Novi D-π-A kromofori s 1,2,3-trazolnom poveznicom kao potencijalni kemijski senzori

Sklepić, Karlo

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

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:149:705645

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-07**

FKITMCMXIX

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Karlo Sklepić

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2020.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
POVJERENSTVO ZA ZAVRŠNE ISPITE

Kandidat **Karlo Sklepić**

Predao je izrađen završni rad dana: 21. rujna 2020.

Povjerenstvo u sastavu:

Dr. sc. Lidija Furač, viši predavač, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu
Izv. prof. dr. sc. Svjetlana Krištafor, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu
Dr. sc. Matija Cvetnić, asistent, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

povoljno je ocijenilo završni rad i odobrilo obranu završnog rada pred povjerenstvom u istom sastavu.

Završni ispit održat će se dana: 24. rujna 2020.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Karlo Sklepić

NOVI D-II-A KROMOFORI S 1,2,3-TRIAZOLNOM POVEZNICOM KAO POTENCIJALNI KEMIJSKI SENZORI

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: V. pred. dr. sc. Lidija Furač

Članovi ispitnog povjerenstva: V. pred. dr. sc. Lidija Furač

Izv. prof. dr. sc. Svjetlana Krištafor

Dr. sc. Matija Cvetnić

Zagreb, rujan 2020.

Zahvaljujem mentorici v. pred. dr. sc Lidiji Furač na predloženoj temi i znanju koje mi je prenosila tijekom studija i pomoći pri izradi završnog rada.

Posebno se zahvaljujem asistentici mag. appl. chem. Kristini Pršir, na susretljivosti i strpljenju prilikom izvedbe eksperimentalnog dijela završnog rada, pomoći pri obradi rezultata, te brojnim uputama i savjetima prilikom pisanja i izrade završnog rada.

Također, zahvaljujem svim članovima Zavoda za opću i anorgansku kemiju, Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije, na ugodnom radnom okruženju.

Zahvaljujem svojim roditeljima, obitelji, prijateljima i kolegama na pruženoj podršci tijekom studija.

SAŽETAK

Cilj ovog rada je sinteza i optička karakterizacija novih D-π-A kromofora koji u svojoj strukturi sadrže 1,2,3-triazolni prsten u svrhu određivanja njihovih senzorskih aktivnosti. Novi spoj 2-(4-(4-metoksifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzo[*d*]tiazol (spoj **2)** uspješno je sintetiziran reakcijama klasične organske sinteze i *click* kemije. Struktura spoja **2** potvrđena je ^{1}H-NMR i ^{13}C-NMR spektroskopijom.

U svrhu ispitivanja potencijalne primjene spoja **2** kao kemijskog senzora provedena je njegova detaljna spektroskopska karakterizacija. Spoj **2** okarakteriziran je UV-vidljivom i fluorescencijskom spektrofotometrijom u otapalima različite polarnosti, univerzalnim puferima u rasponu vrijednosti pH od 1 do 12, te u prisutnosti različitih metalnih iona.

Uslijed promjene spektrofotometrijskih svojstava u prisutnosti iona željeza(III), spoj **2** pokazuje potencijalnu senzorsku primjenu za određivanje Fe^{3+} iona u otopini DMSO.

Ključne riječi: Optički kemijski senzori, kemosenzori, benztiazol, 1,2,3-triazoli, *click* kemija, D-π-A kromofori, *push-pull* molekule, fluorescencija

SUMMARY

The aim of this work was synthesis and optical characterization of novel D-π-A chromophores that incorporate 1,2,3-triazole ring in their structure. New compound 2-(4-(4-methoxyphenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)benzo[*d*]thiazol (compound **2**) was successfully synthesized by combination of classical organic chemistry synthesis and *click* chemistry reaction. The structure of novel synthesized compound **2** was determined by means of ^{1}H-NMR and ^{13}C-NMR spectroscopy.

Compound **2** was characterized by UV-visible and fluorescence spectrophotometry in solvents of different polarity, universal buffers in pH range 1 to 12 and in the presence of different metal ions.

Changes in the spectroscopic properties due to the presence of Fe^{3+} ions was detected, so compound **2** shows promising potential for its application in metal sensing.

Keywords: Optical chemical sensors, chemosensors, benzothiazole, 1,2,3-triazole, *click* chemistry, D-π-A chromophores, *push-pull* molecule, fluorescence

SADRŽAJ

1. UVOD 1

2. OPĆI DIO 2

2.1. Kemijski senzori 2

2.1.1. Definicija senzora i kemijskih senzora 2

2.1.2. Klasifikacija kemijskih senzora 4

2.2.1. Optički kemijski senzori 6

2.2.3.1. Princip rada optičkih kemijskih senzora 7

2.2.3.2. Podijela optičkih kemijskih senzora 8

2.2.2. Ion-selektivne optode 10

2.3.1. Molekulski senzori (kemosenzori) 11

2.3.2. Mehanizmi prijenosa i stvaranja signala kod kemosenzora 12

2.2. Benztiazol.. 16

2.2.1. Opće karakteristike benztiazola 16

2.2.2. Sinteza benztiazola 17

2.3. 1,2,3-triazol 17

2.3.1. Opće karakteristike 1,2,3-triazola 17

2.3.2. Sinteza 1,2,3- triazola 18

2.4. *Click* kemija 18

2.4.2. 1,3-dipolarna Huisgenova cikloadicija 20

2.4.3. Mehanizam CuAAC 21

2.4.4. Primjena *click* kemije 22

2.5. Heteroaromatski kromofori 23

2.5.1. π-konjugirani sustavi 23

2.5.2. Donorsko-akceptorski mehanizam 25

2.6. Literaturni pregled derivata benztiazola kao kemosenzora i derivata 1,2,3-triazola kao kemosenzora 26

3. EKSPERIMENTALNI DIO 32
3.1. Opće napomene 32
3.2. Sinteza spojeva 32
3.2.1. Sinteza 2-azido-benztiazola 32
3.2.2. Sinteza 2-(4-(4-metoksifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzo[*d*]tiazola 33
3.3. Priprema matične (*stock*) otopine spoja 34
3.4. Priprava otopina metalnih soli 34
3.5. Opis mjerenja UV-Vis apsorpcijskih i fluorescencijskih spektara 35
3.5.1. Ispitivanje fotofizičkih karakteristika spoja u različitim otapalima 35
3.5.2. Ispitivanje utjecaja promjena pH vrijednosti pufera 36
3.5.3. Ispitivanje utjecaja metalnih kationa 36
4. REZULTATI I RASPRAVA 37
4.1. Cilj rada 37
4.2. Sinteza ciljanih spojeva 37
4.2.1. Sinteza 2-azido-benztiazola (spoj **1**) 37
4.2.2. Sinteza 2-(4-(4-metoksifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzo[*d*]tiazola (spoj **2**) ... 38
4.3.Analiza NMR spektara 38
4.4. Spektroskopska karakterizacija spoja **2** 41
4.3.1. Utjecaj otapala 42
4.3.2. Utjecaj promjene pH vrijednosti 45
4.3.3. Utjecaj različitih metalnih iona 47
5. ZAKLJUČAK 51
6. LITERATURA 52
ŽIVOTOPIS 56

1. UVOD

Kemijski senzori su uređaji koji imaju sposobnost pretvorbe kemijske informacije u koristan analitički signal. Optički kemijski senzori su vrsta senzora kod kojih se analitički signal pobuđuje elektromagnetskim zračenjem određene energije. Molekulski optički kemijski senzori su molekule kod kojih je fluorescencija jedno od optičkih svojstava na kojem se temelje mjerenja kao posljedica među djelovanja analita s receptorskim dijelom senzora. Najčešće korišteni receptori u optičkim kemijskim senzorima su heteroaromatske strukture. Heteroaromatske strukture su cikličke molekule koje u svojem sastavu imaju barem jedan atom različit od ugljika. Heteroaromatske strukture su zanimljivi receptori jer se ponašaju kao kromofori, odnosno imaju sposobnost promjene vlastitih fotofizičkih svojstava u procesu prepoznavanja određenog analita.

Priprava novih kemosenzora uključuje dizajn, sintezu i karakterizaciju fotofizičkih i senzorskih svojstava. *Click* kemija i njezin razvitak doprinose sintezi novih kemosenzora. *Click* kemija obuhvaća niz kemijskih reakcija u kojima nastaju veze između ugljikovog atoma i heteroatoma. Brzo, jednostavno i efikasno je moguće dobiti nove molekule spajanjem manjih jedinica. Najpoznatija reakcija *click* kemije zasigurno je Cu(I)-katalizirana azid-alkin cikloadicija (CuACC) u kojoj nastaje 1,2,3-triazolni prsten. 1,2,3-triazol je vrlo važan u dizajnu kemijskih senzora jer ima sposobnost koordiniranja metalnih iona, ali isto tako i delokalizira elektrone kroz π-sustav čime dodatno poboljšava svojstva cijele molekule.

Cilj ovog rada je sinteza i karakterizacija novih D-π-A kromofora koji u svojoj strukturi sadrže 1,2,3-triazolni prsten, pri čemu tvore konjugirani sustav koji potencijalno može djelovati kao kemijski senzor. Fotofizička svojstva sintetiziranog spoja ispitana su u otapalima različite polarnosti, univerzalnim puferima različite vrijednosti pH i u interakciji s različitim metalnim ionima.

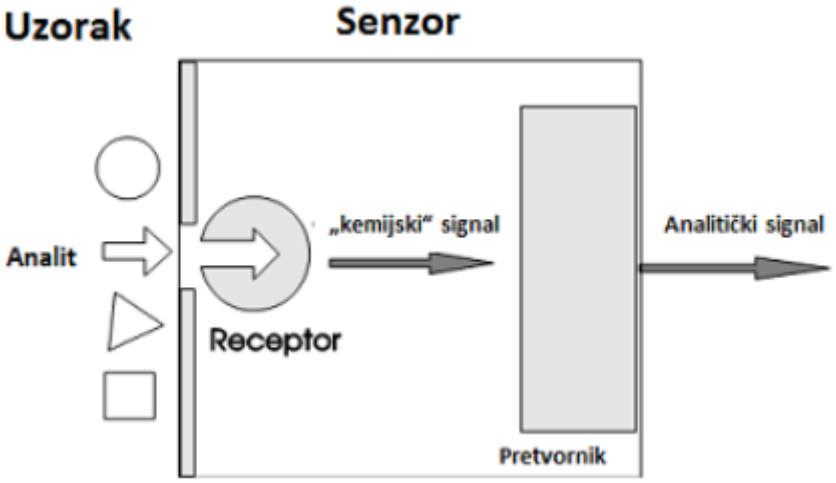
2. OPĆI DIO

2.1 Kemijski senzori

2.1.1 Definicija senzora i kemijskih senzora

Definicija senzora ovisna je o perspektivi primijene. Senzor se općenito može definira kao uređaj koji prima i reagira na podražaj tako da emitira signal koji je pogodan za daljnju obradu. Podražajem se smatra bilo koja fizikalna veličina koju senzor pretvara u signal (najčešće u električni). Senzor je u principu pretvornik energije. Neovisno o tome što se želi izmjeriti, uvijek dolazi do prijenosa energije s uzorka kojeg mjerimo na senzor. [1]

Kemijski senzori su uređaju koji pretvaraju kemijsku informaciju o uzorku u analitički mjerljiv i koristan signal. Kemijska informacija može biti sve u rasponu od koncentracije specifične komponente uzorka do ukupne analize sastava, a nastaje uslijed kemijske reakcije ili iz nekog fizičkog svojstva istraživanog sustava. Možemo reći da kemijski senzori analiziraju našu okolinu te detektiraju koje su komponente prisutne i u kojoj količini. [2]



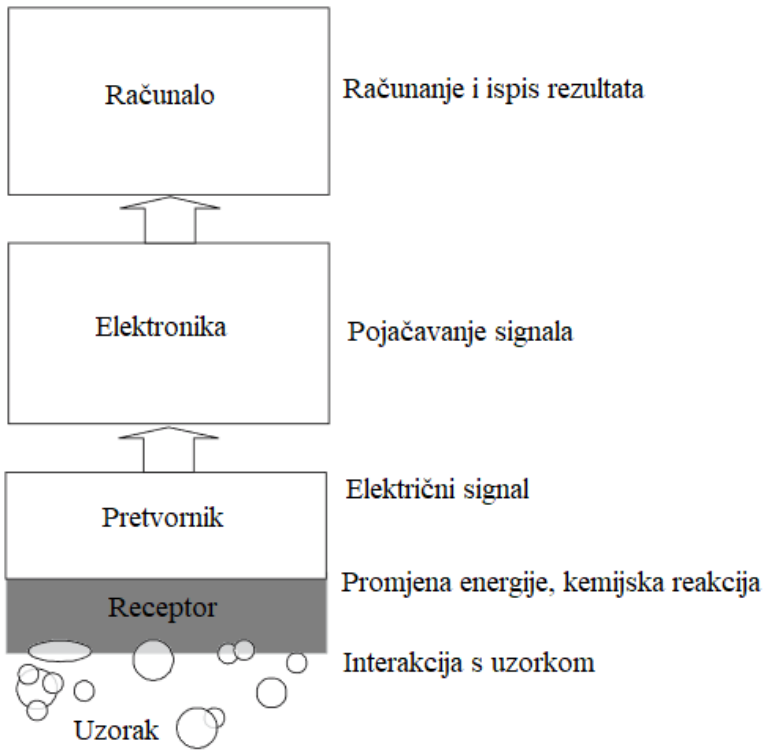
Slika 1. Shematski prikaz kemijskog senzora

Kemijski senzori moraju biti visoko selektivni, osjetljivi, malih dimenzija, jeftini, reverzibilni, pretvarati kemijske podražaje u električni signal, zadržavati svoju aktivnost kroz duži vremenski period, davati brz odaziv i imati nizak prag detekcije. [3]

Kemijski senzor se sastoji od dvije osnovne funkcionalne jedinice: receptora i pretvornika. Receptor je dio senzora koji je sposoban transformirati kemijsku informaciju u oblik energije kojeg može mjeriti pretvornik. Receptor ima mogućnost interakcije s molekulama analita, sudjelovanja u kemijskoj ravnoteži ili selektivnog kataliziranja reakcije. Tipične interakcije su adsorpcija, izmjena iona ili parcijalna ravnoteža. Receptori nerijetko selektivno raspoznaju određeni kemijski spoj ili grupu kemijskih spojeva. Receptorski dio kemijskog senzora može se temeljiti na različitim načelima:

- Receptori koji mjere fizikalna svojstva. Kao primjer, mogu se navesti senzori koji mjere apsorbanciju, vodljivost, refrakciju indeksa, temperaturu, promjenu mase, itd...
- Receptori koji se temelje na kemijskim reakcijama, odnosno kemijska reakcija je izvor signala.
- Receptori koji se temelje na biokemijskim reakcijama, odnosno biokemijska reakcija je izvor signala. Kao primjer, mogu se navesti imunosenzori.

Pretvornik je dio senzora koji transformiranu energiju pretvara u analitički signal. Njegova zadaća u sklopu senzora je da dakle pretvara informaciju koja je sadržana u ne-električnom obliku u električni oblik i to najčešće u obliku napona, struje ili otpora. [2, 3, 4]



Slika 2. Shema rada senzorskog sustava [3]

2.2.2. Klasifikacija kemijskih senzora

Kemijske senzore možemo podijeliti s obzirom na princip rada pretvornika (prema IUPAC-u):

1. Optički senzori – transformiraju promjene optičkih pojava koje nastaju interakcijom između analita i receptora. Ovu grupu možemo još dalje podijeliti s obzirom na optičko svojstvo koje se primjenjuje na kemijski senzor.

    - Apsorpcija svjetlosti – mjeri se promjena apsorbancije (u transparentnom mediju) koja je izazvana apsorpcijom analita ili reakcijom s odgovarajućim indikatorom.
    - Refleksija svjetlosti – za razliku od apsorpcijske svjetlosti, mjeri se u ne transparentnom mediju, a mjeri se refleksija pomoću imobiliziranog indikatora.
    - Luminiscencija – bazira se na mjerenju intenziteta svjetlosti emitirana uslijed kemijske reakcije koja se zbiva na receptorskom dijelu sustava.
    - Fluorescencija – mjeri se pozitivna emisija uzrokovana zračenjem, no temelj takvih uređaja može biti i selektivno gašenje fluorescencije.
    - Indeks loma – mjeri se kao rezultat promjene sastava otopine.
    - Optotermički efekt – bazira se na mjerenju temperature uzrokovane apsorpcijom svjetla.
    - Raspršenje svjetlosti – temelji se na efektu uzrokovanom česticama određene veličine prisutnih u uzorku.

Primjena mnogih ovih pojava u senzorima je postala moguća uslijed uporabe optičkih vlakana u mnogim konfiguracijama. Takvi uređaji nazivaju se optodama.

2. Elektrokemijski senzori – temelje se na mjerenju efekata elektrokemijskih interakcija između receptora i analita. Takve pojave mogu biti pokrenute strujom ili mogu nastati zbog spontane reakcije kada nema narinute struje.

    - Voltametrijski senzori – u ovu podgrupu spada i ampermetar kod kojeg se može mjeriti i istosmjerna i protustrujna

električna struja. Također, u ovu podgrupu spadaju i senzori koji su bazirani na kemijskim inertnim elektrodama, kemijski aktivnim elektrodama i modificiranim elektrodama. Uključuje senzore sa i bez vanjskog izvora struje. Najstariji primjer voltametrijskog senzora je Clark-ova elektroda s kojom se preko 40 godina mjerila koncentracija kisika u krvi. [5]

- Potenciometrijski senzori – mjere potencijal indikatorske elektrode s obzirom na referentnu elektrodu.
- Tranzistor efekta kemijski osjetljivih polja (CHEMFET) – interakcija između analita i aktivne prevlake transformira se u promjenu struje.
- Potenciometrijski senzori krutog elektrolita za mjerenje plina – razlikuju se od klase 2b) jer rade pri visokim temperaturama krutog elektrolita i obično se koriste za mjerenje plinske faze.

3. Električni senzori – temelje se na mjerenjima pri kojima se ne odvijaju elektrokemijski procesi, ali dolazi do pojave signala uslijed promjene električnih svojstava prilikom interakcije s analitom.

    - Poluvodički senzor s metalnim oksidom – u pravilu se koriste kao detektori plinovite faze, a baziraju se na reverzibilnim redoks procesima analita plinovite faze.
    - Organski poluvodički senzori – baziraju se na formaciji kompleksa koji prenose naboj, a nastankom navedenih kompleksa dolazi do promijene gustoće nosiona naboja.
    - Senzori za mjerenje provodnosti elektrolita
    - Senzori za mjerenje električne permitivnosti

4. Senzori osjetljivi na promjenu mase – rade na principu nakupljanja analita na posebno modificiranoj površini. Promjenu mase pretvaraju u izlazni signal.

- Piezoelektrični senzori – baziraju se na mjerenju promjene frekvencije titranja kvarcnog oscilatora. Promjene frekvencija titranja uzrokovane su adsorpcijom mase analita na oscilatoru.
- Uređaj za mjerenje površinskih akustičnih valova – ovise o modifikaciji širenja brzine generiranog akustičnog vala na kojeg utječe depozicija mase analita.

5. Magnetski senzori – baziraju se na promjeni paramagnetičkih svojstava plina koji se analizira.

6. Termometrijski senzori – temelje se mjerenju toplinskih učinaka određene kemijske reakcije ili adsorpcije analita. Toplinski efekti mogu se mjeriti na razne načine, npr. kod katalitičkih senzora toplinsku reakciju izgaranja ili enzimsku reakciju može se mjeriti termistorom.

7. Druga fizikalna svojstva, kao što su X, β, γ-zračenja, mogu biti baza za kemijske senzore u slučaju da se radi o utvrđivanju kemijskog sastava.

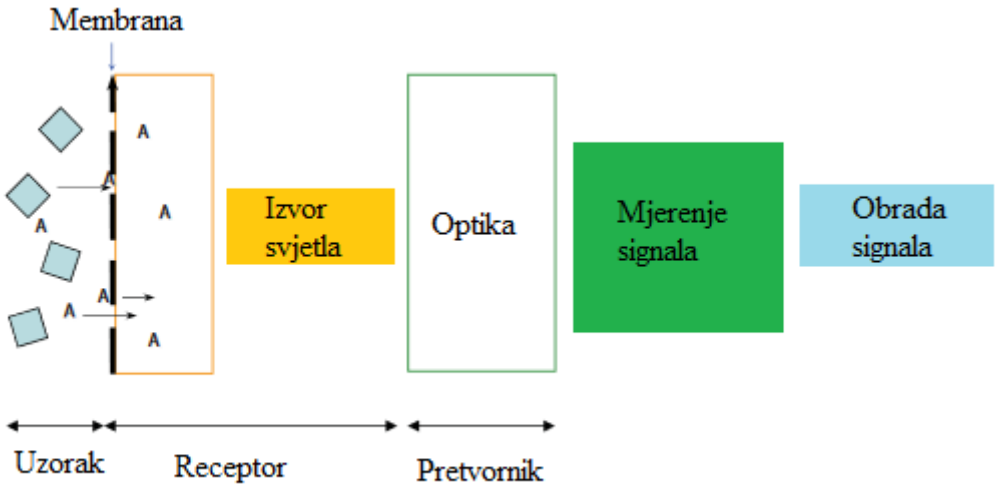
Senzori se mogu klasificirati i na druge načine, npr. prema primjeni za detektiranje određenih analita (senzori za pH, senzori za metalne ione, senzori za određivanje kisika ili ostalih plinova...) ili prema načinu primjene (senzori za praćenje procesa, senzori za primjenu in vivo...).

Biosenzori nisu navedeni kao posebna skupina jer se procesi na kojima se temelje zajednički kemijskim senzorima. [2]

2.2.3. Optički kemijski senzori

Optički senzori predstavljaju grupu kemijskih senzora koji koriste elektromagnetsko zračenje kako bi generirali analitički signal. Dakle, optički kemijski senzori temelje se na interakciji svjetla i materije. Interakcija elektromagnetskog zračenja s uzorkom promatra se kao promjena određenog optičkog parametra, a ta promjena je povezana s koncentracijom analita. Optički senzori mogu se bazirati na raznim principima, kao što su: apsorbancija, refrakcija,

luminiscencija, fluorescencija itd., te pokrivaju široko spektralno područje, od UV do IR. Uz intenzitet zračenja, može se pratiti i indeks loma, raspršenje, difrakcija i polarizacija. [6,7]



Slika 3. Shematski prikaz optičkog kemijskog senzora [7]

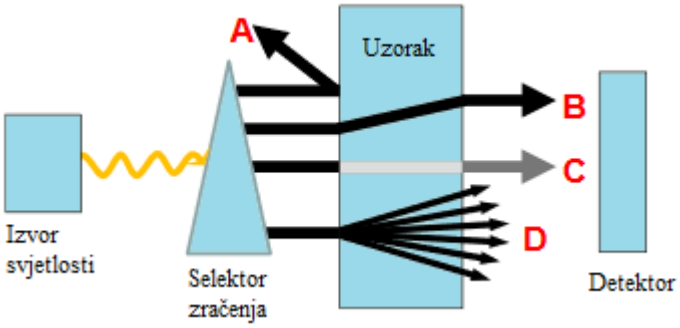
Optički senzori u zadnje vrijeme su često korišteni zbog brojnih prednosti naspram električnih senzora. Neke od tih prednosti su: selektivnost, osjetljivost, imuni su na elektromagnetske smetnje, jeftini su, izdržljivi su, mogu se dimenzijski vrlo smanjiti, sposobni su kontinuirano mjeriti, te mogu sigurno raditi sa zapaljivim i eksplozivnim tvarima. Svejedno posjeduju i par nedostataka kao što su: ograničenost dugoročne stabilnosti uzrokovane fotoizbjeljivanjem ili ispiranjem boje, temperaturna ovisnost, a ambijentalno svjetlo također može uzrokovati pogrešku. [7]

2.2.3.1. Principi detekcije optičkih kemijskih senzora

Kao što je već rečeno, djelovanje optičkih senzora temelji se na interakciji svjetla i materije. Molekula tvari može apsorbirati energiju iz elektromagnetskog vala pri čemu dolazi do povećanja energije sustava. Tu promjenu energije možemo promatrati kao promjene energije elektrona, promjenu u energiji rotacije molekule ili promjenu u energiji vibracije atoma u molekuli. S obzirom da su energije molekule kvantizirane, molekula može apsorbirati samo

određenu energiju iz fotona. Ako je energija prevelika, može doći čak i do ionizacije molekule (npr. zbog X-zraka).

Ako se zraka svjetlosti propušta kroz sloj materijala, mogući su razni procesi, kao što su prikazani na slici 4.



Slika 4. Prikaz interakcije fotona s materijom [7]

Na slici 4. vidljivo je da sudarom između fotona i materije imamo više tipova interakcija, a to su: apsorpcija (C), emisija (D) koja se dalje može podijeliti na fluorescenciju ili fosforescenciju, refleksija (A) i refrakcija (B). [6]

2.2.3.2. Podjela kemijskih senzora [8,9]

S obzirom na to da je geometrijski dizajn optički vodljive platforme ključan faktor za razvoj optičkih senzora, postoje dva glavna tipa senzorskih platformi grupiranih prema obliku. To su optička vlakna i planarne platforme.

1. Optička vlakna (engl. *Fiber optic chemical sensor*, FOCS)

    - Pasivni FOCS – kod pasivnih optičkih vlakana dolazi do prijenosa optičkog signala od ili do mjesta gdje se signal prepoznaje. Mjerenje se odvija preko posrednika, a signal je posljedica interakcije između analita i posrednika.

Pasivni optički senzori baziraju se na refleksiji ili transmisiji. Još ih nazivamo i ekstrinzičnim optičkim senzorima.

Izvedba bazirana na refleksiji

Ovakav tip izvedbe bitan je kod senzora koji se baziraju na apsorpciji ili kolorimetriji. Navedeni tip senzora sastavljen je od osjetljivog materijala koji mijenja boju u dodiru s analitom i od snopa vlakana. Snop optičkih vlakana dovodi svjetlost do analitički osjetljivog materijala i za prikupljanje reflektirane svjetlosti. Snop optičkog vlakna sastoji se od centralnog vlakna i vanjskog vlakna. Centralno vlakno zaduženo je za dovod svjetlosti, dok vanjsko vlakno prikuplja reflektiranu svjetlost. Optički snopovi bazirani na refleksiji se mogu koristiti i za fluorescencijska mjerenja, a u tom slučaju centralno vlakno dovodi svjetlost koja pobuđuje spoj na fluorescenciju, a vanjska vlakna prikupljaju svjetlost emitiranu fluorescencijom. Ovakva izvedba se koristi za detekciju baziranu na fluorescenciji analita kao što su kisik, jod i 2,6-dinitrofenol.

Izvedba bazirana na transmisiji

Postoji više vrsta senzora, primjerice jedan od njih ima ulazno i izlazno vlakno koje je umetnuto u silicijeve kapilare. Silicijeve kapilare služe kao transmisijska ćelija za plinovite uzorke koji se mogu detektirati korištenjem infracrvenog zračenja.

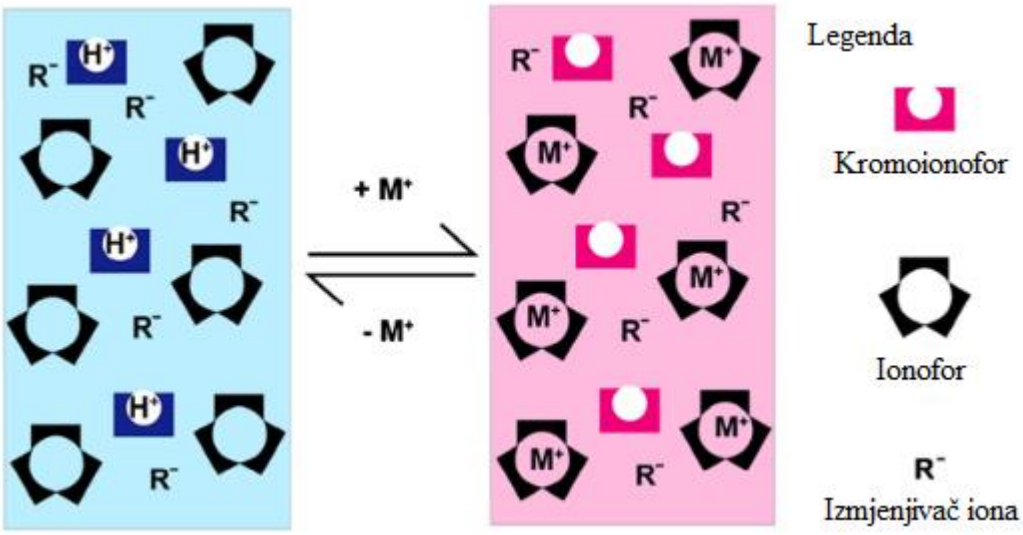
- Aktivni FOCS – kod aktivnih optičkih vlakana dolazi do moduliranja optičkih svojstava vlakana zbog toga što su optička vlakna dopirana s indikatorom koji je osjetljiv na analit. Aktivna optička vlakna dakle mjere izravno svojstva analita. Još se nazivaju i intrinzičnim optičkim senzorima. Prema mehanizmu prijenosa mogu biti podijeljeni na senzore bazirane na fluorescenciji, senzore bazirane na apsorpciji ili refraktometrijske senzore.

2. Planarna svjetlovodna vlakna (eng. *Planar waveguide chemical sensors*, PWCS)

- PWCS bazirani na fluorescenciji – koriste se za širok spektar analita, kao što su kisik, ugljikov dioksid, ili za određivanje pH vrijednosti.
- PWCS bazirani na apsorpciji
- Refraktometrijski PWCS

2.2.3. Ion-selektivne optode

Ion-selektivne optode su vrsta optičkih senzora. Ion-selektivne optode su selektivne prema određenoj kemijskoj vrsti, a ta selektivnost je omogućena zbog selektivnog kompleksiranja između ionofora i iona metala koji se određuje. Ionofori su molekule koje vežu na svoju površinu ione. Uslijed tog vezanja, dolazi do promjene boje ili promjene u fluorescenciji. Ionofori koji mijenjaju boju nazivaju se kromoionoforima, a oni koji uzrokuju promjenu u fluorescenciji nazivaju se fluoroionoforima. Ion selektivne optode se sastoje od liganda (ionofor i ionski izmjenjivač) i nereaktivnog hidrofobnog polimera. [10]



Slika 5. Prikaz mehanizma djelovanja ion-selektivne optode [10]

Nereaktivni hidrofobni polimer, najčešće PVC, ima ulogu imobilizacije ionofora. Procesi imobilizacije ionofora mogu biti kemijske ili fizikalne prirode, odnosno dijele se na adsorpciju, imobilizaciju na polimer ili na kovalentno vezivanje na čvrstu tvar. Tako imobilizirani ionofor nalazi se na površini senzora pri čemu je u direktnom kontaktu s analitom. Interakcijom između ionofora i analita dolazi do promijene optičkih svojstava. U slučaju da ionofor sam po sebi ne može promijeniti optičko svojstvo, na njega se vežu molekule koje imaju takve sposobnosti (npr. kromofor).

Ion-selektivne optode mogu se podijeliti u različite skupine ovisno o tome koja im je analitička svrha: [11]

- Protočna optoda
- Svjetlovodna optoda
- Optoda s filmom
- Optode s optičkim vlaknima

2.3.1. Molekulski senzori (kemosenzori)

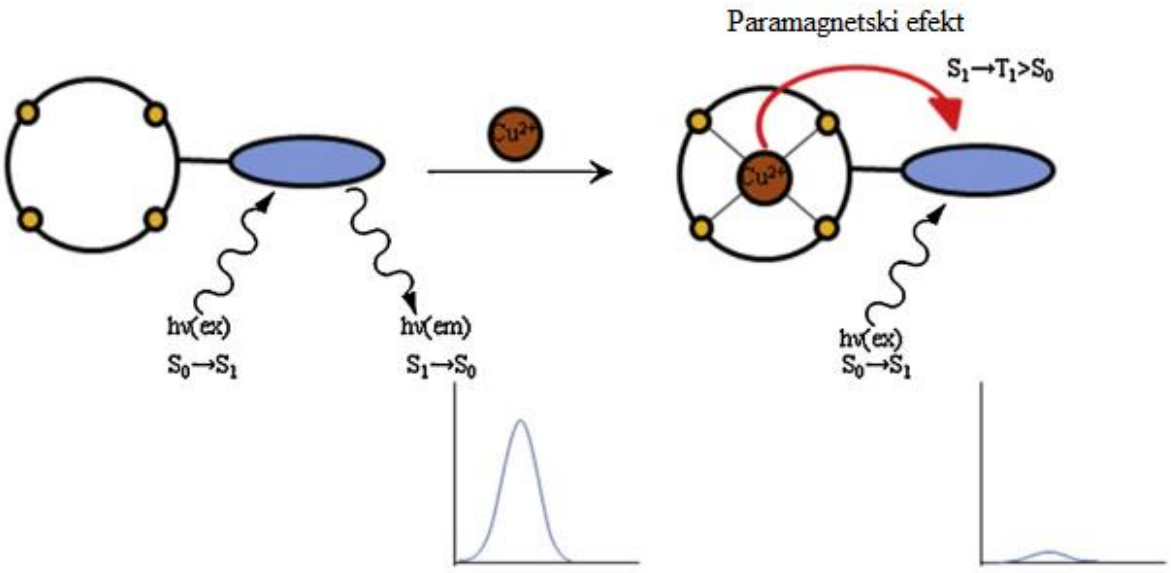
Molekulski senzori, odnosno kemosenzori, su molekule koje se selektivno i reverzibilno vežu za analit, pri čemu mijenjaju jedno ili više svojstva sustava (npr. redoks potencijal, apsorpciju, fluorescenciju). Najpoznatiji kemijski senzori su fluorescentni molekulski senzori. Fluorescentni senzori su molekulski sustavi koji sadrže fluoroionofor. Fluoroionofor je kombinacija ionofora i fluorofora. Fluorofor je, naime, dio molekule koji je odgovoran za pretvaranje signala u mjerljiv signal, a ionofor je dio molekule koji selektivno veže analit. Postoje dvije izvedbe fluorescentnog senzora, u jednoj su fluorofor i ionofor odvojeni razdjelnikom ili poveznicom, a u drugoj su integrirani. [12] Takav dizajn omogućuje i prepoznavanje određene kemijske vrste i obradu signala odjednom.

Fluorescentni molekulski senzori su postali vrlo zanimljivi za detekciju metalnih iona u otopini. Klasični senzori za metalne ione sadrže jedan ili više fluoroionofora spojenih s koordinirajućim aktivnim dijelom preko poveznice. Koordinacija metalnog iona može pojačati fluorescencijsku emisiju ili dovesti do gašenja fluorescencije.

2.3.2. Mehanizmi prijenosa i stvaranja signala kod kemosenzora [13, 14, 15]

Mehanizmi kojima možemo detektirati metalne ione u otopini pomoću kemosenzora su: paramagnetično gašenje fluorescencije (eng. *Paramagnetc fluorescence quenching*), fotoinducirani prijenos elektrona (eng. *Photoinduced electron transfer*, PET), fotoinducirani prijenos naboja (eng. *Photoinduced charge transfer*, PCT), prijenos fluorescencijske rezonancijske energije (eng. *Fluorescence resonance energy transfer*, FRET), ekscimer-ekscipleks model i senzori bazirani na nepovratnim reakcijama.

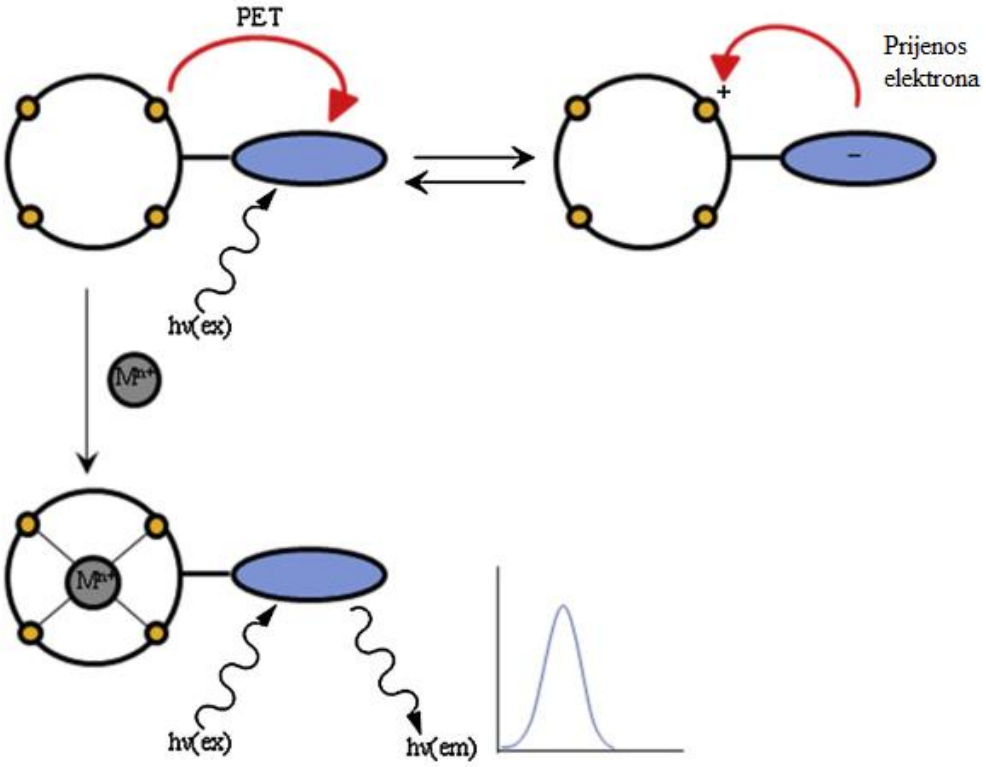
1. Kod paramagnetičnog gašenja fluorescencije dolazi do gašenja fluorescencije uslijed prisutnosti paramagnetičnog atoma



Slika 6. Paramagnetično gašenje fluorescencije [13]

2. Fotoinducirani prijenos elektrona je mehanizam pri kojem dolazi do unutarnje redoks reakcije između pobuđenog stanja fluorofora i neke druge kemijske vrste koja može donirati ili primiti elektron (npr. N, O, P, S). Nakon pobude fluorofora, elektron prelazi iz HOMO (najviša zauzeta molekulska orbitala; eng. *Highest occupied molecular orbital*) u LUMO (najniža nezauzeta molekulska orbitala; eng. *Lowest unoccupied molecular orbital*), što omogućuje fotoinducirani prijenos elektrona iz HOMO donora u fluorofor pri čemu dolazi do gašenja fluorescencije. Kada je prisutan

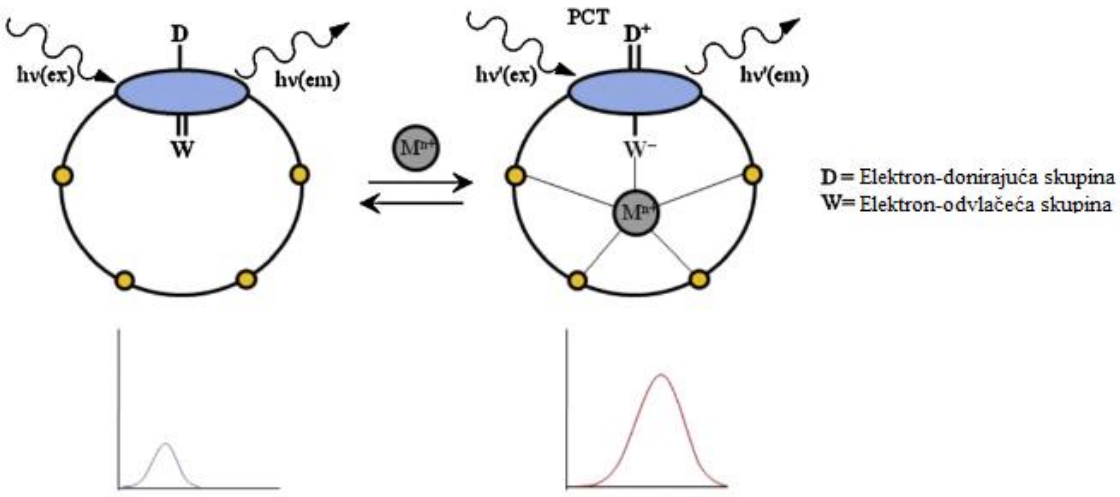
metani iona, HOMO energija donora postaje niža od one kod fluorofora, prijenos elektroda je onemogućen te dolazi do fluorescencije.



Slika 7. Fotoinducirani prijenos elektrona [13]

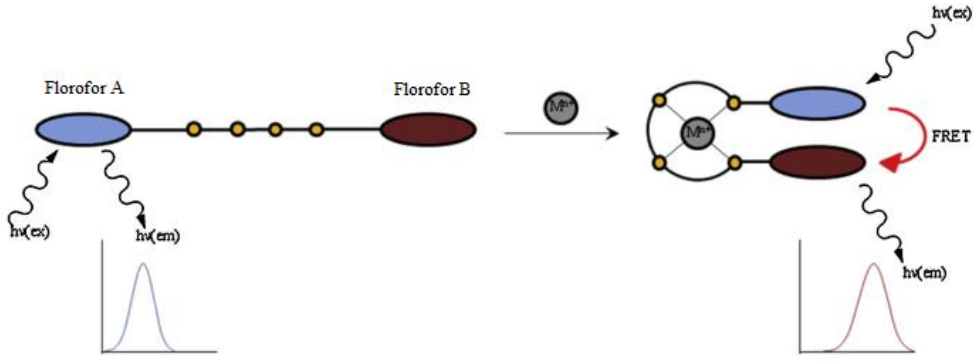
3. Fotoinducirani prijenos naboja podrazumijeva transfer elektrona između elektron-donora i elektron-akceptora. Ovakav mehanizam zastupljen je u *push-pull* molekulama, gdje je na jednoj strani molekule elektron-odvlačeća skupina (pull), a na drugom kraju elektron-donorska skupina (push). Uslijed navedenog *push-pull* efekta, dolazi do promijene naboja unutar same molekule nakon što je molekula pobuđena energijom. U pobuđenom stanju polarizacija *push-pull* molekule se pojačava. Nastali dipolni moment djeluje s dipolima oko sebe. Također, pojačana polarizacija uzrokuje i velike Stokesove pomake. Senzori koji se baziraju na fotoinduciranom prijenosu naboja pokazuju veliki Stokesov pomak i pomake u emisijskim vrpcama uzrokovane vezanjem za metalne ione. Ako se metalni ion veže za elektron donora, dolazi do pomaka u crveni dio spektra uslijed povećanja u HOMO energiji, a ako se metalni ion veže za elektron akceptora dolazi do pomaka u plavi dio spektra. Uslijed promijene

navedenih energija, onemogućava se prijenos elektrona na fluorofor, a samim time nema niti gašenja fluorescencije.



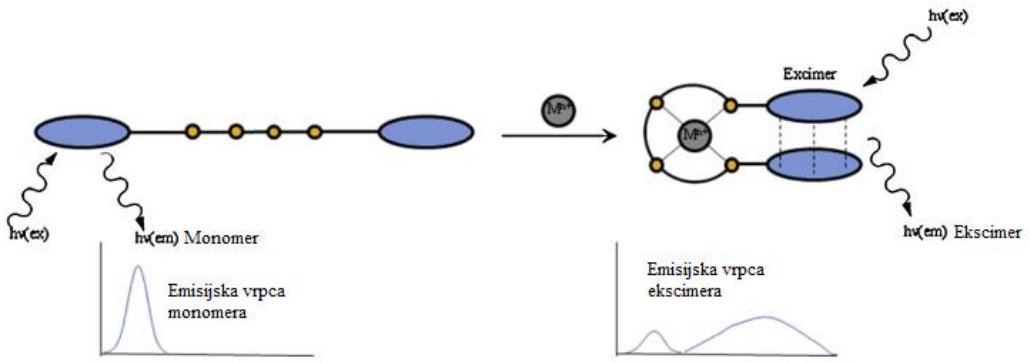
Slika 8. Fotoinducirani prijenos naboja [13]

4. Prijenos fluorescencijske rezonancijske energije je mehanizam koji se temelji na interakciji između pobuđenog fluorofora i drugog fluorofora preko kojeg se prenosi energija s donora na akceptor. Prijenos se zbiva bez emisije fotona. Uvjet za ovaj mehanizam je da molekule donora i akceptora budu u blizini od 10 do 100 Å i da se apsorpcijski spektar akceptora preklapa s emisijskim spektrom donora, ali i da molekule budu paralelno orijentirane.



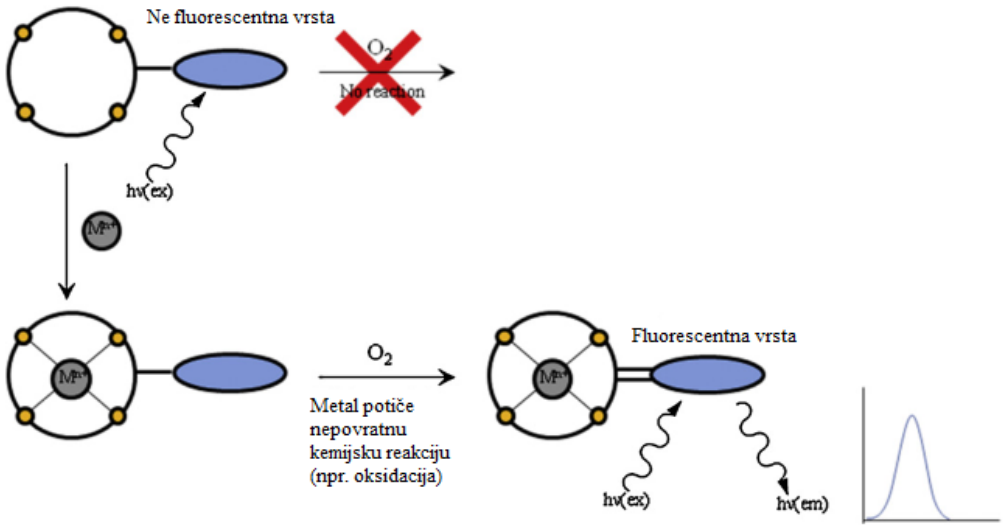
Slika 9. Prijenos fluorescencijske rezonancijske energije [13]

5. Ekscimer-ekscipleks model se bazira na interakciji između pobuđenog i osnovnog stanja, odnosno ako je ta interakcija dovoljno snažna, u blizini metalnog kationa može doći do nastajanja ekscimera i ekscipleksa. Emisijski intenzitet ekscimera i ekscipleksa je manji od monomera, stoga omjer između njih predstavlja kvantitativni podatak o količini metalnih iona u otopini.



Slika 10. Ekscimer-ekscipleks model [13]

6. Senzori bazirani na nepovratnoj reakciji temelje se na molekulama koje ne pokazuju emisiju, ali koje uz prisutnost metalnog iona počinju pokazivati emisijske spektre. Primjeri ovih senzora su kemodozimetri.



Slika 11. Nepovratno reakcijski senzor [13]

Molekularni fluorescentni senzori ovisno o njihovom dizajnu postoje u pet različitih oblika:

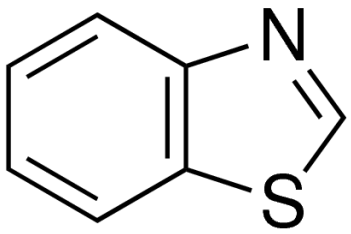
1. Fluorescentni ligandi – najstarija grupa fluorescentnih molekularnih senzora u kojoj se većinom nalaze aromatični spojevi ili spojevi s heterocikličkim prstenom,a a specifični su po tome što su im ionofor i fluorofor identični,
2. Intrinzični – ovaj tip fluorescentnih molekularnih senzora značajan je po tome što su receptor i kromofor međusobno povezani preko konjugiranih veza. Konstrukcija ovakvih senzora se radi kombinacijom donorske i akceptorske skupine koja se odvoji, najčešće, s vinilnom skupinom,
3. Fluorofor – razdjelnik – receptor,
4. Ekscipleks i ekscimer senzori,
5. Kemodozimetri.

2.2 Benztiazol

2.2.1. Opće karakteristike

Benztiazol je biciklički heterociklički aromatski spoj. Sastoji se od 7 ugljikovih atoma i 2 heteroatoma, odnosno atoma sumpora i atoma dušika. Možemo ga promatrati i kao spoj benzenskog prstena i tiazolnog prstena. Upravo tiazolni prsten sadrži navedena 2 heteroatoma i to u položajima 1 i 3. Kemijska formula beztiazola glasi C_7H_5NS.

Benztiazol je bezbojna tekućina. Temperatura tališta iznosti 2 °C, a temperatura vrelišta je u rasponu od 227 do 228 °C. Gustoća benztiazola iznosi 1,24 g/mol. Molekularna masa je jednaka 135,19 g/mol. [17]

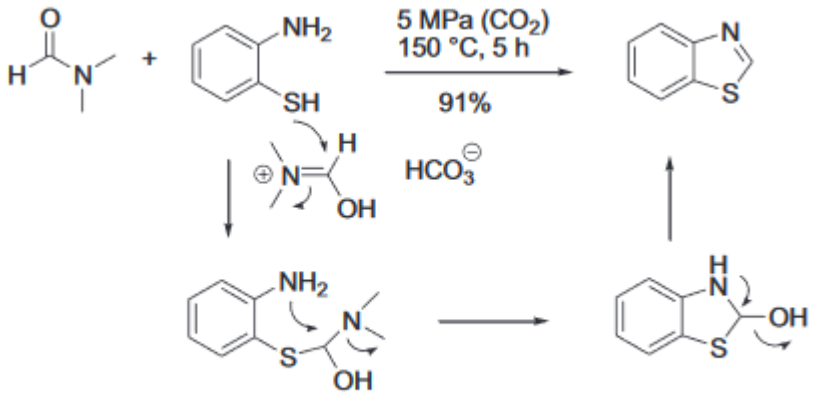


Slika 12. Struktura benztiazola [17]

2.2.2 Sinteza benztiazola

Postoji mnogo načina sinteze benztiazola. Neke od najčešće korištenih metoda su kondenzacija 2-aminobenzentiola sa supstancom koja sadrži karbonilnu ili cijano grupu, kondenzacija 2-aminobenzentiola sa aromatskim aldehidom u refluksu toluena pri 110 °C ili kondenzacija 2-aminobenzentiola sa nitrilima uz dodatak bakrovog katalizatora. [19]

U novije vrijeme, benztiazol se sintetizira jednostavnom ciklizacijom 2-aminobenzentiola uz *N*,*N*-dimetilformamid (DMF) u vodi, te uz dovod CO_2, pri čemu nastaje H_2CO_3.



Slika 13. Sinteza benztiazola [19]

Pretpostavlja se da *N*,*N*-dimetilformamid u blizini H_2CO_3 stvara aktivni međuprodukt koji zatim reagira s 2-aminobenzentiolom pri čemu finalno nastaje benztiazol.

2.3. 1,2,3-triazol

2.3.1 Opće karakteristike 1,2,3-triazola

1,2,3-triazol je nezasićeni aromatski spoj. Sačinjen je od peteročlanog prstena u kojem se nalaze 2 atoma ugljika i 3 atoma dušika. Svi atomi su sp^2 hibridizirani. Na svakom dušiku se nalaze po 2 slobodna elektrona, što ukupno čini 6π elektrona koji su delokalizirani preko prstena.

1,2,3-triazol je bezbojna tekućina. Topljiv je u vodi. Gustoća mu iznosi 1,1992 g/cm^{-3}. [20]

Triazol se pojavljuje u 2 oblika: 1,2,3-triazol i 1,2,4-triazol. Vrlo je interesantan za istraživanje zbog kemijske i oksidativne stabilnosti. Molekula posjeduje snažan dipolni moment, a ima i mogućnost vezanja vodikovim vezama na atome dušika. Posljedica takvog ponašanja molekule je stabilnost u biološkim sustavima. [21]

1,2,3-triazol se može koristiti kao poveznica makromolekula, a može i koordinirati metalne ione, a primjeri takvih triazolnih derivata navedeni su kasnije u radu.

2.3.2 Sinteza 1,2,3-triazola

U zadnjih 40 godina istraživani su sintetski putovi za dobivanje 1,2,3-triazola. Jedna od prvih metoda bila je direktna sinteza pomoću vodikovog azida i acetilena, no navedena metoda nije privlačna za industrijsku proizvodnju s obzirom da su obje komponente eksplozivne. [22]

Sinteza 1,2,3-triazola u moderno vrijeme se bazira na *click* kemiji. Temelje sinteze 1,2,3-triazola postavio je 1960-tih godina Huisgen koji je navedeni spoj sintetizirao direktnom sintezom između alkina i azida. Ovisno je li reakcija provođena bez katalizatora ili s katalizatorom, dobiveni su drugačiji regioizomeri. [23]

2.4 *Click* kemija

2001. godine, znanstvenici Kolb, Finn i Sharpless objavili su revolucionarni rad u kojem opisuju nove strategije organske sinteze. Istraživanjem molekula koje se prirodno nalaze u živim bićima, došli su do zaključka da su primjerice nukleinske kiseline i proteini prirodni polimeri koji nastaju spajanjem manjih jedinica povezanih heteroatomnom vezom. Dakle, došli su do ideje da se kreiraju nove molekule na način da se spajaju manje jedinice pomoću ugljik-heteroatom veze. [24]

Općenito, *click* kemija se odnosi na efikasne reakcijske sinteze u blagim uvjetima iz kojih se može dobiti produkt s visokim iskorištenjem.

Postoji niz mehanizama prema kojima može nastati nova veza između ugljika i heteroatoma, a neki od tih mehanizama su:

1) Cikloadicija nezasićenih vrsta, najpoznatija od njih je 1,3-dipolarna cikloadicija, ali u ovu skupinu spadaju i Diels-Alder-ove transformacije
2) Reakcije nukleofilne supstitucije, kao što je reakcije otvaranja napetog heterocikličkog elektrofila (epoksidi, azimidini, azimidin ioni itd...)
3) Karbonilne reakcije ne-aldolnog tipa poput stvaranja uree, tiouree, aromatskih heterocikla, hidrazon amida itd...
4) Adicije na višestruke ugljikove veze, posebno se odnosi na reakcije oksidacije kao što su: epoksidacija, dihidroksilacija, aziridinacija, sulfenil halid adicija i Michaelova adicija na Nu-H reaktante

Prema Kolb-u, Finn-u i Sharpless-u, *click* reakcije su definirane sljedećim uvjetima: [25, 26]

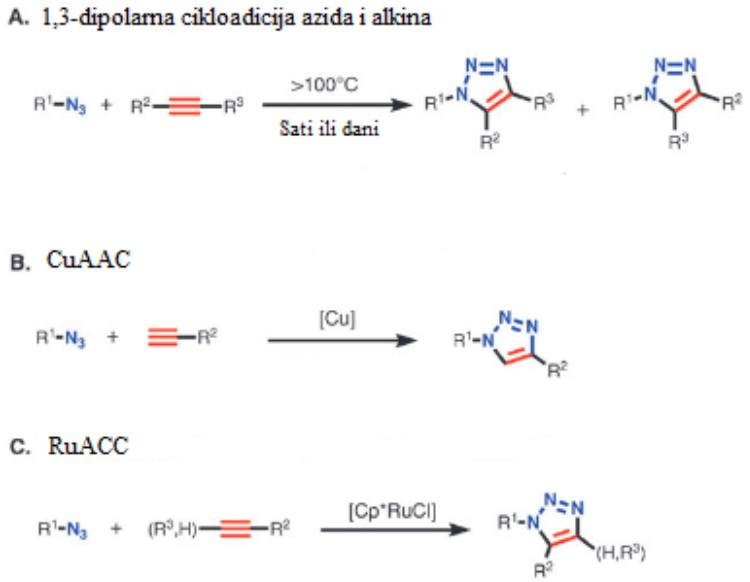
1) Modularnost (mogućnost kombiniranja manjih jedinica u veće jedinice),
2) Široko područje primjene,
3) Veliko iskorištenje (nastanak produkta uz malu količinu nusprodukta),
4) Stereospecifičnost (ali ne nužno i enantiospecifičnost),
5) Jednostavni reakcijski uvjeti,
6) Laka dostupnost materijala i reaktanata,
7) Sinteza bez uporabe otapala, a ako se već koriste otapala, moraju biti blaga i lako uklonjiva,
8) Jednostavnost izolacije produkata,
9) Mogućnost korištenja nekromatografskih metoda za pročišćavanje, kao što su kristalizacija i/ili destilacija,
10) Stabilnost dobivenih produkata pri blagim uvjetima provođenja reakcije,
11) Termodinamička povoljnost.

2.4.1. 1,3-dipolarna Huisgenova cikloadicija

Reakcije između alkina i azida pri povišenoj temperaturi poznate su još od kraja 19. stoljeća kada je A. Michael sintetizirao 1,2,3-triazol pomoću fenil azida i dietil acetilendikarboksilata. U periodu između 1950- i 1970-tih godina, Huisgen je nastavio istraživanja te je tako razvio 1,3-dipolarnu cikloadiciju. S obzirom da su navedene reakcije egzotermnog karaktera i da imaju visoku energiju aktivacije, iskorištenje je vrlo malo. Kao produkt se dobila smjesa 1,4 i 1,5-regioizomera 1,2,3-triazola.

Uvođenje bakra kao katalizatora dolazi do velikih promjena. Brzina reakcije s bakrenim katalizatorom je 10^7 puta brža od one bez katalizatora, stoga se mogu provoditi već i pri sobnoj temperaturi. Na reakciju ne utječu sterička i elektronska svojstva skupina koje se nalaze na alkinu ili azidu. Reakcija se može zbivati u mnogim protičnim i aprotičnim otapalima, uključujući i vodu. Također većina organskih i anorganskih grupa nema utjecaj na tijek reakcije. Ovim pristupom se dobije 1,4-supstituirani 1,2,3-triazol kojeg je iz reakcijske smjese relativno lako filtracijom izolirati, a sama reakcija je poznata kao Cu(I)-katalizirana azid-alkin cikloadicija (CuAAC).

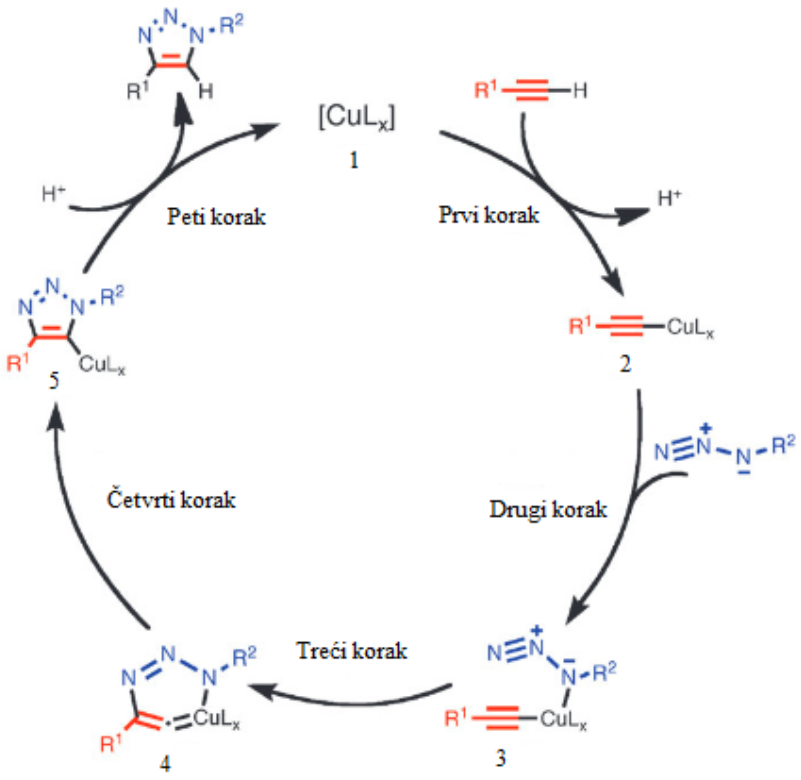
Zanimljivo je spomenuti, ako se umjesto bakra koristi rutenij kao katalizator dobiveni 1,2,3-triazol biti će 1,5-supstituiran, kako je prikazano na slici 14. [27]



Slika 14. Shema tri tipa cikloadicijskih reakcija između azida i alkina. A) 1,3-dipolarna cikloadicija azida i alkina pri povišenoj temperaturi. B) bakar(I) katalizirana azid-alkin cikloadicija. C) rutenij katalizirana azid-alkin cikloadicija. [28]

2.4.2 Mehanizam CuAAC [27, 28, 29]

Mehanizam CuAAC prikazan je na slici 15. U prvom stupnju dolazi do vezanja alkina na bakrov katalizator uz izdvajanje jednog liganda, pri čemu nastaje bakrov acetilid. Prvi stupanj počinje na način da Cu^+ koordinira elektrone iz π veze alkina pri čemu nastaje π kompleks bakra i alkina. Zbog takve koordinacija bakrovog kation na trostruku vezu, dolazi do smanjenja pK_a terminalnog protona alkina. Smanjenje pK_a terminalnog protona alkina nadalje dovodi do deprotoniranja pri čemu konačno nastane bakrov acetilid. U drugom koraku dolazi do aktivacije azida koordinacijom s bakrom pri čemu dolazi do nastanka intermedijara **3**. U trećem koraku nastaje prva C-N veza i to na način da krajnji dušikov atom azida na spoju **3** napada C-2 ugljikov atom acetilida. Ovakvom interakcijom nastaje šesteročlani ciklički spoj **4**. S obzirom da spoj **4** nije stabilan te da ima nisku energetsku barijeru, dolazi do pregrupiranja unutar molekule čime nastaje derivat triazola i bakra **5**. U petom, ujedno i zadnjem koraku, uslijed izmjene s vodikom dolazi do nastajanja finalnog produkta 1,4-supstituiranog 1,2,3-triazola **5**.



Slika 15. Mehanizam bakrom(I) kataliziranе reakcije azida i alkina [28]

2.4.3. Primjena *click* kemije

Click kemija sve više postaje popularna u radovima koji su vezani uz organsku sintezu, dizajn novih lijekova, sintezu i modifikaciju prirodnih i sintetskih spojeva, biokonjugaciju, supramolekularnu kemiju, kemiju polimera, te razvoj novih materijala.[30]

Sve veći značaj *click* kemije vidljiv je u polju virologije. Uslijed manjka znanja o virusnim infekcijama, nailazimo na poteškoće prilikom shvaćanja patogeneze virusa i interakcije između virusa i domaćina. Koristeći se tehnikama *click* kemije, moguće je virusne proteine i virione označiti s malim i stabilnim molekulama koje se ponašaju kao „privjesci“ što omogućuje vizualizaciju promjena koje stvara virus u stanici domaćina. Kao primjer, može se navesti spajanje alkilne skupine na tirozinske ostatke na površini virusa mozaika duhana kopulacijom diazonijevih soli i CuACC. Uz praćenje virusnih proteina, moguće je pratiti i virusne nukleinske kiseline. Novonastalu virusnu RNA moguće je označiti ugradnjom analoga uridinu (kao što je 5-etiniluridin) na koji je prethodno *click* kemijom spojen fluorescentni azid. Ovakvim pristupom se može vizualizirati i kvantificirati virusna transkripcija u stanici koja je inficirana virusom pomoću fluorescentne mikroskopije i protočnom citometrijom. Jedna od glavnih nedostataka primijene *click* kemije, konkretnije CuACC, u virologiji je činjenica da su Cu(I) katalizatori citotoksični. [31]

U biokemijskom inženjerstvu, *click* kemija omogućava modifikaciju živih stanica. S obzirom da se biokomponente kao što su šećeri, aminokiseline, lipidi koriste u metabolizmu živih stanica, korištenjem biomolekula s „kemijskom oznakom“ moguće je označiti razne proteine u živom organizmu. Označavanjem makromolekula unutar žive stanice dobiju se informacije kao što su proliferacija, diferencijacija, migracija ili smrt stanica. [32]

Potencijalno je moguće koristiti *click* kemiju bez bakrovih katalizatora za detekciju stanica tumora i selektivnu sintezu lijeka. [32]

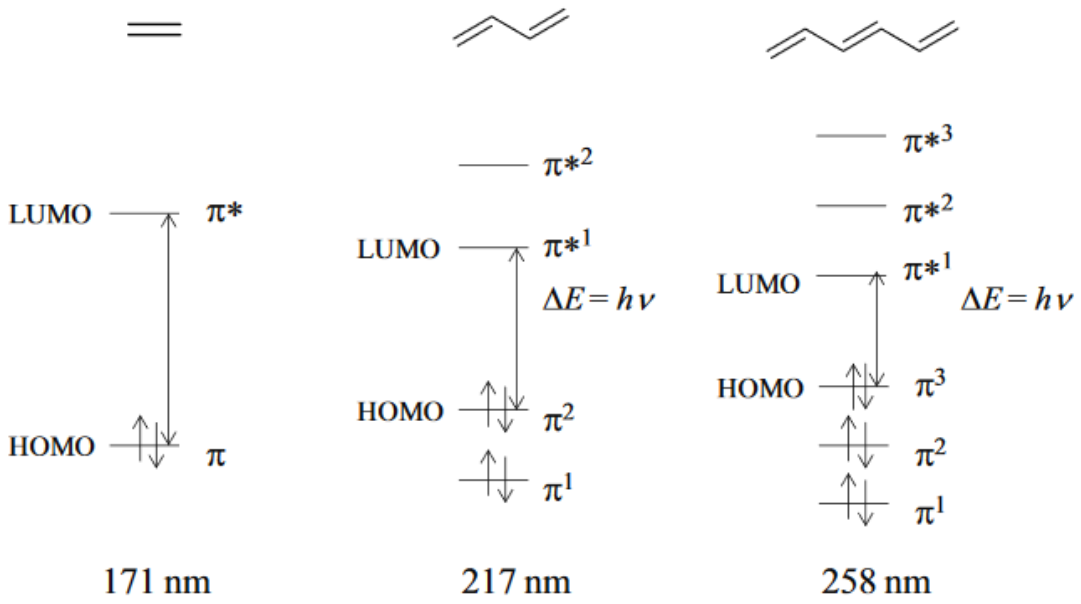
2.5 Heteroaromatski kromofori

2.5.1 π-konjugirani sistemi

Konjugirani sustavi su sustavi koji sadrže naizmjenične jednostruke i dvostruke veze, a nastaju preklapanjem π-orbitala. Konjugacijom se postiže smanjenje ukupne energije sustava, te se time povećava stabilnost molekule. Iz elektronske perspektive, elektroni π-konjugiranog sustava postaju delokalizirani, što znači da ne pripadaju točno određenom atomu, već se prostiru preko cijele površine molekule. [33]

Apsorpcija UV zraka uzrokuje pobuđivanje elektrona koji zatim iz osnovnog stanja prelaze u neko od pobuđenih stanja. Jezgra koja privlači elektrone oko sebe, određuje koliko je energije potrebno apsorbirati da elektron prijeđe u pobuđeno stanje. Može se zaključiti da su karakteristične energije prijelaza i valne duljine apsorbiranog zračenja su svojstva atoma, a ne samog elektrona. Kod konjugiranih sustava energija potrebna za prijelaz elektrona iz HOMO u LUMO je niža nego u molekulama bez konjugiranog sustava. Nerijetko takve molekule apsorbiraju valne duljine u vidljivom dijelu spektra. [34]

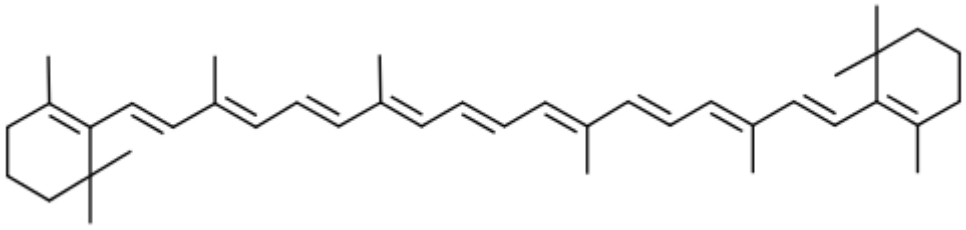
Za objašnjavanje navedenog pomaka u vidljivi dio spektra, može se poslužiti usporedbom između molekula etena, buta-1,3-diena i heksa-1,3,5-triena. Molekula etena sadrži jednu izoliranu dvostruku vezu koja je lokalizirana između dva ugljika. Prijelaz između π u π* odvija se pri 170 nm što odgovara UV području spektra. Buta-1,3-dien ima dvije dvostruke veze, a kroz molekulu se izmjenjuje dvostruka i jednostruka veza. Dolazi do preklapanja p-orbitala ugljika, stoga molekulske π-orbitale nisu lokalizirane, već su delokalizirane preko cijelog konjugiranog sustava. Heksa-1,3,5-trien ima tri dvostruke veze i dvije jednostruke, pri čemu su p-elektroni delokalizirani na još većem području. Promatranjem molekulskih orbitala i usporedbom apsorpcije energije zaključeno je produljenjem konjugiranog lanca, energija potrebna za pobudu pada. S porastom broja molekulskih orbitala, energijski nivoi postaju sve bliži jedan drugome, a s time je potrebno sve manje energije za elektronske prijelaze između HOMO orbitale i LUMO orbitale. [35, 36]



Slika 16. Usporedba apsorpcije [36]

Promatranjem valnih duljina u navedenom primjeru i dalje je to u UV području spektra, no kada se dosegne određena duljina lanca s konjugiranom dvostrukom vezom, može se očekivati da će takva molekula apsorbirati energiju koja odgovara vidljivom području spektra. Zbog toga su molekule obojane.

β-karoten u svojem π sustavu ima 11 konjugiranih dvostrukih veza. β-karoten apsorbira pri 454 nm što odgovara plavoj svjetlosti. Ljudsko oko vidi narančastu boju, jer propuštanjem bijelog zračenja kojem je uklonjena plava komponenta, postaje narančasto. [36]



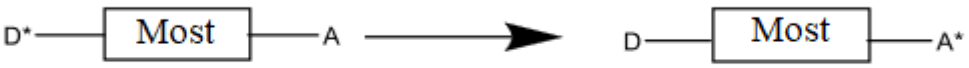
Slika 17. Struktura β-karotena [36]

π-konjugirani sustavi su visoko fluorescentni materijali, stoga se vrlo često koriste kao pigmenti i bojila. π-konjugirani sustavi su baza kromofora. Kromofori su spojevi koji pokazuju svojstvo promjene boje.

2.5.2 Donorsko-akceptorski mehanizam (*push-pull* molekule)

Push-pull molekulama, odnosno donorsko-akceptorskim sustavima nazivaju se organske molekule koje sadrže elektron-donorsku (D) i elektron-akceptorsku (A) skupinu. Elektron-donorska i elektron-akceptorska skupina nalaze se na suprotnim krajevima π-konjugiranog sustava. Ranije se smatralo da most između donorske i akceptorske skupine nema funkciju, te da služi samo kao poveznica koja drži molekulu u određenom položaju. U D-π-A sustavima donorske i akceptorske skupine pružaju asimetriju naboja, a π-konjugirani most zadužen je za preraspodjelu elektronske gustoće tijekom utjecaja vanjskog električnog polja. Elektronska svojstva D-π-A sistema ovise o udaljenosti između donora i akceptora i o razlici u energiji između njih. Konformacija mosta, ali i način na koji je povezan most s donorskom i akceptorskom skupinom također utječu na elektronska svojstva. [37]

Takvi sustavi posjeduju odlična optička svojstva te su od velike važnosti za kemiju materijala. D-π-A sustavi su ključne komponente za napredne tehnologije kao što su: nelinearni optički uređaji (NLO), organske svjetleće diode (OLED), te fotovoltažne ćelije. [37]



Slika 18. Shema D-π-A sustava

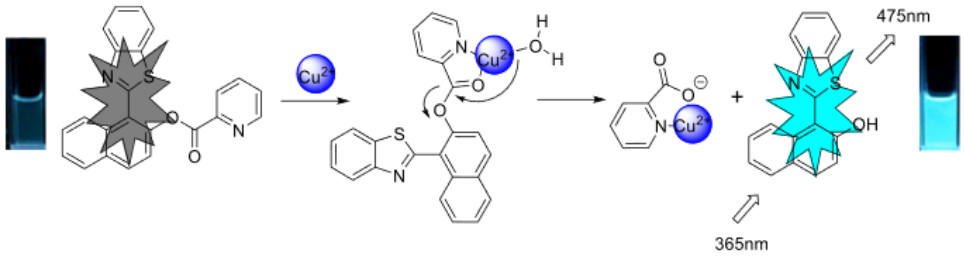
Često korištene elektron-donorske skupine su molekule koje imaju supstituente kao što su: OH, NH_2, OR, NR_2 ili heterocikličke jedinice kao što je tiofen. S druge strane, kao elektron-akceptorske skupine koriste se molekule sa supstituentima kao što su: NO_2, CN, CHO ili heterocikličke spojeve s manjkom elektrona kao što su primjerice benztiazol ili imidazol. [38]

2.6. Literaturni pregled derivata benztiazola kao kemosenzora i derivata 1,2,3-triazola kao kemosenzora

Derivati benztiazola kao senzori većinom se koriste za određivanje kation i aniona, iako se mogu koristiti za određivanje raznih manjih molekula i bioloških makromolekula. Određivanje kationa ima sve veću važnost jer povećana koncentracija kationa u okolišu može imati negativne utjecaje na čovjeka. Derivati benztiazola mogu detektirati katione bakra (Cu^{2+}), žive (Hg^{2+}), cinka (Zn^{2+}), aluminija (Al^{3+}), srebra (Ag^{+}), kroma (Cr^{3+}), paladija (Pd^{0}), kadmija (Cd^{2+}), nikla (Ni^{2+}), kobalta (Co^{2+}). Navedeni kationi mogu kompleksirati s derivatima benztiazola te time mijenjati njihovu boju ili intenzitet fluorescencije. Mehanizmi kemijskih senzora baziranih na derivatima benztiazola u određivanju analita baziraju se na fotoinduciranom prijenosu elektrona (PET), fotoinduciranom prijenosu naboja (PCT), intramolekularnom prijenosu protona u pobuđenom stanju (ESIPT) te emisiji izazvanoj agregacijom (AIE). [39, 40]

Detekcija Cu^{2+} iona:

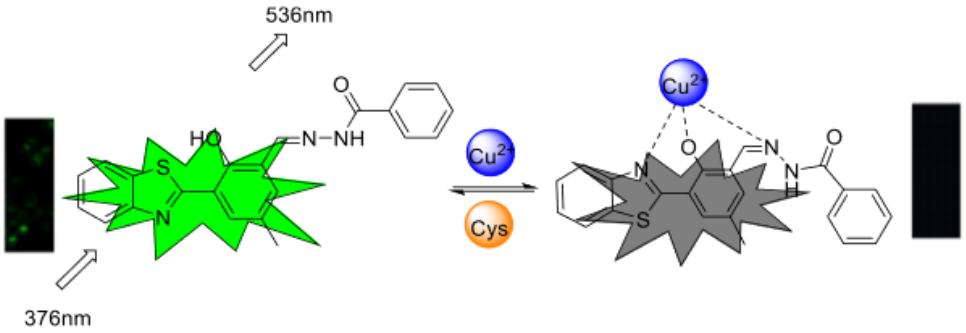
Kemosenzor je sintetiziran kondenzacijom 1-(benzo[*d*]tiazol-2-il)naftalen-2-ola i pikolinske kiseline.Cu^{2+} katalizira hidrolizu pikolinata pri čemu dolazi do promjene apsorpcije (slika 19). Navedeni kemosenzor se ponaša prema ESIPT mehanizmu. [40]



Slika 19. Shema reakcijskog mehanizma [40]

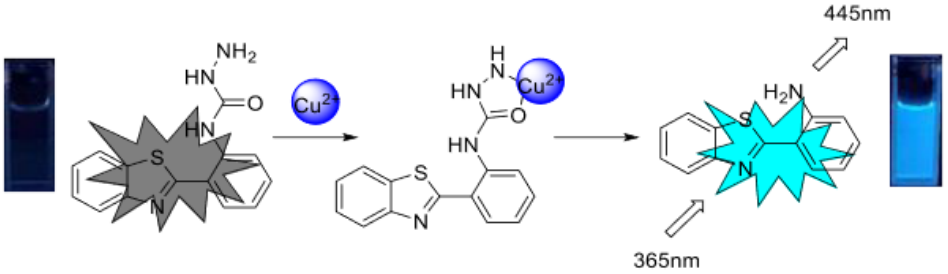
Instraživači na čelu s Shen-om sintetizirali su molekulski senzor kondenzacijom 2-(2-hidroksi-5-metilfenil)-benzotiazola i benzohidrazina. Nakon dodatka Cu^{2+} dolazi do gašenja fluorescencije uslijed stvaranja kompleksa između molekulskog senzora i Cu^{2+} iona (slika

20). Dodatkom biotiola kompleksu između molekulskog senzora i Cu^{2+} iona opaženo je da se fluorescencija vraća u prijašnje stanje. Navedeni molekulski senzor je također primjer ESIPT mehanizama. [41]



Slika 20. Shema reakcijskog mehanizma [40]

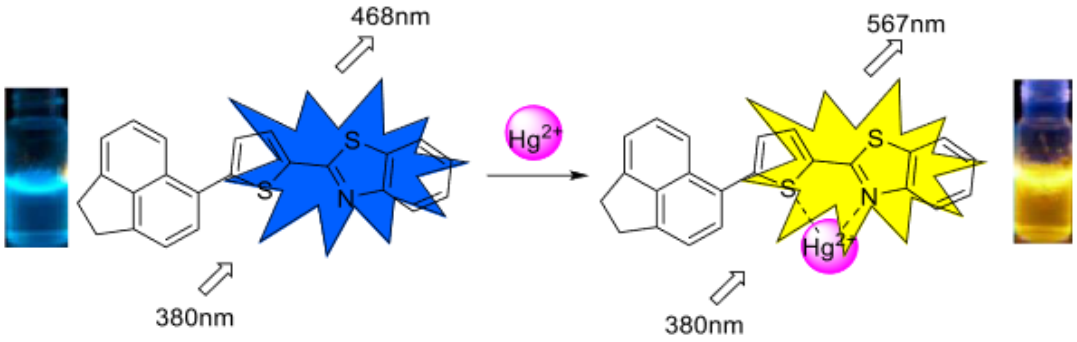
Ryu i suradnici sintetizirali su spoj dodatkom semikarbazida na 2-(2-aminofenil)-benzotiazol. Hidrazinski dio uzrokuje gašenje fluorescencije PET mehanizmom, no dodatkom Cu^{2+} dolazi do cijepanja hidrazinskog dijela čime molekula postaje fluorescentna (slika 21). [42]



Slika 21. Shema reakcijskog mehanizma [40]

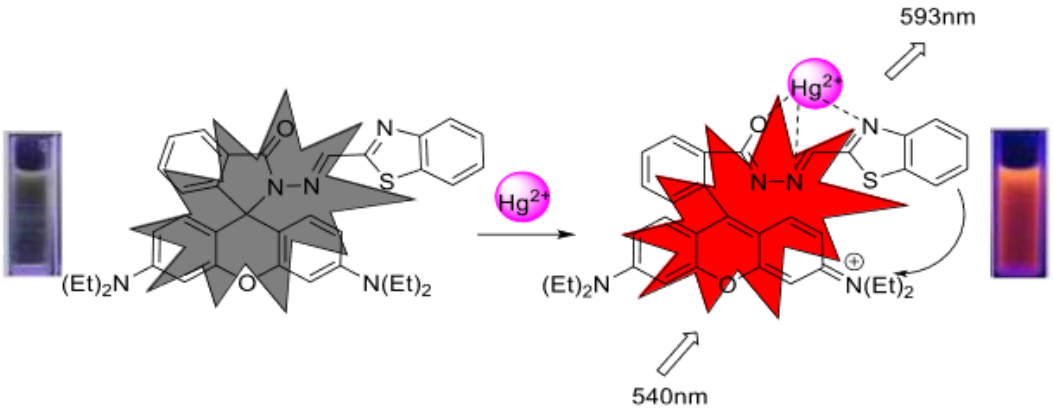
Detekcija Hg^{2+} iona:

Mei i suradnici su sintetizirali niz flurescentnih senzora baziranih na benztiazolu, među kojima je i kemijski senzor koji mijenja boju iz plave u žutu u prisutnosti Hg^{2+} iona (slika 22). [43]



Slika 22. Shema reakcijskog mehanizma [40]

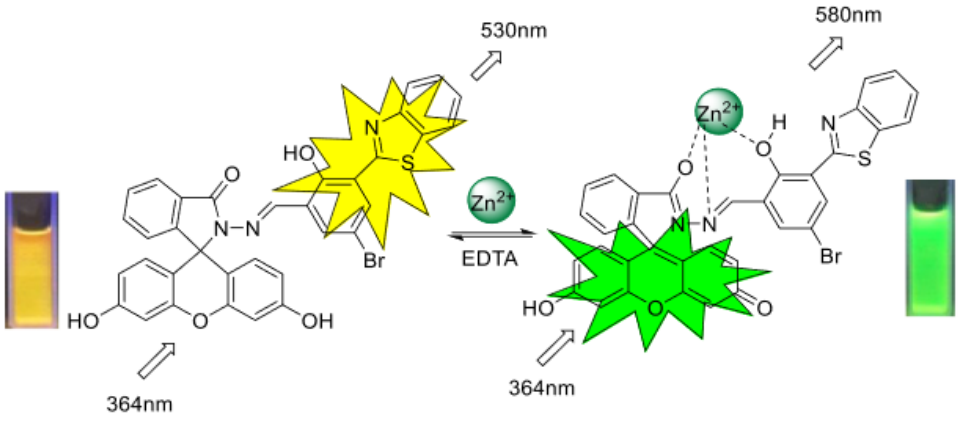
Sinteza senzora može se provesti adicijom rodamina na benztiazol. Dodatkom Hg^{2+} dolazi do promjene u fluorescenciji (slika 23). [44]



Slika 23. Shema reakcijskog mehanizma [40]

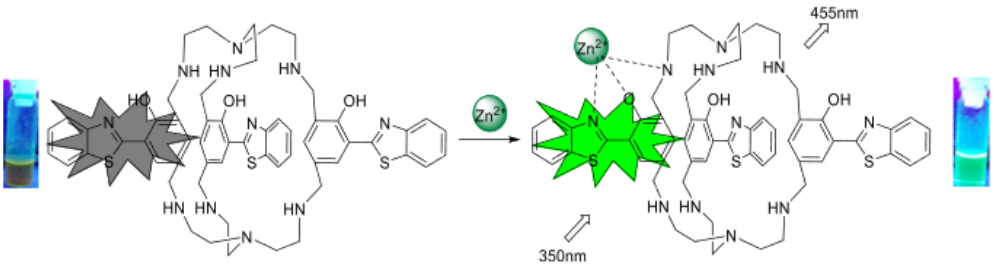
Detekcija Zn^{2+} iona:

Kemosenzor za određivanje cinkovog(II) iona sintetiziran je reakcijom između fluoresceina i derivata benztiazola. Dodatkom Zn^{2+} iona dolazi do otvaranja prstena fluoresceina pri čemu dolazi do promjene boje koja je vidljiva golim okom (slika 24). [45]



Slika 24. Shema reakcijskog mehanizma [40]

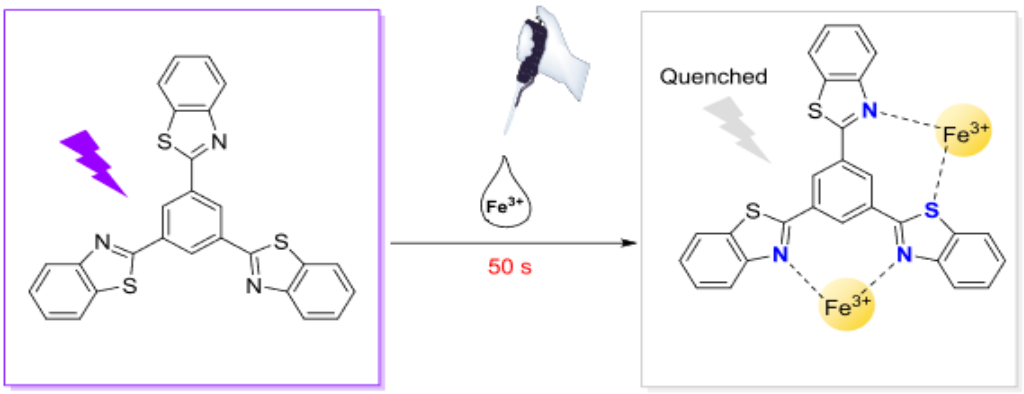
Erdemir i suradnici sintetizirali su potencijalni senzor reakcijom kondenzacije tri-(2-aminoetil)-amina sa 2-2(hidroksifenil)-benzotiazola. Dodatkom Zn^{2+} iona dolazi do vezanja na kemosenzor u omjeru 1:1. Navedeno vezanje blokira ESIPT mehanizam pri čemu dolazi do jake zelene fluorescencije (slika 25). [46]



Slika 25. Shema reakcijskog mehanizma [40]

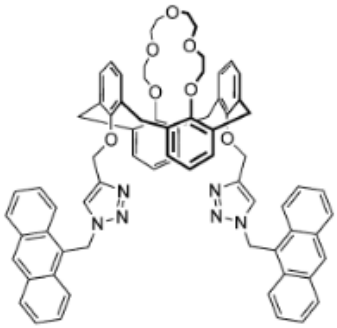
Detekcija Fe^{3+} iona:

Potencijalni senzor za Fe^{3+} ione sintetiziran je kondenzacijom između 2-aminotiofenola i 1,2,5-benzentrikarboksilne kiseline uz prisutnost polifosforne kiseline kao katalizatora. U prisutnosti Fe^{3+} iona dolazi do gašenja fluorescencije (slika 26). Zanimljivo je da navedeni spoj ima brzi odaziv te da može raditi u širokom području pH vrijednosti (pH=3-12). [47]



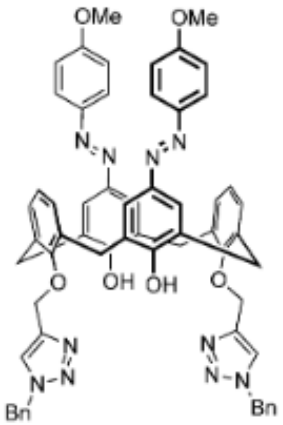
Slika 26. Shema reakcijskog mehanizma [40]

Jedan od derivata 1,2,3-triazola koji je potencijalni kemosenzor za metalne ione sintetiziran je *click* reakcijom antracena s kaliks[4]arenom (slika 27). Nastali kemosenzor potencijalno ima dva mjesta na kojima se može vezati metalni analit. U otopini $MeCN/CHCl_3$ kemosenzor pokazuje gašenje fluorescencije kad mu se dodaju ioni Hg^{2+}, Cu^{2+}, Cr^{3+} i Pb^{2+}. S druge strane ako mu se dodaju ioni K^+, Ba^{2+} ili Zn^{2+}, dolazi do povećanja fluorescencije.



Slika 27. Struktura metalnog senzora baziranog na 1,2,3-triazolu i kaliksarenu [48]

Slične strukture je i derivat 1,2,3-triazola prikazan na slici 28 koji je sintetiziran adicijom 8-hidroksikinolina na beta-ciklodekstrin pomoću 1,2,3-triazolne poveznice. Hidroksikinolin i triazolna grupa mogu kelirati s Cd^{2+} ionom u vodenoj otopini pri pH=7 pri čemu dolazi do povećanja fluorescencije. S druge strane u prisutnosti Cu^{2+} i Fe^{3+} iona dolazi do gašenja fluorescencije. [48]



Slika 28. Struktura metalnog senzora baziranog na 1,2,3-triazolu i kaliksarenu [48]

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1 Opće napomene

Kemijske reakcije provedene su uobičajenim metodama organske sinteze i modernim metodama *click* kemije.

Tijek kemijskih reakcija praćen je tankoslojnom kromatografijom, TLC (eng. *Thin Layer Chromatography*). Nepokretna faza u tankoslojnoj kromatografiji bile su pločice 60F-254 prevučene tankim slojem silikagela (Merck), a kao eluens korišten je diklormetan (CH_2Cl_2) ili smjesa diklormetan/metanol (CH_2Cl_2:CH_3OH) u različitim volumnim omjerima. Za detekciju izoliranih komponenata korištena je UV svjetlost valne duljine 254 i 356 nm.

Pročišćavanje reakcijske smjese provodilo se kolonskom kromatografijom. Kolonska kromatografija se provodila na staklenim kolonama punjenim silikagelom (Fluka, 0,063-0,02 mm) pod utjecajem gravitacijske sile. Kao eluens korištena je smjesa otapala diklormetan/metanol (CH_2Cl_2:CH_3OH) u različitim volumnim omjerima.

Spektri ^{1}H-NMR i ^{13}C-NMR snimljeni su na spektrometru Bruker 300 i 600 MHz. Svi uzorci su otopljeni u DMSO-d_6 i mjereni pri 298 K. Kemijski pomaci (δ) u ^{1}H-NMR i ^{13}C-NMR spektrima izraženi su u ppm u odnosu prema signalu tetrametilsilana na δ 0,0 ppm za ^{1}H i prema signalu DMSO δ 39.50 ppm za ^{13}C. Pojedine rezonancije su pridružene na temelju kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta signala i H-H konstante sprege.

Apsorpcijski spektri snimljeni su na spektrofotometru Varian Cary 50, a fluorescencijski na Cary Eclipse spektrofluorimetru. Za spektroskopsku karakterizaciju korištene su kvarcne kivete promjera 1 cm i volumena 3,0 mL.

3.2 Sinteza spojeva

3.2.1 Sinteza 2-azido-benztiazola (spoj **1**)

U okruglu tikvicu od 50 ml dodano je 1507,5 mg 2-aminobenztiazola (10,0 mmol, 1 eq) i 14,0 mL 85%-tne otopine H_3PO_4. Dodan je magnetić, te je tikvica stavljena na magnetsku miješalicu. Reakcijska smjesa ohlađena je u ledenoj kupelji. Kad je temperatura reakcijske smjese pala na 3 °C, kroz narednih 10 minuta dodano je ukupno 2,0 mL koncentrirane HNO_3

(68%), kap po kap. Pripremljena je vodena otopina natrijevog nitrita, otapanjem 207,0 mg $NaNO_2$ (3,0 mmol, 0,3 eq,) u 0,8 mL vode i dodana u reakcijsku smjesu. Reakcijska smjesa miješana je 60 min na 0 °C. Pripremljena je vodena otopina natrijevog azida, otapanjem 292,5 mg NaN_3 (4,5 mmol, 0,45 eq) u 0,4 mL vode i dodana u reakcijsku smjesu. Reakcijska smjesa miješa se 2-4 sata na magnetskoj miješalici na sobnoj temperaturi. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom. Kad je reakcija gotova, reakcijska smjesa prebačena je u čašu s ledom, u koju je zatim dodano 4,0 mL otopine 1M NaOH. Dobiveni talog je profiltriran i osušen.

3.2.2 Sinteza 2-(4-(4-metoksifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzo[*d*]tiazola (spoj **2)**

U okruglu tikvicu od 50 mL dodano je 135,0 mg 2-aminobenztiazola (0,7661 mmol, 1 eq) prethodno otopljenog u 7,0 mL tetrahidrofurana (THF). Zatim je dodano 145,9 mg CuI (0,7661 mmol, 1 eq) i 232,56 mg, odnosno 0,32 mL trietilamina, TEA (2,2983 mmol, 3 eq). Tikvica je stavljena na magnetsku miješalicu da se reakcijska smjesa homogenizira. U reakcijsku smjesu dodano je 101,26 mg alkina (0,7661 mmol, 1 eq). Reakcijska smjesa ostavljena je na magnetskoj miješalici 24h pri sobnoj temperaturi dok se ne potroši sav reaktant. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom. Reakcijska smjesa uparena je do suha i pročišćena kolonskom kromatografijom na silikagelu uz eluens CH_2Cl_2:CH_3OH. Dobiveno je 30,1 mg spoja **2.** Iskorištenje reakcije iznosi 33,52 %.

^{1}H NMR: 9,53 (s, 1$H_{triazol}$); 8,22-8,25 (m, 1H, $H_{arom.}$); 8,04-8,07 (m, 1H, $H_{arom.}$); 7,89-8,03 (m, 2H, $H_{arom.}$); 7,53-7,66 (m, 2H, $H_{arom.}$); 7,06-7,11 (m, 2H, $H_{arom.}$); 3,83 (s, 3H, OCH_3).

^{13}C NMR: 160,23; 156,93; 150,13; 148,49; 133,11; 127,81; 127,73 (2C); 126,72; 123,43; 123,25; 122,10; 118,52; 114,97 (2C); 55,72.

3.3 Priprava matične (*stock*) otopine spoja

Matična otopina spoja pripravljena je otapanjem 1,2 mg 2-(4-(4-metoksifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzo[*d*]tiazola u 3,9 mL dimetilsulfoksida (DMSO). Koncentracija pripravljene otopine izračunata je prema jednadžbi (1):

$$c = \frac{m}{M\ x\ V} \qquad (1)$$

gdje je c [mol dm^{-3}, M] koncentracija spoja, m [g] masa spoja, M [g mol^{-1}] molarna masa spoja, V [dm3] volumen otopine. Koncentracija matične otopine spoja iznosi c = 1,2971 × 10^{-3} mmol mL^{-1}, što se u daljnjim izračunima zaokružuje na c = 1,3 x 10^{-3} mmol mL^{-1}.

3.4 Priprava otopina metalnih soli

Otopine metalnih soli LiCl, NaCl, KCl, $CaCl_2$, $CuCl_2$, $ZnCl_2$, $CoCl_2 \times 6H_2O$, $SnCl_2$, $HgCl_2$, $FeCl_2 \times 4H_2O$, $AlCl_3$ x $6H_2O$, $FeCl_3$ x $6H_2O$, $MgCl_2$ x $6H_2O$, $Pb(NO_3)_2$ i $MnCl_2$ x $4H_2O$ pripravljene su u DMSO. Otopine metalnih soli pripremljene su u rasponu koncentracija c = 6,17 × 10^{-3} M do 8,73 × 10^{-2} M. Otapanjem odvage krutina soli dobivene su otopine određene koncentracije čijim su daljnjim razrjeđenjem pripravljene radne otopine koncentracije c = 1 × 10^{-5} M i c = 5 × 10^{-6} M. Za ispitivanje utjecaja metalnih kationa, u pripravljenu otopinu spoja dodan je određeni alikvot otopine metalnog kation u omeru koncentracija metalni ion : spoj = 1:1 i 5:1.

Tablica 1. Izračunate koncentracije za svaku sol prema gornjoj formuli

Metalna sol	M (soli) [g mol^{-1}]	m (soli) [mg]	c (soli) [mol dm^{-3}]
LiCl	42,39	11,10	$8{,}73 \times 10^{-2}$
NaCl	58,44	10,90	$6{,}22 \times 10^{-2}$
KCl	74,55	13,30	$5{,}94 \times 10^{-2}$
$CaCl_2$	110,99	11,40	$3{,}43 \times 10^{-2}$
$CuCl_2$	170,49	6,80	$1{,}33 \times 10^{-2}$
$ZnCl_2$	136,29	6,10	$1{,}50 \times 10^{-2}$
$CoCl_2 \times 6H_2O$	219,02	5,00	$7{,}61 \times 10^{-3}$
$SnCl_2$	189,61	7,90	$1{,}39 \times 10^{-2}$
$HgCl_2$	271,5	7,10	$8{,}72 \times 10^{-3}$
$FeCl_2 \times 4H_2O$	198,75	5,80	$9{,}73 \times 10^{-3}$
$AlCl_3 \times 6H_2O$	241,45	5,20	$7{,}18 \times 10^{-3}$
$FeCl_3 \times 6H_2O$	270,3	5,00	$6{,}17 \times 10^{-3}$
$MgCl_2 \times 6H_2O$	203,3	6,30	$1{,}03 \times 10^{-2}$
$Pb(NO_3)_2$	331,21	10,40	$1{,}04 \times 10^{-2}$
$MnCl_2 \times 4H_2O$	197,91	6,70	$1{,}13 \times 10^{-2}$

3.4 Opis mjerenja UV-Vis apsorpcijskih i fluorescencijskih spektara

3.5.1 Ispitivanje fotofizičkih karakteristika spoja u različitim otapalima

Snimljeni su UV-Vis apsorpcijski i fluorescencijski spektri spoja 2 u različitim otopinama. Korištena otapala su dietil-eter (DE), etil-acetat (EA), tetrahidrofuran (THF), dimetilsulfoksid (DMSO), acetonitril (MeCN), etanol, metanol, diklormetan (DCM). Otapala su izabrana prema parametru polarnosti $E_T(30)$. Koncentracija ispitivanog spoja je $c = 1 \times 10^{-5}$ M i $c = 2 \times 10^{-6}$ M. Apsorpcijski spektri snimani su pri valnim duljinama od 200 do 800 nm, a emisijski spektri pri valnim duljinama od 300 do 800 nm.. Alikvot matične otopine spoja dodan je u kivetu s određenim otapalom te je zatim snimljen spektar. Kao valna duljina pobude korištena je valna duljina maksimuma apsorpcije u ispitivanom otapalu. Slitovi korišteni pri snimanju emisijskih spektara bili su 5-5 i 5-10.

3.5.2 Ispitivanje utjecaja promjene pH vrijednosti pufera

Ispitivan je utjecaj pH vrijednosti na promjenu fluorescentnih spektara otopine spoja 2-(4-(4-metoksifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzo[*d*]tiazola **2** pri koncentraciji spoja $c = 1 \times 10^{-5}$ M. Korištene su otopine univerzalnih pufera u raspona pH vrijednosti od 1 do 12. Prvo su snimani spektri čistog pufera, a zatim sa dodatkom spoja. Alikvot spoja je stavljen u otopinu određene vrijednosti pH te su nakon 2 minute snimljeni spektri. Korišteni su slitovi 10-10.

3.5.3 Ispitivanje utjecaja metalnih kationa

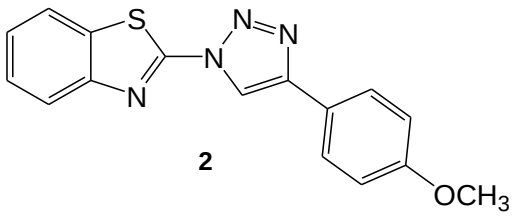
Utjecaj prisutnosti različitih metalnih iona na spektroskopska svojstva spoja **2**, ispitivan je korištenjem fluorescencijske spektroskopije, i to dodatkom određenog alikvota otopine metalne soli u otopinu spoja **2** u DMSO, koncentracije $c = 1 \times 10^{-5}$ M. Omjeri koncentracije spoja i dodanog metala iznosili su 1:1 i 1:5. Nakon dodatka spoja, otopina se homogenizira 2 minute, nakon čega je snimljen emisijski spektar, pri slitovima 5-5.

Osim toga, provedena je i titracija spoja **2** s Fe^{3+} ionima u DMSO korištenjem fluorescencijske spektroskopije. Titracija je provedena postupnim dodavanjem otopine Fe^{3+} iona u otopinu spoja **2**, koncentracije spoja $c = 2 \times 10^{-6}$ M. Snimljen je emisijski spektar čistog spoja, te spektri spoja **2** minute nakon svakog dodatka iona, pri slitovima 10-10.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1 Cilj rada

Cilj ovog rada je sinteza novog D-π-A kromofora s 1,2,3-triazolnom poveznicom kao potencijalnog kemijskog senzora. Ciljani predloženi spoj je novi derivat benztiazola i 1,2,3-triazola koji je pripravljen metodom *click* kemije. Dobivenom spoju ispitana su spektroskopska svojstva u prisutnosti različitih otapala, u otopinama različitih pH vrijednosti i u prisutnosti različitih metalnih iona.



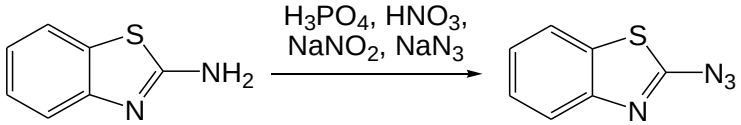
2

Slika 29. Struktura ciljanog spoja

4.2 Sinteza spojeva

4.2.1 Sinteza 2-azido-benztiazola (spoj **1**)

2- aminobenztiazol je preveden u 2-azido-benztiazol reakcijom diazotiranja.



1

Slika 30. Shematski prikaz sinteze 2-azido-benztiazola 1

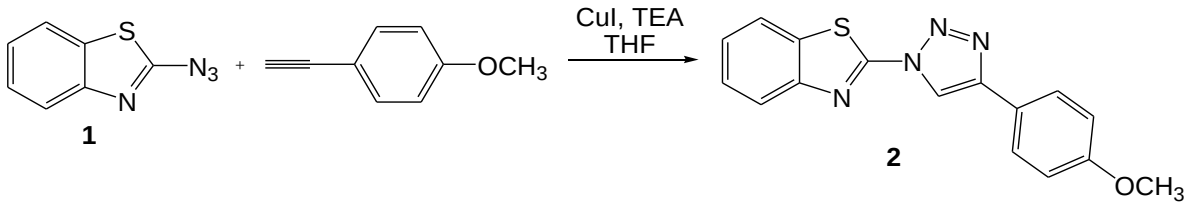
Primarni amini reagiraju s dušikastom kiselinom pri čemu nastaju diazonijeve soli. S obzirom da dušikasta kiselina nije stabilna, te se raspada na dušikove okside, koristi se njena sol,

obično natrijev nitrat $NaNO_2$. H^+ ion s mineralne kiseline u kojoj je amin otopljen i sol nitritnog iona stvaraju nedisociranu dušikastu kiselinu. Prije nego se dušikasta kiselina raspadne, reagira s primarnim aminom prevodeći ga u diazonijevu sol. [49]

Dodatkom natrijevog azida diazonijevoj soli, dobije se azid, odnosno spoj **1.**

4.2.2 Sinteza 2-(4-(4-metoksifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzo[*d*]tiazola (spoj **2)**

Konačni produkt pripravljen je Cu(I)-kataliziranom 1,3-dipolarnom cikloadicijom azida (spoj **1**) i odgovarajućeg alkina. Cu(I) katalizator je dodan u obliku soli CuI, dok je kao baza korišten trietilamin. Shema reakcije prikazana je na slici 31.



Slika 31. Shematski prikaz sinteze 2-(4-(4-metoksifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzo[*d*]tiazola

Dobiveno je 30,1 mg spoja **2**, u iskorištenju od 33,52 %.

4.3 Analiza NMR spektara

Nuklearna magnetska rezonancija (NMR) temelji se na apsorpciji energije jezgre u području radio-valova. Kao spektroskopska metoda nezamjenjiva je tehnika za određivanje strukture spoja. Svaka atomska jezgra koja se rotira i ima kvantni broj spina različit od nule, ponaša se kao magnet, odnosno magnetski dipol. Usmjerenje magnetskog dipola ovisi o vanjskom magnetskom polju. Ako nema utjecaja vanjskog magnetskog polja, magnetski dipoli su nasumično usmjereni u prostoru. Ako je pak jezgra pod utjecajem vanjskog magnetskog polja, magnetski dipoli će se usmjeriti paralelno ili antiparalelno prema smjeru tog polja.

Metoda kontinuiranog vala je starija metoda u kojoj se promatra nuklearna apsorpcija. Dovede se radiofrekventna energije izvana pri čemu snimana jezgra apsorbira frekvenciju potrebnu za rezonanciju. Mjeri se razlika apsorbirane energije. Moderna metoda, koja se

danas koristi, zove se metoda nuklearne indukcije u kojoj se prati relaksacijski efekt. Jezgra se pobudi radiofrekventnim pulsom pri čemu uslijed apsorpcije frekvencije dolazi do rezonancije. S obzirom da dotok radiofrekventne energije nije kontinuiran, nego pulsni, jezgra se vrlo brzo krene relaksirati.

^{1}H-NMR i ^{13}C-NMR spektri se mjere u otapalima bez vodika ili u otapalima gdje vodik nije vidljiv. Kao standard koristi se tetrametilsilan (TMS). Radi se o hlapivoj tekućini, niskog vrelišta, koja je jeftina, inertna i nije toksična. TMS daje samo jedan signal s velikim odzivom. [50, 51]

Četiri su osnovna parametra NMR-a:

- Kemijski pomak

Kemijski pomak je položaj signala u NMR spektrima, te je direktni odraz elektronske okoline jezgre. Kemijski pomak je funkcija elektronske gustoće oko jezgre, a ovisi o konstanti zasjenjenja. Konstanta zasjenjenja je pak suma paramagnetičnog i dijamagnetičnog doprinosa elektrona, susjednih atoma i otapala. Drugim riječima, na jezgru ne djeluje samo magnetsko polje koje se primjenjuje tijekom snimanja NMR spektra, već i individualno magnetsko polje koje je posljedica superpozicije polja B_0 i lokalnog magnetskog polja induciranog gibanjem elektrona oko jezgre suprotnog smjera od B_0.

- Vrijeme relaksacije

Proces relaksacije stimuliran je promijenjenim magnetskim poljem koje inducira spinske prelaze.

- Konstanta sprege

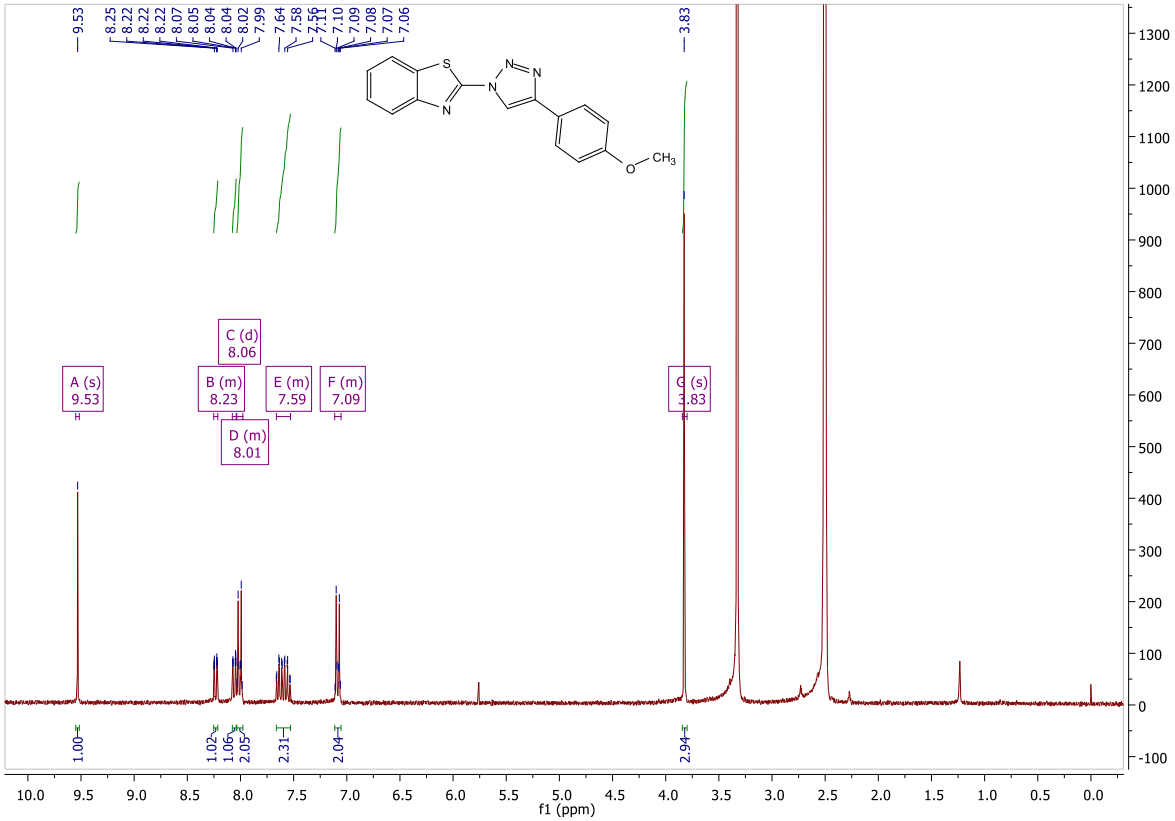
Na energetske razine promatrane jezgre može utjecati spinsko stanje susjedne jezgre.Uslijed utjecaja susjednih jezgara, dolazi do pertubacije energetskih razina što uzrokuje cijepanje NMR signala.

- Nuklearni Overhauseov efekt

Definira se kao promjena intenziteta rezonancije spina. To je proces u kojem se dva spina međusobno križno relaksiraju.

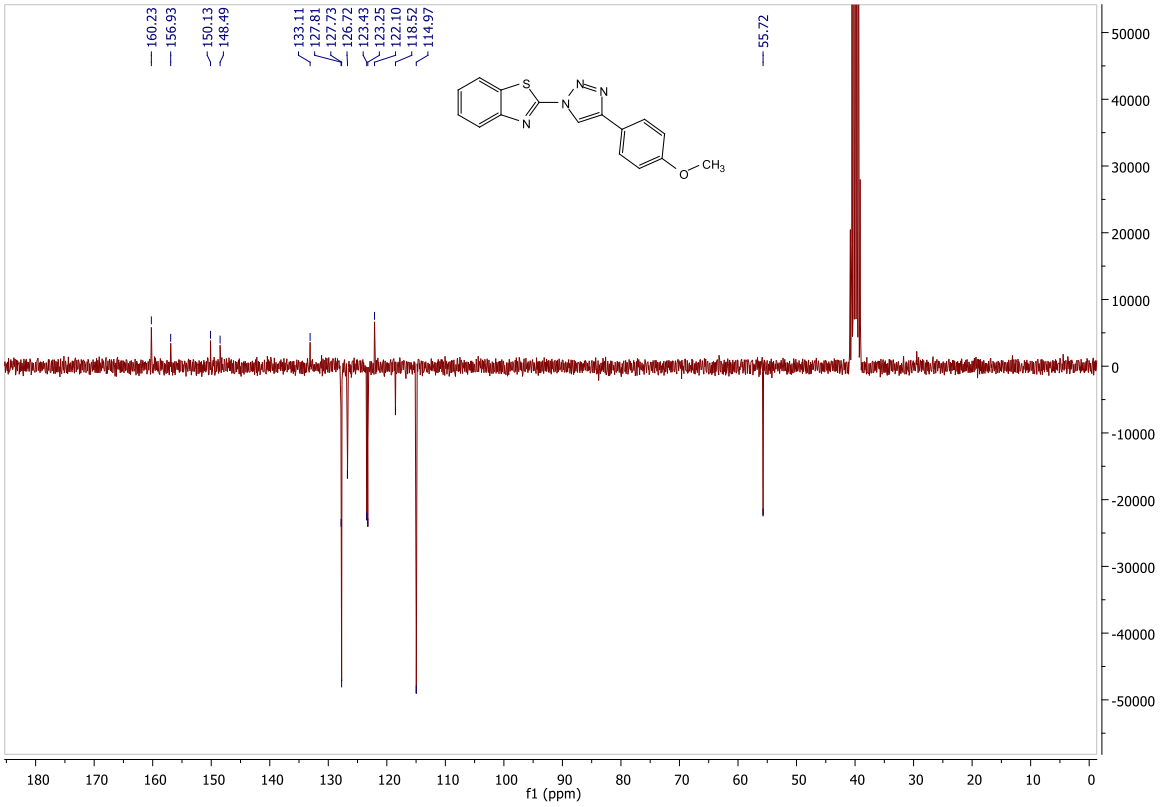
Za određivanje strukture spoja **2** korištena je ^{1}H i ^{13}C NMR spektroskopija, a dobiveni spektri prikazani su na slikama 32 i 33.

U ^{1}H-NMR spektru spoja **2** vidljiv je singlet na 9,53 ppm, karakterističan za proton triazola. U aromatskom području od 7,06 do 8,25 ppm vidljiv je odgovarajući broj signala aromatskih protona spoja **2**. Singlet na 3,83 ppm odgovara trima alifatskim protonima OCH3 skupine.



Slika 32. ^{1}H NMR spektar spoja **2**

U ^{13}C-NMR spektru spoja **2** na slici 33 vidljivo je 14 signala koji odgovaraju spoju **2**. Od toga, signali na 160,23, 156,93, 150,13, 148,49, 133,11 i 122,10 ppm odgovaraju kvaternim ugljicima molekule, dok je signal na 55,72 ppm karakterističan za ugljik metoksi skupine. Ostali signali odgovaraju ugljikovim atomima na koje je vezan jedan proton (CH).

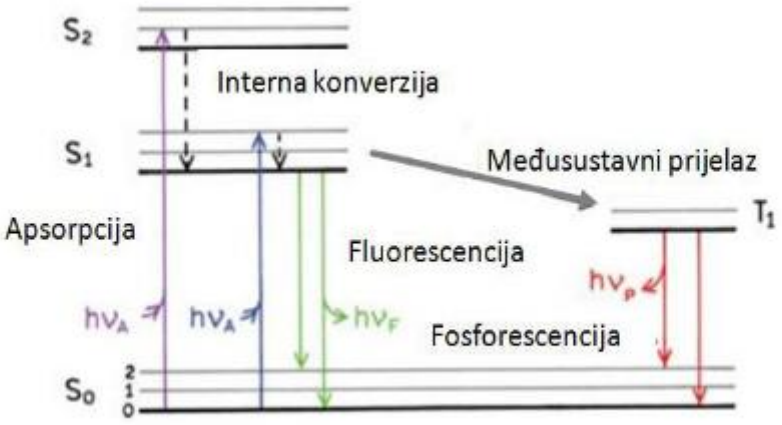


Slika 33. ^{13}C NMR spektar spoja **2**

4.4 Spektroskopska karakterizacija spoja **2**

Djelovanjem zračenja ultraljubičastog (UV) i vidljivog područja (VIS) elektromagnetskog spektra dobiva se energija koja premješta elektrone molekule iz njihovog osnovnog stanja u pobuđeno stanje. Kod organskih molekula, navedene promjene se zbivaju korištenjem ultraljubičastog zračenja valne duljine između 200 i 400 nm i korištenjem vidljivog svjetla do 800 nm. [52, 53]

Fluorescencija je dio fenomena luminiscencije. Prema prirodi pobuđenog stanja možemo je podijeliti na fluorescenciju ili fosforescenciju. Fluorescencija je fenomen kada molekula nakon pobude elektrona procesom apsorpcije svjetlosti emitira kvant energije svjetlosti. Pobuđeni elektron se zatim relaksira u osnovno stanje na način da otpušta višak energije vibracijom ili emisijom fotona.



Slika 34. Jablonski dijagram

Singletno osnovno stanje i pobuđeno prvo i drugo singletno stanje označeno je redom sa S_0, S_1 i S_2. T_1 označava tripletno pobuđeno prvo stanje. Fluorescencija se javlja nakon što molekula apsorbira elektromagnetsko zračenje. Prvi tome elektron prelazi iz osnovnog (S_0) stanja u jedno od pobuđenih stanja (S_1 ili S_2). Na slici 34 je vidljivo da su moguće razne pojave: interna konverzija, fluorescencija, međusustavni prijelaz, fosforescencija i odgođena fluorescencija. Interna konverzija je relaksacija u kojoj dolazi do prijelaza iz višeg pobuđenog stanja u najniže pobuđeno stanje. Međusustavni prijelaz je prijelaz između vibracijskih stanja iste energije, a karakterizira ga prijelaz iz jednog od singletnih stanja u jedno od tripletnih stanja. Fluorescencija je smisija elektrona iz stanja S_1 u stanje S_0. Nakon pobude, elektron ostaje u pobuđenom stanju svega 10^{-7} s. Nakon toga se relaksira do osnovnog stanja uz emitirannje energije. Fosforescencija je prijelaz iz tripletnog stanja T_1 u osnovno staje S_0. [54, 55]

4.4.1 Utjecaj otapala na spektroskopska svojstva spoja **2**

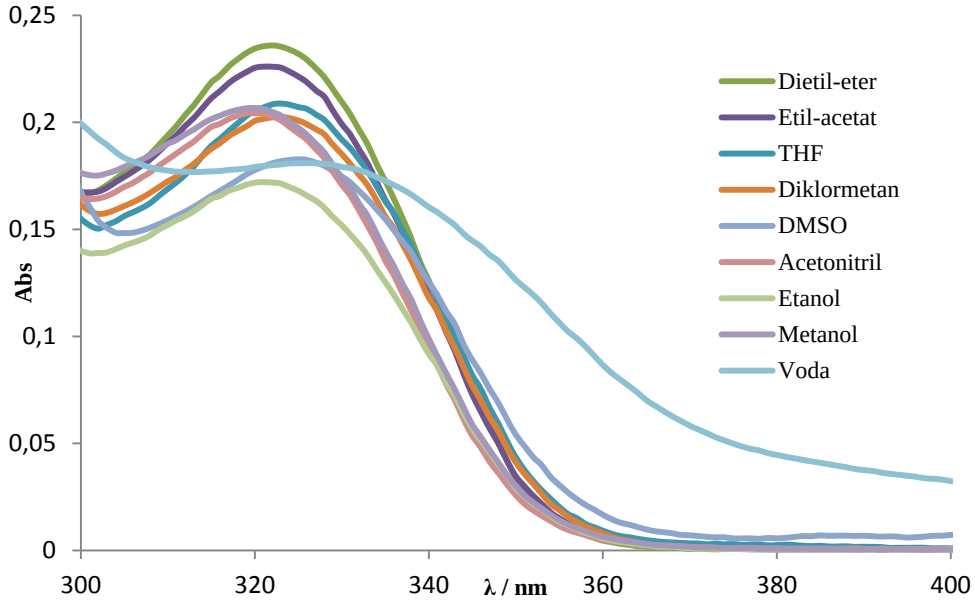
Matična otopina spoja pripremljena je u dimetil sulfoksidu (DMSO). Kako bi se istražio utjecaj otapala na spektrofotometrijske karakteristike spojeva, snimljeni su apsorpcijski i emisijski spektri u devet različitih otapala, odabranih prema parametru polarnosti $E_T(30)$. Snimanjem apsorpcijskog i emisijskog spektra u otapalima različite polarnosti, dolazi do promjena u položaju, intenzitetu i obliku spektra. Promjena položaja apsorpcijske vrpce uzrokovana je promjenom dipolnog momenta molekule u osnovnom stanju. Promjena u

intenzitetu uzrokovana je ovisnošću električnog polja o tranzicijskom momentu. Navedene promjene nazivaju se solvatokromizmom. Dakle, solvatokromizam je fizikalna interakcija između otapala i otopljene tvari koje kao posljedicu ima promjene u razlici između osnovnog i pobuđenog elektronskog stanja molekule koja apsorbira energiju.

Utjecaj otapala na spektar ovisi o kromoforu i o prirodi prijelaza. Razlikujemo pozitivni i negativni solvatokromizam. Hipsokromni ili plavi pomak odgovara pomaku prema nižim valnim duljinama, a do njega najčešće dolazi zbog smanjenja polarnosti medija. Hipsokromni pomak se smatra negativnim solvatokromizmom. Batokromni ili crveni pomak odgovara pomaku prema višim valnim duljinama, a do njega dolazi s povećanjem polarnosti otapala. Batokromni pomak se smatra pozitivnim solvatokromizmom. [56]

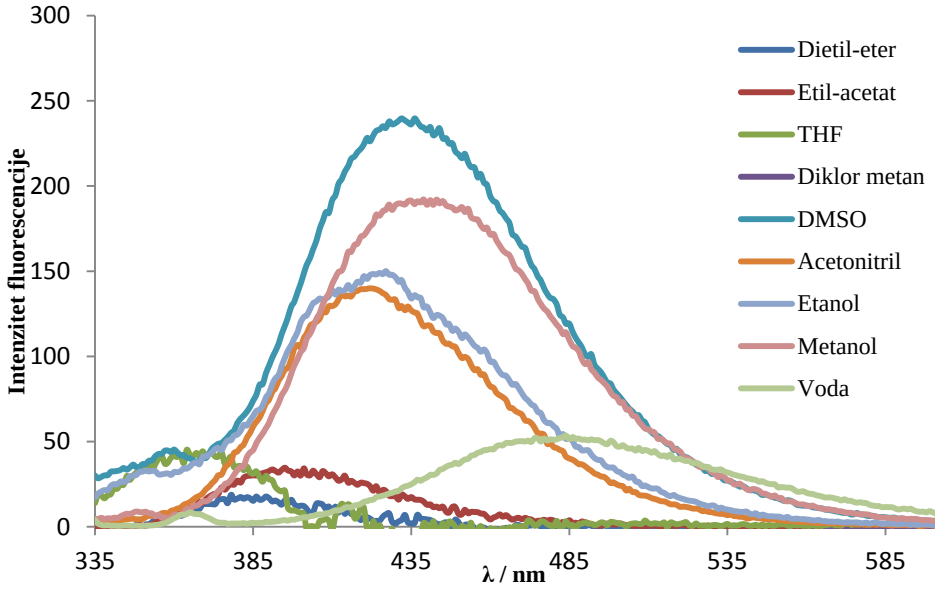
U svrhu određivanja senzorske primjene bitan je i podatak o Stokesovom pomaku. Stokesov pomak je razlika između maksimuma energije i apsorpcije ispitivanog spoja u određenom otapalu.

Na slici 35. prikazan je apsorpcijski spektar spoja u različitim otapalima. Vidljivo je da spoj **2** u većini otapala ima maksimum apsorpcije svjetlosti u rangu valne duljine od 319 do 326 nm, dok je u vodi vidljiv batokromni pomak apsorpcijske vrpce bez izraženog maksimuma. Maksimum apsorpcije spoj **2** pokazuje u nepolarnim otapalima kao što su dietil-eter i etil-acetat.



Slika 35. Apsorpcijski spektri spoja **2** u ispitivanim otapalima poredanim po polarnosti prema tablici 2

Na slici 36. prikazan je emisijski spektar spoja u različitim otapalima. Vidljivo je da je spoj **2** u većini otapala ima maksimum emisije svjetlosti oko 430 nm. Najveći intenzitet emisije spoj **2** pokazuje u dimetil sulfoksidu (DMSO) s maksimumo valne duljine pri 240 nm. Niži intenzitet fluorescencije spoja uočen je u polarnim otapalima metanolu, etanolu i acetonitrilu u odnosu na DMSO. U vodi, koja je ujedno najpolarnije otapalo, intenzitet je niži i sličan onom u nepolarnim otapalima s maksimumom emisije pri 98 nm, pomaknut prema višim valnim duljinama u odnosu na maksimume u ostalim otapalima. Spoj **2** najslabije fluorescira u etil-acetatu i dietil-eteru.



Slika 36. Emisijski spektri spoja **2** u ispitivanim otapalima poredanim po polarnosti prema tablici 2

Molarni apsorpcijski koeficijenti spoja, ε u različitim otapalima izračunati su primjenom Lambert-Beerovog zakona i iznose (redom): za dieti-eter 117965,0; za etil-acetat 113010,5; za DMSO 91363,5; za acetonitril 102152,5; za THF 104393,5; za etanol 86047,5; za metanol 103355,0; za vodu 90467,5 $dm^3\ mol^{-1}\ cm^{-1}$.

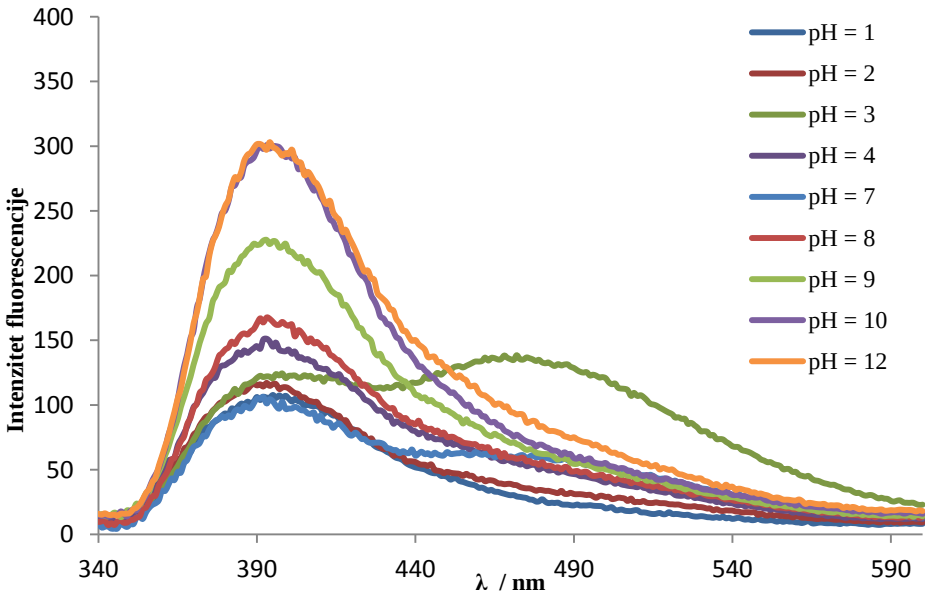
Najveći Stokesov pomak primijećen je u polarnim otapalima. Stokesov pomak za acetonitril iznosi 99 nm, za etanol 105 nm, za dimetil sulfoksid 107 nm, za metanol 118 nm i za vodu čak 155 nm. Stokesovi pomaci, valne duljine apsorpcije i emisije, te apsorbancija, molarni apsorpcijski koeficijent i intenzitete fluorescencije spoja **2** u ispitivanim otapalima prikazani su sumarno u tablici 2.

Tablica 2. Spektrofotometrijska svojstva spoja **2** u različitim otapalima

Otapalo	$E_T(30)$	λ_{abs} / nm	Abs	λ_{emiss} / nm	I	Stokesov pomak / nm
Dietil-eter	34,5	322	0,23593	378	19	56
Etil-acetat	38,1	321	0,226021	384	35	63
Diklormetan	40,7	323,0	0,202553	-	-	-
DMSO	45,1	325	0,182727	432	238	107
Acetonitril	45,6	319	0,204305	418	140	99
THF	50,7	323,0	0,208787	364,0	45	41
Etanol	51,9	321	0,172095	426	150	105
Metanol	55,4	320	0,20671	438	192	118
Voda	63,1	326	0,180935	481	52	155

4.4.2 Utjecaj promjene pH vrijednosti na spektralne karakteristike spoja **2**

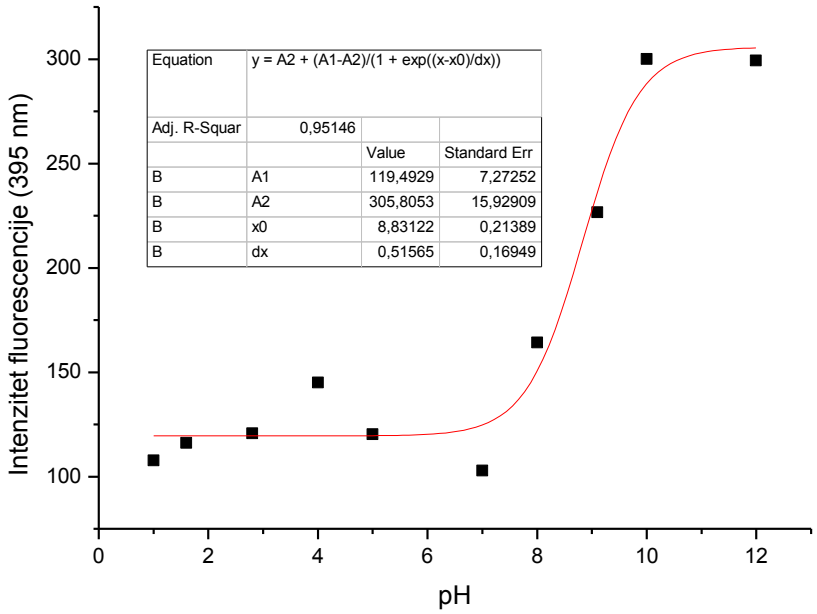
Ispitivana su kiselo-bazna svojstva spoja **2** u univerzalnim puferima različitih pH vrijednosti pri koncentraciji spoja $c = 1 \times 10^{-5}$ M, kako bi mu se utvrdila mogućnost primjene kao fluorescencijskog pH senzora.



Slika 37. Emisijski spektri spoja **2** u otopinama univerzalnih pufera različite vrijednosti pH

Na slici 37. prikazani su emisijski spektri spoja u otopinama univerzalnih pufera različitih pH. Vidljivo je da s povećanjem pH vrijednosti otapala, dolazi do povećanja intenziteta emisije na 395 nm.

Za optičke kemijske senzore koji se primjenjuju za mjerenje pH veoma je važno poznavati konstantu disocijacije K_a. Konstanta disocijacije govori o ravnotežnim koncentracijama iona u otopini. pK_a je negativni logaritam konstante disocijacije, te nam govori pri kojem pH je optički senzor postigao ravnotežu između disociranog i nedisociranog oblika. U blizini pK_a najveća je osjetljivost optičkog senzora na promjenu pH otopine. p*K*a se grafički određuje iz titracijske krivulje (S krivulje) koja prikazuje ovisnost pH o mjerenom svojstvu. Na slici 38 prikazana je ovisnost intenziteta spoja 2 pri 395 nm o pH vrijednosti otopine, prema kojem je određena približna vrijednost pKa spoja i iznosi 8,8.



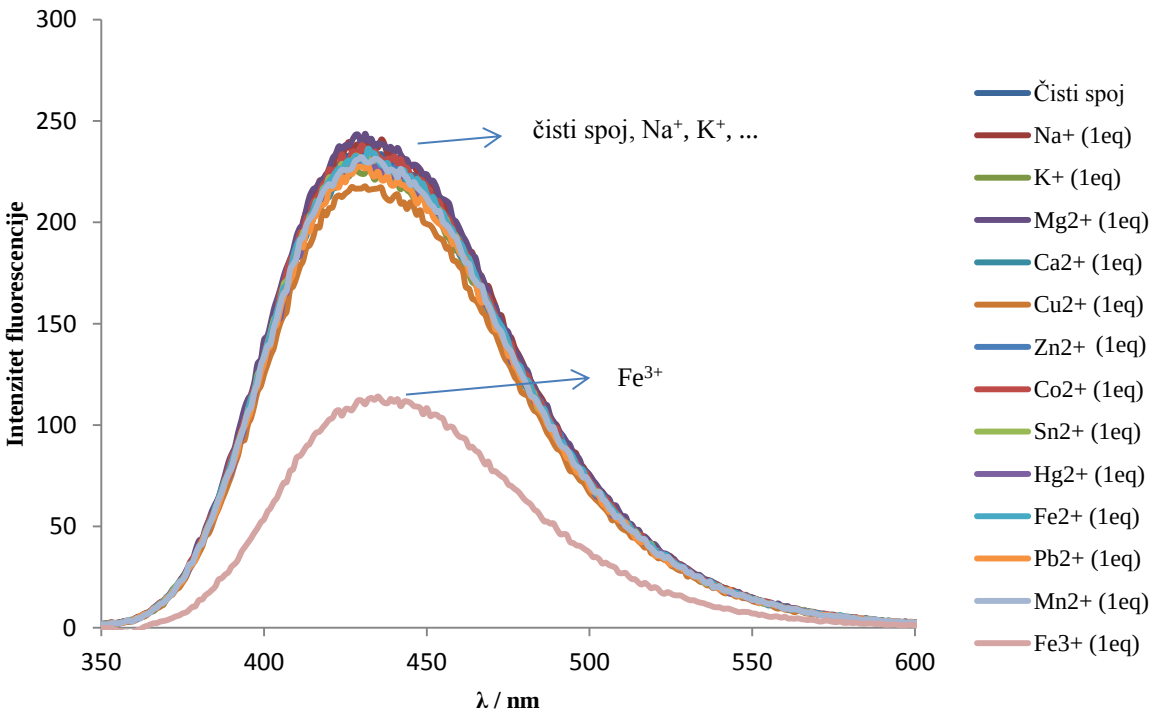
Slika 38. Ovisnost intenziteta fluorescencije pri 395 nm o pH vrijednosti otopine

4.4.3. Utjecaj različitih metalnih iona

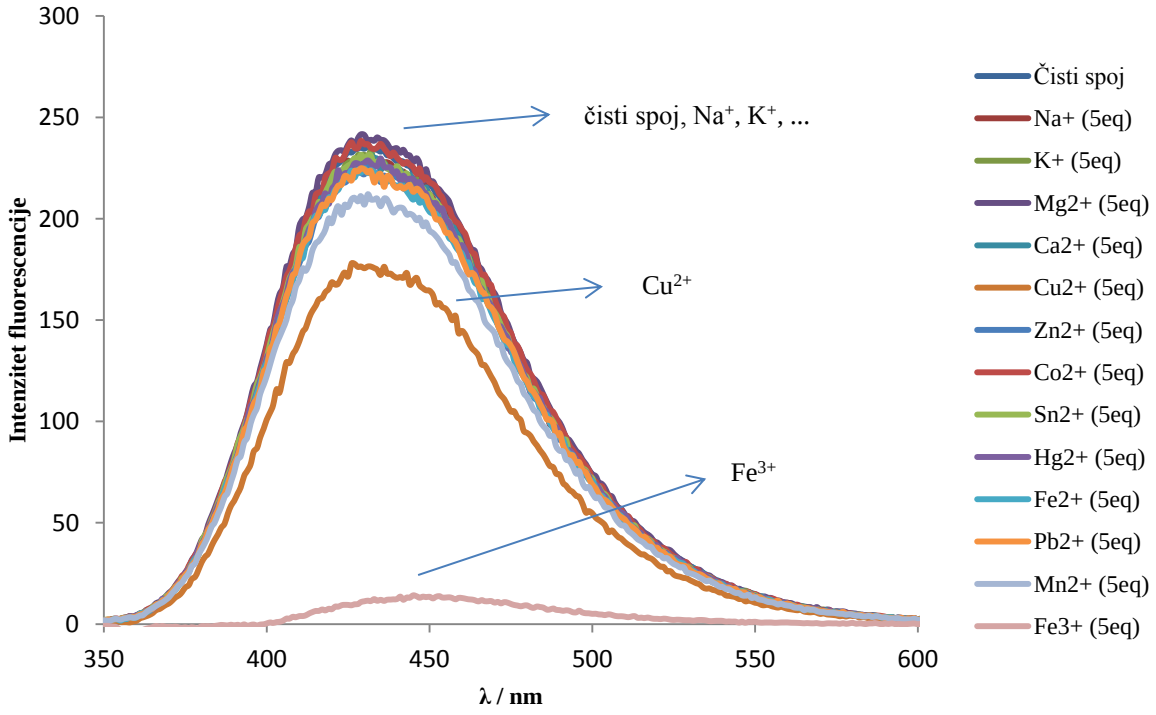
Derivati 1,2,3-triazola se koriste kao kemosenzori za metalne ione. Razlog tome je što 1,2,3-triazolni prsten ima atom dušika koji sadrži slobodne elektronske parove. Slobodni elektronski parovi mogu sudjelovati u stvaranju koordinativne veze s metalima. U današnje vrijeme, kemijski senzori kojima se može pratiti koncentracija metalnih iona ima sve veću važnost s obzirom da čovjek sve više utječe na okoliš u industrijskom smislu. Metali su jedni od naznačajnijih zagađivača te je poznato da su nerijetko iznimno toksični za čovjeka.

Na slikama 39. i 40. prikazani su emisijski spektri za čisti spoj, ali i za spoj pomiješan sa određenim metalnim ionom u omjeru 1:1 (slika 39) i u omjeru 1:5 (slika 40). Iz slike 39. vidljivo je da su emisijski spektri vrlo slični, odnosno da nakon što se doda metalni ion spoju **2** ne dolazi do znatnih promjena u intenzitetu fluorescencije. Naravno, vidljivo je da je jedina iznimka Fe^{3+}. Dodatkom Fe^{3+} intenzitet fluorescencije se smanjio za otprilike pola s obzirom na čisti spoj. Pad intenziteta fluorescencije znatno je očitiji kad se ima omjer čiste tvari i kation 1:5. I dalje se može smatrati kako su emisijski spektri metalnih iona slični onom od čistog spoja uz iznimke Fe^{3+}, te ovaj put i Cu^{2+}. Prisutnost Fe^{3+} iona pri koncentraciji $c = 2 \times 10^{-6}$ M gotovo u potpunosti gasi fluorescenciju spoja **2**. Cu^{2+} također pokazuje potencijal za gašenjem fluorescencije. S obzirom na dobivene rezultate, može se pretpostaviti da će utjecaj prisutnosti Cu^{2+} biti značajan tek pri većim koncentracijama od onih u kojim je ispitivan u radu.

Emisijski spektri pokazuju pravilnu promjenu oblika krivulje za sve komplekse osim Fe^{3+}. Svi emisijski spektri pokazuju maksimum intenziteta fluorescencije oko 430 nm, a dodatkom Fe^{3+} maksimum je pomaknut prema višim valnim duljinama za 435 nm.

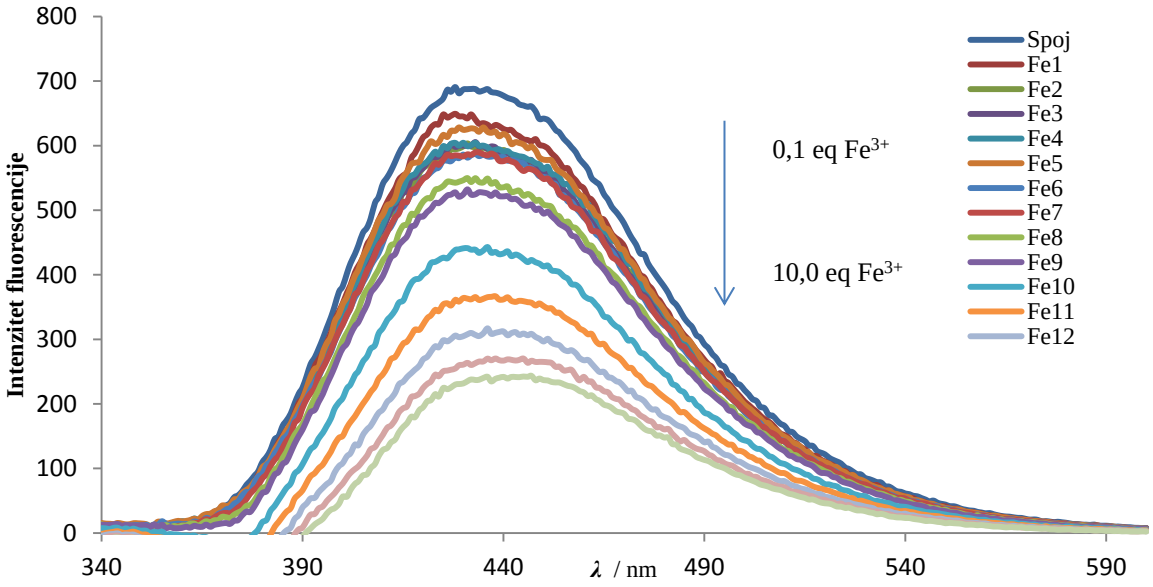


Slika 39. Emisijski spektar spoja **2** i različitih metalnih iona u omjerima 1:1

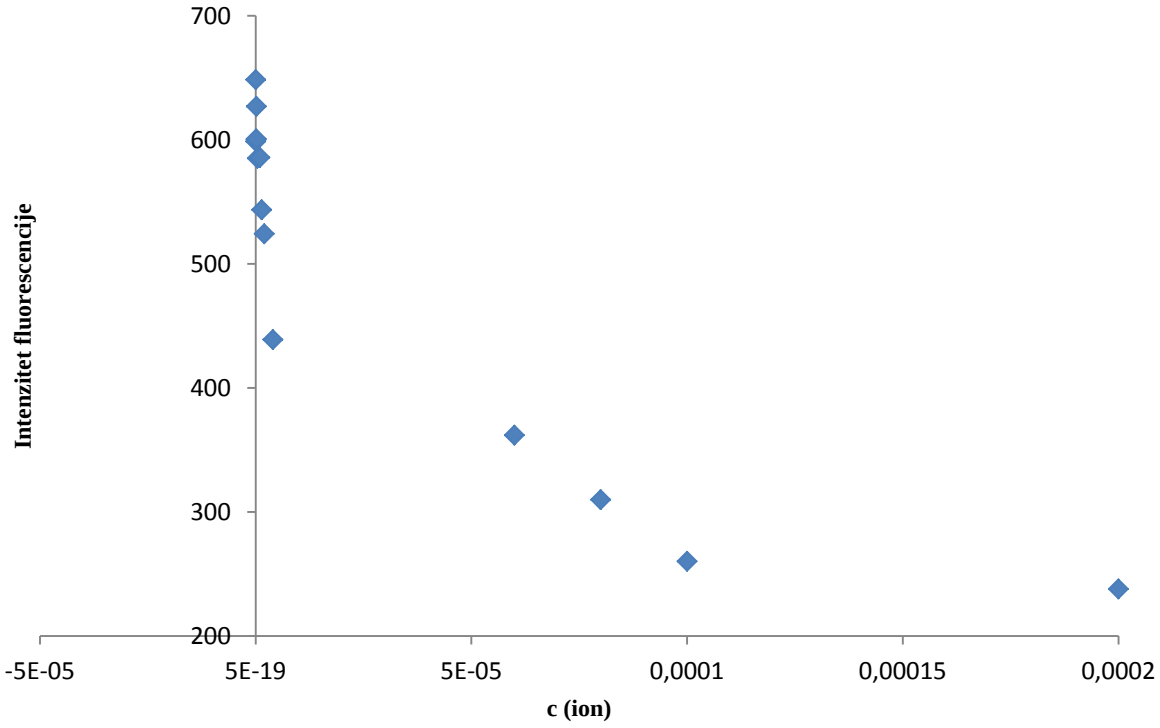


Slika 40. Emisijski spektar spoja **2** i različitih metalnih iona u omjerima 1:5

Na slici 41. prikazani su emisijski spektri titracije spoja **2** s Fe^{3+} ionom od 0,01 eq Fe^{3+} do 10 eq Fe^{3+} prema spoju **2**. Iz grafičkog prikaza vidljivo je kako porastom koncentracije Fe^{3+} iona dolazi do smanjenja intenziteta emisije, odnosno dolazi do gašenja fluorescencije.

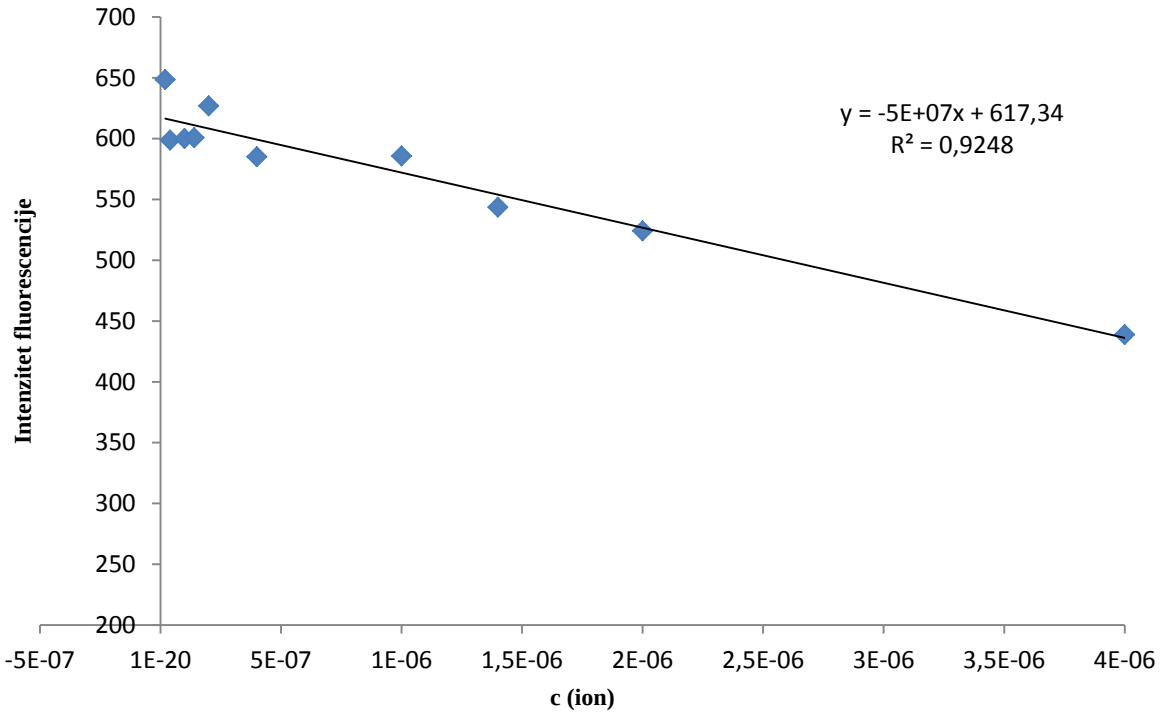


Slika 41. Emisijski spektri titracije spoja **2** s Fe^{3+}



Slika 42. Ovisnost intenziteta fluorescencije spoja **2** o koncentraciji Fe^{3+} iona

Navedeni rezultati ukazuju na potencijalno vezanje iona željeza na spoj **2**. Primijećeno je da dodatkom Fe^{3+} iona dolazi do značajne promjene u intenzitetu fluorescencije u usporedbi sa dodatkom Cu^{2+} i ostalih metalnih iona. Može se pretpostaviti da u koordiniranju sudjeluje triazolni prsten, ali je potrebno provesti dodatna ispitivanja da bi se utvrdio mehanizam vezanja navedenih kationa.



Slika 43. Linearna ovisnost intenziteta fluorescencije o koncentraciji

Moguće je provesti daljnja istraživanja u svrhu ispitivanja gdje se točno veže ion, te u svrhu određivanja selektivnosti spoja prema Fe^{3+} ionima. Za ispitivanje gdje se točno veže ion može se poslužiti tehnikama IR spektroskopije, NMR titracijama ili kristalografskim metodama.

Selektivnost spoja prema Fe^{3+} ionima može se odrediti mjerenjem odziva spoja u prisutnosti Fe^{3+} iona i interferirajućeg iona.

5. ZAKLJUČAK

- U ovom radu uspješno je sintetiziran 2-(4-(4-metoksifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzo[*d*]tiazola (spoj **2)** metodama klasične organske kemije i *click* kemije
- ^{1}H-NMR i ^{13}C-NMR spektroskopijom je potvrđena struktura spoja **2**
- Spoj **2** je detaljno okarakteriziran apsorpcijskom i fluorescencijskom spektrofotometrijom u svrhu razvoja novih optičkih kemosenzora.
- Kod spoja **2** uočen je solvatokromizam**.**
- Preliminarna ispitivanja pokazuju da je spoj **2** potencijalni fluorescencijski pH senzor, no potrebno je provesti dodatna istraživanja.
- Uočena je promjena spektrofotometrijskih svojstava zbog prisutnosti metalnih iona pa spoj **2** pokazuje mogućnost upotrebe kao senzora za metale.
- Provedena je titracija spoja **2** dodatkom Fe^{3+} iona pri čemu je uočeno kontinuirano smanjenje intenziteta fluorescencije postupnim dodavanjem otopine Fe^{3+} iona.
- Pri većim koncentracijama Cu^{2+} iona primijećeno je gašenje fluorescencije spoja **2.**
- Spoj **2** pokazuje potencijalnu osjetljivost na prisutnost Fe^{3+} i Cu^{2+} iona, ali je za njegovu primjenu kao kemosenzora potrebno provesti dodatna ispitivanja.

6. LITERATURA

1. Fraden, J., *Data Acquisition. Handbook of Modern Sensors,* (2016.) *1–11.*
2. Hulanicki, A., Glab, S., & Ingman, F., *Chemical sensors: definitions and classification. Pure and Applied Chemistry*, ***63(9)***, (1991.) *1247–1250.*
3. Gründler P., *Chemical Sensors,* (2007.) *1-13*
4. Gründler, P., *Chemical sensors. ChemTexts*, ***3(4)***, (2017.) *.1-24*
5. Stetter, J. R., Penrose, W. R., & Yao, S.,*Sensors, Chemical Sensors, Electrochemical Sensors, and ECS. Journal of The Electrochemical Society*, ***150(2)***, (2003.) *S11-S16.*
6. Piljac, I., Senzori fizikalnih veličina i elektroanalitičke metode, Mediaprint, Zagreb, (2010.), str. *593-625*.
7. Lobnik, A., Turel, M., & Korent, pela., *Optical Chemical Sensors:Design and Applications.* (2012). 1-27
8. Qazi, H., Mohammad, A., & Akram, M., *Recent Progress in Optical Chemical Sensors. Sensors*, ***12(12)***, (2012) *16522–16556.*
9. McDonagh, C., Burke, C. S., & MacCraith, B. D., *Optical Chemical Sensors. Chemical Reviews*, ***108(2)***,(2008.) *400–422.*
10. Xie, X., & Bakker, E., *Ion selective optodes: from the bulk to the nanoscale. Analytical and Bioanalytical Chemistry*, ***407(14)***, (2015.) *3899–3910.*
11. Hisamoto, H., & Suzuki, K., *Ion-selective optodes: current developments and future prospects. TrAC Trends in Analytical Chemistry*, ***18(8)***, (1999.) *513–524.*
12. Valeur, B., *Design principles of fluorescent molecular sensors for cation recognition. Coordination Chemistry Reviews*, ***205(1)***, (2000.) *3–40.*
13. Formica, M., Fusi, V., Giorgi, L., & Micheloni, M., *New fluorescent chemosensors for metal ions in solution. Coordination Chemistry Reviews*, ***256(1-2)***, (2012.) *170–192.*
14. Valeur, B., Molecular Fluorescence. Principles and Applications., Wiley, Weinheim, Federal Republic of Germany, (2001.) *274-310*.
15. Demchenko, A. P. (2015). Introduction to Fluorescence Sensing. *69-126*
16. Rurack, K., *Flipping the light switch "ON" – the design of sensor molecules that show cation-induced fluorescence enhancement with heavy and transition metal ions. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, ***57(11)***, (2001.) *2161–2195.*
17. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Benzothiazole

18. Wu, Y.-J., *Five-Membered Ring Systems. Progress in Heterocyclic Chemistry*, (2017.) *315–336.*
19. Gao, X., Liu, J., Zuo, X., Feng, X., & Gao, Y., *Recent Advances in Synthesis of Benzothiazole Compounds Related to Green Chemistry. Molecules*, ***25(7)***, (2020.) *1675.*
20. Ji Ram, V., Sethi, A., Nath, M., & Pratap, R., *Five-Membered Heterocycles. The Chemistry of Heterocycles*, (2019.) *149–478*
21. Cox, J. R., Woodcock, S., Hillier, I. H., & Vincent, M. A., *Tautomerism of 1,2,3- and 1,2,4-triazole in the gas phase and in aqueous solution: a combined ab initio quantum mechanics and free energy perturbation study. The Journal of Physical*, **94** (1990.) *5499-5501*
22. Wiley, R. H., Hussung, K. F., & Moffat, J.WILEY., *The Preparation of 1,2,3-Triazole. The Journal of Organic Chemistry*, *21(2)*, (1956.) *190–192.*
23. Totobenazara, J., & Burke, A. J., *New click-chemistry methods for 1,2,3-triazoles synthesis: recent advances and applications. Tetrahedron Letters*, ***56(22)***, (2015.) *2853–2859.*
24. Moses, J. E., & Moorhouse, A. D.,*The growing applications of click chemistry. Chem. Soc. Rev.*, ***36(8)***, (2007.)*1249–1262.*
25. Kolb, H. C., Finn, M. G., & Sharpless, K. B., *Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. Angewandte Chemie International Edition*, ***40(11)***, (2001.) *2004–2021.*
26. Hein, C. D., Liu, X.-M., & Wang, D., *Click Chemistry, A Powerful Tool for Pharmaceutical Sciences. Pharmaceutical Research*, ***25(10)***, (2008.) *2216–2230.*
27. Hein, J. E., & Fokin, V. V., *Copper-catalyzed azide–alkyne cycloaddition (CuAAC) and beyond: new reactivity of copper(i) acetylides. Chemical Society Reviews*, ***39(4)***, (2010.) *1302.*
28. Meldal, M., & Tornøe, C. W., *Cu-Catalyzed Azide−Alkyne Cycloaddition. Chemical Reviews*, ***108(8)***, (2008.) *2952–3015.*
29. Liang, L., & Astruc, D., *The copper(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition (CuAAC) "click" reaction and its applications. An overview. Coordination Chemistry Reviews*, ***255(23-24)***, (2011.) *2933–2945.*
30. Kolb, H. C., & Sharpless, K. B., *The growing impact of click chemistry on drug discovery. Drug Discovery Today*, ***8(24)***, (2003.) *1128–1137.*

31. Ouyang, T., Liu, X., Ouyang, H., & Ren, L., *Recent trends in click chemistry as a promising technology for virus-related research. Virus Research, **256**,* (2018.) *21–28.*
32. Takayama, Y., Kusamori, K., & Nishikawa, M., *Click Chemistry as a Tool for Cell Engineering and Drug Delivery. Molecules, **24(1)**,* (2019.) *172.*
33. Milián-Medina, B., & Gierschner, J., *π-Conjugation. Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science, **2(4)**,* (2011.) *513–524.*
34. Donald L. Pavia, Gary M. Lampman, George S. Kriz, James R. Vyvyan, Introduction to spectroscopy, 4th Edn, (2009.) *387-390*
35. Wade, L G. *Organic Chemistry*. Upper Saddle River, N.J: Pearson Prentice Hall, (2006.) Print. *667-672*, *694-700*
36. Ilijana Odak, Irena Škorić, Organska fotokemija: principi i primjena, prvo izdanje, (2017). *29-30*
37. Zajac, M., Hrobárik, P., Magdolen, P., Foltínová, P., & Zahradník, P., *Donor–π-acceptor benzothiazole-derived dyes with an extended heteroaryl-containing conjugated system: synthesis, DFT study and antimicrobial activity. Tetrahedron, **64(46)**,* (2008). *10605–10618.*
38. Bureš, F., *Fundamental aspects of property tuning in push–pull molecules. RSC Adv., **4(102)**,* (2014.) *58826–58851.*
39. Yan, F., Sun, J., Zang, Y., Sun, Z., Zhang, H., & Wang, X., *Benzothiazole applications as fluorescent probes for analyte detection. Journal of the Iranian Chemical Society.* (2020.) *1-25*
40. Tang, L., He, P., Zhong, K., Hou, S., & Bian, Y., *A new hydroxynaphthyl benzothiazole derived fluorescent probe for highly selective and sensitive Cu 2+ detection. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, **169**,* (2016.) *246–251.*
41. Y. Shen, X. Zhang, C. Zhang, Y. Zhang, J. Jin, H. Li, Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc. *191*, *427* (2018.)
42. Ryu, H., Choi, M. G., Cho, E. J., & Chang, S.-K., *Cu 2+ -selective fluorescent probe based on the hydrolysis of semicarbazide derivative of 2-(2-aminophenyl)benzothiazole. Dyes and Pigments, **149**,* (2018.) *620–625.*
43. Q. Mei, R. Tian, Y. Shi, Q. Hua, C. Chen, B. Tong, New J. Chem. **40**, (2016.) 2333
44. Sakthivel, P., Sekar, K., Sivaraman, G., & Singaravadivel, S., *Rhodamine–benzothiazole conjugate as an efficient multimodal sensor for Hg2+ ions and its*

application to imaging in living cells. New Journal of Chemistry, ***42(14)****,* (2018.). *11665–11672.*

45. Erdemir, S., & Tabakci, B., *Selective and Sensitive Fluorescein-Benzothiazole Based Fluorescent Sensor for* Zn^{2+} *Ion in Aqueous Media. Journal of Fluorescence,* ***27(6)****,* (2017.) *2145–2152.*
46. Gupta, M., Sahana, S., Sharma, V., & Bharadwaj, P. K., *Benzothiazole integrated into a cryptand for ESIPT based selective chemosensor for the Zn2+ ion.* (2019.) *1-21*
47. Jiang, K., Wu, Y.-C., Wu, H.-Q., Li, S.-L., Luo, S.-H., & Wang, Z.-Y., A highly selective, pH-tolerable and fast-response fluorescent probe for Fe^{3+} based on star-shape benzothiazole derivative. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, **350**, (2018.) *52–58.*
48. Lau, Y. H., Rutledge, P. J., Watkinson, M., & Todd, M. H., *Chemical sensors that incorporate click-derived triazoles. Chemical Society Reviews,* ***40(5)****,* (2011.) *2848.*
49. Praktikum preparativne organske kemije, interna skripta, *42-44*.
50. Irena Škorić, Molekulska spektroskopija, nastavni tekstovi, *64-76*.
51. Danijela Ašperger, 5. Predavanja iz kolegija „Instrumentalne analitičke metode“
52. Pine, S.H., Organska kemija, Školska knjiga, Zagreb, (2001.) str. *1063*, *1113-1114*.
53. Skoog, D. A.,West, D. M.,Holler, F. J., Osnove analitičke kemije, Školska knjiga, Zagreb, (1999.), *489-584*
54. Lakowicz, J. R., Principles of Fluorescence Spectroscopy, third edition, Springer, 1 (2006.) *1-30*.
55. Valeur, B., Molecular Fluorescence. Principles and Applications., Wiley, Weinheim, Federal Republic of Germany (2001.) *34-42*
56. Reichardt, C. Solvent Effects on the Absorption Spectra of Organic Compounds, in Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry, Third Edition, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, FRG. (2002.), *360-361*, *385*

ŽIVOTOPIS

Karlo Sklepić [redacted] Pohađao je Opću gimnaziju Antun Gustav Matoš u Samobor, te nakon završenog srednjoškolskog obrazovanja upisuje Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije. Stručnu praksu odradio je u tvrtki Nova runda.