

# Termodinamičko i strukturno istraživanje kompleksiranja homociklopeptida s halogenidnim i oksoanionima u acetonitrilu i dimetilsulfoksidu

---

Tarana, Siniša

Master's thesis / Diplomski rad

2018

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:217:188894>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-15**



Repository / Repozitorij:

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





Sveučilište u Zagrebu

PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

Kemijski odsjek

Siniša Tarana

TERMODINAMIČKO I STRUKTURNO ISTRAŽIVANJE KOMPLEKSIRANJA  
HOMOCIKLOPEPTIDA S HALOGENIDNIM I OKSOANIONIMA U ACETONITRILU I  
DIMETILSULFOKSIDU

Diplomski rad  
predložen Kemijskom odsjeku  
Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu  
radi stjecanja akademskog zvanja  
magistra kemije

Zagreb, 2018.



Ovaj diplomski rad izrađen je u Zavodu za fizikalnu kemiju Kemijskog odsjeka  
Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom doc. dr. sc.  
Gordana Horvata

Diplomski rad izrađen je u okviru projekta Hrvatske zaklade za znanost pod nazivom Razvoj  
supramolekulskih receptora aniona i kationa (IP–2014–09–7309).



## Zahvale

*„Tell me and I forget. Teach me and I remember.  
Involve me and I learn.“*  
*B. Franklin*

*Zahvaljujem se mentoru na pruženoj prilici za rad, velikom strpljenju te prenesenom znanju i vještinama.*

*Mojim roditeljima i mom bratu veliko hvala na ogromnom strpljenju i bezuvjetnoj podršci.*



## Sadržaj

<b>SAŽETAK.....</b>	<b>IX</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>XI</b>
<b>§ 1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>§ 2. LITERATURNI PREGLED.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Ciklopeptidi .....</b>	<b>3</b>
<i>2.1.1. Svojstva vezivanja aniona s ciklopeptidima i pseudociklopeptidima.....</i>	<i>3</i>
<b>2.2. Eksperimentalno određivanje konstanti stabilnosti.....</b>	<b>6</b>
<i>2.2.1. Određivanje konstanti ravnoteže kalorimetrijskom titracijom.....</i>	<i>8</i>
<i>2.2.2. Određivanje konstanti ravnoteže <sup>1</sup>H NMR titracijom .....</i>	<i>11</i>
<b>2.3. Molekulska dinamika .....</b>	<b>12</b>
<b>§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO .....</b>	<b>15</b>
<b>3.1. Materijali .....</b>	<b>15</b>
<b>3.2. Priprema otopina .....</b>	<b>15</b>
<i>3.2.1. Mikrokalorimetrijske titracije .....</i>	<i>15</i>
<i>3.2.2. <sup>1</sup>H NMR titracije .....</i>	<i>16</i>
<b>3.3. Fizikalno-kemijska mjerenja .....</b>	<b>16</b>
<i>3.3.1. Mikrokalorimetrijske titracije .....</i>	<i>16</i>
<i>3.3.2. <sup>1</sup>H NMR titracije .....</i>	<i>17</i>
<b>3.4. Molekulska dinamika .....</b>	<b>17</b>
<b>§ 4. REZULTATI I RASPRAVA .....</b>	<b>19</b>
<b>4.1. Kompleksi ciklopeptida L1 u acetonitrilu.....</b>	<b>19</b>
<b>4.2. Kompleksi ciklopeptida L1, L2 i L3 u DMSO-u .....</b>	<b>33</b>
<b>§ 5. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>53</b>
<b>§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA.....</b>	<b>55</b>



---

§ 7. LITERATURNI IZVORI..... 57

§ 8. ŽIVOTOPIS ..... XVI



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Kemijski odsjek

Diplomski rad

## SAŽETAK

### TERMODINAMIČKO I STRUKTURNO ISTRAŽIVANJE KOMPLEKSIRANJA HOMOCIKLOPEPTIDA S HALOGENIDNIM I OKSOANIONIMA U ACETONITRILU I DIMETILSULFOKSIDU

Siniša Tarana

U okviru ovog rada istražen je kompleksacijski afinitet tri derivata cikličkih peptida prema halogenim, tiocijanatnim i oksoanionima u acetonitrilu i dimetilsulfoksidu (DMSO). Ligand **L1** je pentaleucinski derivat ciklopeptida. Druga dva liganda su izgrađena od lizinskih podjedinica povezanih u prsten pri čemu su amino skupine bočnih lanaca zaštićene *tert*-butilkarbonilnom (BOC) skupinom pri čemu receptor **L2** sadržava četiri takve podjedinice dok je ligand **L3** sastavljen od pet podjedinica. Konstante stabilnosti liganada **L1**, **L2** i **L3** s proučavanjem anionima određene su mikrokolorimetrijskim i <sup>1</sup>H NMR titracijama. Određene su konstante stabilnosti odgovarajućih kompleksa, kao i pripadajuće termodinamičke reakcijske veličine. Da bi se stekao detaljniji uvid u procese vezanja kationa i molekula otapala s istraživanim spojevima provedene su odgovarajuće računalne simulacije primjenom metode klasične molekulske dinamike.

Proučeni ciklopeptidni ligandi bolje vežu anione u acetonitrilu u usporedbi s dimetilsulfoksidom. Uočeno je da je stabilnost anionskih kompleksa pentamernih derivata **L2** i **L3** u DMSO-u veća od pripadajućih kompleksa s tetramernim derivatom **L1**. Rezultati <sup>1</sup>H NMR titracija i simulacija molekulske dinamike upućuju na to da su ioni vezani pomoću amidnih skupina ciklopeptida. Također, u slučaju kompleksa liganada **L1** i **L2** s ionom H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>2-</sup> opaženo je da u koordinaciji iona uz amidne protone sudjeluju i karbamatni protoni.

(64 stranice, 42 slika, 8 tablica, 30 literaturnih 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: ciklopeptidi, anioni, kompleksiranje, kalorimetrija,  $^1\text{H}$  NMR, molekulska dinamika

Mentor: doc. dr. sc. Gordan Horvat

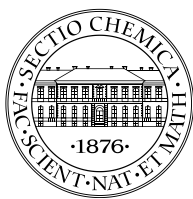
Ocjenitelji:

1. doc. dr. sc. Gordan Horvat
2. doc. dr. sc. Vladimir Stilinović
3. doc. dr. sc. Aleksandra Maršavelski

Zamjena:

izv. prof. dr. sc. Branimir Bertoša

Datum diplomskog ispita: 8. studenog 2018.



University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Chemistry

Diploma Thesis

## ABSTRACT

### THERMODYNAMIC AND STRUCTURAL STUDIES OF THE COMPLEXATION OF HOMOCYCLOPEPTIDES WITH HALIDE AND OXOANIONS IN ACETONITRILE AND DIMETHYLSULFOXIDE

Siniša Tarana

Complexation affinities of the three cyclopeptide derivatives for halogen, thiocyanate and oxoanions were studied in acetonitrile and dimethylsulfoxide (DMSO). Ligand **L1** was a pentaleucine cyclopeptide derivative. Other two cyclopeptidic ligands were comprised of lysine subunits protected by *tert*-butylcarbonyl (BOC) group. Ligand **L2** was built out of four such subunits while ligand **L3** contained five of them. Stability constants of **L1**, **L2** and **L3** complexes with studied anions were determined by means of microcalorimetric and <sup>1</sup>H NMR titrations. To get more detailed insight into the binding of anions by the investigated cyclopeptide derivatives, classical molecular dynamics simulations were carried out.

Investigated cyclopeptide ligands showed larger affinity for all anions in acetonitrile than in dimethylsulfoxide. It was found that the stability of the anion complexes of pentameric ligands **L2** and **L3** was higher than that corresponding to the tetrameric ligand **L1**. The results of <sup>1</sup>H NMR titrations and of molecular dynamics simulations indicate that the bound anions were coordinated by the amide groups of cyclopeptide ligands. In the case of **L1** and **L2** complexes with H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> anion the participation of carbamate protons in the anion coordination was observed.

(64 pages, 42 figures, 8 tables, 30 references, original in Croatian language)

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: cyclopeptides, anions, complexation, calorimetry,  $^1\text{H}$  NMR, molecular dynamics

Mentor: Dr. Gordan Horvat, Assistant Professor

Reviewers:

1. Dr. Gordan Horvat, Assistant Professor
2. Dr. Vladimir Stilinović, Assistant Professor
3. Dr. Aleksandra Maršavelski, Assistant Professor

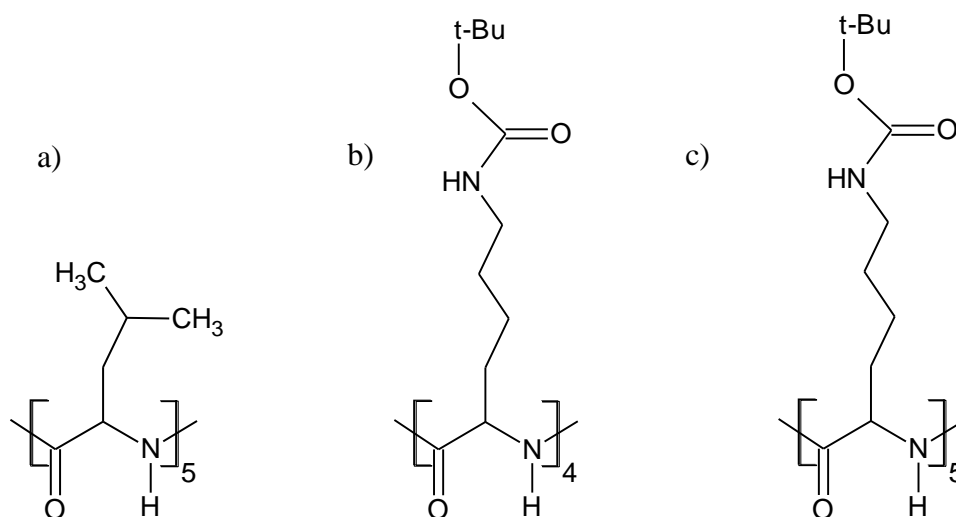
Substitute:

Dr. Branimir Bertoša, Associate Professor

Date of exam: November 8, 2018

## § 1. UVOD

Radi važne uloge koje anionske vrste imaju u područjima biologije i medicine sve više se provode istraživanja procesa vezanja i transporta tih vrsta od strane sintetskih supramolekulskih receptora.<sup>1</sup> U zadnjih par godina posvećuje se velika pažnja sintezi umjetnih anionskih receptora koji oponašaju sposobnost prirodnih sustava da selektivno vežu anione.<sup>1,2</sup> Kako bi u otopini mogao nastati stabilan anionski kompleks potrebno je omogućiti koordinaciju aniona što većim brojem vodikovih veza što podrazumijeva uređen raspored proton-donorskih skupina na receptoru. Zbog tog svojstva, najčešći receptori aniona u otopini su različiti amini, amidi, uree i tiouree. Jedna od klasa makrocikličkih spojeva koja u svojoj okosnici sadrži amidnu skupinu, i stoga može poslužiti kao receptor anionskih vrsta, su ciklopeptidi.<sup>2-10</sup>



**Slika 1.** Strukture ciklopeptidnih liganada a) **L1**, b) **L2** i c) **L3**.

U ovom radu bit će istraženi kompleksacijski afiniteti homociklopeptida prema halogenim i oksoanionima u acetonitrilu i dimetilsulfoksidu (DMSO). Proučavat će se tri homociklopeptida: lizinski ciklopeptidni receptori izgrađeni od četiri (**L1**) i pet (**L2**) lizinskih podjedinica povezanih u prsten pri čemu su amino skupine bočnih lanaca zaštićene tert-butoksikarboksilnom (BOC) skupinom. Također će biti proučen afinitet pentaleucinskog derivata ciklopeptida (**L3**). Afiniteti opisanih liganda prema halogenim i oksoanionima bit će

istraženi mikrokalorimetrijskim i  $^1\text{H}$  NMR titracijama. Simulacijama molekulske dinamike istražit će se struktura veznog mjesta ciklopeptida, te će se dobiti uvid u mikroskopsku sliku procesa vezanja aniona.

## § 2. LITERATURNI PREGLED

### 2.1. Ciklopeptidi

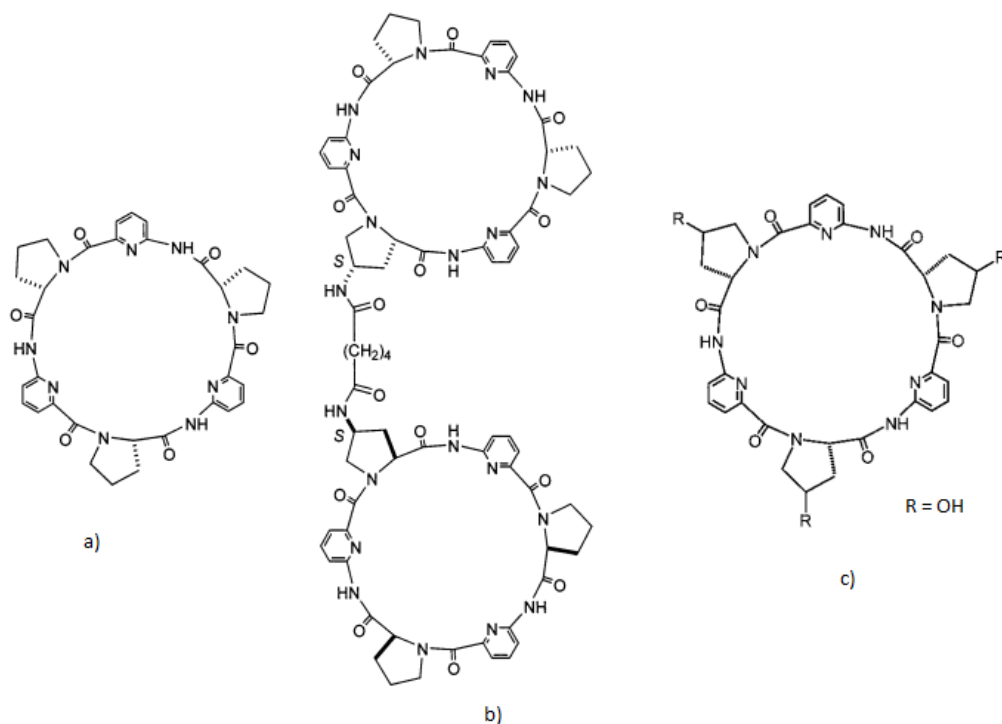
Ciklopeptidi su umjetni makrociklički receptori aniona čija su dobra kompleksacijska svojstva posljedica izvanrednih donorskih svojstava peptidnih skupina, fleksibilnosti makrocikličkog prstena i varijabilnosti podjedinica, čime je moguće postići specifičnost prema određenoj ionskoj vrsti.<sup>1,2</sup>

#### 2.1.1. Svojstva vezivanja aniona s ciklopeptidima i pseudociklopeptidima

U najranijim fazama istraživanja ciklopeptida, *ab initio* računima pokazano je da bi homoheksaciklički peptidi s glicinskim i alaninskim podjedinicama trebali imati velike afinitete i prema anionima i prema kationima. Također, DFT računi su pokazali da bi hibridni ciklopeptid s ugrađenom 3-aminobenzojevom kiselinom u prsten ciklopeptida trebao vezati fluoridne, kloridne i bromidne anione s padom energije vezanja u nizu  $F^- > Cl^- > Br^-$ .<sup>1</sup>

U eksperimentalnim istraživanjima danim u radu Kubika i suradnika<sup>3</sup> primijećeno je da cikloheksapeptid izgrađen naizmjenično od prolinskih i 6-aminopikolinskih jedinica (slika 2) pokazuje afinitet za vezanje sa halogenim i oksoanionima, posebno sulfatnim anionom, u smjesi otapala vode i metanola. <sup>1</sup>H NMR titracijom i analizom masenom spektrometrijom otkriveno je da cikloheksapeptid sa halogenim elementima tvori stabilan kompleks stehiometrijskog omjera 2:1 (dva ciklopeptida se vežu na jedan anion) s porastom relativne stabilnosti u nizu  $Cl^- < Br^- < I^-$ , dok u reakciji sa sulfatnim anionom nastaje stabilan kompleks omjera 1:1. Molekulska modeliranja pokazalo je da je moguć ulazak halogenih aniona u šupljinu koja je nastala agregacijom dva cikloheksapeptida. U kalorimetrijskom istraživanju kompleksiranja jodidnih aniona s ciklopeptidom određeno je da je kompleksiranje popraćeno endotermnim toplinskim efektom koji ukazuje da stvaranje vodikovih veza između amidne skupine i aniona ne može kompenzirati energiju potrebnu za desolvataciju ciklopeptida i jodidnih aniona. Daljnjim istraživanjem pokazano je da je moguće stvaranje vodikovih veza između amidne skupine i kisikovih atoma sulfatnog aniona. Kod parcijalno protoniranih oksoaniona afinitet za vezivanje s ciklopeptidima je manji zbog smanjenja broja mogućih vodikovih veza.





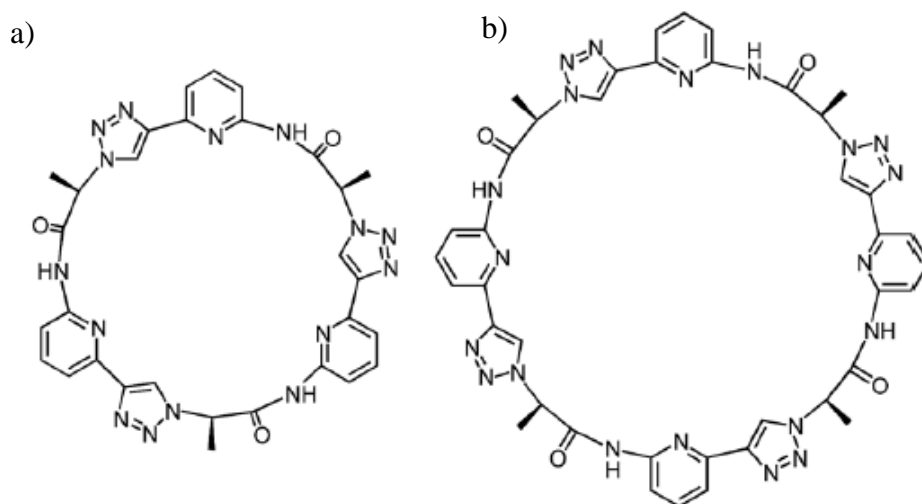
**Slika 2.** a) Cikloheksapeptid s prolinskim i 6-aminopikolinskim jedinicama<sup>3</sup>; b) Bis(ciklopeptid) s adipinskom kiselinom kao mostom<sup>5</sup>; c) Cikloheksapeptid s hidroksiprolinskim i 6-aminopikolinskim jedinicama<sup>4</sup>

Da bi se povećala topljivost spomenutog ciklopeptida s prolinskim i aminopikolinskim podjedinicama<sup>3</sup> u vodi, prolinske podjedinice supstituirane su sa hidroksiprolinskim podjedinicama<sup>4</sup> (slika 2). Strukturne varijacije u makrocikličkim receptorima dovode do promjena u konformaciji, a samim time i u svojstvima vezanja. Iako spomenuti ciklopeptidi imaju slične afinitete<sup>3,4</sup> za vezanje s oksoanionima, njihovo vezanje s halogenim ionima se razlikuje. Zbog steričkih razloga i bolje solvatiziranosti nije moguća agregacija ciklopeptida s hidroksiprolinskim jedinicama, što uzrokuje vezanje halogenih aniona u stehiometrijskom omjeru 1:1 s jednakim porastom relativne stabilnosti<sup>4</sup> u nizu  $\text{Cl}^- < \text{Br}^- < \text{I}^-$ .

U radu Kubika i suradnika<sup>5</sup> opisana je sinteza umjetnog anionskog receptora, bis(ciklopeptida), kod kojega su dva cikloheksapeptida s prolinskim i aminopikolinskim podjedinicama povezana adipinskom kiselinom (slika 2.) s namjerom da se stvori stabilniji kompleks s dva liganda i jednim anionom u odnosu na slučaj kad cikloheksapeptidi nisu kovalentno vezani<sup>3</sup>. Masenom spektrometrijom i NMR spektroskopijom pokazano je da sintetizirani bis(ciklopeptid) tvori sendvič-komplekse s halogenim, sulfatnim i nitratnim

anionima u smjesi otapala vode i etanola. Kalorimetrijskim i NMR titracijama utvrđeno je da konstante stabilnosti za pojedine anione padaju u nizu  $\text{SO}_4^- > \text{I}^- > \text{Br}^- > \text{Cl}^- > \text{NO}_3^-$  što je posljedica toga da veći anioni tvore stabilnije komplekse jer se bolje uklapaju u šupljine bis(ciklopeptida). Istraživanja su također pokazala da variranje udjela vode u smjesi otapala vode i metanola nema utjecaja na afinitet prema jodidnim ionima, dok afinitet i selektivnosti prema sulfatnim ionima raste s smanjenjem polarnosti otapala, odnosno s padom volumnog udjela vode u otapalu<sup>5</sup>. Bis(ciklopeptid) koji na aromatskim prstenima ima supstituiranu polarnu grupu, iako bolje topljiv u vodi, ima gotovo ista svojstva vezanja aniona<sup>6</sup>. Bis(ciklopeptidi) koje imaju supstituirane grupe derivata trietilenglikola i na aromatskim prstenima i na mostu koji povezuje dva ciklopeptida, u vodi ima veći afinitet prema jodidnim ionima od sulfatnih, dok vezanje slabo koordinirajućih aniona nije opaženo<sup>7</sup>.

Pseudociklopeptidi, iako strukturno slični ciklopeptidima, razlikuju se po svojstvima vezanja aniona: imaju veće afinitete prema anionima, odgovara im veći raspon otapala, te imaju manju vjerojatnost formiranja kompleksa viših stehiometrija. Pseudociklopeptidi s 1,5-disupstituiranim<sup>8</sup> i 1,4-disupstituiranim<sup>9,10</sup> 1,2,3-triazolnim funkcionalnim skupinama sintetizirani su s namjerom da oponašaju konformacijska i receptorska svojstva spomenutih heksaciklopeptida<sup>3,4</sup>.



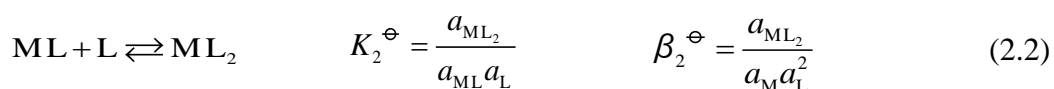
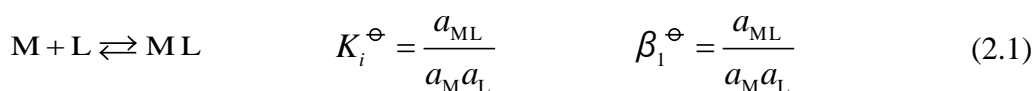
**Slika 3.** Pseudociklopeptidi s 1,4-disupstituiranim 1,2,3-triazolom: a) heksaciklopeptid i b) oktacyklopeptid

Pseudociklopeptid s 1,5–disupstituiranim 1,2,3–triazolom podvrgnut je  $^1\text{H}$  NMR analizi i analizi masenom spektrometrijom pri čemu je primijećeno da pseudociklopeptid tvori komplekse stehiometrije 1:1 s halogenim anionima u smjesi otapala vode i metanola, kao i u DMSO-u, s padom afiniteta u nizu  $\text{Br}^- > \text{I}^- > \text{Cl}^-$ . Zbog male topline nastajanja kompleksa u smjesi otapala vode i etanola, utjecaj otapala nije mogao biti istražen u kompleksiranju s halogenim, već samo sa sulfatnim anionima. Utvrđeno je da se porastom udjela vode u smjesi otapala vode i metanola, relativna stabilnost kompleksa s sulfatnim anionom smanjiva. Također je zamijećeno da pseudociklopeptid slabo veže nitratne anione<sup>8</sup>.

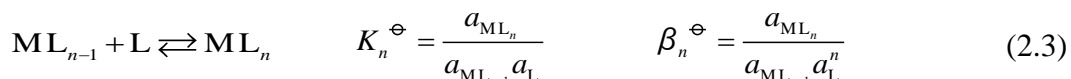
Pseudociklopeptidi s 1,4–disupstituiranim 1,2,3–triazolom u organskim otapalima, kao što je smjesa DMSO-a i acetona, veže niz aniona kao što su kloridi, nitrati, sulfati i dihidrogenfosfati. U nešto kompetitivnijim smjesama otapala, kao što su DMSO i voda, vežu se samo jako koordinirajući oksoanioni. Kalorimetrijskim i  $^1\text{H}$  NMR istraživanjima kompleksiranja dihidrogenfosfata u smjesi otapala DMSO i vode utvrđeno je da u reakciji sudjeluje dimer spomenutog aniona. Nasuprot tome, kompleksiranje sulfatnih i dihidrogenpirofosfatnih aniona uključuje proces nastanka kompleksa 1:1, nakon kojega dolazi do nastanka 2:1 kompleksa. Sulfatni kompleks stehiometrije 2:1 ima znatno manju konstantu stabilnosti od kompleksa stehiometrije 1:1, dok su te dvije vrijednosti sličnog reda veličine kod dihidrogenpirofosfata<sup>9</sup>. Proširivanje prstena spomenutog pseudociklopeptida s šest na osam triazolnih podjedinica ima veliki učinak na afinitet prema anionima. Dok je afinitet proširenog pseudopeptida prema sulfatnim ionima manji, afinitet prema protoniranim oksoanionima je veći. Vezanje dihidrogenfosfata i dihidrogenpirofosfata uključuje njihove dimere, odnosno cikličke tetramere za dihidrogenpirofosfat, smještene između dva pseudopeptidna prstena<sup>10</sup>.

## 2.2. Eksperimentalno određivanje konstanti stabilnosti

Konstanta stabilnosti je ravnotežna konstanta nastajanja kompleksa u otopini te je mjera jakosti interakcije i selektivnosti vrsta koje sudjeluju u reakciji.<sup>11</sup> Za sustav u kojemu kompleks ML nastaje reakcijom između liganda L i kemijske vrste M konstante stabilnosti definirane su na sljedeći način:



...



gdje su  $K_i^\ominus$  sukcesivne, a  $\beta_i^\ominus$  kumulativne standardne ravnotežne konstante. Spomenute termodinamičke veličine povezane su izrazom:

$$\beta_i^\ominus = \prod_{j=1}^i K_j^\ominus \quad (2.4)$$

Standardne ravnotežne konstante  $K_i^\ominus$  i  $\beta_i^\ominus$  definirane su pomoću ravnotežnih relativnih aktivnosti kemijskih vrsta koje sudjeluju u reakciji, dok su relativne aktivnosti povezane s koncentracijom preko izraza:

$$a_B = \frac{\gamma_B [B]}{c^\ominus} \quad (2.5)$$

gdje je  $\gamma_B$  aktivnosni koeficijent bilo koje vrste ( $B = M, L, ML$ ) koja se nalazi u otopini, dok je  $c^\ominus$  standardna koncentracija i iznosi  $1 \text{ mol dm}^{-3}$ . Uvrštavanjem izraza za koeficijente aktiviteta, izrazi (2.1.-2.3) postaju:

$$K_i^\ominus = \frac{\gamma_{ML_i} [ML_i] c^\ominus}{\gamma_{ML_{i-1}} \gamma_L [ML_{i-1}] [L]} = \frac{\gamma_{ML_i} c^\ominus}{\gamma_{ML_{i-1}} \gamma_L} K_i \quad (2.6)$$

$$\beta_i^\ominus = \frac{\gamma_{ML_i} [ML_i] (c^\ominus)^i}{\gamma_{ML_{i-1}} \gamma_L^i [ML_{i-1}] [L]^i} = \frac{\gamma_{ML_i} (c^\ominus)^i}{\gamma_{ML_{i-1}} \gamma_L^i} \beta_i \quad (2.7)$$

Konstante  $K_i$  i  $\beta_i$  zovu se empirijske (koncentracijske) konstante stabilnosti i funkcija su aktivnosnih koeficijenata te zbog toga ovise o sastavu otopine, za razliku od standardnih konstanti ravnoteže koje ovise samo o temperaturi. Iz toga su razloga empirijske konstante ravnoteže usporedive samo ako su mjerene u istim uvjetima, odnosno pri istoj temperaturi i ionskoj jakosti. Ionska se jakost tijekom eksperimenta može održavati dodatkom inertnog elektrolita.<sup>12-14</sup>

Konstante stabilnosti najčešće se određuju titracijama pri čemu se mjere koncentracije prisutnih vrsta ili svojstva otopine koja su ovisna o koncentraciji prisutnih vrsta. Najčešće korištene eksperimentalne metode su spektrofotometrija, potenciometrija, fluorimetrija i konduktometrija, dok se još koriste i NMR spektrometrija, kalorimetrija, polarografija, ionska izmjena, kinetička mjerenja, radiometrija, mjerenje parcijalnog tlaka, kromatografija, mjerenje topljivosti.<sup>12</sup>

U ovome radu, za određivanje konstanti stabilnosti, korištene su kalorimetrijske i <sup>1</sup>H NMR titracije. Za spomenute metode bit će opisan postupak obrade eksperimentalnih podataka na modelu u kojem reaktanti reagiraju u stehiometrijskom omjeru 1:1.

### 2.2.1. Određivanje konstanti ravnoteže kalorimetrijskom titracijom

Kalorimetrija je metoda kojom se mogu odrediti termodinamički parametri interakcija u otopini, kao što su reakcijska entalpija, entropija i konstanta ravnoteže. Najčešće se upotrebljava za istraživanje vezivanja malih molekula na veće makromolekule. Zbog velike osjetljivosti i mogućnosti direktnog određivanja termodinamičkih veličina, kalorimetrijska titracija je često korištena metoda u kemiji i biologiji.

Izotermna titracijska kalorimetrija je metoda kojom se direktno može odrediti promjena entalpije sustava. Titracija se provodi pri konstantnoj temperaturi u reakcijskoj ćeliji. Nakon svakog dodatka titransa kalorimetar mjeri direktno oslobođenu ili apsorbiranu toplinu u reakcijskoj ćeliji u odnosu na referentnu ćeliju, u kojoj se najčešće nalazi otapalo. Toplina izmjerena uslijed jednog dodatka titransa odgovara promjeni entalpije sustava i povezana je s promjenom dosegaja reakcije i reakcijskom entalpijom izrazom

$$q_p = \Delta H = \Delta \xi \cdot \Delta_r H \quad (2.8)$$

Za reakciju kada reaktanti reagiraju u stehiometrijskom omjeru 1 : 1 izraz (2.6) postaje

$$K^\ominus = \frac{\gamma_{ML} [ML] c^\ominus}{\gamma_M \gamma_L [M][L]} = \frac{\gamma_{ML} c^\ominus}{\gamma_M \gamma_L} K_c \quad (2.9)$$

Gornji izraz može se još pojednostaviti ukoliko se prepostavi da je ligand L nenabijena kemijska vrsta i da mu je koeficijent aktiviteta približno jednak jedan. U tome slučaju M i ML su jednako nabijene kemijske vrste i njihovi koeficijenti aktiviteta se tada mog izjednačiti. Na taj način se dolazi do izraza

$$K^\ominus = \frac{[ML] c^\ominus}{[M][L]} = K_c \cdot c^\ominus \quad (2.10)$$

Ukoliko se doseg reakcije izrazi preko promjene koncentracije nastalog kompleksa ML, jednačba (2.8) postaje

$$q_p = ([ML]_2 - [ML]_1) \cdot V \cdot \Delta_r H \quad (2.11)$$

gdje je  $[ML]_2$  ravnotežna koncentracija kompleksa nakon dodatka titransa,  $[ML]_1$  ravnotežna koncentracija kompleksa prije dodatka titransa, dok je  $V$  volumen sustava. Ako u izraz za koncentracijsku konstantu ravnoteže uvrstimo  $[L] = c_L - [ML]$  i  $[M] = c_M - [ML]$ , on postaje

$$K_c = \frac{[ML]}{(c_M - [ML])(c_L - [ML])} \quad (2.12)$$

Pomoću gornje relacije, može se doći do ravnotežnih koncentracija kompleksa prije i poslije dodatka titransa na način da se u izraz uvrste analitičke koncentracije reaktanata prije ( $c_{M1}, c_{L1}$ ) i poslije ( $c_{M2}, c_{L2}$ ) dodatka titransa. Izraz (2.11) tada postaje

$$q_p = \left( \frac{c_{L2} - c_{L1} + c_{M2} - c_{M1} - \sqrt{\left(c_{L2} + c_{M2} + \frac{1}{K}\right)^2 - 4c_{M2}c_{L2}}}{2K} + \frac{\sqrt{\left(c_{L1} + c_{M1} + \frac{1}{K}\right)^2 - 4c_{M1}c_{L1}}}{2K} \right) \cdot V \cdot \Delta_r H \quad (2.13)$$

Metodom nelinearne regresije, pomoću gornjeg izraza, moguće je doći do reakcijske entalpije i konstante ravnoteže.

Kada prilikom dodatka titransa dolazi do izlivanja reakcijske smjese iz kalorimetrijske ćelije (perfuzijski tip kalorimetra), mora se napraviti korekcija za promijenjene analitičke koncentracije reaktanata i nastalog kompleksa. Koncentracije titranda L i titransa M se mijenjaju prema sljedećim izrazima:

$$dc_L = -\frac{c_L dV}{V_{\text{ćelija}}} \quad (2.14)$$

$$dc_M = \frac{c_{M,0} dV - c_M dV}{V_{\text{ćelija}}} \quad (2.15)$$

gdje je  $V$  volumen dodatka, a  $V_{\text{ćelija}}$  volumen kalorimetrijske ćelije. Ti izrazi integriranjem daju jednadžbe za analitičke koncentracije titranda i titransa u kalorimetru perfuzijskog tipa:

$$c_{L,n} = c_{L,0} \cdot e^{-\frac{V_L}{V_{\text{ćelija}}}} \quad (2.16)$$

$$c_{M,n} = c_{M,0} \cdot \left( 1 - e^{-\frac{V_L}{V_{\text{celija}}}} \right) \quad (2.17)$$

Ukoliko se reakcijske termodinamičke veličine žele odrediti iz titracija dobivenih perfuzijskim kalorimetrom, koristi se izmijenjeni oblik jednadžbe (2.13) na način da se jednadžbi pribroji član  $\frac{(n_1 + n_2)\Delta V}{2V} \Delta_r H$  gdje je  $n_1$  ravnotežna množina kompleksa prije dodatka titransa,  $n_2$  ravnotežna množina kompleksa nakon dodatka titransa, dok je  $\Delta V$  volumen dodatka. Preostali član odgovara toplina koja se oslobodila izvan reakcijske ćelije.<sup>12,13</sup>

Kada je poznata ravnotežna reakcijska konstanta i reakcijska entalpija kompleksiranja, može se izračunati reakcijska Gibbsova energija i pripadajuća reakcijska entropija.

$$\Delta_r G^\ominus = -RT \ln K^\ominus \quad (2.18)$$

$$\Delta_r G^\ominus = \Delta_r H^\ominus - T \Delta_r S^\ominus \quad (2.19)$$

### 2.2.2. Određivanje konstanti ravnoteže <sup>1</sup>H NMR titracijom

Interakcije između molekula najčešće uzrokuje promjene kemijskog pomaka jedne ili više jezgara, posebno onih koje se nalaze blizu centru interakcije. Kad je konstanta brzine izmjene veća od razlike rezonantnih frekvencija, kemijski pomak nekog protona liganda L je množinskim udjelom uteženi prosjek kemijskih pomaka protona prisutnih na tom ligandu u otopini

$$\delta_{obs} = \delta_L \chi_L + \delta_{ML} \chi_{ML} \quad (2.20)$$

Uvrštavanjem bilance mase moguće je dobiti izraz za ovisnost opaženog kemijskog pomaka o množinskim koncentracijama sudionika reakcije



$$\Delta\mathcal{S} = \delta_{\Delta ML} \begin{pmatrix} [M L] \\ [L]_0 \end{pmatrix}. \quad (2.21)$$

Ukoliko je razlika u frekvencijama pri kojima dolazi do rezonancije za određenu vrstu usporediva s konstantnom brzinom izmjene tada za takve sustave nije moguće odrediti konstantu ravnoteže pomoću NMR titracija.

Regresijsku analizu je moguće provesti matično ukoliko su tijekom titracije određeni kemijski pomaci više protona. Tada se konstanta ravnoteže i kemijski pomaci određenih vrsta određuju iterativnim putem. Osim kvantitativnih informacija, NMR titracija može pružiti uvid u način interakcije liganda i aniona te ukazati na moguću stehiometriju kompleksa.<sup>14</sup>

### 2.3. Molekulska dinamika

Molekulska dinamika je računalna metoda koja pruža izravan uvid u vremensku evoluciju kompleksnih kemijskih sustava što omogućuje predviđanje struktura, svojstava, međumolekulskih interakcija, te modeliranje sustava koji se ne mogu proučavati eksperimentalno. Kod klasične molekulske dinamike, trajektorije atoma ili molekula dobivaju se numeričkim rješavanjem Newtonovih jednadžbi gibanja, a sile koje djeluje na njih se mogu odrediti pomoću polja sila metodom molekulske mehanike. Polje sila je zajednički naziv za skup parametara, dobiveni eksperimentalno ili kvantno-mehaničkim računima, koji se pridružuju svakom atomu i za funkciju koja uz pomoć tih parametara omogućuje računanje potencijalne energije sustava.

Prvi korak u simulaciji molekulske dinamike je izbor početne geometrije promatranog sustava. Najčešće se za početak simulacije odabire prethodno optimizirana struktura sustava. Pri simulaciji otopina, otapalo se može promatrati kao polarizabilni kontinuum s određenom dielektričnom konstantom (implicitne metode) ili se u sustav unose eksplicitne molekule otapala (eksplicitne metode).

Nakon postavljanja geometrije sustava i optimizacije geometrije, atomima se pripisuju početne brzine pri nekoj temperaturi  $T$ , najčešće uzete iz Maxwell-Boltzmannove raspodjele.<sup>14,16</sup> U molekulskoj dinamici češće se koriste funkcije gustoće vjerojatnosti za pojedine komponente brzine  $v_q$

$$f(v_{q,i}) = \left( \frac{m_i}{2\pi k_B T} \right)^{\frac{1}{2}} e^{-\frac{m_i v_{q,i}^2}{2k_B T}} \quad (2.22)$$

Sile  $F_i$  koje djeluju na čestice u sustavu računaju se kao negativne parcijalne derivacije potencijalne energije sustava  $V(r_1, r_2, \dots, r_{3N})$ :

$$F_i = -\frac{\partial V}{\partial q_i} \quad (2.23)$$

dok se potencijalna energija sustava najčešće računa metodom molekularne mehanike iz odabranog polja sila. Polje sila je zapravo skup članova koji opisuju kovalentne interakcije (istezanje veze, savijanje međuveznih i dieadarskih kuteva) te nekovalentne Columbske i van der Waalove interakcije, odnosno njihove doprinose ukupnoj energiji. Ubrzanja čestica računaju se, uz poznavanje sila koje djeluju na njih, pomoću drugog Newtonova zakona

$$F_i = \frac{dp_i}{dt} = \frac{d(m_i v_i)}{dt} \cong m_i a_i \quad (2.24)$$

Korištenjem jednadžbi 2.23 i 2.24 dolazi se do skupa Newtonovih jednadžbi gibanja. Sila koja djeluje na jednu česticu ovisna je o položaju te čestice i položaju svih čestica s kojima je u interakciji. Iz tog razloga skup Newtonovih jednadžbi nije analitički rješiv, već se rješava numerički uz pomoć propagacijskih algoritama. Kao rješenje dobiva se vremenska ovisnost položaja čestica u sustavu. Stanje sustava je potpuno određeno položajima i količinama gibanja svih čestica, odnosno točkom  $X$  u  $6N$ -dimenzionalnom prostoru (fazni prostor), koji se sastoji od svih koordinata položaja svih čestica i komponenti pripadajuće količine gibanja  $p$ :

$$X = (q_1, p_{q_1,1}, q_2, p_{q_2,1}, \dots, q_{3N}, p_{q_{3N},N}) \quad (2.25)$$

Numeričkim simulacijama molekulske dinamike može se istovremeno pratiti položaj i količina gibanja. Tijekom vremena sustav slijedi trajektoriju u faznom prostoru, to jest krivulju izgrađenu od niza točaka  $X$ .<sup>15-17</sup>

Najčešći algoritam za rješavanje skupa Newtonovih jednadžbi je algoritam *velocity Verlet*. Algoritam prvo računa brzinu svake čestice iz brzine prethodnog koraka i odgovarajućeg ubrzanja:

$$\vec{v}_i \left( t + \frac{1}{2} \Delta t \right) = \vec{v}_i(t) + \frac{1}{2} \vec{a}_i(t) \Delta t \quad (2.26)$$

Iz brzine se računaju novi položaji čestica:

$$\vec{r}_i(t + \Delta t) = \vec{r}(t) + \vec{v}_i \left( t + \frac{1}{2} \Delta t \right) \Delta t \quad (2.27)$$

Nakon što je određeni novi položaji čestica, pomoću vektora  $\vec{r}_i(t + \Delta t)$  dobivaju se nova ubrzanja čestica iz sila koje djeluju na čestice u tom novom položaju. Dobiveno ubrzanje se koristi za izračun nove brzine

$$\vec{v}_i(t + \Delta t) = \vec{v}_i \left( t + \frac{1}{2} \Delta t \right) + \frac{1}{2} \vec{a}_i(t + \Delta t) \Delta t \quad (2.28)$$

nakon čega algoritam ponavlja sve opisane korake. Nedostatak ovog algoritma je što algoritam pretpostavlja da ubrzanje ovisi samo o položaju, a ne i o brzini.<sup>15,17</sup>

Simulacija molekulske dinamike, također može dati i informacije o vremenskoj ovisnosti fizikalnih svojstava kao što su volumen, tlak, potencijalna i kinetička energija. Tijekom simulacije može doći do promjene kinetičke energije sustava čime se mijenja i temperatura sustava. Da bi tijekom simulacije temperatura sustava bila konstantna potrebno je koristiti termostat, dodatan algoritam za kontrolu temperature u sustavu. Također, u slučaju provedbe simulacija pri konstantnom tlaku moguće je koristiti algoritme za kontrolu tlaka.

## § 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. Materijali

U eksperimentalnom dijelu rada korišteni su ligandi **L1**, **L2** i **L3** koje sintetizirala dr. sc. Nikolina Vidović iz Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Milano. Za pripremu otopina aniona korišteni su tetraetilamonijev (TEA) klorid (Sigma-Aldrich, > 98%), tetrabutilamonijev TBA bromid (Sigma-Aldrich, > 99%), TBA jodid (Sigma-Aldrich, > 99%), TBA tiocijanat (Sigma-Aldrich, 98%), TBA nitrat (Sigma-Aldrich, 98%), TBA hidrogensulfat (Sigma-Aldrich, > 99%) i TBA dihidrogenfosfat (Sigma-Aldrich, > 99%). Kao otapala za mikrokalorimetrijske titracije korišteni su acetonitril (Sigma-Aldrich,  $\geq 99.9\%$ ) i DMSO (Acros Organics,  $\geq 99.9\%$ ). Za NMR titracije korišteni su deuterirani acetonitril (Euriso-top, 99.8%) i deuterirani DMSO (Euriso-top, 99.8%).

### 3.2. Priprema otopina

Odvagama navedenih liganada i TEA i TBA soli pripremljene su otopine u acetonitrilu i DMSO-u.

#### 3.2.1. Mikrokalorimetrijske titracije

Za mikrokalorimetrijske titracije spoja **L1**, raspona koncentracija od  $3,43 \times 10^{-4}$  mol dm<sup>-3</sup> do  $1,44 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup>, u acetonitrilu pripremljene su otopine TEACl koncentracije  $3,21 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup>, TBABr koncentracije  $9,54 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup>, TBAI koncentracije  $1,55 \times 10^{-2}$  mol dm<sup>-3</sup>, TBASCN koncentracije  $5,02 \times 10^{-2}$  mol dm<sup>-3</sup>, TBANO<sub>3</sub>  $3,07 \times 10^{-2}$  mol dm<sup>-3</sup> te TBAH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> koncentracije  $1,01 \times 10^{-2}$  mol dm<sup>-3</sup>.

Spoj **L1**, raspona koncentracija od  $9,13 \times 10^{-4}$  mol dm<sup>-3</sup> do  $1,84 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup>, je titriran u DMSO-u s otopinama TEACl koncentracije  $3,39 \times 10^{-2}$  mol dm<sup>-3</sup> i TBABr koncentracije 0,21 mol dm<sup>-3</sup>. Za titracije spoja **L2** u DMSO-u, raspona koncentracija od  $9,82 \times 10^{-4}$  mol dm<sup>-3</sup> do  $9,93 \times 10^{-4}$  mol dm<sup>-3</sup>, pripremljene su otopine TEACl koncentracije  $4,84 \times 10^{-2}$  mol dm<sup>-3</sup> i TBABr koncentracije  $6,60 \times 10^{-2}$  mol dm<sup>-3</sup>. Otopine TEACl koncentracije  $3,04 \times 10^{-2}$  mol dm<sup>-3</sup> i TBABr koncentracije 0,15 mol dm<sup>-3</sup> korištene su za

titraciju spoja **L3** raspona koncentracija od  $9,23 \times 10^{-4}$  mol dm<sup>-3</sup> do  $1,63 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup> u DMSO-u.

Otopina TBAH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> koncentracije  $9,90 \times 10^{-2}$  mol dm<sup>-3</sup> je pripravljene za titracije spojeva **L1** koncentracije  $1,16 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup>, **L2** koncentracije  $1,02 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup> i **L3** koncentracije  $1,10 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup>.

### 3.2.2. <sup>1</sup>H NMR titracije

Za <sup>1</sup>H NMR titracije u deuteriranom acetonitrilu napravljena je otopina liganda **L1** koncentracije  $6,08 \times 10^{-4}$  mol dm<sup>-3</sup> i otopine soli TEACl koncentracije  $9,48 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup>, TBABr koncentracije  $7,65 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup>, TBAI koncentracije  $6,50 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup>, TBASCN koncentracije  $1,92 \times 10^{-2}$  mol dm<sup>-3</sup>, TBANO<sub>3</sub> koncentracije  $6,40 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup>, TBAHSO<sub>4</sub> koncentracije  $9,28 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup> te TBAH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> koncentracije  $1,08 \times 10^{-2}$  mol dm<sup>-3</sup>.

U deuteriranom DMSO-u za titracije liganda **L1** koncentracije  $1,13 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup> priređene su otopine TEACl koncentracije  $1,26 \times 10^{-2}$  mol dm<sup>-3</sup> i TBABr koncentracije  $6,73 \times 10^{-2}$  mol dm<sup>-3</sup>. Za titracije liganda **L2** koncentracije  $1,11 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup> korišteni su otopine soli TEACl koncentracije  $8,45 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup> i TBABr koncentracije  $6,68 \times 10^{-2}$  mol dm<sup>-3</sup>, te za titraciju liganda **L2** koncentracije  $1,05 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup> otopine soli TEACl koncentracije  $1,26 \times 10^{-2}$  mol dm<sup>-3</sup> i TBABr koncentracije  $6,25 \times 10^{-2}$  mol dm<sup>-3</sup>. Otopina TBAH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> koncentracije  $2,52 \times 10^{-2}$  mol dm<sup>-3</sup> pripravljena je za titracije ligandama **L1** koncentracije  $1,02 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup>, **L2** koncentracije  $1,08 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup> i **L3** koncentracije  $9,29 \times 10^{-4}$  mol dm<sup>-3</sup> u deuteriranom DMSO-u.

## 3.3. Fizikalno-kemijska mjerenja

### 3.3.1. Mikrokalorimetrijske titracije

Mikrokalorimetrijske titracije provedene su s izotermnim titracijskim kalorimetrom VP-ITC tvrtke Microcal. U reakcijsku ćeliju volumena 1,42 ml koja sadrži otopinu liganda dodavana je odgovarajuća sol s biretom volumena 300 μL u dodatcima od 15 μL za sve titracije osim za titracije s TBAH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> i TBAHSO<sub>4</sub>, kod koje je dodatak iznosio 10 μL. Vremenski razmak između dvaju dodataka tijekom titracije iznosio je od 300 s za sve titracije, dok je za titraciju s TBAH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> iznosio između 600 i 1000 s. Praćena je vremenska ovisnost toka topline s korakom od 2 s pomoću programa Origin 7.0 Microcal pri konstantnoj temperaturi od  $(25,0 \pm 0,1)$  °C.

Mjerenja za sve titracije su ponavljanja tri puta, osim za titraciju s  $\text{TBAH}_2\text{PO}_4$  i  $\text{TBAHSO}_4$  za koju je izvršeno samo jedno mjerenje.

Reakcijske entalpije i konstante ravnoteže dobivene su nelinearnom regresijskom analizom kalorimetrijskih podataka, odnosno vrijednosti toplina dobivenih integriranjem ovisnosti toplinske snage u vremenu, koje su nakon toga korigirane za topline razrjeđenja otopina soli. Reakcijske entalpije i konstante stabilnosti dobivene su nelinearnom regresijom prema jednadžbi (2.13) koja je korigirana zbog izlivanja reakcijske smjese iz reakcijske ćelije kalorimetra, dok su standardne reakcijske Gibbsove energije i pripadajuće entropije izračunate prema jednadžbama (2.18) i (2.19). Za obradu podataka korišteni su programi Microsoft Excel i OriginPro 7.5.

### 3.3.2. $^1\text{H}$ NMR titracije

$^1\text{H}$  NMR titracije provedene su pomoću spektrometra Bruker Avance III HD 400 MHz pri  $25\text{ }^\circ\text{C}$ . Kod titracija svi spektri snimljeni su sa 16 pulseva, dok je kao standard korišten je signal otapala. Za svaku titraciju prikupljen je po jedan set podataka. Regresijskom analizom su određene konstante ravnoteže za nastajanje kompleksa korištenjem programa HypNMR unutar programskog paketa Hyperquad.<sup>39</sup>

## 3.4. Molekulska dinamika

Simulacije molekulske dinamike provedene su pomoću programskog paketa GROMACS,<sup>18-24</sup> verzije 2016.5. Intramolekulske i nevezne intermolekulske interakcije opisane su korištenjem polja sila OPLS-AA (Optimized parameters for Liquid Simulations-All Atoms). Kao početna struktura za simulaciju odabrana je minimizirana struktura, a molekule otapala su dodane eksplicitno. Simulacije molekulske dinamike provedene su u trajanju od 50 ns, dok je kao numerički integrator korišten Verletov algoritam s vremenskim korakom od 1 fs. Temperatura sustava tijekom simulacije održavana je na 298,15 K korištenjem Nose-Hoverovog<sup>25,26</sup> termostata s vremenskom konstantom od 1 ps, dok je tlak tijekom simulacija održavan pomoću Martyna-Tuckerman-Tobias-Klein<sup>27</sup> barostata uz vremensku konstantu od 1 ps.

Prosječne molekulske strukture kompleksa ciklopeptida s halogenim i oksoanionima u acetonitrilu i DMSO-u prikazane na slikama u ovom radu dobivene su PCA (*Principal Component Analysis*) obradom koordinacijske matrice aniona koja je sadržavala sve udaljenosti

i kuteve između donorskih i akceptorskih skupina uz klstersku analizu PCA koordinata struktura za prve dvije, odnosno tri PCA komponente. Kao reprezentativne strukture uzete su one koje pripadaju centroidu klastera koji sadrži najveći broj molekulskih struktura. Slike molekulskih struktura dobivene simulacijama molekulske dinamike izrađene su uz pomoć programa VMD<sup>28</sup>.

## § 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. Kompleksi ciklopeptida L1 u acetonitrilu

Afinitet ciklopeptida **L1** prema halogenim, tiocijanatnim i nitratnim anionima u acetonitrilu određen je kalorimetrijskim i  $^1\text{H}$  NMR titracijama, a rezultati su prikazani u tablici 1.

**Tablica 1.** Termodinamičke veličine kompleksiranja spoja **L1** s halogenim, nitratnim i tiocijanatnim ionom u acetonitrilu pri 25°C.

anion	$\log\left(\frac{K}{\text{dm}^3\text{mol}^{-1}}\right) \pm \text{SE}$	$\frac{(\Delta_r G^\ominus \pm \text{SE})}{\text{kJ mol}^{-1}}$	$\frac{(\Delta_r H^\ominus \pm \text{SE})}{\text{kJ mol}^{-1}}$	$\frac{(\Delta_r S^\ominus \pm \text{SE})}{\text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}}$
$\text{Cl}^-$	$5,84 \pm 0,034^a$	$-33,33 \pm 0,11$	$-10,68 \pm 0,081$	$75,94 \pm 0,59$
$\text{Br}^-$	$4,70 \pm 0,011^a$	$-26,82 \pm 0,062$	$-4,84 \pm 0,024$	$73,70 \pm 0,22$
$\text{I}^-$	$3,20 \pm 0,027^a$ $3,12^b$	$-18,27 \pm 0,15$	$1,91 \pm 0,075$	$67,68 \pm 0,26$
$\text{SCN}^-$	$2,90 \pm 0,020^a$ $2,77^b$	$-16,54 \pm 0,11$	$-4,72 \pm 0,095$	$39,66 \pm 0,70$
$\text{NO}_3^-$	$3,18 \pm 0,0067^a$ $3,29^b$	$-18,16 \pm 0,038$	$-6,08 \pm 0,042$	$40,52 \pm 0,26$

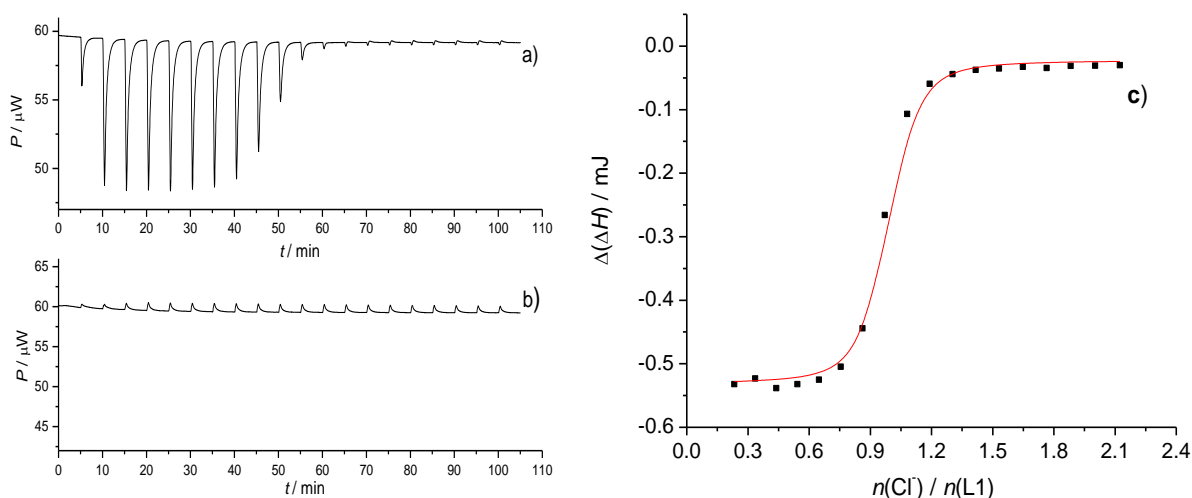
<sup>a</sup> kalorimetrijski, <sup>b</sup>  $^1\text{H}$  NMR

SE – standardna pogreška aritmetičke sredine ( $N = 3$ ).

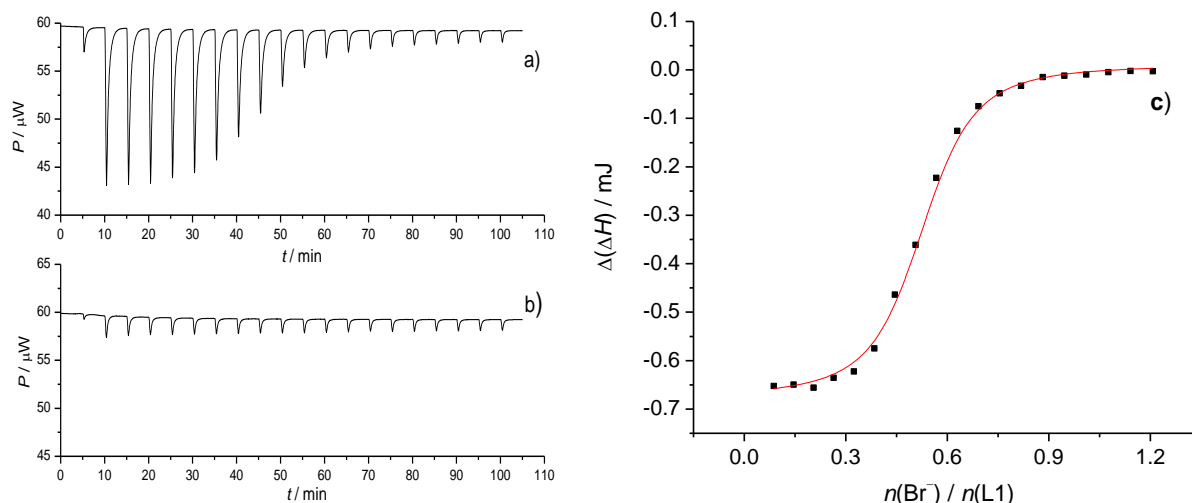
Ciklopeptid **L1** u acetonitrilu veže halogene anione pri čemu stabilnost kompleksa pada u nizu  $\text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{I}^-$ . Također veže i nitratni i tiocijanatni ion pri čemu je afinitet prema tim ionima usporediv s afinitetom prema ionu  $\text{I}^-$ . Halogeni anioni, kao i tiocijanatni i nitratni anion, tvore s **L1** kompleks u stehiometrijskom omjeru 1:1.



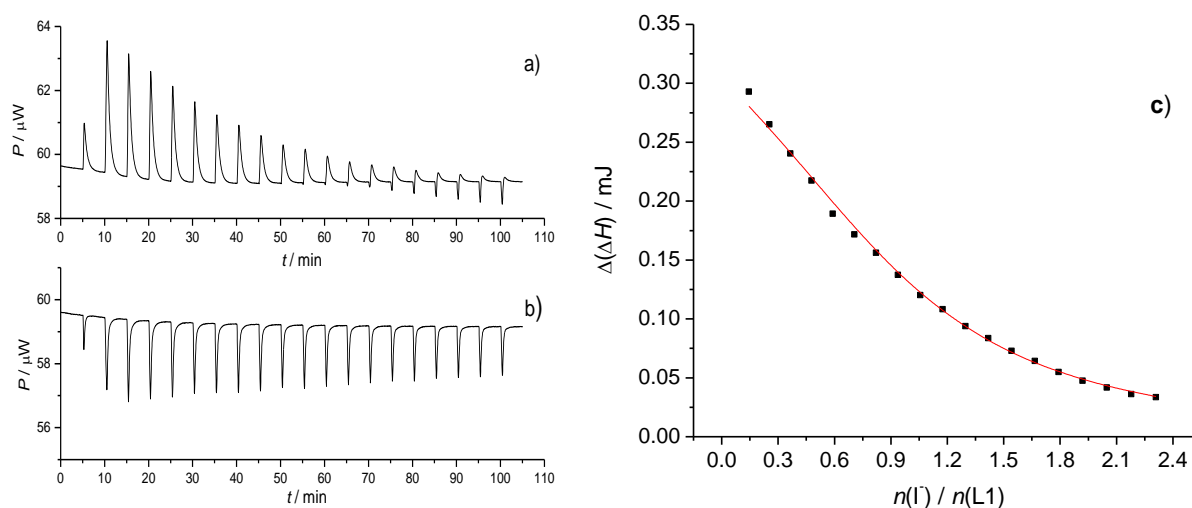
Kod mikrokalorimetrijskih titracija ciklopeptida **L1** s kloridnim i bromidnim ionima opažene su negativne sukcesivne promjene entalpije (slike 4 i 5). Vežanje spomenutih aniona je entalpijski i entropijski vođen proces budući da su oba doprinosa Gibbsovoj energiji povoljna. Tijekom mikrokalorimetrijskih titracija s jodidnim anionima, za razliku od onih s kloridnim i bromidnim ionima, opažene su pozitivne sukcesivne promjene entalpije (slika 6). Proces kompleksiranja **L1** s jodidom je entropijski vođen proces jer je entalpijski doprinos Gibbsovoj energiji nepovoljan. Egzotermne sukcesivne promjene entalpije su također primijećene i u procesima kompleksiranja tiocijanatnih i nitratnih aniona (slike 7 i 8). Entalpijski i entropijski doprinosi Gibbsovoj energiji za oba procesa su povoljni. Najmanji afinitet od svih ispitanih aniona je primijećen kod tiocijanatnih aniona. Konstanta stabilnosti za kompleks **L3** s hidrogensulfatnim ionima nije određena, iako titracije upućuju da uz nastanak kompleksa stehiometrije 1:1 nastaje i kompleks više stehiometrije, najvjerojatnije onaj u kojem su dva liganda vezana na jedan anion.



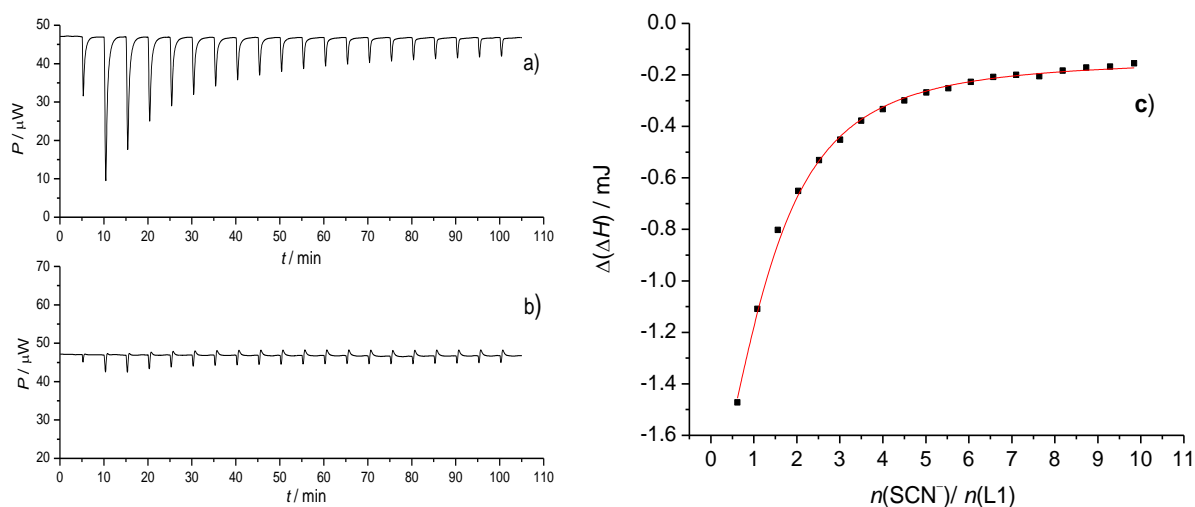
**Slika 4.** a) Mikrokalorimetrijska titracija liganda **L1** ( $c = 3,43 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TEACl ( $c = 3,21 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu pri 25 °C. b) Mikrokalorimetrijska titracija čistog acetonitrila s TEACl ( $c = 3,21 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) pri 25 °C. c) Ovisnost sukcesivne promjene entalpije o množinskom omjeru  $n(\text{Cl}^-) / n(\text{L1})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



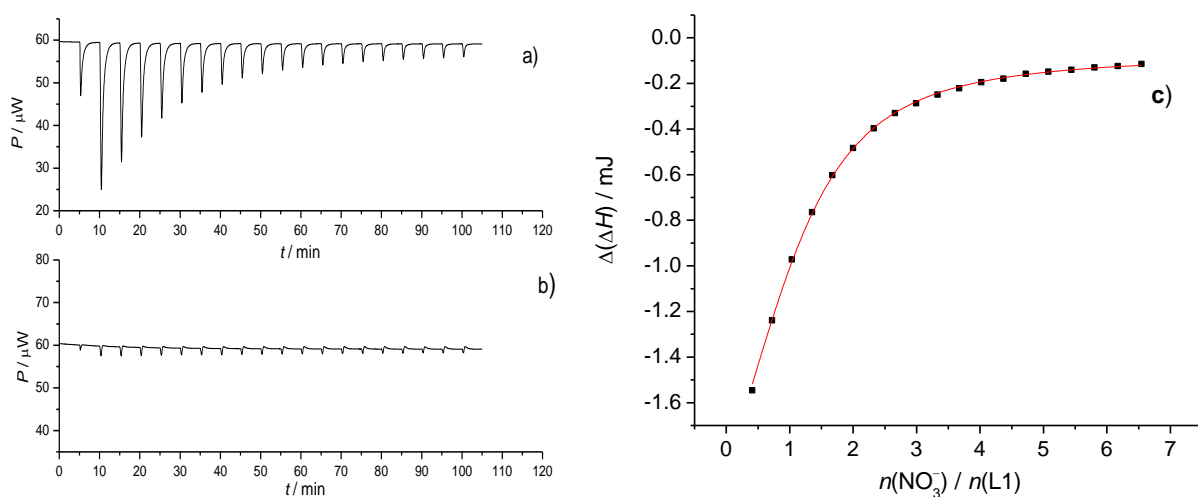
**Slika 5.** a) Mikrokalorimetrijska titracija liganda **L1** ( $c = 9,37 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TBABr ( $c = 9,54 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu pri 25 °C. b) Mikrokalorimetrijska titracija čistog acetonitrila s TBABr ( $c = 9,54 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) pri 25 °C. c) Ovisnost sukcesivne promjene entalpije o množinskom omjeru  $n(\text{TBABr}) / n(\text{L1})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



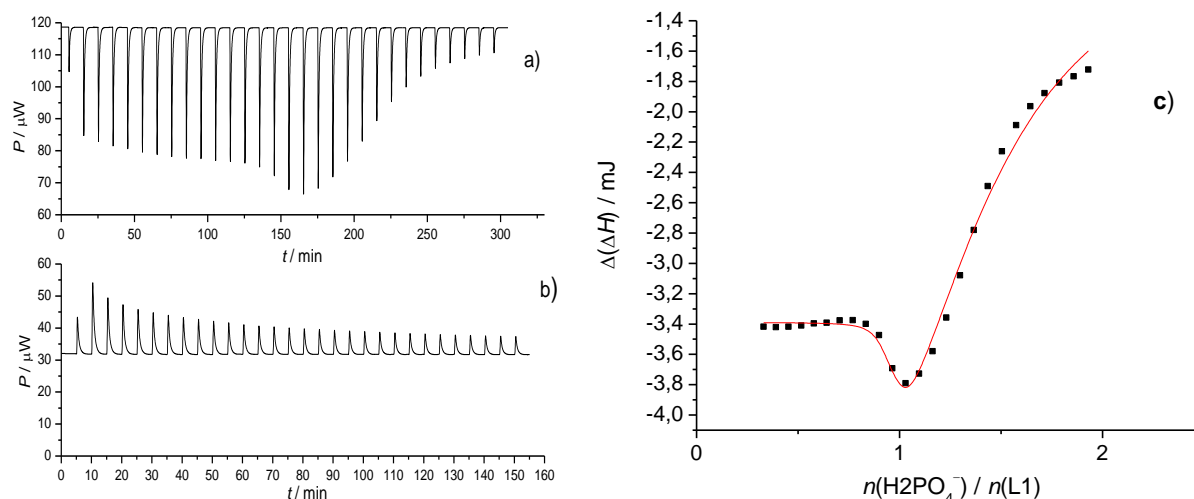
**Slika 6.** a) Mikrokalorimetrijska titracija liganda **L1** ( $c = 1,44 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TBAI ( $c = 1,55 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu pri 25 °C. b) Mikrokalorimetrijska titracija čistog acetonitrila s TBAI ( $c = 1,55 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) pri 25 °C. c) Ovisnost sukcesivne promjene entalpije o množinskom omjeru  $n(\text{I}^-) / n(\text{L1})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



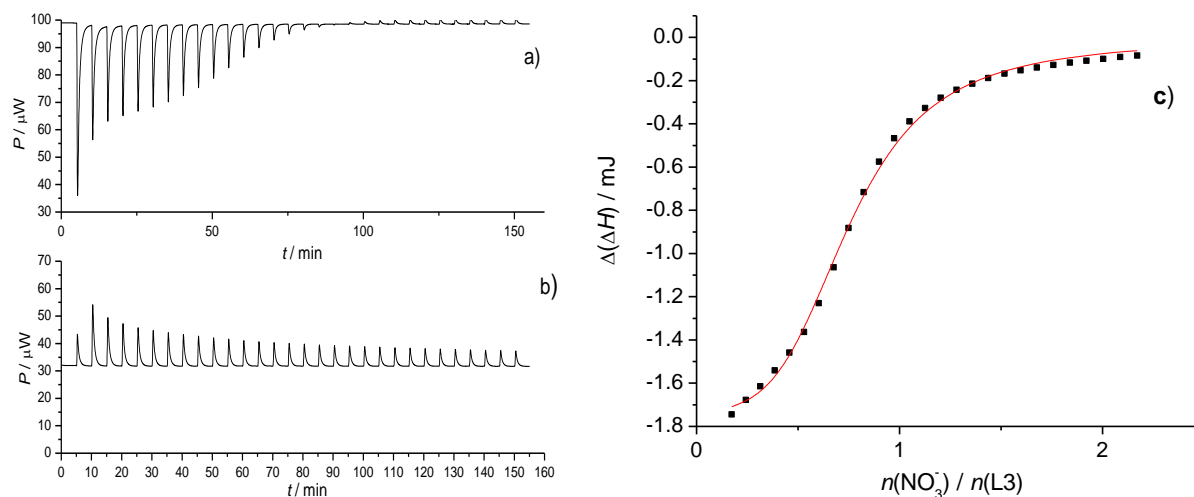
**Slika 7.** a) Mikrokalorimetrijska titracija liganda **L1** ( $c = 1,16 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TBASCN ( $c = 5,02 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu pri 25 °C. b) Mikrokalorimetrijska titracija čistog acetonitrila s TBASCN ( $c = 5,02 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) pri 25 °C. c) Ovisnost sukcesivne promjene entalpije o množinskom omjeru  $n(\text{SCN}^-) / n(\text{L1})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



**Slika 8.** a) Mikrokalorimetrijska titracija liganda **L1** ( $c = 1,06 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TBANO<sub>3</sub> ( $c = 3,07 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu pri 25 °C. b) Mikrokalorimetrijska titracija čistog acetonitrila s TBANO<sub>3</sub> ( $c = 3,07 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) pri 25 °C. c) Ovisnost sukcesivne promjene entalpije o množinskom omjeru  $n(\text{NO}_3^-) / n(\text{L1})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



**Slika 9.** a) Mikrokalorimetrijska titracija liganda **L1** ( $c = 1,21 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{TBAH}_2\text{PO}_4$  ( $c = 1,01 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu pri  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . b) Mikrokalorimetrijska titracija čistog acetonitrila s  $\text{TBAH}_2\text{PO}_4$  ( $c = 1,01 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) pri  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . c) Ovisnost sukcesivne promjene entalpije o množinskom omjeru  $n(\text{H}_2\text{PO}_4^-) / n(\text{L1})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



**Slika 10.** a) Mikrokalorimetrijska titracija liganda **L1** ( $c = 1,21 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{TBAHSO}_4$  ( $c = 1,18 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u acetonitrilu pri  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . b) Mikrokalorimetrijska titracija čistog acetonitrila s  $\text{TBAHSO}_4$  ( $c = 1,18 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) pri  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . c) Ovisnost sukcesivne promjene entalpije o množinskom omjeru  $n(\text{H}_2\text{PO}_4^-) / n(\text{L1})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.

**Tablica 2.** Termodinamičke veličine kompleksiranja spoja **L1** s hidrogensulfatnim i dihidrogenfosfatnim anionima u DMSO-u pri 25°C određene kalorimetrijski.

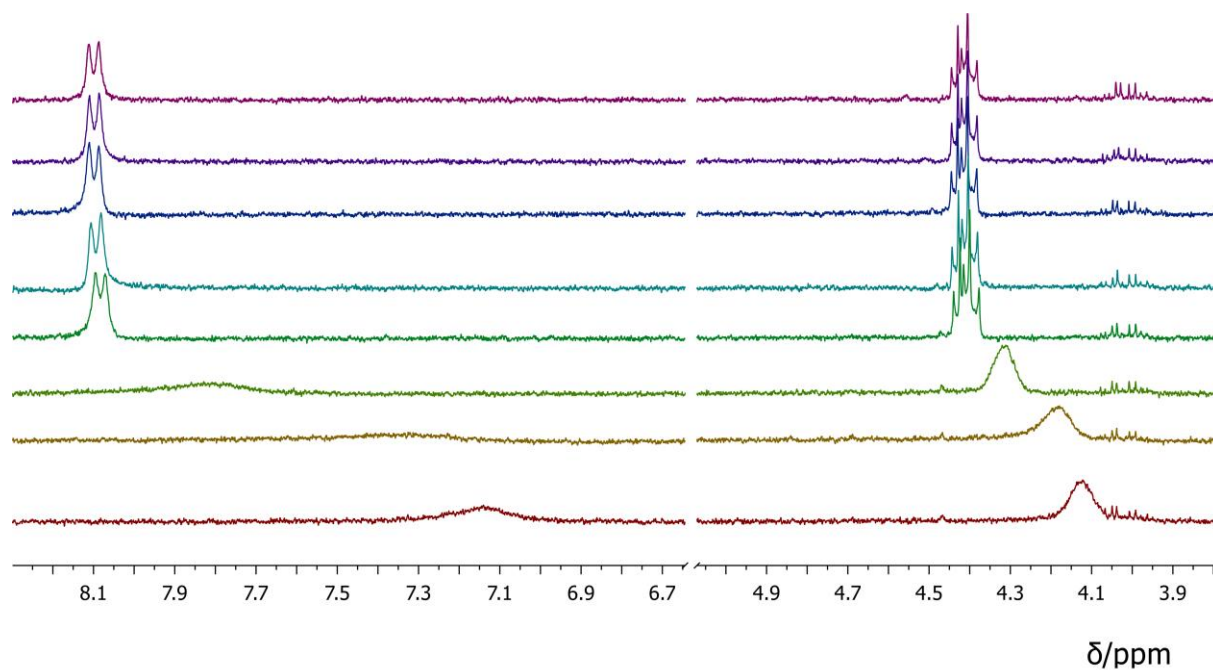
anion	$\log\left(\frac{K}{\text{dm}^3\text{mol}^{-1}}\right) \pm \text{SE}$	$\frac{(\Delta_r G^\ominus \pm \text{SE})}{\text{kJ mol}^{-1}}$	$\frac{(\Delta_r H^\ominus \pm \text{SE})}{\text{kJ mol}^{-1}}$
$\text{HSO}_4^-$	4,59 <sup>a</sup> (1:1)	-26,18	-14,89
	8,09 <sup>a</sup> (2:1)	-46,20	-14,85
$\text{H}_2\text{PO}_4^-$	6,58 (1:1)	-37,55	-33,57
	10,11 (1:2)	-57,72	-87,65

<sup>a</sup> kalorimetrijski dobivene konstante stabilnosti za komplekse stehiometrije definirane omjerom ligand / anion

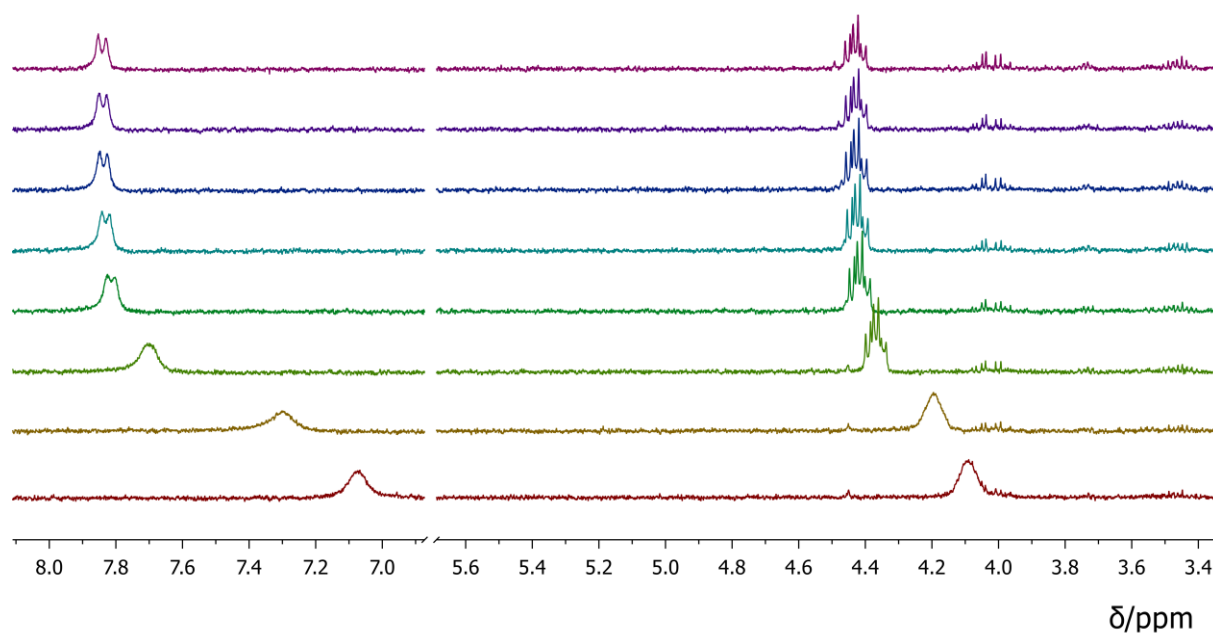
Za kompleksiranje ciklopeptida **L1** s hidrogensulfatnim i dihidrogenfosfatnim anionima mikrokalorimetrijskim titracijama procijenjene su termodinamičke veličine (tablica 2). Proces kompleksacije s hidrogensulfatom se odvija u dva koraka: u prvom koraku nastaje kompleks kod kojega je jedan liganda vezana za jedan anion, dok u drugom koraku nastaje kompleks u kojem su dva liganda vezana na anion. Kod titracije s dihidrogenfosfatnom u prvom koraku nastaje kompleks stehiometrije 1:1, dok u drugom koraku nastaje kompleks kod kojega je jedan ligand vezan na dva aniona. Kod obje titracije opažena je egzotermna sukcesivna promjena entalpija (slika 9 i 10), dok su entalpijski doprinosi Gibbsovoj energiji povoljni. Za obradu podataka kalorimetrijske titracije **L1** s dihidrogenfosfatom uzeta je u obzir korekcija za dimerizaciju dihidrogenfosfata.<sup>29</sup>

Za sve navedene komplekse provedene su <sup>1</sup>H NMR titracije pri čemu su opaženi kemijski pomaci većine protona uslijed vezanja aniona. Najznačajniji pomaci signala su na onim protonima koji pripadaju amidnoj skupini peptidne veze i protonima koji se nalaze na α-ugljiku. Iz promjena kemijskih pomaka spomenutih protona izračunate su konstante vezanja za jodidne, tiocijanatne i nitratne anione (tablica 1, slike 15, 16 i 17) koje su u dobrom slaganju s konstantama dobivenim iz kalorimetrijskih ispitivanja (tablica 1). NMR titracijama nije bilo moguće odrediti konstantu vezanja za kloridne i bromidne ione, ali su te titracije potvrdile nastajanje kompleksa stehiometrije 1:1 (slika 11 i 12).

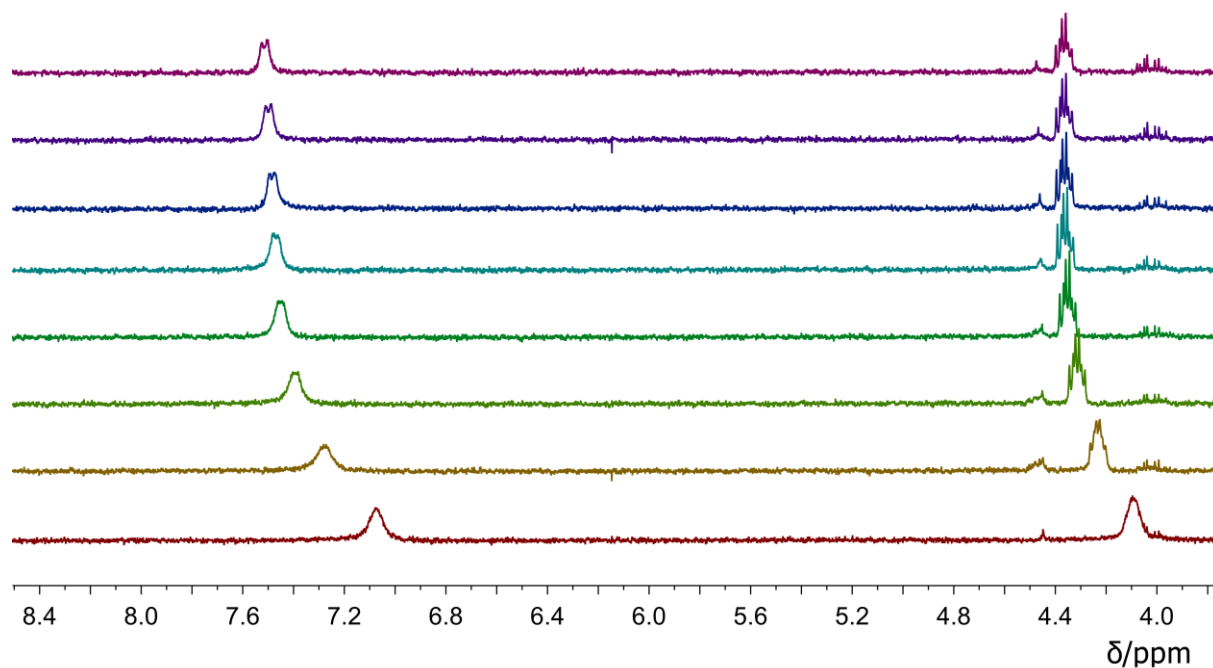
Iz NMR titracije liganda **L1** s hidrogensulfatom i dihidrogenfosfatom nije bilo moguće odrediti konstantu stabilnosti nastalog kompleksa (slika 13 i 14). Međutim, titracija s dihidrogenfosfatom pružile je informacije o nastajanju kompleksa više stehiometrije u drugom koraku reakcije, najvjerojatnije kompleksa liganda s dva dihidrogenfosfatna aniona.



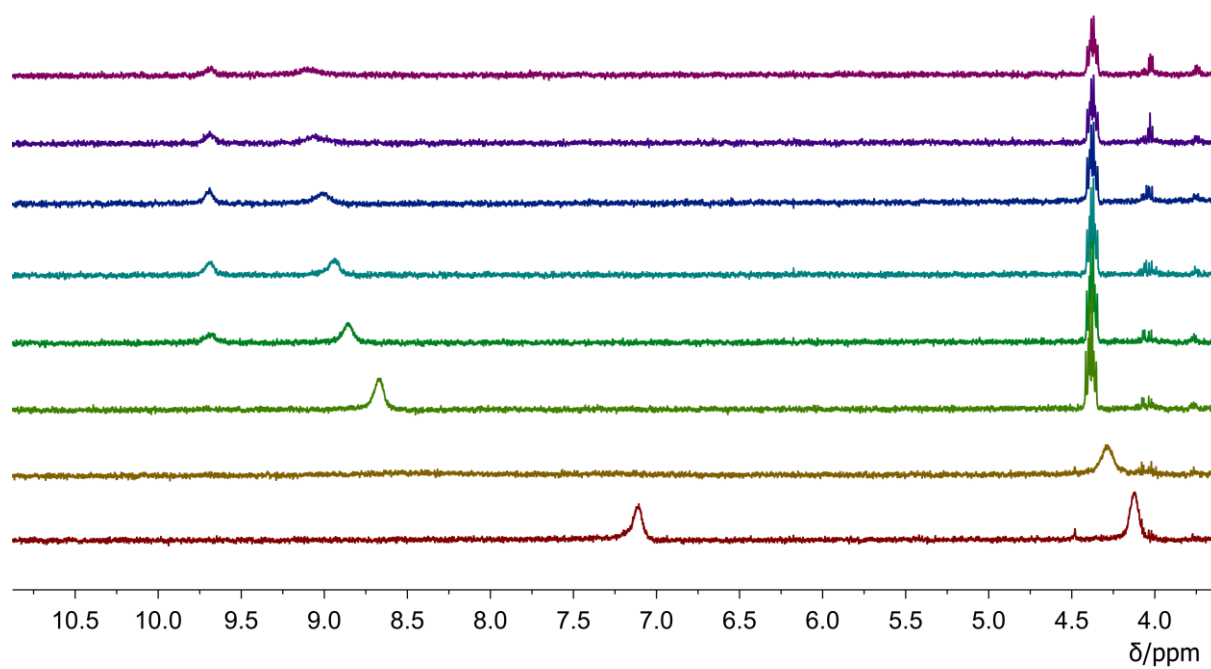
**Slika 11.** <sup>1</sup>H NMR titracija ciklopeptida **L1** ( $c = 6,08 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TEACl ( $c = 9,48 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u deuteriranom acetonitrilu.



**Slika 12.**  $^1\text{H}$  NMR titracija ciklopeptida **L1** ( $c = 6,08 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TBABr ( $c = 7,65 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u deuteriranom acetonitrilu.

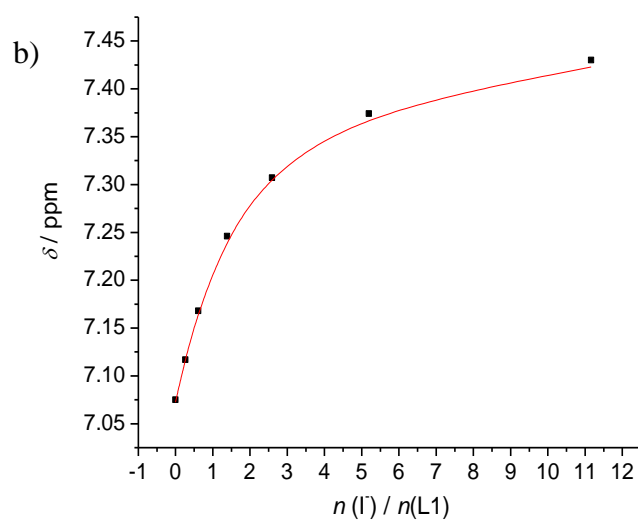
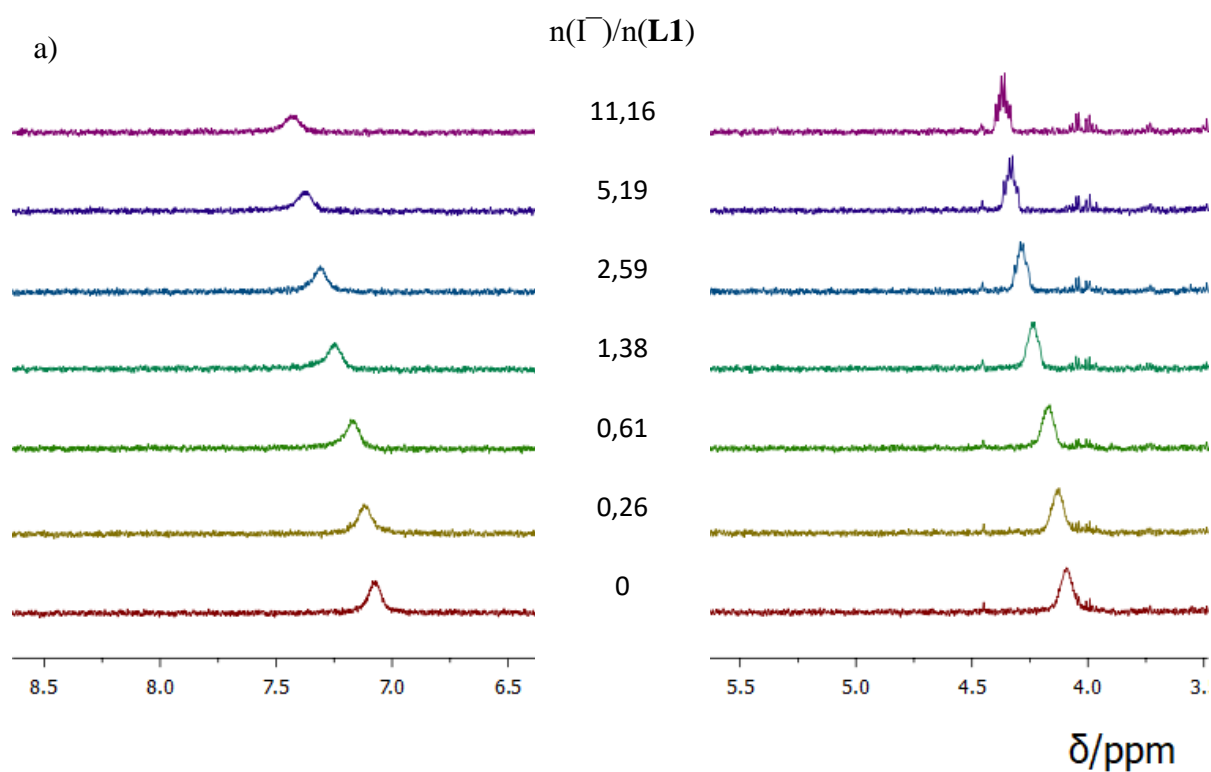


**Slika 13.**  $^1\text{H}$  NMR titracija ciklopeptida **L1** ( $c = 6,08 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TBHSO<sub>4</sub> ( $c = 9,28 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u deuteriranom acetonitrilu

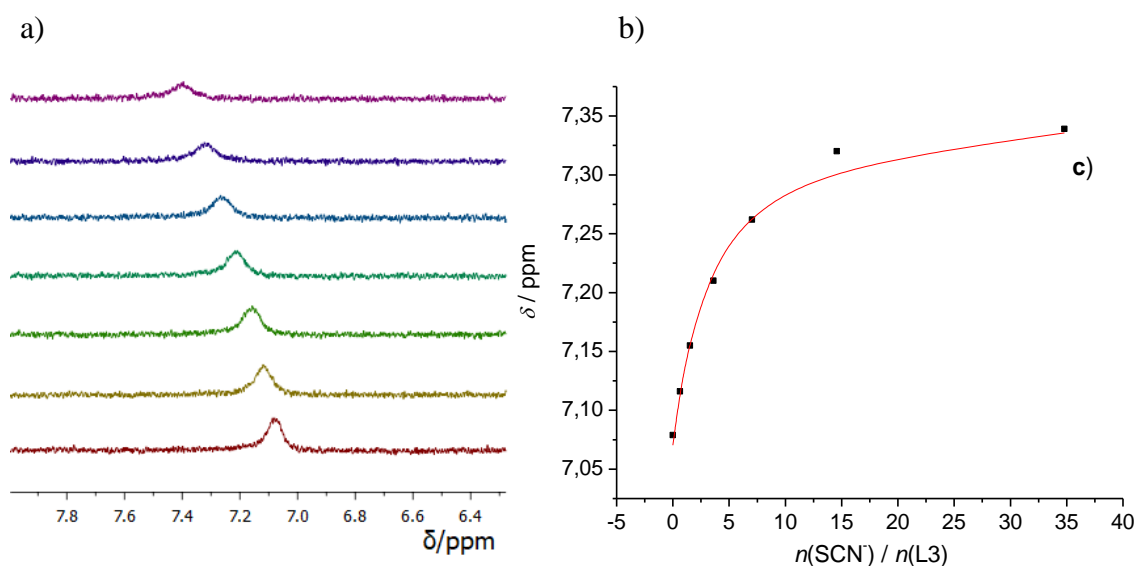


**Slika 14.** <sup>1</sup>H NMR titracija ciklopeptida **L1** ( $c = 6,08 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TBAH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ( $c = 1,08 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u deuteriranom acetonitrilu.

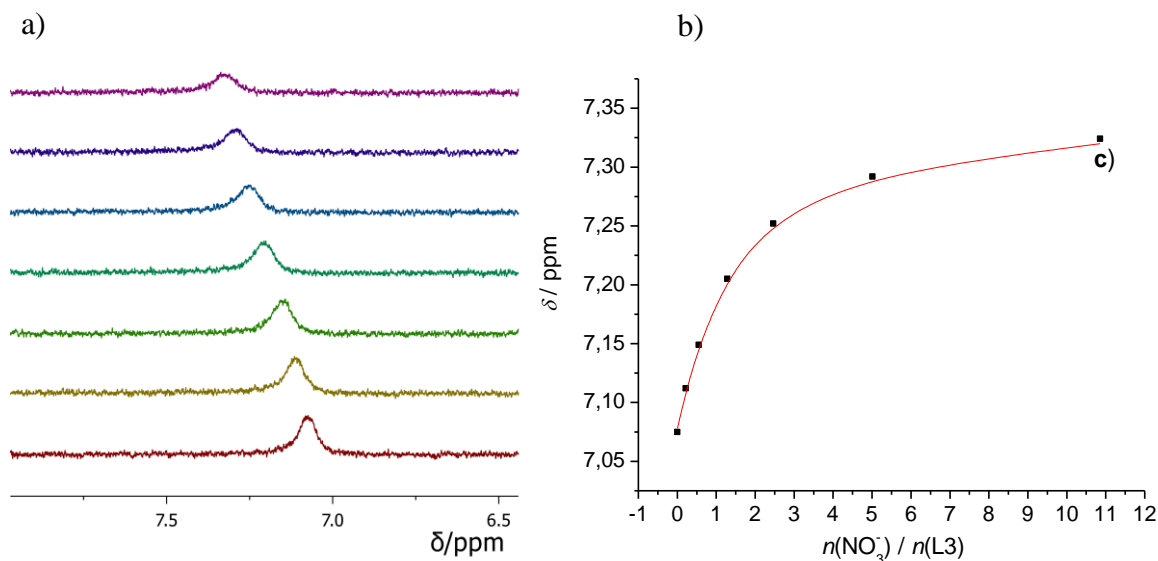




**Slika 15.** a)  $^1\text{H}$  NMR titracija ciklopeptida **L1** ( $c = 6,08 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TBAI ( $c = 6,50 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u deuteriranom acetonitrilu. b) Ovisnost kemijskog pomaka protona amidne skupine o množinskom omjeru  $n(\Gamma^-) / n(\mathbf{L1})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



**Slika 16.** a)  $^1\text{H}$  NMR titracija ciklopeptida **L1** ( $c = 6,08 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TBASCN ( $c = 1,92 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u deuteriranom acetonitrilu. b) Ovisnost kemijskog pomaka protona amidne skupine o množinskom omjeru  $n(\text{SCN}^-) / n(\text{L1})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



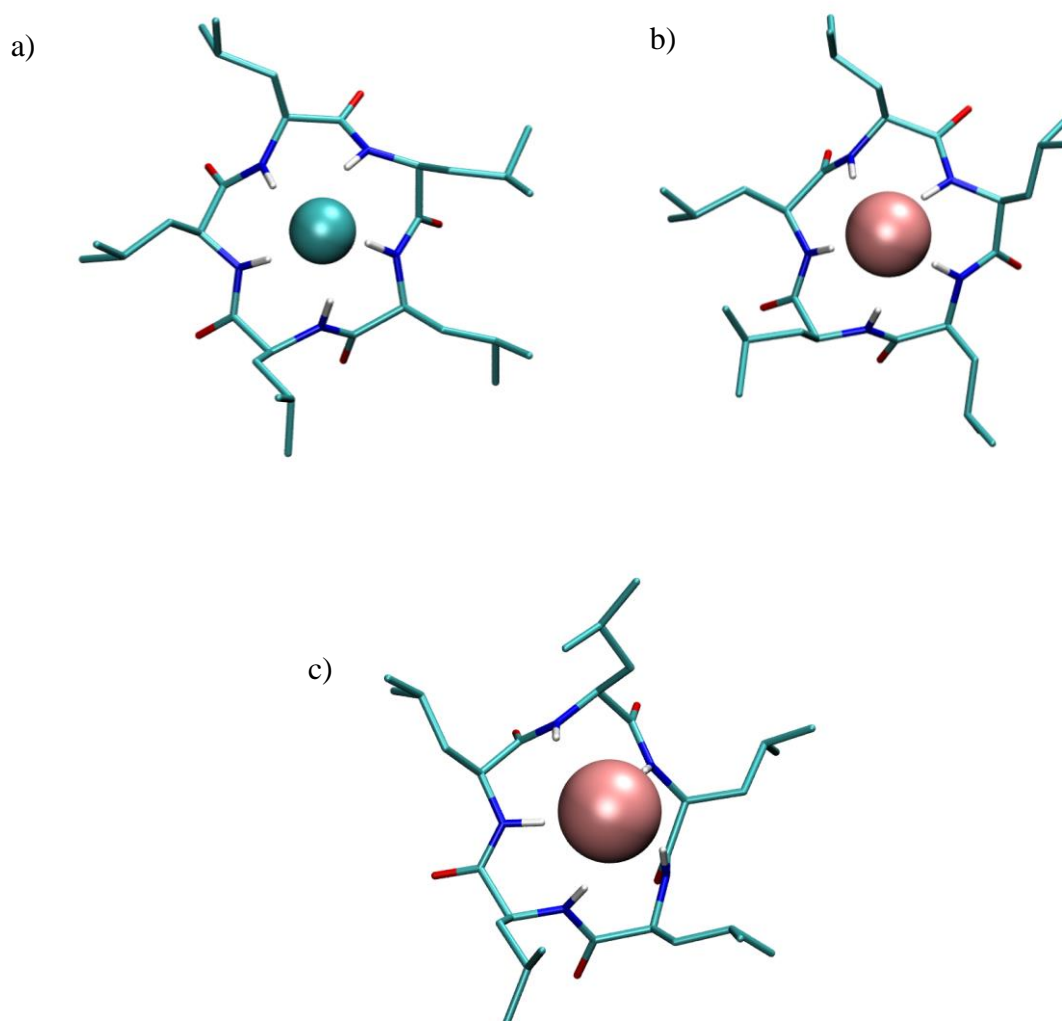
**Slika 17.** a)  $^1\text{H}$  NMR titracija ciklopeptida **L1** ( $c = 6,08 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TBANO<sub>3</sub> ( $c = 1,92 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u deuteriranom acetonitrilu. b) Ovisnost kemijskog pomaka protona amidne skupine o množinskom omjeru  $n(\text{NO}_3^-) / n(\text{L1})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.

U svrhu određivanje strukture kompleksa liganda **L1** s proučavanjem anionima u acetonitrilu provedene su simulacije molekulske dinamike. Rezultati tih simulacija su prosječni koordinacijski brojevi aniona (tablica 3) i prosječne geometrije kompleksa u otopini (slike 21 i 22).

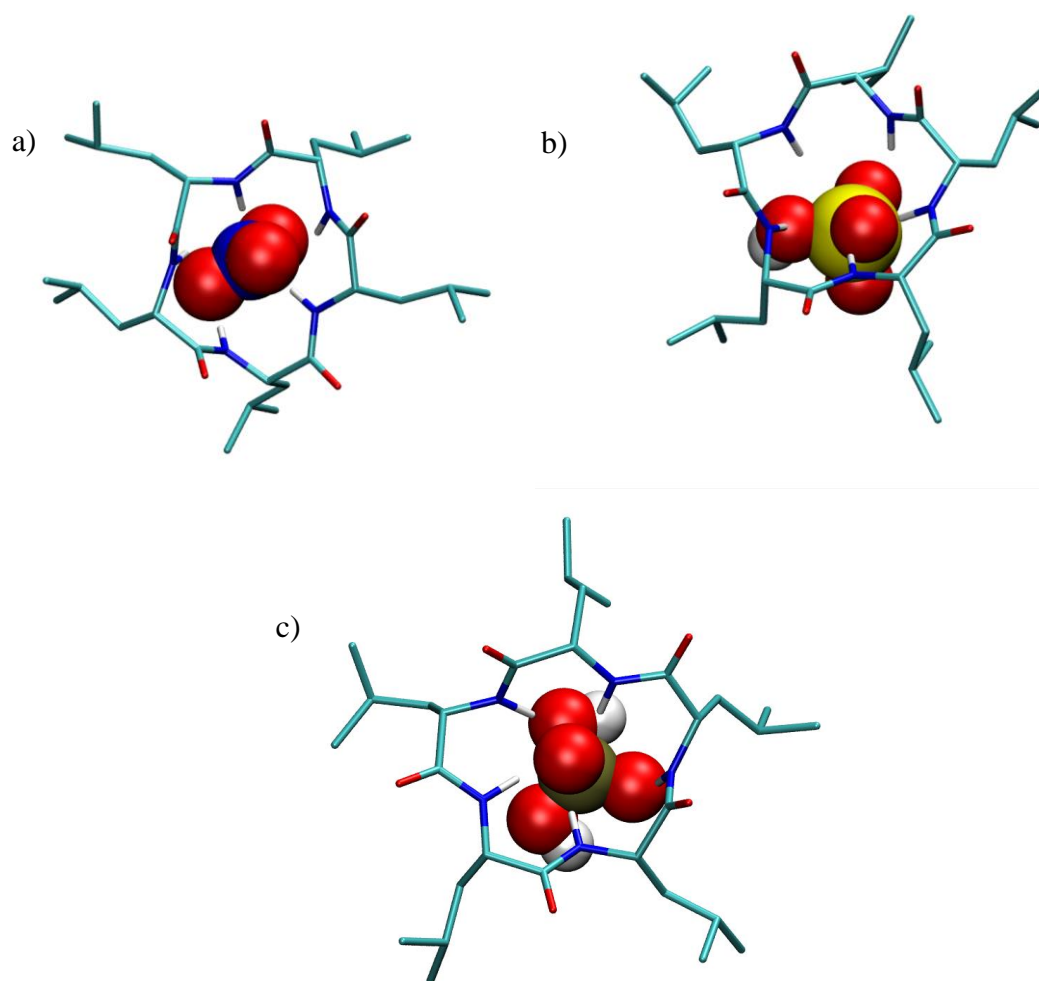
**Tablica 3.** Prosječni broj koordiniranih atoma amidnih vodika u anionskim kompleksima liganda **L1** u acetonitrilu.

anion	Cl <sup>-</sup>	Br <sup>-</sup>	I <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	HSO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>
N(-H)	4,98	4,98	4,88	4,95	4,75	4,97

Kod kompleksa liganda **L1** s halogenidnim ionima, anioni ulaze u prsten ciklopeptida i koordiniraju se vodikovim atomima amidne skupine (slika 18), što je u skladu s opaženim pomacima protona amidne skupine i protona  $\alpha$  - ugljika kod NMR titracija. Sva tri halogena aniona su u prosjeku koordinirana s 5 vodikovih atoma (tablica 3). Oksoanioni jednim atomom kisika ulaze u prsten ciklopeptida, gdje se taj atom kisika koordinira s tri atoma vodika amidnih skupina. Preostala dva atoma vodika koordiniraju se na najbliži atom kisika iznad ravnine prstena (slika 19). Svi oksoanioni su u prosjeku koordinirani s ukupno 5 atoma vodika (tablica 3).



**Slika 18.** Strukture kompleks ciklopeptida **L1** s a) kloridnim, b) bromidnim i c) jodidnim anionom u acetonitrilu dobivene pomoću simulacija molekulske dinamike. Vodikovi atomi vezani na ugljikove atome izostavljeni su radi jasnijeg prikaza.



**Slika 19.** Strukture kompleks ciklopeptida **L1** s a) nitratnim, b) hidrogensulfatnim i c) dihidrogenfosfatnim anionom u acetonitrilu dobivene pomoću simulacija molekulske dinamike. Vodikovi atomi vezani na ugljikove atome su izostavljeni radi jasnijeg prikaza.

## 4.2. Kompleksi ciklopeptida L1, L2 i L3 u DMSO-u

Određeni su afiniteti ciklopeptida **L1**, **L2**, i **L3** prema kloridnim i bromidnim anionima u DMSO-u i to metodama izotermne titracijske kalorimetrije i  $^1\text{H}$  NMR titracijama (tablica 4).

**Tablica 4.** Termodinamičke veličine kompleksiranja spoja **L1**, **L2** i **L3** s kloridnim i bromidnim anionima u DMSO-u pri 25°C.

ligand	anion	$\log\left(\frac{K}{\text{dm}^3\text{mol}^{-1}}\right) \pm \text{SE}$	$\frac{(\Delta_r G^\ominus \pm \text{SE})}{\text{kJ mol}^{-1}}$	$\frac{(\Delta_r H^\ominus \pm \text{SE})}{\text{kJ mol}^{-1}}$	$\frac{(\Delta_r S^\ominus \pm \text{SE})}{\text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}}$
<b>L1</b>	$\text{Cl}^-$	$2,40 \pm 0,0026$ 3,54 <sup>b</sup>	$-13,70 \pm 0,016$	$6,65 \pm 0,079$	$68,26 \pm 0,21$
	$\text{Br}^-$	$1,83 \pm 0,012^a$ 1,75 <sup>b</sup>	$-10,46 \pm 0,062$	$9,78 \pm 0,27$	$67,89 \pm 1,31$
<b>L2</b>	$\text{Cl}^-$	$3,11 \pm 0,0005^a$ 3,55 <sup>b</sup>	$-7,77 \pm 0,003$	$3,62 \pm 0,011$	$71,75 \pm 0,027$
	$\text{Br}^-$	$1,68 \pm 0,016^a$ 2,35 <sup>a</sup>	$-9,58 \pm 0,092$	$10,28 \pm 0,29$	$66,61 \pm 0,66$
<b>L3</b>	$\text{Cl}^-$	$3,17 \pm 0,007^a$ 3,16	$-18,10 \pm 0,040$	$3,86 \pm 0,043$	$73,64 \pm 0,017$
	$\text{Br}^-$	$1,72 \pm 0,030$ 1,90	$-9,82 \pm 0,17$	$9,14 \pm 0,67$	$63,59 \pm 1,67$

<sup>a</sup> kalorimetrijski, <sup>b</sup>  $^1\text{H}$  NMR

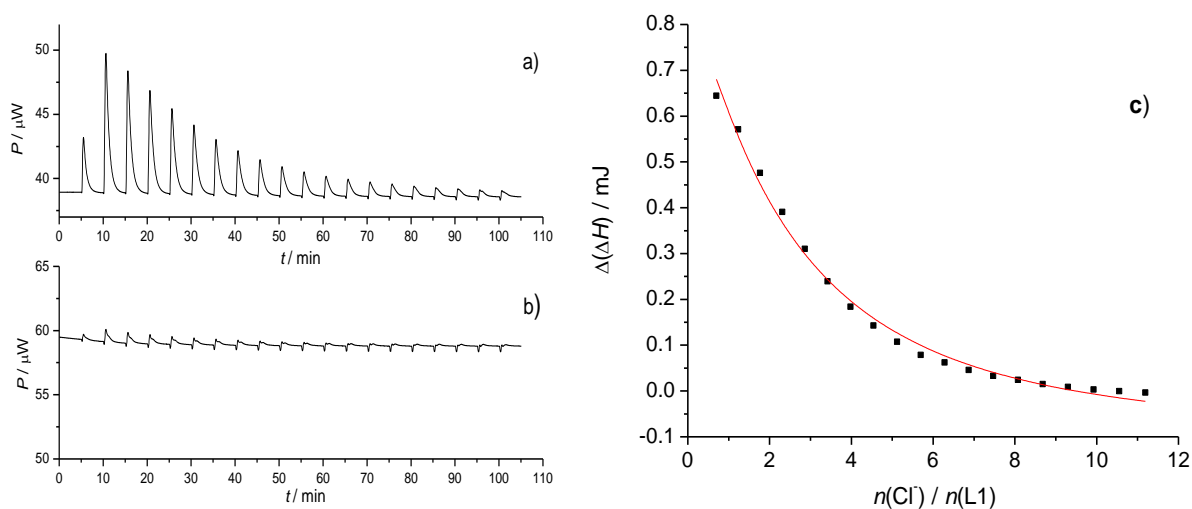
SE – standardna pogreška aritmetičke sredine ( $N = 3$ ).

Ispitivanjima je uočeno da je afinitet ciklopeptida **L1** prema halogenim anionima znatno manji u DMSO-u nego u acetonitrilu. Afinitet liganada **L1**, **L2** i **L3** prema kloridnim ionima veći je nego prema bromidnim, dok se jodidni anioni u DMSO-u uopće ne vežu. Mikrokalorimetrijska ispitivanja pokazala su da ciklopeptidi također ne vežu tiocijanatne, nitratne i dihidrogensulfatne anione u DMSO-u. Jedan od razloga nižeg afiniteta liganada nalazi se u činjenici da je DMSO kompetitivnije otapalo od acetonitrila te stvaranje vodikovih veza između amidne skupine i aniona ne može kompenzirati energiju potrebnu za desolvataciju

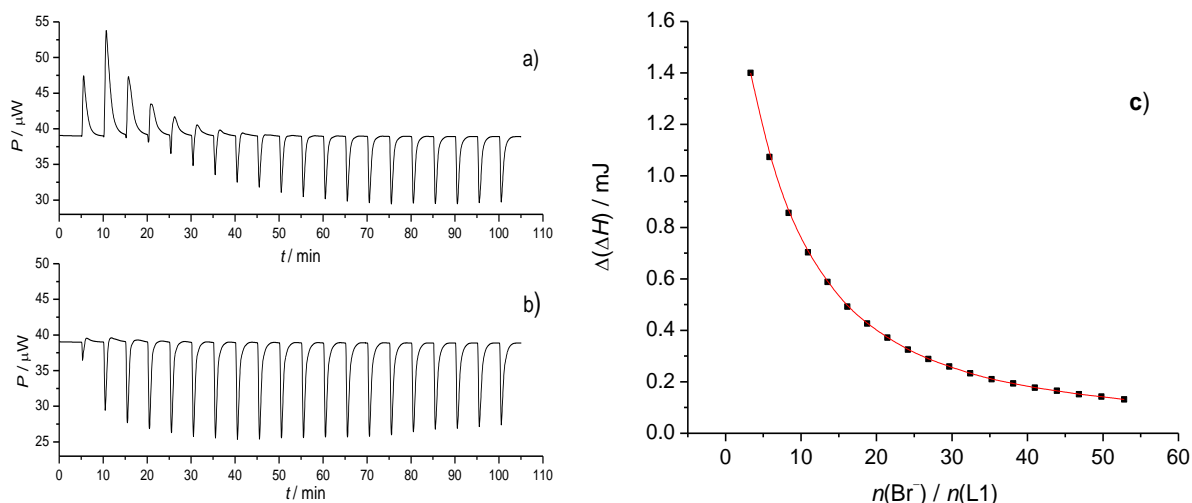
ciklopeptida i aniona. Gibbsova energije transfera iz acetonitrila u DMSO za kloridne ione je približno jednaka nuli, dok za bromidne iznosi  $-4 \text{ kJ mol}^{-1}$ , odnosno  $-7 \text{ kJ mol}^{-1}$  za jodidne. Uzimanjem u obzir Gibbsove energije transfera aniona iz jednog otapala u drugo, vidljivo je da kompeticija otapala ne može u potpunosti objasniti uočeni efekt.

Iz provedenih titracija vidljivo je da lizinski ciklopeptidi u DMSO-u bolje vežu anione od leucinskog ciklopeptida. Karbamatna skupina na ograncima lizinskih ciklopeptida može poslužiti kao donor vodikove veze, što dodatno stabilizira nastali kompleks. Smanjenjem broja podjedinica u prstenu ciklopeptida smanjuje se i broj amidnih skupina koje koordiniraju anion, ali ta strukturna razlika nema efekta na afinitet liganda **L3** u odnosu na ligand **L2**.

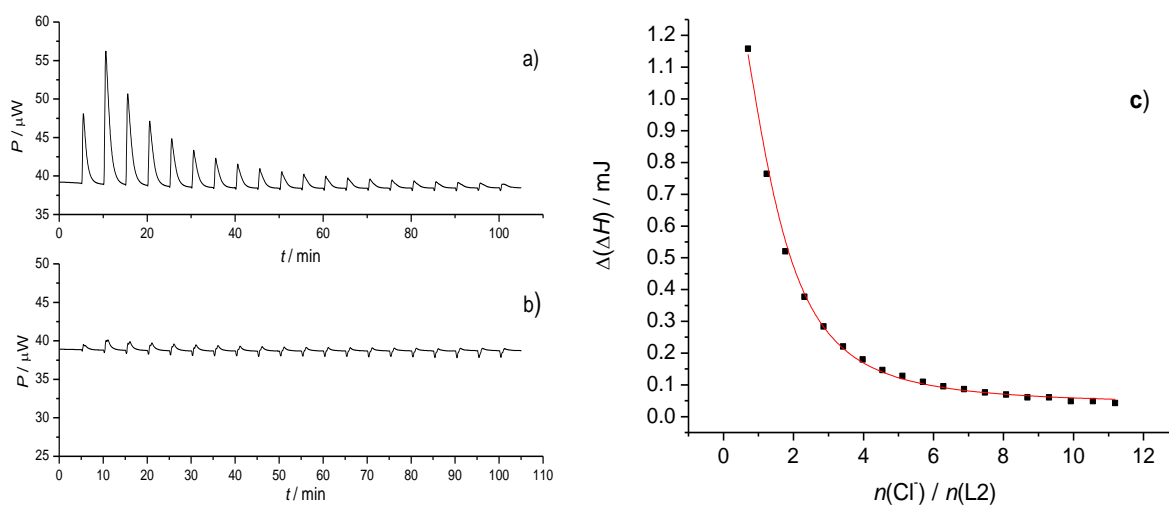
Sve uočene sukcesivne promjene entalpije kod mikrokalorimetrijskih titracija u DMSO-u su endotermne (slike 20-24). Proces kompleksiranja isključivo su entropijski vođeni jer je entalpijski doprinos Gibbsovoj energiji nepovoljan kod svih titracija u DMSO-u (tablica 2).



**Slika 20.** a) Mikrokalorimetrijska titracija liganda **L1** ( $c = 1,84 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TEACl ( $c = 3,39 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u DMSO-u pri  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . b) Mikrokalorimetrijska titracija čistog DMSO-a s TEACl ( $c = 3,39 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) pri  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . c) Ovisnost sukcesivne promjene entalpije o množinskom omjeru  $n(\text{Cl}^-) / n(\text{L1})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.

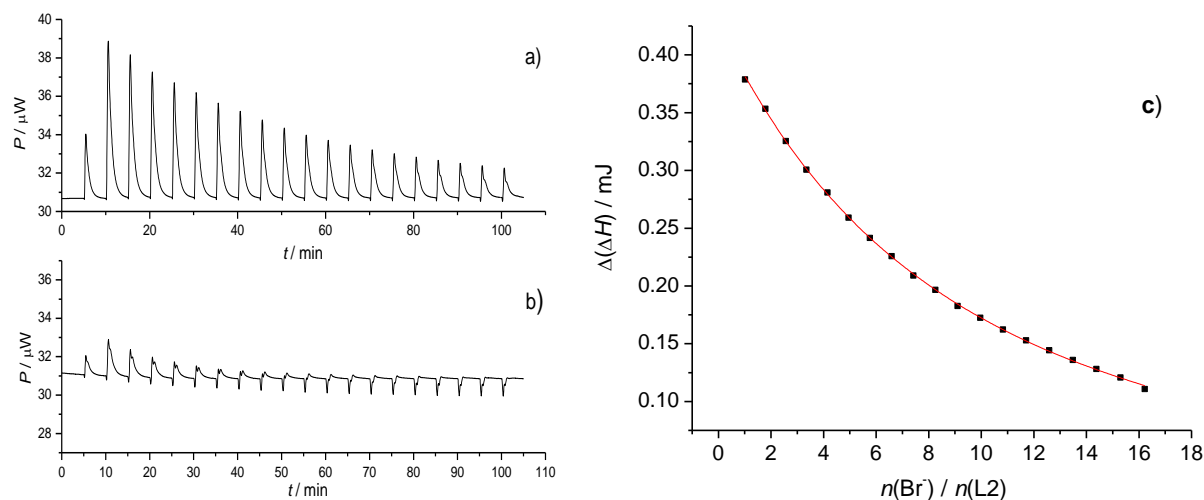


**Slika 21.** a) Mikrokalorimetrijska titracija liganda **L1** ( $c = 9,13 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TEABr ( $c = 0,21 \text{ mol dm}^{-3}$ ) u DMSO-u pri 25 °C. b) Mikrokalorimetrijska titracija čistog DMSO-a s TEABr ( $c = 0,21 \text{ mol dm}^{-3}$ ) pri 25 °C. c) Ovisnost sukcesivne promjene entalpije o množinskom omjeru  $n(\text{Br}^-) / n(\text{L1})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.

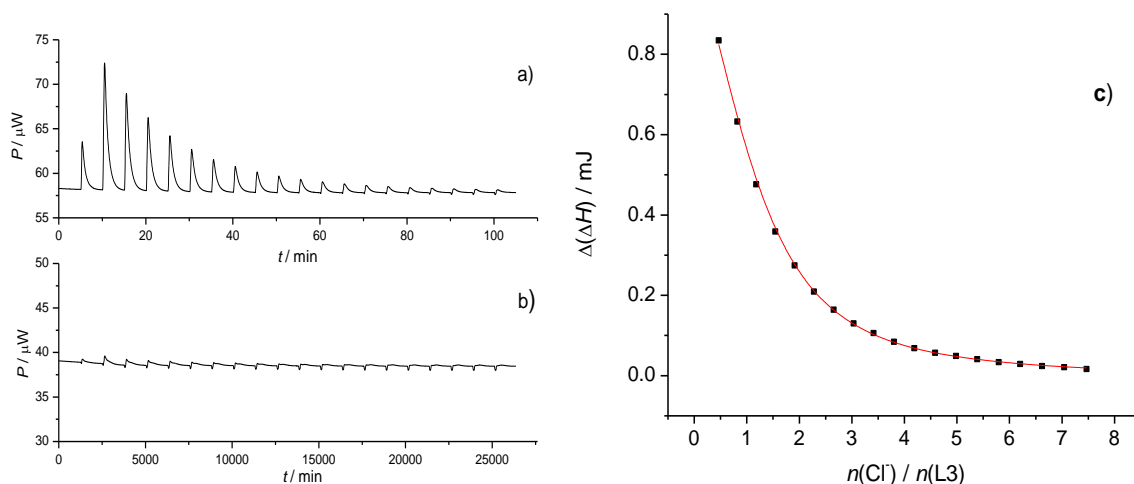


**Slika 22.** a) Mikrokalorimetrijska titracija liganda **L2** ( $c = 9,82 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TEACl ( $c = 4,84 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u DMSO-u pri 25 °C. b) Mikrokalorimetrijska titracija čistog DMSO-a s TEACl ( $c = 4,84 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) pri 25 °C. c) Ovisnost sukcesivne promjene entalpije o množinskom omjeru  $n(\text{Cl}^-) / n(\text{L2})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.





**Slika 23.** a) Mikrokalorimetrijska titracija liganda **L2** ( $c = 9,93 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TBABr ( $c = 6,60 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u DMSO-u pri 25 °C. b) Mikrokalorimetrijska titracija čistog DMSO-a s TBABr ( $c = 6,60 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) pri 25 °C. c) Ovisnost sukcesivne promjene entalpije o množinskom omjeru  $n(\text{Br}^-) / n(\text{L2})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



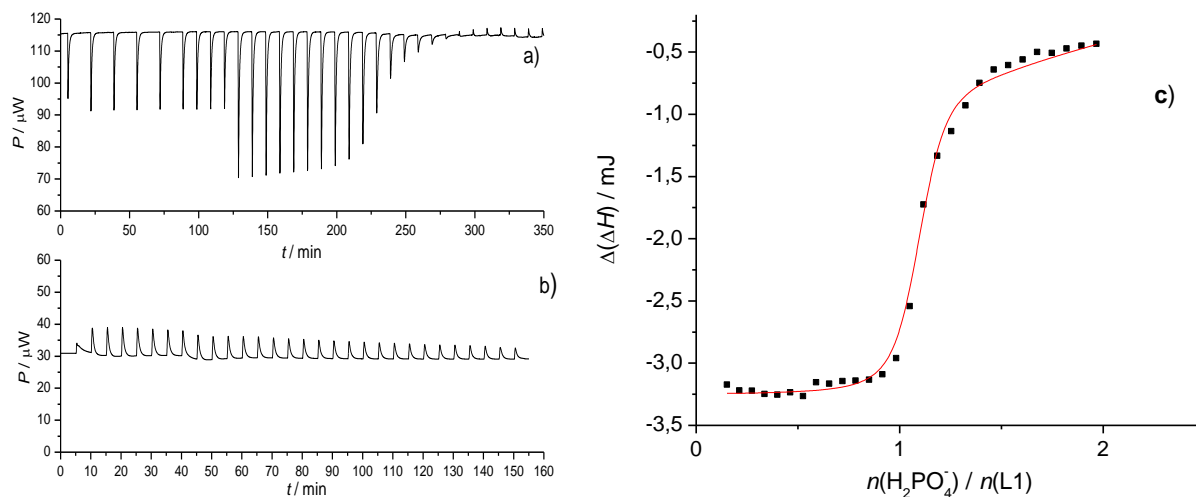
**Slika 24.** a) Mikrokalorimetrijska titracija liganda **L3** ( $c = 9,23 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TEACl ( $c = 3,04 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u DMSO-u pri 25 °C. b) Mikrokalorimetrijska titracija čistog DMSO-a s TEACl ( $c = 3,04 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) pri 25 °C. c) Ovisnost sukcesivne promjene entalpije o množinskom omjeru  $n(\text{Cl}^-) / n(\text{L3})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.

**Tablica 5.** Termodinamičke veličine kompleksiranja spoja **L1** i **L2** s dihidrogenfosfatnim anionima u DMSO-u pri 25°C.

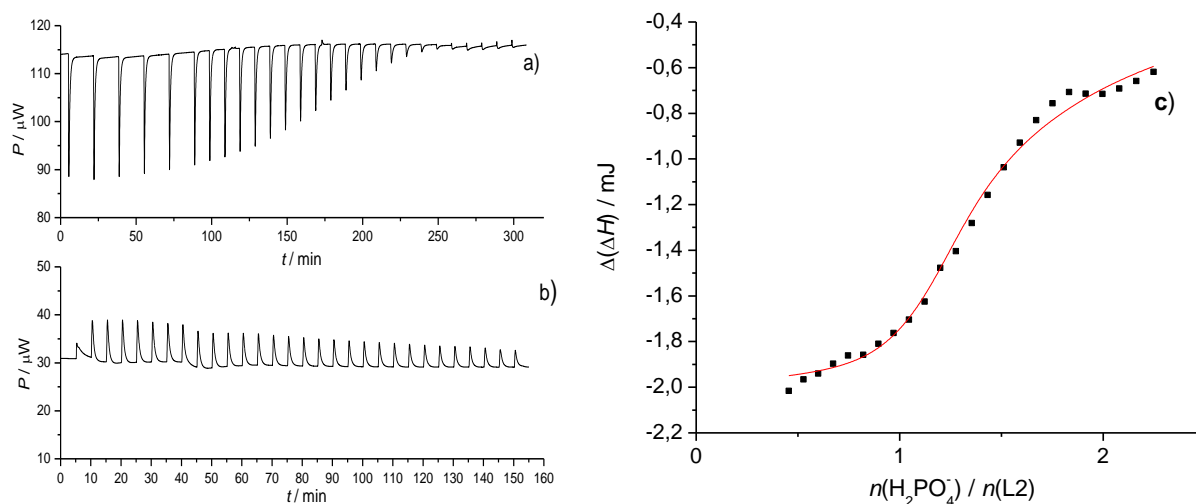
ligand	$\log\left(\frac{K}{\text{dm}^3\text{mol}^{-1}}\right) \pm \text{SE}$	$\left(\Delta_r G^\ominus \pm \text{SE}\right)$ kJ mol <sup>-1</sup>	$\left(\Delta_r H^\ominus \pm \text{SE}\right)$ kJ mol <sup>-1</sup>	$\left(\Delta_r S^\ominus \pm \text{SE}\right)$ J K <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup>
L1	5,94 <sup>a</sup> (1:1)	-33,92	-33,02	3,00
	9,49 <sup>a</sup> (1:2)	-54,14	-38,74	38,74
L2	4,94 <sup>a</sup> (1:1)	-28,02	-20,09	27,21
	8,05 <sup>a</sup> (1:2)	-45,92	-39,45	21,71

<sup>a</sup> kalorimetrijski dobivene konstante stabilnosti za komplekse stehiometrije definirane omjerom ligand / anion

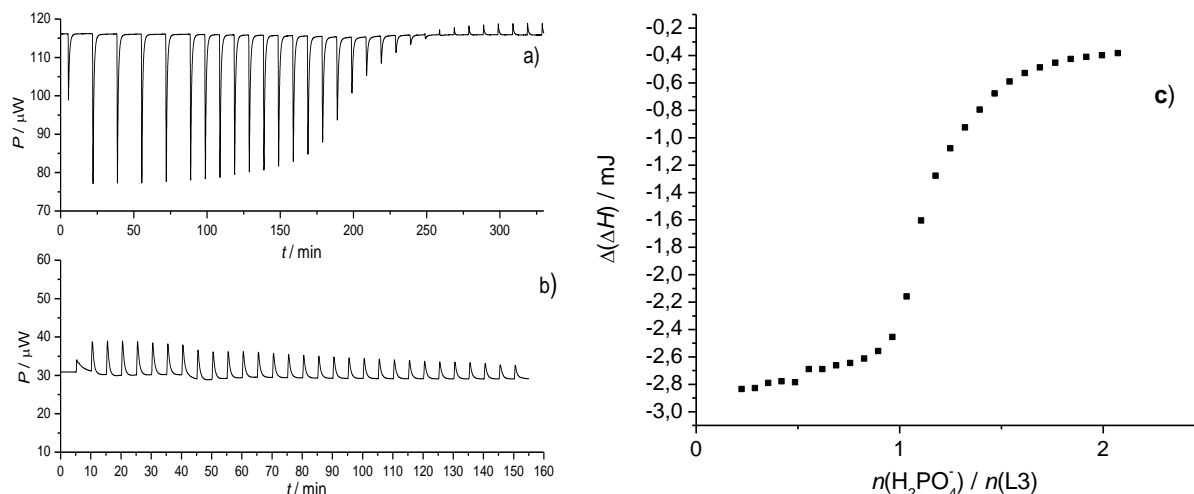
Za kompleksaciju ciklopeptida **L1** i **L2** s dihidrogenfosfatnim anionom procijenjene su termodinamičke veličine za nastajanje 1:1 kompleksa i termodinamičke veličine za nastajanje kompleksa kod kojega se za jedan ligand vežu dva dihidrogenfosfatna aniona (tablica 5). Titracija **L3** s dihidrogenfosfatom nije pružila nikakve kvantitativne informacije jer podaci nisu mogli biti obrađeni pretpostavljenim modelom. Kod svih titracija opažena je egzotermna sukcesivna promjena entalpija (slika 25-27), dok su entalpijski i entropijski doprinosi Gibbsovoj energiji povoljni. Također valja napomenuti da je, kao i kod titracija u acetonitrilu, pri obradi podataka uzeta u obzir korekcija za dimerizaciju dihidrogenfosfata.<sup>29</sup>



**Slika 25.** a) Mikrokalorimetrijska titracija liganda **L1** ( $c = 1,16 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{TBAH}_2\text{PO}_4$  ( $c = 9,90 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u DMSO-u pri  $25^\circ\text{C}$ . b) Mikrokalorimetrijska titracija čistog DMSO-a s  $\text{TBAH}_2\text{PO}_4$  ( $c = 9,90 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) pri  $25^\circ\text{C}$ . c) Ovisnost sukcesivne promjene entalpije o množinskom omjeru  $n(\text{H}_2\text{PO}_4^-) / n(\text{L1})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



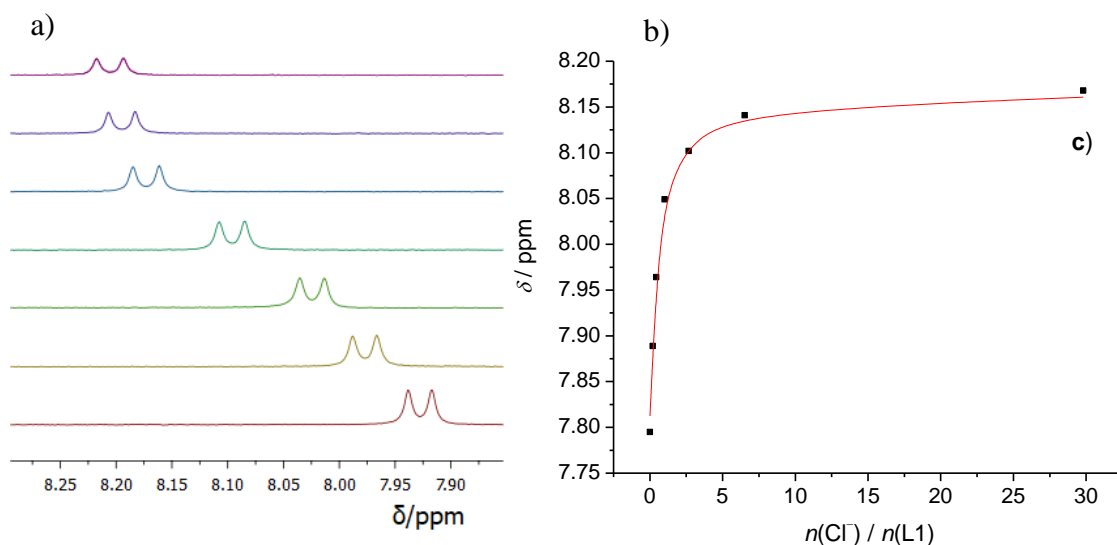
**Slika 26.** a) Mikrokalorimetrijska titracija liganda **L2** ( $c = 1,02 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{TBAH}_2\text{PO}_4$  ( $c = 9,90 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u DMSO-u pri  $25^\circ\text{C}$ . b) Mikrokalorimetrijska titracija čistog DMSO-a s  $\text{TBAH}_2\text{PO}_4$  ( $c = 9,90 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) pri  $25^\circ\text{C}$ . c) Ovisnost sukcesivne promjene entalpije o množinskom omjeru  $n(\text{H}_2\text{PO}_4^-) / n(\text{L2})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



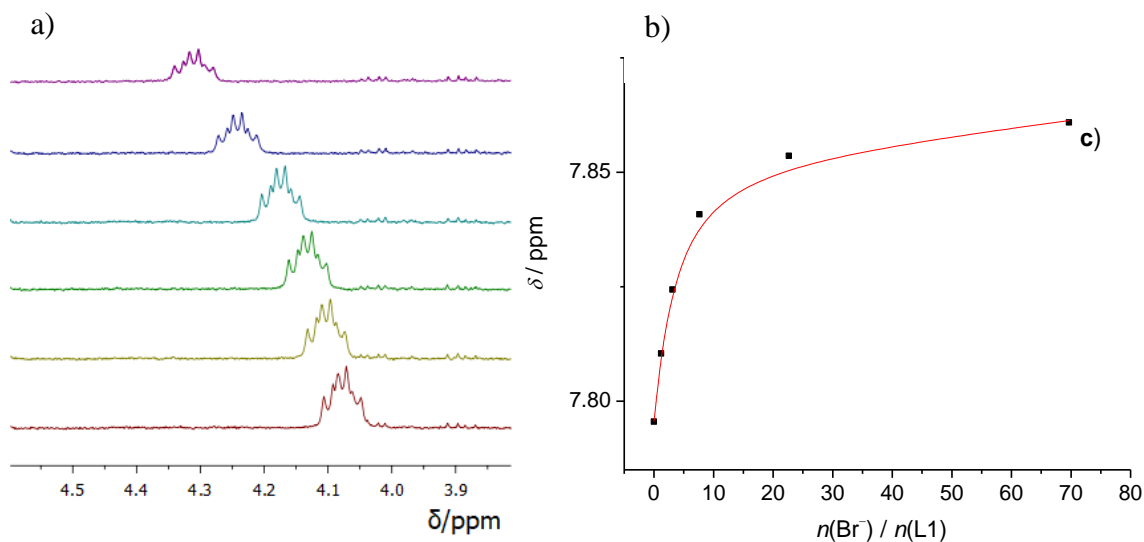
**Slika 27.** a) Mikrokalorimetrijska titracija liganda **L3** ( $c = 1,10 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{TBAH}_2\text{PO}_4$  ( $c = 9,90 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-2}$ ) u DMSO-u pri 25 °C. b) Mikrokalorimetrijska titracija čistog DMSO-a s  $\text{TBAH}_2\text{PO}_4$  ( $c = 9,90 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-2}$ ) pri 25 °C. c) Ovisnost sukcesivne promjene entalpije o množinskom omjeru  $n(\text{H}_2\text{PO}_4^-) / n(\text{L3})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.

Provedene su i  $^1\text{H}$  NMR titracije u DMSO-u pri čemu su opaženi kemijski pomaci svih protona uslijed vezanja aniona (slike 28-33). Najznačajniji pomaci signala su na onim protonima koji pripadaju amidnoj skupini peptidne veze i protonima koji se nalaze na  $\alpha$ -ugljiku, dok su za lizinske ciklopeptide **L2** i **L3** značajni i pomaci protona na karbamatnoj skupini koji sugeriraju vezanje te skupine na anion. Iz  $^1\text{H}$  NMR titracija izračunate su konstante stabilnosti kompleksa svih ciklopeptida s kloridnim i bromidnim anionima. Dobivene konstante se relativno dobro slažu s onima dobivenim mikrokalorimetrijskim titracijama.

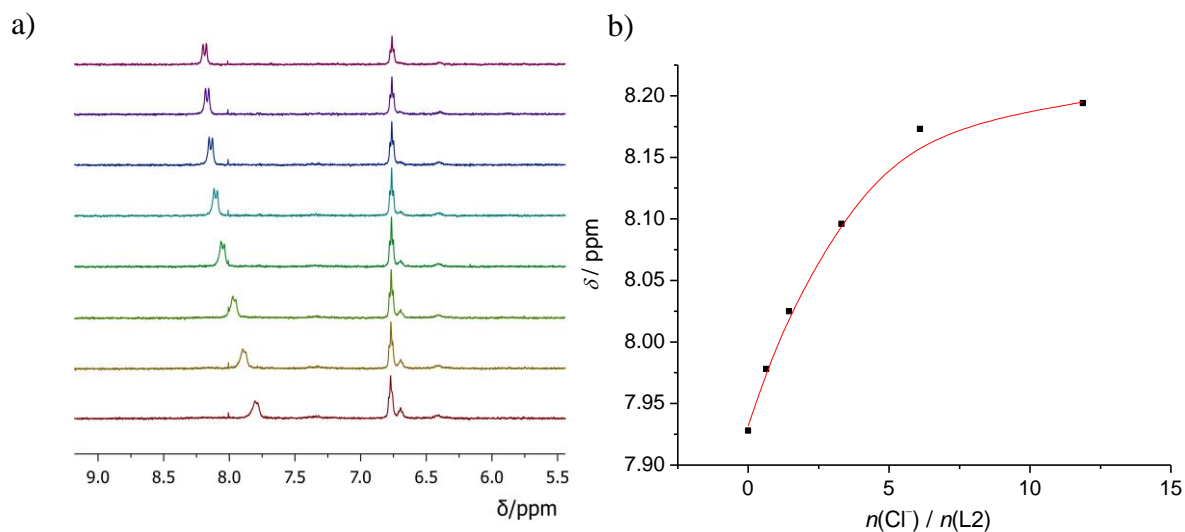
Iako NMR titracije liganada s dihidrogenfosfatnom nisu pružile nikakve kvantitativne podatke, potvrdile su da se kompleksiranje odvija u dva koraka (slike 34-36); u prvom koraku nastaje kompleks 1:1 stehiometrije, dok se u drugom koraku za jedan ligand vežu dva dihidrogenfosfata.



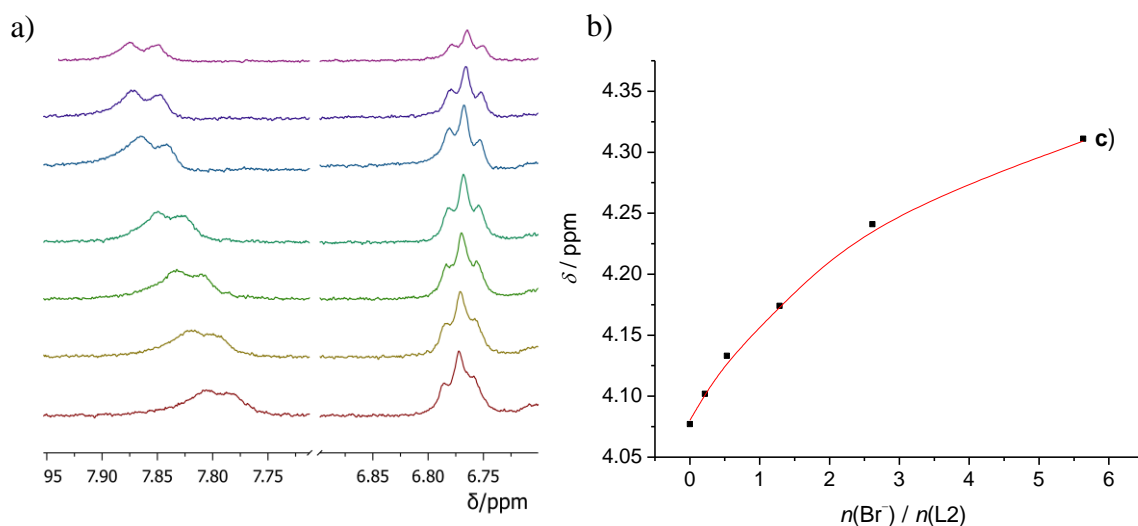
**Slika 28.** a)  $^1\text{H}$  NMR titracija ciklopeptida **L1** ( $c = 1,13 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TBACl ( $c = 1,26 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u deuteriranom DMSO-u. b) Ovisnost kemijskog pomaka protona amidne skupine o množinskom omjeru  $n(\text{Cl}^-) / n(\text{L1})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



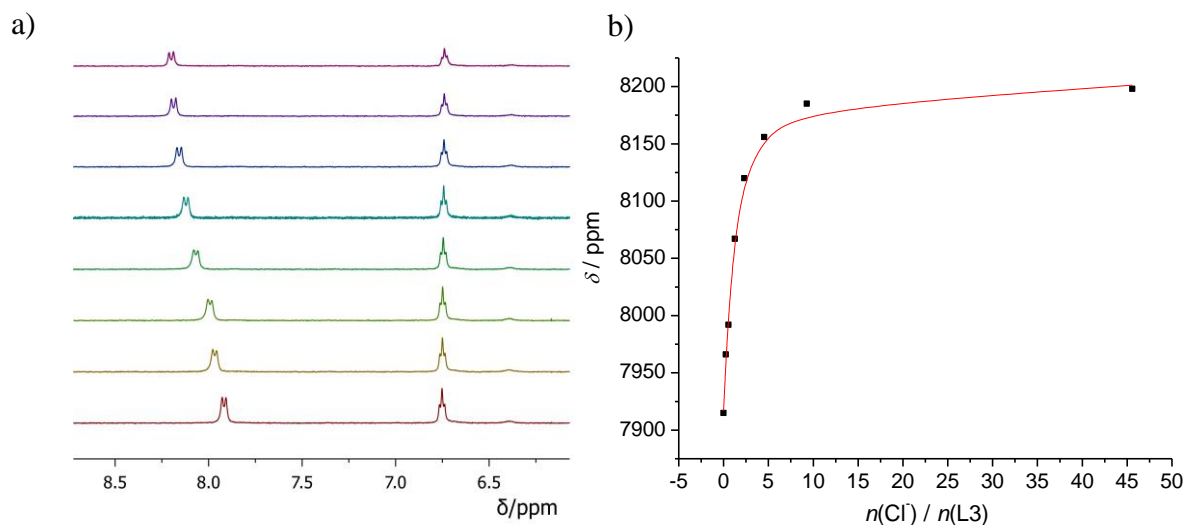
**Slika 29.** a)  $^1\text{H}$  NMR titracija ciklopeptida **L1** ( $c = 1,13 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TBABr ( $c = 6,73 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u deuteriranom DMSO-u. b) Ovisnost kemijskog pomaka protona  $\alpha$ -ugljika o množinskom omjeru  $n(\text{Br}^-) / n(\text{L1})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



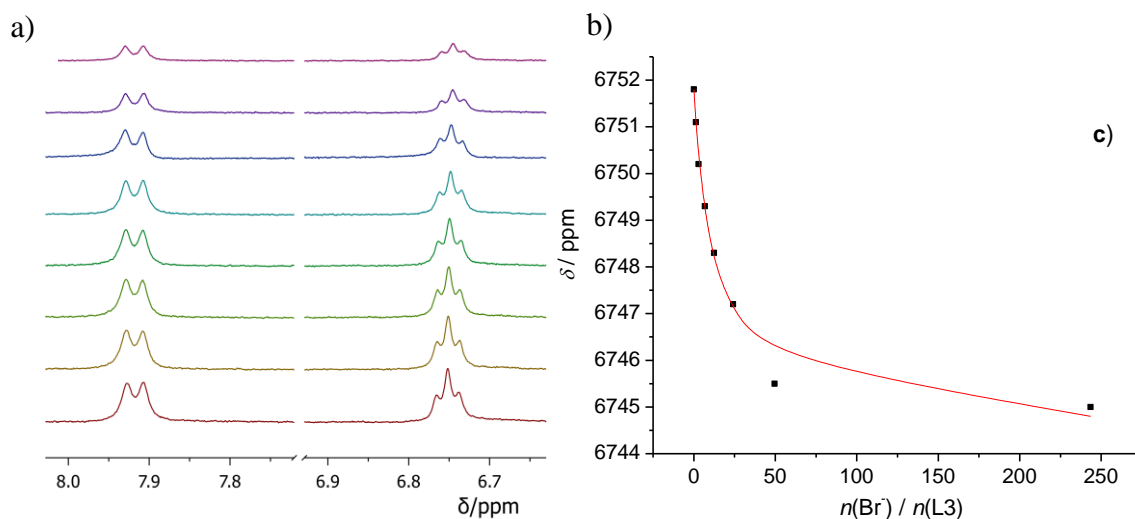
**Slika 30.** a) <sup>1</sup>H NMR titracija ciklopeptida **L2** ( $c = 1,11 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TBACl ( $c = 8,45 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u deuteriranom DMSO-u b) Ovisnost kemijskog pomaka protona amidne skupine o množinskom omjeru  $n(\text{Cl}^-) / n(\text{L2})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



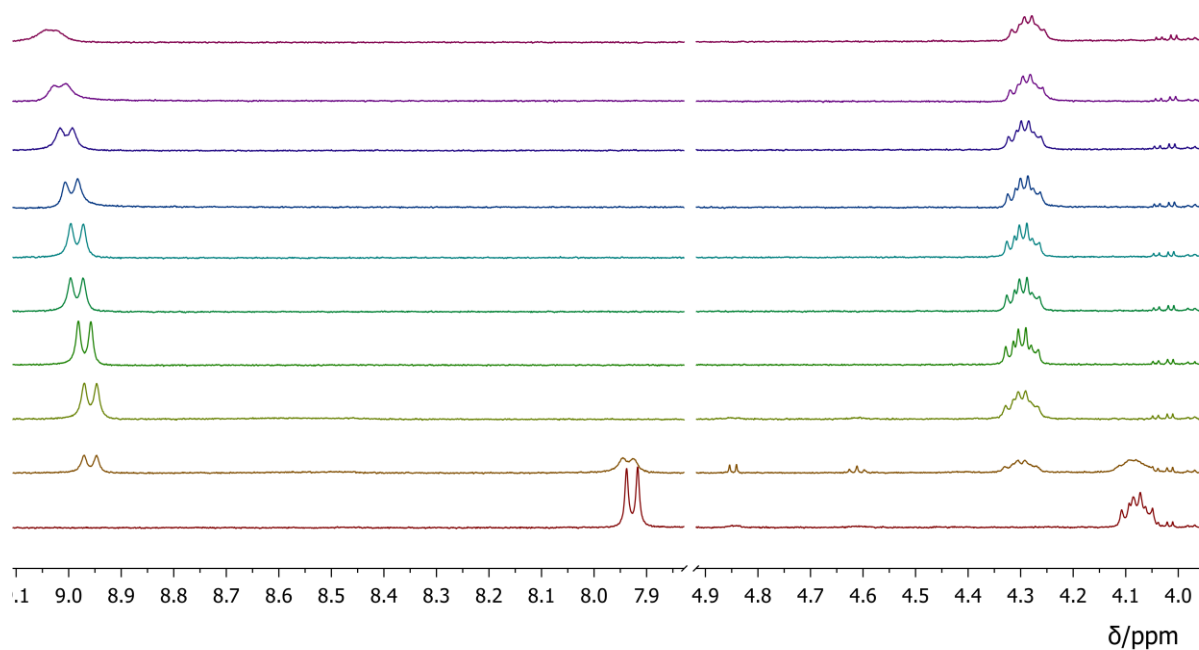
**Slika 31.** a) <sup>1</sup>H NMR titracija ciklopeptida **L2** ( $c = 1,11 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TBABr ( $c = 6,68 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u deuteriranom DMSO-u b) Ovisnost kemijskog pomaka protona α-ugljika o množinskom omjeru  $n(\text{Br}^-) / n(\text{L2})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti



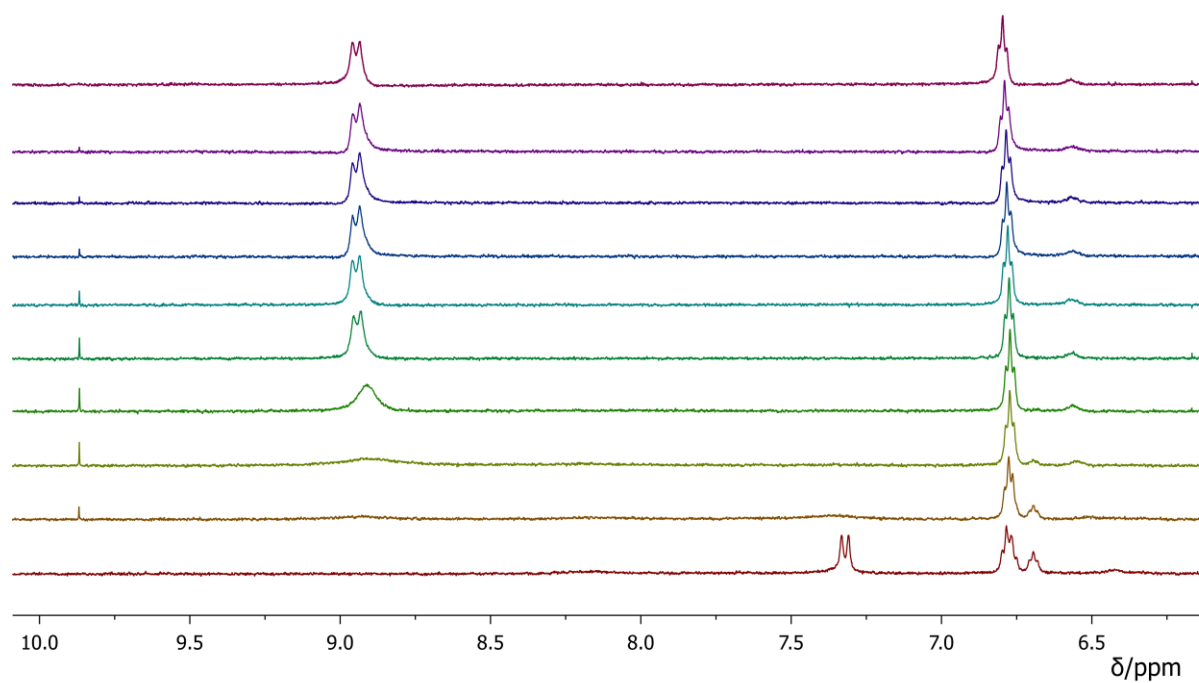
**Slika 32.** a)  $^1\text{H}$  NMR titracija ciklopeptida **L3** ( $c = 1,05 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TBACl ( $c = 1,26 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u deuteriranom DMSO-u b) Ovisnost kemijskog pomaka protona amidne skupine o množinskom omjeru  $n(\text{Cl}^-) / n(\text{L3})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



**Slika 33.** a)  $^1\text{H}$  NMR titracija ciklopeptida **L3** ( $c = 1,05 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s TBABr ( $c = 6,73 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u deuteriranom DMSO-u b) Ovisnost kemijskog pomaka protona  $\alpha$ -ugljika o množinskom omjeru  $n(\text{Br}^-) / n(\text{L3})$ . ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti

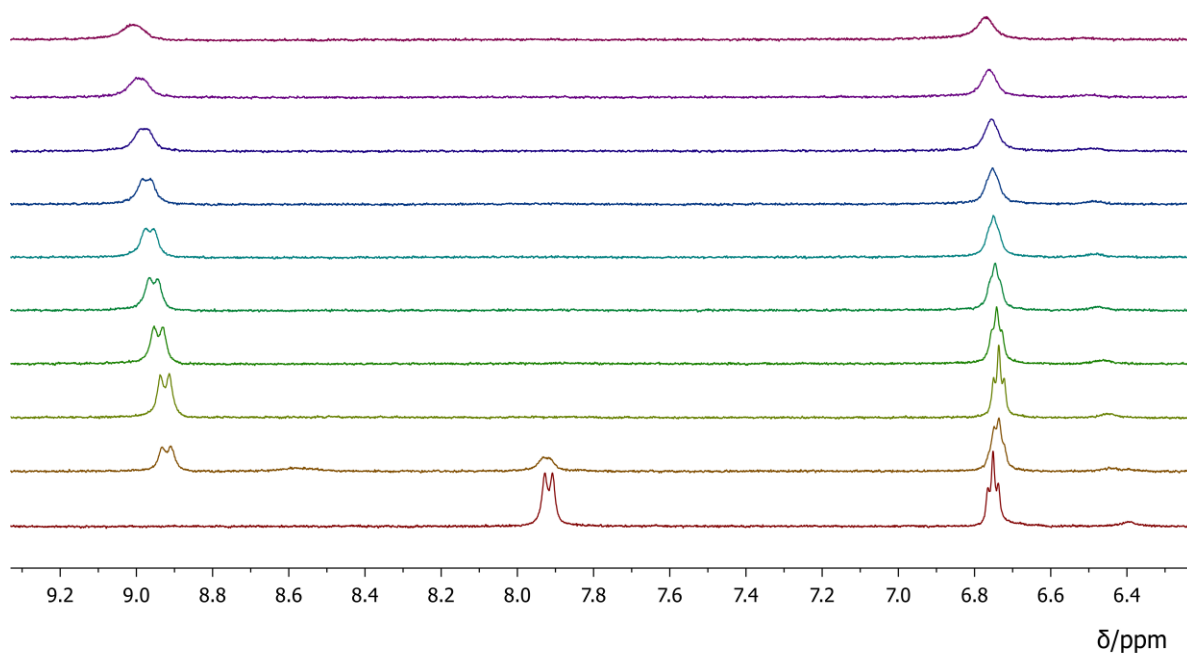


**Slika 34.**  $^1\text{H}$  NMR titracija ciklopeptida **L1** ( $c = 1,01 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{TBAH}_2\text{PO}_4$  ( $c = 2,52 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u deuteriranom DMSO-u.



**Slika 35.**  $^1\text{H}$  NMR titracija ciklopeptida **L2** ( $c = 1,08 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{TBAH}_2\text{PO}_4$  ( $c = 2,25 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u deuteriranom DMSO-u.





**Slika 36.**  $^1\text{H}$  NMR titracija ciklopeptida **L3** ( $c = 9,29 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) s  $\text{TBAH}_2\text{PO}_4$  ( $c = 2,25 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) u deuteriranom DMSO-u.

Strukture kompleksa **L1** s kloridnim, bromidnim i dihidrogenfosfatnim anionima dobivene simulacijama molekulske dinamike prikazane su na slikama 37 i 38 dok su rezultati simulacija navedeni u tablici 6. Prosječne strukture kompleksa **L2** i **L3** s kloridnim, bromidnim i dihidrogenfosfatnim anionima nalaze se na slikama 39-42, dok su rezultati simulacija dani u tablici 7 i 8.

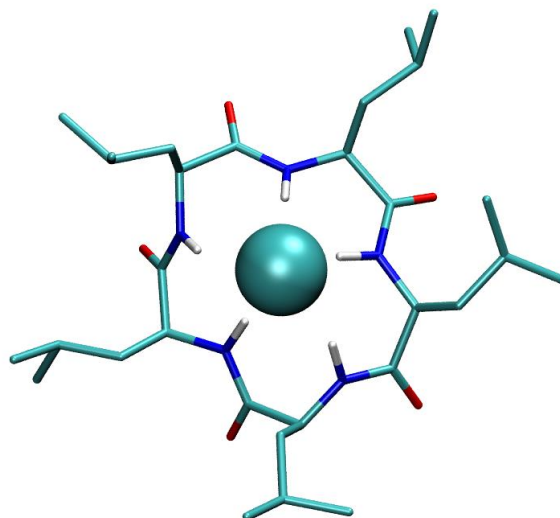
**Tablica 6.** Prosječni broj koordiniranih atoma amidnih vodika u anionskim kompleksima liganda **L1** u DMSO-u.

anion	$\text{Cl}^-$	$\text{Br}^-$	$\text{H}_2\text{PO}_4^-$
N(-H)	4,98	4,99	5,57

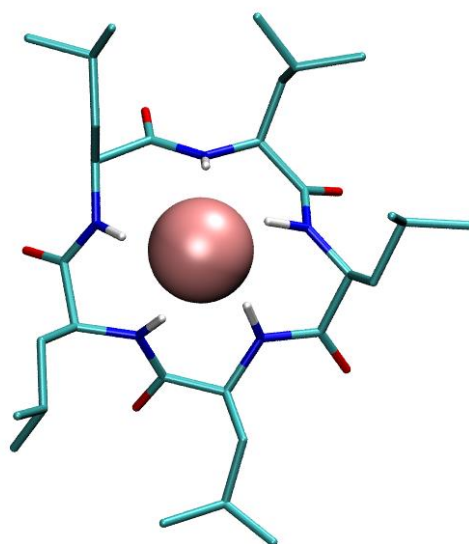
Kloridni i bromidni anioni, kao i u acetonitrilu, ulaze u prsten ciklopeptida **L1** gdje se koordiniraju vodikovim atomima amidne skupine (slika 37). Jednim atomom kisika ulazi u prsten ciklopeptida, gdje se taj atom kisika koordinira s tri atoma vodika amidnih skupina. Preostala dva atoma vodika koordiniraju se na najbliži atom kisika iznad ravnine prstena (slika

38). Kloridni, bromidni i dihidrogenfosfatni anioni su u prosjeku koordinirani sa 5 vodikovih atoma (tablica 6).

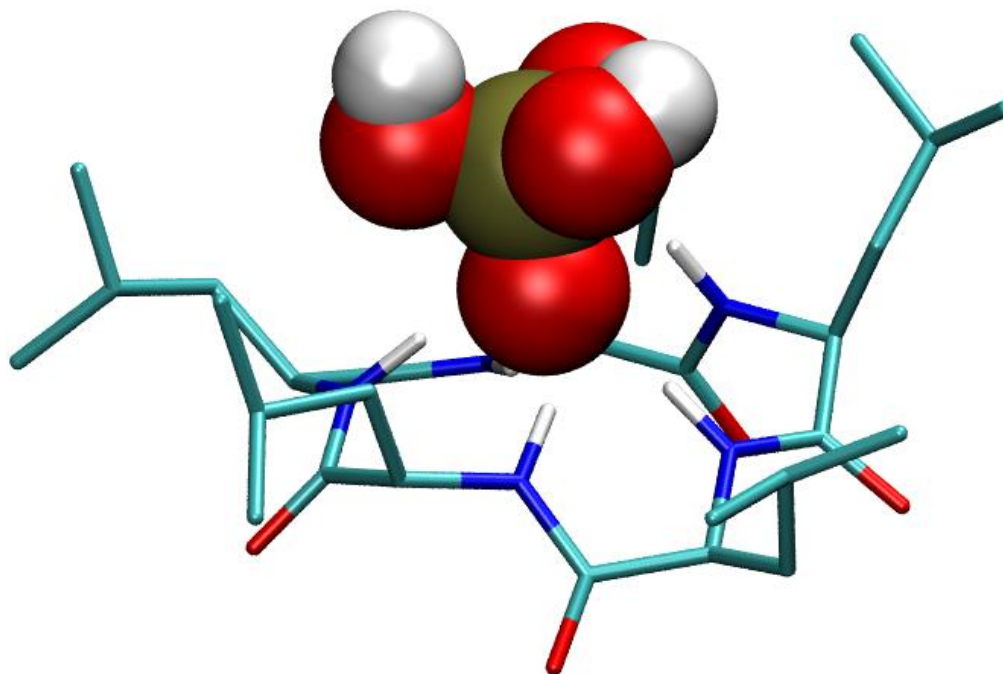
a)



b)



**Slika 37.** Strukture kompleksa ciklopeptida **L1** s a) kloridnim i b) bromidnim anionom u DMSO-u dobivene pomoću simulacija molekulske dinamike. Vodikovi atomi vezani na ugljikove atome izostavljeni su radi jasnijeg prikaza.



**Slika 38.** Strukture kompleksa ciklopeptida **L1** s dihidrogenfosfatnim anionom u DMSO-u dobivene pomoću simulacija molekulske dinamike. Vodikovi atomi vezani na ugljikove atome izostavljeni su radi jasnijeg prikaza.

Kloridni i bromidni ioni ulaze u prsten ciklopeptida **L2** i **L3** gdje se koordiniraju samo vodikovim atomima amidne skupine (slika 39 i 41). Simulacije molekulske dinamike, kao i NMR titracije ukazuju da vodikovi atomi karbamatne skupine ne sudjeluju u procesu kompleksiranja tih aniona i DMSO-u. Kod NMR titracija dolazi samo do pomaka vodika amidne skupine i vodika vezanih na  $\alpha$ -ugljik (slika 30–33).

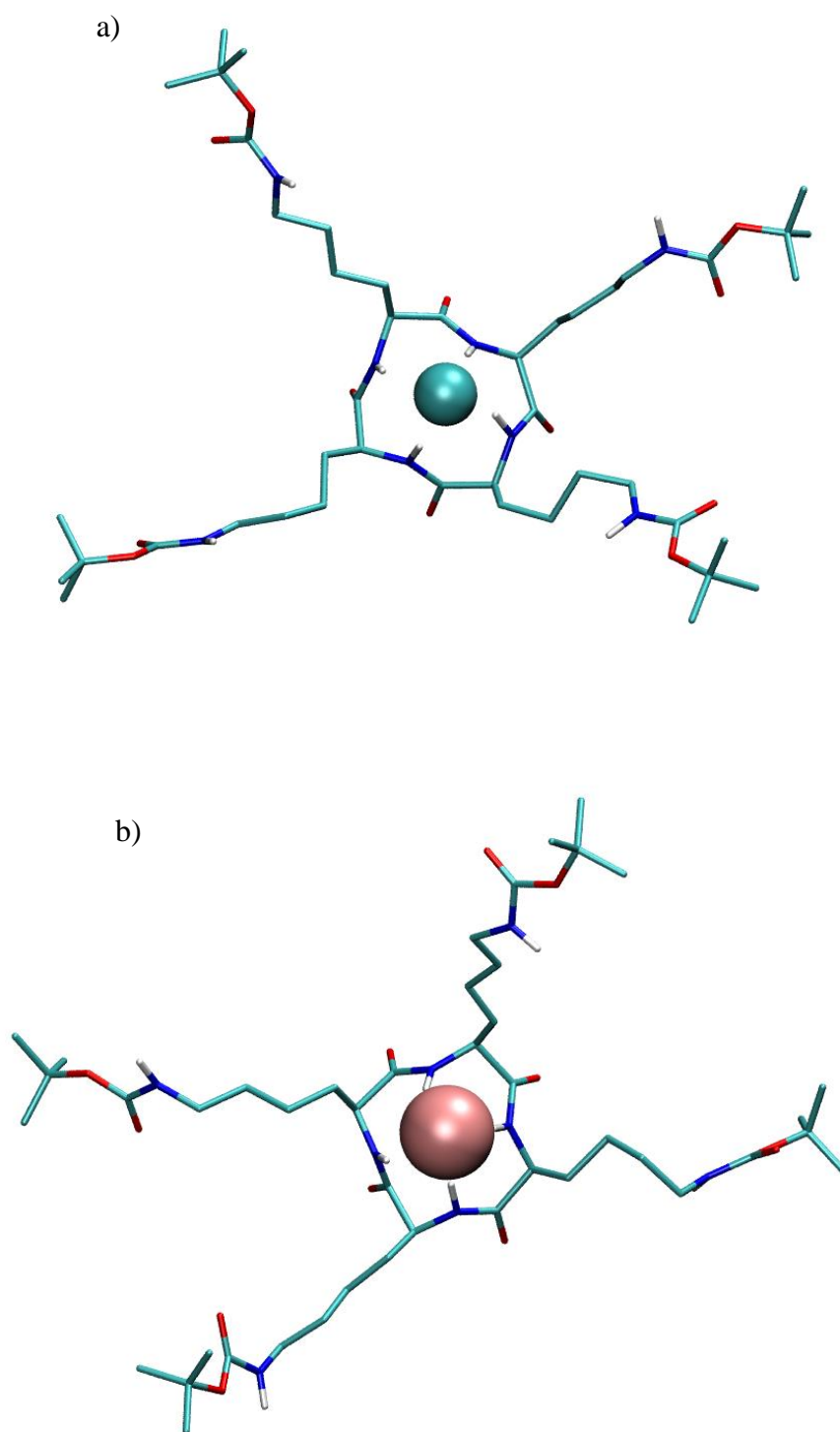
Dihidrogenfosfatni anion ulazi samo s jednim atomom kisika u šupljinu prstena ciklopeptida **L2** i **L3**. Na taj se atom aniona koordiniraju tri atoma vodika, dok su preostala dva vodika prstena koordinirana na najbliži atom kisika iznad ravnine prstena (slika 40 i 42). NMR titracije, kao i podatak da je hidrogenfosfat u prosjeku koordiniran s 6 atoma vodika (tablica 5.) za **L2**, odnosno 8 atoma za kompleks s **L3** daju naslutiti da u koordiniranju možda sudjeluju i atomi vodika karbamatnih skupina.

**Tablica 7.** Prosječni broj koordiniranih atoma amidnih vodika u anionskim kompleksima liganda **L2** u DMSO-u.

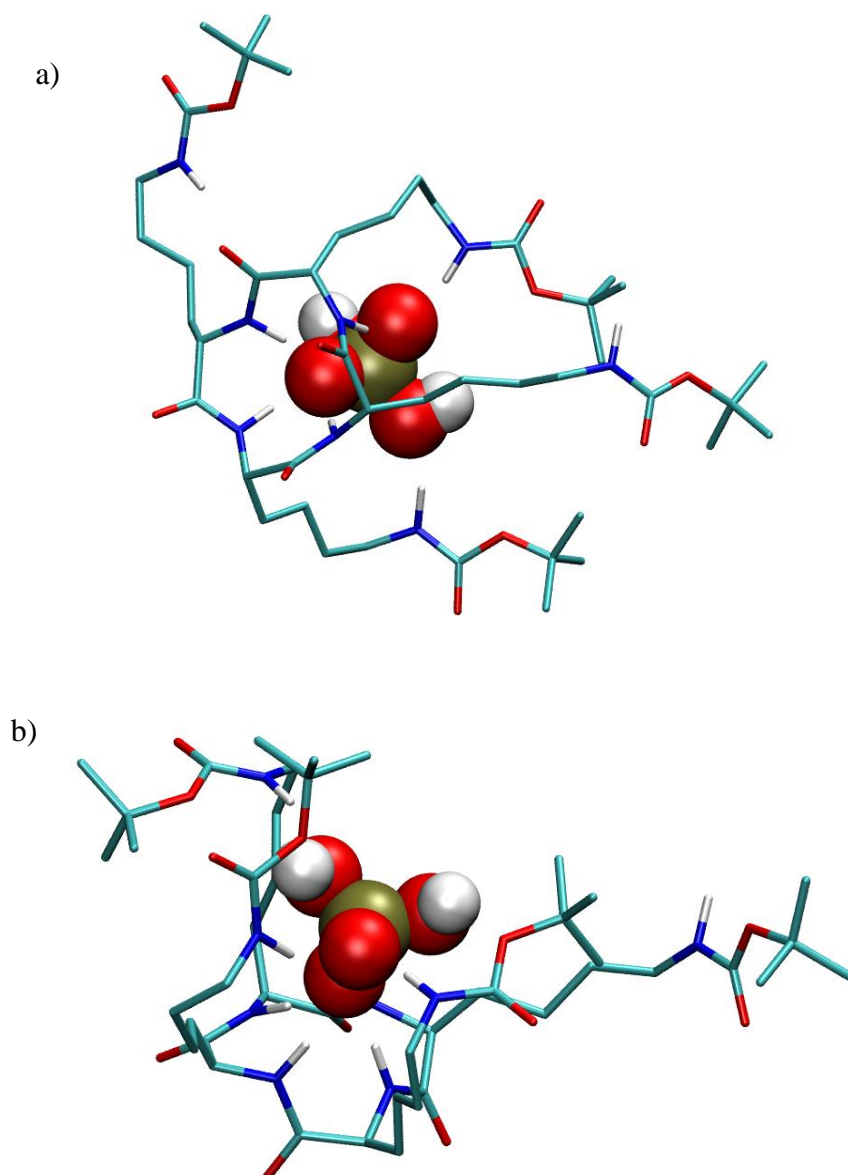
anion	Cl <sup>-</sup>	Br <sup>-</sup>	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>
N(-H)	3,99	4,07	6,17

**Tablica 8.** Prosječni broj koordiniranih atoma amidnih vodika u anionskim kompleksima liganda **L3** u DMSO-u.

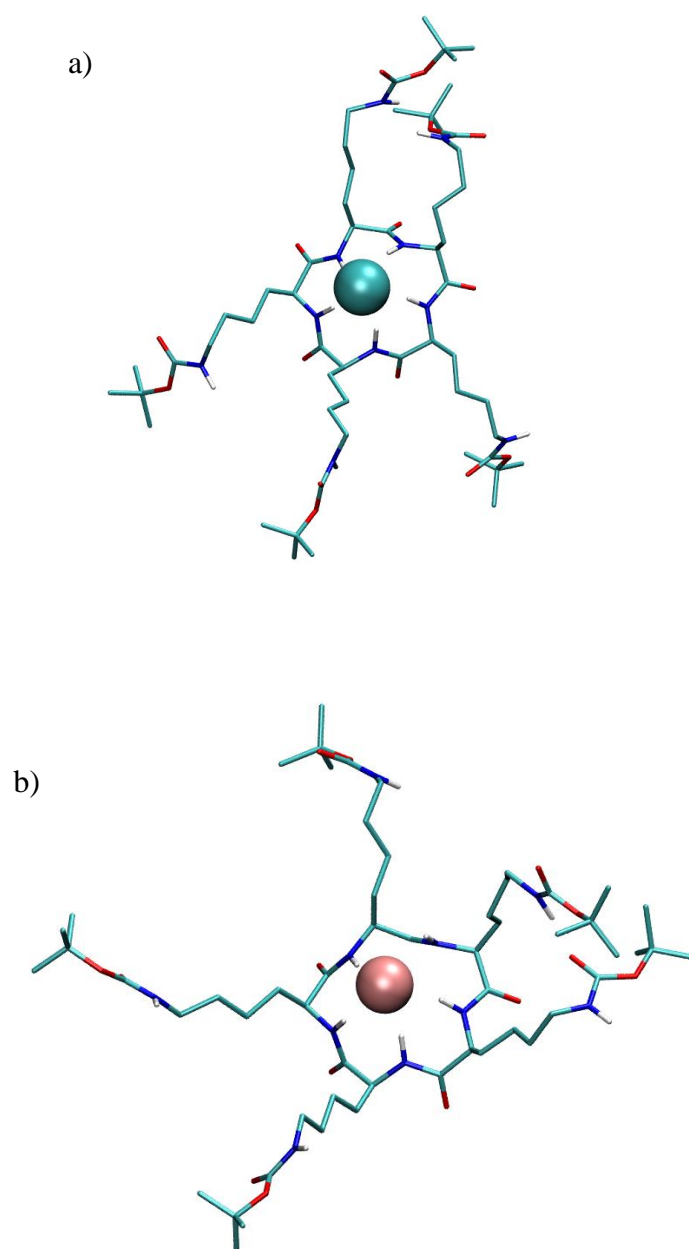
anion	Cl <sup>-</sup>	Br <sup>-</sup>	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>
N(-H)	5,01	5,18	8,06



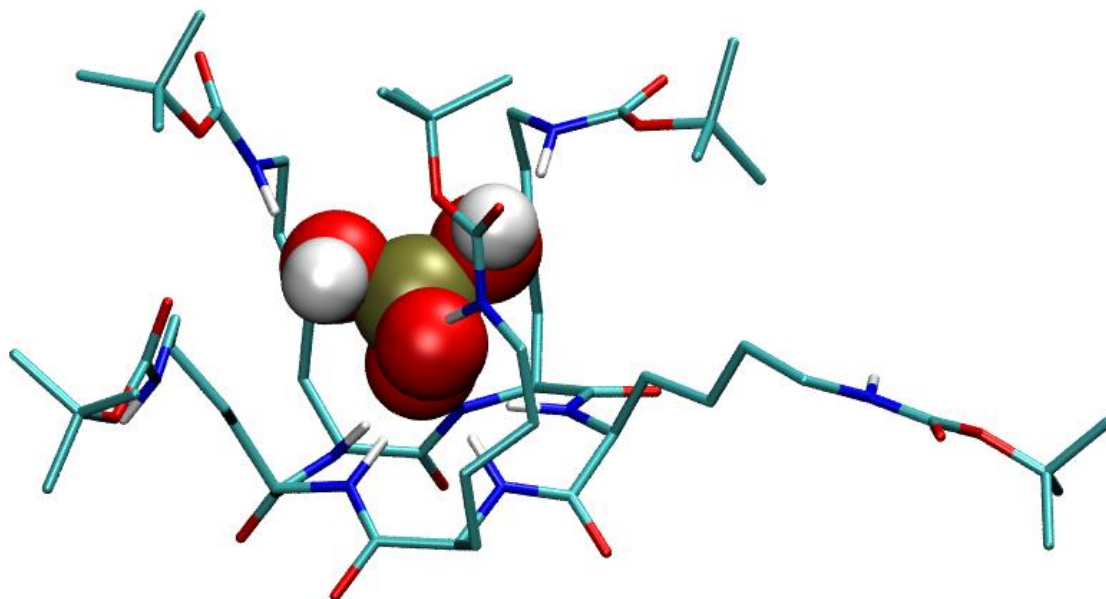
**Slika 39.** Strukture kompleksa ciklopeptida **L2** s a) kloridnim i b) bromidnim anionom u DMSO-u dobivene pomoću simulacija molekulske dinamike. Vodikovi atomi vezani na ugljikove atome izostavljeni su radi jasnijeg prikaza.



**Slika 40.** Strukture kompleksa ciklopeptida **L2** s dihidrogenfosfatnim anionom u DMSO-u dobivene pomoću simulacija molekulske dinamike. Vodikovi atomi vezani na ugljikove atome izostavljeni su radi jasnijeg prikaza.



**Slika 41.** Strukture kompleks ciklopeptida **L3** s a) kloridnim i b) bromidnim anionom u DMSO- u dobivene pomoću simulacija molekulske dinamike. Vodikovi atomi vezani na ugljikove atome izostavljeni su radi jasnijeg prikaza.



**Slika 42.** Strukture kompleksa ciklopeptida **L3** s dihidrogenfosfatnim anionom u DMSO-u dobivene pomoću simulacija molekulske dinamike. Vodikovi atomi vezani na ugljikove atome izostavljeni su radi jasnijeg prikaza.





## § 5. ZAKLJUČAK

U ovom radu određene su termodinamičke veličine kompleksiranja ciklopeptida **L1**, **L2**, i **L3** s halogenim i oksoanionima u DMSO-u, dok je kompleksiranje ciklopeptida **L1** istraženo i u acetonitrilu.

Halogeni anioni te tiocijanatni i nitratni anioni s ciklopeptidima u oba otapala tvore komplekse stehiometrije 1:1, dok hidrogensulfatni i dihidrogenfosfatni ioni uz komplekse navedene stehiometrije tvore i komplekse više stehiometrije. U slučaju dihidrogenfosfata to je kompleks u kojemu jedan ligand veže dva  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  aniona dok  $\text{HSO}_4^-$  ion najvjerojatnije tvori kompleks u kojemu dva liganda vežu taj anion.

U acetonitrilu svi ispitivani anioni se vežu na ciklopeptid **L1**, dok se u DMSO-u na ciklopeptide vežu samo kloridni, bromidni i dihidrogenfosfatni anioni. Najslabije vezanje u acetonitrilu je zamijećeno kod tiocijanatnih aniona. Afiniteti halogenih aniona u oba otapala padaju u nizu  $\text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{I}^-$  što je posljedica odnosa veličine aniona i prstena ciklopeptida u koji se anion uklapa. U istraživanjima na heksaciklopeptidima<sup>3-5</sup> zamijećen je obrnuti trend, odnosno porast afiniteta s porastom radijusa iona. Razlog boljem vezanju kloridnih aniona kod pentaciklopeptida mogao bi biti smanjenje broja podjedinica u prstenu što dovodi do rigidnije konformacije kompleksa i boljeg uklapanja manjih aniona u takvu šupljinu. Također, kod manjih aniona negativni naboj je lokaliziraniji u odnosu na veće anione istog naboja. Iz istoga razloga vezanja većeg aniona kao što je jodidni anion je nepovoljnije.

Oba lizinska ciklopeptida **L2** i **L3** bolje vežu anione u DMSO-u od leucinskog ciklopeptida **L1**. Smanjenjem broja podjedinica u prstenu ciklopeptida smanjuje se i broj amidnih skupina koje koordiniraju anion. Ipak, afiniteti liganda **L2** i liganda **L3** prema halogenidnim ionima u DMSO-u su slični unatoč strukturnim razlikama u broju podjedinica.

Strukture kompleksa **L1** s anionima dobivene molekulskom dinamikom te rezultati  $^1\text{H}$  NMR titracija ukazuju na to da u kompleksiranju aniona sudjeluju vodikovi atomi amidnih skupina, te da je svaki anion u prosjeku okružen s 5 atoma vodika. Strukture istih kompleksa u DMSO-u ne pokazuju značajne razlike u strukturi od kompleksa u acetonitrilu. U koordiniranju halogenidnih aniona s ciklopeptidima **L2** i **L3** u DMSO-u sudjeluju samo vodikovi atomi

amidnih skupina, dok u koordiniranju dihidrogenfosfata sudjeluju i vodikovi atomi karbamatne skupine.

U budućim istraživanjima bilo bi korisno provesti analizu anionskih kompleksa ciklopeptida masenom spektrometrijom, te odrediti i kristalne strukture tih vrsta. Također bi bilo korisno provesti i simulacije molekulske dinamike kompleksa viših stehiometrija.

## § 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

BOC	tert-butoksikarboksil
DMSO	dimetilsulfoksid
L1	leucinski homopentaciklopeptid
L2	lizinski homotetraciklopeptid s BOC zaštitnom skupinom
L3	lizinski homopentaciklopeptid s BOC zaštitnom skupinom
TBA	tetrabutilamonijev
TEA	tetraetilamonijev



## § 7. LITERATURNI IZVORI

1. R. B. P. Elmes, K. A. Jolliffe, *Chem. Commun.*, 2015, **51**, 4951
2. K. Fujiwara, *Anion Recognition in Supramolecular Chemistry*, **24** (Springer, Berlin, Heidelberg, 2010).
3. S. Kubik, R. Goddard, R. Kirchner, D. Nolting, J. Seidel, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, **40**, No.14
4. S. Kubik, R. Goddard, *PNAS*, 2002., **99**, no.8, 5127-5132
5. S. Kubik, R. Kirchner, D. Nolting, J. Seidel, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 12752-12760
6. F. Sommer, S. Kubik, *Org. Biomol. Chem.*, 2014, **12**, 8851-8860
7. F. Sommer, S. Kubik, Y. Marcus, *ACS Omega*, 2017, **2**, 3669-3680
8. M. R. Krause, R. Goddard, S. Kubik, *J. Org. Chem.*, 2011, **76**, 7084-7095
9. D. Mungalpara, H. Kelm, A. Valkonen, K. Rissanen, S. Keller, S. Kubik, *Org. Biomol. Chem.*, 2017., **15**, 102-113
10. D. Mungalpara, A. Valkonen, K. Rissanen, S. Kubik, *Chem. Sci.*, **8**, 6005-6013
11. P. Atkins, i J. de Paula, *Atkins' Physical Chemistry*, W. H. Freeman and Company, New York, 9.ed, 2010
12. G. Horvat, *Eksperimentalno određivanje konstanti stabilnosti*, rukopis (Zagreb, 2012).
13. G. Horvat, *Reakcijska kalorimetrija*, rukopis (Zagreb, 2012).
14. K.A. Connors, *Chemical Kinetics, The Study Of Reaction Rates In Solution*, (VCH Publishers: 1990).
15. Christopher J. Cramer, *Essentials of Computational Chemistry*, second edition, John Wiley & Sons, 2004.
16. B. Bertoša, N. Mrnjavac, *Upute za vježbe iz računalne biofizike*, (2015).
17. M.J. Abraham, D. van der Spoel, E. Lindahl, B. Hess, *GROMACS User Manual version 5.0*, (2014).
18. H.J.C. Berendsen, D. van der Spoel, R. van Drunen, GROMACS: A message-passing parallel molecular dynamics implementation, *Comput. Phys. Commun.* **91** (1995) 43–56.
19. E. Lindahl, B. Hess, D. van der Spoel, GROMACS 3.0: a package for molecular simulation and trajectory analysis, *J. Mol. Model.* **7** (2001) 306–317.

20. D. Van Der Spoel, E. Lindahl, B. Hess, G. Groenhof, A.E. Mark, H.J.C. Berendsen, GROMACS: Fast, flexible, and free, *J. Comput. Chem.* **26** (2005) 1701–1718.
21. B. Hess, C. Kutzner, D. van der Spoel, E. Lindahl, GROMACS 4: Algorithms for Highly Efficient, Load-Balanced, and Scalable Molecular Simulation, *J. Chem. Theory Comput.* **4** (2008) 435–447.
22. S. Pronk, S. Páll, R. Schulz, P. Larsson, P. Bjelkmar, R. Apostolov, M.R. Shirts, J.C. Smith, P.M. Kasson, D. van der Spoel, B. Hess, E. Lindahl, GROMACS 4.5: a high-throughput and highly parallel open source molecular simulation toolkit, *Bioinformatics* **29** (2013) 845–854.
23. S. Páll, M.J. Abraham, C. Kutzner, B. Hess, E. Lindahl, Tackling Exascale Software Challenges in Molecular Dynamics Simulations with GROMACS, *Lect. Notes Comput. Sci.* (2015) 3–27.
24. M.J. Abraham, T. Murtola, R. Schulz, S. Páll, J.C. Smith, B. Hess, E. Lindahl, GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers, *SoftwareX* **1–2** (2015) 19–25.
25. S. Nosé, A molecular dynamics method for simulations in the canonical ensemble, *Mol. Phys.* **52** (1984) 255–268.
26. W. Hoover, Canonical dynamics: Equilibrium phase-space distributions, *Phys. Rev. A* **31** (1985) 1695–1697.
27. G.J. Martyna, M.E. Tuckerman, D.J. Tobias, M.L. Klein, Explicit reversible integrators for extended systems dynamics, *Mol. Phys.* **87** (1996) 1117–1157.
28. W. Humphrey, A. Dalke, K. Schulten, VMD: Visual molecular dynamics, *J. Mol. Graph.* **14** (1996) 33–38.
29. N. Bregović, N. Cindro, L. Frkanec, K. Užarević, V. Tomišić, *Chemistry*, 2014, **40**, 15863–1587
30. Y. Marcus, *Ion Properties*, CRC Press, Boca Raton, FL, 1997., (CRC Press, Boca Raton, FL: 1997)





## § 8. ŽIVOTOPIS

### Osobni podatci

Ime i prezime: Siniša Tarana

Datum rođenja: 26. srpanj 1991.

Mjesto rođenja: Metković

### Obrazovanje

2006.– Osnovna škola „Ivo Dugandžić – Mišić“, Komin

2010.– Srednja škola Andrije Kačića Miošića, Ploče

2015.– Preddiplomski studij kemije, Prirodoslovno–matematički fakultet,  
Sveučilište u Zagrebu