

Kiselost hidroksiaromatskih spojeva u pobuđenom stanju

Vardijan, Antonia

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:000088>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-27**



Repository / Repozitorij:

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





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijски odsjek

Antonia Vardijan

Studentica 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

KISELOST HIDROKSILAROMATSKIH SPOJEVA U POBUĐENOM STANJU

Završni rad

Rad je izrađen u Zavodu za organsku kemiju

Mentor rada: doc. dr. sc. Đani Škalamera

Zagreb, 2020.

Datum predaje prve verzije Završnog rada:

9. srpnja 2020.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

30. rujna 2020.

Mentor rada: doc. dr. sc. Đani Škalamera

Potpis:

Sadržaj

§ SAŽETAK.....	VII
§ 1. UVOD.....	1
1.1. Fotokemija i elektromagnetsko zračenje.....	1
1.2. Izvori svjetla.....	3
1.3. Vrste fotokemijskih reakcija	3
§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME	4
2.1. Promjena kiselosti spojeva u pobuđenom stanju	4
2.2. Svojstva pobuđenog stanja hidroksiaromatskih spojeva.....	5
2.3. Försterov ciklus	8
2.4. Eksperimentalne metode određivanja pK_a vrijednosti pobuđenog stanja ¹³	10
2.5. Eksperimentalno određivanje pK^* na primjeru 2-hidroksiantracena	12
2.5.1. UV-Vis titracija 2-hidroksiantracena.....	13
2.5.2 Fluorescencijska titracija 2-hidroksiantracena	15
2.6. Reaktivni međuprodukti u fotokemiji fenola.....	19
2.6.1. Fotodehalogenacija i fotodehidratacija derivata fenola ¹⁶	20
2.6.2. Superfotokiseline	22
2.7. Važnost i primjena	23
§ 3. LITERATURNI IZVORI.....	XXVI

§ Sažetak

Fotokemija je grana fizikalne kemije koja se bavi proučavanjem procesa koji se događaju apsorpcijom fotona vidljivog i ultraljubičastog dijela spektra pri čemu dolazi do prijenosa protona u pobuđenom stanju.

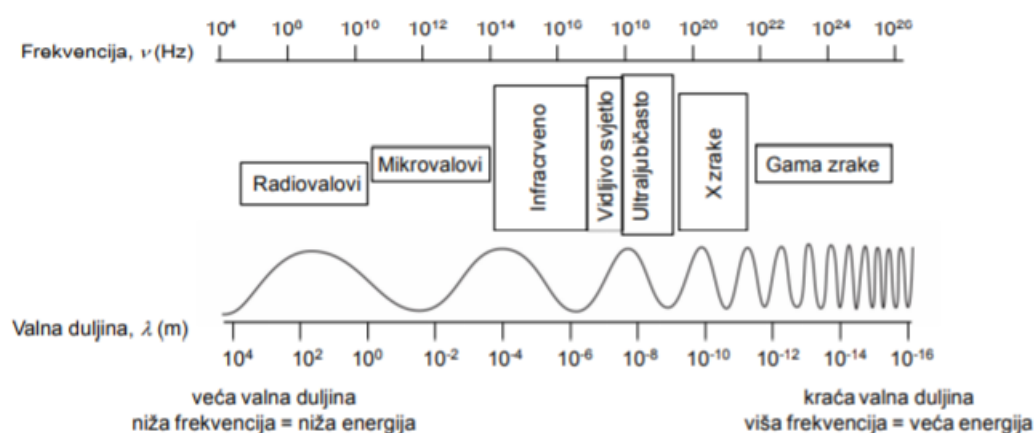
Od velikog broja poznatih fotokemijskih reakcija, posebno je zanimljiv prijenos protona u pobuđenom stanju koji se intenzivno proučava zadnjih 60-ak godina na različitim aromatskim spojevima poput fenola te njegovih derivata. Apsorpcijom fotona pokreće se niz događaja koji, u konačnici, za posljedicu imaju fenomen prijenosa protona u pobuđenom stanju što uzrokuje promjenu kiselo-baznih svojstava spojeva. U ovom radu biti će detaljno opisani koraci koji se događaju tijekom ES(I)PT-a (engl. *excited state (intramolecular) proton transfer*).

Reakcije prijenosa protona u pobuđenom stanju imaju široku primjenu u istraživanjima molekulskih senzora, molekulskih logičkih sklopova, luminescenciji, u fotolitografiji, kao probe za okruženje proteina, micela, itd.

§ 1. UVOD

1.1. Fotokemija i elektromagnetsko zračenje

Fotokemija je grana fizikalne kemije koja se bavi proučavanjem kemijskih reakcija koje se odvijaju pod djelovanjem vidljivog i ultraljubičastog dijela spektra elektromagnetskog zračenja. Također se bavi proučavanjem kemijskih i fizikalnih promjena u reakcijama nastalim apsorpcijom fotona. Elektromagnetski val sastoji se od valova električnog i magnetskog polja koji uzajamno putuju kroz prostor okomito jedni na druge i okomiti na smjer širenja vala. Spektar elektromagnetskog zračenja može se podijeliti na radiovalove, mikrovalove, infracrveno područje, vidljivo područje, ultraljubičasto područje, X-zrake te područje gama zraka, a redoslijed pripadajućih valnih duljina i frekvencija prikazan je na slici 1.¹



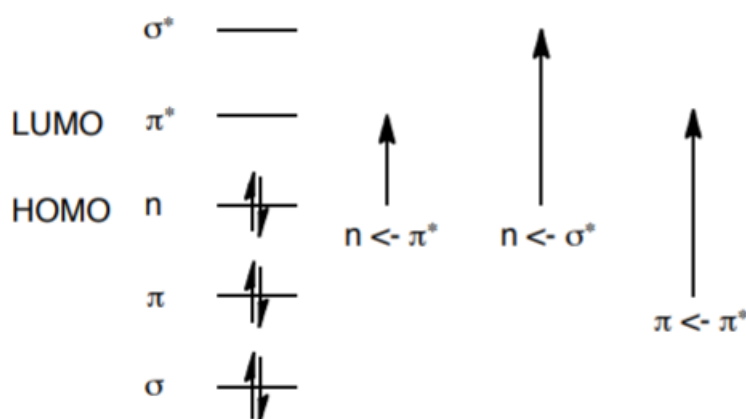
Slika 1. Spektar elektromagnetskog zračenja¹

Apsorpcijom UV ili vidljivog zračenja dolazi do prijelaza elektrona pobuđenih zračenjem iz popunjene orbitale niže energije u nepopunjenu orbitalu više energije, a to je nužan uvjet za poticanje fotoreakcija. Atom ili molekula može apsorbirati fotone samo određenih valnih duljina koje odgovaraju određenom energijskom prijelazu. Elektromagnetsko zračenje dolazi u obliku fotona te ih promatramo kao paketiće energije koji nemaju masu, ali imaju određenu

energiju koja je povezana sa frekvencijom te o njoj ovisi koji dio elektromagnetskog spektra molekula apsorbira.¹

Ako nakon apsorpcije vidljivog ili ultraljubičastog zračenja dođe do promjena u kiselobaznim svojstvima molekule, tj. ako se kiselost svojstva nekog spoja pojačavaju u pobuđenom stanju, spojeve s takvim svojstvima nazivamo *fotokiselinama*. Molekule u pobuđenom stanju imaju drugačiju raspodjelu elektrona i energije nego kada su u osnovnom stanju te kod takvih molekula posljedično najčešće dolazi i do promjene geometrije.

Reaktivnost molekula te tok elektrona najčešće se prati promatranjem dviju graničnih orbitala, a to su najviša popunjena orbitala, HOMO (engl. *highest occupied molecular orbital*) te najniža nepopunjena orbitala, LUMO (engl. *lowest unoccupied molecular orbital*) jer je za prijelaz između njih potrebna najmanja energija. Najvažniji fotokemijski elektronski prijelazi prikazani su na slici 2.² U takvim reakcijama do pobude molekula dolazi skokom elektrona iz n-nevezne orbitale u π^* -protuveznu orbitalu, iz n-orbitale u σ^* -protuveznu orbitalu te iz π -vezne u π^* -protuveznu orbitalu.³ U organskim molekulama najznačajniji su prijelazi iz n-nevezne orbitale u π^* -protuveznu orbitalu te iz π -vezne u π^* -protuveznu orbitalu jer upravo ovi prijelazi odgovaraju energijama vidljivog i ultraljubičastog zračenja.



Slika 2. Najvažniji elektronski prijelazi kod fotokemijskih reakcija.²

Svojstva pobuđenih molekula će ovisiti o promjenama i raspodjeli elektronskih spinova, odnosno o multiplicitetu od kojih kemijska jedinka može biti u singletnom stanju u kojem su spinovi elektrona suprotni, tj. ukupan elektronski spinski kvantni broj je jednak nuli, te

tripletno stanje u kojem su spinovi istog smjera, tj. ukupan elektronski spinski kvantni broj jednak je jedan. Relativna energija singletnog stanja viša je u odnosu na energiju tripletnog stanja jer su u tripletnom stanju manja međuelektronska odbijanja zbog paralelne orijentacije. Koje od navedenih stanja će molekula zauzeti ovisi o valnoj duljini upadnog svjetla, odnosno o dovedenoj energiji te o samoj prirodi kemijske jedinice.¹ Molekula u osnovnom stanju ima manje energije u odnosu na pobuđenu molekulu što znači da u pobuđenom stanju ima više dostupnih reakcijskih puteva, a samim time i veći broj mogućih produkata.

1.2. Izvori svjetla

Kao najčešći izvori UV/Vis kontinuiranog zračenja koriste se laseri, svjetiljke te organske svjetleće diode (OLED). Svjetiljke se koriste kao izvori u laboratorijima, a najčešće se koriste ksenonska lampa i živin luk. Laseri su poseban izvor svjetla koji svjetlost proizvode mehanizmom stimulirane emisije, njihovo zračenje je monokromatsko, usmjereno i koherentno. Emisija fotona je prelazak elektrona iz orbitale veće energije u orbitalu manje energije. U organskim svjetlećim diodama, organske molekule emitiraju svjetlost kao reakciju na primljenu električnu struju.¹

1.3. Vrste fotokemijskih reakcija

O svojstvima osnovnog i pobuđenog stanja ovisit će priroda same fotokemijske reakcije. Razlikujemo neke osnovne vrste fotokemijskih reakcija, a to su fotoredukcija, fotoliza, cikloadicija, izomerizacija i pregradnja te kemiluminescencija i bioluminescencija.

Posebno su zanimljive reakcije u kojima dolazi do povećanja kiselost u pobuđenom stanju, a javljaju se kod specifično supstituiranih spojeva te dovode do reakcija fotoeliminacije. To su reakcije *fotodehidratacije* i *fotodeaminacije*. U ovim reakcijama dolazi do heterolitičkog cijepanja kovalentne veze te nastajanja slobodnih radikala zbog toga jer je energija apsorbiranog zračenja veća ili slična energiji kovalentne veze.

§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME

2.1. Promjena kiselosti spojeva u pobuđenom stanju

Apsorpcijom svjetla odgovarajuće valne duljine kod nekih molekula dolazi do promjene kiselobaznih svojstava. Fotokiseline kao što su hidroksiaromati i aromatski amini povećavaju svoju kiselost, za razliku od fotobaza, kao što su amidi, koje povećavaju svoju bazičnost.

Molekule kod kojih dolazi do promjene kiselosti u pobuđenom stanju su polarne tj. u pobuđenom stanju dolazi do promjene elektronske gustoće. Za njih je karakteristično da imaju π -sustav elektrona, odnosno posjeduju aromatski sustav u strukturi jer upravo prelazak elektrona iz π -vezne orbitale u π^* -protuveznu orbitalu uzrokuje promjenu kiselobaznih svojstava. Najbolje istraženi primjeri molekula u tom području su hidroksiaromatski spojevi koji imaju polarnu hidroksilnu skupinu te barem jedan aromatski sustav, odnosno imaju određen broj delokaliziranih elektrona. Najčešći primjeri su derivati benzena ili nekog aromatskog ugljikovodika sa sraštenim benzenskim prstenovima poput naftalena i antracena.⁴

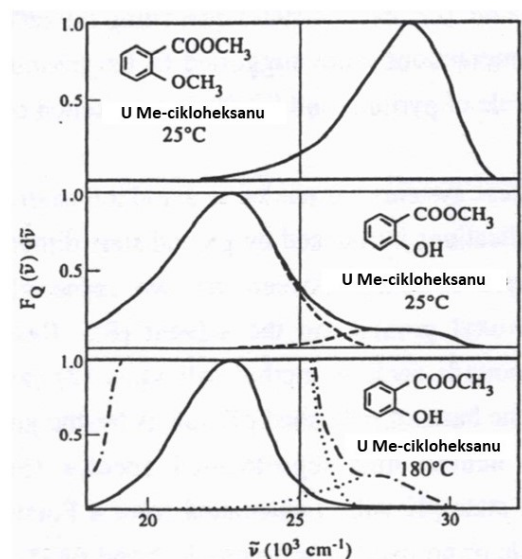
Uz aromatski sustav vrlo su važni i supstituenti koji se nalaze u *ortho*-, *meta*- ili *para*-položaju prema hidroksilnoj skupini vezanoj na aromatsku jezgru. Deprotoniranje ovakvih molekula olakšano je u pobuđenom stanju. Elektroni sa fenolne hidroksilne skupine delokaliziraju se u aromatski prsten, zbog čega je hidroksilna skupina fenola kiselija od hidroksilne skupine alifatskih alkohola. Kod fenola je manje negativnog naboja na kisiku te to dovodi do stabilizacije u energiji. Za promjenu kiselobaznih svojstava u pobuđenom stanju, osim π -sustava elektrona, odgovorne su i elektron donirajuće skupine kao što su, na primjer, hidroksilna skupina, tiolna skupina te amino skupina, koje imaju slobodan elektronski par. Ti elektroni imaju tendenciju stvaranja konjugacije sa aromatskim sustavom što rezultira promjenom pK_a pri čemu supstituirani derivati fenola postaju manje kiseli ($pK_a < pK_a^*$). Postojanje elektronakceptorskih skupina poput $-\text{COO}^-$ i $-\text{COOH}$ skupine, koje imaju praznu π -orbitalu u koju se elektroni mogu prenijeti u pobuđenom stanju, a kao rezultat se dobiva slabija disocijacija u pobuđenom stanju ($pK_a > pK_a^*$).⁵

Najjednostavniji primjer ovog fenomena kod kojeg dolazi do promjene kiselosti u pobuđenom stanju je fenol. On bolje disocira u pobuđenom stanju, a proton se prenosi na otapalo. Konstanta disocijacije se promijeni za 6 redova veličine, odnosno pK_a vrijednost

iznosi 10, a pK_a^* vrijednost iznosi 3,6.¹³ Uobičajena razlika konstanti disocijacije osnovnog i pobuđenog stanja kod hidroksiaromatskih spojeva je od 4 do 10 redova veličine.¹¹

2.2. Svojstva pobuđenog stanja hidroksiaromatskih spojeva

Prijenos protona u pobuđenom stanju proučava se dugi niz godina na različitim aromatskih spojevima. Među prvima svoja istraživanja objavili su Förster⁶ i Weller,⁷ a do danas su takva istraživanja od velikog interesa jer omogućavaju proučavanje reakcija vrlo brzog prijenosa protona ili generiranje protona u trenutku kada se to želi. Kao prvi primjer prijenosa protona, koji je opisan u literaturi, bio je primjer salicilne kiseline i njezinog metilnog estera gdje dolazi do intramolekulskog prijenosa protona koje je proučavao Weller.⁸ On je primijetio da metilni ester, otopljen u metilcikloheksanu pri sobnoj temperaturi posjeduje dvije fluorescencijske vrpce za razliku od metil-2-metoksibenzoata koji ima samo jednu vrpce veće energije, koja odgovara vrpce metilnog estera. Ovaj odnos prikazan je na slici 1.



Slika 1. Fluorescencijske vrpce.

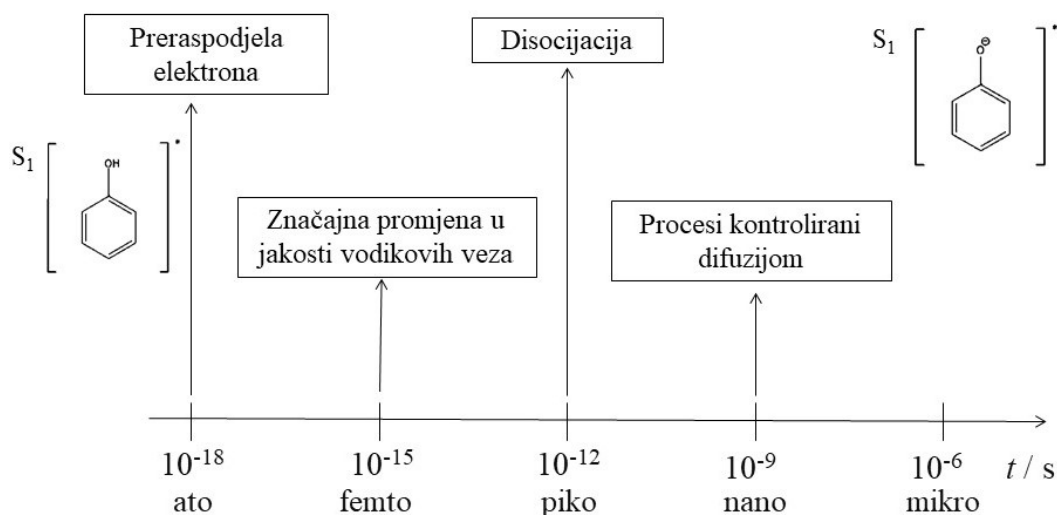
Weller je zaključio da je uzrok ovakvih fluorescencijskih spektara ESIPT (engl. *excited state intramolecular proton transfer*) koji je moguć kod salicilne kiseline i njezinog metilnog estera, a nije moguć kod odgovarajućih metoksi-derivata zbog toga jer je fenolna OH skupina zaštićena metilnom skupinom te nema prijenosa protona.

Kod hidroksiaromatskih spojeva nakon pobude fotonima pokreće se mnoštvo procesa koji za posljedicu imaju proces prijenosa protona u pobuđenom stanju. Neki supstituirani fenoli imaju manje osi simetrije od fenola pa se za takve molekule ne uzima u obzir promjena dipolnog momenta već su razmatrane promjene uočene na aromatskom prstenu te na kisiku hidroksilne skupine tog fenola. Ako se promatra efekt na atomu kisika uočava se da prilikom pobude fotonima dolazi do smanjenja gustoće električnog naboja na atomu kisika. Zbog delokalizacije elektronskih parova s kisika u aromatski prsten u osnovnom stanju stvara se $4n$ π elektronski sustav na anionskom obliku koji ima antiaromatski karakter, što dovodi do iskrivljenja strukture, odnosno duljina C-C veza u aromatskom prstenu biti će različita, naizmjenično su raspoređene jedna dulja jedna kraća C-C veza. U pobuđenom stanju anionski oblik postaje aromatičniji što se očituje smanjenjem izmjene duljine C-C veze, a smanjenje antiaromatičnosti omogućava benzenskom prstenu da prihvati dio elektronske gustoće s kisika čime se stabilizira pobuđeno stanje aniona.⁹ To je razlog zašto hidroksiaromati odnosno fenoli mijenjaju svoja kiselobazna svojstva u pobuđenom stanju. Njihova se kiselost nakon pobude povećava odnosno vrijednost pK_a pobuđenog stanja (pK_a^*) će biti niža u odnosu na vrijednost za taj spoj u osnovnom stanju. Učinak smanjenja gustoće električnog naboja na atomu kisika karakterističan je za fotokiseline, prema tome ono je veće i djeluje stabilizirajuće za anionski oblik molekule jer dolazi do slabljenja O-H veze te dodatne stabilizacije negativnog naboja na kisiku.¹¹

Nakon pobude molekule nekog hidroksiaromata najprije dolazi do preraspodjele π elektrona. Gustoća naboja, koja se seli s atoma kisika iz hidroksilne skupine, ne raspršuje se jednoliko na sve atome u aromatskom prstenu već je usmjerena prema određenim mjestima, odnosno prema onima koji su u *meta*- položaju u odnosu na hidroksilnu skupinu, zbog dobro poznatog *meta*-efekta u fotokemiji.¹⁰ Preraspodjela naboja pokreće promjene koje se očituju u jakosti vodikove veze, a to stvara temelje za sam proces prijenosa protona.¹¹ Na ovaj korak snažno utječe otapalo, a rezultira ovisnošću koeficijenta brzine disocijacije o prisutnosti vode, temperaturi i izotopskoj supstituciji. Ukoliko je proton hidroksilne skupine u vodikovoj vezi s nekom drugom supstituiranom skupinom u molekuli dolazi do promjene u jakosti te vodikove veze, a ako je proton povezan vodikovom vezom s molekulama otapala dolazi do jačanja te veze, što pridonosi disocijaciji. Disocijacija, glavno mjesto u reakcijama prijenosa protona, slijedi nakon što su se sve vodikove veze reorganizirale u pobuđenom stanju, a delokalizacija

elektronske gustoće s kisika u aromatski prsten još više dolazi do izražaja u ovom koraku čime dolazi do dodatne stabilizacije fenolatnog aniona u pobuđenom stanju.¹¹

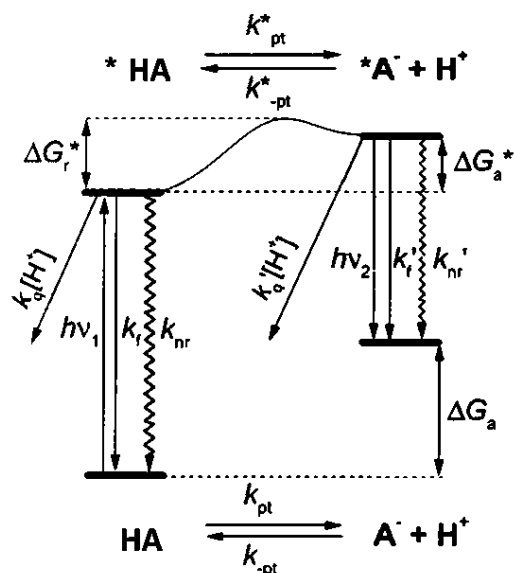
Brzina ovog procesa ovisi o vrsti otapala s kojim kemijska jedinka stvara vodikove veze, o strukturi same molekule, pH, koncentraciji soli, te događa li se intermolekulski ili intramolekulski prijenos protona. Ukoliko se odvija intermolekulski prijenos elektrona postoji nekoliko načina za njegov prijenos. Prvi način prijenosa je preko otapala. Molekula predaje svoj proton otapalu koje ga nakon toga predaje drugoj molekuli. Drugi način je direktni prijenos između dviju molekula pri čemu otapalo nije uključeno, a takav prijenos je moguć samo kada su otopine dovoljno koncentrirane. Prijenos se može dogoditi tako da se disocirani proton rekombinira sa pobuđenim fenolatom, a takav prijenos za posljedicu ima da pobuđena stanja aniona te protoniranog i deprotoniranog oblika kiseline imaju različita vremena života. Taj proces je kontroliran difuzijom, a na njezinu kinetiku može utjecati prisutnost soli, baza ili kiselina koji kompetiraju za proton. Kada se govori općenito o brzini ovih reakcija govori se u vremenu veličine atosekunde, femtosekunde ili pikosekunde.¹¹ Shemom 1 prikazani su elementarni koraci u prijenosu protona u pobuđenom stanju te vremenska skala na kojoj se odvijaju navedeni koraci.



Shema 1. Elementarni koraci u ES(I)PT-u.

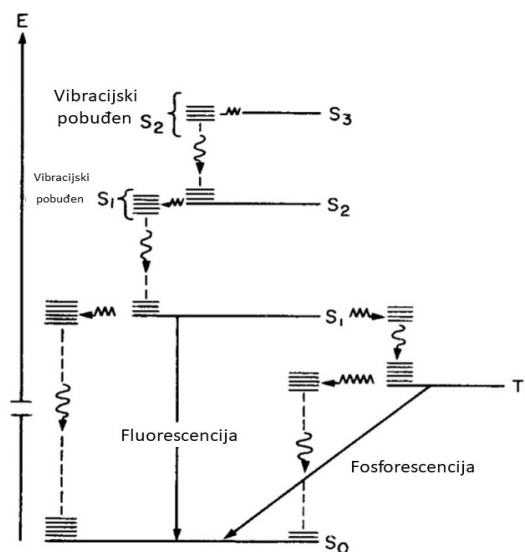
2.3. Försterov ciklus

Prijenos energije elektrona može kombinirati termodinamičke i spektroskopske podatke za predviđanje konstante kemijske ravnoteže u pobuđenom stanju. Za rješavanje termodinamike u reakcijama prijenosa protona u pobuđenom stanju koristi se Försterov ciklus prikazan shemom 2.



Shema 2. Prijenos protona u pobuđenom stanju i proces gašenja kod fotokiselina.¹²

Kod kemijskih procesa kao što je protonacija u pobuđenom stanju općenito vrijedi pravilo da se uključuju samo prvo pobuđeno singletno stanje (S_1) i prvo pobuđeno tripletno stanje (T_1). To pravilo je povezano sa Kashinim pravilom koje glasi: fluorescencija se uvijek događa pri prelasku iz najnižeg pobuđenog singletnog stanja, a fosforescencija pri prelasku iz najnižeg tripletnog stanja.¹³ Takva pravila vrijede jer je vrijeme potrebno za relaksaciju viših elektronskih i vibracijskih u S_1 kraće ($\sim 10^{-12}$ s) nego vrijeme potrebno za relaksaciju iz S_1 u S_0 (10^{-8} s ili duže) fluorescencijom ili kemijskim promjenama. Navedena svojstva prikazana su na shemi 3.¹³



Shema 3. Radijativni i neradijativni relaksacijski procesi u poliatomnoj molekuli (dijagram Jablonskog).¹³

Kao i kod svakog pravila i kod ovog postoje određene iznimke. Na primjer, molekula azulena fluorescira iz S_2 pobuđenog stanja, a njegov protonirani oblik iz stanja S_1 . Zatim, prijenos elektrona na otapalo je toliko brz da se može odvijati iz viših pobuđenih stanja. Nakon što se molekula pobudi u S_1 stanje može doći do fluorescencije, promjene spina elektrona ili neradijativnog gubitka energije, čime može doći do međusustavnog križanja.¹³

Ovaj ciklus se može primijeniti na ravnotežu disocijacije kiseline u osnovnom stanju ukoliko se ona pobuđuje, a ravnoteža disocijacije se općenito zapisuje kao:



Ako vrsta HA apsorbira zračenje tada i A^- apsorbira zračenje, ali pri različitim valnim duljinama. Kada HA apsorbira pri manjoj valnoj duljini od A^- do uspostave ravnoteže dolazi kada je $\text{pH} = \text{p}K_a$, odnosno u otopine je koncentracija [HA] jednaka koncentraciji [A^-]. Ako dođe do pobude HA i A^- apsorpcijom fotona, $*HA$ će se naći više u energiji od $*A^-$ te, da bi došlo do ponovnog uspostavljanja ravnoteže, $*HA$ ima tendenciju disociranja. Kao rezultat HA će u svom pobuđenom stanju biti jača kiselina nego što je u osnovnom, odnosno HA u pobuđenom stanju ($*HA$) ima nižu $\text{p}K_a$ vrijednost. Ukoliko A^- apsorbira pri manjoj valnoj duljini od HA, u tom slučaju će, u pobuđenom stanju, A^- postati jača baza.¹³

Kao što je već spomenuto Försterov ciklus se koristi za rješavanje termodinamike sustava pa se za gornji primjer može raspisati jednadžba bilance energije:

$$Lh\nu_{\text{HA}} + \Delta H^* = Lh\nu_{\text{A}^-} + \Delta H$$

U ciklusu se entropija zanemaruje jer nema doprinosa Gibbsovoj energiji te se zbog toga uzima aproksimacija $\Delta G \approx \Delta H$. Gornji izraz bilance energije se može preurediti, te se dobiva:

$$\Delta H^* - \Delta H = Lh (\nu_{\text{A}^-} - \nu_{\text{HA}})$$

U vrlo razrijeđenim otopinama uzima se aproksimacija $\Delta H \approx \Delta H^\ominus$ te ako se ΔS^\ominus ne mijenja značajno tijekom pobude, $\Delta H^* - \Delta H$ se može zamijeniti za $\Delta G^* - \Delta G$ te se uvrsti u izraz:

$$\Delta G = -RT \ln K = 2,303 RT \text{ p}K$$

dobije se razlika $\text{p}K$ osnovnog i pobuđenog stanja: ¹³

$$\Delta \text{p}K = \text{p}K^* - \text{p}K = \frac{\Delta G^* - \Delta G}{2,303 RT}$$

Vrijednosti $\text{p}K^*$ najlakše se određuju korištenjem Försterovog ciklusa, a da bi se izračun mogao u potpunosti odraditi za neku molekulu potrebno je poznavati konstantu ravnoteže osnovnog stanja te razliku u energijama osnovnog i pobuđenog stanja. Ukoliko je potrebno naglasiti za koji prijelaz se određuje promjena kiselobaznih svojstava ne koristi se oznaka $\text{p}K^*$ već se piše $\text{p}K^*(\text{S}_1)$ ili $\text{p}K^*(\text{T}_1)$, a $\Delta \text{p}K$ tada ima značenje $\text{p}K(\text{S}_1) - \text{p}K(\text{S}_0)$, odnosno $\text{p}K^*(\text{T}_1) - \text{p}K^*(\text{S}_0)$. ¹³

U današnje vrijeme koriste se i druge metode za određivanje ravnoteže u pobuđenom stanju. Ne samo apsorpcijska spektrofotometrija već i luminiscencijska spektrofotometrija, a kod tehnika laserske pulsne fotolize protonacija-deprotonacija određuje se direktno u pobuđenom stanju. ¹³

2.4. Eksperimentalne metode određivanja $\text{p}K_a$ vrijednosti pobuđenog stanja ¹³

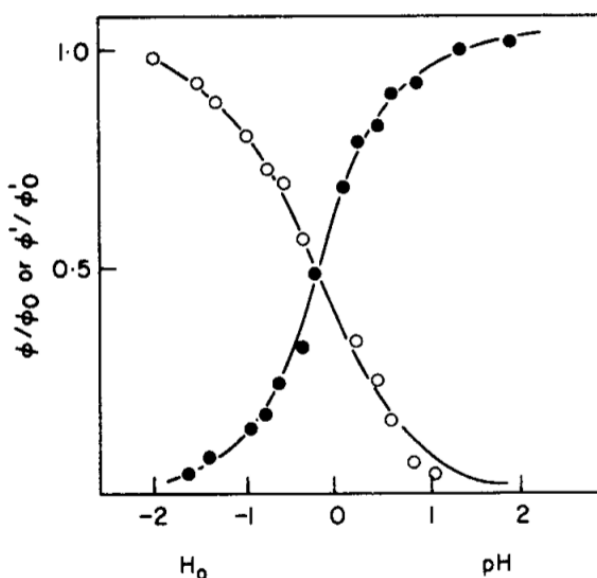
Postoje razne metode eksperimentalnog određivanja promjene kiselobaznih svojstava u pobuđenom stanju.

Osim određivanja pK_a^* vrijednosti iz Försterovog ciklusa, kako je navedeno u prethodnom odlomku, postoje još fluorescencijske titracije kod kojih do promjene u fluorescencijskim spektrima pri promjeni pH dolazi zbog protolitičkih reakcija koje se događaju u pobuđenom singletnom stanju. Iz Försterovog ciklusa se odredi približna pK vrijednost, a prema njoj se određuje približna pH vrijednost kod koje dolazi do promjene u fluorescencijskim spektrima. Pri različitim pH vrijednostima snima se fluorescencijski spektar za određivanje pK^* , pri čemu bar jedan oblik, HA ili A^- , mora fluorescirati. Ako fluorescira samo jedan oblik određivanje pK^* izvede se nelinearnom regresijom promjene intenziteta fluorescencije u ovisnosti o pH. Ukoliko se spektri oblika koji fluoresciraju preklapaju izvrši se korekcija na intenzitete $HA(I)$ i $A^-(I)$ s obzirom na ukupan intenzitet na nekoj valnoj duljini pri kojoj pridonose obje vrste. Za tu korekciju potrebno je snimiti spektre u kojima je prisutna samo jedna od te dvije vrste iz kojih se onda odrede omjeri prekrivanja. Izrazi za korigiranu fluorescenciju će biti:

$$I = \phi + k'\phi'$$

$$I' = \phi' + k\phi$$

gdje su ϕ i ϕ' pravi fluorescencijski intenziteti. Relativni intenziteti fluorescencije mogu se prikazati grafički u ovisnosti o kiselosti. pK^* je u sjecištu dobivenih krivulja (slika 2), odnosno to je točka infleksije u grafu ovisnosti intenziteta fluorescencije o pH. Tako dobivena pK^* je aproksimacija za pravu $pK(S_1)$.



Slika 2. Ovisnost fluorescencijskih intenziteta o kiselosti.¹³

Iz navedenog slijedi da se korigirana vrijednost pH, pri kojoj se događa infleksija u grafu, određuje izrazom:

$$\text{pH} = \text{p}K(\text{S}_1) - \log \frac{\tau_0}{\tau'_0}$$

Sljedeća metoda je titracija s triplet-triplet apsorpcijom kojom se određuje $\text{p}K(\text{T}_1)$. Ograničena je na mali broj molekula u kojima je moguća T-T apsorpcija. U ovoj metodi je važno da barem jedan od oblika, HA ili A^- , posjeduju apsorpcijski spektar s T-T vrpcom. Ukoliko dođe do preklapanja spektara tih dviju vrsta vrši se korekcija kao i kod fluorescencijskih titracija.

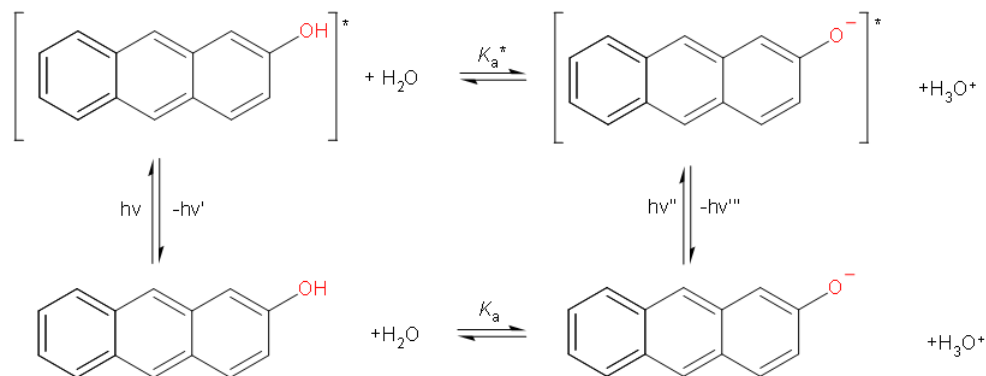
$\text{p}K$ se može odrediti i mjerenjem vremena života pobuđenih stanja HA i A^- tehnikama pulsne i fazne fluorimetrije. Tim tehnikama se odrede konstante gašenja fluorescencije u ovisnosti o pH. Metoda je pogodna za spojeve koji imaju kratka vremena života pobuđenog stanja te za spojeve sa niskim kvantnim prinosima fluorescencije.

Osim navedenih metoda postoje i neke indirektno metode određivanja vrijednosti $\text{p}K^*$.

2.5. Eksperimentalno određivanje $\text{p}K^*$ na primjeru 2-hidroksiantracena¹⁴

Kako bi se bolje objasnila promjena kiselobaznih svojstava pobuđenog stanja u odnosu na osnovno stanje, na molekuli 2-hidroksiantracena određivana je konstanta disocijacije metodama UV-Vis ($\text{p}K_a$) i fluorescencijske titracije ($\text{p}K_a$ i $\text{p}K_a^*$) (shema 4).

Titracije su rađene tako da se točno određeni volumen otopine spoja poznate koncentracije ulije u čašu, zatim se dodaju mali volumeni otopine kiseline ili lužine uz miješanje magnetnom miješalicom i mjeri se pH. Nakon svakog dodatka kiseline ili lužine mjeri se pH i snimljeni su spektri pri tim pH vrijednostima, a podaci su obrađeni korištenjem programa Specfit.



Shema 4. Disocijacija 2-hidroksiantracena u osnovnom i pobuđenom stanju.

2.5.1. UV-Vis titracija 2-hidroksiantracena

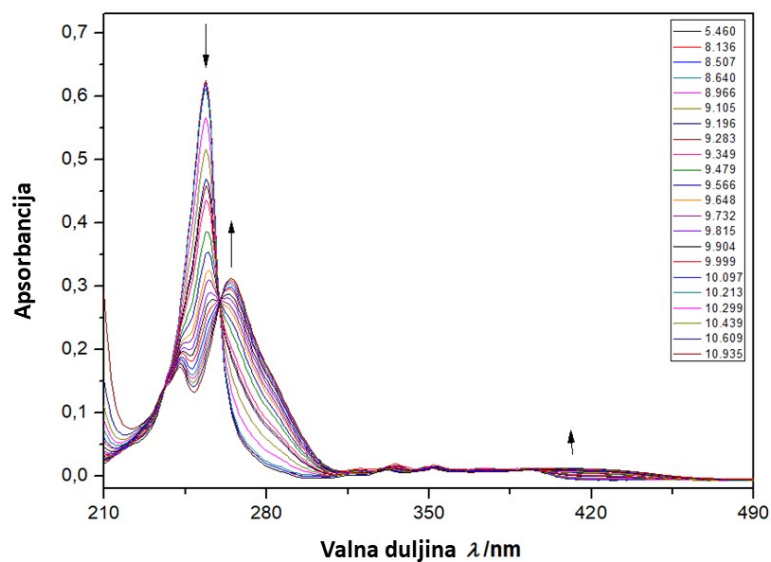
Provedene je potenciometrijska titracija otopine pri koncentraciji 2-hidroksiantracena 5×10^{-6} M te u smjesi otapala acetonitril/voda u omjeru 1:9. Otopina se titrira razrijeđenom otopinom NaOH dok se ne postignu lužnati uvjeti, prema tome može se zaključiti da u ovom primjeru titracija ide u smjeru slabo kiselog medija prema lužnatom. Ovom titracijskom metodom određena je konstanta disocijacije u osnovnom stanju.

PRIMJER:

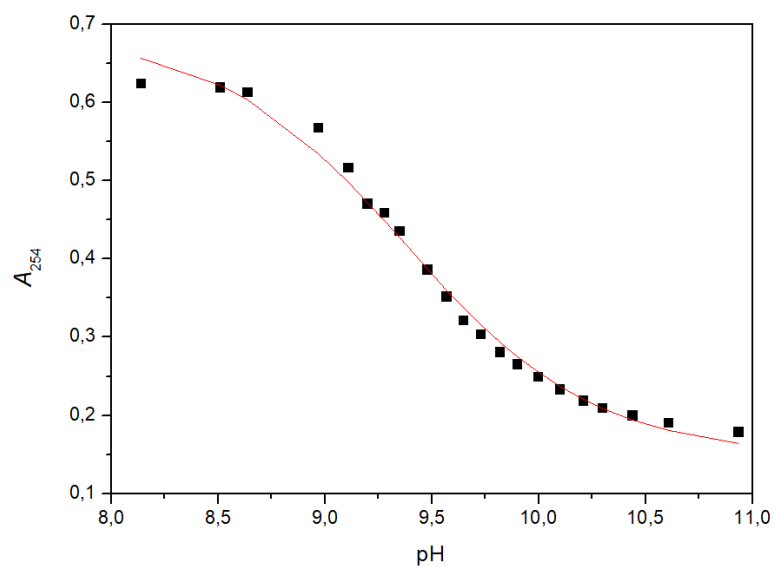
Ovaj eksperiment proveden je pri koncentraciji 2-hidroksiantracena 5×10^{-6} M u smjesi otapala acetonitril/voda u omjeru 1:9.

Eksperimentalno dobivene vrijednosti prikazane su na slici 3 titracijskim krivuljama, a vrijednost konstante disocijacije izračunata pomoću nelinearne regresije upotrebom programa Specfit iznosi:

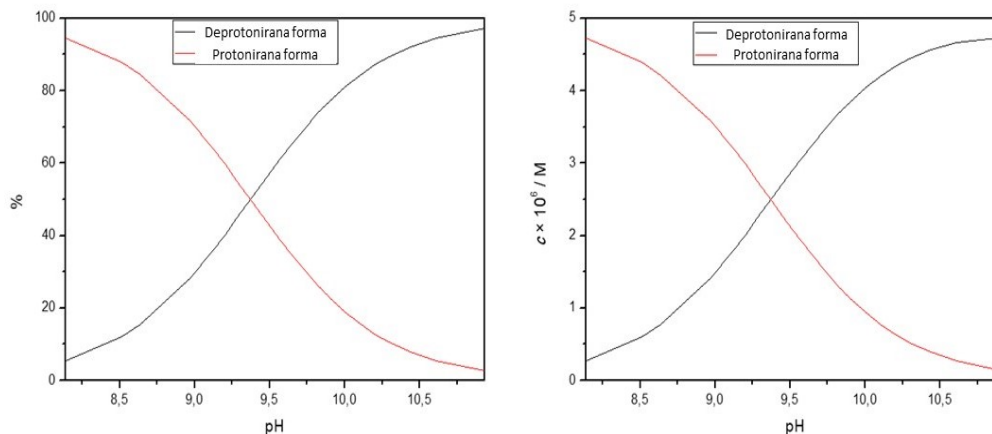
$$pK_a = 9,37 \pm 0,03$$



Slika 3. Spektar ovisnosti apsorbancije o valnoj duljini, c (2-hidroksiantracena) = 5×10^{-6} M u smjesi otapala acetonitril/voda u omjeru 1:9. Dobivene krivulje nisu korigirane na razrjeđenje.



Slika 4. Ovisnost apsorbancije o pH pri 254 nm. Usporedba eksperimentalno određenih podataka (■) te izračunatih podataka (—).



Slika 5. Specijacija. Prikaz ovisnosti koncentracije pojedine vrste u ravnoteži o pH.

Iz dobivenih grafičkih prikaza se zaključuje da pojedini oblici u otopini ne apsorbiraju svjetlost na jednakim valnim duljinama što omogućuje lakše eksperimentalno određivanje konstante disocijacije za navedeni spoj.

2.5.2 Fluorescencijska titracija 2-hidroksiantracena

Provedene su potenciometrijske titracije spoja 2-hidroksiantracena kako bi se odredila pK_a vrijednost osnovnog i pobuđenog stanja. Eksitacijski spektar je snimljen na valnim duljinama od 380 do 680 nm pri različitim pH vrijednostima. Dobivene titracijske krivulje i distribucijski dijagrami prikazani su na slici 6 za pobudu valnom duljinom od 350 nm. Smjer provedene titracije je od lužnatog područja prema kiselom jer je titracija provedena dodavanjem kiseline, $c(2\text{-hidroksiantracena}) = 2,2 \times 10^{-5} \text{ M}$ u smjesi otapala acetonitril/voda u omjeru 1:9. Apsorbancija za navedenu valnu duljinu pri kojima se provela eksitacija manja je od 0,1. Na dobivenim rezultatima provedena je nelinearna regresija.

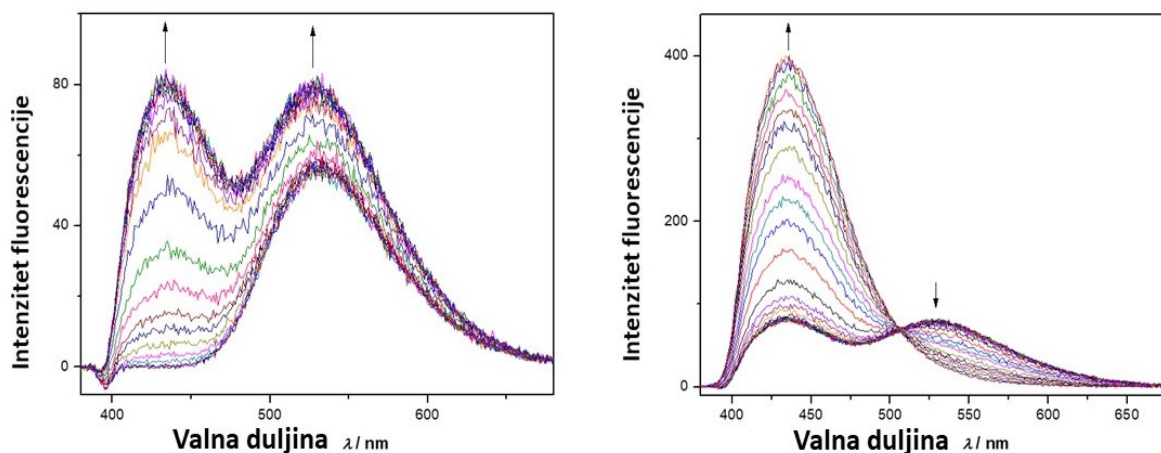
PRIMJER:

Određivanje pK_a i pK_a^* eksitacijom molekule valnom duljinom od 350 nm.

Eksperimentalno dobivene vrijednosti za osnovno i pobuđeno stanje za navedene konstante disocijacije su:

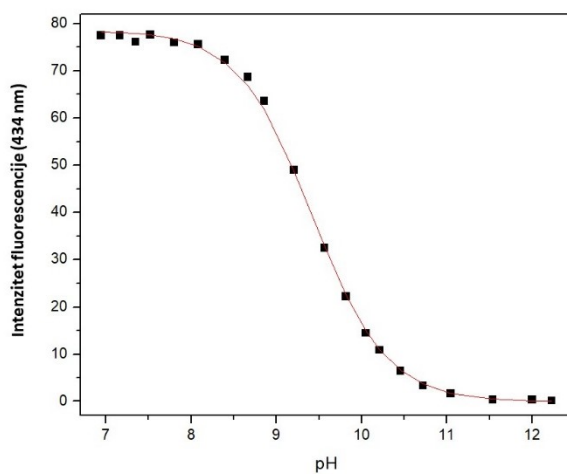
$$pK_a = 9,42 \pm 0,01$$

$$pK_a^* = 2,129 \pm 0,005$$

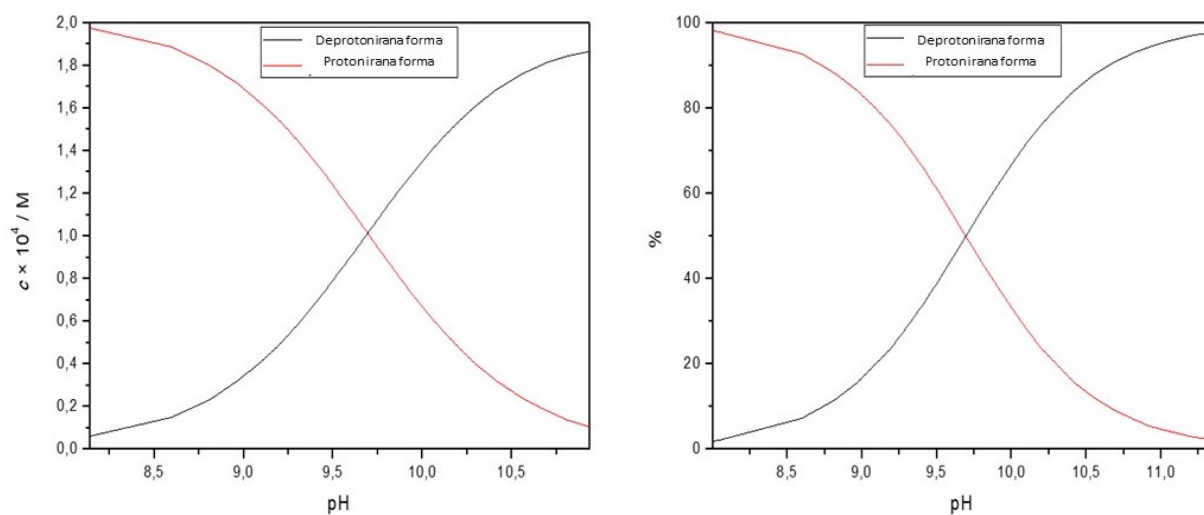


Slika 6. Ovisnost fluorescencijskog spektra 2-hidroksiantracena, $c = 2,2 \times 10^{-5}$ M u smjesi acetonitril/voda (1:9), $A_{350} < 0.1$. Spektri su korigirani na razrjeđenje, pri čemu je lijevi spektar za područje $\text{pH} > 7$, a desni spektar za $\text{pH} < 7$.

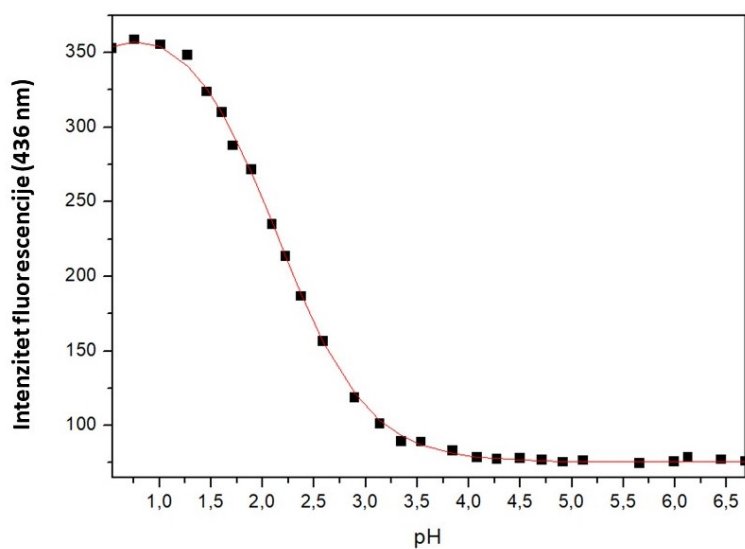
Na slici 7 i slici 9 prikazana je ovisnost intenziteta fluorescencije o promjeni pH te su uspoređene vrijednosti eksperimentalnih podataka te izračunatih podataka. Razlika u navedenim spektrima je što su mjerenja izvedena posebno za kiselo područje pH , a posebno za lužnato područje pH . Iz podataka se zaključuje da su eksperimentalni podaci te izračunati fit u dobrom slaganju. Na slici 8. i slici 10 prikazane su ovisnosti koncentracija vrste u ravnoteži o pH te postotak koliko je pojedine forme u protoniranom odnosno deprotoniranom obliku.



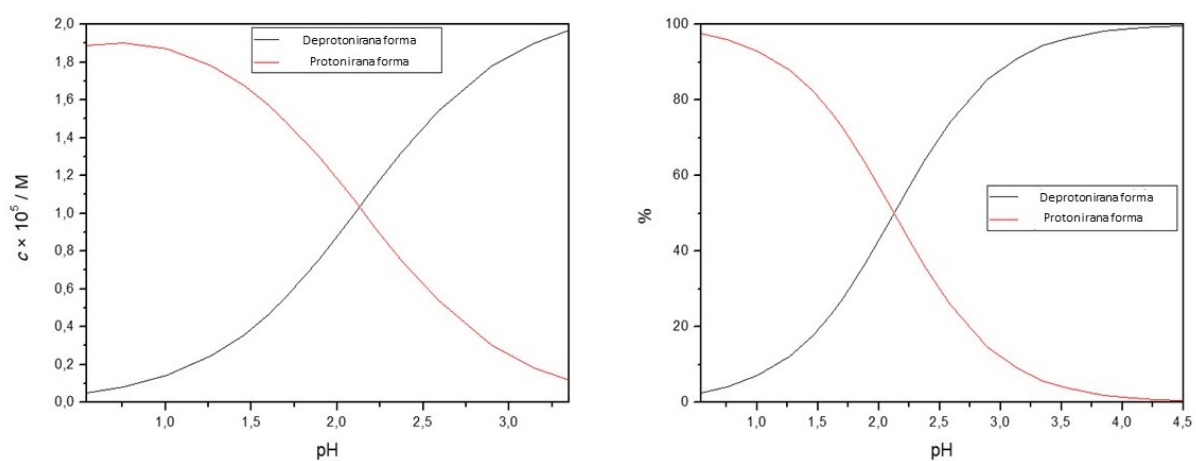
Slika 7. Ovisnost intenziteta fluorescencije pri 336 nm o pH u lužnatom području. Usporedba eksperimentalno određenih podataka (■) te izračunatih podataka (—)



Slika 8. Specijacija u lužnatom području pH.



Slika 9. Ovisnost intenziteta fluorescencije pri 436 nm o pH u kiselim području. Usporedba eksperimentalno određenih podataka (■) te izračunatih podataka (—).



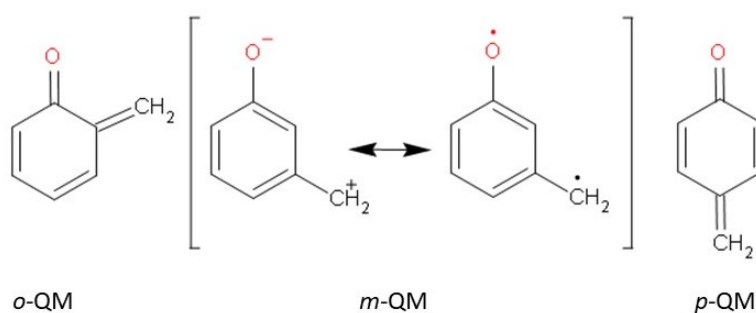
Slika 10. Specijacija u kiselim području pH.

Za disocijaciju u osnovnom stanju molekule dobivena vrijednost $pK_a = 9,41 \pm 0,03$, a fluorescencijskom titracijom, pri pobudi valnom duljinom od 350 nm, određena je konstatna disocijacije za pobuđeno stanje (S_1) te iznosi $pK_a^* = 2,13 \pm 0,01$. Prelaskom molekule u pobuđeno stanje dolazi do povećanja njene kiselosti za sedam redova veličine što se očituje iz smanjenja pK_a^* vrijednosti u odnosu na pK_a vrijednost u osnovnom stanju. Ovaj spoj je vrlo dobar primjer fotokiseline.

2.6. Reaktivni međuprodukti u fotokemiji fenola

U organskoj kemiji postoji vrsta vrlo reaktivnih međuprodukta koji se nazivaju kinon-metidi (QM). Pojavljuju se u kemiji i fotokemiji fenola te srodnih spojeva. Generiraju se reakcijama u osnovnom stanju (termički) te u pobuđenim stanjima (fotoreakcijama). Imaju primjenu u raznim biotransformacijama i organskim sintezama. Ovi međuprodukti su polarni, a to svojstvo utječe na njihovu reaktivnost. Na reaktivnost također utječu i supstituenti, koji će znatno utjecati na brzinu reakcije.¹⁵

Osnovni (roditeljski) QM sastoje se od cikloheksadienskog skeleta na kojeg su vezane metilenska i karbonilna skupina, u *o*- i *p*- položaju, koje su u međusobnoj konjugaciji, a *m*- supstiturirani analog se prikazuje kao rezonantni hibrid (shema 5).¹⁵



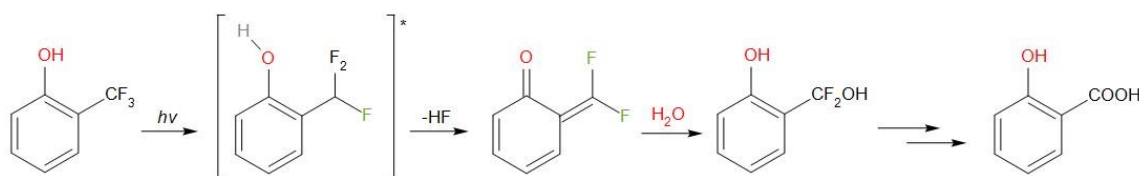
Shema 5. Strukture roditeljskih kinon-metida.

Reagiraju s nukleofilima i s elektrofilima pa su posljedično kratkoživeće vrste. Siromašni su elektronima te ih zbog toga elektron-odvlačeće skupine destabiliziraju, a elektron-donirajuće skupine stabiliziraju. U fotokemijskim reakcijama sudjeluju elektronski pobuđene vrste i pri tome im je raspodjela elektrona puno drugačija nego što je osnovnom stanju, a samim time i potpuno drugačija reaktivnost. U stvaranju QM-a u fotokemijskim

reakcijama najčešće se upotrebljavaju derivati fenola i fenilnih estera koji podliježu β -cijepanju. Fotogeneriranje QM-a iz fenola, ali i drugih hidroksiaromatskih spojeva uključuje proces prijenosa elektrona u pobuđenom stanju. U nastavku su navedene neke reakcije u kojima dolazi do generiranja QM-a.¹⁶

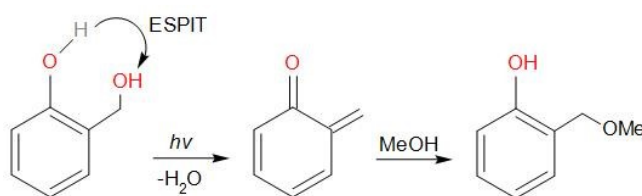
2.6.1. Fotodehalogenacija i fotodehidratacija derivata fenola¹⁶

Kod procesa fotodehalogenacije dolazi do eliminacije halogena pri čemu nastaje QM koji zbog svoje reaktivnosti ulazi u reakciju s vodom te nastaje derivat benzilnog alkohola. Proces se ponavlja dok god se svi atomi halogena ne zamijene. Primjer ove reakcije je generiranje QM-a iz *o*-trifluorometilfenola pri čemu kao krajnji produkt nastaje salicilna kiselina (shema 6).

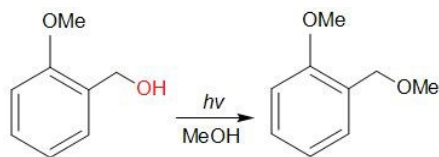


Shema 6. Prikaz reakcije fotodehalogenacije.

Fotodehidratacija je proces u kojem dolazi do eliminacije vode u hidroksimetilfenolima i sličnim derivatima fenola pri čemu nastaje QM koji odmah reagira s prisutnim nukleofilnim otapalom, kao što je metanol dajući pripadajući produkt (shema 7a). Kod estera može doći do reakcije ugradnje metoksi-skupine, odnosno fotosolvolyze (shema 7b).



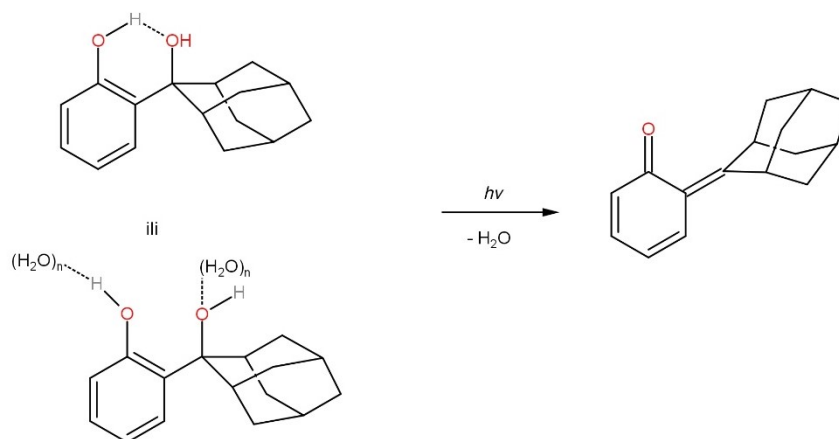
Shema 7a. Fotodehalogenacija hidroksibenzilnog alkohola.

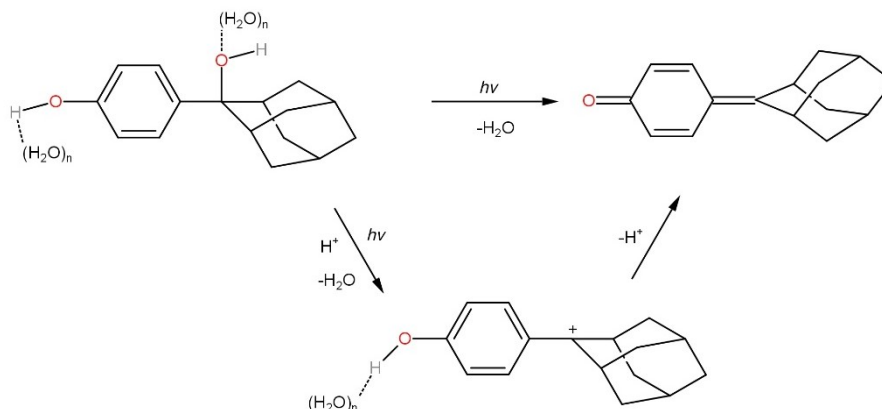


Shema 7b. Fotodehalogenacija etera hidroksibenzilnog alkohola.

Kod *o*-supstituiranih derivata je najveći kvantni prinos nastanka QM-a jer je prijenos protona u pobuđeno stanje (ESIPT) preko vodikove veze učinkovit, dok je u slučajevima kada su OH-skupine benzilnog i fenilnog položaja udaljene, u *m*- i *p*- položaju, prijenos protona u pobuđenom stanju se ne može izravno dogoditi, pa se prijenos kod takvih molekula odvija uz posredovanje otapala.

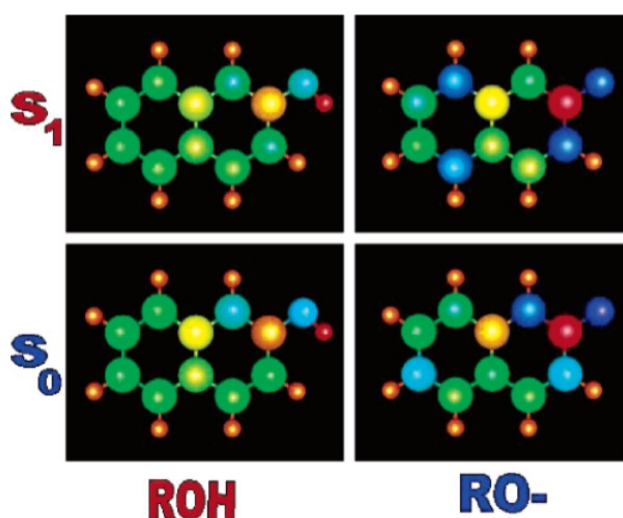
U primjerima prikazanim na shemi 8 i shemi 9 metilenski položaj QM supstituiran je adamantanom, što produljuje vrijeme života QM jer stvara steričku prepreku za reakciju, tako da će u konačnici biti manje reaktivan. Prikazane sheme su dobri primjeri prijenos protona prilikom pobude bilo unutar iste molekule ako se kiselo i bazno mjesto nalaze blizu kako je prikazano na shemi 8 ili intermolekulski ili unutar iste molekule pomoću otapala kako je prikazano na shemi 9.

Shema 8. Intramolekulski prijenos protona.⁴

Shema 9. Intermolekulski prijenos protona.⁴

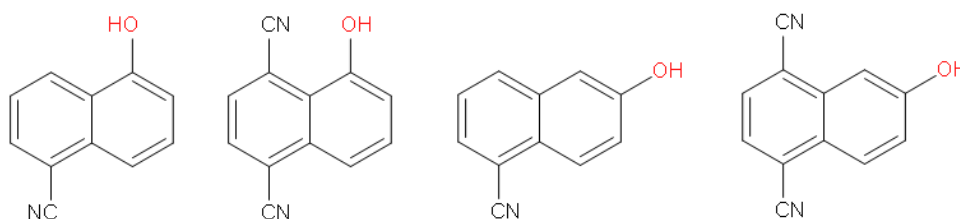
2.6.2. Superfotokiseline

Utjecaj supstituenata na kiselost hidroksiaromatskih spojeva dobro je istražena i opisana u literaturi za osnovno stanje molekula, no njihov utjecaj u pobuđenom stanju opisan je relativno slabo.¹² $\text{p}K_{\text{a}}$ vrijednost 2-naftola iznosi 9,5. U pobuđenom stanju on postaje jača kiselina te se konstanta disocijacije povećava za sedam redova veličine odnosno $\text{p}K_{\text{a}}^*$ iznosi 2,8. Nakon pobude dolazi do preraspodjele naboja u molekuli pri čemu se elektroni s kisika delokaliziraju u aromatskom sustavu, a većina dodatne elektronske gustoće odlazi u prsten na kojeg nije vezana OH skupina.¹¹ Among i suradnici¹⁷ računali su elektronsku gustoću 2-naftola i aniona 2-naftola u osnovnom i pobuđenom singletnom stanju, a dobiveni rezultati prikazani su slikom 11.



Slika 11. Elektronska gustoća na 2-naftolu (ROH) i anionu 2-naftola (RO⁻) u osnovnom i prvom pobuđenom singletna stanja. Boje predstavljaju raspodjelu naboja po legendi: crvena-najpozitivnije, narančasta-slabo pozitivno, žuta-neutralno, zelena-slabo negativno, plava-najnegativnije.¹¹

Iz prikaza se može zaključiti da bi stavljanje nekih elektron-odvlačećih skupina na položaje 5- i 8- naftalena pridonijelo stabilizaciji 2-naftola u pobuđenom stanju, što bi moglo utjecati na promjenu pK_a vrijednosti koja bi mogla biti manja nego kod 2-naftola. Sinteza niza cijano-supstituiranih naftola (slika 12) pokazala je da su ti derivati vrlo jake kiseline koje su nazvane "superfotokiselinama". Najniža pK_a^* vrijednost koja je do danas određena, je ona za spoj 5,8-dicijano-2-naftol te iznosi -4,5. Ovakvi pojevi mogu se primjenjivati kod fotoiniciranih kiselokataliziranih reakcija u organskim otapalima jer do prijenosa protona dolazi u prisutnosti različitih protičnih i aprotičnih otapala poput DMSO, MeOH, DMF.



Slika 12. Cijano-supstituirani naftoli.

2.7. Važnost i primjena

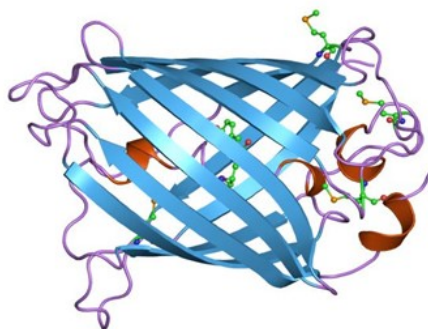
Iako su fotokemijske reakcije slabo zastupljene u kemijskoj sintezi, brojni procesi u prirodi se temelje upravo na njima te postoji puno prostora za pronalaženje novih korisnih primjena. Na primjer, kisik i njegov fotokemijski produkt su prisutni u atmosferi i štite od ultraljubičastih zraka, a ni proces fotosinteze ne bi bio moguć bez fotona. U nastavku su navedene neke primjene fotokemije.¹

Fotokemija se primjenjuje u proizvodnji finih kemikalija i međuprodukata, pa se tako koristi u proizvodnji vitamina D₃ iz 7-dehidrokolesterola jer je konrotatorno otvaranje prstena zabranjeno u tami. Nastali produkt uz pregrađivanja daju vitamin D₃. Važne su i brojne reakcije fotoizomerizacije previtamina.¹

Zatim, fotokemija pronalazi svoju primjenu kod istraživanja antitumorskih lijekova. Istraživanja se temelje na tome da se osvijetljavanjem proizvede reaktivni međuprodukt koji bi

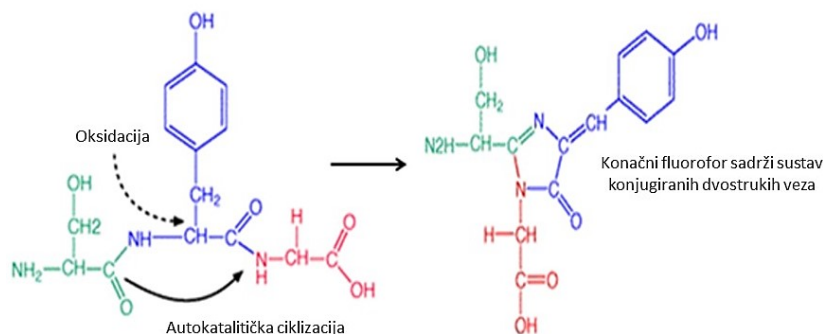
reagirao s DNA u stanici pri čemu ju alkilira, cijepa ili križno povezuje, što dovodi do štete u stanici i konačno do smrti stanice. Stvaranje takvih vrsta ozračivanjem daje mogućnost prostorne i vremenske kontrole stvaranja ovih reaktivnih međuprodukata.

Zeleni fluorescentni protein (slika 13) pokazuje svijetlozelenu fluorescenciju kada se obasjava plavim svjetlom ili zračenjem valnih duljina bliskog UV-područja.¹⁸



Slika 13. Tercijarna struktura zelenog fluorescentnog proteina.¹⁹

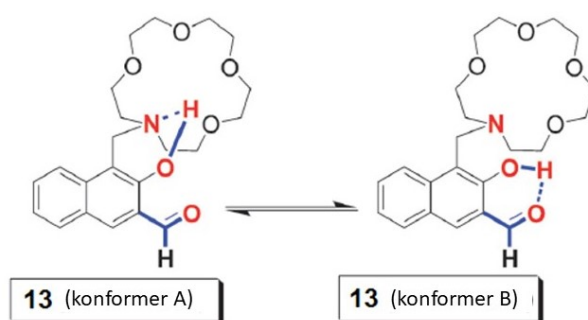
Centralna α -zavojnica okružena je s 11 antiparalelnih β -ploča koje zajedno čine strukturu bačve. Fluorofor je lociran u centralnoj zavojnici i sastoji se od aminokiselina Ser65-Tyr66-Gly67. Za fluorescenciju je odgovoran sustav konjugiranih dvostrukih veza koji, u biološkim uvjetima nastaje ciklizacijom navedene oksidirane trijade (shema 10) . Taj protein se često koristi kao pokazatelj ekspresije nekog gena u kojeg je u tu svrhu i ugrađen.



Shema 10. Stvaranje centra odgovornog za fluorescenciju fluorofora.

Do pobuđivanja fluorofora dolazi ozračivanjem svjetlom valne duljine od npr. 390 nm. Fenolna skupina tirozina postaje kiselija te dolazi do reorganiziranja vodikovih veza te na kraju do disocijacije, a disocirani oblik fluorescira.

Na ESIPT-u su bazirani i kemosenzori. 2004. godine rad s kemosenzorima objavili su Chou i Hon²⁰ što je prikazano na primjeru spoja sa sheme 11 koji služi za detekciju Na⁺ i Ca²⁺. U otopini spoj sa sheme 11 postoji u dva oblika gdje je konformer A dominantna vrsta u acetonitrilnoj otopini te ima emisiju pri 585 nm. Dodatkom natrijevih iona u otopinu spoja sa sheme 11 dolazi do smanjenja emisije jer se više ne događa ESIPT između aminskog dušika i OH skupine, što uzrokuje pojavu nove emisijske vrpce pri 730 nm. Ovim primjerom pokazano je kako se ESIPT može upotrijebiti za dizajn fluorescencijskih molekularnih senzora.



Shema 11. Dva konformerna oblika spoja 13.

U mikrotehnologiji, u području elektrotehnike i strojarstva, korištenje smanjenih kemijskih reaktora pokazalo se boljim od klasičnih kemijskih reaktora, a takav razvoj bitan je u zelenoj kemiji te ekoinženjerstvu gdje se fotokemija kombinira sa mikrotehnologijom. U organskoj sintezi koristi se niz jednostavnih metoda koje se temelje na fotokemijskim reakcijama, a glavne značajke fotokemijskih reakcija su visoki kemijski i kvantni prinosi i ekološki su prihvatljive jer ne koriste reagense, tj. fotoni služe kao svojevrsan "reagens". Neki lijekovi i ostali farmaceutski proizvodi mogu biti fotoosjetljivi, pa može doći do fotokemijske reakcije lijeka koji cirkulira površinskim žilama, stoga se novosintetiziranim lijekovima mora provoditi ispitivanje fotostabilnosti.

§ 3. LITERATURNI IZVORI

1. I. Odak, I. Škorić, *Organska fotokemija*, (2017) 5–124.
2. H. Vančik, *Molekularna fotokemija*, (2011) 2–75.
3. <http://photobiology.info/Photochem.html> (datum pristupa 9. rujna 2020.)
4. N. Basarić, I. Žabčić, K. Mlinarić-Majerski, *P. Wan J. Org. Chem.* **75** (2010) 102–116.
5. J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, (1999) 1–25.
6. T. Förster, *Naturwissenschaften* **36** (1949) 186–187.
7. A. Weller, *Prog. React. Kinet.* **1** (1961) 189.
8. A. Weller, *Z. Elektrochem.* **60** (1956) 1144–1147.
9. N. Basarić et. al, *Chem. Eur. J.* **24** (2018) 9426 – 9435
10. H. E. Zimmerman, *J. Am. Chem. Soc.* **117** (1995) 8988–8991
11. N. Agmon, *J. Phys. Chem. A.* **109** (2005), 13–35.
12. L. M. Tolbert, K. M. Solntsev, *Acc. Chem. Res.* **35** (2002), 19–27.
13. J. F. Ireland, P. A. H. Wyatt, *Adv. Phys. Org. Chem.* (1976), 132–214.
14. Đ. Škalamera, K. Mlinarić-Majerski, I. Martin-Kleiner, M. Kralj, P. Wan, N. Basarić, *J. Org. Chem.* **79** (2014), 4390–4397.
15. Đ. Škalamera et al., *Kem. Ind.* **66** (2017), 353–372.
16. Đ. Škalamera et al., *Kem. Ind.* **66** (2017), 481–504.
17. N. Agmon, W. Retting, C. Groth *J. Am. Chem. Soc.* **124** (2002) 1089.
18. F. Prendergast, K. Mann *Biochemistry* **17** (1978) 3448–3453.
19. Ormö M, Cubitt AB, Kallio K, Gross LA, Tsien RY, *Science* **273** (1996) 1392.
20. K.-C. Wu, Y.-S. Lin, Y.-S. Yeh, C.-Y. Chen, M. O. Ahmed, P.-T. Choua, Y.-S. Hon *Tetrahedron* **60** (2004) 11861–11868.