

# Sintetski prijenosnici kisika

---

**Bafti, Arijeta**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2017**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:476124>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-27**



*Repository / Repozitorij:*

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





Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
Kemijski odsjek

Arijeta Bafti

Studentica 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

# **SINTETSKI PRIJENOSNICI KISIKA**

## **Završni rad**

Rad je izrađen u Zavodu za opću i anorgansku kemiju

Mentor rada: doc. dr. sc. Ivica Đilović

Zagreb, 2017.

Datum predaje prve verzije Završnog rada:

15. srpnja 2017.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

14. rujna 2017.

Mentor rada: doc. dr. sc. Ivica Đilović

Potpis:



## Sadržaj

<b>§ SAŽETAK.....</b>	<b>2</b>
<b>§ 1. UVOD.....</b>	<b>3</b>
<b>1.1. Prirodni prijenosnici kisika.....</b>	<b>4</b>
<i>1.1.1. Hemoglobini.....</i>	<i>4</i>
<i>1.1.2. Hemocijanini.....</i>	<i>7</i>
<i>1.1.3. Hemeritrini.....</i>	<i>7</i>
<b>§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME .....</b>	<b>9</b>
<b>2.1. Idealni prijenosnik kisika.....</b>	<b>9</b>
<b>2.2. Hemoglobinski prijenosnici kisika.....</b>	<b>10</b>
<b>2.3. Perfluorokarbonski prijenosnici kisika.....</b>	<b>12</b>
<b>2.4. Razgranati prijenosnici kisika .....</b>	<b>14</b>
<i>2.4.1. Razgranati polimeri s porfirinskom jezgrom .....</i>	<i>14</i>
<i>2.4.2. Razgranati polimeri s piridinom i porfirinskom jezgrom.....</i>	<i>16</i>
<b>§ 3. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>18</b>
<b>§ 4. LITERATURNI IZVORI.....</b>	<b>I</b>



## § Sažetak

Cilj ovog rada je prikazati dosadašnja saznanja o prirodnim prijenosnicima kisika, o njihovim karakteristikama i funkcijama te mogućnosti sinteze novih prijenosnika. U prvom dijelu rada bit će opisana uloga kisika i načini njegova prenošenja u različitim organizmima.

Potom će biti opisani svi prirodni, dosad poznati tipovi prijenosnika kisika. Njihova struktura bit će objašnjena i povezana s njihovim funkcijama i ostalim karakteristikama. Iako su prijenosnici kisika prisutni u većini organizama, prikažat će se oni iz složenijih, višestaničnih organizama. U radu će biti opisane metode sinteze novih prijenosnika kisika, njihove osnovne karakteristike, prednosti i mane. Također, bit će opisana mogućnost i dosezi eventualne primjena u realnim sustavima.

## § 1. UVOD

Kisik je mnogim organizmima neophodan za preživljavanje, obavljanje važnih funkcija od disanja do metaboličkih reakcija. Nedovoljno je topljiv u vodenim otopinama pa su organizmi, kojima je potrebna veća količina kisika, morali razviti posebne sustave za vezanje i transport kisika.\* Takve molekule, transporteri, moraju biti dobro topljive u vodenom mediju i sposobne prenijeti molekule kisika iz područja veće u područje manje zasićenosti kisikom.

Kisik se do stanica može dovesti i difuzijom, što je kod jednostaničnih i drugih jednostavnijih organizama brzinom i količinom dovoljno za obavljanje životnih funkcija. U višestaničnim organizmima dovođenje kisika do stanica potpomognuto je raznim sustavima za prijenos, skladištenje i otpuštanje kisika. Organi poput srca (pumpa), žila (arterije, vene, kapilare), pluća, škruga i slično (imaju veliku površinu čime olakšavaju „promjenu“ agregacijskog stanja) poboljšavaju i ubrzavaju prijenos kisika. Na sub-mikroskopskoj razini organizmi se koriste proteinima za prijenos i skladištenje kisika. U prirodi su dosad otkrivena tri tipa proteina, prijenosnika molekula kisika: *hemoglobini*, *hemocijanini* i *hemeritrini*.

Vezno mjesto proteina prenositelja kisika je složeni centar u kojem se obično nalazi jedan ili više bakrovih(I) ili željezovih(II) iona. Većina takvih prijenosnika su polimeri ili oligomeri što znači da posjeduju dvije ili više identičnih ili vrlo sličnih podjedinica za vezanje molekule kisika. U nekim primjercima, pojedine podjedinice su povezane kovalentnim vezama, no u većini proteina veza između podjedinica je nekovalentnog karaktera, poput disperzijskih sila ili vodikovih veza. Većina prenositelja kisika ima svojstvo pozitivne kooperativnosti što znači da vezanje kisika na jednu podjedinicu pospešuje vezanje kisika na preostale podjedinice (odnosno otpuštanje, ovisno o koncentraciji kisika u mediju).† Važno je napomenuti da vezanje kisika na metaloprotein nije jednostavan proces, već postoji više faktora (afinitet proteina za kisik, zasićenost proteina kisikom, zasićenost medija kisikom, brzina vezanja kisika na protein

---

\* Pri prosječnim dnevnim uvjetima topljivost kisika u vodi je  $\approx 40 \text{ mg L}^{-1}$ . Dakle, količina molekula kisika u jednoj litri vode višestruko premašuje količinu hidroksidnih ili oksionijevih iona (na jedan ion dolazi otprilike 10 milijuna molekula kisika).

† Općenito, prijenosnici na koje je vezana molekula kisika imaju prefiksoksi-, a one na koje nije vezana molekula kisika imaju prefiks deoksi- (primjerice, oksimioglobin ili deoksihemoglobin).

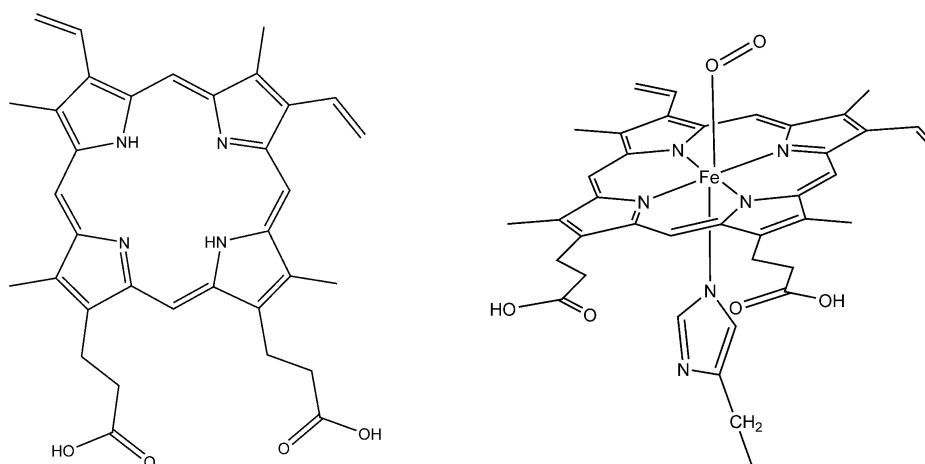


i drugi) koji utječu na to kada će i koliko kisika biti vezano. Proces vezanja i otpuštanja kisika s proteina, ovisno o mediju u kojem se nalazi, termodinamički je stabilan proces.<sup>1</sup>J. E. Squires, *Science* **295** (2002) 1002-1004.

## 1.1. Prirodni prijenosnici kisika

### 1.1.1. Hemoglobini

Hem- označava krv, a u slučaju hemoglobina predstavlja njegov neproteinski dio (slika 1). Globin je tzv. globularni protein (dakle, protein kuglastog oblika) sastavljen većinom od  $\alpha$ -zavojnica, a na koji je vezan na hem. Kod kralješnjaka poznate su dvije vrste takvih proteina, mioglobin i hemoglobin,<sup>‡</sup> a kod beskralješnjaka eritrokrurin i klorokrurin.



Slika 1. Sažeti strukturalni prikaz molekula protoporfirina IX (lijevo) i oksihema b (desno).

Mioglobin je protein koji se sastoji od jednog polipeptidnog lanca sastavljenog uglavnom od  $\alpha$ -zavojnica povezanih u kuglastu strukturu, te također i od prostetičke skupine – hema. Mioglobin u tijelu služi kao dodatni izvor kisika kada je potrebno (skladište) te za transport kisika u mišićima. Također potpomaže difuziju kisika.<sup>2</sup>

<sup>‡</sup> Mioglobin i hemoglobin prvi su proteini kojima je metodom difrakcije rentgenskih zraka na monokristalu određena trodimenzijska struktura. Za određivanje strukture mioglobina (1958.) i druge zasluge, M. Perutz i J. Kendrew su 1962. dobili Nobelovu nagradu za kemiju. Određivanje strukture proteina predstavlja ogroman iskorak u određivanju njegove funkcije u tijelu (vezanje i otpuštanje molekula kisika).

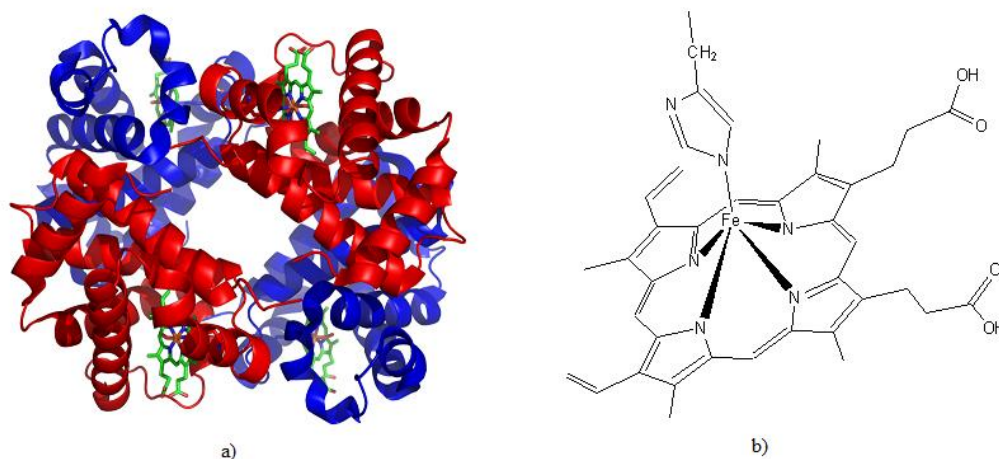
Hemoglobin je protein koji se nalazi u eritrocitima svih kralješnjaka i u optjecajnim tekućinama nekih skupina beskralješnjaka. Izgrađen je od četiriju podjedinica, odnosno dvaju parova identičnih polipeptidnih lanaca  $\alpha$  i  $\beta$  koji su povezani nekovalentnim interakcijama ( $\alpha_2\beta_2$ ). Zbog svoje se strukture često naziva i dimerom sastavljenim od  $\alpha\beta$  podjedinica. Osim polipeptidnih lanaca  $\alpha$  i  $\beta$ , svaka od četiri podjedinice sadrži i nekovalentno vezanu molekulu hema. Hem je tzv. prostetička skupina, dio proteina koji nije peptid, a sastoji se od cikličkog tetrapirola<sup>§</sup> (protoporfirin IX) u čijem je središtu željezov(II) ion.<sup>3</sup> Središnji metalni ion je koordiniran četirima atomima dušika. U oksiformi, koordinacijsku sferu željezovog(II) iona upotpunjuju bočni ogranak histidina (iz polipeptidnog lanca) i molekula kisika (slika 1, desno).<sup>\*\*</sup>

Više je modela koji opisuju vezanje molekule kisika na hem. Dosad je vezanje najbolje opisano Paulingovim i Weissovim modelima, od kojih je potonji ipak bliže stvarnosti (novija teorijska istraživanja podupiru tezu da je vezanje kombinacija oba načina). Weissov model vezanja pretpostavlja oksidaciju željezova(II) iona i redukciju molekule kisika (potvrđeno infracrvenom i fotoelektronskom spektroskopijom). Prilikom oksidacije željezova iona dolazi i do smanjenja njegovog radijusa, odnosno „ulaska“ u hem (ion se smješta u ravninu koja je definirana položajima atoma dušika; potvrđeno rentgenskom strukturnom analizom). Osim molekula kisika, hemoglobin ima sposobnost prenošenja molekula ugljikovog dioksida iz tkiva u pluća, a zbog svojstva kooperativnosti deoksihemoglobin ima veći afinitet za vezanje molekule ugljikova dioksida nego oksihemoglobin.

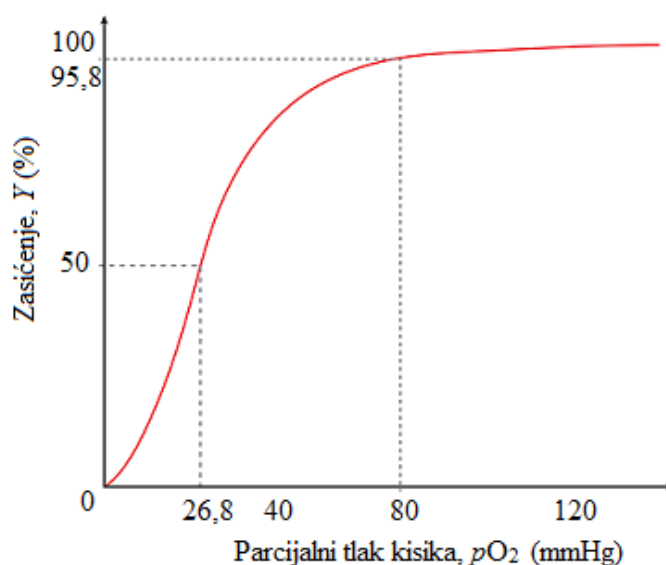
---

<sup>§</sup> Tetrapiroli su kemijski spojevi koji sadrže četiri kovalentno povezana pirolna prstena. Tetrapiroli mogu biti linearni ili ciklički. Općenito ciklički tetrapiroli se dijele na porfirine, Fe-protoporfirine IX i korine.

<sup>\*\*</sup> Hemovi koji su prisutni u hem-proteinima mogu biti hem a, b, c, d, d1, o, siro i P460. Svi se sastoje od istog tetrapirolnog prstena (Fe-protoporfirin IX), no razlikuju se po supstituentima vezanim na prsten. U ljudskom hemoglobinu se nalazi hem b.



Slika 2. a) Shematski prikaz strukture molekule hemoglobina (plavom i crvenom bojom su istaknute različite podjedinice).<sup>4</sup> b) Sažeti strukturni prikaz veznog mjesta u deoksihemu b, gdje se željezov(II) ion ne nalazi u ravnini hemskog dijela.

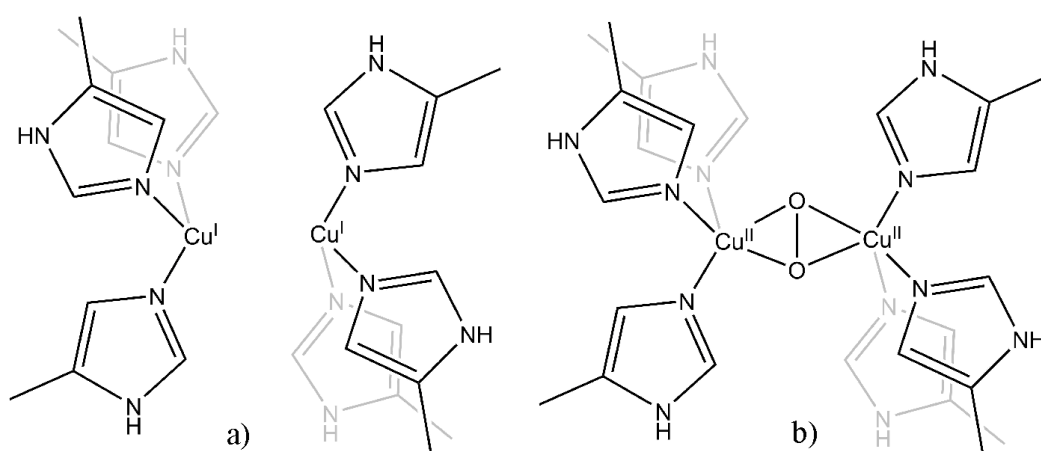


Slika 3. Crvena krivulja predstavlja udio veznih mjesta koja su popunjena molekulama kisika pri nekom parcijalnom tlaku kisika. Vezanje kisika na četiri podjedinice hema ne događa se istovremeno, već vezanje jedne molekule kisika potiče promjene u strukturi u veznom mjestu koje potpomažu vezanje narednih molekula kisika (pozitivna kooperativnost). Pri visokom parcijalnom tlaku kisika hemoglobin ima mogućnost velikog zasićenja kisikom i obrnuto. To se može objasniti razlikama u strukturi hemoglobina koje mu omogućuju efikasan prijenos kisika. Zbog svog oblika, nalikuje slovu „S“, krivulja se često naziva sigmoidalnom.<sup>5,6</sup>

### 1.1.2. Hemocijanini

Hemocijanini su prijenosnici kisika koji sadrže bakrove(I) ione, a zastupljeni su u mekušaca i artropoda. Karakterizira ih veliki broj podjedinica, a u jednoj podjedinici se nalaze dva bakrova iona. Također, hemocijanini su proteini koji ne sadrže prostetičku skupinu hem.

Većina hemocijanina nema izraženo svojstvo kooperativnosti i samim time prijenos kisika nije efikasan kao kod hemoglobina, jer vezanje jedne molekule kisika ne povećava afinitet proteina za vezanje dodatnih molekula kisika. Također, za razliku od hemoglobina, hemocijanini nisu direktno vezani za crvene krvne stanice već se nalaze u limfi.



Slika 4. Sažeti strukturni prikaz veznog mjesta u molekulama a) deoksihemocijanina i b) oksihemocijanina.

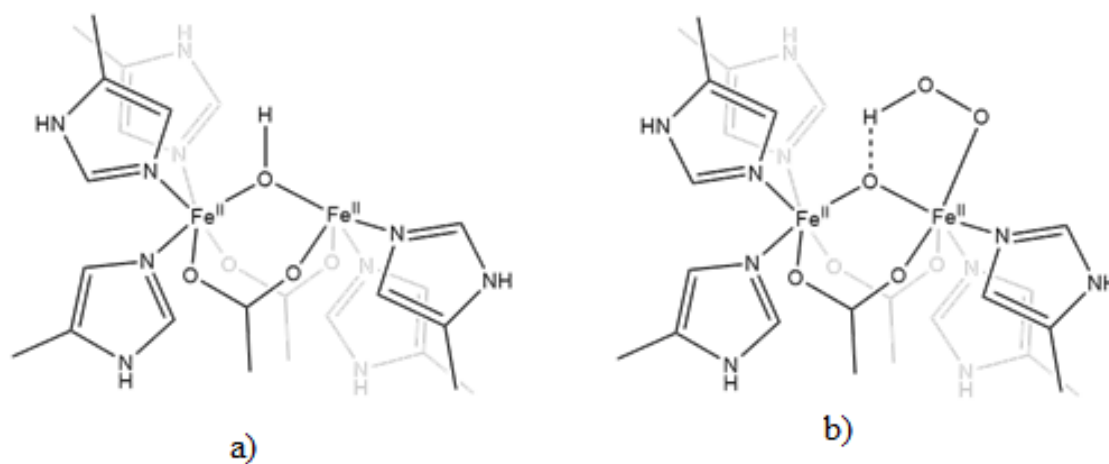
### 1.1.3. Hemeritrini

Hemeritrini su relativno rijetki prijenosnici kisika, a prisutni su samo kod nekih beskralješnjaka (npr. anelidi, brahiopodi, morski crvi). Poznati su monomerni, trimerni i oktamerni oblici hemeritrina, a svi su bazirani na istoj podjedinici. U jednoj podjedinici nalaze se dva željezova(II) iona.

Podjedinice hemeritrina sastoje se od četiriju  $\alpha$ -zavojnica vezanih na dva željezova(II) iona. Zbog svoje veličine, u krvi se ne nalazi u slobodnom obliku, već u obliku zrnaca. Iako većina hemeritrina nema mogućnost kooperativnog vezanja kisika, u nekih brahiopoda otkrivena je sposobnost hemeritrina da kooperativno veže molekule kisika. Vezanjem kisika na jednu podjedinicu, afinitet za kisik druge podjedinice se povećava.

Afinitet hemeritrina za molekulu ugljikovog(II) oksida manja je od afiniteta za vezanje molekule kisika, što nije slučaj kod hemoglobina. Nemogućnost stvaranja vodikove veze pri

povezivanju s molekulom hemeritrina u veznom mjestom, razlog je zbog kojeg je manjeg afiniteta za molekulu ugljikova(II) oksida od afiniteta za vezanje molekule kisika.<sup>1</sup>



Slika 5. Sažeti strukturni prikaz veznog mjesta u molekulama a) deoksihemitrina i b) oksihemitrina.

## § 2. PRIKAZ ODABRANE TEME

### 2.1. Idealni prijenosnik kisika

Odlike idealnog prijenosnika kisika su: veliki afinitet i selektivnost u uvjetima pri kojima ga treba vezati te lakoća otpuštanja u okolini kojoj je potreban. Drugim riječima, u tkivima koja su prezasićena kisikom prijenosnik treba na sebe vezati kisik i prenijeti ga u tkiva koja trebaju kisik za normalno funkcioniranje. Također, gubitkom svoje funkcije, prijenosnici bi se trebali što brže razgraditi i izlučiti iz organizma. Na taj se način sprječavaju nepoželjni procesi kao što su koagulacija ili trovanje. Bitno je i da ne utječu na brojnost bijelih krvnih stanica, odnosno da ne potiču infekcije, ne reagiraju s kisikom kojeg prenose ili s plazmom kako ne bi došlo do nepoželjnih nusprodukata.

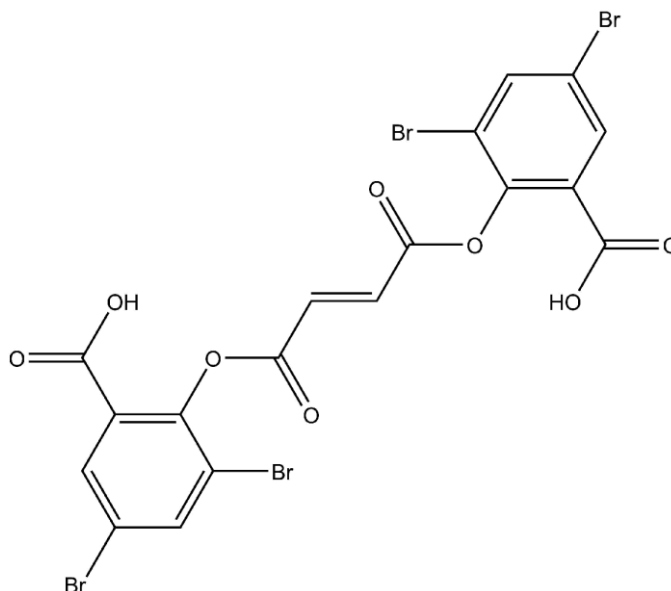
Transfuzija krvi jedna je od najčešćih primjena prijenosnika kisika. Poželjna je stabilnost prijenosnika pri sobnoj temperaturi čime se olakšava njegov prijenos, skladištenje i upotreba. Također, s obzirom da krv prije transfuzije treba proći kroz razna testiranja i pročišćavanje od patogena, idealni su oni prijenosnici koji imaju karakteristike mikrobiološke čistoće i univerzalne podudarnosti (jer ne sadrže antigene za krvne grupe).

Zbog produženja efikasnog životnog vijeka stanica, a i zbog sprječavanja ili bar smanjenja rizika od zagađenja krvi bakterijskim stanicama, ljudska krv se čuva i pohranjuje na vrlo složen način. To uvelike smanjuje dostupnost krvi u određenim situacijama u kojima se uvjeti za čuvanje krvi ne mogu kontrolirati (poput ratišta, mjesta nesreća i sl.). U tim situacijama, sintetski prijenosnici kisika, odnosno krv i njezini pripravci, bili bi dostupni, a time i efikasniji.

Također, u slučaju nesreća i hitnih potreba za krvlju, sintetska krv bila bi dostupnija jer ne sadrži antigene krvnih grupa, što je povoljno u odnosu na pravu krv (ne postoji mogućnost odbacivanja). Ideja je da se sintetski prijenosnici koriste i pri operacijama jer, za razliku od krvi, ne postoji opasnost od zaraze virusom hepatitisa, HIV-a i slično. Sintetski prijenosnici mogli bi pospješiti prijenos kisika i kod anemičnih osoba čime bi se uvelike smanjila potreba za raznim lijekovima.<sup>7</sup>

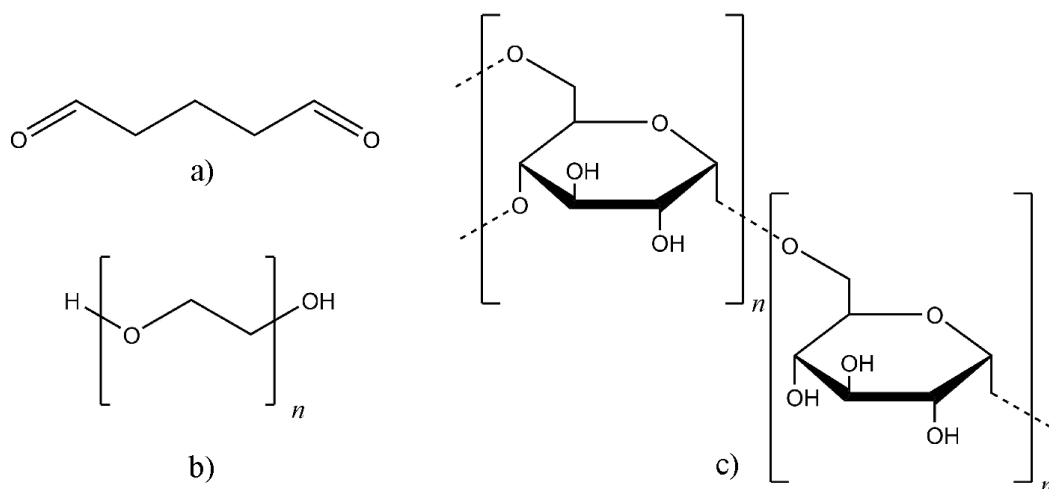
## 2.2. Hemoglobinski prijenosnici kisika

Ideja je dizajnirati prijenosnike po uzoru na hemoglobin jer zadržava mogućnost transporta kisika čak i kad je izoliran iz crvenih krvnih stanica. Problem kod izoliranog hemoglobina je njegova stabilnost, odnosno kratko vrijeme preživljavanja u krvotoku, jako velik afinitet za kisikom i ostale kliničke nuspojave (malaksalost, bol u abdomenu, hemoglobinurija itd.). Disocijacija sintetiziranih prijenosnika probala se izbjeći stvaranjem snažnih veza između hemoglobinskih jedinica. Kada bi se monomerni lanci mogli snažnije povezati, životni vijek hemoglobina u krvotoku bi se produljio. Primjerice, dodatkom salicilnog derivata fumarata (slika 6.) životni vijek hemoglobina u krvotoku se povećava na 12 sati. Bez tog aditiva hemoglobin se izlučuje iz tijela za manje od 6 sati.



Slika 6. Sažeti strukturni prikaz molekule derivata salicil fumarata [2,2'-(fumaroylbis(oxi))bis(3,5-dibromobenzojeva kiselina)].

Postoje i druge tvari kojima se mogu dodati hemoglobinu kako bi se poboljšala njegova svojstva u krvotoku. Jedna od njih je glutaraldehid (slika 7a) koja ima mogućnost umreženja ciljanih aminokiselina i čime potiče polimerizaciju hemoglobinskih podjedinica. Na taj se način stvara jedinica od pet ili šest molekula hemoglobina, odnosno polihemoglobin koji preživi dulje od 24 sata. Razne druge tvari pospešuju svojstva i produžuju životni vijek hemoglobina, poput dekstrana, polietilen glikola i slično (slika 7).



Slika 7. Sažeti strukturni prikazi molekula a) glutaraldehida, b) polietilen glikola i c) dekstrana.

Osim tretiranja izoliranog hemoglobina, postoje i drugi načini poboljšavanja njegovih svojstava. Primjerice, povezivanje polihemoglobina s raznim antioksidansima poput superoksid-katalaze ili dismutaze u svrhu sprječavanja bolesti izazvane ishemijom-reperfuzijom tkiva. Razni su uzorci ishemije, npr. nedostatak kisika u srcu ili srčani udar uzrokovani začepljenjem krvnih žila, transplantacija organa i slično. Ishemija dovodi do promjene u metaboličkim reakcijama i do stvaranja hipoksantina i aktivacije enzima hipoksantin-oksidaze. Što je tkivo duže ishemično, razina hipoksantina se povećava. Ponovnim vraćanjem krvi u tkiva, aktivira se enzim ksantin-oksidaza koji pretvara kisik i hipoksantin u superoksid. Uz taj proces, događa se i pretvorba superoksida u kisikove radikale koji mogu uzrokovati razne bolesti tkiva. U tim situacijama, polihemoglobin s dodanim antioksidansima preveo bi superoksid u vodikov peroksid, koji se jednostavnim procesima dalje raspada na vodu i kisik.

Izvor hemoglobina koji se izolira, a zatim i tretira na navedene načine, može biti darovana ljudska krv koja stoji predugo da bi se koristila u tom obliku. U tom slučaju problem je ograničena količina krvi. Jeftiniji i dostupniji izvor hemoglobina je goveđa krv. Nakon što se pročisti od svih proteina, goveđi hemoglobin stavljen u ljudsko tijelo nije prepoznat kao strano tijelo, što je prvi uvjet da bi se uopće i mogao koristiti pri sintezi hemoglobinskih prijenosnika kisika. Goveđi hemoglobin može sadržavati prione koji uzrokuju goveđu spongioformnu encefalopatiju, smrtonosnu bolest živčanog sustava (poznatiju kao kravlje ludilo), zbog čega postoji rizik kod neistine uporabe. Idealno rješenje bilo bi kada bi se genetičkim inženjerstvom



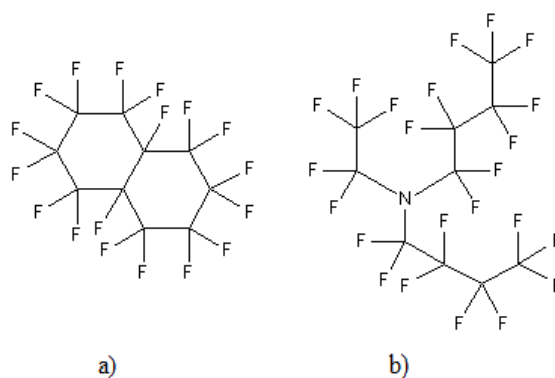
proizveo izvor ljudskog hemoglobina, jer bi se na taj način spriječili problemi prijenosa bolesti. No, takav način dobivanja hemoglobina je vrlo skup, a količine hemoglobina koje su potrebne na dnevnoj bazi su prevelike.

U skladu s današnjom tehnologijom, logično je da postoji i ideja „pakiranja“ hemoglobina u krvne stanice napravljene od biorazgradivih polimera, nanokapsula ili masnih kapljica (vezikula).<sup>7,8</sup>

### 2.3. Perfluorokarbonski prijenosnici kisika

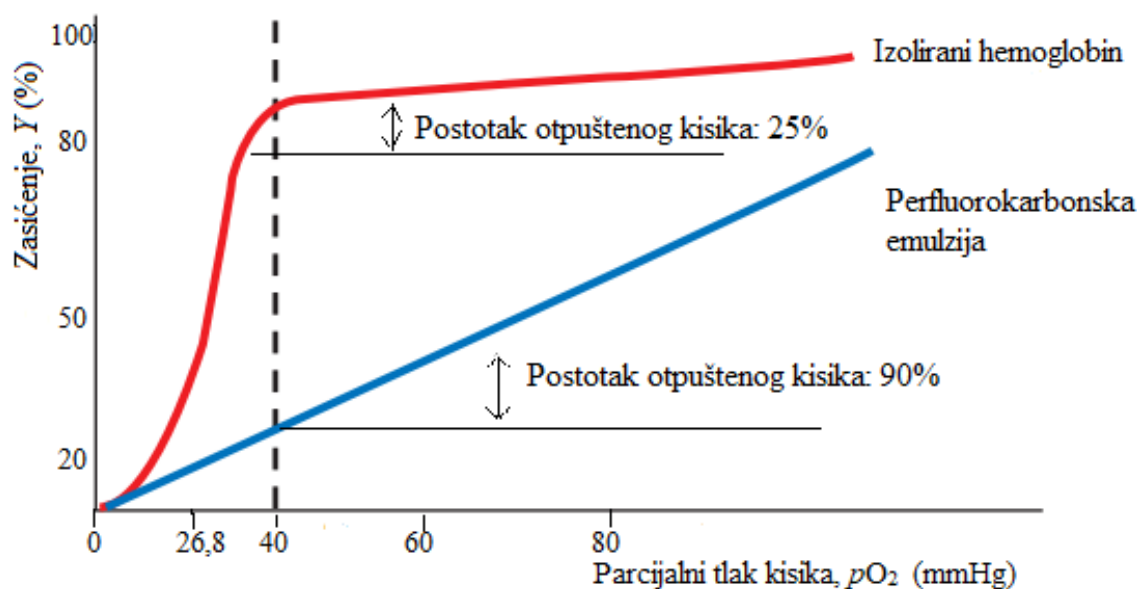
Određen broj ljudi iz vjerskih razloga odbija primiti doniranu krv, kao i hemoglobin izdvojen iz ljudske ili životinjske krvi. U slučaju potrebe, idealno rješenje za njih bili bi perfluorokarbonski prijenosnici, čije su molekule vrlo slične molekulama ugljikovodika kod kojih su atomi vodika atomi zamijenjeni atomima fluora. Zanimljivo je da su to tekućine koje prenose kisik i ugljikov dioksid, a bez međusobnog povezivanja molekula. Kemijski su inertni, a kisik se u njima otopi i nije potreban sustav otpuštanja u tkiva koja su siromašna kisikom, već se to spontano odvija difuzijom. Perfluorokarbonski prijenosnici su hidrofobne molekule i ne miješaju se s vodenim otopinama. Iz tog se razloga za intravenozno korištenje pripremaju u obliku emulzije.

Dosad su korišteni kako bi nedonoščadi s problemima u respiratornom sustavu osigurali dovoljnu razinu kisika u tijelu. Kapacitet perfluorokarbonskih prijenosnika za kisik linearno je povezan s parcijalnim tlakom kisika na danom području. Perfluorokarbonske emulzije su primjenu našle u nekoliko ispitivanih sintetskih prijenosnika kisika. Jedan od njih je Fluosol koji je većinom građen od perfluorodekalina i perfluorotributilamina, suspendiranih u proteinu krvne plazme – albuminu (slika 8).<sup>7</sup>



Slika 8. Sažeti strukturni prikazi glavnih sastavnica Fluosola: a) perfluorodekalin i b) perfluorotributilamin.

Usporedbom s hemoglobinskim prijenosnicima koji imaju sigmoidalnu krivulju vezanja kisika, pri određenom parcijalnom tlaku kisika hemoglobinski prijenosnici (a i izolirani hemoglobin) vežu više kisika nego što može biti otopljeno u perfluorokarbonskoj emulziji (slika 9). Povišen parcijalni tlak kisika povećava kapacitet perfluorokarbonskih emulzija za kisik. Perfluorokarbonske emulzije pokazuju učinkovitiji prijenos kisika iz područja visoke zasićenosti kisikom (npr. pluća) u područja manje zasićenosti kisikom (npr. tkiva) nego hemoglobin. U prijevodu, perfluorokarbonske emulzije otpuste veći udio vezanog kisika od hemoglobina. Slabe intramolekulske interakcije u perfluorokarbonskim emulzijama uzrokuju vrlo dobru topljivost plinova u emulziji (tablica 1).<sup>7,9</sup>



Slika 9. Usporedba zasićenosti veznih mjesta hemoglobina sa zasićenjem perfluorokarbonske emulzije (pri parcijalnim tlakovima kisika bliskima fiziološkim).

Tablica 1. Prikaz razlike u topljivosti dušika (iskazana množinskim udjelom,  $x$ ) u perfluorokarbonskim emulzijama u odnosu na druga otapala ( $T = 298,15$  K,  $p = 101\,325$  Pa).

Tekućina	$x(\text{N}_2) \times 10^4$
voda	0,118
etanol	3,57
aceton	5,42
tetrahidrofuran	5,21
cikloheksan	7,73
perfluorometilcikloheksan	33,1
perfluoro-1,3-dimetilcikloheksan	31,9

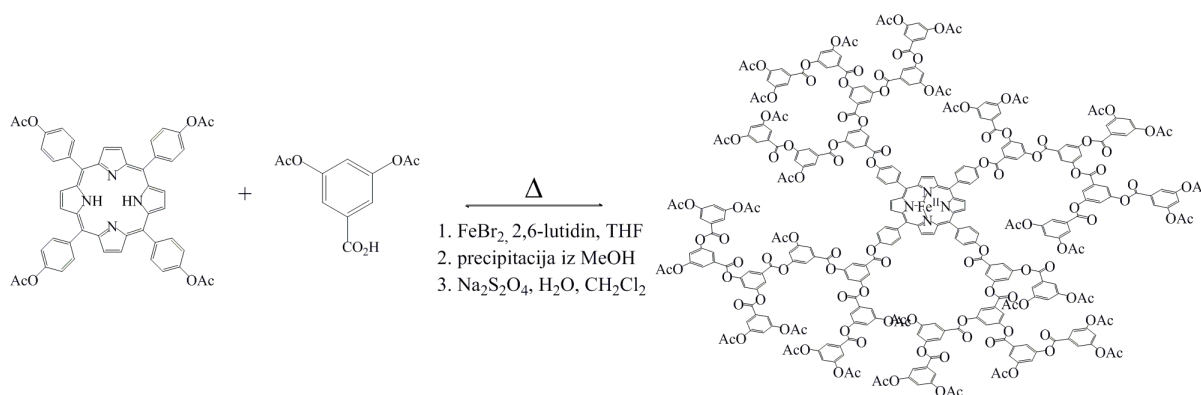
## 2.4. Razgranati prijenosnici kisika

### 2.4.1. Razgranati polimeri s porfirinskom jezgrom

Po uzoru na hemoglobin kod kojega proteinski dio štiti porfirinsku jezgru pri vezanju molekule kisika i sprječava gubitak svojstava oksidacijom željezovog(II) iona, ideja je prirediti molekulu čija bi porfirinska jezgra [s pentakoordiniranim željezovim(II) ionom] bila zaštićena. Kovalentnim vezanjem velikog broja razgranatih polimera spriječile bi se neželjene reakcije u kojima se gube karakteristike prijenosnika.

Trenutno postoji mogućnost ugradnje porfirina s Fe(II) ionima u globularne strukture sastavljene od dendrimera (vrlo razgranate makromolekule), koji oblikom i veličinom nalikuju prirodnim proteinima koji sadrže hem. Problem pripreve tako velikih molekula koje bi štitele porfirinsku jezgru je što su to vremenski i financijski zahtjevni procesi. Unatoč svemu, postoji način sinteze razgranatih polimera, molekula sličnih dendrimerima u samo jednom koraku. Unatoč njihovim nesavršenostima, globularna struktura slična je strukturi dendrimera.

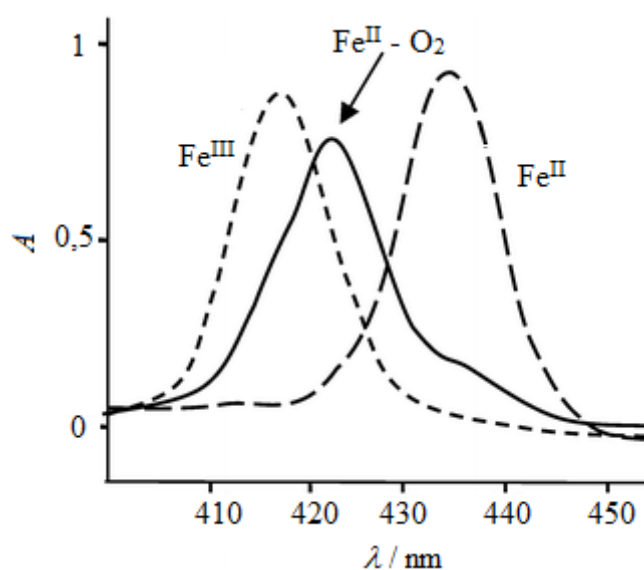
U kontroliranim uvjetima, sinteza razgranatih polimera oko porfirinske jezgre bila bi moguća u jednom koraku, a da funkcija konačnog produkta bude slična funkciji prijenosnika kisika. Sinteza polimera počinje zagrijavanjem razgranatog monomera, 3,5-diacetobenzojeve kiseline i tetrakis(4-etoksifenil)-porfirina (u molarnom omjeru 95 : 1). Time se potiče reakcija transesterifikacije između terminalne etoksi grupe i karboksilne skupine 3,5-diacetobenzojeve kiseline. Tretiranjem sa željezovim(II) bromidom uz prisutnost 2,6-lutidina u THF-u, a potom i precipitacijom iz metanola dobiva se polimer u kojemu se u porfirinskoj jezgri nalazi željezov(III) ion. Željezov(III) ion se aktivira tretiranjem natrijevim hipodisulfitom u smjesi vode i diklormetana (slika 10).



Slika 10. Shematski prikaz sinteze razgranatog polimera s porfirinskom jezgrom.

Analizom rezultata spektrometrije masa utvrđeno je da svaka molekula polimera posjeduje jednu porfirinsku jedinicu u jezgri i  $n$  monomernih jedinica. Također, nisu otkriveni polimeri bez porfirinske jezgre. Relativna molekulska masa priređenog spoja iznosila je 16500.<sup>††</sup> Provedeni su i eksperimenti kako bi se potvrdila sposobnost sintetiziranog prenositelja da veže i otpušta kisik bez promjene u kemijskom sastavu spoja (slika 11).

Osim pokusa u kojem je zapažena oksidacija željezovih(II) iona, napravljen je i pokus i kojem se koristila nezaštićena tetrakis(4-etoksifenil)-porfirinska jezgra, bez razgranatog polimera. Propuhivanjem kisika kroz otopinu uočena je direktna oksidacija željezovih(II) u željezove(III) ione. Prijelazno stanje, odnosno kompleks s molekulom kisikom nije uočen.



Slika 11. U procesu vezanja kisika na metalni centar opaženi su UV-spektri (isprekidane i pune linije). Svaka forma polimera (ovisno o oksidacijskom stanju željezovog iona i zasićenosti kisikom) maksimalno apsorbira pri različitoj valnoj duljini. Središnja krivulja ( $\text{Fe}^{\text{II}} - \text{O}_2$ ) dobije se nakon propuštanja kisika kroz otopinu. Ukoliko se nakon toga kroz otopinu propuhuje dušik, apsorpcijska krivulja će ponovo imati maksimum pri 435 nm (krivulja označena  $\text{Fe}^{\text{II}}$ ). Nakon ponavljanja postupka 5-6 puta otopina gubi svojstvo vezanja kisika jer dolazi do oksidacije željezovog(II) iona (isprekidana krivulja s maksimumom pri 418 nm, krivulja  $\text{Fe}^{\text{III}}$ ).<sup>10</sup>

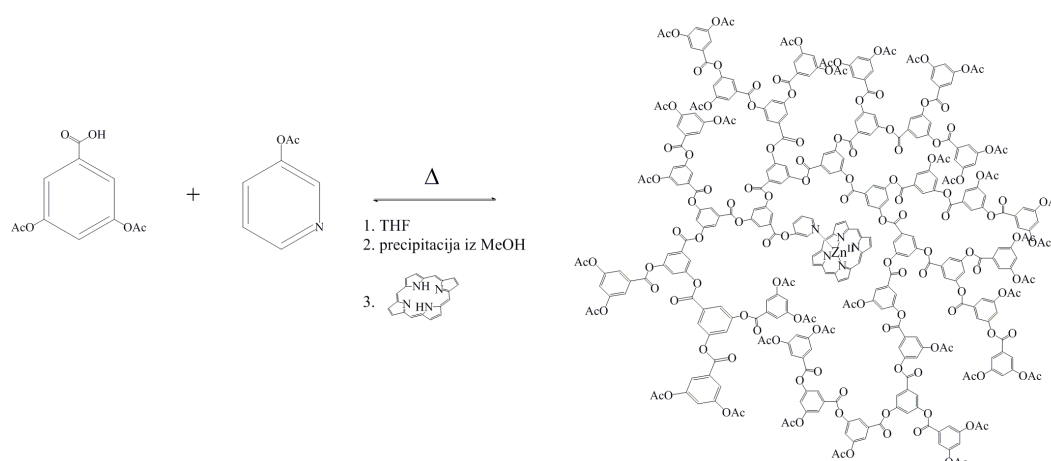
<sup>††</sup> Udio povezanosti jezgre sa strukturom polimera određena je odjeljivanjem i usporedbom dobivenih relativnih molekulskih masa. Kroz sve provedene eksperimente odjeljivanja dobiven je sličan omjer maksimalne i minimalne relativne molekulske mase i iznosio je oko 60 % što bi značilo da je porfirinska jezgra rasprostranjena po cijelom polimeru.

### 2.4.2. Razgranati polimeri s piridinom i porfirinskom jezgrom

Tijekom eksperimenta propuhivanja kisika oksidacija metalnog iona u porfirinskoj jezgri trajno onemogućuje daljnji prijenos kisika. To je jedan od najvažnijih razloga za potragom novih sustava razgranatih polimera kao prijenosnika kisika. Prilikom pokusa s kisikom, jedino je centralna porfirinska jezgra izgubila svojstvo vezanja i otpuštanja kisika. Također, proces nije reproducibilan i kao takav nije podoban za daljnje korištenje. Kada bi razgranata polimerna okosnica bila nekovalentnim interakcijama povezana s porfirinskom jezgrom, gubitkom svojstava (oksidacijom metalnog iona) razgranata okosnica bi se mogla reciklirati. To bi omogućilo ponovnu sintezu razgranatog polimera u kojoj bi neaktivni metalni ion bio zamijenjen novim, neoksidiranim.

Atom dušika iz molekule piridina može koordinirati metalni centar, baš kao što to čini bočni ogranak histidina koji je povezan sa željezovim(II) ionom u hemu. Drugim riječima, piridinski prsten može se usporediti s imidazolnim od histidina, a porfirin sa cinkovim(II) ionom sličan je hemu. Sama sinteza razgranatog polimera s piridinskom jezgrom nešto je složenija od gore opisane sinteze razgranatog polimera.

Poželjno je da razgranati polimer oko porfirinske jezgre ne bude prevelike molekulske mase kako ne bi onemogućio pristup veznom mjestu. U nešto složenijoj sintezi, jedan od reaktanata u početnoj sintezi isti je kao i kod sinteze razgranatih polimera, 3,5-diacetobenzojeva kiselina. Zbog svoje termičke nepostojanosti, iako poželjniji, 4-etokspiridin zamijenjen je povoljnijim 3-etokspiridinom (slika 12).



Slika 12. Shematski prikaz sinteze razgranatog polimera s piridinom i porfirinskom jezgrom. Sastav polimera potvrđen je  $^1\text{H}$  NMR-om, a gel-kromatografijom određena mu je relativna molekulska masa ( $\approx 3000$  Da).

Pročišćena, zasićena otopina porfirinske jezgre sa cinkovim(II) ionom u diklormetanu koristi se za dobivanje razgranatog polimera s piridinskom jezgrom, a koja se kasnije koristi za dobivanje razgranatog polimera u kojemu je cinkov ion koordiniran atomom dušika iz molekule piridina. Prilikom povezivanja tih polimerne i porfirinske jedinice dolazi do promjene u apsorpciji u UV/VIS dijelu spektra (u slučaju porfirina s cinkovim(II) ionom, apsorpcijski maksimum je pri 418 nm, a u kompleksu s polimerom je pri 425 nm). Nešto manja konstanta asocijacije porfirina i polimera u odnosu na 4-etoksipiridin može se objasniti steričkim smetnjama (to može biti poticaj za razvoj novih modelnih spojeva, drukčije geometrije i načina vezanja molekula kisika).<sup>11</sup>

## § 3. ZAKLJUČAK

Proučavanjem prirodnih sustava prijenosa kisika javljaju se razne ideje za stvaranje sintetskih. Vrlo je teško zadovoljiti uvjete realnog sustava proučavajući ponašanje molekula sintetskih prijenosnika kisika u laboratorijskim uvjetima. Osim toga, treba osmisliti i sustave koji bi se ponašali kao idealni prijenosnik kisika i imali svojstvo kooperativnosti (ili neki drugi način efikasnog prijenosa kisika), a bez da reagiraju s vezanim kisikom ili gube svojstvo nakon što ga vežu.

Hemoglobinski prijenosnici kisika vrlo dobro se slažu po svojstvima sa zadanim ciljem, imaju svojstvo kooperativnosti i na razne načine moguće ih je usavršiti. Problem je što je izvor hemoglobina ili ograničen ili sa sobom nosi rizik od zaraze. U prilog hemoglobinskim prijenosnicima kisika ne idu niti nuspojave koje su očitovane njihovim testiranjima (npr. povišenje krvnog tlaka), iako se daljnjim testiranjima otkrivaju mogućnosti nadogradnje i poboljšanje sustava.

Perfluorokarbonski prijenosnici kisika, za razliku od hemoglobina imaju mogućnost otapanja velikog broja plinova. Emulzija u kojoj se otopi kisik koji se dalje prenosi tijelom vrlo je dobro riješenje jer laboratorijska priprema uzorka nije zahtjevna. Usprkos nezahtjevnoj sintezi, perfluorokarbonske emulzije imaju mogućnost puno manjeg zasićenja kisikom od hemoglobina što uvelike utječe na količinu prenešenog kisika iako i takav nalazi primjenu u realnim sustavima.

Razgranati prijenosnici kisika nisu korišteni, a niti testirani u realnim sustavima što, iako potiče razvoj novih modelnih spojeva i geometrija prijenosnika, povećava vrijeme njihovog istraživanja jer se u laboratorijskim uvjetima ne mogu pretpostaviti oni realni. U ljudskom tijelu nalazi se jako puno različitih proteina i enzima, a razgranati polimeri sastoje se od podjedinica koje su pogodne za razgradnju. Razgranati prijenosnici bez piridina nisu bili dovoljno stabilni pri pokusima oksidacije što je potaknulo razvoj prijenosnika s piridinom koji omogućuje nekovalentnu interakciju polimera i porfirinske jezgre čime se omogućuje efikasnije prenošenje kisika, bez nepovratne deaktivacije metalnog centra.

## § 4. LITERATURNI IZVORI

1. I. Bertini, H. B. Gray, E. I. Stiefel, J. S. Valentine, *Biological Inorganic Chemistry*, Univ. Science Books, Sausalito, California, SAD, 2007, str. 354-386.
2. J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biochemistry (7th Edition)*, W. H. Freeman and Co, New York, 2012, str. 183-205.
3. C. Li, B. Kräutler, *Dalton trans.* **44** (2015) 10116-10127.
4. [https://en.wikipedia.org/wiki/Hemoglobin#/media/File:1GZX\\_Haemoglobin.png](https://en.wikipedia.org/wiki/Hemoglobin#/media/File:1GZX_Haemoglobin.png) (preuzeto i prilagođeno 11. rujna 2017.)
5. [https://en.wikipedia.org/wiki/Hemoglobin#/media/File:Hemoglobin\\_saturation\\_curve.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/Hemoglobin#/media/File:Hemoglobin_saturation_curve.svg) (preuzeto i prilagođeno 11. rujna 2017.)
6. <http://pdb101.rcsb.org/motm/41> (datum pristupa 8. kolovoza 2017.)
7. T. Henkel-Hanke, M. Olec, *AANA Journal* **75** (2007) 205-211.
8. J. E. Squires, *Science* **295** (2002) 1002-1004.
9. D. R. Spahn, *Crit. care* **3** (1999) 93-97
10. L. J. Twyman, Y. Ge, *Chem. Commun.* 2006, 1658-1660
11. L. J. Twyman, A. Ellis, P. J. Gittins, *Chem. Commun.* **48** (2012) 154-156