

TARTU ÜLIKOOL

Loodus- ja täppisteaduste valdkond

Keemia instituut

Kristjan Kõster

**Erinevate indooli derivaatide happelisuse määramine
atsetonitriilis**

Bakalaureusetöö (6 EAP)

Keemia

Juhendajad: Ivo Leito, PhD

Jaan Saame, MSc

Tartu 2023

INFOLEHT

Erinevate indooli derivaatide happelisuse määramine atsetonitriilis

Suurus pK_a on keemias kasutusel kirjeldamaks ainete happelisi ja aluselisi omadusi. Konkreetsetel happel või alusel on see väärtus aga igas lahustis erinev. Üheks väga sobivaks lahustiks happe-aluse uuringute jaoks on atsetonitriil, kus on välja töötatud spektrofotomeetriline tiitrimismeetod pK_a väärtuste määramiseks. Kasutades seda meetodit leiti 9 erineva indooli derivaadi pK_a väärtused atsetonitriilis. Need jäid vahemikku 22,12 – 29,91. Mõõdetud ainetest nõrgim hape on 7-nitroindool ja tugevaim on 5-nitroisatiin. Töö aitas täiendada hapete pK_a skaalat atsetonitriili keskkonnas, eeskätt just nõrgemate hapete osas, kus seni oli happeid pigem vähe, ja aitas kaasa Dmitri Trubitsõni doktoritöö valmimisele.

Märksõnad: pK_a , atsetonitriil, nõrgad happed, indool, UV-Vis spektrofotomeetria

Determining pK_a values of different indole derivatives in acetonitrile

Acidic and basic properties of different substances are described by pK_a values. The pK_a value of an acid or a base depends on the solvent. Acetonitrile is a highly suitable solvent for acid-base studies and a spectrophotometric titration method was developed in acetonitrile to measure pK_a values. This method was used to measure the pK_a values of 9 different indole derivatives. It was discovered that they were in the range of 22,12 – 29,91. The weakest measured acid was 7-nitroindole and the strongest was 5-nitroisatin. This thesis helped to integrate new acids into the existing pK_a scale, especially to the weak acid section, where the number of acids was previously limited, and to help Dmitri Trubitsõn achieve one of the goals for his doctoral thesis.

Keywords: pK_a , acetonitrile, weak acids, indole, UV-Vis spectrophotometry

Sisukord

Kasutatud lühendid.....	4
Sissejuhatus	5
1. Kirjanduse ülevaade	6
1.1 Hape-alus tasakaal lahuses	6
1.2 Happelisuse määramine gaasifaasis	7
1.3 Happelisuse määramine lahuses	7
1.3.1 Happelisuse määramise meetodid	8
1.3.2 Erinevad lahustid	9
1.4 Happelisuse mõõtmise rakendused	10
1.5 Uuritavad ained	10
2. Metoodika.....	12
2.1 Meetodi valik.....	12
2.2 Töövõtted	12
2.3 Mõõtmiste põhimõtted	13
2.4 Kasutatavate ainete päritolu	16
3. Tulemused ja arutelu	17
3.1 Töö tulemused.....	17
3.2 Uuritud ainete sobivus pK_a väärtuste mõõtmisel referentsaineteks	18
3.3 Uuritud ainete happelisuse ja molekulaarstruktuuri vahelised seosed	19
3.4 Nitroindoolide pK_a väärtuste kasutamisest reaktsioonivõime ennustamisel	21
Kokkuvõte	22
Summary	23
Kasutatud kirjandus.....	24

Kasutatud lühendid

MeCN	atsetonitriil
K_a	dissotsiatsioonikonstant
pK_a	dissotsiatsioonikonstandi negatiivne kümnendlogaritm
K_{auto}	autoprotolüüsi tasakaalukonstant
NMR	tuumamagnetresonantsspektromeetria
UV-Vis	ultraviolett-nähtav
ϵ_r	suhteline dielektriline läbitavus
HPMS	kõrgrõhu-massispektromeetria
FT-ICR	FT-ICR massispektromeetria
RNA	ribonukleinhape
DNA	desoksüribonukleinhape
α	dissotsiatsioonimäär
A^λ	neelduvus lainepikkusel λ
f	aktiivsuskoeffitsent
I_0	esialgne valguse intensiivsus lainepikkusel λ
I	proovi läbinud valguse intensiivsus lainepikkusel λ

Sissejuhatus

Hape-alus tasakaalud on ühed kõige olulisemad keemilised tasakaalud. Need esinevad peaaegu kõigis keemiavaldkondades, näiteks materjaliteaduses, keskkonnakeemias ja molekulaarbioloogias.¹ Sellepärast on neid tasakaale ka laialdaselt uuritud. Enim on seda tehtud vesikeskkonnas, kus võib leida palju andmeid ühendite happeliste ja aluseliste omaduste kohta, eeskätt vastavaid pK_a väärtusi. Kahjuks on mittevesikeskkondades vähem uuringuid läbi viidud. Samas on vaja teada ja osata kirjeldada ühendite käitumist ka neis keskkondades, sest see aitab ennustada protsesside kulgemist.

Osades mittevesikeskkondades on ainete happeliste-aluseliste omaduste kirjeldamisel siiski tehtud teatud määral edusamme. Näiteks võib tuua atsetonitriili (MeCN), milles on välja töötatud ühendite happelisuste skaala. See skaala on väga kasulik tööriist ja sisaldab juba praegu arvukalt aineid. Kahjuks ei ole see ainetega ühtlaselt kaetud. Eriti puudutab see nõrkade hapete osa, kus aineid on küllaltki vähe. Käesoleva töö esimeseks eesmärgiks on laiendada skaalat atsetonitriili keskkonnas just nõrgemate hapete osas.

Üheks selliseks suhteliselt nõrkade hapete grupiks on nitroindoolid. Neid kasutatakse biokeemias ja farmakoloogias. Näiteks 5-nitroindooli on nukleiinhapete uuringutes nimetatud „universaalseks aluseks“, mis tähendab, et see sobitub teiste RNA ja DNA lämmastikalustega.² Mainitud kasutusvalade seisukohast on oluline teada erinevate nitroindoolide happelisi omadusi. Selletõttu on selle töö teine eesmärk teha kindlaks erinevate nitroindoolide, aga ka mõnede lähedaste ainete – isatiini, 5-nitroisatiini ja 3-tsüanoindooli – pK_a väärtused atsetonitriilis. Konkreetsete ainete pK_a väärtuste alusel saab teha nii üldisi järeldusi indoolide ainegrupi happe-alus omaduste kohta kui ka muude asendusrühmadega indoolide happelisuste kohta. Samuti on võimalik mõõdetud aineid kasutada tulevaste mõõtmiste jaoks sobivate omadustega referentainetena.

Käesolev töö aitas kaasa Dmitri Trubitsõni³ doktoritöö valmimisele, mille käigus oli vajadus teada just erinevate indoolide pK_a väärtuseid. Tema töö eesmärgiks oli sünteesida enantioselektiivselt N-alküleeritud indoole ja käesoleva töö abil sai ta kindlaks teha, kuidas mõjutab nitro rühma asukoht indooli happelisust. Neid teadmisi sai kasutada Aza-Michael'i katalüütilise reaktsiooni läbiviimiseks.

1. Kirjanduse ülevaade

1.1 Hape-alus tasakaal lahuses

Bronsted-Lowry teooria järgi on hape aine, mis loovutab reaktsioonis prootoni alusele, ja alus aine, mis liidab endaga prootoni. Seda kirjeldab järgnev tasakaal (1).



Reaktsioonis käituvad HA ja HB hapetena ning A^- ja B^- alustena. Kusjuures aniooni B^- saab nimetada happe HB konjugeeritud aluseks ja ühendit HA aluse A^- konjugeeritud happeks.⁴

Selle tasakaalu kohta saab välja kirjutada tasakaalukonstandi K avaldise (2).

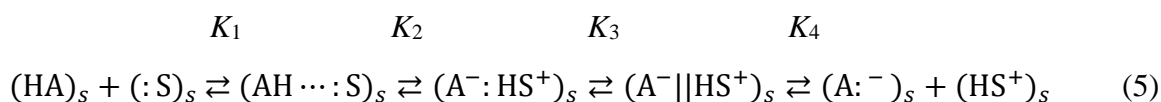
$$K = \frac{a(\text{HB}) \cdot a(\text{A}^-)}{a(\text{HA}) \cdot a(\text{B}^-)} \quad (2)$$

Kui aluseks on lahusti, siis tekib tasakaal happe ja lahusti vahel (3, 4).⁵



$$K_a = \frac{a(\text{A}^-) \cdot a(\text{HS}^+)}{a(\text{HA})} \quad (4)$$

Kirjeldatud protsess toimub olenevalt lahustist mitme etapina: ionisatsioon ja dissotsiatsioon.



Esimene etapp, mis on kirjeldatud K_1 tasakaalukonstandiga, on lahusti ja happe molekulide vaheline vesiniksideme moodustumise või osalangute tõmbumise tagajärjel kompleksi tekkimine. Järgmises etapis, mida iseloomustab tasakaalukonstant K_2 , toimub ionisatsioon, mis tähendab, et kompleksi siseselt kandub prooton üle lahusti molekulile ja tekib kontaktioonpaar. Seda protsessi mõjutavad lahusti dielektriline konstant ja solvateerivad omadused. Kolmanda etapina ümbritsevad solvendimolekulid tekkinud ioonid ning tekib solvent-eraldatus ionpaar. Seda sammu kirjeldab tasakaalukonstant K_3 . Seejärel toimub dissotsiatsioon – ionpaari jagunemine vabadeks ionideks – mida kirjeldab tasakaalukonstant K_4 . Seda soodustab lahusti kõrge dielektriline läbitavus. Seega eelnevalt vaadeldud tasakaalukonstant K_a sisaldab tegelikult 4 erineva tasakaalukonstandi korrutist $K_a = K_1 \cdot K_2 \cdot K_3 \cdot K_4$.^{6,7}

Olenevalt happe AH tugevuses ja lahusti S omadustest ei pruugi eelmainitud protsess lõpuni kulgeda, vaid võib peatuda erinevates staadiumites. On ka võimalik selline juhus, et lahuses

esinevad nii ionpaarid kui ka vabad ioonid. See juba sõltub lahustist endast, mida käsitletakse hiljem. Siin töös kasutatud lahustis, atsetonitriilis, kulgeb eelmainitud protsess vabade ionide tekkimiseni.^{6,7}

Nõrgemalt solvateeritavates solventides võib lisaks ülaltoodud tasakaaludele esineda veel täiendavaid protsesse, millest olulisim on homokonjugaatvormide tekkimine. Homokonjugatsioon tähendab seda, et happe ja selle konjugeeritud aluse vahel tekib vesinikside. Selline protsess esineb ka atsetonitriilis, kui hape on vesiniksideme doonor, aniooni laeng on suhteliselt lokaliseeritud ning kontsentratsioon on piisavalt kõrge. Homokonjugaatide teke mõjutab mõõtmistulemusi ning on ebasoovitav. Parim moodus homokonjugatsiooni vältimiseks on kasutada madalaid kontsentratsioone.^{6,8}

Tasakaalukonstant on mõnevõrra ebamugav suurus saamaks ülevaadet ainete happelis-aluseliste omaduste kohta, sest tasakaalukonstantide väärtused varieeruvad paljude suurusjärgude ulatuses. Praktilises kasutuses mugavam suurus on pK_a , mis on võrdne negatiivse kümnendlogaritmi tasakaalukonstandi väärtusest. See võimaldab otsustada ühendite happeliste-aluseliste omaduste üle ning neid kvantitatiivselt kirjeldada. Ainete happelis-aluseliste omaduste uurimiseks on mitmeid viise, mida vaadeldakse järgmistes alapeatükkides.⁴

1.2 Happelisuse määramine gaasifaasis

Üheks võimaluseks on molekulide happelisuse määramine gaasifaasis. Selleks määratakse kahe happe vahelise protonvahetusreaktsiooni tasakaalukonstant gaasifaasis, kasutades kõrge rõhu massispektromeetriat (HPMS) või FT-ICR spektromeetriat.^{9,10}

Happelisuse mõõtmise gaasifaasis on palju eeliseid, näiteks sõltub happelisus ainult molekulist endast ja ei ole mõjutatud lahusti poolt. Samuti ei ole happe tugevuse mõõtmisel piiranguid. Küll aga annavad gaasifaasis leitud happelisused meile piiratud infot vastavatest omadustest kondenseeritud faasis, kus toimub suurem osa huvipakkuvaid keemilisi protsesse. Lahuses olevad molekulid interakteeruvad lahustiga ning see muudab oluliselt ühendite happelis-aluselisi omadusi.⁹

1.3 Happelisuse määramine lahuses

Teiseks võimaluseks on ainete happelisuse määramine lahuses. Igal lahustil on rida omadusi, mis mõjutavad uuritava aine molekule. Üheks nendest on suhteline dielektriline läbitavus, mis iseloomustab aine võimet elektrivälja nõrgestada. Kõrge dielektrilise läbitavuse ($\epsilon_r > 30$) korral suudab lahusti laetud osakesed üksteisest eraldada ning lahuses eksisteerivad

ioonpaaride asemel vabad ioonid. Iga ioon on solvateeritud, mis tähendab, et see on ümbritsetud lahusti molekulidest. Madala dielektrilise läbitavuse korral aga esinevad lahusesioonpaarid, sest lahusti molekulid ei suuda ioone üksteisest eraldada.⁵

Teiseks oluliseks suuruseks on lahusti autoprotolüüsi konstandi negatiivse logaritmi pK_{auto} väärtus, mis iseloomustab lahusti autoprotolüüsi:



$$K_{\text{auto}} = a(\text{S}^-) \cdot a(\text{H}_2\text{S}^+) \quad (7)$$

$$pK_{\text{auto}} = -\log K_{\text{auto}} \quad (8)$$

See konstant näitab, kui suurt pK_a väärtuste vahemikku on võimalik vaadeldavas lahustis mõõta. Mida väiksem pK_{auto} väärtus, seda rohkem mõjutab lahusti uuritavate ainete hape-alus tasakaalu. Lahusteid, mille pK_{auto} väärtus on alla 20, nimetatakse prootonseteks, sest need autoprotolüüsuvad märgatavalt. Lahusteid, mis autoprotolüüsuvad tühisel määral, nimetatakse aprootonseteks.^{6,11}

Sellepärast sõltub lahusti valik tugevalt ühenditest, mida soovitakse uurida. Nõrgalt aluseliste omadustega lahustit saab kasutada tugevate hapete ja nõrkade aluste uurimiseks. Nõrgalt happelist lahustit aga tugevate aluste ja nõrkade hapete jaoks. Oluline on tähele panna, et igale solvendile vastab erinev pK_a väärtuste skaala ning happelisused võivad erinevates keskkondades erineda mitu suurusjärku.⁵

1.3.1 Happelisuse määramise meetodid

Tulenevalt lahusti omadustest kasutatakse erinevaid meetodeid pK_a väärtuste määramiseks.

Uurimistöös saab kasutada erinevaid elektrokeemilisi meetodeid, näiteks potentsiomeetriat, mille puhul määratakse pK_a väärtus dissotsiatsioonikonstandi võrrandist. Seda saab teha näiteks hape-alus tiitrimise teel, kasutades pH elektroodi. Titrandi astmelisel lisamisel määratakse suur hulk erinevatele tiitrimise etappidele vastavaid pH väärtuseid ning nii saadakse terve tiitrimiskõver. Kui uuritava aine dissotsiatsioonimäär lahuses ja sellele vastav pH väärtus on teada, saab välja arvutada pK_a väärtuse.^{12,13}

Kasutatakse mitmeid spektroskoopilisi meetodeid. Üks levinumatest meetoditest on UV-Vis spektroskoopia. See võimaldab töötada madalate kontsentratsioonidega, mis aitab vältida assotsiatsiooniprotsesside segavat toimet lahuses. Samuti saab katse käigus spektritest infot näiteks aine puhtuse ja kõrvalreaktsioonide kohta. Meetodi jaoks ei tohi lahusti ultravioletses

ja nähtavas spektrialas märkimisväärselt kiirgust neelata. Samas peab uuritava aine vähemalt üks vorm (kas neutraalne või anioonne) kiirgust neelama. Vastasel juhul on UV-Vis spektroskoopilise meetodi rakendamine tugevalt raskendatud.^{6,8}

Tuumamagnetresonantsspektroskoopia (TMR) annab lahuses olevate ainete kohta infot nii struktuuri kui ka dissotsiatsioonimäära osas. Meetodi edukaks rakendamiseks on enamasti vaja kasutada spektrofotomeetrisest meetodist umbes kahe suurusjärgu võrra kõrgemaid kontsentratsioone. See on aga ebasoovitav, sest sellisel juhul on ainete kulu suurem ja kasvab oht uuritava happe ulatuslikumaks homokonjugatsiooniks.^{13,14}

1.3.2 Erinevad lahustid

Vesi on laialdaselt kasutatav lahusti nii hapete ja aluste uurimiseks kui ka teistes keemia valdkondades. Tegemist on kõrge dielektrilise läbitavusega lahustiga ($\epsilon_r = 78,4$)⁹, mis tähendab, et vesilahuses esinevad vabad ioonid. Vee autoprotolüüsi konstant on 14 ning sellele on omased nii happelised kui ka aluselised omadused, mille tõttu on vees võimalik uurida mõõduka tugevusega happeid ja aluseid.⁵ Vee kui lahusti oluliseks puuduseks on küllatki kitsas uuritav pK_a väärtuste vahemik, ulatudes vaid 14 suurusjärguni. Vesilahustes on edukalt rakendatavad elektrokeemilised meetodid, sealhulgas klaaselektroodi abil lihtsasti määratav vesinikiooni aktiivsus, mis annab vaba tee pH ja pK_a väärtuste usaldusväärseks määramiseks.^{12,13}

Atsetonitriili dielektriline konstandi väärtus $\epsilon_r = 36^5$ tähendab, et lahusti suudab ioonpaare eraldada, kuid esineda võivad segavad assotsiatsiooniprotsessid. Lahusti autoprotolüüsi konstandi väärtuseks pK_{auto} on 40 ning sellel on nõrgad aluselised omadused, mille tõttu on seda võimalik kasutada tugevate hapete ja mõõdukalt tugevate aluste uurimiseks.⁵ Atsetonitriilis on juba loodud suuremahuline hapete pK_a skaala. Selle jaoks on kasutatud UV-Vis spektrofotomeetria meetodit.⁸ Atsetonitriil neelab kiirgust alla 190 nm, mille tõttu sobib see spektrofotomeetristeks mõõtmisteks väga hästi.⁷

Dimetüülsulfoksiid (DMSO) on polaarne aprotoonne solvent ($pK_{\text{auto}} = 33^5$), mistõttu on see hea diferentseerivate omadustega solvent. Sellele solvendile on omane kõrge suhtelise dielektrilise läbitavuse väärtus $\epsilon_r = 47^5$. Omaduste poolest sobib DMSO hästi mõõdukalt tugevate hapete ning tugevate aluste uurimiseks. Dimetüülsulfoksiidis on määratud arvukalt erinevatele ainetele iseloomulikke pK_a väärtuseid. DMSO kui lahusti puuduseks on madalam keemiline stabiilsus ja intensiivne neelduvus UV spektrialas.^{5,15-17}

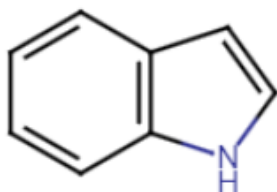
Tetrahüdrofuraan (THF) on madala polaarsusega solvent ($\epsilon_r = 7,5^5$). Selle tõttu on oodatav, et solvendis eksisteerivad ioonid ionpaaridena, mis on oluline puudus happe-aluse tasakaalude uurimise seisukohast. See on suhtelistelt inertne leelismetallide ja muude tugevate redutseerijate suhtes.¹⁸ THF-is on loodud kooskõlaline spektrofotomeetriline aluselise skaala.^{5,16,19}

1.4 Happelisuse mõõtmise rakendused

Lisaks sellele, et pK_a väärtused aitavad otsustada ainete happelis-aluseliste omaduste üle, on veel põhjuseid, miks ainete pK_a väärtusi mõõta on vaja. Uuritud ainetele omaseid pK_a väärtuseid saab kasutada referentsväärtustena järgnevatel mõõtmistel. Samuti saab ühes solvendis määratud pK_a väärtuste abil hinnata vastavaid väärtuseid teistes keskkondades. Sarnaste omadustega keskkondades on lineaarse korrelatsiooni abil ennustatud pK_a väärtuseid küllaltki edukalt.⁵

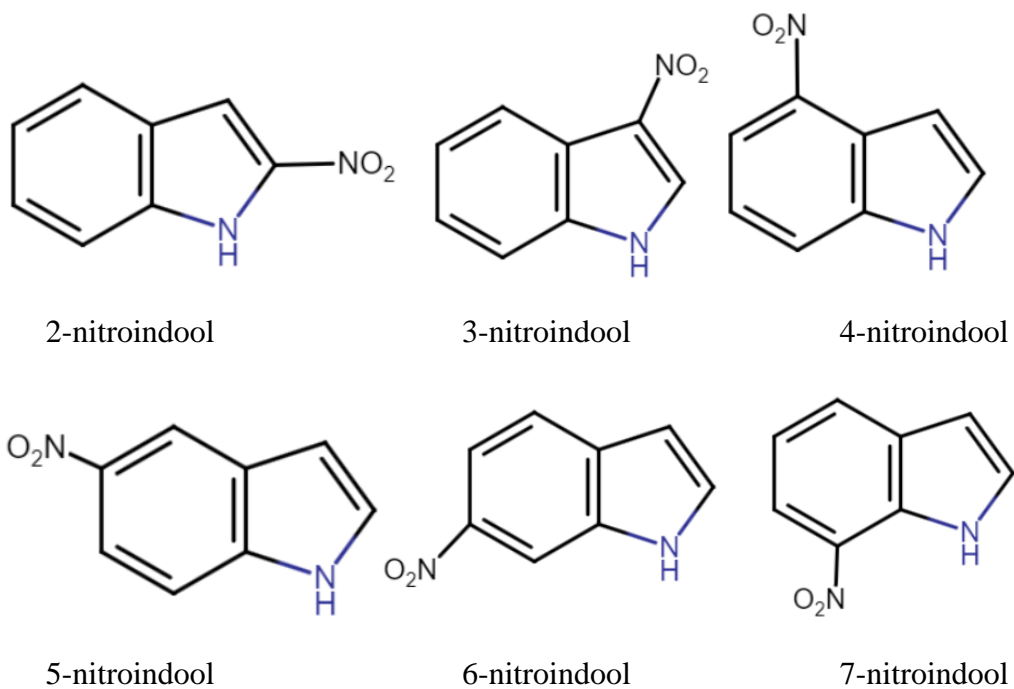
1.5 Uuritavad ained

Indool on heterotsüklikiline aroomaatne ühend (joonis 1). Indooli fragment on ühe kodeeritava aminohappe, trüptofaani, koostises ning selle tõttu on indooli fragmendiga molekulid looduses suhteliselt laialdaselt levinud. Neid võib leida igast organismist. Indooli derivaatidel on palju olulisi bioloogilisi omadusi ja rolle, näiteks põletiku- ja viirustevastased omadused. Indooli kasutatakse värvide, ravimite, taime kasvuregulaatorite valmistamisel.²⁰



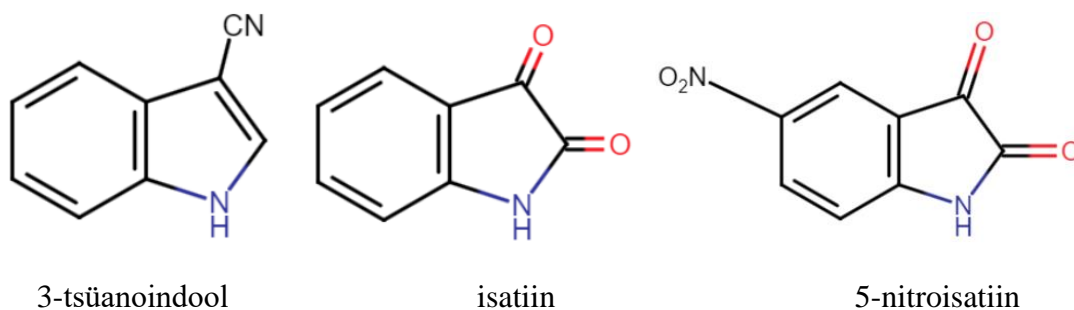
Joonis 1. Indooli struktuur

Nitroindoolid on indooli derivaadid, milles on mõni vesinikuaatom asendatud nitro-rühmaga. Neid aineid on kasutatud orgaanilises sünteesis, farmakoloogias ning ka bioorgaanilises keemias nukleotiidide sünteesil. 5-nitroindooli on ka nimetatud universaalseks aluseks, mis tähendab, et see sobitub teiste RNA ja DNA lämmastikalustega.^{2,21}



Joonis 2. Nitroindoolide struktuurid

Teisteks uuritud aineteks on erinevad indooli derivaadid. Isatiin on punast värvi aine, mis on adrenaliini metabolismi derivaat.²² Isatiini derivaatidel on täheldatud antikantseroogeenseid ja antibakteriaalseid omadusi ning selletõttu on neid kasutatud farmakoloogias.^{23,24}



Joonis 3. Muude uuritud indooli derivaatide struktuurid

2. Metoodika

Mõõdetavateks aineteks on erinevad nõrgad happed. Mõõtmisteks planeeritakse kasutada atsetonitriili keskkonda, sest nende pK_a väärtusi on vaja teada just seal keskkonnas.

2.1 Meetodi valik

Mõõtmisteks ei valitud gaasifaasis mõõtmist, sest see annaks küll väga hea ettekujutuse ainete happelistest omadustest, aga kahjuks ei kirjeldaks ainete käitumist lahustis.

Potentsiomeetrilised mõõtmised oleksid vesikeskkonnas parim valik, kuid mittevesikeskkonnas on vesinikiooni aktiivsuse määramine raskendatud.

Spektroskoopilisi meetodite hulgast oleks kaks võimalikku kandidaati, milleks on tuumamagnetresonantsspektroskoopia ja UV-Vis spektroskoopia. TMR spektroskoopia nõuab suuri kontsentratsioone ning seda meetodit oleks kuivboksis ebamugav kasutada. Kõrgeid kontsentratsioone püütakse vältida homokonjugaatvormide vältimiseks.

UV-Vis spektroskoopia puhul saab madalamaid kontsentratsioone kasutada. Uuritavad ained neelavad intensiivselt spektrialas 190 nm kuni 700 nm. Ainete UV spektrid on intensiivsed ja need muutuvad ionisatsiooni käigus. Lahusti MeCN ei sega mõõtmisi, sest hakkab neelama intensiivselt alles 190 nm juures. Meetodit on mugav kasutada kuivboksis.

Kokkuvõttes ei leitud eeliseid TMR meetodile ja otsustati kasutada UV-Vis spektroskoopiat. Nii saab kasutada madalamaid kontsentratsioone, et vältida homokonjugaatide teket, mis võivad rikkuda mõõtmistulemusi. Samuti on uuritavaid aineid piiratud koguses.

2.2 Töövõtted

Nitroindoolide dissotsiatsioonitasakaalu uurimist segab kindlasti lahustisse segunenud vesi. See eelis-solvateerib lahuses olevaid ioone, iseäranis anioone, mis muudab happed näiliselt tugevamaks. Tulemusena on uuritava aine tasakaal häiritud. Selle vältimiseks tuleb mõõtmiste juures kasutada kuivboksi, kus mõõtmised tehakse argooni keskkonnas. Samuti on ka kasutatavad lahusti ja titrandid veevabad. Lahustit hoitakse enne kasutamist 3 Å molekulaarsõltel ning selle puhtust hinnati regulaarselt Karl Fischeri tiitrimise teel, et see jääks vahemikku 3-10 ppm.

Kuna kuivkapi ja väliskeskonna vahel ei tohi olla otsest kontakti, siis kasutatakse asjade transportimiseks küljeseinas olevaid lüüse, mis on ühendatud vaakumpumbaga. Väiksemat kasutatakse vialide jm. väiksemate töövahendite transpordiks, suuremat aga solvendipudelite ja muude suuremate esemete boksi viimiseks. Lüüse vakumeeritakse enne vajalike asjade sisse viimist vähemalt 3 korda. Boksi sees on olemas kuuekohaline analüütiline kaal, süstlad, referentsained. Samuti on seal ka eraldiseisev küvetikamber, mis on ühendatud UV-Vis spektrofotomeetriga valgusoptilise kaablite abil. Kasutatud UV-Vis spektrofotomeeter on Agilent Cary 60. Selle skaneerimiskiirus oli 240 nm/min ja pilulaius 1,5 nm. Boksi sees töötamiseks kasutati butüülkautšukist kindaid, mis olid kinnitatud boksi esipaneelis asuvate ümmarguste avade külge.

Mõõtmiste ajal oli kuivboksis veeauru tase alla enamasti 1 ppm ning hapniku tase jäi alla 10 ppm. Juhtpaneeli abil seadistati kapi töö rõhu ülemiseks piiriks 6 mbar ja alumiseks piiriks -3,0 mbar. Mõõtmiste ajal on võimalik ka kapi rõhku jooksvalt muuta, et oleks mugavam töötada.

Happelise titrandi lahus valmistati atsetonitriilis ja viidi kuivboksi koos uuritavate ainetega enne mõõtmiste alustamist. Aluselise titrandi lahus ja uuritavate ainete lahused valmistati kuivkapis.

2.3 Mõõtmiste põhimõtted

Mõõtmised põhinevad spektrofotomeetrilisel tiitrimisel. Alustatakse uuritava aine ja referentsaine lahuste valmistamisest. Lahuste ja ainete kogused kaalutakse. Seejärel alustatakse spektrite registreerimisega. Mõõtmiste alguses lisatakse küveti 1,85 ml MeCN ning kontrollitakse lahusti puhtust spektril. Peale seda korrigeeritakse baasjoon ning lisatakse teatud kogus uuritava aine lahust. Kui saadud aine spekter on piisava neelduvusega, siis hakatakse küveti lisama kõigepealt happelist titranti, et saavutada happe neutraalne piirvorm ja registreeritakse selle spekter. Titrante lisatakse süstal-dosaatoritega. Happelise titrandina kasutatakse kõikide mõõtmiste korral trifluorometaansulfoonhapet (TfOH). Piirvorm on saavutatud siis, kui spektris enam muutust ei toimu. Happe lisamine lõpetatakse ning alustatakse aluselise titrandi lisamisega. Titranti lisatakse väikeste vahedega, et jääks piisavalt spektreid alasse, kus aine dissotsiatsioonimäär on 0,1 ja 0,9 vahel. Aluselise titrandina kasutatakse *tert*-butüülimino-tris(pürrolidino)fosforaani ($t\text{-BuP}_1(\text{pyrr})_3$) ja etüülimino-bis(dimetüülamino)[tris(dimetüülamino)fosforanülideen]fosforaan ($\text{EtP}_2(\text{dma})_5$).

Titrandid valiti nii, et nad ei põhjustaks solvendi ega uuritavate ainete lagundamist. Samuti ei tohi nad uuritavas alas neelata UV-Vis kiirgust.

Kui spektris ei toimu enam muutusi, siis on aluseline (anioonne) piirvorm saavutatud ning tiitrimine lõpetatakse, küvett pestakse ja korratakse sama protsessi referentsainega ning seejärel nende kahe aine seguga. Mõõtmiste lõpuks tekib seega kokku kolm spektrite kogumikku.

Arvutamine toimub eesmainitud põhimõttel: on teada mõlema aine neutraalse ja anioonse vormi neelduvused ning segu spektritest saab arvutada mõlema happe dissotsiatsioonimäärad. Spektrofotomeetriline tiitrimine põhineb tasakaalul:



Selle saab lahti kirjutada kahe tasakaalukonstandiga:



Saadud tasakaalukonstantidest saab seose, kui on teada, et aktiivsus on aktiivsuskoeffitsiendi ja tasakaalulise kontsentratsiooni korrutis :

$$K = \frac{K_{a_1}}{K_{a_2}} = \frac{f(A_1^-) \cdot [A_1^-] \cdot f(HA_2) \cdot [HA_2]}{f(A_2^-) \cdot [A_2^-] \cdot f(HA_1) \cdot [HA_1]} \quad (12)$$

Aktiivsuskoeffitsientide suhe on konstante²⁵ ning selletõttu võib need maha taandada ja saame võrrandi 13.

$$K = \frac{[A_1^-] \cdot [HA_2]}{[A_2^-] \cdot [HA_1]} \quad (13)$$

Happe kogu kontsentratsioon väljendub kui $c_1 = [HA_1] + [A_1^-]$ (14). Seda teadmist kasutades saab asendada 13. võrrandi liikmed.

$$K = \frac{[A_1^-] \cdot (c_2 - [A_2^-])}{[A_2^-] \cdot (c_1 - [A_1^-])} = \frac{\frac{[A_1^-] \cdot (c_2 - [A_2^-])}{c_1}}{\frac{[A_2^-] \cdot (c_1 - [A_1^-])}{c_2}} \quad (15)$$

Arvestades, et ühe aine ionisatsioonimäär avaldub kui:

$$\alpha_1 = \frac{[A_1^-]}{c_1} \quad (16)$$

Saab saadud seosest saab avaldada ionisatsioonimäära:

$$K = \frac{K_{a1}}{K_{a2}} = \frac{\alpha_1 \cdot (1 - \alpha_2)}{\alpha_2 \cdot (1 - \alpha_1)} \quad (17)$$

Lambert-Beer'i seadus kirjeldab lahuse neelduvust:

$$A^\lambda = \log \frac{I_0}{I} = \varepsilon^\lambda \cdot l \cdot [x] \quad (18)$$

Kus A^λ on valguse neelduvus lainepikkusel λ , I_0 on esialgne valguse intensiivsus lainepikkusel λ , I on proovi läbinud valguse intensiivsus lainepikkusel λ ja ε^λ on osakese x neeldumistegur lainepikkusel λ ning l on lahusekihi paksus, $[x]$ on osakese x tasakaaluline kontsentratsioon.

Lahuse kogu neeldumine võrdub lahuste komponentide neeldumiste summana. Järelikult võib lahuse, kus esinevad kaks hapet, kogu neeldumise avaldada järgnevalt:

$$A^\lambda = \varepsilon_{A_1^-}^\lambda \cdot l \cdot [A_1^-] + \varepsilon_{A_2^-}^\lambda \cdot l \cdot [A_2^-] + \varepsilon_{HA_1}^\lambda \cdot l \cdot [HA_1] + \varepsilon_{HA_2}^\lambda \cdot l \cdot [HA_2] \quad (19)$$

Kui kasutada võrrandit 16 ja avaldada tasakaalulised kontsentratsioonid ionisatsioonimäärade abil ning rühmitada liikmeid, saab järgmise avaldise:

$$A^\lambda - \varepsilon_{HA_1}^\lambda \cdot l \cdot c_1^{\text{mix}} - \varepsilon_{HA_2}^\lambda \cdot l \cdot c_2^{\text{mix}} = \alpha_1 \cdot l \cdot c_1^{\text{mix}} \cdot (\varepsilon_{A_1^-}^\lambda - \varepsilon_{HA_1}^\lambda) + \alpha_2 \cdot l \cdot c_2^{\text{mix}} \cdot (\varepsilon_{A_2^-}^\lambda - \varepsilon_{HA_2}^\lambda) \quad (20)$$

Võtame kasutusele suhtelise kontsentratsiooni, mis näeb välja järgmine:

$$c_1^{\text{rel}} = \frac{c_1^{\text{mix}}}{c_1} \quad (21)$$

Kus c_1^{rel} on suhteline kontsentratsioon, c_1^{mix} on segu mõõtmise aine 1 kontsentratsioon ja c_1 on puhta aine 1 mõõtmise kontsentratsioon.

Kasutades võrrandit 21, asendan võrrandis 20 c_1^{mix} korrutisega $c_1^{\text{rel}} \cdot c_1$. Vastavalt võrrandile 18 saab puhta aine c_1 avaldada Lambert-Beer'i seaduse järgi ja asendada võrrandisse. Tulemuseks on võrrand 23.

$$c_1 = \frac{A_{HA_1}^\lambda}{\varepsilon_{HA_1}^\lambda \cdot l} \quad (22)$$

$$A^\lambda - \varepsilon_{HA_1}^\lambda \cdot l \cdot \frac{A_{HA_1}^\lambda}{\varepsilon_{HA_1}^\lambda \cdot l} \cdot c_1^{rel} - \varepsilon_{HA_2}^\lambda \cdot l \cdot \frac{A_{HA_2}^\lambda}{\varepsilon_{HA_2}^\lambda \cdot l} \cdot c_2^{rel} = \alpha_1 \cdot \left(l \cdot \frac{A_{A_1^-}^\lambda}{\varepsilon_{A_1^-}^\lambda \cdot l} \cdot c_1^{rel} \cdot \varepsilon_{A_1^-}^\lambda - l \cdot \frac{A_{HA_1}^\lambda}{\varepsilon_{HA_1}^\lambda \cdot l} \cdot c_1^{rel} \cdot \varepsilon_{HA_1}^\lambda \right) +$$

$$+ \alpha_2 \cdot \left(l \cdot \frac{A_{A_2^-}^\lambda}{\varepsilon_{A_2^-}^\lambda \cdot l} \cdot c_2^{rel} \cdot \varepsilon_{A_2^-}^\lambda - l \cdot \frac{A_{HA_2}^\lambda}{\varepsilon_{HA_2}^\lambda \cdot l} \cdot c_2^{rel} \cdot \varepsilon_{HA_2}^\lambda \right) \quad (23)$$

Taandades ja koondades seda võrrandit saame:

$$A^\lambda - A_{HA_1}^\lambda \cdot c_1^{rel} - A_{HA_2}^\lambda \cdot c_2^{rel} = \alpha_1 \cdot c_1^{rel} \left(A_{A_1^-}^\lambda - A_{HA_1}^\lambda \right) + \alpha_2 \cdot c_2^{rel} \left(A_{A_2^-}^\lambda - A_{HA_2}^\lambda \right) \quad (24)$$

Võrrand 24 vastab kujule $y = b_1x_1 + b_2x_2$ ja see on aluseks mõõtmistele. Ainete dissotsiatsioonimäärad leitakse regressioonanalüüsil ning nende kaudu arvutatakse ΔpK_a väärtus.

$$\Delta pK_a = -\log \frac{\alpha_1 \cdot (1 - \alpha_2)}{\alpha_2 \cdot (1 - \alpha_1)} \quad (25)$$

Arvutused viiakse läbi MS Excel keskkonnas ning kasutatakse töörühma poolt ettevalmistatud töölehe malli.

Kuna tegemist on suhtelise mõõtmismeetodiga, siis taanduvad paljud mõõtemääramatuse allikad välja, näiteks vesi lahustis, titrantide kontsentratsioonid ning ainete kontsentratsioonid.

2.4 Kasutatavate ainete päritolu

Uuritavad nitroindoolid ja tsüanoindool on sünteesitud professor Tõnis Kangeri uurimisrühmas³. Isatiini tootja on Carlo Erba Reagents, 5-nitroisatiini tootja on Acros Organics.

Kasutatav atsetonitriil on spetsiaalpuhtusega lahusti ette nähtud UV mõõtmisteks (SPS UV) ning on toodetud firmas Romil. Happeline titrant TfOH ja aluseline titrant EtP₂(dma)₅ on pärit firmast Sigma-Aldrich. Aluseline titrant t-BuP₁(pyrr)₃ toodeti firma Fluka poolt. Kõikide kasutatud ainete sobivas puhtuses veenduti nii, nagu on kirjeldatud alajaotustes 2.2, 2.3 ja 3.2.

3. Tulemused ja arutelu

3.1 Töö tulemused

Töö tulemused on esitatud Tabelis 1.

Tabel 1. Mõõdetud ainete pK_a väärtused atsetonitriilis

Hape (HA)	Referentshape (Rh)	pK_a (Rh) ¹³	ΔpK_a	pK_a (HA)	Määratud pK_a (HA)
2-nitroindool	2-nitrofenool	22,85	-0,79	23,64	23,64
	9-COOMe-fluoreen	23,54	-0,10	23,64	
3-nitroindool	(4-Me-C ₆ F ₄) ₂ CHCN	22,8	0,01	22,79	22,78
	9-COOMe-fluoreen	23,54	0,74	22,8	
	2-nitrofenool	22,85	0,10	22,75	
4-nitroindool	9-C ₆ F ₅ -fluoreen	28,14	0,17	27,97	27,89
	(4-CH ₃ -C ₆ F ₄)(C ₆ H ₅)CHCN	26,98	-0,88	27,86	
	5-nitroindool	28,13	0,28	27,85	
5-nitroindool	9-C ₆ F ₅ -fluoreen	28,14	0,07	28,07	28,09
	4-CH ₃ -C ₆ F ₄)(C ₆ H ₅)CHCN	26,98	-1,12	28,10	
6-nitroindool	(4-CH ₃ -C ₆ F ₄)(C ₆ H ₅)CHCN	26,98	-0,83	27,81	27,78
	4-nitroindool	27,89	0,14	27,75	
7-nitroindool	5-nitroindool	28,09	-1,74	29,83	29,91
	6-nitroindool	27,78	-2,21	29,99	
3-tsüanoindool	(C ₆ F ₅)(C ₆ H ₅)CHCN	26,16	0,13	26,03	26,04
	(4-MeC ₆ F ₅)(C ₆ H ₅)CHCN	26,98	0,93	26,05	
isatiin	(C ₆ F ₅)(C ₆ H ₅)CHCN	26,16	0,64	25,52	25,56
	4-(CH ₃ -CF ₄)(C ₆ H ₅)CHCN	26,98	1,38	25,60	
	(4-NC ₅ F ₄)(C ₆ H ₅)NH	26,36	0,81	25,55	
5-nitroisatiin	(4-CH ₃ C ₆ F ₄) ₂ CHCN	22,8	0,66	22,14	22,12
	2,4,6-tribromofenool	20,34	-1,78	22,12	
	(2,4,6-Cl ₃ -C ₆ F ₄)(C ₆ F ₅)CHCN	20,13	-1,98	22,11	

Töö tulemusena määrati 9 aine dissotsiatsioonikonstandi väärtused atsetonitriilis ja vastavad pK_a väärtused jäid vahemikku 22,12 – 29,91. Mõõdetud ainetest kõige nõrgem hape on 7-nitroindool ja tugevaim on 5-nitroisatiin.

Saadud tulemusi võib pidada usaldusväärseks, sest igat ainet mõõdeti vähemalt kahe referentsaine vastu, ainete spektritel olid teravad isosbestilised punktid ning pK_a väärtuste kokkulangevus nii seeriasiseselt kui ka seeriade vahel oli hea. Tulemuste keskmist usaldusväärset saab hinnata liitstandardmääramatuse u_c välja arvutamise, mida käesoleval juhul võib vaadelda koosnevana kahest osast: erinevate referentshapete vastu mõõtesaadud pK_a väärtuste lahknevuste kogutud standardhälbest s_m ja skaala üldisest kooskõlalisusest s_k , mida saab väljendada järgnevalt:

$$u_c = \sqrt{s_m^2 + s_k^2} \quad (26)$$

Kooskõlalisus s_m leiti järgneva valemiga:

$$s_m = \sqrt{\frac{(n_1-1) \cdot s_1^2 + (n_2-1) \cdot s_2^2 + \dots + (n_i-1) \cdot s_i^2}{(n_1-1) + (n_2-1) + \dots + (n_i-1)}} \quad (27)$$

Kus s_i on ainega i erinevate referentsainete vastu läbi viidud mõõteseriast saadud pK_a väärtuste standardhälve ja n_i aine i jaoks kasutatud referentsainete arv.

Arvutati, et $s_m = 0,05$, mis näitab erinevate mõõteseriade tulemuste suhteliselt head kokkulangevust. Teise määramatuse poole arvutades leiti, et $s_k = 0,03$.⁸ Seega saab leida keskmise liitstandardmääramatuse $u_c = 0,06$ pK_a ühikut.

Välja arvutatud liitstandardmääramatus on keskmistatud ja ei kehti kahe aine puhul. 4-nitroindooli puhul on erinevate referentsainete vastu tehtud mõõtmiste ebaklapp suurem kui teistel ainetel. 7-nitroindooli puhul on mõlemas mõõteserias on ΔpK_a absoluutväärtused üle 1,5, mis alandab mõõtmiste usaldusväärset. Selle tõttu on u_c nende kahe happe puhul suurem. 4-nitroindooli puhul on $s_m = 0,07$ ning seega $u_c = 0,08$. 7-nitroindooli puhul loeti s_m väärtuseks 0,2 ja seega uus liitstandardmääramatus 7-nitroindooli puhul on $u_c = 0,21$.

3.2 Uuritud ainete sobivus pK_a väärtuste mõõtmisel referentsaineteks

Kõik mõõdetud ained neelavad UV-Vis alas kiirgust eeskätt indooli aromaatses bitsüklilise struktuuri tõttu. Mõõdetud ainete spektrid on toodud Lisas 1.

Nende spektrid on teravate isosbestiliste punktidega – punktid, kus aniooni ja neutraali neeldumine on sama. Isosbestiliste punktide teravus on üks kriteerium selle kohta, et ained on

puhtad ja mõõtmisel ei esine kõrvalprotsesse. Mõõdetud ainete neutraalsete ja anioonsete vormide neeldumiste vahel on selge erinevus ja nende spektrite neeldumismaksimumid asuvad erinevatel lainepikkustel. Tihtilugu asuvad anioonide neeldumismaksimumid pikematel lainepikkustel kui vastavate neutraalide omad. Selletõttu on neid ained mugav kasutada spektrofotomeetrilisteks pK_a mõõtmisteks. Ainete spektraalsed omadused on esitatud Tabelis 2

Tabel 2. Uuritavate ainete spektrite omadused

Hape (HA)	Isosbestilised punktid, nm	Neutraalide neeldumismaksimumid, nm	Anioonide neeldumismaksimumid, nm
2-nitroindool	288, 366	348	391
3-nitroindool	230, 362	344	282, 390
4-nitroindool	305, 419	377	526
5-nitroindool	320, 360	262, 320	309, 410
6-nitroindool	385	323, 363	480
7-nitroindool	305, 398	362	480
3-tsüanoindool	265, 288	275, 285	306
isatiin	243	241	246
5-nitroisatiin	266, 398	274, 315	255, 410

Referentsained on ained, mille pK_a väärtused on varem usaldusväärset mõõdetud. Need ained ei tohiks ka mingil moel reageerida uuritavate ainetega ning nende deprotoneerumise ja protoneerumise protsess peaks olema pöörduv ning ilma kõrvalprotsessideta. On oluline, et referentsainete spektrid sobituksid uuritavate ainete spektritega. See on sellepärast kasulik, et tulemuste arvutamiseks kasutatavas spektrialas peaks anioonide ja neutraalide spektrid olema võimalikult suurte neelduvuste erinevustega.

Käesolevas töös selliseid probleeme ei tekkinud. Segu ning referentsainete spektrid olid uuritavas alas piisavalt suurte neelduvuste erinevustega ja nende neutraalide ning anioonide spektrid erinesid. Seetõttu on uuritavad ained kasutatavad referentsainetena tulevastes pK_a mõõtmistes.

3.3 Uuritud ainete happelisuse ja molekulaarstruktuuri vahelised seosed

Indooli puhul on tegemist hästi nõrga happega. Happe tugevuse määrab see, kui stabiilne on selle anioonne vorm võrrelduna neutraalse vormiga. Nitrorühma sisseviimine indooli molekulis kasvatab happelisust märgatavalt. Lisaks mõjutab nitroindoolide happelisust

nitrorühma asukoht molekulis. Kui nitrorühm asub viielülilises tsüklis, siis on tegemist oluliselt tugevamate hapetega, kui kuuelülilises tsüklis asuvate nitrorühmadega happed. Viielülilise tsükli elektrontihedus on oluliselt suurem ning viielülilises tsüklis asuv asendaja on happelisuse tsentrile lähemal, mistõttu on kergem tänu tugevamale induktsiooniefektile indooli NH rümal prootonit loovutada. Tulemusena tekib neutraalis NH rühma vesiniku peale tugevam positiivsem osalaeng. See soodustab prootoni lahkumist ning samas on anioon laengu efektiivsema delokalisatsiooni tõttu tugevamini stabiliseeritud.

Kui vaadelda indooli resonantspiirstruktuure, siis järeldub, et on olemas kaks peamist resonantsi suunda sõltuvalt sellest, kummale poole laeng indooli lämmastiku pealt liigub. „Vastupäeva“ suuna järgi on happelisemad need ühendid, milles nitro-rühm on seotud kolmanda, neljanda ja kuuenda süsinikuga. Nende süsinike juurde tekib resonantspiirstruktuurides negatiivne laeng, pakkudes seeläbi täiendavat stabilisatsiooni. „Päripäeva“ suuna järgi on stabiilsemad need ühendid, kus nitro-rühm on seotud teise, viienda ja seitsmenda süsiniku külge. Nende resonantspiirstruktuuride põhjal ei saa hästi teha järeldusi ühendite happelisuse kohta, sest iga süsinikule võib tekkida negatiivne laeng. Võiks arvata, et need ühendid, mida stabiliseerib vastupäeva resonantsi suund, on stabiilsemad.

Neid ennustusi kinnitavad ka mõõtmistulemused. Kohane on eraldi võrrelda nitroindooli, milles nitrorühm on viie- või kuuelülilises tsüklis. 3-nitroindool on happelisem kui 2-nitroindool ning mõõdetud nitroindoolidest kõige happelisem. 2-nitroindool on siiski ka üsna happeline, sest nitrorühm paikneb 5-lülilises ahelas ning on happelisuse tsentrile väga lähedal. Põhjus, miks 3-nitroindool on 0,86 pK_a ühiku võrra tugevam kui 2-nitroindool, on see, et indooli kolmandale süsinikule tekib resonantspiirstruktuurides laeng ilma kuuelülilise ahela aromaatsust „lõhkumata“. 2-nitroindooli stabiliseerimiseks on vaja just seda lõhkuda ning tulemusena on tekkiv 2-nitroindooli anioon natuke vähem stabiilne kui 3-nitroindooli anioon.

Kuuelülilises tsüklis asuvate nitrorühmadega ainetest on happelisemad 4- ja 6-nitroindool. 5- ja 7-nitroindool on vähem happelised. Viimane on nitroindoolidest nõrgim hape. 7-nitroindooli puhul esineb molekulis kõrge tõenäosusega mõningane sisemolekulaarne vesinikside, mis täiendavalt stabiliseerib neutraalset vormi võrreldes anioonse vormiga. Järelikult saab öelda, et indoolis on eelistatud vastupäeva resonantsi suund, sest just need ühendid on happelisemad.

Kui võrrelda nitroindoolide väärtusi indooli enda pK_a = 32,57⁸ väärtusega, siis on näha, et mistahes asendis nitrorühm muudab indooli märgatavalt happelisemaks. Nitrorühm indooli

kolmandas asendis vähendab indooli pK_a umbes 9,8 ühiku võrra. Samas nitrorühm seitsmendas asendis muudab indooli happelisemaks umbes 2,7 ühiku võrra.

Võrreldes nitroindoolidega mõjutab tsüanorühm palju vähem indooli happelisust. Nimelt 3-nitroindooli ja 3-tsüanoindooli pK_a väärtuste vahe on 3 ühikut. Põhjuseks võib olla see, et nitrorühm pakub anioonile suuremat stabilisatsiooni, mõjutades seda nii tugevama induktsiooniefektiga kui ka tugevama resonantsefektiga, mille tõttu suudab indooli lämmastik kergemini prootonit loovutada.

Isatiini happelisust mõjutab kahe karbonüülrühma esinemine viielülilises happelisuse tsentrit sisaldavas tsükliis. Tulemusena tekkiv induktsiooniefekt nõrgestab prootoni kinnihoidmist ning laseb sellel kergemini lahkuda. Aniooni stabiliseerib karbonüülrühm teises ja kolmandas asendis induktsiooniefekt ja resonantsefekt. Kui lisada isatiini nitro rühm, siis suurendab see ühendi happelisust veelgi rohkem. Näiteks nitro-rühm viiendas asendis nõrgestab veel rohkem prootoni kinni hoidmist umbes 3 pK_a ühiku võrra, pakkudes anioonile lisastabilisatsiooni võimalusi.

Võrreldes indooliga vähendavad kaks karbonüülrühma indooli pK_a väärtust umbes 7 ühiku võrra.

3.4 Nitroindoolide pK_a väärtuste kasutamisest reaktsioonivõime ennustamisel

Arvutatud nitroindoolide pK_a väärtused on Trubõtsini töös³ avaldatud väärtustest natuke erinevad, sest vahepeal arvutati atsetonitriili pK_a skaalal referentsainete pK_a väärtused ümber⁸. Tõsi, muudatused on väga väikesed, jäädes enamasti alla 0,02 pK_a ühiku. Saadud töö väärtustega otsustati Trubitsõni töös nitroindoolide happeliste omaduste üle ja kasutati pK_a väärtusi, et leida sobiv nukleofiil Aza-Michael'i katalüütilise reaktsiooni jaoks. Olulised omadused olid just reaktiivsus ja enantioselektiivsus. Kahjuks ei suudetud leida seoseid happelisuse ja reaktsioonivõime vahel. Kuna 3-nitroindool on kõige happelisem ühend, siis oletati, et see on kõige reaktsioonivõimelisem. Leiti hoopis, et 4-nitroindool ja 5-nitroindool on kõige parema reaktsioonivõimega. 3-nitroindool ja 6-nitroindool olid madalama reaktsioonivõimega ning 2-nitroindool ja 7-nitroindool ei osalenud reaktsioonis.

Kokkuvõte

Hape-alus tasakaalud on ühed kõige olulisemad keemilised tasakaalud. Kõige rohkem on neid uuritud vesikeskkonnas, kus võib leida palju andmeid ühendite happeliste ja aluseliste omaduste kohta, eeskätt vastavaid pK_a väärtusi. Kahjuks on mittevseskeskkondades palju vähem uuringuid läbi viidud. Üheks selliseks on atsetonitriil (MeCN), milles on välja töötatud ühendite happelisuste skaala. See skaala on väga kasulik tööriist ja sisaldab juba praegu arvukalt aineid. Antud töö eesmärgiks oli täiendada skaalat atsetonitriili keskkonnas just nõrgemate hapete osas. Samuti oli eesmärk kaasa aidata Dmitri Trubitsõni³ doktoritöö valmimisele.

Selle jaoks mõõdeti erinevate indooli derivaatide – nitroindoolide, isatiini, 5-nitroisatiini ja 3-tsüanoindooli – pK_a väärtused. Seda viidi läbi spektrofotomeetrilise tiitrimisega kuivkapis. Mõõdeti UV-Vis spektrofotomeetriga uuritava aine, referentsaine ja nende segu spektrid tiitrimiste käigus. Saadud spektritest arvutati välja ainete pK_a väärtused atsetonitriilis.

Tulemusena määrati kõigi uuritavate ainete pK_a väärtused atsetonitriilis. Kõikide ainetel olid UV-Vis alas intensiivsed spektrid. Nende ainete neutraalsete ja anioonsete vormide vahel olid selged erinevused. Kõik uuritud ained olid indooli derivaadid ja nõrgad happed. Arvutustulemustest selgus, et ainete pK_a väärtused jäid vahemikku 22,12 – 29,91. Tugevaim mõõdetuid hape oli 5-nitroisatiin ja nõrgim oli 7-nitroindool. Osad tulemused on avaldatud ka artiklis³.

Tulemusena saavutati töö eesmärgid täiendada skaalat atsetonitriili keskkonnas just nõrgemate hapete osas 9 aine võrra. Kahjuks ilmnnes, et mõõdetud pK_a väärtused ei aidanud märkimisväärselt kaasa Trubitsõni³ doktoritöö valmimisele – oodatud seoseid happelisuse ja reaktiivsuse vahel ei leitud.

Summary

Acid-base equilibria are one of the most important equilibria in chemistry. One of the characteristics that describes those equilibria is pK_a . For every acid the pK_a values vary in different solvents. One of these solvents is acetonitrile where an extensive pK_a scale has already been developed. The aim of this thesis was to expand this scale with 9 new pK_a values of different weak acids. Additional objective was to help Dmitri Trubitsõn³ achieve one of the goals for his doctoral thesis.

This was achieved by an already developed spectrophotometric titration method and it was used to measure pK_a values of different indole derivatives, namely different nitroindoles, 3-cyanoindole, isatin, 5-nitroisatin. The measurement method is based on UV-Vis spectroscopy and it includes measuring spectra during titration of the substance of interest, a reference substance and a mix of the both. The obtained spectra were used to calculate pK_a values of the mentioned indole derivatives.

It was discovered that all of the substances had intensive UV-Vis spectra due to bicyclic aromatic indole structure. The pK_a values of the compounds were calculated and they were in the range of 22,12 – 29,91 pK_a units. The weakest acid of the measured substances was 7-nitroindole and strongest was 5-nitroisatin. Some of the results have already been published in an article.

The aim of the work has been achieved – to incorporate 9 new pK_a values into the weak acids region of the pK_a scale in acetonitrile. Sadly, the results did not help Dmitri Trubitsõn in his research as no relation between reactivity and acidity was found.

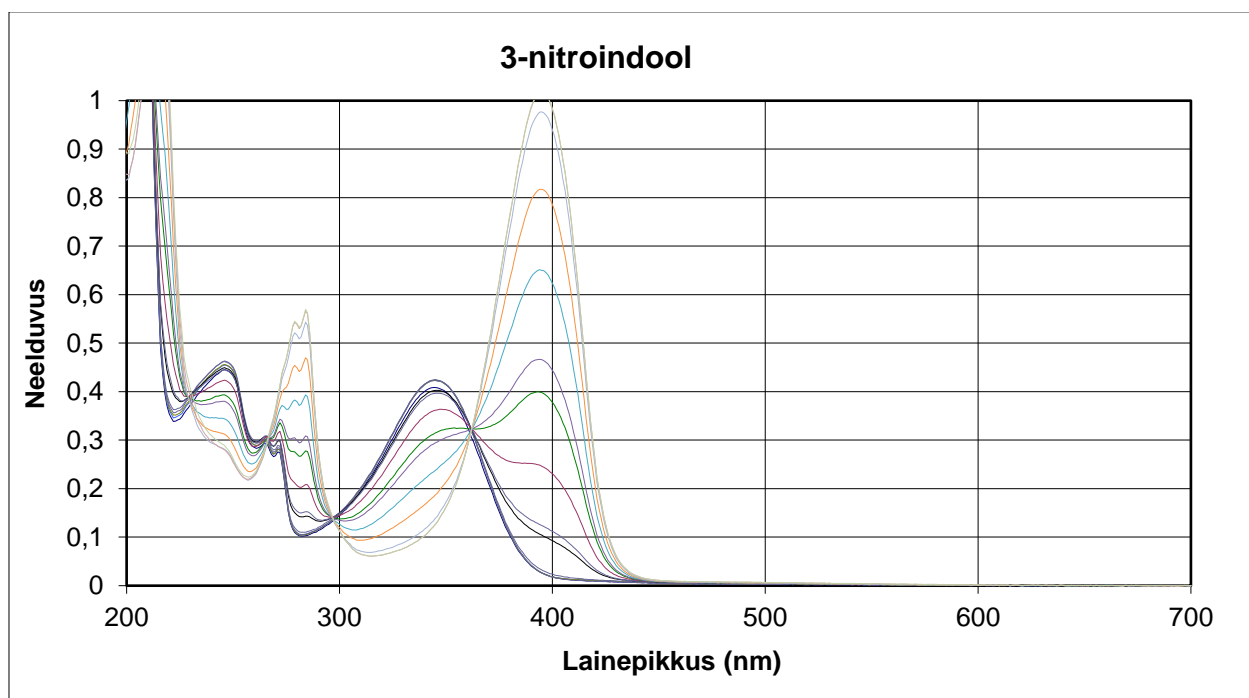
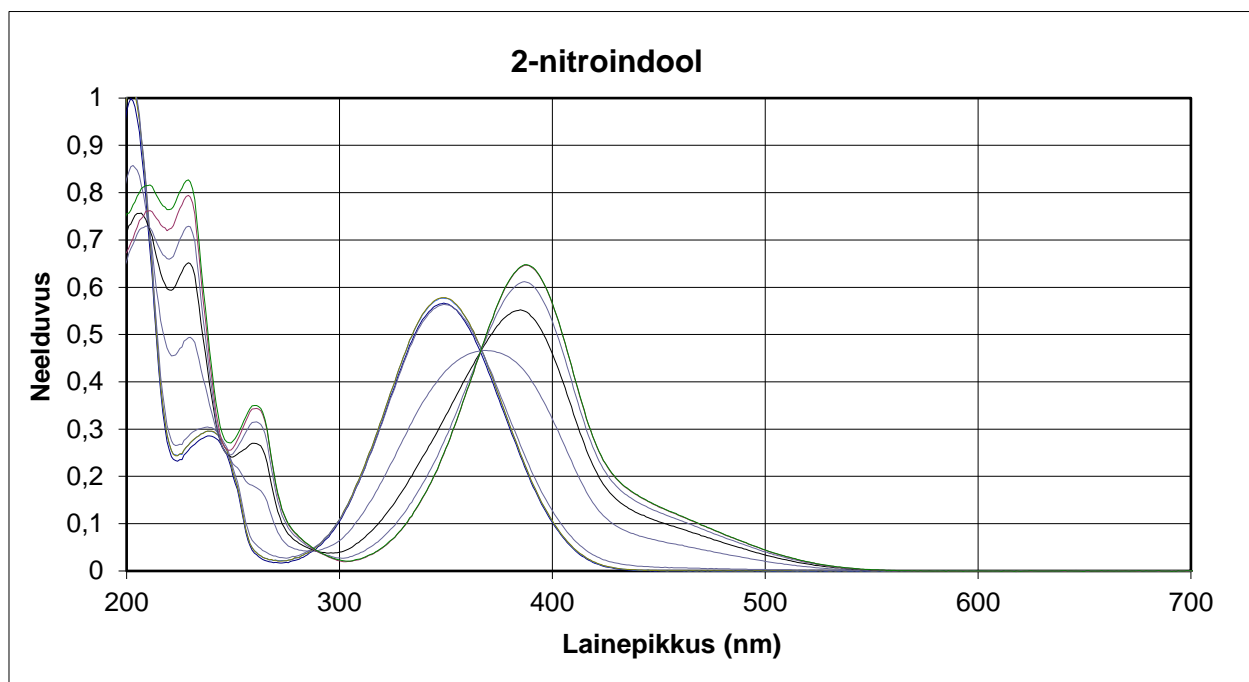
Kasutatud kirjandus

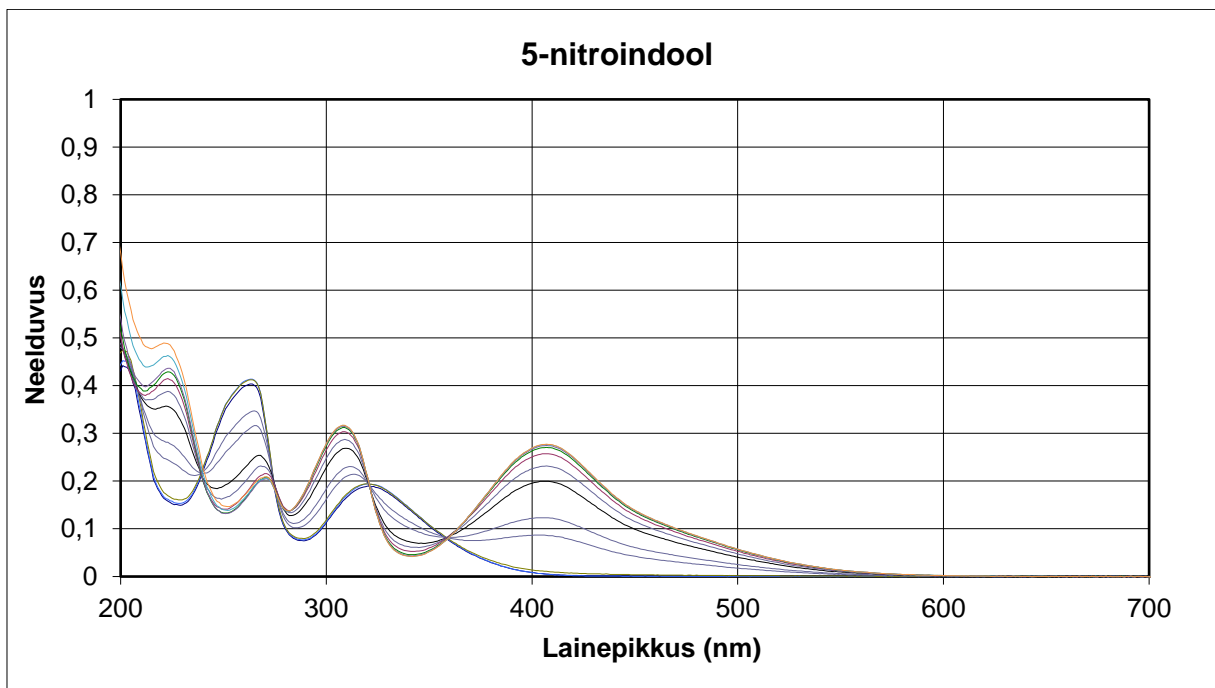
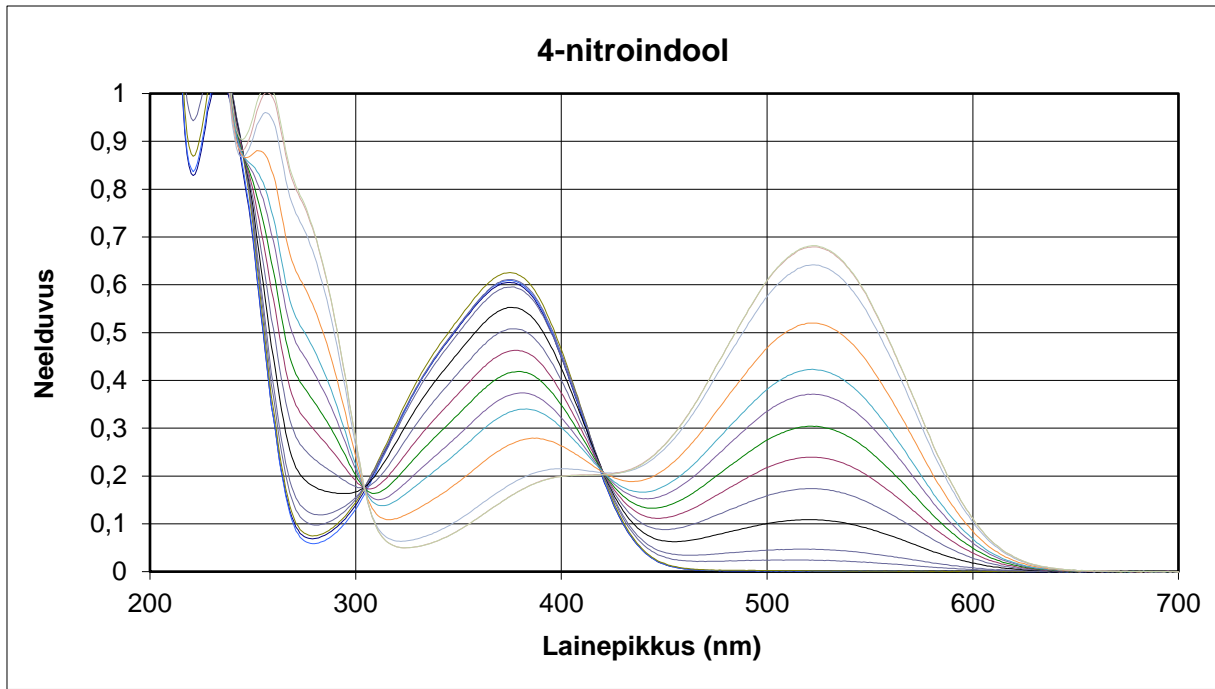
- (1) Himmel, D.; Goll, S. K.; Leito, I.; Krossing, I. A Unified PH Scale for All Phases. *Angewandte Chemie International Edition* **2010**, *49* (38), 6885–6888. <https://doi.org/10.1002/anie.201000252>.
- (2) Gallego, J.; Loakes, D. Solution Structure and Dynamics of DNA Duplexes Containing the Universal Base Analogues 5-Nitroindole and 5-Nitroindole 3-Carboxamide. *Nucleic Acids Res* **2007**, *35* (9), 2904–2912. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm074>.
- (3) Trubitsõn, D.; Martõnova, J.; Erkman, K.; Metsala, A.; Saame, J.; Kõster, K.; Järving, I.; Leito, I.; Kanger, T. Enantioselective N-Alkylation of Nitroindoles under Phase-Transfer Catalysis. *Synthesis* **2020**, *52* (7), 1047–1059. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1690751>.
- (4) Masterton, W. L.; Hurley, C. N.; Neth, E. *Chemistry: Principles and Reactions*; Cengage Learning, 2011.
- (5) Kütt, A.; Selberg, S.; Kaljurand, I.; Tshepelevitsh, S.; Heering, A.; Darnell, A.; Kaupmees, K.; Piirsalu, M.; Leito, I. PKa Values in Organic Chemistry – Making Maximum Use of the Available Data. *Tetrahedron Letters* **2018**, *59* (42), 3738–3748. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2018.08.054>.
- (6) Kütt, A.; Leito, I.; Kaljurand, I.; Sooväli, L.; Vlasov, V. M.; Yagupolskii, L. M.; Koppel, I. A. A Comprehensive Self-Consistent Spectrophotometric Acidity Scale of Neutral Brønsted Acids in Acetonitrile. *J. Org. Chem.* **2006**, *71* (7), 2829–2838. <https://doi.org/10.1021/jo060031y>.
- (7) Coetzee, J. F. Ionic Reactions in Acetonitrile. In *Progress in Physical Organic Chemistry*; John Wiley & Sons, Ltd, 2007; pp 45–92. <https://doi.org/10.1002/9780470171837.ch2>.
- (8) Kütt, A.; Tshepelevitsh, S.; Saame, J.; Lõkov, M.; Kaljurand, I.; Selberg, S.; Leito, I. Strengths of Acids in Acetonitrile. *European Journal of Organic Chemistry* **2021**, *2021* (9), 1407–1419. <https://doi.org/10.1002/ejoc.202001649>.
- (9) Reichardt, C.; Welton, T. *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*; John Wiley & Sons, 2011.
- (10) Leesment, A.; Kaljurand, I.; Trummal, A.; Kütt, A.; Netscher, T.; Bonrath, W.; Leito, I. Validation and Extension of the Gas-Phase Superacidity Scale. *Rapid Communications in Mass Spectrometry n/a* (n/a), e8598. <https://doi.org/10.1002/rcm.8598>.
- (11) Cox, B. G. 3 Solvation and Acid–Base Strength. In *Acids and Bases: Solvent Effects on Acid-Base Strength*; Cox, B. G., Ed.; Oxford University Press, 2013; p 0. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780199670512.003.0003>.
- (12) Buck, R. P.; Rondinini, S.; Covington, A. K.; Baucke, F. G. K.; Brett, C. M. A.; Camoes, M. F.; Milton, M. J. T.; Mussini, T.; Naumann, R.; Pratt, K. W.; Spitzer, P.; Wilson, G. S. Measurement of PH. Definition, Standards, and Procedures (IUPAC Recommendations 2002). *Pure and Applied Chemistry* **2002**, *74* (11), 2169–2200. <https://doi.org/10.1351/pac200274112169>.
- (13) Reijenga, J.; van Hoof, A.; van Loon, A.; Teunissen, B. Development of Methods for the Determination of PKa Values. *Anal Chem Insights* **2013**, *8*, 53–71. <https://doi.org/10.4137/ACI.S12304>.
- (14) Parman, E.; Toom, L.; Selberg, S.; Leito, I. Determination of PKa Values of Fluorocompounds in Water Using ¹⁹F NMR. *Journal of Physical Organic Chemistry* **2019**, *32* (6), e3940. <https://doi.org/10.1002/poc.3940>.
- (15) Bordwell, F. G. Equilibrium Acidities in Dimethyl Sulfoxide Solution. *Acc. Chem. Res.* **1988**, *21* (12), 456–463. <https://doi.org/10.1021/ar00156a004>.

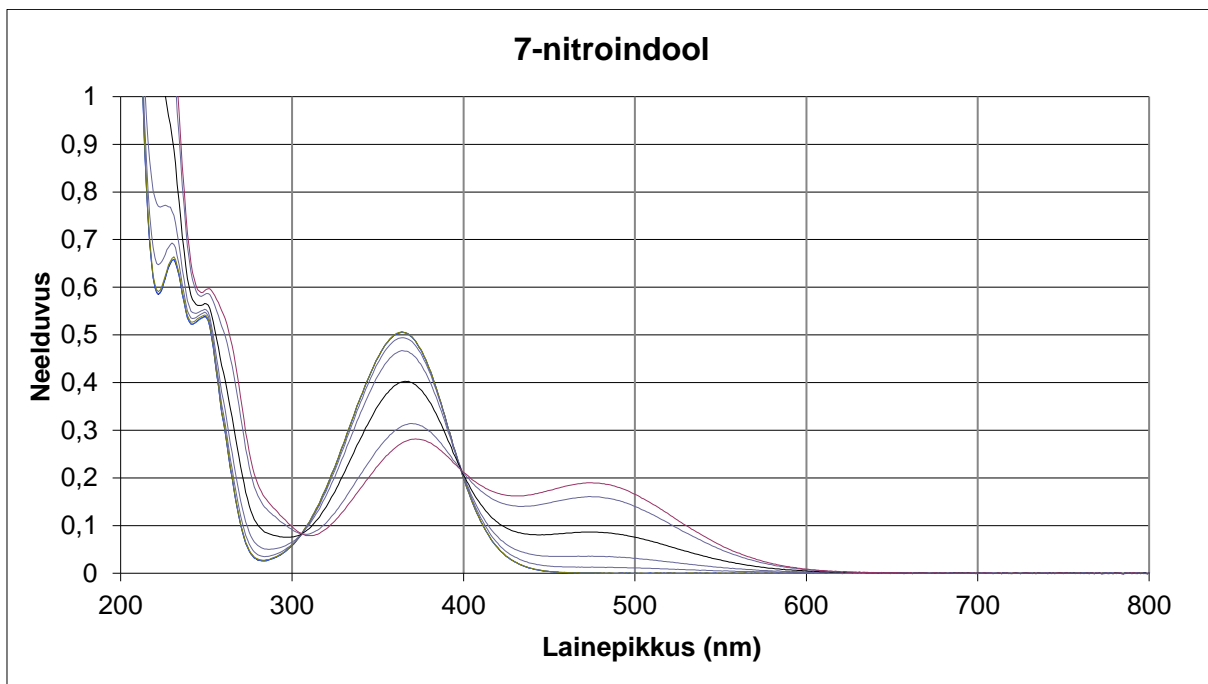
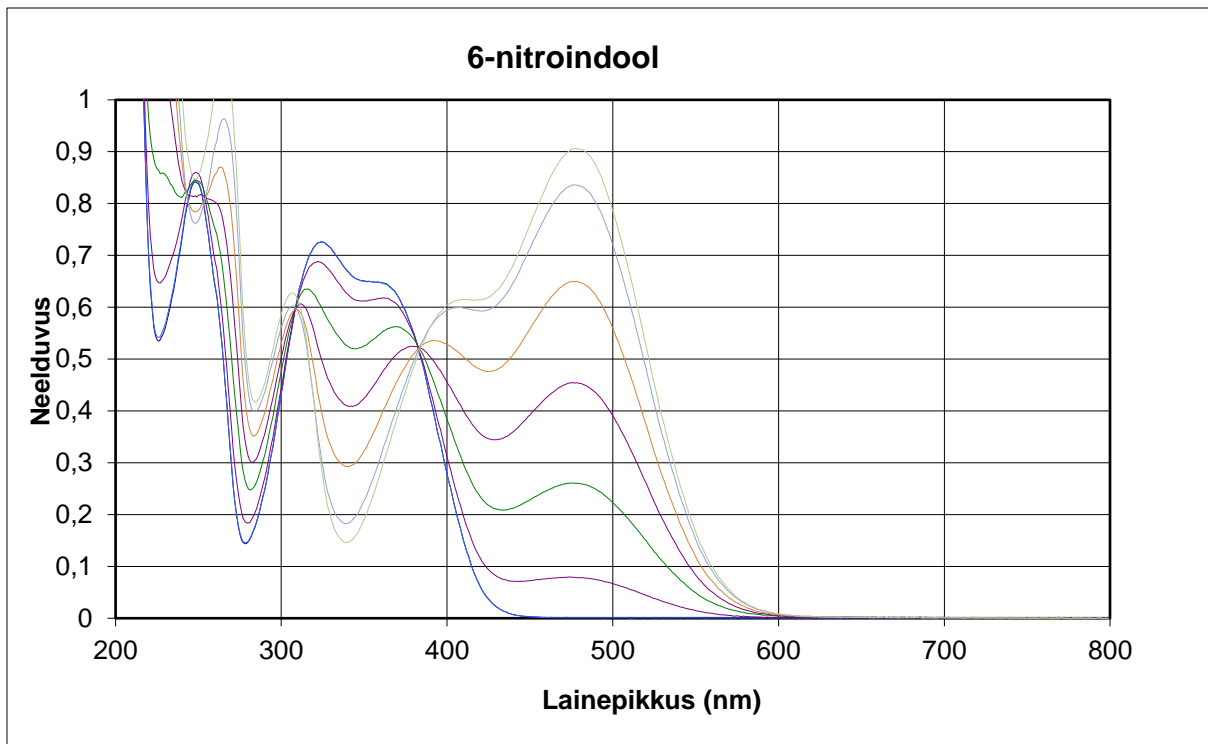
- (16) Tshepelevitsh, S.; Kütt, A.; Lökov, M.; Kaljurand, I.; Saame, J.; Heering, A.; Plieger, P. G.; Vianello, R.; Leito, I. On the Basicity of Organic Bases in Different Media. *European Journal of Organic Chemistry* **2019**, *2019* (40), 6735–6748. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201900956>.
- (17) Palm, V. A. *Tables of Rate and Equilibrium Constants of Heterolytic Organic Reactions: Vol. 1* (2).; 1975.
- (18) Cox, B. G. 7 Low-Basicity and Low-Polarity Aprotic Solvents. In *Acids and Bases: Solvent Effects on Acid-Base Strength*; Cox, B. G., Ed.; Oxford University Press, 2013; p 0. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780199670512.003.0007>.
- (19) Kaljurand, I.; Saame, J.; Rodima, T.; Koppel, I.; Koppel, I. A.; Kögel, J. F.; Sundermeyer, J.; Köhn, U.; Coles, M. P.; Leito, I. Experimental Basicities of Phosphazene, Guanidinophosphazene, and Proton Sponge Superbases in the Gas Phase and Solution. *J. Phys. Chem. A* **2016**, *120* (16), 2591–2604. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.6b01552>.
- (20) Ma, Q.; Zhang, X.; Qu, Y. Biodegradation and Biotransformation of Indole: Advances and Perspectives. *Front. Microbiol.* **2018**, *9*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02625>.
- (21) Timofeev, E. N.; Kolganova, N. A.; Smirnov, I. P.; Kochetkova, S. V.; Florent'ev, V. L. [Oligodeoxynucleotides containing substituted 4-nitroindoles: synthesis and study of their DNA duplexes]. *Bioorg. Khim.* **2008**, *34* (2), 220–226.
- (22) Chiyanzu, I.; Hansell, E.; Gut, J.; Rosenthal, P. J.; McKerrow, J. H.; Chibale, K. Synthesis and Evaluation of Isatins and Thiosemicarbazone Derivatives against Cruzain, Falcipain-2 and Rhodesain. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2003**, *13* (20), 3527–3530. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(03\)00756-X](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(03)00756-X).
- (23) Varun; Sonam; Kakkar, R. Isatin and Its Derivatives: A Survey of Recent Syntheses, Reactions, and Applications. *Med. Chem. Commun.* **2019**, *10* (3), 351–368. <https://doi.org/10.1039/C8MD00585K>.
- (24) Tripathy, R.; Reiboldt, A.; Messina, P. A.; Iqbal, M.; Singh, J.; Bacon, E. R.; Angeles, T. S.; Yang, S. X.; Albom, M. S.; Robinson, C.; Chang, H.; Ruggeri, B. A.; Mallamo, J. P. Structure-Guided Identification of Novel VEGFR-2 Kinase Inhibitors via Solution Phase Parallel Synthesis. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2006**, *16* (8), 2158–2162. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.01.063>.
- (25) Mortimer, R. G. *Physical Chemistry*, 3rd ed.; Academic Press/Elsevier: Amsterdam ; Boston, 2008.

Lisad

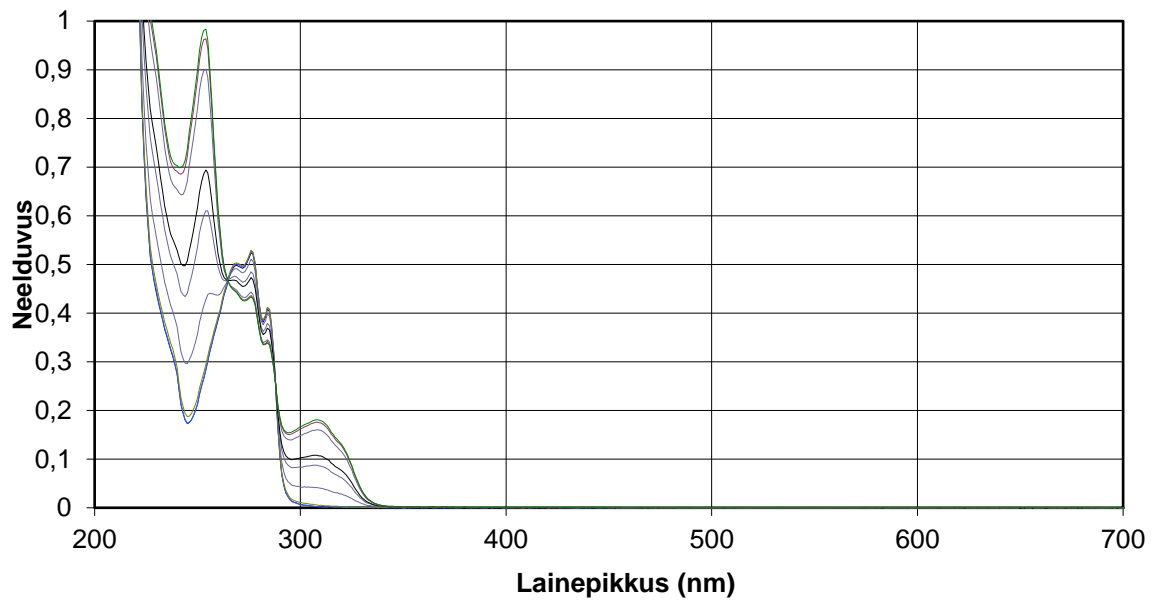
Lisa 1. Uuritavate ainete spektrid



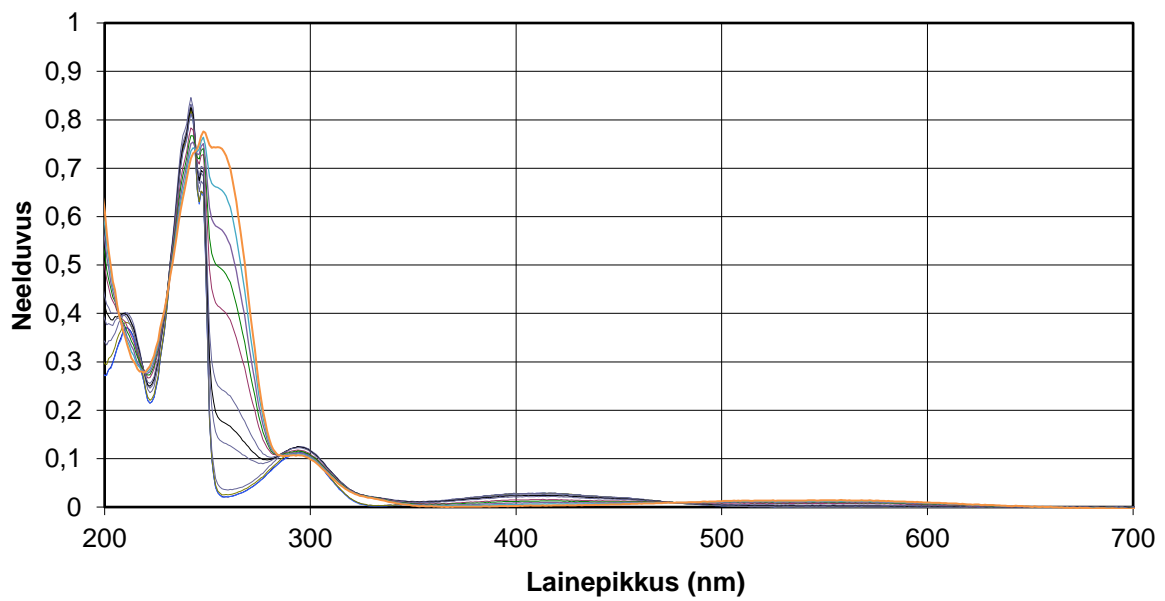


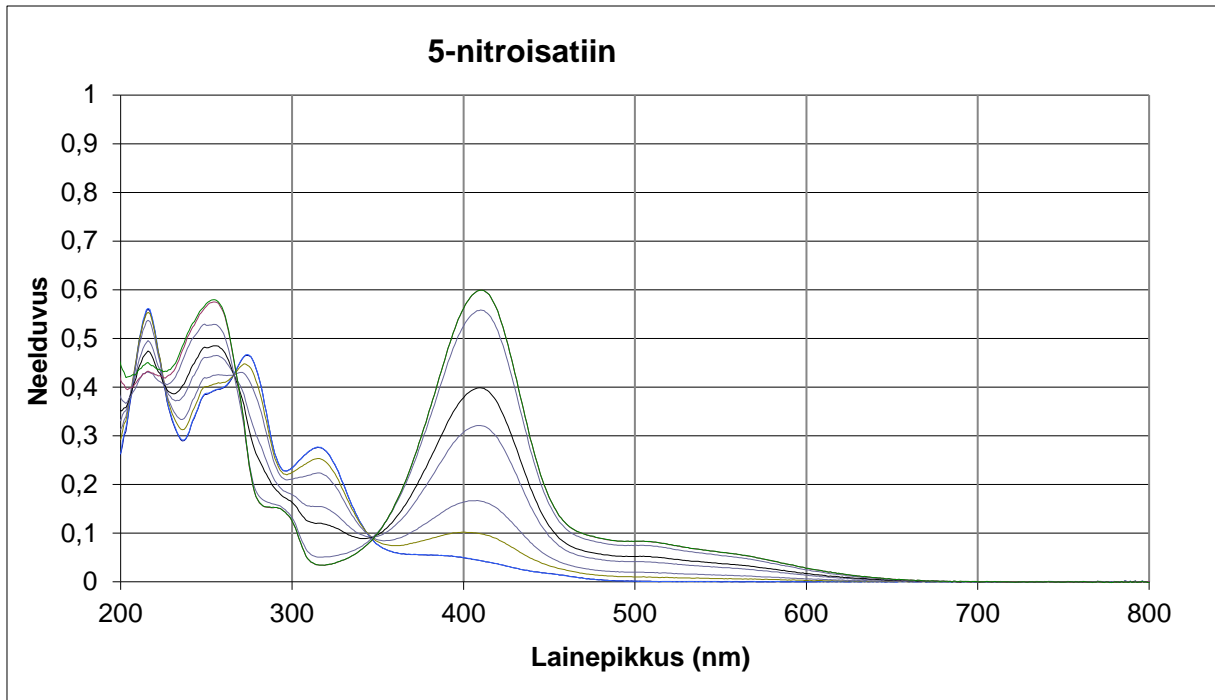


3-tsüanoindool



Isatiin





Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Kristjan Kõster,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose

„Erinevate indooli derivaatide happelisuse määramine atsetonitriilis“,

mille juhendajad on Ivo Leito ja Jaan Saame,

reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

2. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 4.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
3. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Kristjan Kõster