

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND

Keemia instituut
Analüütilise keemia õppetool

Elisabeth Parman

**Fluoroühendite pK_a määramine atsetonitriili keskkonnas
 ^{19}F tuumamagnetresonantsspektroskoopiat kasutades**

Magistritöö (30 EAP)

Keemia

Juhendaja:
Prof. Ivo Leito

Tartu 2020

Sisukord

Kasutatud lühendid.....	4
1. Sissejuhatus	5
2. Kirjanduse ülevaade	6
2.1 Fluoroühendid.....	6
2.2 Happe-aluse tasakaalud solventides	7
2.3 Solvendid ainete happelis-aluseliste omaduste uurimiseks	8
2.3.1 Atsetonitriil.....	8
2.3.2 Teised lahustid.....	8
3. Meetodid happelis-aluseliste omaduste uurimiseks	10
3.1.1 Tuumamagnetresonantsspektromeetria	10
3.1.2 Levinumad muud pK_a mõõtmise meetodid	12
4. Eksperimentaalne osa	13
4.1 Aparatuur ja töövahendid	13
4.1.1 Kuivkapp	13
4.1.2 Tuumamagnetresonantsspektromeeter	13
4.1.3 UV-Vis spektromeeter.....	14
4.1.4 Teised kasutatud töövahendid	14
4.2 Kemikaalid.....	15
4.2.1 Atsetonitriil.....	15
4.2.2 Titrandid	15
4.2.3 Uuritud ained ja referentsained	15
4.3 pK_a väärtuste mõõtmine.....	20
4.3.1 Meetodi üldine põhimõte	20
4.3.2 Lahuste valmistamine.....	20
5. Tulemused ja arutelu	21

5.1 Ülevaade saadud tulemustest	21
5.1.1 Kasutatud mõõtemetod ning uuritud ainete struktuur	23
5.1.2 Polüfluoreeritud lämmastik-heterotsüklid ja aromaatsed diamiinid	23
5.1.3 Fluoreeritud sulfamaatestrid ning sulfamiidid	24
5.2 TMR meetodi valideerimine UV-Vis meetodi vastu.....	25
6. Kokkuvõte ja edasiarendamise võimalused	27
7. Summary and future directions	28
8. Kasutatud kirjandus.....	29
9. Lisad.....	31

Kasutatud lühendid

a aktiivsus

δ keemiline nihe

ϵ_r keskkonna dielektriline läbitavus

f aktiivsuskoeffitsient

K_{auto} autoprotolüüsikonstant

K_a dissotsiatsioonikonstant

pK_a dissotsiatsioonikonstandi negatiivne kümnendlogaritm $-\log(K_a)$

pK_{aH} konjugeeritud happe dissotsiatsioonikonstandi negatiivne kümnendlogaritm $-\log(K_a)$

TMR tuumamagnetresonantspektromeetria

UV ultraviolettkiirgus

Vis nähtav valgus

PTFE polütetrafluoroetüleen

1. Sissejuhatus

Happelisus ja aluselisisus on väga olulised ainete omadused. Paljude keemiliste protsesside juures võivad ainete happelisused või aluselisused olla määravad faktorid ja seepärast on oluline neid omadusi uurida.

Fluori sisaldavaid aineid kasutatakse laialdaselt näiteks ravimitööstuses, polümeeride valmistamisel, agrokemikaalides ja katalüsaatoritena ning nende ühendite happelisus ja aluselisisus on olulised parameetrid, millega keemiliste protsesside (mitte)toimumisel peab arvestama [1].

Fluorühendid on sageli happelised, sest fluori sisseviimine molekuli enamasti tugevdab ühendi happelisust. Fluorühendite happelisi omadusi on varasemalt küllaltki palju uuritud. Enamasti väljendatakse ühendite happelisusi pK_a väärtustega. Siiski on palju ühendeid, mille pK_a väärtusi ei ole veel määratud ja pidevalt sünteesitakse juurde uusi aineid, mille happelis-aluselisi omadusi soovitakse kirjeldada. Lisaks mõjutab keskkond, milles uuritav aine asub oluliselt aine happelisi ja aluselisi omadusi. Sama aine võib erinevates lahustites käituda erinevalt ning ühe ja sama aine pK_a väärtus erinevates solventides võib oluliselt erineda.

^{19}F TMR meetodit on varasemalt kasutatud vesikeskkonnas pK_a määramiseks ning selle lähenemise eelisteks on see, et uuritavates ainetes ei pea leiduma kromofoore, erinevad lisandid segavad mõõtmisi vähe ning on võimalik läbi viia kõrge täpsusega mõõtmisi [2]. Samas pole seda meetodit süstemaatiliselt rakendatud mittevesikeskkondades, mis ootuste kohaselt võiks ka seal hästi rakenduda.

Käesoleva töö eesmärgiks on uurida erinevate fluori sisaldavate ühendite happelisi ja aluselisi omadusi atsetonitriilis ^{19}F TMR meetodiga ning demonstreerida meetodi sobivust fluorühendite pK_a väärtuste määramiseks mittevesilahustes.

2. Kirjanduse ülevaade

2.1 Fluoroühendid

Fluor on oma mõõtmetelt väikseim halogeen (van der Waalsi raadiusega 1,47 Å) ning kõige elektronegatiivsem element. Orgaanilistes fluoroühendites tüüpiline süsinik-fluor side on küllaltki lühike, ligikaudu 1,4 Å ja väga tugev (ligikaudu 480 kJ/mol). Fluori aatomil on madalaim polariseeritavus ning see on põhjuseks, miks perfluoreeritud molekuli fragmentide vahel on nõrgad vastasmõjud. Need nõrgad vastasmõjud tingivad muuhulgas ka paljude fluoroühendite kõrge lenduvuse (eriti, kui arvestada nende molekulmassi) ning erakordse hüdrofoobsuse. Lühikese süsinik-fluor sideme ja väikese van der Waalsi väärtuse tõttu pole perfluoroühendites suuri sterilisi pingeid. Eeltoodud asjaolud annavad fluoroühenditele iseloomulikke omadusi: termiline ja keemiline stabiilsus [1].

Fluori esinemine keemilises ühendis tugevdab vesinikku sisaldavate ainete happelisi omadusi. Asendades molekulis C-H sidemeid C-F sidemete vastu, on võimalik muuta ainet olulisemalt happelisemaks. Koos eeltoodud omaduste ja kõrge stabiilsusega, on fluoroühendid kasutatud leidnud paljudes erinevates valdkondades: (fluoro)polümeeride valmistamisel, ravimitööstuses, agrokemikaalides, külmaainete ja propellantidena, katalüsaatoritena ning fluoroalkohole kasutatakse vedelikkromatograafias mobiilfaasi lisanditena [3, 4, 5].

Mitmed fluori sisaldavad happed on leidnud laialt kasutust. Näiteks trifluorometaansulfoonhape on superhape, mida kasutatakse orgaanilises keemias katalüsaatorina, samuti mitmete ainete protoneerimiseks, sest selle happe konjugeeritud alus ei ole nukleofiilne [6]. Trifluoroäädikhapet kasutatakse nii orgaanilises keemias paljude fluoreeritud ühendite prekursorina kui ka analüütilises keemias lisandina kõrgefektiivses vedelikkromatograafias, tuumamagnetresonantspektrometrias solventina ja massispektrometrias kalibrandina [3, 7].

2.2 Happe-aluse tasakaalud solventides

Brønsted-Lowry teooria järgi on happed vesinikiooni H^+ doonorid ning alused selle aktseptorid [8]. Lahustades solvendis S happe HA, tekib lahusti molekuli S protoneerudes konjugeeritud hape SH^+ ning happe HA deprotoneerudes konjugeeritud alus A^- :



Selle reaktsioonivõrrandi põhjal on võimalik avaldada reaktsioonis osaleva happe HA dissotsiatsioonikonstant K_a [9]:

$$K_a = \frac{a(SH^+)a(A^-)}{a(HA)} \quad (2)$$

Valemis (2) $a(A^-)$ ja $a(HA)$ on vastavalt aluselise ja happelise vormi aktiivsused ja $a(SH^+)$ kirjeldab keskkonna happelisust. K_a iseloomustab happe HA happelisust lahustis S. Dissotsiatsioonikonstandi K_a väärtused võivad paljude suurusjärkude ulatuses varieeruda ja seetõttu väljendatakse ainete happelis-aluseliste omadusi tihti K_a negatiivse kümnendlogaritmina:

$$pK_a = -\log \frac{a(SH^+)a(A^-)}{a(HA)} \quad (3)$$

Aluseliste ühendite aluselisust väljendatakse sagedasti aluse konjugeeritud happe HB^+ tugevuse järgi ning selle dissotsiatsioonikonstanti tähistatakse kui pK_{aH} [10]:

$$pK_{aH} = -\log \frac{a(SH^+)a(B)}{a(HB^+)} \quad (4)$$

Mittevesikeskkondades on solvateeritud prootonite aktiivsuse mõõtmine raskendatud, mistõttu uuritakse praktiliste mõõtmiste käigus sageli kahe happe ja nende konjugeeritud aluste vahelist tasakaalu:



Ülaltoodud valemis HA_1 on happe A_1^- konjugeeritud alus ning HA_2 on happe A_2^- konjugeeritud alus. Valemist saab tuletada hapete pK_a väärtuste erinevuse ehk ΔpK_a :

$$\Delta pK_a = pK_a(HA_2) - pK_a(HA_1) = \log K = \log \frac{a(HA_2)a(A_1^-)}{a(HA_1)a(A_2^-)} \quad (6)$$

Valemist (6) on näha, et ΔpK_a mõõtmise puhul pole tarvis mõõta vesinikiooni aktiivsust. Lisaks saab sama laengutüübiga hapete ΔpK_a mõõtmise korral aktiivsuste asemel kasutada tasakaalulisi kontsentratsioone, sest sama laengutüübiga osakeste aktiivsuskoeffitsiendid taanduvad välja [11].

Lisaks dissotsiatsiooniprotsessile võivad atsetonitriilis toimuda ka teised tasakaalulised protsessid, mis mõnel juhul võivad raskendada happelis-aluseliste omaduste uurimist. Näiteks on anioonid atsetonitriili solvatatsiooni poolt võrreldes veega nõrgemalt stabiliseeritud, mis soodustab mitmesuguste assotsiatsiooniprotsesside teket [12]. Kui ühe aine neutraal assotsieerub teise aine aniooniga, on tegu heterokonjugatsiooniga, kui aga sama aineiooniga, siis nimetatakse seda homokonjugatsiooniks.

2.3 Solvendid ainete happelis-aluseliste omaduste uurimiseks

2.3.1 Atsetonitriil

Atsetonitriil on nõrkade aluseliste omadustega ja madala polaarsusega aprotoonne lahusti. Atsetonitriilil on kõrge dielektriline läbitavus ($\epsilon_r = 36,0$ [13]), mis takistab ionpaaride moodustumist ja madal autoprotolüüsi konstant ($pK_{\text{auto}} \geq 33$), mis võimaldab atsetonitriilis uurida laias pK_a vahemikus happeid [12] ja aluseid [14]. Atsetonitriil on oma madala aluselisuse tõttu eriti sobiv solvent keskmiste ja tugevate hapete uurimiseks ning keskmiste ja nõrkade aluste uurimiseks. Väga tugevate aluste ja väga nõrkade hapete uurimiseks atsetonitriil ei sobi, sest hakkab lagunema [15]. Atsetonitriil on levinud happelis-aluseliste omaduste uurimisel spektrofotomeetriliselt, sest neelab kiirgust alla 190 nm juures [12]. Atsetonitriil on kergesti puhastatav ja pikalt puhtana säilitatav.

2.3.2 Teised lahustid

Vesi on happelis-aluseliste tasakaalude uurimisel enimlevinud lahusti. Vesi on polaarne, kõrge dielektrilise läbitavusega ($\epsilon_r = 78$) ning solvateerib hästi polaarseid aineid. Seetõttu lahustuvad polaarsed ained vees hästi. Vesikeskkonnas on olemas usaldusväärne ning laialt kasutatav pH-skaala ning tänu tugevale ionide solvatatsioonile ei ole soodustatud ionpaaride ega muude agregaatide teke [16].

Veel on aga ka mitmeid omadusi, mis raskendavad või lausa takistavad happelis-aluseliste omaduste uurimist. Veel endal on happelised ja aluselised omadused ($pK_{\text{auto}} = 14,00$), mis takistab väga nõrkade ja väga tugevate hapete ja aluste uurimist. Enamik mittepolaarseid aineid lahustuvad vees väga halvasti, samuti võivad mõned ained vee toimel hüdrolyüsuda. Eeltoodud põhjuste tõttu on sageli otstarbekas uurida ainete happelis-aluselisi omadusi mõnes aprotoonses keskkonnas [17].

Dimetüülsulfoksiid (DMSO) on aprotoonne ning polaarne solvent ($\epsilon_r = 46,7$) [13]. DMSO on hästi diferentseeriv lahusti, kuid oma aluseliste omaduste tõttu sobib eelkõige nõrgemate hapete uurimiseks. DMSO-s lahustuvad väga paljud nii polaarsed kui mittepolaarsed ained, mis soodustab happelis-aluseliste omaduste uurimist. DMSO neelab kiirgust kuni 268 nanomeetrit, mis teeb keeruliseks lahusti kasutamise spektrofotomeetrilise meetodiga. DMSO on mõnevõrra ebastabiilne lahusti, mis raskendab puhastamist ja puhtana säilitamist.

Tetrahydrofuraan (THF) on madala polaarsusega ($\epsilon_r = 7,5$) solvent [13]. Seetõttu tekivad THF-is juba madalatel kontsentratsioonidel ioonpaarid [18] ning vabade ionide tasakaale ei saa vahetult mõõta. Tetrahydrofuraanis on võimalik uurida laias pK_a vahemikus happeid ja aluseid ($pK_{\text{auto}} = 35$) [19].

1,2-Dikloroetaan on vähepolaarne solvent ($\epsilon_r = 10,7$) [13], mistõttu selles lahustis toimub ulatuslik ioonpaaride moodustumine ning homokonjugatsioon. Küll aga puuduvad sel lahustil peaaegu täielikult happelised ja aluselised omadused ning autoprotolüüs on pea olematu, mistõttu on ta kasutusel eelkõige väga tugevate hapete ja väga nõrkade aluste uurimisel [11].

3. Meetodid happelis-aluseliste omaduste uurimiseks

3.1.1 Tuumamagnetresonantspektromeetria

Tuumamagnetresonantspektromeetria (TMR) on laialt levinud analüüsimeetod, et uurida ainete struktuure ja erinevaid keemilisi protsesse [20]. Aineid saab sel meetodil uurida, kui nad sisaldavad vähemalt ühte TMR-aktiivset tuuma, milleks enamasti on ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P ning harvem ka mõni muu tuum. TMR võimaldab uurida reaktsioonide kiirus- ja tasakaalukonstante, mis tähendab, et seda meetodit saab kasutada ka ainete pK_a väärtuste määramiseks [2]. Selleks mõõdetakse uuritavas aines sisalduva TMR-aktiivse tuuma keemilisi nihkeid lahustes, kus aine on osaliselt ioniseerunud: osa molekulde neutraalses, osa deprotoneeritud vormis. Lisaks mõõdetakse lahuseid, kus ühel juhul on aine praktiliselt täielikult neutraalses ja teisel juhul praktiliselt täielikult deprotoneeritud vormis. Keemiline nihe sõltub ionisatsioonist, sest elektrontihedus vastava tuuma ümber selle käigus muutub ja koos sellega ka aatomi varjestatus.

TMR meetodiga saab pK_a väärtusi määrata kahel erineval juhul: (1) toimub protoneerumise-deprotonerumise protsess ning selle kiirus on võrreldes TMR mõõtmise ajaskaalaga väga kiire või (2) toimub protoneerumise-deprotonerumise protsess, ning selle kiirus on võrreldes TMR ühe spektri mõõtmisega on väga aeglane. Esimesel juhul tekib spektrisse kahe vormi koalestseerunud signaal, teisel juhul muutuvad piirvormide signaalide suhtelised intensiivsused. Olukorras, kus protoneerumise-deprotonerumise kiirus on võrreldav TMR mõõtmise ajaskaalaga, piigid TMR spektris laienevad ja/või muutuvad madalamaks ning kaovad müra sisse ära ning sellisel juhul ei saa pK_a väärtust usaldusväärselt määrata, ehkki temperatuuri ja solventi vahetusega saab protsessi kiirust mõjutada [21]. Kui deprotoneritud vormi A^- ja protoneeritud vormi AH omavaheline üleminek toimub tunduvalt kiiremini kui nende sageduste erinevus hertsides, on protsess TMR ajaskaalal kiire. Näiteks kui A^- ja AH signaalide erinevus spektris on 2 ppm, siis 4,7 T magnetiga TMR masinal (fluori resonantsagedus on siis 188 MHz) on fluori spketris signaalide erinevus 376 Hz, mis vastab ligikaudu 2,7 millisekundile. Kui protoneerumise-deprotonerumise protsess A^- ja AH vahel on tunduvalt kiirem kui 2,7 millisekundit, tekib üks koalestseerunud signaal, kui aga tunduvalt aeglasem, tekib kaks eraldi mõlemale piirvormile vastavat signaali.

Kui protoneerumise-deprotonerumise kiirus TMR ajaskaalaga võrreldes on väga kiire, siis tekib spektrisse üks koalestseerunud signaal, kui aga aeglane, siis muutuvad deprotoneritud ja protoneeritud vormide signaalide suhtelised intensiivsused [22]. Kuna ionisatsioonimäär sõltub lahuse pH-st, siis koos pH muutumisega muutub ka uuritava aine keemiline nihe. Aine pK_a

väärtus on arvutatav, kui on teada lahuse pH ning aine keemilised nihked piirvormides ning mõõdetavas lahuses, kui tegemist on kiire protonvahetusega [23]:

$$pK_a = \text{pH} + \log \left[\frac{\delta_A - \delta_{\text{obs}}}{\delta_A - \delta_{\text{HA}}} \right] \quad (7)$$

, kus kus δ_A on vastava tuuma keemiline nihe aine deprotoneeritud vormis, δ_{obs} keemiline nihe antud pH juures ning δ_{AH} on keemiline nihe protoneeritud vormis. Vesikeskkonnas on pH otseselt mõõdetav, kuid teistes solventides eelistatakse suhtelisi mõõtmisi, nagu eelpool seletatud. Suhteliste mõõtmiste korral saab leida ΔpK_a valemi abil:

$$\Delta pK_a = \log \frac{(\delta_1 - \delta_{A_1^-}) \cdot (\delta_{\text{AH}_2} - \delta_2)}{(\delta_2 - \delta_{A_2^-}) \cdot (\delta_{\text{AH}_1} - \delta_1)} \quad (8)$$

, kus δ_1 ja δ_2 on kahe uuritava aine keemilised nihked sama pH juures ja δ_{AH_1} ja δ_{AH_2} on vastavate ainete keemilised nihked protoneeritud vormis ning $\delta_{A_1^-}$ ja $\delta_{A_2^-}$ vastavate ainete keemilised nihked deprotoneeritud vormis. Suhtelisel mõõtmisel on kõrge täpsus, sest arvutuses ei ole tarvis kasutada kontsentratsioone, pH väärtusi ja aktiivsuskoeffitsente, mis võivad olla oluliseks määramatuse allikaks.

TMR meetodi oluliseks eeliseks on kõrge selektiivsus ja seepärast erinevad lisandid enamasti mõõtmist ei sega. Lisaks on TMR meetodi kasutamisel võimalik mõõtmiste käigus jälgida spektrites kajastuvaid kõrvalprotsesse, näiteks ainete lagunemist. TMR meetodi ainsaks nõudeks uuritava aine struktuurile on see, et molekulis sisaldub vastav tuum, mida mõõdetakse. Samas peaaegu kõik orgaanilised ühendid sisaldavad ^1H tuumasid, siis on meetod uuritavate ainete struktuuride suhtes väga universaalne. TMR meetodi negatiivseks küljeks on aparatuuri kõrge hind ning ^{19}F meetodi puhul saab mõõta vaid fluori sisaldavaid ühendeid, mis piirab oluliselt uuritavate ühendite valikut.

Fluoroühendite mõõtmisel ^{19}F keemilisi nihkeid mõõtes puudub vajadus kasutada deutereeritud solvente ning kuna fluori aatomi varjestatus on vägagi sõltuv uuritava molekuli struktuurist, siis katavad fluoroühendid laia keemiliste nihete piirkonna [24]. Võrreldes ^1H skaalaga, on ^{19}F skaala umbes 20 korda laiem. Signaalide suure eraldatuse tõttu väheneb võimalus signaalide koalestseerumiseks. Keemilise nihke muutus protoneeritud ja deprotoneeritud vormide vahel sõltub oluliselt fluori kaugusest happelisest vesinikust ning samuti induktsioon- ja resonantsefektist ning ringvooludest aromaateses tuumades. Samas on selgeks tehtud, et happelise vesiniku ja fluoriaatomi vahel võib olla ka seitse aatomit ja sel juhul on aine veel meetodi jaoks sobiv [2].

3.1.2 Levinumad muud pK_a mõõtmise meetodid

Spektrofotomeetrilise meetodiga ainete pK_a mõõtmisteks on oluline, et uuritava aine molaarsed neelduvused protoneeritud ja deprotoneeritud vormides erineksid üksteisest. Sellisel juhul on võimalik leida protoneeritud ja deprotoneeritud vormi aktiivsuste suhe [23]. Spektrofotomeetria positiivne külg on, et saab kasutada madalaid kontsentratsioone. Samas see meetod ei ole enamasti sobiv, kui uuritavatel ainetel pole kromofoore (nagu käesolevas töös kasutatavatel ainetel) või esineb märgatavaid lisandeid.

Potentsiomeetria on üks lihtsamaid ja odavamaid pK_a mõõtmise meetodeid. Tiitrimise käigus lisatakse kindla kontsentratsiooniga reagenti analüüdi lahusesse ning mõõdetakse potentsiaali muutust indikaator- ja referentselektroodi abil. Meetodi negatiivseteks omadusteks on küllaltki kõrgete kontsentratsioonide kasutamine ning vajadus usaldusväärsete teadaolevate pH väärtustega lahuste järgi, mistõttu meetod on sobivaim vesikeskkonna jaoks [25].

Konduktomeetria põhineb seisukohal, et tugevad elektrolüüdid on täielikult dissotseerunud igal kontsentratsioonil, samas kui nõrgad elektrolüüdid on täielikult dissotseerunud vaid lõpmata lahjas lahuses. Selle meetodi puhul uuritakse aine molaarjuhtivuse muutust erinevatel kontsentratsioonidel, mille põhjal saab teha pK_a arvutuse. Meetod on väga tundlik igasuguste ionsete lisandite suhtes ning ei sobi nõrkade hapete jaoks (kuna siis on lisandite mõju eriti suur) [23].

4. Eksperimentaalne osa

4.1 Aparatuur ja töövahendid

4.1.1 Kuivkapp

Kõik antud töös mõõdetud lahused valmistati MBraun UNIlab kuivkapis argooni keskkonnas, et vältida õhuniiskuse ja hapniku mõju uuritud ainetele ja solventidele. Tegemist on 0,8 m³ suuruse kapiga, mille seinad ja põhi olid valmistatud 3 mm paksusest roostevabast terasest ning esipaneel 10 mm mineraalklaasist. Esipaneeliga olid ühendatud butüülkautšukist kindad, mille kaudu kuivkapis toimetati.

Inertse atmosfääri tagas 5.0 puhtusega argoon, mis oli pidevas liikumises läbi puhastussüsteemi. See koosnes aktiivsõega filtrist, mis sidus lenduvaid orgaanilisi ühendeid, molekulaarsõeladest, mis sidusid veeauru ning aktiveeritud vasest, mis sidus hapnikku. Hapniku ja niiskuse sisaldust kuivkapis oli võimalik pidevalt jälgida kontrollpaneelilt.

Vajalike töövahendite kappi saamiseks oli kuivkapis kaks lüüsi, millest käesolevas töös kasutati vaid väiksemat, kolmeliitrist ruumalaga lüüsi. Vahendite kappi viimiseks asetati vahendid esmalt lüüsi, mida seejärel vakumeeriti ja täideti kuivkapi töögaasiga vähemalt kolm korda.

4.1.2 Tuumamagnetresonantsspektromeeter

TMR-mõõtmisteks kasutati kahte spektromeetrit: Bruker Avance-III 700 ning Bruker Avance II 200. Esimesel masinal on 16,4 T magnet ning mõõdetud tuuma, ¹⁹F, resonantssageduseks oli ligikaudu 659 MHz. Teisel spektromeetril on 4,7 T magnet ning ¹⁹F resonantssageduseks 188 MHz. Mõõdeti fluori spektreid ning protsessi juhiti arvutis TopSpin tarkvara abil, kasutati automaatset mõõtmisrežiimi IconNMR-i programmis.

Mõõdetavad lahused sisestati proovihoidjasse TMR-tuubis, kus oli ligikaudu 600 µl mõõdetavat lahust. Lahused valmistati deutereerimata solventiga. Enne mõõtmist lisati kuivkapis TMR-tuubi kinnijoodetud klaaskapillaar sisekalibreerimislahusega ning tuub suleti hermeetiliselt korgiga. Keemiliste nihete skaala sisekalibreerimislahusena kapillaaris kasutati $\geq 99,97\%$ puhtusega kaaliumfluoriidi lahust deutereeritud vees kontsentratsiooniga 8,5 mg/g. See lahus andis tugeva fluoriidiooni signaali keemilise nihke -125,00 ppm juures. Kuna kapillaar oli hermeetiliselt suletud, siis saadav keemiline nihe ei sõltunud uuritava lahuse koostisest.

TMR mõõtmiste jaoks kasutati 5 mm läbimõõduga boorsilikaadist TMR-tuube, kuhu lahuseid kanti automaatpipetiga. Tuubid suleti polüetüleen ja polüpropüleen segupolümeerist valmistatud korkidega.

Kõik TMR-mõõtmised viidi läbi 25 °C juures, mida spektromeetri temperatuurikontrolli mooduliga reguleeriti. Mõõdeti vastavalt vajadusele 32-128 vaba induksiooni kahanemise (*free induction decay – FID*) kordust, mis liideti automaatselt. Spektreid töödeldi TopSpin programmiga, mis viib läbi nn *zero filling* protseduuri, kaalufunktsiooniga läbikorrutamise, Fourier' teisenduse, baasi- ja faasijooni korrektsiooni. Keemiliste nihete skaala seati paika kapillaaris oleva KF lahuse fluori aniooni signaali järgi. Arvutustes kasutatud väärtused saadi ainetele vastavate piikide maksimumidest keemiliste nihete (ppm) skaalas. Saadud keemiliste nihete hinnanguline mõõtemääramatus seadmel Avance II 200 on ± 2 ppb, seadmel Avance III 700 on ± 1 ppb. Mõõtemääramatuse hinnang on leitud, võrreldes kahe andmepunkti vahekaugust pärast kõiki rakendatud töötlemisi.

4.1.3 UV-Vis spektromeeter

UV-Vis spektrite registreerimiseks kasutati Cary60 UV-Vis spektromeetrit, pilulaiusega 2 nm. Spektrite registreerimiseks kuivkapis, kasutati välist küvetikambrit. See oli spektrofotomeetriga ühendatud kahe kvartskiust optilise juhtmega. Spektrofotomeetri tööd juhiti programmi Cary WinUV 5.1 abil.

4.1.4 Teised kasutatud töövahendid

Töölahused valmistati 4 ml ja 16 ml boorsilikaadist viaalidesse, mis olid plastikkorkidega. Titrantide lahuste korgid olid avaustega PTFE-kattega silikoonist septumite jaoks. Töölahuste valmistamiseks viidi tahked uuritavad ained viaalidesse spaatli abil, vedelad ained Pasteuri pipetiga. Erinevate ainete ja lahuste kaalumiseks oli kuivkapis olemas analüütiline kaal Sartorius CP225D, mille lahutusvõime on 0,00001 g.

Solvendi jaoks kasutati Hamilton Gastight 2,5 ml süstalt ning titrantide jaoks sama tootja 0,1 ml automaatdosaatoritega süstlaid. UV-Vis spektrite mõõtmiseks viidi uuritav lahus 1 cm kihipaksusega kvartsküveti, mis oli varustatud PTFE-ga kaetud magnetsegajapulgaga.

Enne kuivkappi viimist kuumutati kõiki klaasanumaid kuivatuskapis mitu tundi, et vältida adsorbeerunud vee sattumist kuivkappi.

4.2 Kemikaalid

4.2.1 Atsetonitriil

Selles töös kasutati firma Romil atsetonitriili, mille veesisaldus spetsifikatsiooni järgi oli ≤ 50 ppm. Lahustit kuivatati täiendavalt molekulaarsõltel (3 \AA) ning saavutati veesisaldus enamasti alla 3 ppm ja alati alla 10 ppm. Veesisaldust kontrolliti perioodiliselt kulonomeetrilise Karl Fischeri tiitrimise teel Mettler Toledo DL 32 titraatoriga.

Kasutatavas solvendis on võimalikult madal veesisaldus väga oluline, sest veelisand võib oluliselt mõjutada uuritavate ainete happelisusi ja aluselisusi. Töös kasutati suhtelist mõõtemetodit, mis suuresti elimineerib selle probleemi.

4.2.2 Titrandid

Titrandide valikul oli oluline, et happeline titrant oleks piisavalt happeline, et protoneerida kõik uuritavad ained ning aluseline titrant oleks piisavalt aluseline, et deprotoneerida kõik uuritavad ained. Samuti on oluline, et titrandid oleksid mõõtmisprotsessi käigus stabiilsed ega lagundaks solventi või uuritavaid aineid.

Käesolevas töös kasutati titrandidena trifluorometaansulfoonhapet (TfOH) (Aldrich, 99+%) ja metaansulfoonhapet (Aldrich, 99+%). Sobivaks aluseliseks titrandiks oli *tert*-butüülimino-tris(pürrolidino)fosforaan [t-BuP1(pyrr)] (Fluka, 98+%) ja fosfaseen EtP₂(dma) (Aldrich, 98+%). Tiitrimiseks tehti titrandi lahused atsetonitriilis 0,05-0,2 M kontsentratsioonide vahemikus.

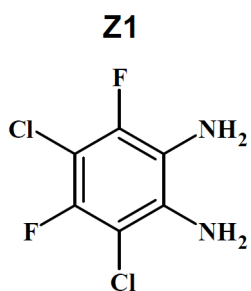
4.2.3 Uuritud ained ja referentsained

Käesolevas töös uuriti kahte tüüpi aineid. Esimene fluoroühendite ainete rühm on sünteesitud Prof. A. Zibarevi töögrupis Darya O. Prima poolt Venemaa Teaduste Akadeemias, Novosibirski Orgaanilise Keemia Instituudis. Tegemist on polüfluoreeritud lämmastik-heterotsüklitega ja aromaatsete diamiinidega, mis on nõrgad alused. Need ained on uudsed bioaktiivsed ühendid, mis on võimelised tekitama rakkude apoptoosi ning on potentsiaalselt sobivad ained vähiravimite välja töötamiseks [26].

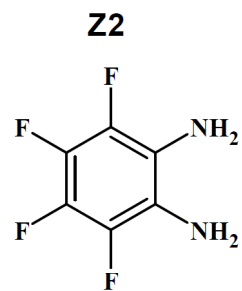
Mitmed lämmastik-heterotsüklid ning aromaatsed diamiinid sisaldasid lisandeid, mõnel juhul oli viaalis ka silmaga näha mitut erinevat tüüpi tahkist. Erinevad komponendid, mis uuritava ainega segus olid, välistasid paljud pK_{aH} määramise meetodid. ¹⁹F TMR meetodi puhul fluori mittesisaldavad lisandid ei kajastu spektris ja ei häiri mõõtmist, kui need uuritava ainega ei

reageeri. Ka fluori sisaldavad lisandid ei ole probleemiks, kui uuritava aine piik on identifitseeritav ega kattu lisandite piikidega. Küll pidi aga lisandeid sisaldavate ainete puhul kasutama tavalisest kõrgemaid kontsentratsioone, et uuritava ühendi signaal spektris oleks piisava intensiivsusega.

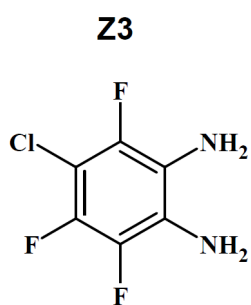
Uuritud ühendite rühma pK_{aH} väärtuste mõõtmise jaoks referentsaineteks sobisid mitmesugused fluoreeritud aniliinid, mis saadi kommertsiaalsetest allikatest. 2,4-difluoroaniliini ning 4-trifluoroaniliini pK_{aH} väärtused on pärit kirjanduslikust allikast [27], 2,5-difluoroaniliini, 2-trifluorometüülaniliini ning 2,6-difluoroaniliini pK_{aH} väärtused on mõõdetud Märt Lõkovi ning Helmi Ulrika Kirmi poolt. Uuritud ainete struktuurid on toodud Joonisel 1.



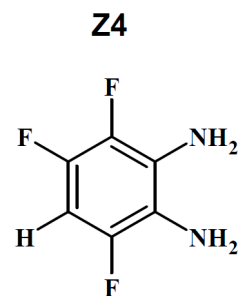
1,2-diamino-4,6-difluoro-3,5-diklorobenseen



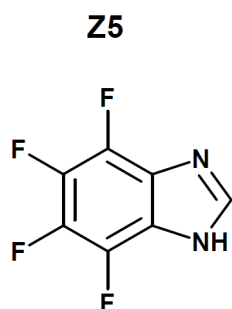
1,2-diamino-3,4,5,6-tetrafluorobenseen



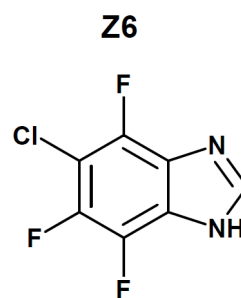
1,2-diamino-3,5,6-trifluoro-4-klorobenseen



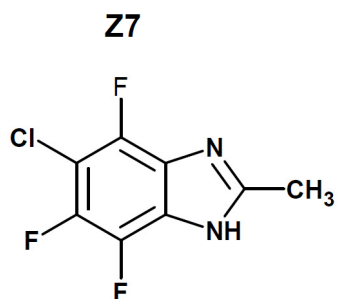
1,2-diamino-3,5,6-trifluorobenseen



4,5,6,7-tetrafluoro-1,3-bensodiasool



4,6,7-trifluoro-5-kloro-1,3-bensodiasool



4,6,7-trifluoro-5-kloro-2-metüül-1,3-bensodiasool

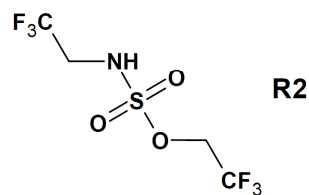
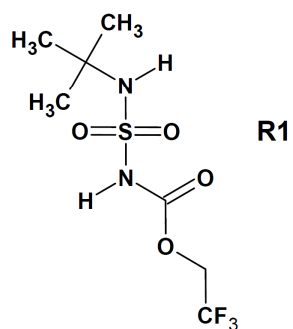
Joonis 1. Käesolevas töös uuritud polüfluoreeritud lämmastik-heterotsükliid ja aromaatsed diamiinid

Teine käesolevas töös uuritud ainete rühm on erinevad fluoreeritud sulfamaatestrid ning sulfamiidid, mis on sünteesitud Duke'i Ülikoolis (Durham, North Carolina, USA) [28]–[30]. Sulfamaatrühma sisaldavad ained on leidnud laia kasutust orgaanilises keemias, neid kasutatakse lämmastiku allikatena amineerimisel ja farmakoloogiliselt oluliste ühendite sünteesil. Sulfamaatestrid võivad oluliselt mõjutada reaktsioonisaaduste selektiivsust [28]. J. Roizeni teadusgrupp on välja töötanud meetodi, kuidas selliseid ühendeid soodsalt ning kõrge saagisega sünteesida [30], kuid tihti on ühendite rakenduse jaoks oluline teada nende pK_a väärtusi, näiteks selleks, et hinnata, kui sobiv on ühend lämmastiku allikana amineerimisel ning kui hea lahkuv rühm on tekkivate produktide sulforühm [28]. Sulfamaatestrite ja sulfamiidide referentsainetena kasutati aineid, mille pK_a väärtused olid varasemalt usaldusväärselt määratud ja sarnanesid uuritavate ainete eeldatavate pK_a väärtustega ning mis olid sobilikud ^{19}F TMR mõõtmiste jaoks. Referentsainetena kasutati aineid, mille pK_a väärtused olid varasemalt usaldusväärselt määratud ja sarnanesid uuritavate ainete eeldatavate pK_a väärtustega ning mis olid sobilikud ^{19}F TMR mõõtmiste jaoks.

Nende ainete mõõtmistel kasutati referentsidena erinevaid sulfoonamiide ja fenooli. Kasutatud fenoolid pärinesid kommertsiaalsetest allikatest ning nende pK_a väärtused on pärit kirjanduslikust allikast [12], välja arvatud 4-fluoro-2,6-dinitrofenool, mille pK_a väärtuse määras Juhan Luik. Referentsainete 4-CN-C₆F₄-NH₂, (C₆F₅)₂NH, C₆F₅-NHCOCH₃, 4-CF₃-C₆H₄-SO₂-NH₂, 3-CF₃-C₆H₄-SO₂-NH₂, C₆F₅-SO₂-NH₂ pK_a väärtused on määranud Märt Lõkov ja neist kaks esimest ainet on sünteesitud Prof. V. M. Vlasovi uurimisgrupis (Novosibirski Keemia Instituudis) ning ülejäänud sünteesis Sigrid Selberg. 3,5-(CF₃)₂-C₆H₃-CH₂-SO₂CF₃ pK_a väärtuse määras Jaan Saame ning aine pärineb Prof. M. Mishima grupist (Kyushu Ülikool).

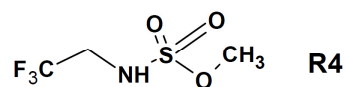
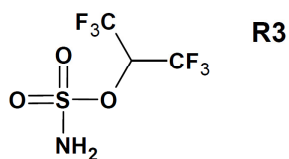
Fenoolide puhul atsetonitriili keskkonnas esineb homokonjugatsioon [12], mis üldiselt mõjutab saadavaid tulemusi. Antud töös pole aga homokonjugatsiooni mõju arvestatud, eeldades, et aset leiab ka heterokonjugatsioon fenooli ning mõõdetava aine aniooni vahel, mis on intensiivsusest võrreldav homokonjugatsiooniga ning need efektid taandavad üksteist välja. See eeldus on varasemates töödes kontrollitud ja kinnitust leidnud [31].

Joonisel 2 on toodud nende uuritud ainete struktuurid ja nimed.



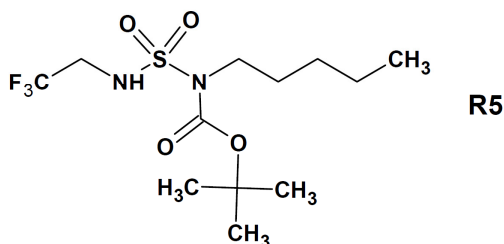
2,2,2-trifluoroetüül(2,2,2-trifluoroetüül)sulfamaat

N-(2,2,2-trifluoroetoksü)karbonüül-N'-tertbutüülsulfamiid

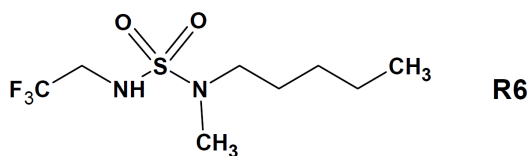


1,1,1,3,3,3-heksafluoropropan-2-üül-sulfamaat

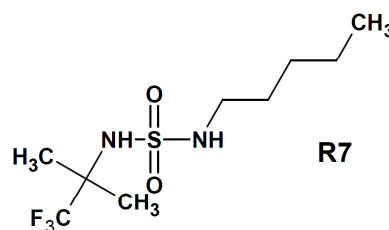
Metüül(2,2,2-trifluoroetüül)sulfamaat



N-tertbutoksükarbonüül-N-pentüül-N'-(2,2,2-trifluoroetüül)sulfamiid



N-metüül-N-pentüül-N'-(2,2,2-trifluoroetüül)sulfamiid



N-(2-metüül-1,1,1-trifluoroprop-2-üül)-N'-pentüülsulfamiid

Joonis 2. Käesolevas töös uuritud fluoreeritud sulfamaatestrid ning sulfamiidid

4.3 pK_a väärtuste mõõtmine

4.3.1 Meetodi üldine põhimõte

Uuritavate ainete pK_a väärtused määrati ^{19}F TMR meetodi abil. Kõikide uuritavate ainete ning referentsainete puhul toimus TMR ajaskaalas kiire prootonvahetus. Kasutati suhtelisi mõõtmisi, mille puhul mõõdetakse kahe aine happelisuse või aluselise erinevust ning saadakse ΔpK_a ehk kahe aine happelisuse-aluselise väärtuse erinevus, vastav võrrand number 8 on esitatud alapeatükis 3.1.1. Suhtelise mõõtmise meetodi eeliseks on kõrge täpsus, sest arvutustes ei ole tarvis kasutada pH-väärtusi ega aktiivsuskoeffitsiente [11]. NMR korral, kui tegemist on kiire prootonvahetusega, on täiendavaks eeliseks see, et uuritavate ainete kontsentratsioone ei ole tarvis teada ja need ei pea olema mõõtmise käigus konstantsed. Lisaks suhtelise mõõtmise puhul taandub suuresti välja ka võimalik vee sisalduse mõju [32], [33].

Uuritavate ainete pK_a väärtused leiti, mõõtes nende ΔpK_a väärtust mõne varasemalt uuritud aine (referentsaine) pK_a väärtuse suhtes. Seejuures on oluline, et referentsaine ja uuritava aine ΔpK_a väärtus ei oleks liiga suur (absoluutväärtus eelistatult alla 1,2 ja kindlasti alla 2) . Arvutusteks on vaja mõõta uuritavate ainete paari protoneeritud ja deprotoneeritud vormis ning nende vahepealsetes vormides. Saavutamaks ainete olekut erinevates vormides, reguleeriti keskkonna happelisust aluselise või happelise titrandi lisamisega. Ühe seeria jaoks tehti vähemalt viis erinevat proovi.

4.3.2 Lahuste valmistamine

Kõik töös kasutatud lahused valmistati viaalidesse kuivkapis. Olenevalt uuritavast ainest, lisati aine 16 ml viaali spaatli või Pasteuri pipetiga ning kaaluti. Uuritavat ainet ja referentse kaaluti viaali 0,5-15 mg ning lisati 2-5 mL atsetonitriili. Valmistatud emalahuse kontsentratsioon jäi $7 \cdot 10^{-6}$ - 0,04 M vahemikku.

Titrandide lahuste valmistamiseks kaaluti titranti 4 ml septumkorgiga viaali ning lisati 3-7 ml atsetonitriili, titrandide kontsentratsioon jäi vahemikku 0,05-0,2 M. Titrante lisati uuritavatele lahustele automaatdosaatoritega süstlaid.

Ehkki kõik lahused valmistati kuivkapis, pidi need TMR mõõtmiste jaoks kuivkapist välja tooma. Kõik tuubid suleti kuivkapis korgiga, kuid veendumaks, et väljaspool kuivkappi proovide veesisaldus liialt ei tõuse, kontrolliti peale mõõtmist proovide veesisaldust Karl Fischeri titraatori abil. See oli enamasti alla 12 ppm ja alati alla 20 ppm.

5. Tulemused ja arutelu

5.1 Ülevaade saadud tulemustest

Käesolevas töös uuriti kahte eri tüüpi fluoroühendeid ning määrati 14 aine pK_a või pK_{aH} väärtused atsetonitriilis. Seejuures rakendati meetodit nii hapete kui ka aluste uurimiseks (vastavalt pK_a ja pK_{aH} väärtuste määramiseks) ning erinevates happelisuse-aluselise piirkondades. Igat uuritavat ainet mõõdeti vähemalt 2 referentsaine suhtes ning pK_a või pK_{aH} väärtus määrati, leides mõõtmiste keskmise tulemuse.

Uuritavate ainete jaoks referentsaineid valides pidi jälgima, et uuritava aine ja referentsaine pK_a või pK_{aH} väärtused ei erineks liiga palju (eelistatult mitte rohkem kui 1,2 ühiku võrra, kuid kindlasti mitte rohkem kui 2 pK_a ühiku võrra), et kahe mõõdetava aine spektrid ei kattuks ning eelistati kiire prootonvahetusega ühendeid.

Mitme fluori aatomi ning fluori ja vesiniku aatomite vahel esines spinn-spinn vastasmõju, mis põhjustas spektrijoonte lõhenemist spektris. Seetõttu esines spektrites tihti multiplitseid signaale ning mõnel juhul tekkisid keerukad spinsüsteemid.

Referentsainetena eelistati kiire prootonvahetusega aineid, sest nende puhul on spektris protoneeritud ja deprotoneeritud vormide kohta üks keskmistatud signaal, mille asukoht sõltub protoneerumise määrast ja on seega vahetult kasutatav pK_a arvutustes. Selliselt töötades puudub vajadus piikide integreerimiseks, mis kasvataks tulemuste määramatust, kuna signaalide keemiliste nihete mõõtmine on TMR spektroskoopias oluliselt täpsem kui signaalide integraalide mõõtmine [24]. Üldiselt sobisid kiire prootonvahetusega referentsainetena erinevad OH ning NH happed. Samas, mitmete mahukate asendajatega CH hapete korral oli prootonvahetus tihtipeale aeglane, põhjustatuna mahukate asendajate steerilisest takistusest.

Fluori signaali piigi asukoht spektris sõltub vastava aatomi asukohast struktuuris. Nii näiteks on suur erinevus alifaatsetes ja aromaatsetes struktuurides paiknevate fluoriaatomite signaalide keemiliste nihete vahel. Aromaatses süsteemis oleva fluoriaatomi signaalid on enamasti negatiivsemad kui -125 ppm. Alifaatses süsteemis on aga fluoriaatomite signaalid enamasti vahemikus -85 kuni -60 ppm. Seega alifaatse ja aromaatse süsteemiga seotud fluori sisaldavate ühendite omavaheline mõõtmine ei põhjutanud signaalide kattumist. Võimalik oli mõõta ka sarnases süsteemis asuvaid fluore (näiteks kahte alifaatset fluori sisaldavat ühendit), kuid mõnel juhul tuli varieerida kontsentratsioone, et olla veendunud signaalide identifitseerimises.

Üldiselt spektrite kattumine probleemiks ei olnud, sest referentsained erinesid struktuurilt uuritavatest ainetest. Happelise titrandina kasutatud trifluorometaansulfoonhappe fluori aatomite signaal oli samuti spektris näha (-83 ppm juures), kuid see ei kattunud ühelgi juhul uuritava aine ega referentsaine F aatomite signaalidega ning oli pigem abiks titrandi koguse hindamisel spektrist.

Kõiki uuritud ained mõõdeti vähemalt 2 erineva referentsaine vastu. Iga uuritud ühendi ja referentsi omavahelisel mõõtmisel saadi ΔpK_a või ΔpK_{aH} väärtus, mille järgi sai arvutada uuritava aine pK_a või pK_{aH} väärtuse. Seega iga aine kohta leiti vähemalt 2 erinevat ΔpK_a või ΔpK_{aH} väärtust ning lõplikuks väärtuseks võeti nende aritmeetiline keskmine. Arvestades uuritava ühendi kõikide mõõtmiste tulemuste kooskõla, saadakse pK_a või pK_{aH} väärtuse määramatus. Saadud pK_a või pK_{aH} väärtuste määramatusi on käesoleval juhul otstarbekas esitada, vastavate skaalade primaar-referentsainete suhtes [34]. Nendeks aineteks on aluste korral püridiin ($pK_{aH} = 12.53$ [27]) hapete korral pikriinhape ($pK_a = 11.00$ [12]). Selline määramatuse esitus on kohane siis, kui neid väärtusi kasutatakse samade primaar-referentsainete suhtes mõõdetud ainete happelisuse/aluselise omavaheliseks võrdlemiseks, mis käesoleval juhul peab paika. Selle lähenemise korral vastavate primaar-referentsainete pK_a ja pK_{aH} väärtused loetakse ilma määramatuseta tugiväärtusteks [34] ja uuritavate ainete pK_a ja pK_{aH} väärtuste liitstandardmääramatuste u_c hinnangud koosnevad kahest osast: (1) $u_{kooskõla}$, mis on ruutkeskmine hälve mõõtmise i käigus (kokku on mõõtmisi n) vahetult mõõdetud väärtuste $\Delta pK_{a,i}$ ja vastavas mõõtmises uuritus aine assigneeritud väärtuse ($pK_{a,uuritav,i}$) ning selles mõõtmises kasutatud referentsaine väärtuse ($pK_{a,ref,i}$) vahel ja (2) kasutatud referentsainete pK_a väärtuste määramatused (u_{ref}), mis eeskätt on määratud referentsaine ja primaar-referentsaine omavahelise kauguse poolt skaalal [34]. Mõõtemääramatuse arvutust esitavad võrrandid:

$$u_{kooskõla} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\Delta pK_{a,i} - (pK_{a,uuritav,i} - pK_{a,ref,i}))^2}{n}} \quad (9)$$

$$u_c = \sqrt{u_{kooskõla}^2 + u_{ref}^2} \quad (10)$$

Arvestades uuritud aineseeriade paiknemist skaaladel võib uuritud aromaatsete amiinide korral $u_{distant}$ hinnanguliseks väärtuseks lugeda 0,09 ja uuritud sulfoühendite korral 0,13. On oluline märkida, selliselt leitud standardmääramatused u_c on kohased kasutada, kui võrrelda saadud tulemusi teiste uurijate saadud tulemustega, kuid ei ole kohased, kui võrrelda samade referentsainete suhtes mõõdetud pK_a ja pK_{aH} väärtusi. Viimasel juhul esineb mõõdetavate

väärtuste vahel tugev korrelatsioon, kuna kasutatud on samas piirkonnas asuvaid referentsaineid. Sellisel juhul on otstarbekam kasutada standardmääramatuse hinnanguna *U*kooskõla.

5.1.1 Kasutatud mõõtemetod ning uuritud ainete struktuur

Iga mõõdetud ainepaari jaoks oli tarvis mõõta aine protoneeritud ning deprotoneeritud vormides fluori aatomite keemilised nihked. Fluori aatomite arv ja asukoht molekuli struktuuris mängib mõõtmiste juures olulist rolli. Esiteks on oluline fluori aatomite asukoht molekulis, mida lähemal need ühendi happelisele vesinikule asuvad, seda rohkem üldiselt on fluori elektrontihedus (ning seeläbi ka tuumade varjestatus) sõltuv molekuli (de)protoneerumisest ning seda suurem on erinevus aine erinevate vormide fluori aatomite keemilistel nihete vahel. Nihke muutumise järgi leitakse aga pK_a väärtused ning mida suurem on nihete erinevus, seda väiksem on reeglina leitud pK_a väärtuste määramatus. Näiteks aine Z4 puhul erinesid nihked kahe piirvormi vahel kuni 16,2 ppm, aine R4 puhul oli kahe piirvormi nihete erinevus 0,43 ppm. Teiseks, fluori aatomitele vastava signaali intensiivsus spektris sõltub sellest, kui palju on molekulis magneetiliselt ekvivalentseid fluori aatomeid (sama molaarse kontsentratsiooni juures).

5.1.2 Polüfluoreeritud lämmastik-heterotsüklid ja aromaatsed diamiinid

Esimene uuritud ainete grupp olid erinevad polüfluoreeritud aromaatsed diamiinid ning lämmastik-heterotsüklid (bensimidasoolid). Huvi pakkusid nende ainete aluselised (pK_{aH} väärtused).

Kõiki uuritavaid aineid mõõdeti referentsainete suhtes, mille pK_{aH} väärtus oli usaldusväärselt teada [27] ning oli lähedane uuritava aine pK_{aH} väärtusega ja mis sobisid ^{19}F TMR mõõtmisteks. Esimese uuritud ainete rühma puhul sobisid referentsaineteks mitmesugused fluoreeritud aniliinid, sest nende pK_a väärtused on sarnases piirkonnas uuritud ainetega, neil on kiire prootonvahetus ning nende signaalid TMR spektris ei kattunud uuritavate ainetega. Tabelis 1 on toodud uuritavatele ainetele määratud pK_{aH} väärtused (paksus kirjas) ning mõõdetud ΔpK_{aH} väärtused. Kõiki uuritavaid ained mõõdeti vähemalt kahe erineva referentsaine suhtes.

Tabel 1. Polüfluoreeritud lämmastik-heterotsükliite ja aromaatsete diamiinide pK_{aH} väärtused atsetonitriili keskkonnas.

Aine	pK_{aH}	ΔpK_{aH}	$u_{kooskõla}$	u_c
Z7 4,6,7-trifluoro-5-kloro-2-metüül-1,3-bensodiaso	8,80		0,02	0,09
Z5 4,5,6,7-tetrafluoro-1,3-bensodiasool	8,51		0,01	0,09
Z6 4,6,7-trifluoro-5-kloro-1,3-bensodiasool	8,49		0,01	0,09
2,4-difluoroaniliin	8,39			
4-trifluorometüülaniin	8,03			
Z4 1,2-diamino-3,5,6-trifluorobenseen	7,61		0,07	0,11
2,5-difluoroaniliin	6,96			
Z3 1,2-diamino-3,5,6-trifluoro-4-klorobenseen	6,62		0,05	0,10
2-trifluorometüülaniin	6,53			
Z1 1,2-diamino-4,6-difluoro-3,5-diklorobenseen	6,48		0,01	0,09
2,6-difluoroaniliin	6,44			
Z2 1,2-diamino-3,4,5,6-tetrafluorobenseen	6,12		0,04	0,10

Mitmete uuritud ainete juures osutus probleemiks ebapiisav puhtus, mistõttu pidi kohati kasutama kõrgemaid kontsentratsioone, et uuritava aine signaal spektris oleks piisava intensiivsusega.

5.1.3 Fluoreeritud sulfamaatestrid ning sulfamiidid

Teine ainete rühm, mida käesolevas töös uuriti, olid erinevad fluoreeritud sulfamaatestrid ning sulfamiidid. Sarnaseid ühendeid oli valikus palju, millest uurimiseks võeti valim, mis kataks võimalikult laia pK_a väärtuste vahemiku, et eksperimentaalsete andmete põhjal luua mudel sarnaste ühendite pK_a väärtuste ennustamiseks. Arvutusmudeli loomine (mudeli loomine ei olnud käesoleva töö osa) on otstarbekas, sest mõõtmised olid ressursimahukad ning kuna uuritavad ained kuuluvad suhteliselt kitsasse aineklassi, on võimalik luua küllaltki täpne mudel sarnaste ühendite pK_a väärtuste ennustamiseks. Lisaks saab Roizeni teadusgrupp iseseisvalt kasutada mudelit ka edaspidi sarnaste sünteesitavate ühendite pK_a väärtuste hindamiseks.

Uuritavad ained olid enamasti nõrgad happed, mille pK_a väärtused asusid vahemikus 16 kuni 28. Referentsideks sobisid erinevad sulfoonamiidid ning fluorofenoolid. Tabelis 2 on toodud uuritavatele ainetele määratud pK_a väärtused (paksus kirjas) ning mõõdetud ΔpK_a väärtused.

Tabel 2. Fluoreeritud sulfamaatestrite ning sulfamiidide pK_a väärtused atsetonitriili keskkonnas

Aine	pK_a	ΔpK_a	$u_{\text{kooskõla}}$	u_c
4-CN-C ₆ F ₄ -NH ₂	28,77			
R7 N-(2-metüül-1,1,1-trifluoroprop-2-üül)-N'-pentüülsulfamiid	27,74	1,07	0,04	0,14
C ₆ F ₅ -NHCOCH ₃	26,43	1,35		
R6 N-metüül-N-pentüül-N'-(2,2,2-trifluoroetüül)sulfamiid	25,4		0,04	0,13
4-CF ₃ -C ₆ H ₄ -SO ₂ -NH ₂	25,23	0,12		
3-CF ₃ -C ₆ H ₄ -SO ₂ -NH ₂	25,2	0,19		
(C ₆ F ₅) ₂ NH	23,97	-1,92		
R5 N-tertbutoksükarbonüül-N-pentüül-N'-(2,2,2-trifluoroetüül)sulfamiid	23,3	0,59	0,06	0,14
3,5-(CF ₃) ₂ -C ₆ H ₃ -CH ₂ -SO ₂ CF ₃	22,82			
C ₆ F ₅ -SO ₂ -NH ₂	22,27	-0,77		
R4 2,2,2-trifluoroetüül(2,2,2-trifluoroetüül)sulfamaat	22,05	0,22	0,00	0,13
2,3,5,6-tetrafluorofenool	20,12			
2,3,4,5,6-pentafluorofenool	20,11	-0,33		
R3 1,1,1,3,3,3-heksafluoropropaan-2-üül-sulfamaat	19,6	1,21	0,23	0,26
R2 2,2,2-trifluoroetüül(2,2,2-trifluoroetüül)sulfamaat	18,8	0,77	0,09	0,16
4-CF ₃ -tetrafluorofenool	16,62			
R1 N-(2,2,2-trifluoroetoksü)karbonüül-N'-tertbutüülsulfamiid	16,32	0,27	0,02	0,13
4-fluoro-2,6-dinitrofenool	16,07	0,22	0,02	0,13

Selleks, et veenduda uuritud ainete piirvormi jõudmises, kasutati vajadusel TMR mõõtmistele lisaks paralleelselt ka UV-Vis spektromeetriat. UV-Vis mõõtmisi tehti otse kuivkapis ja seeläbi saadi kiirelt esialgne hinnang olukorrale. Enamasti mõõdetud ainepaaride puhul vähemalt ühel esines UV-Vis alas neeldumine ning mõõdetud spektrite abil sai hinnata ühe aine vormide suhet. Küll aga on TMR ja UV-Vis spektroskoopia jaoks kasutatavad ainete kontsentratsioonid tihti erinevad (TMR meetodil kasutatav kontsentratsioon on enamasti kõrgem) ning uuritavaid ained sisaldasid mõnel juhul segavaid lisandeid, mistõttu UV-Vis mõõtmine andis ligikaudse hinnangu proovile deprotoneerumise-protoneerumise määrale ühe aine kohta ja TMR andis infot mõlema lahuses oleva aine kohta.

Referentsainete valikul jälgiti seda, et ühendid oleksid kiire protonvahetusega (osaliselt (de)protoneerunud vormil esineb TMR spektris üks koalestseerunud signaal, mitte kaks eraldi signaali).

5.2 TMR meetodi valideerimine UV-Vis meetodi vastu

¹⁹F TMR meetodil saadud tulemusi võrreldi laialt kasutatava UV-Vis meetodiga. Kuna uuritavaid aineid mõõdeti mitme referentsaine vastu, siis saab paljudel juhtudel mõõdetud ΔpK_a väärtuste põhjal leida kahe referentsaine omavahelise ΔpK_a väärtuse. TMR meetodiga leitud

kahe referentsaine ΔpK_a väärtust saab võrrelda UV-Vis meetodil leitud vastava väärtusega ning hinnata nende kokkulangevust. Selline võrdlus on kohane enamiku referentsainete suhtes, kuid fluorofenoolide puhul, kus olenevalt koos mõõdetavast ainepaarist ja kontsentratsioonidest võivad esineda nii homo- kui heterokonjugatsioon, ei ole võrdlus asjakohane, sest toimuvad kõrvalprotsessid mõjutavad oluliselt tulemusi. Tabelis 3 on välja toodud TMR meetodil leitud referentsainete ΔpK_a väärtus ning UV-Vis meetodil leitud ΔpK_a ning nende erinevused.

Tabel 3. TMR ja UV-Vis tulemuste võrdlus

Referents 1	Referents 2	$\Delta pK_{a(H)}$ (TMR)	$\Delta pK_{a(H)}$ (UV-Vis)	Erinevus
2,4-difluoroaniliin	4-trifluorometüülaniliin	0,33	0,36	-0,03
2,5-difluoroaniliin	2-trifluorometüülaniliin	0,41	0,43	-0,02
2-trifluorometüülaniliin	2,6-difluoroaniliin	0,11	0,09	0,02
4-CN-C ₆ F ₄ -NH ₂	C ₆ F ₅ -NHCOCH ₃	2,42	2,34	0,08
4-CF ₃ -C ₆ H ₄ -SO ₂ -NH ₂	3-CF ₃ -C ₆ H ₄ -SO ₂ -NH ₂	0,07	0,03	0,04
3-CF ₃ -C ₆ H ₄ -SO ₂ -NH ₂	(C ₆ F ₅) ₂ NH	1,33	1,23	0,10
3,5-(CF ₃) ₂ -C ₆ H ₃ -CH ₂ -SO ₂ CF ₃	C ₆ F ₅ -SO ₂ -NH ₂	0,55	0,55	0,00

Võrreldud aluseliste ühendite keskmine erinevus kahe mõõtemetodi vahel on 0,023 ühikut ning hapete puhul 0,055. Nii aluseliste kui hapete UV-Vis skaalade kooskõlaline standardhälve on 0,03 ühikut [12], [27]. Saadud keskmised erinevused on mõlemal juhul võrreldavad vastavate skaalade kooskõllalisuse standardhälvetega, mistõttu kasutatud ¹⁹F TMR meetodi usaldusväärsuse võib lugeda suures plaanis sarnaseks UV-Vis spektrofotomeetrilise meetodiga.

6. Kokkuvõte ja edasiarendamise võimalused

Fluorühendite pK_a määramine atsetonitriili keskkonnas ^{19}F tuumamagnetresonantsspektroskoopiat kasutades

Käesolevas töös arendati välja ^{19}F tuumamagnetresonantsspektroskoopia põhinev meetod fluorühendite pK_a väärtuste määramiseks atsetonitriilis ning rakendati seda 7 happelise ühendi pK_a ning 7 aluselise ühendi pK_{aH} väärtuste määramisel. Sellega näidati, et meetod on kasutatav fluorühendite happelisuse ja aluseliseuse hindamiseks mittevesikeskkonnas. Meetodi täpsust võrreldi ulatuslikult kasutatava UV-Vis meetodi täpsusega ja leiti, et see on kasutamiseks sobiv. ^{19}F TMR meetodil on mitmeid eeliseid teiste meetodite ees, näiteks on tihti võimalik edukalt mõõta madala puhtusega aineid, samuti pole mõõdetavate ainete täpsete kontsentratsioonide teadmine vajalik.

Selles töös mõõdetud aineid saab edaspidi kasutada referentsainetena uudsete ainete pK_a väärtuste mõõtmisel, samuti saab kasutada eksperimentaalselt mõõdetud väärtusi arvutusmodelite koostamiseks sarnaste ühendite jaoks.

Tööd saab edasi arendada, mõõtes veel erinevate fluorühendite pK_a väärtusi atsetonitriilis, samuti saaks selle meetodiga ainete pK_a väärtusi määrata mõnes teises solvendis või rakendada sarnast meetodit mõne teise TMR tundliku tuuma jaoks.

7. Summary and future directions

In this work a ^{19}F nuclear magnetic resonance spectroscopy method was developed to determine $\text{p}K_{\text{a}}$ values in acetonitrile. Altogether, 7 acidic and 7 basic fluorocompounds were studied and their $\text{p}K_{\text{a}}$ and $\text{p}K_{\text{aH}}$ values, respectively, were determined. The method was validated against UV-Vis method and was found suitable for determination of $\text{p}K_{\text{a}}$ and $\text{p}K_{\text{aH}}$ of fluorocompounds in nonaqueous media. ^{19}F NMR has many advantages compared to other techniques, for example it is often possible to measure impure compounds and accurate concentration is not needed.

Compounds that were measured in this work, can be used as reference compounds for future $\text{p}K_{\text{a}}$ measurements in acetonitrile. The experimentally measured values can also be used to create computational models for similar compounds.

For future studies, the scale can be extended by measuring more fluorocompounds in acetonitrile. In addition, other solvents could be used and it is possible to apply this method to other NMR-active nuclei.

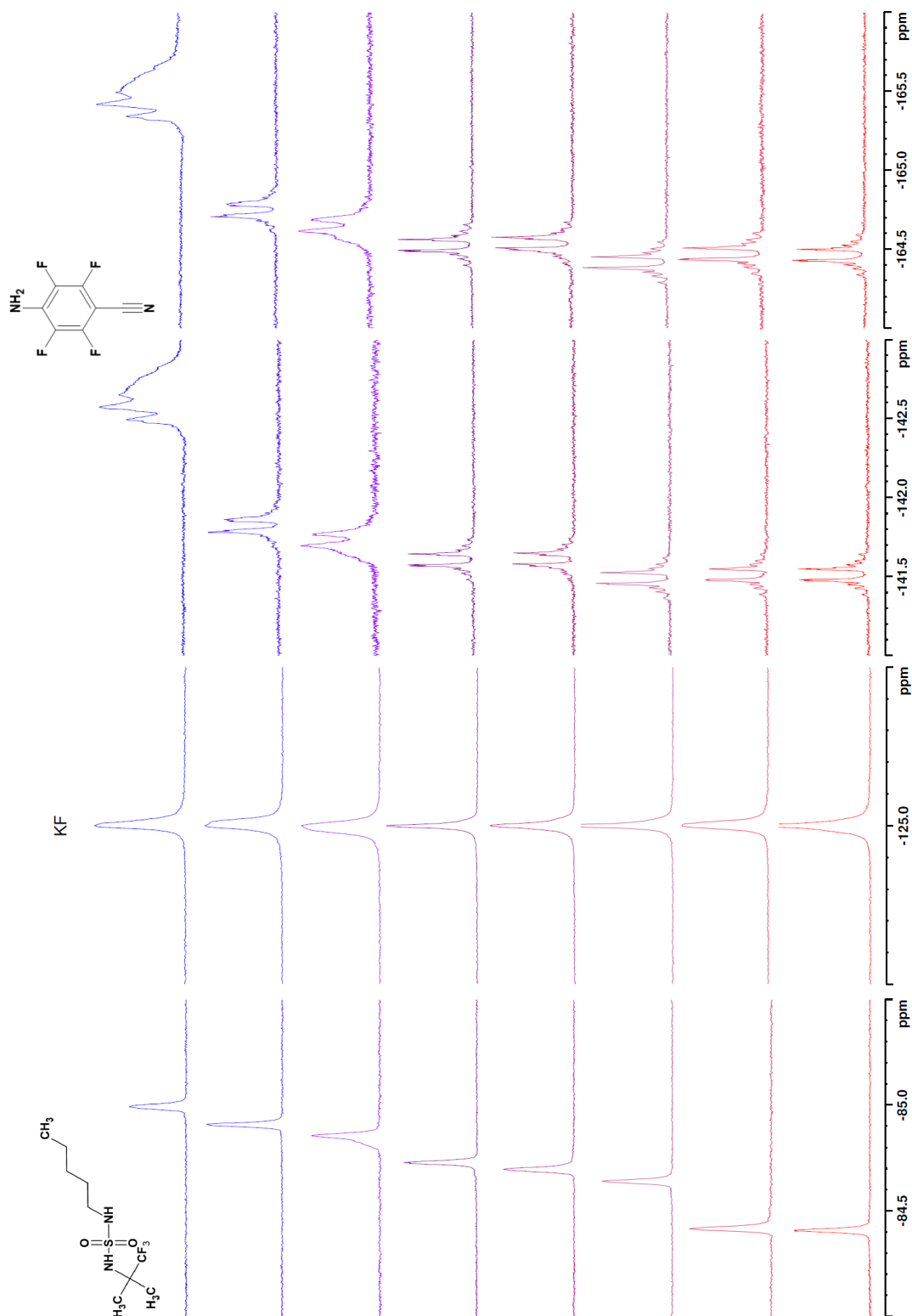
8. Kasutatud kirjandus

- [1] P. Kirsch, *Modern fluoroorganic chemistry: synthesis, reactivity, applications*. Weinheim: Wiley-VCH, 2004.
- [2] E. Parman, L. Toom, S. Selberg, and I. Leito, "Determination of pK_a values of fluorocompounds in water using ^{19}F NMR," *J Phys Org Chem*, vol. 32, no. 6, p. e3940, Jun. 2019, doi: 10.1002/poc.3940.
- [3] G. Siegemund *et al.*, "Fluorine Compounds, Organic," in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Ed. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2016, pp. 1–56.
- [4] T. Haljasorg *et al.*, "Alternative Eluent Composition for LC-MS Analysis of Perfluoroalkyl Acids in Raw Fish Samples," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 62, no. 23, pp. 5259–5268, Jun. 2014, doi: 10.1021/jf5007243.
- [5] R. Veigure *et al.*, "Retention of acidic and basic analytes in reversed phase column using fluorinated and novel eluent additives for liquid chromatography-tandem mass spectrometry," *Journal of Chromatography A*, p. 460667, Nov. 2019, doi: 10.1016/j.chroma.2019.460667.
- [6] R. D. Howells and J. D. Mc Cown, "Trifluoromethanesulfonic acid and derivatives," *Chem. Rev.*, vol. 77, no. 1, pp. 69–92, Feb. 1977, doi: 10.1021/cr60305a005.
- [7] S. J. Stout and A. R. DaCunha, "Tuning and calibration in thermospray liquid chromatography/mass spectrometry using trifluoroacetic acid cluster ions," *Anal. Chem.*, vol. 61, no. 18, pp. 2126–2128, Sep. 1989, doi: 10.1021/ac00193a027.
- [8] P. W. Atkins and L. Jones, *Chemical principles: the quest for insight*, 4th ed. New York: W.H. Freeman, 2008.
- [9] C. Reichardt and T. Welton, *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2010.
- [10] A. Kütt *et al.*, "pKa values in organic chemistry – Making maximum use of the available data," *Tetrahedron Letters*, vol. 59, no. 42, pp. 3738–3748, Oct. 2018, doi: 10.1016/j.tetlet.2018.08.054.
- [11] A. Kütt *et al.*, "Equilibrium Acidities of Superacids," *J. Org. Chem.*, vol. 76, no. 2, pp. 391–395, Jan. 2011, doi: 10.1021/jo101409p.
- [12] A. Kütt *et al.*, "A Comprehensive Self-Consistent Spectrophotometric Acidity Scale of Neutral Brønsted Acids in Acetonitrile," *J. Org. Chem.*, vol. 71, no. 7, pp. 2829–2838, Mar. 2006, doi: 10.1021/jo060031y.
- [13] J.-L. M. Abboud and R. Notari, "Critical compilation of scales of solvent parameters. Part I. Pure, non-hydrogen bond donor solvents," *Pure and Applied Chemistry*, vol. 71, no. 4, pp. 645–718, Jan. 1999, doi: 10.1351/pac199971040645.
- [14] I. Kaljurand *et al.*, "Extension of the Self-Consistent Spectrophotometric Basicity Scale in Acetonitrile to a Full Span of 28 pK_a Units: Unification of Different Basicity Scales," *J. Org. Chem.*, vol. 70, no. 3, pp. 1019–1028, Feb. 2005, doi: 10.1021/jo048252w.
- [15] J. F. Coetzee, "Ionic Reactions in Acetonitrile," in *Progress in Physical Organic Chemistry*, A. Streitwieser and R. W. Taft, Eds. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 1967, pp. 45–92.
- [16] R. P. Buck *et al.*, "Measurement of pH. Definition, standards, and procedures (IUPAC Recommendations 2002)," *Pure and Applied Chemistry*, vol. 74, no. 11, pp. 2169–2200, Jan. 2002, doi: 10.1351/pac200274112169.
- [17] A. Trummal, L. Lipping, I. Kaljurand, I. A. Koppel, and I. Leito, "Acidity of Strong Acids in Water and Dimethyl Sulfoxide," *J. Phys. Chem. A*, vol. 120, no. 20, pp. 3663–3669, May 2016, doi: 10.1021/acs.jpca.6b02253.

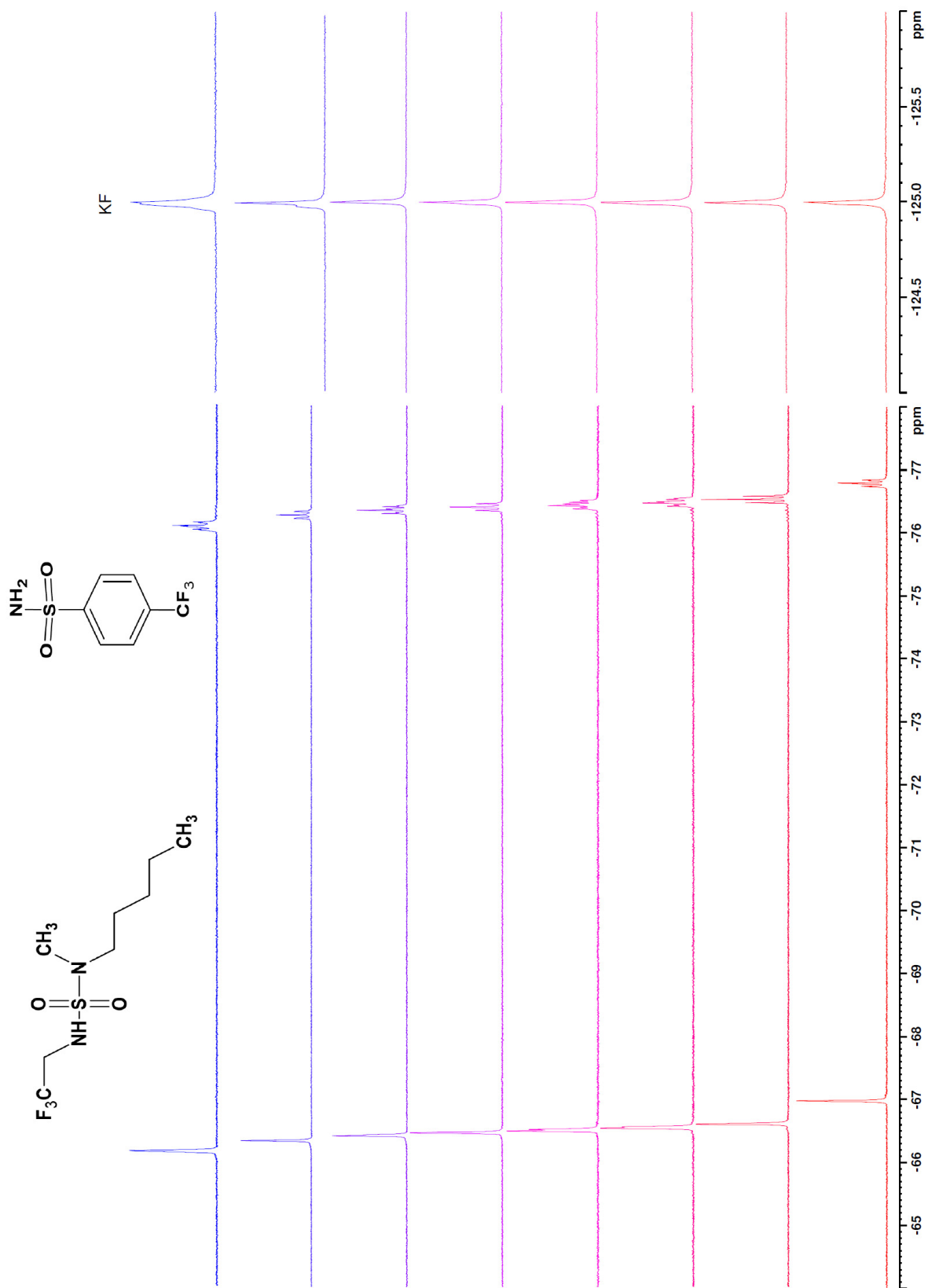
- [18] I. Kaljurand *et al.*, “Acid–Base Equilibria in Nonpolar Media. 4. Extension of the Self-Consistent Basicity Scale in THF Medium. Gas-Phase Basicities of Phosphazenes,” *J. Org. Chem.*, vol. 68, no. 26, pp. 9988–9993, Dec. 2003, doi: 10.1021/jo034537h.
- [19] J. Barbosa, D. Barrón, S. Butí, “Autoprotolysis Constants and Standardization of pH Measurements in Tetrahydrofuran-Water Mixtures,” *Electroanalysis*, vol. 11, no. 9, pp. 627–631, 1999.
- [20] Atta-ur-Rahman and M. Iqbal Choudhary, Eds., *Applications of NMR Spectroscopy*. BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS, 2016.
- [21] C. Reichardt and T. Welton, *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*. John Wiley & Sons, 2011.
- [22] R. G. Bryant, “The NMR time scale,” *J. Chem. Educ.*, vol. 60, no. 11, p. 933, Nov. 1983, doi: 10.1021/ed060p933.
- [23] J. Reijenga, A. van Hoof, A. van Loon, and B. Teunissen, “Development of Methods for the Determination of pK_a Values,” *Anal Chem Insights*, vol. 8, p. ACI.S12304, Jan. 2013, doi: 10.4137/ACI.S12304.
- [24] W. R. Dolbier, *Guide to fluorine NMR for organic chemists*. Hoboken, N.J: Wiley, 2009.
- [25] R. F. Cookson, “Determination of acidity constants,” *Chem. Rev.*, vol. 74, no. 1, pp. 5–28, Feb. 1974, doi: 10.1021/cr60287a002.
- [26] D. O. Prima *et al.*, “Halogenated (F, Cl) 1,3-benzodiazoles, 1,2,3-benzotriazoles, 2,1,3-benzothia(selena)diazoles and 1,4-benzodiazines inducing Hep2 cell apoptosis,” *Mendeleev Communications*, vol. 27, no. 5, pp. 439–442, Sep. 2017, doi: 10.1016/j.mencom.2017.09.002.
- [27] S. Tshepelevitsh *et al.*, “On the Basicity of Organic Bases in Different Media: On the Basicity of Organic Bases in Different Media,” *Eur. J. Org. Chem.*, vol. 2019, no. 40, pp. 6735–6748, Oct. 2019, doi: 10.1002/ejoc.201900956.
- [28] J. L. Roizen, D. N. Zalatan, and J. Du Bois, “Selective Intermolecular Amination of C–H Bonds at Tertiary Carbon Centers,” *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 52, no. 43, pp. 11343–11346, Oct. 2013, doi: 10.1002/anie.201304238.
- [29] E. N. Bess *et al.*, “Analyzing Site Selectivity in Rh²(esp)²-Catalyzed Intermolecular C–H Amination Reactions,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 136, no. 15, pp. 5783–5789, Apr. 2014, doi: 10.1021/ja5015508.
- [30] J. M. Blackburn, M. A. Short, T. Castanheiro, S. K. Ayer, T. D. Muellers, and J. L. Roizen, “Synthesis of *N*-Substituted Sulfamate Esters from Sulfamic Acid Salts by Activation with Triphenylphosphine Ditriflate,” *Org. Lett.*, vol. 19, no. 21, pp. 6012–6015, Nov. 2017, doi: 10.1021/acs.orglett.7b03059.
- [31] I. Leito, I. Kaljurand, I. A. Koppel, L. M. Yagupolskii, and V. M. Vlasov, “Spectrophotometric Acidity Scale of Strong Neutral Brønsted Acids in Acetonitrile,” *J. Org. Chem.*, vol. 63, no. 22, pp. 7868–7874, Oct. 1998, doi: 10.1021/jo981124l.
- [32] K. Kaupmees, I. Kaljurand, and I. Leito, “Influence of Water Content on the Acidities in Acetonitrile. Quantifying Charge Delocalization in Anions,” *The Journal of Physical Chemistry A*, vol. 114, no. 43, pp. 11788–11793, Nov. 2010, doi: 10.1021/jp105670t.
- [33] K. Kaupmees, I. Kaljurand, and I. Leito, “Influence of Water Content on Basicities in Acetonitrile,” *Journal of Solution Chemistry*, vol. 43, no. 7, pp. 1270–1281, Jul. 2014, doi: 10.1007/s10953-014-0201-4.
- [34] L. Sooväli, I. Kaljurand, A. Kütt, and I. Leito, “Uncertainty estimation in measurement of pK_a values in nonaqueous media: A case study on basicity scale in acetonitrile medium,” *Analytica Chimica Acta*, vol. 566, no. 2, pp. 290–303, May 2006, doi: 10.1016/j.aca.2006.03.020.

9. Lisad

Joonis L1. 4-CN-C₆F₄-NH₂ ja N-(2-metüül-1,1,1-trifluoroprop-2-üül)-N'-pentüülsulfamiidi suhtelise mõõtmise TMR spektrid, leitud ΔpK_a väärtus 1,07 ühikut.



Joonis L2. N-metüül-N-pentüül-N'-(2,2,2-trifluoroetüül)sulfamiidi ja 4-CF₃-C₆H₄-SO₂-NH₂ suhtelise mõõtmise TMR spektrid, leitud ΔpK_a väärtus 0,12 ühikut.



INFOLEHT

Fluorühendite pK_a määramine atsetonitriili keskkonnas ^{19}F tuumamagnetresonantsspektroskoopiat kasutades.

Käesolevas töös töötati välja meetod fluoroühendite pK_a ja pK_{aH} väärtuste mõõtmiseks atsetonitriilis ning mõõdeti 7 happelisele fluoroühendile pK_a väärtused ning 7 aluselisele fluoroühendile pK_{aH} väärtused, kasutades selleks ^{19}F tuumamagnetresonantsspektroskoopiat (TMR). Viidi läbi suhtelisi mõõtmisi ja arendatud meetodit võrreldi UV-Vis meetodiga. Töö tulemustena esitati pK_a või pK_{aH} väärtused kokku 14 ühendile ning neid saab kasutada referentsainetena tulevaste pK_a või pK_{aH} mõõtmiste juures.

Märksõnad: pK_a , pK_{aH} , ^{19}F TMR, fluoroühendid

CERCS: P300 analüütiline keemia

Determination of pK_a values of fluorocompounds in acetonitrile using ^{19}F NMR

In this work a method was developed to measure pK_a and pK_{aH} values in acetonitrile. pK_a values of 7 acidic and pK_{aH} values of 7 basic fluorocompounds were determined, using ^{19}F NMR. Relative measurements were carried out and the ^{19}F NMR method was compared to UV-Vis method. As a result, pK_a or pK_{aH} values for 14 compounds were published and they can be used as reference compounds for pK_a or pK_{aH} measurements from now on.

Keywords: pK_a , pK_{aH} , ^{19}F NMR, fluorocompounds

CERCS: P300 Analytical Chemistry

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Elisabeth Parman

1. Annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

„Fluoroühendite pK_a määramine atsetonitriili keskkonnas ^{19}F tuumamagnetresonantsspektroskoopiat kasutades“, mille juhendaja on Ivo Leito,

1.1 reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2 üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu alates 02.06.2023 kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 25.05.2020