

Istraživanje kompleksa srebra(I) sa Schiffovim bazama pomoću spektroskopije NMR

Marinković, Sara

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka / Sveučilište u Rijeci**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:193:795137>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-17**



image not found or type unknown

Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Biotechnology and Drug Development - BIOTECHRI Repository](#)



zir.nsk.hr

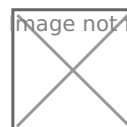


image not found or type unknown

SVEUČILIŠTE U RIJECI
ODJEL ZA BIOTEHNOLOGIJU
Diplomski sveučilišni studij
Medicinska kemija

Sara Marinković

**Istraživanje kompleksa srebra(I) sa Schiffovim bazama pomoću
spektroskopije NMR**

Diplomski rad

Rijeka, 2018.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
ODJEL ZA BIOTEHNOLOGIJU
Diplomski sveučilišni studij
Medicinska kemija

Sara Marinković

**Istraživanje kompleksa srebra(I) sa Schiffovim bazama pomoću
spektroskopije NMR**

Diplomski rad

Rijeka, 2018.

Mentor rada: Prof. Dr. sc. Dražen Vikić-Topić

Komentor: Dr. sc. Sunčica Roca

UNIVERSITY OF RIJEKA
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY
Graduate programme
Medicinal chemistry

Sara Marinković

Investigation of silver(I) complexes with Schiff's bases by NMR spectroscopy

Master's degree

Rijeka, 2018

Mentor of thesis: Dražen Vikić-Topić, Full Professor

Commentor: Sunčica Roca, PhD

Diplomski rad obranjen je dana 27. rujna 2018. godine

pred povjerenstvom:

1. Izv. prof. dr. sc. Dean Marković, predsjednik
2. Doc. dr. sc. Karlo Wittine, član
3. Prof. dr. sc. Dražen Vikić-Topić, član

Rad ima 57 stranica, 33 + D6 slika, 7 tablica, 2 sheme i 48 literaturnih navoda.

Sažetak

Reakcijom piridoksal hidroklorida, odnosno neutralnog piridoksala s 2-amin-4-klorfenolom u molarnom omjeru 1 : 1 u otopini etanola pripravljene su Schiffove baze $(C_{14}H_{14}ClN_2O_3)Cl$, odnosno $C_{14}H_{13}ClN_2O_3$. Mehaničkim miješanjem dobivenih spojeva u ahatnom tarioniku bez dodatka otapala, ali i reakcijom kondenzacije u otopini etanola i struji dušika sa srebrovim(I) nitratom, odnosno srebrovim(I) acetatom u molarnom omjeru 1 : 2 pripremljeni su srebrovi kompleksi opće formule $[Ag(C_{14}H_{14}ClN_2O_3)_2]Cl \cdot A$, odnosno $[Ag(C_{14}H_{13}ClN_2O_3)_2]A$ ($A = NO_3^-$, CH_3COO^-). Strukture svih izoliranih spojeva u otopini okarakterizirane su 1D tehnikama višenuklearne spektroskopije NMR (1H , ^{13}C APT, $^{13}C\{^1H\}$, ^{15}N) te potvrđene 2D tehnikama NMR ($^1H-^1H$ COSY, $^1H-^1H$ NOESY, $^1H-^{13}C$ HMQC, $^1H-^{13}C$ HMBC, $^1H-^{15}N$ HMBC). Kompleksi su u čvrstom stanju okarakterizirani spektroskopijom IR zračenja.

Ključne riječi: 2-amin-4-klorfenol / piridoksal / Schiffova baza / spektroskopija NMR / srebro(I)

Summary

The reaction of pyridoxal hydrochloride or neutral pyridoxal with 2-amino-4-chlorophenols in a 1 : 1 molar ratio in ethanol solution Schiff base were prepared of formula $(C_{14}H_{14}ClN_2O_3)Cl$ and $C_{14}H_{13}ClN_2O_3$ respectively. By mechanical stirring of the obtained bases in agate mortar and pestle, but also by condensation reaction in a solution of ethanol, nitrogen stream at room temperature, with silver(I) nitrate or silver(I) acetate at a molar ratio of 1 : 2, the silver complexes of the compounds of general formula $[Ag(C_{14}H_{14}ClN_2O_3)_2]Cl \cdot A$, and $[Ag(C_{14}H_{13}ClN_2O_3)_2]A$ ($A = NO_3^-$, CH_3COO^-) were obtained. All synthesized compounds were characterized in solution by 1D multinuclear NMR spectroscopy (1H , ^{13}C APT, $^{13}C\{^1H\}$, ^{15}N) and confirmed by 2D NMR spectroscopy techniques ($^1H-^1H$ COSY, $^1H-^1H$ NOESY, $^1H-^{13}C$ HMQC, $^1H-^{13}C$ HMBC, $^1H-^{15}N$ HMBC). In solid state, all compounds were characterized by IR spectroscopy.

Key words: 2-amino-4-chlorophenol / NMR spectroscopy / pyridoxal / Schiff base / silver(I)

Zahvala

Ovaj diplomski rad izrađen je u Centru za nuklearnu magnetsku rezonanciju (CNMR) Instituta Ruđer Bošković.

Zahvaljujem mentoru prof. dr. sc. Draženu Vikić-Topiću na ideji za rad i prenesenom znanju, te što mi je omogućio izradu rada u CNMR čiji je voditelj.

Posebno hvala komentorici dr. sc. Sunčici Roci na nesebičnoj pomoći u izvedbi mog diplomskog rada.

Zahvaljujem se dr. sc. Tatjani Šumanovac Ramljak na pomoći pri sintezi Schiffovih baza, kao i njihovih kompleksa sa srebrovim(I) ionom.

Zahvaljujem se dr. sc. Marijani Jurić na uloženom vremenu i prenesenom znanju pri snimanju spektara IR zračenja.

Hvala i svim zaposlenicima CNMR na podršci, pomoći i razumijevanju.

Veliko hvala mojoj obitelji što su uvijek bili tu kad sam ih trebala, a jedno posebno hvala mojoj majci.

Sara

Sadržaj

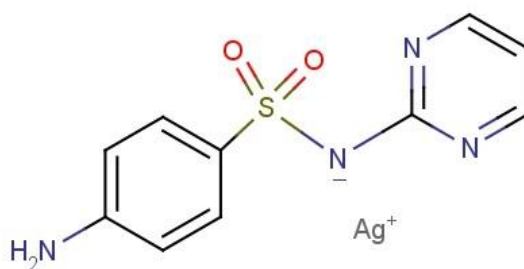
Sažetak.....	I
Summary	II
Zahvala	III
1. Uvod	1
1.1. Srebro(I) i njegovi kompleksni spojevi.....	1
1.2. Schiffove baze.....	4
1.3. Derivati vitamina B ₆ – piridoksal	8
2. Cilj rada.....	11
3. Materijali i metode	12
3.1. Kemikalije	12
3.2. Priprava Schiffovih baza	12
3.2.1. Priprava N-(2-hidroksi-5-klorfenilimino) piridoksalihev hidroklorid, S1	12
3.2.2. N-(2-hidroksi-5-klorfenil)piridoksalimin, C ₁₄ H ₁₃ ClN ₂ O ₃ (S2-1) i N-(2-hidroksi-5-klorfenil)piridoksalamin, C ₁₄ H ₁₃ ClN ₂ O ₃ (S2-2)	13
3.3. Priprava srebrovih(I) kompleksa Schiffovih baza (K1 — K4)	13
3.4. Spektroskopija NMR u otopini.....	14
3.5. Infracrvena spektroskopija	15
4. Rezultati.....	16
4.1. N-(2-hidroksi-5-klorfenilimino) piridoksalihev hidroklorid, (C ₁₄ H ₁₄ ClN ₂ O ₃)Cl (S1-1)	16
4.2. N-(2-hidroksi-5-klorfenil)piridoksalimin, C ₁₄ H ₁₃ ClN ₂ O ₃ (S2-1) i N-(2-hidroksi-5-klorfenil)piridoksalamin, C ₁₄ H ₁₃ ClN ₂ O ₃ (S2-2).....	18
4.3. Kompleks liganda S1 s AgNO ₃ ([Ag(C ₁₄ H ₁₄ ClN ₂ O ₃) ₂]Cl·(NO ₃), K1).....	22
4.4. Kompleks liganda S1 i CH ₃ COOAg ((CH ₃ COO)[Ag(C ₁₄ H ₁₄ ClN ₂ O ₃) ₂]Cl, K2)	23
4.5. Kompleks liganda S2 i AgNO ₃ ([Ag(C ₁₄ H ₁₃ ClN ₂ O ₃) ₂](NO ₃), K3)	24
4.6. Kompleks liganda S2 i CH ₃ COOAg ((CH ₃ COO)[Ag(C ₁₄ H ₁₃ ClN ₂ O ₃) ₂], K4)	25
5. Rasprava	27
5.1. Spektroskopija NMR u otopini	28
5.2. Spektroskopija IR zračenja	40
6. Zaključak.....	43
7. Literatura.....	44
8. Dodatak	47
9. Životopis	50

1. Uvod

1.1. Srebro(I) i njegovi kompleksni spojevi

Srebro (Ag), zajedno s bakrom (Cu) i zlatom (Au), spada u 11. (IB) skupinu periodnog sustava elemenata. Njihova zajednička elektronska konfiguracija općenito se može prikazati kao $(n - 1)d^{10}ns^1$. U najvažnijim spojevima oksidacijski broj srebra je I, ali pojavljuje se i u višim stupnjevima oksidacije (II, III, IV). Zbog djelomično popunjene *d*-podljuske elektrona kod srebrova(II) i srebrova (III) iona, srebro se ubraja u prijelazne elemente.(1) U prirodi dolazi u obliku dvaju stabilnih izotopa, ^{107}Ag i ^{109}Ag . Elementarno srebro je bijel, kovak i lako obradiv metal.(1) Koristi se u proizvodnji nakita, pribora za jelo, kovanica i medicinskih instrumenata.(2,3) U prirodi, osim u elementarnom stanju, dolazi i u sastavu ruda i to najčešće zajedno sa zlatom, olovom i bakrom.(1) Srebro se u prošlosti svakodnevno koristilo jer se od njega izrađivao pribor za hranu i piće kako bi se očuvala svježina hrane i vode.(3)

Srebro(I) ima dobro poznata antimikrobna svojstva pa su se njegovi spojevi koristili za tretiranje rana, opekotina i infekcija čak 4000 godina prije Krista.(3) Ono pokazuje biološku aktivnost spram Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija.(4,5) Topička uporaba srebra(I) gubi na popularnosti otkrićem antibiotika sredinom prošlog stoljeća.(3,5) Međutim, nakon upozorenja Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) 2010. godine na sve veću rezistenciju bakterija na postojeće antibiotike, izučavanje spojeva srebra(I) intenziviralo se.(6) Do danas je dozvoljena primjena lijekova s ionima srebra(I) u liječenju površinskih rana, dekubitusa i opekotina. Najpoznatiji takav lijek je srebrov(I) sulfadiazin (Slika 1).(7,8)

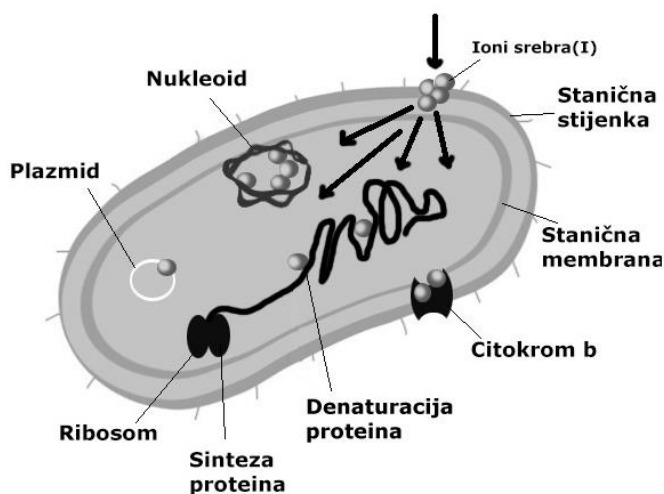


Slika 1. Srebrov(I) sulfadiazin.

Oligodinamička aktivnost je pojam koji se odnosi na toksični efekt bilo kojeg metalnog iona na mikroorganizme mjereno u minuti, pa tako i na antibakterijsko djelovanje srebra(I).(3,9) Pojam je uveo švicarski botaničar- Karl Wilhelm von Nägeli, a dolazi od grčke riječi *oligos* što znači malo i grčke riječi *dynamis* što znači snaga.(9) Uz srebro(I), ovo svojstvo posjeduju još i drugi ioni metala kao što su bakar(II)(10), cink(II)(10),

željezo(III)(11), aluminij(III)(11), ali i mjed(10) (slitina bakra i cinka) koji se zbog ovog svojstva često koristi za pravljenje kvaka na vratima.

Ioni srebra(I) mogu napasti bakterijsku stanicu istovremeno na više različitih mjesta zbog čega bakterije ne mogu olako razviti rezistentnost na njih kao na antibiotik za koji je karakteristično da uvijek napada stanicu na istom mjestu (Slika 2). Istraživanje provedeno na Gram-negativnim (*E. coli*) i Gram-pozitivnim (*S. aureus*) bakterijama o utjecaju iona srebra(I) na bakterijsku stanicu, pokazalo je slične morfološke promjene u oba soja poslije tretiranja stanica sa srebrom(I).(12) Istraživanja pokazuju da djelovanjem srebra(I) dolazi do nabiranja stanične membrane i odvajanja od stanične stijenke, potom do kondenzacije deoksiribonukleinske kiseline (DNK) u središtu stanice pri čemu se zaustavlja rast i dioba bakterijske stanice koja potom umire.(12) Vezanjem $Ag(I)$ na membranske proteine uzrokuju strukturalne promjene na staničnoj stijenci, unutarstaničnim i jezgrenim membranama.(13) Ioni srebra vežu se s tiolnom skupinom ($-SH$) proteina inhibirajući njihovu enzimsku aktivnost te uzrokuju taloženje proteina u stanici.(3,12) Vezanjem na proteine (na primjer citokrome) u staničnoj membrani, mijenja se propusnost membrane pa u unutrašnjost stanice sada mogu ulaziti i tvari koje inače ne mogu, npr. lijek vankomicin kod Gram-negativnih bakterija.(14) Ioni srebra(I) djeluju također i na oksidacijsku fosforilaciju (stanično disanje).(15) Inhibiraju ulazak i izmjenu fosfata u bakteriji što rezultira nakupljanjem fosfata u stanici.(16) Veliku važnost u napadu srebrovih(I) iona na bakterijsku stanicu ima i njihovo vezanje na DNK plazmida, jer uz gensku DNK, i plazmidna nosi gen za rezistentnost na antibiotike.(14) Plazmidi su kružne dvolančane molekule DNK koje se repliciraju nezavisno od bakterijskog kromosoma. Zbog mogućnosti prijenosa plazmida u drugu bakterijsku stanicu iste ili druge vrste, genetski materijal koji sadrži rezistentnost na antibiotike vrlo se brzo može širiti.(14)



Slika 2. Mjesta napada srebrova(I) iona na bakterijsku stanicu.

Iako u malim količinama srebro(I) ne predstavlja opasnost za čovjeka, konzumirano nekontrolirano i u velikim količinama, kao svaki drugi teški metal, i ono se taloži u organizmu pri čemu izaziva pojave poznate pod nazivom argirija i argiroza (Slika 3).(17,18) Argirija je sivkasto obojenje kože i sluznice nastalo taloženjem čestica srebra u organizmu, a argiroza je isto takvo obojenje bjeloočnica.(3,9)



Slika 3. Oboljeli od argirije i argiroze.

Osim antimikrobne, kompleksi srebra(I) pokazuju i značajnu antitumorsku aktivnost zbog čega raste interes za proučavanje kompleksa srebra(I) od kojih neki pokazuju veću citotoksičnost prema tumorskim stanicama od cisplatina (lijeka koji se koristi u terapiji protiv karcinoma) s relativno niskom toksičnošću za normalne ljudske stanice.(19) Biersack i sur.(20) istražili su antitumorsku aktivnost kompleksa srebra, bakra i zlata spram stanica raka dojke. Istraživanje je pokazalo povećanu selektivnost kompleksa prema raku dojke sa slabijim nuspojavama u usporedbi sa cisplatinom.(20) Kompleksi srebra(I) pokazuju selektivnost prema različitim vrstama tumorskih stanica, koja zavisi o vrsti liganda vezanog za srebrov(I) ion, a vezanjem biološki aktivnih molekula na metalni ion biološka aktivnost nastalog kompleksa se povećava.(19) Banti i Hadjidakou istražili su antiproliferacijsku aktivnost različitih srebrovih(I) kompleksa na različitim sojevima tumorskih stanica u uvjetima *in vitro* te ju usporedili s djelovanjem cisplatina.(21) Od spojeva, odabrali su različite simetrične i asimetrične srebrove(I) *N*-heterocikličke komplekse karbena i acetata i izučavali njihovo djelovanje spram raznih sojeva ljudskih tumorskih stanica kao što su HeLa (karcinom cerviksa), A-375 (maligni melanom) i LMS (leiomijsarkom) stanice.(21) Kompleksi srebra(I) pokazuju približno jednaku, ili čak bolju aktivnost spram istraženih tumorskih stanica od srebrova(I) nitrata i cisplatina (Tablica 1).

Tablica 1. IC_{50}^a (μM) vrijednosti cisplatina, srebrovih(I) soli i srebrovih(I) kompleksa na sojevima tumorskih stanica.

	IC ₅₀ / μM				
	Cisplatin	AgNO ₃	Ag(I)—P kompleksi ^b	Ag(I)—C:—R kompleksi ^b	Ag(I)—N, Ag(I)—N—O, Ag(I)—N—S, Ag(I)—S kompleksi ^b
HeLa	25,0	24,1	35,0	19,7	30,0
A-375	20,3	2,0	18,0	5,6	3,5
LMS	6,5	3,7	3,4	/ ^c	/

^aPolovina maksimalne inhibitorne koncentracije.

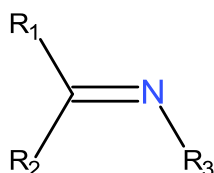
^bProsječna vrijednost.

^cNema rezultata.

Mehanizam djelovanja srebra(I) nije potpuno razjašnjen, ali rezultati istraživanja pokazuju nisku toksičnost za ljude (i općenito za eukariotske stanice)(21-23) kao i da u interakciji s DNK tumorske stanice dolazi do njene smrti.(21) Stoga je istraživanje kompleksa srebra(I) s različitim ligandima kao i istraživanje njihove biološke aktivnosti od velikog interesa.

1.2. Schiffove baze

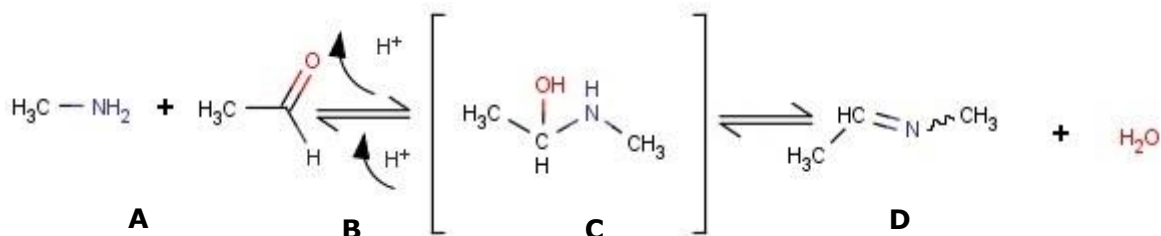
Schiffove baze ili imini su spojevi s dvostrukom vezom između atoma ugljika i atoma dušika. Nastaju adicijom nukleofila, to jest primarnog amina, na karbonilni ugljik aldehida ili ketona, a prikazuju se općom formulom $R_3R_2C=NR_1$ (Slika 4).(24) Supstituent na R_2 i R_3 može biti atom vodika, ali i alkilna, arilna ili heteroarilna skupina. Supstituent na N -imino ($-C=N-$) može biti također alkilna, arilna ili heteroarilna skupina, ali i atom vodika ili nekog metala (najčešće Si, Al, B, Sn). Schiffove baze dolaze u prirodnim, polusintetičkim i sintetičkim spojevima, a važni su intermedijeri u mnogim metaboličkim procesima.(24)



Slika 4. Prikaz opće strukture Schiffove baze.

Schiffove baze nastaju iz alifatskog ili aromatskog amina (Slika 5A) i karbonilnog spoja (Slika 5B) nukleofilnim napadom primarne amino skupine na karbonilni ugljik.(25) Amin

je nukleofil zahvaljujući slobodnom elektronskom paru na dušiku. Povećavanjem kiselosti okoline, amin se protonira i gubi nukleofilnost te formira međuprodukt - amino alkohol (Slika 5C), iz kojeg dehidracijom nastaje konačni produkt imin ili Schiffova baza (Slika 5D).(26)

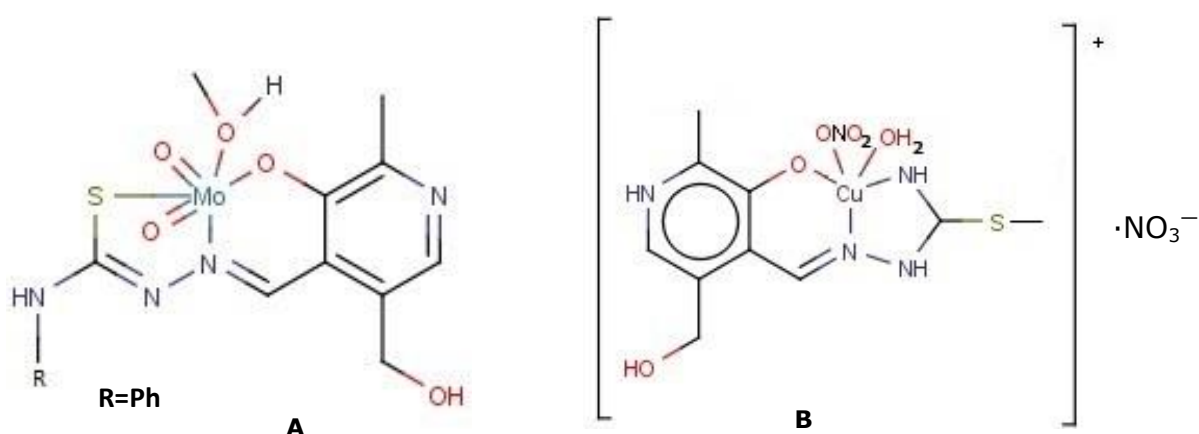


Slika 5. Mehanizam nastajanja Schiffove baze.

Reakcije sinteze imina mogu se katalizirati promjenom pH vrijednosti otopine.(18) Najoptimalniji pH je pri vrijednosti od 3 do 5, jer je potrebna određena količina H^+ iona za protoniranje O^- i OH skupine. Smanjenjem ($pH < 3$) ili povećanjem ($pH > 5$) kiselosti reakcijske sredine smanjuje se brzina reakcije.(25,26) Kiseli katalizator i uklanjanje vode iz reakcije znatno utječe na povećanje iskorištenja reakcije koje može doseći i preko 90 %.(24) Farmakološka aktivnost Schiffovih baza pripisuje se karakteristikama veze između atoma C i N ($-C=N-$). (21) Schiffove baze koriste se u terapijske svrhe, kao biološki aplikatori za potencijalne lijekove ili kao probe za dijagnostiku ili u analitičke svrhe.(27) Poznata je njihova antibakterijska, antifungalna, antimalarijska, antiviralna i antitumorska aktivnost te su im pripisana svojstva kao što su antiupalno i antioksidacijsko.(24,27) Antibakterijska aktivnost Schiffovih baza dokazana je i na Gram-pozitivnim i na Gram-negativnim bakterijskim vrstama.(27) Silva i sur. u svom radu opisali su širok spektar biološke aktivnosti Schiffovih baza gdje spominju njihovu antibakterijsku aktivnost na velikom spektru bakterijskih stanica.(28)

Schiffove baze najčešće formiraju komplekse s ionima prijelaznih metala preko azometinskog dušika. Takvi su kompleksi zanimljivi za istraživanje zbog pokazanih biokemijskih i analitičkih svojstava te antimikrobne i antitumorske aktivnosti.(27,29,30,31) Interes za kemiju kompleksa Schiffovih baza s ionima prijelaznih metala raste jer se pokazalo da tako dizajnirani ligandi pružaju priliku za induciranje kiralnosti supstrata, ugrađivanje metalno centriranih elektronskih faktora, te pojačavaju topljivost i stabilnost homogenih i heterogenih kataliza.(29) Schiffove baze, kao ligandi,

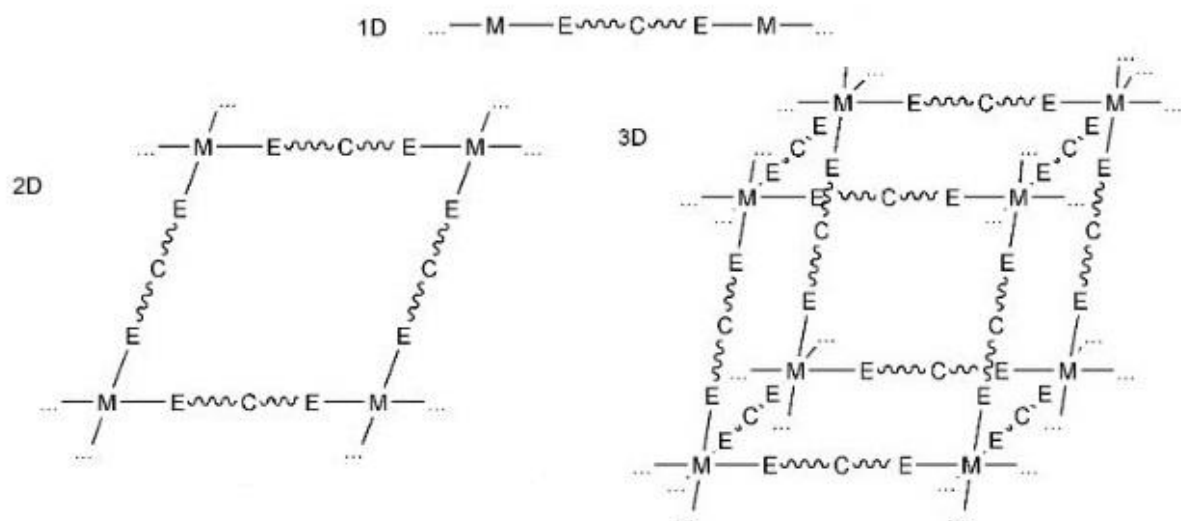
mogu se koordinirati na metale različitih elemenata i stabilizirati ih u različitim oksidacijskim stanjima omogućujući korištenje metalnih kompleksa Schiffovih baza u različitim katalitičkim reakcijama.(30) Kod takvih kompleksa često su atomi kisika i dušika elektron donori što pridonosi raznolikim konfiguracijama, strukturnoj labilnosti te osjetljivosti na molekularnu okolinu.(29) Metalo-organska kemija ovih kompleksa uvelike utječe na njihovu biološku aktivnost ističući katalitičku funkciju metalnog iona, zbog njegove interakcije s amino—kiselinama, peptidima i nukleinskim kiselinama.(31) Rendgenska strukturna analiza takvih kompleksa pokazuje da je na metalni ion najčešće koordiniran neki tridentatni ligand, kao što je na primjer kod spoja $[\text{MoO}_2\text{L}^1(\text{CH}_3\text{OH})]$ (Slika 6A), gdje se molibdenov(VI) ion koordinira na ligande preko atoma kisika fenolnog prstena, dušika iz imino skupine te sumpora iz tiolske skupine.(32) Također je još moguća koordinacija ligand-metal preko azometinskog dušikova atoma ili preko kisika iz hidroksimetilne grupe kao što je na primjer u spoju bakra(II), $[\text{Cu}(\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{L})(\text{H}_2\text{O})](\text{NO}_3)$ (H_2L = piridoksal 3-metilizotiosesemikarbazon) (Slika 6B).(33)



Slika 6. Koordinacijska sfera oko a) molibdenova(VI) i b) bakrova(II) iona u spojevima $[\text{MoO}_2\text{L}^1(\text{CH}_3\text{OH})]$ i $[\text{Cu}(\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{L})(\text{H}_2\text{O})](\text{NO}_3)$.

Na topologiju kompleksa može utjecati veliki broj različitih čimbenika poput kemijske strukture liganda, koordinacijskog prioriteta geometrije metala, pratećeg iona te množinskog omjera metala i liganda.(34) Na nastanak različitih polimernih struktura kompleksa utječe vrsta metala, njegov oksidacijski i koordinacijski broj, funkcionalnost i fleksibilnost liganda, ali i anion, otapalo i uvjeti reakcije (temperatura, tlak).(35) Koordinacijske polimere, metalo-organsku koordinacijsku mrežu (*engl.* metaloorganic coordination network, MOCN) ili metalo-organsku rešetku (*engl.* metaloorganic framework, MOF) tvore metal—ligand kompleksi međusobno povezani vezama jačeg ili

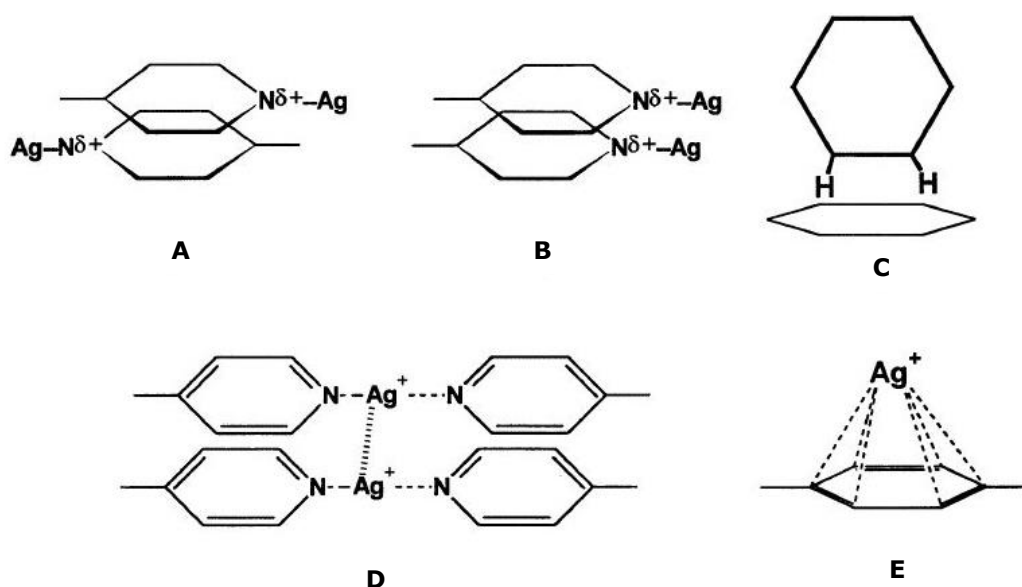
slabijeg kovalentnog karaktera u dugačke 1D lance ili 2D i 3D strukture (Slika 7).(36) U koordinacijskim polimerima ligand mora biti organski spoj sa ili bez naboja koji je povezan s metalnim ionom preko dva ili više donora. Svi atomi metala moraju barem s jedne strane biti premošteni s ligandom, a između dva atoma donora mora postojati najmanje jedan ugljikov atom.(35)



Slika 7. Shematski prikaz 1D, 2D i 3D koordinacijskih polimera. Slovom M označeni su atomi metala a E~C~E organski prenosni ligand. Slovo E označava donorske atome (npr. O, N, S, Se).

U posljednjih nekoliko godina, mnogi koordinacijski polimeri dobiveni su iz prijelaznih metala s krutim ili fleksibilnim, bidentatnim ili polidentatnim organskim ligandima koji sadrže piridil.(34) Veza između metala i donorskog liganda (kao što je piridin) nastaje tako da se nevezujući elektronski par atoma dušika donira metalnom ionu. Nastala veza slične je energije vodikovoj vezi.(35) $\pi \cdots \pi$ interakcija (Slika 8A-C) nastaje zbog elektrostatskog privlačenja π -elektrona i pozitivno nabijenog prstena σ -okvira pa dolazi do stvaranja glava–glava ili glava–rep (energetski povoljnija) orijentacija. Neki ioni metala (zlato(I), srebro(I), bakar(I)) stvaraju metal–metal veze (Slika 8D). To su interakcije između popunjenih d^{10} – d^{10} podljuski koje se između dvaju atoma srebra nazivaju argentofilne interakcije.(37) Metal– π interakcije su interakcije između iona prijelaznih metala i π -elektrona iz nezasićenih organskih molekula koje formiraju jako stabilne organometalne molekule (Slika 8E).(37) U CSD bazi podataka (*engl.* Cambridge Structural Database) postoji oko 130 primjera za Ag- η^1 i Ag- η^2 vezanja na arene, dok su Ag- η^6 interakcije dugog doseg manje zastupljene, ali se često javljaju u koordinacijskim

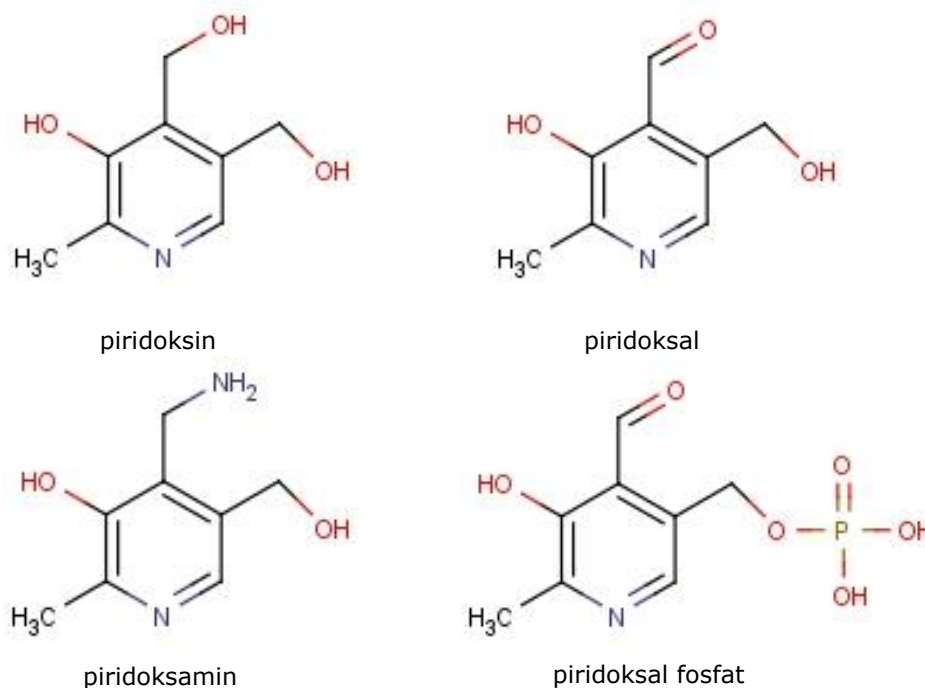
polimerima s *N*-donorskim ligandima.(35) Unatoč interakcijama dugog doseg a i njihovoj relativnoj slabosti, Ag- η^6 kontakti s arenima pronađeni su isto i u čvrstom stanju.



Slika 8. Shematski prikaz supramolekulskih veza između aromatskih prstenova u kompleksnim spojevima. a) glava-rep, b) glava-glava, c) rub-glava, d) metal-metal interakcija, e) interakcija Ag(I)- η^6 kationa s π -elektronom aromatskog prstena.

1.3. Derivati vitamina B₆ – piridoksal

Vitamini grupe B uključuju skupinu od osam vitamina topljivih u vodi. Ne sintetiziraju se u tijelu pa ih je potrebno unositi dodatno prehranom.(38) Imaju važne međusobno povezane uloge u funkcioniranju stanica, djeluju kao koenzimi u širokom spektru kataboličkih i anaboličkih enzimskih reakcija od kojih su najznačajniji B₉, B₁₂ i B₆.(38) Osnovni građevni element svakog od njih je 2-metil-3-hidroksipiridin na koji su supstituirane različite skupine na C4 i C5 položaju (Slika 9).(39)



Slika 9. Derivati vitamina B₆.

Vitamin B₆ prisutan je u ljudskom majčinom mlijeku, životinjskom mesu te u nešto manjoj količini u biljkama.(39) Nedostatak vitamina B₆ može uzrokovati anemiju, demenciju, autonomnu disfunkciju, a u trudnoći komplikacije i smrt ploda.(38) Od svih formi vitamina B₆ piridoksal je bio prvi izoliran. Od velike je važnosti jer je esencijalan za normalne fiziološke funkcije. Sudjeluje u metabolizmu amino—kiselina i održavanju stanica.(40) Piridoksal i njegovi derivati često se koriste za stvaranje metalnih kompleksa raznih kemijskih i bioloških svojstava.(32) Razlog zbog kojeg raste zainteresiranost za Schiffove baze derivirane iz piridoksala je što piridoksal može služiti kao model za istraživanje bioloških reakcija koje su katalizirane enzimima, u kojima sudjeluje piridoksal fosfat kao aktivna forma piridoksala.(41) Metalni sistemi imina s amino—kiselinama poslužili su kao model za enzimsku reakciju amino—kiselina kataliziranih piridoksalom, fosfatom ili piruvatom.(42) U prisutnosti metalnog iona, slobodni piridoksal može katalizirati neke metaboličke reakcije (transmisiju, dekarboksilaciju) u kojima piridoksal fosfat sudjeluje kao koenzim.(41) Kompleksi metalnih iona i piridoksal hidroklorida (piridoksal · HCl) ili piridoksala zbog svojih djelovanja česta su tema istraživanja.(40) Zhu i sur. istraživali su komplekse piridoksala · HCl i divalentnih prijelaznih metala kao što su npr. kadmij, kobalt, nikal, bakar ili cink.(43) Casella i Gulloti izučavali su komplekse bakra(II) i piridoksala i visoku reaktivnost piridoksala na dikisik proučavajući nove kiralne dikisik nosače.(42) Ligandi izvedeni iz piridoksala zanimljivi su za proučavanje zbog različitih koordinacijskih vezanja s centralnim atomom metala.(44) Na primjer ligand piridoksal tiosemikarbazon, vežući se preko atoma N, S ili O s piridoksalom

tvori komplekse s ionima prijelaznih metala koji pokazuju široku kemoterapeutsku i biološku aktivnost.(45) U ovakvim kompleksima piridoksal tiosemikarbazon ligand može biti neutralan (H_2L), u pojedinačno deprotoniranom (HL)⁻ ili dvostruko deprotoniranom (L)²⁻ obliku, a protonirana stanja igraju važnu ulogu u elektrokemiji te fotofizičkoj ili katalitičkoj aktivnosti.(44)

2. Cilj rada

Cilj je ovog rada priprava i analiza novih Schiffovih baza te njihovih kompleksa sa srebrovim(I) ionom. Schiffove baze pripremiti će se reakcijom kondenzacije piridoksala hidroklorida, odnosno neutralnog piridoksala i 2-amin-4-klorfenola. Reakcijom dobivenih Schiffovih baza sa srebrovim(I) nitratom i srebrovim(I) acetatom istražiti će se nastajanje kompleksnih spojeva mehaničkim putem te kondenzacijom iz etanola u struji dušika. Strukture novih spojeva okarakterizirat će se 1D i 2D tehnikama nuklearne magnetske rezonancije (NMR) u otopini te spektroskopijom infracrvenog zračenja (FT-IR) u čvrstom stanju.

Budući da su piridoksal, Schiffove baze te srebrov(I) ion već sami po sebi biološki aktivni, njihovim kompleksiranjem vrijedi istražiti mogući sinergistički učinak novonastalih spojeva, odnosno dizajnirati molekule s poboljšanim biološkim svojstvima.

3. Materijali i metode

3.1. Kemikalije

Potrebne kemikalije nabavljene su od različitih proizvođača (Sigma-Aldrich Co., Carlo Erba, J.T. Baker, VWR Chemicals, Kemika, Euriso-Top), a u sintezi spojeva korištene su bez dodatnog pročišćavanja. Čistoća svih spojeva veća je od 97 %, a korištena otapala su *p.a.* (*pro analysi*) čistoće.

3.2. Priprava Schiffovih baza

Spojevi, u okviru izrade ovog diplomskog rada, pripremljeni su na Institutu Ruđer Bošković. Ligandi **S1** i **S2**, kao i kompleksi **K1**, **K2**, **K3** i **K4** pripremljeni su reakcijom kondenzacije u Laboratoriju za sintetsku organsku kemiju Zavoda za organsku kemiju i biokemiju. Navedeni kompleksi također su priređeni i mehaničkim miješanjem(46) bez dodatka otapala u Centru za NMR (Tablica 2).

Tablica 2. Popis sintetiziranih spojeva.

Spoj	Formula spoja
S1	$C_{14}H_{14}Cl_2N_2O_3$
S2	$C_{14}H_{13}ClN_2O_3$
K1	$[Ag(C_{14}H_{14}ClN_2O_3)_2]Cl \cdot (NO_3)$
K2	$(CH_3COO)[Ag(C_{14}H_{14}ClN_2O_3)_2]Cl$
K3	$[Ag(C_{14}H_{13}ClN_2O_3)_2](NO_3)$
K4	$(CH_3COO)[Ag(C_{14}H_{13}ClN_2O_3)_2]$

3.2.1. Priprava N-(2-hidroksi-5-klorfenilimino) piridoksalijev hidroklorid, S1

Piridoksal hidroklorid (**R1**; 0,50 g; 2,5 mmol) otopljen je u 15 mL etanola uz miješanje na ultrazvučnoj miješalici. U tako pripremljenu otopinu dodano je 5 mL etanolne otopine 2-amin-4-klorfenola (**R3**; 0,38 g; 2,5 mmol). Reakcijska smjesa miješana je na magnetskoj miješalici uz vodeno hladilo pri temperaturi od približno 80 °C. Nakon otprilike 3 sata, otopina je ostavljena da se hladi pri sobnoj temperaturi. Nastali talog odvojen je od matičnice filtracijom uz sniženi tlak. Dobiveni produkt ispran je malom količinom hladnog etanola i osušen u eksikatoru iznad silikagela.

3.2.2. *N*-(2-hidroksi-5-klorfenil)piridoksalimin, C₁₄H₁₃ClN₂O₃ (**S2-1**) i *N*-(2-hidroksi-5-klorfenil)piridoksalamina, C₁₄H₁₃ClN₂O₃ (**S2-2**)

Etanolnoj otopini (20 mL) piridoksal hidroklorida (**R1**; 0,25 g; 1,2 mmol) doda se, uz miješanje, KOH (0,09 g; 1,6 mmol), a potom i 2-amin-4-klorfenol (**R2**; 0,19 g; 1 mmol). Reakcijska smjesa miješana je na magnetskoj miješalici uz vodeno hladilo pri temperaturi od približno 80 °C. Nakon otprilike 3 sata, otopina je ostavljena da se hladi pri sobnoj temperaturi. Nastali talog odvojen je od matičnice filtracijom uz sniženi tlak. Dobiveni produkt ispran je malom količinom hladnog etanola i osušen u eksikatoru iznad silikagela.

3.3. Priprava srebrovih(I) kompleksa Schiffovih baza (**K1** – **K4**)

Postupak pripreme srebrovih(I) kompleksa (**K1** – **K4**) Schiffovih baza **S1** i **S2** mehaničkim putem potpuno je jednak. Ligand **S1**, odnosno **S2**, i srebrova sol (AgNO₃, CH₃COOAg) miješane su u ahatnom tarioniku u množinskom omjeru 2:1 do prestanka promjene boje smjese (Tablica 3). Vrijeme potrebno za pripravu svakog kompleksa precizno je mjereno štopericom. Svi kompleksi dobiveni su pri temperaturi od 25 °C i pri 40 % vlage u zraku.

Tablica 3. Masa i množina tvari liganada i srebrovih(I) soli korištena pri pripravi kompleksa **K1** – **K4** mehaničkim miješanjem bez otapala.

Spoj	Srebrova(I) sol	Ligand S1	Srebrova(I) sol	Spoj	Ligand S2	Srebrova(I) sol
		m (g) / n (mmol)			m (g) / n (mmol)	
K1	AgNO ₃	0,005 / 0,015	0,0025 / 0,007	K3	0,005 / 0,03	0,0029 / 0,015
K2	CH ₃ COOAg	0,005 / 0,015	0,0025 / 0,007	K4	0,005 / 0,03	0,0028 / 0,015

Sva četiri kompleksa (**K1** – **K4**) također su priređena i reakcijom kondenzacije u struji dušika. Srebrove(I) soli, kao i svaki ligand otopljeni su zasebno u bezvodnom etanolu (≈ 20 mL). Ligandi su dodani izravno alkoholnoj otopini soli (množinski omjer 2:1) prethodno postavljenoj na magnetskoj miješalici (Tablica 4). Reakcija se odvijala tijekom 24 sata u struji dušika (balon s dušikom postavljen je na grlo dvogrlje tikvice).

Tablica 4. Masa i množina tvari liganada i srebrovih(I) soli korištena pri pripravi kompleksa **K1** – **K4** reakcijom kondenzacije.

Spoj	Srebrova(I) sol	Ligand S1 Srebrova(I) sol		Spoj	Ligand S2 Srebrova(I) sol	
		m (g) / n (mmol)			m (g) / n (mmol)	
K1	AgNO ₃	0,05 / 1,52	0,013 / 0,76	K3	0,05 / 0,30	0,025 / 0,15
K2	CH ₃ COOAg	0,05 / 1,52	0,013 / 0,76	K4	0,05 / 0,30	0,025 / 0,15

3.4. Spektroskopija NMR u otopini

Jednodimenzijски i dvodimenzijски spektri NMR snimljeni su pomoću instrumenta visokog razlučivanja Bruker AV600 u Centru za NMR Instituta Ruđer Bošković. Jakost magneta korištenog instrumenta iznosi 14,1 T, a pri snimanju je korištena 5 mm sonda BBO BB-1H Z-GRD Z8478/53. Uzorci su otopljeni u deuteriranom dimetilsulfoksidu (DMSO-d₆) s 0,06 % (V/V) tetrametilsilanom (TMS) i snimljeni pri temperaturi od 25 °C. Od 1D tehnika NMR korištene su ¹H, ¹³C APT, ¹³C{¹H} i ¹⁵N, a od 2D ¹H–¹H COSY, ¹H–¹H NOESY, ¹H–¹³C HMQC, ¹H–¹³C HMBC i ¹H–¹⁵N HMBC.

¹H i ¹³C spektri snimljeni su pri frekvenciji od 600,130 MHz, odnosno 150,903 MHz. Kemijski pomaci (δ / ppm) određeni su prema pomaku signala otapala (DMSO-d₆) i to za ¹H δ = 2,50 ppm, a za ¹³C δ = 39,51 ppm. Spektralna širina od 12000 Hz (20 ppm) korištena je za snimanje spektara ¹H NMR, uz relaksacijsko vrijeme odgode od 1,0 s te s vremenom akvizicije od 1,36 s. Broj pulseva po spektru varirao je od 32 do 64. Digitalno razlučivanje iznosilo je ≈ 0,37 Hz po točki. ¹³C APT i ¹³C{¹H} spektri snimljeni su uz spektralnu širinu od 39370 Hz (260 ppm), relaksacijsko vrijeme odgode od 1,0 s te s vremenom akvizicije od 0,832 s. Na svakom spektru primijenjeno je 400 do 10000 snimaka. Digitalno razlučivanje iznosi 0,60 Hz po točki. ¹⁵N spektar snimljen je pri frekvenciji od 61,828 MHz, a otopina NH₄NO₃ u D₂O korištena je kao vanjski standard (¹⁵N signal amonijeva iona, NH₄⁺, rezonira pri 20,8 ppm). ¹⁵N spektar snimljen je s 2304 snimaka i uz relaksacijsko vrijeme odgode od 10,0 s. Korištena spektralna širina iznosila je 48543 Hz, a digitalno razlučivanje 0,74 Hz po točki.

¹H–¹H COSY spektri snimljeni su uporabom 2048 točaka u dimenziji f_2 i 481 do 512 inkremenata u dimenziji f_1 . Svaki primijenjeni inkrement sadrži 4 snimke. Spektralna širina snimanja iznosi 9615 Hz (16 ppm) uz relaksacijsko vrijeme odgode od 1,0 s. Digitalno razlučivanje dobiveno u ovim eksperimentima iznosilo je oko 4,69 Hz po

točki u dimenziji f_2 , odnosno ≈ 19 Hz po točki u dimenziji f_1 . Za snimanje spektara ^1H — ^1H NOESY korišteno je 2048 točaka u dimenziji f_2 , odnosno 512 inkremenata u dimenziji f_1 . Za pojedini inkrement primijenjeno je 16 snimaka te relaksacijsko vrijeme odgode od 1,0 s. Vrijeme miješanja iznosilo je 0,5 s. Spektralno područje iznosilo je 9615 Hz u obje dimenzije, uz digitalno razlučivanje od 4,69 Hz po točki u dimenziji f_2 , odnosno 18,75 Hz po točki u dimenziji f_1 . ^1H — ^{13}C HMQC i ^1H — ^{13}C HMBC spektri snimljeni su u 2048 točaka u dimenziji f_2 i 256 inkremenata u dimenziji f_1 . Za svaki inkrement primijenjeno je 16 do 96 pulseva uz relaksacijsko vrijeme odgode od 1,0 s. Korištena spektralna širina iznosila je 9615 Hz (f_2) i 36240 Hz (f_1), a digitalno razlučivanje 4,69 (f_2) i 141,48 Hz (f_1) po točki. ^1H — ^{15}N HMBC spektri snimljeni su u 2048 točaka u dimenziji f_2 i 45 inkremenata u dimenziji f_1 . Za svaki inkrement zadana su 32 pulsa uz relaksacijsko vrijeme odgode od 1,5 s. Spektralna širina iznosila je 9615,38 Hz (f_2) i 36600 Hz (f_1), a digitalno razlučivanje 4,69 Hz, odnosno 811,01 Hz po jedinici mjerenja u dimenziji f_2 , odnosno f_1 . Kod svih spektara HMBC, korišteno je dodatno vrijeme opuštanja od 0,065 s kako bi se u spektru vidjele i C—H, odnosno N—H sprege kroz više veza (2 — 4).

3.5. Infracrvena spektroskopija

Infracrveni spektri reaktanata (**R1**, **R2**), liganada (**S1**, **S2**) te srebrovih(I) kompleksa (**K1** — **K4**) snimljeni su pomoću spektrofotometra Bruker Alpha-T na Zavodu za kemiju materijala Instituta Ruđer Bošković. Svi uzorci usitnjeni su i pomiješani s kalijevim bromidom u ahatnom tarioniku pri sobnoj temperaturi. Pastile su oblikovane u hidrauličnoj preši pod tlakom od 10000 kg cm⁻². Spektri su snimljeni u valnom području od 4000 do 350 cm⁻¹ s rezolucijom od 4 cm⁻¹. Dobiveni rezultati prikazani su kao ovisnost transmitancije (T) o valnom broju ($\tilde{\nu}$) izraženom u cm⁻¹.

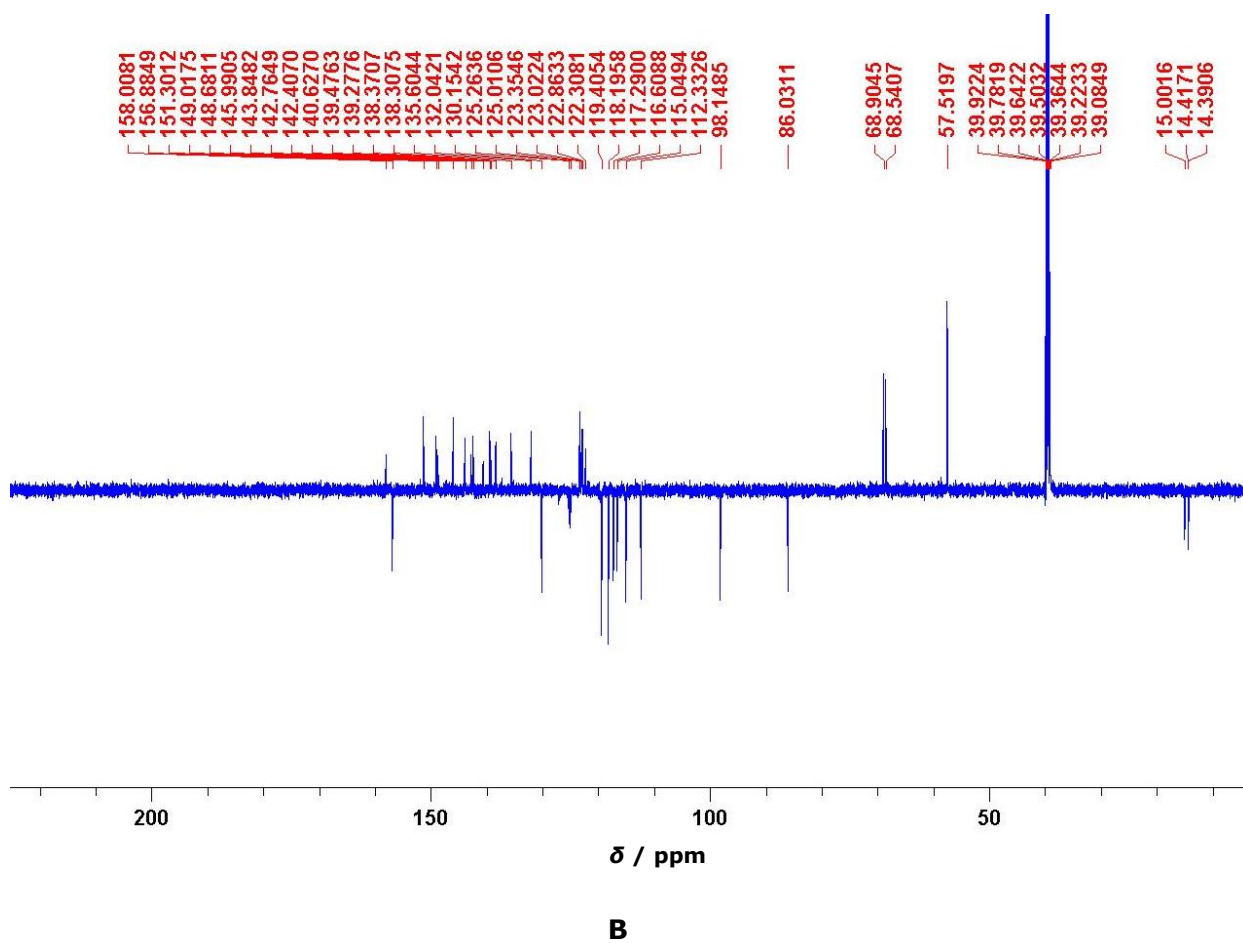
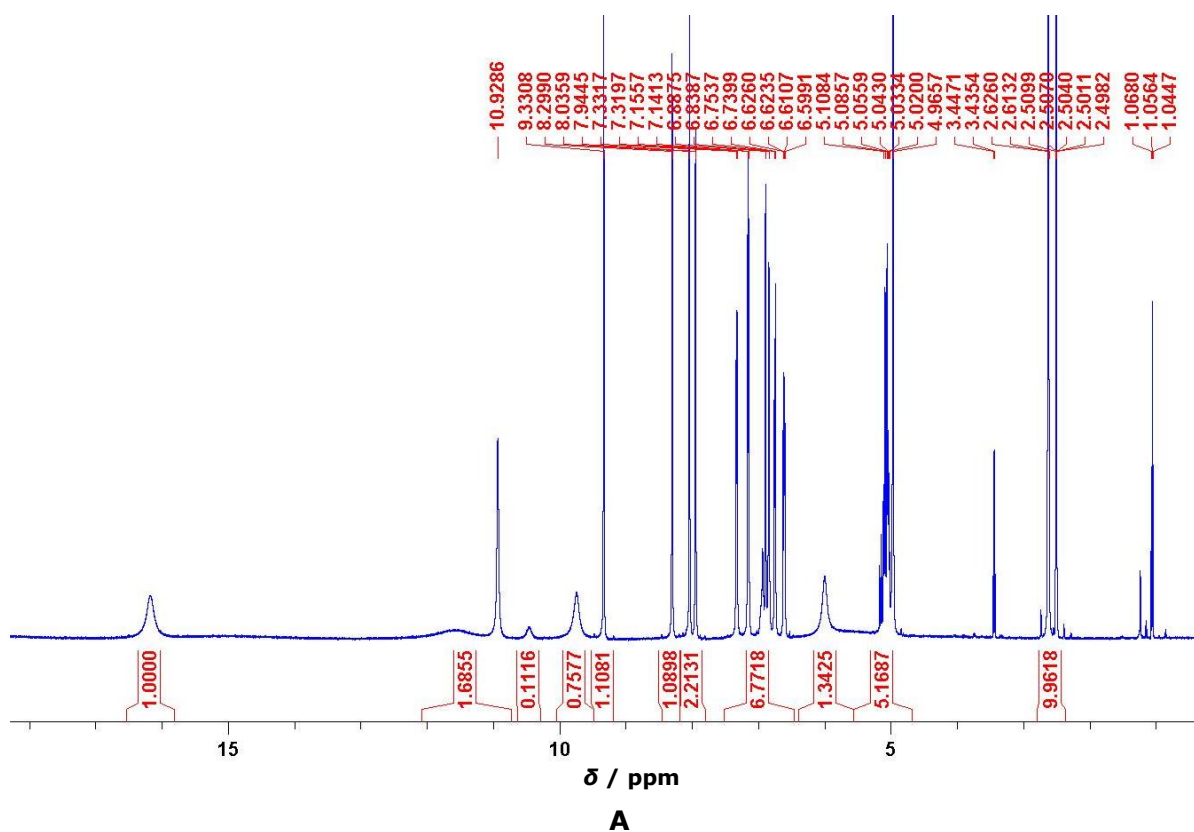
4. Rezultati

4.1. *N*-(2-hidroksi-5-klorfenilimino) piridoksalijev hidroklorid, (C₁₄H₁₄ClN₂O₃)Cl (S1-1)

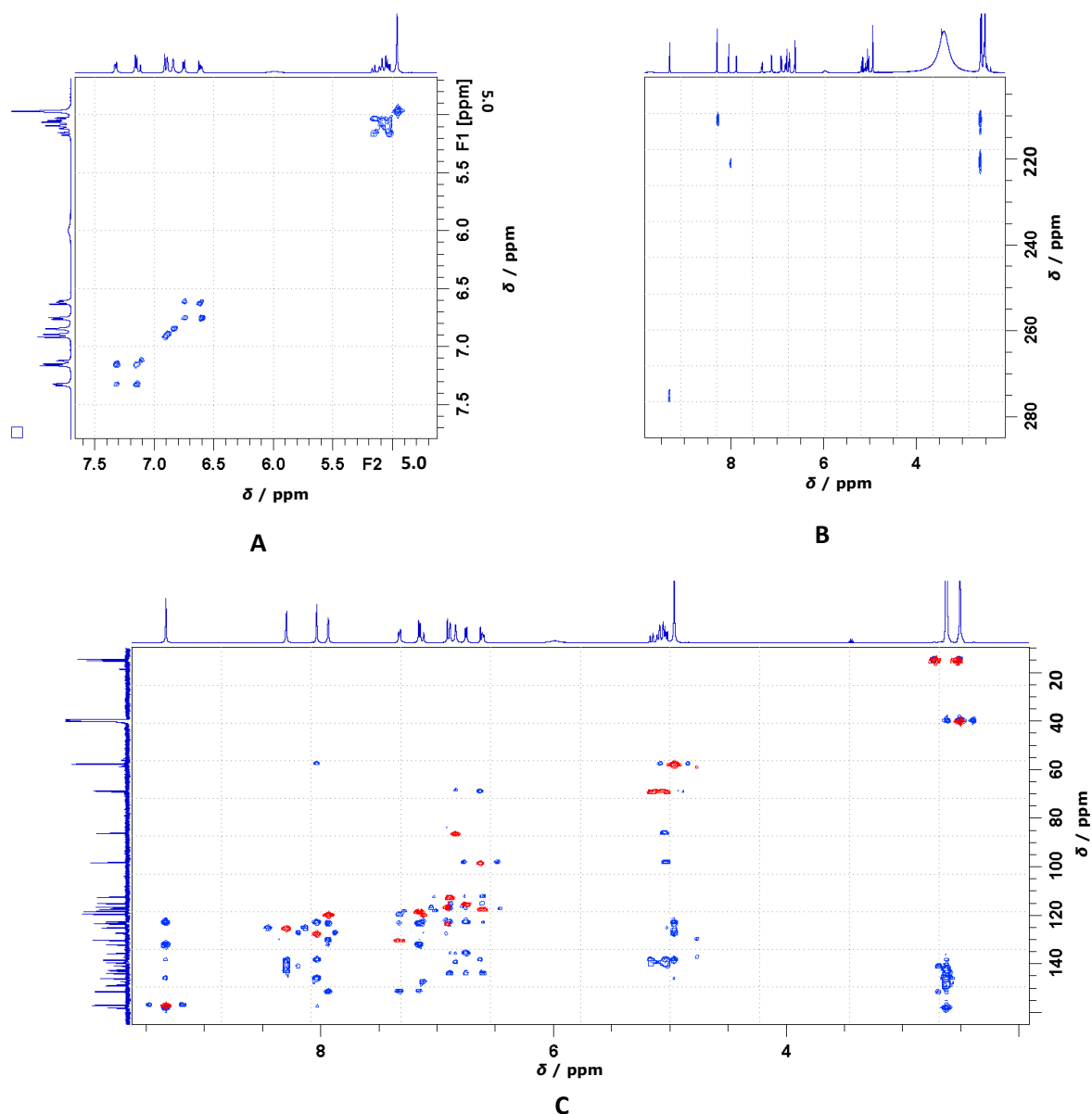
Iskorišćenje: 0,011 g (55,9 %).

FT-IR (KBr, $\tilde{\nu}$ / cm⁻¹): 3442 (s), 3030 (m), 2925 (m), 2852 (m), 2633 (s), 2027 (w), 1973 (w), 1630 (m-s), 1600 (m-s), 1501 (m), 1433 (m), 1388 (m), 1255 (m), 1202 (m), 1123 (m), 1024 (m), 880 (m), 821 (w), 695 (w), 541 (w), 469 (w), 381 (w) (Slika D1).

¹H NMR (600,130 MHz, DMSO-d₆, 25 °C): δ 16,01 (1H, br.s, OH-3), 10,93 (1H, br.s, OH-2'), 9,33 (1H, s, H- α), 8,04 (1H, s, H-6), 7,94 (1H, d, ⁴J_{H,H} = 2,05 Hz, H-6'), 7,33 (1H, dd, ³J_{H,H} = 8,68 Hz, ⁴J_{H,H} = 2,08 Hz, H-4'), 7,15 (1H, d, ³J_{H,H} = 8,68 Hz, H-3'), 6,00 (1H, br.s, OH-5), 4,97 (2H, s, CH₂), 2,50 (s, 3H, CH₃) ppm (Slika 10A). ¹³C NMR (150,903 MHz, DMSO-d₆, 25 °C): δ 158,0 (1C, C-3), 156,9 (1C, C- α), 151,3 (1C, C-2'), 145,9 (1C, C-2), 138,3 (1C, C-5), 132,0 (1C, C-1'), 130,2 (1C, C-4'), 125,3 (1C, C-6), 123,4 (1C, C-5'), 123,0 (1C, C-4), 119,4 (1C, C-6'), 118,2 (1C, C-3'), 57,5 (1C, CH₂), 15,0 (1C, CH₃) ppm (Slika 10B). ¹⁵N NMR (61,834 MHz, DMSO-d₆, 25 °C): δ 220,0 (1N, N-pyr), 275,1 (1N, N- α) ppm (Slika 11).



Slika 10. 1D A) ^1H i B) ^{13}C NMR spektar **S1**.



Slika 11. 2D A) ^1H – ^1H COSY, B) ^1H – ^{13}N HMBC te C) ^1H – ^{13}C HMQC (označen crveno) i HMBC (označen plavo) spektri NMR **S1**.

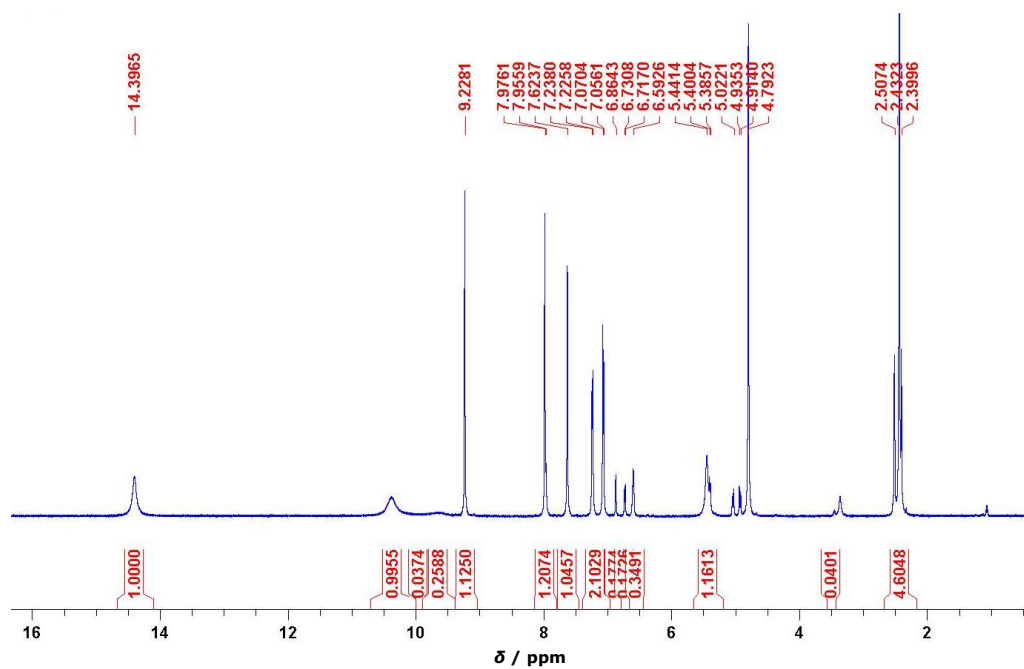
4.2. *N*-(2-hidroksi-5-klorfenil)piridoksalimin, $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}_3$ (S2-1) i *N*-(2-hidroksi-5-klorfenil)piridoksamin, $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}_3$ (S2-2)

Iskorišćenje: 0,011 g (36,9 %).

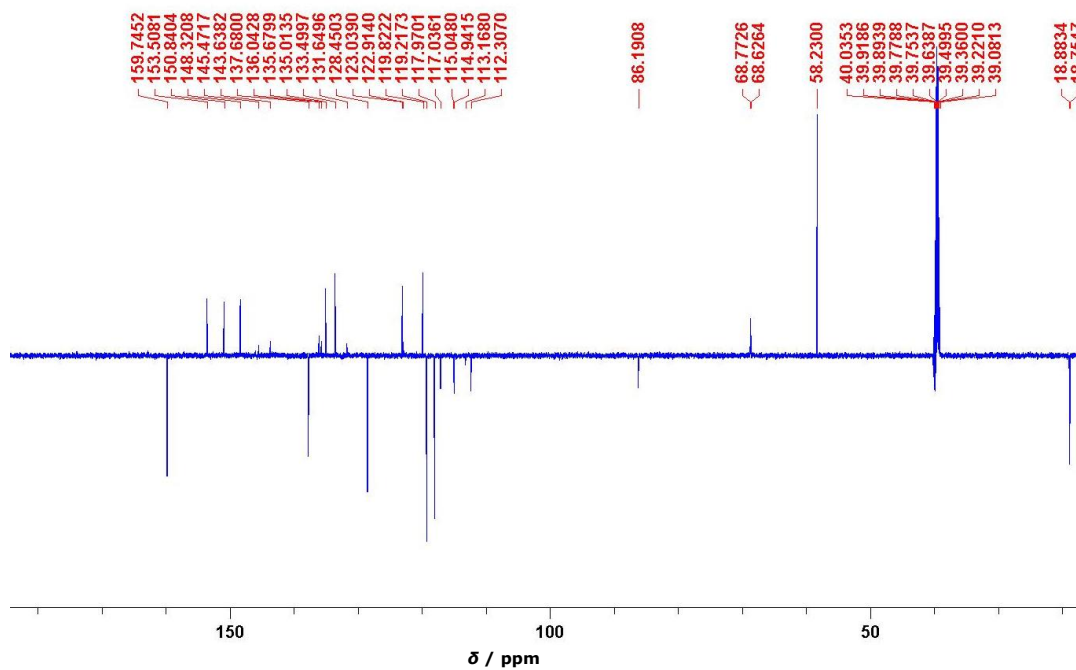
FT-IR (KBr, $\tilde{\nu}$ / cm^{-1}): 2823 (m), 2712 (m), 2632 (m), 1615 (w-m), 1548 (w), 1484 (m), 1401 (s), 1296 (m), 1258 (m), 1119 (w-m), 1017 (m), 912 (m), 853 (w-m), 763 (w), 714 (w), 660 (m), 551 (w-m), 524 (w), 405 (w) (Slika D2).

S2-1: ^1H NMR (600,130 MHz, DMSO- d_6 , 25 °C): δ 14,40 (1H, br.s, OH-3), 10,36 (1H, br.s, OH-2'), 9,23 (1H, s, H- α), 7,98 (1H, s, H-6), 7,62 (1H, d, $^4J_{\text{H,H}} = 2,53$ Hz, H-6'), 7,23 (1H, dd, $^4J_{\text{H,H}} = 2,53$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 8,77$ Hz, H-4'), 7,06 (1H, d, $^3J_{\text{H,H}} = 8,77$ Hz, H-3'), 5,44 (1H, br.s, OH-5), 4,79 (2H, s, CH₂), 2,43 (3H, s, CH₃) ppm (Slika 12A). ^{13}C NMR (150,903 MHz, DMSO- d_6 , 25 °C): δ 159,8 (1C, C- α), 153,5 (1C, C-3), 150,8 (1C, C-2'), 148,3 (1C, C-2), 137,7 (1C, C-6), 135,0 (1C, C-1'), 133,5 (1C, C-5), 128,5 (1C, C-4'), 123,0 (1C, C-5'), 119,8 (1C, C-4), 119,2 (1C, C-6'), 118,0 (1C, C-3'), 58,2 (1C, CH₂), 18,8 (1C, CH₃) ppm (Slika 12B). ^{15}N NMR (61,834 MHz, DMSO- d_6 , 25°C): δ 63,1 (1N, N- α), 327,2 (1N, N-pyr) ppm (Slika 14).

S2-2: ^1H NMR (600, 130 MHz, DMSO- d_6 , 25 °C): δ 9,98 (1H, br.s, OH-2'), 7,96 (1H, s, H-6), 6,86 (1H, d, $^4J_{\text{H,H}} = 2,50$ Hz, H-6'), 6,72 (1H, d, $^4J_{\text{H,H}} = 8,36$ Hz, H-3'), 6,59 (1H, s, H-4'), 6,59 (1H, s, H- α), 5,40 (1H, br.s, OH-5), 5,39 (1H, d, NH), 5,02 (1H, d, $^3J_{\text{H,H}} = 12,28$ Hz, CH₂-b), 4,91 (1H, d, $^3J_{\text{H,H}} = 12,74$ Hz, CH₂-a), 2,40 (3H, s, CH₃) ppm (Slika 12.A). ^{13}C NMR (150,903 MHz, DMSO- d_6 , 25°C): δ 146,0 (1C, C-3), 145,5 (1C, C-2), 143,6 (1C, C-2'), 136,0 (1C, C-1'), 135,7 (1C, C-5), 132,7 (1C, C-6), 131,7 (1C, C-4), 122,9 (1C, C-5'), 117,0 (1C, C-4'), 115,0 (1C, C-3'), 112,3 (1C, C-6'), 86,2 (1C, C- α), 68,7 (1C, CH₂), 18,9 (1C, CH₃) ppm (Slika 12B). ^{15}N HMBC NMR (61,834 MHz, DMSO- d_6 , 25°C): δ 293,3 (1N, N- α), 333,1 (1N, N-pyr) ppm (Slika 14).

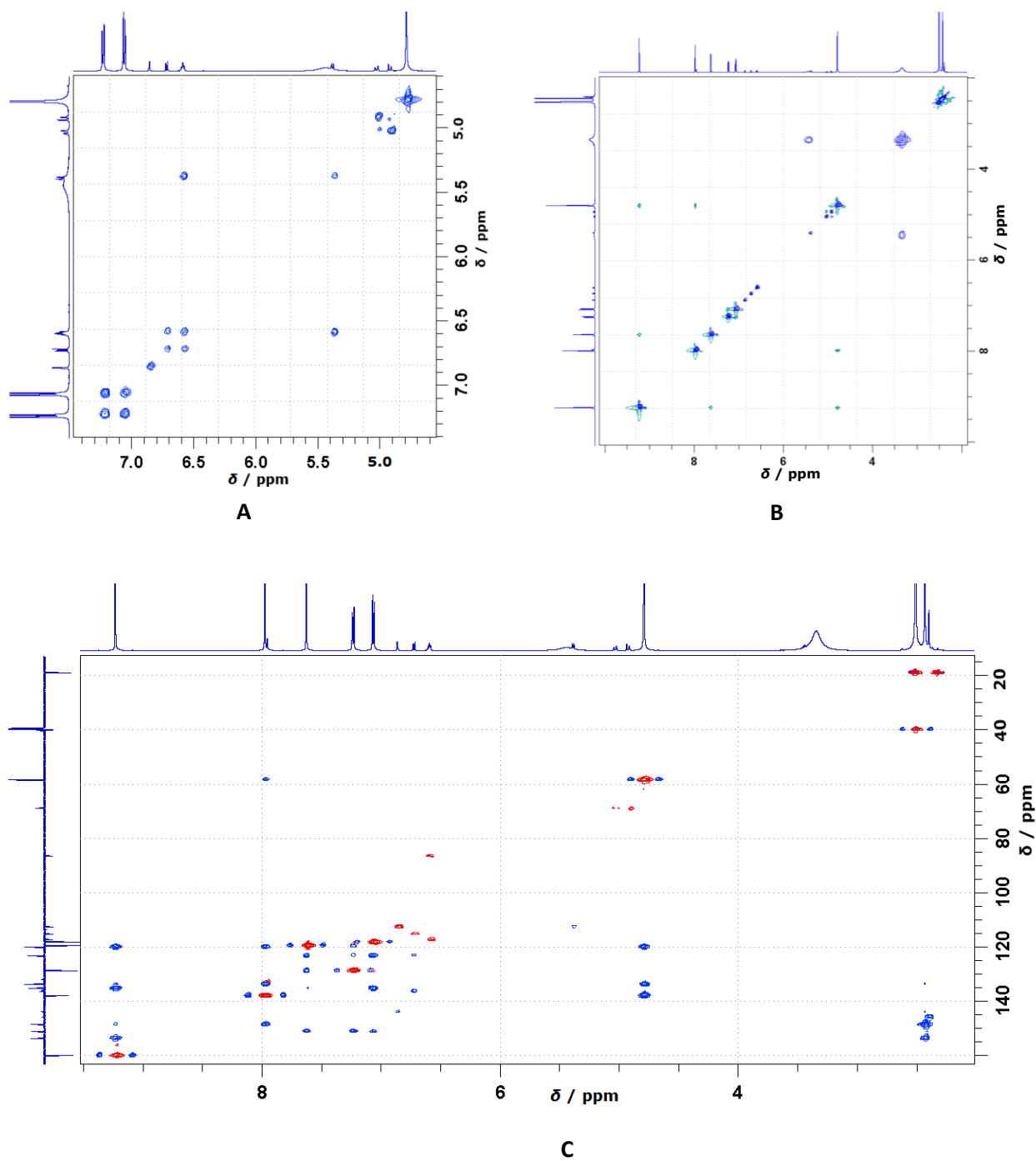


A

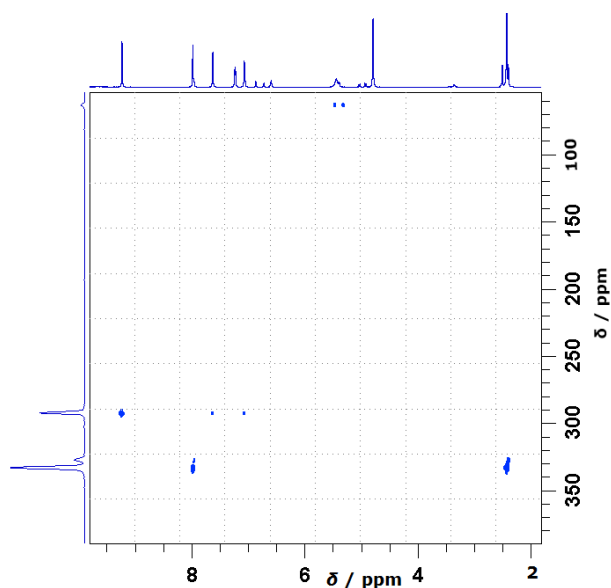


B

Slika 12. 1D A) ^1H i B) ^{13}C NMR spektar spojeva **S2-1** i **S2-2**.



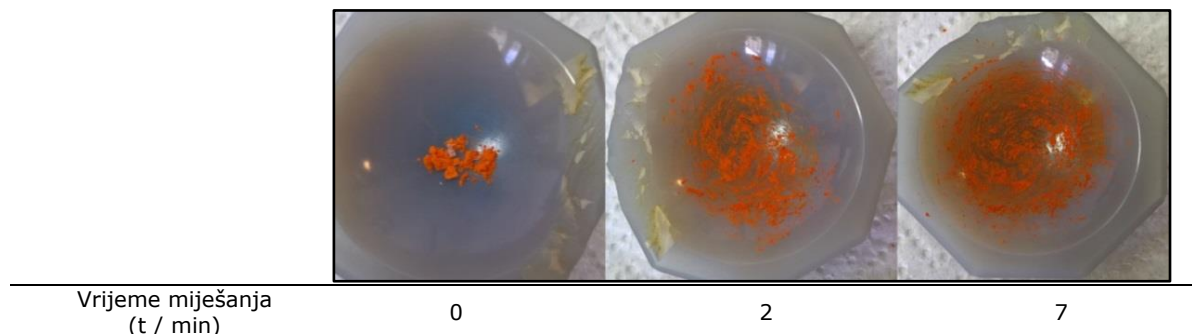
Slika 13. 2D A) ^1H — ^1H COSY, B) ^1H — ^1H NOESY te C) ^1H — ^{13}C HMQC (označen crveno) i HMBC (označen plavo) spektri NMR **S2**.



Slika 14. 2D ^1H — ^{15}N HMBC spektar spoja **S2**.

4.3. Kompleks liganda **S1** s AgNO_3 ($[\text{Ag}(\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{ClN}_2\text{O}_3)_2]\text{Cl} \cdot (\text{NO}_3)$, **K1**)

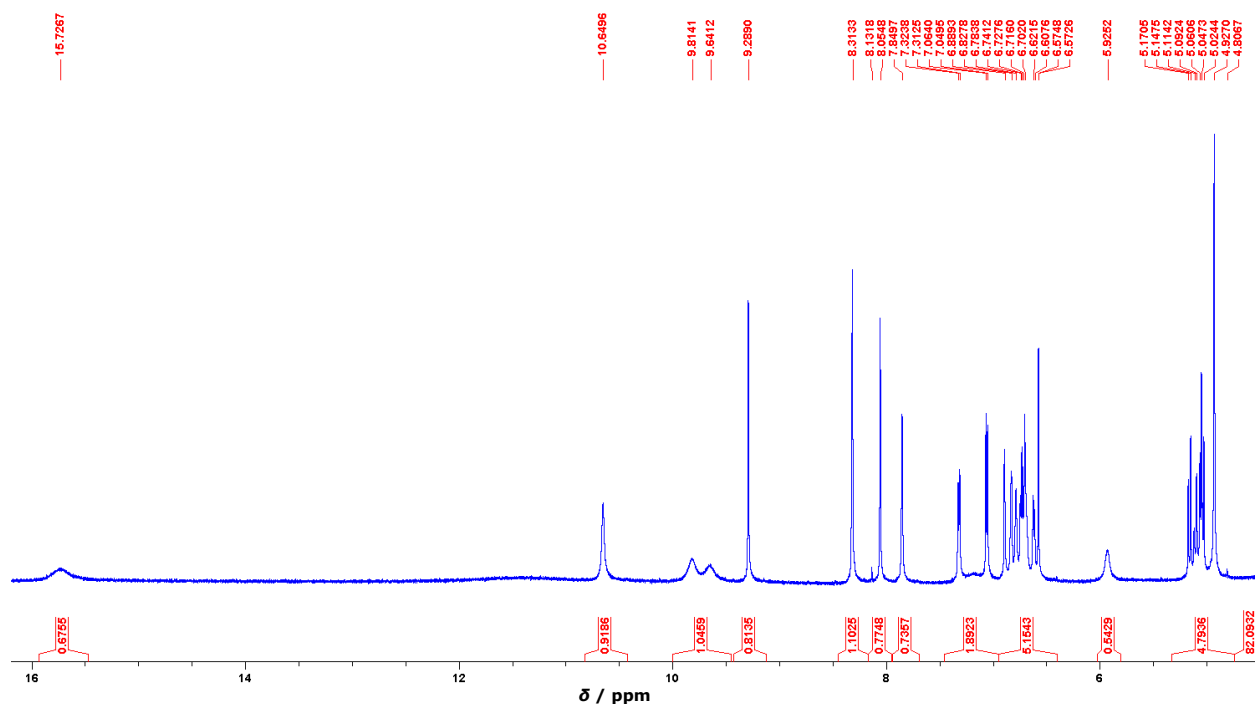
Iskorištenje: 0,04 g (63,5 %).



Slika 15. Prikaz promjene boje u minutama tijekom mehaničke pripreme kompleksa **K1**.

FT-IR (KBr, $\tilde{\nu}$ / cm^{-1}): 3429 (m), 3249 (m), 3083 (m), 2925 (m), 1896 (w), 1762 (w), 1619 (w-m), 1574 (w-m), 1456 (s), 1384 (s), 1317 (s), 1236 (m-s), 1098 (m), 1047 (w-m), 997 (w-m), 918 (w-m), 823 (m-s), 722 (w), 647 (w), 574 (w), 463 (w) (Slika D3).

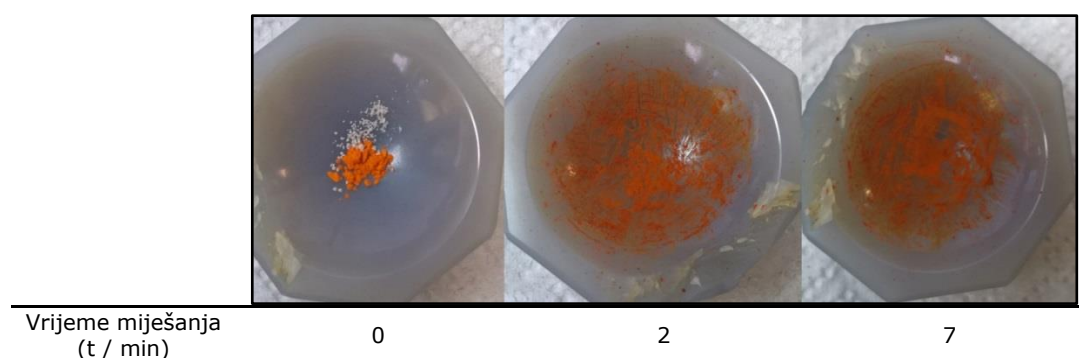
^1H NMR (600,130 MHz, DMSO-d_6 , 25 °C): δ 15,73 (1H, br.s, OH-3), 10,65 (1H, s, OH-2'), 9,29 (1H, s, H- α), 8,06 (1H, s, H-6), 7,85 (1H, d, $^4J_{\text{H,H}} = 2,32$ Hz, H-6'), 7,32 (1H, dd, $^3J_{\text{H,H}} = 8,78$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 2,32$ Hz, H-4'), 7,06 (1H, d, $^3J_{\text{H,H}} = 8,78$ Hz, H-3'), 5,93 (1H, br.s, OH-5), 4,93 (2H, s, CH_2), 2,56 (3H, d, $^4J_{\text{H,H}} = 8,67$ Hz, CH_3) ppm (Slika 16).



Slika 16. ^1H NMR spektar **K1**.

4.4. Kompleks liganda S1 i CH_3COOAg ($(\text{CH}_3\text{COO})[\text{Ag}(\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{ClN}_2\text{O}_3)_2]\text{Cl}$, **K2**)

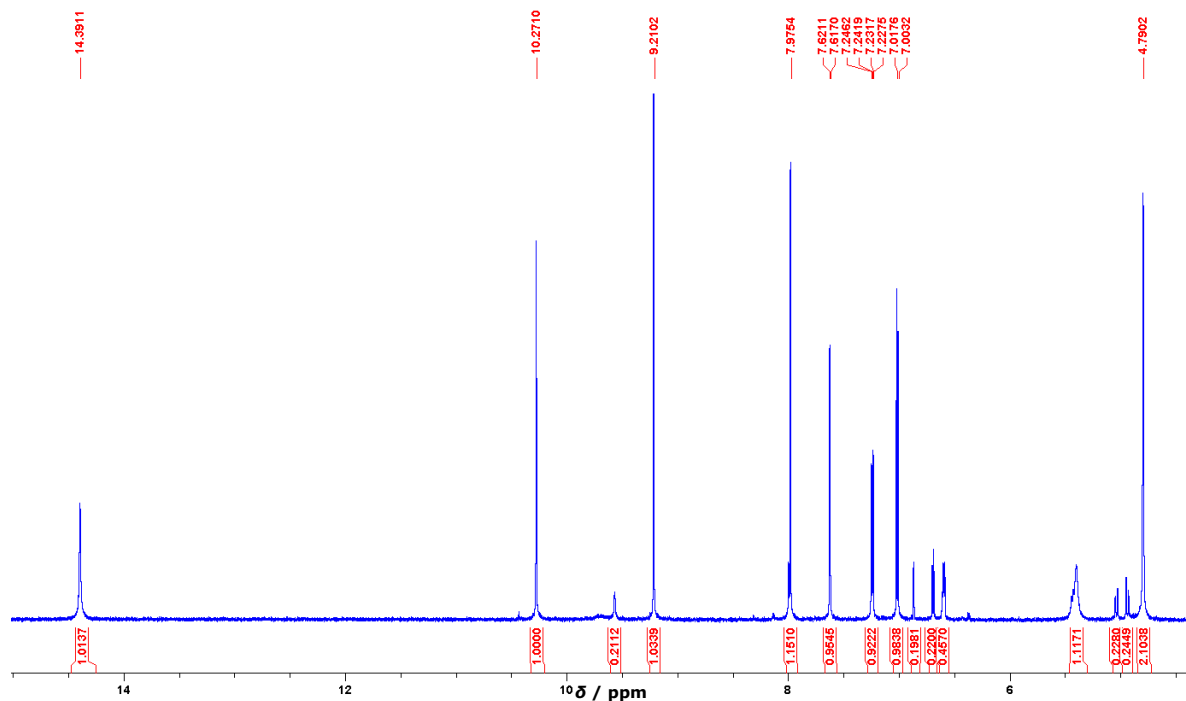
Iskorištenje: 0,05 g (79,4 %).



Slika 17. Prikaz promjene boje tijekom mehaničke pripreme kompleksa **K2**.

FT-IR (KBr, $\tilde{\nu}$ / cm^{-1}): 3398 (m-s), 2925 (m-s), 2636 (m-s), 2088 (w), 2027 (w), 1973 (w), 1872 (w), 1704 (w), 1612 (m), 1545 (m), 1491 (m-s), 1402 (s), 1259 (s), 1120 (m), 1021 (m), 914 (m), 868 (w), 819 (m), 712 (w), 659 (w-m), 551 (w), 469 (w) (Slika D4).

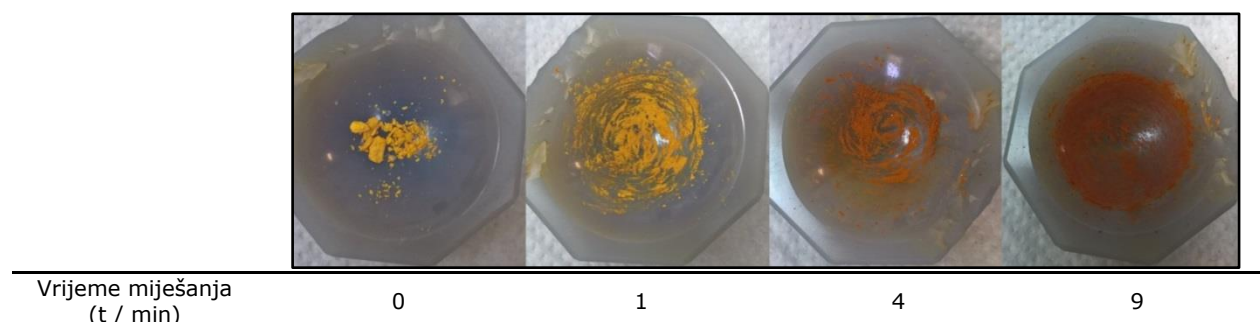
^1H NMR (600,130 MHz, DMSO- d_6 , 25 °C): δ 14,39 (1H, br.s, OH-3), 10,27 (1H, s, OH-2'), 9,21 (1H, s, H-a), 7,98 (1H, s, H-6), 7,62 (1H, d, $^4J_{\text{H,H}} = 2,40$ Hz, H-6'), 7,24 (1H, dd, $^3J_{\text{H,H}} = 8,81$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 2,53$ Hz, H-4'), 7,01 (1H, d, $^3J_{\text{H,H}} = 8,81$ Hz, H-3'), 5,71 (1H, br.s, OH-5), 4,79 (2H, s, CH_2), 2,51–2,46 (3H, m, CH_3) ppm (Slika 18).



Slika 18. ^1H NMR spektar **K2**.

4.5. Kompleks liganda S2 i AgNO_3 ($[\text{Ag}(\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}_3)_2](\text{NO}_3)$, **K3**)

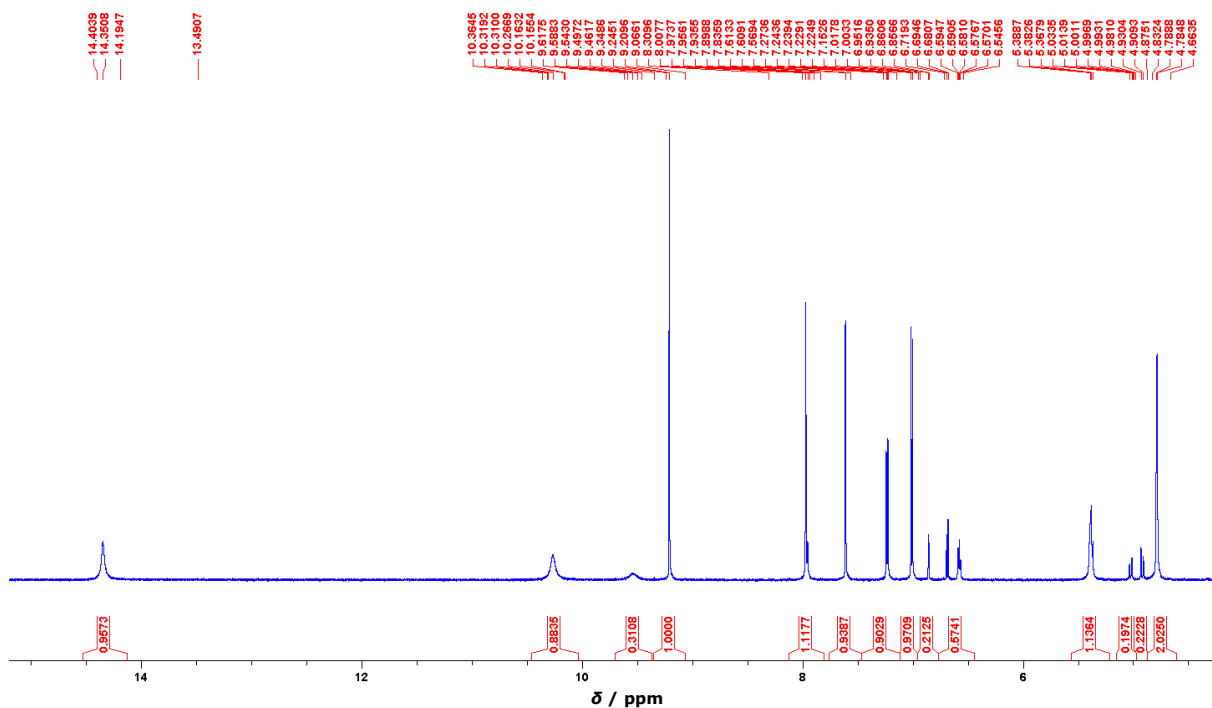
Iskorištenje: 0,03 g (40 %).



Slika 19. Prikaz promjene boje tijekom mehaničke pripreme kompleksa **K3**.

FT-IR (KBr, $\tilde{\nu}$ / cm^{-1}): 2827 (m), 2712 (m), 1766 (w), 1615 (w-m), 1487 (m), 1382 (s), 1258 (m-s), 1119 (w-m), 1017 (m), 912 (m), 817 (m), 714 (w), 660 (w), 551 (w) (Slika D5).

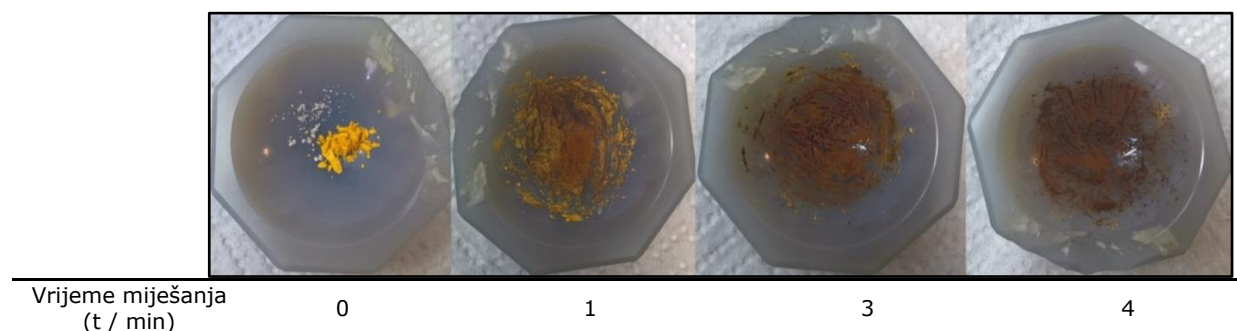
^1H NMR (600,130 MHz, DMSO- d_6 , 25 °C): δ 14,35 (1H, br.s, OH-3), 10,27 (1H, s, OH-2'), 9,22 (1H, s, H-a), 7,97 (1H, s, H-6), 7,61 (1H, d, $^4J_{\text{H,H}} = 2,61$ Hz, H-6'), 7,23 (1H, dd, $^3J_{\text{H,H}} = 8,86$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 2,57$ Hz, H-4'), 7,02 (1H, d, $^3J_{\text{H,H}} = 8,86$ Hz, H-3'), 5,39 (1H, br.s, OH-5), 4,79 (2H, s, CH_2), 2,43 (3H, m, CH_3) ppm (Slika 20).



Slika 20. ^1H NMR spektar **K3**.

4.6. Kompleks liganda S2 i CH_3COOAg ($(\text{CH}_3\text{COO})[\text{Ag}(\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}_3)_2]$, **K4**)

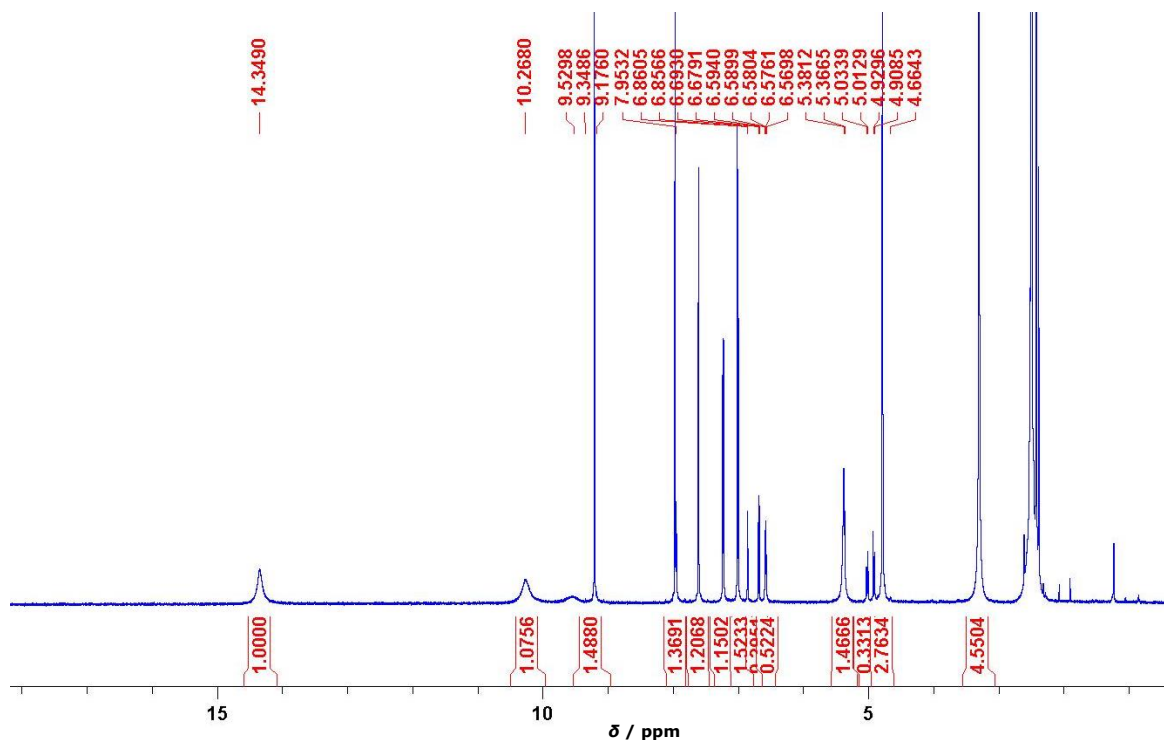
Iskorištenje: 0,07 g (77,3 %).



Slika 21. Prikaz promjene boje tijekom mehaničke pripreme kompleksa **K4**.

FT-IR (KBr, $\tilde{\nu}$ / cm^{-1}): 3408 (s), 2830 (m), 2716 (m), 2637 (m), 1891 (w), 1564 (s), 1486 (m-s), 1402 (s), 1296 (m), 1258 (m), 1119 (w-m), 1017 (m), 912 (m), 824 (m), 763 (w-m), 660 (m), 551 (w-m), 524 (w-m), 406 (w) (Slika D6).

^1H NMR (600,130 MHz, DMSO- d_6 , 25 °C): δ 10,27 (1H, s, OH-2'), 9,28 (1H, s, H-a), 7,95 (1H, s, H-6), 6,86 (1H, d, $^4J_{\text{H,H}} = 8,64$ Hz, H-6'), 6,86 (1H, d, $^4J_{\text{H,H}} = 8,81$, H-4'), 6,69 (1H, d, $^3J_{\text{H,H}} = 8,43$ Hz, H-3'), 4,66 (2H, s, CH_2), 2,42 (3H, m, CH_3) ppm (Slika 22).

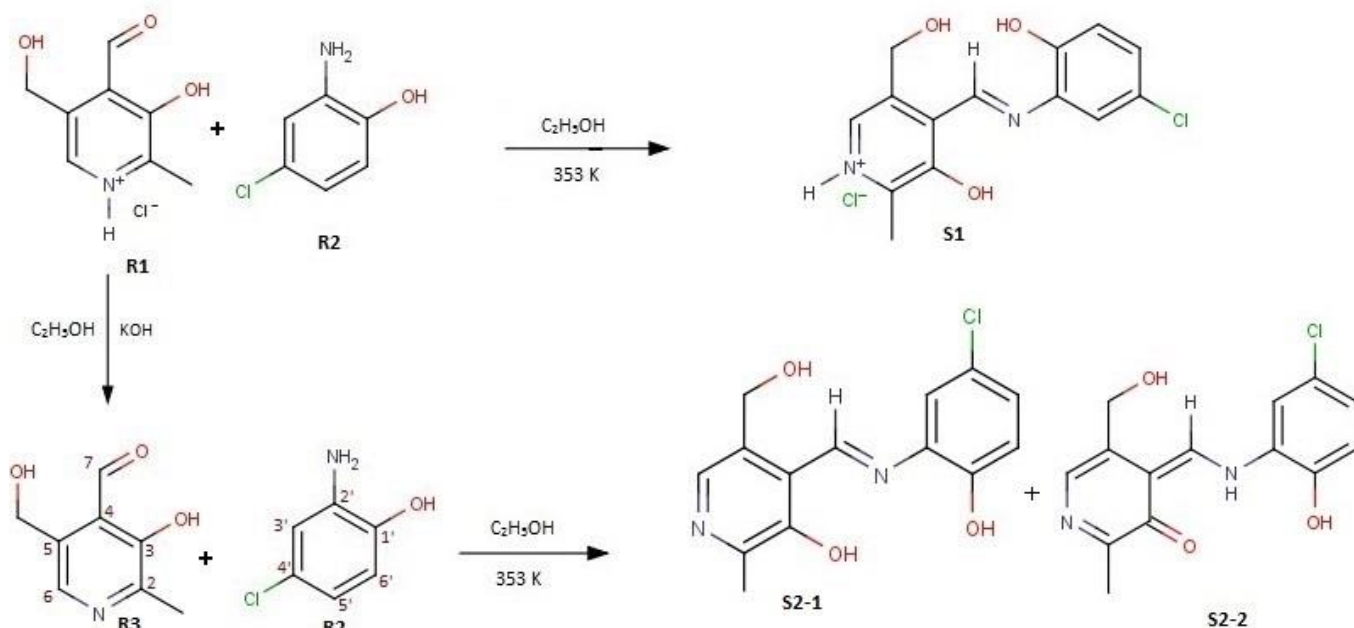


Slika 22. ^1H NMR spektar **K4**.

Sva navedena iskorištenja kompleksa **K1** – **K4** odnose se na mase uzorka dobivene postupkom kondenzacije u bezvodnom etanolu u struji dušika. Svi ovdje prikazani ^1H spektri NMR pripadaju uzorcima kompleksa dobivenima reakcijom kondenzacije.

5. Rasprava

Reakcijom piridoksal hidroklorida (**R1**), odnosno piridoksala (**R3**) s 2-amin-4-klorfenolom (**R2**) u množinskom omjeru 1 : 1 sintetizirane su Schiffove baze **S1** i **S2** (Shema 1). Spoj **R1** neutraliziran je dodatkom ekvivalentne količine KOH (1 : 1). Obje baze pripravljene su iz etanolne otopine reakcijom kondenzacije uz vodeno hladilo pri temperaturi od oko 80 °C. Odmah po miješanju reaktanata **R1** i **R2**, odnosno **R3** i **R2** nastaje talog svjetlo narančaste, odnosno žute boje. Tijekom reakcije kondenzacije nastali talog tamni i u konačnici (nakon 3 sata) kod spoja **S1** poprima crvenonarančastu boju, a izračunato iskorištenje iznosi $\approx 56\%$. Neutralizacijom spoja **R1** boja otopine se odmah po dodatku KOH promjeni iz bezbojne u žutu, a dodatkom reaktanta **R2** u tamniju žutu. Nakon otprilike 3 sata od početka reakcije kondenzacije nastaje talog žute boje i iskorištenja od $\approx 40\%$.

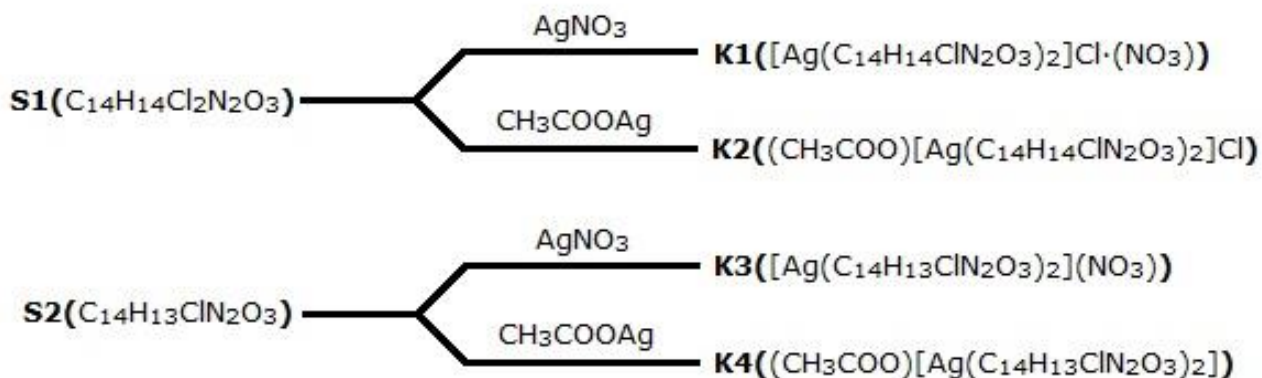


Shema 1. Sinteza Schiffovih baza **S1** i **S2** te brojanje atoma spojeva korišteno pri asignaciji u spektrima NMR.

Srebrovi(I) kompleksi istraživanih liganda pripremljeni su:

- titracijom otopine liganda s otopinom srebrove(I) soli u deuteriranom dimetilsulfoksidu ($DMSO-d_6$),
- mehaničkim putem, i to miješanjem liganda i srebrove(I) soli u ahatnom tarioniku bez dodatka otapala,
- reakcijom kondenzacije u etanolnoj otopini u struji dušika pri temperaturi od 25 °C.

U istraživanju su korištene dvije vrste srebrovih(I) soli - srebrov(I) nitrat i srebrov(I) acetat (Shema 2), odnosno jedna sol s jako vezujućim anionom (NO_3^-), a druga sa slabo vezujućim anionom (CH_3COO^-).



Shema 2. Priprema srebrovih(I) kompleksa Schiffovih baza.

5.1. Spektroskopija NMR u otopini

Tehnike višenuklearne 1D spektroskopije NMR (^1H , ^{13}C , ^{15}N) korištene su pri provjeri analitičke čistoće i potvrdi struktura samih reaktanata (**R1**, **R2**, **R3**) te u istraživanju pripremljenih liganada (**S1**, **S2**) i njihovih kompleksa (**K1** – **K4**). Zbog što točnije asignacije signala u 1D spektrima NMR, primijenjene su i 2D tehnike NMR i to: ^1H – ^1H COSY, ^1H – ^1H NOESY, ^1H – ^{13}C HMQC, ^1H – ^{13}C HMBC i ^1H – ^{15}N HMBC.

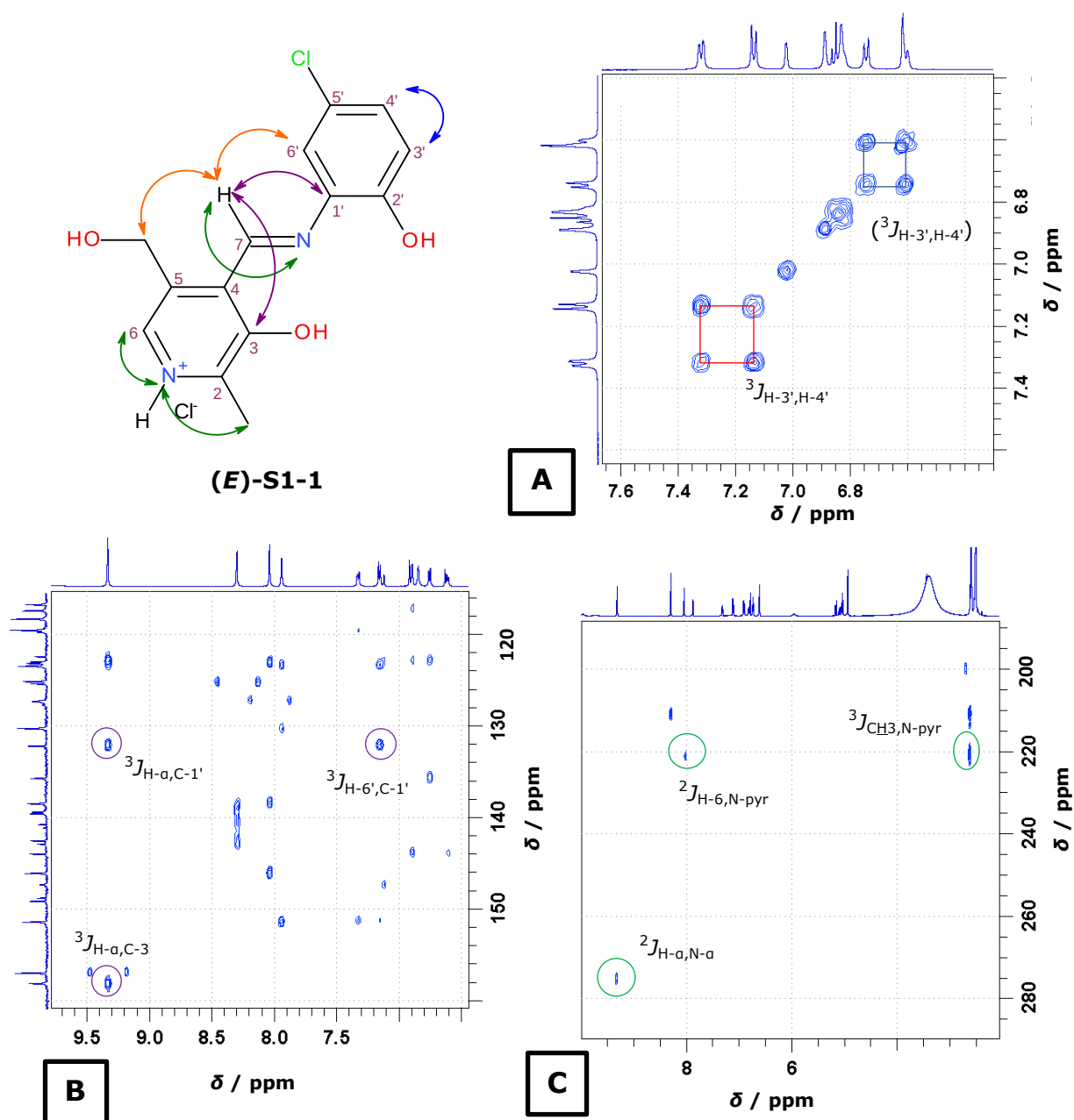
Nastanak spoja **R3**, osim promjene boje, potvrđuju i kemijski pomaci signala jezgri ^1H -atoma u spektru NMR koji se nakon reakcije neutralizacije zasjenjuju za $\approx -0,1$ do $-0,3$ ppm ovisno o položaju u piridinskom prstenu, u odnosu na pomake signala u ^1H spektru spoja **R1**. Najviše se zasjenjuju jezgre atoma H-6 ($-0,27$ ppm) i CH_3 ($-0,19$ ppm) smještene u *ortho*- položaju prema dušikovom atomu piridoksalnog prstena.

Analizom 1D i 2D spektara NMR pripremljenih liganada (**S1**, **S2**) utvrđene su određene razlike (Slike 10 – 12 u poglavlju *Rezultati*). U spektrima NMR liganda **S1** vidljiva su tri seta, a kod liganda **S2** dva seta signala. Kemijski pomaci i korelacijski signali u 2D spektrima ukazuju na signale slobodnog piridoksala te na pojavu tautomera Schiffovih baza i to keto-aminskog i enol-iminskog. Pronađeni tautomeri označeni su oznakom **S1**,

odnosno **S2**, te crticom i brojem koji označava njegovu zastupljenost u analiziranoj smjesi određenu prema izračunatom integralu u ^1H spektru NMR (**S2-1**, **S2-2**).

Strukturu enol-iminskog tautomera **S1-1** potvrđuju kemijski pomaci signala u 1D ^1H , ^{13}C i ^{15}N spektrima NMR te korelacijski signali u 2D spektrima i to ^1H – ^{13}C HMBC te ^1H – ^{15}N HMBC (set I). Na slici 23A uz pretpostavljenu strukturu spoja, strelicama su označene skalarne i dipolne sprege koje su bile važne u određivanju strukture spoja. Korelacijski signal u ^1H – ^{13}C HMBC spektru (označeno ljubičastim strelicom na slici 23A) između H- α i C-1' atoma potvrđuje nastanak liganda **S1** (Slika 23C), a korelacijski signali između atoma H- α i H-6' te H- α i CH_2OH u ^1H – ^1H NOESY spektru (označeno narančastom strelicom na slici 23A) ukazuju na međusobnu orijentaciju prstenova u otopini. Piridokslov atom dušika (N-pyr) razlikuje se od azometinskog (N- α) po korelacijskim signalima u ^1H – ^{15}N HMBC spektru (označeno zelenim strelicama na slici 23A). N-pyr pokazuje skalarnu spregu s jezgrama ^1H -atoma metilne skupine vezane na položaju C-2 te s protonom H-6, dok se N- α skalarno spreže s protonom H- α (Slika 23D). Nastanak Schiffove baze osjećaju jezgre svih atoma u piridoksalnom i 2-hidroksi-5-klorfenilnom prstenu što se vidi po pomaku signala njihovih jezgri u spektrima NMR. Nastankom **S1-1** tautomera signali jezgri piridoksalnog prstena u ^1H spektru se zasjenjuju od $-0,02$ do $-0,25$ ppm ($\text{H-6} > \text{CH}_2^{\text{a}} >> \text{CH}_2^{\text{b}} > \text{CH}_3$), dok se signali jezgri 2-hidroksi-5-klorfenilnog prstena odsjenjuju od $0,53$ do $1,32$ ppm ($\text{H-6}' > \text{H-4}' > \text{H-3}'$). Signal jezgre H- α atoma također se odsjenjuje i to za $2,67$ ppm. Pretpostavlja se da je to zato što nešto manje elektronegativniji dušik (od prethodno vezanog kisika iz aldehidne skupine) privlači elektrone s fenolnog prstena i atoma H- α koji se odsjenjuju. Zamjenom atoma kisika s atomom dušika, dipolni moment se pomiče prema atomima piridoksalnog prstena što se očituje u zasjenjenju signala njihovih atoma.

Ostale signale u 1D spektrima NMR spoja **S1**, prema njihovim kemijskim pomacima, multiplicitetu te korelacijskim signalima u 2D spektrima, pripisujemo slobodnom piridoksalu te drugom (najvjerojatnije keto-amino) tautomeru, ali zbog velikog preklapanja signala u području ^1H spektra od $7,1$ do $6,6$ ppm to se ne može sa sigurnošću tvrditi. Ipak, tri seta signala koji nedvojbeno pripadaju hidroksimetilnoj ($-\text{CH}_2\text{OH}$), odnosno metilnoj skupini ($-\text{CH}_3$) ukazuju na prisutnost triju različitih molekula piridoksala u smjesi (Slika 11 u poglavlju *Rezultati*). U istoj su smjesi također prisutna i dva seta signala koja pripadaju 2-hidroksi-5-klorfenilnom prstenu na što ukazuju korelacijski signali u ^1H – ^1H COSY spektru NMR (Slika 23B). U spektru ^1H – ^{15}N HMBC vidi se i korelacijski signal dušika s jezgrom atoma H6' pripisanog setu II signala i to pri $28,6$ ppm što potvrđuje pretpostavku o postojanju drugog tautomera. Dva tautomera u uzorku **S1**, prema integralima izračunatima u ^1H NMR spektru, nastaju približno u omjeru $1 : 1$, dok je slobodni reaktant zastupljen u manjoj količini (set III).



Slika 23. Pretpostavljena struktura spoja **(E)-S1-1**. Ljubičastom bojom označene su sprege pronađene u ${}^1\text{H}$ – ${}^{13}\text{C}$ HMBC spektru, zelenom u ${}^1\text{H}$ – ${}^{15}\text{N}$ HMBC spektru, plavom u ${}^1\text{H}$ – ${}^1\text{H}$ COSY spektru, a narančastom u ${}^1\text{H}$ – ${}^1\text{H}$ NOESY spektru. Korelacijski signali u A) ${}^1\text{H}$ – ${}^1\text{H}$ COSY, B) ${}^1\text{H}$ – ${}^{13}\text{C}$ HMBC i C) ${}^1\text{H}$ – ${}^{15}\text{N}$ HMBC spektru.

U spektru Schiffovih baza (**S1**, **S2**) signal jezgre azometinskog ^{15}N -atoma odsjenjuje se za ≈ 12 do ≈ 242 ppm ovisno o nastalom tautomeru (keto-aminskom ili enol-iminskom). Kemijski pomak signala jezgre ^{15}N -atoma kod enol-iminskog tautomera (**S1-1**, **S2-1**) jako je pomaknut u niže magnetsko polje, vjerojatno zbog nastale dvostruke veze i manjka elektronske gustoće u okolini (Tablica 5).

Tablica 5. Kemijski pomak jezgre atoma $^{15}\text{N}-\alpha$ (δ / ppm) u istraživanim spojevima te razlika u kemijskim pomacima signala jezgri istog atoma ($\Delta\delta$ / ppm) u **R2** i pripravljenim Schiffovim bazama.

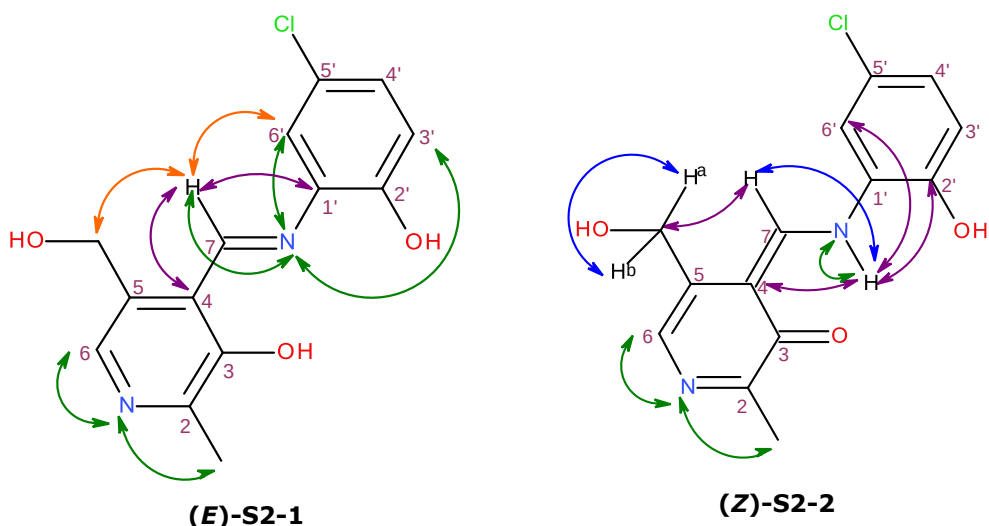
Atom	δ ($\Delta\delta^a$) / ppm			
	R2	S1-1	S2-1	S2-2
NH ₂	51,5	/ ^b	/	/
N- α	/	275,1 (223,6) ^c	293,3 (241,8)	63,1 (11,6)

^a $\Delta\delta = \delta_{\text{Schiffove baze}} - \delta_{\text{R2}}$

^bAtom ne dolazi u navedenom spoju.

^cPredznakom plus (+) označeno je odsjenjenje jezgre.

Dva seta signala u ^1H spektru NMR liganda **S2** jasno pokazuju da reakcijom kondenzacije neutralnog piridoksala s 2-amin-4-klorfenolom nastaju dva različita izomera koja se po kemijskim pomacima u 1D (^1H , ^{13}C , ^{15}N) spektrima te korelacijskim signalima u 2D spektrima NMR ($^1\text{H}-^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ HMBC) mogu pripisati enol-iminskom (**S2-1**) i keto-aminskom (**S2-2**) tautomeru. Pretpostavljene strukture obaju spojeva prikazane su na slici 24 zajedno sa skalarnim i dipolnim spregama važnima za potvrdu strukture svakog tautomera. Strukture nastalih tautomera međusobno se lako razlikuju po kemijskim pomacima signala jezgri $^{15}\text{N}-\alpha$ atoma određenima iz 2D $^1\text{H}-^{15}\text{N}$ HMBC spektra kao i pronađenim skalarnim spregama (Slika 25D, Tablica 5). Kod spoja **S2-1** kemijski pomak signala jezgre $^{15}\text{N}-\alpha$ nalazi se pri 293,3 ppm, a skalarno se spreže s jezgrama H- α , H-6' i H-3' atoma. Kod keto-aminskog tautomera (**S2-2**), isti se signal nalazi pri 63,1 ppm i pokazuje skalarnu spregu s direktno vezanim H-atomom ($^3J_{\text{H}-\alpha, \text{NH}-\alpha} = 86,8$ Hz). $^{15}\text{N}-\alpha$ atom također se spreže i sa susjednim H- α atomom ($^3J_{\text{H}-\alpha, \text{NH}-\alpha} = 8,32$ Hz) što je i prikazano na slici 25A.

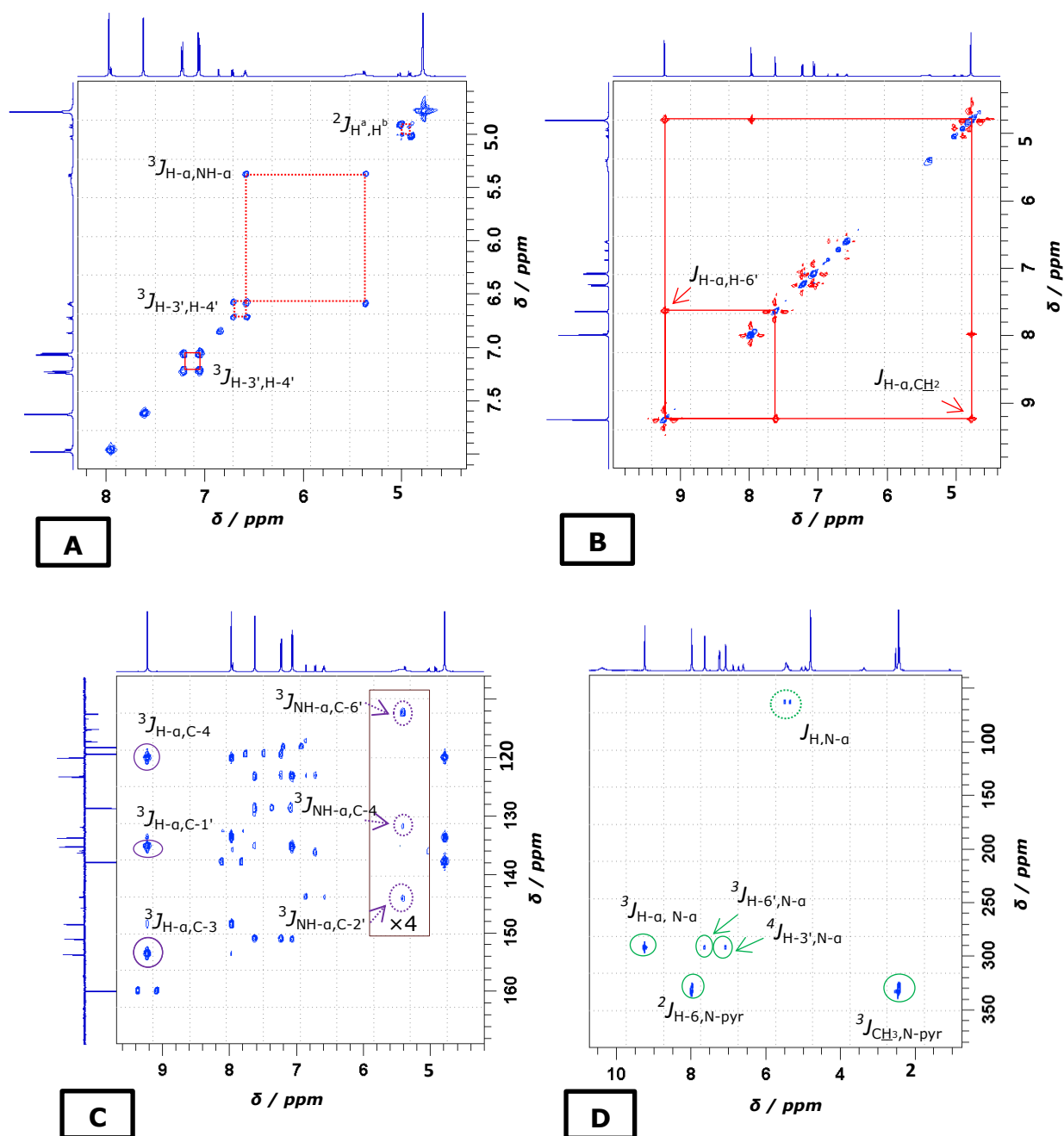


Slika 24. Enol-iminski (**S2-1**) i keto-aminski (**S2-2**) tautomer spoja **S2**. Ljubičastom bojom označene su sprege pronađene u ^1H – ^{13}C HMBC spektru, zelenom u ^1H – ^{15}N HMBC spektru, plavom u ^1H – ^1H COSY spektru, a narančastom u ^1H – ^1H NOESY spektru.

Ostali pripadajući signali za svaki tautomer otkriveni su pomoću korelacijskih signala iz ^1H – ^{13}C HMBC spektra (Slika 25C). Međusobna orijentacija prstenova je i ovdje potvrđena iz ^1H – ^1H NOESY spektra koji prikazuje dipolne sprege između jezgre atoma H- α i H-6' te H- α i CH_2OH (Slika 25B). Na slici 4A-D sve korelacije pripisane enol-imino tautomeru (**S2-1**) označene su punim, a keto-aminskom tautomeru (**S2-2**) isprekidanim linijama. Prema integralima u ^1H NMR spektru keto-aminskog tautomera nastaje osam puta manje (Slika 12 u Rezultatima).

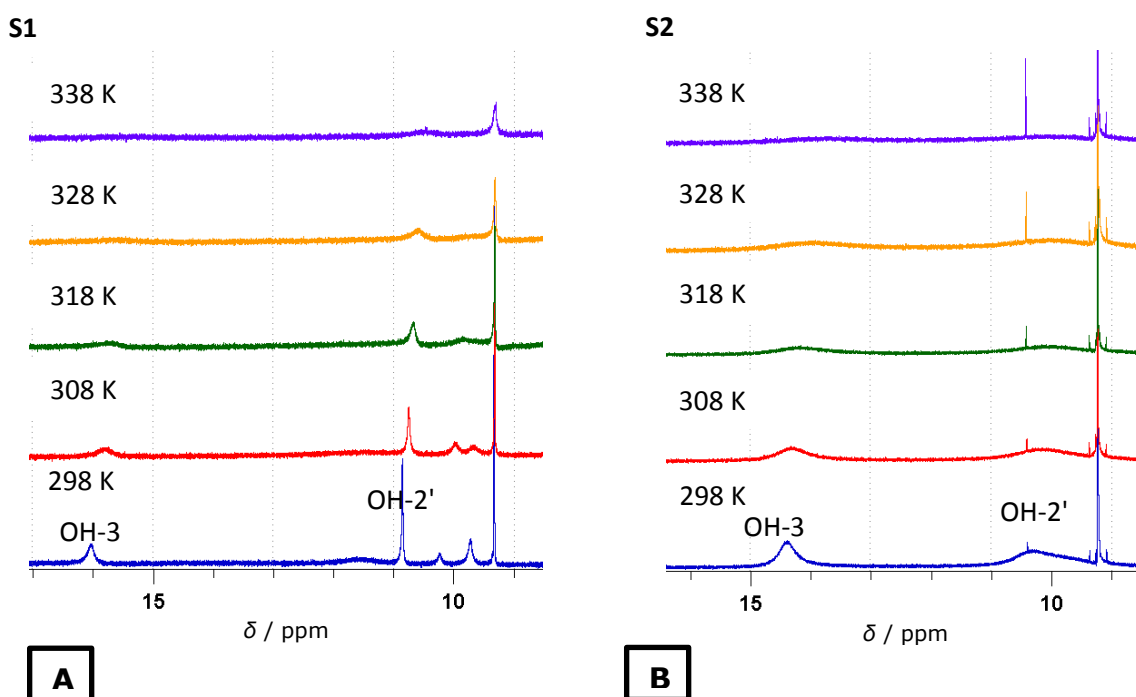
Nastanak Schiffove baze **S2** osjećaju jezgre gotovo svih ^1H -atoma u piridoksalnom i 2-hidroksi-5-klorfenilnom prstenu, osim metilne skupine, što se vidi po pomaku signala njihovih jezgri u spektrima NMR. Pomaci signala u više i niže magnetsko polje u skladu su s onima zabilježenima kod spoja **S1-1**, odnosno jezgre ^1H -atoma piridoksalnog prstena se i ovdje zasjenjuju, a 2-hidroksi-5-klorfenilnog odsjenjuju. Općenito, pomaci signala kod **S2-1** tautomera veći su od onih kod spoja **S2-2**. Signali jezgri ^1H -atoma piridoksalnog prstena kod **S2-1** tautomera u spektru zasjenjuju se od $-0,05$ do $-0,29$ ppm ($\text{H-6} > \text{CH}_2^a > \text{CH}_2^b$), dok se signali jezgri 2-hidroksi-5-klorfenilnog prstena odsjenjuju od $0,45$ do $1,03$ ppm ($\text{H-6}' > \text{H-4}' > \text{H-3}'$). Kod spoja **S2-2** signali jezgri ^1H -atoma piridoksalnog prstena u spektru se zasjenjuju ($\text{H-6} \approx \text{CH}_2^a \approx -0,05$ ppm), dok se signali jezgri 2-hidroksi-5-klorfenilnog prstena ($\text{H-6}' > \text{H-4}' > \text{H-3}'$) odsjenjuju ($0,11$ do $0,26$ ppm). Signal jezgre H- α atoma najviše se odsjenjuje kod obaju tautomera, i to za $2,75$ ppm kod **S2-1**, odnosno za $0,10$ ppm kod **S2-2**.

Činjenica da je kod spoja **S2-1** zabilježen jedan signal hidroksimetilne skupine u spektru ^1H (singlet), a kod spoja **S2-2** dva signala (dubleta) potvrđuje pretpostavku o nastanku keto-aminske forme i kod spoja **S1** (**S1-2**).



Slika 25. Korelacijski signali u A) ^1H – ^1H COSY, B) ^1H – ^1H NOESY, C) ^1H – ^{13}C HMBC i D) ^1H – ^{15}N HMBC spektru. Punom su crtom prikazane korelacije u **S2-1**, a isprekidanom u **S2-2** tautomeru.

Kemijski pomaci signala OH skupina na položajima 3 i 2' u ^1H spektrima NMR ($\delta > 7$ ppm) liganada **S1** i **S2** ukazuju na njihovo sudjelovanje u vodikovim vezama. Temperaturnim titracijama u rasponu od 298 do 338 K potvrđeno je da su te vodikove veze intramolekulske prirode. Naime, zagrijavanjem otopine uzorka u NMR cjevčici i neposrednim snimanjem ^1H spektra NMR zabilježene su tek male promjene kemijskih pomaka promatranih signala jezgri ($\Delta\delta < 0,3$ ppm) i to kod obaju hidroksidnih skupina u molekuli (Slika 26A i B). Postojanje intermolekulskih veza u otopini nije bilo moguće istražiti titracijom s dimetilsulfoksidom (DMSO-d_6) jer su spojevi **S1** i **S2** potpuno netopljivi u kloroformu ($\text{CDCl}_3\text{-d}$) i acetonitrilu ($\text{CD}_3\text{CN-d}_3$).



Slika 26. Promjena kemijskog pomaka signala ^1H jezgre kod OH-3 i OH-2' skupine pri temperaturnoj titraciji spoja A) **S1** i B) **S2** u rasponu od 298 do 338 K.

Kako bi potvrdili kompleksiranje Schiffovih baza **S1** i **S2** sa srebrovim(I) ionima u otopini te istražili omjer i mjesto vezanja srebrova(I) iona i liganda, napravljene su titracije praćene standardnom ^1H tehnikom spektroskopije NMR. Otopina liganada **S1**, odnosno **S2** (0,015 mmol u 600 μL DMSO-d_6) titrirana je otopinom srebrove(I) soli (0,015 mmol u 500 μL DMSO-d_6). Nakon dodatka polovice volumena otopine soli, što odgovara polovici ekvivalenta, u cjevčici je došlo do taloženja što upućuje na vezanje srebrova(I) iona i liganda u omjeru 1 : 2. Stoga su kod kompleksiranja mehaničkim putem i kondenzacijom, srebrove(I) soli i ligandi miješani upravo u tom omjeru (1 : 2).

Miješanjem AgNO_3 i CH_3COOAg s ligandima u tarioniku bez dodatka otapala, dolazi do promjene boje kako je i prikazano na slikama u poglavlju *Rezultati*. Vrijeme miješanja mjereno je štopericom do prestanka promjene boje smjese vidljive prostim okom, odnosno 4 – 13 min ovisno o odabranoj srebrovoj(I) soli i Schiffovoj bazi (**S1**, **S2**). Kod svih uzoraka zabilježena je jasna promjena boje iz narančaste do tamno crvene ili smeđe. Nastanak kompleksa mehaničkim putem i reakcijom kondenzacije potvrđuje pomak signala u ^1H spektrima NMR snimljenima u DMSO-d_6 (Tablica 6; Slike 34 i 35). Zbog velikog preklapanja, pomicanje signala spoja **S1-2** u ^1H spektru NMR dodatkom CH_3COOAg nije bilo moguće preciznije odrediti.

Tablica 6. Razlika u kemijskim pomacima ($\Delta\delta$ / ppm) signala jezgri atoma ^1H liganda **S1-1** i **S1-2** određena titracijom s AgNO_3 i CH_3COOAg .

H-atom molekule	$\Delta\delta^a$ / ppm		H-atom molekule	$\Delta\delta$ / ppm
	AgNO_3 K1	CH_3COOAg K2		
S1-1			S1-2	AgNO_3 K1
OH-3	−0,21 ^c	−1,19		
OH-2'	−0,16	−0,43	OH	−0,29
H-α	−0,02 ^d	−0,08	H-α	−0,04
H-6	0,02 ^e	−0,04	H-6	0,02
H-6'	−0,05	−0,22	H-6'	−0,16
H-4'	/ ^b	−0,06	H-4'	/
H-3'	−0,06	−0,09	H-3'	nmo ^c
CH ₂	−0,02	0,12	CH ₂	/
CH ₃	−0,04	0,11	CH ₃	nmo
CH ₂ OH	−0,05	−0,26	CH ₂ OH	−0,05

^a $\Delta\delta = \delta_{\text{kompleksa}} - \delta_{\text{liganda}}$

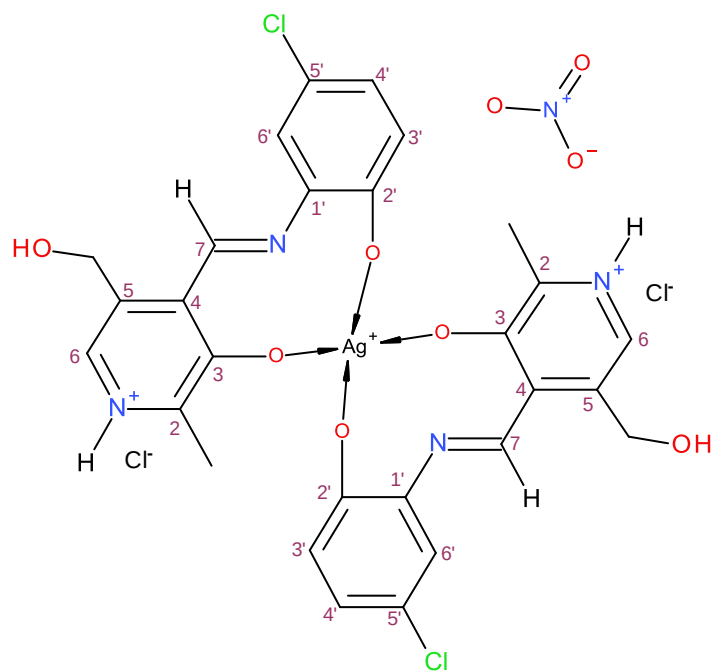
^bNe dolazi do pomicanja signala.

^cnmo = Nije moguće odrediti.

^dPredznakom minus (−) označeno je zasjenjenje jezgre.

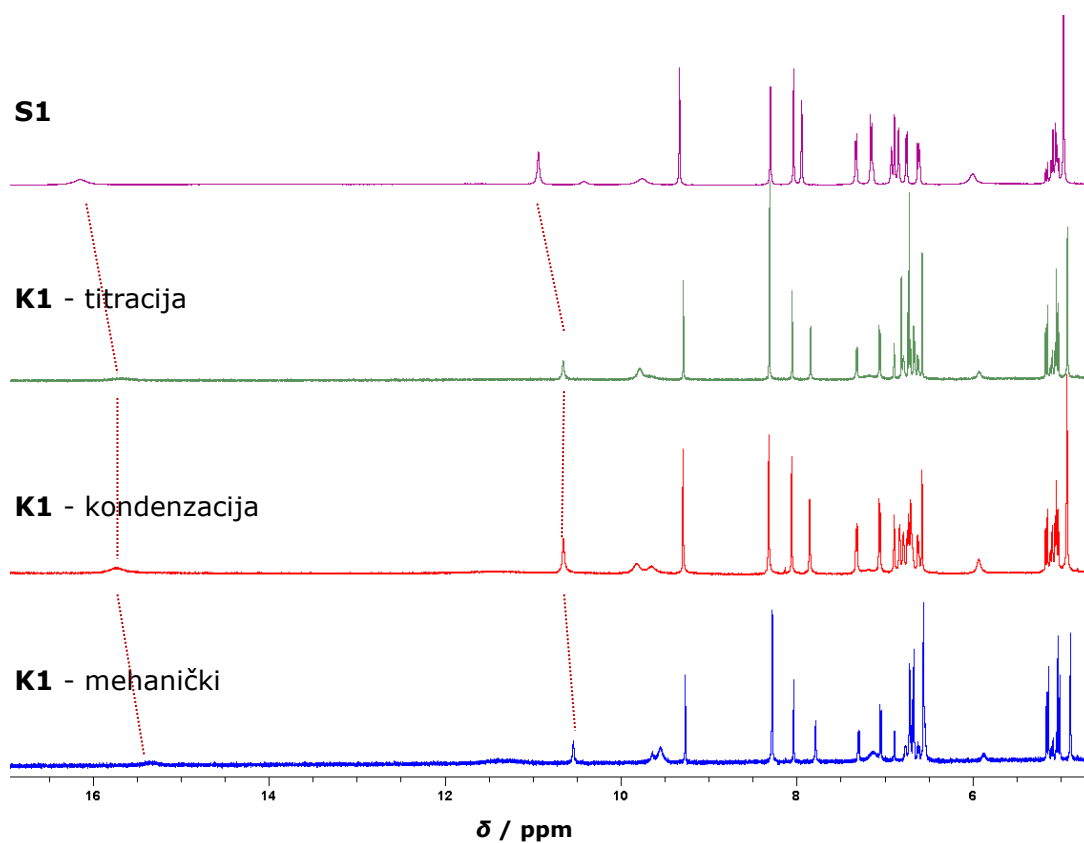
^ePredznakom plus (+) označeno je odsjenjenje jezgre.

Najveće promjene u kemijskom pomaku u ^1H spektru NMR kompleksa **K1** i **K2** opažaju se kod signala OH skupina (−0,16 do −1,19 ppm) što ukazuje na koordinaciju srebrova(I) iona preko atoma kisika hidroksidnih skupina na ligande **S1-1** i **S1-2** (Slika 27), iako bi se ovdje mogla očekivati i koordinacija preko azometinskog dušika.(47)

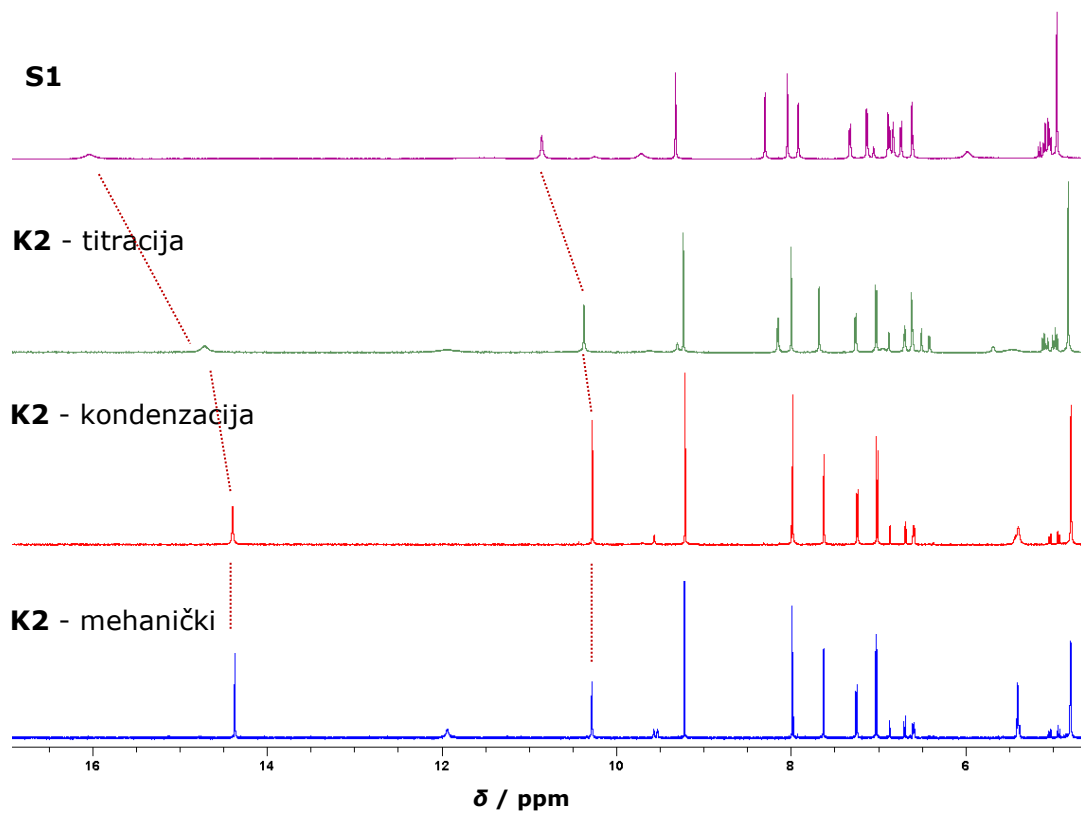


Slika 27. Pretpostavljena struktura **S1-1** u otopini (DMSO- d_6).

Najveće promjene u kemijskom pomaku signala jezgre ^1H -atoma OH-3 i OH-2' skupine opažene su i u ^1H spektrima kompleksa **K1** koji je dobiven mehaničkim putem i kondenzacijom (crvenom isprekidanom linijom označeno na slici 28. U spektrima kompleksa **K2** zasjenjeniji su signali kod uzoraka dobivenih kondenzacijom i mehaničkim putem, nego kod onoga dobivenog titracijom pomoću spektroskopije NMR (Slika 29). Zabilježene promjene u pomacima kemijskih signala veće su kod kompleksiranja liganda **S1** s CH_3COOAg .



Slika 28. ^1H spektri NMR liganda **S1** i njegovih kompleksa s AgNO_3 dobivenih na različite načine.



Slika 29. Usporedba ^1H spektara NMR liganda **S1** i njegovih kompleksa s CH_3COOAg dobivenih na različite načine.

Po podacima navedenim u tablici 7 vidimo da se srebrov(I) ion slabije koordinira na molekulu Schiffove baze s neutralnim piridoksalom što zaključujemo po manjim promjenama u kemijskim pomacima signala spoja **S2**, osobito u slučaju kompleksiranja sa srebrovim(I) nitratom ($\Delta\delta < -0,08$ ppm). Usporedimo li pomake navedene u tablici 7 zaključujemo da struktura, a onda pretpostavljamo i svojstva novonastalog spoja ovise o odabranoj soli, odnosno o pratećem ionu. Kod kompleksa **K3** i **K4**, najveće promjene kemijskih pomaka signala očekivane su kod jezgri atoma u *ortho*- položaju na piridoksalnom prstenu, zbog koordinacije srebrova(I) iona na nespareni elektronski par dušika.⁽⁴⁷⁾ Ipak, najveće zasjenjenje nakon kompleksiranja s AgNO₃ opaženo je na pomaku signala OH skupina kod tautomera **S2-1** ($-0,06$ do $-0,08$ ppm), dok je kod kompleksiranja s CH₃COOAg najveći pomak zabilježen kod H- α atoma, odnosno u pomaku signala H- α i H-6 atoma piridinskog prstena ($-0,06$ ppm; $-0,10$ ppm) što bi moglo ukazivati na vezu metalnog iona preko azometinskog dušika.

Tablica 7. Razlika u kemijskim pomacima ($\Delta\delta$ / ppm) signala jezgri atoma ¹H liganda **S2-1** i **S2-2** titracijom s AgNO₃ i CH₃COOAg.

H-atom molekule	$\Delta\delta^a$ / ppm		H-atom molekule	$\Delta\delta$ / ppm
	AgNO ₃	CH ₃ COOAg		
S2-1	K3	K4	S2-2	K4
OH-3	$-0,06^c$	$/^e$		
OH-2'	$-0,08$	$/^e$	OH	$/^e$
H- α	$-0,01$	$0,11^d$	H- α	$-0,06$
H-6	$/^b$	$-0,05$	H-6	$-0,10$
H-6'	$/$	$-0,10$	H-6'	$-0,04$
H-4'	$/$	$-0,08$	H-4'	$-0,03$
H-3'	$-0,03$	$-0,08$	H-3'	$-0,04$
CH ₂	$/$	$-0,03$	CH ₂ -a/b	$-0,01/-0,03$
CH ₃	$/$	$-0,01$	CH ₃	$-0,02$
CH ₂ OH	$-0,02$	$/^e$	CH ₂ OH	$/^e$
			NH	$-0,05$

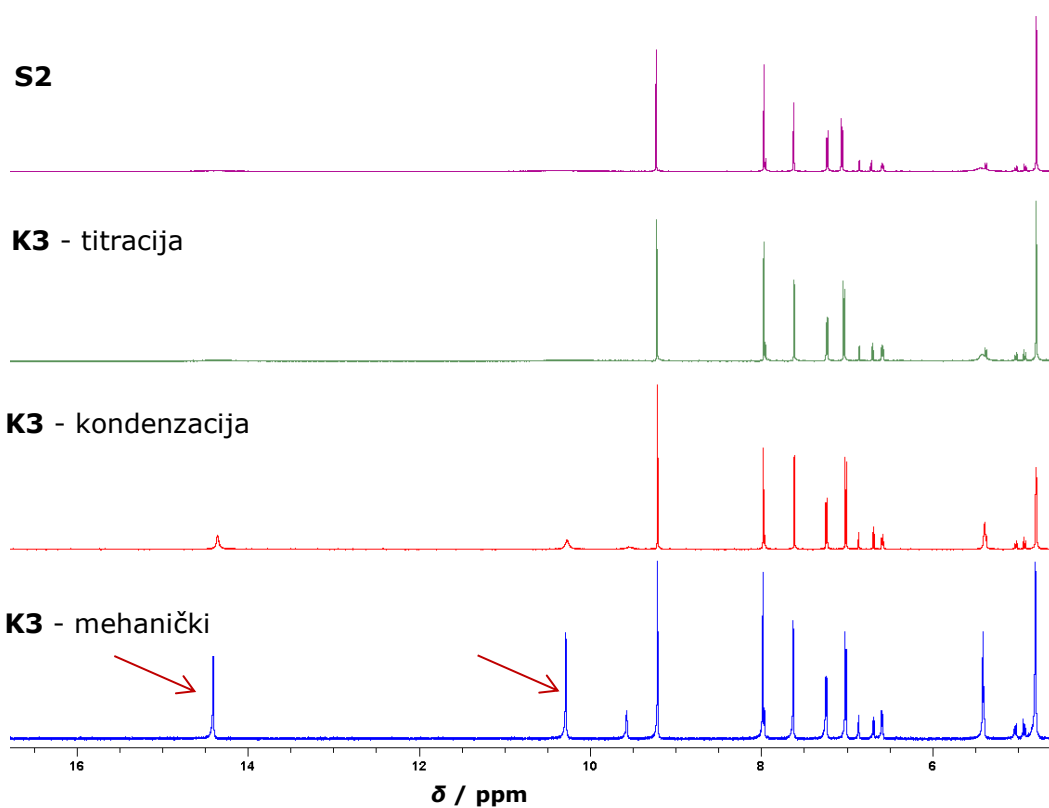
^a $\Delta\delta = \delta_{\text{kompleksa}} - \delta_{\text{liganda}}$

^bNe dolazi do pomicanja signala.

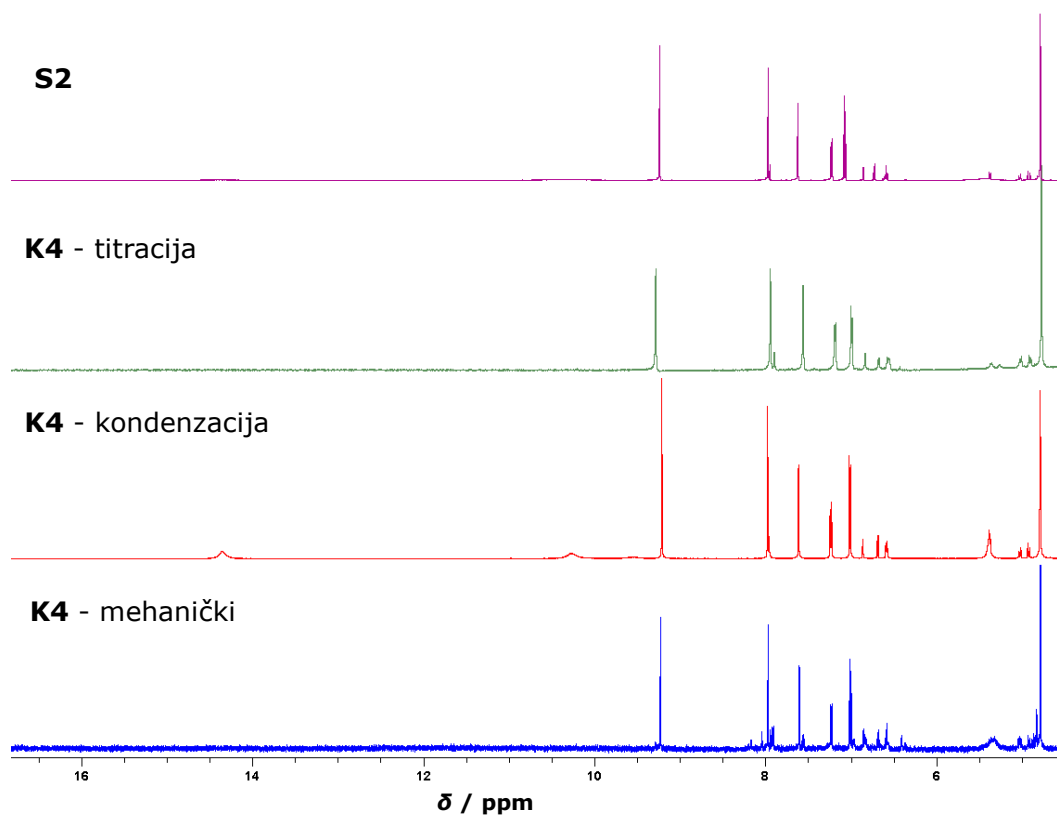
^cPredznakom minus (—) označeno je zasjenjenje jezgre.

^dPredznakom plus (+) označeno je odsjenjenje jezgre.

^eDodatkom 20 μ L otopine Ag(I) soli signal potpuno nestaje.



Slika 30. Usporedba ^1H spektara NMR liganda **S2** i njegovih kompleksa s AgNO_3 dobivenih na različite načine.

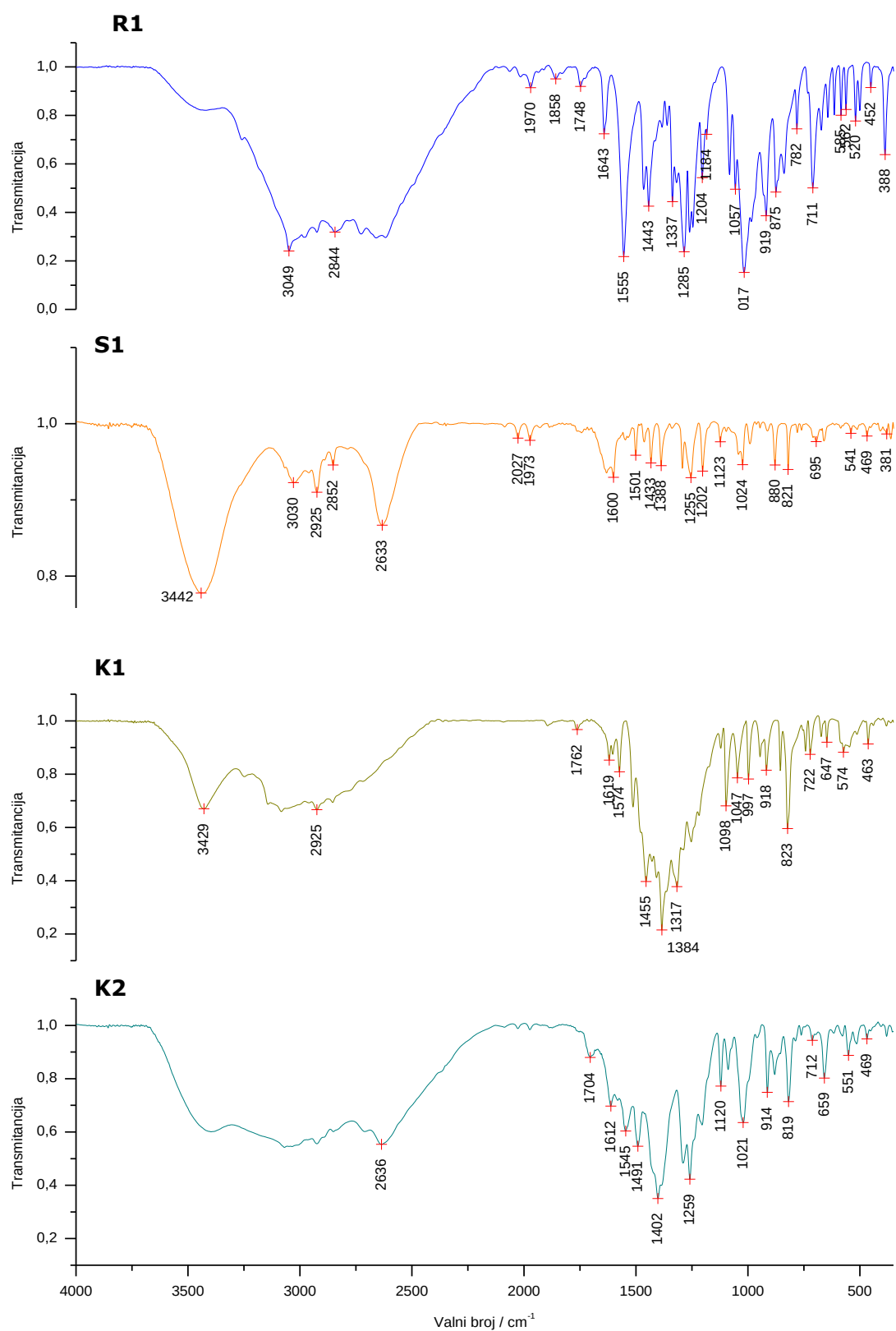


Slika 31. Usporedba ^1H spektara NMR liganda **S2** i njegovih kompleksa s CH_3COOAg dobivenih na različite načine.

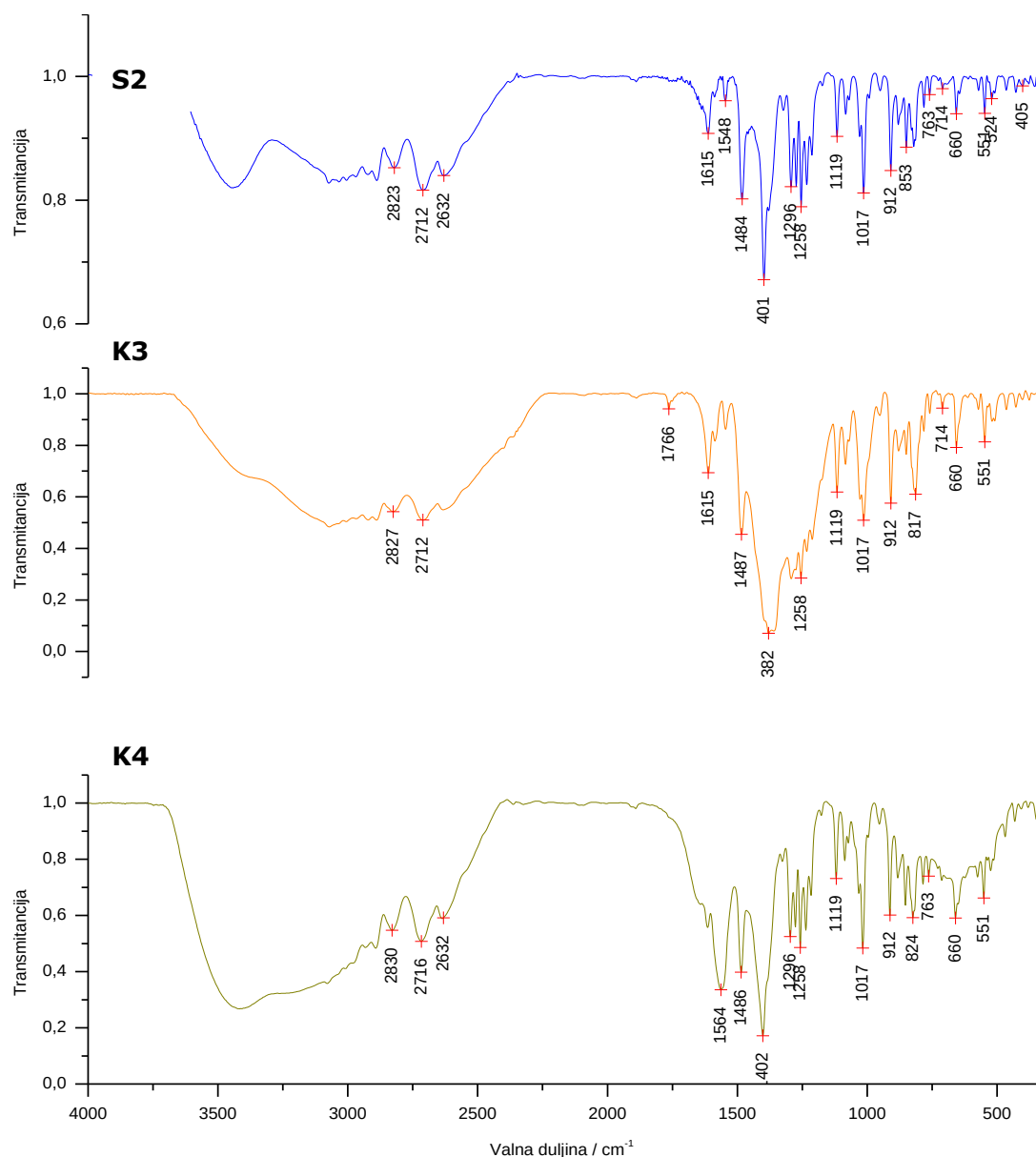
Spektri kompleksa **K3** jednaki su bez obzira na način pripreme, osim što se kod mehaničke pripreme kompleksa ^1H -atomi nisu izmijenili s deuterijem pa su signali $-\text{OH}$ skupina jačeg intenziteta (na slici 36 označeni crvenim strelicama). Kod kompleksa sa srebrovim(I) acetatom (**K4**) ne vide se signali $-\text{OH}$ skupina.

5.2. Spektroskopija IR zračenja

Nastanak liganada i kompleksa u spektrima IR zračenja potvrđuje promjena oblika vibracijskih vrpce, nastanak novih kao i pomicanje starih (Slike 32 i 33). Nestanak aldehidne vrpce istezanja pri 1748 cm^{-1} i pojava nove vrpce pri 1600 cm^{-1} koja se pripisuje istezanju $\text{C}=\text{N}$ skupine u spektru **S1**, odnosno 1615 cm^{-1} u spektru **S2**, potvrđuje nastanak Schiffovih baza (Slika 32B). Signal jakog intenziteta pri 1384 cm^{-1} posljedica je istezanja $\text{N}-\text{O}$ skupine, $\nu(\text{NO})$, a ukazuje na ionsko vezanje NO_3^- aniona na srebrov(I) ion u pripremljenim kompleksima (Slika 32C). Razlike u vrijednosti valnih brojeva vrpce u području koja se pripisuju vibracijama $\nu(\text{CC})$ i $\nu(\text{CN})$ dokaz su postojanja kompleksa i u čvrstom stanju. Nakon kompleksiranja zabilježen je pomak vrpce istezanja $\text{C}=\text{N}$ skupine za 19 cm^{-1} u spektru spoja **K1**, odnosno 12 cm^{-1} u spektru spoja **K2** po čemu možemo pretpostaviti koordinaciju srebra(I) u krutini na azometinski dušik. $\text{Ag}-\text{O}$ i $\text{Ag}-\text{N}$ vrpce nalaze se pri nižim valnim brojevima ($440 - 475\text{ cm}^{-1}$) i ne vide se u području snimanja spektara obuhvaćenih ovim radom.(48)



Slika 32. Usporedba IR spektara spojeva **R1**, **S1**, **K1** i **K2**.



Slika 33. Usporedba IR spektara spojeva **S2**, **K3** i **K4**.

Priređene Schiffove baze stabilne su u čvrstom stanju, ali **S1** se vrlo brzo raspada nakon otapanja u DMSO-d₆. Otopina kompleksa **K1** također već nakon par dana posmeđi uz stvaranje sivobijelog taloga na dnu cjevčice, odnosno pretpostavljamo da se izlučuje elementarno srebro. Neutralna **S2** baza i njeni kompleksi stabilniji su u otopini.

6. Zaključak

Postupkom kondenzacije u alkoholnom mediju iz piridoksal hidroklorida, odnosno iz neutralnog piridoksala s 2-amin-4-klorfenolom pripravljene su Schiffove baze: *N*-(2-hidroksi-5-klorfenilimino) piridoksalijev hidroklorid (**S1-1**) i *N*-(2-hidroksi-5-klorfenil)piridoksalimin, $C_{14}H_{13}ClN_2O_3$ (**S2-1**) i *N*-(2-hidroksi-5-klorfenil)piridoksalamin, $C_{14}H_{13}ClN_2O_3$ (**S2-2**). Nastanak baza u otopini potvrđuju korelacijski signali u 2D spektrima NMR ($^1H-^{13}C$ i $^1H-^{15}N$ HMBC), promjena kemijskog pomaka signala jezgre ^{15}N -atoma pripisanog amino-skupini spoja **R2**, nestanak signala aldehidnog 1H -atoma (H-7) prisutnog u spektrima spoja **R1** i **R3** te nastanak novog signala pripisanog jezgri atoma H- α . Korelacijski signali u $^1H-^1H$ NOESY spektru ukazuju na međusobnu orijentaciju dvaju prstenova molekule u otopini. U 1H spektru spoja **S2** vidljiva su dva seta signala, a u 1H spektru spoja **S1** tri. Njihovom asignacijom u spoju **S2** utvrđeno je da se radi o enol-iminskom i keto-aminskom tautomeru. Kod spoja **S1** također je potvrđen enol-iminski tautomer, dok se kod druga dva seta, zbog velikog preklapanja signala, pretpostavlja da se radi o keto-aminskom tautomeru te signalima slobodnog piridoksal hidroklorida. Postojanje Schiffovih baza u čvrstom stanju potvrđuje nestanak aldehidnog signala, odnosno nastanak $\nu(C=N)$ vrpce istezanja. Male promjene uslijed pomicanja signala jezgri 1H -atoma tijekom temperaturnih titracija ukazuje na sudjelovanje OH-3 i OH-2' skupine u intramolekularnoj vodikovoj vezi.

Nastajanje kompleksa (**K1** – **K4**) otkrivaju kemijski pomaci signala jezgri 1H -atoma u odnosu na kemijske pomake u spektrima slobodnog liganda. Koncentracijska titracija ukazuje na vezanje metal–ligand u omjeru 1 : 2 jer dodatkom polovice volumena otopine soli (polovica ekvivalenta) u cjevčici za NMR dolazi do taloženja. Također, mehaničkim miješanjem u tarioniku boja svih spojeva brzo se mijenja iz narančaste do tamno crvene ili smeđe. Najveće razlike u kemijskom pomaku prije i poslije kompleksiranja vidljive su kod signala OH-3 i OH-2' skupina pa se pretpostavlja da se srebro upravo preko njih koordinira na istraživane ligande.

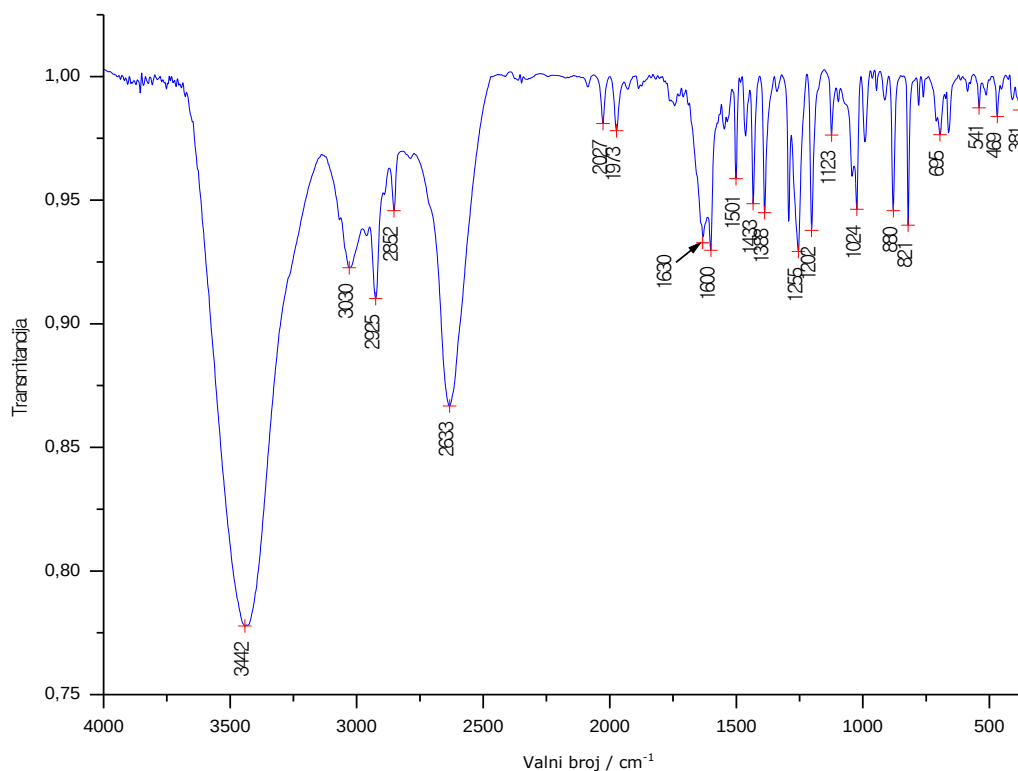
7. Literatura

- 1 Filipović I, Lipanović S. *Opća i anorganska kemija II. Dio*. Školska knjiga, 1995; **9**: 1067–1085.
- 2 Henderson W, McIndoe JS. *Mass Spectrometry of Inorganic, Coordination and Organometallic Compounds: Tools - Techniques - Tips*. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK, 2005; 235–246.
- 3 Politano AD, Campbell KT, Rosenberger LH, Sawyer RG. Use of Silver in the Prevention and Treatment of Infections: Silver Review. *Surgical Infections* 2013; **14**: 8–15.
- 4 Ip M, Lai LS, Poon VKM, Lung I. Antimicrobial activities of silver dressings: an in vitro comparison. *Journal of Medical Microbiology* 2006; **55**: 59–63.
- 5 Franci G, Falanga A, Galdiero S, Palomba L, Rai M, Morelli G, Galdiero M. Silver Nanoparticles as Potential Antibacterial Agents. *Molecules* 2015; **20**: 8856–8874.
- 6 http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2010/amr_20100820/en/ , (7. 6. 2018)
- 7 Fox CL, Modak SM. Mechanism of Silver Sulfadiazine Action on Burn Wound Infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1974; **5**: 582–588.
- 8 Kucan JO, Robson MC, Heggors JP, Ko F. Comparison of Silver Sulfadiazine, Povidone-Iodine and Physiologic Saline in the Treatment of Chronic Pressure Ulcers. *Journal of the American Geriatrics Society* 1981; **29**: 232–235.
- 9 Clement JL, Jarrett PS. Antibacterial Silver. *Metal-Based Drugs* 1994; **1**: 467–482.
- 10 Shrestha R, Joshi DR, Gopali J, Piya S. Oligodynamic Action of Silver, Copper and Brass on Enteric Bacteria Isolated from Water of Kathmandu Valley. *Nepal Journal of Science and Technology* 2010; **10**: 189–193.
- 11 Zobell CE. THE EFFECT OF SOLID SURFACES UPON BACTERIAL ACTIVITY'. 1943; **46**: 51.
- 12 Feng QL, Wu J, Chen GQ, Cui FZ, Kim TN, Kim JO. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Biomedical Materials Research* 2000; **52**: 662–668.
- 13 Lansdown ABG. Silver I: its antibacterial properties and mechanism of action. *Journal of Wound Care* 2002; **11**: 125–130.
- 14 Morones-Ramirez JR, Winkler JA, Spina CS, Collins JJ. Silver Enhances Antibiotic Activity Against Gram-Negative Bacteria. *Science Translational Medicine* 2013; **5**: 7-12.
- 15 Holt KB, Bard AJ. Interaction of Silver(I) Ions with the Respiratory Chain of *Escherichia coli*: An Electrochemical and Scanning Electrochemical Microscopy Study of the Antimicrobial Mechanism of Micromolar Ag^+ . *Biochemistry* 2005; **44**: 13214–13223.
- 16 Schreurs WJA, Rosenberg H. Effect of Silver Ions on Transport and Retention of Phosphate by *Escherichia coli*. *J BACTERIOL* 1982; **152**: 7-13.
- 17 Roca S. *Karakterizacija srebrovih(I) kompleksa s monohalogen i dihalogen derivatima piridina u otopini i čvrstom stanju*. Doktorski rad; 2017; 38-46.

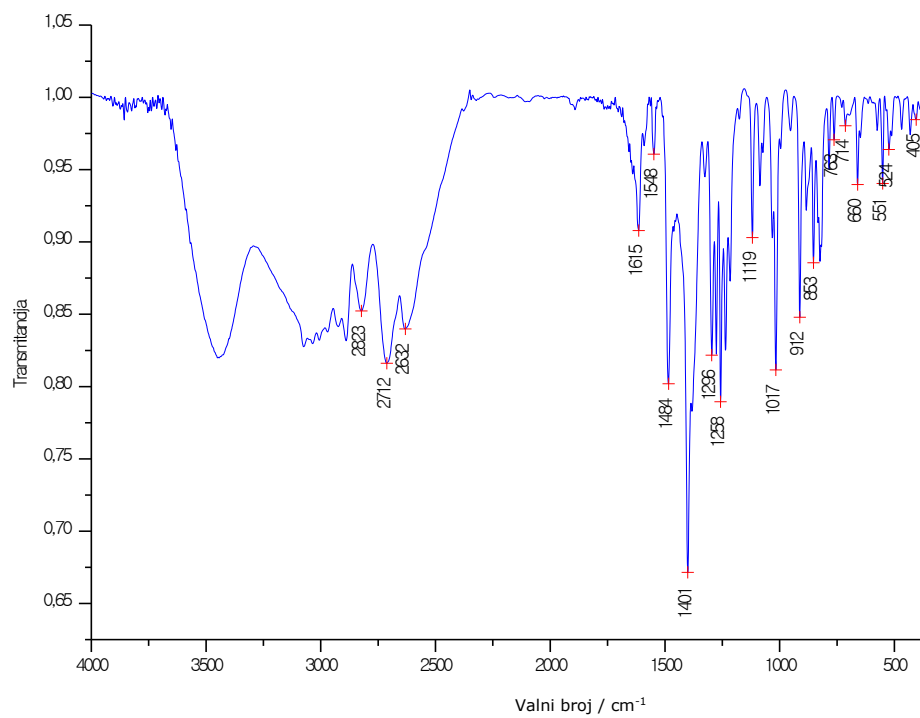
- 18 https://en.wikipedia.org/wiki/Argyria#/media/File:Argyria_2b.jpg , (7. 6. 2018)
- 19 Kalinowska-Lis U, Felczak A, Chęcińska L, Szablowska-Gadomska I, Patyna E, Małecki M, Lisowska K, Ochocki J. Antibacterial Activity and Cytotoxicity of Silver(I) Complexes of Pyridine and (Benz)Imidazole Derivatives. X-ray Crystal Structure of [Ag(2,6-di(CH₂OH)py)₂]NO₃. *Molecules* 2016; **21**: 1–14.
- 20 Biersack B, Ahmad A, Sarkar H, Schobert R. Coinage metal complexes against breast cancer. *Current Medicinal Chemistry* 2012; **19**: 3949–3956.
- 21 Banti CN, Hadjikakou SK. Anti-proliferative and anti-tumor activity of silver(i) compounds. *Metallomics* 2013; **5**: 569–596.
- 22 Johnston HJ, Hutchison G, Christensen FM, Peters S, Hankin S, Stone V. A review of the in vivo and in vitro toxicity of silver and gold particulates: Particle attributes and biological mechanisms responsible for the observed toxicity. *Critical Reviews in Toxicology* 2010; **40**: 328–346.
- 23 Wijnhoven SWP, Peijnenburg WJGM, Herberts CA, Hagens WI, Oomen AG, Heugens EHW, Roszek B, Bisschops J, Gosens I, De Meent D, Dekkers S, De Jong WH, Zijverden M, Sips AJAM, Geertsma RE. Nano-silver – a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicology* 2009; **3**: 109–138.
- 24 Qin W, Long S, Panunzio M, Biondi S. Schiff Bases: A Short Survey on an Evergreen Chemistry Tool. *Molecules* 2013; **18**: 12265–12280.
- 25 Ivić M. *Priprava i karakterizacija kompleksnih spojeva s makrocikličkim Schiffovim bazama*. Završni rad 2013.
- 26 Pine SH, *Organska kemija*. Školska knjiga: Zagreb, 1994; 248–249.
- 27 Murtaza G, Mumtaz A, Khan FA, Ahmad S, Azhar S, Najam-Ul-Haq M, Atif M, Khan SA, Maalik A, Azhar S, Murtaza G. RECENT PHARMACOLOGICAL ADVANCEMENTS IN SCHIFF BASES: A REVIEW. 2014; **71**: 531-534.
- 28 da Silva CM, da Silva DL, Modolo LV, Alves RB, de Resende MA, Martins CVB, Fatima A. Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities. *Journal of Advanced Research* 2011; **2**: 1–8.
- 29 Sundaravel K, Suresh E, Palaniandavar M. Synthesis, structures, spectral and electrochemical properties of copper(II) complexes of sterically hindered Schiff base ligands. *Inorganica Chimica Acta* 2009; **362**: 199–207.
- 30 Tumer M, Celik C, Koksall H, Serin S. Transition metal complexes of bidentate Schiff base ligands. *Transition Metal Chemistry* 1999; **24**: 525–532.
- 31 Chohan ZH, Munawar A, Supuran CT. Transition Metal Ion Complexes of Schiff-bases. Synthesis, Characterization and Antibacterial Properties. *Metal-Based Drugs* 2001; **8**: 137–143.
- 32 Vrdoljak V, Pisk J, Prugovečki B, Matković-Čalogović D. Novel dioxomolybdenum(VI) and oxomolybdenum(V) complexes with pyridoxal thiosemicarbazone ligands: Synthesis and structural characterisation. *Inorganica Chimica Acta* 2009; **362**: 4059–4064.
- 33 Leovac VM, Jevtović VS, Bogdanović GA. Transition metal complexes with thiosemicarbazide-based ligands. *Acta Crystallographica* 2002; **58**: m514–m516.

- 34 Dong Y-B, Zhao X, Huang R-Q, Smith MD, zur Loye H-C. New Ag(I)-Containing Coordination Polymers Generated from Multidentate Schiff-Base Ligands. *Inorganic Chemistry* 2004; **43**: 5603–5612.
- 35 Roca S. *Karakterizacija srebrovih(I) kompleksa s monohalogen i dihalogen derivatima piridina u otopini i čvrstom stanju. Doktorski rad* 2017; 3–9.
- 36 Janiak C. Engineering coordination polymers towards applications. *Dalton Transactions* 2003; **14**: 2781–2804.
- 37 Khlobystov AN, Blake AJ, Champness NR, Lemenovskii DA, Majouga AG, Zyk NV, Schröder M. Supramolecular design of one-dimensional coordination polymers based on silver(I) complexes of aromatic nitrogen-donor ligands. *Coordination Chemistry Reviews* 2001; **222**: 155–192.
- 38 Kennedy D. B Vitamins and the Brain: Mechanisms, Dose and Efficacy—A Review. *Nutrients* 2016; **8**: 2–29.
- 39 Clayton PT. B6-responsive disorders: A model of vitamin dependency. *Journal of Inherited Metabolic Disease* 2006; **29**: 317–326.
- 40 Shivdas R, Desai PB, Srivastava AK. Complexation of Macrocyclic Compounds with Organic Molecules: 1 Pyridoxine Hydrochloride in Dimethylsulfoxide. *Journal of Chemical & Engineering Data* 2004; **49**: 1738–1743.
- 41 Leovac VM, Jevtovi VS, Jovanovi LS, Bogdanovi GA. Metal complexes with Schiff-base ligands - pyridoxal and semicarbazide-based derivatives. *Journal of the Serbian Chemical Society* 2005; **70**: 393–422.
- 42 Casella L, Gullotti M. Synthesis, Stereochemistry, and Oxygenation of Cobalt(II)-Pyridoxal Model Complexes. A New Family of Chiral Dioxygen Carriers'. *Inorganic Chemistry* 1986; **25**: 1293–1303.
- 43 Zhu YC, Zhang MQ, Wu JG, Deng RW. The Study of Equilibrium and Formation Constants of Some Transition Metal Complexes with Vitamin B6 in Solution by Potentiometry. *Chem Pap* 2001; **55**: 229–232.
- 44 Pisk J, Prugovečki B, Matković-Čalogović D, Poli R, Agustin D, Vrdoljak V. Charged dioxomolybdenum(VI) complexes with pyridoxal thiosemicarbazone ligands as molybdenum(V) precursors in oxygen atom transfer process and epoxidation (pre)catalysts. *Polyhedron* 2012; **33**: 441–449.
- 45 Floquet S, Muñoz MC, Guillot R, Rivière E, Blain G, Réal J-A *et al.* A wide family of pyridoxal thiosemicarbazone ferric complexes: Syntheses, structures and magnetic properties. *Inorganica Chimica Acta* 2009; **362**: 56–64.
- 46 Zbačnik M, Kaitner B. Supramolecular Influence on Keto-Enol Tautomerism and Thermochromic Properties of o-Hydroxy Schiff Bases. *Croatica Chemica Acta* 2016; **89**: 125–132.
- 47 Njogu EM, Omondi B, Nyamori VO. Silver(I)-pyridinyl Schiff base complexes: Synthesis, characterisation and antimicrobial studies. *Journal of Molecular Structure* 2017; **1135**: 118–128.
- 48 Ali KA, Abd-Elzaher MM, Mahmoud K Synthesis and Anticancer Properties of Silver(I) Complexes Containing 2,6-Bis(substituted)pyridine Derivatives. *International Journal of Medicinal Chemistry* 2013; **2013**: 7.

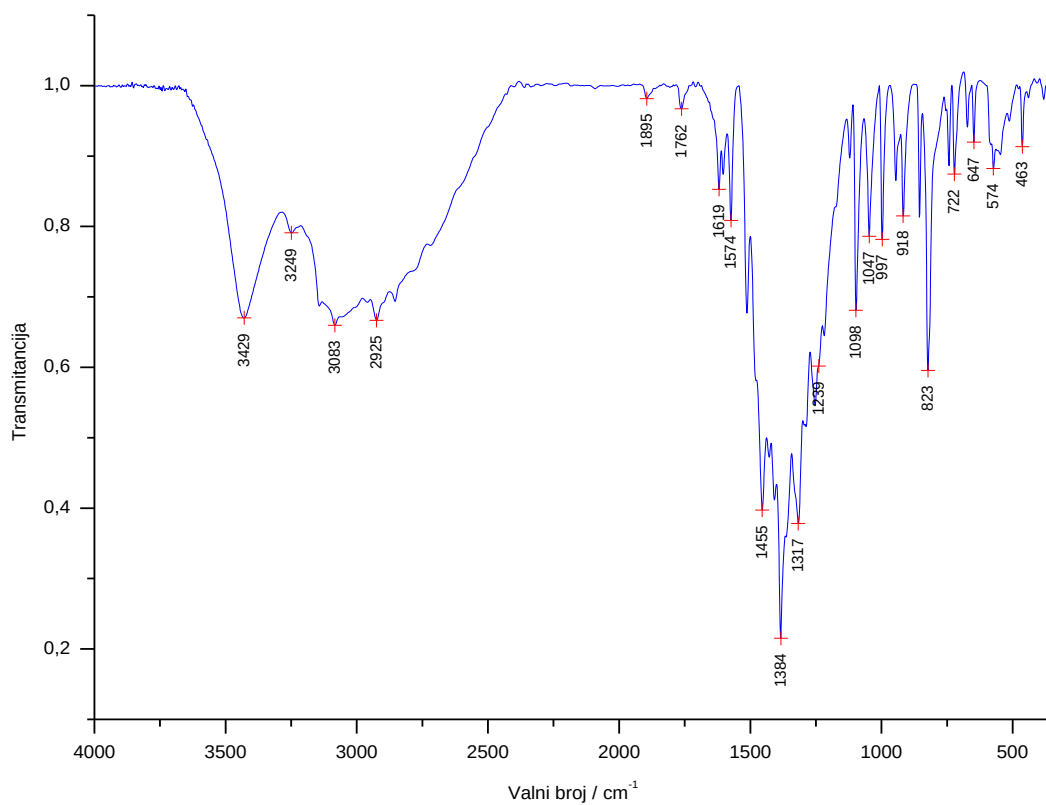
8. Dodatak



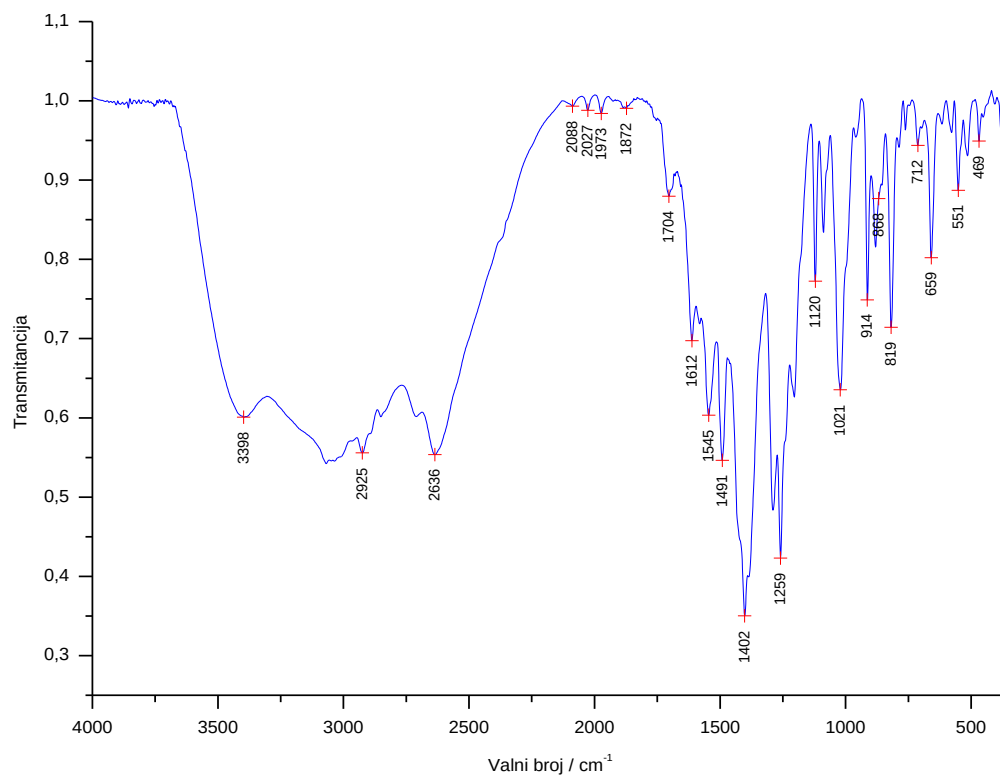
Slika D 1. IR spektar **S1**.



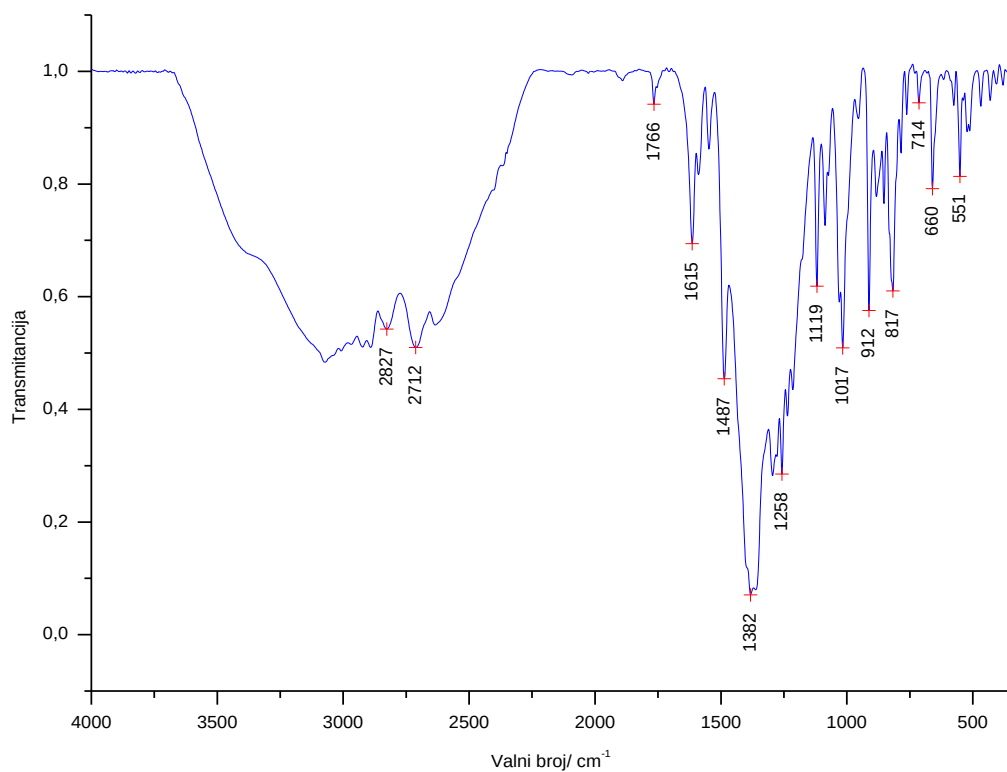
Slika D 2. IR spektar **S2-1** i **S2-2**.



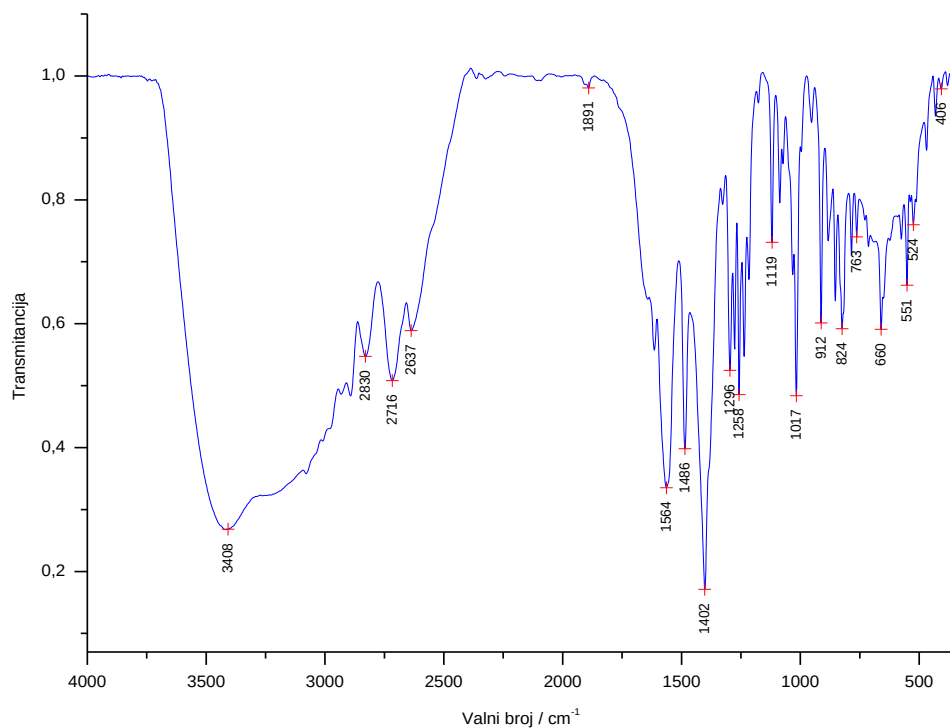
Slika D 3. IR spektar K1.



Slika D 4. IR spektar K2.



Slika D 5. IR spektar K3.



Slika D 6. IR spektar K4.

9. Životopis

OSOBNE INFORMACIJE

Marinković Sara

📍 Reissnerova 44, 31 000 Osijek (Hrvatska)

📞 0919745988

✉ saramarinkovichr@gmail.com

Datum rođenja 18/01/1993

RADNO ISKUSTVO

2017.–2018. **Istraživanje i laboratorijski rad kompleksa srebra(I) sa Schiffovim bazama pomoću spektroskopije NMR**

Institut Ruđera Boškovića, Centar za NMR, Zagreb

2015. **Student asistent za Hrvatski jezik**

HANKUK UNIVERSITY OF FOREIGN STUDIES, Seoul (Južna Koreja)

2014.–2016. **Prodavač**

Sportina d.o.o., Rijeka (Hrvatska)

2013. **Praksa u odjelu Istraživanje i Razvoj**

Labaratorij Jadran Galenski, Rijeka (Hrvatska)

OBRAZOVANJE I OSPOSOBLJAVANJE

2011.–2015. **Prvostupnica Biotehnologije i istraživanje ljekova**

razina 6 EKO-a

Odjel za biotehnologiju, Sveučilište u Rijeci, Rijeka (Hrvatska)

Znanje i stručnost u interdisciplinarnom području znanosti, biotehnologije u biomedicini.

lipanj 2015.–lipanj 2015. **Program razmjene studenata, Tečaj semestra, Intenzivni tečaj korejskog jezika**

HANKUK UNIVERSITY OF FOREIGN STUDIES, Seoul (Južna Koreja)

2007.–srpanj 2011. **Srednja stručna sprema**

razina 5 EKO-a

Opća gimnazija, Prva gimnazija, Osijek (Hrvatska)

OSOBNE VJEŠTINE

Materinski jezik hrvatski

Strani jezici

engleski

RAZUMIJEVANJE		GOVOR		PISANJE
Slušanje	Čitanje	Govorna interakcija	Govorna produkcija	
C2	C1	C1	C2	C1
Council of Europe Level C1 UNIVERSITY of CAMBRIDGE ESOL Examinations English for Speakers of Other Language				

njemački	B1	A2	B1	A2	A2
	4 godine učenja jezika u srednjoj školi				
korejski	B1	A2	B1	A2	A2
	Intezivni tečaj korejskog jezika				

Stupnjevi: A1 i A2: Početnik - B1 i B2: Samostalni korisnik - C1 i C2: Iskusni korisnik

Komunikacijske vještine

Dobre komunikacijske vještine preuzete iz iskustva življenja u drugoj zemlji za vrijeme programa razmjene i radeći kao prodavač.

Digitalne vještine

SAMOPROCJENA				
Obrada informacija	Komunikacija	Stvaranje sadržaja	Sigurnost	Rješavanje problema
Iskusni korisnik	Samostalni korisnik		Temeljni korisnik	Temeljni korisnik

Zna kako koristiti Windows operative sustave, Microsoft Office (Word, Excel, Access, PowerPoint, Outlook, interneta i e-pošta)

Poznaje kako proučavati molekularne interakcije, osnove dizajna novih lijekova i proteina i metaboličkog inženjerstva.

Poznaje kako koristiti Pymol, Chmiera, Vina, VMD, NAMD, PDB2PQR, Avogadro