



Sveučilište u Zagrebu

PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

Kemijski odsjek

Antonija Karakaš

Doktorski studij: Kemija

Smjer: Organska kemija

**Tripodalni receptori: sinteza i primjena u anionskom  
prepoznavanju**

KEMIJSKI SEMINAR 1

Napisano prema publikaciji:

Jennings, A.R., Son, D. Y., Synthesis and anion recognition of three new preorganized colorimetric urea/thiourea compounds and their corresponding reference receptors,

*Tetrahedron* (2015) 71(23), 3990-3999.

Zagreb, ožujak 2025.

### Sadržaj

§ 1. UVOD .....	1
§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME.....	3
2.1. Vrste tripodalnih anionskih receptora .....	3
2.2. Domaćin-gost interakcije .....	4
2.3. Selektivnost tripodalnih receptora .....	4
§ 3. REZULTATI I RASPRAVA.....	5
3.1. Sinteza.....	5
3.2. Određivanje stehiometrije vezanja .....	8
3.3. Određivanje konstante vezanja.....	9
3.4. UV-Vis i <sup>1</sup> H NMR spektroskopske titracije spoja 1 i referentnog receptora 5 .....	10
3.5. UV-Vis i <sup>1</sup> H NMR spektroskopske titracije spoja 2 i referentnog receptora 6 .....	14
3.6. UV-Vis i <sup>1</sup> H NMR spektroskopske titracije spoja 3 i referentnog receptora 7 .....	16
3.7. UV-Vis i <sup>1</sup> H NMR spektroskopske titracije spoja 4 i referentnog receptora 8 .....	17
§ 4. ZAKLJUČAK .....	19
§ 5. LITERATURNI IZVORI .....	XX

## § 1. UVOD

Zbog uključenosti aniona u mnoge kemijske procese, prepoznavanje aniona tripodalnim receptorima od sve većeg je znanstvenog interesa. Takvi tripodalni sustavi pronašli su primjenu u raznim područjima, ekološkom monitoringu, industriji, katalizi, kliničkoj dijagnostici te medicinskoj kemiji. Iz tih razloga, postoji rastuća potreba za sintezom spojeva koji će specifično prepoznavati i vezati anione[1, 2] .

Tripodalni receptori (*engl. tripodal receptors*) posebno su dizajnirane molekule koje u svojoj strukturi imaju tri kraka (*engl. tripodal*) ili ručice (*engl. three arm*) na kojima se nalaze ligandi koji mogu koordinirati s anionom. Prema definiciji, spadaju u posebnu vrstu acikličkih ionofora[1].

Svaki dobro dizajniran tripodalni receptor koji potencijalno koordinira s anionom, treba zadovoljiti sljedeće kriterije:

- 1) **interakcijska/vezna mjesta** – receptor mora sadržavati dovoljno pozitivnih ili neutralnih (s manjkom elektrona) grupa na kojima može doći do interakcije/vezanja
- 2) **struktura** – poželjna je fleksibilnost u strukturi, kako bi se lakše ostvarila interakcija. Optimalna geometrija i orijentacija rezultirat će stvaranjem stabilnog domaćin-gost (*engl. host-guest*) kompleksa
- 3) **afinitet prema vezanju** – javlja se kao posljedica svih navedenih kriterija[1]
- 4) **kiselo-bazna svojstva** – osiguravaju selektivnost receptora [3]

Prilikom dizajiranja svakog anionskog receptora treba voditi računa o funkciji, substratu koji želimo detektirati te o molekulskom okruženju[4]. Jedan od mogućih načina dizajiranja anionskih receptora jest oblikovati ih tako da imaju predispozicije za određenu geometriju, odnosno da im geometrija bude unaprijed određena. U tom slučaju dobivamo tzv. preorganizirane receptore (*engl. preorganized receptors*)[2]. Općenito, koncept preorganizacije uključuje dizajn molekule domaćina te omogućuje snažnije vezanje gosta zahvaljujući unaprijed usklađenoj strukturi prilagođenoj za vezanje prije same kompleksacije. U takvom domaćin-gost sustavu utrošak entalpije i entropije povezan je s kompleksacijom, konformacijskom reorganizacijom i desolvatacijom veznih mjesta. Sa stajališta promjene

slobodne energije, nastajanje kompleksa domaćin-gost obuhvaća dva procesa od kojih je jedan energetski povoljan, a drugih energetski nepovoljan. Konformacijsko reorganiziranje energetski je nepovoljan proces pri čemu se vezna mjesta na domaćinu raspoređuju komplementarno prema gostu. Ovaj proces zahtijeva energiju i često je popraćen nepovoljnim interakcijama između veznih mjesta, poput odbijanja neveznih elektronskih parova. Povoljnija je kompleksacija domaćina i gosta kada je energija reorganizacije manja. Proces vezanja gosta, energetski je povoljan. U tom procesu dolazi do interakcija između veznih mjesta domaćina i gosta. Može se zaključiti da ukupna slobodna energija kompleksacije ovisi o energetski nepovoljnoj energiji reorganizacije i povoljnoj energiji vezanja [5].

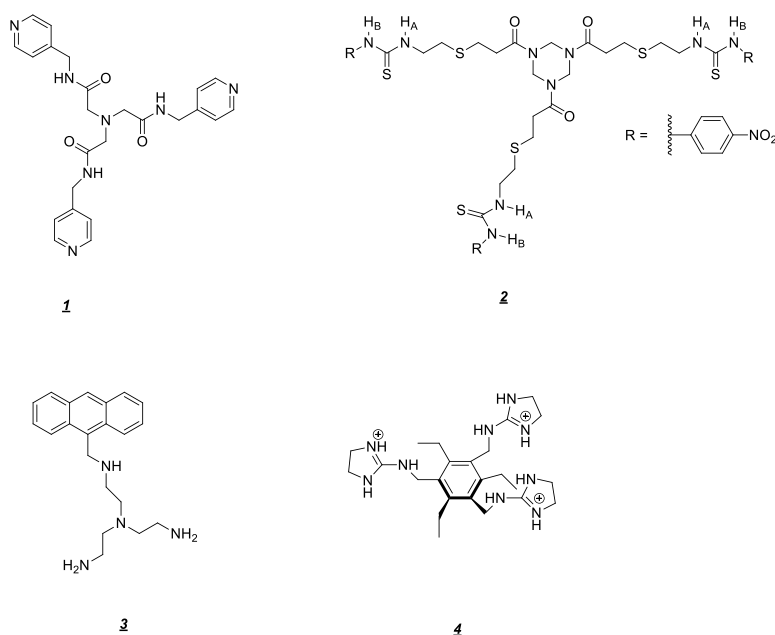
## § 2. PRIKAZ ODABRANE TEME

### 2.1. Vrste tripodalnih anionskih receptora

Prema različitim strukturnim karakteristikama preorganizirane tripodalne anionske receptore možemo klasificirati u nekoliko kategorija prema njihovim funkcionalnim skupinama:

- Urea/tiourea[6, 7]
- Gvanidini[8, 9]
- Amidi [10, 11]
- Piridin [12]
- TREN - Tris-(2-aminoetil) amin[13-15]
- TAT - 1,3,5- triakriloilheksahidro-1,3,5-s-triazin [6]

Na *slici 1.* prikazano je nekoliko primjera tripodalnih receptora. 1 predstavlja tripodalni receptor koji svoju strukturu temelji na amidima. Receptor 2 primjer je TAT receptora s tiouream u strukturi. Molekula 3 pripada vrsti TREN receptora, dok receptor 4 bazira strukturu na gvanidinu[1, 2, 9, 15].



*Slika 1.* Primjeri tripodalnih receptora

Tripodalne receptore možemo razvrstati i prema promjenama koje nastaju zbog interakcije s anionom pa tako oni mogu biti: kolorimetrijski, elektrokemijski, fluorescencijski, potenciometrijski ili apsorbancijski. Također, kompleksacije mogu izazvati promjene u spektru prilikom  $^1\text{H}$  NMR titracija ili cikličke voltametrije[3].

U ovome radu naglasak će biti na tripodalnim anionskim receptorima sa strukturnim karakteristikama uree/tiouree. Urea i tiourea često se koriste u anionskim receptorima jer imaju mogućnost ostvariti vodikovu vezu koja se bolje može prilagoditi nesfernim anionima poput dihidrogenfosfata i acetata[6].

## 2.2. Domaćin-gost interakcije

U tripodalnom sustavu, tripodalni receptor bi bio domaćin, a anion gost[1]. U domaćin-gost kompleksu, ovisno o strukturi može se javiti niz nekovalentnih interakcija kao što su: elektrostatske interakcije, van der Waalsove interakcije, vodikova veza,  $\pi$ - $\pi$  interakcije, koordinacijska veza, ili hidrofobnost[1, 5, 16].

Prilikom domaćin-gost interakcija javljaju se promjene, koje se mogu pratiti s raznim analitičkim tehnikama, kao što su: UV-Vis titracija, fluorescencija, redoks titracije, DOSY NMR,  $^1\text{H}$  NMR titracija. Glavne prednosti  $^1\text{H}$  NMR titracija su to što mala prisutnost nečistoća ne utječe na pomak signala, a kao rezultat dobivamo informacije o strukturi[1, 17, 18].

## 2.3. Selektivnost tripodalnih receptora

Dizajnom tripodalnih receptora želi se osigurati selektivnost u međudjelovanju domaćin-gost. Selektivnost tripodalnog sustava ovisi o nekoliko faktora: rigidnosti samog sustava, ponajviše ručica i veličini sustava[1].

Elektron-odvlačeće skupine su vrlo česte u strukturi receptora jer se njima povećava afinitet prema vezanju neutralno nabijenih receptora, povećava se kiselost vodika, čime se uspostavljaju snažnije interakcije putem vodikove veze. Sferičnim oblikom ili dizajnom preorganiziranih receptora smanjuje se entropijski utrošak energije što dovodi do vodikovog vezanja na nekoliko mjesta što pogoduje kompleksiranju s određenim anionima[6].

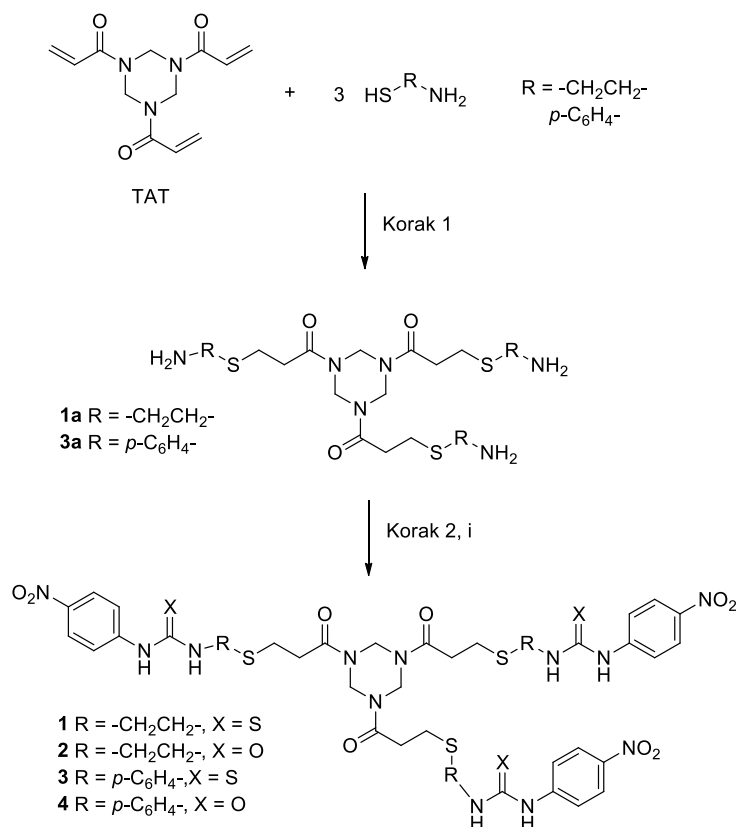
## § 3. REZULTATI I RASPRAVA

### 3.1. Sinteza

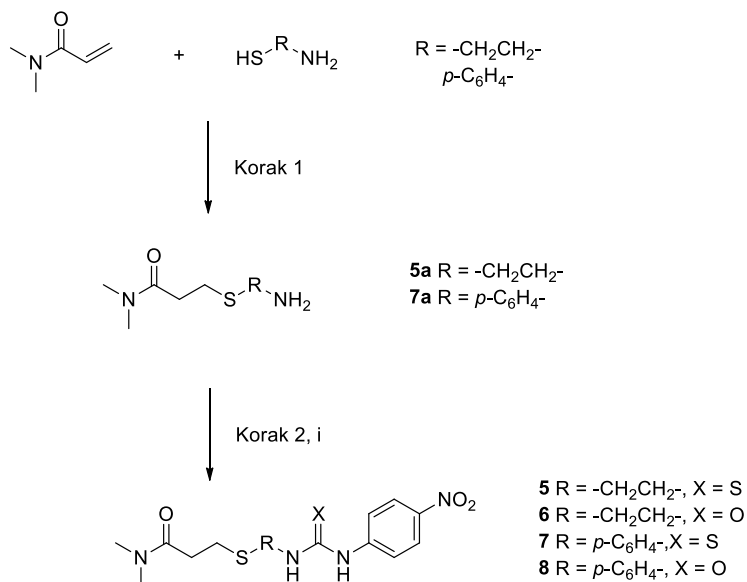
Znanstvenici Abby R. Jennings i David Y. Son pripravili su tri nova tripodalna preorganizirana receptora[6]. Glavni cilj bio je istražiti efekt vezanja, a kako bi to bilo moguće uspješno su pripremljeni su i jednoruki referentni receptori (*engl. single-armed referent receptors*). Svrha ovog istraživanja je proširiti spoznaje o tome kako se dodatkom elektron-odvlačeće grupe, točnije fenilne grupe, mijenja vezanje vodikovim vezama te kako to utječe na afinitet vezanja preorganiziranih receptora prema anionima. Rad obuhvaća sintezu, karakterizaciju i studije o vezanju preorganiziranih receptora i njihovih referentnih spojeva[6].

Tiolna-Michaelova reakcija je reakcija adicije u kojoj sudjeluju  $\alpha,\beta$ -nezasićeni karbonil i tiol kao nukleofil. Ovakav tip reakcije vrlo se često koristi u kemiji materijala. Tiolna Michaelova adicija je visoko efikasna i ekološki prihvatljiva “klik” reakcija koja se koristi za sintezu malih molekula, modifikaciju polimera i funkcionalizaciju materijala. Velika prednost korištenja “klik” reakcija je dobivanje stereospecifičnih i regiospecifičnih produkata u blagim uvjetima, popraćena visokim iskorištenjima[19].

Struktura pripravljena tripodalnih receptora te sintetski put prikazan je na *shemi 1.*, dok *shema 2.* prikazuje sintetski put i strukturu referentnih receptora.



**Shema 1.** Sinteza preorganiziranih tripodalnih receptora **1-4**, i) 3 eq. 4-nitrofenilizotiocijanata ili 4-nitrofenilizocijanata[6]



**Shema 2.** Sinteza referentnih receptora **5-8**, i) 1 eq. 4-nitrofenilizotiocijanata ili 4-nitrofenilizocijanata[6]



Koristeći tiolnu Michaelovu reakciju te TAT (1,3,5- triakriloilheksahidro-1,3,5-s-triazin) kao polazni spoj te cisteamin i 4-aminotiofenol kao reaktante dobiveni su intermedijeri **1a** i **3a**. Osim funkcije reaktanta, TAT je središnja molekula koja osigurava kostur tripodalnog receptora. U drugom koraku, uspješno je provedena sinteza intermedijera **1-4**, upotrebljavajući 4-nitrofenilizotiocijanat ili 4-nitrofenilizocijanat[6].

Nitrofenilna skupina u strukturi receptora ima višestruku ulogu. To je elektron-odvlačeća skupina, ujedno i kromofor koji pospešuje vizualnu i spektroskopsku detekciju bioloških i ekološki važnih iona, kao što su: klorid, fluorid, acetat i dihidrogenfosfat.

Na sličan način putem tiolne Michaelove reakcije dobiveni su referentni receptori. Kao polazni spojevi koristili su se *N,N*-dimetilakrilamid s cisteaminom ili 4-aminotiofenolom. U drugom koraku, **5a** i **7a** su reagirali s 4-nitrofenilizotiocijanatom ili 4-nitrofenilizocijanatom dajući receptore **5-8**[6].

U tablici 1. Prikazani su reakciji uvjeti i iskorištenja dobivenih reakcija.

**Tablica 1.** Reakcijski uvjeti i iskorištenja za spojeve **1-8** [6]

Spoj	Iskorištenje [%]	Korak	Reakcijski uvjeti
<b>1a</b>	95	1	MeOH, rt, 10 min
<b>1</b>	86	2	DMSO, rt, 45 min
<b>2</b>	58	2	CHCl <sub>3</sub> , refluks, 16 h
<b>3a</b>	59	1	MeOH, 10 mol% DMPP, refluks, 16 h
<b>3</b>	95	2	THF, rt, 5h
<b>4</b>	72	2	Aceton, refluks, 48 h
<b>5a</b>	100	1	MeOH, rt, 2h
<b>5</b>	92	2	Aps. EtOH, rt, 30 min
<b>6</b>	69	2	CHCl <sub>3</sub> , refluks, 16 h
<b>7a</b>	97	1	MeOH, 10 mol% DMPP, refluks, 16 h
<b>7</b>	72	2	THF, rt, 16 h
<b>8</b>	68	2	THF, rt, 16 h

Iz navedene tablice možemo zaključiti da je najveće iskorištenje ( $\eta = 100\%$ ) postignuto u koraku 1 za spoj **5a** koristeći metanol kao otapalo, provodeći reakciju na sobnoj temperaturi,

dva sata. Dok je za korak 2 najveće iskorištenje ( $\eta = 95\%$ ) postignuto za spoj **3**, u THF-u pri sobnoj temperaturi provodeći reakciju 5 sati. Kao glavna prednost ovakvog pristupa, ističu se blagi reakcijski uvjeti koji olakšavaju sintezu, te prihvatljivo reakcijsko vrijeme od nekoliko sati[6]. Inače su za sintezu tripodalnih receptora potrebni puno žešći reakcijski uvjeti i duže reakcijsko vrijeme[12, 20].

### 3.2. Određivanje stehiometrije vezanja

Prilikom istraživanja vezanja posebna pažnja mora se usmjeriti na sprječavanje kontaminacije od drugih ionskih ili polarnih izvora. Važno je koristiti borosilikatno posuđe jer korištenje običnog stakla sa spojem **1** uzrokuje obojenje. Prije korištenja, DMSO i DMSO- $d_6$  treba biti sušen na molekulskim sitima 4 Å kako bi se izbjegla prisutnost vode. Ukoliko se koristi vlažno otapalo vidljiva je promjena boje u svjetlo narančastu koje se javlja kao posljedica interakcije vodikove veze između receptora i vode[6].

Za određivanje stehiometrije vezanja između **2** i klorida, acetata i dihidrogenfosfata upotrebene su metode  $^1\text{H}$  NMR spektroskopija i metoda kontinuiranih varijacija (*engl. method of continuous variations*) tzv. *Job plot*. Za kompleks receptor-ion iz *Job plot-a* određena je stehiometrija vezanja 1:1 i 1:2[6].

Stehiometrija vezanja **2** i fluorida određena je metodom kontinuiranih varijacija i UV-Vis spektroskopije. U  $^1\text{H}$  NMR spektru NH signal je širok te nestaje s dodatkom fluoridnih iona, što se javlja kao posljedica deprotoniranja[6].

Rezultati stehiometrije vezanja dani su u *tablici 2*.

Tablica 2. Stehiometrija vezanja [6]

Receptor	Cl <sup>-</sup>	CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup>	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	F <sup>-</sup>
1	1:1	1:2	1:2	1:1 <sup>a</sup>
2	1:1	1:2	1:2	1:2 <sup>a</sup>
3	1:1	1:2 <sup>a</sup>	1:1	1:1 <sup>a</sup>
4	1:1	1:1 <sup>a</sup>	1:2 <sup>a</sup>	1:1 <sup>a</sup>
5	1:1	1:1	1:1	1:1 <sup>a</sup>
6	1:1	1:1	1:1 <sup>a</sup>	1:1 <sup>a</sup>
7	1:1	1:1 <sup>a</sup>	1:1 <sup>a</sup>	1:1 <sup>a</sup>
8	1:1	1:1 <sup>a</sup>	1:1 <sup>a</sup>	1:1 <sup>a</sup>

\*<sup>a</sup> Stehiometrija određena iz UV-Vis podataka

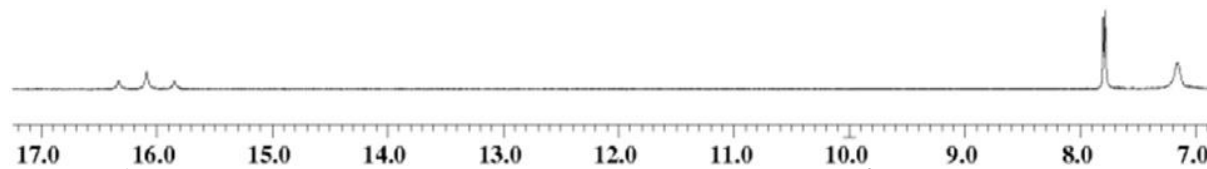
Stehiometrija za referentne spojeve **5-8** je 1:1, što je očekivano, budući da imaju samo jedno mjesto za vodikovu vezu, ovi receptori mogu vezati samo jedan ion. Preorganizirani tripodalni receptori imaju više mjesta za vodikove veze, što omogućuje različite načine vezanja iona. Kada se utvrdi stehiometrija vezanja 1:1 između ovih receptora i iona, to može ukazivati na kooperativno vezanje, pri čemu jedan ion može istovremeno stupiti u interakciju s dva ili tri kraka receptora. Međutim, moguće je i da se jedan ion veže samo jednim krakom, što također može rezultirati istom stehiometrijom [6].

Zbog dodatnih mjesta za vodikove veze, tripodalni receptori mogu vezati više iona, što može dovesti do stehiometrije vezanja 1:2 (receptor:ion). U ovom slučaju, dva iona mogu biti vezana zasebno, svaki s po jednim krakom receptora, ili jedan ion može biti kooperativno vezan s dva kraka, dok se drugi ion veže samo jednim krakom[6].

### 3.3. Određivanje konstante vezanja

Za određivanje konstante vezanja autori su koristili UV-Vis i <sup>1</sup>H NMR titraciju, kako bi pratili interakciju između receptora **2-8** i dihidrogenfosfata, acetata i fluorida. UV-Vis titracije nisu napravljene između receptora i klorida jer prilikom kompleksacije nije detektiran optički odgovor. Od svih testiranih iona klor je najmanje bazičan pa se stoga može očekivati da će njegova interakcija s receptorom, kao i pripadajući kolorimetrijski odgovor, biti slabiji u usporedbi s bazičnijim ionima, zbog pojave deprotoniranja. <sup>1</sup>H NMR titracije nisu provedene za sustav receptora i fluoridnog aniona. Kao što je prikazano na *slici 2.*, povećanje

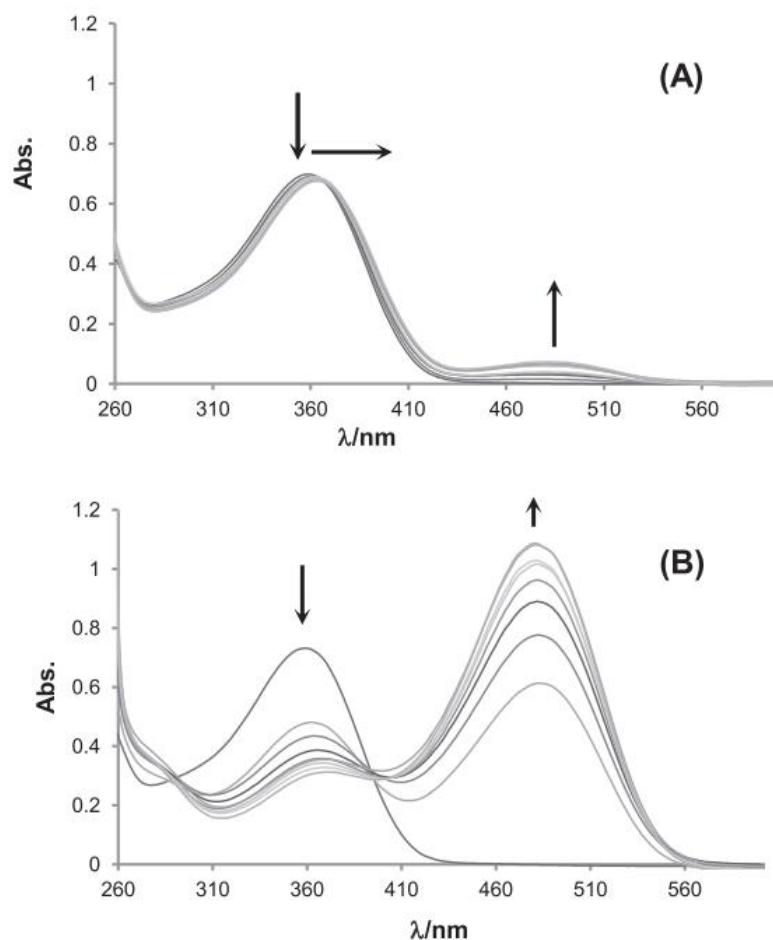
koncentracije fluoridnih iona dovelo je do pojave tripleta oko 16 ppm, koji se može pripisati nastanku vrlo stabilnog  $\text{HF}_2^-$  samokompleksa. Nastanak  $\text{HF}_2^-$  iona također je potvrđen pomoću  $^{19}\text{F}$  NMR spektroskopije[6].



**Slika 2.**  $^1\text{H}$  NMR spektar (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) spoja **5** ( $5,0 \times 10^{-3}$  M) i tetrabutilamonijevog fluorida trihidrata ( $2,5 \times 10^{-2}$  M)[6].

### 3.4. UV-Vis i $^1\text{H}$ NMR spektroskopske titracije spoja **1** i referentnog receptora **5**

U odsutnosti iona, **5** pokazuje apsorpcijski maksimum na 358 nm ( $\epsilon = 13960 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), koja je povezan s internim prijenosom naboja. Dodavanjem dihidrogenfosfata, intenzitet vrpce opada i dolazi do batokromnog pomaka, što ukazuje na kompleksiranje receptora s ionom preko vodikovih veza tiouree. Kako se negativni naboj na mjestu vodikove veze povećava, povećava se i unutarnji prijenos naboja, što uzrokuje pomak apsorpcijske vrpce prema većim valnim duljinama[6].

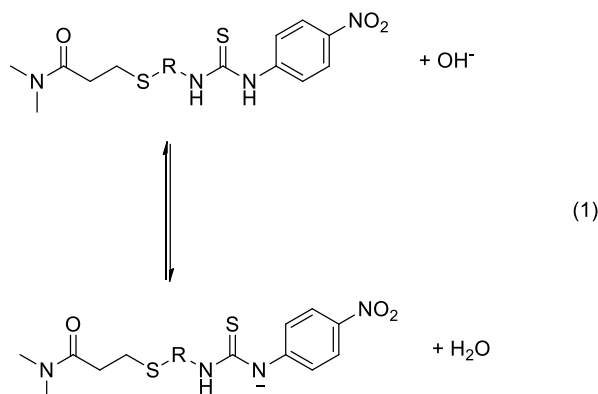


**Slika 3.** (A) UV-Vis spektroskopske promjene otopine **5** u DMSO-u nakon dodavanja tetrabutilamonijevog dihidrogenfosfata ( $[5] = 5,0 \times 10^{-5}$  M,  $0 \leq [\text{anion}] \leq 2,5 \times 10^{-4}$  M); (B) UV-Vis spektroskopske promjene otopine **5** u DMSO-u nakon dodavanja tetrabutilamonijevog hidroksida ( $[5] = 5,0 \times 10^{-5}$  M,  $0 \leq [\text{anion}] \leq 2,5 \times 10^{-4}$  M)[6].

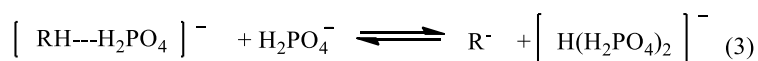
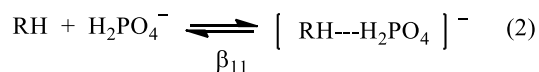
Dodatkom dva ekvivalenta iona, formira se crveno pomaknuta vrpca pri 480 nm, čiji intenzitet raste napretkom titracije. Pojava nove vrpce povezana je s nastankom tioureinog aniona, koji se javlja kao posljedica deprotoniranja tioureine skupine. Boja titracijske otopine mijenja se iz svjetložute do svjetlonarančaste[6].

Kako bi se potvrdilo nastajanje nove apsorpcijske vrpce tijekom deprotoniranja, provedena je titracija receptora **5** s jakim bazom, točnije hidroksidom. Nakon što je dodano 0,5 ekvivalenta hidroksida došlo je do pojave apsorpcijske vrpce na 480 nm. Prisutnost oštre izosbestične točke ukazuju na nastanak diskretnih vrsta u otopini. Izosbestična točka javlja se kao rezultat neutralizacije u kiselo-bazne ravnoteži (Jednadžba 1)[6].

Tijekom transfera protona s aniona na receptor, dolazi do nastajanja kompleksa između konjugirane kiseline i aniona tiouree. Tijekom titracije **5** i hidroksida, dolazi do promjene boje otopine iz svjetložute u tamno narančastu. Slična promjena boje javlja se i kod drugih preorganiziranih tripodalnih receptora ili njihovih referentnih receptora iz svjetlo žute u svjetlo ili tamno narančastu kada je deprotoniranje potaknuto različitim anionima u UV-Vis i  $^1\text{H}$  NMR titraciji[6, 21].



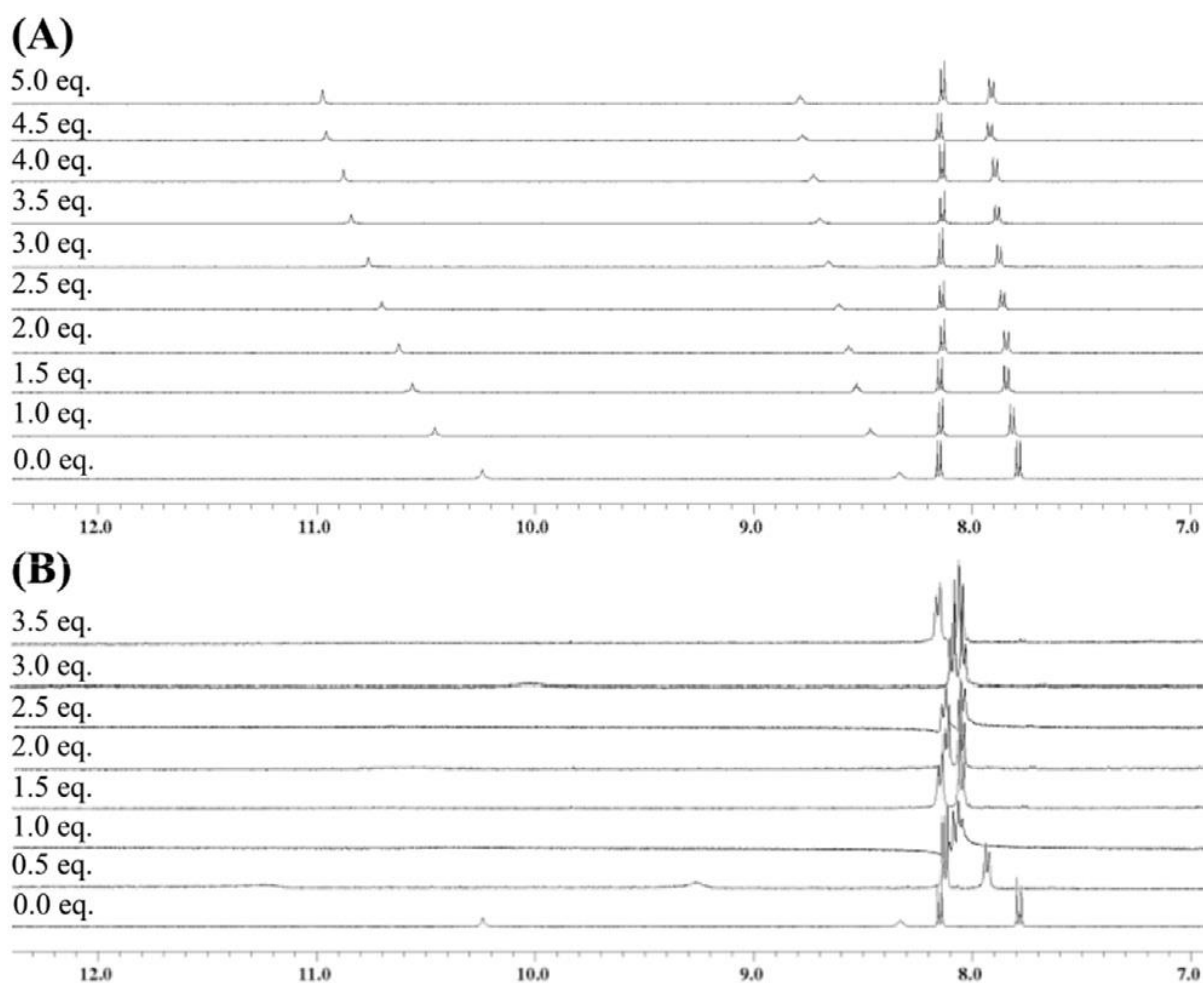
Nedostatak izraženih izobestičkih točaka ukazuje na to da je kiselinsko-bazna neutralizacija složenija od čiste ili potpunog deprotoniranja prikazanog u Jednadžbi 1. U ovom slučaju vjerojatno se odvijaju dvije uzastopne ravnoteže. Kako je prikazano u Jednadžbi 2, neutralni receptor inicijalno tvori vodikovom vezom stabilizirani kompleks s dihidrogenfosfatnim anionom,  $[\text{RH}/\text{H}_2\text{PO}_4^-]$ , pri čemu  $\beta_{11}$  odgovara konstanti vezanja za nastanak 1:1 kompleksa. Nakon dodavanja dviju ekvivalenata iona dolazi do deprotoniranja vodikovom vezom stabiliziranog kompleksa, što dovodi do nastanka deprotoniranog oblika spoja **5**, kao i do formiranja  $[\text{H}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2]$  samo-kompleksa (Jednadžba 3)[6].



Druga ravnoteža ovisi o bazičnosti aniona, kiselosti receptora i stabilnosti samokompleksa, koja raste redoslijedom  $\text{HF}_2^- > \text{H}(\text{CH}_3\text{COO})_2^- > \text{H}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2^-$ . Slični UV-Vis titracijski spektri dobiveni su za spoj **5** s acetatom i fluoridom te je izražena crveno pomaknuta apsorpcijska vrpca[6].

Zbog više ravnoteža, uključujući deprotoniranje, točne konstante vezanja za **5** i anione ne mogu se odrediti HypSpec-om. U UV–Vis eksperimentima, deprotoniranje je primijećena za **5**, ali ne i za tripodalni receptor s dihidrogenfosfatom, vjerojatno zbog veće stabilnosti kompleksa 1 ( $\log \beta_{11} = 1,35$ ;  $\log \beta_{12} = 6,45$ ). Ovime se potvrđuje da ravnoteža iz Jednadžbe 3 ovisi o stabilnosti kompleksa[6].

Interakcije receptora **5** s kloridom, dihidrogenfosfatom i acetatom ispitane su  $^1\text{H}$  NMR titracijama, pri čemu nije uočen utjecaj koncentracije na kemijske pomake, što je potvrđeno i za ostale receptore i njihove referentne spojeve[6].



**Slika 4.**(A)  $^1\text{H}$  NMR titracija za **5** i klorid, (B)  $^1\text{H}$  NMR titracija za **5** i dihidrogenfosfat[6]

**Slika 4.**(A) prikazuje  $^1\text{H}$  NMR titraciju za **5** i klorid, gdje se uz dodatak iona primjećuju široki, odsjenjeniji signali za NH prema zbog formiranja kompleksa putem vodikovih veza. Deprotoniranje nije uočeno, a boja otopine mijenjala se od svijetlo do tamnije žute[6].

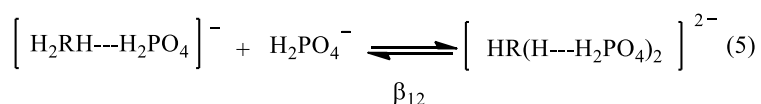
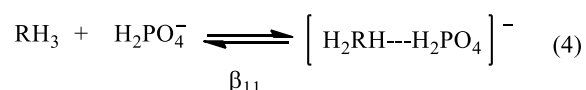
**Slika 4.(B)** prikazuje  $^1\text{H}$  NMR titraciju za **5** i dihidrogenfosfat, gdje nakon dodavanja više od jednog ekvivalenta iona, NH signal više ne integrira za jedan proton, što upućuje na deprotoniranje receptora. Taj signal potpuno nestaje nakon dva ekvivalenta iona. Drugi NH signal ostaje prisutan i nakon tri i pol ekvivalenta iona. Slični rezultati zabilježeni su za titraciju **5** s acetatom, gdje je deprotoniranje primijećeno između vanjskog NH protona i acetatnog iona[6].

Korištenjem podataka dobivenih iz  $^1\text{H}$  NMR titracija receptora **1** i **5** s kloridom, konstante vezanja ( $\log \beta_{11}$ ) za kompleks vodikovih veza određene su i iznosile su 1,4 (0.1) i 1.525 (0,009). Zbog deprotoniranja, konstante vezanja za **5** s dihidrogenfosfatom i acetatom nisu mogle biti točno određene.  $^1\text{H}$  NMR titracije su također pokazale da klorid, kao najmanje bazičan ion, pokazuje slabiju interakciju s vodikovim vezama, što objašnjava niske konstante vezanja i nedostatak kooperativnog vezanja u receptoru **1**[6].

### 3.5. UV-Vis i $^1\text{H}$ NMR spektroskopske titracije spoja **2** i referentnog receptora **6**

Titracije **2** i **6** s dihidrogenfosfatom nisu mogle biti provedene pri ekvimolarnim koncentracijama. Kada je titracija provedena s  $[2] = 5,0 \times 10^{-5}$  M, spektroskopska reakcija je premašila granice detekcije i uzrokovala distorziju spektra. Spoj **2** je osjetljiviji od **6** jer sadrži tri nitrofenilne skupine, dok **6** ima samo jednu[6].

Titracije za **2** i **6** s dihidrogenfosfatom, acetatom i fluoridom dale su slične rezultate kao za **5**, no deprotoniranje je zabilježeno samo u titraciji **6** s fluoridom. Stehiometrija vezanja za **2** i dihidrogenfosfat je 1:2, a procesi se mogu prikazati pomoću Jednadžbi 4 i 5, gdje se formiraju 1:1 i 1:2 kompleksi vodikovih veza[6].



Razlika u koncentraciji također može utjecati na profil titracije, jer je pri višoj koncentraciji **2** s fluoridom zabilježeno deprotoniranje, no distorzija apsorpcijske vrpce na 350 nm nastala je zbog ograničenja detekcije spektrometra[6].



Tablica 3. prikazuje konstante vezanja za **2** i **6** određene pomoću HypSpec i UV-Vis podataka. Za **2** i razne anione,  $\log \beta_{12}$  je uvijek bio veći od  $\log \beta_{11}$ , što sugerira da ručice receptora funkcioniraju neovisno, dok za referentni receptor postoje kooperativni efekti vezanja.

Log  $\beta_{11}$  za **2** i dihidrogenfosfat je manji nego za referentni receptor, vjerojatno zbog nepovoljne početne konformacije receptora koja se mijenja kako bi olakšala vezivanje drugog iona[6].

Tablica 3. Konstante vezanja određene UV-Vis titracijama i HypSpec-om za receptore **2** i **6** [6]

Receptor	Anion	$\log \beta_{11}$	$\log \beta_{12}$	Deprotoniranje <sup>a</sup>
<b>2</b>	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	2,72 (0.05)	6,93 (0.08)	Ne
	CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup>	6,0 (0.2)	9,8 (0.2)	Ne
	F <sup>-</sup>	4,8 (0.2)	9,23 (0.09)	Ne
<b>6</b>	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	3,32 (0.03)		Ne
	CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup>	3,753 (0.009)		Ne
	F <sup>-</sup>	- <sup>b</sup>		Da

<sup>a</sup> Označava pojavljuje li se deprotoniranje pri koncentracijama korištenima za određivanje log  $\beta$  vrijednosti.

<sup>b</sup> Točna vrijednost nije mogla biti određena zbog deprotoniranja.

Veću vrijednost  $\log \beta_{12}$  objašnjava se vezanjem drugog ekvivalenta dihidrogenfosfata što može pojačati interakciju prvog. Veće vrednosti  $\log \beta_{11}$  za **2** i acetat u odnosu na referentni receptor ukazuju na kooperativno vezivanje, dok bolja prilagođenost receptora za acetat objašnjava više konstante vezivanja u usporedbi s dihidrogenfosfatom. Deprotoniranje je prisutno samo kod **6** s fluoridom, vjerojatno zbog manje kiselosti ureinih vodikovih veza u odnosu na tiourine u DMSO[6].

<sup>1</sup>H NMR titracije spojeva **2** i **6** s kloridom i acetatom dale su slične rezultate kao na *slici 4(A)*, pri čemu su promjene s acetatom bile izraženije, ali bez deprotoniranja i nakon dodatka **5** ekvivalenata iona. Titracije s dihidrogenfosfatom bile su slične *slici 4.(B)*, a deprotoniranje je uočeno samo kod spoja **6**[6].

Tripodalni receptor **2** pokazuje kooperativno vezanje s acetatnim ionom, što povećava stabilnost kompleksa. U  $^1\text{H}$  NMR titraciji za spoj **2** s dihidrogenfosfatom nije uočeno deprotoniranje. Konstante vezanja dobivene iz  $^1\text{H}$  NMR titracija manje su od onih iz UV-Vis titracija, što je posljedica različitih eksperimentalnih uvjeta. U  $^1\text{H}$  NMR eksperimentima koncentracije receptora i iona su dva reda veličine veće, što omogućuje pojavu konkurentnih procesa poput oligomerizacije, samoagregacije i samoformiranja kompleksa aniona, čime se smanjuje dostupnost iona za vezanje s receptorima. Za kraj, isključena je mogućnost međumolekularnog vodikovog vezanja, a odstupanja u podacima pripisana su upravo ovim konkurentnim procesima. U *tablici 4.* dane su vrijednosti konstanti vezanja dobivene  $^1\text{H}$  NMR titracijama za **2** i **6**[6].

**Tablica 4.** Konstante vezanja određene  $^1\text{H}$  NMR titracijom za receptore **2** i **6** pomoću HypNMR2008[6]

Receptor	Anion	$\log \beta_{11}$	$\log \beta_{12}$	Deprotoniranje <sup>a</sup>
<b>2</b>	$\text{Cl}^-$	1,42		Ne
	$\text{H}_2\text{PO}_4^-$	<sup>b</sup> ND	<sup>b</sup> ND	Ne
	$\text{CH}_3\text{COO}^-$	4,1 (- <sup>c</sup> )	6,2 (- <sup>c</sup> )	Ne
<b>6</b>	$\text{Cl}^-$	1,37 (0.02)		Ne
	$\text{H}_2\text{PO}_4^-$	- <sup>d</sup>		Da
	$\text{CH}_3\text{COO}^-$	2,96 (0.01)		Ne

<sup>a</sup> Označava pojavljuje li se deprotoniranje pri koncentracijama korištenima za određivanje  $\log \beta$  vrijednosti.

<sup>b</sup> Točna vrijednost nije mogla biti određena.

<sup>c</sup> Određena vrijednost standardne devijacije bila je prevelika.

<sup>d</sup> Točna vrijednost nije mogla biti određena zbog pojave deprotoniranja.

### 3.6. UV-Vis i $^1\text{H}$ NMR spektroskopske titracije spoja **3** i referentnog receptora **7**

U odsutnosti iona kod **3** i **7** javljaju se dvije apsorpcijske vrpce, prva pri 291 nm ( $\epsilon = 47300 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) i druga pri 298 nm ( $\epsilon = 16820 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), što se pripisuju elektronskom prijelazu  $\pi \rightarrow \pi^*$ . Nadalje, dodatkom aniona intenzitet vrpce raste. Druga

apsorpcijska vrpca javlja se na 359 nm ( $\epsilon = 61800 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) i 372 nm ( $\epsilon = 17340 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) što ukazuje na unutarnji prijenos naboja. Nakon dodatka aniona intenzitet te vrpce se smanjuje i ona ima batokromni pomak. Nova apsorpcijska vrpca javlja se pri 480 nm, u svim slučajevima, s dodatkom više ekvivalenta iona. Tijekom UV-Vis titracija nijedan tripodalni receptor nije bio dovoljno kisel da bi deprotonirao dihidrogenfosfat. Promjena uree u tioureu, dodavanjem unutarnjih fenilnih skupina, povećava kiselost, omogućujući deprotoniranje slabijom bazom[6].

Konstante vezanja ( $\log \beta_{11}$ ) određene su pomoću HypNMR2008 i iznose 1,64 (0,01) za **3** te 1,6 (0,1) za referentni receptor i klorid, vrijednosti ukazujuju na odsutnost kooperativnog vezanja.  $^1\text{H}$  NMR titracije s **3** i **7**, dihidrogenfosfatom i acetatom nisu bile moguće. Nakon dodavanja više od jednog ekvivalenta iona, NH signali nestaju, vjerojatno zbog deprotoniranja[6].

### 3.7. UV-Vis i $^1\text{H}$ NMR spektroskopske titracije spoja **4** i referentnog receptora **8**

Nakon titracije s dihidrogenfosfatom i acetatnim ionom uočeno je da se **4** i **8** ponašaju slično kao **3** i **7**. Javlja se apsorpcijska vrpca pri 355 nm smanjenog intenziteta i s batokromnim pomakom. Deprotoniranje je uočeno kod titracije s fluoridom, vrlo slično kao i kod **3** i **7**. Zaključeno je da dodatkom fenilne skupine u unutrašnjost molekule se ne povećava se kiselost ureinih protona što bi potaknulo deprotoniranje dihidrogenfosfata i acetata[6].

U tablici 5. prikazane su konstante vezanja.

**Tablica 5.** Konstante vezanja određene UV-Vis titracijama i HypSpec-om za receptore **4** i **8** [6]

Receptor	Anion	$\log \beta_{11}$	$\log \beta_{12}$	Deprotoniranje <sup>a</sup>
<b>4</b>	$\text{H}_2\text{PO}_4^-$	5,6 (0.1)	10,08 (0.08)	Ne
	$\text{CH}_3\text{COO}^-$	3,892 (0.009)		Ne
	$\text{F}^-$	- <sup>b</sup>		Da
<b>8</b>	$\text{H}_2\text{PO}_4^-$	4,016 (0.003)		Ne
	$\text{CH}_3\text{COO}^-$	4,049 (0.004)		Ne
	$\text{F}^-$	- <sup>b</sup>		Da

<sup>a</sup> Označava pojavljuje li se deprotoniranje pri koncentracijama korištenima za određivanje log  $\beta$  vrijednosti.

<sup>b</sup> Točna vrijednost nije mogla biti određena zbog deprotoniranja.

Koordinacijsko vezanje pojavljuje se između **4** i dihidrogenfosfata. Kada promatramo vrijednosti konstanti vezanja za **4** i **8** vidimo da su razlike minimalne što ukazuje na to da do vezanja dolazi na samo jednoj ručici. Dodatkom fenilnih prstena, povećava se rigidnost tripodalnih preorganiziranih receptora, što uzrokuje da vezna mjesta vodikove veze budu fiksna, odnosno manje fleksibilna, što smanjuje kooperativno vezanje iona[6].

<sup>1</sup>H NMR spektar titracija za **4** i **8** vrlo je sličan za klorid i acetat kao i *slici 4.(A)*. Nema deprotoniranja za klorid i acetat, dok je spektar za dihidrogenfosfat vrlo sličan *slici 4.(B)*.

U *tablici 6.* prikazane su konstante vezanja za **4** i **8** određene <sup>1</sup>H NMR titracijom.

**Tablica 6.** Konstante vezanja određene korištenjem <sup>1</sup>H NMR titracija za receptore **4** i **8** pomoću HypNMR2008[6]

Receptor	Anion	log $\beta_{11}$	log $\beta_{12}$	Deprotoniranje <sup>a</sup>
<b>4</b>	Cl <sup>-</sup>	1,615 (0.009)		Ne
	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	- <sup>b</sup>	- <sup>b</sup>	Da
	CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup>	1,75 (0.06)		Ne
<b>8</b>	Cl <sup>-</sup>	1,869 (0.005)		Ne
	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	- <sup>b</sup>		Da
	CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup>	3,46 (0.07)		Ne

<sup>a</sup> Označava pojavljuje li se deprotoniranje pri koncentracijama korištenima za određivanje log  $\beta$  vrijednosti.

<sup>b</sup> Točna vrijednost nije mogla biti određena zbog deprotoniranja.

Analizom je utvrđeno da ne dolazi do kooperativnog vezanja kod tripodalnih preorganiziranih receptora. Deprotoniranje **4** i **8** dihidrogenfosfatom je uočeno NMR titracijama, a ne UV-Vis titracijama, vjerojatno zbog većih koncentracija. Što je koncentracija viša, veća je vjerojatnost da će doći do deprotoniranja receptora čime se sprječava mogućnost vezanja iona[6].

## § 4. ZAKLJUČAK

Uspješno su sintetizirana tri kolorimetrijska tripodalna anionska receptora, unaprijed određene geometrije, čija se struktura temelji na urei/tiourei. Spojevi su dobiveni tiol-Michaelovom klik reakcijom. Svi referentni receptori i receptori pokazuju promjenu boje. Promjena je jače izražena za kiselijske anionske receptore i referentne receptore. U UV-Vis i  $^1\text{H}$  NMR titracijama deprotoniranjem primijećena je promjena boje od svjetlo do tamno narančaste. Receptori ne daju kolorimetrijski odgovor s kloridom. Tripodalni receptori koji imaju više mjesta za vodikove veze, imaju mogućnost vezati više aniona. Receptori koji vežu ione kooperativno pokazuju veće konstante vezanja u usporedbi s njihovim referentnim spojevima. Tijekom UV-vis i  $^1\text{H}$  NMR spektroskopskih titracija, veća učestalost deprotoniranja uočena je kod kiselijih derivata tiouree u odnosu na njihove derivate uree. Brojni faktori, poput koncentracije, fleksibilnosti receptora, stabilnosti kompleksa povezanog vodikovim vezama, formiranja/stabilnosti samoformiranog kompleksa i deprotoniranja, mogu utjecati na veličinu konstanti vezanja i pojavu kooperativnog vezanja.

## § 5. LITERATURNI IZVORI

1. Öztürk, G., Çolak, M., Toğrul, M., Amide-based tripodal receptors for selective anion recognition, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* (2010) 68 (1-2), 49-54.
2. Jennings, A.R., Son, D. Y. , Efficient synthesis and anion recognition of a colorimetric preorganized tripodal thiourea compound, *Tetrahedron Letters* (2012) 53(17), 2181-2184.
3. Nuriman Kuswandi, B., Verboom, W., Reinhoudt, D. N., Tripodal Receptors for Cation and Anion Sensors, *Sensors* (2006) 6, 978-1017.
4. Schmidtchen, F.P., Reflections on the construction of anion receptors, *Coordination Chemistry Reviews* (2006) 250(23-24), 2918-2928.
5. Goto, K., The Concept of Preorganization, *Comprehensive Supramolecular Chemistry II* (2017) 61-71.
6. Jennings, A.R., Son, D. Y., Synthesis and anion recognition of three new preorganized colorimetric urea/thiourea compounds and their corresponding reference receptors, *Tetrahedron* (2015) 71(23), 3990-3999.
7. Sasaki, S., Citterio, D., Ozawa, S., Suzuki, K., Design and synthesis of preorganized tripodal fluororeceptors based on hydrogen bonding of thiourea groups for optical phosphate ion sensing, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* (2001) 12, 2309-2313.
8. Wenzel, M., Steup, J., Ohto, K., Weigand, J. J., Recent Advances in Guanidinium Salt Based Receptors and Functionalized Materials for the Recognition of Anions, *Chemistry Letters* (2022) 51(1), 20-29.
9. Metzger, A. and E.V. Anslyn, A Chemosensor for Citrate in Beverages. *Angewandte Chemie International Edition* (1998) 37(5), 649-652.
10. Arunachalam, M.a.G.P., A Versatile Tripodal Amide Receptor for the Encapsulation of Anions or Hydrated Anions via Formation of Dimeric Capsules, *Inorganic Chemistry* (2010) 49(3), 943-951.
11. Singh, A.S., Sun, S. S., *Recognition, encapsulation, and selective fluorescence sensing of nitrate anion by neutral C3-symmetric tripodal podands bearing amide functionality*, *The Journal of Organic Chemistry* (2012) 77(4), 1880-90.
12. Duke, R.M., et al., Recognition and sensing of biologically relevant anions in alcohol and mixed alcohol-aqueous solutions using charge neutral cleft-like glycol-derived pyridyl-amidothiourea receptors, *The Journal of Organic Chemistry* (2012) 77(7), 3115-26.
13. Kayal, S., U. Manna, and G. Das, Fixation of atmospheric CO<sub>2</sub> and recognition of anions/hydrated anions: Differential binding mode in protonated vs. neutral tripodal urea/thiourea receptors, *Inorganica Chimica Acta* (2019) 486, 576-581.
14. Canary, J.W., et. al., Enthalpic Control of Zinc-Water Acidity in Complexes of Tris(2-aminoethyl)amine and Tris(2-(dimethylamino)ethyl)amine, *Journal of the American Chemical Society* (1999). 117 11545-11547.
15. De Santis, G., Fabbrizzi L. , Molecular Recognition of Carboxylate Ions Based on the Metal-Ligand Interaction and Signaled through Fluorescence Quenching, *Angewandte Chemie International Edition* (1996) 35(2) 202-204.
16. Yang, Z., Chloride salt of oligourea ligand: Synthesis, crystal structure, thermal analyses, and chloride anion binding properties, *Inorganic Chemistry Communications* (2023) 151.
17. Lopéz-Martínez, L.M., García-Elías, J., Ochoa-Terán, A., Synthesis, characterization and anion recognition studies of new fluorescent alkyl bis(naphthylureylbenzamide)-based receptors, *Tetrahedron* (2020) 76(2).
18. Kusakawa, T., Synthesis of an anthracene-based diguanidine and its recognition of carboxylic acids and phosphonic acid, *Tetrahedron* (2020) 76(14).

19. Nair, D.P., et al., The Thiol-Michael Addition Click Reaction: A Powerful and Widely Used Tool in Materials Chemistry, *Chemistry of Materials* (2013) 26(1) 724-744.
20. Moragues, M.E., Santos-Figueroa, L. E., Ábalos, T., Sancenón, F., Martínez-Máñez, R., Synthesis of a new tripodal chemosensor based on 2,4,6-triethyl-1,3,5-trimethylbenzene scaffolding bearing thiourea and fluorescein for the chromo-fluorogenic detection of anions, *Tetrahedron Letters* (2012) 53(38) 5110-5113.
21. Sahoo, S.K., Kim, G., Choi, H., Optical sensing of anions using C<sub>3v</sub>-symmetric tripodal receptors, *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* (2016) 27, 30-53.