Novi donorsko-akceptorski konjugati s triazolnom poveznicom kao potencijalne pH probe i kemijski senzori za metalne ione

Vitek, Mario

Master's thesis / Diplomski rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:291342

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Mario Vitek

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2016.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Mario Vitek

Novi donorsko-akceptorski konjugati s triazolnom poveznicom kao potencijalne pH probe i kemijski senzori za metalne ione

DIPLOMSKI RAD

Voditelj rada: doc. dr. sc Svjetlana Krištafor

Članovi ispitnog povjerenstva: doc. dr. sc. Svjetlana Krištafor
v. pred. dr. sc. Lidija Furač
izv. prof. dr. sc. Marijana Hranjec

Zagreb, rujan 2016.

Zahvaljujem mentorici doc. dr. sc. Svjetlani Krištafor, na predloženoj temi i pomoći pri izradi ovog rada. Posebno zahvaljujem asistentici Kristini Bobanović, mag.appl.chem., na strpljenu i susretljivosti, te brojnim korisnim savjetima koji su uvelike olakšali izradu ovog rada. Zahvaljujem svim članovima Zavoda za opću i anorgansku kemiju, Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije, na ugodnom radnom okruženju.

Veliko hvala mojima kolegama, prijateljima i obitelji zbog podrške, razumijevanja i strpljenja tijekom studija.

SAŽETAK

Cilj ovog rada je sinteza i optička karakterizacija novih elektron donorsko-akceptorskih 1,3- i 1,4-bis(kumarin-triazolil) derivata benzena kao potencijalnih pH probi i senzora za metalne ione. Spojevi **3** i **4** uspješno su sintetizirani reakcijama klasične organske sinteze i *click* reakcijom alkina i azida. Strukture svih priređenih spojeva potvrđene su ^{1}H-NMR spektroskopijom.

Ciljani spojevi su okarakterizirani UV-vidljivom apsorpcijskom i fluorescencijskom spektrofotometrijom. Spektroskopska svojstva spojeva ispitana su u otopinama univerzalnog pufera i etanolu u rasponu vrijednosti pH od 1 do 13. Ispitan je utjecaj otapala različitih parametara polarnosti na spektralna svojstva novopripravljenih spojeva, kao i ovisnost intenziteta fluorescencije spojeva **3** i **4** u otopini etanola o različitim ionima metala u svrhu primjene ciljanih spojeva kao potencijalnih senzora za metale.

Radi promjene spektrofotometrijskih svojstava u prisutnosti iona željeza i bakra spojevi **3** i **4** imaju potencijalnu senzorsku primjenu.

Ključne riječi:

optički senzori, UV-vidljiva spektrofotometrija, fluorescencija, *click* kemija, 1,2,3-triazol, 7-amino-4-metil-2*H*-kromen-2-on

SUMMARY

Aim of this work was synthesis and optical characterization of novel electron donor-acceptor bis(coumarin-triazolyl)benzene derivatives featuring coumarin and 1,2,3-triazole moiety in pH and metal ion sensing. Compounds **3** and **4** were successfully synthesized by combination of classical synthetic approach and *click* reaction. The structures of novel synthesized compounds were determined by means of ^{1}H-NMR spectroscopy.

The target compounds were characterized by UV-Visible absorption and fluorescence spectrophotometry in the universal buffer and ethanolic solutions in the pH range 1 to 13. The concentration of the tested compound was 1×10^{-5} M for all measurements. The effect of solvent polarity was also studied. The influence of various metal ions on the fluorescence spectra was examined in ethanol solutions.

The presence of metal ions caused changes in spectra of compounds **3** and **4** making them interesting for further studying in metal ion sensing.

Keywords:

Optical sensors, UV-Visible and fluorescence spectrophotometry, click chemistry, 1,2,3-triazole, 7-amino-4-methyl-2*H*-chromen-2-one

SADRŽAJ

1. UVOD 1

2. OPĆI DIO 3

2.1. Kemijski senzori 4

2.1.1. Optički kemijski senzori 4

2.2. Spektroskopske metode za ispitivanje optičkih kemijskih senzora 5

2.2.1. UV/Vis apsorpcijska spektrofotometrija 5

2.2.2. Fluorescencijska spektrofotometrija 7

2.2.3. Mehanizmi stvaranja i prijenosa signala u fluorescentnim senzorskim molekulama 8

2.2.3.1. Fotoinducirani prijenos elektrona (PET) 9

2.2.3.2. Intramolekulski prijenos naboja (ICT) 10

2.3. *Click* kemija 11

2.3.1. 1,3-dipolarna Huisgenova cikloadicija 12

2.3.2. Cu(I) katalizirana 1,3-dipolarna Huisgenova cikloadicija (CuAAC) 13

2.3.3. Triazoli 15

2.3.4. π-konjugirani sustavi s triazolnom poveznicom 16

2.4. Kumarin i njegovi derivati kao kemijski senzori 17

2.4.1. Derivati kumarina kao fluorescentni senzori za određivanje metalnih iona 18

2.4.2. Derivati kumarina kao fluorescentni senzori za određivanje pH 21

3. EKSPERIMENTALNI DIO 22

3.1. Opće napomene 23

3.2. Materijali 23

3.3. Instrumenti 24

3.4. Sinteza spojeva 25

3.4.1. Priprava 7-azido-4-metil-2*H*-kromen-2-ona **(2)** 25

3.4.2. Opći postupak priprave *click* derivata **3** i **4** 26

3.4.2.1. Priprava 7,7'-(4,4'-(1,3-fenilen)bis(1*H*-1,2,3-triazol-4,1-diil)bis(4-metil-2*H*-kromen-2-ona) **(3)** 26

3.4.2.2. Priprava 7,7'-(4,4'-(1,4-fenilen)bis(1*H*-1,2,3-triazol-4,1-diil)bis(4-metil-2*H*-kromen-2-ona) **(4)** 26

3.5. Priprava otopina 27
3.6. Mjerenja 28
3.6.1. Utjecaj promjene vrijednosti pH 28
3.6.2. Utjecaj otapala 28
3.6.3. Otopine različitih metalnih iona 29
4. REZULTATI I RASPRAVA 30
4.1. Sinteza spojeva 31
4.2. Analiza ^{1}H NMR spektara 32
4.3. Spektrofotometrijska karakterizacija ispitivanih spojeva u otopini 36
4.3.1. Fotofizička karakterizacija ispitivanih spojeva 36
4.3.2. Utjecaj promjene pH vrijednosti 39
4.3.3. Otopine različitih metalnih iona 43
5. ZAKLJUČAK 49
6. POPIS SIMBOLA 51
7. LITERATURA 53
8. ŽIVOTOPIS 57

1. UVOD

Senzor se općenito može definirati kao uređaj koji prima signal i odgovara na podražaj. Prema IUPAC-u kemijski senzor je uređaj koji kemijsku informaciju pretvara u koristan analitički signal.[1] Uz pomoć kemijskih senzora moguće je detektirati niz kemijskih vrsta što je od ogromne važnosti u kemiji, biologiji, agronomiji, medicini i zdravstvu.

Metalni kationi se prirodno nalaze u okolišu, uključeni su u mnoge biološki važne procese i tako neophodni za normalno funkcioniranje organizama. Međutim, njihova neuravnoteženost u ljudskom organizmu povezuje se s raznim bolestima i poremećajima, a osim toga, izloženost i vrlo malim količinama teških metala, kao što su ioni olova, kadmija ili žive, povezana je s kardiovaskularnim, reproduktivnim i neurološkim poremećajima. Iz tih razloga postavljeni su strogi zakoni za minimalne količine pojedinih kemijskih vrsta u hrani i okolišu i povećana je potreba za osjetljivim, jednostavnim i brzim metodama određivanja metalnih iona. Osim određivanja metala, u području biologije i medicine velika je potražnja za pH senzorima. Najčešće korišteni pH senzori su elektrokemijski uređaji (staklene elektrode), ali je njihova upotreba ograničena za mjerenje intracelularno. Optički kemijski senzori pokazali su se kao obećavajući uređaji za određivanje metalnih iona i pH zbog veće selektivnosti, osjetljivosti i jednostavnosti u usporedbi s klasičnim metodama detekcije kemijskih vrsta.[30]

Click kemija jedan je od najzapaženijih sintetičkih trendova koja se temelji na nizu efikasnih reakcija koje brzo tvore molekule spajanjem malih jedinica u jednu cjelinu. Reakcije koje zadovoljavaju koncept *click* kemije moraju biti termodinamički vrlo povoljne, odnosno egzotermne. U ovom radu su primjenom *click* kemije dobiveni konjugati koji u svojoj strukturi imaju triazol koji može poslužiti kao ligand za koordinaciju metalnih iona te može stvarati vodikove veze, a prisustvo dvostrukih veza (π-elektroni) u peteročlanom prstenu omogućuje apsorpciju svjetlosti koja uzrokuje pobudu elektrona.[11,12]

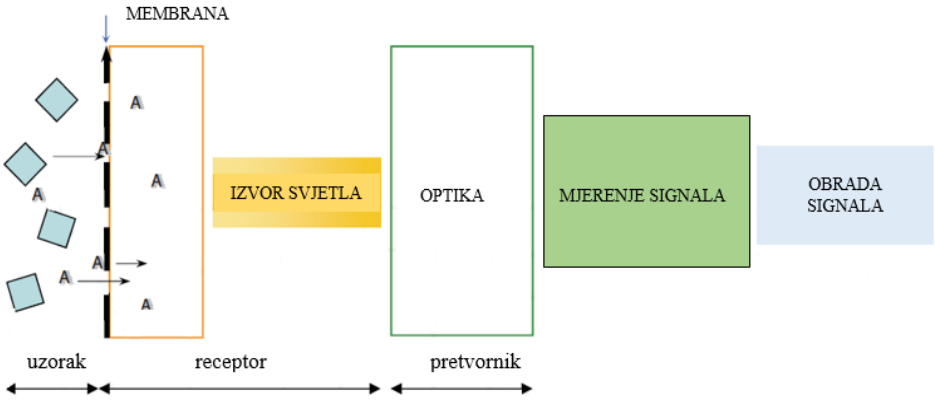
2. OPĆI DIO

2.1. Kemijski senzori

Općenito, senzor se može definirati kao uređaj koji mjeri fizikalnu veličinu i pretvara ju u signal pogodan za daljnu obradu (najčešće u električni signal). Prema IUPAC-u kemijski senzor je naprava koja kemijsku informaciju (od koncentracije specifične kemijske vrste u uzorku ili do ukupnog sastava uzorka) pretvara u koristan analitički signal. Svi kemijski senzori u sebi sadrže prepoznavajući dio ili receptor, osjetljiv na određenu kemijsku vrstu, i pretvornik signala (transformator), koji ima ulogu preoblikovanja signala u mjerljivi signal za instrument.[1]

2.1.1. Optički kemijski senzori

Optički senzori predstavljaju skupinu kemijskih senzora kod kojih se analitički signal u pretvorniku pobuđuje elektromagnetskim zračenjem. Interakcija zračenja sa uzorkom rezultira promjenom određenih optičkih parametara ovisnih o koncentraciji ispitivanog analita. Mogu se temeljiti na različitim optičkim pojavama (apsorpciji, refleksiji, polarizaciji svjetlosti, luminiscenciji), pokrivajući različita područja elektromagnetskog spektra (UV, vidljivi, infracrveni) te na mjerenju optičkih svojstava kao što su intenzitet svjetlosti, indeks refrakcije, difrakcije ili raspršenja.[24]



Slika 1. Shematski prikaz aparature optičkog kemijskog senzora[2]

U odnosu na konvencionalne električne senzore, optičke senzore moguće je dizajnirati za različite primjene, mogu se izvesti bez žica i baterija, malih su dimenzija, jednostavni su za

rukovanje, mogu se upotrebljavati više puta zbog njihove reverzibilnosti, cijene su im male, a njihova proizvodnja zahtijeva jeftinu opremu.[23] Optički senzori imaju brojne prednosti poput osjetljivosti, selektivnosti i otpornosti na elektromagnetske smetnje, sigurniji su za rad s zapaljivim i eksplozivnim spojevima te je moguće obaviti više različitih analiza s istim mjernim instrumentom.[25] Međutim, optički senzori imaju i određene nedostatke. Na njihov rad i izvedbu uređaja može utjecati ambijentalno svjetlo, optički senzori su ograničene stabilnosti zbog ispiranja i izbjeljivanja indikatora, mogu biti slabo selektivni, a također, poželjan je dobar prijenos mase analita kako bi se dobio koristan analiltički signal.[26]

2.2. Spektroskopske metode za ispitivanje optičkih kemijskih senzora

Najčešće primjenjivanje metode optičke detekcije su one temeljene na apsorpciji i emisiji svjetlosti. Emisijska metoda vrlo je važna zbog svoje izuzetne osjetljivosti i dobre specifičnosti, jednostavne i jeftine aparature za mjerenje.[2]

2.2.1. UV/Vis apsorpcijska spektrofotometrija

Apsorpcijom ultraljubičastog (UV) i vidljivog (Vis) elektromagnetskog zračenja dobiva se energija potrebna za pobuđivanje π-elektrona i neveznih elektrona, što se najčešće događa u konjugiranim molekulama. Takve promjene u organskim molekulama uzrokovane su uslijed ozračivanja UV zračenjem valne duljine od 200 do 400 nm, odnosno vidljivim svjetlom do 800 nm. Apsorpcija zračenja niže energije uzrokuje vibraciju i rotaciju molekula, što se mjeri infracrvenom spektrofotometrijom te se na ovaj način zbog njihove karakteristične apsorpcije mogu identificirati funkcionalne skupine. Zbog toga je apsorpcijska spektrofotometrija ograničena na usko područje određenih valnih duljina.[3]

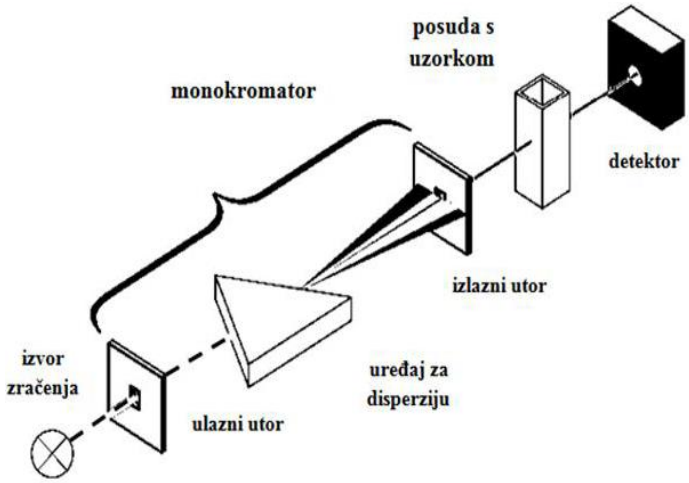
Što je veći broj i efikasnost molekula sposobnih za apsorpciju svjetlosti zadane valne duljine, to je veća apsorpcija svjetlosti. Intenzitet apsorpcije izražava se preko Lambert-Beer-ova zakona koji omogućuje kvantitativno određivanje koncentracije nekog uzorka:

$$A = \varepsilon \times c \times l \tag{1}$$

gdje je A apsorbancija, ε je molarni apsorpcijski koeficijent, c je molarna koncentracija uzorka, a l je put koji svjetlost prelazi kroz posudu s uzorkom.[4]

Slika 2. Apsorpcija svjetlosti u uzorku

Omjer zrake koja je prošla kroz kivetu s uzorkom, I i referentne zrake, I_0, može se prikazati kao transmitacija $T = I/I_0$ ili kao apsorbancija $A = I_0/I$. Apsorpcija zračenja proporcionalna je molarnoj koncentraciji spoja u kiveti. Uređaj za mjerenje intenziteta apsorpcije naziva se spektrofotometar i mjeri apsorbanciju uzorka kao funkciju valne duljine elektromagnetskog zračenja. Sastoji se od izvora koji emitira zračenje, monokromatora koji vrši selekciju zračenja, posude s uzorkom, te detektora za mjerenje intenziteta zračenja.[3]

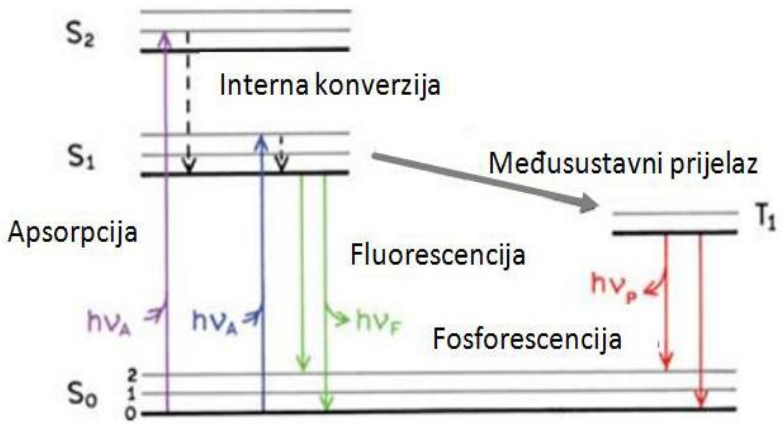


Slika 3. Shema spektrofotometra[5]

2.2.2. Fluorescencijska spektrofotometrija

Fluorescencija je dio općenitijeg fenomena, luminiscencije. Dijelimo ju prema prirodi pobuđenog stanja na fluorescenciju, emisiju iz singletnog pobuđenog stanja i fosforescenciju, emisiju iz tripletnog pobuđenog stanja.[6]

Fluorescencija je fenomen kada molekula ili materijal (fluorofor), nakon pobude elektrona procesom apsorpcije svjetlosti, emitira kvant energije svjetlosti. Nakon pobude, molekula se još neko vrijeme nalazi u pobuđenom stanju te se može uočiti fluorescentna emisija niže energije (dulje valne duljine) od pobude. Vrijeme života fluorescencije ovisi o fluoroforu i njegovim interakcijama s okolinom.[7] Fluorescencijski spektralni podaci prikazuju se u obliku emisijskih spektara koji pokazuju ovisnost intenziteta fluorescencije o valnoj duljini. Procesi koji se odvijaju između apsorpcije i emisije svjetlosti mogu se prikazati Jablonski dijagramom.

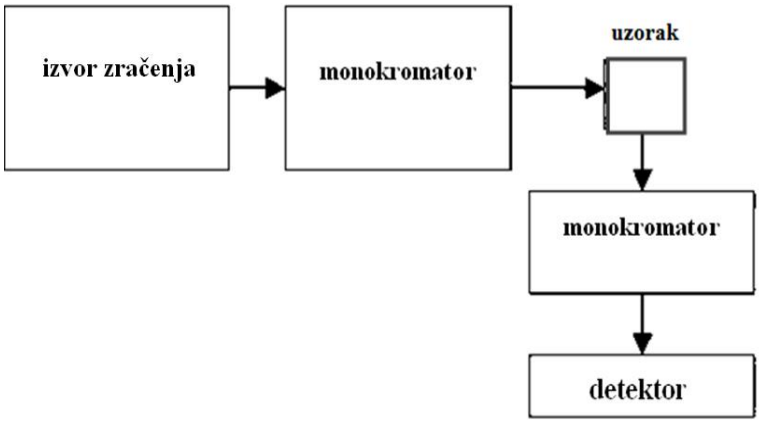


Slika 4. Dijagram Jablonskog

Iz dijagrama Jablonskog vidljivi su svi načini na koje se energija može dispergirati iz pobuđenog u osnovno stanje. Naime, molekula apsorbira svjetlost iz najnižeg vibracijskog stanja u osnovnom stanju (S_0) i prelazi u niz vibracijskih nivoa u singletnom pobuđenom stanju (S_1). Ovaj proces se odvija veoma brzo (10^{-15} s) što znači da ne dolazi do premještanja jezgre (Franck-Condonovo pravilo). Može doći do stvaranja viših energetskih nivoa (S_n, n>1), no to često nije slučaj. Iz dijagrama je vidljivo da se fluorescencija javlja na većim valnim duljinama od apsorpcije kao posljedica gubitka vibracijske energije u pobuđenom stanju procesom interne

konverzije. Razlika između valne duljine maksimuma emisije i maksimuma apsorpcije naziva se Stokesov pomak. Veći Stokesov pomak omogućuje bolju kvalitetu podataka i jasniji emisijski spektar što olakšava analizu.[8]

Prednost fluorescencijskih u odnosu na apsorpcijske senzore je njihova veća selektivnost, osjetljivost i veći broj mogućih mjernih tehnika kao što su mjerenje vremena života fluorescencije, transfera energije ili polarizacije. Uređaj koji se koristi za analizu fluorescencijskom spektroskopijom naziva se fluorimetar i sastoji se od izvora pobude, ćelije za uzorak i detektora fluorescencije.[7]



Slika 5. Shema fluorimetra[6]

Nakon pobude zračenje fluorescencije emitira se u svim smjerovima, stoga je potreban monokromator koji vrši selekciju valnih duljina koje propušta kroz uzorak, a detektor prikuplja informacije o emisiji.[5]

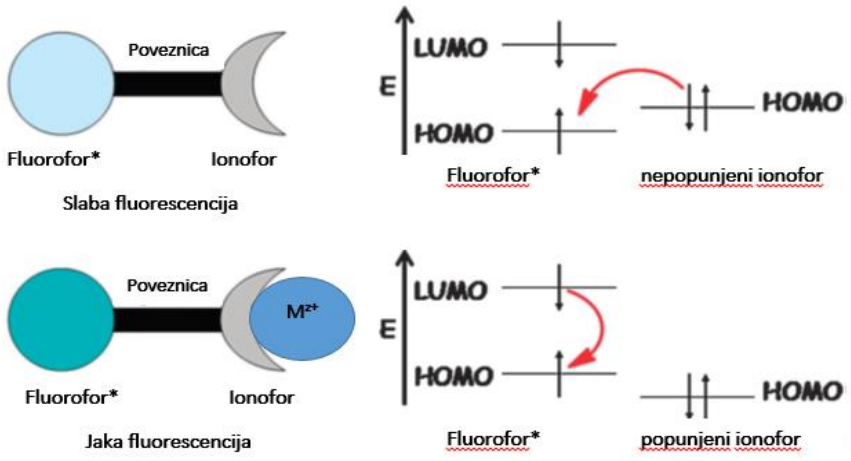
2.2.3. Mehanizmi stvaranja i prijenosa signala u fluorescentnim senzorskim molekulama

Za dizajn fluorescentnih proba, vrlo bitne su intramolekulske interakcije između prepoznavajuće vrste, receptora i signalizirajuće vrste, fluorofora i prilikom dizajna molekula senzora treba posvetiti pažnju mehanizmima stvaranja i prijenosa signala u molekuli za njeno senzorsko djelovanje. Mehanizmi koji omogućuju stvaranje i prijenos fluorescentnih signala

senzorskih molekula su fotoinducirani prijenos elektrona (PET), intramolekulski prijenos naboja (ICT), prijenos Försterove rezonancijeske energije (FRET), intramolekularni prijenos protona u pobuđenom stanju (ESIPT) te prijenos signala putem konformacijskih promjena. Međutim, najveći broj senzora ima PET ili ICT mehanizam.

2.2.3.1. Fotoinducirani prijenos elektrona (PET)

PET je najčešće korišten mehanizam za dizajn fluorescentnih senzora. Klasični PET senzori za metalne ione sastavljeni su od tri komponente: fluorofora, premosnice i ionofora. Ionofori su uglavnom elektron donori (npr. amino skupina), dok su fluorofori elektron akceptori.



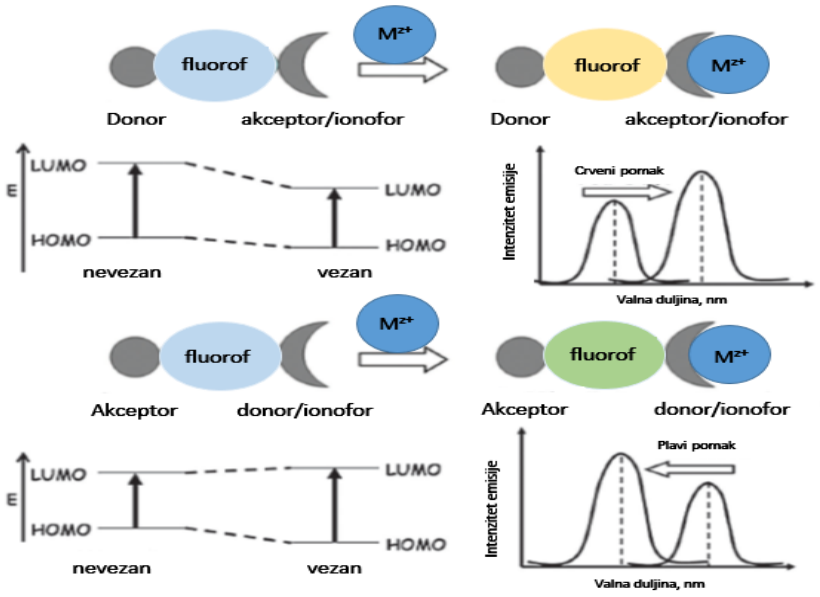
Slika 6. Shematski prikaz PET mehanizma[9]

U PET senzoru, pobudom fluorofora, elektron prelazi iz njegove najviše popunjene molekulske orbitale (HOMO) u najnižu nepopunjenu molekulsku orbitalu (LUMO). Na taj način se omogućuje fotoinducirani prijenos elektrona iz HOMO orbitale ionofora (u fluorescentnim metalnim senzorima, najčešće slobodni elektronski par koordinirajućeg atoma, primjerice N, O, S, P) na slobodno mjesto u HOMO orbitalu fluorofora i dovodi do gašenja fluorescencije (OFF stanje) jer je onemogućen povratak pobuđenog elektrona iz LUMO orbitale na svoje mjesto u osnovnom stanju uz emisiju svjetlosti (**slika 6**). Ukoliko se na ionofor veže kation, njegov pozitivan naboj privlači elektronski par ionofora i smanjuje energiju HOMO orbitale. Energija HOMO orbitale donora postaje niža od one fluorofora pa je onemogućen fotoinducirani prijenos

elektrona. Na taj način dolazi do vraćanja pobuđenog elektrona iz LUMO u HOMO orbitalu fluorofora uz oslobađanje energije što uzrokuje jaku emisiju svjetlosti fluorofora (ON stanje).[9] PET proces ovisi o polarnosti otapala koja utječe na oksidacijski potencijal slobodnog elektronskog para. Veća polarnost otapala čini prijenos elektrona lakšim, a kao posljedica toga, gašenje fluorescencije se brže javlja u polarnijem okolišu. Fluorescencija PET tipa ne uzrokuje nikakve spektroskopske pomake emisijske vrpce uslijed kompleksiranja s metalnim ionima.

2.2.3.2. Intramolekularni prijenos naboja (ICT)

Fotoinducirani prijenos naboja (*photoinduced charge transfer*, PCT, ili *internal charge transfer*, ICT) uključuje prijenos elektrona između konjugiranih elektron-donorskih (D) i elektron-akceptorskih (A) funkcionalnih grupa promovirajući fluorescenciju. Proces se može odvijati unutar istog elektronskog sustava ili između dva sustava s visokom elektronskom konjugacijom. Do ICT dolazi kad molekula indikatora ima elektron-donorsku i elektron-akceptorsku grupu, koje su na suprotnim stranama molekule te dolazi do polarizacije. U pobuđenom stanju, polarizacija se pojačava te nastali dipolni moment međudjeluje s dipolima iz medija i uzrokuje velike Stokesove pomake. Elektronska stanja nastala reakcijom nisu razdvojenog naboja već dolazi do polarizacije naboja u stanjima.[10] PCT senzori pokazuju veliki Stokesov pomak i pomake emisijske vrpce uzrokovane vezanjem metalnog iona. Koordiniranjem metala na donor ICT fluorofora može povećati HOMO energiju i inducirati hipsokromni (crveni) pomak ekscitacijskog ili emisijskog maksimuma, a ako se metal veže na akceptorski dio PCT molekule, dolazi do batokromnog (plavog) pomaka maksimuma na spektru (**Slika 7**). Ovakav mehanizam rada senzora je poželjan za dizajn raciometričkih proba za određivanje metalnih iona u živim stanicama i tkivima.[9]

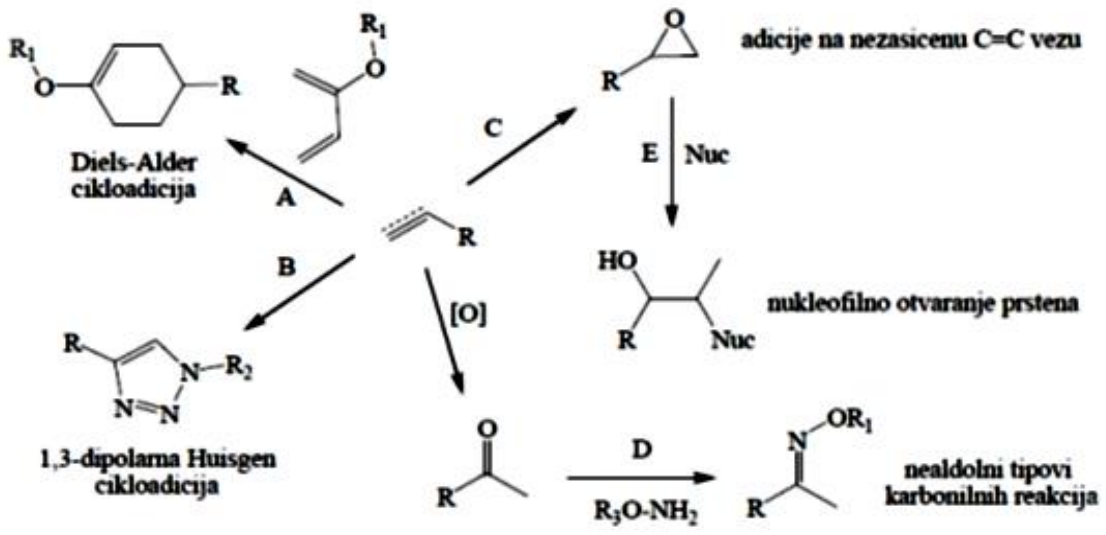


Slika 7. Shematski prikaz mehanizma ICT fluorescentnog senzora za metalne ione[9]

2.3. *Click* kemija

Click kemija podrazumijeva brojne kemijske transformacije koje karakterizira jednostavnost, efikasnost i selektivnost što su tri glavna kriterija idealne sinteze. Pojam "click" kemije uveo je Sharpless i njegovi suradnici 2001. godine, a s time je i predstavljen skup zahtjeva koje reakcija mora ispuniti da bi je mogli klasificirati kao tzv. "click" reakciju. *Click* reakcije karakterizira jednostavna izvedba, blagi reakcijski uvjeti (atmosferski tlak i sobna temperatura), stereoselektivnost, visoki stupanj iskorištenja, lako dostupni reagensi. Ekološki su prihvatljive jer se odvijaju bez otapala ili uz malu količinu otapala, a nastali produkt je lako izolirati.[11]

Ispunjavanje uvjeta *click* kemije nije jednostavno, a reakcije koje ih zadovoljavaju su: reakcija nukleofilnog otvaranja prstena između epoksida i aziridina, nealdolni tipovi karbonilnih reakcija, formiranje hidrazona i heterocikla, adicija na nezasićene C–C veze, oksidativno formiranje epoksida, Michaelove adicije i Huisgenova 1,3-cikloadicija, prikazane na **slici 8**.[12]

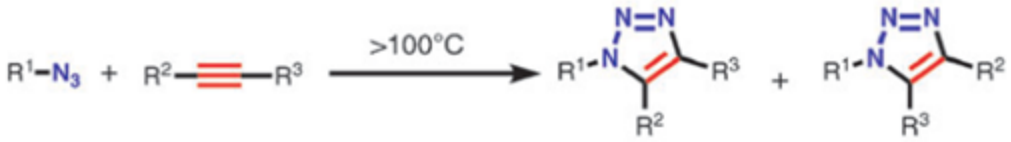


Slika 8. Primjeri *click* reakcija[11]

Između navedenih reakcija najboljim primjerom *click* transformacije smatra se 1,3-dipolarna Huisgenova cikloadicija.

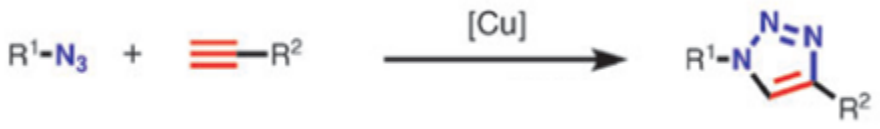
2.3.1. 1,3-dipolarna Huisgenova cikloadicija

1,3-dipolarna Huisgenova cikloadicija alkina na azide zahtijeva povišene temperature te se kao produkt u većini slučajeva dobiva smjesa dvaju regioizomera (1,4- i 1,5-supstituiranih 1,2,3 triazola). Reakcija je egzotermna (ΔH^0 između – 50 i – 65 kcal mol^{-1}), zahtijeva visoku energiju aktivacije (otprilike 25 kcal mol^{-1} za metil azid i propin) što rezultira iznimno brzim reakcijama i pri povišenoj temperaturi.



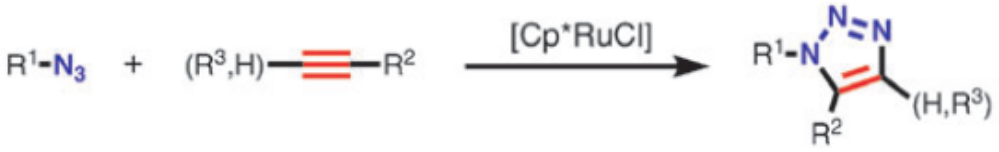
Slika 9. Reakcija 1,3-dipolarne Huisgenove cikloadicije azida na alkine[13]

Kako bi se zadovoljili svi uvjeti *click* kemije, Sharpless i suradnici razvili su novu varijantu te reakcije katalizirane s Cu(I), tzv. bakrom katalizirana azid-alkin cikloadicija (CuAAC). Reakcija se uz prisustvo bakra kao katalizatora odvija drugačijim mehanizmom te se tako može provesti pri blagim i jednostavnim uvjetima (pri sobnoj temperaturi i atmosferskom tlaku), a kao produkt reakcije nastaje samo 1,3-disupstituirani 1,2,3-triazol.



Slika 10. Bakrom katalizirana azid-alkin cikloadicija (CuAAC)[13]

Nakon toga razvijena je i rutenijem katalizirana azid-alkin cikloadicija (RuAAC) koja daje 1,5-disupstituirani 1,2,3-triazol.[13]



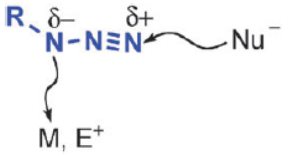
Slika 11. Rutenijem katalizirana azid-alkin cikloadicija (RuAAC) [13]

2.3.2. Cu(I) katalizirana 1,3-dipolarna Huisgenova cikloadicija (CuAAC)

CuAAC transformacija je vrlo popularna u posljednje vrijeme te je pridobila pažnju sintetičara jer je regioselektivna i kemoselektivna reakcija, lako se provodi u vodenom mediju i blagim fiziološkim uvjetima, a kao katalizatori se koriste bakrene soli (CuI, CuBr, $CuSO_4$), a primijenjiva je u sintezi lijekova, biokemiji, sintezi biokonjugata, dijagnostici, za sintezu metalnih senzora i optičko-mehaničkih uređaja.[14]

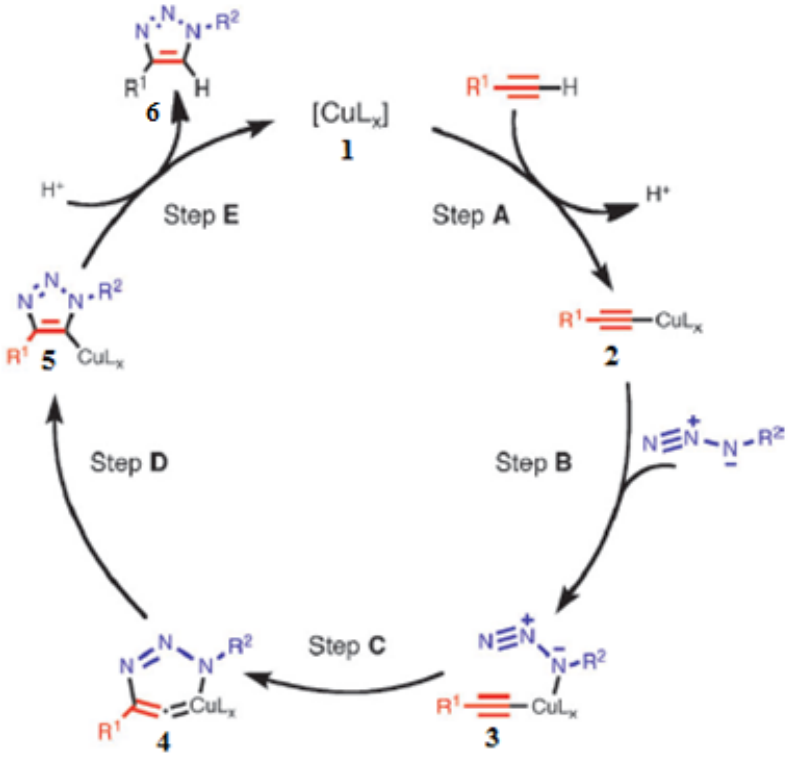
Za razumijevanje mehanizma CuAAC procesa prije svega je važno napomenuti reaktivnost sudionika reakcije. Uz izuzetak termičke i fotokemijske razgradnje, prevladavajuća

reakcija je napad nukleofila na terminalni atom dušika N3 (δ+), a N1 atom bogatiji elektronima (δ–) može reagirati s elektrofilima i koordinirati prijelazni metal (**slika 12**).



Slika 12. Reaktivnosta organskih azida[13]

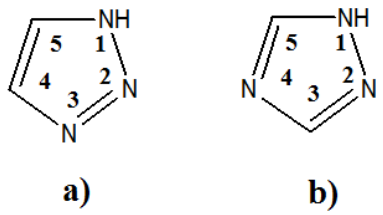
Mehanizam CuAAC reakcije prikazan je na **slici 13**. Prvi stupanj je vezanje alkina na Cu(I) uz izdvajanje jednog liganda pri čemu nastaje bakrov acetilid **2**. Zatim u drugom stupnju, azid zamjenjuje jedan od liganada i bakrov kompleks veže dušik vezan na supstituent R formirajući intermedijer **3**. Napadom terminalnog dušika u intermedijeru **3** na C-2 položaj acetilida nastaje šesteročlani Cu(III) kompleks **4**. Preuređivanjem kompleksa **4** nastaje peteročlani prsten **5** koji proteolizom daje konačni produkt **6**.[13]



Slika 13. Mehanizam bakrom (I) katalizirane reakcije organskih azida i terminalnih alkina[13]

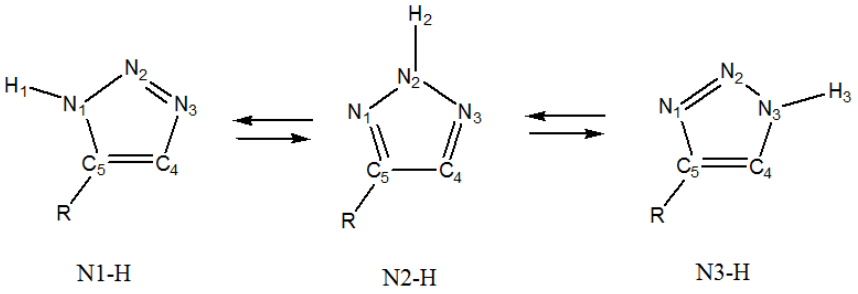
2.3.3. Triazoli

Triazoli su heterocikličke aromatske molekule s općom formulom $C_2H_3N_3$ koji se javljaju u dva izomerna oblika 1,2,3-triazol i 1,2,4-triazol. Sadrže dva atoma ugljika i tri atoma dušika u peteročlanom prstenu koji mogu poslužiti kao ligand za koordinaciju metala, a također mogu stvarati vodikove veze.[15]



Slika 14. 1,2,3-triazol (a) i 1,2,4-triazol (b)

1,2,3-triazol i 1,2,4-triazol mogu se pojaviti u više tautomernih oblika od kojih su najčešći oni prikazani na **slici 15**. Precizno predviđanje tautomerne ravnoteže triazolnog prstena zahtjeva točne kalkulacije struktura i energija. Ovisno o tautomernom obliku vodikov atom može biti vezan na bilo koji od tri dušika.[16]



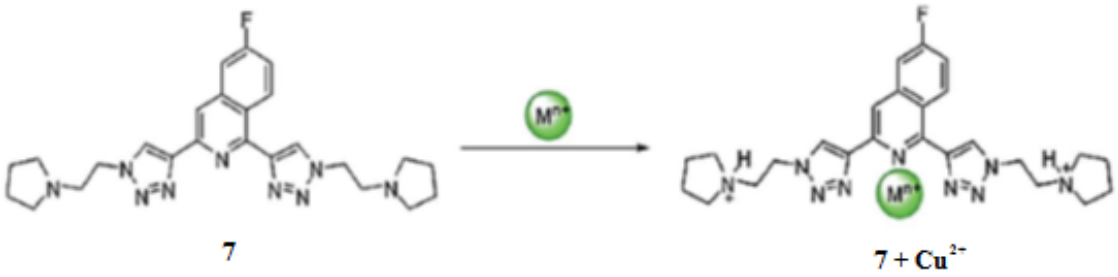
Slika 15. Tautomeri 1,2,3-triazola

Primjenom jednostavnih transformacija *click* kemije mogu se dobiti različiti konjugati koji u svojoj strukturi imaju triazol koji može poslužiti kao ligand za koordinaciju metalnih iona te može stvarati vodikove veze. Prisustvo dvostrukih veza (π-elektroni) u peteročlanom prstenu omogućuje apsorpciju svjetlosti koja uzrokuje pobudu elektrona.

2.3.4. π-konjugirani sustavi s triazolnom poveznicom

Konjugacija predstavlja preklapanje jedne p-orbitale s drugom u pravcu sigma veze i omogućava delokalizaciju π-elektrona duž svih p-orbitala u nizu. π-elektroni ne pripadaju pojedinačnoj vezi ili atomu, već skupini atoma. Konjugacija je dakle moguća pomoću izmjenične jednostruke i dvostruke veze, i tako dugo dok svaki susjedni atom u lancu ima na raspolaganju p-orbitalu, sustav se može smatrati konjugiranim. π-konjugirani sustavi su visoko fluorescentni materijali i koriste se za različite primjene. Konjugirani sustavi čine osnove kromoforima, dijelovima molekula koje apsorbiraju svjetlost. Takvi kromofori često su prisutni u različitim organskim spojevima, te polimerima koji mijenjaju boju uslijed vanjskih utjecaja. Kromofori se često sastoje od niza konjugiranih veza i prstenastih aromatskih sustava, te uključuju C–C, C–O, ili N–N veze.[17]

U strukturi triazolnog prstena nalaze se tri dušikova atoma koja mogu poslužiti kao ligand za koordinaciju metala, a također mogu služiti za stvaranje vodikove veze. Zbog tih svojstava triazoli se koriste za izgradnju konjugiranih i/ili funkcijski-vezanih heteroaromatskih materijala. Derivati triazola karakterističnih su svojstava koja im omogućuju interakcije s biološkim molekulama te površinama organskih i anorganskih materijala, jer ih odlikuje visoka kemijska stabilnost, jaki dipolni moment i heteroaromatski utjecaj. Do danas je razvijeno i dostupno niz materijala na bazi triazola koji imaju ogroman potencijal za primjenu u različitim područjima i stvaranju novih organskih materijala za primjenu u raznim senzorima i odgovarajućim uređajima.[18]

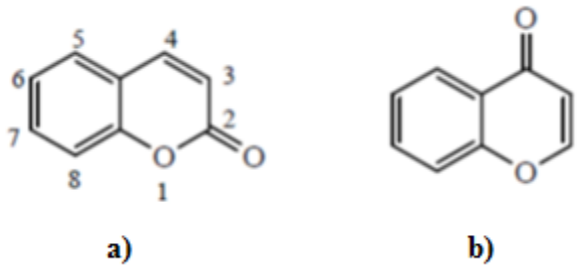


Slika 16. Kemijska struktura triazolnog derivata i mehanizam vezanja Cu^{2+} iona[24]

Na **slici 16.** prikazan je derivat triazola **7** te mehanizam vezanja metalnog iona na njega. Midya i suradnici sintetizirali su gore prikazani derivat triazola pomoću Cu (I) katalizirane Huisgenove cikloadicije. Spoj je u potpunosti topljiv u vodi te je pokazao dobru osjetljivost za metalne ione pri neutralnoj vrijednosti pH. Pobuđen na 325 nm spoj fluorescira s maksimalnim intenzitetom na 390 nm. U prisutnosti iona Zn^{2+} i Cd^{2+} povećava se fluorescencija, dok ioni Cu^{2+} i Fe^{2+} gase fluorescenciju. Ispitani su utjecaji i na ostale metalne ione (uključujući Li^{+}, Na^{+}, Mg^{2+}, Sr^{2+}, Al^{3+}, Mn^{2+}, Pb^{2+} i Sn^{2+}) no nije došlo do značajnijih promjena. Senzor je primjenjiv za detekciju Zn^{2+}, Cd^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{2+} iona.[22]

2.4. Kumarin i njegovi derivati kao kemijski senzori

Kumarini su prirodni spojevi izolirani iz biljaka, nastaju kondenzacijom pironskog i benzenskog prstena čime se dobivaju heterecikličkі spojevi benzopironi. Razlikujemo dvije vrste benzopirona koji se međusobno razlikuju po položaju karbonilne skupine u heterocikličkom prstenu, benzo-α-piron ili kumarin i benzo-γ-piron ili kromon (**slika 17**).



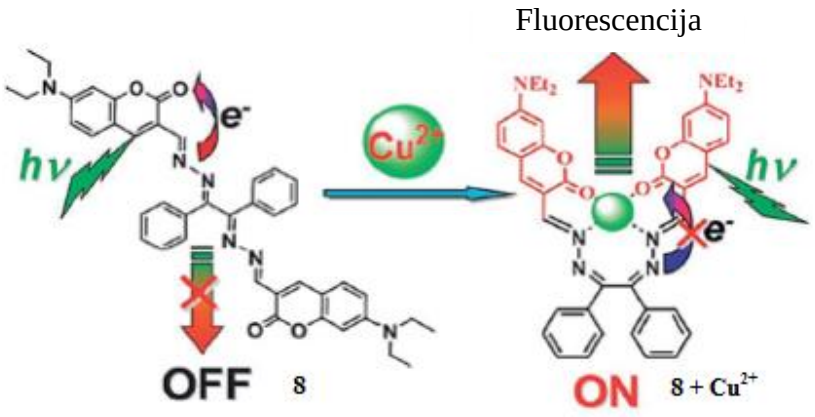
Slika 17. Kemijska struktura kumarina (a) i kromona (b)

Gledajući molekularnu strukturu, kumarini imaju C–C dvostruku vezu fiksiranu u *trans* konformaciji, kao i *trans*-stilben kroz laktonsku strukturu što onemogućuje *trans-cis* prijelaz dvostruke veze pod utjecajem UV zračenja i rezultira intenzivnom fluorescencijom, visokim kvantnim iskorištenjem i fotostabilnošću većine njegovih derivata.[19]

Senzori koji u svojoj strukturi sadrže kumarin pokazuju niz prednosti zahvaljujući visokom kvantnom iskorištenju, velikom Stokesovom pomaku, fotostabilnosti i niskoj toksičnosti kumarina. Do sada su derivati kumarina korišteni kao fluorescentne probe za pH, senzori za detekciju dušikova(II)oksida, nitroksida i vodikova peroksida te za anione kao što su cijanidi, fluoridi, pirofosfati, acetati, benzoati i dihidrogen fostati. Također su pokazali mogućnost primjene kao kemosenzori za različite metalne ione: Hg(II), Cu(II), Zn(II), Ni(II), Ca(II), Pb(II), Mg(II), Fe(III), Al(III), Cr(III) i Ag(I).[20]

2.4.1. Derivati kumarina kao fluorescentni senzori za metalne ione

Metalni ioni imaju veliku ulogu u različitim biološkim sustavima. U malim količinama, određeni metali, kao što su željezo, bakar i cink, su esencijalni nutrijenti za zdravlje organizma. Međutim, živa, olovo, kobalt i kadmij su već u nanomolarnim koncentracijama vrlo toksični, karcinogeni i akumuliraju se u okolišu, zbog čega je detekcija i kontinuirano praćenje njihovih koncentracija prioritet u zaštiti okoliša i zdravlja. S obzirom na važnost detekcije pojedinih metalnih iona, istraživači su posvetili veliki trud za pronalaženje kemosenzora s kojima bih se oni dokazivali. Tijekom godina razvijeni su brojni potencijalni kemosenzori za detekciju metala od kojih su neki pokazuju osjetljivost na dva ili više metala, a neki samo na jedan metal.



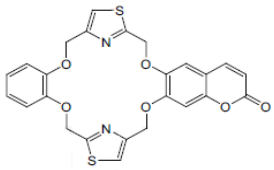
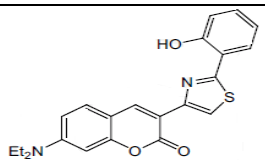
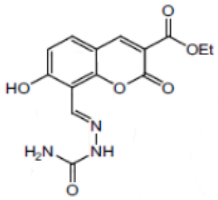
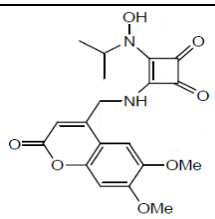
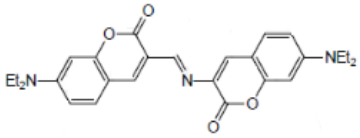
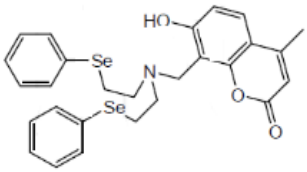
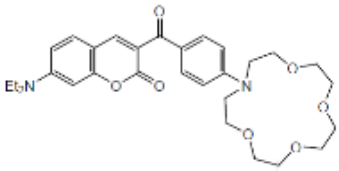
Slika 18. CuAAC reakcija dobivanja fluorescentnog derivata kumarina

Na **slici 18**. dan je primjer fluorofora na bazi kumarina koji je selektivan za bakrov ion (Cu^{2+}) u vodenom mediju. Spoj pokazuje maksimum apsorpcije na 468 nm što je svojstveno

kumarinu kao kromoforu. Pobudom na 534 nm dobiva se maksimum emisije na 468 nm u vodenom mediju. Kompleksiranjem spoja s bakrom 70 puta se pojačava fluorescencija.[22]

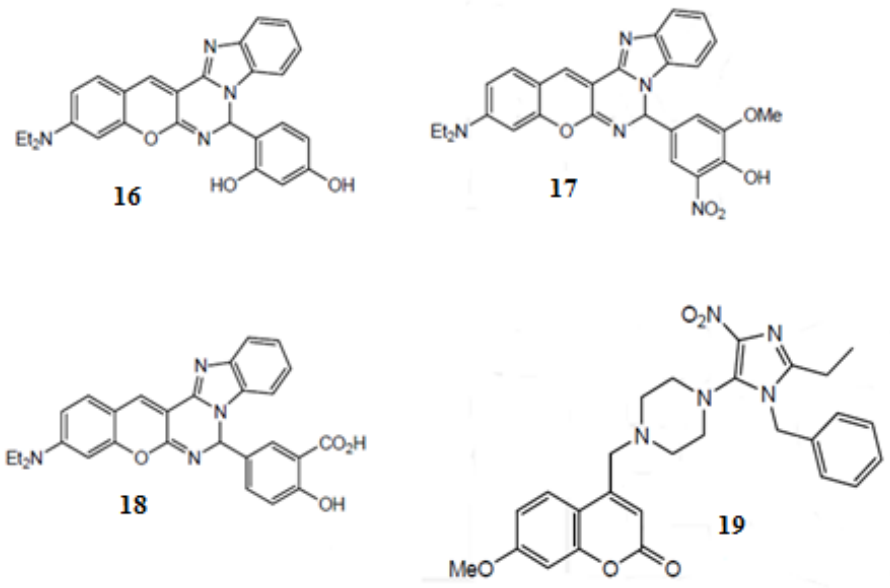
Kumarin-tiazolobenzo-krunasti eter **9** derivat je kumarina pokazuje selektivnost za ione Hg^{2+}, a prepoznavanje iona temelji se na snažnoj koordinaciji Hg^{2+} s kisikovim i dušikovim atomimi u strukturi krunastog etera, pri čemu dolazi do plavog pomaka i gašenja fluorescencije. Fluorescencija kemosenzora **10** temelji se na ICT mehanizmu koji je uzrokovan elektron-donorskom dietilamino skupinom. Derivat **11** je osjetljiv na Zn^{2+} ion, zbog PET mehanizma dolazi do povećanja fluorescencije pri kompleksiranju s Zn^{2+} u otopini etanola. Zbog PET procesa, **12** pokazuje malu fluorescenciju, ali nakon kompleksiranja s Fe^{3+} pokazuje deveterostruko veći intenzitet fluorescencije. Schiffova baza **13** koja u svojoj strukturi sadrži dvije kumarinske jezgre u prisutnosti Mg^{2+} iona pokazuje povećanje maksimuma apsorpcije i intenziteta fluorescencije. Derivat **14** je osjetljiv i selektivan kemosenzor za Ag^{+}. PET mehanizam gasi fluorescenciju derivata u otopini, dok se kompleksiranjem s Ag^{+} ionima, četiri puta poveća intenzitet fluorescencije i može se odrediti koncentracija Ag^{+} do 10^{-8} M. Kemosenzor **15** u strukturi osim kumarina, sadrži i krunasti eter te pokazuje visoki afinitet za Pb^{2+} ione. U nastavku je dana **tablica 1.** u kojoj su prikazani navedeni kemosenzori za detekciju metalnih iona.[20]

Tablica 1. Strukture derivata kumarina kao fluorescentnih senzora za određivanje metalnih iona[20]

	METAL	STRUKTURA SPOJA	AUTOR
9	Hg^{2+}		S. H. Lee et al., 2010.
10	Cu^{2+}		Helal et al., 2011.
11	Zn^{2+}		Su et al., 2010.
12	Fe^{3+}		N. C. Lim et al., 2009.
13	Mg^{2+}		Ray et al., 2010.
14	Ag^{+}		S. Huang et al., 2011.
15	Pb^{2+}		C.-T. Chen, W.-P. Huang, 2002.

2.4.2. Derivati kumarina kao fluorescentni pH senzori

Određivanje pH vrijednosti je od velike važnosti u biologiji, medicini i okolišu. Najčešći pH senzori su elektrokemijski uređaji (npr. staklena elektroda), ali je njihova upotreba ograničena u područjima gdje su potrebna preciznija mjerenja (biologija, medicina, senzori za mjerenje pH u određenim vremenskim intervalima).[2] Stoga je u posljednje vrijeme pažnja usmjerena u razvoj i dizajn molekula fluorescentnih kemosenzora za određivanje pH. Na **slici 19**. prikazano je nekoliko derivata kumarina kao fluorescentnih pH senzora.



Slika 19. Kemijska struktura fluorescentnih pH senzora na bazi kumarina[20]

Derivati kumarina **16–17** prikazani na **slici 19.** sintetizirani su kao novi fluorescentni indikatori za određivanje pH. Indikatori su fotostabilni i mogu biti imobilizirani na površini amino-modificiranog polimera vezani kovalentnom vezom. Derivat kumarina **19** u svojoj strukturi sadrži piperazin i imidazol vezan na kumarin kao fluorofor.[20]

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Opće napomene

Kemijske reakcije provedene su uobičajenim metodama organske sinteze. Sva otapala sušena/pročišćavana su prema preporučenom postupku sušenja sredstvima za sušenje. Za tankoslojnu kromatografiju (TLC) korištene su ploče *60F-254* prevučene slojem silikagela *Merck*, a za detekciju izoliranih komponenata korištena je UV svjetlost valne duljine 254 nm. Kromatografija na koloni provedena je na silikagelu (*Fluka*, 0,063 – 0,2 mm), staklene kolone punjene su pod utjecajem gravitacije, a kao eluens korištene su odgovarajuće smjese CH_2Cl_2/CH_3OH. Spektri ^{1}H-NMR snimljeni su na spektrometru Bruker 300 i 600 MHz. Svi uzorci otopljeni su u DMSO-d_6 i mjereni pri 298 K. Kemijski pomaci (δ) u ^{1}H-NMR spektrima izraženi su u ppm u odnosu prema signalu DMSO na δ 2,50 ppm za ^{1}H. Pojedine rezonancije pridružene su na temelju kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta signala i H-H konstante sprege. Tališta spojeva određena su na SMP10 Bibby aparatu te nisu korigirana.

3.2. Materijali

Za pripravu mjernih otopina korištene su sljedeće kemikalije:

- citratna kiselina, natrijev hidroksid, *Kemika d.d., Zagreb*;
- fosforna kiselina, *Laborchemie Apolda*;
- klorovodična kiselina, *Carlo Erba Reagents*;
- etanol za pranje, *Carlo Erba Reagents*;
- deionizirana voda;
- metanol, aceton, *Sigma Aldrich*;
- dietil eter, etil acetat, diklormetan, dimetil sulfoksid, acetonitril, etanol, *Kefo d.o.o.*;
- cinkov klorid ($ZnCl_2$), bakrov klorid ($CuCl_2$), *Merck, Germany*;
- srebrov nitrat ($AgNO_3$), željezov klorid ($FeCl_3$), živin klorid ($HgCl_2$), litijev klorid (LiCl), aluminijev klorid ($AlCl_3$), kalcijev klorid ($CaCl_2$), *Kemika d.d., Zagreb.*

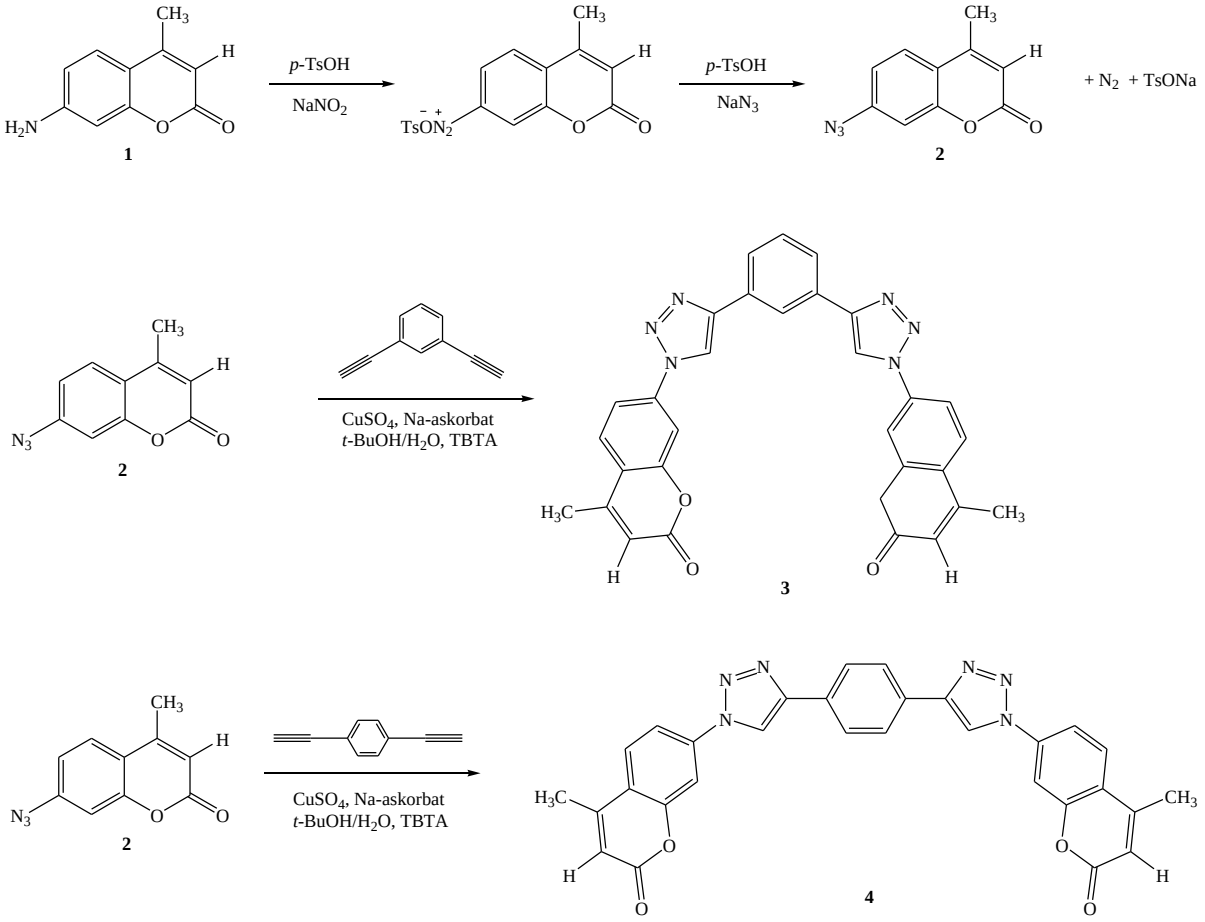
3.3. Instrumenti

Pri izvedbi eksperimenata rabljeni su sljedeći instrumenti:

- pH metar, MA 5740, *Iskra d.d.*;
- UV-vidljivi spektrofotometar, *Cary 100 Scan*;
- UV-vidljivi spektrofluorimetar, *Cary Eclipse.*

Slika 20. a) UV-vidljivi apsorpcijski spektrofotometar; b) fluorescencijski spektrofotometar

3.4. Sinteza spojeva



Slika 21. Shematski prikaz sinteze spojeva

3.4.1. Priprava 7-azido-4-metil-2*H*-kromen-2-ona (2)

100 mg (0,57 mmola) 7-amino-4-metil-2*H*-kromen-2-ona otopljeno je u *p*-toluensulfonskoj kiselini, *p*-TsOH (977,4 mg; 5,14 mmola u 5,14 mL vode). Zatim je postepeno dodan bezvodni natrijev nitrit, $NaNO_2$ (354,6 mg, 5,14 mmola).[28,29] Reakcijska smjesa je miješana 45 minuta na sobnoj temperaturi pri čemu se razvijaju oksidi što dokazuje pojava prozirno žute boje. Nakon 45 minuta dodan je natrijev azid, NaN_3 (59,4 mg, 0,91 mmol) pri čemu je došlo do pojave pjene koja ukazuje na razvijanje dušika, N_2, a tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom. Nastali talog se profiltrira i dobiveno je 30 mg narančastog praškastog produkta (26,0 %).

^{1}H NMR (600 MHz, DMSO): δ/ppm = 7,81 (d, 1H, J = 8,4 Hz, $H_{arom.}$), 7,18 (d, 1H, J = 1,8 Hz, $H_{arom.}$), 7,15 (dd, 1H, J_1 = 1,8 Hz, J_2 = 8,4 Hz, $H_{arom.}$), 6,36 (s, 1$H_{kumarin}$), 2,44 (s, 3H, CH_3).

3.4.2. Opći postupak priprave *click* derivata 3 i 4

Spojevi **3** i **4** priređeni su bakrom kataliziranom *click* reakcijom azida **2** i odgovarajućeg alkina u smjesi *tert*-butanol:voda = 1:1 (7 mL), uz $CuSO_4 \times 5H_2O$ (1M), 0,2 eq natrijeva askorbata i 0,05 eq TBTA (tris[(1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil]amin).[27] Reakcijska smjesa miješana je na sobnoj temperaturi 48 – 72 h, a tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom. Nakon završetka reakcije, otapalo je otpareno pri sniženom tlaku, a nastali produkt pročišćen kolonskom kromatografijom uz eluens CH_2Cl_2:CH_3OH.

3.4.2.1. Priprava 7,7'-(4,4'-(1,3-fenilen)bis(1*H*-1,2,3-triazol-4,1-diil)bis(4-metil-2*H*-kromen-2-ona) (3)

Spoj **3** dobiven je prethodno opisanom metodom iz 30 mg azida **2** i 12,5 mg 1,3-dietinilbenzena, uz dodatak 0,04 ml 1M $CuSO_4 \times 5H_2O$, 5,9 mg Na-askorbata (0,03 mmol) i 2,6 mg TBTA (0,007 mmol). Nakon 48h dobiveno je 20,4 mg (16,2 %) žutog praškastog produkta. T.t. 247–253 °C.

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO): δ/ppm = 9,56 (s, 2$H_{triazol}$), 8,03 (s, 4$H_{arom.}$), 8,01 (s, 4$H_{arom.}$), 7,51 (d, 2H, J = 2,19 Hz, H_{arom}), 6,49 (d, 2$H_{kumarin}$, J = 1,17 Hz), 1,34 (s, 6H, CH_3).

3.4.2.2. Priprava 7,7'-(4,4'-(1,4-fenilen)bis(1*H*-1,2,3-triazol-4,1-diil)bis(4-metil-2*H*-kromen-2-ona) (4)

Spoj **4** dobiven je prethodno opisanom metodom iz 30 mg azida **2** i 12,5 mg 1,4-dietinilbenzena, uz dodatak 0,04 mL 1M $CuSO_4 \times 5H_2O$, 5,9 mg Na-askorbata (0,03 mmol) i 2,6 mg TBTA (0,007 mmol). Nakon 72 h miješanja, dobiveno je 13,7 mg (10,9 %) žutog praškastog produkta. T.t. 255–261 °C.

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO): δ/ppm = 9,54 (s, 2$H_{triazol}$), 8,03 (s, 2$H_{arom.}$), 7,97 (d, 4H, J = 8,31 Hz, H_{arom}), 7,64 (d, 4H, J = 8,31 Hz, $H_{arom.}$), 6,50 (d, 2$H_{kumarin}$, J = 1,11 Hz), 1,23 (s, 6H, CH_3).

3.5. Priprava otopina

Matične (*stock*) otopine pripravljene su otapanjem spojeva **3** i **4** u 3 mL dimetilsulfoksida (DMSO). Potrebne mase spojeva **3** i **4** za pripravu matičnih otopina izračunate su pomoću jednadžbe (1):

$$m = c \times V \times M \tag{1}$$

gdje je c [mol dm^{-3}, M] koncentracija, M [g mol^{-1}] molarna masa tvari, V [dm^3] volumen otopine, a m [g] masa odvage potrebnog spoja. Koncentracije matičnih otopina iznose c = 8,2×10^{-4} M za spoj **3**, te c = 6,31×10^{-4} M za spoj **4**. Radne otopine ispitivanih spojeva različitih koncentracija pripravljene su razrjeđivanjem matičnih otopina.

Otopine univerzalnog pufera različitih vrijednosti pH pripravljene su miješanjem otopine A koja se sastoji od 100 mL 0,33 M otopine citratne kiseline, 100 mL 0,39 M otopine fosforne kiseline, 343 mL 1 M otopine NaOH i 3,54 g borne kiseline. Određeni volumen otopine A i otopine B (0,1 M otopina HCl) stavlja se u odmjernu tikvicu prema jednadžbi (2), te se nadopuni do oznake deioniziranom vodom.[21]

$$20 \text{ mL } A + x \text{ mL } B \text{ (u 100 mL)} \tag{2}$$

gdje je x (B) = volumen klorovodične kiseline (mL).

Otopine metalnih soli KCl, NaCl, LiCl, $HgCl_2$, $FeCl_3$, $AgNO_3$, $CuCl_2$, $ZnCl_2$, $AlCl_3$ i $CoCl_2$ pripravljene su u etanolu. Otapanjem odvage krutina soli dobivene su otopine određene koncentracije čijim su daljnim razrjeđenjem pripravljene radne otopine koncentracije c = 1×10^{-5} M i c = 5×10^{-6} M.

Etanolne otopine različite vrijednosti pH pripravljenje su dodavanjem određene, vrlo male količine 2M ili 1M klorivodične kiseline i 1M natrijeva hidroksida. Volumni udio 2M HCl odnosno 1M NaOH bio je manji od 5 %.

3.6. Mjerenja

Otopine spojeva **3** i **4** spektralno su okarakterizirane UV-vidljivom apsorpcijskom i fluorescencijskom spektrofotometrijom. Snimani su apsorpcijski i emisijski spektri u univerzalnim puferima i etanolnim otopinama različitih vrijednosti pH. Također je ispitan utjecaj različitih organskih otapala i metalnih iona na njihova spektralna svojstva.

Spektri su snimani pri koncentraciji $c = 1\times10^{-5}$ M za apsorpcijsku i $c = 1\times10^{-6}$ M za fluorescencijsku spektrofotometriju. Željene koncentracije dobivene su razrjeđivanjem matičnih otopina spojeva. Prije svakog snimanja spektra, snimljena je bazna linija čistog otapala.

3.6.1. Utjecaj promjene vrijednosti pH

Ispitivana su kiselo-bazna svojstva, odnosno utjecaj promjene pH vrijednosti na apsorpcijske i emisijske spektre spojeva **3** i **4**. Korištene su otopine univerzalnog pufera u rasponu vrijednosti pH od 2,03 do 12,02, te 0,1 M HCl vrijednosti pH=1,02 i etanolne otopine u rasponu pH vrijednosti 1,12 do 12,81. Alikvot spoja je stavljen u otopinu određene vrijednosti pH tako da koncencentracija spoja bude 1×10^{-5} M. Nakon 2 minute miješanja snimljeni su apsorpcijski i emisijski spektri na valnim duljinama od 200 do 800 nm u kvarcnoj kiveti optičkog puta 10 mm. Kao valna duljina pobude korištena je valna duljina maksimuma apsorpcije.

3.6.2. Utjecaj otapala

Ispitivan je utjecaj različitih organskih otapala na spektralna svojstva spojeva **3** i **4**. Korištena otapala su: etil-acetat, dietil-eter, aceton, etanol, metanol, voda, acetonitril, tetrahidrofuran, diklormetan i dimetilsulfoksid. Otapala su odabrana prema parametru polarnosti $E_T(30)$ (**Tablica 2**). Koncentracija ispitivanih spojeva je $c = 1\times10^{-5}$ M. Snimani su apsorpcijski i emisijski spektri pri valnim duljinama od 200 do 800 nm. Alikvot matične otopine spoja dodan je u kivetu s određenim otapalom te je nakon 2 minute snimljen spektar. Kao valna duljina pobude

korištena je valna duljina maksimuma apsorpcije. Slitovi korišteni pri snimanju emisijskih spektara su 5–10.

Tablica 2. Odabrana otapala različite polarnosti

OTAPALO	$E_T(30)/(kcalmol^{-1})$	$E_T^N(30)$
Dietil-eter	34,5	0,117
THF	37,4	0,207
Etil acetat	38,1	0,228
Diklormetan	40,7	0,309
Aceton	42,2	0,355
DMSO	45,1	0,444
Acetonitril	45,6	0,460
Etanol	51,9	0,645
metanol	55,4	0,760
Voda	63,1	1,000

3.6.3. Otopine različitih metalnih iona

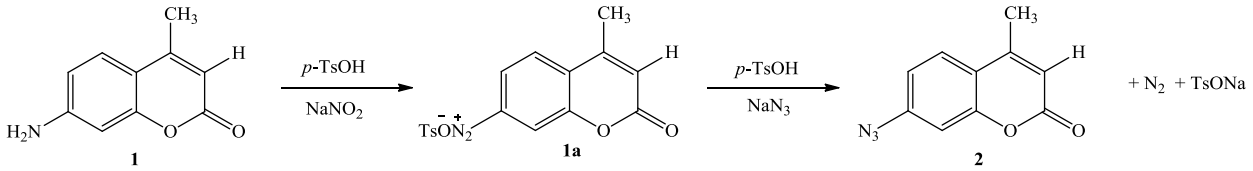
Ispitivan je utjecaj različitih metalnih iona na intenzitet fluorescencije spojeva **3** i **4**. Korištene su otopine metalnih soli žive, aluminija, bakra, cinka, srebra, kalcija, litija, kobalta, natrija i željeza. U kvarcnu kivetu, u kojoj je čisti etanol, dodavan je alikvot matične otopine spoja tako da koncentracija spoja bude $c = 1\times10^{-5}$ M. Radne otopine metalnih soli određenih koncentracija pripravljene su razrjeđivanjem matičnih otopina. Koncentracija metalnih iona se postepeno povećavala dodatkom novog alikvota u kivetu. Prije svakog snimanja intenziteta fluorescencije otopina se miješala 2 minute. Kao valna duljina pobude korištena je valna duljina maksimuma apsorpcije u etanolu. Bitno je naglasiti da su svi spekri za određeni spoj snimani pri istim eksperimentalnim uvjetima (slitovi, valna duljina pobude).

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Sinteza spojeva

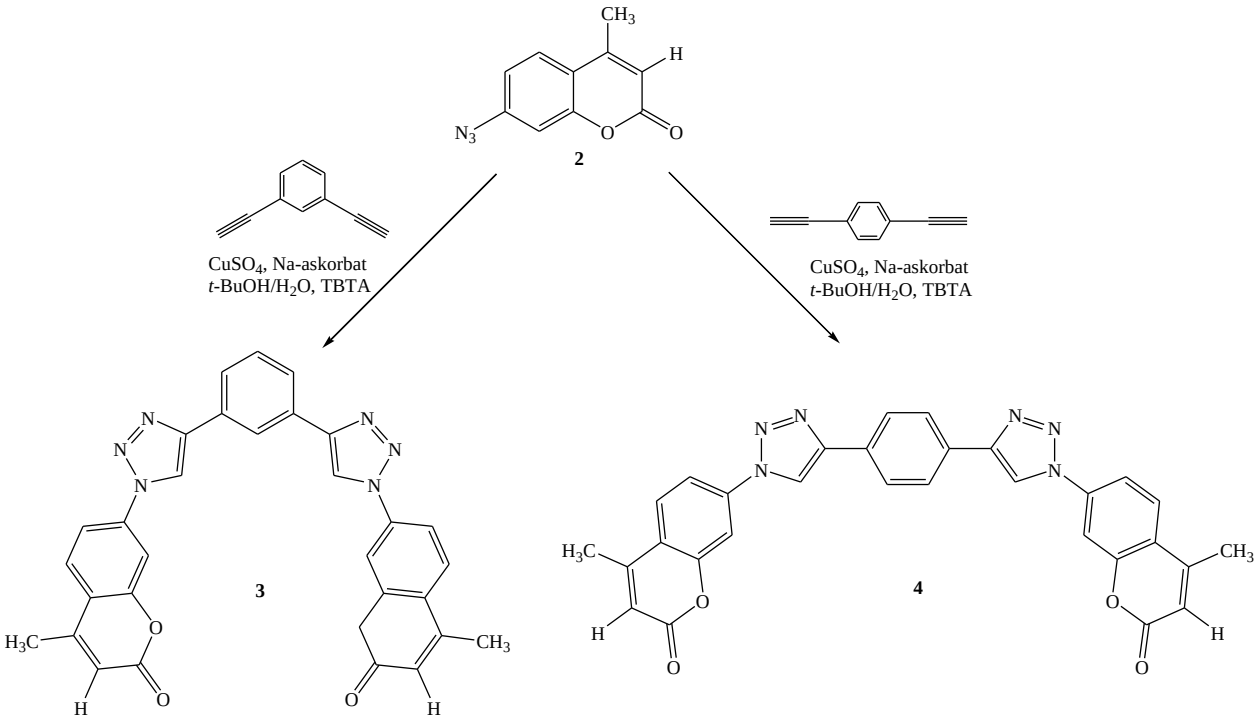
Spojevi 7,7'-(4,4'-(1,3-fenilen)bis(1*H*-1,2,3-triazol-4,1-diil)bis(4-metil-2*H*-kromen-2-on), **3**, i 7,7'-(4,4'-(1,4-fenilen)bis(1*H*-1,2,3-triazol-4,1-diil)bis(4-metil-2*H*-kromen-2-on), **4** uspješno su sintetizirani reakcijama klasične organske sinteze i *click* reakcijom alkina i azida u dva stupnja.

Za sintezu željenih triazolnih derivata, potrebno je prvotno prirediti odgovarajući azid iz 7-amino-4-metil-2*H*-kromen-2-ona. Reakcijom diazotacije s natrijevim nitratom u vodenoj otopini *p*-toluensulfonske kiseline nastaje odgovarajuća diazonijeva sol **1a** koja u reakciji s natrijevim azidom daje spoj **2** u iskorištenju 26,02 %.



Slika 22. Priprava 7-azido-4-metil-2H-kromen-2-ona **2**

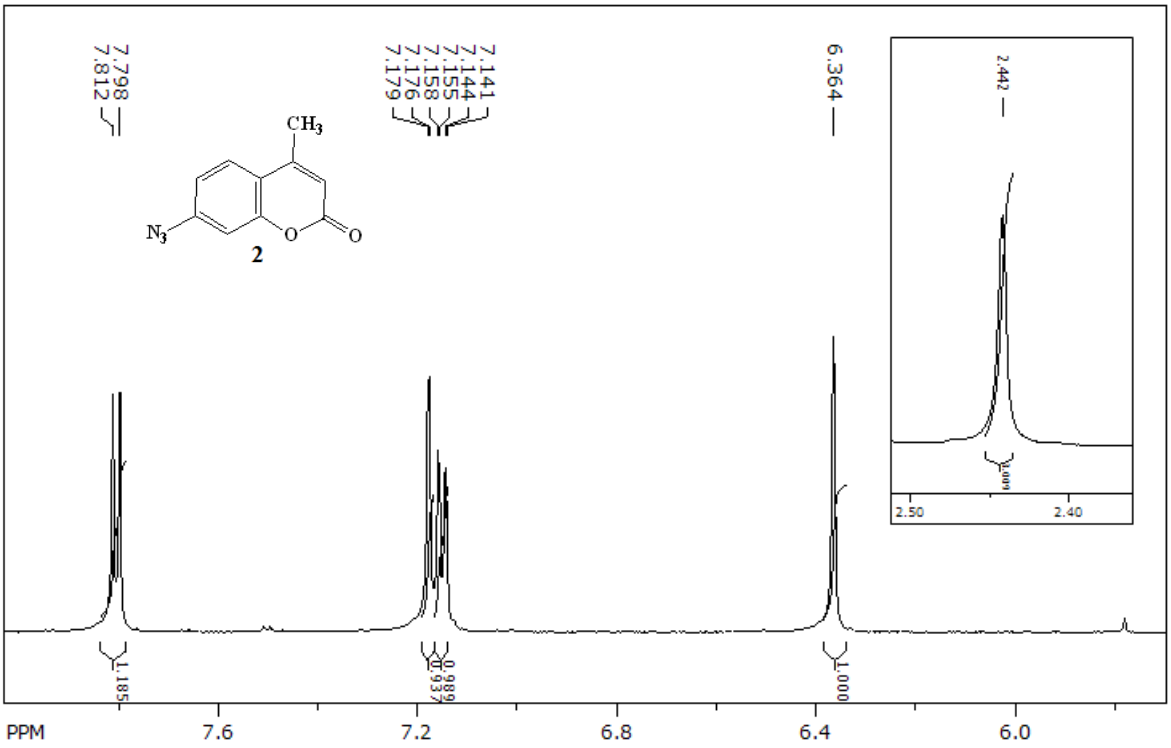
U drugom stupnju, *click* reakcijom azida **2** i odgovarajućih alkina dobiveni su željeni produkti **3** i **4** u iskorištenjima 16,2 i 11 %. Kao katalizator korišteni su Cu(I) ioni koji nastaju *in situ* iz $CuSO_4 \times 5H_2O$ uz natrijev askorbat kao reducens i prisutnost TBTA kao promotora katalize, odnosno stabilizatora nastalih Cu(I) iona. Reakcije su provedene na sobnoj temperaturi u smjesi otapala *t*-BuOH/H_2O (**Slika 23**). Strukture sintetiziranih spojeva potvrđene su ^{1}H NMR spektroskopijom.



Slika 23. *Click* reakcija azida **2** i odgovarajućih alkina

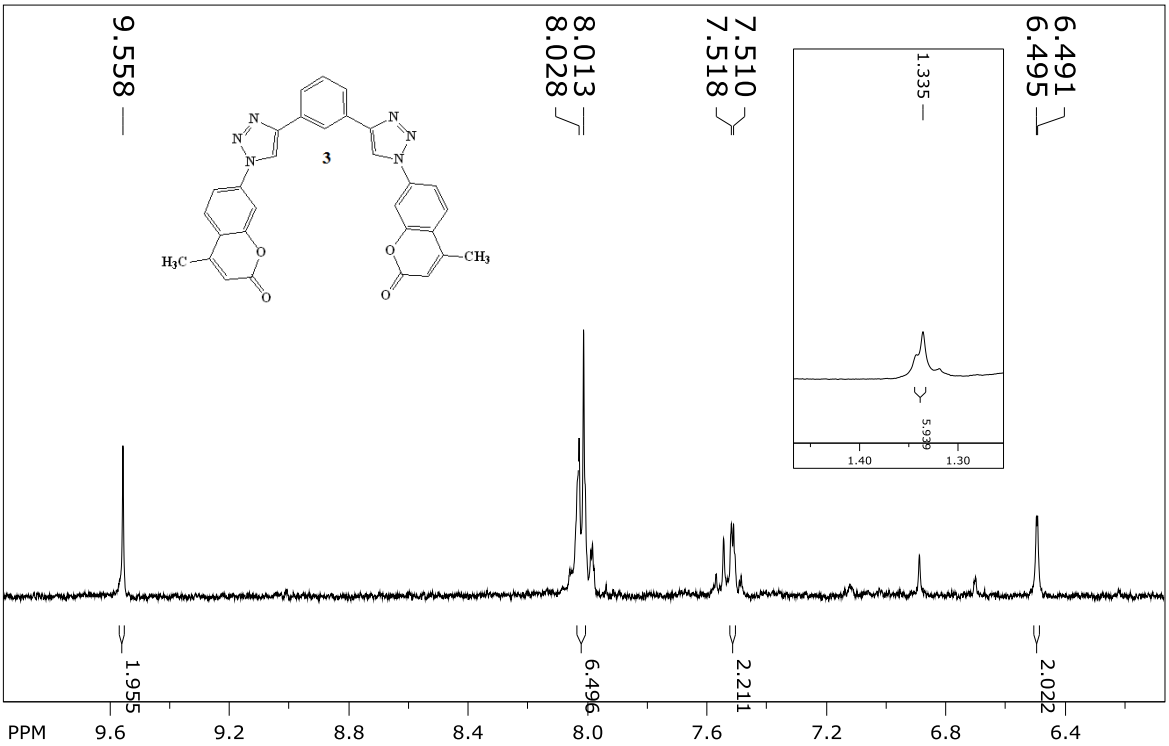
4.2. Analiza ^{1}H NMR spektara

Za identifikaciju sintetiziranog spoja snimljeni su ^{1}H-NMR spektri na spektrometrima Varian Gemini 300 na 300 MHz i instrumentu Bruker AV-600 na 600 MHz. Uzorak je otopljen u DMSO-d_6 i mjeren pri 298 K. Kemijski pomaci (δ) u spektrima izraženi su u ppm (*part per million*) u odnosu prema signalu DMSO: δ 2,50 ppm za 1H, a kostante sprege (J) u Hz). Struktura sintetiziranog spoja određena je na temelju kemijskih pomaka, veličine signala i multipliciteta spin-spin sprega između jezgara H-H. Kemijski pomaci i konstante sprege u spektrima ^{1}H-NMR za sintetizirane spojeve navedeni su u pripravi spojeva.



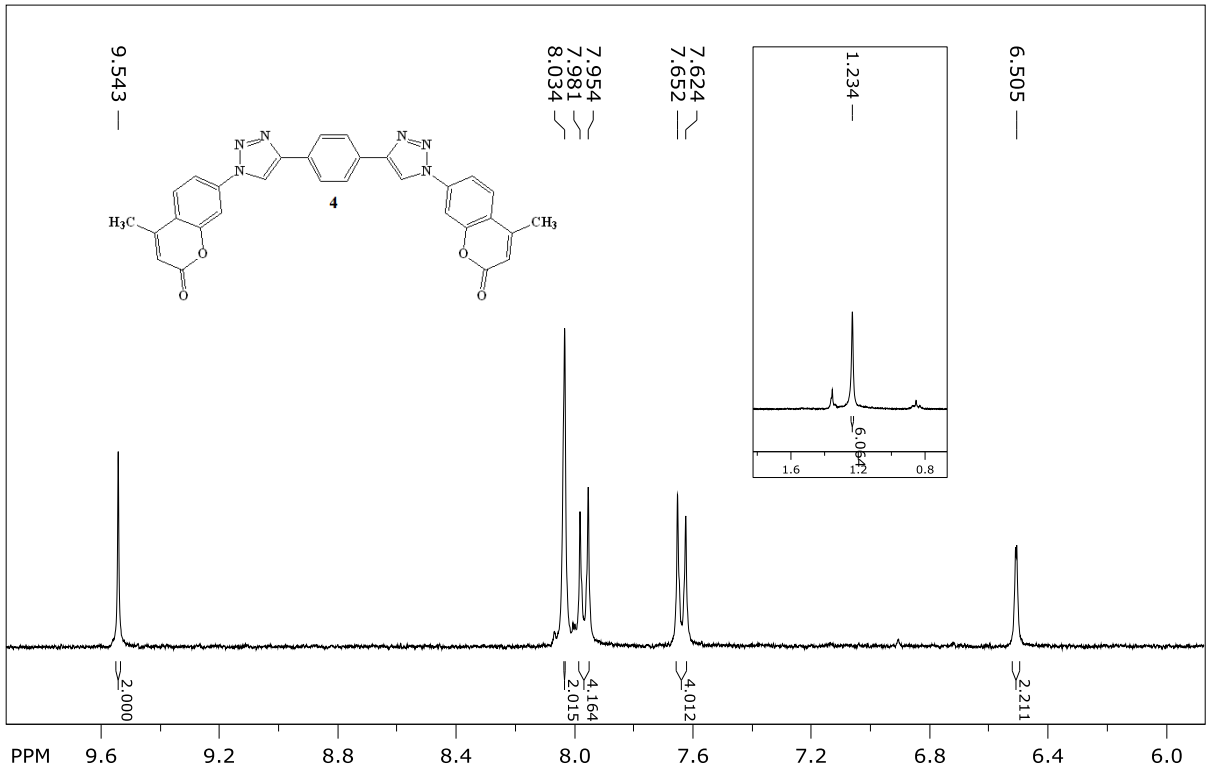
Slika 24. ^{1}H NMR spektar 7-azido-4-metil-2H-kromen-2-ona **2**

U ^{1}H NMR spektru spoja **2** vidljivi su signali triju aromatskih vodika na 7,81, 7,18 i 7,15 ppm, jedan singlet na 6,36 ppm koji odgovara vodiku kumarina te singlet na 2,44 ppm za tri alifatska vodika, CH_3 skupine.



Slika 25. ^{1}H-NMR spektar spoja **3**

U ^{1}H NMR spektru spoja **3** na **slici 25.** može se uočiti signal na 9,56 ppm koji odgovaraju protonima dvaju triazola, tri signala na 8,03, 8,01 i 7,51 ppm koji odgovaraju aromatskim protonima, te po jedan singlet na 6,49 ppm karakterističan za proton kumarina i na 1,34 ppm koji pripada protonima dviju metilnih skupina.



Slika 26. 1H-NMR spektar spoja **4**

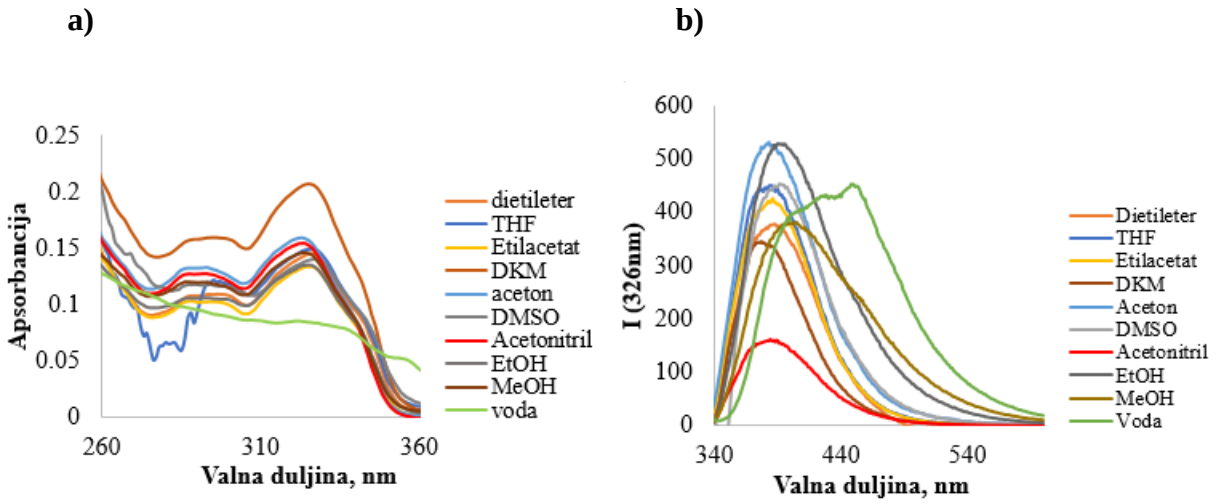
U ^{1}H NMR spektru spoja **4** na **slici 26.** može se uočiti signal na 9,54 ppm koji odgovara protonima dvaju triazola, tri signala na 8,03, 7,97 i 7,64 ppm koji odgovaraju aromatskim protonima, te po jedan singlet na 6,50 ppm karakterističan za proton kumarina i na 1,23 ppm koji priprada protonima dviju metilnih skupina.

4.2. Spektrofotometrijska karakterizacija ispitivanih spojeva u otopini

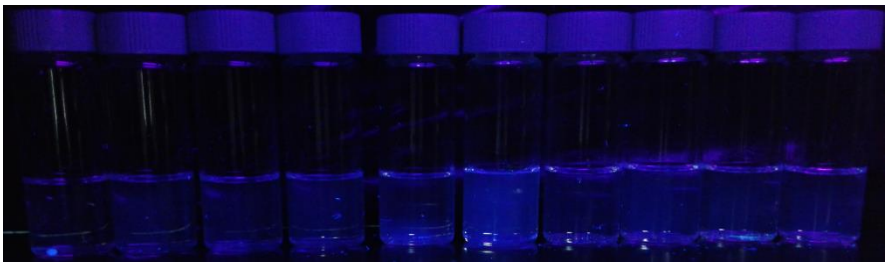
4.2.1. Fotofizička karaterizacija ispitivanih spojeva

Obzirom na slabu topljivost spojeva, matične (*stock*) otopine pripravljene su u dimetil sulfoksidu (DMSO) kao otapalu. Kako bi se istražio utjecaj otapala na spektrofotometrijske karakteristike spojeva, snimljeni su apsorpcijski i emisijski spektri u deset različitih otapala, odabranih prema parametru polarnosti $E_T(30)$.

Na **Slikama 27.** i **29.** prikazani su apsorpcijski i emisijski spektri spojeva **3** i **4** u različitim otapalima.

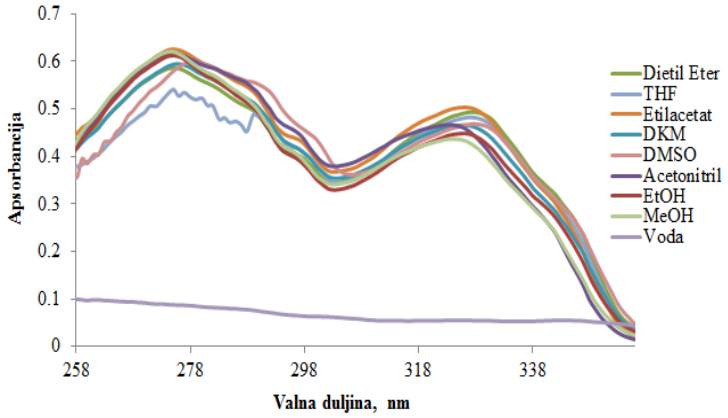


Slika 27. a) apsorpcijski spektar; b) emisijski spektar spoja **3** u različitim otapalima snimljeni u istim eksperimentalnim uvjetima

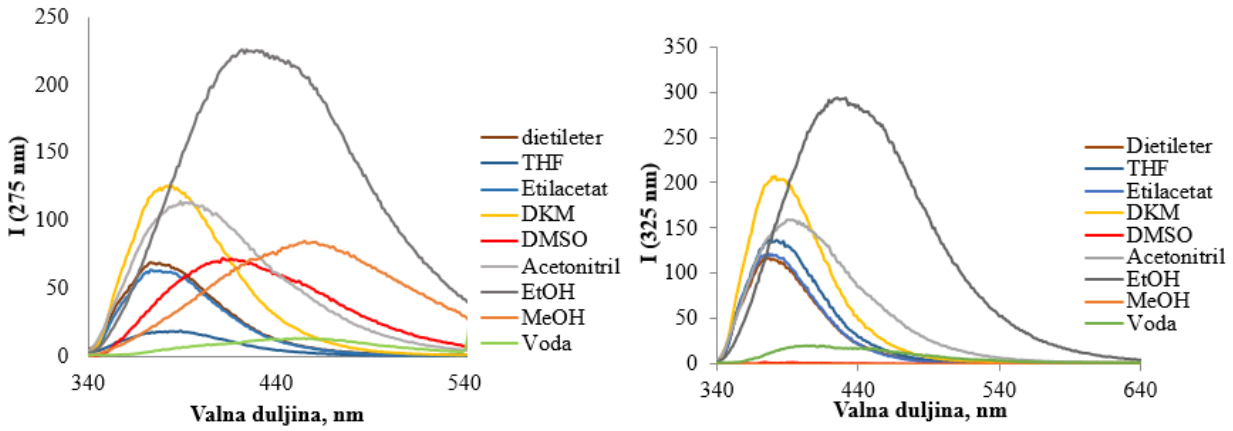


Slika 28. Prikaz fluorescencije spoja **3** u različitim otapalima poredanim prema rastućoj polarnosti s lijeva na desno: dietil eter, tetrahidrofuran, etil acetat, diklormetan, aceton, dimetil sulfoksid, acetonitril, etanol, metanol i voda

a)



b)



Slika 29. a) apsorpcijski spektar; b) emisijski spektri spoja **4** u različitim otapalima snimljeni u istim eksperimentalnim uvjetima pri valnoj duljini pobude 275 nm i 326 nm za sva otapala

Slika 30. Prikaz fluorescencije spoja **4** u različitim otapalima poredanim prema rastućoj polarnosti s lijeva na desno: dietil eter, tetrahidrofuran, etil acetat, diklormetan, aceton, dimetil sulfoksid, acetonitril, etanol, metanol i voda

Na **Slikama 27.** i **29.** prikazani su apsorpcijski i emisijski spektri spojeva **3** i **4** u različitim otapalima, iz kojih se može uočiti da oba spoja u vodi ne apsorbiraju svjetlost što je vjerojatno uzrokovano njihovom slabom topljivošću u vodi dok u ostalim otapalima apsorbiraju pri određenoj valnoj duljini. Maksimum apsorpcije za spoj **3** nalazi se na 326 nm dok spoj **4** pokazuje dva maksimuma na 275 nm i 326 nm. Kod fluorescencije dolazi do blage promjene valne duljine maksimuma emisije i promjene intenziteta fluorescencije ovisno o otapalu. Spoj **3** najslabije fluorescira u acetonitrilu, dok najjači intenzitet fluorescencije pokazuje u etanolu i acetonu. Spoj **4** pokazuje najveći intenzitet fluorescencije u etanolu, dok najslabije fluorescira u metanolu na obje valne duljine.

Spektrofotometrijska svojstva ispitivanih spojeva **3** i **4** u ovisnosti o otapalu, tj. valne duljine maksimuma apsorpcije i emisije, te pripadajuća apsorbancija i intenzitet emitirane svjetlosti prikazani su u **Tablici 3** i **4**. Molarni apsorpcijski koeficijent, ε, izračunat je iz Lambert-Beerova zakova.

Tablica 3. Prikaz vrijednosti apsorbancije i molarnog ekstincijskog koeficijenta za spoj **3** u različitim otapalima

	λ_{abs}/nm	Apsorbancija	λ_{emiss}/nm	*I*	ε /dm^{3}mol^{-1}cm^{-1}
dietileter	326	0,145	388	377	14500
THF	326	0,149	385	451	14900
etilacetat	326	0,133	386	424	13300
DKM	326	0,207	378	345	20700
Aceton	326	0,158	383	532	15800
DMSO	326	0,139	391	452	13900
Acetonitri	326	0,154	384	162	15400
EtOH	326	0,134	390	528	13400
MeOH	326	0,146	405	379	14600
Voda	-	-	453	448	-

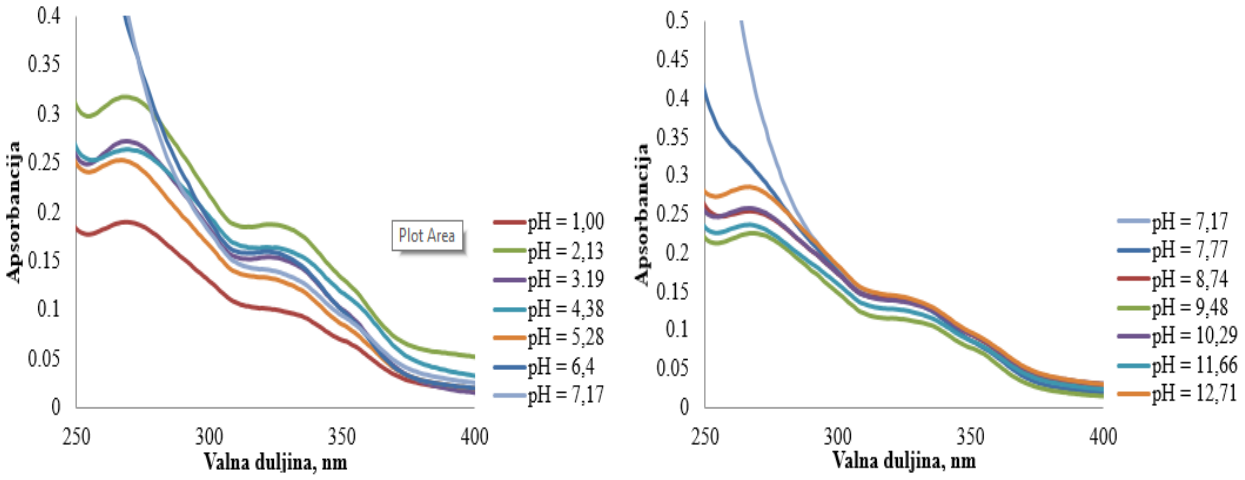
Tablica 4. Prikaz vrijednosti apsorbancije i molarnog ekstincijskog koeficijenta za spoj **4** u različitim otapalima

	λ_{abs}/nm		Apsorbancija		λ_{emiss}/nm		*I*		ε /dm^{3}mol^{-1}cm^{-1}	
	1	**2**	**1**	**2**	**1**	**2**	**1**	**2**	**1**	**2**
dietileter	275	326	0,584	0,448	373	373	69	116	58400	44800
THF	275	327	0,54	0,482	389	377	18	137	54000	48200
etilacetat	275	326	0,625	0,503	373	377	64	121	62500	50300
DKM	276	326	0,595	0,466	384	381	125	206	59500	46600
DMSO	278	328	0,6	0,468	412	-	72	-	60000	46800
Acetonitril	275	323	0,618	0,466	389	391	114	158	61800	46600
EtOH	275	328	0,612	0,493	431	425	223	193	61200	49300
MeOH	275	324	0,62	0,437	455	-	85	-	62000	43700

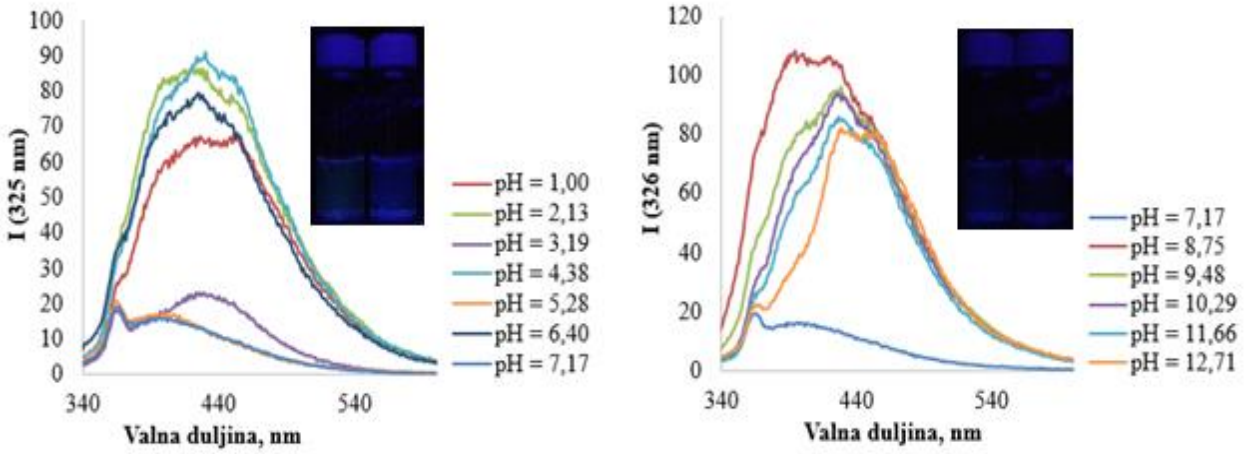
4.2.2. Utjecaj promjene pH vrijednosti

Promjena spektrofotometrijskih svojstava ispitivanog spoja ovisno o vrijednosti pH, ključno je svojstvo optičkih pH senzora. Kiselo-bazna svojstva spojeva u otopinama univerzalnog pufera prikazana su na **Slikama 31. i 32.**, a na **Slici 33.** prikazana je ovisnost svojstava spoja **4** o vrijednosti pH etanolnih otopina (fotografije unutar grafa prikazuju mjernu otopinu pH = 1 lijevo te pH = 7 desno u kiselom području, odnosno pH = 7 lijevo pH = 13 desno za lužnato područje).

a)



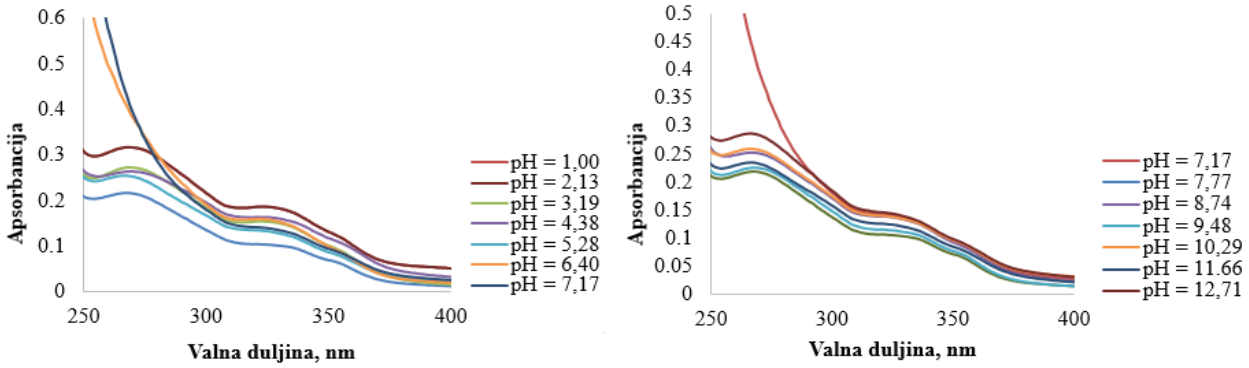
b)



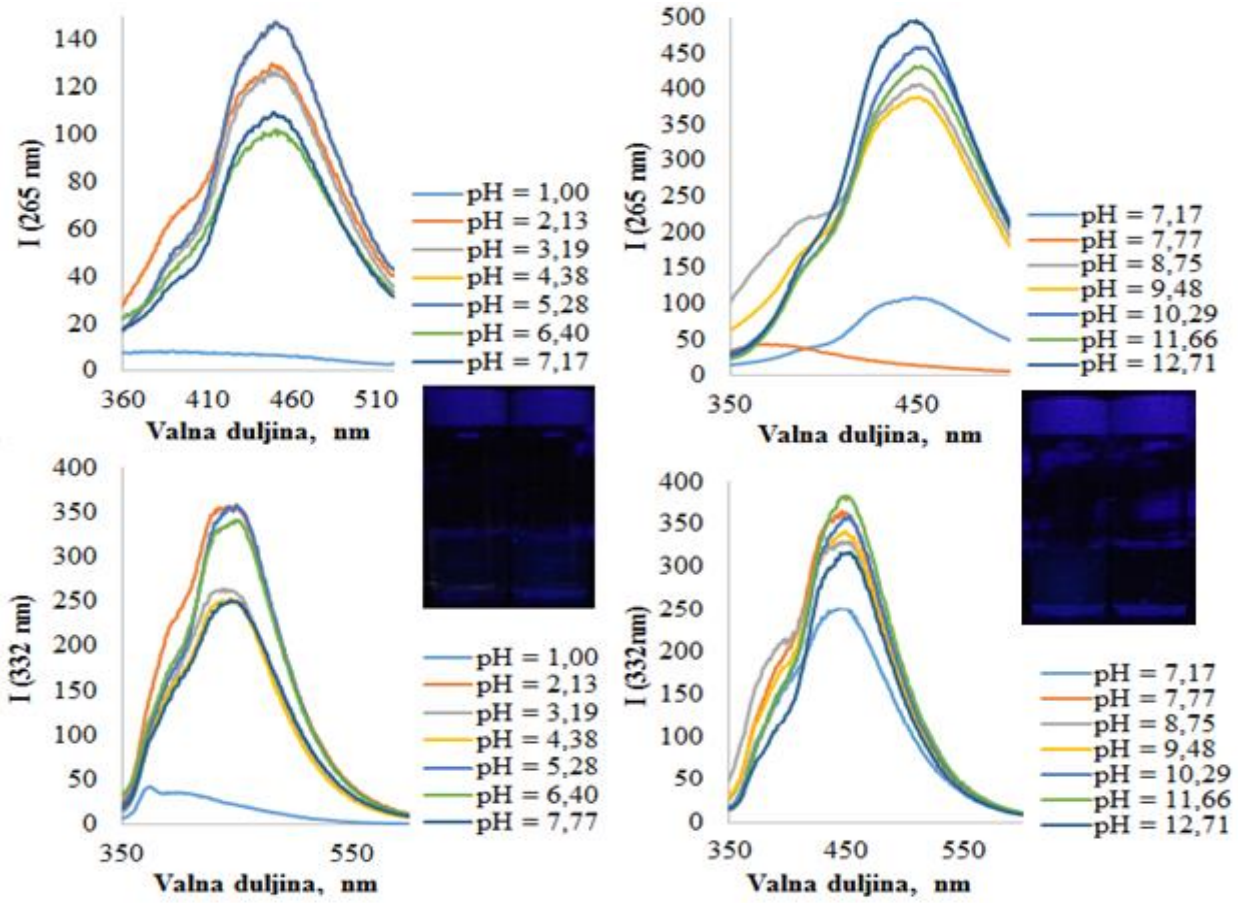
Slika 31. Apsorpcijski (a) i emisijski (b) spektri spoja **3** u otopinama univerzalnog pufera različitih vrijednosti pH

Iz apsorpcijskog spektra za spoj **3** u univerzalnim puferima (**Slika 31.)** uočen je apsorpcijski maksimum na λ = 275 nm za sve pH vrijednosti. Maksimum intenziteta fluorescencije je na λ = 427 nm u kiselom području dok u lužnatom dolazi do blagog batokromnog pomaka. Premda promjene nisu ravnomjerne spoj **3** nije potencijalni pH senzor.

a)

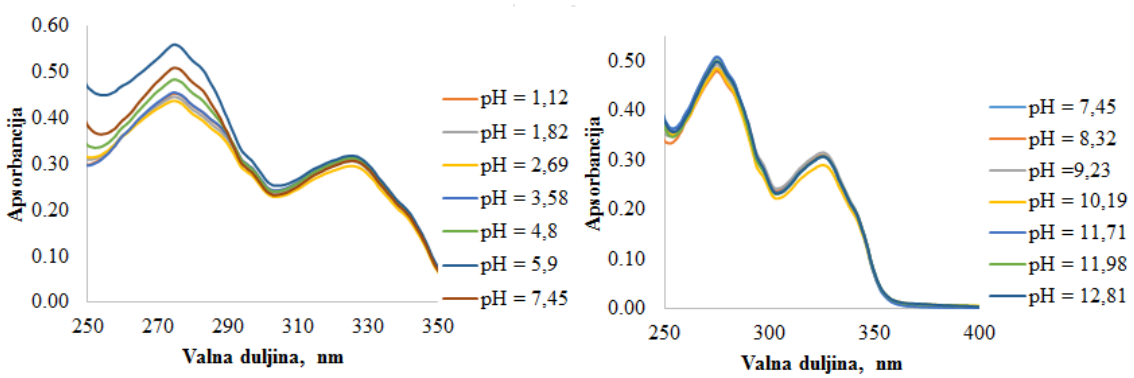


b)

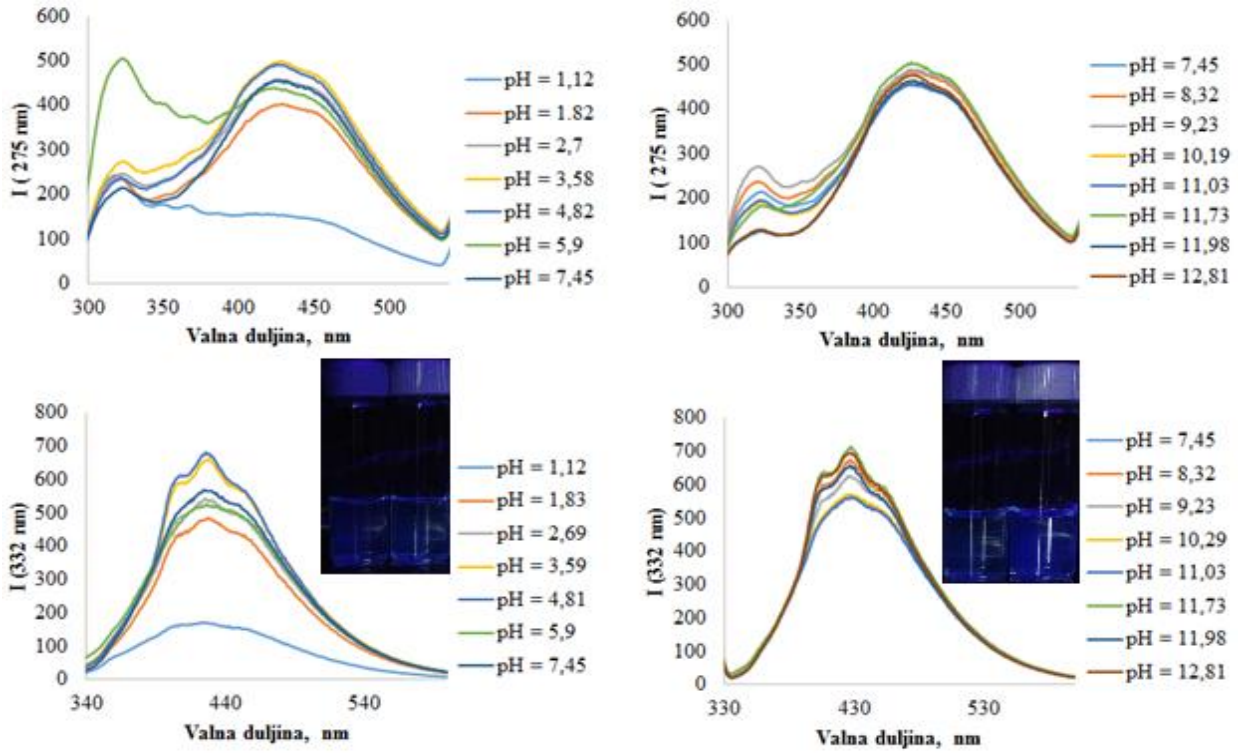


Slika 32. Apsorpcijski (a) i emisijski (b) spektri spoja **4** u otopinama univerzalnog pufera različitih vrijednosti pH

a)



b)



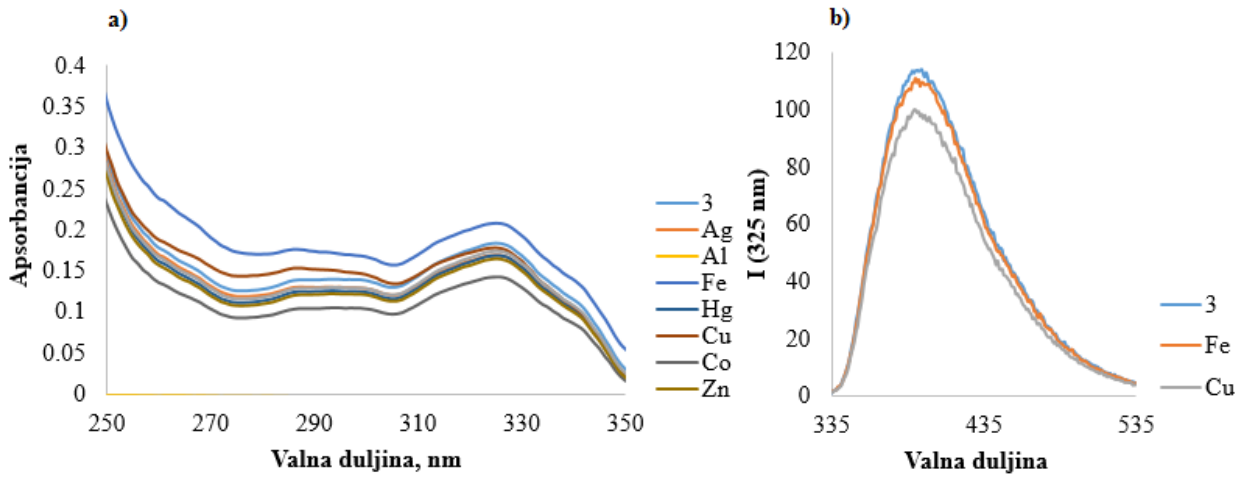
Slika 33. Apsorpcijski (a) i emisijski (b) spektar spoja **4** u etanolnim otopinama različitih vrijednosti pH

Iz apsorpcijskog spektra za spoj **4** u univerzalnom puferu (**Slika 32.)** uočavamo apsorpcijski maksimum na λ_1 = 265 nm i λ_2 = 332nm za sve pH vrijednost. Iz emisijskih spektara uočavamo maksimum intenziteta fluorescencije na λ = 451 nm za obje pobude. Iz grafičkih prikaza je vidljivo da intenzitet fluorescencije ne ovisi o promjeni pH vrijednost univerzalnog pufera..

Iz apsorpcijskog spektra za spoj **4** u etanolnim otopina različitih pH vrijednosti (**Slika 33.**) uočavamo apsorpcijski maksimum na λ_1 = 275 nm i λ_2 = 332nm za sve pH vrijednosti. Iz emisijskih spektara uočavamo maksimum intenziteta fluorescencije na λ = 428 nm za pobudu od 275 nm u rasponu pH od 1 – 13. Maksimalni intenzitet fluorescencije za pobudu od 332 nm javlja se na λ = 433 nm. Iz grafičkih prikaza je vidljivo da intenzitet fluorescencije ne ovisi o promjeni pH vrijednosti etanolnih otopina različite pH vrijednosti.

4.2.3. Otopine različitih metalnih iona

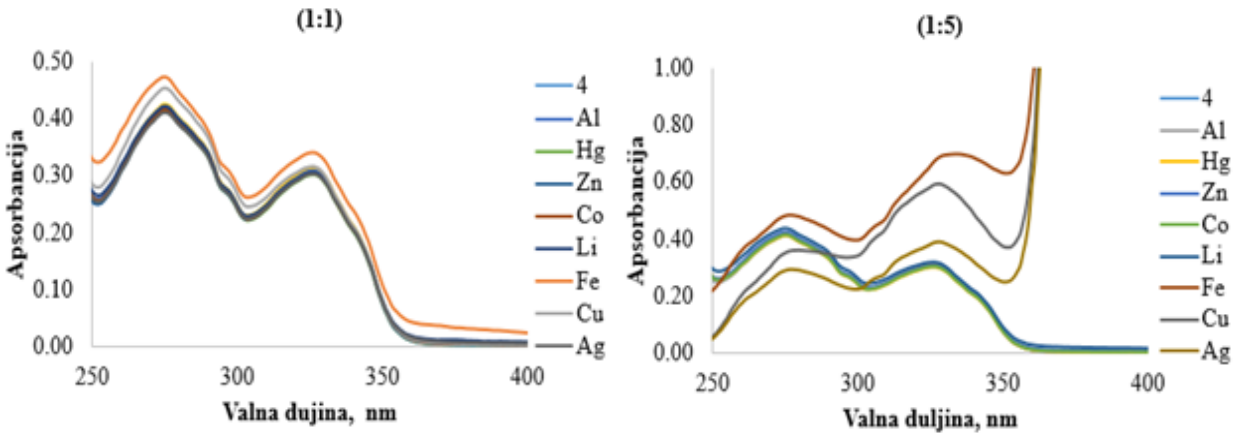
Ispitana je mogućnost kompleksiranja metalnih iona Ag^{+}, Cu^{2+}, Fe^{3+}, Hg^{2+}, Zn^{2+}, Al^{3+}, Ca^{2+}, Co^{2+} i novosintetiziranih spojeva **3** i **4**. Na **slikama 34. i 35**. prikazani su apsorpcijski i emisijski spektri spojeva **3** i **4** u prisutnosti različitih koncentracija ispitivanih metalnih iona.



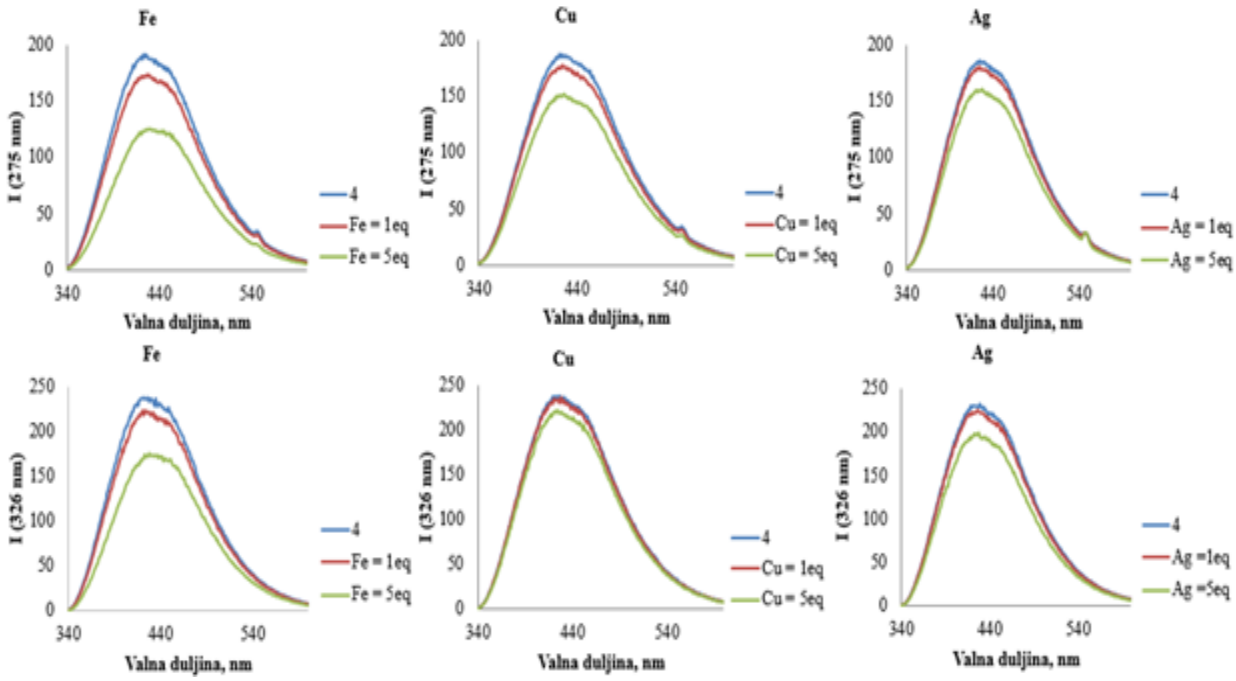
Slika 34. Apsorpcijski (a) i emisijski spektri (b) različitih metalnih iona sa spojem **3** u omjeru 1:1, *c* (metalnog iona) = *c* (spoja) = 1×10^{-5}

Na **slici 34.** prikazana je ovisnost apsorpcije i emisije spoja **3** u prisutnosti različitih metalnih iona u omjeru 1:1, tj. *c* (**3**) = $c(M^{m+}) = 1\times10^{-5}$. **Slika 31. a)** prikazuje ovisnost apsorpcije spoja s različitim metalnim ionima iz koje je uočljivo da se kompleksiranjem spoja s metalnim ionima apsorpcija smanjuje, a valna duljina maksimuma apsorpcije je na 325 nm. Na **slici 34**. **b)** dana je ovisnost intenziteta fluorescencije spoja **3** s ionima Fe^{3+} i Cu^{2+} na kojoj je vidljivo da kompleksiranjem dolazi do smanjenja intenziteta fluorescencije, dok čisti spoj ima najveći inenzitet fluorescencije. U prisutnosti ostalih iona nisu uočene značajne promjene u apsorpcijskom i emisijskom spektru spoja **3**.

a)

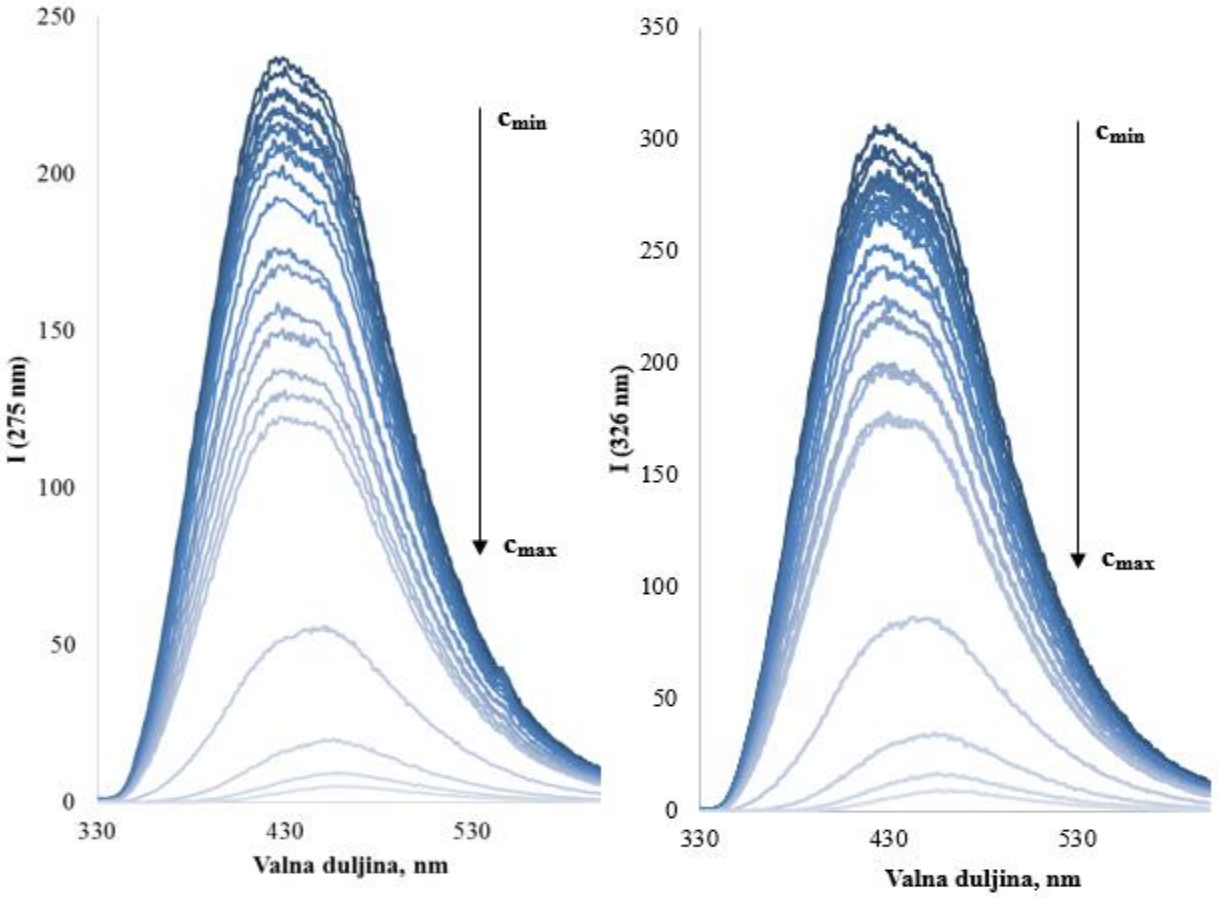


b)

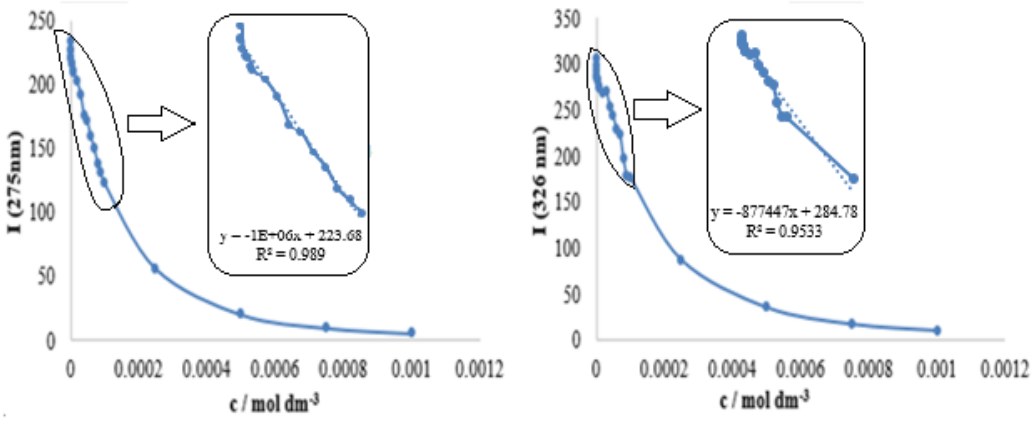


Slika 35. Apsorpcijski (a) i emisijski spektri (b) različitih metalnih iona sa spojem **4** u omjerima 1:1 i 1:5

Na **slici 35**. prikazani su apsorpcijski i emisijski spektri spoja **4** s različitim metalnim ionima u omjerima 1:1 i 1:5. **Slika 35. a)** prikazuje ovisnost apsorpcije spoja s različitim metalnim ionima iz koje je uočljivo da kompleksiranjem spoja s metalnim ionima dolazi do značajne promjene u apsorpcijskom spektru u prisutnosti iona Cu^{2+} i Fe^{3+} pri omjeru 1:1 , dok se izrazito povećava apsorpcija s ionima $Fe^{3+,}$ Cu^{2+} i Ag^{+} kod 5 puta veće koncentracije metalnih iona. . Na **slici 35. b)** dana je ovisnost intenziteta fluorescencije spoja s ionima Fe^{3+}, Cu^{2+} i Ag^{+} u omjerima 1:1 i 1:5 i može se uočiti da se povećanjem koncentracije metalnih iona gasi fluorescencija. U prisutnosti ostalih ispitivanih metalnih iona nisu uočene značajne promjene u apsorpcijskom i emisijskom spektru.

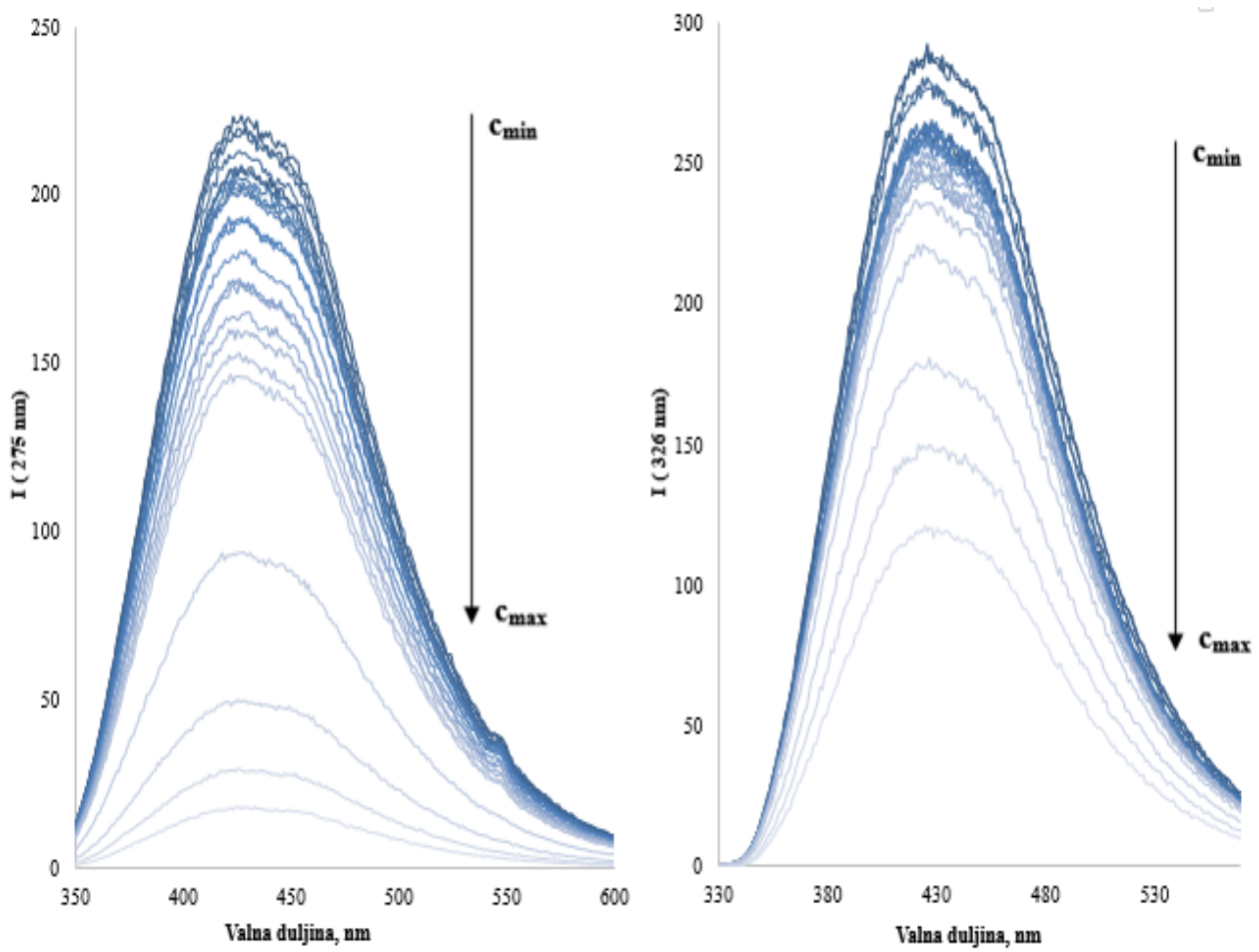


Slika 36. Emisijski spektar titracije Fe^{3+} sa spojem **4**

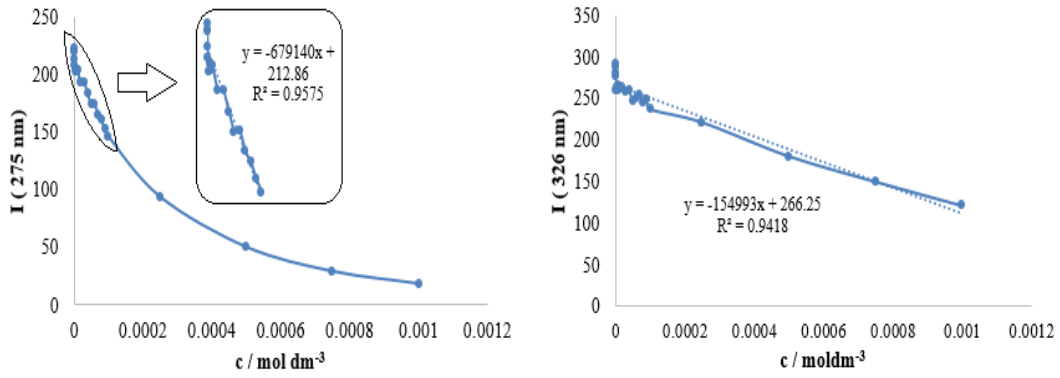


Slika 37. Ovisnost intenziteta fluorescencije o koncentraciji Fe^{3+} kompleksiranog sa spojem **4**, λ_{ex} = 275 i 326 nm

Na **Slici 36**. prikazani su emisijski spektri titracije spoja **4** s Fe^{3+} ionom od 0,01 eq Fe^{3+} do 100 eq Fe^{3+} prema spoju **4** pri valnoj duljini pobude na 275 i 326 nm. Iz grafičkih prikaza je vidljivo kako porast koncentracije Fe^{3+} iona uzrokuje smanjenje intenziteta emisije na 430 nm, odnosno gašenje fluorescencije. Iz **slike 37**. vidljiv je odziv maksimalnog intenziteta fluorescencije ovisno o koncentraciji Fe^{3+} iona na valnim duljinama pobude 275 i 326 nm. Na obje valne duljine odziv se može linearizirati u području koncentracija 10^{-7} M do 10^{-4} M. Prema tome moguće je linearnom metodom odrediti prisutnost Fe^{3+} iona.



Slika 38. Emisijski spektar titracije Cu^{2+} sa spojem **4**



Slika 39. Ovisnost intenziteta fluorescencije na pobudu od 275 i 326 nm o koncentraciji Cu^{2+} kompleksiranog sa spojem **4**

Na **Slici 38.** prikazani su emisijski spektri titracije spoja **4** s Cu^{2+} ionom od 0,01 eq Cu^{2+} do 100 eq Cu^{2+} pri valnoj duljini pobude od 275 i 326 nm. Iz grafova je vidljivo kako porast koncentracije Cu^{2+} iona prati gašenje fluorescencije na obje valne duljine pobude. Iz **slike 39.** vidljiv je odziv maksimalnog intenziteta fluorescencije ovisno o koncentraciji Cu^{2+} iona na valnim duljinama pobude 275 i 326 nm. Na valnoj duljini pobude od 275 nm odziv se može linearizirati u području koncentracija 10^{-7} M do 10^{-4} M, dok se na valnoj duljini pobude od 326 nm odziv može linearizira od 10^{-7} M do 10^{-3} M. Prema tome moguće je linearnom metodom odrediti prisutnost Cu^{2+} iona.

5. ZAKLJUČAK

- Kombinacijom klasične metode organske sinteze i *click* kemije dvostupanjskom su sintezom pripravljeni 1,4- i 1,3-bis(kumarin-1,2,3-triazolil)benzeni **3** i **4** s dvije triazolne jedinice međusobno povezane preko središnje benzenske jezgre.
- Struktura novopripravljenih spojeva **3** i **4** potvrđena je ^{1}H-NMR spektroskopijom.
- Ispitan je utjecaj različitih otapala na spektroskopska svojstva novopripravljenih spojeva te je etanol odabran kao otapalo za sva daljnja fotofizička ispitivanja.
- S obzirom da nisu uočene vidljive promjene u apsorpcijskim i emisijskim spektrima ovisno o promjeni pH vrijednosti, spojevi **3** i **4** nemaju primjenu kao potencijalni pH senzori.
- S obzirom na utjecaj metalnih iona na promjenu spektrofotometrijskih svojstava spojevi **3** i **4** imaju potencijalnu primjenu kao senzora za metale.
- Prisustvo iona Cu^{2+} i Fe^{3+} uzrokuje gašenje fluorescencije spoja **3**.
- Prisustvo iona $Cu^{2+,}$ Fe^{3+} i Ag^{+} uzrokuje gašenje fluorescencije spoja **4**.
- Spojevi **3** i **4** pokazuju potencijalna senzorska svojstva na ione Fe^{3+} i Cu^{2+}, no potrebno je provesti dodatna ispitivanja fotofizičkih svojstava novopripravljenih spojeva u prisutnosti ostalih iona metala.

6. POPIS SIMBOLA

UV/Vis – ultraljubičasta/vidljiva spektroskopija

PET (engl. *photoinduced electron transfer*) – fotoinducirani prijenos elektrona

ICT (engl. *intramolecular charge transfer*) – intramolekularni prijenos naboja

CuAAC (engl. *copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition*) – bakrom katalizirana azid-alkin cikloadicija

NMR – nuklearna magnetska rezonancija

p-TsOH – *para*-toluensulfonska kiselina

$NaNO_2$ – natrijev nitrit

NaN_3 – natrijev azid

$CuSO_4 \times 5H_2O$ – bakrov(II) sulfat pentahidrat

Na-askorbat – natrijev askorbat

t-BuOH – *tert*-butil alkohol

TBTA – tris[(1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil]amin

DMSO – dimetil sulfoksid

EtOH – etanol

THF – tetrahidrofuran

MeOH – metanol

DKM – diklormetan

7. LITERATURA

1. Thévenot. D. R., Toth, K., Durst, R. A., Wilson. G. S., *Pure & App. Chem*., **71** (1999) 2333-2348.
2. Lobnik, A., Turel, M., Urek, Š. K., Optical Chemical Sensors: Design and Applications u: Wang, W., Advances in Chemical Sensors, Rijeka, InTech, (2012) str. 4-6, 15.
3. Pine, S. H., Organska kemija, Školska knjiga, Zagreb, (2001) str. 1063, 1113, 1114.
4. Pavia, D., Lampman, G. M., Kriz, G. S., Introduction to spectroscopy, third edition, Thomson Learning, **7** (2001) 353-356.
5. Owen, T., Fundamentals of modern UV-visible spectroscopy, Primer, Agilent Technologies, **2** (2000) 30-37.
6. Demchenko, A.P., Introduction to fluorescence sensing, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2009. **395** (5) 1195-1196.
7. Hisamoto, H.,Suzuki, K., Ion-selective optodes: current developments and future prospects, TrAC, *Trends Anal. Chem.*, 1999. **18** (8) 513-524.
8. Lakowicz, J. R., Principles of Fluorescence Spectroscopy, third edition, Springer, **1** (2006) 1-30.
9. Liu, Z., He, W., Guo, Z., Metal coordination in photoluminescent sensing, *Chem. Soc. Rev.*, **42** (2013) 1568-1600.
10. Demchenko, A. P., Mechanisms of Signal Transduction, in Introduction to Fluorescence Sensing (2009) 249-259.
11. Kolb, H. C., Finn, M. G., Sharpless, K. B., Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **40** (2001) 2004-2021.
12. Daq, A., Durmaz, H., Kirmizi, V., Hizal, G.,Tunca, U., An easy way to the preparation of multi-miktoarm star block copolymers via sequential double click reactions, *Polym. Chem*., **1** (2010) 621-623.
13. Hein, J. E., Valery, V. F., Copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC) and beyond: new reactivity of copper(I) acetylides, *Chem Soc Rev*., **39** (2010) 1302-1315.

14. Lutz, J.-F., Zarafshani, Z., Efficient construction of therapeutics, bioconjugates, biomaterials and bioactive surfaces using azide–alkyne “click” chemistry, *Adv. Drug Delivery Rev.*, **60** (2008) 958-970.

15. Kamijo, S., Jin, T., Huo, Z., Yamamoto, Y., A one-pot procedure for the regiocontrolled synthesis of allyltriazoles via the Pd-Cu bimetallic catalyzed three-component coupling reaction of nonactivated terminal alkynes, allyl carbonate, and trimethylsilyl azide, *J. Org. Chem.*, **69** (2004) 2386-2393.

16. Cox, J. R., Woodcock, S., Hillier, I.H., Vincent, M. A., Tautomerism of 1,2,3- and 1,2,4-triazole in the gas phase and in aqueous solution: a combined ab initio quantum mechanics and free energy perturbation study, *J. Phys. Chem.*, **94** (1990) 5499-5501.

17. Hoeben, F.J., Jonkheijm, P., Meijer, E.W., Schenning, A.P., About supramolecular assemblies of π-conjugated systems, *Chem. Rev.*, **105** (2005)1491-1546.

18. Juriček, M., Kouwer, P. H. J., Rowan, A. E., Triazole: a unique building block for the construction of functional materials, *Chem. Chomm.*, **47** (2011) 8740-8749.

19. Li, H., Cai, L., Chen Z., Coumarin-Derived Fluorescent Chemosensors u: Wang, W., Advances in Chemical Sensors, Rijeka, InTech, (2012) str. 122-132

20. Song, Y., Z. Chen, Li, H., Advances in Coumarin-Derived Fluorescent Chemosensors for Metal Ions, *Curr. Org. Chem.*, **16(22)** (2012) 2690-2707.

21. Ciba-Geigy, A.G., Wissenschaftliche Tabellen Geigy: Physikalisch Chemie, Blut, Humangenetik, Stoffwechsel von Xenobiotika (Gebundene Ausgabe), Basel, (1979).

22. Saleem, Muhammad., Lee., Ki Hvan., Optical sensor: a promising strategy for environmental and biomedical monitoring of ionic species, *RSC Advances*., **5** (2015) 72150-72287.

23. Garcia-Heras, M., Kromka, K., Faber, J., Karaszkiewicz, P., Villegas, M.A., Evaluation of air acidity through optical sensors, *Environ. Sci. Tech*., **39** (2005) 3743-3747.

24. Jerónimo, P. C. A, Araújo, A.N., Montenegro, M. C. B. S. M., Optical sensors and biosensors based on sol-gel films, *Talanta*, **72** (2007)13-27.

25. Lukowiak, A., Strek, W. Sensing abilities of materials prepared by sol-gel Technology, *J. Sol-gel Sci. Technol.,* **50** (2009) 201-215.

26. Seitz, W.R., Chemical Sensors Based on Immobilized Indicators and Fiber Optics, *Crit. Rev. Anal. Chem.,* **19** (1988) 135-173.

27. Meudtner, R. M., Ostermeier, M., Goddard, R., Limberg, C., Hecht, S., Multifunctional"Clickates" as Versatile Extended Heteroaromatic Building Blocks: Efficient Synthesis via Click Chemistry, Conformational Preferences, and Metal Coordination, *Chem. Eur. J.,* **13** (2007) 9834-9840.

28. Filimonov, V. D.; Trusova, M. E.; Krasnokutskaya, E. A.; Postnikov, P. S.; Lee, Y. M.; Hwang, H. Y.; Kim, H.; Chi, K.-W., Unusually Stable, Versatile, and Pure Arenediazonium Tosylates: Their Preparation, Structures, and Synthetic Applicability, *Org. Lett.* **10** (2008) 3961-3964.

29. Kutonova, K. V., Trusova, M. E., Postnikov, P. S., Filimonov, V. D., Parello, J., A Simple and Effective Synthesis of Aryl Azides via Arenediazonium Tosylates, *Synthesis* **45** (2013) 2706-2710.

30. Sareen, D., Kaur, P., Singh, K., Strategies in detection of metal ions using dyes, *Coord. Chem. Rev.,* **265** (2014) 125-151.

8. ŽIVOTOPIS

Mario Vitek rođen je 21. kolovoza 1991. godine u Bjelovaru. Osnovnu školu završio je u Rovišću, 2006. godine upisuje Medicinsku školu u Bjelovaru za zvanje zdravstveno-laboratorijskog tehničara. Po završetku srednjoškolskog obrazovanja upisuje 2010. godine preddiplomski studij Ekoinženjerstva na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu. Godine 2014. obranio je završni rad iz polja naftno-petrokemijskog inženjerstva pod nazivom "Razvoj ultrazvučno potpomognutog procesa oksidacijske desulfurizacije" čime je stekao titulu sveučilišnog prvostupnika ekoinženjerstva. Akademske godine 2014./2015. upisao je diplomski studij Kemijsko inženjerstvo na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije. 2015. godine sudjelovao je na X. međunarodnom susretu studenata tehnologije u Novom Sadu s radom na temu "Ultrazvukom potpomognut proces oksidacijske desulfurizacije".