

EXAMINATION OF FLUORESCENCE PROPERTIES OF IMIDAZOLE AND SCHIFF BASE LIGANDS DERIVED FROM 1,10-PHENANTHROLINE

İbrahim ERDEN *, İbrahim E. ÖZYİĞİT

Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Esenler-İSTANBUL.

Geliş/Received: 26.05.2005 Kabul/Accepted: 05.10.2005

ABSTRACT

Time Resolved Emission Spectra (TRES) of newly synthesized a Schiff base and an imidazole ligands both derived from 1,10-phenanthroline were obtained with PTI Time Master C71 model spectrofluorometer and were calculated their fluorescence lifetimes. Optimum solvent and concentration in which the fluorescence properties of each ligands were observed the best were determined. Ethanol, methanol, dimethylsulfoxide (DMSO) and chloroform were used as solvents. As a result of several experiments optimum fluorescence emissions of the ligands were obtained in DMSO and chloroform, It was found that the optimum interval of concentration was between 1.10^{-4} M and 1.10^{-5} M. The fluorometric data showed that the ligands could be used for determination of markable quantities of the ions, Ni^{2+} , Cu^{2+} and Co^{2+} .

Keywords: Schiff base, Imidazole, Phenanthroline, Fluorescence.

1,10-FENANTROLİNDEN ELDE EDİLEN İMİDAZOL VE SCHIFF BAZI LİGANDLARININ FLORESANS ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Sentezlenen 1,10-fenantrolin türevi olan Schiff bazı ve imidazol ligandlarının PTI-Time Master C71 model spektrofloreometre ile zaman ayrımlı emisyon spektrumları [Time Resolved Emission Spectra (TRES)] alındı ve floresans ömürleri (fluorescence lifetime) hesaplandı. Herbir ligandın floresans özelliklerinin en iyi gözlemlendiği çözücü ve konsantrasyon tesbit edildi. Çözücü olarak etanol, metanol, DMSO ve kloroform kullanıldı. Yapılan çalışmalar sonucunda ligandların optimum floresans emisyonları DMSO ve kloroformda elde edildi. En uygun konsantrasyon aralığının 1.10^{-4} M- 1.10^{-5} M olduğu belirlendi. Florometrik veriler bu ligandların Ni^{2+} , Cu^{2+} ve Co^{2+} iyonlarının eser miktarlarının tayininde kullanılabilir olduğunu göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Schiff bazı, İmidazol, Fenantrolin, Floresans.

1. GİRİŞ

Schiff bazı ligandlarında görülen floresans özelliğinin kompleksleşme durumunda metal konsantrasyonuna bağlı olarak düzenli şekilde değişiminin saptanması metal tayininde analitik amaçlarla kullanılmasını sağlamaktadır. Bunun yanı sıra, literatürde bu tür bileşiklerin, özellikle farmasötik kimyasal maddelerin, haşere öldürücülerin ve bazı plastik maddelerin hazırlanmasında ara maddeler olarak kullanıldığı belirtilmektedir[1-5].

* Sorumlu Yazar/Corresponding Autor: e-posta: ierden@yildiz.edu.tr, tel: (0212) 449 19 54

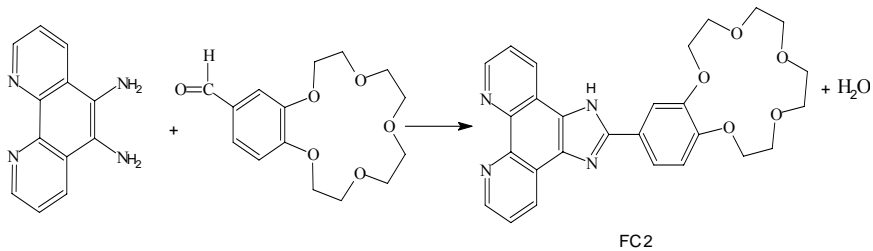
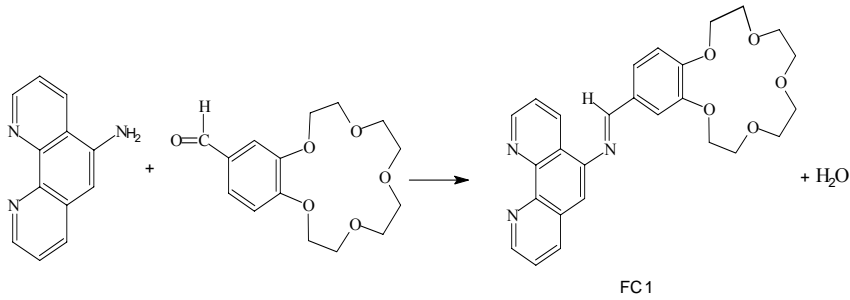
Heterohalkalı ligand ve türevleri, biyolojik etkileri nedeniyle, oldukça önemli bileşiklerdir. Halka üyesi olarak azot, kükürt ve oksijen gibi atomları içeren heterohalkalı bileşikler hem endüstrinin çeşitli alanlarında hem de tıpta yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar. Bunlar arasında benzimidazoller, biyolojik aktivitelerinin çeşitliliği nedeniyle önemli bir yere sahiptir. İlk kez sentez edilen benzimidazolün 5,6-dimetil türevinin B₁₂ vitamininin yapısında bulunduğu anlaşıldıktan sonra bu sınıf bileşiklere olan ilgi oldukça artmıştır. İmidazol, yarı eksojen bir amino asit olan histidin yapısında bulunur ve histidin kalıntısını içeren bir çok enzim vardır. Bunların çoğu hidrolitik enzimlerdir ve imidazol kısmı, hidroliz reaksiyonunun aktif merkezini oluşturur.

1,10-Fenantrolin ve türevleri ligand olarak biyokimya çalışmalarında özellikle metaloenzimlerin inhibisyonlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada sentezlediğimiz yeni floresan ligandların metal bağımlı bazı biyokimyasal süreçlerin izlenmesinde floresans tekniği ile uygulama alanı bulması beklenmektedir. 1,10-Fenantrolin ve türevleri çok dişli ligand özelliği gösterdiğinden, geçiş metallere pek çoğu ile kararlı koordinasyon bileşikleri oluşturmaktadır[6].

1,10-Fenantrolin ve türevlerinin bu özelliği literatürde pek çok çalışmaya konu olmuştur[6-12]. Biz bu çalışmada sentezi gerçekleştirilen maddelerin floresans özelliklerini ve bu özelliklerinin biyolojik sistemlerdeki geçiş metallere eser miktarları ile oluşturacağı koordinasyon bileşiklerinin kantitatif tayinlerine uygulanabilirliğini araştırdık.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

5-Amino-1,10-fenantrolin ve 5,6-diamino-1,10-fenantrolin ile 4'-formilbenzo[15-crown-5] kondensasyon reaksiyonu sonucu sırası ile N₃O₅, N₄O₅ donör atomlarını içeren yeni bir Schiff bazı (FC1) ve imidazol (FC2) ligandı sentezlendi. FC1 ve FC2 ligandlarının sentezine ait reaksiyonlar şemada görülmektedir[12-14].

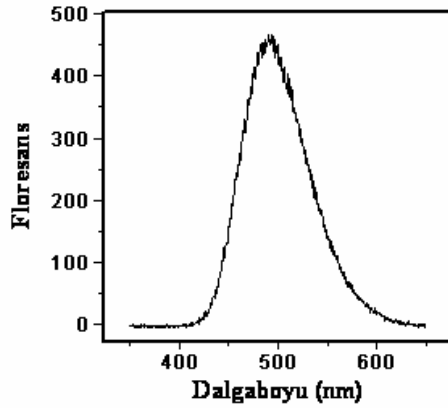


Şema

Examination of Fluorescence Properties of ...

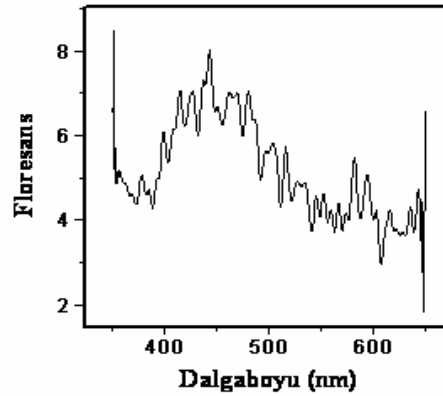
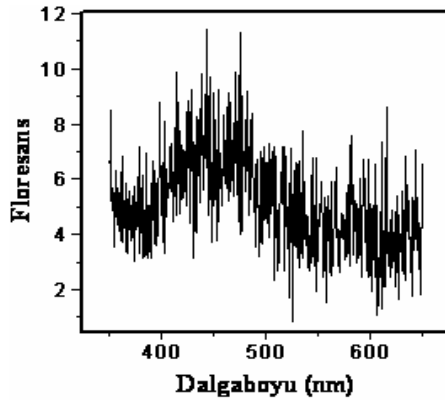
Sentezlenen 1,10-fenantrolin türevi ligandların, nanoflaş azot ark lamba ve stroboskopik detektör içeren PTI-Time Master C71 model spektrofloreometre ile zaman ayrımlı emisyon spektrumları [Time Resolved Emission Spectra (TRES)] alındı ve floresans ömürleri (fluorescence lifetime) hesaplandı. Tüm deneylerde eksitasyon ve emisyon slitleri tamamen açık olarak ayarlandı. Herbir ligandın floresans özelliklerinin en iyi gözlemlendiği çözücü ve konsantrasyon tesbit edildi. Çözücü olarak etanol, metanol, DMSO ve kloroform kullanıldı. Yapılan çalışmalar sonucunda optimum floresans emisyonları DMSO ve kloroformda elde edildi. En uygun konsantrasyon aralığının 1.10^{-4} M- 1.10^{-5} M olduğu belirlendi. Bu aralığın üstündeki konsantrasyonlarda dinamik sönmüleme (dynamic quenching) ve altındaki konsantrasyonlarda ise seyrelme etkileri nedeniyle floresans şiddetlerinde azalmalar görüldü.

Yüksek konsantrasyonlarda moleküler temas sıklaştığından dinamik sönmüleme (dynamic quenching) gerçekleşir ve buna bağlı olarak floresans şiddeti azalır, düşük konsantrasyonlarda ise floresans emisyonu madde miktarına bağlı olarak azalmaktadır[15].



Yanda; 5×10^{-4} M 5-amino-1,10-fenantrolin'in DMSO'da alınan zaman ayrımlı floresans spektrumu.

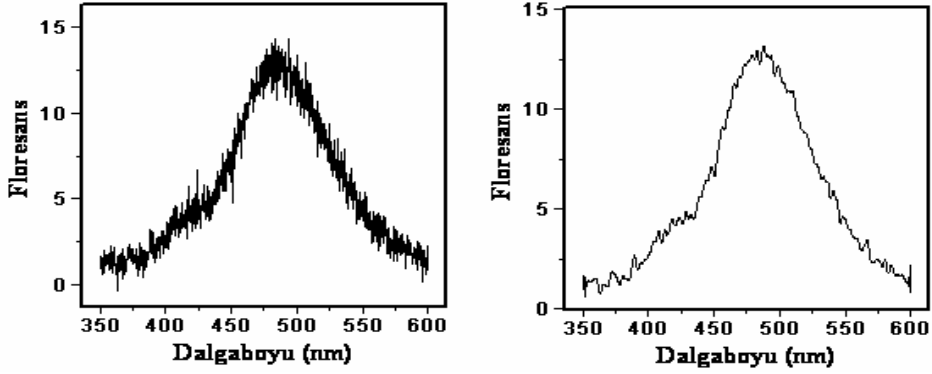
$\lambda_{ex}=337\text{nm}$, $\lambda_{em}=493\text{nm}$, $I_{max}=467.191$, Int. Time: 0.1s, Delay Time: 117ns, Step Size: 0.5nm, averages: 3



DMSO'da 5×10^{-4} M 4'-Formilbenzo[15-crown-5]'in, 15 tampon derecesiyle (Buffer Size) uygulanan Savitzky-Golay yumuşatma (smoothing) işleminden önceki ve sonraki zaman ayrımlı floresans spektrumları. $\lambda_{ex}=337\text{nm}$, $\lambda_{em}=443\text{nm}$, $I_{max}=8.02635$, Int. Time: 0.1s, Delay Time: 117ns Step Size: 0.5nm, averages: 3

Yukarıdaki grafikler, zaman ayrımlı florometre sisteminde kullandığımız azot ark lambadan en güçlü emisyonun alındığı ve en yüksek floresans emisyonunu açığa çıkaran 337 nm

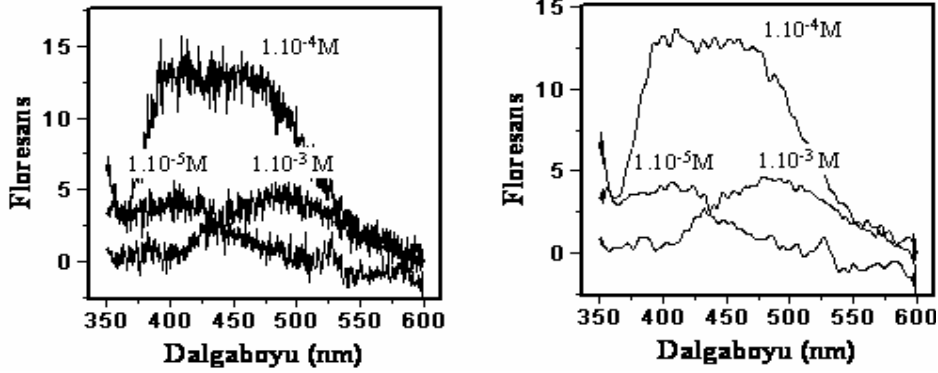
dalga boyunda yapılan uyarma ile 5-amino-1,10-fenantrolin ve 4'-formilbenzo-[15-crown-5] maddelerine ait zaman ayrımlı floresans spektrumlarını vermektedir. 5-Amino-1,10-fenantrolin halka sistemi 493 nm de güçlü, 4'-formilbenzo[15-crown-5] taç eter halka sistemi ise oldukça zayıf floresans özellik göstermektedir.



DMSO'da 1×10^{-4} M FC1 ligandının, 15 tampon derecesiyle (Buffer Size) uygulanan Savitzky-Golay yumuşatma (Smoothing) işleminden önceki ve sonraki zaman ayrımlı floresans spektrumları. $\lambda_{ex}=337$ nm, $\lambda_{em}=488$ nm, $I_{max}=13.1401$, Int. Time: 0.5s, Delay Time: 117ns, Step Size: 0.25nm, averages: 3.

FC1 ligandına ait floresans spektrumunu veren yukarıdaki grafikler, bu ligandan zayıf floresans emisyon alındığını göstermektedir. Spektruma Savitzky-Golay yumuşatma (smoothing) işlemi 15 tampon derecesiyle (Buffer Size) uygulandığında sağda görülen grafik elde edilir. FC1 ligandının dinamik sönmüleme etkisinin görülmediği en yüksek konsantrasyonunda (1.10^{-4} M) alınan bu grafiklerde gözlenen maksimum floresans şiddetinin, reaktiflerinden biri olan 5-amino-1,10-fenantrolininkine oranla çok düşük olması nedeniyle kullandığımız florometre sisteminde FC1 ligandı için kantitatif amaçlı florometrik bir korelasyonun uygun olmadığını gördük.

FC2 ligandı ise güçlü floresans karakter sergilemektedir. Bu ligandın sentezinde başlangıç maddesi olan 5,6-diamino-1,10-fenantrolin, bir türe ait moleküllerin uyarılmış halde ortaya çıkan donör-akseptör çiftlerinin, nisbeten yüksek konsantrasyonlarda dimer oluşturacak şekilde kendi aralarında yaptıkları uyarılmış hal komplekslerini tanımlayan ekzimer (excimer) floresansı göstermektedir[16].



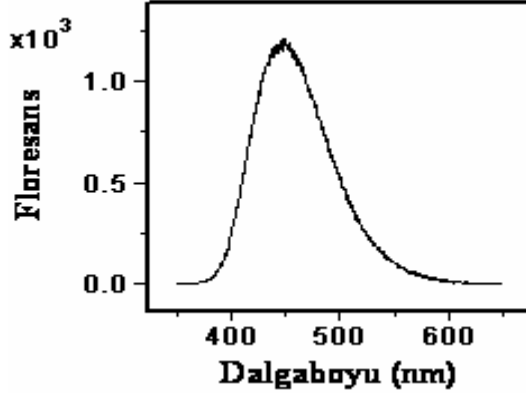
DMSO'da farklı konsantrasyonlarda 5,6-diamino-1,10-fenantrolin'in, 15 tampon derecesiyle uygulanan Savitzky-Golay yumuşatma işleminden önceki ve sonraki zaman ayrımlı floresans spektrumları.

Examination of Fluorescence Properties of ...

Yüksek konsantrasyonda ortaya çıkan yeni maksimum ekzimer (excimer) floresansının belirtisidir. $\lambda_{ex}=337\text{nm}$, Int. Time: 0.5s, Delay Time: 117ns, Step Size: 0.5nm, averages: 3.

5,6-Diamino-1,10-fenantrolinden alınan floresans emisyonu, FC1 ligandının sentezinde kullanılan 5-amino-1,10-fenantrolin halka sistemininkine oranla oldukça zayıf kalmasına rağmen ekzimer karakterinin açığa çıkarılmasına yeterli olmuştur. Yukarıda Savitzky-Golay yumuşatma (smoothing) işleminden önce ve sonra 5,6-diamino-1,10-fenantrolinin farklı konsantrasyonlarda elde edilen floresans emisyon spektrumunu veren grafikler görülmektedir. Bu grafiklerde 1.10^{-5} M konsantrasyonda monomer, 1.10^{-4} M konsantrasyonda monomer-ekzimer karışımı ve 1.10^{-3} M konsantrasyonda ekzimer floresansına ait spektrumlar görülmektedir.

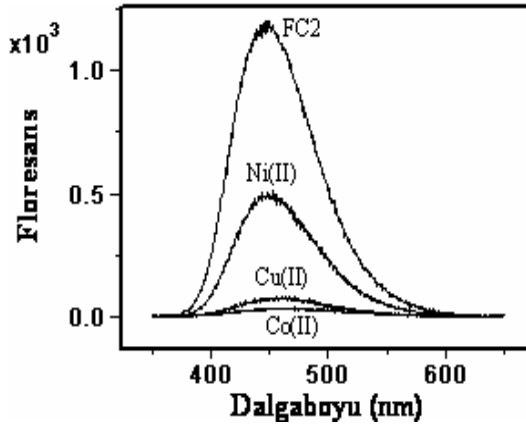
FC2 ligandının floresans verimi, floresans sönmüleme (fluorescence quenching) çalışmalarında metal komplekslerinin oluşumunu florometrik olarak izleme imkanı sağlamaktadır. Aşağıda FC2 ligandına ait floresans spektrumu verilmektedir.



Yanda; FC2 ligandının DMSO'da 1×10^{-4} M çözeltisinden elde edilen zaman ayrımlı floresans spektrumu.

$\lambda_{ex}=337\text{nm}$, $\lambda_{em}=448\text{nm}$, $I_{max}=1203.27$, Int. Time: 0.1s, Delay Time: 117ns, Step Size: 0.5nm, averages: 3.

FC2 ligandının geçiş metali ilavesi ile verdiği kompleksler, floresans emisyon şiddetlerinde kompleks oluşumunun neden olduğu statik sönmüleden (static quenching) kaynaklanan büyük düşüşlerle gözlemlendi. DMSO da 1.10^{-4} M FC2'nin 2 ml lik çözeltilerine 10 μl 0.1 M Co^{2+} , Cu^{2+} ve Ni^{2+} çözeltileri ayrı ayrı ilave edildiğinde floresans şiddetlerinde, ligandın metale göre değişen kompleks verme yeteneğine bağlı olarak farklı oranlarda azalmalar kaydedildi. Aşağıda bu üç metalin FC2 ligandı ile oluşturdukları komplekslerin üst üste çakıştırılmış floresans sönmüleme grafikleri görülmektedir.

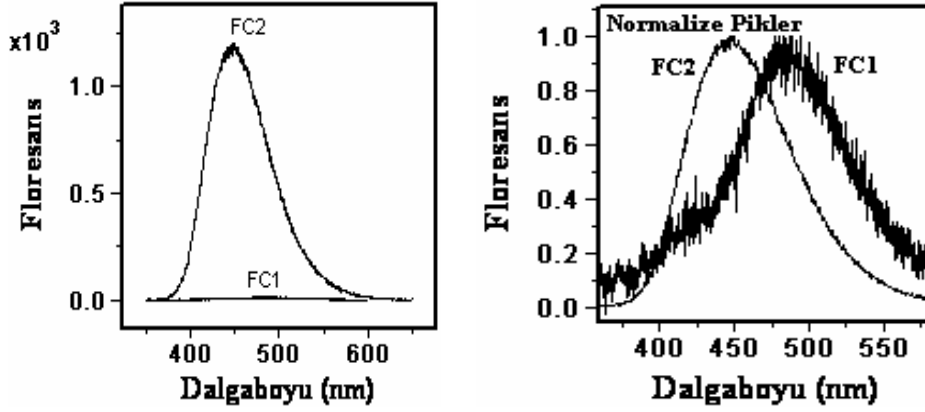


Yanda; FC2 ligandının sırasıyla Ni^{2+} , Cu^{2+} ve Co^{2+} Metalleri ile verdiği komplekslerin statik floresans sönmüleme etkisi.

1.10^{-4} M, 2ml FC2 DMSO'da;
 1.10^{-3} M, 10 μl Metal etanolde.

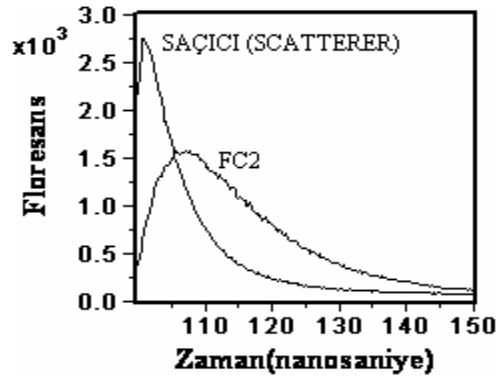
$\lambda_{ex}=337\text{nm}$, $\lambda_{em}=448\text{nm}$, Int. Time: 0.1s, Delay Time: 117ns, Step Size: 0.5nm, averages: 3.

Yukarıdaki grafikte en güçlü sönümlemeyi Co^{2+} kompleksi göstermektedir ve onu Cu^{2+} kompleksi izlemektedir. En zayıf sönümleme etkisi ki o da FC2 ligandının floresans şiddetini yarıya indiren Ni^{2+} kompleksinde ortaya çıkmaktadır. Bu verilere göre FC2 ligandı en kararlı kompleksi Co^{2+} iyonu ile ve en zayıf kompleksi Ni^{2+} iyonu ile vermektedir. Cu^{2+} kompleksinin kararlılığı Co^{2+} kompleksine yakındır.



Yukarıda görülen grafikler, herhangi bir yumuşatma (smoothing) işlemi uygulanmaksızın normalizasyon öncesi ve sonrasına ait FC1 ve FC2 ligandlarının emisyon spektrumlarının karşılaştırmasını vermektedir.

Aşağıda FC2 ligandının zaman ayrımlı floresans azalma eğrisi (Time Resolved Fluorescence Decay Curve) görülmektedir. Bu deneyde saçıcı olarak 0.5 M $\text{Al}(\text{OH})_3$ çözeltisi kullanıldı.



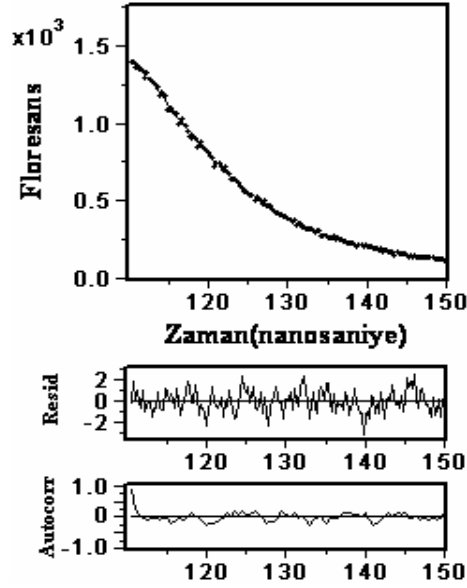
Yanda; FC2 ligandının DMSO'da 1×10^{-4} M çözeltisinden elde edilen floresans azalma eğrisi.

$\lambda_{\text{ex}}=337\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}=448\text{nm}$, Int. Time: 0.1s,
Start Delay: 100ns, End Delay: 250ns,
Kanal Sayısı (Channels): 600, averages: 3.

Saçıcı: 0.5M $\text{Al}(\text{OH})_3$

Floresans ömrün hesaplanmasında tek eksponansiyel eğriye uyarlama (fitting to a single exponential curve) işlemi yeterli oldu. Tek eksponansiyel eğri, cihazla beraber gelen yazılımın içerdiği χ^2 istatistiksel hesaplama prosedürü uygulanarak elde edildi ve ortalama floresans ömür $\tau = 8.725 \pm 3.624 \cdot 10^{-2}$ ns olarak bulundu. Zaman ayrımlı floresans bozunmaya kısmi katkıyı gösteren preexponential faktör için $\alpha = 0.1685 \pm 7.982 \cdot 10^{-3}$ değeri elde edildi.

Examination of Fluorescence Properties of ...



Chi2 : 1.155
Durbin Watson : 1.866
Z : -1.558

Pre-exp.(a) : $0.1685 \pm 7.982E-003$
Lifetime (τ) : $8.725 \pm 3.624E-002$

3. SONUÇ

1,10-Fenantrolin türevlerinin floresans şiddetleri incelendiğinde FC1 ligandının zayıf ve FC2 ligandının ise kuvvetli floresans özellik gösterdiği görülmektedir. FC2 ligandının geçiş metalleri ile yaptığı kompleksler floresans emisyonunu kuvvetlice sönmülemektedir.

FC1 ve FC2 ligandlarının floresans emisyon spektrumları karşılaştırıldığında FC2 ligandının floresans şiddetinde görülen önemli orandaki artışın imidazol halkası oluşumu ile ortaya çıkan konjuge çifte bağ sisteminden kaynaklandığı söylenebilir.

FC2 ligandının ortalama floresans ömrü $\tau = 8.725$ ns olarak bulunmuştur.

Florometrik tetkiklerden sonra elde edilen verilerden eser miktardaki bazı metallerin kantitatif tayinleri için FC2 ligandının floresans şiddeti ve floresans ömründeki değişimlerinden yararlanılabileceği anlaşılmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] Amouyal, E., Hamsi, A., Chambron, J.C. ve Sauvage, J.P., (1990), "Synthesis and Study of a Mixed-Ligand Ruthenium(II) Complex in Its Ground and Excited States: Bis(2,2'-bipyridine)(dipyrido[3,2-a:2',3'-c]phenazine-N⁴N⁵)ruthenium(II)", J. Chem. Soc. Dalton Trans., 1841-1845.
- [2] Bolger, J., Gourdon, A., Ishow, E. and Launay, J.P., (1996), "Mononuclear and Binuclear Tetrapyrido[3,2-a:2',3'-c:3'',2''-h:2''',3''-j]phenazine (tpphz) Ruthenium and Osmium Complexes", Inorganic Chemistry, 35: 2937-2944.
- [3] Camren, H., Chang, M.Y., Zeng, L., Mc Guire, M.E., (1996), "Synthesis of Novel Substituted 1,10-Phenanthrolines", Synth. Commun., 26(6): 1247-1252.
- [4] Timothy, M.H., Joyce, C.L., Martin, B. and Subva, R., (1982), "Some Bis(crown) Schiff Bases which form Pocket Complexes with Alkali-metal Cations of Appropriate Size", J. Chem. Soc. Dalton Trans., 2331-2336.
- [5] Wenwu, Q., Yanling, Z., Weisheng, L. and Minyu, T., (2003), "Synthesis and Infrared and Fluorescence Spectral Properties of Luminescent Terbium and Europium Complexes

- with Open-chain Carboxylate Crown Ethers”, *Spectrochimica Acta Part A*, 59: 3085-3092.
- [6] Chao, H., Ye, B.H., Zhang, Q.L. and Ji, L.N.,(1999), “A Luminescent pH Sensor Based on a Diruthenium(II) Complex: ‘off-on-off’ Switching Via The Protonation/Deprotonation of an Imidazole-Containing Ligand”, 2: 338-340.
- [7] Chao, H., Ye, B.H., Li, H., Li, R.H., Zhou, J.Y. and Ji, L.N., (2000), “Synthesis, Electrochemical and Spectroscopic Properties of Ruthenium(II) Complexes Containing 1,3-bis([1,10]phenanthroline-[5,6-d]imidazol-2-yl)benzene”, *Polyhedron*, 19:1975-1953.
- [8] Demirayak, Ş., Benkli, K., Güven, K., (2000), “Synthesis and Antimicrobial Activities Of Some 3-arylamino-5-[2-substituted-1-imidazol]ethyl]-1,2,4-triazole Derivatives”, *Eur. J. Med. Chem.*, 35: 1037-1040.
- [9] Bouwman, E., Douzich, B., Gutierrez-Soto, L., Beretta, M., Driessen, W.L., Reedijk, J., Mendoza-Diaz, G., (2000), “Co (II), Ni (II), and Zn (II) Compounds Of The New Tridentate Ligand N,N-bis(2-ethyl-5-methyl-imidazol-4-ylmethyl)aminopropane (biap)”, *Inorganic Chimica Acta*, 304: 250-259.
- [10] Ferrer, E.G., Baro, G.C., Castellano, E.E., Piro, O.E., Williams, P.M., (2004), “Model Complexes with Naturally Occurring Ligands (Salicylglycine and İmidazol) and The Biometals and Cobalt”, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 98: 413-421.
- [11] Sandbhor, U., Kulkarni, P., Padhye, S., Kundu, G., Mackenzie, G. and Pritchard, R., (2004), “Antimelanomal Activity of The Copper(II) Complexes of 1-substituted 5-amino-imidazole Ligands Against B16F10 Mouse melanome Cells” ,*Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 14:2877-2882.
- [12] Soliman, A.A., (2001), “Thermogravimetric and Spectroscopic Studies on Cadmium Complexes with Two Salicylidene Thiophenol Schiff Bases”, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 63: 221-231.
- [13] Timothy, M.H., Joyce, C.L., Martin, B. and Subva, R., (1982), “Some Bis(crown) Schiff Bases which form Pocket Complexes with Alkali-metal Cations of Appropriate Size”, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 2331-2336.
- [14] Wang, Z.M., Lin, H.K.,Zhu, S.R., Liu, T.F. and Chen, Y.T., (2002), “Spectroscopy, Cytotoxicity and DNA-binding of The Lanthanum(III) Complex of an L-valine Derivative of 1,10-phenanthroline”, *Journal of Biochemistry*, 89: 97-106.
- [15] Lakowicz, J. R., (1983), “Principles of Fluorescence Spectroscopy” Plenum Press 233 Spring Str. New York NY 10013.
- [16] Sharma, A., Schulman S. G., (1999), “Introduction to Fluorescence Spectroscopy” John WILEY & SONS, INC. NEW YORK.