



Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
Kemijski odsjek

Karla Kukina Gradečak

**INTRINZIČNA FLUORESCENCIJA  
TERCIJARNOG AMIDNOG DERIVATA  
KALIKS[6]ARENA I NJEGOVO  
KOMPLEKSIRANJE ALKALIJSKIH I  
ZEMNOALKALIJSKIH KATIONA**

Zagreb, 2024.

Ovaj rad izrađen je u Zavodu za fizikalnu kemiju Kemijskog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom prof. dr. sc. Vladislava Tomišića i neposrednim voditeljstvom Katarine Leko, mag. chem. i predan je na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade Sveučilišta u Zagrebu u akademskoj godini 2023./2024.

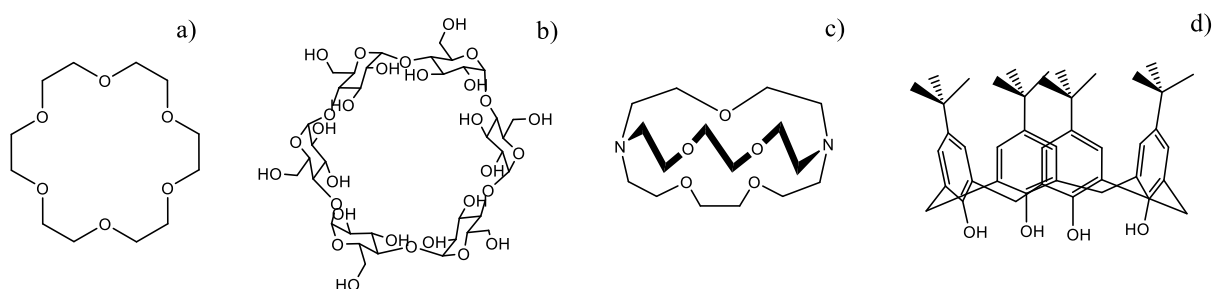
Rad je izrađen u okviru projekta Hrvatske zaklade za znanost pod nazivom Koordinacijske reakcije makrocikličkih liganada u otopini (IP-2019-04-9560, MacroSol, voditelj prof. dr. sc. Vladislav Tomišić).

# Sadržaj rada

<b>§ 1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
1.1. Cilj i opseg rada .....	4
<b>§ 2. LITERATURNI PREGLED .....</b>	<b>6</b>
2.1. Kaliksareni .....	6
2.2. Kaliksareni kao receptori kationa .....	7
2.2.1. Kompleksiranje kationa s ligandom L.....	8
2.3. Eksperimentalno određivanje konstanti stabilnosti kompleksa .....	9
2.3.1. Spektrofotometrija.....	10
2.3.2. Fluorimetrija.....	11
2.3.3. Izotermna titracijska kalorimetrija.....	12
2.3.4. Spektroskopija NMR .....	13
<b>§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO .....</b>	<b>15</b>
3.1. Materijali .....	15
3.2. Izotermna titracijska kalorimetrija .....	16
3.3. Spektrofotometrija.....	16
3.4. Fluorimetrija .....	16
3.5. Spektroskopija NMR .....	17
<b>§ 4. REZULTATI I RASPRAVA .....</b>	<b>18</b>
4.1. Intrinzična fluorescencija liganda L u acetonitrilu .....	18
4.2. Kompleksiranje alkalijskih kationa s ligandom L u acetonitrilu .....	21
4.3. Kompleksiranje zemnoalkalijskih kationa s ligandom L .....	30
<b>§ 5. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>41</b>
<b>§ 6. LITERATURNI IZVORI.....</b>	<b>44</b>
<b>SAŽETAK.....</b>	<b>48</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>49</b>
<b>ŽIVOTOPIS.....</b>	<b>50</b>

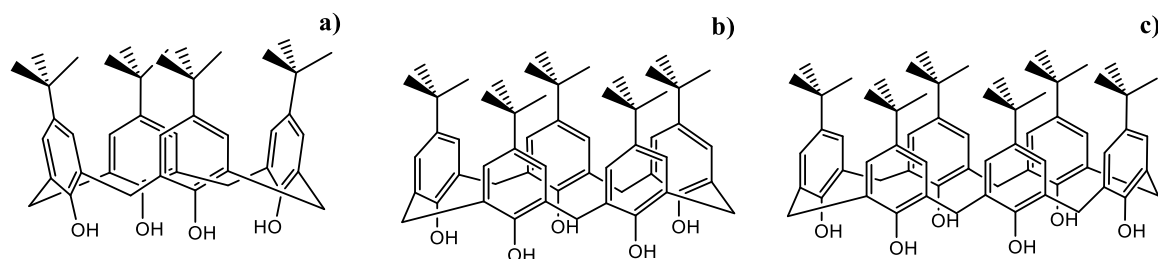
## § 1. UVOD

Supramolekulska kemija je grana kemije koja proučava sustave složenije od molekula u kojima su podjedinice povezane nekovalentnim interakcijama.<sup>1</sup> Važan dio znanstvenih istraživanja u okviru te grane u cilju ima dizajn i sintezu receptora (liganada) koji će efikasno ili čak selektivno vezati goste, odnosno kemijske vrste poput molekula i iona,<sup>2,3</sup> a potaknuta su molekulskim interakcijama u biološkim procesima. Na stabilnost supramolekulskih kompleksa utječu strukture receptora i gosta, prisutnost funkcijskih skupina koje ostvaruju interakcije, kompatibilnost veličina veznog mjesta receptora i gosta, solvatacija reaktanata i produkata te uobičajeni faktori poput temperature, ionske jakosti i slično. Najčešće istraživani makrociklički receptori su ciklodekstrini, kukurbiturili, ciklopeptidi, krunasti eteri, kriptandi te kaliksareni (**Slika 1**).

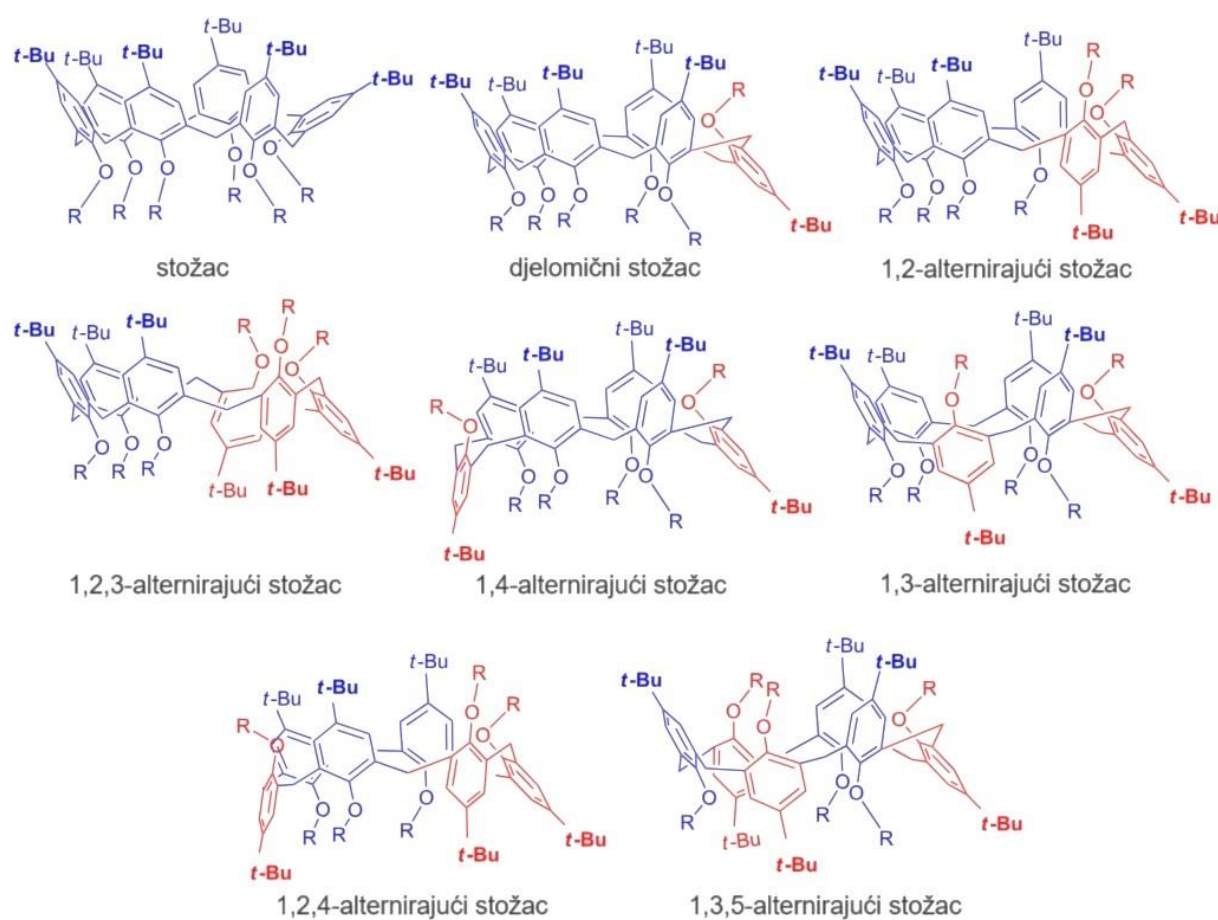


**Slika 1.** Supramolekulski receptori: a) krunasti eter, b) ciklodekstrin, c) kriptand, d) kaliksaren.

Kaliks[ $n$ ]areni su makrociklički receptori koji se sastoje od  $n$  fenolnih podjedinica povezanih metilenskim mostovima,<sup>4</sup> pri čemu su najčešći predstavnici oni s 4, 6 i 8 podjedinica (**Slika 2**). S obzirom na velik broj derivata tih spojeva što dovodi do raznolikih receptorskih svojstava, oni nalaze primjenu u raznim područjima poput medicine,<sup>5–8</sup> kemije materijala,<sup>9,10</sup> katalize,<sup>11,12</sup> farmacije<sup>13,14</sup> i u mnogim drugim. Ovisno o broju podjedinica, u otopini se mogu nalaziti u više konformacija.<sup>4</sup> Moguće konformacije kaliks[6]arena prikazane su na **Slika 3**.<sup>15</sup>



**Slika 2.** Strukturene formule a) *p*-tert-butilkaliks[4]arena, b) *p*-tert-butilkaliks[6]arena i c) *p*-tert-butilkaliks[8]arena.



**Slika 3.** Moguće konformacije kaliks[6]arena.<sup>15</sup> Slika je preuzeta i prilagođena prema referenci 16.

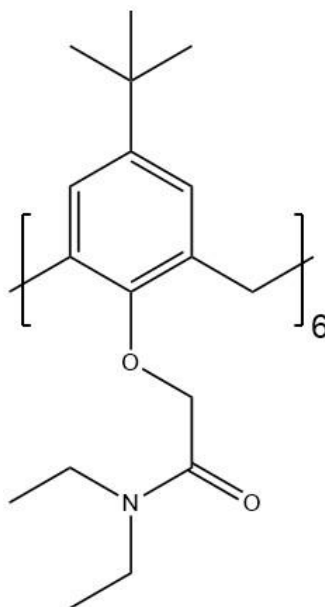
Specifičnu strukturu kaliksarena karakterizira široki gornji i uski donji obod te hidrofobna šupljina. Budući da nesupstituirani kaliksareni imaju slaba receptorska svojstva, uvođenjem raznih funkcionalnih skupina na kaliksarenske obode moguće je prirediti receptore za kationske, anionske i/ili neutralne kemijske vrste. Od velikog broja u literaturi poznatih derivata

kaliksarena, oni koji na donjem obodu imaju ketonske, esterske, amidne, ali i druge elektron-donirajuće skupine, tvore komplekse s kationima metala.<sup>17–23</sup> Oni koji u strukturi imaju atome kisika kao nukleofile vrlo dobro vežu tvrde katione, poput alkalijskih i zemnoalkalijskih, dok prisustvo sumpora kao elektron-donora dovodi do povećanog afiniteta kaliksarena prema mekšim kationima, poput onih prijelaznih i teških metala.<sup>21,24,25</sup> Dodatno su kod takvih molekula na gornjem obodu najčešće prisutne veće alifatske skupine, npr. *tert*-butilne, koje sterički ometaju rotaciju fenolnih podjedinica kaliksarena oko ravnine koju određuju metilenski mostovi.<sup>4</sup>

Osim prisutnih funkcijskih skupina, na afinitet prema kationima utječe i broj podjedinica kaliks[*n*]arena, odnosno veličina veznog mjesta. Tako kaliks[4]areni najbolje vežu manje alkalijske katione poput Li<sup>+</sup> i Na<sup>+</sup>, dok je afinitet kaliks[6]arena veći prema kationima većeg radijusa poput Rb<sup>+</sup> i Cs<sup>+</sup>.<sup>20,26,27</sup> Na konstantu stabilnosti kompleksa te na termodinamičke parametre reakcija kompleksiranja utječe i otapalo u kojem se događa reakcija. Ovisno o tome kako otapalo solvatira reaktante, odnosno produkte reakcije, termodinamički parametri kompleksiranja mogu se bitno razlikovati ovisno o mediju u kojem se reakcija zbiva.<sup>18,21,22,27–29</sup> Također, osim što solvatiraju otopljene kemijske vrste, molekule otapala se mogu i inkludirati u hidrofobnu šupljinu liganda i njegova kompleksa.<sup>17,23,30–34</sup>

S obzirom na mogućnost derivatizacije kaliksarena, čime se bitno može povećati njihov afinitet prema ionima, kaliksareni se sve više istražuju kao kemosenzori za detekciju određenih iona, ali i drugih kemijskih vrsta u otopini. Budući da se analit ponekad treba detektirati pri vrlo niskim koncentracijama, kao pogodna metoda koristi se fluorimetrija koja, zbog svoje osjetljivosti, omogućuje detektiranje kemijskih vrsta pri dva do tri reda veličine nižim koncentracijama nego, primjerice, spektrofotometrija. Za fluorimetrijsko određivanje iona u otopini potrebno je da kemosenzor u strukturi ima prisutan ionofor koji ostvaruje povoljne interakcije s ionom te fluorofor čija se fizikalna svojstva mijenjaju vezanjem kationa ili aniona. Ionofori u kationskim kaliksarenskim kemosenzorima su već spomenute elektron-donirajuće skupine koje sadrže atome kisika, dušika, sumpora i sl., dok se u svrhu fluorimetrijskog određivanja prisustva iona u strukturu kaliksarena uvode fluorofori, poput antracena, naftalena, fenantridina, triptofana, danzilne i kvinolinske skupine.<sup>35–38</sup> Ukoliko fluorofor sadrži atome poput dušika i drugih nukleofila, on ujedno može biti i ionofor, odnosno ostvarivati povoljne interakcije s vezanim kationom. U znanstvenoj zajednici dugo se vremena smatralo da kaliksareni ne posjeduju svojstvo intrinzične fluorescencije te da je nužan preduvjet za pripravu

fluorescentnih receptora uvođenje već spomenutih fluorofora. To potvrđuje citat: „Because the calixarenes are not fluorescent, they cannot be used as luminescent materials without introducing a luminescent center.“ iz vrlo utjecajne monografije; P. Neri, J. L. Sessler, M.-X. Wang, ur., *Calixarenes and Beyond*, Springer International Publishing, Cham, 2016.<sup>39</sup> Ipak, u Zavodu za fizikalnu kemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu nedavno je otkriveno da jedan derivat kaliksarena posjeduje intrinzično svojstvo fluorescencije pa se pojavila potreba da se ispita potencijalna intrinzična fluorescencija drugih derivata kaliksarena. U tu svrhu sintetiziran je ligand **L** (Slika 4) koji je, kao tercijarni amidni derivat kaliks[6]arena potencijalno dobar receptor kationa. Nadalje, u literaturi su najzastupljenija istraživanja koja se odnose na kaliks[4]arene, dok su kompleksacijska svojstva većih makrocikala slabije istražena pa je i s te strane zanimljivo proučiti receptorska svojstva spoja **L**.



**Slika 4.** Struktura tercijarnog amidnog derivata kaliks[6]arena **L**.

## 1.1. Cilj i opseg rada

Cilj ovog rada bio je istražiti potencijalnu intrinzičnu fluorescenciju liganda **L** te termodinamiku njegova kompleksiranja alkalijskih i zemnoalkalijskih kationa u acetonitrilu. Termodinamički parametri reakcija kompleksiranja određeni su spektrofotometrijski, mikrokalorimetrijski te fluorimetrijski, a korištena je i spektroskopija nuklearne magnetske rezonancije. Rezultati fluorimetrijskih istraživanja ukazali su na svojstvo intrinzične

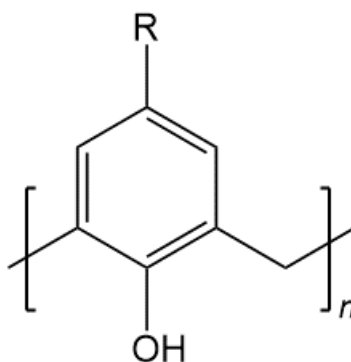
fluorescencije liganda **L** i na njezinu značajnu promjenu uslijed vezanja kationa. Konstante stabilnosti kompleksa određene trima spomenutim metodama detaljno su diskutirane s obzirom na strukturne značajke receptora i svojstva kationa (radijus, naboj) te utjecaj solvatacije na ishod istraženih reakcija.



## § 2. LITERATURNI PREGLED

### 2.1. Kaliksareni

Kao što je navedeno u Uvodu, kaliks[ $n$ ]areni su makrociklički receptori koji se sastoje od  $n$  fenolnih podjedinica povezanih metilenskim mostovima u *ortho* položaju. Nastaju kondenzacijom *p-tert*-butilfenola i formaldehida, a svojom strukturom podsjećaju na pehar zbog čega su nazvani kaliksarenima (lat. *calix* – pehar).<sup>4</sup> Sinteza kaliksarena s parnim brojem podjedinica ( $n = 4, 6, 8$ ) je optimizirana i vrlo dobro istražena, dok je nešto teže sintetizirati kaliks[ $n$ ]arene s neparnim i većim brojem fenolnih podjedinica.<sup>4</sup> Iz tog su razloga kaliks[ $n$ ]areni za koje vrijedi  $n = 4, 6, 8$  više istraženi od drugih kaliksarenskih spojeva.



**Slika 5.** Općenita struktura kaliks[ $n$ ]arena.

Općenita struktura kaliksarena prikazana je na Slika 5. Hidroksilne skupine fenolnih podjedinica mogu se povezivati intramolekulskim vodikovim vezama čime nastaje donji obod koji je uži i gornji koji je širi.<sup>40-42</sup> Ipak, kaliksareni nisu statični u otopinama – moguća je rotacija oko ravnine koju čine metilenski mostovi pa tako razlikujemo četiri glavne konformacije kaliks[4]arena, dok je broj mogućih konformacija kaliks[6]arena, razumljivo, veći (**Slika 3**).<sup>4</sup> Rotacija fenolnih podjedinica može se spriječiti funkcionalizacijom hidroksilnih skupina kaliksarena, odnosno, uvođenjem velikih skupina na donji, ali i na gornji obod. Ipak, s obzirom na veći broj podjedinica kaliks[6]arena, a samim time i veću konformacijsku slobodu, izvrtanje kaliks[6]arena se teško može spriječiti uvođenjem voluminoznih skupina na obode receptora. Rezultati istraživanja Gutschea i sur.<sup>43</sup> ukazala su na to da se izvrtanje fenolnih podjedinica kaliks[6]arena događa prolaskom (derivatiziranih)

hidroksilnih skupina na donjem obodu kroz šupljinu, osim u slučaju velikih, glomaznih skupina na donjem obodu kad do izvrtnja dolazi prolaskom *para*-supstituenata.

## 2.2. Kaliksareni kao receptori kationa

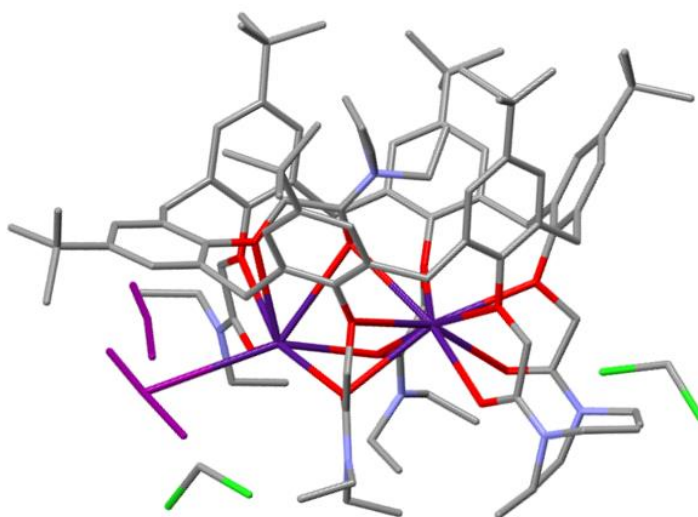
U prethodnom poglavlju spomenuta je funkcionalizacija hidroksilnih skupina fenolnih podjedinica u svrhu „zaključavanja“ konformacije kaliks[4]arena. Osim u tu svrhu, hidroksilne skupine se funkcionaliziraju i da bi se dobili bolji kationski receptori. Naime, s obzirom na to da su hidroksilne skupine loši elektron-donori te na nastanak intramolekulskih vodikovih veza,<sup>42</sup> one vrlo loše vežu katione pa se u svrhu pripreme kaliksarenskih kationskih receptora na donji obod uvode dobre elektron-donorske skupine poput esterskih, ketonskih i amidnih.<sup>26,44,45</sup> Tercijarni amidni derivati kaliksarena istaknuti su kao iznimno dobri receptori kationa dok je afinitet analognih sekundarnih amidnih derivata znatno manji.<sup>46-48</sup> Razlog tome su intramolekulske vodikove veze između sekundarnih amidnih skupina koje moraju puknuti da bi se elektron-donorske skupine optimalno orijentirale prema veznom mjestu za katione.<sup>18,49</sup>

Osim vrste elektron-donorskih skupina na donjem obodu, na afinitet kaliksarena prema kationima utječu razni faktori poput otapala, pH otopine u slučaju skupina koje se mogu (de)protonirati,<sup>42</sup> ali i broj fenolnih podjedinica. Tako zbog veličine veznog mjesta, kao što je prethodno navedeno, kaliks[4]areni preferabilno vežu manje katione poput  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$  i  $\text{K}^+$ , dok kaliks[6]areni pokazuju veći afinitet prema kationima većeg promjera poput  $\text{Rb}^+$  i  $\text{Cs}^+$ .<sup>20,26,27</sup> Vezanju kationa na vezno mjesto kaliksarena prethodi njegova desolvatacija, ali i ona kationa, što često bitno utječe na termodinamičke parametre reakcije kompleksiranja. S obzirom na to da mali kationi poput  $\text{Li}^+$  i  $\text{Mg}^{2+}$  imaju veliku gustoću naboja (omjer naboja i radijusa), oni vrlo dobro organiziraju otapalo u solvacijskim sferama zbog čega je desolvatacija izuzetno endoterman proces, ali i entropijski povoljan.<sup>50</sup> Zbog izrazito povoljnog entropijskog doprinosa reakcijskoj Gibbsovoj energiji, vezanje  $\text{Li}^+$  s kaliks[4]arenima ponekad je okarakterizirano većom konstantom stabilnosti nastalog kompleksa od one za kompleks s  $\text{Na}^+$  koji svojom veličinom više odgovara veznom mjestu kaliks[4]arena.<sup>20,51</sup> Također, na termodinamiku reakcija kompleksiranja kationa bitno utječe i solvatacija liganda, odnosno nastalog kompleksa. Ukoliko otapalo slabije solvatira nastali kompleks, on će biti manje termodinamički stabilan. S obzirom na opisan utjecaj (de)solvatacije kationa, liganda i kompleksa na reakcije kompleksiranja, afinitet kaliksarena prema različitim kationima može se bitno razlikovati

ovisno o korištenom otapalu.<sup>18,21,22,27,29,46,51</sup> Nadalje, inkluzija otapala u kaliksarensku šupljinu također može znatno utjecati na parametre reakcija vezanja kationa.<sup>17,23,30–34</sup>

### 2.2.1. Kompleksiranje kationa s ligandom **L**

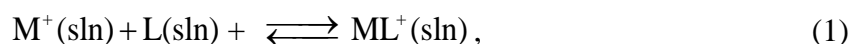
U literaturi je opisano nekoliko istraživanja kompleksiranja kationa s ligandom **L**, pri čemu je većina tih istraživanja provedena u otapalima poput kloroforma, metanola i miješanim otapalima, a sustavno termodinamičko istraživanje kompleksiranja kationa s tim spojem u acetonitrilu nije provedeno. Casnati i sur.<sup>52</sup> istražili su kompleksiranje gvanidinijevog, natrijevog i kalijevog kationa u kloroformu te su pritom primijetili da ligand **L** s alkalijskim kationima tvori kompleks stehiometrije 1 : 2 (**L** :  $M^+$ ) ( $M^+ = Na^+, K^+$ ). Na temelju  $^1H$  NMR spektara kompleksa s alkalijskim kationima zaključili su da je, u kompleksu  $Na_2L^{2+}$  ligand **L** u konformaciji stošca, dok je spektar kompleksa  $K_2L^{2+}$  složeniji što isključuje konformaciju stošca kao moguću. Komplekse viših stehiometrija primijetili su i de Namor i sur.<sup>27</sup> s magnezijevim kationom u metanolu te grupa C. Detelliera<sup>53</sup> sa cezijevim kationom u miješanom otapalu kloroform/acetonitril. Struktura kompleksa  $Cs_2L^{2+}$  određena na temelju kristalografskih podataka prikazana je na **Slika 6**. Konačno, rezultati istraživanja Bakić i sur.<sup>54</sup> ukazala su na to da ligand **L** tvori izrazito stabilne komplekse stehiometrije 1 : 1 s lantanoidnim kationima u acetonitrilu.



**Slika 6.** Struktura kompleksa  $Cs_2L^{2+}$  u čvrstom stanju.<sup>53</sup> (sivo – ugljik, crveno – kisik, plavo – dušik, ljubičasto – cezij, ružičasto – jod, zeleno – klor).

### 2.3. Eksperimentalno određivanje konstanti stabilnosti kompleksa<sup>55-57</sup>

Istraživanje afiniteta jedne vrste prema drugoj, pa tako i kaliksarena prema kationima, temelji se na određivanju termodinamičkih parametara odgovarajućih reakcija kompleksiranja. U slučaju nastanka kompleksa liganda L i kationa  $M^+$  stehiometrije 1 : 1, reakcija kompleksiranja može se iskazati na sljedeći način:



a pripadna standardna konstanta stabilnosti takvog kompleksa dana je sljedećim izrazom:

$$K^\circ = \prod_i a_i^{v_i} = \frac{a(ML^+)}{a(L) \cdot a(M^+)} = \frac{[ML^+]}{[L] \cdot [M^+]} \cdot \frac{\gamma_{ML^+}}{\gamma_L \cdot \gamma_{M^+}} \cdot c^\circ \quad (2)$$

gdje su  $\gamma_i$  koeficijenti aktiviteta pojedinih vrsta, a  $c^\circ = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ . Ako se uzme u obzir da su otopine razrijeđene, ligand L neutralna vrsta te da su koeficijenti aktiviteta nabijenih vrsta ( $M^+$  i  $ML^+$ ) približno jednaki, standardna konstanta ravnoteže može se zapisati kao:

$$K^\circ \approx \frac{[ML^+]}{[L] \cdot [M^+]} c^\circ = K_c \cdot c^\circ \quad (3)$$

pa se njezino određivanje svodi na određivanje koncentracijske konstante stabilnosti kompleksa ( $K_c$ ). Ako se u izraz (3) uvrste bilance mase:

$$c_{M^+} = [M^+] + [ML^+], \quad (4)$$

$$c_L = [L] + [ML^+] \quad (5)$$

gdje su  $c_{M^+}$  i  $c_L$  analitičke koncentracije kationa i liganda, koncentracijska konstanta ravnoteže kompleksiranja kationa  $M^+$  s ligandom L može se zapisati kao:

$$K_c = \frac{[ML^+]}{(c_L - [ML^+]) \cdot (c_{M^+} - [ML^+])}. \quad (6)$$

Budući da izravno mjerenje ravnotežnih koncentracija nije moguće, do željenih podataka dolazi se mjerenjem neke fizikalne veličine koja ovisi o koncentraciji. U svrhu određivanja konstante stabilnosti nastalog kompleksa provode se titracijski eksperimenti u kojima se prati ovisnost te fizikalne veličine o sastavu. Eksperimentalni podaci titracijskih eksperimenata obrađuju se nelinearnom regresijskom analizom temeljenom na bilanci mase i poznatoj stehiometriji kompleksa iz čega se dolazi do podatka o konstanti stabilnosti nastalog kompleksa.

Ovisno o tome koja se fizikalna veličina prati, razlikujemo nekoliko metoda određivanja konstanti stabilnosti kompleksa. Tako se, primjerice, spektrofotometrijom prati apsorbancija sustava, fluorimetrijom intenzitet fluorescencije, konduktometrijom provodnost, spektroskopijom nuklearne magnetske rezonancije kemijski pomak jezgara, a kalorimetrijom izmijenjena toplina između sustava i okoline kao posljedica kemijske reakcije.

Eksperimentalne metode korištene u ovom radu su spektrofotometrija, fluorimetrija, izotermna titracijska kalorimetrija i spektroskopija NMR pa će one biti pobliže opisane u sljedećim poglavljima.

### 2.3.1. Spektrofotometrija

Spektrofotometrija je metoda kojom se prati interakcija sustava s upadnim elektromagnetskim zračenjem u ultraljubičastom i vidljivom području valnih duljina. Točnije, prati se pad intenziteta zrake nakon prolaska kroz otopinu koja se nalazi u kvarcnoj kiveti propusnoj za elektromagnetsko zračenje u UV-Vis području. Transmitancija ( $T$ ) i apsorbancija ( $A$ ) su fizikalne veličine povezane sljedećim matematičkim izrazima:

$$T = \frac{I}{I_0}, \quad (7)$$

$$A = -\log T = -\log \frac{I}{I_0}. \quad (8)$$

Apsorbancija je fizikalna veličina koja proporcionalno ovisi o koncentraciji vrste koja apsorbira elektromagnetsko zračenje, a takva ovisnost dana je Beer-Lambertovim zakonom koji se izražava na sljedeći način:

$$A(\lambda) = l \cdot \sum_i \varepsilon_i(\lambda) \cdot c_i \quad (9)$$

gdje je  $l$  duljina kivete,  $\varepsilon_i(\lambda)$  molarni apsorpcijski koeficijent pri valnoj duljini  $\lambda$ , a  $c_i$  koncentracija pojedine vrste u otopini. U slučaju kompleksiranja kationa  $M^+$  s kaliksarenskim receptorom  $L$ , spektralno aktivne vrste ( $\varepsilon \neq 0$ ) su  $L$  i  $ML^+$ . Uzimajući u obzir izraz (1) i (9) vrijedi sljedeći zapis:

$$a(\lambda) = \frac{A(\lambda)}{l} = \varepsilon_L(\lambda) \cdot [L] + \varepsilon_{ML^+}(\lambda) \cdot [ML^+], \quad (10)$$

odnosno:

$$a(\lambda) = \frac{A(\lambda)}{l} = \varepsilon_L(\lambda) \cdot c_L - (\varepsilon_L(\lambda) - \varepsilon_{ML^+}(\lambda)) \cdot [ML^+]. \quad (11)$$

Kad se ravnotežna koncentracija vrste  $ML^+$  izluči iz izraza (6) i uvrsti u izraz (11) dobije se jednačba koja opisuje kako  $a(\lambda)$  ovisi o analitičkim koncentracijama  $ML^+$  i  $M^+$  uz  $K_c$  i  $\varepsilon_i$  kao konstante:

$$a(\lambda) = \varepsilon_L(\lambda) \cdot c_L - (\varepsilon_L(\lambda) - \varepsilon_{ML^+}(\lambda)) \cdot \frac{c_L + c_{M^+} + \frac{1}{K_c} - \sqrt{(c_L + c_{M^+} + \frac{1}{K_c})^2 - 4c_L c_{M^+}}}{2}. \quad (12)$$

Nelinearnom regresijskom analizom ovisnosti  $a$  o analitičkim koncentracijama  $ML^+$  i  $M^+$  dolazi se do vrijednosti koncentracijske konstante ravnoteže i molarnih apsorpcijskih koeficijenta spektralno aktivnih tvari.

Kako bi se konstanta stabilnosti odredila sa što većom točnošću, koriste se napredniji računalni programi koji za utočnjavanje konstante stabilnosti koriste tzv. multivarijantnu analizu podataka u kojoj se u obzir uzima čitav spektar valnih duljina elektromagnetskog zračenja. Ipak, spektrofotometrija kao metoda ima svoja ograničenja. Jedno od njih je da karakteristični spektri spektralno aktivnih vrsta (u ovom slučaju  $L$  i  $ML^+$ ) ne smiju biti preslični, odnosno da mora postojati valna duljina pri kojoj ne vrijedi  $\varepsilon_L \approx \varepsilon_{ML^+}$ . Također, ukoliko za konstantu stabilnosti nastalog kompleksa vrijedi  $\log K_c \gtrsim 5$  tad se ona ne može pouzdano odrediti pa je potrebno koristiti neku drugu, osjetljiviju eksperimentalnu metodu.

### 2.3.2. Fluorimetrija

Fluorimetrija je metoda kojom se prati emisija zračenja nekog uzorka po pobudi pri određenoj valnoj duljini elektromagnetskog zračenja. Iz tog je razloga detektor intenziteta elektromagnetskog zračenja pod kutom od  $90^\circ$  u odnosu na upadnu zraku. S obzirom na to da se intenzitet elektromagnetskog zračenja mjeri izravno, a ne relativno kao u spektrofotometriji, moguće je detektirati vrlo niske vrijednosti intenziteta fluorescencije što omogućuje provedbu titracijskih eksperimenata pri nižim koncentracijama. Ta prednost fluorimetrije vrlo je bitna u slučaju niskih topljivosti ili male dostupnosti spojeva, no također omogućuje i pouzdano određivanje većih konstanta stabilnosti kompleksa ( $\log K_c \lesssim 7$ ). Ipak, kod fluorimetrijskih istraživanja bitno je naći uvjete u kojima ne dolazi do značajne fotodegradacije spojeva u uzorku prilikom pobude elektromagnetskim zračenjem te područje u kojem intenzitet fluorescencije linearno ovisi o koncentraciji fluorescirajuće vrste. Naime, budući da pri višim

koncentracijama spektralno aktivnih vrsta u uzorku dolazi do značajnije apsorpcije zračenja, moguće je uočiti odstupanje od linearnosti u ovisnosti intenziteta fluorescencije i koncentracije fluorescirajuće vrste. U tom se slučaju fluorimetrijska istraživanja moraju provoditi u području koncentracija gdje vrijedi linearna ovisnost  $F(c)$ .

Kao i u slučaju apsorpcije, intenzitet fluorescencije ( $F$ ) također proporcionalno ovisi o koncentraciji fluorescirajuće vrste, a navedena ovisnost dana je izrazom:

$$F = I_0 \phi \varepsilon_X l [X] \quad (13)$$

gdje je  $I_0$  intenzitet upadnog zračenja,  $\phi$  kvantno iskorištenje fluorescencije (omjer broja molekula koje fluoresciraju i ukupnog broja pobuđenih molekula),  $\varepsilon_X$  molarni apsorpcijski koeficijent fluorescirajuće vrste  $X$ , a  $l$  duljina optičkog puta. Ako su jedine fluorescirajuće vrste  $L$  i  $ML^+$  tad izraz za intenzitet fluorescencije glasi:

$$f = \frac{F}{l} = I_0 [\phi \varepsilon_L c_L - (\phi \varepsilon_L - \phi \varepsilon_{ML^+}) \cdot \frac{c_L + c_{M^+} + \frac{1}{K_c} - \sqrt{(c_L + c_{M^+} + \frac{1}{K_c})^2 - 4c_L c_{M^+}}}{2}]. \quad (14)$$

Kao i u slučaju spektrofotometrije, do vrijednosti konstante stabilnosti kompleksa dolazi se upotrebom metode multivarijantne analize podataka.

### 2.3.3. Izotermna titracijska kalorimetrija

Izotermna titracijska kalorimetrija je metoda koja kvantificira izmijenjenu toplinu tijekom kemijske reakcije po dodatku titransa u titrand pri konstantnom tlaku i temperaturi. Pri takvim uvjetima je izmijenjena toplina jednaka promjeni entalpije sustava, a ona je funkcija dosega kemijske reakcije pa vrijedi sljedeći izraz:

$$q_p = \Delta H = \Delta_r H \cdot \Delta \xi. \quad (15)$$

Promjena dosega definirana je koncentracijom nastalog kompleksa  $ML^+$  i volumenom ćelije kalorimetra preko izraza:

$$\Delta \xi = [ML^+] \cdot V_{\text{cell}}. \quad (16)$$

Uzimajući u obzir izraze (4) i (5) za bilance mase, doseg reakcije može se zapisati kao:

$$\Delta \xi = \frac{c_L + c_{M^+} + \frac{1}{K_c} - \sqrt{(c_L + c_{M^+} + \frac{1}{K_c})^2 - 4c_L c_{M^+}}}{2} \cdot V_{\text{cell}}, \quad (17)$$

a za kumulativne promjene entalpije tad su jednake:

$$\Delta H = \Delta_r H \cdot \frac{c_L + c_{M^+} + \frac{1}{K_c} - \sqrt{(c_L + c_{M^+} + \frac{1}{K_c})^2 - 4c_L c_{M^+}}}{2} \cdot V_{\text{cell}} \quad (18)$$

Ipak, umjesto kumulativnih, najčešće se koriste sukcesivne promjene entalpije gdje se prati promjena entalpije od jednog dodatka do drugog. Za sukcesivne promjene entalpije vrijedi sljedeća jednakost:

$$\Delta(\Delta H) = \Delta H_{n+1} - \Delta H_n = \Delta_r H \cdot (\Delta \xi_{n+1} - \Delta \xi_n) \quad (19)$$

gdje su  $\Delta \xi_{n+1}$  i  $\Delta \xi_n$  dosezi  $(n+1)$ -og i  $n$ -tog dodatka. Osim titracijskog eksperimenta u kojem je titrans sol kationa od interesa, a titrand otopina liganda L, provodi se i eksperiment razrjeđenja titransa u otapalo te se toplinski efekti reakcije liganda L i soli korigiraju za one dobivene u eksperimentu razrjeđenja.

Glavna prednost izotermne titracijske kalorimetrije nad ostalim opisanim metodama jest ta da je iz jednog eksperimenta (uz eksperiment razrjeđenja) moguće odrediti konstantu stabilnosti kompleksa, odnosno reakcijsku Gibbsovu energiju, entalpiju te entropiju dok je za određivanje tih termodinamičkih parametara pomoću drugih metoda potrebno provoditi eksperimente pri više različitih temperatura. Ipak, termodinamički parametri kompleksiranja ne mogu se pouzdano odrediti ukoliko je reakcija izoentalpijska, odnosno vrijedi  $\Delta_r H \approx 0$  te ako je konstanta stabilnosti nastalog kompleksa prevelika, točnije  $\log K_c \gtrsim 6$ . U potonjem se slučaju može odrediti samo reakcijska entalpija kompleksiranja.

#### 2.3.4. Spektroskopija NMR

Jedna od univerzalno korištenih metoda određivanja konstanti stabilnosti kompleksa je spektroskopija nuklearne magnetske rezonancije. Najčešće se koriste  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  eksperimentalne tehnike gdje se prati rezonantna frekvencija pojedinih jezgara. S obzirom na to da rezonantna frekvencija jezgre ovisi o njezinom kemijskom okruženju, vezanjem kationa u vezno mjesto liganda L dolazi do promjene kemijskog pomaka promatrane jezgre. Ipak, izgled spektra uzorka u kojem su prisutne vrste L i  $\text{ML}^+$  ovisi o brzini nastanka i disocijacije kompleksa. Naime, iako se u stanju ravnoteže makroskopski ne opažaju promjene u sustavu, na mikroskopskoj razini dolazi do nastanka i disocijacije kompleksa pa se stoga za ravnotežu kaže da je dinamička. Ukoliko je brzina nastanka i disocijacije kompleksa manja nego vremenska skala snimanja NMR spektara tad se u spektru uočavaju kemijski signali liganda L i kompleksa  $\text{ML}^+$ , a omjer



integrala kemijskih signala pojedinih jezgara povezan je s ravnotežnom koncentracijom vrste u uzorku. Ipak, ukoliko je brzina izmjene veća nego vremenska skala snimanja NMR spektara, tad se u spektru uzorka u ravnoteži opaža uprosječen signal. Kemijski pomak uprosječenog signala može se izraziti kao:

$$\delta_{\text{obs}} = \delta_{\text{L}} \cdot x_{\text{L}} + \delta_{\text{ML}^+} \cdot x_{\text{ML}^+} \quad (20)$$

gdje je  $\delta_{\text{obs}}$  opaženi kemijski pomak,  $\delta_{\text{L}}$  i  $\delta_{\text{ML}^+}$  kemijski pomaci slobodnog gosta, odnosno kompleksa, a  $x_{\text{L}}$  i  $x_{\text{ML}^+}$  njihovi množinski udjeli. Najveća promjena pomaka kemijskog signala jest kad je ligand L potpuno zasićen kationom  $\text{M}^+$ , odnosno prisutan je samo u obliku  $\text{ML}^+$  pa vrijedi:

$$\Delta\delta_{\text{max}} = \delta_{\text{L}} - \delta_{\text{ML}^+} \quad (21)$$

Ako se promjena kemijskog signala iz izraza (20) poveže s izrazom za koncentracijsku konstantu ravnoteže (3) dobije se sljedeći izraz:

$$\Delta\delta = \frac{\Delta\delta_{\text{max}} \cdot K_c \cdot [\text{M}^+]}{1 + K_c \cdot [\text{M}^+]} \quad (22)$$

iz kojeg se metodama nelinearne regresijske analize dolazi do podatka o konstanti stabilnosti kompleksa  $\text{ML}^+$ .

Iako je spektroskopija NMR univerzalno upotrebljiva metoda, ona također ima određena ograničenja. Kako bi se konstanta stabilnosti kompleksa mogla odrediti ovom spektroskopskom metodom, kemijski pomaci jezgara kompleksa  $\text{ML}^+$  i L moraju se značajnije razlikovati te za konstantu stabilnosti kompleksa  $\text{ML}^+$  mora vrijediti  $\log K_c \lesssim 4$ .

## § 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. Materijali

U svrhu izrade ovog rada, korišten je derivat kalik[6]arena **L** koji je sintetizirao doc. dr. sc. Nikola Cindro u Zavodu za organsku kemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu te sljedeće soli za pripremu otopina kationa: litijev perklorat (Sigma-Aldrich, 99,99 %), natrijev perklorat (Sigma-Aldrich,  $\geq 98$  %), kalijev perklorat (Fluka,  $\geq 99,0$  %), rubidijev tetrafenilborat (Sigma-Aldrich, 95 %), cezijev jodid (Merck, 99,5 %), magnezijev perklorat heksahidrat (Sigma-Aldrich 99,99 %), kalcijev perklorat tetrahidrat (Sigma-Aldrich, 99%), stroncijev perklorat trihidrat (Merck, *p.a.*) i barijev perklorat (Merck, Sigma-Aldrich). Za pripremu otopina najčešće su korištene soli gdje je protuion bio perklorat zbog inertnosti tog aniona s obzirom na ionsko sparivanje. U slučaju gdje perkloratna sol nije bila dovoljno topljiva, korištena je sol s drugim protuionom (jodid, tetrafenilborat). Kao otapalo korišten je acetonitril (Sigma-Aldrich,  $\geq 99,0$  %), a za NMR analize deuterirani acetonitril (Eurisotop,  $\geq 99,8$  %). Otopine su pripravljene direktnim otapanjem odvaganih krutina u acetonitrilu.

Za mikrokolorimetrijske titracije liganda **L** s kationima alkalijskih i zemnoalkalijskih metala u acetonitrilu korištene su otopine liganda u koncentracijskom rasponu od  $9,7 \times 10^{-5}$  mol dm<sup>-3</sup> do  $2,0 \times 10^{-4}$  mol dm<sup>-3</sup> i otopine soli koncentracijskog raspona od  $9,00 \times 10^{-4}$  mol dm<sup>-3</sup> do  $4,74 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup>.

Za spektrofotometrijske titracije korištene su otopine liganda u koncentracijskom rasponu od  $1,0 \times 10^{-4}$  mol dm<sup>-3</sup> do  $2,0 \times 10^{-4}$  mol dm<sup>-3</sup> i otopine soli koncentracijskog raspona od  $1,91 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup> do  $2,43 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup>.

Za fluorimetrijske korištene su otopine liganda u koncentracijskom rasponu od  $1,2 \times 10^{-5}$  mol dm<sup>-3</sup> do  $1,3 \times 10^{-4}$  mol dm<sup>-3</sup> i otopine soli koncentracijskog raspona od  $4,80 \times 10^{-5}$  mol dm<sup>-3</sup> do  $9,89 \times 10^{-4}$  mol dm<sup>-3</sup>.

Za NMR titracije liganda **L** s kalijevim perkloratom u acetonitrilu korištene su otopina liganda koncentracije  $1,0 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup> i otopina soli koncentracije  $1,01 \times 10^{-2}$  mol dm<sup>-3</sup>.

### 3.2. Izotermna titracijska kalorimetrija

Mikrokalorimetrijski eksperimenti provedeni su pomoću izoternog kalorimetra MicroCal VP-ITC tvrtke Malvern volumena ćelije 1,42 mL pri konstantnoj temperaturi od  $(25,0 \pm 0,1)$  °C. Titracije su provedene na način da je pomoću automatizirane birete volumena 300 µL postupno dodavana otopina soli u reakcijsku ćeliju u kojoj se nalazila otopina liganda **L**. Dobivene promjene entalpije korigirane su za entalpije razrjeđenja titransa. U slučajevima kad konstantu nije bilo moguće odrediti, ona je procijenjena i titracije su provedene jedan ili dva puta, dok su u slučajevima kada je konstanta određena titracije provedene tri ili četiri puta. Mikrokalorimetrijski podaci dobiveni titracijskim eksperimentima obrađeni su pomoću programa Microcal OriginPro 7.0 i OriginPro 7.5.<sup>58</sup>

### 3.3. Spektrofotometrija

Spektrofotometrijske titracije provedene su pomoću UV-Vis spektrofotometara Cary 60 i Cary 5000 tvrtke Agilent. Spektri su snimljeni s korakom od 1 nm i integracijskim vremenom od 0,2 s pri stalnoj temperaturi od  $(25,0 \pm 0,1)$  °C, uz korekciju osnovne linije. Titracije su provedene u kvarcnoj kiveti duljine optičkog puta 1 cm postupnim dodavanjem otopine soli u otopinu liganda **L** početnog volumena 2,2 ili 2,5 mL. U slučajevima kad konstantu nije bilo moguće odrediti ona je procijenjena i titracije su provedene jedan ili dva puta, dok su u slučajevima kada je konstanta određena titracije provedene tri ili četiri puta. Spektrofotometrijski podaci obrađeni su pomoću programa HypSpec iz programskog paketa HYPERQUAD.<sup>59</sup>

### 3.4. Fluorimetrija

Fluorimetrijske titracije provedene su pomoću spektrofluorimetra Cary Eclipse tvrtke Agilent. Spektri su snimljeni s korakom od 2 nm uz integracijsko vrijeme od 0,4 s pri konstantnoj temperaturi od  $(25,0 \pm 0,1)$  °C. Relativni intenzitet fluorescencije za svaki je spektar korigiran za fluorescenciju otapala. Titracije su provedene u kvarcnoj kiveti postupnim dodatkom otopina soli u otopinu liganda **L** volumena 2,5 mL. U slučajevima kad konstantu stabilnosti nastalih kompleksa nije bilo moguće odrediti fluorimetrijski ona je procijenjena i titracije su ponovljene

---

jedan ili dva puta, dok su u slučajevima kad je konstanta stabilnosti određena titracije ponovljene najmanje tri puta te obrađene u programu HypSpec programskog paketa HYPERQUAD.<sup>59</sup>

### **3.5. Spektroskopija NMR**

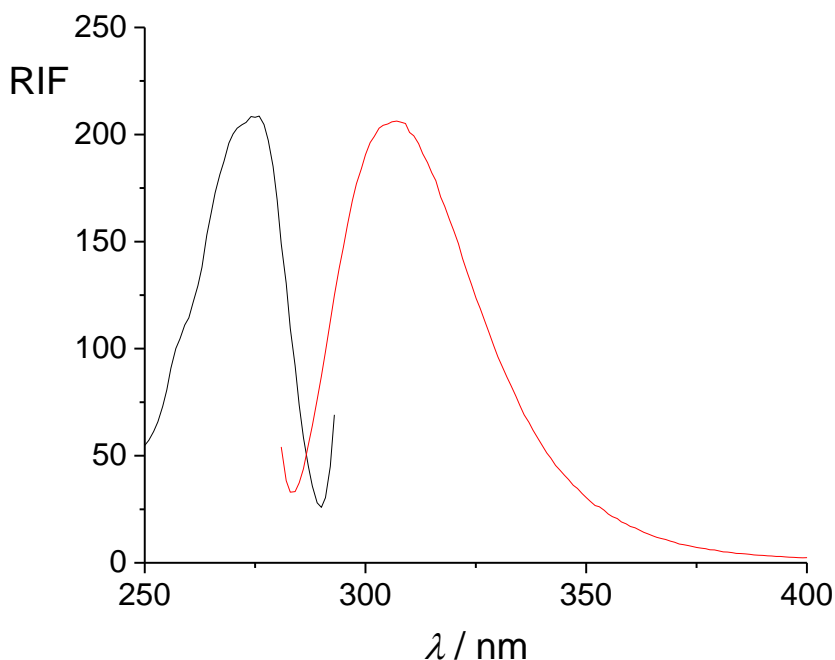
<sup>1</sup>H NMR eksperimenti provedeni su pomoću spektrometra Bruker Advance III HD 400 MHz/55 mm Ascend opremljenog s 5 mm PA BBI 1H/D-BB probnom glavom sa z-gradijentom i automatskim ugađanjem. Svi protonski spektri dobiveni su korištenjem 64K podatkovnih točaka, spektralne širine 20 ppm na temelju 16 snimaka. U otopinu spoja **L** u acetonitrilu postupno je dodavana otopina soli kalijeva perklorata. Eksperimenti su provedeni pri stalnoj temperaturi od 25 °C.

## § 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. Intrinzična fluorescencija liganda **L** u acetonitrilu

Kako je istaknuto u Uvodu, smatra se da je nužno uvesti fluorescentne skupine u strukturu kaliksarena kako bi se priredili fluorescentni receptori za određene ione ili molekule. Time se povećava zahtjevnost sinteze i broj sintetskih koraka u pripravi takvih molekula. S obzirom na osjetljivost fluorimetrije kao eksperimentalne metode, potencijalno svojstvo intrinzične fluorescencije jednostavnih derivata kaliksarena, značajno bi pojednostavilo pripravu receptora čije se reakcije mogu pratiti fluorimetrijski te otvorilo novo područje u kemiji tih spojeva. U tu svrhu, prije istraživanja kompleksiranja kationa s kaliks[6]arenom **L**, istražena su njegova fluorescencijska svojstva acetonitrilu.

Ekscitacijski i emisijski spektar spoja **L** prikazani su na **Slika 7**. Vidljivo je da otopina **L** pokazuje svojstvo intrinzične fluorescencije budući da je relativni intenzitet fluorescencije (RIF) takvog sustava  $\neq 0$ . Maksimalna vrijednost RIF liganda **L** u acetonitrilu je pri valnoj duljini 308 nm, a postiže se za valnu duljinu upadnog zračenja 272 nm, što ujedno odgovara maksimumu apsorpcije. Također, vidljivo je kako ne dolazi do značajnijeg preklapanja ekscitacijskog i emisijskog spektra. Ipak, prije fluorimetrijskog istraživanja kompleksiranja kationa, bilo je potrebno optimizirati uvjete pri kojima se mogu pratiti reakcije kompleksiranja. Točnije, bilo je potrebno istražiti koncentracijsku ovisnost RIF, potencijalnu fotodegradaciju te optimizirati širinu ulazne i izlazne pukotine kod snimanja fluorescencijskih spektara da bi relativni intenzitet fluorescencije bio odgovarajuće vrijednosti.



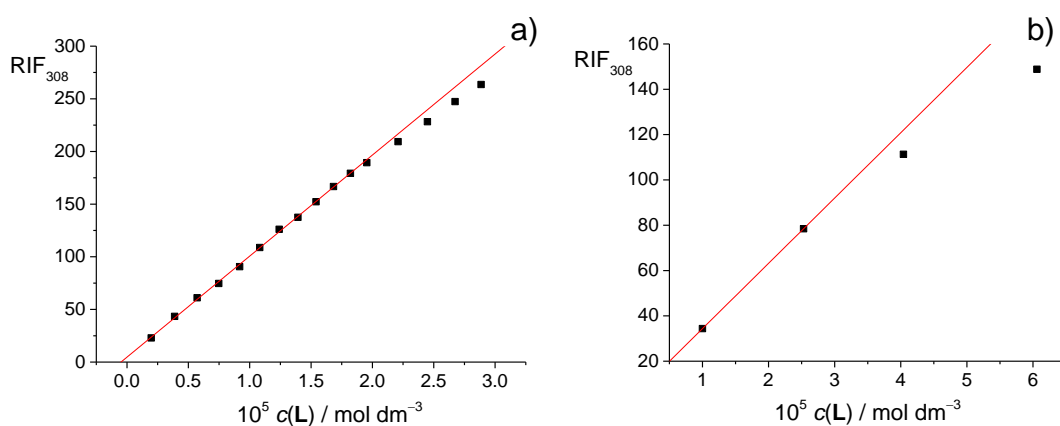
**Slika 7.** Ekscitacijski (crno) i emisijski (crveno) spektar liganda **L** ( $c = 2,2 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ );  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$  u acetonitrilu.  $\lambda_{\text{em}} = 302 \text{ nm}$  (ekscitacijski spektar),  $\lambda_{\text{exc}} = 272 \text{ nm}$  (emisijski spektar), širine pukotina: ulazna 5 nm, izlazna 10 nm.

Na **Slika 8a** prikazana je koncentracijska ovisnost relativnog intenziteta fluorescencije pri maksimumu fluorescencije liganda **L** u acetonitrilu ( $\lambda_{\text{em}} = 308 \text{ nm}$ ). Relativni intenzitet fluorescencije linearno ovisi o koncentraciji do koncentracije  $c \approx 2 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ , nakon čega funkcija postaje zakrivljena što može biti posljedica tzv. *inner filter effecta*,<sup>60</sup> gdje zbog apsorpcije upadnog ili emitiranog zračenja u uzorku dolazi do smanjenja relativnog intenziteta fluorescencije. Također, može doći i do značajnije fotodegradacije uzorka. Kako bi se odredio uzrok takvoj ovisnosti intenziteta fluorescencije o koncentraciji uzorka **L**, proveden je eksperiment određivanja ovisnosti  $\text{RIF}(c_{\text{L}})$  na način da tijekom eksperimenta ne dolazi do višestrukog ozračivanja uzorka (tzv. *batch* eksperiment) te su rezultati prikazani na **Slika 8b**. S obzirom na to da u takvom eksperimentu ne dolazi do višestrukog ozračivanja uzorka, a trend ovisnosti  $\text{RIF}(c_{\text{L}})$  je vrlo sličan kao i u slučaju a, tako dobiveni rezultati potvrdili su da je *inner filter effect* uzrok nelinearnosti ovisnosti  $\text{RIF}(c_{\text{L}})$ .

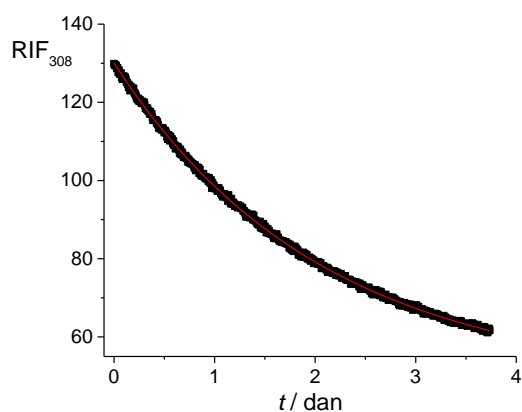
Da bi se istražila potencijalna fotodegradacija spoja **L**, snimljeni su fluorescencijski spektri njegove otopine tijekom vremena koje odgovara prosječnom titracijskom eksperimentu. Rezultati takvog kinetičkog eksperimenta prikazani su na **Slika 9** te je vidljivo kako se intenzitet

fluorescencije smanjuje s vremenom. Fotodegradacija spoja **L** može se zadovoljavajuće opisati modelom reakcije prvog reda te je, uz tu pretpostavku, određen koeficijent brzine fotodegradacije **L** u navedenim uvjetima. Vrijednost koeficijenta iznosi  $k = 3,39 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$ , odnosno, tijekom prosječnog vremena trajanja fluorimetrijske titracije ( $\approx 60 \text{ min}$ ), raspadne se tek 2 % spoja, što se može smatrati zanemarivim.

Uzevši u obzir koncentracijsku ovisnost intenziteta fluorescencije liganda **L** u acetonitrilu te optimalni intenzitet fluorescencije, početna koncentracija spoja **L** u fluorimetrijskim titracijskim eksperimentima je  $c \approx 1,3 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ , a širine ulazne i izlazne pukotine 5, odnosno 10 nm.



**Slika 8.** Koncentracijska ovisnost relativnog intenziteta fluorescencije spoja **L** pri  
**a)**  $\lambda_{\text{em}} = 308 \text{ nm}$ ;  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\lambda_{\text{ex}} = 272 \text{ nm}$ , širine pukotina: ulazna 5 nm, izlazna 10 nm.  
**b)**  $\lambda_{\text{em}} = 308 \text{ nm}$ ;  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\lambda_{\text{ex}} = 272 \text{ nm}$ , širine pukotina: ulazna 5 nm, izlazna 5 nm, eksperiment proveden kao *batch* eksperiment.



$$\text{RIF}(t) = D \cdot e^{-kt} + \text{RIF}_{\infty}$$

PARAMETAR	VRIJEDNOST $\pm$ SE
$D$	$81,6 \pm 0,1$
$k$	$(3,39 \pm 0,01) \cdot 10^{-4} \text{ min}^{-1}$
$\text{RIF}_{\infty}$	$48,4 \pm 0,1$

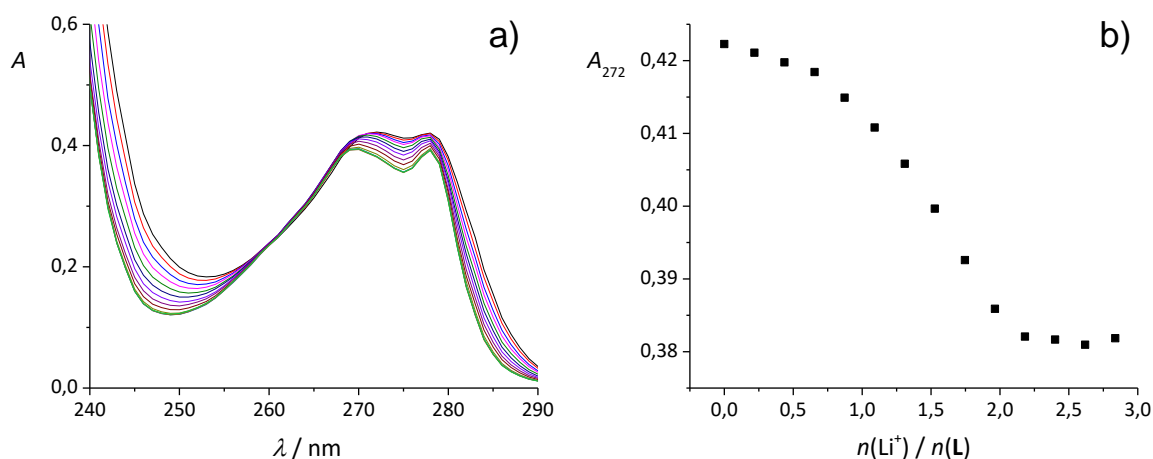
SE = standardna pogreška aritmetičke sredine ( $N = 3$ )

**Slika 9.** Kinetika fotodegradacije spoja **L** ( $c = 1,2 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ );  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\lambda_{\text{ex}} = 272 \text{ nm}$ , širine pukotina: ulazna 5 nm, izlazna 10 nm. Vremenski razmak između mjerenja relativnog intenziteta fluorescencije je 10 min. ■ eksperimentalno; — izračunano.

## 4.2. Kompleksiranje alkalijskih kationa s ligandom **L** u acetonitrilu

Spektrofotometrijska titracija **L** s litijevim perkloratom prikazana je na Slika 10 te je iz eksperimentalnih podataka vidljivo kako vezanjem litijevog kationa dolazi do smanjenja apsorbcije sustava na valnoj duljini od 272 nm koja odgovara maksimumu apsorbcije. Dobiveni rezultati upućuju na nastanak dvaju kompleksa stehiometrija 1 : 1 i 2 : 1 ( $\text{Li}^+ : \text{L}$ ) budući da se apsorbcija sustava korigirana za razrjeđenje ne mijenja nakon dodatka dva ekvivalenta litijeve soli. Ipak, spektrofotometrija nije dovoljno osjetljiva metoda da bi se pouzdano mogla odrediti stabilnost nastalih kompleksa liganda **L** i litijevog kationa.





**Slika 10. a)** Spektrofotometrijska titracija spoja **L** ( $c = 1,00 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{LiClO}_4$  ( $c = 1,92 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu;  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $V_0(\mathbf{L}) = 2,2 \text{ cm}^3$ ;  $l = 1 \text{ cm}$ . Spektri su korigirani za razrjeđenje. **b)** Ovisnost apsorbancije otopine spoja **L** pri 272 nm o omjeru množina  $\text{LiClO}_4$  i spoja **L**.

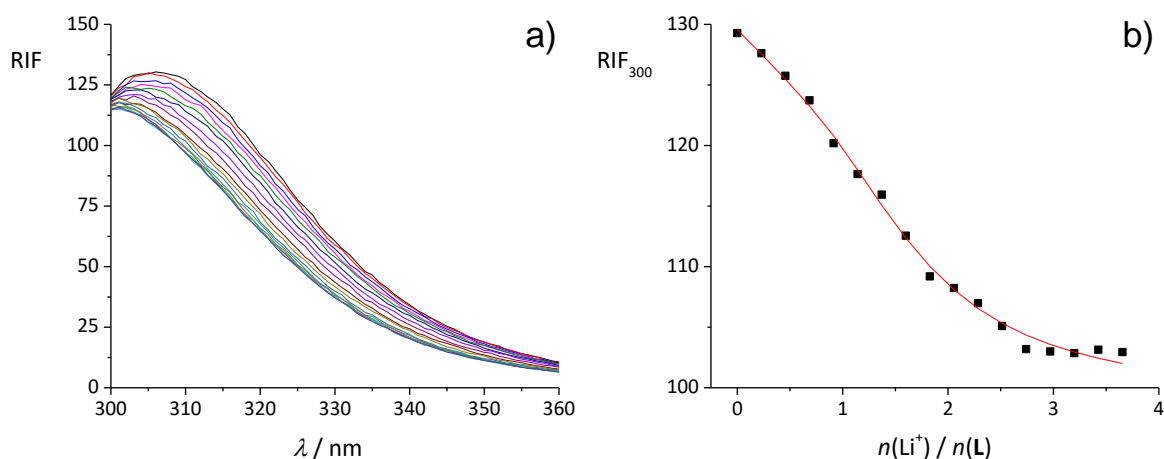
Fluorimetrijska titracija spoja **L** s litijevim perkloratom prikazana je na **Slika 11a**, dok je na **Slika 11b** prikazana ovisnost relativnog intenziteta fluorescencije uzorka pri valnoj duljini  $\lambda = 308 \text{ nm}$  o omjeru množina dodane soli i receptora **L**. Relativni intenzitet fluorescencije sustava pri maksimumu emisije smanjuje se dodatkom kationa što se može objasniti izraženijim fotoinduciranim prijenosom elektrona<sup>28,51</sup> u kompleksu u odnosu na slobodan ligand. Uzevši u obzir već spomenutu veću osjetljivost fluorimetrije, što omogućuje provedbu titracija pri nižim koncentracijama liganda **L**, ovom metodom određene su konstante stabilnosti nastalih kompleksa (**Tablica 1**). Konstante stabilnosti oba nastala kompleksa iznimno su visoke, pri čemu je kompleks stehiometrije 1 : 1 očekivano nešto stabilniji od onog stehiometrije 2 : 1 ( $\text{Li}^+ : \mathbf{L}$ ).

**Tablica 1.** Termodinamički parametri kompleksiranja alkalijskih kationa s ligandom **L** u acetonitrilu pri 25 °C.

M <sup>+</sup>	M <sup>+</sup> : L	log <i>K</i> ± SE			$\frac{\Delta_r G \pm SE}{\text{kJ mol}^{-1}}$	$\frac{\Delta_r H \pm SE}{\text{kJ mol}^{-1}}$	$\frac{\Delta_r S \pm SE}{\text{J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}}$
		a	b	c			
Li <sup>+</sup>	1 : 1	≥ 6	≥ 5	6,8 ± 0,3	-	-	-
	1 : 2	≥ 6	≥ 5	5,7 ± 0,6	-	-	-
Na <sup>+</sup>	1 : 1	≥ 6	≥ 5	7,0 ± 0,3	-	-	-
	1 : 2	-	≥ 5	4,6 ± 0,2	-	-	-
K <sup>+</sup>	1 : 1	5,5 ± 0,1	5,5 ± 0,2	4,9 ± 0,1	-31,4 ± 0,5	-22,4 ± 0,2	29 ± 2
	1 : 2	5,20 ± 0,03	5,29 ± 0,01	5,3 ± 0,1	-29,7 ± 0,1	-28,1 ± 0,6	5 ± 2
Rb <sup>+</sup>	1 : 1	4,7 ± 0,1	-	-	-27,1 ± 0,5	-10,9 ± 0,1	54 ± 2
	1 : 2	3,89 ± 0,02	-	-	-22,2 ± 0,1	-35,3 ± 0,6	-44 ± 3

SE = standardna pogreška aritmetičke sredine (*N* = 3)

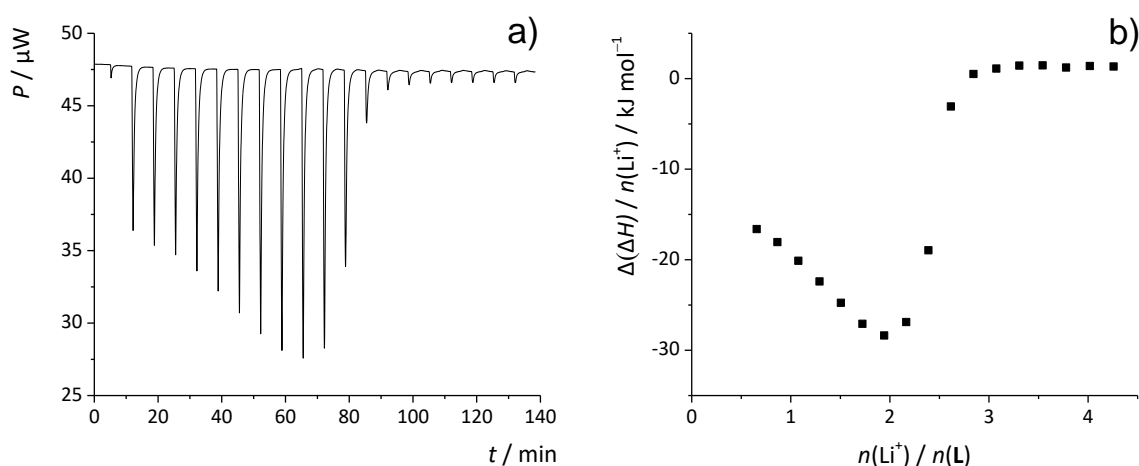
a – mikrokalorimetrija, b – spektrofotometrija, c – fluorimetrija



**Slika 11.** a) Fluorimetrijska titracija spoja **L** ( $c = 1,3 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s LiClO<sub>4</sub> ( $c = 7,52 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu;  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $V_0(\mathbf{L}) = 2,5 \text{ cm}^3$ ;  $\lambda_{\text{ex}} = 272 \text{ nm}$ ; širine pukotina: ulazna 5 nm, izlazna 10 nm. Spektri su korigirani za razrjeđenje. b) Ovisnost

relativnog intenziteta fluorescencije otopine spoja **L** pri 308 nm o omjeru množina  $\text{LiClO}_4$  i spoja **L**. ■ eksperimentalno; — izračunano.

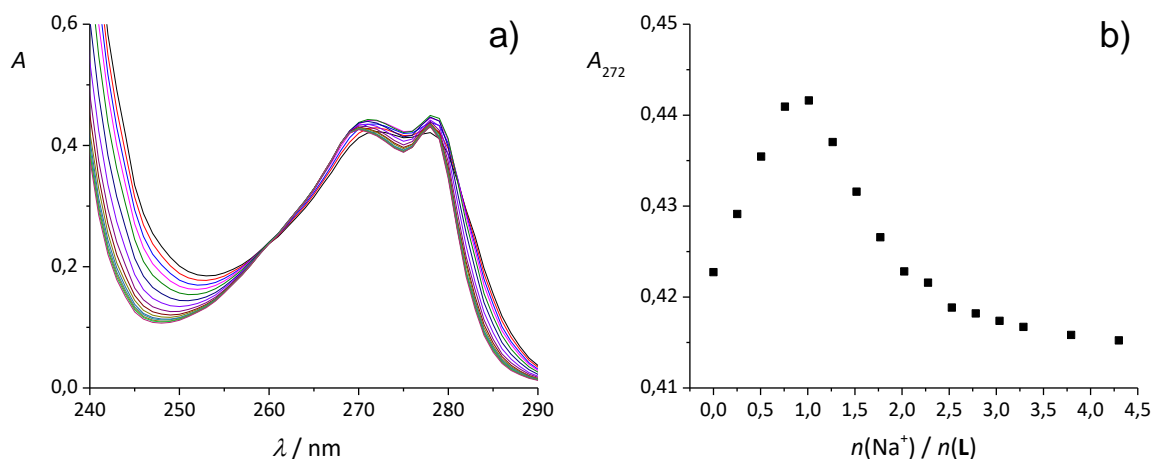
Na **Slika 12a** prikazan je termogram mikrokalorimetrijske titracije spoja **L** s litijevim perkloratom, dok **Slika 12b** prikazuje ovisnost sukcesivnih promjena entalpije podijeljenih s množinom dodatka  $\text{LiClO}_4$  o omjeru množina soli i liganda. Dobiveni eksperimentalni podaci upućuju na nastanak dvaju kompleksa -  $\text{LiL}^+$  i  $\text{Li}_2\text{L}^{2+}$  pri čemu su oba procesa entalpijski povoljna. Međutim, termodinamičke parametre navedenih reakcija nije bilo moguće pouzdano odrediti iz podataka dobivenih mikrokalorimetrijskom titracijom. S obzirom na to da je desolvatacija litijevog kationa u acetonitrilu izuzetno endoterman proces ( $\Delta_{\text{sol}}H^\circ(\text{Li}^+) = -539 \text{ kJ mol}^{-1}$ ),<sup>50</sup> egzotermno kompleksiranje posljedica je interakcija karbonilnih skupina i kationa te povoljnog entalpijskog doprinosa solvatacije nastalih kompleksa.



**Slika 12. a)** Termogram mikrokalorimetrijske titracije spoja **L** ( $c = 9,7 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{LiClO}_4$  ( $c = 1,924 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu;  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $V(\text{L}) = 1,42 \text{ cm}^3$ . **b)** Ovisnost sukcesivne promjene entalpije podijeljene s množinom dodatka  $\text{LiClO}_4$  o omjeru množina  $\text{LiClO}_4$  i spoja **L**.

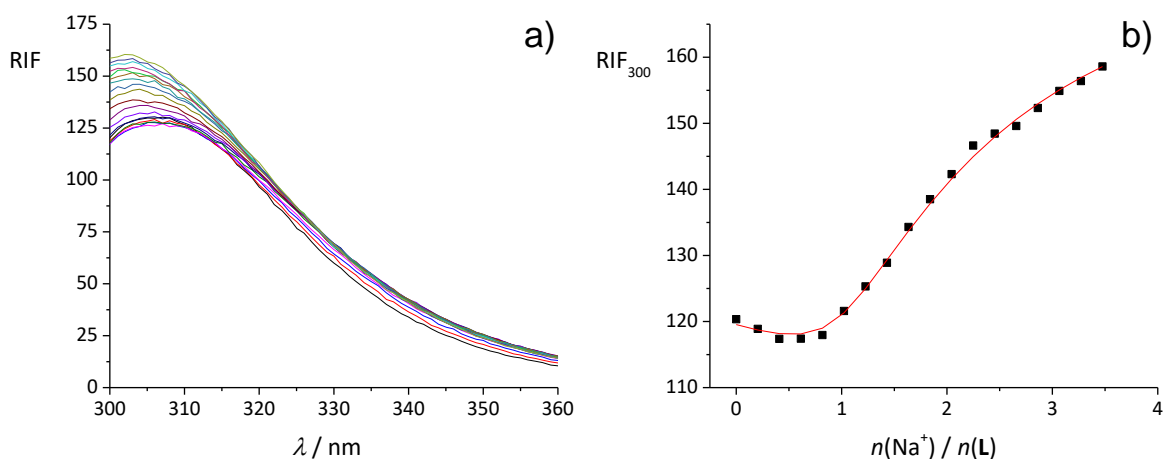
Spektrofotometrijska titracija liganda **L** s natrijevim perkloratom prikazana je na **Slika 13**. Kao i u slučaju kompleksiranja litijevog kationa, ovisnost apsorbancije sustava o omjeru množina  $\text{Na}^+$  i spoja **L** upućuje na nastanak dvaju kompleksa;  $\text{NaL}^+$  i  $\text{Na}_2\text{L}^{2+}$ . U ovom slučaju vezanjem kationa dolazi do povećanja apsorbancije na maksimumu apsorpcije sustava do prvog dodanog ekvivalenta, dok se potom apsorbancija smanjuje otprilike do dodanog četvrtog ekvivalenta kationa. Na spektrima liganda **L** i nastalih kompleksa vidljiva je izosbestička točka pri

$\lambda = 260$  nm. S obzirom na oblik ovisnosti apsorbancije sustava na  $\lambda = 272$  nm o omjeru množina dodane natrijeve soli i liganda **L**, koji upućuje na izrazito jako vezanje, konstante stabilnosti kompleksa nisu se mogle odrediti spektrofotometrijski, no određene su fluorimetrijski.

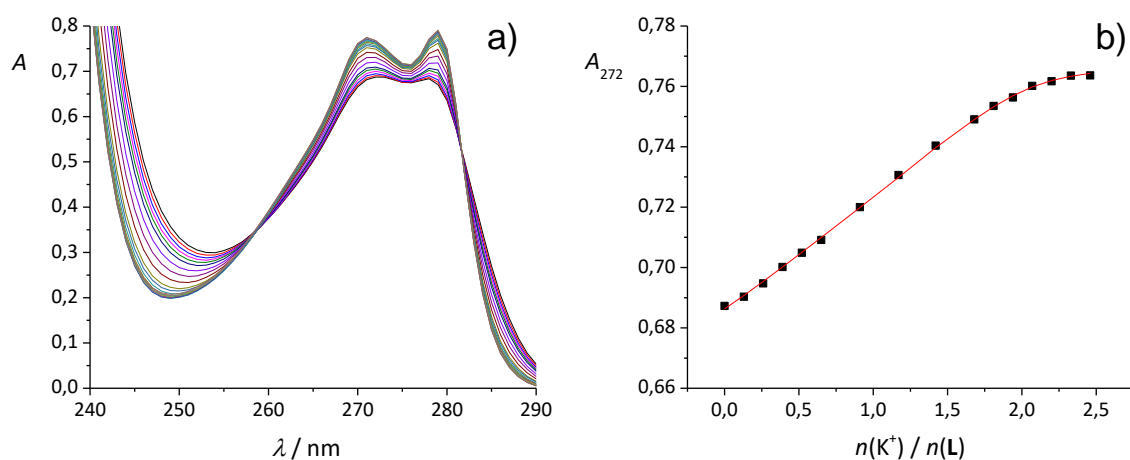


**Slika 13.** a) Spektrofotometrijska titracija spoja **L** ( $c = 1,00 \times 10^{-4}$  mol dm $^{-3}$ ) s NaClO $_4$  ( $c = 2,23 \times 10^{-3}$  mol dm $^{-3}$ ) u acetonitrilu;  $\theta = (25,0 \pm 0,1)$  °C;  $V_0(\mathbf{L}) = 2,2$  cm $^3$ ;  $l = 1$  cm. Spektri su korigirani za razrjeđenje. b) Ovisnost apsorbancije otopine spoja **L** pri 272 nm o omjeru množina NaClO $_4$  i spoja **L**.

Jedna od provedenih fluorimetrijskih titracija receptora **L** s natrijevim kationom prikazana je na Slika 14, a konstante stabilnosti kompleksa Na**L** $^+$  i Na $_2$ **L** $^{2+}$  dobivene na temelju fluorimetrijskih titracija dane su u **Tablica 1**. Konstanta ravnoteže reakcije nastanka kompleksa Na $_2$ **L** $^{2+}$  je približno dva reda veličine manja od one za Na**L** $^+$ . Konstante stabilnosti kompleksa stehiometrije 1 : 1 vrlo su slične u slučaju kompleksiranja litijevog i natrijevog kationa, dok je konstanta stabilnosti Li $_2$ **L** $^{2+}$  približno 10 puta veća od one koja odgovara Na $_2$ **L** $^{2+}$ .



**Slika 14.** **a)** Fluorimetrijska titracija spoja **L** ( $c = 1,3 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{NaClO}_4$  ( $c = 6,73 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu;  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $V_0(\mathbf{L}) = 2,5 \text{ cm}^3$ ;  $\lambda_{\text{ex}} = 272 \text{ nm}$ ; širine pukotina: ulazna 5 nm, izlazna 10 nm. Spektri su korigirani za razrjeđenje. **b)** Ovisnost relativnog intenziteta fluorescencije otopine spoja **L** pri 300 nm o omjeru množina  $\text{NaClO}_4$  i spoja **L**. ■ eksperimentalno; — izračunano.

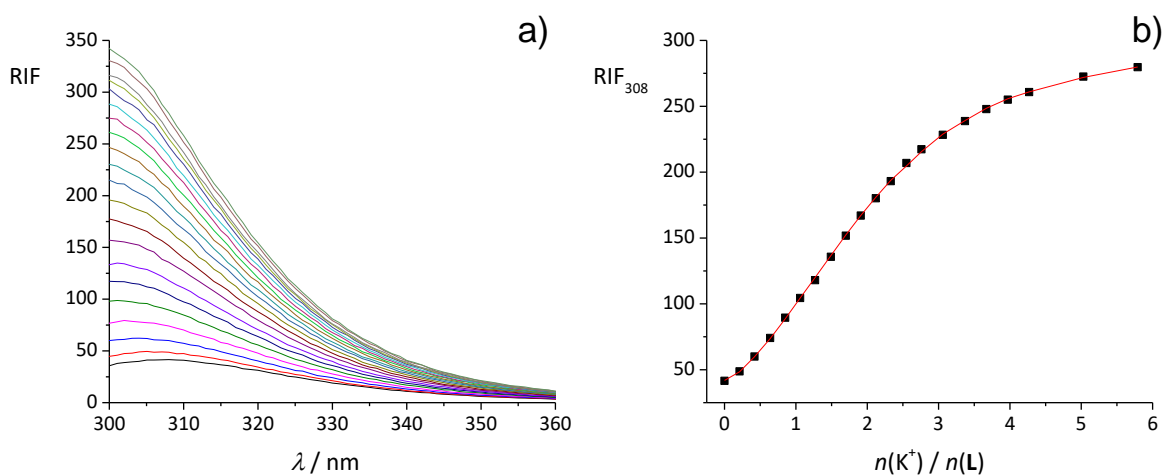


**Slika 15.** **a)** Spektrofotometrijska titracija spoja **L** ( $c = 1,46 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{KClO}_4$  ( $c = 2,08 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu;  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $V_0(\mathbf{L}) = 2,2 \text{ cm}^3$ ;  $l = 1 \text{ cm}$ . Spektri su korigirani za razrjeđenje. **b)** Ovisnost apsorbancije otopine spoja **L** pri 272 nm o omjeru množina  $\text{KClO}_4$  i spoja **L**. ■ eksperimentalno; — izračunano.

Jedna od provedenih spektrofotometrijskih titracija **L** s kalijevim perkloratom prikazana je na **Slika 15**. Trend apsorbancije sustava pri 272 nm tijekom vezanja  $\text{K}^+$  drugačiji je nego u slučaju

litijevog ili natrijevog, budući da apsorbancija sustava raste po dodatku  $K^+$  sve do gotovo potpunog zasićenja receptora kalijevim kationima, a također su vidljive dvije izosbestičke točke pri  $\lambda \approx 260$  nm i 280 nm. Eksperimentalni podaci mogli su se zadovoljavajuće opisati modelom koji uključuje nastanak kompleksa stehiometrije 1 : 1 i 2 : 1 ( $K^+ : L$ ). Određene konstante stabilnosti kompleksa  $KL^+$  i  $K_2L^{2+}$  dane su u **Tablica 1**.

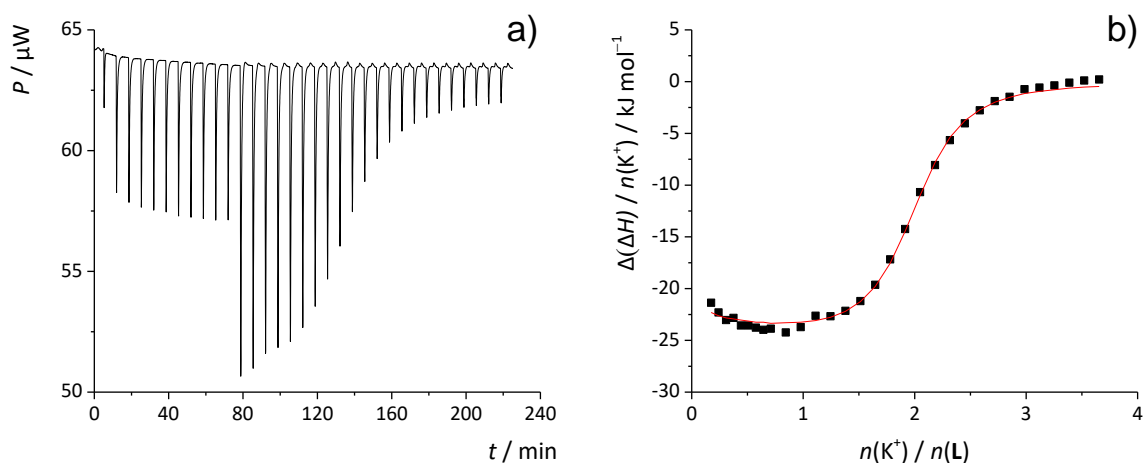
**Slika 16** prikazuje fluorimetrijsku titraciju spoja **L** s kalijevim perkloratom. Dodatkom otopine soli u otopinu liganda dolazi do izrazitog povećanja intenziteta fluorescencije, što se u ovom slučaju može objasniti manje izraženim fotoinduciranim prijenosom elektrona<sup>28,51</sup> u kompleksima s  $K^+$  u odnosu na slobodan **L**. Zbog izrazitog porasta intenziteta fluorescencije širine ulazne i izlazne pukotine u titracijskim eksperimentima bile su 5 nm. Konstante stabilnosti nastalih kompleksa dane su u **Tablica 1** te je vidljivo da je  $K(KL^+)$  veća od  $K(K_2L^{2+})$ . Također, konstanta ravnoteže za nastanak kompleksa stehiometrije 1 : 1 određena fluorimetrijskim eksperimentima nije u skladu s onima određenim mikrokolorimetrijom i spektrofotometrijom. Razlog tome može biti poprilično velika vrijednost konstante stabilnosti za njeno određivanje mikrokolorimetrijom i spektrofotometrijom te mali broj eksperimentalnih podataka koji opisuju nastanak prvog kompleksa. Dodatno, razlog neslaganja može biti i činjenica da se tijekom fluorimetrijskih eksperimenata ponekad prate reakcije u pobuđenom stanju, pri čemu se konstante stabilnosti kompleksa mogu razlikovati od onih u osnovnom.<sup>28,61,62</sup>



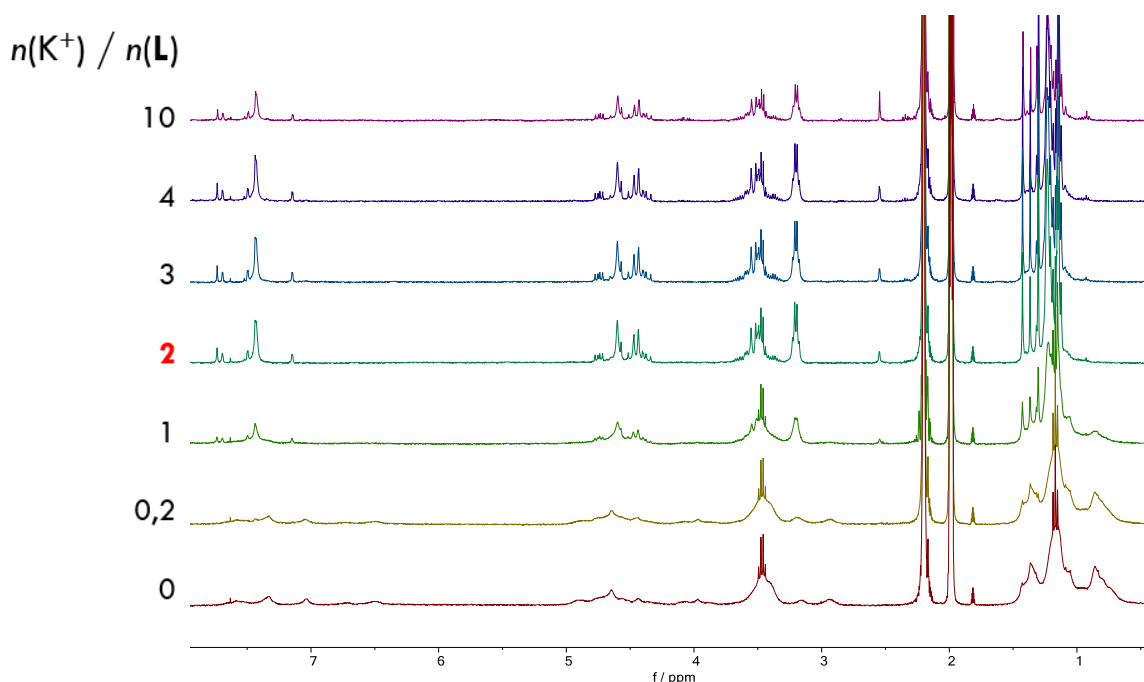
**Slika 16. a)** Fluorimetrijska titracija spoja **L** ( $c = 1,3 \times 10^{-5}$  mol  $dm^{-3}$ ) s  $KClO_4$  ( $c = 9,89 \times 10^{-4}$  mol  $dm^{-3}$ ) u acetonitrilu;  $\theta = (25,0 \pm 0,1)$  °C;  $V_0(L) = 2,5$   $cm^3$ ;  $\lambda_{ex} = 272$  nm; širine pukotina: ulazna 5 nm, izlazna 5 nm. Spektri su korigirani za razrjeđenje. **b)** Ovisnost

relativnog intenziteta fluorescencije otopine spoja **L** pri 308 nm o omjeru množina  $\text{KClO}_4$  i spoja **L**. ■ eksperimentalno; — izračunano.

Mikrokalorimetrijska titracija spoja **L** s kalijevim perkloratom prikazana je na **Slika 17**, a izračunani termodinamički parametri dani su u **Tablica 1**. Kompleksiranjem kalijevog kationa s ligandom **L** u acetonitrilu nastaju stabilni kompleksi što je posljedica povoljnog entalpijskog doprinosa  $\Delta_r G^\circ$  za nastanak oba kompleksa te pozitivne reakcijske entropije. S obzirom na to da je desolvatacija kalijevog kationa endoterman proces,<sup>50</sup> povoljan entalpijski doprinos posljedica je ostvarivanja interakcija između  $\text{K}^+$  i karbonilnih skupina receptora **L** uz također egzotermnu solvataciju nastalih kompleksa.



**Slika 17. a)** Termogram mikrokalorimetrijske titracije spoja **L** ( $c = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{KClO}_4$  ( $c = 1,91 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu;  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $V(\text{L}) = 1,42 \text{ cm}^3$ . **b)** Ovisnost sukcesivne promjene entalpije podijeljene s množinom dodatka  $\text{KClO}_4$  o omjeru množina  $\text{KClO}_4$  i spoja **L**. ■ eksperimentalno; — izračunano.



**Slika 18.**  $^1\text{H}$  NMR titracija liganda **L** ( $c = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{KClO}_4$  ( $c = 1,01 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u deuteriranom acetonitrilu;  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ .

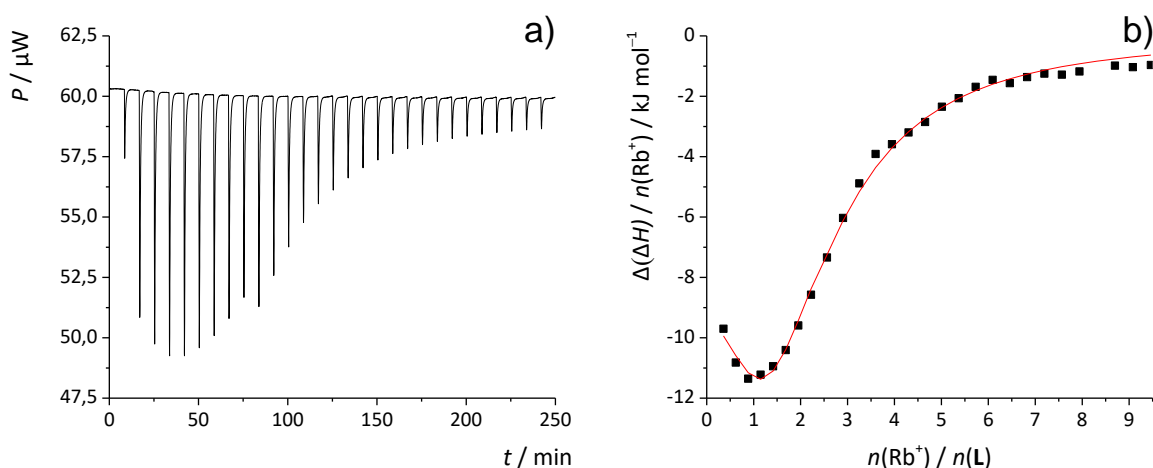
Kompleksiranje kalijevog kationa s ligandom **L** istraženo je i spektroskopijom NMR (Slika 18). U spektru slobodnog liganda **L** vidljivo je puno preklapanja signala pojedinih jezgara što je posljedica velike konformacijske slobode kaliks[6]arena. Iz tog razloga, te nedovoljne osjetljivosti spektroskopije NMR za određivanje konstanta ravnoteže za koje vrijedi  $\log K \gtrsim 4$ , vezanje  $\text{K}^+$  nije se moglo kvantitativno pratiti tom metodom. Ipak, dodatkom kalijevog perklorata dolazi do izoštravanja signala te se spektri značajnije ne mijenjaju nakon dodatka 2 ekvivalenta kalijevog kationa. Takvo opažanje upućuje na nastanak kompleksa stehiometrije 2 : 1 ( $\text{K}^+ : \text{L}$ ), što je u skladu s rezultatima dobivenim ostalim metodama.

Većina dostupnih rubidijevih soli dovoljne topljivosti apsorbirala je u istom području kao i ligand i kompleksi pa kompleksiranje  $\text{Rb}^+$  s **L** nije bilo moguće istražiti spektrofotometrijski i fluorimetrijski.

Ipak, vezanje rubidijevog kationa istraženo je mikrokolorimetrijom. Jedna od provedenih titracija prikazana je na **Slika 19**. Izgled mikrokolorimetrijske titracije upućuje na nastanak kompleksa  $\text{RbL}^+$  i  $\text{Rb}_2\text{L}^{2+}$ . Očekivano, konstanta stabilnosti prvog kompleksa veća je od one za drugi. Proces nastajanja  $\text{RbL}^+$  je dominantno entropijski povoljan, uz također povoljan entalpijski doprinos  $\Delta_r G^\circ$ , dok je nastanak drugog kompleksa entalpijski kontroliran (Tablica 1). Konstante stabilnosti kompleksa s  $\text{Rb}^+$  manje su od onih koje odgovaraju  $\text{K}^+$  što je u slučaju 1 : 1 kompleksa posljedica manje apsolutne vrijednosti  $\Delta_r H^\circ$ , a za 2 : 1 kompleks nepovoljnog



entropijskog doprinosa. Budući da je desolvatacija rubidijevog kationa u acetonitrilu manje entalpijski nepovoljna od ostalih istraženih alkalijskih kationa,<sup>50</sup> navedeno može biti posljedica slabijih interakcija  $\text{Rb}^+$  i **L** zbog veličine rubidijevog kationa, a samim time i manje gustoće naboja.



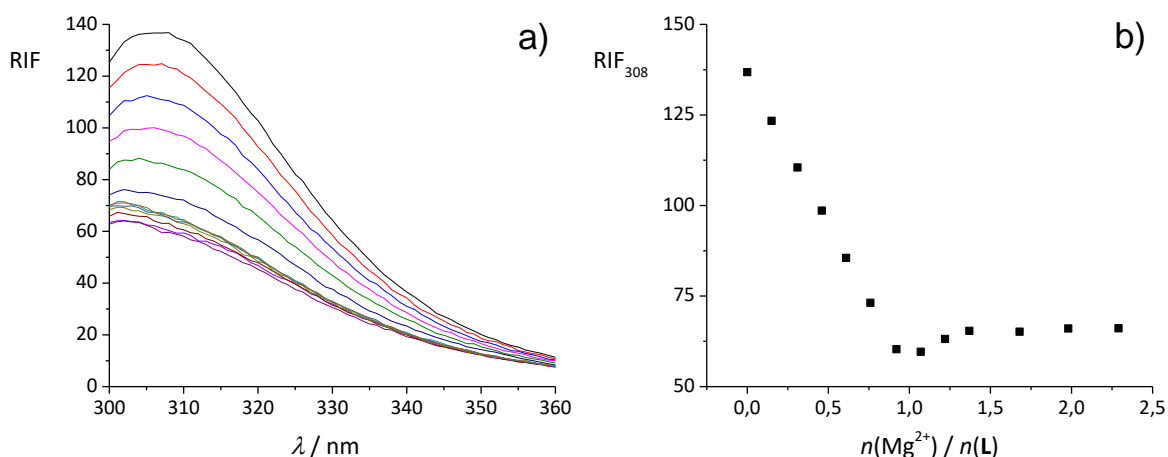
**Slika 19. a)** Termogram mikrokalorimetrijske titracije spoja **L** ( $c = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{RbBPh}_4$  ( $c = 4,74 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu;  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $V(\text{L}) = 1,42 \text{ cm}^3$ . **b)** Ovisnost sukcesivne promjene entalpije podijeljene s množinom dodatka  $\text{RbBPh}_4$  o omjeru množina  $\text{RbBPh}_4$  i spoja **L**. ■ eksperimentalno; — izračunano.

Kompleksiranje cezijeovog kationa s ligandom **L** nije bilo moguće kvantitativno istražiti izotermnom titracijskom kalorimetrijom, spektrofotometrijom ni fluorimetrijom. Zbog ograničenja topljivosti dostupnih cezijevih soli, nije se mogao postići dovoljan omjer množina  $\text{Cs}^+$  i **L** koji bi omogućio pouzdano određivanje termodinamičkih veličina kompleksiranja.

### 4.3. Kompleksiranje zemnoalkalijskih kationa s ligandom **L**

Kompleksiranje magnezijevog kationa sa spojem **L** istraženo je fluorimetrijski budući da se, zbog velikih toplina razrjeđenja otopine korištene soli ( $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ ), ono nije moglo istražiti izotermnom titracijskom kalorimetrijom, a karakteristični apsorpcijski spektri liganda i kompleksa su preslični da bi se ta reakcija istražila spektrofotometrijski. Primjer fluorimetrijske titracije s magnezijevim perkloratom prikazan je na Slika 20. Relativni intenzitet fluorescencije uzroka smanjuje se dodatkom magnezijevog kationa sve do prvog dodanog ekvivalenta nakon čega se više gotovo ne mijenja. Linearna ovisnost intenziteta fluorescencije o omjeru množina

kationa i liganda do omjera  $n(\text{Mg}^{2+})/n(\text{L}) \approx 1$  upućuje na nastanak izrazito stabilnog kompleksa stehiometrije 1 : 1, a nastanak kompleksa stehiometrije 2 : 1 ( $\text{Mg}^{2+} : \text{L}$ ), kao u slučaju alkalijskih kationa, nije zamijećen. Konstanta stabilnosti  $\text{MgL}^{2+}$  prevelika je da bi se odredila fluorimetrijski.



**Slika 20.** a) Fluorimetrijska titracija spoja **L** ( $c = 1,3 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  ( $c = 4,80 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu;  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $V_0(\text{L}) = 2,5 \text{ cm}^3$ ;  $\lambda_{\text{ex}} = 272 \text{ nm}$ ; širine pukotina: ulazna 5 nm, izlazna 10 nm. Spektri su korigirani za razrjeđenje. b) Ovisnost relativnog intenziteta fluorescencije otopine spoja **L** pri 308 nm o omjeru množina  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  i spoja **L**.

**Tablica 2.** Standardne reakcijske entalpije kompleksiranja zemnoalkalijskih kationa s ligandom **L** u acetonitrilu pri 25 °C.

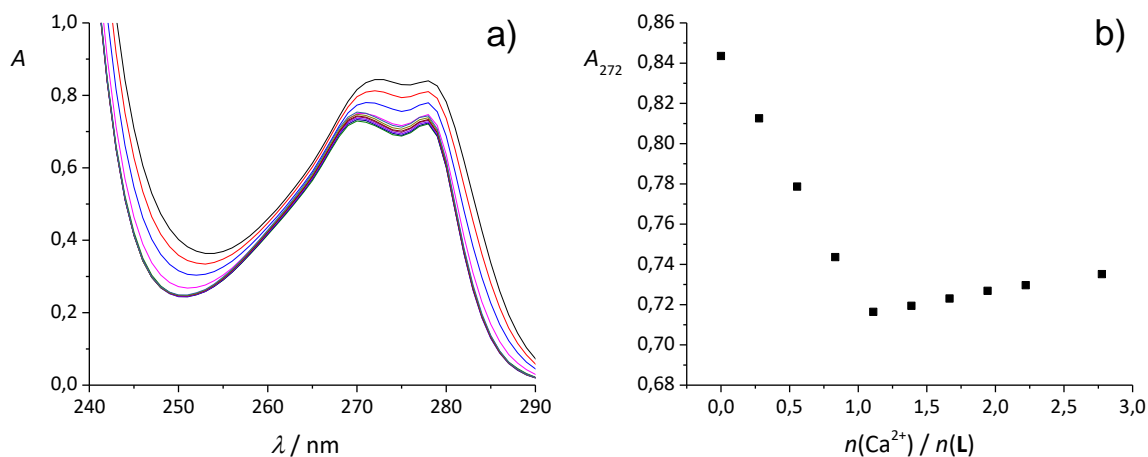
kation	$(\Delta_r H \pm \text{SE}) / \text{kJ mol}^{-1}$
$\text{Mg}^{2+}$	- <sup>a</sup>
$\text{Ca}^{2+}$	$-58 \pm 2$
$\text{Sr}^{2+}$	$-59 \pm 2$
$\text{Ba}^{2+}$	$-44 \pm 2$

SE = standardna pogreška aritmetičke sredine ( $N = 3$ )

<sup>a</sup> prevelike topline razrjeđenja

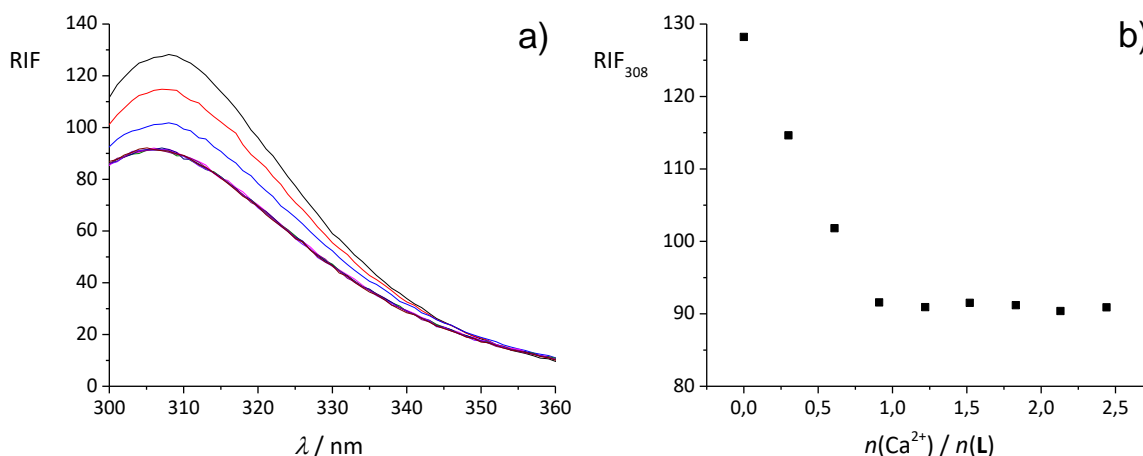
Kompleksiranje kalcijevog kationa s ligandom **L** istraženo je spektrofotometrijski (**Slika 21**). Vidljivo je da dolazi do smanjenja apsorbancije na valnoj duljini od 272 nm po dodatku

kalcijevog perklorata dok se apsorbancija sustava više značajnije ne mijenja nakon dodatka jednog ekvivalenta soli. Ovakva ovisnost apsorbancije sustava o omjeru množina dodane soli i receptora upućuje na nastanak kompleksa stehiometrije 1 : 1. Konstanta stabilnosti kompleksa  $\text{CaL}^{2+}$  prevelika je da bi se njena vrijednost odredila ovom metodom.



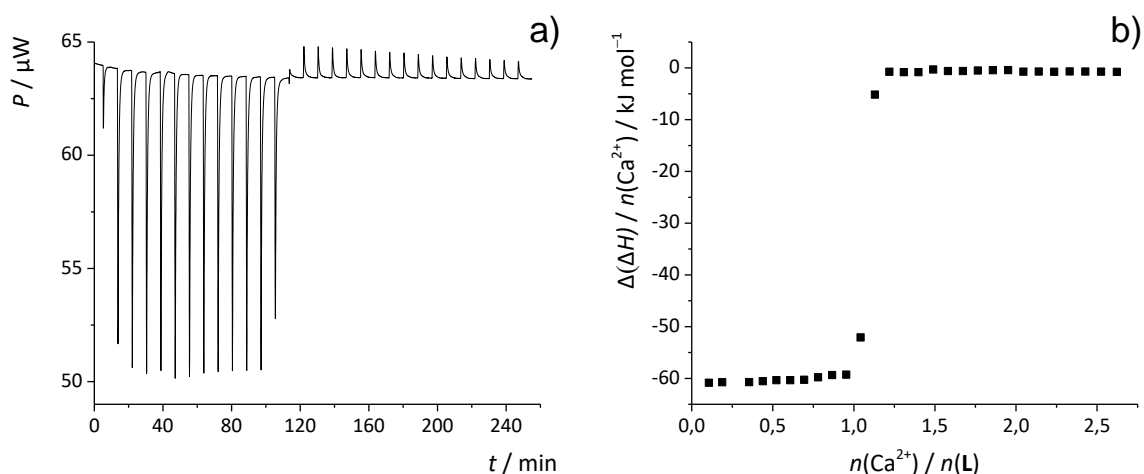
**Slika 21.** a) Spektrofotometrijska titracija spoja **L** ( $c = 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  ( $c = 2,43 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu;  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $V_0(\text{L}) = 2,2 \text{ cm}^3$ ;  $l = 1 \text{ cm}$ . Spektri su korigirani za razrjeđenje. b) Ovisnost apsorbancije otopine spoja **L** pri 272 nm o omjeru množina  $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  i spoja **L**.

Kao što je već spomenuto, fluorimetrija je metoda kojom je moguće kvantitativno odrediti visoke konstante stabilnosti nastalih kompleksa. Stoga je kompleksiranje kalcijevog kationa s ligandom **L** istraženo fluorimetrijski, a jedna od provedenih titracija prikazana je na **Slika 22**. Intenzitet fluorescencije sustava smanjuje se po dodatku kalcijevog perklorata dok se spektar ne mijenja značajno nakon dodatka prvog ekvivalenta kalcijeve soli. Kao i u slučaju magnezijevog kationa, relativni intenzitet fluorescencije sustava smanjuje se linearno sve do  $n(\text{M}^{2+}) / n(\text{L}) \approx 1$  što upućuje na nastanak izrazito stabilnog kompleksa.



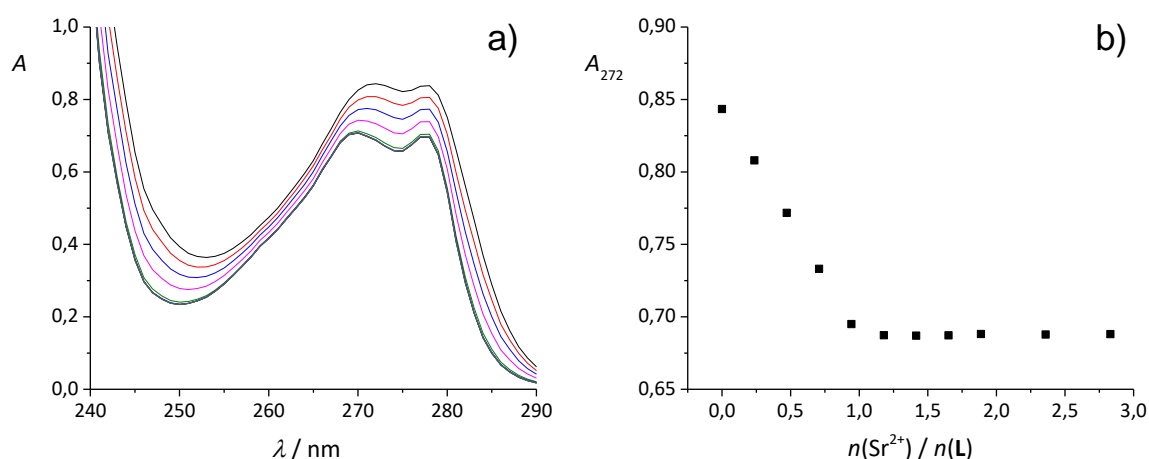
**Slika 22.** **a)** Fluorimetrijska titracija spoja **L** ( $c = 1,3 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$  ( $c = 9,58 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu;  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $V_0(\mathbf{L}) = 2,5 \text{ cm}^3$ ;  $\lambda_{\text{ex}} = 272 \text{ nm}$ ; širine pukotina: ulazna 5 nm, izlazna 10 nm. Spektri su korigirani za razrjeđenje. **b)** Ovisnost relativnog intenziteta fluorescencije otopine spoja **L** pri 308 nm o omjeru množina  $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$  i spoja **L**.

**Slika 23** prikazuje jednu od provedenih mikrokalorimetrijskih titracija receptora **L** s kalcijevim perkloratom. Vrijednosti sukcesivnih promjena entalpije približno su konstantne sve do dodatka prvog ekvivalenta soli, nakon čega je njihova vrijednost  $\approx 0$ . Takva ovisnost  $\Delta(\Delta H) / n(\text{Ca}^{2+})$  o množinskom omjeru dodanog kationa i liganda upućuje na nastanak kompleksa stehiometrije 1 : 1 izrazite stabilnosti pa je iz mikrokalorimetrijskih eksperimenata bilo moguće odrediti samo reakcijsku entalpiju kompleksiranja (**Tablica 2**). Iako je desolvatacija kalcijevog kationa entalpijski nepovoljan proces,<sup>50</sup> kompleksiranjem spomenutog kationa dolazi do ostvarivanja povoljnih interakcija kationa i karbonilnih skupina na obodima kaliksarena što, uz solvataciju nastalog kompleksa, značajno utječe na entalpijski izrazito povoljan nastanak kompleksa  $\text{CaL}^{2+}$ .



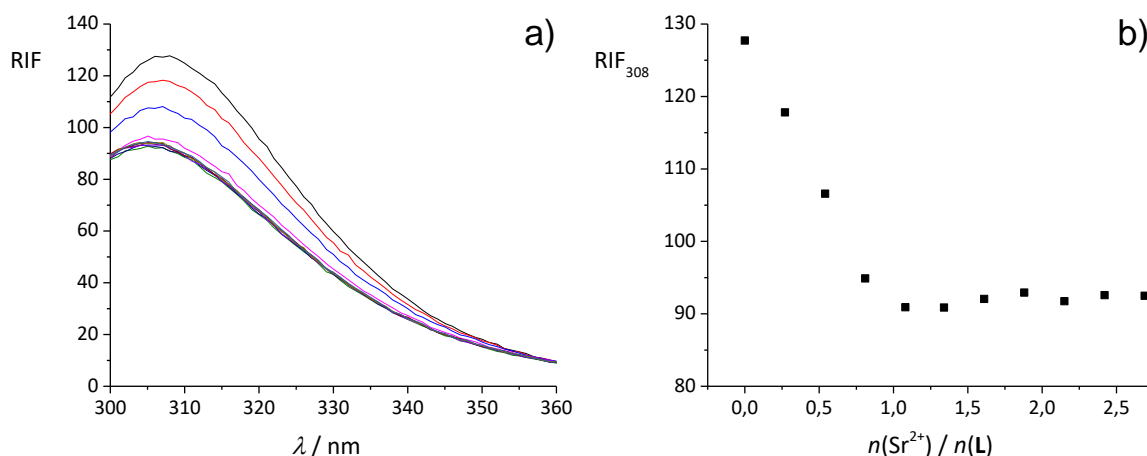
**Slika 23. a)** Termogram mikrokolorimetrijske titracije spoja **L** ( $c = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$  ( $c = 9,00 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu;  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $V(\mathbf{L}) = 1,42 \text{ cm}^3$ . **b)** Ovisnost sukcesivne promjene entalpije podijeljene s množinom dodatka  $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$  o omjeru množina  $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$  i spoja **L**.

Na **Slika 24** prikazani su rezultati spektrofotometrijske titracija **L** sa stroncijevim perkloratom, pri kojoj dolazi do smanjenja apsorbancije uzorka dodatkom stroncijeve soli do dodanog prvog ekvivalenta. Nakon toga spektralne promjene se više gotovo ne uočavaju, što upućuje na zasićenje spomenutog receptora sa  $\text{Sr}^{2+}$ . Rezultati spektrofotometrijske titracije upućuju na to da ligand **L** i  $\text{Sr}^{2+}$  tvore kompleks stehiometrije 1 : 1 koji je izrazito stabilan pa se njegova konstanta stabilnosti ne može odrediti spektrofotometrijski.



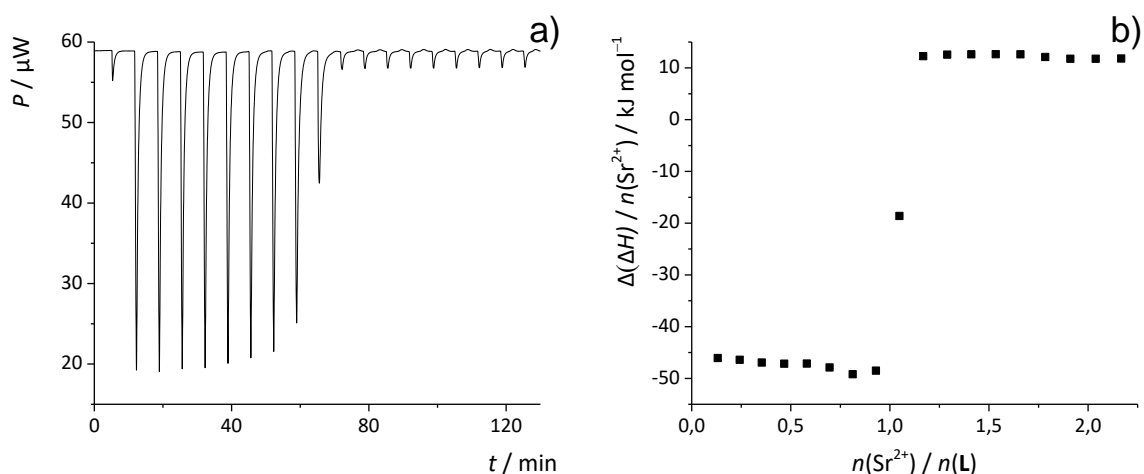
**Slika 24. a)** Spektrofotometrijska titracija spoja **L** ( $c = 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) sa  $\text{Sr}(\text{ClO}_4)_2 \times 3\text{H}_2\text{O}$  ( $c = 2,08 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu;  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $V_0(\mathbf{L}) = 2,2 \text{ cm}^3$ ;  $l = 1 \text{ cm}$ . Spektri su korigirani za razrjeđenje. **b)** Ovisnost apsorbancije otopine spoja **L** pri 272 nm o omjeru množina  $\text{Sr}(\text{ClO}_4)_2 \times 3\text{H}_2\text{O}$  i spoja **L**.

Jedna od provedenih fluorimetrijskih titracija receptora sa stroncijevim perkloratom prikazana je na **Slika 25**. Dodatkom otopine soli u otopinu liganda dolazi do smanjenja intenziteta fluorescencije sve do omjera množina  $n(\text{Sr}^{2+}) / n(\mathbf{L}) \approx 1$  nakon čega se intenzitet fluorescencije sustava značajnije ne mijenja daljnjim dodatkom otopine soli. Linearna ovisnost relativnog intenziteta fluorescencije sustava o omjeru množina titransa i titranda i u ovom slučaju upućuje na izrazito jako vezanje pa je, bez obzira na veću osjetljivost fluorimetrije u odnosu na mikrokolorimetriju i spektrofotometriju, konstanta stabilnosti  $\text{SrL}^{2+}$  prevelika da bi se odredila fluorimetrijski.



**Slika 25. a)** Fluorimetrijska titracija spoja **L** ( $c = 1,3 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{Sr}(\text{ClO}_4)_2 \times 3\text{H}_2\text{O}$  ( $c = 8,46 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu;  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $V_0(\text{L}) = 2,5 \text{ cm}^3$ ;  $\lambda_{\text{ex}} = 272 \text{ nm}$ ; širine pukotina: ulazna 5 nm, izlazna 10 nm. Spektri su korigirani za razrjeđenje. **b)** Ovisnost relativnog intenziteta fluorescencije otopine spoja **L** pri 308 nm o omjeru množina  $\text{Sr}(\text{ClO}_4)_2 \times 3\text{H}_2\text{O}$  i spoja **L**.

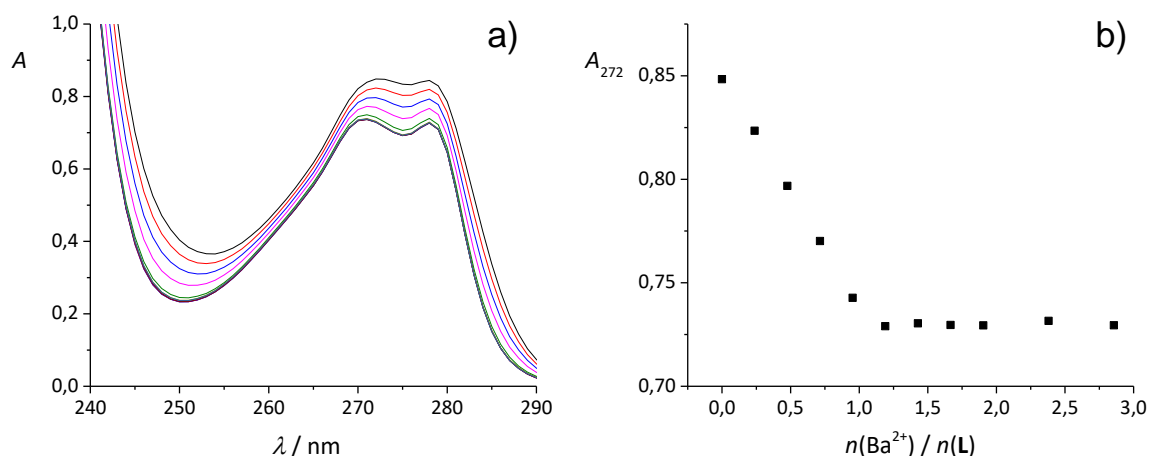
**Slika 26** prikazuje mikrokalorimetrijsku titraciju **L** sa stroncijevim perkloratom. Kao i u slučaju titracije s  $\text{Ca}^{2+}$ , određena je reakcijska entalpija kompleksiranja  $\text{Sr}^{2+}$  koja je otprilike ista kao i za kompleksiranje  $\text{Ca}^{2+}$  (**Tablica 2**). S obzirom na razlike u entalpiji desolvatacije navedenih kationa ( $\Delta_{\text{sol}}H^\circ(\text{Ca}^{2+}) = -1583 \text{ kJ mol}^{-1}$ ,  $\Delta_{\text{sol}}H^\circ(\text{Sr}^{2+}) = -1462 \text{ kJ mol}^{-1}$ ),<sup>50</sup> podjednake entalpije kompleksiranja  $\text{Sr}^{2+}$  i  $\text{Ca}^{2+}$  s **L** vjerojatno su posljedice slabijih interakcija koje  $\text{Sr}^{2+}$  ostvaruje s veznim mjestom kaliksarena.



**Slika 26. a)** Termogram mikrokalorimetrijske titracije spoja **L** ( $c = 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) sa  $\text{Sr}(\text{ClO}_4)_2 \times 3\text{H}_2\text{O}$  ( $c = 2,08 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu;  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $V(\mathbf{L}) = 1,42 \text{ cm}^3$ . **b)** Ovisnost sukcesivne promjene entalpije podijeljene s množinom dodatka  $\text{SrClO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$  o omjeru množina  $\text{SrClO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$  i spoja **L**.

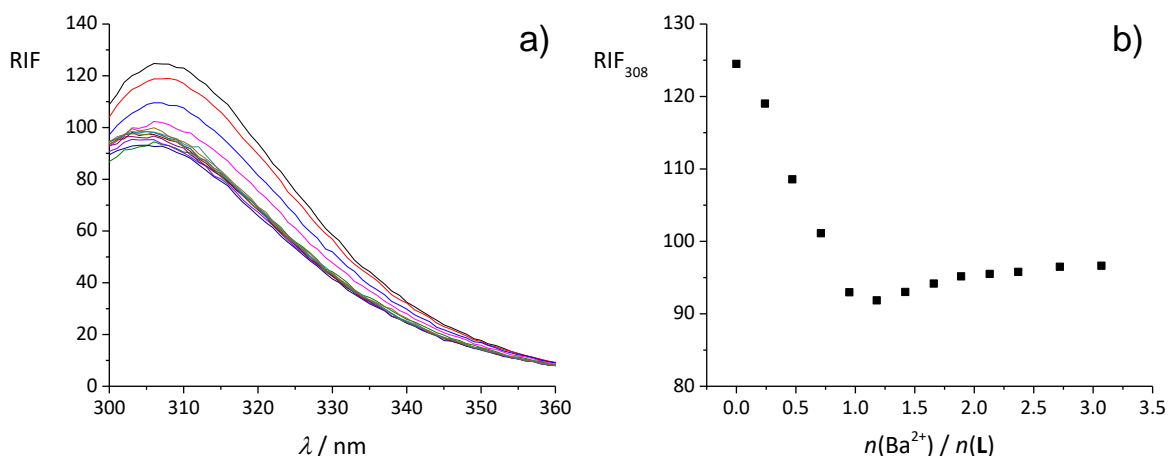
Spektrofotometrijska titracija liganda **L** s barijevim perkloratom u acetonitrilu prikazana je na **Slika 27**. Dodatkom otopine barijeve soli u otopinu receptora dolazi do smanjenja apsorbancije, a nakon dodanog prvog ekvivalenta soli više se ne uočavaju značajnije spektralne promjene. Kao i u slučaju gore opisanih reakcija kompleksiranja zemnoalkalijskih kationa, rezultati upućuju na vezanje jednog barijevog kationa po molekuli receptora **L**, no nastali kompleks je prestabilan da bi se konstanta ravnoteže kompleksiranja mogla odrediti spektrofotometrijski.





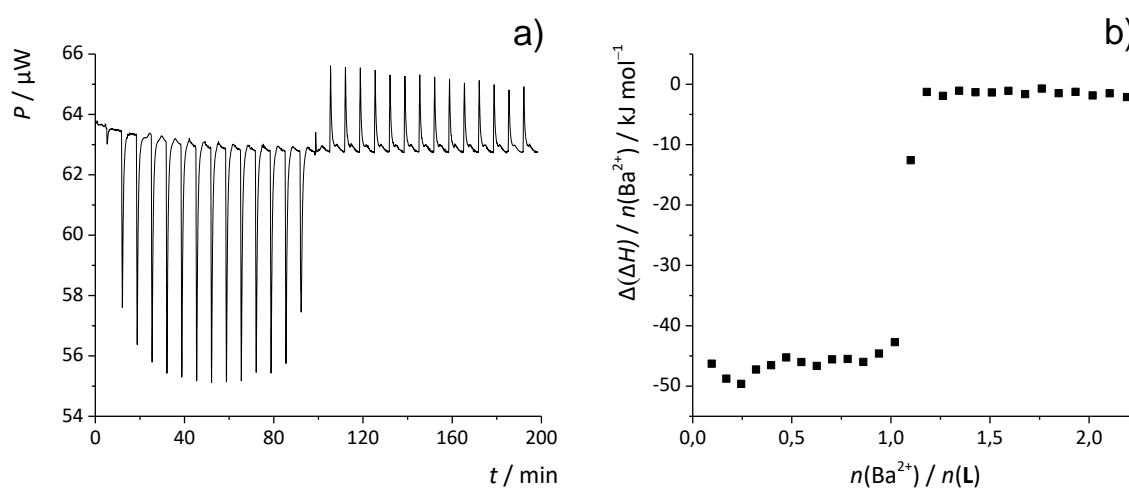
**Slika 27. a)** Spektrofotometrijska titracija spoja **L** ( $c = 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2$  ( $c = 2,08 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu;  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $V_0(\text{L}) = 2,2 \text{ cm}^3$ ;  $l = 1 \text{ cm}$ . Spektri su korigirani za razrjeđenje. **b)** Ovisnost apsorbancije otopine spoja **L** pri 272 nm o omjeru množina  $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2$  i spoja **L**.

Vežanje barijevog kationa i spoja **L** istraženo je fluorimetrijski (**Slika 28**). Kompleksiranjem dolazi do smanjenja intenziteta fluorescencije, a nakon dodanog prvog ekvivalenta barijevog kationa intenzitet fluorescencije se više ne mijenja značajno. Takvi rezultati potvrđuju one dobivene spektrofotometrijom, no, kao i u slučaju drugih istraženih zemnoalkalijskih kationa, konstanta stabilnosti kompleksa  $\text{BaL}^{2+}$  je prevelika da bi se njena vrijednost odredila fluorimetrijski.



**Slika 28.** **a)** Fluorimetrijska titracija spoja **L** ( $c = 1,3 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2$  ( $c = 7,44 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu;  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $V_0(\mathbf{L}) = 2,5 \text{ cm}^3$ ;  $\lambda_{\text{ex}} = 272 \text{ nm}$ ; širine pukotina: ulazna 5 nm, izlazna 10 nm. Spektri su korigirani za razrjeđenje. **b)** Ovisnost relativnog intenziteta fluorescencije otopine spoja **L** pri 308 nm o omjeru množina  $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2$  i spoja **L**.

Kompleksiranje barijevog kationa s ligandom **L** istraženo je mikrokalorimetrijski, a jedna od provedenih titracija prikazana je na **Slika 29**. Rezultati upućuju na egzotermnu reakciju s  $\text{Ba}^{2+}$ , a sukcesivne promjene entalpije podijeljene s množinom dodane soli koje su  $\approx 0$  nakon omjera množina  $n(\text{Ba}^{2+}) / n(\mathbf{L}) \approx 1$  potvrđuju nastanak kompleksa stehiometrije 1 : 1, kao i u slučaju ostalih istraženih zemnoalkalijskih kationa. Budući da je konstanta stabilnosti nastalog kompleksa prevelika da bi se odredila mikrokalorimetrijski, iz dobivenih rezultata određena je reakcijska entalpija vezanja barijevog kationa s **L** (**Tablica 2**). Kompleksiranje  $\text{Ba}^{2+}$  je najmanje egzotermno od svih proučenih reakcija. Ovakvo opažanje ne može se objasniti desolvatacijom barijevog kationa budući da je ona, u nizu promatranih zemnoalkalijskih kationa, najmanje endotermna.<sup>50</sup> Ipak, s obzirom na veličinu barijevog kationa, kao i najmanju gustoću naboja u usporedbi s drugim zemnoalkalijskim kationima, ostvarene interakcije s **L** su najslabije u slučaju  $\text{Ba}^{2+}$ .



**Slika 29. a)** Termogram mikrokolorimetrijske titracije spoja **L** ( $c = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2$  ( $c = 1,06 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu;  $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $V(\text{L}) = 1,42 \text{ cm}^3$ . **b)** Ovisnost sukcesivne promjene entalpije podijeljene s množinom dodatka  $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2$  o omjeru množina  $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2$  i spoja **L**.

## § 5. ZAKLJUČAK

Istražena je intrinzična fluorescencija derivata kaliks[6]arena **L** te njegov kompleksacijski afinitet prema alkalijskim i zemnoalkalijskim kationima u acetonitrilu. Konstante stabilnosti kompleksa i drugi termodinamički reakcijski parametri određeni su spektrofotometrijski, fluorimetrijski i mikrokalorimetrijski, dok je spektroskopija nuklearne magnetske rezonancije korištena za potvrdu stehiometrije kompleksnih vrsta.

Rezultati istraživanja ukazali su na to da ligand **L** posjeduje svojstvo intrinzične fluorescencije, iako u strukturi ne sadrži dodatno ugrađene fluorofore. Relativni intenzitet fluorescencije **L** linearno ovisi o koncentraciji do  $c \approx 2,0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ . Spoj podliježe sporoj fotodegradaciji koja je zanemariva tijekom vremena potrebnog za provedbu titracijskih eksperimenata. Uslijed vezanja kationa dolazi do znatne promjene fluorescencije liganda. Ovisnost intenziteta fluorescencije sustava o koncentraciji dodanog alkalijskog kationa razlikuje se ovisno o kationu (porast, odnosno pad intenziteta), dok u svim slučajevima kompleksiranja zemnoalkalijskih kationa dolazi do smanjenja fluorescencije nastankom kompleksa. Smanjenje intenziteta fluorescencije može se objasniti izraženijim fotoinduciranim prijenosom elektrona u kompleksu u odnosu na slobodan ligand, dok je u slučaju porasta RIF navedeni efekt manje izražen. Navedena opažanja omogućuju određivanje relativno velikih konstanti stabilnosti kompleksa pomoću spektrofluorimetrije.

Kaliksaren **L** tvori stabilne komplekse s alkalijskim kationima stehiometrije 1 : 1 i 2 : 1 ( $M^+ : L$ ). Konstante stabilnosti  $ML^+$  i  $M_2L^{2+}$  ( $M = Li^+, Na^+$ ) određene su fluorimetrijski, dok je njihova vrijednost prevelika da bi se odredila spektrofotometrijom ili mikrokalorimetrijom.  $^1H$  NMR spektar receptora **L** upućuje na veliku konformacijsku slobodu tog spoja, a vezanjem kationa dolazi do „zaključavanja“ konformacije. U svim slučajevima, kompleksiranje alkalijskih kationa je egzotermno, a vrijednost konstante stabilnosti kompleksa  $ML^+$  veća je od one  $M_2L^{2+}$  ( $M = Li^+, Na^+, K^+, Rb^+$ ). Pri tome se stabilnost kompleksa smanjuje s povećanjem radijusa kationa. U slučaju vezanja zemnoalkalijskih kationa, nastaju isključivo kompleksi stehiometrije 1 : 1, a vrijednosti konstanti stabilnosti su prevelike da bi se odredile direktnim titracijskim eksperimentima. Mikrokalorimetrijskim titracijama određene su vrijednosti  $\Delta_r H^\circ$  za vezanje zemnoalkalijskih kationa te za  $|\Delta_r H^\circ|$  vrijedi  $Ca^{2+} \approx Sr^{2+} > Ba^{2+}$ .

Konstante stabilnosti kompleksa određene trima upotrijebljenim metodama vrlo se dobro slažu što upućuje na primjenjivost praćenja intrinzične fluorescencije kaliksarena za

kvantitativnu karakterizaciju njihovih reakcija kompleksiranja. To otvara novi pristup spektrofluorimetrijskom istraživanju reakcija tih važnih makrocikličkih liganada, i to pri znatno nižim koncentracijama u odnosu na one koje se primjenjuju prilikom korištenja drugih, uobičajenih eksperimentalnih metoda.

---

## ZAHVALE

Veliko hvala mentoru ovog rada, prof. dr. sc. Vladislavu Tomišiću na pruženoj prilici da se okušam u *kemijanju* s kaliksarenima. Hvala Vam što ste uvijek bili spremni podijeliti svoje znanje i bogato iskustvo sa mnom, hvala na strpljenju, brojnim zanimljivim kemijskim anegdotama i vrijednim savjetima. Posebno, hvala Vam što ljubav prema kemiji sa žarom prenosite novim generacijama koje dolaze, a tako i meni.

Od srca hvala asistentici Katarini Leko koja me prati od mog dolaska na drugi kat i od tad uvijek smireno i strpljivo odgovara na sva moja (mnogobrojna) pitanja. Hvala ti na tome što nijedan problem nije bio nerješiv, što si uvijek znala gdje što u labosu stoji, na mnogobrojnim (ne)kemijskim razgovorima, spuštanju do Kvatrića i na tome što si uvijek spremna pomoći.

Hvala i asistentici Andrei Usenik na inovativnim idejama, zanimljivim razgovorima, svakoj pomoći u laboratoriju i van njega, i na brojnim *templateovima* koji su ubrzali proces pisanja.

Hvala i ostalim djelatnicima Zavoda za fizikalnu kemiju zbog kojih sam se radosno i s iščekivanjem penjala na Brdo svaki dan. Hvala vam što ste drugi kat učinili mojim *radnim domom*.

Na kraju, hvala onima bez čije podrške ništa od ovog ne bi bilo moguće – mami, tati i seki Stephani. Hvala vam što ste uvijek tu, kad se smijem i kad plačem, što ste me uvijek podržavali u onome što je dobro za mene. Hvala vam što ste me od malih nogu učili što je bitno, a kad sam malo porasla iznova podsjećali na to kad god je bilo potrebno. Hvala vam što ste moja sigurna luka i što nas, bez obzira gdje sam, uvijek dijeli samo jedan telefonski poziv. Beskrajno sam zahvalna Bogu što vas imam!

## § 6. LITERATURNI IZVORI

1. V. Gold, ur., *The IUPAC Compendium of Chemical Terminology: The Gold Book*, 4<sup>th</sup> edition, International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), Research Triangle Park, NC, 2019.
2. H.-J. Schneider, A. K. Yatsimirsky, *Chem. Soc. Rev.* **37** (2008) 263–277
3. J. W. Steed, J. L. Atwood, *Supramolecular Chemistry*, 1<sup>st</sup> edition, Wiley, 2009.
4. C. D. Gutsche, *Calixarenes: An Introduction*, 2<sup>nd</sup> edition, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2008.
5. C. G. Wermuth, D. J. Aldous, P. Raboisson, D. Rognan, *The Practice of Medicinal Chemistry*, 4<sup>th</sup> edition, Academic Press, London, 2015.
6. J. Mallinson, I. Collins, *Future Med. Chem.* **4** (2012) 1409–1438.
7. D. T. Schühle, J. A. Peters, J. Schatz, *Coord. Chem. Rev.* **255** (2011) 2727–2745.
8. Y. Pan, X. Hu, D. Guo, *Angew. Chem. Int. Ed.* **60** (2021) 2768–2794.
9. Y. Zhou, K. Jie, R. Zhao, F. Huang, *Adv. Mater.* **32** (2020) 1904824.
10. A. Wei, *Chem. Commun.* (2006) 1581.
11. D. M. Homden, C. Redshaw, *Chem. Rev.* **108** (2008) 5086–5130.
12. J.-N. Rebilly, B. Colasson, O. Bistri, D. Over, O. Reinaud, *Chem. Soc. Rev.* **44** (2015) 467–489.
13. E. S. Español, M. M. Villamil, *Biomolecules* **9** (2019) 90.
14. S. B. Nimse, T. Kim, *Chem. Soc. Rev.* **42** (2013) 366–386.
15. A. Ikeda, S. Shinkai, *Chem. Rev.* **97** (1997) 1713–1734.
16. C. Gaeta, C. Talotta, P. Neri, *Beilstein J. Org. Chem.* **14** (2018) 2112–2124.
17. J. Požar, T. Preočanin, L. Frkanec, V. Tomišić, *J. Solut. Chem.* **39** (2010) 835–848.
18. V. Tomišić, N. Galić, B. Bertoša, L. Frkanec, V. Simeon, M. Žinić, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **53** (2005) 263–268.
19. R. Ludwig, N. T. K. Dzung, *Sensors* **2** (2002) 397–416.
20. W. Sliwa, T. Girek, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **66** (2010) 15–41.
21. A. F. Danil De Namor, R. M. Cleverley, M. L. Zapata-Ormachea, *Chem. Rev.* **98** (1998) 2495–2526.
22. J. Požar, I. Nikšić-Franjić, M. Cvetnić, K. Leko, N. Cindro, K. Pičuljan, I. Borilović, L. Frkanec, V. Tomišić, *J. Phys. Chem. B* **121** (2017) 8539–8550.

23. G. Horvat, V. Stilinović, B. Kaitner, L. Frkanec, V. Tomišić, *Inorg. Chem.* **52** (2013) 12702–12712.
24. S. N. Podyachev, N. E. Kashapova, V. V. Syakaev, S. N. Sudakova, R. R. Zainullina, M. Gruner, W. D. Habicher, T. A. Barsukova, F. Yang, A. I. Konovalov, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **78** (2014) 371–380.
25. W. Sliwa, M. Deska, *Arkivoc* **2008** (2008) 87–127.
26. F. Arnaud-Neu, E. M. Collins, M. Deasy, G. Ferguson, S. J. Harris, B. Kaitner, A. J. Lough, M. A. McKervey, E. Marques, *J. Am. Chem. Soc.* **111** (1989) 8681–8691.
27. A. F. Danil De Namor, T. T. Matsufuji-Yasuda, K. Zegarra-Fernandez, O. A. Webb, A. El Gamouz, *Croat. Chem. Acta* **86** (2013) 1–19.
28. M. T. Bakić, D. Jadreško, T. Hrenar, G. Horvat, J. Požar, N. Galić, V. Sokol, R. Tomaš, S. Alihodžić, M. Žinić, L. Frkanec, V. Tomišić, *RSC Adv.* **5** (2015) 23900–23914.
29. J. Požar, M. Cvetnić, A. Usenik, N. Cindro, G. Horvat, K. Leko, M. Modrušan, V. Tomišić, *Molecules* **27** (2022) 470.
30. A. S. De Araujo, O. E. Piro, E. E. Castellano, A. F. Danil De Namor, *J. Phys. Chem. A* **112** (2008) 11885–11894.
31. C. Bonechi, A. Donati, S. Martini, C. Rossi, A. Arduini, A. Pochini, B. Lonetti, P. Baglioni, *J. Phys. Chem. B* **108** (2004) 7603–7610.
32. A. F. Danil De Namor, S. Chahine, E. E. Castellano, O. E. Piro, *J. Phys. Chem. A* **109** (2005) 6743–6751.
33. G. Horvat, L. Frkanec, N. Cindro, V. Tomišić, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **19** (2017) 24316–24329.
34. A. F. Danil De Namor, N. A. De Sueros, M. A. McKervey, G. Barrett, F. A. Neu, M. J. Schwing-Weill, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* (1991) 1546.
35. H. Ren, H. Wang, W. Wen, S. Li, N. Li, F. Huo, C. Yin, *Chem. Commun.* **59** (2023) 13790–13799.
36. R. Kumar, A. Sharma, H. Singh, P. Suating, H. S. Kim, K. Sunwoo, I. Shim, B. C. Gibb, J. S. Kim, *Chem. Rev.* **119** (2019) 9657–9721.
37. J. S. Kim, D. T. Quang, *Chem. Rev.* **107** (2007) 3780–3799.
38. T. L. Mako, J. M. Racicot, M. Levine, *Chem. Rev.* **119** (2019) 322–477.
39. P. Neri, J. L. Sessler, M.-X. Wang, ur., *Calixarenes and Beyond*, Springer International Publishing, Cham, 2016.



- 
40. G. D. Andreetti, A. Pochini, R. Ungaro, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2* (1983) 1773–1779.
  41. M. Coruzzi, G. D. Andreetti, V. Bocchi, A. Pochini, R. Ungaro, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2* (1982) 1133–1138.
  42. V. Francisco, A. Piñeiro, W. M. Nau, L. García-Río, *Chem. – Eur. J.* **19** (2013) 17809–17820.
  43. D. Gutsche, L. J. Bauer, *J. Am. Chem. Soc.* **107** (1985) 6059–6063.
  44. A. F. Danil De Namor, S. Chahine, D. Kowalska, E. E. Castellano, O. E. Piro, *J. Am. Chem. Soc.* **124** (2002) 12824–12836.
  45. P. M. Marcos, J. R. Ascenso, M. A. P. Segurado, J. L. C. Pereira, *J. Phys. Org. Chem.* **12** (1999) 695–702.
  46. I. Sviben, N. Galić, V. Tomišić, L. Frkanec, *New J. Chem.* **39** (2015) 6099–6107.
  47. F. Arnaud-Neu, S. Barbosa, F. Berny, A. Casnati, N. Muzet, A. Pinalli, R. Ungaro, M.-J. Schwing-Weill, G. Wipff, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* (1999) 1727–1738.
  48. G. Horvat, *Termodinamičko i strukturno istraživanje kompleksiranja alkalijских kationa s amidnim derivatima kaliks[4]arena*, doktorski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2012.
  49. L. Frkanec, A. Višnjevac, B. Kojić-Prodić, M. Žinić, *Chem. - Eur. J.* **6** (2000) 442–453.
  50. Y. Marcus, *Ion properties*, Marcel Dekker, New York, 1997.
  51. K. Leko, A. Usenik, N. Cindro, M. Modrušan, J. Požar, G. Horvat, V. Stilinović, T. Hrenar, V. Tomišić, *ACS Omega* **8** (2023) 43074–43087.
  52. A. Casnati, P. Minari, A. Pochini, R. Ungaro, W. F. Nijenhuis, F. De Jong, D. N. Reinhoudt, *Isr. J. Chem.* **32** (1992) 79–87.
  53. U. C. Meier, C. Detellier, *Dalton Trans.* (2003) 4574.
  54. M. Tranfić Bakić, D. Klarić, M. S. Espinosa, S. Kazazić, L. Frkanec, P. A. Babay, N. Galić, *Supramol. Chem.* **31** (2019) 723–731.
  55. K. A. Connors, *Binding Constants: The Measurement of Molecular Complex Stability*, Wiley & Sons, New York, 1987, str 3–212.
  56. K. Hirose, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **39** (2001) 193–209.
  57. P. Thordarson, *Chem Soc Rev* **40** (2011) 1305–1323.
  58. Origin 7.5. OriginLab Corp., Northampton, MA, <http://www.originlab.com>.
  59. P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *Talanta* **43** (1996) 1739–1753.

- 
60. J. Kimball, J. Chavez, L. Ceresa, E. Kitchner, Z. Nurekeyev, H. Doan, M. Szabelski, J. Borejdo, I. Gryczynski, Z. Gryczynski, *Methods Appl. Fluoresc.* **8** (2020) 033002.
  61. N. Bregović, N. Cindro, L. Frkanec, V. Tomišić, *Supramol. Chem.* **28** (2016) 608–615.
  62. J. F. Ireland, P. A. H. Wyatt, *Adv. Phys. Org. Chem.* Elsevier (1976) 131–221.

## SAŽETAK

### INTRINZIČNA FLUORESCENCIJA TERCIJARNOG AMIDNOG DERIVATA KALIKS[6]ARENA I NJEGOVO KOMPLEKSIRANJE ALKALIJSKIH I ZEMNOALKALIJSKIH KATIONA

Karla Kukina Gradečak

Unatoč uvriježenom mišljenju da derivati kaliksarena koji u strukturi nemaju ugrađene fluorofore ne mogu poslužiti kao fluorescentni senzori, u ovom radu pokazano je da tercijarni amidni derivat kaliks[6]arena (**L**) posjeduje svojstvo intrinzične fluorescencije te da se ono može učinkovito koristiti za kvantitativnu karakterizaciju reakcija vezanja kationa s tim spojem. Termodinamički parametri reakcija liganda **L** s alkalijskim i zemnoalkalijskim kationima u acetonitrilu određeni su pri 25 °C mikrokalorimetrijskim, spektrofotometrijskim i spektrofluorimetrijskim titracijama. U slučaju kompleksiranja kalijevog kationa, stehiometrija nastalih kompleksa dodatno je potvrđena <sup>1</sup>H spektroskopijom nuklearne magnetske rezonancije.

Istraživani derivat kaliks[6]arena pokazuje velik afinitet prema alkalijskim kationima te još veći prema zemnoalkalijskim. Sa svim ionima alkalijskih metala tvori komplekse stehiometrije 1 : 1 i 2 : 1 ( $M^+ : L$ ), pri čemu su konstante stabilnosti  $ML^+$  veće od onih za vrste  $M_2L^{2+}$  ( $M = Li, Na, K, Rb$ ) te se obje konstante smanjuju s povećanjem ionskog radijusa. Vrijednosti konstanti stabilnosti kompleksa litijeva i natrijeva kationa prevelike su za određivanje mikrokalorimetrijom i spektrofotometrijom (stoga su one samo procijenjene), no veća osjetljivost fluorimetrije omogućila je njihovo određivanje tom metodom. Vezanje svih alkalijskih kationa je egzotermno. U slučaju reakcija zemnoalkalijskih kationa s ligandom **L**, uočeno je nastajanje isključivo kompleksa stehiometrije 1 : 1, i to toliko velikih stabilnosti da se odgovarajuće konstante ravnoteže nisu mogle odrediti izravnim titracijama. Ipak, mikrokalorimetrijski su određene reakcijske entalpije te je utvrđeno da je i stvaranje kompleksa  $ML^{2+}$  ( $M = Ca, Sr, Ba$ ) egzotermno. Opažene razlike termodinamičkih parametara koji karakteriziraju istraživane reakcije raspravljene su s obzirom na strukturna obilježja spoja **L** i značajke kationa (radijus, naboj).

Rezultati rada vezani uz intrinzičnu fluorescenciju kaliksarena **L** vrlo će se vjerojatno moći poopćiti na druge spojeve iz skupine tih supramolekulskih receptora, što će omogućiti znatno širu (u odnosu na dosadašnju) primjenu iznimno osjetljive metode spektrofluorimetrije pri kvantitativnom istraživanju njihovih koordinacijskih reakcija.

Ključne riječi: kaliks[6]aren, fluorescencija, termodinamika, kompleksiranje, ionski receptori

## SUMMARY

### INTRINSIC FLUORESCENCE OF TERTIARY-AMIDE CALIX[6]ARENE DERIVATIVE AND ITS COMPLEXATION WITH ALKALI AND ALKALINE EARTH METAL CATIONS

Karla Kukina Gradečak

Despite the common opinion that calixarene derivatives without a luminescent center cannot serve as fluorescent sensors, this study demonstrates that the tertiary-amide calix[6]arene derivative (**L**) possesses property of intrinsic fluorescence, which can be used for the quantitative characterization of cation-binding reactions. The thermodynamic parameters of complexation of alkali and alkaline earth metal cations with receptor **L** in acetonitrile were determined at 25 °C using microcalorimetric, spectrophotometric, and spectrofluorimetric titrations. In the case of potassium cation, the stoichiometries of the resulting complexes were additionally confirmed by <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance spectroscopy.

The investigated calix[6]arene exhibited high affinity towards alkali metal cations, and an even higher towards alkaline earth metal cations. Macrocycle **L** formed 1 : 1 and 2 : 1 ( $M^+ : L$ ) complexes with all alkali metal ions, with the stability constants of  $ML^+$  being higher than those for  $M_2L^{2+}$  ( $M = Li, Na, K, Rb$ ), both decreasing with increasing ionic radius. The stability constants for lithium and sodium cation complexes were too high to be determined by means of microcalorimetry and spectrophotometry (they were only estimated by these methods), but the higher sensitivity of fluorimetry allowed for their determination by that method. The binding of all alkali metal cations is exothermic. In the case of the reactions of alkaline earth metal cations with compound **L**, only 1 : 1 complexes were observed, with such high stability that the corresponding equilibrium constants could not be determined by direct titrations. However, reaction enthalpies were determined microcalorimetrically, and it was found that the formation of  $ML^{2+}$  complexes ( $M = Ca, Sr, Ba$ ) was also exothermic. The observed differences in the thermodynamic parameters of the studied reactions were discussed regarding the structure of compound **L** and the properties of the cations (radius, charge).

The results of this work regarding the intrinsic fluorescence of calixarene **L** can very likely be generalized to other compounds from this class of supramolecular receptors, which will enable a significantly broader application (compared to the one so far) of the highly sensitive spectrofluorimetry in the quantitative study of the calixarene coordination reactions.

Keywords: calix[6]arene, fluorescence, thermodynamics, complexation, ionic receptors

## ŽIVOTOPIS

Karla Kukina Gradečak rođena je 28. kolovoza 2000. godine u Varaždinu. Pohađala je V. osnovnu školu Varaždin nakon koje upisuje Prvu gimnaziju Varaždin. Tijekom osnovnoškolskog i srednjoškolskog obrazovanja sudjelovala je na brojnim sportskim natjecanjima, ali i natjecanjima znanja iz kemije, matematike i hrvatskog jezika. Preddiplomski studij kemije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu upisuje 2019., a završava 2022. godine. Na istom fakultetu upisuje diplomski studij kemije 2022. godine gdje je trenutno redovna studentica druge godine. Tijekom fakultetskog obrazovanja sudjelovala je na znanstveno-popularizacijskim manifestacijama poput Otvorenog dana PMF-a i Women in Science te je bila aktivan član Studentske sekcije Hrvatskog kemijskog društva. Od 2022. godine uključena je u znanstveni rad na Zavodu za fizikalnu kemiju te u provedbu stručnog projekta Stabilnost farmaceutski aktivnih tvari u otopinama na navedenom Zavodu. S posterskim ili usmenim izlaganjem sudjelovala je na nekoliko konferencija i simpozija (Adriatic NMR 2023, SupramolChem 2023, 8. Simpozij studenata kemičara i 15. susret mladih kemijskih inženjera). Dobitnica je Dekanove nagrade Kemijskog odsjeka PMF-a za 2024. god.