

Istraživanje međumolekulskih interakcija u kokristalima odabranih aminokiselina i 5-amino-2,4,6-trijodizoftalne kiseline

Lacković, Tereza

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:181209>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-31**



Repository / Repozitorij:

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





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Tereza Lacković

**ISTRAŽIVANJE MEĐUMOLEKULSKIH
INTERAKCIJA U KOKRISTALIMA
ODABRANIH AMINOKISELINA I 5-AMINO-
2,4,6-TRIJODIZOFTALNE KISELINE**

Diplomski rad

predložen Kemijskom odsjeku

Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

radi stjecanja akademskog zvanja

magistre kemije

Zagreb, 2022.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Zavodu za opću i anorgansku kemiju Kemijskog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom izv.prof.dr.sc. Ivice Đilovića i komentorstvom dr.sc. Kristine Smokrović.

Zahvale

Ovaj diplomski rad posvećujem svojim roditeljima i sestri Martini te im najviše zahvaljujem na pružanju bezuvjetne podrške, potpore i motivacije tijekom cijelog studiranja. Bez njih ovo do sada ostvareno ne bi bilo moguće.

Isto tako zahvaljujem svojim kolegama na fakultetu koji su mi pružili moralnu potporu, a posebno hvala mojim prijateljicama Petri i Moniki koje su bile uz mene prilikom svakog pada i uspjeha, s Vama je sve bilo lakše.

Hvala mojim dugogodišnjim prijateljicama Leoni i Sabini što su me pratile kroz cijeli život, kao i kroz period studiranja. Vaše riječi su mi uvijek pružale snagu i gurale me ka naprijed.

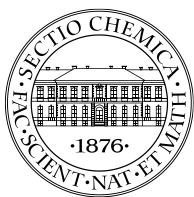
Zahvaljujem mentoru prof.dr.sc. Ivici Điloviću na trudu, razumijevanju, strpljenju te pomoći prilikom pisanje i izrade ovog diplomskog rada. Također, hvala dr.sc. Kristini Smokrović na stručnim savjetima i pomoći tijekom izrade eksperimentalnog dijela rad.

„Cijena uspjeha je težak rad, posvećenost poslu i odlučnost da bilo pobijedili ili izgubili, damo sve od sebe zadatku koji nam je bio u rukama. Izgleda nemoguće, dokle god se ne završi. Sve ove godine, vrijedile su.“

Hvala Vam!

Sadržaj

SAŽETAK	IX
ABSTRACT	XI
§ 1. UVOD	1
§ 2. LITERATURNI PREGLED	3
2.1. Kokristalizacija	3
2.1.1. Metode mljevenja u čvrstom stanju.....	4
2.1.2. Metode na bazi otopine	4
2.2. Metode identifikacije	5
2.3. Podjela aminokiselina	6
2.3.1. Kiralnost.....	8
2.3.2. Apsolutna konfiguracija.....	9
2.3.3. Relativna konfiguracija.....	10
2.4. Međumolekulske interakcije	11
§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO	19
3.1. Polazni materijali	19
3.2. Priprava kokristala odabranih aminokiselina i 5-amino-2,4,6-trijodizoftalne kiseline	20
3.2.1. Sinteza u otopini.....	20
3.2.2. Mehanokemijska sinteza	23
3.2.3. IR spektroskopija.....	25
3.2.4. Difrakcija rendgenskog zračenja na polikristalnom i monokristalnom uzorku	25
§ 4. REZULTATI I RASPRAVA	27
§ 5. ZAKLJUČAK	47
§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA (PREMA POTREBI)	48
§ 7. LITERATURNI IZVORI	49
§ 8. DODATAK	XV
§ 9. ŽIVOTOPIS	XVI



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Kemijski odsjek

Diplomski rad

SAŽETAK

ISTRAŽIVANJE MEĐUMOLEKULSKIH INTERAKCIJA U KOKRISTALIMA ODABRANIH AMINOKISELINA I 5-AMINO-2,4,6-TRIJODIZOFTALNE KISELINE

Tereza Lacković

U proteinskoj kristalografiji se za rješavanje faznog problema koriste brojne metode. Jedna od najčešće korištenih metoda za određivanje strukture novih proteina jest metoda izomorfne zamjene. Za to je potrebno, uz kristale nativnog proteina, prirediti derivate koji posjeduju atome koji značajnije anomalno raspršuju zračenje. Najčešće su to bili ioni teških metala (poput, Hg^{2+} , PtCl_4^{2-}), a u novije se vrijeme sve uspješnije koriste organske molekule koje posjeduju više atoma halogenih elemenata. Međutim, dosad nije napravljeno istraživanje kojim bi se specifično istražile interakcije standardnih aminokiselina s takvim organskim molekulama.

U sklopu ovog rada, kao predstavnik nove klase spojeva odabrana je 5-amino-2,4,6-trijodizoftalna kiselina (**I3C**). U brojnim postupcima sinteze priređeni su novi spojevi spomenute kiseline sa standardnim aminokiselinama, a jedino je kokristalu **I3C** i L-histidina određena kristalna i molekulska struktura. Ostali produkti odabranih aminokiselina i **I3C** karakterizirani su infracrvenom spektroskopijom i rendgenskom difrakcijom na polikristalnom uzorku. Također, dobiven je novi solvat **I3C** kojemu je određena molekulska i kristalna struktura.

(66 stranica, 42+2 slike, 16 tablica, 32 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: aminokiseline, 5-amino-2,4,6-trijodizoftalna kiselina, difrakcijske metode, proteinska kristalografija, međumolekulske interakcije

Mentor: izv. prof. dr. sc. Ivica Đilović

Komentorica: dr. sc. Kristina Smokrović

Ocjenitelji:

1. izv. prof. dr. sc. Ivica Đilović

2. doc. dr. sc. Adriana Kendel

3. doc. dr. sc. Đani Škalamera

Zamjena: prof. dr. sc. Mirta Rubčić

Datum diplomskog ispita: 28. listopada 2022.



University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Chemistry

Diploma Thesis

ABSTRACT

INVESTIGATION OF INTERMOLECULAR INTERACTIONS IN COCRYSTALS OF SELECTED AMINO ACIDS WITH 5-AMINO-2,4,6-TRIIODOISOPHTHALIC ACID

Tereza Lacković

In protein crystallography, numerous methods are used to solve the phase problem. One of the most commonly used methods is the isomorphous replacement method. For this, it is necessary, along with crystals of the native protein, to prepare derivatives that possess atoms that significantly scatter radiation (anomalously). Most often, these were heavy metal ions (such as Hg^{2+} , PtCl_4^{2-}), and recently, organic molecules possessing more atoms of halogen elements have been used successfully. However, no systematic research has been done to investigate the interactions of standard amino acids with such organic molecules.

As part of this work, 5-amino-2,4,6-triiodoisophthalic acid (**I3C**) was selected as a representative of a new class of compounds. In numerous synthesis procedures, new compounds of **I3C** with standard amino acids were prepared, and only the crystal and molecular structure of the co-crystal of **I3C** and L-histidine was determined. Other products of selected amino acids and **I3C** were characterized by IR spectroscopy and X-ray diffraction on a polycrystalline sample. Also, a new solvate **I3C** was obtained, the molecular and crystal structure of which was determined.

(66 pages, 42+2 figures, 16 tables, 32 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: amino acids, 5-amino-2,4,6-triiodoisophthalic acid, diffraction methods, protein crystallography, intermolecular interactions

Mentor: Dr. Ivica Đilović, Associate Professor

Assistant mentor: Dr. Kristina Smokrović

Reviewers:

1. Dr. Ivica Đilović, Associate Professor
 2. Dr. Adriana Kendel, Assistant Professor
 3. Dr. Đani Škalamera, Assistant Professor
- Substitute: Prof. Dr. Mirta Rubčić, Full Professor

Date of exam: 28th of

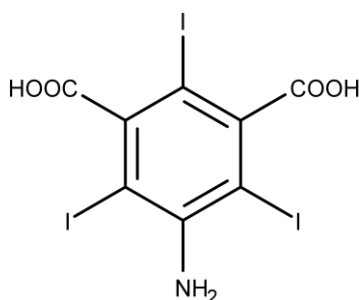
§ 1. UVOD

Istraživanje struktura brojnih tvari promijenilo je naš pogled na svijet. Pritom su se najčešće koristile mikroskopske, spektroskopske i difrakcijske tehnike. Potonje se koriste za proučavanje difraktiranog zračenja s kristala neke tvari. Ideja difrakcijskog pokusa je jednostavna. Ako poznajemo prirodu upadnog i difraktiranog zračenja možemo rekonstruirati mjesto na kojem je došlo do difrakcije. Za uspješno određivanje molekulske i kristalne strukture potrebno je, uz intenzitete, znati i faze difraktiranih zraka. Prednosti metode su goleme, a nedostaci proizlaze iz toga što intenzitet difrakcijskih maksimuma ne sadrži informacije o fazama pa se za rješavanje faznog problema u proteinskoj kristalografiji najčešće koriste:

1. Metoda izomorfne zamjene (zahtijeva pripremu kristala derivata proteina s teškim atomom)
2. Metoda anomalnog raspršenja (ovisi o prisutnosti atoma dovoljno velike moći anomalnog raspršenja)
3. Metoda molekulske zamjene (koristi se sličnost nepoznate s već poznatom strukturom).

Metoda izomorfne zamjene je temelj proteinske kristalografije te su je prvi primijenili Max Perutz i John Kendrew još 1960-ih. Rabila se za rješavanje faznog problema prvih proteina i još vrijedi za rješavanje struktura potpuno novih proteina. Pojednostavljeno, u slučaju "idealnog" izomorfizma (konformacija proteina i parametri jedinične ćelije kristala nativnog proteina i derivata moraju biti potpuno jednaki) moguće je odrediti položaje teškog atoma i odrediti molekulsku i kristalnu strukturu proteina. Obično se kristali proteina natapaju u otopini koja sadrži soli teškog metala ili alternativno, protein se može kokristalizirati sa spojem teškog atoma. Derivati proteina s teškim atomom se najčešće pripremaju namakanjem kristala nativnih proteina u vodenim otopinama koje sadrže soli teških metala pri niskim koncentracijama (primjerice, ioni Hg^{2+} , UO_2^{2+} , Pb^{2+} i PtCl_4^{2-} i drugi). Nedostatak ove metode leži u činjenici da vezanje iona teških metala nije specifično i često dovodi do slabog anomalnog signala ili čak do raspada kristala. U novije se vrijeme koriste kemijski spojevi čije molekule, pored teških atoma imaju funkcijske skupine koje olakšavaju interakciju s proteinima i nukleinskim kiselinama.^{1,2}

U sklopu ovog diplomskog rada, kao predstavnik nove klase spojeva koje se koriste u proteinskoj kristalografiji za rješavanje faznog problema, odabrana je 5-amino-2,4,6-trijodizoftalna kiselina (**I3C**, slika 1). U molekuli spoja **I3C** prisutna su tri atoma joda koji su međusobno jednako udaljeni (engl. *magic triangle molecule*). Molekula sadrži i dvije karboksilne i jednu amino-skupinu koje omogućuju nastanak vodikovih veza između **I3C** i proteina (s glavnim lancem ili s bočnim ograncima aminokiselina).³



Slika 1. Strukturna formula molekule **I3C**.

U radu su se istraživale interakcije između odabranih aminokiselina (s aromatskim bočnim ogrankom) i kiseline **I3C**. Pripremljeni su kokristali aminokiselina i spomenutog derivata izoftalne kiseline različitim postupcima sinteze (u otopini ili mehanokemijski). Karakterizacija u čvrstom stanju izvodila se pomoću infracrvene spektroskopije i difrakcije rendgenskog zračenja u polikristalnom i monokristalnom uzorku. Spoju za koji je dobiven jedinični kristali prikladne kvalitete je određena kristalna i molekulska struktura te je utvrđeno da se radi o kokristalu histidina i **I3C**. Pored toga, određena je struktura novog polimorfa **I3C**.

§ 2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Kokristalizacija

Kokristal je kruta tvar koja u svojoj neutralnoj kristalnoj strukturi sadrži dva ili više različitih molekulskih i/ili ionskih spojeva najčešće u stehiometrijskom omjeru te koji nisu solvati niti jednostavne soli. Kokristal ima različitu kristalnu strukturu od bilo kojeg od početnih spojeva i kao rezultat toga različita fizikalno-kemijska svojstva.^{4,5} Istraživanje kokristalnih struktura i njihove primjene u posljednjem je desetljeću eksponencijalno raslo što je vidljivo po broju struktura kokrista pohranjenih u Cambridge Structural Database⁶ i patentnim prijavama povezanih s kokristalima.⁷ U pogledu toga, iznenađujuće je da su metode pripreme kokristala ostale, sve do relativno nedavno, uglavnom slabo definirane. Početni istraživački naponi povezani s kokristalima bili su usmjereni na razjašnjavanje kristalne strukture i načine udruživanja, koji zahtijevaju visokokvalitetne monokristale iz uzoraka kokristala. To se obično postizalo korištenjem pristupa pokušaja i pogreške koji se temeljio na isparavanju otapala koje je slučajno dalo kokristale. Kokristale nije jednostavno pripremiti budući da će se takav heteromerni sustav formirati samo ako su nekovalentne interakcije dviju (ili više) molekula jače od onih između molekula u odgovarajućim homomernim kristalima. Općenito, termodinamički je povoljnije sastaviti slične molekule (čiste A ili čiste B) u trodimenzijsku krutinu u usporedbi s odgovarajućim procesom pakiranja različitih molekula u istu krutinu (AB).⁸ Danas je dokumentiran širok raspon uspješnih metoda pripreme kokristala: isparavanje otapala, mljevenje u čvrstom stanju, kristalizacija otopine, konverzija suspenzije, kristalizacija taline, ekstruzija vruće taline i kristalizacija raspršivanjem. Načini pripreme kokristala mogu se općenito kategorizirati kao kruti ili na bazi otopine. Metode u krutom stanju mogu se razlikovati kao metode koje koriste vrlo malo ili nimalo otapala, pri čemu metode temeljene na otopini predstavljaju načine pripreme koji uključuju veliki suvišak otapala što zahtijeva naknadno odvajanje kristalnog produkta od matične tekućine.⁴

U ovom radu za kokristalizaciju **I3C** s odabranim aminokiselinama (kao što su L-histidin, L-fenilalanin, L-tirozin, L-triptofan, L-alanin, L-glicin, L-valin, L-leucin, L-izoleucin, L-prolin, L-metionin, L-serin, L-treonin, L-asparagin, L-glutamin, L-cistein, L-lizin, L-arginin, L-aspartat, L-glutamat) korištene su metode kokristalizacije temeljene na mljevenju u čvrstom stanju uz dodatak male količine otapala i bazirane na otopini (kokristalizacija isparavanjem).

2.1.1. Metode mljevenja u čvrstom stanju

Metode mljevenja u čvrstom stanju uspješno su korištene za dobivanje uzoraka kokristalnog praha. Prakticiraju se dva načina: čisto (suho) mljevenje i mljevenje uz dodatak manje količine neke tekućine. Mljevenje uključuje kombinaciju polaznih spojeva u njihovim suhim, čvrstim oblicima uz primjenu ručnog ili mehaničkog (automatizirani kuglični mlin) pritiska.

Problemi sa suhim mljevenjem mogu uključivati neuspjeh u formiranju kokristala, nepotpunu pretvorbu u kokristal i kristalne defekte s mogućim stvaranjem amorfnog sadržaja. Nepotpuna pretvorba u kokristal, što rezultira mješavinom kokristala i suviška početnog materijala u proizvodu, nije poželjna jer zahtijeva pročišćavanje kako bi se dobio čisti kokristalni produkt čime se stvari na neki način opet vraćaju na početak.

Mljevenje uz pomoć tekućine uključuje dodavanje otapala, obično u vrlo maloj količini, suhim krutinama prije početka mljevenja. Otapalo ima katalitičku ulogu u pomaganju formiranja kokristala i trebalo bi postojati tijekom procesa mljevenja.

Postoji učinkovitost povezana s mljevenjem u krutom stanju, u odnosu na metode temeljene u otopini, pri čemu se prinos ne gubi na otapalo zbog topljivosti. Stoga, mehanokemijske tehnike koje se temelje na zelenoj kemiji uz pristupačne sintetske puteve su obećavajuće tehnike za proizvodnju kokristala.⁴

2.1.2. Metode na bazi otopine

Jedna od najčešćih metoda pripreme na bazi otopine je kokristalizacija isparavanjem. Kokristalizacija isparavanjem se obično koristi za pripravu monokristalnih kokristala prikladnih za difrakcijske analize kako bi se odredila struktura dobivenog kokristala. Postupak uključuje nukleaciju i rast kokristala iz otopine obaju polaznih spojeva u otapalu, uz prezasićenje dobiveno uklanjanjem otapala iz otopine isparavanjem. Obično je poželjna spora brzina isparavanja kako bi se osiguralo stvaranje malog broja većih kristala. Kako je identifikacija kristalne strukture nužan korak u otkrivanju novih kokristalnih oblika, evaporativna kokristalizacija korištena je u većini istraživačkih radova vezanih za kokristale, a u literaturi postoji velik broj primjera. Treba napomenuti da je identifikacija kristalne strukture nužna za definiranje je li dobiveni kristal kokristal, sol, hidrat ili bilo koji drugi polimorfni oblik polaznih spojeva.⁴

2.2. Metode identifikacije

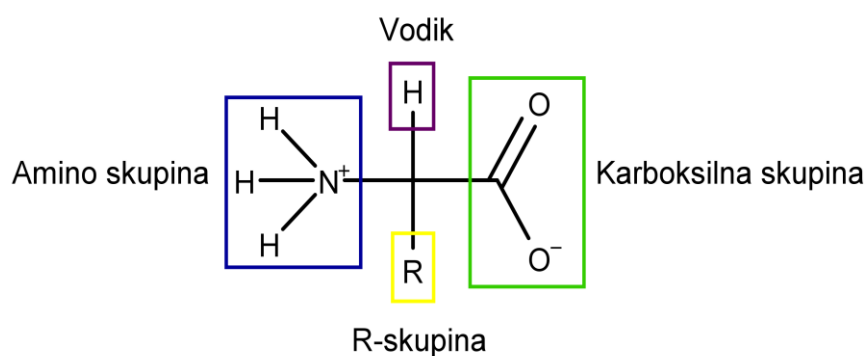
Najčešće korištene metode za određivanje molekulske i kristalne strukture su difrakcija rendgenskog zračenja na polikristalnom i monokristalnom uzorku. Temelj difrakcijskih metoda je snimanje difrakcijske slike uzorka (prikupljanje difrakcijskih maksimuma) te obrada prikupljenih podataka. Cilj difrakcijskog eksperimenta je riješiti kristalnu strukturu te uz parametre jedinične ćelije saznati vrstu i koordinate svakog atoma u njoj (molekulska struktura). Ponekad je teško pripremiti jedinični kristal dobre kvalitete i dimenzije te tvar jednostavno ne želi kristalizirati bez obzira na broj pokušanih varijacija uvjeta kristalizacije ili je kristalizacija dugotrajna i zahtijeva veliku količinu uzorka. Tada se određivanje strukture može pokušati provesti difrakcijom rendgenskog zračenja u polikristalnom uzorku. U ovoj metodi uzorak je prah, odnosno velik broj malih kristala. Ideja je da velik, praktički beskonačan, broj kristala u nasumičnim orijentacijama može dati potpunu difrakcijsku sliku, s učinkom sličnim rotaciji jediničnog kristala. Problem određivanja kristalne strukture iz difraktograma praha proizlazi iz niske kvalitete i malog broja prikupljenih podataka u usporedbi s difrakcijom na jediničnom kristalu te iz mogućeg preklapanja difrakcijskih maksimuma.^{9, 10}

Uz metode difrakcije rendgenskog zračenja koje su korištene u radu te koje će se još spominjati dalje u Rezultatima i raspravi, također postoje i druge analitične metode za određivanje kristalne strukture kao što su neutronska i elektronska difrakcija. Umjesto rendgenskog zračenja za određivanje kristalne strukture može se koristiti zračenje elementarnih čestica (neutronska ili elektronska). Neutroni se, za razliku od rendgenskog zračenja gdje je difrakcijski centar elektronski oblak, difraktiraju na jezgrama čime se detektira točan položaj jezgre. Za neutronske difrakcije uglavnom su potrebni veći kristali nego za rendgensku zbog toga što je vjerojatnost difrakcije manja i izmjereni intenziteti slabiji (budući da je jezgra puno manja od elektronskog oblaka). Neutronske difrakcije lako je razlikovati susjedne atome u periodnom sustavu elemenata, kao i izotope istog elementa, također moguće je vidjeti lake elemente te istraživati magnetske strukture. Glavni nedostatak je mala dostupnost metode (nuklearni reaktori). Neutronska se difrakcija također može provoditi na jediničnom kristalu kao i u polikristalnom uzorku.^{9, 10} Osim neutrona za difrakciju se koriste i spomenuti elektroni. Elektroni mogu postići brzinu blisku svjetlosti koja ima energiju veću od rendgenskog zračenja te jače interagiraju s uzorkom zbog čega kristali mogu biti znatno manji nego za rendgensku, odnosno neutronske difrakcije. Najčešće metode određivanja kristalne strukture koje koriste elektronsku difrakciju su: TEM-transmisijska elektronska mikroskopija (engl. *transmission*

electron microscopy) i SEM-pretražna (skenirajuća) elektronska mikroskopija (engl. *scanning electron microscopy*). TEM ima veliku širinu primjene (znanstvenu, industrijsku) te je poprilično skup instrument, ali jednostavan za korištenje. Zahtijeva detaljnu pripremu uzorka (vrlo tanki filmovi), dok s druge strane uzorak za SEM uređaj može biti u bilo kojoj formi.^{9, 11}

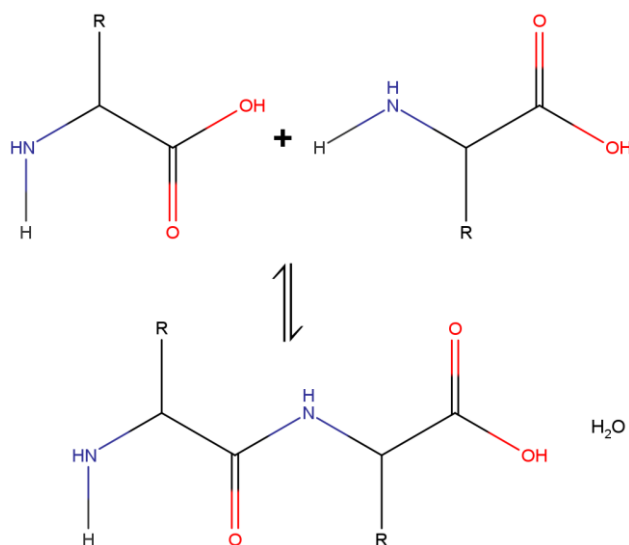
2.3. Podjela aminokiselina

Aminokiseline su spojevi čije su molekule građevni blokovi koji tvore polipeptide i u konačnici proteine. Posljedično, one su temeljne komponente našeg tijela i vitalne za fiziološke funkcije kao što su sinteza proteina, popravak tkiva i apsorpcija hranjivih tvari. Pronađeno je više od 80 aminokiselina u živim organizmima, a samo 20 aminokiselina čine proteine i sve imaju istu osnovnu strukturu, razlikuju se samo u R-skupini ili bočnom lancu koji imaju. Sve aminokiseline proteina, i većina ostalih koje se javljaju u prirodi, su α -aminokiseline, što znači da su amino skupina ($-\text{NH}_2$) i karboksilna skupina ($-\text{COOH}$) vezane za isti atom ugljika. Spomenuti α -ugljik osim amino i karboksilne skupine, također ima vezan atom vodika, a četvrtu valenciju popunjava bilo koja od širokog spektra supstituiranih skupina, predstavljenih slovom R, kao na slici 2. U najjednostavnijoj aminokiselini, glicinu, R je atom vodika. U svim ostalim aminokiselinama, R predstavlja neki organski bočni ogranak.^{12,13}



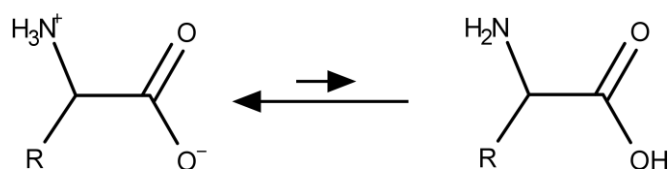
Slika 2. Strukturna formula aminokiselina.

Aminokiseline se javljaju u živim organizmima uglavnom u konjugiranom obliku. Većina konjugiranih aminokiselina su peptidi, u kojima je amino skupina jedne aminokiseline povezana s karboksilnom skupinom druge. Ova vrsta povezivanja poznata je kao peptidna veza; molekula vode se izdvaja kada se formira peptidna veza, a dodaje kada se peptidna veza raskida, kao što je prikazano u reakciji (slika 3).¹³



Slika 3. Formiranje peptidne veze aminokiselina.

Molekule aminokiseline sudjeluju u ravnoteži između dviju formi – proton (H^+) koji se kreće između amino skupine i karboksilne skupine kao što je prikazano na slici 4. U takvoj ravnoteži uvijek prevladava slabija kiselina. Kako je amonijak slabija kiselina od karboksilne kiseline, ravnoteža će težiti lijevo (na strani “*zwitteriona*”).¹²



Slika 4. Prikaz aminokiselina u zwitterion obliku.

Ljudsko tijelo može sintetizirati 11 od 20 standardnih aminokiselina, no ostalih devet ne možemo. One se stoga nazivaju esencijalnim aminokiselinama i moraju se unositi našom prehranom.

Aminokiseline se mogu podijeliti prema svojim svojstvima i funkcionalnim skupinama koje posjeduju. Općenito se dijele prema naboju, hidrofobnosti i polarnosti. Ova svojstva utječu na način njihove interakcije s okolnim aminokiselinama u polipeptidima i proteinima te posljedično utječu na trodimenzijsku strukturu i svojstva proteina.⁷ U Tablici 1. možemo vidjeti podjelu 20 standardnih aminokiselina.

Tablica 1. Podjela 20 standardnih aminokiselina.

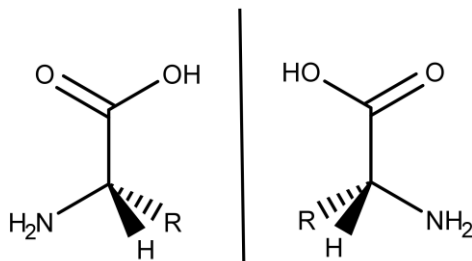
HIDROFOBNE		
S alifatskim bočnim ograncima		S aromatskim bočnim ograncima
 Glicin, Gly	 Alanin, Ala	 Fenilalanin, Phe
 Prolin, Pro	 Valin, Val	 Tirozin, Tyr
 Leucin, Leu	 Izoleucin, Ile	 Triptofan, Trp
 Metionin, Met		
HIDROFILNE		
S nenabijenim bočnim ograncima	S pozitivno nabijenim bočnim ograncima	S negativno nabijenim bočnim ograncima
 Serin, Ser	 Arginin, Arg	 Aspartat, Asp
 Treonin, Thr	 Lizin, Lvs	 Glutamat, Glu
 Cistein, Cys	 Histidin, His	
 Asparagin, Asn		
 Glutamin, Gln		

2.3.1. Kiralnost

Stereoizomeri su izomeri koji se razlikuju po prostornom rasporedu atoma, ali ne i redosljedu atomske povezanosti. Entanomeri su vrsta spomenutih stereoizomera koji se odnose kao zrcalna slika koja se ne može preklopiti. Koncept kiralnost u biti znači “zrcalna slika, molekule koje se ne mogu preklopiti“, a reći da je molekula kiralna znači da njezina zrcalna slika (mora je imati) nije ista kao ona sama. Je li molekula kiralna ili akiralna ovisi o određenom skupu uvjeta preklapanja.¹⁴ Sve molekule koje posjeduju kiralni centar su optički aktivne, odnosno zakreću ravninu polarizirane svjetlosti.

Aminokiseline također posjeduju kiralni centar koji sadrži četiri različita supstituenta, osim aminokiseline glicin. R skupina glicina je atom vodika te α -ugljik ove aminokiseline nema četiri različita supstituenta te samim time molekula nije kiralna. Također razlikujemo L- i

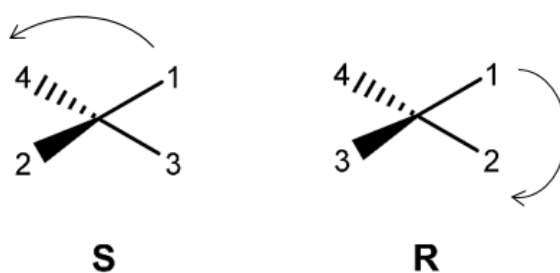
D-aminokiseline koje se međusobno odnose kao enantiomeri. Na slici 5 možemo vidjeti primjer kiralnog centra i enantiomerni odnos L- i D-aminokiselina.



Slika 5. Enantiomerni odnos L- i D-aminokiselina.

2.3.2. Apsolutna konfiguracija

Tri su kemičara R. S. Cahn, C. Ingold i V. Prelog predložili 1966. *CIP* (Cahn-Ingold-Prelog) pravila¹⁵, pravila prioriteta prema kojima se određuje apsolutna (*R*- i *S*-) konfiguracija enantiomera. Cahn-Ingold-Prelogova pravila prioriteta temelje se na atomskim brojevima atoma od interesa. Za kiralnost, atomi od interesa su atomi vezani za kiralni ugljik. Nakon određivanje prioriteta, određuje se smjer supstituenta najvišeg prioriteta prema najnižem: u smjeru kazaljke na satu (*R*-) ili suprotno od kazaljke na satu (*S*-) (slika 6).¹⁴

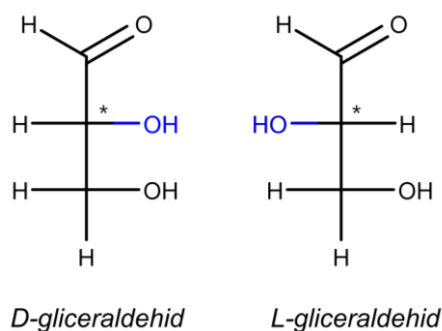


Slika 6. Prikaz apsolutne (*R*- i *S*-) konfiguracije prema *CIP* pravilima.

Aminokiseline koje se javljaju u proteinima imaju *S*-konfiguraciju, izuzetak je cistein koji ima *R*-konfiguraciju zbog prisutnog atoma sumpora u svojoj molekuli (slika 8).

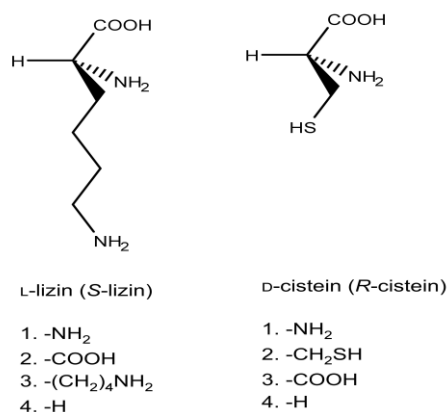
2.3.3. Relativna konfiguracija

Do 1956. nije bila poznata apsolutna konfiguracija nijednog optički aktivnog spoja. Ipak, bilo je moguće povezati konfiguraciju jednog spoja s drugim i pokazati da imaju istu ili suprotne konfiguracije. Prije napretka rendgenske strukturne analize, primjenjivano je nekoliko sustava uspoređivanja relativnih konfiguracija kiralnih spojeva s onima standardnih spojeva. Danas je u upotrebi samo jedan od tih sustava: D/L-sustav, poznat i kao *Fischer-Rozanovljeva konvencija*. Konfiguracije šećera i aminokiselina povezivale su se s enantiomerima gliceraldehida¹⁴, koje je uveo E. Fischer 1885.¹⁶ Stoga, relativna (D- i L-) konfiguracija je eksperimentalno određen odnos između dva enantiomera iako ne znamo apsolutnu konfiguraciju. Znak rotacije ravnine polarizirane svjetlosti enantiomera nije lako povezati s njegovom konfiguracijom. Enantiomer oznake (+) zakreće ravninu polarizirane svjetlosti u smjeru kazaljke na satu, a (–) enantiomer zakreće ravninu polarizirane svjetlosti u suprotnom smjeru od smjera kazaljke na satu.¹⁴



Slika 7. Prikaz relativne (D- i L-) konfiguracije gliceraldehida.

Prema konfiguraciji D- i L-aminokiseline su enantiomeri. L-aminokiseline su prirodne aminokiseline koje grade peptide i protein, dok su D-aminokiseline nađene kod nekih bakterija.



Slika 8. Prikaz apsolutne i relativne konfiguracije aminokiselina lizin i cistein.

2.4. Međumolekulske interakcije

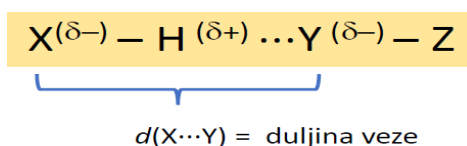
Međumolekulske privlačne interakcije su uglavnom nekovalentne interakcije koje povezuju molekule. Spadaju u skupinu slabih interakcija, ali su u kristalnim strukturama izrazito brojne te je njihovo razumijevanje od velike važnosti za razumijevanje kristalnog pakiranja i povezivanje molekula u čvrstom stanju. Na takve interakcije djeluju međumolekulske sile te dolazi do prepoznavanja molekulskih vrsta i njihovog privlačenja, a njihova snaga omogućuje održavanje blizine funkcijskih skupina. Imaju značajnu ulogu u supramolekulskoj kemiji i kristalnom inženjerstvu koje se bavi dizajnom, razvojem i pripravom kristalnih materijala različitih funkcija i fizikalno-kemijskih svojstava. Nevalentne interakcije su bitne za razumijevanje struktura bioloških makromolekula kao što su proteini i DNA. Utječu na agregacijsko stanje tvari, na vrelište, talište, itd., a određene su svojstvima kao što su usmjerenost, jačina i geometrija. Dije se na izotropne i anizotropne interakcije. Izotropne neusmjerene interakcije (kao što su Van der Waalsove i ionske interakcije) su slabije te su zaslužne za gusto pakiranje. Anizotropne usmjerene interakcije (kao što su vodikova i halogenska veza) su jače i točno definirane geometrije.^{17,18,19,20}

Najvažnije nekovalentne interakcije koje se javljaju između **I3C** i aminokiselina su: vodikova i halogenska veza te aromatske interakcije poput π - i kation- π -interakcija. U Tablici 2. radi usporedbe navedene su neke interakcije i njihove energije.^{17,18}

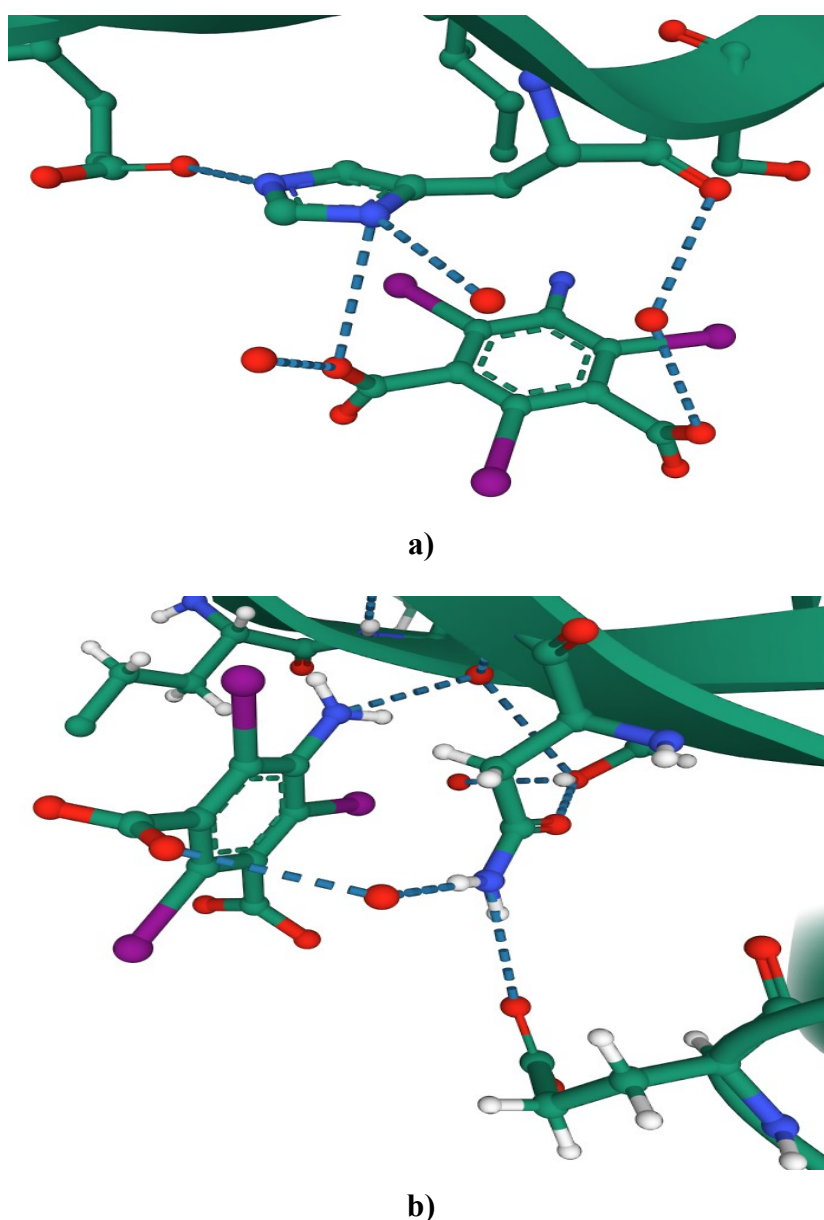
Tablica 2. Usporedba interakcija i njihovih energija.

Interakcije	$E / \text{kJ mol}^{-1}$
Ionska veza	400 - 4000
Kovalentna veza	150 - 1100
Vodikova veza	5 - 200
Halogenska veza	5 - 150
Kation- π -interakcije	5 - 80
π -interakcije (primjer: benzen)	0 - 50

Vodikova veza je privlačna interakcija između atoma vodika iz molekule ili molekulskog fragmenta $X-H$ u kojem je X elektronegativniji od H , i atoma ili skupine atoma u istoj ili različitoj molekuli.²¹ Ove interakcije su do sada najistraženije jer su od velikog značaja u kristalnom inženjerstvu, ali i u mineralogiji, anorganskoj i organskoj kemiji, medicini, farmaciji, biokemiji te u biološkim procesima. Vodikova veza je dugog dometa, jaka i usmjeravajuća te ima važnu ulogu u izgradnji i stabilizaciji kristalne strukture. Zapisuje se kao $X-H\cdots Y$ (slika 9). Proton-donor (X) elektronegativni je atom poput fosfora, kisika, dušika, ugljika, sumpora i halogenih atoma, a proton-akceptor (Y) nositelj je slobodnog elektronskog para koji je također elektronegativni atom ili mora imati polarizabilne π -elektrone. Možemo razlikovati međumolekulske (između dvije molekule) i unutarmolekulske (unutar jedne molekule) vodikove veze.^{17,18,22,23}

Slika 9. Shematski prikaz vodikove veze $X-H\cdots Y$.

Na temelju pretrage baze podataka PDB²⁴ (engl. *Protein Data Bank*) istražene su navedene međumolekulske interakcije između **I3C** i aminokiselina. Uočeno je nastajanje velikog broja vodikovih veza s obje hidrokslne skupine kao i amino skupinom **I3C** molekule s brojim aminokiselinama. Neki od primjera vodikovih veza koje tvori **I3C** navedeni su na slici 10, a odabrani su primjeri **a**) kompleks koji tvori s lipoproteinom vanjske membrane *E. coli* gdje interagira s His 93 i **b**) kompleks koji tvori s SERA5E iz *Plasmodium falciparum* gdje interagira s Lys 237 i Asn 228.²⁴



Slika 10. Prikaz međumolekulskih vodikovih veza (označene plavom bojom) između **I3C** i aminokiselina (PDB kod za **a**) 2Y1B i **b**) 6X42). **a)** Vidljivo je da **I3C** radi vodikove veze sa obje karboksilne skupine s istom aminokiselinom histidin, pri čemu jedna karboksilna skupina (lijevo) interagira s atomom dušika iz bočnog ogranka histidina, a druga (desno) interagira s atomom kisika iz okosnice peptidne veze istog histidina. **b)** Osim interakcije karboksilne skupine **I3C** s atomom dušika bočnog ogranka aminokiseline asparagin, vidljiva je i interakcija amino skupine **I3C** s atomom kisika iz okosnice peptidne veze aminokiseline lizin.

Vodikove veze prema jačini možemo klasificirati u tri skupine, na slabe, jako i vrlo jake. Veza će biti jača što su donor i akceptor elektronegativniji (i što je razlika u elektronegativnost donora i akceptora manja). U Tablici 3. dana je podjela vodikovih veza prema jačini. Povezivanjem energije i geometrije možemo opisati slabe vodikove veze kao duže, asimetrične u kojima se proton ne nalazi u sredini veze i u kojima atomi zatvaraju kut (savijene su) i pretežno su elektrostatske prirode, a jake i vrlo jake vodikove možemo opisati kao kratke, simetrične s protonom u sredini veze, linearne i kovalentnog karaktera.^{17,18,22,23}

Tablica 3. Podjela i karakteristike vodikovih veze s obzirom na jačinu.

	Slaba vodikova veza	Jaka vodikova veza	Vrlo jaka vodikova veza
Interakcije	Elektrostatska / disperzijska	Uglavnom elektrostatska	kovalentne
Kut veze / °	110 - 180	135 - 180	175 - 180
Energija veze / kJ mol⁻¹	< 16,7	16,7 – 62,8	62,8 – 167,5

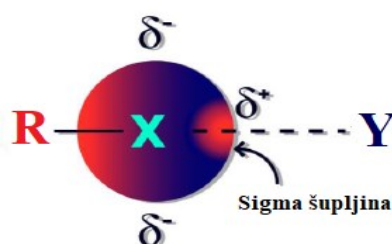
Halogena veza $R-X\cdots Y-Z$ nastaje kada postoji dokaz ukupne privlačne interakcije između elektrofilne regije (siromašne elektronima) na halogenom atomu X koji pripada molekuli ili molekularnom fragmentu $R-X$ (gdje R može biti drugi atom, uključujući X ili skupinu atoma) i nukleofilne regije (bogate elektronima) molekule, ili molekularnog fragmenta, $Y-Z$ ¹³ (slika 11). $R-X$ je donor halogenske veze, X je bilo koji atom halogena kovalentno vezan na R (s tendencijom stvara halogenske veze u nizu: $F \ll Cl < Br < I$), Y je akceptor halogenske veze (donor elektronske gustoće), anion ili neutralna vrsta (atomi poput dušika, kisika, sumpora, selenija, fosfora, drugih halogenih atoma, ali i dijelovi molekule poput π -sustava).^{17,23,25,26}



Slika 11. Shematski prikaz nastajanja halogenske veze, $R-X\cdots Y$.

Atomi halogenih elementa su polarizabilni zbog čega dolazi do anizotropne raspodjele njihove elektronske gustoće. U produžetku kovalentne veze atoma halogena s ostatkom molekule donora, formira se „ σ -šupljina“ koja predstavlja mjesto niže elektronske gustoće gdje je elektrostatski potencijal često pozitivan. Atomi sa slobodnim elektronskim parovima mogu se približiti toj pozitivnoj regiji i rezultat je nastajanje halogenske veze u produžetku „ σ -šupljine“ (slika 12). Halogensku vezu obilježava usmjerenost i geometrija, a parametri kojima se opisuju su duljina i kut veze (kut kojeg zatvaraju atomi koji sudjeluju u vezi može biti od 150° do 180°). Jačina halogenske veze ovisi o polarizaciji atoma halogenog elementa i o tome na koju je skupinu vezan. Pokriva širok raspon energija veze, od slabe (10 kJ mol^{-1}), umjereno jake ili vrlo jake (150 kJ mol^{-1}). Slabije halogenske veze su dulje te u njima atomi zatvaraju kut koji više odstupa od 180° , dok su jake halogenske veze kratke i bliske linearnoj prostornoj građi.^{17,23,25,26}

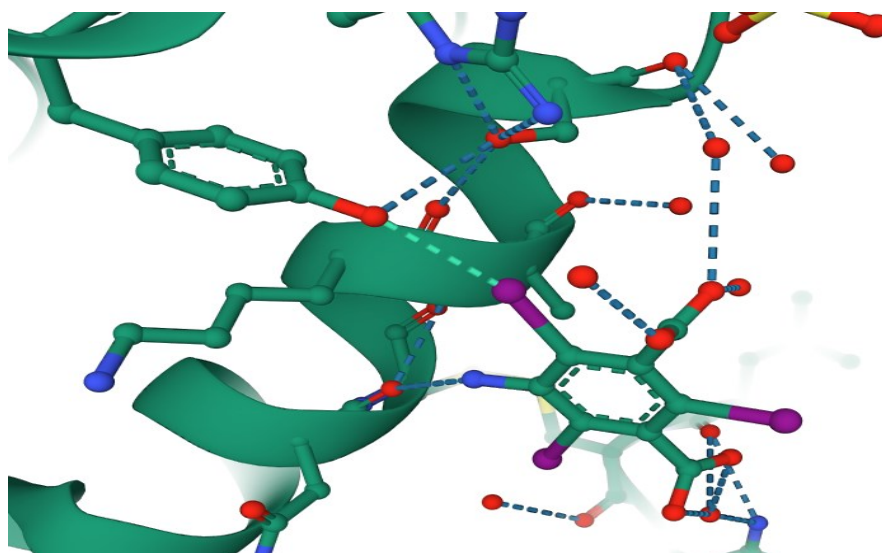
Uz vodikovu vezu, halogenska veza je također dominirajuća međumolekulska interakcija u supramolekularnoj kemiji i kristalnom inženjerstvu te ima veliku ulogu u mnogim biološkim sustavima.^{17,26}



Slika 12. Shematski prikaz anizotropne raspodjele elektronske gustoće oko kovalentno vezanog halogenog atoma.

Na temelju pretrage proteinske baze podataka (PDB) istražene su navedene međumolekulske interakcije između **I3C** i aminokiselina pri čemu je uočena interakcija između atoma joda i hidroksilne skupine. Kontakti atoma joda s atomom kisika hidroksilne skupine rijetko se nalaze u PDB-u, ipak postoje neki primjeri.²⁷ Jedan od primjera prikazan je na slici 13 gdje je vidljiva halogenska veza između **I3C** i aminokiseline tirozin. U svom kompleksu s lizozimom (PDB kôd 3E3D) **I3C** tvori gotovo idealnu halogenu vezu (udaljenost od $3,00 \text{ \AA}$, kut σ -šupljine od $162,3^\circ$) s Tyr 20. Uočena je zanimljivost da bi **I3C** i njegovi derivati, koji se u novije vrijeme

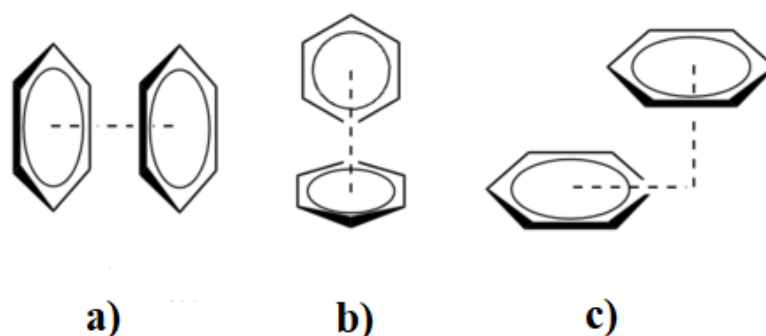
intenzivno koriste kao rendgenski kontrastni reagensi u medicinskoj dijagnostici, mogli potaknuti rast kristala i djelovati kao mostovi između različitih proteinskih molekula.²⁷



Slika 13. Prikaz halogenske veze (označena svjetlo zelenom bojom) između **I3C** i tirozina (PDB kod 3E3D). Na primjeru uočavamo da **I3C** radi halogensku vezu između jednog atomom joda iz svoje strukture i hidroksilne skupine bočnog ogranka aminokiseline tirozin.

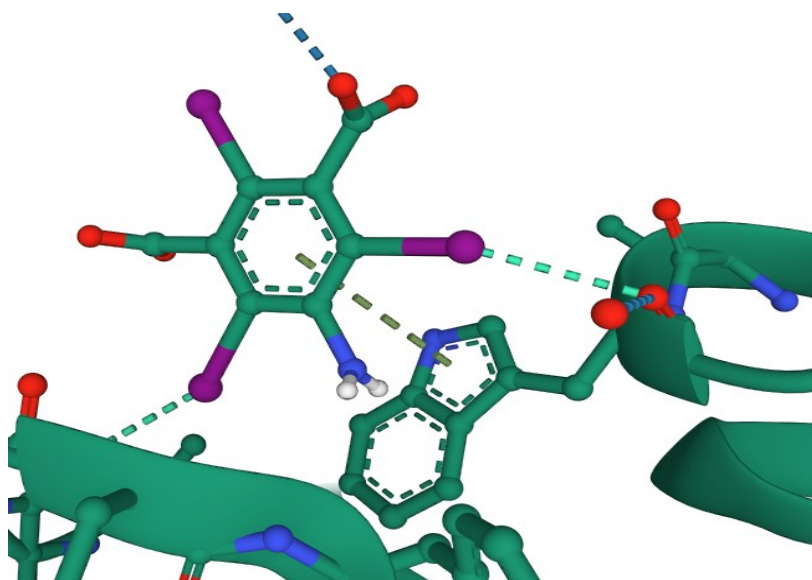
Specifična elektronska struktura (oblak delokaliziranih elektrona) aromatskih spojeva daje im specifična fizikalna svojstva, a zaslužna je i za stvaranje posebnih međumolekulskih interakcija koje se nazivaju aromatske interakcije, kao što su π i kation ili anion- π interakcije. Aromatske interakcije su međumolekulske interakcije karakteristične za molekule bogate π -elektronima. Ovakve nekovalentne interakcije vrlo su bitne u supramolekularnoj kemiji, dizajnu lijekova, smatanju proteina, kristalnom inženjerstvu i dr. Osim vrlo poznatih π -interakcija, postoji još cijeli niz srodnih aromatskih interakcija, kao što su anion i kation- π -interakcije, koje se međutim razlikuju po svojoj jakosti i fizikalnim svojstvima.^{17,18,28}

π -interakcije (engl. *π -stacking*) javljaju se često između aromatskih prstenova organskih sustava, najčešće u slučaju kada je jedan prsten bogat elektronima, a drugi siromašan. Nastaju kada je σ - π privlačenje jače od π - π odbijanja. Dijelimo ih na tri vrste: paralelno posmaknute, T-oblika i licem u lice (slika 14)²⁸. Paralelno posmaknuti i T-oblik energijski su povoljni jer su u tim slučajevima π - π odbijanja nadjačana σ - π privlačenjem. Slaganje licem u lice (engl. *face-to face*) energijski je nepovoljno s obzirom na jako odbijanje π -elektronskih oblaka.^{17,18,28,29,30}



Slika 14. Različite vrste slaganja π interakcija. a) Slaganje licem u lice, b) T-oblik i c) paralelno posmaknuto slaganje.³⁰

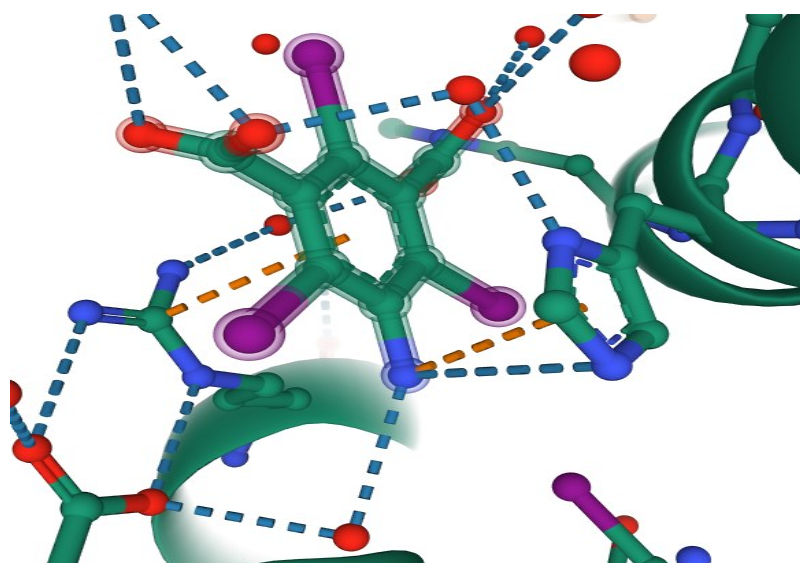
Na temelju pretrage baze podataka PDB istražene su navedene π interakcije između **I3C** i aminokiselina (PDB kôd 6043). Uočeno je nastajanje π interakcija na nekoliko primjera. Iz baze podataka odabran je primjer vidljiv na slici 15, gdje u svom kompleksu s proteinom iz *Staphylococcus faga P68*, **I3C** tvori π interakcije s Trp 39.²⁴



Slika 15. Prikaz π -interakcija (označene tamno zelenom bojom) između **I3C** i aminokiseline (PDB kod 6043). Na primjeru uočavamo π interakciju između aromatskog prstena **I3C** i aromatskog prstena iz bočnog ogranka aminokiseline triptofan.

Kation- π interakcije su elektrostatske interakcije između kationa metala (najčešće prijelaznih) ili kompleksnijih organskih kationa i π -elektrona. Kation- π vezanje postaje jače što je negativniji elektrostatski naboj na aromatskom prstenu. Same kation- π interakcije imaju važnu ulogu u biološkim sustavima tako što stabilizacijom sustava utječu na strukturu proteina te na enzimsku katalizu.^{17,18,28,29} π -interakcije su usporedive s vodikovim i halogenskim vezama, a ključna razlika između navedenih interakcija jest u tome što su vodikova i halogenska veza lokalizirane interakcije dok π -interakcije nisu.^{28,29}

Na temelju pretrage baze podataka PDB istražene su kation- π interakcije između **I3C** i aminokiselina (PDB kod 6Z79). Iz baze je odabran primjer gdje u svom kompleksu s glikoproteinom VSGsur, **I3C** tvori dvije kation- π interakcije s aminokiselinama His 122 i Arg 125 (slika 16). U ovim interakcijama uočeno je da kation predstavlja amin iz funkcionalne skupine (gvanidino skupine) na bočnog lancu aminokiseline argini te amino skupina I3C molekule.²⁴



Slika 16. Prikaz kation- π interakcija (označene smeđom bojom) između **I3C** i aminokiselina (PDB kod 6Z79). Na primjeru su vidljive kation- π interakcije između aromatskog prstena **I3C** i funkcionalne skupine iz bočnog ogranka aminokiseline arginin te između amino skupine I3C i aromatskog prstena iz bočnog ogranka aminokiseline histidin.

§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Polazni materijali

Polazni spojevi i otapala korišteni u radu navedeni su u Tablici 4.

Sve aminokiseline bile su 99 %-tne čistoće, a I3C imala je 95 %-tnu čistoću. Spojevi nisu pročišćavani prije uporabe u sintezi.

Tablica 4. Pregled korištenih kemikalija korištenih u radu.

Spoj	$M / \text{g mol}^{-1}$	Proizvođač
L-glicin	75,067	Carbolution Chemicals GmbH
L-alanin	89,094	Carbolution Chemicals GmbH
L-valin	117,148	Carbolution Chemicals GmbH
L-leucin	131,175	Carbolution Chemicals GmbH
L-izoleucin	131,175	Carbolution Chemicals GmbH
L-prolin	115,132	Carbolution Chemicals GmbH
L-metionin	149,208	Carbolution Chemicals GmbH
L-fenilalanin	165,192	Carbolution Chemicals GmbH
L-tirozin	181,191	Carbolution Chemicals GmbH
L-triptofan	204,228	Carbolution Chemicals GmbH
L-serin	105,093	Carbolution Chemicals GmbH
L-treonin	119,119	Carbolution Chemicals GmbH
L-asparagin monohidrat	150,130	Carbolution Chemicals GmbH
L-glutamin	146,146	Carbolution Chemicals GmbH
L-cistein	121,154	Carbolution Chemicals GmbH
L-lizin	146,189	Carbolution Chemicals GmbH
L-arginin hidroklorid	210,670	Carbolution Chemicals GmbH
L-histidin	155,156	Carbolution Chemicals GmbH
L-aspartat	133,104	Carbolution Chemicals GmbH
L-glutamat	147,131	Carbolution Chemicals GmbH

5-amino-2,4,6-trijodizoftalna kiselina	558,840	/
Natrijev hidroksid	40,000	Carlo Erba Reagents
Metanol	32,000	Carlo Erba Reagents
Etanol	46,070	Alkaloid
Apsolutni etanol	46,070	Gram-mol
Propanol	60,100	Fisher Chemical
Butanol	74,12	Fisher Chemical
Acetonitril	41,050	Sigma- Aldrich

3.2. Priprava kokristala odabranih aminokiselina i 5-amino-2,4,6-trijodizoftalne kiseline

U ovom radu su istraživane interakcije između odabranih aminokiselina i kiseline **I3C**. Pripremljeni su kokristali aminokiselina i spomenutog derivata izoftalne kiseline raznim postupcima sinteze (u otopini ili mehanokemijski) pri različitim uvjetima i omjerima. U mehanokemijskim postupcima sinteze koristilo se svih 20 standardnih aminokiselina, dok se otopinska sinteza bazirala na aminokiselinama s aromatskim bočnim ograncima kao što su His, Tyr, Trp i Phe. Nakon toga karakterizacija u čvrstom stanju izvodila se pomoću infracrvene spektroskopije i difrakcije rendgenskog zračenja u polikristalnom i monokristalnom uzorku. Spoj za koji je dobiven jedinični kristali prikladne kvalitete je određena kristalna i molekulska struktura.

3.2.1. Sinteza u otopini

Priprava kokristala u otopini izvedena je za sve aminokiseline na isti način uz male modifikacije reakcijskih uvjeta. Za otopinsku sintezu korištene su aminokiseline: L-histidin, L-tirozin, L-fenilalanin i L-triptofan te otapala: metanol, etanol, apsolutni etanol, propanol, butanol i acetonitril. Najprije je ispitivana topljivost kiseline **I3C** u seriji otapala navedenoj u Tablici 5. Zatim su se otopile navedene aminokiseline u određenom volumenu vode uz dodatak natrijevog hidroksida po potrebi, a za lakše otapanje otopina se podvrgla zagrijavanju. Nakon otopljenih polaznih spojeva, otopine aminokiselina i otopine **I3C** međusobno su izmiješane u različitim omjerima. Izmiješane otopine podvrgnute su zagrijavanju i prema potrebi filtrirane (plava

vrpca). Potom su se reakcijske smjese ostavile stajati pri sobnoj temperaturi i u frižideru pokrivene parafilmom na kojem je izbušeno nekoliko rupica. Eksperimentalni uvjeti navedeni su u Tablicama 6-12. Ovisno o nastanku produkta, nastanak kokristala od interesa označen je kvačicom, a neuspjela sinteza simbolom x.

Tablica 5. Otapanje **I3C** kiseline u različitim otapalima volumena 20 mL pri sobnoj temperaturi, $m(\text{I3C})=1,12$ g

Otapalo	(I3C)
1. Metanol	Otopljeno
2. Etanol	Otopljeno
3. Apsolutni etanol	Otopljeno
4. Propanol	Otopljeno
5. Butanol	Otopljeno
6. Acetonitril	Ne otapa se

Nakon provedenih pokušaja otapanja **I3C** u različitim otapalima, daljnja sinteza provodila se s otapalima od 1-5 navedenim u Tablici 5.

Tablica 6. Priprava kokristala provedena je pri sobnoj temperaturi s L-His i otopinom **I3C** u metanolu pri različitim omjerima uz dodatak nekoliko kapi natrijeve lužine.

U metanolu	Smjesa 1	Smjesa 2	Smjesa 3	Smjesa 4
Omjer otopine I3C : i otopine L-His	0,5 : 1	1 : 1	1 : 2	1 : 3
$m(\text{L-His}) / \text{mg}$	7,76	15,50	31,03	46,55
Produkt	x	✓	x	x

Tablica 7. Priprava kokristala provedena je pri sobnoj temperaturi s L-His i otopinom **I3C** u propanolu pri različitim omjerima uz dodatak nekoliko kapi natrijeve lužine.

U propanolu	Smjesa 1	Smjesa 2	Smjesa 3
Omjer otopine I3C : i otopine L-His	1 : 1	1 : 2	1 : 3
<i>m</i>(L-His) / mg	15,50	31,03	46,55
Produkt	x	x	x

Tablica 8. Priprava kokristala provedena je pri sobnoj temperaturi s L-His i otopinom **I3C** u butanolu pri različitim omjerima uz dodatak nekoliko kapi natrijeve lužine.

U butanolu	Smjesa 1	Smjesa 2	Smjesa 3
Omjer otopine I3C : i otopine L-His	1 : 1	1 : 2	1 : 3
<i>m</i>(L-His) / mg	15,50	31,03	46,55
Produkt	x	x	x

Tablica 9. Priprava kokristala provedena je pri sobnoj temperaturi s L-His i otopinom **I3C** u etanolu pri različitim omjerima uz dodatak nekoliko kapi natrijeve lužine.

U etanolu	Smjesa 1	Smjesa 2
Omjer otopine I3C : i otopine L-His	1 : 1	1 : 2
<i>m</i>(L-His) / mg	15,50	31,03
Produkt	x	x

Tablica 10. Priprava kokristala provedena je pri sobnoj temperaturi s L-His i otopinom **I3C** u apsolutnom etanolu pri različitim omjerima uz dodatak nekoliko kapi natrijeve lužine.

U apsolutnom etanolu	Smjesa 1	Smjesa 2
Omjer otopine I3C : i otopine L-His	1 : 1	1 : 2
<i>m</i> (L-His) / mg	15,50	31,03
Produkt	x	x

Tablica 11. Priprava kokristala provedena je pri sobnoj temperaturi s L-Phe, L-Tyr te L-Trp i otopinom **I3C** u metanolu pri istim omjerima uz dodatak nekoliko kapi natrijeve lužine.

U metanolu	L-Phe	L-Tyr	L-Trp
<i>m</i> / mg	16,52	18,20	20,42
Otopina I3C	1 : 1	1 : 1	1 : 1
produkt	x	x	x

Tablica 12. Priprava kokristala provedena je pri sobnoj temperaturi s L-Phe, L-Tyr te L-Trp i otopinom **I3C** u etanolu pri istim omjerima uz dodatak nekoliko kapi natrijeve lužine.

U etanolu	L-Phe	L-Tyr	L-Trp
<i>m</i> / mg	16,52	18,20	20,42
Otopina I3C	1 : 1	1 : 1	1 : 1
produkt	x	x	x

3.2.2. Mehanokemijska sinteza

Metoda mljevenja u čvrstom stanju uspješno je korištena za dobivanje uzoraka kokristalnog praha. Prakticirao se postupak mljevenja uz pomoć male količine otapala. Mljevenje je uključivalo kombinaciju polaznih spojeva u njihovim suhim, čvrstim oblicima uz primjenu otapala. Najprije se u lončiću od nehrđajućeg čelika ($V = 14$ mL) pomiješaju reaktanti (**I3C** i jedna od 20 standardnih aminokiselina) u stehiometrijskom omjeru 1:1 uz dodatak 40 μ L 96 %-tnog etanola te je dodana jedna kuglica od nehrđajućeg čelika. Mehanokemijski postupak provodio se u vibracijskom mlinu u trajanju od 30 minuta. Eksperimentalni podaci navedeni su u Tablici 13. Ovisno o nastanku produkta, nastanak nove faze označen je kvačicom, a neuspjela sinteza simbolom x.

Tablica 13. Reakcijski uvjeti mehanokemijske sinteze **I3C** s 20 standardnih aminokiselina.

Reaktanti	<i>m</i> (L-Gly) / mg	<i>m</i> (I3C) / mg	<i>V</i> (96% EtOH) / μ L	Produkt
Smjesa 1	13,43	100,0	40	✓
Reaktanti	<i>m</i> (L-Ala) / mg	<i>m</i> (I3C) / mg	<i>V</i> (96% EtOH) / μ L	Produkt
Smjesa 2	15,94	100,0	40	✓
Reaktanti	<i>m</i> (L-Val) / mg	<i>m</i> (I3C) / mg	<i>V</i> (96% EtOH) / μ L	Produkt

Smjesa 3	20,96	100	40	✓
Reaktanti	<i>m</i> (L-Leu) / mg	<i>m</i> (I3C) / mg	<i>V</i> (96% EtOH) / μL	Produkt
Smjesa 4	23,47	100	40	✓
Reaktanti	<i>m</i> (L-Ile) / mg	<i>m</i> (I3C) / mg	<i>V</i> (96% EtOH) / μL	Produkt
Smjesa 5	23,47	100	40	✓
Reaktanti	<i>m</i> (L-Pro) / mg	<i>m</i> (I3C) / mg	<i>V</i> (96% EtOH) / μL	Produkt
Smjesa 6	20,60	100	40	✓
Reaktanti	<i>m</i> (L-Met) / mg	<i>m</i> (I3C) / mg	<i>V</i> (96% EtOH) / μL	Produkt
Smjesa 7	26,70	100	40	✓
Reaktanti	<i>m</i> (L-Phe) / mg	<i>m</i> (I3C) / mg	<i>V</i> (96% EtOH) / μL	Produkt
Smjesa 8	29,56	100	40	✓
Reaktanti	<i>m</i> (L-Tyr) / mg	<i>m</i> (I3C) / mg	<i>V</i> (96% EtOH) / μL	Produkt
Smjesa 9	32,42	100	40	✓
Reaktanti	<i>m</i> (L-Trp) / mg	<i>m</i> (I3C) / mg	<i>V</i> (96% EtOH) / μL	Produkt
Smjesa 10	36,54	100	40	✓
Reaktanti	<i>m</i> (L-Ser) / mg	<i>m</i> (I3C) / mg	<i>V</i> (96% EtOH) / μL	Produkt
Smjesa 11	18,81	100	40	✓
Reaktanti	<i>m</i> (L-Thr) / mg	<i>m</i> (I3C) / mg	<i>V</i> (96% EtOH) / μL	Produkt
Smjesa 12	21,32	100	40	✓
Reaktanti	<i>m</i> (L-Asn x H ₂ O) / mg	<i>m</i> (I3C) / mg	<i>V</i> (96% EtOH) / μL	Produkt
Smjesa 13	26,86	100	40	✓
Reaktanti	<i>m</i> (L-Gln) / mg	<i>m</i> (I3C) / mg	<i>V</i> (96% EtOH) / μL	Produkt
Smjesa 14	26,15	100	40	✓
Reaktanti	<i>m</i> (L-Cys) / mg	<i>m</i> (I3C) / mg	<i>V</i> (96% EtOH) / μL	Produkt
Smjesa 15	21,68	100	40	✓
Reaktanti	<i>m</i> (L-Lys) / mg	<i>m</i> (I3C) / mg	<i>V</i> (96% EtOH) / μL	Produkt
Smjesa 16	26,16	100	40	✓
Reaktanti	<i>m</i> (L-Arg HCl) / mg	<i>m</i> (I3C) / mg	<i>V</i> (96% EtOH) / μL	Produkt
Smjesa 17	37,70	100	40	✓
Reaktanti	<i>m</i> (L-His) / mg	<i>m</i> (I3C) / mg	<i>V</i> (96% EtOH) / μL	Produkt
Smjesa 18	27,76	100	40	✓

Reaktanti	$m(\text{L-Asp}) / \text{mg}$	$m(\text{I3C}) / \text{mg}$	$V(96\% \text{ EtOH}) / \mu\text{L}$	Produkt
Smjesa 19	23,82	100	40	✓
Reaktanti	$m(\text{L-Glu}) / \text{mg}$	$m(\text{I3C}) / \text{mg}$	$V(96\% \text{ EtOH}) / \mu\text{L}$	Produkt
Smjesa 20	26,33	100	40	✓

Dobiveni uzorci navedeni u Tablici 13 dalje su podvrgnuti karakterizaciji. Prahovi su karakterizirani pomoću IR spektroskopije i rendgenskim zračenjem na polikristalnom uzorku te je provedeno otapanje u svrhu dobivanja monokristalnih uzoraka kojima bi se odredila kristalna struktura.

Otapanje praškastih uzoraka vršilo se u maloj količini vode uz dodatak nekoliko kapi natrijevog hidroksida za postizanje bolje topljivosti. Otopljeni uzorci ostavljeni su stajati pri sobnoj temperaturi kako bi se prezasićenje otopine postiglo isparavanjem. Nakon nekoliko tjedana nisu dobiveni monokristalni uzorci.

3.2.3. IR spektroskopija

Infracrvena spektroskopija (IR) instrumentalna je metoda za detekciju, odnosno identifikaciju funkcionalnih skupina prisutnih u molekuli.³¹ Određeni spojevi, prahovi dobiveni mehanokemijskim postupkom, u ovom radu su karakterizirani infracrvenom spektroskopijom. Infracrveni spektri snimljeni su u području $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ tehnikom prigušene totalne refleksije (engl. *attenuated total reflectance*, ATR) na spektrometru *Perkin-Elmer Spectrum Two* s dijamantnom ćelijom. Dobiveni podaci analizirani su pomoću programskog paketa *SpectraGryph 1.2*.

3.2.4. Difrakcija rendgenskog zračenja na polikristalnom i monokristalnom uzorku

Praškasti uzorci dobiveni mehanokemijskim postupkom sinteze snimani su metodom difrakcije rendgenskog zračenja (PXRD). Difraktogrami polikristalnih uzoraka snimljeni su na rendgenskom difraktometru PANalytical Aeris uz Bragg-Brentano geometriju s držačem uzorka bez pozadinskog signala, a snimanja su provedena u trajanju od 3 do 10 minuta. Dobiveni difraktogrami prahova analizirani su pomoću programskog paketa PANalytical Data Viewer.

Jedinični kristal dobiven otopinskom sintezom sniman je metodom difrakcije rendgenskog zračenja (SCXRD). Ovom metodom određen je detaljna slika molekulske i kristalne strukture (parametri jedinične ćelije, položaji atoma u jediničnoj ćeliji: duljine veza, kutevi među vezama, međumolekulske interakcije)³². Monokristalnim uzorcima je kristalna i molekulska struktura određena difrakcijom rendgenskog zračenja na Oxford Diffraction Synergy-S difraktometru i pomoću HyPix-6000HE detektora. Kao izvor zračenja koristila se rendgenska cijev s bakrenom anodom, a valna duljina iznosila je: $\lambda = 1,54184 \text{ \AA}$. Pogodni jedinični kristali snimani su u nosaču s omčom. Kristali se prebace u kap inertnog viskozno ulja i uhvate omčom. Ulje prekriva površinu kristala i tako sprečava doticaj za zrakom, a time i gubitak otapala. Rezultati difrakcijskih pokusa bit će predstavljeni i raspravljeni u narednom poglavlju.

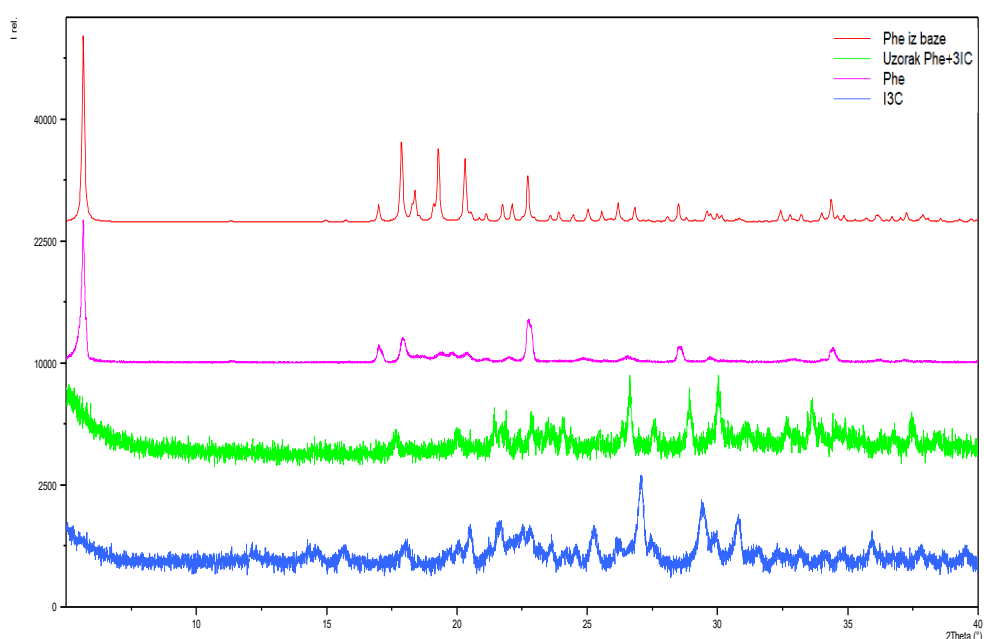
§ 4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu priređivali su se kokristali molekule **I3C** i odabranih aminokiselina. Kokristali su priređivani otopinskim i mehanokemijskim postupcima sinteze. Za otopinske sinteze kao otapalo je korištena voda za aminokiseline i otapala navedena u Tablici 5 za **I3C**, a za mehanokemijske sinteze potpomognute otapalom koristio se samo etanol. Od aminokiselina s aromatskim bočnim ograncima (kao što su L-histidin, L-tirozin, L-fenilalanin i L-triptofan) treba napomenuti da je uspješno dobiven jedinični kokristal samo između aminokiseline histidin i molekule **I3C** postupkom otopinske sinteze u metanolu. Ostale aminokiseline uz promjene reakcijskih uvjeta (kao što su omjer **I3C** i aminokiselina te otapalo) nisu pokazale uspješnu kokristalizaciju s navedenim derivatom izoftalne kiseline u otopini. Za karakterizaciju dobivenog monokristala i određivanje njegove molekulske i kristalne strukture korištena je metoda difrakcije rendgenskog zračenja (SCXRD), a dobiveni kristalografski podaci navedeni su u Tablicama 14 i 16.

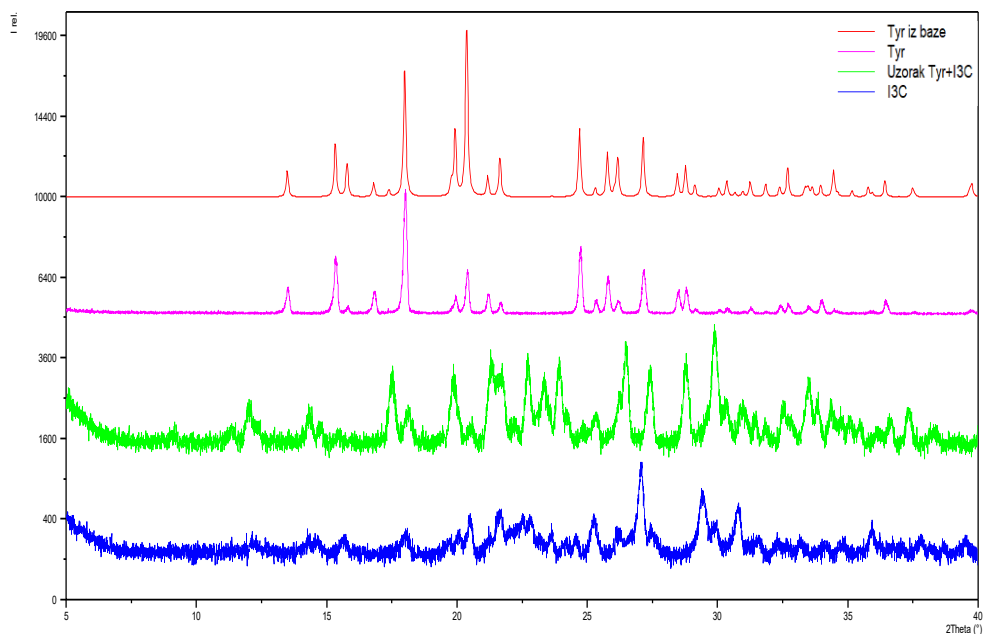
Mehanokemijskom sintezom priređeni su kokristali sa svih 20 standardnih aminokiselina i molekulom **I3C**. Dobiveni praškasti uzorci podvrgnuti su difrakciji rendgenskim zračenjem te se na dobivenim difraktogramima praha mogu uočiti dobivene nove faze za korištene standardne aminokiseline (slike 17-34). Otapanjem praškastih uzoraka nisu dobiveni monokristalni uzorci za analizu te je bila neuspješna karakterizacija nastalih faza i određivanje njihove molekulske i kristalne strukture. Također je uz PXRD kao metode karakterizacije polikristalnih uzoraka korištena i IR spektroskopija u analizi (IR spektri u dodatku). Analizom praškastih uzoraka IR spektroskopijom uočene su neke karakteristične vrpce za dobivene uzorke kao što su C–H istežanja kod nekih alifatskih aminokiselina u području od 2850-2950 cm^{-1} , područje od 1400-1600 cm^{-1} karakteristično je za aromatske aminokiseline, kod polarnih aminokiselina uočavamo O–H vrpce u području od 3200-3600 cm^{-1} te karboksilne i amino skupine u području od 2500 do 3500 cm^{-1} . U IR spektrima dolazi do preklapanja većine vrpca između aminokiselina i **I3C** te se IR spektroskopija nije pokazala kao najbolji izbor identifikacije za ove sustave.

Difrakcijom rendgenskog zračenja na polikristalnom uzorku se može provjeriti čistoća uzorka i odrediti koje su faze u njemu prisutne te je ova metoda vrlo korisna jer se pomoću nje može napraviti usporedba difraktograma praškastih uzoraka s difraktogramima polaznih

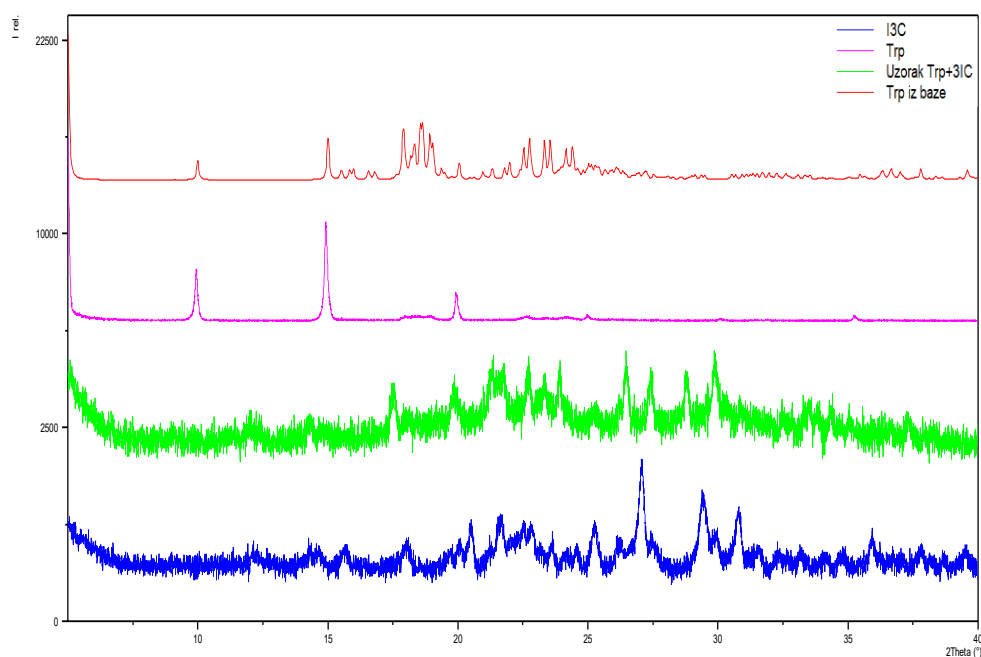
reaktanata te s difraktogramima uzetih iz baze podataka. Ovdje su uspoređeni difraktogrami uzorka dobivenih mehanokemijskom sintezom (**I3C** + određena aminokiselina) s difraktogramima određenih aminokiselina korištenih u eksperimentima te uzetih iz baze podataka i samim difraktogramom **I3C** kiseline korištene u eksperimentima, kakao bi se bolje utvrdila točnost i preklapanje prahova. Usporedba prahova za sve standardne aminokiseline prikazana je na slikama 17-34.



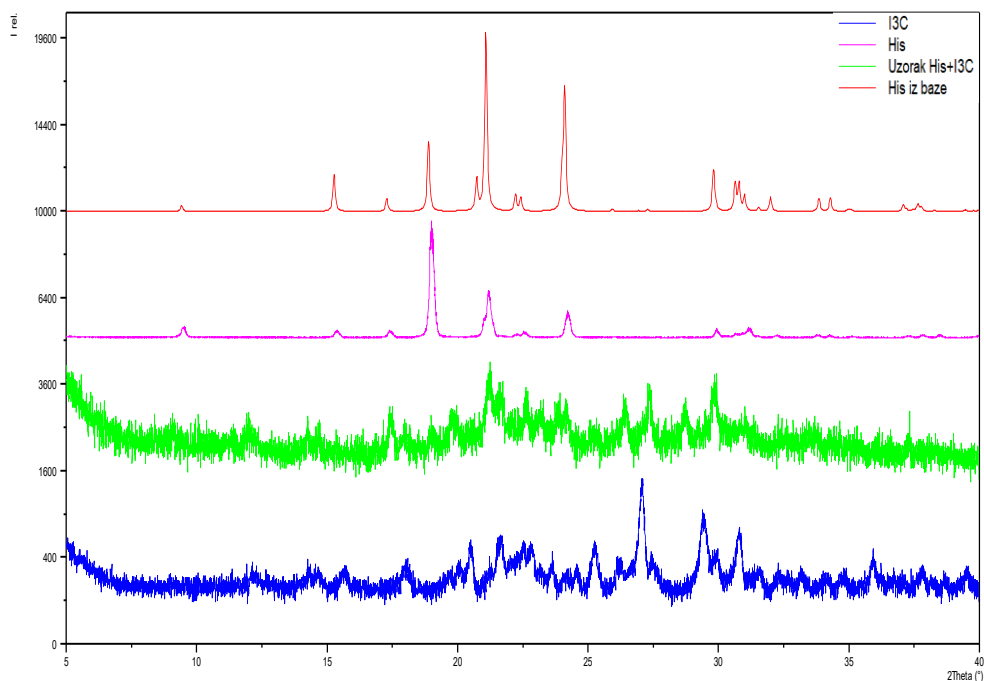
Slika 17. Difraktogram uzorka dobivenog mehanokemijskom sintezom (**I3C** + L-Phe) označen je zelenom bojom, plavom bojom prikazan je difraktogram **I3C** kiseline te su rožom i crvenom bojom (L-Phe iz baze podataka) prikazani prahovi aminokiseline L-fenilalanin.



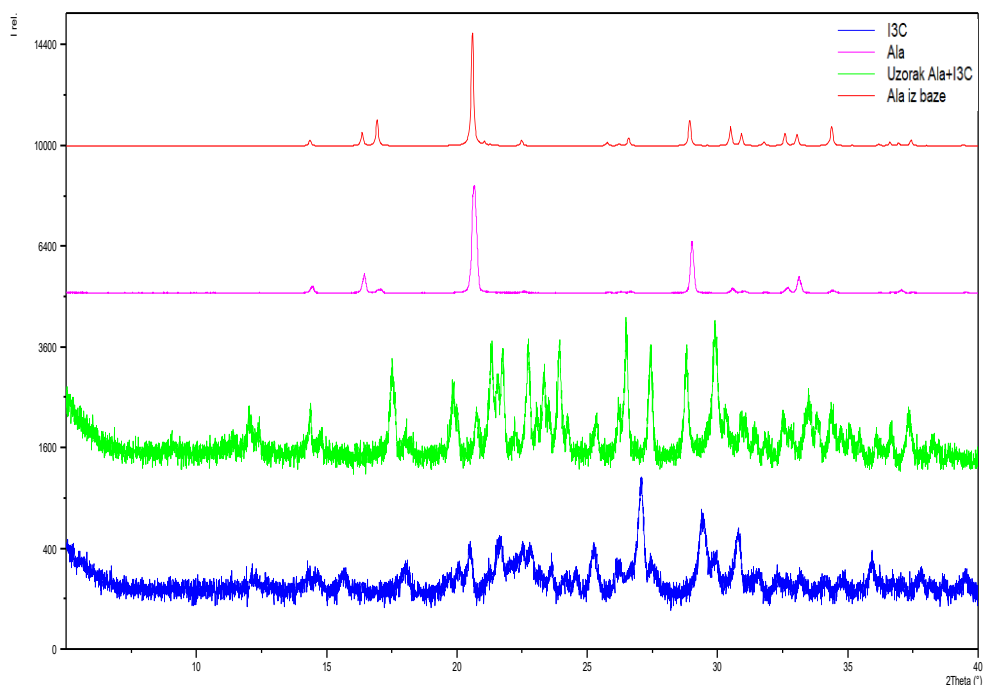
Slika 18. Difraktogram uzorka dobivenog mehanokemijskom sintezom (**I3C** + L-Tyr) označen je zelenom bojom, plavom bojom prikazan je difraktogram **I3C** kiseline te su rozom i crvenom bojom (L-Tyr iz baze podataka) prikazani prahovi aminokiseline L-tirozin.



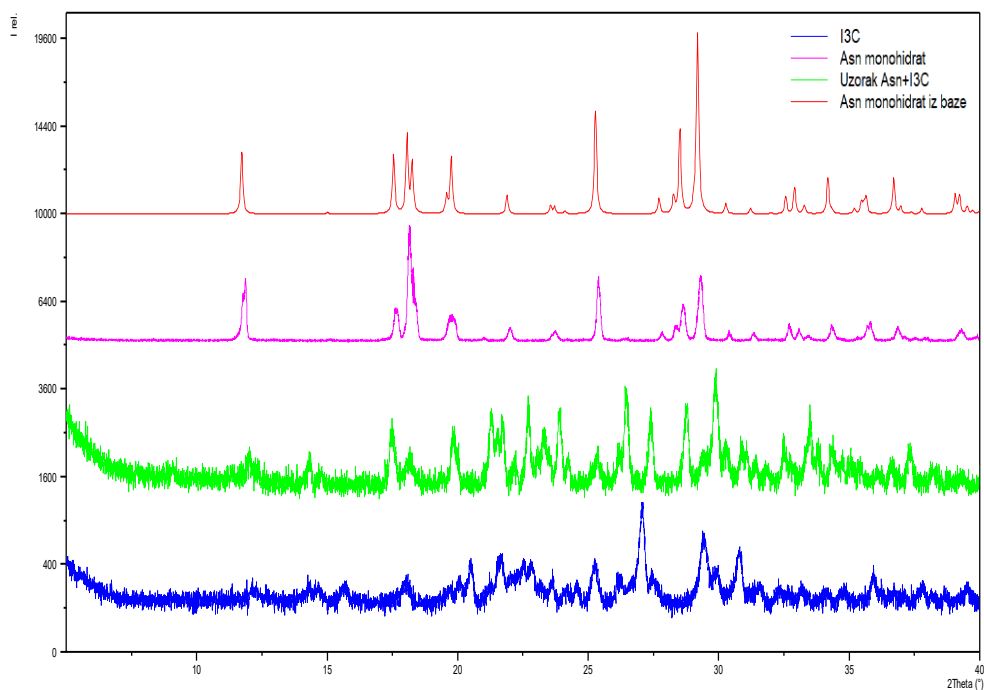
Slika 19. Difraktogram uzorka dobivenog mehanokemijskom sintezom (**I3C** + L-Trp) označen je zelenom bojom, plavom bojom prikazan je difraktogram **I3C** kiseline te su rozom i crvenom bojom (L-Trp iz baze podataka) prikazani prahovi aminokiseline L-triptofan.



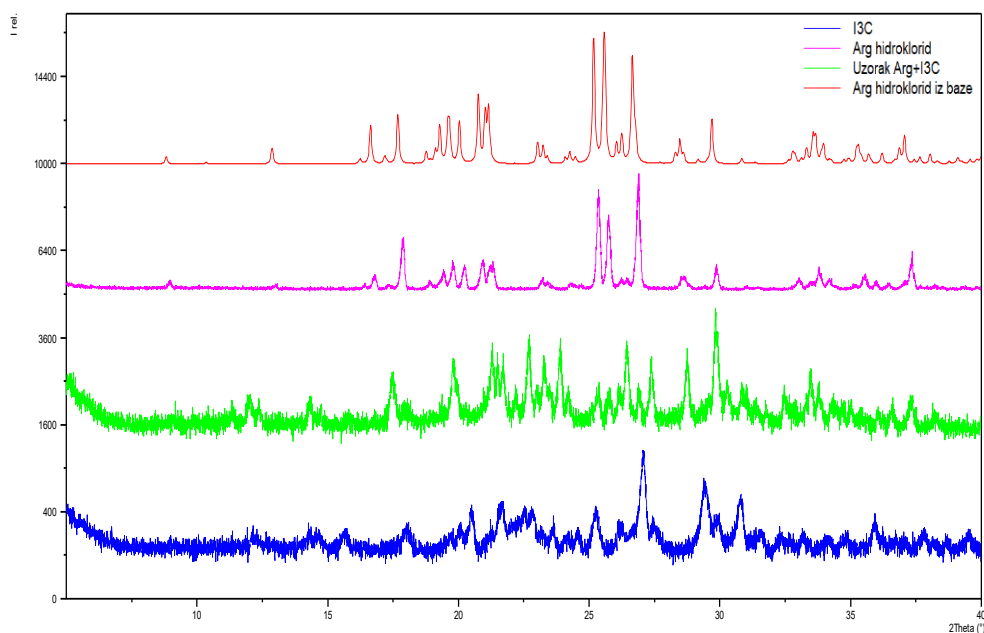
Slika 20. Difraktogram uzorka dobivenog mehanokemijskom sintezom (**I3C** + L-His) označen je zelenom bojom, plavom bojom prikazan je difraktogram **I3C** kiseline te su rozom i crvenom bojom (L-His iz baze podataka) prikazani prahovi aminokiseline L-histidin.



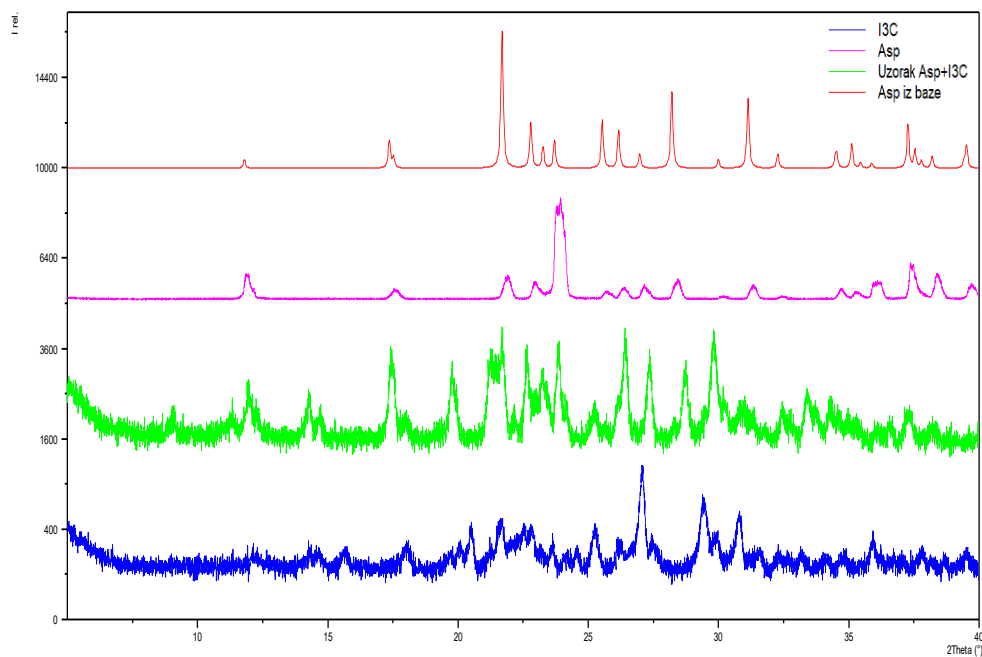
Slika 21. Difraktogram uzorka dobivenog mehanokemijskom sintezom (**I3C** + L-Ala) označen je zelenom bojom, plavom bojom prikazan je difraktogram **I3C** kiseline te su rozom i crvenom bojom (L-Ala iz baze podataka) prikazani prahovi aminokiseline L-alanin.



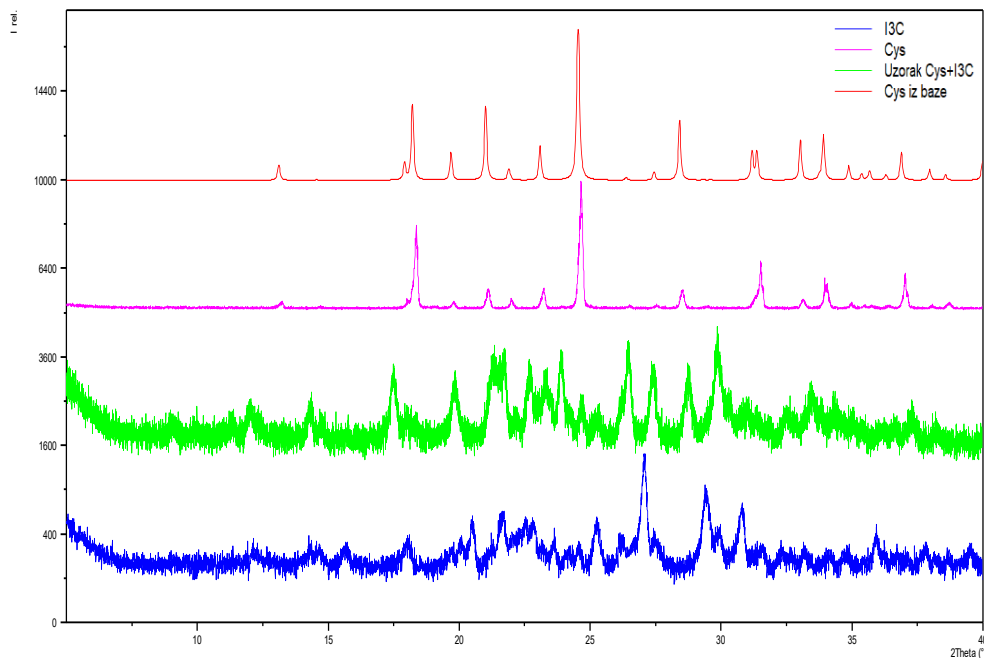
Slika 22. Difraktogram uzorka dobivenog mehanokemijskom sintezom (**I3C** + L-Asn) označen je zelenom bojom, plavom bojom prikazan je difraktogram **I3C** kiseline te su rozom i crvenom bojom (L-Asn iz baze podataka) prikazani prahovi aminokiseline L-asparagin.



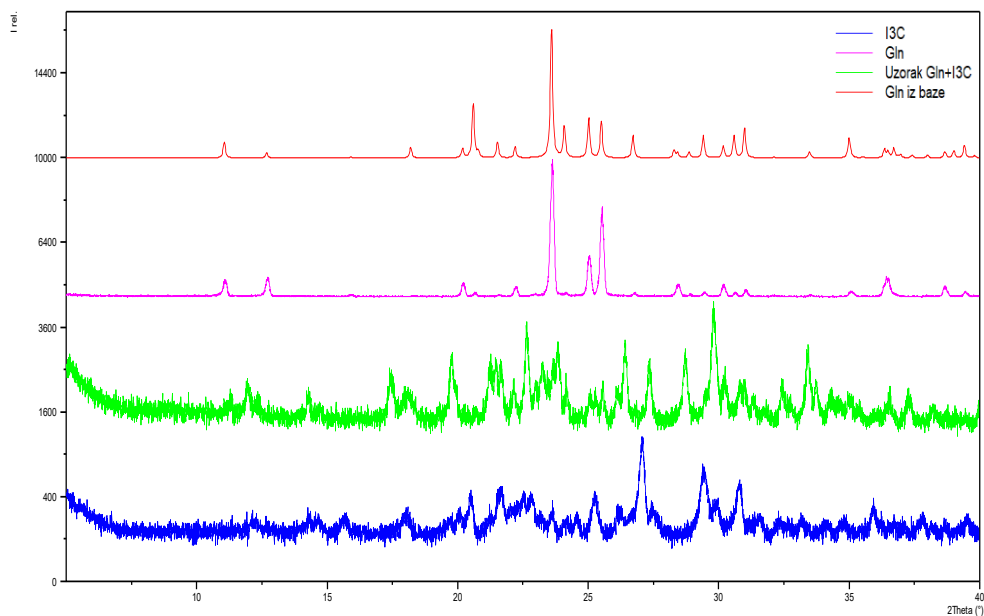
Slika 23. Difraktogram uzorka dobivenog mehanokemijskom sintezom (**I3C** + L-Arg) označen je zelenom bojom, plavom bojom prikazan je difraktogram **I3C** kiseline te su rozom i crvenom bojom (L-Arg iz baze podataka) prikazani prahovi aminokiseline L-arginin.



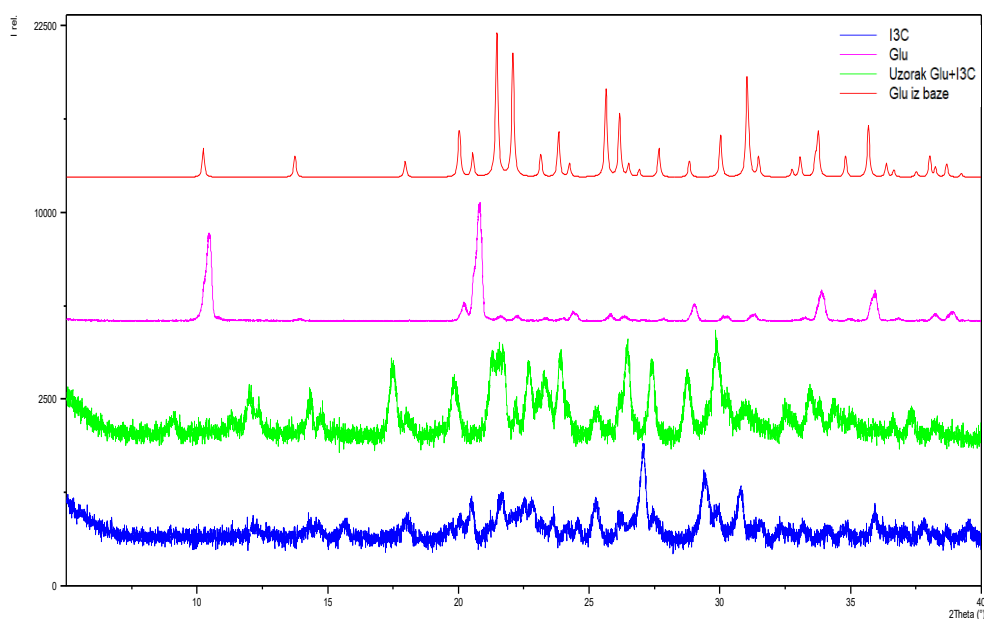
Slika 24. Difraktogram uzorka dobivenog mehanokemijskom sintezom (**I3C** + L-Asp) označen je zelenom bojom, plavom bojom prikazan je difraktogram **I3C** kiseline te su rozom i crvenom bojom (L-Asp iz baze podataka) prikazani prahovi aminokiseline L-asparatat.



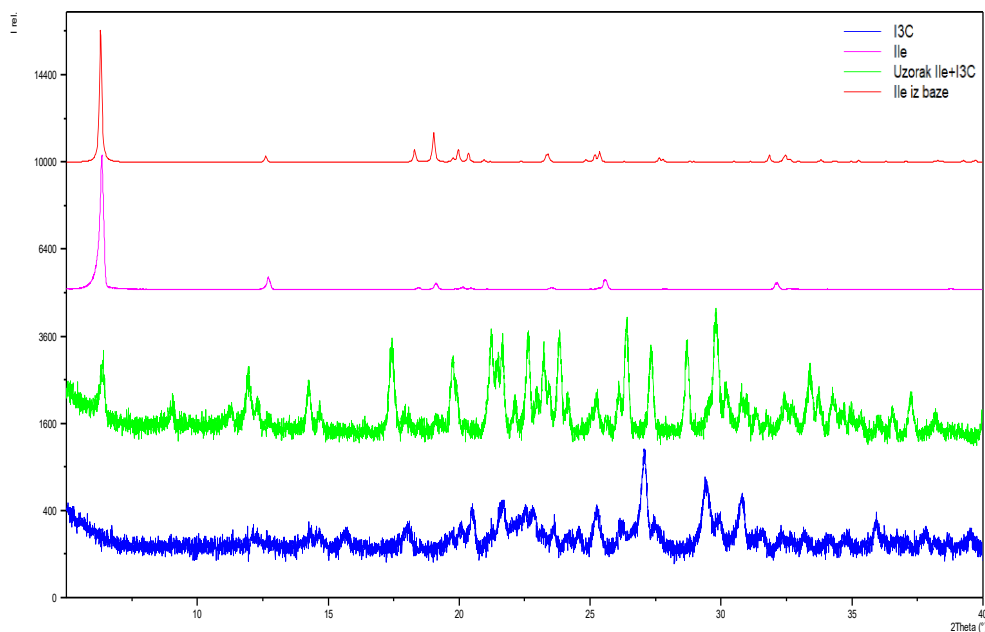
Slika 25. Difraktogram uzorka dobivenog mehanokemijskom sintezom (**I3C** + L-Cys) označen je zelenom bojom, plavom bojom prikazan je difraktogram **I3C** kiseline te su rozom i crvenom bojom (L-Cys iz baze podataka) prikazani prahovi aminokiseline L-cistein.



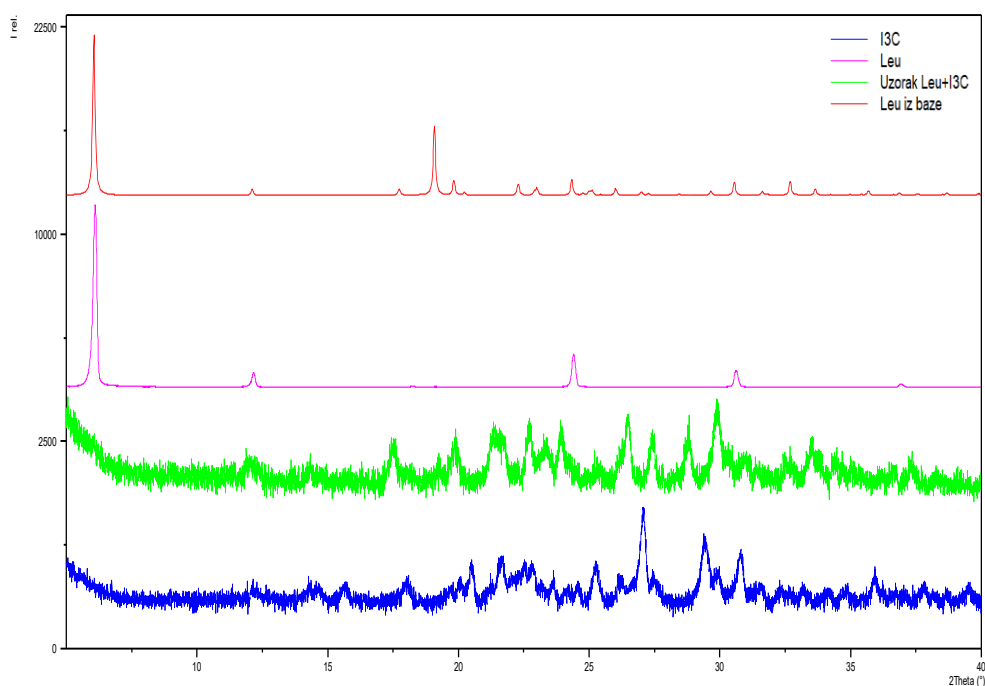
Slika 26. Difraktogram uzorka dobivenog mehanokemijskom sintezom (**I3C** + L-Gln) označen je zelenom bojom, plavom bojom prikazan je difraktogram **I3C** kiseline te su rozom i crvenom bojom (L-Gln iz baze podataka) prikazani prahovi aminokiseline L-glutamin.



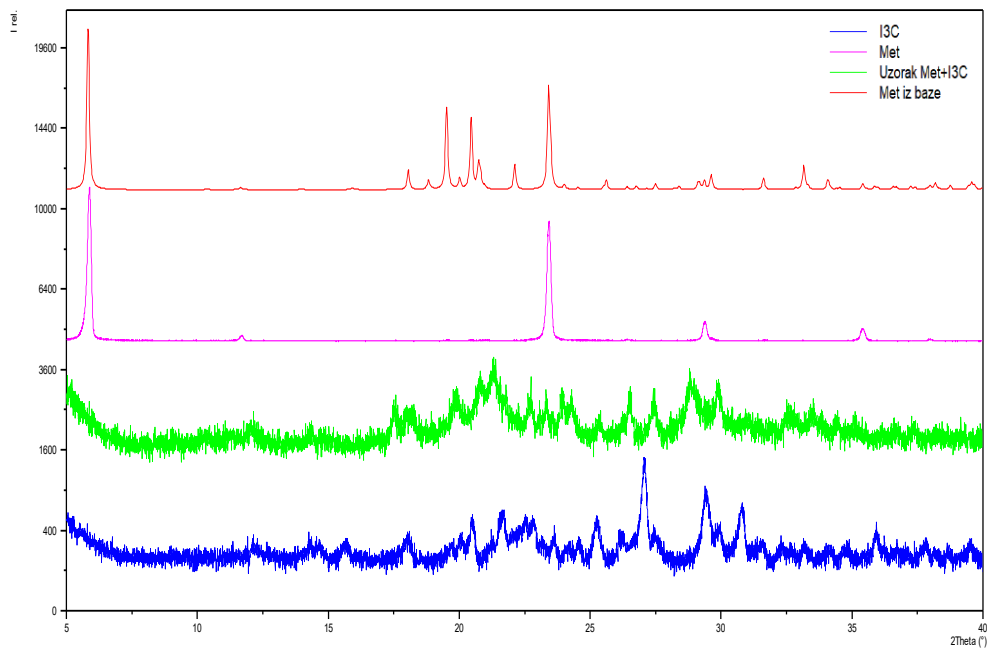
Slika 27. Difraktogram uzorka dobivenog mehanokemijskom sintezom (**I3C** + L-Glu) označen je zelenom bojom, plavom bojom prikazan je difraktogram **I3C** kiseline te su rozom i crvenom bojom (L-Glu iz baze podataka) prikazani prahovi aminokiseline L-glutamat.



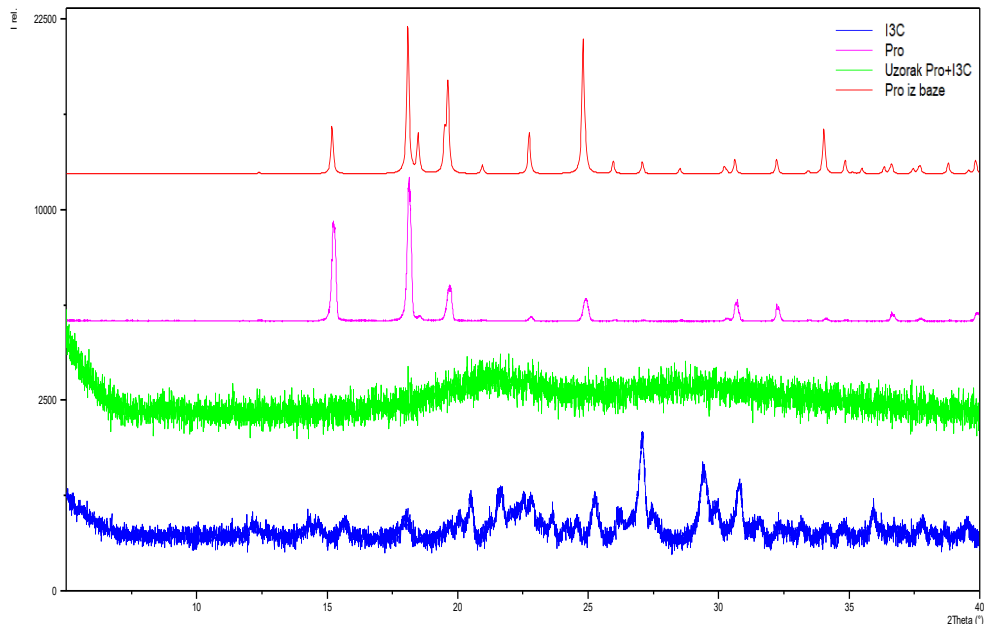
Slika 28. Difraktogram uzorka dobivenog mehanokemijskom sintezom (**I3C** + L-Ile) označen je zelenom bojom, plavom bojom prikazan je difraktogram **I3C** kiseline te su rozom i crvenom bojom (L-Ile iz baze podataka) prikazani prahovi aminokiseline L-izoleucin.



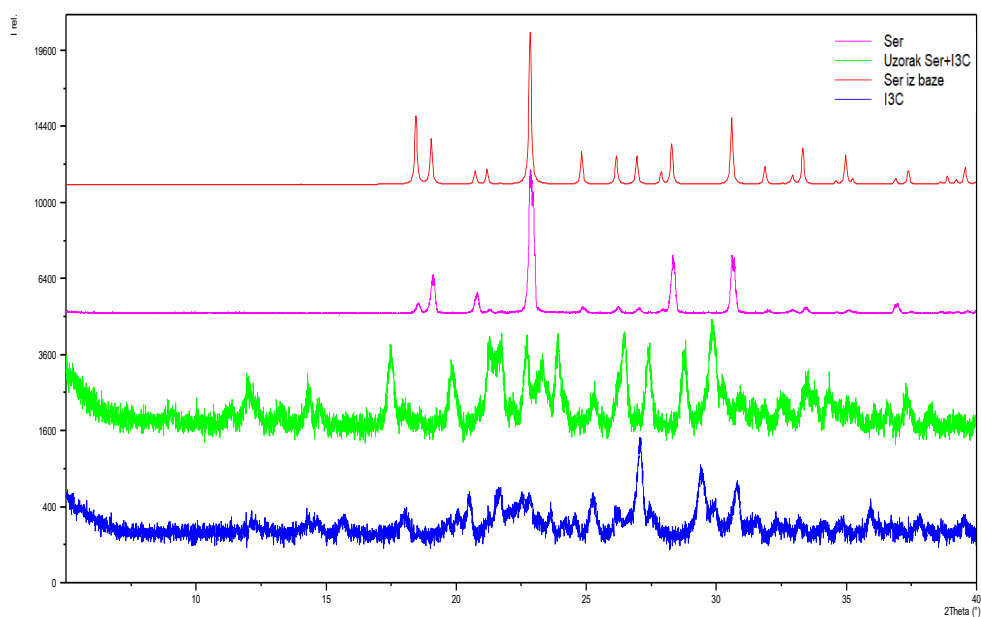
Slika 29. Difraktogram uzorka dobivenog mehanokemijskom sintezom (**I3C** + L-Leu) označen je zelenom bojom, plavom bojom prikazan je difraktogram **I3C** kiseline te su rozom i crvenom bojom (L-Leu iz baze podataka) prikazani prahovi aminokiseline L-leucin.



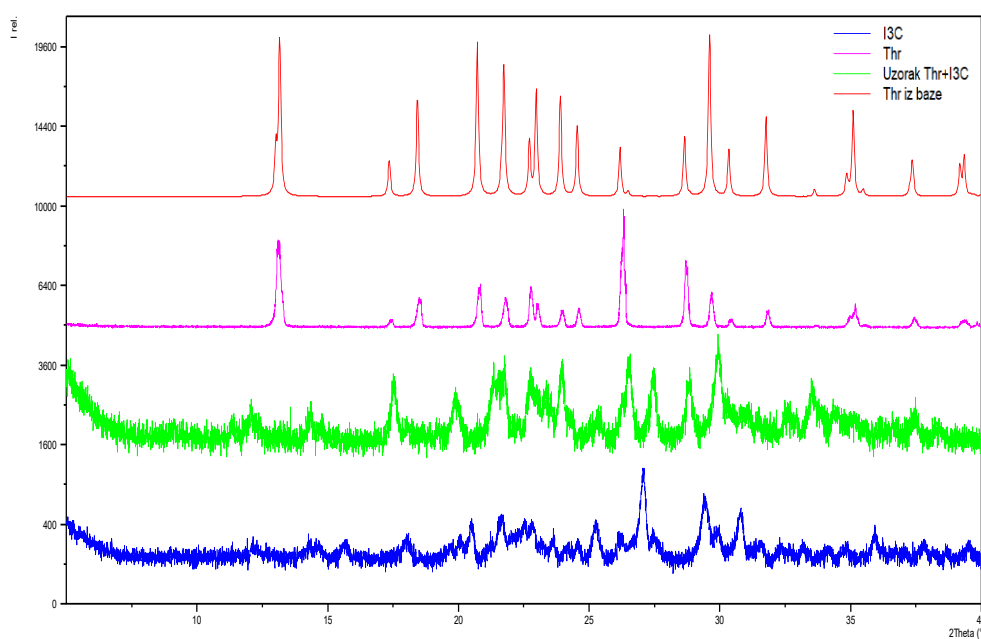
Slika 30. Difraktogram uzorka dobivenog mehanokemijskom sintezom (**I3C** + L-Met) označen je zelenom bojom, plavom bojom prikazan je difraktogram **I3C** kiseline te su rožom i crvenom bojom (L-Met iz baze podataka) prikazani prahovi aminokiseline L-metionin.



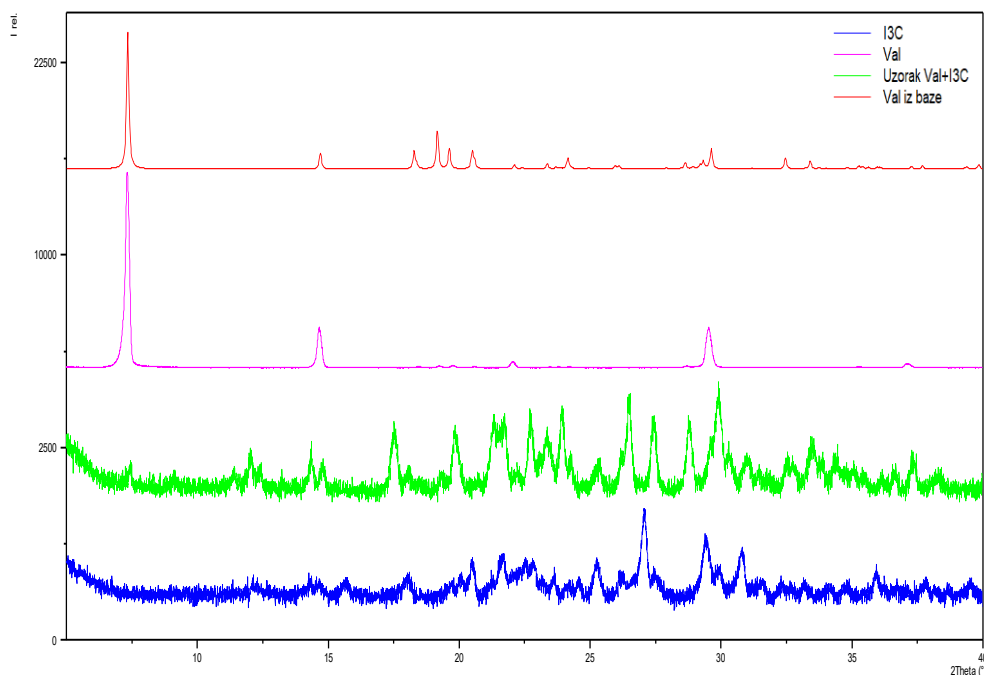
Slika 31. Difraktogram uzorka dobivenog mehanokemijskom sintezom (**I3C** + L-Pro) označen je zelenom bojom, plavom bojom prikazan je difraktogram **I3C** kiseline te su rožom i crvenom bojom (L-Pro iz baze podataka) prikazani prahovi aminokiseline L-prolin.



Slika 32. Difraktogram uzorka dobivenog mehanokemijskom sintezom (**I3C** + L-Ser) označen je zelenom bojom, plavom bojom prikazan je difraktogram **I3C** kiseline te su rozom i crvenom bojom (L-Ser iz baze podataka) prikazani prahovi aminokiseline L-serin.



Slika 33. Difraktogram uzorka dobivenog mehanokemijskom sintezom (**I3C** + L-Thr) označen je zelenom bojom, plavom bojom prikazan je difraktogram **I3C** kiseline te su rozom i crvenom bojom (L-Thr iz baze podataka) prikazani prahovi aminokiseline L-treonin.



Slika 34. Difraktogram uzorka dobivenog mehanokemijskom sintezom (**I3C** + L-Val) označen je zelenom bojom, plavom bojom prikazan je difraktogram **I3C** kiseline te su rozom i crvenom bojom (L-Val iz baze podataka) prikazani prahovi aminokiseline L-valin.

Usporedbom difraktograma na slikama 17-34 može se vidjeti da se difraktogrami produkata ne preklapaju s difraktogramima polaznih spojeva, osim difraktograma (eksperimentalno određenih i izračunatih) za korištene aminokiseline. Također, vidljivo je da u produktima (L-aminokiseline + **I3C**) nema prisutnih početnih aminokiselina (ako ih je zaostalo jako malo možda se neće moći detektirati uz razinu šuma). Izostanak pojedinih difrakcijskih maksimuma **I3C** kiseline i nastanak novih u uzorku ukazuje na postojanje nove faze.

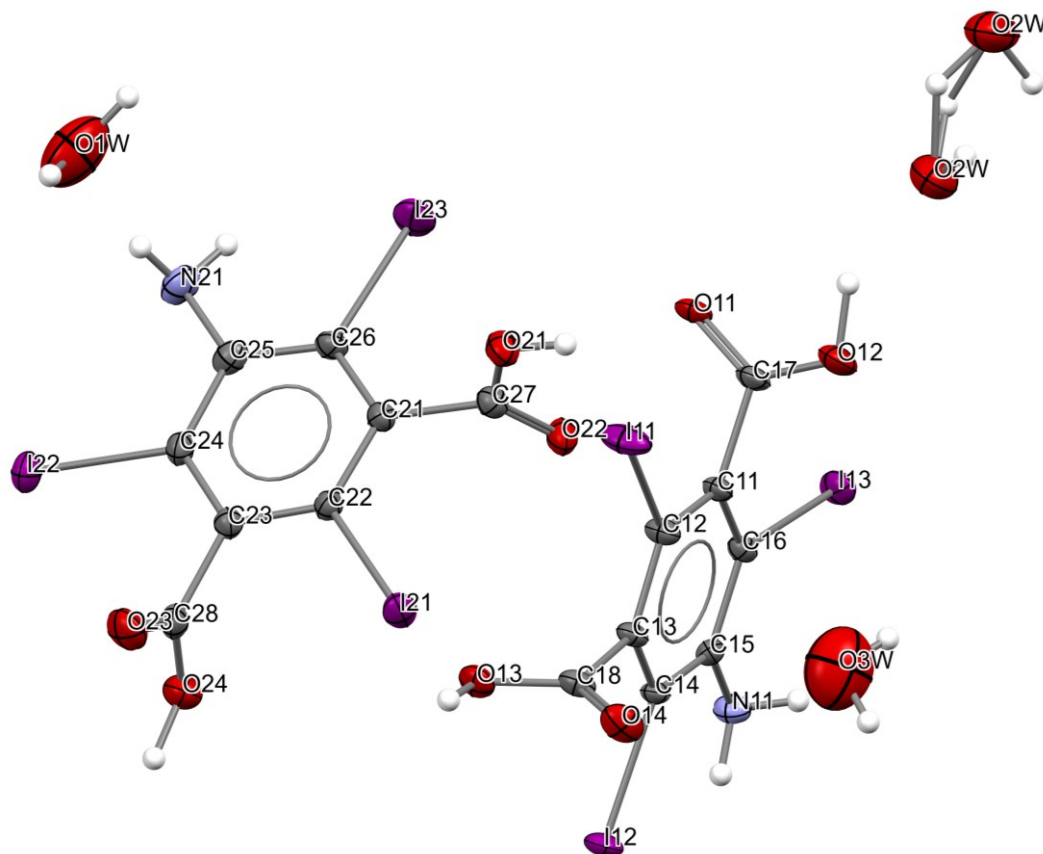
Pomoću prikupljenih difrakcijskih podataka s jediničnog kristala polaznog spoja derivata izoftalne kiseline, **I3C**, potvrđeno je postojanje drugog solvata čiji su kristalografski podaci i duljine relevantnih veza navedeni u Tablicama 13. i 15. Usporedbom novoodređene strukture polaznog spoja **I3C** i strukture iz baze podataka CSD može se zaključiti da je nastala nova forma, solvat koji se još naziva i seskvihidrat. Asimetrična jedinica novog solvata sastoji se od dvije molekule **I3C** i tri molekule vode (1,5 molekula vode po molekuli **I3C**), što se može vidjeti na slici 35. Spoj kristalizira u monoklinskoj prostornoj grupi: $P2/c$ s formulom $(C_8H_4I_3NO_4)_2(H_2O)_3$. S druge strane, solvat uzet iz baze podataka, za usporedbu, sastoji se od jedne molekule **I3C** (s jednom molekulom vode) te kristalizira u prostornoj grupi rompskog sustava $Pbca$ s formulom: $(C_8H_4I_3NO_4)(H_2O)$.

Tablica 14. Osnovni kristalografski podaci za dobiveni novi solvat polaznog spoja I3C.

Empirijska formula	(C₈H₄I₃NO₄)₂(H₂O)₃
Molekulska masa / g mol⁻¹	1171, 69
Temperatura / K	169,99(10)
Prostorna grupa	<i>P2/c</i>
Kristalni sustav	monoklinski
<i>a</i> / Å	14.9984(2)
<i>b</i> / Å	13.1418(2)
<i>c</i> / Å	17.3110(2)
α / °	90
β / °	100.4010(10)
γ / °	90
<i>V</i> / Å³	3356,03(8)
<i>Z</i>	4
ρ / g cm⁻³	2,319
<i>F</i>(000)	2120,0
μ / mm⁻¹	5,598
λ / Å	0,71073
2θ / °	5,034 – 50,998
Raspon Millerovih indeksa	$-18 \leq h \leq 18$ $-15 \leq k \leq 15$ $-20 \leq l \leq 20$
Ukupan broj prikupljenih refleksa	81886
Broj neovisnih refleksa	6217 [<i>R</i> _{int} = 0,0370, <i>R</i> _{σ} = 0,0139]
Br. refleksa/ograničenja/parametri	6217/8/304
Faktor slaganja, <i>S</i>	1.061
Faktori neslaganja [<i>I</i> ≥ 2σ(<i>I</i>)]	<i>R</i> ₁ = 0,0413, <i>wR</i> ₂ = 0,1119
Faktori neslaganja [svi podaci]	<i>R</i> ₁ = 0,0436, <i>wR</i> ₂ = 0,1136
Najveći ostatci u mapi elektronske gustoće / e / Å⁻³	2,58/–2,27

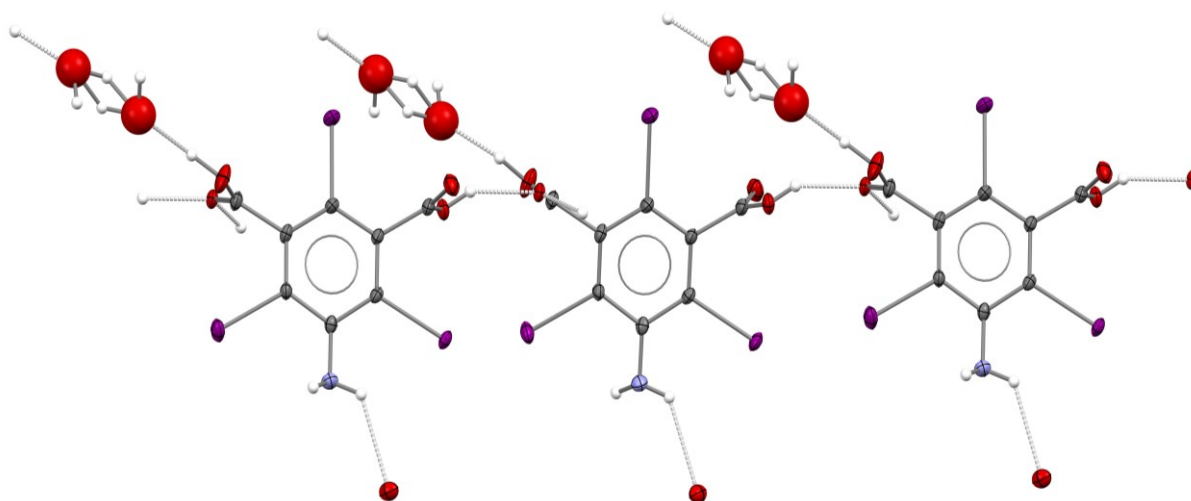
Tablica 15. Duljine veza u kristalnoj strukturi novog polimorfa polaznog spoja I3C.

Molekula 1			Molekula 2		
Atom 1	Atom 2	Duljina veza / Å	Atom 1	Atom 2	Duljina veza / Å
C11	C17	1,518(8)	C21	C26	1,391(9)
C12	C11	1,391(9)	C22	C21	1,397(9)
C12	C13	1,395(9)	C22	C23	1,384(9)
C13	C18	1,515(9)	C23	C24	1,401(9)
C14	C13	1,390(9)	C23	C28	1,507(10)
C14	C15	1,408(9)	C24	C25	1,415(10)
C15	C16	1,415(9)	C26	C25	1,397(10)
C16	C11	1,376(9)	C27	C21	1,509(9)
I11	C12	2,105(6)	I21	C22	2,097(6)
I12	C14	2,091(6)	I22	C24	2,100(7)
I13	C16	2,101(6)	I23	C26	2,089(7)
O11	C17	1,266(9)	O21	C27	1,319(9)
O12	C17	1,231(9)	O22	C27	1,207(8)
O13	C18	1,313(9)	O23	C28	1,248(10)
O14	C18	1,408(9)	O24	C28	1,267(9)
N11	C15	1,348(9)	N21	C25	1,374(9)

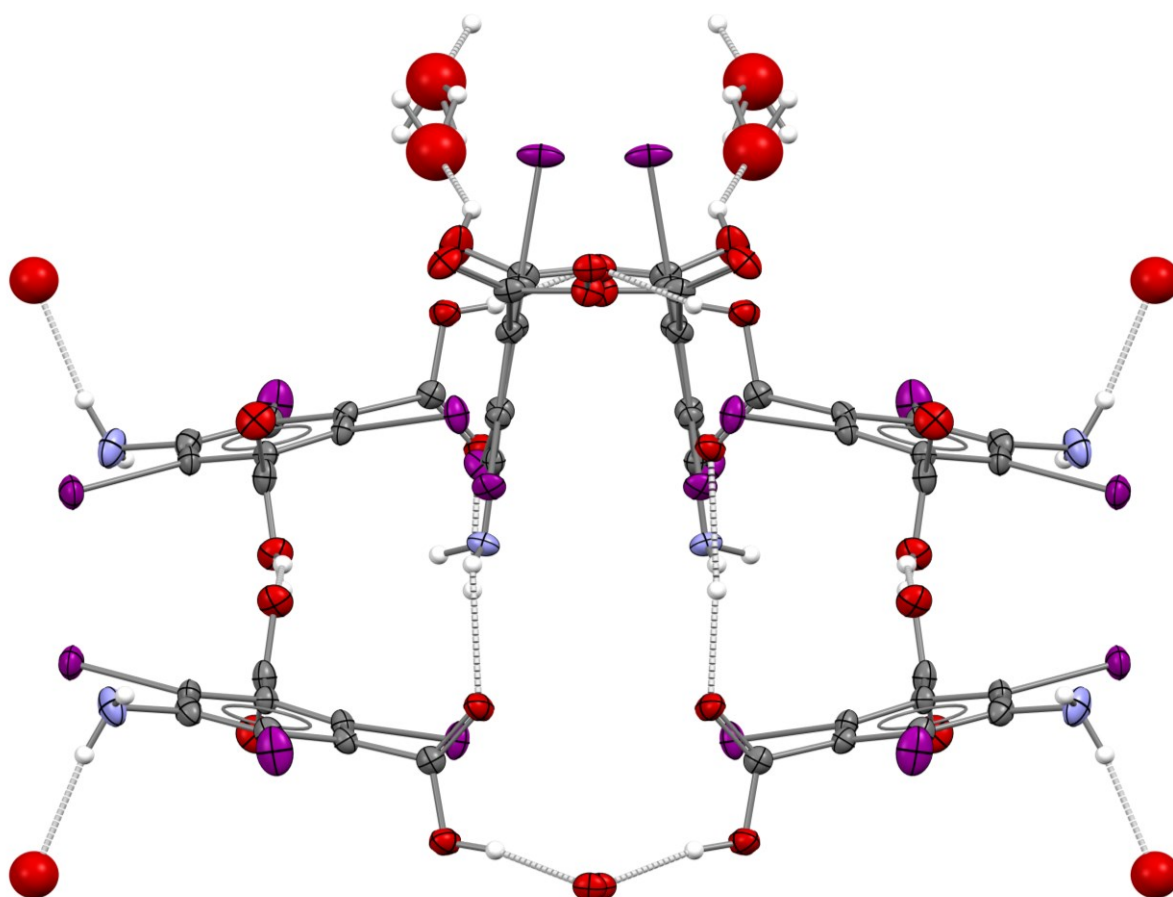


Slika 35. Prikaz dobivenog polimorfa **I3C**, građen od molekule 1 (s desne strane) i molekule 2 (s lijeve strane) uz tri molekule kristalizacijske vode.

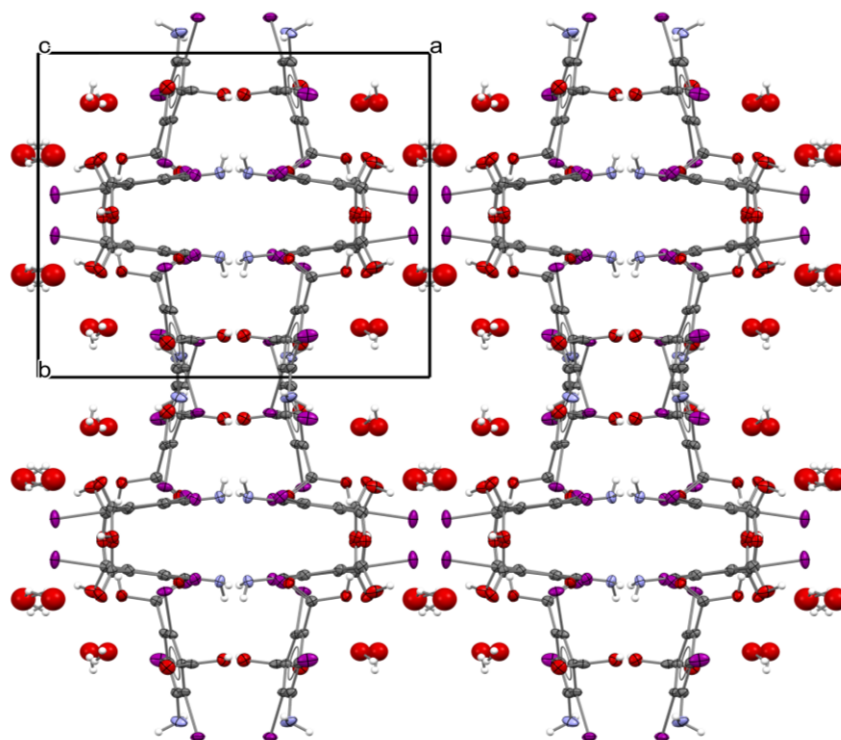
Na slici 36. možemo vidjeti povezivanje molekule 1 **I3C** dobivenog solvata. Molekule 1 **I3C** se međusobno povezuju vodikovim vezama između karboksilnih skupina C18 atoma molekule 1 i C17 atoma druge molekule 1. Također, može se vidjeti da su karboksilne skupine okomite na benzenski prsten. Na ovaj način molekule 1 se povezuju u lance molekula koji se šire u dva smjera s obzirom na molekulu 2 (slika 37). Nadalje, može se uočiti da osim povezivanja lanaca molekule 1 imamo i međusobno povezivanje molekula 1 i molekula 2 u solvatu. Dodatno povezivanje vodikovim vezama između amino skupine N11 atoma molekule 1 i karboksilne skupine C23 atoma molekule 2 je prikazano na slikama 37-38. S obzirom na to da je dobiveni spoj hidrat pronađene su i brojne vodikove veze između molekula vode međusobno i molekula vode i molekula **I3C**.



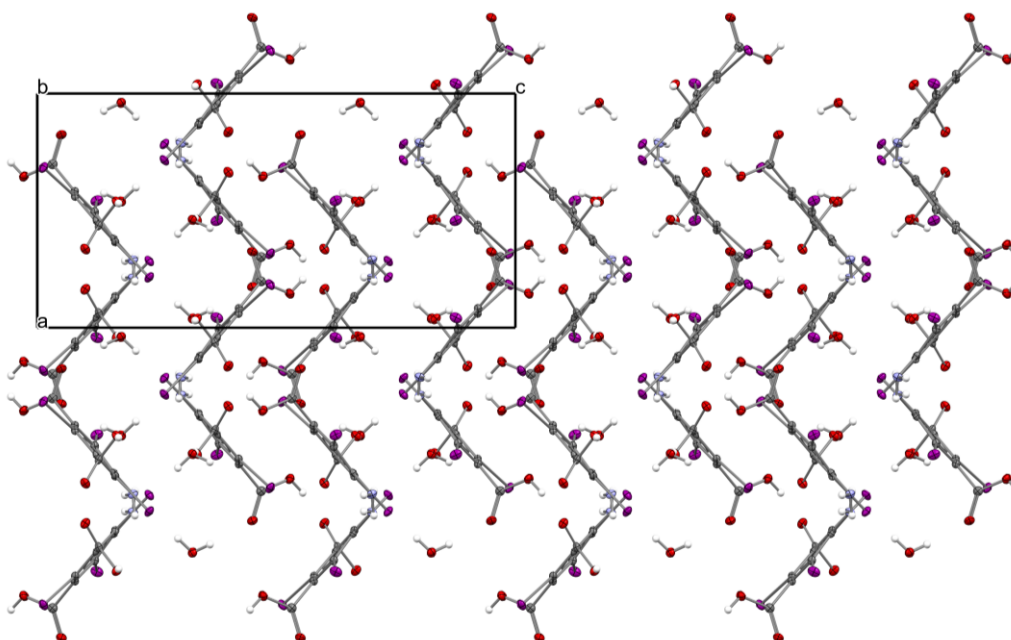
Slika 36. U novootkrivenom seskvihidratu, lanci molekula 1 **I3C** se povezuju u lance koji su paralelni na kristalografsku os *c*.



Slika 37. Lanci molekula 1 i 2 **I3C** se ipak malo razlikuju (lanac molekula 1 je pravocrtniji od lanca molekula 2). Prikazan je pogled na lanac molekula 2.

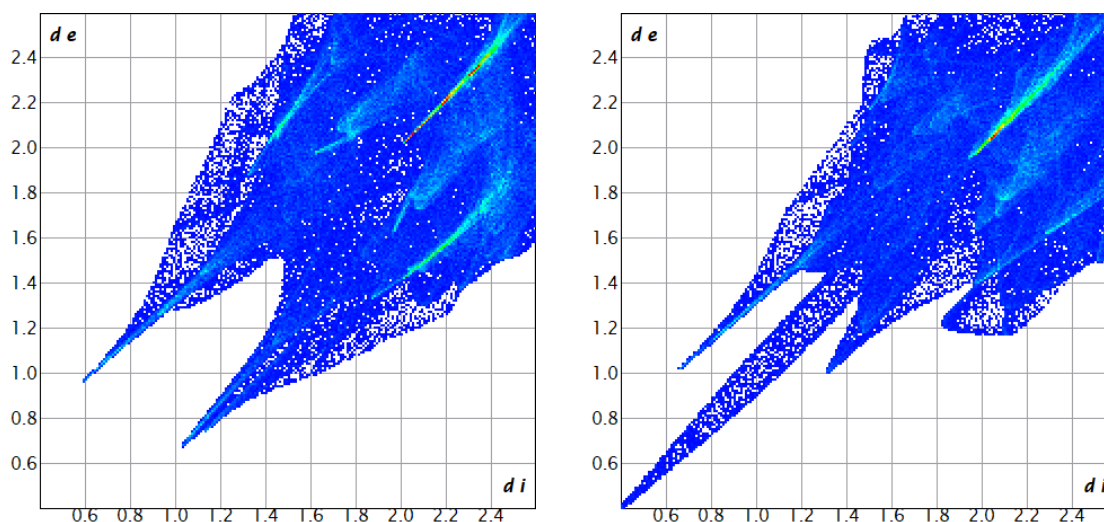


Slika 38. Kristalna struktura novog solvata **I3C** (prostorna grupa: $P2/c$). Pregled je projiciran duž kristalografske osi c .



Slika 39. Kristalna struktura prvog solvata **I3C** iz baze podataka (podatci su preuzeti iz CSD baze, kôd SOGGUR, prostorna grupa: Pbc_a). Pregled je projiciran duž kristalografske osi b .

Čak i letimičnom usporedbom kristalnih struktura vide se očite razlike (slike 38 i 39). Međutim, razlike u kristalnim strukturama mogu se analizirati pomoću izrade jedinstvenih “otisaka prstiju” (engl. *fingerprint plot*) koji se izvode iz Hirshfeldovih površina. Detaljnijim proučavanjem takvih površina može se dobiti bolji uvid u međumolekulske interakcije i njihov energijski doprinos u kristalnoj strukturi. Na slici 40 prikazani su dvodimenzijски dijagrami s pripadnim udaljenostima – atoma do površine, d_i i od površine do atoma u susjednoj molekuli, d_e . Sama asimetrija upućuje na razlike u interakcijama molekula.



Slika 40. Otisci prstiju dobiveni iz analizom Hirshfeldovih površina za poznati hidrat (CSD kôd SOGGUR; lijevo) i novi seskvihidrat (desno).

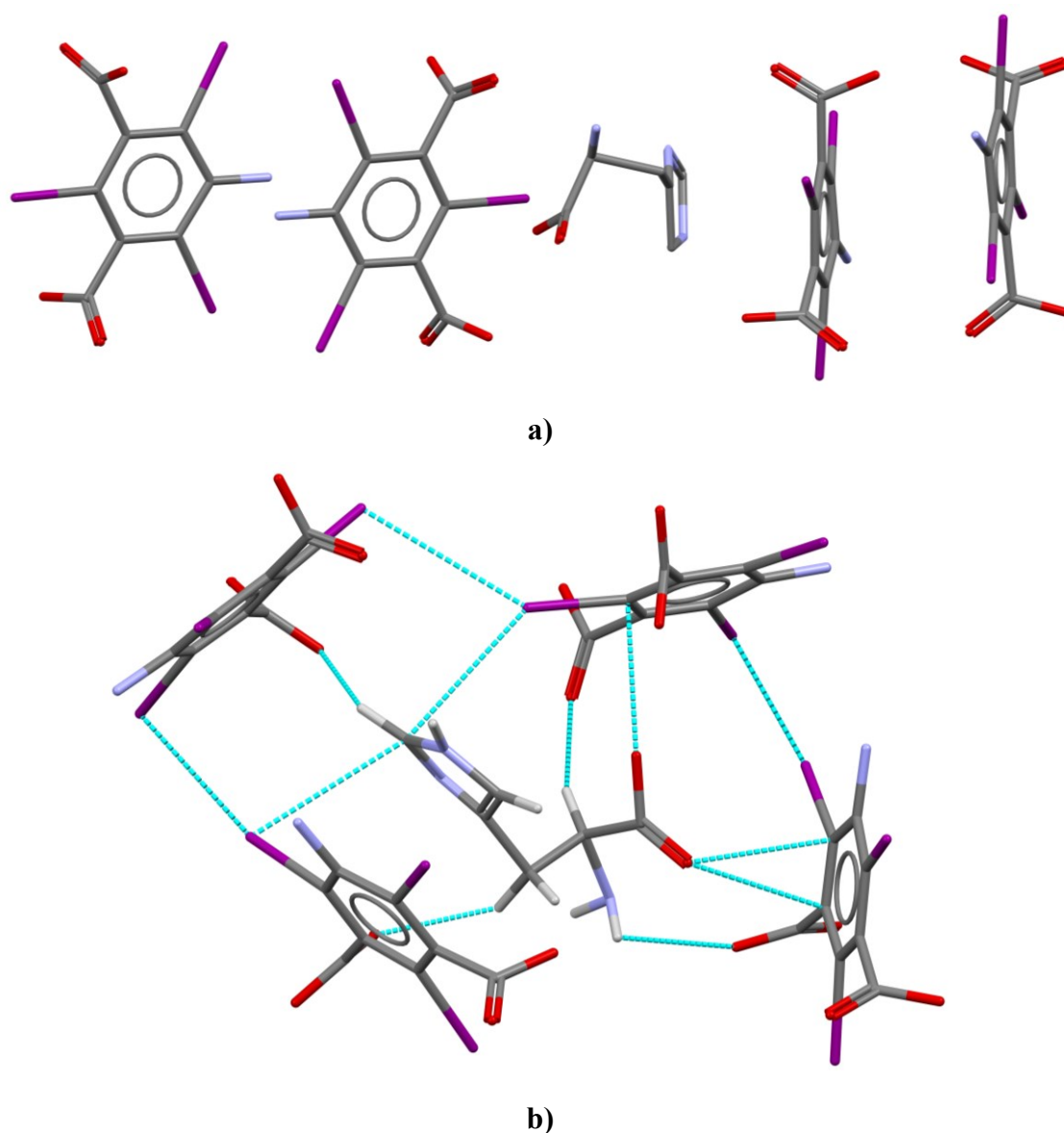
Kao što je već ranije bilo spomenuto, od aminokiselina s aromatskim bočnim ograncima (kao što su L-histidin, L-tirozin, L-fenilalanin i L-triptofan) jedinični kristal je dobiven samo iz metanolne otopine histidina i **I3C**. Dobiveni kristali su bili dovoljne kvalitete za određivanje kristalne i molekulske strukture, ali ipak nedovoljne da bi se moglo sa sigurnošću raspravljati o detaljima. Dobiveni spoj kristalizira u rompskom sustavu, prostorna grupa $P2_12_12_1$, a u asimetričnoj jedinici prisutne su četiri molekule **I3C** i jedna molekula histidina. Očekivano, spoj kristalizira u necentreosimetričnoj prostornoj grupi jer je jedan od konstituenata, L-histidin (i korišten je kao enantiomerno čist od početka). Osnovni kristalografski parametri navedeni su u tablici 16.

Tablica 16. Osnovni kristalografski podaci za kokristal L-histidina i **I3C**.

Temperatura / K	169,99(10)
Prostorna grupa	$P2_12_12_1$
Kristalni sustav	rompski
$a / \text{Å}$	13,5443(2)
$b / \text{Å}$	17,8519(2)
$c / \text{Å}$	27,4028(4)
$\alpha / ^\circ$	90
$\beta / ^\circ$	90
$\gamma / ^\circ$	90
$V / \text{Å}^3$	6625,76(16)
Z	4
$\rho / \text{g cm}^{-3}$	2,333
$F(000)$	4152,0
μ / mm^{-1}	44,529
$\lambda / \text{Å}$	0,71073
$2\theta / ^\circ$	5,908 – 131,974
Raspon Millerovih indeksa	$-16 \leq h \leq 16$
	$-12 \leq k \leq 21$
	$-31 \leq l \leq 32$
Ukupan broj prikupljenih refleksa	43086
Broj neovisnih refleksa	11508 [$R_{int} = 0,2790$, $R_\sigma = 0,1807$]
Br. refleksa/ograničenja/parametri	11508/156/133

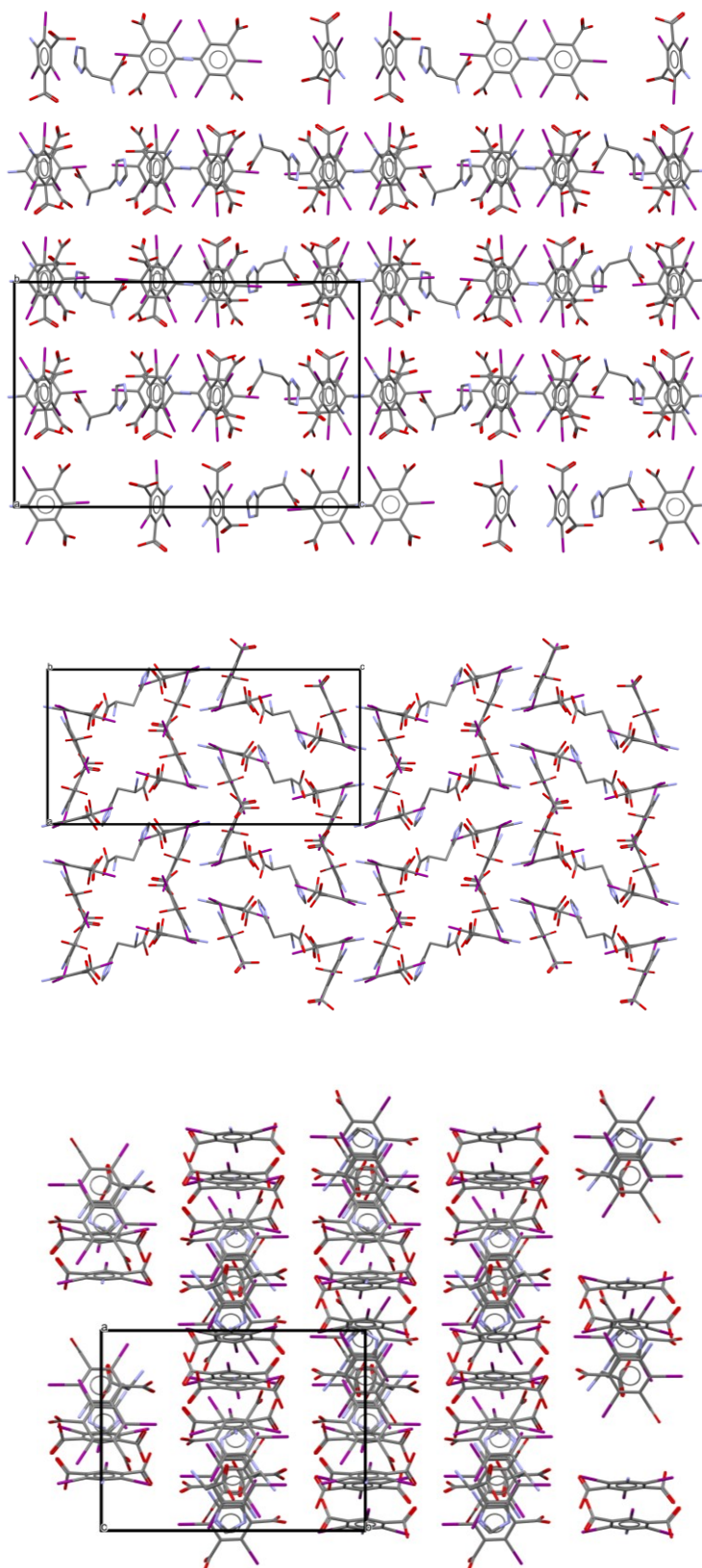
U kristalnoj strukturi molekula histidina okružena je četrima molekulama **I3C**. U svim molekulama **I3C** ravnina u kojoj se nalaze atomi iz karboksilne skupine okomita je na ravninu benzenskog prstena. Očekivano, molekula histidina uključena je mrežu vodikovih veza koristeći pritom karboksilnu i amino skupinu kao akceptore, odnosno donore vodikove veze. Preostale C–H skupine također sudjeluju u nešto slabijim vodikovim vezama C–H \cdots O=C tipa. Također, opaženi su kontakti prosječne duljine 3,6 Å koji su kraći od zbroja van der Waalsovih radijusa [I \cdots C (iz imidazolnog prstena bočnog ogranka histidina), slika 41]. Oba atoma kisika iz

karboksilne skupine histidina sudjeluju u interakcijama sa π -sustavima susjednih **I3C** molekula (prosječna udaljenost je 3,1 Å).



Slika 41. a) Prikaz asimetrične jedinice dobivenog kokristala. Atomi vodika nisu prikazani. **b)** Prikaz okruženja molekule histidina u kristalnoj strukturi. Kraći kontakti su prikazani kao niz valjaka.

Iako su sve četiri molekule **I3C** simetrijski neovisne, interakcije koje ostvaruju sa susjednim molekulama su slične. Osim dosad spomenutih, u kristalnoj strukturi pronađeni su kraći $I \cdots I$ i $I \cdots O$ kontakti. Njihove udaljenosti se nalaze u rasponu od 3,5 do 3,9 Å, odnosno od 2,8 i 3,1 Å i usporedive su s onima koje se mogu pronaći u bazi CSD. Kristalna struktura prikazana je na slici 42.



Slika 42. Kristalna struktura kokristala L-histidina i I3C prikazana duž kristalografske osi *a* (gore), *b* (sredina) i *c* (dolje). Molekule se pakiraju u slojeve koji su paralelni s *ac* ravninom.

§ 5. ZAKLJUČAK

Mehanokemijskom sintezom pripremljeni su mnogi novi spojevi **I3C** i standardnih aminokiselina. Dobiveni praškasti uzorci karakterizirani su pomoću difrakcije rendgenskim zračenjem na polikristalnom uzorku gdje se iz dobivenih difraktograma praha vidi nastanak novih spojeva. Svim dobivenim spojevima nije se mogla odrediti molekulska i kristalna struktura zbog nemogućnosti dobivanja monokristalnih uzoraka. Karakterizacija praškastih uzoraka pomoću IR spektroskopije također nije davala značajne podatke zbog preklapanja brojnih vrpca između standardnih aminokiselina i molekule **I3C** koja je također vrsta aminokiseline. Za otkrivanje i potvrdu molekulske i kristalne strukture dobivenih praškastih uzoraka potrebno je daljnje istraživanje – od novih kristalizacijskih tehnika do novih uvjeta kristalizacije (smjese otapala, koncentracije polaznih spojeva, temperatura).

Tijekom istraživanja i pripreve kokristala dobiven je novi solvat polaznog spoja **I3C** koji kristalizira u monoklinskom kristalnom sustavu s prostornom grupom *P2/c*. Spoj je seskvihidrat (omjer **I3C** : H₂O je 2 : 3). S obzirom na to da je dobiveni spoj vodom bogatiji od poznatog, kristalne strukture im se značajno razlikuju. U budućnosti bi trebalo istražiti međusobni odnos tih dvaju solvata, odnosno utvrditi može li se iz jednog direktno dobiti drugi.

Od aminokiselina s aromatskim bočnim ograncima (kao što su L-histidin, L-tirozin, L-fenilalanin i L-triptofan) jedinični kristal je dobiven samo iz metanolne otopine histidina i **I3C**. Dobiveni kristali su bili dovoljne kvalitete za određivanje kristalne i molekulske strukture, ali ipak nedovoljne da bi se moglo sa sigurnošću raspravljati o detaljima. Međutim, može se dobiti ideja o interakcijama među molekulama **I3C** i histidina, odnosno preferencijama molekula **I3C**. Ovo je istraživanje nedvojbeno pokazalo da, uza sve eksperimentalne probleme, postoji veliki potencijal u primjeni ovakvih istraživanja. Povećanjem broja istraženih sustava dobila bi se puno bolja slika o tome s kojim aminokiselinama **I3C** radije ostvaruje kontakte. Nadalje, otvaraju se i neki novi smjerovi istraživanja u kojima bi se kandidati za interakciju s **I3C** mogli tražiti među kompleksnim spojevima prijelaznih metala s aminokiselinama (na taj bi se način smanjio broj funkcijskih grupa koje sudjeluju u interakcijama s drugim molekulama – povećala bi se vjerojatnost interakcije bočnog ogranka aminokiselina s **I3C**, slično kako je i u proteinima).

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

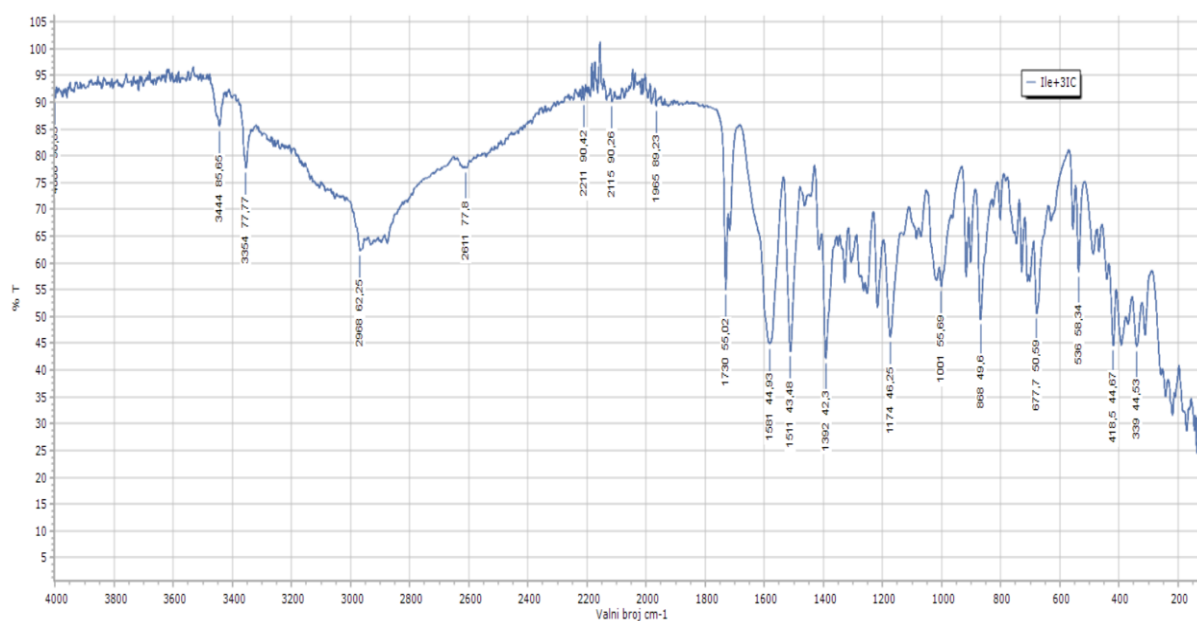
ATR	Prigušena totalna refleksija (od engl. <i>attenuated total reflectance</i>)
CSD	Cambridge Structural Database – kristalografska baza podataka
I3C	5-amino-2,4,6-trijodizoftalna kiselina
IR	Infracrvena spektroskopija
PDB	Protein Data Bank – proteinska baza podataka
PXRD,	Difrakcija na polikristalnom uzorku (od engl. <i>powder X-ray diffraction</i>)
SCXRD	Difrakcija na jediničnom kristalu (od engl. <i>single crystal X-ray diffraction</i>)

§ 7. LITERATURNI IZVORI

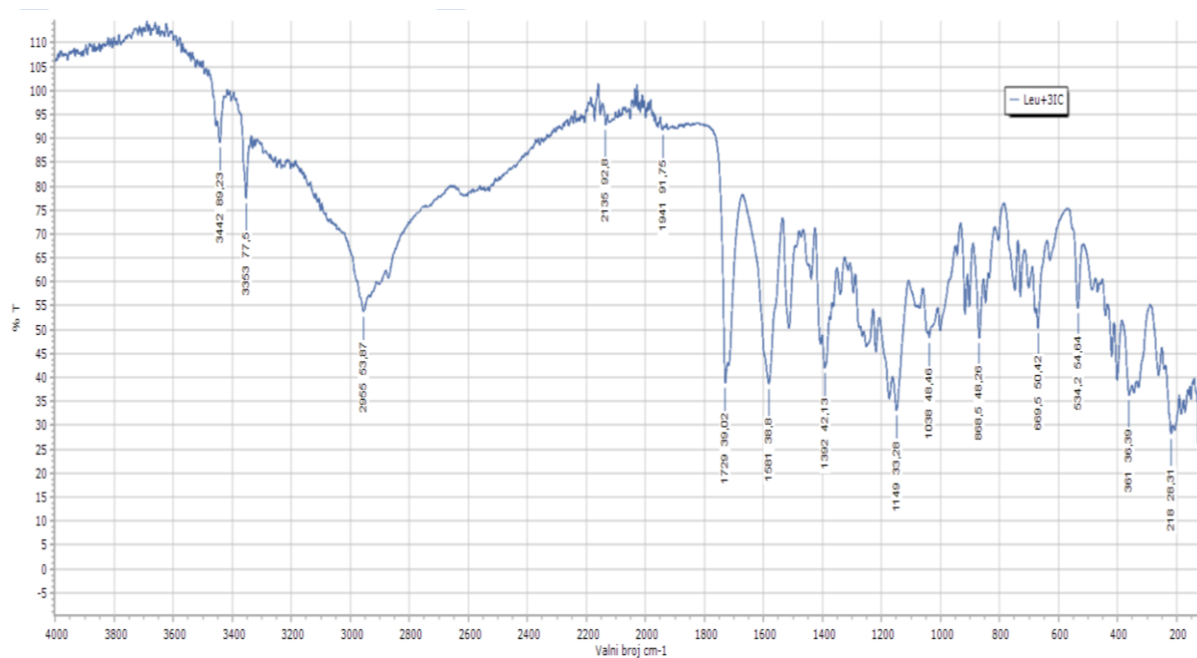
1. E. Oksanen, A. Goldman, *Comprehensive Natural Products III: Chemistry and Biology*, Elsevier, University of Helsinki, Finland, 2020, str. 312-343.
2. C. Giacovazzo (ur.), *Fundamentals of crystallography*, IUCr/Oxford University Press, New York, 2002, str. 683-698.
3. T. Beck, A. Krasauskas, T. Gruene, G. M. Sheldrick, *Acta Cryst.* **C64** (2008) 1179-1182.
4. M. Karimi-Jafari, L. Padrela, G. M. Walker, D. M. Croker, *Cryst. Growth Des.* **18** (2018) 6370-6387.
5. Hammond, *The Basics of Crystallography and Diffraction*, Fourth Edition, Oxford University Press, Oxford, 2015, str. 1-54.
6. C. R. Groom, I. J. Bruno, M. P. Lightfoot and S. C. Ward, *Acta Cryst.* **B72** (2016) 171-179.
7. <https://www.ccdc.cam.ac.uk/solutions/csd-core/components/csd/> (datum pristupa 9. srpnja 2022.)
8. C. B. Aakeröy, *Acta Cryst.* **B53**(4) (1997) 569-586.
9. C. Hammond, *The Basics of Crystallography and Diffraction*, Fourth Edition, Oxford University Press, Oxford, 2015, str. 210-280.
10. W. Clegg, *X-ray Crystallography*, Second Edition, Oxford University Press, Oxford, 2015, str. 1-69.
11. L. A. Bendersky, F. W. Gayle, *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.*, **106** (2001) 997-1012.
12. K. Steward, *technology networks-applied sciences* (2019) 1-17.
13. E. A. Adelberg, P. T. Magee, R. G. Martin, D. W. E. Smith, *McGraw Hill* (2014) 1-24. C.
14. L. G. Wade, *Organic Chemistry*, Pearson Education, United States, 2005, str. 169-430.
15. R. S. Cahn, C. K. Ingold, V. Prelog, *Angew. Chem. Int.* **5** (1966) 385.
16. E. Fischer, *Ber Dtsch. Chem. Ges.* **20** (1887) 821.
17. P. Stanić, *Jake međumolekulske interakcije – prema kovalentnoj vezi*, Kemijski seminar I, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2021, str. 8-18.
18. J. W. Steed, D. R. Turner, K. J. Wallace, *Core Concepts in Supramolecular Chemistry and Nanochemistry*, Cambridge University, The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex, 2007, str. 17-23

19. J. Černý, P. Hobza *Phys. Chem. Chem. Phys.* **9** (2007) 5291-5303
20. <chromeextension://oemmndcbldboiebfnladdacbfdmadadm/https://batch.libretexts.org/print/Finished/chem-41297/Full.pdf> (datum pristupa 12. srpanja 2022.)
21. <https://iupac.org/> (datum pristupa 17. lipnja 2022.)
22. W. Clegg, *X-ray Crystallography*, Second Edition, Oxford University Press, Oxford, 2015, str. 1-69.
23. G. R. Desiraju, *Angew. Chem. Int. Ed.* **31** (1995) 2311-2321.
24. <https://www.rcsb.org/> (datum pristupa 12. srpnja 2022.)
25. S. B. Hakkert, M. Erdélyi, *J. Phys. Org. Chem.* **28**(3) (2014) 226-233.
26. G. Cavallo, P. Metrangolo, R. Milani, T. Pilati, A. Priimagi, G. Resnati, G. Terraneo, *Chem. Rev.* **116** (2016) 2478-2601.
27. R. Wilcken, Ma. O. Zimmermann, A. Lange, A. C. Joerger, F. M. Boeckler, *J. Mod. Med. Chem.* **56**(4) (2012) 1363-1388.
28. K. Molčanov, B. Kojić-Prodić, *IUCrJ*, **6** (2019) 156-166
29. A. J. Neel, M. J. Hilton, M. S. Sigman, F. D. Toste, *Nature* **543** (2017) 637-646.
30. S. E. Wheeler, J. W. G. Bloom, *J. Phys. Chem. A.* **118** (2014) 6133-6147.
31. G. D. Chryssikos, *Dev. Clay Sci.* **7** (2017) 34-63.
32. A. Bhatia, S. Chopra, K. Nagpal, P. K. Deb, M. Tekade, R. K. Tekade, *Elsevier Inc.* **2** (2018) 31-65.

§ 8. DODATAK



Slika D1. IR spektar praškastog produkta L-izoleucina i I3C.



Slika D2. IR spektar praškastog produkta L-leucina i I3C.

§ 9. ŽIVOTOPIS

Osobni podatci

Ime i prezime: Tereza Lacković

Datum rođenja: 23. ožujka 1994.

Mjesto rođenja: Varaždin

Obrazovanje

2001.–2009. II. Osnovna škola, Varaždin

2009.–2013. Srednja medicinska škola, Varaždin

2016.–2020. Preddiplomski studij Kemije, Kemijski odsjek, Sveučilište u Zagrebu,
Prirodoslovno-matematički fakultet

2020.-2022. Diplomski studij, Kemijski odsjek, Sveučilište u Zagrebu,
Prirodoslovno-matematički fakultet
Istraživački smjer, grane: Anorganska kemija i biokemija

Sudjelovanja u popularizaciji znanosti

2018. U okviru projekta „KEMB 2018“, Kemija eteričnog ulja mediteranskog bilja.