

# Sinteza i kompleksacijska svojstva glikokonjugata triureidnog anionskog receptora

---

**Bobeta, Tin**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:117813>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-18**



*Repository / Repozitorij:*

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





Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
Kemijски odsjek

Tin Bobeta

**SINTEZA I KOMPLEKSACIJSKA  
SVOJSTVA GLIKOKONJUGATA  
TRIUREIDNOG ANIONSKOG RECEPTORA**

**Diplomski rad**

predložen Kemijskom odsjeku  
Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu  
radi stjecanja akademskog zvanja  
magistra kemije

Zagreb, 2022. godina



Ovaj diplomski rad izrađen je u Zavodu za organsku kemiju Kemijskog odsjeka  
Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom doc. dr. sc.  
Nikole Cindra



# Sadržaj

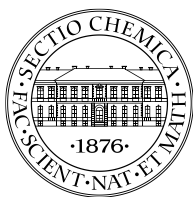
<b>SAŽETAK .....</b>	<b>IX</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>X</b>
<b>§ 1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>§ 2. LITERATURNI PREGLED .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1. Metode sinteze urea .....</b>	<b>4</b>
<b>2.2. Uree kao anionski receptori .....</b>	<b>13</b>
<b>2.3. Klik-reakcije .....</b>	<b>22</b>
<b>§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO .....</b>	<b>31</b>
<b>3.1. Materijali i metode .....</b>	<b>31</b>
<b>3.2. Sinteza spojeva .....</b>	<b>33</b>
3.2.1. Sinteza 2,2-bis(azidometil)-3-azidopropan-1-ola (1) .....	33
3.2.2. Sinteza 2,2-bis(azidometil)-3-azidopropil-metil-etera (2) .....	34
3.2.3. Sinteza 2,2-bis(aminometil)-3-aminopropil-metil-etera (3) .....	35
3.2.4. Sinteza 2-okso-4,4,4-tris-[(2,4-diaza-4-fenil-3-okso)-but-1-il]butana (4) .....	36
3.2.5. Sinteza 4-azidobenzenkarboksilne kiseline (5) .....	37
3.2.6. Sinteza (4-azidofenil)acil azida (6) .....	38
3.2.7. Sinteza 2-okso-4,4,4-tris-[[2,4-diaza-4-(4-azidofenil)-3-okso]-but-1-il]butana (7) .....	39
3.2.8 Sinteza [3,4,5-tris(acetiloksi)-6-({1-[4-({3-metoksi-2,2-bis({4-[4-({3,4,5-tris(acetiloksi)-6- [(acetiloksi)metil]oksan-2-il]oksi}metil)-1H-1,2,3-triazol-1- il]fenil}karbamoil)amino]metil})propil]karbamoil)amino]fenil]-1H-1,2,3-triazol-4- il]metoksi)oksan-2-il]metil acetata (8) .....	40
3.2.9. Sinteza [3,4,5-tris(hidroksi)-6-({1-[4-({3-metoksi-2,2-bis({4-[4-({3,4,5-tris(hidroksi)-6- [(hidroksi)metil]oksan-2-il]oksi}metil)-1H-1,2,3-triazol-1- il]fenil}karbamoil)amino]metil})propil]karbamoil)amino]fenil]-1H-1,2,3-triazol-4- il]metoksi)oksan-2-il]metil acetata (9) .....	41
3.2.10. Sinteza 2,2-bis(aminometil)-3-aminopropil-meil-eter trihidroklorida (10) .....	42
<b>§ 4. REZULTATI I RASPRAVA .....</b>	<b>43</b>
<b>4.1. Sintetski putevi i krajnji cilj .....</b>	<b>43</b>
<b>4.2. Kompleksi liganada i aniona .....</b>	<b>49</b>
<b>§ 5. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>58</b>
<b>§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA (PREMA POTREBI) .....</b>	<b>60</b>
<b>§ 7. LITERATURNI IZVORI .....</b>	<b>62</b>
<b>§ 8. DODATAK .....</b>	<b>XV</b>

---

§ 9. ŽIVOTOPIS ..... XXV







Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
**Kemijski odsjek**

Diplomski rad  
Diplomski rad

## SAŽETAK

### SINTEZA I KOMPLEKSACIJSKA SVOJSTVA GLIKOKONJUGATA TRIUREIDNOG ANIONSKOG RECEPTORA

Tin Bobeta

Anionski receptori klasa su organskih spojeva koji stvaraju određene nekovalentne interakcije sa specijama koje nose negativan naboj. Istraživanje tih interakcija (uglavnom vodikovih veza) u kontekstu odnosa struktura-funkcija od bitnog je značaja kako bi se priredili što jednostavniji i efikasniji receptori. Cilj ovog rada jest sinteza anionskih receptora na bazi pentaeritritola te ispitivanje vezanja pojedinih aniona koristeći NMR i UV-Vis spektroskopiju. Pentaeritritol je tetraol čije molekule sadrže četiri hidroksilne skupine. Polazni spoj pentaeritritol tribromid podvrgnuti će se prvo azidaciji kako bi se dobio triazid, a potom supstituciji preostale hidroksilne skupine s metil-jodidom. Zadnja dva sintetska koraka su redukcija triazida u triamin te reakcija s fenil-izocijanatom u kojoj se formira triureidni anionski receptor. U sklopu rada, prvo će biti pripremljen navedeni triureidni anionski receptor koji će poslužiti kao modelni spoj za određivanje afiniteta vezanja odabranih aniona. Nakon toga, daljnjim će sintetskim modifikacijama biti pripremljen spoj koji se može glikozilirati s ciljem dobivanja vodotopljivog anionskog receptora.

Svi produkti biti će karakterizirani IR i NMR spektroskopijom.

(64 stranice, 31 slika, 2 tablice, 33 literaturna navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj kemijskoj knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Horvatovac 102a, Zagreb i Repozitoriju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Ključne riječi: anioni, klik-kemija, međumolekulske interakcije, ureidni receptori

Mentor: doc. dr. sc. Nikola Cindro

Ocjenitelji:

1. doc. dr. sc. Nikola Cindro
2. prof. dr. sc. Mirta Rubčić
3. doc. dr. sc. Nikola Bregović

Zamjena: izv. prof. dr. sc. Josip Požar

Datum diplomskog ispita:



University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Chemistry

Diploma Thesis

## ABSTRACT

### SYNTHESIS AND COMPLEXATION PROPERTIES OF GLYCOCONJUGATE TRIPODAL UREA ANION RECEPTOR

Tin Bobeta

Anion receptors are class of organic compounds that form certain non-covalent interactions with the species which carry negative charge. Studying these interactions (mostly hydrogen bonds) in the context of structure-function relationship is essential towards preparing as simple and efficient receptors as possible. Main goal of this thesis is synthesis of pentaerythritol based anion receptors and examining binding properties of individual anions using NMR and UV-VIS spectroscopy. Pentaerythritol is tetraol which molecules contain four hydroxyl groups. Pentaerythritol tribromide as starting compound will first undergo azidation to give triazide and then substitution of the remaining hydroxyl group with methyl iodide. The last two steps in our synthesis path were reduction of triazide into triamine that proceeds to reaction with phenyl isocyanate which forms tripodal urea receptor. In this thesis, tripodal anion receptor will be prepared first which will serve as model compound for determining binding affinity of individual anions. After that, further synthetic modifications will yield compound that can be glycosylated in order to obtain water soluble anion receptor. All products will be characterized using NMR and IR spectroscopy.

(64 pages, 31 figures, 2 tables, 33 references, original in Croatian language)

Thesis deposited in Central Chemical Library, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, Zagreb, Croatia and in Repository of the Faculty of Science, University of Zagreb

Keywords: anions, click-chemistry, intermolecular interactions, urea based receptors

Mentor: Dr. Nikola Cindro

Reviewers:

1. Dr. Nikola Cindro
2. Dr. Mirta Rubčić, Professor
3. Dr. Nikola Bregović, Professor

Substitute: Dr. Josip Požar, Professor

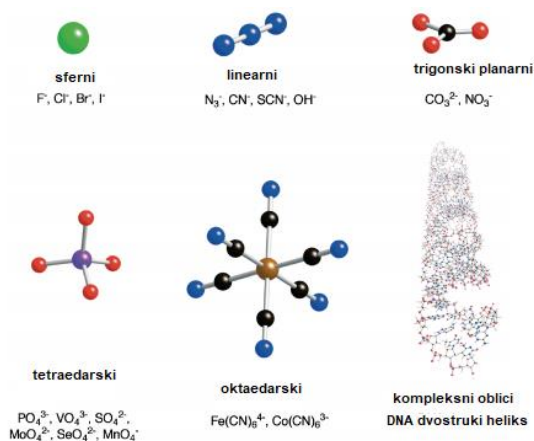
Date of exam:



## § 1. UVOD

U modernoj organskoj sintezi sve se je veći interes za otkriće novih i sintetsko poboljšanje već postojećih anionskih receptora. Anionski receptori su klasa spojeva koji prepoznaju, osjete i stvaraju određene interakcije sa specijama koje nose negativan naboj.<sup>1</sup> Iako ponekad zanemarujemo važnost aniona, oni su sveprisutni u našoj prirodi. Kloridni anioni u velikim su količinama prisutni u oceanima, nitrati i sulfati u kiselim kišama, karbonati su glavni sastavni dijelovi biomineraliziranih materijala, fosfati se uglavnom koriste u agrikulturama. Osim prirodnih značajki, anioni su ključni i za održavanje osnovnih životnih funkcija. Esencijalni su za stvaranje većine enzim-supstrat i enzim-kofaktor kompleksa i sudjeluju u interakcijama između proteina i DNA ili RNA. Reguliraju osmotsku ravnotežu u organizmu preko transporta klorida, sulfata, fosfata i ostalih metabolita. Primjena anionskih receptora je raznovrsna i prisutna je u organskim katalizama, odvajanju smjese aniona raznih otpada, u detekciji određene vrste aniona u nekim uzorcima, dok se u bliskoj budućnosti vidi potencijal primjene i u medicini prilikom liječenja bolesti koje su povezane s nepravilnim transportom određenih aniona unutar i van stanice.<sup>2</sup>

Sinteza i dizajn anionskih receptora nije jednostavan zadatak. Anioni su u pravilu veći od svoje neutralne atomske vrste i zbog većeg radijusa imaju manju gustoću naboja. Difuzna priroda naboja rezultira i slabijim elektrostatskim interakcijama. Nadalje, anioni su osjetljivi na pH vrijednosti jer se pri nižim pH vrijednostima mogu protonirati pa time izgubiti negativan naboj. Stoga receptori moraju biti djelotvorni u određenom rasponu pH. To je posebice važno kod dizajna protonirajućih anionskih receptora (koji sadrže amonijev ion) kod kojih se, osim pH raspona aniona, mora gledati i pH raspon receptora u takvoj formi.<sup>3</sup> Vrlo važno je spomenuti i geometriju aniona koja je u pravilu raznovrsnija i kompleksnija od kationskih vrsta, iz čega proizlazi i veći stupanj komplementarnosti koji je potreban pri dizajnu anionskih receptora kako bi oni stvarali međusobno što jače interakcije i bili što selektivniji prilikom detekcije istih.



Slika 1. Razne geometrije učestalih aniona

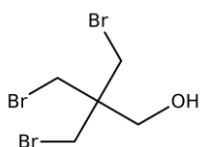
Otapalo u kojem dolazi do stvaranja interakcija između aniona i receptora također igra ključnu ulogu u jačini vezanja i selektivnosti. Receptor mora kompetirati s okolinom molekula otapala prilikom stvaranja interakcije s anionom. Primjerice, ako nekakav neutralni receptor veže anione isključivo preko vodikovih veza, malo je vjerojatno da će moći kompetirati sa solvatacijskom sferom nekog polarnog protičnog otapala koje okružuje taj anion te će moći služiti samo u aprotičnim organskim otapalima gdje će nadvladati interakcije aniona i otapala. Pozitivno ili negativno nabijeni anionski receptori će imati veće šanse u kompeticiji sa polarnim, protičnim otapalima zbog svojih elektrostatskih interakcija. Osim otapala, receptor mora dobro kompetirati i sa protuionom koji je sparen s ciljnim anionom.

Glede dizajna i same sinteze receptora, kemičari moraju pronaći načine praćenja svojstava vezivanja i selektivnosti. Pri tome se koriste kombinacije titracijskih izvedbi s nekom spektroskopskom tehnikom, primjerice:  $^1H$  NMR, UV-VIS apsorpcijska spektroskopija i fluorescencijska emisijska spektroskopija. Svaka od tih tehnika proučava različite aspekte vezivanja.  $^1H$  NMR spektroskopija daje uvid u direktne interakcije aniona i podjedinice receptora povezanih vodikovim vezama preko kemijskih pomaka protona NH skupina, fluorescencijska i UV-VIS spektroskopija pokazuju promjene prilikom apsorpcije ili emisije određenih dijelova receptora. Nadalje, ove tehnike imaju i svojstven prag osjetljivosti koji iznosi oko  $10^{-3}$  M za NMR spektroskopiju te oko  $10^{-5}$  M za UV-VIS i fluorescencijsku spektroskopiju.

Posljednjih se godina sve više pažnje pridonosi proučavanju ponašanja anionskih receptora koji koriste donore vodikovih veza kao glavnu interakciju sa anionom. Pri tome se najviše misli na receptore koji se služe OH i NH skupinama kao donorima. Najčešći primjeri takvih

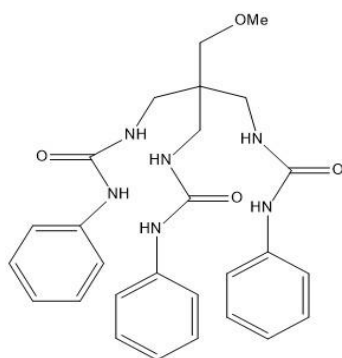
receptora su bazirani na ureidnim, tioureidnim, kaliksarenskim, izoftalamidnim i aromatskim derivatima fenilboronske kiseline. Od svih nabrojanih, najveću pažnju su zadobili receptori bazirani na ureidnim i tioureidnim derivatima.

U sklopu ovog rada sintetizirano je deset ciljnih molekula. Početni spoj u sintezi bio je komercijalno dostupan pentaeritritol tribromid (Slika 2). Sljedeći korak bila je azidacija toga spoja s natrijevim azidom. Potom se pristupilo supstitucijskoj reakciji sa metil-jodidom te redukciji triazida u triamin. Odgovarajući triamin potom je podvrgnut reakciji sa fenil-izocijanatom u odgovarajuću triureu (Slika 3) koja je poslužila kao modelni spoj za ispitivanje interakcija sa anionima.



Slika 2. Struktura komercijalno dostupnog pentaeritritol tribromida

Svaki sintetizirani spoj bio je karakteriziran uz pomoć IR,  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopije kako bi se potvrdila njegova struktura i uspješnost sinteze.



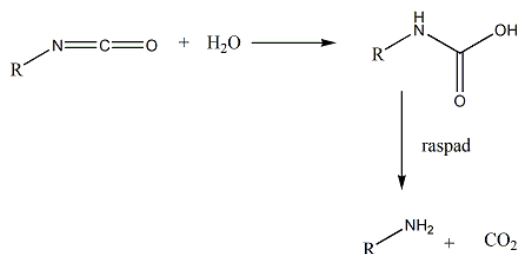
Slika 3. Struktura spoja 4

## § 2. LITERATURNI PREGLED

### 2.1. Metode sinteze urea

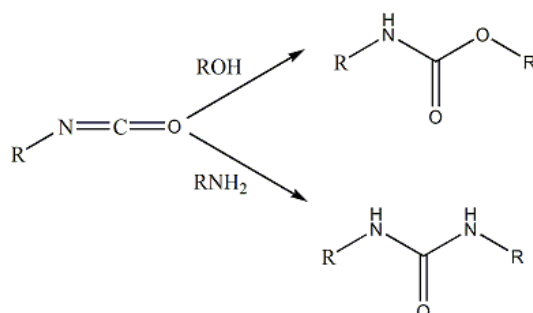
Urea ili karbamid organski je spoj kemijske formule  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  i diamid je ugljične kiseline. Pri standardnim uvjetima krutina je bez boje i mirisa, topljiva u vodi i alkoholu. Kod čovjeka i mnogih sisavaca predstavlja konačni produkt razgradnje bjelančevina. Još 1773. godine, francuska je kemičarka Hilaire Rouelle prva uspješno izolirala ureu iz urina, premda tada nije okarakterizirana ili imenovana ureom. Glavne se zasluge ipak pridaju njemačkom kemičaru Friedrich Wöhleru koji je sintetizirao ureu zagrijavanjem otopine amonijeva cijanata i time opovrgnuo vitalističku teoriju prema kojoj se do tada mislilo da nije moguće prirediti organske tvari iz anorganskih polaznih spojeva.<sup>4</sup>

Supstituirane uree klasa su organskih spojeva u kojima su vodikovi atomi NH skupina zamijenjeni raznim organskim ograncima te su privukle značajnu pažnju u modernoj organskoj sintezi zbog njihove široke i raznolike primjene u raznim aspektima ljudskog djelovanja poput industrije i medicine. Važnu primjenu pronalaze i kao pesticidi te regulatori biljnog rasta. Jedna od najosnovnijih metoda sinteze supstituiranih urea je reakcija između organskog izocijanata i primarnih te sekundarnih amina. Izocijanati mogu nastati Curtisovom pregradnjom odgovarajućih acil-azida. Osim amina, izocijanati mogu reagirati i sa drugim nukleofilima poput vode dajući prvotno derivat karbamske kiseline koji se zatim raspada na primarni amin i  $\text{CO}_2$  (Shema 1).



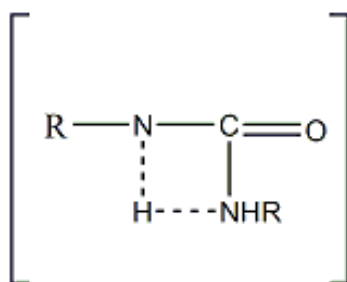
Shema 1. Reakcija organskog izocijanata i vode

Kao nukleofil može poslužiti i hidroksilna skupina alkohola i ranije spomenuti dušikov atom amina koji mogu reagirati sa izocijanatom dajući karbamate i derivate uree (Shema 2).



Shema 2. Reakcija organskog izocijanata sa alkoholima i aminima

Danas se sve više asimetričnih supstituiranih urea sintetizira ovakvom metodom. Sama reakcija se generalno može izvoditi pri sobnoj temperaturi ili po potrebi uz hlađenje ili zagrijavanje, ovisno o prirodi spojeva koje koristimo. Uobičajeno se koriste ekvimolarne količine reaktanata ili se organski izocijanat dodaje u blagom suvišku. U navedenoj se reakciji uglavnom koriste otapala poput toluena, diklormetana, tetrahidrofurana ili DMF-a. Uglavnom reakcije daju visoka iskorištenja te reakcija često ide gotovo kvantitativno. Eksperimentalno je dokazano da sekundarni amini s izocijanatom ipak formiraju nešto nestabilnije produkte od primarnih koji se raspadaju uslijed zagrijavanja. U pravilu, alifatski amini reagiraju puno brže od aromatskih dok, primjerice, difenilamin uopće ne reagira sa izocijanatima vrlo vjerojatno zbog male dostupnosti nukleofila koji je limitiran steričkim faktorima kao i zbog manje bazičnosti aromatskih amina. Što se tiče izocijanata, veći porast elektrofilnosti  $R$  supstituenta na izocijanatu povećava i reaktivnost same molekule pa time i brzinu reakcije. Glede samog mehanizma, vjeruje se da reakcija ide u dva koraka. Prvi korak uključuje formiranje aktivacijskog kompleksa koji se zatim pretvara u ureu reagirajući s aminom, a prema termodinamičkim podacima i izračunima poprima strukturu četveročlanog prstena (Slika 4).<sup>5</sup>

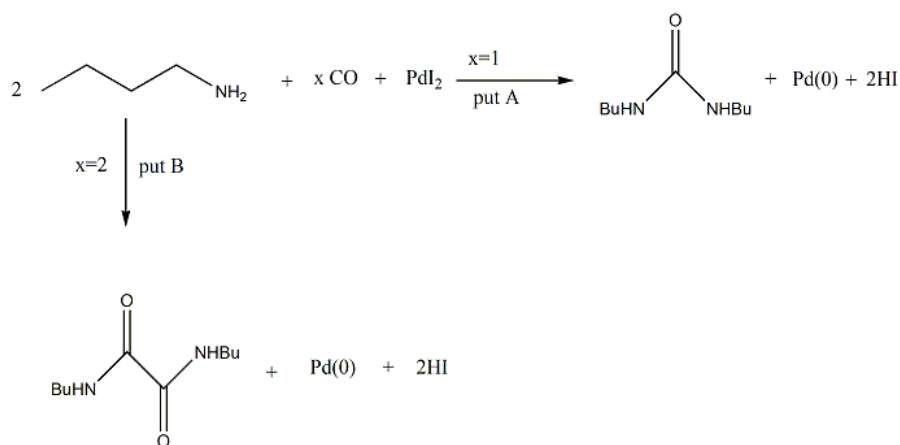


Slika 4. Struktura četveročlanog cikličkog aktivacijskog kompleksa



Osim izocijanata, amini mogu reagirati i sa cijanatima alkalijskih metala, primjerice kalijevim ili natrijevim cijanatom. Veliki broj aromatskih urea je dobiveno reakcijom između arilamin hidroklorida i natrijevog cijanata u ledenoj octenoj kiselini, pri čemu se produkt u reakcijskoj smjesi formira kao talog koji nije topljiv. Nadalje, umjesto amina mogu se koristiti i alkil halidi u kombinaciji sa cijanatima. Struktura samog alkil halida je od bitnog značaja jer uvelike utječe na iskorištenje reakcije. Najveća iskorištenja (90-96%) su postignuta kada se koristio ravnolančani primarni alkil halid sa kalijevim cijanatom u DMF-u gdje se formiraju *N,N*-dialkyluree dok tercijarni alkil halidi ne reagiraju.<sup>5</sup>

Alternativna metoda kojom se mogu pripremiti supstituirane uree je karbonilacija amina. Karbonilacija može biti katalizirana prijelaznim metalima i njihovim solima (Pd,Fe,Cu i drugi) te je u tom slučaju zovemo katalitičkom, ili korištenjem elementarnog sumpora i selenija pa ju tada zovemo oksidativnom, mada je to samo gruba podjela. Kao donor karbonilne skupine, najčešće se koristi CO. Katalitička karbonilacija se u pravilu provodi pri temperaturama 150-280 °C te CO tlakovima u rasponu od 100 do 300 atm (Shema 3). Ovakva metoda je sigurnija od industrijske metode karbonilacije amina koja zahtjeva reakciju sa fozgenom koji je poprilično opasan za rukovanje. Jedna od učinkovitih metoda sinteze simetričnih supstituiranih urea direktna je katalitička i oksidativna karbonilacija amina paladijem. Sama reakcija se provodi pri temperaturi od oko 80 °C u otapalima poput dioksana, dimetilsulfoksida, dimetoksietana u prisutnosti katalitičkog sustava PdI<sub>2</sub> sa suviškom KI ili drugih alkalijskih jodida te smjesom CO i zraka u omjeru 4:1. Ovisno o broju CO molekula koje se ugrade u reaktant dobijamo mono ili dikarbonilirani produkt. Veći stupanj konverzije reaktanta u produkt zapažen je ukoliko se koriste aprotična otapala kao što su DMSO ili NMP. Nadalje, veća selektivnost monokarboniliranog u odnosu na dikarbonilirani produkt zapažena je kod korištenja otapala s većom sposobnošću koordiniranja kao što je DME. Glavni razlog velike razlike reaktivnosti prilikom korištenja raznih otapala možemo pripisati stupnju učinkovitosti reoksidacije Pd(0) nakon procesa karbonilacije amina u odgovarajućem otapalu.

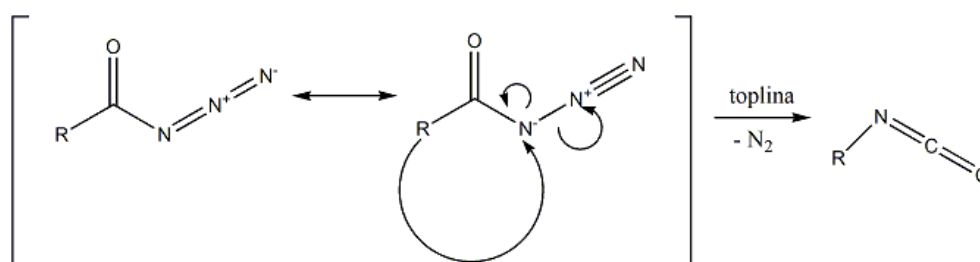


Shema 3. Sintetski put mono i dikarboniliranog produkta

Sagledavanje samog mehanizma reoksidacije Pd(0) od velikoga je značaja za razumijevanje rezultata same reakcije. Reoksidacija se događa kao posljedica oksidacije HI kisikom, prilikom čega dolazi do stvaranja I<sub>2</sub> koji se adira na Pd(0) te reoksidira u Pd(II). Kako je reaktant korišten u reakciji, baza dolazi do kiselo-bazne ravnoteže koja uzrokuje smanjenje koncentracije slobodne HI što posljedično ometa uspješnu reoksidaciju Pd(0). U aprotičnim otapalima bazičnost amina je manja nego u protičnim te shodno tome karbonilacija je inhibirana u metanolu zbog povećane bazičnosti amina, ali ne i u aprotičnim otapalima. Osim toga, sama polarnost otapala igra ulogu u selektivnosti, stoga monokarbonilirani produkt prevladava u otapalima niske polarnosti kao što su dimetoksietan (DME) i dioksan dok dikarbonilirani produkt je favoriziran kod polarnijih otapala poput dimetilacetamida (DMA) i N-metilpirolidona (NMP). Razlog takvom efektu pripisuje se većoj nukleofilnosti butilamina u polarnim nego manje polarnim otapalima. Još jedan važan faktor pri ovoj reakciji je i priroda samog metalnog halida. Najbolji rezultati su dobiveni kada se koristi PdI<sub>2</sub> u suvišku KI (1:100). Čim se anion zamjeni sa kloridom u obliku PdCl<sub>2</sub> i suviška KCl, ne dolazi do reakcije. Odgovor na to leži u činjenici da u takvom sustavu HCl ne oksidira u Cl<sub>2</sub> sa kisikom pa samim time ne dolazi do reoksidacije Pd(0).<sup>6</sup>

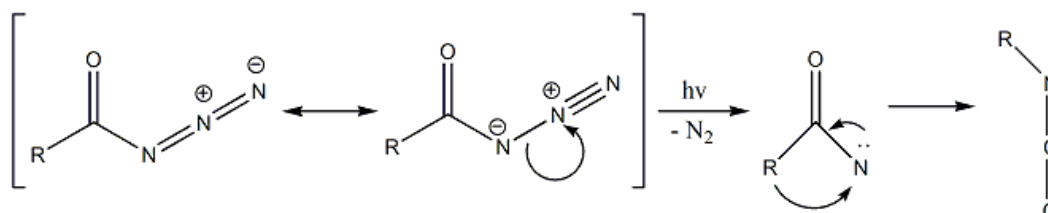
Jedna od metoda sinteze uree je i poznata Curtisova pregradnja (Shema 4) u kojoj dolazi do termičke razgradnje odgovarajućeg acil-azida (uz gubitak molekule dušika) u izocijanat kao prvotni produkt te je daljnjim reakcijama moguće prirediti karbamate, amine i derivate uree obzirom na to koji reagens koristimo. Curtisova pregradnja se koristi u sintezi raznih ljekovitih sredstava koje sadrže ureidne podjedinice iz tog razloga što sama reakcija ima

toleranciju na široki spektar funkcionalnih skupina koje sa njom ne interferiraju pa dolazi do potpune retencije konfiguracije kiralnog centra.<sup>7</sup> Acil-azidi koje koristimo u reakcijama mogu se pripremiti iz odgovarajućih alifatskih odnosno aromatskih karboksilnih kiselina te njihovih derivata poput acil-halogenida i anhidrida. Komercijalna dostupnost takvih kiselina omogućuje sintezu mnoštva strukturno različitih akiralnih i kiralnih amina, urea, karbamata, što značajno pridodaje važnosti same reakcije.



Shema 4. Mehanizam Curtisove pregradnje (termički)

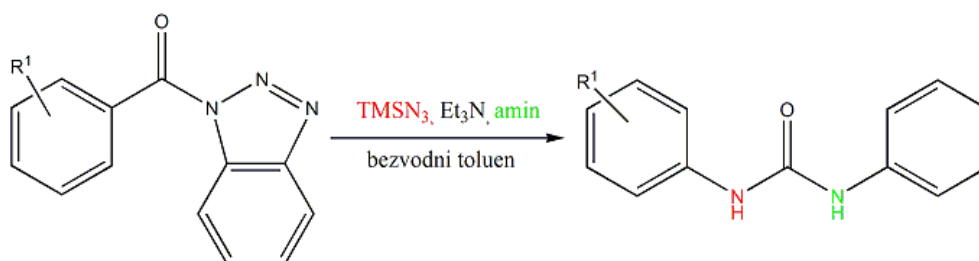
Priprava samog acil azida može teći na više načina, a najuobičajeniji je reakcija acil-klorida s natrijevim azidom ili trimetilsilil azidom. Osim toga, moguće je iz karboksilnih kiselina prirediti odgovarajući acil-azid reakcijom sa difenilfosforil azidom (DPPA). Korištenje DPPA kao reagensa za uvođenje azidne skupine sigurnija je metoda zbog izbjegavanja izolacije potencijalno eksplozivnih acil-azida. Kod termičke Curtisove pregradnje vjerovalo se da se mehanizam odvija u dva koraka, no istraživanja i termodinamički izračuni pokazali su da se odvija u jednom koraku u kojoj imamo simultanu pregradnju i eliminaciju molekule dušika. Sama reakcija ovisi i o mogućnosti migracije R skupine te o tome kakav je ugljikov atom R skupine koji je direktno vezan na karbonilni ugljikov atom te se pokazalo da slijedi trend: tercijarni > sekundarni i arilni > primarni.



Shema 5. Mehanizam Curtisove pregradnje (fotokemijski)

U slučaju fotokemijske Curtisove pregradnje (Shema 5) reakcija se događa u dva koraka. Nakon pripreve odgovarajućeg acil-azida, slijede rezonancijski efekti na azidnom dijelu molekule te uslijed izlaganju UV zraka rezultiraju eliminacijom molekule dušika te formacijom reaktivnog međuprodukta nitrena. Zbog nestabilnosti samog nitrena dolazi do pregradnje i formiranja izocijanata koji dalje može reagirati sa različitim nukleofilima dajući razne produkte gdje je jedan od mogućih i sama urea. Problem koji se može pojaviti kod ovakvog tipa pregradnje je taj što može doći do umetanja i adicije nitrena te njegove reakcije s otapalom u kojem se provodi reakcija, što dovodi do neželjenih sporednih produkata.<sup>8</sup>

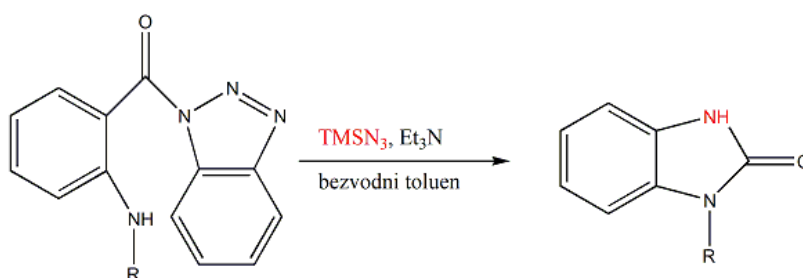
Jedan od sintetskih načina dobivanja derivata uree Curtisovom pregradnjom je korištenje *N*-acilbenzotriazola. Može se aktivirati za razne transformacije te lako ukloniti na kraju nekog sintetskog puta. Općenito, koristi se kao alternativa acil kloridima u reakcijama N-, C-, O- i S-acilacije za sintezu amida, estera, acil azida, oksazolina, tiazolina, karbamata, tiokarbamata pa i simetričnih derivata uree. Sam sintetski put kreće od reakcije odgovarajuće karboksilne kiseline, tionil klorida i 1*H*-benzotriazola u diklormetanu. Nastali *N*-acilbenzotriazol može reagirati sa primjerice natrijevim azidom te preko Curtisove pregradnje dati simetričnu ureu kao produkt. Takva reakcija je limitirana samo na simetrične uree, stoga je bilo potrebno pronaći drugačije puteve i reagense pomoću kojih bi se sinteza proširila i na asimetrične derivate. Provedene su razne reakcije dok se nije došlo do optimalnih uvjeta. Naime, kada se doda 1 ekvivalent *N*-acilbenzotriazola te po 1 ekvivalent trietilamina, trimetilsilil azida i odgovarajućeg amina u bezvodnom toluenu pri 110 °C, dobiju se asimetrični derivati uree u visokim iskorištenjima (Shema 6).



Shema 6. Sinteza asimetričnih derivata uree reakcijom *N*-acilbenzotriazola, TMSN<sub>3</sub> i anilina

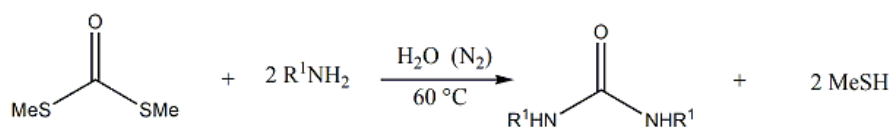
Variranjem raznih supstituenata na benzenskom prstenu *N*-acilbenzotriazola i korištenjem raznih amina može se sintetizirati široki spektar asimetričnih derivata uree. Sama iskorištenja

reakcije nisu u potpunosti ovisna o vrsti supstituenata koje se koriste u reakciji. Osim asimetričnih, moguće je prirediti i simetrične derivate ukoliko se koriste strukturno isti motivi na benzenskim prstenovima *N*-acilbenzotriazola i anilina. Nadalje, ono što je zanimljivo jest da se ovom metodom mogu sintetizirati i ciklički derivati uree intramolekulskom ciklizacijom preko izocijanatnog međuprodukta. Mehanizam podrazumijeva prvotnu formaciju acil azidnog međuprodukta nukleofilnom adicijom azidnog iona na karbonilni C atom acilbenzotriazola uz otpuštanje benzotriazola kao izlazne skupine. Acil azidni međuprodukt potom podliježe Curtisovoj pregradnji te se formira izocijanatni međuprodukt koji nadalje reagira sa aminom (intermolekulski) dajući aciklički derivat uree ili intramolekulski, ukoliko se amino skupina nalazi relativno blizu na istoj molekuli dajući ciklički derivat uree (Shema 7) u visokim iskorištenjima. Ovakav tip reakcije je veoma praktičan, ne koristi nikakve dodatne katalizatore, odvija se u blagim uvjetima, produkti su visoke čistoće, obrada je jednostavna i brza te se može sintetizirati veliki broj derivata uree koji imaju potencijalne farmaceutske i medicinske učinke i primjene.<sup>9</sup>



Shema 7. Reakcija dobivanja cikličke uree unutar-molekulskom ciklizacijom

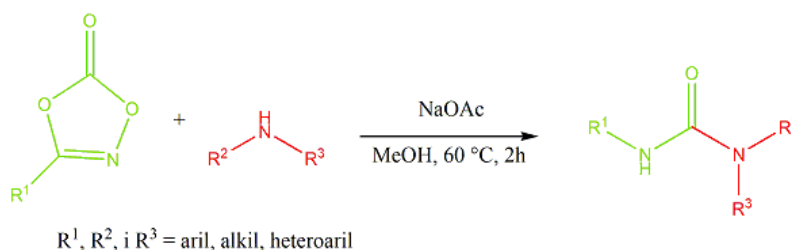
Mono, di i tri supstituirane uree mogu se prirediti i karbonilacijom alifatskih amina sa *S,S*-dimetil ditiokarbonatom (DMDTC) kao karbonilirajućim reagensom koji se može koristiti kao alternativa fosfenu. Taj reagens lako se može pripremiti na laboratorijskoj i industrijskoj skali u visokim iskorištenjima. Koristi se i kao prekursor metantiolu u sintezi organskih sulfida, uključujući i trazinske derivate te derivate mesil klorida. *S,S*-dimetil ditiokarbonat je neotrovna tekućina kojom se može lako i sigurno rukovati. Općenitu reakciju prema kojoj se pripremaju višesupstituirane uree koristeći *S,S*-dimetil ditiokarbonat možemo prikazati:



Shema 8. Općenita reakcija pripreve višesupstituirane uree koristeći DMDTC

Sama reakcija se odvija u vodenom mediju pod inertnim uvjetima 24 sata na temperaturi od oko 60 °C. Osim vode, može se koristiti i metanol koji u prosjeku daje oko 70% iskorištenja. Pod ovakvim uvjetima nije moguće pripremiti asimetričnu ureu zbog toga što se u drugom koraku supstitucija preostale tiometil skupine događa puno brže nego u prvom koraku. Samim time, kao produkt uvijek dobivamo simetričnu ureu čak i kad se koristi značajni suvišak reagensa. Ukoliko želimo blokirati formiranje simetrične uree, moramo uvesti odgovarajuće reakcijske uvjete u kojima će željena molekula nakon prvog koraka postati inertna prema daljnoj nukleofilnoj supstituciji. To se može postići primjenom bezvodnog THF u bazičnim uvjetima (LDA) i inetrnoj atmosferi (N<sub>2</sub>) na prvotnoj temperaturi od -78 °C, a potom sobnoj koristeći ekvimolarne količine amina i DMDTC. Kod takvih uvjeta LDA, odmah deprotonira međuprodukt koji se javlja u prvom koraku te se formira litijeva sol koja je stabilna i ne reagira sa drugim ekvivalentom amina. Zatim se uvodi kiselina kako bi se regenerirao neutralni oblik molekule te se pritom formira tiokarbamat. Nakon izolacije, odgovarajući tiokarbamat može se podvrgnuti reakciji sa raznim alifatskim aminima ovisno o željenoj strukturi višesupstituirane uree. Reakcija se provodi u metanolu pri 60 °C u vremenu od 24 sata dajući asimetrične *N,N'*-dialkisuree u dobrim iskorištenjima.<sup>10</sup>

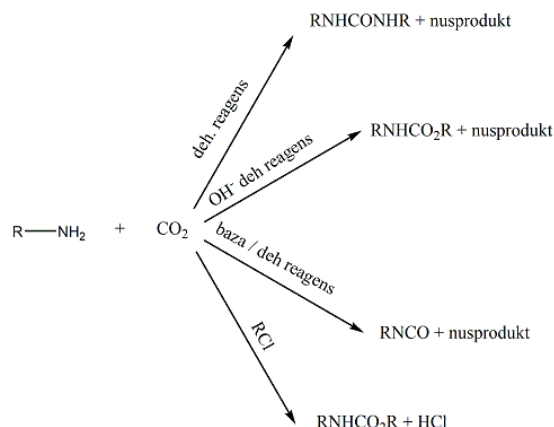
Kako bi se izbjeglo korištenje fozgena i izocijanata prilikom sinteze supstituiranih urea zbog njihove potencijalno opasne prirode razvijene su benigne metode sinteze koje koriste bezopasne spojeve kao alternativa navedenima. Jedna od takvih metoda obuhvaća sintezu asimetričnih derivata ariluree koristeći 3-supstituirane dioksazolone koji služe kao prekursori *in situ* izocijanatnom međuproduktu u prisutnosti netoksičnog bazičnog natrijevog acetata i metanola kao otapala (Shema 9).



Shema 9. Sinteza supstituiranih urea  
uporabom 3-supstituiranog dioksazolona

Prvi su radovi o ovakvom sintetičkom pristupu supstituiranih urea korištenjem dioksazolona pripremljeni u DMSO na temperaturi od 150 °C. Na toj temperaturi dioksazoloni dekarboksiliraju te se zatim pregrađuju u odgovarajući izocijanat koji reagira sa aminom dajući produkt. Iskorištenja su se pokazala odličnima uz visoki stupanj čistoće produkata. U većini slučajeva produkt se lako odvaja filtracijom bez dodatnih kromatografskih tehnika pročišćavanja. Ova reakcija pokazala se vrlo efikasnom u sintezi raznih lijekova koji sadrže ureidnu funkcionalnost kao što su Sorafenib, Lenvatinib, Tivozanib i drugi. Kako bi se ispitala ograničenja ovakve reakcije obzirom na strukturu reaktanata, sintetiziran je niz 3-supstituiranih dioksazolona sa raznim arilnim, alkilnim i heteroarilnim supstituentima te su podvrgnuti reakciji sa anilinom. Monosupstituirani 3-fenil dioksazoloni koji su sadržavali elektron donirajuće (metoksi, metil) i elektron odvlačeće (fluoro, kloro, nitro) skupine, davali su iskorištenja u rasponu od 64-96%.<sup>11</sup>

Osim korištenja supstituiranih dioksazolona kao benigne metode pripreme uree, znanstvenici su došli na ideju još specifičnijih metoda u kojima koriste načela „zelene kemije“ u procesu pripreme supstituiranih urea. Jedna od takvih metoda je sinteza simetričnih derivata uree korištenjem ugljikovog dioksida u ionskim tekućinama. Prednost takve sinteze je višenamjenska: koristi se bezopasan spoj CO<sub>2</sub>, izbjegava se korištenje skupljih kemikalija poput dimetil-karbonata ili dimetil-sulfata kao alternativa foszenu, što za komercijalne svrhe nije ekonomično, dolazi do recikliranja ugljika iz atmosfere te pridonosi smanjenju stvaranja stakleničkih plinova korištenjem CO<sub>2</sub> kao osnovnog spoja za sintezu. Iskorištenja su se za takvu reakciju pokazala dobrima u rasponu od 60-90% te su potrebne velike količine dehidrirajućih reagensa kao što su fosforov pentaklorid (PCl<sub>5</sub>), fosforil klorid (POCl<sub>3</sub>), dicikloheksilkarbodiimid, a mogu se koristiti i baze kao primjerice trietilamin (Et<sub>3</sub>N), te napoljetku i alkil kloridi (RCl) (Shema 10).<sup>12</sup>



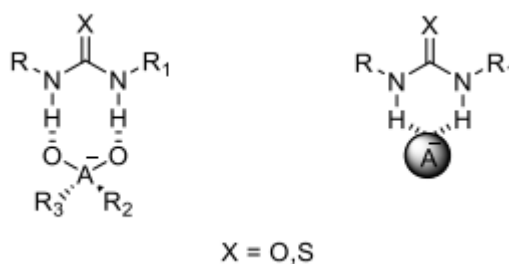
Shema 10. Karbonilacija amina sa  $\text{CO}_2$  kao donorom karbonilne skupine

Kako neki reaktanti nisu jeftini, primjerice alkil kloridi, a potrebna je njihova stehiometrijska količina uvode se ionske tekućine kao što su BmIMCl (1-butil-3-metilimidazolijev klorid) i BmIMBF<sub>4</sub> (1-butil-3-metilimidazolijev tetrafluoroborat) kako bi se osigurao katalitički reciklažni sustav i izbjeglo korištenje stehiometrijske količine dehidrirajućih reagensa te povećala iskoristivost reakcije. Osim ionskih tekućina, potrebna je i jaka baza pa se koristi cezijev hidroksid (CsOH) koji u nekim slučajevima daje iskorištenja i do 98%, dok slabiji kalijev hidroksid (KOH) daje tek oko 55% iskoristivosti reakcije. Reciklažni katalitički sustav BmImCl/CsOH je davao iskorištenja od 93% nakon što je upotrijebljen tri puta.

## 2.2. Uree kao anionski receptori

Anionski receptori bazirani na ureidnim podjedinicama su relativno novi predmet istraživanja. Sve do početka 90-tih godina prošlog stoljeća nije se pridodavala važnost potencijalnoj upotrebi derivata uree kao mogućih receptora za anione. Već je u uvodu objašnjena važnost vodikove veze kao jedne od glavnih interakcija, a gledajući strukturu same uree, možemo zaključiti kako stvara stabilne vodikove veze. Dvije bliske NH skupine mogu poslužiti kao kelatirajući agens za sferne anione te kao donori vodikovih veza za druge elektronegativne atome, kao primjerice vodikovu vezu sa kisikovim atomom nekog anorganskog oksoaniona, dok kisik može poslužiti kao akceptor vodikove veze. Zbog mogućnosti stvaranja paralelno orijentiranih vodikovih veza, pokazano je da urea može stvarati osmeročlane prstenove sa okosanionima, te šesteročlane sa halidima (Slika 5).<sup>13</sup>

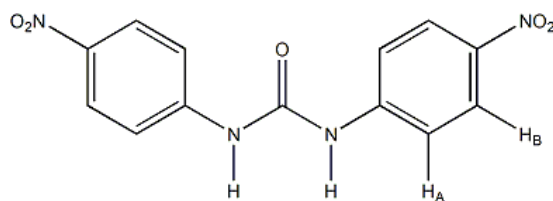




Slika 5. Orientacija vodikovih veza ureidnih i tioureidnih receptora u oksoanionskim i halidnim kompleksima

Wilcox je već sa suradnicima 1992. godine otkrio da jednostavne acikličke uree sa jednim veznim mjestom formiraju dosta stabilne komplekse sa visokim konstantama stabilnosti prema oksoanionima i karboksilatima u kloroformu. Neutralni ureidni, tioureidni i amidni receptori od značajne su važnosti zbog toga što transport nekih biološki značajnih aniona poput  $\text{PO}_4^{3-}$  kroz staničnu je membranu reguliran neutralno vezujućim proteinima. Nadalje, anionski receptori, posebice oni ureidnog i amidnog tipa, stvaraju vodikove veze sa većinom aniona koji su važni za naš biološki sustav. Ovisno o njihovoj prostornoj građi, takvi receptori mogu selektivno kompleksirati pojedine anione. Primjer takvog receptora je simetrična bis urea koja je pokazivala visoku selektivnost prema  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  anionu u odnosu na ostale anione prateći trend:  $\text{H}_2\text{PO}_4^- > \text{CH}_3\text{COO}^- > \text{Cl}^- > \text{HSO}_4^- > \text{NO}_3^- > \text{ClO}_4^-$ . Dosta jače vezanje dihidrogenfosfatnog aniona pripisuje se jačoj donorskoj prirodi vodikove veze.<sup>14</sup>

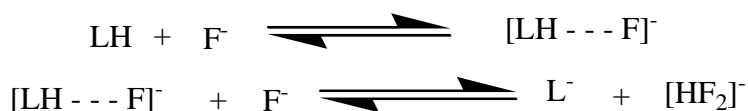
Amendola i sur. istraživali su interakcije između 1,3-bis(4-nitrofenil) uree i raznih oksoaniona (Slika 6). Prisutnost nitro skupine zbog svojih svojstava povećava polarizaciju ureidnih NH fragmenata pa samim time i pojačava donorska svojstva vodikovih veza samog receptora. Kako je nitro skupina dobar kromofor, praćenje interakcija je moguće zapaziti i golim okom. Sama strukturalna svojstva i priroda vezivanja aniona se može utvrditi  $^1\text{H}$  NMR spektroskopijom. Zbog visokog stupnja simetrije molekule receptora, važno je praćenje samo dvaju signala: protona u orto položaju i protona u meta položaju obzirom na ureu. Dodatkom acetatnih iona dolazi do kemijskog pomaka tih aromatskih protona što ukazuje na formiranje kompleksnih vrsta sa receptorom.



Slika 6. Struktura 1,3-bis-(4-nitrofenila)

Prilikom stvaranja interakcija između acetatnog iona i molekule receptora dolazi do pojave dvaju efekata. Prvi je povećanje elektronske gustoće na benzenskim prstenovima propagacijom kroz kemijsku vezu, što uzrokuje efekt zasjenjenja i pomak prema nižim ppm vrijednostima, dok se drugi pripisuje polarizaciji C-H veza uzrokovanoj prostorno elektrostatskim efektima u kojima dolazi do stvaranja parcijalno pozitivnog naboja na protonima, što uzrokuje efekt odsjenjenja te pomak prema višim ppm vrijednostima i to na  $H_A$  protonima. Titracijski eksperimenti bazirani na kemijskim pomacima  $H_A$  potvrđuju stehiometriju 1:1 aniona i receptora. S druge strane,  $H_B$  protoni ne „osjećaju“ elektrostatske niti polarizacijske efekte  $H_A$  protona, jedino povećanje elektronske gustoće kroz vezu, što ukazuje na pomak prema nižim ppm vrijednostima. Nakon dodatka više od jednog ekvivalenta acetata nije zapažen daljni pomak. Kako bi se pobliže odredila konstanta stabilnosti kompleksa, pristupa se spektrofotometrijskim metodama u acetonitrilu. Sam receptor pokazuje dvije intenzivne apsorpcijske vrpce na 225 i 345 nm, što se pripisuje procesima prijenosa naboja. Vrpca niže energije (veće valne duljine) odgovara prijenosu naboja sa jednog dušikovog atoma uree na nitro skupinu bližeg fenilnog supstituenta kroz  $\pi$ - $\pi$  mehanizam. Vrpca više energije i manje valne duljine se pripisuje procesu prijenosa naboja sa dušikovog atoma na karbonilni kisikov atom. Prilikom dodatka acetatnih iona dolazi do batokromnog pomaka apsorpcijskih vrpce iz razloga što anion međudjeluje sa pozitivno nabijenim dijelom molekule receptora u pobuđenom stanju stabilizirajući je pritom. Kao rezultat toga dolazi do smanjenja energija dvaju prijelaza te pomaka prema većim valnim duljinama. Proces prepoznavanja aniona se u ovom slučaju može pratiti i golim okom čak i pri većim razrjeđenjima. Otopina receptora je blijedo žute boje, a nakon dodatka acetatnih iona nastaje intenzivnije žuto obojenje. Provedeni su eksperimenti i sa ostalim oksoanionima u acetonitrilu te je primijećena konstantna formacija kompleksa sa 1:1 stehiometrijom. Iz svega navedenog, može se naslutiti da bazičnost aniona utječe na konstante stabilnosti kompleksa. Što je anion bazičniji, veće su tendencije primanja vodikove veze. Fluoridni anion

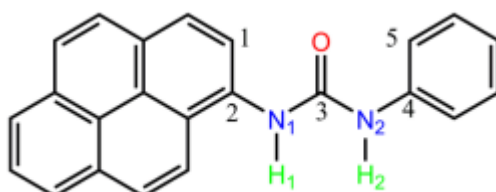
je pak pokazivao promjenu od svijetložute preko narančaste do crvene boje te su promjene pripisane dvostupanjskoj deprotonaciji N-H skupina ureidnog receptora (Shema 11).<sup>15</sup>



Shema 11. Dvostupanjska deprotonacija receptora fluoridnim anionom

Uzimajući u obzir podatke iz titracijskih eksperimenata, može se zaključiti kako u prvom ravnotežnom koraku fluoridni ion radi 1:1 kompleks sa receptorom, dok u drugom ravnotežnom koraku deprotonira sami receptor dajući  $[\text{HF}_2]^-$  anion. Prilikom deprotonacije formira se monodeprotonirani receptor  $\text{L}^-$  koji pokazuje drukčija spektralna svojstva od potpuno protonirane forme. Zbog toga se u ovom slučaju formira potpuno nova intenzivna vrpca pri 465 nm.

Danas se sve više radova bazira na otkrivanju novih molekula koje bi djelovale kao potencijalno dobar receptor sa što većim konstantama stabilnosti kompleksa koje stvaraju sa anionom. Nadalje, sintetiziraju se i receptori koji imaju fluorescencijska svojstva. Prednost takvog receptora je ta što određeni anioni mogu pojačavati ili gasiti fluorescenciju što ukazuje na selektivnost, a sama metoda može detektirati i vrlo niske koncentracije aniona pa je uz to i osjetljiva. Skupina kineskih znanstvenika sintetizirala je jedan takav receptor koji služi kao ON-OFF prekidač za fluorescenciju ovisno o primijenjenim uvjetima (Slika 7).



Slika 7. Struktura sintetiziranog receptora

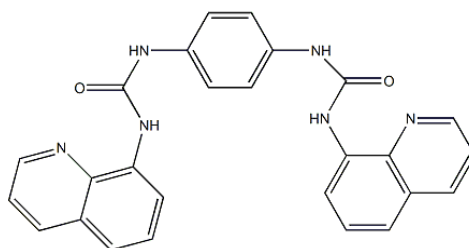
Sintetizirani receptor pokazivao je jedinstveni optički odgovor prema fluoridnom ionu preko ON-OFF-ON moda fluorescencije (Slika 8). Vjeruje se da je gašenje fluorescencije potaknuto dvama paralelnim procesima: fotoinducirani prijenos elektrona (PET) i intramolekulski prijenos protona u pobuđenom stanju (ESIPT). Prvi proces odnosi se na prijenos elektrona u

pobuđenom stanju sa donora na akceptor pod utjecajem UV dijela zračenja, dok se drugi odnosi na relaksaciju pobuđene molekule tautomerizacijom u pobuđenom stanju. Mijenjajući koncentraciju aniona, može se utjecati na fluorescencijski odgovor receptora. U primarnom modu, vidljiva je prisutnost emisijske fluorescencije jer se receptor nalazi u singletnom pobuđenom stanju ( $S_1$ ). Dodatak male količine fluoridnih aniona uzrokuje stvaranje kompleksa između receptora i aniona preko vodikovih veza, što dovodi do gašenja fluorescencije. Ukoliko se doda suvišak fluoridnih aniona dolazi do deprotonacije jedne NH skupine uree zbog formiranja  $HF_2^-$  kompleksa. Zbog sličnosti u prostornoj građi između pobuđene i relaksirane forme dolazi do pojačavanja fluorescencije u sekundarnom ON modu.<sup>16</sup>



Slika 8. Ilustracijski prikaz ON-OFF-ON moda fluorescencije

Russ i sur. sintetizirali su dipodalni kinolinski sustav sa bisureom (Slika 9) kao selektivni receptor za hidrogensulfatne anione koristeći 8-aminokinolin i 1,4-fenil diizocijanat kao početne reaktante u diklormetanu. Receptori s kinolinskim ili piridinskim strukturnim motivom mogu pokazivati i akceptorska svojstva vodikovih veza te preorganizirati same molekule receptora pojačavajući afinitete vezivanja aniona. Zbog svoje bazične prirode, dušikovi atomi kinolina i piridina se mogu protonirati te pružiti dodatno mjesto vezivanja aniona na receptor. Optimalna geometrija receptora formira šupljinu u koju se „ugrađuju“ anioni.

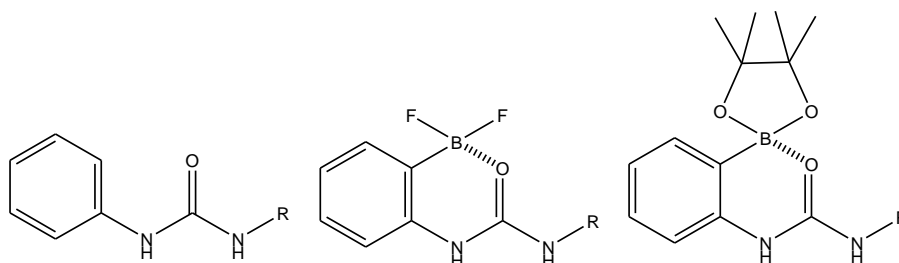


Slika 9. Optimalna struktura dipodalne bisuree sa kinolinskim sustavom

Sam receptor nije bio topljiv u vodi, acetonitrilu, metanolu i kloroformu, no ipak se pokazao topljivim u DMSO koji se koristio u titracijskim eksperimentima. Korištena je UV-Vis titracijska metoda kako bi se proučili afiniteti vezivanja fluorida, klorida, bromida, jodida, perklorata, nitrata, hidrogensulfata. Navedeni anioni su dodani u obliku soli s tetrabutilamonijevim kationom. Nakon dodavanja aniona, zabilježen je postepeni porast inteziteta apsorpcijskih vrpca. Obzirom na halogenide, receptor je najveći afinitet pokazivao prema fluoridu i to redom  $F^- > Cl^- > Br^- > I^-$  dok je kod oksoaniona hidrogensulfat formirao najstabilniji kompleks sa receptorom. Nešto slabije se vezao dihidrogenfosfat, dok su nitrati i perklorat pokazivali još slabije vezivanje. Iz navedenog možemo zaključiti da je jačina vezanja direktno povezana s relativnom bazičnošću pojedinih aniona. DFT izračuni su ukazali da anion ne stvara interakcije samo s NH grupama, nego i sa aromatskim protonima te da aromatski sustav kinolina pomaže u formiranju šupljine kako bi vezao anion. Istraživanja su pokazala da se receptor veže sa svim anionima u omjeru 1:1 te pokazuje umjerenu selektivnost za hidrogensulfatni anion u odnosu na ostale proučavane.<sup>17</sup>

B.D. Smith i sur. 1997. opisali su i sintetizirali niz boronat-urea receptora (Slika 10). Prva serija sintetiziranih molekula sadržavala je obične ureidne receptore, druga serija obuhvaćala je ureidne receptore sa  $BF_2$  strukturnim motivom koordiniranim na kisikov atom uree, dok je treća serija sadržavala boronatni strukturni motiv koordiniran na kisikov atom uree. Početni spoj pri navedenim sintezama bio je (2-aminofenil)boronska kiselina. Reakcijom početnog spoja sa odgovarajućim izocijanatom, dolazi do prvotnog formiranja heterocikličkih produkata koji zatim kondenzacijom sa pinakolom daju boronatnu seriju molekula. Ukoliko se heterociklički produkti tretiraju sa  $KHF_2$ , dobijaju se difluoro oblici sa  $BF_2$  strukturnim motivom. Početni NMR eksperimenti provedeni na ovim receptorima pokazali su da je boronatna serija receptora bila podložna hidrolizi u visokopolaranim, higroskopskim otapalima. NMR titracijom s tetrabutilamonijevim acetatom u  $DMSO-d_6$  došlo je do hidrolize receptora

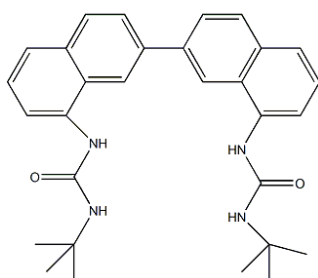
dajući pinakol. Duži i sterički ometeniji supstituenti davali su kinetički stabilnije produkte sa manjim stupnjem hidrolize iz razloga što veći supstituenti ometaju nukleofilni napad molekule vode čiji je korak u mehanizmu odlučujući za brzinu reakcije. Ovakve molekule pokazale su pojačani afinitet vezivanja za karboksilatne anione na drugu i treću skupinu receptora zbog svoje inducirane polarizacije unutar molekulski koordiniranog centra Lewisove kiseline. Titracijom se ispostavilo da druga serija receptora ima najveće konstante stabilnosti, što je i za očekivati obzirom na to da  $\text{BF}_2$  grupa sadrži jake elektron odvlačeće fluorove atome te koordinacija samog borovog atoma povećava donorsku sposobnost vodikovih veza ureidnih protona.<sup>3</sup>



Slika 10. Tri skupine ureidnih receptora: ureidni,  $\text{BF}_2$  koordinirani i boronat koordinirani

Kondo i sur. priredili su niz makrocikličkih bisurea s 2,2'-binaftalenskim sustavom. Kristalna struktura tih receptora pokazala je visoki stupanj predorganizacije molekule za vezivanje kloridnog aniona. Selektivnost prema kloridnom ionu od strane receptora koji sadrže donore vodikovih veza kao vezna mjesta pretežno je niska zbog toga što su akceptorska svojstva kloridnog aniona niža od drugih oksoaniona i fluorida. Primjećuje se da 2,2'-binaftalenski sustavi koji sadrže dvije butilureidne grupe na pozicijama 8 i 8' jako vežu anione u acetonitrilu. Nadalje, receptori koji sadrže *tert*-butilne skupine i razne fenilne skupine kao supstituente su, osim visokih konstanti vezivanja, bili topljivi u uobičajenim organskim otapalima. Receptor sa *tert*-butilnim supstituentima pokazivao je jaku emisijsku vrpču pri 440 nm koja se postepeno gasila dodatkom kloridnih i acetatnih iona ukazujući da takva molekula može poslužiti kao dobar fluorescencijski senzor za te anione, te svoju primjenu može naći u pripravi selektivnih elektroda za kloridne anione. Sama sinteza je tekla na način da je primarno sintetiziran izocijanatni oblik koristeći 8-8'-diamino-2,2'-binaftalen i

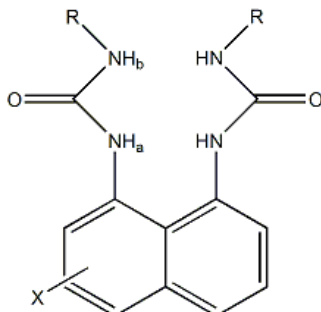
trifozgen u diizopropiletilaminu i THF. Nakon otparavanja otapala, ostatak je odijeljen kromatografski na silikagelu te je dobiven 8-8'-diizocijanato-2,2'-binaftalen (Slika 11). Zatim je dobiveni diizocijanat podvrgnut reakciji s *tert*-butilaminom u etanolu dajući produkt. Koristeći UV-Vis titracije, određeni su afiniteti vezivanja pojedinih aniona za receptor. Dodatkom kloridnog aniona, primjećen je batokromni pomak koji ukazuje na omjer 1:1 receptora i aniona. Podaci dobiveni eksperimentima sa dihidrogenfosfatom jedini ukazuju na 1:2 stehiometriju receptora i aniona. Gledajući vrijednosti afiniteta vezivanja, može se zaključiti kako kloridni i acetatni anioni imaju slične i najviše vrijednosti afiniteta vezivanja koje su iznosile oko  $1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ . Nadalje, bazični anioni poput fluoridnog i dihidrogenfosfatnog također su ukazivali na jake interakcije prema receptoru sa vrijednostima  $4 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$  za fluoridni anion i  $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$  za dihidrogenfosfatni anion. Selektivnost receptora prema kloridu u odnosu na bazične anione povećan je za jedan red veličine u 5%-tnoj vodenoj otopini acetonitrila te je receptor zadržao snažna svojstva prepoznavanja aniona u tom otapalu nakon što su u titracijskim eksperimentima kationi alkalijskih metala zamjenili primarno korištene TBA katione.<sup>18</sup>



Slika 11. Strukturna formula 8-8'- di(*tert*-butilaminokarbonilamino)-2,2'-binaftalena

Osim variranja i mjerenja pojedinih aniona iz kojih možemo izvući informacije afiniteta vezanja, može se problemu pristupiti i na drugi način. Naime, posljednje studije su pokazale kako su se receptori sa aromatskim jedinicama u svojim strukturama kao što su antracenska, antrakinsonska, naftalenska pokazali dobrim i visokoselektivnim receptorima. Variranjem pojedinih organskih ogranaka ili supstituenata na aromatskom sustavu (elektron donorska / odvlačeća skupina) direktno se utječe i na konstante vezivanja aniona na odgovarajući receptor. Jedan takav ureidni receptor sa varirajućim R skupinama i naftalenskim sustavom

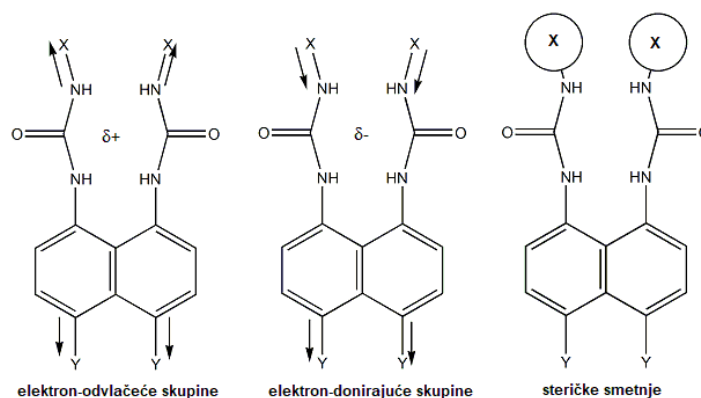
pripravili su Jeong i sur. na temelju čega su sintetizirali četrnaest različitih receptora iz 1,8-diaminonaftalena i različitih izocijanata kako bi detaljno ispitivali svojstva vezanja aniona (Slika 12).



Slika 12. Struktura ureidnog receptora sa naftalenskim sustavom

U ovakvim sustavima vezna mjesta aniona su u području ureidnih skupina. Anioni se vežu na protone NH skupina vodikovim vezama ili ion-dipolnim interakcijama. Jakost pozitivnog dijela dipola određuje i samu jakost vezanja aniona. Na elektronske faktore NH protona utječu i svojstva R skupina te X supstituenata na naftalenskom dijelu, i to na način da R skupine direktno utječu na NH<sub>b</sub> protone dok supstituenti X utječu na NH<sub>a</sub> protone. Uvedu li se elektron-odvlačeće skupine u obliku organskog ogranka R ili na naftalenski sustav kao što su kloro, fluoro, nitro, dolazi do stvaranja jačih interakcija te posljedično tome i povećanja vrijednosti konstante vezivanja iz razloga što takve skupine odvlače elektrone pa se samim time formira i veći pozitivni dipol na ureidnoj jedinici (Slika 13). Povećanje je značajnije ukoliko se elektron-odvlačeća skupina nalazi na R ogranku jer naftalenski sustav zbog svoje veličine ima određena geometrijska i sterička ograničenja. Samim time, NH<sub>a</sub> protoni pokazuju povećanje u nešto manjoj mjeri od NH<sub>b</sub> protona. Suprotno, elektron-donirajuće skupine kao što su metoksi, butil, fenil uzrokuju smanjenje vrijednosti konstanti vezanja jer pružaju suprotan efekt. Takve skupine mogu donirati elektrone i samim time smanjiti pozitivan utjecaj takvog dipola te oslabiti interakcije vezanja aniona. Osim toga, korištenje sterički ometanih grupa, primjerice *t*-butilne skupine ili *orto*-supstitucije na benzenskom prstenu, pokazuje značajno smanjenje vrijednosti konstanti zbog steričkih efekata koji ne dozvoljavaju anionu da stvori dovoljno jake interakcije sa veznim mjestom receptora.<sup>19</sup>





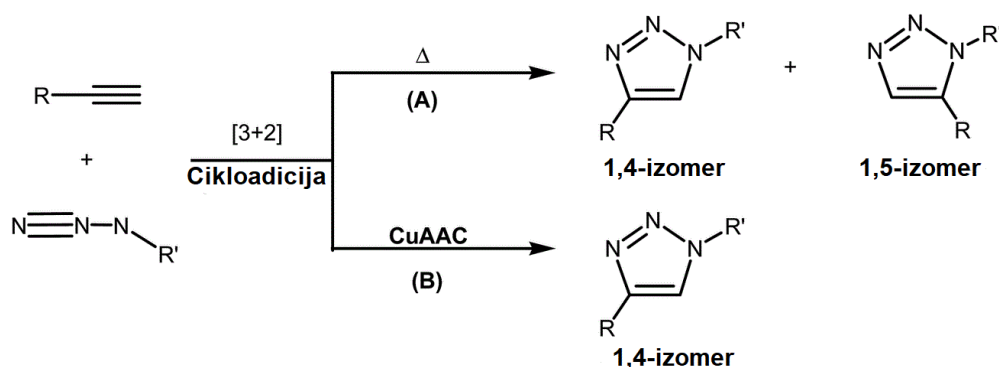
Slika 13. Utjecaj elektron-odvlačećih i donirajućih skupina na jakost vezanja aniona

### 2.3. Klik-reakcije

Koncept klik-kemije relativno je nov pojam, a uveo ga je K.B.Sharpless 2001. godine kako bi opisao one reakcije koje su jednostavne za provesti, stereospecifične, mogu se provoditi u manje štetnim otapalima i rezultiraju visokim iskorištenjima produkata te se mogući nusprodukti lako otklanjaju.<sup>20</sup> Stoga, možemo zaključiti da se klik reakcija ne odnosi na jedan tip reakcije nego na skup određenih reakcija koje podilaze navedenim karakteristikama. Primjeri nekoliko takvih vrsta reakcija su: reakcije nukleofilne supstitucije (nukleofilno otvaranje epoksida i aziridina), adicija na višestruke ugljik-ugljik veze (epoksidacija, Michaelova adicija) te reakcije cikloadicije.

Vjerojatno daleko najznačajnija klik reakcija u modernoj sintetskoj kemiji je cikloadicija azida i alkina koja daje 1,2,3-triazole, odnosno takozvana Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija. Razlog tomu leži u činjenici da su početni reagensi stabilni u širokom rasponu uvjeta u kojima se provode organske reakcije te su komercijalno vrlo dostupni. Huisgen i sur. pedesetih su godina prošlog stoljeća otkrili da je proces cikloadicije između azida i terminalnog alkina egzoterman ( $\Delta H^\circ = -45$  do  $-55 \text{ kcal mol}^{-1}$ )<sup>20</sup> te je potrebna visoka energija aktivacije koja iznosi  $E_a = 26 \text{ kcal/mol}^{-1}$ . Takva reakcija na sobnoj temperaturi za neaktivirane reaktante vrlo je spora. Kada se primjeni visoka temperatura na nekataliziranu reakciju, nastaje smjesa regioizomera, točnije 1,4 i 1,5-disupstituirani triazol pa takva reakcija nije imala velikog značaja sve do 2002. godine kada je Meldal prvi put upotrijebio bakar (I) kao katalizator.<sup>21</sup> Od tada postaje glavni interes sintetske organske kemije zbog široke primjene

katalizirane reakcije u raznim područjima kemije poput kemije polimera, supramolekulske kemije, farmaceutske kemije te u procesima biokonjugacije, označavanja DNK i sl. Cu (I) katalizirana reakcija odvija se i do  $10^7$  puta brže od nekatalizirane, provodi se pri sobnoj temperature te regioselektivno nastaju isključivo 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazoli koji pokazuju stabilnost pri visokim temperaturama te hidrolitičkim i oksidoredukcijskim uvjetima (Slika 18). S obzirom na činjenicu da je Cu (I) termodinamički nestabilan, lako može oksidirati u Cu (II) te se reakcija najčešće provodi u inertnoj atmosferi ili se dodaju tvari poput DIPEA koje imaju mogućnost stabiliziranja tog oksidacijskog stanja bakra. Bakar (I) se može uvoditi izravno ili se može pripremiti *in situ*. Izravno korištenje najčešće uključuje primjenu halogenidne soli bakra (I) kao bakrov (I) jodid ili bakrov (I) bromid. *In situ* se može generirati primjenom odgovarajućeg redukcijskog sredstva (natrijev askorbat) koji će reducirati Cu (II) u Cu (I).<sup>22</sup> Ne smije se zanemariti niti triazolna strukturna podjedinica koja se nalazi u određenim skupinama lijekova koji djeluju kao fungicidi, antikonvulzivi pa čak i kao antibiotici, stoga možemo zaključiti kako je ova reakcija neizbježna u širokom području ljudskog djelovanja.<sup>23</sup>

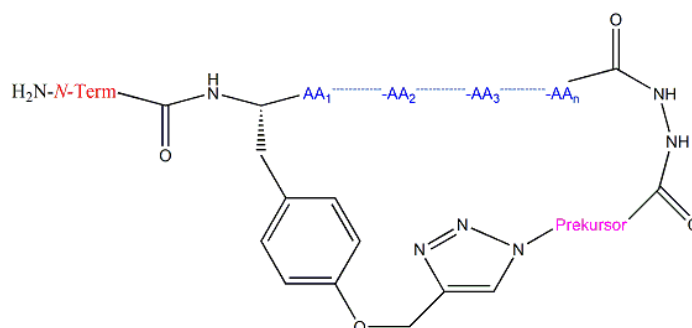


Shema 12. Termički (a) i bakrom (I) katalizirana (b) cikloadicija azida i alkina

U nekataliziranoj termičkoj Huisgenovoj 1,3-dipolarnoj cikloadiciji, nastaje smjesa regioizomera koji se razlikuju po položaju R skupine alkinskog dijela. Takva reakcija je spora te je potrebna temperatura od oko 100 °C kako bi do reakcije došlo. S druge strane, kod bakrom (I) katalizirane reakcije nastaje isključivo 1,4-izomer. Reakcija je kvantitativna, katalizator se može ukloniti nekromatografskim tehnikama, primjerice filtracijom ili ekstrakcijom te se reakcija odvija u blagim uvjetima. U okviru ovog rada, zastupljena je jedna takva klik-reakcija između prethodno sintetiziranog azidnog organskog fragmenta i

peracetilirane propargil glukoze. Cilj takve reakcije je bio premošćenje šećerne jedinice u svrhu dobivanja vodotopljivog glikokonjugata triureidnog anionskog receptora.

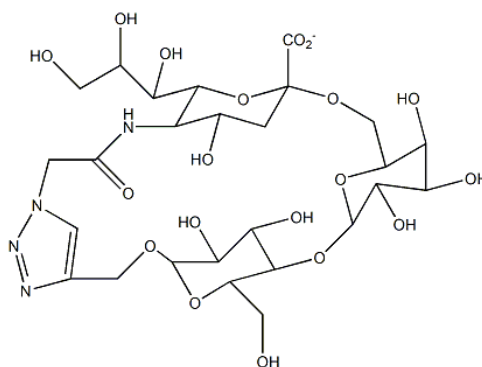
CuAAC reakcija se pokazala kao dobar izbor u sintezi kompleksnih makrocikličkih biomolekula (proteina, šećera) koje imaju mogućnost moduliranja biomolekulskih interakcija. To može poslužiti, primjerice, u sintezi konformacijski ograničenih peptidnih liganada koji za razliku od svojih linearnih analoga pojačavaju permeabilnost stanica i imaju veći afinitet za ciljnu molekulu. Fasan grupa priredila je metodu sinteze konformacijski ograničenih hibrida organo-peptida, kombinirajući genetički kodirani polipeptid i sintetički prekursor. Neprirodna aminokiselina sa alkinskom funkcionalnošću je ugrađena u *N*-terminalni kraj linearnog hibrida formiranog od strane inteina (sekvence u proteinu koje kataliziraju vlastito uklanjanje iz većeg proteina) koji je zatim povezan na polipeptidni lanac (Slika 14). S druge strane, sintetički prekursori su imali aromatske jedinice koje su sadržavale odgovarajuće funkcionalnosti u obliku azida i hidrazida. Klik-reakcija između tako sintetiziranog alkina i azida kvantitativno je generirala makrociklički organo-peptid. Za formiranje katalizatora korišten je CuSO<sub>4</sub> sa natrijevim askorbatom kao redukcijskim sredstvom u puferiranoj vodenoj otopini te kasnijim dodatkom EDTA kako bi se uklonio bakar.<sup>24</sup>



Slika 14. Struktura sintetiziranog makrocikličkog organo-peptida

Osim makrocikličkih peptidnih biomolekula, moguće je pripremiti i makrocikličke šećerne strukture. Takve biomolekule su od važnog značaja jer posjeduju zanimljiva svojstva i primjene poput stvaranja gradivnih blokova, služe kao nosači lijekova te kao umjetni receptori, imaju sposobnosti kompleksiranja raznih metala i mogućnosti stvaranja kompleksa razne stehiometrije. Jedan od najpoznatijih primjera su ciklodekstrini koji imaju sposobnost vezivanja hidrofobnih molekula unutar svojih šupljina. Njihov glavni problem je taj što su

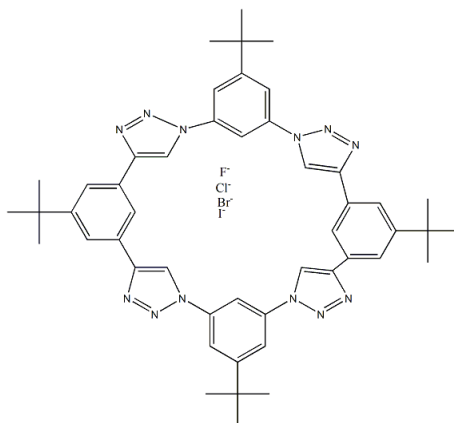
relativno slabije topljivi u vodi od ostalih sličnih sintetičkih šećernih biomolekula i teško ih je funkcionalizirati. Stoga su znanstvenici tražili alternativna rješenja za sintezu šećernih biomolekula koji bi bili visokotopljivi u vodi. Grupa na čelu sa Chenom bavila se sintezom i karakterizacijom strukturno definiranih makrocikličkih oligosaharida različitih veličina (Slika 15). Osim kemijskih postupaka, korištene su i visoko djelotvorne kemoenzimatske metode u sintezi prekursora u kojem je ugrađena azidna jedinica u sialinsku kiselinu smještena na nereducirajućem kraju, dok je propargilna smještena na reducirajućem kraju. Reakcija je provedena u smjesi acetonitrila i vode (1:1) koristeći direktno Cu(I) kao katalizator. Iskorištenja su varirala od 30-80%. Kao ishod takve klik-reakcije, dobivene su makrocikličke molekule sa  $n+1$  cikloadicijskim šećernim jedinicama. Takve strukture su bile jako vodotopljive i mogle su čak enkapsulirati male hidrofobne aromatske molekule, ovisno o broju i veličini samog makrocikla.<sup>25</sup>



Slika 15. Struktura receptora sastavljenog od tri šećerne podjedinice

Općenito u supramolekulskoj kemiji, sve više maha zauzima CuAAC reakcija prilikom dizajna samih makrocikličkih struktura, čija je glavna svrha prepoznavanje i stvaranje interakcija sa anionima. Flood i sur. sintetizirali su skupinu makrocikličkih receptora zvanih triazolofani. Triazolofani su makrociklički spojevi sastavljeni od četiri triazolne jedinice koje se formiraju prilikom CuAAC reakcije te su međusobno povezane preko benzenskih ogranaka u veliku prstenastu strukturu (Slika 16). Triazolni strukturni motiv ima mnoštvo karakteristika koje doprinose njegovoj širokoj uporabi u supramolekulskoj kemiji. Tri elektronegativna  $sp^2$  hibridizirana susjedna dušikova atoma određuju većinu svojstava triazola. Zbog svog pozitivnog dijela dipola smještenog kolinearno sa C-H vezom i negativnog dijela smještenog kraj dušikovih atoma, ova molekula stvara dipol-monopol interakcije sa kationima i anionima.

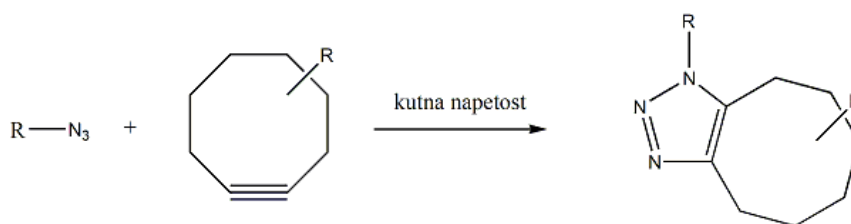
Elektronska gustoća na ugljikovim atomima prstena se smanjuje, što pomaže u polarizaciji same C-H veze. Zbog tih efekata, C-H skupina je u mogućnosti stvoriti interakcije sa anionima preko polariziranog donora vodikove veze (nekonvencionalna vodikova veza) baš kao i preko velikog lokalnog dipola. Geometrija samog triazola također ide u korist prilikom dizajna makrocikličkih receptora. Zbog svoje planarnosti i nešto većih vanjskih veznih kuteva od šesteročlanih analoga može stvoriti koplanarnost sa svim arilnim motivnim jedinicama triazolofana, bilo da su vezane preko ugljikovog ili dušikovog atoma na benzenski prsten. Sama sinteza triazolofana ide u sedam reakcijskih koraka, počevši od jednostavnih derivata diiodobenzena koji reagiraju sa TMS zaštićenim acetilenima. Zadnji proces makrociklizacije ide u dvije uzastopne *in situ* klik-reakcije, uz bakar(I) kao katalizator u razrijeđenim uvjetima dajući iskorištenja i do 70%. Karakteristike vezivanja aniona triazolofona su ispitane <sup>1</sup>H NMR spektroskopijom koristeći halidne soli (F<sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, I<sup>-</sup>) sa TBA kationom u CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Vrijednost konstante stabilnosti kompleksa sa kloridnim anionom je bila 1.3 x 10<sup>5</sup> M<sup>-1</sup>, što je dosta visoka vrijednost obzirom na nekonvecionalne interakcije vodikove veze te se pokazala višom od nekih receptora koje stvaraju konvecionalne vodikove veze.<sup>26</sup>



Slika 16. Triazolofanski receptor

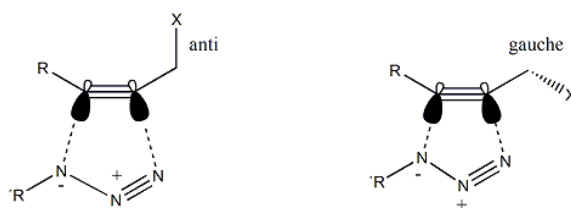
Sharpless je sa svojim suradnicima postavio veliki korak naprijed u modernoj organskoj sintezi. Bakrom katalizirana klik-reakcija omogućila je selektivnu modifikaciju čestica virusa, nukleinskih kiselina, proteina. Ukoliko se takva reakcija primjenjuje u živim organizmima, javlja se problem što je bakrov katalizator toksičan za stanice bakterija i samih sisavaca. Stoga su znanstvenici tražili način da provedu slične reakcije koje neće upotrebljavati nikakav katalizator, a sadržavat će značajke klik-reakcije. Već 1961. godine Wittig i Krebs su primjetili da reakcija između ciklooktina (najmanjeg stabilnog cikloalkina) i fenil azida

reagira jako brzo, dajući jedan produkt (Shema 13). Takvu reakciju nazivamo cikloadicija azida i alkina potaknuta napetošću prstena. Veliko odstupanje od optimalnog kuta alkina ( $163^\circ$ ) uzrok je visokoj energiji od 18 kcal/mol kutne napetosti. Ovakav tip reakcije omogućio je označavanje embrija *in vivo* s ciklooktinskim funkcionaliziranim fluoroforima kako bi se pratila glikozilacija staničnih površina. Od tada se ova reakcija koristi u dizajniranju tkiva, enkapsulaciji stanica, radiooznačavanju, pripravi polimernih gelova i razvoju nanomaterijala.<sup>27</sup>



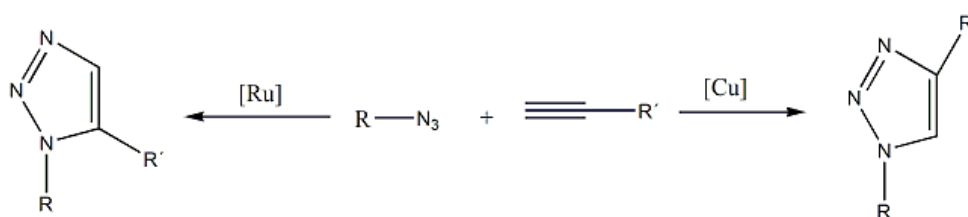
Shema 13. Reakcija između azida i ciklooktina potaknuta napetošću prstena

Da bi se poboljšala efikasnost same reakcije, trebalo je modificirati reaktant. Bertozzi i sur. došli su na ideju da upotrijebe elektron-odvlačeće supstituente koji bi smanjili energiju LUMO orbitale ciklooktina. Prvo su iz početnog reaktanta „odstranili“ benzenski prsten kako bi povećali topljivost i brzinu reakcije, smanjujući steričke smetnje pokraj reaktivnog centra. Zatim su uveli fluor na susjedni položaj alkina da bi smanjili energiju LUMO orbitale i potaknuli reakciju sa azidom. Primjećeno je i 60 puta veće povećanje brzine reakcije ukoliko se dodaju dva fluorova atoma na ciklooktinski prsten. S druge strane, povećanje kutne napetosti prstena može se dodatno pojačati uvođenjem  $sp^2$ -hibridiziranih atoma na ciklooktinski prsten, najčešće kao srašteni benzenovi prsteni sa obe strane ciklooktina.<sup>28</sup> Alabugin i sur. su pokazali da se reakcija između alkina i ciklooktina najbrže odvija kada dolazi do elektronske aktivacije reaktanata zbog stabilizacije prijelaznog stanja preko efekta hiperkonjugacije i elektrostatskih interakcija. Nadalje, primjetili su da je veća stabilizacija kod propargilnog i antiperiplanarnog atoma fluora kao supstituenta u acikličkom alkinskom sustavu, nego kod dva atoma fluora u *gauche* konformaciji na ciklooktinskom prstenu (Slika 17). Ovaj efekt proizlazi iz toga što hiperkonjugacija više stabilizira prijelazno stanje, ukoliko dolazi do optimalnog preklapanja orbitala na način da smanjuje distorzijску energiju samog alkinskog sustava koja je potrebna da bi se formirala geometrija prijelaznog stanja.<sup>29</sup>



Slika 17. Optimalni (anti) i manje optimalni (gauche) raspored orbitala propargilnog  $\sigma$  akceptora i  $\pi$ -veze reaktivnog alkin

Osim bakra, znanstvenici su otkrili da kataliza same azid-alkin cikloadicije može teći i uz rutenij kao katalizator te onda takav tip reakcije označujemo kao RuAAC. Komplementarno bakru (I) kao katalizatoru, rutenij daje isključivo 1,5-regioizomere (Shema 14). Najčešći oblik katalizatora je kompleks kloro(pentametilciklopentadienil) rutenija (II) koji pokazuje visoki stupanj selektivnosti i široki opseg supstrata na kojima se može reakcija odvijati.



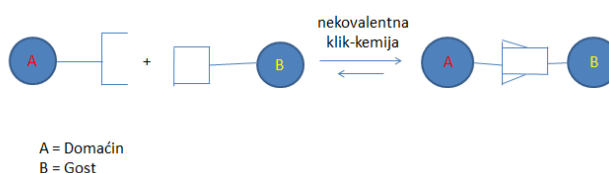
Shema 14. Produkti bakrom(I) i rutenijem(II) katalizirane alkin-azid cikloadicije

Sama reakcija uz ovaj katalizator daje visoka iskorištenja već i nakon pola sata pri sobnoj temperaturi. Mogu se koristiti i polarna i nepolarna otapala kao što su benzen, dioksan, dimetilformamid, toluen, no ukoliko se koriste protična otapala, kao primjerice etanol i voda, iskorištenja mogu znatno opadati. Kisik kao prilično reaktivna specija također može uzrokovati probleme tako što reagira s  $[\text{Cp}^*\text{RuCl}](\text{COD})$  katalizatorom te ga pritom razgrađuje, stoga je preporučljivo reakciju izvoditi u inertnim uvjetima, no ukoliko se ciklooktadienski ligand (COD) zamjeni s  $(\text{PPh}_3)_2$ , visoka iskorištenja se dobiju čak i uz prisustvo kisika. Kod CuAAC reakcije postoji ograničenje samo na terminalne alkine, dok RuAAC pokazuje toleranciju i na interne alkine dajući tako 1,4,5-trisupstituirane 1,2,3-triazole.  $[\text{Cp}^*\text{RuCl}](\text{COD})$  se pokazao kao odličan katalizator za takvu vrstu reakcije dajući široki spektar trisupstituiranih triazola. Sama činjenica da rutenijev katalizator može reagirati s internim alkinima, odmah nam daje uvid da mehanizam ne ide preko rutenijevog acetilida





kovalentnom klik-kemijom. Raznolikost kovalentnih klik-reakcija je veoma impresivna i izrazito korisna, ali ima svoje granice. Biomolekule su općenito dosta velike molekule koje se lako mogu razgraditi ukoliko se ne koriste blagi i razrijeđeni reakcijski uvjeti. U takvim uvjetima, mnoge kovalentne interakcije su prespore da bi bile učinkovite. Kako bi se riješio taj problem, znanstvenici su došli na ideju modificiranih enzima koji s komplementarnim malim molekulama ostvaruju velike brzine konverzije s visokim stupnjem selektivnosti. Takav pristup koristi se kod označavanja stanica, budući da mala molekula uglavnom ima sposobnost fluorescencije, no i dalje ovakva metoda nema široki opseg primjene. Da bi se to ostvarilo jedna od komplementarnih molekula mora biti veliki enzim, što potencijalno dovodi do novog problema jer veličina smanjuje površinsku gustoću vezane fluorescentne molekule. Osim toga, enzimi su podložni proteolizi ili denaturaciji, što znači da nisu kompatibilni u postupcima koji zahtijevaju „grublje“ uvjete. S druge strane, ako se molekulska konjugacija provodi pomoću para za komplementarno prepoznavanje molekula koji se snažno i selektivno vežu u termodinamički stabilni nekovalentni kompleks, tada takav pristup nazivamo nekovalentnom klik-kemijom (Slika 19). Uspoređujući se sa kovalentnim interakcijama, nekovalentne su slabije i pretežno se formiraju puno brže. Struktura samog kompleksa je određena skupom nekovalentnih interakcija između para. Nekovalentna klik-kemija pokazuje i visoki stupanj selektivnosti zbog toga što povezivanje dvije molekule koje nemaju komplementarne „domaćin-gost“ strukture nije termodinamički favorizirano pa samim time ne može ni doći do neželjene reakcije. Interakcije koje su najzastupljenije kod ovakvog tipa klik-reakcija su: vodikova veza, hidrofobni efekti,  $\pi$ -interakcije, ion-dipol interakcije. Vrijednosti same Gibbsove energije ( $\Delta G$ ) izrazito su povoljne te ovise o ravnotežnoj konstanti nastajanja kompleksa koja je zapravo omjer brzina formiranja i disocijacije nastalog kompleksa. Raznolikost i korisnost nekovalentne klik-kemije je najveća kada su vrijednosti konstante nastajanja i brzine nastajanja kompleksa visoke.<sup>31</sup>



Slika 19. Prikaz nekovalentnog tipa klik-reakcije

## § 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. Materijali i metode

Prilikom sinteze korištene su komercijalno dostupne kemikalije analitičke čistoće. Nabavljene su od proizvođača Aldrich, Alfa Aesar i TCI te su korištene bez dodatnih pročišćivanja, osim ako nije napomenuto drugačije. Izuzetak su bili aceton, diklormetan (DCM), 96% etanol koji su kupljeni tehničke čistoće. DCM je za potrebe sinteze destiliran prije uporabe.

Za potvrdu struktura dobivenih produkata korištene su tehnike FT-IR,  $^1\text{H}$  NMR te  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopije. NMR spektri snimljeni su na instrumentu Bruker Ascend 400 MHz, a kao otapalo korišteni su DMSO- $d_6$  i  $\text{CDCl}_3$ . Također, snimljeni su  $^1\text{H}$  NMR spektri za ispitivanje interakcija aniona sa ciljnom molekulom TB-5. Kao otapalo korišten je DMSO- $d_6$ . Kemijski pomaci su izraženi prema signalu TMS-a.

Za eksperimentalna mjerenja korišteni su dimetil sulfoksid (DMSO, Sigma-Aldrich, spektrofotokemijske čistoće) i deuterirani dimetil sulfoksid (DMSO- $d_6$ , Sigma-Aldrich, > 99.8%). Sol koja se koristila je tetraetilamonijev klorid (TEACl, Sigma-Aldrich, > 98%).

Metode koje su se primjenjivale za ispitivanje svojstava vezivanja aniona su NMR i spektrofotometrijske titracije. NMR spektri snimljeni su na Bruker Avance III HD 400 MHz/54mm Ascend spektrometru. Temperatura se držala konstantnom na 25 °C. Kemijski pomaci izraženi su u ppm i referirani prema rezidualnim signalima otapala. Kalibracijske šprice (Hamilton) korištene su za dodavanje otopina titranta i titranda. Svi NMR titracijski podaci su obrađeni nelinearnom regresijskom analizom koristeći HypNMR program.<sup>32</sup>

Spektrofotometrijske titracije su provedene pri  $(25.0 \pm 0.1)$  °C koristeći Varian Cary 5 spektrometar opremljen termostatskim uređajem. Otopina titranta postepeno je dodavana direktno u mjernu ćeliju od kvarca (Hellma, Suprasil, QX,  $l = 1$  cm) koristeći kalibrirane šprice (Hamilton). Zabilježene su spektralne promjene nakon svakog dodavanja. Apsorbance

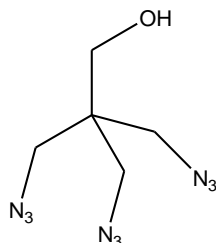
su prikupljane na intervalima od 1 nm sa vremenom integracije od 0.2 s. Spektrofotometrijski podaci obrađeni su nelinearnom regresijskom analizom koristeći HypSpec program.<sup>33</sup>

Svojstva kompleksiranja aniona su istraživana koristeći  $^1\text{H}$  NMR titraciju receptora sa otopinom TEACl u DMSO- $d_6$  pri 25 °C.  $^1\text{H}$  NMR titracije ispitivanih receptora sa TEACl provedene su snimajući spektralne promjene u otopini receptora ( $c = 4.13 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $V_0 = 0.525 \text{ mL}$ ) prilikom postepenog dodavanja otopine TEACl ( $c \approx 1.01 \times 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$ )

Spektrofotometrijska određivanja svojstava kompleksiranja aniona receptora **TB-14** (spoj **4**) su provedena dodavajući postepeno otopine TEACl ( $c = 1.01 \times 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$ ) otopinama **TB-14** (spoj **4**) ( $c = 1.98 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $V_0 = 2.2 \text{ mL}$ ).

## 3.2. Sinteza spojeva

### 3.2.1. Sinteza 2,2-bis(azidometil)-3-azidopropan-1-ola (1)



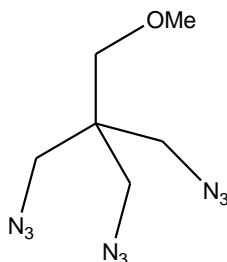
Pentaeritritol tribromid (3.25 g, 10 mmol) i natrijev azid (3.90g, 60 mmol) pomiješani su i otopljeni u 25 ml DMF te su zagrijani na 100°C. Nakon 48 sati miješanja, reakcijska smjesa je ohlađena, prenesena u lijevak za odjeljivanje uz 100 mL vode te je ekstrahirana s 3x50 ml etera. Organski slojevi su spojeni, osušeni preko Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrirani preko vate i upareni. Snimljeni su <sup>1</sup>H NMR i <sup>13</sup>C NMR spektri. Produkt je sačuvan u frižideru kako bi bio spreman za daljnje korištenje. Masa produkta je bila veća od moguće teorijske mase jer DMF nije uparavan do kraja, kako ne bi došlo do eksplozije.

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ/ ppm) 3.27 (d, 2H, *J* = 5 Hz), 3.33 (s, 6H), 5.04 (t, 1H, *J* = 5Hz )

<sup>13</sup>C DEPT-Q (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ/ ppm) 45.20 (C, CH<sub>2</sub>), 51.75 (C, CH<sub>2</sub>), 60.37 (C, CH<sub>2</sub>)

IR (ν / cm<sup>-1</sup>) 3370 ν<sub>ist</sub> (O-H), 2090 ν<sub>ist</sub> (N=N=N), 1046 ν<sub>ist</sub> (C-O).

## 3.2.2. Sinteza 2,2-bis(azidometil)-3-azidopropil-metil-etera (2)



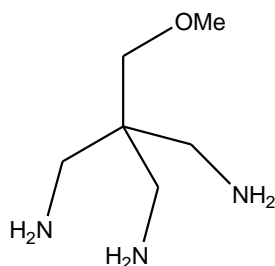
Izvagano je (142 mg, 5.91 mmol) 60%-tnog natrijevog hidrida u ulju u tikvicu od 25 mL. Zatim je dodan suhi DMF (oko 5 mL). Kako bi se osigurala inertna atmosfera postavljen je balon s argonom. Tikvica je uronjena u ledenu kupelj i pentaeritritol triazid **1** (0.500g, 2.36 mmol) dodan je preko septuma kao otopina u 1 mL DMF. Nakon što su se reaktanti izmiješali, dodano je i 300  $\mu$ L metil-jodida kroz septum. Smjesa je miješana dva sata na sobnoj temperaturi. Dodano je nekoliko kapi metanola kako bi uništili ostatak natrijeva hidrida. Reakcijska smjesa je zatim prebačena u lijevak za odjeljivanje uz dodatak 50 mL vode i ekstrahirana s 3x30 mL etera. Ekstrakti su spojeni i osušeni preko  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Spoj je nakon sušenja uparen te je pušten kroz kolonu  $\text{SiO}_2$  uz diklormetan kao eluens. Skupljano je po 5 frakcija nakon čega je razvijen TLC u  $\text{I}_2$ . Frakcije koje su sadržavale spoj su uparene, te je snimljen NMR. Masa izvaganog produkta iznosila je 440 mg (83%).

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta$ / ppm) 3.21 (s, 2H), 3.28 (s, 3H), 3.35 (s, 6H)

$^{13}\text{C}$  DEPT-Q (150 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta$ / ppm) 44.83 (C,  $\text{CH}_2$ ), 52.05 (C,  $\text{CH}_2$ ), 59.14 (CH,  $\text{CH}_3$ ), 71.65 (C,  $\text{CH}_2$ )

IR ( $\nu / \text{cm}^{-1}$ ) 2090  $\nu_{\text{ist}}$  (N=N=N), 1112  $\nu_{\text{ist}}$  (C-O).

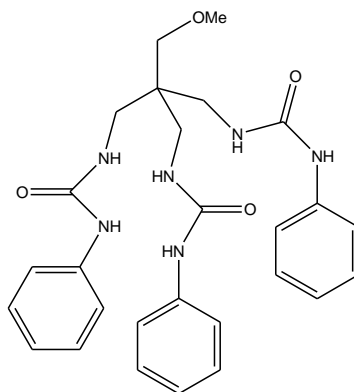
## 3.2.3. Sinteza 2,2-bis(aminometil)-3-aminopropil-metil-etera (3)



Spoj **3** (440 mg, 1.95 mmol) otopljen je u 50 mL metanola i prebačen u aparaturu za hidrogeniranje. Dodana je katalitička količina Pd/C. Tlak vodika namješten je na 4 bara te je potom uključena aparatura za miješanje. Nakon 2 dana hidrogeniranja, filtrirana je smjesa preko sinter lijevka, te potom još jednom preko mikrofiltera. Spoj je zatim uparen na rotacijskom uparivaču do 4 mbara. Nakon uparavanja, snimljen je NMR spektar. Masa izvaganog produkta je iznosila 237 mg (83%). Sirovi produkt nije pročišćen već je korišten direktno u sljedećem koraku.

Analitički čisti uzorak dobiven je prevođenjem spoja u hidrokloridnu sol što je opisano u poglavlju 3.2.10.

## 3.2.4. Sinteza 2-okso-4,4,4-tris-[(2,4-diaza-4-fenil-3-okso)-but-1-il]butana (4)



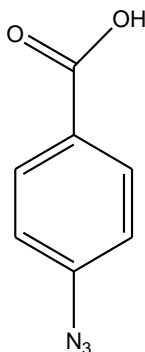
U tikvicu je stavljeno (337 mg, 2.29 mmol) triaminskog spoja **3**. Potom je dodano 20 mL suhog diklormetana. Prikvačen je balon s dušikom radi osiguranja inertne atmosfere tijekom reakcije. Preko septuma je dodano 750  $\mu\text{L}$  (0.82g, 6.87 mmol) fenil izocijanata. Smjesa je miješana dva dana. Spoj je profiltriran i ispran s malo diklormetana. Dobiveno je 670 mg (58%) čista spoja u obliku bijele krutine.

$^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta$ / ppm) 3.09 (d, 6H,  $J = 6.4$  Hz), 3.19 (s, 2H), 3.30 (s, 3H), 6.25 (t, 3H,  $J = 6.4$  Hz), 6.89 (tt, 3H,  $J_1 = 7.28$  Hz,  $J_2 = 1.05$  Hz), 7.22 (m, 6H), 7.43 (m, 6H), 8.80 (s, 3H)

$^{13}\text{C DEPT-Q}$  44.76 (C,  $\text{CH}_2$ ), 59.46 (C,  $\text{CH}_2$ ), 73.70 (C,  $\text{CH}_2$ ), 118.26 (CH,  $\text{CH}_3$ ), 121.52 (CH,  $\text{CH}_3$ ), 129.1 (CH,  $\text{CH}_3$ ), 141.02 (C,  $\text{CH}_2$ ), 156.01 (C,  $\text{CH}_2$ );

**IR** ( $\nu / \text{cm}^{-1}$ ) 3344  $\nu_{\text{ist}}$  (N-H), 1640.8  $\nu_{\text{ist}}$  (C=O), 1105  $\nu_{\text{ist}}$  (C-O)

## 3.2.5. Sinteza 4-azidobenzenkarboksilne kiseline (5)

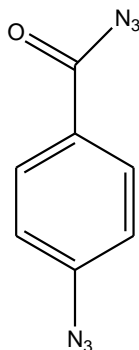


4-aminobenzojeva kiselina (4.50 g, 32.81 mmol) suspenzirana je u 25 ml H<sub>2</sub>O. Pripremljene su i otopine natrijevog nitrita otapanjem NaNO<sub>2</sub> (2.30 g, 33.33 mmol) u 10 mL H<sub>2</sub>O te natrijevog azida otapanjem NaN<sub>3</sub> (2.14 g, 32.92 mmol) u 30 mL H<sub>2</sub>O. Potom je dodano 5.6 mL koncentrirane HCl u suspenziranu kiselinu te je smjesa ohlađena na 0 °C. Dokapana je otopina NaNO<sub>2</sub> te otopina NaN<sub>3</sub>. Dodano je 200 mL EtOAc, a potom sve odvojeno i isprano sa 1M HCl i H<sub>2</sub>O. Nakon toga je osušeno, upareno i profiltrirano te je dobiveno 2.00 g (38%) čistog spoja.

<sup>1</sup>H NMR (600MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ/ppm) 7.22 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz), 7.96 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz), 12.96 (s, 1H).



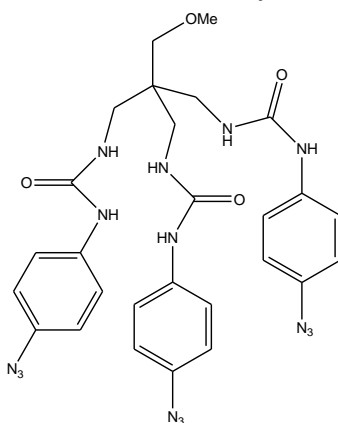
## 3.2.6. Sinteza (4-azidofenil)acil azida (6)



U tikvici je otopljeno (1.55 g, 8.29 mmol) *p*-azidobenzojeve kiseline u 7 mL suhog DMF. Zatim je dodano 1.20 mL (0.89 g, 8.76 mmol) TEA, te 1.90 mL (2.39 g, 8.70 mmol) DPPA pri sobnoj temperaturi. Smjesa je miješana 3 sata i zatim je dodano 100 ml vode. Nakon toga prebačena je u lijevak za odjeljivanje i ekstrahirana s 2 x 50 mL etera. Organski ekstrakti su spojeni i isprani s 3 x 50 mL vode. Organski sloj je osušen preko natrijeva sulfata, profiltriran i uparen. Masa izvaganog produkta iznosila je 1.21 g (77%).

$^1\text{H NMR}$  (600 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ /ppm) 7.27 (d, 2H,  $J = 9.0$  Hz), 7.97 (d, 2H,  $J = 9.0$  Hz).

## 3.2.7. Sinteza 2-okso-4,4,4-tris-{[2,4-diaza-4-(4-azidofenil)-3-okso]-but-1-il}butana (7)



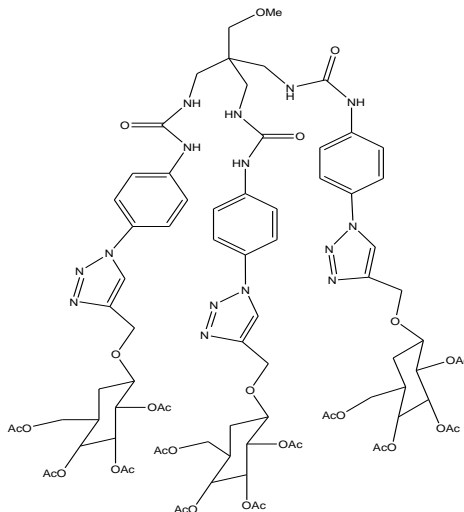
Spoj **6** (1.21 g, 6.44 mmol) otopljen je u 20 mL suhog toluena, a potom zagrijan na 100 °C dva sata pod argonom kako bi došlo do Curtisove pregradnje te formiranja odgovarajućeg izocijanata. Nakon zagrijavanja, smjesa je ohlađena i uparena. Paralelno je spoj **3** (0.32 g, 2.15 mmol) otopljen u 30 mL suhog diklormetana. Izocijanat dobiven iz spoja **6** otopljen je u 10 mL suhog diklormetana i dodan kroz septum u miješanu otopinu spoja **3** pod argonom. Smjesa je miješana 48 sati. Produkt je profiltriran i ispran s diklormetanom. Prvotno je dobiveno 656 mg sirovog produkta. Potom je produkt suspendiran u 40 mL metanola, refluksiran i ohlađen te je dobiveno 510 mg (38%) čistog spoja.

<sup>1</sup> H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ/ ppm) 3.07 (d, 6H, *J* = 6.4 Hz), 3.17 (s, 2H), 3.29 (s, 3H), 6.25 (t, 3H, *J* = 6.4 Hz), 7.0 (m, 6H), 7.47 (m, 6H), 8.51 (s, 3H)

<sup>13</sup> C DEPT-Q 44.28 (C, CH<sub>2</sub>), 58.97 (CH, CH<sub>3</sub>), 73.17 (C, CH<sub>2</sub>), 119.23 (CH, CH<sub>3</sub>), 119.37 (CH, CH<sub>3</sub>), 131.67 (C, CH<sub>2</sub>), 138.0 (C, CH<sub>2</sub>), 155.65 (C, CH<sub>2</sub>)

IR (ν / cm<sup>-1</sup>) 3360 *ν*<sub>ist</sub> (N-H<sub>amid</sub>), 2112 *ν*<sub>ist</sub> (N=N=N), 1657 *ν*<sub>ist</sub> (C=O)

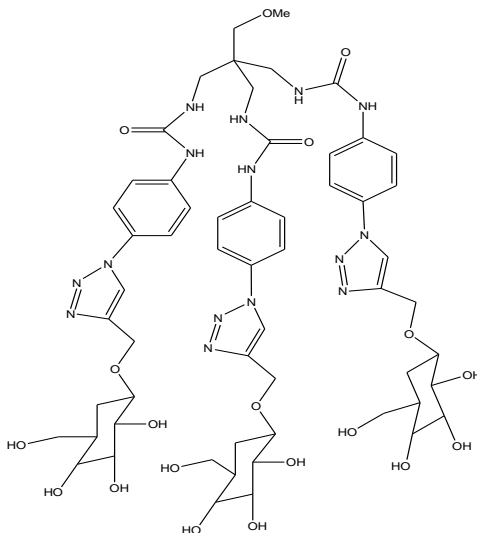
3.2.8 Sinteza [3,4,5-tris(acetiloksi)-6-({1-[4-({[3-metoksi-2,2-bis({[(4-[4-({[3,4,5-tris(acetiloksi)-6-[(acetiloksi)metil]oksan-2-il]oksi}metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]fenil}karbamoi]amino}metil})propil]karbamoi]amino}fenil]-1H-1,2,3-triazol-4-il]metoksi)oksan-2-il]metil acetata (8)



U tikvici od 50 mL pomiješani su spoj **7** (447 mg, 0.71 mmol), zatim peracetilirana propargil glukoza (826 mg, 2.14 mmol), 48 mg CuI katalizatora, 48  $\mu$ L DIPEA, 13  $\mu$ L AcOH u 20 ml DCM. Nakon 5 dana dodano je 50 mL 5 %  $\text{NH}_3$  i smjesa je prenesena u lijevak za odjeljivanje. Nakon izmučkivanja, organski sloj je odvojen i ispran s 5 x 50 mL mQ vode. Organski sloj je bez sušenja propušten kroz vatu u novu tikvicu i uparen. Dobiveno je 1.23 g sirova spoja koji je trituiran s eterom. Produkt je profiltriran i osušen na zraku. Dobiveno je 1060 mg (83%) čistog produkta.

$^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta$ /ppm) 1.97 (s, 9H), 1.98 (s, 9H), 2.02 (s, 9H), 2.05 (s, 9H), 3.78 (bs, 3H), 4.16 (d, 3H,  $J = 12.5$  Hz), 4.28 (dd, 3H,  $J_1 = 11.1$  Hz,  $J_2 = 4.6$  Hz), 4.76 (d, 3H,  $J = 8.5$  Hz), 4.87 (d, 3H,  $J = 12.5$  Hz), 4.96 - 5.14 (m, 9H), 5.22 (t, 3H,  $J = 9.2$  Hz), 6.50 (s, 3H), 7.51 (s, 12H), 7.93 (s, 3H), 8.07 (s, 3H)

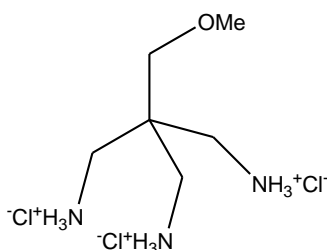
3.2.9. Sinteza [3,4,5-tris(hidroksi)-6-({1-[4-({[3-metoksi-2,2-bis({[4-[4-({[3,4,5-tris(hidroksi)-6-((hidroksi)metil]oksan-2-il]oksi)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]fenil}karbamoil)amino]metil})propil]karbamoil)amino]fenil]-1H-1,2,3-triazol-4-il]metoksi]oksan-2-il]metil acetata (9)



U tikvici od 50 mL pomiješano je 950 mg, 0.53 mmol spoja **8**, zatim 20 mL metanola te je dodano 10 mL zasićene otopine amonijaka u metanolu. Smjesa je miješana 48 sati te je otopina uparena. Spoj je trituiran eterom i profiltriran. Masa dobivenog čistog produkta je iznosila 180 mg.

<sup>1</sup> H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ/ppm) 2.95 – 3.25 (m, 20H), 3.42 – 3.51 (m, 3H), 3.69 – 3.77 (m, 3H), 4.31 (d, 3H, *J* = 7.7 Hz), 4.62 (t, 3H, *J* = 5.5 Hz), 4.72 (d, 3H, *J* = 12.9 Hz), 4.88 – 4.97 (m, 9H), 5.05 (d, 3H, *J* = 4.4 Hz), 6.42 (bs, 3H), 7.64 (d, 6H, *J* = 8.9 Hz), 7.73 (d, 6H, *J* = 8.9 Hz), 8.69 (s, 3H), 9.18 (s, 3H).

## 3.2.10. Sinteza 2,2-bis(aminometil)-3-aminopropil-meil-eter trihidroklorida (10)



U tikvicu je stavljeno 70 mg, 0.16 mmol reaktanta s Boc zaštitnim skupinama te je otopljen u 2 ml suhog metanola. Potom je dodano 2 mL HCl u dioksanu koncentracije  $4 \text{ mol dm}^{-3}$  (8 mmol). Nakon 4 sata, dodano je 4 mL etera te je spoj profiltriran i ispran eterom. Dobiveno je 32 mg (78%) produkta.

**$^1\text{H}$  NMR** (600 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ / ppm) 3.10 (s, 6H), 3.30 (s, 3H), 3.51 (s, 2H), 8.39 (s, 9H)

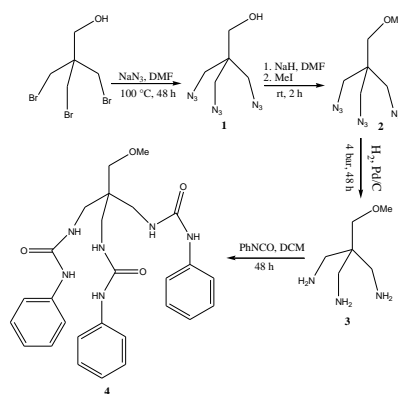
**$^{13}\text{C}$  DEPT-Q** 59.11 (CH, CH<sub>3</sub>), 66.85 (C, CH<sub>2</sub>), 70.98 (C, CH<sub>2</sub>)

**IR** ( $\nu / \text{cm}^{-1}$ ) 2892  $\nu_{\text{ist}}$  (N-H<sub>sol</sub>), 1105  $\nu_{\text{ist}}$  (C-O).

## § 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. Sintetski putevi i krajnji cilj

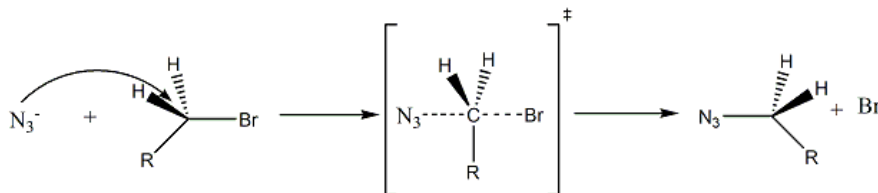
Glavni cilj ovog rada bio je sinteza glikokonjugata triureidnog anionskog receptora koji bi bio vodotopljiv te bi mogao selektivno deketirati anione preko međumolekulskih interakcija. Da bi spoj bio topljiv u vodi, potreban je hidrofilni strukturni motiv, a glukoza se pokazala kao dobar izbor. Početni spoj od kojeg bi krenule sve sinteze je bio komercijalno dostupni pentaeritritol tribromid.



Shema 15. Sintetski put triureidnog anionskog receptora

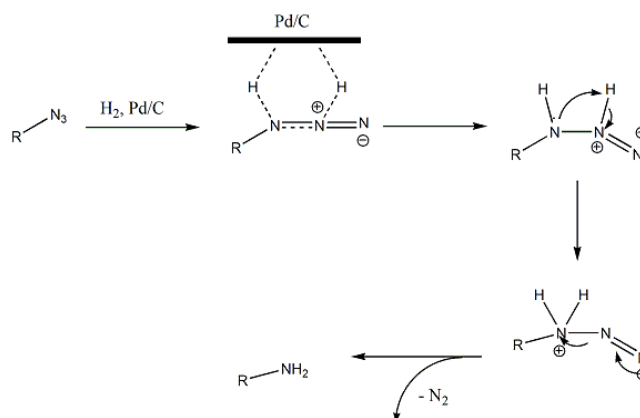
Prvi korak prema cilju bila je nukleofilna supstitucija tribromida s azidom koristeći natrijev azid kao reagens za supstituciju. Ta reakcija slijedi mehanizam bimolekularne nukleofilne supstitucije ( $S_N2$ ). Reakcija ide gotovo kvantitativno u jednom koraku u kojem nukleofil napada reakcijski centar sa suprotne strane od one na kojem se nalazi izlazeća skupina (Shema 16). Azid je vrlo dobar nukleofil te su halogenidi (Br, Cl, I) vrlo dobre izlazne skupine. Za ovakav tip reakcije korišteno je polarno aprotično otapalo (DMF) što pogoduje  $S_N2$  reakciji jer ne stvara interakcije sa nukleofilom te je on dostupniji za supstituciju. Također, supstrat na kojem je vršena  $S_N2$  reakcija jest primarni te je ovakva reakcija favorizirana zbog toga što ne postoje steričke smetnje. Reakcija ide preko pentakoordiniranog prijelaznog stanja te, ukoliko se izvodi na kiralnom centru, dolazi do inverzije apsolutne konfiguracije. Nakon uspješne sinteze spoja **1** provedena je Williamsonova sinteza etera

kojom je slobodna OH skupina prevedena u metilni eter. Dobiveni metilni eter **2** zatim je podvrgnut redukciji azidnih skupina.



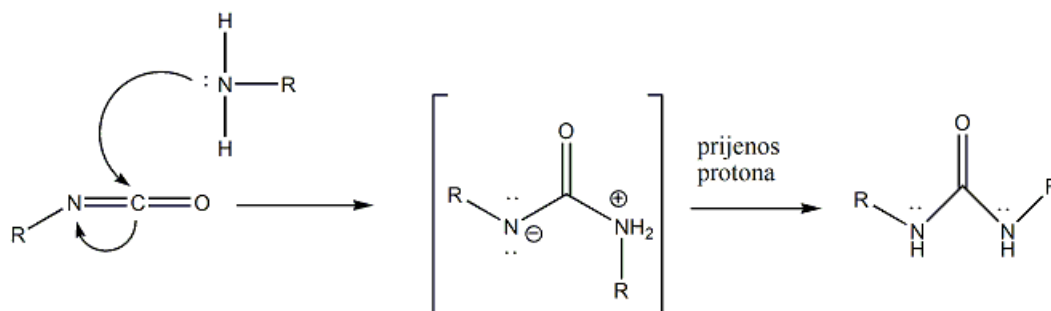
Shema 16. Mehanizam S<sub>N</sub>2 reakcije

Nakon supstitucije, pristupilo se redukciji triazida u triamin **3** katalitičkim hidrogeniranjem na Pd/C (Shema 17). Takva vrsta reakcije pripada elektrofilnoj adiciji kod klasičnog hidrogeniranja, no u ovom slučaju dolazi i do usputne eliminacije molekule dušika kako bi se formirao amin. Vodik se adira sa istih strana pa se govori o *syn* adiciji.



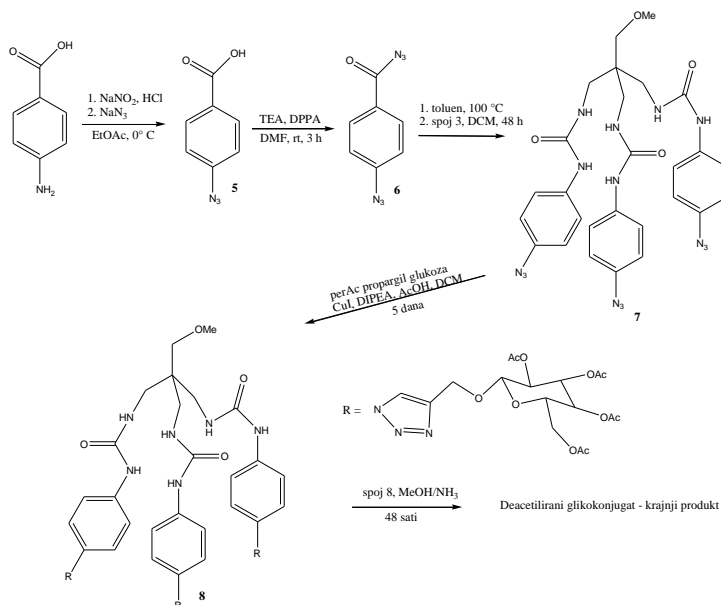
Shema 17. Mehanizam katalitičke hidrogenacije azida

Triaminski reaktant kojeg smo sintetizirali, dalje smo podvrgnuli reakciji sa fenil izocijanatom kako bi sintetizirali ureidni receptor **4**. Reakcija između amina i izocijanata ide u dva koraka u kojem je prvi nukleofilni napad amina na elektrofilni karbonilni ugljikov atom izocijanate skupine. Nakon formiranja međuprodukta, slijedi prijenos protona sa aminskog dušika na izocijanatni dušikov atom (Shema 18).



Shema 18. Mehanizam reakcije nukelofilne adicije između amina i organskog izocijanata.

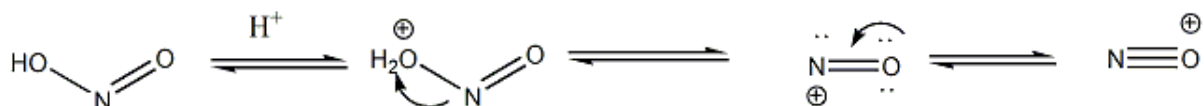
Drugi sintetski put je započeo iz 4-aminobenzojeve kiseline. Prva reakcija u tom putu bila je priprava 4-azidobenzojeve kiseline (**5**) diazotizacijom pomoću zakiseljene otopine natrijevog nitrita te nukleofilnom supstitucijom azida uz  $N_2$  kao izlaznu skupinu.



Shema 19. Sintetski put glikokonjugata triureidnog anionskog receptora kao konačnog produkta

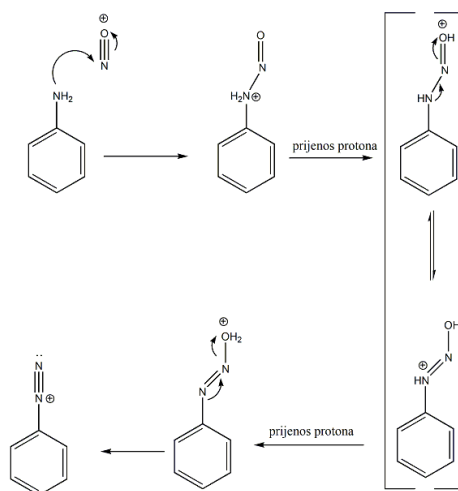
Kako bi se diazotizacija uspješno odvila, potreban je dobar elektrofil koji će se adirati na amino skupinu benzenskog prstena. Taj elektrofil jest nitrozonijski kation ( $NO^+$ ) koji se formira adicijom protona na nitritni anion uz  $H_2O$  kao izlaznu skupinu (Shema 20).





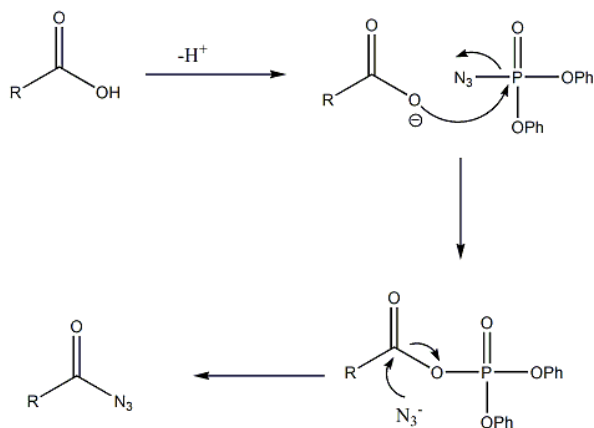
Shema 20. Mehanizam formacije nitrozonijskog kationa

Nakon adicije nitrozonijskog kationa dolazi do pomaka protona, a kao rezultirajuća struktura nastaje diazonijeva sol koja se lako može supstituirati sa raznim nukleofilima kao što je u ovom slučaju azid (Shema 21).



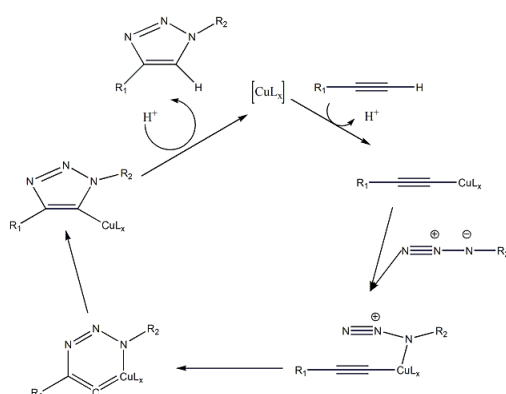
Shema 21. Mehanizam reakcije diazotizacije aril-amina

Nakon formacije 4-azidobenzojeve kiseline, pristupilo se sintezi acil-azidnog fragmenta (**6**) pomoću DPPA. Prvotno dolazi do deprotonacije kiseline uz pomoć TEA kao baze te potom nukleofilnog napada na fosforov atom DPPA molekule uz azidni ion kao izlazne skupine. Taj azid potom napada karbonilni ugljikov atom, pritom formirajući acil-azid. Sintetizirani acil-azid se naknadno termičkom Curtisovom pregradnjom (Shema 4.) pregradi u odgovarajući izocijanat koji potom reagira nukleofilnom adicijom (Shema 18.) sa spojem **3** dajući prvu komponentu za klik-reakciju (spoj **7**).



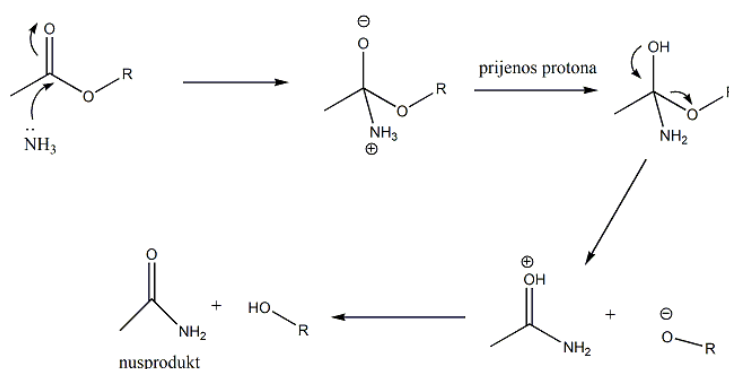
Shema 22. Mehanizam formacije acil-azida uz pomoć DPPA

Predzadnji korak je bila klik-reakcija između peracetilirane propargil glukoze i spoja **7**, što je ustvari klasična Huisgenova 1,3-dipolarna azid-alkin cikloadicija koja teče uz Cu(I) kao katalizator. Takva reakcija ograničena je na terminalne alkine, kao što je, primjerice, propargilni sustav korišten u radu. Uzme li se u obzir takvo ograničenje, možemo zaključiti kako mehanizam takve reakcije ide preko formiranja bakrovog acetilida. Nakon što se katalizator veže na terminalni alkin, slijedi nukleofilni napad azidnog dušika sa negativnim formalnim nabojem na atom bakra. Posljedično tomu, dolazi do prvotne ciklizacije na šesteročlani prsten koji se zatim pregradi u peteročlani. Posljednji korak je regeneracija protona utrošenog u prvom koraku te obnavljanje katalizatora u svom primarnom obliku.



Shema 23. Mehanizam azid-alkin cikloadicije uz Cu(I) kao katalizator

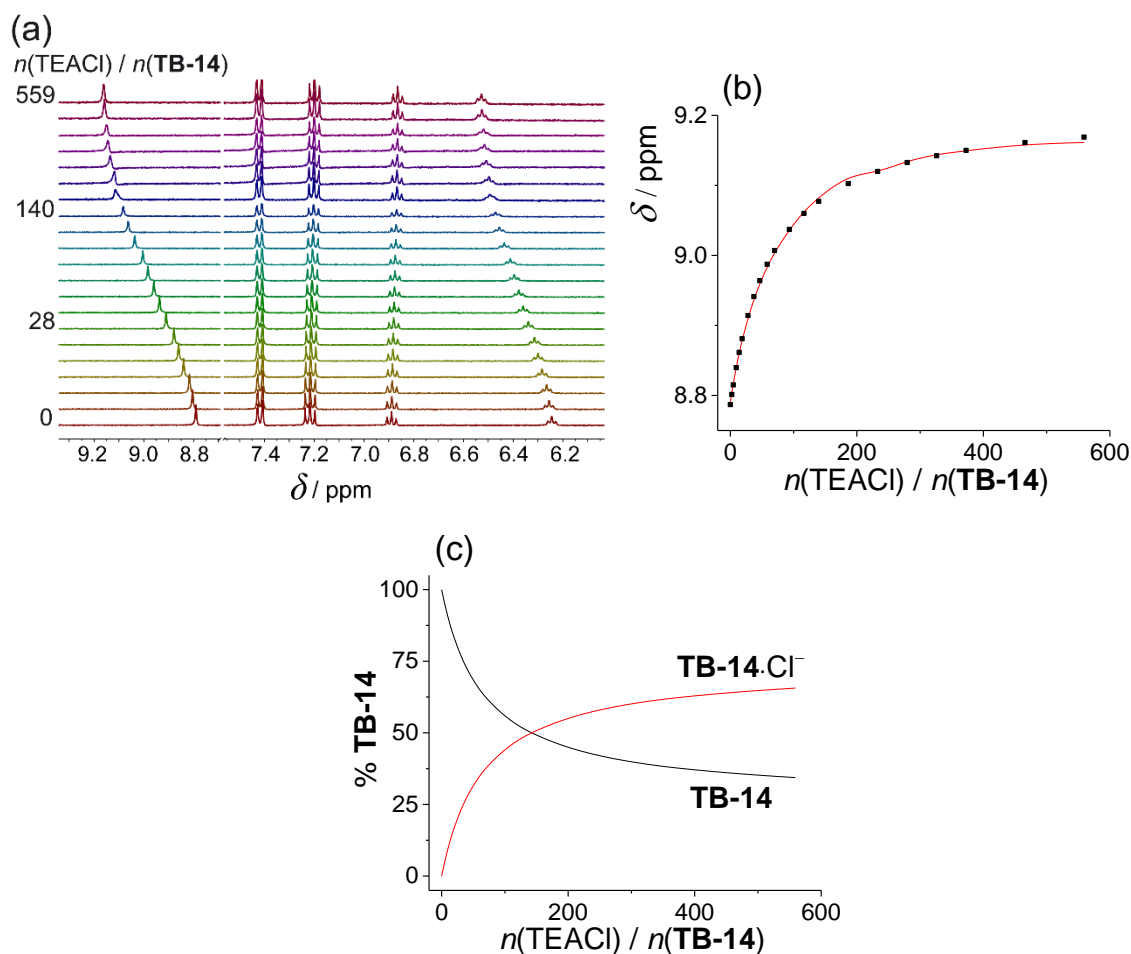
Nakon uspješne sinteze glikokonjugata, zadnji korak je bio deprotekcija spoja **8** u smjesi metanola i amonijaka kako bi se povratile OH skupine šećernih jedinica koje povećavaju topljivost u vodi. Mehanizam deprotekcije (deacetilacije) slijedi mehanizam aminolize estera. Prvi korak je nukleofilni napad amonijaka na karbonilni ugljikov atom. Zatim dolazi do prijenosa protona na negativno nabijeni kisikov atom. Povratkom dvostruke veze karbonila, cijepa se alkoksidni dio te se kao nusprodukt dobija acetamid koji se uklanja eterom. Konačni spoj je uspješno dobiven, no nije se pokazao topljivim u vodi, vrlo vjerojatno zbog prisustva benzenovih prstenova koji povećavaju hidrofobnost cijele molekule.



Shema 24. Mehanizam deacetilacije aminolizom estera

## 4.2. Kompleksi liganada i aniona

Konstante stabilnosti kompleksa između liganda i kloridnog aniona određene su  $^1\text{H}$  NMR titracijom i spektrofotometrijskom titracijom u DMSO pri  $25\text{ }^\circ\text{C}$ . Vrijednosti konstanti su navedene u tablici 2. Spoj **TB-14** se odnosi na eksperimentalni spoj **4** čija je struktura prikazana na slici 22.



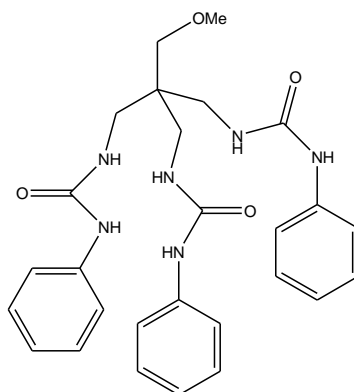
Slika 21.  $^1\text{H}$  NMR titracija spoja **4** (**TB-14**) ( $c = 4.13 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) sa TEACl ( $c = 1.01 \times 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$  u DMSO- $d_6$  pri  $(25 \pm 0.1) \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $V_0 = 0.525 \text{ mL}$ ). b) Ovisnost kemijskog pomaka NH protona obzirom na molarni omjer  $n(\text{TEACl}) / n(\text{spoj } \mathbf{4})$  ■ eksperimentalno, — izračunato. c) Raspodjela kemijskih vrsta prilikom titracije spoja **4** (**TB-14**) sa TEACl.

U spektru prikazanom pod a) na slici 21 vidljive su promjene u kemijskim pomacima protona koji se nalaze na 8.8 i 6.2 ppm. Odgovarajuće pomake možemo pripisati NH protonima uree koji su odgovorni za stvaranje dominantnih interakcija sa kloridnim anionima prilikom formiranja kompleksa, dok su vrijednosti kemijskih pomaka ostalih protona ostali gotovo

nepromjenjeni (tablica 1). Povećanjem molarnog omjera  $n(\text{TEACl}) / n(\text{spoj 4})$  vidljivi su i pomaci prema višim vrijednostima (slika 21 pod b) što je i za očekivati, budući da je klor poprilično elektronegativan pa samim time uzrokuje efekt odsjajenja. Kako se povećava molarni omjer aniona i liganda, tako trend krivulje na grafu poprima konstantu vrijednost kemijskog pomaka, vrlo vjerojatno zbog zasićenja veznih mjesta na molekulama receptora.

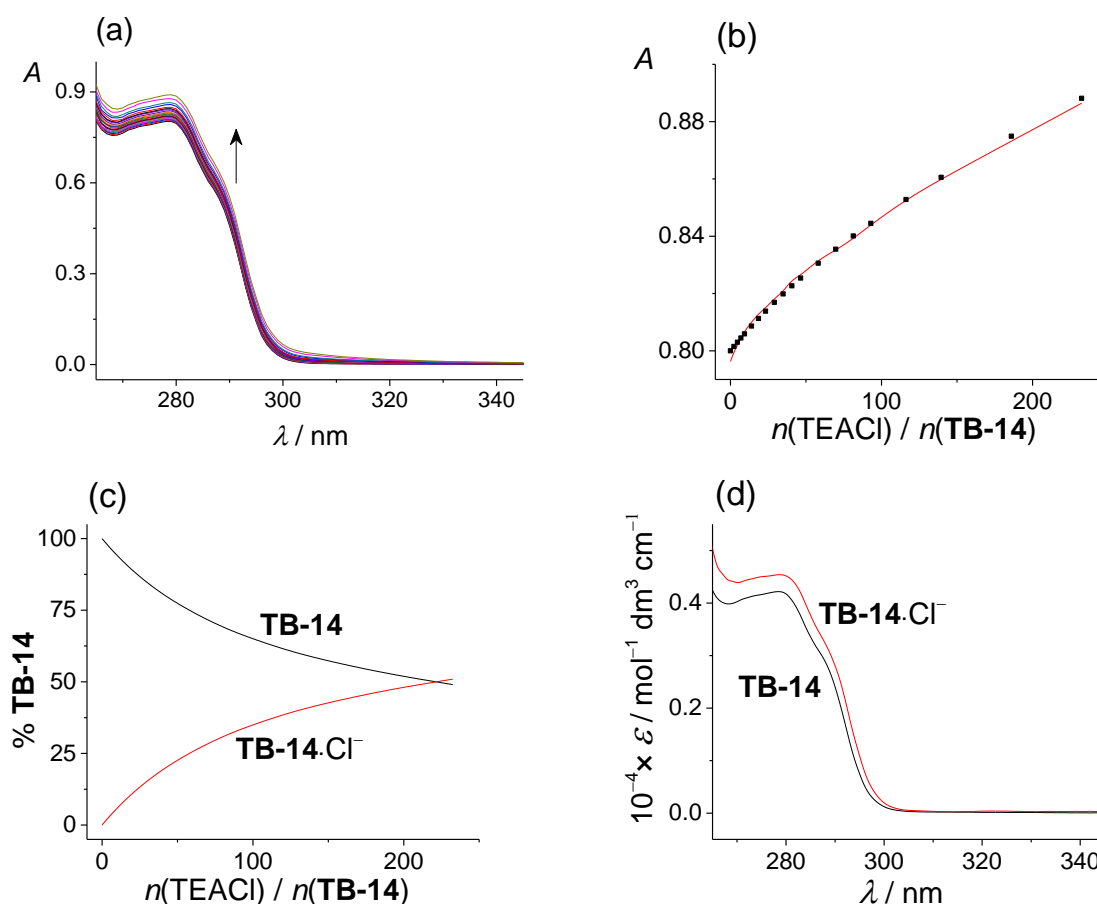
**Tablica 1.** Izračunati  $^1\text{H}$  NMR kemijski pomaci spoja **4** (TB-14) i njegovog kompleksa sa kloridnim anionom u  $\text{DMSO-}d_6$  pri  $25\text{ }^\circ\text{C}$ .

	TB-14	TB-14·Cl <sup>-</sup>
NH	8.790	9.369
H <sub>a</sub>	7.217	7.189
H <sub>d</sub>	6.889	6.850
H <sub>c</sub>	6.245	6.688
H <sub>b</sub>	3.077	3.116



Slika 22. Struktura ispitivanog spoja **4**

Osim  $^1\text{H}$  NMR titracije provedena je i spektrofotometrijska titracija spoja **4** (TB-14).



Slika 23. a) Spektrofotometrijska titracija spoja **4** (TB-14) ( $c = 1.98 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) sa TEACl ( $c = 1.01 \times 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u DMSO pri  $(25.0 \pm 0.1) \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $l = 1 \text{ cm}$ ,  $V_0 = 2.2 \text{ mL}$ . Spektri su korigirani za razrjeđenje. b) Ovisnost apsorbance pri 280 nm o molarnom omjeru  $n(\text{TEACl}) / n(\text{spoj } \mathbf{4})$ . ■ eksperimentalno, — izračunato. c) Raspodjela kemijskih vrsta prilikom titracije spoja **4** (TB-14) sa TEACl. d) Karakteristični UV-VIS spektar spoja **4** (TB-14) i njegovog kompleksa sa kloridnim anionom.

U spektru prikazanom na slici 23 pod a) može se jasno uočiti i potvrditi da je došlo do stvaranja kompleksa između spoja **4** i kloridnog aniona. Budući da se spoj **4** i njegov kompleks sa kloridnim anionom razlikuju po spektralnim svojstvima, tako se razlikuju i karakteristični UV-VIS spektri pojedinih vrsta (slika pod d). Na grafu pod b) može se uočiti hiperkromni efekt uzrokovan povećanjem molarnog omjera TEACl i spoja **4**, što upućuje na određene procese prijenosa naboja prilikom formiranja kompleksa.

**Tablica 2.** Konstante stabilnosti kompleksa između kloridnog aniona i spoja **4** (**TB-14**) u DMSO pri 25 °C

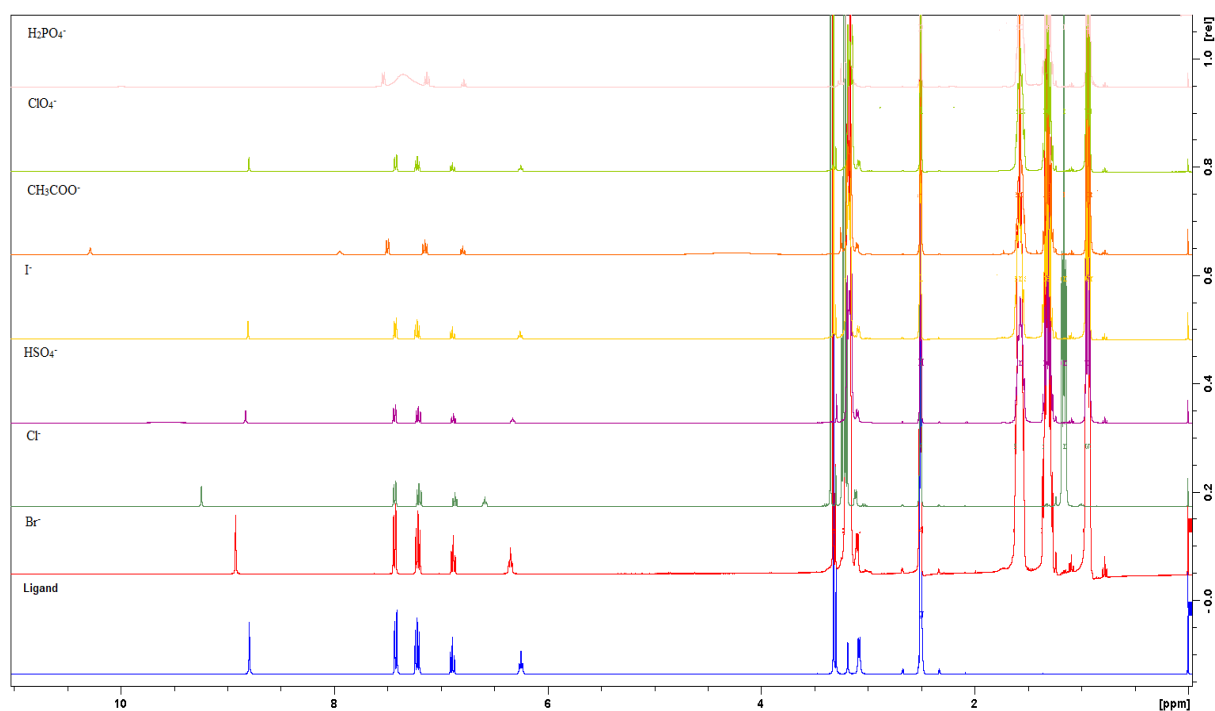
	log $K$	
	$^1\text{H NMR}^a$	UV-Vis <sup>b</sup>
<b>TB-14</b> ·Cl <sup>-</sup>	1.43(1)	1.51(4)

<sup>a</sup> Nesigurnosti su prikazane u zagradama kao rezultat standardne devijacije

<sup>b</sup> Nesigurnosti su prikazane u zagradama kao rezultat standardne pogreške aritmetičke sredine (N = 3)

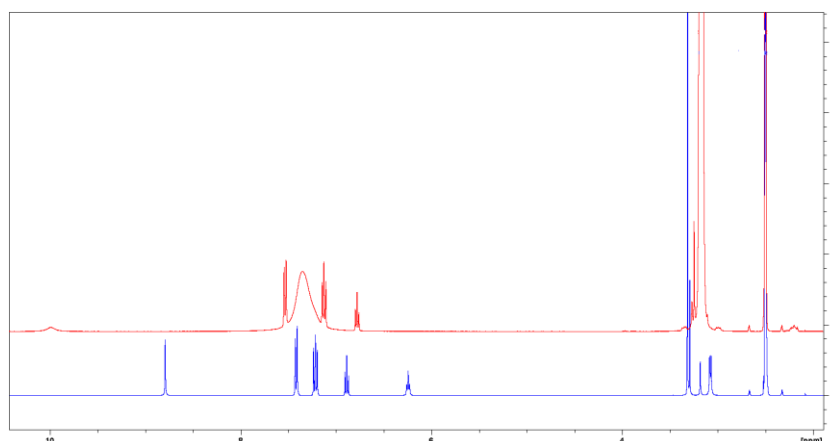
Sagledavajući vrijednosti konstanti stabilnosti kompleksa dobivenih  $^1\text{H NMR}$  titracijom te spektrofotometrijskom titracijom, možemo zaključiti kako ravnoteža nije potpuno pomaknuta prema strani kompleksa, nego postoji i određeni udio liganda.

Osim kompleksa sa kloridnim anionom, snimljeni su  $^1\text{H}$  NMR spektri liganda sa ostalim anionima (Slike 24-31) kao što su dihidrogenfosfatni, acetatni, hidrogensulfatni, perkloratni, bromidni, jodidni. Svi anioni su uvedeni u obliku TBA soli, osim kloridnog koji je uveden u obliku TEA soli. Na sljedećoj slici, prikazan je ukupni komparativni spektar pojedinih kompleksa i liganda. Na prvu se može uočiti preklapanje perkloratnog i jodidnog spektra sa spektrom liganda ukazujući na nemogućnost stvaranja povoljnih interakcija. Najveće promjene su zabilježene kod dihidrogenfosfata koji je opće poznat kao jako kompatibilan oksoanion na ureidnu vrstu anionskih receptora tvoreći osmeročlani prsten (Slika 4). Acetat je također ukazivao na čvrste interakcije koje taj anion stvara sa ovakvom vrstom receptora. Od sferičnih aniona, kao najbolji izbor se pokazao kloridni anion koji stvara šesteročlani kompleks sa ureidnim receptorima (Slika 4) te na kojemu je i provedena detaljna analiza vezivanja titracijskim metodama (Slike 21 i 23).



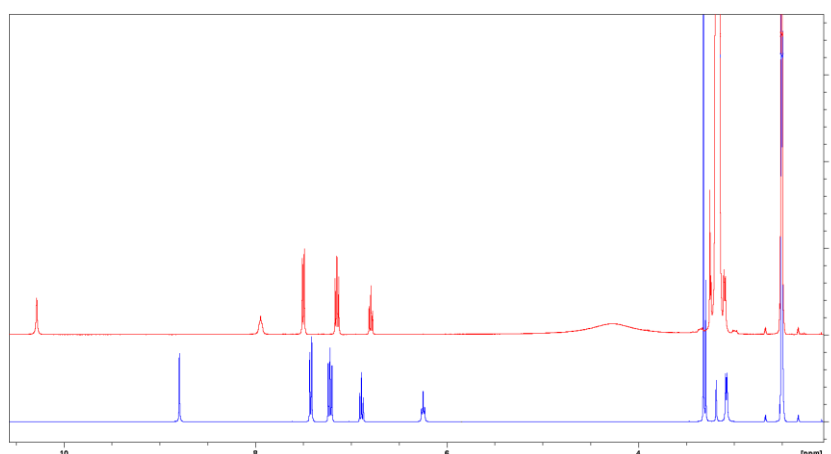
Slika 24. Ukupni komparativni  $^1\text{H}$  NMR spektar čistog liganda i liganda uz dodatak pojedinih ispitivanih aniona





Slika 25.  $^1\text{H}$  NMR spektri liganda i liganda uz dodatak 18 ekvivalenata dihidrogenfosfatnog aniona

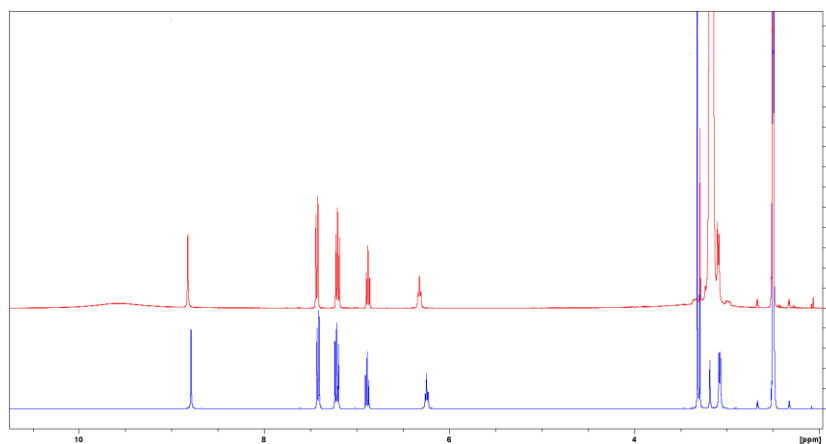
Spektar na slici 25. prikazuje spektar liganda prije i nakon dodatka 18 ekvivalenata dihidrogenfosfatnog aniona. Jasno se uočava da je došlo do značajnijih promjena u kemijskim pomacima na aromatskim protonima liganda, što je i za očekivati budući da ureidni anionski receptori imaju visoki afinitet za hidrogenfosfatne anione zbog njihove prostorne građe i jake donorske prirode vodikove veze. Osim toga, uočena je pojava širokog pika na spektru sa dodanim dihidrogenfosfatnim anionom te potpuno nestajanje signala NH protona na 8.7 i 6.2 ppm, što također upućuje na jake interakcije koje ovaj anion stvara sa ligandom.



Slika 26.  $^1\text{H}$  NMR spektri liganda i liganda uz dodatak 18 ekvivalenata acetatnog aniona

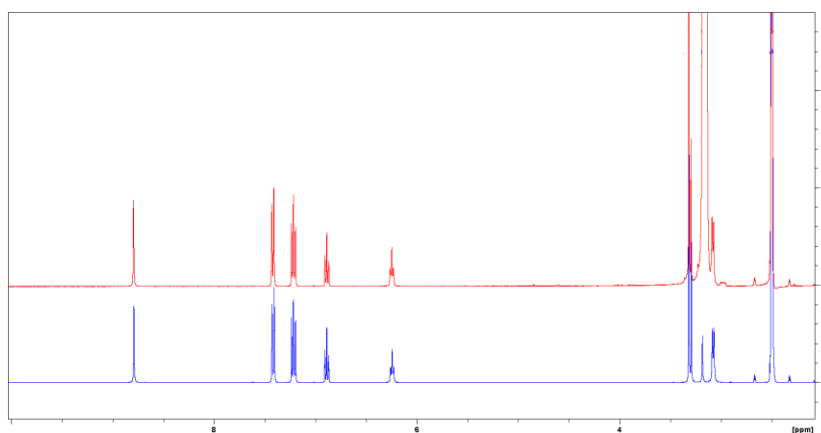
Analizirajući spektar sa slike 26., prije i nakon dodatka 18 ekvivalenata acetatnog aniona, možemo zaključiti kako je i u ovom slučaju došlo do formiranja kompleksa sa ligandom. Također, može se primjetiti odsutnost pikova NH protona na spektru sa acetatnim

kompleksom, što je u korelaciji sa svojstvima ureidnih anionskih receptora ukazujući na povoljne međumolekulske interakcije između liganda i acetatnog aniona. Osim toga, došlo je i do blagog zasjenjenja protona pri 6.8 i 7.2 ppm.



Slika 27. <sup>1</sup>H NMR spektri liganda i liganda uz dodatak 18 ekvivalenata hidrogensulfatnog aniona

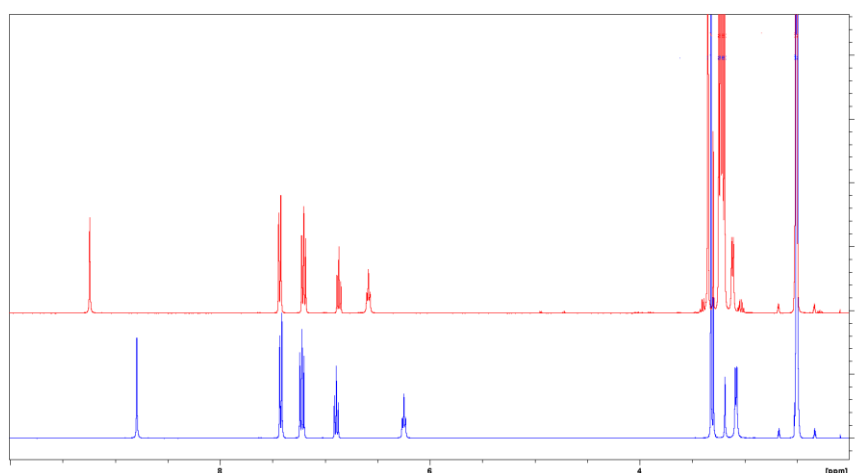
Spektar na slici 27. prikazuje spektar liganda prije i nakon dodatka 18 ekvivalenata hidrogensulfatnog aniona. Također, upućuje na podosta slabije interakcije između dodanog hidrogensulfatnog aniona i liganda, što se manifestira kroz blagu promjenu kemijskog pomaka NH protona. Aromatski protoni su ostali nepromijenjeni. Razlog ovakvom eksperimentalnom rezultatu možemo pripisati relativnoj bazičnosti ispitivanih aniona. Kako je hidrogensulfat poprilično slabija konjugirana baza od acetata i dihidrogenfosfata, neće formirati kompleks sa visokom konstantom stabilnosti kao i dva prethodna aniona.



Slika 28. <sup>1</sup>H NMR spektri liganda i liganda uz dodatak 18 ekvivalenata perkloratnog aniona

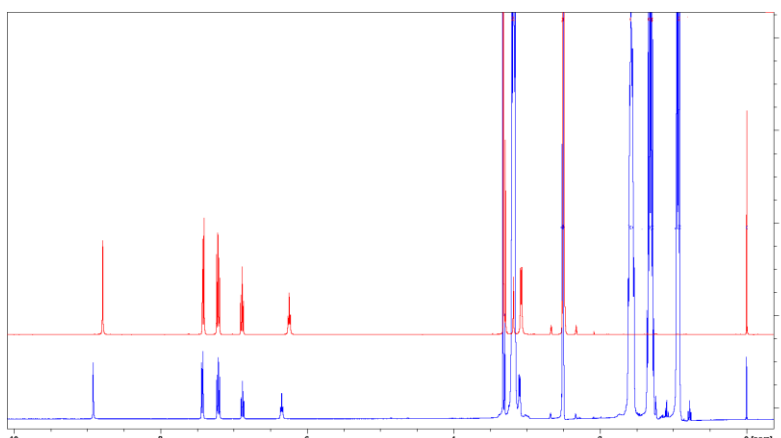
Iz spektra sa slike 28. koji prikazuje stanje prije i nakon dodatka 18 ekvivalenata perkloratnog aniona, da se naslutiti kako je perkloratni anion (uz jodidni anion) jedini anion koji nije ostvarivao nikakve interakcije sa ligandom. Nije došlo do promjene niti NH protona koji su dosada uvijek pokazivali barem blagu promjenu. Ako uzmemo u obzir da je perklorat daleko najslabija konjugirana baza od preostalih ispitivanih oksoaniona, onda ovakvi rezultati ni ne iznenađuju.

Prethodna četiri spektra su se odnosila na oksoanione. Zajednička stvar za ta ispitivana četiri aniona je tetraedarska prostorna građa. Osim tetraedarskih, provedeni su eksperimenti i na sferičnim anionima kao što su klorid, bromid i jodid.



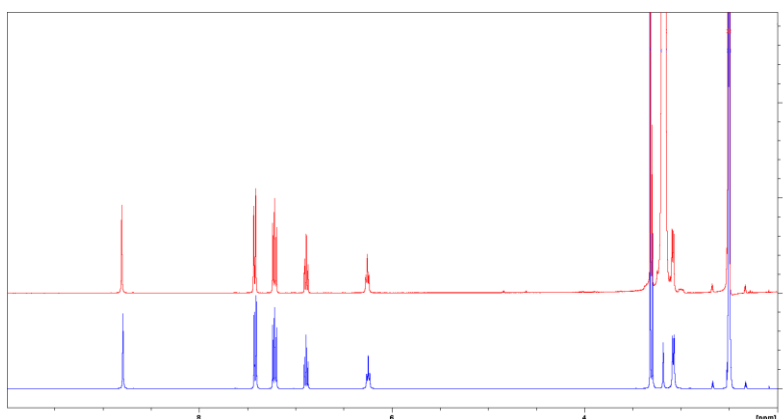
Slika 29.  $^1\text{H}$  NMR spektri liganda i liganda uz dodatak 18 ekvivalenata kloridnog aniona

Spektar na slici 29. prikazuje spektar liganda prije i nakon dodatka 18 ekvivalenata kloridnog aniona. Kao što je prethodno navedeno na slikama 21 i 23, kloridni anion je formirao kompleks sa ligandom te je eksperimentalno dobivena i konstanta stabilnosti koja je iznosila  $\log K = 1.43$  koristeći  $^1\text{H}$  NMR titraciju te 1.51 koristeći spektrofotometrijsku titraciju. Došlo je i do promjene kemijskog pomaka NH protona te vrlo blage promjene aromatskih protona, što je naznačeno u tablici 1.



Slika 30. <sup>1</sup>H NMR spektri liganda i liganda uz dodatak 18 ekvivalenata bromidnog aniona

Analizirajući sliku 30, možemo zaključiti kako je došlo do blagih promjena u kemijskim pomacima labilnih protona, dok su aromatski ostali nepromjenjeni, slično kao što je slučaj sa hidrogensulfatnim anionom. Uspoređujući relativnu bazičnost i veličinu aniona obzirom na halide, možemo ga okarakterizirati kao srednje bazičan ( $\text{Cl} > \text{Br} > \text{I}$ ) i osrednje veličine ( $\text{Cl} < \text{Br} < \text{I}$ ) te ovakvi rezultati upravo to i potvrđuju.



Slika 31. <sup>1</sup>H NMR spektri liganda i liganda uz dodatak 18 ekvivalenata jodidnog aniona

Slično kao i na slici 28 sa perkloratom, jodidni anion prikazuje identičan spektar spektru liganda što znači da nije došlo do ostvarivanja interakcija. Prateći trendove halidnih aniona može se zaključiti kako afiniteti liganda prema halidima slijede trend: klorid > bromid > jodid. Osim relativne bazičnosti sferičnih aniona, ulogu igraju i radijusi samih aniona. Jodidni anion je najveći, a kloridni je najmanji te je iz tog razloga kloridu lakše uspostaviti interakcije.

## § 5. ZAKLJUČAK

U okviru ovog rada sintetizirano je deset spojeva od kojih su spojevi **4** i **9** najznačajniji. Spoj **4** poslužio je kao modelni spoj na kojemu su ispitivane interakcije pojedinih sferičnih i tetraedarskih aniona. Taj receptor je pripremljen iz početnog reaktanta pentaeritrol tribromida nizom kemijskih reakcija. Prvo je početni reaktant preveden u triazid (**1**), zatim je supstituiran metil jodidom u spoj **2**, te potom reduciran u triamin (**3**), da bi naposljetku reagirao sa fenil izocijanatom (**4**). Konačni produkt, glikokonjugat (**9**), priređen je drugim nizom kemijskih reakcija počevši od *p*-aminobenzojeve kiseline, koja je prvotno prevedena u *p*-azidobenzojevu kiselinu (**5**) uz pomoć natrijevog nitrita i natrijevog azida. Zatim je ta kiselina prevedena u acil-azid (**6**) koji s triaminom (**3**) daje spoj **7** nakon pregradnje u izocijanat. *Klik*-reakcijom peracetilirane propargil glukoze i spoja **7**, dobiven je glikokonjugat s acetilnim skupinama (**8**). Deprotekcijom tog glikokonjugata priređen je konačni produkt (**9**).

Konstanta stabilnosti kloridnog kompleksa i liganda određena je dvjema metodama:  $^1\text{H}$  NMR titracijom i spektrofotometrijskom titracijom u DMSO. Iz  $^1\text{H}$  NMR titracije jasno se vidi kako je došlo do promjene kemijskog pomaka NH protona prema višim vrijednostima, što ukazuje na prisustvo interakcija između kloridnog iona i veznog mjesta receptora. Formiranje kompleksa potvrđeno je također i spektrofotometrijskom titracijom koja je popraćena hiperkromnim pomakom. Vrijednosti dobivenih konstanti ovim metodama su se dobro podudarale i ukazivale na blagi pomak ravnoteže prema produktu (kompleksu).

Također, snimljeni su  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$  NMR spektri liganda (spoj **4**) sa različitim anionima. Ispitivani anioni mogu se podijeliti na oksoanione i halidne anione. Tetraedarska geometrija oksoaniona pokazala se vrlo povoljnom za stvaranje paralelnih vodikovih veza sa NH protonima ureidnog receptora. Kod oksoaniona, najveći afinitet vezivanja za ligand pokazali su dihidrogenfosfatni i acetatni anion. S druge strane, hidrogensulfatni anion je pokazivao vrlo blage promjene u spektru, dok perkloratni nije pokazivao nikakve promjene iz čega možemo zaključiti kako taj anion ne stvara kompleks sa ureidnim receptorom. Ako se sagleda relativna bazičnost navedenih aniona, može se pretpostaviti da najjače konjugirane baze

stvaraju povoljnije interakcije od slabih konjugiranih baza kao što je perklorat. Halidni anioni, za razliku od oksoaniona, posjeduju sferičnu geometriju. Ispostavilo se da takva geometrija, u globalu ostvaruje manje interakcija sa ureidnim tipom receptora. Kloridni ion pokazao se najkompatibilnijim za formaciju kompleksa. Bromidni je sadržavao blage promjene, dok je jodid bio identičan spektru liganda. Takav trend kod halidnih aniona potječe od njihove veličine. Spuštajući se po 17. skupini PSE, raste radijus atoma (i odgovarajućih aniona). Veličina tih aniona direktno utječe na sposobnost vezivanja, stoga jodidni anion nailazi na steričke barijere te ne stvara interakcije, dok se kloridni anion može ugraditi bez većih poteškoća.

Za kraj, anionski receptori su važan i neizbježan koncept suvremene kemije te se kao takvi mogu dodatno ispitivati kako bi se sintetizirali što bolji, efikasniji i selektivniji receptori koji svoju primjenu nalaze u vrlo širokom rasponu ljudskog djelovanja.

## § 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA (prema potrebi)

AcOH – octena kiselina

BMImBF<sub>4</sub> – 1-butil-3-metilimidazolijev tetrafluoroborat

BMImCl – 1-butil-3-metilimidazolijev klorid

Boc – *tert*-butiloksikarbonilna grupa

CDCl<sub>3</sub> – deuterirani kloroform

COD – ciklooktadienski ligand

CuAAC – bakrom (I) katalizirana azid-alkin cikloadicija

DCM – diklormetan

DFT – teorija funkcionala gustoće

DIPEA – *N,N'*-diizopropiletilamin

DMA – dimetilacetamid

DMDTC – dimetil ditiokarbonat

DME – dimetokisetan

DMF – dimetilformamid

DMSO – dimetilsulfoksid

DMSO-*d*<sub>6</sub> – deuterirani dimetilsulfoksid

DPPA – difenilfosforil azid

EDTA – etilendiamintetraoctena kiselina

ESIPT – intramolekulski prijenos elektrona u pobuđenom stanju

Et<sub>3</sub>N – trietilamin

Et<sub>2</sub>O – dietileter

EtOAc – etil acetat

FT-IR – infracrvena spektroskopija sa Fourierovom transformacijom

LDA – litijev diizopropilamid

LUMO – najniža nepopunjena molekulska orbitala

NMP – *N*-metilpirolidon

NMR (<sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C) – nuklearna magnetska rezonanca (protonska i ugljika <sup>12</sup>C)

PET – fotoinducirani prijenos elektrona

RuAAC – rutenijem katalizirana azid-alkin cikloadicija

TBA<sup>+</sup> – tetrabutilamonijev kation

TEACl – tetraetilamonijev klorid

THF – tetrahidrofur

TLC – tankoslojna kromatografija

TMS – tetrametilsilan

UV-VIS – ultraljubičasta / vidljiva spektroskopija



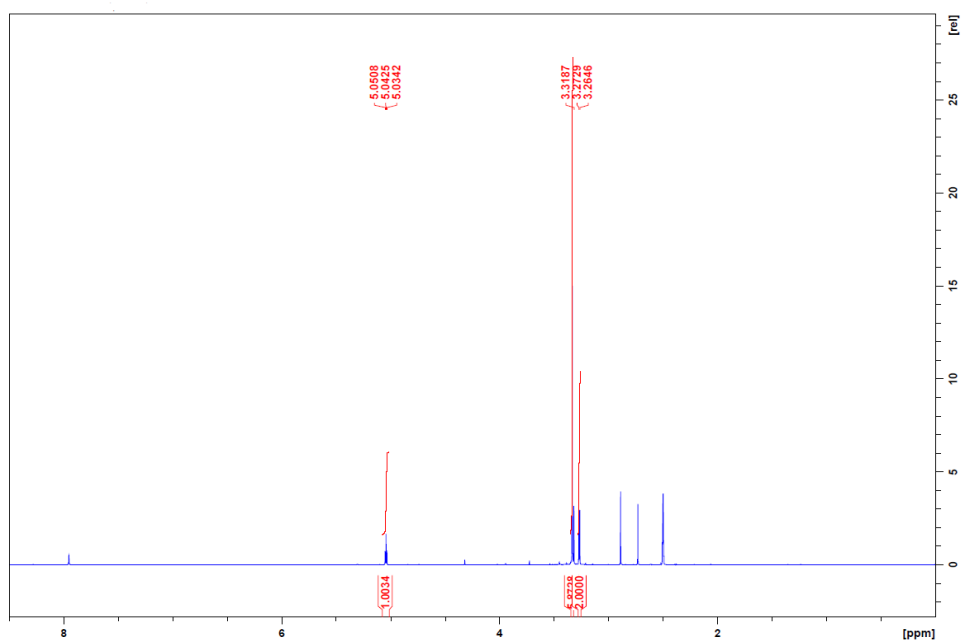
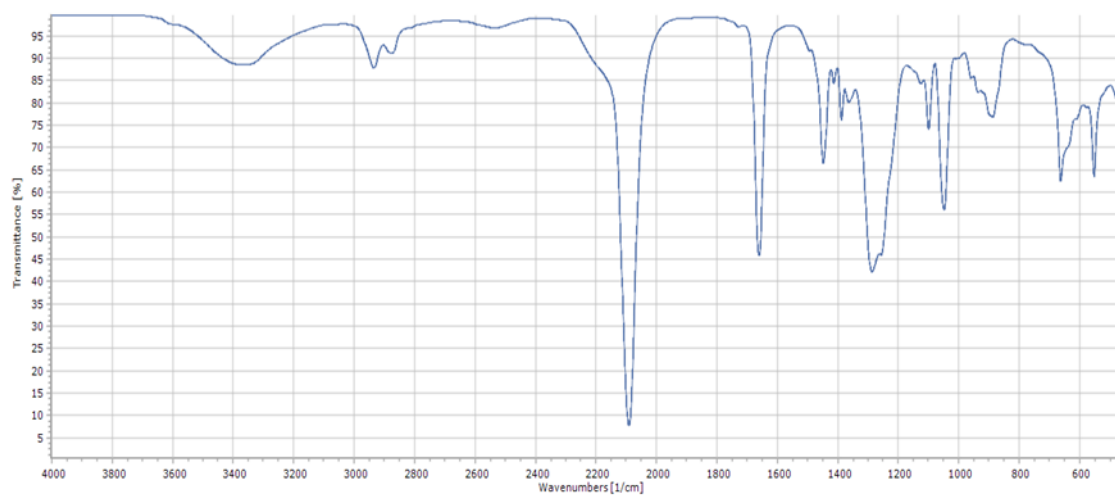
## § 7. LITERATURNI IZVORI

1. P. A. Gale, E. N. W. Howe, X. Wu, *Chem* **1** (2016) 351-422.
2. P. A. Gale, N. Busschaert, C. J. E. Haynes, L. E. Karagiannidis, I. L. Kirby, *Chem. Soc. Rev.* **43** (2014) 205–241.
3. J. L. Sessler, P. A. Gale, W. S. Cho *Anion Receptor Chemistry*, Royal Society of Chemistry (Great Britain), London, 2006, str. 2
4. F. Kurzer, P. M. Sanderson, *Journal of Chemical Education* **33** (1956) 452.
5. T. P. Vishnyakova, I. A. Golubeva, E. V. Glebova; Substitued Ureas. Methods of Synthesis and Applications *Russian Chemical Reviews* **54** (3) 249-261.
6. B. Gabriele, G. Salerno, R. Mancuso, M. Costa; Efficient Synthesis of Ureas by Direct Palladium-Catalyzed Oxidative Carbonylation of Amines *J. Org. Chem* **69** (2004) 4741-4750.
7. A. K. Gnosh, M. Brindisi, A. Sarkar; The Curtius Rearrangement: Applications in Modern Drug Discovery and Medicinal Chemistry *ChemMedChem* **13** (2018) 2351-2373
8. [en.wikipedia.org/wiki/Curtius\\_rearrangement](https://en.wikipedia.org/wiki/Curtius_rearrangement) (datum pristupa 24.10.2021).
9. A. S. Singh, A. K. Agrahari, M. S. Yadav, V. K. Tiwari; An Improved Synthesis of Urea Derivatives from N-acylbenzotriazole via Curtius Rearrangement *Synthesis* **51** (2019) A-H.
10. M. Leung, J. L. Lai, K. H. Lau, H. Yu, H. J. Hsiao; S-S-Dimethyl Dithiocarbonate: A Convenient Reagent for the Synthesis of Symmetrical and Unsymmetrical Ureas *Journal of Organic Chemistry* **61** (1996) 4175-4179.
11. S. Chamni, J. Zhang, H. Zou; Benign Synthesis of Unsymmetrical Arylurea Derivatives Using 3-Substituted Dioxazolones as Isocyanate Surrogates *Green Chemistry Letters and Reviews* **13** (2020) 246-257.
12. F. Shi, Y. Deng, T. Sima, J. Peng, Y. Gu, B. Qiao; Alternatives to Phosgene and Carbon Monoxide: Synthesis of Symmetric Urea Derivatives with Carbon Dioxide in Ionic Liquids *Angewandte Chemie* **42** (2003) 3257-3260.
13. B. P. Hay, T. K. Firman, B. A. Moyer; *Journal of the American Chemical Society* **127** (2005) 1810-1819.

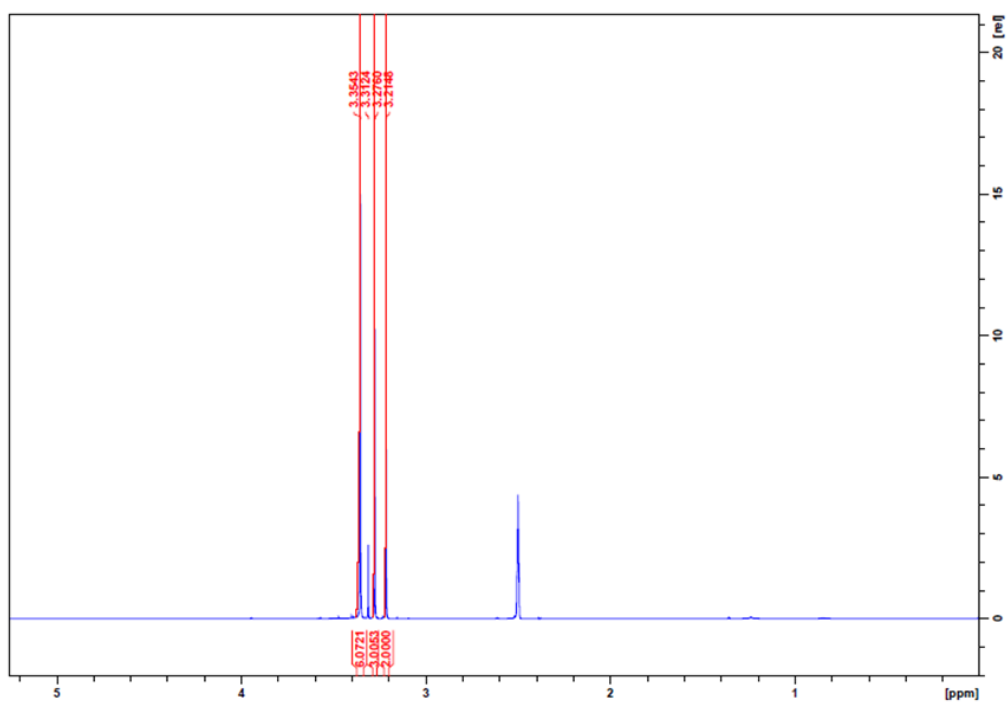
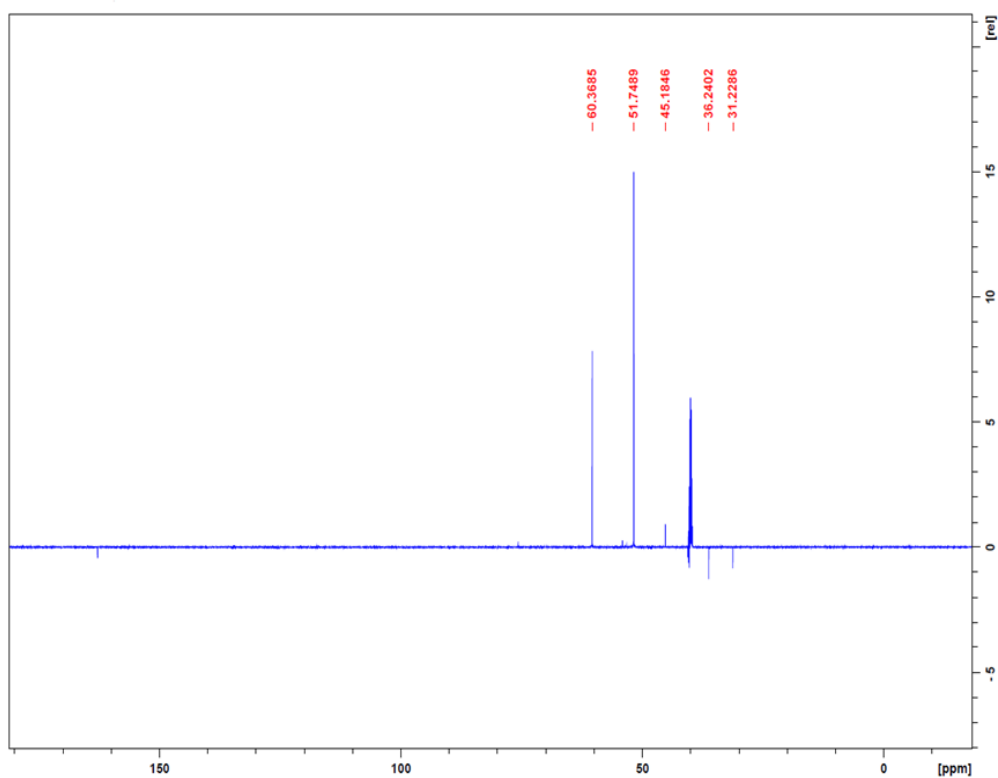
14. M. Boiocchi, L. Del Boca, D. E. Gomez, L. Fabbrizzi, M. Licchelli, E. Monzani; Nature of urea-flouride Interaction: Incipient and Definitive Proton Transfer. *Journal of the American Chemical Society* **126** (2004) 16507- 16514.
15. R. C. Jagessar; Syntheses and Characterisation of Diurea Molecular Tweesors for the Recognition of Anion *Journal of the Chilean Chemical Society* **58** (2013) 2222-2224.
16. Y. Xia, M. Li, A. Xu, Z. Zhang, A. Sun, S. Ding, Y. Liu; Sensing Mechanism of Fluorogenic Urea With Flouride in Solvent Media: A New Flourescence Quenching Mechanism, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* (2020).
17. T. H. Russ, A. Pramanik, M. Khansari, B. Wong, M. A. Hossain; A Quinoline Based bis-Urea Receptor for Anions: A Selective Receptor for Hydrogen Sulfate, *Natural Product Communications* **7** (2012) 301-304.
18. A. Satake, Y. Ishizawa, H. Katagiri, S. Kondo; Chloride Selective Macrocyclic Bisurea Derivatives with 2,2'- Binaphthalene Moieties as Spacers, *Journal of Organic Chemistry* **81** (2016) 9848-9857.
19. H. A. Jeong, E. J. Cho, H. M. Yeo, B. J. Ryu, K. C. Nam; Naphtalene Urea Derivatives for Anion Receptor: Effects on Substituents on Benzoate Binding, *Bull. Korean Chem. Soc.* **28** (2007) 851-854.
20. H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless; *Angew. Chem. Int. Ed.* **40** (2001) 2004-2021.
21. [organic-chemistry.org/namedreactions/click-chemistry.shtm](http://organic-chemistry.org/namedreactions/click-chemistry.shtm) (datum pristupa 08.12.2021)
22. V. D. Bock, H. Hiemstra, J. H. van Maarseveen; Cu<sup>I</sup>-Catalyzed Alkyne-Azide „Click“ Cycloadditions from a Mechanistic and Synthetic Perspective, *European Journal of Organic Chemistry* (2006) 51-68.
23. S. G. Agalave, Dr. S. R. Maujan, Dr. V. S. Pore; Click Chemistry: 1,2,3-Triazoles as Pharmacophores, *Chemistry An Asian Journal* **6** (2011) 2696-2718.
24. D. Pasini; The Click Reaction as an Efficient Tool for the Construction of Macrocyclic Structures, *Molecules* **18** (2013) 9512-9530.
25. S. Muthana, H. Yu, H. Cao, J. Cheng, X. Chen; Chemoenzymatic Synthesis of a New Class of Macrocyclic Oligosaccharides, *Journal of Organic Chemistry* **74** (2009) 2928-2936.

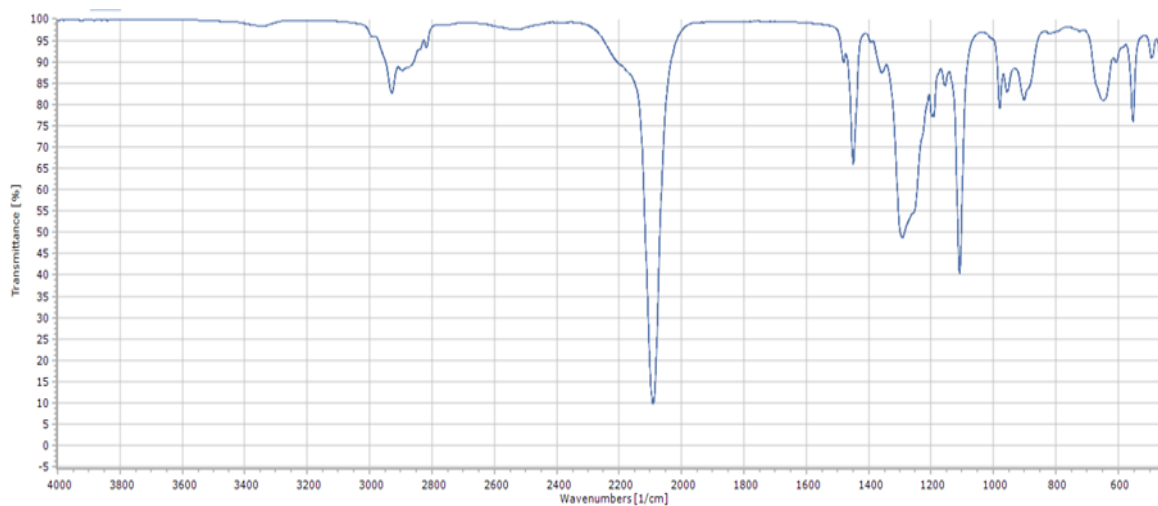
26. Y. Hua, A. H. Flood; Click Chemistry Generates Privileged CH Hydrogen-Bonding Triazoles: The Latest Addition to Anion Supramolecular Chemistry, *Chemical Society Reviews* **39** (2010) 1262-1271.
27. K. Li, D. Fong, E. Meichsner, A. Adronov; A Survey of Strain-Promoted Azide-Alkyne Cycloaddition in Polymer Chemistry, *Chemistry – A European Journal* **16** (2021) 5057-5073.
28. J. M. Baskin, J. A. Prescher, S. T. Laughlin, C. R. Bertozzi; Copper-Free Click Chemistry for Dynamic *In Vivo* Imaging, *PNAS* **104** (2007) 16793-16797.
29. B. Gold, G. B. Dudley, I. V. Alabugin; Moderating Strain without Sacrificing Reactivity: Design of Fast and Tunable Noncatalyzed Alkyne-Azide Cycloadditions via Stereoelectronically Controlled Transition State Stabilization, *Journal of the American Chemical Society* **135** (2013) 1558-1569.
30. J. R. Johansson, T. B. Somfai, A. S. Stalsmeden, N. Kann; Ruthenium Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition Reaction: Scope, Mechanism and Applications, *Chemical Reviews* **116** (2016) 14726-14768.
31. C. L. Schreiber, B. D. Smith; Molecular Conjugation Using Non-Covalent Click Chemistry, *Nature Reviews Chemistry* **6** (2019) 393-400.
32. A. Vacca, S. Ghelli, C. Frassinetti, L. Alderighi, P. Gans, A. Sabatini, *Anal. Bioanal. Chem.* **376** (2003) 1041-1052.
33. P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *Talanta*, **43** (1996) 1739-1753.

## § 8. DODATAK

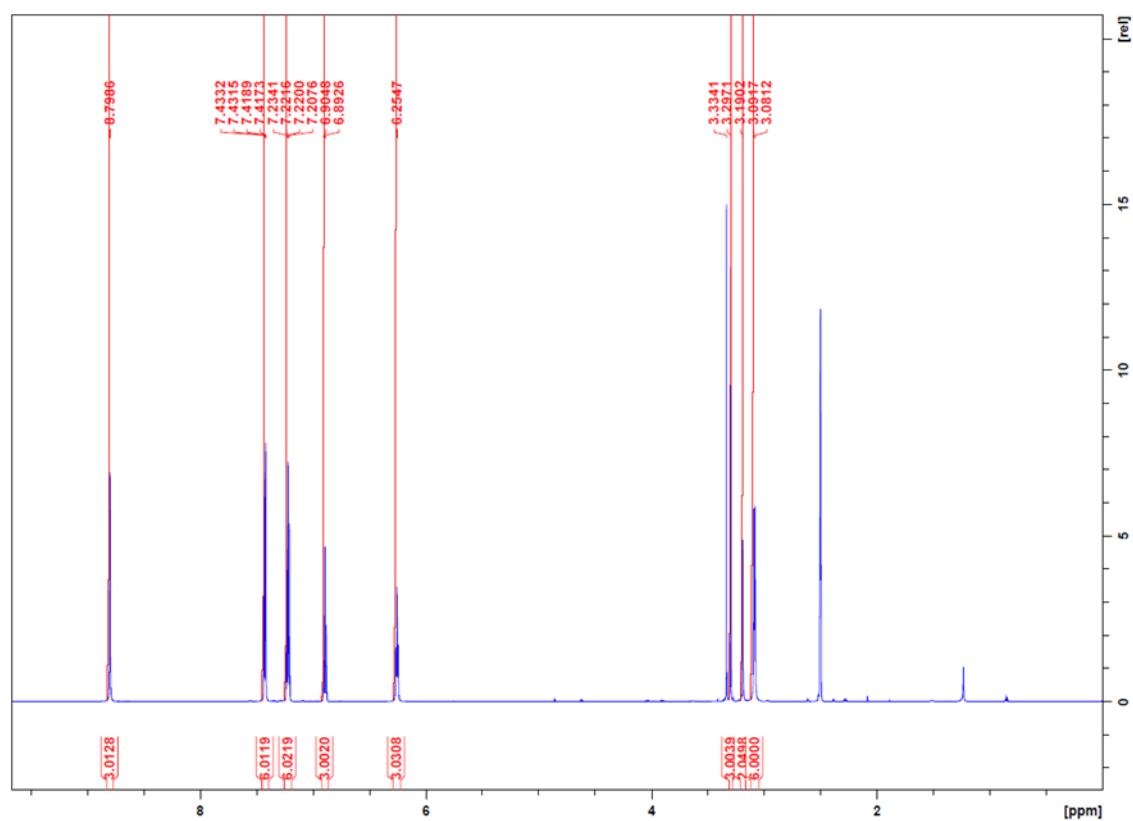
Slika D1. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 1

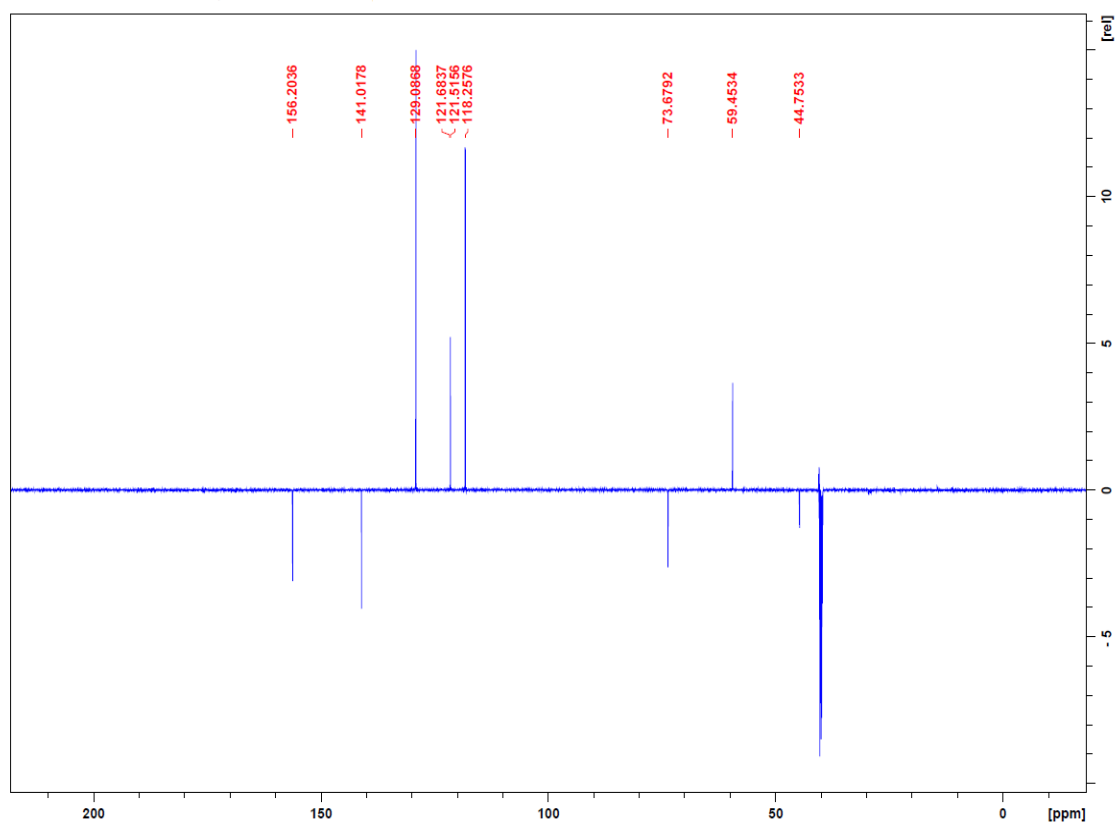
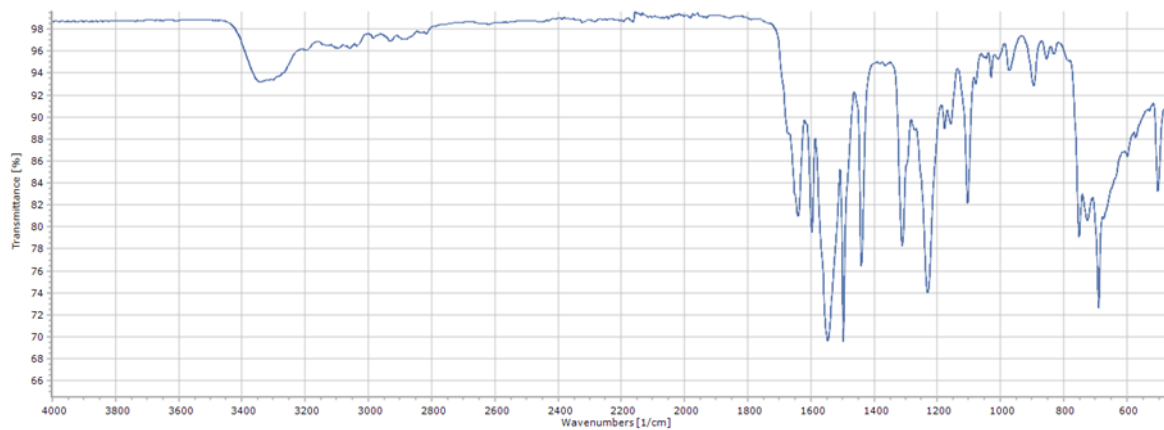
Slika D2. FT-IR spektar spoja 1

Slika D3.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 2Slika D4.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja 2

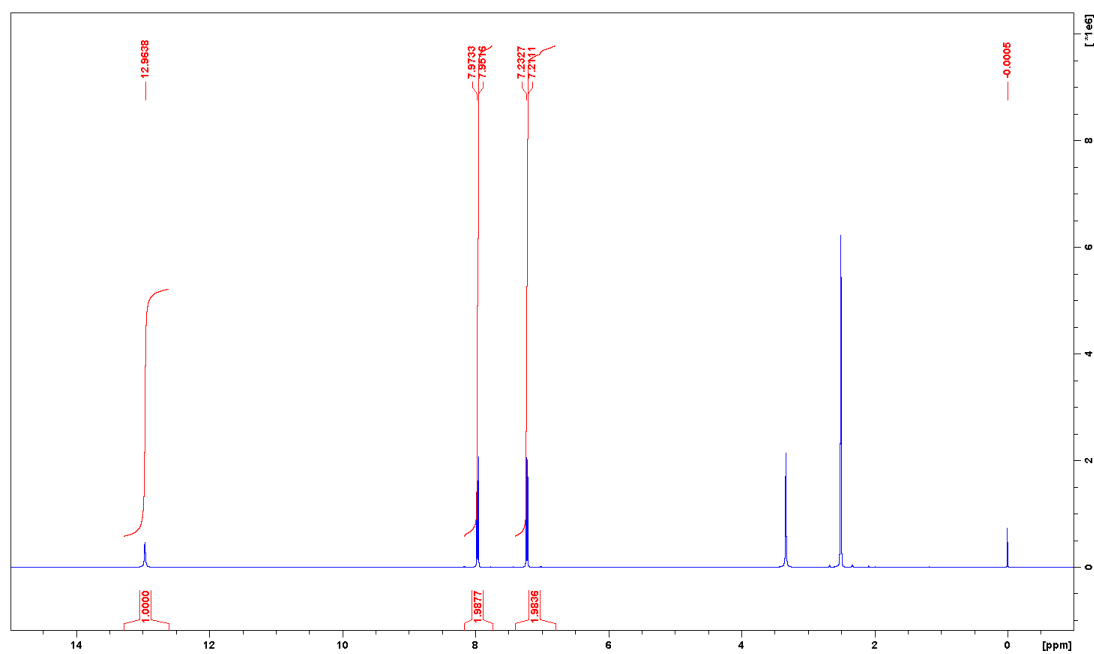
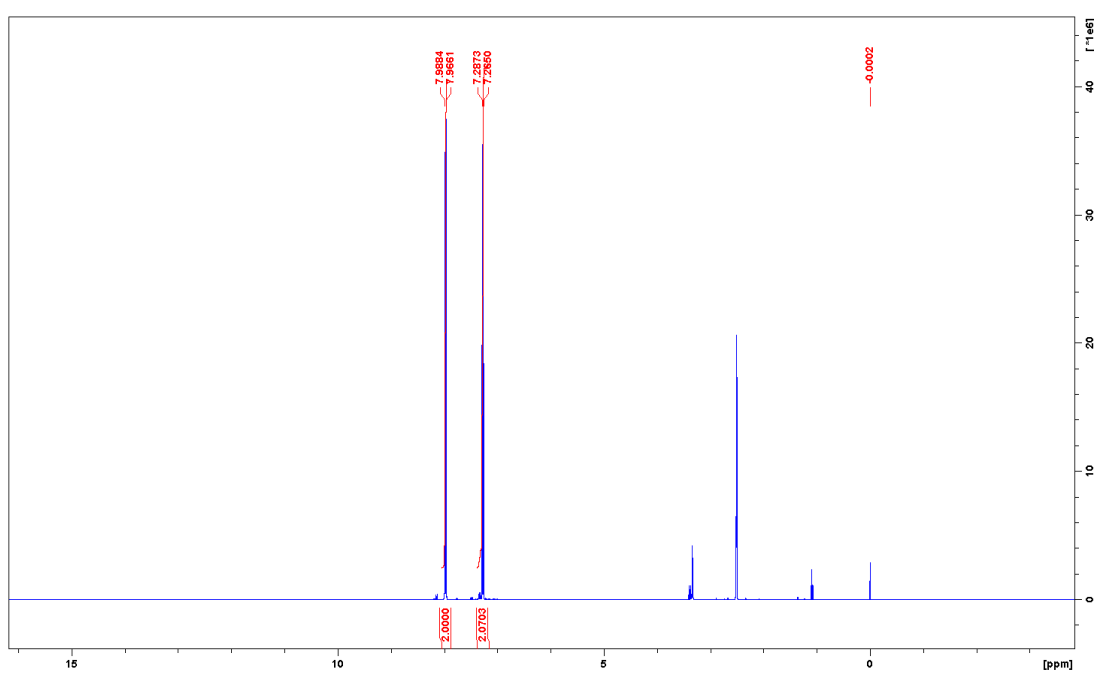


Slika D5. FT-IR spektar spoja 2

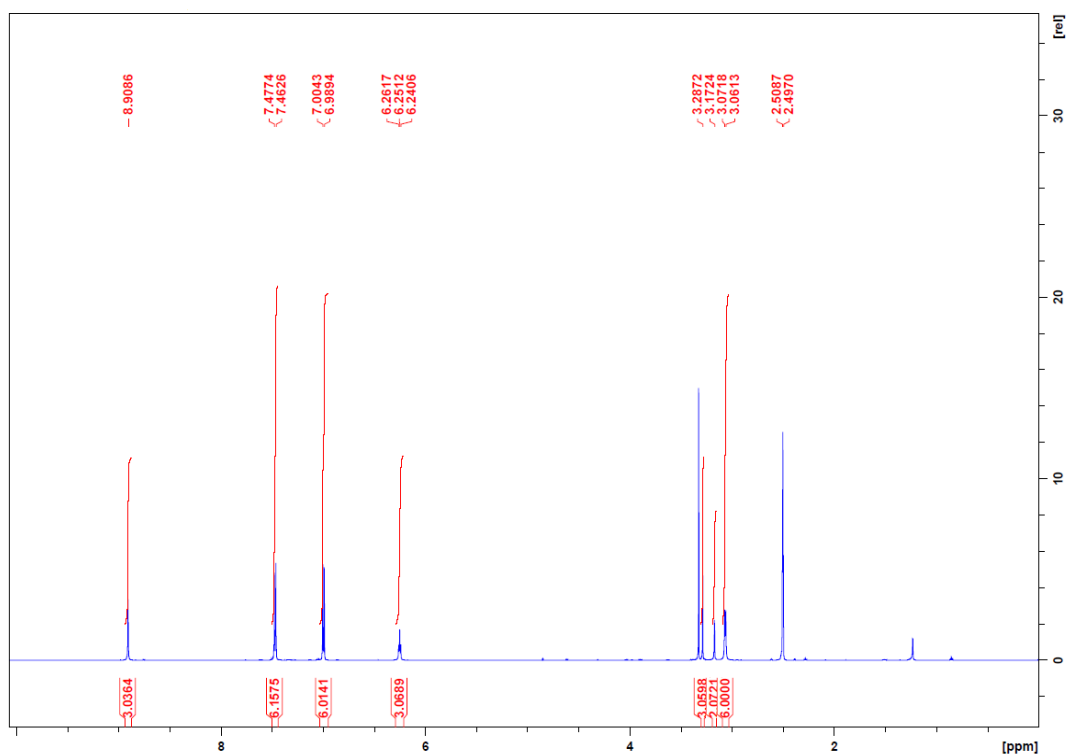
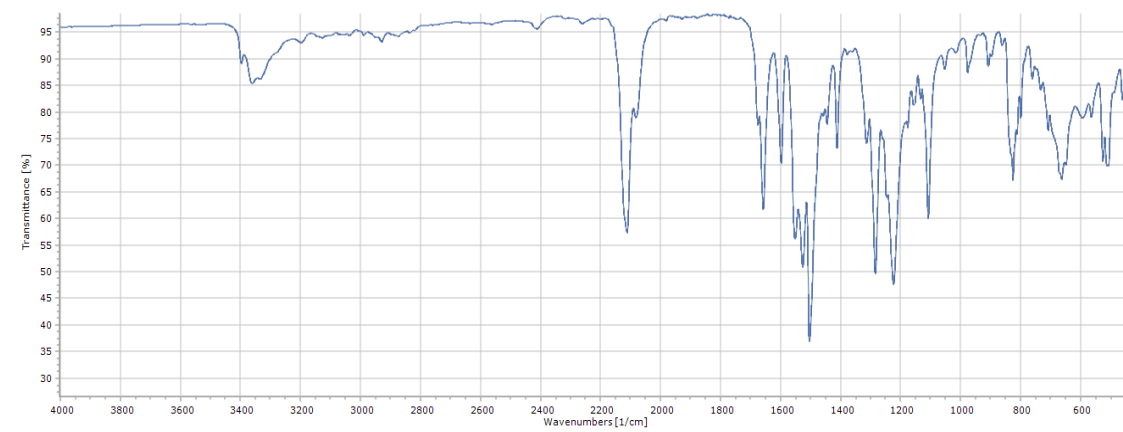
Slika D6. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 4

Slika D7.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja 4

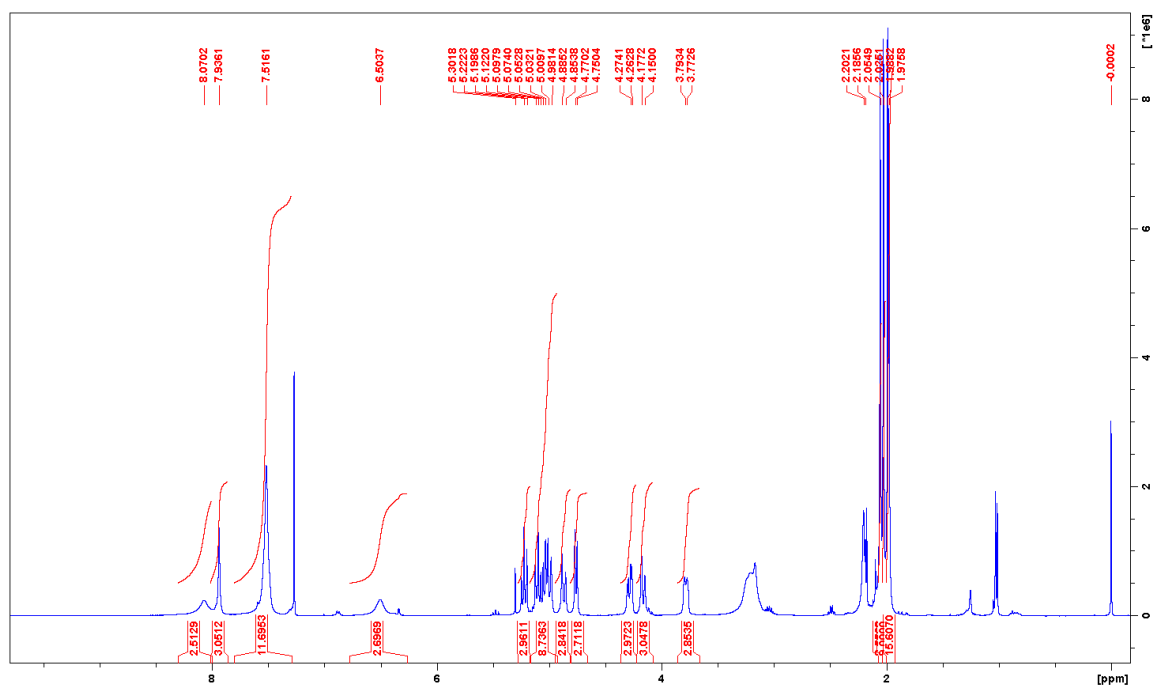
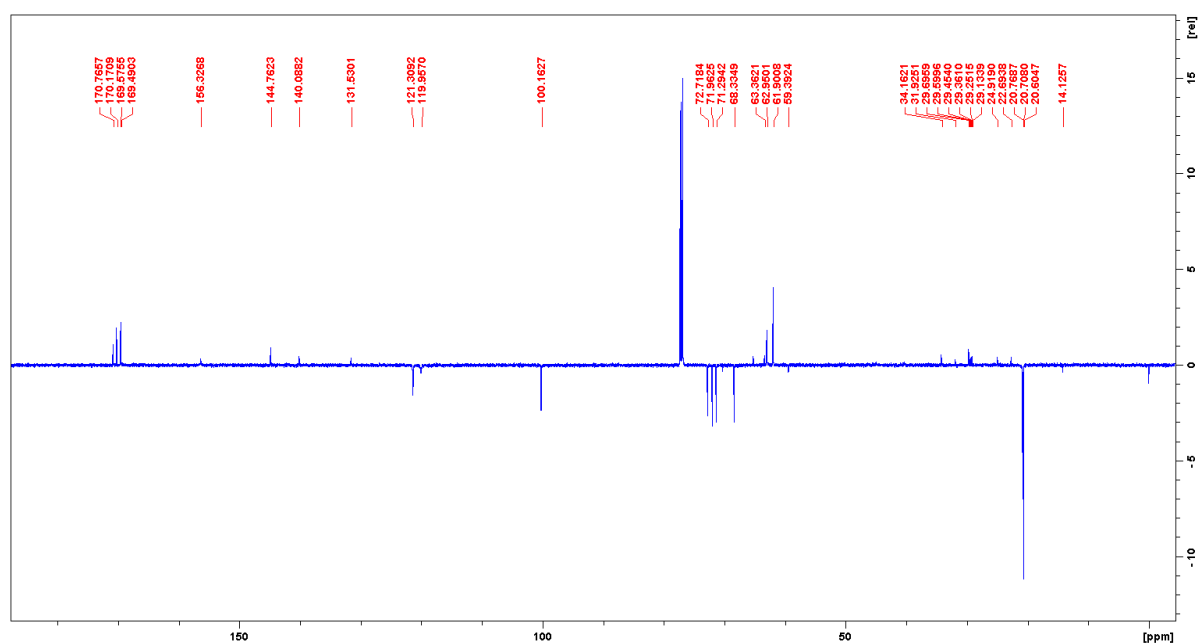
Slika D8. FT-IR spektar spoja 4

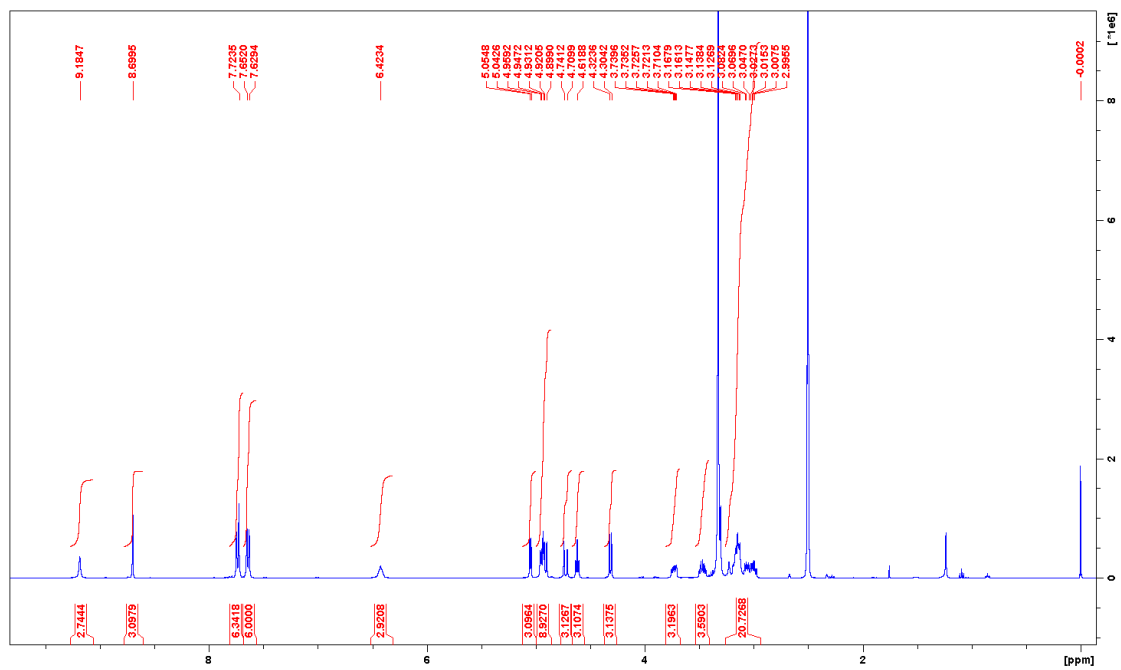
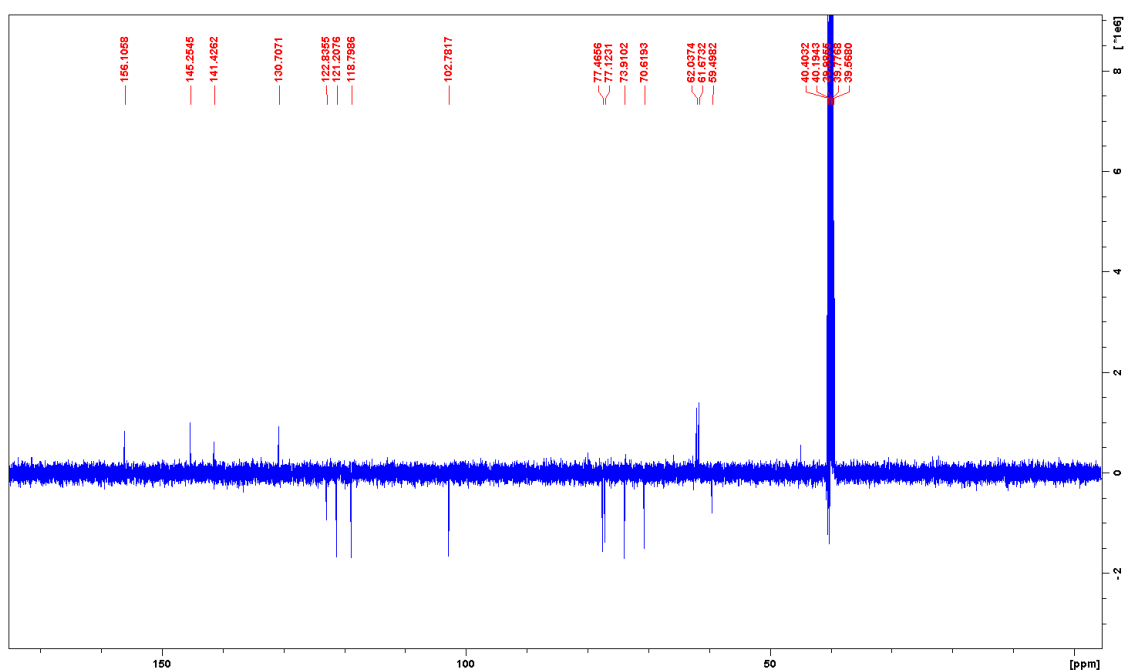
Slika D9.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 5Slika D10.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 6

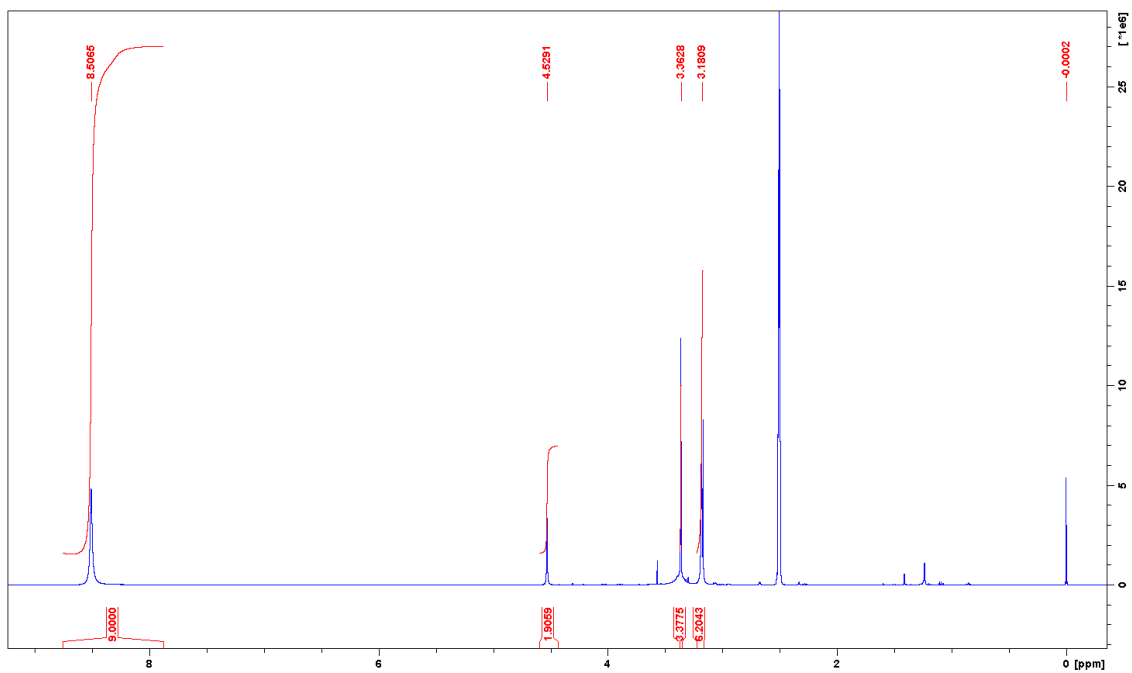
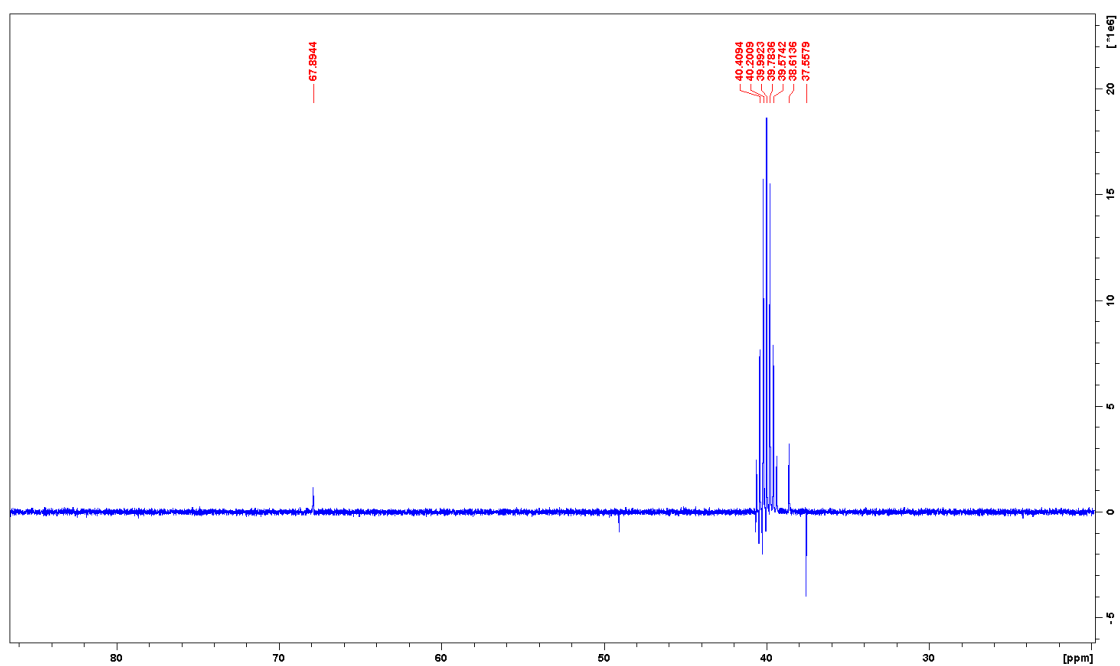


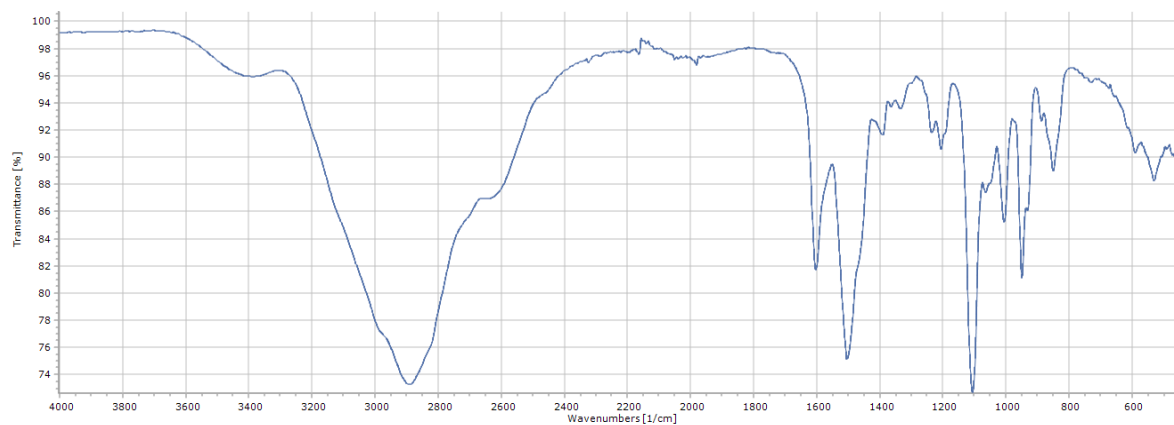
Slika D11. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 7

Slika D12. FT-IR spektar spoja 7

Slika D13.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **8**Slika D14.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja **8**

Slika D15.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **9**Slika D16.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja **9**

Slika D17.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **10**Slika D18.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja **10**

Slika D19. FT-IR spektar spoja **10**

## § 9. ŽIVOTOPIS

### Osobni podatci

Ime i prezime: Tin Bobeta

Datum rođenja: 4. studenoga 1995.

Mjesto rođenja: Split

### Obrazovanje

2002.–2010. Osnovna škola [Osnovna škola Mertojak, Split]

2010.–2014. Srednja škola [I. gimnazija, jezični smjer, Split]

2014.–2019. Preddiplomski studij [Biologija i kemija, Prirodoslovno-matematički fakultet, Split]

### Nagrade i priznanja

2009, 2012, 2013. Sudjelovanje na županijskim natjecanjima iz kemije

- odlično poznavanje engleskog jezika kako u govoru tako i u pismu
- poznavanje osnova talijanskog jezika
- iskustvo u prenošenju znanja iz kemije za osnovnu, srednju školu i neke fakultete, posebice one analitičkog i organskog smjera

