

Supramolekulska kemija glikokonjugata kaliksarena

Meštrović, Jerko

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

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:217:963759>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-24**



Repository / Repozitorij:

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





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Jerko Meštrović

Student 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

Supramolekulska kemija glikokonjugata kaliksarena

Završni rad

Rad je izrađen u Zavodu za Fizikalnu kemiju

Mentor rada: doc. dr. sc. Josip Požar

Neposredni voditelj rada: dr. sc. Nikola Cindro

Zagreb, 2020.

[Ova stranica je namjerno ostavljena prazna tako da dokument bude prilagođen za obostrani ispis, a ovaj tekst je potrebno izbrisati prije predaje rada.]

Datum predaje prve verzije Završnog rada:

4. srpnja 2020

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

28. veljače 2020

Mentor rada: doc. dr. sc. Josip Požar

Potpis:

[Ova stranica je namjerno ostavljena prazna tako da dokument bude prilagođen za obostrani ispis, a ovaj tekst je potrebno izbrisati prije predaje rada.]

Sadržaj

§ SAŽETAK.....	VII
§ 1. UVOD.....	1
§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME	4
2.1. Od Bayerove „smole“ preko Bakelandovog Bakelita do Zinkeovih „cikličkih tetramera“ pa sve do kaliksarena	4
2.2. Glikokonjugacija kaliksarena	9
2.3. Kompleksacijska svojstva derivata kaliksarena.....	14
§ 3. LITERATURNI IZVORI.....	XXII

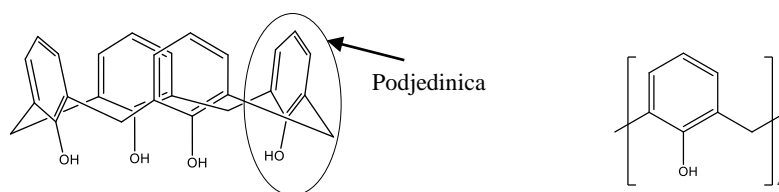
[Ova stranica je namjerno ostavljena prazna tako da dokument bude prilagođen za obostrani ispis, a ovaj tekst je potrebno izbrisati prije predaje rada.]

§ Sažetak

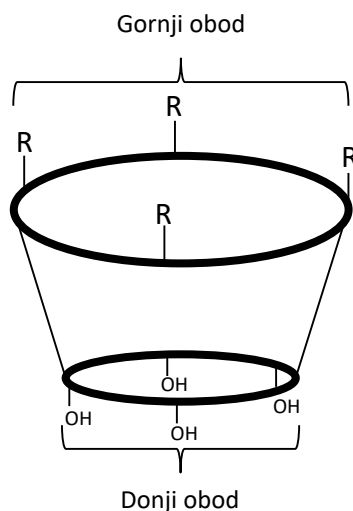
Kaliksareni se već dugi niz godina istražuju kao potencijalni receptori za ione i za neutralne kemijske spojeve. Naime može se dobiti vrlo selektivan receptor ovisno o derivatizaciji koja se provede. Kao vezno mjesto za metal često se koriste amidni skupinepri čemu u interakciji odnosno koordinaciji metalnog iona sudjeluju karbonilne i eterske skupine molekule. Jedan od problema s kojim su se kemičari susreli topljivost kaliksarena u vodi. Tu se kao zadovoljavajuće rješenje nameće neutralni fragment. Glikozilacijom kaliksarena dobiva se vodotopiv receptor. Drugo važno ispitivano svojstvo je vezanje glikokaliksarena na receptore poput lektina. Kako je poznato stanice na svojoj površini posjeduju šećere i međusobno komuniciraju i ostvaruju interakcije s raznim toksinima i virusima, preko „šećernog koda“, ideja o sintezi molekule koja može inhibirati takve reakcije postaje zanimljiva. U ovom radu proučavani su sintetski putevi do glikokonjugata kaliksarena te njihova kompleksacijska svojstva.

§ 1. UVOD

Kaliksareni su ciklički oligomeri koji se sastoje od fenolnih podjedinica koje su povezane metilenskim mostovima u *ortho* položaju u odnosu na hidroksilnu skupinu (slika 1).¹ Broj podjedinica od kojih je građena „košara“ može biti od 4 do čak i više od 10. Zbog jednostavne pripreme kaliks[4]areni, kaliks[6]areni i kaliks[8]areni su zastupljeniji. Kada govorimo o kaliksarenima i njihovoj derivatizaciji često se koriste termini gornji i donji obod (slika 2). Uvođenjem *tert*-butilne skupine na fenol u *para* položaju prilikom kondenzacije u kaliksaren postižu se visoki prinosi te se zbog toga može naći mnogo derivata koji na gornjem obodu imaju vezanu *tert*-butilnu skupinu.¹ S druge strane, na donji obod vrlo lako se mogu uvesti funkcionalne skupine koje vežu neutralne ili nabijene molekule. Tu nalazimo primjenu kalisarena kao molekulskih receptora. Laka funkcionalizacija donjeg oboda ne isključuje i funkcionalizaciju gornjeg oboda. Time se dobiva znatno veći i zanimljiviji spektar receptora. Kaliksareni su zanimljivi i zbog svoje šupljine u kojoj mogu vezati razne vrste.¹ Derivati kaliksarena danas nalaze široku primjenu na primjer kao senzori, katalizatori, kao vezna mjesta za neutralne ili ionske vrste. Sedamdesetih godina prošlog stoljeća rodila se zanimljiva ideja o tome da se kaliksareni koriste kao receptori slični enzimima koji bi vršili funkciju tako da molekule supstrata vežu u svoju šupljinu („košaru“) i pomoću raznih skupina na ograncima omoguće da s njima interagiraju.

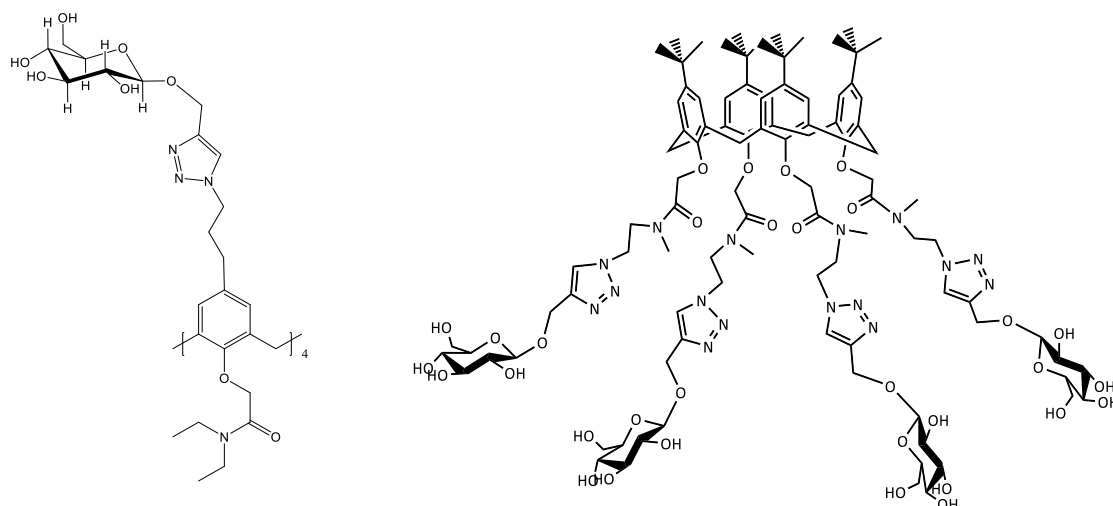


Slika 1. Struktura kaliks[4]arena



Slika 2. Modelni prikaz „vrča“

Kako je već navedeno, zbog slabe topljivosti većine derivata u vodi, njihova su receptorska svojstva uglavnom istraživana u org. otapalima.¹ S druge strane potencijal kalikarena kao molekularni receptora trebao bi se ispitati u najzastupljenijem otapalu, vodi. Istraživanja u vodenim otopinama započeta su tako da su se koristili sulfonatni derivati koji su otapanjem u vodi disociraju. Problem nabijenog receptora je kompeticija za vezno mjesto istraživanog iona. Kao dodatan problem, cijeli sustav je pH ovisan. Tu se rodila ideja da bi bilo dobro da su hidrofilni dijelovi molekule neutralni. Kroz zadnjih trideset godina intenzivno su sintetizirani i proučavani razni glikokonjugati kaliksarena. Istraživanaj reakcija kompleksiranja novostetiziranih molekula s kationima provedena su u polarnim otapalima ili su proučavana svojstva vezanja šećernih podjedinica na proteine koji imaju vezno mjesto za šećere, najčešće lektin, Pored toga, istražena su i interakcije glikokonjugata kaliksarena s polimerima poput polistirena, te oksidima metala, primjerice (TiO₂).¹ U zadnje vrijeme priređeno je nekoliko derivata kaliksarena topljivih u vodi (slika3).^{2,3} Pripravljeni spojevi posjedovali su amidne skupine i šećerne podjedinice su vezane triazolnim prstenom pomoću „click“ reakcije. U koordinaciji kationa sudjeluju karbonilni te eterski kisikovi atomi pri vezanju kationa metala na vezno mjesto unutar šupljine molekule. Za istraživanje kompleksiranja navedenih spojeva s ionima metala (alkalijski kationi) u vodi korištene su izotermna mikrokolorimetrija i UV spektrofotometrija te analiza NMR spektara.



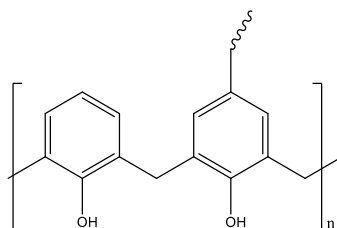
Slika 3. Strukturne formule funkcionaliziranih glikokaliksarena.

§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME

2.1. Od Bayerove „smole“ preko Bakelandovog Bakelita (ili plastike) do Zinkeovih „cikličkih tetramera“ pa sve do kaliksarena

Adolph von Baeyer je 1872. godine otvorio kemičarima put prema do tada nepoznatim reakcijama aldehida i fenola. U jednom od svojih radova izvjestio je da nakon miješanja raznih aldehida i fenola nastaje „supstanca nalik cementu“. U drugom istraživanju ustanovio je da miješanjem formaldehida i fenola nastaje također slična „smola“. Zanimljivo je istaknuti da je danas jedna od najdostupnijih i lako dostupnih kemikalija formaldehid tada bila rijetka. Nažalost niti u jednoj reakciji nije uspio izolirati čisti produkt te zbog toga nije mogao niti odrediti strukturu.¹

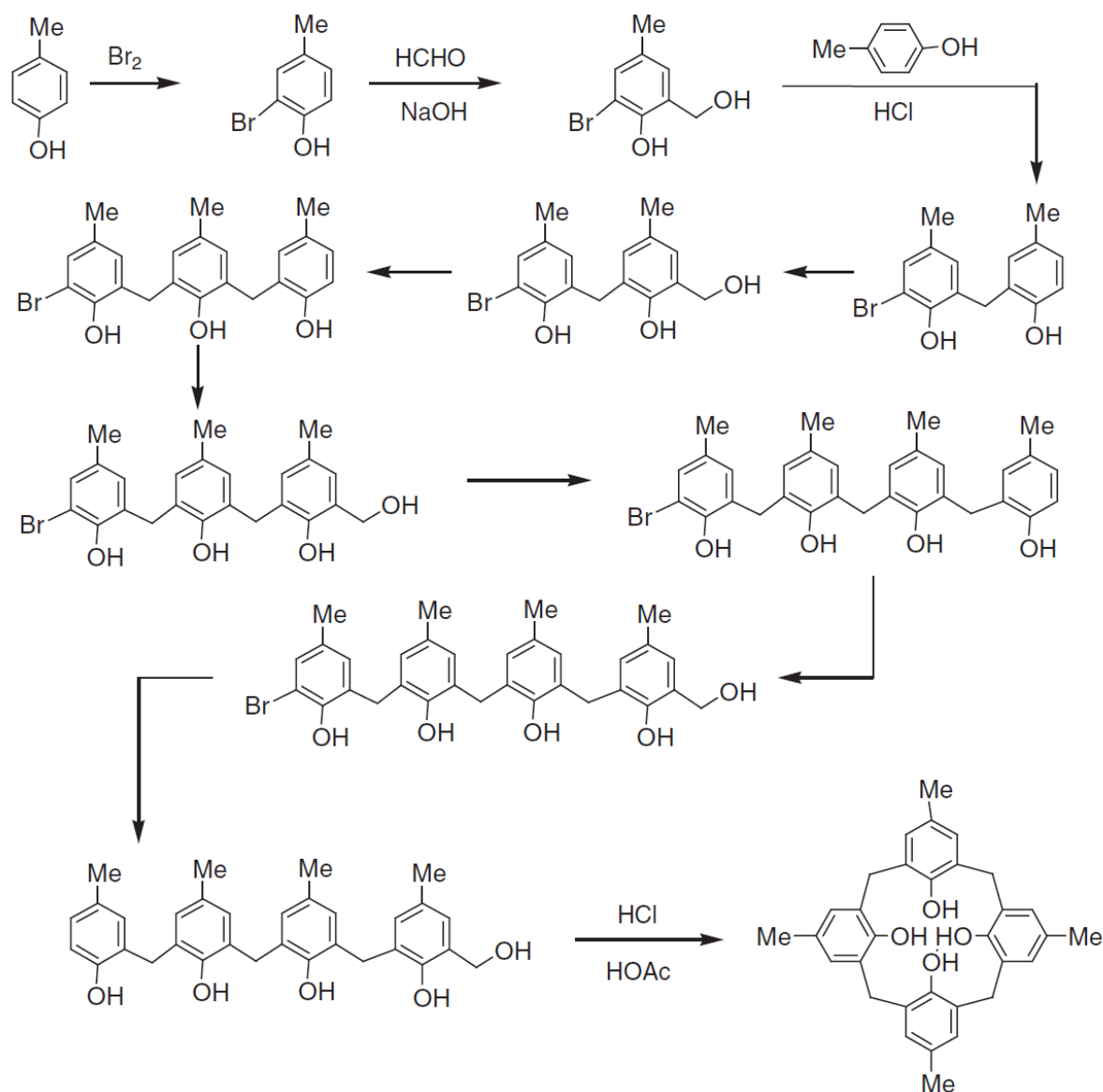
Bayerova istraživanja nastavlja Leo Baekeland 1902. Nakon nekoliko godina iscrpnog istraživanja 1907. Baekeland je podnio zahtjev za patent procesa za proizvodnju Bakelita (prve sintetske plastike) i time je započeo novu eru u kemiji. Danas život bez plastike nije zamisliv, iako u to vrijeme potencijal pripremljenog materijala nije bio prepoznat.



Slika 3. Moguća struktura Bakelita

Daljnji razvoj kemije formaldehida i fenola nastavljaju Alois Zinke i njegov kolega Erich Ziegler. Godine 1942. fenol zamjenjuju *p*-substituiranim (alkiliranim) fenolima, primjerice *tert*-butilfenol. Odlučili su se za takav pristup sintezi zbog toga što je bakelit razgranat, a supstituent na *para* položaju usmjerava reakciju tako da se veze između dva fenola može ostvariti samo u dva *ortho* položaja. Zinke nekoliko godina kasnije supstancu koja je dobivena u bazno kataliziranoj reakciji *p-tert*-butilfenola i formaldehida opisuje cikličkom tetramernom strukturom. Nekoliko godina kasnije B. T. Hayes i R. F. Hunter objavili su rad u kojem su detaljno opisali pripremu kaliks[4]arena. Tek je 1980-tih je napravljena direkta usporedba

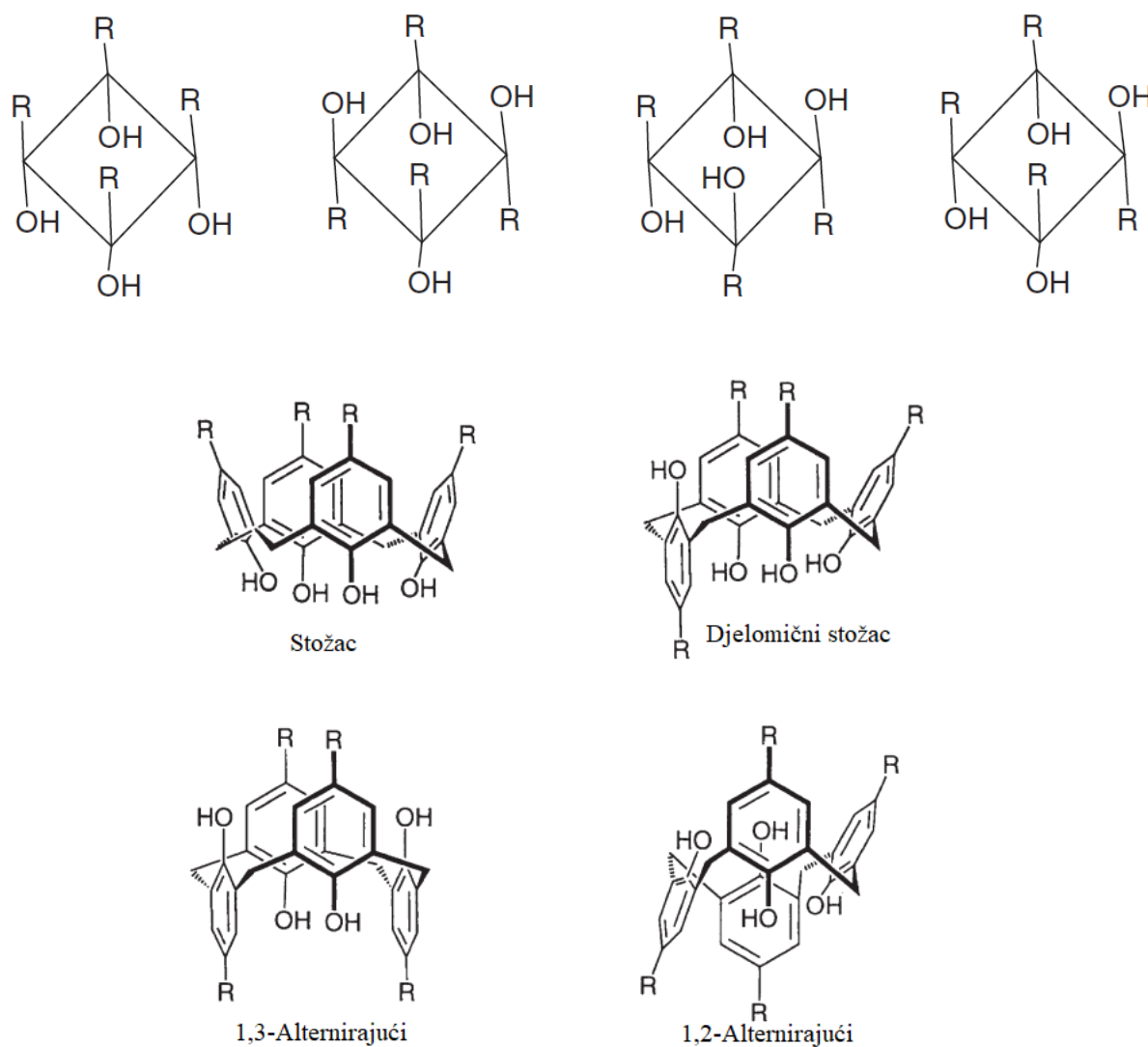
Zinkeovog spoja s onime što su Hayes i Hunter priredili.⁴ Rezultati analize potvrdili su Zinkeovu pretpostavku o cikličkoj strukturi spoja.



Slika 4. Shema priprave kaliks[4]arena prema Hayesu i Hunteru.¹

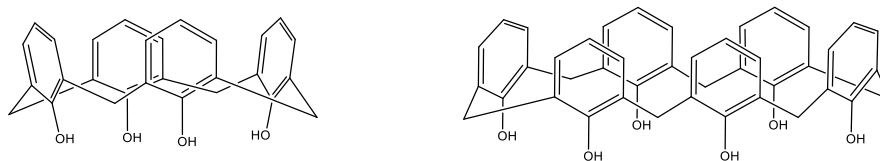
Oko 1950-tih istraživanju reakcija fenola i formaldehida pridružuje se i John W. Cornforth. On je ponovio Zinkeov eksperiment i ustanovio da umjesto jednog produkta postoje dva. Oba su imala istu molekulsku formulu. Zaključili su da je riječ o konformerima cikličkog tertramera. Budući da broj konformera raste s brojem fenolnih podjedinica, kaliks4areni i kaliks5areni, tako kaliks[4]aren i kaliks[5]aren imaju 4 konformera dok heksamer ima 8 a akotamer 16 konformera. Konformacija u kojoj su sve $-\text{OH}$ odnosno $-\text{R}$ podjedinice orijentirane s iste strane pseudoravnine prstena, odnosno s iste strane oboda, najstabilnija je konformacija i nazvana je

stožac (slika 6). Pored spomenute orijentacije, postoje i konformeri u kojima prstenovi mogu se orijentirati tako da jedan ili više njih nalaze u ravnini.



Slika 6. Dijastereoizomeri kaliksarena (gore) i konformacije kaliks[4]arena (dolje).

Istraživanju cikličkih tetramera pridružuje se i naftna kompanija *Baker Petrolite Company* (prije zvana *Petrolite Corporation*). Tvrтка je tražila način na koji bi mogla razdvojiti faze u emulziji nafte i vode. Istraživači te tvrtke 1974. izdaju patent za novu metodu dobivanja cikličkih tetramera, no deset godina kasnije postaje jasno da njihovom priređen oktamer oktamer.¹



Slika 7. Struktura kaliks[4]arena (lijevo) i kaliks[6]arena (desno).

1970-tih područje bioorganske kemije postaje zanimljivo zbog mogućnosti sinteze molekularni „košara“ koje bi bili modelni sustavi za aktivna mjesta enzima. Ideja mehanizma interakcije bila je zamišljena tako da bi molekula kaliksarena bila receptor za supstrate te bi funkcionalne grupe na njoj bile zadužene za interakcije s molekulama supstrata. Slika 7. opisuje zamišljeni mehanizam.



Slika 8. Model kaliksarena kao receptora za supstrat

David Gutsche znatno je unaprijedio sintezu kaliksarena i njihovih derivata. Pored navedenog, istražio je njihova kemijska i fizikalna svojstva. Zanimljivo je napomenuti da je zbog velikog interesa za Zinkeovim cikličkim tetramerom ukazala potreba za trivijalnim nazivom čitave klase makrocikličkih spojeva. Nakon raznih imena koje su imali kroz povijest, Gutsche je spojeve odlučio nazvati prema njihovom izgledu u konformaciji stošca, prema grčkoj riječi *calix* (grč. vaza/kalež) i *aren* zbog toga što u svojoj strukturi sadrže arilne fragmente.

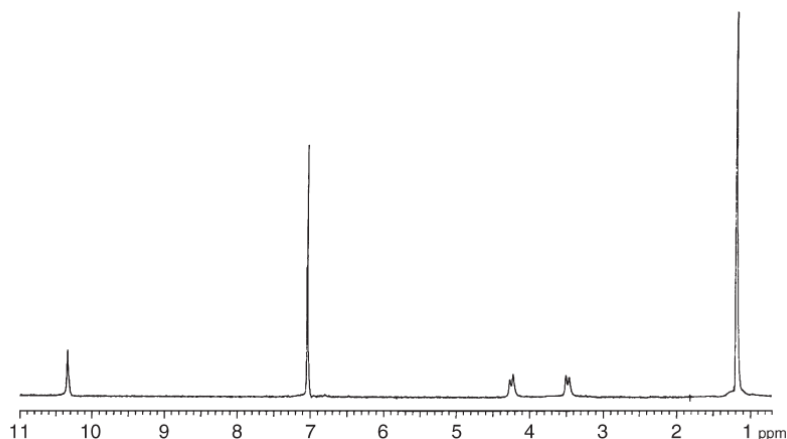


Slika 9. Grčki kalež za vino

Zanimljivo je da metilenski mostovi u strukturi kaliksarena mogu biti zamjenjeni nekim heteroatomom. Tako su sintetizirani tiokaliksareni koji se mogu funkcionalizirati i na atomima sumpora koji su uključeni u premoštavanja fenilnih podjedinica. Početkom 21. stoljeća počeli su se istraživati i drugi heterokaliksareni. Tako su sintetizirane klase heterokaliksarena: kalikspiroli, kaliksfurani, kalikspiridini i drugi. Uz hetero spojeve, sintetizirani su i homokaliksareni, koji su interesantni jer umjesto metilenskih mostova posjeduju mostove s 2 ili 3 ugljikova atoma. U usporedbi s kaliksarenima koji sadrže metilenske mostove navedeni se spojevi razlikuju u sposobnosti vezanja iona ili drugih neutralnih molekula zbog veće konformacijske slobode.⁵

Razumijevanje konformacije je ključan faktor u daljnjem razvoju kaliksarena kao potencijalnih receptora. Najpovoljnije interakcije s gostima ostvaruju se u slučaju kada se molekula nalazi u konformaciji stošca te je zbog toga kod sinteze kaliksarenskih receptora uvijek poželjno da krajnji produkt bude u toj konformaciji. Često se u sintezama zna dogoditi da će neki nusprodukt biti u nekoj drugoj konformaciji, no konformeri se lako razlikuju NMR spektroskopijom. Ukoliko su svi R- ogranci identični i nalaze se s iste strane makrocikla, spektar će biti jednostavniji zbog prisutnosti C_n simetrije u odnosu na molekulu na kojoj se jedna od skupina nalazi na „drugoj“ strani, odnosno ako se radi o drugom konformeru. U spektru spojeva koji se javljaju u konformaciji stošca pri sobono temperaturi bit će prisutni signali samo jedne

podjedinice. Na slici 10 se može vidjeti jedan od primjera ^1H NMR spektra novosintetiziranog glikokonjugata kaliksarena, gdje se sve identične funkcionalne skupine nalaze na istoj strani. Konformacija stošca najčešće se postiže uvođenjem *p-tert*-butilne skupine na gornji obod kaliksarena. Dodatno, prisutnost *tert*-butilne skupine povećava i prinos u reakcijama u kojima se na donji obod uvode funkcionalne skupine koje služe kao vezna mjesta za ione i neutralne kemijske vrste.

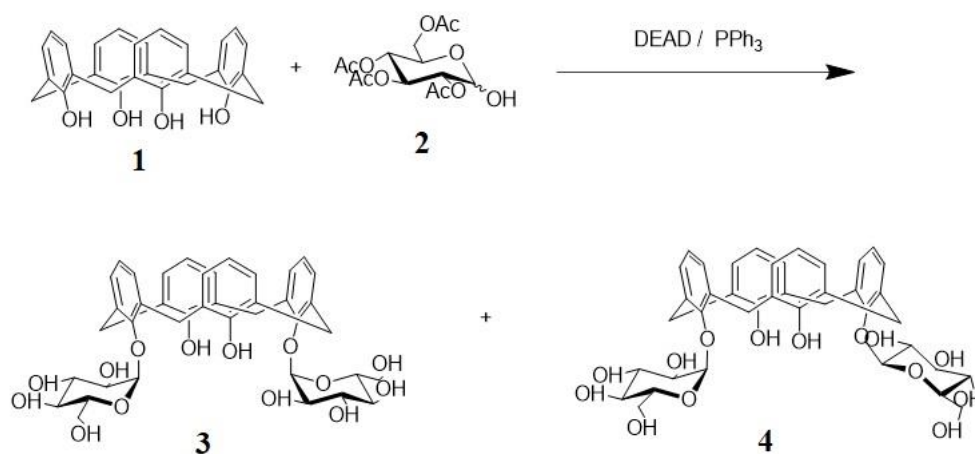


Slika 10. ^1H NMR spektar *p-tert*-butilkaliks[4]arena u kloroformu.¹

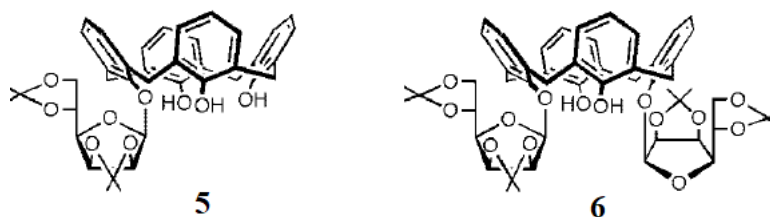
2.2. Glikokonjugacija kaliksarena

U reakcijama glikolizacije, to jest reakcijama uvođenja glikozida (šećernih motiva) na neku drugu molekulu cilj je aktivirati anomerni C atom i supstituirati odlaznu skupinu s nukleofilom koji je od interesa. U jednostavnim reakcijama glikolizacije (gdje sudjeluje samo jedan nukleofil i anomerni C atom šećera) kao produkt nastaje ili alfa ili beta anomer, to jest nastaju dva dijastereoizomera. Obično se ta dva spoja mogu lako odvojiti kromatografijom ili nekom drugom metodom, no glikozilacija kaliksarene nešto je složenija. U slučaju navedenih makrocikala (konkretno kod kaliks[4]arena) sinteza je otežana budući da postoje četiri nukleofilna mjesta koja reagiraju s anomernim atomima šećera dajući cijeli niz mogućih konformera.

Devedestih godina dvadesetog stoljeća prve je reakcije glikolizacije na kaliks[4]arenima provela grupa talijanskih kemičara pod vodstvom A. Dondonia i R. Ungaroa.⁶ korištenih sintetskih putova prikazana je na slici 11. Priprava glikokonjugata se zasnivala na Mitsunobu reakciji kaliks[4]arena **1** sa spojem **2** (tetraacetilirane glukoze). Uvođenje acetilne zaštite na šećer je bitno zbog izbjegavanja velikog broja potencijalnih nusprodukata. Kao produkt reakcije dobili su smjesu dva diastereoizomera α,α -bisglikozid i α,β -bisglikozid u omjeru 1:1. Uspjeli su izolirati oba spoja (što su i dokazali ¹H NMR spektroskopijom) no s jako malim iskorištenjem. Bitno je napomenuti da su oba spoja bili u konformaciji stošca što je bilo poželjno zbog daljnjih istraživanja (kompleksiranje s metalima). Na žalost nakon uklanjanja acetilnih zaštita natrijevim metoksidom u metanolu, spojevi nisu bili topljive u vodi, stoga ispitivanja njihovih kemiskih svojstva nije bilo moguće provesti. Kasnije je isti tim u reakciju glikolizacije išao s manofuranoznim diacetonidom. Uspješno su izolirana dva spoja, međutim deacetonizacija nije uspjela pa nisu dobiveni nezaštićeni spojevi. (slika 12).



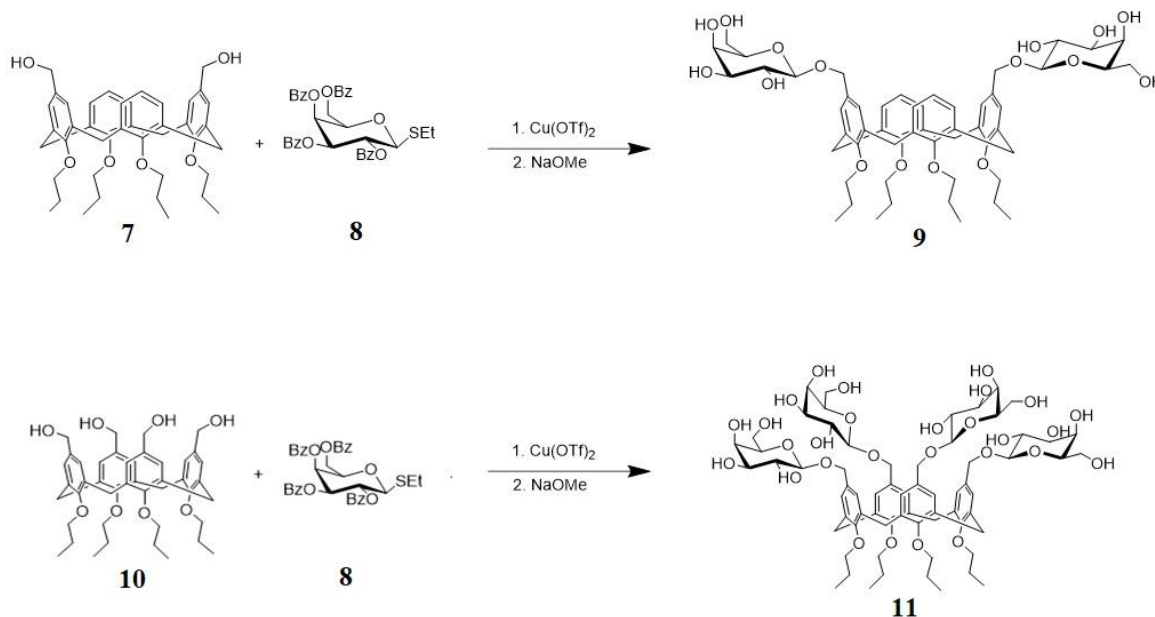
Slika 11. Sinteza prvih glikokonjugata.



Slika 12. Manofuranozni derivati kaliks[4]arena.

Kako je već bilo spomenuto, uvođenjem funkcionalnih skupina na gornjem ili donjem obodu može se pospješiti rigidnost i tako osigurati da konačan spoj bude u željenoj konformaciji stošca. U istom radu opisane su još dvije sinteze, pri čemu je glikozilacija provedena na

gornjem obodu kaliks[4]arena. Na donji obod uvedene su propilne skupine, a kao donor glikozidne veze poslužio je spoj **8**. Benzoilna zaštita je korištena kako bi usmjerila reakciju prema β diastereoizomeru. U reakciji je korišten bakrov(II) triflat kao promotor, a u reakciji supstitucije izlazna skupina je bila tioesterska. Nakon uklanjanja benzoilnih zaštita natrijevim metoksidom dobiveni su spojevi **9** i **11** uz dosta dobra iskorištenja (60-65%). Spoj **11** (prvi izolirani tetraglikozid) bio je topljiv u vodi ($5 \cdot 10^{-3}$ mol dm⁻³).

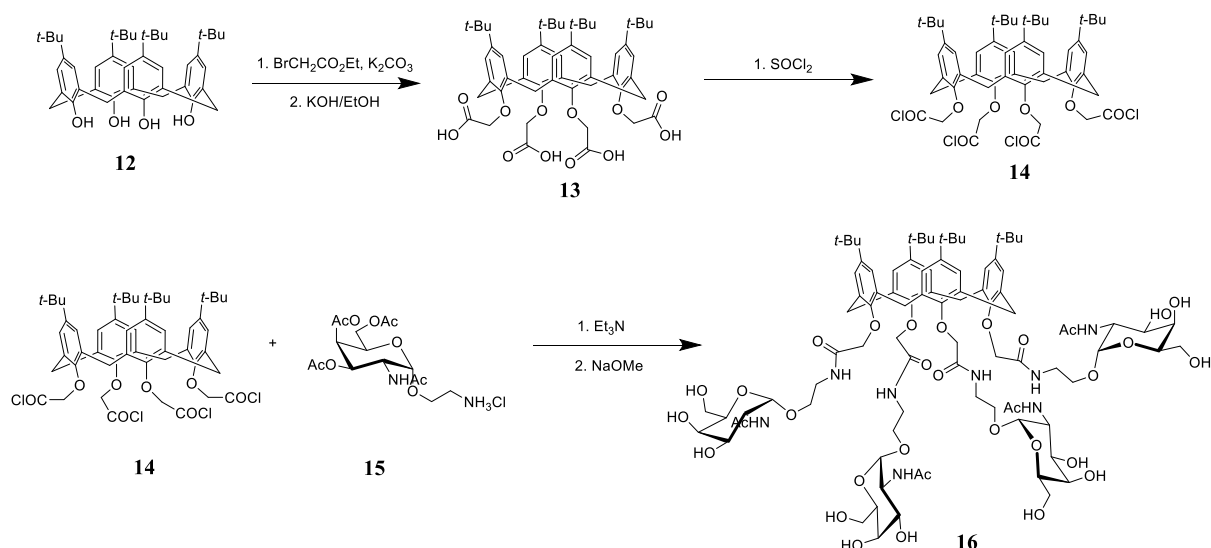


Slika 13. Sinteza spojeva **9** i **11**.

Nažalost, kasnije su ustvrdili da su reakcije kataliziranje Lewisovim kiselinama rezultirale nepoželjne nusprodukte (kaliksareni s premoštenim distalnim hidroksimetilnim skupinama). Jedno od rješenja problema bilo je uvođenje dužih lanaca s hidroksilnim grupama pa su tako uspjeli izolirati još tri glikokonjugata.

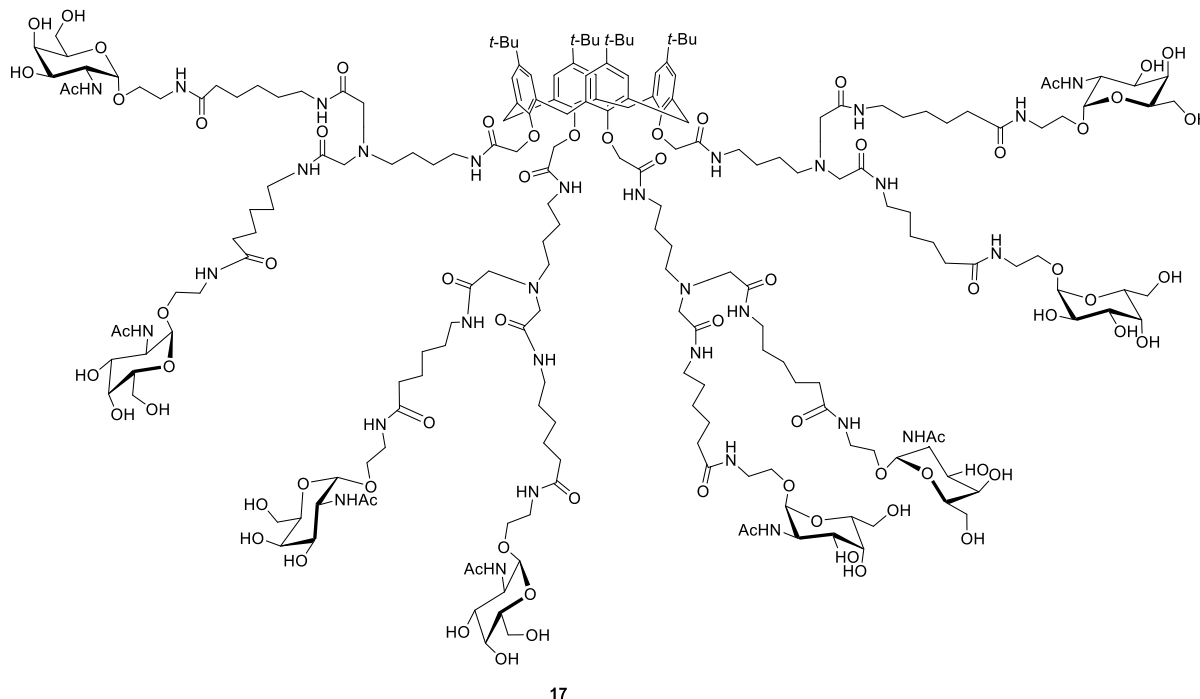
Zanimljivije rješenje bilo je glikozidacija pomoću amidne veze, na način da kaliksaren koji bi bio preveden u kiselinu reagira s aminom koji na sebe ima vezan glikozid. Nakon što je sinteza glikokonjugata reakcijom *tetra*-propoksi kaliks[4]arena dikiseline s 2,3,4,6-*tetra*-O-acetil-galaktozamin bila neuspješna (zbog slabe reaktivnosti galaktozamina), kao donor O-glikozidne veze korišten je O-etilamino galaktozom i dobiven je ciljani spoj. Roy i Kim⁷ u svome radu uveli su *p-tert*-butilne skupine na gornjem obodu s ciljem da će se zbog povećane lipofilnosti taj dio molekule vezati na hidrofobne domene enzima. Šećerni dio priređenoog

glikokonjugata trebao je ostvariti interakcije s veznim mjestom enzima. Sintetski put je uključivao komercijalno dostupnog *p-tert*-butilkaliks[4]arena **12** koji je preveden u tetraetil ester u reakciji s etil 2-bromacetatom i bazno hidroliziran u tetra kiselinu **13** te zatim preveden u tetra klorid **14** uz tionil klorid. Direktnom aminacijom spoja **14** i *N*-acetilgalaktozamin **15** nastao je željeni tetra glikokaliks[4]aren **16**.



Slika 14. Sintetski put spoja **16**.

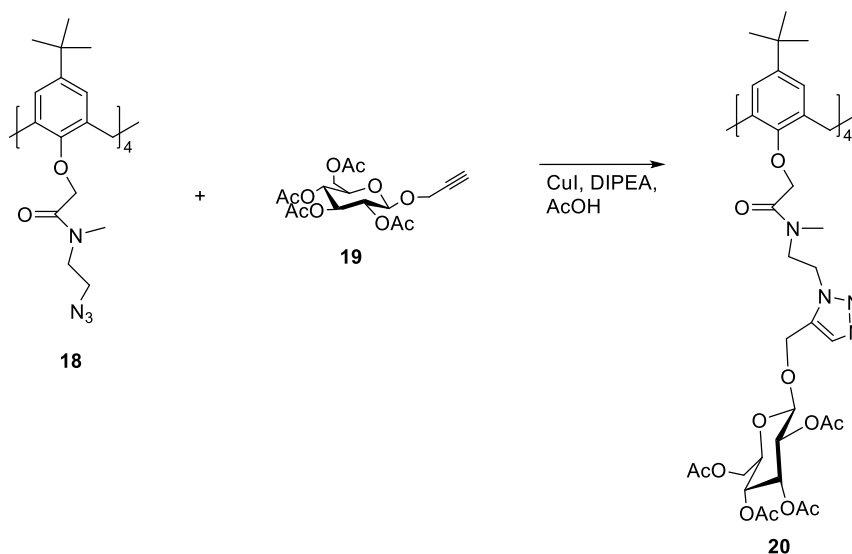
Na sličan način priređen je i spoj s osam šećernih podjedinica **17**. Oba spoja su pročišćena i ^1H NMR spektroskopijom utvrđeno je su pripremljeni želejni spojevi. Spojevi su zatim testirani na vezanje biljnog lektina (VVA). Spoj 17 reagirao je s lektinom pri čemu je nastao iznimmno stabilni netopljivi produkt.koji je disocirao tek uz dodani veliki suvišak (250 puta veća množina) inhibitora. Osim tetra glikokaliks[4]arena priređen je još i heksadekamerni glikokaliks[4]aren.



Slika 15. Struktura okta glikokalis[4]arena.

Kao još jedan od načina uvođenja glikozidne skupine proučavana je Suzukijeva reakcija u prisutnosti Pd(0) kao katalizatora. Cilj istraživanja bio je povećati makrocikličku regiju, a time i afinitet za vezanje proteina. Zamišljeni spojevi su priređeni no nažalost, no nažalost nakon skidanja zaštita bilo ih je teško pročititi zbog njihovog amfifilnog karaktera stoga su iskorištenja sintetskog postupka bila relativno mala. Uz Suzukijevu reakciju, provedena je i s Pd(0) katalizirana Sonogashira reakcija.⁸

Kao jedno od rješenja za uvođenje O-glikozidne veze predložena je reakcija azid-alkin cikloadicije⁹. Naime pri povišenoj temperaturi prilikom reakcije azida i alkina nastaje triazolni prsten. Navedeni sintetski put nije odviše korišten u kemiji kaliksarena. Naime, reakcija je neregioselektivna što rezultira nastankom 1,4- i 1,5-disubstituirani prstenovi. Međutim, ukoliko se reakcija provodi uz prisustvo bakra(I)¹⁰ (katalizator) nastaje samo 1,4-disupstituirani triazolni prsten CuAAC).



Slika 16. Nedavno sintetiziran derivat *click* reakcijom.³

Jedna od najvećih prednosti povezivanja šećerne podjedinice i kaliksarenske košare *click* reakcijom je to što su prinosi znatno veći u odnosu na ostale sintetske putove. Reakcija je regiospecifična, nema neželjenih nusprodukata i počišćavanje nije zahtjevno. Uz to vrlo je lako sintetizirati spoj koji posjeduje vezna mjesta za katione i topljiv je u vodi. Time se smanjuje broj koraka sinteze i mogućnost raspadanja spoja ili neželjene reakcije.

2.3. Kompleksacijska svojstva derivata kaliksarena

Supramolekularna kemija je nekovalentnih interakcija (veza). Prilikom nastanka produkta dolazi do povezivanja gosta i domaćina (liganda) koordinacijom gosta na funkcionalne skupine receptora ili njegovom inkluzijom u domaćina. Kako je ranije navedeno, istraživanja u supramolekularnoj kemiji započeta su istraživanjem krunastih etera i ciklodekstrina krajem 60tih godina.¹ Funkcionalne skupine osnovnih kaliksarena sadrže iste donorne atome kao i krunasti eteri, stoga su nakon otkrića receptorskih svojstava krunastih etera započeta i odgovarajuća istraživanja kaliksarena. Budući da su krunasti eteri konformacijski znatno slobodniji, kaliksareni su daleko korišteniji templatni spojevi za pripremu supramolekulskih ionofora. Procesi kompleksiranja proučavaju se u čvrstom stanju i u otopinama.¹¹

Reakcija kompleksiranja kationa M^+ i liganda (kaliksarena) L, pri čemu nastaje kompleks ML^+ može se opisati jednačbom (1).



Standardna konstanta stabilnosti za ovu reakciju glasi (2)

$$K^\circ = \prod_i a_i^{v_i} \quad (2)$$

u kojoj a_i predstavlja relativni aktivitet pojedine vrste prisutne u otopini, a v_i predstavlja stehiometrijski koeficijent iz jednadžbe (1).

Jednadžba (3) pokazuje odnos između relativnog aktiviteta i koncentracije pojedine vrste u otopini

$$a_i = \frac{\gamma_i [c_i]}{c^\circ} \quad (3)$$

pri čemu je γ_i koeficijent aktiviteta pojedine vrste prisutne u otopini, a c° standardna koncentracija. Iz jednadžbi (2) i (3) dobiva se izraz za standardnu konstantu nastajanja kompleksa ML^+ :

$$K^\circ = \frac{\gamma_{ML^+} [ML^+] c^\circ}{\gamma_{M^+} \gamma_L [M^+] [L]} \quad (4)$$

Kada se u jednadžbi (4) izraz (5) zamjeni koncentracijskom konstantom ravnoteže K dobije se izraz (6)

$$K = \frac{[ML^+]}{[M^+] [L]} \quad (5)$$

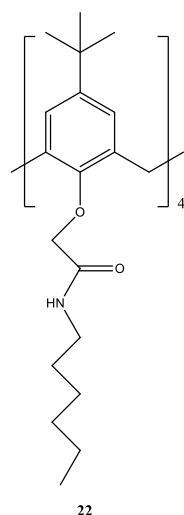
$$K^\circ = \frac{\gamma_{ML^+} c^\circ}{\gamma_{M^+} \gamma_L} K \quad (6)$$

U slučaju kada su otopine razrijeđene (koeficijent aktiviteta iznosi približno 1). Pri višim koncentracijama kompleks i slobodni kation su jednako nabijeni (zbog neutralnosti liganda njihovi koeficijenti aktiviteta mogu se pokratiti pa se dobije jednadžba (7).

$$K^\circ = c^\circ \cdot K \quad (7)$$

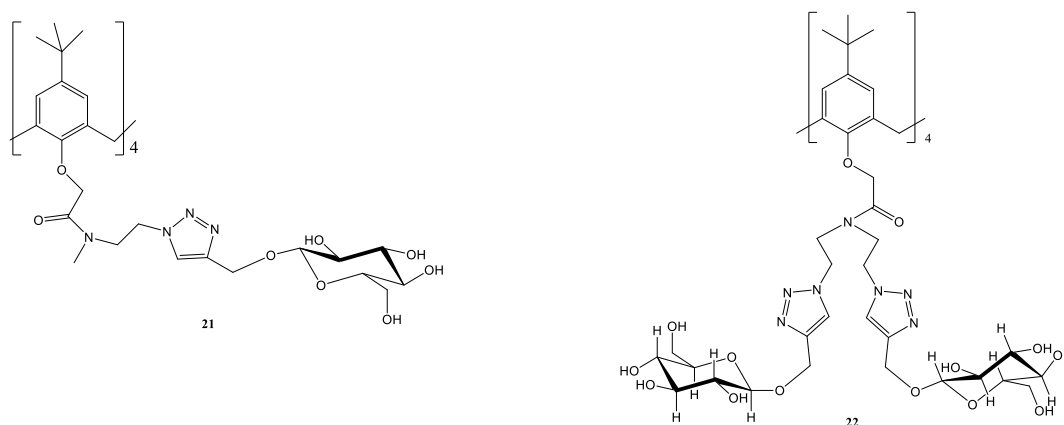
Za određivanje ravnotežnog sastava reakcijske smjese (ravnotežnih koncentracija sudionika reakcije) mjeri se neka fizikalna veličina koja je ovisna o koncentracijama sudionika reakcije, kao što su to na primjer apsorbancija, provodnost, toplina i drugi. Eksperiment se provodi na način da se otopine reaktanata miješaju pri različitim omjerima (otopina jednog reaktanta titrira otopinom drugoga).⁵

Kako je već prije istraženo da između fenolnih skupina kaliksarena i kationa nema značajnih interakcija¹², stoga je za učinkovito vezanje kationa kaliksarene potrebno funkcionalizirati. Primjerice amidni derivati kaliksarena stvaraju iznimno stabilne komplekse s kationima alkalijskih i zemnoalkalijskih metala¹³ (slika 17). Pritom su se tercijarni amidi pokazali kao znatno učinkovitiji receptori spomenutih kationa od odgovarajućih sekundarnih amida, što se dobrim dijelom može pripisati intramolekulskim vodikovim vezama.⁴ Kod nastajanja kompleksa sa sekundarnim amidnim derivatima energija reorganizacije veznog mjesta uvelike smanjuje energijsku povoljnost kompleksiranja (povećava reakcijsku entalpiju). Valja napomenuti da na afinitet kaliksarena za katione uvelike utječe i konformacija receptora. Reakcija kationa i veznog mjesta liganda najpovoljnija je u slučaju koordinacije karbonilnim i eterskim kisikovim atomima, odnosno kada je receptor u konformaciji stošca. To se najčešće postiže uvođenjem tert-butilnih skupina na gornji obod kaliksarena koje sprječavaju rotaciju fenolnih podjedinica oko pseudo ravnine kaliksarenskog prstena.



Slika 17. Amidni derivat kaliks[4]arena.

Kako je već spomenuto, veliki potencijal primjene kaliksarena kao receptora ionskih i nerutrnih vrsta bio je ograničen njihovom slabom topljivosti u vodi. Potreba za neutralnim, i u vodi topljivim kaliksarenima rezultirala je razvojem glikokonjugata kaliksarena u kojim prisustvo šećernih podjedinica osigurava topljivost makrocikala u vodi i polarnim organskim otapalima. U istraživanjima opisanim u^{2,3}, sintetizirani glikokonjugati kaliksarena kompleksirani su alkalijskim metalima u vodi, metanolu i formamidu.



Slika 18. Struktura spojeva **21** i **22**.

Reakcij kompleksiranja istražene su spektrofotometrijski i kalorimetrijski. U navedenom radu potvrđeno je da je vezno mjesto u makrocikličkoj šupljini glikokonjugata kaliks[4]arena najbolje za ione Na^+ , što ne znači da vezanje drugih metala nije povoljno. Nadalje ustanovljeno je da je kompleksiranje oba derivata kaliks[4]arena entropijski bitno povoljnije kod metanola (najstabilnije) i formamida u odnosu na vodu (efekt je izraženiji kod liganda s manjim brojem glukoznih podjedinica). Neki od rezultata istraživanja su prikazani u tablici 1 i 2.³

Tablica 1. Termodinamički parametri reakcija kompleksiranja liganda **21** s alkalijskim kationima u vodi pri 25°C.

kation	$\lg K(\text{ML}^+) \pm \text{SE}^{\text{a}}$	$\frac{\Delta_r G^\circ \pm \text{SE}}{\text{kJ mol}^{-1}}$	$\frac{\Delta_r H^\circ \pm \text{SE}}{\text{kJ mol}^{-1}}$	$\frac{\Delta_r S^\circ \pm \text{SE}}{\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}}$
Li ⁺	1,216 ± 0,007 ^c	-6,94 ± 0,04 ^c	- ^d	- ^d
Na ⁺	2,72 ± 0,01 ^b 2,923 ± 0,002 ^c	-15,55 ± 0,05 ^b	-58,5 ± 0,5	-144 ± 2
K ⁺	0,71 ± 0,03 ^c	-4,0 ± 0,2 ^c	- ^d	- ^d

^a SE = Standardna pogreška aritmetičke sredine ($N = 3$).

^b Određeno mikrokalorimetrijski.

^c Određeno spektrofotometrijski.

^d Kompleksiranje je preslabo za pouzdano mikrokalorimetrijsko određivanje termodinamičkih parametara.

Tablica 2. Termodinamički parametri reakcija kompleksiranja liganada s četiri (**21**) i s osam (**22**) glukoznih podjedinica s alkalijskim kationima u vodi pri 25 °C. Parametri koji se odnose na **21** označeni su crnom, a oni koji se odnose na **22** plavom bojom.

otapalo	kation	$\lg K(\text{ML}^+) \pm \text{SE}^{\text{a}}$	$\frac{\Delta_r G^\circ \pm \text{SE}}{\text{kJ mol}^{-1}}$	$\frac{\Delta_r H^\circ \pm \text{SE}}{\text{kJ mol}^{-1}}$	$\frac{\Delta_r S^\circ \pm \text{SE}}{\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}}$
VODA	Li ⁺	$1,216 \pm 0,007^{\text{c}}$	$-6,94 \pm 0,04^{\text{c}}$	– ^d	– ^d
		$1,46 \pm 0,01^{\text{c}}$	$-8,33 \pm 0,06^{\text{c}}$		
	Na ⁺	$2,72 \pm 0,01^{\text{b}}$	$-15,55 \pm 0,05^{\text{b}}$	$-58,5 \pm 0,5$	-144 ± 2
		$4,95 \pm 0,02^{\text{b}}$	$-28,23 \pm 0,09^{\text{b}}$	$-58,6 \pm 0,8$	-102 ± 3
	K ⁺	$0,71 \pm 0,03^{\text{c}}$	$-4,0 \pm 0,2^{\text{c}}$	– ^d	– ^d
		$2,25 \pm 0,03^{\text{b}}$	$-12,9 \pm 0,2^{\text{b}}$	-37 ± 2	-82 ± 8

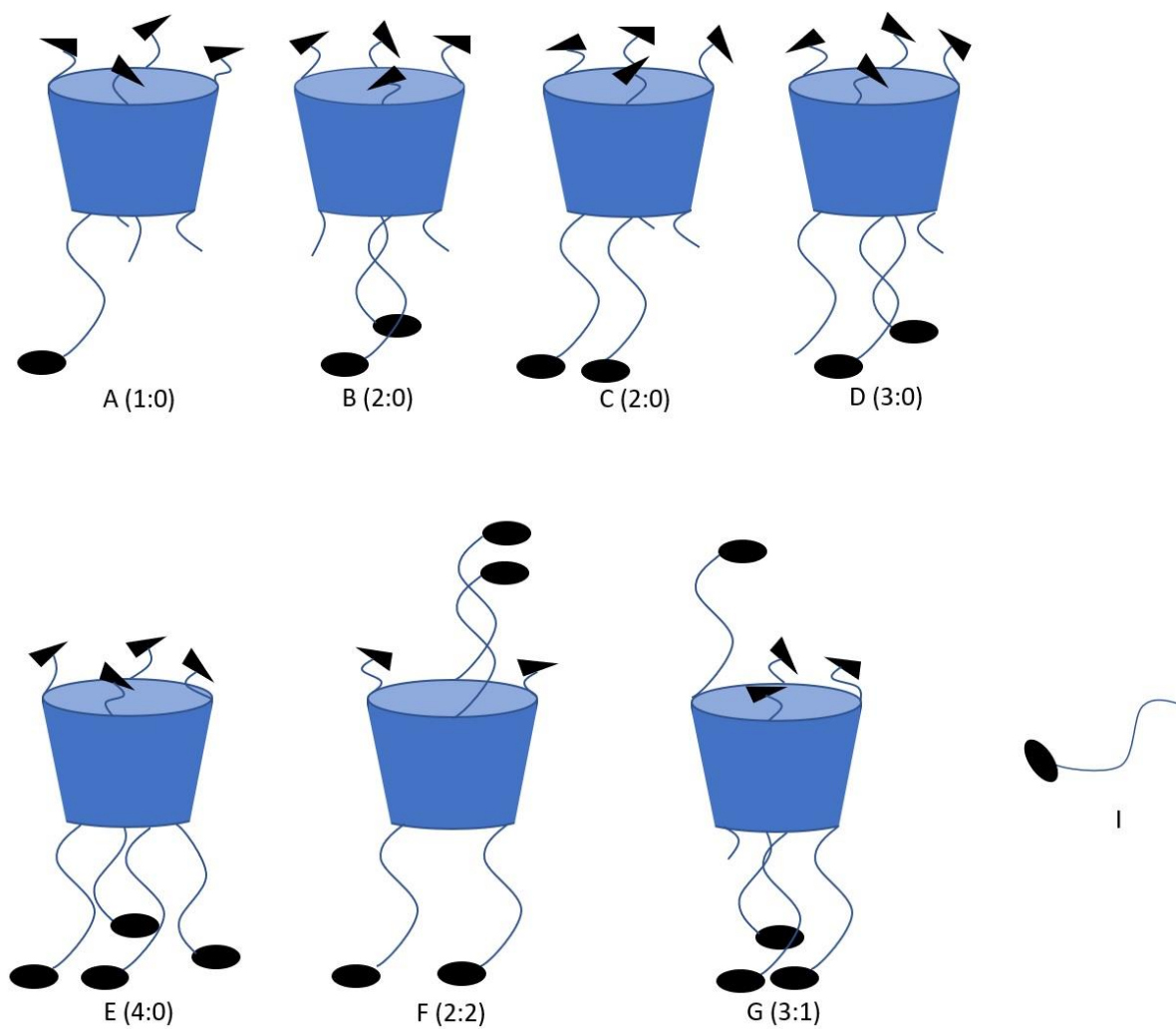
^a SE = Standardna pogreška aritmetičke sredine ($N = 3$).

^b Određeno mikrokolorimetrijski.

^c Određeno spektrofotometrijski.

^d Kompleksiranje je preslabo za pouzdano mikrokolorimetrijsko određivanje termodinamičkih parametara.

Neutralni glikokonjugati kaliksarena zanimljivi su i zbog svoje sposobnosti vezanja na razne proteine koji imaju vezna mjesta za šećere, primjerice na lektine koji imaju važnu ulogu u staničnom prepoznavanju. Ostvarene interakcije vrlo su specifične, međutim slabe ukoliko spojevi sadrže jednu šećernu podjedinicu.¹⁴ Međutim, stabilnoist nastalih produkata bitno je veća ukoliko je nekoliko šećernih podjedinica ostvaruje interakcijes jednim (ili više) receptora istodobno. Proučavane su interakcije glikokonjugata s raznim toksinima i virusima. Poznato je da neki toksini prepoznaju stanice na čijim površinama se nalaze ugljikohidrati.¹⁶ Jedan od ciljeva proučavanja interakcija lektin-glikokonjugat je pronaći i povoljne inhibitore takvih reakcija. U radu S. Vidal, S. E. Matthews, A. Imberty i suradnika proučavani su razni glikokonjugatni izomeri kaliks[4]arena (slika 19) te njihovo vezanje na PA-IL lektin (*Pseudomonas aeruginosa*, poznati patogen koji uzrokuje infekciju pluća). Ustanovljeno je da se zbog klusterskog i kelatnog efekta konformacija tetragalaktoznog derivata kaliks[4]arena PA-IL veže naj snažnije. Rezultati spomenutih istraživanja su prikazani u tablici 3.



Slika 19. Reprezentacija sintetiziranih glikokonjugata kaliks[4]arena (A-G) i monovalentni referent (I).

Tablica 3. Termodinamički parametri vezanja sintetiziranih glikokonjugata **A-G** i monovalentnog referenta (**I**) na PA-IL pri 25 °C.

Ligand	Topologija	$\lg K \pm SE^a$	$\frac{\Delta_r G^\circ \pm SE}{\text{kJ mol}^{-1}}$	$\frac{\Delta_r H^\circ \pm SE}{\text{kJ mol}^{-1}}$	$\frac{T\Delta_r S^\circ \pm SE}{\text{kJ mol}^{-1}}$
I		$5,18 \pm 4,52$	-22 ± 1	-36 ± 1	-14 ± 1
B	2:0		$_{-b}$		
C	2:0		$_{-b}$		
D	3:0	$3,31 \pm 2,59$	$-32,5 \pm 0,5$	$-28,1 \pm 0,5$	$4,4 \pm 1$
E	4:0	$2,62 \pm 2,2$	-37 ± 1	-71 ± 6	-34 ± 7
G	3:1	$2,30 \pm 0,69$	-38 ± 1	-98 ± 9	-60 ± 9
F	2:2	$2,25 \pm 0,78$	-39 ± 1	-104 ± 1	-65 ± 1

^a SE = Standardna pogreška aritmetičke sredine ($N = 2-3$).

^b U reakciji nije zamijećeno vezanje.

Pored navedenih istraživanja glikokalisarena, ispitana je i mogućnost njihova vezanja na polistirenske ploče i na TiO₂, u svrhu razvijanja novih analitičkih separacijskih tehnika.^{17,18}

Navedene dvije funkcije kaliksarena (vezanje lektina i kompleksiranje iona i neutralnih vrsta) ne treba gledati odvojeno. Velik potencijal za daljnji razvoj glikokaliksarena upravo je u mogućnosti kombiniiranja više funkcionalnosti. U tom slučaju moguće je zamisliti molekulu koja bi se vezala na šećerni receptor (u ovom slučaju na površini stanice) i direktno na mjesto od interesa dopremila na primjer aktivnu tvar.

Kada govorimo o točnoj strukturi kompleksa, ona se dobije najčešće rendgenskom difrakcijom i često se struktura u čvrstom stanju poistovjećuje s onom u otopini.

§ 3. LITERATURNI IZVORI

- ¹ C. D. Gutsche, *Calixarenes: An Introduction*, 2nd edn, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2008.
- ² N. Cindro, *Sinteza I kompleksacijska svojstva glikokonjugata kaliks[4]arena*, Doktorski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2017.
- ³ M. Cvetnić, J. Meštrović, *Sinteza glukoznog derivate kaliks[4]arena I njegovo kompleksiranje alkalijskih kationa*, Rektorov rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2018.
- ⁴ C. D. Gutsche, B. Dhawan, K. H. No and R. Muthukrishnan, *J. Am. Chem. Soc.* 103 (1981) 3782
- ⁵ Z. Asfari, V. Böhmer, J. Harrowfield, and J. Vicens, *Calixarenes 2001*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2001
- ⁶ Marra, A.; Scherrmann, M.-C.; Dondoni, A.; Casnati, A.; Minari, P.; Ungaro, R. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 33 (1994) 2479
- ⁷ Roy, R.; Kim, J. M. *Angew. Chem., Int. Ed.* 38 (1999) 369
- ⁸ A. Dondoni, A. Marra, *Rcem. Rev.* 110 (2010) 4949-4977
- ⁹ F. G. Calvo-Flores, J. Isac-Garcia, F. Hernandez-Mateo, F. Perez-Balderas, J. A. Calvo-Asin, E. Sanchez-Vaquero, F. Santoyo-Gonzalez *Org. Lett.* 2 (2000) 2499
- ¹⁰ V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem., Int.* 41 (2002) 2596.
- ¹¹ C. D. Gutsche, B. Dhawan, K. H. No and R. Muthukrishnan, *J. Am. Chem. Soc.* 103 (1981) 3782
- ¹² A. F. Danil de Namor, M. C. Cabaleiro, B. M. Vuano, M. Salomon, O. I. Pieroni, D. A. Pacheco Tanaka, C. Y. Ng, M. A. Llosa Tanco, N. M. Rodriguez, J. D. Cardenas Garcia, A. R. Casal, *Pure & Appl. Chem.* 66 (1994) 435-440
- ¹³ G. Horvat, V. Stilinovic, B. Kaitner, L. Frkanec, and V. Tomisic, *Inorg. Chem.* 51 (2012) 6264-6278
- ¹⁴ S. Cecioni, R. Lalor, B. Blanchard, J. P. Praly, A. Imberty, S. E. Matthews, S. Vidal, *Chem. Eur. J.* 15 (2009) 13232-13240
- ¹⁵ F. Sansone, A. Casnati. *Chem. Soc. Rev.* 42(11) (2013) 4623
- ¹⁶ D. A. Fulton, J. F. Stoddart, *Bioconj. Chem.* 12(5) (2001) 655-672
- ¹⁷ S. D. Alexandratos, S. Natesan, *Macromolecules* 34 (2001) 206-210
- ¹⁸ J. M. Notestein, E. Iglesia, A. Katz, *Chem. Mater.* 19 (2007) 4998-5005