

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Химический факультет

Кафедра аналитической химии

Изучение комплексообразования

***N,N*-ди(пиридин-2-ил)хинолин-6-амина с ионами цинка**

методами спектрофотометрии и флуориметрии

Курсовая работа

по аналитической химии

студента 203 группы

Харламовой А.Д.

Научные руководители:

д.х.н., в.н.с. Аверин А.Д.

асп. Абель А. С.

Преподаватель:

к.х.н., доцент

Смирнова С. В.

Содержание

1. Введение	3
2. Обзор литературы	4
2.1. Хемосенсоры и их строение	4
2.2. Хемосенсоры на ионы Zn(II)	5
2.3. Методы определения констант устойчивости	7
2.4. Оптические методы определения констант устойчивости	8
3. Экспериментальная часть	11
3.1. Оборудование и посуда	11
3.2. Реагенты и растворители	11
3.3. Приготовление стандартных растворов	11
3.4. Определение молярных коэффициентов поглощения лиганда	12
3.5. Определение состава комплекса с Zn(II) методом Жоба	12
3.6. Спектрофотометрическое титрование лиганда ионами Zn(II)	13
3.7. Флуориметрическое титрование лиганда ионами Zn(II)	13
3.8. ЯМР-титрование лиганда ионами Zn(II)	13
4. Обсуждение результатов	14
4.1. Расчет молярных коэффициентов поглощения	14
4.2. Определение состава комплекса методом Жоба	14
4.3. Определение константы устойчивости комплекса методом УФ-титрования	16
4.4. Определение константы устойчивости методом флуориметрического титрования	17
4.5. Изучение связывания Zn(II) лигандом методом ЯМР-титрования	18
5. Выводы	21
6. Список литературы	22

Приложения

Введение

Создание новых и совершенствование старых методов качественного и количественного определения различных элементов и их соединений в различных объектах является одной из основных задач аналитической химии. Флуоресцентные методы детектирования ионов и молекул на сегодняшний день являются интенсивно развивающимся направлением, так как позволяют обеспечить высокую чувствительность. Для решения этой задачи необходим поиск и изучение новых флуоресцентных соединений. Производные 6-аминохинолина обладают устойчивой флуоресценцией в видимой области, однако до сих пор практически не исследованы в качестве флуоресцентных детекторов.

В лаборатории элементоорганических соединений кафедры органической химии Химического факультета МГУ был синтезирован *N,N*-ди(пиридин-2-ил)хинолин-6-амин, который содержит в своей структуре флуоресцентный фрагмент (6-аминохинолин) и хелатирующий фрагмент (бис(2-пиридил)амин), связанные между собой общей аминогруппой.

Целью данной работы является изучение связывания ионов цинка(II) данным лигандом методами спектрофотометрии и флуориметрии, определение состава образующихся комплексов и их констант устойчивости. Дополнительной задачей данной работы является получение более подробной информации о строении образующихся комплексов методами ЯМР-спектроскопии.

Обзор литературы

2.1. Хемосенсоры и их строение

В обзорной работе Де Силва флуоресцентные сенсоры для катионов металлов распределены по природе происхождения излучения на следующие четыре группы[1]:

1. Органические молекулы, излучающие с помощью иона металла.
2. Металлорганические комплексы, в которых излучает металл, входящий в состав комплекса.
3. Металлорганические комплексы, излучающие под действием иона другого металла.
4. Комплекс из двух органических веществ, излучающий в присутствии органического «гостя».

Важным требованием к сенсору является способность давать аналитический сигнал, который должен обеспечивать высокую чувствительность и малый предел обнаружения. Сенсор должен обладать следующими свойствами: стабильность, селективность к определяемому иону, кинетически быстрое детектирование, испускание интенсивного и доступного для регистрации сигнала. Обычно таким сигналом является оптическая плотность раствора либо интенсивность люминесцентного излучения. Для того, чтобы сенсор давал такой сигнал, в его структуре должны присутствовать сопряженные π -системы. В связи с этим соединения, используемые для хемосенсоров, содержат ароматические фрагменты (бензол, бифенил, пиридин, хинолин и др.) [1, 2].

Наиболее широко используемый тип хемосенсоров включает в себя рецепторные и сигнальные блоки, соединенные ковалентной связью, но встречаются и сенсоры, работа которых основана на замещении. Последние также состоят из рецепторной и сигнальной частей, но они не связаны между собой ковалентной связью. Принцип его работы заключается в следующем: взаимодействие анализируемого вещества с рецепторным блоком приводит к высвобождению сигнального блока, что влечет за собой изменение оптических свойств системы. Рецепторные блоки, отвечающие за связывание аналита, принято называть ионофорами, а сигнальные блоки – флуорофорами, в случае изменения в спектрах флуоресценции, или хромофорами - в случае изменения в

спектрах электронного поглощения. Так как общий принцип работы хемосенсоров основан на координации молекул катионами металлов (в некоторых случаях комплексообразование проходит с перестройкой системы ковалентных связей), необходимым свойством процесса является его полная обратимость. Люминесценция комплексов металлов связана с природой и относительным расположением электронных уровней атома металла и органического лиганда, а также переходами между ними [2, 3].

2.2. Хемосенсоры на ионы цинка(II).

Одним из важнейших объектов для детектирования является катион цинка(II). Цинк, являющийся одним из наиболее распространенных металлов в теле человека, играет важную роль в росте и развитии живого организма. По этой причине комплексы цинка с различными лигандами биологически активны. Важную роль играют хелатные комплексы цинка с лигандами, содержащими O- и N- донорные атомы, так как они являются компонентами некоторых витаминов и лекарств. На основе комплексов цинка создан ряд препаратов, оказывающих противосудорожное, противовоспалительное, антидеабетическое и другие действия. Исследование комплексов цинка также стимулировано необходимостью поиска новых более чувствительных и селективных аналитических реагентов для определения цинка в металлургии. Но в большей мере люминесцентные органические и координационные соединения являются активной областью изучения из-за их возможного применения в качестве хемосенсоров [4, 5].

В литературе описано большое количество хемосенсоров на катионы цинка(II), разработанных на основе пиридина. Самые простые из них: дипиридиламин и трипиридиламин изображены на рисунке 1. Последний стоит особенно отметить из-за его редкой сине-голубой флуоресценции [6, 7, 8]. В рассматриваемых комплексах люминесценция характеризуется переходом с высшей занятой молекулярной орбитали (ВЗМО), она же π -орбиталь, на низшую свободную молекулярную орбиталь (НСМО), она же π^* -орбиталь. ВЗМО свободного лиганда локализована на двух пиридиновых кольцах, заместителе и неподеленной электронной паре атома азота. ВЗМО комплекса локализована только на заместителе и неподеленной электронной паре атома азота, вследствие

чего энергия ВЗМО комплекса значительно ниже энергии ВЗМО свободного лиганда. НСМО свободного лиганда является π^* -орбиталь локализованная на двух пиридиновых кольцах и заместителе, в то время как НСМО комплекса в большей степени локализована только на одном координирующем пиридиновом кольце. Вследствие этого энергия НСМО свободного лиганда значительно выше энергии НСМО комплекса. Поскольку для 2,2'-дипиридиламина разрыв между ВЗМО и НСМО зависит от заместителя, можно подобрать его таким образом, чтобы модификация привела к улучшению характеристик вещества.

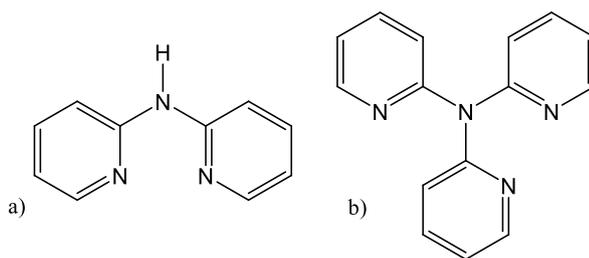


Рис. 1. а. 2,2'-дипиридиламин, б. 2,2',2''-трипиридиламин.

Также предпринимается множество попыток разработки хемосенсоров на основе хинолина и его производных, так как они обладают устойчивой флуоресценцией [9, 10]. Изучается возможность присоединения различных радикалов для более высокой селективности и чувствительности. Дополнительной функцией радикалов является достижение большей растворимости комплексов воде и органических растворителях, что тоже является значительной проблемой в применении хемосенсоров. Разработан лиганд на основе 8-оксихинолина, в котором для повышения растворимости введена алкокси-группа (рисунок 2). Данный лиганд также отличается высокой термической устойчивостью, что делает его более универсальным [10].

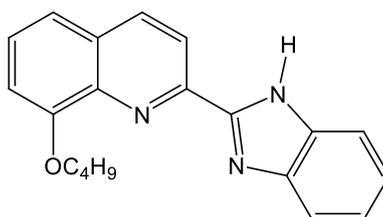


Рис. 2. 2-(бензимидазол-2-ил)-8-бутоксихинолин.

Изучено влияние атомов фтора на фотофизические свойства хинолина и его производных. Некоторые из них, изображенные на рисунке 3, показали более интересные результаты, чем их нефторированные аналоги. Исследования показали, что данные лиганды подходят не только для детектирования цинка,

комплексы которого были подробно изучены, но и для других металлов, таких как алюминий(III) [11].

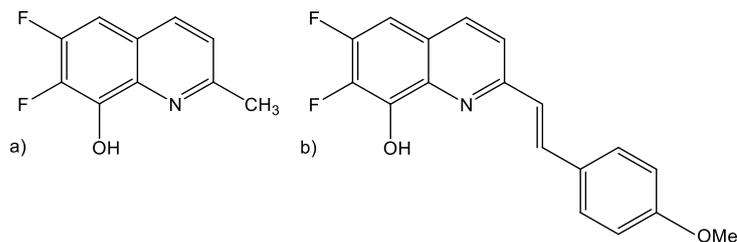


Рис. 3. а. 6,7-дифлуоро-2-метилхинолин-8-ол,

б. 6,7-дифлуоро-2-(4-метилстирил)хинолин-8-ол.

Стоит особенно отметить лиганды, полученные комбинированием хинолина, пиридина и гидразонов, например RAQH (рис. 4). Они ведут себя как плоские тридентатные лиганды и в комплексе с цинком обладают достаточно сильной флуоресценцией, чем обеспечивают обнаружение металла до миллиардных долей [12].

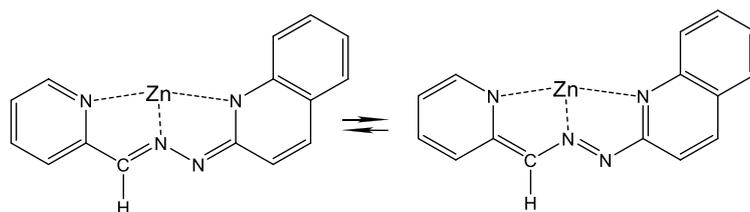


Рис. 4. Комплекс цинка с RAQH.

Также, большое внимание уделяется изучению структур комплексов цинка(II). На структуру образующегося комплекса сильно влияют координационная способность растворителя и наличие координирующих анионов. В случае наличия координирующих агентов преимущественно образуется комплекс состава ZnL , а свободные координационные места занимают молекулы растворителя или координирующие анионы. В отсутствие координирующих агентов (как анионов, так и растворителя) все координационные места занимает лиганд, образуя комплекс состава ZnL_2 (для бидентатных лигандов) [7].

Изучение комплексов цинка с люминесцентными лигандами необходимо как для фундаментальной, так и для прикладной химии. Цинк является одним из самых важных металлов и его содержание необходимо отслеживать как в биологических, так и в природных и технических объектах.

2.3. Методы определения констант устойчивости.

Процессы комплексообразования приводят к изменению ряда физико-химических свойств системы (оптическая плотность, химический потенциал и др.). Если взаимосвязь степени образования комплекса и измеряемых характеристик точно известна, погрешность незначительна, а реакция комплексообразования не протекает нацело, то, измеряя какой-либо из параметров, можно рассчитать составы и константы устойчивости комплексов. Наиболее широко применяемые инструментальные методы перечислены в табл. 1.

Таблица 1. Методы, используемые для определения констант устойчивости, и соответствующие им аналитические сигналы

Метод	Аналитический сигнал
Абсорбционная молекулярная спектроскопия	Оптическая плотность раствора
Молекулярная люминесцентная спектроскопия	Интенсивность люминесцентного излучения
Потенциометрия	Потенциал электрохимической ячейки
Спектроскопия ЯМР	Химический сдвиг ядер атомов металла или лиганда, ширина пиков

Также существует ряд реже используемых методов. Среди них следует упомянуть метод калориметрии, который основан на изменении свободной энергии системы при комплексообразовании, позволяющей определить энтальпию и энтропию реакции. Существуют физико-химические методы, позволяющие определять константу устойчивости через параметры, напрямую не связанные с реакцией комплексообразования. Обычно они сочетаются с использованием методов, описанных в табл. 1. К таким методам относят кинетические и экстракционные методы, а так же методы исследования растворимости. Эти методы позволяют значительно расширить число исследуемых систем [13, 14]. Наиболее часто применяют электрохимические и спектрофотометрические методы.

2.4. Оптические методы определения констант устойчивости.

Все методы, перечисленные в табл. 1, основаны на определении равновесных концентраций частиц в растворе (или их соотношений) и расчете из них соответствующих констант равновесия. Следовательно, чем больше чувствительным является метод, тем шире диапазон допустимых значений для определения констант, и тем точнее он позволяет определять константы устойчивости в данном диапазоне.

Спектрофотометрия позволяет достаточно точно определить концентрации поглощающих веществ в растворе. В настоящее время спектрофотометрию применяют для изучения двухкомпонентных и более сложных систем (комплексов переходных и щелочных металлов с различными лигандами). Для расчета концентраций компонентов системы используют закон Бугера-Ламберта-Бера и закон аддитивности оптических плотностей Фирордта. Главным требованием к использованию спектрофотометрии является отсутствие отклонений от этих законов в рабочем диапазоне концентраций [13].

Обычно, для того, чтобы обеспечить достаточную чувствительность и малую погрешность, рекомендуется работать в диапазоне оптических плотностей от 0,1 до 1. При этом концентрация вещества в растворе обычно составляет 10^{-5} - 10^{-2} М. напрямую определить константу устойчивости комплекса можно при условии, что её величина лежит в диапазоне от 10^3 до 10^{10} . Если исследуемый комплекс очень устойчив, то константу определяют косвенно, исследуя конкурентное комплексообразование. При этом константа реакции лигандного обмена должна лежать в указанном выше диапазоне. Определение констант неустойчивых комплексов осуществляется не через расчет равновесных концентраций, а при помощи других математических методов. Примером может служить метод Бенеши-Гильденбранта [13,14].

Если вещество обладает способностью люминесцировать, в качестве аналитического сигнала может быть использована интенсивность люминесцентного излучения. В таком случае применим аналитический метод, называемый молекулярной люминесцентной спектроскопией. Он обладает явным преимуществом перед спектрофотометрией благодаря большей чувствительности. Это обусловлено тем, что люминесцентный метод является силовым [2].

Существует два наиболее известных метода определения состава образующегося комплекса – метод непрерывных измерений (метод Остромысленского-Жоба) и метод молярных отношений [13]. Данные методы могут быть использованы только при условии, что аналитический сигнал линейно зависит от концентрации компонентов. В случае спектрофотометрии линейная зависимость аналитического сигнала от концентраций компонентов обусловлена законом Бугера-Ламберта-Бера ($A = \varepsilon \times l \times C$). В случае же флуоресцентной спектроскопии в общем случае зависимость нелинейна ($I = \varphi_k \times I_0 \times (1 - 10^{-k \times l \times C})$). Однако, если $k \times l \times C < 0.05$, то верно приближение, что ($I = 2.303 \times \varphi_k \times I_0 \times k \times l \times C$), в таком случае может быть использован как метод Жоба, так и метод молярных отношений.

Метод Жоба. Данный метод состоит в измерении оптических плотностей или интенсивностей серии растворов, в которых сумма общих концентраций металла и лиганда поддерживается постоянной, а их соотношение варьируется. Он требует предварительного отдельного определения молярных коэффициентов поглощения компонентов системы. Суть метода такова, что при соотношении общих концентраций металла и лиганда в системе, соответствующем стехиометрии образующегося комплекса, изменение аналитического сигнала относительно сигнала лиганда в отсутствии металла максимально. В случае ступенчатого комплексообразования этот метод менее информативен.

Метод молярных отношений. Другой метод – метод молярных отношений – состоит в измерении оптических плотностей серии растворов, в которых общая концентрация одного из компонентов поддерживается постоянной, а общая концентрация второго компонента варьируется (титрование). Состав комплекса определяется из кривой титрования методом касательных [13,14].

Задачей данной работы является определение состава и константы устойчивости комплекса исследуемого нами производного б-аминохинолина с ионами цинка(II), а также определение спектрофотометрических характеристик имеющегося лиганда и образующегося комплекса.

Экспериментальная часть

3.1. Оборудование и посуда

- Мерные колбы с притертыми крышками объемом 5.0, 10.0 и 25.0 мл
- Градуированные пипетки объемом 5.00 и 2.00 мл
- Дозатор LLG Micropipette, отбираемый объем от 20 до 200 мкл
- Микрошприц «Hamilton» объемом 10.0 мкл
- Спектрофотометр "Agilent Cary 60", источник излучения – пульсирующая ксеноновая лампа
- Спектрофлуориметр "Horiba Jobin Yvon Fluoromax - 2", источник возбуждения – ксеноновая лампа
- ЯМР спектрометр "Bruker Avance - 400" с рабочей частотой 400МГц
- Аналитические весы AND GR 200 (погрешность ± 0.1 мг)
- Кварцевая кювета ($l=1$ см)

3.2. Реагенты и растворители

- *N,N*-ди(пиридин-2-ил)хинолин-6-амин, синтезированный в работе [15]
- CH_3CN для ВЭЖХ (Merck, Германия)
- CD_3CN (Roth, Германия)
- $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ ($M_r = 372.36$ г/моль) (Sigma Aldrich)

3.3. Приготовление стандартных растворов

Растворы были приготовлены в ацетонитриле. На аналитических весах отвесили рассчитанное количество вещества, навеску перенесли в колбу объемом 25.0 мл, ацетонитрилом довели до метки. Раствор хранили в колбе с притертой крышкой. Концентрации растворов приведены в табл. 2., погрешности рассчитаны на основании технических характеристик весов и погрешности объема колбы.

Таблица 2. Концентрация использованных в исследовании стандартных растворов

Номер раствора	Растворенное вещество	Концентрация, $M \times 10^{-5}$
1	Лиганд	99 ± 1
2	$Zn(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$	147 ± 4

3.4. Определение молярных коэффициентов поглощения лиганда

Для определения молярных коэффициентов поглощения лиганда из стандартного раствора в колбах объемом 5.0 мл была приготовлена серия растворов с различной концентрацией лиганда: 4.97×10^{-5} , 4.14×10^{-5} , 3.31×10^{-5} , 2.49×10^{-5} , 1.66×10^{-5} , 8.3×10^{-6} . Растворы фотометрировали в диапазоне длин волн от 250 до 700 нм.

3.5. Определение состава комплекса с Zn(II) методом Жоба

Для изучения равновесий в системе данным способом в колбах объемом 5.0 мл была приготовлена серия растворов с различным соотношением, но постоянной суммой общих концентраций металла и лиганда (концентрации растворов приведены в табл. 3). Для приготовления растворов использовали раствор лиганда, приготовленный разбавлением раствора стандартной концентрации, и стандартный раствор перхлората цинка. Растворы фотометрировали в диапазоне длин волн от 250 до 700 нм.

Таблица 3. Концентрации растворов для определения состава методом Жоба

Номер раствора	C_M/C_L	$C_M, M \times 10^{-6}$	$C_L, M \times 10^{-6}$	$V_M, \text{мкл}$	$V_L, \text{мл}$
1	1/0	0	49.7	0	5.00
2	0.83/0.17	8.28	41.4	28	4.17
3	0.67/0.33	16.6	33.1	56	3.33
4	0.5/0.5	24.9	24.9	84	2.50
5	0.33/0.67	33.1	16.6	112	1.17
6	0.17/0.83	41.4	8.28	140	0.83

3.6. Спектрофотометрическое титрование лиганда ионами Zn(II)

Титрования проводили следующим образом. В колбе объемом 25.0 мл был приготовлен раствор с концентрацией лиганда (1.99×10^{-5} М). 3.00 мл полученного раствора перенесли в кварцевую кювету. После чего раствор фотометрировали в диапазоне длин волн от 250 до 800 нм. Титрование проводили, добавляя микрошприцем небольшие порции раствора цинка к раствору лиганда в кювете. После каждого добавления раствор тщательно перемешивали и фотометрировали в диапазоне длин волн от 250 до 800 нм. Для изучения равновесий в системе было проведено два спектрофотометрических титрования. Концентрации полученных растворов приведены в приложениях 1 и 2.

3.7. Флуориметрическое титрование лиганда ионами Zn(II)

Титрование проводили следующим образом. В колбе объемом 10.0 мл приготовили раствор с концентрацией (7.95×10^{-6} М). Для первого титрования 3.00 мл раствора перенесли в кварцевую кювету. Титрование проводили, добавляя микрошприцем небольшие порции раствора цинка к раствору лиганда. После каждого добавления цинка раствор тщательно перемешивали и регистрировали спектры флуоресценции в диапазоне длин волн от 365 до 500 нм при длине волны возбуждения 348 нм. Провели два титрования. Концентрации полученных растворов приведены в приложениях 3 и 4.

3.8. ЯМР-титрование лиганда ионами Zn(II)

Химические сдвиги определяли относительно тетраметилсилана (ТМС) используя в качестве внутреннего стандарта CHD_2CN . Для проведения ЯМР-титрования в колбе объемом 5.0 мл был приготовлен стандартный раствор перхлората цинка в дейтерированном ацетонитриле ($C = 0.25$ М). ЯМР-титрование проводилось следующим образом. 9.9 мг лиганда поместили в ЯМР-ампулу и растворили в 600 мкл дейтерированного ацетонитрила. Титрование проводили, добавляя небольшие порции раствора цинка к раствору лиганда. После каждого добавления цинка раствор тщательно перемешивали и регистрировали ПМР-спектр. Концентрации полученных растворов приведены в приложении 5.

Обсуждение результатов

4.1. Расчет молярных коэффициентов поглощения

Спектры, полученные в результате эксперимента по определению молярных коэффициентов поглощения свободного лиганда, приведены на рисунке 5а. Графики градуировочной зависимости приведены на рисунке 5б.

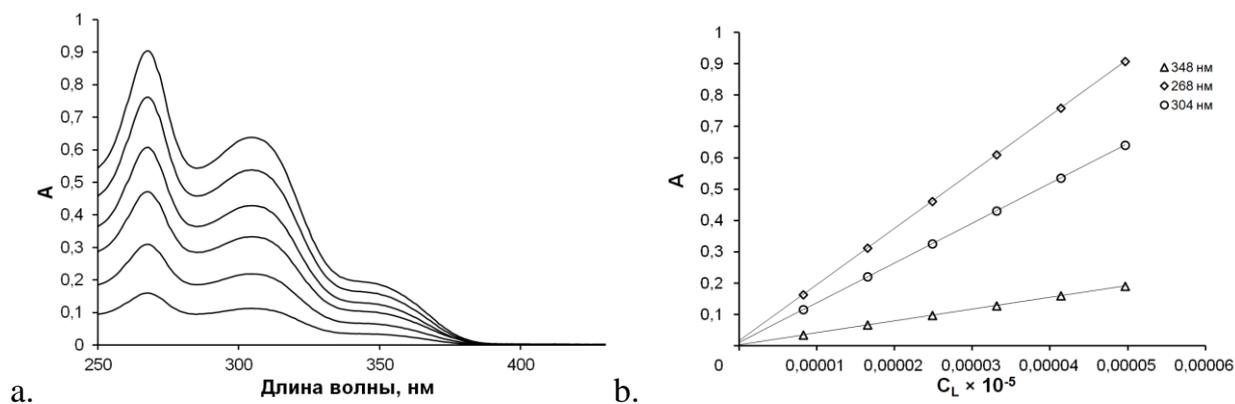


Рис. 5. а. Спектры поглощения растворов свободного лиганда при различных концентрациях (M): 4.97×10^{-5} , 4.14×10^{-5} , 3.31×10^{-5} , 2.49×10^{-5} , 1.66×10^{-5} , 8.3×10^{-6} , $l=1$ см. **б.** График зависимости оптической плотности раствора свободного лиганда от его концентрации при $\lambda = 268, 304$ и 348 нм.

Тангенс угла наклона прямой равен искомому молярному коэффициенту поглощения. Молярные коэффициенты поглощения приведены в таблице 4.

Таблица 4. Значения коэффициентов поглощения лиганда ($n = 6$, $p = 0.95$)

λ , нм	ϵ , л \times моль $^{-1}$ \times см $^{-1}$
268	18000 \pm 500
304	12700 \pm 400
348	3800 \pm 200

4.2. Определение состава комплекса методом Жоба

Из литературных данных известно, что ионы цинка(II) хорошо связываются различными производными пиридина, в частности с дипиридиламином. Из структуры исследуемого лиганда, изображенной на рисунке 6, ясно, что металл может связываться как атомом азота хинолина, так и атомами азота 2,2'-дипиридиламина. При этом более вероятно, что, благодаря хелатирующему эффекту, связывание будет осуществляться по пиридиламиновому фрагменту.

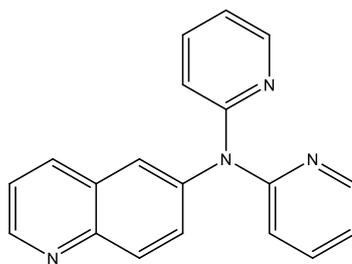


Рис. 6. Структура исследуемого лиганда.

В случае образования единственного очень устойчивого комплекса, график кривой Жоба представляет собой две правильные прямые, пересекающиеся в точке равной отношению стехиометрических коэффициентов металла к лиганду в комплексе. Если же образующийся комплекс имеет среднюю устойчивость, линейность графика имеет место лишь в непосредственной близости к точкам пересечения с осью абсцисс, а для промежуточных значений график представляет собой плавную симметричную кривую. Абсцисса точки максимума на графике показывает отношение соответствующих стехиометрических коэффициентов. Несимметричность кривой Жоба говорит об образовании более одного комплекса [16]. Кривая, построенная по методу Жоба, представлена на рисунке 7.

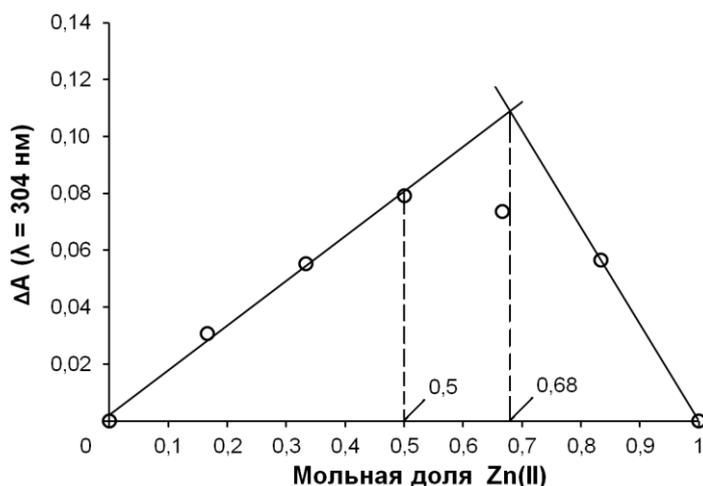


Рис. 7. Кривая Жоба для системы лиганд/цинк(II).

Из данных, полученных в ходе эксперимента, видно, что комплекс обладает средней устойчивостью. Максимуму кривой соответствует значение абсциссы равное 0.5, что говорит об образовании комплекса состава ZnL^{2+} . В то же время, касательные, проведенные к сторонам кривой, пересекаются при значении абсциссы равном 0.68, что говорит об образовании комплекса состава Zn_2L^{4+} , это подтверждается несимметричностью кривой, имеющей более крутой наклон в области больших концентраций цинка(II).

Из полученных данных можно сделать вывод, что в системе образуется два комплекса с составами ZnL^{2+} и Zn_2L^{4+} .

4.3. Определение константы устойчивости комплекса методом УФ-титрования

Изменение спектров поглощения при добавлении различных количеств цинка и кривая титрования представлены на рисунке 8. Наличие в спектрах изобестических точек указывает на то, что в растворе присутствуют как минимум две поглощающие частицы, а именно: свободный лиганд и комплекс. Спектры и кривые титрования в обоих титрованиях имеют одинаковую форму, два титрования проводилось с целью уменьшить погрешность концентраций приготовленных растворов, что должно позволить получить более точный результат.

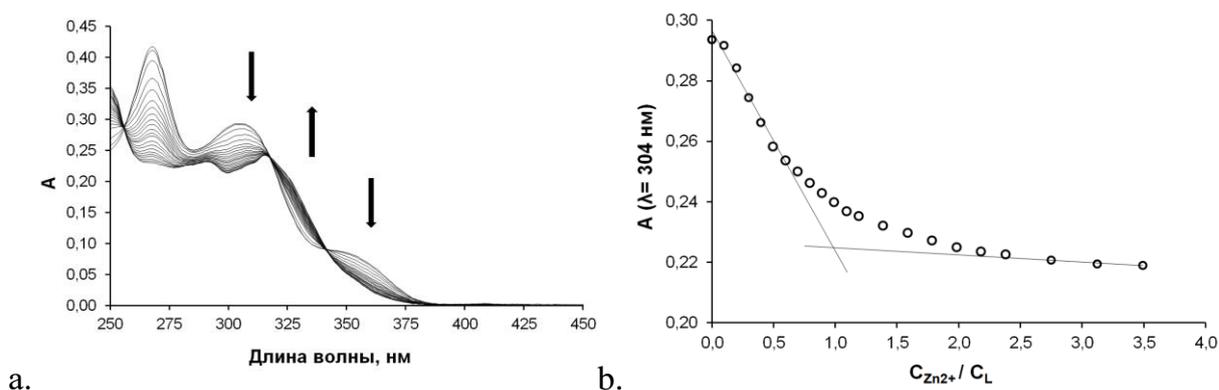


Рис. 8. а. Спектры поглощения растворов с одинаковой общей концентрацией лиганда и разными общими концентрациями ионов цинка(II). Стрелки показывают направление изменения спектров в ходе титрования. **б.** График зависимости оптической плотности от соотношения металл/лиганд при $\lambda = 304$ нм.

Положение перегиба на кривой титрования указывает на образование комплекса состава ZnL^{2+} . Полученные данные были обработаны с помощью программы Specfit-32, с использованием нелинейного метода наименьших квадратов. Константа устойчивости комплекса для системы $L-ZnL^{2+}$ равна $\lg\beta = (5.60 \pm 0.06)$. Рассчитанные молярные коэффициенты поглощения частиц и диаграмма их распределения приведены на рисунке 9. Для системы $L-ZnL^{2+}-Zn_2L^{4+}$ расчет показывает $\lg\beta_1 = (7.1 \pm 0.1)$ и $\lg\beta_2 = (12.6 \pm 0.2)$ для

комплексов ZnL и Zn_2L соответственно. Рассчитанные молярные коэффициенты поглощения частиц и диаграмма их распределения приведены на рисунке 10.

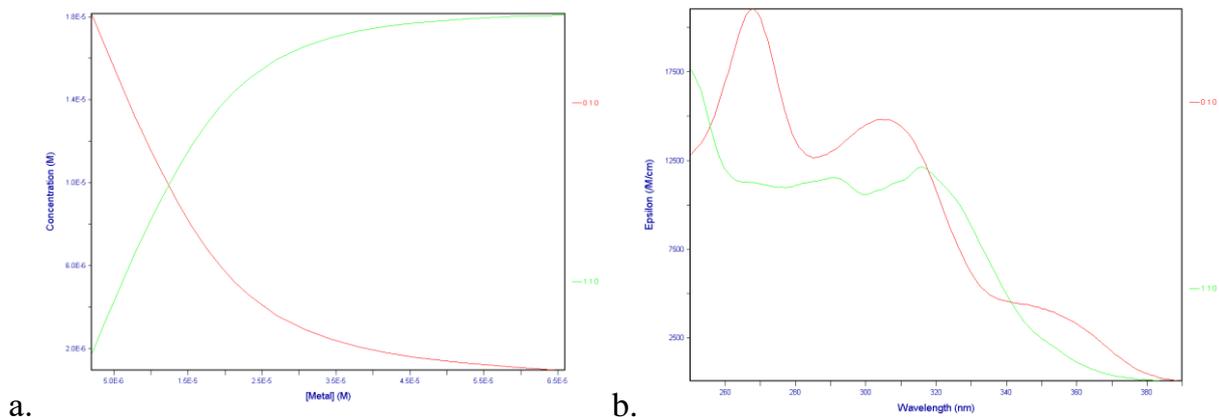


Рис. 9. а. Диаграммы распределения фотометрического титрования для системы $L-ZnL^{2+}$, **б.** Зависимость молярных коэффициентов поглощения от длины волны для системы $L-ZnL^{2+}$, Красным обозначен лиганд, зеленым – комплекс ZnL^{2+}

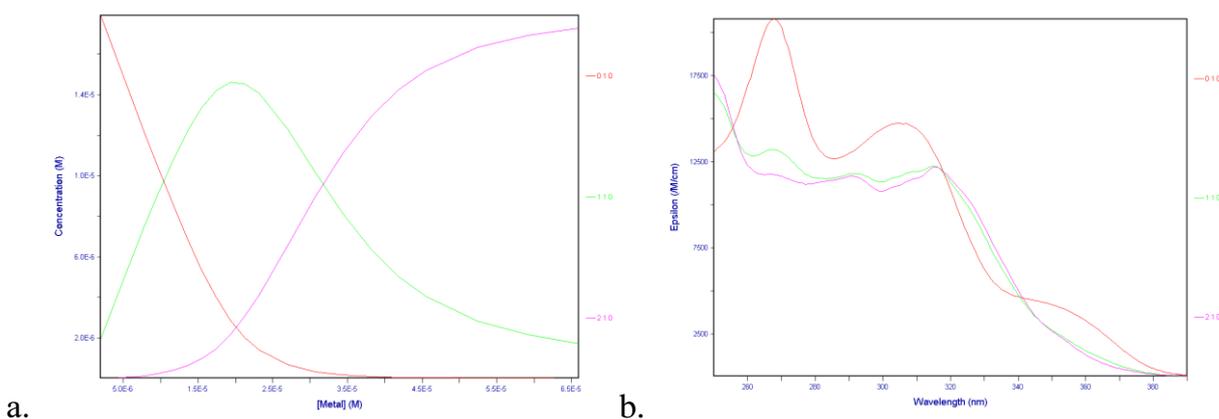


Рис. 10. а. Диаграммы распределения фотометрического титрования для системы $L-ZnL^{2+}-Zn_2L^{4+}$, **б.** Зависимость молярных коэффициентов поглощения от длины волны для системы $L-ZnL^{2+}-Zn_2L^{4+}$, Красным обозначен лиганд, зеленым – комплекс ZnL^{2+} , розовым – комплекс Zn_2L^{4+} .

Полагаясь на литературные данные, можно предположить, что оставшиеся свободными координационные места (к.ч. цинка(II) = 4) заняты ацетонитрилом, так как он является координирующим растворителем.

4.4. Определение константы устойчивости методом флуориметрического титрования

Изменение спектров люминесценции при добавлении различных количеств цинка и кривая титрования представлены на рисунке 11.

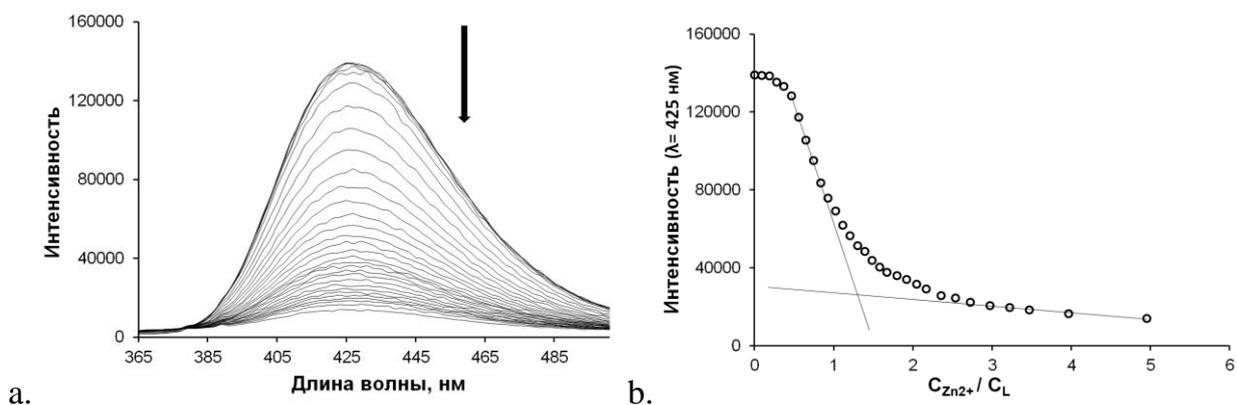


Рис. 11. а. Спектры люминесценции растворов с одинаковой общей концентрацией лиганда и разными общими концентрациями ионов цинка(II). **б.** График зависимости интенсивности от соотношения металл/лиганд $\lambda = 425$ нм.

Полученные данные были обработаны с помощью программы Specfit-32, с использованием нелинейного метода наименьших квадратов, $\lg\beta = (5.86 \pm 0.01)$ для образования единственного комплекса состава ZnL^{2+} , $\lg\beta_1 = (7.0 \pm 0.1)$. и $\lg\beta_2 = (12.6 \pm 0.2)$ для образования двух комплексов состава ZnL^{2+} и Zn_2L^{4+} соответственно.

Данные, полученные для системы $L-ZnL^{2+}-Zn_2L^{4+}$, полностью согласуются с данными УФ-титрования, что свидетельствует о надежности полученных результатов. Данные, полученные для системы $L-ZnL^{2+}$, также довольно близки, скорее всего это связано с близостью значений молярных коэффициентов поглощения комплексов состава ZnL^{2+} и Zn_2L^{4+} (зависимость молярных коэффициентов поглощения от длины волны приведена на рисунке 10) Также, из полученных данных был определен предел обнаружения цинка методом флуориметрии с использованием данного лиганда, он составил 2×10^{-6} М. При этом тушение интенсивности флуоресценции при добавлении 1 эквивалента ионов цинка(II) заметно невооруженным глазом.

4.5. Изучение связывания цинка лигандом методом ЯМР-титрования

С целью подтверждения определенного нами строения комплекса было проведено титрование с использованием спектроскопии ядерного магнитного резонанса. В молекуле лиганда присутствует 10 типов атомов 1H , чему свидетельствует полученный ЯМР-спектр свободного лиганда. При постепенном добавлении ионов цинка(II) наблюдается смещение химических сдвигов атомов

водорода, принадлежащих лиганду (рисунок 11). При этом сигналы пиридинового фрагмента смещаются в значительно большей степени, чем сигналы хинолина. Это указывает на более серьезное перераспределение электронной плотности в области пиридинового фрагмента.

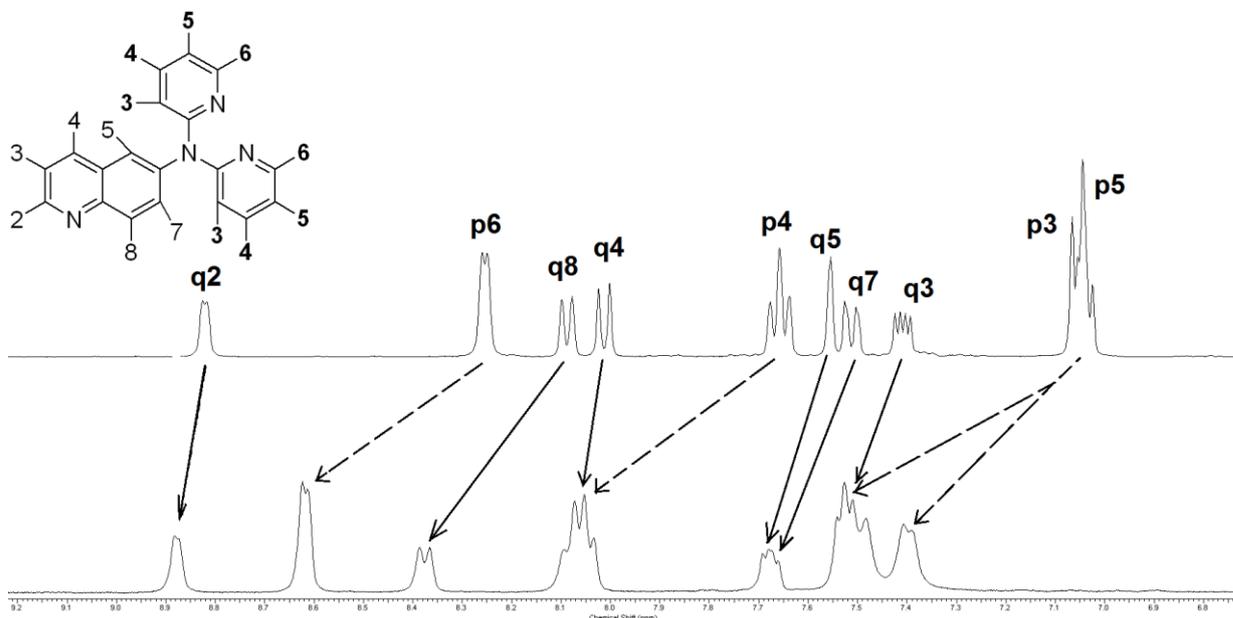


Рис. 11. Смещение сигналов водорода. Сверху ЯМР-спектр свободного лиганда, снизу ЯМР-спектр раствора лиганда с 1.5 эквивалентами ионов цинка(II). Смещения протонов пиридинового фрагмента обозначены пунктирными стрелками, хинолинового фрагмента - непрерывными стрелками.

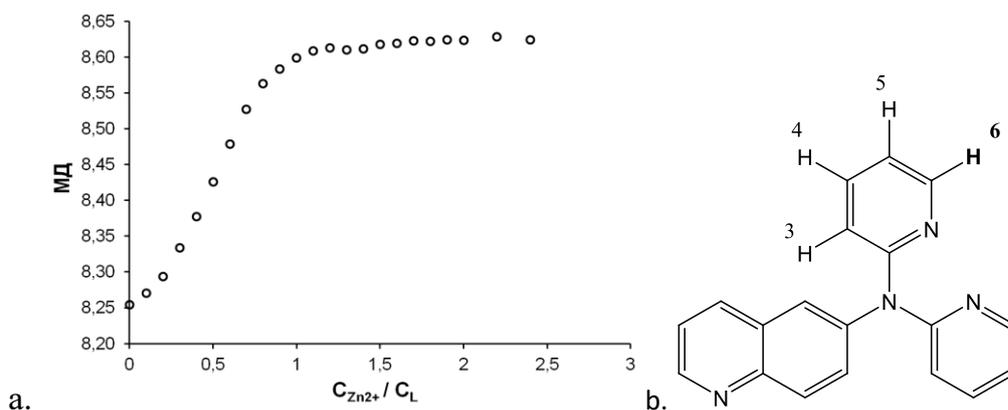


Рис. 12. а. Значение химического сдвига сигнала атома водорода пиридина в положении 6. **б.** Положение представленного на кривой титрования атома водорода пиридина в структуре лиганда.

Наблюдаемый эффект подтверждает предположение о том, что связывание ионов цинка(II) происходит преимущественно по пиридиновому фрагменту. Изменения химического сдвига атома водорода пиридинового кольца,

находящегося в положении 6, относительно тетраметилсилана, приведены на кривой титрования на рисунке 12.

Перегиб на кривой титрования атома водорода пиридинового кольца указывает на образование комплекса состава ZnL^{2+} . Однако, изменения химических сдвигов атомов водорода хинолинового фрагмента не дают столь однозначных результатов. Изменения химического сдвига атома водорода хинолинового фрагмента, находящегося в положении 3, относительно тетраметилсилана, приведены на кривой титрования на рисунке 13.

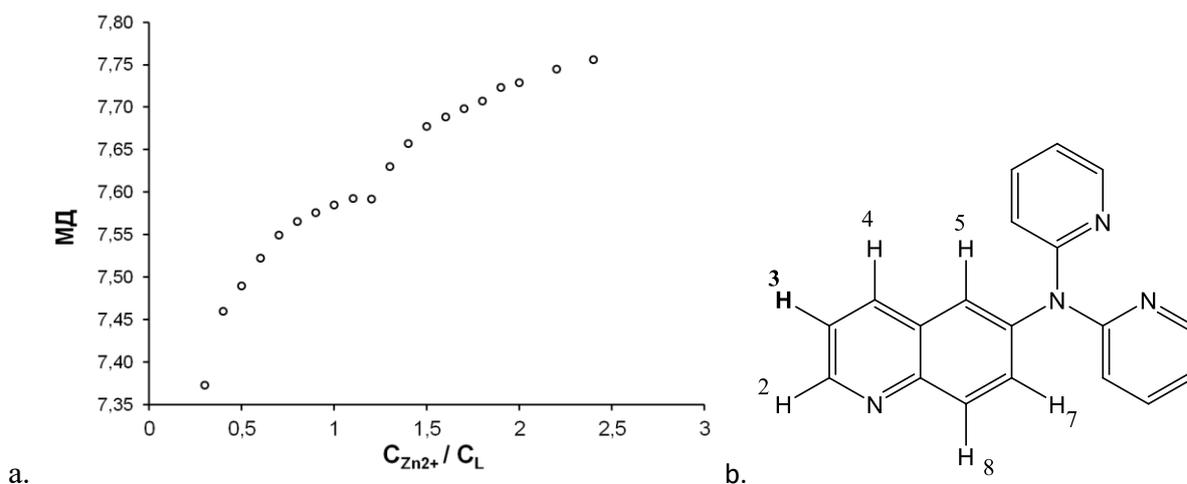


Рис. 12. а. Значение химического сдвига сигнала атома водорода хинолина в положении 3. **б.** Положение представленного на кривой титрования атома водорода хинолина в структуре лиганда.

Наличие на кривой титрования двух перегибов говорит о ступенчатом образовании комплекса. Первый перегиб соответствует образованию комплекса ZnL^{2+} , а второй образованию комплекса состава Zn_2L^{4+} . Из полученных данных следует, что катионы цинка преимущественно связываются пиридиновым фрагментом, благодаря его хелатирующим свойствам. Однако, в избытке металла связывание происходит и по азоту хинолинового фрагмента, вследствие чего образуется комплекс состава Zn_2L^{4+} , что полностью согласуется с данными, полученными методом Жоба и подтверждает выдвинутую теорию об образовании двух комплексов состава ZnL^{2+} и Zn_2L^{4+} .

Выводы

1. Измерены молярные коэффициенты поглощения лиганда при $\lambda=268, 304$ и 348 нм, они составляют $18000\pm 500, 12700\pm 400$ и 3800 ± 200 л \times моль⁻¹ \times см⁻¹ соответственно.

2. Методами спектрофотометрии, флуоресценции и ЯМР установлено, что данный лиганд в растворе ацетонитрила образует с Zn(II) комплексы состава ZnL^{2+} и Zn_2L^{4+} .

3. Установлено, что данные комплексы обладают средней устойчивостью. На основании проведенных спектрофотометрического и флуоресцентного титрований рассчитаны константы устойчивости комплексов состава ZnL^{2+} и Zn_2L^{4+} , они составляют $\lg\beta_1 = (7.1 \pm 0.1)$ и $\lg\beta_2 = (12.6 \pm 0.2)$ соответственно.

4. Для комплекса состава ZnL^{2+} рассчитаны молярные коэффициенты поглощения при $\lambda=268, 291$ и 315 нм, они составляют $11700\pm 400, 11600\pm 400$ и 12200 ± 400 л \times моль⁻¹ \times см⁻¹ соответственно. Для комплекса состава Zn_2L^{4+} рассчитаны молярные коэффициенты поглощения при $\lambda=268, 291$ и 315 нм, они составляют $13300\pm 400, 11800\pm 400, 12200\pm 400$ л \times моль⁻¹ \times см⁻¹ соответственно.

5. Показано, что предел обнаружения Zn(II) данным лигандом равен 2×10^{-6} М.

6. Список литературы

1. Prasana de Silva A., Nimal Gunaratne H. Q., Thorfinnur Gunnlaugsson, Allen J. M. Huxley, Colin P. McCoy, Jude T. Rademacher, Terence E. Rise. Signaling Recognition Events with Fluorescent Sensors and Switches // *Chem. Rev.* 1997, 1515-1566.
2. Основы аналитической химии. Т. 2 // под. Ред. Ю. А. Золотова. – 4-е изд., М.: Издательский центр «Академия», 2010. С. 166-185.
3. Uglov A. N., Bessmertnykh-Lemeune A., Guilard R., Averin A. D., Beletskaya I. P. Optical methods for the detection of heavy metal ions // *Russ. Chem. Rev.* 2014. V. 83. P. 196-224.
4. Anastasiadou D., Zianna A., Gdaniec M., Sigalas M. P., Coutouli-Argyropoulou E., Czapik A., Lalia-Kantouriv M. Unusual coordination mode of 3-methoxysalicylaldehyde in mononuclear zinc(II) complexes with nitrogenous bases: Synthesis, structural characterization and theoretical studies // *Polyhedron* 2015. V. 87. P. 275-285.
5. Zianna A., Psomas G., Hatzidimitriou A., Coutouli-Argyropoulou E., Lalia-Kantouriv M. Zinc complexes of salicylaldehydes: Synthesis, characterization and DNA-binding properties // *J. Inorg. Biochem.* 2013. V. 127. P. 116-126
6. Yang W., Schmider H., Wu Q., Zhang Y., Wang S. Syntheses, Structures, and Fluxionality of Blue Luminescent Zinc(II) Complexes: $Zn(2,2',2''\text{-tpa})Cl_2$, $Zn(2,2',2''\text{-tpa})_2(O_2CCF_3)_2$, and $Zn(2,2',3''\text{-tpa})_4(O_2CCF_3)_2$ (tpa = Tripyridylamine) // *Inorg. Chem.* 2000. V. 39. P. 2397-2404.
7. Han K., Sun H. L., Soo H. K., Young M. L., Eun Y. L., Byeong K. P., Eun Y. K., Cheal K., Sung-Jin K., Youngmee K. Construction of Zn(II) Compounds with a Chelating 2,2'-Dipyridylamine (Hdpa) Ligand: Anion Effect and Catalytic Activities // *Eur. J. Inorg. Chem.* 2008. I. 3. P. 408-415.
8. Kin-Ying Ho, Wing-Yiu Yu, Kung-Kai Cheung, Chi-Ming Che. A blue photoluminescent $[Zn(L)(CN)_2]$ (L = 2,2-dipyridylamine) material with a supramolecular one-dimensional chain structure // *Chem. Commun.* 1998. P. 2101-2102

9. Ponnuvel K., Kumar M., Padmini V. A new quinoline-based chemosensor for Zn^{2+} ions and their application in living cell imaging // *Sens. Actuators B*. 2016. V. 227. P 242-247.
10. Shan-ji Li , Yu Li , Jing-An Zhang. Synthesis and performances of a tridentate 8-hydroxyquinoline derivative ligand and its zinc complex // *Inorg. Chem. Commun.* 2012. V. 20. P. 334-339.
11. Nosova E. V., Stupina T. V., Lipunova G. N., Charushin V. N. Synthesis and fluorescent properties of 2-styryl-6,7-difluoro-8-hydroxyquinoline and its Zn(II) complex // *J. Fluorine Chem.* 2013. V. 150. P. 36-38.
12. Ryan D. E., Snape F., Winpe M. Ligand structure and fluorescence of metal chelates; N-heterocyclic hydrazones with zinc // *Anal. Chim. Acta.* 1972. V. 58. P 101-106.
13. Бек М., Надьпал И. Исследование комплексообразования новейшими методами: Пер. с англ. М.: Мир, 1989. 413с.
14. Хартли Ф., Бергес К., Олкок Р. Равновесия в растворах: Пер. с англ. М.: Мир, 1983. 360 с.
15. Харламова А. Д., Абель А. С., Аверин А. Д., Белецкая И. П. Синтез *N,N*-ди(пиридин-2-ил)хинолин-6-аминa и исследование его ионофорных свойств с помощью спектроскопии УФ, Флуоресценции и ЯМР // Тезисы докладов I Всероссийской молодежной школы-конференции «Успехи синтеза и комплексообразования», Москва, РУДН, 25-28 апреля 2016, С. 190.
16. Ulatowski F., Dabrova K., Balakier T., Jurczak J. Recording the limited applicability of Job Plots Host-Guest interactions in supramolecular chemistry // *J. Org. Chem.* 2016. V. 81. P. 1746-1756.

Приложения

Приложение 1

Значения концентраций цинка(II) и лиганда для первого спектрофотометрического титрования

№	ΔV , мкл	V, мкл	C_M , $M \times 10^{-5}$	C_L , $M \times 10^{-6}$	C_M/C_L , экв
1	0	0	0	1.99	0
2	8	8	0.39	1.98	0.20
3	8	16	0.79	1.98	0.40
4	8	24	1.18	1.97	0.60
5	8	32	1.58	1.97	0.80
6	8	40	1.97	1.96	1.00
7	8	48	2.36	1.96	1.21
8	8	56	2.76	1.95	1.40
9	8	64	3.15	1.95	1.62
10	8	72	3.54	1.94	1.83
11	8	80	3.94	1.94	2.00
12	8	88	4.33	1.93	2.24
13	16	104	5.12	1.92	2.67
14	16	120	5.91	1.91	3.10
15	20	140	6.89	1.90	3.63
16	20	160	7.88	1.89	4.18
17	20	180	8.86	1.87	4.73
18	20	200	9.85	1.86	5.29
19	20	220	10.83	1.85	5.85

Приложение 2

Значения концентраций цинка(II) и лиганда для второго спектрофотометрического титрования

№	ΔV , мкл	V, мкл	$C_M, M \times 10^{-5}$	$C_L, M \times 10^{-5}$	C_M/C_L , экв
1	0	0	0	1.99	0
2	4	4	0.20	1.98	0.10
3	4	8	0.40	1.98	0.20
4	4	12	0.59	1.98	0.30
5	4	16	0.79	1.98	0.40
6	4	20	0.99	1.97	0.50
7	4	24	1.18	1.97	0.60
8	4	28	1.38	1.97	0.70
9	4	32	1.58	1.97	0.80
10	4	36	1.77	1.96	0.90
11	4	40	1.97	1.96	1.00
12	4	44	2.17	1.96	1.10
13	4	48	2.36	1.96	1.21
14	8	56	2.76	1.95	1.40
15	8	64	3.15	1.95	1.62
16	8	72	3.54	1.94	1.83
17	8	80	3.94	1.94	2.04
18	8	88	4.33	1.93	2.24
19	8	96	4.73	1.93	2.45
20	15	111	5.46	1.92	2.85
21	15	126	6.20	1.91	3.25
22	15	141	6.94	1.90	3.66

Приложение 3

Значения концентраций цинка(II) и лиганда для первого флуориметрического титрования

№	ΔV , мкл	V, мкл	$C_M, M \times 10^{-5}$	$C_L, M \times 10^{-6}$	C_M/C_L , экв
1	0	0	0	7.95	0
2	3	3	0.15	7.94	0.19
3	3	6	0.30	7.93	0.37
4	3	9	0.44	7.92	0.56
5	3	12	0.59	7.92	0.75
6	3	15	0.74	7.91	0.93
7	3	18	0.89	7.90	1.12
8	4	22	1.08	7.89	1.37
9	4	26	1.28	7.88	1.62
10	6	32	1.58	7.86	2.00
11	8	40	1.97	7.84	2.51
12	8	48	2.36	7.82	3.02
13	8	56	2.76	7.80	3.53
14	8	64	3.15	7.78	4.05
15	8	72	3.54	7.76	4.57
16	8	80	3.94	7.74	5.09
17	16	96	4.73	7.70	6.14

Приложение 4

Значения концентраций цинка(II) и лиганда для второго флуориметрического титрования.

№	ΔV , мкл	V, мкл	C_M , $M \times 10^{-6}$	C_L , $M \times 10^{-6}$	C_M/C_L , экв
1	0	0	0	7.95	0
2	1.5	1.5	0.74	7.94	0.10
3	1.5	3	1.48	7.94	0.19
4	1.5	4.5	2.22	7.94	0.28
5	1.5	6	2.95	7.93	0.37
6	1.5	7.5	3.69	7.93	0.47
7	1.5	9	4.43	7.92	0.56
8	1.5	10.5	5.17	7.92	0.65
9	1.5	12	5.91	7.92	0.75
10	1.5	13.5	6.65	7.91	0.84
11	1.5	15	7.39	7.91	0.93
12	1.5	16.5	8.12	7.90	1.03
13	1.5	18	8.86	7.90	1.12
14	1.5	19.5	9.6	7.90	1.22
15	1.5	21	10.3	7.89	1.31
16	1.5	22.5	11.1	7.89	1.40
17	1.5	24	11.8	7.88	1.50
18	1.5	25.5	12.6	7.88	1.59
19	1.5	27	13.3	7.88	1.69
20	2	29	14.3	7.87	1.81
21	2	31	15.3	7.87	1.94
22	2	33	16.2	7.86	2.07
23	2	35	17.2	7.86	2.19
24	3	38	18.7	7.85	2.38
25	3	41	20.2	7.84	2.57
26	3	44	21.7	7.83	2.77
27	4	48	23.6	7.82	3.02
28	4	52	25.6	7.81	3.28
29	4	56	27.6	7.80	3.53
30	8	64	31.5	7.78	4.05
31	16	80	39.4	7.74	5.09

Приложение 5

Значения концентраций цинка(II) и лиганда для ЯМР-титрования

№	ΔV , мкл	V, мкл	$C_M, M \times 10^{-2}$	$C_L, M \times 10^{-2}$	C_M/C_L , экв
1	0	0	0	5.54	0
2	13	13	0.54	5.42	0.10
3	13	26	1.08	5.31	0.20
4	13	39	1.63	5.20	0.31
5	13	52	2.17	5.10	0.43
6	13	65	2.71	5.00	0.54
7	13	78	3.25	4.90	0.66
8	13	91	3.79	4.81	0.79
9	13	104	4.33	4.72	0.92
10	13	117	4.88	4.63	1.05
11	13	130	5.42	4.55	1.19
12	13	143	5.96	4.47	1.33
13	13	156	6.50	4.39	1.48
14	13	169	7.04	4.32	1.63
15	13	182	7.58	4.25	1.79
16	13	195	8.13	4.18	1.94
17	13	208	8.67	4.11	2.11
18	13	221	9.21	4.05	2.28
19	13	234	9.75	3.98	2.45
20	13	247	10.29	3.92	2.62
21	13	260	10.83	3.86	2.80
22	26	286	11.92	3.75	3.18
23	26	312	13.00	3.64	3.57