

Koordinacija odabranih aniona u kompleksima s fleksibilnim poliaminskim receptorima

Kelemen, Karla

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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:217:726642>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-19**



Repository / Repozitorij:

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





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijски odsjek

Karla Kelemen

**KOORDINACIJA ODABRANIH ANIONA
U KOMPLEKSIMA S FLEKSIBILNIM
POLIAMINSKIM RECEPTORIMA**

Diplomski rad

predložen Kemijском odsjeku
Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu
radi stjecanja akademskog zvanja
magistre kemije

Zagreb, 2019.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Zavodu za opću i anorgansku kemiju Kemijskog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom doc. dr. sc. Ivice Đilovića i neposrednim voditeljstvom Kristine Smokrović, mag. chem.

Zahvale

Hvala mom mentoru docentu Điloviću, na svim kemijskim i životnim lekcijama. Hvala na svim prilikama, povjerenju, prenesenom znanju, druženjima, trudu i razgovorima. Zbog Vas znam da znam, hoću i mogu.

Hvala mojim profesoricama Mihaeli i Lidiji, koje neumorno potiču radoznalost te otkrivaju i podižu male (ali velike) znanstvenike.

Hvala Teti Tehny, mami Jani i profesoru Judi, na svoj pažnji i brizi za nas, i na podsjetnicima na ono što je bitno.

Hvala Kristini i Darku, na otvorenosti za teška pitanja i pomoći.

Hvala mojim Piplsima, posebno Petri, na najljepšim trenucima studiranja. Da nas bude još godina sto!

Hvala svima na Kemijskom odsjeku na usađenim znanjima i vrijednostima.

Hvala Angelicusima i Anđelku, za mir u nemiru.

Hvala mojim Viovcima, mojoj deci koju volim najviše.

Hvala baki, dedi i Martinu, na šnapsu, smijehu i suzama.

Hvala mojem Luki, ti znaš.

Hvala mami i tati, na svemu.

Hvala dragom Bogu (i svetoj Riti).

Sadržaj

SAŽETAK.....	X
ABSTRACT	XII
§ 1. UVOD.....	1
1.1. Kemija koordinacijskih spojeva	1
1.2. Receptori za anione.....	1
§ 2. LITERATURNI PREGLED	4
2.1. Fleksibilni anionski receptori.....	4
2.1.1. <i>Značajke i sinteza fleksibilnih receptora.....</i>	<i>4</i>
2.1.2. <i>Primjena anionskih receptora.....</i>	<i>5</i>
2.2. Receptor K1	6
2.2.1. <i>Kompleksi receptora K1 s anionima veće gustoće naboja.....</i>	<i>8</i>
2.2.2. <i>Kompleksi receptora K1 s anionima manje gustoće naboja.....</i>	<i>9</i>
2.2.3. <i>Kompleksi receptora K1 s anionima karboksilnih dikiselina.....</i>	<i>11</i>
§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO	16
3.1. Sinteza receptora.....	16
3.1.1. <i>Receptor K1.....</i>	<i>16</i>
3.1.2. <i>Receptor BA.....</i>	<i>17</i>
3.1.3. <i>Receptor ONBA.....</i>	<i>18</i>
3.1.4. <i>Receptor PNBA.....</i>	<i>18</i>
3.2. Kristalizacija kompleksa receptora s odabranim anionima	19
3.2.1. <i>Kristalizacija receptora K1 s malonskom kiselinom.....</i>	<i>19</i>
3.2.2. <i>Kristalizacija receptorâ s anorganskim anionima.....</i>	<i>19</i>
3.3. Kompetitivno mljevenje binarnih smjesa odabranih karboksilnih dikiselina s receptorom K1	20
3.4. Tehnike kvalitativne karakterizacije produkata.....	21
3.4.1. <i>Difrakcija rendgenskog zračenja na polikristalnom uzorku.....</i>	<i>21</i>
3.4.2. <i>Difrakcija rentgenskog zračenja na monokristalnom uzorku</i>	<i>21</i>
3.4.3. <i>Difrakcija sinkrotronskog rentgenskog zračenja na monokristalnom uzorku</i>	<i>22</i>
3.4.4. <i>Infracrvena spektroskopija.....</i>	<i>22</i>
3.4.5. <i>¹H-NMR spektroskopija</i>	<i>22</i>
§ 4. REZULTATI I RASPRAVA	24
4.1. Kompleks receptora K1 s hidrogenmalonatnim anionom.....	24

4.1.1. Sinteza i kvalitativna analiza receptora KI	24
4.1.2. Strukturna karakterizacija kompleksa receptora KI s hidrogenmalonatnim ionom.....	25
4.1.3. Usporedba kompleksa KI anionima malonske i maleinske kiseline	28
4.1.4. Ispitivanje selektivnosti receptora KI u čvrstom stanju.....	30
4.2. Kompleks receptora BA s nitratnim anionom.....	33
4.2.1. Sinteza i kvalitativna analiza receptora BA	33
4.2.2. Strukturna karakterizacija kompleksa receptora BA s nitratnim ionom	33
4.3. Kompleks receptora ONBA s nitratnim anionom.....	36
4.3.1. Sinteza i kvalitativna analiza receptora ONBA	36
4.3.2. Strukturna karakterizacija kompleksa receptora ONBA s nitratnim ionom.....	36
4.4. Usporedba kompleksa BA i ONBA s nitratnim anionom.....	39
4.4.1. Molekulska i kristalna struktura	39
4.4.2. Međumolekulske interakcije.....	40
4.4.3. Selektivnost u vodenim otopinama	43
§ 5. ZAKLJUČAK	44
§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA.....	46
§ 7. LITERATURNI IZVORI.....	47
§ 8. ŽIVOTOPIS	XIV



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Kemijski odsjek

Diplomski rad

SAŽETAK

KOORDINACIJA ODABRANIH ANIONA U KOMPLEKSIMA S FLEKSIBILNIM POLIAMINSKIM RECEPTORIMA

Karla Kelemen

Unutar supramolekulske kemije, značajno područje istraživanja predstavljaju kompleksi receptora s gostima. Ako je gost anion, u kompleksima dominiraju nekovalentne interakcije čija jačina ovisi o mnogo čimbenika, a jedan od njih je i fleksibilnost molekule receptora. Za razliku od rigidnih, fleksibilni receptori omogućuju vezanje više vrsta aniona. To rezultira smanjenom, no još uvijek izraženom selektivnošću, ali i otvara vrata novim mogućnostima.

Cilj ovog istraživanja je sintetizirati i strukturno karakterizirati nove poliaminske receptore te ispitati ulogu strukturne razmaknice u prepoznavanju i selektivnom vezanju anorganskih aniona (poput nitratnog, NO_3^-). Također, istražena je mogućnost izdvajanja pojedinih aniona iz smjesa konkurentnih aniona u vodenim otopinama.

U drugom dijelu istraživanja ispitane su interakcije receptora i karboksilnih dikiselina (malonska, maleinska, fumarna, sukcinna). Kako su ispitivane kiseline česti koformeri aktivnih farmaceutskih pripravaka te stoga i poželjni kandidati za uklanjanje iz krutih smjesa, ispitana je mogućnost uklanjanja pojedinačne kiseline iz njezinih binarnih (krutih) smjesa.

(47 + XV stranica, 37 slika, 4 tablice, 22 literaturna navoda, jezik izvornika: hrvatski)

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

Ključne riječi: anioni, receptori, rendgenska strukturna analiza, supramolekulska kemija

Mentor: doc. dr. sc. Ivica Đilović
Neposredni voditelj: Kristina Smokrović, mag. chem.

Ocjenitelji:

1. doc. dr. sc. Ivica Đilović
2. izv. prof. dr. sc. Sanda Rončević
3. doc. dr. sc. Đani Škalamera

Datum diplomskog ispita: 4. prosinca 2019. godine



University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Chemistry

Diploma Thesis

ABSTRACT

COORDINATION OF SELECTED ANIONS IN COMPLEXES WITH FLEXIBLE POLYAMINE RECEPTORS

Karla Kelemen

Research of host-guest complexes is taking a significant role in modern supramolecular chemistry. Synthetic anion receptors can differ in the rigidity of their molecular structure that can reflect on the peak-selectivity level of binding the target species. While they usually show poorer selectivity compared to their rigid counterparts, flexible receptors can adopt their conformation in order to respond to the anion demands and achieve chemical complementarity.

As a part of this research, we have studied the binding modes of newly synthesized flexible receptors in complexes with common inorganic and organic anions. Additionally, we have been examining the possibilities of nitrate anions separation from competitive anions in water solutions environment.

In second part of the research, we have studied interactions and binding preferences between receptor molecules and various carboxylic acids (malonic, maleic, fumaric and succinic) in alcoholic solutions and in solid state.

(47 + XV pages, 37 figures, 4 tables, 22 references, original in Croatian)

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

Keywords: anions, receptors, X-ray structural analysis, selectivity, supramolecular chemistry

Mentor: Dr. Ivica Đilović, Assistant Professor
Assistant mentor: Kristina Smokrović, mag. chem.

Reviewers:

1. Dr. Ivica Đilović, Assistant Professor
2. Dr. Sanda Rončević, Associate Professor
3. Dr. Đani Škalamera, Assistant Professor

Date of exam: December 4th, 2019

§ 1. UVOD

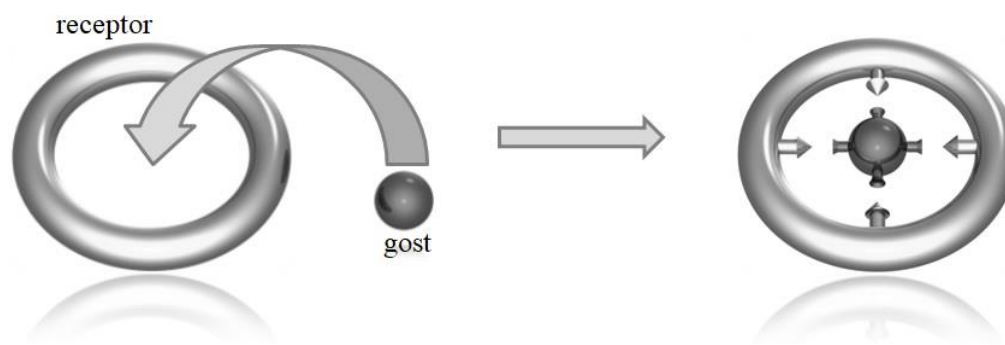
1.1. Kemija koordinacijskih spojeva

Istraživanje i zanimanje za koordinacijsku kemiju kationa započelo je Wernerovim proučavanjem kompleksnih spojeva prijelaznih metala. Krajem 19. stoljeća, A. Werner je uočio da ioni prijelaznih metala u nekim spojevima pokazuju mnogo više valencije od uobičajenih. To je objasnio tako što je dotad poznati pojam valencije (ono što danas nazivamo oksidacijskim brojem) definirao kao *primarnu valenciju*, dok je ukupan broj atoma vezanih na centralni ion prijelaznog metala definirao kao *sekundarnu valenciju*, odnosno koordinacijski broj. Stoga je upravo Wernerovim zaslugama započeo razvoj istraživanja koordinacijskih spojeva, posebice koordinacijskih spojeva kationa.

Zanimanje za koordinacijske spojeve aniona započelo je tek pedesetak godina kasnije, otkrićem C. H. Parka i H. E. Simmonsa. Proučavanjem bicikličkih katapinanda, uočili su mogućnost povezivanja protonirane molekule katapinanda s halogenidnim ionima. Unatoč početnom „kaskanju“ za koordinacijskom kemijom kationa, koordinacijska kemija aniona danas je vrlo opsežno i značajno istraživačko područje unutar supramolekulske kemije.¹

1.2. Receptori za anione

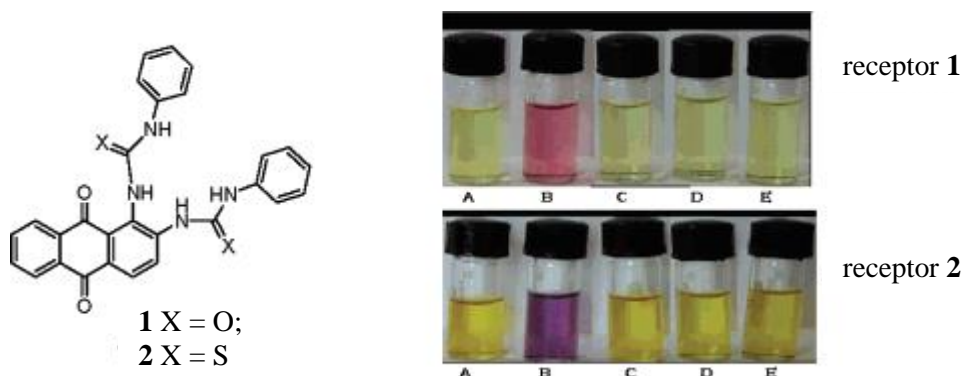
Za opis specifičnog načina povezivanja u koordinacijskim spojevima aniona, osim uobičajene terminologije za kemiju koordinacijskih spojeva, koristi se model domaćina i gosta (Slika 1). Dok domaćinom (receptorom) nazivamo molekulu ili ion čije interakcije u kompleksu konvergiraju, gost je molekula čije interakcije u veznom mjestu divergiraju. Kako bi uopće došlo do ostvarivanja interakcija i nastajanja kompleksa domaćin – gost, mora postojati određena komplementarnost u molekulskim i elektronskim strukturama molekula koje stupaju u interakciju. Dio molekule ili iona koje je strukturno optimalan za interakciju s drugom kemijskom vrstom naziva se veznim mjestom.²



Slika 1. Ostvarivanjem interakcija između molekula receptora i gosta u veznom mjestu nastaje receptor-gost kompleks

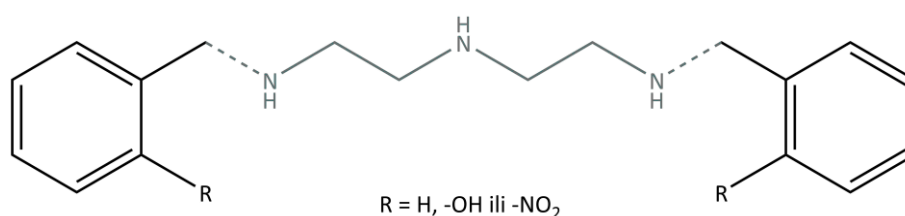
Jedno od ključnih obilježja anionskih receptora je povezivanje s anionima gostima nekovalentnim interakcijama, među kojima su najznačajnije vodikove veze. Njihov prostorni raspored i jakost uvelike utječu na selektivnost i molekulsko prepoznavanje receptora i aniona. Osim donora i akceptora vodikovih veza, prilikom dizajna sintetskih receptora za anione, valja imati na umu geometrijsku komplementarnost, elektronsku strukturu te ukupni naboj receptora i aniona.

Također, stupanj fleksibilnosti strukture receptora uvelike određuje njegova svojstva. Rigidni receptori selektivno vežu jedan ili par aniona iz smjese snažnim interakcijama. Nedostatak je što „prepoznaju“ samo mali broj aniona u smjesi, a sinteza im je često vremenski i financijski zahtjevna. S druge strane, fleksibilni receptori imaju mogućnost optimizacije veznog mjesta prilagodbom geometrije ili povezivanjem u supramolekulske strukture. To rezultira mogućnošću povezivanja s većim brojem potencijalnih aniona, što implicira smanjenu selektivnost. Iako u manjoj mjeri nego kod rigidnih, određeni trend selektivnosti može se ustanoviti kod nekih fleksibilnih receptora u otopini, ali čak i u čvrstom agregacijskom stanju. Osim toga, način vezanja s anionom može poslati makroskopski ili mikroskopski signal o tome koji je anion iz smjese vezan u kompleks s receptorom (Slika 2).³



Slika 2. Primjer anionskog receptora u funkciji kemijskog senzora. Promjena boje daje signal o tome koji je anion vezan u kompleks s receptorom u dimetilsulfoksid (DMSO) otopini: **A** bez dodanih iona, **B** s fluoridima, **C** s kloridima, **D** s bromidima, **E** s jodidima. Do odgovarajućeg signala, odnosno promjene boje, dolazi samo u slučaju miješanja receptora **1** i **2** s fluoridima. Vezanje fluoridnog aniona je izrazito snažno i selektivno, unatoč fleksibilnosti strukture receptora.⁴

Cilj ovoga rada bio je sintetizirati nove poliaminske receptore i ispitati ulogu strukturne razmaknice fleksibilnog receptora (svijetlo sivi dio molekule, Shema 1) u prepoznavanju i selektivnom vezanju anorganskih aniona (poput SO_4^{2-} ili NO_3^-) te mogućnosti izdvajanja pojedinih aniona iz smjesa konkurentnih aniona u vodenim otopinama.



Shema 1.

U drugom dijelu istraživanja ispitane su interakcije receptora i karboksilnih kiselina (malonska, maleinska, fumarna, succinska). Ispitivane kiseline su česti koformeri aktivnih farmaceutskih pripravaka, a time i poželjni kandidati za uklanjanje iz krutih smjesa, stoga je ispitana mogućnost uklanjanja pojedinačne kiseline iz njezinih binarnih (krutih) smjesa.

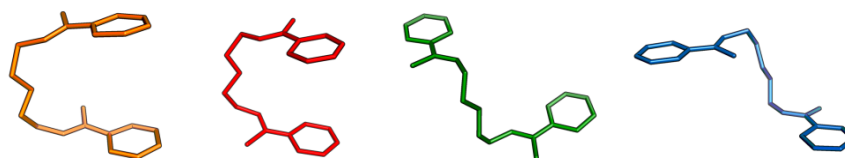
§ 2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Fleksibilni anionski receptori

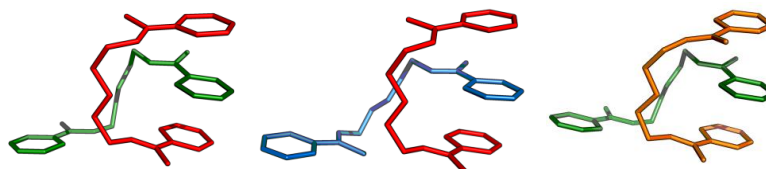
2.1.1. Značajke i sinteza fleksibilnih receptora

Kao što je već spomenuto, ključne interakcije za molekulske prepoznavanje i nastajanje kompleksa receptor-anion su nekovalentne interakcije, posebice vodikove veze. No i ostale interakcije (Van der Waalsove i Londonove disperzne sile, π - π interakcije, halogenske veze) značajno utječu na formiranje veznog mjesta i određuju konformaciju receptora u kompleksu. Također, igraju veliku ulogu u samoudruživanju molekula s ciljem prilagodbe veznog mjesta anionu gostu (Slika 3).

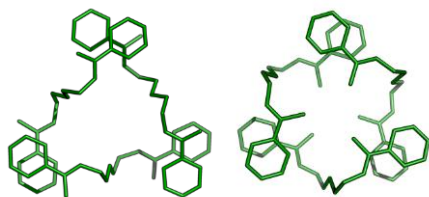
Direktno vezanje (monomeri)



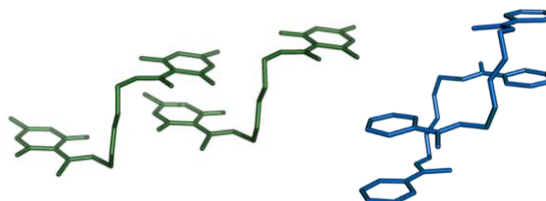
Samoudruživanje višeg reda (kapsule)



Supramolekulski trimeri



Supramolekulski polimeri



Slika 3. Shematski prikaz „konformacijske knjižnice“ fleksibilnog receptora **K1** (*N,N'*-azapentan-1,5-bis[3-(1-aminoetiliden)-6-metil-3*H*-piran-2,4-diona]). Ovisno o anionu, receptor osigurava optimalno vezno mjesto prilagodbom svoje konformacije (monomeri), samoudruživanjem u dimere koji se međusobno povezuju u kapsule te stvaranjem supramolekulskih trimera ili polimera.⁵

Iako je optimizacija veznog mjesta prvi uvjet za uspješno nastajanje kompleksa receptora s gostom, „periferija“ molekule receptora igra veliku ulogu u interakcijama koje stabiliziraju novonastalu kristalnu strukturu. Promjena funkcionalnih skupina, geometrije ili naboja perifernog dijela receptora moguće je kontrolirati i fino ugađati fleksibilnost receptora. Jake intramolekulske vodikove veze između perifernih funkcionalnih skupina mogu potpuno „zaključati“ konformaciju receptora ili pak onemogućiti supramolekulsko povezivanje. Kristalna struktura koja se dobiva kao posljedica specifičnog pakiranja receptora s različitim gostima može služiti kao „otisak prsta“ kompleksa s pojedinim anionima.

Fleksibilni receptori osobito su pogodni za vezanje aniona i neutralnih molekula zbog veće raznolikosti i varijabilnosti u geometriji, veličini i naboju aniona u odnosu na katione. No iz istog razloga potrebno je voditi računa o protičnosti otapala te pH-vrijednosti u vodenim otopinama koji mogu imati utjecaj na elektronsku i prostornu građu aniona i receptora.

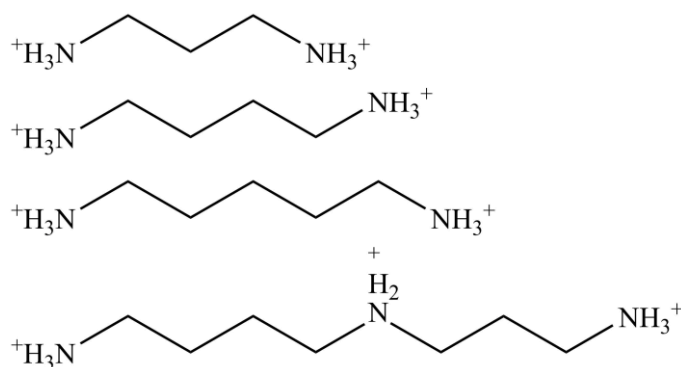
Već je napomenuto kako je sinteza rigidnih receptora dugotrajna i financijski zahtjevna. Razlog tome je to što, zbog nemogućnosti prilagodbe *in situ*, vezno mjesto receptora za određeni anion mora biti optimirano već prilikom sinteze. S druge strane, fleksibilni se receptori uglavnom pripremaju reakcijom u jednom ili dva koraka, iz lako dostupnih početnih tvari te uz standardnu laboratorijsku opremu.

2.1.2. Primjena anionskih receptora

Inspiraciju za dizajn sintetskih anionskih receptora vrlo je lako pronaći u biološkim sustavima. Primjerice, za prijenos aniona kroz fosfolipidnu membranu stanice potrebni su transmembranski proteini koji reguliraju koncentraciju aniona u pojedinim dijelovima stanice. Ukoliko dođe do mutacije tih proteina, narušen je transport aniona kroz membranu što može uzrokovati razna teška oboljenja. Takvi disfunkcionalni proteinski transporter mogli bi se zamijeniti sintetskim anionskim receptorima koji bi preuzeli funkciju prijenosa aniona u stanici i na taj način doprinijeli liječenju. Dosad su u tu svrhu istraženi receptori derivati uree i tiouree te amidi skvarne kiseline.⁶

Osim transportnih proteina, i enzimi mogu poslužiti kao modelne molekule u dizajnu anionskih receptora, tim više što je upotreba enzima u industrijskim procesima vrlo zahtjevna. Primjena sintetski anionskih receptora i umjetnih enzima u organokatalizi relativno je novo, no već sada vrlo perspektivno područje istraživanja.⁶

Od velikog je interesa i sinteza selektivnih receptora za ATP, odnosno fosfatne i hidrogenfosfatne anione te aminokiseline koji bi također mogli zamijeniti mutirane proteine koji prirodno obavljaju tu funkciju. U tu svrhu istraženi su linearni poliamini i derivati indola i pirola (Slika 4). Optimalnom funkcionalnom skupinom u veznom mjestu tih receptora pokazala se amino skupina stoga je i ovo istraživanje usmjereno na dizajn i karakterizaciju poliaminskih receptora.⁷

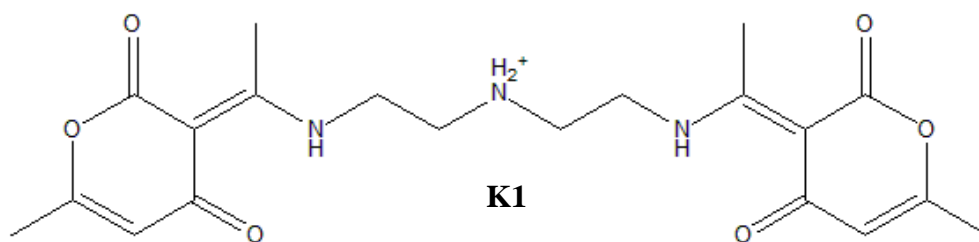


Slika 4. Shematski prikaz jednostavnih poliamina koji nalaze primjenu kao sintetski receptori za aminokiseline. Od gore prema dolje: 1,3-diaminopropan, putrescin, kadaverin i spermidin.⁷

Osim biomimetičkog dizajna⁸, sintetski anionski receptori nalaze primjenu u ekstrakciji i separaciji aniona (čak i ako su prisutni u tragovima) te kao već spomenuti kemijski senzori, no zasigurno su mogućnosti primjene i mnogo šire te u konstantnom otkrivanju.⁶

2.2. Receptor K1

Anionski receptor **K1** (*N,N'*-azapentan-1,5-bis[3-(1-aminoetiliden)-6-metil-3*H*-piran-2,4-dion]) dizajniran je kao poliaminski receptor, pri čemu je glavno vezno mjesto protonirana središnja amino skupina (Shema 2), koja djeluje kao donor vodikove veze.

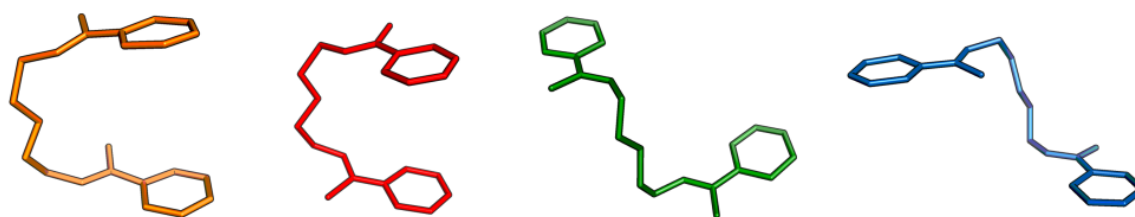


Shema 2.

Središnji alifatski dio molekule omogućuje fleksibilnost i prilagodbu konformacije prilikom vezanja pojedinog aniona gosta rotacijom oko C–N i C–C veza. Na krajevima alifatskog lanca nalaze se amino skupine koje ostvaruju unutarmolekulsku vodikovu vezu s keto-skupinama iz pironskog prstena receptora pri čemu se zadržava određena rigidnost perifernog dijela molekule. Ukoliko anion pokazuje snažniju akceptorsku moć od spomenutih keto-skupina, krajnje amino-skupine mogu tvoriti vodikove veze s molekulom gosta pri čemu dolazi do snažnijeg vezanja i izraženije selektivnosti prema takvom anionu.

No čak i kad su periferni dijelovi molekule „zaključani“ unutarmolekulskom vodikovom vezom, oni značajno doprinose formiranju optimalnog veznog mjesta i utječu na povezivanje u složenije supramolekulske vrste. S obzirom na to da pironski prstenovi imaju aromatski karakter, izražene su π – π interakcije koje orijentiraju anion u veznom mjestu i upravljaju slaganjem molekula u kristalu.

Pronađene su četiri moguće monomerne konformacije receptora **K1** u kompleksu s različitim anionima (Slika 5). U sva četiri slučaja, uloga središnje amino skupine (najboljeg donora vodikove veze) je da „usidri“ anion i taj je korak (vjerojatno) ključan za molekulske prepoznavanje i nastajanje kompleksa. Geometrija i orijentacija perifernog dijela receptora ovisi o geometriji, veličini i elektronskoj strukturi vezanog aniona. Pronađene konformacije podijeljene su na C i Z prema obliku molekule, te na *syn* i *anti* prema relativnom položaju metilnih skupina u alifatskom lancu.

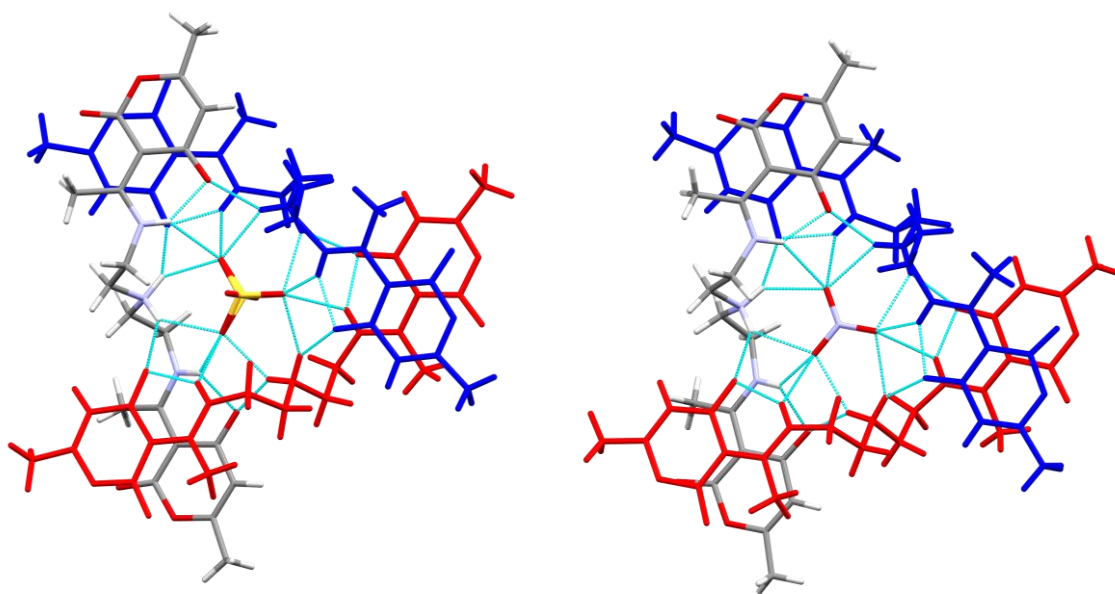


Slika 5. Shematski prikaz određenih konformacija receptora **K1** u kompleksima s različitim anionima gostima. S lijeva na desno: *syn*-C, *anti*-C, *syn*-Z, *anti*-Z.

Dosad je istraženo vezanje receptora s anorganskim anionima veće gustoće naboja (SO_4^{2-} , NO_3^-), anorganskim anionima manje gustoće naboja (HSO_3^- , ClO_4^- , IO_4^- , PF_6^- , SbF_6^-) te anionima organskih karboksilnih dikiselina (malonska, fumarna, sukcijska, *o*-ftalna, izoftalna, tereftalna).^{9, 10}

2.2.1. Kompleksi receptora **K1** s anionima veće gustoće naboja

Anioni poput nitratnog ili sulfatnog nose relativno veliki naboj na malom volumenu, stoga ih nazivamo anionima velike gustoće naboja. Omjer naboja i volumena molekule pokazao se vrlo važnim u formiranju veznog mjesta receptora za navedene anione. U metanolnim otopinama, kako bi zadovoljile akceptorske zahtjeve aniona gosta, tri molekule gosta izlažu svoje najbolje donore vodikovih veza (protoniranu središnju amino-skupinu) koji su u ravnini s akceptorskim atomima aniona. Iako nisu protonirane, i periferne amino-skupine alifatskog lanca sudjeluju u vodikovim vezama s anionima gostima kao donori. Na taj način ostvaruje se čak dvanaest vodikovih veza sa sulfatnim, odnosno nitratnim anionom, što dotad, u slučaju vezanja sulfatnog aniona, nije bilo poznato (Slika 6). Također, kisikov atom aniona djeluje kao tetrafurkirani akceptor vodikovih veza što je uobičajeno u veznim mjestima proteina, no ne i kod malih molekula.



Slika 6. Prikaz molekulske strukture kompleksa receptora **K1** sa sulfatnim (lijevo) i nitratnim (desno) anionom kao gostom. Tri molekule receptora u *syn-Z* konformaciji orijentirane su tako da su najbolji donori vodikovih veza (amino-skupne) okrenuti prema anionu. Molekule **K1** su povezane u supramolekulski trimer pri čemu su ključne π - π interakcije djelomično aromatskih pironskih prstenova. Dvije molekule receptora su označene crvenom, odnosno plavom bojom radi preglednosti, dok su atomi jedne molekule receptora i aniona označeni prema vrsti atoma. Na slici su naznačene i vodikove veze (svijetlo plavom bojom).

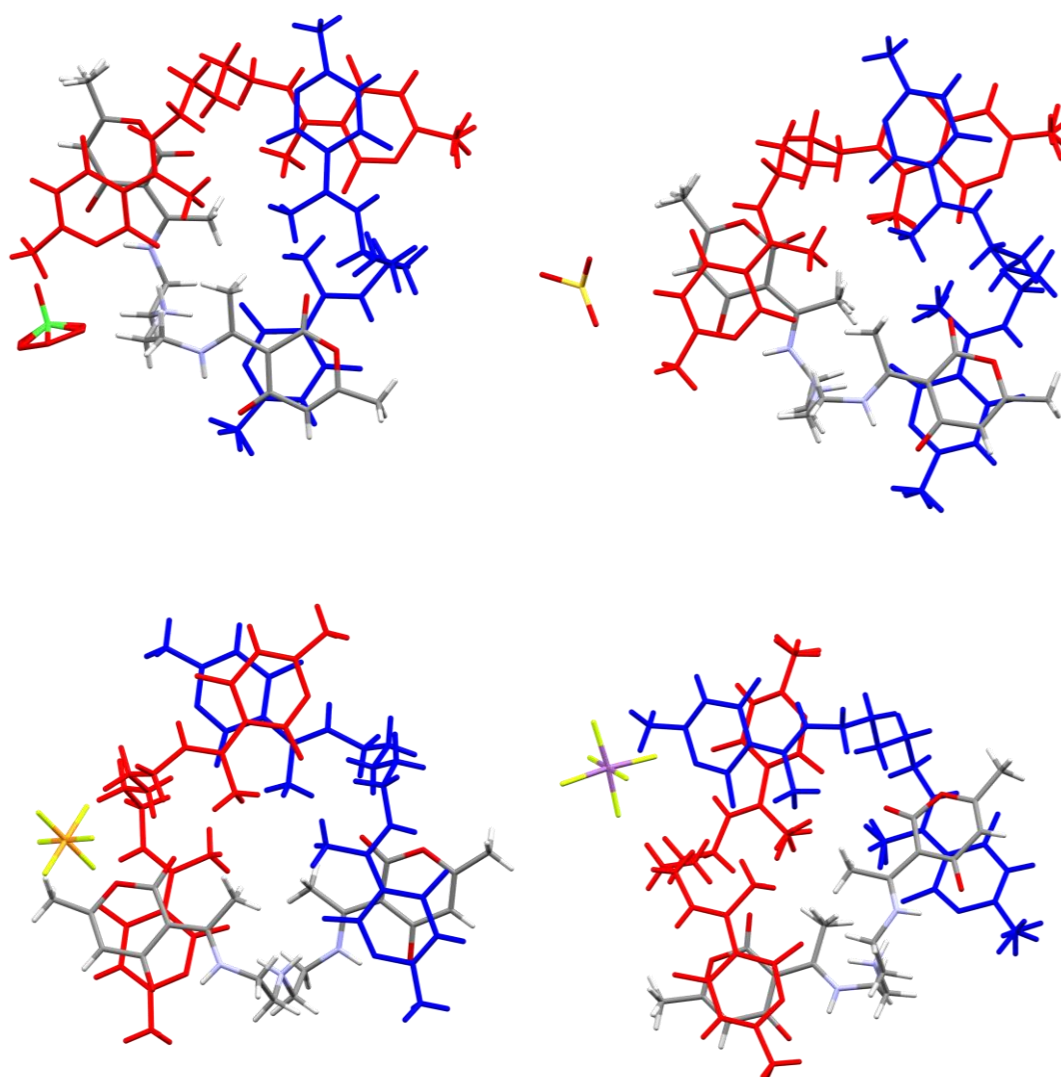
Vežno mjesto, dakle, predstavlja centralni dio supramolekulskog trimera. Povezivanje molekula receptora u složeniju vrstu omogućuju π - π interakcije pironskih prstenova receptora pa se potvrđuje važnost perifernog dijela molekule u formiranju veznog mjesta i kristalnom pakiranju.

Struktura ovakve složene vrste, zbog postojanja središnjeg „kaveza“ s formiranim veznim mjestom, analogna je strukturi makrocikličkih rigidnih receptora. Tu analogiju prati i svojstvo selektivnosti prema nitratnim i sulfatnim anionima, čak i u visokokompeticijskim uvjetima metanolnih otopina. Osim toga, tako nastale kristalne strukture receptora i aniona ostaju sačuvane i nakon izlaska molekula otapala (sušenja) što otvara vrata mnogim potencijalnim primjenama.⁹

2.2.2. Kompleksi receptora **KI** s anionima manje gustoće naboja

Istraživanje receptora **KI** prošireno je i na anione manje gustoće naboja i to one koji su slične veličine i geometrije kao i nitratni i sulfatni anion (HSO_3^- , ClO_4^- , IO_4^-) te na veće, anione oktaedarske građe (PF_6^- , SbF_6^-). Dok su u slučaju vezanja nitrata i sulfata najbolji donori vodikovih veza orijentirani prema središtu nastale supramolekule i djeluju kao donori vodikovih veza, ukoliko receptoru „ponudimo“ anion slične geometrije, ali manje gustoće naboja, također nastaje supramolekulski trimer, no sa znatno drugačijim veznim mjestom. Središnja amino-skupina je u oba slučaja protonirana, no prilikom formiranja kompleksa s anionima manje gustoće naboja ne djeluje kao „sidrište“ za anion već međusobno povezuje molekule receptora. Na taj način najbolji donori vodikovih veza više nisu dostupni za interakciju s anionom gostom i nije prisutan središnji „kavez“ koji bi imao funkciju veznog mjesta. Anion se veže na receptor slabim C–H interakcijama, a smješten je u hidrofobne praznine između supramolekulskih trimera (Slika 7).

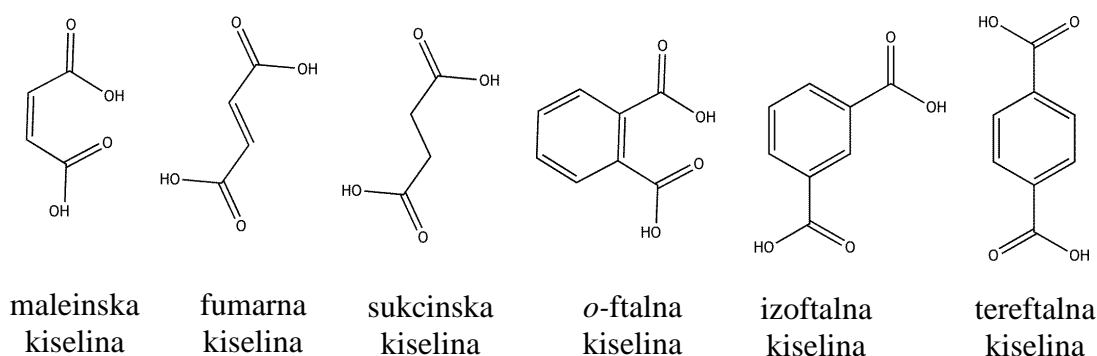
Provedene su i kompetitivne kristalizacije iz metanolnih otopina pri čemu je ustanovljena selektivnost receptora prema ClO_4^- , PF_6^- i SbF_6^- u prisutnosti Cl^- , Br^- , CH_3COO^- , $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$, BO_3^{3-} , HCO_3^- , BF_4^- , TsSO_3^- (Ts = tosil), H_2PO_4^- i citratnog aniona, čak i u kada su omjeru 3:1 u korist kompetitivnog aniona. Ako su u otopini prisutni i anioni veće gustoće naboja, receptor izrazito selektivno tvori kompleks s tim anionima.¹⁰



Slika 7. Pakiranje u kristalu kompleksa receptora **K1** s perkloratnim (gore lijevo), hidrogensulfitnim (gore desno), heksafluorofosfatnim (dolje lijevo) i heksafluoroanitmonatnim (dolje desno) anionom kao gostom, dobivenih iz metanolnih otopina. Povezivanje molekula receptora u složeni supramolekulski trimer ostvaruje se vodikovim vezama između amino skupina i kisikovih atoma susjednih receptora. Anion ostvaruje slabe C–H interakcije s „vanjskim“ dijelom receptora. Iako se uočava razlika u kristalnom pakiranju i interakcijama s anionom, vidljivo je da se isti tip hidrofobnog veznog mjesta s vanjske strane receptorskog trimera pojavljuje u svim slučajevima kada je gost anion manje gustoće naboja, za razliku od smještanja aniona veće gustoće naboja u hidrofilno središte trimera. Dvije molekule receptora su označene crvenom, odnosno plavom bojom radi preglednosti, dok su atomi jedne molekule receptora i aniona označeni prema vrsti atoma.

2.2.3. Kompleksi receptora **K1** s anionima karboksilnih dikiselina

S obzirom na to da je ustanovljena izražena selektivnost fleksibilnog receptora **K1** te je određen svojevrsni strukturni i supramolekulski odgovor receptora na „ponuđeni“ anion, od interesa je istražiti vezanje i potencijalnu separaciju aniona koji su značajni u biološkim sustavima ili se koriste u farmaceutskoj, prehrambenoj i drugim industrijama. Stoga je provedena kristalizacija **K1** s anionima karboksilnih dikiselina: maleinske, fumarne, sukcijske, *o*-ftalne, izoftalne i tereftalne (Shema 3).



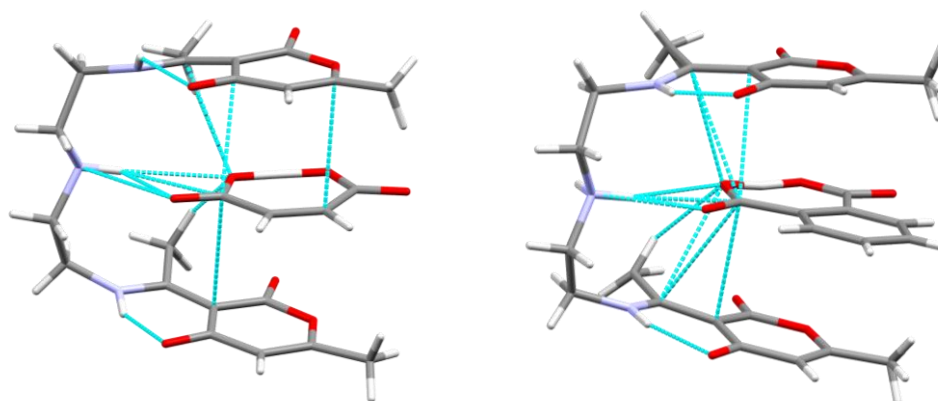
Shema 3.

Kristalizacija kompleksa receptor- gost provedena je iz etanolnih i metanolnih otopina pri čemu su dobiveni izostrukturni kristali koji sadrže molekule otapala. Iz otopina u acetonitrilu dobiveni su kristali koji ne sadrže molekule otapala. Provedeno je i suho mljevenje te mljevenje potpomognuto otapalom pri čemu su također dobiveni odgovarajući kompleksi receptora s anionima.

Promjenom gosta i reakcijskih uvjeta, u deset riješenih kristalnih struktura nađeno je 18 različitih konformera receptora **K1** koji se mogu svrstati u četiri glavne grupe (*syn* ili *anti*, C- ili Z-konformaciju). Kod vezanja s anorganskim anionima nije pronađena C-konformacija receptora što upućuje na to da je takva geometrija uvjetovana planarnošću i specifičnom elektronskom strukturom aniona (gosta). Uočeno je i vezanje receptora u supramolekulske dimere koji se međusobno povezuju i tvore kapsule u kristalnoj strukturi.

Vezno mjesto receptora u *syn*-C konformaciji formira se prijenosom protona s molekule kiseline na središnju amino-skupinu receptora pri čemu ta amino-skupina postaje najbolji donor vodikove veze koju ostvaruje s anionom gostom. Na taj način je molekula gosta „usidrena“, a

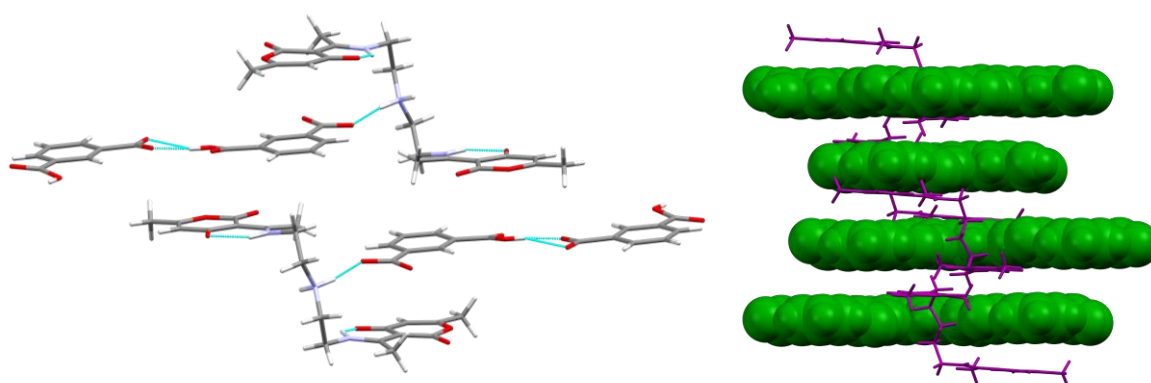
dodatno se pozicionira π - π interakcijama s pironskim prstenovima receptora. Receptor tako djeluje kao „molekularna pinceta“ za planarne cikličke molekule (Slika 8).



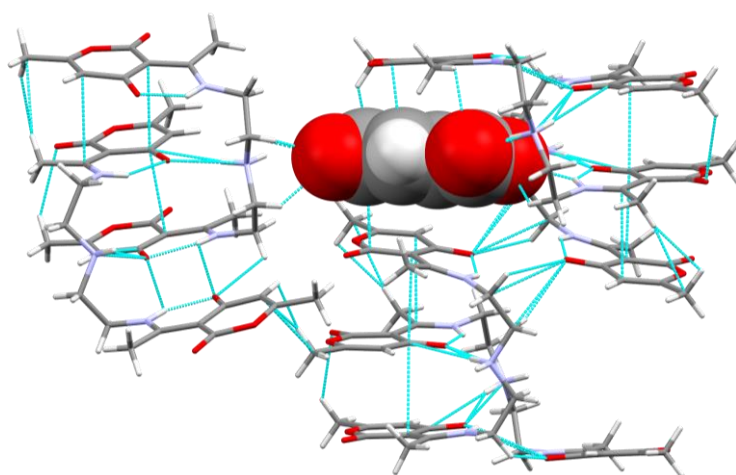
Slika 8. Receptor **K1** s hidrogenmaleatom (lijevo) i *o*-hidrogenftalatom (desno) kao gostom tvori kompleks u kojem je geometrija receptora *syn*-C. Uočava se i sličnost geometrijske i elektronske strukture te pozicioniranje u kompleksu hidrogenmaleatnog i *o*-hidrogenftalatnog aniona. Na slici su svijetlo plavom bojom naznačene međumolekulske interakcije receptora i gosta.

U kompleksu sa hidrogenizoftalatom, anion također sudjeluje u vodikovoj vezi s protoniranom središnjom amino skupinom, no dodatne π - π interakcije ostvaruju se s pironskim prstenovima različitih molekula receptora u *anti*-Z konformaciji. Anioni izoftalne kiseline međusobno su povezani vodikovim vezama u lance koji su smješteni između slojeva molekula receptora međusobno povezanih vodikovim vezama. Od istraženih kiselina, jedino u slučaju formiranja kompleksa receptora **K1** s anionom izoftalne kiseline nije prisutna C-konformacija receptora u kristalnoj strukturi. Tome su vjerojatno uzrok veličina i raspored supstituenata i funkcionalnih skupina u anionu (Slika 9).

Kristalizacijom kompleksa **K1** s fumarnom, odnosno sukcinom kiselinom dobivene su strukture u kojima receptor tvori CZ-dimer (*anti*-C, *syn*-Z). Dimeri se povezuju u složenije strukture koje stvaraju kapsule, a u njihovom središtu su smješteni anioni kiselina. Središnja protonirana amino skupina djeluje kao donor vodikove veze za interakciju s anionom, ali i za povezivanje s drugom molekulom receptora u dimer. S obzirom na to da su sukcinna i fumarna kiselina strukturno vrlo slične, ne čudi što se na sličan način vežu s receptorom (Slika 10).

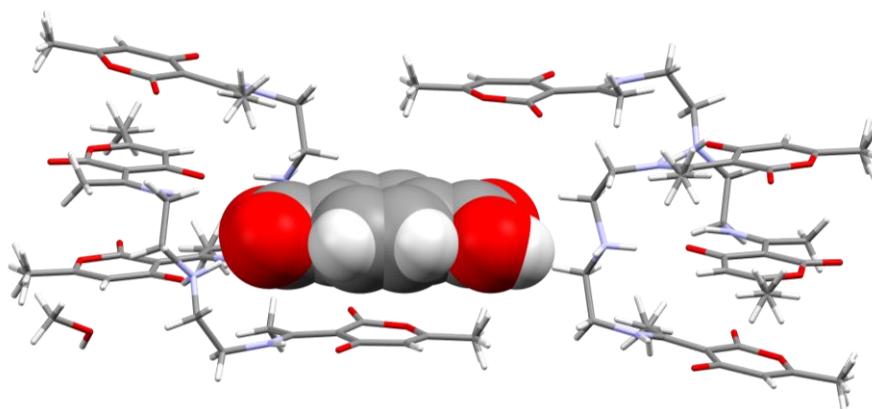


Slika 9. Prikaz načina povezivanja i pakiranja u kristalnoj strukturi kompleksa receptora **K1** s hidrogenizoftalatom kao gostom. Na lijevoj slici su svjetlo plavom bojom naznačene vodikove veze koje se ostvaruju između molekula receptora i gosta, ali i one koje imaju ulogu povezivanja aniona u lance. Na desnoj slici zelenom bojom i kalotnim modelom prikazani su anioni gosti koji se povezuju u lance koji su smješteni između slojeva molekula receptora (ljubičasto označene molekule). Prikaz je duž kristalografske osi *b*.



Slika 10. Hidrogenfumaratni ion se u kompleksu s receptorom **K1** smješta u kapsule građene od povezanih CZ dimera. Najsnažnije vodikove veze se ostvaruju sa središnjom amino-skupinom receptora kao donorom, a imaju ulogu vezanja aniona gosta, ali i međusobnog povezivanja molekula **K1**. Na taj način nastaju složene supramolekulske strukture koje osiguravaju povoljno vezno mjesto za molekulu gosta. Molekula aniona prikazana je kalotnim modelom radi preglednosti, a međumolekulske interakcije su označene svjetloplavom bojom.

Osim sa sukcijskom i fumarnom kiselinom, i u kompleksu **K1** s tereftalnom kiselinom vezno mjesto se formira samoudruživanjem molekula receptora u dimere. Tereftalna kiselina nije topiva u alkoholu pa su kristalizacije provedene samo iz acetonitrila. Razlika u odnosu na komplekse sa sukcijskom i fumarnom kiselinom je u položaju metilnih skupina receptora u *Z*-konformaciji (*anti-C*, *anti-Z*). Protonirana središnja amino-skupina također ima ulogu vezanja aniona, ali i stvaranja supramolekulskih dimera, koji se dalje povezuju u kapsule i osiguravaju povoljnu okolinu za gostujućeg aniona (Slika 11).



Slika 11. Kao i u slučaju kompleksa receptora **K1** s anionima fumarne i sukcijske kiseline, i prilikom vezanja tereftalne kiseline nastaju složene strukture povezanih CZ-dimera koji tvore kapsulu za anion. Razlika je u tome što su u kompleksu s hidrogentereftalom konformacije receptora *anti-C* i *anti-Z* (razlika u orijentaciji metilnih skupina receptora u *Z*-konformaciji). Molekula aniona tereftalne kiseline prikazana je kalotnim modelom zbog preglednosti.

S obzirom na to da su neke od ispitivanih kiselina međusobno u izomernom odnosu (maleinska/fumarna, *o*-ftalna/izoftalna/tereftalna) i od velike industrijske važnosti, za potencijalnu primjenu receptora **K1** u separaciji takvih aniona potrebno je ustanoviti trend selektivnosti. Provedene su kompetitivne kristalizacije iz metanola, etanola (u kojima je izostavljena tereftalna kiselina zbog slabe topivosti), acetonitrila te suho i mljevenje uz dodatak otapala (MeOH). Produkti su identificirani IR spektroskopijom i ustanovljen je sljedeći trend (koji vrijedi i u otopini i u čvrstom stanju):

maleinska k. > *o*-ftalna k. > izoftalna k. > fumarna k. \approx sukcijska k. > tereftalna k.

Takav rezultat upućuje na to da receptor preferira planarne cikličke anione kod kojih dolazi do nastajanja rezonancijom potpomognute vodikove veze.¹¹ Kako bi se potvrdila ta pretpostavka, u sklopu ovog rada istraženo je vezanje receptora **K1** s malonskom kiselinom koja (deprotonirana) također zadovoljava navedeni uvjet za geometrijsku i elektronsku strukturu.¹²

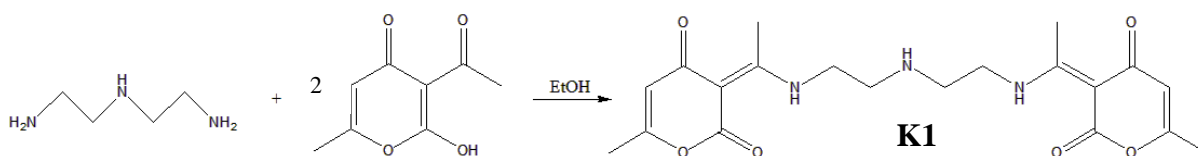
Kako bi se istražila uloga pironskog prstena kao perifernog dijela receptora za koji se pokazalo da igra veliku ulogu u pozicioniranju aniona i formiranju veznog mjesta, dio istraživanja posvećen je i sintezi novih receptora s istim poliaminskim alifatskim lancem, no različitim aromatskim „završecima“.

§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Sinteza receptora

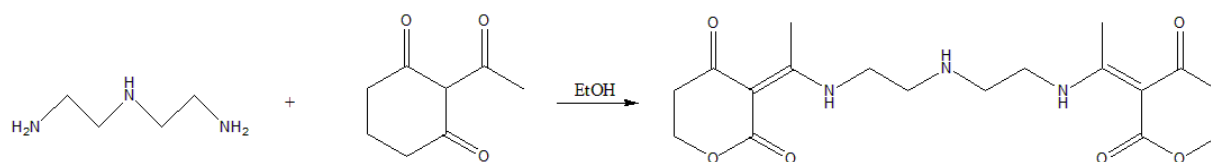
3.1.1. Receptor **K1**

Receptor **K1** sintetiziran je iz stehiometrijskih količina kupovnog dietilentriamina (*Acros Organics*) i dehidracetne kiseline (*Acros Organics*).¹³ Reaktanti su otopljeni u 96 %-tnoj vodenoj otopini etanola (*Kefo*), odnosno oko 25,0 mL za 0,10 mmol svakog od reaktanata. Reakcijska smjesa zagrijavana je uz povratno hladilo i miješanje oko jedan sat. Dobivena žuta otopina ostavljena je da stoji na sobnoj temperaturi nekoliko dana do kristalizacije bijelog produkta. Talog produkta je ofiltriran i prekrizaliziran iz etanola. Iskorištenje reakcije je 50 % (Shema 4). Za kvalitativnu karakterizaciju produkta korištena je IR spektroskopija i difrakcija rendgenskog zračenja na polikristalnom uzorku.



Shema 4.

Osim receptora **K1**, sintetiziran je i receptor s jednakom alifatskom strukturnom razmaknicom, no umjesto dehidracetne kiseline korišten je 2-acetilcikloheksan-1,3-dion. Dobiveni produkt je zbog smolaste teksture strukturno okarakteriziran ¹H-NMR spektroskopijom iz kloroforma (Tablica 1). Zbog otežane analize, daljnji pokusi s navedenim receptorom nisu provedeni (Shema 5).



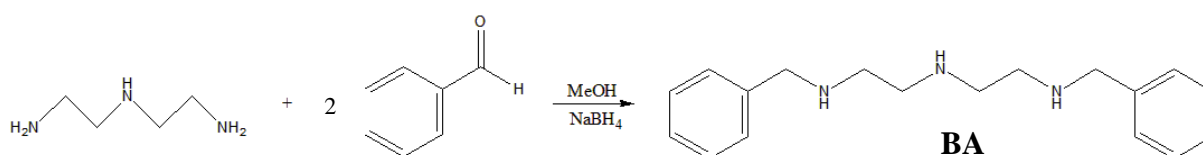
Shema 5.

Tablica 1. Asignacija ^1H NMR kemijskih pomaka spoja dobivenog reakcijom dietilentriamina s 2-acetilcikloheksan-1,3-dionom.

H-atom	δ (ppm)
središnja amino skupina	1,3
metilna skupina	2,2
CH₂ skupina vezana na središnju amino skupinu	3,1
CH₂ skupina vezana na bočnu amino skupinu	3,6
pironski prsten	5,6
bočna amino skupina	14,1

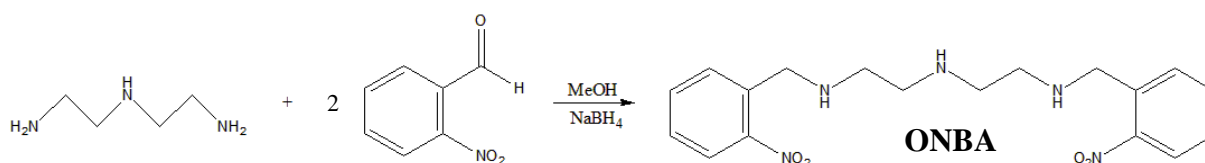
3.1.2. Receptor **BA**

Receptor **BA** (benzil(2-{{2-(benzilamino)etil}amino}etil)amin) sintetiziran je iz stehiometrijskih količina kupovnog dietilentriamina (*Acros Organics*) i benzaldehida (*T.T.T.*). Reaktanti su otopljeni u 80 %-tnoj vodenoj otopini metanola (*Alkaloid*), odnosno oko 25,0 mL za 0,10 mmol svakog od reaktanata. Reakcijska smjesa zagrijavana je uz povratno hladilo i miješanje oko dva sata. Nakon toga, otopini je dodana stehiometrijska količina natrijeva tetrahidroborata koji je neposredno prije dodatka u reakcijsku smjesu otopljen u metanolu uz dodatak natrijeva hidroksida do pH-vrijednosti 10. Nastavljeno je zagrijavanje reakcijske smjese uz povratno hladilo i miješanje još dva sata. Dobivenoj žutoj otopini, nakon hlađenja do sobne temperature, dodano je par kapi koncentrirane vodene otopine dušične kiseline. Zakiseljena reakcijska smjesa je ostavljena da stoji pri sobnoj temperaturi do kristalizacije bijelog produkta. Talog produkta je ofiltriran i prekrizaliziran iz etanola. Iskorištenje reakcije je 40 % (Shema 6). Za kvalitativnu karakterizaciju produkta korištena je IR spektroskopija i difrakcija rendgenskog zračenja na polikristalnom uzorku.



3.1.3. Receptor ONBA

Receptor **ONBA** ([[(2-nitrofenil)metil]({2-[(2-[(2-nitrofenil)metil]amino}etil)amino]etil})amin) sintetiziran je iz stehiometrijskih količina kupovnog dietilentriamina (*Acros Organics*) i *o*-nitrobenzaldehida (*Merck*). Reaktanti su otopljeni u 80 %-tnoj vodenoj otopini metanola (*Alkaloid*), odnosno oko 25,0 mL za 0,10 mmol svakog od reaktanata. Reakcijska smjesa zagrijava se uz povratno hladilo i miješanje oko dva sata. Nakon toga, otopini je dodana stehiometrijska količina natrijeva tetrahidroborata koji je neposredno prije dodatka u reakcijsku smjesu otopljen u metanolu uz dodatak natrijeva hidroksida do pH-vrijednosti 10. Nastavljeno je zagrijavanje reakcijske smjese uz povratno hladilo i miješanje još dva sata. Dobivenoj narančastoj otopini, nakon hlađenja do sobne temperature, dodano je par kapi koncentrirane vodene otopine dušične kiseline. Zakiseljena reakcijska smjesa je ostavljena da stoji pri sobnoj temperaturi do kristalizacije blijedo žutog produkta. Talog produkta je ofiltriran i prekrizaliziran iz etanola. Iskorištenje reakcije je 20 % (Shema 7). Za kvalitativnu karakterizaciju produkta korištena je IR spektroskopija i difrakcija rendgenskog zračenja na polikristalnom uzorku.



Shema 7.

3.1.4. Receptor PNBA

Receptor **PNBA** ([[(4-nitrofenil)metil]({2-[(2-[(4-nitrophenil)metil]amino}etil)amino]etil})amin) sintetiziran je iz stehiometrijskih količina kupovnog dietilentriamina (*Acros Organics*) i *p*-nitrobenzaldehida (*Aldrich*). Reaktanti su otopljeni u 80 %-tnoj vodenoj otopini metanola (*Alkaloid*), odnosno oko 25,0 mL za 0,10 mmol svakog od reaktanata. Reakcijska smjesa zagrijava se uz povratno hladilo i miješanje oko dva sata. Nakon toga, otopini je dodana stehiometrijska količina natrijeva tetrahidroborata koji je neposredno prije dodatka u reakcijsku smjesu otopljen u metanolu uz dodatak natrijeva hidroksida do pH-vrijednosti 10. Nastavljeno je zagrijavanje reakcijske smjese uz povratno hladilo i miješanje još dva sata. Dobivenoj crvenoj otopini, nakon hlađenja do sobne temperature, dodano je par kapi koncentrirane vodene

otopine dušične kiseline. Zakiseljena reakcijska smjesa je ostavljena da stoji pri sobnoj temperaturi do kristalizacije crnog produkta. Talog produkta je ofiltriran i prekrizaliziran iz etanola. Iskorištenje reakcije je 20 %. Za kvalitativnu karakterizaciju produkta korištena je IR spektroskopija i difrakcija rendgenskog zračenja na polikristalnom i monokristalnom uzorku, no nije dobiven željeni produkt.

3.2. Kristalizacija kompleksa receptora s odabranim anionima

3.2.1. Kristalizacija receptora **K1** s malonskom kiselinom

Odvagane su ekvimolarne količine sintetiziranog receptora **K1** i kupovne malonske kiseline (*Tokyo Chemical Industry*) i otopljene u 5 mL metanola, odnosno etanola. Obje smjese su blago zagrijavanje do potpunog otapanja taloga, a zatim ostavljene da stoje pri sobnoj temperaturi do kristalizacije produkta. Dobiveni su receptor-gost kompleksi **K1mal_MeOH** i **K1mal_EtOH** koji su strukturno okarakterizirani difrakcijom rendgenskog zračenja na monokristalnom i polikristalnom uzorku.

3.2.2. Kristalizacija receptorâ s anorganskim anionima

Odvagane (tj. odmjerene) su ekvimolarne količine sintetiziranih receptora **BA**, **ONBA** i **PNBA** te 50 %-tne klorovodične, 50 %-tne dušične, 50 %-tne sumporne, malonske i salicilne kiseline. U po 7 mL destilirane vode otopljene su odmjerene količine jednog receptora i jedne kiseline prema Tablici 2. Dobivene smjese su blago zagrijavane do otapanja taloga, a zatim ostavljene da stoje pri sobnoj temperaturi do kristalizacije produkta. Neke od otopina su dodatno uparene. Približna koncentracija kiselina u otopinama je 1 mmol dm³. Rezultati kristalizacijskih eksperimenata su prikazani u Tablici 3. Kvalitativna karakterizacija produkata provedena je difrakcijom rendgenskih zraka na monokristalnom uzorku za produkte čiji kristali su bili dostatne kvalitete za strukturnu analizu: kompleksi receptora **BA** s dušičnom kiselinom te receptora **ONBA** s dušičnom kiselinom.

Tablica 2. Kristalizacijski eksperimenti za dobivanje kompleksa receptora i aniona odabranih kiselina iz vodenih otopina. Oznakom \checkmark označeni su parovi receptora (prvi stupac) i kiseline (prvi redak) koji su otopljeni u vodi u istoj kristalizacijskoj posudici. Oznakom x označeni su parovi receptora i kiselina za koje nisu provedeni kristalizacijski eksperimenti.

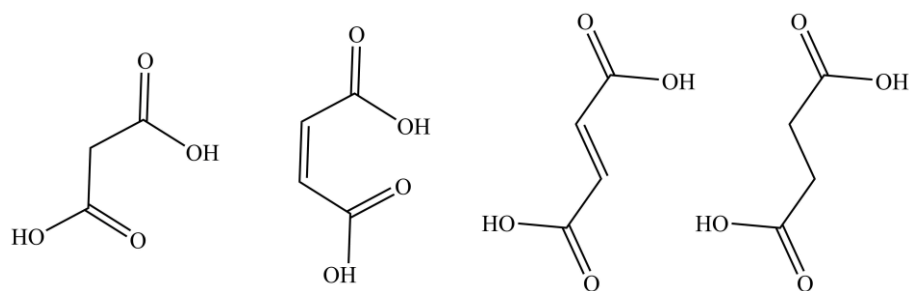
receptor \ kiselina	HCl	HNO ₃	H ₂ SO ₄	malonska k.	salicilna k.
BA	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark
ONBA	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark
PNBA	x	x	x	\checkmark	x

Tablica 3. Rezultati kristalizacijskih eksperimenata navedenih u Tablici 2. Opisom produkta označeni su parovi receptora (prvi stupac) i kiseline (prvi redak) iz čijih otopina je nastao kristalinični talog. Oznakom x označeni su parovi receptora i kiselina iz čijih otopina nisu dobiveni talozi.

receptor \ kiselina	HCl	HNO ₃	H ₂ SO ₄	malonska k.	salicilna k.
BA	bijeli talog	bijeli talog	bijeli talog	x	x
ONBA	x	bijeli talog	bijeli talog	bijeli talog	bijeli talog
PNBA	x	x	x	crni talog	x

3.3. Kompetitivno mljevenje binarnih smjesa odabranih karboksilnih dikiselina s receptorom K1

Za potrebe ispitivanja selektivnosti receptora **K1** u čvrstom stanju priređene su binarne smjese odabranih karboksilnih dikiselina: malonske i maleinske (*Merck*), malonske i fumarne (*Sigma Aldrich*), te malonske i sukcininske (*Tokyo Chemical Industry*) (Shema 8). Odvagane su i pomiješane ekvimolarne količine pojedinih kiselina (u krutom stanju) te ekvimolarna količina receptora **K1**.



Shema 8. S lijeva na desno: malonska, maleinska, fumarna i succinska kiselina.

U posudice za mljevenje od pleksiglasa stavljena je po jedna kuglica od nehrđajućeg čelika promjera 7 mm, te sljedeće smjese receptora s kiselinama (u stehiometrijskim omjerima 1 : 1 : 1): **K1** i malonska kiselina, **K1**, malonska i fumarna kiselina, **K1**, malonska i succinska kiselina, **K1** malonska i maleinska kiselina. U posudice za mljevenje je dodano po 100 μ L metanola (engl. *liquid assisted grinding*)¹⁴, a za mljevenje je korišten kuglični mlin *Retsch MM 200* u trajanju od 30 minuta uz frekvenciju 25 Hz. Karakterizacija konačnih reakcijskih smjesa provedena je kvalitativno difrakcijom rentgenskog zračenja na polikristalnom uzorku.

3.4. Tehnike kvalitativne karakterizacije produkata

3.4.1. Difrakcija rentgenskog zračenja na polikristalnom uzorku

Dobiveni uzorak homogeniziran je i nanesen na nosač koji je umetnut u za to predviđeni držač na goniometru. Za prikupljanje podataka korišten je difraktometar *Philips PW 3710* u Bragg-Brentanovoj izvedbi s proporcionalnim detektorom. Zračenje se generira rentgenskom cijevi s bakrenom anodom ($\lambda(\text{Cu-K}\alpha 1) = 1,54056 \text{ \AA}$ i $\lambda(\text{Cu-K}\alpha 2) = 1,54439 \text{ \AA}$, $I(\text{K}\alpha 2)/I(\text{K}\alpha 1) = 0,500$), a monokromator je nikleni. Napon je iznosio 40 kV, a struja 40 mA. Za obradu podataka i slika korišten je program *HighScore Plus*.¹⁵

3.4.2. Difrakcija rentgenskog zračenja na monokristalnom uzorku

Difrakcijski podaci za odabrane jedinične kristale prikupljeni su pri 100 K na *Oxford Diffraction Xcalibur 3 Kappa* CCD četverokružnom difraktometru s monokromatskim $\text{MoK}\alpha$ zračenjem (grafitni monokromator, $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$). Radni napon cijevi iznosi 50 kV, a jakost struje 40 mA. Za prikupljanje i obradu podataka korišten je programski paket *CrysAlisPro*.¹⁶ Molekulske i kristalne strukture spojeva određene su direktnim metodama pomoću programa *SHELXS97*, a utočnjene su metodom najmanjih kvadrata pomoću programa *SHELXL97*.¹⁷ Svi proračuni te slike molekulskih i kristalnih struktura izvedeni su programima iz *WinGX*¹⁸ kristalografskog programskog paketa. Položaji atoma vodika određeni su na temelju

stereokemijskih pravila (postavljeni su na računate položaje). Atomske faktori pomaka težih atoma (N, C, O) modelirani su anizotropno. Položaji molekula otapala su utočnjavani kao kruto tijelo (zbog lošije kvalitete difrakcijskih podataka). Sve slike izrađene su u programima *Mercury* i *PyMOL*.^{19, 20}

Osnovni kristalografski podaci priloženi su u Tablici 4.

3.4.3. Difrakcija sinkrotronskog rentgenskog zračenja na monokristalnom uzorku

Difrakcijski podaci su prikupljeni na XRD1 liniji sinkrotrona „*Elettra Sincrotrone Trieste*“. Osnovni kristalografski podaci priloženi su u Tablici 4.

3.4.4. Infracrvena spektroskopija

Svi FT-IR spektri su snimljeni na *PerkinElmer Spectrum Two* spektrometru s *Diamond UATR* dodatkom u rasponu od 4000 do 450 cm^{-1} pri rezoluciji od 2 cm^{-1} . IR spektar analiziran je programom *Spectrum*.²¹

3.4.5. ^1H -NMR spektroskopija

Oko 20 mg uzorka otopljeno je u 600 μL kloroforma, dok je TMS korišten kao unutrašnji standard. Korištenjem *Bruker Advance III HD 400 MHz/54 mm Ascend* spektrometra s 5 mm PA BBI $^1\text{H}/\text{D}$ -BB Z-GRAD probom snimljen je jednodimenzijski ^1H spektar. Za prikupljanje i obradu podataka korišteni su standardni *Bruker* pulsni programi.²²

Tablica 4. Osnovni kristalografski podatci za komplekse **K1mal_MeOH**, **K1mal_EtOH**, kompleks receptora **BA** s nitratnim ionom te kompleks receptora **ONBA** s nitratnim ionom.

Oznaka	K1mal_MeOH	K1mal_EtOH	BA_NO₃⁻	ONBA_NO₃⁻
relativna molekulska masa, M_r	539,53	745,56	172,20	562,45
kristalni sustav	rompski	rompski	rompski	rompski
prostorna grupa	<i>Pbam</i>	<i>Pbam</i>	<i>Pmn2₁</i>	<i>Pmc2₁</i>
parametri jedinične ćelije				
a (Å)	15,8127(4)	15,8732(4)	36,7270(15)	39,765(9)
b (Å)	15,9793(3)	16,0225(6)	5,7366(3)	8,3205(1)
c (Å)	19,6637(4)	19,9047(8)	5,5435(3)	7,4707(2)
volumen jedinične ćelije, V (Å ³)	4968,54(19)	5062,3(3)	1167,95(10)	2471,8(8)
broj formulskih jedinica u jediničnoj ćeliji, Z	8	8	5	4
izračunata gustoća, ρ_{calc} (g cm ⁻³)	1,443	1,956	1,224	1,5113
linearni apsorpcijski koeficijent, $\mu(\text{Mo-K}\alpha)$ (mm ⁻¹)	0,115	0,170	0,077	0,130
veličina kristala (mm ³)	0,10 x 0,15 x 0,20	0,10 x 0,20 x 0,25	0,1 x 0,2 x 0,2	0,1 x 0,1 x 0,2
temperatura, T (K)	100	100	293	100
valna duljina zračenja, λ (Å)	0,71073	0,71073	0,700	0,71073
raspon difrakcijskih kuteva	$3,77^\circ \leq \theta \leq 24,98^\circ$	$4,15^\circ \leq \theta \leq 25,99^\circ$	$4,37^\circ \leq \theta \leq 66,29^\circ$	$8,2^\circ \leq \theta \leq 65,54^\circ$
raspon vrijednosti Millerovih indeksa	$-18 \leq h \leq 18$ $-18 \leq k \leq 19$ $-23 \leq l \leq 22$	$-19 \leq h \leq 19$ $-19 \leq k \leq 19$ $-24 \leq l \leq 24$	$-52 \leq h \leq 52$ $-8 \leq k \leq 8$ $-8 \leq l \leq 8$	$-60 \leq h \leq 35$ $-7 \leq k \leq 11$ $-11 \leq l \leq 10$
ukupni broj prikupljenih difrakcijskih maksimuma	37946	82287	22032	12240
broj jedinstvenih difrakcijskih maksimuma	4500	5105	4195	6905
broj parametara koji su se utočnjavali	367	368	72	167
broj opaženih difrakcijskih maksimuma [$I \geq 2\sigma(I)$]	3587	3989	4195	6905
faktor nepouzdanosti, R^a [$I \geq 2\sigma(I)$]	0,1023	0,1554	0,2399	0,2852
težinski faktor nepouzdanosti, wR^b [za sve podatke]	0,2907	0,4056	0,5825	0,6286
faktor slaganja, S^c	1,116	1,212	2,913	1,849
minimalna rezidualna elektronska gustoća (e Å ⁻³)	-0,685	-0,922	-2,33	-3,24
maksimalna rezidualna elektronska gustoća (e Å ⁻³)	1,482	1,76	2,65	3,95

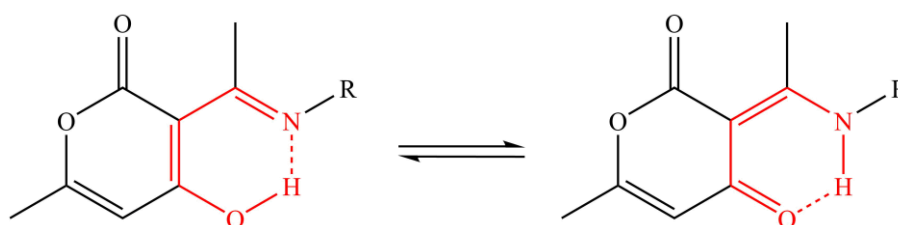
$$^a R = \sum |F_o| - |F_c| / \sum F_o; \quad ^b w = 1 / [\sigma^2(F_o^2) + (g_1 P)^2 + g_2 P] \text{ gdje je } P = (F_o^2 + 2F_c^2) / 3; \quad ^c S = \sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2 / (N_{\text{obs}} - N_{\text{param}})]^{1/2}$$

§ 4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Kompleks receptora K1 s hidrogenmalonatnim anionom

4.1.1. Sinteza i kvalitativna analiza receptora K1

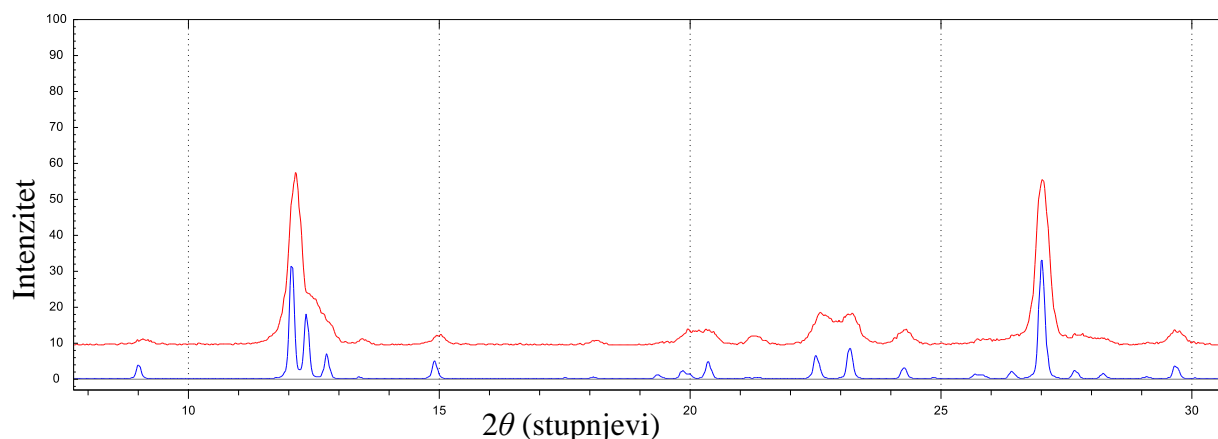
Receptor **K1** sastoji se od središnjeg alifatskog fleksibilnog dijela i perifernih pironskih prstenova. Upravo na spojnici tih dijelova javlja se enolimino-ketoamino tautomerija (Shema 9) koja utječe na fleksibilnost cijelog receptora i „zaključavanje“ konformacije.



Shema 9. Enolimino (lijevo)–ketoamino (desno) tautomerija

Osim fleksibilnosti, ovisno o zastupljenosti pojedinog tautomera, mijenjanju se donorsko-akceptorska svojstva funkcionalnih skupina u receptoru. To znatno utječe na formiranje i svojstva veznog mjesta te na samoudruživanje molekula i kristalno pakiranje. U tom fragmentu molekule ostvaruje se i unutarmolekulska vodikova veza velike energije što rezultira djelomično aromatskim karakterom i mogućnošću ostvarivanja π - π interakcija s molekulama gosta ili receptora.

Kako bi se potvrdilo da je produkt reakcije dehidracetne kiseline i dietilentriamina u omjeru 2 : 1 receptor **K1**, nastali talog je prekrizaliziran. Dobiveni kristalinični produkt je homogeniziran i prikupljeni su podaci difrakcijom rentgenskog zračenja na praškastom uzorku (Slika 12) čime je potvrđeno da je dobiveni spoj receptor **K1**.



Slika 12. Na temelju podudarnosti difrakcijskih maksimuma u izmjenom difraktogramu praha sintetiziranog **K1** (crveno) i difraktograma praha izračunatog iz određene kristalne strukture (plavo),¹¹ potvrđeno je da je sintetiziran željeni spoj.

Za dodatnu potvrdu snimljen je IR spektar ATR tehnikom. Vrpce istezanja pri 3432 cm^{-1} [široko, $\nu(\text{N-H})$; RAHB]; 3366 cm^{-1} [oštro, $\nu(\text{N-H})$ centralni], 1688 cm^{-1} , 1656 cm^{-1} , 1636 cm^{-1} , 1574 cm^{-1} , 1472 cm^{-1} [svi ν (istezanja), miješano C–O i C=C] potvrđuju da je dobiveni spoj receptor **K1** te da je većinski prisutan u ketoamino tautomernom obliku.

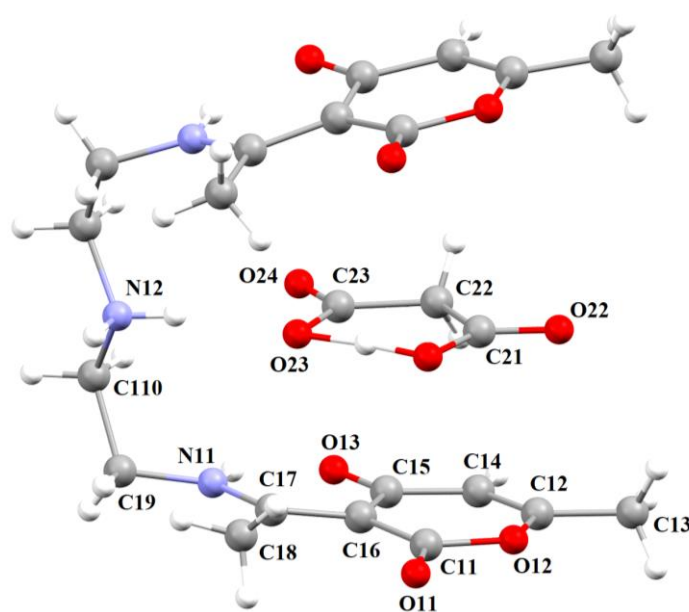
4.1.2. Strukturna karakterizacija kompleksa receptora **K1** s hidrogenmalonatnim ionom

U dosadašnjim istraživanjima ispitano je vezanje receptora **K1** s karboksilnim dikiselinama koje u deprotoniranom obliku tvore rezonancijom potpomognutu unutarmolekulsku vodikovu vezu (hidrogenmaleat). Također je uočeno da receptor pokazuje izrazitu selektivnost prema anionima takve strukture. Kako bi se potvrdilo to opažanje, za daljnje ispitivanje svojstva vezanja receptora **K1** odabrana je malonska kiselina koja je geometrijskom i elektronskom strukturom slična maleinskoj kiselini.

Provedeni su kristalizacijski eksperimenti u metanolnim i etanolnim otopinama te su prikupljeni difrakcijski podaci za odabrane jedinične kristale. Kristali kompleksa **K1mal** nisu dugo stabilni na zraku. Određivanjem strukture **K1mal_MeOH** i **K1mal_EtOH** utvrđeno je da su oba spoja solvati i da kristaliziraju u rompskom sustavu, prostornoj grupi *Pbam* (Tablica 4). U daljnjem tekstu će se kao **K1mal** opisivati struktura **K1mal_EtOH** jer je izostrukturalna s **K1mal_MeOH**.

U kompleksu s hidrogenmalonatnim ionom receptor **K1** je u konformaciji *syn-C*, a povezivanje se ostvaruje u omjeru 1 : 1. Središnja amino-skupina receptora je protonirana (to

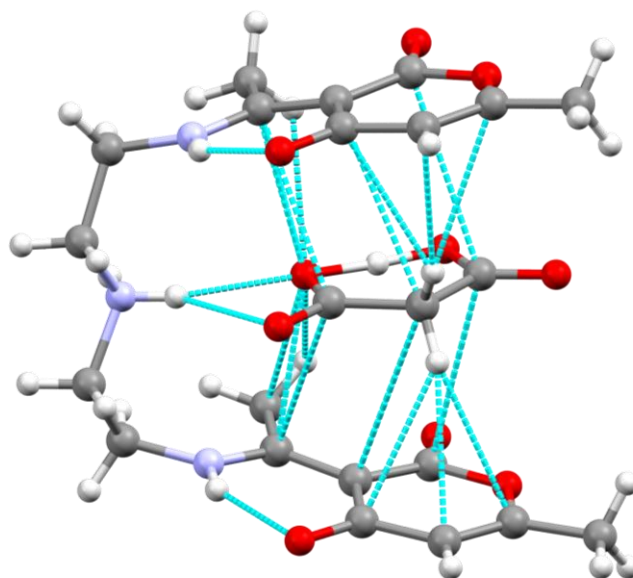
potvrđuje diferentna mapa Fourierove gustoće) što ju čini najboljim donorom vodikove veze. Dodatni utjecaj na formiranje veznog mjesta ima i ketoamino forma [što je vidljivo iz duljina veza: $d(\text{N11-C17}) = 1,3117(1) \text{ \AA}$, $d(\text{C16-C17}) = 1,4462(1) \text{ \AA}$, $d(\text{C15-C16}) = 1,4202(1) \text{ \AA}$, $d(\text{C15-O13}) = 1,2719(1) \text{ \AA}$] te unutarmolekulska vodikova veza između atoma N11 i O13 [$d(\text{N11}\cdots\text{O13}) = 2,5761(1) \text{ \AA}$] (Slika 13).



Slika 13. Molekulska struktura kompleksa **K1mal_EtOH**. Sivo su prikazani atomi ugljika, bijelo vodika, plavo dušika, a crveno kisika. Ista numeracija atoma korištena je i za kompleks **K1mal_MeOH**.

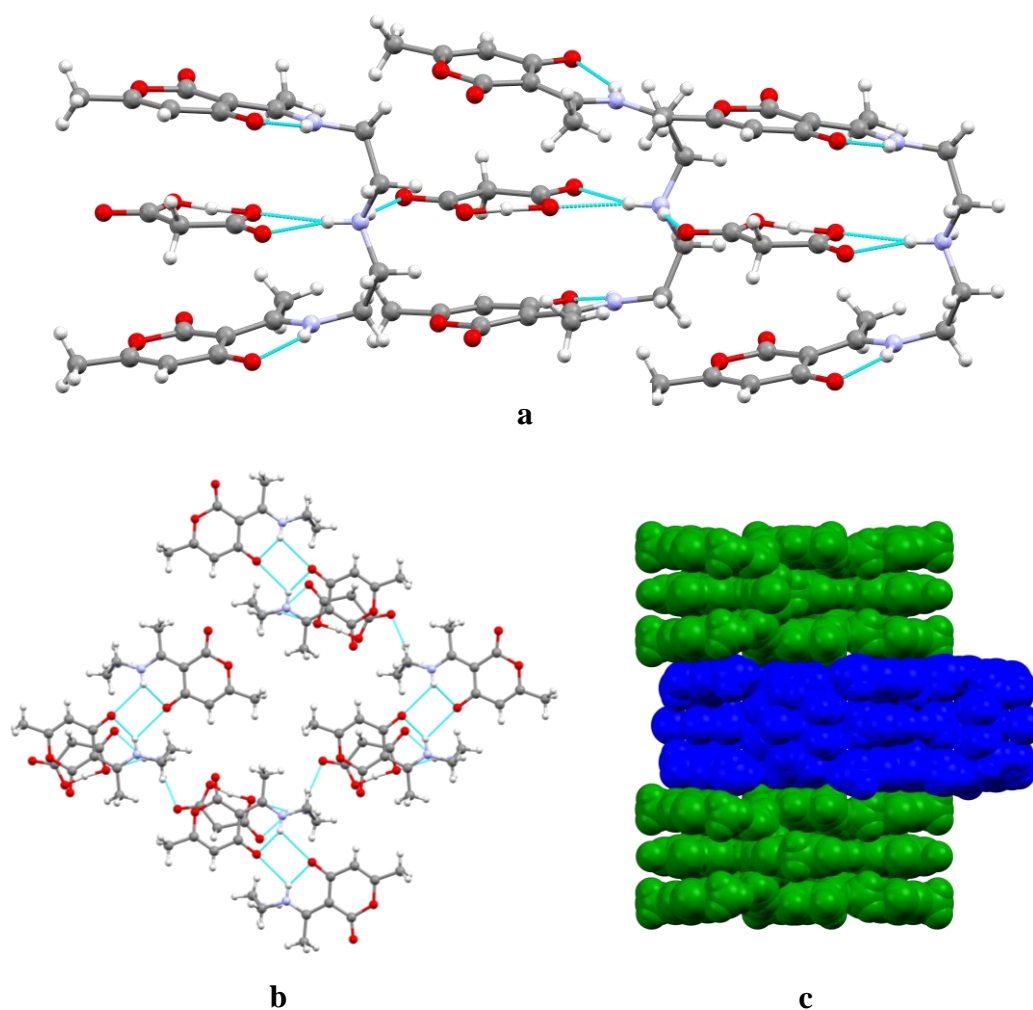
Dok je središnji alifatski dio molekule fleksibilan, periferni dijelovi su relativno rigidni, a zbog rezonancijom potpomognute vodikove veze [$d(\text{N11}\cdots\text{O13}) = 2,576(1) \text{ \AA}$] imaju i djelomični aromatski karakter. Takva svojstva ima i hidrogemalonat; deprotonacijom malonske kiseline ostvaruje se rezonancijom potpomognuta vodikova veza između atoma O21 i O23 koja osigurava planarnost molekule. Također, atomi kisika O21 i O22 dobri su akceptori vodikovih veza stoga je ključ molekuskog prepoznavanja s receptorom upravo u ostvarivanju jakih vodikovih veza [$d(\text{N12}\cdots\text{O21}) = 2,947(1) \text{ \AA}$, $d(\text{N12}\cdots\text{O42}) = 3,096(1) \text{ \AA}$] s bifurkiranim donorom N12 (H12A i H12B). Na taj način anion se „usidri“ na receptor i formira se vezno mjesto. Do dodatne stabilizacije kompleksa dolazi zbog zajedničkog svojstva planarnosti i djelomičnog aromatskog karaktera aniona i perifernog dijela molekule receptora.

Ostvarivanjem π - π i C-H \cdots π interakcija, receptor djeluje kao „ π pinceta“ koja pozicionira i čvrsto veže anion u veznom mjestu što utječe i na selektivnost receptora (Slika 14).



Slika 14. Prikaz odabranih međumolekulskih interakcija (plavo) u **K1mal**. Središnja protonirana amino skupina djeluje kao bifurkirani donor vodikove vez i „usidruje“ anion u veznom mjestu. Između planarnih dijelova molekula receptora i gosta ostvaruju je slabije, ali interakcije važne za pozicioniranje i stabilizaciju kompleksa.

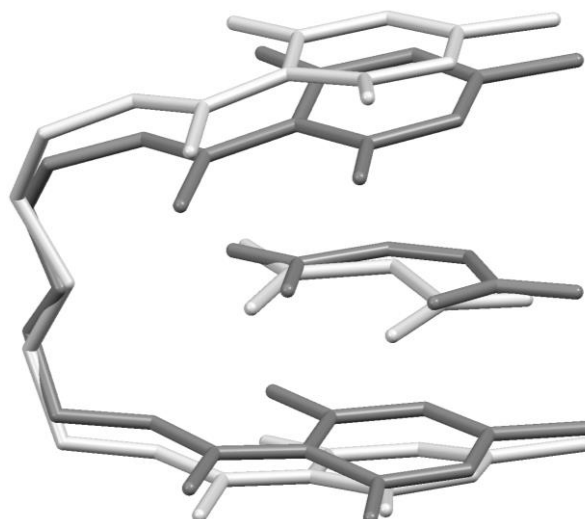
U kristalnoj strukturi **K1mal** jedinice kompleksa su međusobno povezane vodikovim vezama koje ostvaruje središnja protonirana amino skupina s anionom susjednog kompleksa (Slika 15a). Na taj način se formiraju lanci duž kristalografske osi *b* koji su pak međusobno povezani vodikovim vezama i čine slojeve (Slika 15b i c). Između slojeva su ostvarene disperzne sile, a u cijeloj strukturi su prisutne šupljine koje zauzimaju 4,3 % volumena jedinične ćelije (za kristale dobivene iz MeOH postotak je nešto manji). U šupljinama su smještene molekule otapala i to jedna po jedinki kompleksa, a obzirom na to da su međumolekulske interakcije između kompleksa i otapala vrlo slabe, stajanjem na zraku (dulje od 60 minuta) otapalo izlazi iz kristalne strukture i kristal se raspada.



Slika 15. Jedinke kompleksa **K1mal** se međusobno povezuju vodikovim vezama u lance duž kristalografske osi *b* (a). Lanci su povezani N–H···O vodikovim vezama [$R_2^2(12)$] u slojeve (b: prikaz duž kristalografske osi *c*, c: prikaz duž kristalografske osi *a*, molekule su prikazane kalotnim modelom sa slojevima u različitim bojama). U šupljinama unutar slojeva se nalaze molekule otapala koje radi preglednosti nisu prikazane.

4.1.3. Usporedba kompleksa **K1** anionima malonske i maleinske kiseline

Ovakva konformacija receptora i način povezivanja s anionom analogan je povezivanju **K1** s hidrogenmaleatom. To je i očekivano, s obzirom na sličnosti u strukturi navedenih kiselina; obje u deprotoniranom obliku ostvaruju unutarmolekulsku rezonancijom potpomognutu vodikovu vezu koja osigurava planarnost molekule. Ipak, usporedbom molekulskih struktura kompleksa uočavaju se određene razlike u pozicioniranju aniona u veznom mjestu (Slika 16).



Slika 16. Usporedni prikaz strukturâ kompleksa **K1** s hidrogenmalonatom (svijetlosivo) i hidrogenmaleatom (tamnosivo). Iz prikaza su izostavljeni atomi vodika.

Usporedbom molekulske i elektronske strukture malonske i maleinske kiseline uočava se razlika u steričkom ometanju prilikom ostvarivanja interakcija s „ π pincetom“. U slučaju maleinske kiseline, atomi vodika se zbog dvostrukih veza nalaze u ravnini s četiri atoma ugljika. Planarnost aniona se ostvaruje i zbog rezonancijom potpomognute unutarmolekulske vodikove veze pa se pironski dijelovi receptora mogu više približiti te ostvariti jače interakcije s hidrogenmaleatom. Stoga je udaljenost centroida pironskih prstenova molekule receptora u kompleksu s hidrogenmaleatom 6,8 Å, a s hidrogenmalonatom 7,2 Å. Udaljavanje prstenova se očituje kao otvaranje „ π pincete“ u slučaju kompleksa **K1mal** zbog steričkih i elektrostatskih ometanja atoma vodika u hidrogenmalonatnom anionu (kut između ravnina definiranih položajima atoma u pironskim prstenovima je za kompleks s hidrogenmalonatom 13,7°, a s hidrogenmaleatom 10,3°).

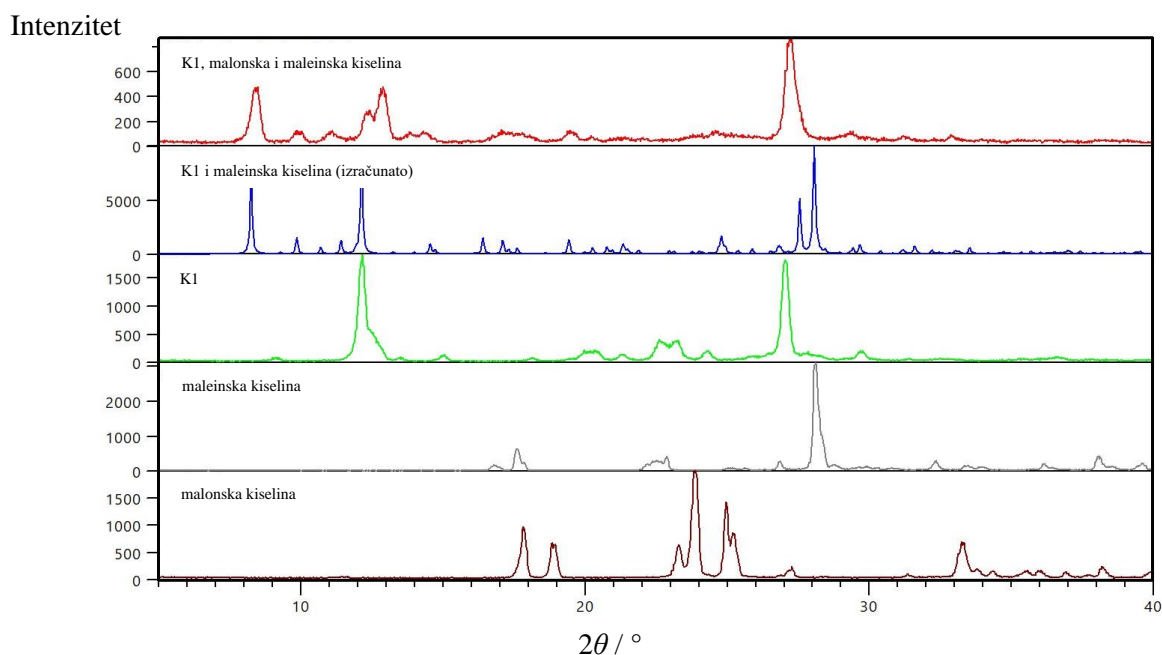
Osim interakcija s perifernim dijelom molekule receptora, vidljivo je i različito orijentiranje akceptora vodikovih veza aniona prema protoniranoj središnjoj amino skupini receptora (N12) i različito pozicioniranje u vezno mjesto. U kompleksu s hidrogenmaleatom anion se veže nesimetrično na N12 [$d(\text{N12}\cdots\text{O21}) = 3,482(1)$ Å, $d(\text{N12}\cdots\text{O22}) = 2,764(2)$ Å], no vrijednosti su manje nego za veze sa hidrogenmalonatom [$d(\text{N12}\cdots\text{O21}) = 2,947(1)$ Å, $d(\text{N12}\cdots\text{O22}) = 3,096(1)$ Å]. To upućuje na pozicioniranje hidrogenmaleata bliže donoru vodikovih veza, a u odmaku od preklapanja s pironskim prstenovima. Takvo pozicioniranje aniona u veznom

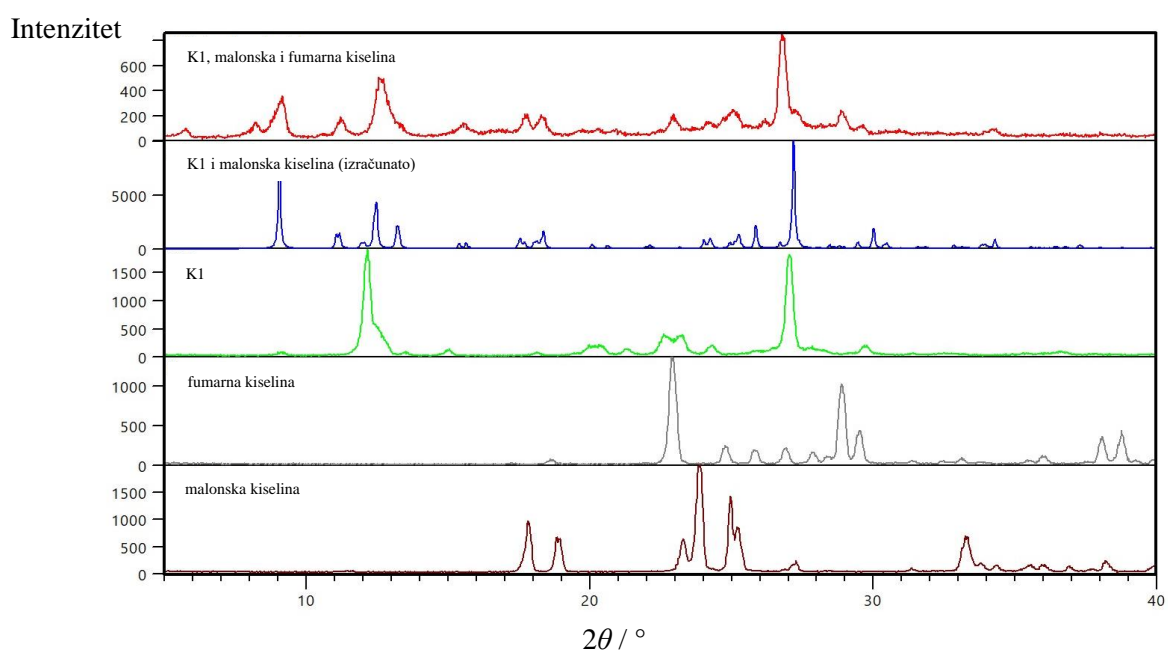
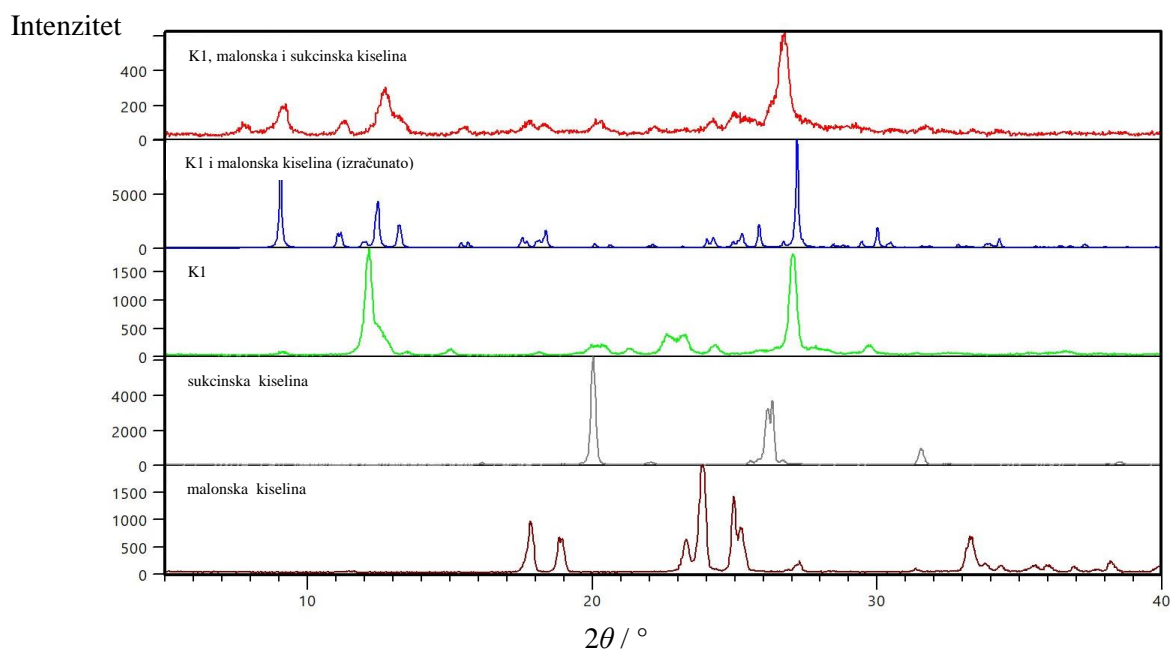
mjestu osigurava bolju interakciju s djelomično aromatskim dijelovima receptora i gosta i zatvaranje „ π pincete“ u kompleksu s hidrogenmaleatom.

4.1.4. Ispitivanje selektivnosti receptora **K1** u čvrstom stanju

Već je usporedbom struktura kompleksa **K1mal** s kompleksom **K1** s hidrogenmaleatom vidljiva razlika u jačini interakcija, a time i vezanja gosta u veznom mjestu. Iz tih svojstava proizlazi i razlika u selektivnosti prema različitim anionima, kako u otopini, tako i u čvrstom stanju.

Stoga su za potrebe utvrđivanja trenda selektivnosti odabrane strukturno slične karboksilne dikiseline za koje su već poznate strukture kompleksa s **K1**: malonska, maleinska, sukcininska i fumarna (Shema 3). Binarne smjese kiselina su mljevene s ekvimolarnim količinama receptora **K1** uz dodatak otapala (LAG) te su dobivenim produktima snimljeni difraktoگرامi praha (Slika 17). Za potrebe praćenja napredovanja reakcije, snimljeni su i difraktoگرامi praha reaktanata, te nastajanja kompleksa **K1mal**.





Slika 17. Izmjereni difraktogrami praha reakcijskih smjesa dobivenih mljevenjem binarnih smjesa kiselina s receptorom **K1** te usporedba s difraktogramima praha izračunatim iz kristalnih struktura kompleksa i reaktanata.

Usporedbom difrakcijskih maksimuma izmjerenih i izračunatih difraktograma prahova, vidljivo je da u svakoj od reakcijskih smjesa dolazi do nastajanja kompleksa receptor-gost. Osim izmjerenih i izračunatih podataka, korišteni su i literaturni podaci.¹² Poklapanje difraktograma produkta kompeticijskog mljevenja s nekim od difraktograma kompleksâ receptor-gost, te prisutnost difrakcijskih maksimuma neizreagiranih kiselina jasno upućuje na preferiranje vezanja **K1** s određenom kiselinom u binarnoj smjesi. Utvrđen je sljedeći trend selektivnosti receptora prema karboksilnim kiselinama u čvrstom stanju:

maleinska > malonska > sukcijska ≈ fumarna

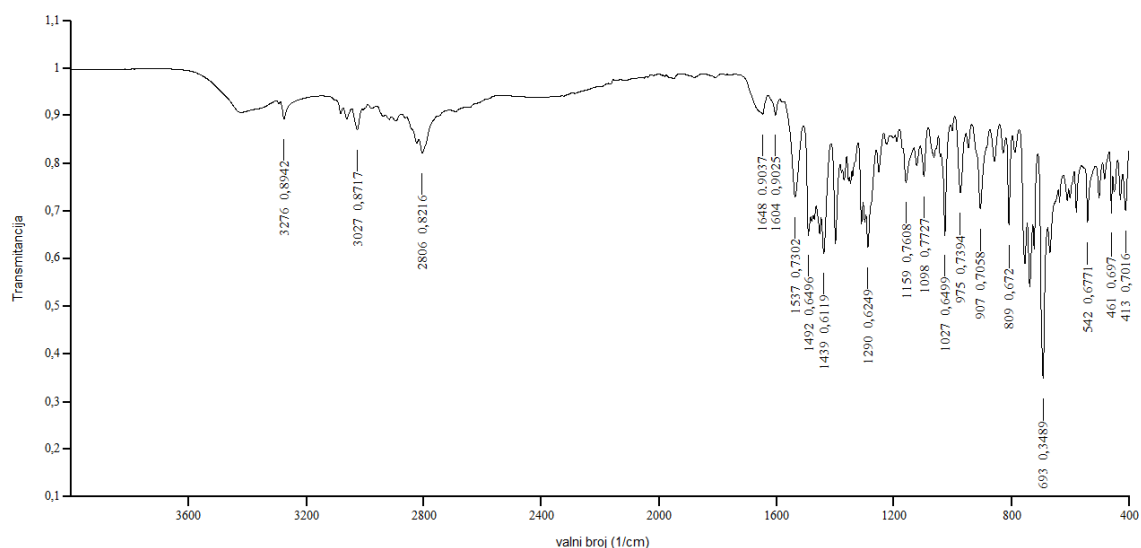
Naša pretpostavka da **K1** jače i selektivnije veže anione kiselina planarne konformacije uvjetovane geometrijskom i elektronskom strukturom kiseline te unutarmolekulskom rezonancijom potpomognutom vodikovom vezom. Izražena selektivnost prema hidrogenmaleatu rezultat je planarnosti i djelomičnog aromatskog karaktera aniona. Ta svojstva proizlaze iz mogućnosti ostvarivanja sedmeročlanog prstena unutar kojeg dolazi do delokalizacije elektronske gustoće zahvaljujući dvostrukim vezama i *cis* orijentaciji molekule. Na smanjenu selektivnost prema malonskoj kiselini utječe izostanak dvostruke veze, tj. slabiji aromatski karakter šesteročlanog prstena. Anion sukcijske kiseline, iako sadrži nezasićene veze, znatno je fleksibilniji zbog duljeg lanca C-atoma, što rezultira neplanarnošću gosta, a time i nemogućnošću formiranja „ π -pincete“. U slučaju kompleksa **K1** s hidrogenfumaratom, ostvarivanje unutarmolekulske vodikove veze koja bi osigurala planarnost molekule je onemogućeno zbog *trans* položaja karboksilnih skupina.

4.2. Kompleks receptora BA s nitratnim anionom

4.2.1. Sinteza i kvalitativna analiza receptora BA

Istraživanje vezanja receptora **K1** s nitratnim anionom u metanolnim otopinama polučilo je vrlo dobrim rezultatima. Stoga je za daljnje ispitivanje receptora za nitratni ion odabran sličan receptor uz određene promjene u fleksibilnosti, a cilj je i ispitati molekulske prepoznavanje aniona i gosta u kompetitivnijim vodenim otopinama.

U tu svrhu sintetiziran je receptor **BA** iz dietilentriamina i benzaldehida u omjeru 1 : 2 uz redukciju natrijevim tetrahidroboratom. Iz zakiseljenih otopina dobiveni su kristali kojima je snimljen difraktogram praha i IR spektar (Slika 18). Vrpce istezanja pri 3276 cm^{-1} [$\nu(\text{N-H})$], 1648 cm^{-1} , 1604 cm^{-1} , 1537 cm^{-1} , 1492 cm^{-1} [$\nu(\text{istezanja, C=C})$] i difrakcijski maksimumi potvrđuju da je dobiven željeni spoj.



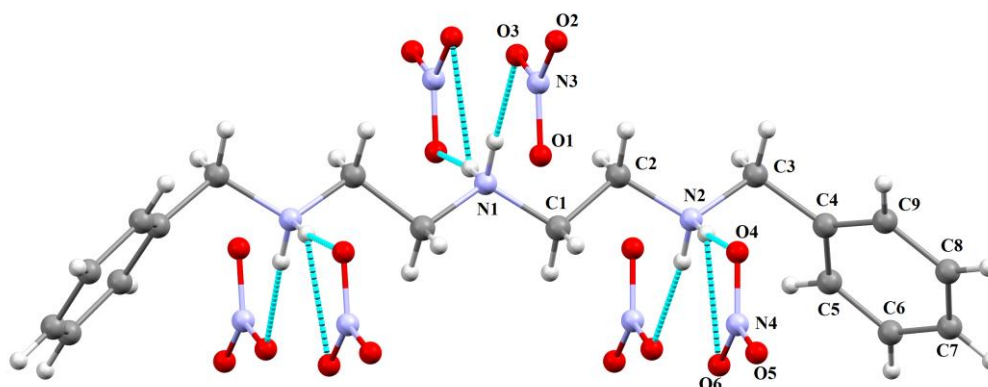
Slika 18. Snimljeni IR spektar produkta (BA)

Receptor **BA** također se sastoji od fleksibilnog središnjeg alifatskog dijela, no „završeci“ molekule su fenilne skupine bez supstituenata pa u molekuli nema značajnih unutarmolekulskih interakcija. No **BA** zato „ima na raspolaganju“ tri amino-skupine koje protonirane mogu ostvarivati interakcije i igrati ulogu u molekulske prepoznavanju s anionima gostima.

4.2.2. Strukturna karakterizacija kompleksa receptora BA s nitratnim ionom

Kako bi se priredio kompleks **BA** s nitratnim ionom, dobiveni receptor otopljen je u vodi i dodana mu je razrijeđena dušična kiselina. Od nastalih kristala odabrani su pojedini za prikupljanje podataka difrakcijom rendgenskog zračenja na monokristalnom uzorku i riješena

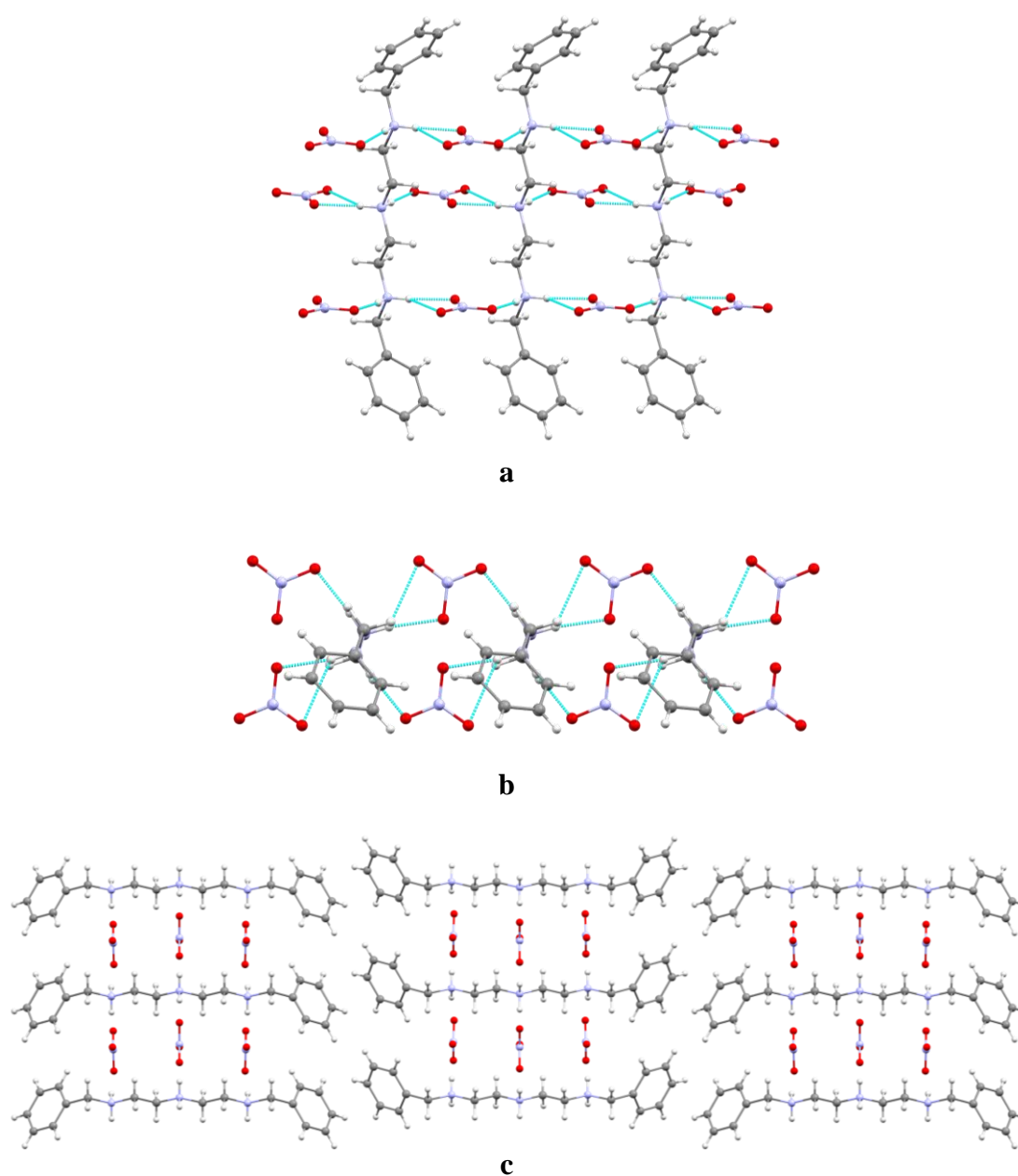
je struktura spoja (Slika 19). Spoj kristalizira u rompskom sustavu, prostornoj grupi $Pmn2_1$, a dodatni podaci o strukturi nalaze se u Tablici 4.



Slika 19. Molekulska struktura kompleksa receptora **BA** s nitratom. Atomi ugljika prikazani su sivom, vodika bijelom, dušika plavom, a kisika crvenom bojom. Svjetloplavom bojom prikazane su vodikove veze između molekula receptora i gosta.

U kompleksu **BA** s nitratnim ionom, sve tri amino skupine receptora su protonirane i djeluju kao donori vodikovih veza prema nitratima. Svaka je amino-skupina receptora povezana s dva nitratna iona [$d(\text{N1}\cdots\text{O3}) = 2,822 \text{ \AA}$, $d(\text{N1}\cdots\text{O1}) = 2,777 \text{ \AA}$, $d(\text{N2}\cdots\text{O4}) = 2,781 \text{ \AA}$, $d(\text{N2}\cdots\text{O6}) = 2,860 \text{ \AA}$], a ukupni omjer molekula receptora i gosta je 1 : 3. Konformacija molekule **BA** s obzirom na položaj perifernih benzenskih prstenova podsjeća na spomenutu C-konformaciju receptora **K1**, no ne dolazi do ostvarivanja značajnijih međumolekulskih interakcija s molekulama gosta.

Takva konformacija pogoduje i slojevitoj kristalnoj strukturi. Nitratni ioni vodikovim vezama povezani su s protoniranim amino-skupinama dviju susjednih molekula receptora te se na taj način stvaraju lanci (Slika 20a). Molekule receptora su unutar lanca sve u jednoj ravni, a unutar sloja jednako orijentirane (Slika 20b). Susjedni slojevi su povezani slabijim interakcijama, a orijentacija slojeva je suprotna (Slika 20c).

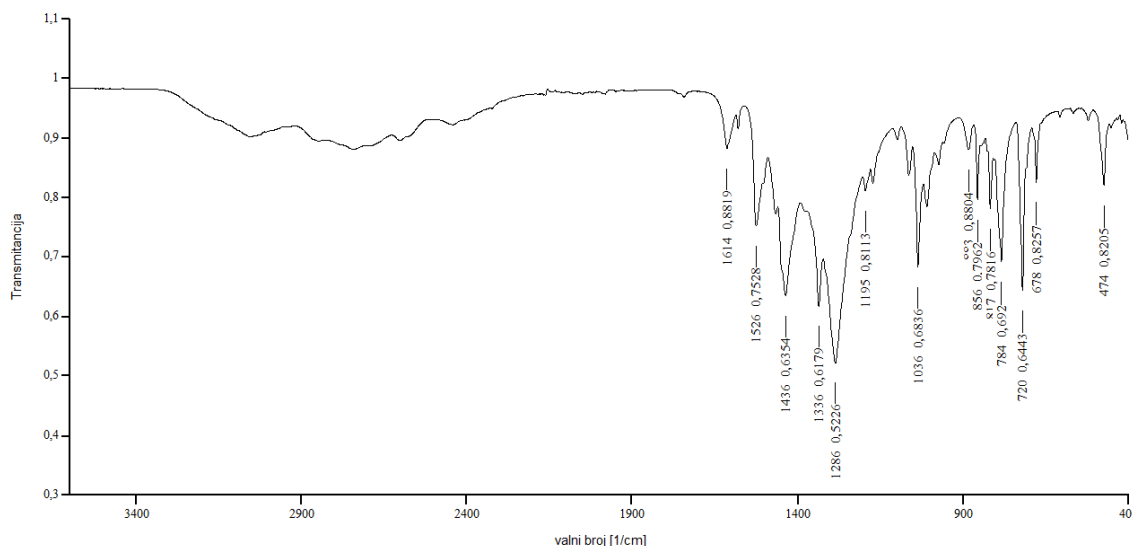


Slika 20. Međumolekulske interakcije i kristalna struktura kompleksa receptora **BA** s nitratom. Jedinke kompleksa **BA** s nitratom međusobno su vodikovim vezama povezane u lance (**a**) unutar kojih su molekule receptora u istoj ravnini i iste orijentacije (**b**, prikaz duž kristalografske osi *a*). Lanci su disperznim silama povezani u slojeve između kojih se ostvaruju slabi kontakti (**c**, prikaz duž kristalografske osi *b*).

4.3. Kompleks receptora ONBA s nitratnim anionom

4.3.1. Sinteza i kvalitativna analiza receptora ONBA

Reakcijom *o*-nitrobenzaldehida s dietilentriaminom u stehiometrijskom omjeru 2 : 1 u metanolnoj otopini (uz natrijev tetraborhidrat kao redukcijsko sredstvo) nastaje receptor **ONBA**. Dobiveni kristaličasti produkt je prekrizaliziran, a snimljeni su difraktogram praha i IR spektar dobivenog spoja koji potvrđuju da je dobiven željeni produkt (Slika 21).

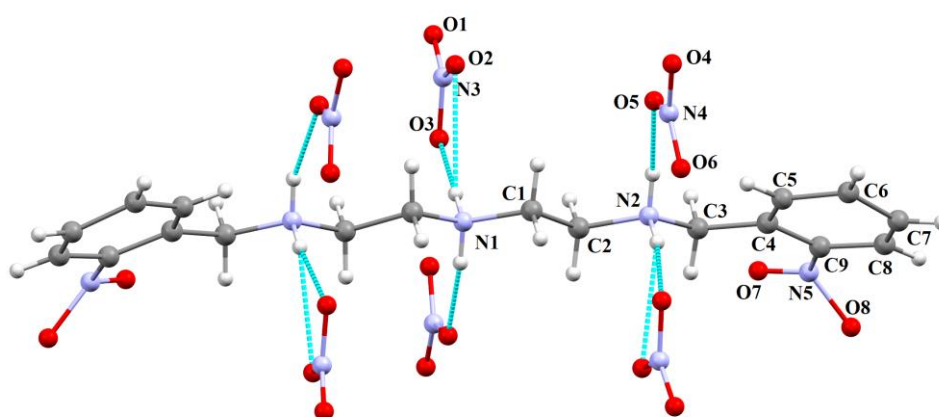


Slika 21. Snimljeni IR spektar produkta sinteze **ONBA** receptora. Vrpce istezanja pri 3053 cm^{-1} [$\nu(\text{N-H})$], 1526 cm^{-1} [ν (asimetričnog istezanja, N-O)], 1336 cm^{-1} [ν (simetričnog istezanja, N-O)], potvrđuju da je sinteza uspješno provedena.

Sintetizirani receptor **ONBA** ima istu alifatsku strukturnu razmaknicu (eng. *spacer*) kao i **BA** i **K1** te tri amino-skupine koje protoniranjem postaju dobri donori vodikovih veza. No periferni aromatski dio **ONBA** ima zajednička svojstva oba receptora. Iako se radi o fenilnoj skupini kao kod **BA**, ona sadrži i nitro- skupinu koja može ostvarivati vodikove veze kao u slučaju receptora **K1**.

4.3.2. Strukturna karakterizacija kompleksa receptora ONBA s nitratnim ionom

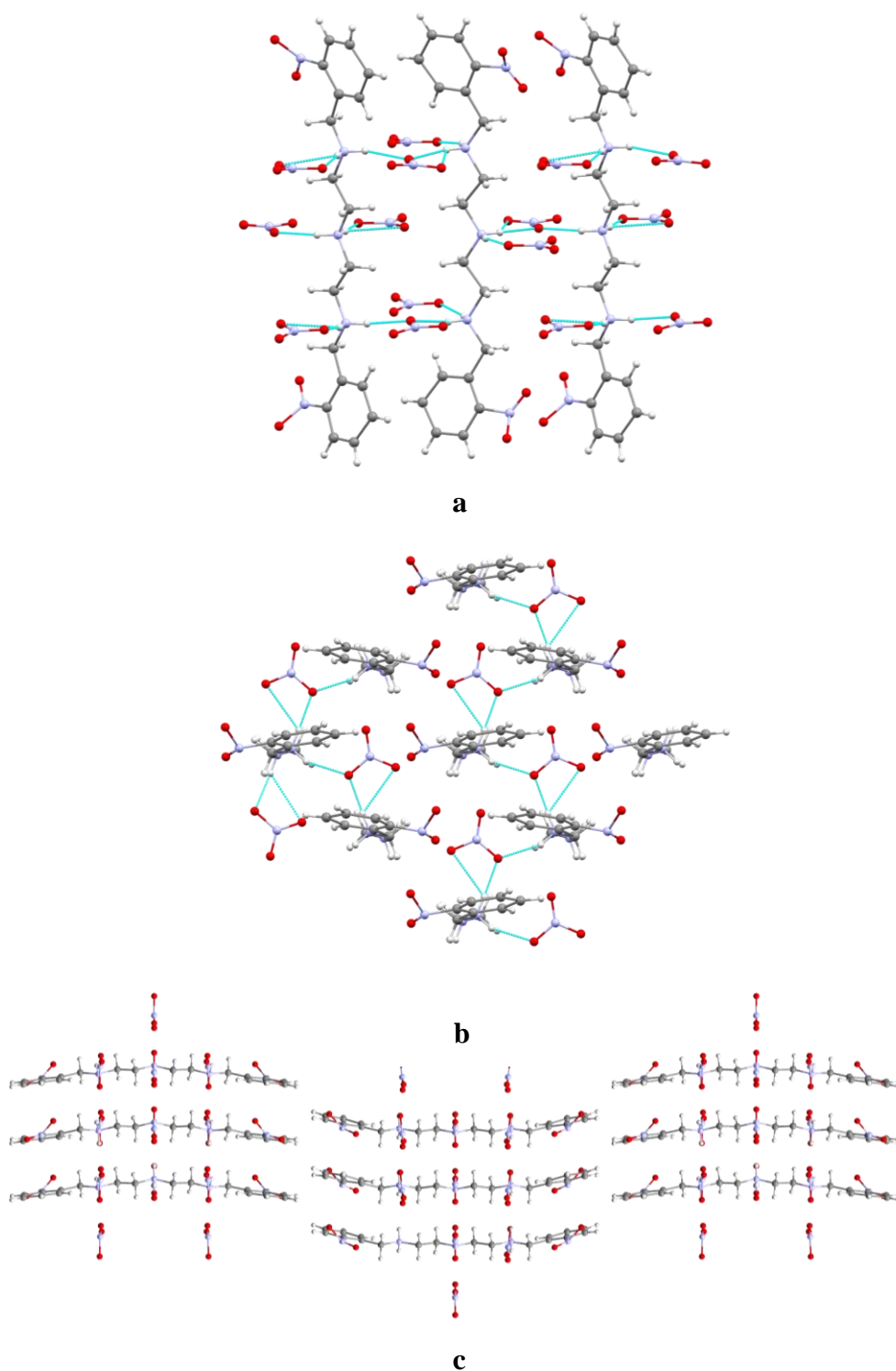
Nakon dodatka dušične kiseline u vodenu otopinu **ONBA** gotovo trenutno nastaju sitni kristali za koje su prikupljeni difrakcijski podaci i riješena je kristalna struktura kompleksa (Slika 22).



Slika 22. Molekulska struktura kompleksa receptora **ONBA** s nitratom. Atomi ugljika prikazani su sivom, vodika bijelom, dušika plavom, a kisika crvenom bojom. Svjetloplavom bojom prikazane su vodikove veze između molekula receptora i gosta.

U kompleksu s nitratnim anionom, konformacija **ONBA** je gotovo potpuno „ispružena“ no periferne nitrofenilne skupine su blago približene jedna prema drugoj. Iako nitro skupina ima mogućnost stvaranja vodikovih veza, one se ostvaruju samo između protoniranih amino skupina alifatskog dijela i nitrata. Vezani nitratni anioni sterički i elektrostatski „razmiču“ nitrofenilne skupine što rezultira ravnolančastom strukturom.

Kao što je već spomenuto, vezna mjesta za nitratne anione su protonirane amino skupine koje vežu svaka po dva aniona vodikovim vezama [$d(\text{N1}\cdots\text{O3}) = 2,788 \text{ \AA}$, $d(\text{N1}\cdots\text{O2}) = 2,731 \text{ \AA}$, $d(\text{N2}\cdots\text{O5}) = 2,731 \text{ \AA}$, $d(\text{N2}\cdots\text{O6}) = 2,856 \text{ \AA}$], a jedinku kompleksa čine molekula **ONBA** i tri molekule aniona. Nitratni ioni vezani su na dvije molekule receptora te se na taj način stvaraju lanci (Slika 23a). Molekule receptora su unutar lanca naizmjenično suprotno orijentirane, a lanci su vodikovim vezama nitrata i protoniranih amino skupina receptora povezani u slojeve (Slika 23b). Slojevi se, pak, povezuju slabijim interakcijama i to na način da su molekule receptora u susjednim slojevima suprotno orijentirane (Slika 23c). Kompleks kristalizira u rompskom sustavu, prostornoj grupi $Pmc2_1$, a dodatni podaci o kristalnoj strukturi dostupni su u Tablici 4.

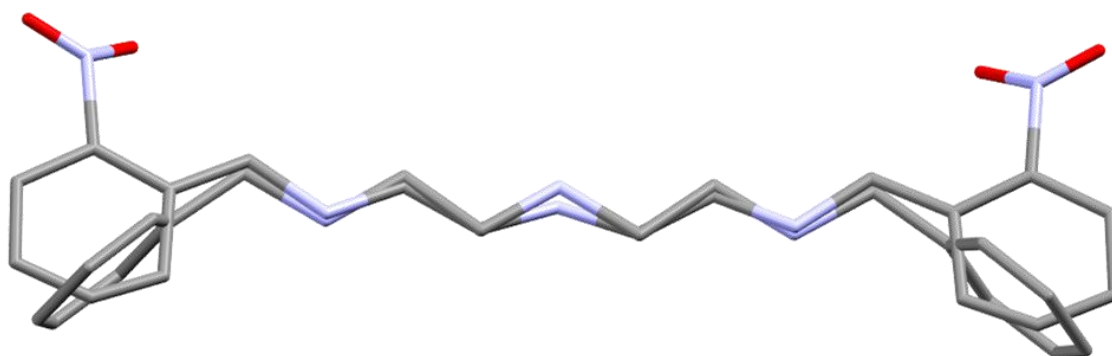


Slika 23. Kristalna struktura kompleksa receptora ONBA s nitratom. Jedinke kompleksa su vodikovim vezama povezane u lance (a), a lanci u slojeve (b: prikaz duž kristalografske osi a). Slojevi se povezuju slabijim međumolekulskim interakcijama (c: prikaz duž kristalografske osi b).

4.4. Usporedba kompleksa BA i ONBA s nitratnim anionom

4.4.1. Molekulska i kristalna struktura

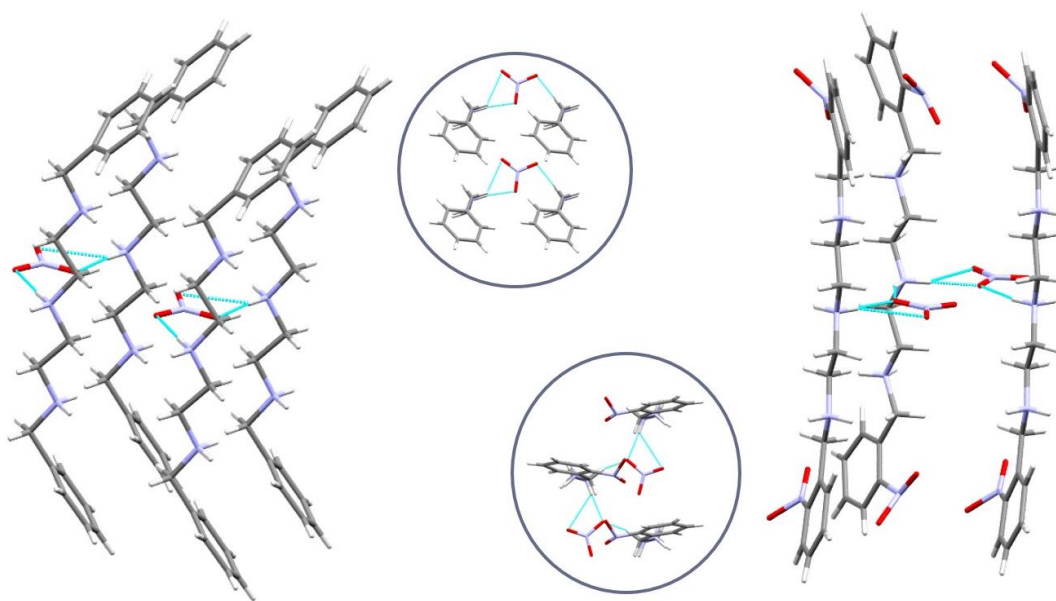
Usporedbom molekulskih i kristalnih strukturâ kompleksâ **BA** i **ONBA** s nitratnim ionom uočavaju se mnoge sličnosti, ali i razlike u formiranju veznog mjesta, načinu povezivanja s molekulama gosta, kristalnom pakiranju itd. Osnovna sličnost kompleksâ je u središnjoj alifatskoj strukturnoj razmaknici (engl. *spacer*), koja je namjerno zadržana konstantnom u novosintetiziranim spojevima u svrhu istraživanja utjecaja perifernog dijela molekule na formiranje veznog mjesta i fleksibilnost receptora. U oba kompleksa tri amino skupine razmaknice su protonirane i vrlo dobri donori vodikovih veza prema nitratnim ionima. U dotičnim kompleksima receptori su u konformaciji koja zbog blage svijenosti perifernih fenilnih prstenova u istom smjeru podsjeća na C-konformaciju receptora **K1**. Ipak, preklapanjem konformacija **BA** i **ONBA** u kompleksima s nitratom vidljivo je da su fenilne skupine receptora **ONBA** više „ispružene“ (Slika 24). Kut koji zatvaraju ravnine fenilnih prstenova u **ONBA** iznosi $165,3^\circ$, a za **BA** $99,48^\circ$.



Slika 24. Usporedba konformacija receptora **BA** i **ONBA** u kompleksima s nitratnim ionima. Molekule su poravnate po atomima ugljika vezanima na središnju amino-skupinu. Vidljivo je da je konformacija **ONBA** „ispruženija“ dok **BA** više slični C-konformaciji receptora **K1**.

Jedinku oba kompleksa čini molekula receptora i tri molekule gosta. Također, kako je svaki nitrat povezan sa dvije molekule receptora, sličnost kompleksâ je i u formiranju lanaca koji se povezuju u slojeve. No, orijentacija molekula receptora i način slaganja u lancima i slojevima je drugačiji. Zbog simetričnosti fenilne skupine, molekule receptora **BA** se unutar lanca i sloja nalaze u ravninama, odnosno čine pravilnu 2D kvadratnu mrežu. Slojevi **ONBA** građeni su od

naizmjeničnih suprotno orijentiranih lanaca (s obzirom na položaj nitro-skupine) (Slika 25). Takvo pakiranje rezultat je interakcija nitrofenilnih supstituenata čime je potvrđen utjecaj perifernih dijelova molekule na kristalno pakiranje i formiranje veznog mjesta. Također, periferija molekule receptora igra ulogu i u fleksibilnosti: kako **BA** i **ONBA** ne ostvaruju unutmolekulske vodikove veze kao **K1**, njihova je fleksibilnost značajno veća što rezultira konfirmacijama receptora u kompleksima s anionima kakve (dosad) nisu uočene u kompleksima aniona s **K1**.



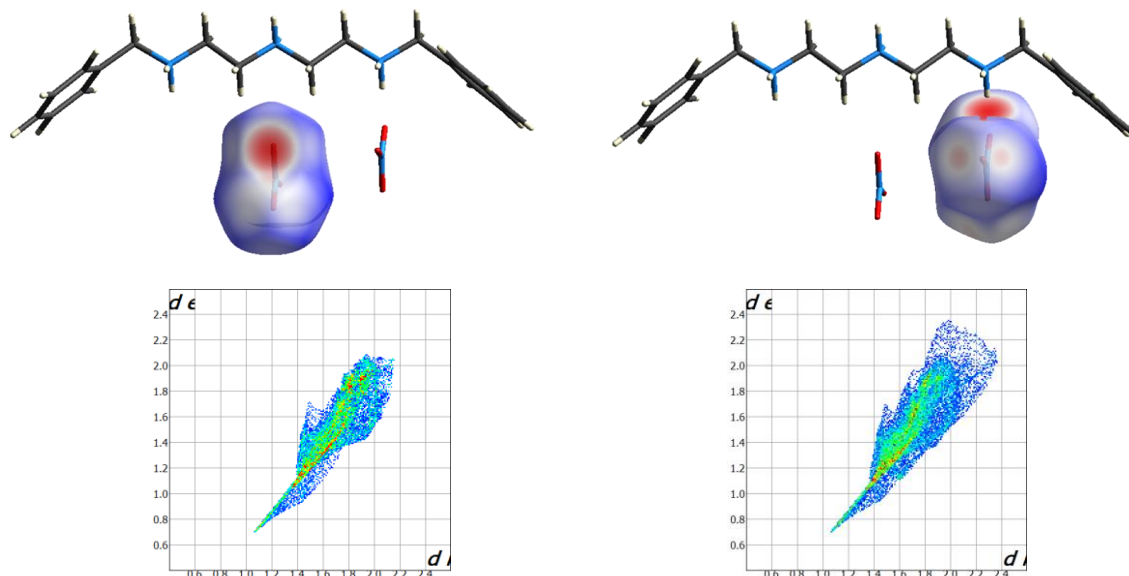
Slika 25. Kristalna struktura kompleksâ **BA** (lijevo) i **ONBA** (desno) s nitratnim ionima. Iako su jedinice kompleksa u oba slučaja povezane u lance i slojeve, način slaganja molekula je drugačiji. Dok molekule **BA** čine pravilnu kvadratnu 2D mrežu, nitro skupina onemogućava takvo pravilno slaganje molekula **ONBA**. U kružnicama su prikazi povezivanja molekula unutar sloja duž kristalografske osi a .

4.4.2. Međumolekulske interakcije

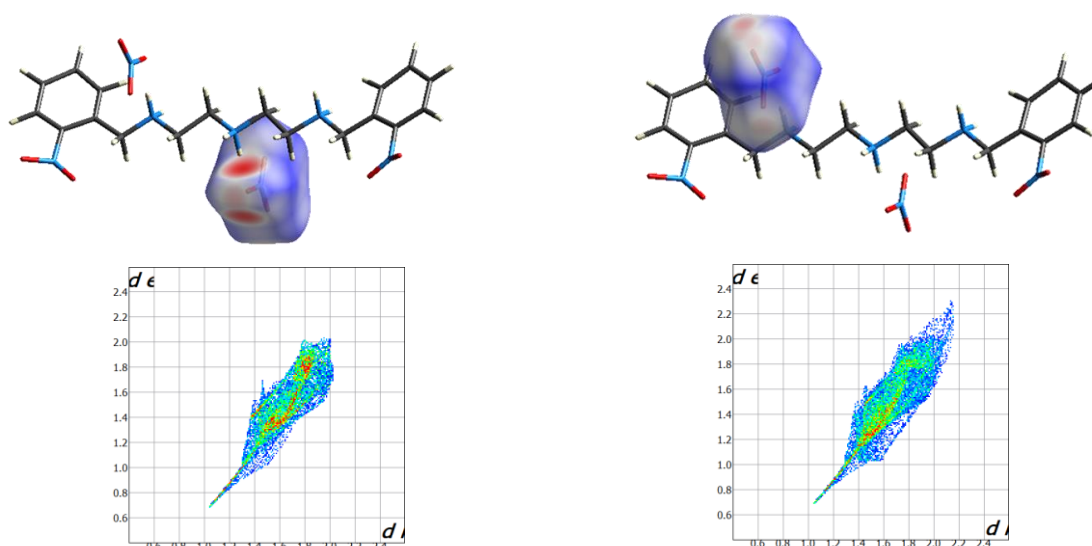
Iako u oba kompleksa vezno mjesto za nitratni anion čine tri protonirane amino-skupine receptora, zbog utjecaja perifernog dijela molekula **BA** i **ONBA** jačina i način vezanja s nitratnim ionima nisu isti.

Za Slici 26 prikazana je Hirshfeldova ploha s mapiranim d_{norm} vrijednostima i prikazi ovisnosti d_i o d_e na dvodimenzionalnom grafu (engl. *fingerprint plot*) interakcija središnje i bočne amino-skupine receptora **BA** s nitratnim ionom. Iz tih prikaza jasno je vidljiva razlika u

međumolekulskim interakcijama i načinu vezanja nitrata na središnju, odnosno bočnu amino skupinu. Isti prikaz za kompleks s **ONBA** receptorom također pokazuje razlike u pojedinim veznim mjestima unutar kompleksa (Slika 27).

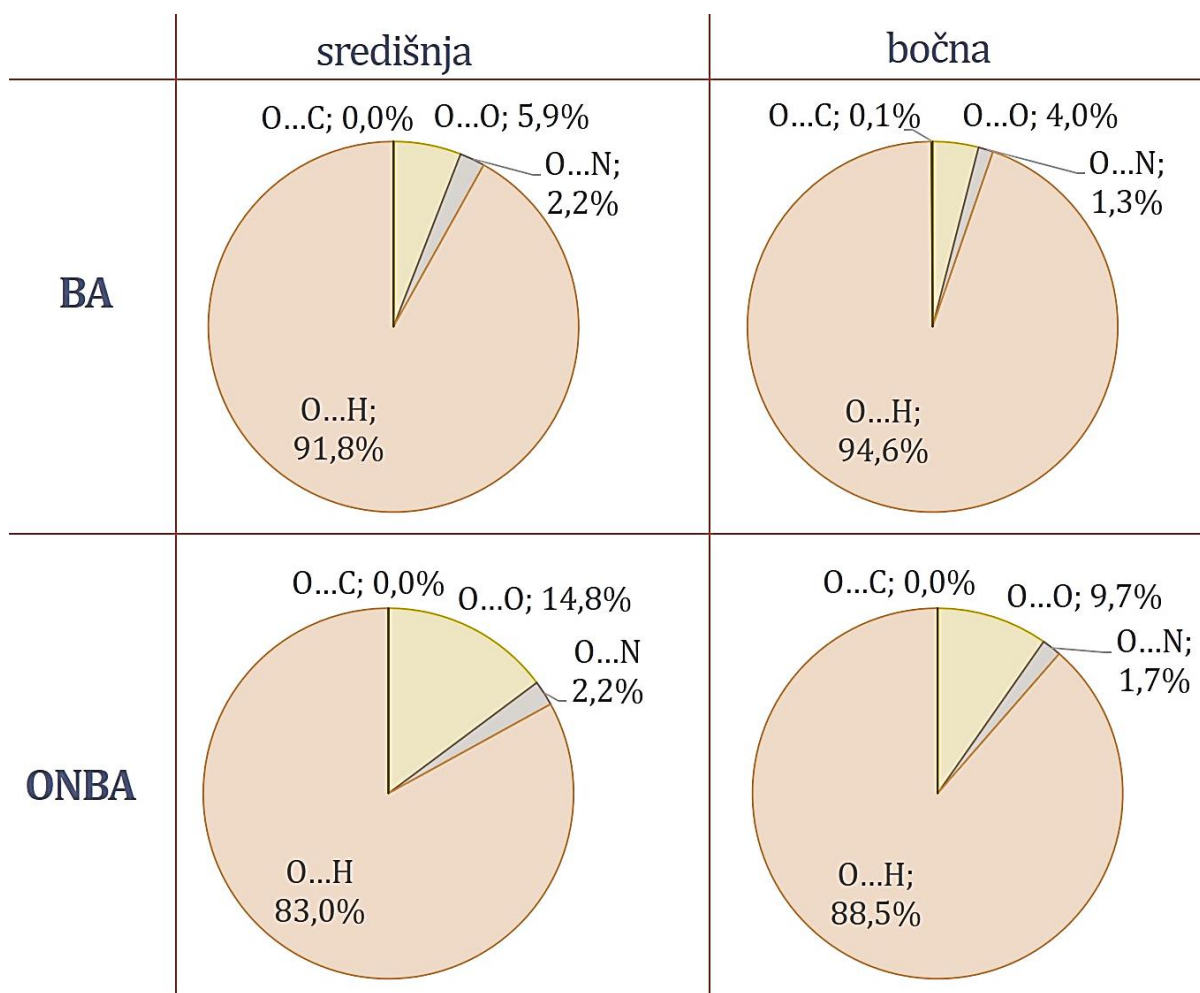


Slika 26. Hirshfeldova ploha nitratnog iona s mapiranim d_{norm} vrijednostima i prikazi ovisnosti d_i o d_e na dvodimenzionalnom grafu (engl. *fingerprint plot*) interakcija središnje i bočne amino skupine receptora **BA** s nitrattim ionom.



Slika 27. Hirshfeldova ploha nitratnog iona s mapiranim d_{norm} vrijednostima i prikazi ovisnosti d_i o d_e na dvodimenzionalnom grafu (engl. *fingerprint plot*) interakcija središnje i bočne amino skupine receptora **ONBA** s nitrattim ionom.

Osim *fingerprint plotova* koji vizualno prikazuju razlike u interakcijama u veznim mjestima, na Slici 28 prikazani su dijagrami s brojčanim vrijednostima udjela pojedinih interakcija nitratnih iona s protoniranim amino skupinama.



Slika 28. Kružni dijagrami koji prikazuju udjele pojedinih interakcija atoma kisika nitratnog iona sa atomima središnjih, odnosno bočnih veznih mjesta receptora **BA** i **ONBA**.

Iz vrijednosti udjela pojedinih interakcija u veznim mjestima uočavaju se veće razlike između veznih mjesta različitih receptora nego različitih veznih mjesta unutar istog receptora. Ta činjenica potvrđuje našu pretpostavku da iako periferni dijeli molekule ne sudjeluju direktno u vezanju gosta, imaju značajan utjecaj na interakcije i formiranje veznog mjesta.

4.4.3. *Selektivnost u vodenim otopinama*

Još jedan od ciljeva ovog istraživanja bilo je razviti fleksibilne receptore koji će selektivno vezati anione goste u kompetitivnom mediju kao što je vodena otopina. Provedeno je desetak kristalizacijskih eksperimenata u vodenim otopinama u kojima su bili prisutni nitratni ioni zajedno s kloridnima, sulfatnima, malonatnima i salicilatima. Iz svih reakcijskih smjesa je kristalizirao kompleks pojedinog receptora s nitratnim anionima. Takvi rezultati pokazuju da je selektivnost receptorâ prema nitratnim ionima vrlo izražena čak i uz veliku fleksibilnost receptora i kompetitivni medij (vodenu otopinu).

§ 5. ZAKLJUČAK

Uzimajući u obzir rezultate ovog i prijašnjih istraživanja vezanja receptora **K1** s malim karboksilnim dikiselinama, uočeni su ključni parametri za molekulske prepoznavanje i nastajanje kompleksa receptor-gost. Deprotonacija molekule gosta omogućava kiselinama ostvarivanje unutarmolekulske rezonancijom potpomognute vodikove veze koja „zaključava“ planarnu konformaciju i omogućuje delokalizaciju elektronske gustoće u nastalom prstenu što rezultira djelomičnim aromatskim karakterom. S druge strane, protonacija središnje amino-skupine receptora **K1** (ali i amino-skupina u receptorima **BA** i **ONBA**) čini tu skupinu vrlo dobrim donatorom vodikovih veza. Uspostavljanje vodikove veze molekule gosta s protoniranom amino-skupinom receptora „usidruje“ anion u veznom mjestu, dok se dodatna stabilizacija ostvaruje π - π interakcijama djelomično aromatskih perifernih dijelova molekule **K1** i aniona kiseline.

Posredni utjecaj perifernog dijela molekule na vezno mjesto u kompleksu potvrđen je i u slučaju kompleksâ **BA** i **ONBA** s nitratnim ionima. S obzirom na to da je središnji alifatski dio oba receptora isti, razlika u interakcijama koje se ostvaruju s anionom posljedica je različite periferne fenilne, odnosno nitrofenilne skupine receptorâ. Krajnji supstituenti receptorâ također utječu na fleksibilnost molekula zbog (ne)mogućnosti ostvarivanja unutarmolekulskih vodikovih veza. Dakle, variranjem dijela molekule receptora koji nije ključan za molekulske prepoznavanje i vezanje gosta mogu se ugađati svojstva fleksibilnosti, načina kristalnog pakiranja i formiranja veznog mjesta.

U literaturnom pregledu kao jedan od nedostataka dizajna fleksibilnih receptora navedena je smanjena selektivnost. Iako fleksibilni receptori **K1**, **BA** i **ONBA** nisu specifični, pokazuju visoku selektivnost u otopinama i čvrstom stanju. Za **K1** ustanovljen je trend selektivnosti prema malim karboksilnim dikiselinama u čvrstom stanju čime je potvrđeno i da mljevenje osigurava dovoljno energije i mobilnosti za prijenos protona s aniona na receptor što je ključan korak za nastajanje kompleksa. Mogućnost da receptor selektivno veže određeni anion (koji ima i značajnu industrijsku primjenu) u čvrstom stanju otvara vrata primjeni takvih receptora za izdvajanje iona iz smjesa uz minimalno korištenje otapala prema načelima „zelene kemije“. Naime, zbog razlike u topljivosti, moguće je nakon mljevenja iz reakcijske smjese etanolom

odijeliti kompleks receptora sa selektivno vezanom kiselinom, a mehanokemijskom sintezom kompleksa izbjegava se i problem nalaženja pogodnog otapala za receptor i željeni anion.

Unatoč većoj fleksibilnosti u odnosu na **K1**, receptori **ONBA** i **BA** pokazuju izrazitu selektivnost prema nitratnim ionima u vodenim otopinama. Reakcijama u vodenim otopinama također se smanjuje korištenje štetnih otapala, te omogućuje selektivno izdvajanje željenog aniona čak i iz kompleksnih matrica biološkog podrijetla.

§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

IR	infracrvena spektroskopija
NMR	nuklearna magnetska rezonancija
FT-IR	infracrvena spektroskopija uz Fourierovu transformaciju (engl. <i>Fourier-transform infrared spectroscopy</i>)
ATR	prigušena totalna refleksija (engl. <i>attenuated total reflection</i>)
EtOH	etanol
MeOH	metanol
RAHB	rezonancijom potpomognuta vodikova veza (engl. <i>resonance assisted hydrogen bond</i>)
ATP	adenozin trifosfat

§ 7. LITERATURNI IZVORI

1. K. Bowman-James, *Acc. Chem. Res.* **38** (2005) 671-678.
2. J. W. Steed, D. R. Turner, K. Wallace, *Core Concepts in Supramolecular Chemistry and Nanochemistry*, J. WILEY & SONS, Chichester, 2007.
3. R. Custelcean, *Chem. Soc. Rev.* **39** (2010) 3675-3685.
4. D. A. Jose, D.K. Kumar, B. Ganguly, A. Das, *Org. Lett.* **6** (2004) 3445.
5. I. Đilović, K. Užarević, *CrystEngComm* **17** (2015) 3153-3161.
6. N. Busschaert, C. Caltagirone, W. Van Rossom, P. A. Gale, *Chemical reviews* **115** (2015) 8038-8155.
7. L. van Dam, N. Korolev, L. Nodenskiold, *Nucl. Acids Res.* **30** (2002) 419-428.
8. R. Breslow, *Science* **218** (1982) 532-537.
9. K. Užarević, I. Đilović, et al., *Angew. Chem. Int.* **47** (2008) 7022-7025.
10. K. Užarević, I. Đilović, et al., *Chemistry—A European Journal* **17** (2011) 10889-10897.
11. P. Gilli, V. Bertolasi, V. Ferretti, G. Gilli, *J. Am. Chem. Soc.* **122** (2000) 10405-10417.
12. K. Užarević, I. Đilović et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* **52** (2013) 5504-5508.
13. P. Gilli, V. Bertolasi, V. Ferretti, G. Gilli, *J. Am. Chem. Soc.* **122** (2000) 10405-10417.
14. T. Friščić, et al., *Angew. Chem.* **118** (2006) 7708-7712.
15. X'Pert HighScore Plus package, Panalytical B.V., Almelo, The Netherlands, 2003.
16. Rigaku, 2015, CrysAlisPro Software System, Version 1.171.38.41. Rigaku Oxford Diffraction.
17. G. M. Sheldrick, *Acta Cryst.* **A64** (2008) 112-122.
18. L. J. Farrugia, *J. Appl. Cryst.* **45** (2012) 849-854.
19. C. F. Macrae, I. J. Bruno, J. A. Chisholm, P. R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, L. Rodriguez-Monge, R. Taylor, M. Towler, J. Van der Streek, P. A. Wood, *J. Appl. Cryst.* **41** (2008) 466-470.
20. The PyMOL Molecular Graphics System (2002) DeLano Scientific, Palo Alto, CA, USA.
URL: <http://www.pymol.org>
21. PerkinElmer, Inc. Application Version: 10.4.2.279
22. URL: <https://www.bruker.com/> (datum pristupa, 12.3.2019.)

§ 8. ŽIVOTOPIS

Osobni podatci

Ime i prezime: Karla Kelemen

Datum rođenja: 8. siječnja 1996. godine

Mjesto rođenja: Varaždin

Obrazovanje

2002–2010 VI. osnovna škola Varaždin

2010–2014 Prva gimnazija Varaždin

2014–2017 Preddiplomski studij kemije, Prirodoslovno-matematički fakultet,
Sveučilište u Zagrebu

Nagrade i priznanja

2009 Prvo mjesto na Državnom natjecanju iz kemije

2010 Prvo mjesto na Državnom natjecanju iz kemije

2011 Drugo mjesto na Državnom natjecanju iz kemije

2012 Druga nagrada na natjecanju Školski laboratorij

2016 Rektorova nagrada za sudjelovanje u timskom znanstvenom i
umjetničkom radu

2018 Rektorova nagrada za individualni znanstveno-istraživački rad

Sudjelovanja u popularizaciji znanosti

2014–2019 Dan i noć PMF-a (Otvoreni dan Kemijskog odsjeka)

Sudjelovanja na znanstvenim skupovima

1. K. Kelemen, I. Đilović, *Uloga konformacijske knjižnice u dizajnu novih receptora: kompleksi s hidrogenmalonom – potvrda koncepta*, 3. Simpozij studenata kemičara, Zagreb, 2016, Knjiga sažetaka str. 46.

2. K. Kelemen, K. Užarević, I. Đilović, *Prepoznavanje i vezanje malih karboksilnih dikiselina u čvrstom stanju*, 5. Simpozij studenata kemičara, Zagreb, 2018, Knjiga sažetaka str. 39.
3. K. Kelemen, K. Užarević, I. Đilović, *Proof-of-concept: flexible receptor in complexes with malonic acid*, 26th Croatian-Slovenian Crystallographic Meeting, Poreč, 2018, Knjiga sažetaka str. 62.
4. K. Kelemen, K. Smokrović, I. Đilović, *Coordination preferences of nitrate anions in complexes with flexible polyamine receptors*, 27th Slovenian-Croatian Crystallographic Meeting, Rogaška Slatina, 2019, Knjiga sažetaka str. 49.