

ISPITIVANJE AFINITETA MIJEŠANOG DIFENILANTRACENSKOG I ESTERSKOG DERIVATA KALIKS(4)ARENA PREMA VEZANJU ODABRANIH ORGANSKIH SPOJEVA

Perožić, Daniel

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:167:537805>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

**ISPITIVANJE AFINITETA MIJEŠANOG DIFENILANTRACENSKOG
I ESTERSKOG DERIVATA KALIKS[4]ARENA PREMA
VEZANJU ODABRANIH ORGANSKIH SPOJEVA**

ZAVRŠNI RAD

DANIEL PEROŽIĆ

Matični broj: 441

Split, rujan 2023.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ KEMIJE

**ISPITIVANJE AFINITETA MIJEŠANOG
DIFENILANTRACENSKOG I ESTERSKOG DERIVATA
KALIKS[4]ARENA PREMA VEZANJU ODABRANIH
ORGANSKIH SPOJEVA**

ZAVRŠNI RAD

DANIEL PEROŽIĆ

Matični broj: 441

Split, rujan 2023.

UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
UNDERGRADUATE STUDY OF CHEMISTRY

**THE BINDING AFFINITY OF THE MIXED
DIPHENYLANTHRACENE AND ESTHER DERIVATIVE OF
CALIX[4]ARENE TOWARDS THE SELECTED ORGANIC
COMPOUNDS**

BACHELOR THESIS

DANIEL PEROŽIĆ

Parent number: 441

Split, September 2023.

Sveučilište u Splitu
Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu
Prijediplomski studij kemije

Znanstveno područje: Prirodne znanosti
Znanstveno polje: Kemija
Mentor: doc. dr. sc. Marina Tranfić Bakić

ISPITIVANJE AFINITETA MIJEŠANOG DIFENILANTRACENSKOG
I ESTERSKOG DERIVATA KALIKS[4]ARENA PREMA
VEZANJU ODABRANIH ORGANSKIH SPOJEVA

Daniel Perožić, 441

Sažetak:

S ciljem da se ispita kompleksacijski afinitet miješanog difenilantracenskog i esterskog derivata kaliksarena (5,11,17,23 tetra-tert-butil-25-(9,10-difenilantracen-2-iloksietoksi)-26,27,28-tris(etiloksikarbonilmetoksi)-kaliks[4]aren), **K**, prema odabranim organskim spojevima - rodaminu B, auraminu O i fluoresceinu te timokinonu, proveden je niz spektrofotometrijskih titracija u smjesi otapala acetonitril/diklormetan ($\varphi = 0,5:0,5$).

Na temelju eksperimentalnih podataka dobivenih spektrofotometrijskim titracijama zaključeno je da ovaj kaliksarenski derivat od svih ispitivanih spojeva najveći afinitet pokazuje prema fluoresceinu pri čemu nastaje kompleks čija konstanta stabilnosti iznosi $\log (K_{[K-fluorescein]}/ \text{mol dm}^{-3}) = 2,89 \pm 0,01$. S auraminom O i rodaminom B primijećeno je stvaranje intramolekulskih interakcija, međutim one su vrlo slabe i ne vode do stvaranja stabilnih kompleksa. Naposljetku, za timokinon nije uočena nikakva interakcija sa spojem K.

Razmatranjem strukturnih karakteristika ovih spojeva, zaključeno je da najveći doprinos stabilizaciji kompleksa imaju vodikove veze koje se uspostavljaju između molekule gosta i karbonilne skupine kaliksarena.

Gljučne riječi: kaliksaren, spektrofotometrijska titracija, kompleksiranje

Rad sadrži: 31 stranica, 19 slika, 1 tablica, 9 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu završnog rada:

1. izv. prof. dr. sc. Ivana Škugor-Rončević - predsjednica
2. prof. dr. sc. Olivera Politeo - član
3. doc. dr. sc. Marina Tranfić Bakić – član - mentor

Datum obrane:

Rad je u tiskanom i elektroničkom (PDF) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu, Ruđera Boškovića 35, u javnoj internetskoj bazi Sveučilišne knjižnice u Splitu te u javnoj internetskoj bazi završnih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice.

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Undergraduate University Study of Chemistry

Scientific area: Natural sciences
Scientific field: Chemistry
Supervisor: Marina Tranfić Bakić, PhD, assistant prof.

THE BINDING AFFINITY OF THE MIXED DIPHENYLANTHRACENE AND ESTER DERIVATIVE OF CALIX[4]ARENE TOWARDS THE SELECTED ORGANIC COMPOUNDS

Daniel Perožić, 441

Abstract:

To examine the complexation affinity of the mixed diphenylanthracene and ester derivative calixarene (5,11,17,23-tetra-tert-butyl-25-(9,10-diphenylanthracene-2-yloxyethoxy)-26,27,28-tris(ethyl-oxycarbomilmehtoxy)-kalix[4]aren), **K**, towards the selected organic compounds: rhodamine B, auramine O, thymoquinone and fluorescein, a series of spectrophotometric titrations were carried out in acetonitrile/diphenylanthracene solvent mixture ($\varphi = 0.5:0.5$). Based on the experimental data obtained by spectrophotometric titrations it was concluded that out of all studied compounds this calixarene derivative shows the highest affinity towards fluorescein, whereby a complex, whose stability constant is $\log(K_{[\text{K-fluoresceine}]}/\text{mol dm}^{-3}) = 2.89 \pm 0.01$ is formed.

The formation of intramolecular interactions was observed for auramine O and rhodamine B, however, these interactions were very weak and did not lead to the formation of a stable complexes. Finally, no interaction of compound **K** with thymoquinone was observed. Taking into consideration the structural characteristics of these compounds, it was concluded that the greatest contribution to the stabilization of the complexes is through hydrogen bonds established between the guest molecule and the carbonyl group of the calixarene derivative.

Keywords: calixarene, spectrophotometric titrations, complexation

Thesis contains: 31 pages, 19 pictures, 1 table, 9 references

Original in: Croatian

Defence committee for evaluation and defense of bachelor thesis:

1. Ivana Škugor Rončević, PhD, associate prof. - chairperson
2. Olivera Politeo PhD, full prof. - member
3. Marina Tranfić, Bakić, PhD, assistant prof. - member-supervisor

Defence date:

Printed and electronic (PDF) form of thesis is deposited in the Library of Faculty of Chemistry and Technology in Split, Ruđera Boškovića 35, in the public library database of the University of Split Library and in the digital academic archives and repositories of the National and University Library.

Završni rad je izrađen u Zavodu za biokemiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Marine Tranfić Bakić, u razdoblju od svibnja do rujna 2023. godine.

ZAHVALA

Posebna i neizmijerna zahvala mojoj mentorici profesorici Marini Tranfić Bakić za sav trud, razumijevanje, rad na eksperimentalnom dijelu i samom pisanju rada te što je bila od samog početka rada odličan savjetnik i mentor.

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

- spektrofotometrijski odrediti vezanja boja na difenilatracenski kaliks[4]aren
- izračunati konstante stabilnosti dobivenih kompleksa

SAŽETAK

S ciljem da se ispita kompleksacijski afinitet miješanog difenilantracenskog i esterskog derivata kaliksarena (5,11,17,23 tetra-tert-butil-25-(9,10-difenilantracen-2-iloksietoksi)-26,27,28-tris(etiloksikarbonilmetoksi)-kaliks[4]aren), **K**, prema odabranim organskim spojevima - rodaminu B, auraminu O i fluoresceinu te timokinonu, proveden je niz spektrofotometrijskih titracija u smjesi otapala acetonitril/diklormetan ($\varphi = 0,5:0,5$).

Na temelju eksperimentalnih podataka dobivenih spektrofotometrijskim titracijama zaključeno je da ovaj kaliksarenski derivat od svih ispitivanih spojeva najveći afinitet pokazuje prema fluoresceinu pri čemu nastaje kompleks čija konstanta stabilnosti iznosi $\log (K_{[\mathbf{K}\text{-fluorescein}]} / \text{mol dm}^{-3}) = 2,89 \pm 0,01$. S auraminom O i rodaminom B primijećeno je stvaranje intramolekulskih interakcija, međutim one su vrlo slabe i ne vode do stvaranja stabilnih kompleksa. Naposljetku, za timokinon nije uočena nikakva interakcija sa spojem K.

Razmatranjem strukturnih karakteristika ovih spojeva, zaključeno je da najveći doprinos stabilizaciji kompleksa imaju vodikove veze koje se uspostavljaju između molekule gosta i karbonilne skupine kaliksarena.

Ključne riječi: kaliksaren, titracija, timokinon, fluorescein

SUMMARY

To examine the complexation affinity of the mixed diphenylanthracene and ester derivative calixarene (5,11,17,23-tetra-tert-butyl-25-(9,10-diphenylanthracene-2-yloxyethoxy)-26,27,28-tris(ethyl-oxycarbonylmehtoxy)-kalix[4]aren), K, towards the selected organic compounds: rhodamine B, auramine O, thymoquinone and fluorescein, a series of spectrophotometric titrations were carried out in acetonitrile/diphenylanthracene solvent mixture ($\varphi = 0.5:0.5$). Based on the experimental data obtained by spectrophotometric titrations it was concluded that out of all studied compounds this calixarene derivative shows the highest affinity towards fluorescein, whereby a complex, whose stability constant is $\log (K[\text{K-fluoresceine}] / \text{mol dm}^{-3}) = 2.89 \pm 0.01$ is formed.

The formation of intramolecular interactions was observed for auramine O and rhodamine B, however, these interactions were very weak and did not lead to the formation of a stable complexes. Finally, no interaction of compound K with thymoquinone was observed. Taking into consideration the structural characteristics of these compounds, it was concluded that the greatest contribution to the stabilization of the complexes is through hydrogen bonds established between the guest molecule and the carbonyl group of the calixarene derivative.

Keywords: calixarene, titrations, thymoquinone, fluorescein

Sadržaj

| | |
|--|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. OPĆI DIO..... | 2 |
| 2.1. Supramolekulska kemija..... | 2 |
| 2.2. Kemija domaćin-gost..... | 3 |
| 2.3. Kaliks[n]areni | 5 |
| 2.3.1. Modifikacije na donjem obodu kaliks[n]arena | 6 |
| 2.3.2. Primjena kaliks[n]arena | 7 |
| 2.4. Spektrofotometrija | 8 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO | 11 |
| 3.1. Materijali | 11 |
| 4. REZULTATI I RASPRAVA..... | 13 |
| 4.1. Spektrofotometrijska titracija spoja K timokinonom | 13 |
| 4.2. Spektrofotometrijska titracija spoja K s fluoresceinom | 14 |
| 4.3. Spektrofotometrijska titracija auramina O spojem K | 16 |
| 4.4. Spektrofotometrijska titracija rodamina B spojem K | 17 |
| 5. ZAKLJUČAK..... | 19 |
| 6. LITERATURA | 20 |

1. UVOD

Tema ovog rada pripada području supramolekulske kemije, grane koja se temelji na nekovalentnim interakcijama te se često naziva „kemijom izvan molekule“. Temelj supramolekulske kemije je kemija domaćin-gost koja ima sličnosti sa biokemijskom teorijom ključa i brave gdje je enzim analogan bravi, a supstrat analogan ključu čime se postiže specifičnost svakog enzima i komplementarnost između enzima i supstrata odnosno između domaćina i gosta u supramolekulskoj kemiji.

Za svrhe ovoga rada korišten je derivat kaliks[4]arena koji imaju 4 fenolne skupine. Sama primjena kaliks[n]arena je široka i mnogobrojna te obuhvaća nekoliko znanstvenih grana. U svrhu ovog znanstvenog rada korišten je derivat kaliksarena (5,11,17,23 tetra-*tert*-butil-25-(9,10-difenilantracen-2-iloksietoksi)-26,27,28-tris(etiloksikarbonilmetoksi)-kaliks[4]aren), **K**, koji je prethodno pripremljen u Zavodu za biokemiju Kemijsko-tehnološkog fakulteta Sveučilišta u Splitu.

2. OPĆI DIO

2.1. Supramolekulska kemija

Supramolekulska kemija je kemija molekulskog udruživanja i međumolekulskih veza i interakcija i često se naziva „kemija izvan molekule“. Supramolekulska kemija se počela znatnije razvijati početkom 1970-tih godina. To je široko područje sa središtem proučavanja supramolekulskih spojeva i njihovih međumolekulskih interakcija. Neke od tih međumolekulskih veza su navedene u Tablici 1 kao i njihove energije veza.¹

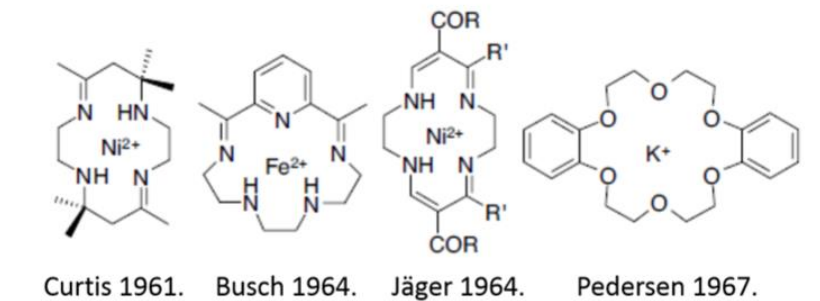
Tablica 1. Supramolekulske interakcije, njihova usmjerenost veze i energija veze.

| supramolekulske interakcije | usmjerenost veze | energija veze (kJ mol^{-1}) |
|---|-------------------------|--|
| ion-ion veza | neusmjerena | 100-350 |
| metal-metal veza | neusmjerena | 5-60 |
| ion-dipol veza | blago usmjerena | 50-200 |
| dipol-dipol veza | blago usmjerena | 5-50 |
| koordinacijska veza | usmjerena | 100-300 |
| vodikova veza | usmjerena | 4-120 |
| halogena veza | usmjerena | 100-50 |
| π-π interakcija | usmjerena | 2-50 |
| kation-π i anion-π interakcija | usmjerena | 5-80 |

Supramolekulska kemija koristi slabe reverzibilne veze za formiranje kompleksa iz jednostavnijih spojeva. Dvije glavne teme istraživanja supramolekulske kemije su domaćin gost kemija (engl. *Host-guest chemistry*) i kemija molekulskog samoudruživanja (engl. *Self-assembly*) ili samoorganizacije.¹

Veći dio supramolekulske kemije je potekao iz makrocikličke kemije odnosno iz razvoja makrocikličkih liganada za metalne katione. Temelji ovih spojeva proizašli su od sustava koje su pripravili Curtis, Busch, Jäger, Pedersen, Cram i Lehn i njihovi suradnici (Slika

1). Ne bi smjeli zaboraviti da se neke jednostavne ideje i principi također tu mogu uvrstiti kao npr. pojam koordinacijske kemije koji je i 1893. godine uveo Alfred Werner i mehanizam „ključ-brava“ Emila Fichera iz 1894. godine²



Slika 1. Prvi makrociklički ligandi.

2.2. Kemija domaćin-gost

Ova se grana supramolekulske kemije temelji na principu da postoje razne interakcije dviju ili više kemijskih vrsta. Molekula domaćina je veći spoj koja sadrži centralnu šupljinu (šupljine su razmaci između molekula) dok je molekula gosta najčešće manja i može biti ion, molekula ili neka vrsta hormona ili neurotransmitera. Kod neutralnog vezanja interakcije su slabije nego kao kod iona pri čemu se molekula domaćina podliježe samoorganizaciji oko gosta ili konformacijskim modifikacijama. Upravo zbog konformacijskih promjena spoj posjeduje stalne intramolekulske šupljine i dostupne samo za vezanje molekule gosta. Takva vrsta domaćina se naziva kavitand dok se spoj vezan unutar šupljine naziva kavipleks. Jedan od tipova kavitanda su kaliks[n]areni.^{2,3}

Vezanje molekule domaćina i gosta može se prikazati kemijskom reakcijom (1):

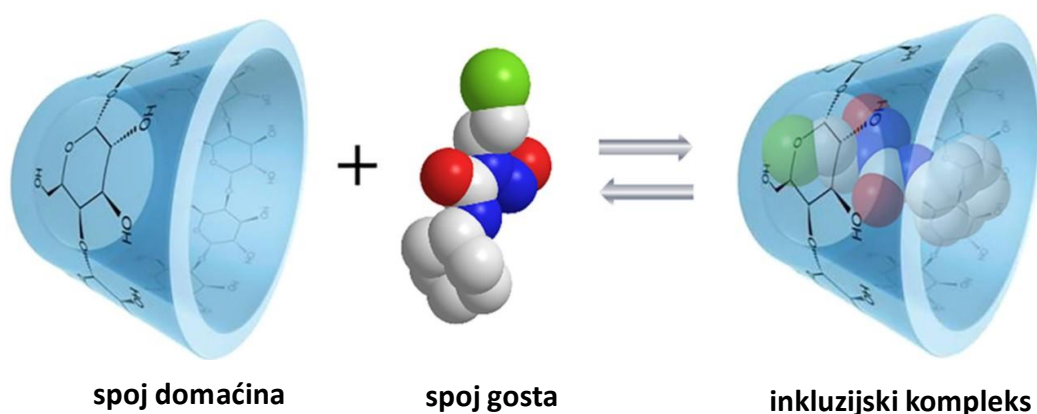


pri čemu je konstanta vezanja kompleksa (2) ujedno i konstanta ravnoteže ove reakcije:

$$K = \frac{[HG]}{[H] \cdot [G]} \quad (2)$$

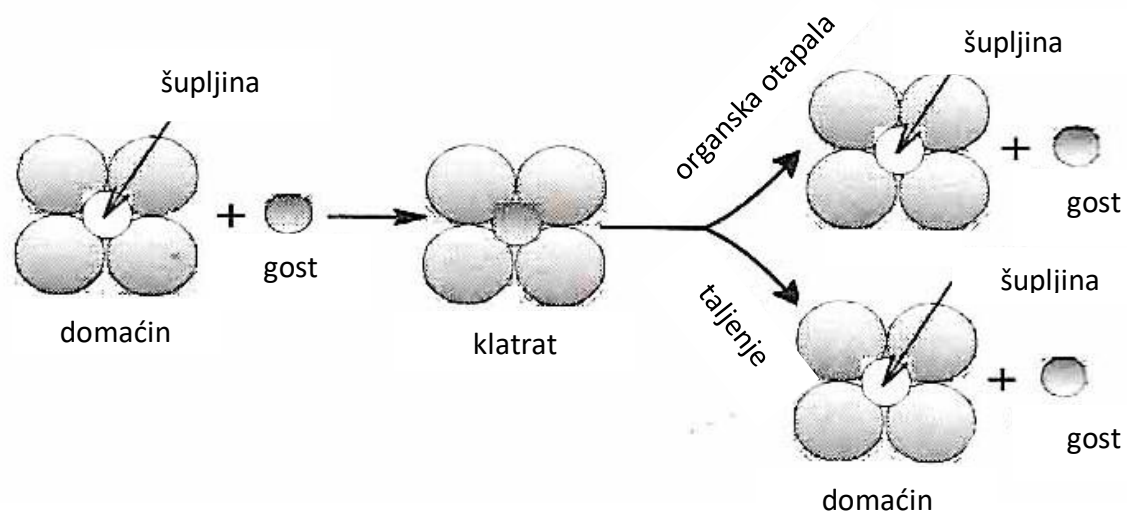
Prema relativnom odnosu domaćina i gosta spojeve domaćina možemo podijeliti na 2 grupe. Kavitandi su domaćini koji imaju stalnu intramolekulsku šupljinu te je ona uvijek prisutna i dostupna za vezanje gosta. Kod kavitanda šupljina postoji i u čvrstom i otopljenom obliku spoja. Međutim klatandi posjeduju intermolekulske šupljine te postoje samo u čvrstom stanju. (npr. voda, zeoliti).²

Inkluzijski spojevi su grupa spojeva u kemiji domaćin-gost gdje se molekula gosta smješta u šupljinu molekule domaćina (Slika 2). Kod inkluzijskih spojeva nema kovalentnog vezanja. Kako bi do vezanja unutar samog spoja došlo molekule domaćina i gosta moraju biti kompatibilne. Ovi spojevi su vrlo korisni jer povećavaju topljivost slabo topljivih lijekova formiranjem kompleksa sa lijekom u hidrofobnoj šupljini.⁴



Slika 2. Prikaz nastanka inkluzijskog kompleksa.

Postoji nekoliko vrsta inkluzijskih spojeva. Jedni od najpoznatijih su klatrati. Klatrati su spojevi koji kristaliziraju u obliku kaveznog konusa unutar kojega je koordinacijski spoj zarobljen (Slika 3). Koliko je velik koordinacijski spoj unutar kaveza je bitno. Primjer ovakvog vezanja je hidrokinonski kristal koji zarobljava metanol, CO₂ i HCl, ali ne manje ili veće molekule.⁴



Slika 3. Vizualni prikaz nastanka i raspada klatrata.

2.3. Kaliks[n]areni

Alois Zinke vršio je razna istraživanja ispitivajući reakcije *p*-alkil-fenola sa vodenom otopinom formaldehida i natrijevim hidroksidom te je dobio iz tog pokusa cikličke tetramerne strukture. Ovi spojevi su klasificirani kao [1_n] metaciklofani (n-broj benzenskih prstenova).¹

Iako je niz znanstvenika radio na istraživanju ovog spoja, ime kaliksaren dao je C. D. Gutsche koji je ugledao sličnost cikličnoga spoja s grčkom vazom *calix crater* (Slika 4). Trivijalno ime kaliks[n]aren koristi se jer bi imenovanje ovih spojeva po IUPAC nomenklaturi bilo vrlo komplicirano i nepraktično. U trivijalnom imenu brojem fenolnih grupa koje tvore kaliksarenski makrocikli navodi se u uglatim zagradama (npr: kaliks[4]aren sadrži 4 fenolne skupine u makrociklu).¹

Jedna od skupina koja pripada supramolekularnoj kemiji jesu i kaliks[n]areni. Metodom NMR spektroskopije otkriveno je da postoje nekoliko cikličnih homologa kao tetrameri, heksameri i oktameri te je pokazano da se većina kaliks[n]arena može dobiti uz dobre selektivne uvjete. Kaliks[n]aren se sastoji od gornjeg i donjeg oboda i centralne šupljine (Slika 4). Obod na kaliks[n]arenu predstavljaju spojeni benzenski prstenovi u prstenasti

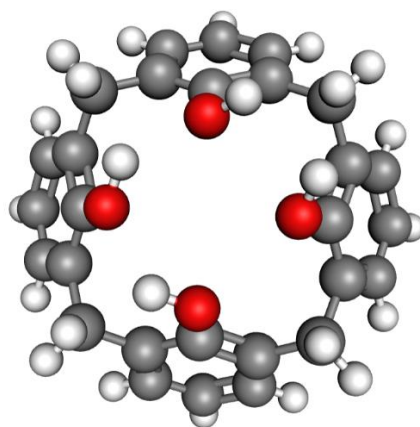
oblik koji tvore cikličnu strukturu. Sama modifikacija i stabilnost kompleksa ovisi o molekuli koja će se naći unutar centralne šupljine.¹



Slika 4. a) *Calix crater* vaza; b) struktura kaliks[4]arena.

2.3.1. Modifikacije na donjem obodu kaliks[n]arena

Donji je obod, za razliku od gornjeg oboda, manje podložan modifikacijama, ali zato može olakšavati kompleksiranje s nekim metalima i organskim spojevima. Zbog prostorne konformacije hidroksilnih grupa (Slika 5) donji rub predstavlja reaktivno mjesto za modificiranje. Prve modifikacije donjeg oboda su bile alkilacija i acilacija, ali danas se koriste i druge. Na konformaciju kaliks[n]arena utječe veličina, naboj i priroda supstituenta na gornjem i na donjem obodu.⁵



Slika 5. 3D prikaz kaliks[4]arena s pogledom kroz donji obod.

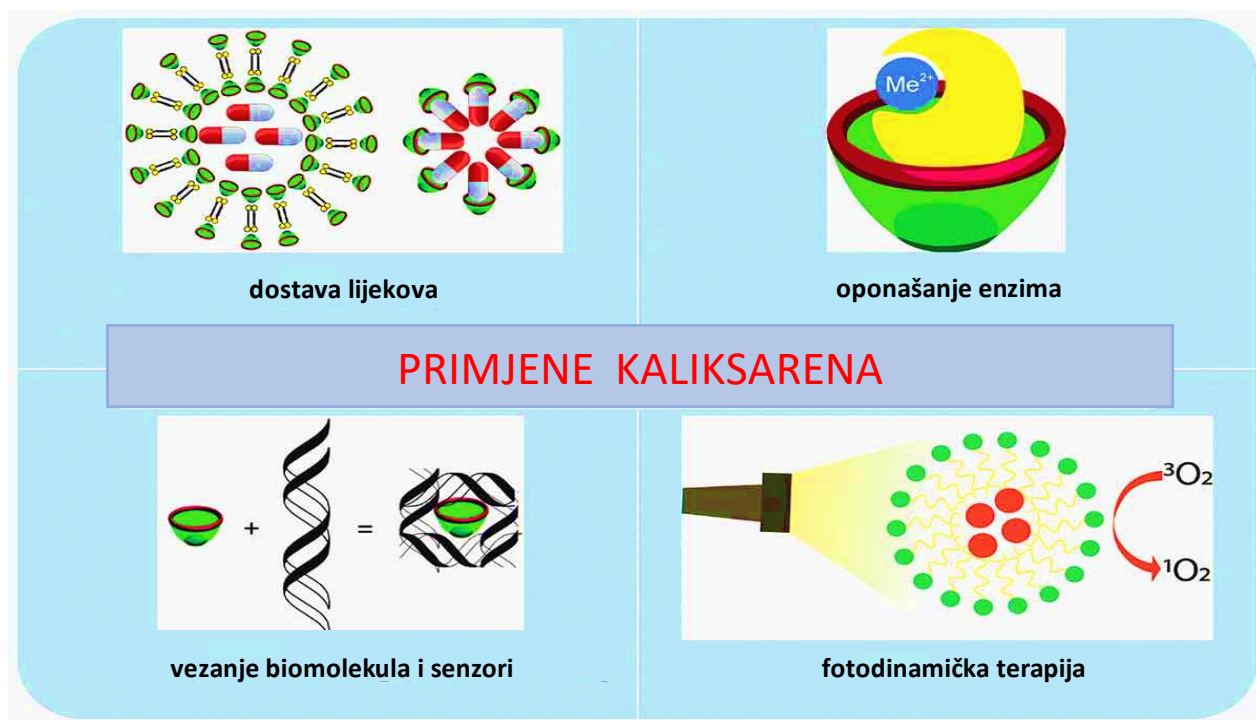
ESTERIFIKACIJA

Reakcije esterifikacije su među prvim otkrivenim reakcijama modifikacije donjeg oboda kaliks[n]arena. Kod acilacije i arilacije sve OH⁻ grupe reagiraju pri čemu mala promjena reakcijskih uvjeta može dovesti do promjene u reakciji. Promjene u koncentraciji reaktanata, omjeru reaktanata i samom otapalu utječu na konformacijske promjene kaliks[n]arena. Neki od spojeva koji se koriste za sintezu kaliks[n]arenskih estera pri arilaciji su benzoil klorid, *p*-nitrobenzoil klorid i 3,5-dinitro-benzoil klorid.⁶

Detaljno je istraživana alkilacija serije kaliks[4]arenskih spojeva kako bi se smislile metode za sintezu mono-, 1,2-di-, 1,3-di-, tri- i tetra-etera. Monoeteri se mogu pripremiti direktnom alkilacijom korištenjem alkilnog sredstva sa natrijevim hidridom kao bazom uz toluen kao otapalo ili barijevim hidroksidom kao bazom uz DMF (dimetil-formamid).⁶

2.3.2. Primjena kaliks[n]arena

Najraširenija primjena kaliks[n]arena je kao senzori i biosenzori. U zadnjih 10-ak godina otkrivena je i primjena u biokemiji za biološko prepoznavanje (engl. *Biosensing*, *Bioimaging*) koje je ključno za rano otkrivanje nekih bolesti, davanje dijagnoza i provođenje kvalitetnog liječenja (Slika 6). Kaliks[n]aren kao umjetni receptor posjeduje šupljinu selektivnu za kompetitivno vezanje određenih gostiju.⁷



Slika 6. Neke od primjena kaliks[n]arena.

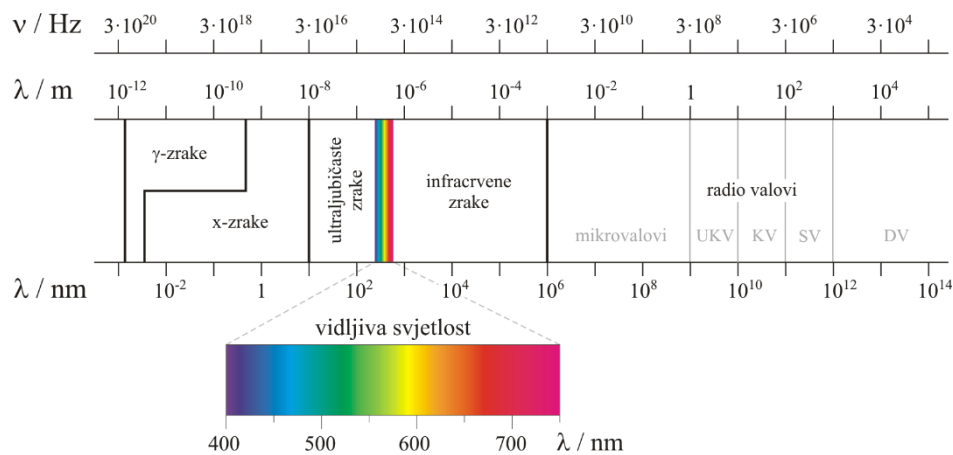
Tetraetilni ester kaliks[4]arena kao primjer estera je nastao modifikacijom na donjem obodu koji se komercijalno koristi kao selektivna natrijeva elektroda u bolnicama za mjerenje koncentracije natrija u krvi. Uz natrij također postoje i selektivne cezijeve i kalijeve elektrode.

U primjeni su i tetramerni kaliks[n]areni gdje su dušik i sumpor u koordinacijskim centrima te su vrlo selektivni za meke teške metale kao srebro. Druge elektrode sintetizirane od heksamernih derivata fosforovih oksidnih grupa su pokazale veliku selektivnost za olovo. Neke tiokarboamilne i ditiokarboamilne grupe supstituirane na kaliks[n]arenski kostur su pokazale selektivnost na srebrove, paladijeve i živine ione te neke druge lake metale.⁷

2.4. Spektrofotometrija

Spektrofotometrija je fizikalno-kemijska metoda kojom se ispituje koliko je kemijska tvar apsorbirala svjetlosti mjerenjem jačine svjetla koja prolazi kroz ispitivani uzorak.

Svjetlost je elektromagnetni val koji se sastoji od cijelog niza valnih duljina, ali može se podijeliti na ultraljubičasto, vidljivo i infracrveno područje i dr. Kod spektrofotometrije se mjeri u infracrvenom i/ili vidljivom dijelu spektra (Slika 7) te se temelji na principu da svaka tvar apsorbira, propušta ili odbija svjetlost, ali prođe li se niže od UV područja dolazi se do X zraka (npr. rendgensko skeniranje) dok se u vrlo visokim područjima valnih duljina prelazi na radio valove (npr. radio stanice, woki-toki).⁸



Slika 7. Prikaz elektromagnetnog spektra.

Kod mjerenja apsorbancije moguće je odrediti i transmitanciju (3) kao omjer intenziteta upadne svjetlosti (I_0) i propuštene svjetlosti (I_p).⁸

$$T = \frac{I_p}{I_0} \quad (3)$$

Beer-Lambertov zakon (4) prikazuje apsorbanciju kao proporcionalnu vrijednost koncentracije tvari i duljine optičkog puta.⁹

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c \quad (4)$$

gdje je: A-apsorbancija

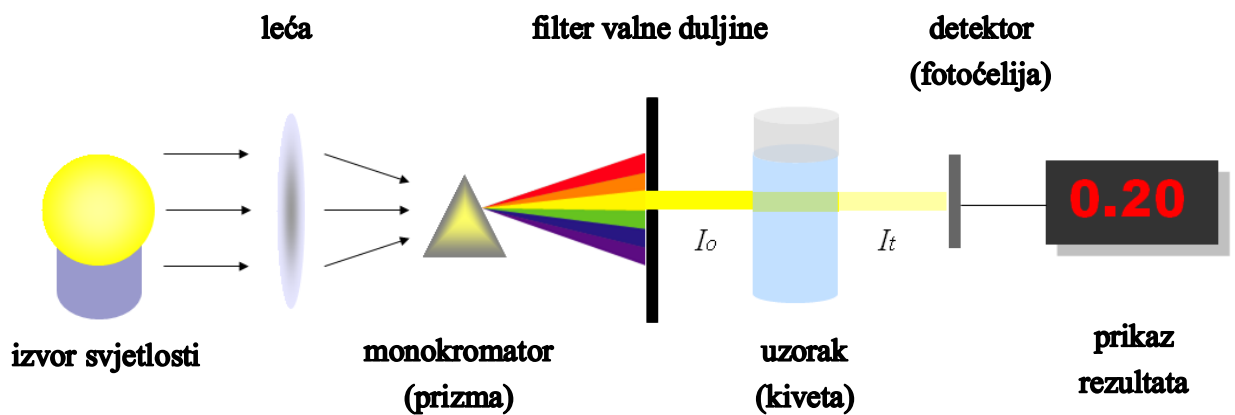
ε -molarna apsorbancija tvari

b -duljina optičkog puta (debljina kivete)

c -molarna koncentracija tvari

Za određivanje apsorbancije kao funkcije valne duljine koriste se spektrofotometri. Svaki se spektrofotometar sastoji od nekoliko osnovnih dijelova (Slika 8.):

- Izvor svjetlosti-koristi se određena vrsta žarulja koje daju svjetlost za određeni spektar koji se određuje i na koji je sam instrument baždaren;
- Disperzni element-optička rešetka ili prizma koja razdvaja svjetlost iz izvora (žarulje) na valne duljine;
- Uzorak-kod tekućih uzoraka ispitivana tekućina se stavlja u kivetu određene debljine (optički put);
- Detektor-sadrži fotoćeliju koja je senzor za svjetlost koja je uspjela proći kroz uzorak. Količina svjetlosti koja je došla na fotoćelije u detektoru se pretvara u električni signal.⁹

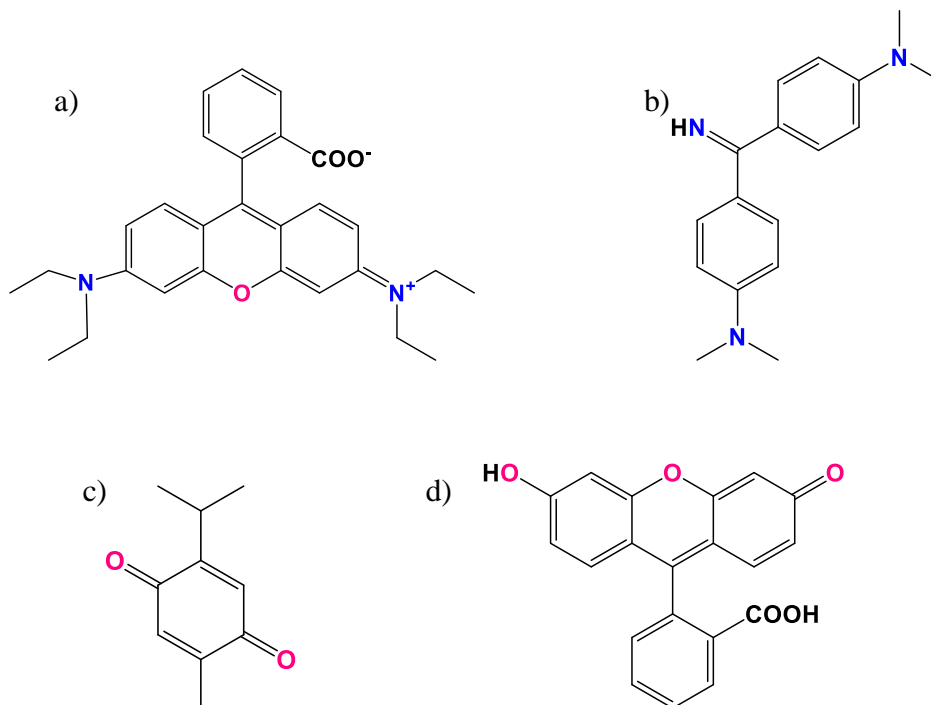


Slika 8. Osnovni princip rada spektrofotometra.

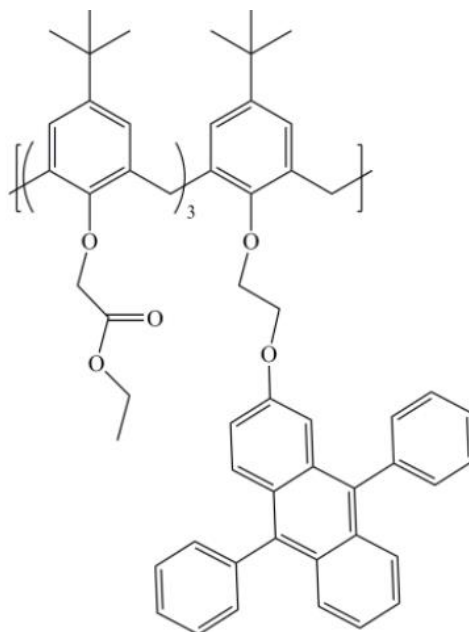
3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

Za titraciju otopine kaliks[4]arena odnosno za titriranje kalik[4]arenom korištene su otopine odabranih organskih spojeva: auramin O (95%, Merck), rodamin, B (95%, Merck), fluoresceina (95%, Kemika) i timokinon (99%, Aldrich Chem Co.) (Slika 9). Derivat kaliksarena (5,11,17,23-tetra-*tert*-butil-25-(9,10-difenilantracen-2-iloksietoksi)-26,27,28-tris(etiloksikar-bonilmetoksi)kaliks[4]arena), **K** (Slika 10), prethodno je sintetiziran u Zavodu za biokemiju.



Slika 9. Strukture a) rodamina B, b) auramina O, c) timokinona i d) fluoresceina.



Slika 10. Struktura miješanog difenilantracenskog i esterskog derivata kaliks[4]arena, **K**.

Odgovarajuće otopine su pripravljene odvagom na analitičkoj vagi i otapanjem u smjesi otapala acetonitril/diklormetan ($\varphi = 0,5:0,5$).

Za spektrofotometrijske titracije korišten je Cary 5000 UV-Vis-NIR tvrtke Agilent, Whaltham, SAD (Slika 11). Spektri su snimani pri sobnoj temperaturi u spektralnom području od 250 do 600 nm, s korakom od 1 nm i vremenom integracije od 0,1 s, te uz korekciju bazne linije. Korištene su kvarcne kivete duljine optičkog puta 1 cm. Prilikom obrade podataka spektri su korigirani za razrjeđenje. Za analizu i obradu podataka korišteni su programi MS Excel, Origin i Hyperquad.

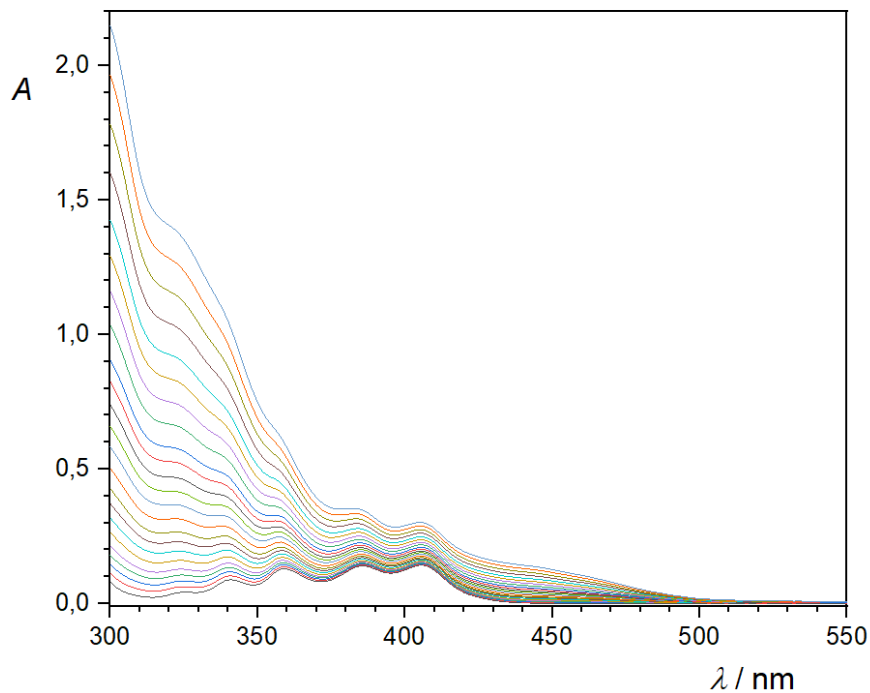


Slika 11. Cary 5000 UV-Vis-NIR spektrofotometar.

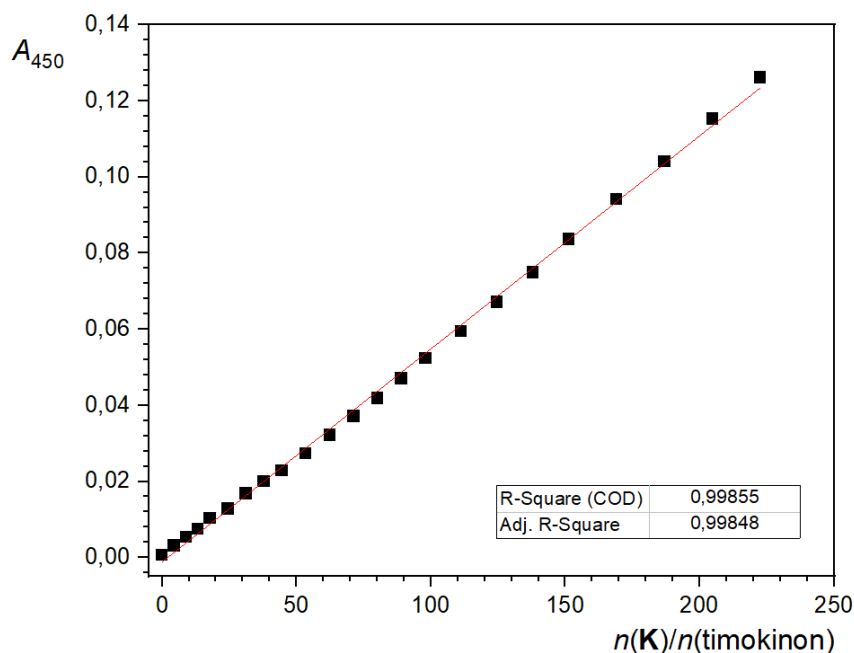
4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Spektrofotometrijska titracija spoja **K** timokinonom

Iz prikaza spektrofotometrijske titracije spoja **K** sa timokinonom (Slika 12) vidljivo je da je rast apsorbancija ujednačen pri svim valnim duljinama. Slika 13 pokazuje da je opisani rast apsorbancije u ovisnosti o omjeru množina fluoresceina i spoja **K** linearan ($R^2 = 0,9986$). Drugim riječima, promjene apsorbancije slijede Beer-Lambertov zakon što vodi do zaključka da između timokinona i spoja **K** ne dolazi do stvaranja intermolekulskih interakcija, odnosno ne dolazi do njihovog kompleksiranja.



Slika 12. Spektrofotometrijska titracija timokinona ($c_0 = 2,02 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) sa spojem **K** ($c_0 = 4,53 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) u smjesi otapala acetonitril/diklormetan ; $V_0 = 2,524 \text{ mL}$, sobna temperatura.

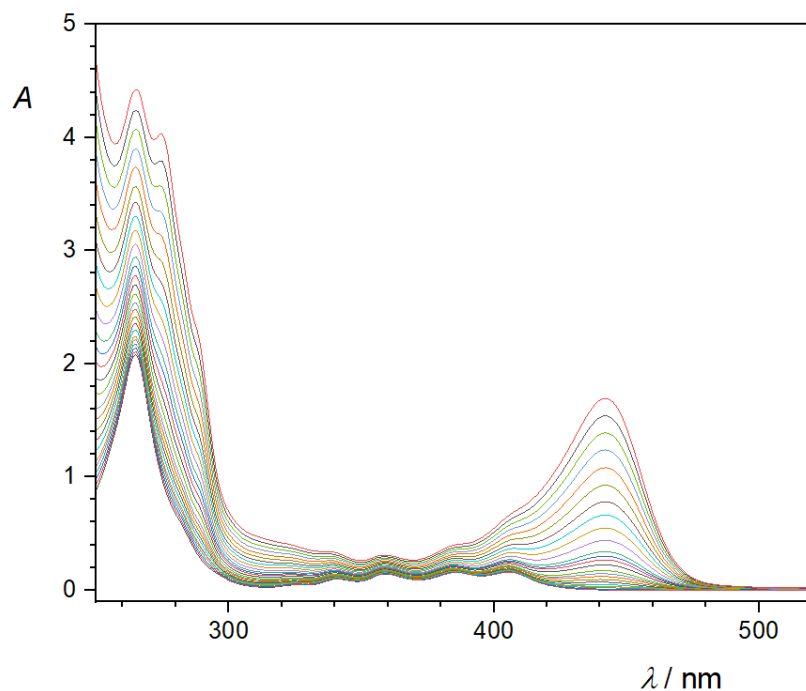


Slika 13. Ovisnost apsorbancije pri 450 nm o omjeru množina timokinona ($c_0 = 4,53 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) i spoja **K** ($c_0 = 2,02 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) u smjesi otapala acetonitril/diklormetan; $V_0 = 2,524 \text{ mL}$, sobna temperatura.

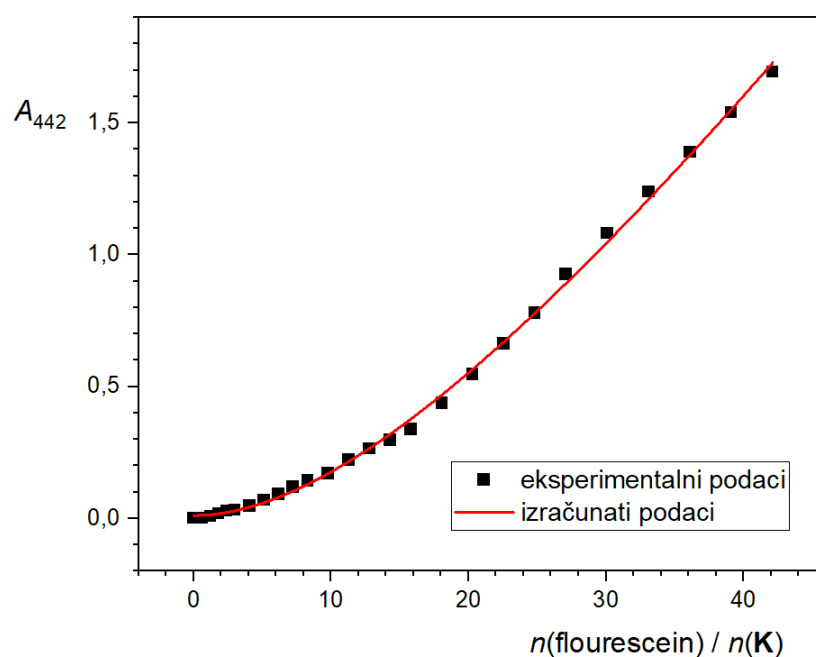
4.2. Spektrofotometrijska titracija spoja **K** s fluoresceinom

Tijekom titracije spoja **K** sa fluoresceinom također se vidi rast apsorbancije pri svim valnim duljinama (Slika 14) iako je u području od 420-480 nm taj porast manji u odnosu na ostatak apsorpcijskog spektra. Pri valnim duljinama višim od 430 nm ispitivani kaliksarenski derivat **K** ne apsorbira, već opisana apsorpcijska vrpca odgovara fluoresceinu.

Međutim, za razliku od prethodne titracije, u slučaju fluoresceina ovisnost apsorbancije pri 442 nm o omjeru množina (Slika 15) značajnije odstupa od linearnosti. To ukazuje na postojanje interakcija između fluoresceina i spoja **K**, odnosno nastanak kompleksa [**K**-fluorescein]. Nakon određene točke odnosno dodane koncentracije boje vidi se izravnavanje krivulje što dovodi do zaključka da ostaje slobodni fluorescein u otopini sa spojem **K** i novonastalim kompleksom [**K**-fluorescein] zbog čega i raste apsorbancija. Utočnjavanjem eksperimentalnih podataka izračunata je konstanta vezanja koja iznosi $\log (K_{[\mathbf{K}\text{-fluorescein}]} / \text{mol dm}^{-3}) = 2,89 \pm 0,01$.



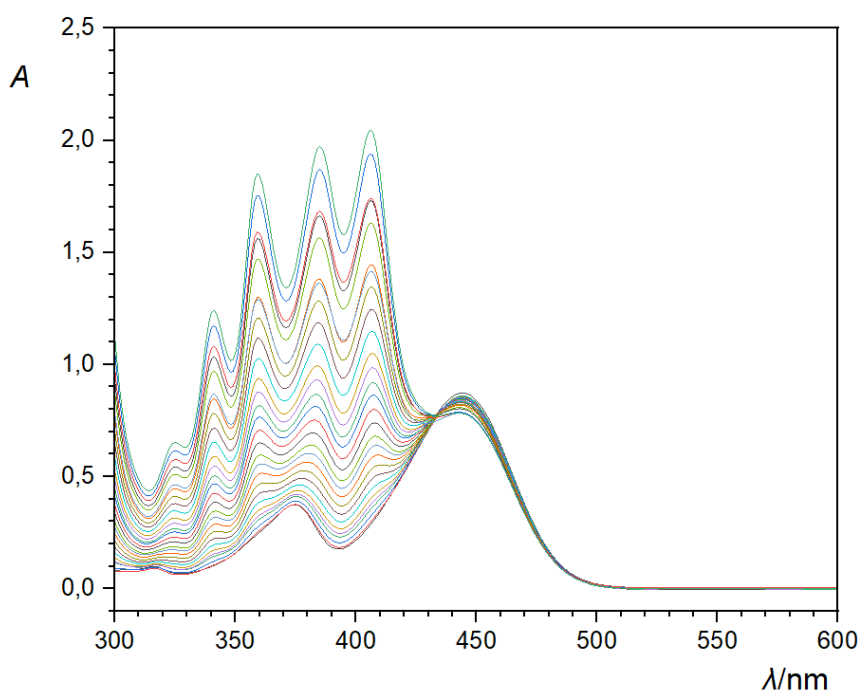
Slika 14. Spektrofotometrijska titracija spoja **K** ($c_0 = 2,00 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) sa fluoresceinom ($c_0 = 1,50 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$) u smjesi otapala acetonitril/diklormetan; $V_0 = 2,524 \text{ mL}$, sobna temperatura.



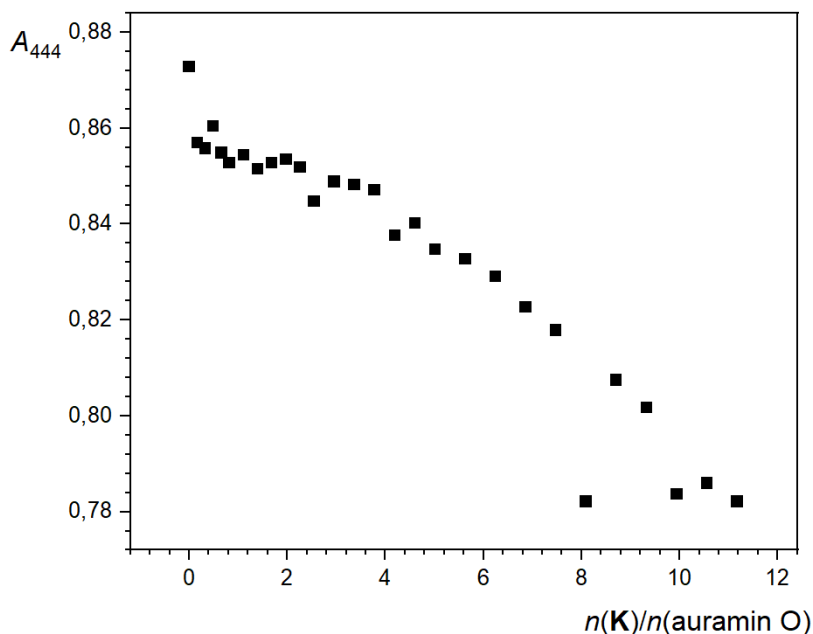
Slika 15. Ovisnost apsorbancije pri 442 nm o omjeru množina fluouescina ($c_0 = 1,50 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$) i spoja **K** ($c_0 = 2,00 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) u smjesi otapala acetonitril/diklormetan; $V_0 = 2,524 \text{ mL}$, sobna temperatura.

4.3. Spektrofotometrijska titracija auramina O spojem K

Na Slici 16 vidljivo je kako je tijekom titracije auramina O dodatak spoja **K** uzrokovao porast apsorpcije u području do 440 nm, a onda je nakon izosbestičke točke apsorpcija počela blago padati. Apsorpcijska vrpca s maksimumom pri 444 nm odgovara auraminu O, bilo u slobodnom obliku, bilo vezanom u kompleks s kaliksarenom **K**. Uočeni pad apsorpcije pri ovoj valnoj duljini signalizira da je molarni apsorpcijski koeficijent kompleksiranog auramina O nešto niži u odnosu na onaj slobodnog auramina O. Pri tom, odgovarajuća titracijska krivulja prikazana na Slici 17 pokazuje da nešto više odstupanje od linearnosti u odnosu na titraciju s timokinonom. Može se zaključiti da iako dolazi do interakcija auramina O sa spojem **K**, te interakcije su poprilično slabe i ne rezultiraju nastankom stabilnog kompleksa.



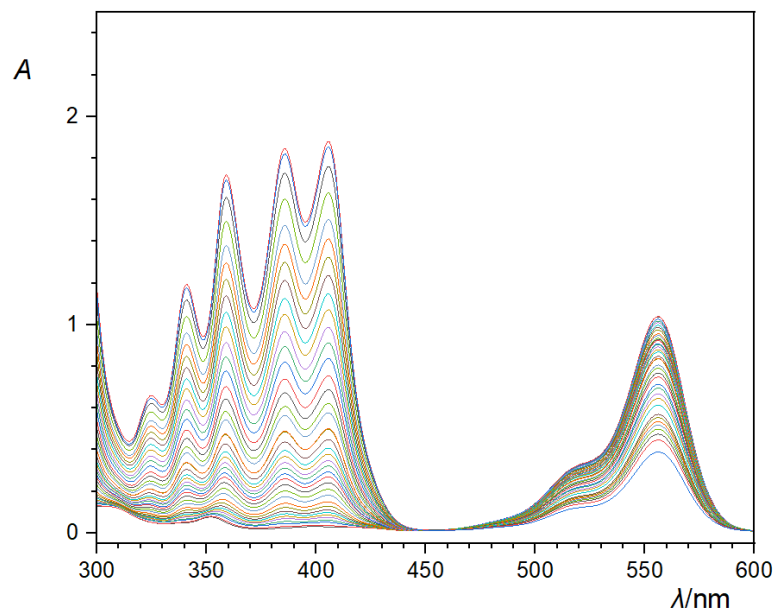
Slika 16. Spektrofotometrijska titracija auramina O ($c_0 = 1,90 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) sa spojem **K** ($c_0 = 4,06 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) u smjesi otapala acetonitril/diklormetan; $V_0 = 2,6 \text{ mL}$, sobna temperatura.



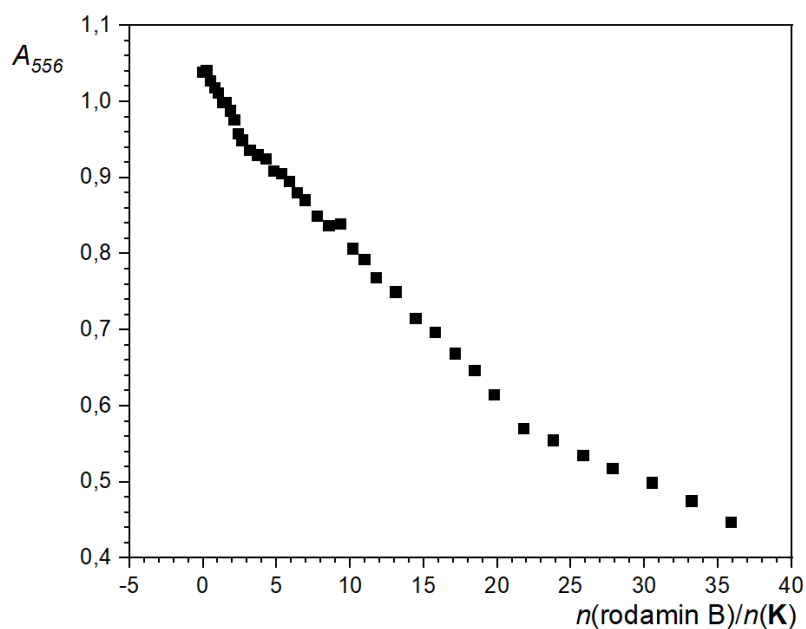
Slika 17. Ovisnost apsorbancije pri 444 nm o omjeru množina spoja **K** ($c_0 = 4,06 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) i auramina ($c_0 = 1,90 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) u smjesi otapala acetonitril/diklormetan ; $V_0 = 2,6 \text{ mL}$, sobna temperatura.

4.4. Spektrofotometrijska titracija rodamina B spojem K

Na Slici 18 vidi se kako apsorbancija raste na području od 520 do 600 nm što odgovara apsorbanciji rodamina B, a tijekom titracije uočava se i pojava nove vrpce s 5 maksimuma u području 300-450 nm koja je karakteristična za apsorpciju difenilantacena odnosno liganda **K**. Slično kao i u prethodnoj titraciji, i kod rodamina B dodatak otopine spoja **K** (Slika 19) uzrokuje promjene u apsorbanciji koje odstupaju od linearne ovisnosti o koncentraciji dodanog kaliksarena. Iako se može reći da dolazi do uspostave međumolekulskih interakcija između ova dva spoja, nažalost, obradom eksperimentalnih podataka nije bilo moguće izračunati konstantu stabilnosti kompleksa [**K**-rodamin].



Slika 18. Spektrofotometrijska titracija rodamina B ($c_0 = 6,02 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$) sa spojem **K** ($c_0 = 4,06 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) u smjesi otapala acetonitril/diklormetan; $V_0 = 2,515 \text{ mL}$, sobna temperatura.



Slika 19. Ovisnost apsorbancije pri 556 nm o omjeru množina spoja **K** ($c_0 = 4,06 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) i rodamina B ($c_0 = 6,02 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$) u smjesi acetonitrila i diklormetana; $V_0 = 2,515 \text{ mL}$, sobna temperatura.

5. ZAKLJUČAK

Ispitivano je kompleksimetrijsko vezanje miješanog difenilantracenskog i esterskog derivata kaliks[4]arena s odabranim organskim spojevima: auraminom O, rodaminom B, timokinonom i fluouresceinom.

Iz spektrofotometrijskih mjerenja pokazano je da se timokinon ne veže sa spojem **K** te ne dolazi do nastanka kompleksa. Za razliku od timokinona, pokazano je da auramin O i rodamin B stvaraju interakcije s ispitivanim kaliksarenom, međutim te su interakcije slabe i ne vode do nastanka stabilnog kompleksa. Jedino u slučaju fluouresceina uočen je nastanak relativno stabilnog kompleksa čija konstanta stabilnosti iznosi $\log (K_{\text{fK-flourescein}} / \text{mol dm}^{-3}) = 2,89 \pm 0,01$.

Razlika u vezanju ovih spojeva sa spojem **K** može se pripisati njihovoj različitoj strukturi (Slika 9). Naime, fluourescein je manja molekula u odnosu na auramin O i rodamin B, a također sadrži i NH skupinu koja može s karbonilnim kisikom spoja **K** tvoriti vodikovu vezu te dva aromatska prstena koji mogu doprinijeti stabilizaciji kompleksa putem π - π interakcija. Budući da je manja molekula, fluourescein se može prilagoditi veznom mjestu na način da ostvari veći broj stabilizirajućih interakcija što rezultira nastankom kompleksa. S druge strane, rodamin B, iako također posjeduje aromatski sustav koji s difenilantracenskom podjedinicom spoja **K** može stvarati π - π interakcije i OH skupinu koja bi mogla tvoriti vodikovu vezu s karbonilnim kisikom, ali on zbog svoje veličine ne može zauzeti pogodnu orijentaciju u veznom mjestu kako bi te interakcije rezultirale stvaranjem kompleksa. Slično vrijedi i za auramin O, međutim on, kao i timokinon, dodatno nema mogućnost stvaranja vodikove veze koja najviše doprinosi stabilizaciji kompleksa, zbog čega niti ne dolazi do njegovog stvaranja.

6. LITERATURA

1. C. D. Gutsche, *Calixarenes - An Introduction 2nd edition*, RSC publishing, Cambridge, UK, 2008, ISBN: 978-0-85404-258-6.
2. J. W. Steed, J. L. Atwood, *Supramolecular Chemistry 2nd Edition*, John Wiley & Sons Inc., Chichester, UK, 2013, ISBN: 978-1-118-68150-3.
3. J. W. Steed, D. R. Turner, K. J. Wallace, *Core Concepts in Supramolecular Chemistry and Nanochemistry*, John Wiley & Sons Inc., Chichester, UK, 2007, ISBN: 978-0-470-85866-0.
4. URL:[https://iscnagpur.ac.in/study_material/dept_chemistry/2.4_GMP_Inclusion_comp\(GMP\).pdf](https://iscnagpur.ac.in/study_material/dept_chemistry/2.4_GMP_Inclusion_comp(GMP).pdf) (datum pristupa: 18.9.2023.)
5. P. Jose, S. Menon, *Lower-Rim Substituted Calixarenes and Their Applications*, *Bioorg. Chem. Appl.*, 2007, doi: 10.1155/2007/65815
6. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1885865/> (datum pristupa: 18. 9. 2023.)
7. Y.-C. Pan, X.-Y. Hu, D.-S. Guo, *Biomedical applications of Calixarens: State of the art And Perspectives*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2021, 60, 2768, doi: 10.1002/anie.201916380
8. URL:[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_\(Physical_and_Theoretical_Chemistry\)/Kinetics/02%3A_Reaction_Rates/2.01%3A_Experimental_Determination_of_Kinetics/2.1.05%3A_Spectrophotometry](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Kinetics/02%3A_Reaction_Rates/2.01%3A_Experimental_Determination_of_Kinetics/2.1.05%3A_Spectrophotometry) (datum pristupa 18.9.2023.)
9. https://www.pmf.unizg.hr/_download/repository/Spektrofotometrija.pdf (datum pristupa 18.9. 2023.)