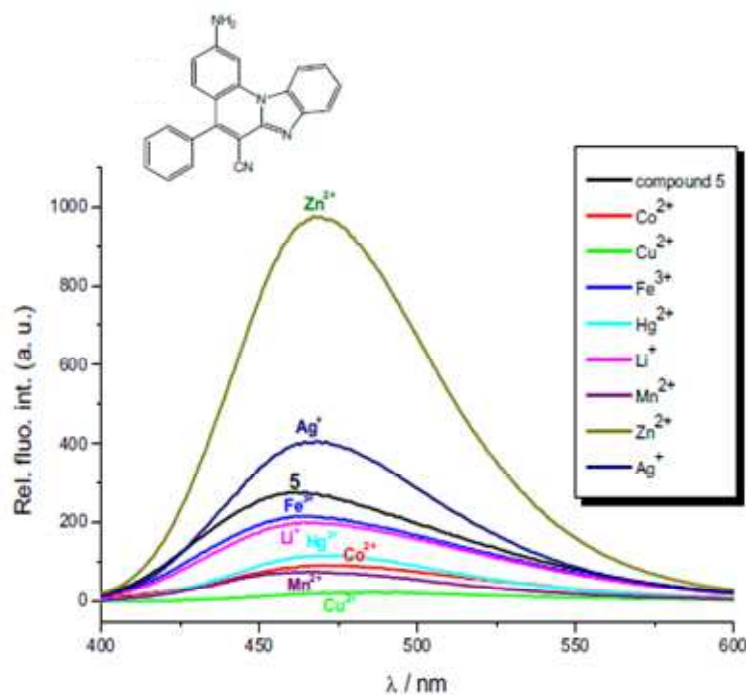


Slika 20. Prikaz struktura kumarinskih triazolnih derivata **3** i **4** te njihovih fluorescencijskih spektara u otopinama ispitivanih kationa [22].



### 2.5.3. Primjer molekule koja može biti „on“ i „off“ senzor

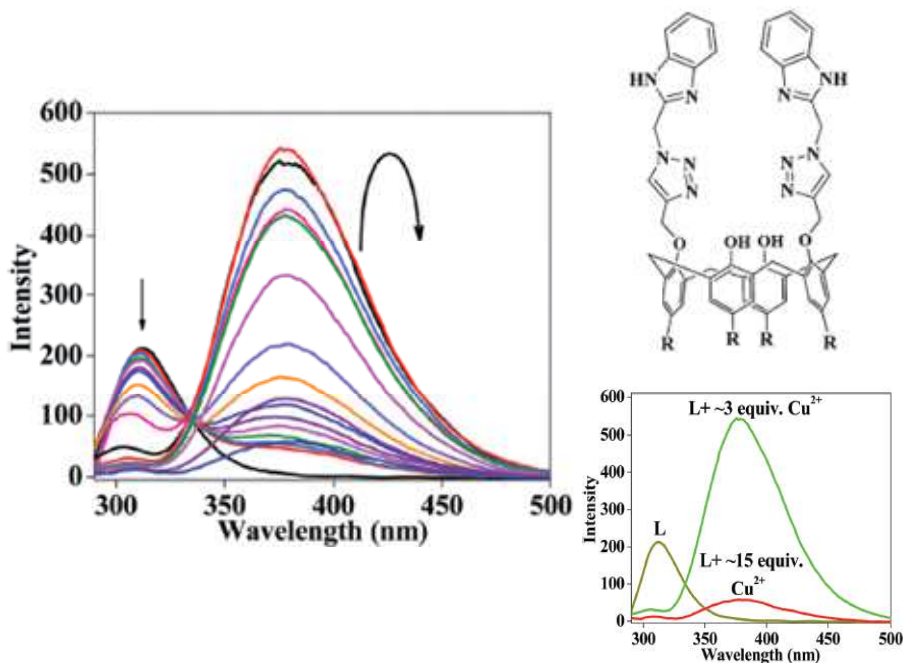
Benzimidazolni derivat **5** koji je dan za primjer „on“ i „off“ senzora prikazan je na **slici 21**. Kako je vidljivo iz priloženih fluorescencijskih spektara (**slika 21.**) intenzitet njegove fluorescencije na valnoj duljini od 460 nm se značajno pojačava u prisutnosti  $\text{Zn}^{2+}$  i  $\text{Ag}^+$  kationa dok se smanjuje u prisutnosti  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Li}^+$  i  $\text{Fe}^{3+}$  kationa. Također su zabilježeni batokromni pomaci u prisutnosti  $\text{Zn}^{2+}$  (9 nm),  $\text{Ag}^+$  (7 nm),  $\text{Hg}^{2+}$  (9 nm),  $\text{Co}^{2+}$  (11 nm) i  $\text{Cu}^{2+}$  (14 nm) iona. Najznačajnije promjene fluorescencije izazvali su  $\text{Zn}^{2+}$  i  $\text{Ag}^+$  ioni koji su je pojačali 3.5 i 1.5 puta te  $\text{Cu}^{2+}$  ion koji ju je gotovo potpuno ugasio zbog čega je ispitivana molekula **5** dobar senzor upravo za navedene ione. Djelovanje derivata **5** može se objasniti preko mehanizma intramolekulskog prijenosa naboja (ICT) [11].



**Slika 21.** Prikaz strukture benzimidazolnog derivata **5** i njegovih fluorescencijskih spektara u otopinama ispitivanih kationa [11].

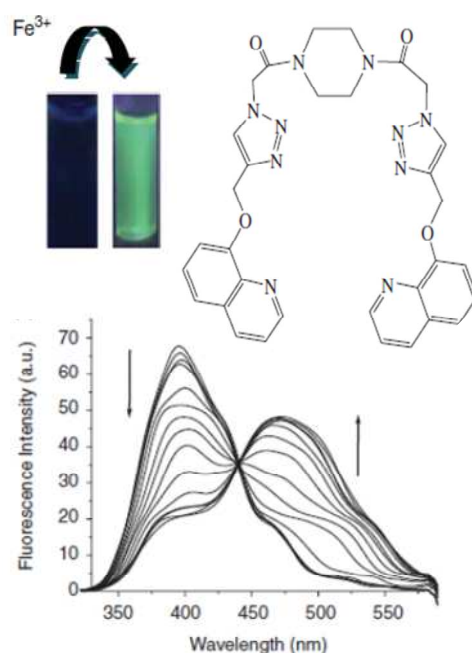
## 2.5.4. Primjeri ratiometrijskih senzora

Prva molekula koja je dana za primjer ratiometrijskog („*off-on-off*“) senzora je kaliks[4]arenski derivat **6** koji u svojoj strukturi sadrži dva 1,2,3-triazolina prstena i dva benzimidazolna prstena (slika 22.). Kako je vidljivo iz priloženih fluorescencijskih spektara (slika 22.) čisti spoj **6** otopljen u metanolu ima maksimum fluorescencije na valnoj duljini od 311 nm. Dodatkom  $\text{Cu}^{2+}$  iona u otopinu dolazi do smanjenja intenziteta početnog maksimuma te pojave novog maksimuma na valnoj duljini od 380 nm. Povećanje koncentracije  $\text{Cu}^{2+}$  iona u otopini vodi sve većem smanjenju intenziteta prvog maksimuma. Intenzitet drugog maksimuma je najveći kada je u otopini prisutna množina  $\text{Cu}^{2+}$  iona tri puta veća od množine spoja **6**. Daljnjim povećanjem koncentracije  $\text{Cu}^{2+}$  iona dolazi do smanjenja intenziteta drugog maksimuma. Ostali ispitivani ioni  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  i  $\text{Pb}^{2+}$  nisu izazvali pojavu novog maksimuma na valnoj duljini od 380 nm [23].



**Slika 22.** Prikaz strukture kaliks[4]arenskog derivata **6** i njegovih fluorescencijskih spektara u otopinama  $\text{Cu}^{2+}$  iona različitih koncentracija [23].

Druga molekula koja je dana za primjer ratiometrijskog („*off-on-off*“) senzora je piperazinski derivat **7** koji u svojoj strukturi sadrži dva 1,2,3-triazolna prstena (**slika 23.**). Kako je vidljivo iz priloženih fluorescencijskih spektara (**slika 23.**), čisti spoj **7** otopljen u metanolu ima maksimum fluorescencije na valnoj duljini  $\lambda = 400$  nm. Dodatkom  $\text{Fe}^{3+}$  iona u otopinu dolazi do smanjenja intenziteta početnog maksimuma te pojave novog maksimuma na valnoj duljini od 480 nm (kada se izloži UV svjetlu otopina emitira zelenu svjetlost). Povećanje koncentracije  $\text{Fe}^{3+}$  iona u otopini vodi sve većem smanjenju intenziteta početnog maksimuma i povećanju intenziteta novonastalog maksimuma. Djelovanje derivata **7** može se objasniti preko mehanizma intramolekulskog prijenosa naboja (ICT) [20].



**Slika 23.** Prikaz strukture piperazinskog derivata **7** i njegovih fluorescencijskih spektara u otopinama  $\text{Fe}^{3+}$  iona različitih koncentracija [20].

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. OPĆE NAPOMENE

Kemijske reakcije provedene su uobičajenim metodama organske sinteze i modernim metodama “click” kemije. Tijek kemijskih reakcija praćen je tankoslojnom kromatografijom, TLC (engl. *Thin Layer Chromatography*). Kao nepokretna faza korištene su pločice 60F-254 prevučene tankim slojem silikagela (Merck) dok je kao eluens korištena smjesa otapala diklormetan/metanol ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ ) u različitim volumnim omjerima.

Pročišćavanje reakcijskih smjesa kolonskom kromatografijom provedeno je na staklenim kolonama punjenim silikagelom (Fluka, 0,063-0,02 mm) pod utjecajem gravitacijske sile dok je kao eluens korištena je smjesa otapala  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  u različitim volumnim omjerima.

$^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektri snimljeni su na spektrometrima Varian Gemini 300, Bruker AV-600 te Bruker Avance 300. Svi NMR spektri snimani su u  $\text{DMSO-}d_6$  kao otapalu, koristeći tetrametilsilan kao interni standard. Kemijski pomaci ( $\delta$ ) izraženi su u ppm vrijednostima, a konstante sprege ( $J$ ) u Hz.

### 3.2. MATERIJALI

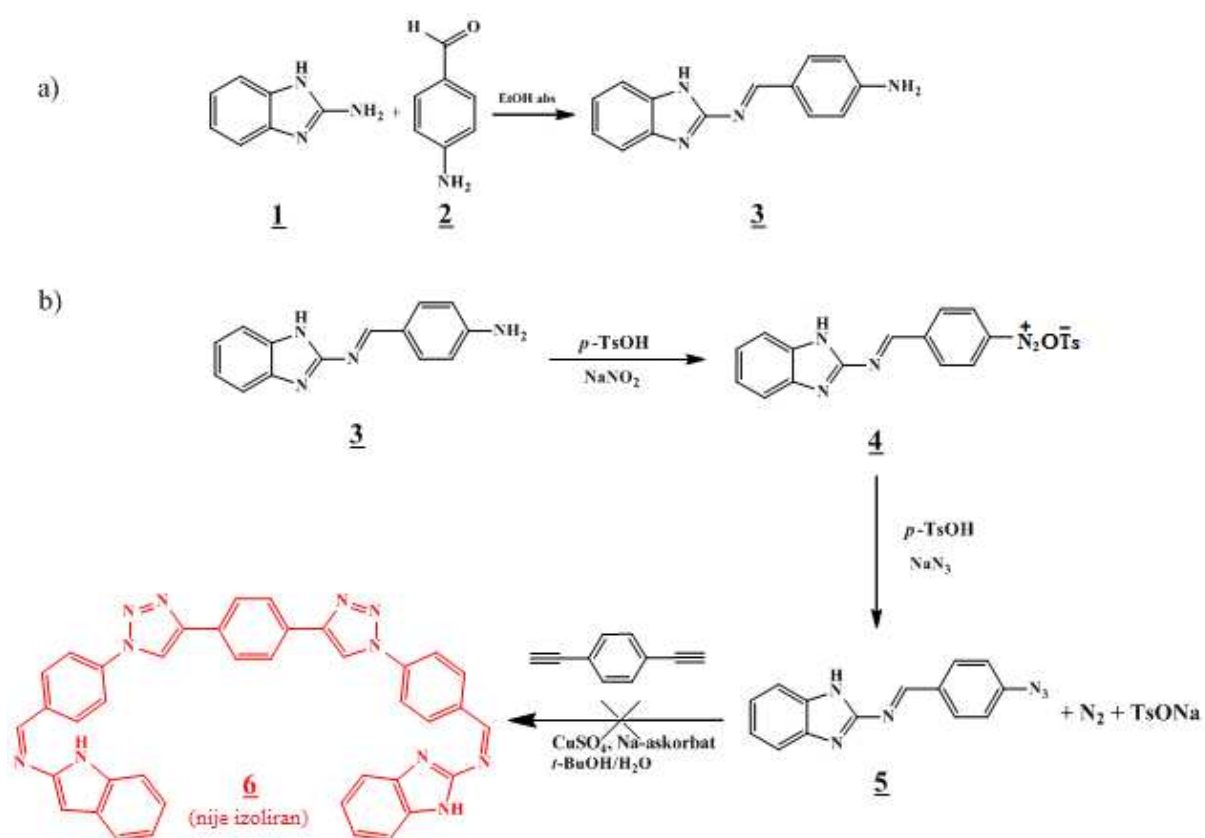
- etanol za pranje ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ), *Carlo Erba Reagents*
- deionizirana voda
- metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), aceton ( $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ ), *Sigma Aldrich*
- dietil eter ( $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$ ), etil acetat ( $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ ), diklormetan ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), dimetil sulfoksid ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$ ), acetonitril ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$ ), etanol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ), *Kefo d.o.o.*
- cinkov klorid ( $\text{ZnCl}_2$ ), bakrov klorid ( $\text{CuCl}_2$ ), *Merck, Germany*
- citratna kiselina ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ ), natrijev hidroksid ( $\text{NaOH}$ ), olovo nitrat ( $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ), željezov klorid ( $\text{FeCl}_3$ ), aluminijev klorid ( $\text{AlCl}_3$ ), *Kemika d.d., Zagreb*
- fosforna kiselina ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), *Laborchemie Apolda*
- klorovodična kiselina ( $\text{HCl}$ ), *Carlo Erba Reagents*

### 3.3. INSTRUMENTI

- UV-Vis spektrofotometar, *Carry 100 Scan 33*
- Fluorescencijski spektrofotometar, *Carry Eclipse*
- Uređaj za određivanje tališta, *STUART*

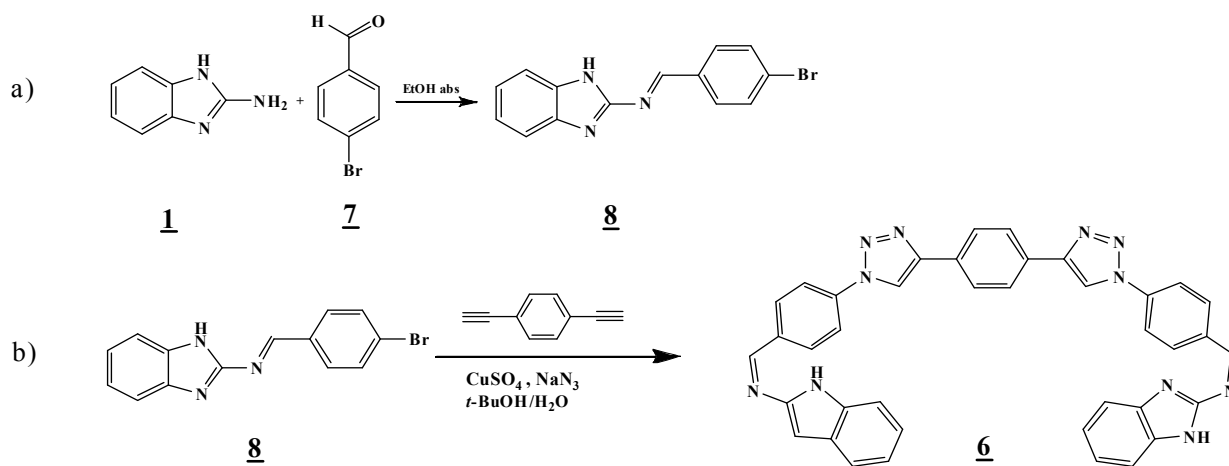
### 3.4. SHEMATSKI PRIKAZ PRIPRAVE CILJANIH MOLEKULA

#### 3.4.1. Priprava triazolnog derivata CuAAC reakcijom iz amino-supstituirane Schiffove baze



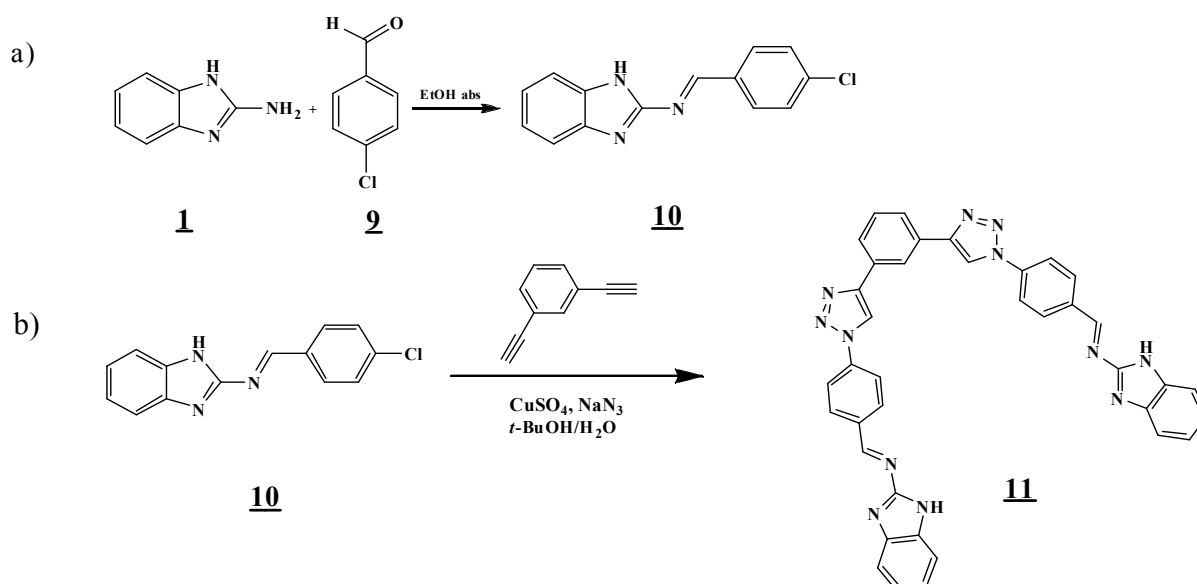
Shema 1.

### 3.4.2. Priprava triazolnog derivata CuAAC reakcijom iz brom-supstituirane Schiffove baze



Shema 2.

### 3.4.3. Priprava triazolnog derivata CuAAC reakcijom iz klor-supstituirane Schiffove baze



Shema 3.

## 3.5. POSTUPCI PRIPRAVE CILJANIH MOLEKULA

### 3.5.1. Priprava spoja (*E*)-*N*-(4-aminobenziliden)-1*H*-benzo[d]imidazol-2-amina **3**

4-aminobenzaldehid **2** (54,2 mg, 0,4 mmol) i 2-aminobenzimidazol **1** (59,6 mg; 0,4 mmol) otopljeni su u 10 ml etanola u okrugloj tikvici. Reakcijska smjesa miješana je pri temperaturi refluksa 24h. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom u sustavu CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH = 20:1. Dobivena smjesa filtrirana je preko Büchnerovog lijevka te je dobiven konačni žuti praškasti produkt **3** (70,8 mg; 0,3 mmol) uz iskorištenje reakcije  $\eta = 77,96 \%$ .

### 3.5.2. Priprava spoja (*E*)-*N*-(4-bromobenziliden)-1*H*-benzo[d]imidazol-2-amina **8**

Smjesa 2-aminobenzimidazola **1** (200 mg, 1,5 mmol) i 4-bromobenzaldehida **7** (277,9 mg, 1,5 mmol) u 5 mL apsolutnog etanola miješana je 36 h pri temperaturi refluksa. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom u sustavu CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH = 20:1 i čistom CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Po završetku reakcije otapalo je otpareno pod sniženim tlakom, a produkt pročišćen prekrizacijom iz etanola (100 mL). Dobiven je žuti kristalinični produkt uz iskorištenje reakcije  $\eta = 65.49 \%$ . Struktura spoja **8** je potvrđena <sup>1</sup>H NMR spektroskopijom. T<sub>1</sub> = 250 °C

### 3.5.3. Priprava spoja (*E*)-*N*-(4-klorobenziliden)-1*H*-benzo[d]imidazol-2-amina **10**

Reakcijska smjesa ekvimolarne količine 2-aminobenzimidazola **1** (200 mg, 1,5 mmol) i 4-klorobenzaldehida **9** (211,12 mg, 1,5 mmol) u 5 mL apsolutnog etanola miješana je 36 h pri temperaturi refluksa. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom u sustavu CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH = 20:1 i čistom CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Po završetku reakcije otapalo je otpareno pod sniženim tlakom, a produkt pročišćen prekrizacijom iz etanola (100 mL). Dobiven je žuti kristalinični produkt uz iskorištenje reakcije  $\eta = 38.28 \%$ . Struktura spoja **10** je potvrđena <sup>1</sup>H NMR spektroskopijom. T<sub>1</sub> = 213 °C



### 3.5.4. Priprava spoja 6

#### *I. sintetski put:*

U otopinu spoja **3** (100 mg; 0,4 mmol) u *p*-toluensulfonskoj kiselini (725,4 mg; 3,8 mmol) postepeno je dodan bezvodni NaNO<sub>2</sub> (263,1 mg; 3,8 mmol). Reakcijska smjesa je miješana 60 min na sobnoj temperaturi, nakon čega je dodan NaN<sub>3</sub> (41,3 mg; 0,6 mmol) pri čemu je neposredno uočeno razvijanje N<sub>2</sub>. Reakcijskoj smjesi zatim je dodana smjesa otapala *tert*-butanol:voda = 1:1 (20 mL), „dvostruki“ alkin 1,4-dietinilbenzen (26,7 mg; 0,2 mmol), CuSO<sub>4</sub> (52,9 mg; 0,2 mmol) i natrij-askorbat (41,95 mg; 0,2 mmol). Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom u sustavu CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH = 20:1 i čistom CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Nakon 48 h reakcija je zaustavljena, tri četvrtine otapala je otpareno pri sniženom tlaku, a ostatak reakcijske smjese je filtriran preko Büchnerova lijevka. Dobiven je smeđi praškasti produkt. Snimanjem <sup>1</sup>H NMR spektara dobivenog taloga ustanovljeno je da spoj **6** nije dobiven.

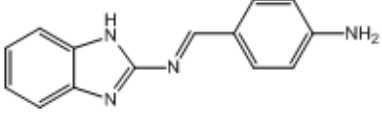
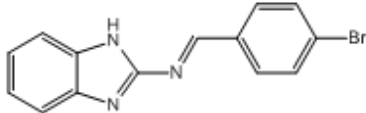
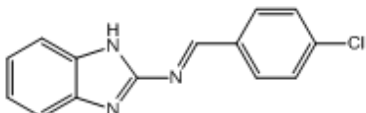
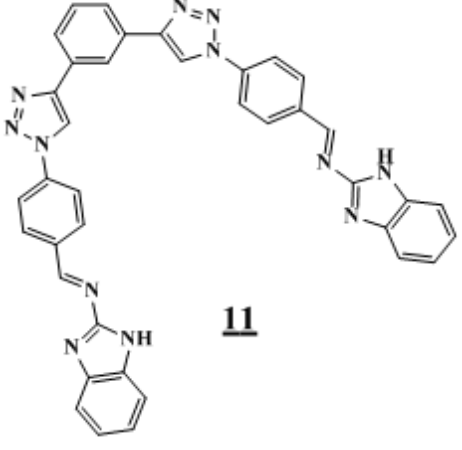
#### *II. sintetski put:*

Dobiveni spoj **8** (0,100 mg; 0,3 mmol) se dodaje u smjesu otapala *tert*-butanol:voda = 1:1 (7 mL) zajedno s „dvostrukim“ alkinom 1,4-dietinilbenzenom (42 mg; 0,3 mmol), NaN<sub>3</sub> (23,8 mg; 0,4 mmol) te prethodno pomiješanim CuSO<sub>4</sub> (41,57 mg; 0,16 mmol) i natrij-askorbatom (33 mg; 0,16 mmol) otopljenima u 1 mL vode. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom u sustavu CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH = 20:1 i čistom CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Dobiveni talog prekrizaliziran je iz čistog etanola (75 mL) te zatim filtriran preko Büchnerova lijevka. Zbog nedovoljne čistoće produkta nakon prekrizalizacije talog je dodatno pročišćen kolonskom kromatografijom uz čisti CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> i CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH = 10:1 kao eluens. Dobiven je smeđi praškasti produkt u vrlo slabom iskorištenju  $\eta = 1$  %. T<sub>1</sub> = 160 °C Snimanjem <sup>1</sup>H NMR spektara frakcija izoliranih kolonskom kromatografijom ustanovljeno je da spoj **6** dobiven u vrlo malom iskorištenju, nedovoljne čistoće te da je potrebna prilagodba uvjeta sinteze spoja i primjena dodatnih metoda strukturne karakterizacije spoja.

### 3.5.5. Priprava spoja 11

Dobiveni spoj **10** (100 mg; 0,4 mmol) se dodaje u smjesu otapala *tert*-butanol:voda = 1:1 (7 mL) zajedno s „dvostrukim“ alkinom 1,3-dietinilbenzenom (49,3 mg; 0,4 mmol), NaN<sub>3</sub> (28 mg; 0,4 mmol) te prethodno pomiješanim CuSO<sub>4</sub> (48,8 mg; 0,2 mmol) i natrij-askorbatom (38,7 mg; 0,2 mmol) otopljenima u 1 mL vode. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom u sustavu CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH = 20:1 i čistom CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Reakcija je zaustavljena nakon 24 sati te je filtracijom odvojen netopivi talog. Dobiven je zeleni praškasti produkt uz iskorištenje reakcije  $\eta = 8.46 \%$ . T<sub>t</sub> = 205 °C

Tablica 1. Spektroskopska analiza dobivenih spojeva

SPOJ	$^1\text{H}$ NMR ( $\delta$ , ppm)	$^{13}\text{C}$ NMR ( $\delta$ , ppm)
 <p style="text-align: center;"><b>3</b></p>	<p>12,34 (s, 1H, NH<sub>bi</sub>)            9,57 (s, 1H, H<sub>imino</sub>)            7,55 (d, 1H, J=9Hz, H<sub>arom</sub>)            7,34-7,37(t, 1H, H<sub>arom</sub>)            7,20-7,23(t, 1H, H<sub>arom</sub>)            3,60 (s, 1H, H<sub>amino</sub>)</p>	
 <p style="text-align: center;"><b>8</b></p>	<p>12,71(s, 1H, NH<sub>bi</sub>)            9,45 (s, 1H, H<sub>imino</sub>)            8,03(d, 2H, J=1,8 Hz, H<sub>arom</sub>)            7,82 (d, 2H, J=1,8 Hz, H<sub>arom</sub>)            7,58-7,61 (m, 1H, H<sub>arom</sub>)            7,43-7,46 (m, 1H, H<sub>arom</sub>)            7,16-7,22 (m, 2H, H<sub>arom</sub>)</p>	<p>164,70; 155,82; 142,82            139,65; 134,68; 132,69            131,67; 126,98; 122,72            122,39; 119,18; 111,64</p>
 <p style="text-align: center;"><b>10</b></p>	<p>12,70 (s, 1H, NH<sub>bi</sub>)            9,46 (s, 1H, H<sub>imino</sub>)            8,10 (d, 2H, J=1,8 Hz, H<sub>arom</sub>)            7,67 (d, 2H, J=1,8 Hz, H<sub>arom</sub>)            7,58-7,60 (m, 1H, H<sub>arom</sub>)            7,43-7,45 (m, 1H, H<sub>arom</sub>)            7,16-7,22 (m, 2H, H<sub>arom</sub>)</p>	<p>166,71; 164,56; 155,84            137,87; 134,41; 131,54            129,76; 124,26; 122,76            122,53; 119,16; 111,68</p>
 <p style="text-align: center;"><b>11</b></p>	<p>10,02 (s, 2H, H<sub>imino</sub>)            9,69 (s, 2H, H<sub>triazol</sub>)            7,66-7,95 H<sub>arom</sub></p>	

### 3.6. OPTIČKA KARAKTERIZACIJA SPOJEVA 8 I 10

Pripravljene spojevi **8** i **10** su spektralno okarakterizirani u ovisnosti o pH, otapalu i prisutnosti metalnih iona. Za spektralnu karakterizaciju su pripravljene sljedeće otopine:

- otopine univerzalnog pufera pH vrijednosti 2, 7 i 12
- otopine metalnih soli
- matična (*stock*) otopina spojeva **8** i **10**

#### 3.6.1. Optička karakterizacija ispitivanih spojeva u otopini

Osnovna fotofizička svojstva spojeva **8** i **10** su određena UV-vidljivom apsorpcijskom i fluorescencijskom spektrofotometrijom u etanolu. Svi spektri su snimani pri koncentraciji  $c = 1 \cdot 10^{-5}$  M koja je dobivena razrjeđivanjem matične otopine spoja.

Matična otopina spoja **8** pripravljena je otapanjem 1 mg spoja u 3 mL etanola, a koncentracija pripravljene otopine je  $c = 1,11 \cdot 10^{-3}$  M. Matična otopina spoja **10** je pripravljena otapanjem 0,7 mg spoja u 3 mL etanola, a njegova koncentracija je iznosila  $0,913 \cdot 10^{-3}$  M.

Bazna linija čistog otapala snimljena je prije svakog snimanja spektra. Alikvot spoja stavljen je u određeno otapalo te su nakon 3 minute snimljeni apsorpcijski i emisijski spektri na valnim duljinama od 200 do 800 nm u kvarcnoj kivetki optičkog puta 10 mm. Kao valne duljine pobuda za snimanje emisijskih spektara su korišteni maksimumi apsorpcijskih spektara. Slitovi (širina otvora izvorne zrake u fluorimetru) korišteni pri snimanju emisijskih spektara su 5-5, 10-10 i 10-20.

### 3.6.2. Utjecaj vrijednosti pH

Ispitivan je utjecaj promjene vrijednosti pH na apsorpcijske spektre spojeva **8** i **10**. Pri karakterizaciji spojeva **8** i **10**, korišteni su univerzalni puferi pH vrijednosti od 2, 7 i 12. Otopine univerzalnog pufera pH vrijednosti od 2, 7 i 12 pripravljene su prema standardnom postupku za pripremu pufera 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 (20,00 g na 0,50 L). Citratna otopina (A) i klorovodična kiselina (B) se miješaju u odmjernoj tikvici prema jednadžbi:

$$20,00 \text{ ml A} + x \text{ ml B (u 100,00 ml)}$$
$$x \text{ (B)} = \text{volumen klorovodične kiseline (mL)}$$

### 3.6.3. Utjecaj metalnih iona

Utjecaj metalnih iona na apsorpcijske i emisijske spektre ispitivan je u kvarčnoj kivetici tako da su prvo snimani spektri spojeva **8** i **10** ( $c = 1 \cdot 10^{-5}$  M) u etanolnoj otopini (3 mL) bez prisustva metalnih iona, a nakon toga sa njihovim prisustvom. Koncentracija metala u otopini je iznosila  $1 \cdot 10^{-5}$  M. Alikvot matičnih otopina metalnih soli potreban da se postigne koncentracija od  $1 \cdot 10^{-5}$  M je računat prema jednadžbi:

$$c_1 * V_1 = c_2 * V_2$$

gdje je  $c_1$  [mol dm<sup>-3</sup>] poznata koncentracija matične otopine metalne soli,  $V_1$  [dm<sup>3</sup>] volumen soli koji je potreban dodati etanolnoj otopini,  $c_2$  [mol dm<sup>-3</sup>] potrebna koncentracija metalne soli, a  $V_2$  [dm<sup>3</sup>] volumen etanola u kvarčnoj kivetici.

Popis ispitivanih metalnih soli, koncentracije njihovih matičnih otopina te alikvot potreban da se postigne koncentracija metalnih iona od  $1 \cdot 10^{-5}$  M je prikazan u **tablici 2**.

**Tablica 2.** Popis ispitivanih metalnih soli, koncentracije njihovih matičnih otopina te pipetirani alikvot u etanolnu otopinu

metalna sol	koncentracija matične otopine metalne soli / mol dm <sup>3</sup>	pipetirani alikvot metalne soli / μL	λ <sub>pobude</sub> / nm
<b>AlCl<sub>3</sub>×6 H<sub>2</sub>O</b>	1,10*10 <sup>-3</sup>	27,2	357
<b>FeCl<sub>3</sub>×6 H<sub>2</sub>O</b>	1,48*10 <sup>-3</sup>	20,3	357
<b>CuCl<sub>2</sub>×2 H<sub>2</sub>O</b>	1,00*10 <sup>-3</sup>	30,0	357
<b>ZnCl<sub>2</sub></b>	1,71*10 <sup>-3</sup>	17,5	357
<b>Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub></b>	1,41*10 <sup>-3</sup>	21,3	357

### 3.6.4. Utjecaj otapala

Ispitivan je utjecaj različitih otapala na optička svojstva spojeva **8** i **10**. Otapala korištena za karakterizaciju svojstava spojeva **8** i **10** su: diklormetan, dimetil sulfoksid (DMSO), metanol i voda. Koncentracija spojeva **8** i **10** u radnim otopinama iznosila je  $c = 1 \cdot 10^{-5}$  M. Snimani su apsorpcijski i emisijski spektri pri valnim duljinama od 200 do 800 nm.

U **tablici 3.** i **tablici 4.** su prikazana korištena otapala i eksperimentalni uvjeti pri kojima su snimani emisijski spektri (valne duljine pobude i slitovi).

**Tablica 3.** Popis otapala i eksperimentalni uvjeti u kojima su snimani spektri spoja **8**

otapalo	E <sub>T</sub> (30) <sup>a</sup>	λ <sub>pobude</sub> / nm	slitovi
<b>diklormetan</b>	40,7	358	5-5
<b>DMSO</b>	45,1	356	10-20
<b>metanol</b>	55,4	351	10-20
<b>voda</b>	63,1	270	10-10

**Tablica 4.** Popis otapala i eksperimentalni uvjeti u kojima su snimani spektri spoja **10**

otapalo	E <sub>T</sub> (30) <sup>a</sup>	λ <sub>pobude</sub> / nm	slitovi
<b>diklormetan</b>	40,7	358	5-5
<b>DMSO</b>	45,1	357	10-20
<b>metanol</b>	55,4	351	10-20
<b>voda</b>	63,1	270	10-10

<sup>a</sup> E<sub>T</sub>(30) parametar polarosti otapala

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

## 4.1. SINTEZA SPOJEVA

U ovom radu su pripremljeni novi heteroaromatski derivati 2-aminobenzimidazola (spojevi **3**, **8** i **10**), koji su korišteni u daljnoj sintezi kao osnovni gradivni blokovi novih triazolnih derivata benzimidazola (spojevi **6** i **11**) s ciljem razvoja novih senzorskih molekula.

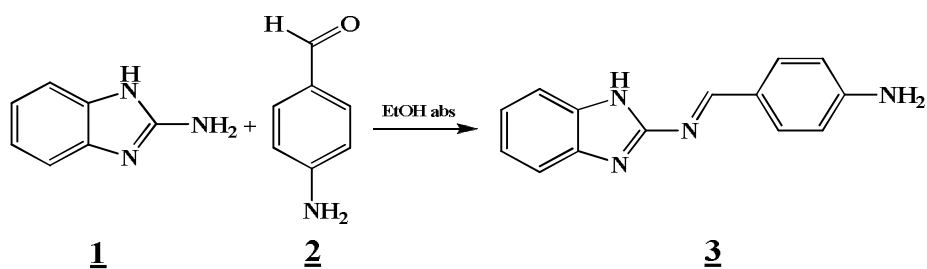
Spojevi **3**, **8** i **10** se strukturno mogu opisati kao Schiffove baze, gdje imino veza spaja benzimidazolnu jezgru sa supstituiranim fenilnim prstenom. Spojevi **6** i **11** u svojoj strukturi sadrže dva benzimidazolna prstena povezana  $\pi$ -konjugiranom poveznicom, odnosno triazolnim prstenom preko Schiffove baze. Strukturne značajke spojeva ukazuju na potencijalno senzorsko djelovanje zbog mogućnosti koordiniranja metalnih iona i prisutnosti protonabilnih mjesta (dušikovih atoma unutar molekule).

Za sintezu navedenih molekula je korišten niz klasičnih kemijskih reakcija te “*click*” reakcije, karakteristične sintetske reakcije u modernoj kemiji. Nakon uspješne pripreme spojeva **8** i **10**, njihova fotofizička i senzorska svojstva okarakterizirana su metodama UV-VIS apsorpcijske i fluorescencijske spektrofotometrije. Utvrđen je utjecaj promjene vrijednosti pH, vrste otapala, te utjecaj prisustva različitih metalnih iona na spektre ispitivanih spojeva.

**Slika 24.** prikazuje molekulske strukture pripremljenih spojeva **3**, **6**, **8**, **10** i **11**.

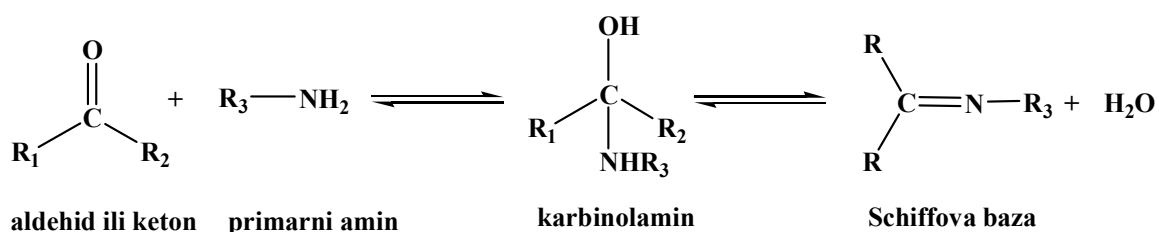






**Shema 4.**

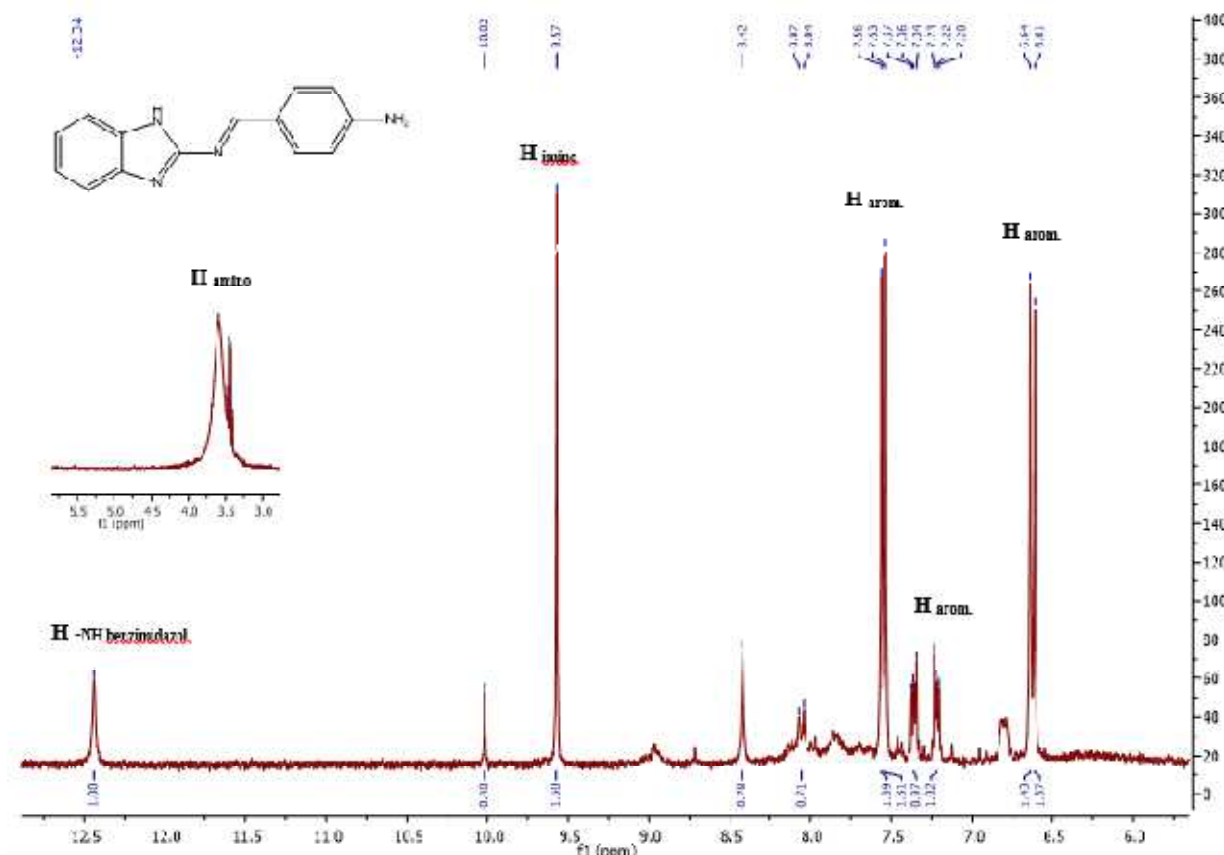
Gornja reakcija je tipična reakcija stvaranja imino skupine, odnosno Schiffove baze, kao što je prikazano na **slici 25**.



**Slika 25.** Opća reakcija sinteze Schiffove baze

Primarni amin djeluje kao nukleofil te u prvom koraku reakcije napada karbonilni ugljikov atom aldehida (ili ketona) tvoreći nestabilni hidratizirani karbinolaminski međuprodukt. Nastali međuprodukt lako gubi vodu u prisutnosti kiseline. Dehidracijom međuprodukta ugljik i dušik se povezuju dvostrukom vezom tvoreći imino skupinu [24].

**Slika 26.** prikazuje  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **3**.

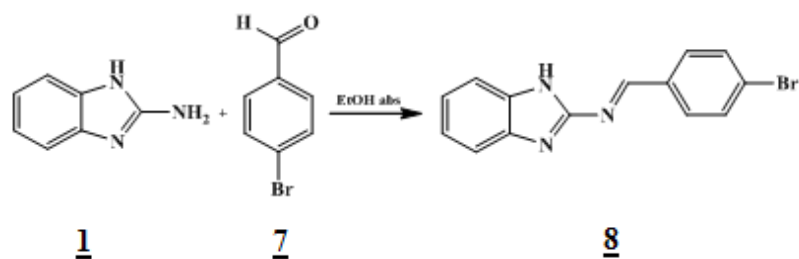


Slika 26.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 3

$^1\text{H}$ -NMR spektar dan na Slici 26. sadrži karakterističan singlet imino protona na 9,57 ppm, singlet benzimidazalnog protona na 12,34 ppm te singlet protona amino grupe na 3,60 ppm. Dublet na 7,55 ppm te dva multiplleta u području od 7,34-7,37 ppm i 7,20-7,23 ppm pripadaju aromatskim protonima.

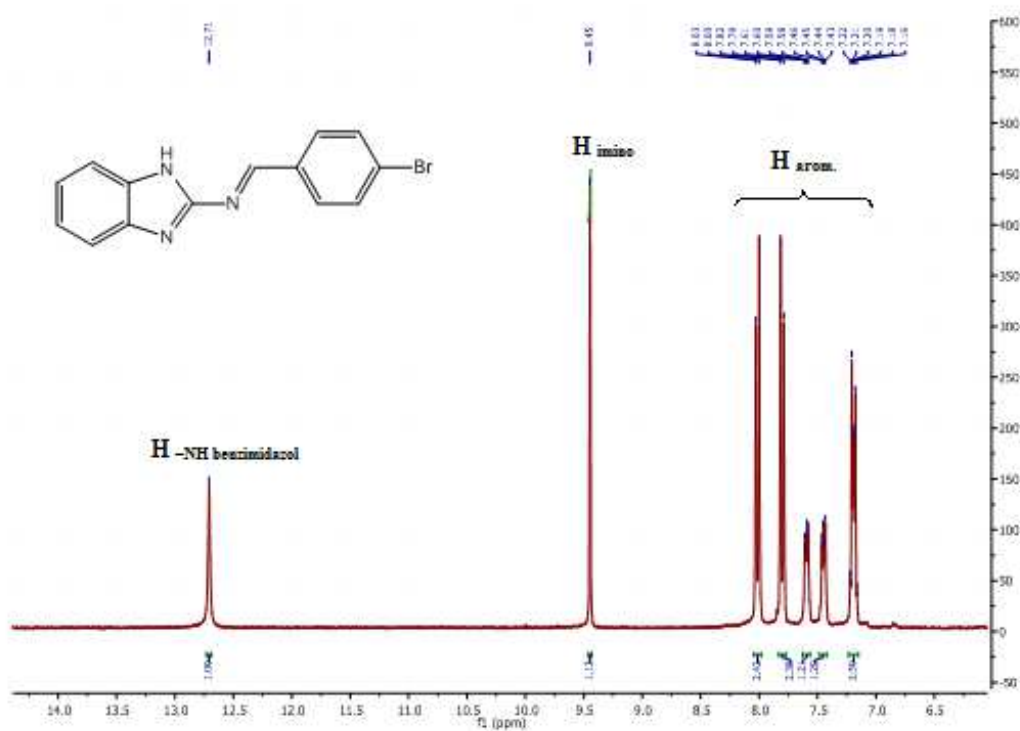
Spojevi 8 i 10 su Schiffove baze koje su dobivene prema istom tipu reakcije kao i spoj 3.

Spoj 8 je pripremljen nukleofilnom adicijom 2-aminobenzimidazola 1 na karbonilnu skupinu 4-brombenzaldehida 7 (Shema 5.).  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$ -NMR spektroskopijom potvrđena je struktura spoja 8.



**Shema 5.**

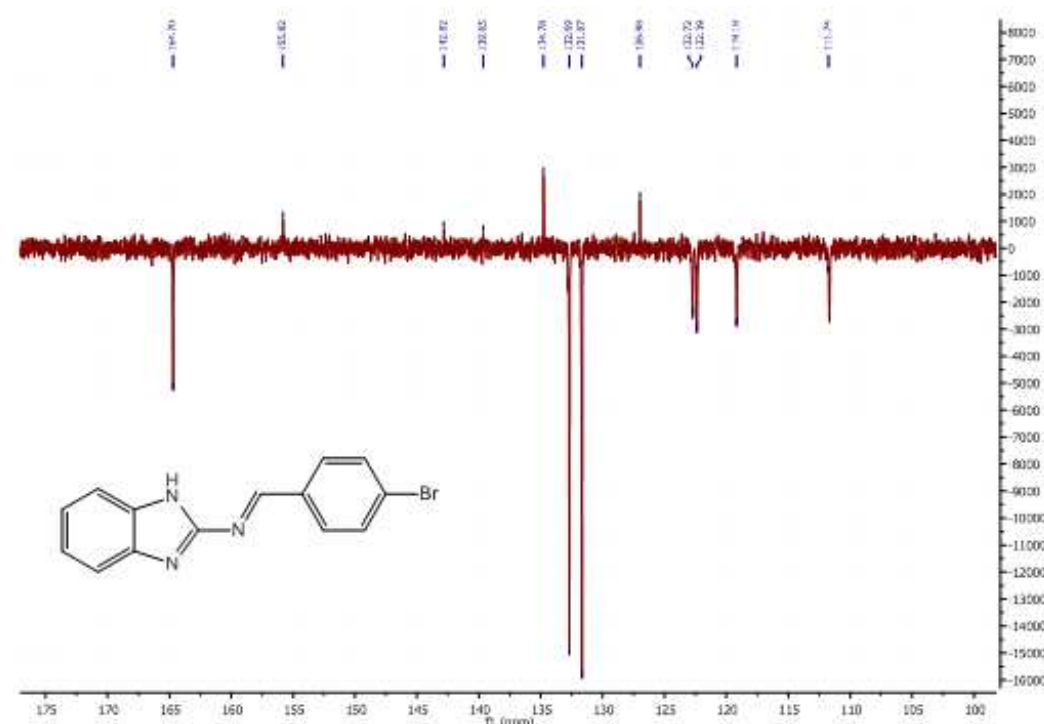
**Slika 27.** prikazuje snimljeni  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **8**.



**Slika 27.**  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **8**

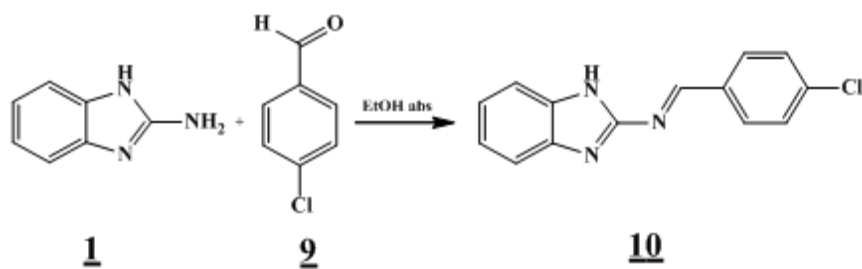
$^1\text{H}$ -NMR spektar dan na **Slici 27.** sadrži karakterističan singlet imino protona na 9,45 ppm i singlet benzimidazalnog protona na 12,71 ppm. Dubleti na 8,02 ppm i 7,81 ppm te tri multipleta u području od 7,58-7,61 ppm, 7,43-7,46 ppm i 7,16-7,22 ppm pripadaju aromatskim protonima.

Slika 28. prikazuje snimljeni  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar spoja **8**.



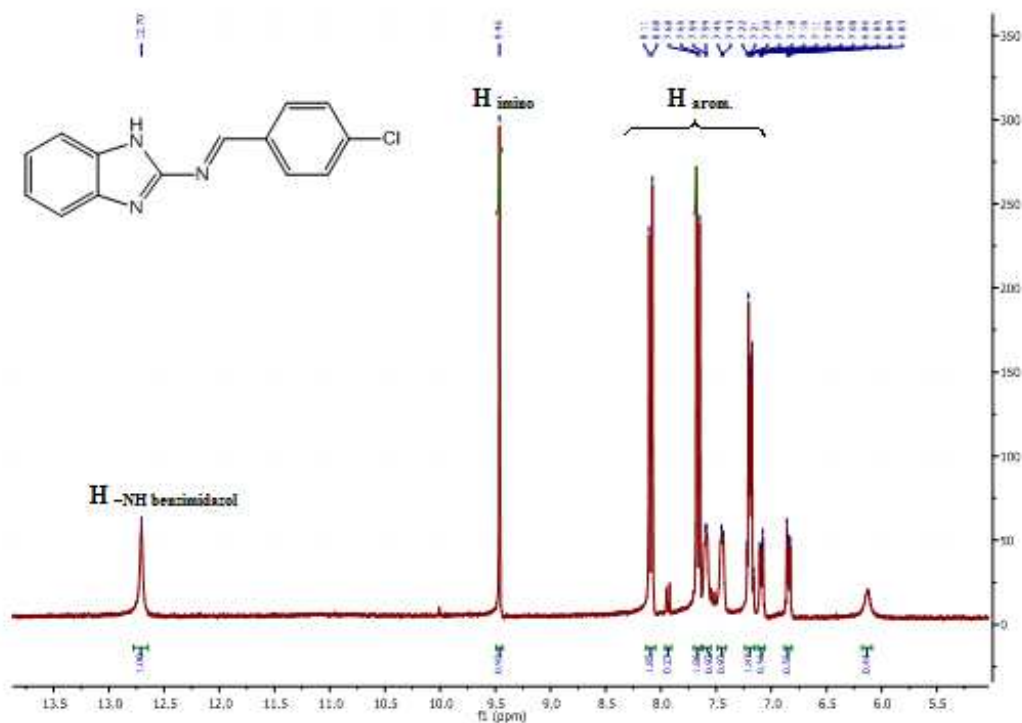
Slika 28.  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar spoja **8**

Spoj **10** je pripremljen nukleofilnom adicijom 2-aminobenzimidazola **1** na karbonilnu skupinu 4-klorbenzaldehida **9** (Shema 6.).  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$ -NMR spektroskopijom potvrđena je struktura spoja **10**.



Shema 6.

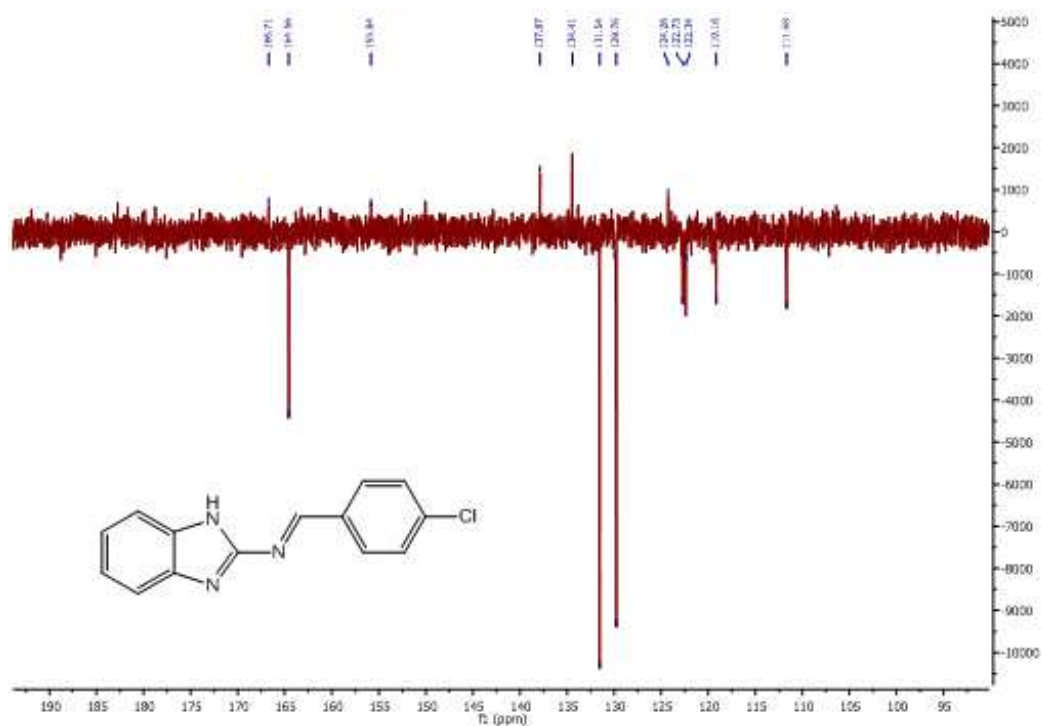
**Slika 29.** prikazuje snimljeni  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **10**.



**Slika 29.**  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **10**

$^1\text{H}$ -NMR spektar dan na **Slici 29.** sadrži karakterističan singlet imino protona na 9,46 ppm i singlet benzimidazalnog protona na 12,70 ppm. Dubleti na 8,10 ppm i 7,67 ppm te tri multiplleta u području od 7,58-7,60 ppm, 7,43-7,45 ppm i 7,16-7,22 ppm pripadaju aromatskim protonima. Signali u području od 7,08-7,11 ppm i 6,83-7,86 ppm pripadaju prisutnim nečistoćama.

**Slika 30.** prikazuje snimljeni  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar spoja **10**.

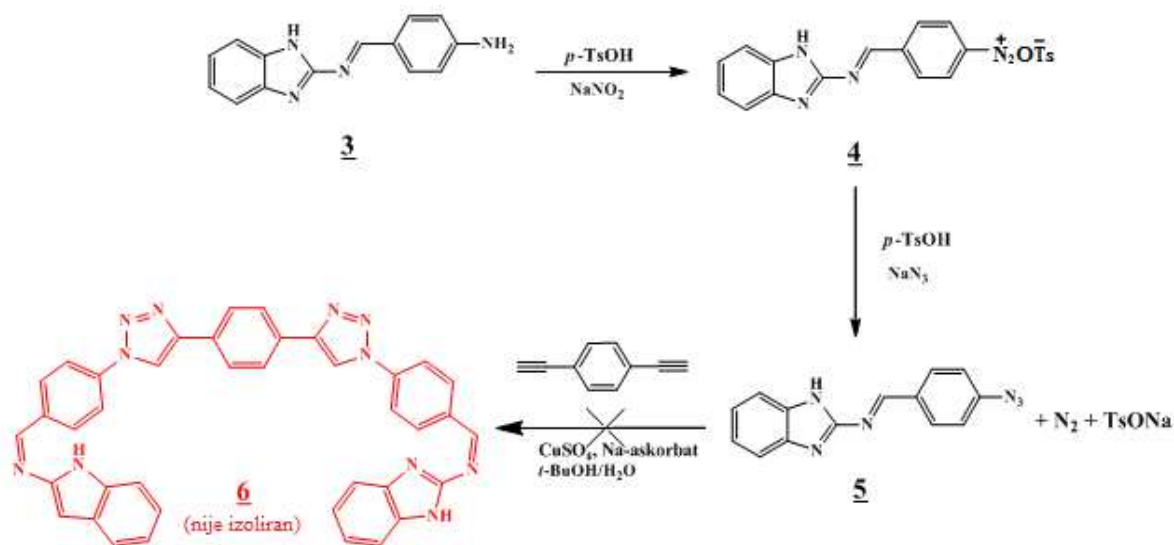


Slika 30.  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar spoja 10

#### 4.1.2. Priprava spojeva 6 i 11

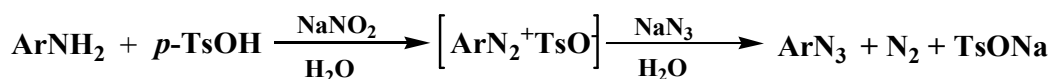
Pripravljene spojevi **3**, **8** i **10** služe kao polazne molekule za daljnju sintezu spojeva **6** i **11** modernim metodama “click” kemije.

Prvotni pokušaj sinteze spoja **6** išao je preko spoja **3** kao polazne molekule sinteze (Shema 7.).



**Shema 7.**

Prvi korak ove sinteze bila je priprava aromatskog azida **5** iz spoja **3** preko arenidiazonijeva tosilata **4**. **Slika 31.** prikazuje opću reakciju sinteze aromatskog azida iz aromatskog amida preko arenidiazonijeva tosilata.



**Slika 31.** Opća reakcija sinteze aromatskog azida iz aromatskog amida

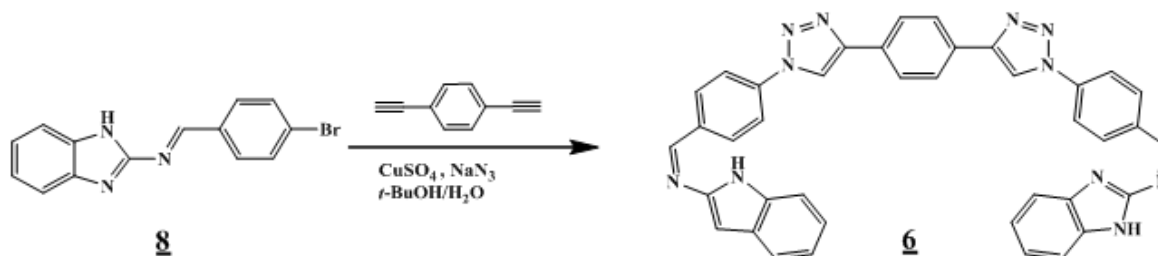
Veliki broj aromatskih azida moguće je pripraviti izravno iz odgovarajućih amida reakcijom s *p*-toluensulfonskom kiselinom, natrijevim nitratom i natrijevim azidom koji se naknadno dodaje u reakcijsku smjesu (**Slika 31.**). Svi koraci ovog tipa reakcije odvijaju se u vodenom mediju pri sobnoj temperaturi. Glavna karakteristika ovog načina sinteze aromatskih azida je odvijanje reakcije bez izolacije arenidiazonijeva tosilata kao međuprodukta. Tako sintetiziran aromatski azid najčešće je visoke čistoće te je dobiven u visokom postotku iskorištenja [25].

Reakcijska smjesa koja sadrži spoj **5** se dalje koristi u reakciji s 1,4-dietinilbenzenom prema mehanizmu Cu(I) katalizirane 1,3-dipolarne Huisgenove cikloadicije uz korištenje CuSO<sub>4</sub> soli kao izvora bakra te natrijeva askorbata kao redukcijskog sredstva.



Kako navedena sinteza spoja **6** preko odgovarajućeg azida nije bila uspješna, sljedeće sinteze spojeva **6** i **11** su se odvijale preko halogeno supstituiranih Schiffovih baza **8** i **10**.

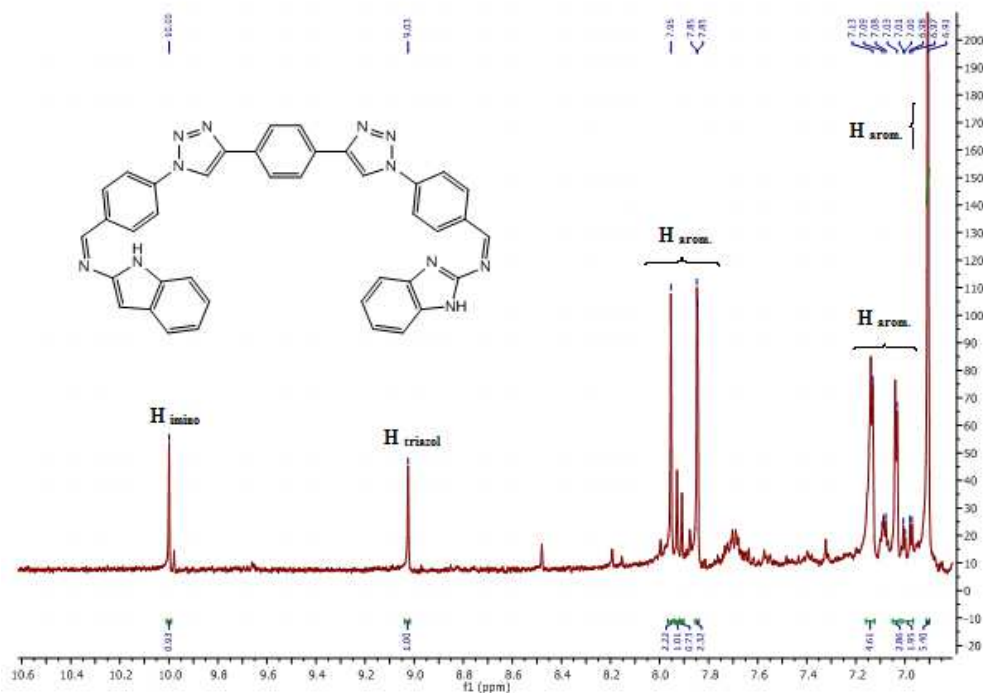
*Click* reakcijom spoja **8** s 1,4-dietinilbenzenom dobiven je smeđi praškasti produkt (**Shema 8**).



**Shema 8.**

Dobiveni produkt je izoliran u vrlo malim količinama, stoga njegovo daljnje pročišćavanje nije bilo moguće. Potrebno je i napomenuti da je spoj izrazito slabe topivosti u većini organskih otapala, stoga detaljna strukturna karakterizacija nije bila moguća. <sup>1</sup>H NMR spektroskopijom je pretpostavljena struktura spoja **6**, no svakako je potrebno provesti detaljniju strukturnu analizu, i prilagoditi uvjete sinteze i pročišćavanja spoja.

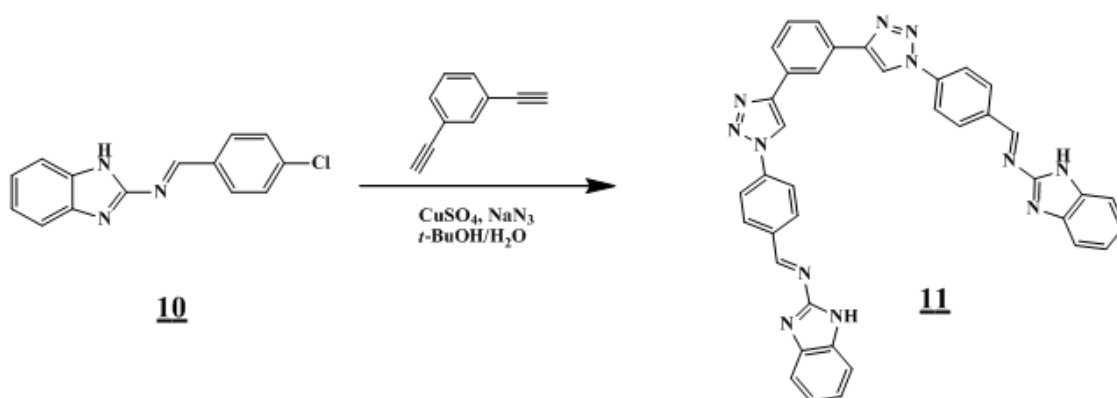
**Slika 32.** prikazuje <sup>1</sup>H NMR spektar spoja **6**.



Slika 32.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **6**

Na  $^1\text{H}$  NMR spektru spoja **6** uočavamo singlet na 10,00 ppm što odgovara signalu dvaju imino protona, dok singlet na 9.03 ppm odgovara protonima dvaju triazolnih prstena. Signali u području od 7,85-7,95 ppm i 6,91-7,13 ppm pripadaju aromatskim protonima. Očekivani signal dvaju benzimidazolnih protona nije prisutan u snimljenom spektru.

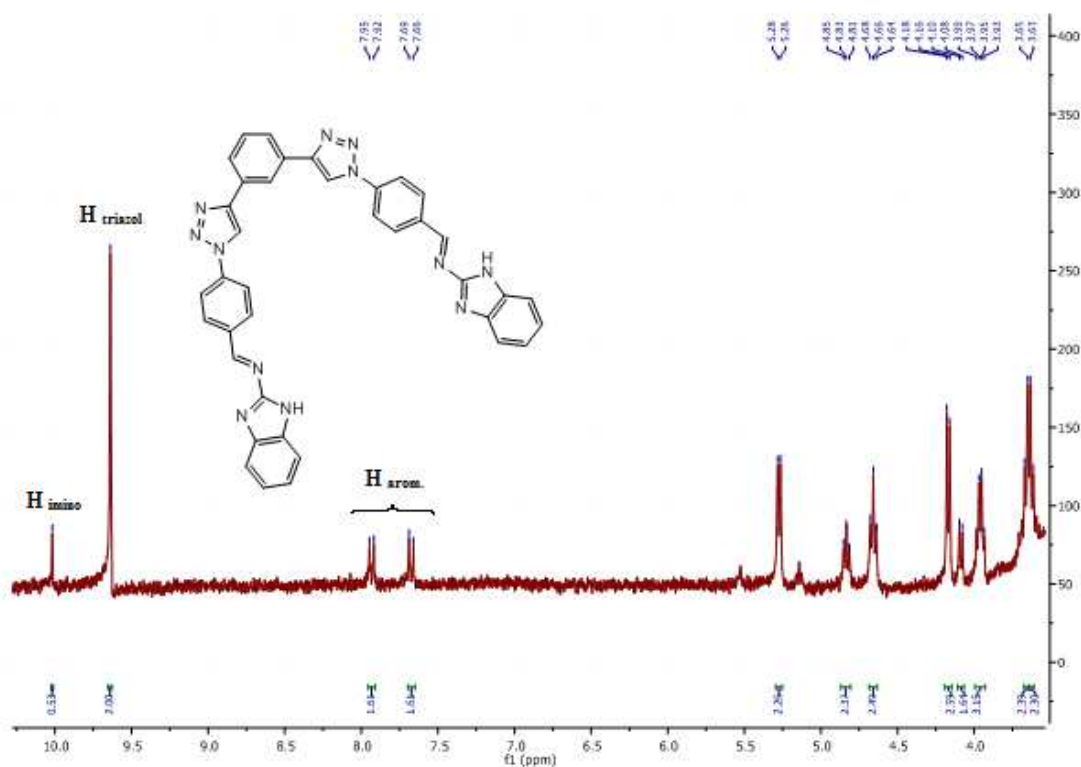
*Click* reakcijom spoja **10** s 1,3-dietinilbenzenom pokušana je sinteza spoja **11** (Shema 9.).



Shema 9.

Ovom reakcijom dobiven je zeleni praškasti spoj koji nije topljiv u organskim otapalima zbog čega je njegovo pročišćavanje i karakterizacija bila otežana.

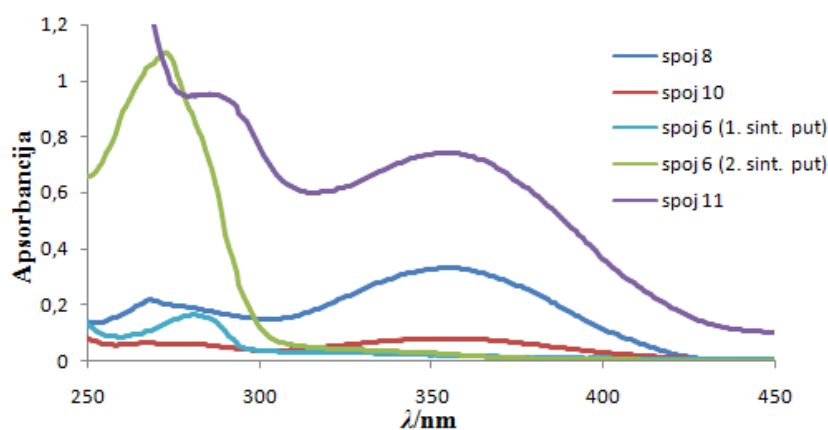
$^1\text{H}$  NMR ovog spoja prikazan na **slici 33**. dobiven je za djelomično otopljeni spoj u DMSO-u pri temperaturi od  $60\text{ }^\circ\text{C}$ , zbog čega dobiveni signali nisu pouzdani te je potrebna daljnja strukturna karakterizacija. Međutim, zbog specifičnosti izgleda produkta (zeleni praškasti talog) i posebnih karakteristika poput izrazito slabe topivosti, pretpostavlja se da je dobiven novi heteroaromatski spoj. Singlet na  $10,02\text{ ppm}$  mogao bi pripadati signalu dvaju imino protona dok bi singlet na  $9,69\text{ ppm}$  mogao pripadati protonima dvaju triazolnih prstena. Signali u području od  $7,66\text{--}7,95\text{ ppm}$  pripadaju aromatskim protonima. Očekivani signal dvaju benzimidazolnih protona nije prisutan u snimljenom spektru. Nije isključena mogućnost da je 1,3-dietinilbenzen izreagirao samo s jednom trostrukom vezom.



Slika 33.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 11

## 4.2. OPĆA SPEKTROSKOPSKA SVOJSTVA SINTETIZIRANIH SPOJEVA

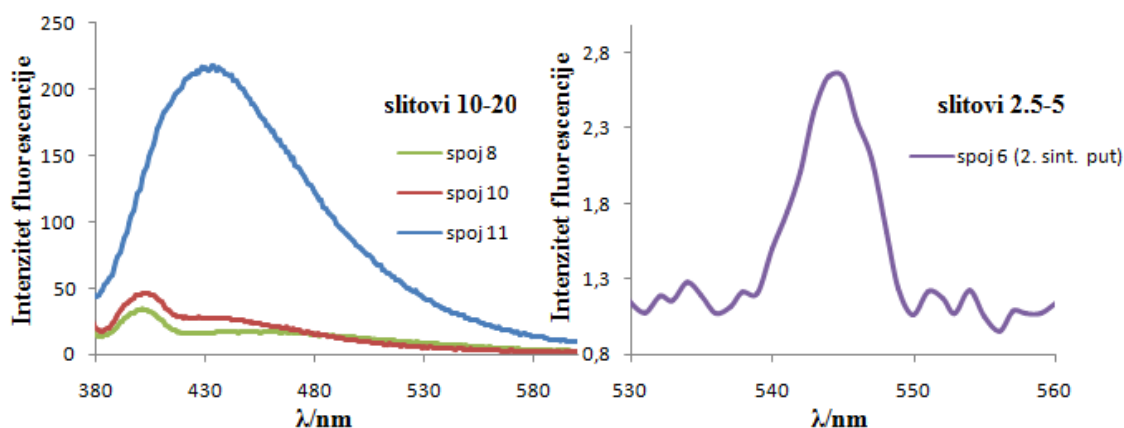
Snimani su apsorpcijski i fluorescencijski spektri spojeva **6**, **8**, **10** i **11** u DMSO-u kao otapalu pri koncentraciji  $c = 1 \cdot 10^{-5}$  M koja je dobivena razrjeđivanjem matične otopine spoja. Dobiveni apsorpcijski spektri prikazani su na **slici 34.**:



Slika 34. Apsorpcijski spektri spojeva **6**, **8**, **10** i **11** u DMSO-u.

U apsorpcijskom spektru spoja **8** prisutna su dva maksimuma apsorpcije. Prvi maksimum se nalazi na valnoj duljini  $\lambda = 268$  nm dok se drugi maksimum većeg intenziteta nalazi na valnoj duljini  $\lambda = 358$  nm. Spoj **10** ima dva maksimuma apsorpcije slabog intenziteta od kojih je jedan na  $\lambda = 270$  nm dok je drugi na  $\lambda = 355$  nm. Spektar spoja nastalog u prvom sintetskom putu ima maksimum apsorpcije slabog intenziteta na  $\lambda = 280$  nm dok spoj nastao u drugom sintetskom putu ima maksimuma apsorpcije jakog intenziteta na  $\lambda = 273$  nm. Kako se spektri tih dvaju spojeva značajno razlikuju jasno je da ne pripadaju istom spoju ili dovoljno čistom spoju, koji je trebao biti produkt obaju sintetskih puteva. Snimanjem  $^1\text{H-NMR}$  spektara utvrđeno je da je spoj **6** dobiven drugim sintetskim putem. Spektar spoja **11** ima dva maksimuma apsorpcije visokih intenziteta od kojih se jedan nalazi na  $\lambda = 285$  nm dok je drugi na  $\lambda = 358$  nm.

Dobiveni fluorescencijski spektri prikazani su na **slici 35.**:



**Slika 35.** Fluorescencijski spektri spojeva **6**, **8**, **10** i **11** u DMSO-u

Prilikom snimanja fluorescencijskih spektara, za pobudu elektrona korištena je svjetlost koja odgovara valnim duljinama maksimuma većeg intenziteta apsorpcijskog spektra (osim za snimanje spektra spoja **11** kod kojeg je korištena valna duljina maksimuma manjeg intenziteta). Fluorescencijski spektri spojeva **8**, **10** i **11** snimani su na slitovima 10-20. Vidljivo je da spoj **8** ima slab maksimum fluorescencije na valnoj duljini  $\lambda = 401$  nm. Spoj **10** ima maksimum fluorescencije slabog intenziteta na valnoj duljini  $\lambda = 404$  nm dok spoj **11** ima maksimum fluorescencije visokog intenziteta na valnoj duljini  $\lambda = 434$  nm. Spektar spoja **6** sniman je na slitovima 2,5-5 te pokazuje maksimum fluorescencije na  $\lambda = 545$  nm.

**Tablica 5.** Spektralne karakteristike pripremljenih spojeva očitanih iz kvalitativnih spektara

spoj	$\lambda_{\text{abs}}/\text{nm}$		$\lambda_{\text{fluo}}/\text{nm}$
<b>8</b>	268	358	401
<b>10</b>	270	355	404
<b>6</b> (sint. put 1.)	280	/	/
<b>6</b> (sint. put 2.)	273	/	545
<b>11</b>	285	358	434

### 4.3. SPEKTRALNA KARAKTERIZACIJA SPOJEVA 8 I 10

Spojevi **8** i **10** su konjugirane heteroaromske Schiffove baze koje u svojoj strukturi sadrže benzimidazolni prsten. Njihova potencijalna senzorska primjena utvrđivana je ispitivanjima njihovih spektrofotometrijskih svojstava u ovisnosti o polarnosti otapala, pH vrijednostima te prisustvu različitih metalnih iona. Spojevi **6** i **11** nisu karakterterizirani u smislu razvoja novih optičkih senzorskih molekula zbog izrazito slabe topivosti spojeva u većini otapala te nemogućnosti izoliranja potpuno čistog produkta iz reakcijske smjese.

#### 4.3.1. Utjecaj otapala

Solvatokromizam je pojava utjecaja otapala na položaj, intenzitet i oblik apsorpcijskih ili emisijskih spektara ispitivanih spojeva snimanih u tom otapalu. Obzirom na pomake koji su izazvani utjecajem otapala u apsorpcijskom i emisijskom spektru nekog spoja, razlikuju se pozitivni i negativni solvatokromizam. Batokromni ili crveni pomak (pomak maksimuma apsorpcije i emisije prema većim valnim duljinama) uz povećanje polarnosti otapala naziva se pozitivni solvatokromizam. Hipsokromni ili plavi pomak (pomak maksimuma apsorpcije i emisije prema manjim valnim duljinama) uz povećanje polarnosti otapala naziva se negativni solvatokromizam [26].

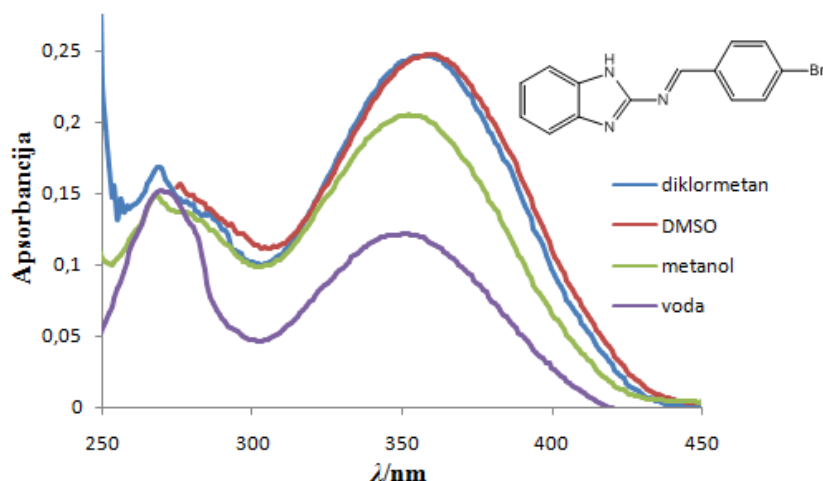
Solvatokromizam je uzrokovan različitom solvatacijom osnovnog i pobuđenog stanja apsorbirajuće molekule (ili njezinog kromofora). Ako se porastom polarnosti otapala postiže veća stabilizacija molekule u osnovnom stanju solvatacijom nego molekule u pobuđenom stanju prisutan je negativni solvatokromizam. Obrnuto, ako se porastom polarnosti otapala postiže veća stabilizacija molekule u pobuđenom stanju solvatacijom nego molekule u osnovnom stanju prisutan je pozitivni solvatokromizam [26].

Empirijski parametar  $E_T(30)$  se definira kao molarna energija prijelaza elektrona iz osnovnog u prvo pobuđeno stanje te opisuje polarnost otapala. Veća polarnost otapala rezultirat će većom vrijednošću ovog parametra. Računa se prema izrazu [26]:

$$E_T(30) \text{ (kcal mol}^{-1}\text{)} = h \cdot c \cdot \nu \cdot N_A = (2.8591 \times 10^{-3}) \cdot \nu / \text{cm}^{-1} = 28591 / \lambda_{\text{max}} \text{ (nm)}$$

Kod određivanja senzorske primjene bitnu ulogu ima i Stokesov pomak koji kod molekula koje imaju senzorsko djelovanje ne smije biti manji od 57 nm.

**Slika 36.** prikazuje apsorpcijske spektre spoja **8** u različitim otapalima.

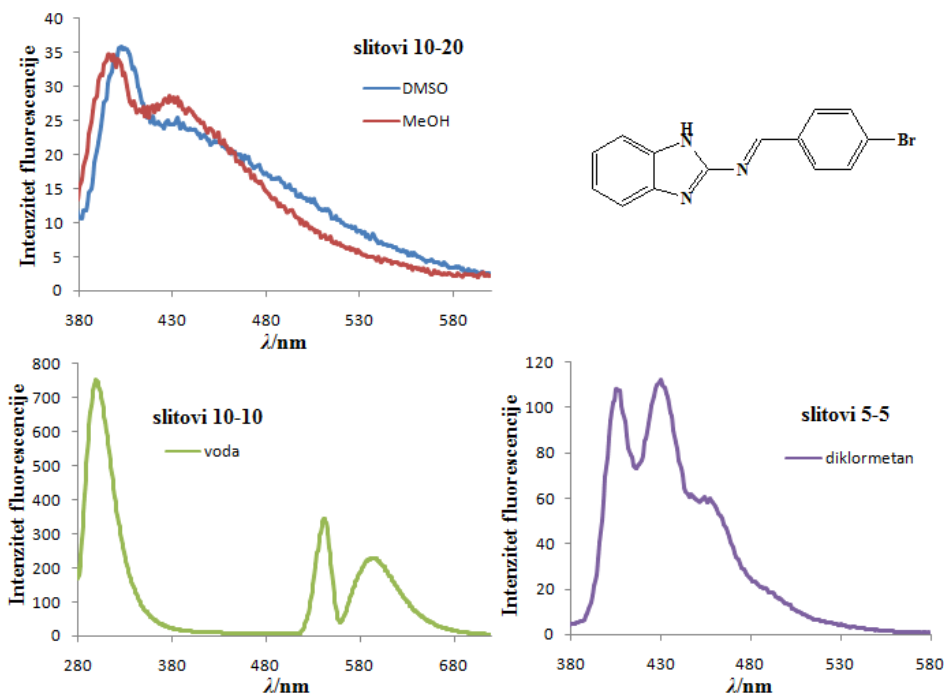


**Slika 36.** Apsorpcijski spektri spoja **8** u otapalima različite polarnosti

Kod apsorpcijskog spektra spoja **8** se uočavaju maksimumi apsorpcije na dvije valne duljine kod svih otapala. Prvi maksimum se kod svih otapala nalazi na valnoj duljini  $\lambda = 270$  nm dok se drugi maksimumi nalaze u području valnih duljina od  $\lambda = 356$  nm do  $\lambda = 358$  nm, uz iznimke maksimuma za vodu i metanol gdje su maksimumi na nešto nižim valnim duljinama od  $\lambda = 350$  nm za vodu do  $\lambda = 352$  nm za metanol. Maksimumi pri većoj valnoj duljini imaju veći intenzitet od maksimuma pri nižoj kod svih otapala uz iznimku vode čiji maksimum pri  $\lambda = 270$  nm ima veći intenzitet.

Prilikom snimanja fluorescencijskih spektara spoja **8** za pobudu elektrona korištena je svjetlost koja odgovara valnim duljinama maksimuma većeg intenziteta sa apsorpcijskog spektra. Bitno je napomenuti da se intenziteti fluorescencije spoja u različitim otapalima ne mogu uspoređivati jer su spektri snimani na različitim slitovima. Usporedba intenziteta za preliminarne svrhe istraživanja spektralnih karakteristika spoja nije bila moguća zbog vrlo slabe fluorescencije spoja u većini otapala.

**Slika 37.** prikazuje fluorescencijske spektre spoja **8** u različitim otapalima.

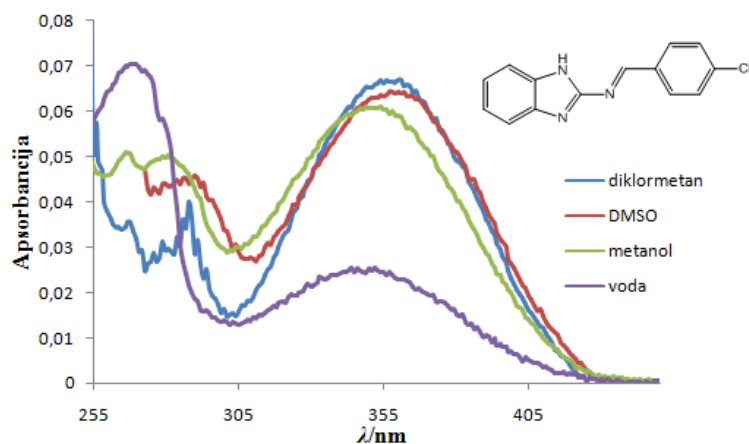


**Slika 37.** Fluorencencijski spektrispoja **8** u otapalima različite polarnosti

Kako je vidljivo ih priloženih fluorescencijski spektara spoj **8** u DMSO-u kao otapalu ima dva maksimuma od kojih je prvi većeg intenziteta i nalazi se na valnoj duljini  $\lambda = 402$  nm dok se drugi nalazi na  $\lambda = 432$  nm. Spektar spoja sniman u metanolu također pokazuje dva maksimuma. Veći maksimum se nalazi na valnoj duljini  $\lambda = 395$  nm dok se manji nalazi na  $\lambda = 430$  nm. Prilikom snimanja spektra u vodi spoj pokazuje jedan izraženi maksimum na  $\lambda = 299$  nm i drugi manje izražen na  $\lambda = 595$  nm. Maksimum dvostruke pobude nalazi se na valnoj duljini  $\lambda = 540$  nm, stoga njega ne tumačimo u prikazanom spektru. Tri maksimuma prisutna su na spektru snimljenom u diklormetanu kao otapalu. Dva izražena maksimuma nalaze se na  $\lambda = 406$  nm i  $\lambda = 430$  nm dok je se manji maksimum nalazi na  $\lambda = 458$  nm.

**Slika 38.** prikazuje apsorpcijske spektre spoja **10** u različitim otapalima.



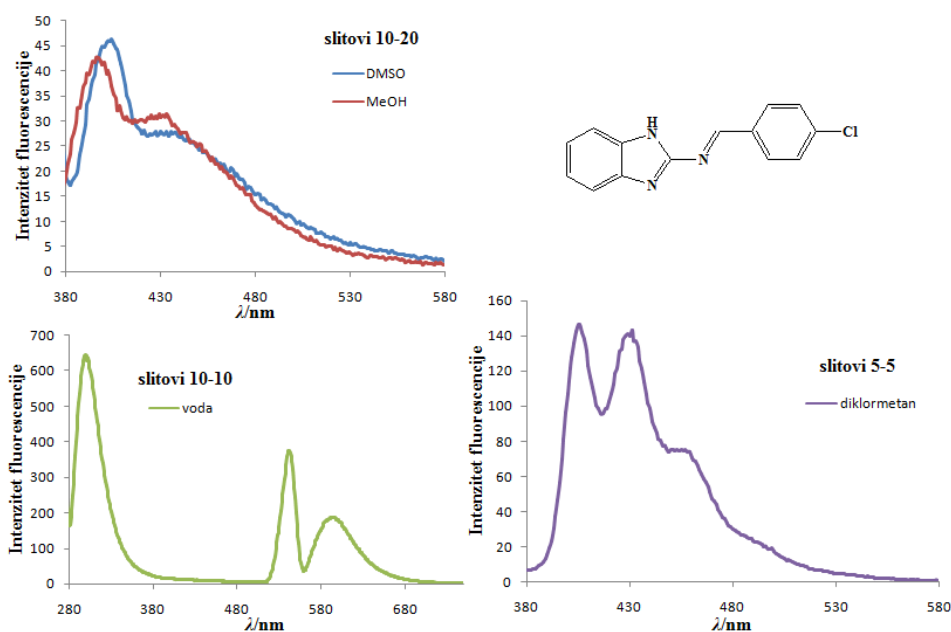


**Slika 38.** Apsorpcijski spektri spoja **10** u otapalima različite polarnosti

Kod apsorpcijskog spektra spoja **10** se uočavaju maksimumi apsorpcije na dvije valne duljine kod svih otapala. Prvi maksimum se kod diklormetana i DMSO-a nalazi na valnoj duljini  $\lambda = 286$  nm, kod metanola na valnoj duljini  $\lambda = 281$  nm dok je kod vode na valnoj duljini  $\lambda = 270$  nm. Drugi maksimumi se nalaze u području valnih duljina od  $\lambda = 356$  nm do  $\lambda = 358$  nm, uz iznimke maksimuma za vodu i metanol gdje su maksimumi na nešto nižoj valnoj duljini  $\lambda = 345$  nm. Maksimumi pri većoj valnoj duljini imaju veći intenzitet od maksimuma pri nižoj kod svih otapala uz iznimku vode čiji maksimum pri  $\lambda = 270$  nm ima veći intenzitet.

Prilikom snimanja fluorescencijskih spektara spoja **10** za pobudu elektrona korištena je svjetlost koja odgovara valnim duljinama maksimuma većeg intenziteta sa apsorpcijskog spektra. Također je bitno napomenuti da se intenziteti fluorescencije spoja u različitim otapalima ne mogu uspoređivati jer su spektri snimani na različitim slitovima. Usporedba intenziteta za preliminarnu svrhu istraživanja spektralnih karakteristika spoja nije bila moguća zbog vrlo slabe fluorescencije spoja u većini otapala.

**Slika 39.** prikazuje fluorescencijske spektre spoja **10** u različitim otapalima.



Slika 39. Fluorescencijski spektri spoja **10** u otapalima različite polarnosti

Kako je vidljivo ih priloženih fluorescencijski spektara spoj **10** u DMSO-u kao otapalu ima dva maksimuma od kojih je prvi većeg intenziteta i nalazi se na valnoj duljini od 405 nm dok se drugi nalazi na 438 nm. Spektar spoja sniman u metanolu također pokazuje dva maksimuma. Veći maksimum se nalazi na valnoj duljini od 398 nm dok se manji nalazi na 434 nm. Prilikom snimanja spektra u vodi spoj pokazuje jedan izraženi maksimum na 299 nm i drugi manje izražen na 595 nm. Maksimum dvostruke pobude nalazi se na valnoj duljini od 540 nm. Tri maksimuma prisutna su na spektru snimljenom u diklormetanu kao otapalu. Dva izražena maksimuma nalaze se na 406 nm i 430 nm dok je se manji maksimum nalazi na 458 nm.

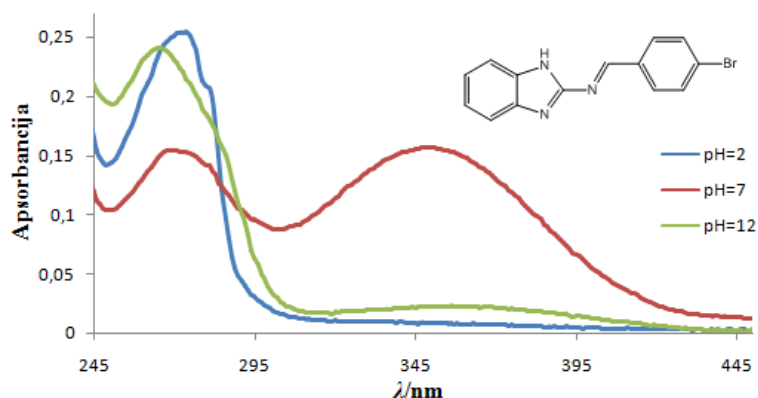
Tablica 6. Spektralne karakteristike spojeva **8** i **10** u otapalima različite polarnosti.

spoj <b>8</b>	$\lambda_{\text{abs}} / \text{nm}$		$\epsilon / \text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$	$\lambda_{\text{fluor}} / \text{nm}$			Stokesov pomak / nm	
DMSO	270	357	25000	402	432	132	75	
MeOH	270	352	20500	395	430	125	78	
voda	270	350	12000	299	595	29	255	
diklormetan	270	357	24500	406	430	458	136	73
spoj <b>10</b>	$\lambda_{\text{abs}} / \text{nm}$		$\epsilon / \text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$	$\lambda_{\text{fluor}} / \text{nm}$			Stokesov pomak / nm	
DMSO	286	357	6400	405	438	119	81	
MeOH	281	345	6100	398	434	117	89	
voda	270	345	2500	299	595	29	250	
diklormetan	286	357	6600	406	430	458	120	73

### 4.3.2. Utjecaj promjene pH vrijednosti

Kiselo-bazna svojstva spojeva **8** i **10** ispitivana su snimanjem apsorpcijskih spektara spojeva u univerzalnim puferima čije pH vrijednosti iznose: 2, 7 i 12. Očekivano mjesto protonacije ispitivanih spojeva jest imino dušik u benzimidazolnoj jezgri.

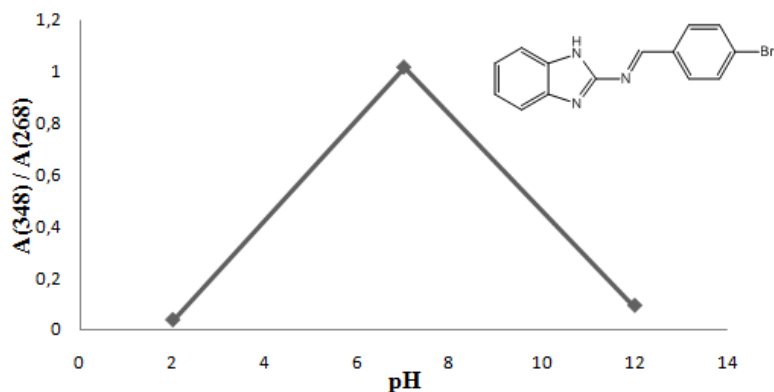
**Slika 40.** prikazuje apsorpcijski spektar spoja **8** u puferskim otopinama zadanih pH vrijednosti.



**Slika 40.** Apсорpcijski spektri spoja **8** u univerzalnim puferima različitih pH vrijednosti

Kako je vidljivo iz priloženog apsorpcijskog spektra spoj **8** pri neutralnoj pH vrijednosti ima dva maksimuma apsorpcije pri valnim duljinama od 268 nm i 348 nm. Iznos apsorpcije približno je jednak za oba maksimuma. Pri izrazito kiseloj pH vrijednosti 2 prisutan je samo jedan maksimum apsorpcije uz blagi batokromni pomak do valne duljine od 274 nm te značajno povećanje intenziteta. Kod lužnate pH vrijednosti 12 prisutan je batokromni pomak do valne duljine od 356 nm uz izrazito smanjenje intenziteta te blagi hipsokromni pomak drugog maksimuma do valne duljine 265 nm uz značajno povećanje intenziteta.

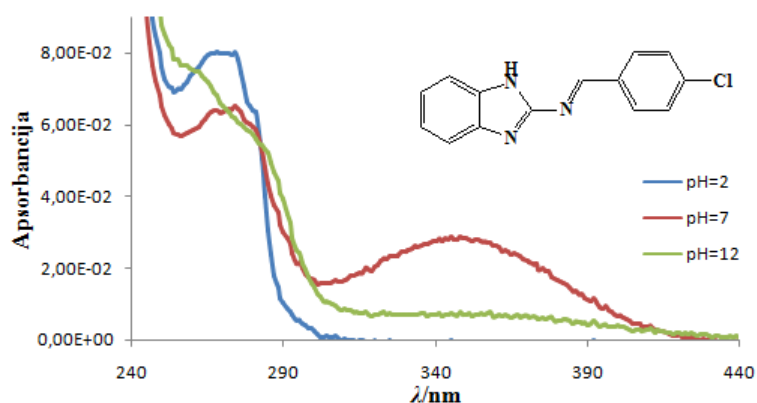
**Slika 41.** prikazuje ovisnost maksimuma intenziteta fluorescencije spoja **8** o pH vrijednosti.



**Slika 41.** Ovisnost intenziteta fluorescencije spoja **8** o pH vrijednosti

Kako je vidljivo s **slike 41**, spoj **8** je podložan protoniranju i deprotoniranju pa se i u lužnatom i u kiselom mediju događaju spektralne promjene.

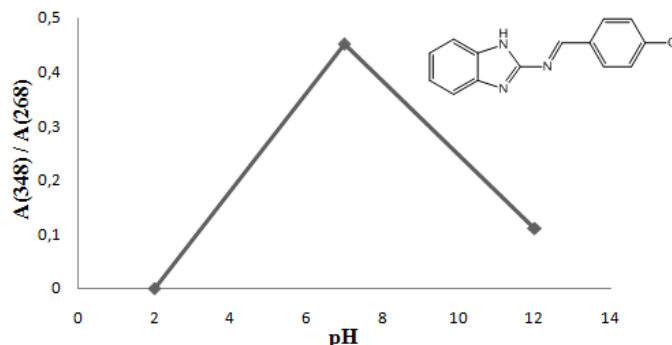
**Slika 42**, prikazuje apsorpcijski spektar spoja **10** u puferkim otopinama zadanih pH vrijednosti.



**Slika 42.** Apсорpcijski spektri spoja **10** u univerzalnim puferima različitih pH vrijednosti

Kako je vidljivo iz priloženog apсорpcijskog spektra spoj **10** pri neutralnoj pH vrijednosti ima dva maksimuma apsorpcije pri valnim duljinama od 268 nm i 348 nm. Intenzitet maksimuma pri valnoj duljini od 268 nm dvostruko je veći od intenziteta maksimuma pri 348 nm. Pri izrazito kiseloj pH vrijednosti 2 prisutan je samo jedan maksimum apsorpcije pri valnoj duljini od 268 nm uz povećanje intenziteta apsorbancaje. Kod lužnate pH vrijednosti 12 prisutan je maksimum apsorpcije pri valnoj duljini od 348 nm uz značajno smanjenje intenziteta te hipsokromni pomak drugog maksimuma do valne duljine 256 nm uz povećanje intenziteta.

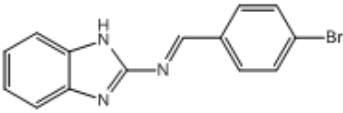
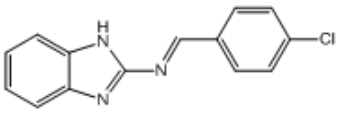
**Slika 43.** prikazuje ovisnost maksimuma intenziteta fluorescencije spoja **10** o pH vrijednosti.



**Slika 43.** Ovisnost intenziteta fluorescencije spoja **10** o pH vrijednosti

Kako je vidljivo s **slike 43.** spoj **10** je podložan protoniranju i deprotoniranju pa se i u lužnatom i u kiselom mediju događaju spektralne promjene.

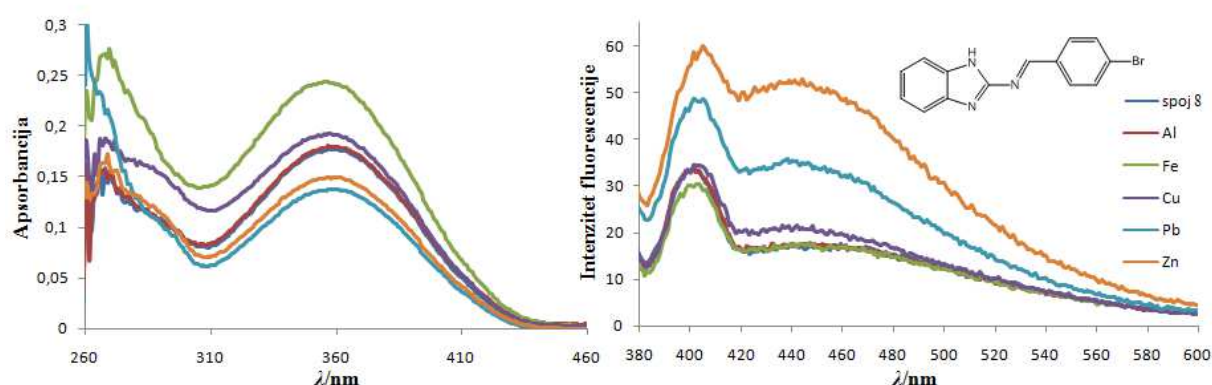
**Tablica 7.** Spektralne karakteristike spojeva **8** i **10** u otopinama različitih pH vrijednosti.

	$\lambda_{\text{aps}} / \text{nm}$			$\epsilon / \text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$		
	pH=2	pH=7	pH=12	pH=2	pH=7	pH=12
	274	268	265	24 600	15 420	23 820
	/	348	356	900	15650	2220
	268	268	256	8020	6390	6810
	/	348	348	/	2880	760

Zbog nedovoljne količine podataka teško je izvesti točne zaključke o potencijalnoj pH senzorskoj aktivnosti spojeva **8** i **10**. Dobiveni rezultati, pogotovo promjene intenziteta apsorpcijskih maksimuma, ukazuju da bi bilo korisno provesti daljnja istraživanja u ovom području.

### 4.3.3. Utjecaj različitih metalnih iona

Provedena je spektroskopska analiza spojeva **8** i **10** u otopinama  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  te  $\text{Cu}^{2+}$  iona kako bi se ispitala senzorska aktivnost na iste. Dosadašnja ispitivanja provedena sa spojevima koji u svojoj strukturi sadrže benzimidazolni prsten te pripadaju skupini Schiffovih baza pokazala su njihovu sposobnost stvaranja kompleksa sa metalnim ionima. Prilikom povezivanja metalnog iona sa senzorskom molekulom, dolazi do promjene u energijskim nivoima osnovnog i pobuđenog stanja te molekule što rezultira promjenom na apsorpcijskom i emisijskom spektru. **Slika 44.** prikazuje apsorpcijske i emisijske spektre spoja **8** u otopinama različitih metalnih iona.



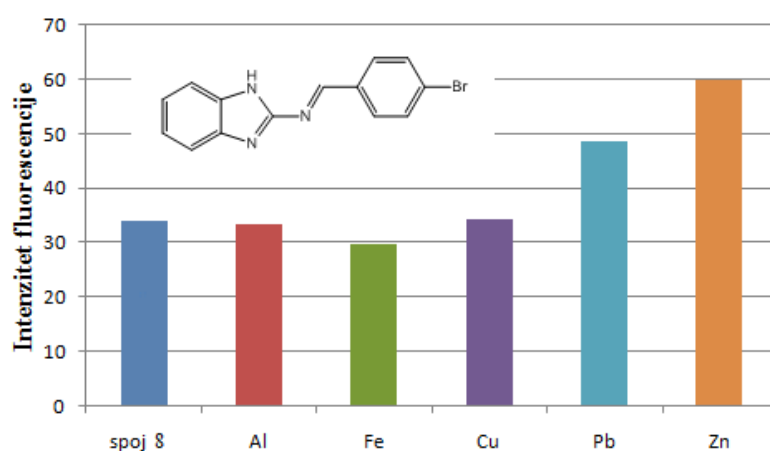
**Slika 44.** Apsorpcijski i emisijski spektar spoja **8** u otopinama različitih metalnih iona

Apsorpcijski maksimum za sve metale se pojavljuje na dvije valne duljine, 270 nm i 357 nm. Kompleksiranje spoja s  $\text{Zn}^{2+}$  i  $\text{Pb}^{2+}$  uzrokuje smanjenje intenziteta maksimuma apsorpcije na valnoj duljini 357 nm, kompleksiranje s  $\text{Fe}^{2+}$  i  $\text{Cu}^{2+}$  uzrokuje povećanje maksimuma apsorpcije na istoj valnoj duljini dok kompleksiranje spoja s  $\text{Al}^{3+}$  ne uzrokuje nikakvu promjenu. Ako promatramo maksimum na valnoj duljini od 270 nm vidljivo je da kompleksiranje spoja s  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  i  $\text{Pb}^{2+}$  uzrokuje povećanje intenziteta dok kompleksiranje s  $\text{Zn}^{2+}$  i  $\text{Al}^{3+}$  ne uzrokuje značajnu promjenu intenziteta.

Fluorescencijski spektar za čisti spoj sadrži dva maksimuma na valnim duljinama od 401 nm i 447 nm. Kompleksiranje s  $\text{Zn}^{2+}$  uzrokuje blagi batokromni pomak prvog maksimuma do valne duljine 405 nm i hipsokromni pomak drugog maksimuma do valne duljine 444 nm,

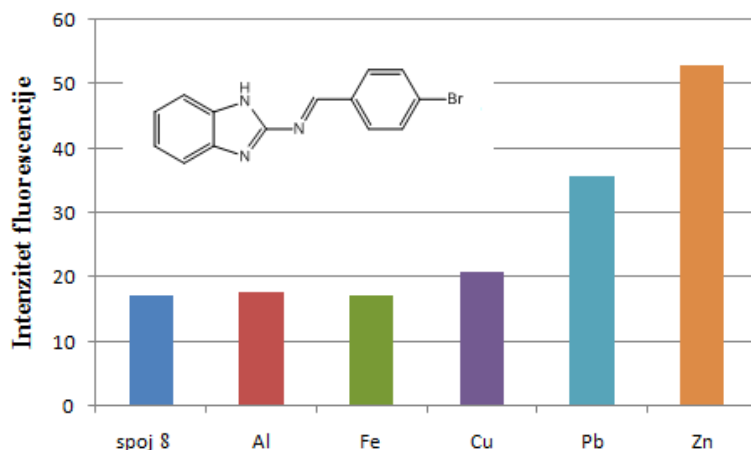
kompleksiranje s  $\text{Pb}^{2+}$  uzrokuje hipsokromni pomak drugog maksimuma do valne duljine 438 nm dok kompleksiranje s ostalim ispitivanim metalima ne uzrokuje pomake maksimuma.

Intenzitet fluorescencije prvog maksimuma povećava se kompleksiranjem ispitivanog spoja s  $\text{Zn}^{2+}$  i  $\text{Pb}^{2+}$ , smanjuje se kompleksiranjem s  $\text{Fe}^{2+}$  dok kompleksiranje s  $\text{Al}^{3+}$  i  $\text{Fe}^{2+}$  ne uzrokuje promjenu. Kako je vidljivo iz **slike 45.**, najizraženija promjena fluorescencije je prilikom kompleksiranja s  $\text{Zn}^{2+}$ , koju potom slijedi promjena fluorescencije izazvana kompleksiranjem s  $\text{Pb}^{2+}$ , dok je promjena fluorescencije izazvana kompleksiranjem  $\text{Fe}^{2+}$  jako mala.



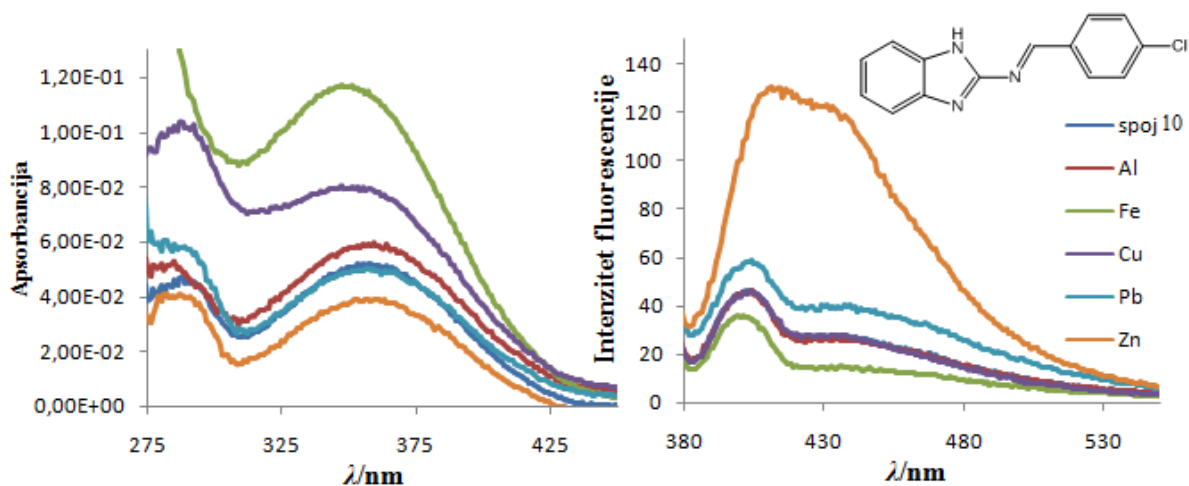
**Slika 45.** Intenziteti prvog maksimuma fluorescencije za spoj **8** u čistom otapalu i otopinama različitih metalnih iona

Intenzitet fluorescencije drugog maksimuma povećava se kompleksiranjem ispitivanog spoja s  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  i  $\text{Pb}^{2+}$  dok kompleksiranje s  $\text{Al}^{3+}$  i  $\text{Fe}^{2+}$  ne uzrokuje nikakvu promjenu. Kako je vidljivo ih **slike 46.** najizraženija promjena fluorescencije je prilikom kompleksiranja s  $\text{Zn}^{2+}$  koju slijedi promjena izazvana kompleksiranjem s  $\text{Pb}^{2+}$  dok je mala promjena fluorescencije izazvana kompleksiranjem s  $\text{Cu}^{2+}$ .



**Slika 46.** Intenziteti drugog maksimuma fluorescencije za spoj **8** u čistom otapalu i otopinama različitih metalnih iona.

**Slika 47.** prikazuje apsorpcijske i emisijske spektre spoja **10** u otopinama različitih metalnih iona.



**Slika 47.** ApSORPCIJSKI I EmISIJSKI SPEKTAR SPOJA **10** u otopinama različitih metalnih iona

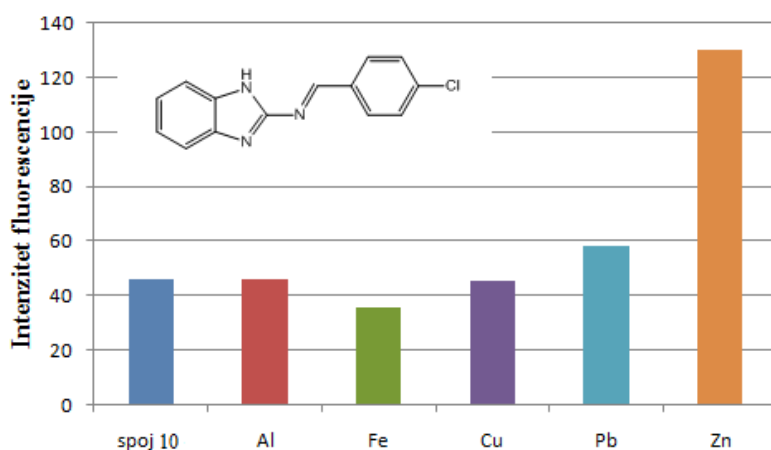
Apsorpcijski spektar za čisti spoj **10** sadrži dva maksimuma na valnim duljinama od 283 nm i 357 nm. Hipsokromni pomak drugog maksimuma do valne duljine 347 nm uz povećanje intenziteta prisutan je prilikom kompleksiranja spoja s  $\text{Fe}^{2+}$  i  $\text{Cu}^{2+}$ . Kompleksiranje spoja s  $\text{Al}^{3+}$  uzrokuje manje izraženo povećanje maksimuma apsorpcije na valnoj duljini 357 nm, kompleksiranje spoja s  $\text{Zn}^{2+}$  uzrokuje smanjenje intenziteta maksimuma apsorpcije istoj valnoj



duljini dok kompleksiranje spoja s  $\text{Pb}^{2+}$  ne uzrokuje nikakvu promjenu. Ako promatramo maksimum na valnoj duljini od 283 nm vidljivo je da kompleksiranje spoja s  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  i  $\text{Al}^{3+}$  uzrokuje povećanje intenziteta dok kompleksiranje s  $\text{Zn}^{2+}$  uzrokuje smanjenje intenziteta. Potpuni gubitak ovog maksimuma zabilježen je prilikom kompleksiranja s  $\text{Fe}^{2+}$ .

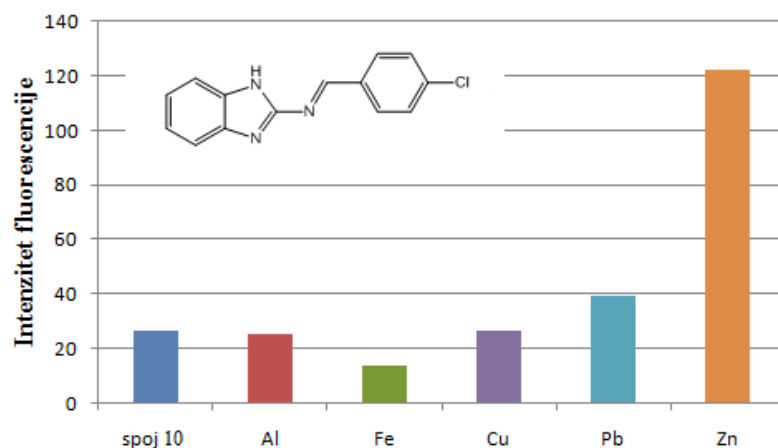
Fluorescencijski spektar za čisti spoj sadrži dva maksimuma na valnim duljinama od 404 nm i 440 nm. Kompleksiranje s  $\text{Zn}^{2+}$  uzrokuje batokromni pomak prvog maksimuma do valne duljine 411 nm i hipsokromni pomak drugog maksimuma do valne duljine 433 nm, dok kompleksiranje s ostalim ispitivanim metalima ne uzrokuje pomake maksimuma.

Intenzitet fluorescencije prvog maksimuma povećava se kompleksiranjem ispitivanog spoja s  $\text{Zn}^{2+}$  i  $\text{Pb}^{2+}$ , smanjuje se kompleksiranjem s  $\text{Fe}^{2+}$  dok kompleksiranje s  $\text{Al}^{3+}$  i  $\text{Cu}^{2+}$  ne uzrokuje promjenu. Kako je vidljivo ih **slike 48**, najizraženija promjena fluorescencije je prilikom kompleksiranja s  $\text{Zn}^{2+}$  dok su promjene fluorescencije izazvane kompleksiranjem s  $\text{Pb}^{2+}$  i  $\text{Fe}^{2+}$  značajno manje.



**Slika 48.** Intenziteti prvog maksimuma fluorescencije za spoj **10** u čistom otapalu i otopinama različitih metalnih iona.

Intenzitet fluorescencije drugog maksimuma povećava se kompleksiranjem ispitivanog spoja s  $\text{Zn}^{2+}$  i  $\text{Pb}^{2+}$ , smanjuje se kompleksiranjem s  $\text{Fe}^{2+}$  dok kompleksiranje s  $\text{Al}^{3+}$  i  $\text{Cu}^{2+}$  ne uzrokuje nikakvu promjenu. Kako je vidljivo ih **slike 49**, najizraženija promjena fluorescencije je prilikom kompleksiranja s  $\text{Zn}^{2+}$  dok su promjene fluorescencije izazvane kompleksiranjem s  $\text{Pb}^{2+}$  i  $\text{Fe}^{2+}$  značajno manje.



**Slika 49.** Intenziteti drugog maksimuma fluorescencije za spoj **10** u čistom otapalu i otopinama različitih metalnih iona.

Temeljem dobivenih rezultata možemo zaključiti da je ispitivani spoj **8** pokazuje izrazitu senzorsku aktivnost za  $\text{Zn}^{2+}$  i  $\text{Pb}^{2+}$  dok ispitivani spoj **10** pokazuje izrazitu senzorsku aktivnost za  $\text{Zn}^{2+}$ .

## 5. ZAKLJUČAK

- Spojevi **3**, **8** i **10** su uspješno pripremljeni klasičnim reakcijama organske sinteze te su njihove strukture potvrđene  $^1\text{H-NMR}$  i  $^{13}\text{C-NMR}$  spektroskopijom.
- Triazolni derivat **6** je pripremljen *click* reakcijom u obliku smeđeg praškastog produkta u vrlo maloj količini zbog čega njegova daljnja karakterizacija nije bila moguća.
- Zeleni praškasti produkt dobiven u postupku sinteze spoja **11** je izrazito slabo topljiv u organskim otapalima, zbog čega je otežana njegova strukturalna karakterizacija
- Spojevi **8** i **10** ispitani su kao potencijalne senzorske molekule. Ispitana su osnovna fotofizička svojstva spojeva **8** i **10** u otapalima različite polarnosti te se temeljem Stokesovih pomaka može zaključiti da imaju potencijalna senzorska svojstva u DMSO-u, metanolu, vodi i diklormetanu.
- Ispitivanja u univerzalnim puferima pri graničnim pH vrijednostima (pH = 2, 7 i 12) pokazala su promjene intenziteta apsorpcijskih maksimuma spojeva **8** i **10**, odnosno promjenu spektralnih svojstava prilikom protoniranja/deprotoniranja spojeva. Ispitivani spojevi su dobri kandidati za daljnja ispitivanja i razvoj novih pH molekulskih senzora.
- Ispitivani spojevi su potencijalni senzori za metale. Spoj **8** pokazao je senzorsku aktivnost za  $\text{Zn}^{2+}$  i  $\text{Pb}^{2+}$  dok je ispitivani spoj **10** pokazao jaku senzorsku aktivnost za  $\text{Zn}^{2+}$ .

## 6. LITERATURA

- [1] Hulanicki A., Głab S., Ingman F., *Chemical sensors definitions and classification*, Pure and Applied Chemistry, 1991. **63**(9): p. 1247-1250.
- [2] Steinberg Murković I., *Kemijski senzori i biosenzori*, nastavni tekst, Zagreb, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, 2017.
- [3] Bojinov, V., Georgiev N., *Molecular sensors and molecular logic gates*, J. of the University of Chemical Technology and Metallurgy **46** (2011)
- [4] Valeur B., *Molecular Fluorescence. Principles and Applications*, Wiley, Weinheim, Federal Republic of Germany (2001), 273-276
- [5] Lobnik, A., M. Turel, and S.K. Urek, *Optical Chemical Sensors: Design and Applications*, Advances in Chemical Sensors, ed. W. Wang. 2011, Rijeka: Intech Europe. 3-28.
- [6] Jonaghani, M. Z., H. Zali-Boeini, *Highly selective fluorescent and colorimetric chemosensor for detection of Hg<sup>2+</sup> ion in aqueous media*. Spectrochimica Acta Part a Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2017. **178**: p. 66-70.
- [7] Odak I., Škorić I., *Organska fotokemija – Principi i primjena*, Zagreb, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, 2017.
- [8] Tóth K., Langowski J., Krieger J., *Absorption and Fluorescence Spectroscopy*, German cancer research center
- [9] Valeur, B., Leray, I., *Design principle offluorescent molecular sensors for cation recognition*, Coordination Chemistry Reviews, **205** (2000)
- [10] 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, **30** (2018) 838-857
- [11] Hranjec, M., Horak, E., Tireli, M., Pavlović, G., Karminski-Zamola, G., *Synthesis, crystal structure and spectroscopic study of novel benzimidazoles and benzimidazo[1,2-a]quinolines as potential chemosensors for different cations*, Dyes and Pigments **95**(2012)644–656
- [12] Yu Heng Lau, Rutledge J., Watkinson M., Todd Matthew H., *Chemical sensors that incorporate click-derived triazoles*, Chem. Soc. Rev. **40**(2011) 2848–2866
- [13] Kamijo, S., Jin, T., Huo, Z., Yamamoto, Y., *A one-pot procedure for the regiocontrolled synthesis of allyltriazaoles via the Pd-Cu bimetallic catalyzed three-component coupling reaction of nonactivated terminal alkynes, allyl carbonate, and trimethylsilyl azide*, J. Org. Chem., **69** (2004) 2386-2393.
- [14] Liang L., Astruc D., *The copper(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition (CuAAC) “click” reaction and its applications. An overview.*, Coordination Chemistry Reviews **255** (2011) 2933– 2945

- [15] Bock, V.D., H. Hiemstra, J.H. van Maarseveen, *Cu-I-catalyzed alkyne-azide "click" cycloadditions from a mechanistic and synthetic perspective*. European Journal of Organic Chemistry, 2005(1): p. 51-68.
- [16] 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
- [17] Rodionov, V.O., et al., *Benzimidazole and related Ligands for Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition*. Journal of the American Chemical Society, 2007. **129**(42): p. 12696-12704.
- [18] Brodowska K., Łodyga-Chruścińska E., *Schiff bases – interesting range of applications in various fields of science*, *Chemik* 2014, **68**, 2, 129–134
- [19] Abu-Dief A. M., Mohamed I.M.A., *A review on versatile applications of transition metal complexes incorporating Schiff bases*, Elsevier 2015., 1–15
- [20] Ghosh K., Debojyoti Tarafdar D., *Piperazine-based new sensor: selective ratiometric sensing of Fe<sup>3+</sup>, logic gate construction and cell imaging*, *Supramolecular Chemistry* 2014.
- [21] Kumar Sheet S., Sen B., Thounaojam R., Aguan K., Khatua S., *Ruthenium(II) Complex-Based Luminescent Bifunctional Probe for Ag<sup>+</sup> and Phosphate Ions: Ag<sup>+</sup>-Assisted Detection and Imaging of rRNA*, *Inorganic Chemistry* 2016.
- [22] Joshia S., Kumarib S., Bhattacharjeeb R., Sarmahb A., Sakhujab R., Pant D. D., *Experimental and theoretical study: Determination of dipole moment of synthesized coumarin–triazole derivatives and application as turnoff fluorescence sensor: High sensitivity for iron(III) ions*, Elsevier 2015.
- [23] Kumar Pathak R., Kumar Hinge V., Mondala P., Pulla Rao C., *Ratiometric fluorescence off-on-off sensor for Cu<sup>2+</sup> in aqueous buffer by a lower rim triazole linked benzimidazole conjugate of calix[4]arene*, *Dalton Trans.*, 2012, 41, 10652
- [24] Qin WL, Long S, Panunzio M, Biondi S. Schiff Bases: A Short Survey on an Evergreen Chemistry Tool. *Molecules*. 2013;18(10):12264-89.
- [25] Kurtunova K. V., Trusova M. E., Postnikov P. S., Filimonov V. D., Parello J., *A Simple and Effective Synthesis of Aryl Azides via Arenediazonium Tosylates*, 2013.
- [26] Reichardt, C., *Solvatochromic Dyes as Solvent Polarity Indicators*, *Chem. Rev.* 1994, 2319-2358

## ŽIVOTOPIS

### OSOBNI PODACI:

IME I PREZIME:

Lucija Vujević



### OBRAZOVANJE:

2016. – 2018. Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb  
Diplomski studij Primijenjene kemije, Modul Primijenjene organska kemija
2013. – 2016.: Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb  
Preddiplomski studij Primijenjene kemije
2009. – 2013.: Srednja škola Ban Josip Jelačić, Zaprešić  
Opća gimnazija

### STRANI JEZICI:

engleski jezik – aktivno u govoru i pismu

### POSEBNA ZNANJA I VJEŠTINE:

Odlično poznavanje rada na računalu:

MS Office paket (Excel, Word, Powerpoint)