

Spektroskopska karakterizacija pentacikličkih derivata benzimidazola kao senzora za detekciju pH i metalnih kationa

Marketin, Petra

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:248314>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-06-21**



FKITMCMXIX

Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Petra Marketin

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Petra Marketin

**SPEKTROSKOPSKA KARAKTERIZACIJA PENTACIKLIČKIH
DERIVATA BENZIMIDAZOLA KAO SENZORA ZA DETEKCIJU pH I
METALNIH KATIONA**

ZAVRŠNI RAD

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

Članovi ispitnog povjerenstva: prof. dr. sc. Marijana Hranjec, FKIT
dr. sc. Nataša Perin, poslijedoktorandica FKIT
dr. sc. Petar Kassal, poslijedoktorand FKIT

Zagreb, rujan 2018.

SAŽETAK

Spektroskopska karakterizacija pentacikličkih derivata benzimidazola kao senzora za detekciju pH i metalnih kationa

U ovom radu prikazana je sinteza i spektroskopska karakterizacija pentacikličkih derivata benzimidazola. Za pripravu ciljane molekule korištene su klasične metode organske sinteze dok je posljednji stupanj sinteze potpomognut mikrovalovima. Kondenzacijom spojeva **2** i **3** priređen je aciklički derivat **4**. Termičkom ciklizacijom spoja **4** dobiven je ciklički okso derivat **5** koji se prevodi u spoj **6** koji je glavni prekursor za sintezu ciljanog amino supstituiranog cikličkog derivata benzimidazola. Ciljani derivat **7** priređen je nekatalitičkom aminacijom potpomognutom mikrovalovima iz spoja **6**. Struktura priređenih spojeva potvrđena je korištenjem ^1H i ^{13}C NMR spektroskopije, a spoje **7** je dodatno okarakteriziran UV/Vid i fluorimetrijskom spektroskopijom. Kako bi se provjerila moguća primjena spoja **7** kao senzora za detekciju pH i metalnih kationa, provedene su UV/Vid i fluorimetrijske titracije otopina spojeva s otopinama metalnih soli i u puferima različitog pH.

Ključne riječi: benzimidazol, UV/Vid, fluorimetrijska i NMR spektroskopija, kemijski senzori, optički senzori, pH senzori

SUMMARY

Spectroscopic characterization of pentacyclic benzimidazole derivatives as sensors for detection pH and metal cations

This work presents the synthesis and spectroscopic characterization of pentacyclic benzimidazole derivatives. Targeted molecule was prepared by classical reaction of organic chemistry while the last stage of synthesis was assisted by microwave. Due to the condensation of **2** and **3** acyclic derivative **4** was prepared. By termic cyclization of compound **4** cyclic oxo derivative **5** was prepared which was converted to compound **6** as the main precursor for the synthesis of target amino substituted cyclic benzimidazole derivative. Targeted derivative **7** was prepared by uncatalyzed microwave assisted amination from compound **6**. The structure of synthesized compounds were confirmed by means of ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy, and also the prepared compound **7** were additionally characterized by UV/Vis and fluorimetric spectroscopy. To explore possible application of compound **7** as sensor for detection pH and metal cations, UV/Vis and fluorimetric titrations of aqueous compounds solutions with aqueous solutions of metal salts and with buffer having different pH were performed.

Key words: benzimidazole, UV/Vis, fluorimetric and NMR spectroscopy, chemical sensors, optical sensors, pH sensors

Zahvaljujem se mentorici, prof. dr. sc. Marijani Hranjec, na odabranoj temi, pomoći, strpljenju i savjetima koje mi je pružila tijekom izrade i pisanja ovog rada.

Zahvaljujem se poslijedoktorandici dr. sc. Nataši Perin na brojnim uputama, savjetima i objašnjenjima prilikom izvođenja i pisanja eksperimentalnog dijela rada.

Najveća zahvala mojim roditeljima i bratu na iznimnoj podršci tijekom dosadašnjeg školovanja.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	3
2.1. Kemijski senzori	4
2.1.1. Optički senzori.....	4
2.1.2. Optički pH senzori.....	5
2.2. Kinolini kao optički fluorescentni senzori	6
2.2.1. Mehanizam kinolina kao optičkih fluorescentnih senzora	6
2.2.2. Struktura i sinteza derivata kinolina	8
2.2.3. Derivati kinolina korišteni za detekciju različitih metalnih iona	12
3. REZULTATI I RASPRAVA	27
3.1. Cilj rada	28
3.2. Sintaza priređenih spojeva	29
3.3. Spektroskopska karakterizacija UV/Vid spektroskopijom	33
3.3.1. Kvantitativni UV/Vid spektri.....	33
3.3.2. UV/Vid spektroskopske titracije s otopinama metalnih kationa	34
3.4. Fluorimetrijska spektroskopija	36
3.4.1. Kvantitativni emisijski spektri	36
3.4.2. Fluorimetrijske spektroskopske titracije s otopinama metalnih kationa	37
3.5. Utjecaj pH na spektroskopska svojstva spoja	38
4. EKSPERIMENTALNI DIO	40
4.1. Opće napomene	41
4.2. Priprava pentacikličkih derivata benzimidazola	42
4.2.1. Priprava 2-klorkinolin-3-karbonil-klorida 2	43
4.2.2. Priprava 2-cijanometilbenzimidazola 3	43
4.2.3. Priprava 2-(1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-2-il)-3-hidroksi 3-(2-klorkinolin-3-il)acetonitrila 4.....	43
4.2.4. Priprava 7-okso-5,7-dihidroksibenzo[<i>g</i>]benzo[4,5]imidazo[1,2- <i>a</i>][1,8]naftidrin-6-karbonitrila 5	43
4.2.5. Priprava 7-klorbenzo[<i>g</i>]benzo[4,5]imidazo[1,2- <i>a</i>][1,8]naftidrin-6-karbonitrila 6.....	44
4.2.6. Priprava 7-(piperidin-1-il)benzo[<i>g</i>]benzo[4,5]imidazo[1,2- <i>a</i>][1,8]naftidrin-6-karbonitrila 7	44
5. ZAKLJUČAK	45
6. LITERATURA	47

7. PRILOZI	51
8. KRATICE	55
9. ŽIVOTOPIS	57

1. UVOD

Heterociklički spojevi u svojoj strukturi osim atoma ugljika sadržavaju jedan ili više različitih atoma, najčešće dušik, kisik, ili sumpor.¹ Benzimidazol je heterociklički aromatski spoj koji u svojoj strukturi ima imidazolnu jezgru kondenziranu na benzensku jezgru. Derivati benzimidazola pokazuju raznolik i široki spektar bioloških aktivnosti, kao npr. antitumorsku,² antibakterijsku,³ antivirusnu,⁴ antifungalnu, antihipertenzivnu te mnoge druge. Derivati benzimidazola našli su svoju primjenu i kao optički laseri i polimerna bojila u optoelektronici,⁵ u biomedicinskoj dijagnostici,⁶ kao kemosenzori za detekciju različitih kationa i aniona u otopina⁷ ili senzori za detekciju pH. Kemosenzori su molekule koje detektiraju katione ili anione u otopini što je od velike važnosti u biološkim ili medicinskim ispitivanjima i dijagnostici te ekologiji.⁸

2. OPĆI DIO

2.1. Kemijski senzori

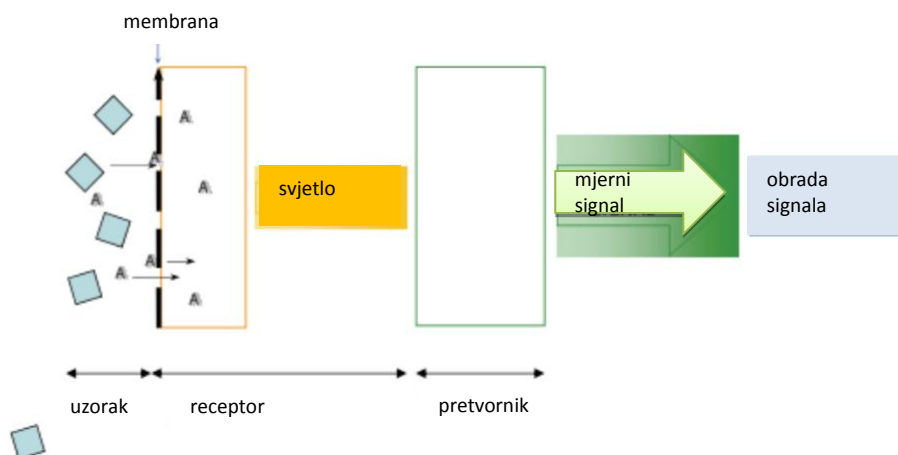
Kemijski senzor je uređaj koji pretvara kemijsku informaciju, u rasponu od koncentracije pojedine komponente uzorka pa sve do ukupnog sastava uzorka, u analitički koristan signal. Kemijska informacija može dolaziti iz kemijske reakcije analita ili iz fizikalnih karakteristika ispitivanog sustava. Kemijski senzor je osnova analizatora i sastoji se od dva temeljna dijela: receptora i pretvornika. Neki senzori mogu sadržavati i separator. U receptorskom dijelu senzora kemijska informacija se pretvara u energetski oblik koji može biti izmjeren pretvornikom.⁹ Rad receptora može se temeljiti na fizikalnim, kemijskim i biokemijskim principima ili kombinacijom već navedenih principa. Kod receptora čiji se rad temelji na fizikalnim principima ne odvija se kemijska reakcija, kod kemijskih receptora, kemijska reakcija u kojoj sudjeluje analit vodi do analitičkog signala, dok je izvor analitičkog signala kod biokemijskih receptora biokemijski. Pretvornik pretvara energiju koja nosi kemijske informacije o uzorku u analitički mjerljiv signal.

Razvojem znanosti i tehnologije postalo je moguće konstruirati senzore koji koriste poznate kemijske, fizikalne i biokemijske principe za svoj rad. Kemijski senzori mogu se podijeliti prema načinu rada pretvornika, metodi korištenoj za mjerenje efekta, načinu detektiranja ili utvrđivanja analita. Prema načinu rada pretvornika dijele se na optičke, elektrokemijske, elektrometrijske, masene, magnetske, termometrijske.¹⁰ Optički kemijski senzori temelje se na analizi optičkih fenomena koji proizlaze iz interakcije analita i receptora. Elektrokemijski senzor koristi elektrokemijsko međudjelovanje analita i elektroda.

Elektrometrijski senzori rad temelje na mjerenju gdje nema elektrokemijskog procesa već je izvor signala promjena električnih svojstava uzrokovana međudjelovanjem analita. Načelo rada masenog senzora ovisi o promjeni kakvoće modificirane površine uzrokovane nakupljanjem mase analita. Magnetski senzori temelje se na promjeni paramagnetskih svojstava u analitu. Termometrijski senzori koriste toplinski učinak specifične kemijske reakcije ili adsorpcije koja uključuje analit.¹¹

2.1. 1. Optički senzori

Optički senzor je uređaj koji pretvara svjetlosne zrake u elektronički signal. Koristi optičku pretvorničku tehniku temeljenu na reagensu koji mijenja optička svojstva u interakciji s analitom.¹² Najčešće mjerene optičke karakteristike su apsorpcija, fluorescencija, intenzitet, vrijeme raspada, refleksija.¹³



Slika 1. Shematski prikaz sastava i rada optičkog senzora¹⁴

Općenite značajke optičkih senzora su velika osjetljivost, raspon i rezolucija, mogućnost upotrebe u eksplozivnom okruženju, neosjetljivost na elektromagnetsku interferenciju, otpornost na visoku temperaturu, male dimenzije, velika biokompatibilnost, mogućnost praćenja širokog spektra fizikalnih i kemijskih parametara. Jedna od značajki optičkog senzora je mjerenje promjena intenziteta jedne ili više svjetlosne zrake. Istraživanje i razvoj optičkih senzora potaknuto je očekivanjem da optički senzori imaju znatno bolje prednosti nego uobičajene vrste senzora. Prednosti optičkih senzora u odnosu na neoptičke su bolja osjetljivost, električna pasivnost, neosjetljivost na elektromagnetsku interferenciju, široki dinamički raspon, mogućnost multipleksiranja. Iskorištavanjem sposobnosti optičkih vlakana da šalju i primaju optičke signale preko velikih udaljenosti, trenutni smjer istraživanja u tom području odnosi se na razvoj mreže senzora ili polja senzora kako bi se izbjeglo odvojeno pretvaranje elektronike i fotonike na osjetilnom mjestu smanjujući time njihovu cijenu i povećavajući prilagodljivost. Poteškoće u razvoju takvih senzora mogu predstavljati interferencije višestrukih efekata te temperaturna osjetljivost kod mjerenja istezanja i tlaka.¹²

2.1.2. Optički pH senzori

Kako je praćenje pH vrijednosti od izuzetne važnosti u zaštiti okoliša, industriji i medicini, razvoj optičkih pH senzora postaje sve značajniji. Važno je naznačiti osnovnu razliku između elektrokemijske i optičke definicije pH. Elektrokemijski odziv pH elektrode je direktno ovisan o aktivitetu oksonijevih iona u vodenoj otopini dok optičke tehnike mjere koncentraciju kiselih i bazičnih oblika pH indikatora.

Ključne značajke optičkih pH senzora uključuju: osjetljivost, radnu i skladišnu stabilnost, vrijeme odziva, preciznost, točnost, radnu temperaturu, potrebnu rezoluciju senzora, potrebu za sterilizacijom, biokompatibilnost, otrovnost upotrebljenog materijala i smetnje (interferencije). Svojstva ovih senzora kontroliraju pH indikatorska bojila i matrica. Kruta matrica mora biti hidrofilna kako bi se olakšala difuzija protona i kemijska, mehanička i termalna stabilnost. pH indikatorska bojila su najčešće slabe organske kiseline ili baze s izrazitim optičkim svojstvima povezanim s njihovim protoniranim (kiselim) i neprotoniranim (bazičnim) oblicima. Mijenjaju spektralna svojstva, kao npr. absorpciju, fluorescenciju ili refleksiju, kao funkciju pH okoline. Najveća osjetljivost je uočena kod pH blizu pK_a vrijednosti. Optički pH senzori pokazuju sigmoidalni odziv na promjenu pH vrijednosti i dinamički raspon je najčešće limitiran na $pK_a \pm 1,5$. Uski dinamički raspon rezultira visokom promjenom signala s promjenom pH vrijednosti i visoku rezoluciju senzora. Optički pH senzori mogu raditi i u proširenom pH području korištenjem indikatora s dvije pK_a vrijednosti ili korištenjem skupine sličnih bojila s različitom pK_a vrijednosti.

Trenutno je značajan fokus usmjeren na razvoj novih pH senzorskih materijala koji bi omogućili proizvodnju visoko učinkovitih optičkih pH senzora s poboljšanom osjetljivošću, stabilnošću i selektivnošću. U ovom području napredak je napravljen, međutim, jeftini komercijalno dostupni proizvodi s unaprijeđenim mehanizmom još su uvijek ograničeni.¹³

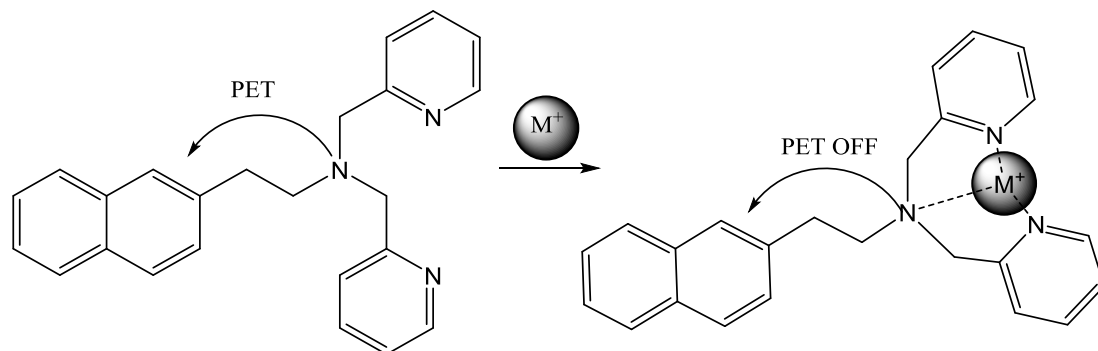
2.2. Kinolini kao optički fluorescentni senzori

2.2.1. Mehanizam kinolina kao optičkih fluorescentnih senzora

Kinolini kao optički fluorescentni senzori koriste se za mjerenje promjene intenziteta fluorescencije i/ ili promjene valne duljine fluorescencije. Tri najvažnija mehanizma prijenosa fluorescentnog signala za dizajn kinolinskih fluorescentnih senzora su fotoinducirani prijelaz elektrona (PET), intramolekulski prijenos naboja (ICT) i prijenos fluorescentne rezonancijske energije (FRET).

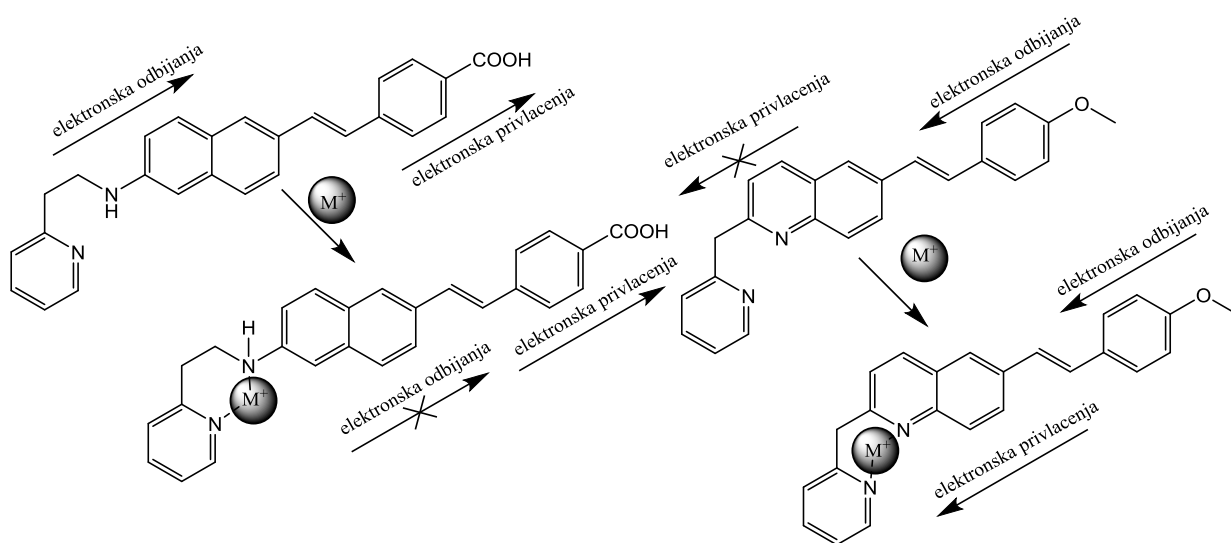
Kemosenzori kojima je dokazan PET mehanizam koriste poveznicu među atomima koja je manji od tri ugljikova atoma, za povezivanje fluorescentne skupine i receptora. Receptor sadrži visokoenergetski nevezni elektronski par poput onoga na dušikovom ili sumporovom atomu koji može donirati elektrone na pobuđenu fluorescentnu skupinu što rezultira gašenjem

fluorescencije. Prijelaz elektrona s receptora na pobuđenu fluorescentnu skupinu može biti spriječen ako je elektronski par koordiniran metalnim ionom te će se javiti fluorescencija.¹⁵



Shema 1. PET mehanizam kinolinskog kemosenzora

ICT mehanizam temelji se na stvaranju novog, elektronima bogatog ili siromašnog konjugiranog sustava s p-elektronima. Kada je receptor elektron-donor unutar fluorofora, vezan za metalni ion, kation će smanjiti elektron-donorsku sposobnost receptora te će se pojaviti plavi pomak u emisijskom spektru. Ako je receptor elektron-akceptor, kation će poboljšati efekt odbijanja i privlačenja te će se uočiti crveni pomak u emisijskom spektru.¹⁶

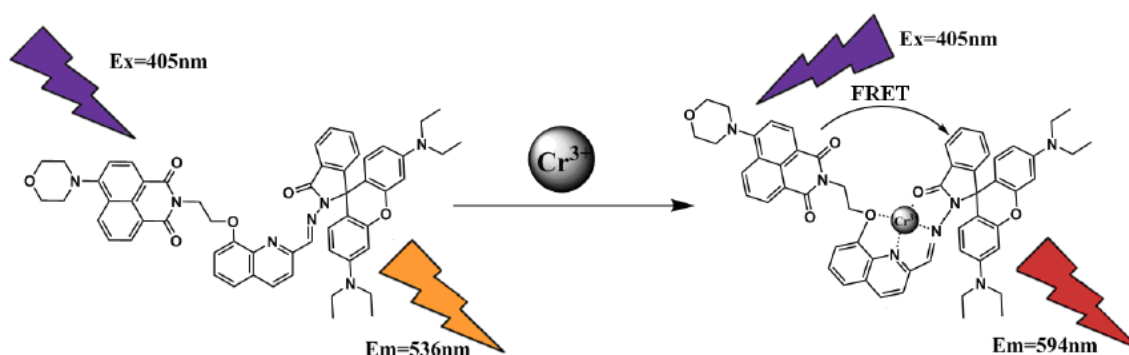


Shema 2. ICT mehanizam (plava i crvena promjena u fluorescentnom signalu)

FRET mehanizam uključuje neradijativni prijenos energije s pobuđenog donora na proksimalno osnovno stanje akceptora. Ovisi o udaljenosti i može se koristiti za procjenu intermolekularne udaljenosti.

Senzori koji rade na temelju FRET mehanizma mogu biti razvijeni u obliku malih molekula koje uobičajeno sadrže dva fluorofora povezan razmaknicom putem kovalentne veze. Uvjeti koji moraju biti zadovoljeni da se ostvari FRET mehanizam su:

- udaljenost između donora i akceptora koja mora biti manja od 10 nm,
- dostatan životni vijek donora kako bi se ostvario prijenos energije,
- apsorpcijski spektar akceptorskog fluorofora se treba poklapati s fluorescentnim emisijskim spektrom donorskog fluorofora,
- približno paralelna orijentacija akceptora i donora.¹⁷

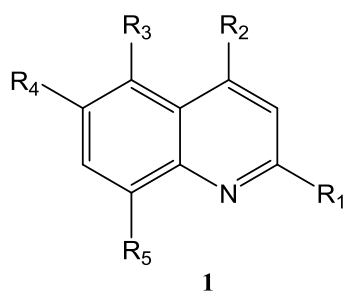


Shema 3. FRET mehanizam¹⁸

Razvoj kemosenzora koji rade kombinacijom PET i ICT mehanizma je izrazito koristan budući da se prepoznavanje može povećati promjenom valne duljine i povećanjem intenziteta. FRET proces je izrazito prilagodljiv i može se koristiti kod dvostruko fluorescentnih skupina, a istovremeno može biti korišten u prijenosu energije između jedne fluorescentne skupine i nanočestice. Primjenom akceptora za povezivanje nanočestice s fluorescentnom skupinom, s kojom ranije nije bila povezana, dolazi do nestajanja fluorescencije, a korištenjem specifičnog akceptora za razdvajanje fluorescentne skupine od nanočestice, FRET proces će biti spriječen i stvara se fluorescencija.

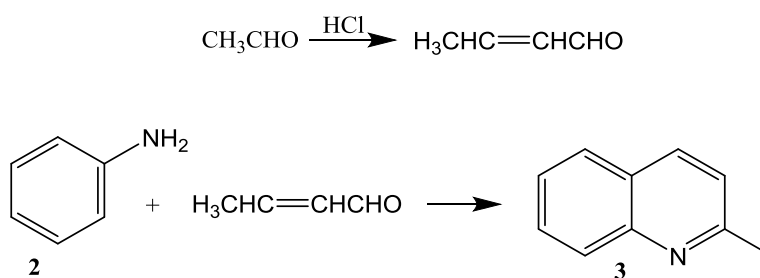
2.2.2. Struktura i sinteza derivata kinolina

Opća struktura kinolina prikazana je na slici 2. Većini kinolina koji su dizajnirani kao senzori mijenja se receptorska skupina na položaju 2 (R_1) i 8 (R_5) te elektron-aktivirajuća ili deaktivirajuća skupina na položaju 4 (R_2), 5 (R_3) i 6 (R_4). Ovisno o supstinentima, senzor će pokazivati različita fotofizikalna svojstva u otopini.



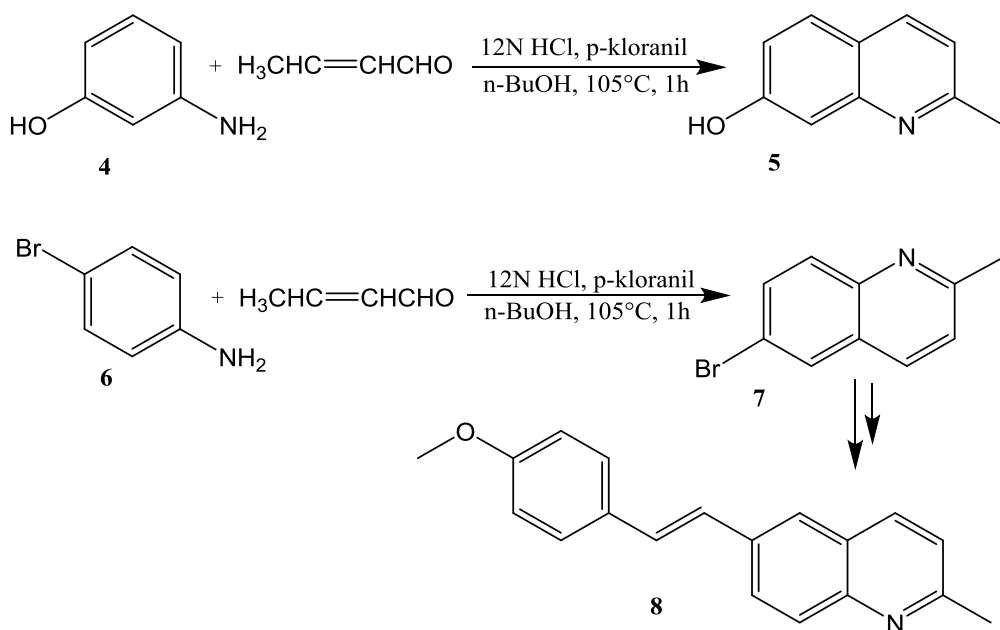
Slika 2. Struktura kinolina

Doebner-Von Millerovom sintezom priređen je 2-metilkinolin **3**. Sinteza je provedena u dva sintetska koraka, najprije aldolnom kondenzacijom acetaldehida nastaje krotonaldehid koji reagira s anilinom te nastaje intermedijar koji se potom dehidrogenira u dihidrokinolin koji prelazi u 2-metilkinolin.¹⁹



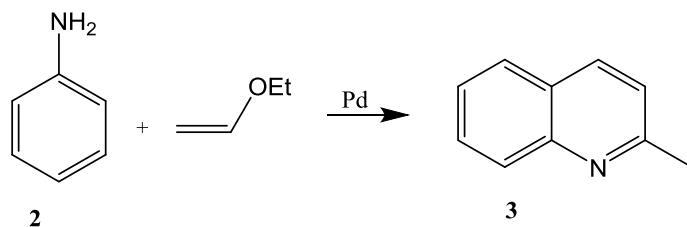
Shema 4. Sinteza spoja **3**

Optimiranim sintetskim metodama, priređeni su senzori **5**, **7** i **8** koji djeluju ICT i FRET mehanizmom polazeći iz 4-brom-fenilamina kao početnog reaktanta. Heckovom reakcijom priređen je 4-metoksistirenski derivat kinolina korištenjem krotonskog aldehida umjesto metanala.²⁰



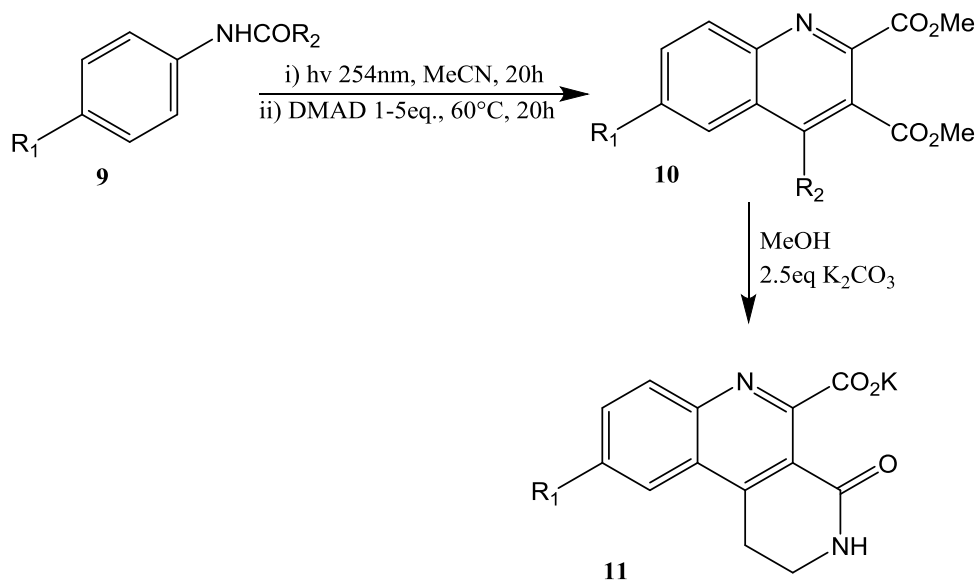
Shema 5. Sinteza spojeva **5**, **7** i **8**

Matsubara i suradnici 2011. godine priredili su novi sintetski put kemosenzora **3** reakcijom ciklizacije iz anilina i alkenil etera uz paladij (II) klorid kao katalizator.²¹

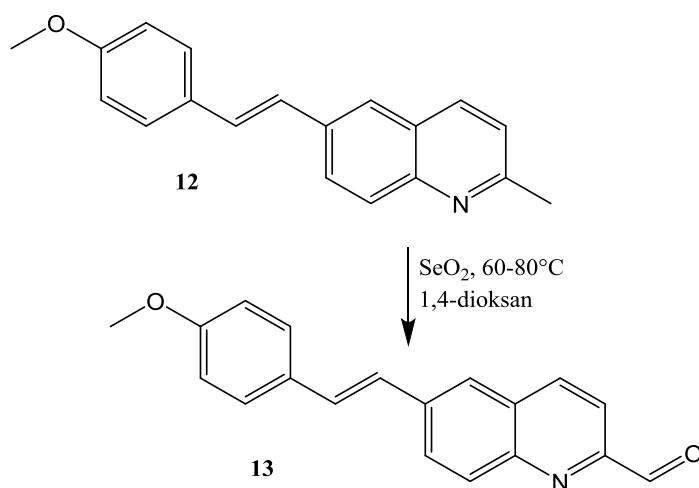


Shema 6. Sinteza spoja **3**

Guerrinijeva istraživačka skupina objavila je inovativnu sintezu dva važna heterociklička scaffolda **11** i **13**, koja koriste svojstvo aromatskih amida za Friesovu pregradnju.²²

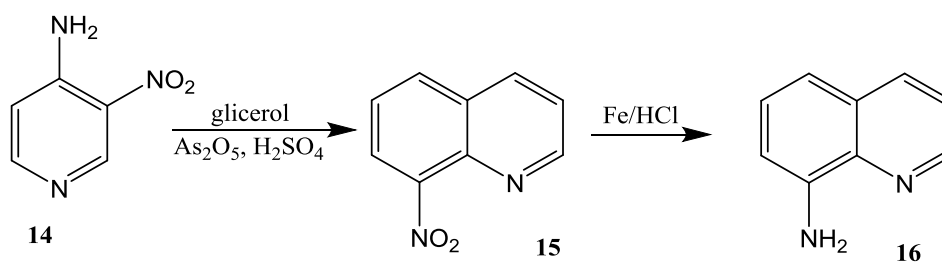


Shema 7. Sinteza spoja **11**



Shema 8. Sinteza spoja **13**

Sinteza kinolina sa supstuentom na položaju 8, npr. 8-aminokinolina **16**, odvija se reakcijama ciklizacije derivata piridina nakon čega slijedi redukcija.²⁰



Shema 9. Sinteza spoja **16**

2.2.3. Derivati kinolina korišteni za detekciju različitih metalnih iona

Kinolini, kao i njihovi derivati, usprkos lošoj topljivosti i fluorescenciji, dobro su poznati fluorogeni kelatori za prijelazne metalne ione, posebice za Zn^{2+} . Spajanjem benzimidazolske jezgre i kinolina poboljšavaju se fotofizikalnih svojstava.²³

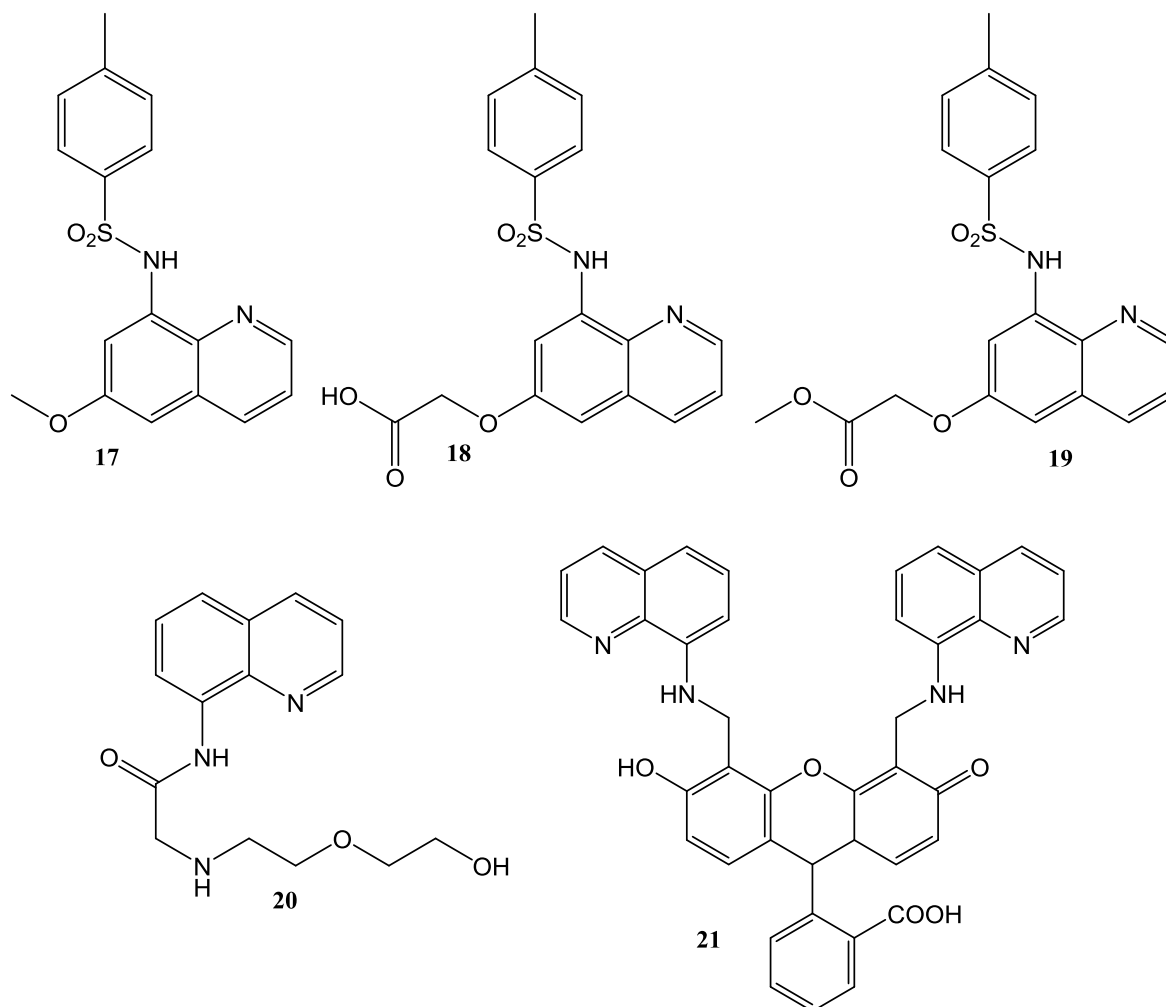
Kinolini i njihovi derivati, posebice 8-hidroksikinolin i 8-aminokinolin, su jako važni fluorogeni kelatori za prijelaz metalnih iona. Prvi i najčešće upotrebljavani fluorescentni kemosenzor za detekciju Zn^{2+} iona u biološkim uzorcima je derivat 8-aminokinolina s aril-sulfonamidima kojeg su prvi sintetizirali Toroptsev i Eshchenko.

1987. Frederickson i suradnici²⁴ objavili su sintezu novog kinolinskog **17** visoko osjetljivog senzora koji se može koristiti *in vivo* te pokazuje 100 puta veću fluorescenciju nakon povezivanja s Zn^{2+} , ali je slabo topljiv u vodi što ograničava njegovu upotrebu.

Zalewski²⁵ je sintetizirao kemosenzore **18** i **19** s vodotopljivom skupinom na položaju 6. Istraživanja su pokazala da je ova modifikacija kemosenzora utjecala na topljivost u vodi te je uočeno veliko poboljšanje u fluorescenciji nakon dodatka Zn^{2+} iona. Ioni Ca^{2+} i Mg^{2+} pokazali su mali utjecaj na fluorescenciju, a Fe^{2+} i Cu^{2+} su je ugasili.

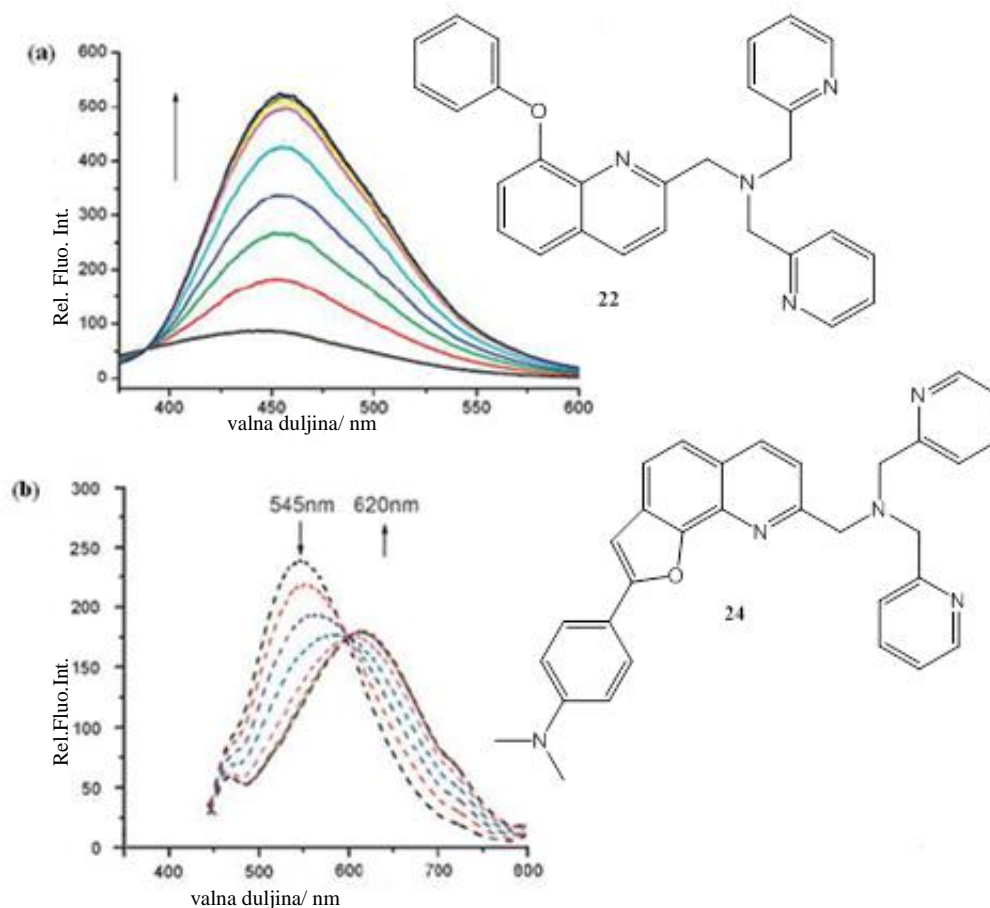
Zhang i suradnici²⁶ su sintetizirali visokoselektivni, vodotopiv, fluorescentni kemosenzor **20** temeljen na 8-amniokinolinu koji se ne može upotrebljavati *in vivo* zbog prevelike energije pobuđivanja.

Nolan, Lippard i suradnici²⁷ su korištenjem etil-8-aminokinolina sintetizirali kemosenzor **21** koji pokazuje 150 puta veću fluorescenciju nakon vezanja Zn^{2+} zbog visoke emisije i niske pozadinske fluorescencije. Ovo vezanje je selektivno za Zn^{2+} od ostalih biološki važnih metalnih kationa.



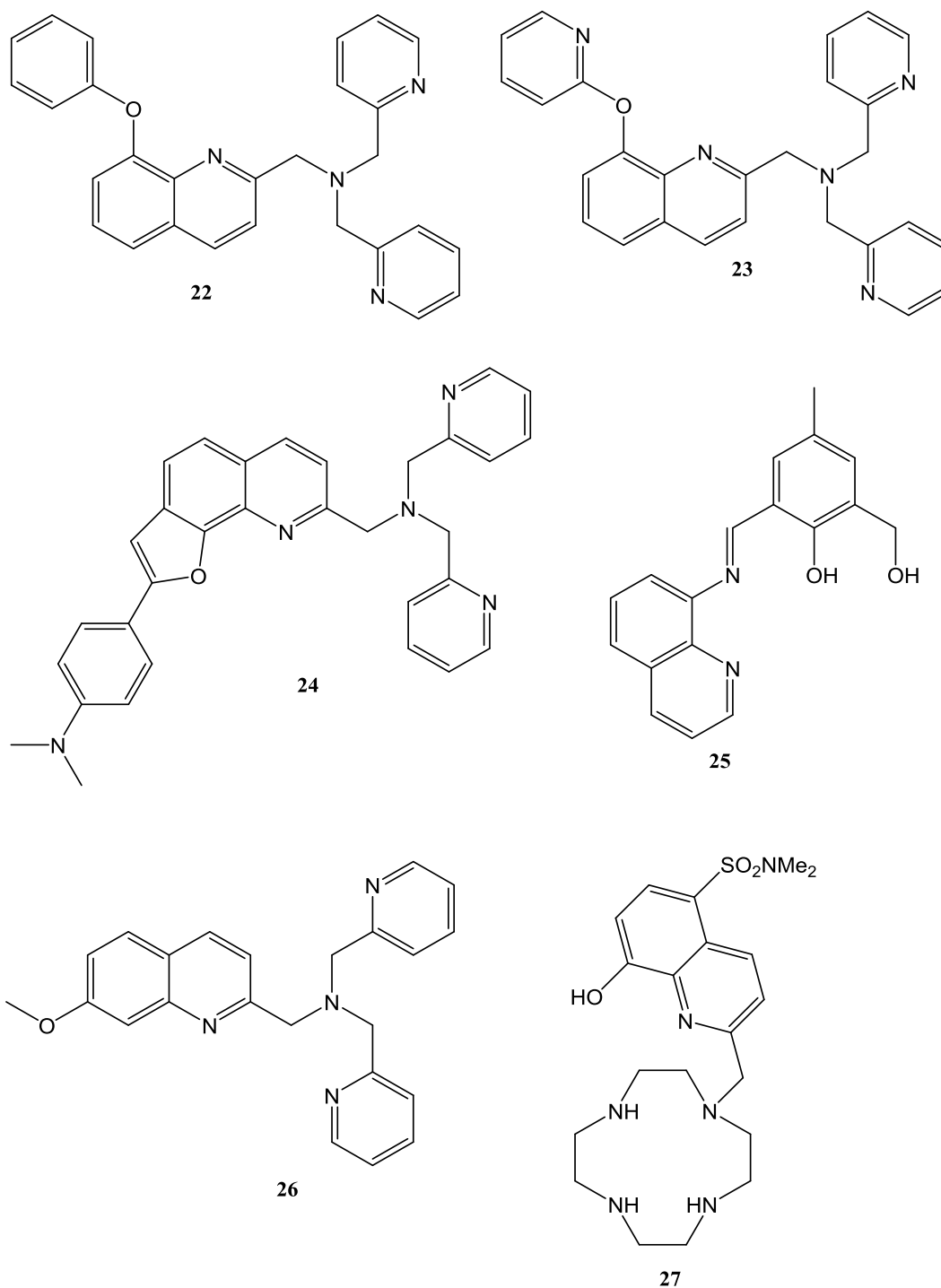
Slika 3. Struktura fluorescentnih senzora **17-21**

Xue i suradnici²⁸ uveli su, na položaj 2 8-hidroksi-2-metilkinolina di-2-pikolilamin (DPA) i priredili kemosenzore **22**, **23** i **24**. Istraživanjem NMR spektroskopije i kristalne strukture senzora uočeno je da kisik na položaju 8 i kinolinski dušikov atom zajedno sudjeluju u koordinaciji Zn^{2+} iona, a da je DPA skupina zaslužna za visoki afinitet kemosenzora **23**. Kod senzora **20-22** uočeno je povećanje intenziteta fluorescencije i kvantni prinosi (Slika 4.a). Prema istraživanjima selektivnosti senzora, dodatkom K^+ , Mg^{2+} i Ca^{2+} iona, u milimolarnoj skali, emisija se lagano povećala, dok se dodatkom 1 ekvivalenta prijelaznih metala fluorescencija smanjila, uz izuzetak Cd^{2+} iona. Xue²⁹ je optimirao senzor korištenjem ICT mehanizma umjesto PET mehanizma. Kemosenzor **24** sintetiziran je dodatkom kationa koji je u interakciji s receptorom povećao elektron-aktivirajuću sposobnost proširenog konjugiranog sustava. Rezultat je veliki pomak emisije u crvenom i Stokesova promjena (Slika 4.b).



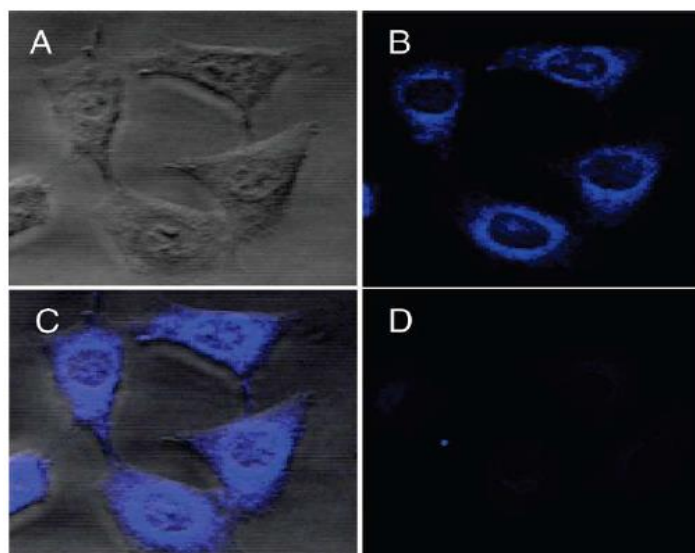
Slika 4. (a) Fluorescentni spektar ($\lambda_{\text{ex}} = 320 \text{ nm}$) nakon titracije $5 \mu\text{M}$ fluorescentnog senzora **22** sa Zn^{2+} (0-1.6 ekvi.) u HEPES puferu. (b) Fluorescentni odziv nakon titracije fluorescentnog senzora **24** (5 mM) sa Zn^{2+} (0-1.6 ekvi.), $\lambda_{\text{ex}} = 405 \text{ nm}$

Zhou i suradnici³⁰ sintetizirali su optički i fluorescentni senzor **25**. Odlikuje ga visoka selektivnost prema Zn^{2+} ionu i može biti korišten kao fluorescentni senzor kada je pobuđen vidljivom svjetlošću. Jaka koordinacijska sposobnost između Zn^{2+} iona i senzora **25** vodi do povećanja fluorescencije i povećanja kvantnog prinosa u otopini THF- H_2O . Ioni Cu^{2+} i Co^{2+} smanjuju fluorescenciju, a Cd^{2+} ion nema utjecaja.



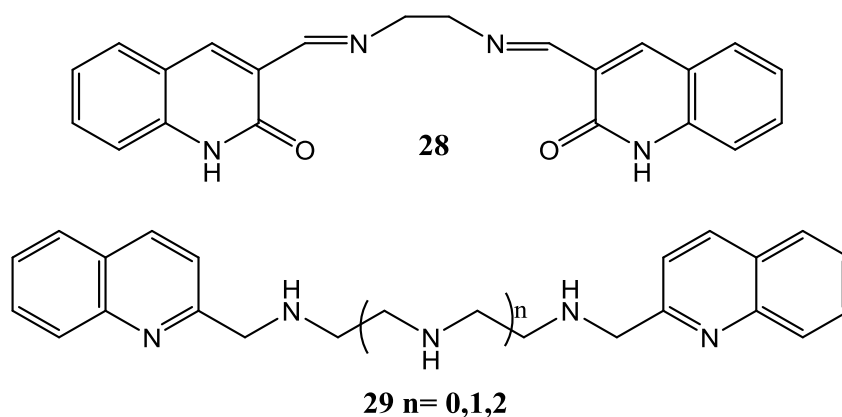
Slika 5. Struktura fluorescentnih senzora **22-27**

Chen i suradnici³¹ objavili su sintezu senzora **26** čije je povećanje fluorescencije i nanometarska osjetljivost poželjna u biološkim ispitivanjima. Osim za detekciju Zn^{2+} iona, kemosenzor pokazuje lagano povećanje fluorescencije i u prisutnosti Cd^{2+} iona. Senzor **26** koristiti se za snimanje Zn^{2+} iona u živim stanicama primjenom dvofotonskog mikroskopa (TPM) (Slika 6.).



Slika 6. (A) Svijetlo polje slike ćelije A431 označene s 30 μ M senzorom **26** 30 min nakon inkubacije, λ_{ex} = 800nm. (B) TP slika 30 min nakon djelovanja sa Zn(II)/ pirtion (50 μ M, omjer 1:1). (C) Preklapanje (A) i (B). (D) TP slika ćelija koje su dalje inkubiraju s 50 μ M TPEN na 10 min.

S. Aoki i suradnici³² su osmislili i sintetizirali novi ciklenski kemosenzor **27**. U istraživanju su otkrili da se osjetljivija detekcija Zn²⁺ iona postiže korištenjem deprotonirane hidroksilne skupine na položaju 8 i kelatacija Zn²⁺ iona u području neutralnog pH. Također, mijenjanjem supstituenta na položaju 5 utjecali su na različito deprotonacijsko i fluorescentno ponašanje kemosenzora.



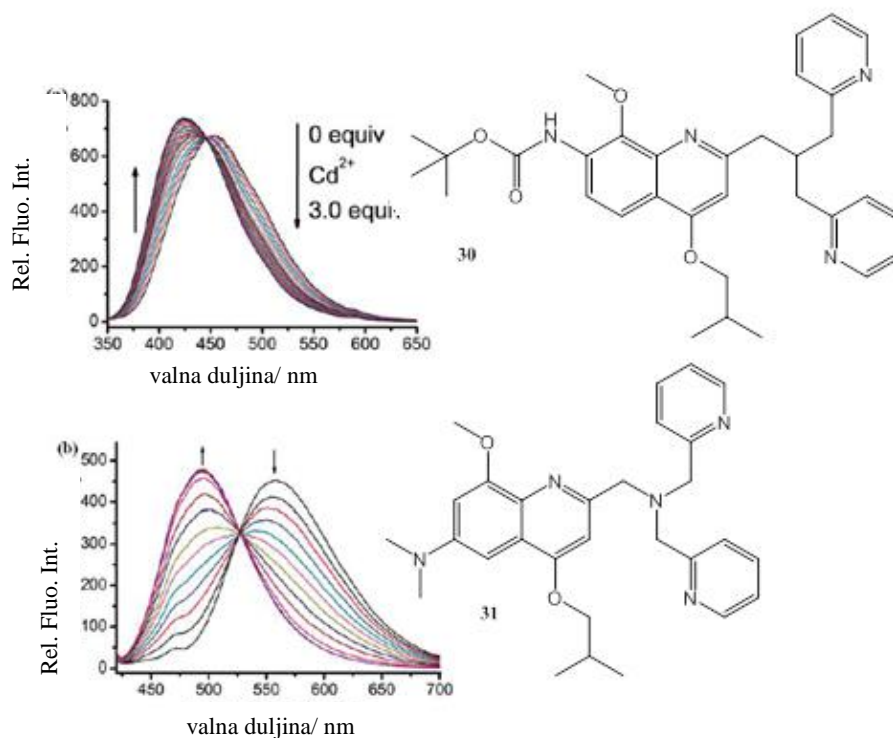
Slika 7. Struktura fluorescentnih senzora **28** i **29**

Liu i suradnici³³ sintetizirali su Schiffove baze koje se mogu koristiti kao senzori za metalne ione. Spoj **28** pokazuje visoku selektivnost i osjetljivost na Zn²⁺ ione u usporedbi s ostalim metalnim ionima.

Shiraishi i suradnici³⁴ sintetizirali su kemosenzor **29** koji je vodotopiv te pokazuje linearni i stehiometrijski odziv na Zn^{2+} ione bez pozadinske fluorescencije. Moguće ga je koristiti i za detekciju Zn^{2+} u vodenim otopinama. Osim za detekciju Zn^{2+} iona može se koristiti i za detekciju ostalih iona ako mosna veze sadrži različite heteroatome (npr. N, O, S).

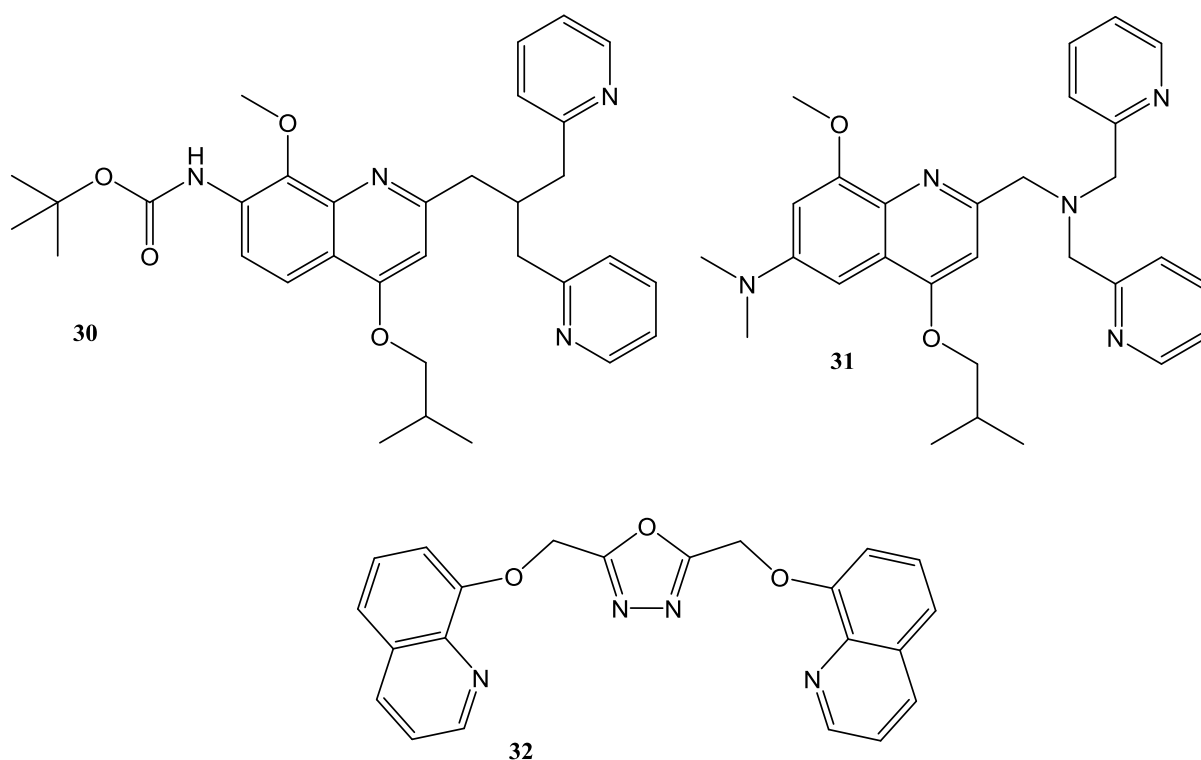
Xue i suradnici³⁵ su objavili sintezu kemosenzora **30** kod kojeg se mijenja kisik na položaju 8, a vezani Zn^{2+} ion se može zamijeniti s Cd^{2+} ionom što ima za posljedicu drugačiji izlazni signal. Izučavanje 1H NMR i optičkog spektra pokazuje da kemosenzor **30** ima veći afinitet za Cd^{2+} ione nego za Zn^{2+} ione pa je proces zamijene iona povoljan (Slika 8.a).

Xue i suradnici³⁶ sintetizirali su fluorescentni senzor **31** za detekciju Cd^{2+} iona koji radi na temelju ICT mehanizma. Odlikuje ga velika selektivnost na Cd^{2+} ione u odnosu na ostale ione teških i prijelaznih metala. Fluorescentni kemosenzor **31** može se koristiti i za unutarstanično snimanje što je dokazano ispitivanjima konfokalnim mikroskopom. Također, Xue i suradnici, uveli su jednostruku pobudu, dualno mjerenje emisije s velikom promjenom u plavom dijelu spektra te promjene u intenzitetu emisijskog omjera (Slika 8.b).



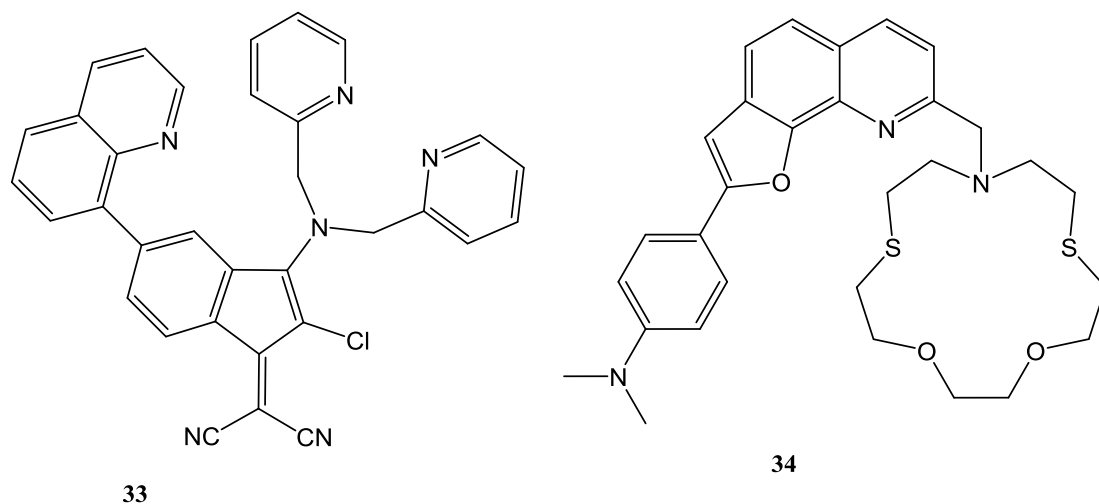
Slika 8. (a) Fluorescentni spektar ($\lambda_{ex}= 295nm$) nakon titracije $10 \mu M$ fluorescentnog senzora **30** + 1 ekv. Zn^{2+} s Cd^{2+} (0-3.0 ekv.) u puferskoj otopini. (b) Fluorescentni spektar ($\lambda_{ex}= 405 nm$) nakon titracije $10 \mu M$ fluorescentnog senzora **31** s Cd^{2+} (0-20 μM) u vodenom puferu.

Tang i suradnici³⁷ spojili su 8-hidroksikinolin s oksodiazolom što je rezultiralo nastankom kemosenzora **32** koji pokazuje visoku selektivnost na Cd^{2+} ione. Osim za detekciju Cd^{2+} iona može koristiti i za detekciju drugih iona ako se koriste različiti heteroatomi u mosnoj vezi.



Slika 9. Struktura fluorescentnih senzora **30-32**

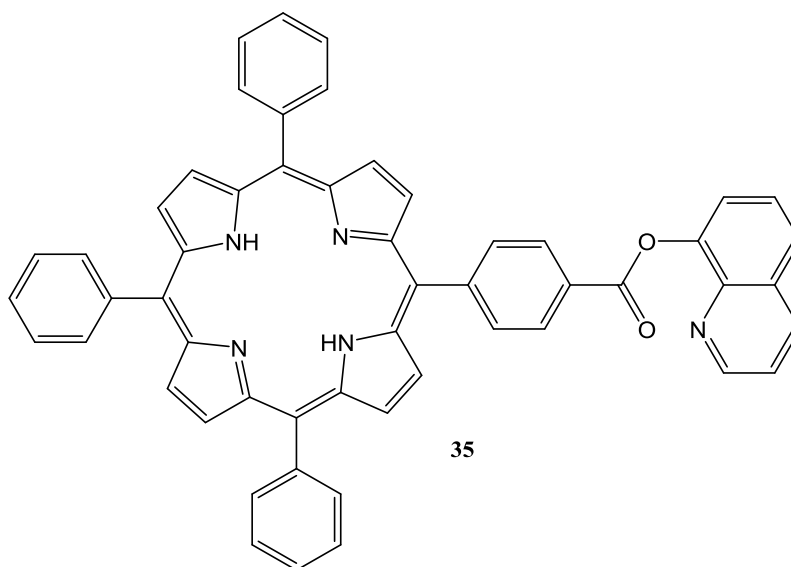
Ballesteros i suradnici,³⁸ Suzuki reakcijom sintetizirali su kemosenzor **33** koji nakon što je pobuđen vidljivom svjetlosti pokazuje povećanje intenziteta emisije nakon dodatka Cu^{2+} iona. Izbor azokruna (N, O, S) umjesto DPA predstavlja ključnu ulogu u dizajnu kemosenzora. Krunski spojevi se koriste kao receptorske skupine za pojedine ione. Mogu se koristiti za skupine koje se ne vežu lako, ali krunski spojevi s različitim heteroatomima se ne mogu lagano sintetizirati i smatraju se otrovnima u živim stanicama.



Slika 10. Struktura fluorescentnih senzora **33** i **34**

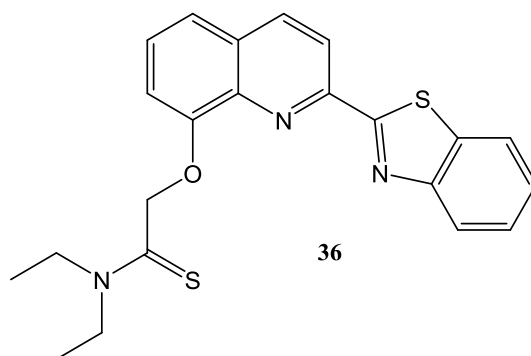
Wang i suradnici³⁹ objavili su sintezu kemosenzora **34** koji radi na principu ICT mehanizma. Kemosenzor **34** je učinkoviti fluorescentni senzor za detekciju Ag^+ iona, a karakterizira ga velika promjena Stokes-ovog pomaka, s promjenom u crvenom u emisijsokm spektru te veliki afinitet za ione srebra u etanolu u usporedbi s drugim d^{10} metalnim ionima.

Han i suradnici⁴⁰ 2009. godine objavili su sintezu visoko selektivnog i visoko osjetljivog kemosenzora na Hg^{2+} ione. Kemosenzor **35** sadrži kinolin i porfirinski prsten. Kompleksiranje kemosenzora **21** smanjuje fluorescenciju porfirina pri 646 nm, a uzrokuje novo pojačanje fluorescencije pri 603 nm.



Slika 11. Struktura fluorescentnog senzora **35**

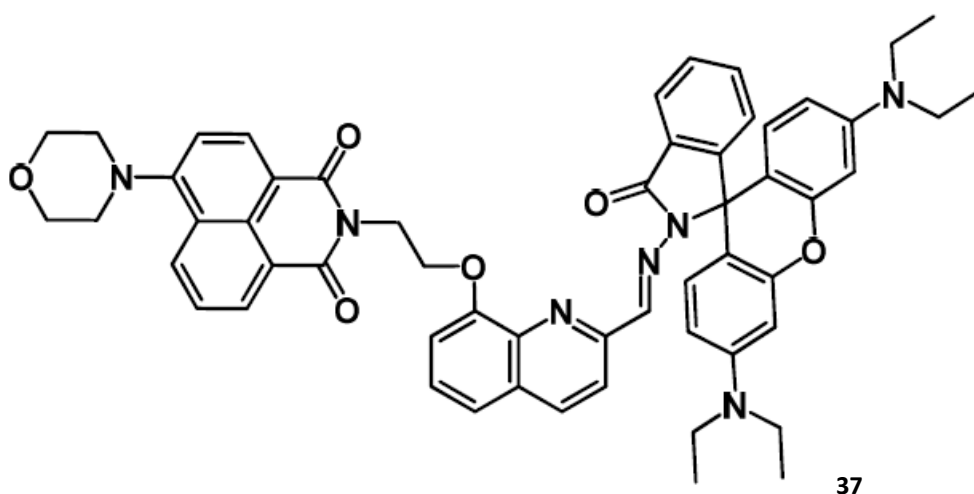
Song i suradnici⁴¹ sintetizirali su kemosenzor **36** koji je derivat 8-hidroksikinolina. Visoka osjetljivost na Hg^{2+} ion objašnjena je proučavanjem NMR, IR i masenog spektra iz kojih je vidljivo povećanje učinkovitosti hidrolitičke konverzije tioamida u amide kada je izazvano Hg^{2+} ionom.



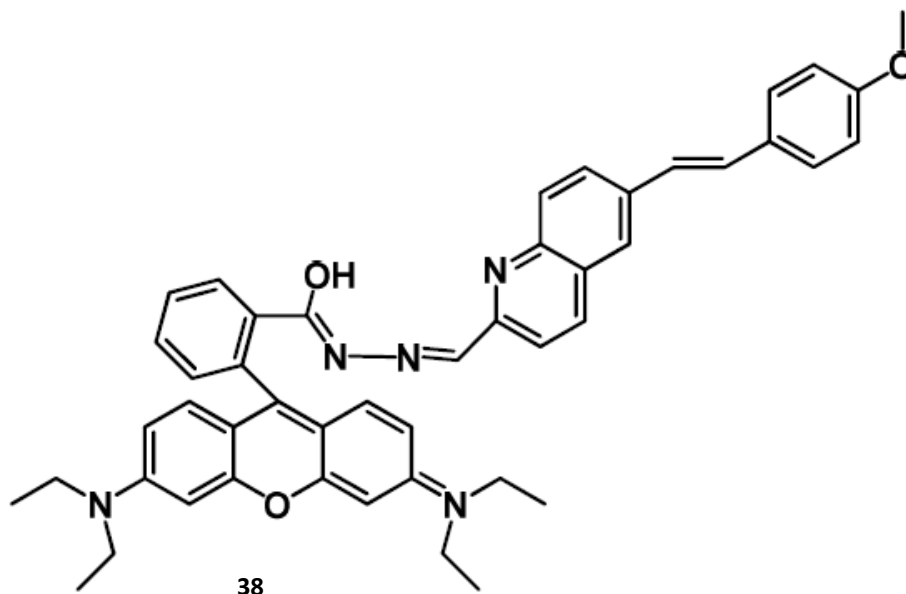
Slika 12. Struktura fluorescentnog senzora **36**

Zhou i suradnici⁴² su objavili sintezu kemosenzora **37** za detekciju Cr^{3+} čiji se rad temelji na FRET mehanizmu. S povećanjem prijenosa fluorescentne rezonancijske energije (FRET-a) intenzitet maksimuma fluorescencije se smanjuje s 544 nm na 592 nm.

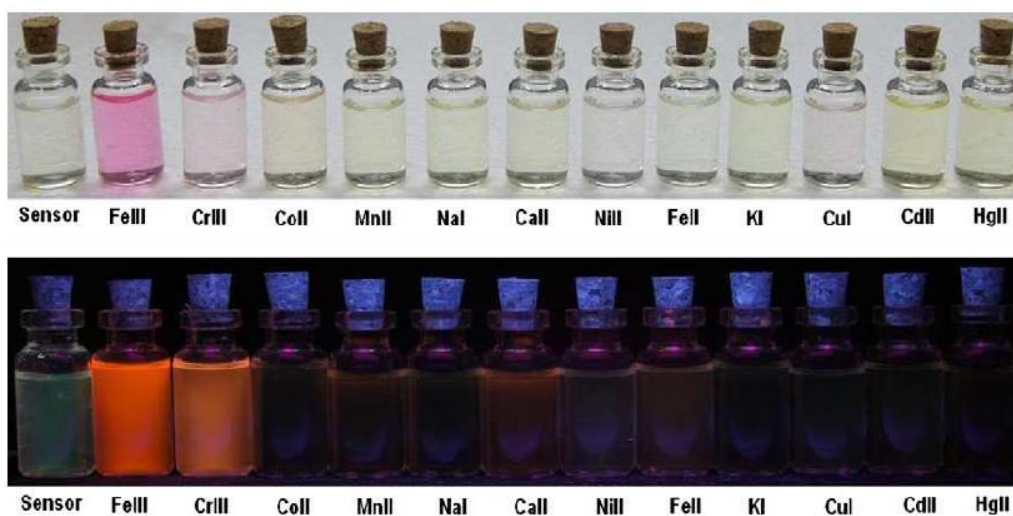
Wang i suradnici⁴³ su sintetizirali kemosenzor **38** čija je sposobnost detekcije bolja za Fe^{3+} ione nego za Cr^{3+} ione i u fluorescentnoj i vidljivoj svjetlosti (Slika 15.). Kemosenzor **38** je fluorescentni kemosenzor kod kojeg je kinolin povezan s rodaminskom platformom. Kako bi se postigla različita povezanost između kemosenzora i Fe^{3+} može se ukolniti hidroksilna skupina s položaja 8. Pogodan je za biološka oslikavanja zbog mogućnosti pobuđivanja dvofotonskim laserskim izvorom od 800 nm, citotoksičnog efekta te pH.



Slika 13. Struktura fluorescentnog senzora **37**



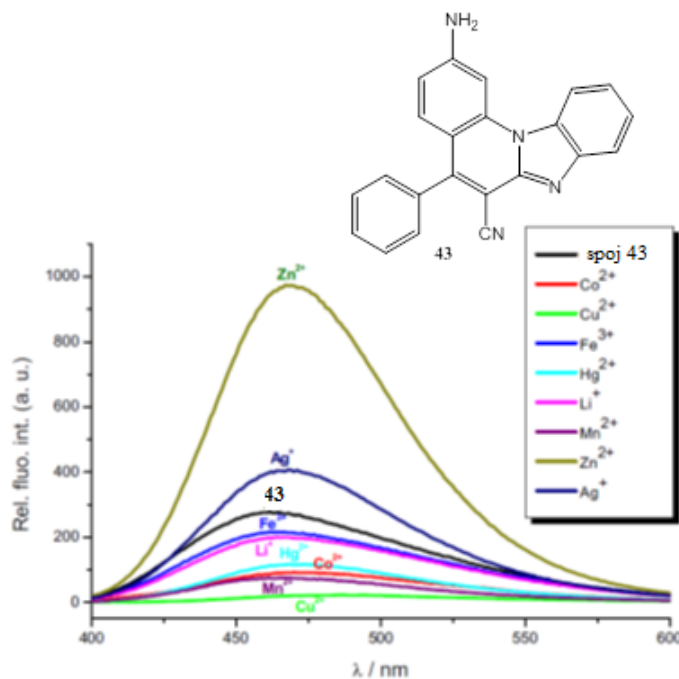
Slika 14. Struktura fluorescentnog senzora **38**



Slika 15. (Gore) Boja fluorescentnog senzora **38** i **38** s različitim metalnim ionima. (Dolje) Fluorescencijska promjena ($\lambda_{\text{ex}} = 365 \text{ nm}$) dodatkom različitih metalnih iona

M. Hranjec i suradnici⁴⁴ priredili su novu seriju *E*-3-fenil-2-(1-fenil-benzimidazol-2-il)akrilonitrila **41a-41f** i 5-fenilbenzimidazo[1,2-*a*]kinolina **42a-42d**, **43** i **44**. Kako bi se provjerila mogućnost korištenja benzimidazo[1,2-*a*]kinolina kao kemosenzora za detekciju različitih metalnih kationa, spektroskopska istraživanja provedena su sa spojem **43**.

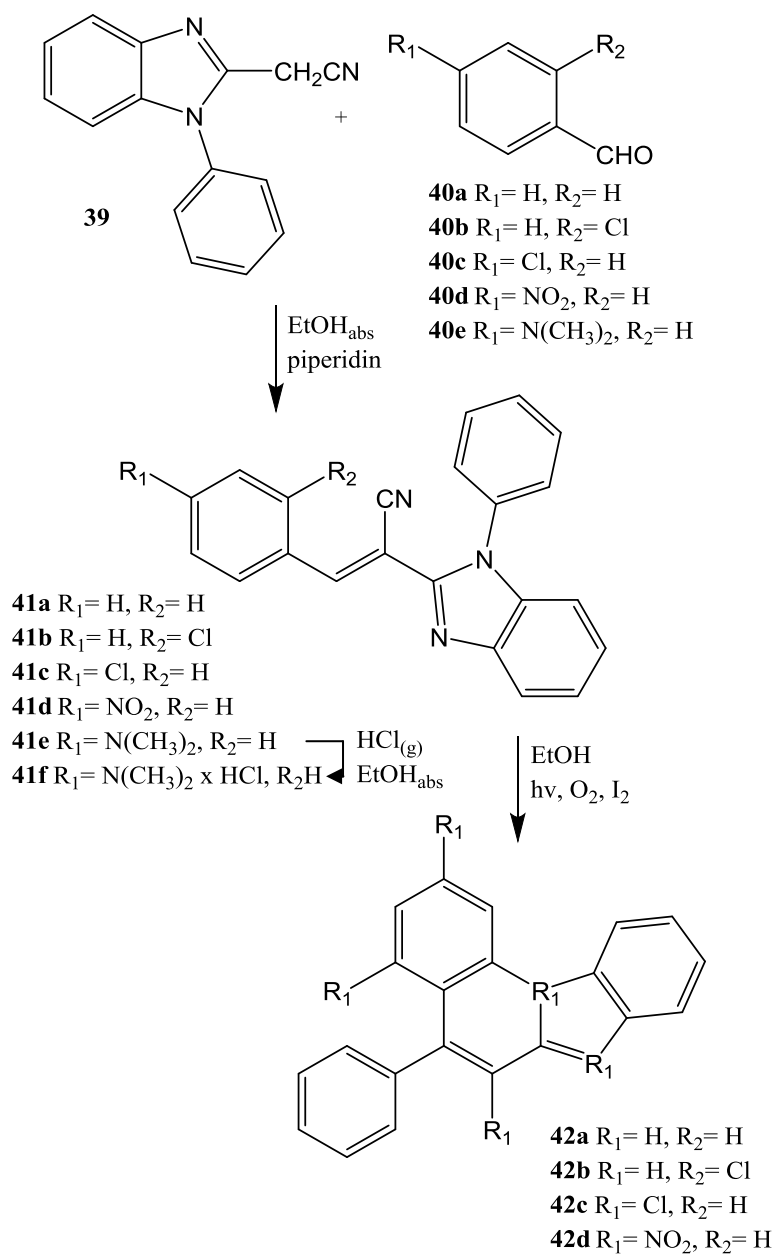
Fluorescencijski emisijski spektar spoja **43** ukazuje da prisutnost Zn^{2+} i Ag^+ iona pojačava intenzitet fluorescencije, a prisutnost Mn^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Li^+ , Fe^{3+} smanjuje intenzitet fluorescencije (Slika 16.).



Slika 16. Fluorescencijski odziv spoja **43** u prisutnosti različitih metalnih kationa

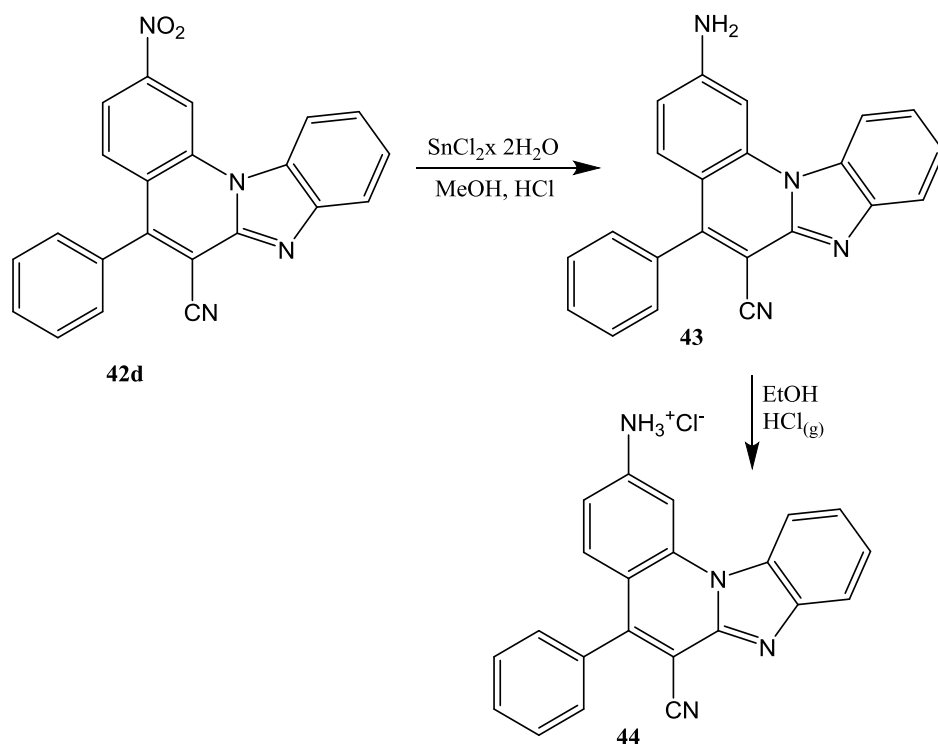
Zbog izvrsne osjetljivosti spoja **43** prema Zn^{2+} ionima pogodan je za potencijanu primjenu i detekciju i kvantifikaciju Zn^{2+} kationa u biološkim uzorcima što je važno jer je cink jedan od najvažnijih prijelaznih kationa u ljudskome tijelu, neophodan za mnoge biološke i biokemijske procese.

Ekvimolarna otopina 2-cijanometil-*N*-fenil-benzimidazola **39** i odgovarajućeg heteroaromatskog aldehida **40a-40e** refluksira uz dodatak nekoliko kapi piperidina u apsolutnom etanolu. Sirovi produkt se hladi, filtrira i rekristalizira kako bi se dobili spojevi **41a-41f**. Otopini spojeva **41a-41f** u etanolu doda se mala količina joda te se ozrači živinom lampom 3-5h, odnosno dok UV spektar ne pokaže da je reakcija dehidrociklizacije završena. Otopina se koncentrira pri sniženom tlaku, a traženi produkti **42a-42d** razdvajaju se kromatografijom u koloni.



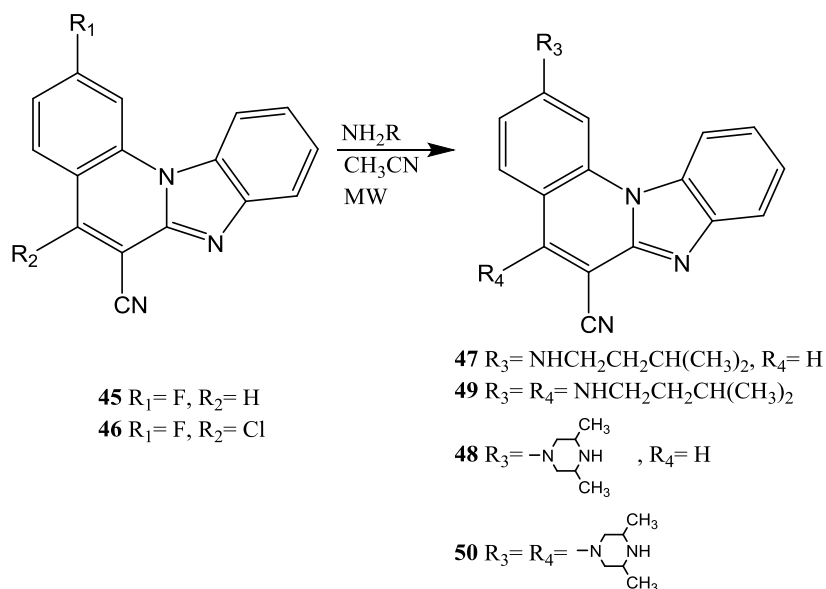
Shema 10. Sinteza spojeva **41a-41f** i **42a-42d**

Spoj **42d**, otopina $SnCl_2 \times H_2O$ u metanolu i koncentrirana HCl se zagrijavaju uz refluksiranje. Nakon hlađenja, reakcijska smjesa se uparava pod vakuumom, a kristali se otapaju u vodi. Dobivena otopina se tretira NaOH do $pH=14$, filtrira i ispire s vodom, kao produkt dobije se spoj **43**. Nakon 24h miješanja suspenzije spoja **43** u apsolutnom etanolu, a koja je zasićena s $HCl_{(g)}$, dobiveni spoj **44** se filtrira i ispire dietileterom.



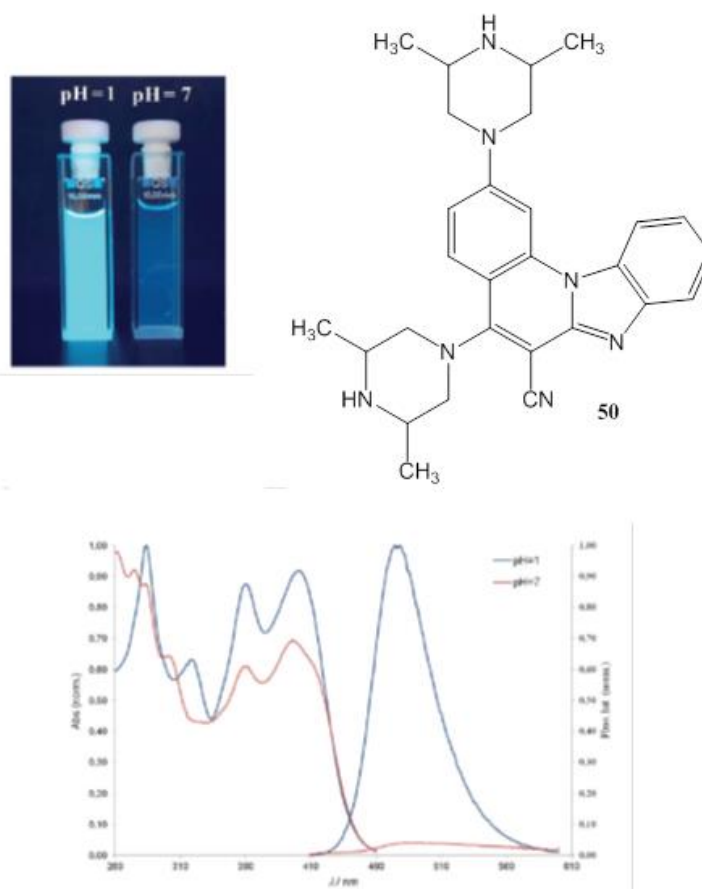
Shema 11. Sinteza spojeva **43** i **44**

2016. godine M. Hranjec i suradnici⁴⁵ priredili su nove 2-amino i 2,5-diamino supstituirane benzimidazo[1,2-*a*]kinoline **47-50** s ciljem proučavanja njihovih optičkih karakteristika i potencijalne primjene kao pH senzora.



Shema 12. Sinteza spojeva **47-50**

Svi spojevi pokazuju spektralne promjene unutar pH područja 1-12 i snažnu fluorescencijsku osjetljivost s promjenom pH što ih čini pogodnim kandidatima za pH senzore.

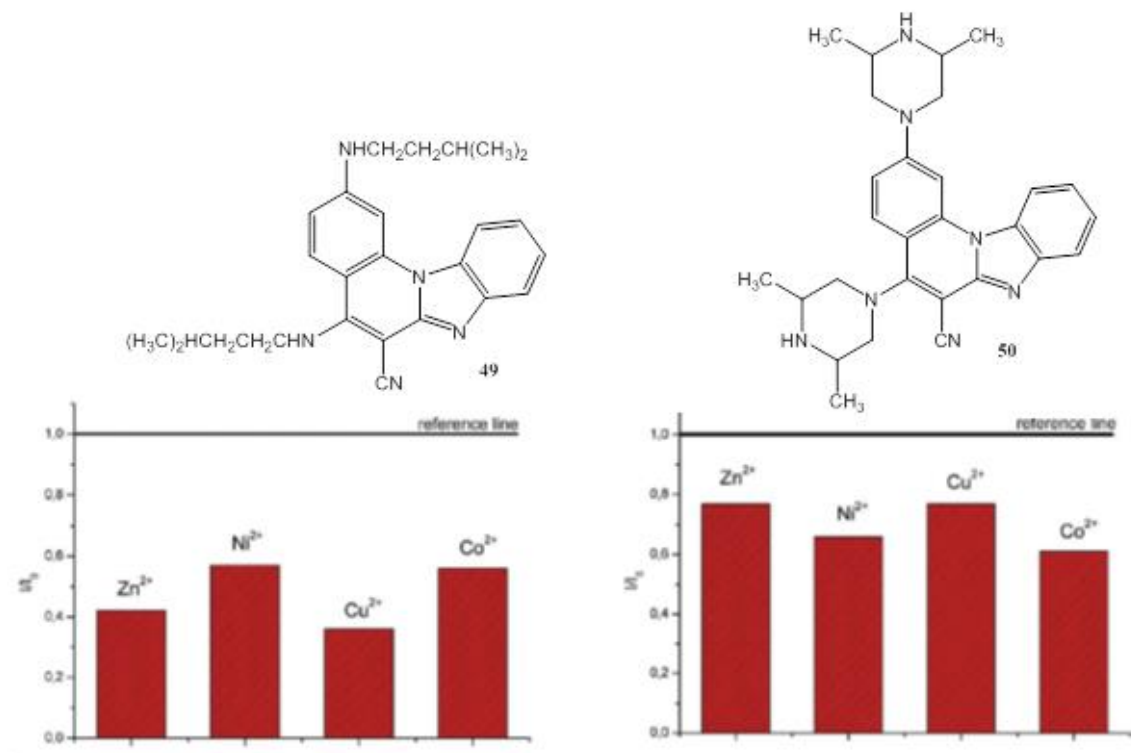


Slika 17. Fluorescencijski i apsorpcijski emisijski spektar spoja **50** u otopinama različitog pH

Utjecaj pH izraženiji je u fluorescencijskom spektru. Protoniranjem emisijski spektar spojeva **47-50** pokazuje batokromnu promjenu (promjena u crveno). Intenzitet fluorescencije raste kod spojeva **47, 48 i 50**, a smanjuje se kod spoja **49**. Stokestova promjena kod spojevi **47 i 48** ne pokazuju veliku promjenu energije na pobudu (6-45 nm) za razliku od spojeva **49 i 50** čija je Stokesova promjena 75-124 nm.

Kemosenzorska sposobnost ispitana je interakcijom s različitim metalnim ionima. Dokazano je da spojevi **47-50** pokazuju smanjenje intenziteta fluorescencije i smanjenje UV-Vid absorbancije, ali bez značajne selektivnosti prema pojedinim kationima. Iznimku čine spojevi **49 i 50** kod kojih je uočeno relativno snažnije smanjenje intenziteta u interakciji s različitim metalnim kationima. Proučavanjem pK_a vrijednosti uočeno je da se spojevi **47-50** mogu podijeliti u dvije skupine. Spojevi **47 i 49** imaju amino supstituirani lanac te dodatkom kiseline postaju monoprotonirani na odgovarajućim imino centrima.

U apsorpcijskom spektru pokazuju hipsokromnu promjenu (promjena u plavo). Spojevi **48** i **50** su bazični. Dodatkom iste kiseline postaju diprotonirani što rezultira batokromnom (crvenom) promjenom. Dodatak Cu^{2+} iona pogoduje monodeprotoniranju kod svih spojeva **47-50** što umanjuje njihovu razliku u spektralnom odzivu, ali uzrokuje da sustav postaje osjetljiviji na umjerene promjene pH vrijednosti otopine.

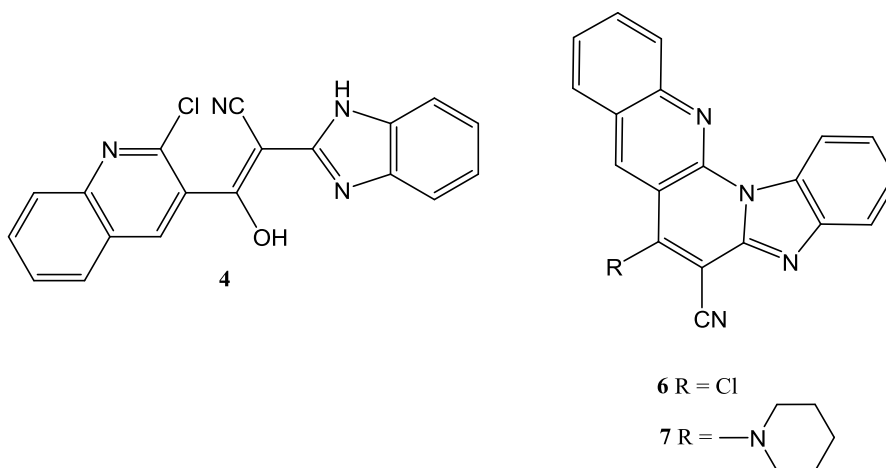


Slika 18. Selektivnost spojeva **49** i **50** prema kationima

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. Cilj rada

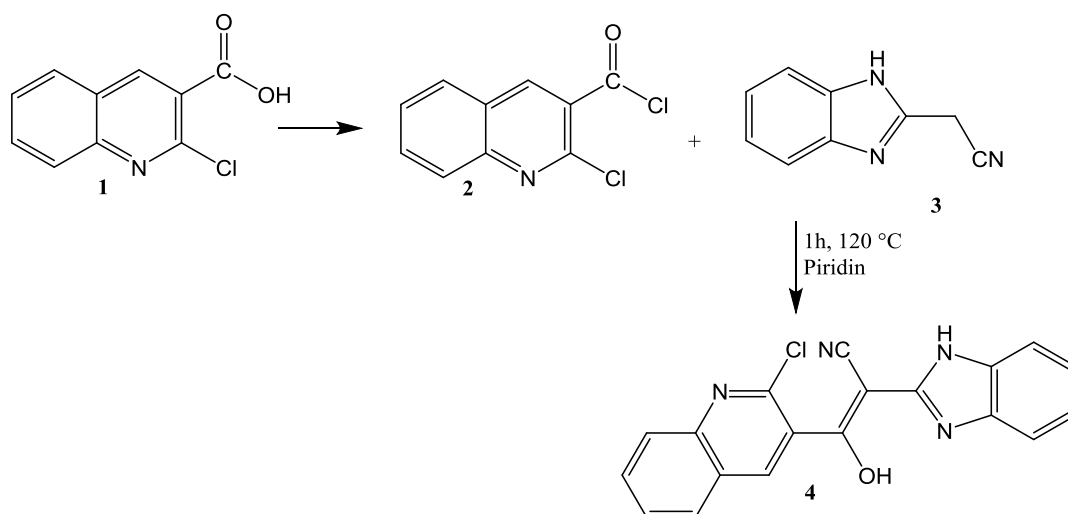
Cilj ovog rada bila je priprava acikličkog derivata benzimidazola **4** i pentacikličkih derivata benzimidazola **6** i **7** kao senzora za detekciju pH i metalnih kationa čije su strukture prikazane na slici 19. Struktura priređenih spojeva potvrđena je ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom. Spektroskopska karakterizacija provedena je UV/Vid i fluorimetrijskom spektroskopijom u nekoliko otapala te spektroskopskim titracijama otopina spojeva s vodenim otopinama metalnih soli i puferima različitih pH vrijednosti.



Slika 19. Struktura priređenih spojeva

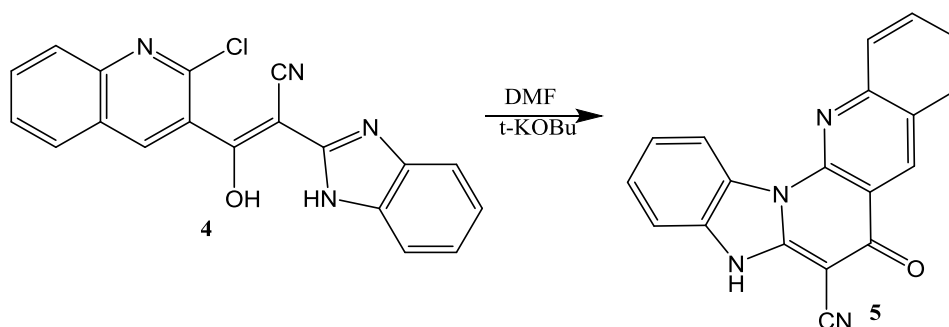
3.2. Sinteza priredenih spojeva

Za sintezu pentacikličkih derivata benzimidazola najprije je bilo potrebno prirediti 2-klorkinolin-3-karbonil-klorid **2** i 2-cijanometilbenzimidazol **3**. 2-klorkinolin-3-karbonil-klorid **2** priređen je reakcijom nukleofilne acilne supstitucije uz iskorištenje 96%. 2-cijanometilbenzimidazol **3** priređen je zagrijavanjem *o*-fenilendiamina i 2-cijanoacetamida uz iskorištenje 69%. Reakcijom kondenzacije 2-klorkinolin-3-karbonil-klorida **2** i 2-cijanometilbenzimidazola **3** uz zagrijavanje u piridinu priređen je aciklički derivat **4** čija je struktura potvrđena ¹H NMR spektroskopijom. Iskorištenje reakcije iznosilo je 77%.



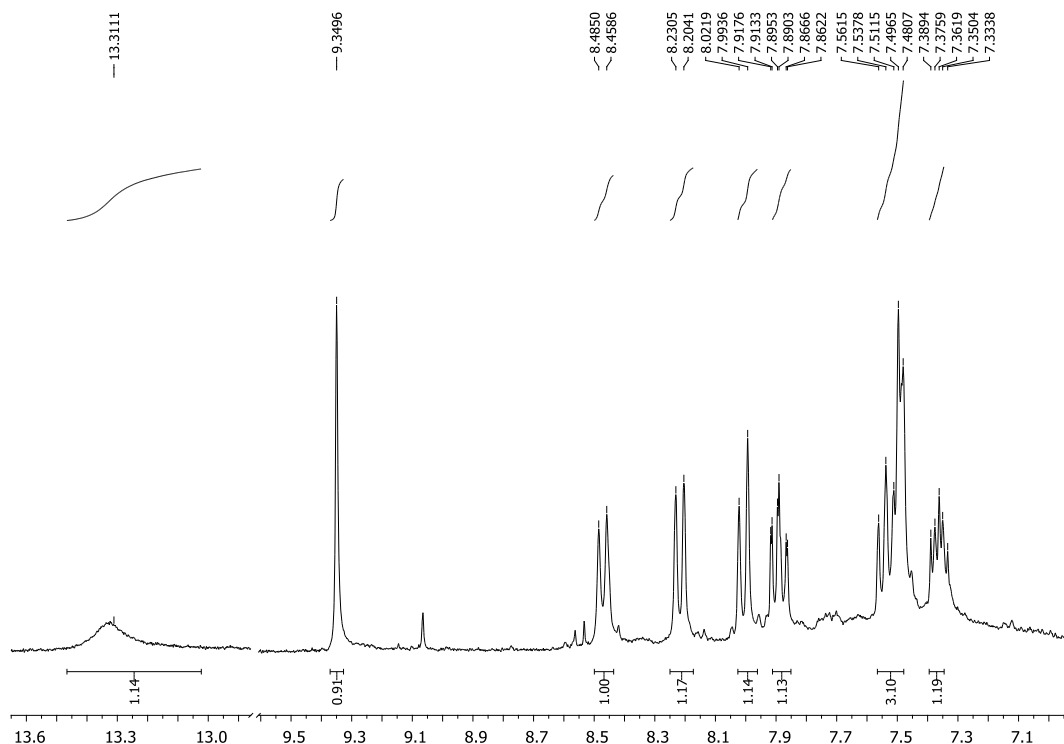
Shema 13. Sinteza spoja **4**

Termičkom ciklizacijom acikličkog derivata **4** u DMF-u u prisutnosti *t*-KOBu priređen je ciklički okso derivat **5** uz iskorištenje reakcije od 84% (shema 14).



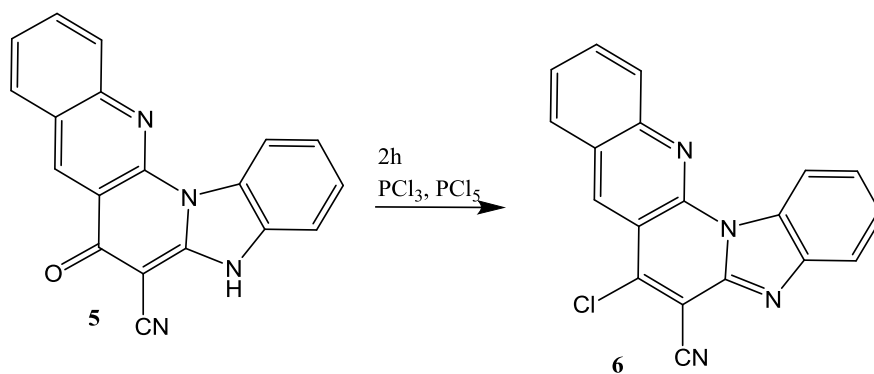
Shema 14. Sinteza spoja **5**

Na slici 20. prikazan je ¹H NMR spektar spoja **5**. U spektru je prisutan odgovarajući broj signala aromatskih protona u području od 9,34 ppm do 7,33 ppm.



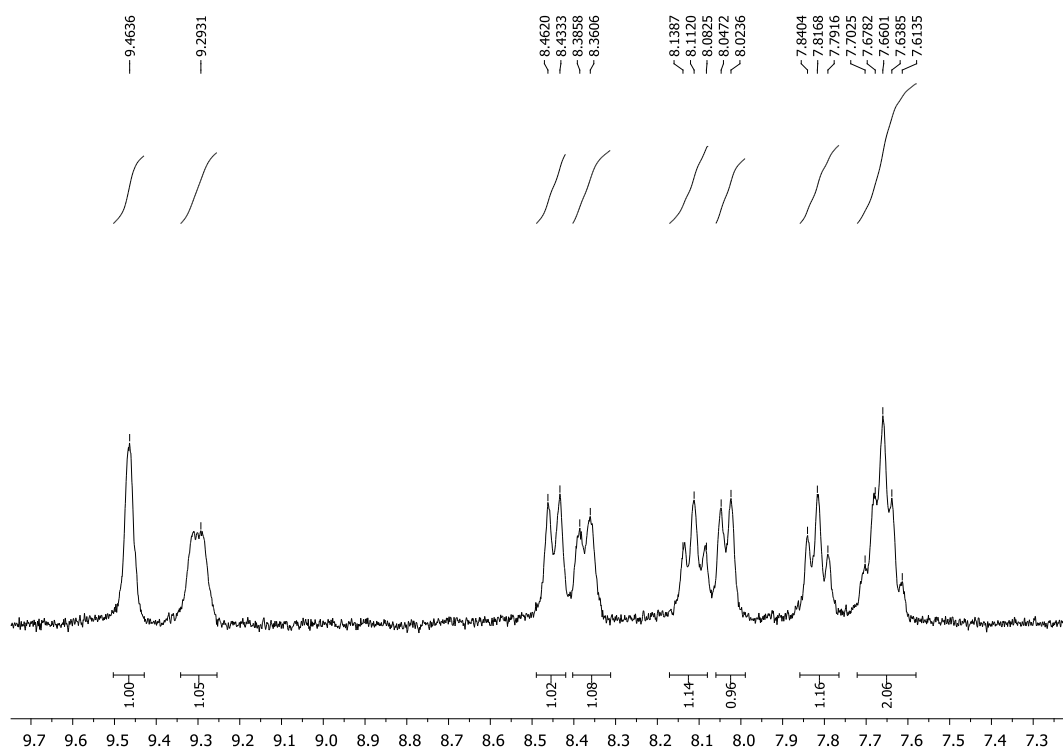
Slika 20. ^1H NMR spektar spoja **5**

Zagrijavanjem cikličkog derivata **5** s PCl_5 i POCl_3 priređen je 7-klorbenzo[*g*]benzo[4,5]imidazo[1,2-*a*][1,8]naftidrin-6-karbonitril **6** u 12%-tnom iskorištenju prema shemi 15.



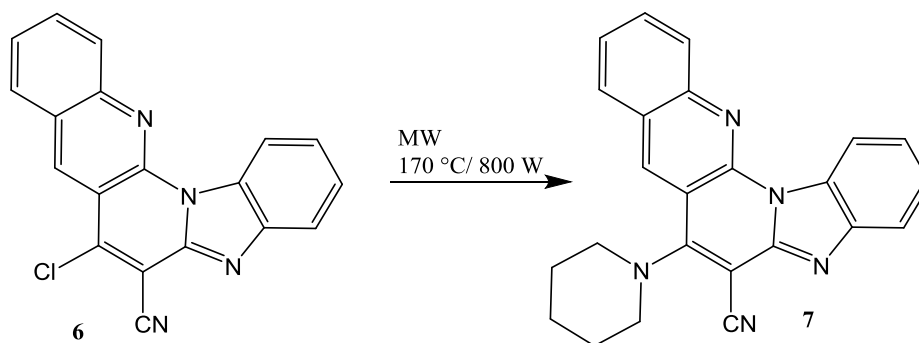
Shema 15. Sinteza spoja **6**

Struktura spoja **6** potvrđena je ^1H NMR spektrom prikazanim na slici 21. U spektru je vidljiv odgovarajući broj signala koji odgovaraju aromatskim protonima u području od 9,46 do 7,61 ppm.



Slika 21. ^1H NMR spektar spoja **6**

Sinteza ciljanog pentacikličkog amino supstituiranog derivata benzimidazola **7** provedena je nekatalitičkom aminacijom potpomognutom mikrovalovima korištenjem snage od 800 W pri temperaturi od 170°C . Iskorištenje reakcije bilo je 87%.

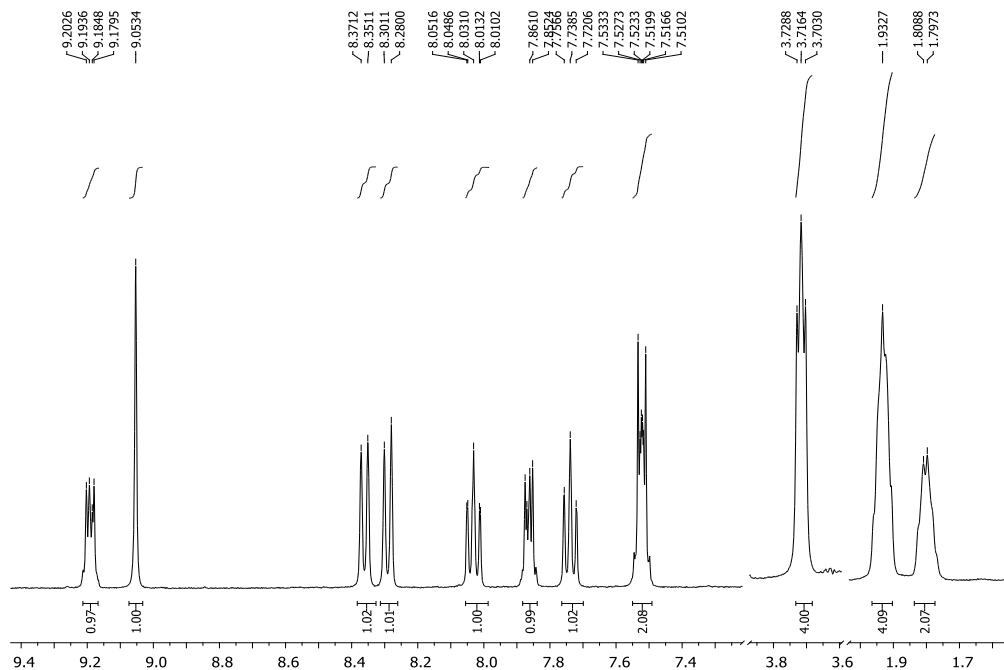


Shema 16. Sinteza spoja **7**

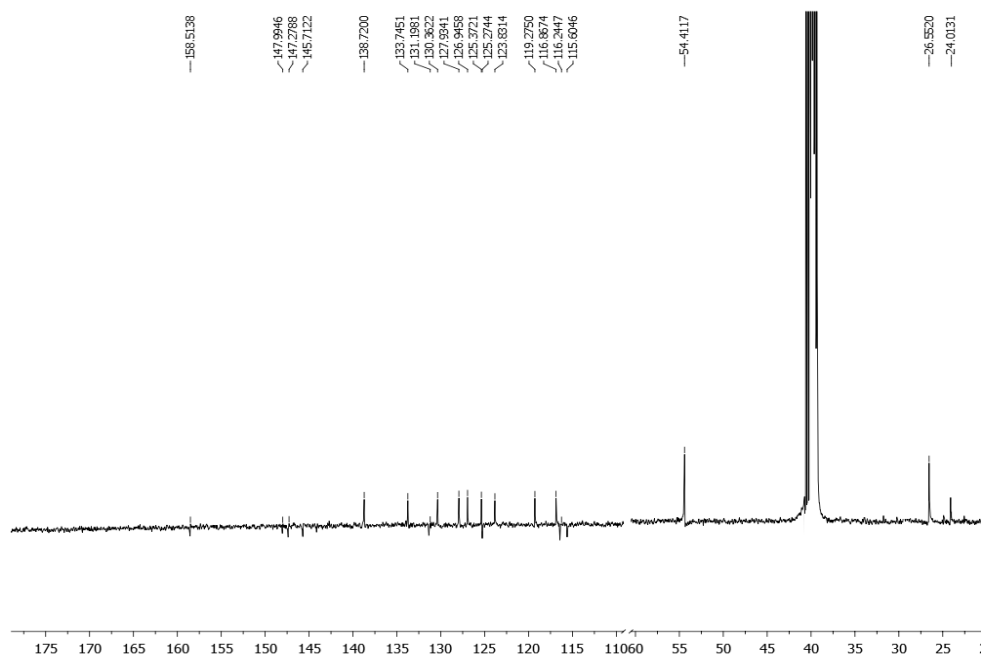
Struktura spoja **7** potvrđena je ^1H NMR i ^{13}C NMR spektroskopijom, a spektri su prikazani na slici 22. U ^1H NMR spektru u području od 3,72 do 1,79 ppm vidljiv je odgovarajući broj signala koji odgovaraju protonima piperidinske skupine, a u području od 9,20 do 7,51 ppm odgovarajući broj signala koji odgovara aromatskim protonima.

U ^{13}C NMR spektru može se uočiti odgovarajući broj signala koji odgovaraju kvaternim ugljikovim atomima kao i odgovarajući broj signala koji odgovara ugljikovim atomima CH i CH_2 skupina. Ugljikovim atomima piperidinskog prstena, odnosno CH_2 skupine odgovaraju signali na 24,01 ppm, 2 signala na 26,55 ppm i 2 signala na 54,41 ppm.

(a)



(b)

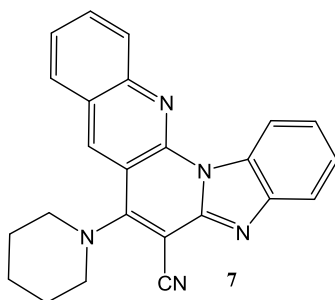


Slika 22. (a) ^1H NMR spektar spoja **7**; (b) ^{13}C NMR spektar spoja **7**

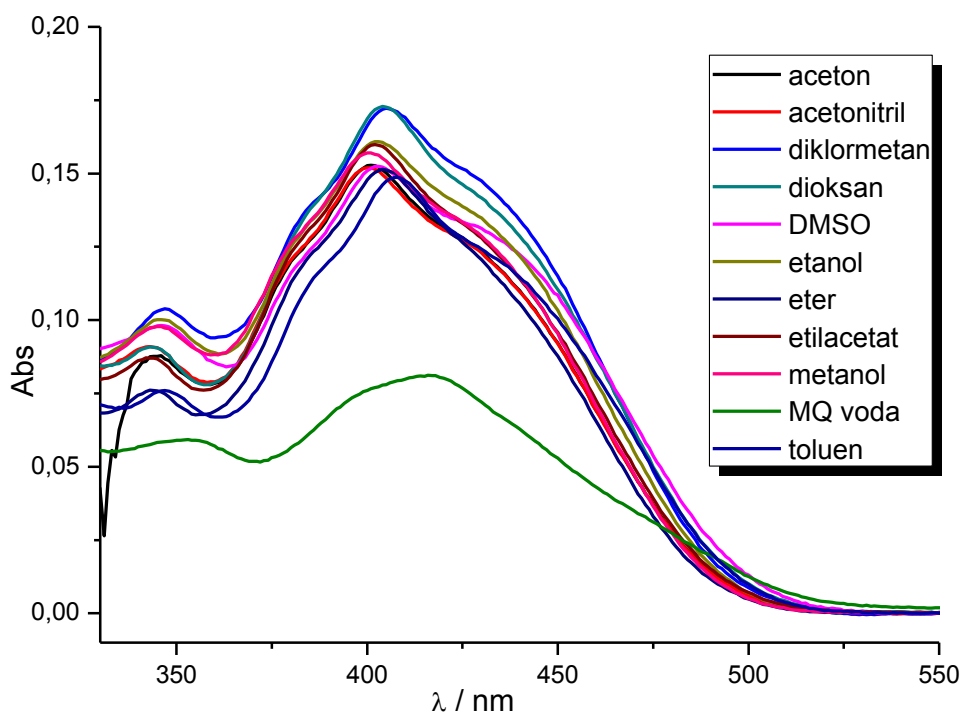
3.3. Spektroskopska karakterizacija UV/Vid spektroskopijom

3.3.1. Kvantitativni UV/Vid spektri

UV/Vid apsorpcijski spektri spoja **7** snimani su pri koncentraciji spoja od 2×10^{-5} mol/dm³ u otapalima različitih polarnosti. Na slici 24. prikazan je usporedni kvantitativni apsorpcijski spektar spoja **7**.



Slika 23. Struktura ispitivanog spoja



Slika 24. Usporedni apsorpcijski spektar spoja **7**

Usporedbom spektara spoja **7** u različitim otapalima u rasponu valnih duljina od 330 do 550 nm može se uočiti slabi utjecaj otapala različite polarnosti na spektroskopska svojstva.

Spoj 7 najveći intenzitet apsorpcije pokazuje u diklormetanu i dioksanu dok u vodi pokazuje najmanji intenzitet apsorpcije. U toluenu spoj 7 pokazuje blagi batokromni pomak maksimuma apsorpcije u odnosu na ostala otapala. U Tablici 1. prikazani su spektroskopski podaci ispitivanog spoja 7 u različitim otapalima.

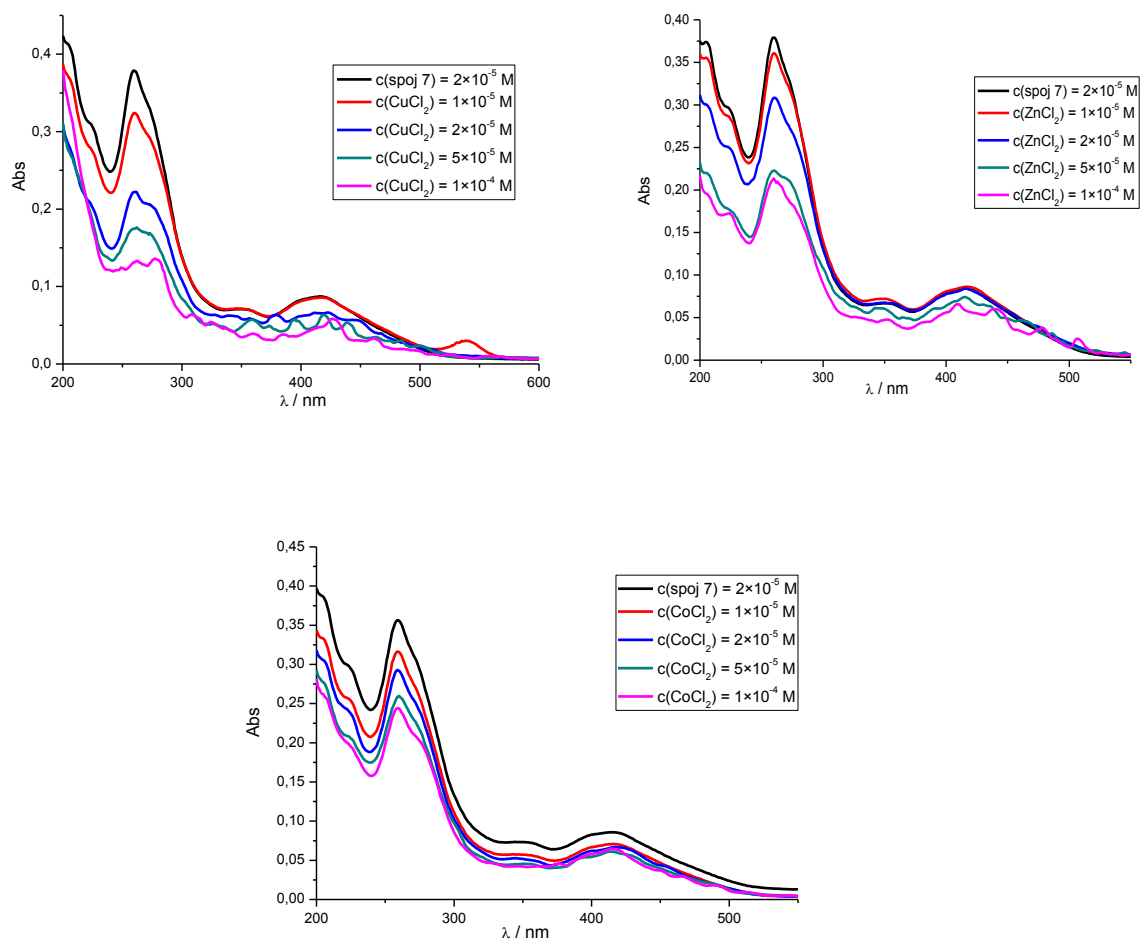
Tablica 1. UV/Vid i fluorimetrijski podaci spoja 7 u različitim otapalima

Spoj 7											
	toluen	(C ₂ H ₅) ₂ O	dioksan	EtAc	CH ₂ Cl ₂	aceton	DMSO	CH ₃ CN	EtOH	MeOH	voda
E _T (30)	33,9	34,5	36,0	40,7	38,1	42,2	45,1	45,6	51,9	55,4	63,1
λ _{max} /nm		<u>404</u>	<u>405</u>	<u>403</u>	<u>406</u>		<u>402</u>	<u>400</u>	<u>403</u>	<u>401</u>	
	<u>408</u>	380	382	381	382		379	381	382	379	<u>414</u>
	347	344	342	344	345	<u>401</u>	346	342	346	345	352
ε × 10 ³ (dm ³ mol ⁻¹ cm ⁻¹)											
		7,7	8,9	8,0	8,7		7,8	7,7	8,2	7,9	4,0
	7,4	5,6	6,5	6,1	6,6	7,6	6,0	6,4	6,5	6,5	2,9
λ _{emis} /nm											
		3,8	4,7	4,4	5,5	4,4	5,1	4,5	5,0	4,7	19,5
		32,2	36,2	35,0	38,4		3,2	34,3	37,5	36,4	
λ _{emis} /nm	548	546	555	553	553	555	565	556	544	541	567
Rel. Fluo. Int.	785	827	530	519	519	252	17	211	74	50	44

3.3.2. UV/Vid spektroskopske titracije s otopinama metalnih kationa

Spektroskopske titracije s vodenim otopinama metalnih kationa provedene su kako bi se ispitala mogućnost primjene spoja 7 kao senzora za detekciju metalnih kationa u otopinama. Titracije s vodenim otopinama CuCl₂, ZnCl₂ i CoCl₂ provedene su kod koncentracije spoja od 2 × 10⁻⁵ mol/dm³ uz dodatak određenih koncentracija metalnih soli (1 × 10⁻⁵ mol/dm³, 2 × 10⁻⁵ mol/dm³, 5 × 10⁻⁵ mol/dm³, 1 × 10⁻⁴ mol/dm³).

Slika 25. prikazuje apsorpcijske krivulje titracije pentacikličkog supstituiranog derivata benzimidazola **7** s metalnim solima.



Slika 25. Apсорpcijska krivulja ispitivanja interakcije spoja **7** s metalnim solima CuCl_2 , ZnCl_2 i CoCl_2

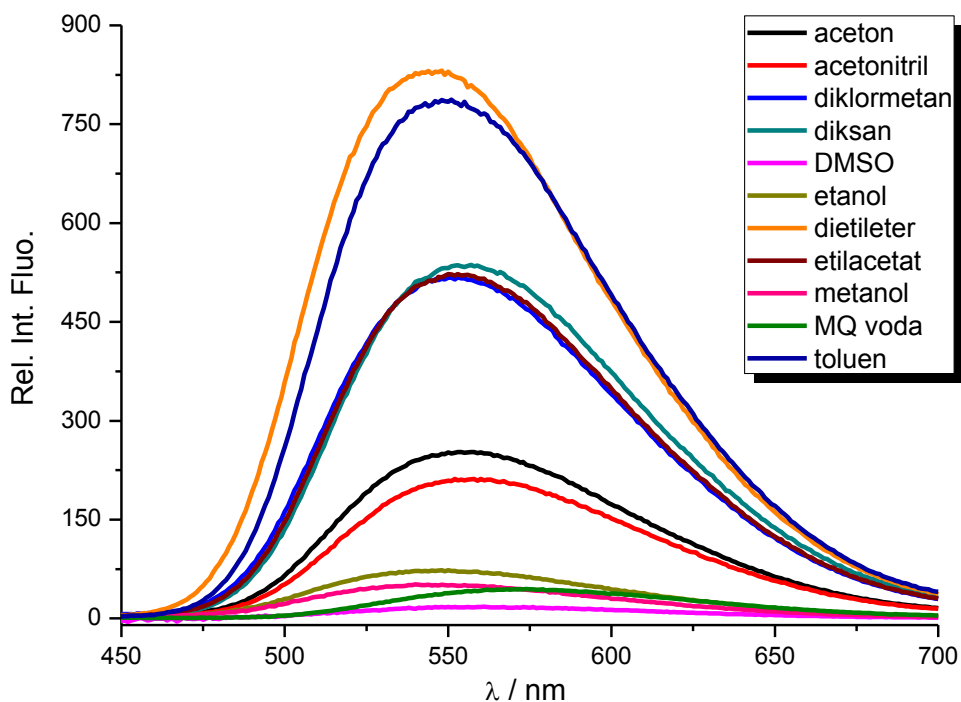
Iz dobivenih krivulja vidljivo je da prilikom interakcije spoja **7** s Cu^{2+} kationima dolazi do smanjenja absorbancije spoja s porastom koncentracije metalnih iona do koncentracije $2 \times 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$. Daljnjim rastom koncentracije metalnih iona prema $1 \times 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$ vidljiv je nepravilan izgled krivulje što može ukazivati na taloženje spoja. Prilikom vezanja Zn^{2+} kationa vidljivo je smanjenje absorbancije spoja s porastom koncentracije metalnih iona do $5 \times 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$. Daljnjim rastom koncentracije metalnih iona prema $1 \times 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$ vidljiv je nepravilan izgled krivulje što također može ukazivati na taloženje.

Vežanjem Co^{2+} iona na spoj **7**, također dolazi do smanjenja absorbancije spoja s porastom koncentracije metalnih iona do $1 \times 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$.

3.4. Fluorimetrijska spektroskopija

3.4.1. Kvantitativni emisijski spektri

Zbog velike osjetljivosti metode, fluorimetrijska ispitivanja moguće je provesti kod vrlo niskih koncentracija. Fluorimetrijski emisijski spektri spoja **7** snimani su pri koncentraciji $1 \times 10^{-6} \text{ mol/dm}^3$ u različitim otapalima. Na slici 26. prikazan je usporedni kvantitativni emisijski spektar spoja **7**.



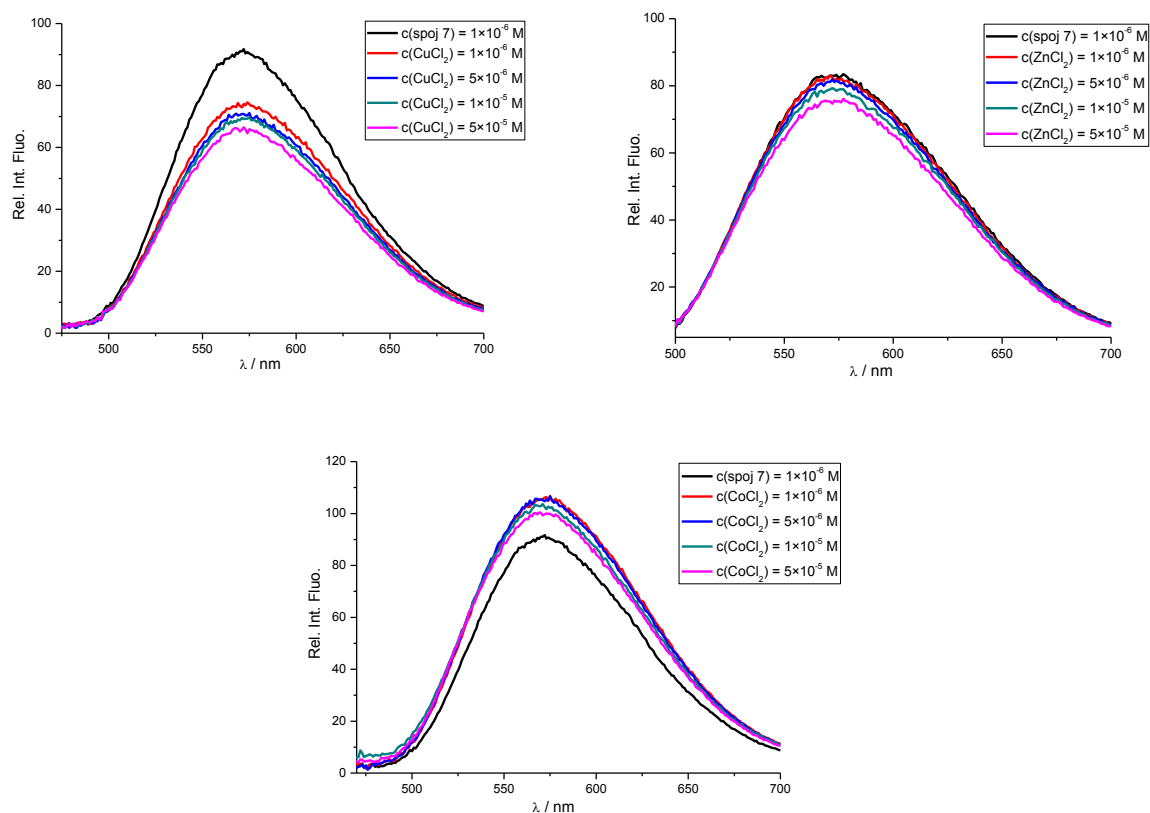
Slika 26. Usporedni emisijski spektar spoja **7**

Usporedbom emisijskih spektara spoja **7** u različitim otapalima u rasponu valnih duljina od 450 do 700 nm vidljiv je hiperkromni pomak intenziteta fluorescencije koji raste prema sljedećem redoslijedu: DMSO < MQ voda < metanol < etanol < acetonitril < aceton < diklormetan < etilacetat < dioksan < toluen < dietil-eter.

Najizraženiji intenzitet fluorescencije spoj **7** pokazuje u najmanje polarnim otapalima. Također, može se uočiti da porastom polarности otapala dolazi do blagog batokromnog pomaka maksimuma.

3.4.2. Fluorimetrijske spektroskopske titracije s otopinama metalnih kationa

Fluorimetrijske spektroskopske titracije spoja **7** s vodenim otopinama CuCl_2 , ZnCl_2 i CoCl_2 provedene su kod vrlo niskih koncentracija $1 \times 10^{-6} \text{ mol/dm}^3$ uz dodatak određenih koncentracija metalnih soli ($1 \times 10^{-6} \text{ mol/dm}^3$, $5 \times 10^{-6} \text{ mol/dm}^3$, $1 \times 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$, $5 \times 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$). Slika 27. prikazuje emisijske krivulje titracije spoja **7** s različitim metalnim solima.



Slika 27. Emisijska krivulja ispitivanja interakcije spoja **7** s metalnim solima CuCl_2 , ZnCl_2 i CoCl_2

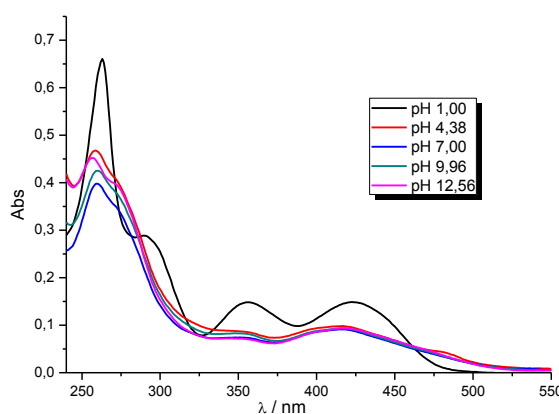
Iz dobivenih rezultata može se zaključiti da spoj **7** pokazuje najveću promjenu intenziteta fluorescencije prilikom vezanja Cu^{2+} iona pri čemu dolazi do hipokromnog pomaka intenziteta emisije s porastom koncentracije metalnih iona.

Prilikom vezanja Zn^{2+} iona na spoj **7** dolazi do najmanje promjene intenziteta fluorescencije s porastom koncentracije uz hipokromni pomak. Vezanjem Co^{2+} iona na spoj **7** dolazi do porasta intenziteta fluorescencije, tj. hipokromnog pomaka s porastom koncentracije što također upućuje na afinitet spoja **7** prema Co^{2+} ionima, ali nije izražen koliko i za Cu^{2+} ione.

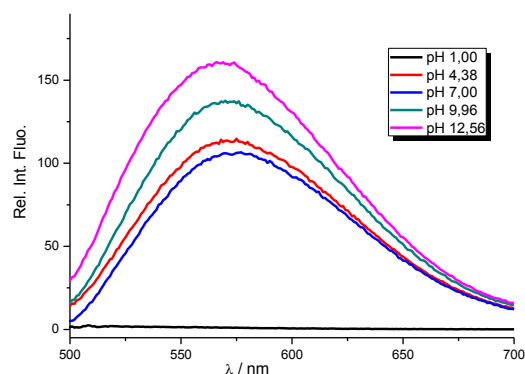
3.5. Utjecaj pH na spektroskopska svojstva spoja

Korištenjem UV/Vid i fluorimetrijske spektroskopije ispitana je promjena spektroskopskih svojstava spoja **7** ovisno o pH vrijednosti otopine kako bi se ispitala njihova mogućnost primjene kao optičkih pH senzora. Snimljeni su apsorpcijski i emisijski spektri spoja **7** otopinama univerzalnih pufera različitih pH vrijednosti prikazani na slici 28.

a)



b)



c)



Slika 28. (a) Apsorpcijski spektar spoja **7** u otopinama univerzalnog puferarazličitih pH vrijednosti; (b) emisijski spektar spoja **7** u otopinama univerzalnog pufera različitih pH vrijednosti; (c) otopina spoja **7** u univerzalnom puferu pH vrijednosti 7,00 (lijevo) i 1,00 (desno).

Iz dobivenih krivulja apsorpcijskog spektra, u promatranom području valnih duljina od 250 do 550 nm, može se uočiti hiperkromni pomak intenziteta apsorpcije te pojava dva nova maksimuma apsorpcije na 355 i 425 nm pri pH 1,00. Pri ostalim pH vrijednostima nema značajnih promjena u apsorpcijskom spektru spoja **7**.

U emisijskom spektru vidljiv je izraženi hipokromni pomak intenziteta fluorescencije pri pH= 1,00 uz potpuno gašenje fluorescencije. Pri višim vrijednostim pH dolazi do povećanja intenziteta fluorescencije, tj. hiperkromnog pomaka koji je najizraženiji pri pH= 12,56. Pri pH vrijednostima 12,56 i 10,00 može se uočiti i hipsokromni pomak maksimuma intenziteta fluorescencije u odnosu na maksimum emisije pri pH 7,00.

4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. Opće napomene

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

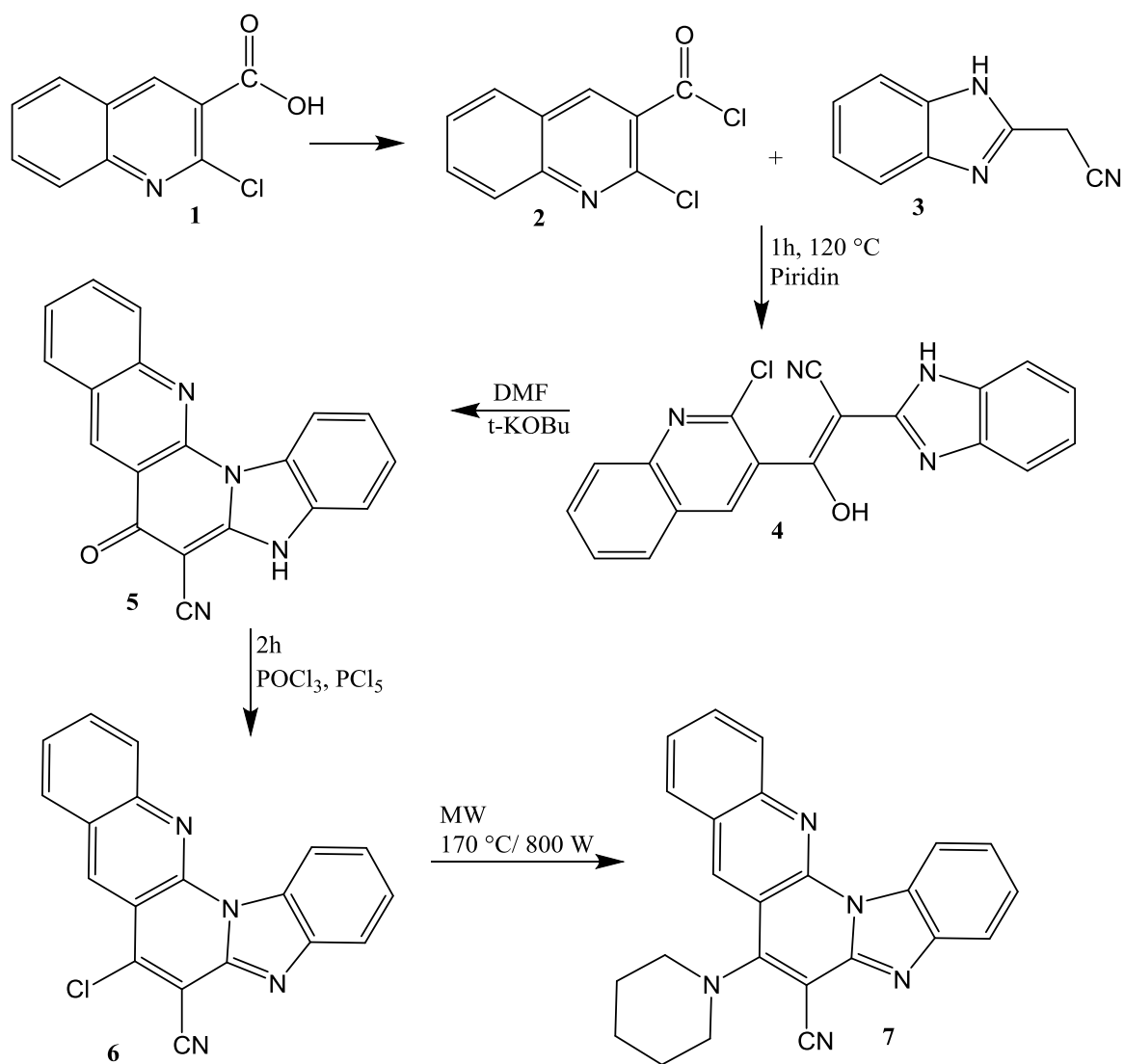
Tališta priređenih spojeva određena su na SMP11 Bibby i Büchi 535 aparatu te nisu korigirana.

UV/Vid apsorpcijski spektri snimljeni su na Varian Cary 50 spektrofotometru. Fluorescencijski emisijski spektri snimljeni su na Cary Eclipse spektrofotometru. U oba slučaja korištene su kvarcne kivete promjera 0,5 cm te volumena 3 cm³.

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

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

4.2. Priprava pentacikličkih derivata benzimidazola



Shema 17.

4.2.1. Priprava 2-klorkinolin-3-karbonil-klorida 2

U okruglu tikvicu stavi se 1,00 g (4,82 mmol) 2-klorkinolin-3-karboksilne kieline **1** i 50 mL apsolutnog toluena. Pomoću lijevka za dokapavanje doda se 3,47 mL (48,00 mmol) SOCl₂ uz hlađenje na ledenoj kupelji. Reakcijska smjesa refluksira preko noći na 110 °C. Nakon završetka reakcije produkt se upari pod sniženim tlakom te se ispere suhim toluenom. Dobiveno je 1,05 g (96,40%) 2-klorkinolin-3-karbonil-klorida **2**.

4.2.2. Priprava 2-cijanometilbenzimidazola 3

U okruglu tikvicu stavi se 5,00 g (46,00 mmol) *o*-fenilendiamina i 7,62 g (89,00 mmol) 2-cijanoacetamida. Reakcijska smjesa se, uz miješanje, zagrijava 40 minuta na temperaturi 185 °C. Nakon prekristalizacije iz 25%-tne otopine etanola dobiveno je 4,99 g (69,00%) smeđeg kristaliničnog produkta.

4.2.3. Priprava 2-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)-3-hidroksi 3-(2-klorkinolin-3-il)acetonitrila 4

U okruglu tikvicu stavi se 1,05 g (4,64 mmol) 2-klorkinolin-3-karbonil-klorida **2**, 0,73 g (4,64 mmol) 2-cijanometilbenzimidazola **3** i 6 mL piridina. Reakcijska smjesa refluksira 1,5 h na 110 °C. U hladnu reakcijsku smjesu doda se voda, a nastali produkt se profiltrira. Dobiveno je 1,24 g (76,60%) smeđeg praškastog produkta.

4.2.4. Priprava 7-okso-5,7-dihidroksibenzo[*g*]benzo[4,5]imidazo[1,2-*a*][1,8]naftidrin-6-karbonitrila 5

Reakcijska smjesa 1,24 g (3,56 mmol) **4**, 1,20 g (11,00 mmol) *t*-KOBu i 7 mL DMF-a refluksira 2 h na 150 °C. Po završetku reakcije smjesa se upari do suha, doda mala količina EtOH i CH₂Cl₂ i ponovno upari. Doda se H₂O te se dobiveni talog profiltrira. Dobiveno je 0,93 g (83,70%) svijetlo smeđeg praškastog produkta. T.t. >300 °C.

¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 13,31 (šs, 1H, OH), 9,35 (s, 1H, H_{arom.}), 8,47 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, H_{arom.}), 8,22 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, H_{arom.}), 8,01 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, H_{arom.}), 7,88 (dt, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 1,4 Hz, 1H, H_{arom.}), 7,57 – 7,48 (m, 3H, H_{arom.}), 7,38 – 7,33 (m, 1H, H_{arom.}); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO) = slabo topljivo

4.2.5. Priprava 7-klorbenzo[*g*]benzo[4,5]imidazo[1,2-*a*][1,8]naftidrin-6-karbonitrila 6

U okruglu tikvicu stavi se 0,93 g (2,98 mmol), 0,35 mg (1,70 mmol) PCl_5 i 17 mL POCl_3 . Reakcijska smjesa refluksira 2 h na temperaturi 110 °C. Po završetku reakcije smjesa se upari do suha, doda se voda, a nastali talog se profiltrira. Dobiveni spoj se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ kao eluens. Dobiveno je 0,12 g (12,30%) žutog praškastog produkta. T.t. 293 – 295 °C.

^1H NMR (300 MHz, DMSO): δ 9,46 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 9,29 (šs, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,45 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,37 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,11 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,04 (d, $J = 7,1$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,82 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,71 – 7,60 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO): δ 147,8, 145,0, 144,5, 143,9, 143,3, 139,5, 134,7, 131,3, 130,4, 128,2, 127,64, 126,2, 125,8, 125,4, 120,5, 117,3, 115,8, 113,8, 103,7.

4.2.6. Priprava 7-(piperidin-1-il)benzo[*g*]benzo[4,5]imidazo[1,2-*a*][1,8]naftidrin-6-karbonitrila 7

U reakcijsku posudu za mikrovalnu sintezu stavi se 0,06 g (0,18 mmol) **6** i 126 μL (1,27 mmol) piperidina te se smjesa podvrgne mikrovalnom zračenju snage 800 W, na temperaturi od 170 °C u trajanju 4 h. Nastali talog se profiltrira. Dobiveno je 0,06 g (87,00%) zlatno-žutog praškastog produkta. T.t. >300 °C.

^1H NMR (400 MHz, DMSO): δ 9,19 (dd, $J_1 = 6,4$ Hz, $J_2 = 2,9$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 9,05 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,36 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,29 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,03 (t, $J = 8,3$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,86 (dd, $J_1 = 6,3$ Hz, $J_2 = 2,8$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,74 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,54 – 7,49 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 3,72 (t, $J = 5,2$ Hz, 4H, CH_2), 1,93 (šs, 4H, CH_2), 1,80 (šs, 2H, CH_2); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO): δ 158,5, 158,5, 147,9, 147,4, 145,7, 144,2, 138,7, 133,7, 131,3, 130,4, 127,9, 126,9, 123,8, 119,3, 116,9, 116,4, 115,7, 54,4 (2C), 26,4 (2C), 24,1.

5. ZAKLJUČAK

- U ovom radu priređeni su sljedeći spojevi 2-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)-3-hidroksi 3-(2-klorkinolin-3-il)acetonitril **4**, 7-klorbenzo[*g*]benzo[4,5]imidazo[1,2-*a*][1,8]naftidrin-6-karbonitril **6**, 7-(piperidin-1-il)benzo[*g*]benzo[4,5]imidazo[1,2-*a*][1,8]naftidrin-6-karbonitril **7**.
- Reakcijom nukleofilne acilne supstitucije 2-klorkinolin-3-karboksilne kiseline **1** i SOCl₂ u apsolutnom toluenu priređen je 2-klorkinolin-3-karbonil-klorid **2**.
- Zagrijavanjem *o*-fenilendiamina i 2-cijanoacetamida priređen je 2-cijanometilbenzimidazol **3**.
- Reakcijom kondenzacije 2-klorkinolin-3-karbonil-klorida **2** i 2-cijanometilbenzimidazola **3** uz zagrijavanje u toluenu dobiven je spoj 2-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)-3-hidroksi 3-(2-klorkinolin-3-il)acetonitril **4**.
- Termičkom ciklizacijom acikličkog derivata **4** u DMF-u u prisutnosti *t*-KOBu dobiven je 7-okso-5,7-dihidroksibenzo[*g*]benzo[4,5]imidazo[1,2-*a*][1,8]naftidrin-6-karbonitril **5**.
- Zagrijavanjem spoja **5** s PCl₅ i POCl₃ priređen je glavni prekursor, klor supstituirani ciklički derivat **6**.
- Reakcijom nekatalitičke aminacije potpomognute mikrovalovima priređen je ciljani amino supstituirani pentaciklički supstituirani derivat benzimidazola **7**.
- Strukture svih priređenih spojeva potvrđene su korištenjem ¹H i ¹³C NMR spektroskopije.
- Spektroskopska UV/Vid i fluorimetrijska karakterizacija spoja **7** provedena je u 10 otapala različitih polarnosti.
- Moguća primjena spoja **7** kao senzora za detekciju metalnih kationa ispitana je UV/Vid i fluorimetrijskim titracijama vodenih otopina spojeva s otopinama metalnih soli CuCl₂, ZnCl₂ i CoCl₂.
- Iz rezultata UV/Vid i fluorimetrijske spektroskopije može se zaključiti da spoj **7** pokazuje najizraženiji afinitet prema Cu²⁺ ionima.
- Moguća primjena spoja **7** kao senzora za detekciju pH ispitana je UV/Vid i fluorimetrijskim titracijama u puferima različitih pH vrijednosti 1,00, 4,38, 7,00, 9,96 i 12,56.
- Iz rezultata pH titracija može se zaključiti da pri pH= 1,00 dolazi do gašenja fluorescencije dok u slabo kiselom i lužnatom području spoj **7** fluorescencira.

6. LITERATURA

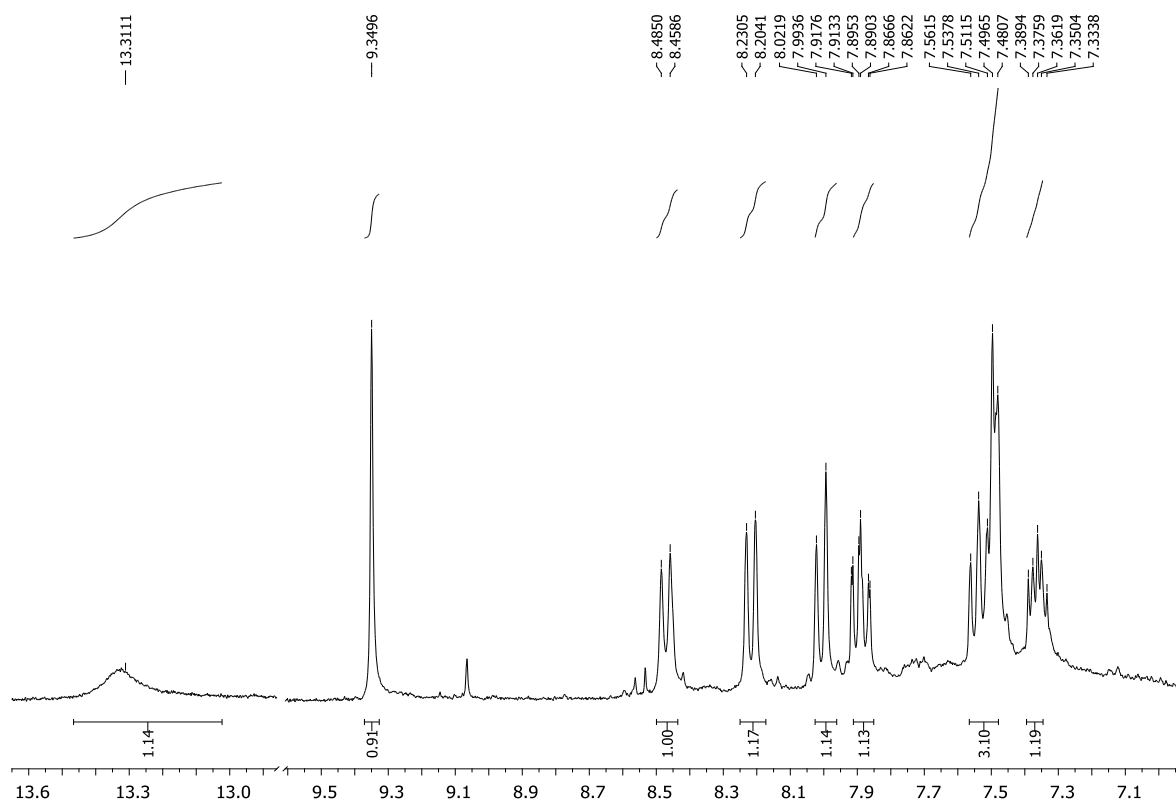
1. J. McMurry, *Fundamentals of Organic Chemistry, International 7th Edition*, Cengage Learning, CA, SAD, 2010., 417.
2. M. Hranjec, M. Kralj, I. Piantanida, M. Sedić, L. Šuman, K. Pavelić i suradnici, *Journal of Medicinal Chemistry* **50** (2007) 5696-711.
3. H. Göker, S. Özden, S. Yildiz, DW. Boykin, *European Journal of Medicinal Chemistry* **40** (2005) 1062-1069.
4. K. Starčević, M. Kralj, K. Ester, I. Sabol, M. Grce, K. Pavelić i ostali, *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **15** (2007) 4419-4426.
5. K. Hirano, Y. Oderaotoshi, S. Minataka, M. Komatsu, *Chemistry Letters* (2001) 1262-1263.
6. R. Langer, *Science* **293** (2001) 58-59.
7. DY Lee, N. Singh, DO Jang *Tetrahedron Letters* **51** (2010) 1103-1106.
8. J. Jeong, J. Yoon, *Inorganica Chimica Acta* **381** (2012) 2-14.
9. R.W. Catterall, *Chemical sensors*, Oxford University Press, Oxford, UK, 1997., 4-30.
10. A. Hulanicki, S. GŁab, F. Ingman, *Pure & Appl. Chem.* **63** (1991) 1247-1250.
11. <https://www.intechopen.com/books/progresses-in-chemical-sensor/introductory-chapter-what-is-chemical-sensor->
12. D. Ahuja, D. Parande, *Journal of Scientific Research and Reviews* **1** (2012) 060-068.
13. D.Wencel, T. Abel, C. McDonagh, *Analytical Chemistry* **86** (2014) 15-29.
14. <https://www.intechopen.com/books/advances-in-chemical-sensors/optical-chemical-sensors-design-and-applications>
15. A.P. de Silva, H.Q. Nimal Gunaratne, T. Gunnlaugsson, A. J. M. Huxley, C. P. McCoy, J. T. Rademacher, T. E. Rice, *Chemical Reviews* **97** (1997) 1515-1566.
16. M. Sarkar, S. Banthia, A. Patli, M. B. Ansari, A. Samanta, *New Journal of Chemistry* **30** (2006) 1557-1560.
17. S. Banthia, A. Samanta, *The Journal of Physical Chemistry B* **110** (2006) 6437-6440.
18. Z. Zhou, M. Yu, H. Yang, K. Huang, F. Li, T. Yi, C. Huang, *Chemical Communications* (2008) 3387-389.
19. O. Doebner, W. Von Miller, D.T. Ber, *Chem. Ges* **34** (1996) 6552-6555.
20. X. Meng, S. Wang, M. Zhu, *Quinoline-Based Fluorescence Sensors, Molecular Photochemistry- Various Aspects* (2012)
21. Y. Matsubara, S. Hirakawa, Y. Yamaguchi, Z. Yoshida, *Angew Angewandte Chemie International Edition* **50** (2011) 7670-7673.

22. G. Guerrin, M. Taddei, F. Ponticelli, *The Journal of Organic Chemistry* **76** (2011) 7597-7601.
23. Xu. Z., Yoon J., *Spring DR. Fluorescent chemosensors for Zn²⁺. Chemical Society Review* **39** (2010) 1996-2006.
24. C. J. Frederickson, E. J. Kasarskis, D. Ringo, R. E. Frederickson, *Journal of Neuroscience Methods* **20** (1987) 91-103.
25. P. D. Zalewski, I. J. Forbes, R. Borlinghaus, W. H. Betts, S. F. Lincoln, A. D. Ward, *Chemistry & Biology* **1** (1994) 153-161.
26. Y. Zhang, X. F. Guo, W. X. Si, L. Jia, X. H. Qian, *Organic Letters* **10** (2008) 473-476.
27. E. M. Nolan, J. Jaworski, K.-I. Okamoto, Y. Hayashi, M. Sheng, S. J. Lippard, *Journal of the American Chemical Society* **127** (2005) 16812-16823.
28. L. Xue, H.-H. Wang, H.-J. Wang, H. Jiang, *Inorganic Chemistry* **47** (2008) 4310-4318.
29. L. Xue, C. Liu, H. Jiang, *Chemical Communications* (2009) 1061-1063.
30. X. Y. Zhou, B. R. Yu, Y. L. Guo, X. L. Tang, H. H. Zhang, W. S. Liu, *Inorganic Chemistry* **49** (2010) 4002-4007.
31. X. -Y. Chen, J. Shi, Y. -M. Li, F. -L. Wang, X. Wu, Q. -X. Guo, L. Liu, *Organic Letters* **11** (2009) 4426-4429.
32. S. Aoki, K. Sakurama, N. Matsuo, Y. Yamada, R. Takasawa, S. Tanuma, M. Shiro, K. Takeda, E. Kimura, *Chemistry –A European journal* **12** (2006) 9066-9080.
33. Z. -C. Liu, B. -D. Wang, Z. -Y. Yang T. -R. Li, Y. Li, *Inorganic Chemistry Communications* **13** (2010) 606-608.
34. Y. Shiraishi, C. Ichimura, T. Hirai, *Tetrahedron Letters* **48** (2007) 7769-7773.
35. L. Xue, Q. Liu, H. Jiang, *Organic Letters* **11** (2009) 3454-3457.
36. L. Xue, G. P. Li, Q. Liu, H. H. Wang, C. Liu, X. Ding, S. He, H. Jiang, *Inorganic Chemistry* **50** (2011) 3680-3690.
37. X. -L. Tang, X. -H. Peng, W. Dou, J. Mao, J. -R. Zheng, W. -W. Qin, W. -S. Liu, J. Chang, X. -J. Yao, *Organic Letters* **10** (2008) 3653-3656.
38. E. Ballesteros, D. Moreno, T. Gomez, T. Rodriguez, J. Rojo, M. Garcia- Valverde, T. Torroba, *Organic Letters* **11** (2009) 1269-1272.
39. H. -H. Wang, L. Xue, Y. -Y. Qian, H. Jiang, *Organic Letters* **12** (2010) 292-295.
40. Z. -X. Han, H. -Y. Luo, X. -B. Zhang, R. -M. Kong, G. -L. Shen, R. -Q. Yu, *Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **72** (2009) 1084-1088.
41. K. C. Song, J. S. Kim, S. M. Park, K. -C. Chung, S. Ahn, S. -K. Chang, *Organic Letters* **8** (2006) 3413-3416.

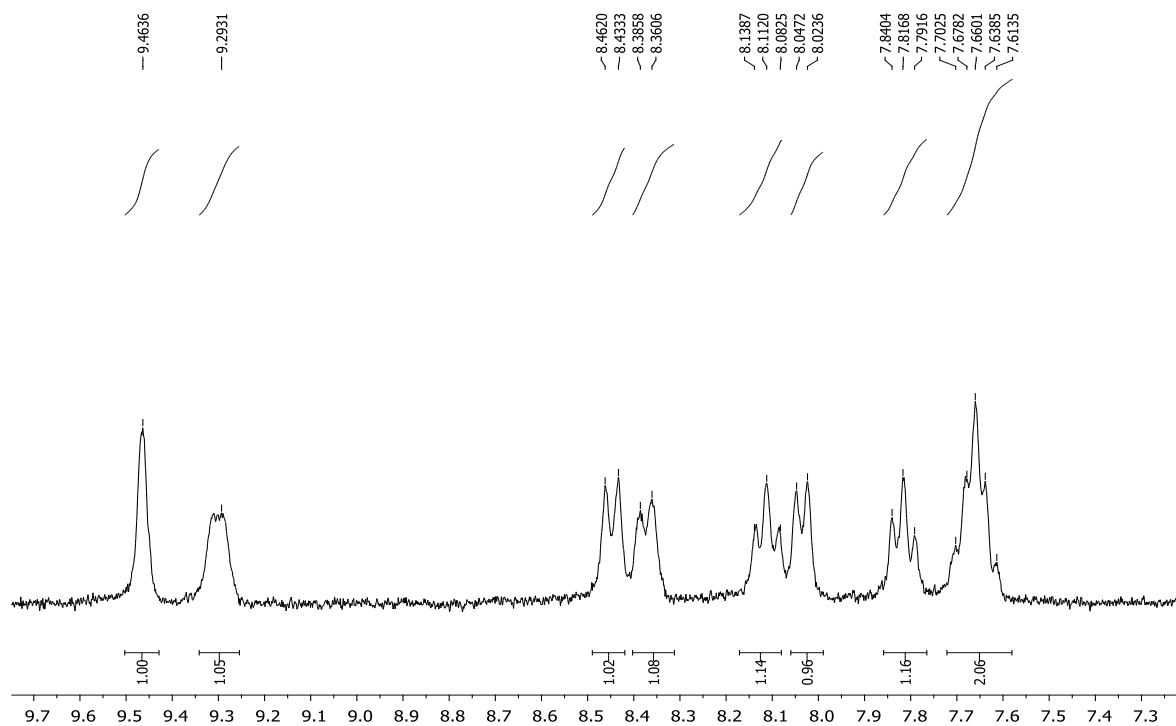
42. Z. Zhou, M. Yu, H. Yang, K. Huang, F. Li, T. Yi, C. Huang, *Chemical Communications* (2008) 3387-3389.
43. S. X. Wang, X. M. Meng, M. Z. Zhu, *Tetrahedron Letters* **52** (2011) 2840-2843.
44. M. Hranjec, E. Horak, M. Tireli, G. Pavlović, G. Karminski- Zamola, *Dyes and Pigments* **95** (2012) 644-656.
45. M. Hranjec, E. Horak, D. Babić, S. Pavljanin, Z. Srdović, I. Murković Steinberg, R. Vianello, N. Perin, *New J. Chem.* **41** (2017) 358-371.

7. PRILOZI

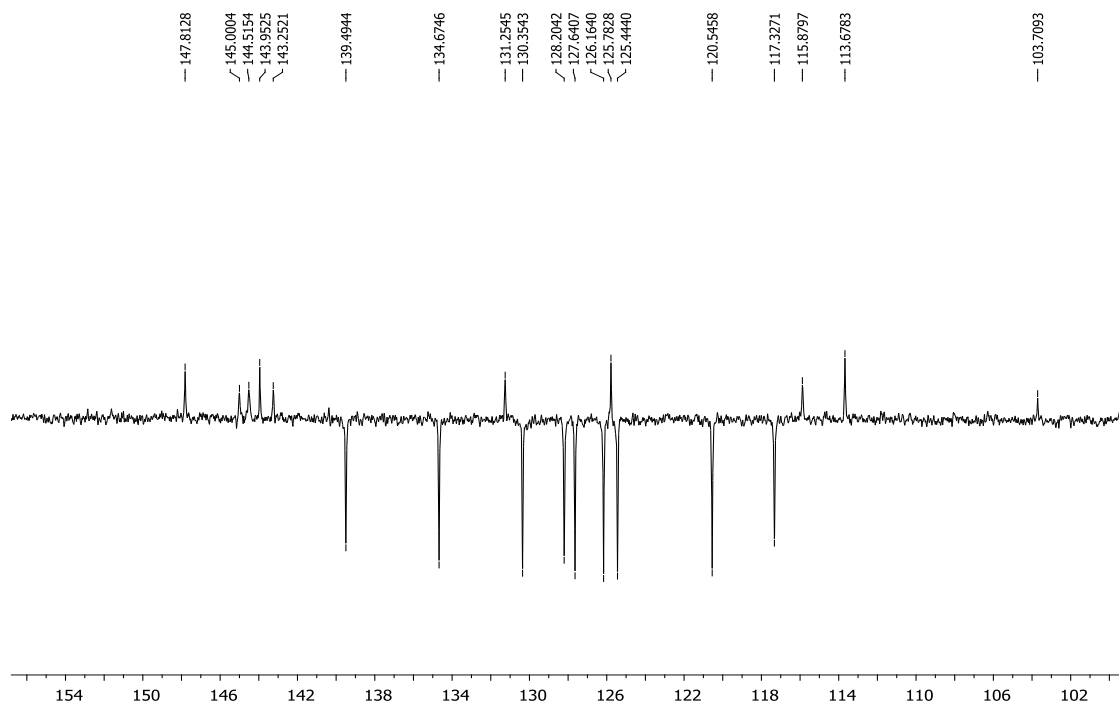
Prilog 1. ^1H NMR spektar 7-okso-5,7-dihidroksibenzo[g]benzo[4,5]imidazo[1,2-*a*][1,8]naftidrin-6-karbonitrila **5**



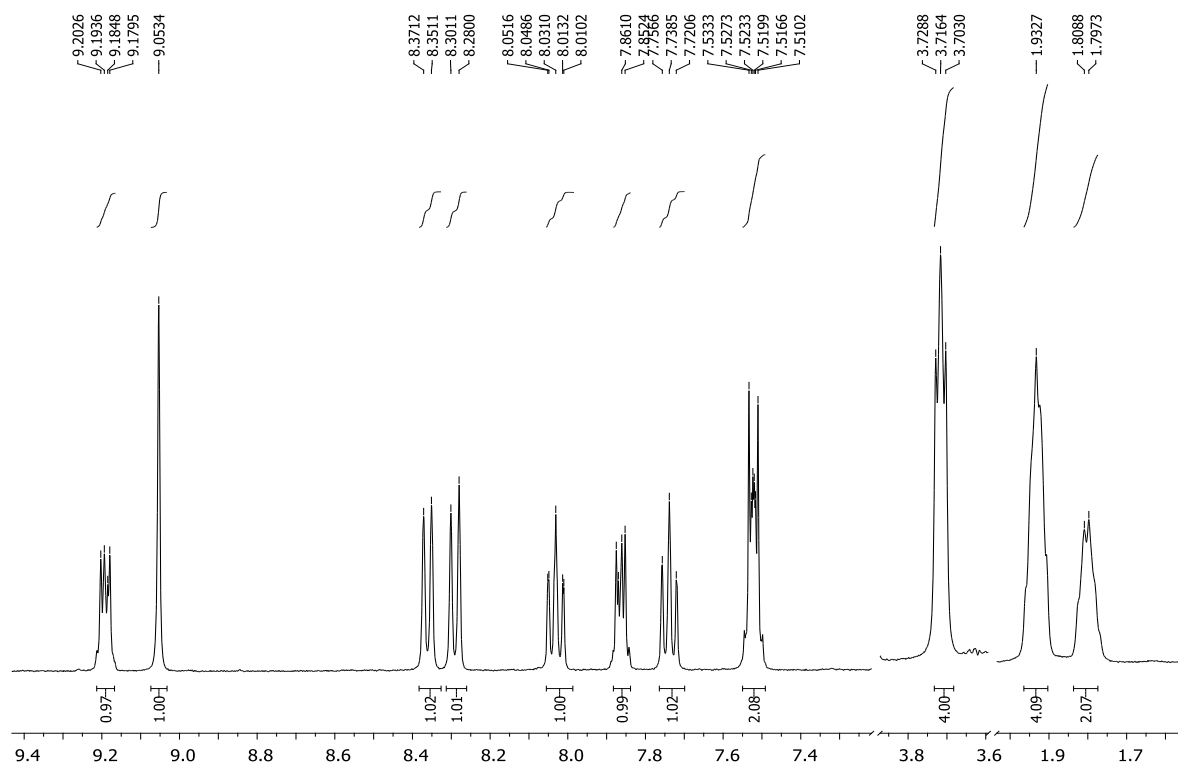
Prilog 2. ^1H NMR spektar 7-klorbenzo[g]benzo[4,5]imidazo[1,2-*a*][1,8]naftidrin-6-karbonitrila **6**



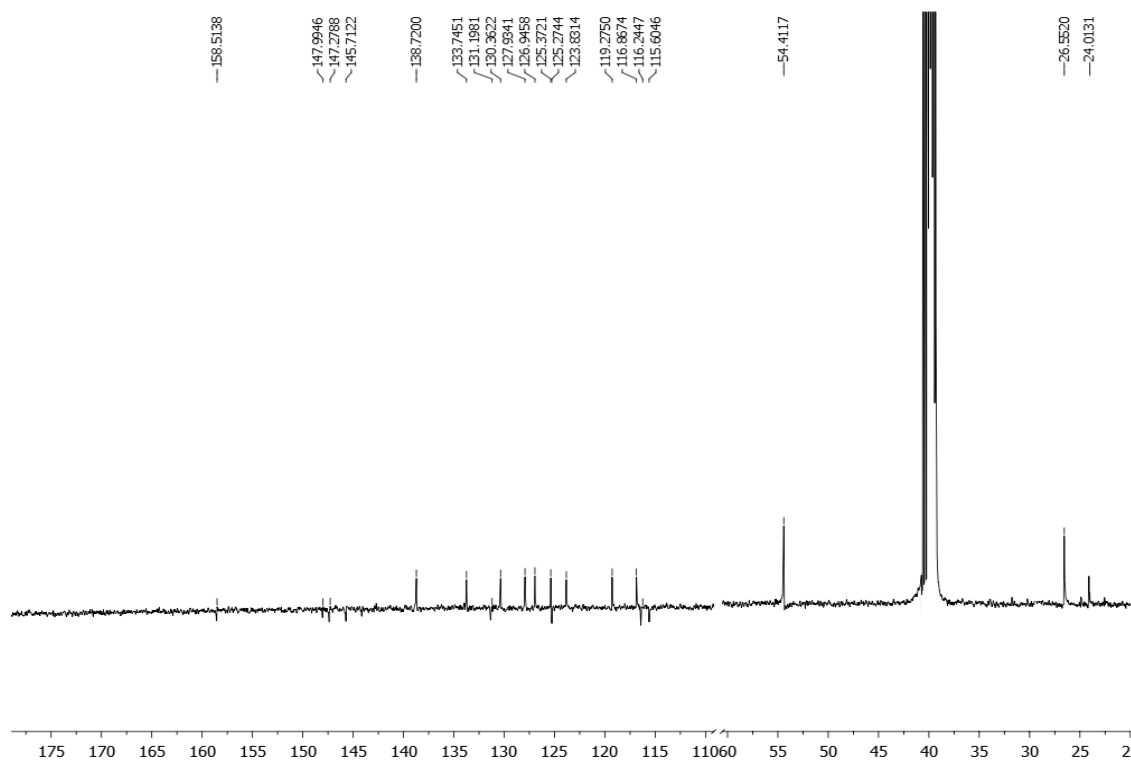
Prilog 3. ^{13}C NMR spektar 7-klorbenzo[*g*]benzo[4,5]imidazo[1,2-*a*][1,8]naftidrin-6-karbonitrila **6**



Prilog 4. ^1H NMR spektar 7-(piperidin-1-il)benzo[*g*]benzo[4,5]imidazo[1,2-*a*][1,8]naftidrin-6-karbonitrila **7**



Prilog 5. ^{13}C NMR spektar 7-(piperidin-1-il)benzo[g]benzo[4,5]imidazo[1,2-a][1,8]naftidrin-6-karbonitrila **7**



8. KRATICE

CH ₂ Cl ₂	Diklormetan
CH ₃ CN	Acetonitril
(C ₂ H ₅) ₂ O	Dietil-eter
CoCl ₂	Kobaltov(II) klorid
CuCl ₂	Bakrov(II) klorid
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamid
DMSO	Dimetil-sulfoksid
EtAc	Etil-acetat
EtOH	Etanol
ε	Molarni ekstincijski koeficijent [dm ³ mol ⁻¹ cm ⁻¹]
HCl	Klorovodik
λ	Valna doljina [nm]
M	mol/dm ³
MeOH	Metanol
NaOH	Natrijev hidroksid
PCl ₅	Fosforov(V) klorid
POCl ₃	Fosforilni klorid
SOCl ₂	Tionil-klorid
THF	Tetrahidrofur
<i>t</i> -KOBu	Kalijev <i>tert</i> -butoksid
ZnCl ₂	Cinkov(II) klorid

9. ŽIVOTOPIS

Petra Marketin [REDACTED] Osnovnu školu završila je u Pakoštanima nakon čega upisuje Srednju školu Biograd na Moru, smjer opća gimnazija. Maturirala je 2015. godine te iste godine upisuje preddiplomski studij na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, studij Kemijsko inženjerstvo. Stručnu praksu odradila je u PLIVA HRVATSKA d.o.o. u TAPI, Istraživanje i razvoj.