

Strukturna karakterizacija i analitička primjena aromatskih hidrazona izvedenih iz nikotinohidrazida

Benković, Tomislav

Doctoral thesis / Disertacija

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:573792>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-16**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





University of Zagreb
FACULTY OF SCIENCE

Tomislav Benković

**STRUCTURAL CHARACTERIZATION AND
ANALYTICAL APPLICATION OF AROMATIC
HYDRAZONES DERIVED FROM NICOTINIC ACID
HYDRAZIDE**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2018.



Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

Tomislav Benković

**STRUKTURNA KARAKTERIZACIJA I ANALITIČKA
PRIMJENA AROMATSKIH HIDRAZONA IZVEDENIH
IZ NIKOTINOHIDRAZIDA**

DOKTORSKI RAD

Mentorica: prof. dr. sc. Nives Galić

Zagreb, 2018



University of Zagreb
FACULTY OF SCIENCE

Tomislav Benković

**STRUCTURAL CHARACTERIZATION AND
ANALYTICAL APPLICATION OF AROMATIC
HYDRAZONES DERIVED FROM NICOTINIC ACID
HYDRAZIDE**

DOCTORAL THESIS

Supervisor: Dr. Nives Galić, prof.

Zagreb, 2018.

Predgovor

Ovaj doktorski rad izrađen je u Zavodu za analitičku kemiju, na Kemijskom odsjeku, Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom mentorice prof. dr. sc. Nives Galić.

Zahvale

Zahvaljujem svojoj mentorici na vođenju ovog doktorata i stručnoj pomoći koju sam dobio tijekom ovih godina. Hvala Vam na svom prenesenom znanju, savjetima i velikoj podršci.

Zahvaljujem se i svim članovima Zavoda za analitičku kemiju koji su mi pomogli kad god je bilo potrebno oko praktičnog dijela ili oko teorije.

Zahvaljujem se i članovima ostalih zavoda koji su mi pomogli sa svojim vrijednim savjetima u izvođenju eksperimenata.

Hvala svim članovima moje obitelji i prijateljima koji su me podržavali i razumjeli tijekom svih ovih godina.

Posebno hvala mojoj Margareti, koja mi je uvijek znala dati riječi podrške kad je bilo teško.

Sadržaj

SAŽETAK.....	XII
ABSTRACT	XIV
§ 1. UVOD.....	1
§ 2. LITERATURNI PREGLED.....	3
2.1. Spojevi s dvostrukom vezom –C=N–.....	3
2.1.1. Priprava hidrazona	3
2.1.2. Hidroliza hidrazona	5
2.1.3. Tautomerija i izomerija hidrazona.....	8
2.2. Kompleksni spojevi hidrazona.....	17
2.2.1. Kompleksni spojevi hidrazona i željeza	24
2.3. Primjene hidrazona.....	27
2.3.1. Analitička primjena hidrazona.....	37
§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO	48
3.1. Kemikalije.....	48
3.2. Instrumenti	50
3.3. Priprava otopina	51
3.3.1. Priprava pufera.....	51
3.3.2. Priprava otopina za UV-Vis mjerenja.....	52
3.3.3. Priprava otopina za spektrofotometrijska mjerenja.....	53
3.3.4. Priprava otopina za postupak ekstrakcije.....	54
3.3.5. Priprava otopina za tekućinsko-kromatografska određivanja.....	54
3.3.6. Priprava otopina za analize spektrometrijom masa	54
§ 4. REZULTATI I RASPRAVA	55
4.1. Identifikacija spojeva 1–12 spektrometrijom masa	55
4.1.1. Spektri masa spojeva 1–12.....	55
4.1.2. Tandemna spektrometrija masa (ESI(+)) MS/MS.....	56
4.1.3. Tandemna spektrometrija masa adukata spojeva 1–12 s natrijem i kalijem	67
4.1.4. Tandemna spektrometrija masa (ESI(–)) MS/MS	67
4.2. UV-Vis spektroskopska analiza spojeva 3, 5, 7, 8, 11 i 12	69
4.2.1. UV-Vis spektroskopska analiza spojeva 3, 5, 7, 8 i 12.....	69
4.2.2. UV-Vis spektroskopska analiza spoja 11	71
4.3. Spektrofotometrijska mjerenja.....	77
4.4. Konstante protoniranja spojeva 1–12	83

4.5. Hidroliza spojeva 1–12 u metanol/vodi 1/1	90
4.6. Kompleksiranje željeza(III) spojevima 6 i 7	104
4.6.1. UV-Vis spektrofotometrijska mjerenja	104
4.6.2. Identifikacija kompleksnih spojeva spektrometrijom masa	107
4.6.3. Ekstrakcija željeza(III) iz vodenih otopina u kloroform	116
§ 5. ZAKLJUČAK	125
§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA	129
§ 7. LITERATURNI IZVORI	131
§ 8. DODATAK	XVI
§ 9. ŽIVOTOPIS	CXXVI



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Kemijski odsjek

Doktorska disertacija

SAŽETAK

STRUKTURNA KARAKTERIZACIJA I ANALITIČKA PRIMJENA AROMATSKIH HIDRAZONA IZVEDENIH IZ NIKOTINOHIDRAZIDA

Tomislav Benković

Zavod za analitičku kemiju, Kemijski odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet
Horvatovac 102a, 10000 Zagreb

Proučavano je dvanaest aromatskih hidrazona izvedenih iz nikotinohidrazida i različito supstituiranih benzaldehida, odnosno fenil-metil-ketona. Identifikacija i karakterizacija spojeva provedena je spektrometrijom masa i spektroskopskim metodama (NMR, UV-Vis i spektrofotometrija). Spektrometrijom masa razlikovani su metoksi derivati uslijed različitog pomaka keto-enolne tautomerne ravnoteže u plinskoj fazi. Dihidroksi- i klor- derivati razlikovani su na temelju "ortho efekta". Hidrazoni se u otopini nalaze u najstabilnijem enoliminskom obliku, osim nitro derivata koji u dimetilsulfoksidu podliježe deprotonaciji, *E/Z* izomeriji i keto-enolnoj tautomeriji. Za klor- i nitro- derivate uočena je fluorescencija u lužnatom. Spektrofotometrijskim titracijama određene su konstante protoniranja svih spojeva u sustavu metanol/voda 1/1. Vrijednosti pK_a smanjuju se povećanjem elektron-odvlačućeg djelovanja supstituenta na salicilidenskom prstenu. U istom sustavu otapala praćena je hidroliza svih spojeva. U kiselim otopinama hidrolizu ubrzavaju elektron-donirajući supstituenti u *para*, a u lužnatom elektron-odvlačeći supstituenti u *meta* položaju u odnosu na dvostruku vezu $C=N$. Metoksi-derivati primijenjeni su kao ekstrakcijski reagensi za željezo(III). Razrađena je spektrofotometrijska metoda određivanja željeza spojem *N'*-(2-hidroksi-3-metoksifenilmetiliden)-3-piridinkarbohidrazidom.

(136+CXXVIII stranica, 111 slika, 17 tablica, 114 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj kemijskoj knjižnici, Horvatovac 102a, Zagreb i Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici, Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb.

Ključne riječi: aroilhidrazoni / hidroliza / izomerizacija / kompleksiranje / konstante protoniranja / strukturna karakterizacija / tautomerija

Mentor: prof. dr. sc. Nives Galić

Rad prihvaćen: 07. studenog 2018.

Ocjenitelji:

1. izv.prof. dr. sc. Snežana Miljanić, PMF, Zagreb.
2. doc. dr. sc. Ana Budimir, FBF, Zagreb.
3. izv.prof. dr. sc. Vesna Petrović-Peroković, PMF, Zagreb.



University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Chemistry

Doctoral Thesis

ABSTRACT

STRUCTURAL CHARACTERIZATION AND ANALYTICAL APPLICATION OF AROMATIC HYDRAZONES DERIVED FROM NICOTINIC ACID HYDRAZIDE

Tomislav Benković

Division of Analytical Chemistry, Department of Chemistry, Faculty of Science
Horvatovac 102a, 10000 Zagreb

Twelve aromatic hydrazones, derived from nicotinic acid hydrazide and differently substituted benzaldehydes or phenyl-methyl-ketone were studied. Identification and characterization of compounds were performed by mass spectrometry and spectroscopic methods (NMR, UV-Vis, and spectrofluorescence). Methoxy derivatives were distinguished by mass spectrometry due to keto-enol tautomeric interconversion in gas phase. Dihydroxy and chloro derivatives were distinguished by "ortho effect". In solution, hydrazones were present in most stable enolimino form, apart from nitro derivative, which was subjected to deprotonation, *E/Z* isomerization and keto-enol tautomeric interconversion. Fluorescence was observed for chloro and nitro derivatives in basic media. Protonation constants for all compounds were determined in methanol/water 1/1 system by spectrophotometric titrations. The pK_a values were lowered by electron-withdrawing substituent on the salicylidene ring. The hydrolysis of all compounds was studied in the same system. In acidic solutions the hydrolysis was faster due to electron-donor substituent in *para*, and in basic media by electron-withdrawing groups in *meta* position to the C=N double bond. Methoxy derivatives were used as extracting agents for iron(III). The spectrophotometric method for iron(III) determination by *N'*-(2-hydroxy-3-methoxyphenylmethylidene)-3-pyridinecarbohydrazide was developed.

(136+CXXVIII pages, 111 figures, 17 tables, 114 references, original in croatian)

Thesis deposited in Central Chemical Library, Horvatovac 102A, Zagreb, Croatia and National and University Library, Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb, Croatia.

Keywords: aroylhydrazones / complexation / hydrolysis / isomerization / protonation constants / structural characterization / tautomerism

Supervisor: Dr. Nives Galić, prof.

Thesis accepted: November 7th, 2018.

Reviewers:

1. Dr. Snežana Miljanić, Associate Professor, PMF, Zagreb.
2. Dr. Ana Budimir, Assistant Professor, FBF, Zagreb.
3. Dr. Vesna Petrović-Peroković, Associate Professor, PMF, Zagreb.

§ 1. UVOD

Hidrazoni su skupina organskih spojeva koji se intenzivno proučavaju čitav niz godina, ali su i dalje u fokusu brojnih istraživanja zbog različitih svojstava i široke primjene. Mnogi aril- (Ar-NH-N=CH-R ; R = alkil ili aril) i aroil- (Ar-CO-NH-N=CH-R ; R = alkil ili aril) hidrazoni biološki su aktivni, pokazuju antibakterijsku^{1,2}, antifungicidnu¹, antituberkuloznu³, anti-HIV⁴, antimalarijsku⁵ i antitumorsku⁶ aktivnost. Navedene spojeve relativno je lako strukturno modificirati. Polazeći od odgovarajućih reaktanata moguće je pripremiti spojeve koji posjeduju svojstva vrlo selektivnih liganada za određene ione metala što ih čini atraktivnim analitičkim reagensima.⁷⁻¹² Hidrazoni se primjenjuju u klasičnoj analizi, ali se zbog jedinstvenih strukturnih svojstava koriste i kao molekularni prekidači, senzori za različite katione i anione, gelatori malih molekularnih masa te molekularne mašine.¹³⁻¹⁶ Hidrazoni podliježu reverzibilnoj fotoizomerizaciji, termoizomerizaciji ili *E-Z* izomerizaciji uzrokovanoj ionima metala.^{17,18} Polarnost otapala kao i nastajanje intramolekulskih vodikovih veza u molekuli hidrazona može znatno utjecati na *E-Z* izomerizaciju. Osim izomerne ravnoteže, aromatski hidrazoni podliježu i tautomernoj interkonverziji. Ukoliko se hidroksilna skupina nalazi u *ortho* položaju u odnosu na dvostruku vezu C=N , tautomerija može obuhvaćati i dio molekule hidrazona koji potječe od aldehida.^{19,20} Na položaj tautomerne ravnoteže utječe otapalo (polarnost, mogućnost stvaranja vodikovih veza), vrijednost pH ili UV zračenje.²¹ Budući da različiti tautomerni i izomerni oblici mogu imati različita svojstva, detaljno istraživanje navedenih ravnoteža važno je za uspješnu primjenu tih spojeva. Obzirom da pojedini tautomerni i izomerni oblici imaju različita spektralna svojstva, moguće ih je odrediti različitim spektroskopskim tehnikama.^{20,22}

Svrha ovog rada je provesti detaljnu strukturnu karakterizaciju različitih derivata hidrazona u otopini primjenom spektrometrije masa, UV-Vis spektroskopije te spektroskopije NMR, proučiti stabilnost spojeva u sustavima s vodom, vezna svojstva hidrazona prema željezu(III) te razraditi spektrofotometrijsku metodu određivanja željeza(III).

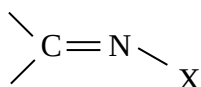
Primjenom tandemne spektrometrije masa provest će se strukturna identifikacija hidrazona pripremljenih iz nikotinhidrazida i benzaldehida, 2-hidroksibenzaldehida, 2,3-dihidroksibenzaldehida, 2,4-dihidroksibenzaldehida, 2,5-dihidroksibenzaldehida, 2-hidroksi-3-metoksibenzaldehida, 2-hidroksi-4-metoksibenzaldehida, 2-hidroksi-3-klorbenzaldehyda, 2-

hidroksi-5-klorbenzaldehida, 2-hidroksi-3,5-diklorbenzaldehida, 2-hidroksi-5-nitrobenzaldehida i 2-hidroksiacetofenona. Snimit će se apsorpcijski i emisijski spektri hidrazona u otapalima različite polarnosti i pri različitim vrijednostima pH, a posebna pažnja će se posvetiti tautomernim i izomernim ravnotežama. Također će se proučiti stabilnost derivata hidrazona u sustavima organskih otapala s vodom u kiselom i lužnatom području i odrediti konstante hidrolize. Na temelju dobivenih rezultata zaključit će se o utjecaju supstituenta na stabilnost dvostruke veze C=N. Spektrofotometrijski će se istražiti utjecaj supstituenata na vrijednosti konstanti protoniranja derivata hidrazona u sustavu organsko otapalo/voda. Na kraju će se istražiti vezna svojstva odabranih derivata prema biološki važnom ionu željeza(III). Na temelju dobivenih rezultata odabrat će se optimalan sustav za spektrofotometrijsko određivanje željeza(III) uključujući tehniku ekstrakcije tekuće-tekuće.

§ 2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Spojevi s dvostrukom vezom –C=N–

Spojevi koji sadrže nukleofilni dušikov atom mogu reagirati s karbonilnim spojevima pri čemu obično nastaje produkt zamjene kisikovog atoma karbonilne skupine atomom dušika.²³ U tablici 2.1 prikazana je podjela spojeva koji sadrže dvostruku vezu C=N, odnosno skupinu:



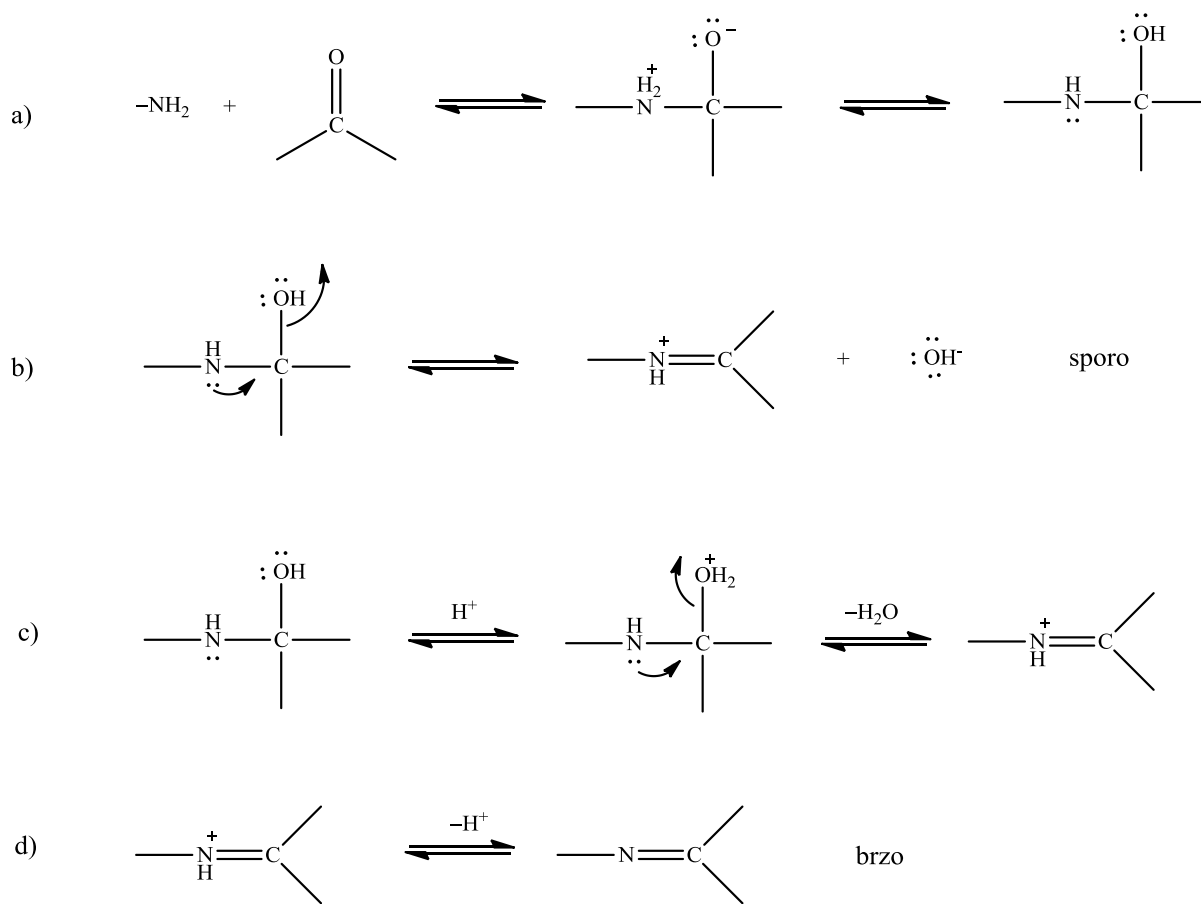
Tablica 2.1. Spojevi s –C=N– vezom.

X	Spoj
H, alkil, aril	Schiffove baze
OH	Oksimi
NHAr ili NHR	Aril- ili alkilhidrazoni
NHCONH ₂	Semikarbazoni

Primarni amini u reakcijama s aldehidima i ketonima daju imine odnosno Schiffove baze. Reakcijom aldehida i ketona s hidroksilaminom nastaju oksimi, s derivatima hidrazina nastaju hidrazoni, a sa semikarbazidima semikarbazoni.

2.1.1. Priprava hidrazona

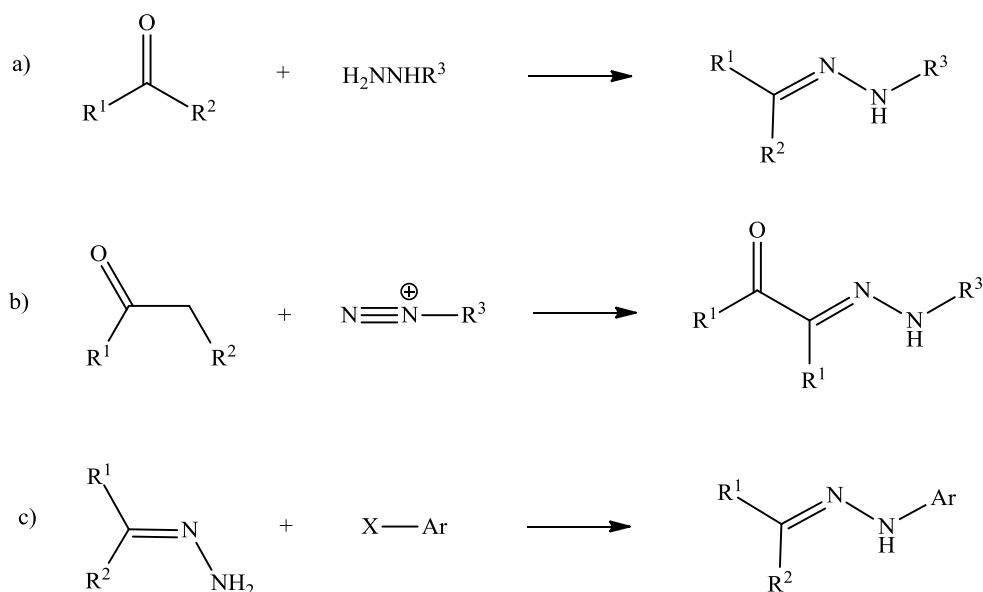
Hidrazoni nastaju kondenzacijom aldehida ili ketona s derivatima hidrazina. Mehanizam nastajanja dvostruke veze C=N uključuje dva stupnja. U prvom stupnju nukleofilni dušikov atom amina napada elektrofilni ugljikov atom karbonilne skupine pri čemu kao međuprodukt nastaje karbinolamin (slika 2.1a) koji se zatim u drugom stupnju dehidratira (slika 2.1b). Kako je dehidratiranje sporiji stupanj reakcije u odnosu na nukleofilnu adiciju aminskog dušika, ono određuje brzinu kemijske reakcije. Povećanje kiselosti povećava brzinu dehidratiranja, a time i brzinu reakcije:

Slika 2.1. Nastajanje spojeva s --C=N-- dvostrukom vezom.²³

U reakcijama karbonilnih spojeva s hidrazinom mogu nastati hidrazoni ili azini, ovisno o tome reagira li jedna ili obje amino-skupine. Aldehidi i dialkil keton lako reagiraju, uglavnom miješanjem reaktanata u vodi ili alkoholu i dobivaju se uglavnom azini. Da bi se dobili hidrazoni reakcija se mora provesti u velikom suvišku hidrazina i u odsutnosti kiseline. Hidrazoni dobiveni iz benzaldehida ili supstituiranih benzaldehida s elektron-donirajućim supstituentima vrlo su nestabilni (azini sporo talože iz njihovih alkoholnih otopina). Primjerice, *p*-dimetilaminobenzaldehid-hidrazon uopće se ne može pripremiti, dok je *p*-nitrobenzaldehyd-hidrazon stabilan i moguće ga je refluksirati u njegovoj alkoholnoj otopini. Dodatkom kiseline nastaje njegov azin.²³

Hidrazoni se osim kondenzacijskim reakcijama aldehida i hidrazida (Slika 2.2a) mogu pripremiti i drugim sintetskim putevima (Slika 2.2b i c), primjerice reakcijom aril-diazonijske soli s β -keto-esterima ili kiselinama, poznatom kao i Japp-Klingmannovom reakcijom (Slika

2.2b). Moguće je pripremiti ih i reakcijom supstitucije između aril halogenida i nesupstituiranog hidrazona.¹³



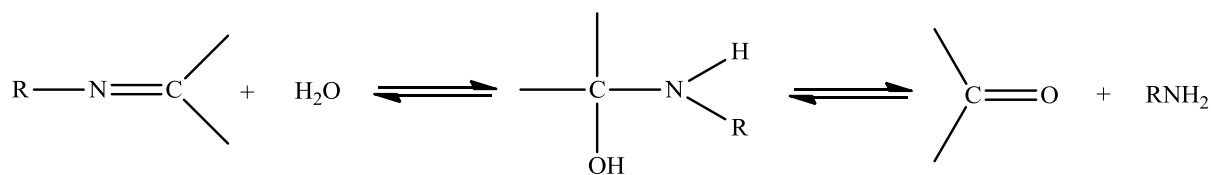
Slika 2.2. Načini sinteze hidrazona: a) nastajanje hidrazina s aldehidima ili ketonima, b) Japp-Klingemannova reakcija i c) supstitucija aril halogenida s nesupstituiranim hidrazonom.¹³

Ponekad je u sintezi hidrazona potrebno dodati i katalitičku količinu kiseline,^{22,23} upotrijebiti mikrovalno²² ili ultrazvučno zračenje.²⁴ Hidrazoni se uspješno mogu pripremiti i mehanokemijskom sintezom.²⁵ Uklanjanjem vode nastale tijekom reakcije može se pospješiti nastanak produkta, odnosno smanjiti hidroliza hidrazona.

Hidrazoni izvedeni iz aroilhidrazida pripremaju se refluksiranjem stehiometrijskih količina odgovarajućeg hidrazida i aldehida ili ketona u prikladnom otapalu. Najčešće korištena otapala su metanol i etanol te smjesa etanola i vode. Željeni produkt obično kristalizira hlađenjem reakcijske smjese.

2.1.2. Hidroliza hidrazona

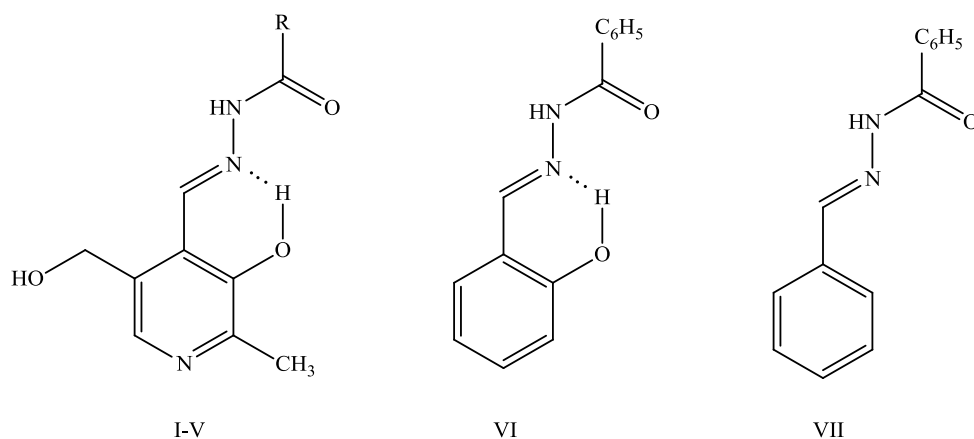
Spojevi koji sadrže dvostruku vezu $\text{C}=\text{N}$ hidroliziraju dajući odgovarajuće aldehide ili ketone. Hidroliza dvostruke veze $\text{C}=\text{N}$ odvija se u dva koraka. U prvom koraku dolazi do adicije vode pri čemu nastaje tetraedarski karbinolamin kao međuprodukt, a u drugom koraku dolazi do eliminacije amina:

Slika 2.3. Hidroliza dvostruke $-\text{C}=\text{N}-$ veze.

Reakcija hidrolize može biti katalizirana kiselinom i bazom, nasuprot kondenzaciji koja može biti katalizirana samo kiselinom. Za potencijalnu primjenu hidrazona kao analitičkih reagensa ili biomimetika neophodno je dobro poznavanje njihove hidrolitičke stabilnosti.

Kale i sur. proučavali su stabilnost hidrazona izvedenih iz acil-hidrazida i alifatskih i aromatskih aldehida. Pri fiziološkim uvjetima (pH 7,4) spojevi izvedeni iz acil-hidrazida i alifatskih aldehida bili su relativno stabilni, dok su već pri slabo kiselim uvjetima (pH 5,5) hidrolizirali.²⁶ Hidrazoni izvedeni iz aromatskih aldehida bili su vrlo stabilni pri obje vrijednosti pH tijekom nekoliko dana i pri povišenoj temperaturi. Hidrolitička stabilnost hidrazona izvedenih iz aromatskih aldehida pripisana je konjugaciji π elektrona veze $-\text{C}=\text{N}-$ s π -sustavom fenilnog prstena.²⁷

Lees-Gayed i suradnici proučavali su kinetiku hidrolize aroilhidrazona izvedenih iz piridoksala i različito supstituiranih acil-hidrazida u kiselim otopinama (slika 2.4).²⁸



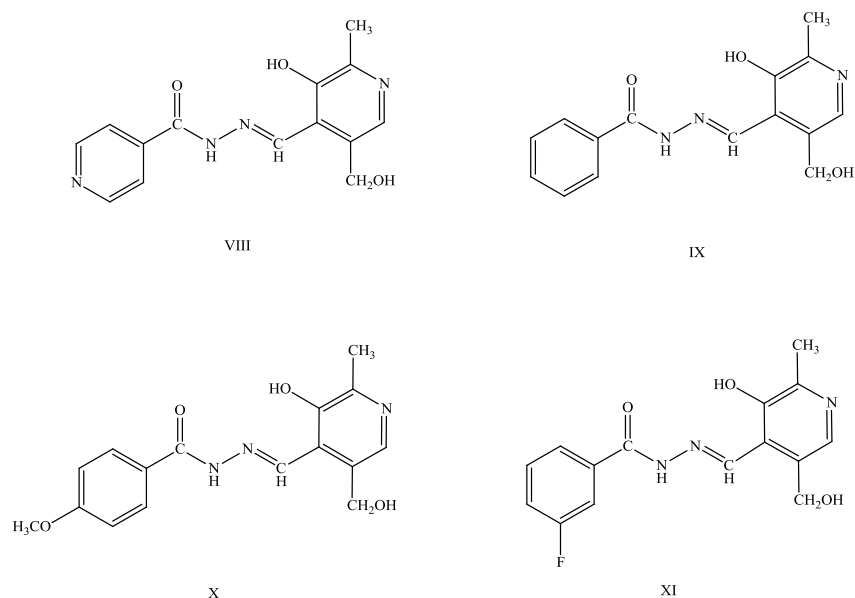
Slika 2.4 Strukturne formule spojeva I–VII: $\text{R}=\text{C}_6\text{H}_5$ (I); $\text{R}=\text{p-ClC}_6\text{H}_4$ (II); $\text{R}=\text{p-MeC}_6\text{H}_4$ (III); $\text{R}=\text{p-MeOC}_6\text{H}_4$ (IV); $\text{R}=\text{p-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$ (V); salicilaldehid-benzoilhidrazon (VI); benzaldehid-benzoilhidrazon (VII).²⁸

U promatranom području pH (0,5–3) aroilhidrazoni se nalaze u ravnoteži između monoprotiranog (H_3L^+) i diprotiranog oblika (H_4L^{2+}). Konstanta brzine hidrolize

linearno je rasla s povećanjem koncentracije H^+ iona, a napad vode na azometinsku vezu je stupanj koji određuje brzinu reakcije.

Autori su uočili da su brzine hidrolize različito supstituiranih piridoksalnih derivata aroilhidrazona vrlo slične, tj. nije primijećen bitan utjecaj elektron-donirajućih ili elektron-odvlačećih supstituenata. Radi usporedbe autori su proučavali i hidrolizu aroilhidrazona u kojima je piridoksalna skupina zamijenjena benzilidenskom i salicilidenskom (slika 2.4). Brzina hidrolize spojeva povećala se oko 100 puta. U derivatima koji sadrže piridoksalnu skupinu, zbog elektron-odvlačećeg djelovanja te skupine otežano je protoniranje azometinskog dušika, koje prethodi napadu vode na azometinsku vezu u reakciji hidrolize.²⁸ Brzina hidrolize salicilidenskog i benzilidenskog derivata nije se posebno razlikovala, pa su autori zaključili da *o*-hidroksilna skupina nema znatnog utjecaja na hidrolizu u kiselom mediju.²⁸

Richardson i suradnici²⁹ spektrofotometrijski su pratili hidrolitičku stabilnost efikasnog kelatora željeza, piridoksal-izonikotinoilhidrazona (PIH), te tri njegova analoga u kiselim, neutralnim i lužnatim otopinama.



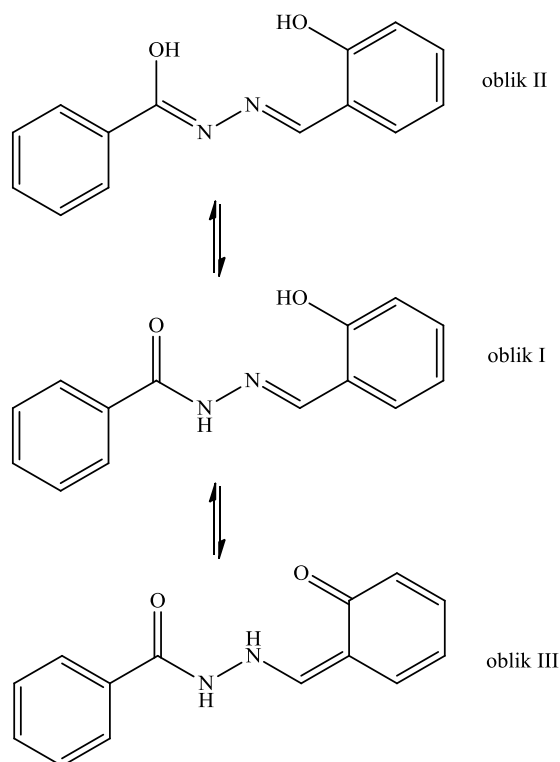
Slika 2.5. Strukture spojeva: piridoksal-izonikotinoilhidrazon (VIII = PIH), piridoksal-benzoilhidrazon (IX = PBH), piridoksal-*p*-metoksibenzoilhidrazon (X = PpMBH) i piridoksal-*m*-fluorbenzoilhidrazon (XI = PmFBH).²⁹

Svi hidrazoni bili su stabilni pri fiziološkom pH, ali su hidrolizirali u jako kiselim i lužnatim otopinama na piridoksal i odgovarajući kiselinski hidrazid. Na temelju kinetičkih

mjerenja zaključeno je da se u kiselom hidroliza odvija prema kinetici prvog reda. Metoksi-skupina u piridoksal *p*-metoksibenzoilhidrazonu stabilizira hidrazonsku vezu te je taj derivat u kiselom stabilniji od drugih. Hidroliza u lužnatom također slijedi kinetiku prvog reda. Zbog dodatnog dušikovog atoma u izonikotino-hidrazidu, odnosno fluoridnog atoma u piridoksal *m*-fluorbenzoilhidrazonu, jače je izražen pozitivan karakter iminskog ugljika, odnosno olakšan je napad hidroksilne skupine i bazom katalizirana hidroliza tih spojeva u usporedbi s piridoksal benzoilhidrazonom. Usporedive rezultate dobili su Buss i Ponka,³⁰ proučavajući hidrolizu piridoksal-izonikotinoilhidrazona i njegovih analoga.

2.1.3. Tautomerija i izomerija hidrazona

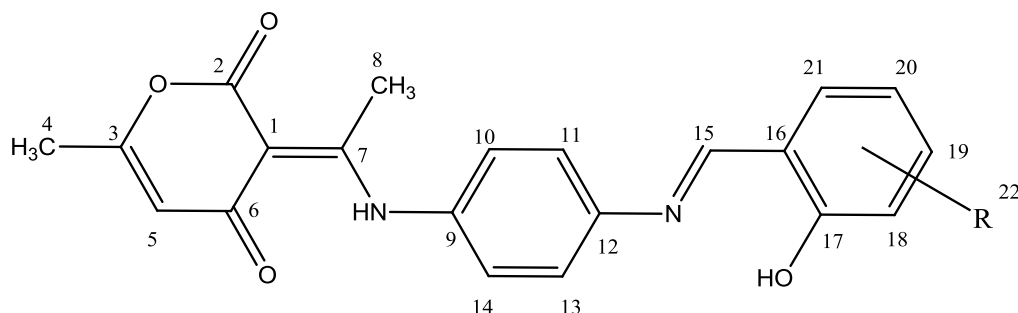
Aroilhidrazoni mogu biti uključeni u ravnotežni proces tautomerizacije kao i *E/Z* izomerizacije oko dvostruke $\text{C}=\text{N}$ veze. Keto-enolna tautomerija prisutna je na dijelu molekule koji potječe od hidrazida pri čemu oblik I prelazi u oblik II (slika 2.6).^{19,20} Ako se na dijelu molekule koji potječe od aromatskog aldehida ili ketona nalazi hidroksilna skupina smještena u *ortho* položaj obzirom na $\text{C}=\text{N}$ vezu, onda tautomerna ravnoteža može uključivati i taj dio molekule (oblik I u oblik III; slika 2.5).^{19,20}



Slika 2.6. Mogući tautomerni oblici aroilhidrazona.²⁰

Na položaj tautomerne ravnoteže utječe otapalo, supstituenti, temperatura, svjetlo te ioni metala.^{21,31} Zbog utjecaja otapala, pH ili uslijed izloženosti UV zračenju, osim tautomernih ravnoteža moguća je i *E/Z* izomerija oko dvostruke veze C=N.²⁰ Različiti tautomerni i izomerni oblici imaju različita spektralna svojstva pa ih se može razlikovati na temelju njihovih IR, UV-Vis i NMR spektara.^{19,20,22} Relativne stabilnosti pojedinih tautomera u različitim agregacijskim stanjima mogu se, osim eksperimentalnim tehnikama odrediti i kvantno-mehaničkim računima.³²

Različite NMR tehnike mogu potvrditi predložene tautomerne i izomerne strukture Schiffovih baza i hidrazona. Claramunt i suradnici³³ dali su opsežan pregled primjene NMR spektroskopije u određivanju strukture spojeva. 1D NMR tehnike (¹H, ¹³C ili ¹⁵N spektri) mogu dati informacije o pojedinim tautomerima (enoliminske, ketoaminske ili zwitterionske strukture) ili o *E/Z* izomerima oko –C=N– veze. Užarević i suradnici³⁴ odredili su prisutne keto-enolne oblike Schiffovih baza dobivenih iz dehidrooctene kiseline, *p*-fenilendiamina i salicilaldehida, 3-metoksisalicilaldehida, 4-metoksisalicilaldehida ili 5-metoksisalicilaldehida (slika 2.7) primjenom ¹H i ¹³C NMR spektroskopije u deuteriranom kloroformu.

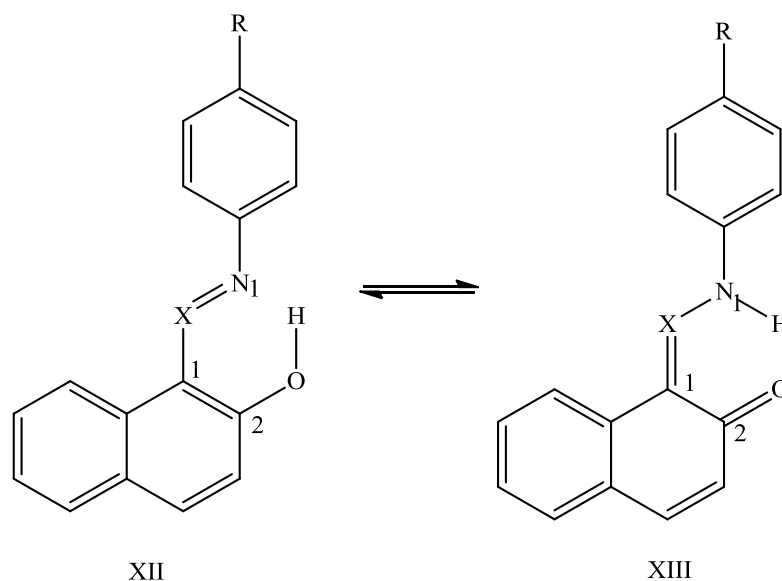


Slika 2.7. Općenita struktura Schiffovih baza dobivenih iz dehidrooctene kiseline, *p*-fenilendiamina i salicilaldehida, 3-metoksisalicilaldehida, 4-metoksisalicilaldehida ili 5-metoksisalicilaldehida (R = H, 3-OCH₃, 4-OCH₃ ili 5-OCH₃).³⁴

¹³C kemijski pomak C6 atoma nalazio se pri ≈185 ppm pa je dehidrooctenoj podjedinici pripisan ketoaminski oblik. Kemijski pomaci C17 atoma bili su u rasponu 151–164 ppm pa je salicilaldehidnoj podjedinici pripisan enoliminski oblik.³⁴ Signal H(C15) azometinskog protona bio je singlet s vrijednostima ≈8,6 ppm što potvrđuje enoliminski oblik salicilaldehidnog dijela molekule³⁴, dok bi u slučaju ketoaminskog oblika bio dublet zbog sprezanja s protonom susjedne NH skupine. U sljedećem radu za iste spojeve Schilf i suradnici³⁵ koristili su i ¹⁵N NMR spektroskopiju (¹⁵N kemijski pomaci su referirani prema

nitrometanu kao standardu) u kloroformu i čvrstom stanju. Ketoaminski tautomerni oblik dehidrooctene podjedinice određen je na temelju ^{15}N kemijskog pomaka N–H skupine i konstante sprege $^1J(\text{N–H})$. Konstanta sprege $^1J(\text{N–H})$ iznosila je ≈ 83 Hz i karakteristična je za enaminsku skupinu uključenu u vodikovu vezu dok su ^{15}N kemijski pomaci u kloroformu bili oko -219 ppm (od -215 do -220 ppm u čvrstom stanju) također karakteristični za enaminsku skupinu. ^{15}N kemijski pomaci iminskog dušika u kloroformu bili su u rasponu od $-85,6$ do $-100,5$ ppm i odgovaraju enoliminskom obliku salicilaldehidne podjedinice s relativno slabim vodikovim vezama.³⁵ Malo viša vrijednost ^{15}N kemijskog pomaka iminskog dušika 4-metoksisalicilidenskog derivata ($-100,5$ ppm) u odnosu na ostale spojeve upućuje na nešto veći prijenos protona s hidroksilnog kisika na iminski dušik i u skladu je s nešto višim ^{13}C kemijskim pomakom C17 atoma (≈ 164 ppm) tog derivata u odnosu na ostale (151 – 161 ppm).³⁴ Autori napominju da je ^{15}N kemijski pomak dušika oko -50 ppm u čistom iminu, a oko -240 ppm u protoniranom iminu bez vodikovih veza. Taj parametar je jako osjetljiv na položaj protona, ali istovremeno nije jako osjetljiv na promjenu različitih supstituenata na salicilaldehidnoj podjedinici.³⁵ Razlika ^{13}C kemijskih pomaka C17 (ili C6) atoma između C=O i C–OH skupine je samo 30 ppm, a na taj kemijski pomak jako utječu i supstituenti na fenilnom prstenu pa je ^{15}N kemijski pomak bolji parametar nego ^{13}C kemijski pomak u procjeni udjela tautomernih oblika.³⁵

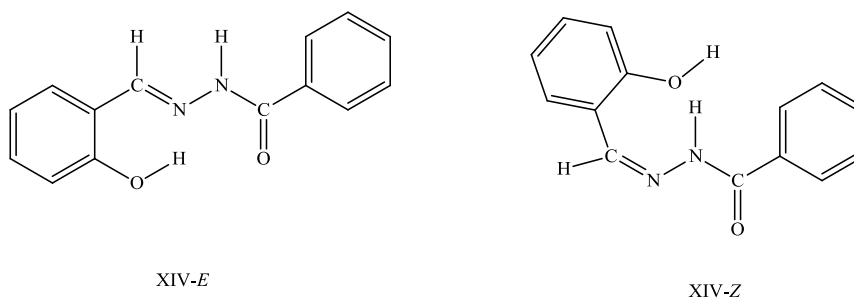
Na temelju vrijednosti ^{15}N i ^{13}C kemijskih pomaka može se izračunati ili procijeniti udio pojedinog tautomera u smjesi. U tu svrhu uspoređuju se vrijednosti s onima određenim za modelne spojeve, a za koje se zna da postoje isključivo u jednom od oblika.³³ U slučaju spojeva prikazanih na slici 2.8 vrijednosti N1 pomaka su od -138 do -150 ppm za anile i -188 do $+4$ ppm za azonaftole u kloroformu. Autori navode da su kemijski pomaci N1 sličnih spojeva $-62,7$ ppm (za anil tautomer XII), $-247,3$ ppm (za anil tautomer XIII), $+113,1$ ppm (za azo tautomer XII) i -184 ppm (za hidrazo tautomer XIII). Kvalitativna procjena udjela tautomera može se napraviti usporedbom s tim vrijednostima s time da je određivanje jasno definiranih i pouzdanih vrijednosti kemijskih pomaka za čisti pojedini tautomer težak.³³



Slika 2.8. Tautomerne strukture anila XII ($X = \text{CH}$; $R = \text{NO}_2$, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$, H , OCH_3 ili $\text{N}(\text{CH}_3)_2$) i azonaftola XIII ($X = \text{N}$; $R = \text{NO}_2$, H , OC_2H_5 ili $\text{N}(\text{CH}_3)_2$).³³

Udio pojedinog tautomera može se procijeniti i na temelju ^{13}C kemijskog pomaka C2 atoma. Za anile je omjer $[\text{XIII}]/[\text{XII}] = (\delta(\text{C}2) - 155 \text{ ppm}) / (180 \text{ ppm} - \delta(\text{C}2))$, a za azo spojeve omjer $[\text{XIII}]/[\text{XII}] = (\delta(\text{C}2) - 147 \text{ ppm}) / (180 \text{ ppm} - \delta(\text{C}2))$.³³

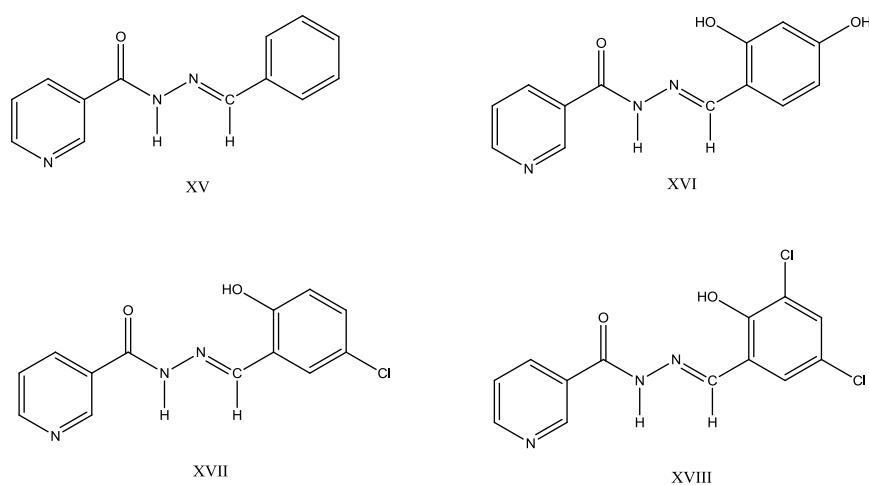
Procesi tautomernih i/ili izomernih ravnoteža mogu biti brzi ili spori na NMR skali. Ukoliko su spori, vremena trajanja tautomera su duga i uočavaju se odvojeni signali koji odgovaraju pojedinom tautomeru. Ukoliko su vremena trajanja vrlo kratka dolazi do brze izmjene i koalescencije signala koji se uprosječuju. Prisutnost jednog od navedenih spektara uvjetovana je energijom aktivacije koja odvaja tautomere i razlikom njihovih kemijskih pomaka.³³ U slučaju salicilaldehid benzoil hidrazona (SBH) otopljenog u dimetilsulfoksidu pri 303 K na temelju signala u NMR spektrima osim dominantnog oblika XIV-E uočeni su i signali (oko 1 % uzorka) pripisani obliku XIV-Z (slika 2.9) i ti oblici su u sporij izmjeni.³⁶



Slika 2.9. E/Z oblici salicilaldehid-benzoilhidrazona.³⁶

^1H signali amidnog i hidroksilnog protona XIV-*E* oblika uočeni su pri 12,12 i 11,30 ppm, a XIV-*Z* oblika pri 11,75 i 10,00 ppm. Kemijski pomaci azometinskog protona i aromatskih protona u *Z* obliku također su bili pri nižim vrijednostima u odnosu na *E* oblik. Pri nešto višim temperaturama (353 K) događa se brza izmjena i signali koalesciraju. U sustavu otapala DMSO/voda 3/1 također je, uz većinski *E* oblik, uočen *Z* oblik SBH u manjoj mjeri čiji se postotak povećava povišenjem pH. Niže vrijednosti kemijskih pomaka pripisane su većoj elektronskoj gustoći $-\text{C}=\text{N}-$ veze u *Z* u odnosu na *E* konfiguraciju.³⁶

^1H kemijski pomaci $-\text{OH}$ i $-\text{NH}$ protona hidrazona izvedenih iz nikotinhidrazida i benzaldehida ili različito supstituiranih salicilaldehida (slika 2.10) u dimetilsulfoksidu nalaze se pri visokim vrijednostima (>11 ppm) zbog prisutnosti intra- i/ili intermolekulskih vodikovih veza.²⁰ U hidrazonu izvedenom iz salicilaldehida i nikotinhidrazida¹⁹ signal $-\text{NH}$ protona u dimetilsulfoksidu uočen je pri 11,1 ppm, pri 11,4 ppm u acetonu, dok se u kloroformu, nepolarnom otapalu, nalazio pri 9,5 ppm jer ne postoji mogućnost stvaranja intermolekulskih vodikovih veza.¹⁹

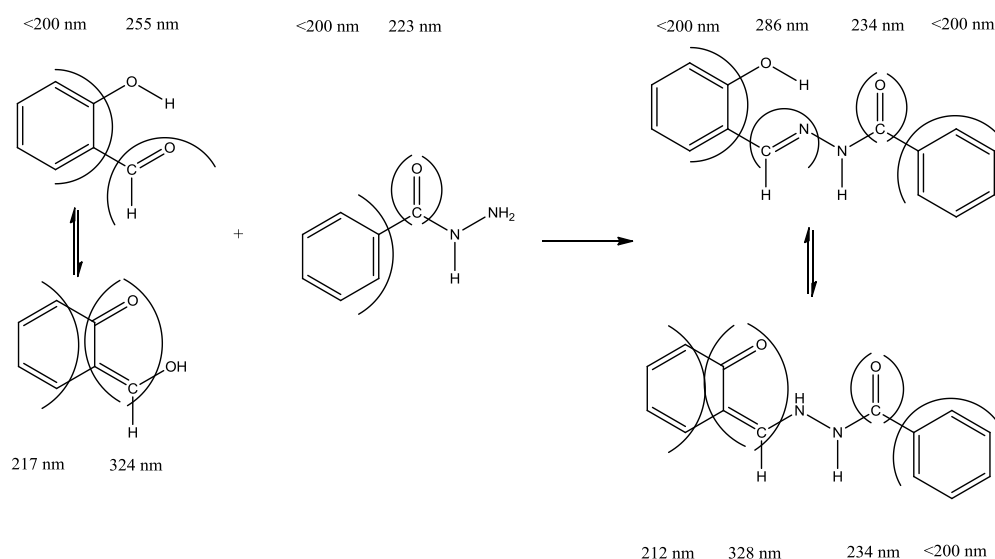


Slika 2.10. Strukturne formule hidrazona (XV–XVIII) izvedenih iz nikotinhidrazida.²⁰

Singlet pri 8,5–8,6 ppm pripisan je azometinskom protonu i karakterističan je za oblik I *E*. U slučaju *Z* oblika taj signal nalazio bi se pri nižoj vrijednosti (8,32 ppm u strukturno sličnom salicilaldehid benzoil hidrazonu³⁶) zbog veće elektronske gustoće $-\text{C}=\text{N}-$ veze u *Z* konfiguraciji.^{19,20,36} Obzirom da taj signal nije dublet, kao što bi bio u ketoaminskom obliku III, salicilidenskoj podjedinici pripisan je enoliminski oblik I. Ukoliko tautomerija obuhvaća dio molekule koji potječe od hidrazida, tautomerna ravnoteža uključuje oblik I i oblik II (slika

2.6). U obliku I, signal ugljika C=O amidne skupine hidrazona izvedenih iz nikotinhidrazida i salicilaldehida ili *ortho*-vanilina nalazi se pri 162 ppm u dimetilsulfoksidu i acetonu, dok bi se u obliku II signal C-OH nalazio pri 100 ppm.¹⁹

UV-Vis spektrofotometrija tehnika je kojom se također mogu odrediti tautomerni oblici. Salicilaldehid-benzoilhidrazonu (SBH; slika 2.11) snimljeni su UV spektri u metanolu.³⁷ Kako bi se olakšala asignacija vrpce snimljeni su i spektri polaznih spojeva, salicilaldehida i benzoil hidrazina. U UV-Vis spektru benzoil hidrazina (2×10^{-5} mol dm^{-3} u metanolu) uočena je samo jedna vrpca pri 225 nm pripisana prijelazu amidne C=O skupine. U spektru salicilaldehida uočene su vrpce pri 213, 255 i 324 nm. Vrpca pri 255 nm pripisana je $\pi\text{-}\pi^*$ prijelazu C=O skupine. Zbog mogućnosti intramolekulske vodikove veze između hidroksilnog protona i karbonilnog kisika vrpca pri 217 nm pripisana je $\pi\text{-}\pi^*$ dienilnom prijelazu HC=CH-CH=CH , a vrpca pri 324 nm enonilnom C=C-C=O prijelazu (slika 2.10)³⁷ što bi ukazivalo da se salicilaldehid nalazi u ravnoteži između dva tautomerna oblika.



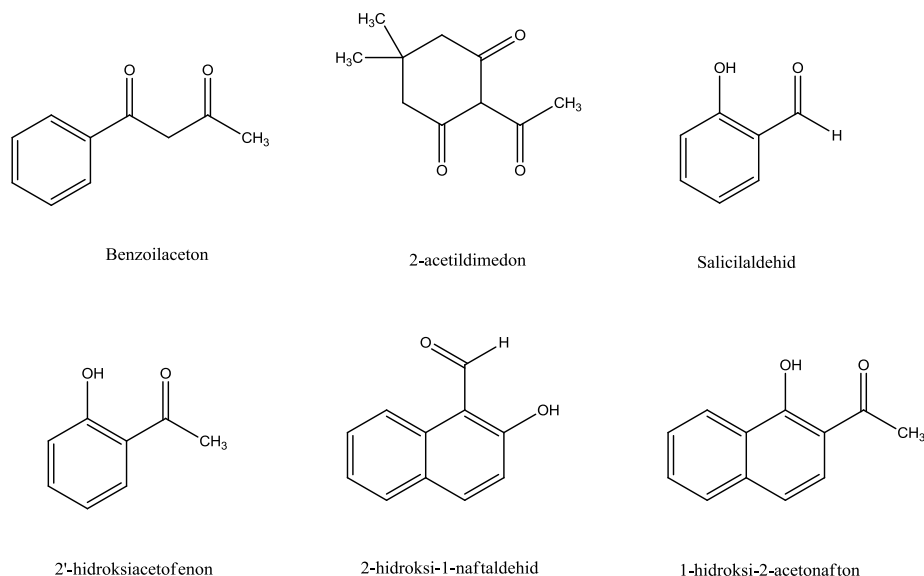
Slika 2.11. Assignacija apsorpcijskih vrpce salicilaldehida, benzoil hidrazina i salicilaldehid-benzoilhidrazona.³⁷

Apsorpcija fenilnog prstena benzoilhidrazina, salicilaldehida i salicilaldehid benzoil hidrazona nalazi se pri valnim duljinama nižim od 200 nm pa nije uočena u spektrima.³⁷ Dekonvolucijom spektra SBH dobivene su četiri glavne vrpce pri 212, 234, 282 i 328 nm te dvije manje vrpce pri 286 nm i 297 nm. Vrpce pri 282–297 nm pripisane su apsorpciji azometinske C=N veze i aromatskih prstenova, a vrpca pri 234 nm amidnoj C=O skupini.

Vrpca pri 328 nm asignirana je enonilnom prijelazu uočenom i u salicilaldehidu pri 325 nm, a vrpca pri 212 nm π - π^* dienilnom prijelazu $\text{HC}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}$. Zamjena C=O skupine u salicilaldehidu (vrpca pri 255 nm) s C=N skupinom u hidrazonu (vrpca pri 286 nm) rezultirala je pomakom vrpce prema višim valnim duljinama i povećanju apsorbancije zbog jačanja intramolekulske vodikove veze. Spektri SBH u metanolu, i uz dodatke $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ NaClO_4 ili $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ NaOAc vrlo su slični što ukazuje da natrij, acetat i perklorat ne utječu na kromoforne skupine. Dodatkom $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ NaOH u metanolnu otopinu SBH nastaje nova vrpca pri 373 nm pripisana deprotoniranju fenola pa intramolekulska vodikova veza između fenola i azometinskog dušika nestaje.³⁷

Oblik I uglavnom je najstabilniji oblik hidrazona (izvedenih iz nikotinohidrazida i benzaldehida ili različito supstituiranih salicilaldehida; slika 2.10) u različitim otapalima i stabiliziran je inter- i intramolekulskim vodikovim vezama.²⁰ Oblik III može se pojaviti u protičnim ili polarnijim otapalima ili u sustavima organsko otapalo/voda. U UV-Vis spektrima koji sadrže oblik III u ravnoteži s oblikom I pojavljuje se vrpca s maksimumom iznad 400 nm karakteristična za oblik III, a istovremeno se smanjuju apsorbancije vrpce pripisanih obliku I.²⁰ Elektron-odvlačeći supstituenti u *meta* položaju u odnosu na C=N vezu pomiču ravnotežu prema obliku III jer povećavaju kiselost protona fenolne skupine. Elektron-donirajući supstituenti u *ortho* i *para* položaju u odnosu na C=N vezu također pomiču tautomernu ravnotežu prema obliku III²⁰ jer povećavaju nukleofilnost azometinskog dušika koji tada lakše može primiti proton.

Vrpce iznad 400 nm, karakteristične za oblik III uočene su i u UV-Vis spektrima Schiffovih baza izvedenih iz *N*-supstituiranih anilina i različitih aldehida ili ketona (slika 2.12).



Slika 2.12. Strukturne formule aldehida ili ketona korištenih u pripravi Schiffovih baza.³⁸

Ta vrpca uočena je u alkoholnim, ali i u kloroformnim otopinama 1-(*N*-fenilacetimidol)-2-naftola dok je u nepolarnom otapalu, kao što je cikloheksan, bila vrlo slaba.³⁸ U UV-Vis spektru metanolne i kloroformne otopine 2-(*N*-fenilformimidol)-fenola uopće nije uočena. Da bi dokazali da vrpca iznad 400 nm odgovara obliku III Schiffove baze, autori su proveli i NMR istraživanja (mjerenja konstanti sprežanja kisik-proton J_O i dušik-proton J_N) te su na temelju ove dvije tehnike nedvojbeno dokazali prisutnost oblika III. Osim toga iz dobivenih konstanti sprežanja izračunali su udio pojedinog tautomera u proučavanom otapalu.³⁸

Infracrvena spektroskopija tehnika je kojom se također mogu odrediti pojedini tautomerni oblici, što će ukratko biti prikazano na sljedećim primjerima. Osim vrpce pripisanih obliku I u ATR spektru krutog *N'*-(2,4-dihidroksifenilmetiliden)-3-piridinkarbohidrazida (slika 2.9) uočena je široka vrpca s maksimumima pri 1608 i 1600 cm^{-1} pripisana istezanju aromatskih prstenova i C=N veze hidrazona, koja sugerira konverziju ketoaminskog oblika I u enoliminski oblik II.²⁰ Vrpca pri 1229 cm^{-1} pripisana deformaciji enolne OH skupine također podupire postojanje oblika II zajedno s oblikom I u krutom stanju gore navedenog hidazona. U istom radu su za dva hidrazona s elektron odvlačćim klorovima atomima (*N'*-(2-hidroksi-5-klorfenilmetiliden)-3-piridinkarbohidrazid i *N'*-(2-hidroksi-3,5-diklorfenilmetiliden)-3-piridinkarbohidrazid) u ATR spektru krutine uočene vrpce istezanja (pri 1688 cm^{-1} i 1695 cm^{-1}) koje su pripisane dodatnoj C=O skupini prisutnoj u obliku III. Klorovi atomi olakšavaju prijenos protona na azometinski dušik čineći hidroksilnu skupinu

kiselijom i olakšavaju konverziju oblika I u oblik III.²⁰ Vrpce koje odgovaraju obliku II također su uočene u IR spektrima zasićene i gotovo zasićene otopine salicilaldehid benzoil hidrazona (u sustavu otapala dimetilsulfoksida i vode u različitim omjerima).³⁶

Konverzija oblika I u oblik II može biti izazvana koordiniranjem iona metala hidrazonom. Deprotoniranju se fenolni i enolni kisik, pa hidrazon najčešće veže ion metala preko ta dva atoma i azometinskog dušika, kao što je u slučaju *N'*-(2-hidroksifenilmetiliden)-3-piridinkarbohidrazida i *N'*-(2-hidroksi-3-metoksifenilmetiliden)-3-piridinkarbohidrazida tijekom kompleksiranja Cu(II), Ni(II) i Zn(II).³⁹ U IR spektrima kompleksa nestaju vrpce –OH i –NH istezanja i istezanje karbonilne skupine koje su inače prisutne u spektru samog hidrazona. Pojavljuju se vrpce istezanja C=N_{azom} i N=C–O pri 1613 cm⁻¹ i vrpca istezanja C=N piridinskog prstena pri 1530 cm⁻¹. Vrpca istezanja C–O (fenolne skupine) uočena je pri nižim vrijednostima valnih brojeva u spektrima kompleksa nego u spektrima hidrazona pa autori zaključuju da se hidrazoni ponašaju kao dvostruko deprotonirani, tridentatni *O,N,O* ligandi u tautomernom obliku II.³⁹ Navedeni kompleksi bili su dinuklearni. U slučaju mononuklearnog kompleksa s Zn(II) u kojem je veza s ionom cinka ostvarena preko karbonilnog kisika, azometinskog dušika i fenolnog kisika u IR spektru vrpca C=O istezanja nije izostala, već je bila pomaknuta prema nižim vrijednostima valnih brojeva u odnosu na hidrazon. Vrpce istezanja C=N_{azom} i C–O (fenolne skupine) također su uočene pri nižim vrijednostima u odnosu na hidrazon. U slučaju ovog kompleksa hidrazon veže Zn(II) kao didentatni mononanionski ligand u obliku I.³⁹

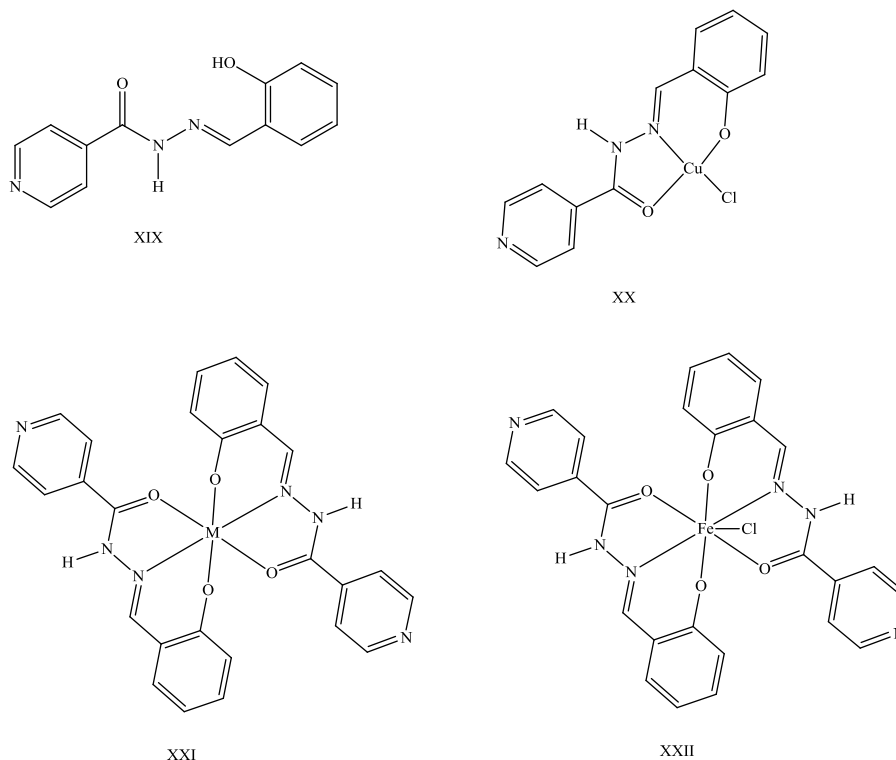
Na primjeru *N'*-(2-furfuriliden)piridin-3-karbohidrazida i *N'*-(1-(2-tienil)etiliden)-piridin-3-karbohidrazida kvantno-mehanički izračuni pokazali su da je energetski povoljniji oblik II u odnosu na oblik I,³² što vrijedi samo za izoliranu molekulu u plinskoj fazi, dok se spojevi u čvrstoj fazi i u otopini (metanolu) nalaze u obliku I. Autori su to objasnili činjenicom da iako postoji intramolekulska vodikova veza u obliku II, ona ometa nastajanje drugih jačih vodikovih veza dušikovih atoma hidrazona.³²

Salicilaldehid-benzoilhidrazonu (slika 2.8) kvantno-mehaničkim izračunima izračunate su energije *E* i *Z* izomera koji se nalaze u tautomernom obliku I.³⁶ Više energije izračunate su za *Z* izomer jer u tada nije moguće nastajanje intramolekulskih vodikovih veza koje stabiliziraju molekulu. U slučaju nastanka oblika II *Z* izomer postaje energetski povoljniji zbog mogućnosti nastanka novih intramolekulskih vodikovih veza.³⁶

2.2. Kompleksni spojevi hidrazona

Hidrazoni vežu različite ione metala i tvore kompleksne spojeve. U ovom poglavlju bit će ukratko prikazani neki kompleksi hidrazona s ionima prijelaznih metala i lantanoida. Kompleksi s ionima željeza posebno će se obraditi u sljedećem potpoglavlju.

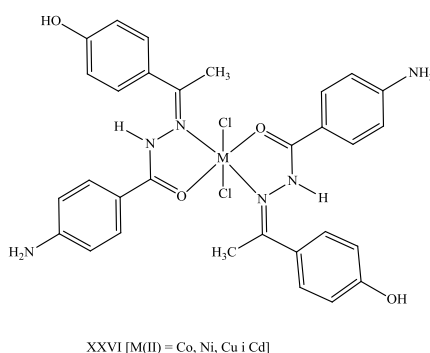
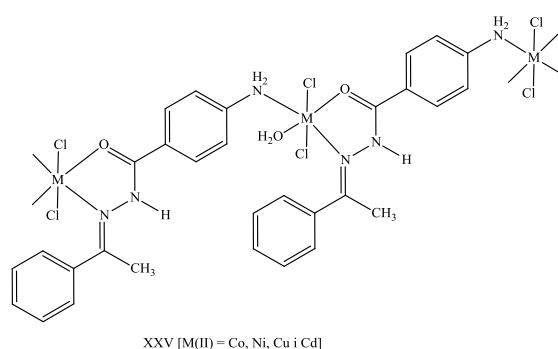
Sintetiziran je salicilaldehid izonikotinoil hidrazon (XIX) te njegovi kompleksi (XX, XXI i XXII)¹ s ionima Cu(II), Ni(II), Co(II), Mn(II), Fe(III) i UO₂(II) (slika 2.13).



Slika 2.13. Strukturne formule salicilaldehid-izonikotinoilhidrazona (XIX) i njegovih kompleksnih spojeva XX, XXI (M = Ni(II), Co(II) i Mn(II)) i XXII.¹

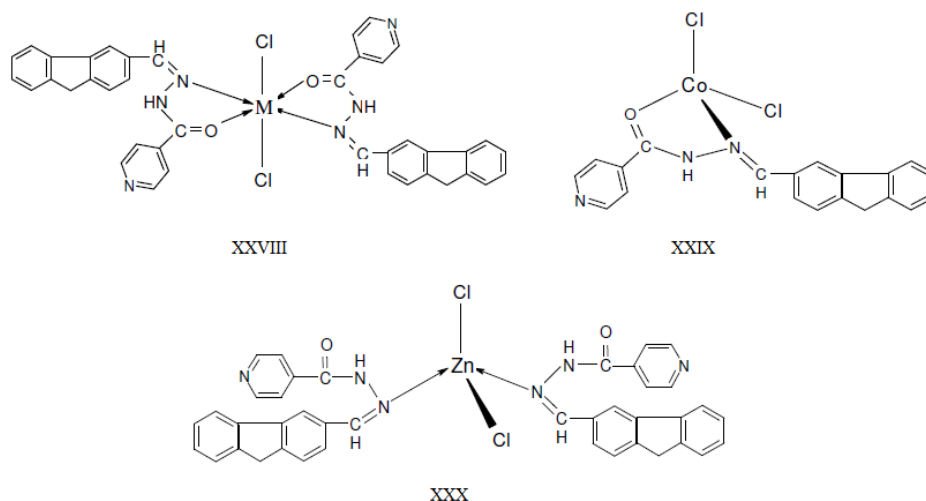
Za deprotoniranje hidrazona korišten je litijev hidroksid. Izolirani kompleksni spojevi bili su sastava metal:ligand 1:2, osim u slučaju Cu(II), s kojim hidrazon tvori kompleks stehiometrije 1:1. U svim kompleksima salicilaldehid izonikotinoil hidrazon je reagirao kao monoanionski tridentatni O,N,O ligand. Vezu s gore navedenim kationima ostvaruje putem karbonilnog kisika, azometinskog dušika i kisika iz deprotonirane fenolne skupine. Strukturna karakterizacija hidrazona i kompleksa napravljena je na temelju rezultata elementne analize, različitih spektroskopskih mjerenja (IR, UV-Vis, NMR), spektrometrije masa, konduktometrije, mjerenja magnetskih momenata i termogravimetrijske analize. Predložene strukture kompleksa bile su: XXI·EtOH za M = Ni(II), Co(II) i Mn(II), XXII·2EtOH za Fe(III) i XXI·2MeOH. U reakciji hidrazona s Cu(II) sintetiziran je XX·EtOH.

Pripravljen je hidrazon (XXIII) izveden iz 4-aminobenzoilhidrazina i acetofenona i hidrazon (XXIV) izveden iz 4-aminobenzoilhidrazina i 4-hidroksiacetofenona, te njihovi kompleksi s Co(II), Ni(II), Cu(II) i Cd(II). Na temelju elementne i termogravimetrijske analize, mjerenja magnetskih momenata, konduktometrijskih određivanja, IR i NMR spektara ustanovljeno je da su kompleksi sastava $[M(XXIII)Cl_2(H_2O)]$ i $[M(XXIV)_2Cl_2]$ gdje je M = Co(II), Ni(II), Cu(II) i Cd(II). Strukture kompleksa (XXV i XXVI) prikazane su na slici 2.14.⁴⁰ Navedeni metali vežu se s jednom molekulom XXIII, ali s dvije molekule XXIV iako su oba hidrazona strukturno slična. Dodatna hidroksilna skupina u XXIV ne sudjeluje u koordinaciji.



Slika 2.14. Strukturne formule dobivenih kompleksa XXV i XXVI.⁴⁰

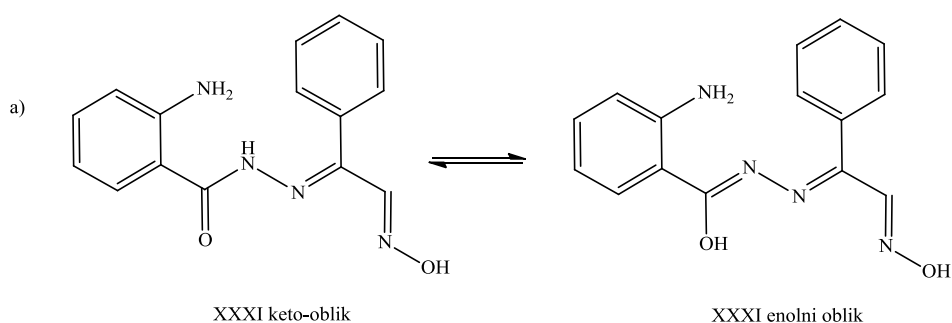
Sintetizirani su kompleksi hidrazona (XXVII) izvedenog iz izonikotinohidrazida i 2-aldehidfluorena s Cu(II), Ni(II), Co(II) i Zn(II) (XXVIII–XXX). Na temelju IR, UV-Vis, NMR i ESR spektara te termogravimetrijske analize i mjerenja magnetskih momenata autori su zaključili da je sastav kompleksa hidrazona s Cu(II), Ni(II) i Zn(II) 1:2 (metal:ligand) (XXVIII i XXX), a kompleksa s Co(II) 1:1 (XXIX) (slika 2.15).²

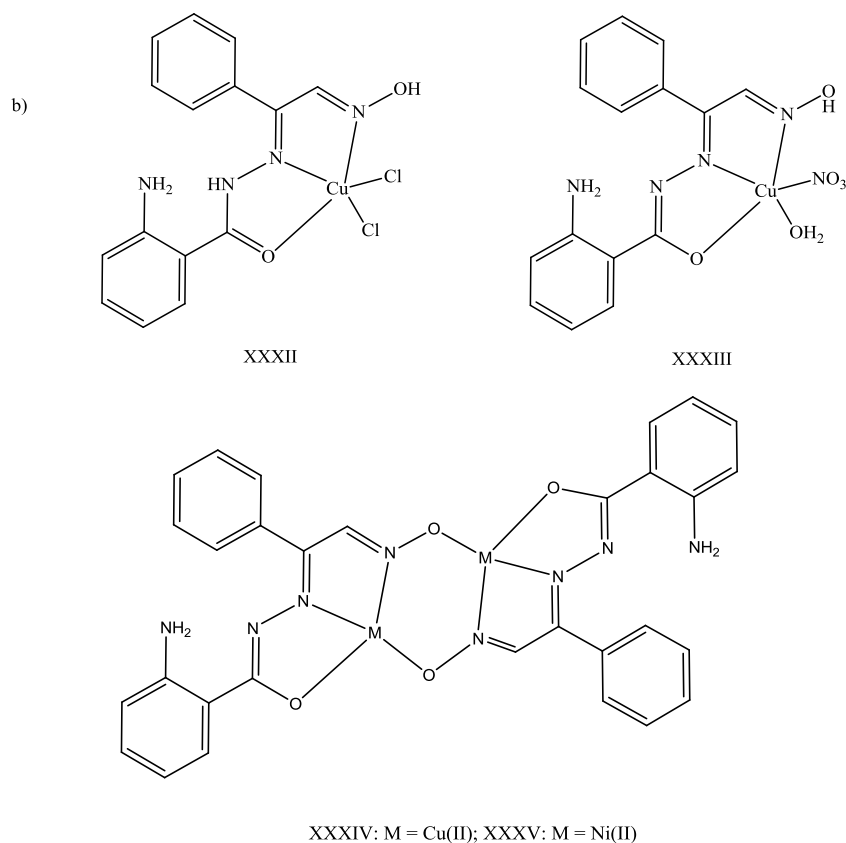


Slika 2.15. Strukturne formule kompleksa: XXVIII = $[M(XXVII)_2Cl_2]$; $M = Cu(II)$ ili $Ni(II)$, XXIX = $[Co(XXVII)Cl_2]$ i XXX = $[Zn(XXVII)_2Cl_2]$.²

U kompleksima s $Cu(II)$, $Ni(II)$ i $Zn(II)$ hidrazon se ponaša kao bidentatni neutralni ligand pri čemu koordinira ione metala putem karbonilnog kisika i azometinskog dušika. S $Cu(II)$ i $Ni(II)$ gradi komplekse oktaedarske geometrije, a s $Co(II)$ kompleks tetraedarske geometrije. Tetraedarska geometrija uočena je i u kompleksu s $Zn(II)$ u kojem je hidrazon neutralan monodentatni ligand. Vezu ostvaruje samo preko azometinskog dušika.²

Pripravljen je izonitrozoacetofenon 2-aminobenzoilhidrazon (XXXI) te njegovi kompleksi s $Cu(II)$: $[Cu(XXXI)Cl_2]$ (XXXII), $[Cu(HL)(NO_3)(H_2O)]$ (XXXIII) i $[Cu(L)]_2$ (XXXIV) u etanolu.¹² Također je sintetiziran i kompleks $[Ni(L)]_2$ (XXXV). Kompleksi su prikazani na slici 2.16.¹²

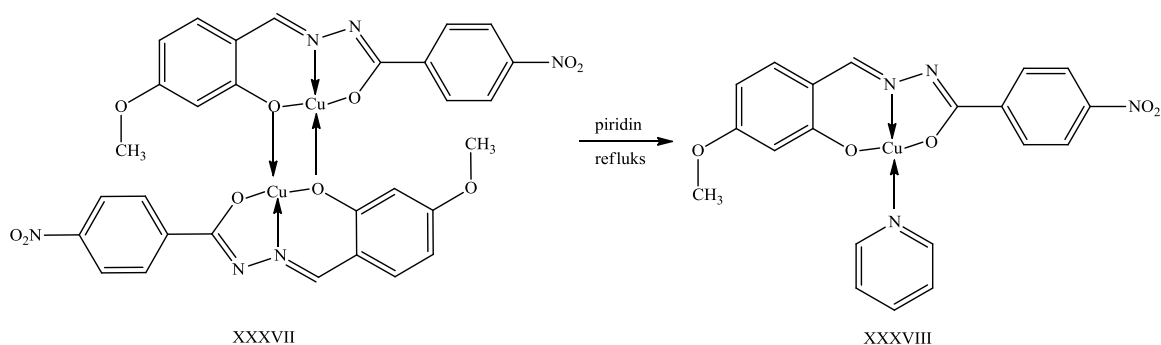




Slika 2.16. Strukturne formule: a) tautomernih oblica hidrazona XXXI i b) njegovih kompleksa s Cu(II) i Ni(II) (XXXII–XXXV).¹²

Hidrazon se u kompleksu XXXII ponaša kao neutralni tridentatni (O,N,N) ligand, a u kompleksu XXXIII kao monoanionski tridentatni (O,N,N) ligand. U dinuklearnim kompleksima XXXIV i XXXV deprotonira se i OH skupina oksima i metalni ion se koordinira kisikom te skupine. Gore navedene strukture predložene su na temelju rezultata elementne analize, IR, ¹H NMR, UV-Vis spektara i mjerenja magnetskih momenata.¹²

Sintetiziran je *N*-2-hidroksi-4-metoksibenzaldehid-*N'*-4-nitrobenzoil hidrazon (XXXVI) i njegovi kompleksi s Cu(II).⁴¹ Reakcija hidrazona i bakrova(II) acetata u smjesi otapala etanol/DMF 1/1 dala je smeđi kompleks (XXXVII) prikazan na slici 2.16. Nakon filtriranja i ispiranja tom kompleksu dodan je vreli piridin te nakon toga voda i nastaje kompleks (XXXVIII) strukturne formule prikazane na slici 2.17.⁴¹

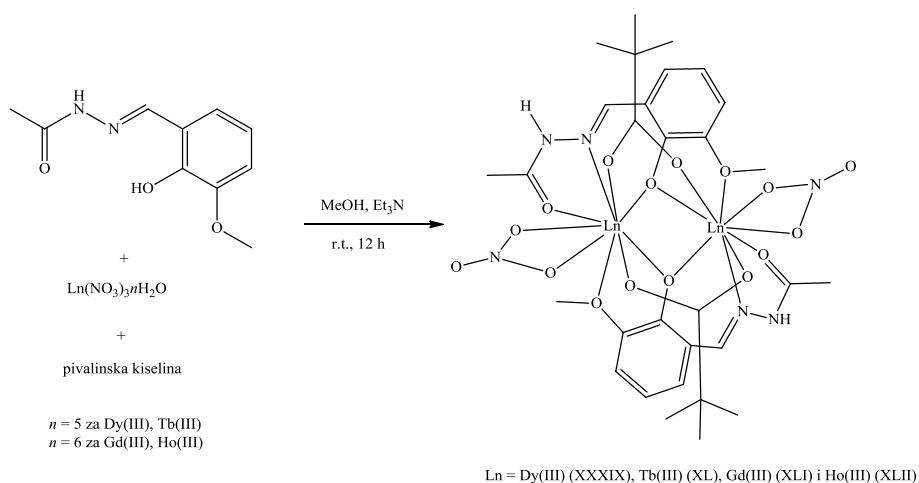


Slika 2.17. Strukturne formule kompleksa hidrazona XXXVI i Cu(II) (XXXVII i XXXVIII)

41

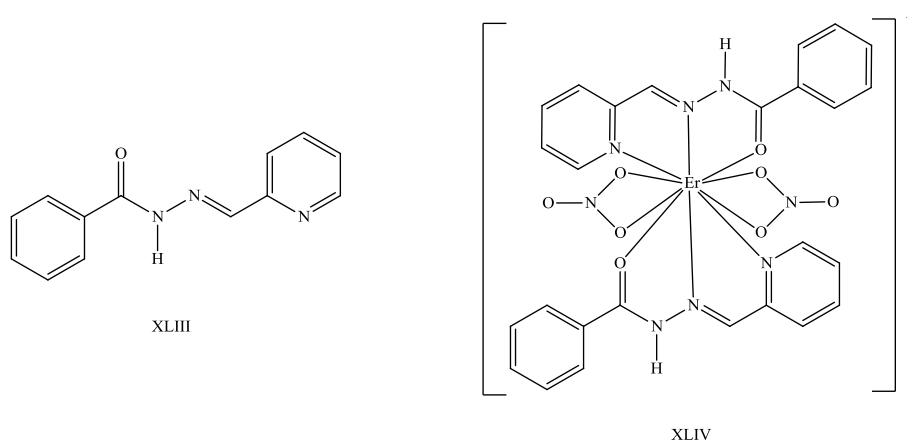
Hidrazon u piridinskom kompleksu koordinira Cu(II) preko deprotoniranog fenolnog kisika, azometinskog dušika i deprotoniranog enolnog kisika i tvori petero- i šesteročlane kelatne prstenove. Četvrto vezno mjesto je piridinski dušik, a kompleks je s obzirom na Cu(II) kvadratne geometrije. Za razliku od liganda koji nije planaran (fenilni prsten s nitro-skupinom zakrenut je u odnosu na ostatak molekule), kompleks je planaran zbog rigidnosti nastalih kelatnih prstenova.⁴¹

Sintetizirani su *N'*-(2-hidroksi-3-metoksibenziliden)acetohidrazid i njegovi dinuklearni kompleksi XXXIX–XLII s lantanoidima (Ln = Dy(III), Tb(III), Gd(III) i Ho(III)) uz prisutnost pivalinske kiseline (PIV).⁴² Reakcija je provedena uz omjere hidrazon : Ln : PIV = 1 : 1 : 1 te uz dva ekvivalenta trietilamina kao baze u metanolu. Na temelju mjerenja magnetskih susceptibilnosti i kristalnih struktura određene su strukture na slici 2.18.⁴²

Slika 2.18. Određene strukturne formule kompleksa XXXIX–XLII.⁴²

Svi kompleksi su neutralni, izostrukturalni i iste strukturne topologije.⁴² Hidrazon veže Ln(III) preko karbonilnog kisika, azometinskog dušika, deprotoniranog fenolnog kisika i kisika metoksi-skupine. Kompleksi su dinuklearni i svaki Ln(III) ion je koordiniran s ukupno devet atoma.

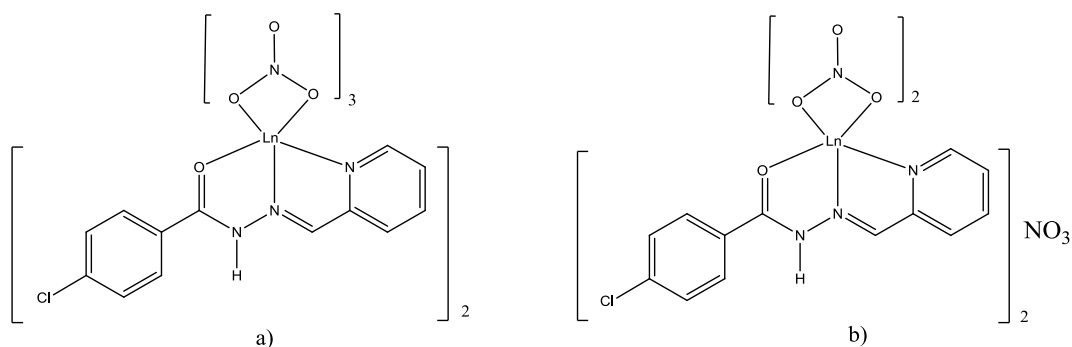
U metanolu je sintetiziran 2-piridinkarboksaldehid benzoil hidrazon (XLIII) i njegovi kompleksi s lantanoidima (Nd(III), Gd(III), Tb(III), Eu(III), Dy(III), Ho(III), Er(III), Y(III) i Yb(III)).⁴³



Slika 2.19. Strukturna formula XLIII i njegovog kompleksa XLIV.⁴³

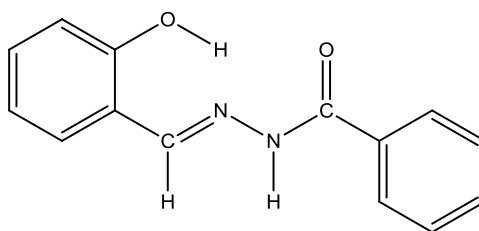
Jedino je kompleksu s Er(III) (slika 2.19) bilo moguće odrediti strukturu rentgenskom strukturnom analizom. Ostale strukture predložene su na temelju IR, UV-Vis i spektara masa. Sastav pripremljenih kompleksa bio je $[\text{Ln}(\text{XLIII})_2(\text{NO}_3)_2] \cdot \text{NO}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$. Broj molekula vode n , za kompleks s Nd(III) iznosio je 0,5, za Gd(III) i Tb(III) $n = 1$, za Eu(III), Dy(III), Ho(III) i Er(III) $n = 1,5$ i za Y(III) i Yb(III) $n = 2$. Metalni ion u kompleksu $\text{XLIV} \cdot \text{NO}_3 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$ koordiniran je s dva neutralna tridentatna XLIII liganda (piridinski dušik, azometinski dušik i karbonilni kisik) i dva bidentatna nitratna aniona.⁴³

Također su pripremljeni i okarakterizirani kompleksni spojevi lantanoida s piridin-2-karbaldehid-4-klorbenzoil hidrazonom (XLV) sastava $[\text{Ln}(\text{XLV})_2(\text{NO}_3)_3]$ za $\text{Ln} = \text{La(III)}, \text{Ce(III)}, \text{Pr(III)}$ i $[\text{Ln}(\text{XLV})_2(\text{NO}_3)_2]\text{NO}_3$ za $\text{Ln} = \text{Y(III)}, \text{Nd(III)}, \text{Eu(III)}, \text{Gd(III)}, \text{Tb(III)}, \text{Dy(III)}, \text{Ho(III)}, \text{Er(III)}$ i Yb(III). Koordinacijski broj za La(III), Ce(III) i Pr(III) iznosio je 12, dok je za Y(III), Nd(III), Eu(III), Gd(III), Tb(III), Dy(III), Ho(III), Er(III) i Yb(III) iznosio 10, što je u skladu s kontrakcijom lantanoida.⁴⁴ Koordiniranje lantanoida ostvareno je preko karbonilnog kisika, azometinskog dušika i piridinskog dušika hidrazona te kisika iz nitratnog aniona (slika 2.20).⁴⁴



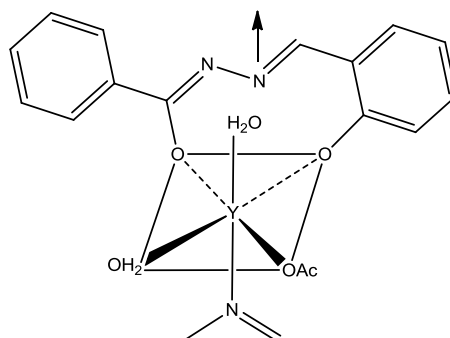
Slika 2.20. Predložene strukturne formule kompleksa: a) $[\text{Ln}(\text{XLV})_2(\text{NO}_3)_3]$ za $\text{Ln} = \text{La(III)}, \text{Ce(III)} \text{ i } \text{Pr(III)}$ i b) $[\text{Ln}(\text{XLV})_2(\text{NO}_3)_2]\text{NO}_3$ za $\text{Ln} = \text{Y(III)}, \text{Nd(III)}, \text{Eu(III)}, \text{Gd(III)}, \text{Tb(III)}, \text{Dy(III)}, \text{Ho(III)}, \text{Er(III)} \text{ i } \text{Yb(III)}$.⁴⁴

Kompleksi lantanoida (Y(III) , La(III) , Pr(III) , Nd(III) , Sm(III) , Gd(III) , Tb(III) i Dy(III)) i salicilaldehid-benzoilhidrazona (XLVI) sintetizirani su u etanolu.⁴⁵



Slika 2.21. Strukturna formula salicilaldehid-benzoilhidrazona (XLVI).⁴⁵

Jedino je kompleks s Y(III) bio omjera 1:1, dok su ostali kompleksni spojevi bili sastava $\text{Ln(III):hidrazon} = 2:3$, neovisno o molarnom udjelu lantanoida i hidrazona (1:1; 1:1,5; 1:2 ili 1:3) tijekom sinteze. Strukture navedenih kompleksa određene su na temelju IR i NMR spektara, konduktometrijskih mjerenja, mjerenjem magnetnih momenata, termogravimetrijskom analizom i rentgenskom strukturnom analizom. Na slici 2.22 prikazana je struktura kompleksa s Y(III) (XLVII).



Slika 2.22. Strukturna formula kompleksa XLVII.⁴⁵

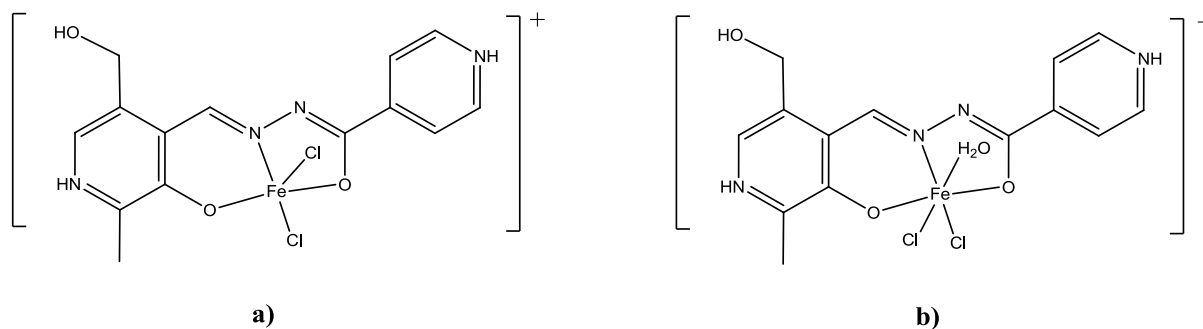
Na temelju odabranih primjera može se zaključiti da hidrazoni s ionima metala grade komplekse u kojima sudjeluju kao monodentantni, didentantni ili tridentantni ligandi, pri čemu mogu biti neutralne, jednostruko ili dvostruko deprotonirane molekule.

2.2.1. Kompleksni spojevi hidrazona i željeza

Željezo je esencijalni element uključen u brojne biološke funkcije.^{30,46} Međutim, ukoliko nije adekvatno vezano može katalizirati Fentonovu reakciju u kojoj nastaju izrazito reaktivni i toksični hidroksilni radikali koji lako stupaju u reakcije s biomolekulama.⁴⁶ Prekomjerna količina željeza u organizmu može se pojaviti uslijed njegove prevelike apsorpcije ili tijekom transfuzije kod pacijenata s talasemijom major, aplastičnom anemijom ili mijelodisplastičnim sindromom.³⁰ Hidrazoni izvedeni iz salicilaldehida ili piridoksala i izonikotinoil hidrazida, kao i njihovi analozi,^{30,46-48} skupina su spojeva koji dobro vežu željezo(III) te su predloženi kao alternativa lijeku desferioksaminu (DFO) koji može uzrokovati štetne nuspojave. Navedeni hidrazoni grade s ionima željeza komplekse sastava ML_2 . Zbog potencijalne primjene istražene su njihove stabilnosti u relevantnim medijima (kiselo, lužnato, neutralno, plazma).^{30,46,47}

U preglednom radu uspoređene su vezne sposobnosti nekoliko spojeva ili skupine kelatora željeza i njihovo antiproliferativno djelovanje.⁴⁹ Analози piridoksal-izonikotinoilhidrazona i 2-piridilkarbaldehid-izonikotinoilhidrazona pokazali su se usporedivi u vezanju željeza kao i desferioksamin (DFO), ali su imali nisku antiproliferativnu aktivnost. Analog piridoksal izonikotinoil hidrazona, 2-hidroksi-1-naftaldehid-izonikotinoilhidrazon, jako veže željezo, ali pokazuje i jaku antiproliferativnu aktivnost iako su mjesta vezanja željeza oba hidrazona jednaka (deprotonirani kisik hidroksilne skupine, azometinski dušik i deprotonirani enolatni kisik). Antiproliferativno djelovanje 2-hidroksi-1-naftaldehid-izonikotinoilhidrazona povezano je s većom lipofilnosti 2-hidroksi-1-naftaldehid podjedinice u odnosu na piridoksalnu podjedinicu. Autori sugeriraju da se antiproliferativna aktivnost nužno ne korelira s jačinom vezanja željeza.⁴⁹ Di-2-piridilketon-izonikotinoilhidrazon i njegovi analozi pokazivali su i jako vezanje željeza i snažno antiproliferativno djelovanje koje je povezano s prstenastom dipiridilnom strukturom koja povećava lipofilnost hidrazona.

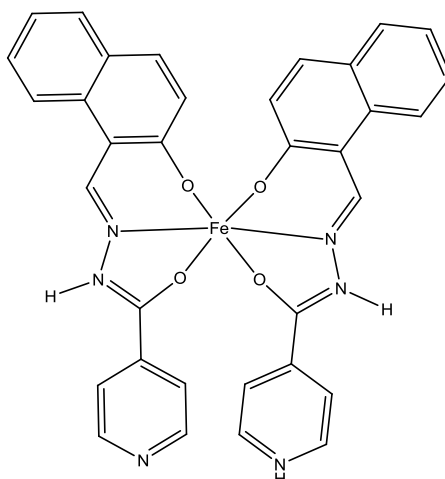
Određene su kristalne strukture kompleksa željeza(III) i piridoksal-izonikotinoilhidrazona (XLVIII).⁵⁰ Strukture su prikazane na slici 2.23.



Slika 2.23. Strukturne formule: a) $[\text{Fe}(\text{XLVIII})\text{Cl}_2]^+$ kationa i b) $[\text{Fe}(\text{XLVIII})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})]^+$ kationa.⁵⁰

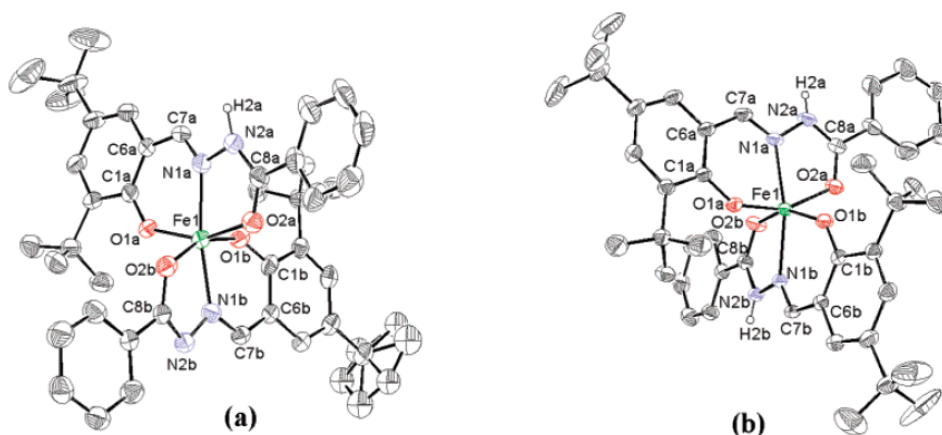
Stehiometrija kompleksnih spojeva, pentakoorodiniranog $[\text{Fe}(\text{XLVIII})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ i heksakoorodiniranog $[\text{Fe}(\text{XLVIII})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ je 1:1. Piridoksal izonikotinoil hidrazon u oba kompleksa veže željezo kao dianionski, planarni, tridentatni ligand. Deprotonirane su hidroksilna skupina piridoksala i amidni dušik, pa se XLVIII veže na željezo enolnim kisikom, azometinskim dušikom i kisikom hidroksilne skupine piridoksala, a dva otpuštena protona vezala su se na piridinske dušike.⁵⁰ Isti autori su uspjeli sintetizirati i kompleks željeza(III) i XLVIII stehiometrije 1:2 $[\text{Fe}(\text{XLVIII}-\text{H})(\text{XLVII}-2\text{H})]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ u vodenoj otopini pri neutralnom pH dodatkom tri ekvivalenta NaOH u vodenu otopinu $[\text{Fe}(\text{XLVIII})\text{Cl}_2]\text{Cl}$, te kompleks $[\text{Fe}(\text{XLVIII}-\text{H})(\text{XLVII}-2\text{H})]\cdot \text{MeOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ u metanolu, također dodatkom tri ekvivalenta NaOH u smjesu XLVIII i $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (omjer 2:1) u metanolu.⁵¹ Pokazano je da ovisno o kiselosti otopine nastaju kompleksi različitih stehiometrija.

Pripravljen je kompleks željeza(III) i 2-hidroksi-1-naftaldehid-izonikotinoilhidrazona (XLIX) formule $[\text{Fe}(\text{XLIX}-\text{H})_2](\text{NO}_3)\cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Otopini tog kompleksa u DMSO dodavan je dietil-eter dok nisu nastali tamno-smeđi kristali formule $[\text{Fe}(\text{XLIX}-\text{H})(\text{XLIX}-2\text{H})]\cdot \text{DMSO}$ (stehiometrije $\text{Fe}^{3+}:\text{hidrazon} = 1:2$).⁵² Oba liganda u tom kompleksu kristalografski su identična, ali je samo jedan piridinski dušik protoniran, tj. taj proton je delokaliziran između dva piridinska dušika (slika 2.24).⁵²

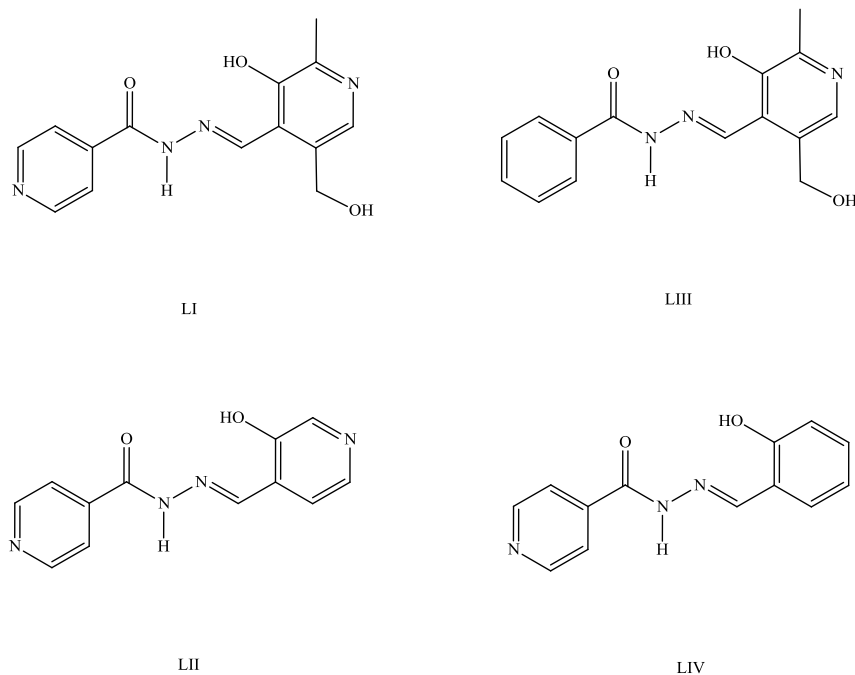
Slika 2.24. Strukturna formula kompleksa $[\text{Fe}(\text{XLIX-H})(\text{XLIX-2H})]$.⁵²

Ovisno o pH otopine kompleks se može nalaziti u kationskom ($[\text{Fe}(\text{XLIX-H})_2]^+$), neutralnom ($[\text{Fe}(\text{XLIX-H})(\text{XLIX-2H})]$) ili anionskom ($[\text{Fe}(\text{XLIX-2H})_2]^-$) obliku. Tijekom kompleksiranja otpušta se barem jedan proton i to s hidroksilne skupine hidrazona. Ukoliko se radi o derivatima izvedenim iz izonikotinoil hidrazida može doći do protoniranja piridinskog dušika.⁵²

Sintetizirana su dva kompleksa željeza(III) i liganda 3,5-di-*tert*-butilsaliciliden benzoilhidrazina (L), oba stehiometrije 1:2. Uz dodatak 2 ekvivalenta baze (triethylamina) nastaje u smjesi metanola i etanola kompleks formule $[\text{Fe}(\text{L-H})(\text{L-2H})] \cdot \text{EtOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$, a ako baza nije dodana onda nastaje $[\text{Fe}(\text{L-H})_2]\text{Cl} \cdot 1,5\text{MeOH} \cdot 0,5\text{EtOH}$.⁵³ Kompleks $[\text{Fe}(\text{L-H})(\text{L-2H})] \cdot \text{EtOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ je koordiniran s jednim ligandom u enolatnom (oblik II), a drugim u keto-obliku (oblik I) s obzirom na dio koji potječe od hidrazida. Hidroksilna skupina koja potječe od aldehida je u oba slučaja deprotonirana. Na slici 2.25 prikazane su ORTEP strukture.

Slika 2.25. ORTEP strukture: a) $[\text{Fe}(\text{L-H})(\text{L-2H})]$ i b) kompleksnog kationa $[\text{Fe}(\text{L-H})_2]^+$.⁵³

Vezanje željeza(III) sa sljedećim hidrazonima (H_2L): piridoksal-izonikotinoilhidrazon (LI), 3-hidroksiizonikotinaldehid-izonikotinoilhidrazon (LII), piridoksal-benzoilhidrazon (LIII) i salicilaldehid-izonikotinoilhidrazon (LIV) (slika 2.24) praćeno je u vodenim otopinama različitih vrijednosti pH te su određene konstante vezanja kombinacijom spektrofotometrije i potencijometrije.⁵⁴



Slika 2.26. Strukturne formule hidrazona LI–LIV.⁵⁴

U pH području 1,5–3,2 nastaju različito protonirani kompleksi stehiometrije 1:1 kao što su $[Fe(H_2L)]^{3+}$ za LI i LII, te $[Fe(HL)]^{2+}$ za LII, LIII i LIV. Kompleksi stehiometrije 1:2 nastaju isključivo iznad pH 3,2 (primjerice $[Fe(HL)_2]^+$, $[Fe(HL)(L)]$ i $[Fe(L)_2]^-$ koji nastaju sa svim ligandima, a $[Fe(H_2L)_2]^{3+}$ samo s LI i LII).⁵⁴

2.3. Primjene hidrazona

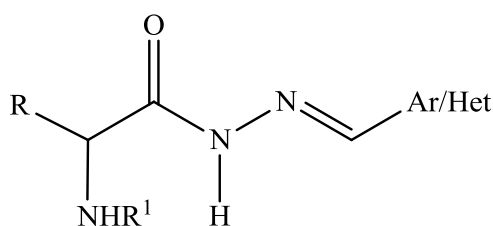
U ovom potpoglavlju ukratko će biti opisane različite primjene hidrazona od kojih će naglasak biti na analitičkim primjenama.

Hidrazoni i njihovi kompleksi su korišteni kao antibakterijski,^{1,2} antifungicidni,¹ antituberkulozni,³ anti-HIV,⁴ antimalarijski⁵ i antitumorski⁶ agensi. U pravilu kompleksni spojevi pokazuju veću biološku aktivnost od samih hidrazona. Niklov(II), kobaltov(II),

manganov(II) i željezov(III) kompleks sa salicilaldehid-izonikotinoilhidrazonom bili su aktivniji prema bakterijskim i gljivičnim vrstama nego sam ligand.¹

Kompleksi kobalta(II) i cinka(II) s hidrazonom izvedenim iz 2-aldehidfluorena i izonikotinoilhidrazida također su bili biološki aktivniji prema nekim Gram negativnim i Gram pozitivnim bakterijama, dok je aktivnost kompleksa s bakrom(II) i niklom(II) bila usporediva ili malo povišena u odnosu na sam ligand.² Jača biološka aktivnost kompleksa objašnjena je činjenicom da je prolazak kroz lipidnu membranu favoriziran za liposolubilne molekule. Tijekom kelatiranja jako se smanjuje polarnost iona metala zbog preklapanja orbitala liganda i raspodjele pozitivnog naboja s donorskim skupinama liganda. Također se π -elektroni delokaliziraju kroz cijeli kelatni prsten i pojačava se prodiranje kompleksa kroz lipidnu membranu te se tako blokira mjesto vezanja metala u enzimu mikroorganizama.²

Najvišu antituberkuloznu aktivnost protiv *Mycobacterium tuberculosis* od niza pripremljenih aroilhidrazona (slika 2.27) pokazao je benzil (1S)-1-benzil-2-[(2E/Z)-2-[(2-furil-5-nitro)-metilen]hidrazin]-2-oksoetilkarbamat (LVI a) s minimalnom koncentracijom potrebnom za inhibiciju (engl. *minimum inhibitory concentration*, MIC) od 12,5 $\mu\text{g/mL}$ što su autori asignirali utjecaju 2-furil-5-nitro skupine.³



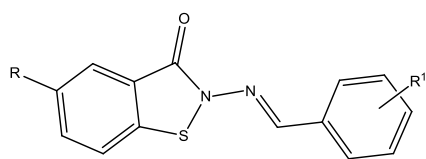
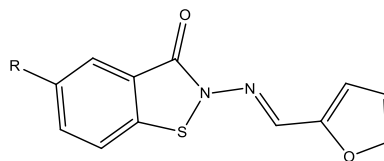
LV a-j: $\text{R}^1 = \text{BOC}$

LVI a-d: $\text{R}^1 = \text{Cbz}$

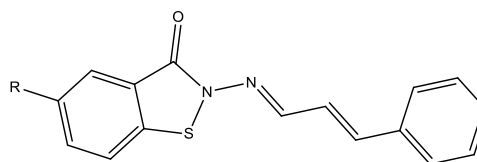
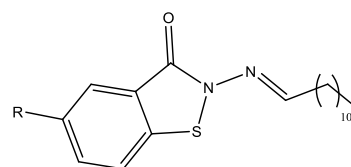
LVII a-c: $\text{R}^1 = \text{H}$

Slika 2.27. Strukturne formule aroilhidrazona LV–LVII.³

Anti-HIV djelovanje benzo[d]izotiazol hidrazona (slika 2.28) pripisano je benzo[d]izotiazol-3(2H)-onskoj strukturnoj podjedinici koja je ključni strukturni faktor za antiretrovirusnu aktivnost.⁴

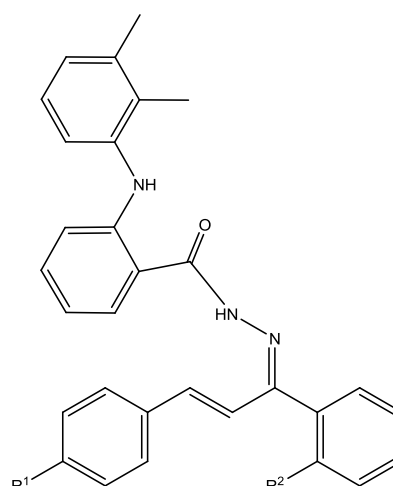
LVIII a – LVIII s (R=H), LIX a – LIX r (R=CH₃)LVIII t (R=H), LIX s (R=CH₃)

LVIII	R ¹	LIX	R ¹
a	H	a	H
b	2-F	b	2-F
c	3-F	c	3-F
d	4-F	d	4-F
e	2-Cl	e	2-Cl
f	3-Cl	f	3-Cl
g	4-Cl	g	4-Cl
h	2-NO ₂	h	2-NO ₂
i	3-NO ₂	i	3-NO ₂
j	4-NO ₂	j	4-NO ₂
k	2,4-(NO ₂) ₂	k	2,4-(NO ₂) ₂
l	2-OH	l	2-OH
m	3-OH	m	3-OH
n	4-OH	n	4-OH
o	2,4-(OH) ₂	o	3,4-(OH) ₂
p	3,4-(OH) ₂	p	3,4-O-CH ₂ -O
q	3,4-O-CH ₂ -O	q	4-OCH ₃
r	4-OCH ₃	r	3-OCH ₃ , 4-OH
s	3-OCH ₃ , 4-OH		

LVIII u (R=H), LIX t (R=CH₃)LVIII v (R=H), LIX u (R=CH₃)Slika 2.28. Strukturne formule benzo[d]izotiazol hidrazona LVIII a–v i LIX a–u.⁴

Testirano je analgetsko i protuupalno djelovanje hidrazona izvedenih iz halkonila i mefenaminske kiseline i uočeno je da nesupstituirani (LX a) i supstituirani hidrazoni koji sadrže jake elektron-odvlačeće skupine (LX j; NO₂ i F, slika 2.27) imaju obećavajuće analgetsko i protuupalno djelovanje, a ne pokazuju gastrointestinalnu toksičnost.⁵⁵

Spoj	R ¹	R ²
LX a	H	H
LX b	<i>m</i> -NO ₂	H
LX c	<i>p</i> -Cl	H
LX d	<i>p</i> -Cl	<i>p</i> -OH
LX e	<i>o</i> -Cl	<i>p</i> -OH
LX f	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂	<i>p</i> -OH
LX g	<i>m</i> -NO ₂	<i>p</i> -Cl
LX h	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂	<i>p</i> -F
LX i	<i>p</i> -Cl	<i>p</i> -F
LX j	<i>p</i> -NO ₂	<i>p</i> -F

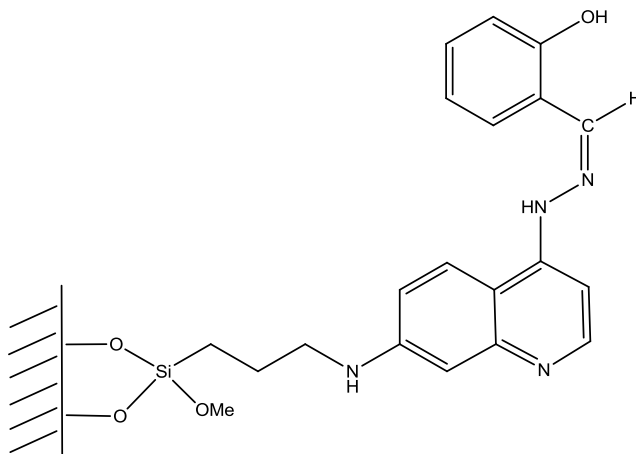


(4a-4j)

Slika 2.29. Strukturne formule proučavanih spojeva.⁵⁵

Primjena hidrazona kao reagenasa za prekoncentriranje, kao katalizatora, prenosioca, molekulskih prekidača i senzora bit će ukratko prikazana na sljedećim primjerima.

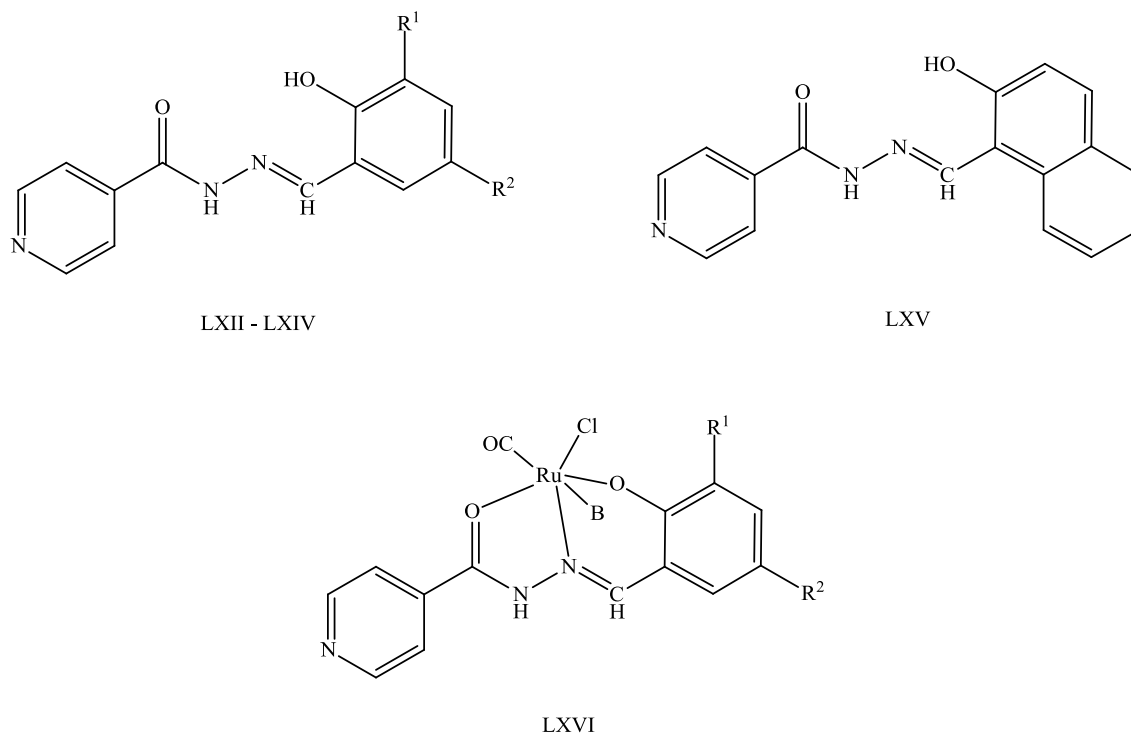
Istražena je primjena hidrazona za prekoncentriranje i odjeljivanje U(VI) iona iz vodenih otopina. Hidrazon 7-klor-4-(*o*-hidroksibenzilidinhidrazo) kinolin (LXI) imobiliziran je na silikagel čija je površina bila modificirana s 3-aminopropil-trimetoksisilanom (APMS).⁵⁶



Slika 2.30. Modificirani silikagel (SiAPMS-LXI).⁵⁶

Maksimalni kapacitet sorbensa iznosio je 8,46 mg U(VI) po gramu sorbensa, optimalni pH 6,0, vrijeme kontakta između U(VI) i modificiranog silikagela 120 minuta, masa modificiranog silikagela 40 mg, temperatura 60 °C, a strani ioni nisu značajnije utjecali. Rezultati su pokazali da je pripravljeni modificirani organski (hidrazonski) silikagel učinkovit i selektivni sorbens za uklanjanje U(VI) iona iz vodenih otopina pri navedenim uvjetima.⁵⁶

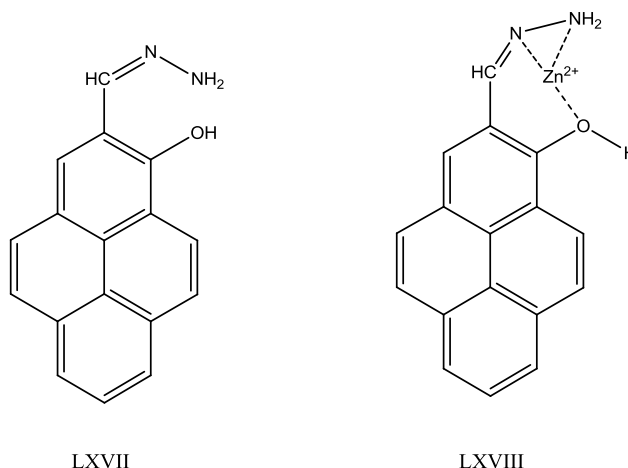
Pripravljeni su kompleksi hidrazona izvedenih iz 2-hidroksi-1-naftaldehida ili tri različito supstituirana salicilaldehida i izonikotinoil hidrazida s rutenijem(II) (slika 2.31).



Slika 2.31. Strukturne formule hidrazona LXII–LXVI (LXII: R¹ = OCH₃, R² = H; LXIII: R¹ = H, R² = Cl; LXIV: R¹ = R² = H) i kompleksa LXVI (E = P ili As; B = PPh₃, AsPh₃ ili piridin (Py); R¹ = OCH₃ ili H; R² = Cl ili H).⁵⁷

Rutenijevi (II) kompleksi (slika 2.31) korišteni su kao katalizatori u oksidaciji primarnih i sekundarnih alkohola u odgovarajuće aldehide ili ketone u diklormetanu uz prisutnost *N*-metil morfolin *N*-oksida (NMO) kao oksidansa. Također su korišteni u katalitičkom hidrogeniranju alifatskih i aromatskih ketona u odgovarajuće alkohole uz dodatak KOH u izopropanolu. U obje primjene postignuti su zadovoljavajući rezultati.⁵⁷

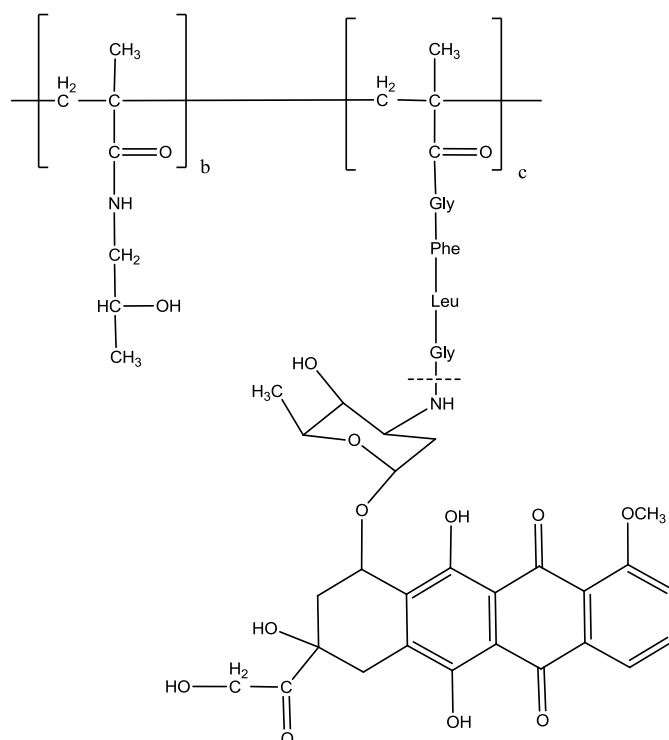
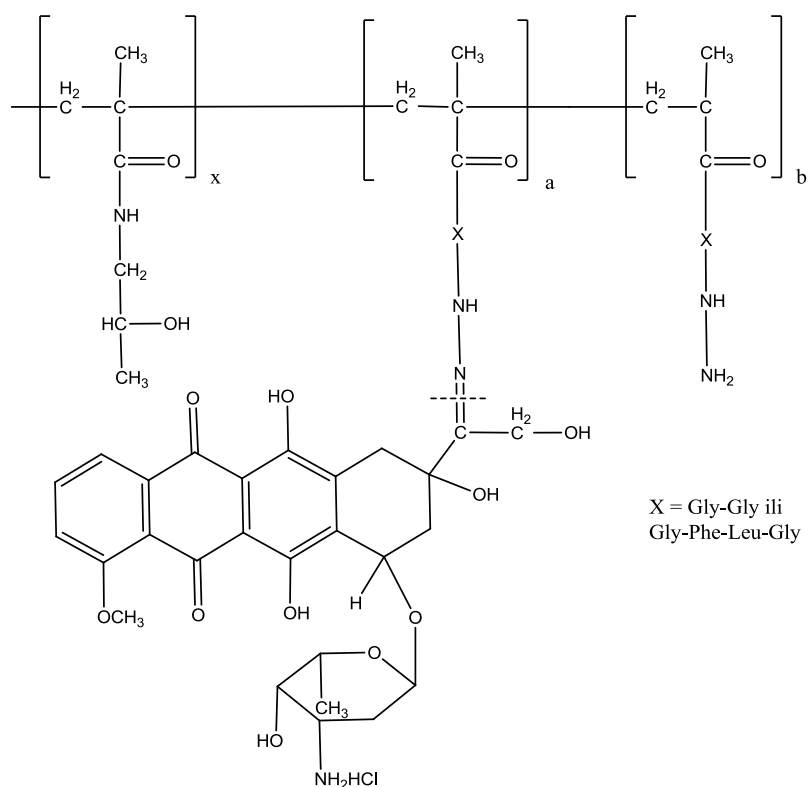
Za fluorescencijsko oslikavanje Zn(II) u stanicama gušterače korišten je hidrazonski derivat pirena (LXVII; slika 2.32).⁵⁸



Slika 2.32. Strukturne formule hidrazonskog derivata pirena (LXVII) i njegovog kompleksa sa Zn(II) (LXVIII).⁵⁸

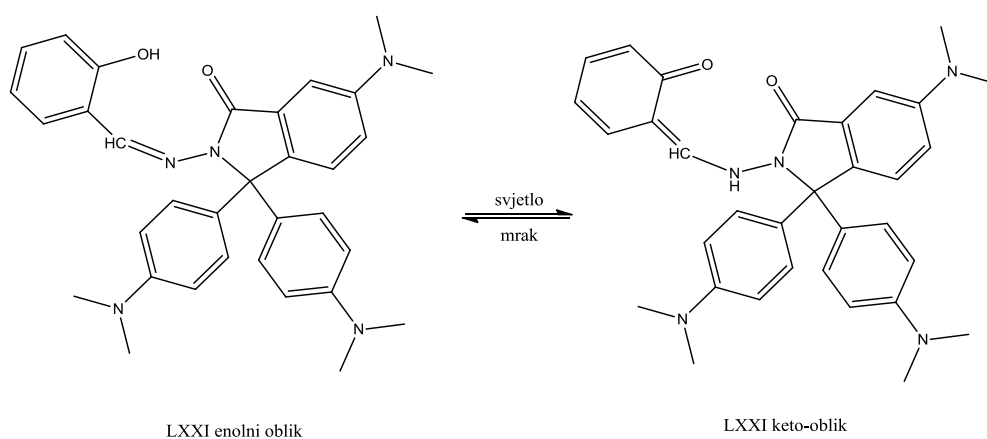
Otopini hidrazona LXVII u sustavu otapala acetonitril/HEPES pufer (4-(2-hidroksietil)-1-piperazinetansulfonska kiselina) 4/6 (0,02 mol dm⁻³, pH 7,4) dodani su različiti ioni kao što su Ag(I), Ca(II), Cd(II), Cu(II), Fe(III), Hg(II), Mg(II), Pb(II) i Zn(II). Porast fluorescencije uočen je jedino nakon dodatka Zn(II). Fluorimetrijskom titracijom je određena konstanta vezanja koja je iznosila $2,43 \times 10^4$ mol⁻¹ dm³, a metodom kontinuiranih varijacija određena je 1 : 1 stehiometrija kompleksa. S obzirom da dodatkom Zn(II) u otopinu hidrazona nisu uočene promjene u apsorpcijskom spektru, povećanje fluorescencije hidrazona nakon dodatka Zn(II) pripisano je blokiranju fotoinduciranog prijenosa elektrona (engl. *photo-induced electron transfer*, PET) s dušika na pirensku podjedinicu.⁵⁸ S navedenim hidrazonom fluorescencijskom spektroskopijom može se detektirati Zn(II) u β -stanicama gušterače koje skladište i otpuštaju inzulin, a sadrže Zn(II).

Kao učinkoviti prenosioc doksorubicina, lijeka koji se koristi u liječenju različitih vrsta tumora, korišten je konjugat doksorubicina s hidrazonskom vezom. Sintetizirani su konjugati doksorubicina s vezom koja se proteolitički (LXIX; slika 2.33) ili hidrolitički cijepa (LXX; slika 2.34).⁵⁹

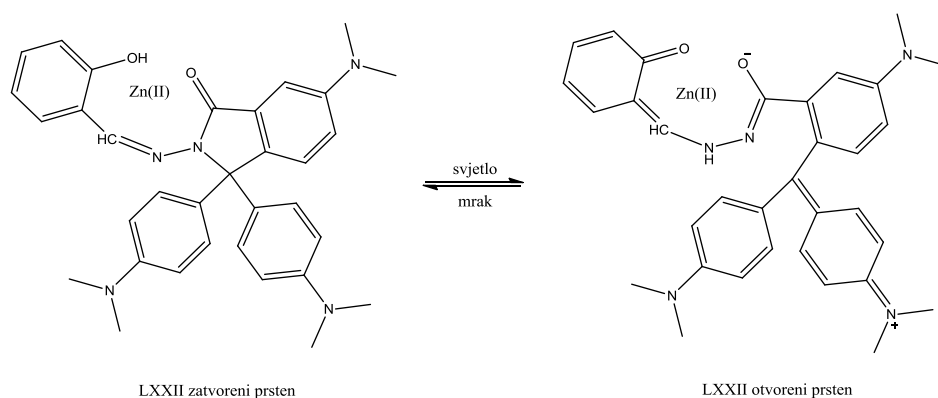
Slika 2.33. Strukturna formula LXIX s naznačenom vezom koja se proteolitički cijepa.⁵⁹Slika 2.34. Strukturna formula LXX s naznačenom vezom koja se hidrolitički cijepa.⁵⁹

Proučeno je antiproliferativno djelovanje obje vrste konjugata prema humanim i mišjim tumorskim stanicama. Antiproliferativno djelovanje LXIX konjugata *in vitro* bilo je značajno niže od LXX konjugata u lizosomima. Prije samog otpuštanja doksorubicina u lizosomima, dio se otpusti u ranim (čiji je pH 6,0–6,2), a dio u kasnim endosomima (pH 5,5–6,0). Pri tim uvjetima hidrolizira hidrazonska veza i otpušta se doksorubicin. Autori sugeriraju da je otpuštanje doksorubicina prvo u endosomima, a tek kasnije u lizosomima odgovorno za bolju efikasnost antiproliferativnog djelovanja LXX konjugata nego kada bi se otpuštao samo u lizosomima. Brzina i mjesto otpuštanja doksorubicina odgovorni su i za konačno antiproliferativno djelovanje u ciljanim organelima, kao što su jezgra i mitohondriji.⁵⁹

Fotokromna reverzibilnost hidrazona poželjna je karakteristika zbog mogućih primjena u pohrani optičkih podataka, uporabe kao molekulskih prekidača ili mašina, fotokontroli bioloških procesa i slično.⁶⁰ Sintetiziran je hidrazon (LXXI; slika 2.35) izveden iz salicilaldehida i hidrazida ljubičastog laktona,⁶⁰ a njegov kompleks (LXXII) dobiven je dodatkom Zn(II) u otopinu hidrazona u diklormetanu koji je bio fotokromno reverzibilan.



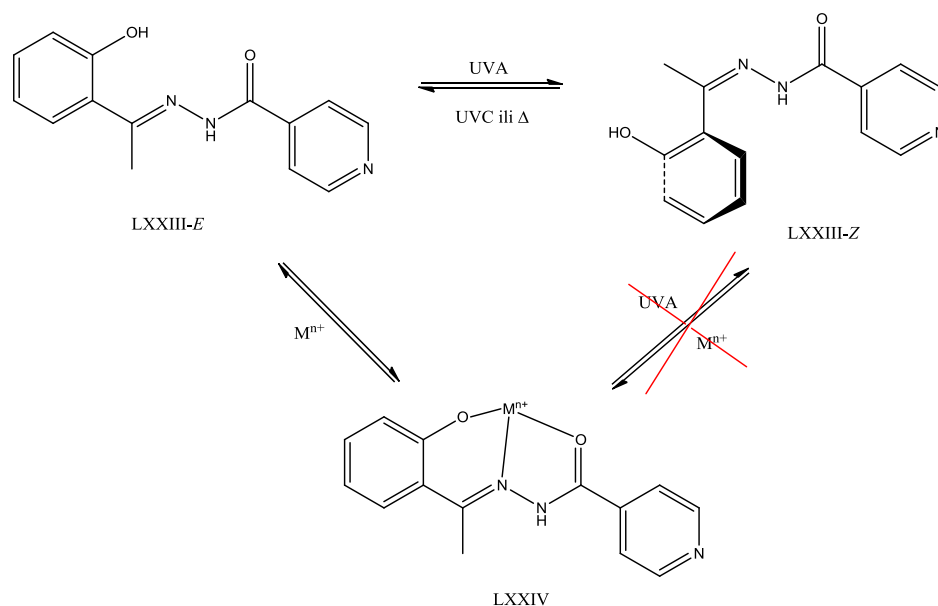
Slika 2.35. Keto-enolna tautomerija LXXI uzrokovana svjetlom.⁶⁰



Slika 2.36. Keto-enolna tautomerija i otvaranje spirolaktamskog prstena LXXII uzrokovana svjetlom.⁶⁰

Bezbojna otopina kompleksa u diklormetanu pobuđena je zračenjem valne duljine 405 nm i otopina je postala plavo obojena (autori napominju da konvencionalni izvori zračenja pa čak i dnevno svjetlo može uzrokovati tu reakciju). U apsorpcijskom spektru pojavile su se vrpca pri 605 nm i rame pri 567 nm. Kad se izvor zračenja uklonio boja otopine postupno se izgubila.⁶⁰ Predložen je mehanizam na slici 2.36 (otvaranje spirolaktamskog prstena i keto-enolna tautomerija). Učinjeni su i dodatni eksperimenti kojima je potvrđen predloženi mehanizam. Osim toga autori napominju da kompleks LXXII puno jače fluorescira prije izlaganja svjetlu. Fluorescencija se pojačava uslijed kelatiranja Zn(II) u enolnom obliku, a smanjenje fluorescencije nakon izlaganja svjetlu posljedica je prisutnosti keto-oblika koji gasi fluorescenciju. Izlaganje svjetlu olakšava tautomerizaciju salicilaldehid hidrazonske podjedinice u kompleksu iz enolnog u keto-oblik, što je u konačnici pojačalo kelatiranje Zn(II) i uvjetovalo otvaranje spirolaktamskog prstena.⁶⁰ Kako bi se dodatno potvrdio predloženi mehanizam, autori su zamijenili hidroksilnu s metoksi-skupinom. Takav hidrazon je kompleksirao Zn(II), ali kompleks nije pokazivao fotokromizam nakon izlaganja svjetlu zbog nemogućnosti keto-enolne tautomerne ravnoteže te skupine za razliku od hidroksilne skupine. Autori su IR spektroskopijom i teorijskim izračunima također potvrdili mehanizam. Fotokromna reverzibilnost kompleksa istražena je na način da se nakon obasjavanja 10 $\mu\text{mol/L}$ otopine kompleksa, tijekom jednog sata neosvjetljavanja kompleks pri 25 °C vraća u prvotno stanje. Vraćanje u prvotno stanje događalo se kinetikom prvog-reda. Nakon vraćanja u prvotno stanje postupak je ponavljen 10 puta. Tijekom ponavljanja nije došlo do degradacije kompleksa čime je osim reverzibilnosti fotokromne reakcije prikazana i otpornost na degradaciju uz korišteno zračenje (6 W UV lampa).⁶⁰

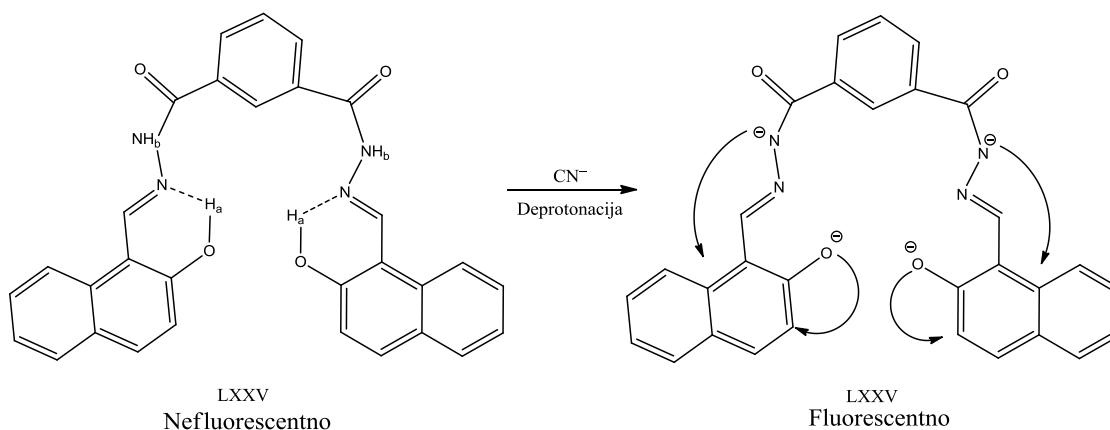
Sintetiziran je molekulski prekidač, ((*E*)-*N'*-[1-(2-hidroksifenil)etiliden]izonkotinoilhidrazid; LXXIII). U vodenoj otopini pri pH = 7,4 taj hidrazon se nalazi u obliku *E* s obzirom na $-\text{C}=\text{N}-$ vezu. Ako se otopina obasja UVA zračenjem (315 – 400 nm) *E*-oblik prelazi u *Z*-oblik (slika 2.37). Tijekom vremena se termalnom relaksacijom vraća u *E*-oblik. Osim tog načina, autori su postigli i da se *Z*-oblik vrati u *E*-oblik obasjavanjem otopine UVC (≈ 254 nm) zračenjem.⁶¹



Slika 2.37. *E/Z* fotoizomerizacija LXXIII i strukturna formula kompleksa LXXIV s metalima ($M^{n+} = \text{Al(III)}, \text{Fe(III)}, \text{Cu(II)}, \text{Ni(II)}$).⁶¹

Navedeni hidrazon veže različite ione metala ($M^{n+} = \text{Al(III)}, \text{Fe(III)}, \text{Cu(II)}, \text{Ni(II)}$). Takvo pripremljene otopine obasjalo se s UVA zračenjem. Vezanje metala blokira prijelaz *E* izomera u *Z* te ne dolazi do fotoizomerizacije. Navedeni hidrazon predložen je kao poželjan molekulski prekidač zbog reverzibilnosti procesa *E-Z* izomerije uslijed primjene različitih valnih duljina zračenja što eliminira potrebu za čekanjem na termalnu relaksaciju. Osim toga kompleksiranjem određenih iona metala i blokiranjem fotoizomerizacije postiže se još jedan dodatan stupanj kontrole tih procesa.⁶¹

Pripravljen je bis(2-hidroksi-1-naftaldehid)-1,3-benzendikarbohidrazon (LXXV; slika 2.38) kao potencijalni kolorimetrijski i fluorescencijski senzor za CN^- ione.⁶²



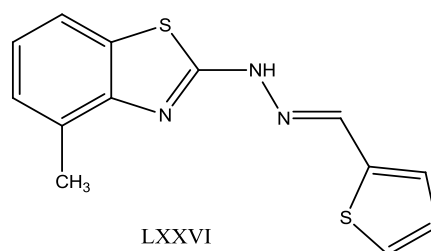
Slika 2.38. Mehanizam prepoznavanja CN^- iona hidrazonom LXXV.⁶²

UV-Vis spektrofotometrijski je proučen utjecaj suviška aniona CN(–I), F(–I), Cl(–I), Br(–I), I(–I), AcO(–I), H₂PO₄(–I), HSO₄(–I), ClO₄(–I), N₃(–I) i SCN(–I) dodanih u otopinu LXXV (DMSO/voda 6/4). Jedino je dodatak CN(–I) iona inducirao promjene u spektru uz nastanak nove vrpce pri 443 nm, i smanjenje vrpce pri 327 nm. Na temelju dobivenih spektara autori su zaključili da je LXXV vrlo selektivan i osjetljiv prema CN(–I). Promjene u spektru otopine LXXV i CN(–I) assignirane su deprotonaciji hidroksilne i amidne skupine. Slične spektralne promjene uočene su i za otopinu LXXV i OH[–]. Otopina LXXV nakon pobude pri 410 nm slabo fluorescira. Uz dodatak CN(–I) jako se povećava intenzitet fluorescencije pri 500 nm dok dodatak ostalih iona ne povećava fluorescenciju. Zbog deprotonacije amidnog i hidroksilnog protona povećava se negativni naboj uz intramolekulski prijenos negativnog naboja prema aromatskim prstenima s amidnog i hidroksilnog aniona.⁶² Snimljeni su i ¹H NMR spektri. Nakon dodatka CN(–I) u otopinu LXXV, nestaju signali hidroksilnih protona, a signali koji odgovaraju aromatskim protonima pomaknuti su prema nižim vrijednostima kemijskih pomaka što sugerira povećanje elektronske gustoće u naftalenskom prstenu zbog delokalizacije naboja u konjugiranom sustavu.⁶²

2.3.1. Analitička primjena hidrazona

Hidrazoni kelatiraju katione mnogih metala kao što su prijelazni metali ili lantanoidi zbog prisutnosti bazičnih donorskih atoma kao što su kisik, dušik ili sumpor. Ukoliko određeni hidrazon dobro i selektivno veže pojedini ion, mogu se razraditi analitičke metode određivanja tog iona. U sljedećim primjerima bit će prikazane neke od metoda korištenja hidrazona kao analitičkih reagenasa.

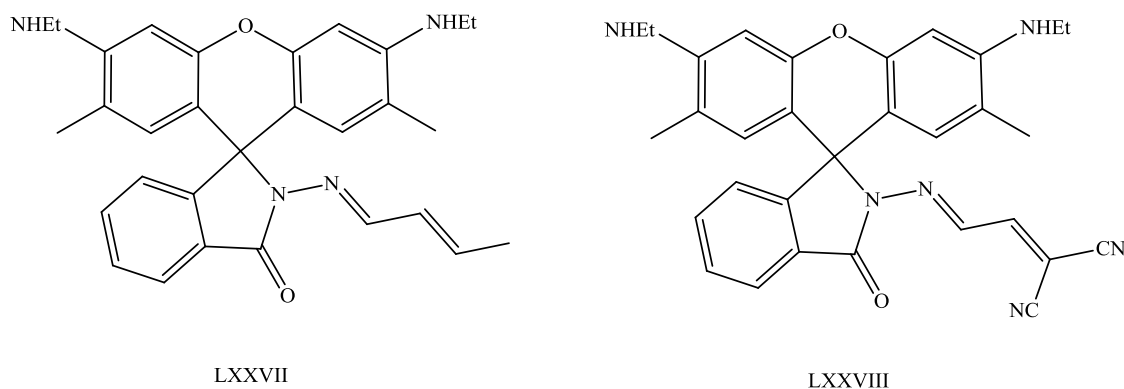
Sintetiziran je tiofen-2-karbaldehid-(7-metil-1,3-benzotiazol-2-il)hidrazon (LXXVI; slika 2.39) i pripravljen je selektivni potenciometrijski senzor za tulij(III).⁶³



Slika 2.39. Strukturna formula tiofen-2-karbaldehid-(7-metil-1,3-benzotiazol-2-il)hidrazona (LXXVI).⁶³

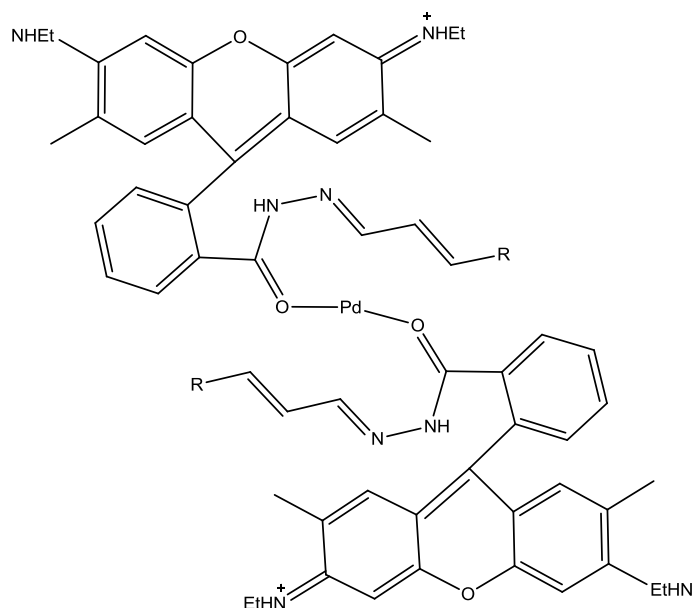
Elektroda je pripravljena miješanjem sitno usitnjenog PVC-a (30 mg), nitrobenzene (58 mg), natrijevog tetrafenilborata (NaTPB; 5 mg) i tetrahidrofurana (THF; 4 mL). Unutarnja referentna elektroda bila je žica srebro/srebrov klorid.⁶³ Odlike senzora su: linearno područje koncentracija Tm(III) bilo je od $1,0 \times 10^{-5}$ do $1,0 \times 10^{-2}$ mol dm⁻³, nagib kalibracijskog pravca bio je $19,5 \pm 0,3$ mV, a granica detekcije $8,0 \times 10^{-6}$ mol dm⁻³ ($\approx 1,2$ ppm). Dobra selektivnost senzora prema Tm(III) ionu pripisana je odgovarajućoj veličini tulijevih iona i jakoj tendenciji ovog hidrazona da ih veže.⁶³ Hidrazon se uspješno primjenio u potenciometrijskoj titraciji $1,0 \times 10^{-4}$ mol dm⁻³ Tm(III) s $1,0 \times 10^{-2}$ mol dm⁻³ EDTA, kao i u titraciji $1,0 \times 10^{-4}$ mol dm⁻³ EDTA s $1,0 \times 10^{-2}$ mol dm⁻³ Tm(III).

Poznato je da Pd(II) uglavnom gasi fluorescenciju fluorescirajućih liganada. Sintetizirana su dva hidrazona (LXXVII i LXXVIII; slika 2.40) za osjetljivo i selektivno fluorimetrijsko određivanje Pd(II).⁶⁴



Slika 2.40. Strukturne formule hidrazona LXXVII i LXXVIII.⁶⁴

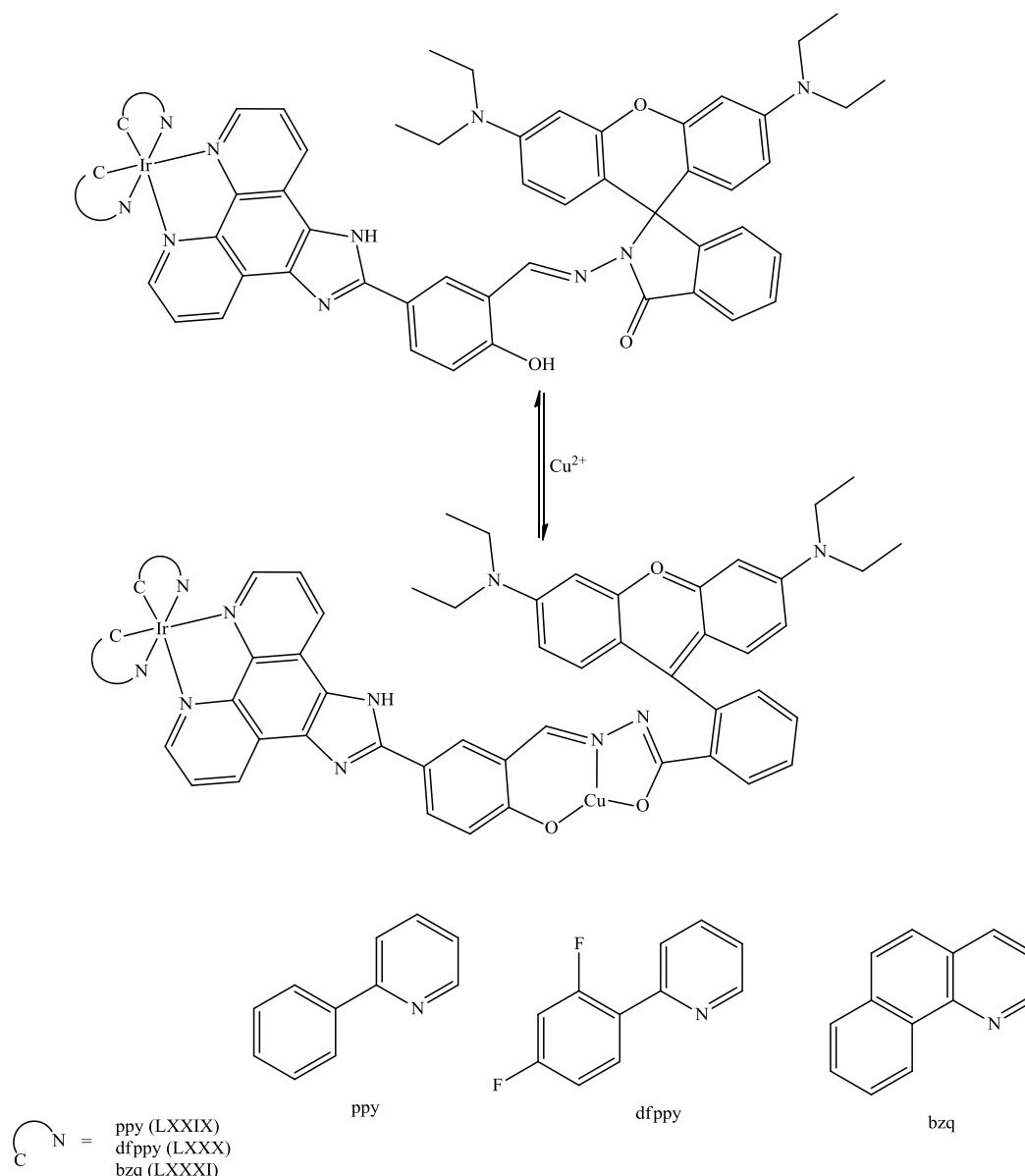
Otopine LXXVII i LXXVIII u 50 % etanolu bezbojne su i nefluorescentne jer se nalaze u konfiguraciji sa zatvorenim spirolaktamskim prstenovima. Dodatkom Pd(II) uslijed kompleksiranja otvaraju se prstenovi, otopine postaju ružičaste i fluorescentne. Otopini LXXVII se nakon dodatka Pd(II) fluorescencija povećala 170 puta. Od ostalih ispitanih iona (K(I), Na(I), Ca(II), Mg(II), Zn(II), Cd(II), Ba(II), Cr(III), Pb(II), Cu(II), Hg(II), Ag(I), Mn(II), Ni(II), Co(II), La(III) i NH₄(I)) niti jedan nije pojačavao fluorescenciju LXXVII. Detekciji Pd(II) s LXXVIII smetali su ioni Pb(II), Mn(II), Ag(I) i NH₄(I), dok je umjerenu selektivnost prema Pd(II) uočena uz prisutnost drugih iona.⁶⁴ Ostali metali platinske skupine elemenata (Pt(II), Rh(III) i Ru(III)) nisu pojačavali fluorescencije hidrazona.⁶⁴ Oba hidrazona LXXVII i LXXVIII vežu Pd(II) u stehiometrijskom omjeru M : ligand 1 : 2 (slika 2.41).⁶⁴



Slika 2.41. Predloženi struktura nakon otvaranja spirolaktamskog prstena uslijed kompleksiranja Pd(II). R = metil (LXXVII); R = bi-cijano (LXXVIII).⁶⁴

Linearnost je za oba hidrazona bila od 0,1 do 1 ppm Pd(II). Granica detekcije za LXXVII je bila $1,80 \times 10^{-7}$ mol dm⁻³, a za LXXVIII $1,70 \times 10^{-6}$ mol dm⁻³. LXXVII je upotrijebljen u određivanju Pd(II) u uzorcima voda iz bazena i vodovoda te u uzorcima zemlje. Dobiveni su zadovoljavajući rezultati uz linearne odzive fluorescencije u rasponu koncentracija Pd(II) od 0,1 do 10 μ mol dm⁻³ za uzorke vode i od 3 do 10 μ mol dm⁻³ za uzorke zemlje.

Sintetizirani su kompleksi iridija(III) s hidrazonom (slika 2.42) izvedenim iz rodamina. Kompleksi su korišteni za detekciju i određivanje Cu(II) iona.⁶⁵

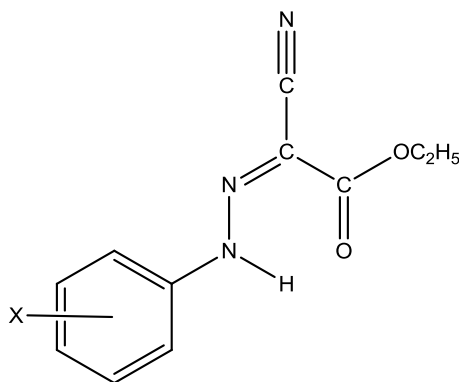


Slika 2.42. Kompleksi hidrazona i iridija(III) (LXXIX – LXXXI) i kompleksiranje Cu(II) iona.⁶⁵

UV-Vis spektrofotometrijski proučavani su kompleksi LXXIX – LXXXI i njihova sposobnost detektiranja iona Cu(II) u puferiranom sustavu acetonitril/voda 1/1. Linearan odziv senzora prema Cu(II) ionima bio je od 10 nmol dm⁻³ do 8 μmol dm⁻³ za LXXIX i LXXXI, a od 10 nmol dm⁻³ do 6 μmol dm⁻³ za LXXX. Granice detekcije Cu(II) iznosile su redom 4,5, 5,2 i 4,9 nmol dm⁻³ (za LXXIX, LXXX i LXXXI). Promjena boje mogla se uočiti i golim okom (bezbojno prema ružičastom).⁶⁵ Dodatak Zn(II), Cd(II), Mg(II), Hg(II), Ca(II), Pb(II), Ni(II), Co(II), Fe(III), K(I), Na(I) i Ag(I) iona nije utjecao na vezanje Cu(II) i hidrazona. Metodom

kontinuiranih varijacija određen je sastav kompleksa 1 : 1. Hidrazoni su uspješno primjenjeni za određivanje Cu(II) u uzorcima vodovodnih voda i voda iz rijeke.⁶⁵

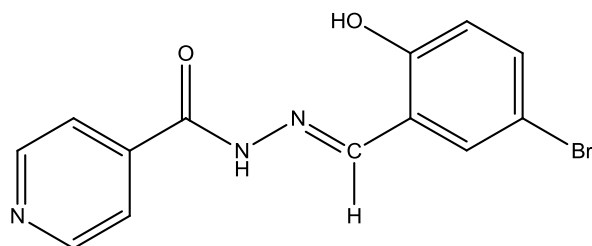
Neki od hidrazona prikazanih na slici 2.43 korišteni su za spektrofotometrijsko i konduktometrijsko određivanje lantanoida te kao indikatori u spektrofotometrijskom određivanju lantanoida s EDTA.⁶⁶



Slika 2.43. Strukturne formule hidrazona LXXXII (X = H), LXXXIII (X = *p*-COOH), LXXXIV (X = *p*-OH), LXXXV (X = *p*-NO₂), LXXXVI (X = *p*-Cl), LXXXVII (X = AsO(OH)₂), LXXXVIII (X = *p*-CH₃), LXXXIX (X = *p*-OCH₃) XC (X = *o*-COOH), XCI (X = *o*-OH), XCII (X = *m*-NO₂) i XCIII (X = *m*-Cl).⁶⁶

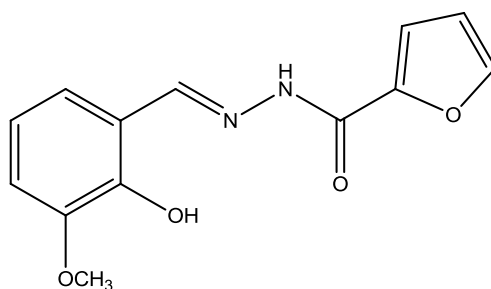
Snimljeni su UV-Vis spektri kompleksa hidrazona LXXXIII, LXXXV i XC s lantanoidima Y(III), La(III), Pr(III), Nd(III), Sm(III), Gd(III), Dy(III), Ho(III), Er(III) i Yb(III).⁶⁶ Kompleksi hidrazona LXXXIII, LXXXV i XC s gore navedenim lantanoidima trenutačno se stvaraju i stabilni su preko noći. Stehiometrija kompleksa bila je M : L = 1 : 1, a za komplekse s XC (*o*-COOH) uočeni su i kompleksi stehiometrije M : L = 1 : 2.⁶⁶ Linearnost je zadovoljena u rasponu koncentracija metala od 5,0 do 15,0 ppm. Molarni apsorpcijski koeficijenti iznosili su $(5,21-8,94) \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ korištenjem metode s optimiziranom slijepom probom i nešto niži $(2,36-3,54) \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ korištenjem metode s uobičajenom slijepom probom. Konduktometrijskim titracijama također su dobiveni zadovoljavajući rezultati. Hidrazoni su se pokazali i kao dobri indikatori u spektrofotometrijskoj titraciji lantanoida s EDTA.⁶⁶

5-bromsalicilaldehid-izonikotinoilhidrazon (XCIV; slika 2.44) tvori kompleks s U(VI) ionom i primijenjen je u spektrofotometrijskom određivanju U(VI) u uzorcima voda, fosfatnih stijena i gnojiva.¹⁰

Slika 2.44. Strukturna formula 5-bromsalicilaldehid-izonikotinoilhidrazona (XCIV).¹⁰

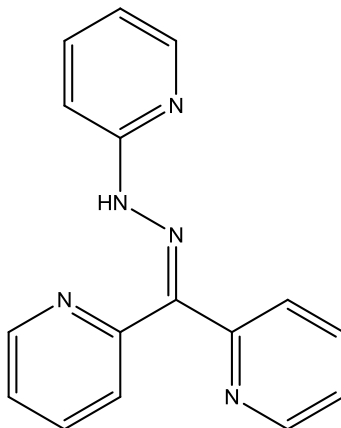
Optimalni pH za nastajanje kompleksa bio je 5,0. Stehiometrija kompleksa određena je metodom kontinuiranih varijacija i iznosila je $1 : 1 = M : L$. Linearnost je zadovoljena u rasponu koncentracija U(VI) od 0,119 do 1,071 $\mu\text{g cm}^{-3}$, a molarni apsorpcijski koeficijent iznosio je $1,17 \times 10^4 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Od stranih iona najviše interferiraju Ti(III) i Bi(III) (pri 2-3 ekvivalenta), dok anioni interferiraju tek nakon više od 100 ekvivalenata. Rezultati spektrofotometrijskog određivanja U(VI) u skladu su s rezultatima dobivenim atomskom apsorpcijskom spektroskopijom.¹⁰

Razrađena je vrlo selektivna i osjetljiva spektrofluorimetrijska metoda za određivanje osmija(IV). Metoda se temelji na pojačavanju fluorescencije otopine zbog nastanka fluorescirajućeg produkta u reakciji oksidacije *o*-vanilin-furfuralhidrazona (XCV; slika 2.45) s kalijevim bromatom, koja je katalizirana s Os(IV) ionima u puferiranom vodenom mediju (pH = 6,10 acetatni pufer).¹¹

Slika 2.45. Strukturna formula *o*-vanilin-furfuralhidrazona (XCV).¹¹

Linearnost je bila u rasponu koncentracija Os(IV) od 0 do 600 ng mL^{-1} , a granica detekcije 1,0 ng mL^{-1} . Određivanju osmija(IV) ne smetaju K(I), Na(I), Mg(II), Cl(-I), Br(-I), $\text{SO}_4(-\text{II})$ i tartarati čak niti u 1000 većem suvišku. Ioni Cu(II), Ru(III), Rb(III), Ir(IV) smetaju nakon 10, a Al(III) već pri 2 ekvivalenta. Interferencije se mogu ukloniti odvajanjem osmija destilacijom.¹¹ Metoda je primijenjena za određivanje Os(IV) u uzorcima sintetskih smjesa i uzorcima minerala.¹¹

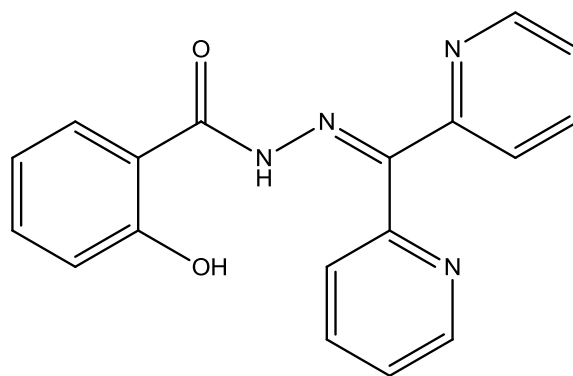
Razvijena je jednostavna i brza spektrofotometrijska metoda tehnikom injektiranja u protok (engl. *flow injection analysis*, FIA) za istovremeno određivanje Fe(II) i Fe(III) u farmaceutskim proizvodima. Metoda se temelji na reakciji Fe(II) s 2,2'-dipiridil-2-piridilhidrazonom (XCVI; slika 2.46) u kiselom mediju. Reakcijom nastaje crveni kompleks koji ima maksimum apsorpcije pri $\lambda_{\max} = 535 \text{ nm}$.⁶⁷



Slika 2.46. Strukturna formula 2,2'-dipiridil-2-piridilhidrazona (XCVI).⁶⁷

Fe(III) se prije reakcije s XCVI reducira askorbinskom kiselinom. Istovremeno se u sustav injektiraju dva uzorka, prvi s askorbinskom kiselinom, a drugi bez askorbinske kiseline. Nakon reakcije s XCVI i prolaskom kroz sustav detektiraju se pikovi pri 535 nm. Prvi pik odgovara ukupnom željezu (Fe(II)+Fe(III)), a drugi samo Fe(II). Kalibracijske krivulje bile su linearne u rasponu od 0,17 do 30 mg dm^{-3} za Fe(II) i 0,25 do 50 mg dm^{-3} za Fe(III). Granice detekcije bile su 0,17 $\mu\text{g cm}^{-3}$ za Fe(II) i 0,25 $\mu\text{g cm}^{-3}$ za Fe(III). Proučen je i utjecaj stranih iona. Većina iona nije smetala određivanju Fe(II). Predložena metoda uspješno je korištena u određivanju Fe(II) u farmaceutskim proizvodima koji sadrže Fe(II) za liječenje anemije.⁶⁷ Rezultati su bili u skladu s rezultatima dobivenim referentnom metodom (reakcija Fe(II) i o-fenantrolina) i odgovarali su nominalnim vrijednostima napisanim na deklaraciji proizvoda.⁶⁷

Razvijena je nova spektrofotometrijska metoda istovremenog određivanja Fe(II) i Fe(III) u prirodnim vodama korištenjem dipirid-2-il-ke-ton-saliciloidhidrazona (XCVII; slika 2.47) kao kolorimetrijskog kelatirajućeg agensa Fe(II) i Fe(III).⁹



Slika 2.47. Strukturna formula dipirid-2-il-keton-saliciloilhidrazona (XCVII).⁹

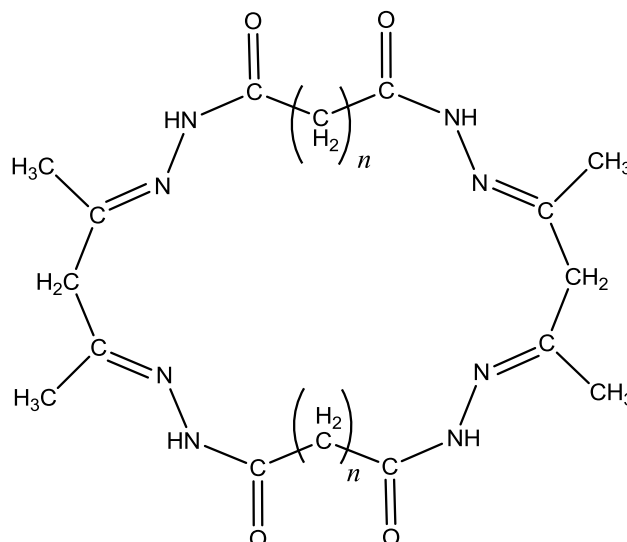
Optimizirani su uvjeti kompleksiranja. Optimalni pH iznosio je 4,1 uz omjer ligand/metal ≥ 10 . Oba kompleksa imaju maksimume apsorpcije pri 375 nm ($\epsilon = 4,21 \times 10^4$ za Fe(II) i $\epsilon = 1,26 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ za Fe(III)) dok kompleks s Fe(II) ima i maksimum pri 644 nm ($\epsilon = 1,27 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$). Granice detekcije za Fe(II) bile su $0,15 \text{ } \mu\text{mol dm}^{-3}$ pri 375 nm i $0,09 \text{ } \mu\text{mol dm}^{-3}$ pri 644 nm, a za Fe(III) $0,22 \text{ } \mu\text{mol dm}^{-3}$ pri 375 nm, dok su linearna područja odziva bila od 0,5 do $26 \text{ } \mu\text{mol dm}^{-3}$ pri 375 nm i od 0,5 do $81 \text{ } \mu\text{mol dm}^{-3}$ pri 644 nm za Fe(II). Linearan odziv za Fe(III) bio je u području koncentracija 0,5 do $73 \text{ } \mu\text{mol dm}^{-3}$ pri 375 nm. Strani ioni kao što su Co(II), Cd(II), Cu(II), Mn(II), Zn(II), Pb(II), Hg(II), Ni(II) smetali su određivanju Fe(II) i Fe(III) pri 375 nm već pri ekvivalentnim količinama. Međutim, nisu smetali određivanju Fe(II) pri 644 nm.⁹ Metoda je korištena za određivanje Fe(II) i Fe(III) u uzorcima četiri prirodnih voda. Rezultati dobiveni ovom metodom u skladu su s rezultatima dobivenima standardnom spektrofotometrijskom metodom (korištenjem 2,2'-bipiridila) i s rezultatima dobivenima atomskom apsorpcijskom spektroskopijom. Veća odstupanja uklonjena su reduciranjem prisutnog Fe(III) u Fe(II) s askorbinskom kiselinom te mjerenjem apsorpcije pri 644 nm.⁹

Selektivnost metode može se poboljšati uvođenjem ekstrakcije tekuće-tekuće. Postotak ekstrakcije najčešće ovisi o prirodi korištenog organskog otapala, topljivosti liganda u tom otapalu, o koncentracijama iona metala i liganda, vrijednosti pH vodene faze i prisutnosti stranih iona. Prije uspješne uporabe metode svi ovi parametri moraju se optimirati.

Stoga je proučena ekstrakcija kloroformne otopine izonitrozoacetofenon-2-aminobenzoilhidrazona (slika 2.15) prema Cu(II), Ni(II), Co(II), Cr(III), Hg(II), Zn(II), Cd(II)

i Mn(II) iz vodenih otopina.¹² Od navedenih iona hidrazon je selektivno vezao samo Cu(II) ione.

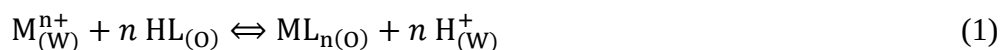
Sintetizirani su hidrazoni XCVIII i XCIX (slika 2.48) reakcijama acetilacetona i dihidrazida jantarne ili dihidrazida adipinske kiseline.⁶⁸



Slika 2.48. Strukturne formule hidrazona XCVIII i XCIX. $n = 2$ (XCVIII); $n = 4$ (XCIX).⁶⁸

Prijenos Li(I), Na(I), K(I), Cu(II) i Cr(III) iz vodene u organsku fazu istražen je ekstrakcijom tekuće-tekuće s kloroformnim otopinama hidrazona XCVIII i XCIX. Alkalijski metali nisu ekstrahirani s navedenim hidrazonima u organsku fazu. Oba hidrazona su ekstrahirala Cu(II) i Cr(III) u organsku fazu s time da su diklormetanske otopine hidrazona bolje ekstrahirale nego kloroformne. Autori navode da je veća dielektrična konstanta diklormetana (9,1) u odnosu na kloroform (4,8) ili bolja solvatacija kompleksa diklormetanom uzrok bolje ekstrakcije tim otapalom.⁶⁸ Maksimum ekstrakcije Cu(II) bio je pri pH 5–7, a Cr(III) pri pH 7–8. Postotak ekstrakcije Cu(II) bio je viši nego za Cr(III).

Ako se ekstrakcija napiše kao:



Konstanta ekstrakcije može se prikazati kao:

$$K_e = \frac{[ML_n]_o [H^+]_w^n}{[M^{n+}]_w [HL]_o^n} \quad (2)$$

Distribucijski omjer, D , neke supstance (primjerice iona metala, M) između organske i vodene faze može se prikazati kao:

$$D = \frac{[M]_o}{[M]_w} = \frac{[ML_n]_o}{[M^{n+}]_w} \quad (3)$$

Kombinacijom (2) i (3) dobije se sljedeći izraz:

$$D = K_e \frac{[\text{HL}]_0^n}{[\text{H}^+]_W^n} \quad (4)$$

Ako je $[\text{HL}]_0 = \text{konstantno}$, $D = [\text{H}^+]_W^{-n} K'$ i logaritam toga je:

$$\log D = -n \log [\text{H}^+]_W + K'' = n \cdot \text{pH} + K'' \quad (5)$$

n je nagib pravca koji pokazuje koliko se protona oslobađa tijekom nastajanja kompleksa. Log D se može prikazati kao $\log \{A_X/(A_0 - A_X)\}$, gdje je A_X apsorbancija otopine pri odgovarajućoj valnoj duljini (maksimumu), a A_0 je maksimalna vrijednost apsorbancije pri istoj valnoj duljini za optimalne eksperimentalne uvjete.

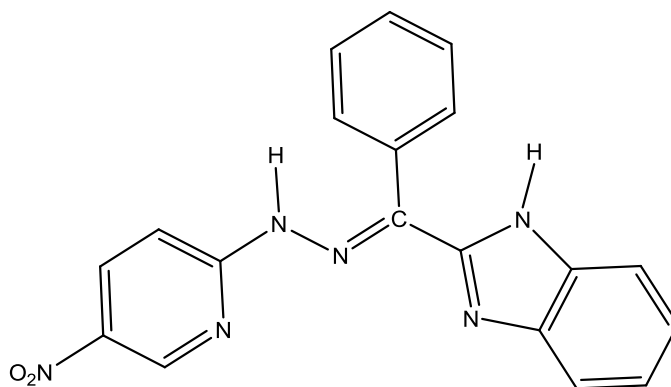
Iz jednadžbe (4) ako je $[\text{H}^+]_W^n = \text{konstantno}$, $D = [\text{HL}]_0^n K'$ i logaritam toga je:

$$\log D = n \log [\text{HL}]_0 + K'' \quad (6)$$

Nagib tog pravca govori koliko se molekula liganda veže tijekom kompleksiranja.

Metodama nagiba pravca $\log D$ o pH (prema jednadžbi 5) i $\log D$ o $\log \{c(\text{XCVIII i XCIX})\}$ (prema jednadžbi 6) određen je broj protona koji se otpušta tijekom kompleksiranja i stehiometrija kompleksa. Broj otpuštenih protona iznosio je 2, a stehiometrija kompleksa ligand : metal = 1 : 2.⁶⁸

Razvijena je spektrofotometrijska metoda određivanja Cu(II) s α -(2-benzimidazolil)- α' , α'' -(*N*-5-nitro-2-piridilhidrazon)toluenom (C; slika 2.49) uz prisutnost neionskog surfaktanta Brij 58.⁶⁹

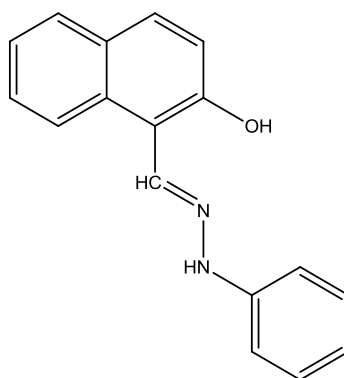


Slika 2.49. Strukturna formula α -(2-benzimidazolil)- α' , α'' -(*N*-5-nitro-2-piridilhidrazon)toluena (C).⁶⁹

Kompleks Cu(II)-(C) uz prisutnost neionskog surfaktanta Brij 58 (koji poboljšava topljivost i stabilnost kompleksa u vodenoj otopini) ima maksimum apsorpcije pri 410 nm. Kompleks je ekstrahirao dodatkom benzena. Optimalni uvjeti bili su: pH vodene faze 6,0, koncentracija

Brij 58 iznosila je $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$, koncentracija Cu(II) 2 ppm, a koncentracija C $6,8 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$. Linearnost je bila u rasponu koncentracija Cu(II) 0,06–2,5 $\mu\text{g cm}^{-3}$, granica detekcije 0,06 $\mu\text{g mL}^{-1}$, a molarni apsorpcijski koeficijent $3,81 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$. Od stranih iona najviše interferiraju Sn(II), Zn(II), Co(II) i Ni(II) koji tvore jake komplekse s C, i EDTA koja tvori jaki kompleks s Cu(II). Metoda je primijenjena za određivanje Cu(II) u uzorcima mlijeka. Rezultati dobiveni tom metodom u skladu su s rezultatima dobivenim atomskom apsorpcijskom spektroskopijom.⁶⁹

Razvijena je spektrofotometrijska metoda određivanja Fe(III) uz uporabu 2-hidroksi-1-naftalenkarbaldehid-fenilhidrazona (CI; slika 2.50) kao ekstrakcijskog reagensa u etil-acetatu.⁷⁰ Metoda je primijenjena za određivanje Fe(III) u uzorcima legura, ruda, kapsula, tableta i sintetskih smjesa.



Slika 2.50. Strukturna formula 2-hidroksi-1-naftalenkarbaldehid-fenilhidrazona (CI).⁷⁰

Optimalan pH za nastanak kompleksa Fe(III)-CI bio je 6,0. Crveno obojeni kompleks apsorbira pri 510 nm. Autori su istražili ekstrakciju s različitim otapalima (kloroform, etil acetat, izoamilni alkohol, ksilen, heksan, dietil-eter, toluen, *n*-butanol, tetraklorugljik, izobutil-metil-keton, nitrobenzen). Kvantitativno je ekstrahiran Fe(III) s CI u etil-acetatu. Za postizanje ravnoteže bilo je potrebno vrlo kratko vrijeme mućkanja (1 minuta), a nastali kompleks je bio stabilan i do 30 sati. Linearnost je zadovoljena u rasponu koncentracija Fe(III) od 1 do 7 ppm, a molarni apsorpcijski koeficijent iznosio je $0,31 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$. Na temelju metode kontinuiranih varijacija, metode nagiba pravca i metode molarnih omjera određena je stehiometrija kompleksa Fe(III) : CI = 1 : 3. Strani ioni uglavnom nisu utjecali na spektrofotometrijsko određivanje 50 $\mu\text{g Fe(III)}$. Postignuta je zadovoljavajuća preciznost i točnost u određivanju Fe(III) u gore navedenim uzorcima.⁷⁰

§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Kemikalije

Deionizirana voda

Hidrazid nikotinske kiseline, 97 %, Sigma-Aldrich

Salicilaldehid, 98 %, Sigma-Aldrich

2,3-Dihidroksibenzaldehid, 97 %, Sigma-Aldrich

2,4-Dihidroksibenzaldehid, 98 %, Sigma-Aldrich

2,5-Dihidroksibenzaldehid, 98 %, Sigma-Aldrich

Orto-vanilin, 99 %, Sigma-Aldrich

2-Hidroksi-4-metoksibenzaldehid, 98 %, Sigma-Aldrich

2-Hidroksi-3-klorbenzaldehyd, 97 %, Sigma-Aldrich

2-Hidroksi-5-klorbenzaldehyd, 98 %, Sigma-Aldrich

2-Hidroksi-3,5-diklorbenzaldehyd, 99 %, Sigma-Aldrich

2-Hidroksi-5-nitrobenzaldehyd, 98 %, Sigma-Aldrich

2'-Hidroksiacetofenon, 99 %, Sigma-Aldrich

Natrijev klorid, p.a., Kemika

Natrijev hidroksid, p.a., Kemika

Mravlja kiselina, p.a., Kemika

Natrijev acetat, p.a., Kemika

Amonijev formijat, p.a., Kemika

Amonijev acetat, p.a., Kemika

Oksalna kiselina dihidrat, p.a., Kemika

Amonijev oksalat monohidrat, p.a., Kemika

Kalijev hidrogenftalat, p.a., Kemika

Kalijev dihidrogenfosfat, p.a., Kemika

Natrijev hidrogenfosfat, p.a., Kemika

Klorovodična kiselina, w = 37 %, p.a., Kemika

Dušična kiselina, w = 65 %, p.a., Kemika

Sumporna kiselina, w = 96 %, p.a., Kemika

Borna kiselina, p.a., Merck
Ledena octena kiselina, $w = 99,5 \%$, p.a., Kemika
Koncentrirana fosforna kiselina, $\rho = 1,71 \text{ g cm}^{-3}$, $w = 85 \%$, p.a., J. T. Baker
Natrijev dihidrogenfosfat monohidrat, p.a., Merck-Alkaloid, Skopje
Metanol, HPLC-čistoće, J. T. Baker
Dimetilsulfoksid, p.a., Carlo Erba
Acetonitril, HPLC-čistoće, J. T. Baker
1,4-Dioksan, p.a., Merck
Kloroform, p.a., Scharlau
Diklormetan, p.a., Kemika
Dietil-eter, p.a., Lachner
Aceton, p.a., Carlo Erba
Etanol, p.a., Carlo Erba
Trietilamin (TEA), $\rho = 0,73 \text{ kg dm}^{-3}$, $w = 99 \%$, p.a., Merck
5-Sulfosalicilna kiselina, p.a., Kemika
Željezov(III) nitrat nonahidrat, p.a., Kemika
Natrijev nitrat, p.a., Kemika
Natrijev acetat trihidrat, p.a., Kemika
Kobaltov(II) klorid heksahidrat, p.a., Kemika
Bakrov(II) nitrat trihidrat, p.a., Kemika
Niklov sulfat heptahidrat, p.a., Kemika
Magnezijev sulfat heptahidrat, p.a., Kemika
Barijev nitrat, p.a., Kemika
Kalcijev nitrat tetrahidrat, p.a., Kemika
Cinkov nitrat heksahidrat, p.a., Kemika
Kadmijev nitrat tetrahidrat, p.a., Kemika
Manganov(II) sulfat tetrahidrat, p.a., Kemika
Natrijev sulfat dekahidrat, p.a., Labor
Kromov(III) kalijev sulfat, p.a., Laphoma
Aluminijev sulfat oktodekahidrat, ph. eur., Merck
Kositrov(II) klorid dihidrat, p.a., Grammol
Živin(II) klorid, p.a., Lachner

Navedene spojeve **1–12** sintetizirao je dr. sc. Darko Kontrec sa Zavoda za organsku kemiju i biokemiju Instituta Ruđer Bošković.

N'-benziliden-3-piridinkarbohidrazid, spoj **1**

N'-saliciliden-3-piridinkarbohidrazid, spoj **2**

N'-(2,3-dihidroksifenilmetiliden)-3-piridinkarbohidrazid, spoj **3**

N'-(2,4-dihidroksifenilmetiliden)-3-piridinkarbohidrazid, spoj **4**

N'-(2,5-dihidroksifenilmetiliden)-3-piridinkarbohidrazid, spoj **5**

N'-(2-hidroksi-3-metoksifenilmetiliden)-3-piridinkarbohidrazid, spoj **6**

N'-(2-hidroksi-4-metoksifenilmetiliden)-3-piridinkarbohidrazid, spoj **7**

N'-(2-hidroksi-3-klorfenilmetiliden)-3-piridinkarbohidrazid, spoj **8**

N'-(2-hidroksi-5-klorfenilmetiliden)-3-piridinkarbohidrazid, spoj **9**

N'-(2-hidroksi-3,5-diklorfenilmetiliden)-3-piridinkarbohidrazid, spoj **10**

N'-(2-hidroksi-5-nitrofenilmetiliden)-3-piridinkarbohidrazid, spoj **11**

N'-[1-(2-hidroksifenil)etiliden]-3-piridinkarbohidrazid, spoj **12**

3.2. Instrumenti

Apsorpcijski spektri snimljeni su pomoću CARY 3 ili CARY 5 UV-Vis spektrofotometra tvrtke Varian u rasponu valnih duljina od 200 do 800 nm. Korištene su konvencionalne kvarcne kivete ($l = 1$ cm).

CARY 50 UV-Vis spektrofotometar opremljen s termostatiranim držačem za kivete korišten je za kinetička mjerenja. Mjerenja su provedena pri temperaturi u rasponu od 20 do 50 °C uz točnost od 0,1 °C.

Spektralni podaci obrađeni su programima OriginPro 7.5, pHab2003 (programski paket Hyperquad)⁷¹ i SPECFIT 2.10⁷².

Pobudni (200–500 nm) i emisijski (350–700 nm) spektri snimljeni su pomoću Perkin Elmer LS55 spektrofluorimetra. Korištena je standardna kvarcna kiveta za spektrofluorimetriju ($l = 1$ cm). Širine ulazne i izlazne pukotine iznosile su 10 nm.

Za pripravu pufera korišten je MP220 pH metar tvrtke Mettler Toledo, kalibriran acetatnim (pH = 4) i fosfatnim (pH = 7) puferom. Za mjerenje pH (elektromotivnosti) otopina hidrazona u sustavu metanol/voda 1/1 korišten je pH metar Metrohm 827 LAB s

kombiniranom staklenom-Ag/AgCl elektrodom. Elektroda je kalibrirana puferima pripremljenim prema literaturnim podacima.⁷³

Otopine su mućkane na mućkalici Vibromix 403 EVT tvrtke Techntica. Vrijeme mućkanja iznosilo je 30 minuta pri 200 okretaja u minuti, osim ako je drugačije navedeno.

Za snimanje NMR spektara korišten je NMR spektrometar Bruker Avance III HD 400 MHz/54 mm Ascend.

Za snimanje spektara masa uz ionizaciju elektroraspršenjem korištena su dva instrumenta, s trostrukim kvadrupolom (Agilent 6420 Triple Quadrupole) i s ionskom stupicom (LCQ Deca spektrometar masa tvrtke Thermo Finnigan, San Jose, CA, USA). Pri snimanju spektara trostrukim kvadrupolom uzorci su uneseni u spektrometar masa pomoću Agilent 1200 HPLC sustava. Spektri su snimljeni uz pozitivnu i negativnu ionizaciju (ESI(+)) i ESI(–)) u području omjera m/z od 10 do 1000. Potencijal na kapilari iznosio je 4 kV, napon fragmentora 135 V, protok plina (N_2) $0,6 \text{ dm}^3 \text{ min}^{-1}$ i temperatura $300 \text{ }^\circ\text{C}$. U tandemnoj spektrometriji masa korištene su kolizijske energije od 5 do 25 eV. Kao kolizijski plin korišten je dušik. Protok otopina uzoraka pri snimanju spektara masa ionskom stupicom bio je $5 \text{ }\mu\text{L/min}$. Plin za nebulizaciju i pomoćni plin bio je dušik, dok je helij korišten kao kolizijski plin. Temperatura kapilare bila je $250 \text{ }^\circ\text{C}$, a napon kapilare 4 V. Spektri su snimani u rasponu vrijednosti m/z od 50 do 500 Da.

Kromatografska mjerenja provedena su pomoću Agilent 1220 Infinity Series HPLC (G4290C) instrumenta opremljenim s otplinjačem, binarnom pumpom, automatskim uzorkivačem, grijačem kolone i varijabilnim UV-Vis detektorom. Korišteno je gradijentno eluiranje: pokretna faza A ($0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ fosfatni pufer; $\text{pH} = 4$) i pokretna faza B (metanol). Volumen injektiranja bio je $2 \text{ }\mu\text{L}$. Odjeljivanje je provedeno na koloni C_{18} Kinetex ($50 \times 3 \text{ mm}$; promjer čestica $2,6 \text{ }\mu\text{m}$) tvrtke Phenomenex. Temperatura kolone iznosila je $(30,0 \pm 0,8) \text{ }^\circ\text{C}$. Podaci su obrađeni OpenLAB CDS Chemstation softverom.

3.3. Priprava otopina

Sve polazne otopine spojeva pripravljene su otapanjem točno odvaganih količina tvari u prikladnom otapalu.

3.3.1. Priprava pufera

Smjesa kiselina za univerzalne pufere pripravljena je otapanjem $2,7 \text{ cm}^3$ koncentrirane H_3PO_4 , $2,29 \text{ cm}^3$ ledene octene kiseline i $2,48 \text{ g}$ H_3BO_3 u $1,000 \text{ dm}^3$ deionizirane vode. Vrijednosti pH univerzalnih pufera (od 2 do 12) podešene su dodatkom $0,2 \text{ mol dm}^{-3}$ NaOH u smjesu kiselina.⁷⁴

Puferi za kalibraciju elektrode u sustavu metanol/voda 1/1 pripremljeni su prema literaturnim podacima.⁷³

Fosfatni pufer ($0,05 \text{ mol dm}^{-3}$; pH = 4) pripremljen je u odmjernoj tikvici od $1,000 \text{ dm}^3$ prema literaturnim podacima.⁷⁵

3.3.2. Priprava otopina za UV-Vis mjerenja

Ishodne otopine hidrazona (**3**, **5**, **7**, **8**, **11**, **12**), odgovarajućih aldehida, ketona i hidrazida nikotinske kiseline koncentracije $c = 1 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ pripravljene su u odmjernim tikvicama od $25,00 \text{ cm}^3$. Kao otapala korišteni su 1,4-dioksan, metanol, acetonitril i dimetilsulfoksid. Spojevi **7** i **8** otopljeni su i u diklormetanu i kloroformu, a **8** i u dietil-eteru. Spoj **11** je otopljen i u etanolu i acetonu.

Mjerne otopine hidrazona i polaznih spojeva u čistim otapalima ili u smjesama organsko otapalo/voda 1/1 koncentracije $c = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ pripravljene su u odmjernim tikvicama od $10,00 \text{ cm}^3$ na sljedeći način. Otpipetirano je $0,50 \text{ cm}^3$ ishodne otopine u tikvicu od $10,00 \text{ cm}^3$ te nadopunjeno odgovarajućim otapalom do oznake. U sustavima organsko otapalo/voda 1/1 nakon dodatka $0,50 \text{ cm}^3$ ishodne otopine u $5,00 \text{ cm}^3$ deionizirane vode, tikvica je nadopunjena odgovarajućim otapalom do oznake.

Konstante protoniranja spojeva **1–12** određene su u sustavu metanol/voda 1/1. Mjerne otopine pripravljene su na sljedeći način. U odmjernu tikvicu od $10,00 \text{ cm}^3$ otpipetirano je $1,00 \text{ cm}^3$ univerzalnog pufera odgovarajuće vrijednosti pH, 1 mL NaCl ($1,0 \text{ mol dm}^{-3}$) i $3,00 \text{ cm}^3$ deionizirane vode za ukupno $5,00 \text{ cm}^3$ vodene faze. Dodano je $0,50 \text{ cm}^3$ ishodne otopine hidrazona ili aldehida (ketona) i nadopunjeno metanolom do oznake. Konačna koncentracija spojeva iznosila je $c(\text{spojeva}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. Na isti način je pripravljena otopina hidrazida, ali je otpipetirano $1,00 \text{ cm}^3$ ishodne otopine hidrazida te je koncentracija iznosila $c(\text{hidrazid}) = 1 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$.

Kinetička mjerenja provedena su u kiselim i bazičnim uvjetima. Ishodne otopine HCl ($1,0 \text{ mol dm}^{-3}$) i NaOH ($1,0 \text{ mol dm}^{-3}$) pripravljene su u odmjernim tikvicama od $50,00 \text{ cm}^3$ u deioniziranoj vodi. Ishodna otopina NaCl ($3,0 \text{ mol dm}^{-3}$) pripravljena je u tikvici od $100,00$

cm³. Mjerna otopina vodene faze pripremljena je u tikvici od 10,00 cm³ pipetiranjem odgovarajućih volumena kiseline ili baze i odgovarajućeg volumena NaCl te nadopunjena deioniziranom vodom do oznake. Mjerne otopine hidrazona pripravljene su direktnim miješanjem 1,00 cm³ otopine hidrazona u metanolu i 1,00 cm³ radne otopine vodene faze u kvarcnim kivetama. Konačna koncentracija spojeva **1–12** u sustavu metanol/voda 1/1 bila je $c = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), raspon koncentracija HCl bio je (0,01 – 0,20) mol dm⁻³, a NaOH (0,005 – 0,20) mol dm⁻³.

Ishodna otopina željeza(III) ($c = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$) pripravljena je otapanjem željezova(III) nitrata nonahidrata u dušičnoj kiselini ($c = 0,02 \text{ mol dm}^{-3}$). Mjerne otopine različitog omjera $n(\text{Fe}^{3+})/n(\text{hidrazon})$ pripravljene su u odmjernim tikvicama od 10,00 cm³ pipetiranjem odgovarajućeg volumena ishodne otopine željeza(III) i dušične kiseline ($c = 0,02 \text{ mol dm}^{-3}$) do volumena od 5,00 cm³ (vodena faza) te 0,50 cm³ ishodne otopine liganda u metanolu i nadopunjavanjem metanolom do oznake. Konačna koncentracija hidrazona iznosila je $5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, a koncentracije Fe³⁺ iznosile su od 5×10^{-6} do $1 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$.

3.3.3. Priprava otopina za spektrofotometrijska mjerenja

Ishodne otopine ($c = 1 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$) spojeva **1–12** pripravljene su u 1,4-dioksanu, metanolu, acetonitrilu i dimetilsulfoksidu, a spojeva **7 i 8** u diklormetanu i kloroformu, te spoja **8** i u dietil-eteru.

Mjerne otopine pripravljene su pipetiranjem odgovarajućeg volumena ishodne otopine u tikvicu od 10,00 cm³ te nadopunjavanjem otapalom ili smjesom otapala (metanol/voda 1/1 ili acetonitril/voda 1/1) do oznake. Otopine uz dodatak kiseline ili baze pripravljene su na isti način, samo je prije nadopunjavanja tikvice otapalom ili smjesom otapala dodano 0,10 cm³ HCl ($1,0 \text{ mol dm}^{-3}$) ili 0,10 cm³ NaOH ($1,0 \text{ mol dm}^{-3}$). Raspon koncentracija spojeva **7–10 i 12** bio je ($1 \times 10^{-7} - 2 \times 10^{-5}$) mol dm⁻³.

Za provjeru reverzibilnosti procesa fluorescencije pripravljene su otopine spojeva **7 i 8** u metanolu ($1 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) i acetonitrilu ($5 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$). 2500,00 mm³ otopine otpipetirano je u kvarcnu kivetu, te je direktno u kivetu naizmjenično dodavana lužina i kiselina ($0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ NaOH i $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ HCl). Isti postupak ponovljen je i u metanolu ($c(\text{hidrazon}) = 1 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) uz dodatke trietilamina ($c(\text{TEA}) = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$) kao baze.

3.3.4. Priprava otopina za postupak ekstrakcije

Ishodne otopine hidrazona koncentracije $c = 1 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ pripravljene su u kloroformu. Ishodna otopina željezova(III) nitrata ($0,01 \text{ mol dm}^{-3}$) pripravljena je u $0,01 \text{ mol dm}^{-3} \text{ HNO}_3$.

Mjerne otopine željeza(III) i hidrazona pripravljene su pipetiranjem odgovarajućeg volumena ishodnih otopina i razrjeđivanjem prikladnim otapalom (dušičnom kiselinom, odnosno kloroformom). Za ekstrakciju je korišteno po $5,00 \text{ cm}^3$ vodene i organske faze. Vodena i organska faza su mućkane na mućkalici 30 minuta na 200 okretaja u minuti. Nakon mućkanja faze su odijeljene i snimljeni su UV-Vis spektri.

3.3.5. Priprava otopina za tekućinsko-kromatografska određivanja

Standardne otopine hidrazona te polaznih aldehida i hidrazida nikotinske kiseline pripravljene su u odmjernim tikvicama od $10,00 \text{ cm}^3$ pipetiranjem $5,00 \text{ cm}^3$ otopine fosfatnog pufera, odgovarajućeg volumena ishodne otopine hidrazona ($0,1\text{--}0,5 \text{ cm}^3$) u metanolu te nadopunjavanjem metanolom do oznake.

Mjerne otopine hidrazona u sustavu metanol/voda 1/1 pripravljene su pipetiranjem $0,10 \text{ cm}^3 \text{ HCl}$ ($1,0 \text{ mol dm}^{-3}$) ili $0,15 \text{ cm}^3 \text{ NaOH}$ ($1,0 \text{ mol dm}^{-3}$) i $4,90 \text{ cm}^3$ odnosno $4,85 \text{ cm}^3$ deionizirane vode do ukupnog volumena vodene faze od $5,00 \text{ cm}^3$. Dodano je $0,50 \text{ cm}^3$ ishodne otopine hidrazona i nadopunjeno metanolom do oznake. Otopine su prebačene u viala i injektirane u tekućinski kromatograf.

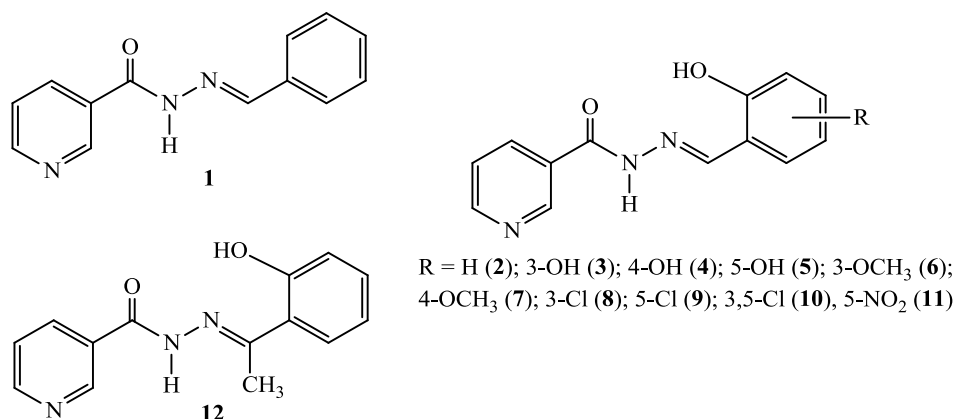
3.3.6. Priprava otopina za analize spektrometrijom masa

Ishodne otopine spojeva koncentracije $c = 1 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ pripravljene su u metanolu i acetonitrilu.

Mjerne otopine pripravljene su razrjeđivanjem ishodnih prikladnim otapalom te u nekim slučajevima uz dodatak mravlje kiseline, amonijevog formijata, amonijevog acetata, natrijevog acetata ili natrijeve lužine.

§ 4. REZULTATI I RASPRAVA

Strukturno su okarakterizirani spojevi **1–12** (slika 4.1) spektrometrijom masa, spektrofotometrijski, spektrofluorimetrijski, kromatografijom HPLC i spektroskopijom NMR. Spektrofotometrijski su proučavane ravnoteže u otopini, određene konstante protoniranja, istražena hidroliza i kompleksiranje željeza(III).



Slika 4.1. Strukturne formule spojeva **1–12**.

4.1. Identifikacija spojeva **1–12** spektrometrijom masa

U okviru ove disertacije proučen je utjecaj otapala (metanola i acetonitrila) i različitih aditiva na ionizaciju hidrazona, a samim time i na izgled odgovarajućih spektara masa. Primjenom tandemne spektrometrije masa detaljno su proučene fragmentacije spojeva **1–12**. Svi eksperimenti napravljeni su uz pozitivnu i negativnu ionizaciju.

4.1.1. Spektri masa spojeva **1–12**

Spektri masa spojeva **1–12** snimljeni su trostrukim kvadrupolom uz ionizaciju elektroraspršenjem u rasponu vrijednosti m/z 10 do 1000. Različiti faktori (pH, sastav pokretne faze u LC-MS analizama) mogu utjecati na izgled spektara masa.⁷⁶ Budući da su kao pokretne faze u LC-MS analizama najčešće korištena otapala metanol i acetonitril, spojevi **1–12** pripremljeni su upravo u tim otapalima. Kako bi se odredila optimalna koncentracija otopina hidrazona, prvo su snimljeni spektri masa otopine spoja **2** u metanolu i acetonitrilu

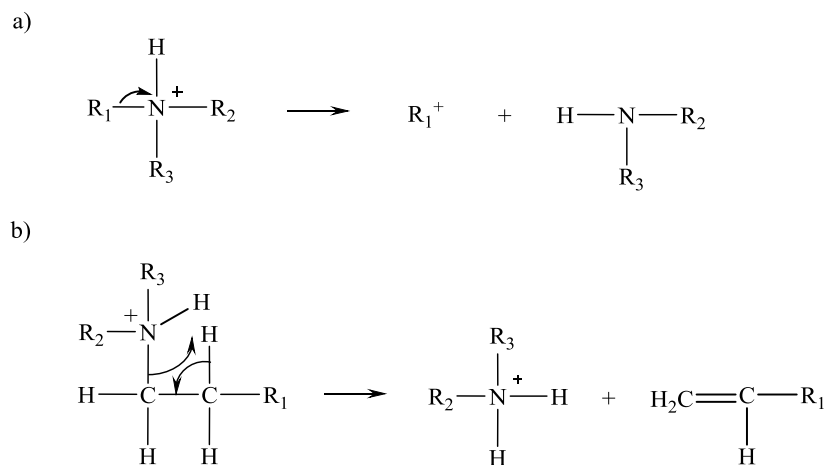
različitih koncentracija (1×10^{-3} , 5×10^{-4} , 1×10^{-4} i 5×10^{-5} mol dm⁻³). Spektri masa prikazani su tablično u dodacima 8.1. i 8.2. Relativni intenziteti signala bili su slični u oba otapala, ali su apsolutni intenziteti protonirane i deprotonirane molekule bili viši u slučaju metanolnih nego acetonitrilnih otopina. Linearno područje odziva također je bilo šire u metanolu. Viši odzivi signala u metanolu nego u acetonitrilu malih organskih molekula, fenola i derivata benzojeve kiseline, također su zapaženi uz negativnu ionizaciju.⁷⁷ Na temelju dobivenih rezultata za sva daljnja mjerenja odabrana je koncentracija hidrazona od 5×10^{-4} mol dm⁻³. Relativni intenziteti signala u spektrima masa ostalih spojeva bili su slični u oba otapala. Osnovni signali pripisani su ionima $[M+H]^+$ uz pozitivnu ionizaciju, odnosno $[M-H]^-$ uz negativnu ionizaciju.

Proučen je utjecaj dodatka mravlje kiseline i različitih soli (amonijev formijat, amonijev acetat i natrijev acetat) na ionizaciju spoja **2** u metanolnim i acetonitrilnim otopinama pri dvije različite koncentracije (dodaci 8.3 i 8.4). Dodatkom mravlje kiseline povećao se intenzitet signala protonirane molekule ($[M+H]^+$) i istovremeno smanjio intenzitet signala koji odgovara aduktu s natrijem ($[M+Na]^+$). Dodatak natrijevog i amonijevog acetata uzrokovao je suprotan efekt. Zanimljivo je da signali iona $[M+NH_4]^+$ uopće nisu uočeni u spektrima masa čak ni uz desetorostruko veći dodatak amonijeva formijata.

Spektri masa metanolnih otopina spojeva **1–12** snimljeni su i instrumentom s ionskom stupicom. Usporedba spektara snimljenih različitim instrumentima prikazana je u dodatku 8.5. Signal iona $[M+Na]^+$ bio je osnovni u spektrima svih spojeva osim u spektru spoja **11** (s nitro skupinom kao supstituentom). U spektru masa spoja **10** uočen je signal iona $[M+Na-Cl+H]^+$ intenziteta 41,35 %. Značajnija fragmentacija spojeva nije uočena pri korištenim eksperimentalnim uvjetima.

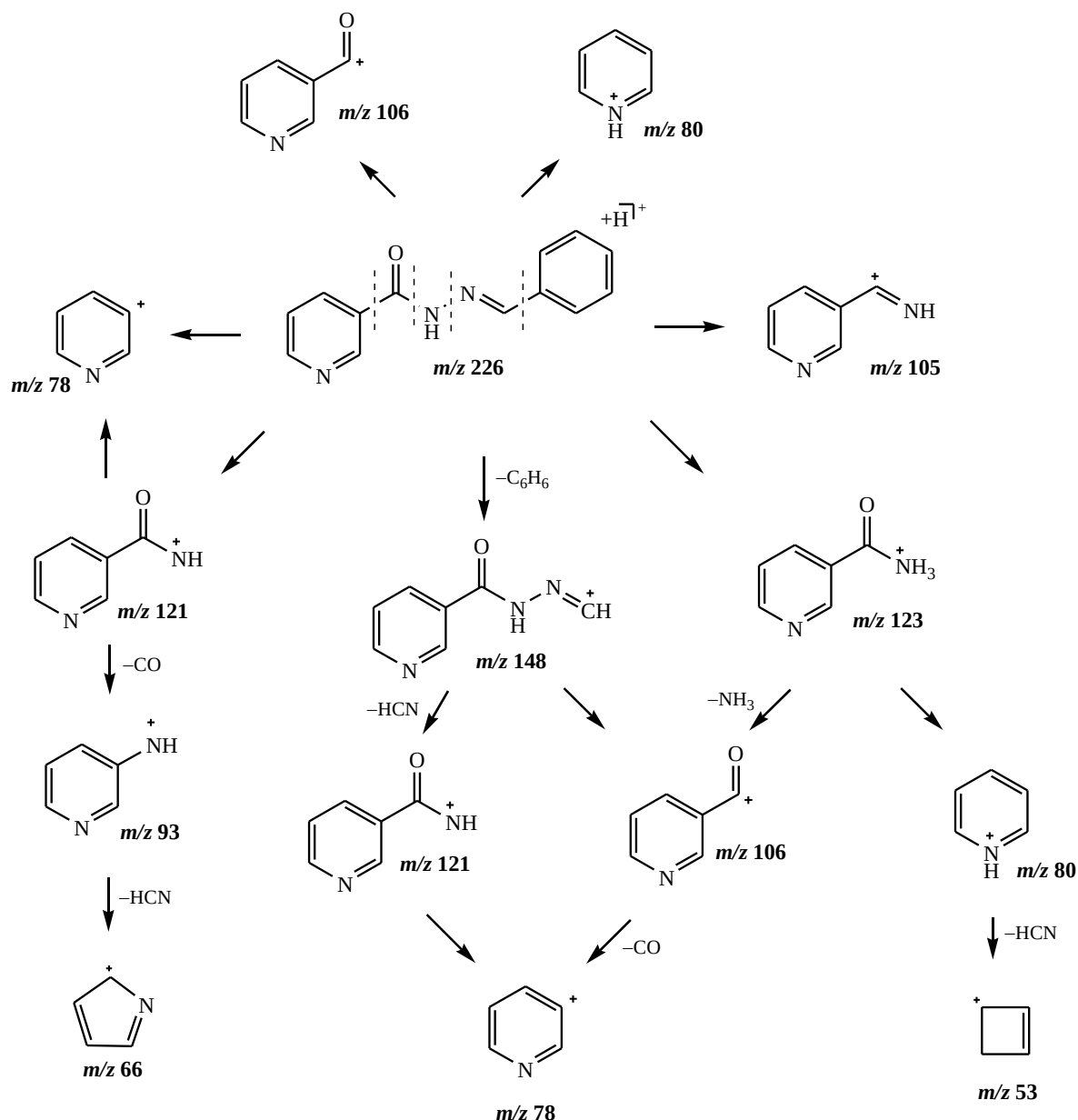
4.1.2. Tandemna spektrometrija masa (ESI(+)) MS/MS

Napravljena je MS/MS analiza svih $[M+H]^+$ i $[M+Na]^+$ iona spojeva **1–12**, te nekih odabranih fragmentnih iona. Iz literature je poznato da pozitivno nabijeni ioni s parnim brojem elektrona fragmentiraju najčešće na dva načina: induktivnim (heterolitičkim) cijepanjem i uslijed prerasmjesta protona (slika 4.2). Osim navedenih mehanizama, u ovom radu uočeno je i homolitičko cijepanje spoja **11** uz nastajanje radikala. Nastajanje fragmentnih iona s neparnim brojem elektrona također je uočeno u MS/MS spektrima pesticida⁷⁸ i MS/MS spektrima antibiotika.⁷⁹



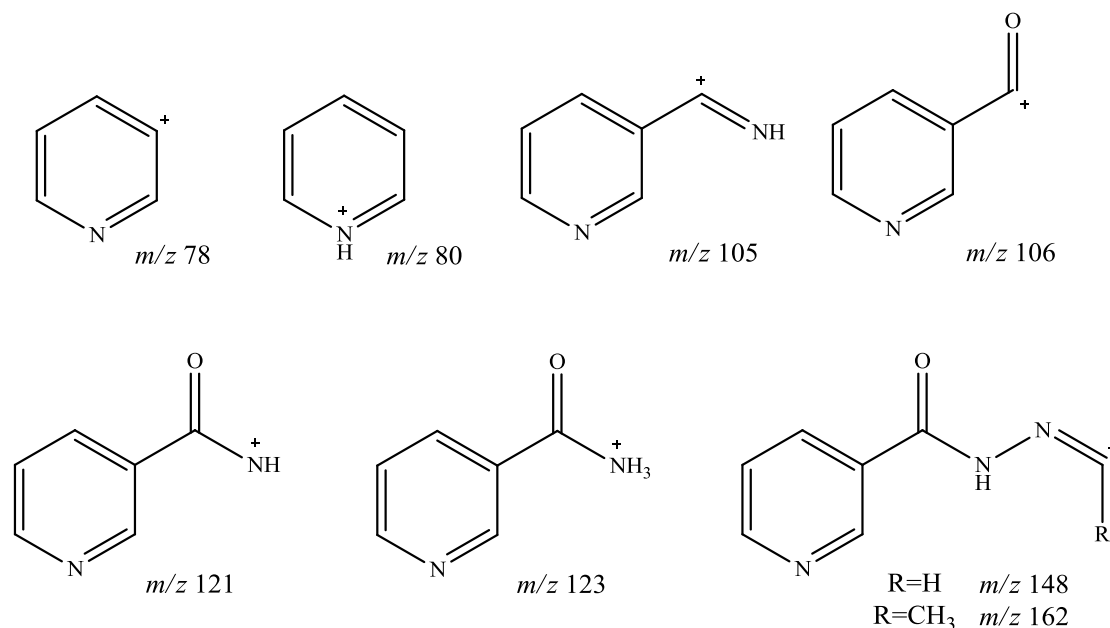
Slika 4.2. Fragmentacijske reakcije iona s parnim brojem elektrona u MS/MS.⁸⁰

MS/MS spektri spojeva **1–12** pri različitim kolizijskim energijama dani su u dodatcima 8.6–8.14. Fragmentacija spoja **1** prikazana je na slici 4.3.



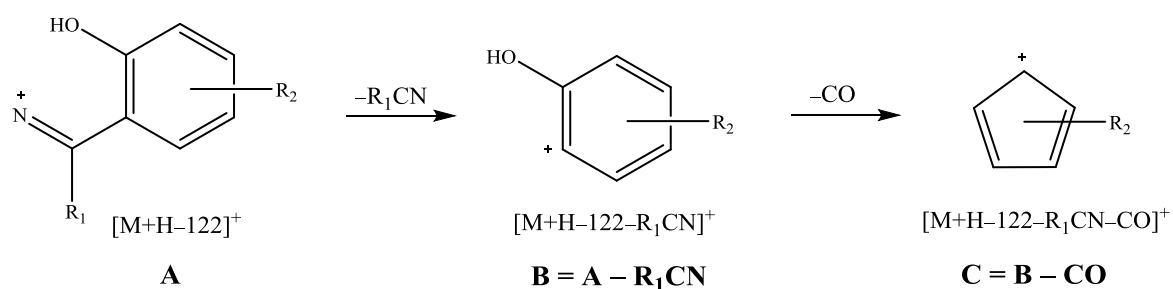
Slika 4.3. Predložena shema fragmentacije spoja 1.

Kao što se može vidjeti iz predložene sheme, fragmentni ioni m/z 121 i m/z 123 nastaju uslijed induktivnog cijepanja veze $-\text{NH}-\text{N}=\text{}$, odnosno prerazmjestajem protona. Protonirana molekula spoja 1 preferirano fragmentira dajući kation piridina (m/z 80). Velika zastupljenost tog iona uočena u MS/MS spektrima spoja 1 pri većim kolizijskim energijama posljedica je dodatnog cijepanja fragmentnog iona m/z 123. Signal iona piridina nastalog induktivnim cijepanjem (m/z 78) također je prisutan u spektru, ali je manjeg intenziteta. Fragmentni ioni nastali uslijed cijepanja protonirane molekule $[\mathbf{1}+\text{H}]^+$ pripisani dijelu molekule koja potječe iz hidrazida prikazani su na slici 4.4.



Slika 4.4. Fragmentni ioni pripisani dijelu molekule hidrazona koji potječe od hidrazida nikotinske kiseline.

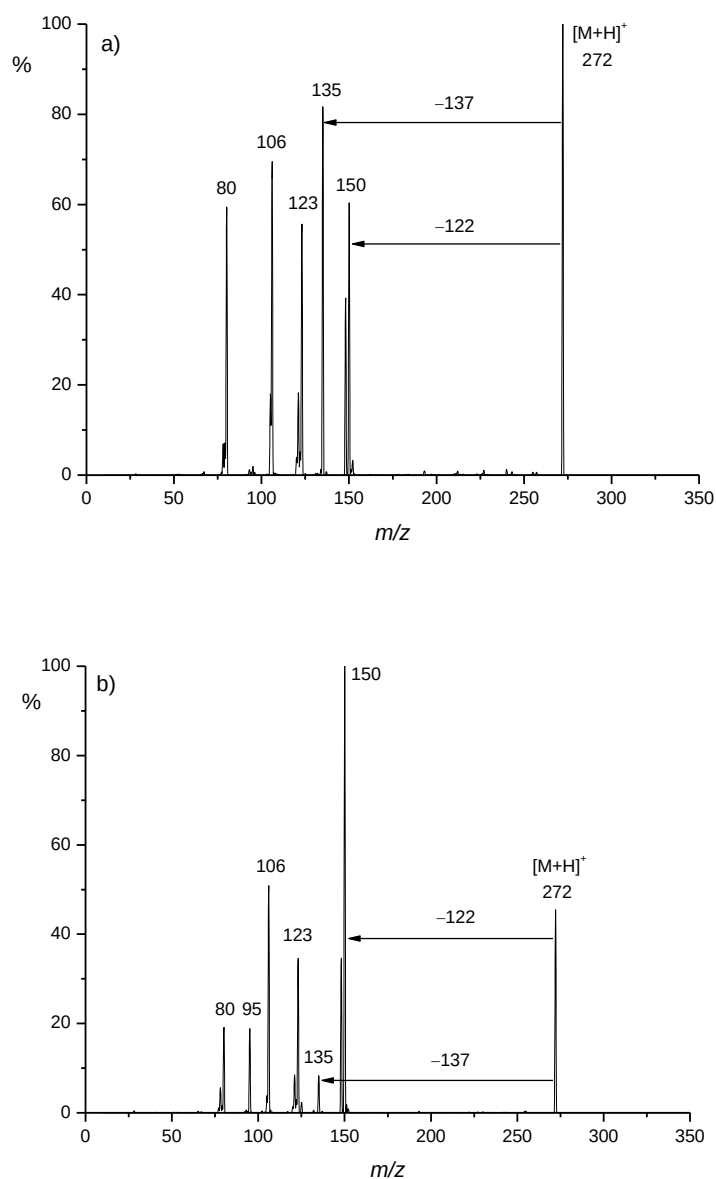
U MS/MS spektrima protoniranih aroilhidrazona (spojevi **2-12**) uočen je intenzivan signal koji odgovara gubitku od 122 Da ($-\text{C}_5\text{H}_4\text{NCONH}_2$ skupina). Naboj je ostao na dijelu molekule koji potječe od aldehida ili ketona. Daljnja fragmentacija tog iona prikazana je na slici 4.5.



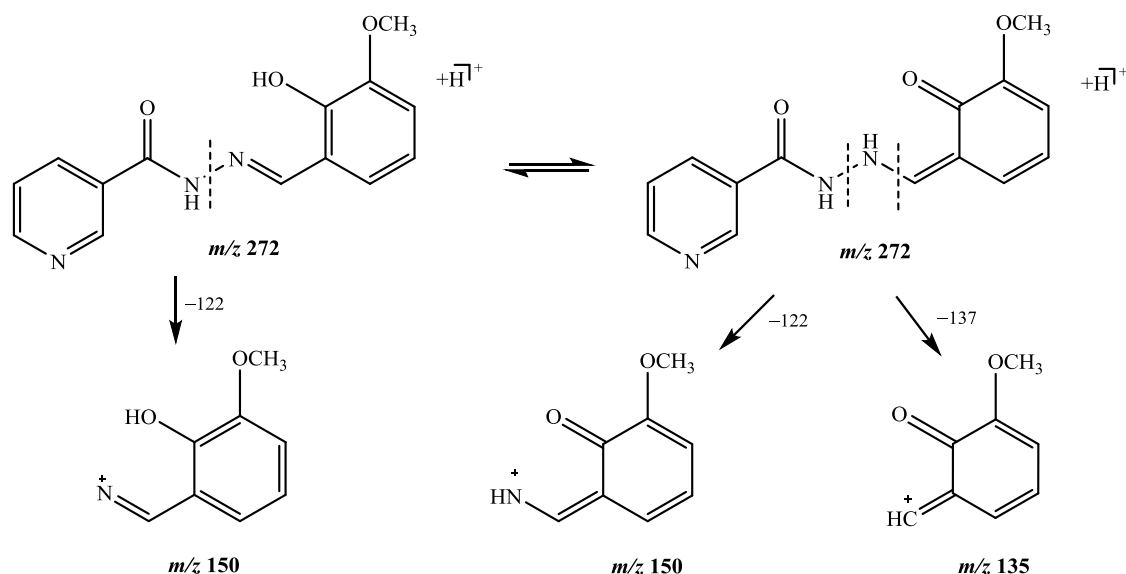
Slika 4.5. Fragmentni ioni asignirani dijelu molekule hidrazona koji potječe od aldehida ili ketona.

Osim već spomenutih fragmenata u MS/MS spektrima spojeva **2-12** uočeni su dodatni signali različitih intenziteta ovisno o supstituentu na fenilnom prstenu, na temelju kojih je bilo moguće razlikovati strukturne izomere. U MS/MS spektrima dvaju izomera, spojeva **6** i **7** (slika 4.6), osim signala pri m/z 80, 105, 106, 121 i 123 karakterističnih za hidrazid nikotinske

kiseline, uočeni su i signali iona m/z 135 i 150 različitih intenziteta. Signal pri m/z 135 pripisan je fragmentnom ionu koji potječe od ketoamino oblika aroilhidrazona **6** (slika 4.7).

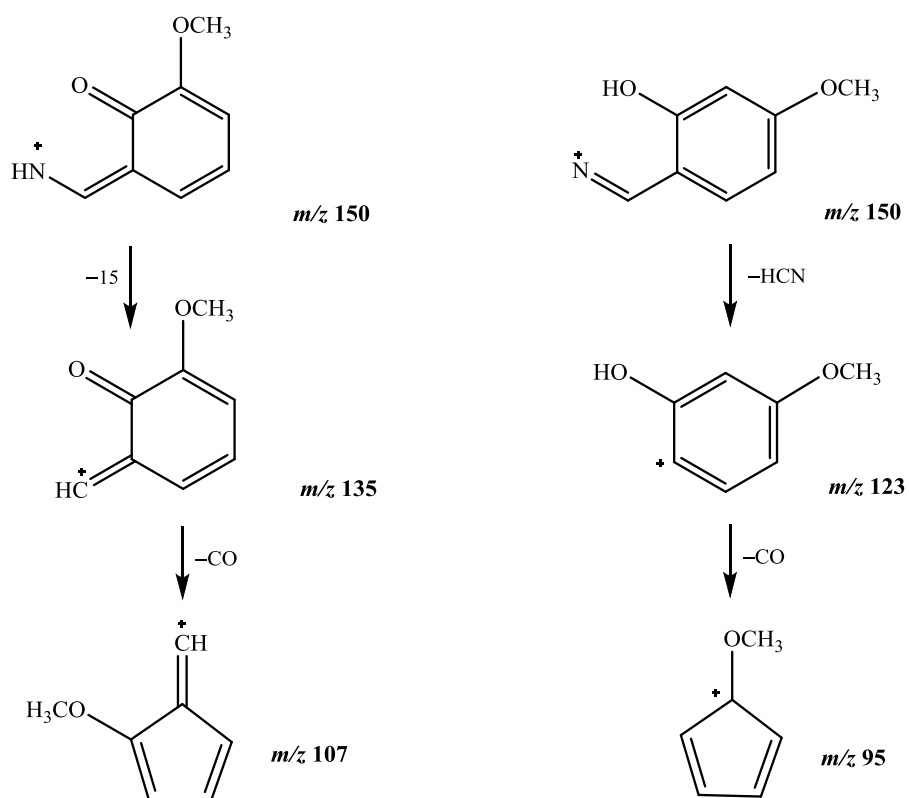


Slika 4.6. MS/MS spektri protonirane molekule spoja a) **6** i b) **7** pri kolizijskim energijama od 15 eV. Napon fragmentora=135 V; instrument: QqQ.



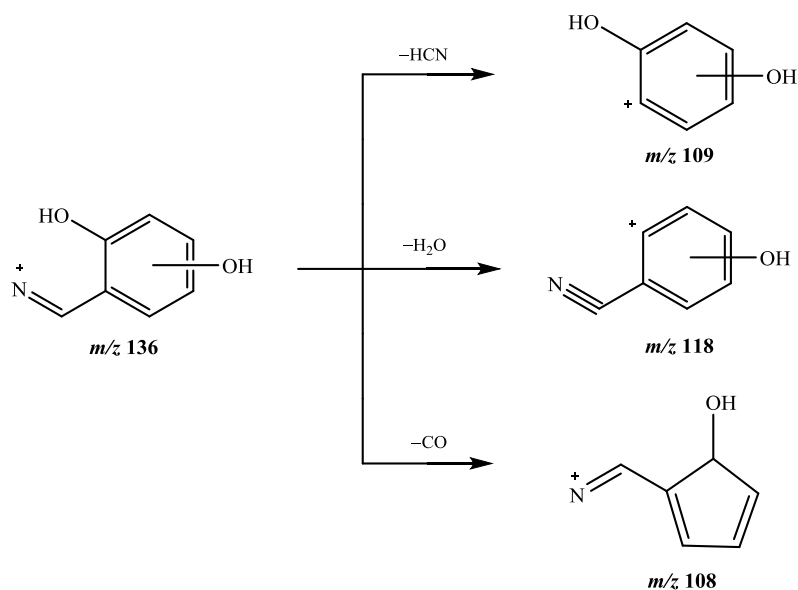
Slika 4.7. Fragmentni ioni spoja **6** nastali kao rezultat enolimino-ketoamino tautomerne ravnoteže.

Da bi se dobio detaljniji uvid u fragmentaciju strukturnih izomera **6** i **7**, provedena je višestruka fragmentacija iona (MS^n) korištenjem instrumenta s ionskom stupicom. Snimljeni su MS/MS spektri iona $[M+H]^+$ za oba spoja (dodatak 8.15), MS^3 spektar iona m/z 150 i naposljetku MS^4 spektri nastalih fragmenata. Na temelju dobivenih rezultata zaključeno je da je keto-oblik iona m/z 150 zastupljeniji uslijed fragmentacije spoja **6**, dok je u spoju **7** ravnoteža pomaknuta prema enolnom obliku. Glavni fragmentacijski putevi iona m/z 150, ovisno o njegovom nastanku, prikazani su na slici 4.8. Može se vidjeti da je ion m/z 150 nastao iz spoja **7** fragmentirao na ione m/z 123 (100 %) i m/z 95 (58 %), a intenzitet iona pri m/z 135 iznosio je oko 15 %. U MS^3 spektru masa iona m/z 150 nastalog iz spoja **6**, najintenzivniji signal bio je pri m/z 135 (100 %), dok je signal pri m/z 123 iznosio 33 %. Pomak u tautomernoj ravnoteži spoja **6** nije bio očekivan obzirom da ta ravnoteža nije uočena u otopinama primjenom standardnih spektroskopskih tehnika (UV-Vis, IR, NMR).^{19,39,81} Opažena ravnoteža posljedica je različitih stabilnosti tautomernih oblika u plinskoj fazi. Poznato je da polarnost otapala utječe na položaj tautomerne ravnoteže te da polarna protična otapala pomiču ravnotežu prema keto-obliku. Treba naglasiti da su se MS/MS spektri protoniranog spoja **6** razlikovali ovisno o korištenom otapalu. Intenzitet signala pri m/z 150 iznosio je 100 %, dok su intenziteti signala pri m/z 135 bili 30 % (acetonitril), odnosno 50 % (metanol). U MS/MS spektru spoja **7** u metanolu, signal iona pri m/z 135 iznosio je svega 2 %, čime je potvrđeno da ne dolazi do značajne tautomerne interkonverzije.



Slika 4.8. Glavni fragmentacijski putevi iona m/z 150 dobivenog iz spojeva **6** i **7**.

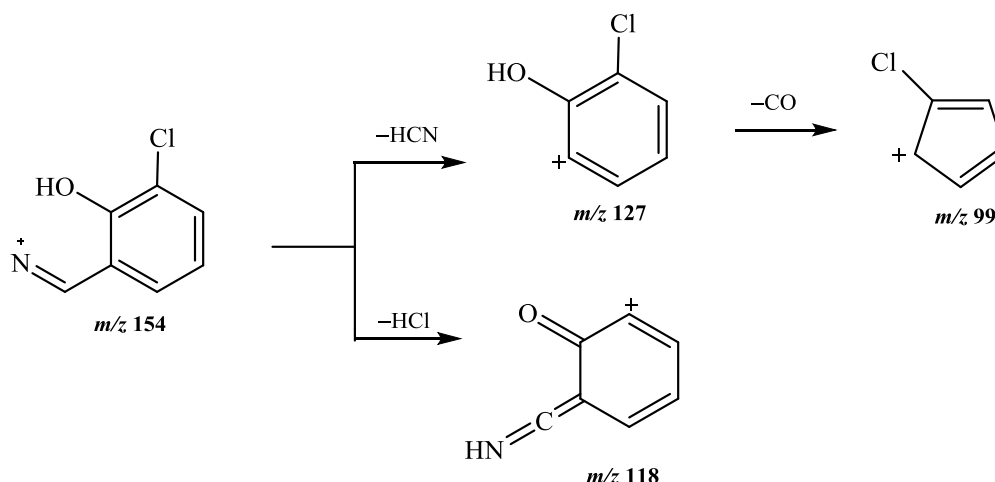
Spojevi **3–5** su strukturni izomeri s hidroksilnim skupinama smještenim u *ortho*, *meta* i *para* položaju na fenilnom prstenu. Ion fragmenta vrijednosti m/z 136 ($[\text{M}+\text{H}-122]^+$), pripisan salicilidenskom dijelu molekule može fragmentirati na način kako je prikazano na slici 4.9. Obzirom da fragmentacijom spojeva **3–5** nastaju različiti ioni različitih zastupljenosti, ti strukturni izomeri također se mogu razlikovati na temelju njihovih MS/MS spektara.



Slika 4.9. Glavni putevi fragmentacije iona pri m/z 136 iz spojeva **3**, **4** i **5**.

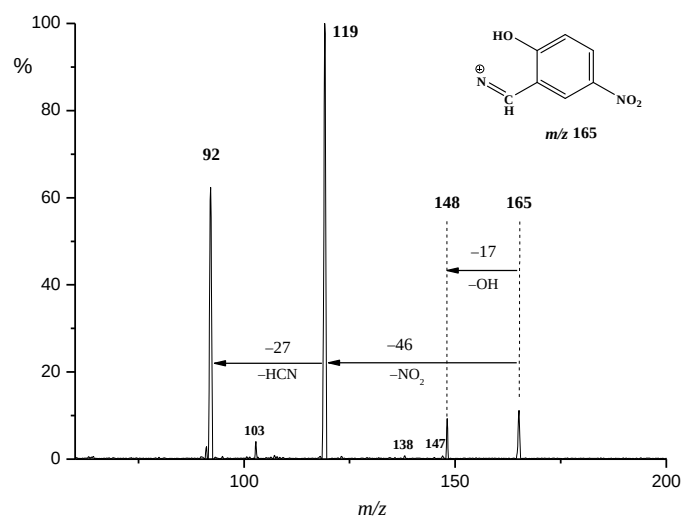
U MS/MS spektru protonirane molekule spoja **3** uočena su sva tri karakteristična fragmentacijska puta iona m/z 136 (dodatak 8.8; signali iona pri m/z 118, 109 i 108), a najintenzivniji signal bio je signal iona koji odgovara gubitku CO skupine (m/z 108). U druga dva spoja dominantan fragmentacijski put bio je gubitak HCN skupine, gotovo dvostruko izraženiji za spoj **5** u odnosu na spoj **4**. Signal fragmentnog iona pri m/z 118 jedino je opažen u MS/MS spektru $[3+H]^+$. Gubitak molekule vode iz iona m/z 136 karakterističan za spoj **3** posljedica je "ortho efekta" koji je također uočen pri ionizaciji elektronima 2-hidroksifenola.⁸² Shema fragmentacije iona m/z 136 predložena je na temelju MS/MS spektara snimljenih instrumentom s trostrukim kvadrupolom (dodatak 8.16), a potvrđena višestrukim fragmentacijama spojeva **3–5** korištenjem ionske stupice (dodatak 8.17).

Spojeve **8** i **9**, strukturne izomere koji u salicilidenskom dijelu molekule sadrže atome klora u *ortho* i *para* položaju u odnosu na hidroksilnu skupinu, također se moglo razlikovati MS/MS eksperimentima. Ion pri m/z 154 ($[M+H-122]^+$) može dalje fragmentirati prema shemi prikazanoj na slici 4.10.

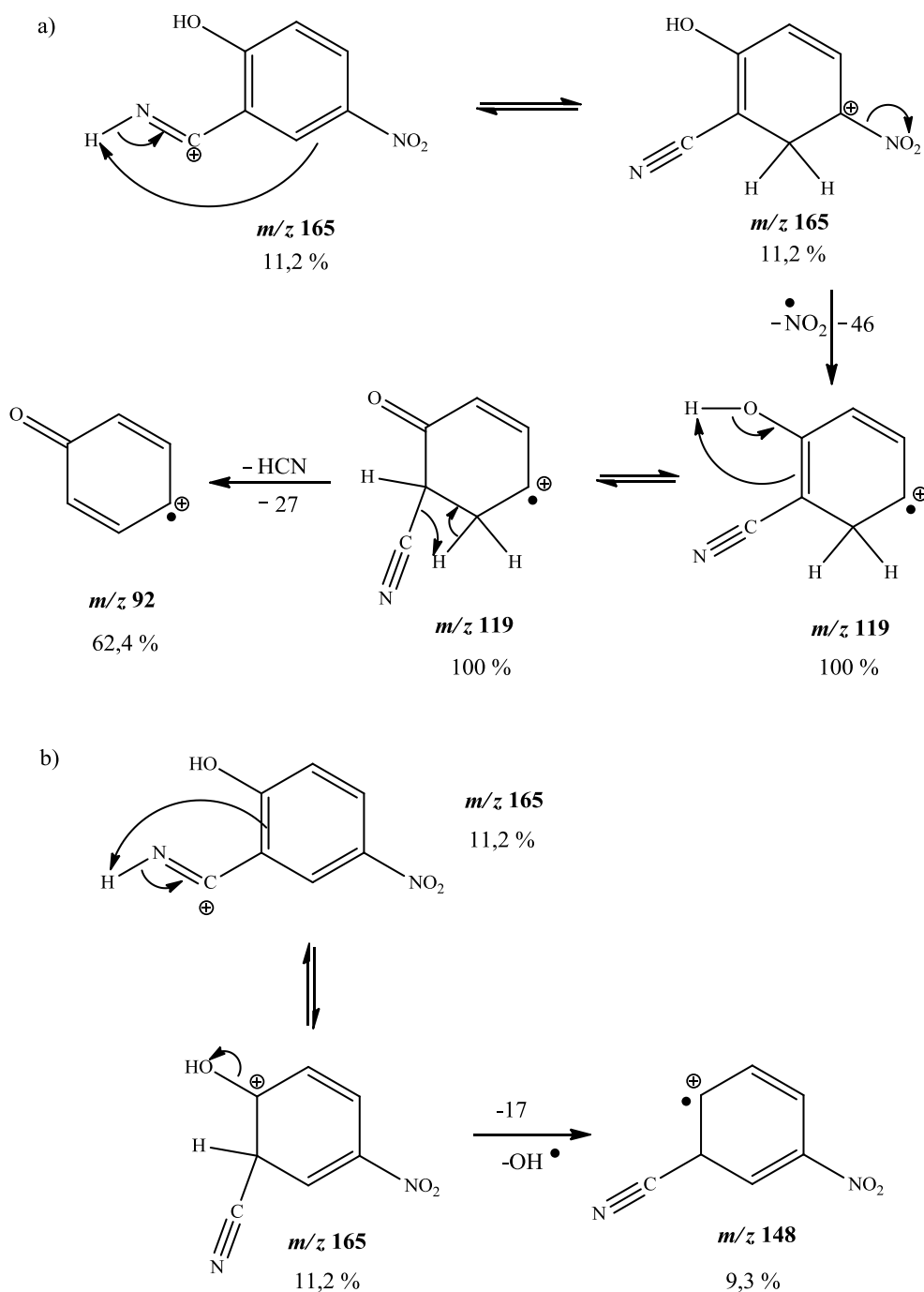
Slika 4.10. Moguće fragmentacije iona m/z 154.

U MS/MS spektru iona m/z 154 nastalog iz spoja **8** uočen je signal pri m/z 118 koji upućuje na gubitak molekule HCl. Signal iona pri m/z 127 bio je izražen u spektru snimljenom instrumentom s ionskom stupicom, dok je najintenzivniji signal u spektru snimljenim trostrukim kvadrupolom bio pri m/z 99, ukazujući na potpunu fragmentaciju iona pri primjenjenoj kolizijskoj energiji od 15 eV. U slučaju spoja **9** u MS/MS spektrima iona m/z 154 nije uočen gubitak HCl molekule, neovisno o korištenom instrumentu. Uočene razlike u MS/MS spektrima spojeva **8** i **9** također je moguće objasniti "ortho efektom" budući da proton u molekuli HCl potječe iz hidroksilne skupine u salicilidenskom dijelu molekule.^{83,84} Takozvani "ring-walk" mehanizam iona klorida nije uočen. U skladu s navedenim rezultatima, u MS/MS spektru spoja **10** s dva atoma klorida, uočen je gubitak samo jedne molekule HCl.

Tijekom fragmentacije spoja **11** s nitro-skupinom na fenilnom prstenu uočeno je homolitičko cijepanje veze i nastajanje kationskog radikala (slika 4.11). Mogući mehanizam fragmentacije koji uključuje prijenos protona s CN skupine na fenilni prstena dan je na slici 4.12.⁸⁵ Intenziteti signala iona nastalih gubitkom vode (-18 Da, ion m/z 147) ili HCN (-27 Da, ion m/z 138) iz iona m/z 165 bili su manji od 1 %.



Slika 4.11. MS/MS spektar fragmentnog iona m/z 165. Kolizijska energija = 15 eV; napon fragmentora = 135 V; instrument: QqQ.



Slika 4.12. Predloženi fragmentacijski mehanizmi iona pri m/z 165: a) gubitak $-NO_2$ skupine, b) gubitak $-OH$ skupine.

Ovisnost relativnih intenziteta signala iona protoniranih molekula kao funkcija kolizijskih energija u MS/MS eksperimentima prikazana je u dodatku 8.18. Hidroksilne i metoksi-skupine na fenilnom prstenu smještene u *ortho* i/ili *para* položajima u odnosu na dvostruku vezu $C=N$ smanjuju stabilnost iona u plinskoj fazi, dok ih elektron-odvlačeći supstituenti u

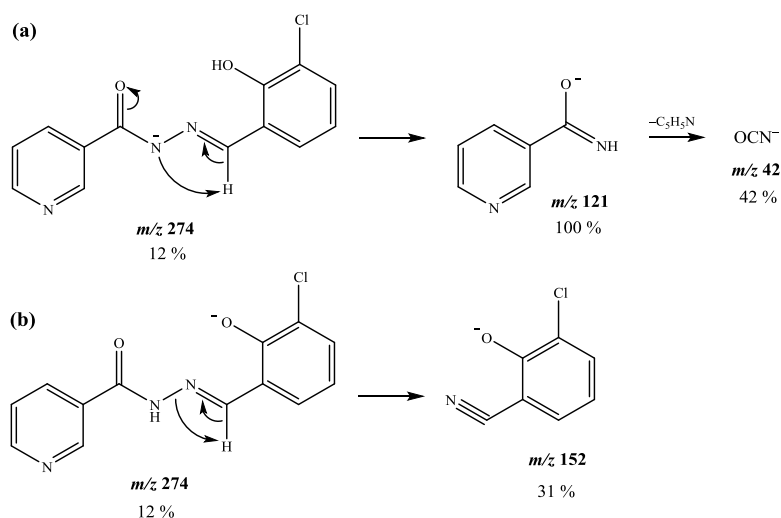
meta položaju prema navedenoj vezi stabiliziraju. Najveći efekt uočen je za spoj **10** s dva atoma klora na salicilidenskom dijelu molekule.

4.1.3. Tandemna spektrometrija masa adukata spojeva **1–12** s natrijem i kalijem

Kada god je bilo moguće izolirani su i fragmentirani ioni adukata korištenjem trostrukog kvadrupola. Na temelju rezultata zaključeno je da monomerni ion $[M+Na]^+$ fragmentira na Na^+ , a dimerni ion $[2M+Na]^+$ na ion $[M+Na]^+$. U MS/MS spektrima hidrazona izvedenih iz ketona ili aldehida s dvije hidroksilne skupine, dva atoma klora ili $-NO_2$ skupinom uočeni su signali fragmentnih iona pri m/z 145 asigniranih ionu $[123-H+Na]^+$. Odgovarajući signali iona pri m/z 161 $[123-H+K]^+$ uočeni su kod svih spojeva. Kao primjer, MS/MS spektri iona $[12+Na]^+$, $[12+K]^+$ i $[2 \times 12+Na]^+$ prikazani su u dodatku 8.19. Za potpunu fragmentaciju iona najmanja kolizijska energija (5 eV) bila je potrebna za ion dimera $[2M+Na]^+$. Adukti s natrijem bili su stabilniji nego odgovarajući ioni s kalijem.

4.1.4. Tandemna spektrometrija masa (ESI(-) MS/MS)

Bazni signali u ESI(-) spektrima masa svih aroilhidrazona asignirani su ionu $[M-H]^-$. Kao i kod tandemne spektrometrije masa pozitivno nabijenih protona i u MS/MS spektrima deprotoniranih molekula ($[M-H]^-$) uočene su sličnosti. Signali iona pri vrijednostima m/z 42 i 121 uočeni su u MS/MS spektrima svih spojeva. Ion $[M-H-121-R_1]^-$ pripisan dijelu molekule koji potječe od aldehida ili ketona uočen je u spektrima spojeva **2–12**. Kao primjer na slici 4.13 dana je fragmentacija spoja **8**.



Slika 4.13. Predložena fragmentacija deprotonirane molekule spoja **8**.

U MS/MS spektru spoja **1**, osim spomenutih, uočeni su i signali iona nastali gubitkom CO molekule te daljnjom ciklizacijom fragmentnog iona (dodaci 8.20 i 8.21). Dodatni način fragmentacije kao što je gubitak molekule vode, uočen je za ketonski derivat hidrazona (spoj **12**). Odgovarajući MS/MS spektri i mogući fragmentacijski mehanizmi prikazani su u dodacima 8.22 i 8.23.

4.2. UV-Vis spektroskopska analiza spojeva 3, 5, 7, 8, 11 i 12

Snimljeni su apsorpcijski spektri hidrazona 3, 5, 7, 8, 11 i 12, kao i polaznih spojeva (hidrazida nikotinske kiseline i aldehida/ketona) u protičnim i aprotičnim otapalima različitih polarnosti te u smjesama organskih otapala i vode (tablica 4.1). Spektri su snimljeni odmah po pripravi otopina i tijekom vremena, do nekoliko dana. Budući da su u spektrima spoja 11 uočene znatne promjene, radi bolje preglednosti ti rezultati opisani su zasebno, u potpoglavlju 4.2.2.

4.2.1. UV-Vis spektroskopska analiza spojeva 3, 5, 7, 8 i 12

Vrpce pri nižim valnim duljinama, oko 215 nm, uočene i u UV spektru hidrazida nikotinske kiseline (dodatak 8.24a), pripisane su $\pi \rightarrow \pi^*$ prijelazima amidne C=O skupine spojeva 3, 5, 7, 8 i 12. Vrpce u spektralnom području od 284 do 305 nm pripisane su azometinskim C=N vezama i aromatskim prstenovima.^{19,20,37} Vrpce ili ramena iznad 320 nm, prisutne i u UV spektrima polaznih aldehida/ketona (dodaci 8.24a i 8.24b), pripisane su dijelu aroilhidrazona koji potječe od aldehida/ketona. U apsorpcijskim spektrima hidrazona snimanim tijekom vremena (4 dana) nisu uočene promjene, čak ni u sustavima koji su sadržavali vodu (dodaci 8.25–8.27) te se može zaključiti da pri tim eksperimentalnim uvjetima nije došlo do hidrolize aromatskih hidrazona. Na temelju rezultata i usporedbom s literaturnim podacima može se zaključiti da se u otopini aroilhidrazoni nalaze u najstabilnijem obliku I (slika 4.14). Pomak tautomerne ravnoteže prema obliku III u polarnim otapalima kao i u sustavima s vodom nije uočen, iako je iz literature poznato da polarna protična otapala utječu na ketoamino-enolimino tautomeriju.²¹ Dodatak vode u sustav uzrokovao je povećanje apsorpcije vrpce pripisanih azometinskim skupinama, što se može objasniti nastankom vodikovih veza između –NH protona i molekula otapala.¹⁹ Najizraženiji efekt uočen je za spoj 5 u smjesi otapala dioksan/voda 1/1 (dodatak 8.28).

Apsorpcijski spektri ostalih spojeva opisani su u literaturi.^{19,20,81}

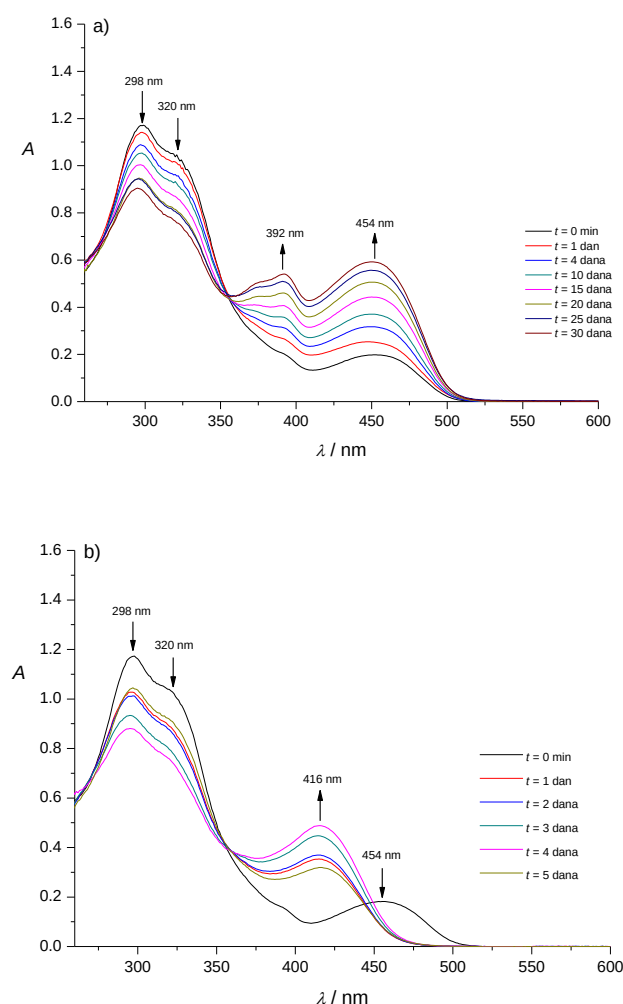
Tablica 4.1. Apsorpcijski maksimumi i molarni apsorpcijski koeficijenti **3**, **5**, **7**, **8** i **12** u različitim otapalima odmah nakon pripreve otopina.

Otapalo	λ (nm) ($10^{-4} \varepsilon / \text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$)				
	3	5	7	8	12
Dietil-eter	*	*	*	291 (1,912) 302 (1,749) 330 (1,038)	*
Diklormetan	*	*	246 (1,361) 291 sh (1,152) 302 (1,475) 332 (2,208)	291 (1,971) 301 (1,804) 331 (0,928)	285 (1,638) 324 (1,109)
Kloroform	*	*	248 (1,222) 292 sh (1,018) 303 (1,300) 334 (2,008)	293 (1,884) 302 sh (1,712) 332 (0,948)	285 (1,753) 325 (1,190)
1,4-dioksan	304 (2,341) 349 sh (0,410)	259 (1,086) 294 (1,653) 359 (0,803)	291 sh (1,142) 302 (1,469) 332 (2,313)	292 (1,989) 303 (1,856) 330 (1,177)	284 (1,588) 325 (1,074)
MeCN	220 (2,138) 300 (2,480) 346 sh (0,419)	215 (1,530) 257 (1,160) 292 (1,917) 356 (0,778)	217 (1,885) 244 (1,388) 289 sh (1,270) 300 (1,663) 329 (2,412)	219 (2,079) 290 (2,248) 301 (2,148) 325 (1,138)	212 (2,319) 285 (1,707) 325 (1,137)
DMSO	308 (2,383) 350 sh (0,640)	264 sh (1,054) 297 (1,727) 363 (1,079)	293 sh (1,094) 303 (1,351) 335 (2,329)	295 (1,942) 305 (2,003) 328 (1,332)	284 (1,683) 325 (1,120)
MeOH	220 (2,322) 302 (2,590) 350 sh (0,517) 405 (0,022)	214 (1,820) 260 sh (1,199) 294 (2,001) 361 (0,942)	216 (1,915) 245 (1,307) 290 sh (1,197) 302 (1,527) 334 (2,385)	219 (2,186) 292 (2,185) 303 (2,090) 330 (1,202)	213 (2,431) 284 (1,623) 328 (1,149)
1,4-dioksan/H ₂ O 1/1	304 (2,574) 349 sh (0,518)	260 sh (1,127) 295 (2,055) 358 (0,903)	291 sh (1,175) 302 (1,518) 333 (2,372)	293 (2,168) 303 (2,107) 329 (1,199)	284 (1,583) 325 (1,033)
MeCN/H ₂ O 1/1	219 (2,168) 302 (2,549) 346 sh (0,499)	215 (1,815) 257 (1,157) 293 (2,094) 356 (0,899)	215 (1,815) 244 (1,326) 290 sh (1,239) 301 (1,612) 330 (2,406)	218 (2,024) 291 (2,241) 302 (2,171) 326 (1,178)	212 (2,549) 285 (1,672) 324 (1,132)
DMSO/H ₂ O 1/1	305 (2,520) 350 sh (0,524)	295 (1,942) 358 (0,977)	291 sh (1,162) 303 (1,483) 334 (2,360)	294 (2,112) 303 (2,087) 328 (1,223)	284 (1,741) 324 (1,177)
MeOH/H ₂ O 1/1	218 (2,268) 302 (2,632) 350 sh (0,473) 405 (0,007)	214 (1,805) 256 (1,155) 293 (2,121) 355 (0,946)	215 (1,868) 243 (1,340) 290 sh (1,276) 301 (1,636) 331 (2,447)	217 (2,124) 292 (2,271) 302 (2,180) 328 (1,180)	211 (2,723) 285 (1,771) 325 (1,202)

*nije topljivo

4.2.2. UV-Vis spektroskopska analiza spoja **11**

Spoj **11** netopljiv je u nepolarnim otapalima kao što su tetraklorugljik, kloroform, diklormetan, eter, benzen i 1,4-dioksan, te je otopljen u protičnim (metanol, etanol) i aprotičnim (DMSO, aceton) polarnim otapalima. Za svako otapalo uzeta su dva alikvota, od kojih je jedan ostavljen u mraku, a drugi je bio izložen dnevnom svjetlu. UV-Vis spektri pojedinih alikvota snimljeni su odmah po pripravi otopina i tijekom vremena, do 30 dana. Spektri spoja **11** u DMSO snimljeni tijekom vremena prikazani su na slici 4.14. U tablici 4.2. dane su vrijednosti apsorpcijskih maksimuma i molarnih apsorpcijskih koeficijenata spoja **11** u svim otapalima, a apsorpcijski spektri spoja **11** u acetonu, metanolu i etanolu prikazani su u dodacima 8.29–8.31.



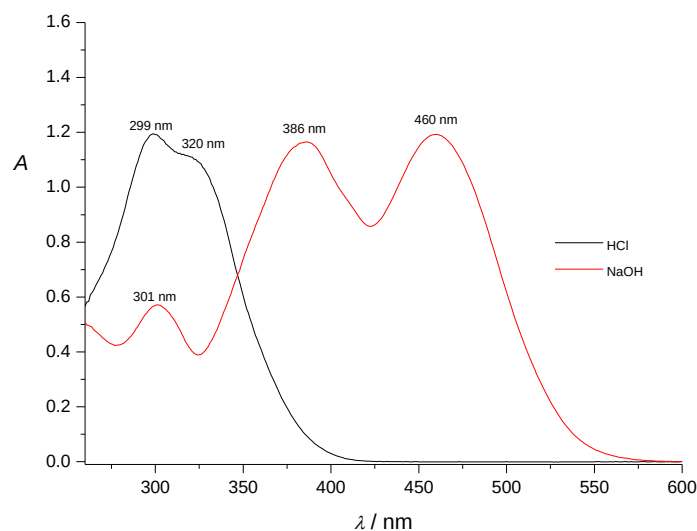
Slika 4.14. UV-Vis spektar spoja **11** u DMSO tijekom vremena. Otopina je držana: a) u mraku, b) na dnevnom svjetlu. $c(\mathbf{11}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. $l = 1 \text{ cm}$.

Tablica 4.2. Apsorpcijske vrpce i molarni apsorpcijski koeficijenti spoja **11** u različitim otapalima odmah po pripravi otopine i nakon 24 sata u mraku ili na dnevnom svjetlu.

Otapalo	λ (nm) ($10^{-4} \varepsilon / \text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$)		
	$t = 0 \text{ min}$	$t = 24 \text{ h (mrak)}$	$t = 24 \text{ h}$ (dnevno svjetlo)
DMSO	298 (2,346)	298 (2,282)	298 (2,049)
	320 (2,076)	320 (2,033)	320 (1,781)
	392 (0,317)	392 (0,531)	416 (0,706)
	454 (0,362)	454 (0,500)	
Aceton	328 (1,811)	328 (1,790)	328 (1,566)
			406 (0,155)
MeOH	289 (2,724)	289 (2,760)	289 (2,591)
	320 (1,790)	320 (1,815)	320 (1,678)
	408 (0,248)	408 (0,262)	387 (0,465)
EtOH	290 (2,671)	290 (2,709)	290 (2,365)
	320 (1,843)	320 (1,867)	320 (1,563)
	413 (0,480)	413 (0,473)	380 (0,806)

Najveće i potpuno različite promjene što se tiče neizloženosti i izloženosti otopine dnevnom svjetlu, uočene su u spektrima spoja **11** u DMSO (slika 4.14). Kako bi se lakše objasnile uočene promjene, te olakšala asignacija vrpce, snimljeni su i UV-Vis spektri početnog spoja, 2-hidroksi-5-nitrobenzaldehida, u istim otapalima pri istim eksperimentalnim uvjetima (dodaci 8.32–8.36).

Budući da nikotinohidrazid apsorbira ispod 260 nm, njegov doprinos apsorpcijskom spektru je zanemaren. Vrpce oko 289–298 nm u spektrima spoja **11** asignirane su azometinskoj skupini C=N i aromatskom prstenu.^{19,20,37,86} Vrpce s maksimumima pri 320–328 nm odgovaraju apsorpciji dijela hidrazona koji potječe od aldehida. Ova vrpca uočena je i u *ortho*-hidroksil aldiminima i posljedica je jakih intramolekulskih vodikovih veza između –OH i azometinskih skupina.⁸⁷ Vrpce iznad 400 nm pripisane su deprotoniranom spoju **11**. To je potvrđeno snimanjem UV-Vis spektara spoja **11** u čistim otapalima i nakon dodatka HCl i NaOH u sva otapala (slika 4.15, dodaci 8.37 i 8.38). UV-Vis spektri polaznog aldehida snimljeni su pri istim eksperimentalnim uvjetima (dodaci 8.37–8.38).



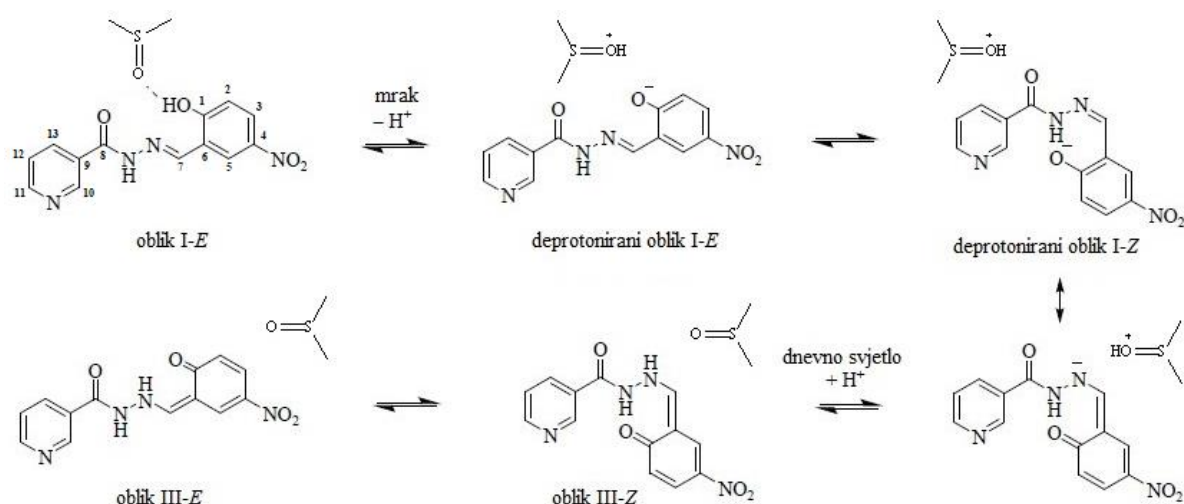
Slika 4.15. UV-Vis spektri spoja **11** nakon dodatka HCl ili NaOH u DMSO. $c(\mathbf{11}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. $c(\text{HCl}) = c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$; $l = 1 \text{ cm}$.

Iz slika 4.14 i 4.15. te dodataka 8.38, 8.40 i 8.41 vidljivo je da se UV-Vis spektri aldehida i hidrazona znatno mijenjaju ovisno o tome nalaze li se spojevi u neutralnom ili ionskom obliku. Neutralne molekule apsorbiraju oko 290–320 nm, dok deprotonirane pri puno višim valnim duljinama. Protonirane molekule imaju vrlo slične spektre kao i neutralne.

Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da se spoj **11** odmah po pripravi otopine u čistom DMSO nalazi u ravnoteži između neutralnog i deprotoniranog oblika (slika 4.16). Tijekom vremena, ravnoteža se pomiče prema deprotoniranom obliku zbog utjecaja otapala. Naime, DMSO može graditi vodikove veze s hidroksilnom skupinom hidrazona te kao polarno aprotično otapalo preuzeti proton. Ova ravnoteža nije uočena u acetonu, strukturno sličnom DMSO-u, ali s nižom dielektričnom konstantom i manjom polarnosti. Iako aceton također može stvarati vodikove veze s hidroksilnom skupinom, nije dovoljno polaran da preuzme proton te je u acetonu spoj **11** prisutan kao neutralna molekula (dodatak 8.29a). U skladu s ovim rezultatima, u protičnim otapalima (metanolu i etanolu) hidrazon je u stabilnoj ravnoteži između neutralnog i deprotoniranog oblika. Moguće vodikove veze vjerojatno nastaju između molekula otapala i dušikovih atoma te nemaju utjecaj na deprotoniranje hidroksilne skupine. Treba naglasiti da su isti rezultati dobiveni snimanjem UV-Vis spektara 2-hidroksi-5-nitrobenzaldehyda u različitim otapalima, što ide u prilog teoriji o prijenosu protona s hidrazona/aldehyda na DMSO (dodaci 8.33–8.36). Vrpce koje odgovaraju

protoniranim i deprotoniranim oblicima aldehida potvrđene su zasebnim eksperimentima, dodavanjem HCl i NaOH u sustav (dodaci 8.39–8.41).

Nestajanje vrpce pri 392 nm i 454 nm i nastajanje nove vrpce pri 416 nm u apsorpcijskom spektru otopine spoja **11** u DMSO izložene dnevnom svjetlu (slika 4.14b) ne može se objasniti samo na temelju tautomerne ravnoteže te se još neka moguća ravnoteža, poput izomerizacije, treba uzeti u obzir. DFT računi pokazali su da je deprotonirani hidrazon najstabilniji u obliku I-Z izomera (slika 4.16) dok je I-E izomer najstabilniji za neutralnu molekulu.⁸⁶ Na temelju dobivenih rezultata predložena je znatno kompleksnija ravnoteža (slika 4.16) koja započinje istovremenim deprotoniranjem i izomerizacijom spoja **11** u mraku. Kada je otopina hidrazona (smjesa neutralnog oblika I-E i deprotoniranog oblika I-Z) bila izložena dnevnom svjetlu, dana energija bila je dovoljna da uzrokuje otpuštanje protona s molekule otapala te protoniranje negativno nabijenog i sterički neometanog dušikovog atoma spoja **11**. Nastali III-Z oblik bio je u ravnoteži s drugim izomerom, oblikom III-E (slika 4.16). Ove pretpostavke potvrđene su računalnim metodama.⁸⁶



Slika 4.16. Keto-enolna i *cis-trans* izomerija uzrokovana zajedničkim djelovanjem otapala i svjetla.

Direktna interkonverzija oblika I-E u III-E uočena je i u otopini spoja **11** u acetonu izloženoj dnevnom svjetlu te je zabilježena pojava nove vrpce pri 406 nm (dodatak 8.29b). Za razliku od acetonske otopine, u metanolnim i etanolnim otopinama hidrazon je odmah po pripravi otopine bio prisutan u ravnoteži između neutralnog I-E i deprotoniranog I-Z oblika (dodaci 8.30 i 8.31). Interkonverzija u III-E oblik uočena je kada su otopine bile izložene

dnevnom svjetlu, što ukazuje da izomerni oblik I-E nije jedina stabilna vrsta spoja **11** u otopinama.

Kako bi se potvrdile ravnoteže predložene na temelju UV-Vis spektara, snimljeni su jednodimenzijски (^1H , ^{13}C APT) i dvodimenzijски (COSY, HMQC i HMBC) NMR spektri spoja **11** u čistom DMSO- d_6 te nakon dodatka koncentrirane otopine trietilamina. Rezultati su prikazani u tablici 4.3. i dodacima 8.42–8.47.

Tablica 4.3. ^1H i ^{13}C NMR asignacija kemijskih pomaka za spoj **11** u DMSO i u DMSO (600 mm^3 ; $0,05\text{ mol dm}^{-3}$) uz dodatak koncentriranog trietilamina (TEA).

Atom*	11		11+TEA 5 mm³		11+TEA 10 mm³	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
	δ/ppm	δ/ppm	δ/ppm	δ/ppm	δ/ppm	δ/ppm
1		163,24		175,41		177,26
2	7,126	117,59	6,356	120,89	6,238	121,26
3	8,187	123,97	7,868	123,90	7,838	123,85
4		140,48		132,80		130,90
5	8,614	124,13	8,495	124,41	8,480	124,60
6		120,60		120,71		120,70
7	8,737	145,07	8,721	147,12	8,723	147,09
8		162,16		162,36		162,42
9		129,25		130,13		130,24
10	9,110	153,26	9,099	152,55	9,097	152,29
11	8,790	149,18	8,761	149,32	8,764	149,32
12	7,595	129,25	7,522	128,07	7,529	127,93
13	8,289	135,99	8,278	135,99	8,277	135,72
NH	12,396					
OH	12,246					

*Oznake atoma prikazane su na slici 4.16

Analizom NMR spektara snimljenih u čistom DMSO- d_6 potvrđeno je da je oblik I-E najdominantniji oblik spoja **11** u otopini. Visoka vrijednost kemijskog pomaka amidnog protona ($\delta = 12,40\text{ ppm}$) posljedica je intermolekulske vodikove veze tog protona s drugim

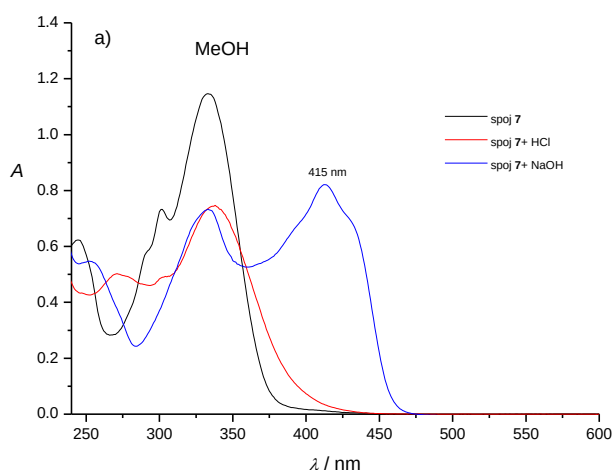
molekulom hidrazona ili s molekulom otapala. Hidroksilni proton također je jako odsjenjen ($\delta = 12,25$ ppm) zbog intramolekulske vodikove veze i/ili intermolekulskih vodikovih veza s otapalom. Signal azometinskog protona je singlet karakterističan za oblik I. U ^{13}C spektru spoja **11**, signal ugljika amidne $\text{C}=\text{O}$ skupine bio je pri 162,16 ppm. Signal karakterističan za formu II pri ≈ 100 ppm nije uočen.⁸¹ Signal C1 atoma uočen je pri 163,24 ppm i karakterističan je za jednostruku $\text{C}-\text{O}$ vezu. U ^{13}C NMR spektru strukturno sličnog spoja, *N*-(5-nitrosaliciliden)-etilamina, signal analognog ugljikovog atoma uočen je pri 175,0 ppm i asigniran karbonilnoj ($\text{C}=\text{O}$) skupini,⁸⁸ dok je nakon protoniranja pomaknut na 164,6 ppm i asigniran $\text{C}-\text{O}$ jednostrukoj vezi.

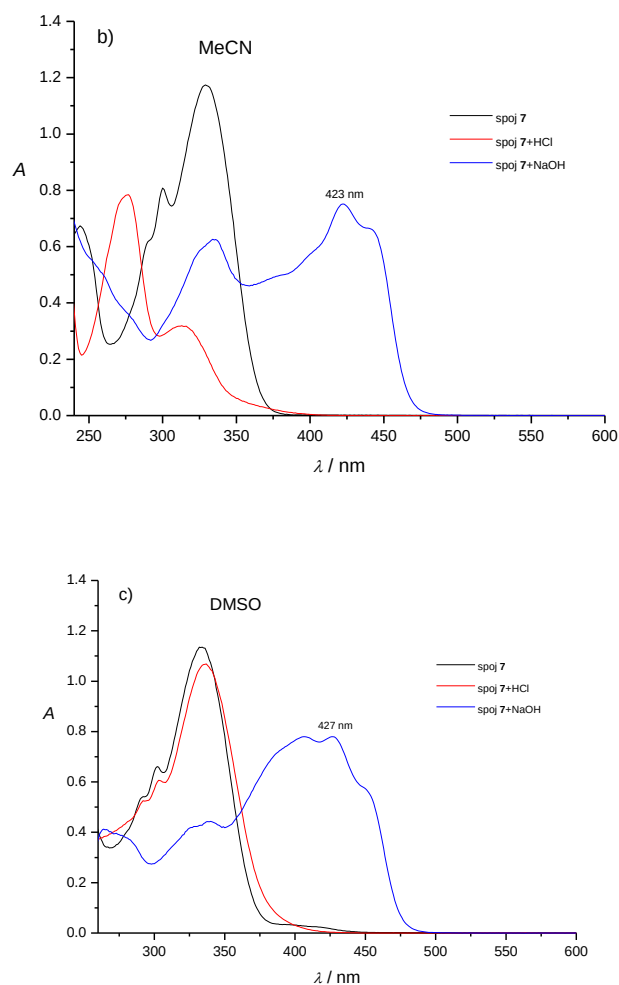
Izomerizacija uzrokovana deprotoniranjem također je potvrđena NMR-om (tablica 4.3). Nakon dodatka koncentriranog trietilamina (TEA) kao baze, u ^1H NMR spektru više nisu uočeni signali labilnih protona, a signali koji odgovaraju protonima H2, H3 i H5 su se pomaknuli prema nižim vrijednostima ukazujući na izomerizaciju. U ^{13}C NMR spektru, zbog deprotoniranja hidroksilne skupine i nastanka dvostruke veze $\text{C}=\text{O}$, uočen je pomak signala atoma C1 od 163 do 177 ppm.⁸⁸ Deprotoniranje spoja **11** nije utjecalo na pomak signala pripisanog atomu ugljika iz amidne skupine $-\text{C}=\text{O}-\text{NH}-$ pri 162 ppm.

Rezultati dobiveni UV-Vis i NMR eksperimentima su potvrđeni vibracijskom spektroskopijom i računskim metodama.⁸⁶

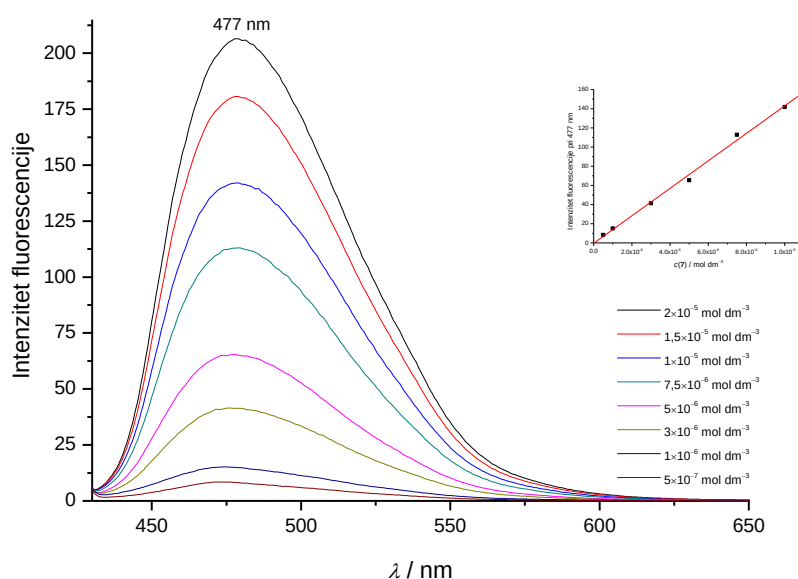
4.3. Spektrofluorimetrijska mjerenja

Fluorescencija spojeva **1–12** istražena je u organskim otapalima različitih polarnosti i smjesama organskih otapala s vodom (dietil-eter, kloroform, diklormetan, dioksan, dioksan/voda 1/1, DMSO, DMSO/voda 1/1, metanol, metanol/voda 1/1, acetonitril te acetonitril/voda 1/1) u neutralnom, kiselom i lužnatom mediju. Valne duljine maksimuma apsorpcije određene iz UV-Vis spektara spojeva u određenom otapalu korištene su kao valne duljine pobude (slika 4.17 i dodaci 8.48–8.53). Utvrđeno je da spojevi ne fluoresciraju u većini organskih otapala, kao što su eter, kloroform, diklormetan, dioksan. Fluorescencija je uočena jedino za spojeva **7–10** i **12** otopljene u metanolu i acetonitrilu, te njihovim smjesama s vodom i to u lužnatom (slika 4.17, tablica 4.4, dodaci 8.58–8.69). Linearna područja ovisnosti intenziteta fluorescencije o koncentraciji hidrazona u većini slučajeva bila su u rasponu koncentracija od 10^{-7} do 10^{-5} mol dm⁻³.





Slika 4.17. UV-Vis spektri spoja **7** u a) metanolu, b) acetonitrilu i c) DMSO. $c(\mathbf{7}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{HCl}) = c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$. Volumen dodanog HCl ili NaOH bio je 250 mm^3 . Spektri su korigirani za razrjeđenje.



Slika 4.18. Fluorescencijski spektri spoja **7** u metanolu ($c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$). Umetak: Intenziteti fluorescencije pri 477 nm. $\lambda_{\text{ex}} = 415 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 477 \text{ nm}$. Pukotine = 10 nm.

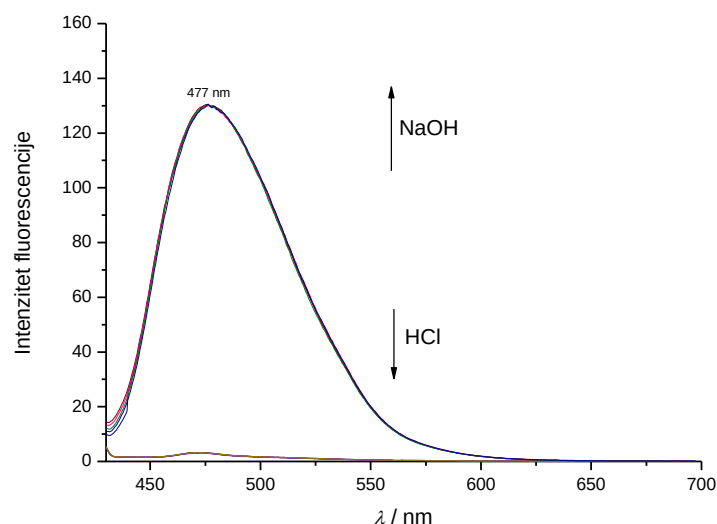
Tablica 4.4. Valne duljine pobude i maksimumi emisije spojeva **7**, **8**, **9**, **10** i **12** u različitim otapalima u koje je dodana natrijeva lužina ($c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$) te linearna područja odziva.

Spoj	MeOH	MeOH/voda 1/1	MeCN	MeCN/voda 1/1
	Linearno područje odziva / $10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ (λ_{ex} ; λ_{em})			
7	0,05 – 1 (415; 477)	–	0,05 – 0,5 (423; 481)	–
8	0,05 – 1 (441; 506)	–	0,05 – 0,5 (434; 502)	–
9	0,05 – 3 (449; 507)	0,1 – 3 (449; 508)	0,01 – 1 (463; 507)	–
10	0,05 – 1,5 (449; 512)	0,05 – 2 (448; 512)	0,01 – 1 (482; 508)	0,05 – 3 (453; 510)
12	0,05 – 1 (416; 501)	0,05 – 1 (411; 501)	–	–

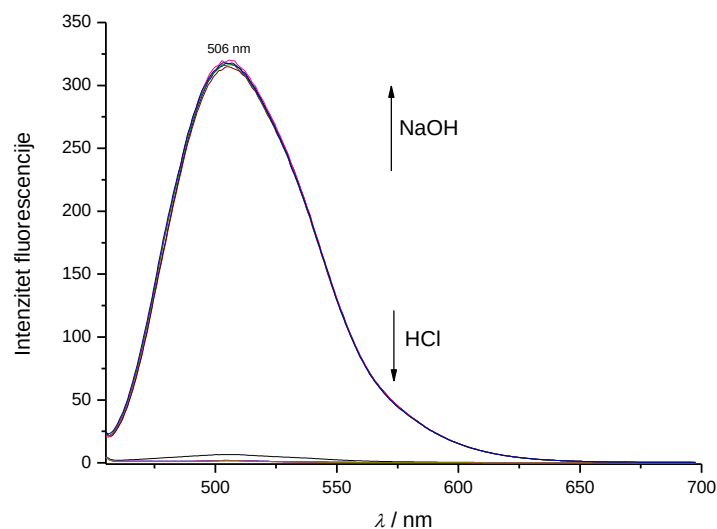
Fluorescencija hidrazona pripisana je fenolatnom anionu tj. posljedica je deprotoniranja hidroksilne skupine na fenilnom prstenu.⁸⁷ Spojevi **3–5**, iako imaju dvije hidroksilne skupine

na fenilnom prstenu, nisu fluorescirali. Spoj **11**, koji sadrži nitro-skupinu na fenilnom prstenu, također nije fluorescirao. Iz literature je poznato je da su kvantna iskorištenja fluoroforescencije koji sadrže nitro-skupinu vrlo mala, mada je sintetiziran nitro derivat fluorena koji je fluorescirao.⁸⁸ Fluorescencija je u tom slučaju pripisana uvođenju fenilne skupine između nitro skupine i fluorescirajućeg fluorenskog dijela molekule.

Fluorescencija spojeva **7** i **8** u metanolnim i acetonitrilnim otopinama detaljnije je istražena. Naizmjenično dodavanje baze (NaOH ili trietilamina) i kiseline (HCl) u sustav uvjetovalo je pojavu fluorescencije, odnosno njeno gašenje, kao što se može vidjeti na slikama 4.19 i 4.20 te dodacima 8.70–8.72. Treba napomenuti da je uočena spora hidroliza spojeva **7** i **8** u lužnatim otopinama. Unutar 48 sati, intenzitet fluorescencije smanjio se otprilike za 25 % u metanolnim otopinama spojeva **7** i **8**, a za 10 % u otopinama acetonitrila.

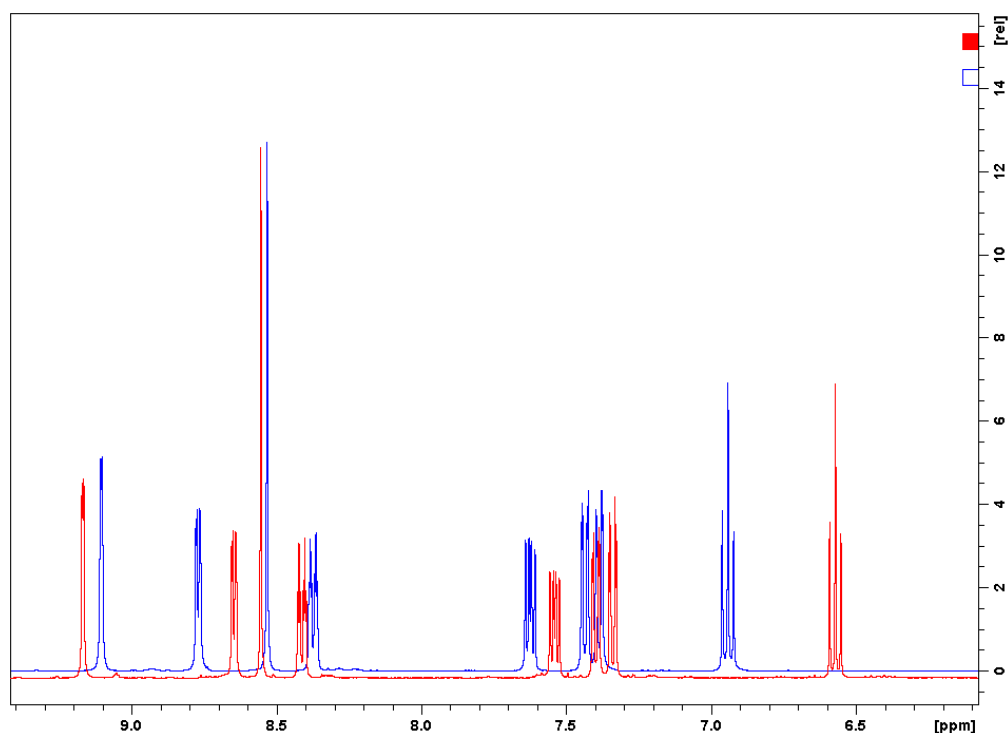


Slika 4.19. Emisijski spektri spoja **7** u metanolu $c(\mathbf{7}) = 1 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$; $\lambda_{\text{ex}} = 415 \text{ nm}$. Pukotine = 10 nm. Izmjenično su dodavani $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ NaOH i $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ HCl. Spektri su korigirani za razrjeđenje.



Slika 4.20. Emisijski spektri spoja **8** u metanolu $c(\mathbf{8}) = 1 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$; $\lambda_{\text{ex}} = 441 \text{ nm}$. Pukotine = 10 nm. Izmjenično su dodavani $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ NaOH i $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ HCl. Spektri su korigirani za razrjeđenje.

Fluorescencija hidrazona može biti uvjetovana fotoinduciranim prijenosom protona (PET) ili fotoinduciranom keto-enolnom tautomerijom.^{87,89} Kako bi se dobio detaljniji uvid u mehanizam odgovoran za uočenu fluorescenciju, snimljeni su NMR spektri spojeva **3**, **5**, **7** i **8**. Spojevi **3** i **5** ne fluoresciraju dok **7** i **8** fluoresciraju u lužnatom mediju. Zbog slabe topljivosti u metanolu, spojevi **3** i **5** su otopljeni u deuteriranom DMSO, a **7** i **8** u deuteriranom metanolu. U otopinu hidrazona postepeno je dodavana baza, trietilamin (TEA), dok nisu nestali signali pripisani protonu hidroksilne skupine. Uslijed dodatka baze u ^1H NMR spektrima spojeva **3** i **5** zabilježene su male promjene, dok su pomaci signala u spektrima fluorescentnih hidrazona bili izraženi, što upućuje na delokalizaciju negativnog naboja nastalog deprotoniranjem hidroksilne skupine spojeva **7** i **8** skoro kroz cijelu molekulu (slika 4.21 i dodaci 8.73–8.75). Očito, takva vrsta delokalizacije nije bila moguća u dihidroksi derivatima hidrazona.



Slika 4.21. ^1H NMR spektri spoja **8** u MeOD (plavi) i u MeOD uz dodatak TEA (crveni). $c(\mathbf{8}) = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$; 100 mm^3 koncentriranog TEA dodano je u 600 mm^3 spoja **8**.

U ^{13}C NMR spektrima spojeva **3** i **5** također nisu uočene promjene uslijed deprotoniranja hidroksilne skupine. U odgovarajućim spektrima fluorescentnih hidrazona zabilježen je kemijski pomak signala pripisanog C1 atomu s 160 ppm na 166 ppm (spoj **7**), odnosno s 154 ppm na 163 ppm (spoja **8**), što ukazuje na delokalizaciju negativnog naboja kroz molekulu i parcijalno nastajanje $\text{C}=\text{O}$ dvostruke veze na salicilidenskom dijelu molekule. Bolja delokalizacija negativnog naboja vjerojatno uzrokuje i veći intenzitet fluorescencije spoja **8** u odnosu na spoj **7**, iako su vrijednosti apsorbancija pokazivale suprotnu tendenciju (slika 4.17 i dodatak 8.50).

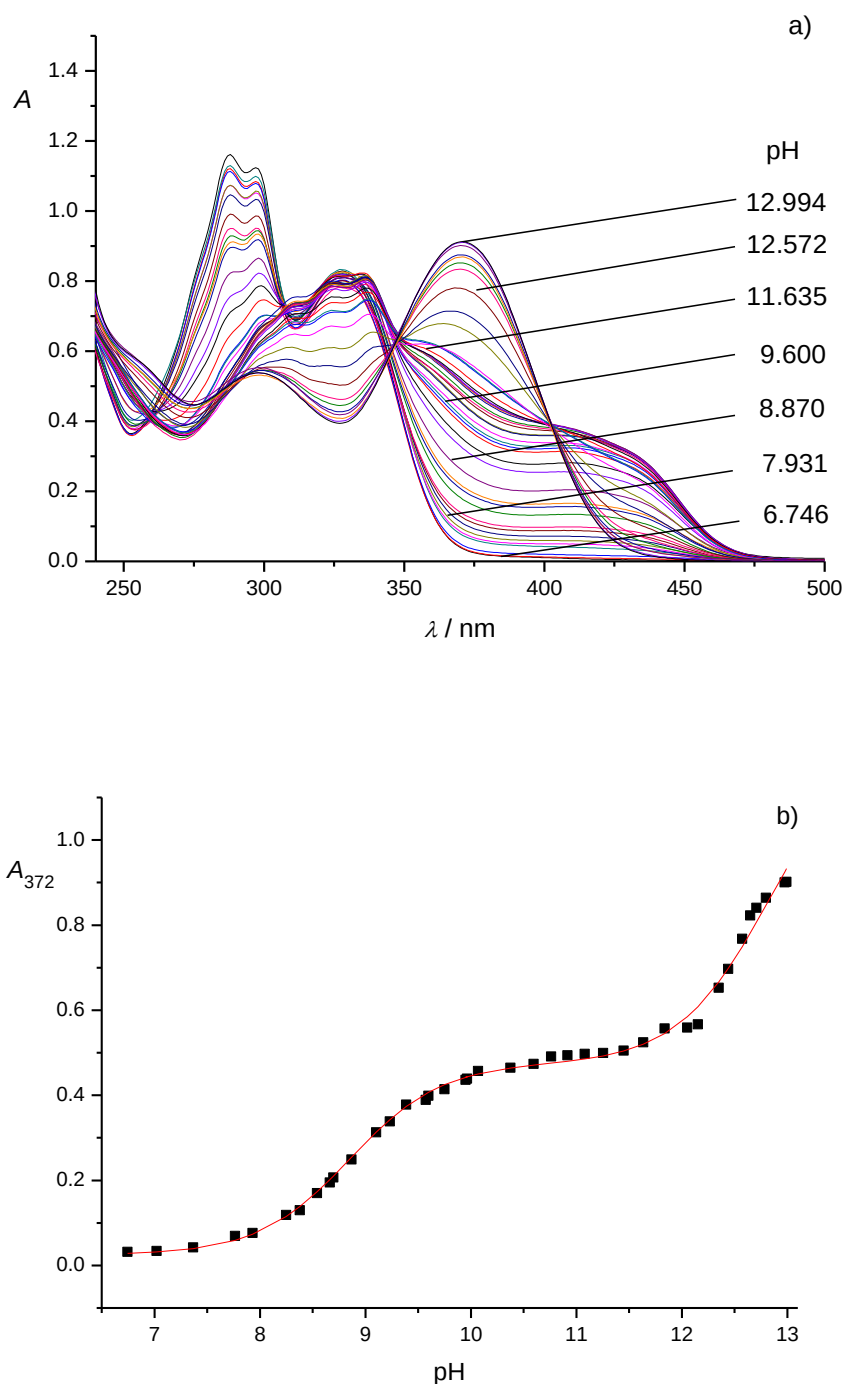
4.4. Konstante protoniranja spojeva 1–12

Konstante protoniranja aroilhidrazona **1–12** određene su u sustavu metanol/voda 1/1 i uspoređene s literaturnim podacima za sustav metanol/voda 1/4.⁹⁰ Budući da je u sustavima s vodom uočena hidroliza spojeva **1–12**, kao najprikladnija metoda za određivanje konstanti protoniranja izabrana je spektrofotometrijska "batch" titracija. Svi apsorpcijski spektri snimljeni su unutar 3 minute nakon pripreve otopina. U tom vremenskom periodu hidroliza spojeva u kiselom i lužnatom mediju nije znatno utjecala na rezultate određivanja konstanti. Vrijednosti pH otopina izmjerene su nakon snimanja UV-Vis spektara. Kao primjer dani su rezultati spektrofotometrijskih titracija spojeva **2** i **7**, odnosno njihovi apsorpcijski spektri u ovisnosti o pH te izmjerene i izračunate apsorbancije pri valnoj duljini maksimuma apsorpcije (slike 4.22 i 4.23). Spektrofotometrijske titracije ostalih spojeva prikazane su u dodacima 8.80–8.89. Shema protoniranja aroilhidrazona prikazana je na slici 4.24.

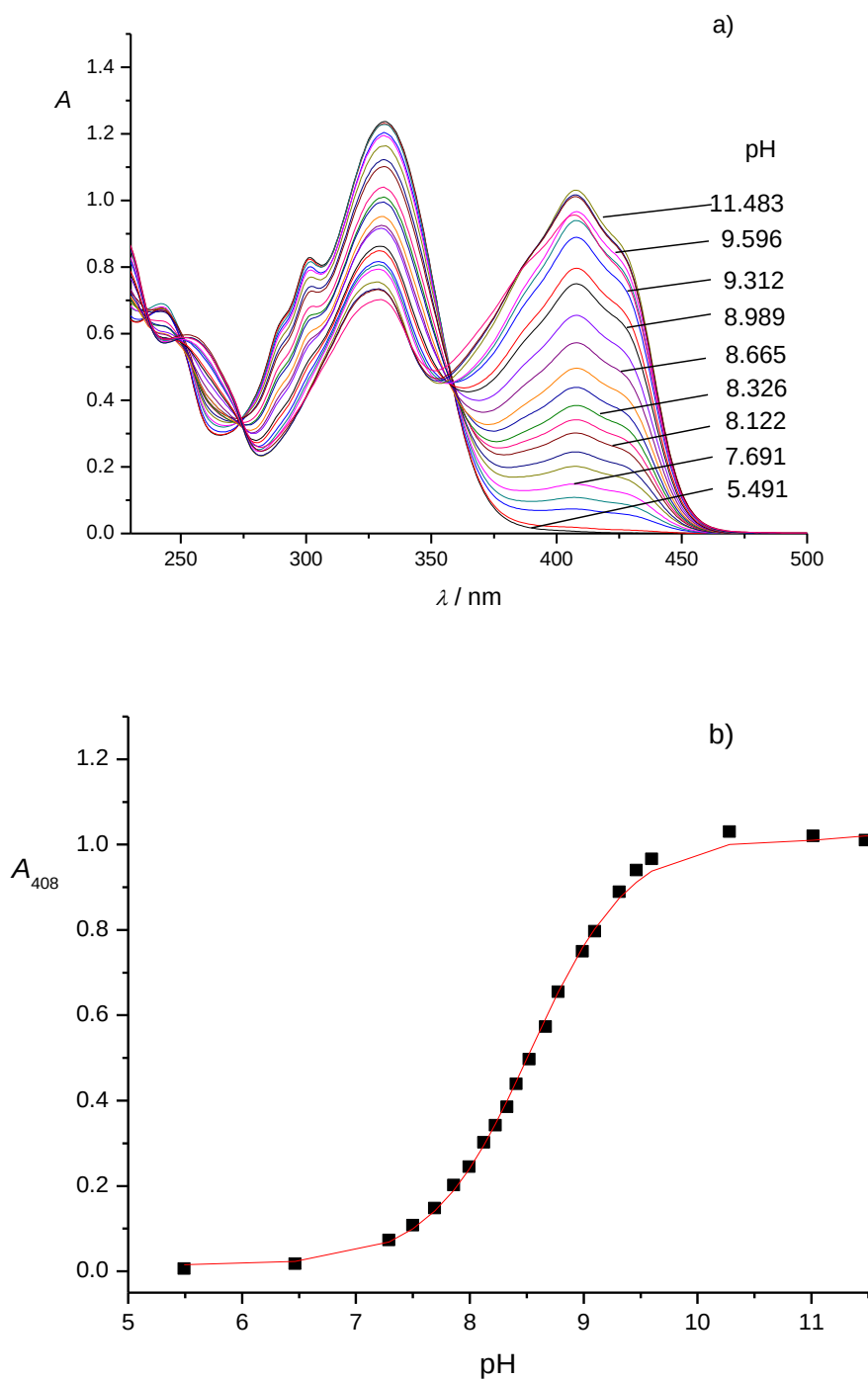
Da bi se omogućila točnija asignacija vrijednosti pK_a aroilhidrazona, određene su i vrijednosti pK_a polaznih spojeva (hidrazida nikotinske kiseline, aldehida i ketona) koje su također uspoređene s literaturnim podacima za sustav metanol/voda 1/4. Konstante protoniranja polaznih spojeva dane su u tablicama 4.5 i 4.6, a aroilhidrazona u tablicama 4.7 i 4.8. Kako se može vidjeti, u sustavu metanol/voda 1/4 određene su tri vrijednosti pK hidrazida nikotinske kiseline i pripisane amidnom dušiku ($-NH-N$), piridinskom dušiku (PyN) i amino-skupini ($-NH_2$). Međutim, u sustavu koji sadrži više organskog otapala (metanol/voda 1/1), opažena su samo dva protoniranja, a isti trend uočen je i pri protoniranju hidrazona (tablice 4.7 i 4.8)

Prva konstanta protoniranja (K_1^H) spojeva **1–12** pripisana je protoniranju amidne skupine. Najniža vrijednost određena je za spoj **1** jer je negativni naboj na amidnom dušiku najbolje stabiliziran nesupstituiranom fenilnom skupinom. U ostalim hidrazonima vrijednosti konstanti protoniranja amidne skupine bile su više, uglavnom iznad 12, jer je već negativan naboj koji potječe od deprotonirane hidroksilne skupine smještene na fenilnom prstenu raspoređen kroz čitav sustav. Niže vrijednosti $\log K_1^H$ (11,67 i 11,17) određene su za spojeve **10** i **11** koji sadrže jake elektron-odvlačeće supstituente na fenilnom prstenu: atom klora $-Cl$, odnosno nitro skupinu $-NO_2$. Utjecaj supstituenata na protonaciju amidne skupine $-NH-N$ također je opažen za izonikotinoilne i benzoilne hidrazone^{91,92}, u kojima je dodatni dušik u

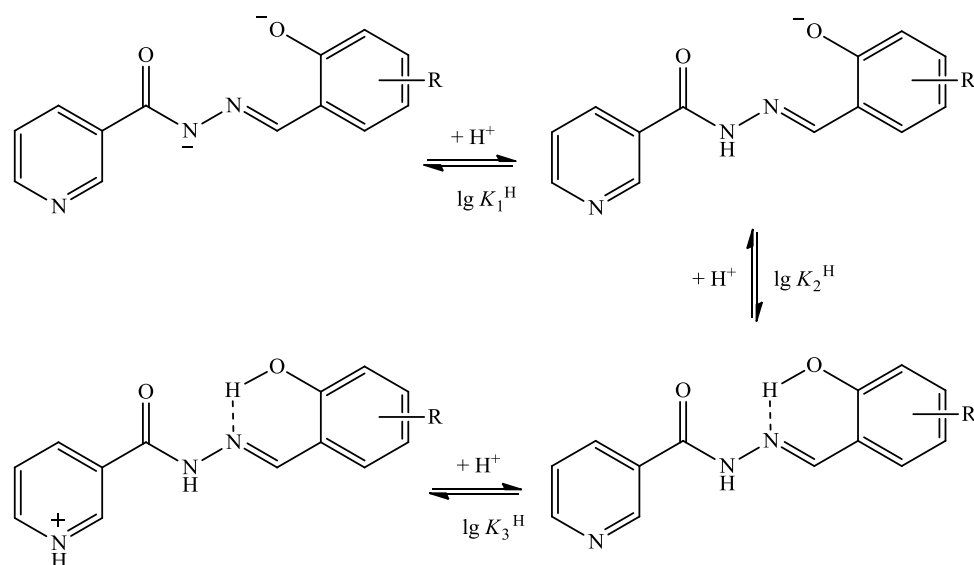
izonikotinoilnom derivatu ili elektron-odvlačeći supstituent na benzoilhidrazonu također spustio vrijednost pK_a amidne skupine.



Slika 4.22. a) UV-Vis spektri spoja 2 i b) ovisnost apsorbancije pri 372 nm o pH u sustavu metanol/voda 1/1: $c(2) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $l = 1 \text{ cm}$, $I_c = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$; ■ izmjerene apsorbancije, – izračunate apsorbancije.



Slika 4.23. a) UV-Vis spektri spoja 7 i b) ovisnost apsorbancije pri 408 nm o pH u metanol/vodi 1/1: $c(7) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $l = 1 \text{ cm}$, $I_c = 0,1 \text{ mol dm}^{-3} \text{ (NaCl)}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$; ■ izmjerene apsorbancije, – izračunate apsorbancije.



Slika 4.24. Protonacijske ravnoteže aroilhidrazona.

Tablica 4.5. Konstante protoniranja polaznih spojeva u sustavu metanol/voda 1/1, $I_c = 0,1$ mol dm⁻³ (NaCl), $\theta = (25,0 \pm 0,1)$ °C.

Spoj	$\log K_i^H$	Asignacija
Hidrazid nikotinske kiseline	11,98	–NH–N
	1,40	–piridinski N ili –NH ₂
2-hidroksibenzaldehid	8,56	–OH
2,3-dihidroksibenzaldehid	10,39	–OH (položaj 2)
	6,88	–OH (položaj 3)
2,4-dihidroksibenzaldehid	10,62	–OH (položaj 2)
	7,43	–OH (položaj 4)
2,5-dihidroksibenzaldehid	10,84	–OH (položaj 2)
	8,91	–OH (položaj 5)
2-hidroksi-3-metoksibenzaldehid	8,12	–OH
2-hidroksi-4-metoksibenzaldehid	8,30	–OH
2-hidroksi-3-klorbenzaldehyd	7,02	–OH
2-hidroksi-5-klorbenzaldehyd	7,52	–OH
2-hidroksi-3,5-diklorbenzaldehyd	5,86	–OH
2-hidroksi-5-nitrobenzaldehyd	5,28	–OH
2-hidroksiacetofenon	10,70	–OH

Tablica 4.6. Konstante protoniranja polaznih spojeva u sustavu metanol/voda 1/4, $I_c = 0,1$ mol dm⁻³ (NaCl), $\theta = (25,0 \pm 0,1)$ °C.⁹⁰

Spoj	$\log K_i^H$	Asignacija
Hidrazid nikotinske kiseline	11,59	–NH–N
	4,37	–piridinski N
	2,52	–NH ₂
2-hidroksibenzaldehid	8,59	–OH
2-hidroksi-3-metoksibenzaldehid	8,02	–OH

Tablica 4.7. Konstante protoniranja spojeva **1–12** u metanol/vodi 1/1, $I_c = 0,1$ mol dm⁻³ (NaCl), $\theta = (25,0 \pm 0,1)$ °C.

Spoj	$\log K_1^H$	$\log K_2^H$	$\log K_3^H$
1	10,50 ± 0,02	–	<2
2	12,77 ± 0,03	8,88 ± 0,01	<2
3	>13	10,29 ± 0,03	7,22 ± 0,03
4	>13	9,52 ± 0,03	8,36 ± 0,04
5	12,85 ± 0,02	11,08 ± 0,02	9,19 ± 0,01
6	12,92 ± 0,02	8,71 ± 0,03	<2
7	>13	8,52 ± 0,01	<2
8	12,11 ± 0,03	7,76 ± 0,02	<2
9	12,18 ± 0,04	8,53 ± 0,02	<2
10	11,67 ± 0,03	7,11 ± 0,01	<2
11	11,17 ± 0,02	6,40 ± 0,01	<2
12	>13	8,11 ± 0,02	<2

Tablica 4.8. Konstante protoniranja spojeva **2** i **6** u metanol/vodi 1/4, $I_c = 0,1$ mol dm⁻³ (NaCl), $\theta = (25,0 \pm 0,1)$ °C.⁹⁰

Spoj	$\log K_1^H$	$\log K_2^H$	$\log K_3^H$
2	12,10 ± 0,04	8,74 ± 0,01	2,46 ± 0,04
6	11,97 ± 0,02	8,56 ± 0,004	2,48 ± 0,05

Druga konstanta protoniranja (K_2^H) u spojevima **2-12** pripisana je protoniranju hidroksilne skupine smještene u *ortho* položaju obzirom na dvostruku vezu C=N. Vrpce s apsorpcijskim maksimumima oko 330 nm u UV-Vis spektrima hidrazona u neutralnim otopinama pripisane su apsorpciji aldehidnog dijela molekule.^{19,20} Nakon deprotoniranja fenolnog kisika ta se vrpca smanjuje, a nastaje široka vrpca s maksimumom oko 400 nm, pripisana deprotoniranom aldehidu. Nastanak slične vrpce zbog deprotoniranja hidroksilne skupine uočen je i u spektru salicilaldehid-benzoilhidrazona.³⁷ Najviša vrijednost $\log K_2^H$ (osim za dihidroksi derivate - spojeve **3-5**) određena je za spoj **2**. Za supstituirane salicilaldehidne derivate vrijednosti konstante bile su niže, što je u skladu s konstantama protoniranja odgovarajućih polaznih aldehida određenih pri istim eksperimentalnim uvjetima (tablica 4.5). Mala razlika između vrijednosti $\log K_2^H$ spojeva **2** i **6** (8,88 i 8,71) može se objasniti induktivnim efektom metoksi-skupine ($-\text{OCH}_3$) smještene u *ortho* položaju prema hidroksilnoj skupini. Utjecaj metoksi-skupine još je više izražen u spoju **7**, *meta* derivatu ($\log K_2^H = 8,52$), što je u skladu sa smanjenjem vrijednosti $\text{p}K_a$ početnih aldehida (tablica 4.5). Ista tendencija također je uočena pri određivanju konstanti protoniranja fenola i njegovih metoksi derivata. Odgovarajuće $\text{p}K_a$ vrijednosti u vodi iznose: 9,99 za fenol, 9,99 za 2-metoksifenol i 9,652 za 3-metoksifenol.⁹³

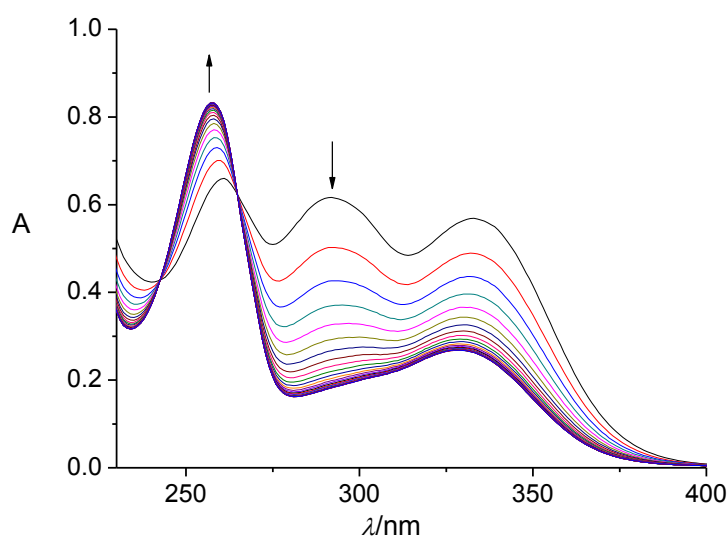
Ukoliko se usporede vrijednosti $\log K_2^H$ derivata hidrazona s elektron-odvlačćim supstituentima (spojevi **8-11**) s vrijednosti određenoj za spoj **2**, može se uočiti znatno smanjenje koje je, kao što je i očekivano, najizraženije za spoj **11** s nitro-skupinom u *para* položaju u odnosu na hidroksilnu skupinu. Naime, u tom položaju nitro-skupina djeluje i induktivno i rezonacijski. Induktivni efekt atoma klora više je izražen kada je klor smješten u *ortho* položaju (spoj **8**) nego u *para* položaju (spoj **9**) u odnosu na hidroksilnu skupinu, a najviše je izražen u spoju **10** s dva atoma klora na fenilnom prstenu, za koji je određena vrijednost $\log K_2^H = 7,11$. Ti su rezultati u skladu s vrijednostima konstanti određenim za odgovarajuće aldehide (tablica 4.5), kao i s literaturnim podacima za fenole s istim supstituentima.^{94,95} Povećanje udjela organskog otapala u sustavu uzrokuje povećanje $\text{p}K$ vrijednosti, što je također uočeno pri određivanju konstanti protoniranja hidroksilne skupine 4-(2-piridilazo)rezorcinola u smjesama metanol-voda.⁹⁶ Najveća razlika između vrijednosti konstanti protoniranja hidroksilne skupine hidrazona i odgovarajućeg aldehida bila je zapažena za spoj **12**. Logaritamska vrijednost konstanta protoniranja 2-hidroksiacetofenona bila je 10,70 dok je za 2-hidroksibenzaldehid (salicilaldehid) iznosila 8,56 (tablica 4.5).

Uočena razlika posljedica je prisutnostia elektron-donirajuće metilne skupine zbog koje je jača intramolekulska vodikova veze u ketonu nego u salicilaldehidu. Vrijednosti konstanti protoniranja hidrazona, za razliku od onih za analogne aldehide su usporedive i iznose $\log K_2^H = 8,11$ (spoj **12**), odnosno $\log K_2^H = 8,88$ (spoj **2**). Na temelju određenih kristalnih struktura spojeva **2**⁸¹ i **12**⁹⁷, može se pretpostaviti da su u hidrazonima sačuvane intramolekulske vodikove veze i u otopini, dok je utjecaj metilne skupine umanjen.

Treća konstanta protoniranja (K_3^H) spojeva **3–5** s dvije hidroksilne skupine na fenilnom prstenu pripisana je protoniranju hidroksilnih skupina smještenih na položaju 3-OH, 4-OH i 5-OH skupina. Povećana stabilnost –OH skupine u *ortho* položaju, zbog čega je i odgovarajuća vrijednost pK_a veća, posljedica je jake intramolekulske veze između te skupine i azometinskog dušika, kao što je prikazano na slici 4.24.⁹⁸ Za sve ostale spojeve treća konstanta protoniranja pripisana je protoniranju piridinskog dušika. Na temelju rezultata određivanja konstanti protoniranja hidrazida nikotinske kiseline (tablica 4.5) može se zaključiti se da se protoniranje u sustavu metanol/vodi 1/1 događa blizu ili ispod pH 2. Međutim, zbog brze hidrolize hidrazona ispod te vrijednosti pH, odgovarajuće konstante protoniranja nije bilo moguće odrediti.

4.5. Hidroliza spojeva 1–12 u metanol/vodi 1/1

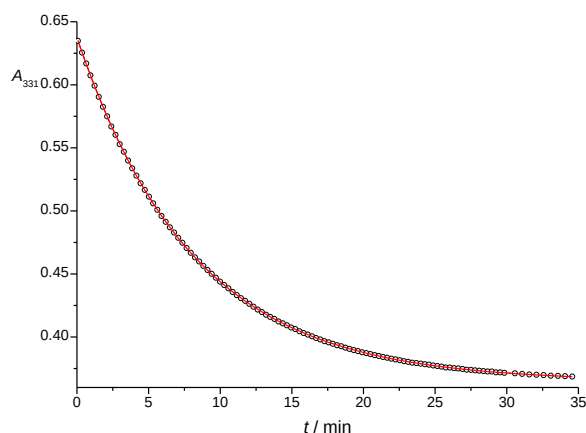
Iz literature je poznato da spojevi koji sadrže dvostruku vezu $C=N$ hidroliziraju dajući odgovarajuće aldehide ili ketone. Tijekom ravnotežnih mjerenja u UV spektrima neutralnih i blago kiselih otopina aroilhidrazona **1–12** nisu opažene značajnije promjene apsorbancije tijekom vremena pa se može zaključiti kako se reakcija hidrolize dvostruke veze $C=N$ u takvim otopinama odvija zanemarivom brzinom. Međutim, u kiselim i bazičnim uvjetima promjene apsorbancije tijekom vremena su znatne te je zbog toga istražena kinetika hidrolize ovih spojeva u navedenim uvjetima. Na slici 4.26 prikazana je vremenski ovisna promjena UV spektra kisele otopine spoja **2** ($c(H^+) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$), a spektralne promjene ostalih spojeva pri istim uvjetima prikazane su u dodacima 8.90–8.100. Pažljivim promatranjem ovih slika mogu se uočiti dobro definirane izosbestične točke tijekom cijele reakcije hidrolize, što upućuje na nepostojanje značajne akumulacije međuprodukata između aroilhidrazona te aldehida i hidrazida nastalih tijekom reakcije hidrolize.



Slika 4.26. UV spektri spoja **2** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon pripreve otopine, dok su ostali snimani svake dvije minute kroz sat vremena: $c(\mathbf{2}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(H^+) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.

Detaljna kinetička mjerenja izvedena su pod uvjetima pseudo-prvog reda ($[H^+]$ ili $[OH^-] \geq 100 \times [\text{aroilhidrazon}]$) praćenjem promjene apsorbancije u vremenu na izabranim valnim

duljinama. U slučaju spoja **2** kinetička mjerenja u kiselom mediju izvršena su na 331 nm (slika 4.27).



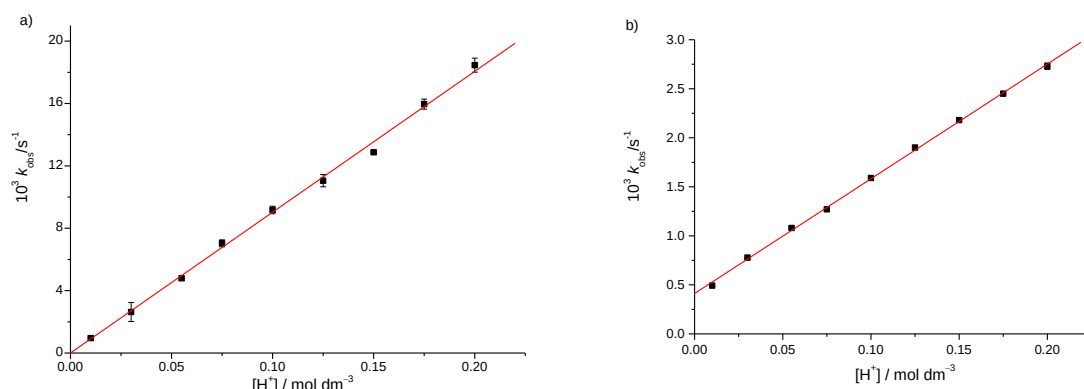
Slika 4.27. Tipičan kinetički trag reakcije hidrolize spoja **2** u kiselom mediju pri 331 nm. Uvjeti: $c(\mathbf{2}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}^+) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$. $\circ$ izmjerene apsorbancije, $-$ izračunate apsorbancije.

Dobiveni spektralni kinetički tragovi računski su obrađivani prema izrazu za padajuću monoeksponencijalnu funkciju

$$A_t = \Delta A \exp(-k_{\text{obs}} \cdot t) + A_{\infty} \quad (7)$$

gdje je A_t apsorbancija u vremenu t , ΔA ukupna promjena apsorbancije tijekom reakcije hidrolize, a A_{∞} apsorbancija u ravnotežnom stanju. Konstanta brzine k_{obs} je izračunata konstanta brzine pseudo-prvog reda što upućuje na zaključak da je reakcija hidrolize prvog reda u odnosu na istraživane aroilhidrazone.

Na slici 4.28 prikazana je ovisnost eksperimentalno dobivenih k_{obs} o koncentraciji iona H^+ u rasponu koncentracija HCl od $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ do $0,20 \text{ mol dm}^{-3}$ za spojeve **4** i **9**. Za ostale spojeve ova ovisnost prikazana je u dodacima 8.101–8.110. Vidljivo je da je brzina hidrolize ovih spojeva razmjerna koncentraciji protona što upućuje na zaključak da je reakcija hidrolize prvog reda u odnosu na $[\text{H}^+]$ pri navedenim uvjetima. Ovi rezultati u skladu su s rezultatima dobivenim u prijašnjim istraživanjima provedenim u sustavu dioksan/voda 1/1.⁹⁹

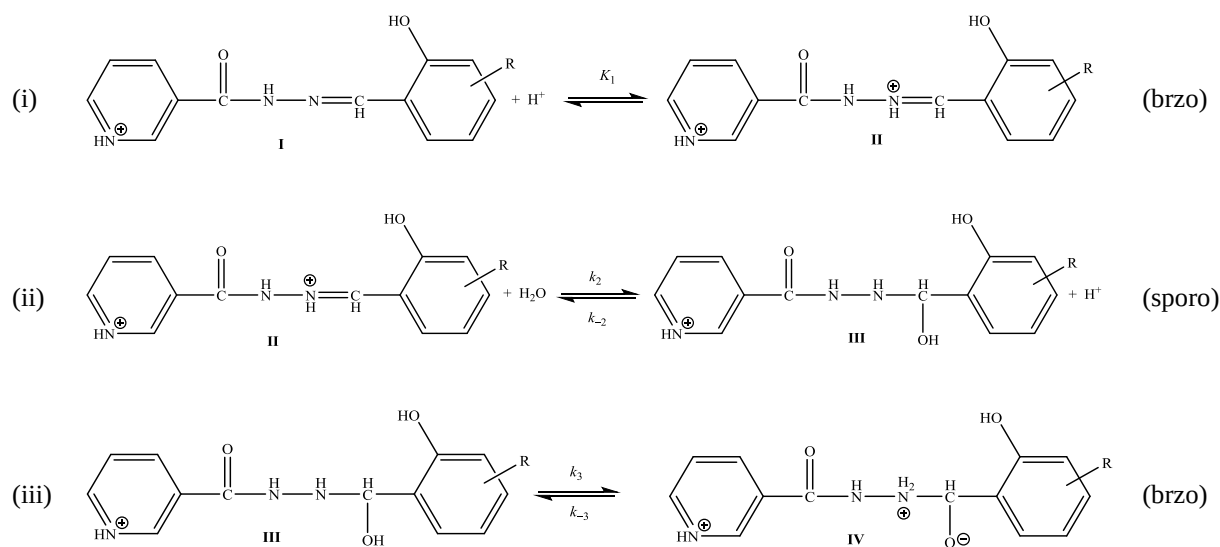


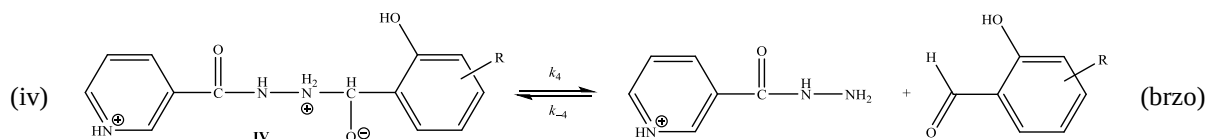
Slika 4.28. Ovisnost k_{obs} o koncentraciji iona H^+ u sustavu otapala metanol/voda 1/1 spojeva a) **4** i b) **9**. Uvjeti: $c(\text{4 ili 9}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.

Eksperimentalno dobivena konstanta brzine reakcije pseudo-prvog reda, k_{obs} , dobro je opisana jednadžbom 17.

$$k_{\text{obs}} = k' + k''[\text{H}^+] \quad (8)$$

Analogno ponašanje uočeno je za slične spojeve^{28,29,100} i karakteristično je za reakcije hidrolize dvostruke $\text{C}=\text{N}$ veze katalizirane vodikovim ionom. Mehanizam hidrolize dvostruke veze $\text{C}=\text{N}$ uključuje adiciju molekule H_2O ili iona OH^- na protonirani ili deprotonirani dušik ove veze.¹⁰¹ U kiselim otopinama azometinski dušik aroilhidrazona se može protonirati, dajući dipozitivni kation u ravnoteži s monopozitivnim. Dobiveni kinetički rezultati u kiselom mediju u skladu su s mehanizmom koji uključuje nukleofilnu adiciju vode na protonirani azometinski dušik te cijepanje $\text{C}-\text{N}$ veze (slika 4.29).





Slika 4.29. Predloženi mehanizam hidrolize spojeva **1-12** u kiselom mediju.

Prema predloženom mehanizmu (slika 4.29) ovisnost opaženih konstanti pseudo-prvog reda o $[H^+]$ može se izraziti jednadžbom 9.

$$k_{\text{obs}} = k_{-2} + \frac{k_2 K_1 [H^+]}{1 + K_1 [H^+]} \quad (9)$$

Imajući u vidu ravnotežna mjerenja znamo da su vrijednosti K_1 niske te slijedi da je umnožak $K_1[H^+] \ll 1$, pa jednadžbu 9 možemo napisati kao:

$$k_{\text{obs}} \approx k_{-2} + k_2 K_1 [H^+] \quad (10)$$

što je u skladu s opaženom linearnom ovisnošću k_{obs} o $[H^+]$. Usporedbom jednadžbi 8 i 10 vidljivo je da je $k'' = k_2 K_1$ a $k' = k_{-2}$. Vrijednosti produkta $k_2 K_1$ i konstanti k_{-2} dobivene linearnom regresijom iz eksperimentalnih podataka dane su u tablici 4.9.

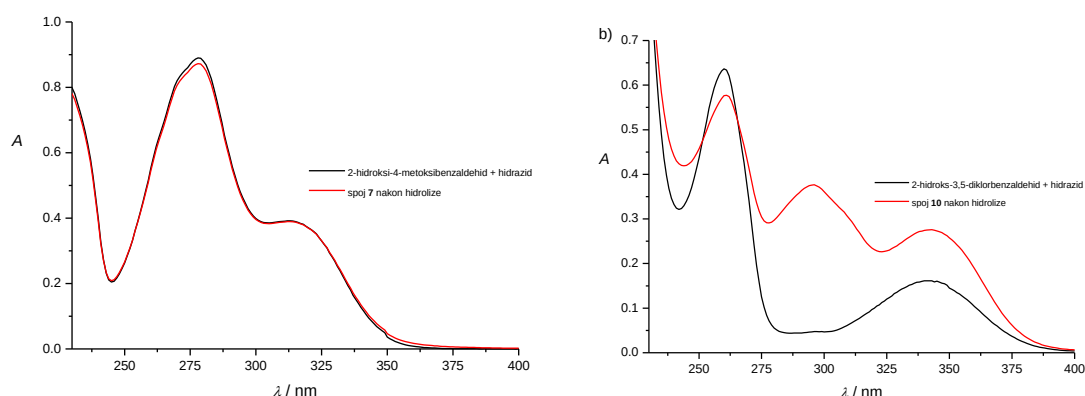
Tablica 4.9. Izračunate vrijednosti produkta $k_2 K_1$ i konstanti k_{-2} za reakciju hidrolize spojeva **1-12** u kiselom mediju. Otapalo: metanol/voda 1/1, $I_c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl) i $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$.

Spoj	$(k_{-2} \pm \sigma) / 10^{-3} \text{ s}^{-1}$	$(k_2 K_1 \pm \sigma) / 10^{-3} \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$
1	≈ 0	$20,2 \pm 0,2$
2	≈ 0	$21,1 \pm 0,3$
3	$0,26 \pm 0,03$	$11,3 \pm 0,2$
4	≈ 0	$91,1 \pm 0,7$
5	≈ 0	$22,5 \pm 0,2$
6	≈ 0	$20,6 \pm 0,3$
7	≈ 0	$60,6 \pm 0,2$
8	$0,84 \pm 0,01$	$5,8 \pm 0,1$
9	$0,46 \pm 0,02$	$11,4 \pm 0,1$

10	$0,94 \pm 0,04$	$7,8 \pm 0,3$
11	$2,1 \pm 0,1$	$12,2 \pm 0,5$
12	$\cong 0$	$38,1 \pm 0,2$

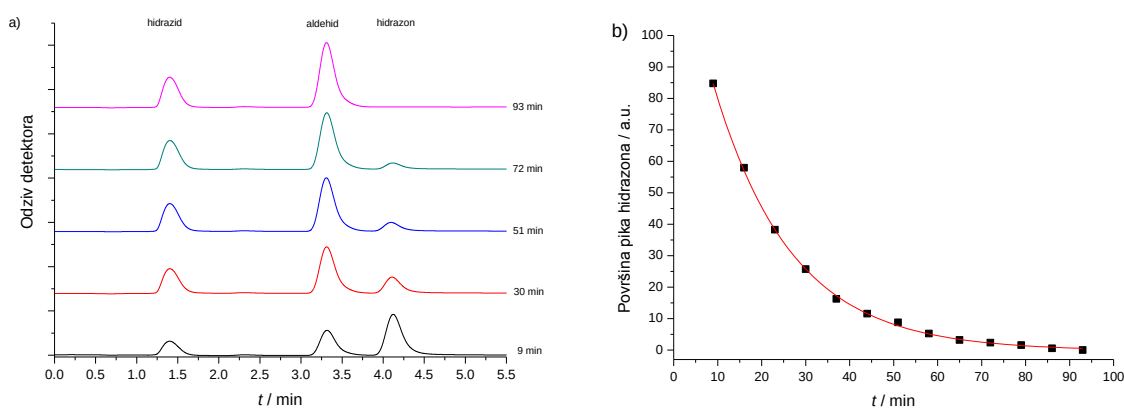
Nepostojanje mjerljive brzine reakcije pri beskonačno maloj koncentraciji iona H^+ (odsječak u grafu ovisnosti k_{obs} o $[H^+]$ je $\cong 0$) u slučaju spojeva **1**, **2**, **4–7** i **12** upućuje na „ireverzibilnost“ reakcije hidrolize pri navedenim eksperimentalnim uvjetima. Međutim, u slučajevima spojeva **3** i **8–11** značajan odsječak sugerira na postojanje ravnoteže između vrsta II i III (korak (ii) u predloženom mehanizmu (slika 4.29)).

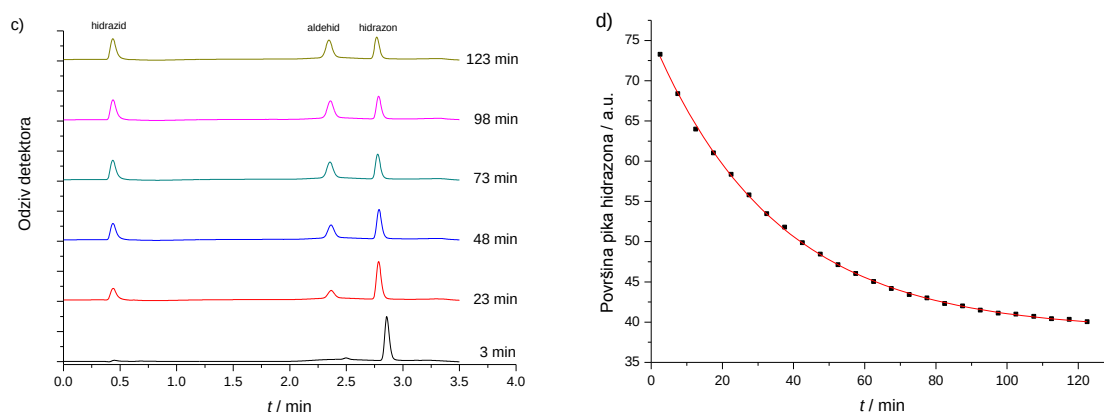
Kako je protonacija azometinskog dušika odlučujući čimbenik u hidrolizi aroilhidrazona u kiselim uvjetima moguće objašnjenje rezultata dobivenih za spojeve **8–11** je da elektron-odvlačeće skupine $-Cl$ i NO_2 smanjuju gustoću elektrona na $C=N$ dušiku otežavajući njegovo protoniranje i na taj način stabiliziraju hidrazonsku vezu. Ovo objašnjenje je u skladu s prijašnjim istraživanjima bazičnosti hidrazona,¹⁰² kao i s istraživanjima stabilnosti salicilaldehid-izonikotinoilnih analoga hidrazona.⁴⁶ Nadalje, iz tablice 4.9 je vidljivo da je utjecaj koncentracije iona H^+ na brzinu hidrolize aromatskih hidrazona najizraženiji kod spojeva **4** i **7** s elektron-donirajućim skupinama u *para* položaju u odnosu na dvostruku $C=N$ vezu ($-OH$ u *para* položaju spoja **4** i $-OCH_3$ u *para* položaju spoja **7**). Ove skupine doniraju elektrone azometinskom dušiku kroz konjugaciju $C=N$ veze i aromatskog prstena, pa on postaje bazičniji i lakše se protonira. Kako bi se bolje razumjela razlika u ponašanju istraživanih spojeva pri beskonačno maloj koncentraciji iona H^+ snimljeni su i UV spektri reakcijskih smjesa nakon reakcije hidrolize. UV spektri reakcijskih otopina spojeva **1**, **2**, **4–7** i **12** nakon reakcije hidrolize odgovarali su sumi spektara odgovarajućeg aldehida i hidrazida nikotinske kiseline kao konačnih produkata hidrolize (slika 4.30a). Ovi rezultati potvrđuju da je hidroliza ovih spojeva u kiselom mediju potpuna, tj. da je k_{-4} u koraku (iv) (slika 4.29) predloženog mehanizma zanemariva. Nasuprot tome, u slučaju spojeva **3** i **8–11** UV spektri konačnih reakcijskih otopina ne odgovaraju sumi spektara konačnih produkata hidrolize što sugerira postojanje ravnoteže između konačnih produkata hidrolize i međuprodukta IV (slika 4.30b) tj. upućuje na zaključak da u slučaju ovih spojeva i pri ovim eksperimentalnim uvjetima reakcija hidrolize nije potpuna. Da bi se to potvrdilo napravljeni su dodatni kromatografski eksperimenti.



Slika 4.30. UV spektri konačnih reakcijskih otopina hidrazona i sume odgovarajućih aldehida i hidrazida nikotinske kiseline a) spoja **7** i b) spoja **10**. Uvjeti: $c(\mathbf{7}$ ili $\mathbf{10}) = c(\text{2-hidroksi-4-metoksi- ili 2-hidroksi-3,5-diklorbenzaldehyd}) = c(\text{hidrazid}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}^+) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.

Kinetika hidrolize spojeva **3**, **4**, **10** i **11** u kiselom mediju praćena je korištenjem HPLC-a. Dobiveni rezultati su u skladu s rezultatima dobivenim spektrofotometrijskim mjerenjima. Iz kromatograma prikazanih na slici 4.32 i dodatku 8.111 može se zaključiti da je hidroliza spoja **4** potpuna na temelju nestanka kromatografskog pika koji odgovara hidrazonu, dok je hidroliza ostalih spojeva djelomična.

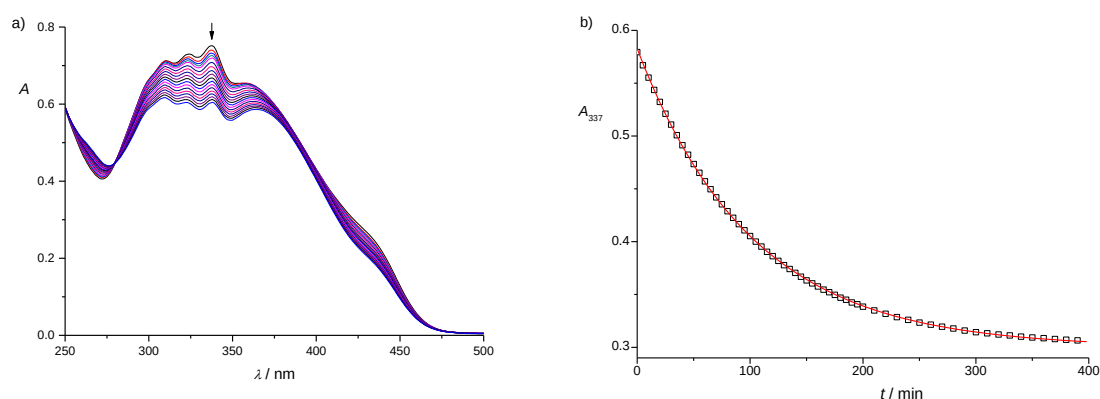




Slika 4.31. a) Odabrani kromatogrami spoja **4** i b) vremenska ovisnost površine pika hidrazona **4** (pikovi su detektirani pri 231 nm). c) Odabrani kromatogrami spoja **10** i d) vremenska ovisnost površine pika hidrazona **10** (pikovi su detektirani pri 259 nm). Uvjeti: metanol/voda 1/1, $c(\mathbf{4}$ ili **10**) = 5×10^{-5} mol dm⁻³, $c(\text{H}^+) = 0,10$ mol dm⁻³.

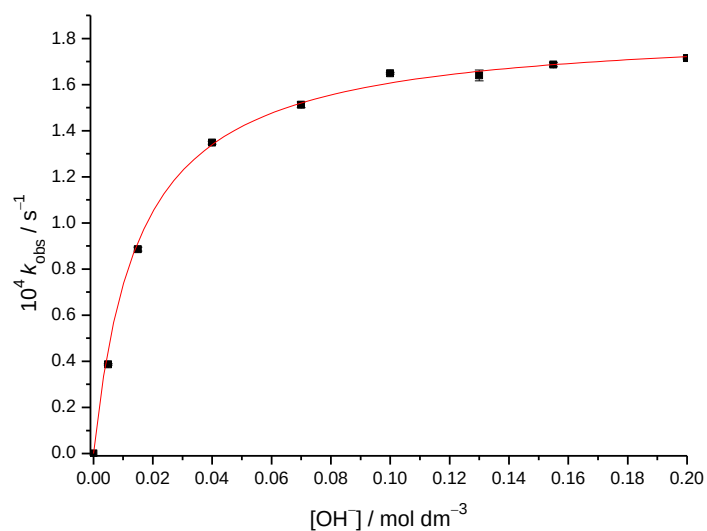
Retencijska vremena produkata hidrolize, aldehida i hidrazida nikotinske kiseline, određena su u zasebnim eksperimentima. Vrijednosti k_{obs} izračunate iz kromatografskih podataka su u dobrom slaganju s rezultatima dobivenim spektrofotometrijski. Za spoj **4**, k_{obs} dobivena iz UV podataka iznosila je $(9,54 \pm 0,04) \cdot 10^{-4}$ s⁻¹, a dobivena kromatografijom HPLC $(9,41 \pm 0,02) \cdot 10^{-4}$ s⁻¹. Za spoj **10**, k_{obs} dobivena iz UV podataka iznosila je $(4,37 \pm 0,01) \cdot 10^{-4}$ s⁻¹, a dobivena HPLC-om $(4,40 \pm 0,20) \cdot 10^{-4}$ s⁻¹. Za spoj **11**, k_{obs} dobivena iz UV podataka iznosila je $(11,422 \pm 0,003) \cdot 10^{-4}$ s⁻¹, a dobivena kromatografijom HPLC $(10,027 \pm 0,003) \cdot 10^{-4}$ s⁻¹.

Kao što je spomenuto ranije kinetika hidrolize spojeva **1–12** detaljno je istražena i u bazičnom mediju. U istraživanom rasponu koncentracija iona OH⁻ (0,005–0,20 mol dm⁻³) tijekom vremena nisu uočene značajne spektralne promjene otopina spojeva **1**, **4** i **12**, na temelju čega se s priličnom sigurnošću može zaključiti da je hidroliza ovih spojeva pri navedenim uvjetima zanemariva (dodaci 8.112, 8.113 i 8.121). S druge strane, u UV spektrima lužnatih otopina spojeva **2** i **6–11** primijećene su značajne promjene tijekom vremena (slika 4.32, dodaci 8.115–8.120). Baš kao i u kiselom mediju u ovim spektrima uočavaju se dobro definirane izosbestične točke tijekom vremena reakcije hidrolize, te su stoga dobiveni kinetički tragovi na izabranim valnim duljinama obrađeni prema izrazu za monoeksponencijalnu padajuću funkciju (jednadžba 7).



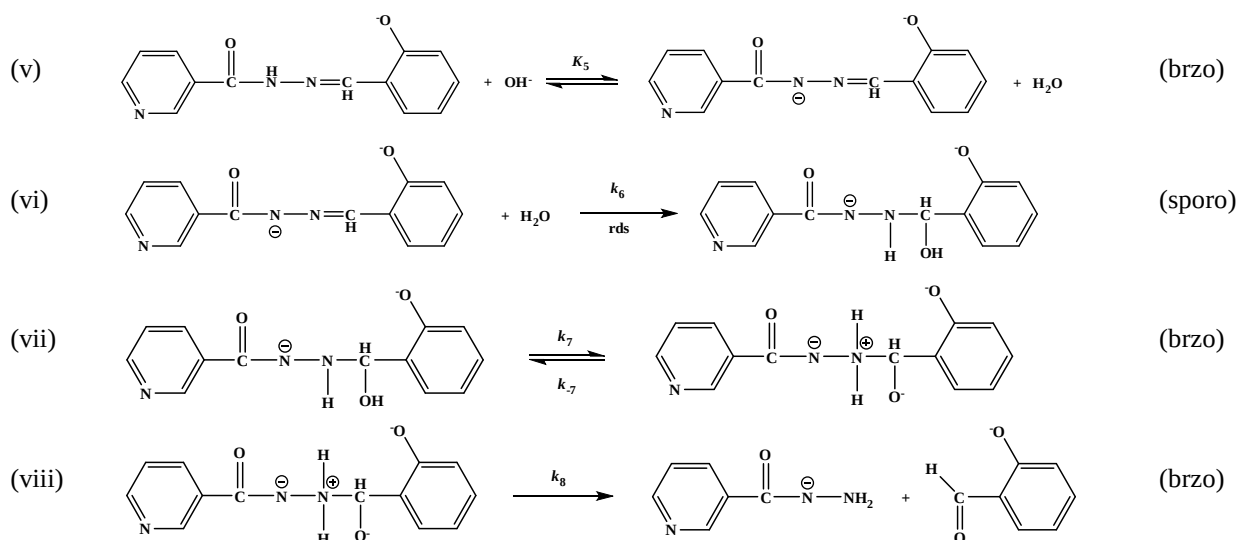
Slika 4.32. a) UV spektri spoja **2** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon pripreve otopine, dok su ostali snimani svake 4 minute kroz 120 minuta: $c(\mathbf{2}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{OH}^-) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$. b) Vremenska ovisnost apsorbancija pri 337 nm.

Ovisnost odgovarajućih izračunatih k_{obs} o $[\text{OH}^-]$ prikazana je na slici 4.33 i dodacima 8.122–8.127. Vidljivo je da brzina reakcije hidrolize raste s porastom koncentracije iona OH^- te da pri visokim koncentracijama iona OH^- poprima maksimalnu vrijednost i neovisna je o $[\text{OH}^-]$.



Slika 4.33. Ovisnost k_{obs} spoja **2** o koncentraciji OH^- u sustavu otapala metanol/voda 1/1: $c(\mathbf{2}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$.

Na temelju kinetičkih rezultata može se pretpostaviti sljedeći mehanizam hidrolize spojeva **2** i **6–11** u lužnatom mediju:

Slika 4.34. Predloženi mehanizam hidrolize spojeva **2** i **6–11** u lužnatom mediju.

Prema predloženom mehanizmu ovisnost opaženih konstanti pseudo-prvog reda o koncentraciji iona OH^- može se izraziti jednadžbom 11:

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_6 K_5 [\text{OH}^-]}{1 + K_5 [\text{OH}^-]} \quad (11)$$

Pri niskim koncentracijama iona OH^- , umnožak $K_5[\text{OH}^-]$ je puno manji od 1, vrijednost k_{obs} je razmjerna $[\text{OH}^-]$, tj. $k_{\text{obs}} = k_6 K_5 [\text{OH}^-]$. S druge strane, pri višim koncentracijama iona OH^- , kad je $K_5[\text{OH}^-] \gg 1$, $k_{\text{obs}} = k_6$ i brzina reakcije je neovisna o $[\text{OH}^-]$. Stupanj koji određuje brzinu reakcije je napad molekule vode na deprotonirani hidrazon tj. korak (vi) u predloženom mehanizmu. Izračunati parametri K_5 i k_6 dani su u tablici 4.10 i u skladu su s prethodno dobivenim rezultatima u sustavu otapala dioksan/voda.⁹⁹

Tablica 4.10. Vrijednost parametara k_6 i K_5 za lužnatu hidrolizu spojeva **2** i **6–11** u sustavu otapala metanol/voda 1/1, $I_c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl) i $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$.

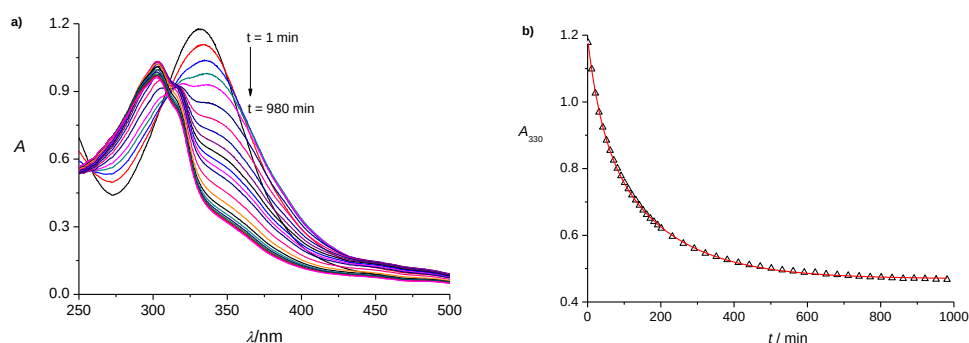
Spoj	$(k_6 \pm \sigma) / 10^{-5} \text{ s}^{-1}$	$(K_5 \pm \sigma) / \text{dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$
2	$19 \pm 0,2$	65 ± 6
6	$18 \pm 0,5$	64 ± 15
7	$12 \pm 0,2$	37 ± 3
8	$32 \pm 0,2$	166 ± 21
9	$14 \pm 0,1$	211 ± 30

10	$26 \pm 0,2$	331 ± 68
11	$26 \pm 0,1$	347 ± 44

U slučaju spojeva **3** i **5** UV spektri reakcije hidrolize u lužnatim uvjetima tijekom vremena upućuju na proces koji se događa u više koraka (slika 4.35a i dodatak 8.114). Dobiveni spektralni kinetički tragovi na izabranim valnim duljinama pokazuju bifazni karakter te su računski obrađivani prema izrazu za bieksponecijalnu funkciju

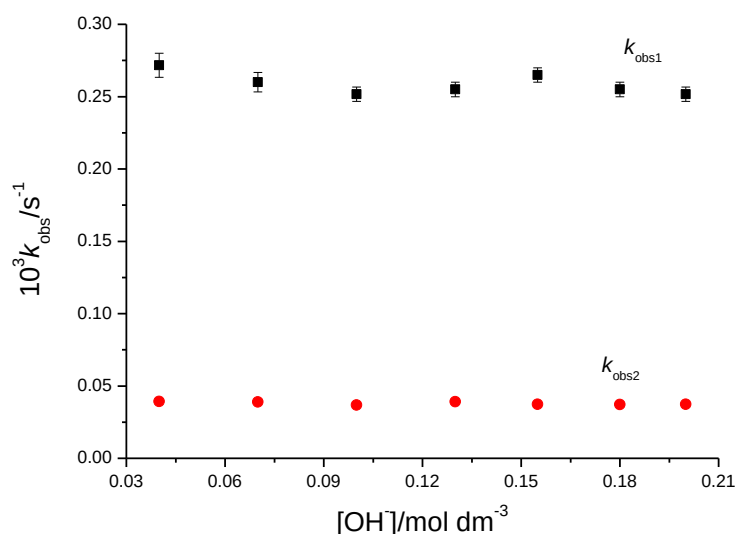
$$A_t = \Delta A_1 e^{-k_{\text{obs}1}t} + \Delta A_2 e^{-k_{\text{obs}2}t} + A_{\infty} \quad (12)$$

gdje ΔA_1 i ΔA_2 predstavljaju ukupnu promjenu apsorbancije tijekom prvog odnosno drugog koraka reakcije, A_t predstavlja apsorbanciju u vremenu t , A_{∞} apsorbanciju u ravnotežnom stanju, a $k_{\text{obs}1}$ i $k_{\text{obs}2}$ su izračunate konstante brzine pseudo-prvog reda.



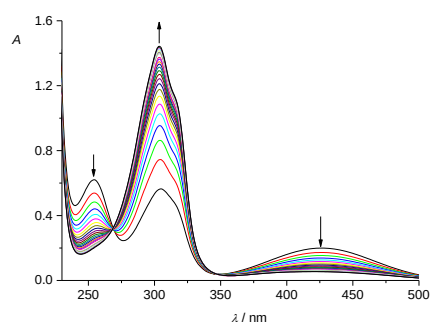
Slika 4.35. a) UV spektri spoja **3** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. $c(\mathbf{3}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{OH}^-) = 0,07 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$. b) Vremenska ovisnost apsorbancije pri 330 nm.

Iz grafičkog prikaza ovisnosti izračunatih konstanti brzine o koncentraciji iona OH^- (slika 4.36) vidljivo je da su oba procesa neovisna o pH. Sama priroda ovih procesa nije jasna. Prvi proces najvjerojatnije odgovara potpunoj hidrolizi deprotoniranog hidrazona pri čemu nastaju hidrazid nikotinske kiseline i 2,3- ili 2,5-dihidroksibenzaldehida, dok drugi proces može odgovarati oksidaciji nastalih dihidroksibenzaldehida (slika 4.35).



Slika 4.36. Ovisnost k_{obs} spoja **3** o koncentraciji OH^- u sustavu otapala metanol/voda 1/1: $c(\mathbf{3}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.

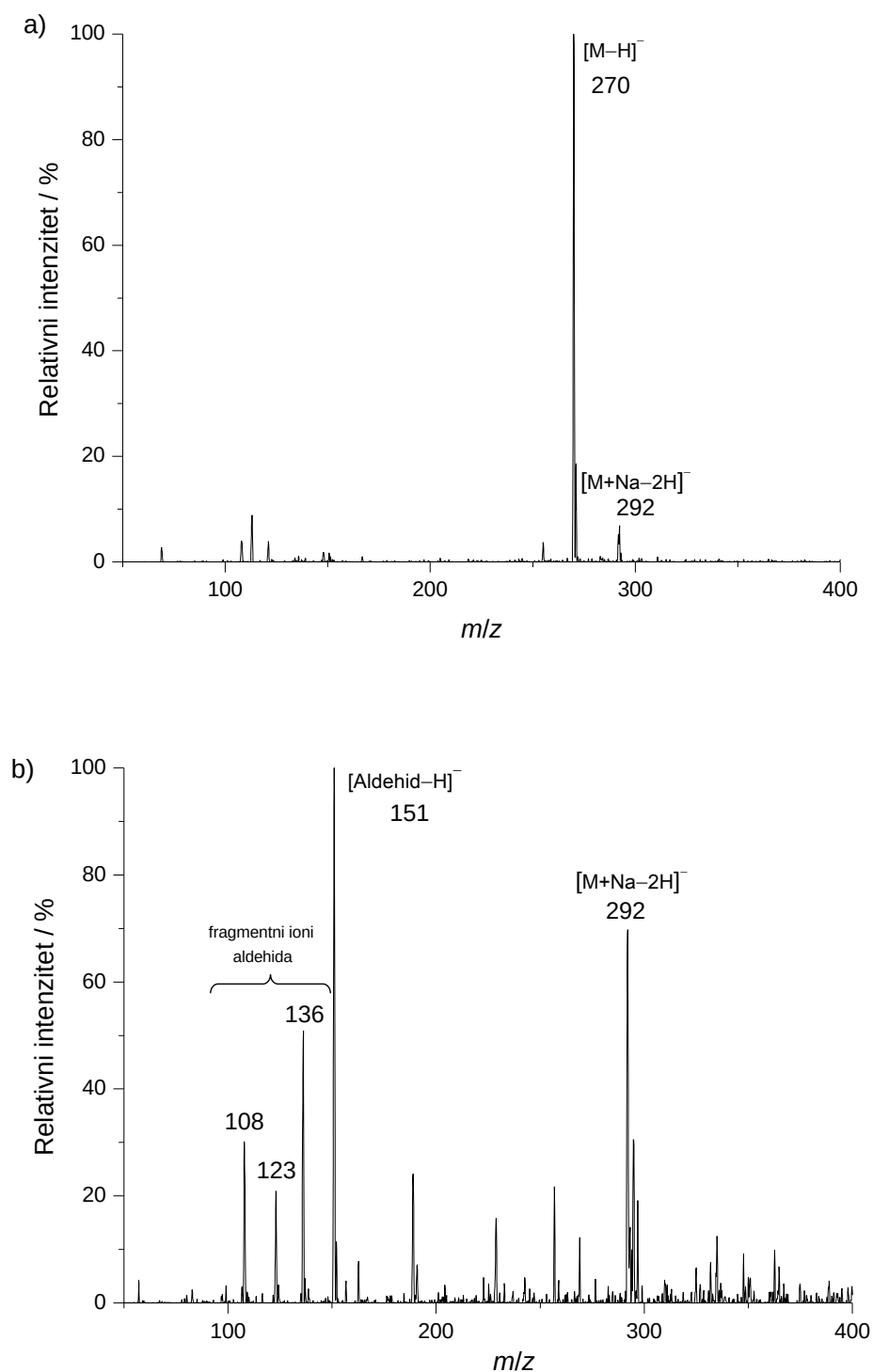
Kako bi se dobio bolji uvid u mehanizam hidrolize spojeva **3** i **5** u lužnatom mediju, proučila se i hidrolitička stabilnost hidrazida nikotinske kiseline, 2,3- i 2,5-dihidroksibenzaldehida pri istim eksperimentalnim uvjetima. Na temelju zanemarivih spektralnih promjena tijekom vremena može se zaključiti da je hidrazid nikotinske kiseline pri ovim uvjetima stabilan (dodatak 8.128). Nasuprot tome, značajne promjene tijekom vremena u spektrima 2,3- i 2,5-dihidroksibenzaldehida upućuju na nestabilnost ovih spojeva u lužnatom mediju (slika 4.38 i dodatak 8.129).



Slika 4.37. UV-Vis spektri 2,3-dihidroksibenzaldehida u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon priprave otopine, dok su ostali snimani svakih 5 minuta kroz 120 minuta: $c(2,3\text{-dihidroksibenzaldehid}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(OH^-) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.

Pad apsorbancije pri 427 nm (2,3-dihidroksibenzaldehid) i 453 nm (2,5-dihidroksibenzaldehid) te porast pri 304 nm najvjerojatnije su posljedica oksidacije ovih spojeva u odgovarajuće semikinonske radikale i kinone. U prilog ovoj pretpostavci ide u literaturi opisana autooksidacija različitih *orto*- i *para*-dihidroksi spojeva u kinone u lužnatom mediju.^{102,103} Međutim, nije bilo moguće pretpostaviti odgovarajući model koji bi dobro opisao dobivene eksperimentalne podatke kinetičkih mjerenja te su potrebni dodatni eksperimenti za potpuno objašnjenje ovih procesa. Isto tako u kromatogramima čistih 2,3- i 2,5-dihidroksibenzaldehida (dodatak 8.130) u lužnatom mediju tijekom vremena uočen je i nastanak dodatnog kromatografskog pika (osim pika samog aldehida). Da bi se identificirali ti produkti korištena je i spektrometrija masa.

Spektri masa spojeva **3**, **4**, **5**, **7** i **10** i njihovih odgovarajućih aldehida u lužnatom mediju snimljeni su uz pozitivnu i negativnu ionizaciju. Ovi spojevi su izabrani jer su hidrazoni **7** i **10** u potpunosti hidrolizirali u lužnatom mediju prema predloženoj shemi (slika 4.34), spoj **4** je bio stabilan pri tim eksperimentalnim uvjetima, a za spojeve **3** i **5** se pretpostavilo nastajanje kinona. Snimljeni su i spektri masa odgovarajućih aldehida za potvrdu produkata hidrolize. Na slici 4.39 prikazani su spektri masa spoja **7** u lužnatom snimljeni odmah po pripravi otopine i nakon 24 sata. Signal deprotonirane molekule spoja **7** ($[M-H]^-$) najzastupljeniji je u spektru masa snimljenom odmah po pripravi otopine, a u potpunosti nestaje u spektru otopine spoja **7** snimljenom nakon 24 sata. U tom spektru mogu se uočiti signali pri m/z 151, 136, 123 i 108, assignirani deprotoniranom aldehidu ($M_r(A) = 152$) i fragmentnim ionima: $[A-CH_3]^-$, $[A-CO]^-$ i $[A-CO-CH_3]^-$. Spektar masa 2-hidroksi-4-metoksibenzaldehida sadržavao je iste ione, ali se nije mijenjao tijekom vremena (dodatak 8.131). Na temelju ovih rezultata zaključeno je da su produkti hidrolize spoja **7** u lužnatom mediju hidrazid nikotinske kiseline i 2-hidroksi-4-metoksibenzaldehid, dok su fragmentni ioni nastali tijekom procesa elektroraspršenja.



Slika 4.38. Spektar masa spoja **7** ($M_r = 271$) uz negativnu ionizaciju u sustavu metanol/voda 1/1, a) odmah nakon priprave otopine, b) nakon 24 sata: $c(\mathbf{7}) = 5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{OH}^-) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$.

Slični podaci dobiveni su i za spoj **10** (dodatak 8.132). Signal iona $[M-H]^-$ pri m/z 308 uočen je u spektru masa snimljenom odmah po pripravi otopine, dok su u spektru snimljenom nakon 24 sata uočeni jedino signali iona $[A-H]^-$ (m/z 189) i $[A-CO]^-$ (m/z 161). Promjene u spektru masa 2-hidroksi-3,5-diklorbenzaldehida nisu uočene tijekom vremena, tj. uočeni su signali iona $[A-H]^-$ (m/z 189) i $[A-CO]^-$ (m/z 161) odmah po pripravi i nakon 24 sata.

Najintenzivniji signali u spektrima masa otopina spojeva **7** i **10** snimljenim uz pozitivnu ionizaciju odmah po pripravi pripisani su ionima $[M+Na]^+$. U spektrima masa snimljenim nakon 24 sata ti signali nisu više prisutni.

Spektri masa spoja **4** snimljeni odmah po pripravi otopine i nakon 24 sata nisu se razlikovali. Najintenzivniji signal pri m/z 256 pripisan je ionu $[M-H]^-$. Rezultati su u skladu s onima dobivenim spektrofotometrijskim određivanjima, potvrđujući stabilnost spoja **4** u lužnatom mediju. Također u spektru masa 2,4-dihidroksibenzaldehida tijekom vremena nisu opažene promjene, a najintenzivniji signal uočen pri m/z 137 odgovara deprotoniranom aldehidu, $[A-H]^-$.

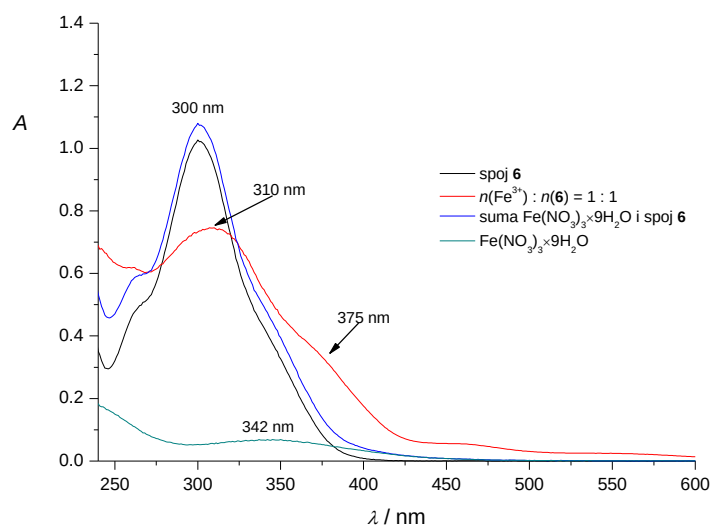
Za razliku od spektara masa spoja **4**, spektri masa spojeva **3** i **5** snimljeni tijekom vremena potpuno su različiti (dodatak 8.133). Signali pri m/z 256, pripisani ionu $[M-H]^-$ opaženi su u spektrima snimljenim odmah po pripravi otopina. U spektrima snimljenim nakon 24 sata ti signali nedostaju, kao i signali odgovarajućih aldehida. Međutim, uočen je signal m/z 225 pripisan ionu $[M-H-31]^-$. Razlika od 31 Da pripisana je gubitku CH_2OH skupine. Provedena je MS/MS analiza (dodatak 8.134) i predložen mehanizam fragmentacije koji uključuje nastajanje radikala (dodatak 8.135). Nastajanje radikala predloženo je i pri MS/MS analizi fenolnih spojeva, uključujući kofeinsku kiselinu, s dvije hidroksilne skupine na benzenskom prstenu.¹⁰⁴ U spektru masa 2,3- i 2,5-dihidroksibenzaldehida snimljenim odmah po pripravi otopina opaženi su signali $[A-H]^-$ iona pri m/z 137, ali ih nema u spektrima masa snimljenim nakon 24 sata, ukazujući na oksidaciju dihidroksibenzaldehida u kinone. Dobiveni rezultati u skladu su s rezultatima UV i HPLC mjerenja.

4.6. Kompleksiranje željeza(III) spojevima 6 i 7

Željezo je esencijalni element uključen u brojne biološke funkcije.^{30,46} Ukoliko nije adekvatno vezano može katalizirati Fentonovu reakciju u kojoj nastaju izrazito reaktivni i toksični hidroksilni radikali.⁴⁶ Prekomjerna količina željeza može nastati tijekom transfuzije kod pacijenata koji boluju od talasemije major, aplastične anemije ili mijelodisplastičnog sindroma.³⁰ U ovom radu istraženo je kompleksiranje željeza(III) spojevima **6** i **7** u sustavu otapala MeOH/H₂O 1:1 UV-Vis spektrofotometrijom i spektrometrijom masa. Ekstrakcija iona Fe³⁺ iz kisele vodene otopine u kloroform praćena je spektrofotometrijski.

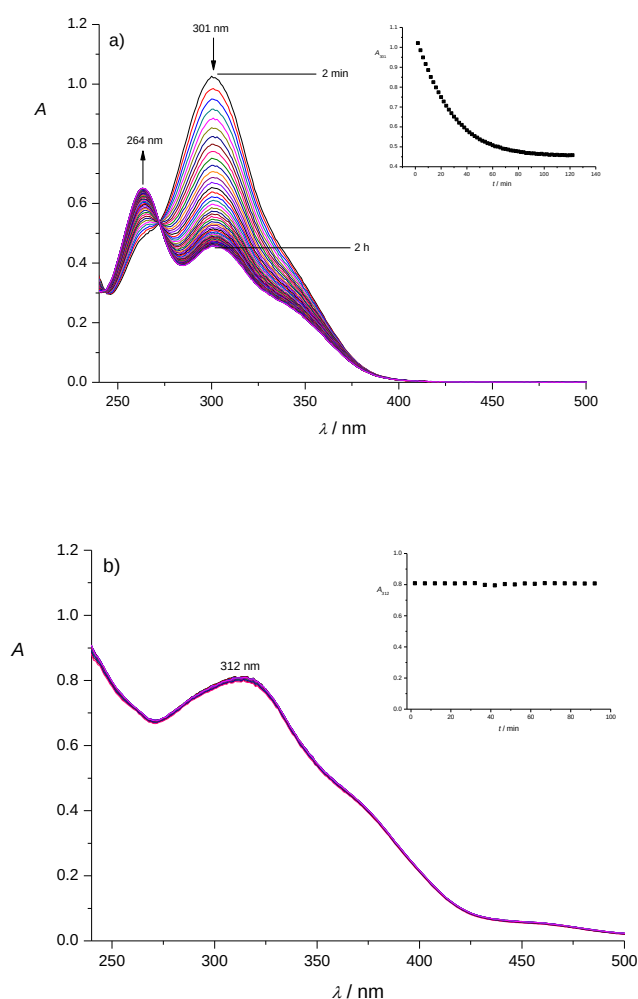
4.6.1. UV-Vis spektrofotometrijska mjerenja

Na slici 4.39 prikazani su spektri otopine spoja **6**, otopine spoja **6** i željeza(III) omjera 1 : 1, suma spektara željeza(III) i spoja **6** te otopina željezova(III) nitrata nonahidrata u sustavu metanol/voda 1/1 ($c(\text{HNO}_3) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$). Željezov(III) nitrat apsorbira pri 342 nm, a spoj **6** pri 300 nm. Vrpca pri 310 nm i rame pri 375 nm pripisane su kompleksu spoja **6** i željeza(III).



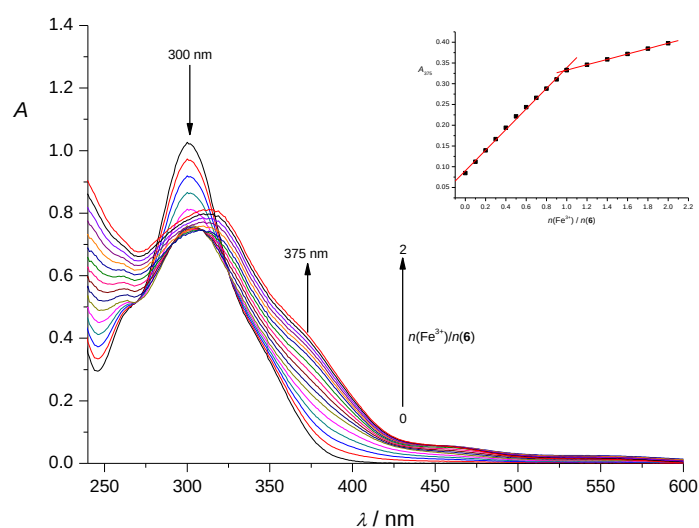
Slika 4.39. UV-Vis spektri otopine spoja **6** ($5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$), otopine omjera $n(\mathbf{6}) : n(\text{Fe}^{3+}) = 1 : 1$ ($c(\mathbf{6}) = c(\text{Fe}^{3+}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$), suma spektara otopina spoja **6** ($5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) i otopine $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \times 9\text{H}_2\text{O}$ ($5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) i spektar otopine $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \times 9\text{H}_2\text{O}$ ($5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) u sustavu metanol/voda 1/1 ($0,01 \text{ mol dm}^{-3} \text{ HNO}_3$); $l = 1 \text{ cm}$.

Kako bi se ispitala stabilnost nastalog kompleksa snimljeni su UV-Vis spektri otopina različitih omjera $n(\text{Fe}^{3+})/n(\mathbf{6} \text{ ili } \mathbf{7})$ u sustavu otapala metanol/voda 1/1 ($0,01 \text{ mol dm}^{-3} \text{ HNO}_3$) tijekom vremena. Spektri su prikazani na slici 4.40 i dodacima 8.136 i 8.137. Spektri otopina omjera $n(\text{Fe}^{3+})/n(\mathbf{6} \text{ ili } \mathbf{7}) = 0$ i 0,5 mijenjali su se tijekom vremena zbog hidrolize liganada u kiselom. Pri omjerima $n(\text{Fe}^{3+})/n(\mathbf{6} \text{ ili } \mathbf{7}) = 1$ ili 2 nije uočena promjena u apsorbanciji tijekom vremena iz čega se može zaključiti da su spojevi **6** i **7** stabilizirani uslijed vezanja Fe^{3+} te hidroliza nije uočena.

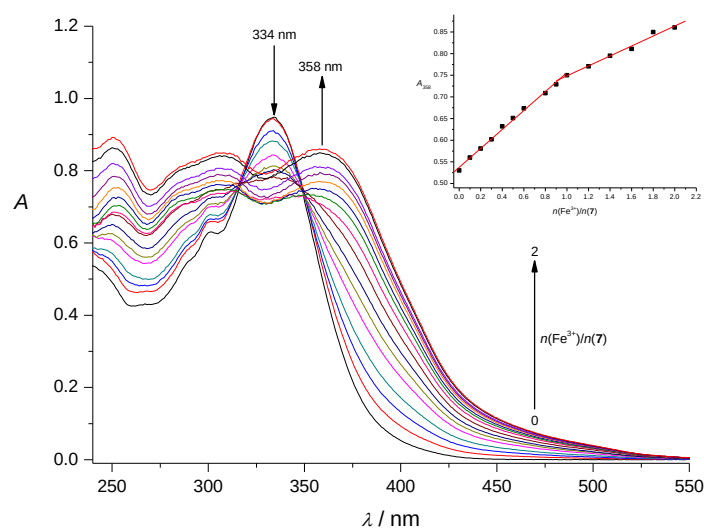


Slika 4.40. UV-Vis spektri a) otopine omjera $n(\text{Fe}^{3+})/n(\mathbf{6}) = 0$ tijekom 122 minute i b) $n(\text{Fe}^{3+})/n(\mathbf{6}) = 2$ tijekom 92 minute. $c(\mathbf{6}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$; metanol/voda 1/1 ($c(\text{HNO}_3) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$); $l = 1 \text{ cm}$. **Umetci:** a) apsorbancija pri 301 nm tijekom vremena i b) apsorbancija pri 312 nm tijekom vremena.

Zbog hidroliza spojeva **6** i **7** u kiselom napravljene su "batch" spektrofotometrijske titracije, a rezultati su prikazani na slikama 4.41 i 4.42.



Slika 4.41. Titracija **6** s Fe^{3+} . $c(\mathbf{6}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$; metanol/voda 1/1 ($c(\text{HNO}_3) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$); $l = 1 \text{ cm}$. **Umetak:** apsorbancija pri 375 nm u ovisnosti o omjeru $n(\text{Fe}^{3+})/n(\mathbf{6})$.



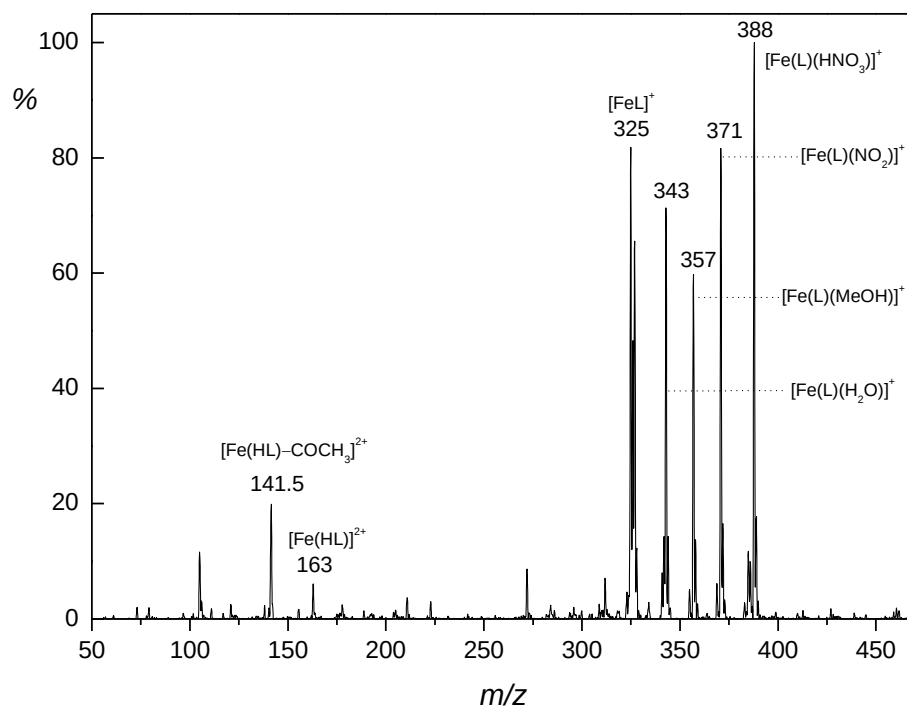
Slika 4.42. Titracija **7** s Fe^{3+} . $c(\mathbf{7}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$; metanol/voda 1/1 ($c(\text{HNO}_3) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$); $l = 1 \text{ cm}$. **Umetak:** apsorbancija pri 358 nm u ovisnosti o omjeru $n(\text{Fe}^{3+})/n(\mathbf{7})$.

Obzirom da se pravci sijeku pri omjeru $n(\text{Fe}^{3+})/n(\text{hidrazon}) = 1$ može se zaključiti da nastaju kompleksi stehiometrije 1:1 relativno velike konstante stabilnosti ($\log K \geq 6$). Dobiveni rezultati u skladu su s literaturnim podacima o vezanju Fe^{3+} sa strukturno sličnim spojevima opće formule H_2L .⁵⁴ Konkretno, kompleksiranje iona željeza praćeno je s piridoksal-

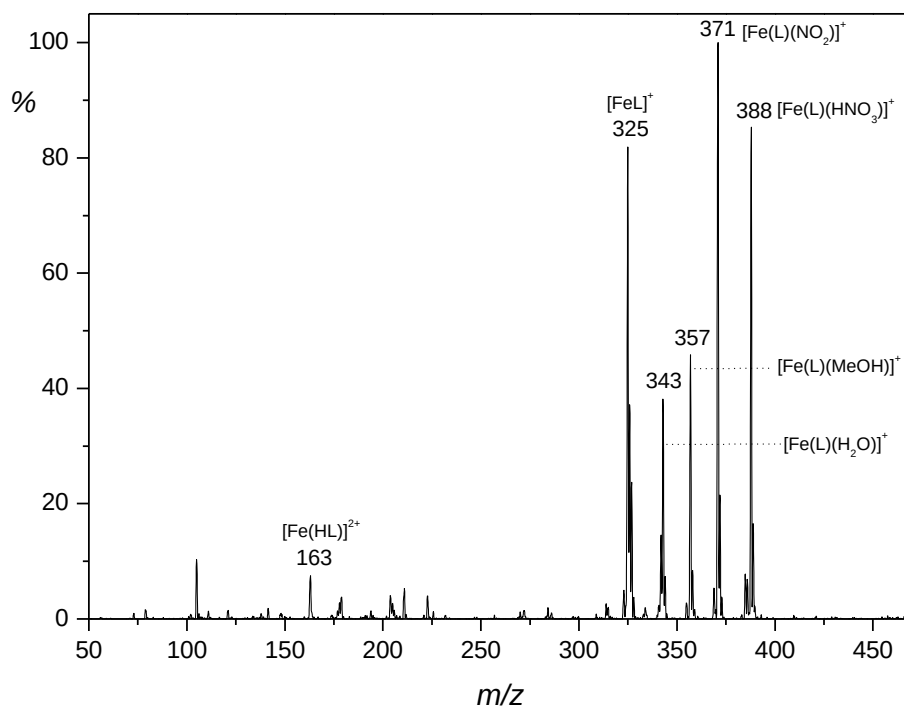
izonikotinoilhidrazonom (PIH), piridoksal-benzoilhidrazonom (PBH), 3-hidroksiizonikotinaldehid-izonikotinoilhidrazonom (IIH) te salicilaldehid-izonikotinoilhidrazonom (SIH). Na temelju spektrofotometrijskih i potenciometrijskih određivanja autori su zaključili da u pH području 1,5–3,2 nastaju kompleksi stehiometrije 1:1 kao što su $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{L})]^{3+}$ pri čemu je $\text{H}_2\text{L} = \text{PIH}$ i IIH , te $[\text{Fe}(\text{HL})]^{2+}$ pri čemu je $\text{H}_2\text{L} = \text{IIH}$, PBH i SIH. Kompleksi stehiometrije 1:2 nastaju isključivo iznad pH 3,2. Kompleksi $[\text{Fe}(\text{HL})_2]^+$, $[\text{Fe}(\text{HL})(\text{L})]$ i $[\text{Fe}(\text{L})_2]^-$ nastaju sa svim ligandima, a $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{L})_2]^{3+}$ samo s PIH i IIH.

4.6.2. Identifikacija kompleksnih spojeva spektrometrijom masa

Kako bi se dodatno istražilo vezanje iona Fe^{3+} spojevima **6** i **7** provedena su mjerenja spektrometrijom masa. Spektri masa smjese Fe^{3+} i spojeva **6** i **7** u omjeru 1:1 u sustavu otapala metanol/voda 1/1 ($0,01 \text{ mol dm}^{-3} \text{ HNO}_3$) prikazani su na slikama 4.43 i 4.44. Asignacija signala i relativni intenziteti signala prikazani su u tablici 4.11. Kako bi oznaka liganda ujedno označavala i naboj liganda u kompleksnom spoju, spojevi **6** i **7** u nastavku teksta prikazani su kao H_2L . Najintenzivniji signali odgovaraju aduktima kompleksa FeL s dušičnom kiselinom. Intenzivni signal jednostruko nabijenog kompleksnog iona u kojem je ligand dvostruko deprotonirani ion $[\text{Fe}(\text{L})]^+$ uočen je pri m/z 325. Signal dvostruko nabijenog iona niskog intenziteta pri m/z 163 pripisan je ionu $[\text{Fe}(\text{HL})]^{2+}$.



Slika 4.43. Spektar masa otopine spoja **6** i Fe^{3+} . $c(\mathbf{6}) = c(\text{Fe}^{3+}) = 5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, metanol/voda 1/1 ($c(\text{HNO}_3) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$); ESI(+).



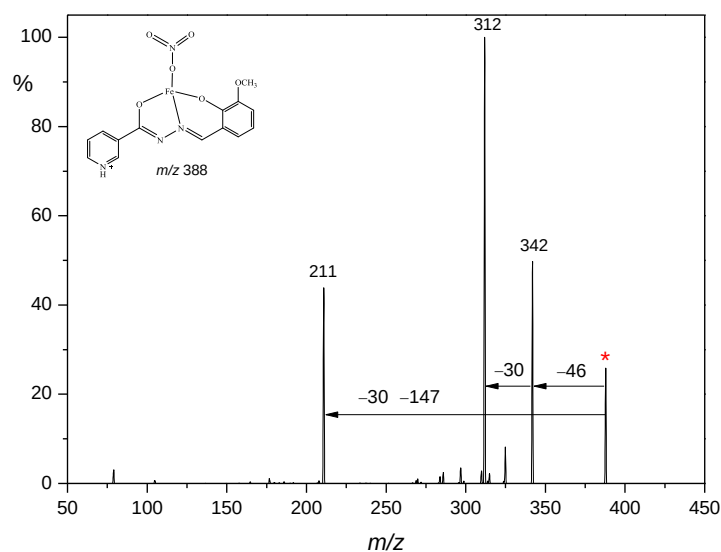
Slika 4.45. Spektar masa otopine spoja **7** i Fe^{3+} . $c(\mathbf{7}) = c(\text{Fe}^{3+}) = 5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, metanol/voda 1/1 ($c(\text{HNO}_3) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$). ESI(+).

Tablica 4.11. Relativni intenziteti iona pri vrijednostima m/z za spojeve **6** i **7** sa Fe^{3+} .

$c(\mathbf{6}$ ili $\mathbf{7}) = c(\text{Fe}^{3+}) = 5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, metanol/voda 1/1 ($c(\text{HNO}_3) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$). ESI(+).

Ion	m/z	Fe- 6 / %	Fe- 7 / %
$[\text{Fe}(\text{L})(\text{HNO}_3)]^+$	388	100	85,34
$[\text{Fe}(\text{L})(\text{NO}_2)]^+$	371	81,66	100
$[\text{Fe}(\text{L})(\text{MeOH})]^+$	357	59,77	45,82
$[\text{Fe}(\text{L})(\text{H}_2\text{O})]^+$	343	71,36	38,14
$[\text{Fe}(\text{L})]^+$	325	81,84	81,87
$[\text{Fe}(\text{HL})]^{2+}$	163	6,05	7,51
$[\text{Fe}(\text{HL})\text{--COCH}_3]^{2+}$	141,5	19,90	—
$[\text{Py}\text{--C=NH}]^+$	105	11,64	10,30

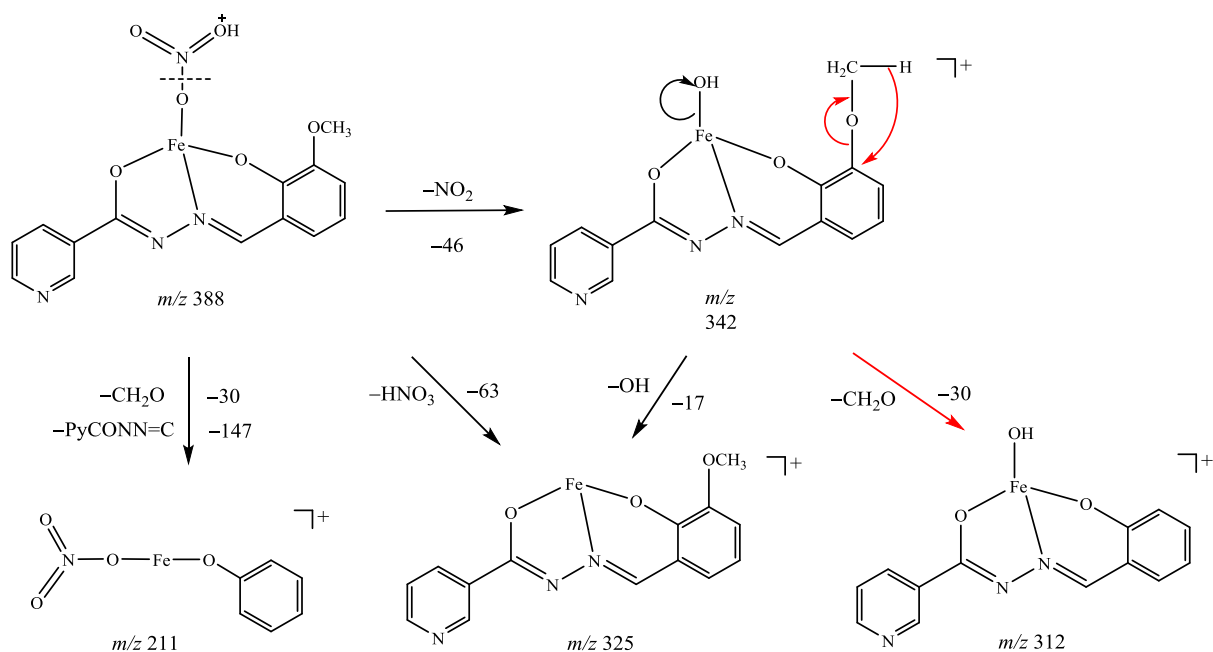
Tandemna spektrometrija masa provedena je za ione pri m/z 388 ($[\text{Fe}(\text{L})(\text{HNO}_3)]^+$), m/z 325 ($[\text{Fe}(\text{L})]^+$) i m/z 163 ($[\text{Fe}(\text{HL})]^{2+}$) pri različitim kolizijskim energijama. Najvažniji fragmentni ioni i njihovi relativni intenziteti prikazani su u tablicama 4.12 i 4.13 i tablično u dodacima 8.138 i 8.139, a predložene fragmentacije na slikama 4.46–4.53. Kao primjer, na slici 4.45 prikazan je MS/MS spektar kompleksnog iona željeza sa spojem **6** pri m/z 388.



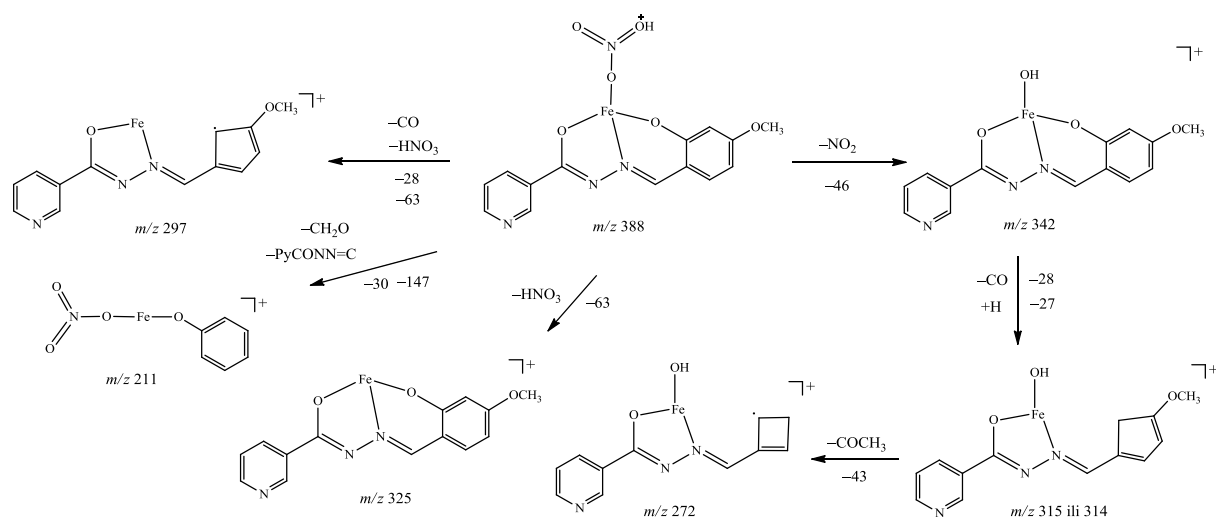
Slika 4.45. MS/MS spektar iona m/z 388 za kompleks Fe-**6** pri kolizijskoj energiji od 10 eV.

Tablica 4.12. Relativni intenziteti i vrijednosti m/z iona nastalih fragmentacijom iona pri m/z 388 iz kompleksa Fe(III) sa spojem **6** pri različitim kolizijskim energijama. ESI(+).

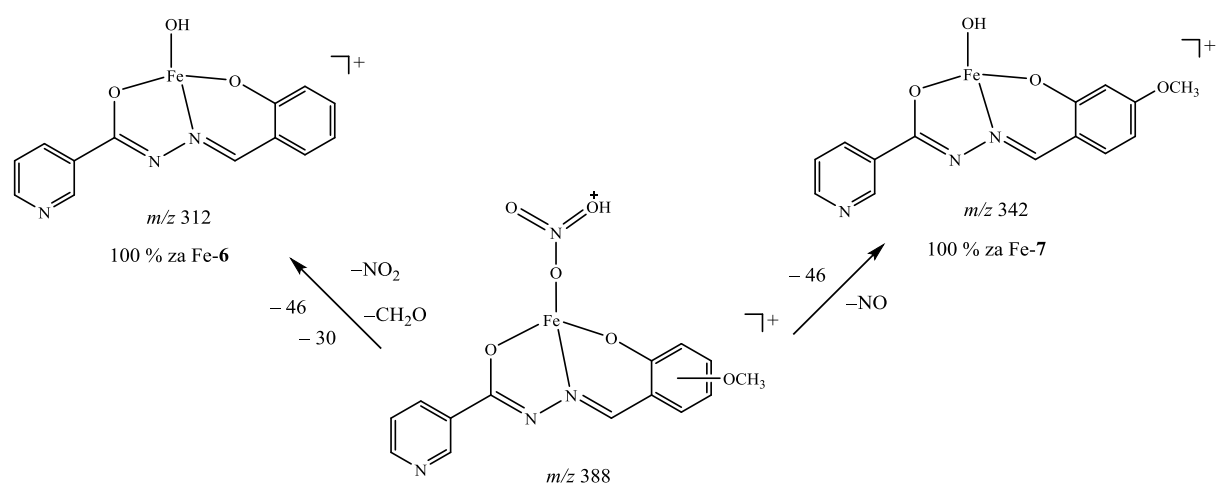
m/z	5 eV	7 eV	10 eV	12 eV	15 eV
	%				
388	100	100	25,88	9,82	1,82
342	38,69	80,46	49,76	33,47	14,70
325	5,23	9,21	8,18	6,19	5,29
312	30,76	85,11	100	100	100
211	10,92	34,04	43,88	56,16	72,99

Slika 4.46. Predložena shema fragmentacije iona m/z 388 za Fe-6 pri 10 eV.Tablica 4.13. Relativni intenziteti i vrijednosti m/z iona nastalih fragmentacijom iona pri m/z 388 iz kompleksa Fe(III) sa spojem 7 pri različitim kolizijskim energijama. ESI(+).

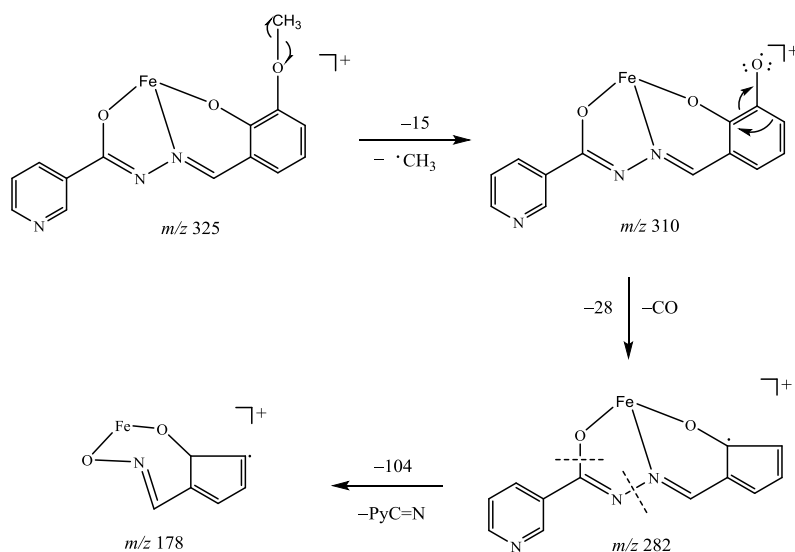
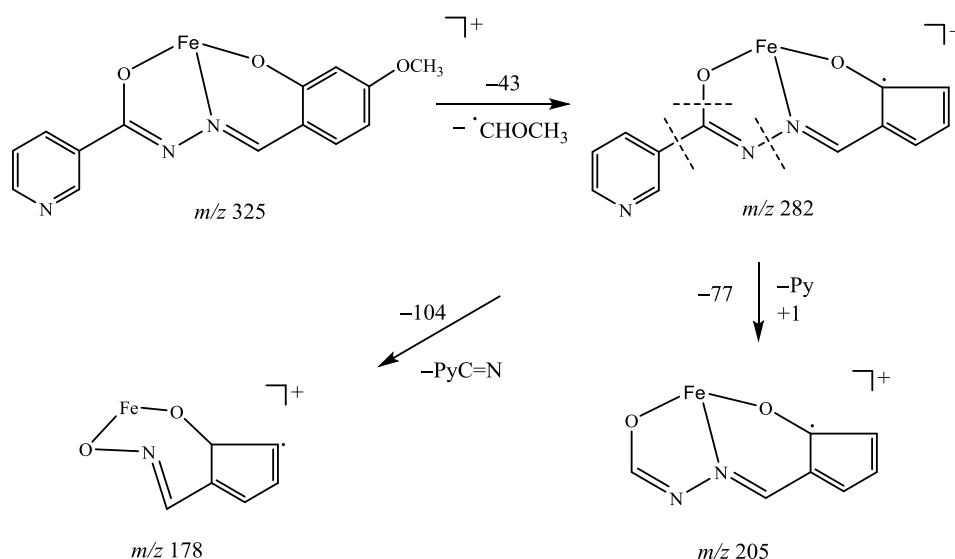
m/z	5 eV	7 eV	10 eV	12 eV	15 eV
	%				
388	100	88,97	32,76	10,72	2,08
342	57,03	100	100	65,86	23,57
325	4,65	6,95	10,39	7,99	6,44
315	4,97	7,73	18,40	19,69	14,47
297	3,06	8,58	14,66	13,43	12,81
211	16,79	40,10	81,53	100	100

Slika 4.47. Predložena shema fragmentacije iona m/z 388 za Fe-7 pri 10 eV.

Na temelju intenziteta nastalih fragmenata pri istoj kolizijskoj energiji, može se zaključiti da prilikom fragmentiranja iona pri m/z 388 ovisno o supstituentu dominiraju različiti fragmentacijski putovi. Preferirani produkti prikazani su na slici 4.48.

Slika 4.48. Preferirani fragmentni ioni u MS/MS spektrima iona m/z 388 za Fe-6 i Fe-7 pri 10 eV.

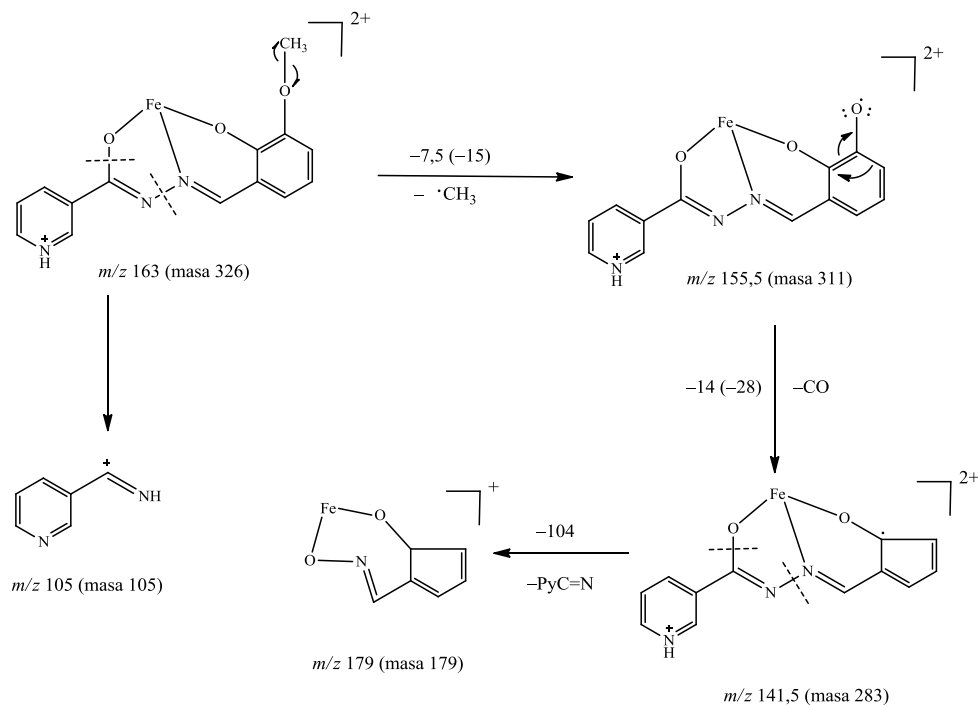
Na analogan način obrađeni su i podaci dobiveni fragmentiranjem iona m/z 325. Predložene sheme fragmentiranja dane su na slikama 4.49 i 4.50, a vrijednosti m/z i pripadni intenziteti u dodatku 8.138.

Slika 4.49. Predložena shema fragmentacije iona m/z 325 za Fe-6 pri 20 eV.Slika 4.50. Predložena shema fragmentacije iona m/z 325 za Fe-7 pri 20 eV.

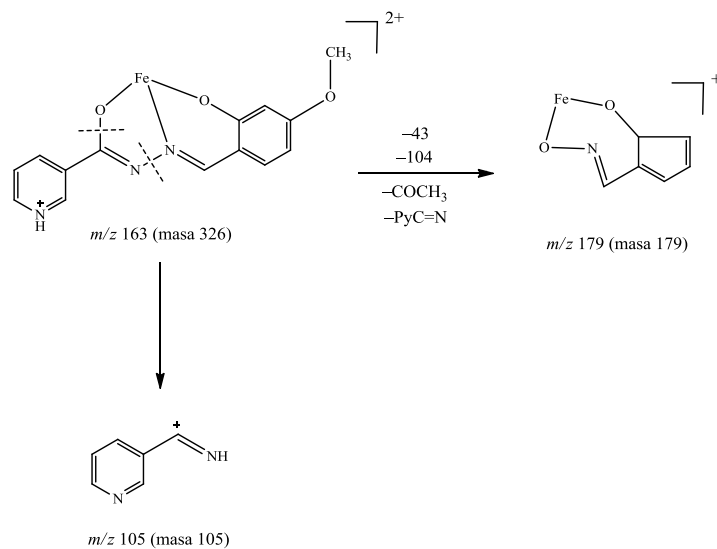
Pri fragmentiranju iona poteklog iz kompleksa sa spojem 7 ion m/z 310 uopće ne nastaje, a dominantan fragment ima nominalnu masu 178. Dominantan fragmentni ion za kompleks sa spojem 6 uočen je pri m/z 282.

Za fragmentaciju dvostruko nabijenog iona pri m/z 163 trebalo je najmanje energije. Rezultati su prikazani u dodatku (8.139a i 8.139b), a predložene sheme fragmentiranja na slikama 4.51–4.53. Iz literature je poznato da je u kompleksnim spojevima željeza(III) s derivatima hidrazona izvedenim iz izonikotinoil-hidrazida piridinski dušikov atom

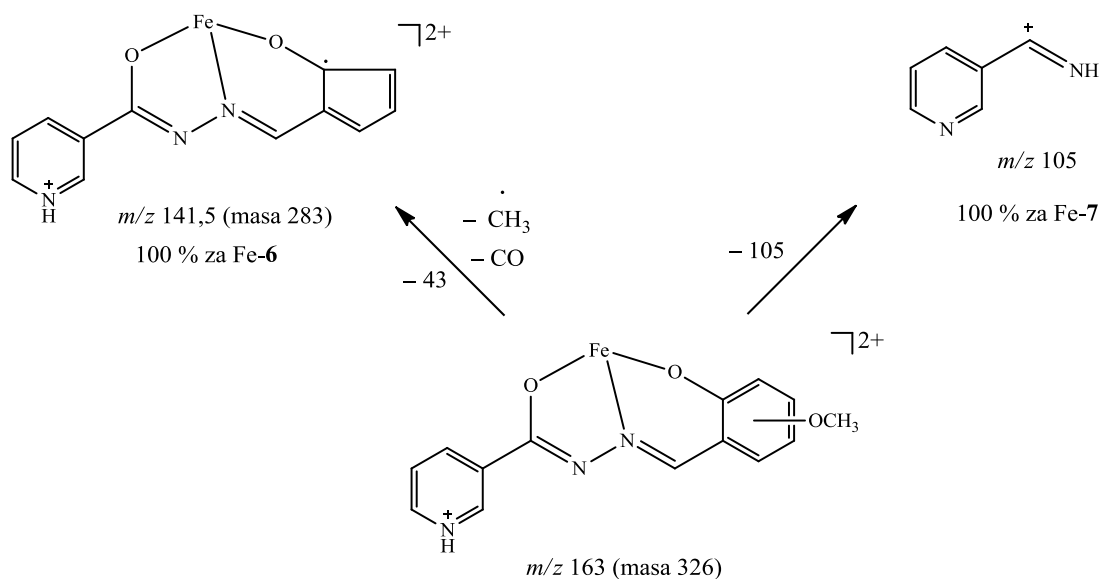
protoniran,^{50,52} stoga je i u ovom slučaju predložena struktura u kojem je dodatni naboj posljedica protoniranja piridinskog dušika.



Slika 4.51. Predložena shema fragmentacije iona m/z 163 za Fe-6 pri 7 eV.

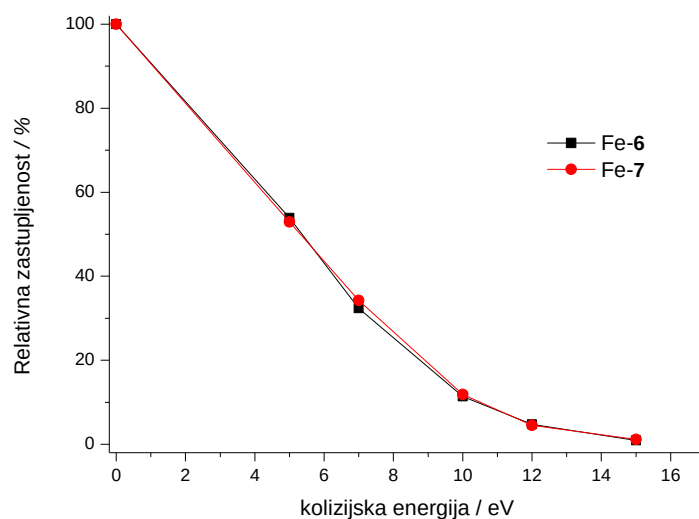


Slika 4.52. Predložena shema fragmentacije iona m/z 163 za Fe-7 pri 7 eV.



Slika 4.53. Preferirani fragmentni ioni u MS/MS spektrima iona m/z 163 za Fe-6 i Fe-7 pri 7 eV.

Relativna stabilnost iona vrijednosti m/z 388 procijenjena je na temelju "breakdown" krivulje (slika 4.54).

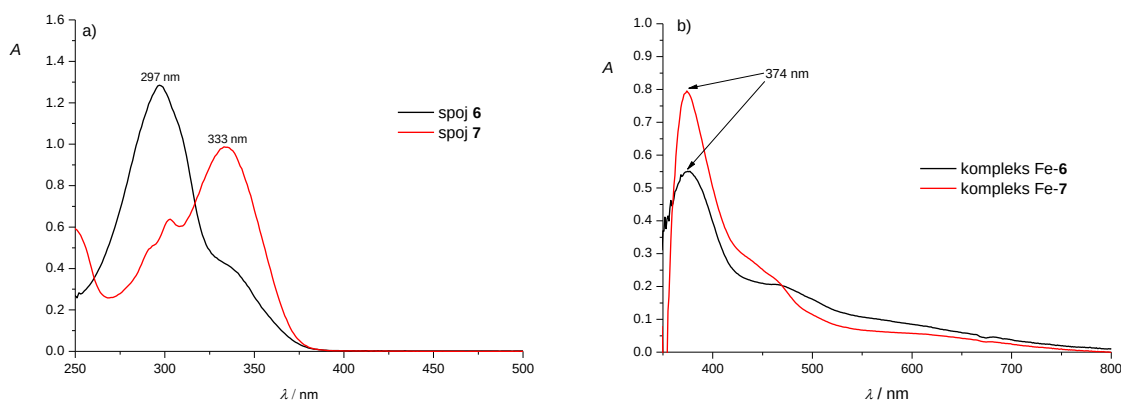


Slika 4.54. Ovisnost relativne zastupljenosti iona m/z 388 u ovisnosti o primijenjenoj kolizijskoj energiji.

Na temelju grafičkog prikaza može se zaključiti da je stabilnost jednostruko nabijenih kompleksnih iona $[\text{Fe}(\text{L})(\text{HNO}_3)]^+$ u plinskoj fazi neovisna o položaju metoksi-skupine u derivatu hidrazona.

4.6.3. Ekstrakcija željeza(III) iz vodenih otopina u kloroform

Dosadašnji rezultati pokazuju da su metoksi-derivati hidrazona, spojevi **6** i **7**, pogodni kompleksirajući reagensi za željezo(III), a budući da su dobro topljivi u kloroformu mogu se primijeniti za ekstrakciju željeza(III) iz vodenih otopina. Apsorpcijski spektar spoja **6** otopljenog u kloroformu ima maksimalnu apsorpciju pri valnoj duljini od 297 nm dok kloroformna otopina spoja **7** ima dva apsorpcijska maksimuma, jedan pri valnoj duljini od 305 nm koji je manjeg intenziteta te drugi intenzivniji pri valnoj duljini od 333 nm (slika 4.55a). Kompleksi Fe-**6** odnosno Fe-**7** u kloroformu pokazuju maksimalnu apsorpciju pri valnoj duljini od 374 nm i rame pri valnoj duljini od 457 nm (slika 4.55b). Svi UV-Vis spektri snimljeni su prema odgovarajućim slijepim probama.

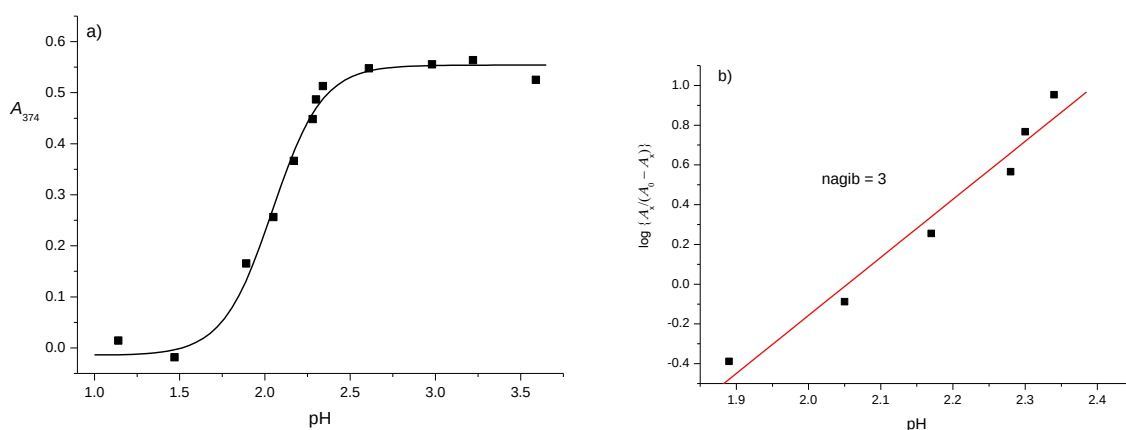


Slika 4.55. Apsorpcijski spektri a) spoja **6** i spoja **7** u kloroformu. $c(\mathbf{6}) = c(\mathbf{7}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ i b) ekstrahiranih kompleksa Fe-**6** i Fe-**7** u kloroformu. pH (vodene faze) = 2,98; $c(\text{Fe}^{3+}) = 4 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$; $c(\mathbf{6}) = c(\mathbf{7}) = 4 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$.

Za ispitivanje utjecaja pH vodene faze na ekstrakciju željeza priređena je serija vodenih otopina kojima je pH varirao od 1,14 do 3,59 što je postignuto dodatkom odgovarajućeg volumena dušične kiseline. Koncentracija željeza u vodenoj fazi iznosila je $4 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, a hidrazona u kloroformu $4 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$. Snimljeni su UV-Vis spektri kloroformnih faza nakon uspostavljanja ravnoteže i odvajanja faza u odnosu na slijepu probu u području valnih duljina od 200 do 800 nm.

Grafički je prikazana ovisnost apsorbancija pri valnoj duljini od 374 nm o pH otopine (slika 4.56a). Vidljiv je kontinuirani porast apsorbancije pri 374 nm u području pH od 1,5 do 2,6. Nakon postignute maksimalne vrijednosti apsorbancija ostaje konstantna do 3,5 pa su sva daljnja mjerenja ekstrakcije željeza(III) provedena iz vodenih otopina čija je pH vrijednost iznosila 2,98.

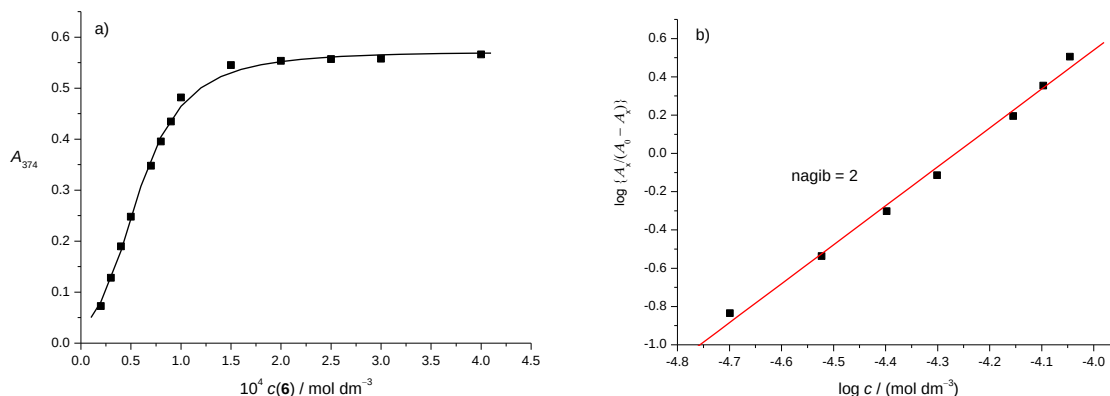
Grafički prikaz ovisnosti $\log \{A_x/(A_0-A_x)\}$ o pH vodene faze¹⁰⁹ (slika 4.56b) je pravac s nagibom tri što pokazuje da se pri nastajanju kompleksa oslobađaju tri protona.



Slika 4.56. Utjecaj pH vodene faze na ekstrakciju željeza. a) ovisnost apsorbancije, b) ovisnost $\log \{A_x/(A_0-A_x)\}$ o pH vodene faze. $c(\text{Fe}^{3+}) = 4 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(6) = 4 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$.

Za određivanje utjecaja koncentracije hidrazona na ekstrakciju pripremljene su otopine liganda u rasponu koncentracija $2 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ do $4 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$. Koncentracija željeza u svim otopinama iznosila je $4 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, a pH vodenih faza bio je 2,98. Nakon uspostavljanja ravnoteže i odvajanja faza snimljeni su UV-Vis spektri organske faze u odnosu na slijepu probu u području valnih duljina od 200 do 800 nm. Apsorpcijski maksimum nalazi se pri valnoj duljini od 374 nm. Ovisnost apsorbancije organske faze pri valnoj duljini od 374 nm o koncentraciji liganda prikazana je grafički (slika 4.57a). Vidljivo je da porastom koncentracije liganda do $1,5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ apsorbancija ekstrahiranog kompleksa pri valnoj duljini od 374 nm postepeno raste da bi nakon navedene vrijednosti postala maksimalna i konstantna u daljnjem ispitanom području koncentracija liganda. Za sva daljnja mjerenja upotrebljena je kloroformna otopina liganda koncentracije $4 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$.

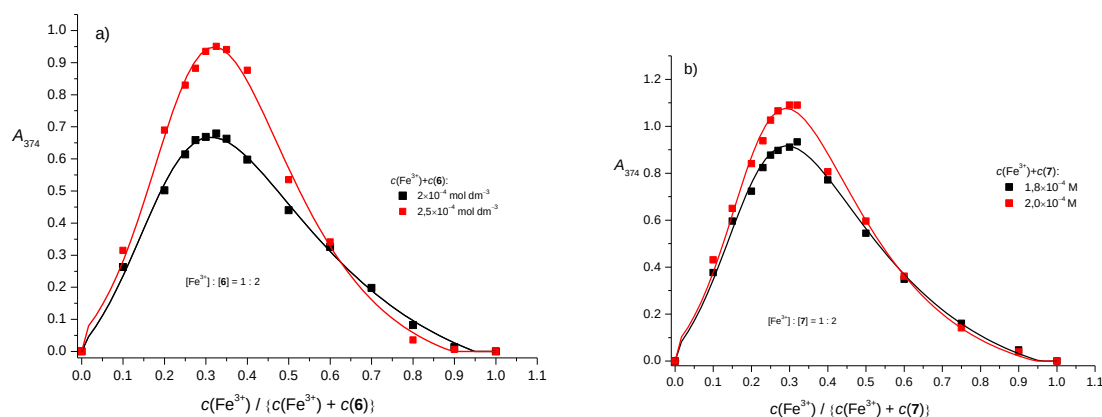
Grafički prikaz ovisnosti $\log \{A_x/(A_0-A_x)\}$ o $\log\{c(\mathbf{6}) / (\text{mol dm}^{-3})\}$ (slika 4.57b) je pravac čiji nagib iznosi dva. Na osnovi dobivenih rezultata može se zaključiti da pri nastajanju kompleksa dolazi do vezivanja dvije molekule hidrazona na jedan ion Fe^{3+} .¹⁰⁹



Slika 4.57. Utjecaj koncentracije spoja **6** na ekstrakciju željeza. a) ovisnost absorbancije o koncentraciji liganda; b) ovisnost $\log \{A_x/(A_0-A_x)\}$ o $\log\{c(\mathbf{6}) / (\text{mol dm}^{-3})\}$. $c(\text{Fe}^{3+}) = 4 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, pH = 2,98.

Analogna ispitivanja provedena su i za spoj **7**. Utjecaj pH vodene faze na ekstrakciju određen je u području pH od 1,34 do 3,72, a optimalni pH iznosio je 2,98 kao i za spoj **6**. Utjecaj koncentracije liganda istražen je kod optimalnog pH u području koncentracija liganda od $2 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ do $2 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ te je za sva daljnja ispitivanja izabrana koncentracija liganda $4 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$. Također je utvrđeno da se pri nastanku molekule kompleksa otpuštaju tri protona te da se na jedan Fe^{3+} vežu dva liganda. Podaci su prikazani u dodatku (8.140 i 8.141).

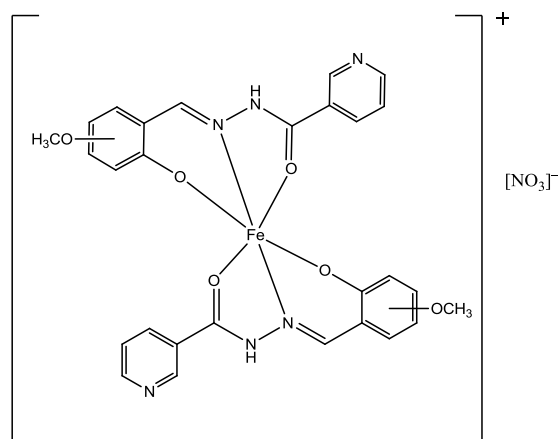
Sastav kompleksa koji se ekstrahira određen je i metodom kontinuiranih varijacija prema Job-u.¹¹⁰ Mjerenja su provedena kod optimalnog pH=2,98 pri valnoj duljini od 374 nm u dva različita koncentracijska područja i to $\{c(\text{Fe}^{3+})+c(\mathbf{6})\} = 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ i $\{c(\text{Fe}^{3+})+c(\mathbf{6})\} = 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ za Fe-**6** odnosno $\{c(\text{Fe}^{3+})+c(\mathbf{7})\} = 1,8 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ i $\{c(\text{Fe}^{3+})+c(\mathbf{7})\} = 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ za Fe-**7**. Rezultati mjerenja prikazani su kao ovisnost apsorbancije pri 374 nm o $c(\text{Fe}^{3+})/\{c(\text{Fe}^{3+})+c(\mathbf{6})\}$ (slika 4.58a), odnosno $c(\text{Fe}^{3+})/\{c(\text{Fe}^{3+})+c(\mathbf{7})\}$ (slika 4.58b).



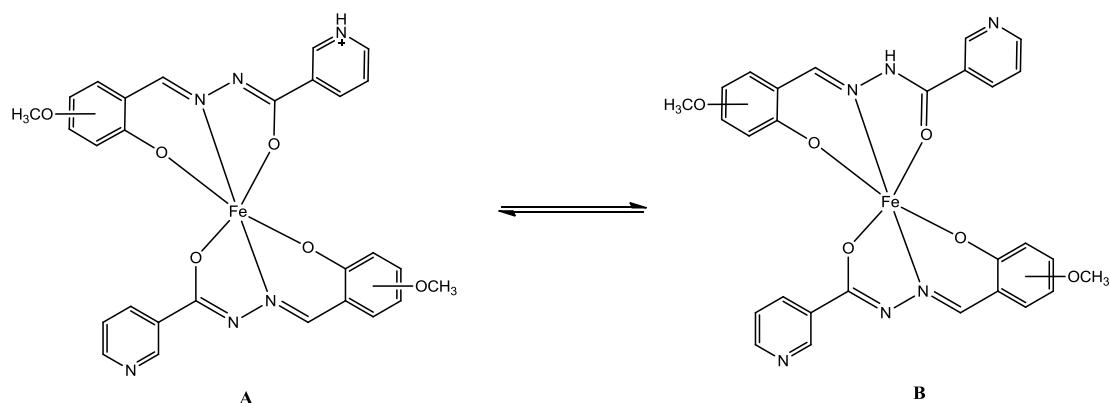
Slika 4.58. Određivanje sastava kompleksa metodom kontinuiranih varijacija prema Job-u. pH = 2,98; a) Fe-6; b) Fe-7.

Dobivena krivulja pokazuje maksimalnu vrijednost kod odnosa $c(\text{Fe}^{3+})/\{c(\text{Fe}^{3+})+c(\text{L})\} = 0,33$ što ukazuje da se u oba slučaja ekstrahira i spektrofotometrijski mjeri kompleks koji sadrži željezo i ligand **6**, odnosno ligand **7** u omjeru 1:2.

Na temelju rezultata ekstrakcije i činjenice da je kompleks otopljen u kloroformu može se pretpostaviti da se radi o neutralnom kompleksu ili ionskom paru te se mogu predložiti sljedeće strukture ekstrahiranog kompleksa (slika 4.59 i 4.60).



Slika 4.59. Moguća strukturna formula ionskog para $[\text{Fe}(\text{HL})_2]^+[\text{NO}_3]^-$; **L** = **6** ili **7**) ekstrahiranog u kloroform.



Slika 4.60. Moguće strukture kompleksa $[\text{Fe}(\text{L})(\text{HL})]$ ekstrahiranog u kloroform. $\text{L} = \mathbf{6}$ ili $\mathbf{7}$.

Spojeve **6** i **7** možemo promatrati kao neutralne diprotične ligande (H_2L). Tijekom vezanja iona metala otpušta se proton s fenolne skupine i nastaje monoanionska vrsta (HL^-). Budući da je utvrđeno da Fe^{3+} veže dvije molekule liganda, formula kompleksa bi bila $[\text{Fe}(\text{HL})_2]^+$, a s obzirom da kationske vrste u kloroformu mogu postojati samo u obliku ionskog para, potreban je protuion. Ispitivani sustav sadrži nitratni anion (NO_3^-) pa bi se ekstrahiranom ionskom paru mogla pripisati formula $[\text{Fe}(\text{HL})_2]^+[\text{NO}_3^-]$ (slika 4.59). Pri nastajanju ovakvog kompleksa bi dolazilo do otpuštanja ukupno dva protona, što nije u skladu s dobivenim rezultatima provedenih ispitivanja te se ovakva struktura može odbaciti kao moguća struktura ekstrahiranog kompleksa.

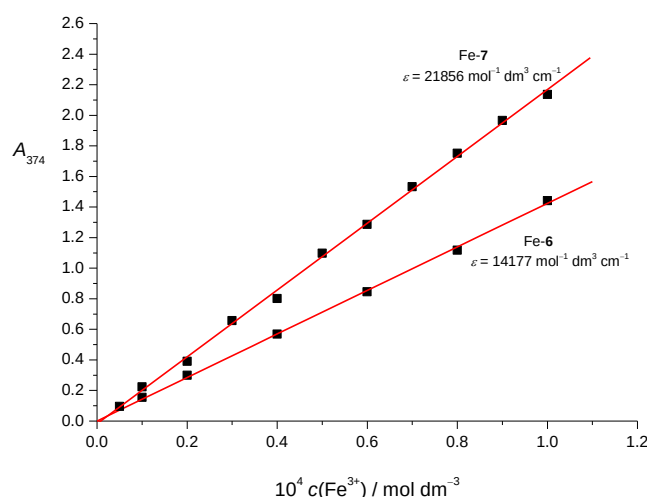
Monoanionska vrsta (HL^-) može otpustiti i drugi proton, s enolne skupine koja nastaje prethodnom keto-enolnom tautomerizacijom. Ukoliko se po molekuli liganda gube dva protona, onda bi formula kompleksa bila $[\text{Fe}(\text{L})_2]^-$ što također nije u skladu s dobivenim rezultatima jer bi broj otpuštenih protona bio četiri, a kompleks anionski.

Dobiveni rezultati pokazuju da tijekom ekstrakcije dolazi do otpuštanja tri protona. Može se pretpostaviti da jedan ligand otpušta dva protona, a drugi jedan proton. Dakle, jednom ligandu se deprotonira fenolna i enolna skupina, a drugom samo fenolna, kao što je prikazano na slici 4.60, struktura **B**. U spojevima **6** i **7** prisutan je piridinski dušik koji također može primiti proton. Ukoliko se i drugom ligandu deprotonira enolna (keto) skupina taj proton se može smjestiti na dušik jednog od piridinskih prstena, kao u strukturi **A** (slika 4.60). U tom slučaju je ukupan broj otpuštenih protona tri, a kompleks sa željezom(III) neutralan. Obje strukture **A** i **B** moguće su kao neutralne strukture kompleksa ekstrahiranog u kloroform.

Na temelju dosadašnjih rezultata i pregleda literature vjerojatnije je ekstrahiranom kompleksu pripisati strukturu **A**.^{52,53} Naime, kada ligand sadrži piridinski prsten može tijekom

kompleksiranja doći do prijenosa protona na piridinski dušik kao u slučaju kompleksiranja željeza(III) s naftaldehid-izonikotinoilhidrazonom.⁵² Ovakvim prijenosom protona na piridinski dušik ne mijenja se naboj kompleksa. Ako ligand koji veže željezo ne sadrži piridinski već fenilni prsten takav transfer nije moguć kao u slučaju kompleksa 3,5-di-*tert*-butilsaliciliden-benzoilhidrazina i željeza(III), pa je takvom kompleksu pripisana struktura koja je analogna strukturi **B**.⁵³ U takvom kompleksu na željezo(III) se vežu dva liganda, jedan ligand u deprotoniranom fenolnom i deprotoniranom enolnom obliku, a drugi u deprotoniranom fenolnom i neutralnom keto-obliku.⁵³

Provedena ispitivanja ukazuju na mogućnost primjene reakcije željeza(III) s derivatima hidrazona (spoj **6** i spoj **7**) za spektrofotometrijsko određivanje željeza. Kompleksi koji nastaju stabilni su u relativno širokom području kiselosti. Priređena je serija otopina u kojoj je koncentracija željeza varirala od 5×10^{-6} mol dm⁻³ do 4×10^{-4} mol dm⁻³. Ekstrakcija je provedena kloroformnom otopinom spoja **6** koncentracije 4×10^{-4} mol dm⁻³ iz vodene faze u kojoj je pH = 2,98. Grafički prikaz ovisnosti apsorbancije o koncentraciji željeza (slika 4.61) daje pravac koji pokazuje da sustav slijedi Beer-Lambertov zakon u području od 1×10^{-5} mol dm⁻³ do 1×10^{-4} mol dm⁻³, a molarni apsorpcijski koeficijent pri valnoj duljini od 374 nm iznosi $\epsilon_{374} = 14177$ mol⁻¹ dm³ cm⁻¹.



Slika 4.61. Kalibracijske krivulje za određivanje željeza spojem **6** i spojem **7**. $c(6) = c(7) = 4 \times 10^{-4}$ mol dm⁻³, pH = 2,98.

U slučaju primjene spoja **7** upotrebljena je kloroformna otopina spoja **7** koncentracije 4×10^{-4} mol dm⁻³. Koncentracija željeza u vodenoj fazi varirana je od 1×10^{-6} mol dm⁻³ do 4×10^{-4} mol

dm^{-3} , a pH vodene faze iznosio je 2,98. Utvrđeno je da sustav slijedi Beer-Lambertov zakon u području koncentracija Fe^{3+} od $5 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ do $1 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, a molarni apsorpcijski koeficijent pri valnoj duljini od 374 nm iznosi $\varepsilon_{374} = 21856 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$.

Usporedbom dobivenih rezultata vidljivo je da je spoj **7** osjetljiviji reagens za ekstrakciju Fe^{3+} od spoja **6** zbog veće vrijednosti molarnog apsorpcijskog koeficijenta pri valnoj duljini od 374 nm (slika 4.61). S druge strane udaljenost apsorpcijskih maksimuma spoja **6** i odgovarajućeg kompleksa Fe-**6** veća je nego za spoj **7** i njegov kompleks sa željezom što mu daje određenu prednost pred spojem **7** zbog manjeg preklapanja apsorpcijskih maksimuma (slika 4.55).

Budući da realni uzorci osim željeza(III) obično sadrže i druge ione ispitan je utjecaj različitih iona na ekstrakciju Fe-**6** pri optimalnim uvjetima za ekstrakciju ($\text{pH} = 2,98$, $c(\text{Fe}^{3+}) = 4 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{6}) = 4 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$). Dobiveni rezultati pokazuju kod kojeg omjera $n(\text{ion})/n(\text{Fe}^{3+})$ dolazi do promjene apsorbancije pri valnoj duljini od 374 nm u snimljenim spektrima (tablica 4.15). Ioni koji stvaraju komplekse sa željezom te oni koji kompleksiraju sa spojem **6** smetaju u vrlo malim koncentracijama. Najviše interferiraju fosfati koji tvore komplekse sa željezom(III)¹¹¹ i Cu^{2+} , koji se dobro veže sa spojem **6**.³⁹

Tablica 4.15. Utjecaj stranih iona na ekstrakciju Fe^{3+} s **6**. $c(\text{6}) = 4 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$; $c(\text{Fe}^{3+}) = 4 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$; $\text{pH} = 2,98$.

Anion	$n(\text{A}):n(\text{Fe}^{3+})$	Kation	$n(\text{K}):n(\text{Fe}^{3+})$
PO_4^{3-}	≥ 1	Cu^{2+}	≥ 1
CH_3COO^-	≥ 20	$\text{Sn}^{2+}; \text{Hg}^{2+}$	≥ 10
SO_4^{2-}	> 500	Ni^{2+}	≥ 20
NO_3^-	> 1000	$\text{Al}^{3+}; \text{Cr}^{3+}; \text{Cd}^{2+}$	≥ 100
Cl^-	> 5000	$\text{Co}^{2+}; \text{Zn}^{2+}$	≥ 500
		$\text{Ba}^{2+}; \text{Mg}^{2+}; \text{Ca}^{2+}; \text{Mn}^{2+}$	> 1000

Spojevi **6** i **7** pokazali su se kao dobri ekstraktanti za željezo(III) iz vodenih otopina u kloroform. Ispitani sustavi mogu se primijeniti za razradu ekstrakcijsko-spektrofotometrijske metode određivanja željeza(III).

U tablici 4.16 uspoređene su različite ekstrakcijsko-spektrofotometrijske metode određivanja željeza(II) i željeza(III).

Tablica 4.16. Usporedba spektrofotometrijskih metoda određivanja željeza(II) i željeza(III) različitim reagensima.

Spoj	Analit	Otapalo	$\varepsilon / 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$	Linearnost / ppm	Interferencije*	Referenca
2-hidroksi-1-naftalen karbaldehid-fenilhidrazon	Fe(III)	Etil-acetat	0,31 ($\lambda = 510 \text{ nm}$)	1 – 7	–	70
Piridin-2-karbaldehid-2-hidroksibenzoil hidrazon	Fe(II)	Kloroform	0,367 ($\lambda = 640 \text{ nm}$)	2 – 12	–	112
1,10-fenantrolin-pikrat	Fe(II)	1,2-dikloretnan	13 ($\lambda = 510 \text{ nm}$)	0,1 – 3,6	–	113
6	Fe(III)	Kloroform	1,42 ($\lambda = 374 \text{ nm}$)	0,56 – 5,6	Cu^{2+} i PO_4^{3-}	Ova disertacija

*interferencije su navedene za ekvimolarne količine u odnosu na željezo.

Ako usporedimo vrijednosti molarnih apsorpcijskih koeficijenata uočavamo da je spoj **6** u usporedbi s 2-hidroksi-1-naftalenkarbaldehid-fenilhidrazonom i piridin-2-karbaldehid-2-hidroksibenzoilhidrazonom osjetljiviji reagens, ali je u odnosu na sustav 1,10-fenantrolin-pikrat puno manje osjetljiv. Sustav 1,10-fenantrolin-pikrat jako je osjetljiv prema Fe(II) baš zbog prisutnosti i pikratnog iona jer se ekstrahirani kompleks u 1,2-dikloretnanu sastoji od tri komponente (željeza, fenantrolina i pikratnog aniona).¹¹³ Ekstrahirani kompleks je ionski par (Fe(II) i 1,10-fenantrolin tvore kationski kompleks, a pikratni anion je protuion). Poznato je da molarni apsorpcijski koeficijent kompleksa Fe(II) i 1,10-fenantrolina u vodenim otopinama¹¹⁴ iznosi $1,1 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ što je za jedan red veličine manja vrijednost nego kod kompleksa Fe(II) i 1,10-fenantrolina i pikrata ($1,3 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$).¹¹³

Bakrovi(II) i fosfatni ioni interferirali su u određivanju Fe(III) spojem **6** već pri ekvimolarnim količinama. U ostalim metodama interferencije pri određivanju željeza uočene su tek pri višim omjerima $n(\text{ion})/n(\text{željezo})$. Razlog odsutnosti interferencija u slučaju piridin-2-karbaldehid-2-hidroksibenzoilhidrazona je činjenica da se ioni ostalih metala uopće ne ekstrahiraju u kloroform s navedenim hidrazonom.¹¹² U slučaju sustava 1,10-fenantrolin-

pikrat razlog odsutnosti interferencija je činjenica da ekstrahirani kompleksi ostalih iona metala ne apsorbiraju u području valnih duljina u kojima apsorbira kompleks sa željezom. Autori navode da je zbog nastajanja kompleksa s ostalim ionima metala potrebno samo dodati dovoljnu količinu 1,10-fenantrolina za reakciju sa Fe(II).¹¹³ Navedenim reagensima za određivanje Fe(II) moraju se dodati ili askorbinska kiselina¹¹² ili hidroksilamin hidroklorid¹¹³ za redukciju Fe(III) u Fe(II).

§ 5. ZAKLJUČAK

Strukturno su okarakterizirani aroilhidrazoni (spojevi **1–12**) izvedeni iz nikotinohidrazida i različito supstituiranih benzaldehida i acetofenona. Određen je utjecaj supstituenata i različitih otapala na pomak tautomerne ravnoteže u otopini. Ispitan je utjecaj supstituenata na brzinu hidrolize u kiselim i lužnatim otopinama i na vrijednosti konstanti protoniranja u sustavu otapala metanol/voda 1/1. Spektrometrijom masa istražen je utjecaj otapala na ionizaciju i izgled spektara i ravnotežu u plinskoj fazi. Vezanje metoksi-derivata (spojevi **6** i **7**) i željeza(III) praćeno je u sustavu otapala metanol/voda 1/1, a naposljetku je provedena i ekstrakcija željeza(III) iz vodenih otopina u kloroform u svrhu poboljšanja selektivnosti spektrofotometrijske metode.

Spektrometrijom masa istražen je utjecaj otapala i različitih aditiva na ionizaciju spojeva **1–12** i izgled spektara. Osnovni signal uz pozitivnu ionizaciju odgovarao je protoniranoj molekuli, a uz negativnu deprotoniranoj molekuli. Uz dodatak natrijeve soli osnovni signal uz pozitivnu ionizaciju postao je signal iona $[M+Na]^+$. Zanimljivo je da signal iona $[M+NH_4]^+$ uopće nije uočen u spektrima otopina u koje je dodana amonijeva sol. U MS/MS spektrima protoniranih molekula spojeva **2–12** osim iona koji potječu od hidrazida uočeni su i ioni koji nastaju gubitkom 122 Da iz protoniranih molekula gdje naboj ostaje na dijelu molekule koji potječe od aldehida/ketona (ion $[M+H-122]^+$). Upravo fragmentacije tog iona dale su važne rezultate i zaključke. Na temelju različite fragmentacije uslijed različitog pomaka keto-enolne tautomerne ravnoteže uspješno su razlikovani spojevi **6** i **7**. Ravnoteža spoja **6** bila je pomaknuta prema keto-obliku III, a spoja **7** prema enolnom obliku. Spojevi **3**, **4** i **5** razlikovani su na temelju "ortho efekta". Ionu m/z 136 iz spoja **3** uočena su tri fragmentacijska puta, gubitak vode, gubitak HCN i gubitak CO. Gubitak vode istim ionima iz spojeva **4** i **5** uopće nije uočen jer su hidroksilne skupine u međusobnom *meta* (spoj **4**) i *para* (spoj **5**) položaju. "Ortho efekt" uočen je i u fragmentaciji iona m/z 154 (ion $[M+H-122]^+$) iz spojeva **8** i **9** (klor derivata). U spoju **8** klor je u *ortho* položaju u odnosu na hidroksilnu skupinu, a u spoju **9** u *para* položaju pa je zato bio moguć gubitak molekule HCl iz iona m/z 154 koji potječe od spoja **8**, dok u slučaju spoja **9** to nije bilo moguće. U oba iona iz oba spoja uočen je i gubitak molekule HCN. Potvrda "ortho efekta" bila je fragmentacija iona m/z 188 (ion $[M+H-122]^+$) iz spoja **10** (koji ima dva klora u *ortho* i *para* položaju u odnosu na hidroksilnu

skupinu) gdje je uočen gubitak samo jedne molekule HCl. U slučaju spoja **11** (derivat s nitro skupinom) uočeno je nastajanje kationskih radikala. Fragmentacija negativno nabijenih iona dala je manje informacija nego MS/MS spektri uz pozitivnu ionizaciju. Spektrometrijom masa otežano je razlikovanje strukturnih izomera zbog istih vrijednosti m/z , ali u ovom je radu na tri primjera pokazano da je na temelju različitih fragmentacija pojedinih iona to ipak moguće.

UV-Vis spektrofotometrijom ispitan je utjecaj različitih otapala na keto-enolnu tautomeriju i izomeriju hidrazona. Spojevi **3**, **5**, **7**, **8** i **12** u svim otapalima i smjesama otapala s vodom bili su u najstabilnijem oblik I–E. Spojevi su bili stabilni tijekom vremena, a nije uočena ni hidroliza u smjesama organskih otapala s vodom. Međutim, spoj **11** se u dimetilsulfoksidu odmah po pripravi otopine nalazio u ravnoteži između neutralnog i deprotoniranog oblika. Otopini držanoj u mraku tijekom vremena povećavao se udio deprotoniranog I–Z oblika. Proton je s hidroksilne skupine prešao na dimetilsulfoksid. U spektru otopine držane na dnevnom svjetlu događale su se reakcije pripisane složenoj ravnoteži koja uključuje deprotoniranje, E/Z izomerizaciju i keto-enolnu tautomeriju i nastanak III–E oblika. Rezultati su potvrđeni spektroskopijom NMR, spektroskopijom IR i teorijskim izračunima.

Ispitana je fluorescencija hidrazona u različitim organskim otapalima i smjesama otapala s vodom. Fluorescencija je uočena jedino u lužnatim metanolnim i acetonitrilnim otopinama spojeva **7–10** i **12**. Fluorescencija je pripisana deprotoniranju hidroksilne skupine, tj. fenolatnom anionu. Zanimljivo je da spojevi **3**, **4** i **5**, koji imaju dvije hidroksilne skupine, nisu fluorescirali. Za spojeve **7** i **8** uočena je reverzibilna ovisnost fluorescencije o pH. Na temelju NMR spektara nefluorescirajućih (spojevi **3** i **5**) i fluorescirajućih (spojevi **7** i **8**) hidrazona u deuteriranom dimetilsulfoksidu i metanolu, te uz dodatke baze (triethylamina) zaključeno je da je za fluorescenciju odgovorna bolja delokalizaciju elektrona u spojevima **7** i **8** nakon deprotoniranja hidroksilne skupine. Navedeni spojevi mogli bi se iskoristiti kao potencijalni pH senzori.

Spektrofotometrijski su određene vrijednosti konstanti protoniranja spojeva **1–12** u sustavu otapala metanol/voda 1/1. Kako bi se olakšala asignacija određene su i konstante protoniranja polaznih spojeva (nikotinohidrazida i aldehida/ketona). Vrijednosti logaritama konstanti smanjuju se povećanjem elektron-odvlačećeg djelovanja supstituenta na salicilidenskom prstenu. Utjecaj supstituenata bio je veći na vrijednosti protoniranja hidroksilne skupine nego na vrijednosti protoniranja amidnog dušika. Vrijednosti koje

odgovaraju protoniranju piridinskog dušika nisu određene zbog brze hidrolize spojeva pri tim uvjetima ($\text{pH} < 2$). Spojevima **3**, **4** i **5**, koji imaju dvije hidroksilne skupine, određene su vrijednosti za obje hidroksilne skupine. Niža vrijednost logaritma konstante pripisana je hidroksilnim skupinama u *ortho* (spoj **3**), *meta* (spoj **4**) i *para* (spoj **5**) položaju u odnosu na 2-hidroksilnu skupinu. Viša vrijednost logaritma konstante pripisana protoniranju 2-hidroksilne skupine posljedica je postojanja jake intramolekulske vodikove veze između protona te skupine i azometinskog dušika. Logaritmi konstanti protoniranja amidnog dušika uglavnom su bili vrlo visoki (>12).

Hidroliza spojeva **1–12** praćena je UV-Vis spektrofotometrijski u sustavu otapala metanol/voda 1/1 u kiselom i lužnatom području. Kinetika hidrolize pratila je reakciju prvog reda. Brzinu u kiselom ubrzavaju elektron-donirajući supstituenti u *para* položaju u odnosu na $-\text{C}=\text{N}-$ vezu, dok je u lužnatom ubrzavaju elektron-odvlačeći supstituenti u *meta* položaju u odnosu na $-\text{C}=\text{N}-$ vezu. U kiselom je opažena konstanta brzine reakcije (k_{obs}) linearno ovisila o koncentraciji H^+ iona, dok je u lužnatom linearno rasla, a zatim postala konstantna. Nepotpuna hidroliza u kiselom uočena je za spojeve **3** i **8–11**, koja je potvrđena i dodatnim UV-Vis i HPLC eksperimentima. U kiselim otopinama hidroliza je puno brža nego u lužnatim. Elektron-odvlačeći supstituenti smanjuju brzinu hidrolize u kiselim uvjetima. Spojevi **1**, **4** i **12** stabilni su u lužnatom pa uopće nisu hidrolizirali, dok su rezultati za spojeve **3** i **5** ukazivali na još neke procese osim hidrolize hidrazona. Na temelju masenospektrometrijskih eksperimenata predloženo je da aldehidi nastali hidrolizom spojeva **3** i **5** dalje reagiraju i nastaju kinoni.

Kompleksiranje željeza(III) spojevima **6** i **7** praćeno je spektrofotometrijski u sustavu otapala metanol/voda 1/1 ($0,01 \text{ mol dm}^{-3} \text{ HNO}_3$). Hidrazoni su pri tim uvjetima hidrolizirali, dok su kompleksi bili stabilni. Na temelju "batch" spektrofotometrijskih titracija zaključeno je da spojevi **6** i **7** jako vežu željezo(III), pri čemu nastaju kompleksi 1:1 stehiometrije (Fe^{3+} :hidrazon). Spojevi **6** i **7** uspješno su ekstrahirali željezo(III) iz kiselih vodenih otopina u kloroform. Određeni su optimalni uvjeti vezanja (pH , koncentracije hidrazona i željeza(III)). Tijekom kompleksiranja otpuštaju se tri protona i vežu se dva mola liganda po molu željeza(III). Sastav kompleksa ekstrahiranog u kloroform bio je 1:2 (Fe^{3+} :hidrazon), dobiven metodom nagiba pravca i potvrđen metodom kontinuiranih varijacija prema Job-u. Pri optimalnim uvjetima određena su linearna područja odziva za koncentracije željeza(III). Molarni apsorpcijski koeficijenti bio je veći za spoj **7** nego spoj **6**, ali zbog manjeg

preklapanja apsorpcijskih maksimuma liganda i kompleksa, spoj **6** je odabran kao bolji ekstraktant željeza(III). Utjecaj stranih iona proučen je za spoj **6** i željezo(III). Najviše su interferirali fosfatni ioni koji tvore komplekse sa željezom(III) te bakar(II) kojeg snažno veže spoj **6**.

§ 6. POPIS OZNAKÂ, KRATICÂ I SIMBOLÂ

AAS – *engl. atomic absorption spectroscopy*

APT – *engl. attached proton test*

ATR – *engl. attenuated total reflectance*

Brij 58 – *engl. polyethylene glycol hexadecyl ether*

COSY – *engl. correlation spectroscopy*

Da – dalton

DFT – *engl. density functional theory*

DMSO – dimetilsulfoksid

EDTA – *engl. ethylenediaminetetraacetic acid*

EE⁺ – *engl. even-electron ion*

ESI – *engl. electrospray ionization*

ESR – *engl. electron spin resonance*

EtOH – etanol

FIA – *engl. flow injection analysis*

FTIR – *engl. Fourier-transform infrared spectroscopy*

HEPES – *engl. 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethane sulfonic acid*

HMBC – *engl. heteronuclear multiple-bond correlation*

HMQC – *engl. heteronuclear multiple quantum coherence*

HPLC – *engl. high performance liquid chromatography*

HSQC – *engl. heteronuclear single quantum coherence*

IR – *engl. infrared spectroscopy*

IT – *engl. ion trap*

LC – *engl. liquid chromatography*

LC-MS – *engl. liquid chromatography-mass spectrometry*

MeCN – acetonitril

MeOH – metanol

MIC – *engl. minimum inhibitory concentration*

MS – *engl. mass spectrometry*

MS/MS (MSⁿ) – *engl. tandem mass spectrometry*

NMR – *engl. nuclear magnetic resonance spectroscopy*

OE⁺ – *engl. odd-electron ion*

PET – *engl. photo-induced electron transfer*

QqQ – *engl. triple quadrupole*

TEA – *engl. triethylamine*

UV-Vis – *engl. ultraviolet-visible spectroscopy*

§ 7. LITERATURNI IZVORI

1. K.S. Abou-Melha, *Spectrochim. Acta A* **70** (2008) 162-170.
2. L. Mitu, N.A.M. Farook, S.A. Iqbal, N. Raman, M. Imran, S.K. Sharma, *E-J. Chem.* **7(1)** (2010) 227-233.
3. C.F. Da Costa, A.C. Pinheiro, M.V. De Almeida, M.C.S. Lourenço, M.V.N. De Souza, *Chem. Biol. Drug Des.* **79** (2012) 216-222.
4. P. Vicini, M. Incerti, P. La Colla, R. Loddo, *Eur. J. Med. Chem.* **44** (2009) 1801-1807.
5. S. Sarkar, A.A. Siddiqui, S.J. Saha, R. De, S. Mazumder, C. Banerjee, M.S. Iqbal, S. Nag, S. Adhikari, U. Bandyopadhyay, *Antimicrob. Agents Ch.* **60(7)** (2016) 4217-4228.
6. W.W. Wardakhan, N.N.E. El-Sayed, R.M. Mohareb, *Acta Pharm.* **63** (2013) 45-57.
7. B. Tang, T. Yue, L. Zhang, J. Wu, Z. Chen, *Microchim. Acta* **148** (2004) 71-76.
8. D.-F. Wang, Y.-C. Ke, H.-X. Guo, J. Chen, W. Weng, *Spectrochim. Acta A* **122** (2014) 268-272.
9. M.C. da Cunha Areias, L.H.S. Ávila-Terra, I. Gaubeur, M.E.V. Suárez-Iha, *Spectrosc. Lett.* **34(3)** (2001) 289-300.
10. M. Swetha, P.R. Reddy, V.K. Reddy, *Int. J. Sci. Res.* **3(8)** (2013) 1-5.
11. B. Tang, H. Zhang, Y. Wang, *Spectrochim. Acta A* **61** (2005) 2239-2244.
12. R. Gup, E. Giziroğlu, *Spectrochim. Acta A* **65** (2006) 719-726.
13. X. Su, I. Aprahamian, *Chem. Soc. Rev.* **43** (2014) 1963-1981.
14. H. Qian, I. Aprahamian, *Chem. Comm.* **51** (2015) 11158-11161.
15. S. Kassem, A.T.L. Lee, D.A. Leigh, A. Markevicius, J. Solà, *Nature Chem.* **8** (2016) 138-143.
16. I. Aprahamian, *Nature Chem.* **8** (2016) 97-99.
17. L. Ratjen, J.-M. Lehn, *RSC Adv.* **4** (2014) 50554-50557.
18. M.N. Chaur, D. Collado, J.-M. Lehn, *Chem. Eur. J.* **17** (2011) 248-258.
19. N. Galić, A. Dijanošić, D. Kontrec, S. Miljanić, *Spectrochim. Acta A* **95** (2012) 347-353.
20. N. Galić, I. Brođanac, D. Kontrec, S. Miljanić, *Spectrochim. Acta A* **107** (2013) 263-270.

21. V.I. Minkin, A.V. Tsukanov, A.D. Dubonosov, V.A. Bren, *J. Mol. Struct.* **998** (2011) 179–191.
22. P. Kovaříková, K. Vávrová, K. Tomalová, M. Schöngut, K. Hrušková, P. Hašková, J. Klimeš, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **48** (2008) 295-302.
23. S. Dayagi, Y. Degani: *Methods of Formation of the Carbon-Nitrogen Double Bond*. U S.Patai (urednik): *The Chemistry of the Carbon-Nitrogen Double Bonds*, str. 61-74. Wiley, New York (1970).
24. A.C.L. Leite, D.R. de M. Moreira, L.C.D. Coelho, F.D. de Menezes, D.J. Brondani, *Tetrahedron Lett.* **49** (2008) 1538-1541.
25. V. Vrdoljak, G. Pavlović, T. Hrenar, M. Rubčić, P. Siega, R. Dreos, M. Cindrić, *RSC Adv.* **5** (2015) 104870-104883.
26. A.A. Kale, V.P. Torchilin, *Bioconjug. Chem.* **18(2)** (2007) 363-370.
27. J. Kalia, R.T. Raines, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **47(39)** (2008) 7523-7526.
28. N.J. Lees-Gayed, M.A. A.-Taleb, I.A. El-Bitash, M.F. Iskander, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* (1992) 213-217.
29. D. Richardson, L.W. Vitolo, E. Baker, J. Webb, *Biol. Metals* **2** (1989) 69-76.
30. J. L. Buss, P. Ponka, *Biochim. Biophys. Acta* **1619** (2003) 177-186.
31. K. Pyta, P. Przybylski, A. Huczyński, A. Hoser, K. Woźniak, W. Schilf, B. Kamieński, E. Grech, B. Brzezinski, *J. Mol. Struct.* **970** (2010) 147-154.
32. A.T. Kruszynska, *Struct. Chem.* **22** (2011) 525-535.
33. R.M. Claramunt, C. López, M.D.S. María, D. Sanz, J. Elguero, *Prog. Nucl. Mag. Res. Sp.* **49** (2006) 169-206.
34. K. Užarević, M. Rubčić, V. Stilinović, B. Kaitner, M. Cindrić, *J. Mol. Struct.* **984** (2010) 232-239.
35. W. Schilf, B. Kamieński, K. Užarević, *J. Mol. Struct.* **1031** (2013) 211-215.
36. C. Cordier, E. Vauthier, A. Adenier, Y. Lu, A. Massat, A.C.-Barbi, *Struct. Chem.* **15(4)** (2004) 295-307.
37. Y.-H. Lu, Y.-W. Lu, C.-L. Wu, Q. Shao, X.-L. Chen, R. Bimbong, *Spectrochim. Acta A* **65** (2006) 695-701.
38. G.O. Dudek, E.P. Dudek, *J. Am. Chem. Soc.* **88(11)** (1966) 2407-2412.
39. N. Galić, M. Rubčić, K. Magdić, M. Cindrić, V. Tomišić, *Inorg. Chim. Acta* **366** (2011) 98-104.

40. B. Singh, K.K. Narang, R. Srivastava, *Synth. React. Inorg. Me.* **33(6)** (2003) 1025-1036.
41. B.N.B. Raj, M.R.P. Kurup, E. Suresh, *Spectrochim. Acta A* **71** (2008) 1253-1260.
42. S. Biswas, S. Das, G. Rogez, V. Chandrasekhar, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2016) 3322-3329.
43. D.G. Paschalidis, I.A. Tossidis, M. Gdaniec, *Polyhedron* **19** (2000) 2629-2637.
44. D.G. Paschalidis, *Synth. React. Inorg. Me.* **34(8)** (2004) 1401-1415.
45. K.K. Narang, T.R. Rao, S. Shresta, S. Shresta, *Synth. React. Inorg. Me.* **30(5)** (2000) 931-954.
46. K. Hrušková, P. Kovaříková, P. Bendová, P. Hašková, E. Macková, J. Stariat, A. Vávrová, K. Vávrová, T. Šimůnek, *Chem. Res. Toxicol.* **24** (2011) 290-302.
47. P. Kovaříková, M. Mokřý, J. Klimeš, K. Vávrová, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **40** (2006) 105-112.
48. M. Štěrbá, O. Popelová, T. Šimůnek, Y. Mazurová, A. Potáčová, M. Adamcová, I. Gunčová, H. Kaiserová, V. Palička, P. Poňka, V. Geršl, *Toxicology* **235** (2007) 150-166.
49. T.B. Chaston, Des R. Richardson, *Am. J. Hematol.* **73** (2003) 200-210.
50. T.B. Murphy, D.K. Johnson, N.J. Rose, A. Aruffo, V. Schomaker, *Inorg. Chim. Acta* **66** (1982) L67-L68.
51. T.B. Murphy, N.J. Rose, V. Schomaker, A. Aruffo, *Inorg. Chim. Acta* **108** (1985) 183-194.
52. D.R. Richardson, P.V. Bernhardt, *J. Biol. Inorg. Chem.* **4** (1999) 266-273.
53. D. Matoga, J. Szklarzewicz, K. Stadnicka, M.S. Shongwe, *Inorg. Chem.* **46** (2007) 9042-9044.
54. L.M.W. Vitolo, G.T. Hefter, B.W. Clare, J. Webb, *Inorg. Chim. Acta* **170** (1990) 171-176.
55. N. Kumar, L.S. Chauhan, C.S. Sharma, N. Dashora, R. Bera, *Med. Chem. Res.* **24** (2015) 2580-2590.
56. G.K. Incili, G.A. Aycık, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **301** (2014) 417-426.
57. R. Manikandan, P. Viswanathanamurthi, M. Muthukumar, *Spectrochim. Acta Part A* **83** (2011) 297-303.
58. Y. Zhou, H.N. Kim, J. Yoon, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **20** (2010) 125-128.
59. B. Říhová, T. Etrych, M. Pechar, M. Jelínková, M. Štastný, O. Hovorka, M. Kovář, K. Ulbrich, *J. Control. Release* **74** (2001) 225-232.

-
60. K. Li, Y. Li, J. Tao, L. Liu, L. Wang, H. Hou, A. Tong, *Scientific Reports* **5** (2015) 14467.
61. A.T. Franks, D. Peng, W. Yang, K.J. Franz, *Inorg. Chem.* **53** (2014) 1397-1405.
62. T.B. Wei, G.T. Yan, H. Li, Y.R. Zhu, B.B. Shi, Q. Lin, H. Yao, Y.M. Zhang, *Supramol. Chem.* **28(78)** (2016) 720-726.
63. M.R. Ganjali, S. Rasoolipour, M. Rezapour, P. Norouzi, M. Adib, *Electrochem. Commun.* **7** (2005) 989-994.
64. H. Li, J. Fan, F. Song, H. Zhu, J. Du, S. Sun, X. Peng, *Chem. Eur. J.* **16** (2010) 12349-12356.
65. M. Wang, K.-H. Leung, S. Lin, D.S.-H. Chan, D.W.J. Kwong, C.-H. Leung, D.-L. Ma, *Scientific Reports* **4** (2014) 6794.
66. A.A. Salem, *Microchem. J.* **60** (1998) 51-66.
67. D.G. Themelis, P.D. Tzanavaras, F.S. Kika, M.C. Sofoniou, *Fresen. J. Anal. Chem.* **371** (2001) 364-368.
68. F. Kandil, M.K. Chebani, W. Al Zoubi, *ISRN Org. Chem.* **2012** (2012) article id 208284; 1-8.
69. C. Park, H.-S. Kim, K.-W. Cha, *Bull. Korean Chem. Soc.* **20(3)** (1999) 352-354.
70. R.P. Sonawane, R.S. Lokhande, U.M. Chavan, *Int. Lett. Chem. Phys. Astron.* **14** (2013) 7-12.
71. P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *Talanta* **43** (1996) 1739-1753.
72. G. A. Kriss: Astronomical data analysis software & systems III. U: D.R. Crabtree, R.J. Hanisch, J. Barnes (urednici) A.S.P. Conf. Series, vol. 61, str. 437. Astronomical Society of the Pacific, San Francisco (1994).
73. R.G. Bates: Determination of pH, Theory and Practice. (1964), Wiley, New York.
74. H.T.S. Britton, R.A. Robinson, *J. Chem. Soc.* **1** (1931) 1456-1462.
75. D. Kolbah: Priručnik za kemičare. (1986), SKTH, Kemija u industriji, Zagreb.
76. S. Gao, Z.P. Zhang, H.T. Karnes, *J. Chromatogr. B* **825** (2005) 98-110.
77. T. Henriksen, R.K. Juhler, B. Svensmark, N.B. Cech, *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* **16** (2005) 446-455.
78. E.M. Thurman, I. Ferrer, O.J. Pozo, J.V. Sancho, F. Hernandez, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **21** (2007) 3855-3868.

79. K. Chen, N.S. Rannulu, Y. Cai, P. Lane, A.L. Liebl, B.B. Rees, C. Corre, G.L. Challis, R.B. Cole, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **19** (2001) 183-188.
80. W.M.A. Niessen, *J. Chromatogr. A* **1217** (2010) 4061-4070.
81. N. Galić, B. Perić, B. Kojić-Prodić, Z. Cimerman, *J. Mol. Struct.* **559** (2001) 187-194.
82. M.A. Fahmey, M.A. Zayed, Y.H. Keshk, *Thermochim. Acta* **366** (2001) 183-188.
83. Y. Takahashi, T. Higuchi, O. Sekiguchi, M. Ubukata, S. Tajima, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **13** (1999) 393-397.
84. T. Faludi, N. Andrasi, A. Vasanits-Zsigrai, I. Gy Zaray, Molnar-Perl, *J. Chromatogr. A* **1302** (2013) 133-142.
85. H. Wincel, R.H. Fokkens, N.N.M. Nibbering, *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* **1** (1990) 225-232.
86. T. Benković, A. Kendel, J. Parlov-Vuković, D. Kontrec, V. Chiş, S. Miljanić, N. Galić, *J. Mol. Liq.* **255** (2018) 18-25.
87. S. Panigrahi, P.K. Misra, *J. Mol. Liq.* **224** (2016) 53-61.
88. K. Pyta, P. Przybylski, W. Schilf, B. Kołodziej, A.S.-Chelminiecka, E. Grech, B. Brzezinski, *J. Mol. Struct.* **967** (2010) 140-146.
89. Z.C. Wen, J.A.B. Ferreira, S.M.B. Costa, *J. Photochem. Photobiol. A* **199** (2008) 98-104.
90. H. Kotaka, Gen-ichi Konishi, K. Mizuno, *Tetrahedron Lett.* **51** (2010) 181-184.
91. M.S. Alam, D.-U. Lee, *Spectrochim. Acta A* **145** (2015) 563-574.
92. T. Benković, D. Kontrec, V. Tomišić, A. Budimir, N. Galić, *J. Solution Chem.* **45** (2016) 1227-1245.
93. R. Richardson, L.M.W. Vitolo, G. T. Hefter, P.M. May, B.W. Clare, J. Webb, P. Wilairat, *Inorg. Chim. Acta* **170** (1990) 165-170.
94. P. Doungeedee, S. Sarel, N. Wongvisetsirikul, S. Avramovici-Grisaru, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* (1995) 319-323.
95. A. Habidi-Yangjeh, M. Dunandeh-Jenagharad, M. Nooshyar, *Bull. Korean Chem. Soc.* **26** (2005) 2007-2016.
96. M.D. Liptak, K.C. Gross, P.G. Seybold, S. Feldgus, G.C. Shields, *J. Am. Chem. Soc.* **124** (2002) 6421-6427.
97. M. Roses, R. Rived, E. Bosch, *J. Chromatogr. A* **867** (2000) 45-56.
98. J. Ghasemi, A. Niazi, M. Kubista, A. Elbergali, *Anal. Chim. Acta* **455** (2002) 335-342.
99. X.-S. Tai, F.Y. Kong, *Z. Kristallogr.* **221** (2006) 341-342.

100. M.A. El-Taher, A.A. Gabr, *Talanta* **43** (1996) 1511-1518.
101. A. Budimir, T. Benković, V. Tomišić, A. Gojmerac Ivšić, N. Galić, *J. Solution Chem.* **42** (2013) 1935-1948.
102. D. Richardson, L.W. Vitolo, E. Bakers, J. Webb, *Biol. Metals* **2** (1989) 69-76.
103. Y.M. Temerk, M.M. Kamal, M.E. Ahmed, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* (1984) 337-339.
104. A. Bruylants, E. Feytmants-de Medicis: *Cleavage of the carbon–nitrogen double bond*. U: S. Patai, (urednik) *The chemistry of the carbon–nitrogen double bonds*, str. 465–504. Wiley, New York (1970).
105. H.F. Harnsberger, E.L. Cochran, H.H. Szmant, *J. Am. Chem. Soc.* **77** (1955) 5048-5050.
106. R. Gulaboski, I. Bogeski, V. Mirčeski, S. Saul, B. Pasieka, H.H. Haeri, M. Stefova, J.P. Stanoeva, S. Mitrev, M. Hoth, R. Kappl, *Sci. Rep.* **3** (2013) 1-8.
107. D.G. Anderson, S.V.S. Mariappan, G.R. Buettner, J.A. Doorn, *J. Biol. Chem.* **286** (2011) 26978-26986.
108. S. Pati, P. Crupi, I. Benucci, D. Antonacci, A. Di Luccia, M. Esti, *Food Res. Int.* **66** (2014) 2017-2215.
109. G.H. Morrison, H. Freiser: *Solvent Extraction in Analytical Chemistry*, str. 50-72, John Wiley & Sons, New York, 1957.
110. J.S. Renny, L.L. Tomasevich, E.H. Tallmadge, D.B. Collum, *Angew. Chem. Int. Ed.* **52** (2013) 11998-12013.
111. F. Al-Sogair, H.M. Marafie, N.M. Shuaib, H.B. Youngo, M.S. El-Ezaby, *J. Coord. Chem.* **55(9)** (2002) 1097-1109.
112. M. Gallego, M.G. Vargas, M. Valcarcel, *Analyst* **104** (1979) 613-619.
113. A. Morales, M.I. Toral, *Analyst* **110** (1985) 1445-1449.
114. Z. Marczenko: *Spectrophotometric Determination of Elements*, Ellis Horwood, Chichester, 1976. str. 309–313.

§ 8. DODATAK

Dodatak 8.1. Apsolutni i relativni intenziteti signala spoja **2** u spektrima masa uz pozitivnu ionizaciju u a) metanolu i b) acetonitrilu. Napon fragmentora=135 V; trostruki kvadrupol.

a)

m/z	Koncentracija / mol dm ⁻³								Asignacija
	1×10 ⁻³		5×10 ⁻⁴		1×10 ⁻⁴		5×10 ⁻⁵		
	a.u.	%	a.u.	%	a.u.	%	a.u.	%	
264	40967	5,12	33079	6,29	15079	7,53	11505	8,71	[M+Na] ⁺
242	799451	100	526123	100	200186	100	132065	100	[M+H] ⁺

b)

m/z	Koncentracija / mol dm ⁻³								Asignacija
	1×10 ⁻³		5×10 ⁻⁴		1×10 ⁻⁴		5×10 ⁻⁵		
	a.u.	%	a.u.	%	a.u.	%	a.u.	%	
264	41422	11	35561	10	26286	9	17681	8	[M+Na] ⁺
242	367795	100	368141	100	277595	100	217071	100	[M+H] ⁺

Dodatak 8.2. Apsolutni i relativni intenziteti signala spoja **2** u spektrima masa uz negativnu ionizaciju u a) metanolu i b) acetonitrilu. Napon fragmentora=135 V; trostruki kvadrupol.

a)

m/z	Koncentracija / mol dm ⁻³								Asignacija
	1×10 ⁻³		5×10 ⁻⁴		1×10 ⁻⁴		5×10 ⁻⁵		
	a.u.	%	a.u.	%	a.u.	%	a.u.	%	
262	1136	3	1972	7	2007	18	1599	22	[M+Na-2H] ⁻
240	39543	100	28219	100	10892	100	7103	100	[M-H] ⁻
121	1231	3	1106	4	616	6	482	7	[121] ⁻
118	629	2	637	2	389	4	321	4	[M-H-122] ⁻

b)

m/z	Koncentracija / mol dm ⁻³								Asignacija
	1×10 ⁻³		5×10 ⁻⁴		1×10 ⁻⁴		5×10 ⁻⁵		
	a.u.	%	a.u.	%	a.u.	%	a.u.	%	
262	827	5,11	817	5,71	862	9,83	575	8,47	[M+Na-2H] ⁻
240	16205	100	14310	100	8771	100	6792	100	[M-H] ⁻
121	647	4,00	674	4,72	517	5,90	357	5,26	[121] ⁻
118	352	2,18	364	2,55	265	3,03	216	3,19	[M-H-122] ⁻

Dodatak 8.3. Utjecaj mravlje kiseline i različitih soli na intenzitete signala spoja **2** u metanolu pri različitim koncentracijama uz pozitivnu ionizaciju. Napon fragmentora=135 V; trostruki kvadrupol. a) $c(\mathbf{2}) = 5 \times 10^{-4}$ mol dm⁻³; b) $c(\mathbf{2}) = 5 \times 10^{-5}$ mol dm⁻³.

a)

m/z	Relativni intenzitet / %					Asignacija
	–	HCOOH	HCOONH ₄	CH ₃ COONH ₄	CH ₃ COONa	
286	–	–	–	–	5,17	[M+2Na-H] ⁺
264	35,70	6,29	6,29	29,12	100	[M+Na] ⁺
242	100	100	100	100	63,82	[M+H] ⁺

b)

m/z	Relativni intenzitet / %					Asignacija
	–	HCOOH	HCOONH ₄	CH ₃ COONH ₄	CH ₃ COONa	
286	–	–	–	–	10,99	[M+2Na-H] ⁺
264	38,38	8,71	28,22	23,94	100	[M+Na] ⁺
242	100	100	100	100	56,97	[M+H] ⁺

Dodatak 8.4. Utjecaj mravlje kiseline i različitih soli na intenzitete signala spoja **2** u acetonitrilu pri različitim koncentracijama uz pozitivnu ionizaciju. Napon fragmentora=135 V; trostruki kvadrupol. a) $c(\mathbf{2}) = 5 \times 10^{-4}$ mol dm⁻³; b) $c(\mathbf{2}) = 5 \times 10^{-5}$ mol dm⁻³.

a)

m/z	Relativni intenzitet / %					Asignacija
	–	HCOOH	HCOONH ₄	CH ₃ COONH ₄	CH ₃ COONa	
286	–	–	–	–	12	[M+2Na-H] ⁺
264	27	10	45	43	100	[M+Na] ⁺
242	100	100	100	100	96	[M+H] ⁺

b)

<i>m/z</i>	Relativni intenzitet / %					Asignacija
	–	HCOOH	HCOONH ₄	CH ₃ COONH ₄	CH ₃ COONa	
286	–	–	–	–	22	[M+2Na–H] ⁺
264	46	8	23	19	100	[M+Na] ⁺
242	100	100	100	100	99	[M+H] ⁺

Dodatak 8.5. Usporedba spektara masa spojeva **1–12** uz pozitivnu ionizaciju snimljenih na različitim instrumentima (instrument s trostrukim kvadrupolom, QqQ, i instrument s ionskom stupicom, IT).

QqQ: Potencijal kapilare 4 kV, napon fragmentora 135 V, protok plina 0,6 dm³ min^{–1} i temperatura plina 300 °C. IT: Napon pri raspršenju 4,5 kV, napon kapilare 4 V, temperatura kapilare 250 °C.

Spoj	% [M+H] ⁺		% [M+Na] ⁺	
	QqQ	IT	QqQ	IT
1	100	0,66	14,32	100
2	100	0,56	15,29	100
3	100	1,23	15,16	100
4	100	1,45	8,92	100
5	100	1,64	9,98	100
6	100	1,17	12,81	100
7	100	0,98	15,84	100
8	100	3,72	10,71	100
9	100	2,74	9,07	100
10*	100	9,65	7,21	100
11	100	100	4,80	46,42
12	100	4,03	11,86	100

* Signal asigniran ionu [M+Na–Cl+H]⁺ relativnog intenziteta 41,35 % uočen je u spektru masa snimljenom instrumentom s ionskom stupicom.

Dodatak 8.6. ESI(+) MS/MS spektar iona $[1+H]^+$ pri različitim kolizijskim energijama.

m/z	Relativni intenzitet / %				
	5 eV	10 eV	15 eV	20 eV	25 eV
226	100	100	57,31	8,58	–
148	–	2,55	5,85	3,91	1,90
123	4,94	23,29	68,65	51,66	28,12
121	1,53	8,99	35,70	41,15	35,82
106	–	1,83	6,51	6,68	5,70
105	–	2,87	16,32	29,12	48,18
96	–	–	2,17	3,02	3,48
93	–	–	1,24	2,90	4,64
80	6,45	31,89	100	100	100
79	–	4,50	22,00	39,99	61,01
78	–	–	4,73	10,44	19,87
66	–	–	1,07	3,31	7,34

Dodatak 8.7. ESI(+) MS/MS spektar iona $[2+H]^+$ pri različitim kolizijskim energijama.

m/z	Relativni intenzitet / %				
	5 eV	10 eV	15 eV	20 eV	25 eV
242	100	100	69,62	12,38	1,05
148	2,44	10,56	30,72	26,77	11,65
123	2,40	12,95	52,45	66,14	41,48
121	0,68	4,66	27,69	52,59	50,14
120	5,77	30,39	100	96,97	43,42
106	4,49	19,64	63,54	70,31	44,17
105	1,23	5,93	27,27	55,19	70,31
93	–	2,89	21,04	45,37	44,43
92	–	–	3,55	9,76	10,97
80	2,61	13,62	60,76	100	100
79	–	1,68	12,69	36,64	52,86
78	–	1,41	10,05	32,55	54,78
65	–	1,12	8,09	27,41	48,08

Dodatak 8.8. ESI(+) MS/MS spektar iona $[3+H]^+$, $[4+H]^+$ i $[5+H]^+$ pri različitim kolizijskim energijama.

<i>m/z</i>	Relativni intenzitet / %								
	10 eV			15 eV			20 eV		
	3	4	5	3	4	5	3	4	5
258	100	100	100	100	57,60	86,27	17,88	9,10	15,49
148	8,40	15,70	8,00	32,08	40,27	29,44	27,75	41,00	27,87
138	–	–	–	2,80	1,14	2,31	3,14	1,72	1,73
137	2,26	–	4,90	13,64	1,54	26,87	17,79	3,45	41,74
136	23,11	33,09	24,57	98,39	100	100	82,26	100	100
123	9,15	11,93	10,97	51,91	38,11	55,37	59,87	51,27	68,16
121	2,86	2,79	2,13	22,65	13,42	19,31	41,62	29,30	41,18
118 ^a	–	–	–	8,67	–	–	16,96	–	–
109 ^b	–	3,53	3,61	8,25	18,09	32,90	15,54	37,49	67,85
108 ^c	3,08	–	–	23,89	1,69	2,42	37,75	5,69	6,43
106	14,50	23,29	20,42	66,48	61,35	78,51	71,22	73,45	87,50
105	4,69	2,11	4,64	26,54	9,36	24,76	45,83	22,17	55,31
94	–	–	–	–	–	–		2,48	2,04
93	–	–	–	–	–	–		3,19	3,40
81	–	1,94	–	–	14,52	6,18	9,21	52,23	81,72
80	11,12	9,43	9,37	68,57	34,85	52,69	100	67,50	89,32
78	–	1,14	–	9,28	7,16	9,92	27,03	26,96	31,30

^agubitak H₂O iz iona *m/z* 136

^bgubitak HCN iz iona *m/z* 136

^cgubitak CO iz iona *m/z* 136

Dodatak 8.9. ESI(+) MS/MS spektar iona $[6+H]^+$ i $[7+H]^+$ pri različitim kolizijskim energijama.

<i>m/z</i>	Relativni intenzitet / %							
	5eV		10eV		15eV		25 eV	
	6	7	6	7	6	7	6	7
272	100	100	100	100	100	48,22	1,39	–
150	3,22	6,96	15,46	39,89	60,37	100	10,99	71,12
148	1,89	3,21	9,15	15,98	39,29	33,55	13,89	26,27

135	1,53	–	10,79	1,43	81,71	7,78	100	43,61
123	1,67	2,06	9,70	11,91	55,63	33,27	36,89	47,14
121	–	–	2,10	2,02	18,28	8,54	30,04	28,02
106	2,71	4,20	14,21	21,95	69,50	49,30	41,08	59,69
105	–	–	2,92	1,17	17,94	4,11	39,69	22,26
95	–	–	–	3,28	–	17,45	–	100
80	1,66	1,09	9,51	6,35	59,44	18,50	73,75	51,72
79	–	–	–	–	7,13	1,66	26,30	15,39
78	–	–	–	1,06	6,99	5,29	29,02	44,23

Dodatak 8.10. ESI(+) MS/MS spektar iona $[8+H]^+$ pri različitim kolizijskim energijama.

<i>m/z</i>	Relativni intenzitet / %				
	5 eV	10 eV	15 eV	20 eV	25 eV
276	100	100	95,62	21,83	2,10
156	–	–	3,36	4,91	3,59
154	4,48	23,14	100	100	53,56
148	1,11	4,49	16,39	15,91	8,54
127	0,05	0,30	3,77	8,15	6,73
123	1,75	9,41	46,26	59,65	43,00
121	0,46	3,37	22,92	46,11	53,12
118	0,20	1,56	12,66	32,01	33,42
106	1,68	7,61	30,85	41,14	31,56
105	–	4,11	24,01	43,65	58,50
99	–	0,08	1,23	4,89	10,87
93	–	–	–	2,02	5,51
90	–	–	–	4,91	10,86
80	2,16	11,17	60,38	96,88	100
78	–	–	5,33	17,35	32,95

Dodatak 8.11. ESI(+) MS/MS spektar iona $[9+H]^+$ pri različitim kolizijskim energijama.

m/z	Relativni intenzitet / %				
	5 eV	10 eV	15 eV	20 eV	25 eV
276	100	100	94,12	16,91	1,74
156	–	–	2,58	1,91	2,83
154	3,60	21,95	100	100	69,63
148	0,69	4,35	17,72	15,88	9,32
136	–	–	–	–	1,82
127	0,15	1,34	15,98	28,75	42,12
123	1,51	9,20	52,13	59,04	51,85
121	0,33	2,81	21,13	39,88	51,07
106	2,58	11,56	50,62	53,34	51,37
105	–	5,07	26,36	47,11	85,84
99	–	–	3,52	11,46	27,35
93	–	–	–	1,76	4,31
90	–	–	–	1,72	3,26
80	1,57	9,43	48,87	68,69	100
78	–	–	6,46	19,26	50,17

Dodatak 8.12. ESI(+) MS/MS spektar iona [**10**+H]⁺ pri različitim kolizijskim energijama.

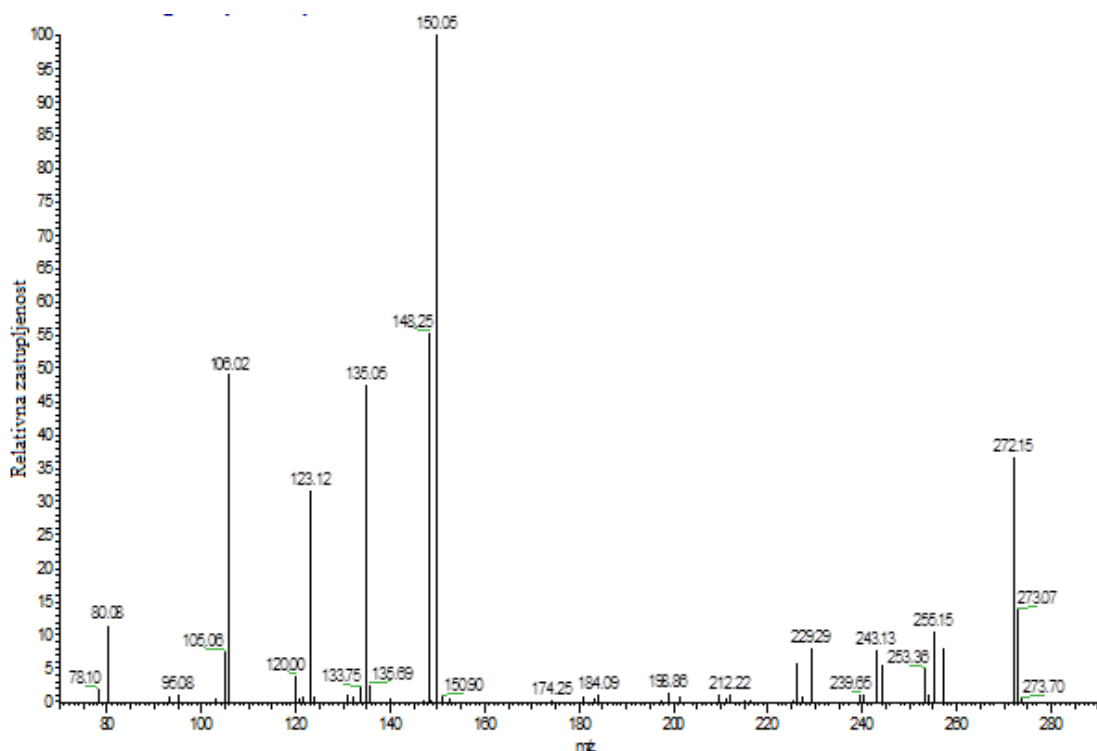
<i>m/z</i>	Relativni intenzitet / %				
	5 eV	10 eV	15 eV	20 eV	25 eV
310	100	100	100	48,12	7,09
188	2,16	10,84	48,00	100	67,47
161	–	–	1,09	6,19	10,09
152	–	–	3,71	18,21	29,24
148	–	1,42	6,06	11,21	7,28
133	–	–	–	4,05	10,84
124	–	–	–	1,73	6,01
123	–	5,23	25,13	65,14	60,19
121	–	1,97	12,95	47,45	64,57
106	–	3,38	15,36	37,48	35,29
105	–	3,04	15,66	48,99	76,08
93	–	–	0,22	1,54	4,20
80	1,06	5,41	28,78	82,81	100
78	–	–	2,31	12,11	27,20
66	–	–	–	1,28	4,74

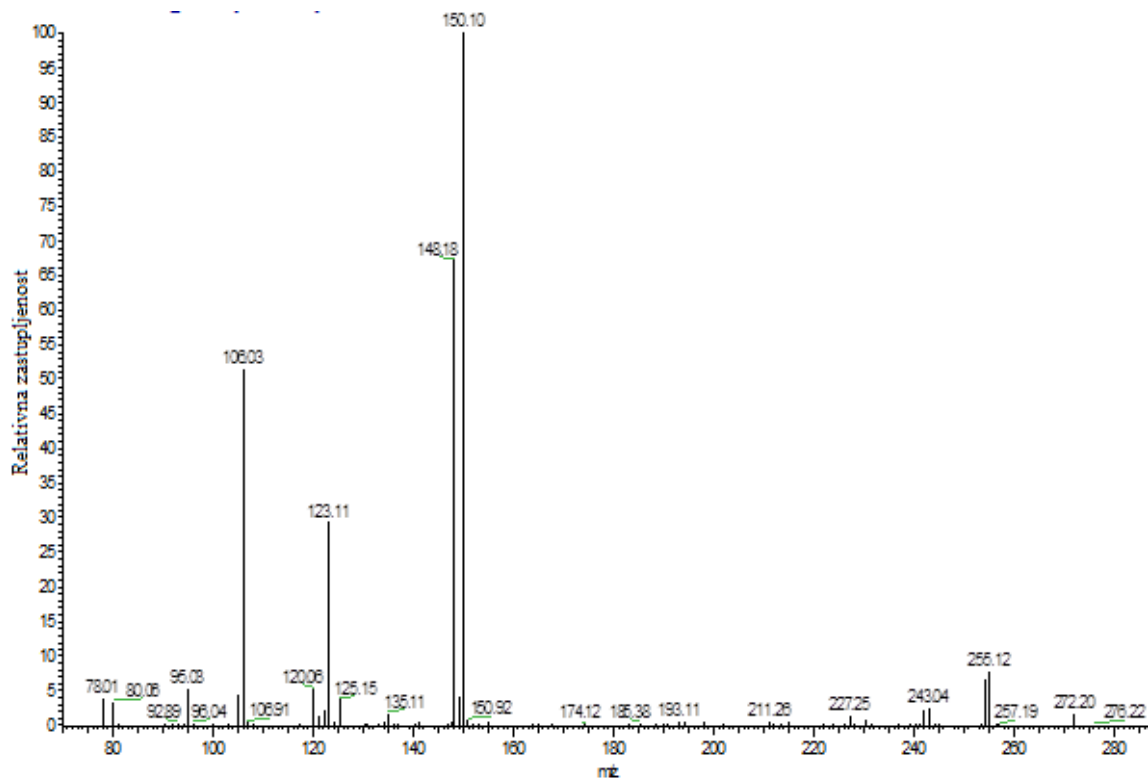
Dodatak 8.13. ESI(+) MS/MS spektar iona $[11+H]^+$ pri različitim kolizijskim energijama.

m/z	Relativni intenzitet / %				
	5 eV	10 eV	15 eV	20 eV	25 eV
287	100	100	100	48,47	4,07
165	1,63	9,53	44,98	90,18	33,89
148	–	–	4,41	11,39	6,99
147	–	–	1,23	2,96	1,67
123	1,28	6,85	34,75	84,22	48,46
121	–	2,78	18,25	61,69	50,18
119	–	–	6,65	36,05	38,39
106	–	4,89	27,92	84,96	58,24
105	–	4,15	26,09	100	100
93	–	–	–	2,57	3,89
92	–	–	–	3,89	8,45
80	1,01	5,33	29,63	91,43	76,56
79	–	1,78	14,41	64,42	72,77
78	–	–	3,98	25,98	39,08
66	–	–	–	2,53	4,84

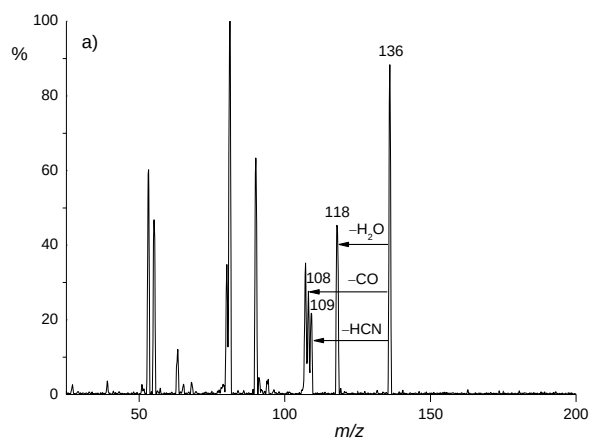
Dodatak 8.14. ESI(+) MS/MS spektar iona $[12+H]^+$ pri različitim kolizijskim energijama.

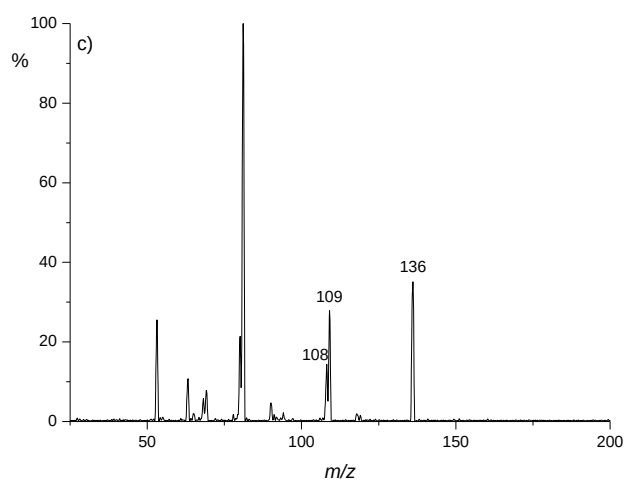
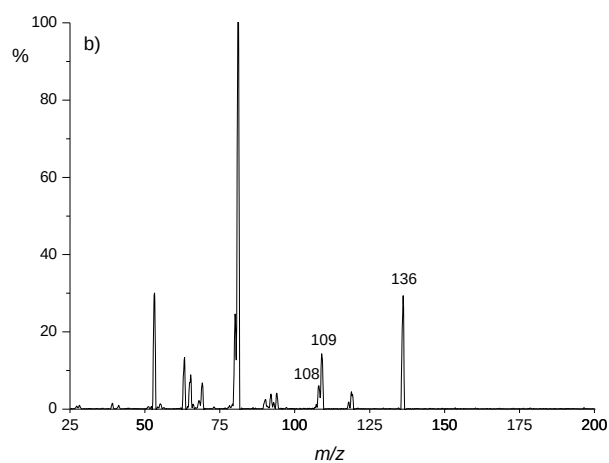
m/z	Relativni intenzitet / %				
	5 eV	10 eV	15 eV	18 eV	20 eV
256	100	100	18,62	6,17	3,05
162	1,39	5,97	4,11	3,19	2,67
134	18,43	99,98	100	100	100
123	–	2,16	2,38	2,91	3,63
121	–	1,76	3,59	5,85	8,14
119	–	–	–	–	1,20
106	1,49	6,98	6,66	7,27	8,01
105	–	–	1,41	3,05	5,41
93	–	2,85	6,00	10,19	14,14
80	1,19	6,64	8,40	11,19	13,81
78	–	–	–	1,76	2,74
65	–	1,53	3,83	7,89	12,84
42	–	2,65	5,30	9,05	12,81



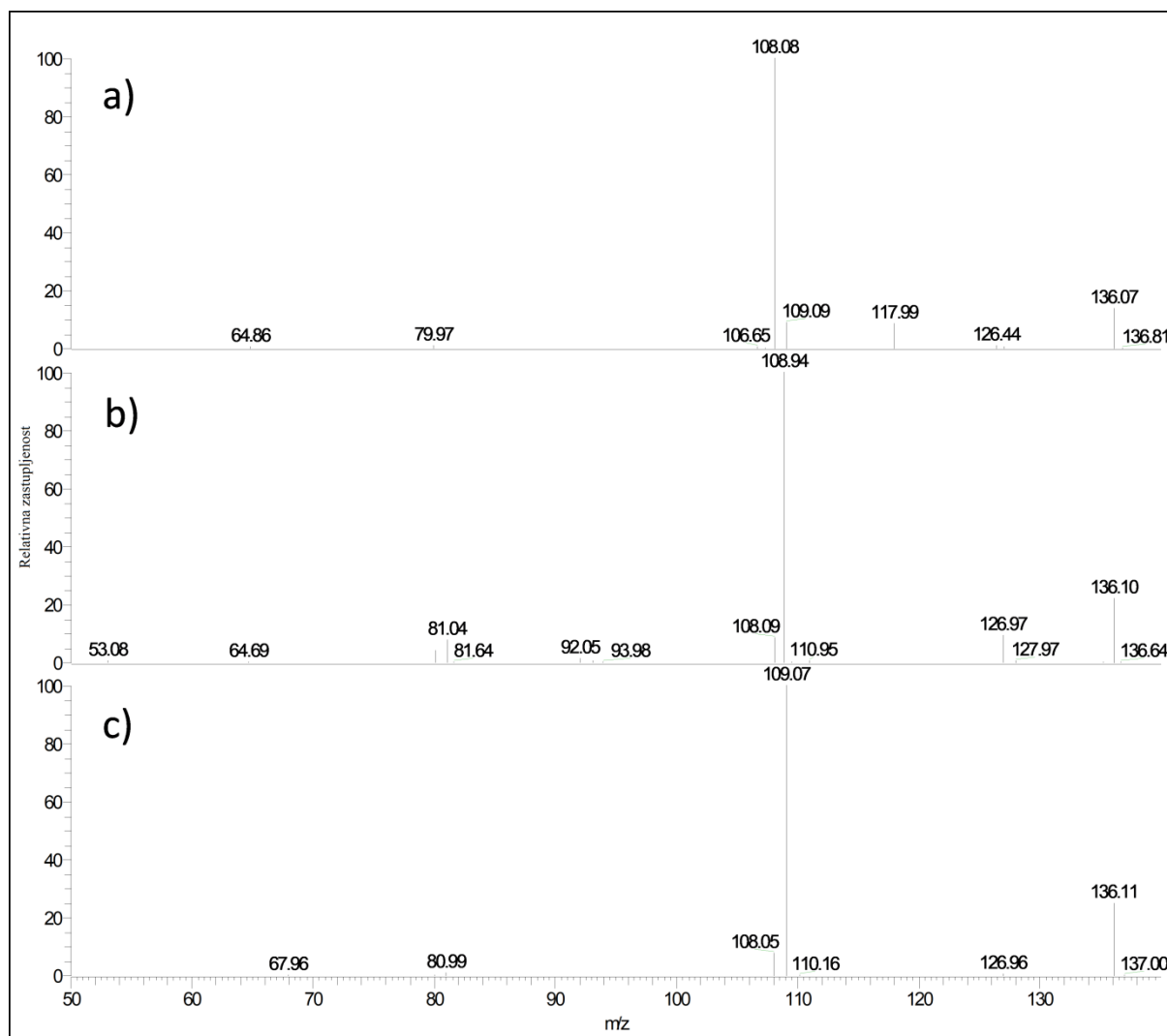


Dodatak 8.15. MS/MS spektri protonirane molekule spoja a) **6** i b) **7** snimljeni instrumentom s ionskom stupicom (IT). Napon pri raspršenju 4,5 kV, napon kapilare 4 V, temperatura kapilare 250 °C.

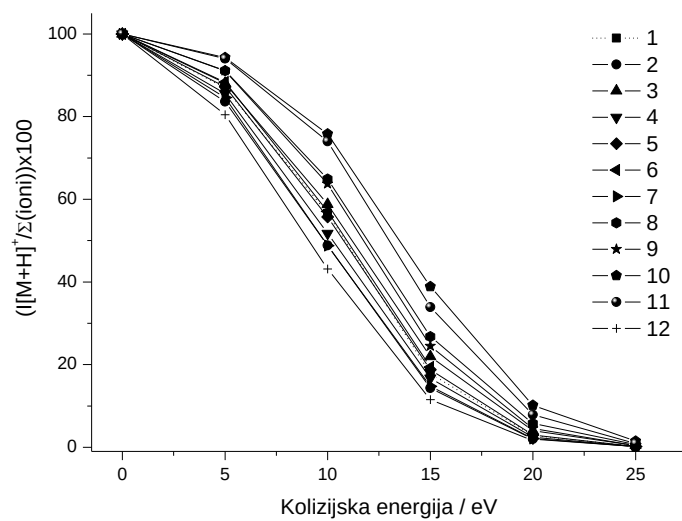




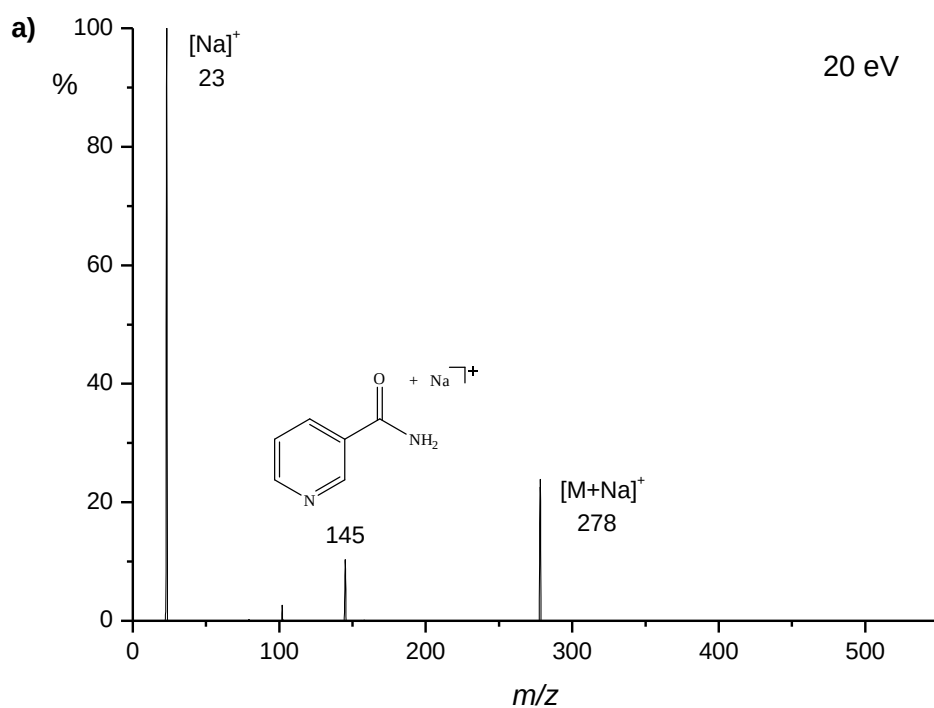
Dodatak 8.16. MS/MS spektri iona m/z 136 iz a) spoja **3**, b) spoja **4** i c) spoja **5** pri kolizijskim energijama od 15 eV. Napon fragmentora=135 V; instrument: QqQ.

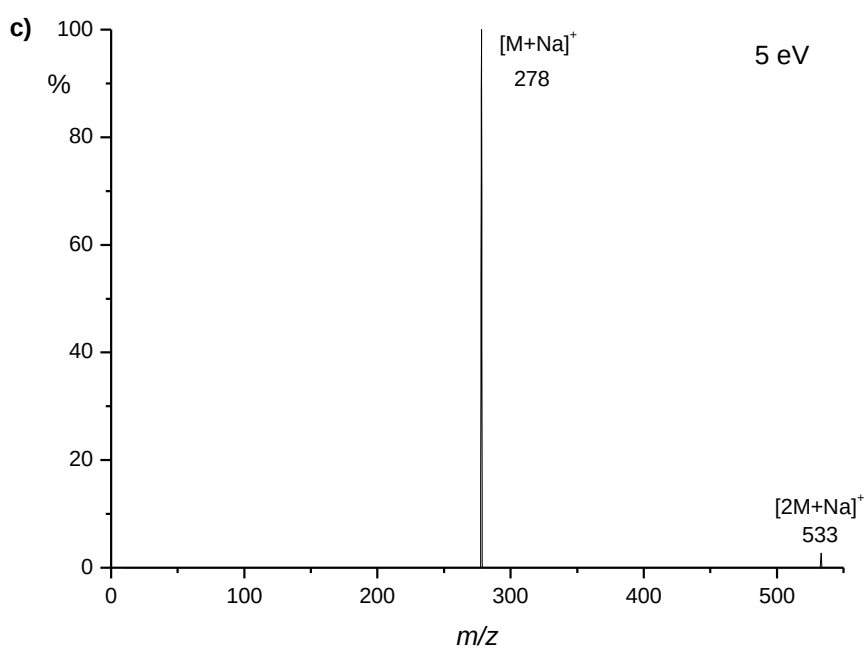
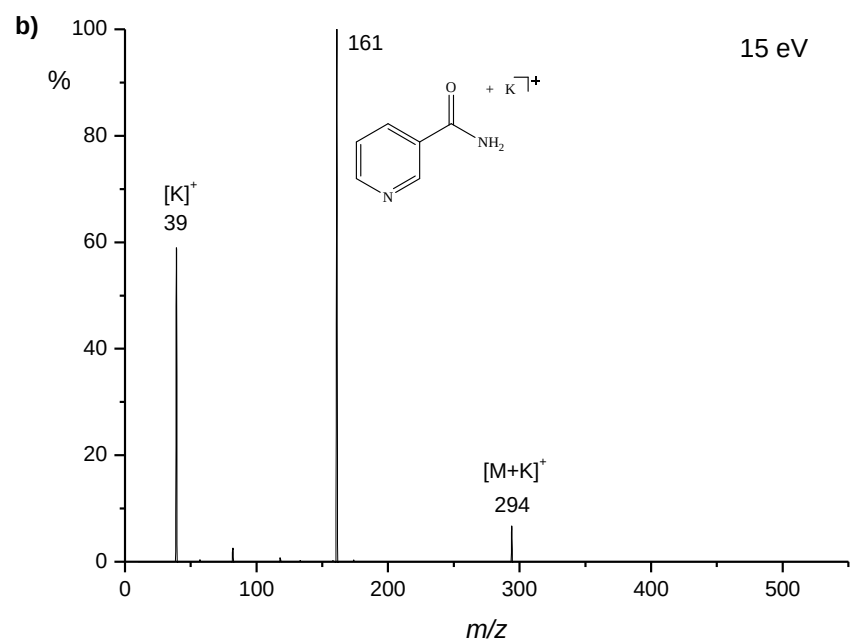


Dodatak 8.17. MS/MS spektri fragmentnog iona m/z 136 spojeva a) **3**, b) **4** i c) **5** dobivenih na instrumentu s ionskom stupicom. Napon pri raspršenju 4,5 kV, napon kapilare 4 V, temperatura kapilare 250 °C.

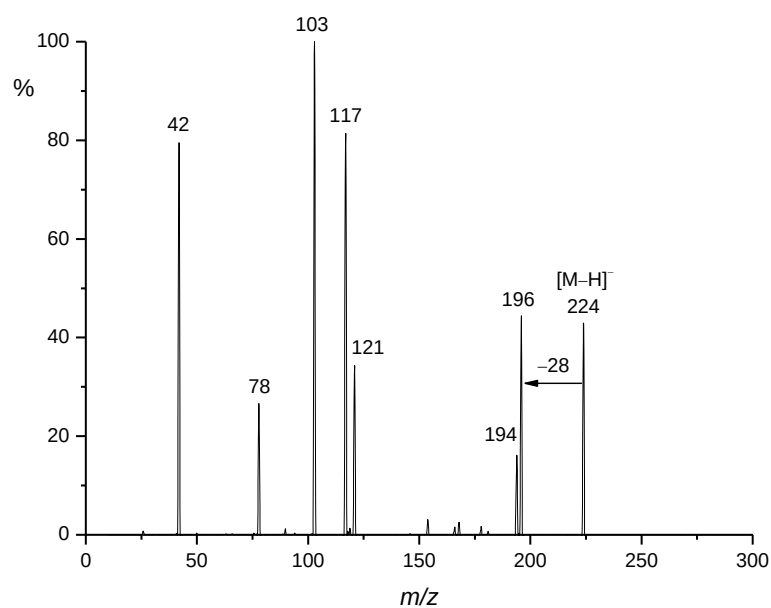


Dodatak 8.18. Omjeri relativnih intenziteta signala protoniranih hidrazona i svih iona u ovisnosti o kolizijskoj energiji.

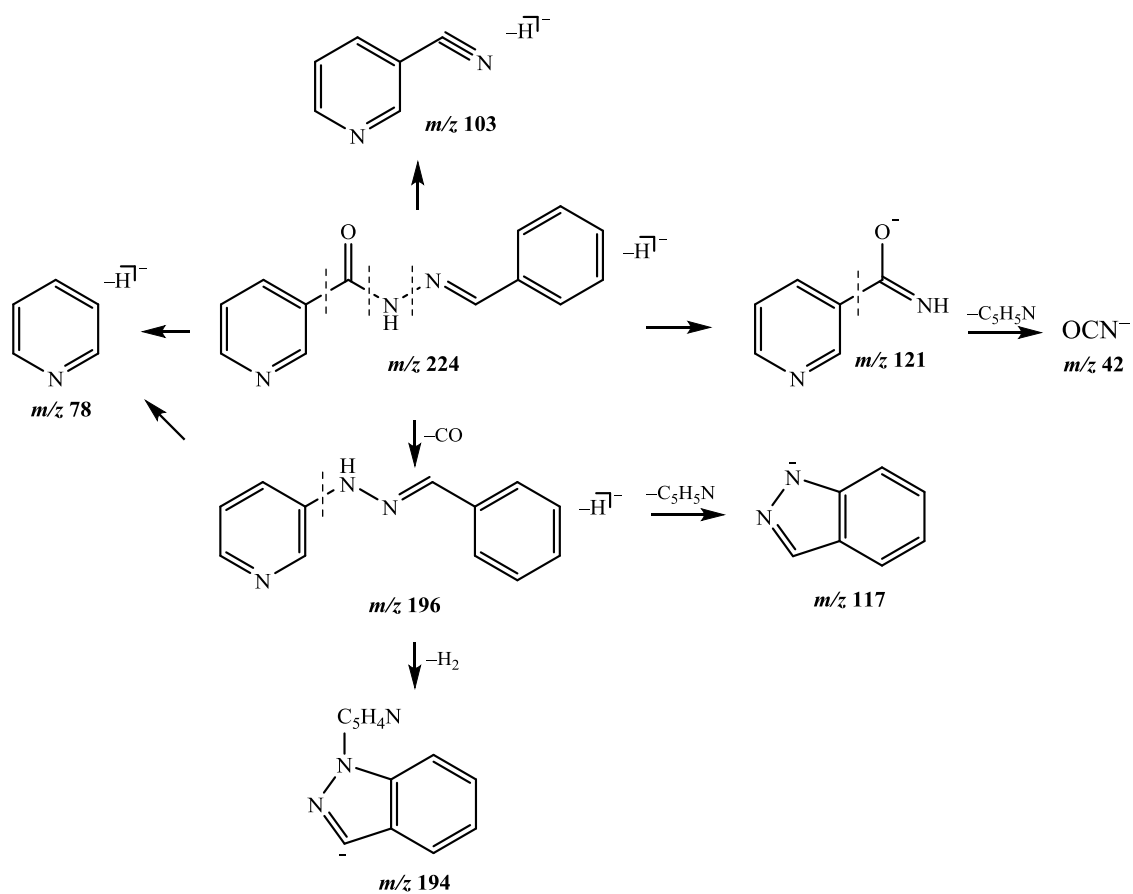




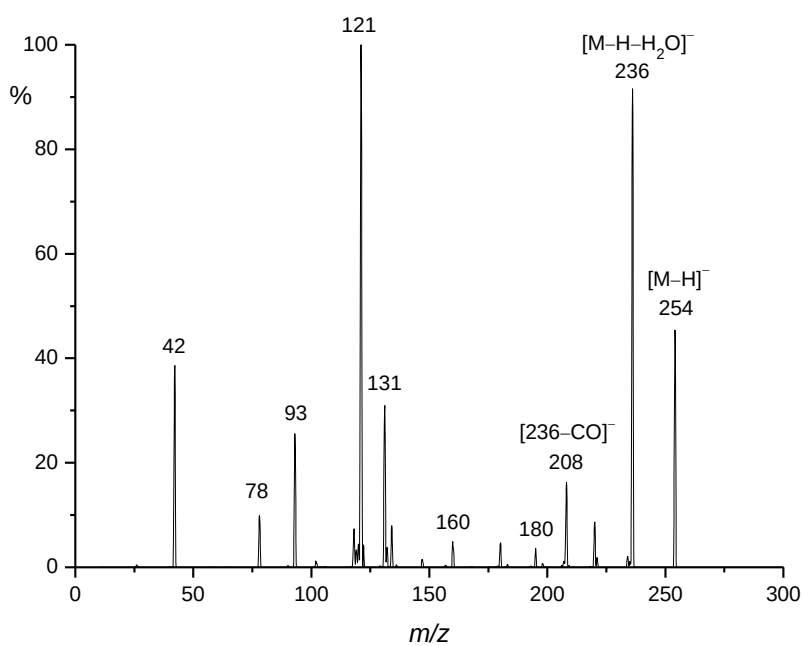
Dodatak 8.19. MS/MS spektri iona adukata: a) $[12+Na]^+$, b) $[12+K]^+$ i c) $[2 \times 12+Na]^+$. Napon fragmentora=135 V. Instrument: QqQ.



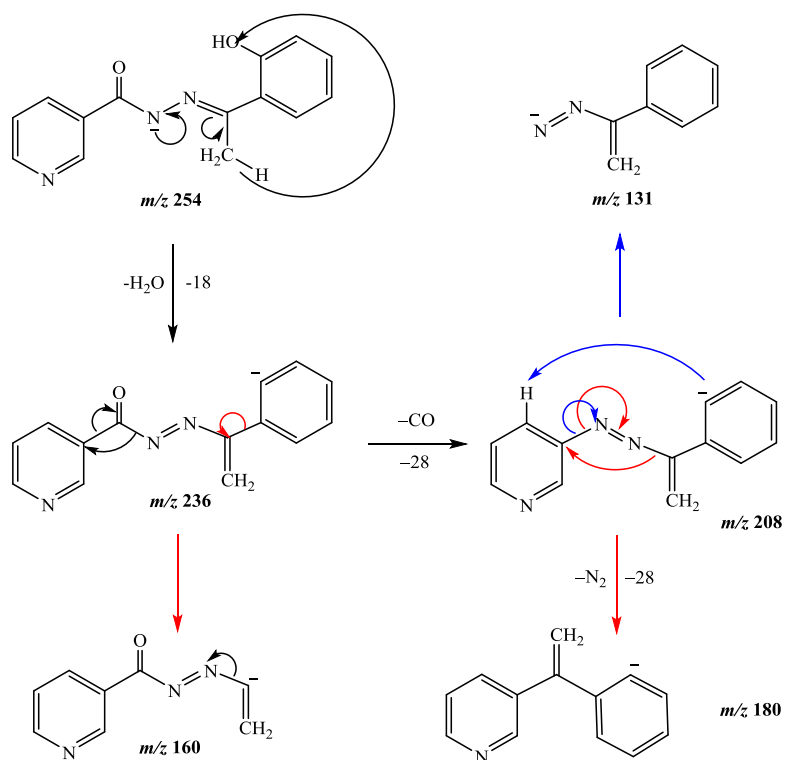
Dodatak 8.20. MS/MS spektar iona $[1-H]^-$ uz negativnu ionizaciju pri 15 eV. Napon fragmentora=135 V. Instrument: QqQ.



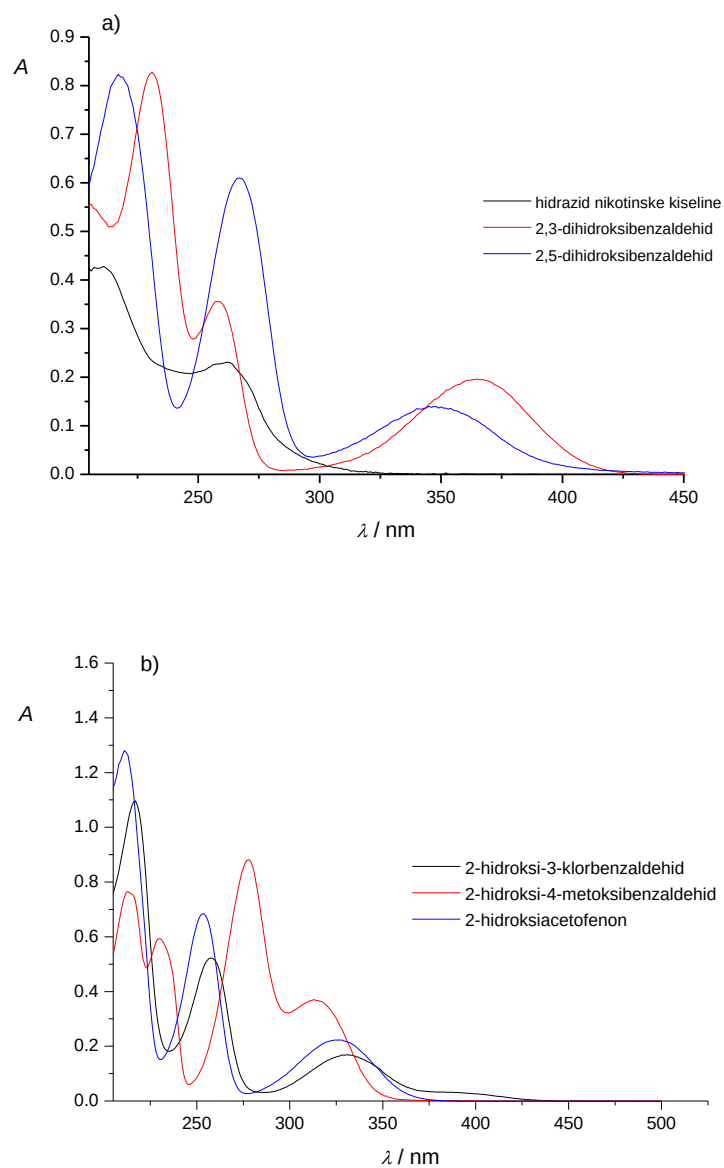
Dodatak 8.21. Predložena fragmentacija iona $[1-H]^-$.



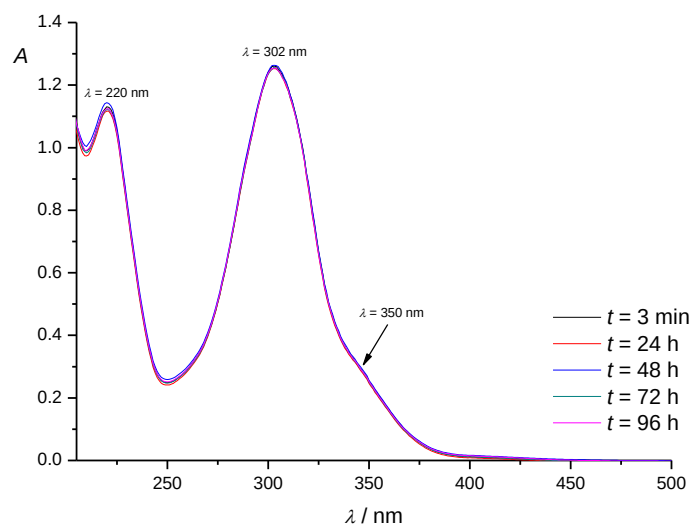
Dodatak 8.22. MS/MS spektar iona $[12-H]^-$ uz negativnu ionizaciju pri 15 eV. Napon fragmentora=135 V. Instrument: QqQ.



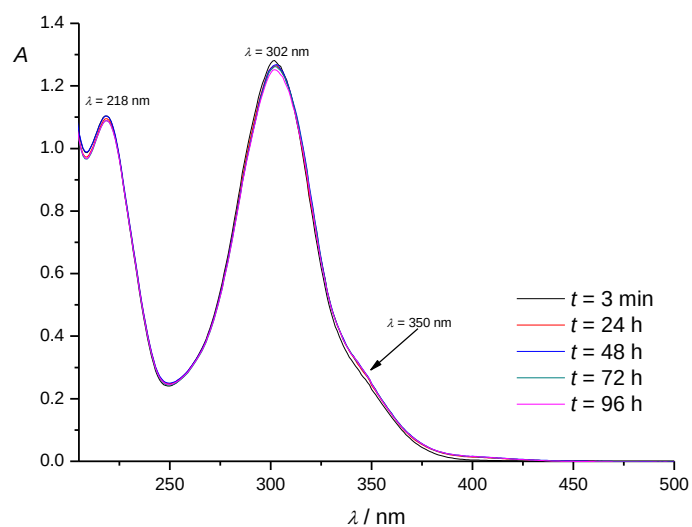
Dodatak 8.23. Predložena fragmentacija iona $[12-H]^-$.



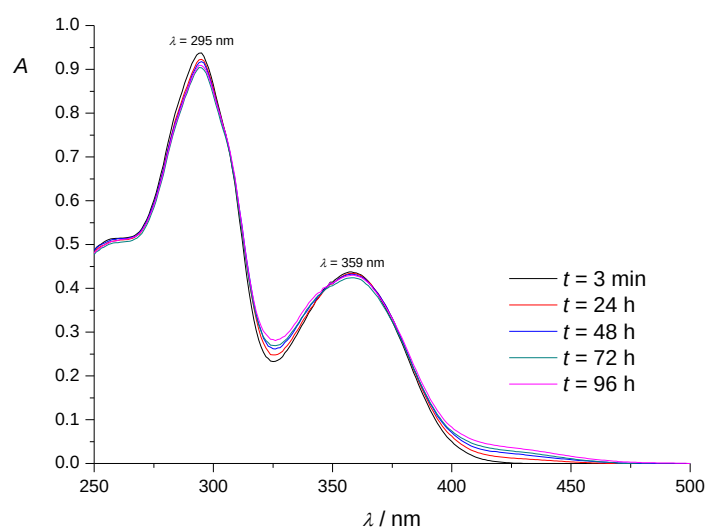
Dodatak 8.24. Apsorpcijski spektri: a) hidrazida nikotinske kiseline, 2,3-dihidroksibenzaldehida i 2,5-dihidroksibenzaldehida i b) 2-hidroksi-3-klorbenzaldehida, 2-hidroksi-4-metoksibenzaldehida i 2-hidroksiacetofenona u metanolu. Koncentracija svih spojeva je $5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$.



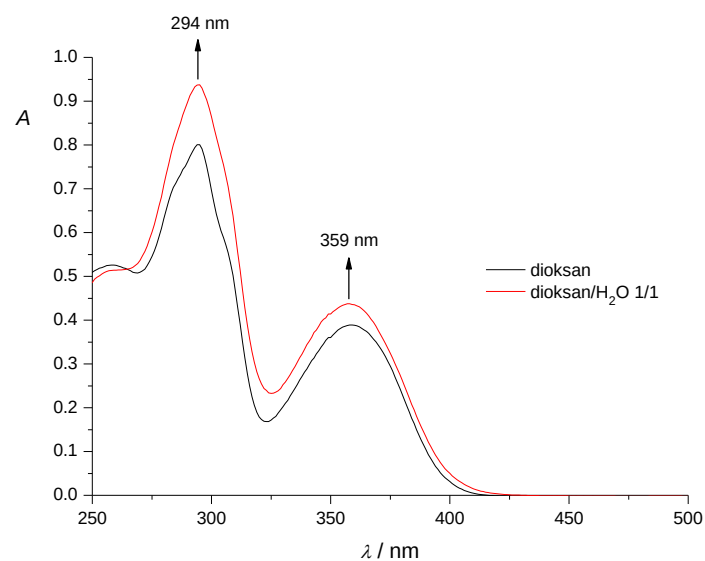
Dodatak 8.25. Apsorpcijski spektar spoja **3** u metanolu tijekom vremena. $c(\mathbf{3}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$.



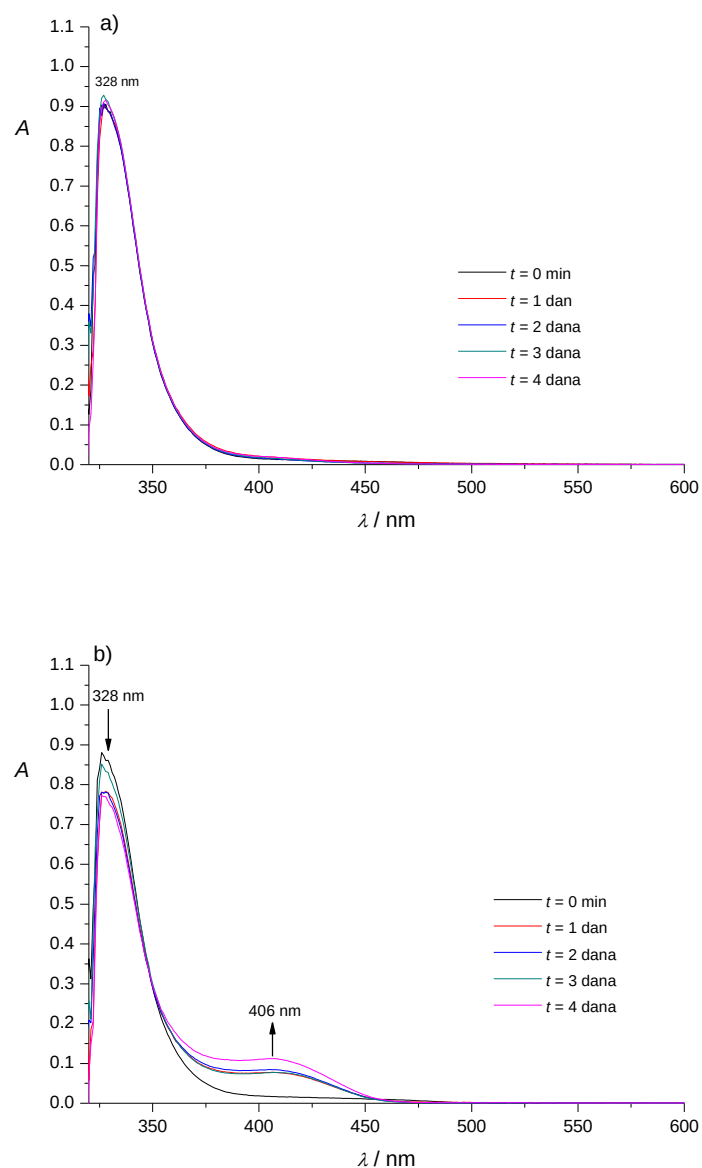
Dodatak 8.26. Apsorpcijski spektar spoja **3** u sustavu metanol/voda 1/1 tijekom vremena. $c(\mathbf{3}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$.



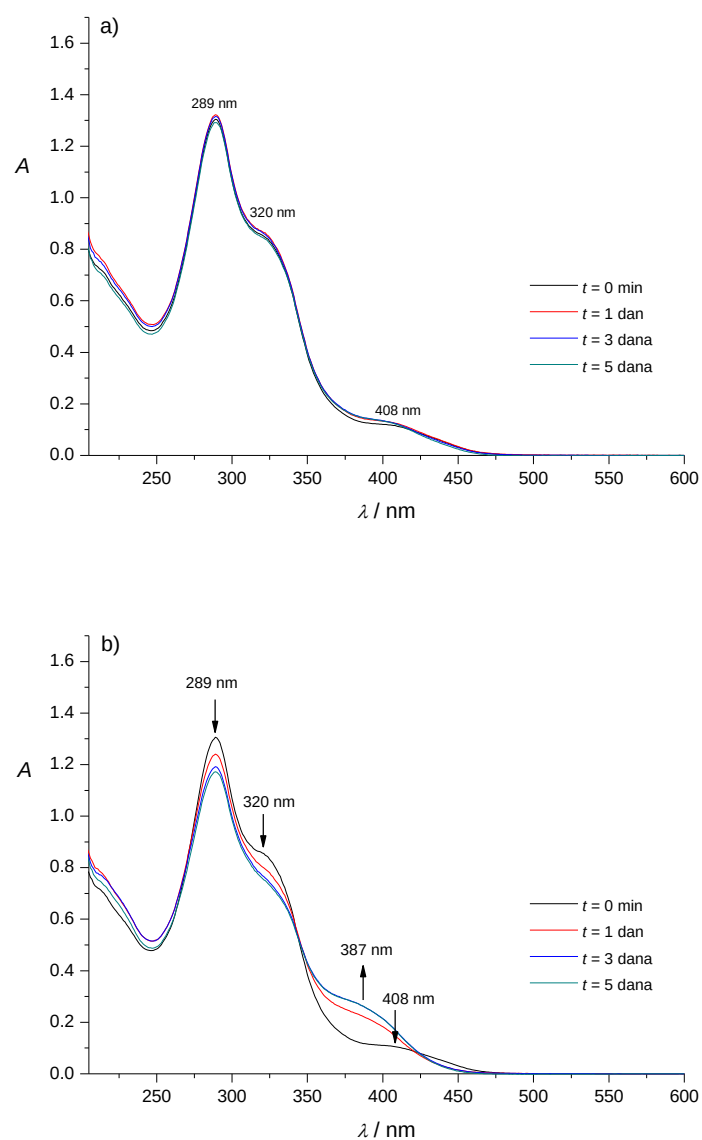
Dodatak 8.27. Apsorpcijski spektar spoja **5** u sustavu dioksan/voda 1/1 tijekom vremena. $c(\mathbf{5}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$.



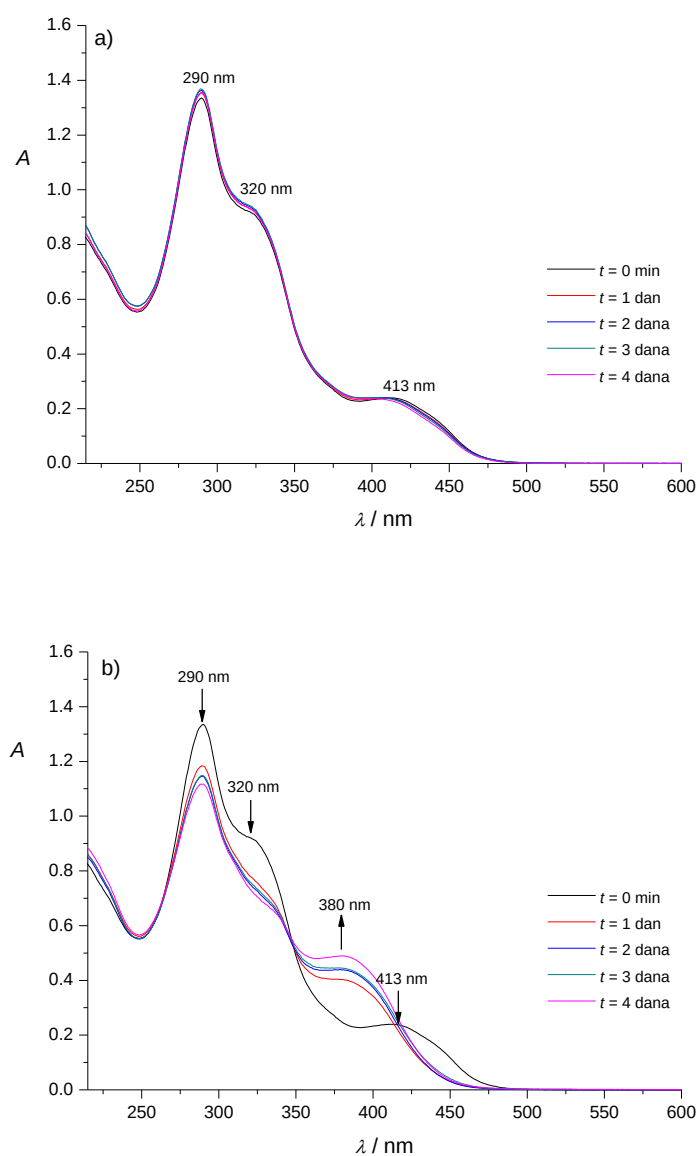
Dodatak 8.28. Apsorpcijski spektri spoja **5** u dioksanu i u sustavu dioksan/voda 1/1 odmah po pripravi otopina. $c(\mathbf{5}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$.



Dodatak 8.29. UV-Vis spektri spoja **11** u acetonu tijekom vremena. Otopina je držana: a) u mraku, b) na dnevnom svjetlu. $c(\mathbf{11}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. $l = 1 \text{ cm}$.



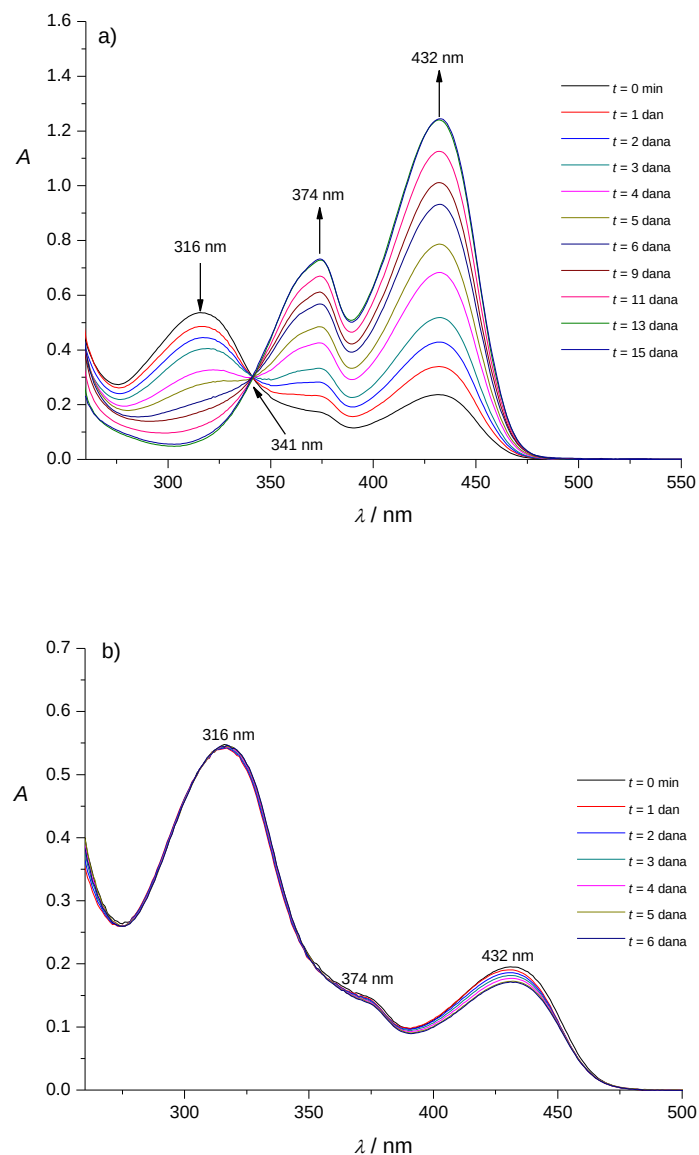
Dodatak 8.30. UV-Vis spektri spoja **11** u metanolu tijekom vremena. Otopina je držana: a) u mraku, b) na dnevnom svjetlu. $c(\mathbf{11}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. $l = 1 \text{ cm}$.



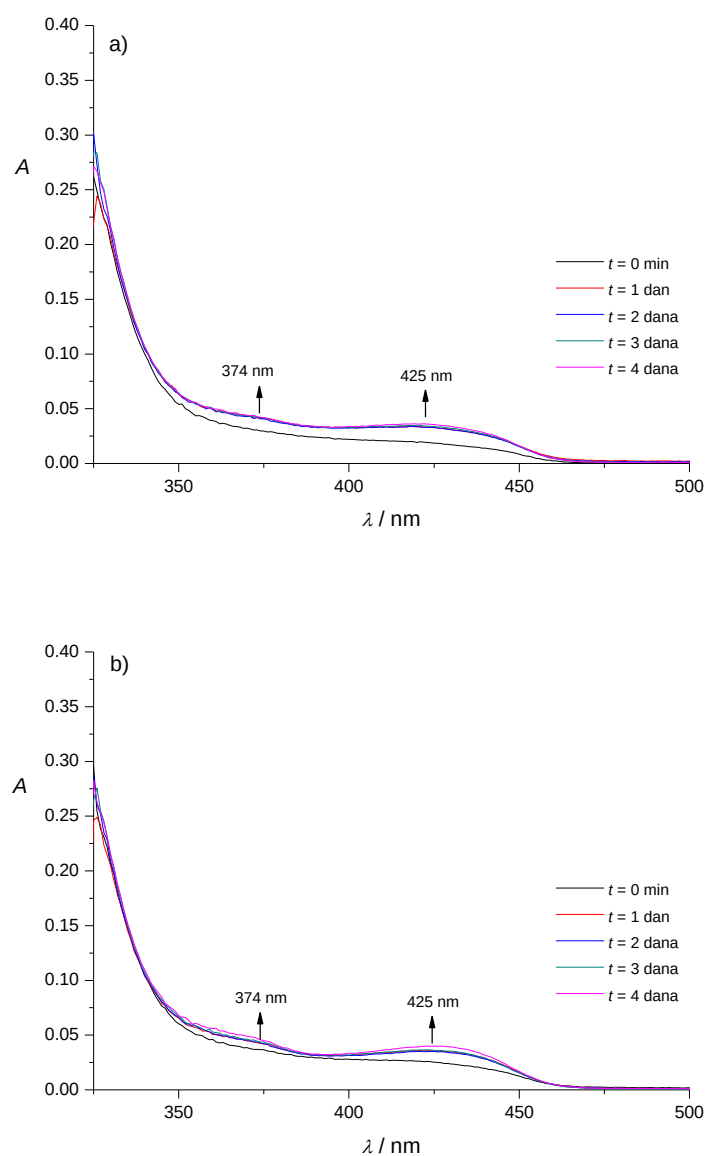
Dodatak 8.31. UV-Vis spektri spoja **11** u etanolu tijekom vremena. Otopina je držana: a) u mraku, b) na dnevnom svjetlu. $c(\mathbf{11}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. $l = 1 \text{ cm}$.

Dodatak 8.32. Apsorpcijske vrpce i molarni apsorpcijski koeficijenti 2-hidroksi-5-nitrobenzaldehida u različitim otapalima odmah po pripravi otopine i nakon 24 sata u mraku ili na dnevnom svjetlu.

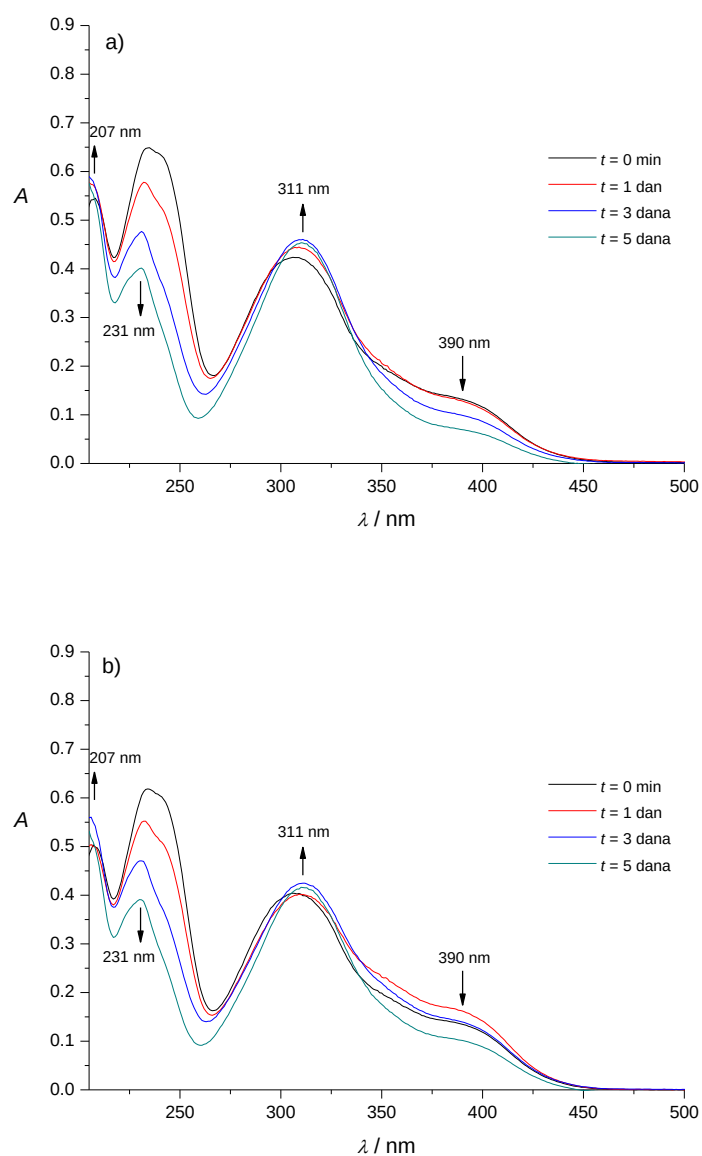
Otapalo	λ (nm) ($10^{-4} \varepsilon / \text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$)		
	$t = 0 \text{ min}$	$t = 24 \text{ h (mrak)}$	$t = 24 \text{ h}$ (dnevno svjetlo)
DMSO	316 (1,072)	316 (0,972)	316 (1,082)
	374 (0,345)	374 (0,464)	374 (0,290)
	432 (0,473)	432 (0,679)	432 (0,381)
Aceton	326 (0,498)	326 (0,488)	326 (0,498)
	374 (0,060)	374 (0,083)	374 (0,085)
	425 (0,037)	425 (0,066)	425 (0,071)
MeOH	235 (1,298)	232 (1,156)	232 (1,104)
	309 (0,847)	309 (0,889)	309 (0,805)
	357 (0,362)	357 (0,368)	357 (0,430)
	390 (0,264)	390 (0,257)	390 (0,325)
EtOH	235 (1,489)	232 (1,265)	233 (1,292)
	305 (0,923)	309 (0,938)	309 (0,928)
	354 (0,479)	354 (0,501)	354 (0,515)
	390 (0,393)	390 (0,386)	390 (0,399)



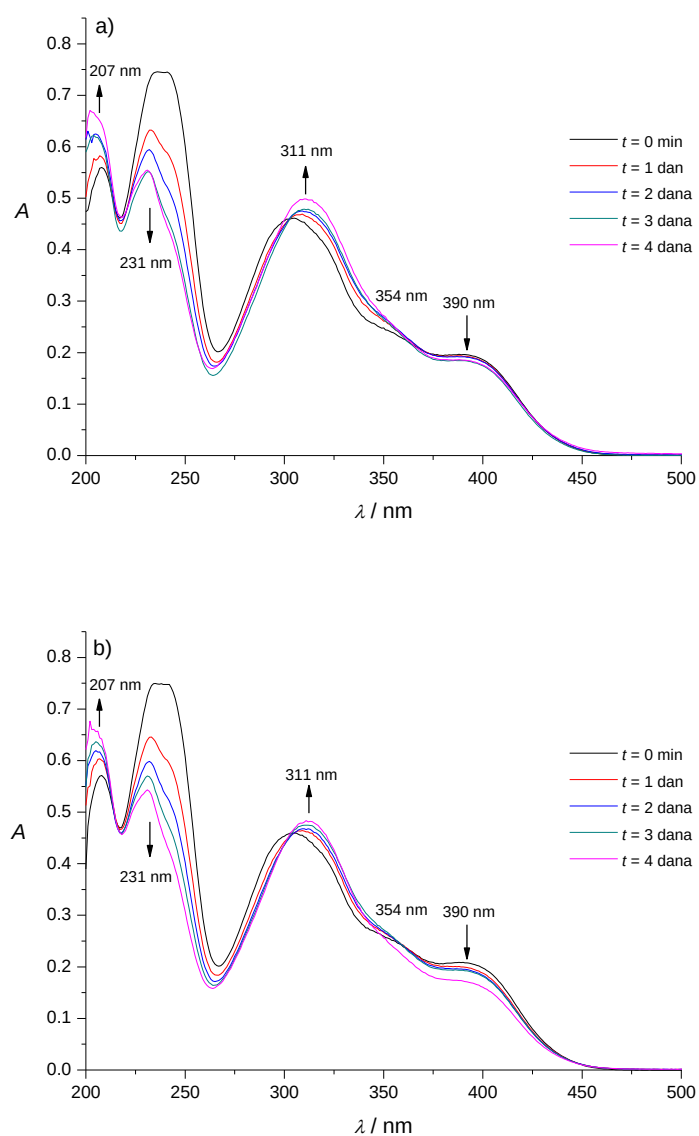
Dodatak 8.33. UV-Vis spektri 2-hidroksi-5-nitrobenzalhida u DMSO tijekom vremena. Otopina je držana: a) u mraku, b) na dnevnom svjetlu. $c(\text{aldehid}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. $l = 1 \text{ cm}$.



Dodatak 8.34. UV-Vis spektri 2-hidroksi-5-nitrobenzalhida u acetonu tijekom vremena. Otopina je držana: a) u mraku, b) na dnevnom svjetlu. $c(\text{aldehid}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. $l = 1 \text{ cm}$.



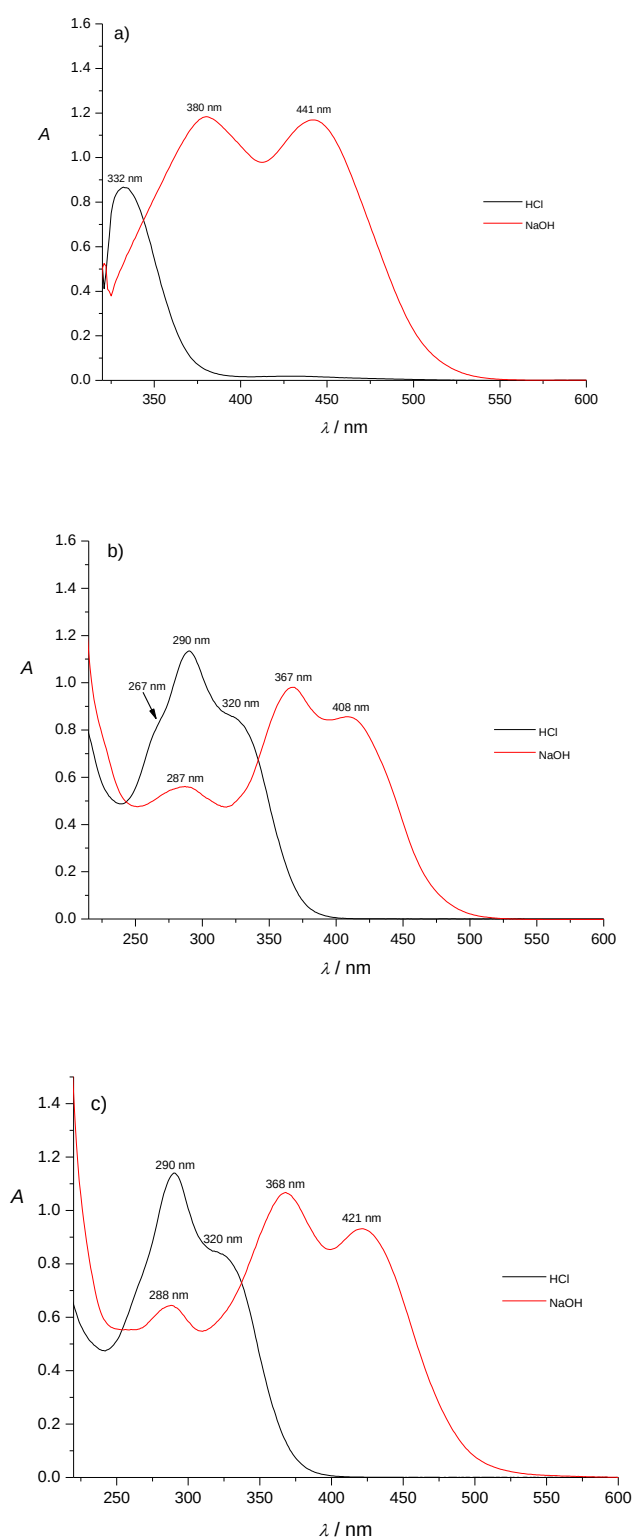
Dodatak 8.35. UV-Vis spektri 2-hidroksi-5-nitrobenzaldehida u metanolu tijekom vremena. Otopina je držana: a) u mraku, b) na dnevnom svjetlu. $c(\text{aldehid}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. $l = 1 \text{ cm}$.



Dodatak 8.36. UV-Vis spektri 2-hidroksi-5-nitrobenzalhida u etanolu tijekom vremena. Otopina je držana: a) u mraku, b) na dnevnom svjetlu. $c(\text{aldehid}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. $l = 1 \text{ cm}$.

Dodatak 8.37. Apsorpcijske vrpce i molarni apsorpcijski koeficijenti spoja **11** u različitim otapalima te uz dodatke HCl ili NaOH. $c(\mathbf{11}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. $c(\text{HCl}) = c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$; $l = 1 \text{ cm}$. Spektri su snimljeni odmah po pripravi otopina.

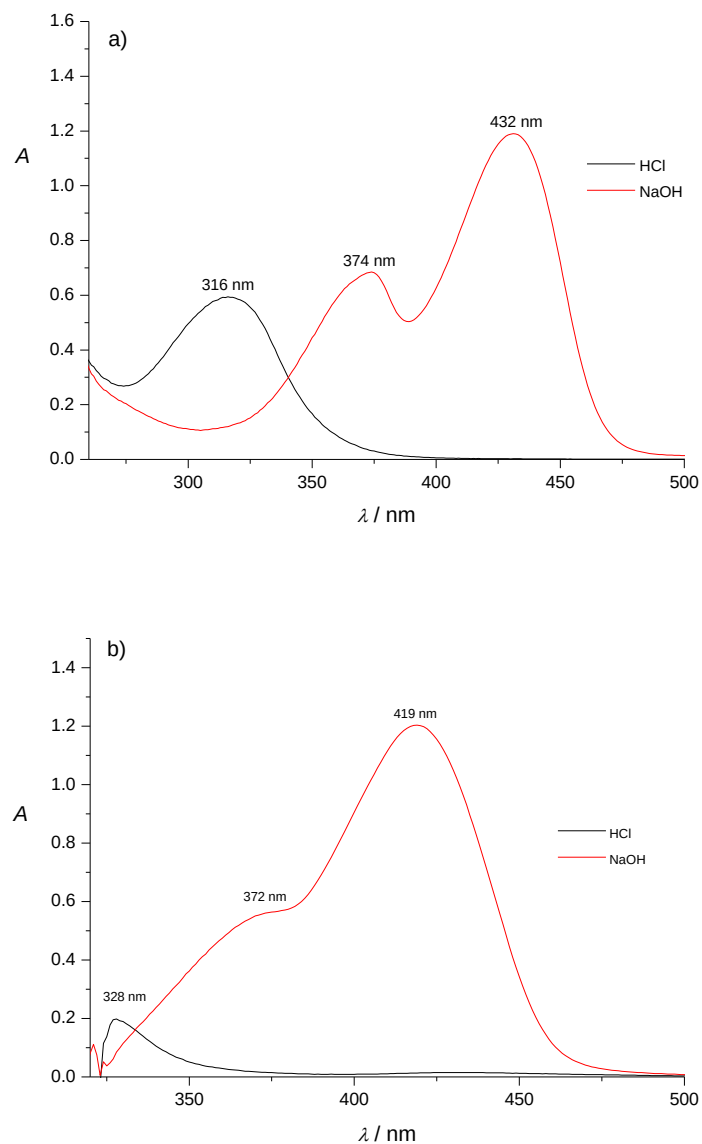
$\lambda \text{ (nm)} (10^{-4} \varepsilon / \text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1})$			
	Otapalo	Dodatak HCl	Dodatak NaOH
DMSO	298 (2,346)	299 (2,389)	301 (1,144)
	320 (2,076)	320 (2,222)	386 (2,331)
	392 (0,317)		460 (2,385)
	454 (0,362)		
Aceton	328 (1,811)	332 (1,734)	380 (2,367)
			441 (2,338)
MeOH	289 (2,724)	267 (1,651)	287 (1,122)
	320 (1,790)	290 (2,270)	367 (1,962)
	408 (0,248)	320 (1,728)	408 (1,713)
EtOH	290 (2,671)	290 (2,280)	288 (1,289)
	320 (1,843)	320 (1,690)	368 (2,134)
	413 (0,480)		421 (1,863)



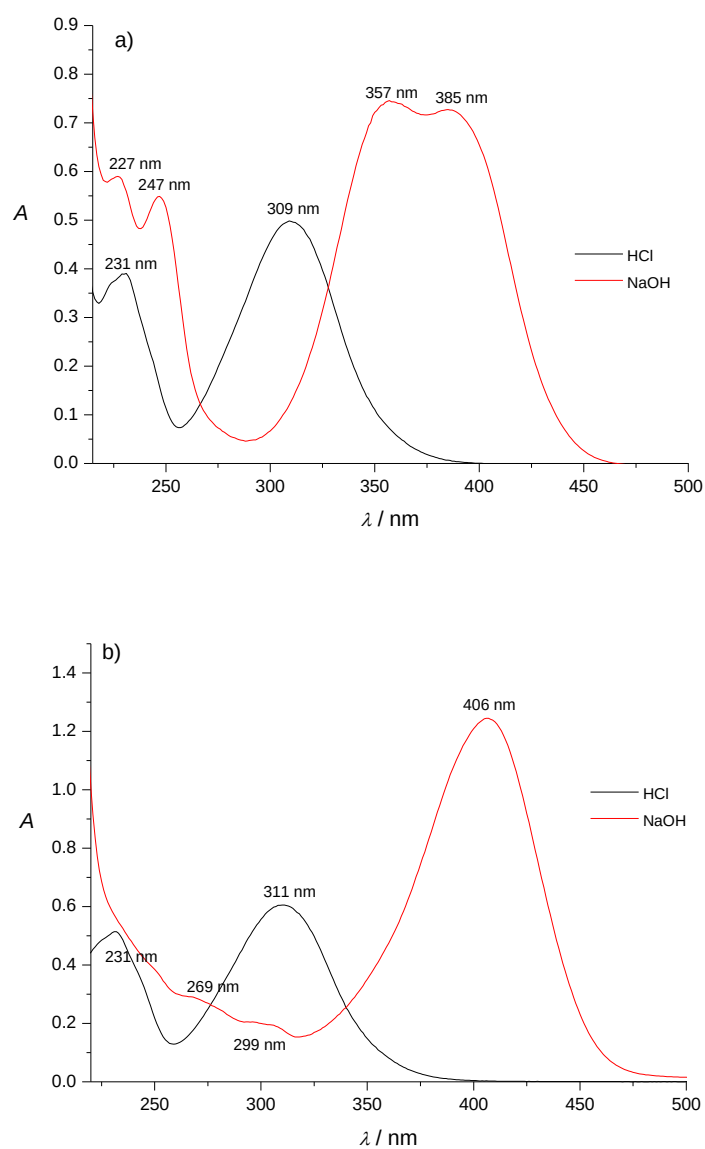
Dodatak 8.38. UV-Vis spektri spoja **11** nakon dodatka HCl ili NaOH u: a) acetonu, b) metanolu i c) etanolu. $c(\mathbf{11}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. $c(\text{HCl}) = c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$; $l = 1 \text{ cm}$.

Dodatak 8.39. Apsorpcijske vrpce i molarni apsorpcijski koeficijenti 2-hidroksi-5-nitrobenzaldehyda u različitim otapalima te uz dodatke HCl ili NaOH. $c(\text{aldehid}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. $c(\text{HCl}) = c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$; $l = 1 \text{ cm}$. Spektri su snimljeni odmah po pripravi otopina.

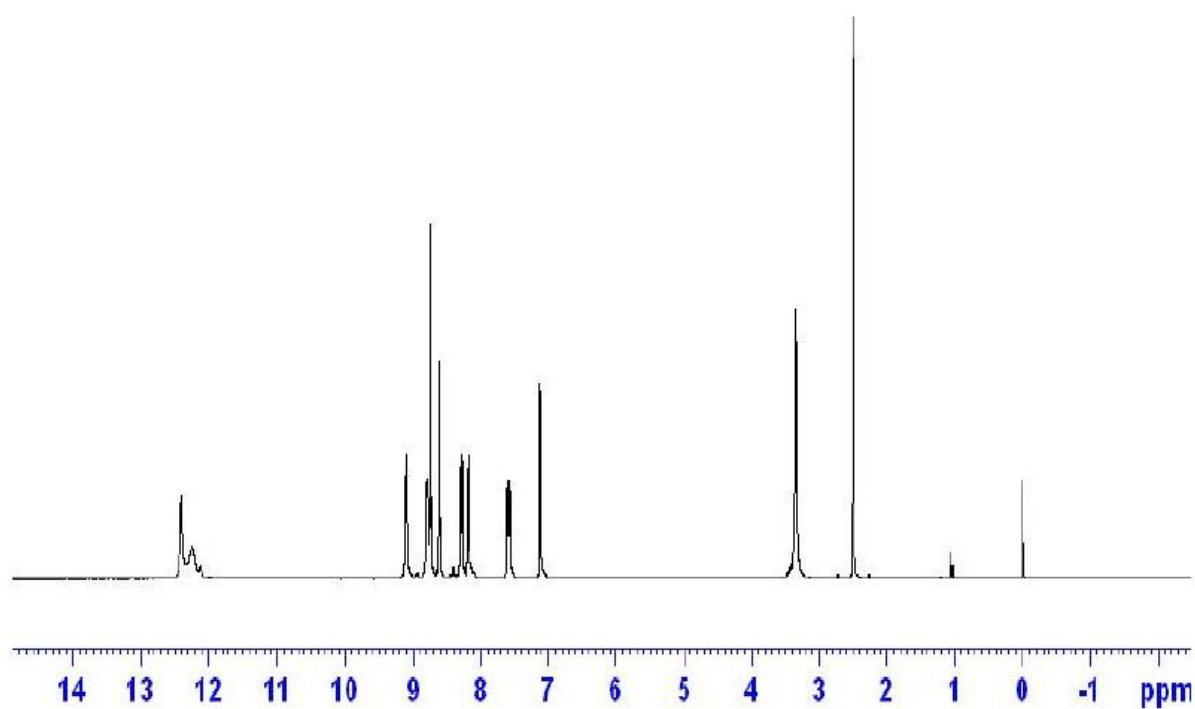
$\lambda \text{ (nm)} (10^{-4} \epsilon / \text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1})$			
	Otapalo	Dodatak HCl	Dodatak NaOH
DMSO	316 (1,072)	316 (1,188)	374 (1,369)
	374 (0,345)		432 (2,378)
	432 (0,473)		
Aceton	326 (0,498)	328 (0,397)	372 (1,114)
	374 (0,060)		419 (2,407)
	425 (0,037)		
MeOH	235 (1,298)	231 (0,781)	227 (1,180)
	309 (0,847)	309 (0,997)	247 (1,097)
	357 (0,362)		357 (1,491)
	390 (0,264)		385 (1,455)
EtOH	235 (1,489)	231 (1,028)	269 (0,575)
	305 (0,923)	311 (1,211)	299 (0,402)
	354 (0,479)		406 (2,490)
	390 (0,393)		



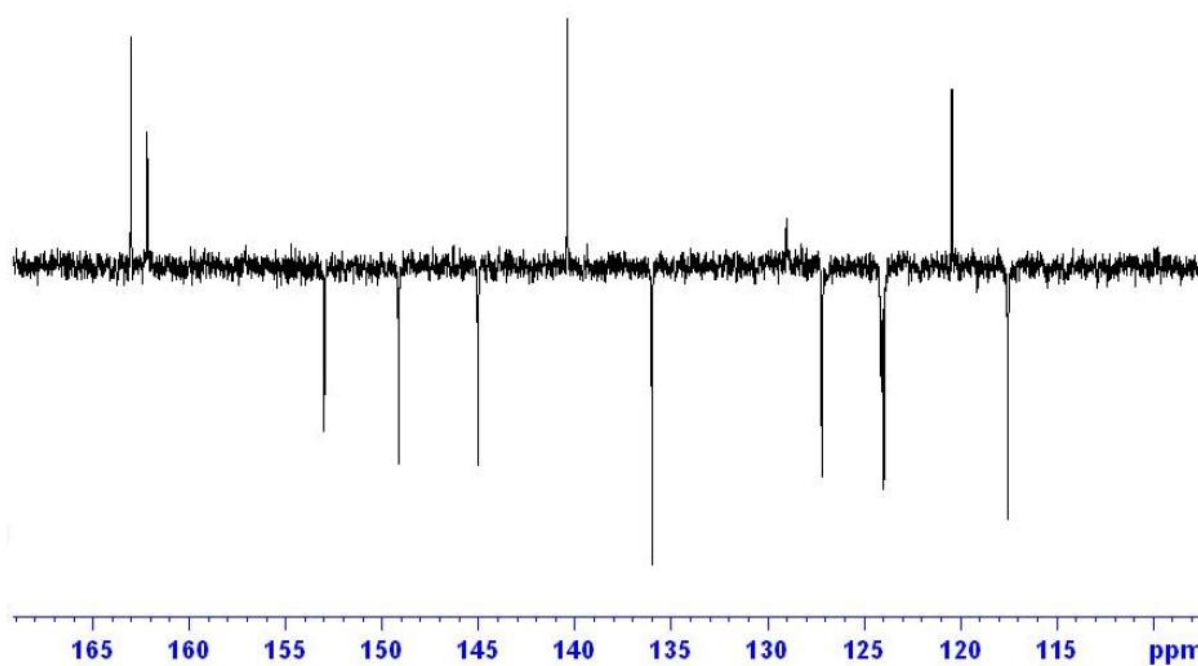
Dodatak 8.40. UV-Vis spektri 2-hidroksi-5-nitrobenzalhida nakon dodatka HCl ili NaOH u:
a) DMSO, b) acetonu. $c(\text{aldehid}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. $c(\text{HCl}) = c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$; $l = 1 \text{ cm}$.



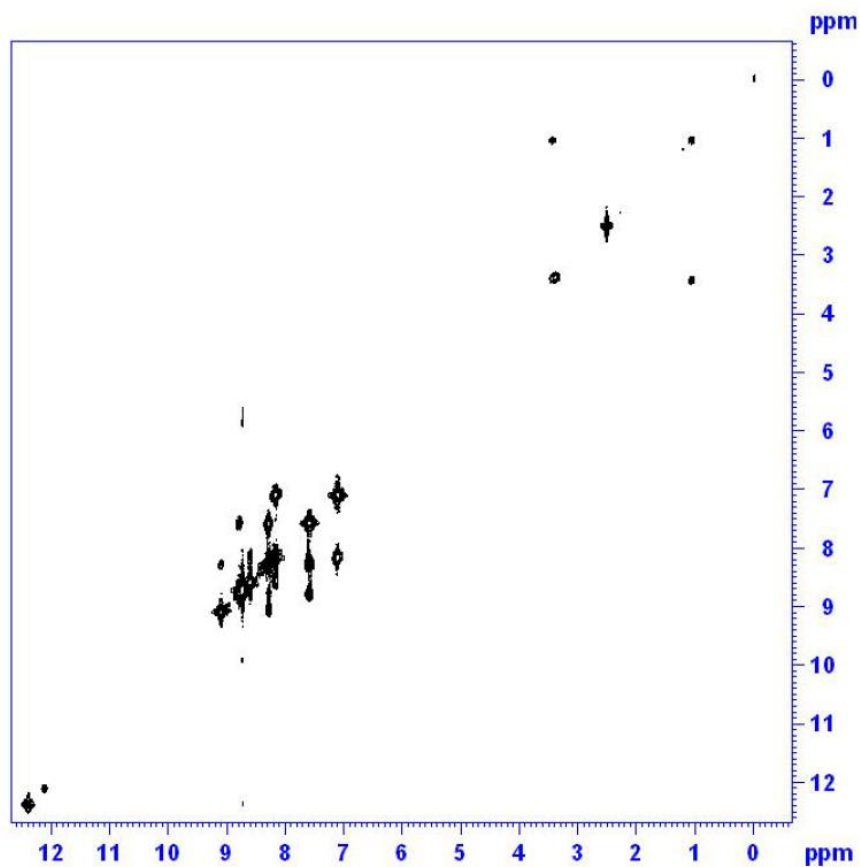
Dodatak 8.41. UV-Vis spektri 2-hidroksi-5-nitrobenzalhida nakon dodatka HCl ili NaOH u:
a) metanolu, b) etanolu. $c(\text{aldehid}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. $c(\text{HCl}) = c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$; $l = 1 \text{ cm}$.



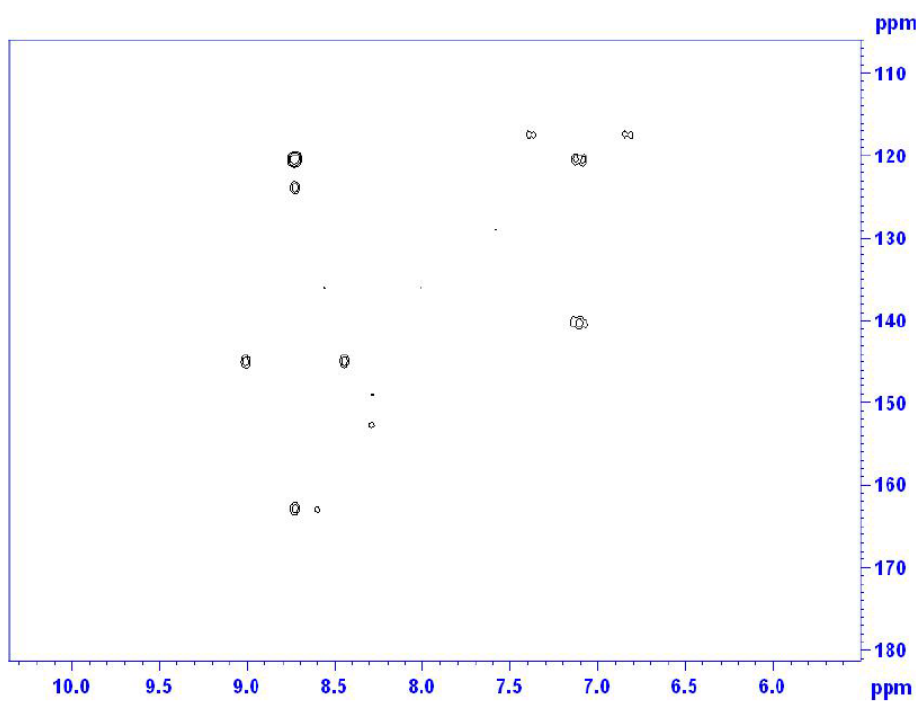
Dodatak 8.42. ^1H NMR spektar spoja **11** u DMSO. $\gamma(\mathbf{11}) = 20 \text{ mg/cm}^3$.



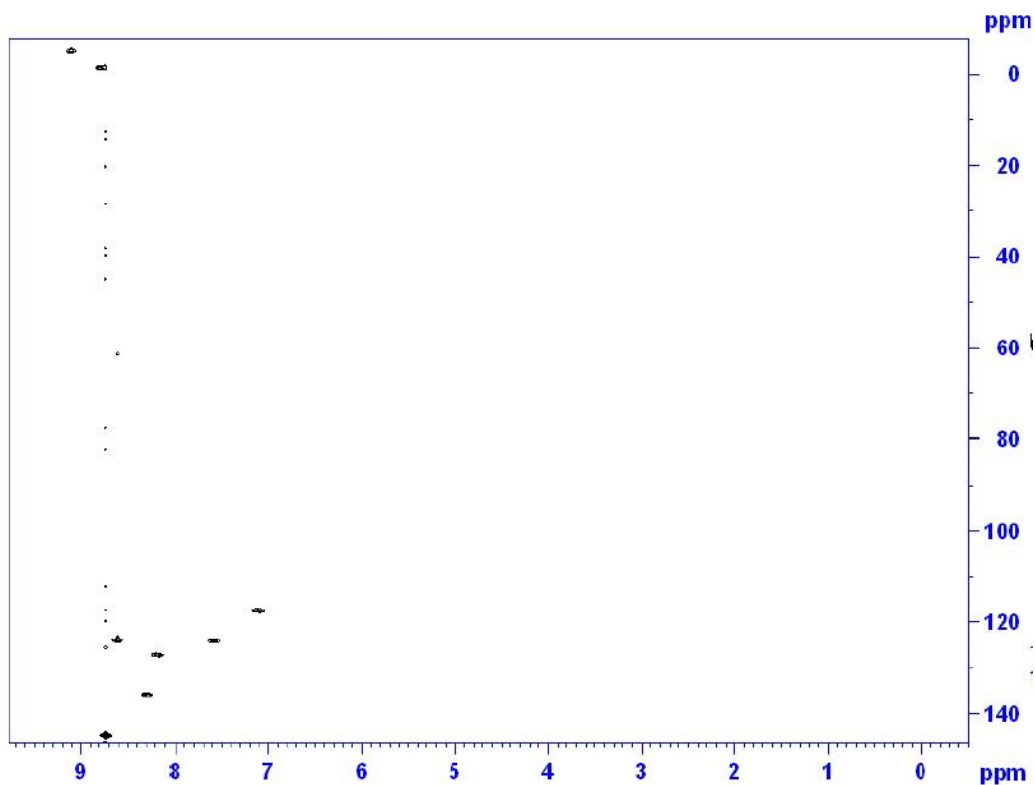
Dodatak 8.43. ^{13}C NMR spektar spoja **11** u DMSO. $\gamma(\mathbf{11}) = 20 \text{ mg/cm}^3$.



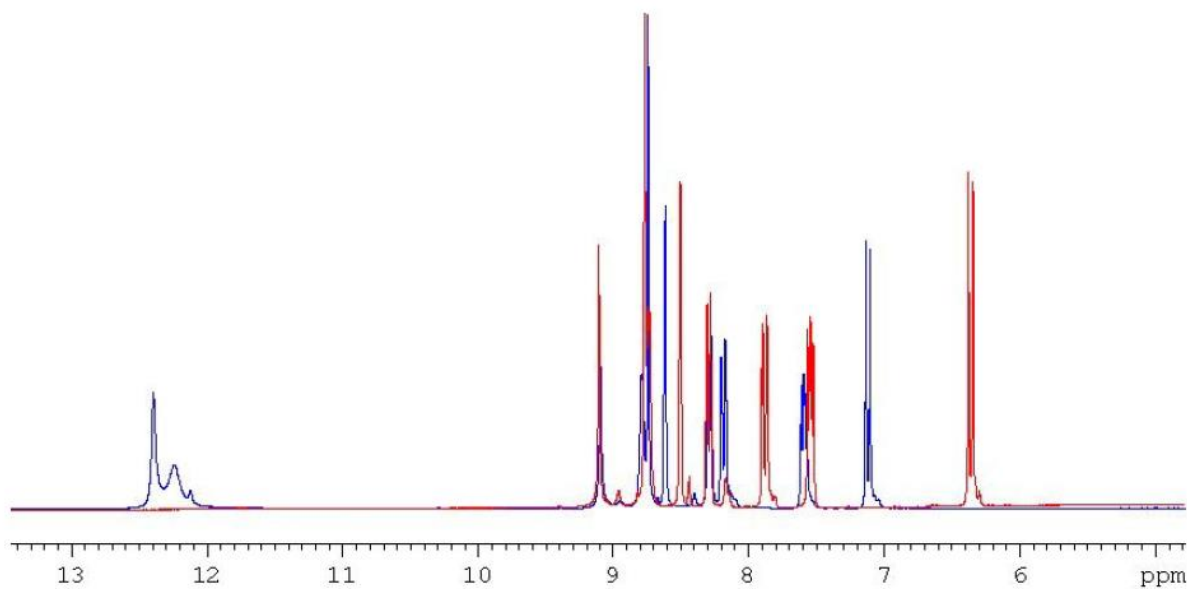
Dodatak 8.44. 2D COSY NMR spektar spoja **11** u DMSO. $\gamma(\mathbf{11}) = 20 \text{ mg/ cm}^3$.



Dodatak 8.45. 2D HMBC NMR spektar spoja **11** u DMSO. $\gamma(\mathbf{11}) = 20 \text{ mg/ cm}^3$.



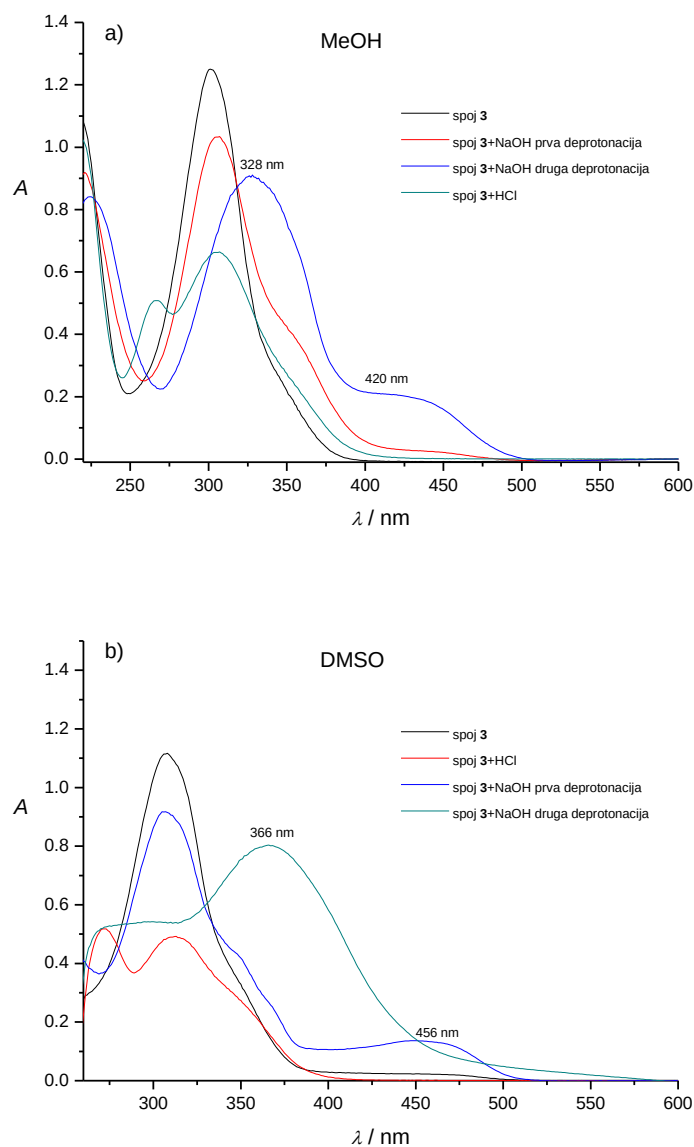
Dodatak 8.46. 2D HSQC NMR spektar spoja **11** u DMSO. $\gamma(\mathbf{11}) = 20 \text{ mg/ cm}^3$.



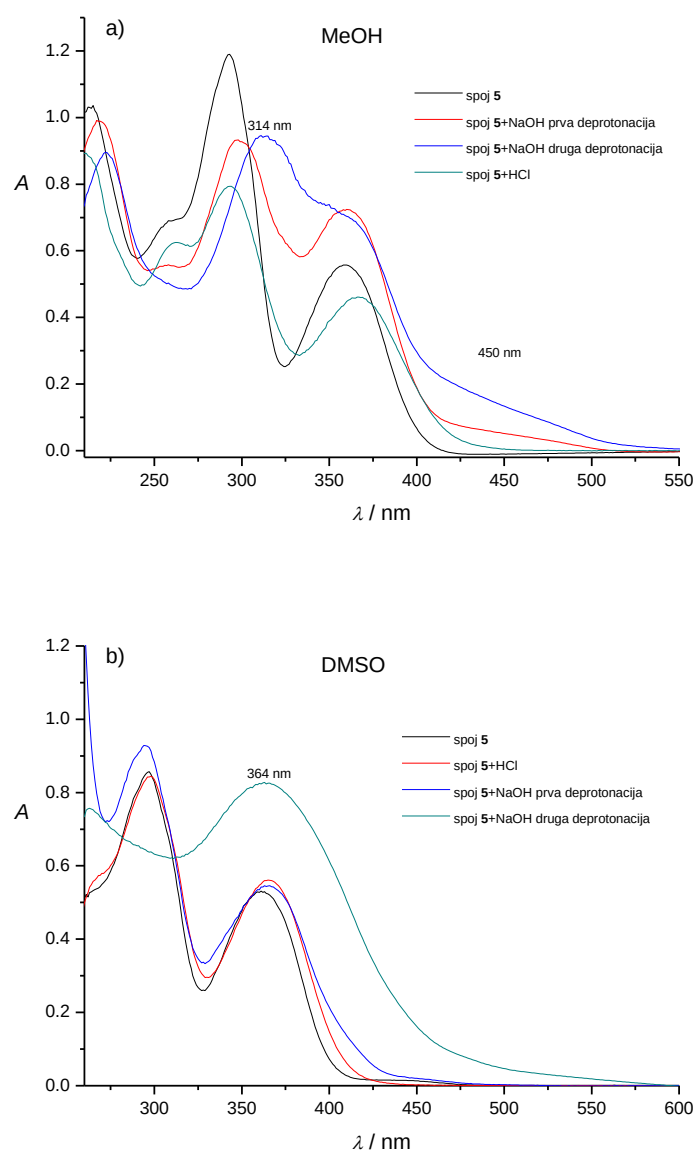
Dodatak 8.47. ^1H NMR spektar spoja **11** u DMSO bez (plavi) i nakon dodatka $0,50 \text{ mm}^3$ trietilamina kao baze (crveni). Trietilamin (TEA): $w = 99 \%$, $M = 101,99 \text{ g mol}^{-1}$, $\rho = 0,73 \text{ kg dm}^{-3}$.

UV-Vis za fluorescenciju

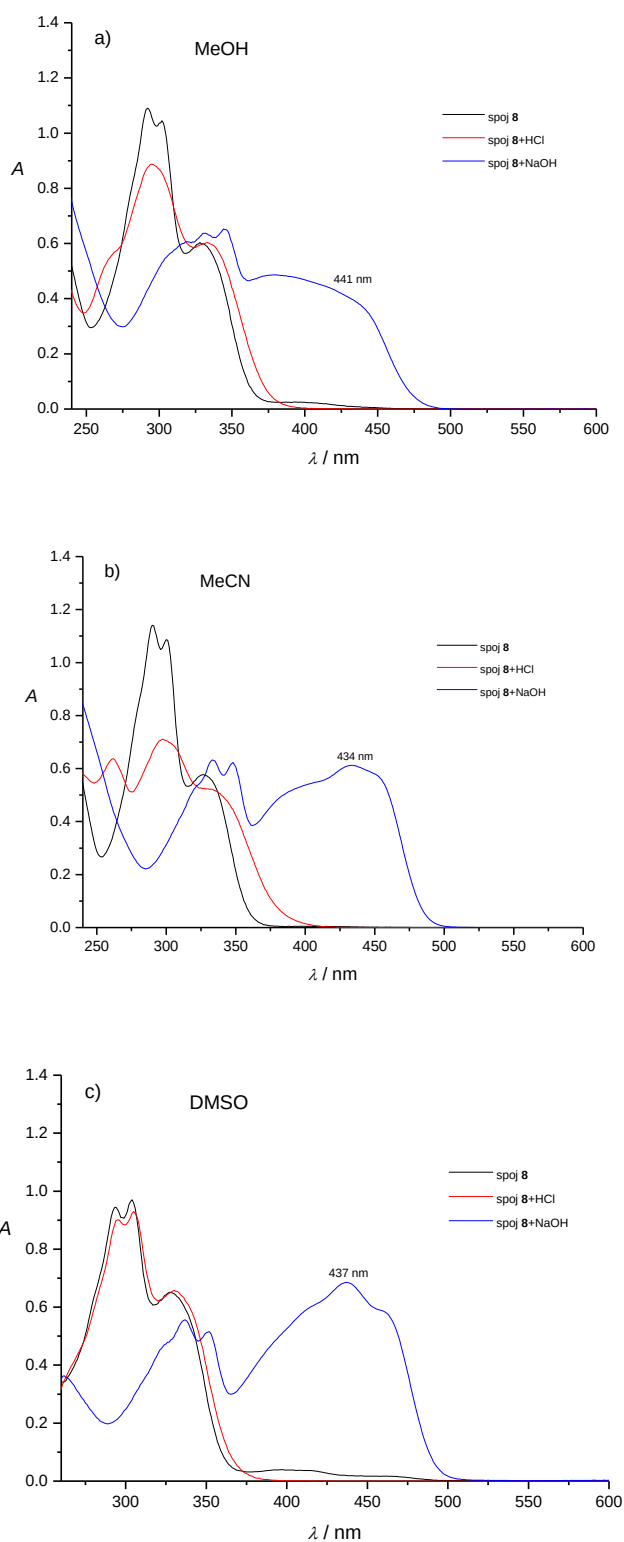
Spektri su snimljeni na sljedeći način. 2500,00 mm³ liganda ($c = 5 \times 10^{-5}$ mol dm⁻³) otpipetirano je u kivetu. U tu kivetu dodani su odgovarajući volumeni HCl (0,01 mol dm⁻³). Isti postupak ponovljen je i s dodatkom odgovarajućeg volumena NaOH (0,01 mol dm⁻³; u drugom alikvotu).



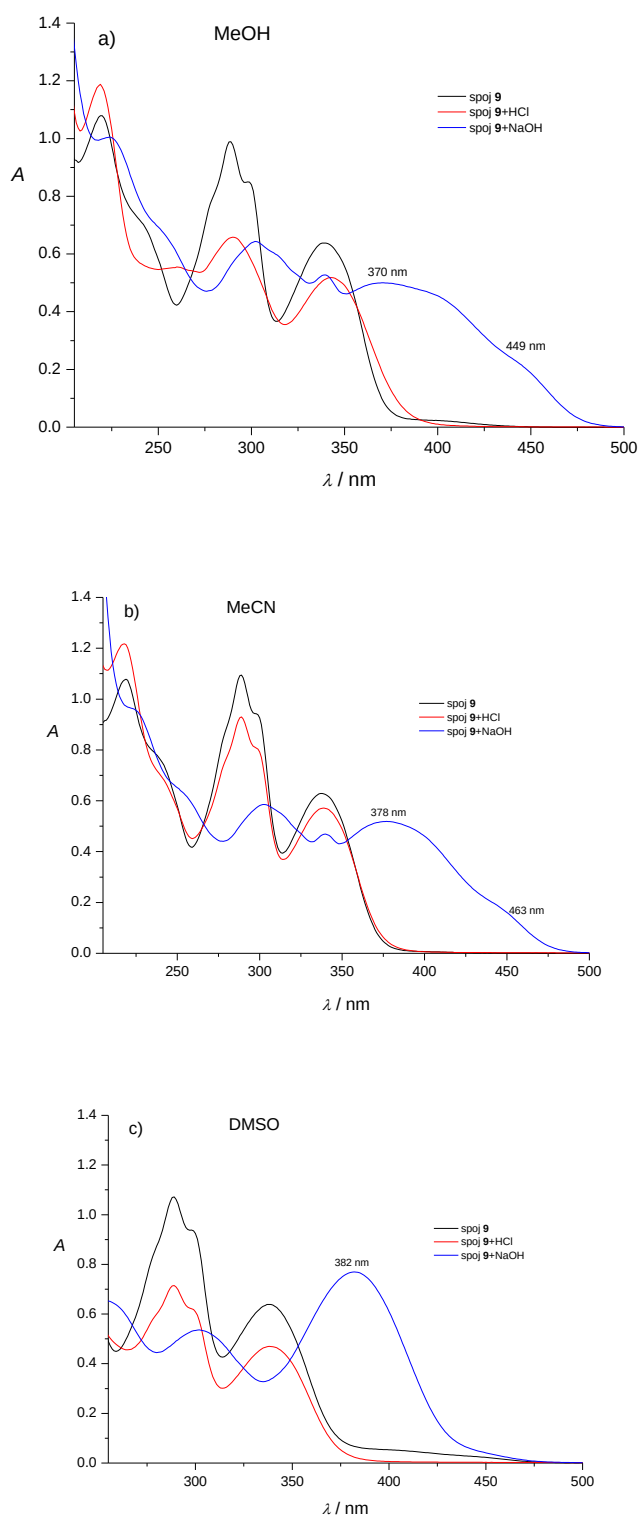
Dodatak 8.48. UV-Vis spektri spoja **3** u a) metanolu i b) DMSO. $c(\mathbf{3}) = 5 \times 10^{-5}$ mol dm⁻³, $c(\text{HCl}) = c(\text{NaOH}) = 0,01$ mol dm⁻³. Volumen dodanog HCl bio je 250,00 mm³, a NaOH 50,00 mm³ za prvu i 500,00 mm³ za drugu deprotonaciju. Spektri su korigirani za razrjeđenje.



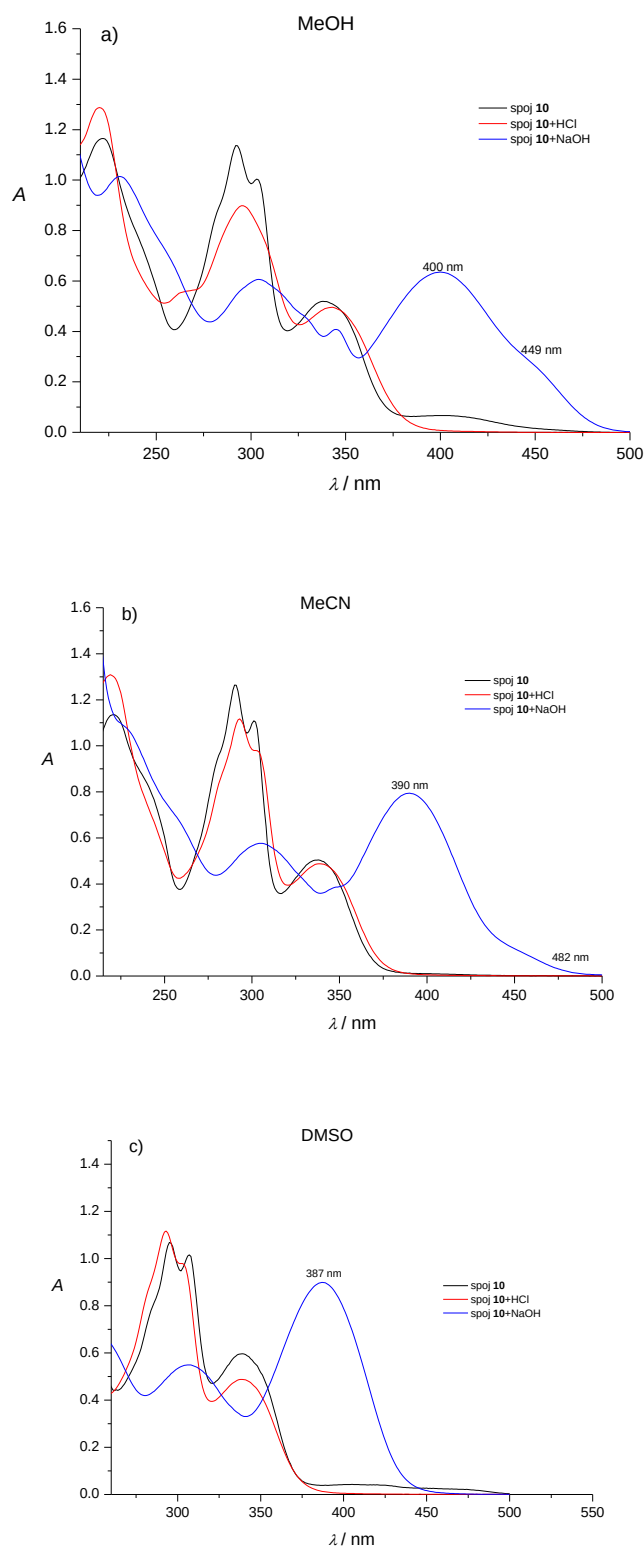
Dodatak 8.49. UV-Vis spektri spoja **5** u a) metanolu i b) DMSO. $c(\mathbf{5}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{HCl}) = c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$. Volumen dodanog HCl bio je $250,00 \text{ mm}^3$, a NaOH $200,00 \text{ mm}^3$ za prvu i $1000,00 \text{ mm}^3$ za drugu deprotonaciju. Spektri su korigirani za razrjeđenje.



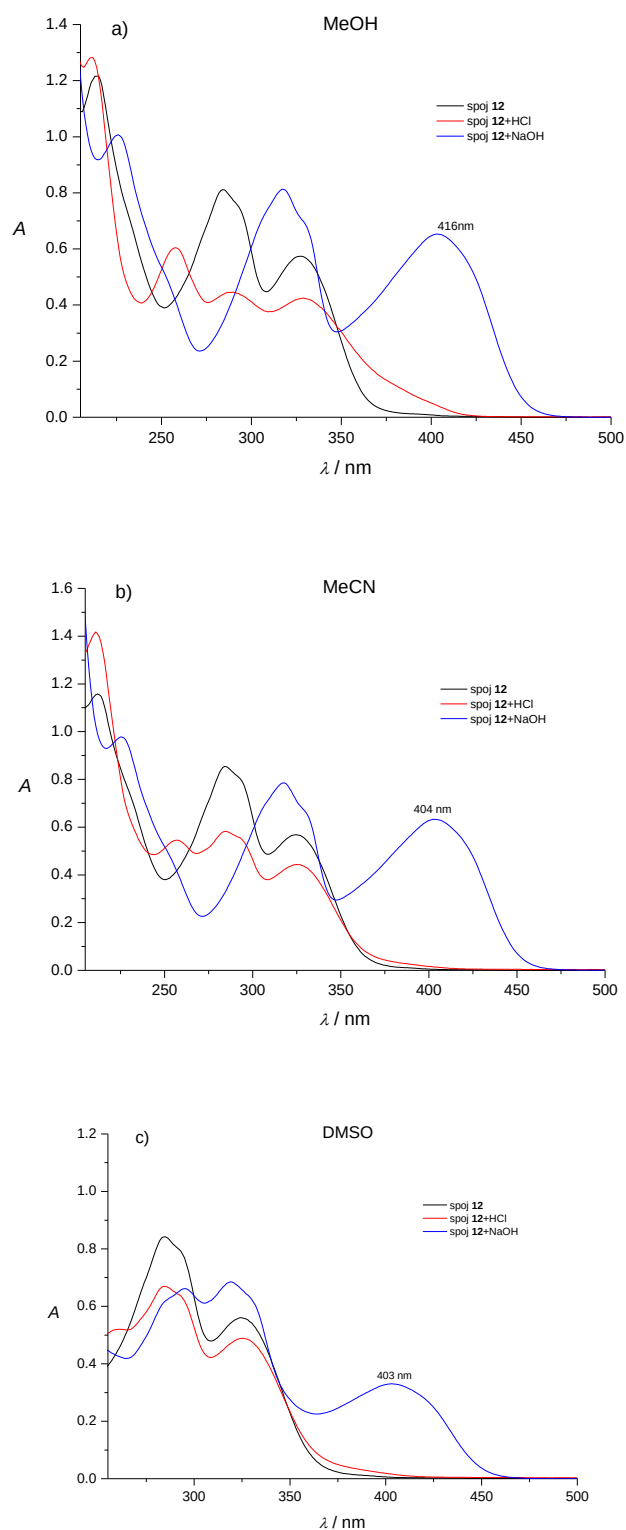
Dodatak 8.50. UV-Vis spektri spoja **8** u a) metanolu, b) acetonitrilu i c) DMSO. $c(\mathbf{8}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{HCl}) = c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$. Volumen dodanog HCl ili NaOH bio je $250,00 \text{ mm}^3$. Spektri su korigirani za razrjeđenje.



Dodatak 8.51. UV-Vis spektri spoja **9** u a) metanolu, b) acetonitrilu i c) DMSO. $c(\mathbf{9}) = 5 \times 10^{-5}$ mol dm⁻³, $c(\text{HCl}) = c(\text{NaOH}) = 0,01$ mol dm⁻³. Volumen dodanog HCl ili NaOH bio je 250,00 mm³. Spektri su korigirani za razrjeđenje.



Dodatak 8.52. UV-Vis spektri spoja **10** u a) metanolu, b) acetonitrilu i c) DMSO. $c(\mathbf{10}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{HCl}) = c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$. Volumen dodanog HCl ili NaOH bio je $250,00 \text{ mm}^3$. Spektri su korigirani za razrjeđenje.



Dodatak 8.53. UV-Vis spektri spoja **12** u a) metanolu, b) acetonitrilu i c) DMSO. $c(\mathbf{12}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{HCl}) = c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$. Volumen dodanog HCl ili NaOH bio je $250,00 \text{ mm}^3$. Spektri su korigirani za razrjeđenje.

Dodatak 8.54. Apsorpcijski maksimumi i molarni apsorpcijski koeficijenti spojeva **3** i **5** u metanolu i DMSO te uz dodatke HCl (0,01 mol dm⁻³) ili NaOH (0,01 mol dm⁻³) odmah po pripravi otopina.

$\lambda(\text{nm}) (10^{-4} \epsilon / \text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1})$								
	3				5			
	Otapalo 2500 mm ³	+250 mm ³ HCl	+50 mm ³ NaOH	+500 mm ³ NaOH	Otapalo 2500 µL	+250 mm ³ HCl	+200 mm ³ NaOH	+1000 mm ³ NaOH
MeOH	302 (2,498)	267 (1,017)	307 (2,067)	328 (1,820)	293 (2,380)	263 (1,249)	298 (1,866)	314 (1,890)
	350 (0,439)	307 (1,329)	352 (0,818)	420 (0,412)	360 (1,115)	294 (1,587)	360 (1,450)	350 (1,478)
		350 (0,549)	440 (0,050)			366 (0,923)	450 (0,104)	450 (0,268)
DMSO	308 (2,234)	272 (1,036)	307 (1,835)	299 (1,084)	297 (1,714)	298 (1,689)	294 (1,857)	
	350 (0,658)	313 (0,985)	348 (0,864)	366 (1,607)	361 (1,062)	366 (1,121)	366 (1,092)	364 (1,656)
		350 (0,547)	456 (0,269)				450 (0,041)	

Dodatak 8.55. Apsorpcijski maksimumi i molarni apsorpcijski koeficijenti spojeva **7** i **8** u metanolu, acetonitrilu i DMSO te uz dodatke HCl (0,01 mol dm⁻³) ili NaOH (0,01 mol dm⁻³) odmah po pripravi otopina.

$\lambda(\text{nm})$ ($10^{-4} \epsilon / \text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$)						
	7			8		
	otapalo	+HCl	+NaOH	otapalo	+HCl	+NaOH
MeOH	302 (1,464)	271 (1,005)	333 (1,466)	292 (2,181)	295 (1,775)	333 (1,269)
	333 (2,294)	338 (1,494)	415 (1,633)	302 (2,090)	333 (1,206)	344 (1,304)
			432 (1,359)	330 (1,198)		441 (0,728)
MeCN	300 (1,615)	277 (1,568)	335 (1,248)	290 (2,281)	297 (1,420)	333 (1,265)
	329 (2,348)	316 (0,634)	423 (1,502)	300 (2,172)	337 (1,025)	348 (1,246)
			441 (1,326)	327 (1,154)		434 (1,224)
DMSO	302 (1,322)	303 (0,607)	340 (0,443)	294 (1,888)	296 (1,802)	337 (1,102)
	334 (2,270)	337 (2,138)	406 (1,558)	304 (1,942)	305 (1,860)	352 (1,031)
			427 (1,558)	327 (1,302)	330 (1,316)	437 (1,370)

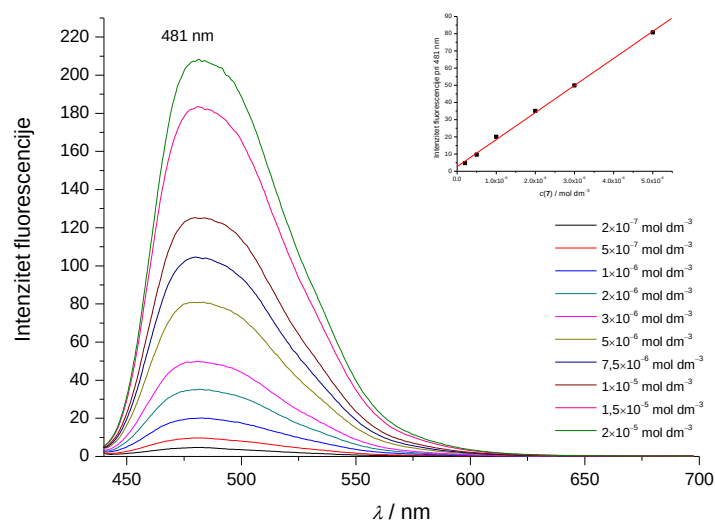
Dodatak 8.56. Apsorpcijski maksimumi i molarni apsorpcijski koeficijenti spojeva **9** i **10** u metanolu, acetonitrilu i DMSO te uz dodatke HCl (0,01 mol dm⁻³) ili NaOH (0,01 mol dm⁻³) odmah po pripravi otopina.

$\lambda(\text{nm}) (10^{-4} \epsilon / \text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1})$						
	9			10		
	otapalo	+HCl	+NaOH	otapalo	+HCl	+NaOH
MeOH	220 (2,158)	219 (2,376)	224 (2,010)	222 (2,330)	220 (2,575)	231 (2,029)
	289 (1,978)	260 (1,108)	303 (1,285)	292 (2,273)	264 (1,112)	304 (1,212)
	298 (1,691)	290 (1,316)	370 (0,999)	303 (2,008)	295 (1,797)	400 (1,270)
	340 (1,276)	343 (1,037)	449 (0,387)	338 (1,039)	343 (0,991)	449 (0,539)
				400 (0,133)		
MeCN	219 (2,157)	218 (2,434)	222 (1,929)	221 (2,272)	219 (2,619)	228 (2,160)
	289 (2,188)	289 (1,860)	302 (1,171)	290 (2,529)	293 (2,234)	306 (1,152)
	298 (1,884)	298 (1,614)	378 (1,036)	301 (2,218)	303 (1,957)	390 (1,588)
	338 (1,258)	339 (1,143)	461 (0,191)	338 (1,008)	339 (0,975)	475 (0,060)
DMSO	289 (2,144)	289 (1,429)		295 (2,136)		
	298 (1,876)	299 (1,237)	303 (1,070)	307 (2,032)	293 (2,234)	307 (1,099)
	338 (1,278)	338 (0,940)	382 (1,539)	338 (1,192)	303 (1,975)	387 (1,798)
	400 (0,107)			410 (0,082)	338 (0,975)	

Dodatak 8.57. Apsorpcijski maksimumi i molarni apsorpcijski koeficijenti spoja **12** u metanolu, acetonitrilu i DMSO te uz dodatke HCl (0,01 mol dm⁻³) ili NaOH (0,01 mol dm⁻³) odmah po pripravi otopina.

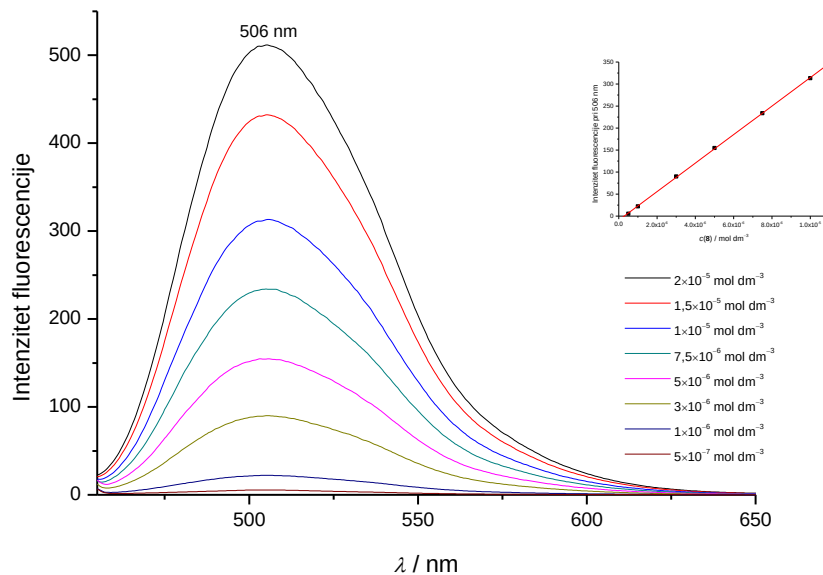
$\lambda(\text{nm}) (10^{-4} \varepsilon / \text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1})$			
12			
	Otapalo 2500 μL	+250 mm ³ HCl	+ 250 mm ³ NaOH
MeOH	213 (2,431)	211 (2,564)	226 (2,014)
	284 (1,623)	258 (1,209)	318 (1,624)
	328 (1,149)	290 (0,892)	404 (1,306)
		329 (0,850)	416 (1,186)
MeCN	212 (2,319)	211 (2,836)	226 (1,955)
	285 (1,707)	257 (1,091)	317 (1,570)
	325 (1,137)	285 (1,164)	404 (1,266)
		325 (0,887)	
DMSO	284 (1,683)	261 (1,040)	295 (1,324)
	325 (1,120)	284 (1,338)	319 (1,371)
		325 (0,9789)	403 (0,661)

Fluorescencija



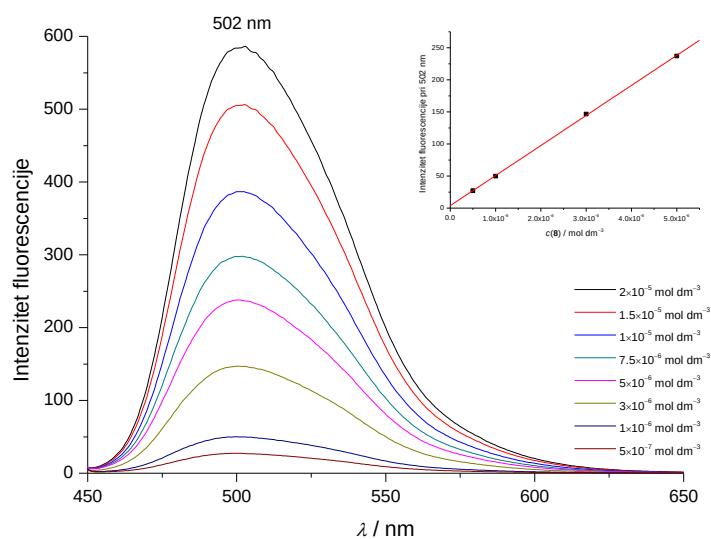
Dodatak 8.58. Fluorescencijski spektri spoja **7** u acetonitrilu ($c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$).

Umetak: Intenziteti fluorescencije pri 481 nm. $\lambda_{\text{ex}} = 423 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 481 \text{ nm}$. Pukotine = 10 nm.

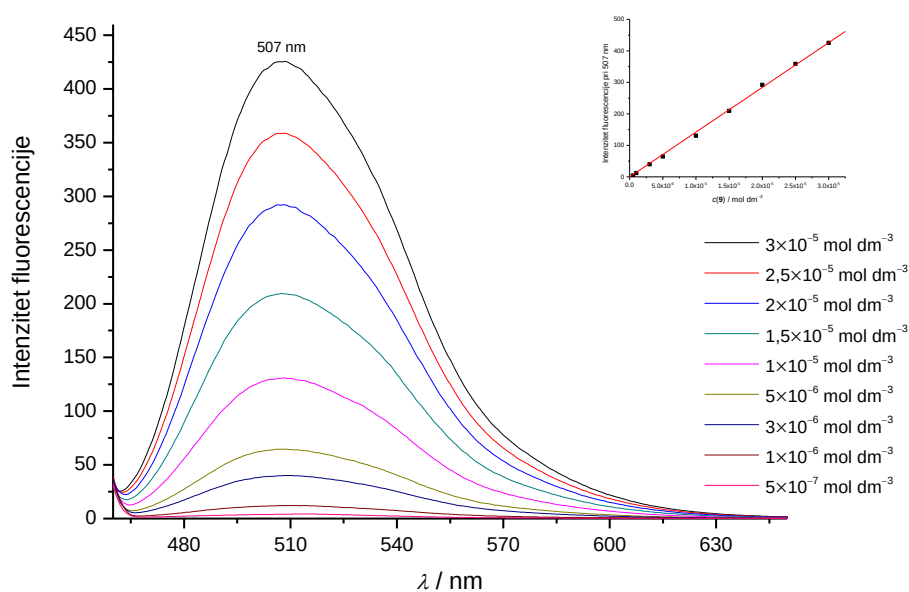


Dodatak 8.59. Fluorescencijski spektri spoja **8** u metanolu ($c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$).

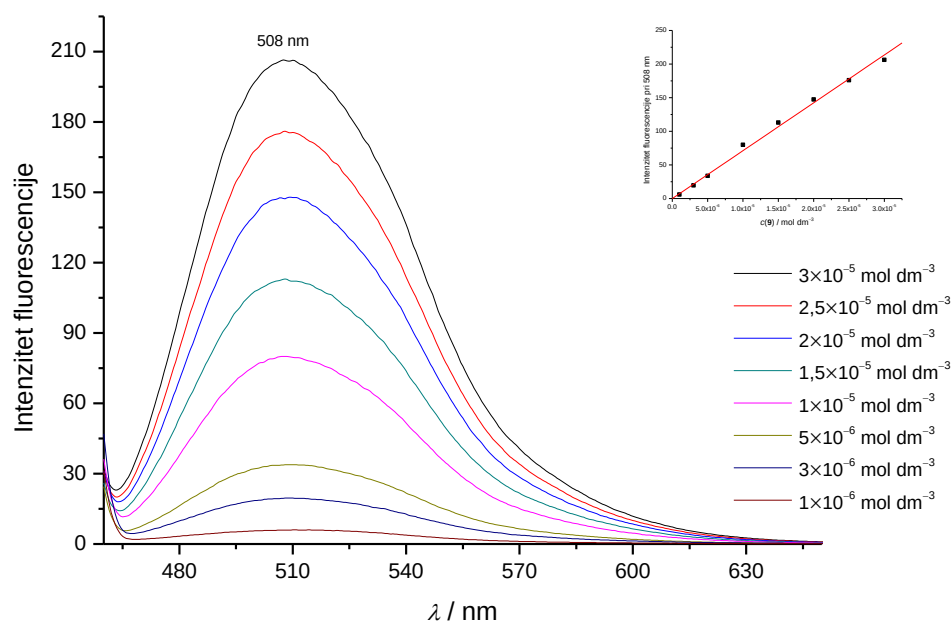
Umetak: Intenziteti fluorescencije pri 506 nm. $\lambda_{\text{ex}} = 441 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 506 \text{ nm}$. Pukotine = 10 nm.



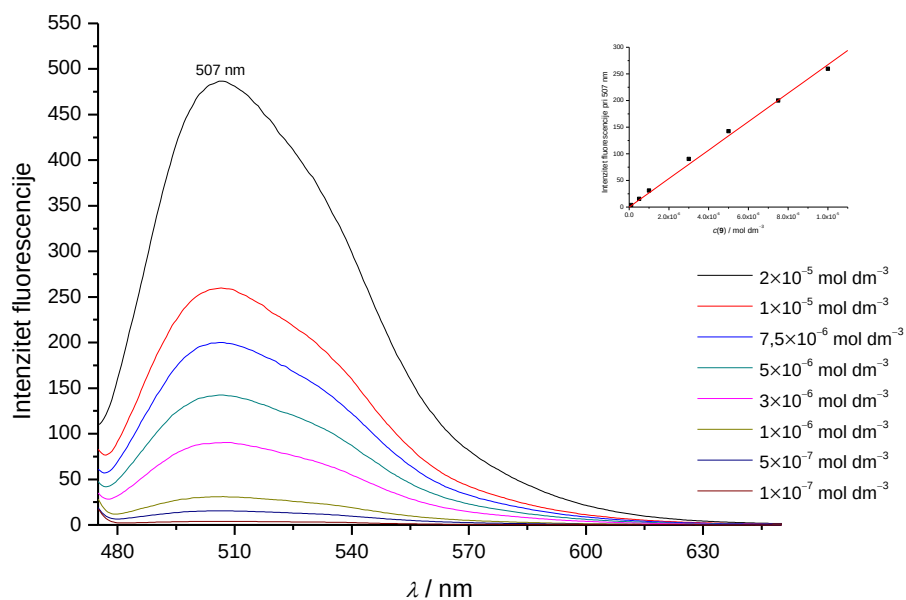
Dodatak 8.60. Fluorescencijski spektri spoja **8** u acetonitrilu ($c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$).
Umetak: Intenziteti fluorescencije pri 502 nm. $\lambda_{\text{ex}} = 434 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 502 \text{ nm}$. Pukotine = 10 nm.



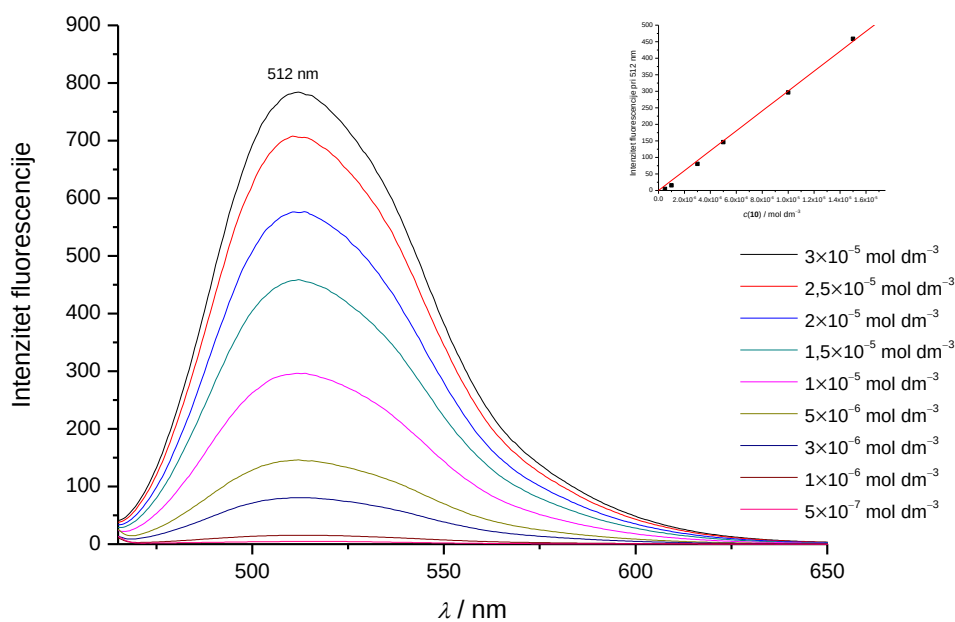
Dodatak 8.61. Fluorescencijski spektri spoja **9** u metanolu ($c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$).
Umetak: Intenziteti fluorescencije pri 507 nm. $\lambda_{\text{ex}} = 449 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 507 \text{ nm}$. Pukotine = 10 nm.



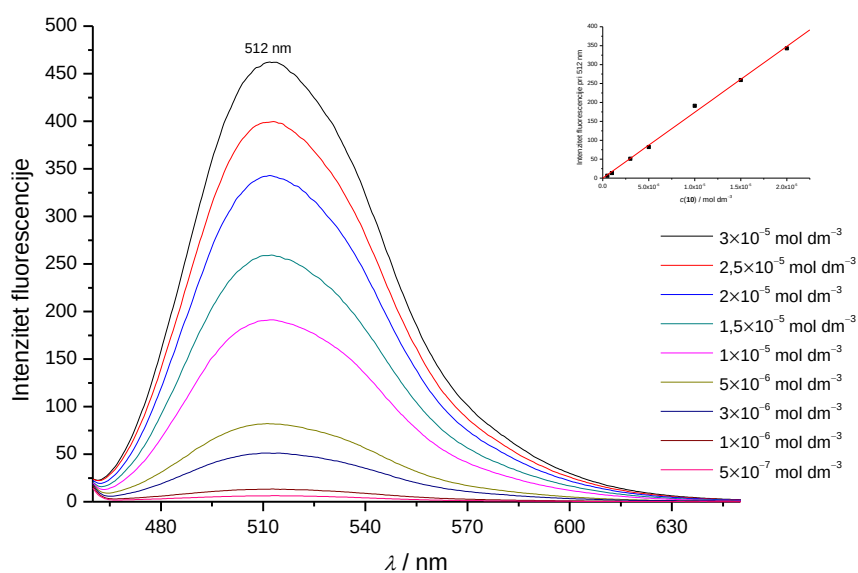
Dodatak 8.62. Fluorescencijski spektri spoja **9** u metanol/vodi 1/1 ($c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$). **Umetak:** Intenziteti fluorescencije pri 508 nm. $\lambda_{\text{ex}} = 449 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 508 \text{ nm}$. Pukotine = 10 nm.



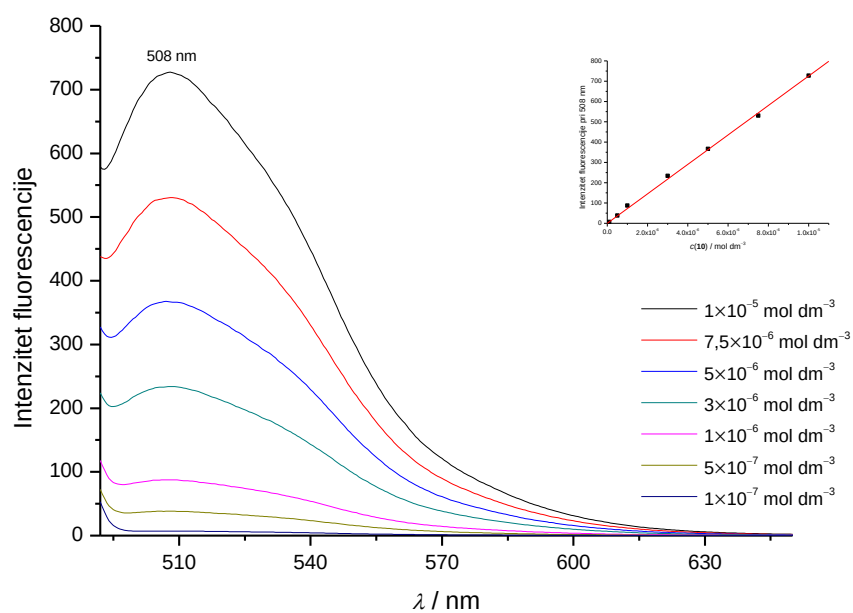
Dodatak 8.63. Fluorescencijski spektri spoja **9** u acetonitrilu ($c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$). **Umetak:** Intenziteti fluorescencije pri 507 nm. $\lambda_{\text{ex}} = 463 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 507 \text{ nm}$. Pukotine = 10 nm.



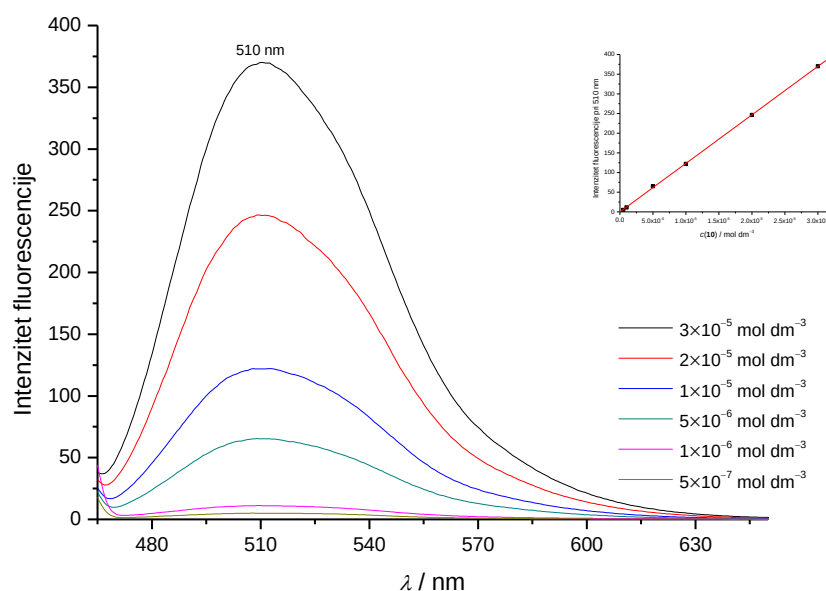
Dodatak 8.64. Fluorescencijski spektri spoja **10** u metanolu ($c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$). **Umetak:** Intenziteti fluorescencije pri 512 nm. $\lambda_{\text{ex}} = 449 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 512 \text{ nm}$. Pukotine = 10 nm.



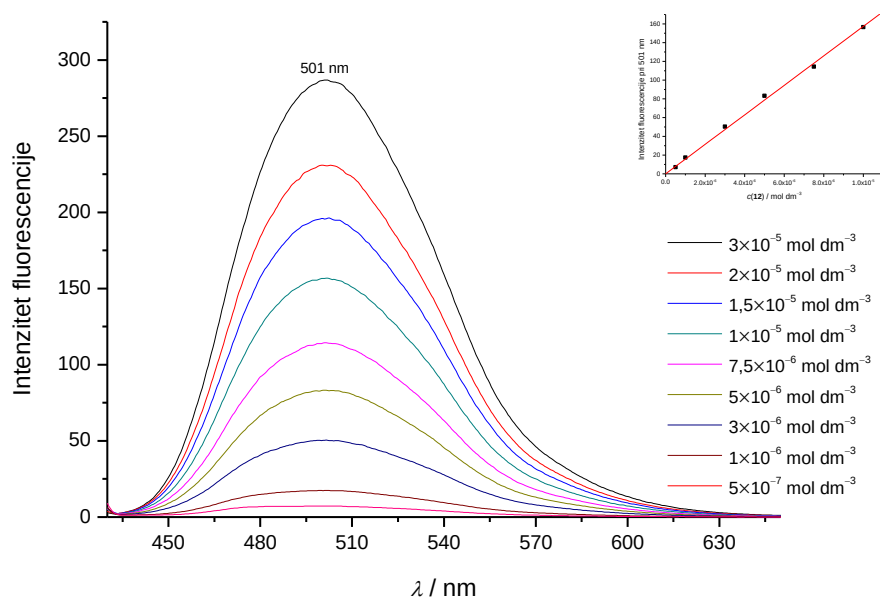
Dodatak 8.65. Fluorescencijski spektri spoja **10** u metanol/vodi 1/1 ($c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$). **Umetak:** Intenziteti fluorescencije pri 512 nm. $\lambda_{\text{ex}} = 448 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 512 \text{ nm}$. Pukotine = 10 nm.



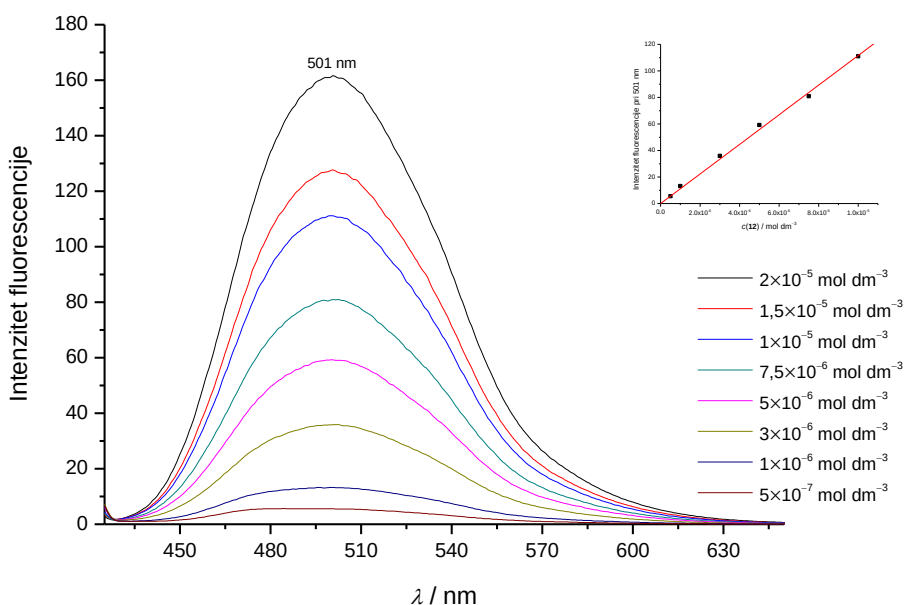
Dodatak 8.66. Fluorescencijski spektri spoja **10** u acetonitrilu ($c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$). **Umetak:** Intenziteti fluorescencije pri 508 nm. $\lambda_{\text{ex}} = 482 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 508 \text{ nm}$. Pukotine = 10 nm.



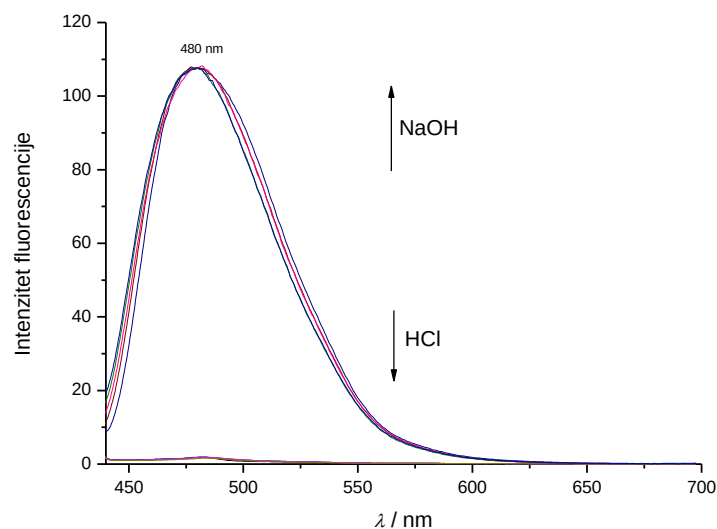
Dodatak 8.67. Fluorescencijski spektri spoja **10** u acetonitril/vodi 1/1 ($c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$). **Umetak:** Intenziteti fluorescencije pri 510 nm. $\lambda_{\text{ex}} = 453 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 510 \text{ nm}$. Pukotine = 10 nm.



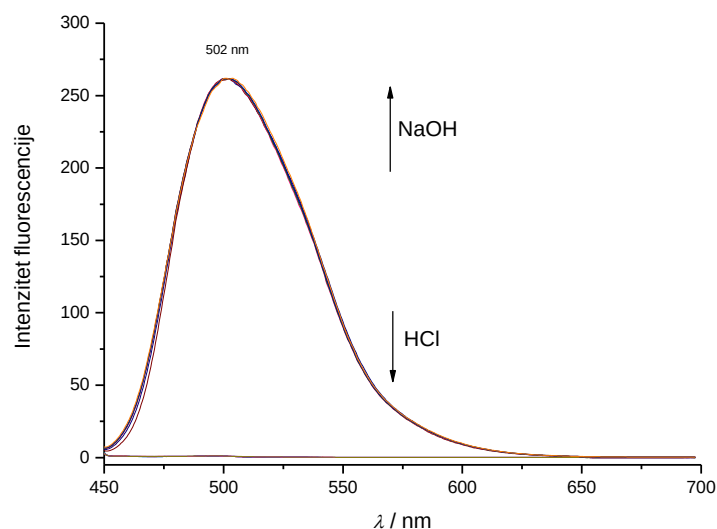
Dodatak 8.68. Fluorescencijski spektri spoja **12** u metanolu ($c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$). **Umetak:** Intenziteti fluorescencije pri 501 nm. $\lambda_{\text{ex}} = 416 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 501 \text{ nm}$. Pukotine = 10 nm.



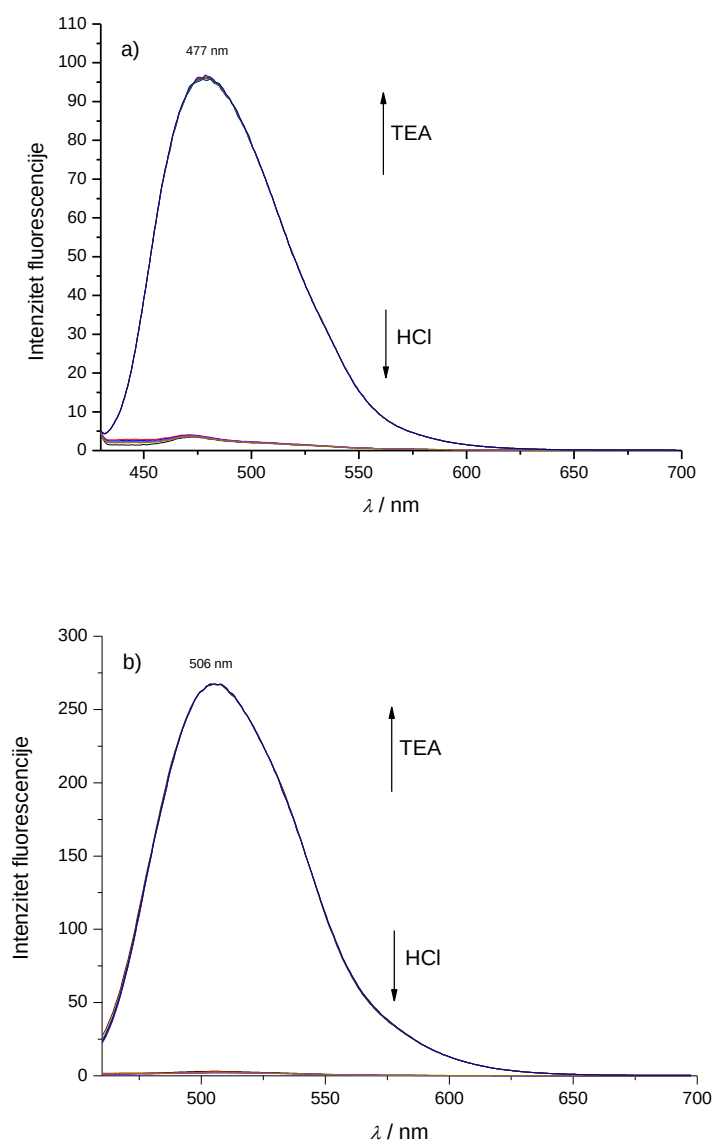
Dodatak 8.69. Fluorescencijski spektri spoja **12** u metanol/vodi 1/1 ($c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$). **Umetak:** Intenziteti fluorescencije pri 501 nm. $\lambda_{\text{ex}} = 411 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 501 \text{ nm}$. Pukotine = 10 nm.



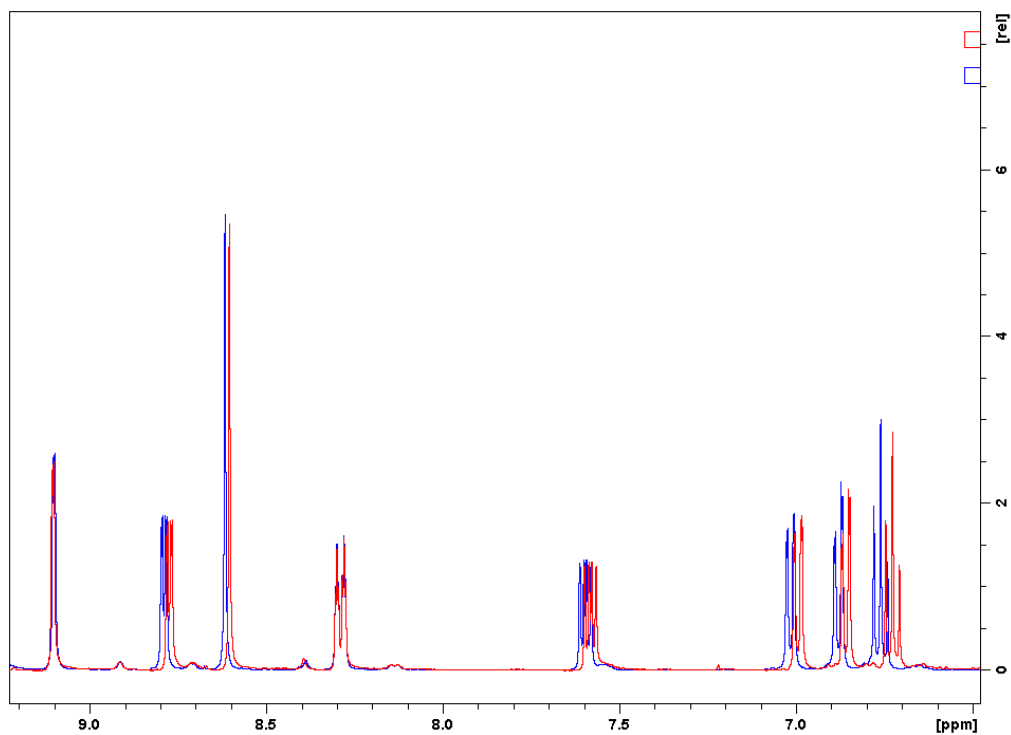
Dodatak 8.70. Emisijski spektri spoja **7** u acetonitrilu $c(\mathbf{7}) = 5 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$; $\lambda_{\text{ex}} = 423 \text{ nm}$. Pukotine = 10 nm. Izmjenično su dodavani $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ NaOH i $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ HCl. Spektri su korigirani za razrjeđenje.



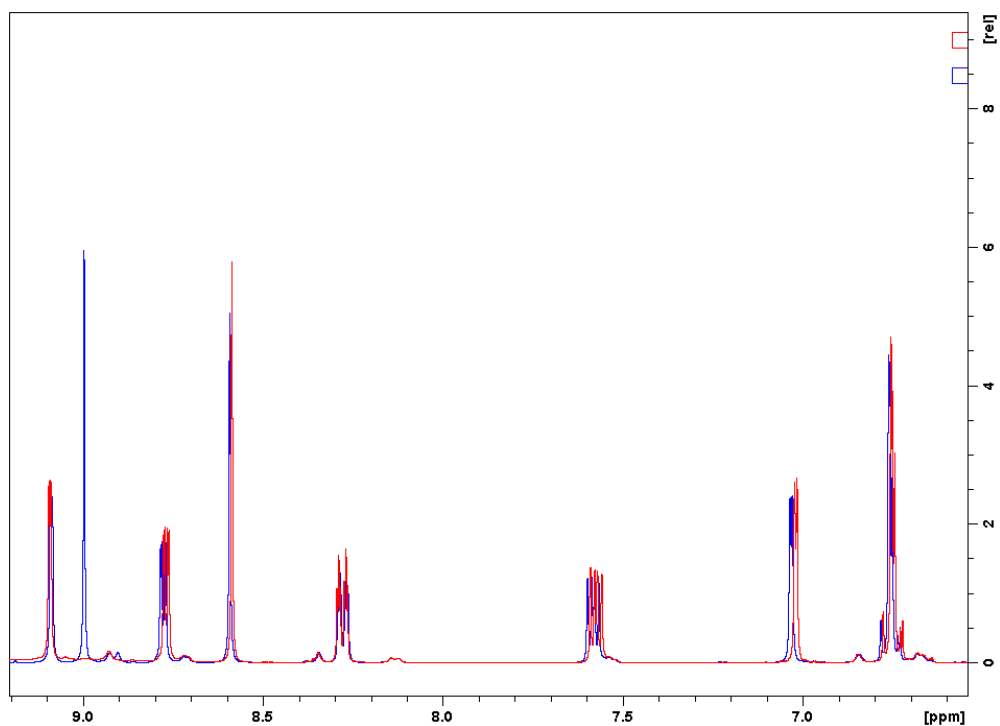
Dodatak 8.71. Emisijski spektri spoja **8** u acetonitrilu $c(\mathbf{8}) = 5 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$; $\lambda_{\text{ex}} = 434 \text{ nm}$. Pukotine = 10 nm. Izmjenično su dodavani $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ NaOH i $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ HCl. Spektri su korigirani za razrjeđenje.



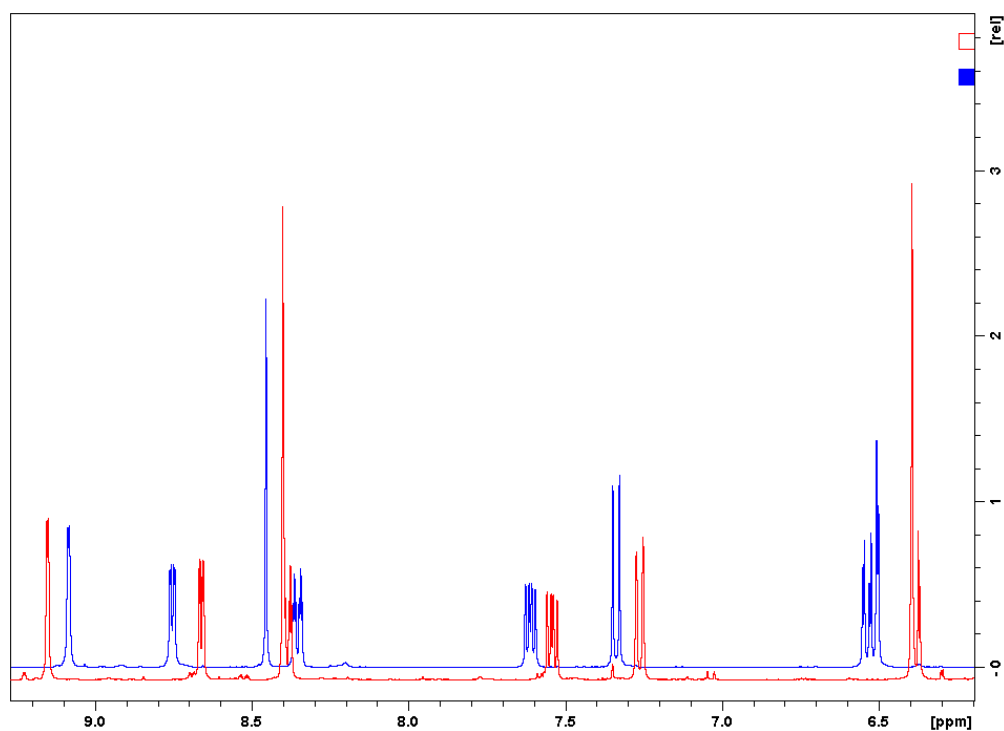
Dodatak 8.72. Emisijski spektri a) spoja **7** i b) spoja **8** u metanolu. $c(\mathbf{7}) = c(\mathbf{8}) = 1 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$; $\lambda_{\text{ex}}(\mathbf{7}) = 415 \text{ nm}$ i $\lambda_{\text{ex}}(\mathbf{8}) = 441 \text{ nm}$. Pukotine = 10 nm. Izmjenično su dodavani $1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ TEA (trietilamin) i $1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ HCl. Spektri su korigirani za razrjeđenje.

NMR

Dodatak 8.73. ^1H NMR spektri spoja **3** u DMSO (plavi) i u DMSO uz dodatak TEA (crveni).
 $c(\mathbf{3}) = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$; $10,00 \text{ mm}^3$ koncentriranog TEA dodano je u $600,00 \text{ mm}^3$ spoja **3**.



Dodatak 8.74. ^1H NMR spektri spoja **5** u DMSO (plavi) i u DMSO uz dodatak TEA (crveni).
 $c(\mathbf{5}) = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$; $14,00 \text{ mm}^3$ koncentriranog TEA dodano je u $600,00 \text{ mm}^3$ spoja **5**.



Dodatak 8.75. ^1H NMR spektri spoja **7** u MeOD (plavi) i u MeOD uz dodatak TEA (crveni). $c(\mathbf{7}) = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$; $200,00 \text{ mm}^3$ koncentriranog TEA dodano je u $600,00 \text{ mm}^3$ spoja **7**.

Dodatak 8.76. ^1H i ^{13}C NMR asignacija kemijskih pomaka spoja **3** u DMSO i u DMSO nakon dodatka koncentriranog trietilamina (TEA) u $600,00 \text{ mm}^3$ $0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ spoja **3**.

Atom	3		3+TEA 5 mm³		3+TEA 10 mm³	
	^1H δ/ppm	^{13}C δ/ppm	^1H δ/ppm	^{13}C δ/ppm	^1H δ/ppm	^{13}C δ/ppm
1		146,60		146,23		146,26
2		146,11		147,17		147,31
3	6,879	117,99	6,863	117,75	6,858	117,69
4	6,760	119,70	6,734	119,36	6,726	119,29
5	7,016	120,36	6,999	120,34	6,994	120,33
6		119,24		119,09		119,05
7	8,616	149,80	8,606	149,69	8,604	149,66
8		161,87		162,02		162,04
9		129,14		129,35		129,39
10	9,100	149,10	9,102	149,11	9,103	149,11
11	8,789	152,94	8,777	152,82	8,774	152,79
12	7,596	124,14	7,585	124,09	7,582	124,08

13	8,289	135,94	8,288	135,90	8,289	135,89
NH	12,257					
OH 1	10,955					
OH 2(4)	9,280					

Dodatak 8.77. ^1H i ^{13}C NMR asignacija kemijskih pomaka spoja **5** u DMSO i u DMSO nakon dodatka koncentriranog trietilamina (TEA) u $600,00\text{ mm}^3$ $0,05\text{ mol dm}^{-3}$ spoja **5**.

Atom	5		5+TEA 7 mm^3		5+TEA 14 mm^3	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
	δ/ppm	δ/ppm	δ/ppm	δ/ppm	δ/ppm	δ/ppm
1		150,69		150,73		150,75
2	6,755	119,64	6,757	119,57	6,757	119,54
3	6,755	117,58	6,757	117,56	6,757	117,54
4		150,39		150,38		150,37
5	7,033	113,92	7,024	113,96	7,021	113,98
6		119,53		119,54		119,54
7	8,592	148,29	8,587	148,29	8,587	148,30
8		161,83		161,91		161,93
9		129,30		129,42		129,45
10	9,088	149,08	9,091	149,09	9,092	149,10
11	8,776	152,85	8,771	152,78	8,769	152,76
12	7,583	124,10	7,578	124,07	7,576	124,06
13	8,277	135,90	8,279	135,88	8,280	135,87
NH	12,131					
OH 1	10,245					
OH 2(4)	8,997					

Dodatak 8.78. ^1H i ^{13}C NMR asignacija kemijskih pomaka spoja **7** u MeOD i u MeOD nakon dodatka $200,00\text{ mm}^3$ koncentriranog trietilamina (TEA) u $600,00\text{ mm}^3$ $0,05\text{ mol dm}^{-3}$ spoja **7**.

Atom	7		7+TEA	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
	δ/ppm	δ/ppm	δ/ppm	δ/ppm
1		160,11		165,95
2	6,504	100,90	6,383	101,55
3		163,29		163,89

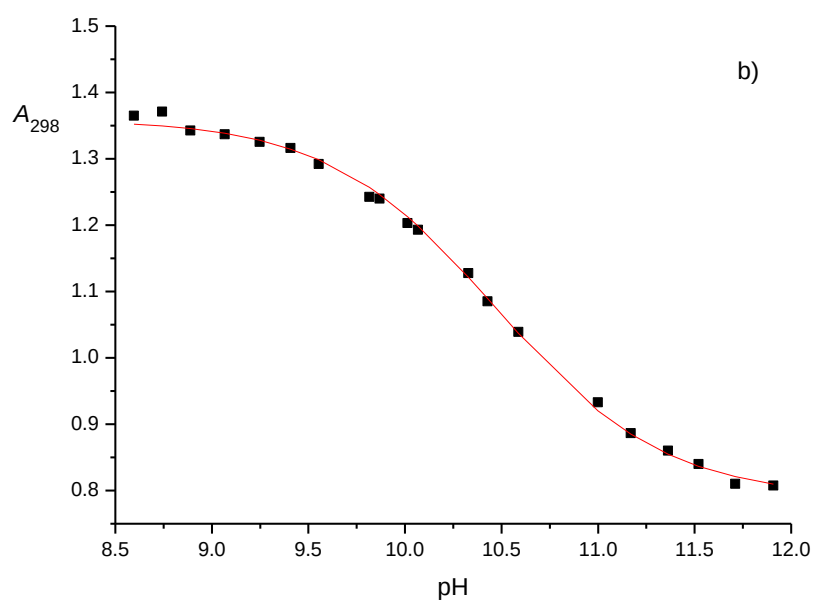
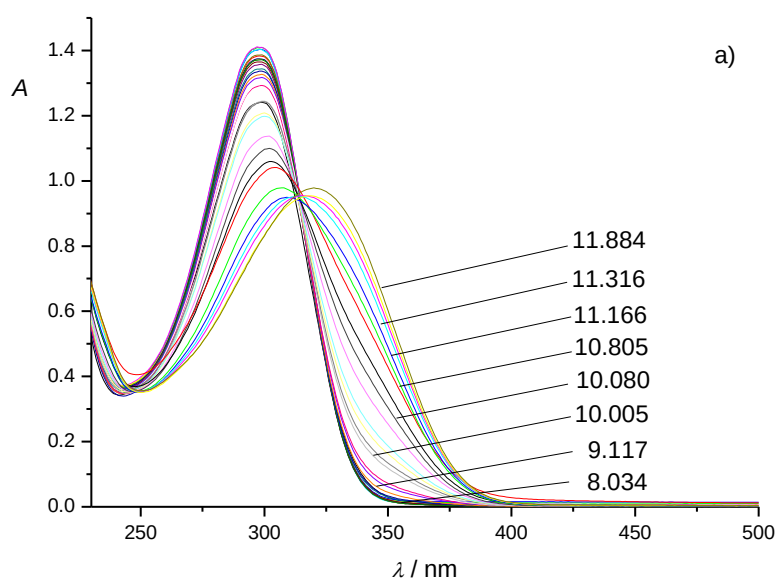
4	6,538	106,44	6,396	105,43
5	7,338	131,80	7,262	132,02
6		111,30		111,43
7	8,455	151,27	8,401	150,37
8		162,30		164,16
9		129,27		131,71
10	9,084	147,95	9,152	148,28
11	8,754	151,75	8,661	150,45
12	7,611	123,87	7,541	123,50
13	8,354	135,99	8,386	135,74
NH				
OH 1				
OH 2(4)				
OCH ₃	3,829	54,51	3,820	54,38

Dodatak 8.79. ¹H i ¹³C NMR asignacija kemijskih pomaka spoja **8** u MeOD i u MeOD nakon dodatka 100,00 mm³ koncentriranog trietilamina (TEA) u 600,00 mm³ 0,05 mol dm⁻³ spoja **8**.

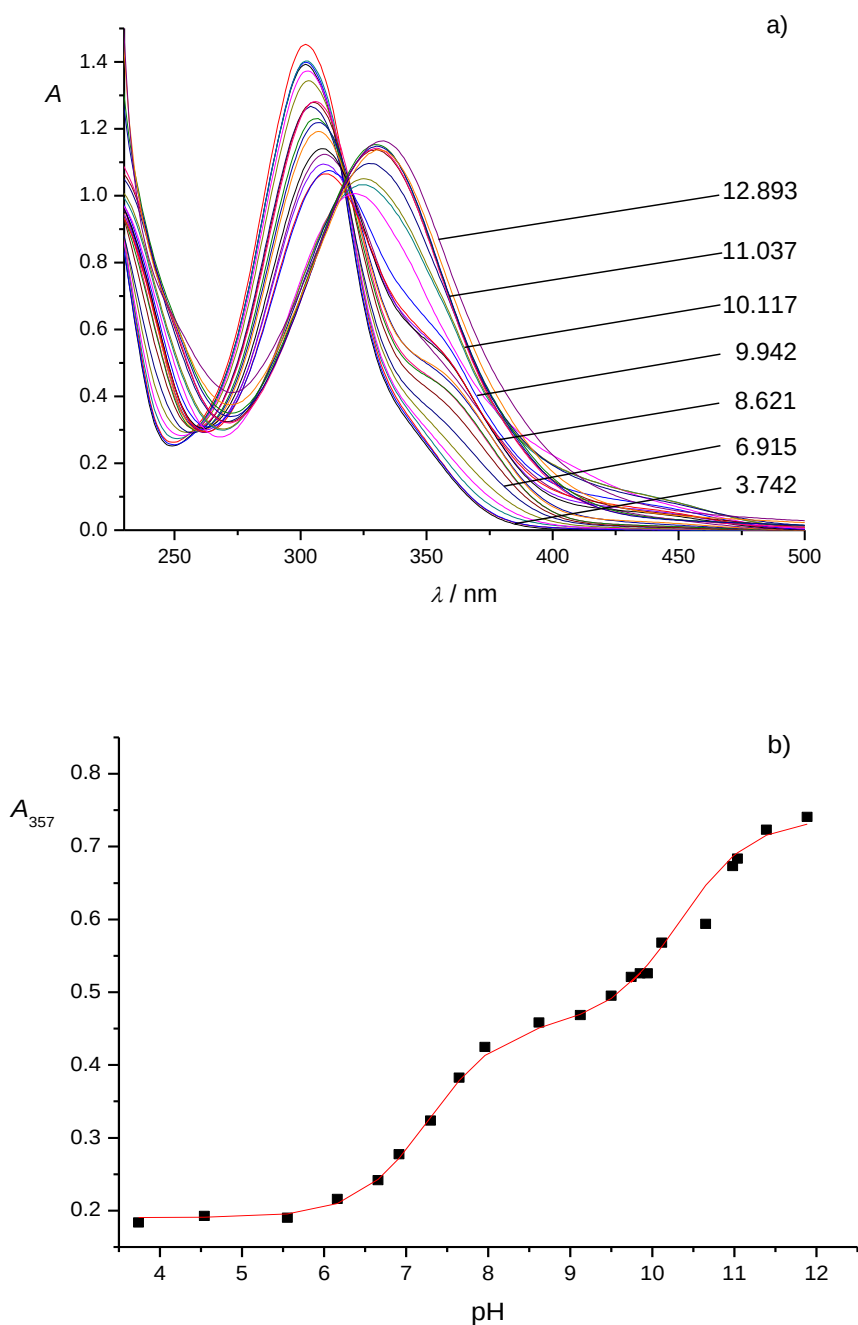
Atom	8		8+TEA	
	¹ H δ/ppm	¹³ C δ/ppm	¹ H δ/ppm	¹³ C δ/ppm
1		153,76		162,67
2		121,22		124,05
3	7,435	131,71	7,396	128,72
4	6,941	119,62	6,570	114,56
5	7,385	129,28	7,337	131,66
6		119,28		119,48
7	8,531	150,22	8,553	150,22
8		162,50		165,92
9		128,96		132,23
10	9,103	148,04	9,166	148,35
11	8,768	151,98	8,645	151,12
12	7,623	123,91	7,539	123,50

13	8,372	136,08	8,411	135,92
NH				
OH 1				
OH 2(4)				

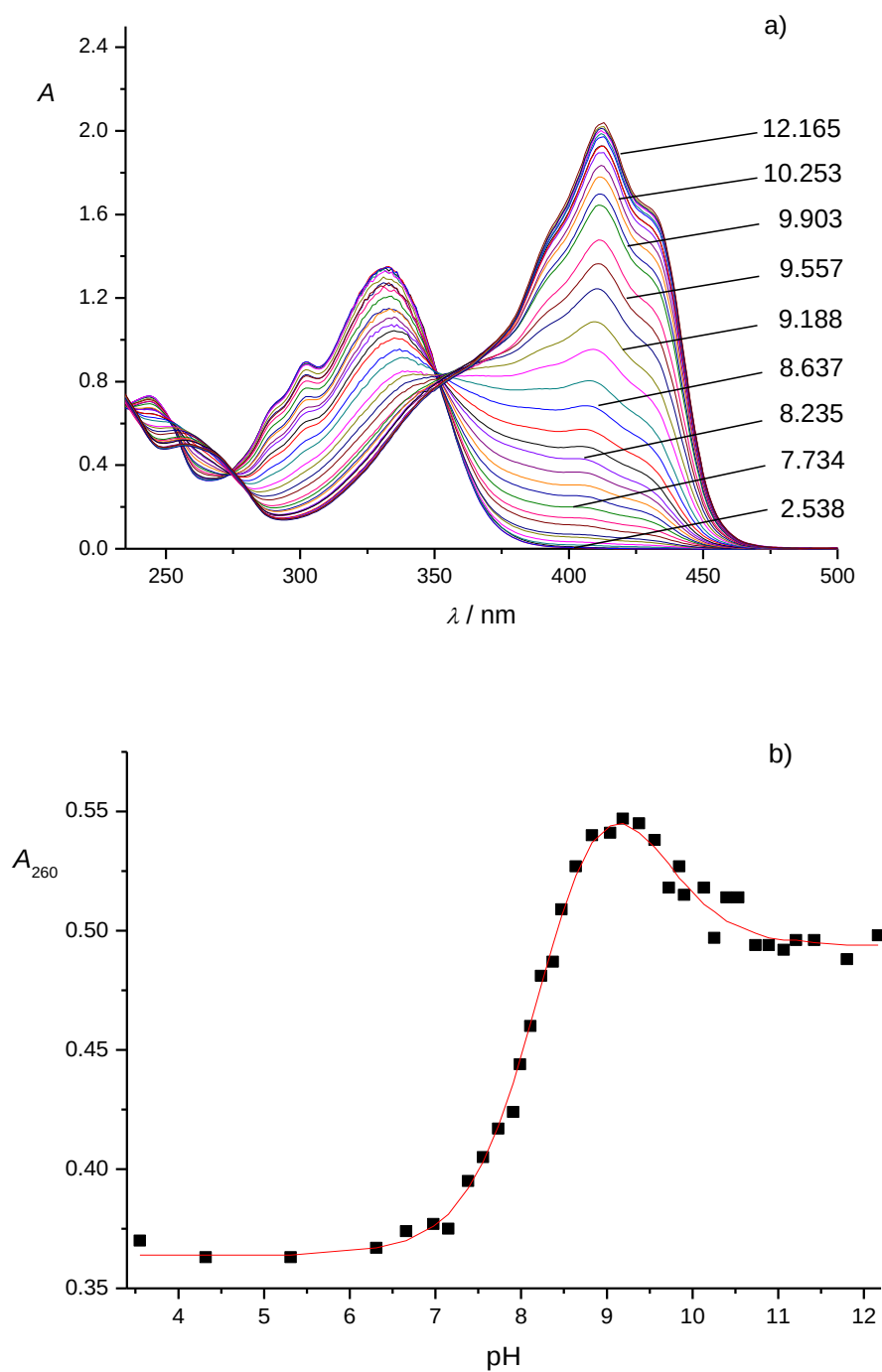
Konstante protoniranja



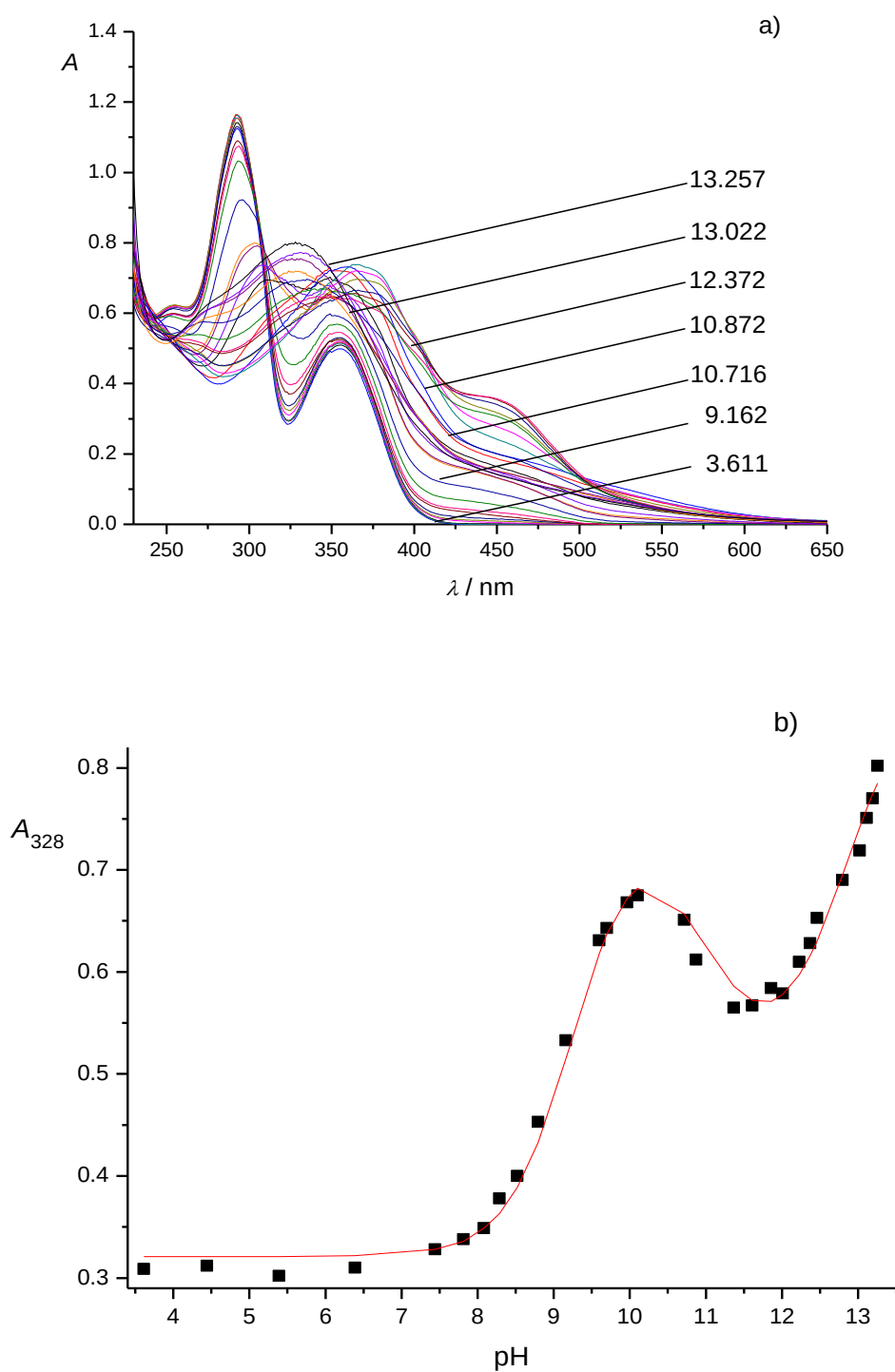
Dodatak 8.80. a) UV-Vis spektri spoja **1** i b) ovisnost apsorbancije pri 298 nm o pH u metanol/vodi 1/1: $c(\mathbf{1}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $l = 1 \text{ cm}$, $I_c = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$; ■ izmjerene apsorbancije, – izračunate apsorbancije.



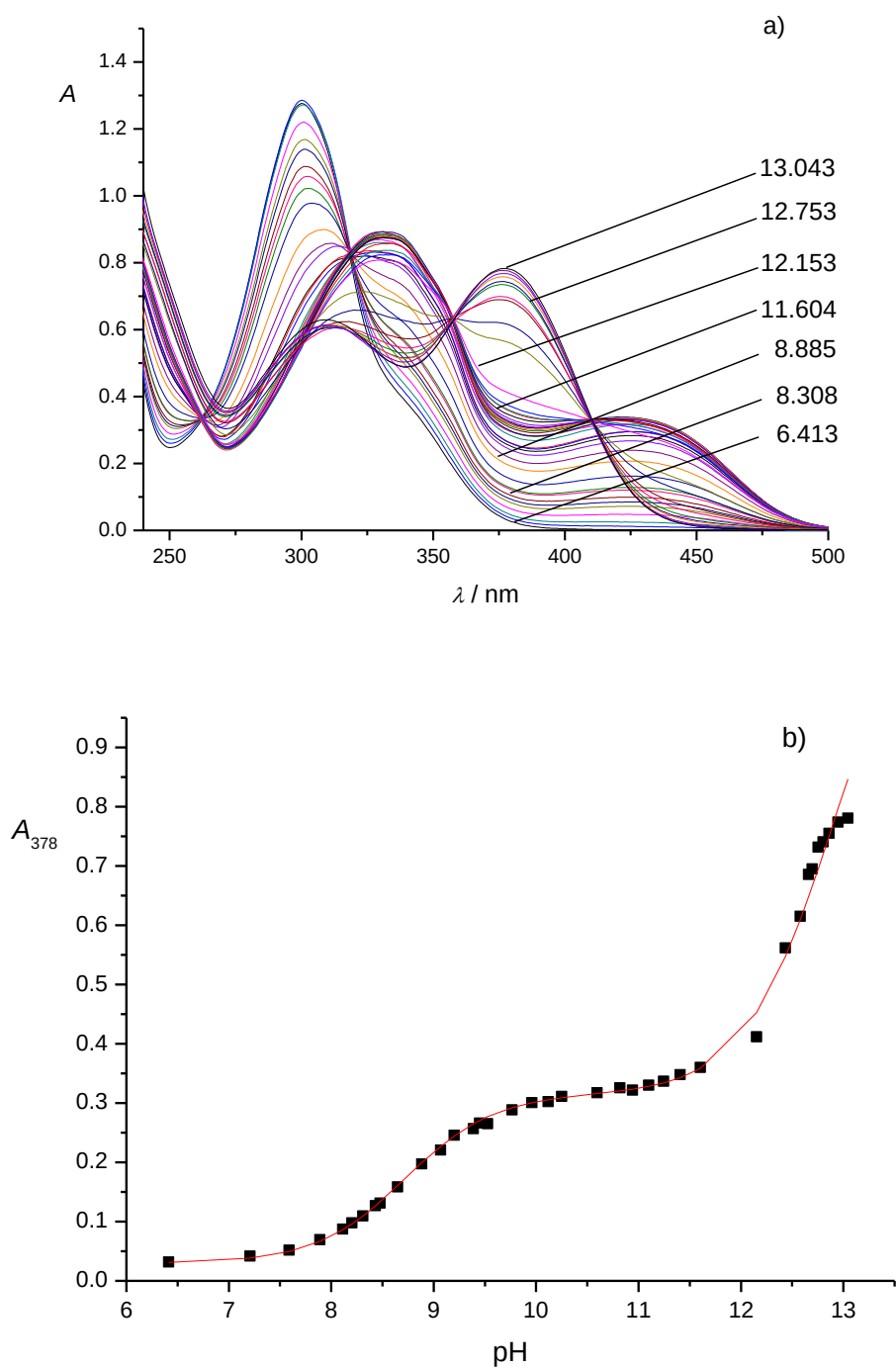
Dodatak 8.81. a) UV-Vis spektri spoja **3** i b) ovisnost apsorbancije pri 357 nm o pH u metanol/vodi 1/1: $c(\mathbf{3}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $l = 1 \text{ cm}$, $I_c = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$; ■ izmjerene apsorbancije, – izračunate apsorbancije.



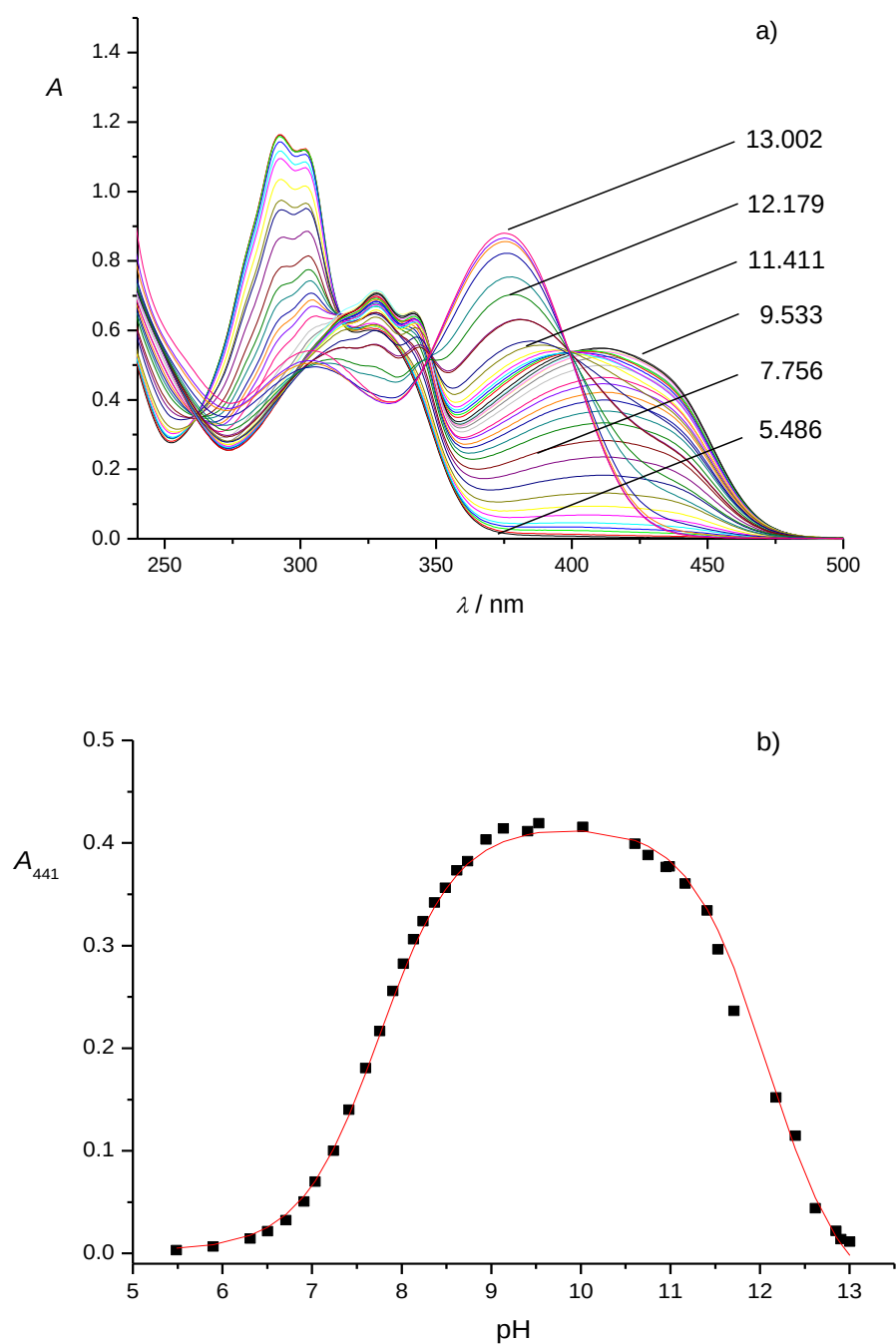
Dodatak 8.82. a) UV-Vis spektri spoja **4** i b) ovisnost apsorbancije pri 260 nm o pH u metanol/vodi 1/1: $c(\mathbf{4}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $l = 1 \text{ cm}$, $I_c = 0,1 \text{ mol dm}^{-3} \text{ (NaCl)}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$; ■ izmjerene apsorbancije, — izračunate apsorbancije.



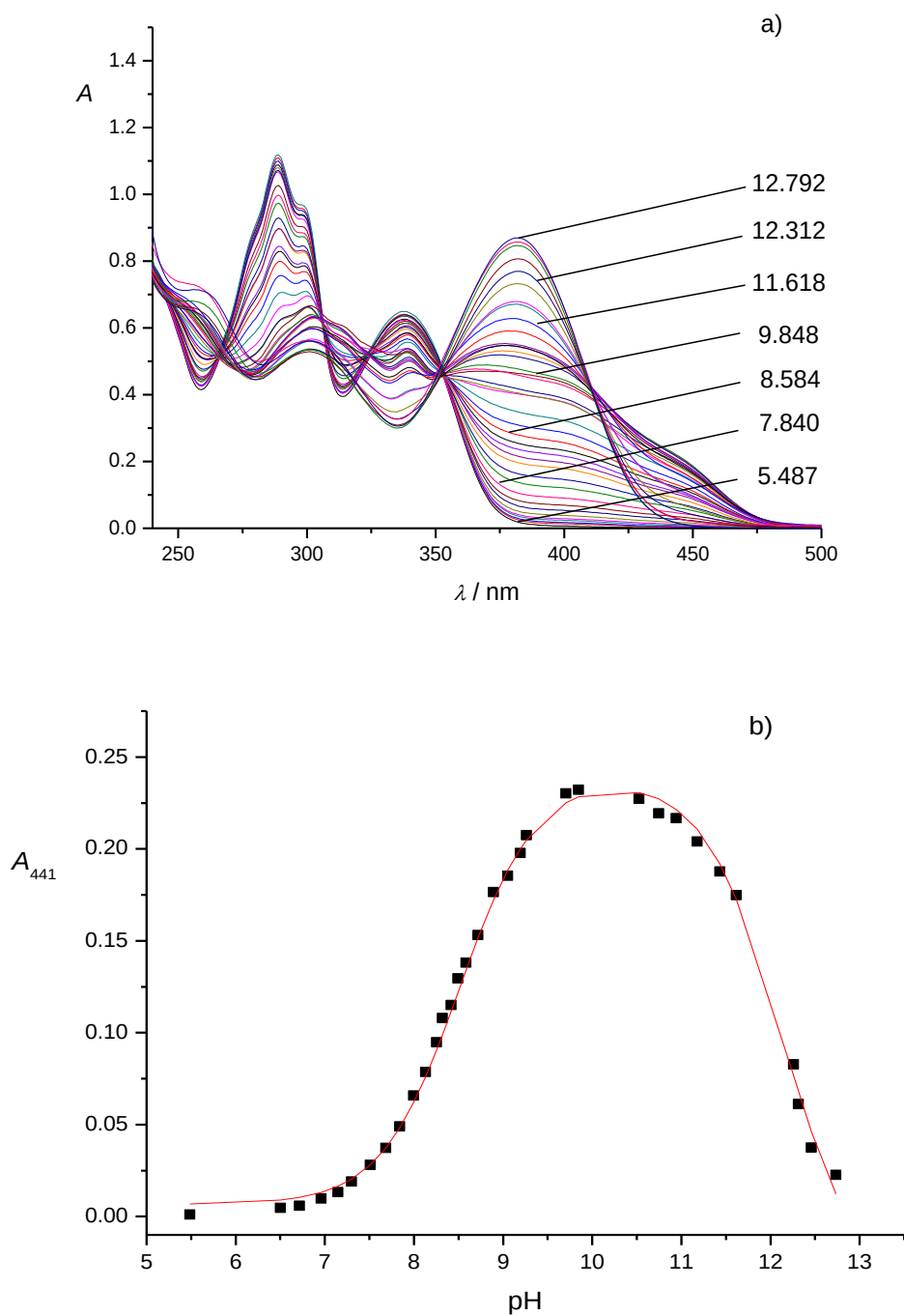
Dodatak 8.83. a) UV-Vis spektri spoja 5 i b) ovisnost apsorbancije pri 328 nm o pH u metanol/vodi 1/1: $c(5) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $l = 1 \text{ cm}$, $I_c = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$; ■ izmjerene apsorbancije, — izračunate apsorbancije.



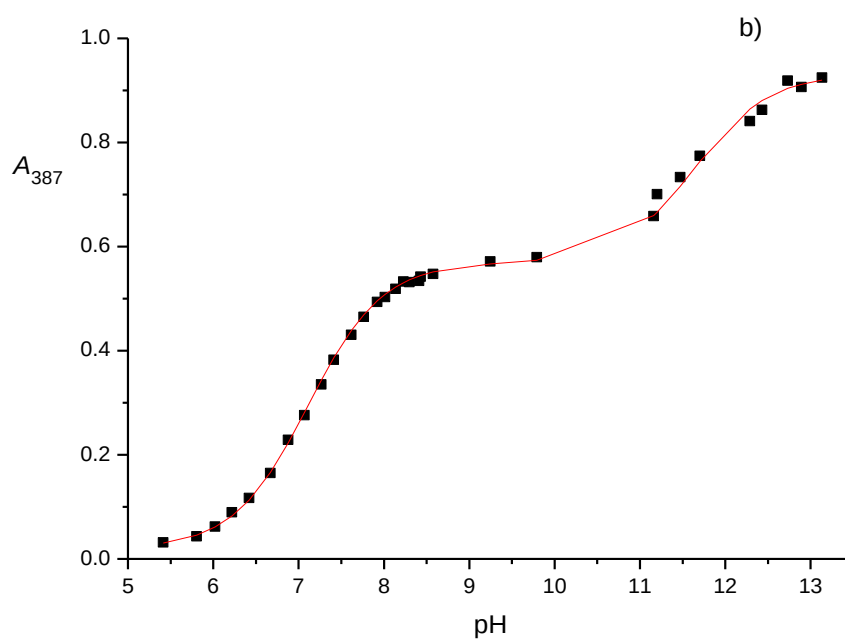
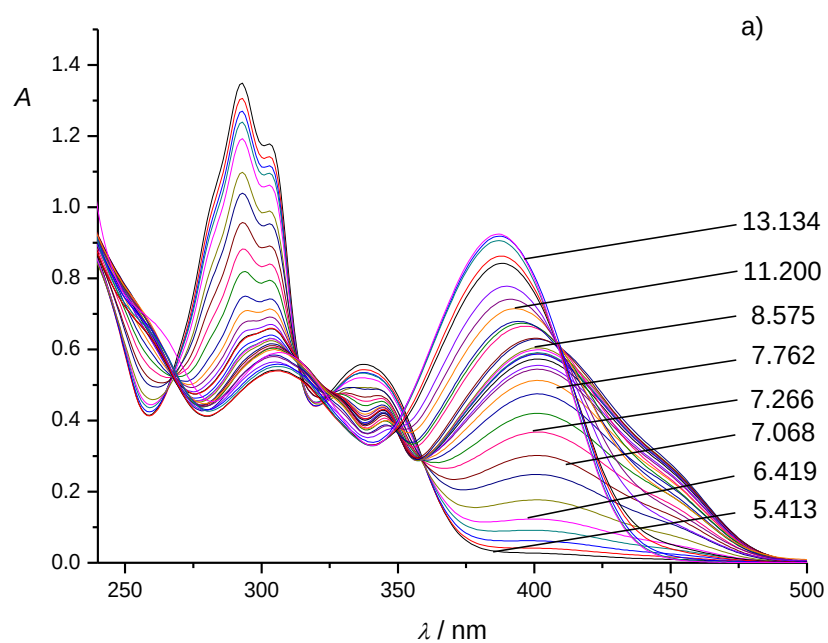
Dodatak 8.84. a) UV-Vis spektri spoja **6** i b) ovisnost apsorbancije pri 378 nm o pH u metanol/vodi 1/1: $c(\mathbf{6}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $l = 1 \text{ cm}$, $I_c = 0,1 \text{ mol dm}^{-3} \text{ (NaCl)}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$; ■ izmjerene apsorbancije, – izračunate apsorbancije.



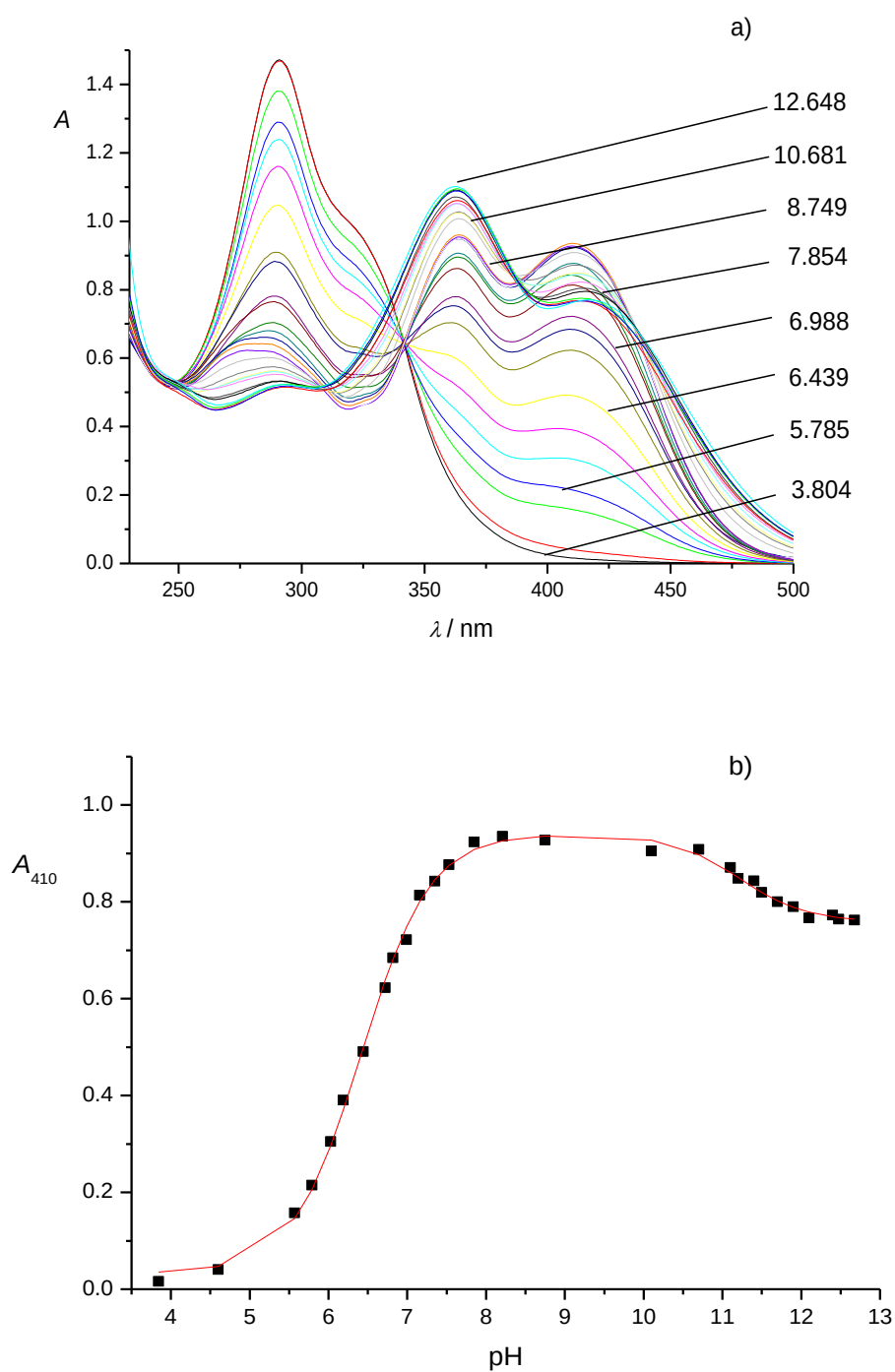
Dodatak 8.85. a) UV-Vis spektri spoja **8** i b) ovisnost apsorbancije pri 441 nm o pH u metanol/vodi 1/1: $c(\mathbf{8}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $l = 1 \text{ cm}$, $I_c = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$; ■ izmjerene apsorbancije, — izračunate apsorbancije.



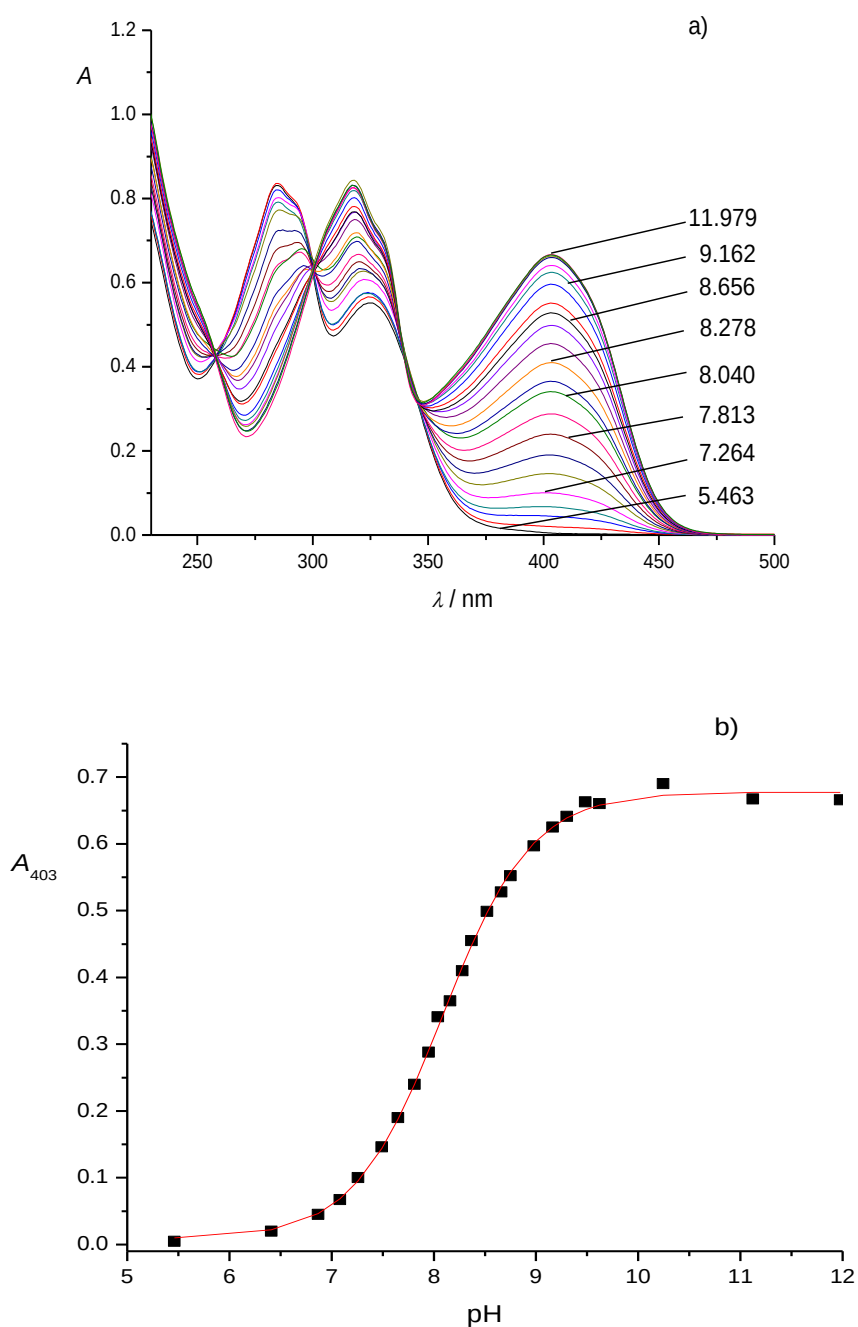
Dodatak 8.86. a) UV-Vis spektri spoja **9** i b) ovisnost apsorbancije pri 441 nm o pH u metanol/vodi 1/1: $c(\mathbf{9}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $l = 1 \text{ cm}$, $I_c = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$; ■ izmjerene apsorbancije, – izračunate apsorbancije.



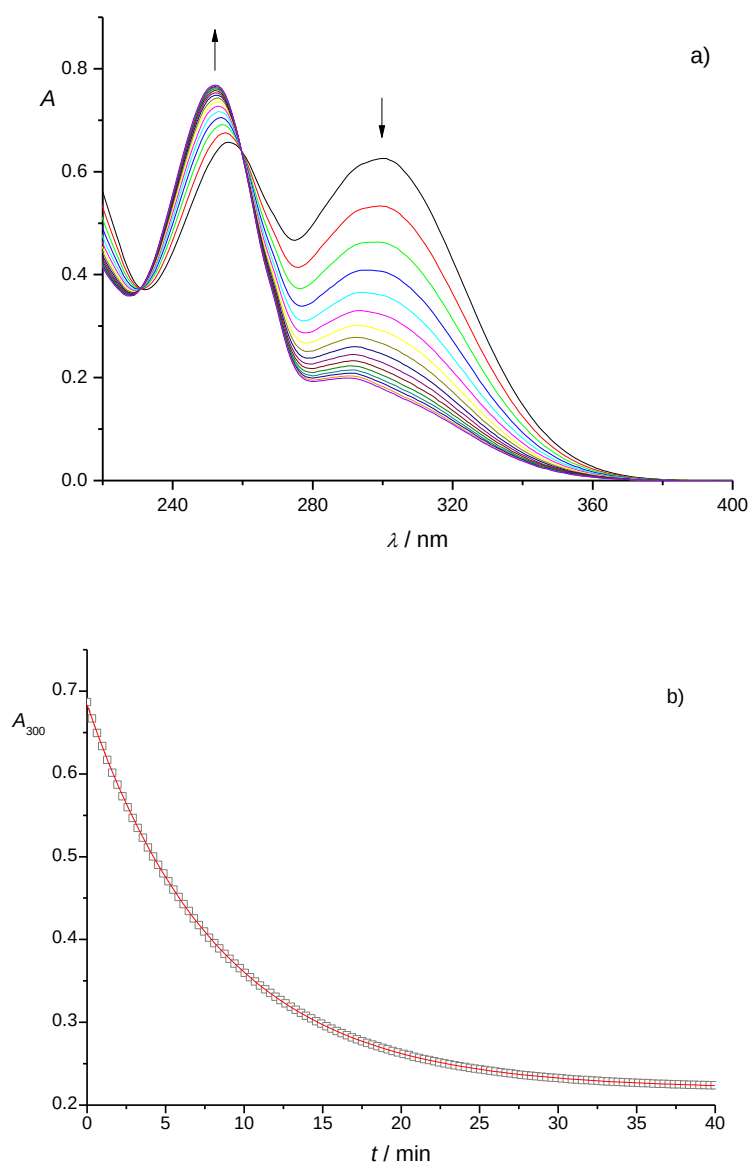
Dodatak 8.87. a) UV-Vis spektri spoja **10** i b) ovisnost apsorbancije pri 387 nm o pH u metanol/vodi 1/1: $c(\mathbf{10}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $l = 1 \text{ cm}$, $I_c = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$; ■ izmjerene apsorbancije, — izračunate apsorbancije.



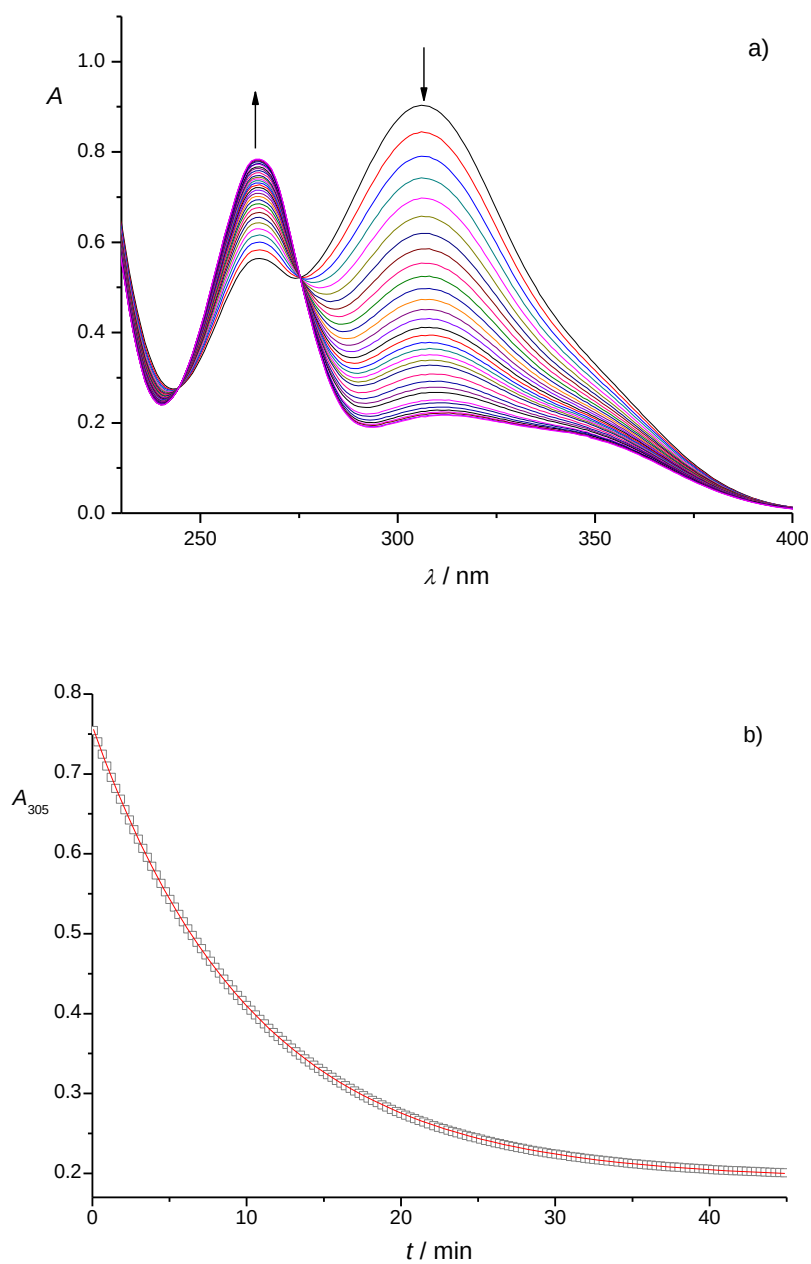
Dodatak 8.88. a) UV-Vis spektri spoja **11** i b) ovisnost apsorbancije pri 410 nm o pH u metanol/vodi 1/1: $c(\mathbf{11}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $l = 1 \text{ cm}$, $I_c = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$; ■ izmjerene apsorbancije, — izračunate apsorbancije.



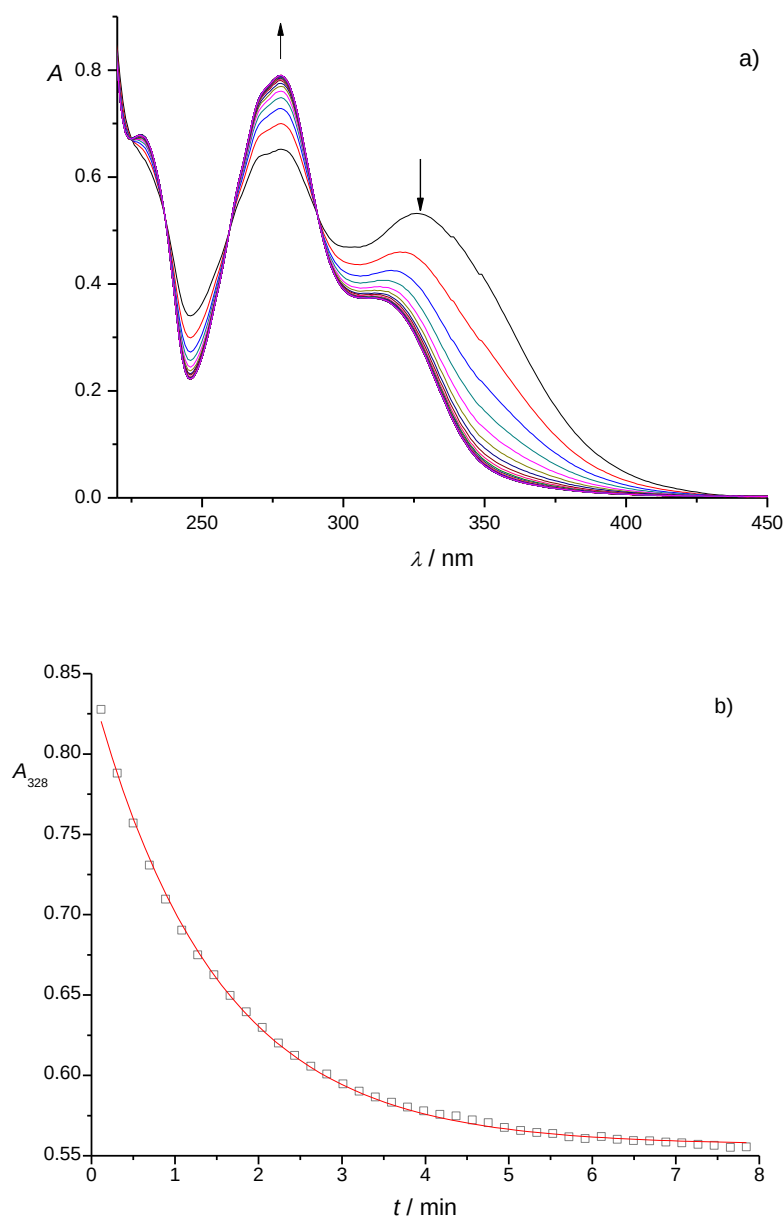
Dodatak 8.89. a) UV-Vis spektri spoja **12** i b) ovisnost apsorbancije pri 403 nm o pH u metanol/vodi 1/1: $c(\mathbf{12}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $l = 1 \text{ cm}$, $I_c = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$; ■ izmjerene apsorbancije, — izračunate apsorbancije.

Hidroliza

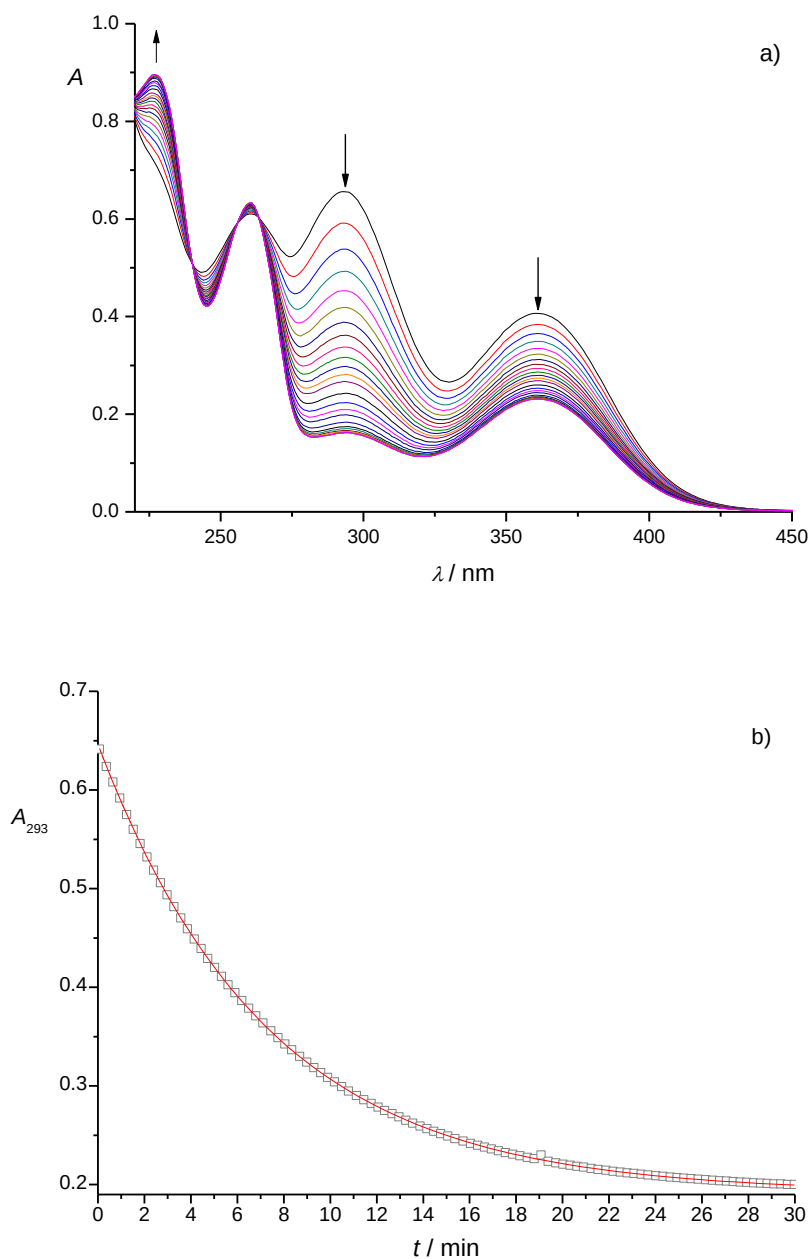
Dodatak 8.90. a) UV spektri spoja **1** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon pripreve otopine, dok su ostali snimani svake dvije minute kroz 40 minuta: $c(\mathbf{1}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}^+) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$. b) Vremenska ovisnost apsorbancija pri 300 nm.



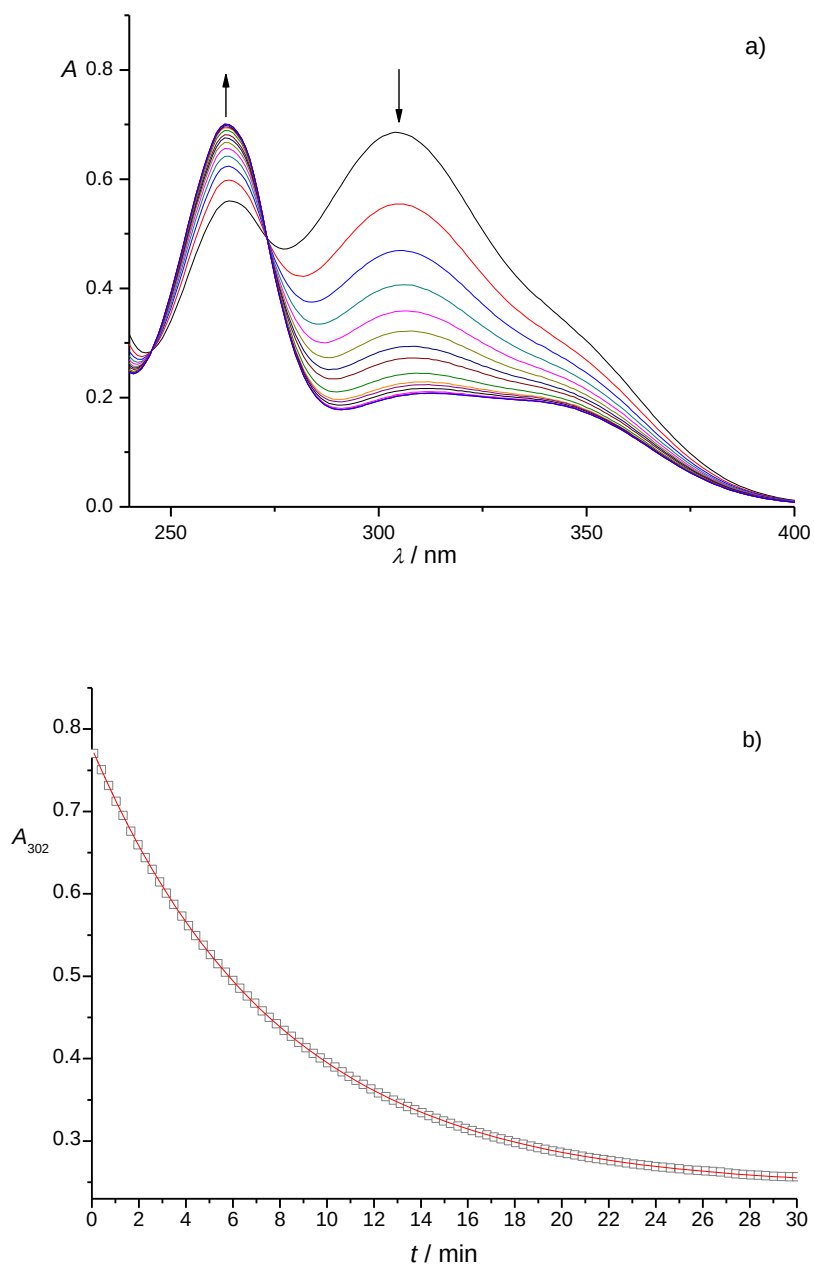
Dodatak 8.91. a) UV spektri spoja **3** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon priprave otopine, dok su ostali snimani svake minute kroz 60 minuta: $c(\mathbf{3}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}^+) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$. b) Vremenska ovisnost apsorbancija pri 305 nm.



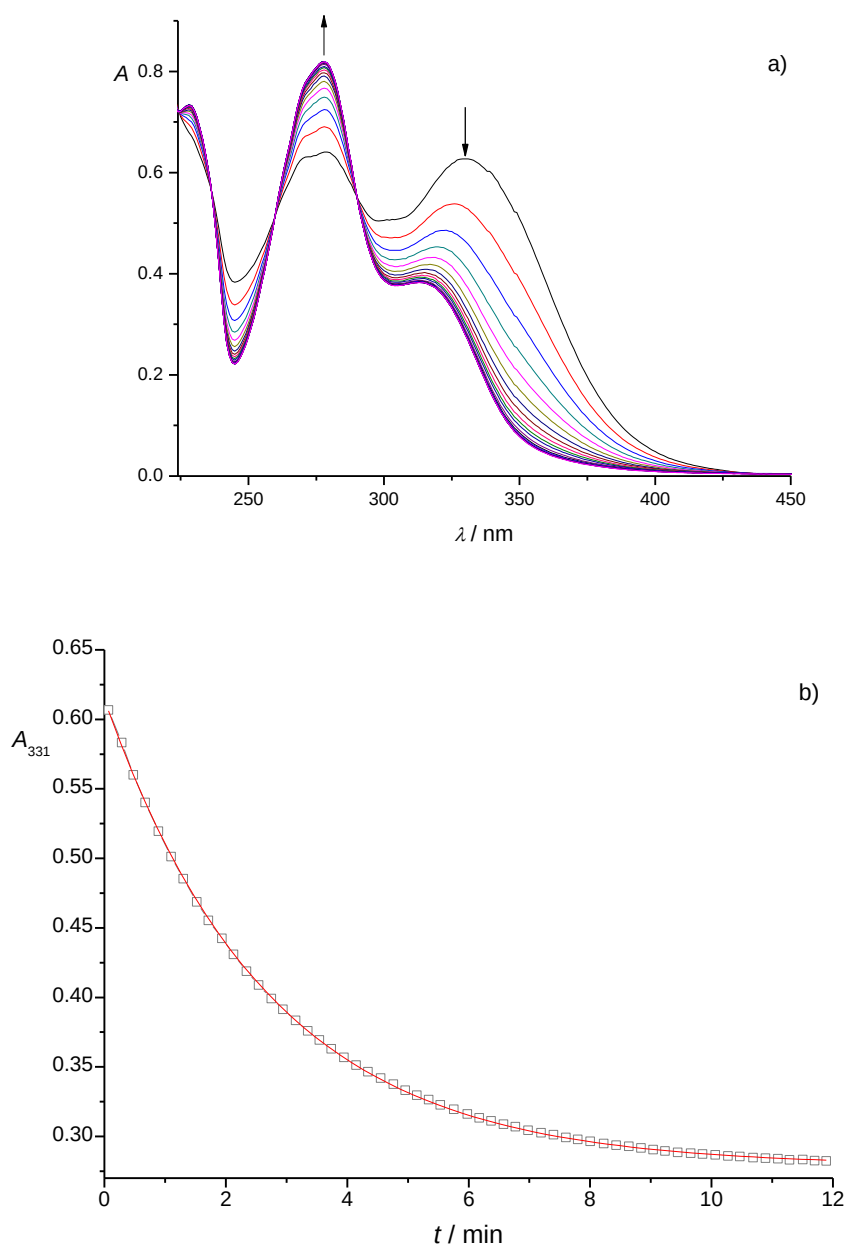
Dodatak 8.92. a) UV spektri spoja **4** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon pripreve otopine, dok su ostali snimani svake minute kroz 60 minuta: $c(\mathbf{4}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}^+) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$. b) Vremenska ovisnost apsorbancija pri 328 nm.



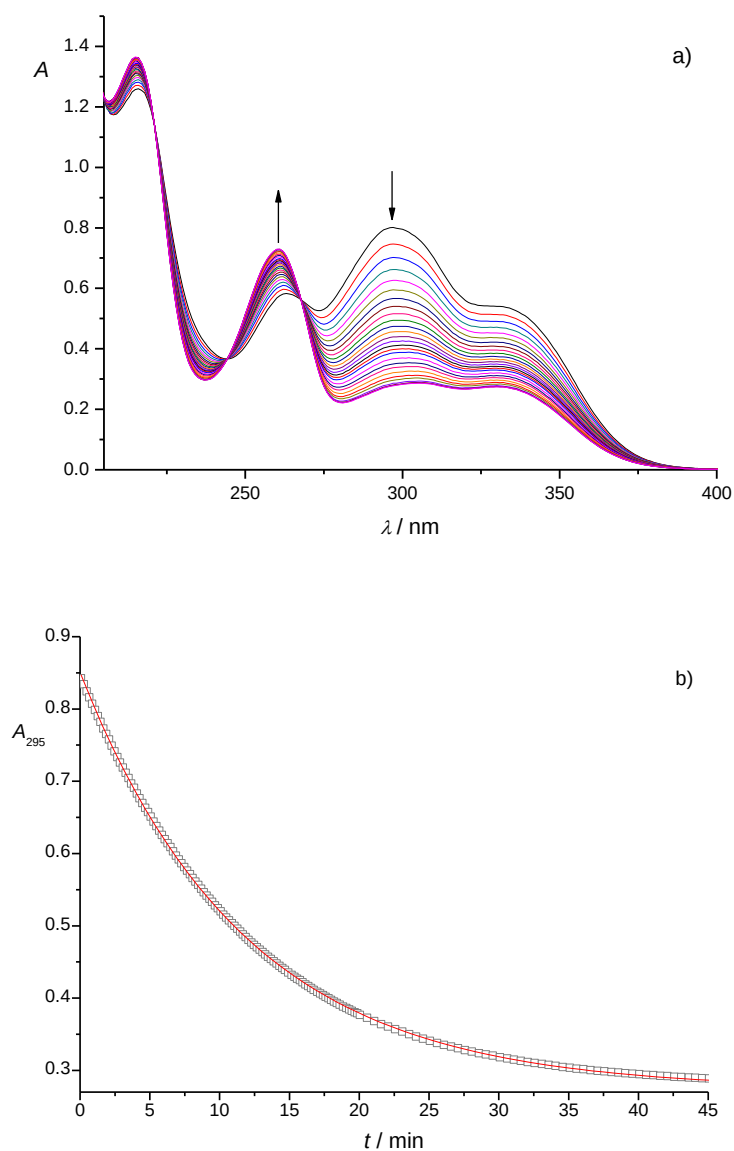
Dodatak 8.93. a) UV spektri spoja **5** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon priprave otopine, dok su ostali snimani svake minute kroz 60 minuta: $c(\mathbf{5}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}^+) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ \text{C}$. b) Vremenska ovisnost apsorbanija pri 293 nm.



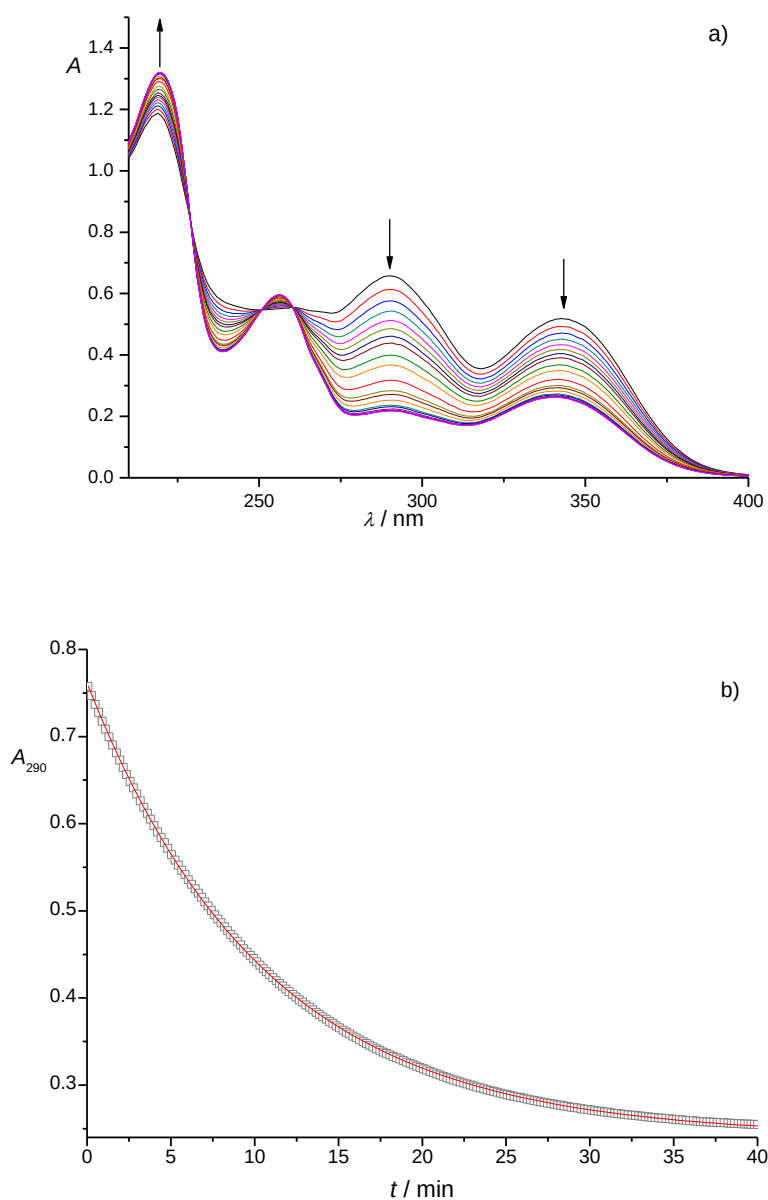
Dodatak 8.94. a) UV spektri spoja **6** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon pripreve otopine, dok su ostali snimani svake minute kroz 60 minuta: $c(\mathbf{6}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}^+) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$. b) Vremenska ovisnost apsorbancija pri 302 nm.



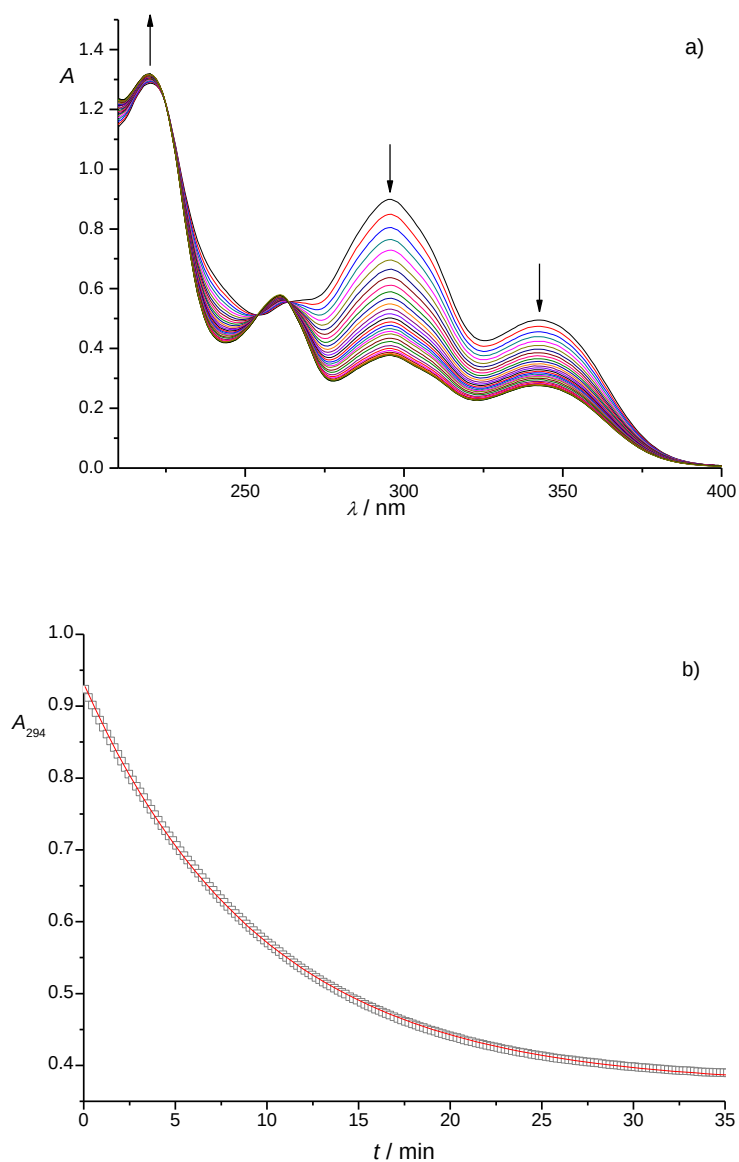
Dodatak 8.95. a) UV spektri spoja **7** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon priprave otopine, dok su ostali snimani svake minute kroz 60 minuta: $c(\mathbf{7}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}^+) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$. b) Vremenska ovisnost apsorbancija pri 331 nm.



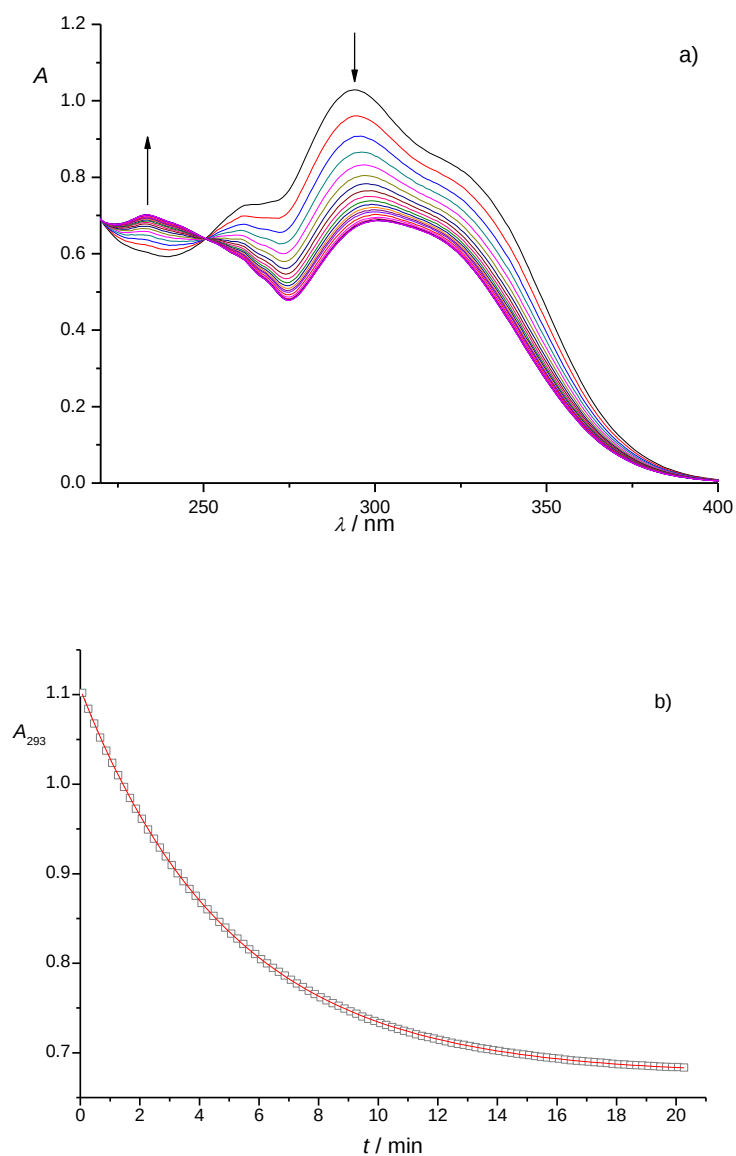
Dodatak 8.96. a) UV spektri spoja **8** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon pripreve otopine, dok su ostali snimani svake minute kroz 60 minuta: $c(\mathbf{8}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}^+) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ \text{C}$. b) Vremenska ovisnost apsorbancija pri 295 nm.



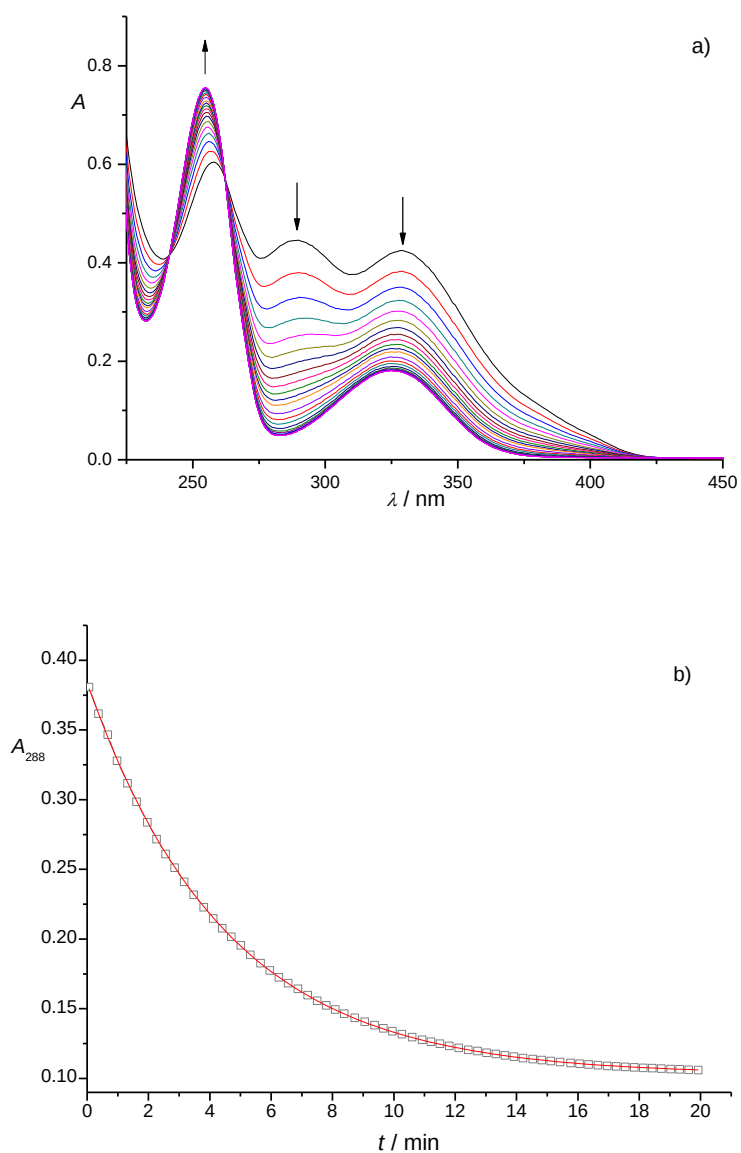
Dodatak 8.97. a) UV spektri spoja **9** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon priprave otopine, dok su ostali snimani svake minute kroz 60 minuta: $c(\mathbf{9}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}^+) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$. b) Vremenska ovisnost apsorbancija pri 290 nm.



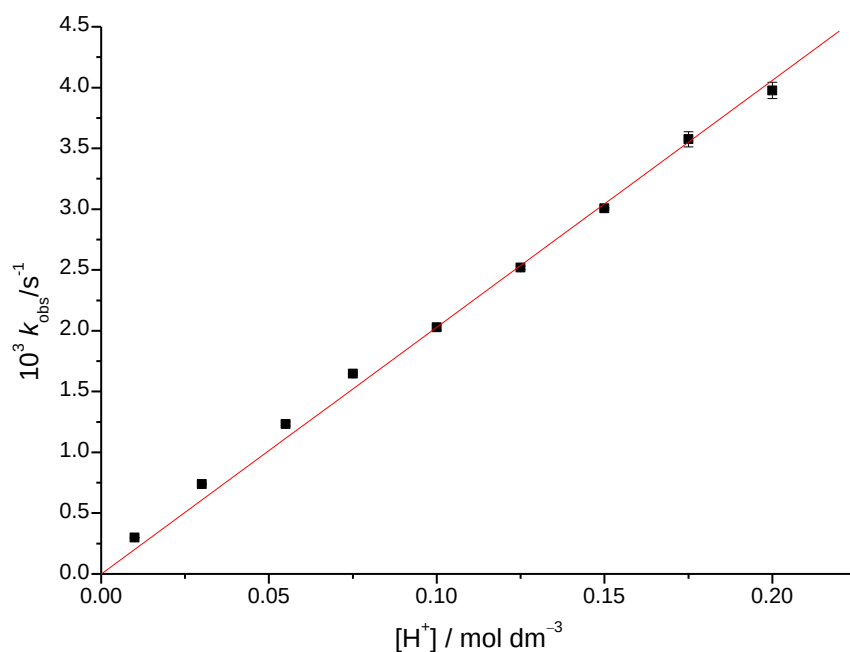
Dodatak 8.98. a) UV spektri spoja **10** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon pripreve otopine, dok su ostali snimani svake minute kroz 60 minuta: $c(\mathbf{10}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}^+) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$. b) Vremenska ovisnost apsorbancija pri 294 nm.



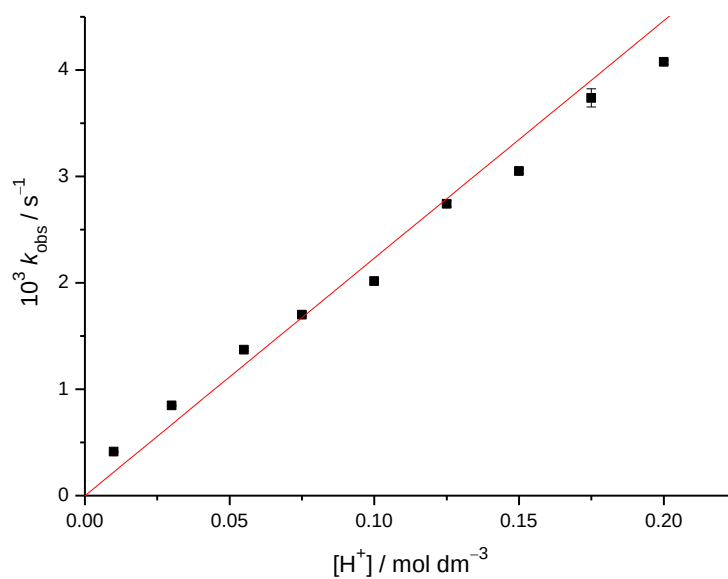
Dodatak 8.99. a) UV spektri spoja **11** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon priprave otopine, dok su ostali snimani svake minute kroz 60 minuta: $c(\mathbf{11}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}^+) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$. b) Vremenska ovisnost apsorbancija pri 293 nm.



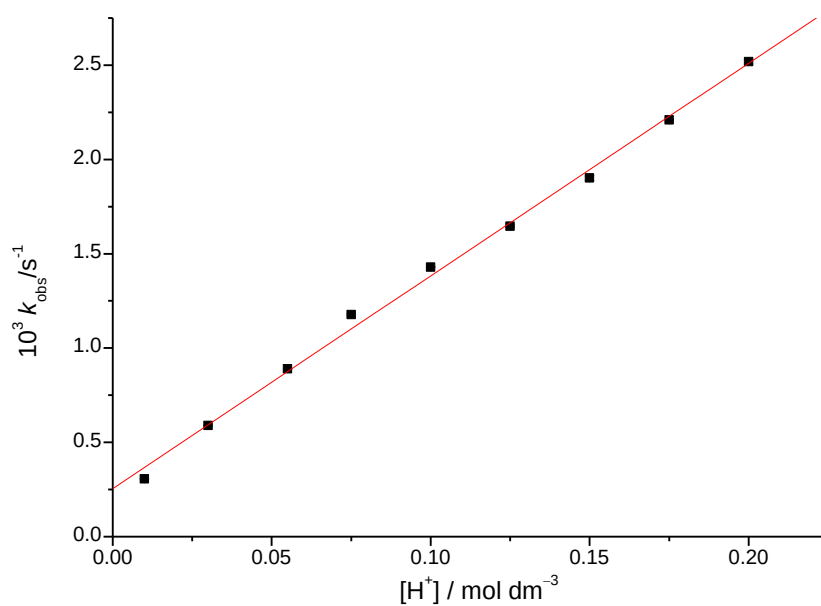
Dodatak 8.100. a) UV spektri spoja **12** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon pripreve otopine, dok su ostali snimani svake minute kroz 60 minuta: $c(\mathbf{12}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}^+) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$. b) Vremenska ovisnost apsorbancija pri 288 nm.



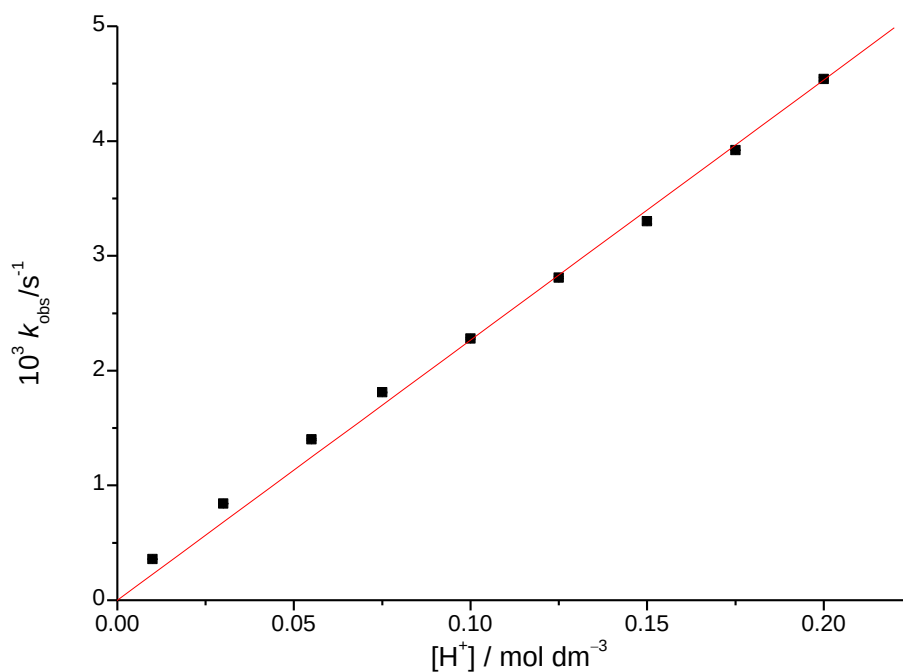
Dodatak 8.101. Ovisnost k_{obs} spoja **1** o koncentraciji H^+ u sustavu otapala metanol/voda 1/1: $c(\mathbf{1}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.



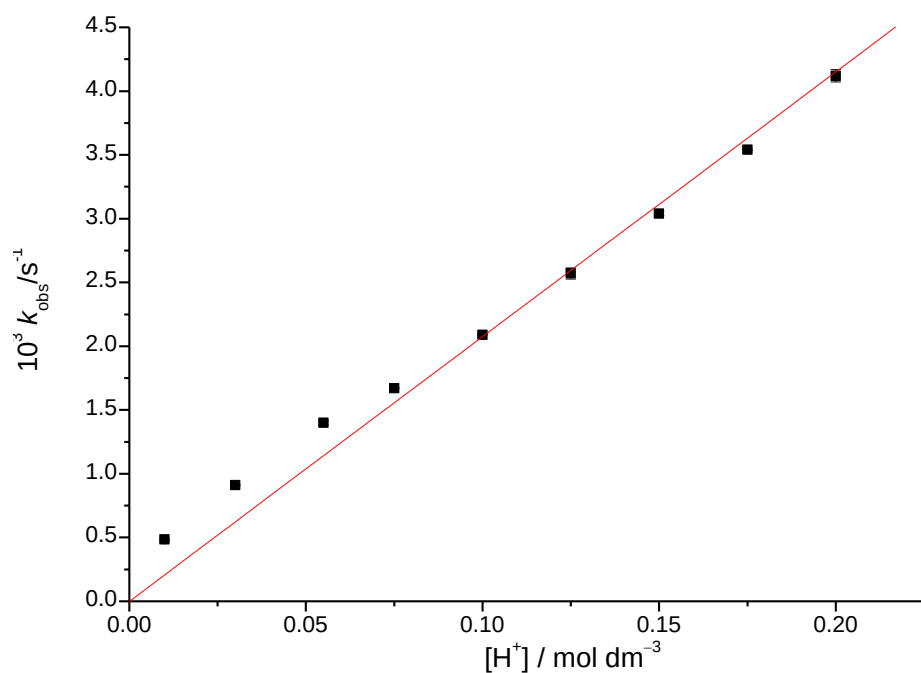
Dodatak 8.102. Ovisnost k_{obs} spoja **2** o koncentraciji H^+ u sustavu otapala metanol/voda 1/1: $c(\mathbf{2}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.



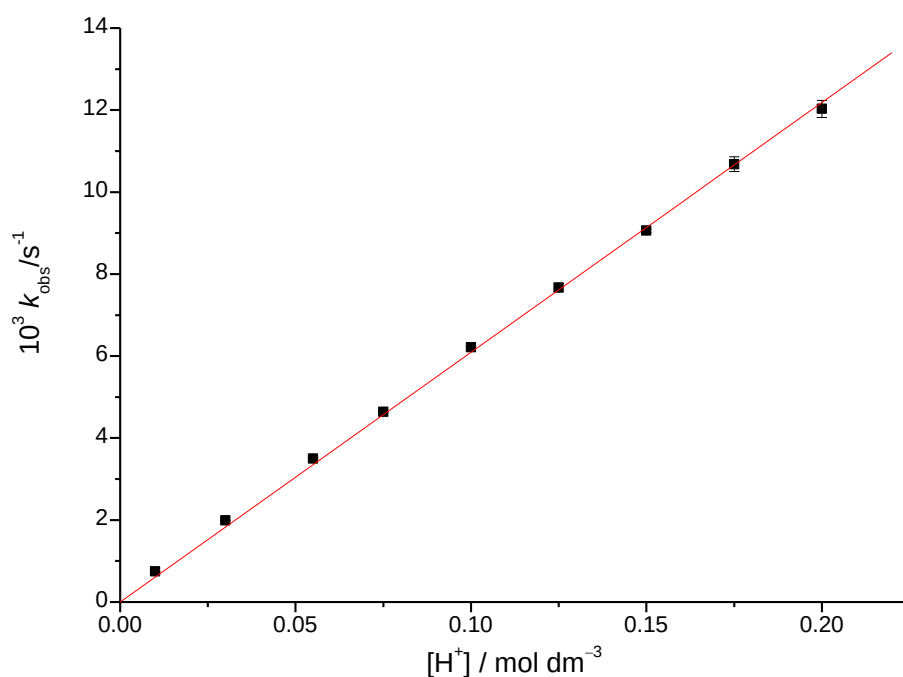
Dodatak 8.103. Ovisnost k_{obs} spoja **3** o koncentraciji H^+ u sustavu otapala metanol/voda 1/1: $c(\mathbf{3}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.



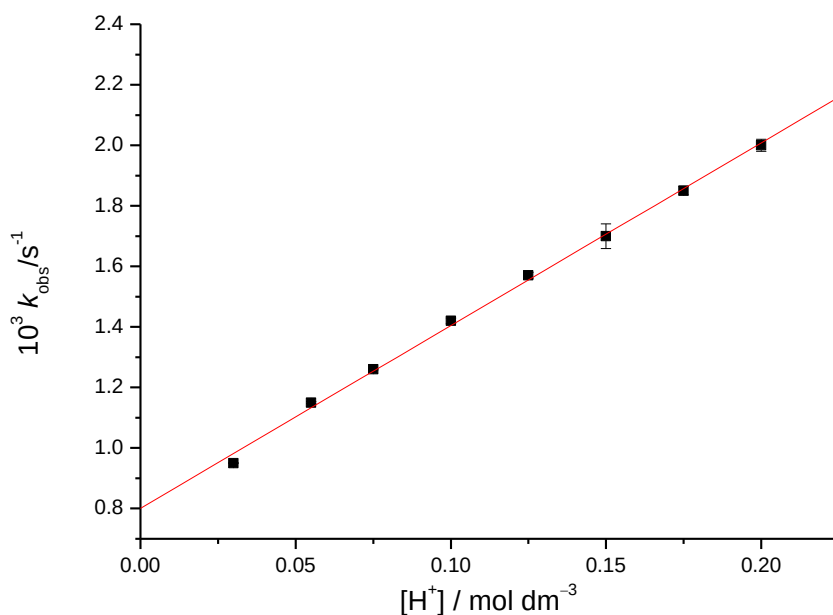
Dodatak 8.104. Ovisnost k_{obs} spoja **5** o koncentraciji H^+ u sustavu otapala metanol/voda 1/1: $c(\mathbf{5}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.



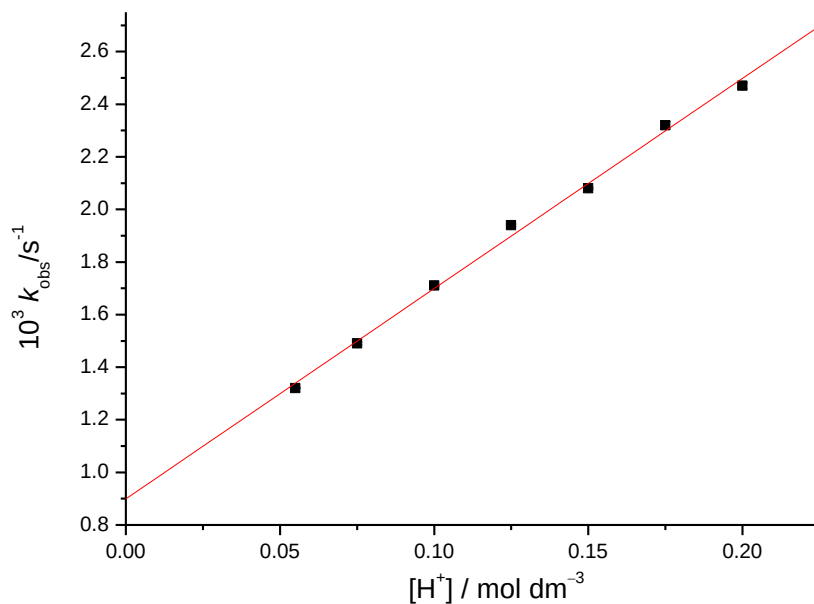
Dodatak 8.105. Ovisnost k_{obs} spoja **6** o koncentraciji H^+ u sustavu otapala metanol/voda 1/1: $c(\mathbf{6}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $I_{\text{c}} = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.



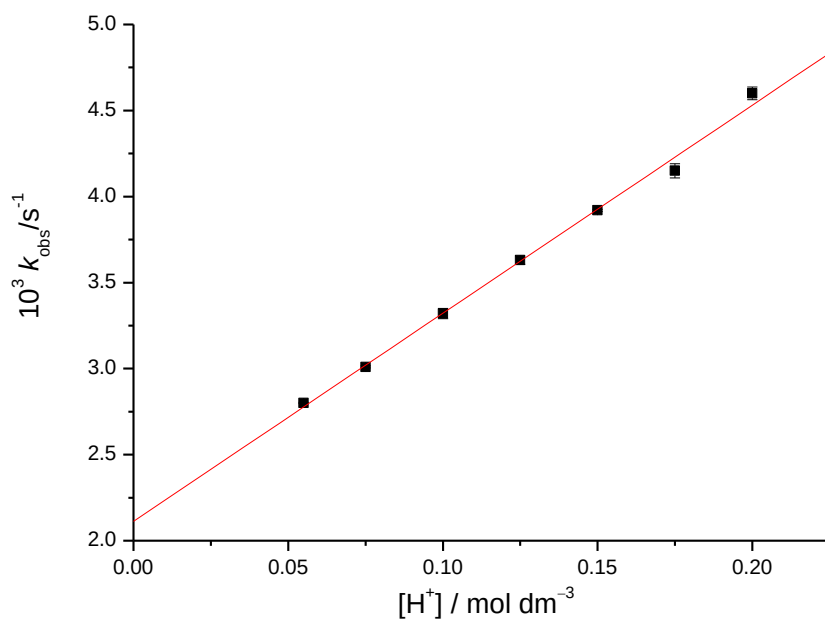
Dodatak 8.106. Ovisnost k_{obs} spoja **7** o koncentraciji H^+ u sustavu otapala metanol/voda 1/1: $c(\mathbf{7}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $I_{\text{c}} = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.



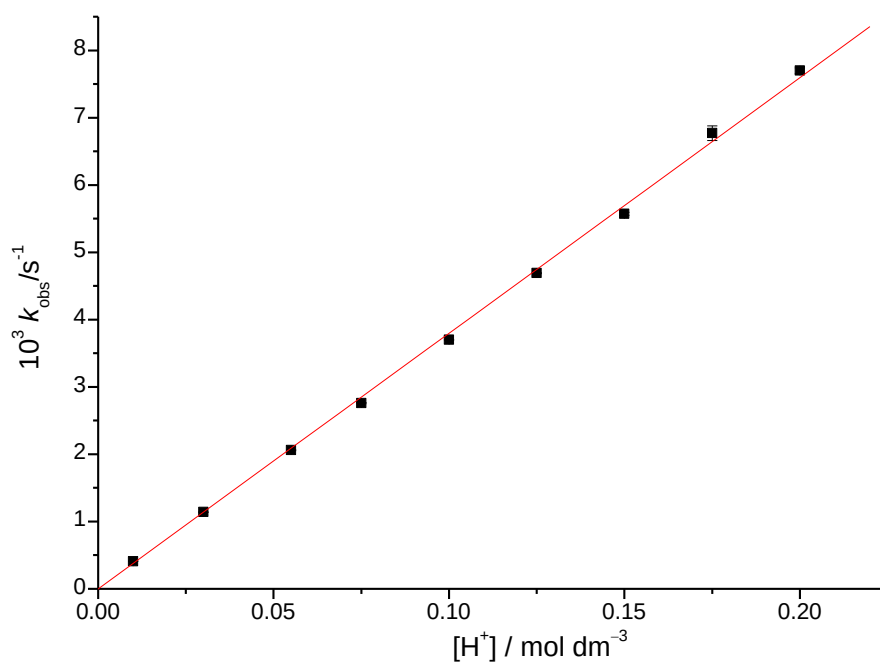
Dodatak 8.107. Ovisnost k_{obs} spoja **8** o koncentraciji H^+ u sustavu otapala metanol/voda 1/1: $c(\mathbf{8}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.



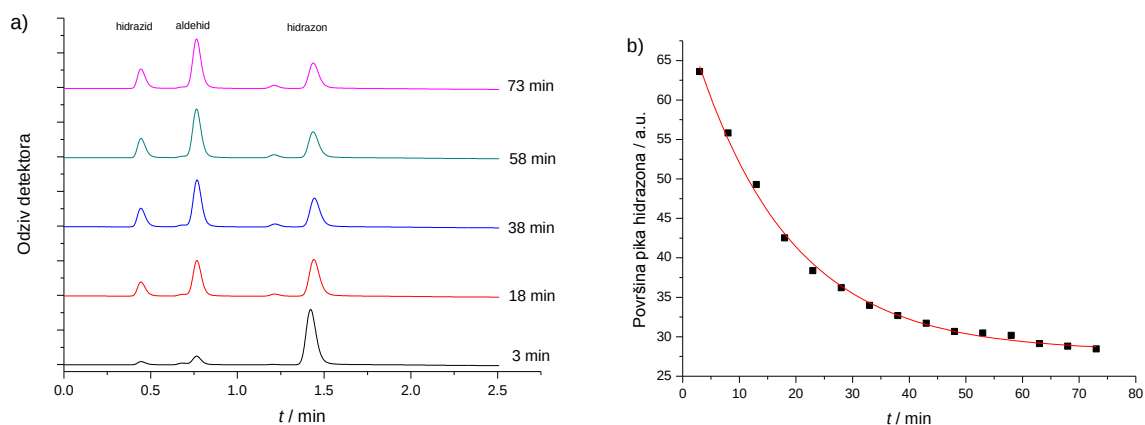
Dodatak 8.108. Ovisnost k_{obs} spoja **10** o koncentraciji H^+ u sustavu otapala metanol/voda 1/1: $c(\mathbf{10}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.



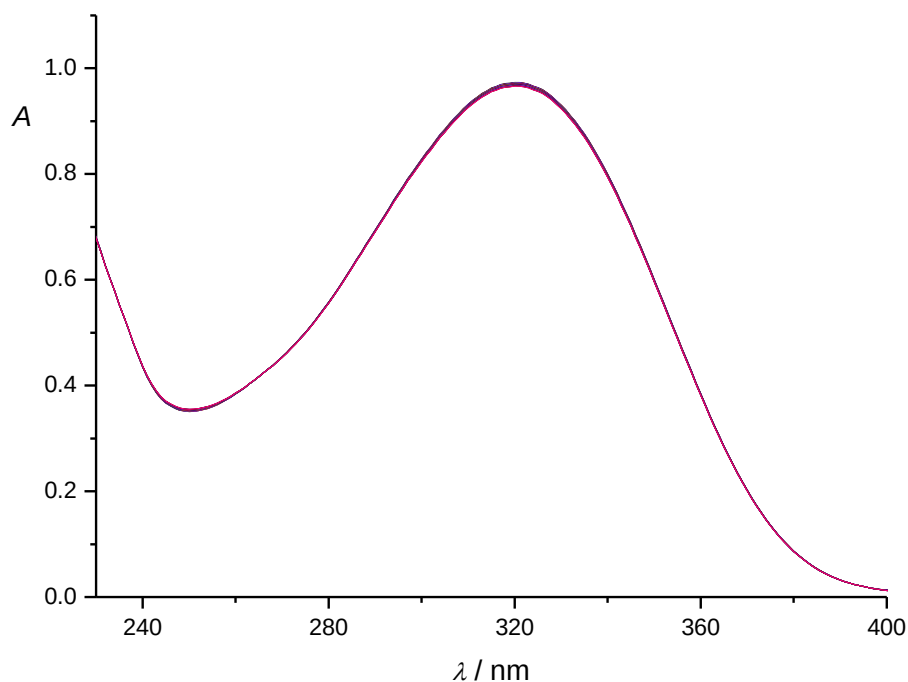
Dodatak 8.109. Ovisnost k_{obs} spoja **11** o koncentraciji H^+ u sustavu otapala metanol/voda 1/1: $c(\mathbf{11}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.



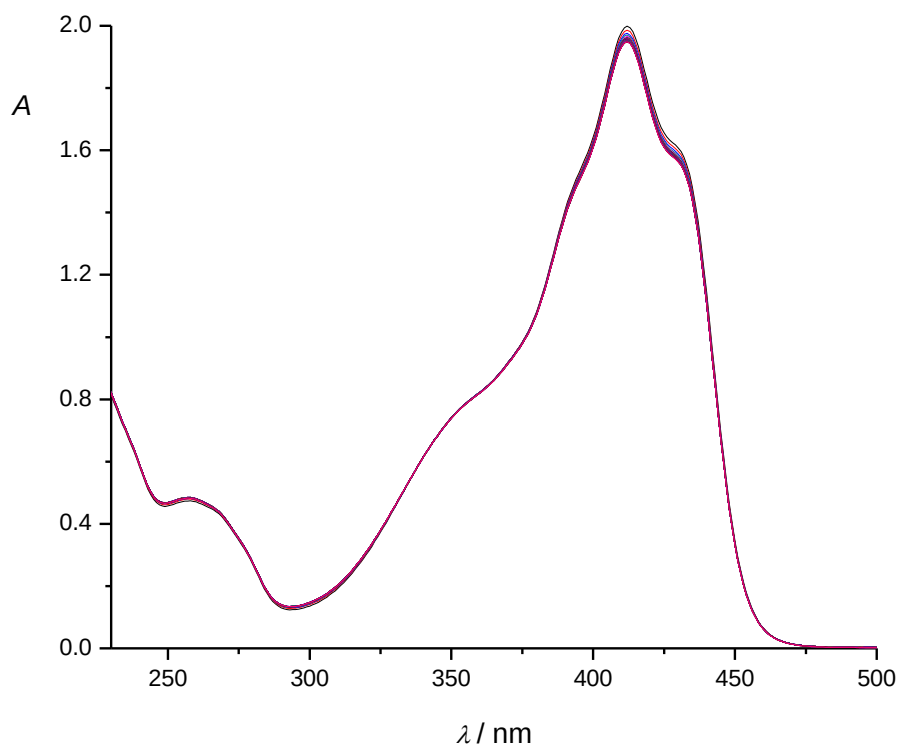
Dodatak 8.110. Ovisnost k_{obs} spoja **12** o koncentraciji H^+ u sustavu otapala metanol/voda 1/1: $c(\mathbf{12}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.



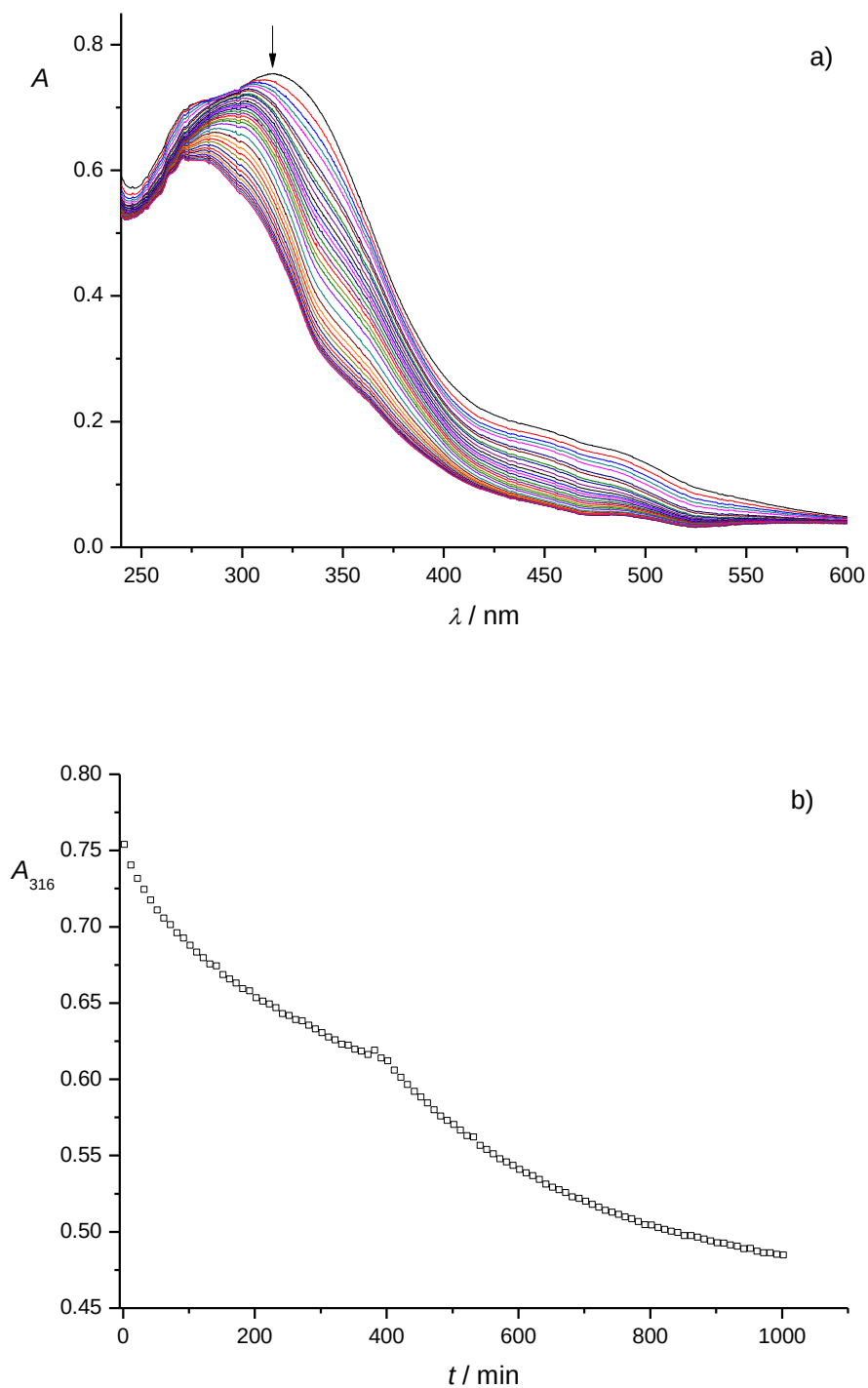
Dodatak 8.111. a) Odabrani kromatogrami spoja **11** i b) vremenska ovisnost površine pika hidrazona **11** (pikovi su detektirani pri 243 nm). Uvjeti: metanol/voda 1/1, $c(\mathbf{11}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}^+) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$.



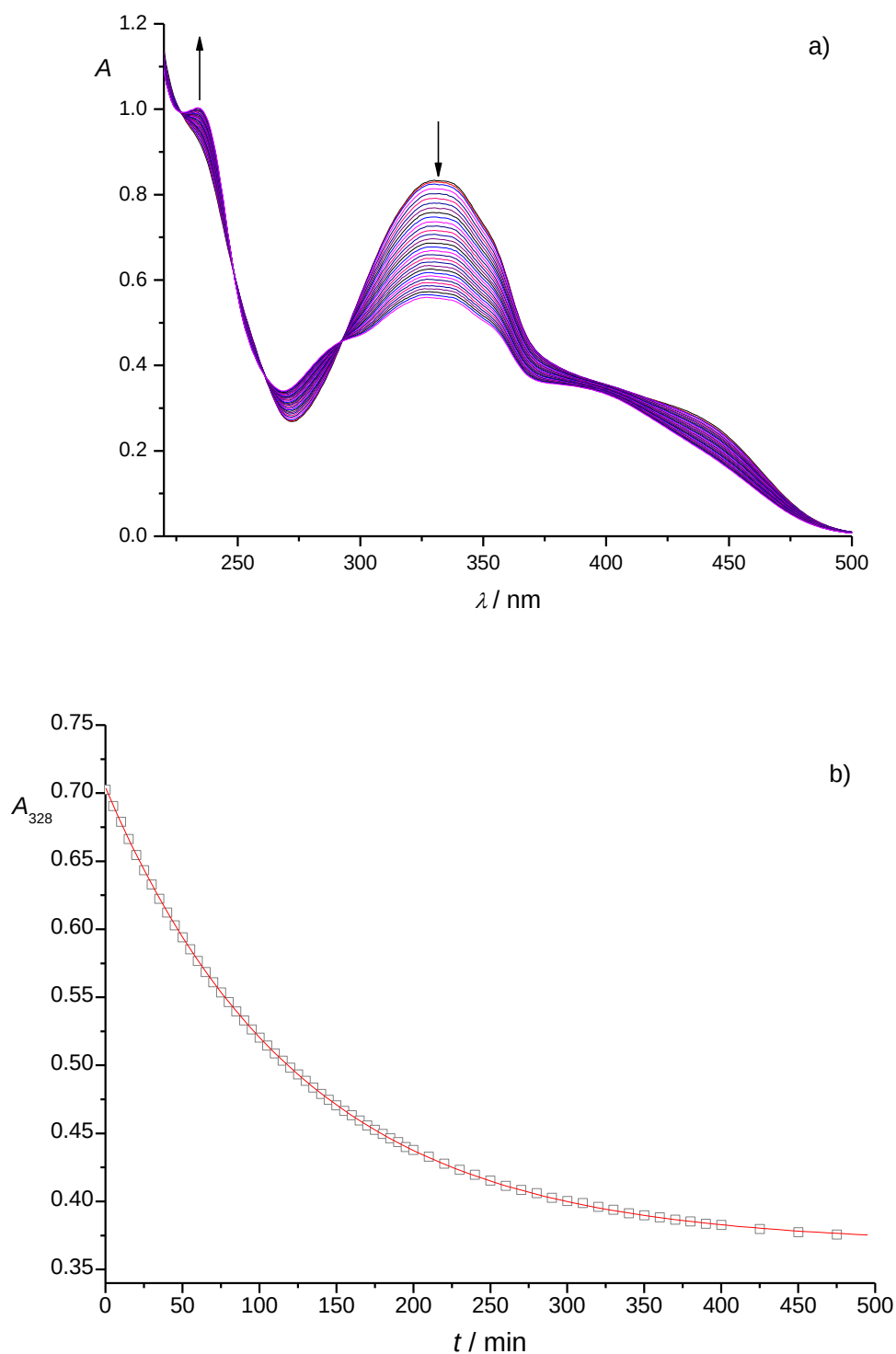
Dodatak 8.112. UV spektri spoja **1** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon pripreve otopine, dok su ostali snimani svakih 5 minuta kroz 120 minuta: $c(\mathbf{1}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{OH}^-) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.



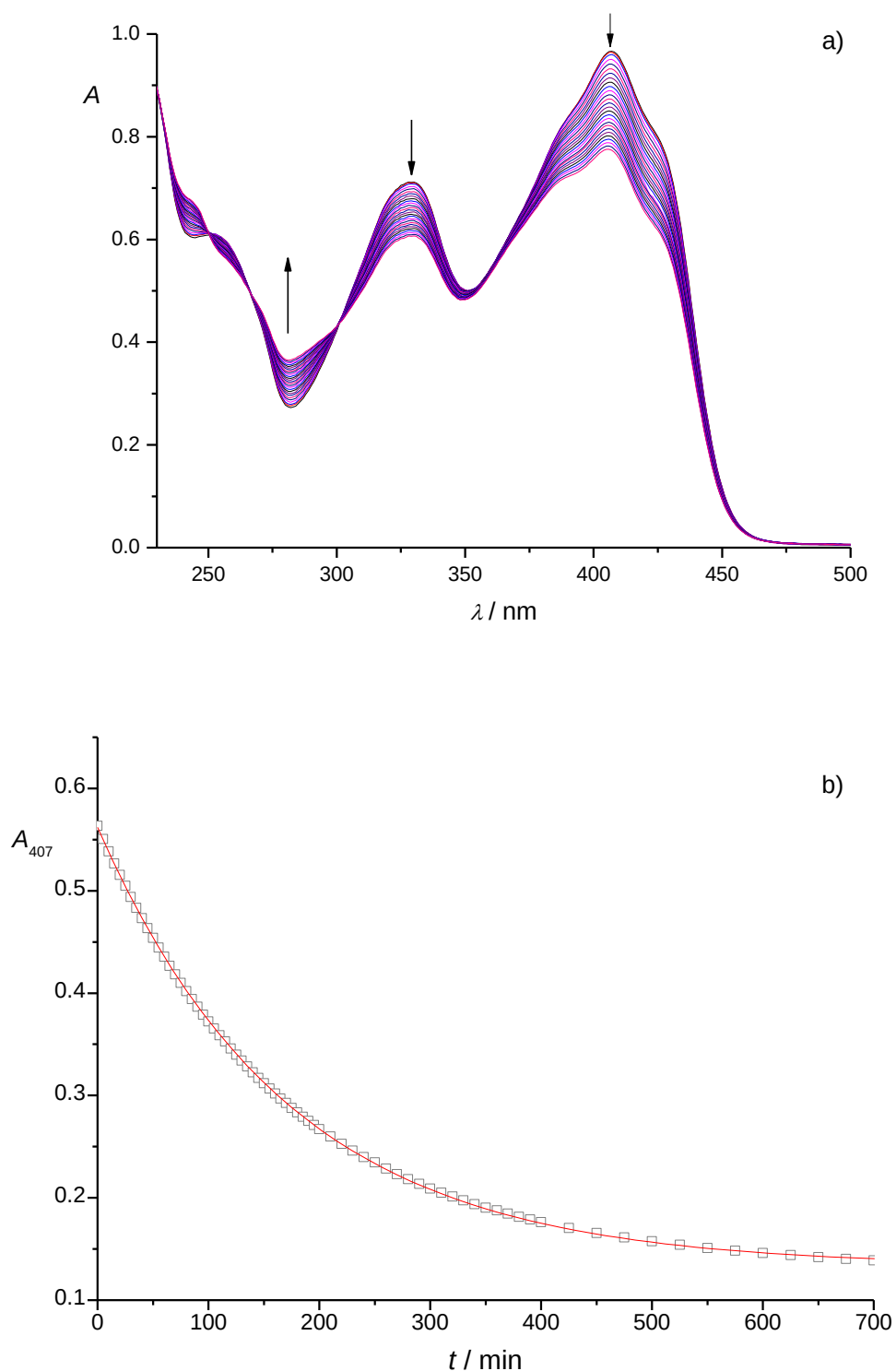
Dodatak 8.113. UV spektri spoja **4** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon priprave otopine, dok su ostali snimani svake 4 minute kroz 200 minuta: $c(\mathbf{4}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{OH}^-) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.



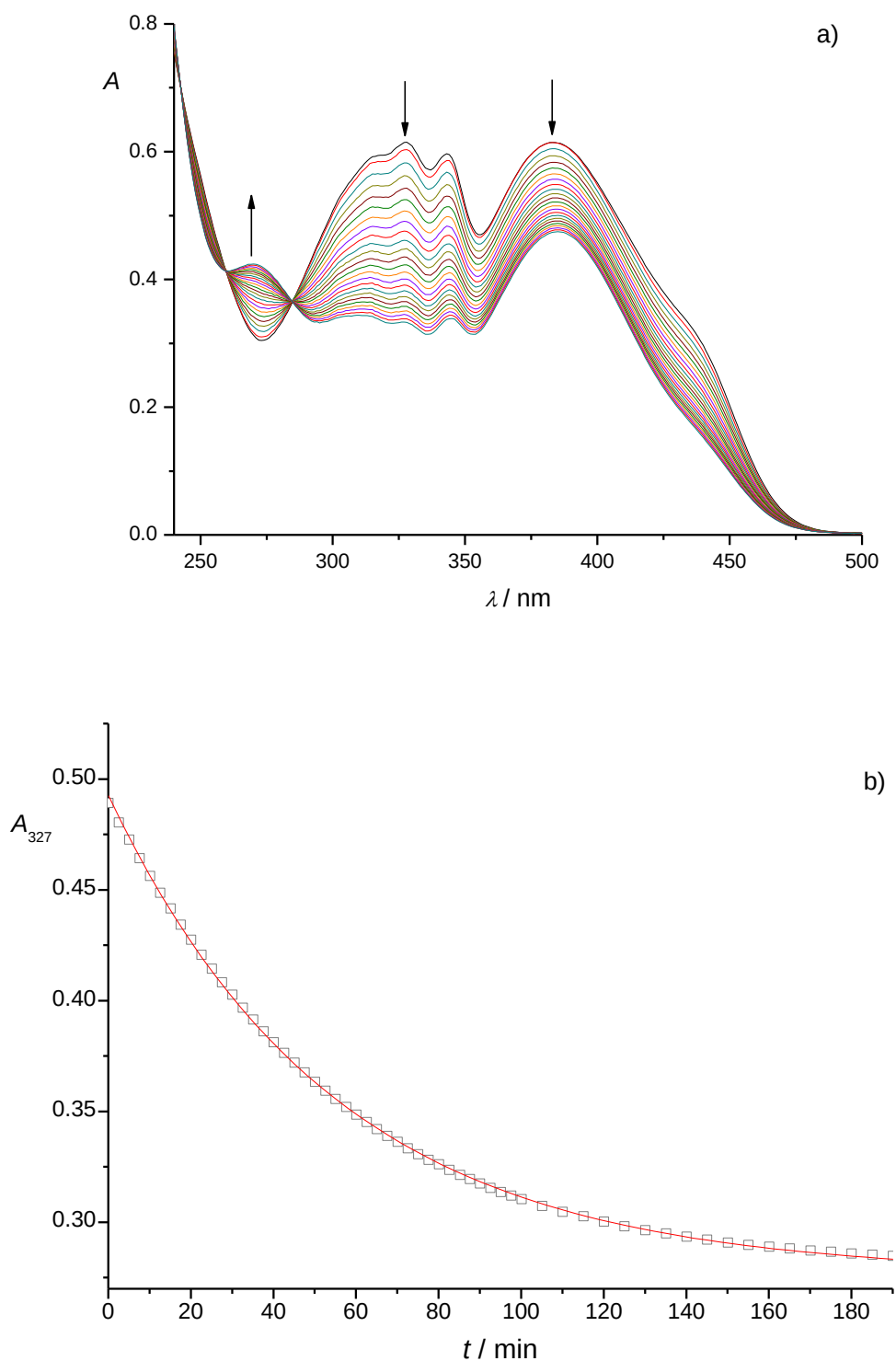
Dodatak 8.114. a) UV spektri spoja **5** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon priprave otopine, dok su ostali snimani svakih 10 minuta kroz 1000 minuta: $c(\mathbf{5}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{OH}^-) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$. b) Vremenska ovisnost apsorbancija pri 316 nm.



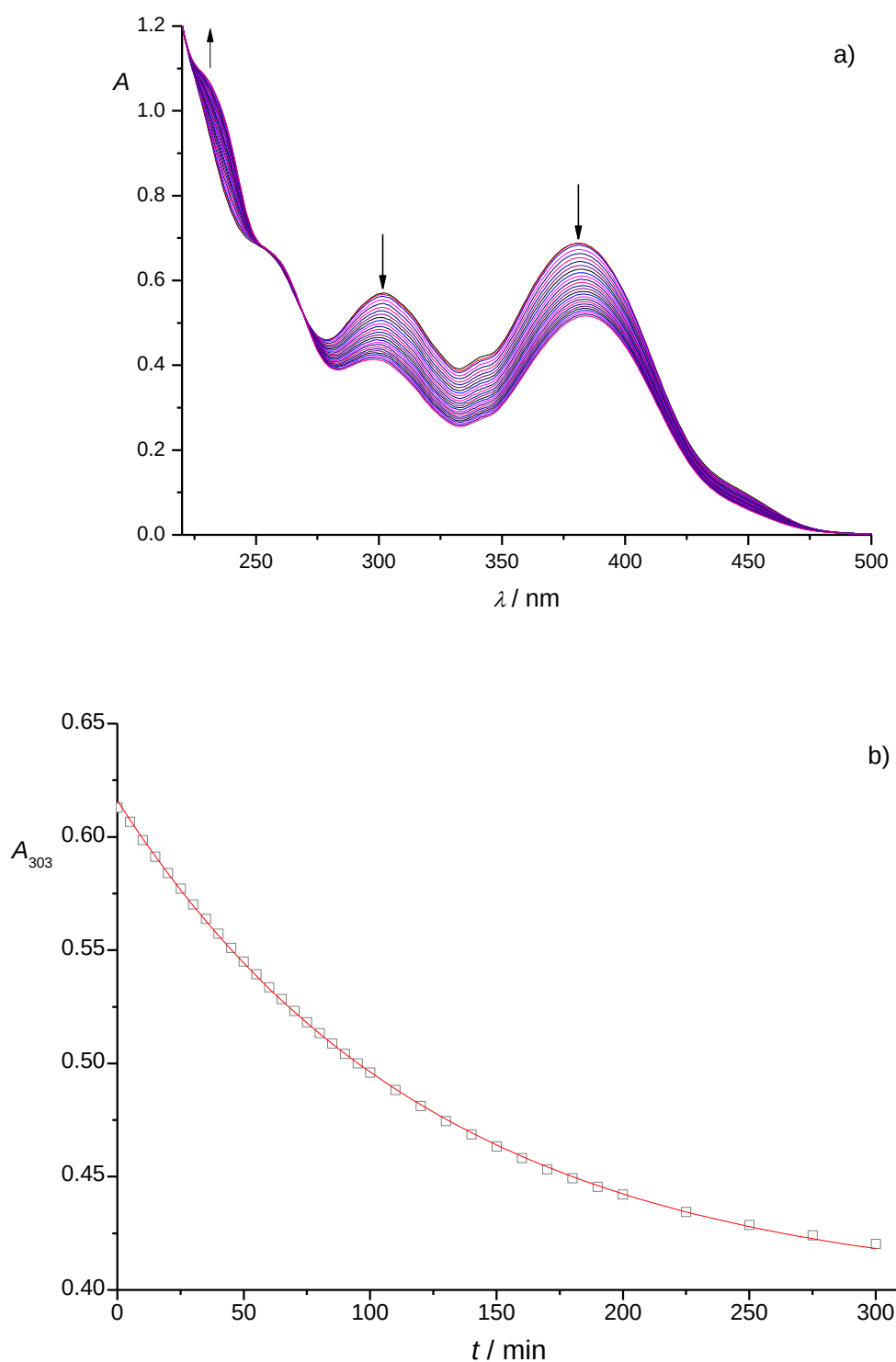
Dodatak 8.115. a) UV spektri spoja **6** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon priprave otopine, dok su ostali snimani svake 4 minute kroz 240 minuta: $c(\mathbf{6}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{OH}^-) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$. b) Vremenska ovisnost apsorbancija pri 328 nm.



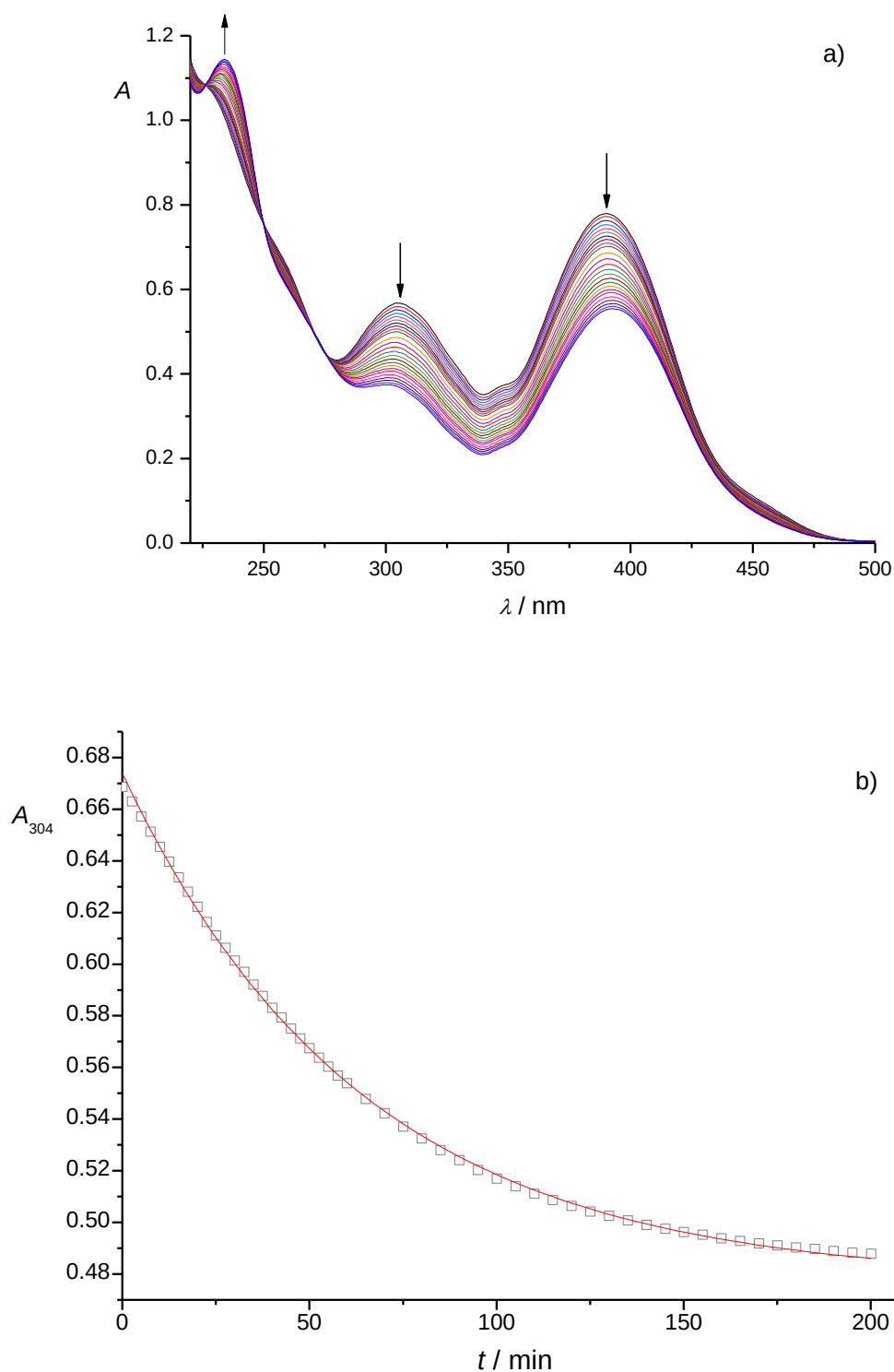
Dodatak 8.116. a) UV spektri spoja **7** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon pripreve otopine, dok su ostali snimani svake 4 minute kroz 200 minuta: $c(\mathbf{7}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{OH}^-) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$. b) Vremenska ovisnost apsorbancija pri 407 nm.



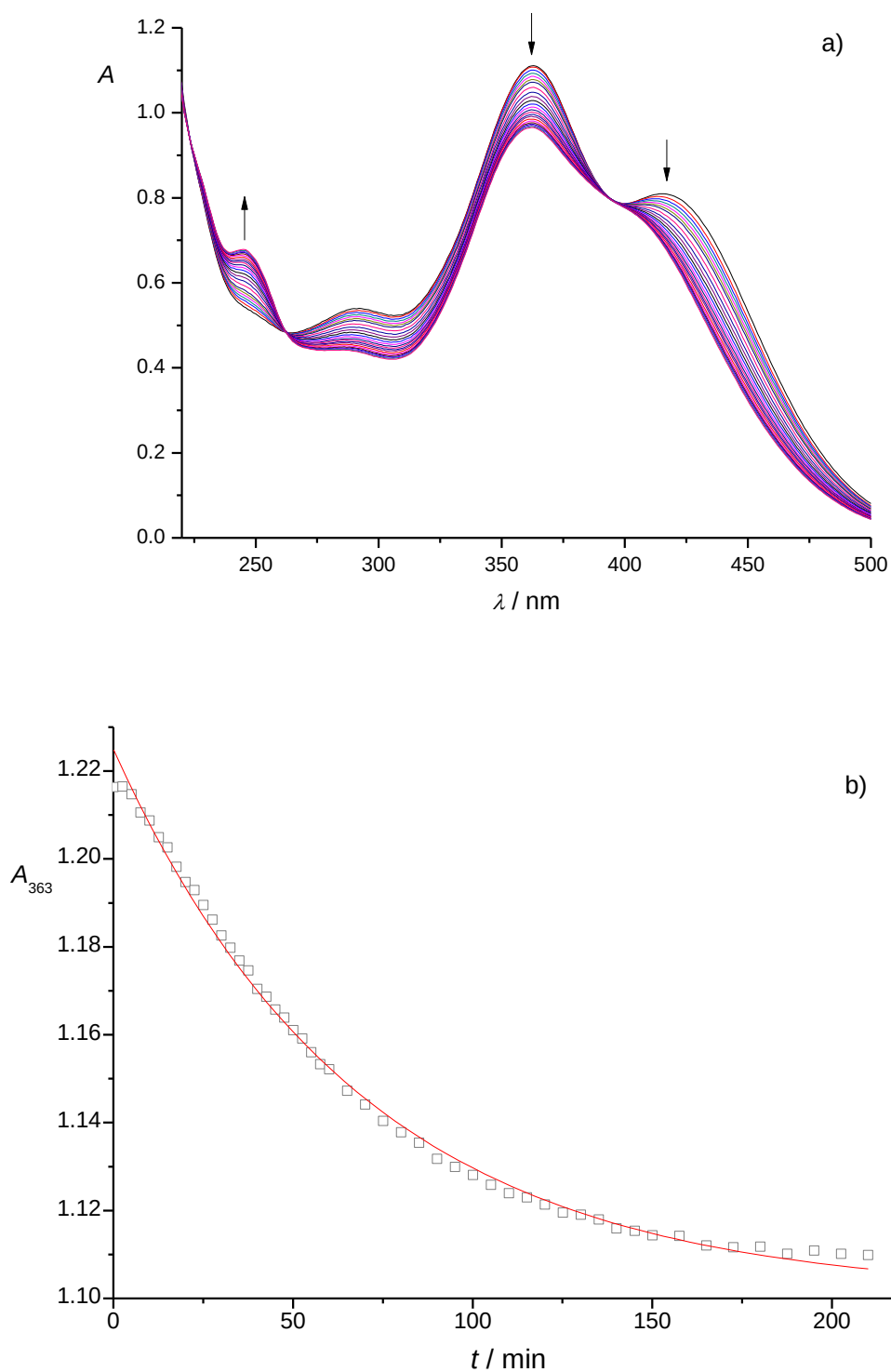
Dodatak 8.117. a) UV spektri spoja **8** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon pripreve otopine, dok su ostali snimani svake 4 minute kroz 180 minuta: $c(\mathbf{8}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{OH}^-) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$. b) Vremenska ovisnost apsorbancija pri 327 nm.



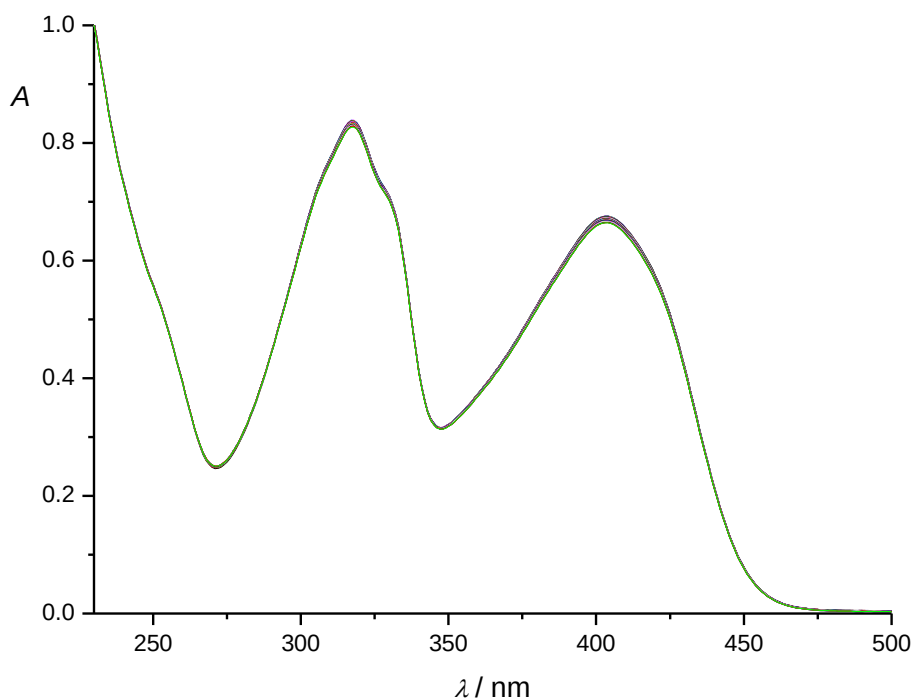
Dodatak 8.118. a) UV spektri spoja **9** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon priprave otopine, dok su ostali snimani svake 4 minute kroz 200 minuta: $c(\mathbf{9}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{OH}^-) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$. b) Vremenska ovisnost apsorbancija pri 303 nm.



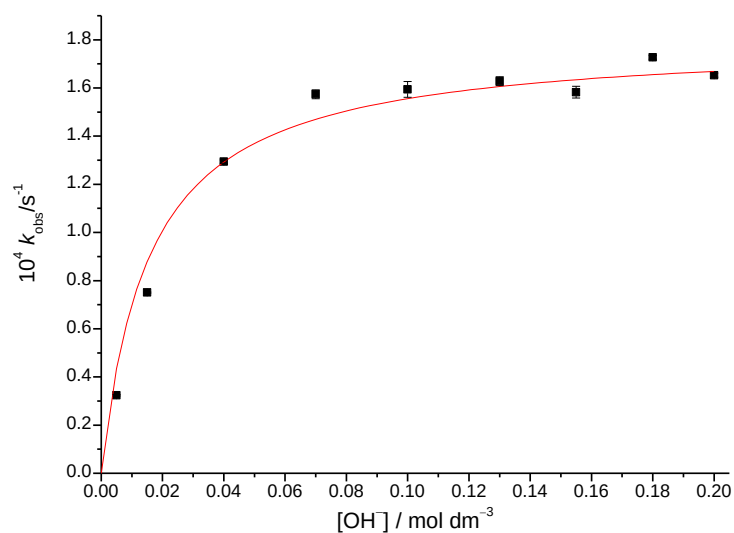
Dodatak 8.119. a) UV spektri spoja **10** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon priprave otopine, dok su ostali snimani svake 4 minute kroz 180 minuta: $c(\mathbf{10}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{OH}^-) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$. b) Vremenska ovisnost apsorbancija pri 304 nm.



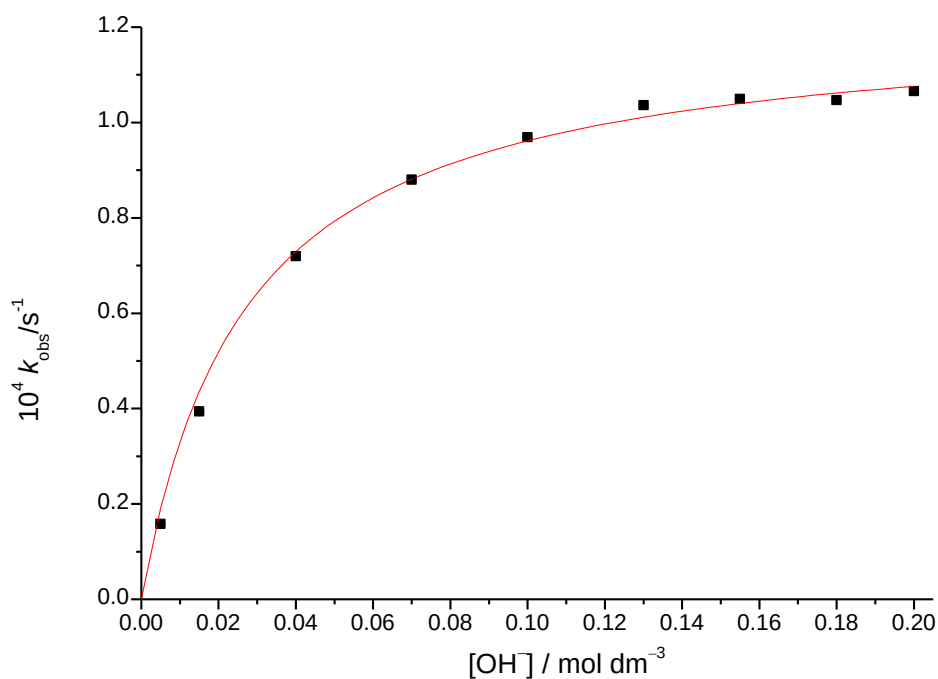
Dodatak 8.120. a) UV spektri spoja **11** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon priprave otopine, dok su ostali snimani svake 4 minute kroz 200 minuta: $c(\mathbf{11}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{OH}^-) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$. b) Vremenska ovisnost apsorbancija pri 363 nm.



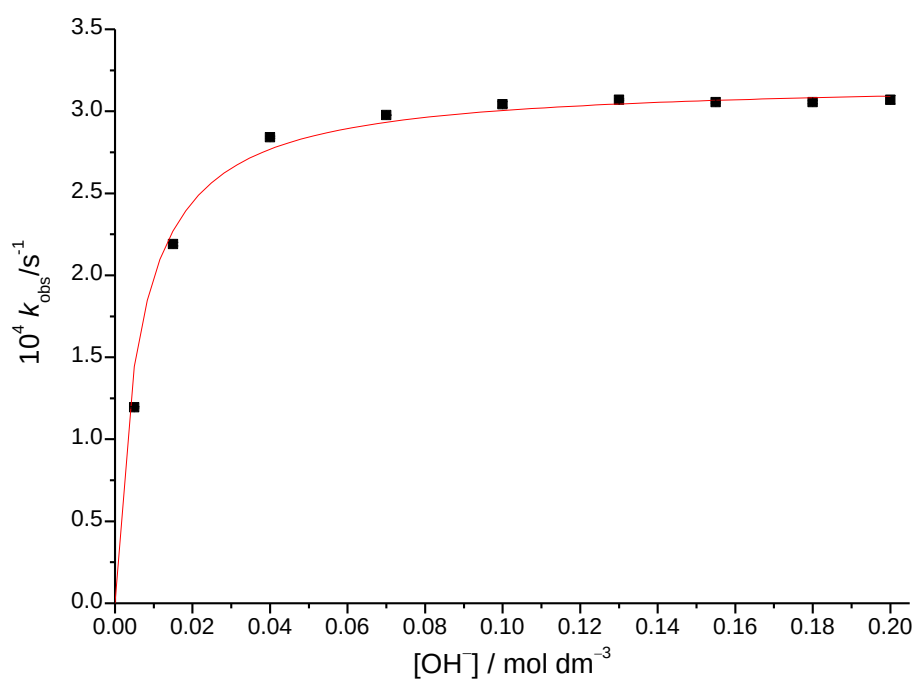
Dodatak 8.121. UV spektri spoja **12** u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon priprave otopine, dok su ostali snimani svake 4 minute kroz 200 minuta: $c(\mathbf{12}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{OH}^-) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.



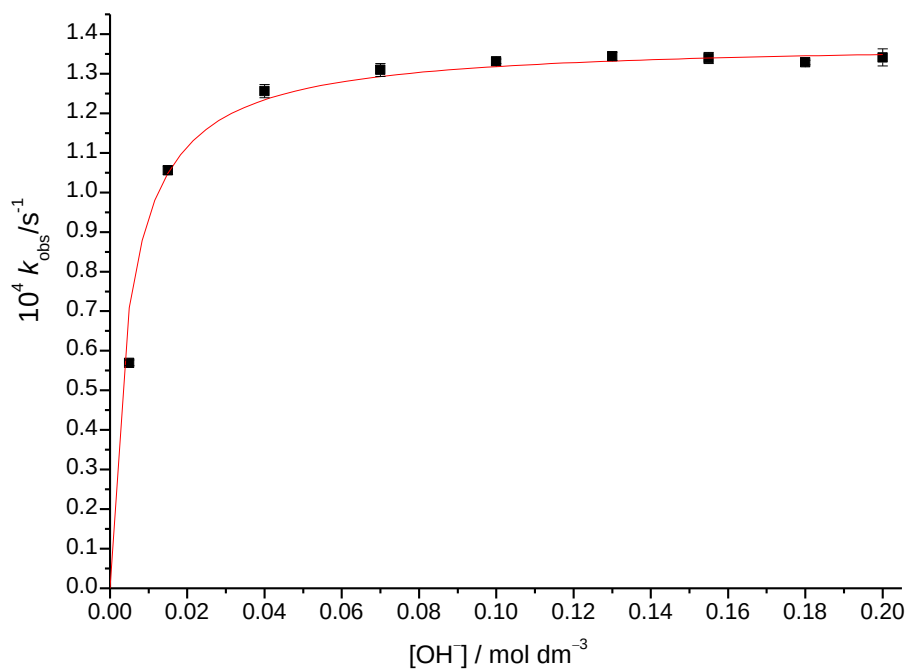
Dodatak 8.122. Ovisnost k_{obs} spoja **6** o koncentraciji OH^- u sustavu otapala metanol/voda 1/1: $c(\mathbf{6}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.



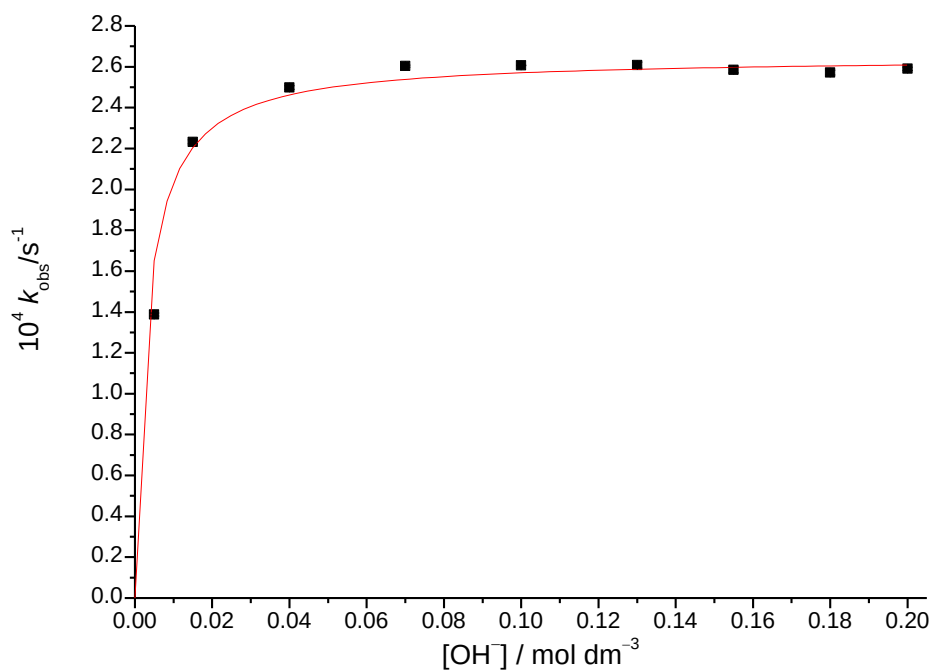
Dodatak 8.123. Ovisnost k_{obs} spoja **7** o koncentraciji OH^- u sustavu otapala metanol/voda 1/1: $c(\mathbf{7}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.



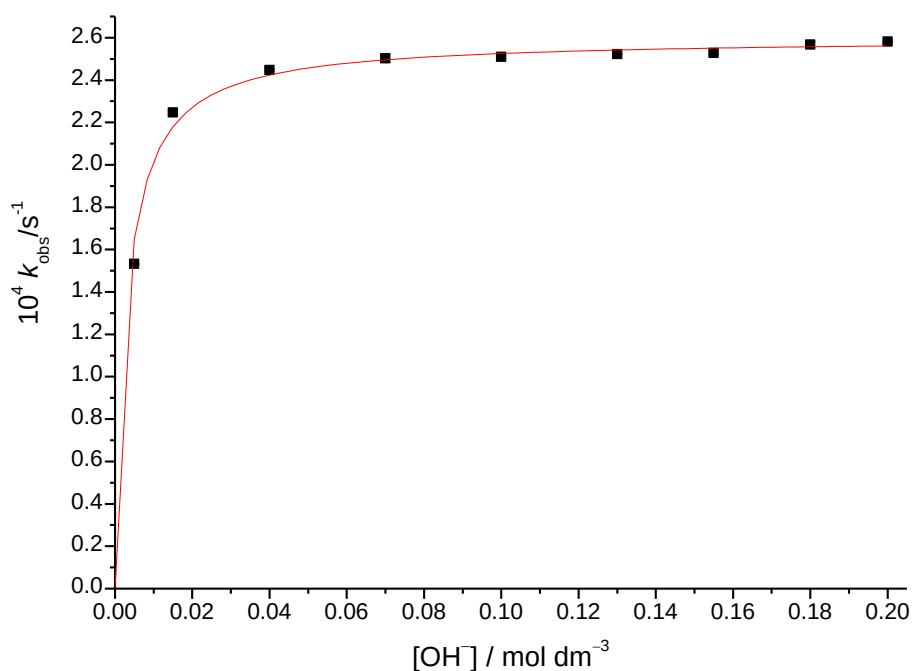
Dodatak 8.124. Ovisnost k_{obs} spoja **8** o koncentraciji OH^- u sustavu otapala metanol/voda 1/1: $c(\mathbf{8}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.



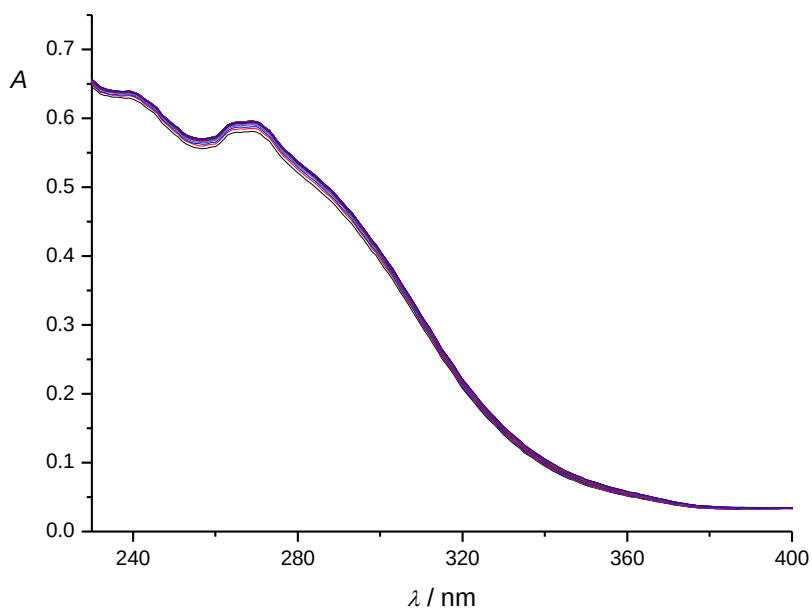
Dodatak 8.125. Ovisnost k_{obs} spoja **9** o koncentraciji OH^- u sustavu otapala metanol/voda 1/1: $c(\mathbf{9}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.



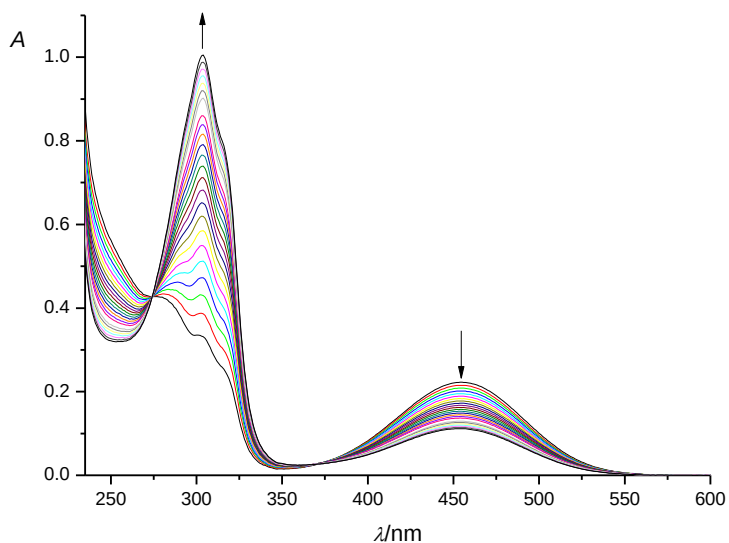
Dodatak 8.126. Ovisnost k_{obs} spoja **10** o koncentraciji OH^- u sustavu otapala metanol/voda 1/1: $c(\mathbf{10}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.



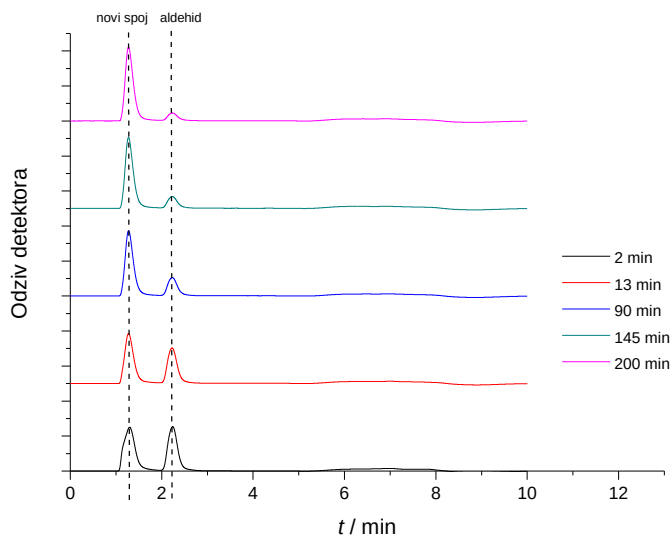
Dodatak 8.127. Ovisnost k_{obs} spoja **11** o koncentraciji OH^- u sustavu otapala metanol/voda 1/1: $c(\mathbf{11}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.



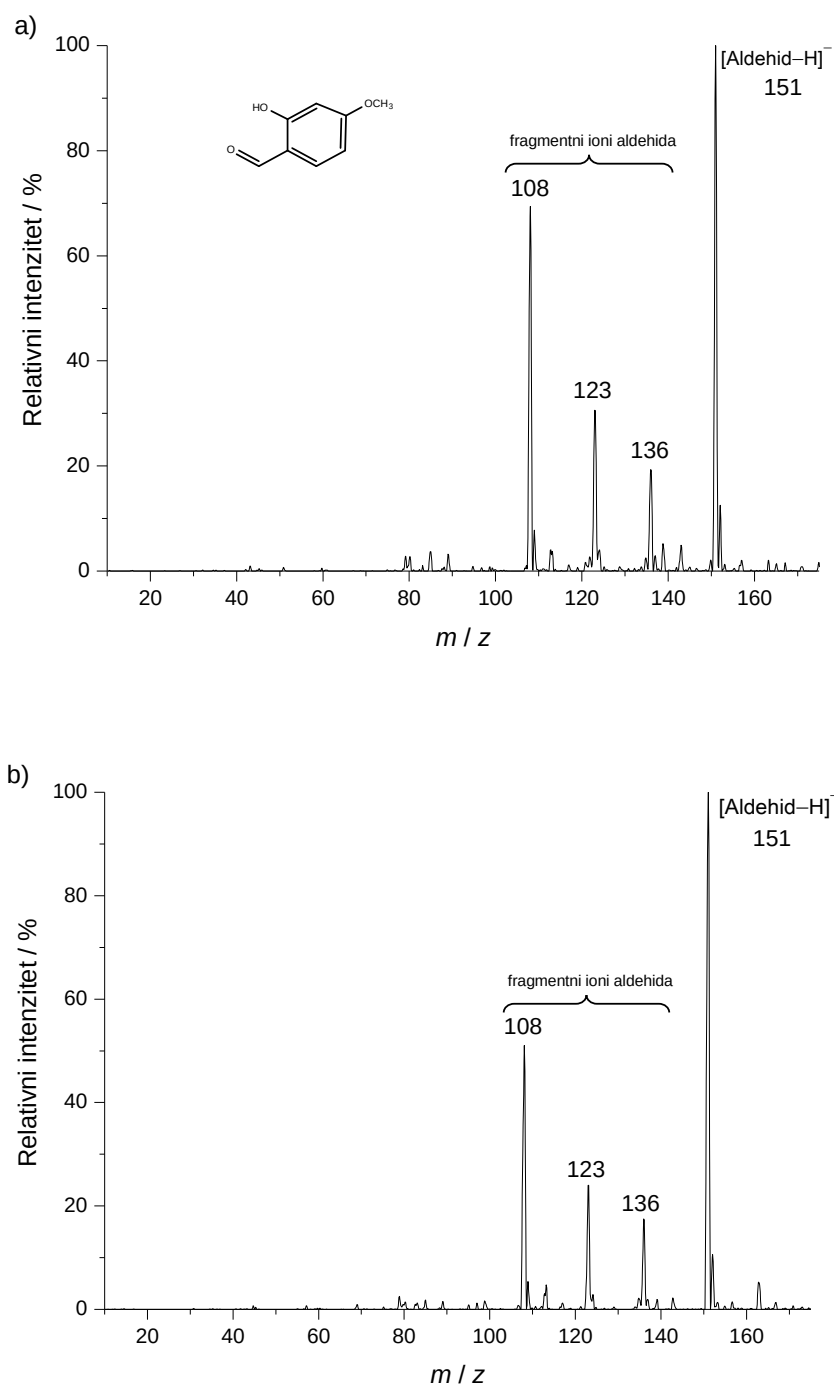
Dodatak 8.128. UV spektri hidrazida nikotinske kiseline u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon pripreve otopine, dok su ostali snimani svake 4 minute kroz 240 minuta: $c(\text{hidrazid}) = 1 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{OH}^-) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl), $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.



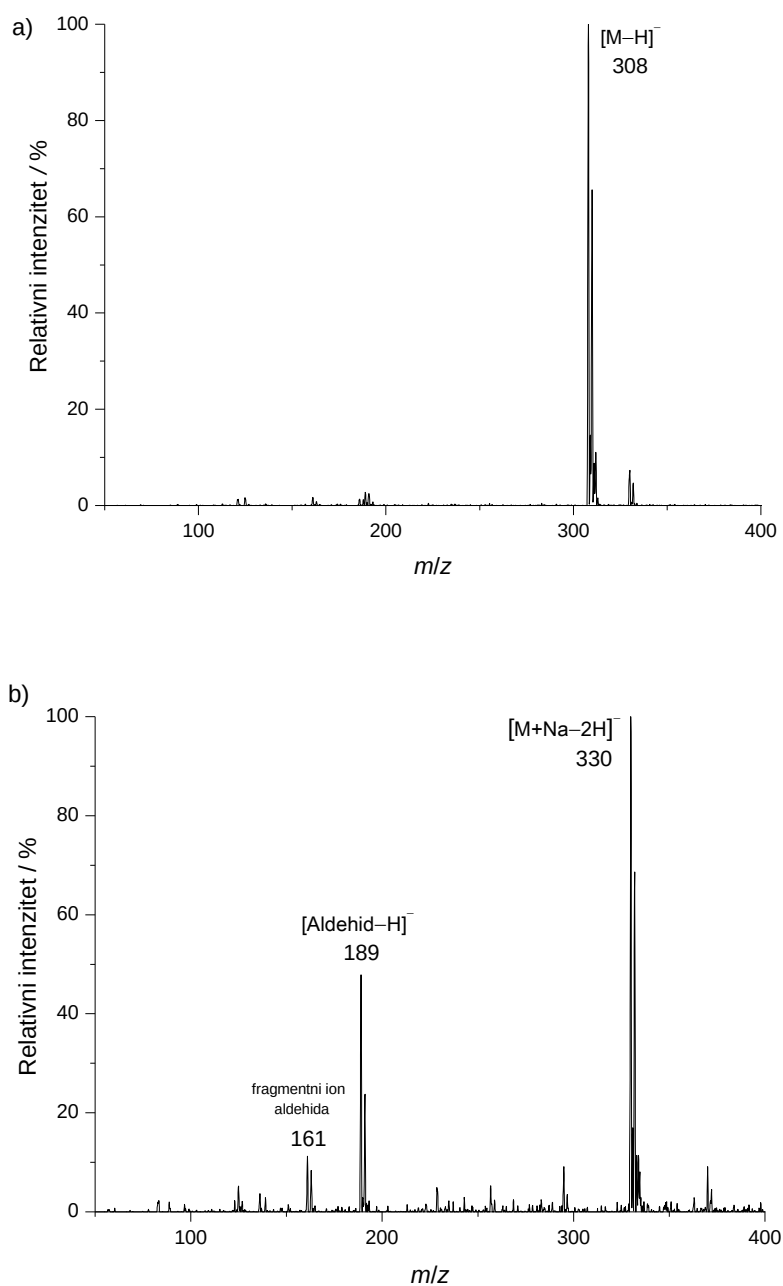
Dodatak 8.129. UV-Vis spektri 2,5-dihidroksibenzaldehida u sustavu otapala metanol/vodi 1/1. Prvi spektar snimljen je dvije minute nakon priprave otopine, dok su ostali snimani svakih 5 minute kroz 120 minuta: $c(2,5\text{-dihidroksibenzaldehid}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{OH}^-) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$, $I_c = 1 \text{ mol dm}^{-3} (\text{NaCl})$, $l = 1 \text{ cm}$, $\theta = (25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.



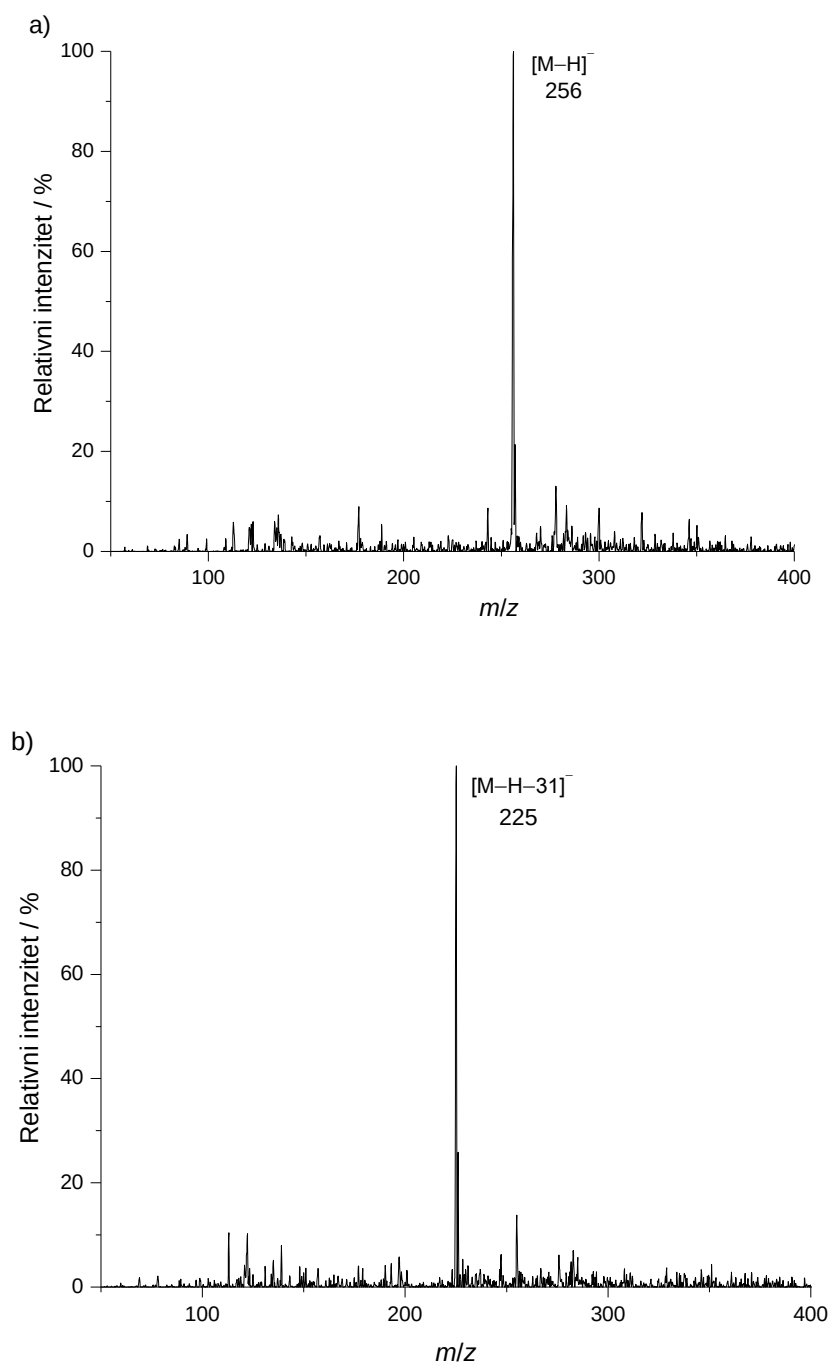
Dodatak 8.130. Odabrani kromatogrami 2,5-dihidroksibenzaldehida (pikovi su detektirani pri 263 nm). Uvjeti: metanol/voda 1/1, $c(2,5\text{-dihidroksibenzaldehid}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{OH}^-) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$.



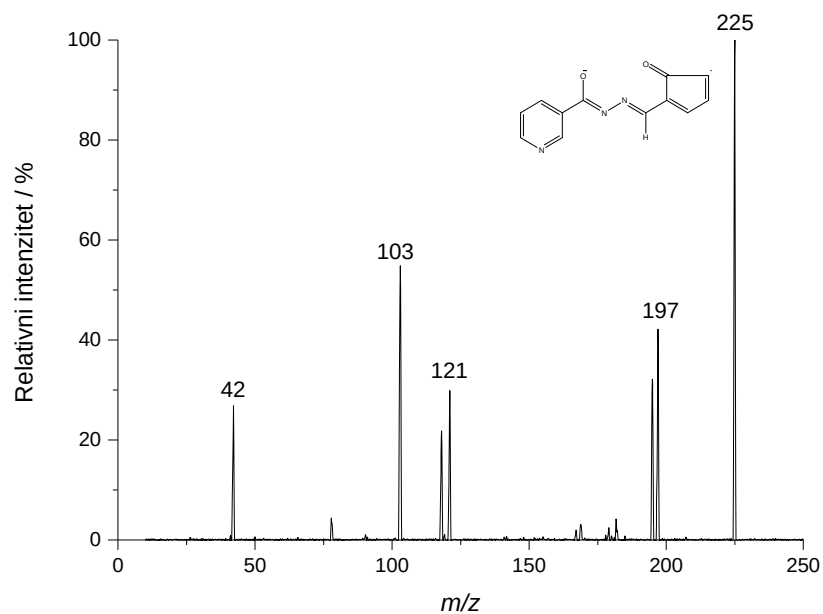
Dodatak 8.131. Spektar masa 2-hidroksi-4-metoksibenzaldehida uz negativnu ionizaciju ($M_r = 152$) u sustavu metanol/voda 1/1, a) odmah nakon priprave otopine, b) nakon 24 sata: $c(\text{aldehid}) = 5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{OH}^-) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$.



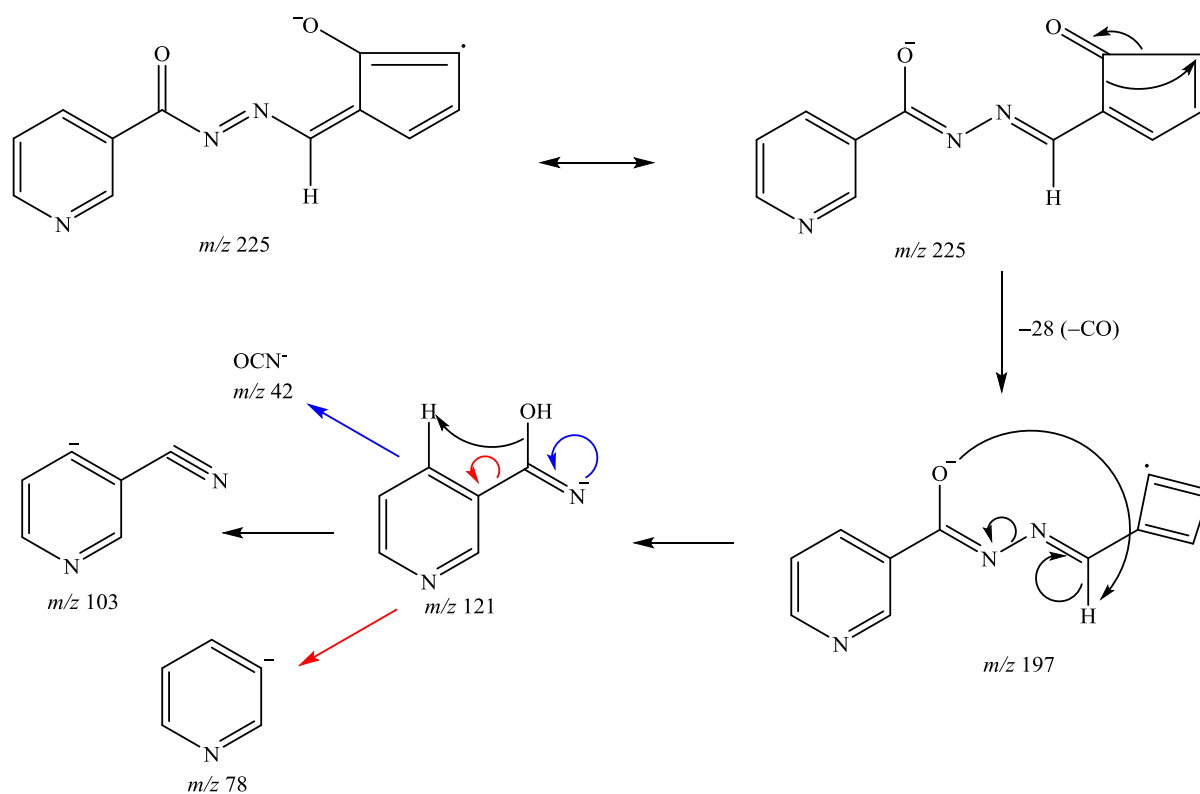
Dodatak 8.132. Spektar masa spoja **10** uz negativnu ionizaciju ($M_r = 308$) u sustavu metanol/voda 1/1, a) odmah nakon priprave otopine, b) nakon 24 sata: $c(\mathbf{10}) = 5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{OH}^-) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$.



Dodatak 8.133. Spektar masa spoja **3** uz negativnu ionizaciju ($M_r = 257$) u sustavu metanol/voda 1/1, a) odmah nakon priprave otopine, b) nakon 24 sata: $c(\mathbf{3}) = 5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{OH}^-) = 0,10 \text{ mol dm}^{-3}$.

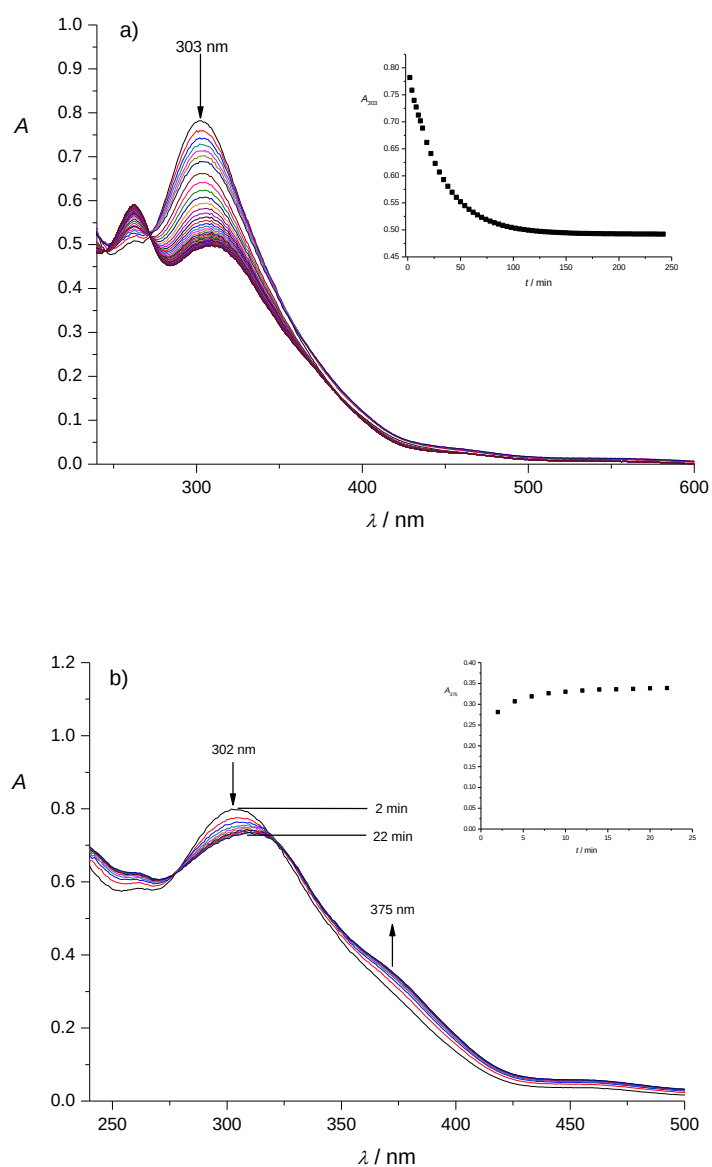


Dodatak 8.134. MS/MS spektar fragmentnog iona m/z 225. Kolizijska energija 10 eV.

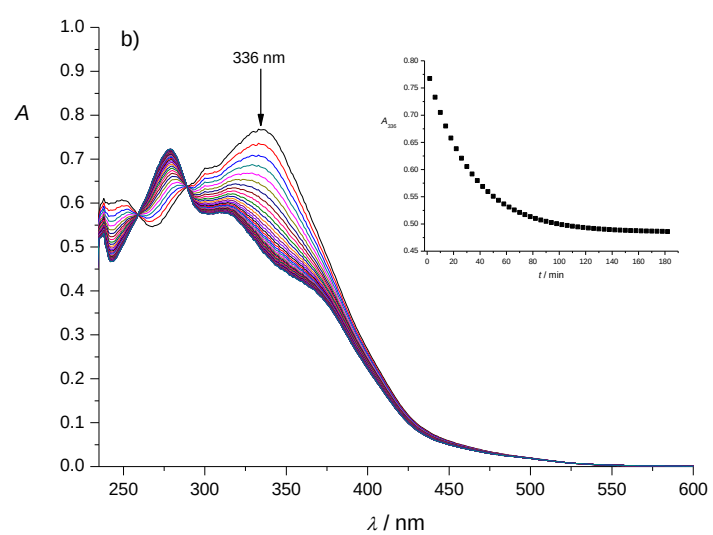
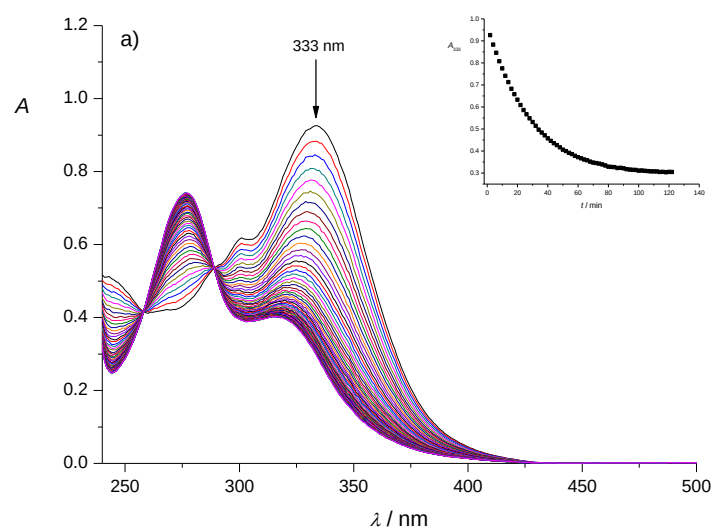


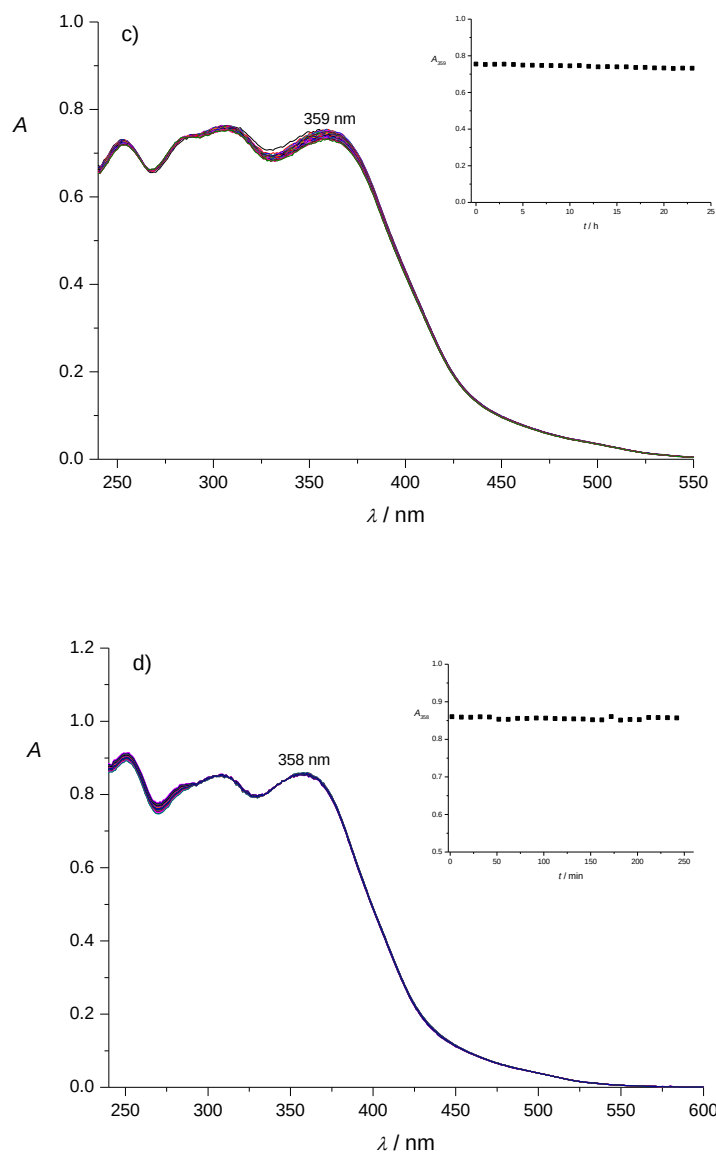
Dodatak 8.135. Predloženi mehanizam fragmentacije iona m/z 225.

UV-Vis kompleksa



Dodatak 8.136. UV-Vis spektri a) otopine omjera $n(\text{Fe}^{3+})/n(\mathbf{6}) = 0,5$ tijekom 240 minuta i b) $n(\text{Fe}^{3+})/n(\mathbf{6}) = 1$ tijekom 22 minute. $c(\mathbf{6}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$; metanol/voda 1/1 ($0,01 \text{ mol dm}^{-3} \text{ HNO}_3$); $l = 1 \text{ cm}$. **Umetci:** a) apsorbancija pri 303 nm tijekom vremena i b) apsorbancija pri 375 nm tijekom vremena.





Dodatak 8.137. UV-Vis spektri a) otopine omjera $n(\text{Fe}^{3+})/n(7) = 0$ tijekom 124 minute, b) $n(\text{Fe}^{3+})/n(7) = 0,5$ tijekom 182 minute, c) $n(\text{Fe}^{3+})/n(7) = 1$ tijekom 23 sata i d) $n(\text{Fe}^{3+})/n(7) = 2$ tijekom 240 minuta. $c(7) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$; metanol/voda 1/1 ($0,01 \text{ mol dm}^{-3} \text{ HNO}_3$); $l = 1 \text{ cm}$. **Umetci:** a) apsorbancija pri 333 nm tijekom vremena, b) apsorbancija pri 336 nm tijekom vremena, c) apsorbancija pri 359 nm tijekom vremena i d) apsorbancija pri 358 nm tijekom vremena.

Spektrometrija masa kompleksa

Dodatak 8.138. Relativni intenziteti i vrijednosti m/z iona nastalih fragmentacijom iona pri m/z 325 iz kompleksa Fe(III) sa spojevima a) **6** i b) **7** pri različitim kolizijskim energijama. ESI(+).

a)

m/z	5 eV	10 eV	15 eV	20 eV	25 eV	30 eV
	%					
325	100	100	100	22,91	19,27	–
310	2,16	12,37	42,64	32,24	32,77	0,81
282	1,62	7,88	54,50	100	100	100
205	0,39	1,28	7,78	5,18	5,97	–
194	–	1,16	3,82	7,61	5,59	5,99
178	1,26	3,72	33,21	66,24	63,15	73,18

b)

m/z	5 eV	10 eV	20 eV	25 eV	30 eV
	%				
325	100	100	29,27	5,43	0,48
310	–	–	–	–	–
282	–	0,73	3,71	4,32	1,85
205	1,31	3,53	18,45	8,64	1,30
194	–	1,82	15,75	10,25	4,48
178	–	6,71	100	100	100

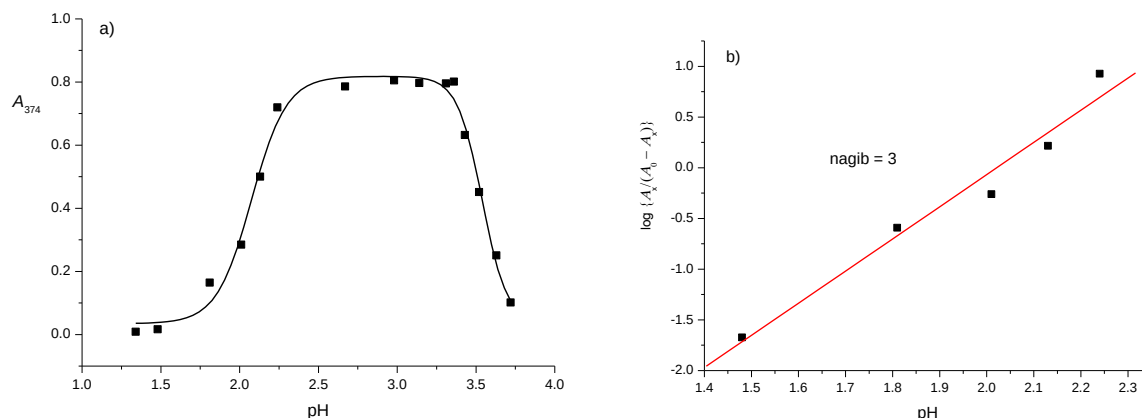
Dodatak 8.139. Relativni intenziteti i vrijednosti m/z iona nastalih fragmentacijom iona pri m/z 163 iz kompleksa Fe(III) sa spojevima a) **6** i b) **7** pri različitim kolizijskim energijama. ESI(+).

a)

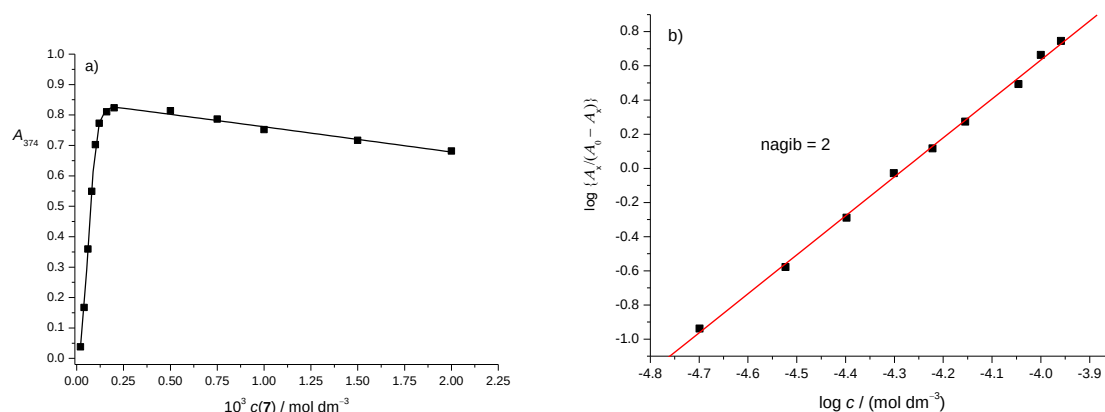
m/z	3 eV	5 eV	7 eV	10 eV	15 eV
	%				
194	0,93	14,34	0,34	0,09	–
179	–	0,75	6,72	0,51	–
163	100	66,24	15,79	8,24	0,56
155,5	36,05	82,35	52,74	9,63	0,18
141,5	12,78	100	100	100	6,68
105	2,19	35,61	13,48	58,32	100

b)

m/z	3 eV	5 eV	7 eV	10 eV	15 eV
	%				
194	9,90	33,16	23,04	8,67	–
179	0,69	14,87	35,66	48,80	21,19
163	100	100	67,62	17,58	1,11
148	5,78	17,70	2,86	1,14	–
105	26,19	91,45	100	100	100

Ekstrakcija

Dodatak 8.140. Utjecaj pH vodene faze na ekstrakciju željeza. a) ovisnost absorbancije, b) ovisnost $\log \{A_x/(A_0 - A_x)\}$ o pH vodene faze. $c(\text{Fe}^{3+}) = 4 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(7) = 4 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$.



Dodatak 8.141. a) Utjecaj koncentracije spoja 7 na ekstrakciju željeza. a) ovisnost absorbancije o koncentraciji liganda; b) ovisnost $\log \{A_x/(A_0 - A_x)\}$ o $\log \{c(7) / (\text{mol dm}^{-3})\}$. $c(\text{Fe}^{3+}) = 4 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{pH} = 2,98$.

§ 9. ŽIVOTOPIS

Tomislav Benković rođen je u Zagrebu 02. siječnja 1988. Osnovnu školu i prirodoslovno-matematičku gimnaziju završio je u Zagrebu. 2009. godine završava preddiplomski, a 2011. diplomski studij kemije, na Kemijskom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu. Od 2012. zaposlen je u Zavodu za analitičku kemiju. Iste godine upisuje i doktorski studij. Tomislav Benković sudjelovao je u praktikumskoj nastavi i bio je neposredni voditelj dva diplomatska rada. Koautor je 7 znanstvenih radova od kojih je 5 vezanih uz temu doktorske disertacije. Sudjelovao je na domaćim i stranim znanstvenim skupovima od čega je 13 priopćenja bilo postersko, a 2 priopćenja bila su usmena. Tomislav Benković dvaput je boravio na inozemnim sveučilištima (mjesec dana na Sveučilištu u Debrecenu i mjesec dana na Sveučilištu u Pečuhu) gdje se znanstveno usavršavao. Od lipnja 2018. zaposlen je u Vodoopskrbi i odvodnji Zaprešić d.o.o. na mjestu Voditelja kontrole kvalitete vode.

Popis radova:

- *1. T. Benković, A. Kendel, J. Parlov-Vuković, D. Kontrec, V. Chiş, S. Miljanić, N. Galić, *J. Mol. Liq.* **255** (2018) 18–25.
- *2. T. Benković, A. Kendel, J. Parlov-Vuković, D. Kontrec, V. Chiş, S. Miljanić, N. Galić, *Spectrochim. Acta A* **190** (2018) 259–267.
- *3. T. Benković, D. Kontrec, V. Tomišić, A. Budimir, N. Galić, *J. Sol. Chem.* **45** (2016) 1227–1245.
- 4. A.M. Cozmuta, A. Turila, R. Apjok, A. Ciocian, L.M. Cozmuta, A. Peter, C. Nicula, N. Galić, T. Benković, *Food Hydrocolloid.* **49** (2015) 144–155.
- *5. D. Stražić, T. Benković, D. Gembarovski, D. Kontrec, N. Galić, *Int. J. Mass Spectrom.* **371** (2014) 54–64.
- *6. A. Budimir, T. Benković, V. Tomišić, A. Gojmerac Ivšić, N. Galić, *J. Sol. Chem.* **42** (2013) 1935–1948.
- 7. T. Benković, V. Tomišić, L. Frkanec, N. Galić, *Croat. Chem. Acta* **85** (2012) 469–477.

Sudjelovanja na kongresima i ljetnim školama:

1. A. Gojmerac Ivšić, T. Benković, D. Kontrec, N. Galić, *Primjena metoksi derivata aromatskih hidrazona za ekstrakciju željeza(III)*, 17. Ružičkini dani, Danas znanost-sutra industrija, Vukovar, Hrvatska, 2018.
2. T. Benković, D. Kontrec, N. Galić, *Karakterizacija hidrazona i njihovih kompleksnih spojeva sa željezom(III) spektrometrijom masa*, Simpozij studenata doktorskih studija PMF-a, Zagreb, Hrvatska, 2018.
3. T. Benković, A. Gojmerac Ivšić, D. Kontrec, N. Galić, *Iron(III) Complexation and Extraction by Aromatic Hydrazones*, 25. Hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera, Poreč, Hrvatska, 2017.
4. N. Galić, T. Benković, D. Kontrec, A. Budimir, *ESI MS/MS study of Fe(III) and Ga(III) complexes with aromatic hydrazones derived from nicotinic acid hydrazide*, XIX Euroanalysis 2017, Stockholm, Švedska, 2017.
5. N. Galić, T. Benković, D. Kontrec, V. Tomišić, A. Budimir, *Protonation constants and kinetics of hydrolysis of aroylhydrazones derived from nicotinic acid hydrazide*, 6th EuCheMS Chemistry Congress, Sevilla, Španjolska, 2016.
6. T. Benković, D. Kontrec, A. Budimir, N. Galić, *Kinetics of Hydrolysis of Aromatic Hydrazones*, 16th International Symposium and Summer School on Bioanalysis, Varšava, Poljska, 2016.
7. A. Gojmerac Ivšić, T. Benković, D. Kontrec, N. Galić, *Kompleksiranje željeza(III) aromatskim hidrazonima izvedenim iz nikotinohidrazida*, 16. Ružičkini dani, Danas znanost-sutra industrija, Vukovar, Hrvatska, 2016.
8. N. Galić, T. Benković, D. Kontrec, Z. Berente, *Structural investigation of aroylhydrazones by NMR spectroscopy*, Pharma NMR Conference, Application of NMR Spectroscopy in Pharmaceutical Industry, Crveni otok, Rovinj, Hrvatska, 2015.
9. N. Galić, T. Benković, *HPLC Methods in Pharmaceutical Drug Analysis*, 15th International Symposium and Summer School on Bioanalysis, Targu Mures, Rumunjska, 2015. (predavanje)
10. T. Benković, M. Rožić, N. Galić, *Determination of bisphenol A in thermochromic printing inks by HPLC*, 15th International Symposium and Summer School on Bioanalysis, Targu Mures, Rumunjska, 2015.

11. D. Stražić, T. Benković, D. Kontrec, N. Galić, *Comprehensive ESI MS and MS/MS analysis of aromatic hydrazones derived from nicotinic acid hydrazide*, 5th EuCheMS 2014 Chemistry Congress, Istanbul, Turska, 2014.
12. T. Benković, A. Budimir, V. Tomišić, N. Galić, *Spectrophotometric and Chromatographic Investigation of Hydrolysis of Aromatic Aroylhydrazones Derived from Nicotinic Acid Hydrazide*, 14th International Symposium and Summer School on Bioanalysis, Bratislava-Smolenice, Slovačka, 2014.
13. T. Benković, D. Stražić, N. Galić, *Analiza aroilhidrazona izvedenih iz nikotinohidrazida tandemnom spektrometrijom masa*, X. Susret mladih kemijskih inženjera, Zagreb, Hrvatska, 2014. (predavanje)
14. T. Benković, V. Tomišić, N. Galić, *Spectrophotometric Determination of Protonation Constants of Aroylhydrazones Derived from Nicotinic Acid Hydrazide*, 13th International Symposium and Summer School on Bioanalysis, Debrecen, Mađarska, 2013.
15. T. Benković, V. Tomišić, L. Frkanec, N. Galić, *Analiza triptofanskog derivata kaliks[4]arena i njegovih metalnih kompleksa tehnikom ESI MS/MS*, XXIII. hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera, Osijek, Hrvatska, 2013.