

PRACA
DOKTORSKA



**Instytut Chemii Organicznej
Polskiej Akademii Nauk**

**Synteza oraz metody kontroli procesów asocjacji
peptydowych kapsuł molekularnych**

mgr inż. Marek P. Szymański

Praca doktorska przygotowana pod kierunkiem
prof. dr hab. Agnieszki Szumnej

A - 21 - 6

IK - C - 123

IK - D - 152

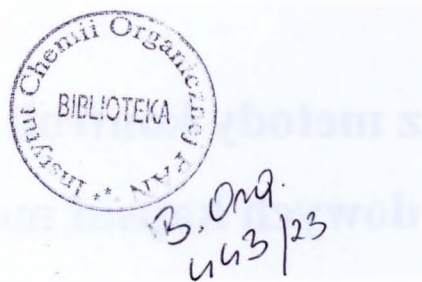
Biblioteka Instytutu Chemii Fizycznej PAN

O-B.443/23



10000000110508

Warszawa 2022



Pragnę podziękować

promotor **prof. dr hab. Agnieszce Szumnej**
za możliwość pracy i realizacji własnych pomysłów w zespole IX IChO PAN,
przekazaną wiedzę, nieocenioną pomoc, cenne uwagi i wskazówki,
wiarę we mnie, poświęcony czas i cierpliwość

Kasi, Bartkowi i Esmie
za wspólnie spędzony czas w laboratorium,
wszelką pomoc i cenne wskazówki

obecnym oraz byłym członkom **zespołu IX IChO PAN**
za wspaniałą atmosferę pracy oraz cenne wskazówki

oraz **Pawłowi, Wojtkowi i Asi**
za wszystkie rozmowy o chemii i nie tylko
oraz wspólnie spędzony czas.

STRESZCZENIE

Chemia supramolekularna zajmuje się badaniem układów złożonych z wielu cząsteczek oddziałujących między sobą w sposób niekowalencyjny. Jednym z rodzajów układów supramolekularnych są kapsuły molekularne, które posiadają odseparowaną od otoczenia lukę, umożliwiającą enkapsulację innych cząsteczek. Enkapsulacja cząsteczek gości, odseparowuje je od otaczającego środowiska, umożliwiając w ten sposób różnorodne procesy rozpoznania, separacji czy też moduluje w lukach reakcje chemiczne.

Celem pracy było wyjaśnienie mechanizmu mechanochemicznej enkapsulacji fulerenów we wnętrzu peptydowych kapsuł molekularnych, zbadanie trwałości oraz struktury peptydowych kapsuł molekularnych w zależności od środowiska i sprawdzenie dynamiki gościa skompleksowanego w peptydowej kapsule molekularnej. Praca obejmowała również badania możliwości modyfikacji struktury kapsuł poprzez zmianę długości łańcucha peptydowego i modyfikację jego *N*-końca oraz przetestowanie możliwości otrzymania peptydowych kapsuł koordynacyjnych.

W wyniku pracy zaproponowałem mechanizm kompleksowania fulerenu we wnętrzu peptydowych kapsuł molekularnych obejmujący zniszczenie ich struktury II-rzędowej w trakcie mielenia w młynie kulowo-planetarnym. Opracowałem również metodę badania asocjacji peptydowych kapsuł molekularnych w roztworach i w ciele stałym z wykorzystaniem spektroskopii elektronowego dichroizmu kołowego. Zaproponowane zostały również modele zachowania fulerenu wewnątrz kapsuły molekularnej w ciele stałym i w roztworze. Otrzymałem również hydrazydy tri- i tetrapeptydów z grupą acetylową na *N*-końcu, z których otrzymałem później kapsuły molekularne i ich kompleksy z fulerenami oraz z badałem ich strukturę trójwymiarową i motyw wiążący występujący pomiędzy kawitandami. Otrzymałem szereg hydrazydów aminokwasów i peptydów zmodyfikowanych na *N*-końcu i sprawdziłem ich potencjał do syntezy peptydowych kapsuł molekularnych. Otrzymałem w ten sposób szereg nowych peptydowych kapsuł molekularnych z innymi grupami na *N*-końcu, które zawierały analogiczny motyw wiążący do występującego we wcześniej otrzymanych kapsułach. Dodatkowo, opracowałem metodę syntezy kowalencyjnej kapsuły molekularnej z użyciem związku interkalującego.

Otrzymane wyniki rozszerzyły znacznie arsenał dostępnych peptydowych kapsuł molekularnych, pozwoliły na zaproponowanie nowego mechanizmu enkapsulacji oraz wykazały użyteczność metodologii opartej na spektroskopii dichroizmu kołowego w badaniach procesów samoasocjacji.

ABSTRACT

Supramolecular chemistry is a sub-field of chemistry that creates and studies systems composed of many molecules connected via non-covalent interactions. Molecular capsules, being one of the types of such supramolecular systems, possess well-defined cavities that enable them to encapsulate small molecules (guests) and place them in a specific local environment (different from the bulk environment outside the capsule). This feature allows the capsules to find numerous applications, for example in molecular recognition, separation, and catalysis.

The aim of the work was to explain the mechanism of mechanochemical encapsulation of fullerenes inside peptidic molecular capsules, check the dynamics of the guest in the cavity and study the stability and structure of such capsules depending on the environment. The work also included research on the structural modifications of the capsules by changing the length of the peptide chain, the character of the *N*-terminal groups, and additional coordination bonds.

As a result of the work, I have proposed a mechanism of fullerene complexation inside peptide molecular capsules that involves the destruction of their secondary structure during milling in a ball-planetary mill. I have also developed a method of determination of the effectiveness of self-assembly using electron circular dichroism (ECD) spectroscopy. The models for the behavior of fullerene inside the molecular capsule have also been proposed. I also obtained molecular capsules and their complexes based on hydrazides of mono-, di-, tri-, and tetrapeptides with different groups at *N*-termini. I have also developed a method for the synthesis of a covalent molecular capsule using additional intercalating compounds.

These results significantly expanded the set of available peptide molecular capsules, allowed to propose a new encapsulation mechanism, and showed the usefulness of the methodology based on circular dichroism spectroscopy in the study of self-association processes.

FINANSOWANIE

Praca doktorska została wykonana w ramach grantów:

- Diamentowy Grant 0206/DIA/2016/45 „Ortogonalne oddziaływania niekowalencyjne w modyfikacji struktury i funkcji peptydowych kapsuł molekularnych” przyznanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego;
- OPUS 2017/25/B/ST5/01011 „Tuning the properties of organic cubic cages with intrinsic chirality and porosity” przyznanego przez Narodowe Centrum Nauki;
- Wymiana Bilateralna Naukowców PPN/BIL/2018/1/00063/U/00001 „Encapsulation of potential metallodrugs in supramolecular cage” przyznanego przez Narodową Agencję Wymiany Akademickiej;

oraz projektów badawczych w ramach Funduszu Badań Własnych IChO PAN:

- „Synteza tetraakroleinorezorcyn[4]arenu”;
- „Synteza tri- oraz tetrapeptydowych kapsuł molekularnych opartych na wiązaniach wodorowych oraz koordynacji do metali”.

LISTA OSIĄGNIĘĆ

Publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej:

- M. P. Szymański, H. Jędrzejewska, M. Wierzbicki, A. Szumna, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2017**, *19*, 15676-15680;
- M. P. Szymański, J. S. Czajka, P. Cmoch, W. Iwanek, A. Szumna, *Supramol. Chem.*, **2018**, *30*, 430-437;
- M. Gilski, P. Bernatowicz, A. Sakowicz, M. P. Szymański, A. Zalewska, A. Szumna, M. Jaskólski, *Acta Cryst. B*, **2020**, *76*, 815-824;
- M. P. Szymański, M. Grajda, A. Szumna, *Molecules*, **2021**, *26*, 7100-7108.

Pozostałe publikacje:

- M. Wierzbicki, A. A. Głowacka, M. P. Szymański, A. Szumna, *Chem. Commun.*, **2017**, *53*, 5200-5203;
- S. Kosiorek, B. Rosa, T. Boinski, H. Butkiewicz, M. P. Szymański, O. Danylyuk, A. Szumna, V. Sashuk, *Chem. Commun.*, **2017**, *53*, 13320-13323;
- K. Stefańska, A. Szafraniec, M. P. Szymański, M. Wierzbicki, A. Szumna, W. Iwanek, *New J. Chem.*, **2019**, *43*, 2687-2693.

Konferencje:

- prezentacja ustna na Ogólnopolskim Studenckim Mikrosymposium Chemików OSMChem 2017, Białystok, 30 marca – 02 kwietnia 2017;
- wyróżniona prezentacja ustna na V Łódzkim Symposium Doktorantów Chemii, Łódź, 11 – 12 maja 2017;
- poster na XIV Warszawskim Seminarium Doktorantów Chemików ChemSession'17, Warszawa, 9 czerwca 2017;
- poster na XI Ogólnopolskim Symposium Chemii Organicznej, Warszawa, 8 – 11 kwietnia 2018;
- poster na XV Warszawskim Seminarium Doktorantów Chemików ChemSession'18, Warszawa, 8 czerwca 2018.

Miesięczny staż naukowy w zespole prof. Radka Marka na Uniwersytecie Masaryka w Brnie, Czechy, październik – listopad 2019.

LISTA SKRÓTÓW

Ac – grupa acetylowa
acac – acetyloaceton
Ala – alanina
Arg – arginina
Asp – kwas asparaginowy
AzaGly – aza-glicyna
BINAP – 2,2'-bis(difenylofosfino)-1,1'-binaftyl
BINOL – 1,1'-bi-2-naftol
Bn – grupa benzylowa
CB – chlorobenzen
Cbz – grupa benzyloksykarbonylowa
COSY – ang. „*correlation spectroscopy*”
DCL – dynamiczna biblioteka kombinatoryczna
DMF – dimetyloformamid
DMSO – dimetylosulfotlenek
DOSY – ang. „*diffusion-ordered spectroscopy*”
ECD – elektronowy dichroizm kołowy
EDCI – *N*-(3-dimetyloaminopropylo)-*N'*-etylokarbodiimid
ee – nadmiar enancjomeryczny
ekw. – ekwiwalent
EPR – elektronowy rezonans paramagnetyczny
ESI – jonizacja typu „electrospray”
Et – grupa etylowa
Gly – glicyna
Hex – heksan
HMBC – ang. „*heteronuclear multiple bond coherence*”
HR-MS – spektrometria mas w wysokiej rozdzielczości
HSQC – ang. „*heteronuclear single quantum correlation*”
i-Pr – grupa *izo*-propylowa
kw. – kwas
L – ligand
Leu – leucyna



Ln – lantanowce
Lys – lizyna
M – metal
Me – grupa metylowa
MTBE – eter *tert*-butylowo-metylowy
MW – promieniowanie mikrofalowe
nas. – roztwór nasycony w wodzie
NMR – magnetyczny rezonans jądrowy
OXYMA – (hydroksyimino)cyjanooctan etylu
*p*MOF – ang. „*porous metal organic framework*”
Ph – grupa fenylowa
Phe – fenyloalanina
Pro – prolina
Py – grupa pirydylowa
ROESY – ang. „*rotation frame nuclear overhauser effect spectroscopy*”
SEM – skaningowa mikroskopia elektronowa
ss – ciało stałe, ang „*solid state*”
stęż. – roztwór stężony w wodzie
t. pok. – temperatura pokojowa
t-Bu – grupa *tert*-butylowa
TD-DFT – ang. “*time-dependent density functional theory*”
TEA – trietyloamina
Tf – grupa triflylowa
TFA – kwas trifluorooctowy
THF – tetrahydrofuran
TLC – chromatografia cienkowarstwowa
TMS – tetrametylosilan
Ts – grupa tosyłowa
Val – walina

SPIS TREŚCI

1.	WSTĘP I CEL PRACY	17
2.	CZĘŚĆ LITERATUROWA	19
2.1.	Wykorzystanie mechanochemii do syntezy i modyfikacji układów supramolekularnych	19
2.2.	Chiralne kapsuły koordynacyjne	25
2.3.	Peptydowe kapsuły molekularne	49
3.	BADANIA WŁASNE	61
3.1.	Badania mechanizmu mechanochemicznej enkapsulacji	63
3.1.1.	Eksperymenty kompleksowania w roztworze	66
3.1.2.	Mechanochemiczne eksperymenty kompleksowania	68
3.1.3.	Mechanochemiczna synteza kapsuł	70
3.1.4.	Badanie struktury kapsuły otrzymanej w sposób mechanochemiczny	71
3.1.5.	Eksperymenty kontrolne	73
3.1.6.	Wnioski	74
3.2.	Trwałość peptydowych kapsuł w różnych środowiskach	76
3.2.1.	Eksperymenty w czystych rozpuszczalnikach	78
3.2.2.	Obliczenia kwantowo-mechaniczne	80
3.2.3.	Eksperymenty w mieszaninach rozpuszczalników	82
3.2.4.	Eksperymenty temperaturowe	84
3.2.5.	Pomiary współczynnika dyfuzji	86
3.2.6.	Wnioski	87
3.3.	Badania zachowania fulerenu we wnętrzu peptydowej kapsuły	88
3.4.	Kapsuły molekularne z dłuższymi peptydami	90
3.4.1.	Synteza hydrazydów tri- i tetrapeptydów	91
3.4.2.	Synteza kapsuł molekularnych i analiza ich struktury	93
3.4.3.	Synteza kompleksów i analiza ich struktury	96
3.4.4.	Wnioski	99
3.5.	Peptydowe kapsuły koordynacyjne	100
3.5.1.	Synteza hydrazydów aminokwasów i peptydów	102
3.5.2.	Synteza kapsuł z hydrazydów zmodyfikowanych na <i>N</i> -końcu	109
3.5.3.	Synteza kapsuł z wykorzystaniem podejścia dynamicznej chemii kombinatorycznej	119

3.5.4.	Synteza kapsuł koordynacyjnych.....	121
3.5.5.	Synteza kapsuły kowalencyjnej	124
3.5.6.	Wnioski	127
4.	PODSUMOWANIE.....	129
5.	CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA.....	131
5.1.	Odczynniki	131
5.2.	Sprzęt i dane analityczne.....	131
5.3.	Generalne procedury syntezy	132
5.3.1.	Mechanochemia	132
5.3.2.	Procedura A: synteza hydrazydów z estrów metylowych	132
5.3.3.	Procedura B: synteza kapsuł molekularnych	132
5.3.4.	Procedura C: reakcja sprzęgania	132
5.3.5.	Procedura D: odbezpieczanie grup Boc	132
5.3.6.	Procedura E: odbezpieczanie grup Cbz lub estru benzyłowego	133
5.4.	Synteza	134
6.	LITERATURA	209

1. WSTĘP I CEL PRACY

Chemia supramolekularna jest dziedziną chemii, która zajmuje się badaniem układów złożonych z wielu cząsteczek oddziałujących między sobą niekowalencyjnie lub mechanicznie.¹ Układy supramolekularne znalazły zastosowanie w wielu dziedzinach i są wykorzystywane m.in. do tworzenia różnego rodzaju receptorów,² sensorów,³ katalizatorów⁴ czy kontenerów molekularnych.⁵ Zyskują również duże znaczenie jako funkcjonalne materiały, np. w formie żeli supramolekularnych⁶ lub ciekłych kryształów.⁷

Kapsuły molekularne stanowią jeden z rodzajów układów supramolekularnych, które posiadają odseparowaną od otoczenia lukę. Składają się one najczęściej z kilku podjednostek połączonych ze sobą oddziaływaniami niekowalencyjnymi. Występowanie luki wewnątrz kapsuł molekularnych umożliwia procesy enkapsulacji cząsteczek gości, które to cząsteczki znajdują się w specyficznej, ograniczonej przestrzeni (innej niż warunki panujące poza kapsułą). Cząsteczki skompleksowane w luce mogą znajdować się blisko siebie (duże lokalne stężenie), a ich orientacja może być ściśle określona. Dzięki tym cechom możliwe jest selektywne kompleksowanie i w efekcie rozdział mieszanin, bądź przeprowadzenie reakcji we wnętrzu kapsuł molekularnych z większą szybkością, wydajnością bądź selektywnością, niż w innych warunkach. Ze względu na te zastosowania, istotna jest synteza nowych kapsuł molekularnych, których rozmiar i właściwości luki można modyfikować. W swojej pracy doktorskiej zajmowałem się badaniem właściwości i możliwości modyfikacji kapsuł molekularnych opartych na peptydach oraz rozwojem metodologii, która umożliwi ich badanie oraz wykorzystanie.

Kapsuły peptydowe oferują szereg zalet – pozwalają na wprowadzenie chiralności do szkieletu kapsuły i oferują szereg grup funkcyjnych, które, przez analogię do enzymów, mogą być wykorzystane do selektywnego kompleksowania lub jako grupy katalityczne. Peptydy umożliwiają również modyfikacje rozmiaru i rozpuszczalności kapsuł, dzięki czemu możliwe jest szerokie spektrum warunków, w których można je stosować. Możliwość stosowania w różnych warunkach jest zdeterminowana nie tylko przez rozpuszczalność, ale przede wszystkim przez stabilność kapsuł i ich zdolności do kompleksowania gości. Należy zauważyć, że ze względu na typową dla kapsuł wysoką symetrię jednoznaczne określenie ich struktury i stabilności typowymi metodami analitycznymi nie zawsze jest trywialne. Z kolei dla procesów kompleksowania często problemem jest nie tylko stabilność termodynamiczna kompleksów, ale również bariera

kinetyczna związana z koniecznością częściowego otworzenia kapsuły podczas kompleksowania (tym większa, im stabilniejsza jest kapsuła).

W swojej pracy skoncentrowałem się na kilku aspektach związanych z syntezą i fizykochemią kapsuł peptydowych. Jednym z problemów było zbadanie stabilności kapsuł w konkurencyjnym środowisku (rozpuszczalnik polarny) oraz opracowanie metod określenia stabilności i struktury kapsuły w sytuacji, gdy standardowe metody analityczne (NMR) nie dają jednoznacznych rezultatów. Wykorzystałem tutaj inherentną cechę kapsuł peptydowych – chiralność – i skupiłem się na analizie z wykorzystaniem spektroskopii elektronowego dichroizmu kołowego (ECD). Podjąłem również próby opracowania metodologii kompleksowania cząsteczek w kapsułach peptydowych, w sytuacji, gdy bariera kinetyczna jest wysoka i uniemożliwia kompleksowanie w standardowych warunkach (roztwór). Skoncentrowałem się na wykorzystaniu mechanochemii i poznaniu mechanizmu, dzięki któremu, w procesach mechanicznych, możliwe jest pokonanie bariery kinetycznej. W kolejnych etapach pracy zbadałem możliwości modyfikacji szkieletu kapsuł i określiłem, jakie zmiany strukturalne powodują wprowadzone zmiany. W tym celu zmodyfikowałem długość łańcucha peptydowego, grupy terminalne oraz przetestowałem możliwość dodatkowej modyfikacji struktury i motywu wiążącego poprzez koordynację do jonów metali.

Badania te prowadziłem częściowo w ramach uzyskanego przeze mnie Diamentowego Grantu „Ortogonalne oddziaływania niekowalencyjne w modyfikacji struktury i funkcji peptydowych kapsuł molekularnych”.

2. CZĘŚĆ LITERATUROWA

Ze względu na cele pracy, w części literaturowej przedstawiłem kluczowe zagadnienia wprowadzające do przeprowadzonych badań. W pierwszej części zaprezentowałem przykłady otrzymywania układów supramolekularnych z wykorzystaniem metod mechanochemicznych. W kolejnych częściach przedstawiłem przykłady syntezy i zastosowania chiralnych kapsuł koordynacyjnych oraz kapsuł peptydowych.

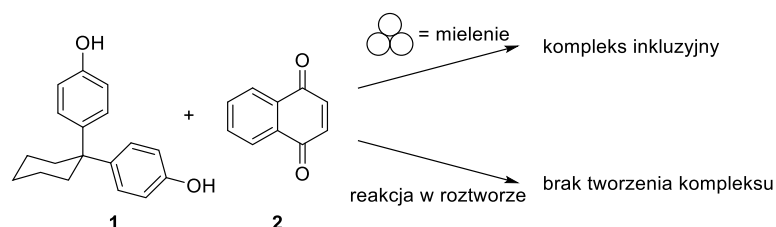
2.1. Wykorzystanie mechanochemii do syntezy i modyfikacji układów supramolekularnych

Klasyczną i najpopularniejszą metodą prowadzenia reakcji chemicznych jest rozpuszczenie substratów w rozpuszczalniku i mieszanie otrzymanego roztworu w odpowiednich warunkach do uzyskania produktów. W celu dostarczenia dodatkowej energii reagującym substratom wykorzystuje się efekty termiczne, co pozwala na przyspieszenie zachodzącej reakcji chemicznej, a nierzadko jest wręcz niezbędne do jej przebiegu. Prowadzenie reakcji w ten sposób generuje znaczne ilości odpadów (np. rozpuszczalników, które nie zawsze mogą być odzyskane i oczyszczone do ponownego użycia). Wymaga również dużych nakładów energetycznych ze względu na konieczność ogrzewania nie tylko reagujących substancji, ale i rozpuszczalnika.

W rozwiązaniu niektórych z tych problemów może pomóc mechanochemia. Jest to obecnie intensywnie rozwijająca się dziedzina chemii, która wykorzystuje różnorodne procesy fizyczne do indukcji reakcji chemicznych.⁸ Do metod mechanochemicznych zaliczane są m.in. sonochemia oraz trybochemia. Sonochemia jest to dziedzina zajmująca się reakcjami chemicznymi zachodzącymi w roztworach, w których energia dostarczana jest dzięki falom akustycznym działającym na roztwór. Trybochemia jest to natomiast dziedzina zajmująca się reakcjami chemicznymi, w których energia dostarczana jest w sposób mechaniczny do substratów będących ciałami stałymi (mielenie, kruszenie, ścieranie). W dalszej części pracy dyskutować będę jedynie procesy trybochemiczne, ale, ze względu na przyjęty trend w literaturze, będę je nazywać bardziej ogólnie procesami mechanochemicznymi.

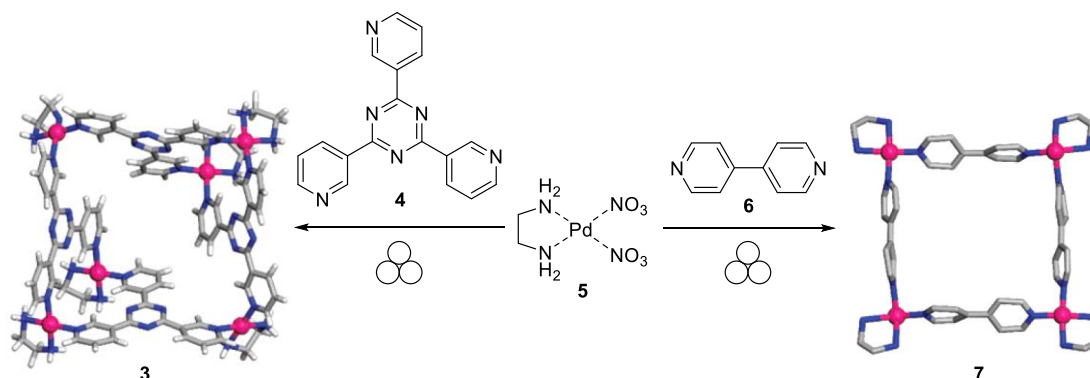
Ucieranie (lub mielenie) jest historycznie pierwszą metodą przeprowadzania reakcji chemicznych. Metoda ta została prawie kompletnie zapomniana przez chemików

organików XX wieku, jednak w ostatnim czasie przeżywa swój renesans.^{9,10,11} W procesach mechanochemicznych nie jest konieczne użycie rozpuszczalników, a nakłady energetyczne wymagane do przeprowadzenia reakcji mechanochemicznych są zwykle mniejsze. Dzieje się tak dlatego, że nie ma potrzeby ogrzewania roztworów lub ich odparowywania. Same reakcje, ze względu na duże stężenia reagentów, często przebiegają szybciej, co również zmniejsza nakłady energetyczne. Dodatkowo, mechanochemia stwarza bardzo unikalne środowisko reakcyjne – reagenty znajdują się w bezpośrednim kontakcie ze sobą oraz są poddane siłom tarcia. Dzięki temu panuje tam lokalnie wysoka temperatura, ciśnienie oraz stężenie reagentów, a reakcje pozbawione są konkurencyjnego wpływu rozpuszczalników. Z tych powodów mechanochemia zaliczana jest do nurtu zielonej chemii (ang. *green chemistry*) oraz zyskuje w ostatnich latach coraz większą popularność w chemii organicznej oraz w chemii supramolekularnej.¹²



Rys. 1 Synteza kompleksu inkluzyjnego na drodze reakcji mechanochemicznej.¹³

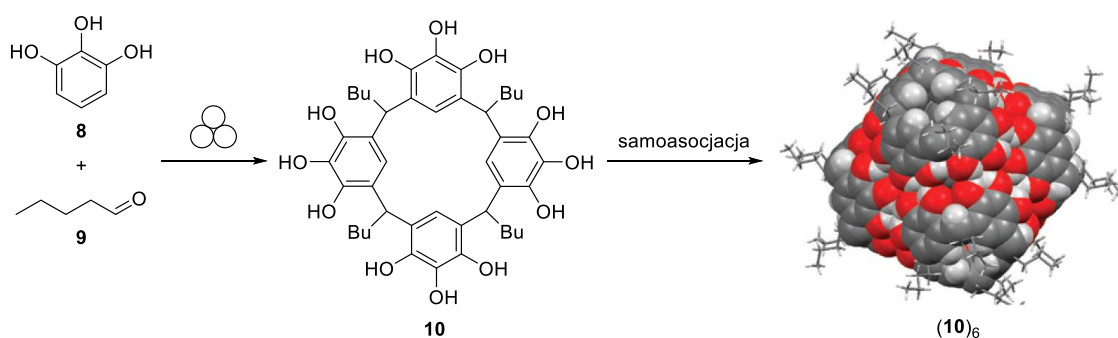
Prawdopodobnie pierwszym przykładem użycia mielenia do tworzenia supramolekularnych kompleksów typu gość-gospodarz, jest praca Tanaki i Tody (Rys. 1).¹³ Pokazali oni, że dzięki mieleniu 1,1-di(*o*-hydroksyfenylo)cykloheksanu **1** i naftochinonu **2** możliwe jest otrzymanie kompleksu inkluzyjnego 2:1, którego nie można otrzymać na drodze klasycznej reakcji w roztworze.



Rys. 2 Synteza kapsuły **3** i kompleksu **7** z wykorzystaniem mechanochemii.¹⁴ Rysunek zaadaptowany z publikacji.¹²

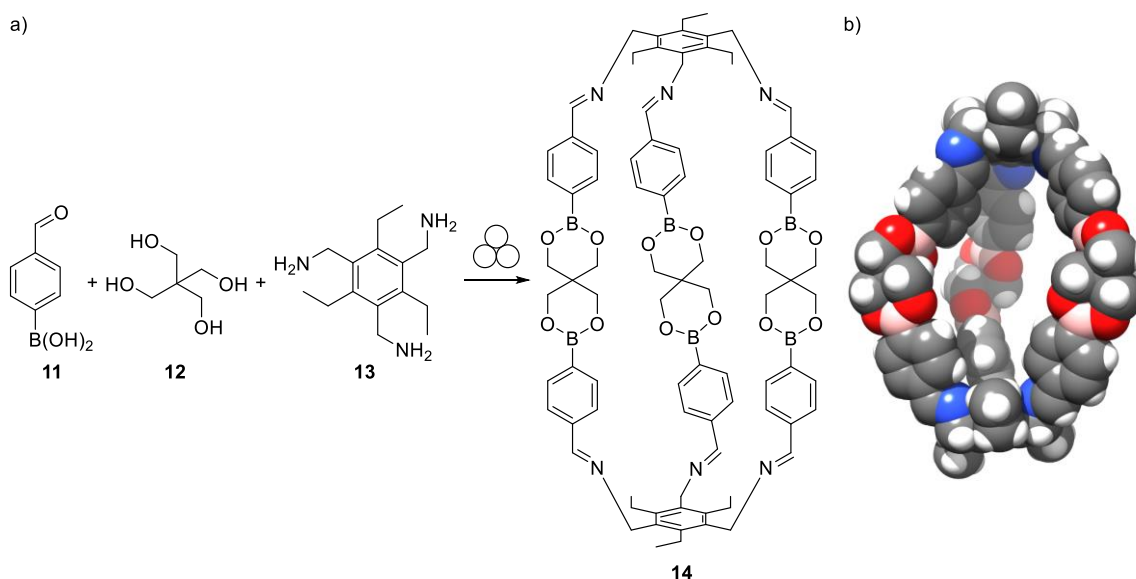
Kolejną ważną pracą jest publikacja Orita i współpracowników, którzy otrzymali kompleksy koordynacyjne na drodze ucierania kompleksów palladu z pochodnymi

pirydyny (Rys. 2).¹⁴ Z wykorzystaniem metod mechanochemicznych, otrzymali oni kapsułę molekularną **3**¹⁵ oraz cykliczny kompleks **7**¹⁶. Reakcja pomiędzy (etylenodiamino)azotanem palladu(II) **5** oraz ligandem **4** w sposób mechanochemiczny trwała 10 minut w temperaturze pokojowej i prowadziła do otrzymania kapsuły **3** z wydajnością 90%. Analogiczna reakcja przeprowadzona w wodzie w temperaturze 70 °C przez 30 minut prowadziła do otrzymania kapsuły **3** z wydajnością 81%. Synteza mechanochemiczna kompleksu **7** otrzymanego ze związku **5** oraz 4,4'-bipirydyłu **6** przebiegała w czasie 10 minut z wydajnością 76%, podczas gdy analogiczna reakcja w mieszaninie rozpuszczalników metanol-etanol-woda przebiegała z wydajnością 80% i wymagała ponad czterech tygodni.



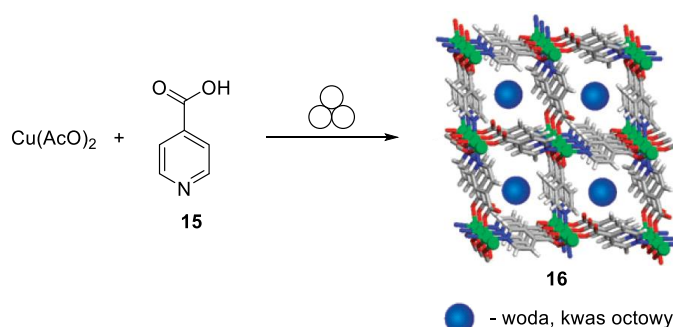
Rys. 3 Synteza związku makrocyklicznego **10** i jego samoasocjacja do kapsuły $(\mathbf{10})_6$ z wykorzystaniem reakcji mechanochemicznej.¹⁷ Rysunek zaadaptowany z publikacji.¹²

Potwierdzeniem możliwości wykorzystania mechanochemii do syntezy związków makrocyklicznych i samoasocjujących kapsuł molekularnych była praca grupy Atwooda (Rys. 3).¹⁷ Autorzy zaprezentowali reakcję, w której w trakcie ucierania w morderzu pirogalolu **8** oraz aldehydu walerianowego **9**, z katalityczną ilością kwasu *p*-toluenosulfonowego, otrzymali związek makrocykliczny, pirogalo[4]aren **10**, będący efektem kondensacji substratów (w stosunku 4:4). Badania NMR w ciele stałym oraz współczynnika dyfuzji w roztworze pozwoliły stwierdzić, że otrzymany związek makrocykliczny **10** występuje w postaci heksamerycznej kapsuły $(\mathbf{10})_6$ połączonej szeregiem wiązań wodorowych. Oznacza to, że w trakcie ucierania nastąpiło jednoczesne utworzenie 48 kowalencyjnych wiązań, prowadzące do powstania pierścieni makrocyklicznych, oraz szeregu wiązań wodorowych, prowadzących do powstania kapsuły molekularnej. W pracy postulowano, że utworzenie kapsuły molekularnej jest możliwe dzięki templatowaniu tego procesu przez powstającą w reakcji lub obecną w środowisku wodę.



Rys. 4 a) Synteza kapsuły **14** z wykorzystaniem reakcji mechanochemicznej. b) Struktura kapsuły **14** w ciele stałym.¹⁸

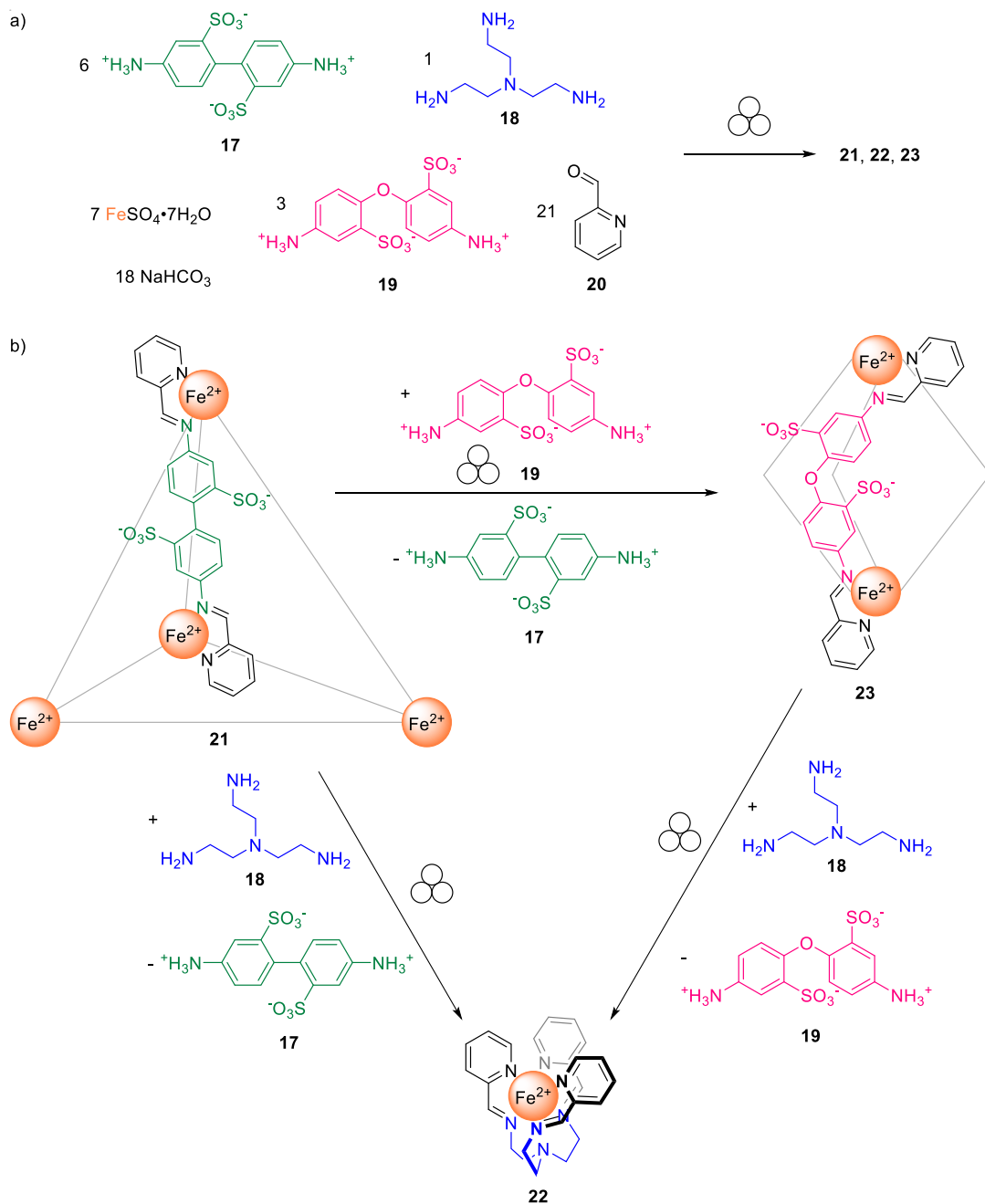
W grupie Severina otrzymano jedną z pierwszych w pełni kowalencyjnych kapsuł molekularnych wykorzystując reakcję mechanochemiczną (Rys. 4).¹⁸ Początkowo, autorzy próbowali otrzymać kapsułę molekularną **14** w klasyczny sposób, w roztworze. Metoda taka jednak dawała umiarkowane rezultaty (wydajność reakcji 56% w etanolu oraz 24% w toluenie). Bardzo dobre efekty przyniosło natomiast mielenie ze sobą trzech substratów: kwasu 4-formylofenyloboronowego **11**, pentaerytrytolu **12**, oraz 1,3,5-trisaminometylo-2,4,6-trietylobenzenu **13** bez obecności rozpuszczalnika. W takiej reakcji otrzymano kapsułę molekularną **14** z wydajnością 94%. Również po zmianie kwasu fenylboronowego na pochodną bifenylową reakcja mechanochemiczna przebiegała z większą wydajnością (71%) niż reakcja w roztworze (poniżej 40%).



Rys. 5 Synteza pMOF **16** z wykorzystaniem reakcji mechanochemicznej.¹⁹ Rysunek zaadaptowany z publikacji.¹²

Kolejną bardzo ważną pracą pokazującą możliwości mechanochemii było otrzymanie, po raz pierwszy w reakcji mechanochemicznej, porowatego szkieletu metaloorganicznego (ang. *porous Metal Organic Framework*, *pMOF*) przez Pichon i współpracowników (Rys. 5).¹⁹ Po 10 minutach mielenia kwasu izonikotynowego **15**

oraz monohydratu octanu miedzi(II) autorzy otrzymali, z ilościową wydajnością, szkielet metaloorganiczny **16** zawierający w porach swojej struktury kwas octowy oraz wodę. Struktura otrzymanego produktu została potwierdzona z wykorzystaniem rentgenowskiej analizy strukturalnej.



Rys. 6 a) Mechanochemiczna synteza biblioteki złożonej ze związków **21**, **22** i **23**. b) Schemat postsyntetycznych przejść pomiędzy związkami **21**, **22** i **23** z użyciem reakcji mechanochemicznych.²⁰

Przykładem, który ilustruje możliwości mechanochemii w otrzymywaniu złożonych cząsteczek jest praca zespołu Mała (Rys. 6a).²⁰ Postanowili oni, w sposób mechanochemiczny, otrzymać w jednej reakcji trzy struktury supramolekularne **21-23**

poprzez proces samosortowania. Proces ten został wcześniej opisany przez Mała i Nitschke, ale był prowadzony w wodzie w temperaturze 50 °C przez osiem godzin.²¹ Autorzy zmielili ze sobą sześć komponentów: kwas 4,4'-diaminobifenylo-2,2'-disulfonowy **17**, siarczan(VI) żelaza(II), tris(2-aminoetylo)aminę **18**, 6,6'-oksybis(3-amoniobenzenosulfonian) **19**, wodorowęglan sodu oraz 2-formylopirydynę **20** w stosunku molowym odpowiednio 6:7:1:3:18:21. W ten sposób otrzymali tetraedryczną kapsułę **21** z liganda **17**, kompleks **22** z liganda **18** oraz bimetaliczny kompleks **23** z liganda **19**. Reakcja mechanochemiczna była prowadzona przez dwie godziny w temperaturze pokojowej. Praca ta pokazuje, że możliwe jest przeprowadzenie reakcji wymagającej samo sortowania w sposób mechanochemiczny oraz skrócenie czasu i wykorzystanie łagodniejszych warunków reakcji.

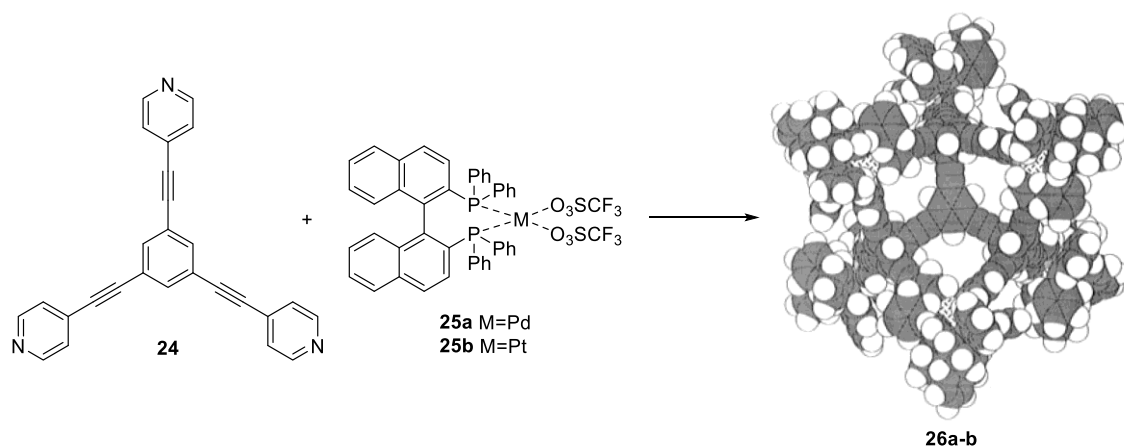
Dodatkowo, autorzy udowodnili, że w warunkach mechanochemicznych, możliwe jest przekształcenie wcześniej otrzymanych kompleksów **21** i **23** w najbardziej stabilny termodynamicznie produkt **22** (Rys. 6b). Przejście od kapsuły molekularnej **21** do kompleksu **22** możliwe jest bezpośrednio, bądź w dwóch etapach, poprzez kompleks **23**. Przemiany te można osiągnąć reagując w młynie odpowiednie ligandy **17-19** z otrzymanymi wcześniej kompleksami. Praca ta pokazuje, że w procesach mechanochemicznych możliwe jest wykorzystanie reakcji odwracalnych, procesów samoorganizacji oraz samosortowania.

Przedstawione powyżej prace świadczą o tym, że możliwe jest użycie metod mechanochemicznych do syntezy układów supramolekularnych. Reakcje takie bardzo często przebiegają szybciej i z wyższą wydajnością niż analogiczne reakcje przeprowadzone w rozpuszczalnikach. Dodatkowo, prowadzenie reakcji w sposób mechanochemiczny nie ma negatywnego wpływu na procesy kompleksowania, makrocyclizacji czy też samoasocjacji, bardzo często wykorzystywane w chemii supramolekularnej. W sposób mechanochemiczny możliwe jest również prowadzenie reakcji odwracalnych i otrzymywanie bibliotek związków supramolekularnych.

2.2. Chiralne kapsuły koordynacyjne

Kapsuły molekularne są to układy supramolekularne posiadające w swoim wnętrzu lukę oraz, najczęściej, składające się z kilku podjednostek połączonych ze sobą w sposób niekowalencyjny. Jednostki tworzące kapsułę molekularną mogą być połączone z wykorzystaniem różnych oddziaływań: wiązań wodorowych, wiązań halogenowych, oddziaływań elektrostatycznych, oddziaływań hydrofobowych bądź wiązań koordynacyjnych. Występowanie takich wiązań zapewnia dynamiczny charakter powstającej kapsuły molekularnej, co ułatwia jej kompleksowanie gości wewnątrz luki. Umieszczenie jonu metalu w strukturze kapsuły zwiększa spektrum możliwości wykorzystania takiej kapsuły, ponieważ może pozwolić na przeprowadzenie w jej wnętrzu reakcji katalizowanych metalami.

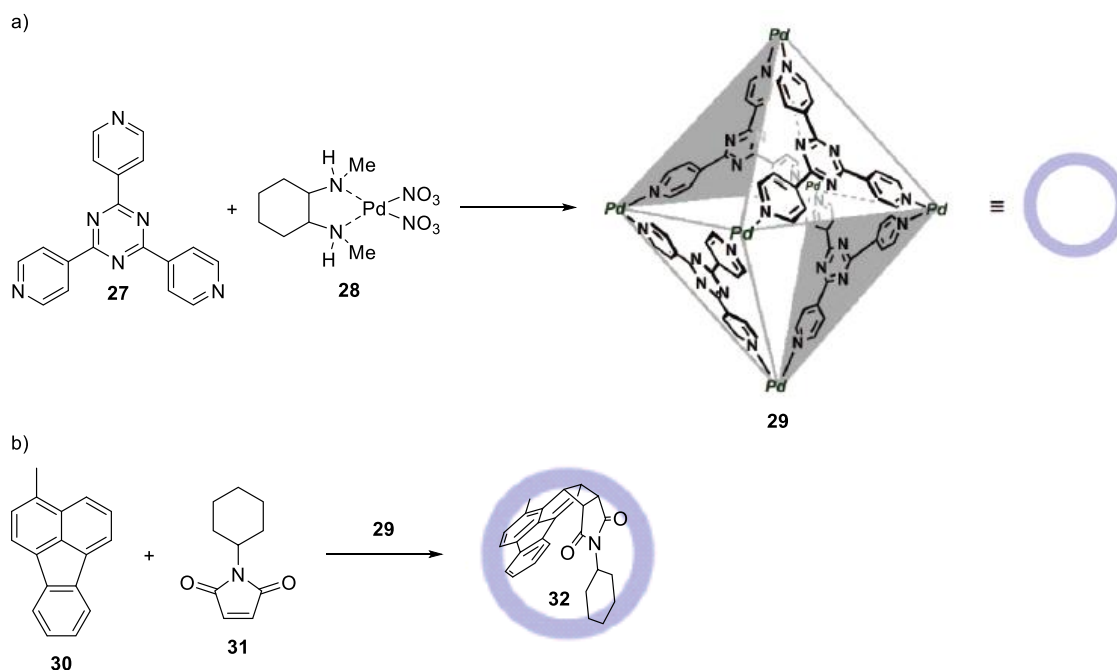
Większość obecnie znanych kapsuł molekularnych, w tym kapsuł koordynacyjnych, jest achiralna. Spowodowane jest to trudnością wprowadzenia fragmentu chiralnego w wielu miejscach w cząsteczce z wysoką wydajnością i selektywnością. Problem ten może być rozwiązany poprzez użycie chiralnych ligandów, które po koordynacji mogą znajdować się poza jej szkieletem albo tworzyć jej ściany.



Rys. 7 Synteza kapsuł **26a-b** wraz z ich strukturą w ciele stałym. Rysunek zaadaptowany z publikacji.²²

Jedną z pierwszych chiralnych kapsuł koordynacyjnych, w których chiralność została wprowadzona do kapsuły poprzez chiralny ligand skoordynowany do jonu metalu, jest kapsuła otrzymana przez Stanga i współpracowników w 1997 roku (Rys. 7).²² Do syntezy kapsuły **26a-b** autorzy wykorzystali trójkątny ligand **24**, będący 1,3,5-podstawioną pochodną benzenu, oraz kompleksy Pd²⁺ **25a** bądź Pt²⁺ **25b**, posiadające chiralny fragment BINAPu w swojej strukturze. Zależnie od rodzaju użytego jonu metalu, otrzymano kapsuły **26a** i **26b** o stechiometrii M₆L₄ z wydajnością

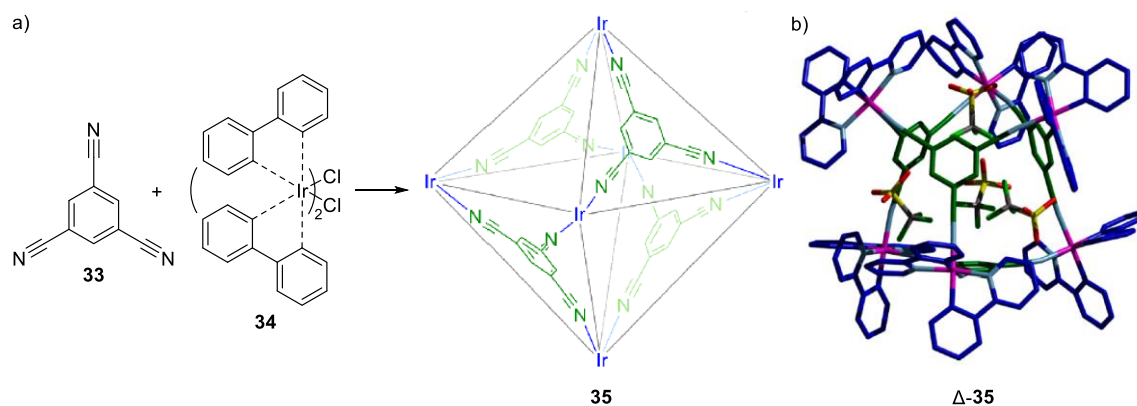
odpowiednio 89% oraz 82%. Struktura została potwierdzona, między innymi, z wykorzystaniem rentgenowskiej analizy strukturalnej. Kationy metali występują w narożach kapsuły i oddziałują z trójkątnymi ligandami odpowiedzialnymi za budowę „ścian” kapsuły. Chiralny fragment BINAPu skoordynowany do kationów metali zapewnia chiralność całej kapsule, pomimo że jest obecny jedynie na zewnątrz kapsuły.



Rys. 8 a) Synteza kapsuły **29**. b) Reakcja [2+2] cykloaddycji przeprowadzona we wnętrzu kapsuły **29**.

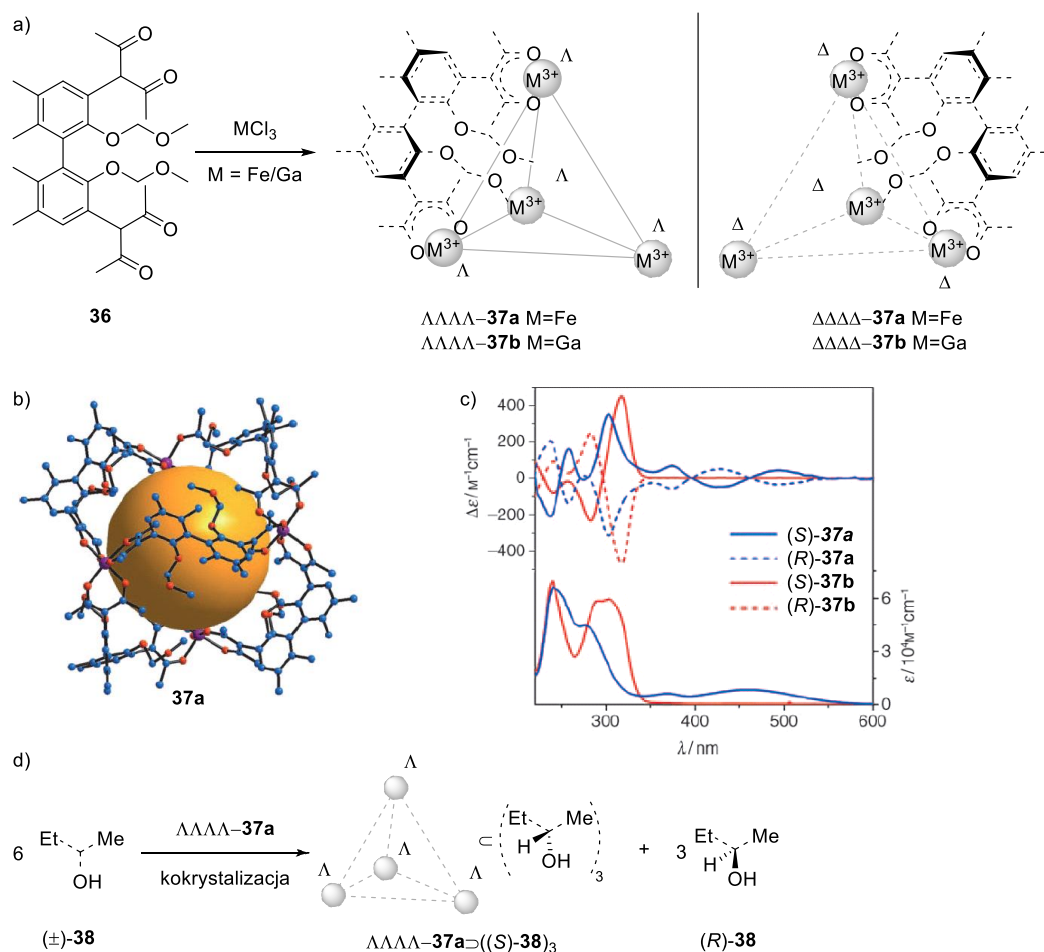
Rysunek zaadaptowany z publikacji.²³

Chiralną kapsułę koordynacyjną o podobnej budowie otrzymał Fujita i wykorzystał ją do przeprowadzenia asymetrycznej reakcji [2+2] cykloaddycji (Rys. 8).²³ Zmodyfikował on wcześniej otrzymaną achiralną kapsułę,²⁴ składającą się z 2,4,6-podstawionej pochodnej triazyny **27** oraz diaminowego kompleksu jonów Pd²⁺ poprzez wymianę achiralnej *N,N,N',N'*-tetrametyloetylenodiaminy na chiralną *N,N'*-dietylocykloheksylo-1,2-diaminę. W wyniku reakcji tak powstałego kompleksu **28** ze związkiem **27**, otrzymano chiralną kapsułę koordynacyjną **29**. We wnętrzu kapsuły **29** przeprowadzono reakcję [2+2] cykloaddycji pomiędzy fluorantenem **30** a maleimidem **31** otrzymując produkt **32** z nadmiarem enancjomerycznym 50%. Znaczące jest to, że chiralność liganda, znajdującego się w narożach, na zewnątrz kapsuły, jest transferowana na całą kapsułę i pozwala na prowadzenie enancjoselektywnych reakcji w jej wnętrzu.



Rys. 9 a) Synteza kapsuły **35**. b) Struktura w ciele stałym kapsuły Δ -**35**. Rysunek zaadaptowany z publikacji.²⁵

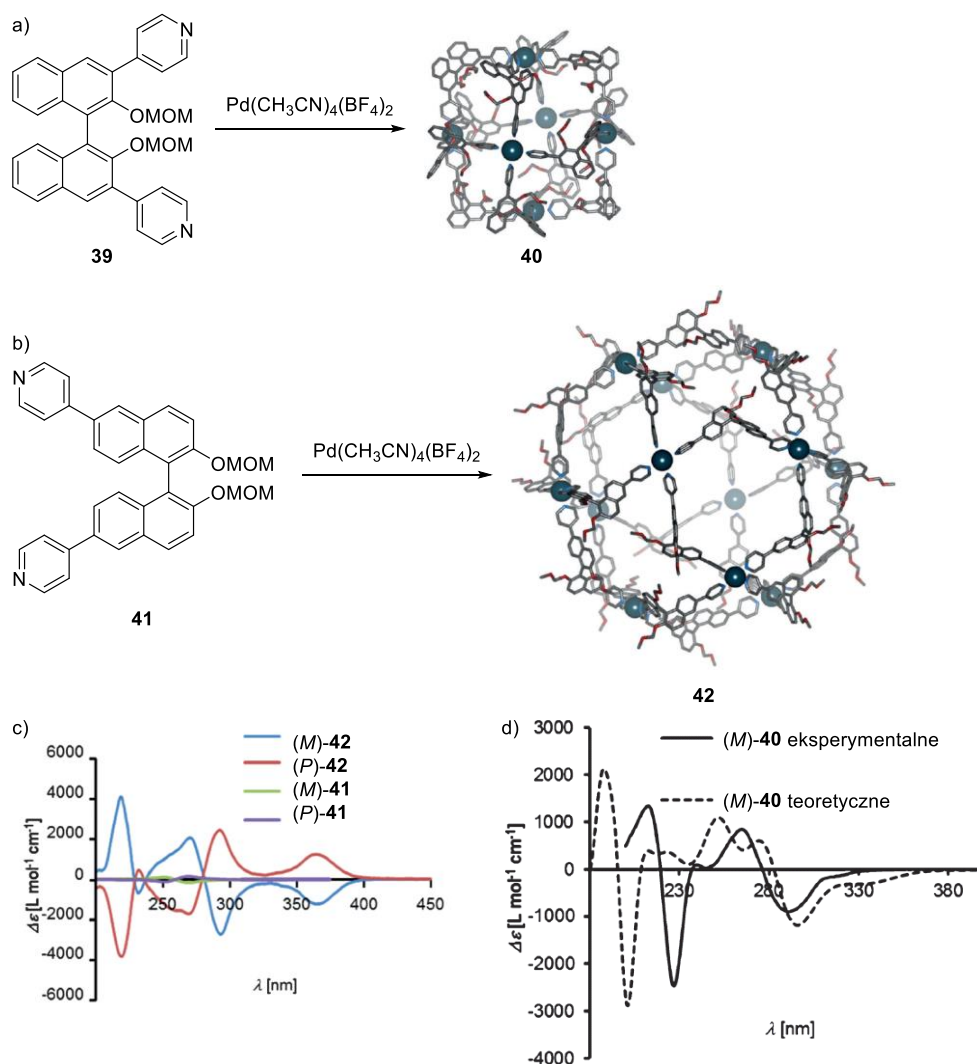
Chepelin i współpracownicy również otrzymali oktaedryczne chiralne kapsuły koordynacyjne, do których syntezy użyli, zamiast jonów Pd^{2+} , jonów Ir^{2+} (Rys. 9).²⁵ Wykorzystali oni kompleks **34**, który wykazuje chiralność osiową. Podobnie jak Stang, użyli 1,3,5-podstawiony benzen **33**, jednak, w tym przypadku, koordynacja do kationów metalu następowała poprzez atom azotu z grupy nitrylowej (a nie z grupy pirydynowej, jak w ligandach **24** i **27**). Zależnie od użytego liganda (enancjomerycznie czystych Λ -**34** i Δ -**34**, bądź mieszaniny racemicznej (\pm)-**34**) autorzy otrzymali kapsuły molekularne Λ -**35**, Δ -**35** i (\pm)-**35** o odpowiadającej chiralności z wydajnościami 57%-68%. Strukturę otrzymanej kapsuły Δ -**35** potwierdzili z użyciem rentgenowskiej analizy strukturalnej.



Rys. 10 a) Synteza kapsuł **37a-b**. b) Struktura w ciele stałym kapsuły **37a**. c) Porównanie widm CD i UV kapsuł **37a-b**. d) Schemat chiralnego rozdzielania mieszaniny racemicznej z użyciem kapsuły **37a**. Rysunek zaadaptowany z publikacji.²⁶

W dotychczas przedstawionych kapsułach elementy chiralności znajdowały się na zewnątrz. Możliwa jest również synteza kapsuł z chiralnych ligandów, w których centrum chiralności jest umieszczone bezpośrednio przy luce kapsuły. Jedną z pierwszych chiralnych kapsuł koordynacyjnych, w której elementy chiralności znajdują się na krawędzi kapsuły została otrzymana w 2010 roku przez Liu i współpracowników (Rys. 10).²⁶ Jako liganda użyli oni pochodnej bifenyłu **36**, która charakteryzuje się chiralnością osiową oraz ma grupy acetyloacetonowe służące do koordynacji jonów Fe^{3+} i Ga^{3+} . Poprzez koordynację ligandów **36** do jonów Fe^{3+} albo Ga^{3+} (pochodzących z odpowiednich chlorków) autorzy otrzymali tetraedryczne chiralne kapsuły molekularne **37a-b**, których struktury potwierdzili z użyciem magnetycznego rezonansu jądrowego. Dla kapsuły **37a**, zawierającej w swojej strukturze jony Fe^{3+} , autorzy określili strukturę w ciele stałym. Autorzy potwierdzili otrzymanie czystych optycznie kapsuł z wykorzystaniem spektroskopii dichroizmu kołowego (widma dla par enancjomerycznych kapsuł były odbiciami lustrzanymi). Następnie autorzy wykorzystali

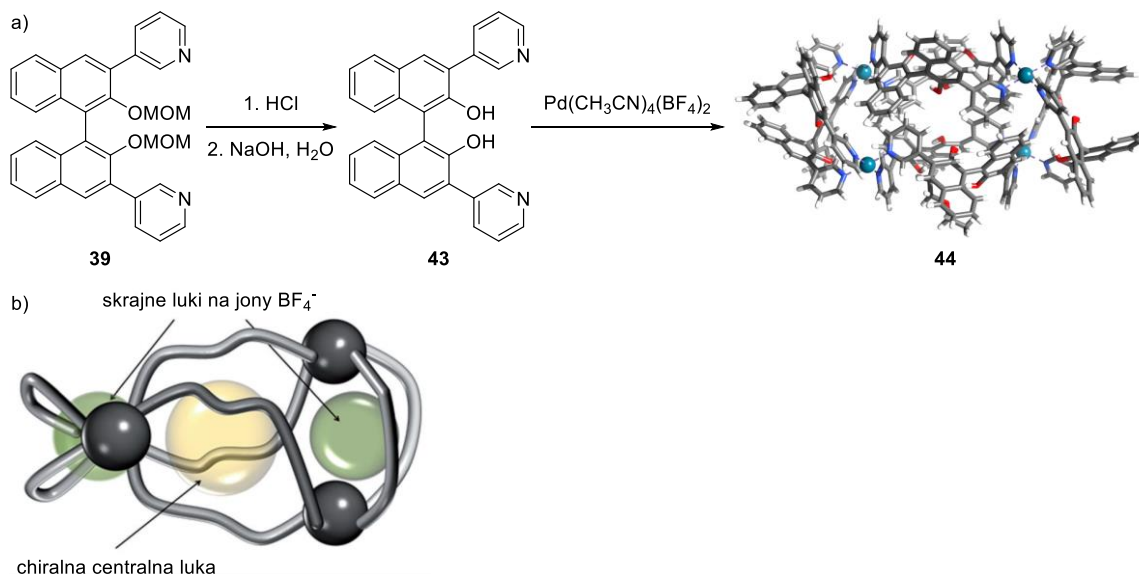
kapsułę **37a** do chiralnego rozdziła racemicznych mieszanin 2-butanolu **38** oraz jego pochodnych poprzez ko krystalizację i uzyskali do 99,5% nadmiaru enancjomerycznego po uwolnieniu gościa z wnętrza kapsuły.



Rys. 11 Synteza oraz modele kapsuł: a) **40**, b) **42**. Porównanie widm CD: c) kapsuły **42** i liganda **41**, d) eksperymentalnych i teoretycznych kapsuły **40**. Rysunek zaadaptowany z publikacji.²⁷

Ligandy o chiralności osiowej zastosowano również w zespole Lützena do syntezy chiralnych kapsuł koordynacyjnych, jednak zmieniono w nich fragment binafitylowy na większy fragment binafitylowy (Rys. 11).²⁷ W pierwszej pracy, autorzy skupili się na zbadaniu możliwości tworzenia kapsuł molekularnych używając zabezpieczonych, optycznie czystych ligandów **39** oraz **41** poprzez koordynację do kationów Pd^{2+} . Ligand **39**, zawierający w pozycjach 3 i 3' binafitylu grupy pirydyłowe, tworzył kapsułę molekularną **40** o stechiometrii Pd_6L_{12} . Natomiast ligand **41**, zawierający w pozycjach 6 i 6' binafitylu grupy pirydyłowe, tworzył kapsułę molekularną **42** o stechiometrii $\text{Pd}_{12}\text{L}_{24}$. W celu potwierdzenia otrzymania optycznie czystych kapsuł autorzy zmierzili widma

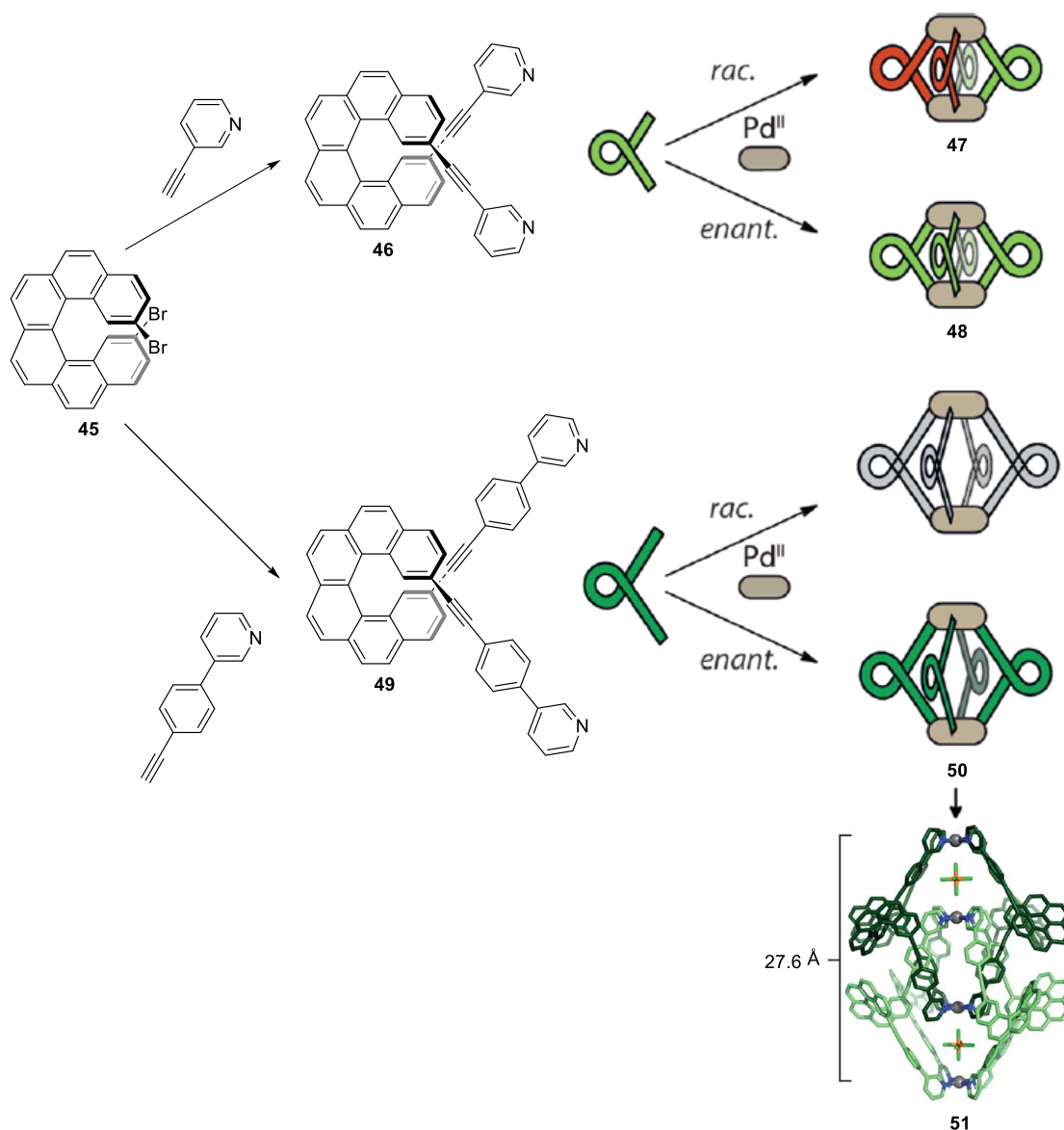
dichroizmu kołowego. Dodatkowo, zoptymalizowali geometrię kapsuł z wykorzystaniem obliczeń kwantowo-mechanicznych, a następnie dla kapsuły **40** obliczyli teoretyczne widmo ECD i porównali je z eksperymentalnym, potwierdzając w ten sposób otrzymanie enancjomerycznie czystych kapsuł molekularnych z binaftyłowych ligandów.



Rys. 12 a) Synteza oraz struktura w cieple stałym kapsuły **44**. b) Graficzne przedstawienie struktury kapsuły **44**.

Rysunek zaadaptowany z publikacji.²⁸

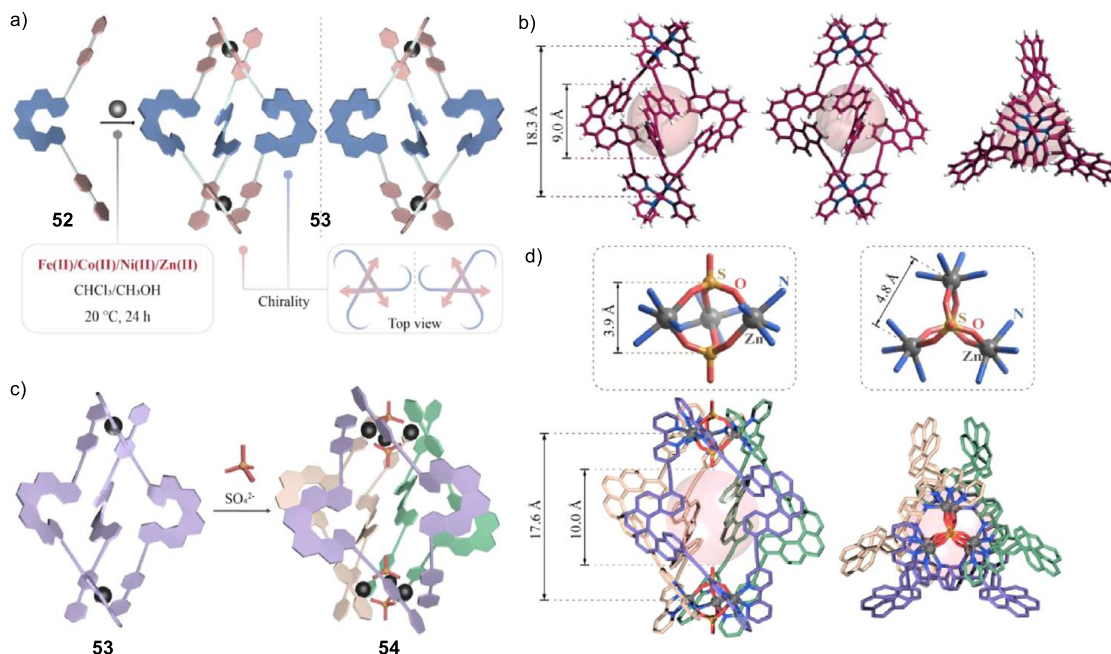
W kolejnej pracy ci sami autorzy odbezpieczyli grupy hydroksylowe w ligandzie **39** i przetestowali możliwość tworzenia kapsuł przez nowy ligand **43** (Rys. 12).²⁸ Po reakcji z solą $\text{Pd}(\text{CH}_3\text{CN})_4(\text{BF}_4)_2$, autorzy otrzymali kapsułę molekularną **44** o stechiometrii Pd_4L_8 , której struktura została potwierdzona z wykorzystaniem rentgenowskiej analizy strukturalnej. Kapsuła posiada centralnie położoną lukę, w której, w cieple stałym, skompleksowane były cztery cząsteczki acetonitrylu, oraz dwie mniejsze luki na skrajach cząsteczki, w których skompleksowane były jony BF_4^- (będące przeciwjonami). Prace te pokazują, że zależnie od geometrii ligandów możliwe jest uzyskanie różnych chiralnych kapsuł molekularnych o takiej samej ogólnej stechiometrii (w tym przypadku ML_2 ale o różnym rozmiarze) oraz kapsuł zawierających kilka różnych luk w swojej strukturze.



Rys. 13 Synteza kapsuł **47-50** oraz katenanu **51**. Rysunek zaadaptowany z publikacji.²⁹

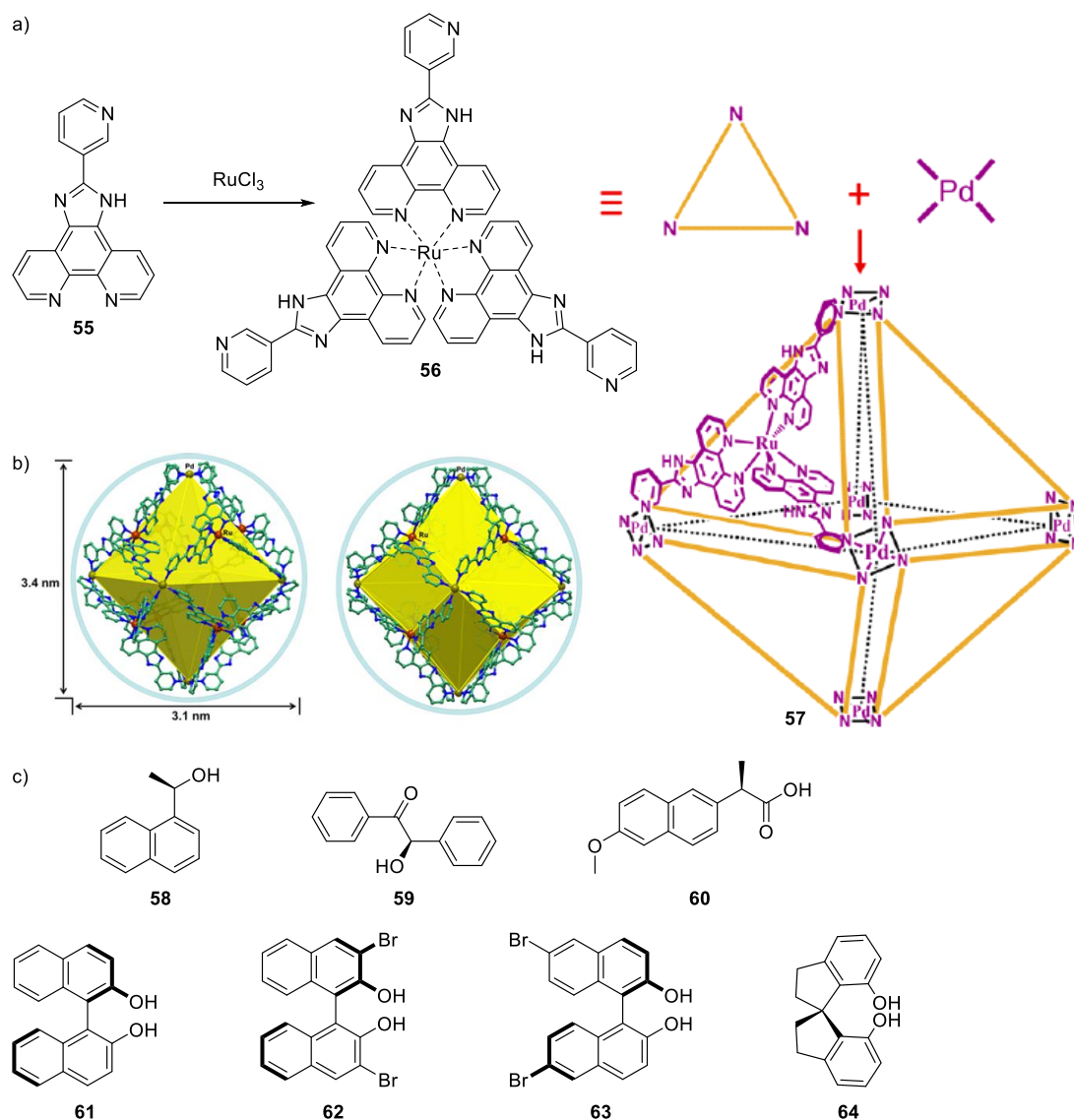
W 2019 roku w grupie Clevera otrzymano chiralne kapsuły metaloorganiczne z ligandów będących pochodnymi helicenów, które wykazują chiralność osiową (Rys. 13).²⁹ Autorzy zmodyfikowali dibromo[6]helicen **45** poprzez przyłączenie grupy pirydynowej z wykorzystaniem różnej długości łączników. Uzyskali w ten sposób dwa ligandy **46** oraz **49**, które następnie poddali reakcji z solą Pd(CH₃CN)₄(BF₄)₂. Dla enancjomerycznie czystego liganda **46** (posiadającego krótki łącznik) autorzy otrzymali kapsułę **48**. Natomiast, kiedy użyli racemicznego liganda **46** otrzymali kapsułę **47** będącą formą mezo, składającą się z dwóch par enancjomerycznych ligandów. Podczas reakcji enancjomerycznie czystego liganda **49** (posiadającego długi łącznik) z solą Pd(CH₃CN)₄(BF₄)₂ autorzy otrzymali kapsułę **50**. Dodatkowo, z tego samego

liganda **49** możliwe było również otrzymanie katenanu **51** składającego się z dwóch kapsuł **50** ze skompleksowanymi przeciwjonami między nimi. W reakcji mieszaniny racemicznej liganda **49** z solą $\text{Pd}(\text{CH}_3\text{CN})_4(\text{BF}_4)_2$ autorzy otrzymali mieszaninę kapsuł, co świadczy o tym, że większe ligandy **49** nie wykazują zdolności do chiralnego sortowania w przeciwieństwie do mniejszych ligandów **46**.



Rys. 14 Synteza kapsuł: a) **53**, c) **54**. Struktury w ciele stałym kapsuł: b) **53**, d) **54**. Rysunek zaadaptowany z publikacji.³⁰

Ligandy oparte na helicenach wykorzystali również Ding ze współpracownikami do syntezy chiralnych kapsuł koordynacyjnych z heksakoordynacyjnymi jonami metali (Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Rys. 14).³⁰ Autorzy otrzymali ligand helicenowy **52** zawierający na swoich końcach ugrupowania bipirydynowe. Po reakcji ligandów **52** z solami heksakoordynacyjnych jonów metali autorzy uzyskali szereg enancjomerycznie czystych kapsuł molekularnych **53** o stechiometrii M_2L_3 . Struktury niektórych z otrzymanych kapsuł autorzy potwierdzili z wykorzystaniem rentgenowskiej analizy strukturalnej. Po dodaniu soli siarczanowych(VI) do wcześniej otrzymanej kapsuły **53**, zawierającej jony Zn^{2+} , autorzy zaobserwowali powstanie nowej, większej kapsuły molekularnej **54** o stechiometrii M_6L_6 , zawierającej dodatkowo w swojej strukturze cztery aniony SO_4^{2-} skoordynowane z jonami Zn^{2+} . Praca ta pokazuje, że możliwa jest modyfikacja struktur i wielkości wcześniej otrzymanych kapsuł poprzez stosunkowo niewielkie aniony nieorganiczne.



Rys. 15 a) Synteza kapsuły **57**. b) Struktura w ciele stałym kapsuły **57**. c) Struktury cząsteczek gości **58-64** użytych do prób rozdziału racemicznego przy pomocy kapsuły **57**. Rysunek zaadaptowany z publikacji.³¹

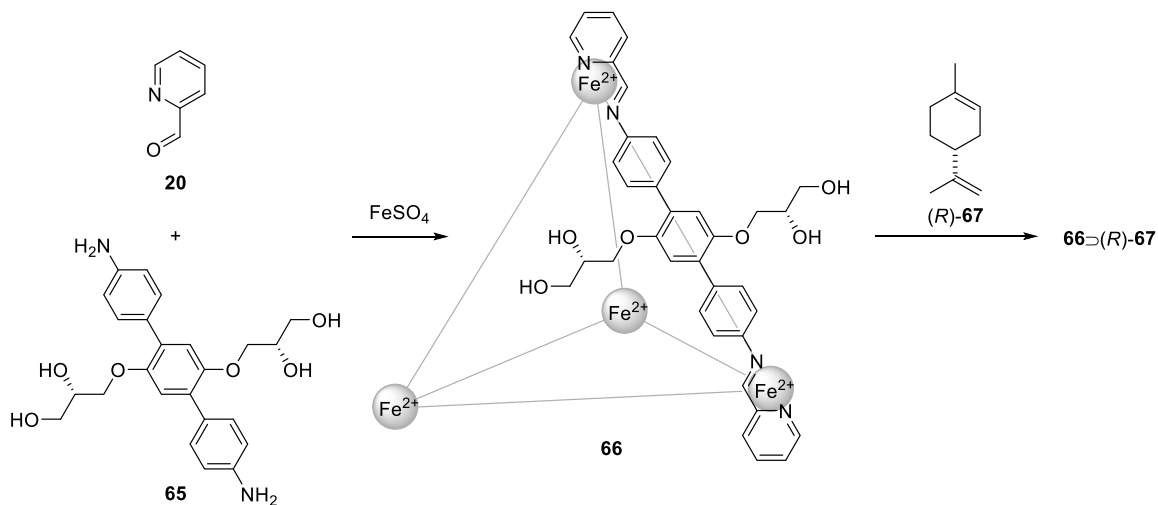
Tabela 1 Wyniki otrzymane podczas prób chiralnego rozdziału racemicznych związków **58-64** z użyciem kapsuły **57**.³²

Gość	Δ - 57		Λ - 57	
	stosunek <i>R:S</i>	ee / %	stosunek <i>R:S</i>	ee / %
58	51:50	1	50:50	0
59	50:50	0	50:50	0
60	50:50	0	50:50	0
61	67:33	34	32:68	36
62	54:46	8	46:54	8
63	77:23	54	19:81	62
64	67:33	34	28:72	44

Bardzo ciekawa jest kapsuła otrzymana w zespole Su w 2014 roku (Rys. 15).³¹ Ośmiościenne kapsuła **57** posiada w swojej strukturze dwa różne jony metali: Pd²⁺

w narożach i Ru^{3+} na ścianach oraz achiralne ligandy **55**, będące pochodnymi fenantroliny. Chiralność kapsuły wynika z utworzenia nowego liganda **56**, z centrum chiralności na jonie Ru^{3+} , poprzez koordynację trzech ligandów **55** do jonu Ru^{3+} (pochodzącego z chlorku rutenu(III)). Następnie, po reakcji tak otrzymanego liganda **56** z solą $\text{Pd}(\text{CH}_3\text{CN})_4(\text{BF}_4)_2$, autorzy otrzymali kapsułę koordynacyjną **57** (jako racemat), której strukturę potwierdzili z wykorzystaniem rentgenowskiej analizy strukturalnej.

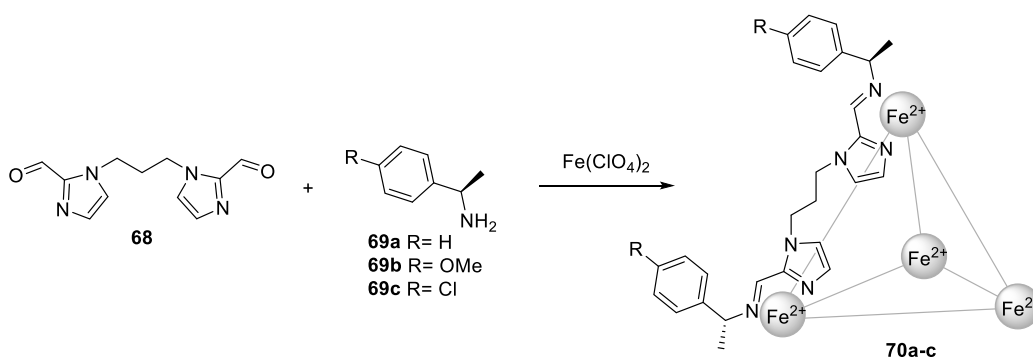
W następnej pracy, grupa Su wykorzystwała otrzymaną wcześniej kapsułę **57** do rozdziału enancjomerycznego związków wykazujących chiralność osiową oraz związków posiadających centra stereogeniczne (Rys. 15, Tabela 1).³² Związki **58-60** posiadające centra stereogeniczne nie wykazywały preferencji do żadnego z izomerów kapsuły **57**. Natomiast związki o chiralności osiowej **61-64**, będące pochodnymi BINOL lub spirodiolu, wykazywały preferencje w chiralnym kompleksowaniu. Największą różnicę w kompleksowaniu enancjomerów można było zaobserwować dla związku **63** (nadmiar enancjomeryczny powyżej 50%). Prace te pokazują, że chiralne kapsuły koordynacyjne mogą być wykorzystywane do rozdziału enancjomerycznego związków o chiralności osiowej.



Rys. 16 Synteza kapsuły **66** oraz jej kompleksu z limonenem *R-67*.³³

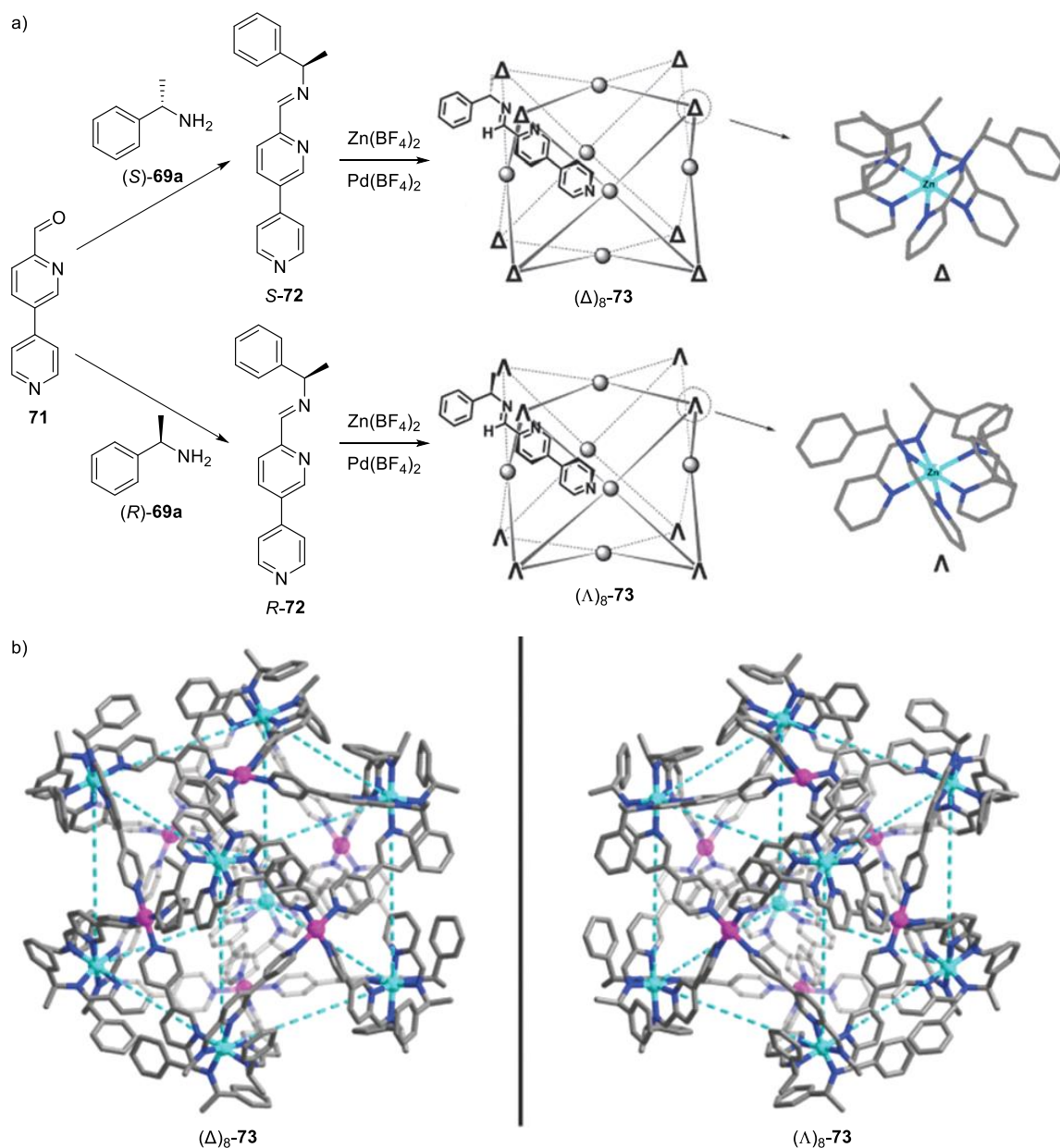
W 2013 roku grupa Nitschke zaproponowała nową strategię syntezy kapsuł koordynacyjnych z chiralnych ligandów, które powstają bezpośrednio podczas reakcji tworzenia kapsuły (Rys. 16).³³ Prekursor **65**, będący pochodną *p*-terfenylu zawierającą dwie grupy aminowe oraz chiralny fragment gliceryny, po reakcji z 2-formylopirydyną **20** oraz jonami Fe^{2+} tworzy tetraedryczną chiralną kapsułę koordynacyjną **66**. Obecność fragmentu gliceryny w cząsteczce, poza zapewnieniem chiralności, umożliwia rozpuszczalność całej kapsuły w wodzie. Z uwagi na obecność hydrofobowej luki,

autorzy zbadali właściwości kompleksujące powstałej kapsuły w wodzie względem małych hydrofobowych czasteczek. Okazało się, że możliwe jest zaobserwowanie różnych przesunięć na widmie ^1H NMR kapsuły **66** po dodaniu przeciwnych enancjomerów limonenu **67** (nie zaobserwowano preferencji w kompleksowaniu jednego z enancjomerów gości). Pozwala to na użycie tak otrzymanej kapsuły jako potencjalnego chiralnego odczynnika przesunięcia chemicznego.



Rys. 17 Synteza kapsuły **70**.³⁴

Analogiczne podejście, wykorzystujące syntezę liganda z jego prekursora w trakcie reakcji syntezy kapsuły, przedstawiła również grupa Gu w 2015 roku (Rys. 17).³⁴ Z liniowego prekursora α,ω -dialdehydu **68** i chiralnej aminy **69** w obecności jonów Fe^{2+} powstaje tetraedryczna chiralna kapsuła koordynacyjna **70**. Dzięki zastosowaniu odwracalnej reakcji tworzenia imin do syntezy ligandów, możliwa była wymiana fragmentów aminowych ligandów **69a-c** pomiędzy sobą we wcześniej otrzymanej kapsule. Praca ta pokazuje, że dla kapsuł otrzymanych w sposób odwracalny możliwa jest ich modyfikacja już po syntezie.

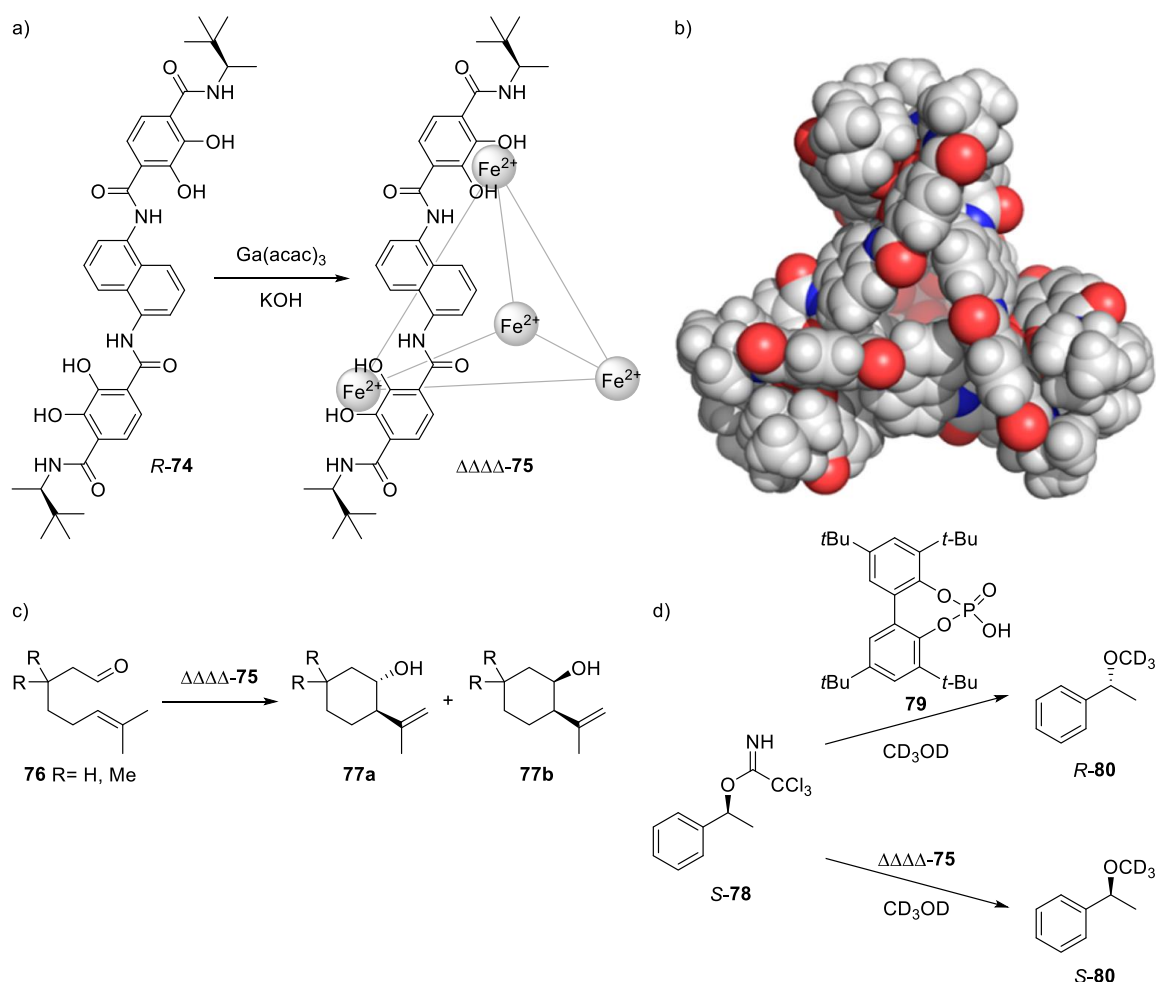


Rys. 18 a) Synteza dwóch enancjomerów kapsuły **73**. b) Struktury w ciele stałym dwóch enancjomerów kapsuły **73**.

Rysunek zaadaptowany z publikacji.³⁵

W tym samym roku grupa Wanga również wykorzystała podejście, w którym ligand powstaje z prekursora bezpośrednio w trakcie syntezy kapsuły (Rys. 18).³⁵ W reakcji użyli oni prekursora **71** oraz chiralnej aminy **69a** do otrzymania liganda **72**, który, koordynując do dwóch różnych jonów metali, tworzy sześcienną chiralną kapsułę koordynacyjną **73**. Jony Pd^{2+} znajdują się w ścianach kapsuły i koordynują cztery ligandy **72** poprzez pirydynowy atom azotu. Natomiast w narożach umiejscowione są jony Zn^{2+} , które koordynują trzy ligandy **72**, każdy poprzez dwa atomy azotu (pirydynowy i iminowy). Autorzy zaobserwowali, że w reakcji z użyciem enancjomerycznie czystej aminy (S)-**72** otrzymują jeden izomer kapsuły $(\Delta)_8\text{-73}$. Dla otrzymanych kapsuł uzyskali

również monokryształy oraz oznaczyli ich struktury w cieple stałym. W kolejnej pracy z 2018 roku, grupa Wanga otrzymała analogiczne kapsuły z innymi kationami metali.³⁶ Na ścianach, zamiast jonów Pd²⁺, znajdowały się jony Cu²⁺, natomiast w narożach zamiast jonów Zn²⁺ znajdowały się jony Ni²⁺ bądź Co²⁺. Prace te pokazują, że chiralne ligandy mogą indukować chiralność na centrach metalicznych, do których koordynują, a co za tym idzie indukować chiralność całej kapsuły.

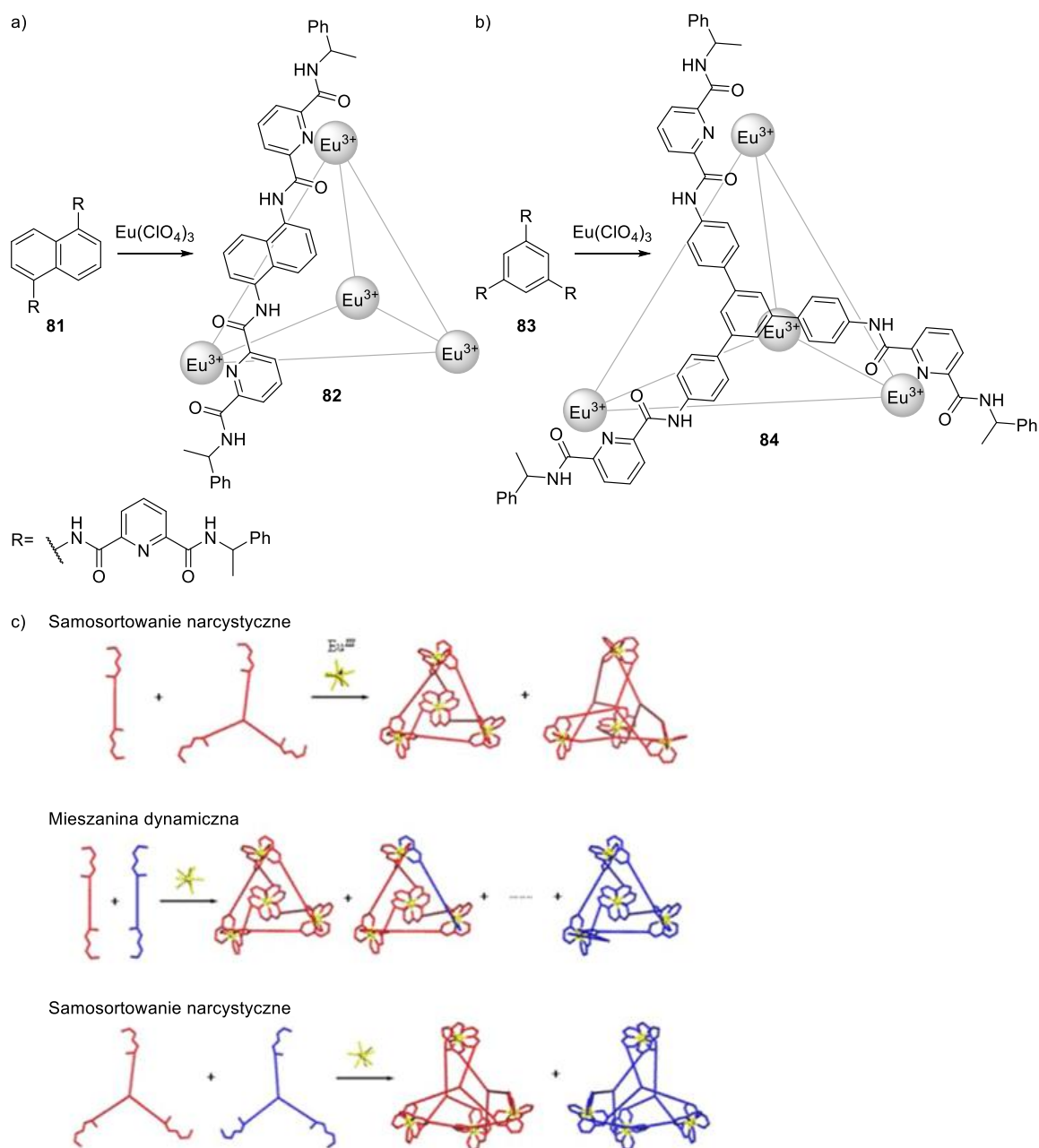


Rys. 19 a) Synteza kapsuły $\Delta\Delta\Delta\Delta$ -75. b) Struktura w cieple stałym kapsuły $\Delta\Delta\Delta\Delta$ -75. c) Modelowa reakcja cyklizacji związku **76** z użyciem kapsuły $\Delta\Delta\Delta\Delta$ -75 jako katalizatora.³⁷ d) Zastosowanie kapsuły $\Delta\Delta\Delta\Delta$ -75 jako katalizatora do reakcji podstawienia nukleofilowego S_N2.³⁸ Rysunek zaadaptowany z publikacji.³⁷

W grupie Raymonda, do syntezy chiralnej kapsuły koordynacyjnej wykorzystany został ligand z grupami katecholowymi oraz jony Ga³⁺, jako kationy dobrze koordynujące do atomów tlenu (Rys. 19a).³⁷ Enancjomerycznie czysty ligand **74** będący pochodną 1,5-diaminonaftalenu z dwoma grupami katecholowymi oraz dwoma terminalnymi grupami chiralnymi, po reakcji z acetyloacetonianem galu(III) w warunkach zasadowych tworzy enancjomerycznie czystą tetraedryczną kapsułę koordynacyjną **75**. Struktura kapsuły została potwierdzona, między innymi, z użyciem rentgenografii. Następnie

autorzy sprawdzili możliwość katalizy enancjoselektywnej we wnętrzu enancjomerycznie czystej kapsuły $\Delta\Delta\Delta\Delta$ -**75**. W tym celu użyli modelowej reakcji cyklizacji związku **76** prowadzącej do optycznie czynnego związku **77**. Po optymalizacji otrzymali produkty z bardzo dobrymi wydajnościami (92%-94%) oraz zadowalającymi nadmiarami enancjomerycznymi (ok. 60%-70%).

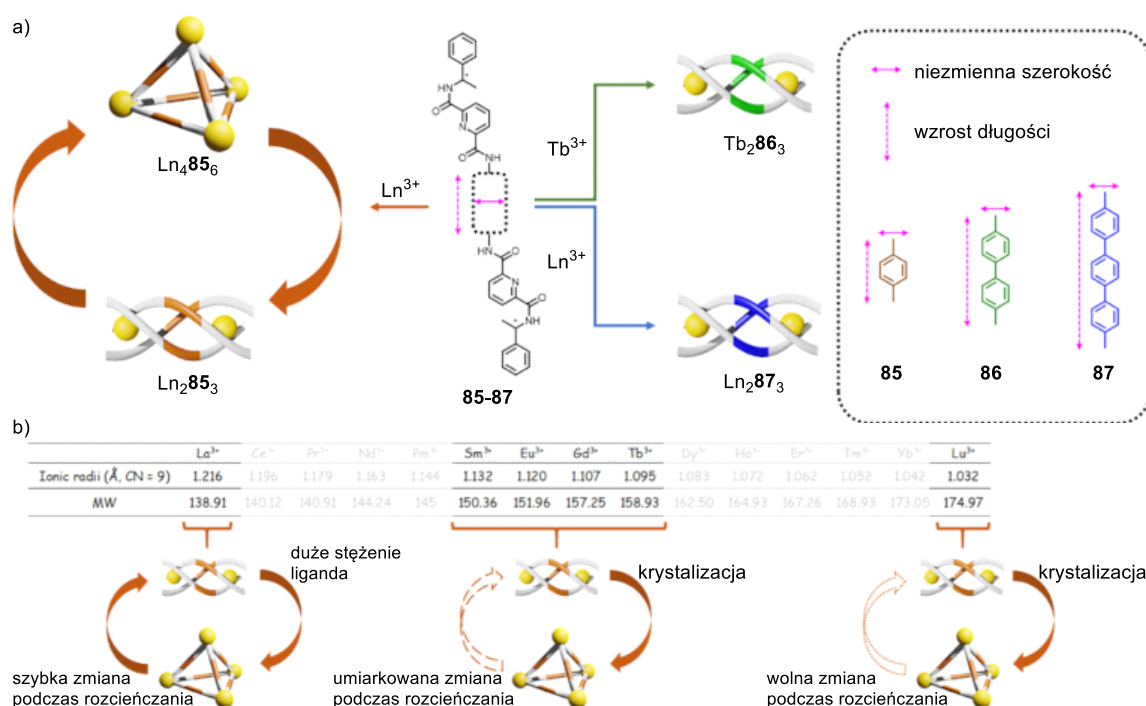
W kolejnej pracy grupa Raymonda przedstawiła zastosowanie wcześniej otrzymanej enancjomerycznie czystej kapsuły $\Delta\Delta\Delta\Delta$ -**75** do katalizy reakcji podstawienia nukleofilowego (Rys. 19b).³⁸ Typowy przebieg reakcji podstawienia nukleofilowego S_N2 prowadzi do otrzymania produktu o odwróconej konfiguracji absolutnej. Taki wynik otrzymali autorzy w reakcji modelowego związku **78** z CD_3OD w obecności katalizatora **79**, prowadzącej do powstania produktu (*R*)-**80** z 84% odwróceniem konfiguracji absolutnej. Natomiast reakcja katalizowana kapsułą koordynacyjną $\Delta\Delta\Delta\Delta$ -**75** prowadziła do otrzymania produktu (*S*)-**80** z 74% zachowaniem konfiguracji absolutnej. Taki przebieg reakcji podstawienia nukleofilowego zachodzącej wewnątrz kapsuły **75**, autorzy tłumaczą stabilizacją tworzącego się w czasie reakcji, częściowego ładunku dodatniego na grupie benzylovej poprzez oddziaływanie z nią fragmentu naftalenowego tworzącego kapsułę. Oddziaływanie to „osłania” jedną stronę cząsteczki gościa i reakcja możliwa jest jedynie od przeciwnej strony niż zachodzi koordynacja – tej samej strony, z której jednocześnie zachodzi odłączenie grupy odchodzącej. Prace te są kolejnymi przykładami, po opisanej wcześniej kapsule otrzymanej w zespole Fujity,²³ że możliwe jest użycie chiralnych kapsuł koordynacyjnych jako katalizatorów w reakcjach enancjoselektywnych oraz, że może to prowadzić do modyfikacji stereochemii reakcji zachodzących w ich wnętrzu w porównaniu do reakcji przebiegających bez obecności kapsuły.



Rys. 20 Synteza kapsuł: a) **82**, b) **84**. c) Schemat reakcji sortowania ligandów **81** i **83**. Rysunek zaadaptowany z publikacji.³⁹

Bardzo ciekawa jest praca Yan i współpracowników, w której zademonstrowany został proces sortowania liniowych i trójkątnych ligandów w syntezie chiralnych kapsuł koordynacyjnych (Rys. 20).³⁹ Autorzy zaprojektowali liniowy ligand **81** będący pochodną naftalenu oraz trójkątny ligand **83** będący pochodną 1,3,5-trifenylbenzenu. Oba ligandy posiadały grupy dikarbonylopirydynowe jako grupy koordynujące (zamiast grup katecholowych jak we wcześniej opisanych pracach)^{37,38}. Terminalne grupy wszystkich ligandów zawierają fragmenty fenyloetyloaminy zapewniające chiralność. Z obydwu ligandów **81** oraz **83** autorzy otrzymali, w reakcji z solami europu(III), tetraedryczne

chiralne kapsuły koordynacyjne, odpowiednio **82** oraz **84**. Autorzy zbadali także zdolność do sortowania podczas syntezy kapsułów. W reakcji mieszaniny ligandów liniowego **81** oraz trójkątnego **83** o tej samej chiralności z jonami Eu^{3+} autorzy otrzymali jedynie kapsuły zawierające jeden rodzaj ligandów (samosortowanie narcystyczne). W reakcji mieszaniny racemicznej ligandów liniowych **81** autorzy otrzymali mieszaninę kapsułów składających się z różnej liczby ligandów o różnej chiralności (mieszanina dynamiczna). W reakcji mieszaniny racemicznej trójkątnych ligandów **83** autorzy otrzymali jedynie dwie enancjomeryczne kapsuły **84** (samosortowanie narcystyczne). Praca ta pokazuje, że możliwe jest otrzymywanie chiralnych kapsułów koordynacyjnych na drodze chiralnego sortowania.

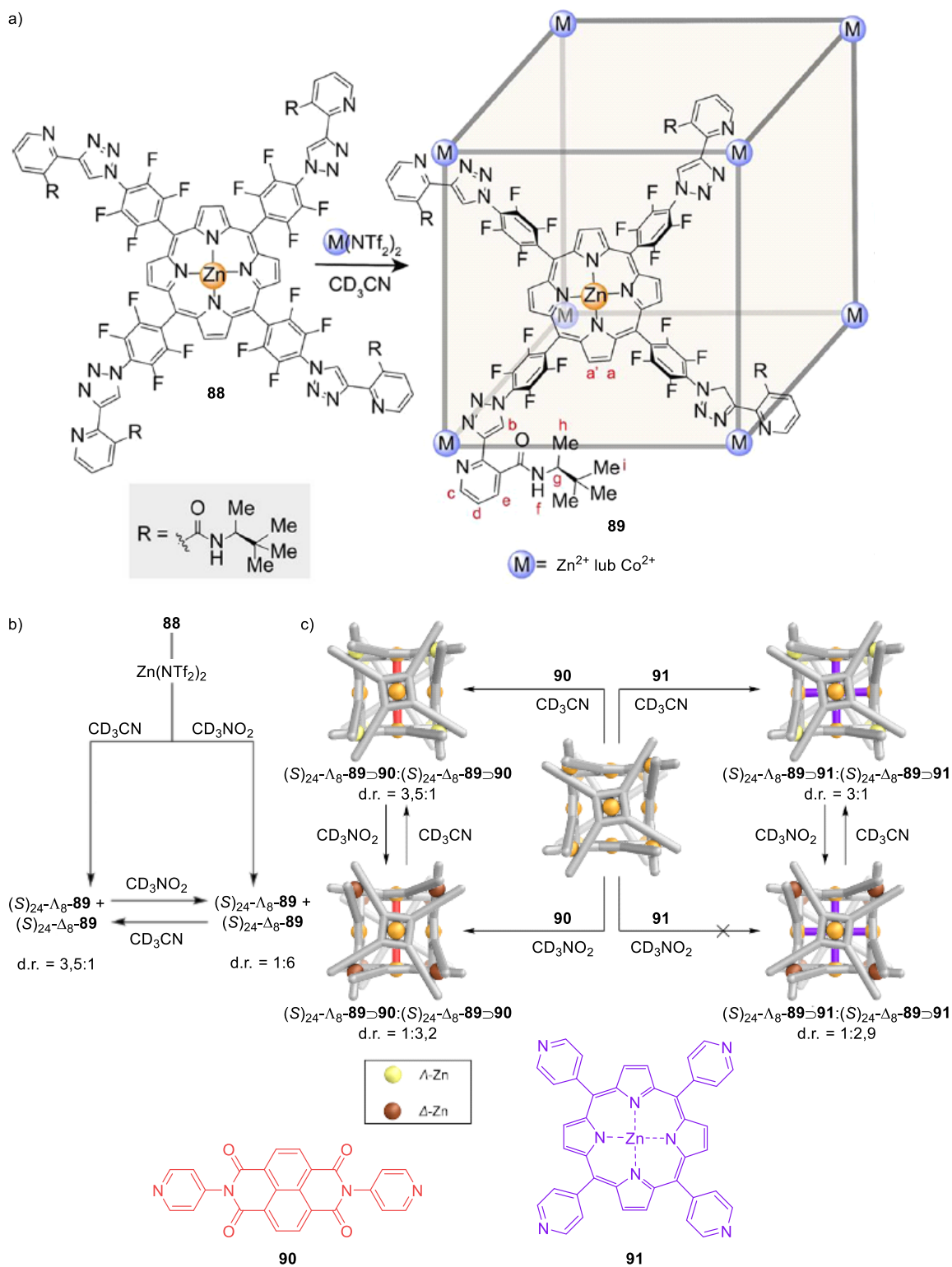


Rys. 21 a) Synteza kapsuły M_4L_6 oraz helikalnych kompleksów M_2L_3 z ligandów **85-87**. b) Porównanie promienia kationów lantanowców ze strukturą możliwych do otrzymania związków po reakcji z ligandem **85**.

Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁴⁰

W 2021 roku, w grupie Law, zaprojektowano serię liniowych ligandów o różnej długości i zbadano ich zdolność tworzenia chiralnych kapsułów molekularnych z jonami lantanowców (Rys. 21).⁴⁰ Ligandy **85-87** zawierały różną liczbę grup benzenowych jako rdzeń, fragmenty 2,6-dikarbonylopirydyny jako ugrupowania koordynujące do jonów metali oraz fragmenty 1-fenylloetyloaminy zapewniające chiralność ligandowi. Po reakcji ligandów z jonami lantanowców autorzy otrzymali dwa rodzaje kompleksów: tetraedyczną chiralną kapsułę koordynacyjną M_4L_6 oraz helikalny kompleks M_2L_3 . Jedynie przy użyciu najkrótszego liganda **85** i tylko w określonych warunkach

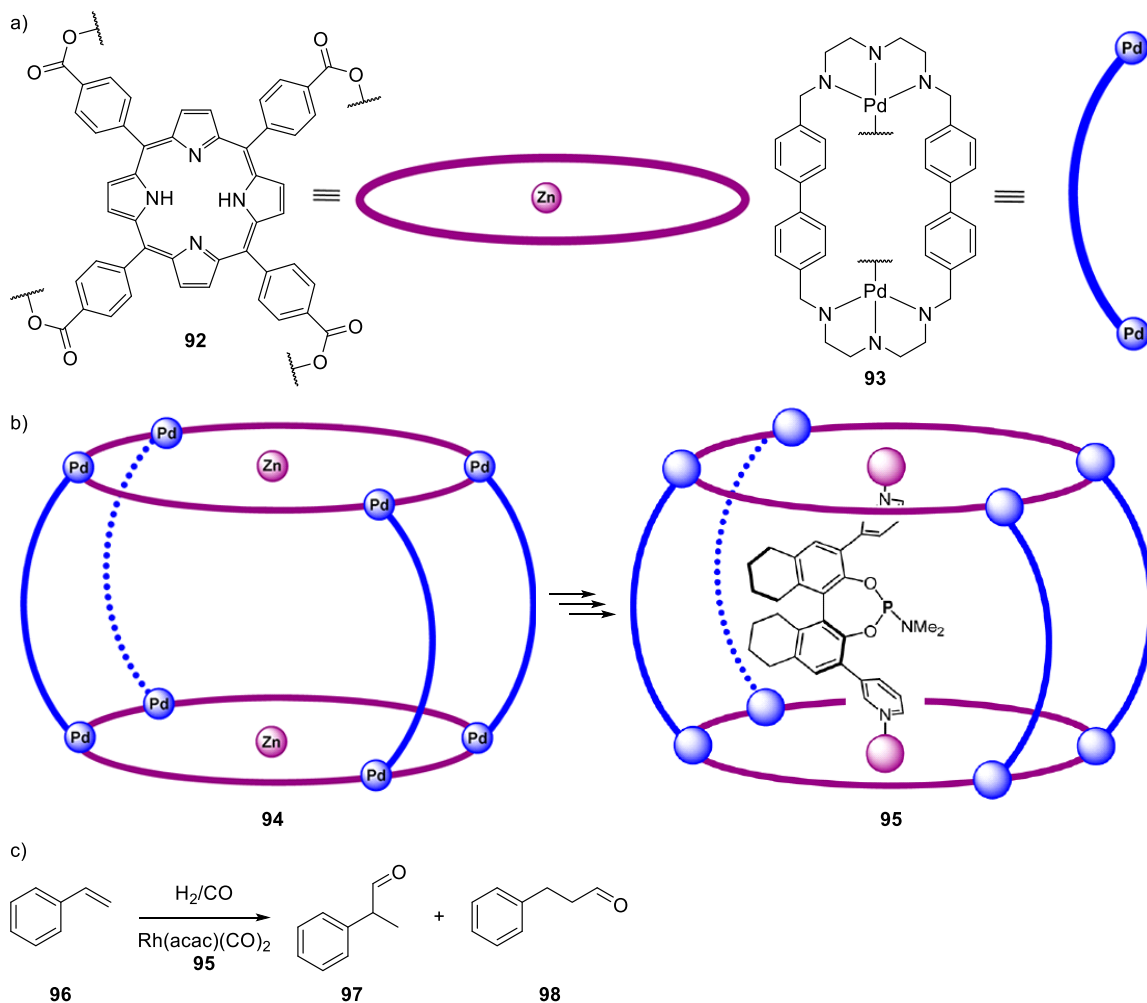
(duże stężenie liganda) możliwe było otrzymanie kapsuły, ponieważ preferowanym produktem był bardziej stabilny helikalny kompleks. Pozostałe ligandy tworzyły jedynie helikalne kompleksy. Autorzy zbadali również wpływ użytych jonów na preferencje w powstawaniu tetraedrycznej kapsuły bądź helikalnego kompleksu z użyciem liganda **85**. W reakcji z jonami o większym promieniu (La^{3+}) autorzy otrzymywali jedynie helikalne kompleksy, natomiast dla jonów o mniejszym promieniu (Lu^{3+}) możliwe było otrzymanie zarówno tetraedrycznych kapsuł, jak i helikalnych kompleksów zależnie od warunków prowadzenia reakcji. Jony o pośredniej wielkości (Sm^{3+} , Eu^{3+} , Gd^{3+} , Tb^{3+}) tworzyły zarówno tetraedryczne kapsuły jak i helikalne kompleksy, jednak z czasem następowała samoistna reorganizacja z postaci tetraedrycznych kapsuł do helikalnych kompleksów. Praca ta pokazuje, że możliwa jest zmiana geometrii i stechiometrii powstających kompleksów i kapsuł koordynacyjnych zależnie od użytego jonu metalu i długości liganda oraz, że powstawanie kapsuł, w przypadku konformacyjnie labilnych ligandów, nie jest preferowane.



Rys. 22 a) Synteza kapsuły **89**. b) Synteza diastereoizomerów kapsuły **89** zależnie od rozpuszczalnika. c) Schemat kompleksowania gości **90** i **91** wewnątrz kapsuły **89** zależnie od rozpuszczalnika. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁴¹

Jedną z najnowszych prac dotyczących chiralnych kapsuł koordynacyjnych jest praca z 2022 roku grupy Nitschke (Rys. 22).⁴¹ Autorzy wykorzystali ligandy **88**, będące pochodnymi Zn-porfiryny oraz zawierającymi cztery terminalne grupy chiralne, do

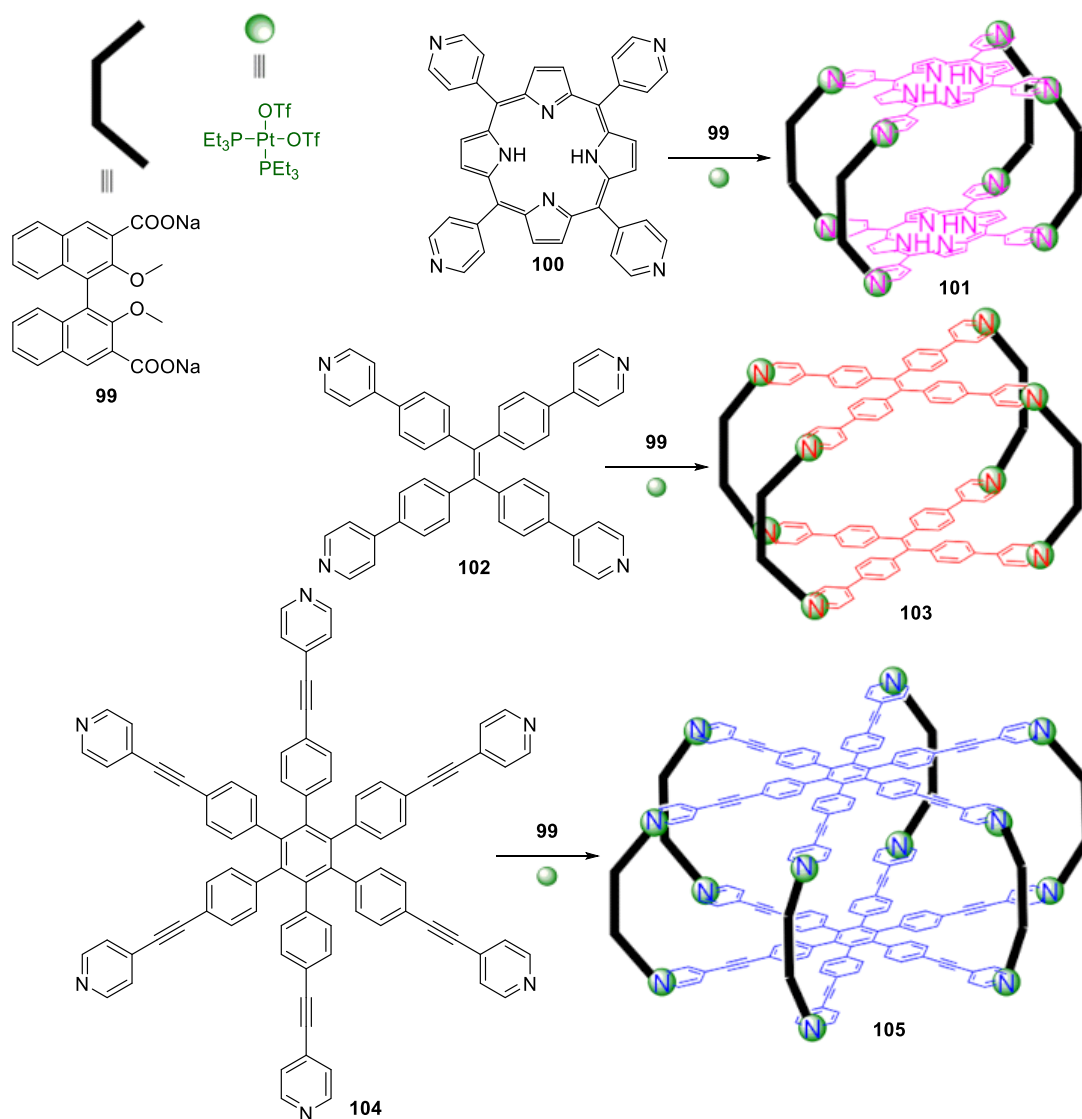
syntezy sześcienniej kapsuły **89**. Do koordynacji autorzy wykorzystali jony Zn^{2+} oraz Co^{2+} . Po przeprowadzeniu reakcji pomiędzy enancjomerycznie czystym ligandem **88** a solą $Zn(NTf_2)_2$ w acetonitrylu autorzy otrzymali mieszaninę dwóch diastereoizomerycznych kapsuł **89** w stosunku 3,8:1 różniących się chiralnością na centrum metalicznym. W reakcji z jonami Co^{2+} autorzy uzyskali analogiczny wynik (stosunek diastereoizomerów 3,6:1). Struktury otrzymanych kapsuł potwierdzili z użyciem rentgenowskiej analizy strukturalnej. Autorzy zbadali wpływ różnych czynników na przebieg reakcji i stosunek diastereoizomeryczny produktów. Okazało się, że bardzo duże znaczenie ma, w tym przypadku, użyty rozpuszczalnik. Po zamianie rozpuszczalnika z acetonitrylu na nitrometan autorzy otrzymali kapsułę **89** z przewagą drugiego z diastereoizomerów (stosunek diastereoizomerów 1:6). Dodatkowo, potwierdzili odwrócenie chiralności kapsuły z wykorzystaniem spektroskopii dichroizmu kołowego. Autorzy sprawdzili również właściwości kompleksujące otrzymanej kapsuły **89**. Podjęli próby skompleksowania pochodnej naftalenodiimidu **90** oraz porfiryny **91** we wnętrzu wcześniej otrzymanej kapsuły. Podczas kompleksowania związku **90**, podobnie jak w przypadku syntezy kapsuły, zależnie od użytego rozpuszczalnika autorzy otrzymali w przewadze jeden z diastereoizomerów kompleksu **89**→**90**. Ponadto, możliwe było przekształcenie otrzymanych kompleksów w drugi diastereoizomer poprzez ich rozpuszczenie w innym rozpuszczalniku. Próby kompleksowania związku **91** prowadziły do otrzymania jednego z diastereoizomerów kompleksu **89**→**91** jedynie w acetonitrylu, natomiast otrzymanie jego drugiego diastereoizomeru było możliwe jedynie poprzez rozpuszczenie wcześniej otrzymanego kompleksu **89**→**91** w nitrometanie.



Rys. 23 a) Wzory ligandów **92** i **93** tworzących kapsułę **94**. b) Modele kapsuły **94** i **95**. c) Schemat modelowej reakcji hydroformylowania styrenu **96**. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁴²

Ciekawe podejście do syntezy chiralnych kapsuł koordynacyjnych zaprezentował zespół Reeka, który otrzymał chiralną kapsułę koordynacyjną składającą się z kilku różnych ligandów oraz zawierającą w swoim wnętrzu katalizator rodowy umożliwiający przeprowadzenie reakcji hydroformylowania (Rys. 23).⁴² Autorzy wykorzystali dwa ligandy **92**, będące pochodnymi porfiryny, oraz cztery ligandy **93**, będące związkami makrocyklicznymi, do syntezy kapsuły **94**. Ligandy **92** zawierały w centrum jony Zn^{2+} oraz cztery terminalne grupy karboksylowe umożliwiające koordynację do jonów Pd^{2+} . Ligandy **93** posiadały w swojej strukturze dwa jony Pd^{2+} i łączyły ze sobą dwa ligandy **92** tworząc kapsułę **94**. Następnie, autorzy skoordynowali chiralny amidofosforin (zawierający w swojej strukturze fragment BINOL) we wnętrzu otrzymanej kapsuły **94** poprzez koordynację azotów pirydynowych amidofosforinu do jonów Zn^{2+} obecnych w ligandzie porfiryńowym **92**. Otrzymali w ten sposób kapsułę **95**, we wnętrzu której możliwe jest skoordynowanie jonu Rh^{2+} , co pozwala na wykorzystanie kapsuły jako

katalizatora w reakcji hydroformylowania styrenu **96** oraz jego pochodnych. W obecności kapsuły **95** oraz $\text{Rh}(\text{acac})(\text{CO})_2$, autorzy otrzymywali w przewodzie chiralny produkt **97** (pomimo możliwości powstawania produktu **98**) z dobrym nadmiarem enancjomerycznym (do 80%) oraz bardzo dobrymi wydajnościami (do 97%). Praca ta pokazuje, że możliwe jest umieszczenie katalizatora we wnętrzu kapsuły bez utraty jego właściwości katalitycznych.

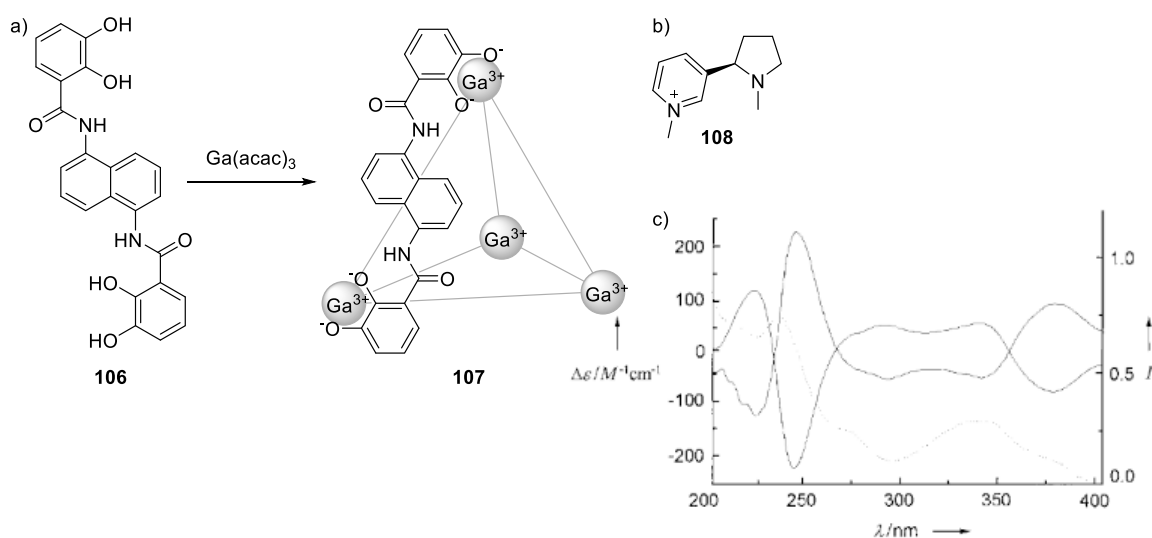


Rys. 24 Synteza kapsuł **101**, **103** i **105** z ligandów o różnych kształtach, odpowiednio **100**, **102**, **104** oraz liganda **99**.

Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁴³

Przykładem wykorzystania kilku różnych ligandów do syntezy chiralnych kapsuł koordynacyjnych jest praca grupy Stanga (Rys. 24).⁴³ Użyli oni karboksylowej pochodnej binaftylu **99** (wykazującej chiralność osiową), kwadratowych ligandów **100**, **102** albo sześciokątne liganda **104** oraz jonów Pt^{2+} jako łączników między ligandami. Otrzymali oni dwie różne sześciennie chiralne kapsuły koordynacyjne: **101** z liganda **100**, będącego

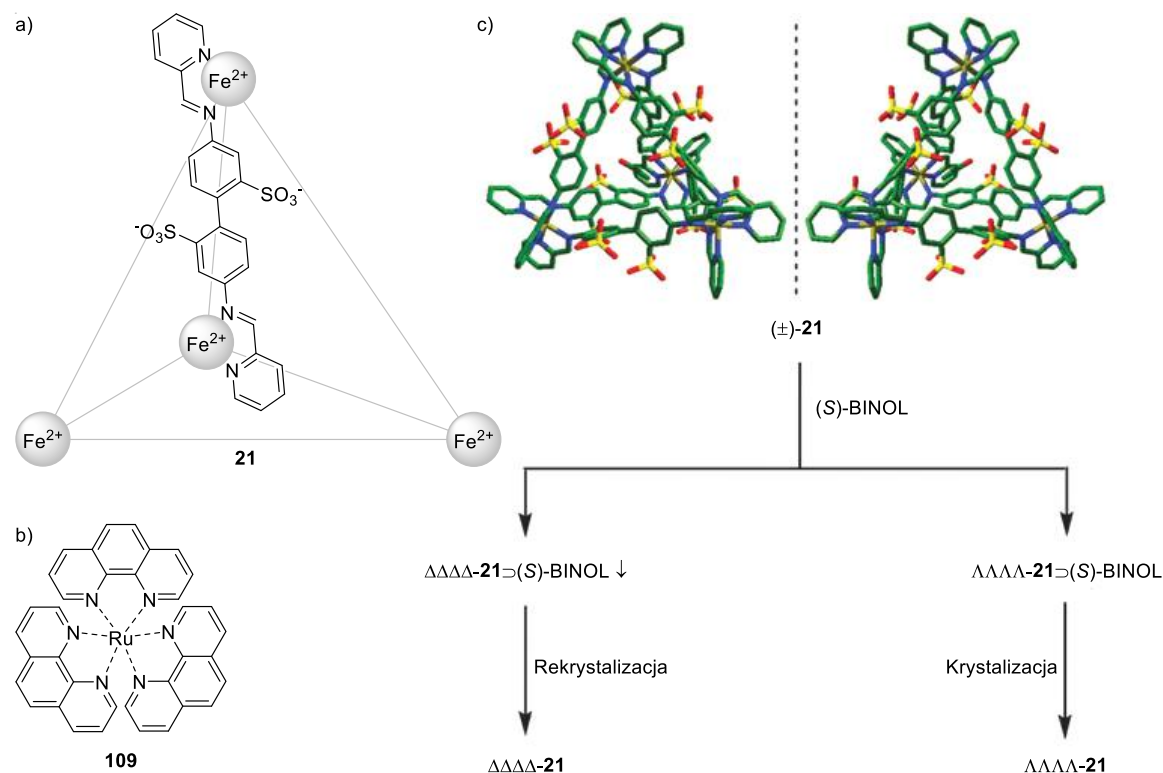
pochodną porfiryny, oraz **103** z liganda **102**, będącego pochodną tetrafenylotenu. Autorzy użyli również sześciokątnego liganda **104**, będącego pochodną heksafenylbenzenu, do syntezy kapsuły **105** o kształcie graniastosłupa sześciokątnego. Praca ta pokazuje, że możliwe jest otrzymanie kilku kapsuł koordynacyjnych o różnych kształtach zmieniając jedynie jeden z bloków budulcowych, a co za tym idzie otrzymanie biblioteki kapsuł bazujących na podobnym motywie wiążącym.



Rys. 25 a) Synteza kapsuły **107**. B) Wzór kationu *N*-metylonikotynowego **108**. C) Widma CD i UV po rozdzieleniu enancjomerów kompleksu kationu *N*-metylonikotynowego z kapsułą **107**. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁴⁴

Bardzo ciekawym podejściem jest synteza chiralnych kapsuł koordynacyjnych, w których chiralność jest indukowana po otrzymaniu kapsuły (w formie mieszaniny racemicznej) poprzez kompleksowanie cząsteczek chiralnego gościa. Jedną z pierwszych chiralnych kapsuł koordynacyjnych zbudowanych wyłącznie z achiralnych ligandów jest tetraedryczna kapsuła otrzymana przez zespół Raymonda w 2001 roku (Rys. 25).⁴⁴ Użyli oni liganda **106**, będącego pochodną naftalenu, oraz jonów Ga^{3+} do syntezy kapsuły **107**. Po reakcji autorzy otrzymali mieszaninę wszystkich izomerów kapsuły **107** (z wszelkimi możliwymi ułożeniami ligandów w narożach). Jednak, po dodaniu do reakcji chiralnego kationu *N*-metylonikotynowego **108**, autorzy otrzymali w reakcji jedynie dwa izomery kapsuły **107**. Możliwe było również ich rozdzielenie, ponieważ wykazywały one różną rozpuszczalność w metanolu. Autorzy zmierzili widma dichroizmu kołowego tak otrzymanych kompleksów dla potwierdzenia rozdzielenia diastereomerycznie czystych kompleksów (Rys. 25). Dodatkowo, możliwa była wymiana chiralnego gościa **108** na achiralny kation tetraetyloamoniowy z zachowaniem struktury rozdzielonych kapsuł, w tym jej chiralności. Autorzy zbadali również stabilność tak otrzymanych

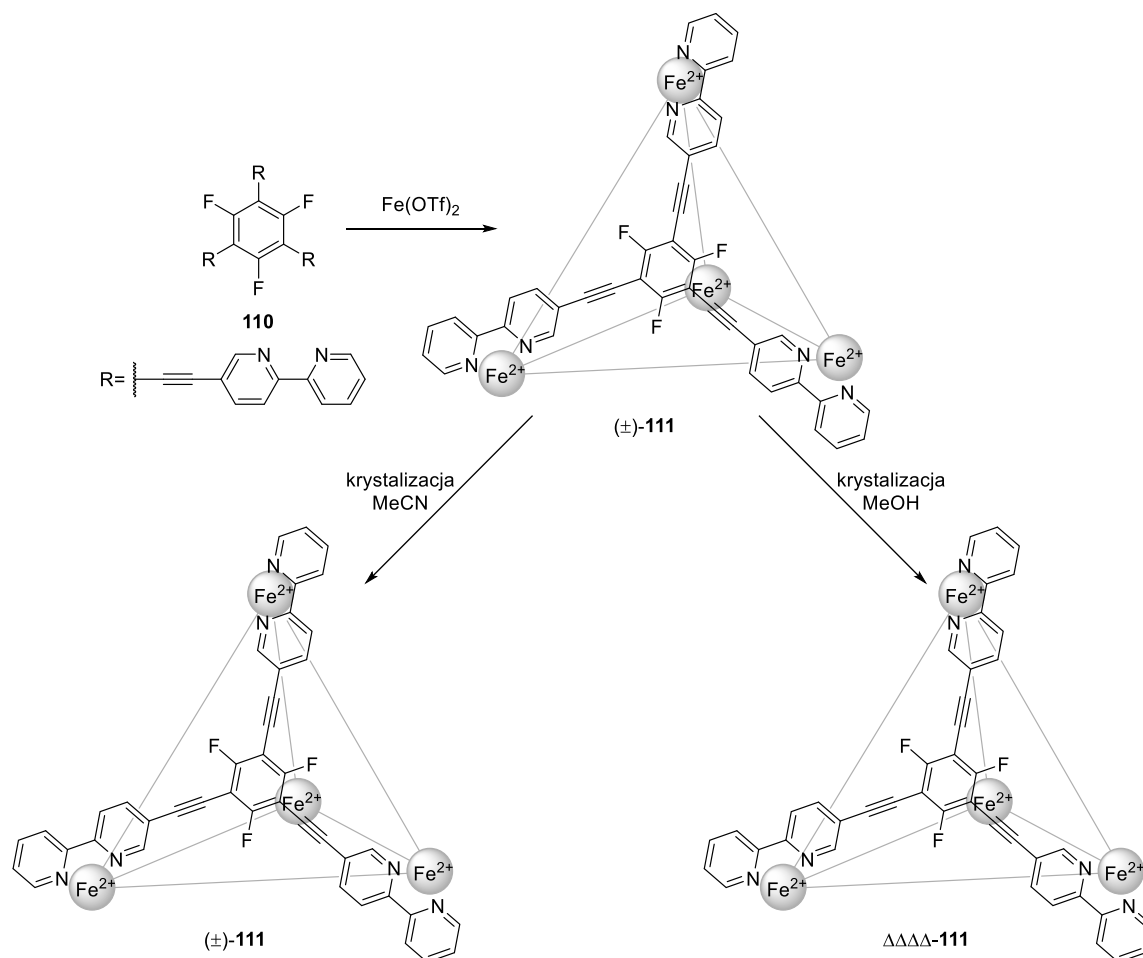
enancjomerycznie czystych kapsuł i nawet po ośmiu miesiącach i silnym ogrzewaniu nie zaobserwowali racemizacji kapsuł. Praca ta pokazuje, że możliwe jest otrzymanie enancjomerycznie czystych kapsuł koordynacyjnych o wysokiej stabilności poprzez templatowanie.



Rys. 26 Wzory a) kapsuły **21**, b) związku **109**. C) Opracowana metoda rozdzielania kapsuły **21** na enancjomery z użyciem (*S*)-BINOL. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁴⁵

W 2014 roku Wan i współpracownicy opracowali reakcję, w której przez templatowanie otrzymali enancjomerycznie czyste kapsuły koordynacyjne (Rys. 26).⁴⁵ Początkowo, autorzy planowali rozdzielić mieszaninę racemiczną poprzez utworzenie soli ujemnie naładowanej kapsuły **21** (otrzymanej wcześniej w zespole Nitschke).⁴⁶ Jednak, po dodaniu do kapsuły **21** chiralnego kompleksu rutenu **109** zaobserwowano pojawienie się niewielkiego nadmiaru enancjomerycznego. Autorzy postanowili przetestować jako templat związek obojętny – BINOL, który może oddziaływać z kapsułą z wykorzystaniem wiązań wodorowych oraz oddziaływań π - π . Po dodaniu enancjomerycznie czystego (*S*)-BINOL do mieszaniny racemicznej kapsuły **21** autorzy zaobserwowali powstanie osadu, w którym (po rekrytalizacji) znajdował się jeden enancjomer kapsuły $\Delta\Delta\Delta\Delta$ -**21** z nadmiarem enancjomerycznym 85%. Po krystalizacji pozostałego przesączu autorzy otrzymali drugi z enancjomerów kapsuły $\Lambda\Lambda\Lambda\Lambda$ -**21**

z nadmiarem enancjomerycznym 99%. Praca ta pokazuje, że możliwe jest użycie chiralnych związków organicznych do indukowania chiralności oraz rozdzielenia mieszaniny racemicznej koordynacyjnych kapsuł poprzez krystalizację.

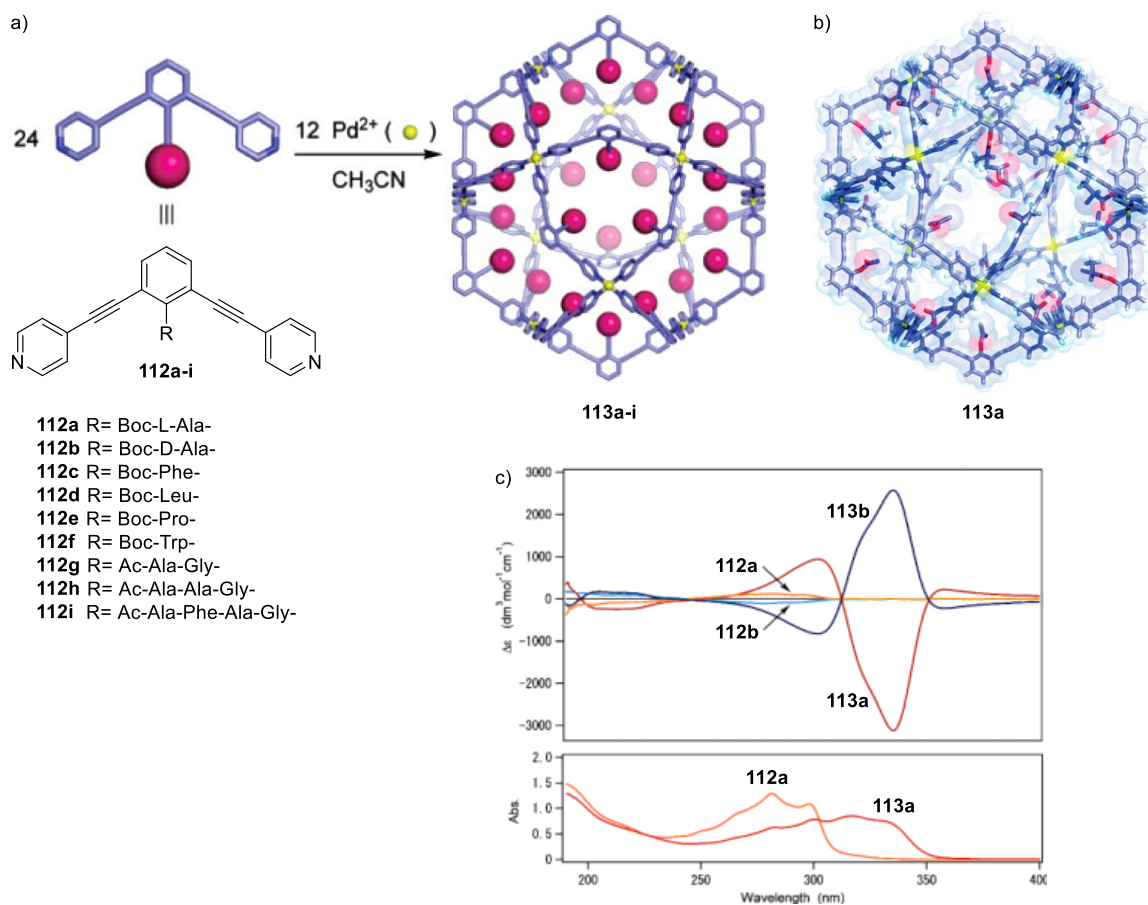


Rys. 27 Synteza kapsuły **111** oraz jej rozdział na enancjomery.⁴⁷

Enancjomerycznie czystą kapsułą koordynacyjną nie zawierającą chiralnych ligandów w 2015 roku otrzymał zespół Rissanena (Rys. 27).⁴⁷ Do syntezy użyli oni trójkątnego liganda **110** z grupami 2,2'-bipirydyłowymi na końcach, umożliwiającymi koordynację do metali, oraz soli $\text{Fe}(\text{OTf})_2$. W ten sposób otrzymali tetraedryczną kapsułę $(\pm)\text{-111}$, która w roztworze występowała w formie mieszaniny racemicznej. Następnie, autorzy otrzymali monokryształy tej kapsuły poprzez powolną dyfuzję eteru dietylowego do roztworu kapsuły w acetonitrylu. Struktura w ciele stałym potwierdziła obecność mieszaniny racemicznej kapsuły $(\pm)\text{-111}$. Jednak, podczas powolnej dyfuzji eteru dietylowego do roztworu kapsuły w metanolu otrzymano monokryształy zawierające tylko jeden enancjomer kapsuły $\Delta\Delta\Delta\Delta\text{-111}$. Praca ta pokazuje, że możliwy jest spontaniczny rozdział enancjomerycznie czystych kapsuł koordynacyjnych, z ich mieszanin racemicznych, w trakcie procesu krystalizacji.

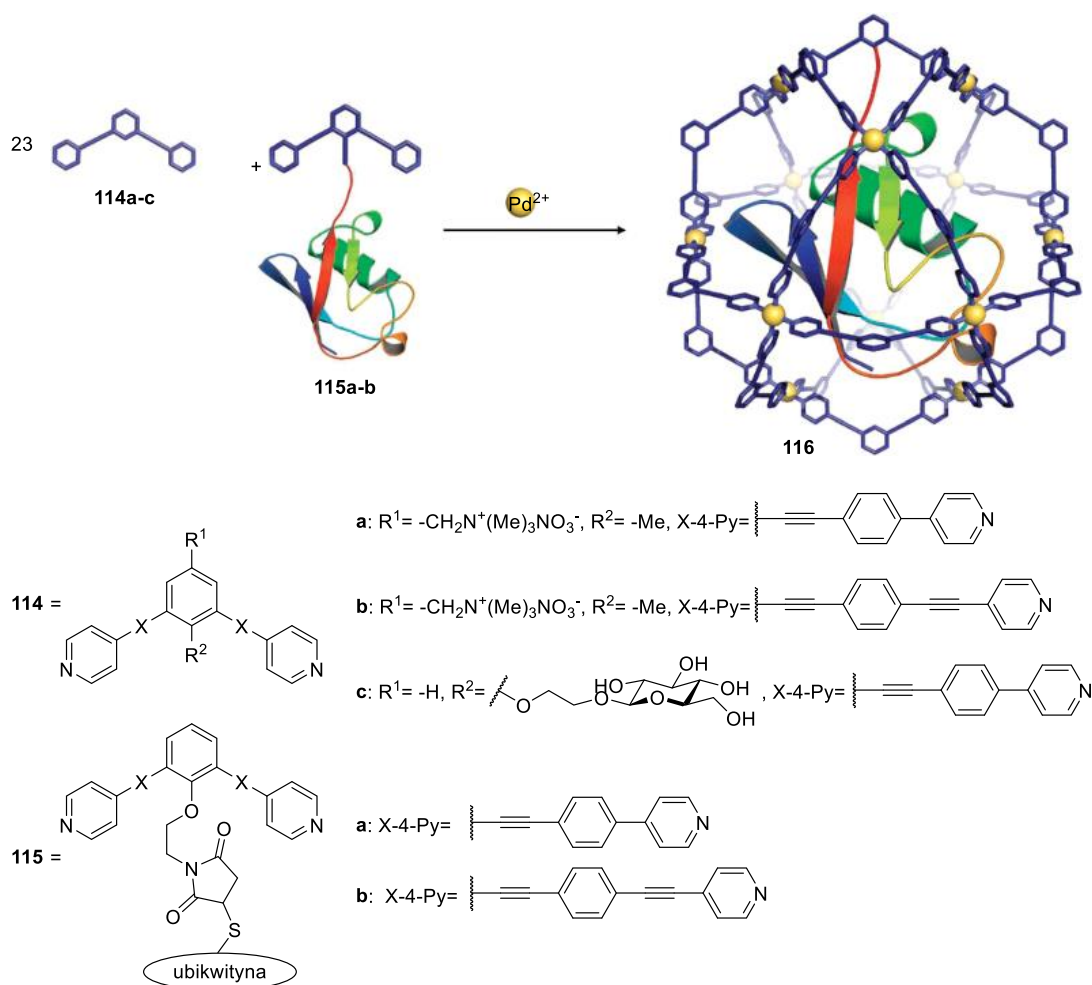
2.3. Peptydowe kapsuły molekularne

Peptydy są prostymi w syntezie i modyfikacji chiralnymi związkami zbudowanymi z aminokwasów. Możliwe jest zaprojektowanie peptydów o różnych sekwencjach aminokwasowych, mogących posiadać kilka miejsc chiralnych oraz różnych grup funkcyjnych w swojej strukturze. Występowanie grup funkcyjnych w peptydach umożliwia zastosowanie ich do różnych celów np. jako komponenty motywów wiążących, jako grupy funkcyjne umożliwiające oddziaływania kapsuły z innymi związkami bądź katalizatory reakcji. Dlatego peptydy są bardzo dobrymi blokami budulcowymi do wprowadzania chiralności i funkcjonalności do różnych cząsteczek, w tym do kapsuł molekularnych. Jednak peptydy są związkami labilnymi konformacyjnie, co powoduje, że projektowanie kapsuł z ich wykorzystaniem jest utrudnione. Ponadto takie kapsuły mogą wykazywać tendencje do zapadania się. Z tego powodu peptydowe kapsuły molekularne są jedną z najmniej poznanych grup chiralnych kapsuł molekularnych. Ich synteza bardzo często wymaga stosowania dodatkowych elementów usztywniających strukturę.



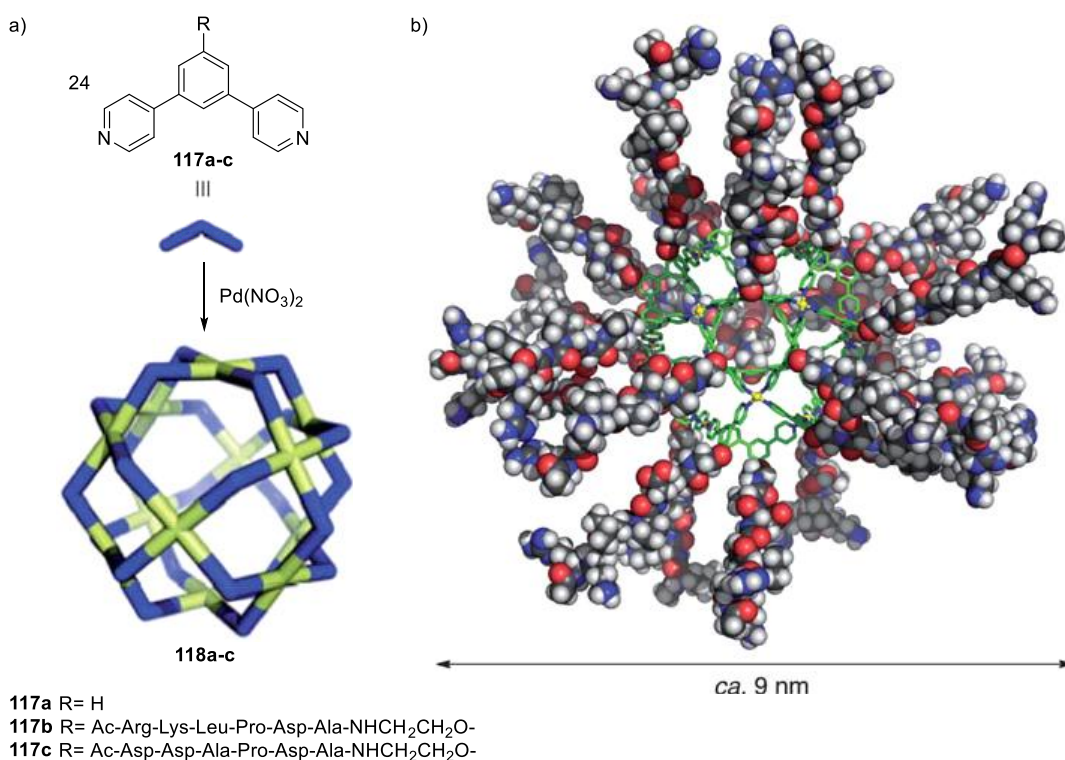
Rys. 28 a) Synteza kapsuł **113a-i**. b) Struktura w ciele stałym kapsuły **113a**. c) Porównanie widm CD i UV kawitandów i kapsuł molekularnych. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁴⁸

Grupa Fujity opracowała szereg sferycznych kapsuł koordynacyjnych o stechiometrii $M_{12}L_{24}$, z których niektóre zawierają w swojej strukturze aminokwasy i krótkie peptydy.⁴⁸ Do syntezy tych kapsuł autorzy użyli jonów Pd^{2+} oraz ligandów, będących pochodnymi 1,3-dipodstawionego benzenu z grupami 4-pirydynowymi na końcach, które umożliwiają koordynację do jonów metali i utworzenie kapsuł. W 2007 roku autorzy otrzymali pierwszą z chiralnych kapsuł koordynacyjnych z aminokwasami (Rys. 28).⁴⁹ Do jej syntezy wykorzystano ligandy **112a-i** będące, pochodnymi benzenu oraz zawierające aminokwasy i krótkie peptydy (od dwóch do czterech aminokwasów) przyłączone w pozycji 2- do pierścienia benzenu. W wyniku koordynacji tych ligandów do jonów Pd^{2+} , autorzy otrzymali kapsuły **113a-i** o kształcie sferycznym, w których aminokwasy oraz peptydy skierowane były do wnętrza kapsuł, a co za tym idzie, umożliwiały funkcjonalizację luki. Strukturę kapsuły **113a** autorzy potwierdzili, m.in. z użyciem rentgenowskiej analizy strukturalnej. Kapsuły **113a-b** wykazywały o wiele intensywniejsze efekty Cottona, w porównaniu do efektów obserwowanych dla samych ligandów **112a-b**.



Rys. 29 Synteza kapsuły **116**. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁵⁰

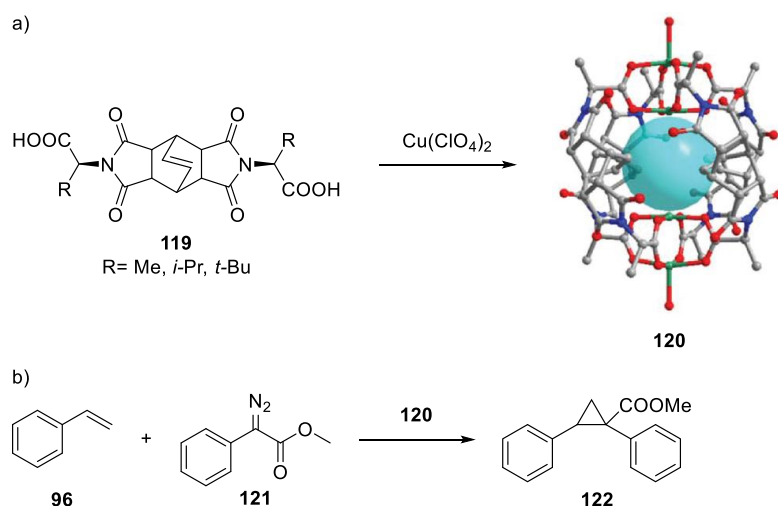
W kolejnej pracy autorzy otrzymali kapsułę, w której wnętrzu umieścili białko, przyłączone do jednego z ligandów (Rys. 29).⁵⁰ W tym celu, autorzy zmodyfikowali stosowane wcześniej ligandy **112**, poprzez wydłużenie ich ramion, a także wprowadzenie grup polarnych (soli tetraalkiloamoniowych, cukrów). Pozwoliło to na otrzymanie większych kapsuł rozpuszczalnych w rozpuszczalnikach polarnych. Otrzymali również ligandy **115** (o różnej długości) zawierające przyłączone białko – ubikwitynę. Następnie, użyli jednego ekw. liganda z białkiem **115** oraz odpowiedniej ilości ligandów **114** do reakcji z solą $\text{Pd}(\text{MeCN})_4(\text{BF}_4)_2$. Otrzymali w ten sposób kapsułę **116** zawierającą skompleksowane białko, przyłączone do jednego z ligandów. Otrzymanie kompleksu autorzy potwierdzili z użyciem technik ^1H i DOSY NMR oraz rentgenowskiej analizy strukturalnej. Prace te pokazują, że możliwa jest synteza chiralnych kapsuł koordynacyjnych z aminokwasami oraz peptydami, jednak nie są one głównym blokiem budulcowym, ale jedynie fragmentem przyłączonym do szkieletu.



Rys. 30 a) Synteza kapsuł **118a-c**. b) Model kapsuły **118b**. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁵¹

Zespół Fujity otrzymał również kapsułę koordynacyjną o podobnej geometrii posiadającą ugrupowania peptydowe skierowane na zewnątrz kapsuły (Rys. 30).⁵¹ W tym przypadku autorzy zmienili miejsce podstawienia łańcuchów peptydowych w centralnym pierścieniu benzenowym z pozycji 2- (jak w poprzedniej kapsule) na pozycję 5-, która jest skierowana na zewnątrz kapsuły, otrzymując ligandy **117a-c**. Po koordynacji

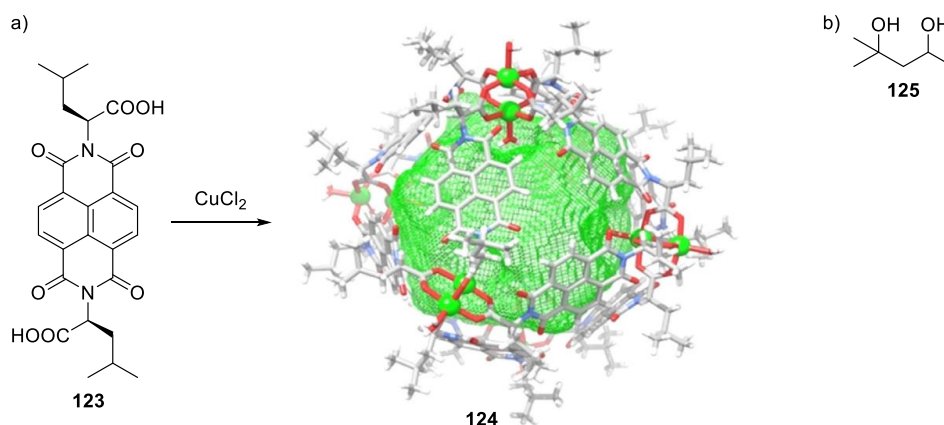
ligandów **117a-c** do jonów Pd^{2+} autorzy otrzymali sferyczne kapsuły koordynacyjne **118a-c** udekorowane krótkimi łańcuchami peptydowymi. Autorzy zaprezentowali model kapsuły **118b**, którego wielkość zgadza się z eksperymentalną, zmierzona z wykorzystaniem techniki DOSY NMR. Autorzy zbadali również możliwość niekowalencyjnego przyłączenia otrzymanych kapsuł do powierzchni tlenku tytanu w zależności od sekwencji występujących w kapsule aminokwasów. Kapsuła **118b** przyłączyła się nieodwracalnie do powierzchni tlenku tytanu, podczas gdy kapsuła **118c** początkowo przyłączyła się do powierzchni tlenku tytanu, ale możliwe było jej całkowite usunięcie poprzez wymywanie wodą. Ta obserwacja pokazuje, że dla oddziaływań z powierzchnią bardzo ważna jest sekwencja peptydu, ponieważ każda zmiana może spowodować zmianę właściwości kapsuły. Praca ta pokazuje również, że chiralne kapsuły koordynacyjne zawierające peptydy na zewnątrz kapsuły mogą oddziaływać z różnymi cząsteczkami, nawet nieorganicznymi powierzchniami.



Rys. 31 a) Synteza kapsuły **120**. b) Reakcja modelowa cyklopropanowania katalizowana kapsułą **120**. Rysunek \ zaadaptowany z publikacji.⁵²

Chiralną kapsułę koordynacyjną zbudowaną z ligandów zawierających aminokwasy skoordynowane do jonów metali otrzymał zespół Su (Rys. 31).⁵² Jako ligand została użyta pochodna bicyklo[2,2,2]okt-7-enu **119**, posiadająca na przeciwnych końcach aminokwasy, które w trakcie reakcji koordynują grupami karboksylowymi do jonów Cu^{2+} tworząc kapsułę **120** o stechiometrii Cu_4L_4 . Tak otrzymaną kapsułę autorzy wykorzystali jako katalizator w reakcji cyklopropanowania. Reakcja cyklopropanowania pomiędzy związkami **96** a **121**, prowadząca do związku **122**, przeprowadzona w acetonie w obecności kapsuły **120** jako katalizatora homogenicznego przebiegała z bardzo słabą wydajnością (do 32%) i brakiem enancjoselektywności. Po zamianie rozpuszczalnika na

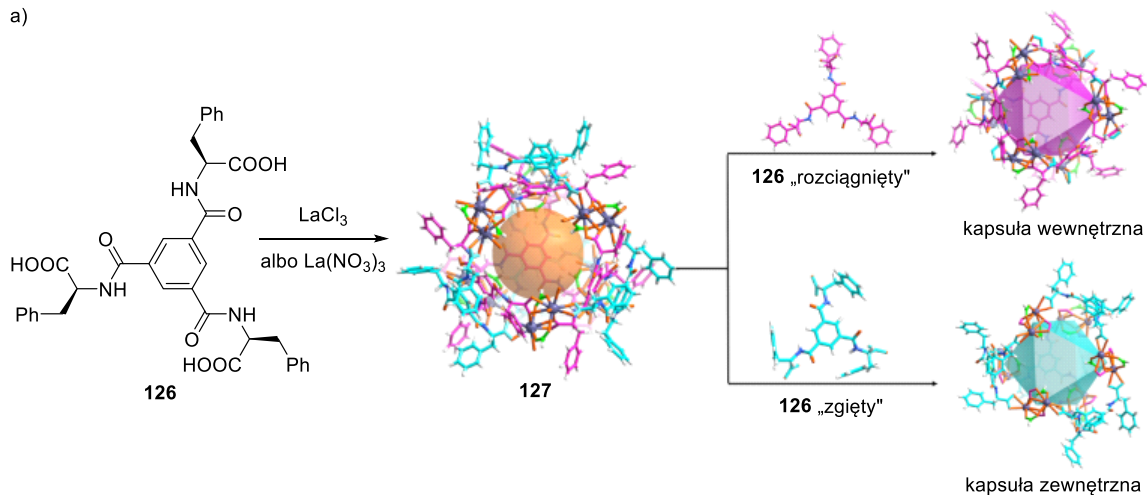
trifluorotoluen, w którym kapsuła jest nierozpuszczalna i służy jako katalizator heterogeniczny, wydajność reakcji wzrosła do 60% oraz otrzymano nadmiary enancjomeryczne do 16% oraz -22% (zależnie od chiralności użytej kapsuły). Praca ta pokazuje, że chiralne kapsuły koordynacyjne zbudowane z aminokwasów mogą być wykorzystywane jako katalizatory heterogeniczne, działające nawet z większą wydajnością i enancjoselektywnością niż ich homogeniczne odpowiedniki.



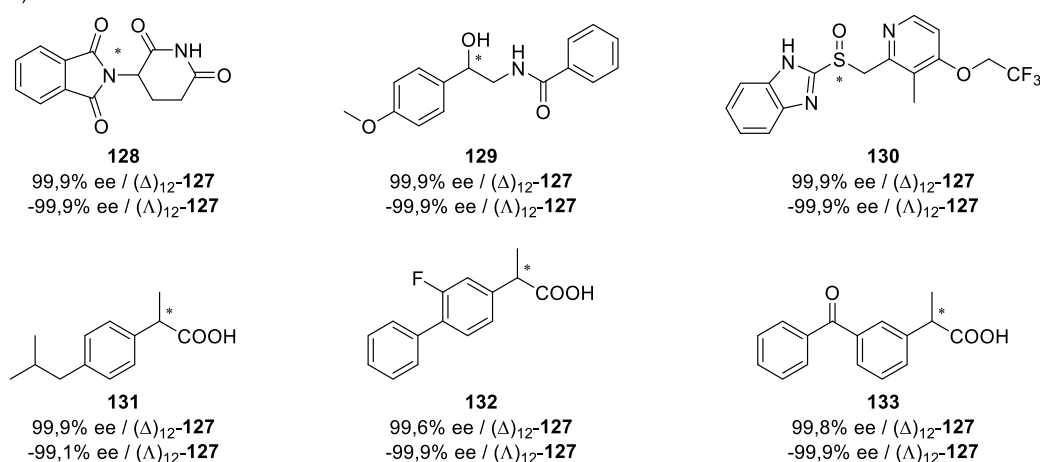
Rys. 32 a) Synteza kapsuły **124**. b) Struktura związku **125** używanego jako związek modelowy do prób rozdziału enancjomerycznego z użyciem kapsuły **124**. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁵³

Grupy kwasowe aminokwasów koordynujące do jonów metali wykorzystane zostały do syntezy kapsuły również przez Boera i współpracowników w 2019 roku (Rys. 32).⁵³ Użyli oni liganda **123** o sztywnym rdzeniu, będącego pochodną naftalenodiimidu oraz leucyny, który, po koordynacji do jonów Cu^{2+} , tworzy kapsułę koordynacyjną **124** o stechiometrii $\text{Cu}_{12}\text{L}_{12}$. Strukturę otrzymanej kapsuły autorzy potwierdzili, m.in., z wykorzystaniem NMR oraz rentgenowskiej analizy strukturalnej. Autorzy zaobserwowali również różne profile sorpcji podobnych do siebie gazów (CO_2 , N_2O) w kapsule. Przeprowadzili również próby rozdziału mieszanin racemicznych niedużych cząsteczek w roztworze (sorpcja w kapsule **124**). Najlepsze wyniki otrzymali dla rozdziału racemicznego 2-metylopentano-2,4-diolu **125** w metanolu (nadmiar enancjomeryczny 13%). Możliwa była również zmiana selektywności poprzez zmianę rozpuszczalnika na heptan (nadmiar enancjomeryczny 8,7%). Publikacje te pokazują, że możliwa jest synteza chiralnych kapsuł koordynacyjnych z aminokwasami, jako częściami szkieletu kapsuły, jednak, aby ustabilizować powstałą strukturę, potrzebny do tego jest sztywny blok budulcowy, do którego przyłączone są pojedyncze aminokwasy.

a)



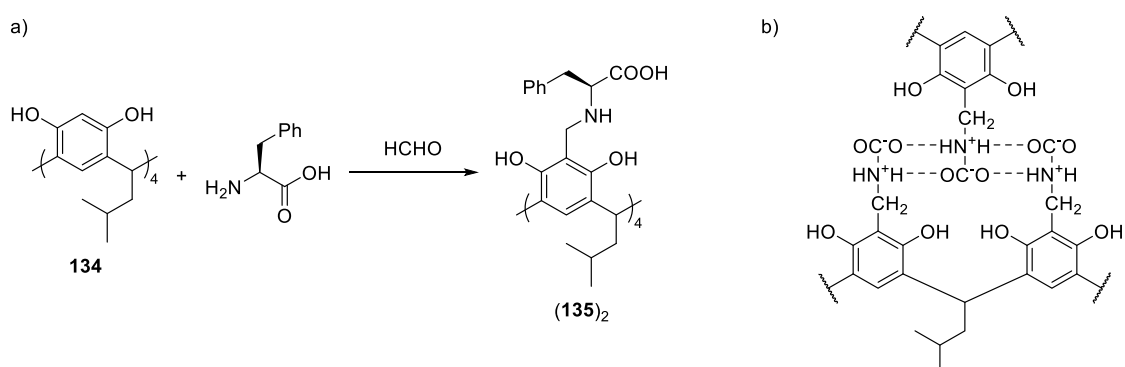
b)



Rys. 33 a) Synteza oraz analiza struktury kapsuły **127**. b) Leki **128-133** poddane enancjoselektywnemu rozdziałowi z użyciem kapsuły **127**. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁵⁴

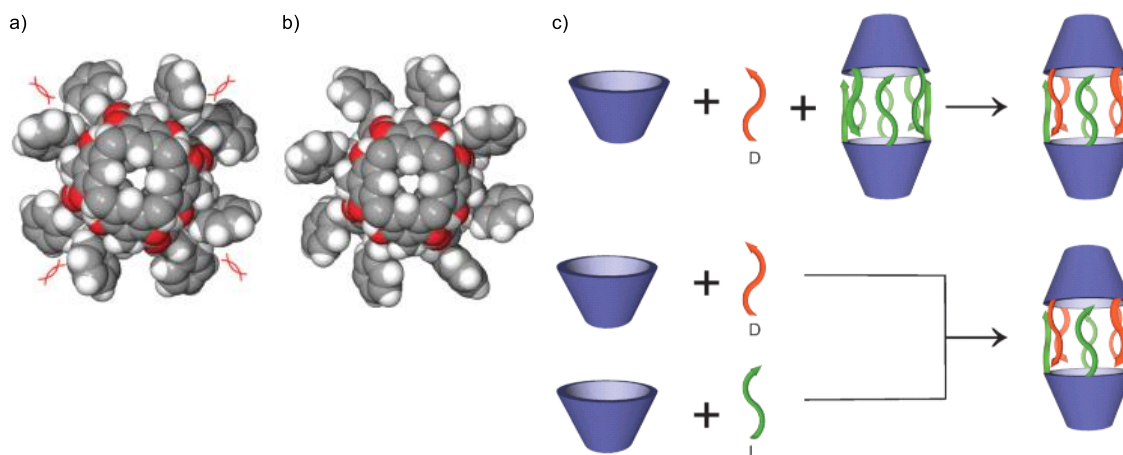
Zhu i współpracownicy otrzymali kapsułę koordynacyjną zbudowaną z pochodnych aminokwasów, którą można wykorzystać do rozdziału mieszanin racemicznych, np. substancji biologicznie aktywnych (Rys. 33).⁵⁴ Do syntezy użyli liganda **126**, który jest pochodną kwasu 1,3,5-benzenotrikarboksylowego podstawionego fenyloalaniną (z użyciem *N*-końca) i który może koordynować do metali poprzez wolne grupy kwasowe aminokwasów. Po reakcji enancjomerycznie czystego liganda **126**, z solą LaCl_3 bądź $\text{La}(\text{NO}_3)_3$, autorzy otrzymali kapsułę koordynacyjną **127**, której strukturę potwierdzili z użyciem rentgenowskiej analizy strukturalnej. Składa się ona z dwóch warstw ligandów **126** skoordynowanych do jonów La^{3+} . Wewnętrzna warstwa zbudowana jest z ligandów w konformacji „zgiętej”, a zewnętrzna warstwa z ligandów w konformacji „rozciągniętej”. Z uwagi na słabą rozpuszczalność otrzymanej kapsuły, autorzy użyli jej jako stałego adsorbenta i wykorzystali do enancjoselektywnego rozdziału. Autorzy otrzymali bardzo dobre wyniki rozdziału alkoholi drugorzędowych

zawierających różne grupy funkcyjne w swojej strukturze (nadmiar enancjomeryczny od 96,6% do 99,9%). Podobnie bardzo dobre wyniki autorzy uzyskali podczas enancjoselektywnego rozdziału 2,3-dihydrochinazolinonów (nadmiar enancjomeryczny od 97,6% do 99,9%). Autorzy sprawdzili również zdolność do rozdziału enancjomerów prostych leków **128-133** o różnych strukturach i z różnymi grupami funkcyjnymi. We wszystkich zbadanych przypadkach autorzy otrzymali bardzo dobre wyniki rozdziału enancjomerycznego (powyżej 99% nadmiaru enancjomerycznego dla każdego z badanych leków). Publikacja ta pokazuje, że możliwe jest wykorzystanie chiralnej kapsuły koordynacyjnej jako adsorbenta przy enancjoselektywnym rozdziale prostych związków chemicznych.



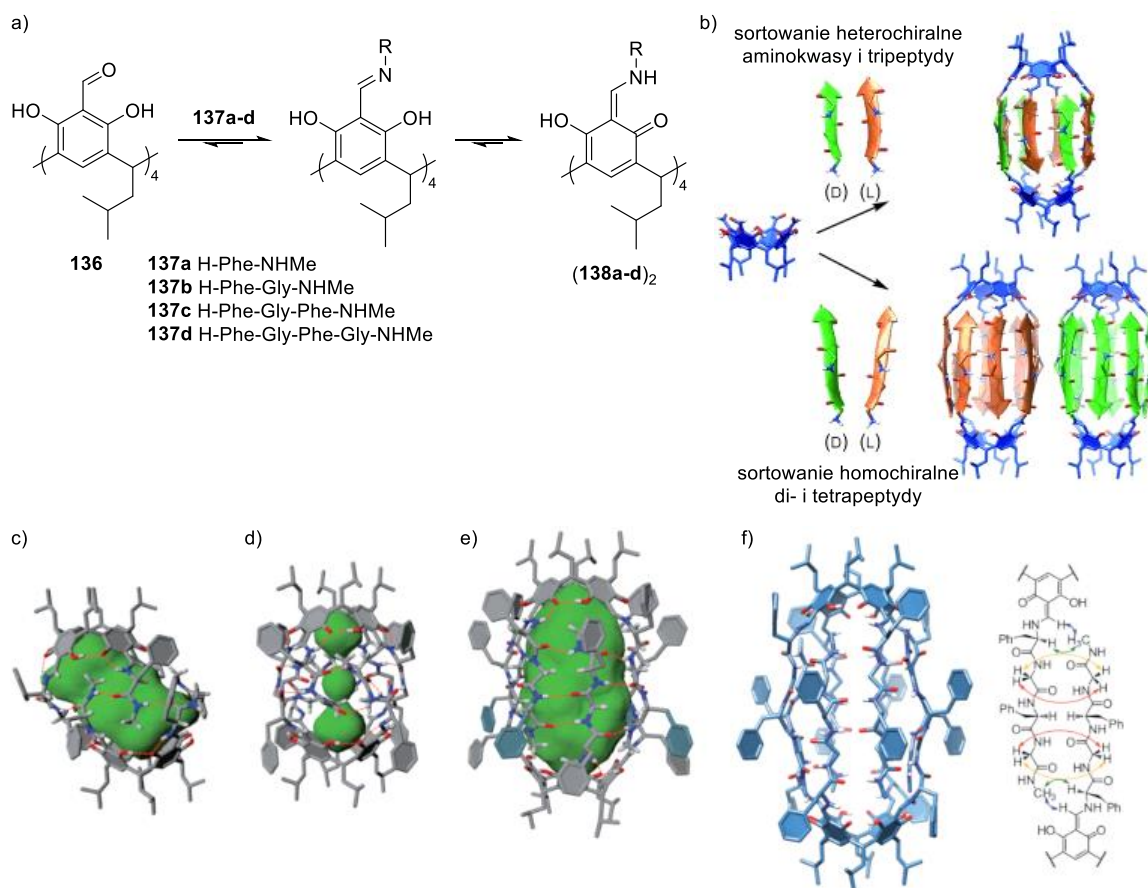
Rys. 34 a) Synteza kapsuły $(\mathbf{135})_2$. b) Motyw wiążący pomiędzy kawitandami występujący w kapsule $(\mathbf{135})_2$.⁵⁵

Zespół Szumnej otrzymał szereg kapsuł molekularnych zawierających aminokwasy i peptydy, wykorzystując różne związki makrocykliczne jako konformacyjnie sztywne bloki budulcowe. Pierwsza z takich kapsuł została otrzymana w 2009 roku z wykorzystaniem reakcji Mannicha (Rys. 34).⁵⁵ Autorzy przeprowadzili reakcję pomiędzy rezorcyn[4]arenem **134**, formaldehydem oraz enancjomerycznie czystą fenyloalaniną otrzymując kapsułę molekularną $(L\text{-}\mathbf{135})_2$ zbudowaną z dwóch homochiralnych kawitandów oddziałujących między sobą za pomocą oddziaływań elektrostatycznych. Struktura została potwierdzona, m.in., z użyciem rentgenowskiej analizy strukturalnej, a we wnętrzu kapsuły, w ciele stałym, obecne były cząsteczki nitrometanu i wody. Autorzy otrzymali również heterochiralną kapsułę $(L\text{-}\mathbf{135})(D\text{-}\mathbf{135})$ zbudowaną z kawitandów o przeciwnych chiralnościach.



Rys. 35 Struktury w ciele stałym kapsuły (**135**)₂ a) homochiralnej, b) heterochiralnej. c) Schemat dwóch podejść do syntezy kapsuł heterochiralnych. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁵⁶

W kolejnej pracy zespół Szumnej przedstawił proces chiralnego samosortowania kapsuł (Rys. 35).⁵⁶ Autorzy próbowali otrzymać kapsuły analogiczne do (**135**)₂, z innymi aminokwasami. Było to możliwe jedynie dla aminokwasów posiadających nierozgałęzioną pozycję β (fenyloalanina, alanina, leucyna). W reakcji z aminokwasami posiadającymi rozgałęzioną pozycję β aminokwasu (walina, izoleucyna) nie było możliwe otrzymanie nawet kawitandu. Po analizie struktury otrzymanych homochiralnych (obydwa kawitandy tworzące kapsułę zawierały aminokwasy o tej samej chiralności) i heterochiralnych (każdy z kawitandów zawierał aminokwasy o przeciwnej chiralności) kapsuł (**135**)₂ stwierdzono, że łańcuchy boczne fenyloalaniny w kapsule homochiralnej generują zawadę steryczną, która nie występuje w kapsule heterochiralnej. Dlatego, autorzy sprawdzili czy możliwy jest proces sortowania pomiędzy dwoma aminokwasami o przeciwnej chiralności (zawierającymi rozgałęzioną pozycję β). Otrzymali w ten sposób szereg nowych heterochiralnych peptydowych kapsuł molekularnych składających się z aminokwasów o różnej chiralności oraz wykazali, że możliwe jest otrzymanie kapsuł heterochiralnych nawet, gdy ich odpowiedniki homochiralne nie powstają. Prace te przedstawiają, po raz pierwszy, możliwość syntezy kapsuł molekularnych, zawierających w swojej strukturze aminokwasy, opartych wyłącznie na organicznych blokach budulcowych.

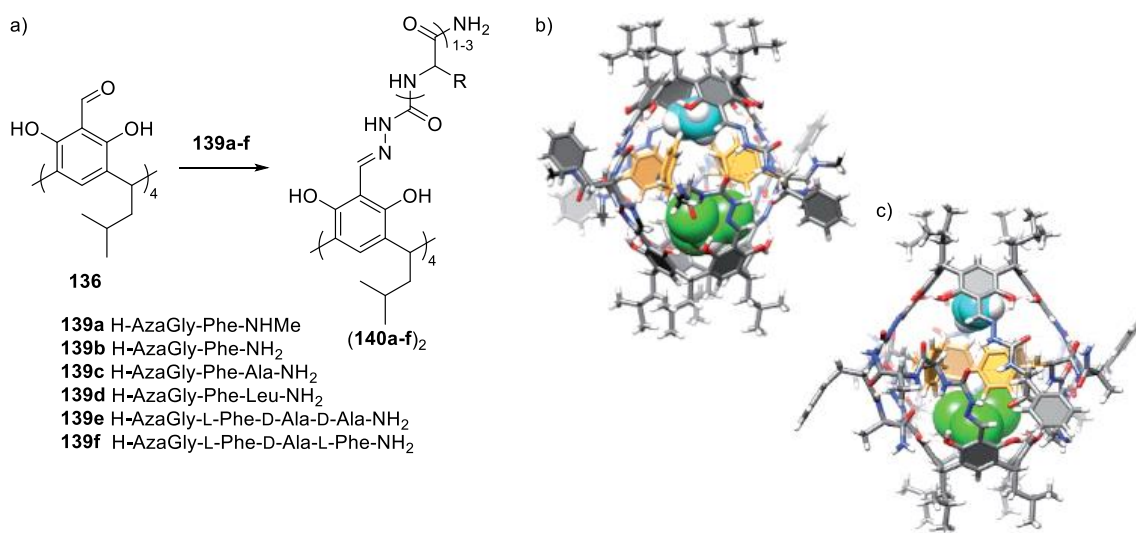


Rys. 36 a) Synteza kapsuł (**138a-d**)₂ z amidów metylowych **137a-d**. b) Schemat sortowania kawitandów w trakcie asocjacji do kapsuł molekularnych zależnie od długości użytego amidu metylowego **137a-d**. Struktury w ciele stałym kapsuł: c) (L-**137a**)(D-**137a**), d) (L-**137b**)₂, e) (L-**137c**)(D-**137c**). f) Model kapsuły (L-**137d**)₂ z zaznaczonym motywem wiążącym na podstawie widm ROESY NMR. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁵⁸

Po otrzymaniu w 2013 roku przez Grajdę i współpracowników tetraformylrezorcyn[4]arenu **136**,⁵⁷ zespół Szumnej otrzymał szereg peptydowych kapsuł molekularnych wykorzystując odwracalny charakter wiązania pomiędzy aminokwasami i peptydami a grupą aldehydową związku makrocyklicznego. Pierwsza praca była poświęcona syntezie kapsuł molekularnych z pochodnych aminokwasów i peptydów przyłączonych z użyciem wiązania iminowego (Rys. 36).⁵⁸ Autorzy otrzymali szereg aminokwasów **137a** i krótkich peptydów **137b-d** (do 4 reszt aminokwasowych) z wolnym *N*-końcem oraz amidem metylowym na *C*-końcu. Po reakcji tetraformylrezorcyn[4]arenu **136** ze związkami **137a** i **137c** autorzy otrzymali kawitandy, odpowiednio, **138a** i **138c**, natomiast po reakcji ze związkami **137b** i **137d** autorzy otrzymali dimeryczne kapsuły molekularne, odpowiednio, (**138b**)₂ i (**138d**)₂. Po analizie widm NMR otrzymanych związków, autorzy stwierdzili, że większość otrzymanych związków (zarówno kawitandów, jak i kapsuł molekularnych) występuje w formie keto-enaminowej. Po reakcji grupy aminowej peptydów z grupą aldehydową

związku makrocyklicznego powstaje wiązanie iminowe przyłączone w pozycji 2- do fenolu (ugrupowanie enolo-iminowe), które następnie ulega tautomerizacji do formy keto-enaminowego.

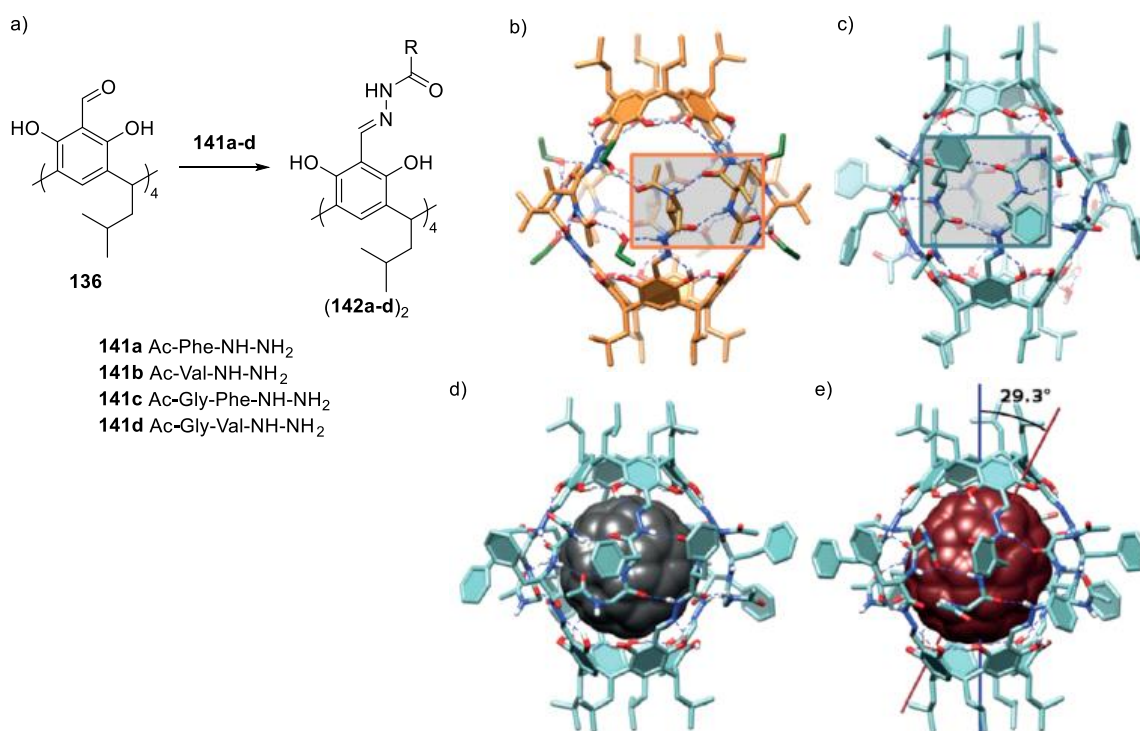
Po dalszych badaniach, z użyciem mieszanin racemicznych aminokwasów **137a** i peptydów **137b-d**, autorzy stwierdzili, że pochodne pojedynczych aminokwasów oraz tripeptydów, w reakcji z tetraformylrezorcyn[4]arenem **136** tworzą wyłącznie kapsuły heterochiralne, a pochodne di- oraz tetrapeptydów tworzą mieszaninę dwóch kapsuł homochiralnych. Otrzymane w ten sposób dimeryczne kapsuły molekularne posiadały w pełni komplementarny motyw wiążący (wiązania wodorowe na całej długości łańcuchów peptydowych). Posiadały również podłużną lukę w swoim wnętrzu, której rozmiar zwiększał się wraz z wydłużaniem przyłączanych peptydów. Nie zaobserwowano jednak kompleksowania żadnych związków, poza cząsteczkami rozpuszczalników, wewnątrz otrzymanych kapsuł. Struktury kapsuł zawierających od jednego aminokwasu do tripeptydu autorzy potwierdzili z wykorzystaniem rentgenowskiej analizy strukturalnej, a dla największej kapsuły (z tetrapeptydu) przedstawili model oparty na korelacjach, które zaobserwowali na podstawie widma ROESY NMR (Rys. 36).



Rys. 37 a) Synteza kapsuł **(140a-f)₂** z azapeptydów **139a-f**. Struktury w ciele stałym kapsuł, w których łańcuchy boczne peptydów skierowane są do wnętrza kapsuł b) **(140a)₂**, c) **(140c)₂**. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁵⁹

Ponieważ liczne próby kompleksowania gości w kapsułach z łącznikiem enaminowym (iminowym) wykazały ich niestabilność podczas kompleksowania, w kolejnej pracy zespół Szumnej zamienił łącznik pomiędzy peptydami a blokiem makrocyklicznym z enaminowego na semikarbazonowy, w celu modyfikacji geometrii i stabilności otrzymywanych kapsuł (Rys. 37).⁵⁹ Autorzy otrzymali szereg azapeptydów

139a-k o różnej długości (od dwóch do czterech aminokwasów) i różnej chiralności oraz przyłączyli je do tetraformylorezorcyn[4]arenu otrzymując kapsuły molekularne (**140a-k**)₂. Autorzy potwierdzili struktury kapsuł z wykorzystaniem rentgenowskiej analizy strukturalnej. Wykorzystali również szereg obliczeń kwantowo-mechanicznych, które potwierdziły, że kapsuły te mają podobną strukturę w roztworze, jak w ciele stałym. Modyfikacje chiralności i długości łączników miały na celu otrzymanie kapsuł z łańcuchem bocznym peptydów skierowanym do wnętrza kapsuły, co miało na celu naśladowanie miejsc aktywnych enzymów. Po analizie struktury w ciele stałym dwóch kapsuł (**140a**)₂ oraz (**140d**)₂ autorzy zaobserwowali, że, zgodnie z założeniami, łańcuchy boczne aminokwasów skierowane są do środka kapsuły, a nie jak we wcześniej obserwowanych kapsułach jedynie na zewnątrz kapsuły. Praca ta pokazuje, że możliwa jest synteza peptydowych kapsuł molekularnych z grupami bocznymi skierowanymi do wnętrza kapsuły, co powoduje powstawanie dodatkowych miejsc oddziałujących z cząsteczkami gości we wnętrzu kapsuły oraz umożliwia wprowadzenie funkcji katalitycznych do wnętrza kapsuły.



Rys. 38 a) Synteza kapsuł (**142a-d**) z hydrazydów **141a-d**. Struktury w ciele stałym: b) kapsuły (**142b**)₂, c) kapsuły (**142c**)₂, d) kompleksu (**142a**)₂⊃C₆₀, e) kompleksu (**142a**)₂⊃C₇₀. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁶⁰

W trakcie realizacji mojej pracy inżynierskiej w zespole Szumnej zajmowałem się syntezą kapsuł z peptydami przyłączonymi poprzez C-koniec do bloku makrocyclicznego

(poprzednie prace prowadzone w grupie Szumnej obejmowały peptydy przyłączone *N*-końcem). Otrzymałem peptydowe kapsuły molekularne z łącznikiem acylohydrazonowym oraz ich kompleksy z fulerenami (Rys. 38).⁶⁰ Do syntezy kapsuł wykorzystałem hydrazydy aminokwasów **141a-b** i dipeptydów **141c-d**. Zamiana kierunku przyłączenia aminokwasu bądź peptydu spowodowała zmianę geometrii kapsuły, ponieważ łącznik acylohydrazonowy ma większą długość niż łącznik enaminyowy, ale jest krótszy niż łącznik semikarbazonowy. Po reakcji enancjomerycznie czystych hydrazydów **141a-d** z tetraformylrezorcyn[4]arenem **136** otrzymałem szereg homochiralnych kapsuł molekularnych (**142a-d**)₂, których struktury potwierdziłem z wykorzystaniem widm NMR oraz spektrometrii mas. Dodatkowo określiłem struktury w cieple stałym kapsuł (**142b**)₂ i (**142c**)₂ (Rys. 38). Podjąłem również próby kompleksowania gości we wnętrzu kapsuł. Otrzymałem kompleksy z fulerenami C₆₀ i C₇₀ dla części kapsuł jedynie po dodaniu gości do reakcji syntezy kapsuł. Dodanie gości do roztworu wcześniej otrzymanych kapsuł nie prowadziło do powstania kompleksów. Jednak podczas mielenia w młynie kulowo-planetarnym cząsteczek gości z wcześniej otrzymaną kapsułą obserwowałem częściowe powstawanie kompleksów. Struktury kompleksów (**142a**)₂⊃C₆₀ i (**142a**)₂⊃C₇₀ potwierdziłem z wykorzystaniem rentgenowskiej analizy strukturalnej (Rys. 38).

3. BADANIA WŁASNE

Przedstawione w części literaturowej prace wskazują, że aminokwasy i peptydy mogą być wykorzystane do syntezy różnych kapsuł, zarówno czysto organicznych, jak i koordynacyjnych. Mają jednak swoje ograniczenia, związane głównie z labilnością konformacyjną i stabilnością. Mają też wiele potencjalnych możliwości, np. jako nanokatalizatory (dzięki funkcjonalnym łańcuchom bocznym) lub kapsuły dopasowujące swój kształt do wielkości gościa (dzięki labilności konformacyjnej). Możliwości te pozostają ciągle dość mało poznane i wykorzystywane. Kapsuły molekularne oparte na hydrazonach peptydów, które otrzymałem w trakcie wykonywania pracy inżynierskiej (opisane w publikacji, przedstawionej jako ostatnia w części literaturowej) oraz odkryta przeze mnie mechanochemiczna enkapsulacja gości stały się punktem wyjścia do dalszych badań wykonanych w ramach pracy doktorskiej. Szczególnie interesujące było zbadanie stabilności nowego motywu wiążącego występującego w tych kapsułach w różnych warunkach oraz określenie możliwości kontrolowanego otwierania kapsuł. Dodatkowo, postanowiłem sprawdzić możliwości dalszego rozszerzenia tematyki w kierunku kapsuł o powiększonej luce i opartych na innym motywie wiążącym.

Jako pierwsze zadanie postawiłem sobie wyjaśnienie mechanizmu mechanochemicznej enkapsulacji fulerenów we wnętrzu kapsuł peptydowych. Mechanizm ten, ze względu na ograniczoną możliwość translacji cząsteczek w ciele stałym, jest z fizykochemicznego punktu widzenia nietrywialny. Przegląd literatury wskazuje, że badania mechanochemicznej enkapsulacji nie były wcześniej prowadzone.

Jako drugie zadanie postawiłem sobie sprawdzenie trwałości kapsuł w zależności od środowiska (roztwór/ciało stałe, środowisko polarne/niepolarne). W trakcie tych badań stanąłem przed problemem z określeniem stopnia samoasocjacji i struktury II-rzędowej kapsuły, dlatego przeprowadziłem badania możliwości wykorzystania różnych technik spektralnych poparte obliczeniami kwantowo-mechanicznymi.

W następnym etapie pracy zainteresowałem się, jakie są właściwości i dynamika gości w luce takich kapsuł. Tę część pracy, jako że wymagała technik niedostępnych w naszym laboratorium, wykonałem we współpracy.

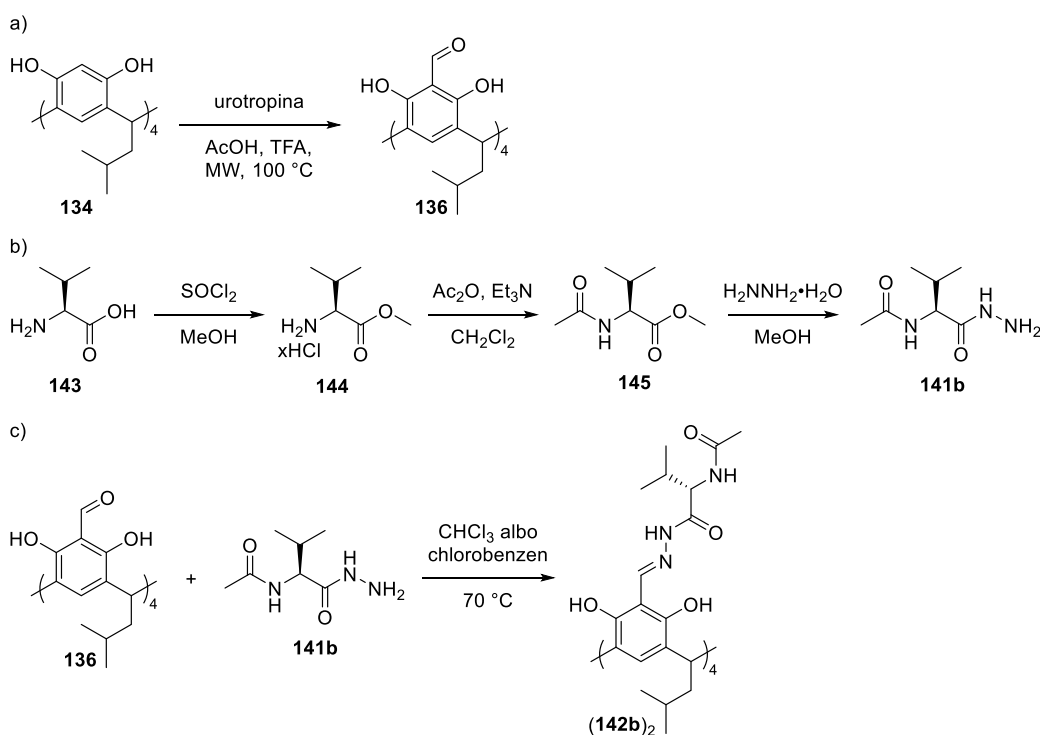
W kolejnych etapach pracy sprawdziłem również możliwości otrzymania hydrazonowych kapsuł peptydowych o powiększonej i zmodyfikowanej luce oraz sprawdziłem, jak modyfikacje używanych hydrazydów aminokwasów i peptydów wpływają na strukturę otrzymanych kapsuł. Możliwości te badałem poprzez wydłużenie

łańcucha peptydowego lub zmianę grupy terminalnej obecnej na *N*-końcu hydrazynu. Alternatywną strategią była próba wykorzystania wiązań koordynacyjnych do modyfikacji geometrii i motywu wiążącego kapsuły.

Wszystkie badania prowadziłem z użyciem pochodnych L-aminokwasów.

3.1. Badania mechanizmu mechanochemicznej enkapsulacji

Z badań przeprowadzonych wcześniej przeze mnie, w trakcie wykonywania pracy inżynierskiej w zespole Szumnej, wiadomo było, że kapsuły **(142a)₂** i **(142b)₂** nie tworzą kompleksów z fulerem C₆₀ **(142a)₂⊃C₆₀** i **(142b)₂⊃C₆₀** podczas klasycznego procesu kompleksowania w roztworze, obejmującego dodanie fulerenu do roztworu wcześniej otrzymanej kapsuły. Kompleksy te mogą jednak być otrzymane, gdy fuleren zostanie dodany do reakcji podczas syntezy kapsuł lub wcześniej otrzymana kapsuła zostanie zmielona z fulerem, a następnie rozpuszczona. Obserwacje te pozwalają przypuszczać, że bariera aktywacji tworzenia kompleksów w roztworze jest wysoka. Jednocześnie, mielenie kapsuły z fulerem pozwala na pokonanie tej bariery. Mechanizm mechanochemicznej enkapsulacji jest nieoczywisty, biorąc pod uwagę inercyjność chemiczną kapsuły i gościa (brak reaktywnych grup) oraz ograniczoną mobilność cząsteczek w ciele stałym (brak translacji cząsteczek, która umożliwiłaby przemieszczenie fulerenu do wnętrza kapsuły). Dlatego podjąłem próbę wyjaśnienia jak dokładnie przebiega ten proces – na jakim etapie zachodzi kompleksowanie fulerenu: czy na etapie mielenia go razem z kapsułą, czy na etapie rozpuszczania zmielonej wcześniej mieszaniny; oraz w jaki sposób dostarczana jest energia umożliwiająca pokonanie bariery aktywacji.



Rys. 39 Synteza: a) tetraformylzinc[4]arenu **136**, b) hydrazidu *N*-acetylo-*L*-waliny **141b**, c) związku **142b** występującego w formie kapsuły **(142b)₂**.

Do badań mechanistycznych wybrałem kapsułę (**142b**)₂ otrzymaną z hydrazynu waliny **141b**, ponieważ łańcuchy boczne tego aminokwasu nie wykazują absorpcji w diagnostycznym zakresie widma UV (>250 nm), w przeciwieństwie do łańcuchów bocznych fenyloalaniny. Kapsułę (**142b**)₂ otrzymałem według opracowanej wcześniej przeze mnie procedury poprzez reakcję tetraformylorezorcyn[4]arenu **136** z hydrazidem **141b**.⁶⁰ Tetraformylorezorcyn[4]aren **136** otrzymałem według procedury opracowanej wcześniej przez zespół Szumnej (Rys. 39a).⁵⁷ W tym celu rezorcyn[4]aren **134** poddałem reakcji formylowania Duffa z urotropiną w mieszaninie kwasów octowego i trifluorooctowego (1:1, v:v) w reaktorze mikrofalowym w temperaturze 100 °C przez 15 min. Po hydrolizie, produkt **136** wydzieliłem przez ekstrakcję i wytracanie z wydajnością 45%. Hydrazyn **141b** otrzymałem według wcześniej opracowanej przeze mnie procedury (Rys. 39b)⁶⁰ z L-waliny **143**, poprzez reakcję z chlorkiem tionylu w metanolu otrzymując chlorowoderek estru metylowego L-waliny **144**. Następnie otrzymany związek **144** poddałem reakcji z bezwodnikiem octowym w obecności trietyloaminy otrzymując ester metylowy *N*-acetylo-L-waliny **145**. Ostatnim etapem była reakcja estru **145** z wodnym roztworem hydrazyny prowadząca do otrzymania hydrazynu *N*-acetylo-L-waliny **141b** z całościową wydajnością 32%. Kapsułę (**142b**)₂ otrzymałem w reakcji tetraformylorezorcyn[4]arenu **136** z hydrazidem **141b** w chloroformie (Rys. 39c). Po 18 godzinach reakcji w zamkniętym naczyniu w temperaturze 70 °C otrzymałem produkt (**142b**)₂ z ilościową wydajnością.

Jako gościa do badań kompleksowania użyłem fulerenu C₆₀, który jest powszechniejszy, łatwiej dostępny i tańszy niż fuleren C₇₀ oraz posiada tylko jeden sygnał na widmie ¹³C NMR. W eksperymentach wstępnych (opublikowanych wcześniej)⁶⁰ wykorzystywałem standardowy rozpuszczalnik (chloroform) do rozpuszczania i analizy próbki po eksperymentach mechanochemicznej enkapsulacji. Jednak rozpuszczalność fulerenu C₆₀ w chloroformie jest bardzo niska (0,16 mg ml⁻¹) i nie jest wystarczająca do rozpuszczenia całej porcji używanej do kompleksowania. Dlatego, aby wykluczyć efekty związane z rozpuszczalnością w aktualnych badaniach mechanistycznych konieczna była zmiana rozpuszczalnika. Wybrałem chlorobenzen ze względu na dobrą rozpuszczalność fulerenu C₆₀ (7 mg ml⁻¹)⁶¹ i dostępność tego rozpuszczalnika w formie deuterowanej do badań NMR. Badania podzieliłem na pięć etapów:

1. Eksperymenty kompleksowania w roztworze
2. Mechanochemiczne eksperymenty kompleksowania

3. Mechanochemiczna synteza kapsuł
4. Badanie struktury kapsuły otrzymanej w sposób mechanochemiczny
5. Eksperymenty kontrolne.

Wyniki zebrałem w Tabela 2.

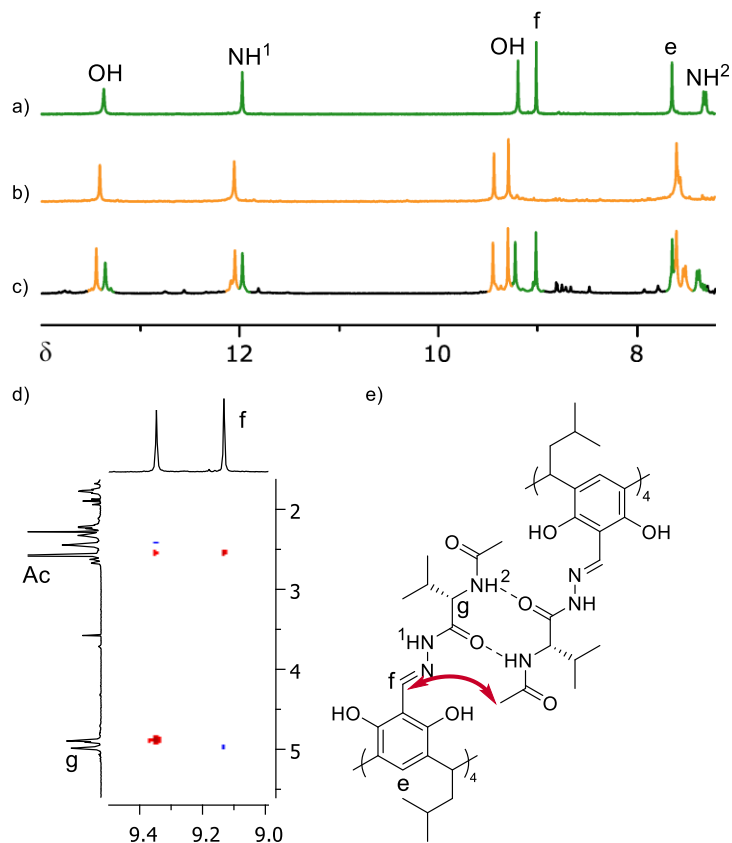
Tabela 2 Przeprowadzone eksperymenty kompleksowania fulerenu C₆₀ wewnątrz kapsuły (142b)₂.

	Substraty	Warunki	Ekw.	Wydajność kompleksowania	
				Próba 1 / %	Próba 2 / %
1	136 + 141b + C ₆₀	CB (70 °C, 1 dzień)	2:8:1	100	100
2	(142b) ₂	C ₆₀ w CB (t. pok., 1 dzień)	2:1	0	0
3	(142b) ₂	C ₆₀ w CB (t. pok., 7 dni)	2:1	0	0
4	(142b) ₂	C ₆₀ w CB (70 °C, 1 dzień)	2:1	50	50
5	(142b) ₂	C ₆₀ w CB (70 °C, 7 dni)	2:1	58	53
6	(142b) ₂	C ₆₀ w CB (t. pok., 6 kbar, 1 dzień)	2:1	0	0
7	(142b) ₂ + C ₆₀	ciśnienie (6 kbar, 1 godz.)	2:1	0	0
8	(142b) ₂	C ₆₀ w CB (t. pok., ultradźwięki, 2 godz.)	2:1	0	0
9	(142b) ₂ + C ₆₀	1) mielenie (1 godz.) 2) CB	2:1	43	50
10	(142b) ₂ + C ₆₀	1) mielenie (2 godz.) 2) CB	2:1	43	45
11	(142b) ₂ + C ₆₀	1) mielenie (1 godz.) 2) CB	1:1	43	53
12	(142b) ₂	1) mielenie (1 godz.) 2) C ₆₀ w CB	2:1	12	14
13	(142b) ₂	1) mielenie (2 godz.) 2) C ₆₀ w CB	2:1	14	22
14	(142b) ₂ , C ₆₀	1) osobne mielenie (1 godz. każdy) 2) połączenie proszków 3) CB	2:1	18	11
15	(142b) ₂	1) grzanie (50 °C, 10 mbar, 18 godz.) 2) C ₆₀ w CB	2:1	0	0
16	(142b) ₂ + C ₆₀	1) grzanie (70 °C, 1 dzień) 2) CB	2:1	0	0
17	136 + 141b + C ₆₀	1) mielenie (1 godz.) 2) CB	2:8:1	87	86
18	<i>mill</i> -(142b) ₂	1) mielenie (1 godz.) 2) C ₆₀ w CB	2:1	41	40
19	<i>mill</i> -(142b) ₂ + C ₆₀	1) mielenie (1 godz.) 2) CB	2:1	64	55

CB – rozpuszczenie w chlorobenzenie

3.1.1. Eksperymenty kompleksowania w roztworze

Zmiana rozpuszczalnika może znacząco wpłynąć na stabilność kapsuły oraz na termodynamikę i kinetykę kompleksowania, dlatego na początku sprawdziłem, czy w chlorobenzenie kawitand **142b** wykazuje podobne właściwości, jak w chloroformie, tzn.: wykazuje dobrą rozpuszczalność oraz występuje jako dimeryczna kapsuła molekularna $(142b)_2$; kapsuła $(142b)_2$ nie kompleksuje fulerenu C_{60} w roztworze, natomiast kompleksuje go, jeśli gość jest dodany podczas syntezy kapsuły.



Rys. 40 Częściowe widma 1H NMR: a) kapsuły $(142b)_2$ z przypisaniem sygnałów, b) kompleksu $(142b)_2 \cdot C_{60}$, c) mieszaniny stechiometrycznej kapsuły $(142b)_2$ oraz kompleksu $(142b)_2 \cdot C_{60}$, d) ROESY NMR kapsuły $(142b)_2$ (chlorobenzen- d_5 , 298 K, 600 MHz). e) Proponowany motyw wiążący z zaznaczonymi oddziaływaniami widocznymi na widmie ROESY NMR kapsuły $(142b)_2$. Rysunek częściowo zaadaptowany z publikacji.⁶³

Stwierdziłem, że rozpuszczalność związku **142b** w chlorobenzenie jest bardzo dobra (co najmniej taka sama jak w chloroformie) oraz, na podstawie dwuwymiarowych widm NMR, stwierdziłem, że w chlorobenzenie związek **142b** występuje w formie dimerycznej kapsuły molekularnej $(142b)_2$, podobnie jak w chloroformie. Na widmie ROESY NMR kapsuły $(142b)_2$ w chlorobenzenie obecne były sygnały korelacyjne pomiędzy sygnałem grupy acylohydrazonowej a sygnałem grupy acetylowej (Rys. 40),

które występowały również na widmie kapsuły **(142b)₂** zmierzonym w chloroformie i są charakterystyczne dla dimerycznej kapsuły molekularnej.

Następnie przeprowadziłem próbę kompleksowania fulerenu C₆₀ we wnętrzu wcześniej otrzymanej kapsuły **(142b)₂**. W temperaturze pokojowej nie zaobserwowałem powstawania kompleksu **(142b)₂**⊃C₆₀ zarówno po jednym dniu (poz. 2 Tabela 2), jak i po siedmiu dniach (poz. 3 Tabela 2). Wyniki te świadczą o tym, że w chlorobenzenie kompleks nie powstaje poprzez dysocjację wcześniej otrzymanej dimerycznej kapsuły **(142b)₂** na kawitandy.

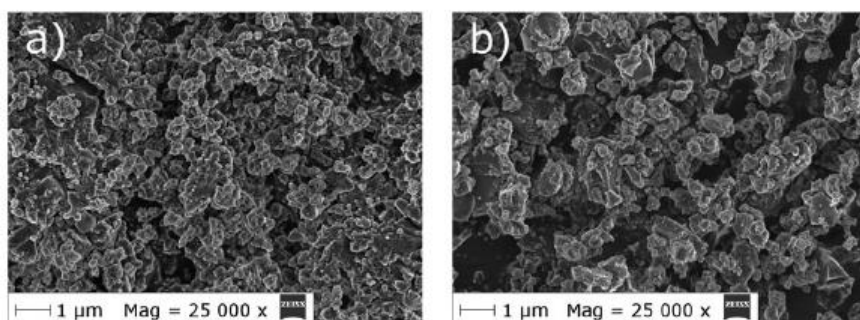
Kolejnym krokiem było przeprowadzenie reakcji pomiędzy tetraformylorezorcyn[4]arenem **136** i hydrazidem **141b** w obecności fulerenu C₆₀ w chlorobenzenie. Po dniu reakcji w temperaturze 70 °C otrzymałem kompleks **(142b)₂**⊃C₆₀ z ilościową wydajnością (poz. 1 Tabela 2). Widma kapsuły **(142b)₂** oraz kompleksu **(142b)₂**⊃C₆₀ w chlorobenzenie różnią się między sobą (podobnie jak w chloroformie). Widmo ¹H NMR mieszaniny kapsuły **(142b)₂** i kompleksu **(142b)₂**⊃C₆₀ w chlorobenzenie ma dwa zestawy sygnałów (Rys. 40), co świadczy o wolnej wymianie w skali czasu NMR. Te obserwacje pozwalają na jednoznaczne określenie na podstawie widm ¹H NMR wydajności reakcji kompleksowania. Jako sygnały diagnostyczne wybrałem sygnały pochodzące od protonów iminowych kapsuły i kompleksu (proton *f*), które posiadają na widmach ¹H NMR przesunięcia 9,02 ppm (pochodzący od kapsuły **(142b)₂**) i 9,31 ppm (pochodzący od kompleksu **(142b)₂**⊃C₆₀). Porównanie intensywności tych sygnałów pozwoliło mi na określenie wydajności tworzenia kompleksu **(142b)₂**⊃C₆₀. Dodatkowo, sprawdziłem również, czy możliwe jest otrzymanie kompleksu **(142b)₂**⊃C₆₀ w warunkach, w których następuje zrywanie wiązań hydrazydowych. W tym celu mieszałem wcześniej otrzymaną kapsułę **(142b)₂** z fulerem C₆₀ w chlorobenzenie w temperaturze 70 °C. Po 18 godzinach otrzymałem kompleks **(142b)₂**⊃C₆₀ z wydajnością 50% (poz. 4 Tabela 2). Wydłużenie czasu reakcji do siedmiu dni nie spowodowało wzrostu wydajności powstawania kompleksu (55,5%, poz. 5 Tabela 2).

Przedstawione powyżej wyniki badań w chlorobenzenie wskazują, że kompleks **(142b)₂**⊃C₆₀ powstaje jedynie poprzez zrywanie wiązań hydrazydowych (podczas syntezy kapsuły lub w podwyższonej temperaturze), a kompleksowanie w roztworze poprzez dysocjację dimerycznej kapsuły na kawitandy nie zachodzi.

3.1.2. Mechanochemiczne eksperymenty kompleksowania

Wszystkie eksperymenty mechanochemicznego kompleksowania prowadziłem w młynie kulowo-planetarnym przy prędkości obrotowej 500 obr. min⁻¹ przez jedną godzinę (jeśli nie zaznaczono inaczej) oraz powtarzałem dwukrotnie i uśredniałem wyniki. Eksperymenty prowadziłem używając do kompleksowania 10 mg kapsuły (**142b**)₂. Próbkę po mieleniu rozpuszczałem bezpośrednio w naczyniu reakcyjnym w 0,7 ml chlorobenzenu-d₅. Jeśli po 15 min od dodania rozpuszczalnika obecny był osad odwirowywałem próbkę.

Pierwszym etapem było sprawdzenie czy po mieleniu kapsuły (**142b**)₂ otrzymanej wcześniej w roztworze z fulerem C₆₀ i rozpuszczeniu w chlorobenzenu powstanie kompleks (**142b**)₂⊃C₆₀ analogicznie do procesu zachodzącego w chloroformie. Po analizie widm ¹H NMR stwierdziłem, że kompleks powstał z wydajnością 46,5% (poz. 9 Tabela 2). Zatem, mimo tego, że po rozpuszczeniu substratów w chlorobenzenu kompleks nie powstaje nawet po 7 dniach w temperaturze pokojowej, po zmieleniu ze sobą substratów i rozpuszczeniu w chlorobenzenu tworzy się kompleks.



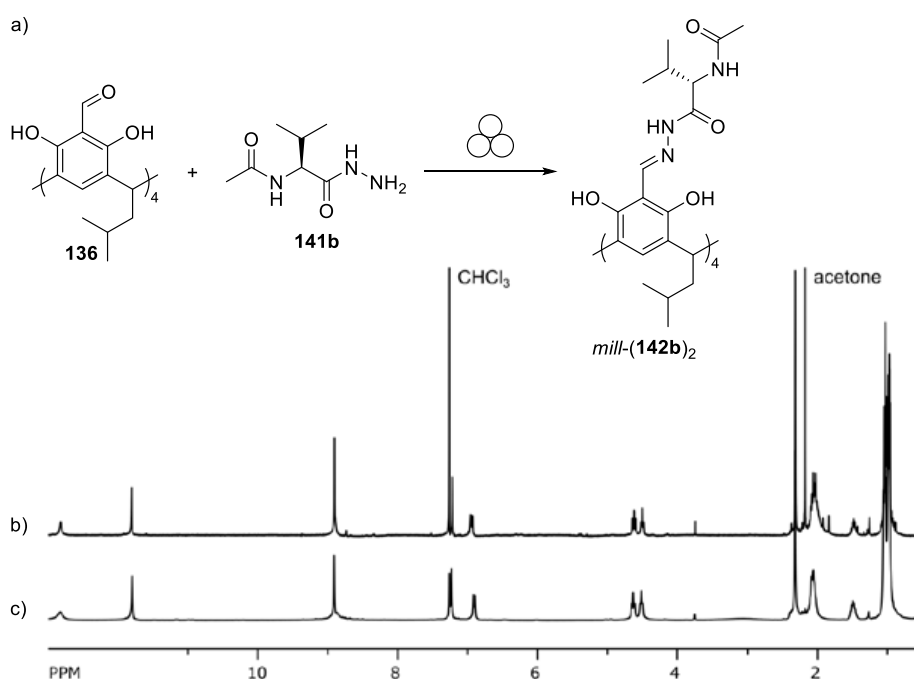
Rys. 41 Zdjęcia SEM próbek kapsuły (**142b**)₂ otrzymanej w roztworze po mieleniu w młynie kulowo-planetarnym przez: a) jedną godzinę, b) dwie godziny. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁶³

Następnie, sprawdziłem czy wydłużenie czasu mielenia ma wpływ na wydajność kompleksowania. Przeprowadziłem eksperyment mielenia kapsuły (**142b**)₂ z fulerem C₆₀ przez dwie godziny (poz. 10 Tabela 2). Po tym czasie uzyskałem wydajności kompleksowania porównywalne, jak po mieleniu przez jedną godzinę (46,5% po jednej godzinie i 44% po dwóch godzinach). Zostały również wykonane zdjęcia SEM kapsuły (**142b**)₂ po mieleniu przez jedną oraz dwie godziny. Na zdjęciach nie zaobserwowałem istotnej różnicy w wielkości powstających cząstek (Rys. 41). Sprawdziłem również, czy dodanie nadmiaru gościa wpłynie na wydajność procesu kompleksowania (poz. 11 Tabela 2). Po zmieleniu kapsuły (**142b**)₂ z fulerem C₆₀ w stosunku stechiometrycznym 1:2 otrzymałem kompleks (**142b**)₂⊃C₆₀ z wydajnością 48% (porównywalną do mielenia

w stosunku 1:1 – 46,5%). Po analizie powyższych wyników stwierdziłem, że modyfikacja warunków mielenia nie wpływa zasadniczo na wydajność tworzenia kompleksu, zatem możliwe jest, że proces kompleksowania nie zachodzi w trakcie mielenia tylko później, w momencie rozpuszczania próbki.

Postawiłem hipotezę, że mielenie peptydowej kapsuły niszczy jej strukturę II-rzędową (system wiązań wodorowych oraz uporządkowany układ „ramion”), co sprawia, że jest ona mniej stabilna i bardziej porowata, co umożliwia penetrację cząsteczek gościa (w tym wypadku fulerenu C_{60}) do wnętrza kapsuły podczas rozpuszczania mieszaniny kapsuły oraz gościa. Dla potwierdzenia tej hipotezy przeprowadziłem eksperymenty, w których kapsuła **(142b)₂** oraz fuleren nie miały ze sobą kontaktu w trakcie mielenia. Zmiliłem samą kapsułę przez godzinę (poz. 12 Tabela 2) i przez dwie godziny (poz. 13 Tabela 2), po czym rozpuściłem je w roztworach fulerenu C_{60} w chlorobenzenu. Zmiliłem również osobno kapsułę **(142b)₂** i fuleren C_{60} , a następnie połączyłem proszki i rozpuściłem (poz. 14 Tabela 2). W każdym przypadku zaobserwowałem powstawanie kompleksu **(142b)₂⊃C₆₀** (13% – 18%). Wyniki te wskazują, że rzeczywiście kompleksowanie zachodzi w momencie rozpuszczania mieszaniny, ale sugerują też, że na wydajność ma wpływ również proces mielenia składników razem, dzięki czemu można uzyskać lepszy kontakt pomiędzy cząsteczkami kapsuły i fulerenu.

3.1.3. Mechanochemiczna synteza kapsuły



Rys. 42 a) Synteza kapsuły (**142b**)₂ w sposób mechanochemiczny. Widma ¹H NMR kapsuły (**142b**)₂ otrzymanej: b) w roztworze, c) mechanochemicznie (CDCl₃, 298 K, 400 MHz). Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁶³

Założyłem, że jeśli w trakcie mielenia kapsuły (**142b**)₂ otrzymanej wcześniej w roztworze możliwe jest zaburzenie jej struktury II-rzędowej, to kapsuła *mill*-(**142b**)₂ otrzymana bezpośrednio w sposób mechanochemiczny, bez kontaktu z rozpuszczalnikiem, może nie mieć w ogóle zdefiniowanej struktury II-rzędowej (w ciele stałym jest mniejsza mobilność cząsteczek i osiągnięcie konformacji o najniższej energii często zajmuje więcej czasu niż w roztworach). Zatem, kapsuła *mill*-(**142b**)₂ otrzymana w sposób mechanochemiczny powinna wykazywać lepsze właściwości kompleksujące, w porównaniu do kapsuły (**142b**)₂ otrzymanej w roztworze ze względu na zaburzoną strukturę II-rzędową. Dla ułatwienia rozróżnienia kapsuły otrzymanej w roztworze i w sposób mechanochemiczny, postanowiłem kapsułę otrzymaną w sposób mechanochemiczny przed jej kontaktem z rozpuszczalnikiem oznaczać *mill*-(**142b**)₂.

Podjąłem próbę syntezy kapsuły *mill*-(**142b**)₂, na drodze reakcji mechanochemicznej (Rys. 42a). W tym celu poddałem mieleniu mieszaninę tetraformylzocyn[4]arenu **136** oraz hydrazidu **141b** w młynie kulowo-planetarnym z prędkością 500 obr. min⁻¹ w czasie jednej godziny. Po tym czasie (po rozpuszczeniu) otrzymałem z wydajnością ilościową kapsułę (**142b**)₂, co potwierdziłem z użyciem widm ¹H NMR (Rys. 42b-c). Należy podkreślić, że synteza kapsuły w młynie jest znacznie

bardziej ekonomiczna niż w roztworze. Synteza kapsuły w roztworze trwała 24 godziny oraz wymagała temperatury 70 °C, natomiast reakcja w młynie przebiegała w czasie jednej godziny w temperaturze pokojowej bez użycia rozpuszczalnika, a po rozpuszczeniu otrzymywana jest kapsuła $(142b)_2$ o takiej samej strukturze.

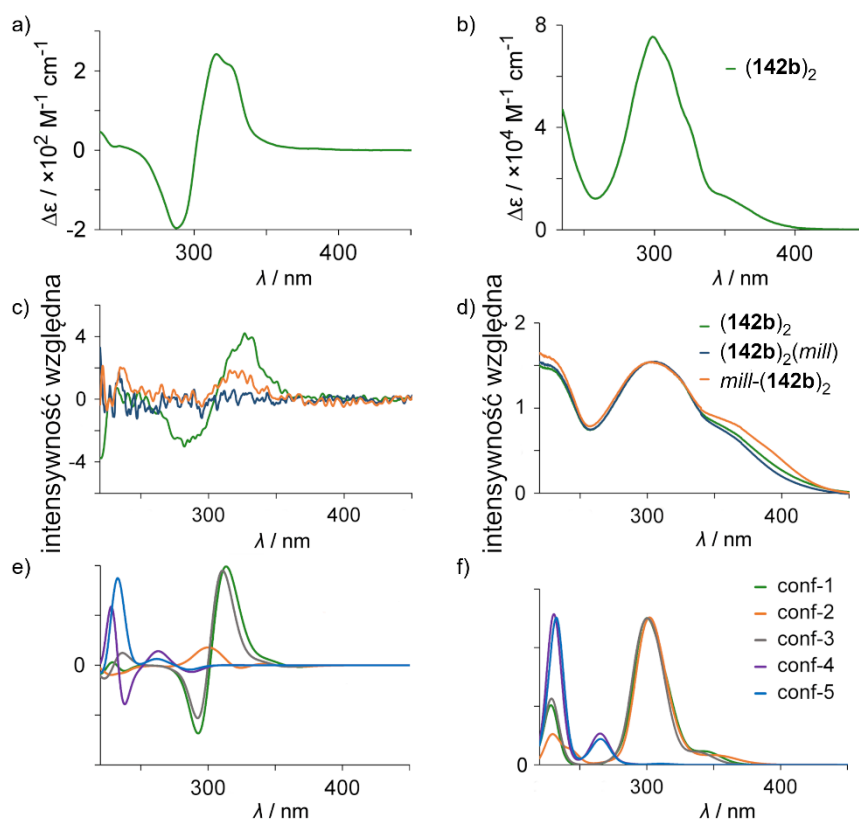
Po otrzymaniu kapsuły $mill-(142b)_2$ w sposób mechanochemiczny przeprowadziłem eksperymenty sprawdzające, jaka jest struktura II-rzędowa i właściwości kompleksujące w porównaniu do kapsuły $(142b)_2$ otrzymanej w roztworze. W tym celu kapsułę $mill-(142b)_2$ rozpuściłem w roztworze fulerenu C_{60} w chlorobenzenie, otrzymując kompleks $(142b)_2 \supset C_{60}$ z wydajnością 40,5% (poz. 18 Tabela 2). Kolejnym eksperymentem było zmielenie kapsuły $mill-(142b)_2$ otrzymanej w młynie razem z fulerem C_{60} , a następnie rozpuszczenie mieszaniny w chlorobenzenie (poz. 19 Tabela 2). W tym przypadku otrzymałem kompleks $(142b)_2 \supset C_{60}$ z wydajnością 59,5%. Ostatnim eksperymentem było dodanie fulerenu C_{60} bezpośrednio do reakcji syntezy kapsuły $mill-(142b)_2$ w młynie kulowo planetarnym (poz. 17 Tabela 2). Otrzymałem w ten sposób kompleks z wydajnością 86,5%, co jest znacznie wyższą wydajnością niż otrzymana po mieleniu kapsuły otrzymanej wcześniej w roztworze (44%-48%). Wyniki te potwierdzają jednak, że kapsuła otrzymana bezpośrednio w sposób mechanochemiczny posiada bardziej zaburzoną strukturę przestrzenną, niż kapsuła otrzymana w roztworze a później zmielona, co pozwala na uzyskanie lepszej wydajności kompleksowania.

Powyższe wyniki pokazują, że wydajność kompleksowania jest najlepsza, jeśli fuleren zostanie dodany na etapie syntezy kapsuły (podobnie jak przy syntezie w roztworze). Jednak, przy kapsule otrzymanej w młynie, dodatek fulerenu w trakcie mielenia podnosi wydajność otrzymywania kompleksu o ok. 50%, co świadczy o tym, że główny proces kompleksowania zachodzi w trakcie rozpuszczania próbki a nie jej mielenia z fulerem.

3.1.4. Badanie struktury kapsuły otrzymanej w sposób mechanochemiczny

Wszystkie te wyniki wskazują, że ważnym czynnikiem wpływającym na wydajność tworzenia kompleksu $(142b)_2 \supset C_{60}$ jest to, w jaki sposób została otrzymana kapsuła $(142b)_2$ – w roztworze czy mechanochemicznie w ciele stałym. Skłoniło mnie to do zbadania dokładnej struktury kapsuły $mill-(142b)_2$ w ciele stałym, w porównaniu do kapsuły $(142b)_2$ otrzymanej w sposób klasyczny. W tym celu niezbędne było wykorzystanie metody badawczej, która umożliwia określenie struktury związku w ciele

stałym, bez kontaktu z rozpuszczalnikiem. Takie założenie wykluczyło wykorzystanie rentgenowskiej analizy strukturalnej, ponieważ do tego potrzebne jest otrzymanie monokryształów związków, a więc ich krystalizacja z rozpuszczalników. Przeprowadzone pomiary rentgenowskiej dyfraktometrii proszkowej oraz widm podczerwieni w stanie stałym nie wykazały różnic w strukturach kapsuł, które można by zaobserwować z użyciem tych technik.



Rys. 43 Widma $(142b)_2$ w $CHCl_3$: a) ECD, b) UV. Widma $(142b)_2$, $(142b)_2(mill)$ i $mill-(142b)_2$ w ciele stałym: c) ECD, d) UV. Teoretyczne widma różnych konformerów kavitandu $142b$: e) ECD, f) UV. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁶³

W celu porównania struktur kapsuł $(142b)_2$ i $mill-(142b)_2$, wykorzystałem pomiary elektronowego dichroizmu kołowego w ciele stałym (ang. *solid state Electron Circular Dichroism*, ssECD, Rys. 43). Zarejestrowane zostały widma kapsuły $(142b)_2$ otrzymanej w roztworze (kolor zielony, Rys. 43c-d), otrzymanej w roztworze i zmielonej $(142b)_2(mill)$ (kolor niebieski, Rys. 43c-d) oraz $mill-(142b)_2$ otrzymanej w sposób mechanochemiczny (kolor pomarańczowy, Rys. 43c-d). Widma ssECD nie są pomiarami ilościowymi, dlatego określenie ich względnej intensywności wymaga kalibracji. W tym celu wykorzystałem widma UV w ciele stałym (ssUV). Wszystkie te związki posiadają taką samą strukturę I-rzędową, a więc i liczbę chromoforów w cząsteczce, dlatego widma ssECD zostały znormalizowane względem widm ssUV (normalizacja przebiegała do

takiej samej intensywności pasma ssUV przy długości 300 nm). Można zaobserwować, że najwyższą intensywność pasm ECD posiada kapsuła otrzymana w roztworze, a kapsuły, które były mielone, wykazują znacznie niższe efekty Cottona. Potwierdza to, że po zmieleniu kapsuła występuje w innej formie niż bezpośrednio po reakcji syntezy w rozpuszczalniku.

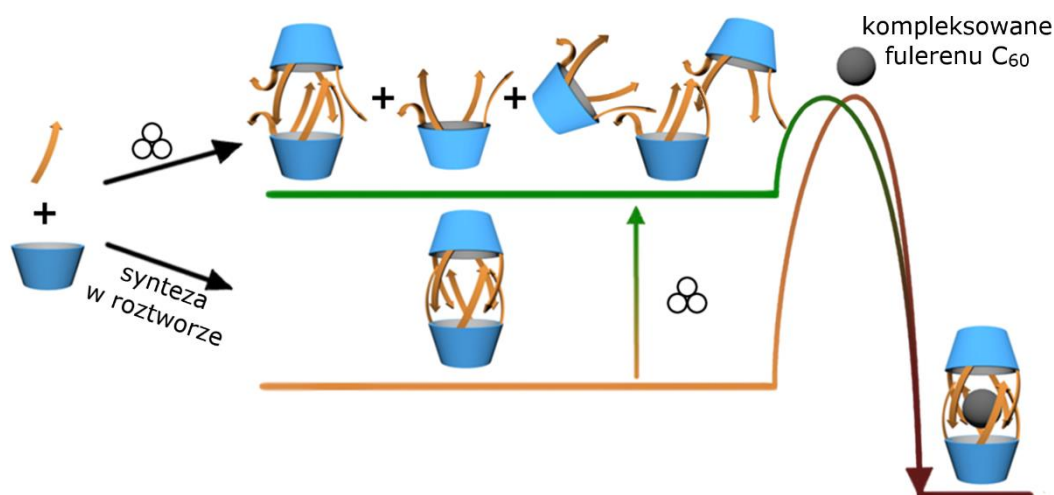
Następnie dr Hanna Jędrzejewska wykonała szereg obliczeń kwantowo-mechanicznych teoretycznych widm ECD dla różnych konformerów kawitandu **142b** (TD-DFT B3LYP/6-31G(d)).⁶² Widma te, podobnie jak wcześniejsze widma ssECD, zostały znormalizowane wykorzystując intensywność widm UV. Stwierdziliśmy, że konformery, które miały zaburzoną geometrię wiązania hydrazonowego wykazywały bardzo małe efekty Cottona na teoretycznych widmach ECD (kolory szary, fioletowy, niebieski, Rys. 43e-f) w przeciwieństwie do konformerów, które były zbliżone do struktury występującej w ciele stałym i posiadały wyraźnie większe efekty Cottona (kolory zielony, żółty Rys. 43e-f). Wyniki te potwierdzają założenie, że kapsuły otrzymane w sposób mechanochemiczny lub poddane procesowi mielenia posiadają inną, mniej uporządkowaną strukturę przestrzenną, niż kapsuły otrzymane w roztworze.

3.1.5. Eksperymenty kontrolne

Postulowane jest, że w trakcie procesu mielenia mechanochemicznego substancji wytwarzane jest punktowo duże ciśnienie. Dlatego postanowiłem sprawdzić, czy możliwe jest otrzymanie kompleksu $(\mathbf{142b})_2 \supset C_{60}$ w warunkach podwyższonego ciśnienia. W tym celu poddałem działaniu wysokiego ciśnienia (6 kbar, 1 dzień) roztwór kapsuły $(\mathbf{142b})_2$ i fulerenu C_{60} w chlorobenzenie (poz. 6 Tabela 2) W kolejnej próbie poddałem działaniu wysokiego ciśnienia (6 kbar, 1 godzina) stałą mieszaninę kapsuły $(\mathbf{142b})_2$ i fulerenu C_{60} (poz. 7 Tabela 2). W obydwu przypadkach nie zaobserwowałem postawiania kompleksu $(\mathbf{142b})_2 \supset C_{60}$. Postanowiłem również sprawdzić czy możliwe jest otrzymanie kompleksu $(\mathbf{142b})_2 \supset C_{60}$ przy użyciu innej metody mechanochemicznej – w tym wypadku zastosowaniu ultradźwięków. Przeprowadziłem próbę polegającą na poddaniu działaniu ultradźwięków z wykorzystaniem homogenizatora zanurzeniowego (przez dwie godziny, pulsacyjnie) roztwór kapsuły $(\mathbf{142b})_2$ oraz fulerenu C_{60} (poz. 8 Tabela 2). Podobnie, jak w poprzednich eksperymentach, nie zaobserwowałem powstawania kompleksu $(\mathbf{142b})_2 \supset C_{60}$. Wyniki te pokazują, że potrzebne jest złożenie kilku czynników, które występuje w trakcie procesu mechanochemicznego kompleksowania, do otrzymania kompleksu peptydowej kapsuły molekularnej z fulerem.

Sprawdziłem również, czy całkowite usunięcie z kapsuły $(142b)_2$ rozpuszczalnika spowoduje jej zmianę struktury (np. poprzez zapadanie się) oraz umożliwi kompleksowanie fulerenu C_{60} . W tym celu kapsułę $(142b)_2$ najpierw poddałem działaniu podciśnienia w podwyższonej temperaturze (18 mbar, 50 °C, 18 godzin), a następnie rozpuściłem w mieszaninie chlorobenzenu z fulerem C_{60} (poz. 15 Tabela 2). Mieszałem również ze sobą kapsułę $(142b)_2$ oraz fuleren C_{60} w temperaturze 70 °C przez jeden dzień bez rozpuszczalnika, żeby sprawdzić czy do kompleksowania wystarczy samo mieszanie w podwyższonej temperaturze, czy konieczne jest mielenie próbki (poz. 16 Tabela 2). W obydwu tych przypadkach nie zaobserwowałem powstawania kompleksu $(142b)_2 \supset C_{60}$, co świadczy o tym, że proces mielenia kapsuły w młynie jest kluczowy w zmianie struktury trójwymiarowej kapsuły umożliwiającej kompleksowanie.

3.1.6. Wnioski



Rys. 44 Postulowany mechanizm kompleksowania fulerenów we wnętrzu peptydowych kapsuł molekularnych (kolor żółty – łańcuchy peptydowe, kolor niebieski – blok makrocykliczny). Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁶³

Przeprowadzone eksperymenty pozwoliły na zaproponowanie mechanizmu kompleksowania fulerenów we wnętrzu peptydowych kapsuł molekularnych (Rys. 44). Postuluję, że w trakcie syntezy kapsuły w sposób mechanochemiczny otrzymywana jest kapsuła o zaburzonej strukturze II-rzędowej. Otrzymanie takiej formy jest również możliwe poprzez mielenie w młynie kapsuły o dobrze zdefiniowanej strukturze, która została otrzymana wcześniej w roztworze, a w trakcie jej mielenia następuje zniszczenie struktury II-rzędowej. Takie kapsuły są mniej stabilne kinetycznie i dlatego proces ich otwierania w celu skompleksowania gościa jest łatwiejszy niż dla kapsuł o uporządkowanym układzie wiązań wodorowych. Dlatego, w czasie rozpuszczenia

kapsuły w towarzystwie cząsteczek gości, następuje kompleksowanie we wnętrzu kapsuły wraz ze zmianą struktury geometrycznej kapsuły do najbardziej stabilnego, uporządkowanego układu. Powyższe wyniki zostały opublikowane w czasopiśmie *Physical Chemistry Chemical Physics*.⁶³

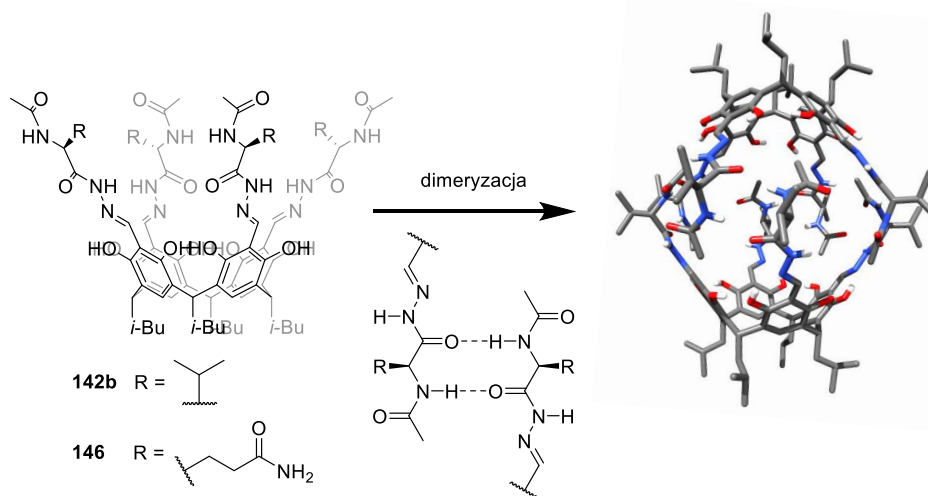
3.2. Trwałość peptydowych kapsuł w różnych środowiskach

Z punktu widzenia zastosowań kapsuł molekularnych (np. w układach biologicznych) ważne jest określenie ich trwałości w różnych środowiskach. Szczególnie ważne, ale jednocześnie wymagające, jest uzyskanie kapsuł trwałych w środowisku polarnym. Kapsuła (**142b**)₂ jest stabilizowana przez układ wiązań wodorowych. Z jednej strony, można się spodziewać jej niszczenia przez konkurencyjne polarne rozpuszczalniki. Z drugiej strony, należy wziąć pod uwagę, że dimer jest stabilizowany wielopunktowo i układ wiązań wodorowych jest kooperatywny, co jest przesłanką aby sądzić, że ma szansę pozostać trwały w umiarkowanie konkurencyjnym środowisku. Celem przeprowadzonych w kolejnej części badań było określenie stabilności dimerycznych kapsuł w zależności od polarności środowiska.

Określenie stopnia dimeryzacji kapsuł w różnych rozpuszczalnikach i ich porównanie nie jest łatwe ze względu na wysoką symetrię peptydowych kawitandów i kapsuł, co powoduje, że obserwowane są uśrednione sygnały, oraz fakt, że zmiana środowiska indukuje zmiany solwatacji, a co za tym idzie zmiany spektralne, które mogą, ale nie muszą, być związane z dimeryzacją. Najczęściej stosowanymi metodami do określenia struktury przestrzennej związku (czy występuje w formie kapsuły czy kawitandu) są: widma DOSY NMR w roztworze oraz rentgenowska analiza strukturalna w ciele stałym. Jednak, metody te mają duże ograniczenia. Przy pomiarach widm DOSY NMR można zmierzyć współczynnik dyfuzji cząsteczki jedynie z jej otoczką solwatacyjną, a rozmiar tej otoczki jest zależny od rozpuszczalnika jak i od powierzchni badanej cząsteczki. Natomiast, do oznaczenia struktury z wykorzystaniem rentgenowskiej analizy strukturalnej konieczne jest otrzymanie monokryształu związku, co czasami nie jest możliwe. Należy również wziąć pod uwagę to, że związki mogą mieć różną strukturę w ciele stałym i w roztworze.

Na podstawie wcześniej przedstawionych wyników pomiarów widm ssECD (Rys. 43c-d), zaobserwować można, że, zależnie od struktury trójwymiarowej kapsuły w ciele stałym, zmienia się intensywność widm ssECD. Dobrze zdefiniowana kapsuła posiada dużo intensywniejsze pasma niż kapsuła o zaburzonej strukturze. Postanowiłem wykorzystać tę właściwość i sprawdzić, czy możliwe jest zbadanie procesu samoasocjacji kapsuły z użyciem widm dichroizmu kołowego również w roztworze. Założyłem, że jeśli związek występuje w formie kapsuły jego struktura jest dobrze zdefiniowana przez szereg wiązań wodorowych występujących między kawitandami. Powoduje to, że intensywność

jego widma ECD będzie większa, niż intensywność widma ECD kawitandu, który, z powodu braku systemu wiązań wodorowych, posiada mniej zdefiniowaną strukturę (przy zachowanej intensywności widm UV).



Rys. 45 Proces dimeryzacji kawitandów **142b** oraz **146** prowadzący do powstania kapsuły molekularnej.

Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁶⁵

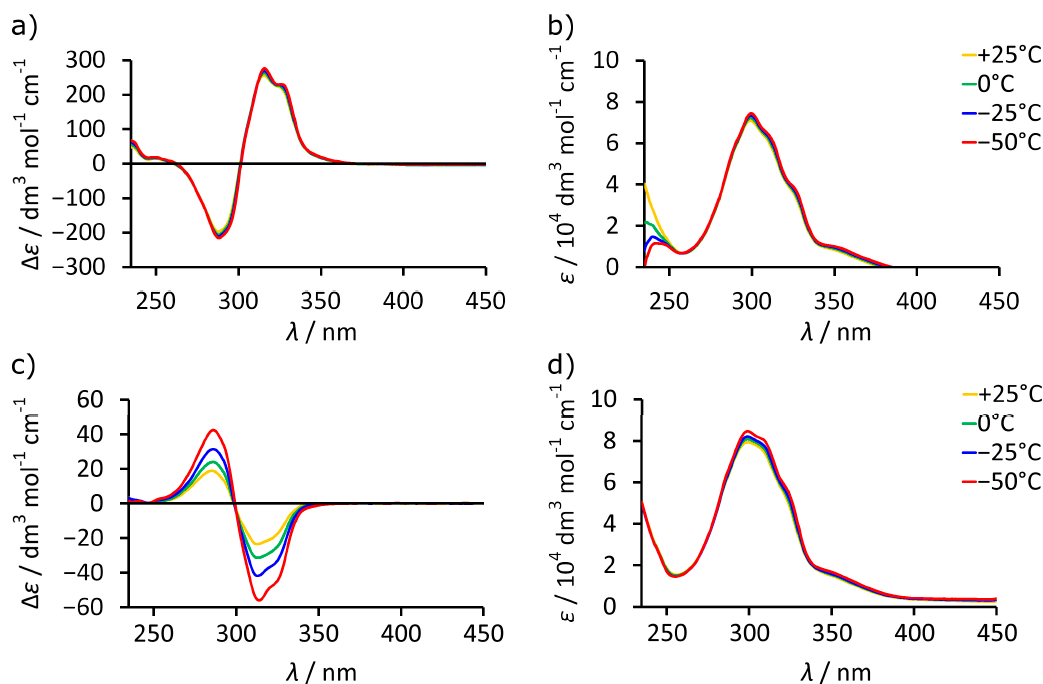
Do badań wybrałem dwa związki o różnych właściwościach oraz strukturze: otrzymany przeze mnie **142b** oraz otrzymany przez mgra Marcina Grajdę **146**.⁶⁴ Syntezę oraz wszystkie pomiary dla związku **146** wykonał mgr Marcin Grajda w ramach wykonywania badań do swojej pracy doktorskiej. Związek **142b** jest hydrofobowy, dobrze rozpuszczalny w chloroformie oraz częściowo w metanolu. Z wcześniejszych badań wiadomo było, że w chloroformie występuje on w formie dimerycznej kapsuły molekularnej $(142b)_2$, a nie było wiadomo w jakiej dokładnie formie występuje w metanolu. Związek **146** jest natomiast hydrofilowy rozpuszczalny w metanolu a nierozpuszczalny w chloroformie, o nieznanym stopniu dimeryzacji.

Badania prowadziłem w chloroformie, metanolu oraz ich mieszaninach, dzięki czemu mogłem sprawdzić roztwory o różnej polarności. Jednocześnie, chloroform i metanol posiadają bardzo zbliżone współczynniki lepkości (odpowiednio 0,537 mPa s oraz 0,544 mPa s w temperaturze 25 °C), co pozwoliło zaniedbać zmiany lepkości mieszanin przy pomiarach DOSY NMR. Intensywności wszystkich widm ECD oraz UV były przeliczane na stężenie kawitandu **142b** albo **146** w celu zachowania stałej ilości chromoforów, niezależnie od procesu asocjacji związków. Przeprowadzone eksperymenty podzieliłem na pięć etapów:

1. Eksperymenty w czystych rozpuszczalnikach
2. Obliczenia kwantowo-mechaniczne

3. Eksperymenty w mieszaninach rozpuszczalników
4. Eksperymenty temperaturowe;
5. Pomiary współczynnika dyfuzji.

3.2.1. Eksperymenty w czystych rozpuszczalnikach



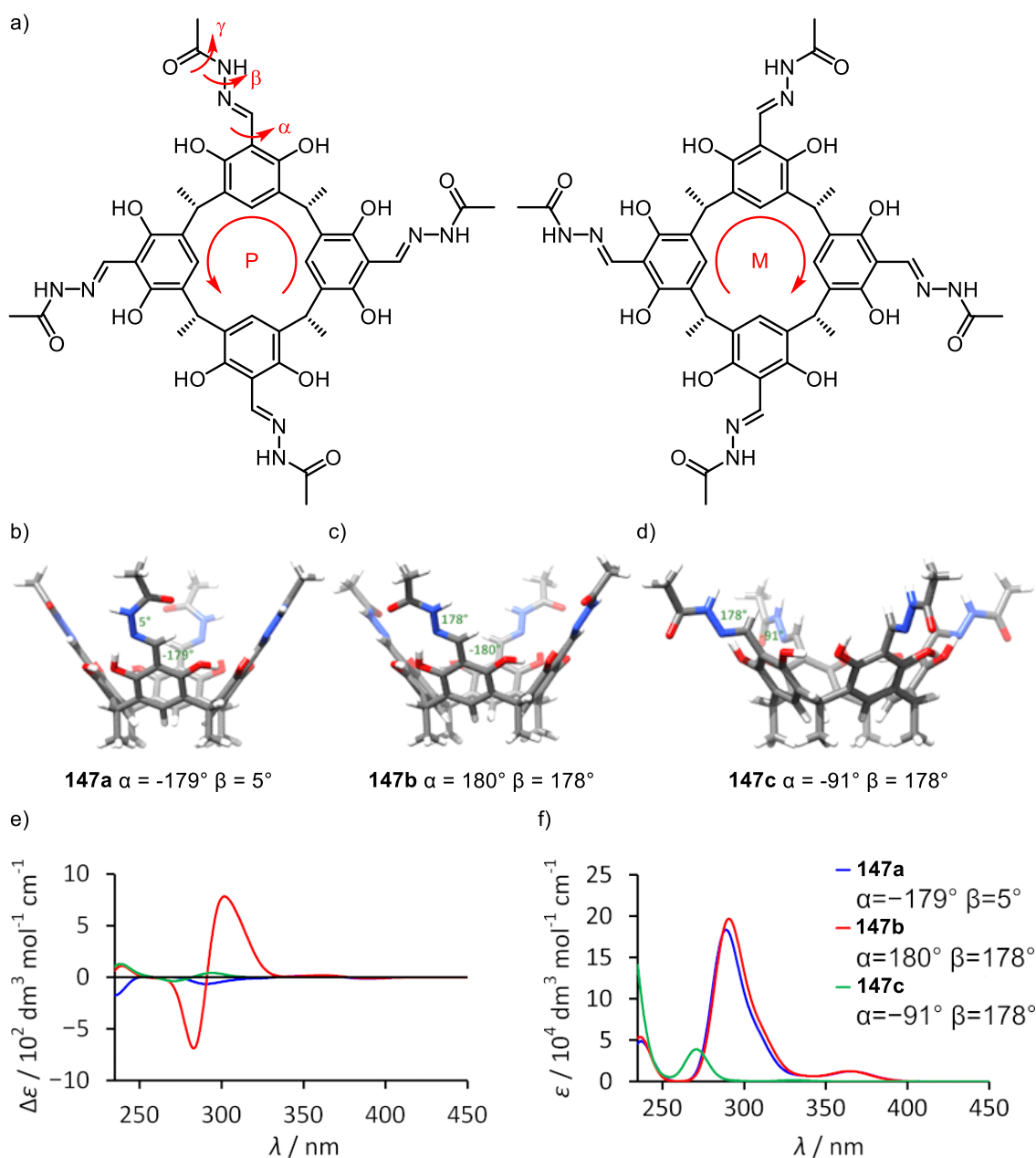
Rys. 46 Zależne temperaturowo widma: a) ECD związku **142b** w CHCl_3 , b) UV związku **142b** w CHCl_3 , c) ECD związku **142b** w metanolu, d) UV związku **142b** w metanolu. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁶⁵

Widma elektronowego dichroizmu kołowego związku **142b** w chloroformie (Rys. 46a-b) i metanolu (Rys. 46c-d) znacznie się różnią. Widma zarejestrowane w chloroformie mają znacznie wyższą intensywność pasm ECD, niż widma wykonane w metanolu, przy takiej samej intensywności pasm UV. Dodatkowo, pasma w widmie w metanolu mają przeciwny znak niż analogiczne pasma w chloroformie. Pomiary w obniżonej temperaturze wykazały, że intensywność pasm związku **142b** w chloroformie (który występuje w tych warunkach w postaci kapsuły molekularnej $(\mathbf{142b})_2$) jest stała niezależnie od temperatury, natomiast intensywności pasm związku **142b** w metanolu wzrasta wraz z obniżeniem temperatury. Podobna zmiana intensywności pasm zależnie od temperatury została zaobserwowana przez mgra Marcina Grajdę dla związku **146** w metanolu.

Wyniki te świadczą, że struktura przestrzenna związku **142b** jest inna w chloroformie niż w metanolu. Biorąc pod uwagę to, że w chloroformie związek **142b** występuje w formie dimerycznej kapsuły molekularnej $(\mathbf{142b})_2$ oraz znaczną różnicę

polarności badanych rozpuszczalników można sądzić, że w metanolu związek **142b** występuje w formie kawitandu, co jest spowodowane zerwaniem wiązań wodorowych pomiędzy kawitandami kapsuły przez oddziaływania z cząsteczkami metanolu. Ze względu na brak wiązań wodorowych pomiędzy łańcuchami kawitandów, możliwa jest ich szybka rotacja i w roztworze obecnych jest wiele różnych konformacji, przez co intensywność pasm widm ECD jest mniejsza. Hipoteza ta jest zgodna z wcześniejszymi obserwacjami w ciele stałym (opisanymi w poprzednim rozdziale).⁶³ Jest również zgodna z zaobserwowanymi zależnościami temperaturowymi, ponieważ obniżenie temperatury pomiarów powoduje zahamowanie rotacji wiązań oraz spadek mobilności cząsteczek, co ma wpływ na częściowe ustabilizowanie się struktury kawitandów i przekłada na wzrost intensywności pasm widm ECD związku **142b** w metanolu (Rys. 46c-d).

3.2.2. Obliczenia kwantowo-mechaniczne



Rys. 47 a) Schematyczne przedstawienie chiralności inherentnej występującej w modelach **147a-c** wraz z zaznaczonymi możliwymi miejscami rotacji wiązań. Modele używane do obliczeń teoretycznych widm ECD i UV: b) **147a** $\alpha = -179^\circ$ $\beta = 5^\circ$, c) **147b** $\alpha = 180^\circ$ $\beta = 178^\circ$, d) **147c** $\alpha = -91^\circ$ $\beta = 178^\circ$. Porównanie teoretycznych widm modeli **147a-c**: f) ECD, g) UV. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁶⁵

Duża zależność intensywności pasm na widmach ECD zależnie od struktury przestrzennej związku **142b** sugeruje, że za występowanie efektu Cottona w tych związkach są głównie odpowiedzialne zmiany w układzie chromoforowym, a w mniejszym stopniu centrum chiralności. Chromoforem w związku **142b** jest jego fragment rezorcyn[4]arenowy zawierający grupy aromatyczne oraz częściowo sprzężony fragment hydrazydowy. Po dimeryzacji związku **142b** do kapsuły molekularnej (**142b**)₂

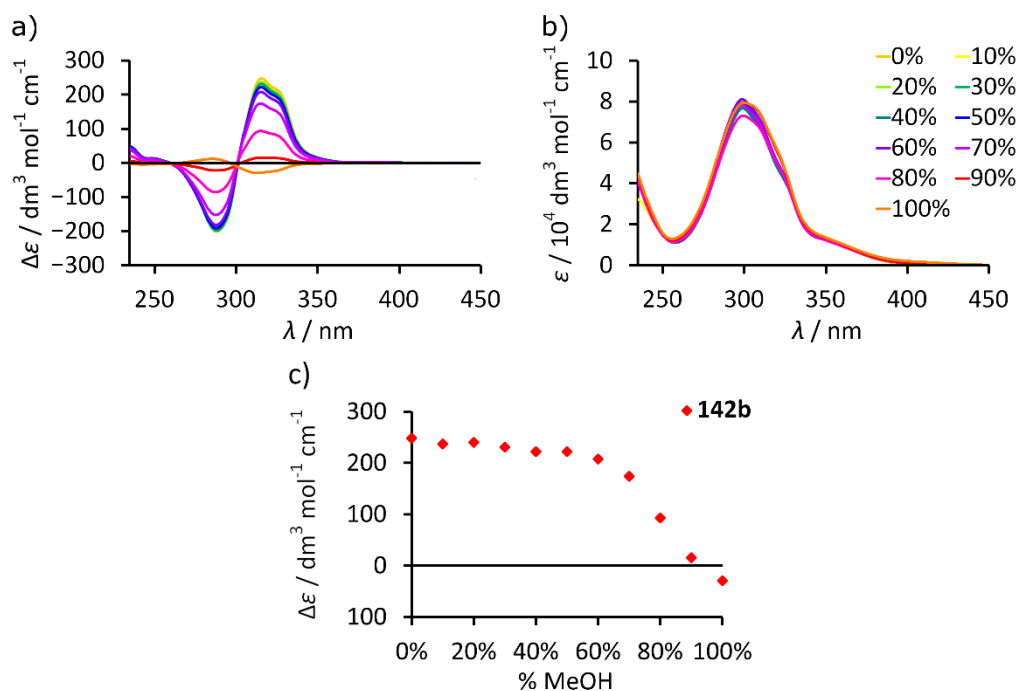
tworzy się układ wiązań wodorowych skierowanych w jedną stronę, to przekłada się na występowanie w kapsule (**142b**)₂ chiralności inherentnej (Rys. 47a-b). Natomiast dysocjacja kapsuły (**142b**)₂ na kawitandy **142b** powoduje zerwanie układu wiązań wodorowych obecnych w kapsule, co powoduje, że łańcuchy kapsuły mogą się układać w dowolną stronę, niekoniecznie tak samo jak w kapsule, co skutkuje zanikiem występującej w kapsule chiralności inherentnej.

W celu potwierdzenia dużego wpływu chiralności inherentnej na widma ECD wykonałem samodzielnie szereg obliczeń kwantowo-mechanicznych (TD-DFT B3LYP/6-31G(d,p)) teoretycznych widm ECD różnych form przestrzennych kawitandu **142b**. W układzie chromoforowym kawitandu **142b** możliwa jest rotacja względem trzech wiązań: C-C pomiędzy pierścieniem aromatycznym i grupą hydrazonową (α), N-N grupy hydrazonowej (β) oraz wiązania amidowego (γ). Przygotowałem trzy modele kawitandów **147a-c**, oparte na strukturze kapsuły (**142b**)₂ w ciele stałym,⁶⁰ różniące się kątami torsyjnymi wiązania α oraz β (Rys. 47c-e), co odzwierciedla możliwe różne ułożenie łańcuchów bocznych kawitandów, po dysocjacji kapsuły, kiedy nie są one zaangażowane w układ wiązań wodorowych w kapsule. Zmianie poddałem kąt torsyjny α , który odpowiada za występowanie chiralności inherentnej w kapsule oraz kąt torsyjny β odzwierciedlający różne ułożenie wiązania acylohydrazonowego. Wiązanie γ pozostawiłem bez zmian, w konformacji *trans*-amidu.

Następnie obliczyłem teoretyczne widma ECD zaprojektowanych modeli (Rys. 47f-g). Widma obliczałem bez wcześniejszej optymalizacji struktury, ponieważ optymalizacja prowadziła do zmiany struktury na najbardziej stabilną, zbliżoną do struktury występującej w monokryształach. Na podstawie obliczonych widm można zaobserwować, że widmo ECD modelu **147b**, który jest najbardziej zbliżony do struktury w ciele stałym i, w którym zachowany jest układ wiązań odpowiedzialnych za obecność chiralności inherentnej, posiada znacznie wyższą intensywność pasm niż teoretyczne widmo ECD modelu **147a** (przy zachowaniu podobnej intensywności widma UV), w którym zostało odwrócone o ok. 180 ° wiązanie N-N w grupie hydrazonowej (łańcuch główny aminokwasu pozostaje dalej w płaszczyźnie razem z pierścieniem aromatycznym). Widmo teoretyczne ECD modelu **147c**, posiadającego wiązanie N-N w grupie hydrazonowej skręcone o 90 ° (co powoduje, że łańcuch główny aminokwasu jest skierowany prostopadle do płaszczyzny pierścienia aromatycznego) wykazuje bardzo niską intensywność, a dodatkowo teoretyczne widmo UV jest przesunięte i również posiada niższą intensywność, w porównaniu do widm pozostałych modeli.

Zatem, obliczenia potwierdzają hipotezę, że kluczowy wpływ na intensywność widm ECD ma ułożenie grup acylohydrazonowych względem pierścienia rezorcyny, co determinuje obecność niekowalencyjnej chiralności inherentnej. Dlatego, po dysocjacji kapsuły na kawitandy i zerwaniu układu wiązań wodorowych (co powoduje zmianę lub zanik chiralności inherentnej) można spodziewać się znacznego spadku intensywności pasm ECD kawitandów, w porównaniu z widmami kapsuł molekularnych.

3.2.3. Eksperymenty w mieszaninach rozpuszczalników

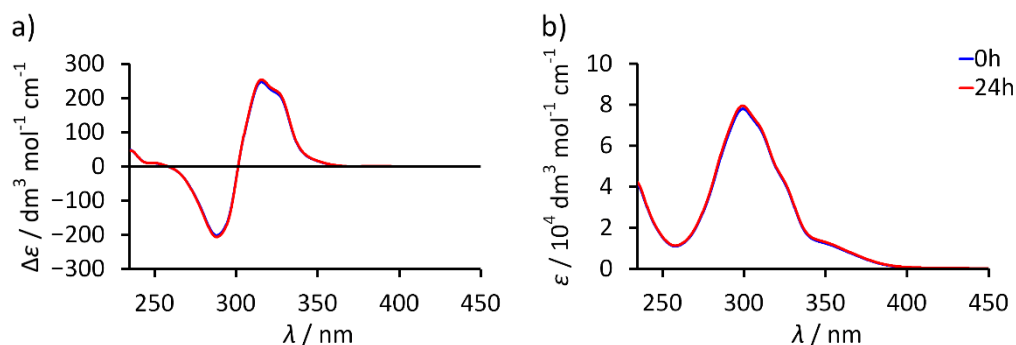


Rys. 48 Widma związku **142b** w mieszaninach rozpuszczalników w 25 °C: a) ECD, b) UV. c) Maksima widm ECD związku **142b** zależnie od zawartosci metanolu w chloroformie. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁶⁵

Zależności intensywności widm ECD od struktury trójwymiarowej związku **142b** wykorzystałem do badań ilościowych procesu samoasocjacji w zależności od polarności rozpuszczalnika. W tym celu zmierzyłem szereg widm ECD i UV związku **142b** w mieszaninie rozpuszczalników chloroform:metanol zmieniając zawartość metanolu co 10% objętościowych (0% – czysty chloroform, 100% – czysty metanol). Analiza widm pokazuje, że, niezależnie od rozpuszczalnika, widma UV posiadają taką samą intensywność, natomiast widma ECD (do 60% metanolu) utrzymują podobną intensywność, która, począwszy od 70% metanolu, zaczyna stopniowo spadać (Rys. 48a-b). Spadek intensywności widm ECD pomiędzy widmami wykonanymi w roztworze 60% a 70% metanolu wynosi $34 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, podczas gdy spadek intensywności pomiędzy widmami wykonanymi w roztworze 0% a 60% wynosi 40 dm^3

$\text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, a maksymalna intensywność (w chloroformie) wynosi $248 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Rys. 48e).

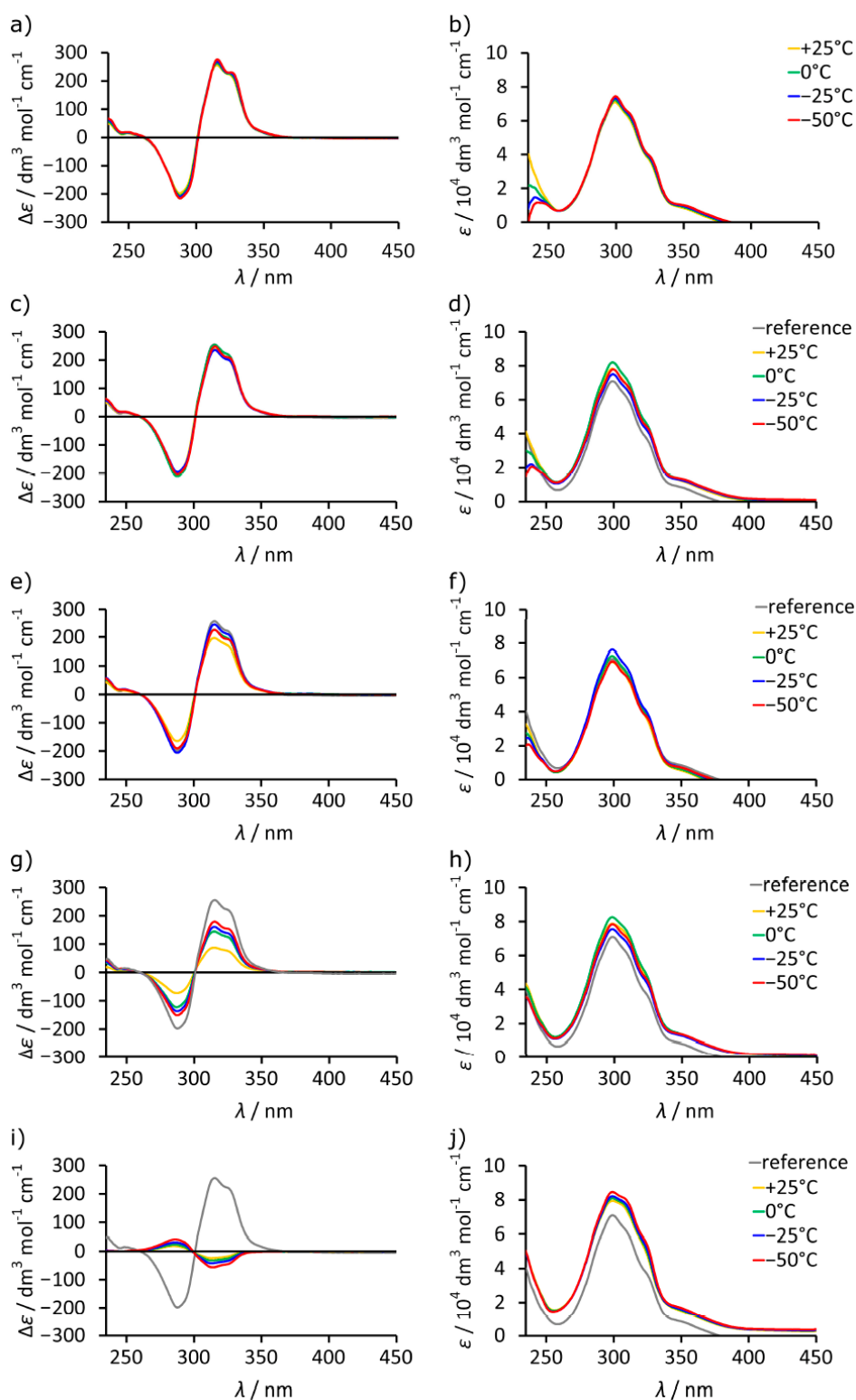
Wyniki te pokazują, że kapsuła **(142b)₂** jest trwała nawet w roztworach do zawartości ok. 60% metanolu, a jej dysocjacja na kawitandy w tych warunkach następuje w niewielkim stopniu. Przy większej zawartości metanolu następuje jej stopniowa dysocjacja do kawitandów, a całkowity rozpad następuje w czystym metanolu.



Rys. 49 Czasowo zależne widma związku **142b** w 30% MeOH: a) ECD, b) UV. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁶⁵

Aby wykluczyć efekty kinetyczne, przeprowadziłem również badania stabilności kapsuły w czasie w roztworze o zwiększonej polarności – 30% metanolu (Rys. 49). Widma UV i ECD zmierzone zaraz po rozpuszczeniu kapsuły **(142b)₂** jak i po dniu od rozpuszczenia były identyczne. Wyniki te pokazują, że kapsuła **(142b)₂** wykazuje stabilność swojej struktury trójwymiarowej w czasie w roztworach o podwyższonej polarności, nawet pomimo wystawienia na długotrwały wpływ metanolu, który, w dużych stężeniach, prowadzi do jej rozpadu.

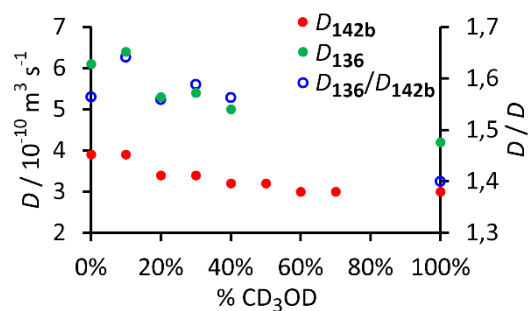
3.2.4. Eksperymenty temperaturowe



Rys. 50 Temperaturowo zależne widma UV i ECD związku **142b**: a) ECD w CHCl_3 , b) UV w CHCl_3 , c) ECD w 30% MeOH, d) UV w 30% MeOH, e) ECD w 60% MeOH, f) UV w 60% MeOH, g) ECD w 80% MeOH, h) UV w 80% MeOH, i) ECD w 100% MeOH, j) UV w 100% MeOH. Widmo odnoście (ang. *reference*) zarejestrowane dla związku **142b** w CHCl_3 w 25 °C. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁶⁵

Aby dodatkowo potwierdzić wcześniejsze ustalenia o stabilności kapsuły (**142b**)₂ w roztworach o zawartości do 60% metanolu zmierzyłem jej widma ECD, w obniżonej temperaturze, w roztworach zawierających 0%, 30%, 60%, 80%, 100% metanolu oraz porównałem je z widmem kapsuły (**142b**)₂ w chloroformie w temperaturze 25 °C (widmo odnośne, kolor szary, Rys. 50). Miało to na celu sprawdzenie, czy w warunkach mniejszej mobilności możliwy jest powrót intensywności widm ECD do wartości wyjściowej jedynie przez zahamowanie rotacji i ruchu cząsteczek w obniżonej temperaturze. Stwierdziłem, że niezależnie od rozpuszczalnika i temperatury intensywności wszystkich widm UV były takie same. W roztworach zawierających do 60% metanolu podczas obniżania temperatury intensywność widm rosła, a po obniżeniu do -50 °C (zakres możliwości pomiarowej) osiągała taki sam poziom jak na widmie odnośnym (Rys. 50a-f). W roztworze zawierającym 80% metanolu, w którym jest przewaga kawitandu **142b** nad kapsułą (**142b**)₂ intensywność widma ECD rośnie wraz z obniżeniem temperatury ale nie osiąga intensywności takiej, jak na widmie odnośnym (Rys. 50g-h). Natomiast w samym metanolu, w którym widmo ECD związku **142b** jest odwrócone względem tego w chloroformie, intensywność również wzrasta, ale zachowuje przeciwny znak niż w roztworach zawierających chloroform (zgodnie z widmem w metanolu, Rys. 50i-j). Wyniki te wskazują, że w roztworach do 60% metanolu (w których kapsuła (**142b**)₂ jest trwała), po obniżeniu temperatury, następuje całkowita ponowna asocjacja kawitandów do kapsuły (**142b**)₂. Gdyby następowało tylko zahamowanie rotacji kawitandów, a nie ich ponowna asocjacja, intensywności widm ECD spadałyby, ponieważ widmo kawitandu jest odwrócone w stosunku do widma kapsuły. Obniżenie temperatury w roztworze 80% metanolu również poprawia asocjację kapsuły (**142b**)₂ ale nie w tak dużym stopniu. Natomiast obniżenie temperatury roztworu, w którym obecne są jedynie kawitandy **142b** nie powoduje ich asocjacji do kapsuły (**142b**)₂, a jedynie zahamowanie rotacji, co odpowiada za wzrost intensywności widm ECD.

3.2.5. Pomiary współczynnika dyfuzji



Rys. 51 Współczynnik dyfuzji (D) związków **136** i **142b** zależnie od zawartości metanolu w chloroformie oraz ich stosunek (298 K, 600 MHz). Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁶⁵

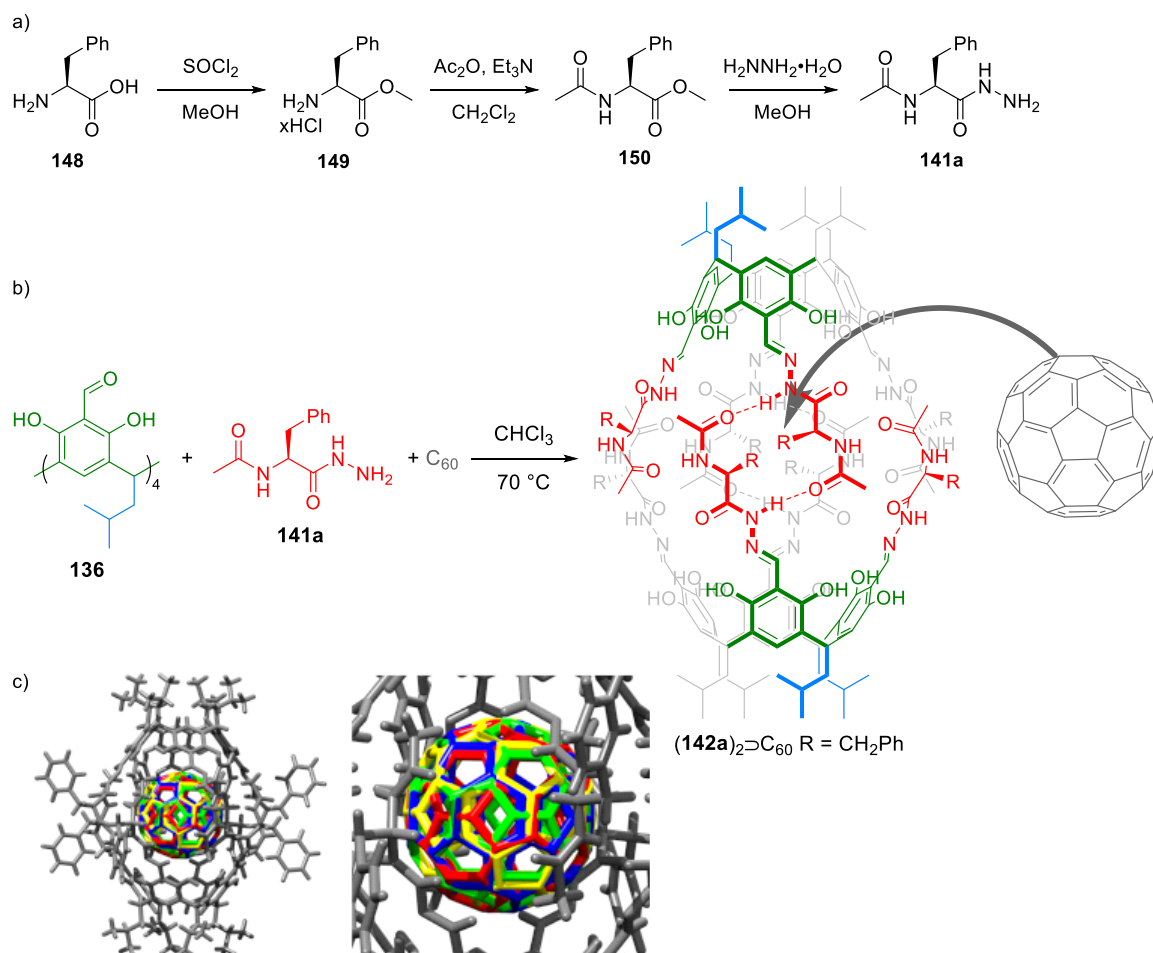
Dodatkowym potwierdzeniem trwałości kapsuły (**142b**)₂ w roztworach do zawartości 60% metanolu, było wykonanie pomiarów współczynnika dyfuzji (D) związku **142b** w roztworze z użyciem widm DOSY NMR. Spodziewałem się, że w roztworach do zawartości 60% metanolu współczynnik dyfuzji związku **142b** będzie zbliżony do współczynnika dyfuzji kapsuły (**142b**)₂ w chloroformie, a w roztworach o wyższym stężeniu metanolu współczynnik dyfuzji związku **142b** wzrośnie (co odpowiada mniejszemu promieniowi hydrodynamicznemu badanego związku). Jednak, po pomiarach, współczynnik dyfuzji związku **142b** w metanolu był mniejszy niż w chloroformie, co by świadczyło o większym promieniu hydrodynamicznym związku **142b** w metanolu niż w chloroformie. Jako że widma DOSY NMR odzwierciedlają współczynnik dyfuzji cząsteczki wraz z jej otoczką solwatacyjną, której wielkość może się znacząco różnić w tych rozpuszczalnikach, postanowiłem dodać do roztworu wzorca – tetraformylorezorcyn[4]arenu **136**, który nie tworzy żadnych aglomeratów zarówno w chloroformie jak i w metanolu. Jednak rozpuszczalność związku **136** w części używanych mieszanin (50% - 90% metanolu) była niewystarczająca do pomiaru współczynnika dyfuzji. Następnie, zmierzone współczynniki dyfuzji dla związku odnośnego **136** porównałem ze współczynnikiem dyfuzji związku **142b** (Rys. 51). Jako, że stosunek współczynników dyfuzji jest odwrotnie proporcjonalny do stosunku promieni związków, obliczyłem stosunek D_{136}/D_{142b} . Stosunek ten, dla mieszanin zawierających większość chloroformu (gdzie obecna jest kapsuła (**142b**)₂) był powyżej 1,5, natomiast w metanolu (gdzie obecny jest kawitand **142b**) wynosił 1,4. Dla porównania obliczyłem stosunek wielkości kapsuły (**142b**)₂ oraz kawitandu **142b** do związku **136** na podstawie ich struktur w ciele stałym – $r_{(142b)_2}/r_{136} = 2,0$ i $r_{142b}/r_{136} = 1,76$. Wyniki te potwierdzają, że w roztworach o niższej polarności występuje kapsuła (**142b**)₂, natomiast

w metanolu i roztworach o wysokiej polarności obecny jest kawitand **142b**. Warto jednak zaznaczyć, że same pomiary DOSY NMR (a w szczególności pojedyncze pomiary prowadzone bez wzorca) nie są jednoznacznym dowodem, jedynie po porównaniu tych wyników z wynikami pomiarów widm ECD można przeprowadzić pełną analizę.

3.2.6. Wnioski

Podsumowując, pokazałem, że możliwe jest zastosowanie widm elektronowego dichroizmu kołowego do jakościowej i ilościowej detekcji asocjacji kawitandów do peptydowych kapsuł molekularnych. Można to również wykorzystać, razem z pomiarami DOSY NMR, do śledzenia trwałości peptydowych kapsuł zależnie od polarności rozpuszczalnika. Stwierdziłem również, że peptydowa kapsuła molekularna (**142b**)₂ jest trwała w mieszaninie chloroform:metanol 40:60 (v:v) a jej stopień zasocjowania w roztworach o wyższej polarności można poprawić poprzez obniżenie temperatury roztworu. Powyższe wyniki zostały opublikowane w czasopiśmie *Molecules*.⁶⁵

3.3. Badania zachowania fulerenu we wnętrzu peptydowej kapsuły



Rys. 52 a) Synteza hydrazynu *N*-acetylo-*L*-fenyloalaniny **141a**. b) Synteza i schematyczna struktura kompleksu $(142a)_2 \supset C_{60}$. c) Struktura w cieple stałym kompleksu $(142a)_2 \supset C_{60}$ (kolor szary – kapsuła molekularna $(142a)_2$, pozostałe kolory – cztery położenia fulerenu we wnętrzu kapsuły).

Otrzymane przeze mnie kompleksy $(142a)_2 \supset C_{60}$ i $(142b)_2 \supset C_{60}$ ⁶⁰ są interesujące z punktu widzenia dynamiki gościa w ograniczonym i chiralnym środowisku. We współpracy z dr. Mirosławem Gilskim i dr. Piotrem Bernatowiczem zostały przeprowadzone badania struktury kompleksu $(142a)_2 \supset C_{60}$ w cieple stałym. Mój wkład w pracę dotyczył tylko zagadnień polegających na syntezie kompleksu $(142a)_2 \supset C_{60}$ do badań oraz otrzymania jego monokryształów. Do syntezy kompleksy $(142a)_2 \supset C_{60}$ użyłem hydrazynu **141a**, który otrzymałem z *L*-fenyloalaniny **148**, poprzez reakcję z chlorkiem tionyłu w metanolu otrzymując chlorowodorek estru metylowego *L*-fenyloalaniny **149** (Rys. 52a). Następnie otrzymany związek **149** poddałem reakcji z bezwodnikiem octowym w obecności trietyloaminy otrzymując ester metylowy *N*-acetylo-*L*-fenyloalaniny **150**. Ostatnim etapem była reakcja estru **150** z wodnym

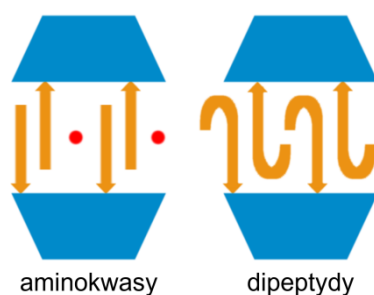
roztworem hydrazyny prowadząca do otrzymania hydrazynu *N*-acetylo-L-waliny **141a** z całościową wydajnością 69%. Kompleks $(\mathbf{142a})_2\supset\text{C}_{60}$ otrzymałem w reakcji tetraformylrezorcyn[4]arenu **136** z hydrazynem **141a** w obecności fulerenu C_{60} w chloroformie (Rys. 52b). Po 18 godzinach reakcji w zamkniętym naczyniu w temperaturze 70 °C otrzymałem produkt $(\mathbf{142a})_2\supset\text{C}_{60}$ z ilościową wydajnością. Monokryształy kompleksu $(\mathbf{142a})_2\supset\text{C}_{60}$ otrzymałem poprzez rozpuszczenie kompleksu w mieszaninie chloroform:metanol 1:3 (v:v) i pozostawienie do powolnego odparowania.

Następnie dr Mirosław Gilski przeprowadził oznaczenie struktury w cieple stałym kompleksu $(\mathbf{142a})_2\supset\text{C}_{60}$, co było niełatwym zadaniem z krystalograficznego punktu widzenia, z uwagi na występowanie fulerenu we wnętrzu kapsuły w czterech różnych pozycjach (Rys. 52c). Dr Piotr Bernatowicz przeprowadził natomiast badania rotacji fulerenu C_{60} w kompleksie $(\mathbf{142a})_2\supset\text{C}_{60}$ z użyciem widm NMR w cieple stałym i roztworze w różnych temperaturach, spektroskopii EPR oraz skaningowej kalorymetrii różnicowej.

Badania te pozwoliły na pokazanie, w jaki sposób można rozwiązywać podobne problemy krystalograficzne oraz pozwoliły na zaproponowanie modelu zachowania się fulerenu C_{60} wewnątrz peptydowej kapsuły molekularnej. Powyższe badania zostały opublikowane w czasopiśmie *Acta Crystallographica Section B*.⁶⁶

3.4. Kapsuły molekularne z dłuższymi peptydami

Procesy enkapsulacji mogą być wykorzystane do rozdziału mieszanin, jako podstawa sensorów lub do przeprowadzenia reakcji we wnętrzu kapsuły, co może powodować, m.in., wzrost szybkości, selektywności oraz wydajności reakcji. Z punktu widzenia właściwości kompleksujących najważniejszą częścią kapsuły molekularnej jest jej luka. Dlatego bardzo ważne jest otrzymanie kapsuł o różnej wielkości luki, szczególnie takich, w których możliwe jest skompleksowanie większych cząsteczek, bądź kilku cząsteczek na raz w celu przeprowadzenia pomiędzy nimi reakcji. Otrzymane przeze mnie w zespole Szumnej kapsuły (**142a-d**)₂ posiadały luki o wielkości ok. 700 Å³.^{60,67}



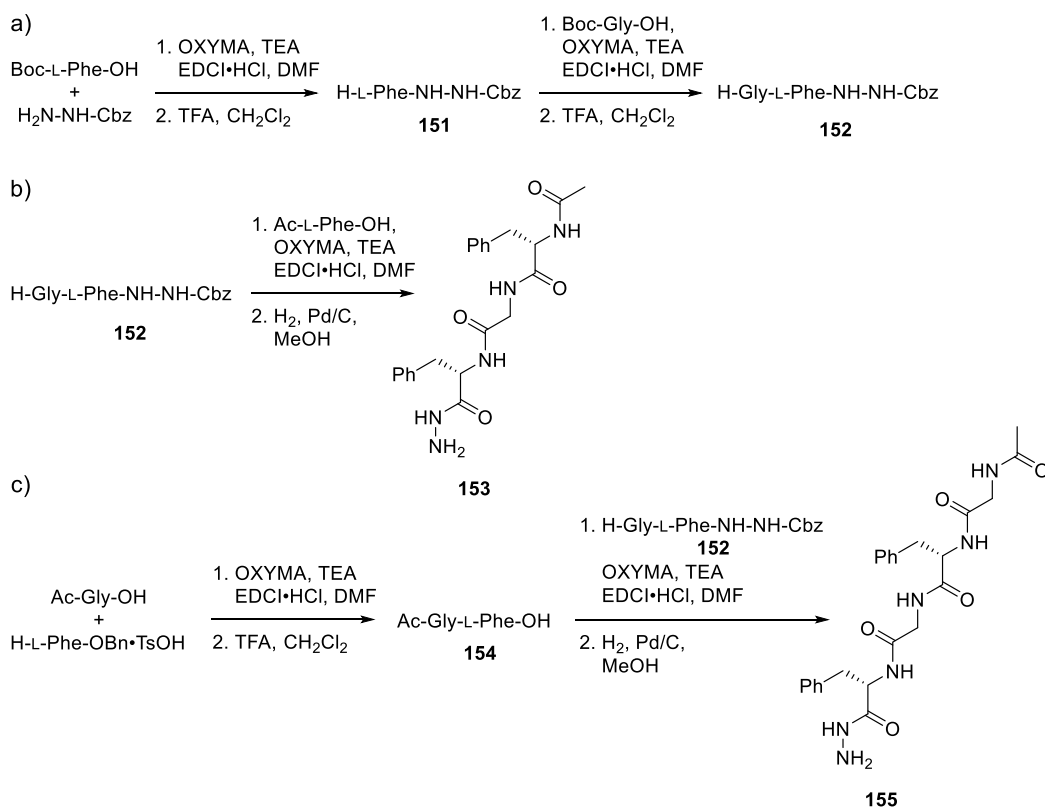
Rys. 53 Schematyczne porównanie struktur, kształtów i motywów wiążących kapsuł molekularnych z łącznikiem acylohydrazonowym otrzymanych z hydrazydów aminokwasów i dipeptydów (kolor pomarańczowy) oraz tetraformylorozorcyn[4]arenu **136** (kolor niebieski) w rozpuszczalniku (kolor czerwony). Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁶⁸

W kolejnych etapach pracy podjąłem się sprawdzenia czy możliwe jest otrzymanie kapsuł z łącznikiem acylohydrazonowym zawierających dłuższe peptydy (do tetrapeptydu) oraz, czy wydłużenie łańcucha peptydowego spowoduje zwiększenie rozmiaru kapsuły, a co za tym idzie powiększenie luki. Zwiększenie rozmiaru kapsuły poprzez wydłużenie łańcucha peptydowego jest o tyle nietrywialne, że w kapsułach z łącznikiem acylohydrazonowym zbudowanych z pojedynczego aminokwasu, motyw wiążący obejmuje łańcuchy ułożone parami, a pomiędzy nimi znajduje się cząsteczka rozpuszczalnika (Rys. 53b). Natomiast w kapsułach zawierających fragment dipeptydowy, łańcuchy również są ułożone parami, jednak zawijają się na końcu i wypełniają lukę pomiędzy parami łańcuchów (w której w kapsule z pojedynczego aminokwasu znajduje się rozpuszczalnik). Dlatego, trudno jest przewidzieć, jaki efekt będzie miało dalsze wydłużenie fragmentów peptydowych kapsuły. Przeprowadzone eksperymenty podzieliłem na trzy etapy:

1. Synteza hydrazydów tri- i tetrapeptydów
2. Synteza kapsuł molekularnych i analiza ich struktury
3. Synteza kompleksów i analiza ich struktury.

3.4.1. Synteza hydrazydów tri- i tetrapeptydów

Do syntezy kapsuł z dłuższych peptydów zaprojektowałem hydrazydy tripeptydu Ac-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH₂ **153** oraz tetrapeptydu Ac-Gly-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH₂ **155**. Zdecydowałem się na użycie takich sekwencji aminokwasów, ponieważ wcześniej przeprowadzone badania innych kapsuł sugerowały, że do tworzenia kapsuł konieczne jest naprzemienne umieszczenie aminokwasów o nierozbudowanym łańcuchu bocznym (glicyna, alanina) oraz aminokwasów posiadających rozbudowany łańcuch boczny (fenyloalanina, walina). Użyłem fenyloalaniny jako aminokwasu z rozbudowanym łańcuchem bocznym z uwagi na łatwiejszą pracę z jej pochodnymi niż z pochodnymi waliny (bardzo mała rozpuszczalność w wodzie).



Rys. 54 Synteza: a) półproduktu **152**, b) hydrazidu tripeptydu **153**, c) hydrazidu tetrapeptydu **155**.

Hydrazydy tripeptydu **153** oraz tetrapeptydu **155** otrzymałem poprzez strategię syntezy w roztworze z użyciem klasycznej sekwencji reakcji sprzęgania i odbezpieczania (Rys. 54). Jako odczynników sprzęgających używałem OXYMA i EDCI·HCl, a reakcje sprzęgania prowadziłem w DMF z dodatkiem trietyloaminy (TEA). Reakcje

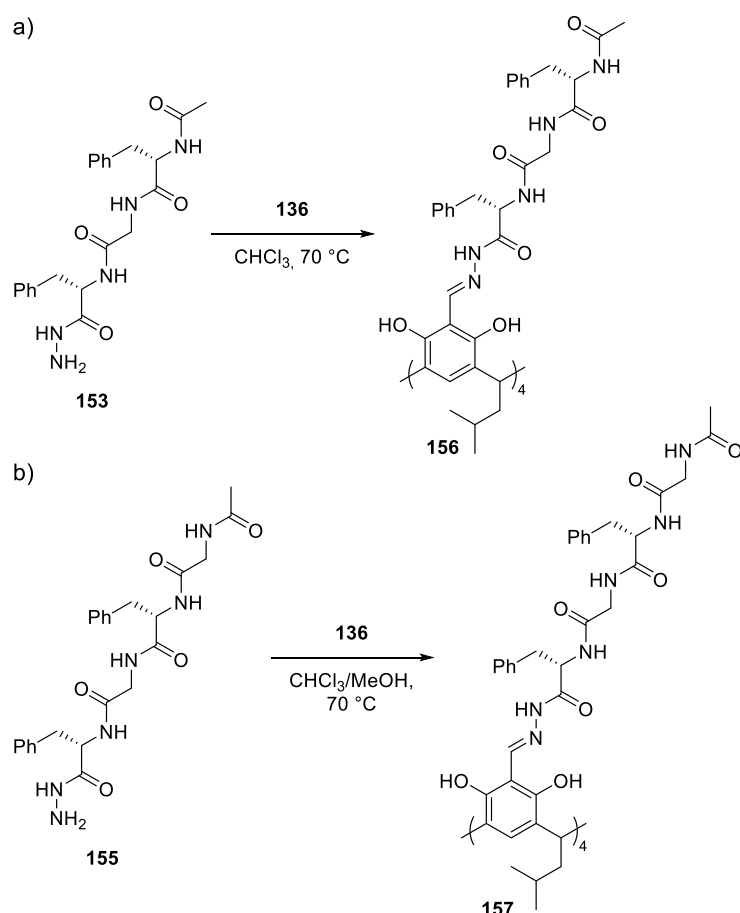
odbezpieczania prowadziłem, zależnie od odbezpieczanej grupy: przy odbezpieczaniu grup Cbz i OBn – wodorem w obecności palladu na węglu aktywnym w mieszaninie metanolu i wody; przy odbezpieczaniu grup Boc – kwasem trifluorooctowym (TFA) w chlorku metylenu.

Syntezę hydrazydów **153** oraz **155** zaprojektowałem jako syntezę zbieżną tak, aby możliwe było otrzymanie części substratów w większej ilości i użycie ich do syntezy obydwu związków. Związkiem wspólnym dla obydwu syntez był di peptyd H-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz **152** (Rys. 54a). Jego syntezę rozpocząłem od sprzęgania ze sobą Boc-L-Phe-OH z H₂N-NH-Cbz. Produkt Boc-L-Phe-NH-NH-Cbz wydzieliłem poprzez przemywanie mieszaniny reakcyjnej. Następnie poddałem go odbezpieczaniu z użyciem TFA, uzyskując produkt H-L-Phe-NH-NH-Cbz **151**. Następnym etapem było sprzęganie otrzymanego związku H-L-Phe-NH-NH-Cbz **151** z Boc-Gly-OH. Po przemyciu reakcji otrzymałem produkt Boc-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz, który odbezpieczyłem z użyciem kwasu trifluorooctowego otrzymując produkt H-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz **152** z całościową wydajnością 34%. Tak niska wydajność była spowodowana częściowym rozpuszczaniem się związku Boc-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz w wodzie w trakcie oczyszczania po reakcji sprzęgania.

Hydrazyd tripeptydu **153** (Rys. 54b) otrzymałem poprzez sprzęganie otrzymanego wcześniej związku **152** z Ac-L-Phe-OH. Po oczyszczeniu, poprzez przemywanie reakcji, otrzymałem produkt Ac-L-Phe-gly-L-Phe-NH-NH-Cbz, który następnie poddałem odbezpieczaniu z użyciem wodoru w obecności palladu na węglu aktywnym. Produkt hydrazyd Ac-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH₂ **153** otrzymałem z całościową wydajnością dwóch ostatnich etapów 73%.

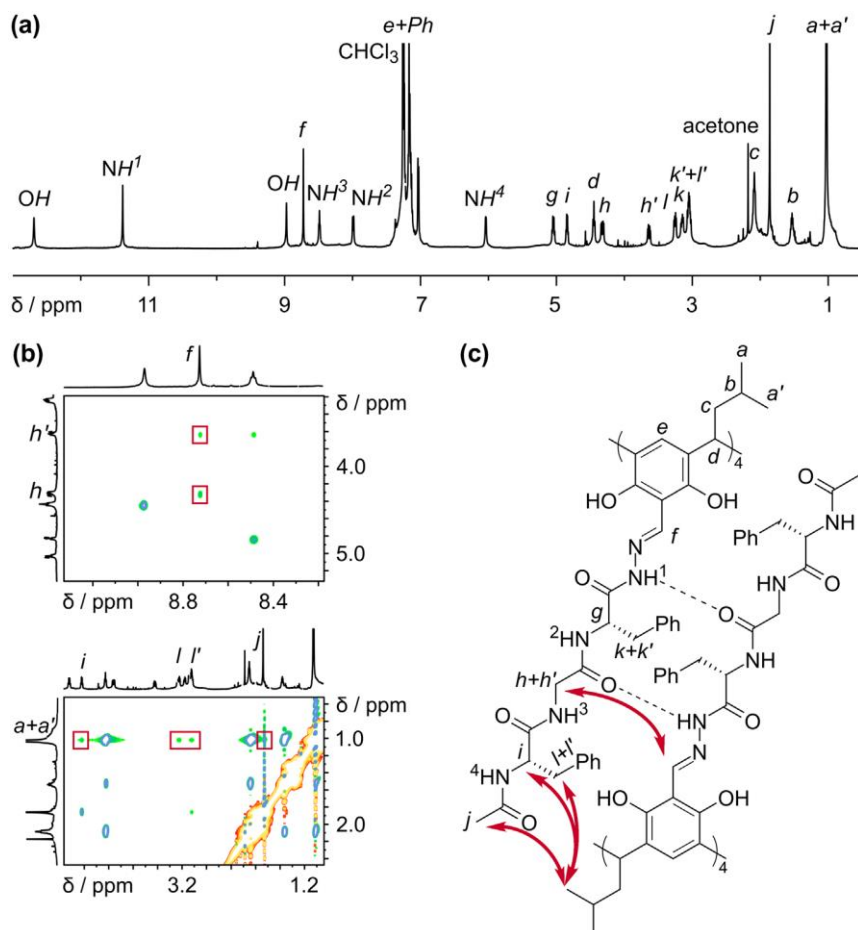
Syntezę hydrazidu tetrapeptydu **155** (Rys. 54c) rozpocząłem od otrzymania półproduktu Ac-Gly-L-Phe-OH **154** poprzez sprzęganie ze sobą Ac-Gly-OH i H-L-Phe-OBn·TsOH. Następnie produkt Ac-Gly-L-Phe-OBn poddałem reakcji odbezpieczania grupy OBn z użyciem wodoru w obecności palladu na węglu aktywnym w metanolu. Produkt Ac-Gly-L-Phe-OH **154** otrzymałem z całościową wydajnością 77%. Kolejnym etapem było sprzęgnięcie ze sobą wcześniej otrzymanych przeze mnie związków Ac-Gly-L-Phe-OH **154** oraz H-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz **152**. Po wyizolowaniu (poprzez przemywanie) produktu Ac-Gly-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz poddałem go reakcji z wodorem w obecności palladu na węglu aktywnym w celu usunięcia grupy zabezpieczającej Cbz. Hydrazyd Ac-Gly-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH₂ **155** otrzymałem z całkowitą wydajnością dwóch ostatnich etapów 64%.

3.4.2. Synteza kapsuł molekularnych i analiza ich struktury



Rys. 55 Synteza związków: a) **156**, b) **157**.

Kolejnymi etapami była synteza kapsuł molekularnych z otrzymanych hydrazydów. Reakcję hydrazylu tripeptydu **153** z tetraformylrezorcyn[4]arenem **136** przeprowadziłem w chloroformie (Rys. 55a). Po 18 godzinach reakcji w temperaturze 70 °C w szczelnym naczyniu otrzymałem związek **156** z ilościową wydajnością. Reakcję syntezy związku **157** z hydrazylu tetrapeptydu **155** i tetraformylrezorcyn[4]arenu **136** początkowo przeprowadziłem w chloroformie ale powstałe produkty były nierozpuszczalne w chloroformie i reakcja nie przebiegła do końca. Następną próbę syntezy podjąłem w mieszaninie chloroform:metanol (95:5, v:v, Rys. 55b). Po 18 godzinach reakcji w 70 °C w szczelnym naczyniu otrzymałem klarowny roztwór, z którego, po odparowaniu rozpuszczalnika, wydzieliłem produkt **157** z ilościową wydajnością.

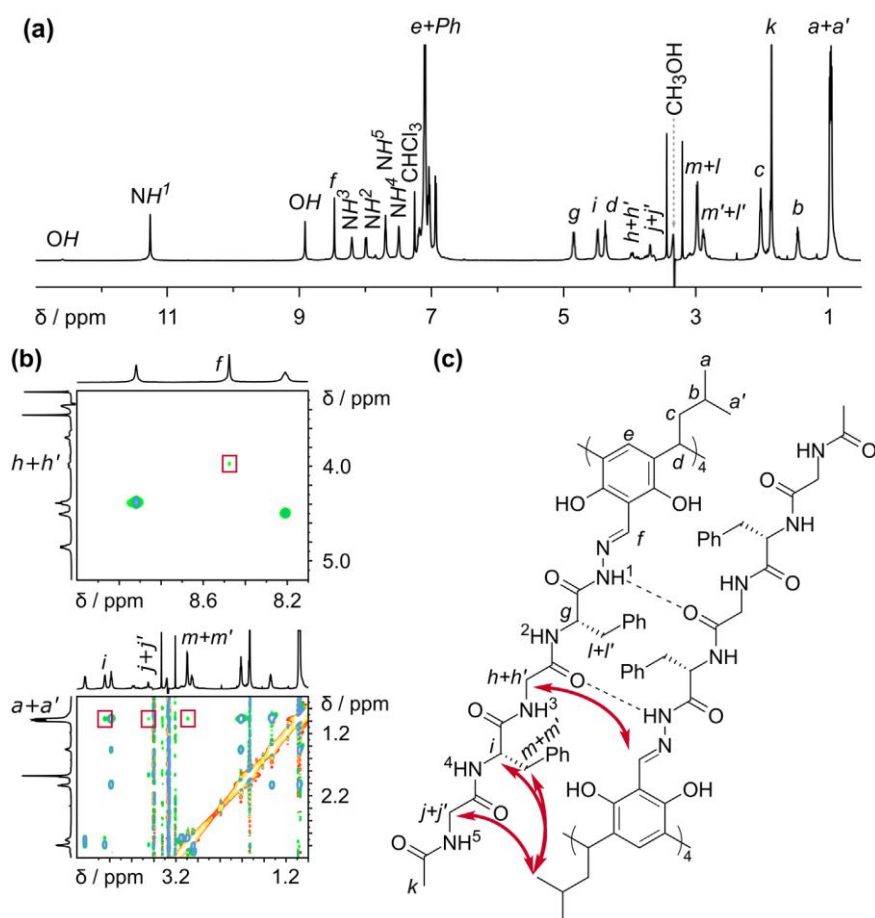


Rys. 56 Widma kapsuły (**156**)₂: a) ¹H NMR, b) częściowe ROESY NMR (CDCl₃, 298 K, 600 MHz). c) Proponowany motyw wiążący z zaznaczonymi oddziaływaniami widocznymi na widmie ROESY NMR kapsuły (**156**)₂.

Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁶⁸

Strukturę otrzymanego związku **156** oraz jego dimeryczną strukturę II-rzędową zaproponowałem na podstawie szeregu jedno- (¹H, ¹³C) i dwuwymiarowych (¹H-¹H COSY, ¹H-¹H ROESY, ¹H-¹³C HSQC, ¹H-¹³C HMBC, DOSY) widm NMR (Rys. 56). Na podstawie widm ¹H i ¹³C NMR stwierdziłem, że otrzymany związek **156** wykazuje w chloroformie symetrię C₄. Na widmie ROESY NMR związku **156** zaobserwowałem sygnały odpowiadające korelacji protonów $f \leftrightarrow h+h'$ (proton grupy acylohydrazonowej f i protony glicyny $h+h'$, będącej drugim aminokwasem licząc od bloku makrocyklicznego) świadczące o oddziaływaniu między sobą dwóch różnych kawitandów tworzących dimeryczną kapsułę molekularną (protony te są położone za daleko od siebie w sekwencji, żeby mogły oddziaływać pomiędzy sobą w obrębie jednego kawitandu). Oddziaływanie takie obserwowałem również we wcześniej otrzymanych przeze mnie kapsułach (**142a-d**)₂ otrzymanych z hydrazydów krótszych peptydów.⁶⁰ Zaobserwowałem również korelację protonów $a+a' \leftrightarrow j$ świadczące o bliskości w przestrzeni dolnej obręczy rezorcyn[4]arenu (protony $a+a'$) i grupy

acetylowej będącej na *N*-końcu łańcucha peptydowego (protony *j*). Wyniki te świadczą to o tym, że w roztworze związek **156**, otrzymany z hydrazynu tripeptydu **153**, dimeryzuje tworząc kapsułę (**156**)₂, ale jej łańcuchy peptydowe przyłączone do górnej obręczy rezorcyn[4]arenu, „zaplatają się” na bloku makrocyklicznym i powstała kapsuła posiada motyw wiązający oparty na dwóch aminokwasach, a pozostałe nie są zaangażowane w łączenie ze sobą kawitandów. Zatem otrzymana przeze mnie nowa kapsuła (**156**)₂ nie posiada większej luki niż wcześniej otrzymane kapsuły (**142a-d**)₂ posiadające krótsze łańcuchy peptydowe.

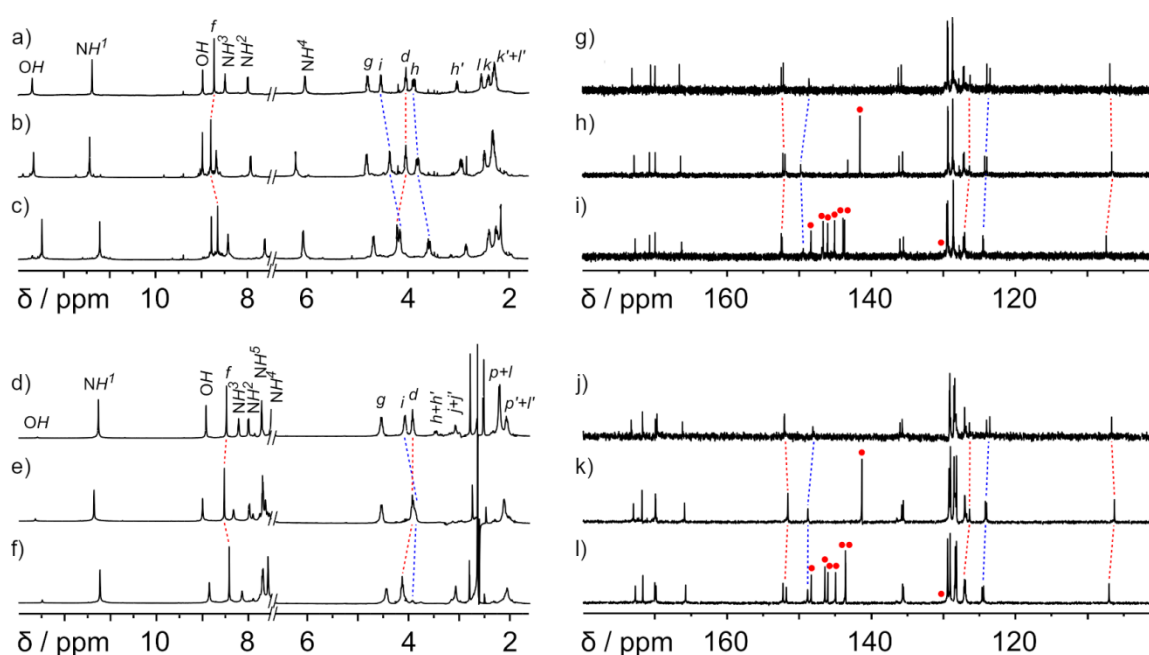


Rys. 57 Widma kapsuły (**157**)₂: a) ¹H NMR, b) częściowe ROESY NMR (CDCl₃:CH₃OH, 95:5, v:v, 298 K, 600 MHz, wygaszanie rozpuszczalnika). c) Proponowany motyw wiązający z zaznaczonymi oddziaływaniami widocznymi na widmie ROESY NMR kapsuły (**157**)₂. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁶⁸

Strukturę otrzymanego związku **157** oraz jego dimeryczną strukturę II-rzędową zaproponowałem na podstawie szeregu jedno- (¹H, ¹³C) i dwuwymiarowych (¹H-¹H COSY, ¹H-¹H ROESY, ¹H-¹³C HSQC, ¹H-¹³C HMBC, DOSY) widm NMR (Rys. 57). Na podstawie widm ¹H i ¹³C NMR stwierdziłem, że otrzymany związek **157** wykazuje w chloroformie symetrię C₄. Na widmie ROESY NMR związku **157** zaobserwowałem analogiczne korelacje jak dla związku **156**. Obecne były korelacje

protonów $f \leftrightarrow h+h'$ (pomiędzy protonem grupy acylohydrazonowej f a protonami glicyny $h+h'$, będącej drugim aminokwasem licząc od bloku makrocyklicznego), świadczące o powstaniu kapsuły molekularnej $(157)_2$ oraz korelacje protonów $a+a' \leftrightarrow j+j'$ (pomiędzy protonami dolnej obręczy rezorcyn[4]arenu $a+a'$ a protonami glicyny $j+j'$, będącej czwartym aminokwasem licząc od bloku makrocyklicznego, znajdującej się w tym samym miejscu co grupa acetylowa w kapsule $(156)_2$). Wyniki te potwierdzają, że również kapsuła $(157)_2$, otrzymana z hydrazynu tetrapeptydu **155**, w roztworze posiada podobną lukę, co otrzymane wcześniej, z krótszych peptydów, kapsuły $(142a-d)_2$ i $(156)_2$, a jej łańcuchy peptydowe przyłączone do górnej obręczy rezorcyn[4]arenu „zaplatają” się na bloku makrocyklicznym drugiego kawitandu budującego kapsułę. Motyw wiążący kapsuły $(157)_2$ jest identyczny z motywem wiążącym kapsuły $(156)_2$. Podjąłem również próbę otrzymania monokryształów obydwu otrzymanych kapsuł $(156)_2$ i $(157)_2$ w celu oznaczenia ich struktury w cieple stałym, ale próby te zakończyły się niepowodzeniem.

3.4.3. Synteza kompleksów i analiza ich struktury

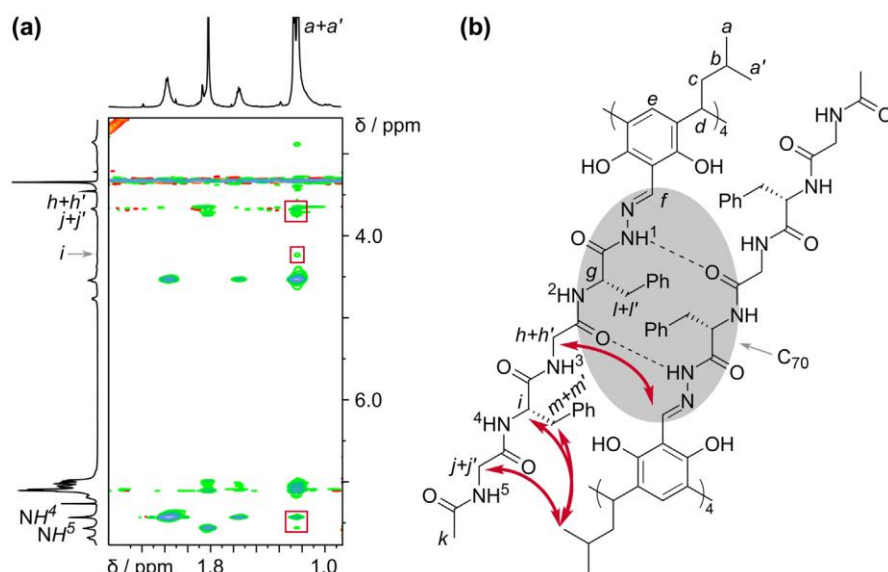


Rys. 58 Porównanie widm ^1H NMR (a-f) i ^{13}C NMR (g-l) kapsuł i ich kompleksów z fulerenami: a) $(156)_2$, b) $(156)_2 \supset \text{C}_{60}$, c) $(156)_2 \supset \text{C}_{70}$ (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz), d) $(157)_2$, e) $(157)_2 \supset \text{C}_{60}$, f) $(157)_2 \supset \text{C}_{70}$ ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, 298 K, 600 MHz, wygaszanie rozpuszczalnika), g) $(156)_2$, h) $(156)_2 \supset \text{C}_{60}$, i) $(156)_2 \supset \text{C}_{70}$ (CDCl_3 , 298 K, 150 MHz), j) $(157)_2$, k) $(157)_2 \supset \text{C}_{60}$, l) $(157)_2 \supset \text{C}_{70}$ ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, 298 K, 150 MHz, wygaszanie rozpuszczalnika).

Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁶⁸

W celu potwierdzenia rozmiaru luki otrzymanych kapsuł $(156)_2$ i $(157)_2$ postanowiłem sprawdzić, czy możliwe jest skompleksowanie w ich wnętrzu fulerenów C_{60} i C_{70} , analogicznie do otrzymanych wcześniej kompleksów kapsuł $(142a-d)_2$

zawierających krótsze peptydy. Reakcję prowadziłem dodając na etapie syntezy kapsuły stechiometryczną ilość fulerenów. Reakcje syntezy kompleksów kapsuły **(156)**₂ prowadziłem w chloroformie, a kompleksów kapsuły **(157)**₂ w mieszaninie chloroform:metanol (95:5, v:v). Po 18 godzinach reakcji w temperaturze 70 °C w zamkniętym naczyniu otrzymałem kompleksy **(156)**₂⊃C₆₀, **(156)**₂⊃C₇₀, **(157)**₂⊃C₆₀, **(157)**₂⊃C₇₀, wszystkie z ilościowymi wydajnościami, co potwierdziłem z użyciem widm jedno- i dwuwymiarowych NMR (Rys. 58a-l).



Rys. 59 a) Częściowe widmo ROESY NMR kompleksu **(157)**₂⊃C₇₀ (CDCl₃:CH₃OH, 95:5, v:v, 298 K, 600 MHz, wygaszanie rozpuszczalnika). b) Proponowany motyw wiążący z zaznaczonymi oddziaływaniami widocznymi na widmie ROESY NMR kompleksu **(157)**₂⊃C₇₀. Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁶⁸

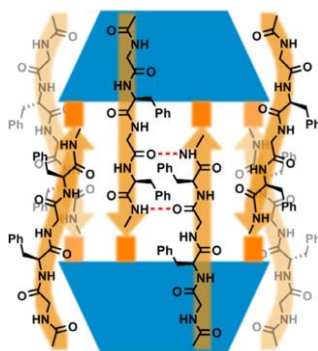
Analiza widm ROESY NMR wykazała, że we wszystkich przypadkach korelacje występujące na widmach kompleksów były takie same, jak korelacje występujące na widmach odpowiednich kapsuł. Świadczy to o tym, że skompleksowanie fulerenów we wnętrzu kapsuł **(156)**₂ i **(157)**₂ nie zmienia ich geometrii, struktury i wielkości w porównaniu z „pustymi” kapsułami.

Tabela 3 Współczynniki dyfuzji (na podstawie widm DOSY NMR) kapsuł oraz ich kompleksów z fulerenami.

Związek	$D / \text{m}^2 \text{s}^{-1}$	Warunki
(142a) ₂	$3,0 \times 10^{-10}$	CDCl_3 , 298 K, 600 MHz ⁶⁰
(142b) ₂	$3,2 \times 10^{-10}$	CDCl_3 , 298 K, 600 MHz ⁶⁰
(142c) ₂	$3,2 \times 10^{-10}$	CDCl_3 , 298 K, 600 MHz ⁶⁰
(142d) ₂	$3,2 \times 10^{-10}$	CDCl_3 , 298 K, 600 MHz ⁶⁰
(156) ₂	$2,8 \times 10^{-10}$	CDCl_3 , 298 K, 600 MHz
(156) ₂ ⊃C ₆₀	$2,7 \times 10^{-10}$	CDCl_3 , 298 K, 600 MHz
(156) ₂ ⊃C ₇₀	$3,0 \times 10^{-10}$	CDCl_3 , 298 K, 600 MHz
(157) ₂	$2,6 \times 10^{-10}$	$\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, 298 K, 600 MHz
(157) ₂ ⊃C ₆₀	$2,2 \times 10^{-10}$	$\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, 298 K, 600 MHz
(157) ₂ ⊃C ₇₀	$2,3 \times 10^{-10}$	$\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, 298 K, 600 MHz

W celu dodatkowego potwierdzenia rozmiaru otrzymanych kapsuł wykonałem eksperymenty DOSY NMR, które pozwalają na zmierzenie współczynnika dyfuzji otrzymanych związków wraz z jego otoczką solwatacyjną i porównałem je ze współczynnikami dyfuzji wcześniej otrzymanych przeze mnie kapsuł (142a-d)₂.⁶⁰ Z powodu małej ilości metanolu w roztworach kapsuły (157)₂ i jej kompleksów oraz podobnego współczynnika lepkości chloroformu i metanolu, możliwe było porównanie wyników pomiarów przeprowadzonych w różnych rozpuszczalnikach. Pomiar te wykazały, że współczynniki dyfuzji (D) odpowiednich kapsuł i ich kompleksów są zbliżone, co świadczy o braku zmiany struktury kapsuły po skompleksowaniu gości (Tabela 3). Dodatkowo, współczynniki dyfuzji otrzymanych kapsuł (156)₂ i (157)₂ są zbliżone do współczynników wcześniej otrzymanych przeze mnie kapsuł (142a-d)₂, co potwierdza wcześniejsza obserwacja z widm ROESY NMR o występowaniu podobnego motywu wiążącego w tych kapsułach i „zaplataniu się” łańcuchów peptydowych na bloku makrocyklicznym. Taka struktura nie powoduje znacznej zmiany wielkości otrzymanych przeze mnie nowych kapsuł molekularnych, dlatego współczynniki dyfuzji wszystkich kapsuł są do siebie zbliżone. Zmierzyłem również widma ECD otrzymanych kapsuł i kompleksów. Wykazują one wysoką intensywność pasm ($200\text{-}300 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), co dodatkowo potwierdza otrzymanie dimerycznych kapsuł molekularnych.

3.4.4. Wnioski

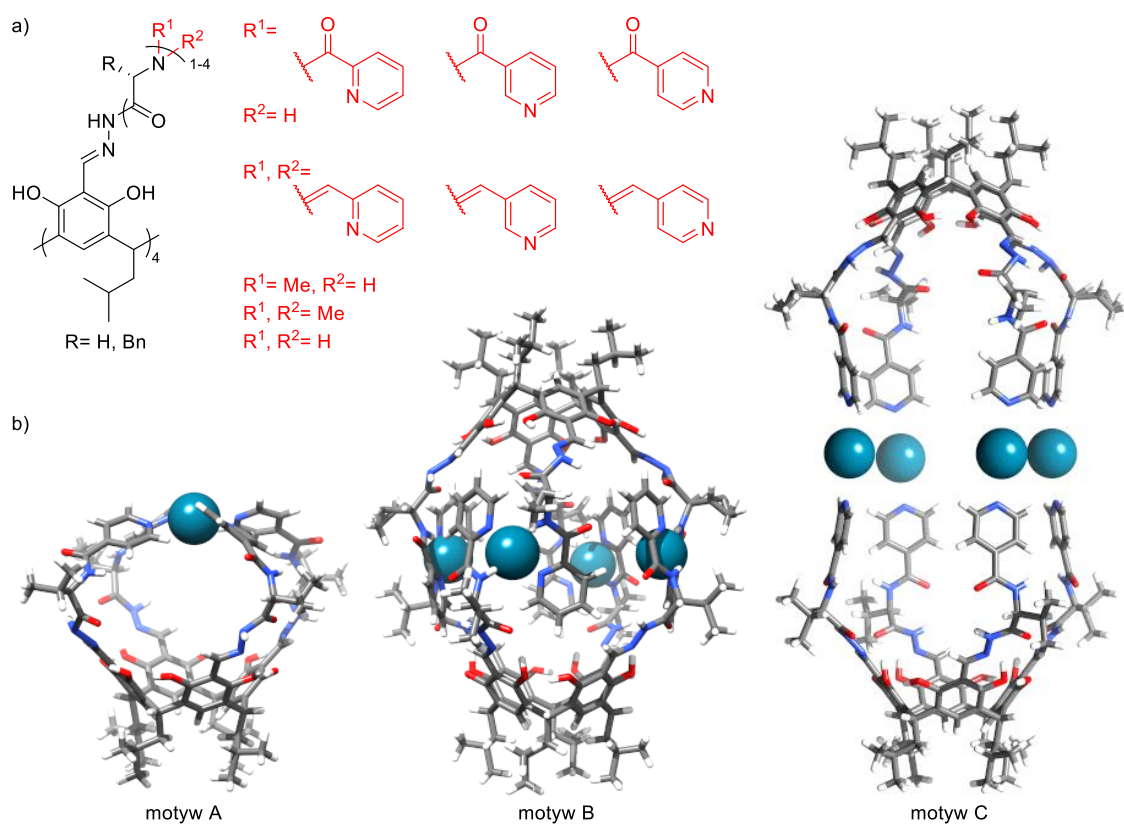


Rys. 60 Schemat postulowanej struktury i motywu wiążącego kapsuły (**157**)₂ (kolor żółty – łańcuchy peptydowe, kolor pomarańczowy – łącznik, kolor niebieski – blok makrocykliczny). Rysunek zaadaptowany z publikacji.⁶⁸

Podsumowując, otrzymałem dwie nowe kapsuły molekularne (**156**)₂ i (**157**)₂ otrzymane z hydrazydów tri- oraz tetrapeptydów. Z wykorzystaniem widm jedno- i dwuwymiarowych NMR, a w szczególności widm ROESY i DOSY NMR stwierdziłem, że wydłużenie łańcucha peptydowego nie wpływa na powiększenie kapsuł i luki obecnej w ich wnętrzach, ponieważ nie zmienia to i nie wydłuża obecnego w kapsułach motywu wiążącego, tylko powoduje „zaplatanie się” łańcuchów peptydowych na bloku makrocyklicznym (Rys. 60). Dodatkowo, otrzymałem kompleksy tych kapsuł z fulerenami C₆₀ i C₇₀ oraz stwierdziłem, że ich skompleksowanie nie powoduje zmiany struktury kapsuł w kompleksach. Wyniki te pozwoliły na pełne porównanie cech strukturalnych kapsuł molekularnych z łącznikiem acylohydrazonowym z kapsułami molekularnymi z łącznikami iminowym⁵⁸ i azapeptydowym⁵⁹ otrzymanymi w zespole Szumnej. W kapsułach z łącznikami iminowym i azapeptydowym łańcuchy peptydowe przyłączone są do bloku makrocyklicznego z użyciem N-końca oraz łańcuchy dwóch różnych kawitandów ułożone są antyrównoległe do siebie i oddziałują ze sobą na całej długości, co zapewnia powiększenie kapsuły wraz ze wzrostem długości łańcuchów peptydowych. Natomiast w kapsułach z łącznikami iminowym i azapeptydowym nie zaobserwowano kompleksowania żadnych cząsteczek gości (poza cząsteczkami rozpuszczalników). W kapsułach z łącznikiem acylohydrazonowym natomiast peptydy przyłączone są z użyciem C-końca do bloku makrocyklicznego a łańcuchy peptydowe oddziałują ze sobą parami tylko na długości do dwóch aminokwasów (licząc od bloku makrocyklicznego), co powoduje że różnice w wielkości kapsuł zależnie od długości łańcucha peptydowego są znikome. Możliwe natomiast jest skompleksowanie fulerenów C₆₀ i C₇₀ we wnętrzu kapsuł z łącznikiem acylohydrazonowym. Powyższe wyniki zostały opublikowane w czasopiśmie *Supramolecular Chemistry*.⁶⁸

3.5. Peptydowe kapsuły koordynacyjne

Jako, że strategia syntezy kapsuł o powiększonej luce poprzez wydłużenie łańcucha peptydowego nie przyniosła założonych rezultatów, zaproponowałem alternatywne metody otrzymania kapsuł molekularnych o większej luce. Postanowiłem zmienić grupy obecne na *N*-końcu aminokwasów i peptydów w celu modyfikacji motywu wiążącego kapsuły, co mogłoby skutkować jej powiększeniem. Postanowiłem również sprawdzić, czy otrzymane w ten sposób kawitandy i kapsuły mogą tworzyć kapsuły z wykorzystaniem oddziaływań koordynacyjnych. Jak przedstawiłem we wstępie literaturowym, strategia syntezy kapsuł molekularnych, w których kawitandy połączone są ze sobą z użyciem wiązań koordynacyjnych do jonów metali jest bardzo efektywną metodą syntezy kapsuł o różnej geometrii. Dodatkowo, wprowadzenie jonów metali do struktury i motywu wiążącego kapsuły może znacząco zmienić wielkość i właściwości luki w otrzymanych kapsułach, w porównaniu do peptydowych kapsuł molekularnych, co może mieć wpływ na rodzaj i trwałość powstających kompleksów gości we wnętrzu kapsuł. Jony metali obecne w strukturze kapsuły mogą również zostać potencjalnie wykorzystane jako centra katalityczne w reakcjach przebiegających we wnętrzu kapsuły.



Rys. 61 a) Modyfikacje grup obecnych na *N*-końcu aminokwasu bądź peptydu. b) Propozycje motywów wiążących, pomiędzy jonami metali a kawitandami (z grupą pirydylową na *N*-końcu), prowadzące do powstania kapsuł molekularnych.

Aby sprawdzić, jaki wpływ na proces asocjacji kapsuł ma grupa obecna na *N*-końcu aminokwasu bądź peptydu oraz umożliwić koordynację kawitandów do jonów metali, postanowiłem zmodyfikować otrzymane wcześniej przeze mnie kawitandy i kapsuły molekularne, poprzez zmianę grupy na *N*-końcu peptydu. Na podstawie przeglądu literatury zaproponowałem kilka możliwych grup, które dobrze koordynują do jonów metali i, jednocześnie, można je umieścić na *N*-końcu aminokwasu lub peptydu, takich jak: benzoilowa, 2-, 3-, 4-pirydynokarbonylowa, 2-, 3-, 4-iminopirydylowa, *N*-metylowa, *N,N*-dimetylowa, bądź niezabezpieczony *N*-koniec (Rys. 61a). Badania nad syntezą peptydowych kapsuł koordynacyjnych wykonywałem w ramach realizacji Diamentowego Grantu.⁶⁹

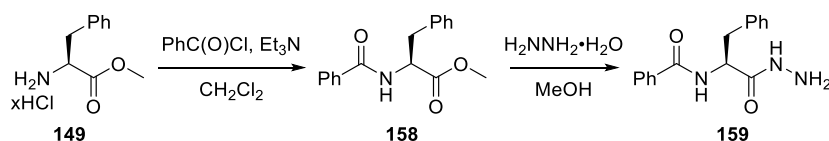
Zależnie od rodzaju grupy koordynującej i metalu, możliwe jest otrzymanie kapsuł z różnymi motywami wiążącymi (Rys. 61b). Motyw A może wystąpić, jeśli kompleks metalu przyjmuje geometrię płasko-kwadratową, koordynują do niego wtedy cztery ligandy z tego samego kawitandu i powstaje w ten sposób koordynacyjna kapsuła molekularna składająca się z jednego kawitandu i jednego jonu metalu. Taka kapsuła posiadałaby niewielką lukę, przez co enkapsulacja związków w jej wnętrzu byłaby utrudniona. Motyw B występuje, jeśli metal przyjmuje geometrię płasko kwadratową, ale koordynują do niego po dwa łańcuchy peptydowe z dwóch kawitandów zawierające dwa koordynujące atomy azotu. Taki motyw został wykorzystany przez Nitschke do syntezy kapsuł koordynacyjnych.^{21,33} Motyw C może powstać, jeśli kompleks metalu przyjmuje geometrię liniową i charakteryzuje się zaangażowaniem czterech jonów metali w koordynację pomiędzy dwoma łańcuchami dwóch różnych kawitandów każdy. W przypadku motywów B i C powstająca kapsuła może być większa od wcześniej otrzymanych peptydowych kapsuł molekularnych. Zaproponowane modele mają charakter orientacyjny ze względu na dużą labilność konformacyjną peptydów. Przedstawione dalej badania podzieliłem na pięć etapów:

1. Synteza hydrazydów aminokwasów i peptydów
2. Synteza kapsuł z hydrazydów zmodyfikowanych na *N*-końcu
3. Synteza kapsuł z wykorzystaniem podejścia dynamicznej chemii kombinatorycznej
4. Synteza kapsuł koordynacyjnych
5. Synteza kapsuły kowalencyjnej.

3.5.1. Synteza hydrazydów aminokwasów i peptydów

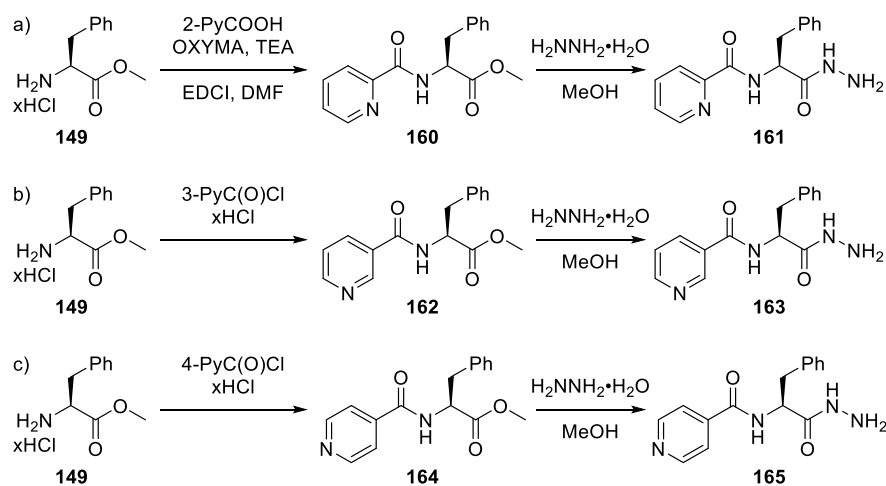
Jako podstawowy blok budulcowy hydrazydów, wybrałem L-feniloalaninę dlatego, że jej pochodne są trudniej rozpuszczalne w wodzie, co znacząco ułatwia pracę z nimi. Dodatkowo jest to już dobrze sprawdzony i zbadany blok budulcowy, który można łatwo modyfikować zależnie od wymaganych potrzeb. Jako drugi aminokwas postanowiłem wykorzystać glicynę, ze względu na brak łańcucha bocznego, co znacznie ułatwia asocjację powstałych produktów.

Zaprojektowałem i otrzymałem szereg hydrazydów aminokwasów oraz krótkich peptydów (od dwóch do czterech aminokwasów) zawierających zmodyfikowany *N*-koniec. Przy syntezie peptydów, jako odczynników sprzęgających używałem OXYMA i EDCI·HCl, a reakcje sprzęgania prowadziłem w DMF z dodatkiem trietyloaminy (TEA). Reakcje odbezpieczania prowadziłem, zależnie od odbezpieczanej grupy: przy odbezpieczaniu grup Cbz i estru benzyloвого – wodorem w obecności palladu na węglu aktywnym w mieszaninie metanolu i wody; przy odbezpieczaniu estrów tertbutyloowych – kwasem trifluoroctowym (TFA) w chlorku metylenu.



Rys. 62 Synteza hydrazidu *N*-benzoilo-L-feniloalaniny 159.

W pierwszej kolejności otrzymałem hydrazid *N*-benzoilo-L-feniloalaniny 159 (Rys. 62). Jego syntezę rozpocząłem od syntezy chlorowodoru estru metylowego L-feniloalaniny 149 według wcześniej opracowanej i opisanej przeze mnie procedury (str. 88). Następnie, związek 149 poddałem reakcji z chlorkiem kwasu benzoowego w obecności Et₃N w chlorku metylenu. Po przemywaniu otrzymałem ester *N*-benzoilo-L-feniloalaniny 158 z wydajnością 88%. Ostatnim etapem była reakcja z wodnym roztworem hydrazyny prowadząca do otrzymania pożądanego produktu, hydrazidu *N*-benzoilo-L-feniloalaniny 159, z ilościową wydajnością.

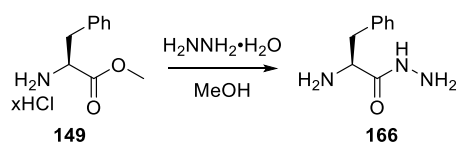


Rys. 63 Synteza hydrazydów **161**, **163** i **165** zawierających grupę karbonylopirydylową na *N*-końcu.

Kolejnym krokiem było opracowanie syntezy hydrazydów L-fenylalaniny zawierających grupy karbonylopirydylowe na *N*-końcu. Ze względu na labilność peptydów i trudną do przewidzenia geometrię koordynacji postanowiłem otrzymać wszystkie izomery tego typu (zawierające pirydynę podstawioną w pozycjach 2-,3- i 4-). Ze względu na dostępność substratów, do syntezy używałem kwasu 2-karbonylopirydylowego oraz chlorowodorków chlorków kwasów nikotynowego oraz izonikotynowego.

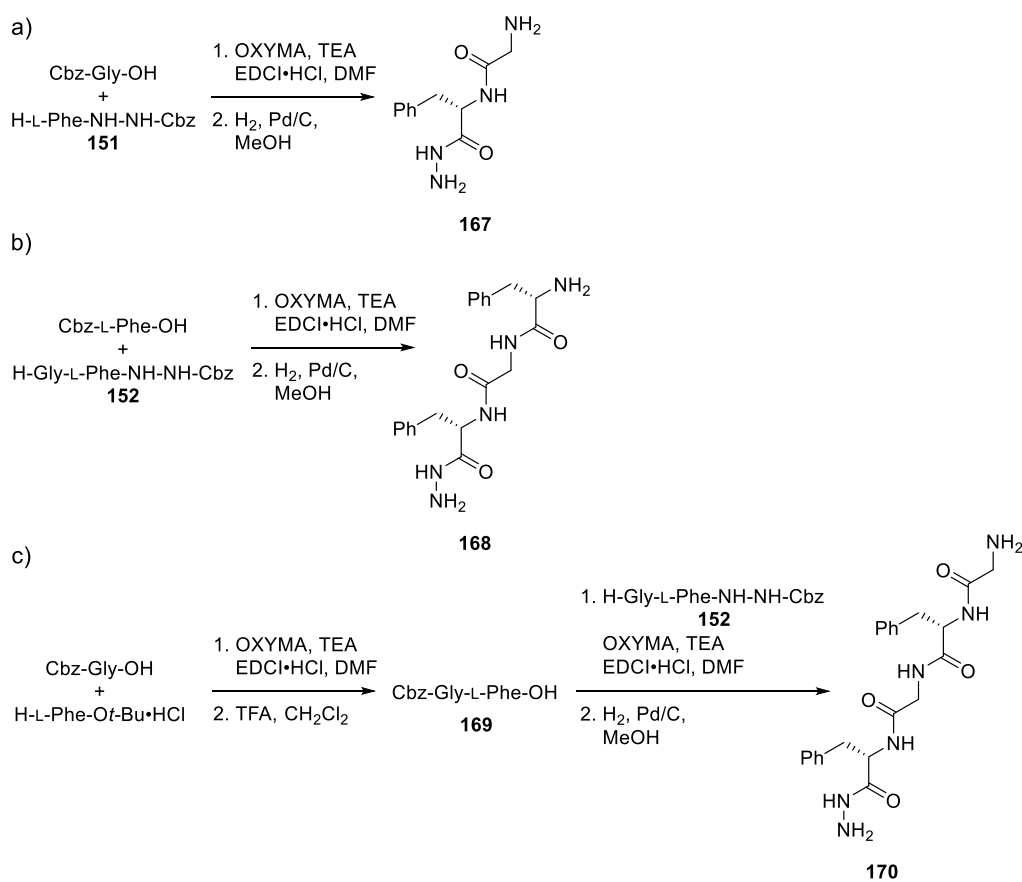
Syntezę hydrazidu **161**, zawierającego grupę 2-karbonylopirydylową, rozpocząłem od sprzęgania chlorowodorku estru metylowego L-fenylalaniny **149** z kwasem 2-karbonylopirydylowym (Rys. 63a). Po przemyciu reakcji otrzymałem produkt **160** z wydajnością 84%. Kolejnym etapem była reakcja związku **160** z wodnym roztworem hydrazyny w której, otrzymałem hydrazyd **161**, który jednak był zanieczyszczony pozostałościami odczynników sprzęgających. Liczne próby jego oczyszczania, w tym chromatograficznego, nie przyniosły zamierzonego efektu, ale, pomimo tego, postanowiłem go użyć do dalszych etapów.

Syntezę hydrazydów **163** i **165**, zawierających, odpowiednio, grupę 3- oraz 4-karbonylopirydylową, rozpocząłem od reakcji chlorowodorku estru metylowego L-fenylalaniny **149** z chlorowodorkami chlorków kwasów, odpowiednio, nikotynowego oraz izonikotynowego (Rys. 63b-c). Po oczyszczaniu przez ekstrakcję otrzymałem produkty z wydajnościami: **162** – 84% oraz **164** – 83%. Kolejnym etapem była reakcja związków **162** i **164** z wodnym roztworem hydrazyny, w której otrzymałem hydrazydy **163** i **165** z ilościowymi wydajnościami.



Rys. 64 Synteza hydrazynu **166** z niezabezpieczonym *N*-końcem.

Syntezę hydrazynu L-fenylalaniny **166** zawierającego niezabezpieczony *N*-koniec rozpocząłem od reakcji wcześniej otrzymanego chlorowodoru estru metylowego L-fenylalaniny **149** z wodnym roztworem hydrazyny w metanolu (Rys. 64). Do reakcji użyłem znacznego nadmiaru hydrazyny w celu usunięcia chlorowodoru z oczekiwanego produktu. Po 18 godzinach reakcję odparowałem i dodałem niewielką porcję bezwodnego metanolu w celu usunięcia chlorowodoru hydrazyny. Hydrazyn **166** oczyściłem przez rekrytalizację przesącza otrzymując go z wydajnością 79%.



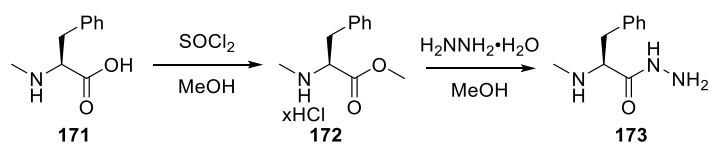
Rys. 65 Synteza hydrazydów zawierających niezabezpieczony *N*-koniec: a) dipeptydu **167**, b) tripeptydu **168**, c) tetrapeptydu **170**.

Hydrazydy di- **167**, tri- **168** oraz tetrapeptydów **170** z niezabezpieczonym *N*-końcem otrzymałem z wykorzystaniem klasycznej sekwencji reakcji sprzęgania i odbezpieczania (Rys. 65). Razem z mgr Pauliną Jurek, która wykonywała swoją pracę magisterską w zespole Szumnej, otrzymałem hydrazyn dipeptydu **167**. W reakcji

sprzęgania Cbz-Gly-OH z otrzymanym wcześniej związkem H-L-Phe-NH-NH-Cbz **151** (Rys. 65a) otrzymałem produkt Cbz-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz, który wydzieliłem poprzez przemywanie reakcji. Następnie, poddałem go reakcji odbezpieczania grup Cbz otrzymując hydrazyd H-Gly-L-Phe-NH-NH₂ **167** z całkowitą wydajnością 80%.

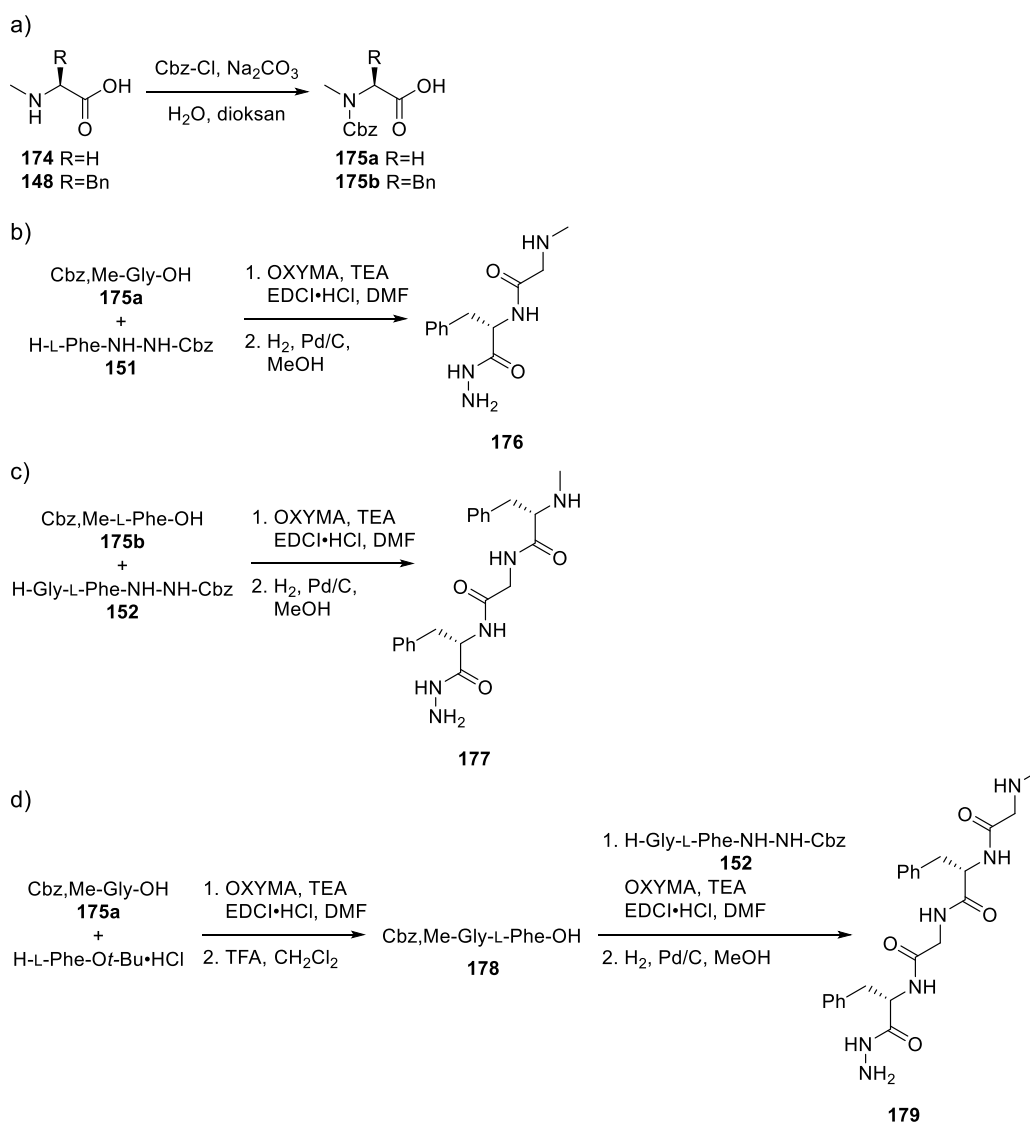
Do syntezy hydrazynu tripeptydu **168** użyłem wcześniej otrzymanego przeze mnie związku H-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz **152**, który poddałem reakcji sprzęgania ze związkiem Cbz-L-Phe-OH (Rys. 65b). Po przemyciu reakcji otrzymałem produkt Cbz-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz, który następnie poddałem reakcji odbezpieczania grup Cbz otrzymując hydrazyd H-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH₂ **168** z całkowitą wydajnością 95%.

Syntezę hydrazynu tetrapeptydu **170** rozpocząłem od sprzęgania związków Cbz-Gly-OH z H-L-Phe-Ot-Bu·HCl (Rys. 65c). Otrzymany produkt Cbz-Gly-L-Phe-Ot-Bu odbezpieczyłem, z użyciem kwasu trifluorooctowego, otrzymując związek Cbz-Gly-L-Phe-OH **169** z całkowitą wydajnością 87%. Kolejnym etapem było sprzęganie otrzymanego związku Cbz-Gly-L-Phe-OH **169** z wcześniej otrzymanym przeze mnie związkiem H-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz **152**. Produkt reakcji Cbz-Gly-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz poddałem odbezpieczaniu grup Cbz i otrzymałem oczekiwany hydrazyd H-Gly-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH₂ **170** z całkowitą wydajnością dwóch ostatnich etapów 42%. Niska całkowita wydajność była spowodowana niską wydajnością ostatniej reakcji sprzęgania związków Cbz-Gly-L-Phe-OH **169** i H-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz **152** prawdopodobnie z powodu sprzęgania ze sobą dłuższych peptydów zawierających wiele grup aromatycznych.



Rys. 66 Synteza hydrazynu L-fenylalaniny **173** z grupą *N*-metylową.

Syntezę hydrazynu *N*-metylo-L-fenylalaniny **173** rozpocząłem od reakcji *N*-metylo-L-fenylalaniny **171** z chlorkiem tionylu w metanolu (Rys. 66). Następnie otrzymany produkt chlorowodorek estru metylowego *N*-metylo-L-fenylalaniny **172** poddałem reakcji z nadmiarem wodnego roztworu hydrazyny. Po odparowaniu reakcji dodałem niewielką porcję bezwodnego metanolu w celu usunięcia chlorowodoru hydrazyny. Hydrazyd *N*-metylo-L-fenylalaniny **173** oczyściłem przez rekrytalizację przesącza z całkowitą wydajnością 95%.



Rys. 67 Synteza: a) półproduktów **175a-b**, hydrazydów zawierających grupę *N*-metylową; b) dipeptydu **176**, c) tripeptydu **177**, d) tetrapeptydu **179**.

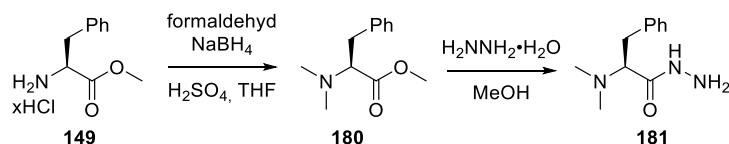
Hydrazydy di- **176**, tri- **177** oraz tetrapeptydów **179** z grupą *N*-metylową otrzymałem z wykorzystaniem klasycznej sekwencji reakcji sprzężenia i odbezpieczenia. Syntezę rozpocząłem od otrzymania zabezpieczonych grupą Cbz pochodnych *N*-metyloglicyny **175a** oraz *N*-metylo-L-fenylalaniny **175b** (Rys. 67a). W tym celu przeprowadziłem reakcję *N*-metyloglicyny **174** oraz *N*-metylo-L-fenylalaniny **148** z chloromrówczanem benzylu w warunkach zasadowych. Produkty Cbz,Me-Gly-OH **175a** i Cbz,Me-L-Phe-OH **175b** wydzieliłem poprzez ekstrakcję z wydajnościami odpowiednio 96% i ilościową.

Następnie, związek Cbz,Me-Gly-OH **175a** poddałem reakcji sprzężenia z otrzymanym wcześniej związkiem H-L-Phe-NH-NH-Cbz **151** (Rys. 67b). Produkt reakcji Cbz,Me-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz wydzieliłem poprzez przemywanie reakcji.

Następnie, poddałem go reakcji odbezpieczania grup Cbz otrzymując hydrazyd Me-Gly-L-Phe-NH-NH₂ **176** z całkowitą wydajnością 90%.

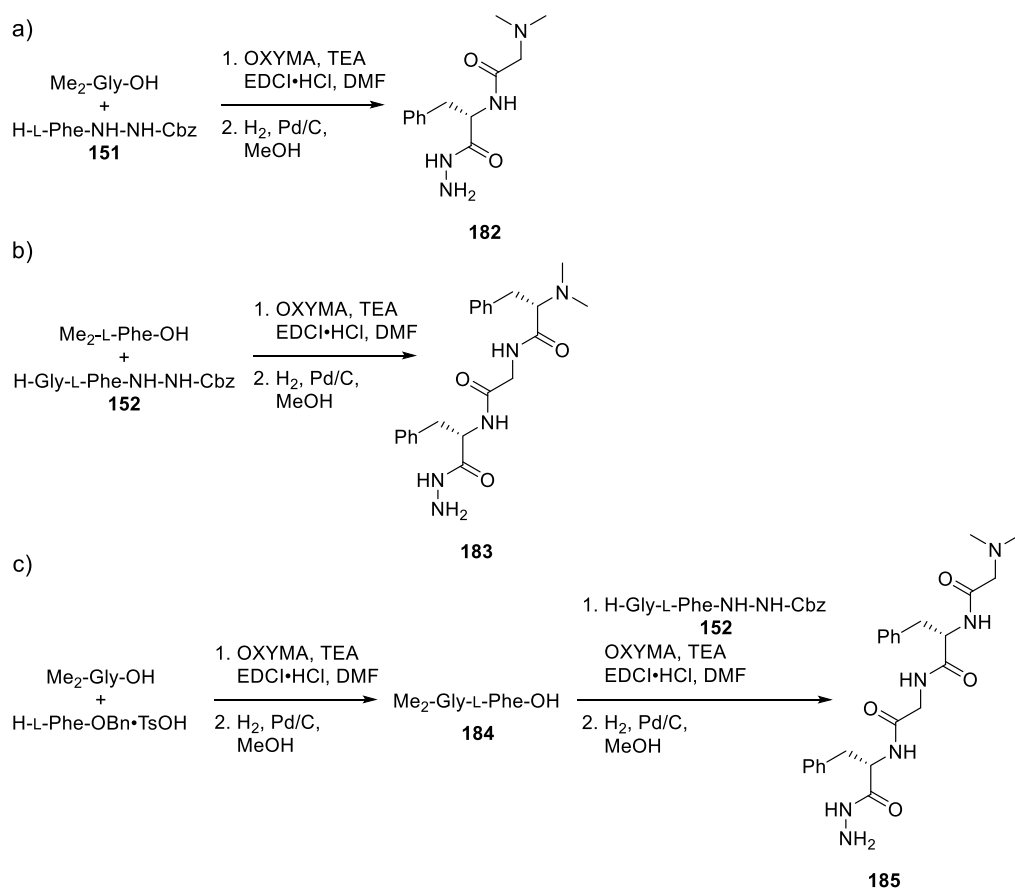
Do syntezy hydrazynu tripeptydu **177** użyłem wcześniej otrzymany przeze mnie związek H-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz **152**, który poddałem reakcji sprzęgania ze związkiem Cbz,Me-L-Phe-OH **175b** (Rys. 67c). Po przemyciu reakcji otrzymałem produkt Cbz,Me-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz, który następnie poddałem reakcji odbezpieczania grup Cbz otrzymując hydrazyd Me-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH₂ **177** z całkowitą wydajnością 76%.

Syntezę hydrazynu tetrapeptydu **179** rozpocząłem od reakcji sprzęgania Cbz,Me-Gly-OH **175a** z H-L-Phe-O*t*-Bu·HCl (Rys. 67d). Otrzymany produkt Cbz,Me-Gly-L-Phe-O*t*-Bu odbezpieczyłem, z użyciem kwasu trifluorooctowego, otrzymując związek Cbz,Me-Gly-L-Phe-OH **178** z całkowitą wydajnością 99%. Kolejnym etapem było sprzęganie otrzymanego związku Cbz,Me-Gly-L-Phe-OH **178** z wcześniej otrzymanym przeze mnie związkiem H-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz **152**. Produkt reakcji Cbz,Me-Gly-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz poddałem odbezpieczaniu grup Cbz i otrzymałem oczekiwany hydrazyd Me-Gly-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH₂ **179** z całkowitą wydajnością dwóch ostatnich etapów 71%.



Rys. 68 Synteza hydrazynu L-fenylalaniny **181** z grupą *N,N*-dimetylową.

Syntezę hydrazynu *N,N*-dimetylo-L-fenylalaniny **181** rozpocząłem od reakcji otrzymanego wcześniej chlorowodoru estru metylowego L-fenylalaniny **149** z formaldehydem w warunkach redukujących (NaBH₄, Rys. 68). Po ekstrakcji otrzymałem produkt, ester metylowy *N,N*-dimetylo-L-fenylalaniny **180**, który poddałem reakcji z wodnym roztworem hydrazyny. Otrzymałem hydrazyd *N,N*-dimetylo-L-fenylalaniny **181** z całkowitą wydajnością 77%.



Rys. 69 Synteza hydrazydów zawierających grupę *N,N*-dimetylową: a) dipeptydu **182**, b) tripeptydu **183**, c) tetrapeptydu **185**.

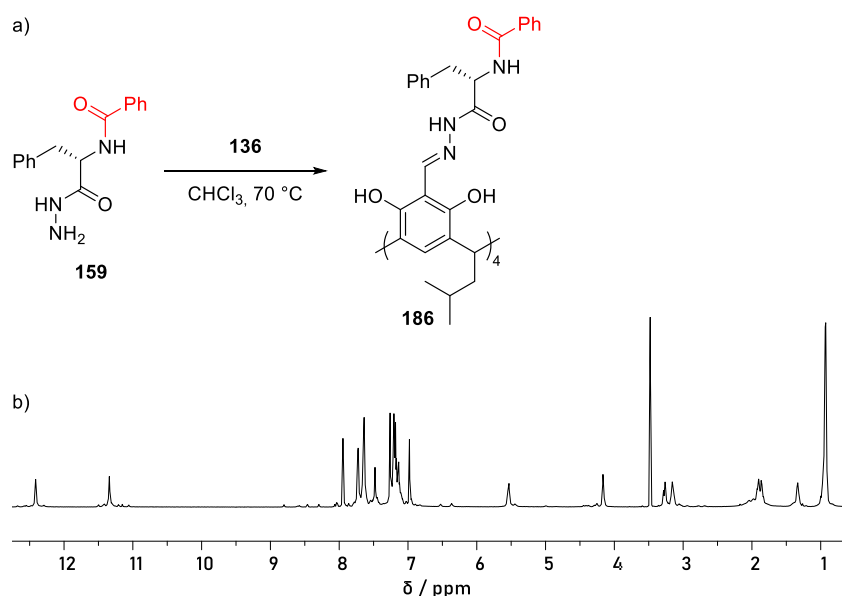
Hydrazydy di- **182**, tri- **183** oraz tetrapeptydów **185** z grupą *N,N*-dimetylową otrzymałem z wykorzystaniem klasycznej sekwencji reakcji sprzężenia i odbezpieczenia. Syntezę hydrazydu dipeptydu **182** rozpocząłem od reakcji sprzężenia związku $\text{Me}_2\text{-Gly-OH}$ z otrzymanym wcześniej związkiem H-L-Phe-NH-NH-Cbz **151** (Rys. 69a). Produkt reakcji $\text{Me}_2\text{-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz}$ wydzieliłem poprzez przemywanie reakcji. Następnie, poddałem go reakcji odbezpieczenia grupy Cbz otrzymując hydrazyd $\text{Me}_2\text{-Gly-L-Phe-NH-NH}_2$ **182** z całościową wydajnością 64%.

Do syntezy hydrazydu tripeptydu **183** użyłem wcześniej otrzymany przeze mnie związek $\text{H-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz}$ **152**, który poddałem reakcji sprzężenia ze związkiem $\text{Me}_2\text{-L-Phe-OH}$ (Rys. 69b). Po przemyciu reakcji otrzymałem produkt $\text{Me}_2\text{-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz}$, który następnie poddałem reakcji odbezpieczenia grupy Cbz otrzymując hydrazyd $\text{Me}_2\text{-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH}_2$ **183** z całościową wydajnością 72%.

Syntezę hydrazydu tetrapeptydu **185** rozpocząłem od reakcji sprzężenia $\text{Me}_2\text{-Gly-OH}$ z $\text{H-L-Phe-OBn}\cdot\text{TsOH}$ (Rys. 69c). Otrzymany produkt $\text{Me}_2\text{-Gly-L-Phe-OBn}$

poddałem reakcji odbezpieczania grupy Cbz otrzymując związek Me₂-Gly-L-Phe-OH **184** z całościową wydajnością 47%. Taka niska wydajność spowodowana była rozpuszczalnością związku Me₂-Gly-L-Phe-OBn otrzymanego po reakcji sprzęgania w wodzie. Produkt musiałem wielokrotnie przemyć wodą w celu pozbycia się pozostałości po odczynnikach sprzęgających i substratach, bez przemywania roztworem kwasu cytrynowego, który mógłby przekształcić otrzymany produkt w rozpuszczalną w wodzie sól. Kolejnym etapem było sprzęganie otrzymanego związku Me₂-Gly-L-Phe-OH **184** z wcześniej otrzymanym przeze mnie związkiem H-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz **152**. Produkt reakcji Me₂-Gly-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz poddałem reakcji odbezpieczania grupy Cbz i otrzymałem oczekiwany hydrazyd Me₂-Gly-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH₂ **185** z całkowitą wydajnością dwóch ostatnich etapów 66%.

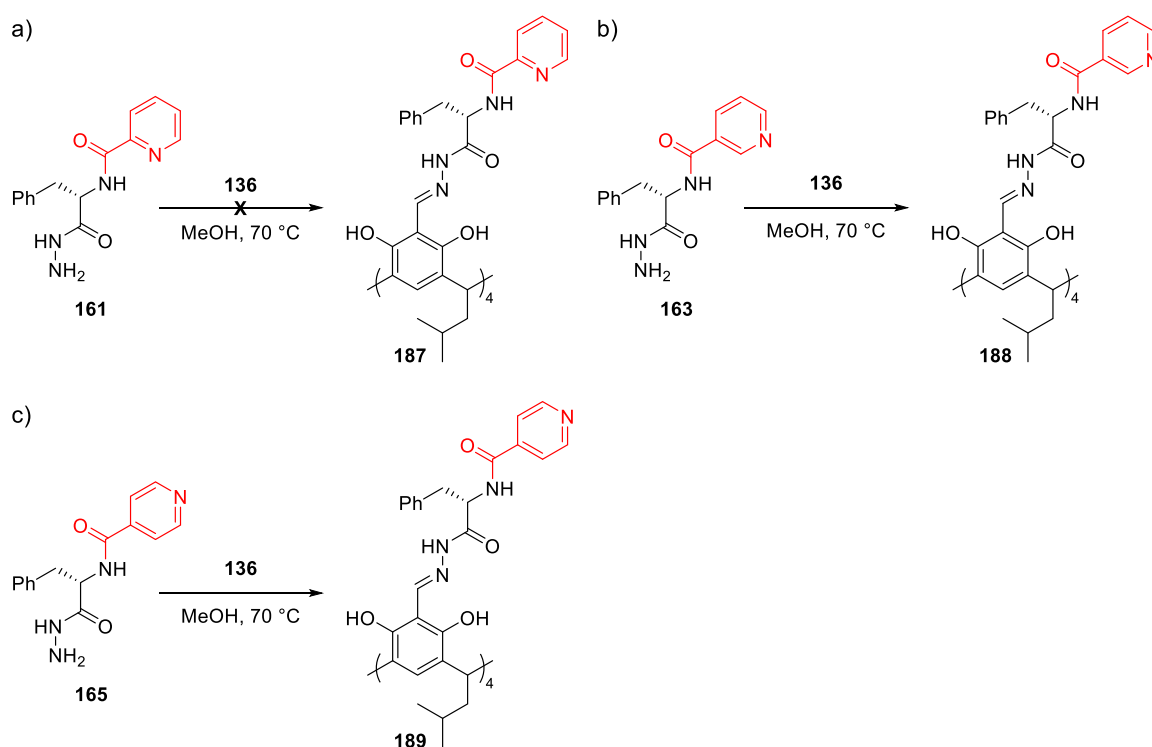
3.5.2. Synteza kapsuł z hydrazydów zmodyfikowanych na *N*-końcu



Rys. 70 a) Synteza związku **186**. b) Widmo ¹H NMR związku **186** występującego w formie dimerycznej kapsuły (**186**)₂ (CDCl₃, 298 K, 600 MHz).

W pierwszej kolejności postanowiłem sprawdzić, czy zamiana grupy acetylowej na *N*-końcu aminokwasu na znacznie większą grupę benzoilową będzie miała wpływ na proces asocjacji i powstawania dimerycznych kapsuł molekularnych. W tym celu hydrazyd *N*-benzoilo-L-fenylalaniny **159**, przyłączyłem do tetraformylzorcyn[4]arenu **136** (Rys. 70a). Reakcję tę przeprowadziłem w chloroformie w temperaturze 70 °C w szczelnym naczyniu. Po 18 godzinach reakcji i odparowaniu rozpuszczalnika otrzymałem produkt **186** z ilościową wydajnością. Strukturę związku **186** ustaliłem z użyciem widm jedno- i dwuwymiarowych NMR oraz spektrometrii mas. Widmo

^1H NMR wskazywało na otrzymanie związku o wysokiej symetrii, a na widmie ROESY NMR zaobserwowałem korelację pomiędzy sygnałem protonu grupy hydrazonowej a diastereotopowymi protonami grupy bocznej fenyloalaniny, co sugeruje powstanie dimerycznej kapsuły molekularnej $(\mathbf{186})_2$ o symetrii C_4 . Wynik ten potwierdziłem poprzez pomiar współczynnika dyfuzji, z użyciem techniki DOSY NMR, który wynosił $D = 3,1 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ i był porównywalny ze współczynnikiem dyfuzji wcześniej otrzymanych kapsuł.⁶⁰ Dodatkowo, na widmie masowym zaobserwowałem sygnał pochodzący od dianionu otrzymanej kapsuły $[(\mathbf{186})_2-2\text{H}]^{2-}$. Wyniki te pokazują, że zamiana grupy na *N*-końcu hydrazidu, na bardziej objętościową, nie przeszkadza w procesie dimeryzacji i otrzymaniu peptydowej kapsuły molekularnej.



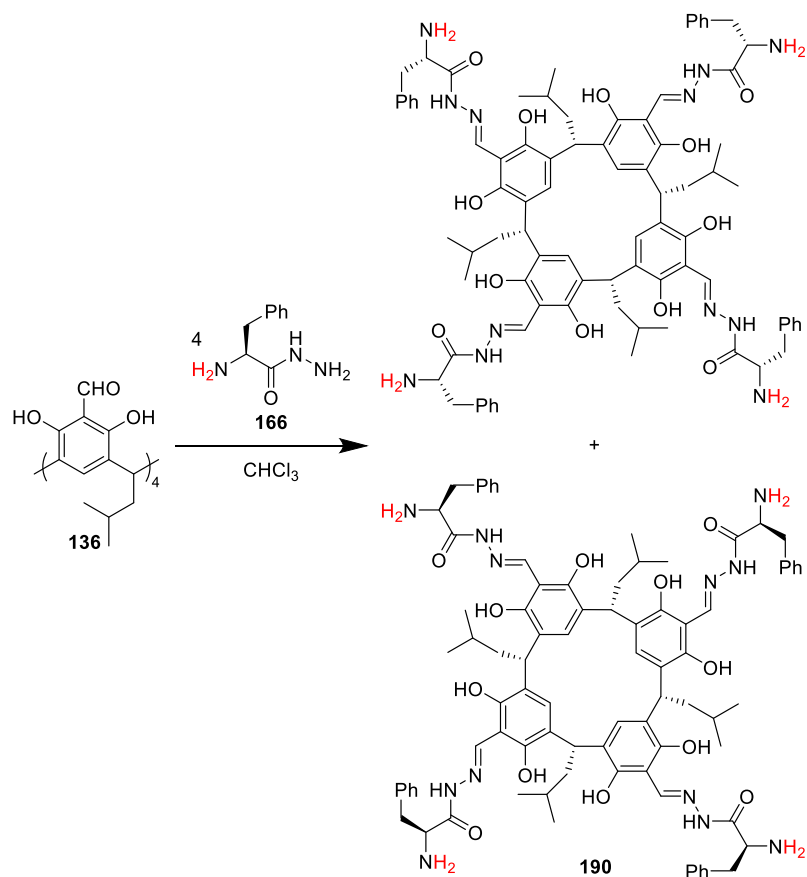
Rys. 71 Reakcja tetraformylzorezorcyn[4]arenu **136** z hydrazydami z grupą karbonylopirydylową na *N*-końcu: a) **161**, b) **163**, c) **165**.

Kolejnym krokiem było sprawdzenie, czy możliwe jest otrzymanie kapsuł z hydrazydów zawierających grupy karbonylopirydylowe na *N*-końcu. W tym celu przeprowadziłem reakcje otrzymanych hydrazydów **161**, **163** i **165** z tetraformylzorezorcyn[4]arenem **136**. W pierwszej kolejności przeprowadziłem reakcję hydrazidu **163** z tetraformylzorezorcyn[4]arenem **136** w celu otrzymania produktu **188**. Reakcję prowadziłem w standardowych warunkach (chloroform, 70 °C, zamknięte naczynie, 18 godzin). Po analizie widm ^1H NMR po reakcji, stwierdziłem, że otrzymałem

mieszanie produktów, ponieważ wszystkie sygnały były poszerzone oraz występowało kilka sygnałów pochodzących od tych samych ugrupowań, co sugerowało otrzymanie produktów częściowo podstawionych. Z doświadczenia w pracy z tak złożonymi związkami wiedziałem, że rozdzielenie tak podobnych do siebie związków przez chromatografię jest z reguły niemożliwe, dlatego postanowiłem zmienić rozpuszczalnik do reakcji na metanol, w którym hydrazyd **163** jest bardzo dobrze rozpuszczalny, oraz użyć nadmiaru hydrazydu **163** (5 ekwiwalentów). Po 18 godzinach reakcji otrzymałem produkt **188**, jako osad, który odsączyłem z mieszaniny reakcyjnej z ilościową wydajnością. W reakcji hydrazydu **165** z tetraformylorocyn[4]arenem **136** w metanolu również otrzymałem oczekiwany produkt **189** z ilościową wydajnością. Natomiast w reakcji zanieczyszczonego hydrazydu **161** z tetraformylorocyn[4]arenem **136** nie otrzymałem czystego produktu **187**. Pomimo próby zmiany warunków reakcji oraz stosunku stechiometrycznego substratów, za każdym razem otrzymywałem mieszaninę produktów, która była niemożliwa do rozdzielenia. Z tego powodu dalsze badania przeprowadziłem jedynie z użyciem związków **188** i **189**.

Otrzymane związki **188** i **189** były bardzo słabo rozpuszczalne w chloroformie i na widmach ^1H NMR nie wykazywały symetrii C_4 w tym rozpuszczalniku, co pozwoliło na analizę jedynie widma ^1H NMR. W bardziej polarnym rozpuszczalniku – DMSO, związki **188** i **189** wykazywały symetrię C_4 na widmach ^1H NMR. Na widmach ROESY NMR nie zaobserwowałem charakterystycznej korelacji pomiędzy protonem grupy acylohydrazonowej a protonami α bądź β aminokwasu, co może świadczyć o braku samoasocjacji związków **188** i **189** w dimeryczne kapsuły. Obliczenia współczynników dyfuzji na podstawie widm DOSY NMR i porównanie ich ze współczynnikami innych związków, o znanej strukturze w DMSO, potwierdziły te przypuszczenia. Brak asocjacji jest spowodowany dużą polarnością i konkurencją rozpuszczalnika do tworzenia wiązań wodorowych. Przeprowadzenie badań w innych rozpuszczalnikach było niemożliwe ze względu na rozpuszczalność otrzymanych związków.

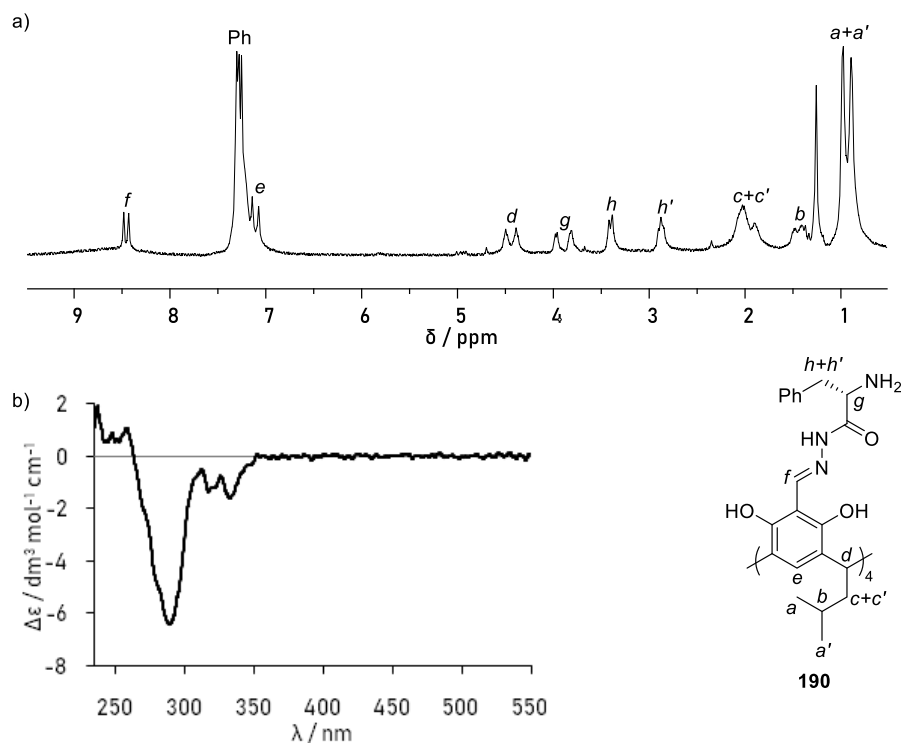
Badania te pokazują, że możliwa jest zamiana grupy na *N*-końcu aminokwasu z grupy acetylowej na bardziej objętościową grupę benzoilową w hydrazydach tworzących kapsuły molekularne i nie wpływa to negatywnie na proces asocjacji kawitandów do dimerycznych kapsuł molekularnych. Jednak zamiana grupy acetylowej na grupę karbonylopirydylową, znacznie zmniejsza rozpuszczalność otrzymanych związków w rozpuszczalnikach niepolarnych (chloroform), a w rozpuszczalnikach polarnych (DMSO) związki te występują jedynie w formie kawitandów.



Rys. 72 Reakcja tetraformylzinc[4]arenu **136** z czterema ekwiwalentami hydrazylu **166**.

W kolejnym etapie pracy podjąłem próby syntezy kawitandów z hydrazylami aminokwasów i peptydów posiadających niezabezpieczony *N*-koniec. Hydrazydy takie jak **166** (Rys. 64), **167**, **168** czy **170** (Rys. 65) posiadają dwie reaktywne grupy: hydrazylową oraz aminową, które są zdolne do reakcji z grupą aldehydową bloku makrocyklicznego tworząc, odpowiednio, wiązania acylohydrazonowe albo iminowe. Może to prowadzić do powstania mieszaniny produktów, w których aminokwasy są przyłączone różnymi końcami do bloku makrocyklicznego. Jednak, wcześniej przeprowadzone badania w zespole Szumnej pokazały, że kawitandy i kapsuły posiadające wiązanie iminowe są mniej trwałe, niż kapsuły posiadające wiązanie acylohydrazonowe i możliwe jest przeprowadzenie kapsuł z wiązaniem iminowym w kapsuły z wiązaniem acylohydrazonowym. Dlatego, spodziewałem się, że odwracalny charakter obu powstających wiązań pozwoli na otrzymanie związku, w którym wszystkie aminokwasy są przyłączone tym samym końcem. Reakcje pomiędzy tetraformylzinc[4]arene **136** a czterema ekwiwalentami hydrazylu **166** przeprowadziłem w chloroformie w temperaturze 70 °C w zamkniętym naczyniu (Rys.

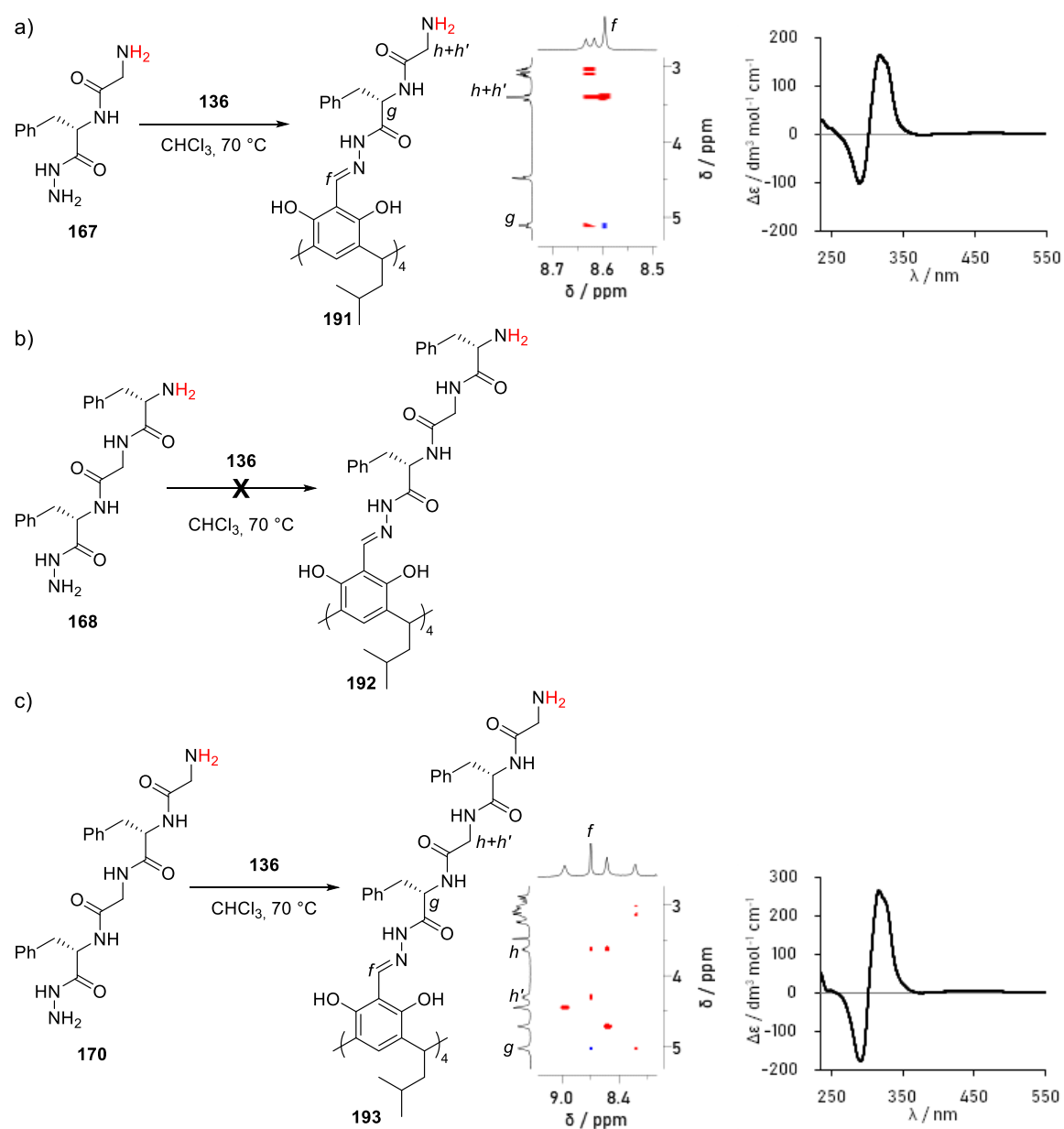
72). Po 18 godzinach reakcji wydzieliłem produkt **190** przez odparowanie rozpuszczalnika z ilościową wydajnością.



Rys. 73 Widma związku **190**: a) ¹H NMR z przypisaniem sygnałów (CDCl₃, 298 K, 400 MHz), b) ECD w CHCl₃.

Na widmie ¹H NMR produktu **190** w chloroformie obecne były dwa zestawy sygnałów, co można bardzo dobrze zaobserwować na przykładzie sygnałów pochodzących od protonów *f*, *e*, *d* oraz *g* (Rys. 73a). Do określenia struktury otrzymanych produktów użyłem widm jedno- i dwuwymiarowych NMR, na podstawie których stwierdziłem, że w obydwu otrzymanych produktach występuje ugrupowanie acylohydrazonowe. Współczynnik dyfuzji obydwu produktów był taki sam, na podstawie widma DOSY NMR, i odpowiadał współczynnikowi dyfuzji kapsuł molekularnych. Na widmie ROESY NMR nie występowały żadne korelacje pomiędzy dwoma zestawami sygnałów, co wyklucza powstanie mieszanych produktów. Dodatkowo, na widmach masowych zaobserwowałem jedynie sygnały pochodzące od produktów podstawienia czterech grup formylowych w tetraformylorezorcyn[4]arenie **136** przez hydrazyd **166**. Na tej podstawie stwierdziłem, że w reakcji powstały dwie diastereomeryczne kapsuły *M*-(**190**)₂ i *P*-(**190**)₂ różniące się chiralnością inherentną występującą na pierścieniu makrocyklicznym (Rys. 72a). W celu potwierdzenia takiej struktury otrzymanych związków zmierzyłem widmo ECD w chloroformie produktów reakcji. Na widmie widoczne były efekty Cottona o intensywności do -6,5 dm³ mol⁻¹ cm⁻¹ (Rys. 73b), co jest

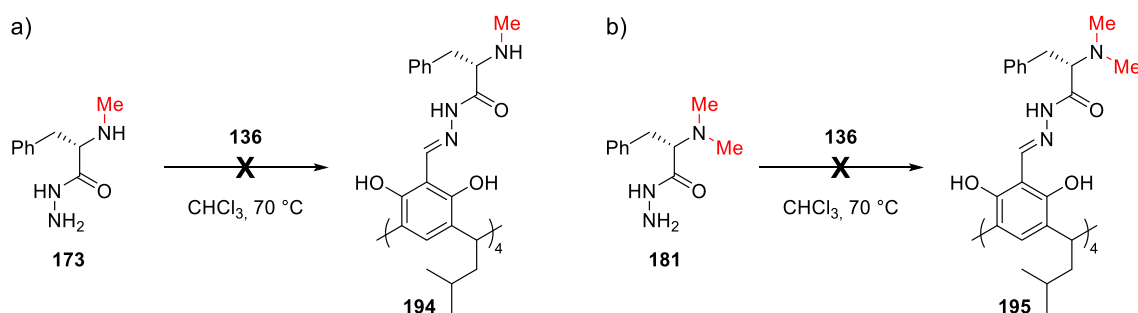
wartością znacznie niższą w porównaniu do widm wcześniej otrzymanych i opisanych kapsuł o zdefiniowanej chiralności inherentnej (do $248 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).⁶⁵ Tak niskie efekty pochodziły jedynie od L-feniloalaniny obecnej w otrzymanej kapsule $(190)_2$, a efekty pochodzące od chiralności inherentnej otrzymanych diastereomerycznych kapsuł wygaszały się. Wyniki te potwierdziły, że otrzymałem dwie diastereomeryczne kapsuły molekularne M - $(190)_2$ i P - $(190)_2$ przez przyłączenie hydrazynu **166** do tetraformylrezorcyn[4]arenu **136** z użyciem grupy hydrazydowej. Jest to zarazem pierwszy przypadek, w którym otrzymane zostały dwa diastereoizomery kapsuły zbudowanej z hydrazydów aminokwasów bądź peptydów.



Rys. 74 Reakcja tetraformylrezorcyn[4]arenu **136** z hydrazydami z niezabezpieczonym *N*-końcem a) **167** wraz z częściowym widmem ROESY NMR i widmem ECD, b) **168**, c) **170** wraz z częściowym widmem ROESY NMR i widmem ECD (CDCl_3 , 298K, 600 MHz).

Następnym etapem było przyłączenie otrzymanych hydrazydów peptydów **167**, **168** i **170** z niezabezpieczonym *N*-końcem do tetraformylozorcyn[4]arenu **136** (Rys. 74). Reakcje te prowadziłem w chloroformie w temperaturze 70 °C w zamkniętym naczyniu przez 18 godzin. W reakcji hydrazydów **167** i **170** otrzymałem przewidywane produkty odpowiednio **191** i **193**, które wykazywały symetrię C_4 na widmach ^1H NMR w chloroformie. Związki te występowały w formie dimerycznych kapsuł molekularnych $(\mathbf{191})_2$ i $(\mathbf{193})_2$, co stwierdziłem po analizie widm jedno- i dwuwymiarowych NMR. Co ciekawe, nie zaobserwowałem na widmach ^1H NMR tych kapsuł dwóch zestawów sygnałów (jak na widmie kapsuły $(\mathbf{190})_2$ otrzymanej z hydrazydu aminokwasu **166**), co świadczy o powstawaniu tylko jednego diastereoizomeru tych kapsuł. Na widmach ROESY NMR były widoczne korelacje pomiędzy protonem grupy acylohydrazonowej a protonami glicyny będącej drugim aminokwasem licząc od bloku makrocyklicznego. Analogiczne korelacje obserwowałem we wcześniej badanych przeze mnie kapsułach otrzymanych z hydrazydów peptydów z grupą acetylową na *N*-końcu,⁶⁸ co świadczy o tym, że również w tym przypadku kawitandy kapsuły oddziałują ze sobą tylko na części długości łańcucha peptydowego i tworzą kapsuły o podobnej wielkości luki. Dodatkowo, dla tak otrzymanych kapsuł zmierzyłem widma ECD i stwierdziłem, że wykazują one wysoką intensywność efektów Cottona (do $270\text{ dm}^3\text{ mol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$).

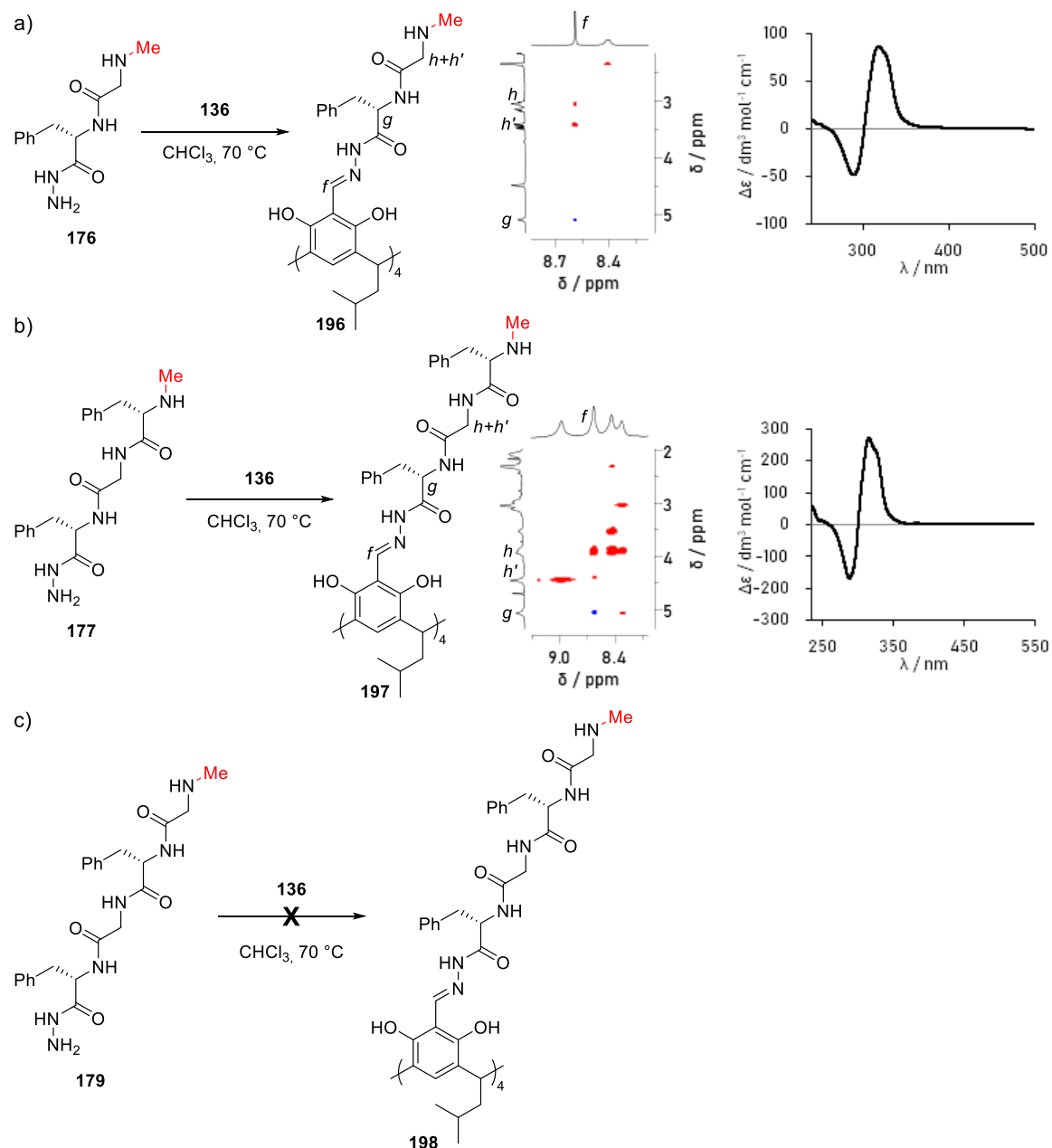
Przy próbie syntezy związku **192** w reakcji hydrazydu **168** z tetraformylozorcyn[4]aremem **136** otrzymałem widmo ^1H NMR z poszerzonymi sygnałami produktów, co uniemożliwiało jednoznaczną ocenę przebiegu reakcji i dalsze badania struktury otrzymanych produktów.



Rys. 75 Reakcja tetraformylozorcyn[4]arenu **136** z hydrazydami aminokwasów a) **173**, b) **181**.

Kolejnym etapem było sprawdzenie, czy możliwe jest otrzymanie związków **194** i **195** z hydrazydów aminokwasów zawierających grupę metylową na *N*-końcu (Rys. 75). W tym celu przeprowadziłem reakcję tetraformylozorcyn[4]arenu **136** z hydrazydami *N*-metylo-L-fenylalaniny **173** oraz *N,N*-dimetylo-L-fenylalaniny **181** w chloroformie

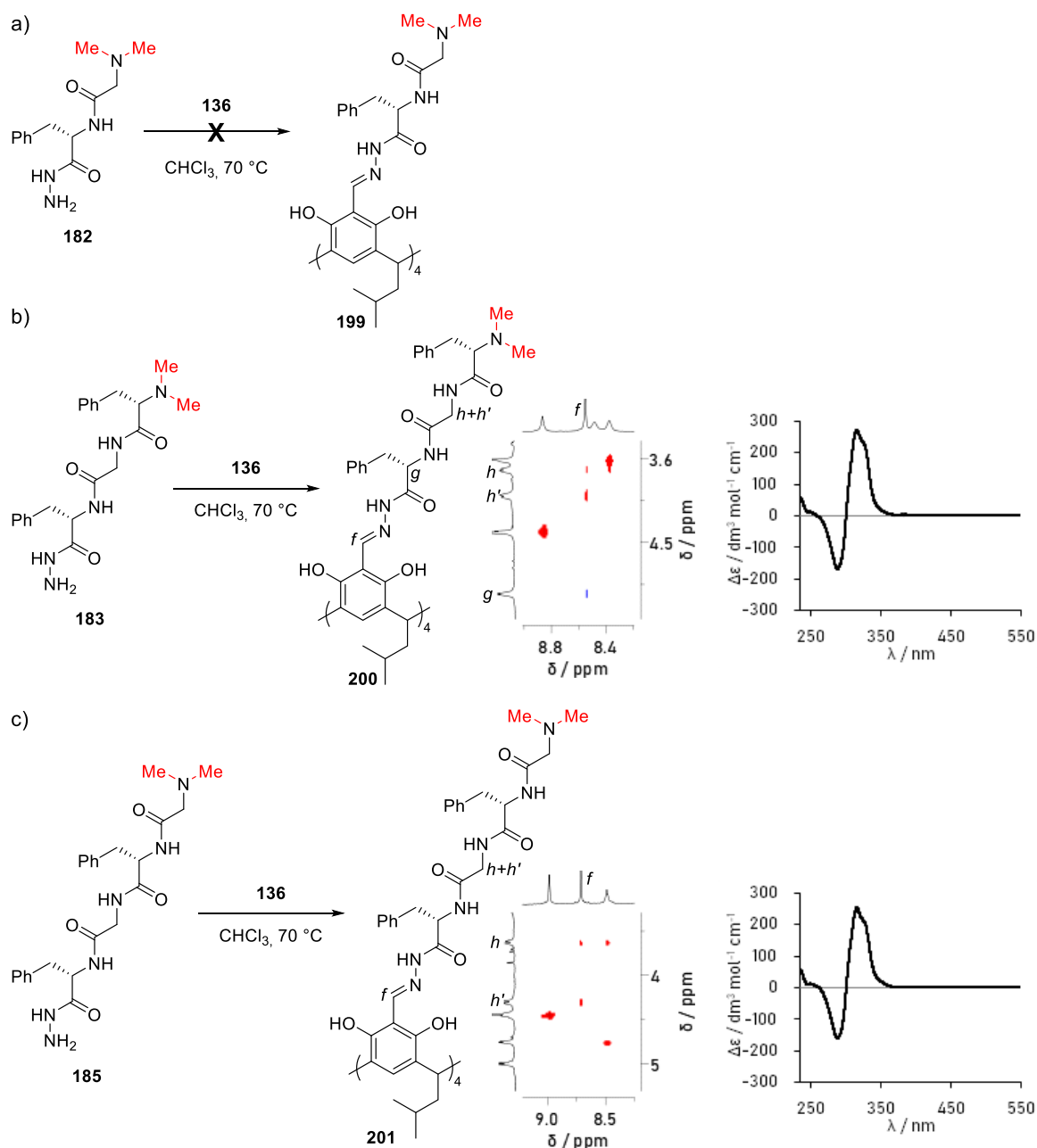
w 70 °C w zamkniętym naczyniu. W obydwu reakcjach otrzymałem widma ^1H NMR o wielu poszerzonych sygnałach świadczące o powstaniu mieszaniny produktów. Najprawdopodobniej, dwa atomy wodoru na *N*-końcu aminokwasu uczestniczą w motywie wiążącym pomiędzy kawitandami, a brak już jednego z nich powoduje zaburzenie układu wiązań wodorowych, przez co niemożliwe jest otrzymanie kapsuły.



Rys. 76 Reakcja tetraformylzincporfiry **136** z hydrazydami z grupą *N*-metylową a) **176** wraz z częściowym widmem ROESY NMR i widmem ECD, b) **177** wraz z częściowym widmem ROESY NMR i widmem ECD, c) **179** (CDCl_3 , 298K, 600 MHz).

Sprawdziłem również, czy możliwe jest otrzymanie kapsuł molekularnych z hydrazydów peptydów **176**, **177** i **179** z grupą *N*-metylową. W tym celu

przeprowadziłem ich reakcje z tetraformylrezorcyn[4]arenem **136** w chloroformie w temperaturze 70 °C w zamkniętym naczyniu przez 18 godzin (Rys. 76). W reakcji hydrazydów **176** i **177** otrzymałem przewidywane produkty odpowiednio **196** i **197**, które wykazywały symetrię C_4 na widmach ^1H NMR w chloroformie. Związki te występowały w formie dimerycznych kapsuł molekularnych $(\mathbf{196})_2$ i $(\mathbf{197})_2$, co stwierdziłem po analizie widm jedno- i dwuwymiarowych NMR. Na widmach ROESY NMR były widoczne korelacje pomiędzy protonem grupy acylohydrazonowej a protonami glicyny będącej drugim aminokwasem licząc od bloku makrocyklicznego. Świadczy to, że również w tym przypadku kawitandy kapsuł oddziałują ze sobą tylko na części długości łańcucha peptydowego i tworzą kapsuły o podobnej wielkości luki. Dodatkowo, zmierzyłem dla tak otrzymanych kapsuł widma ECD i stwierdziłem, że kapsuła $(\mathbf{197})_2$ wykazuje wysoką intensywność efektów Cottona (do $280 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), natomiast w kapsule $(\mathbf{196})_2$ są one znacznie niższe (do $100 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Przy próbie syntezy związku **198** w reakcji hydrazydu **179** z tetraformylrezorcyn[4]arenem **136** otrzymałem widmo ^1H NMR z poszerzonymi sygnałami produktów, co uniemożliwiało jednoznaczną ocenę przebiegu reakcji i dalsze badania struktury otrzymanych produktów.



Rys. 77 Reakcja tetraformylzinc[4]arenu **136** z hydrazydami z grupą *N,N*-dimetylową a) **182**, b) **183** wraz z częściowym widmem ROESY NMR i widmem ECD, c) **185** wraz z częściowym widmem ROESY NMR i widmem ECD (CDCl₃, 298K, 600 MHz).

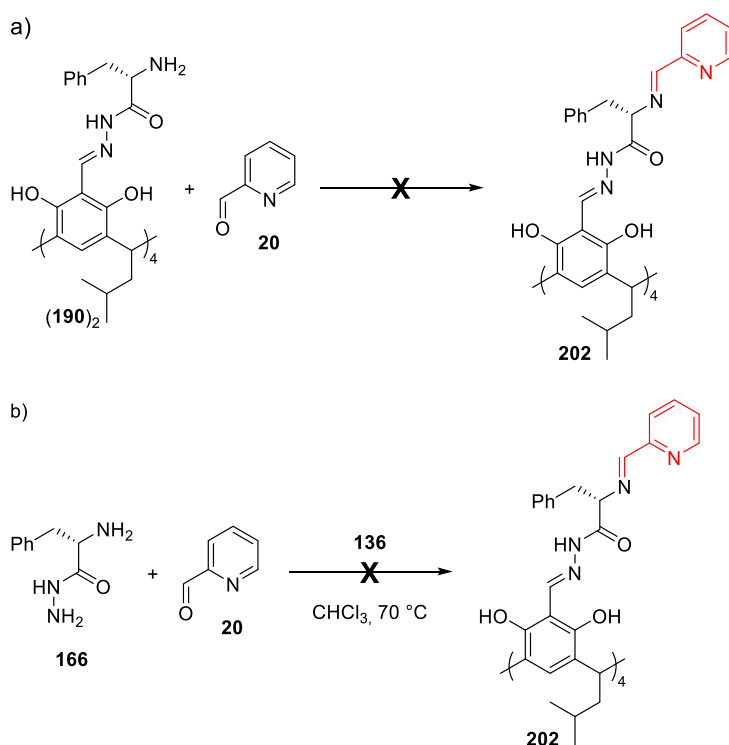
Kolejnym etapem było otrzymanie kapsuł molekularnych z hydrazydów peptydów **182**, **183** i **185** z grupą *N,N*-dimetylową. W tym celu przeprowadziłem ich reakcje z tetraformylzinc[4]arenem **136** w chloroformie w temperaturze 70 °C w zamkniętym naczyniu przez 18 godzin (Rys. 77). W reakcji hydrazydów **183** i **185** otrzymałem przewidywane produkty odpowiednio **200** i **201**, które wykazywały symetrię C₄ na widmach ¹H NMR w chloroformie. Związki te występowały w formie

dimerycznych kapsuł molekularnych (200)₂ i (201)₂, co stwierdziłem po analizie widm jedno- i dwuwymiarowych NMR. Na widmach ROESY NMR były widoczne korelacje pomiędzy protonem grupy acylohydrazonowej a protonami glicyny będącej drugim aminokwasem licząc od bloku makrocyclicznego. Świadczy to, że również w tym przypadku kawitandy kapsuł oddziałują ze sobą tylko na części długości łańcucha peptydowego i tworzą kapsuły o podobnej wielkości luki. Dodatkowo, dla tak otrzymanych kapsuł, zmierzyłem widma ECD i stwierdziłem, że wykazują one wysoką intensywność efektów Cottona (do 270 dm³ mol⁻¹ cm⁻¹). Natomiast, przy próbie syntezy związku **199** w reakcji hydrazynu **182** z tetraformylozorcyn[4]arenem **136** otrzymałem widmo ¹H NMR z poszerzonymi sygnałami produktów, co uniemożliwiało jednoznaczną ocenę przebiegu reakcji i dalsze badania struktury otrzymanych produktów.

Badania te pokazują, że motyw wiążący pomiędzy kawitandami kapsuł otrzymanych z hydrazynów peptydów z grupą *N*-metylową bądź *N,N*-dimetylową jest inny, niż motyw wiążący kapsuł otrzymanych z analogicznych aminokwasów. W motywie wiążącym kapsuł otrzymanych z peptydów nie uczestniczą atomy wodoru obecne na *N*-końcu, w przeciwieństwie do kapsuł otrzymanych z aminokwasów, co pozwala na otrzymanie kapsuł podstawionych grupami *N*-metylową bądź *N,N*-dimetylową na *N*-końcu.

3.5.3. Synteza kapsuł z wykorzystaniem podejścia dynamicznej chemii kombinatorycznej

Sprawdziłem również, czy możliwe jest otrzymanie kapsuł molekularnych z grupą 2-iminopirydylową na *N*-końcu. W tym celu postanowiłem wykorzystać hydrazyn **166** z niezabezpieczonym *N*-końcem, który, po przyłączeniu do tetraformylozorcyn[4]arenu **136** grupą hydrazynową, mógłby dodatkowo reagować z 2-formylopirydyną **20**, z wykorzystaniem grupy aminowej, tworząc nowe ugrupowanie 2-iminopirydylowe, podobnie jak w zaprezentowanych w części literaturowej pracach grupy Nitschke.^{21,33} Ugrupowanie takie później może zostać wykorzystane do syntezy kapsuł koordynacyjnych.



Rys. 78 Dwie koncepcje syntezy związku **202** z 2-formylopirydyny **20**: a) modyfikacja postsyntetyczna kapsuły **(190)₂**, b) wykorzystanie dynamicznej chemii kombinatoryjnej.

Tabela 4 Próby syntezy związku **202**.

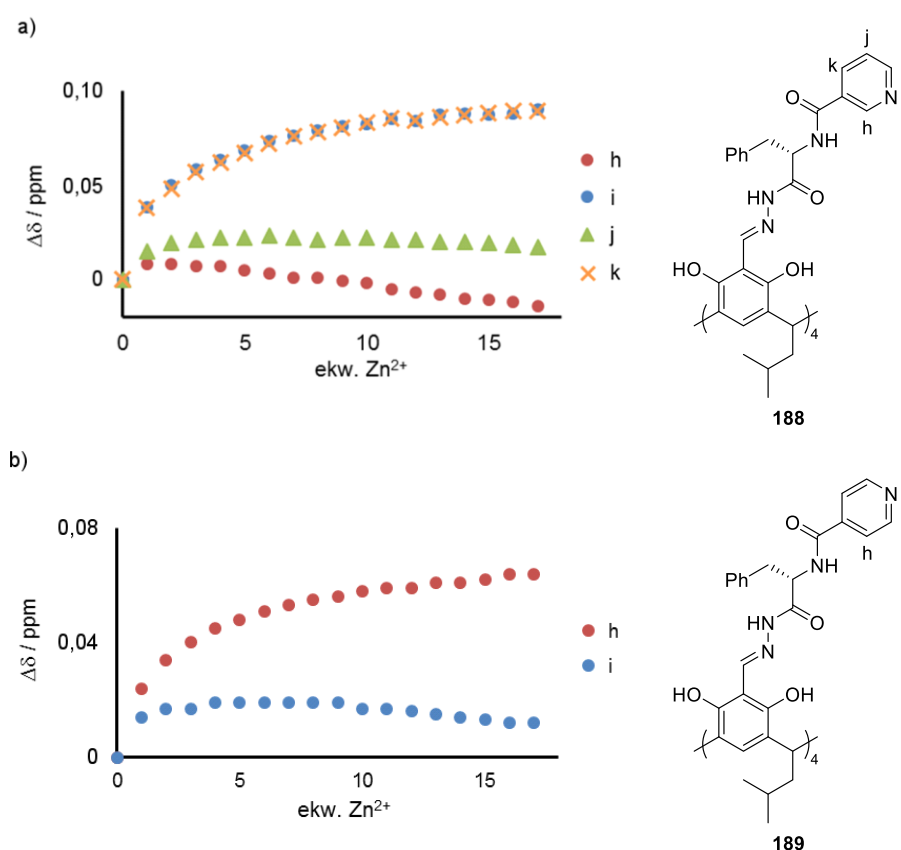
Substraty	Rozpuszczalnik	Temperatura	Uwagi
20 + (190)₂	CHCl ₃	t. pok. oraz 70 °C	-
20 + (190)₂	MeOH	t. pok. oraz 70 °C	-
20 + (190)₂	CHCl ₃ :MeOH (9:1, v:v)	t. pok. oraz 70 °C	-
20 + 136 + 166	CHCl ₃	70 °C	-
20 + 136 + 166	MeOH	70 °C	-
20 + 136 + 166	CHCl ₃ :MeOH (9:1, v:v)	70 °C	-
20 + 136 + 166	CHCl ₃	70 °C	najpierw 20 + 166 , potem 136
20 + 136 + 166	CHCl ₃	70 °C	najpierw 20 + 136 , potem 166

Sprawdziłem dwa podejścia syntetyczne: modyfikację postsyntetyczną kapsuły **(190)₂** poprzez jej reakcję z 2-formylopirydyną **20** (Rys. 78a) oraz podejście wykorzystujące założenia dynamicznej chemii kombinatoryjnej w którym 2-formylopirydyna **20** dodana została bezpośrednio do reakcji hydrazidu **166** z tetraformylzinc porfyrinem **136** (Rys. 78b). Obydwa podejścia testowałem przeprowadzając reakcje w różnych rozpuszczalnikach (chloroform, metanol oraz ich mieszaniny) oraz różnych temperaturach (Tabela 4). W każdym przypadku otrzymywałem mieszaniny produktów, których widma ¹H NMR posiadały poszerzone

sygnały, co uniemożliwiało ich analizę. Może to być spowodowane dużą stabilnością kapsuły **(190)**₂, której układ wiązań wodorowych uniemożliwia reakcję niezabezpieczonego *N*-końca z grupą formylową. Natomiast w reakcji z wykorzystaniem podejścia dynamicznej chemii kombinatoryjnej żaden z powstających wielu produktów nie jest na tyle uprzywilejowany termodynamicznie, żeby powstawał w przewadze.

Z uwagi na problemy napotkane w reakcji kapsuły **(190)**₂ z 2-formylopirydyną **20** oraz koncepcji wykorzystania dynamicznej chemii kombinatoryjnej nie kontynuowałem tych badań z hydrazdami peptydów **167**, **168** i **170**.

3.5.4. Synteza kapsuł koordynacyjnych

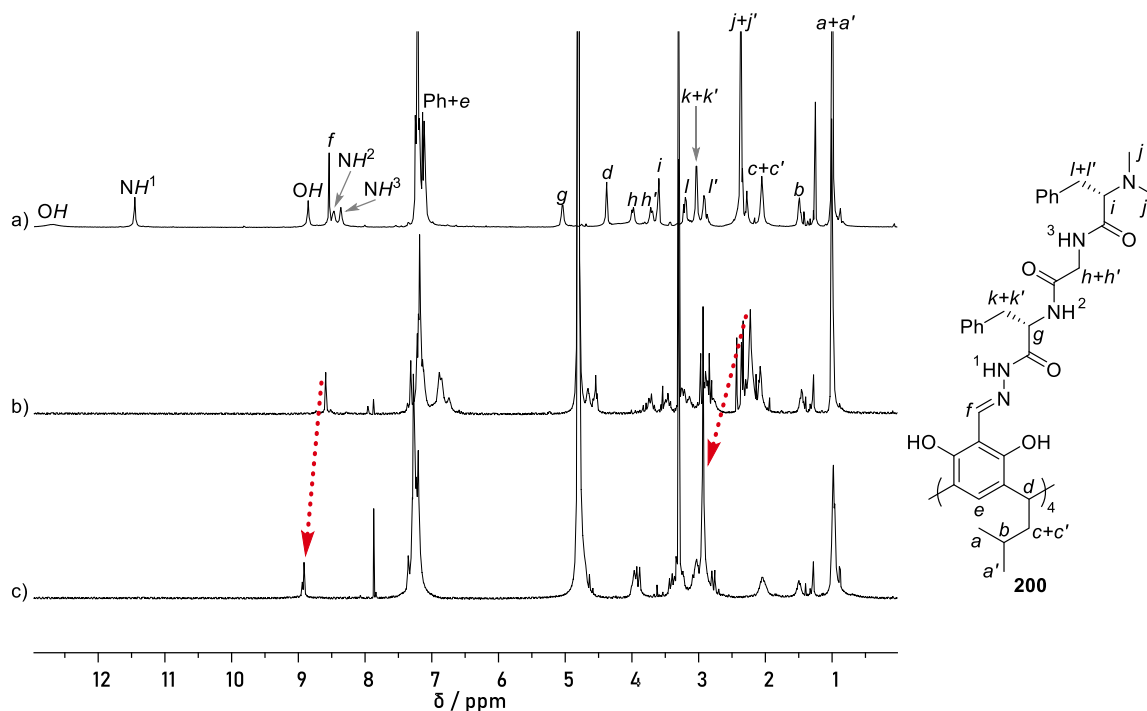


Rys. 79 Zmiany przesunięć chemicznych na widmach 1H NMR podczas miareczkowania solą $Zn(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$ związków a) **188**, b) **189** (400 MHz, DMSO- d_6 , 298 K).

Kolejnym etapem było sprawdzenie, czy możliwa jest synteza kapsuł koordynacyjnych z otrzymanych przeze mnie związków. Na początku przeprowadziłem eksperymenty kompleksowania jonów Zn^{2+} przez otrzymane przeze mnie kawitandy **188** i **189** z grupą karbonylopirydynową na *N*-końcu. W tym celu przeprowadziłem eksperymenty miareczkowania, pod kontrolą widm 1H NMR, kawitandów **188** i **189**

w DMSO- d_6 poprzez dodawanie do ich roztworów roztworu soli $Zn(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$ (Rys. 79). Wybrałem ten rozpuszczalnik ze względu na brak rozpuszczalności badanych kawitandów **188** i **189** w metanolu. Otrzymane wyniki wskazują, że stałe kompleksowania jonów Zn^{2+} przez kawitandy **188** oraz **189** są bardzo niskie. Z tego powodu nie jest możliwe jednoznaczne określenie czy w tych warunkach powstaje koordynacyjna kapsuła molekularna.

Sprawdziłem również, czy możliwe jest otrzymanie kapsuł koordynacyjnych ze związków utworzonych z hydrazydów zawierających grupę *N,N*-dimetylową. Postanowiłem sprawdzić zarówno związki **200** i **201** ale też produkty reakcji tetraformylorezorcyn[4]arenu **136** z hydrazydami **181** i **185**, w których nie otrzymałem oczekiwanych produktów **195** i **201**, ponieważ po dodaniu jonów metali do reakcji możliwa jest zmiana struktury otrzymanych związków. Wybrałem tylko te związki, ze względu na brak atomu wodoru przy grupie aminowej, który mógłby wpływać niekorzystnie na proces kompleksowania jonów metali. Jako źródło jonów wybrałem sól $Zn(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$. Eksperymenty prowadziłem pod kontrolą widm 1H NMR w metanolu- d_4 ze względu na rozpuszczalność badanych związków oraz soli. Wstępne eksperymenty kompleksowania prowadziłem z użyciem pięciu ekwiwalentów soli (na kawitand) w celu sprawdzenia, czy obserwowane są zmiany na widmach.



Rys. 80 Widma 1H NMR: a) związku **200** w $CDCl_3$, b) związku **200** w CD_3OD , c) kompleksu **203** w CD_3OD otrzymanego po dodaniu czterech ekwiwalentów soli $Zn(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$ do związku **200** (298 K, 400 MHz).

Jedynie w przypadku związku **200**, po dodaniu jonów Zn^{2+} , zaobserwowałem przesunięcie sygnałów na widmie 1H NMR (Rys. 80). Bardzo dużemu przesunięciu ulega sygnał od protonów $j+j'$ grup metylowych obecnych na *N*-końcu: z 2,22 ppm na widmie związku **200**, na 2,93 ppm na widmie kompleksu związku **200** oraz sygnał od protonu *f*: z 8,60 ppm na widmie związku **200**, na 8,92 ppm na widmie kompleksu związku **200**. We wszystkich pozostałych przypadkach (kompleksowanie związku **201** oraz produktów reakcji tetraformylrezorcyn[4]arenu **136** z hydrazdami **181** i **185**) otrzymywałem widma 1H NMR z dużą ilością dodatkowych, poszerzonych sygnałów, świadczące o powstawaniu wielu produktów.

Z powodu słabej rozpuszczalności powstającego kompleksu związku **200** z jonami Zn^{2+} (zależnie od stechiometrii) niemożliwe było przeprowadzenie klasycznych eksperymentów miareczkowania, a zmiana stechiometrii może powodować zmianę struktury otrzymanego kompleksu. Dlatego, w celu zbadania struktury powstającego kompleksu związku **200** z jonami Zn^{2+} , przygotowałem szereg próbek o różnej stechiometrii soli $Zn(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$ do związku **200**. Przeprowadziłem następujące eksperymenty kompleksowania w stosunkach: Zn^{2+} :**200** 4:1 w celu sprawdzenia kompleksowania jednego jonu Zn^{2+} na jeden łańcuch peptydowy; Zn^{2+} :**200** 2:1 w celu sprawdzenia kompleksowania jednego jonu Zn^{2+} na dwa łańcuchy peptydowe, jak w zaproponowanych motywach B i C kapsuł koordynacyjnych (Rys. 60c); Zn^{2+} :**200** 1:1 w celu sprawdzenia kompleksowania jednego jonu Zn^{2+} na jeden kawitand, jak w zaproponowanym motywie A kapsuł koordynacyjnych (Rys. 60b). Jedynie w próbie kompleksowania w stosunku Zn^{2+} :**200** 4:1 otrzymałem klarowny roztwór oraz widmo 1H NMR o ostrych sygnałach, które było identyczne z otrzymanym wcześniej widmem przy próbie kompleksowania w stosunku Zn^{2+} :**200** 5:1, co świadczy o otrzymaniu kompleksu **203** o stechiometrii Zn^{2+} :**200** 4:1. W pozostałych przypadkach zaobserwowałem osad po kompleksowaniu oraz poszerzone i zawierające wiele sygnałów widma 1H NMR.

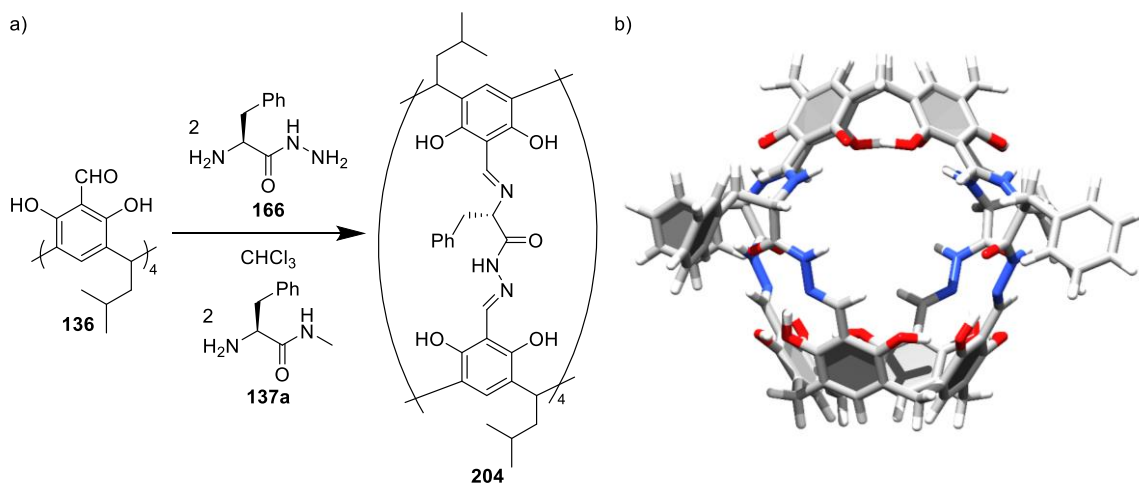
Strukturę otrzymanego kompleksu **203** zbadłem z użyciem widm jedno- i dwuwymiarowych NMR. Na widmie ROESY NMR nie zaobserwowałem korelacji pomiędzy protonem grupy acylohydrazonowej a protonami glicyny będącej drugim aminokwasem licząc od bloku makrocyklicznego (występującej we wcześniej otrzymanych kapsułach) oraz do żadnego innego aminokwasu. Świadczy to o zupełnie innym, nieprzewidzianym motywie wiążącym występującym w otrzymanym kompleksie. Porównałem również współczynnik dyfuzji, na podstawie widm DOSY NMR

w metanolu, otrzymanego kompleksu **203** $D = 2,4 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ ze współczynnikiem dyfuzji związku **200** $D = 3,2 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$. Wyniki te świadczą o znacznie większej strukturze otrzymanego kompleksu **203** niż związku **200**. Podjąłem również próby otrzymania monokryształów w celu sprawdzenia dokładnej struktury otrzymanego kompleksu **203** w cieple stałym ale nie przyniosły one pozytywnych rezultatów. Na podstawie otrzymanych wyników nie jestem w stanie zaproponować modelu otrzymanego kompleksu **203**.

3.5.5. Synteza kapsuły kowalencyjnej

Otrzymany przeze mnie hydrazyd **166** z niezabezpieczonym *N*-końcem posiada dwie grupy (aminową i hydrazydową) mogące reagować z tetraformylrezorcyn[4]arenem **136** tworząc w pełni kowalencyjną kapsułę **204**. Kapsuła taka posiadałaby dwa różne wiązania pomiędzy aminokwasami a blokiem makrocyklicznym – grupę acylohydrazonową, jak otrzymane przeze mnie do tej pory kapsuły, oraz grupę keto-enaminową, analogicznie do kapsułek otrzymanych przez dr Hannę Jędrzejewską.⁵⁸

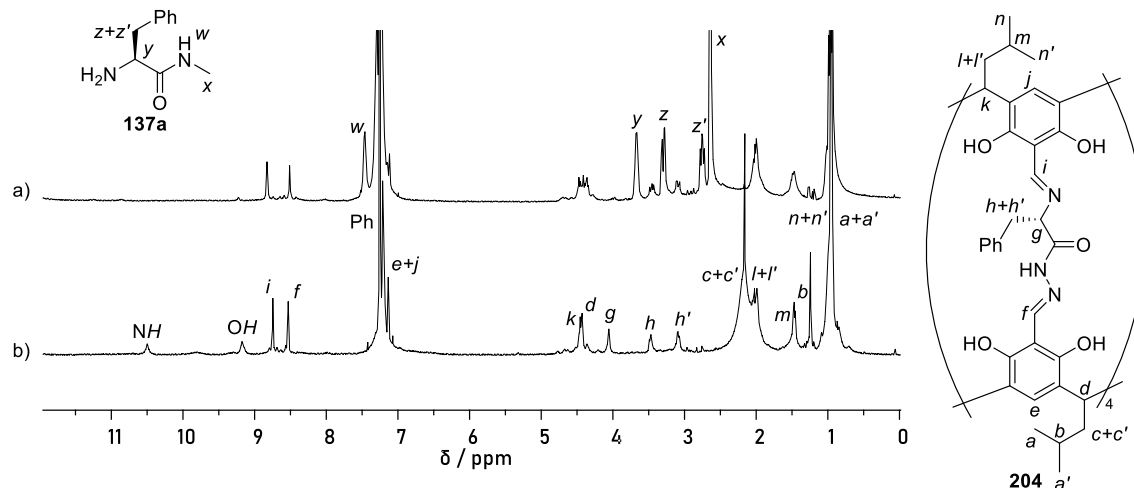
Dlatego, postanowiłem przeprowadzić reakcję dwóch ekwiwalentów hydrazidu **166** z tetraformylrezorcyn[4]arenem **136** w chloroformie w temperaturze 70 °C w zamkniętym naczyniu. Produkt tej reakcji wydzieliłem przez odparowanie rozpuszczalnika, jednak sygnały na jego widmie ¹H NMR były bardzo poszerzone, co może świadczyć o powstaniu wielu produktów.



Rys. 81 a) Synteza kowalencyjnej kapsuły **204**. b) Model kapsuły **204**.

Skonstruowałem model kapsuły **204** w celu sprawdzenia, czy teoretycznie możliwe jest otrzymanie takiego produktu. Po optymalizacji geometrii z użyciem obliczeń kwantowo-mechanicznych (DFT B3LYP/6-31G) otrzymałem model kapsuły

204, który był teoretycznie stabilny i trwały (Rys. 81). Zaobserwowałem jednak, że odległości pomiędzy sąsiadującymi aminokwasami są bardzo duże a ugrupowania acylohydrazonowe oraz enaminowe nie są zaangażowane w wiązania wodorowe. Dlatego, postanowiłem dodać do reakcji związek, który może interkalować pomiędzy łańcuchami, co, miałem nadzieję, uporządkuje układ wiązań wodorowych i pozwoli otrzymać zaprojektowaną kapsułę kowalencyjną **204**. Jako związek interkalujący wybrałem amid metylowy L-feniloalaniny **137a**, który wcześniej dr Hanna Jędrzejewska wykorzystwała do syntezy kapsuły **138a**,⁵⁸ ponieważ posiada on zabezpieczoną grupę kwasową i jest komplementarny z używanym przeze mnie hydrazylem **166**. Dodatkowo, z wcześniejszych badań przeprowadzonych w zespole Szumnej wynika, że kapsuły z łącznikiem enaminowym (które można uzyskać ze związku **137a**) są mniej trwałe i można je przeprowadzić w kapsuły z łącznikiem acylohydrazonowym, zatem związek interkalujący **137a** nie powinien przeszkadzać w reakcji hydrazidu **166** z tetraformylrezorcyn[4]arenem **136**.



Rys. 82 Widma ¹H NMR kapsuły **204**: a) bezpośrednio po reakcji syntezy wraz z przypisaniem sygnałów związku interkalującego **137a**, b) po usunięciu związku interkalującego **137a** (CDCl₃, 298 K, 400 MHz).

W reakcji 2 ekwiwalentów hydrazidu **166** z tetraformylrezorcyn[4]arenu **136** w obecności dwóch ekwiwalentów amidu metylowego L-feniloalaniny **137a** przeprowadzonej w chloroformie w temperaturze 70 °C w zamkniętym naczyniu, otrzymałem kapsułę kowalencyjną **204** o zaproponowanej wcześniej strukturze z ilościową wydajnością (Rys. 81a). Strukturę otrzymanej kapsuły **204** potwierdziłem z użyciem widm jedno- i dwuwymiarowych NMR (Rys. 82a) oraz spektrometrii mas. Dodatkowo, możliwe było usunięcie związku interkalującego **137a**, poprzez przemycie

reakcji roztworem kwasu cytrynowego, które nie skutkowało rozpadem otrzymanej kapsuły **204** (Rys. 82b).

Postanowiłem przeprowadzić badania, głównie z użyciem widm dwuwymiarowych NMR, czy związek **137a** obecny w reakcji faktycznie ulega interkalacji pomiędzy aminokwasami w kapsule **204**. Po analizie widm ROESY NMR próbki pochodzącej bezpośrednio z reakcji nie zaobserwowałem żadnych korelacji świadczących o występowaniu takiej interkalacji. Dlatego postanowiłem wykorzystać do tego widma DOSY NMR i sprawdzić, czy ulega zmianie współczynnik dyfuzji kapsuły **204** oraz związku **137a** zależnie od ich stosunku stechiometrycznego w chloroformie. We wszystkich eksperymentach współczynnik dyfuzji kapsuły **204** był niezmienny i wynosił $D = 3,6 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$. Współczynnik dyfuzji związku **137a** zmieniał się i wynosił: $D = 11,2 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ dla czystego związku **137a** (bez obecności w mieszaninie kapsuły **204**); $D = 7,3 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ w mieszaninie 2:1 w stosunku molowym do kapsuły **204** (bezpośrednio po reakcji syntezy kapsuły **204**). Przeprowadziłem również z powodzeniem reakcję syntezy kapsuły z większą ilością związku **137a** (cztery ekwiwalenty zamiast dwóch) i w tym przypadku współczynnik dyfuzji związku **137a** wynosił $D = 8,9 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$. Wyniki te wskazują, że związek **137a** wykazuje mniejszy współczynnik dyfuzji w mieszaninach zawierających kapsułę **204** niż bez jej obecności, co świadczy o jego oddziaływaniu z kapsułą **204**. Jednak nie jest możliwe jednoznaczne stwierdzenie w którym miejscu następuje oddziaływanie ze względu na brak obserwacji efektów NOE. Otrzymałem również monokryształy z mieszaniny kapsuły **204** ze związkiem **137a** (bezpośrednio po reakcji syntezy kapsuły **204**), jednak, po ich pomiarze z użyciem rentgenowskiej analizy strukturalnej, nie było możliwe rozwiązanie ich struktury. Badania te pokazują, że możliwe jest otrzymanie kapsuły koordynacyjnej z hydrazynu aminokwasu z niezabezpieczonym *N*-końcem, jednak potrzebny jest do tego związek, który pozwoli na zachowanie motywu wiązań wodorowych w trakcie reakcji.

Sprawdziłem również, czy możliwe jest otrzymanie analogicznej kowalencyjnej kapsuły z hydrazynu dipeptydu **167** z niezabezpieczonym *N*-końcem w reakcji z tetraformylrezorcyn[4]arenem **136** w stosunku stechiometrycznym 2:1. Przeprowadziłem te reakcje bez dodatku związku interkalującego, z dodatkiem amidu metylowego L-feniloalaniny **137a** oraz jego analogu dipeptydowego H-L-Phe-Gly-NHMe **137c**, otrzymanego przez dr Hannę Jędrzejewską.⁵⁸ W każdym przypadku otrzymałem bardzo poszerzone widma ¹H NMR świadczące o powstawaniu wielu produktów. Może to być spowodowane znaczną długością użytego hydrazynu i jego labilnością, co

powoduje oddalenie się od siebie miejsce reaktywnych i sprzyja powstawaniu produktów reakcji międzycząsteczkowych (polimerycznych) zamiast wewnątrzcząsteczkowych.

3.5.6. Wnioski

Podsumowując, otrzymałem dwie diastereomeryczne kapsuły M -(**190**)₂ i P -(**190**)₂ oraz kapsułę kowalencyjną **204** w reakcji hydrazidu L-feniloalaniny **166** z tetraformylrezorcyn[4]arenem **136** w różnych stosunkach stechiometrycznych. Sprawdziłem, że obecność dwóch atomów wodoru na N -końcach aminokwasów w kapsułach otrzymanych z hydrazydów aminokwasów jest konieczna do zachowania w nich układu wiązań wodorowych, a co za tym idzie utworzenia kapsuł. Dodatkowo, otrzymałem szereg nowych kapsuł z hydrazydów peptydów (di- do tetrapeptydów) z wolnym, bądź podstawionym grupami metylowymi N -końcem. Przeprowadziłem próby kompleksowania jonów Zn^{2+} w otrzymanych związkach z grupą N,N -dimetylową oraz otrzymałem nowy, większy kompleks **203** zbudowany z jonów Zn^{2+} skoordynowanych do związku **200**.

4. PODSUMOWANIE

Celem mojej pracy doktorskiej była synteza nowych, peptydowych kapsuł molekularnych opartych na bloku rezorcyn[4]arenowym, opracowanie metod badania asocjacji kawitandów do kapsuł molekularnych oraz sprawdzenie mechanizmu mechanochemicznej enkapsulacji gości wewnątrz kapsuł peptydowych.

W trakcie badań zrealizowałem następujące zadania:

- wykonałem szereg eksperymentów mechanochemicznego kompleksowania fulerenu C₆₀ wewnątrz peptydowej kapsuły molekularnej w różnych warunkach i wyjaśniłem mechanizm mechanochemicznej enkapsulacji,
- wykonałem szereg pomiarów widm ECD w roztworach o różnej polarności peptydowej kapsuły molekularnej i określiłem trójwymiarowe struktury kapsuł w roztworach o różnej polarności,
- otrzymałem monokryształy kompleksu fulerenu C₆₀ wewnątrz peptydowej kapsuły molekularnej, które zostały poddane badaniom, we współpracy, dynamiki gościa w luce,
- otrzymałem hydrazydy tri- oraz tetrapeptydów z grupą acetylową na *N*-końcu, przyłączyłem je do bloku makrocyklicznego oraz sprawdziłem właściwości kompleksujące otrzymanych związków,
- otrzymałem szereg nowych hydrazydów aminokwasów i peptydów zawierających zmodyfikowane grupy na *N*-końcu oraz przyłączyłem je do bloku makrocyklicznego,
- z użyciem widm jedno- i dwuwymiarowych NMR oraz spektroskopii ECD zbadałem struktury trójwymiarowe otrzymanych związków,
- podjąłem próby kompleksowania jonów metali z otrzymanymi związkami w celu otrzymania peptydowych kapsuł koordynacyjnych.

W wyniku przeprowadzonych eksperymentów stwierdziłem, że:

- podczas mielenia w młynie kulowo-planetarnym peptydowych kapsuł molekularnych następuje zniszczenie ich struktury II-rzędowej, co pozwala na kompleksowanie w ich wnętrzu cząsteczek gości, które to kompleksowanie nie jest możliwe w roztworze,
- spektroskopia ECD jest użyteczną metodą analizy struktury trójwymiarowej peptydowych kapsuł molekularnych, w tym badania procesów samoasocjacji,

ponieważ intensywność pasm na widmach ECD zależy od dynamiki szkieletu kapsuły, a co za tym idzie jej struktury trójwymiarowej (czy występuje w formie kapsuły czy kawitandu),

- kapsuły molekularne otrzymane z hydrazydów tri- oraz tetrapeptydów, a także ich kompleksy z fulerenami C₆₀ i C₇₀, posiadają lukę i motyw wiążący takie same, jak kapsuły otrzymane z aminokwasów i dipeptydów,
- zamiana grupy na *N*-końcu aminokwasu na grupę bardziej objętościową, nie wpływa na proces samoasocjacji kawitandów i możliwe jest otrzymanie kapsuł,
- możliwa jest synteza kapsuł molekularnych z hydrazydów aminokwasów zawierających niezabezpieczony *N*-koniec oraz z hydrazydów peptydów zawierających wolny, bądź podstawiony grupami metylowymi *N*-koniec,
- możliwa jest koordynacja jonów Zn²⁺ do części z otrzymanych kapsuł, jednak nie prowadzą one do powstania koordynacyjnych kapsuł peptydowych,
- zależnie od stechiometrii użytego hydrazydu aminokwasu z wolnym *N*-końcem, możliwe jest otrzymanie dimerycznej kapsuły występującej w formie dwóch diastereoizomerów, bądź, przy wsparciu związku interkalującego, kapsuły kowalencyjnej.

Otrzymane wyniki rozszerzyły znacznie arsenał dostępnych peptydowych kapsuł molekularnych, pozwoliły na zaproponowanie nowego mechanizmu enkapsulacji oraz wykazały użyteczność metodologii opartej na spektroskopii dichroizmu kołowego w badaniach procesów samoasocjacji.

5. CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA

5.1. Odczynniki

Jeśli nie zaznaczono inaczej, odczynniki wykorzystane w syntezie organicznej były handlowo dostępne. Odczynniki oznaczone jako cz.d.a. były wykorzystane bez wcześniejszego przygotowania. Do śledzenia postępu reakcji używano chromatografii cienkowarstwowej (TLC) wykonywanej przy użyciu płytek Merck Silica Gel 60 F254 (0,040-0,063 mm). Wyniki TLC analizowano przy użyciu lampy UV. Do chromatografii używano żelu krzemionkowego Merck Silica Gel 60 (0,040-0,063 mm).

Do syntez używano jedynie pochodnych L-aminokwasów. W żadnej z reakcji nie obserwowano racemizacji powstających produktów.

5.2. Sprzęt i dane analityczne

Widma ^1H NMR mierzono na aparatach Varian Gemini 200 MHz, Bruker DRX 400 MHz, AM Varian VNMRS 600 MHz. Wszystkie widma ^{13}C NMR oraz dwuwymiarowe mierzono na aparacie AM Varian VNMRS 600 MHz. W próbkach nie wykorzystywano związku referencyjnego TMS, ponieważ może on ulegać kompleksowaniu w lukach otrzymanych produktów i fałszować rzeczywistą wartość przesunięcia chemicznego. Przesunięcia chemiczne przypisano względem reszkowego sygnału rozpuszczalnika (CHCl_3 ^1H NMR: 7,26 ppm, ^{13}C NMR: 77,0 ppm; DMSO ^1H NMR: 2,50 ppm, ^{13}C NMR: 39,5 ppm; CH_3OH ^1H NMR: 3,31 ppm, ^{13}C NMR: 43,2 ppm; chlorobenzen ^1H NMR: 6,96 ppm, ^{13}C NMR: 126,0 ppm). W części eksperymentalnej do opisu widm ^1H NMR wykorzystano następujące skróty: s – singlet, d – dublet, t – tryplet, q – kwartet, m – multiplet, b – sygnał poszerzony.

Widma masowe wykonywano na aparatach 4000-Q-TRAP lub API 355 oraz API 3000 (Applied Biosystems) metodą ESI.

Widma UV wykonywano na aparacie UV-VIS-NIR Jasco V-670. Widma ECD w roztworze wykonywano na aparacie ECD Jasco J-715 oraz w ciele stałym na aparacie ECD Jasco J-815.

5.3. Generalne procedury syntezy

5.3.1. Mechanochemia

Do reakcji mechanochemicznych używano młyna kulowo-planetarnego Retsch PM 100. Reakcje te prowadzono w stalowym naczyniu o objętości 12 ml używając 11 stalowych kulek o średnicy $\Phi=4$ mm przy prędkości obrotowej 500 obr. min.⁻¹.

5.3.2. Procedura A: synteza hydrazydów z estrów metylowych

Ester metylowy (1 ekw.) rozpuszczono w MeOH, dodano 64% roztwór hydrazyny w wodzie (2,2 ekw.) i mieszano w t. pok. Po 20 godzinach sprawdzono postęp reakcji przy użyciu TLC (CHCl₃:MeOH, 95:5, v:v). W przypadku niecałkowitego przereagowania substratu dodano kolejną porcję 64% roztworu hydrazyny w wodzie (1,1 ekw.) i powtórzono procedurę. Po całkowitym zaniku substratu mieszaninę reakcyjną odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem.

5.3.3. Procedura B: synteza kapsuł molekularnych

Hydrazyd (0,2 mmol) oraz związek **136** (0,05 mmol, 41 mg) rozpuszczono w CHCl₃ (2 ml) w zamkniętym naczyniu i ogrzewano w 70 °C. Po 20 godzinach mieszaninę reakcyjną ochłodzono i odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem.

5.3.4. Procedura C: reakcja sprzęgania

Substrat aminowy (1 ekw.) i substrat kwasowy (1 ekw.) rozpuszczono w DMF i ochłodzono do temperatury 0 °C. Do mieszaniny dodano OXYMA (1 ekw.), po 5 min. Et₃N (1 ekw.), po następnych 10 min. EDCI·HCl (1. ekw) i mieszano w t. pok. przez 20 godzin. Mieszaninę reakcyjną odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Dodano AcOEt i H₂O, rozdzielono fazy i fazę organiczną przemywano kolejno: H₂O (3 razy), NaHCO₃ nas. (3 razy), H₂O, 5% roztworem kw. cytrynowego w H₂O (3 razy), H₂O. Fazę organiczną osuszono MgSO₄ i odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem.

5.3.5. Procedura D: odbezpieczanie grup Boc

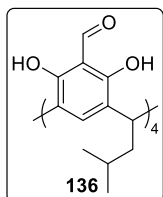
Substrat (1 ekw.) rozpuszczono w 10% roztworze TFA (10 ekw.) w CH₂Cl₂ i mieszano w t. pok. Po 5 godzinach reakcji dodano 1M NaOH (10 ekw.). Powstały osad produktu odsączono i przemyto CH₂Cl₂ (2 razy) i H₂O (4 razy).

5.3.6. Procedura E: odbezpieczanie grup Cbz lub estru benzyłowego

Substrat (1 ekw.) rozpuszczono w mieszaninie MeOH:H₂O (1:5, v:v) i wymieniono atmosferę na argon. Dodano pallad na węglu aktywnym (10% Pd, 50 mg na 1 mmol substratu) i przepuszczano wodór z balonu przez roztwór w t. pok. Postęp reakcji śledzono przy użyciu TLC (CHCl₃:MeOH, 95:5, v:v). Po całkowitym zaniku substratu katalizator usunięto poprzez sączenie przez celit. Filtrat odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem.

5.4. Synteza

136: tetraformylorezorcyn[4]aren

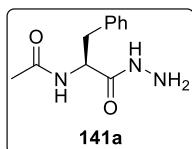


Rezorcyn[4]aren **134** (2,55 mmol, 1,82 g), urotropinę (17,1 mmol, 2,40 g) oraz TFA (15 ml) umieszczono w probówce do reakcji mikrofalowych. Reakcję prowadzono w reaktorze mikrofalowym w temperaturze 100 °C przez 15 min. Następnie zawartość probówki wylano do mieszaniny 1 M HCl:CHCl₃ (90 ml:90 ml) i pozostawiono na 20 godzin (intensywne mieszanie). Następnie rozdzielono fazy, fazę wodną ekstrahowano CHCl₃ (2 x 50 ml). Połączone fazy organiczne osuszono MgSO₄ i odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Do pozostałości dodano aceton (30 ml), powstały osad odsączono i przemyto acetonem (2 x 10 ml). Otrzymano związek **136** (1,14 mmol, 0,95 mmol) jako żółty osad z wydajnością 45%.

¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 400 MHz): δ 10,87 (s, 8H); 10,14 (s, 4H); 7,29 (s, 4H); 4,69 (t, *J* = 7,6 Hz, 4H); 1,79 (dd, *J* = 7,6, 7,3 Hz, 8H); 1,38 (m, 4H); 0,89 (d, *J* = 6,6 Hz, 24H).

Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.⁵⁷

141a: Ac-L-Phe-NH-NH₂

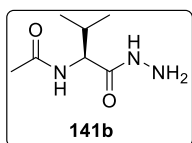


Związek **141a** otrzymano z wykorzystaniem procedury A używając substratu **150** (5 mmol, 1,11 g). Otrzymano produkt **141a** (4,8 mmol, 1,07 g) jako biały osad z wydajnością 96%.

¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 400 MHz): δ 9,16 (s, 1H); 8,09 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H); 7,30-7,13 (m, 5H); 4,44 (td, *J* = 9,3, 5,1 Hz, 1H); 4,20 (s, 2H); 2,92 (dd, *J* = 13,7, 5,2 Hz, 1H); 2,74 (dd, *J* = 13,7, 9,4 Hz, 1H); 1,74 (s, 3H).

Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.⁶⁰

141b: Ac-L-Val-NH-NH₂

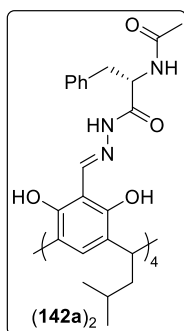


Związek **141b** otrzymano z wykorzystaniem procedury A używając substratu **145** (5 mmol, 0,87 g). Otrzymano produkt **141b** (4,6 mmol, 0,8 g) jako biały osad z wydajnością 92%.

¹H NMR (CDCl₃, 298 K, 200 MHz): δ 8,42 (bs, 2H); 3,96 (m, 1H); 3,81 (s, 3H); 2,46 (m, 1H); 1,14 (d, *J* = 5,5 Hz, 3H); 1,12 (d, *J* = 5,5 Hz, 3H).

Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.⁶⁰

142a występujący w formie kapsuły (142a)₂

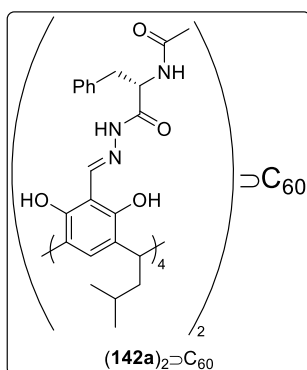


Związek **142a** otrzymano z wykorzystaniem procedury B używając substratu **141a** (0,2 mmol, 44 mg). Otrzymano produkt **142a** (0,05 mmol, 82 mg) jako żółty osad, który był analizowany bez dalszego oczyszczania.

¹H NMR (CDCl₃, 298 K, 600 MHz): δ 12,72 (bs, 4H); 11,55 (s, 4H); 8,72 (bs, 4H); 8,60 (s, 4H); 7,22-7,19 (m, 8H+4H); 7,17-7,14 (m, 4H+8H); 7,08 (bs, 4H); 5,09 (m, 4H); 4,44 (t, *J* = 7,9 Hz, 4H); 3,09 (dd, *J* = 7,4, 13,5 Hz, 4H); 3,01 (dd, *J* = 7,4, 13,5 Hz, 4H); 2,14 (s, 12H); 2,09-1,95 (m, 8H); 1,44 (m, 4H); 0,96 (d, *J* = 2,9 Hz, 12H); 0,95 (d, *J* = 2,9 Hz, 12H).

Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.⁶⁰

(142a)₂⊃C₆₀

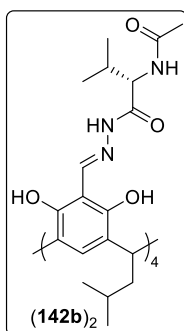


Związek **141a** (0,2 mmol, 44 mg), związek **136** (0,05 mmol, 41 mg) oraz fuleren C₆₀ (0,025 mmol, 18 mg) rozpuszczono w CHCl₃ (2 ml) w zamkniętym naczyniu i ogrzewano w 70 °C. Po 20 godzinach reakcję ochłodzono i przesączono. Przesącz odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymano produkt (142a)₂⊃C₆₀ (0,048 mmol, 96 mg) jako czarny osad z wydajnością 96%.

¹H NMR (CDCl₃, 298 K, 400 MHz): δ 12,77 (s, 8H); 11,45 (s, 8H); 8,78 (s, 8H); 8,02 (s, 8H); 7,33-7,11 (m, 40H+8H); 6,86 (d, *J* = 9,4 Hz, 8H); 5,11-5,01 (m, 8H); 4,44 (t; *J* = 7,9 Hz, 8H); 3,13 (dd, *J* = 13,5, 7,3 Hz, 8H); 3,06 (dd, *J* = 13,5, 6,6 Hz, 8H); 2,25 (s, 24H); 2,03 (m, 12H); 1,52-1,41 (m, 8H); 0,97 (d, *J* = 4,5 Hz, 24H); 0,96 (d, *J* = 4,5 Hz, 24H).

Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.⁶⁰

142b występujący w formie kapsuły (142b)₂



Związek **142b** otrzymano z wykorzystaniem procedury B używając substratu **141b** (0,2 mmol, 35 mg). Otrzymano produkt **142b** (0,05 mmol, 72 mg) jako żółty osad, który był analizowany bez dalszego oczyszczania.

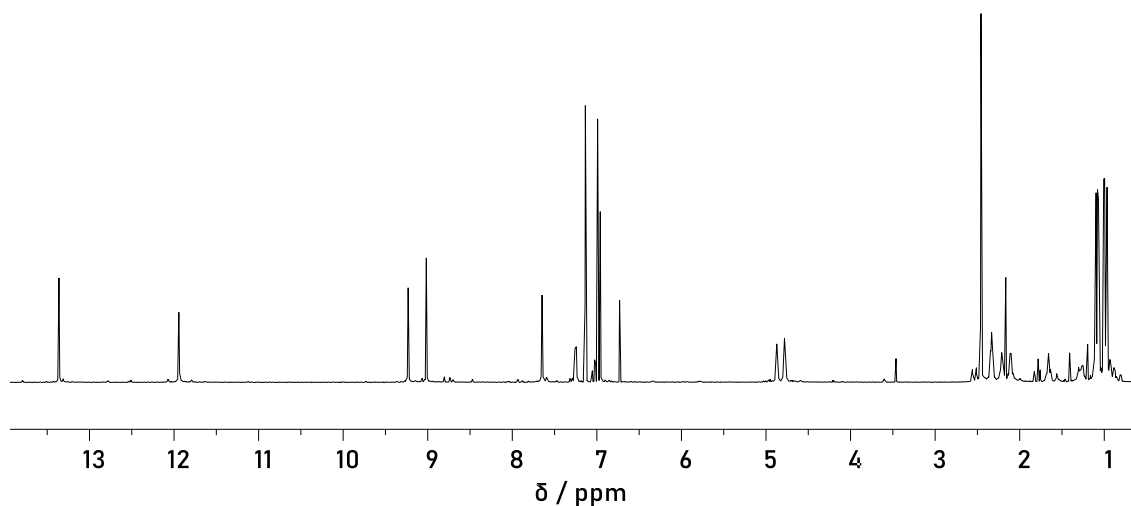
¹H NMR (CDCl₃, 298 K, 600 MHz): δ 12,82 (bs, 4H); 11,81 (s, 4H); 8,90 (s, 4H); 8,89 (bs, 4H); 7,22 (s, 4H); 6,94 (d, *J* = 9,7 Hz, 4H); 4,62

(dd, $J = 8,7, 9,7$ Hz, 4H); 4,50 (t, $J = 7,8$ Hz, 4H); 2,31 (s, 12H); 2,12-1,97 (m, 8H+4H); 1,48 (m, 4H); 1,03 (d, $J = 6,8$ Hz, 12H); 1,02 (d, $J = 6,7$ Hz, 12H); 0,98 (d, $J = 7,0$ Hz, 12H); 0,96 (d, $J = 7,0$ Hz, 12H).

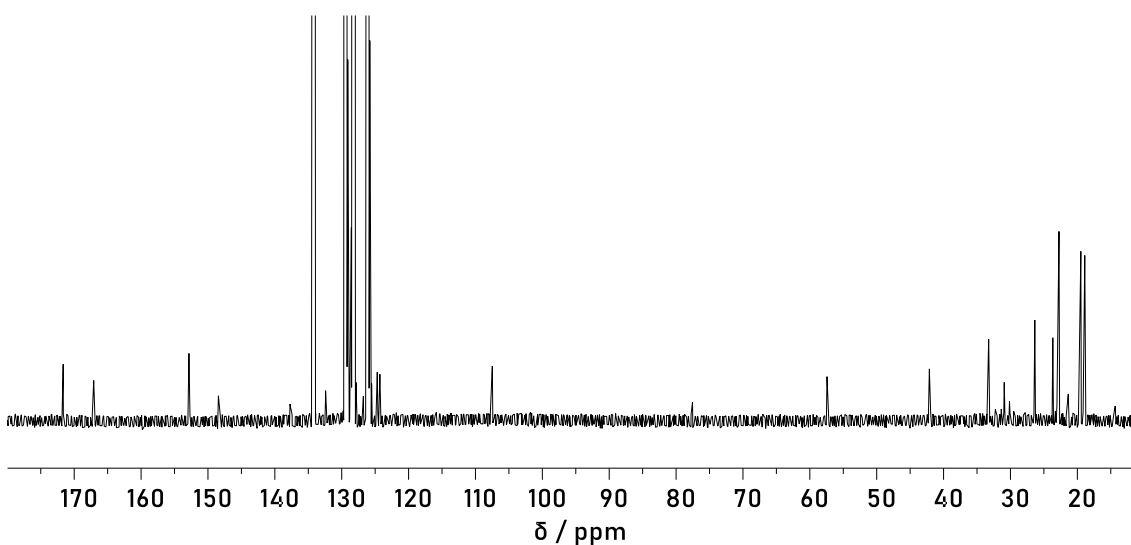
^1H NMR (chlorobenzen- d_5 , 298 K, 600 MHz): δ 13,36 (s, 4H), 11,94 (s, 4H); 9,23 (s, 4H); 9,02 (s, 4H); 7,65 (s, 4H); 7,25 (d, $J = 9,6$ Hz, 4H); 4,87 (dd, $J = 9,6$ Hz, 4H); 4,78 (t, $J = 8,0$ Hz, 4H); 2,46 (s, 12H); 2,37-2,30 (m, 8H); 2,14-2,07 (m, 4H); 1,69-1,63 (m, 4H); 1,09 (dd, $J = 16,7, 6,7$ Hz, 12H); 0,99 (dd, $J = 17,4, 6,6$ Hz, 12H).

^{13}C NMR (chlorobenzen- d_5 , 298 K, 150 MHz): δ 171,6; 167,1; 152,84; 152,83; 148,4; 126,8; 124,7; 124,3; 107,5; 57,4; 42,1; 33,3; 30,9; 26,4; 22,76; 22,74; 19,5; 18,9.

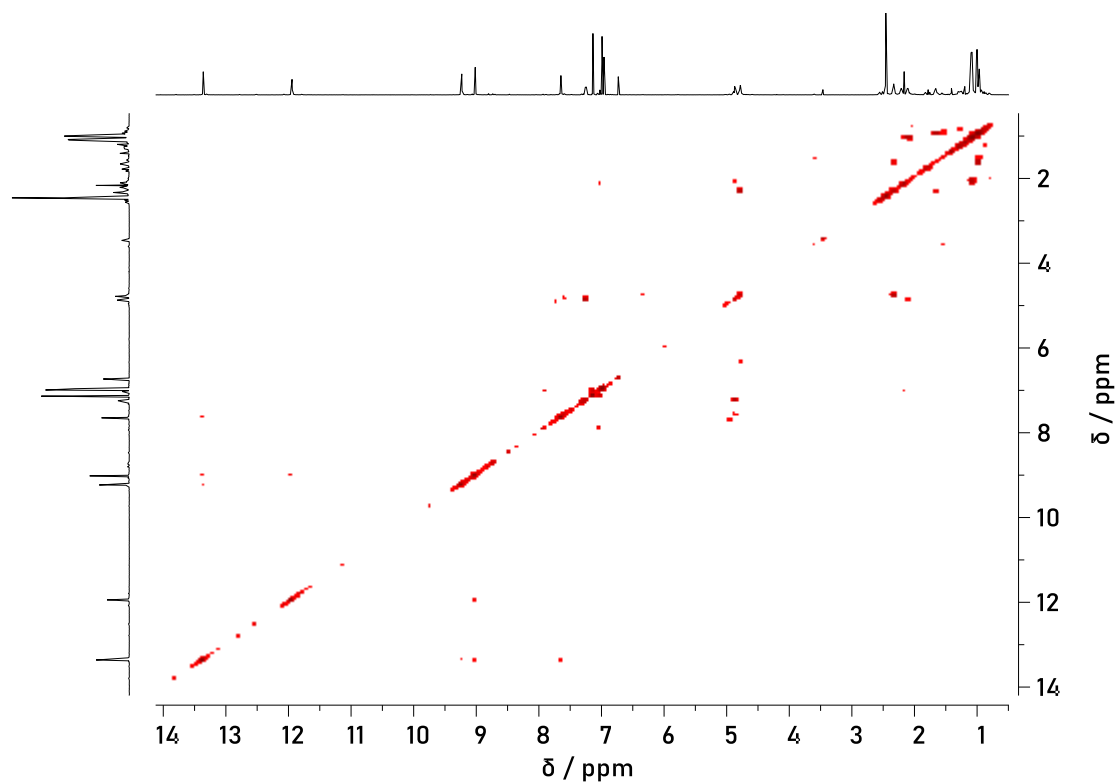
Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.⁶⁰



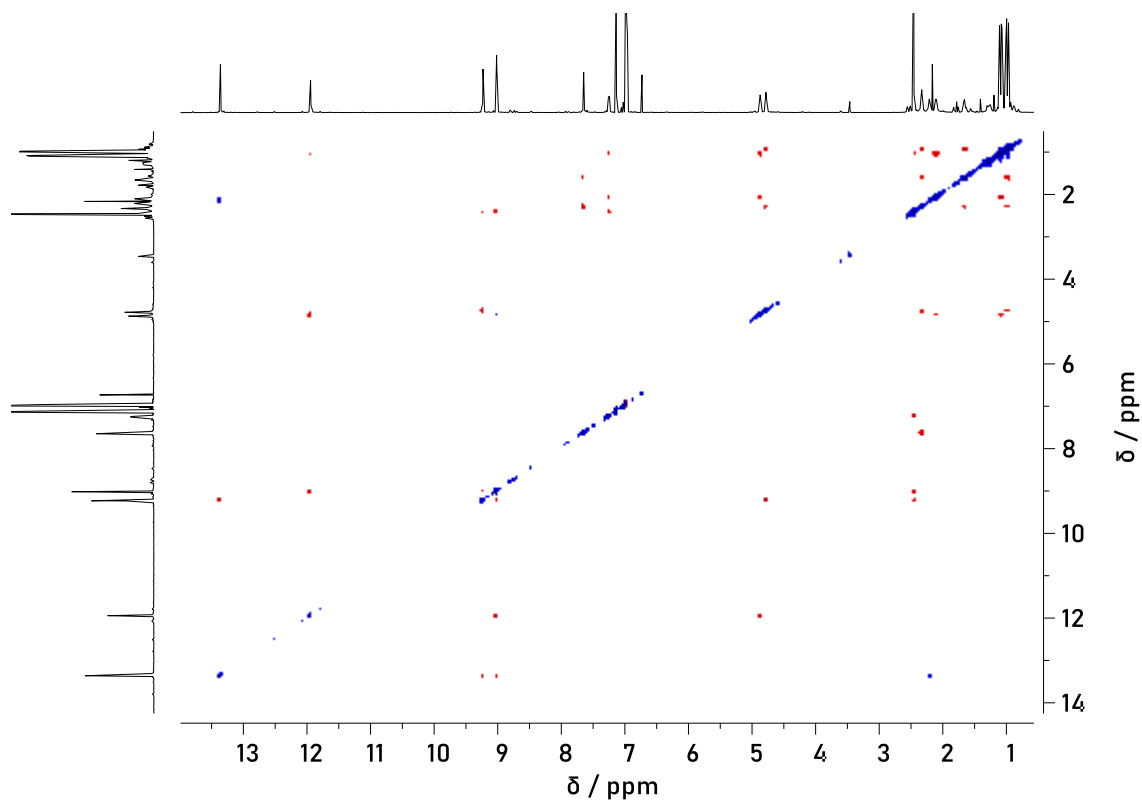
Rys. 83 Widmo ^1H NMR związku **142b** (chlorobenzen- d_5 , 298 K, 600 MHz).



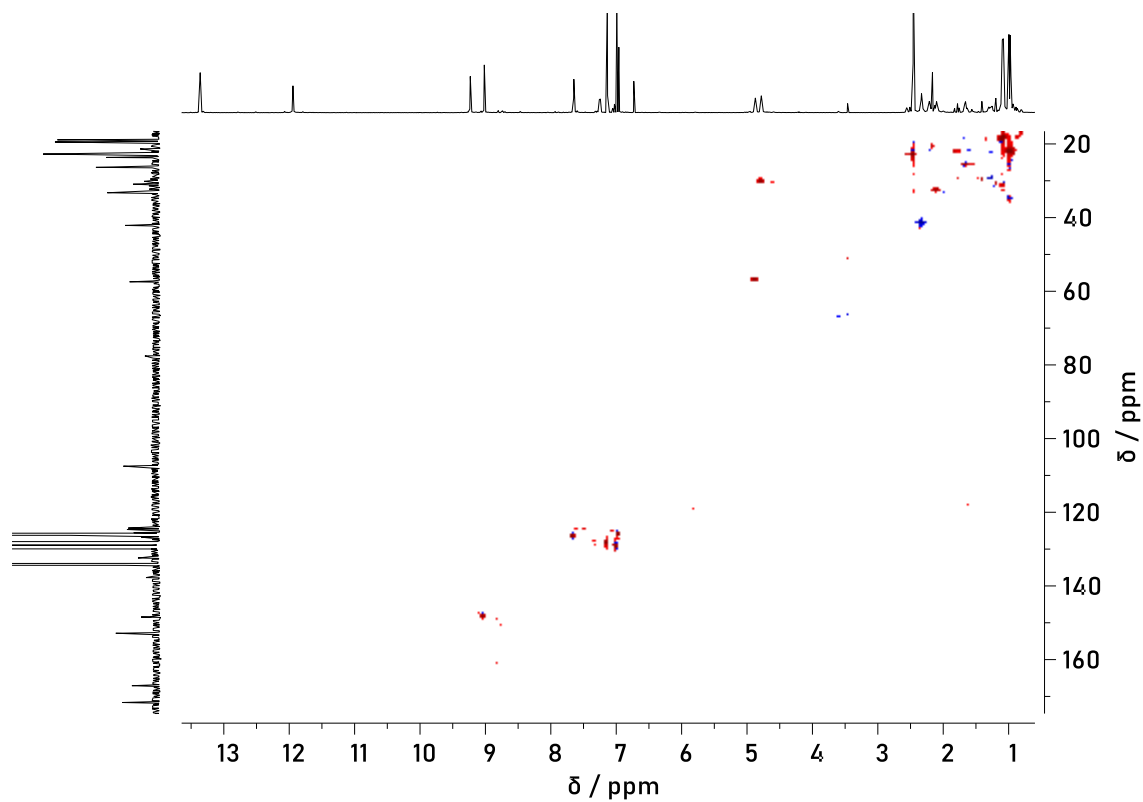
Rys. 84 Widmo ^{13}C NMR związku **142b** (chlorobenzen- d_5 , 298 K, 150 MHz).



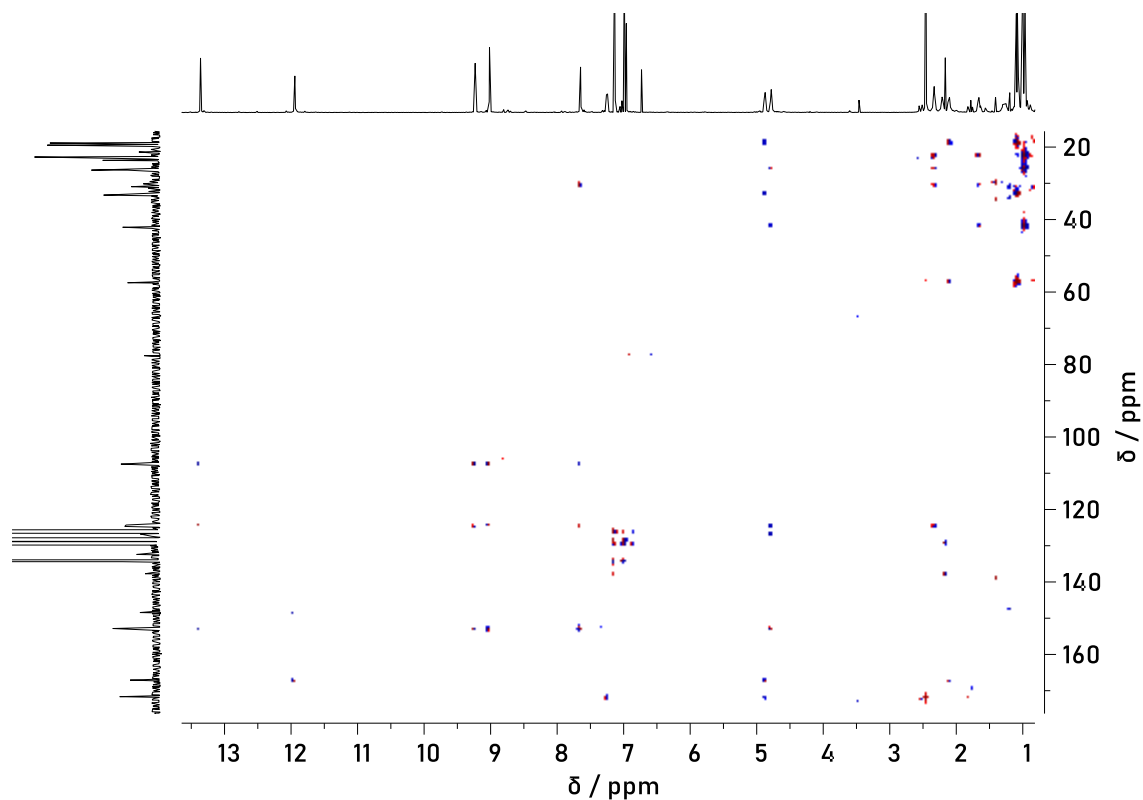
Rys. 85 Widmo ^1H - ^1H COSY NMR związku **142b** (chlorobenzen- d_5 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 86 Widmo ^1H - ^1H ROESY NMR związku **142b** (chlorobenzen- d_5 , 298 K, 600 MHz).

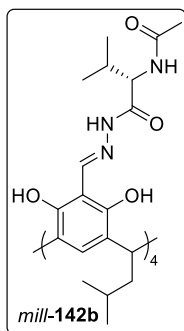


Rys. 87 Widmo ^1H - ^{13}C HSQC NMR związku **142b** (chlorobenzen- d_5 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 88 Widmo ^1H - ^{13}C HMBC NMR związku **142b** (chlorobenzen- d_5 , 298 K, 600 MHz).

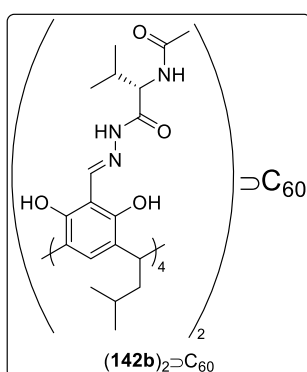
mill-142b



Związek **136** (0,125 mmol, 103 mg) oraz związek **141b** (0,5 mmol, 86,5 mg) umieszczono w naczyniu do młyna kulowo-planetarnego. Reakcję prowadzono przez jedną godzinę. Otrzymano produkt **142b** (0,125 mmol, 180 mg) jako żółty proszek, który był analizowany bez dalszego oczyszczania.

Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.⁶⁰

(142b)₂⊃C₆₀



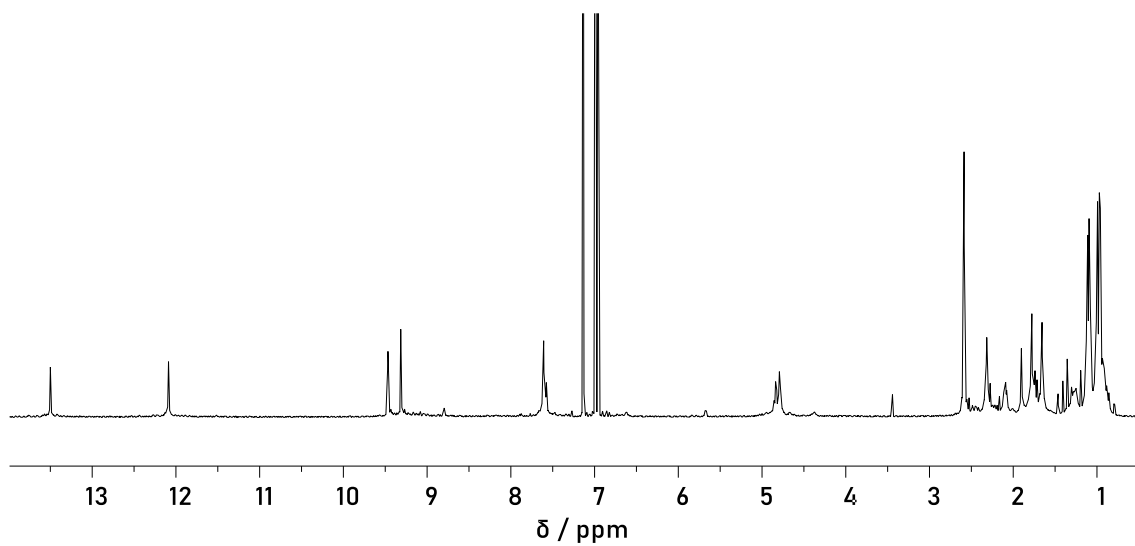
Kompleks (**142b**)₂⊃C₆₀ otrzymano z wykorzystaniem procedury analogicznej do procedury opisanej dla kompleksu (**142a**)₂⊃C₆₀ używając substratu **141b** (0,2 mmol, 35 mg). Otrzymano produkt (**142b**)₂⊃C₆₀ (0,048 mmol, 86 mg) jako czarny osad z wydajnością 96%.

¹H NMR (CDCl₃, 298 K, 600 MHz): δ 12,88 (bs, 8H); 11,80 (s, 8H); 9,04 (s, 8H), 8,98 (bs, 8H); 7,24 (s, 8H); 7,13 (d, *J* = 9,7, 8H); 4,60 (dd, *J* = 9,0, 9,0 Hz, 8H); 4,49 (t, *J* = 8,0 Hz, 8H); 2,36 (s, 24H); 2,11-2,00 (m, 16H+8H), 1,53-1,45 (m, 16H); 1,04 (dd, *J* = 6,8, 5,3 Hz, 24H); 0,95 (dd, *J* = 9,3, 6,6 Hz, 24H).

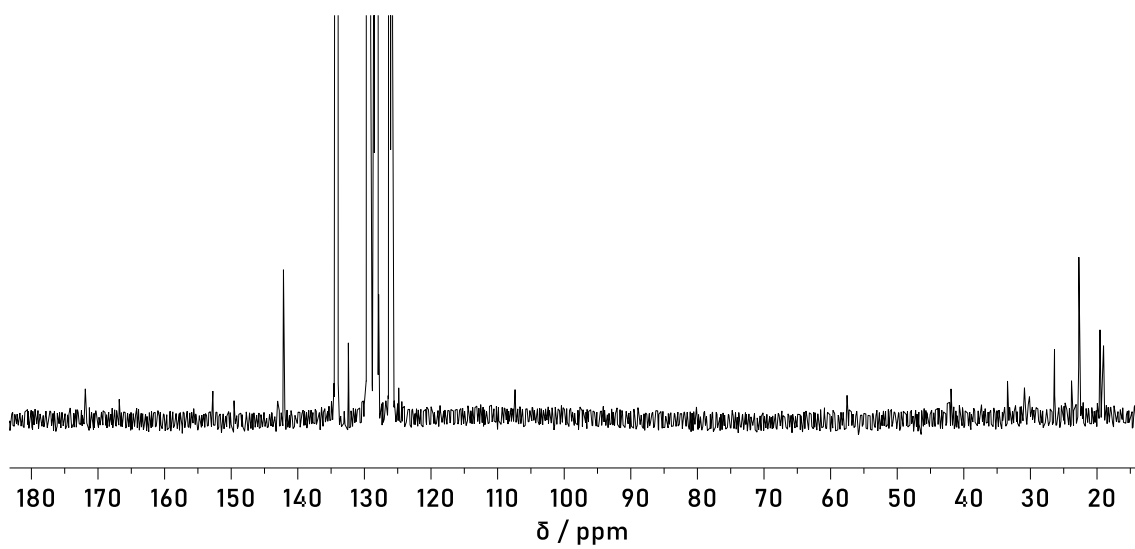
¹H NMR (chlorobenzen-d₅, 298 K, 600 MHz): δ 13,50 (s, 8H); 12,09 (s, 8H); 9,47 (s, 8H); 9,31 (s, 8H); 7,61 (s, 8H); 7,58 (d, *J* = 9,5 Hz, 8H); 4,84 (dd, *J* = 8,8, 8,8 Hz, 8H); 4,79 (t, *J* = 7,8 Hz, 8H); 2,59 (s, 24H); 2,34-2,29 (m, 16H); 2,13-2,06 (m, 8H); 1,69-1,63 (m, 8H); 1,12 (d, *J* = 6,8 Hz, 24H); 1,09 (d, *J* = 6,7 Hz, 24H); 1,00 (d, *J* = 6,6 Hz, 12H); 0,97 (d, *J* = 6,7 Hz, 12H).

¹³C NMR (chlorobenzen-d₅, 298 K, 150 MHz): δ 171,9; 166,8; 152,8; 152,6; 149,6; 142,2; 126,7; 124,85; 124,82; 107,4; 57,5; 41,9; 33,4; 30,9; 26,4; 23,8; 22,7; 22,7; 19,6; 19,0.

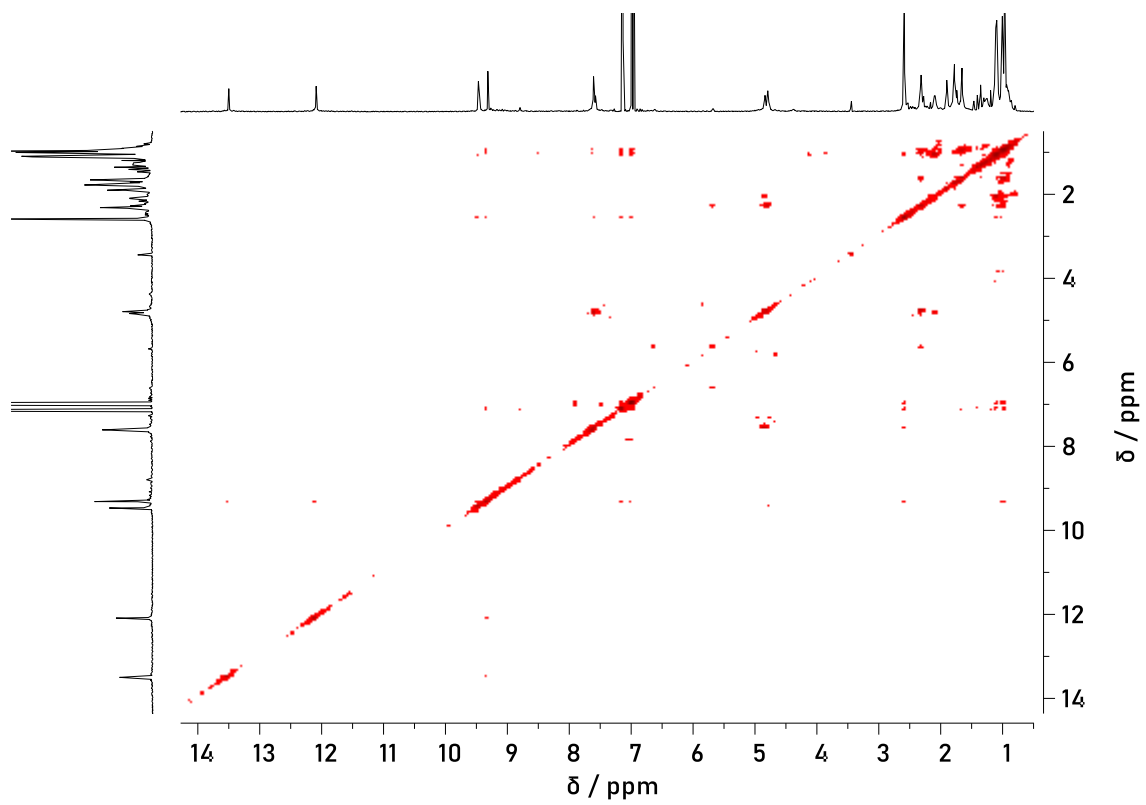
Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.⁶⁰



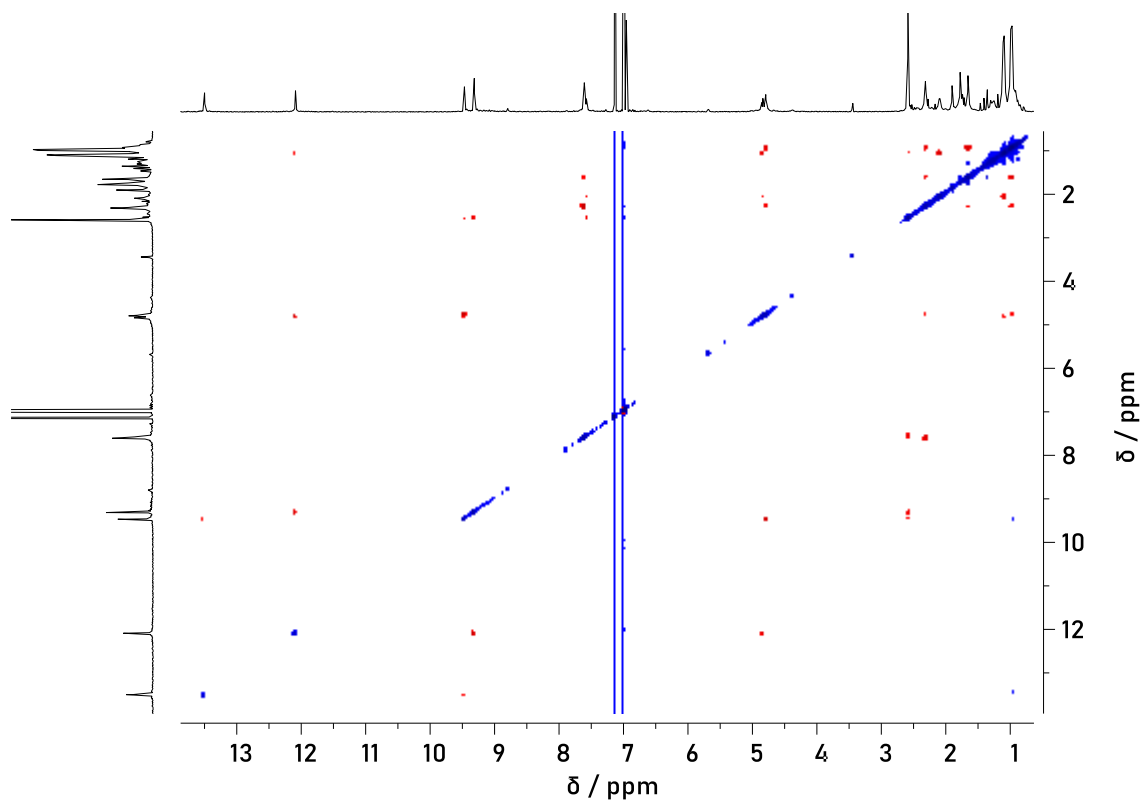
Rys. 89 Widmo ^1H NMR związku $(142\text{b})_2\text{C}_{60}$ (chlorobenzen- d_5 , 298 K, 600 MHz).



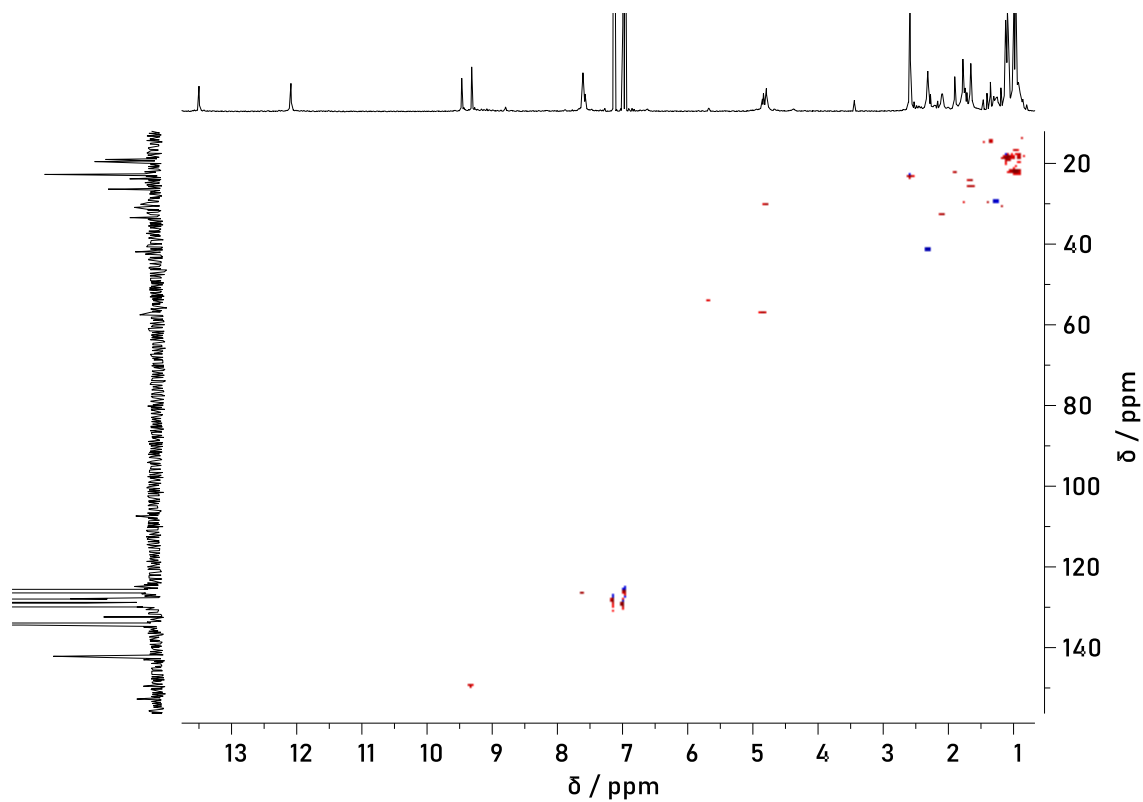
Rys. 90 Widmo ^{13}C NMR związku $(142\text{b})_2\text{C}_{60}$ (chlorobenzen- d_5 , 298 K, 150 MHz).



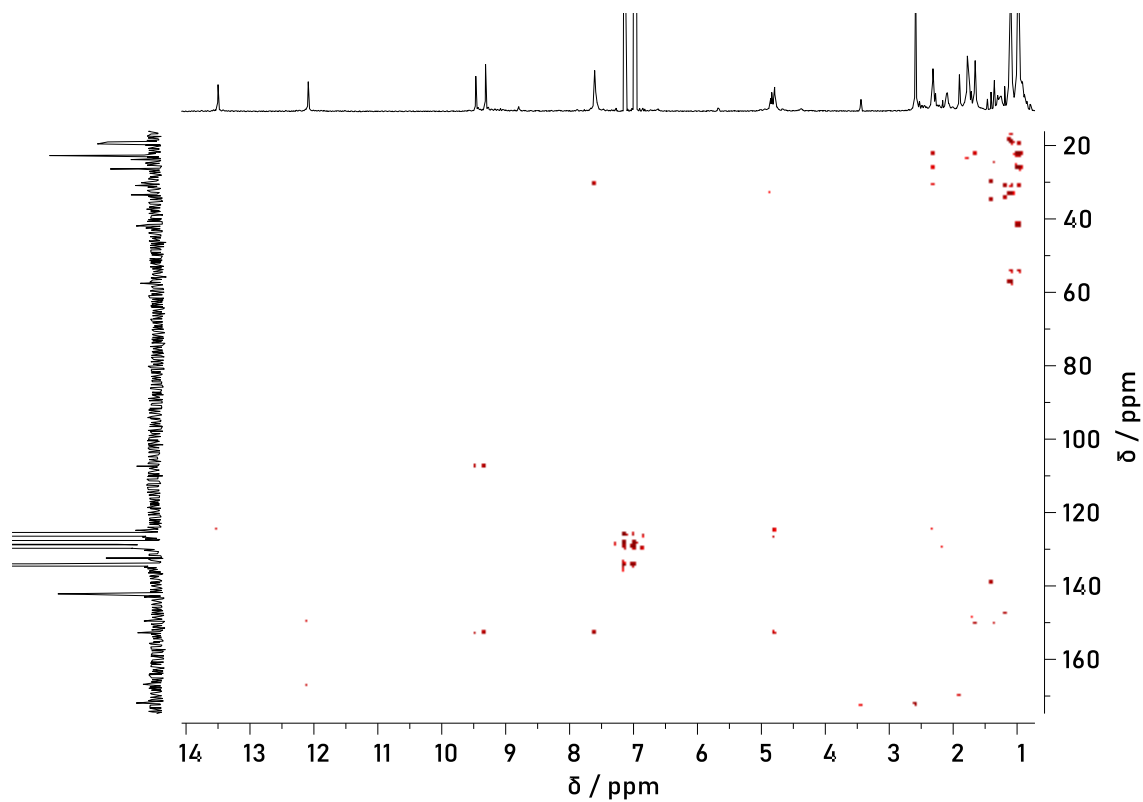
Rys. 91 Widmo ^1H - ^1H COSY NMR związku $(142\text{b})_2\text{C}_{60}$ (chlorobenzen- d_5 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 92 Widmo ^1H - ^1H ROESY NMR związku $(142\text{b})_2\text{C}_{60}$ (chlorobenzen- d_5 , 298 K, 600 MHz).

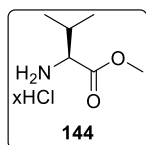


Rys. 93 Widmo ^1H - ^{13}C HSQC NMR związku $(142b)_2\text{C}_{60}$ (chlorobenzen- d_5 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 94 Widmo ^1H - ^{13}C HMBC NMR związku $(142b)_2\text{C}_{60}$ (chlorobenzen- d_5 , 298 K, 600 MHz).

144: HCl·H-L-Val-OMe

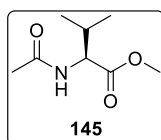


Związek **143** (60 mmol, 7,1 g) rozpuszczono w MeOH (55 ml) i ochłodzono do temperatury 0 °C. Do mieszaniny powoli wkraplano SOCl₂ (100 mmol, 7 ml). Mieszaninę reakcyjną mieszano w t. pok. przez 20 godzin. Następnie mieszaninę reakcyjną odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Do osadu dodano *i*-PrOH (15 ml) i ogrzano do temperatury 30 °C. Po ochłodzeniu mieszaniny powstały osad odsączono, przemyto *i*-PrOH (15 ml). Otrzymano produkt **144** (29,3 mmol, 4,9 g) jako biały osad z wydajnością 49%.

¹H NMR (CDCl₃, 298 K, 400 MHz): δ 8,83 (bs, 3H); 4,01-3,91 (m, 1H); 3,81 (s, 3H); 2,52-2,40 (m, 1H); 1,14 (d, *J* = 5,5 Hz, 3H); 1,12 (d, *J* = 5,4 Hz, 3H).

Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.⁶⁰

145: Ac-L-Val-OMe

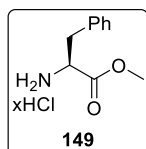


Związek **144** (5 mmol, 0,84 g) rozpuszczono w CH₂Cl₂ (60 ml) i ochłodzono do temperatury 0 °C. Do mieszaniny dodano Et₃N (11 mmol, 1,1 ml), po 5 min Ac₂O (5,5 mmol, 0,52 ml). Mieszano w t. pok. przez 20 godzin. Przemywano kolejno 1M HCl (3 x 50 ml), NaHCO₃ st. (3 x 50 ml), H₂O (50 ml). Fazę organiczną osuszono MgSO₄, odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymano produkt **145** (3,6 mmol, 0,63 g) jako biały osad z wydajnością 72%.

¹H NMR (CD₃OD, 298 K, 400 MHz): δ 4,31 (d, *J* = 6,1 Hz, 1H); 3,71 (s, 3H); 2,17-2,07 (m, 1H); 2,00 (s, 3H); 0,96 (d, *J* = 1,3 Hz, 3H); 0,94 (d, *J* = 1,2 Hz, 3H).

Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.⁶⁰

149: HCl·H-L-Phe-OMe

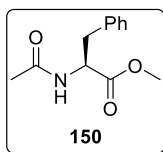


Związek **149** otrzymano z wykorzystaniem procedury analogicznej do procedury opisanej dla związku **144** używając substratu **148** (60 mmol, 10 g). Otrzymano produkt **149** (51,6 mmol, 11,1 g) jako biały osad z wydajnością 83%.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 298 K, 200 MHz): δ 8,76 (bs, 3H); 7,43-7,17 (m, 5H); 4,24 (dd, *J* = 7,3, 5,8 Hz, 1H); 3,65 (s, 3H); 3,22 (dd, *J* = 14,0, 5,8 Hz, 1H); 3,09 (dd, *J* = 13,9, 7,4 Hz).

Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.⁶⁰

150: Ac-L-Phe-OMe

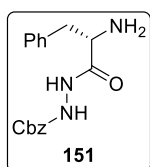


Związek **150** otrzymano z wykorzystaniem procedury analogicznej do procedury opisanej dla związku **145** używając substratu **149** (5 mmol, 1,07 g). Otrzymano produkt **150** (4 mmol, 0,87 g) jako biały osad z wydajnością 80%.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 298 K, 400 MHz): δ 7,34-7,20 (m, 3H); 7,12-7,05 (m, 2H); 5,92 (bd, $J = 7,4$ Hz, 1H); 4,89 (ddd, $J = 7,9, 5,7, 5,7$ Hz, 1H); 3,73 (s, 3H); 3,15 (dd, $J = 13,9, 5,8$ Hz, 1H); 3,09 (dd, $J = 13,9, 5,6$ Hz, 1H); 1,99 (s, 3H).

Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.⁶⁰

151: H-L-Phe-NH-NH-Cbz

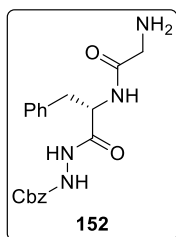


Związek **151** otrzymano przy użyciu procedury C ze związków Boc-L-Phe-OH (25 mmol, 6,63 g) i $\text{H}_2\text{N-NH-Cbz}$ (25 mmol, 4,15 g). Otrzymany produkt Boc-L-Phe-NH-NH-Cbz odbezpieczono zgodnie z procedurą D. Otrzymano produkt **151** (21,2 mmol, 6,64 g) jako biały osad z wydajnością 85%.

$^1\text{H NMR}$ (DMSO-d_6 , 298 K, 400 MHz): δ 10,40 (b, 1H); 9,53 (b, 1H); 8,22 (b, 2H); 7,37 (bs, 5H); 7,31 (bs, 5H); 5,12 (s, 2H); 4,03 (m, 1H); 3,14 (m, 1H); 2,98 (m, 1H).

Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.⁶⁰

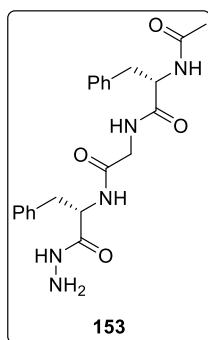
152: H-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz



Związek **152** otrzymano przy użyciu procedury C ze związków Boc-Gly-OH (10 mmol, 1,75 g) i **151** (10 mmol, 3,13 g). Otrzymany produkt Boc-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz odbezpieczono zgodnie z procedurą D. Otrzymano produkt **152** (4,0 mmol, 1,49 g) jako biały osad z wydajnością 40%.

$^1\text{H NMR}$ (DMSO-d_6 , 298 K, 400 MHz): δ 8,02 (b, 1H); 7,45-7,15 (m, 10H); 5,10 (s, 2H); 4,60 (m, 1H); 3,01 (m, 2H+1H); 2,83 (m, 1H).

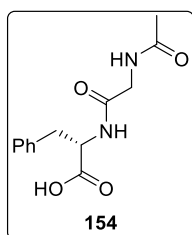
153: Ac-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH₂



Związek **153** otrzymano przy użyciu procedury C ze związków Ac-L-Phe-OH (2 mmol, 0,41 g) i **152** (2 mmol, 0,74 g). Otrzymany produkt Ac-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz odbezpieczono zgodnie z procedurą E. Otrzymano produkt **153** (1,45 mmol, 0,62 g) jako biały osad z wydajnością 73%.

¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 400 MHz): δ 9,15 (s, 1H); 8,16 (m, 2H); 8,03 (d, 1H); 7,30-7,13 (m, 11H); 4,44 (m, 1H); 3,78 (dd, *J* = 16,7, 6,2 Hz, 1H); 3,53 (dd, *J* = 16,7, 5,3 Hz, 1H); 3,00 (dd, *J* = 9,4, 4,6 Hz, 1H); 2,97 (dd, *J* = 9,3, 4,6 Hz, 1H); 2,79 (dd, *J* = 11,3, 7,0 Hz, 1H); 2,74 (dd, *J* = 11,4, 7,6 Hz, 1H); 1,76 (s, 3H).

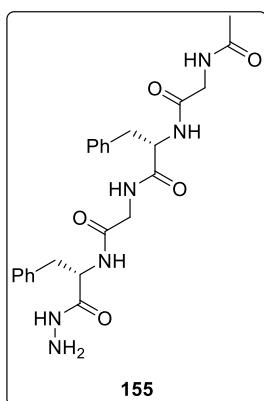
154: Ac-Gly-L-Phe-OH



Związek **154** otrzymano przy użyciu procedury C ze związków Ac-Gly-OH (5 mmol, 0,23 g) i H-L-Phe-OBn·TsOH (5 mmol, 2,14 g) oraz 2 ekw. Et₃N. Otrzymany produkt Ac-Gly-L-Phe-OBn odbezpieczono zgodnie z procedurą E. Otrzymano produkt **154** (3,86 mmol, 1,02 g) jako biały osad z wydajnością 77%.

¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 400 MHz): δ 8,07 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H); 8,00 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H); 7,30-7,17 (m, 5H); 4,43 (ddd, *J* = 8,7, 8,1, 5,1 Hz, 1H); 3,70 (dd, *J* = 16,7, 5,9 Hz, 1H); 3,61 (dd, *J* = 16,7, 5,8 Hz, 1H); 3,04 (dd, *J* = 13,7, 5,0 Hz, 1H); 2,88 (dd, *J* = 13,8, 8,8 Hz, 1H); 1,82 (s, 3H).

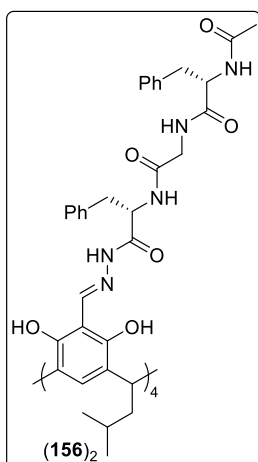
155: Ac-Gly-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH₂



Związek **155** otrzymano przy użyciu procedury C ze związków **154** (2 mmol, 0,53 g) i **152** (2 mmol, 0,74 g). Otrzymany produkt Ac-Gly-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz odbezpieczono zgodnie z procedurą E. Otrzymano produkt **155** (1,28 mmol, 0,62 g) jako biały osad z wydajnością 64%.

¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 400 MHz): δ 9,17 (bs, 1H); 8,20 (bs, 1H); 8,06 (m, 1H+1H); 7,99 (bs, 1H); 7,30-7,13 (m, 10H); 4,46 (m, 1H+1H); 3,75 (m, 1H+1H); 3,58 (m, 1H+1H); 2,98 (m, 1H+1H); 2,79 (m, 1H+1H); 1,81 (s, 3H).

156 występujący w formie kapsuły (**156**)₂



Związek **156** otrzymano z wykorzystaniem procedury B używając substratu **153** (0,2 mmol, 85 mg). Otrzymano produkt **156** (0,05 mmol, 123 mg) jako żółty osad, który był analizowany bez dalszego oczyszczania.

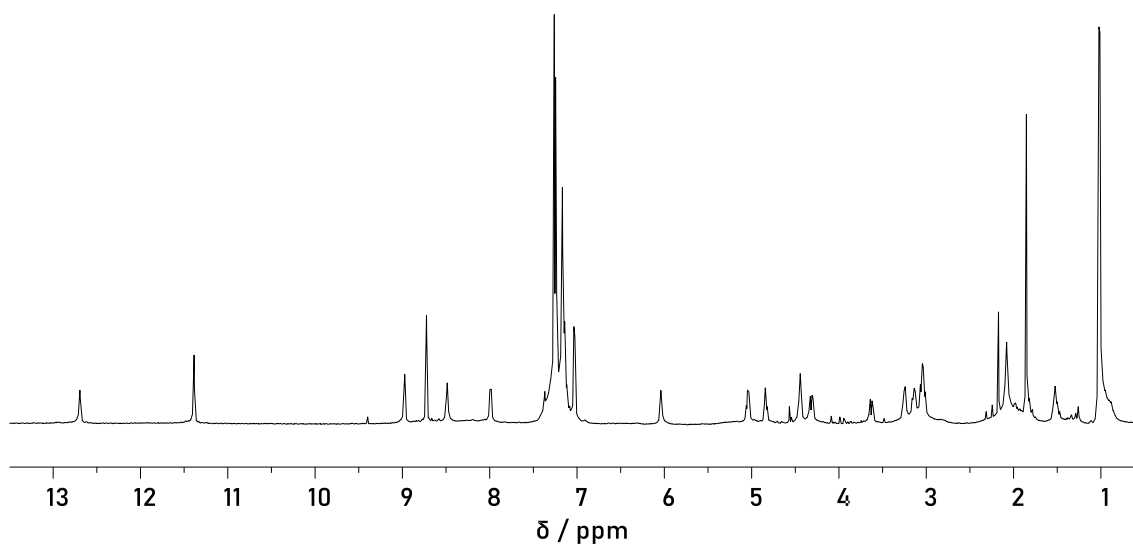
¹H NMR (CDCl₃, 298 K, 600 MHz): δ 12,68 (s, 4H); 11,37 (s, 4H); 8,96 (s, 4H); 8,71 (s, 4H); 8,47 (bdd, 4H); 7,98 (bd, 4H); 7,28-6,99 (m, 44H); 6,02 (bd, 4H); 5,03 (dd, *J* = 16,4, 7,1 Hz, 4H); 4,83 (dd, *J* = 12,6, 6,5 Hz, 4H); 4,43 (t, *J* = 7,7 Hz, 4H); 4,31 (dd, *J* = 17,3, 6,0 Hz, 4H); 3,62 (dd, *J* = 17,1, 5,3 Hz, 4H); 3,24 (dd, *J* = 13,8, 6,3

Hz, 4H); 3,13 (dd, *J* = 13,3, 7,2 Hz, 4H); 3,03 (m, 4H+4H); 2,07 (m, 8H); 1,84 (s, 6H); 1,51 (m, 4H); 1,01 (bd, 24H).

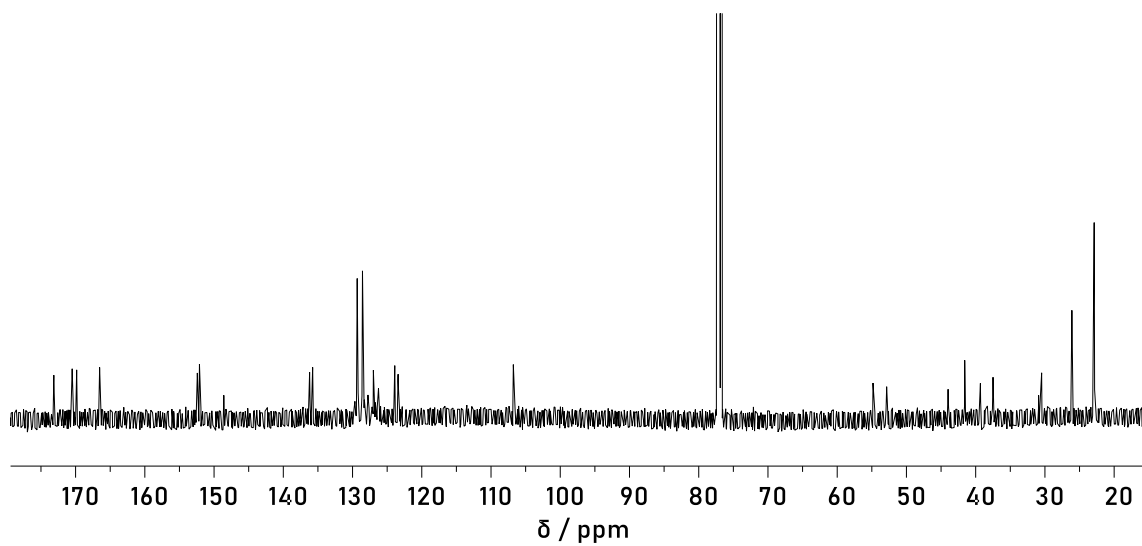
¹³C NMR (CDCl₃, 298 K, 150 MHz): δ 173,3; 170,6; 170,0; 166,7; 152,6; 152,3; 148,7; 136,4; 135,9; 129,48; 129,41; 128,72; 128,69; 127,28; 127,15; 126,4; 124,1; 123,6; 106,9; 55,0; 53,0; 44,2; 41,8; 39,5; 37,7; 30,6; 26,3; 23,05; 23,04; 23,0.

DOSY NMR (CDCl₃, 298 K, 600 MHz) $2,8 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

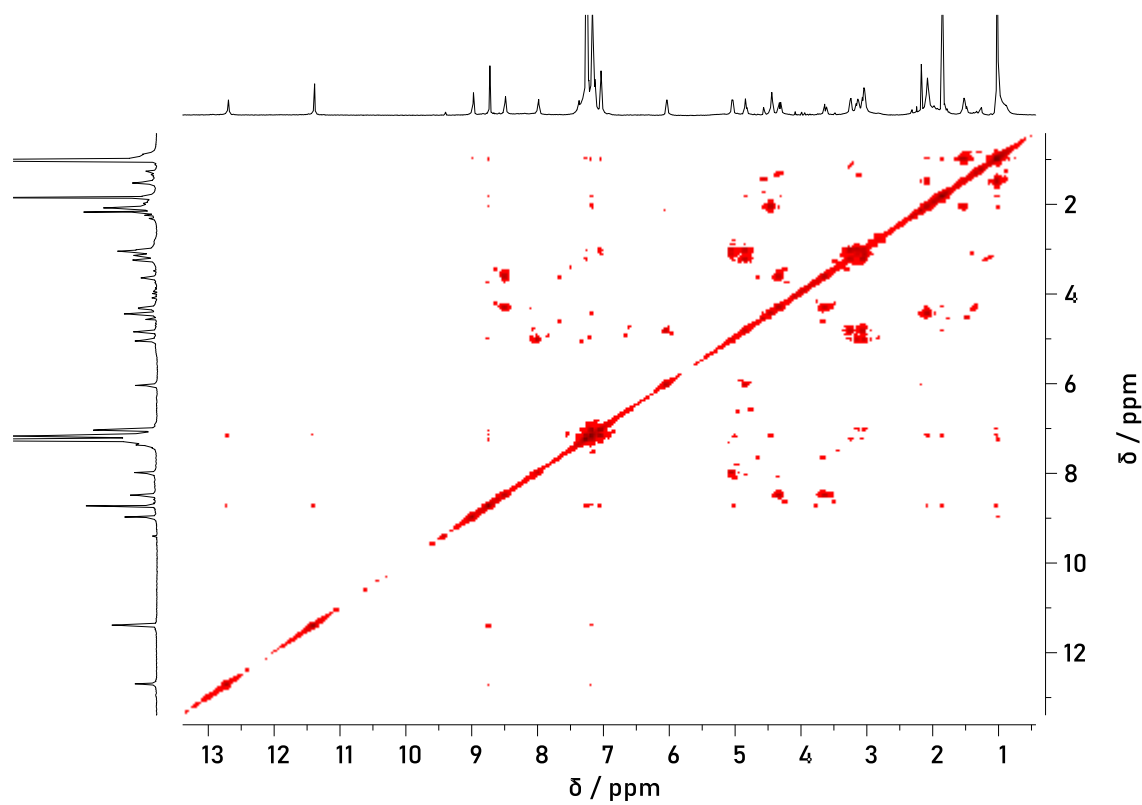
HR-MS (ESI-TOF): obliczona masa *m/z* (C₁₃₆H₁₅₆N₂₀O₂₄Na₂)²⁺ [M+2Na]²⁺: 1249,5693, wartość eksperymentalna: 1249,5654.



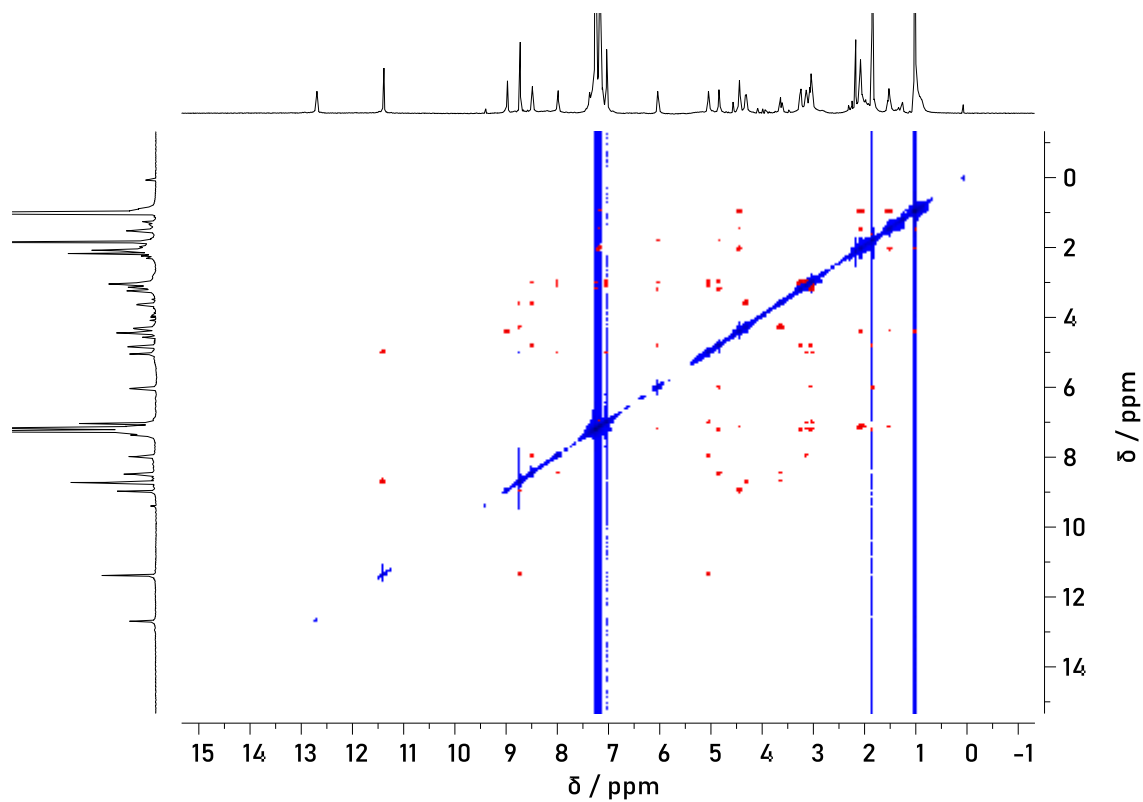
Rys. 95 Widmo ¹H NMR związku **156** (CDCl₃, 298 K, 600 MHz).



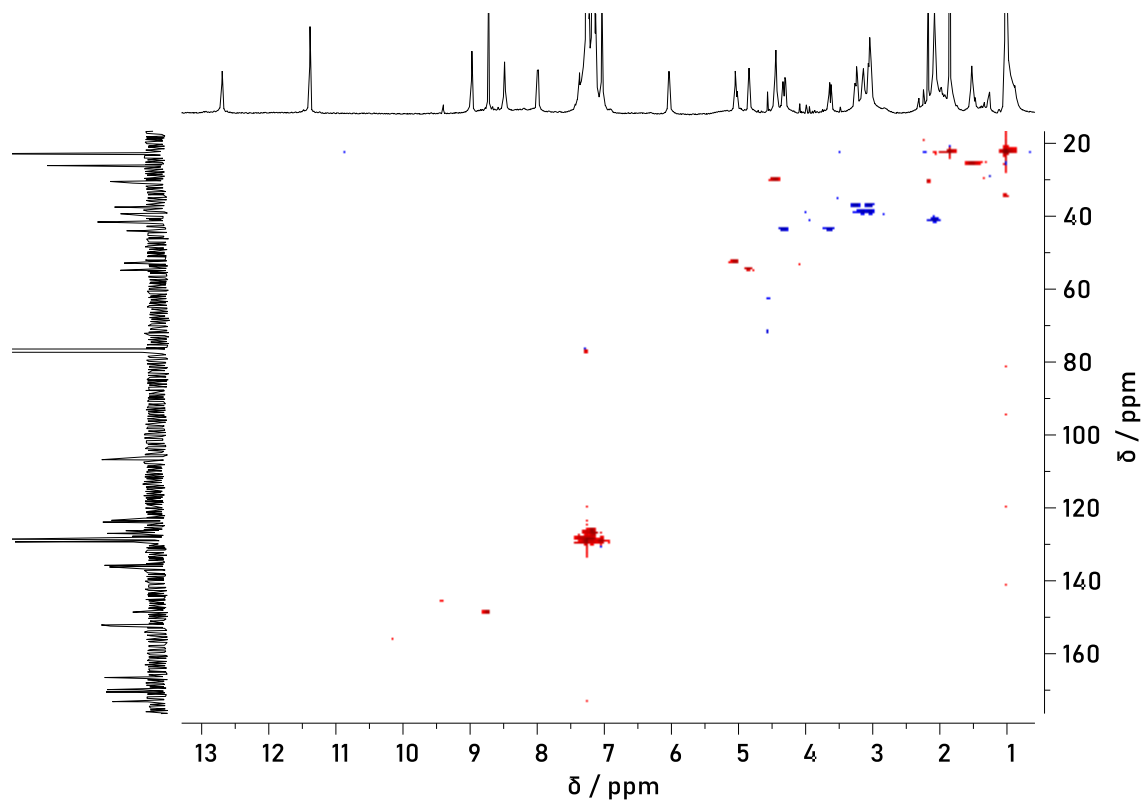
Rys. 96 Widmo ^{13}C NMR związku **156** (CDCl_3 , 298 K, 150 MHz).



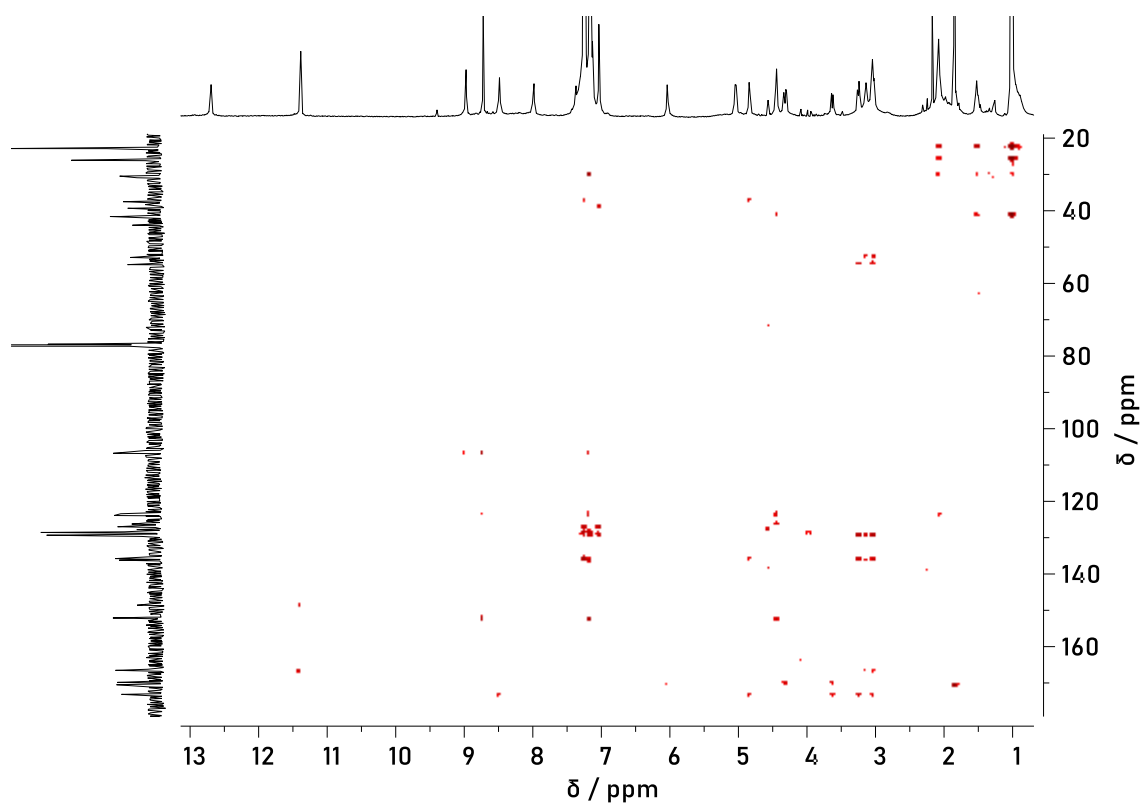
Rys. 97 Widmo ^1H - ^1H COSY NMR związku **156** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 98 Widmo ^1H - ^1H ROESY NMR związku **156** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).

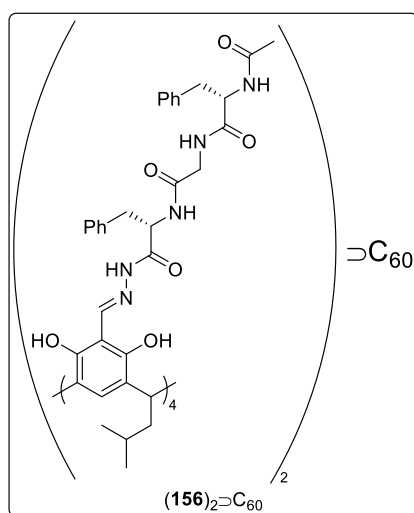


Rys. 99 Widmo ^1H - ^{13}C HSQC NMR związku **156** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 100 Widmo ^1H - ^{13}C HMBC NMR związku **156** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).

(156) $_2$ ⊃C $_{60}$



Kompleks **(156) $_2$ ⊃C $_{60}$** otrzymano z wykorzystaniem procedury analogicznej do procedury opisanej dla kompleksu **(142a) $_2$ ⊃C $_{60}$** używając substratu **153** (0,2 mmol, 85 mg). Otrzymano produktu **(156) $_2$ ⊃C $_{60}$** jako czarny osad (0,048 mmol, 135 mg) z wydajnością 96%.

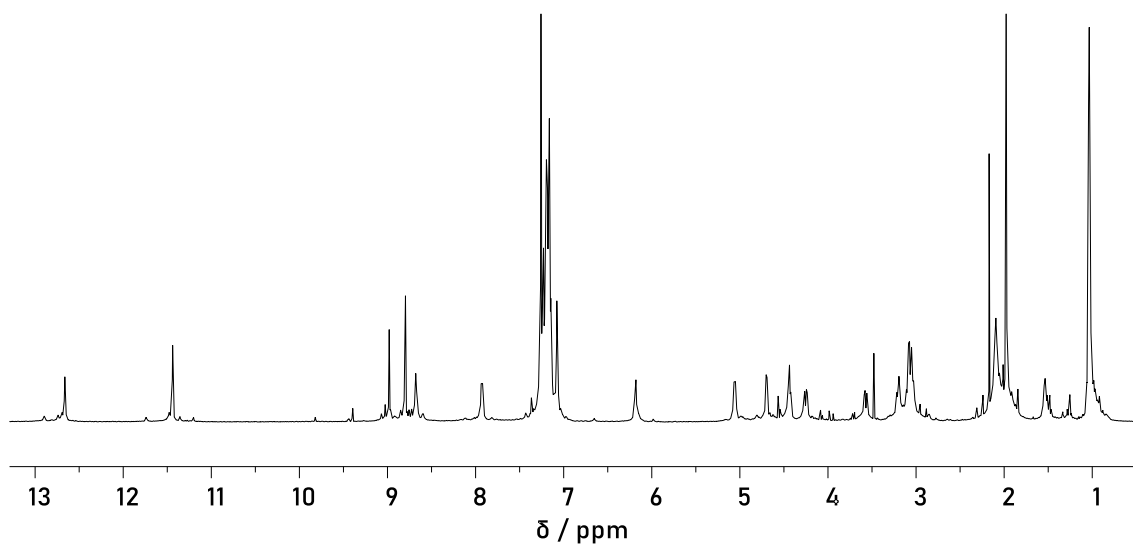
^1H NMR (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz): δ 12,66 (s, 8H); 11,44 (s, 8H); 8,98 (s, 8H); 8,80 (s, 8H); 8,68 (bdd, 8H); 7,93 (bd, 8H); 7,25-7,04 (m, 88H); 6,18 (bd, 8H); 5,06 (dd, $J = 16,2, 6,7$ Hz, 8H); 4,70 (dd,

$J = 12,6, 6,5$ Hz, 8H); 4,44 (t, $J = 7,9$ Hz, 8H); 4,25 (dd, $J = 17,2, 5,7$ Hz, 8H); 3,57 (dd, $J = 17,2, 5,8$ Hz, 8H); 3,20 (dd, $J = 13,4, 6,8$ Hz, 8H); 3,11-3,00 (m, 8H+8H+8H); 2,09 (m, 16H); 1,53 (m, 8H); 1,04 (d, $J = 4,7$ Hz, 24H); 1,03 (d, $J = 4,7$ Hz, 24H).

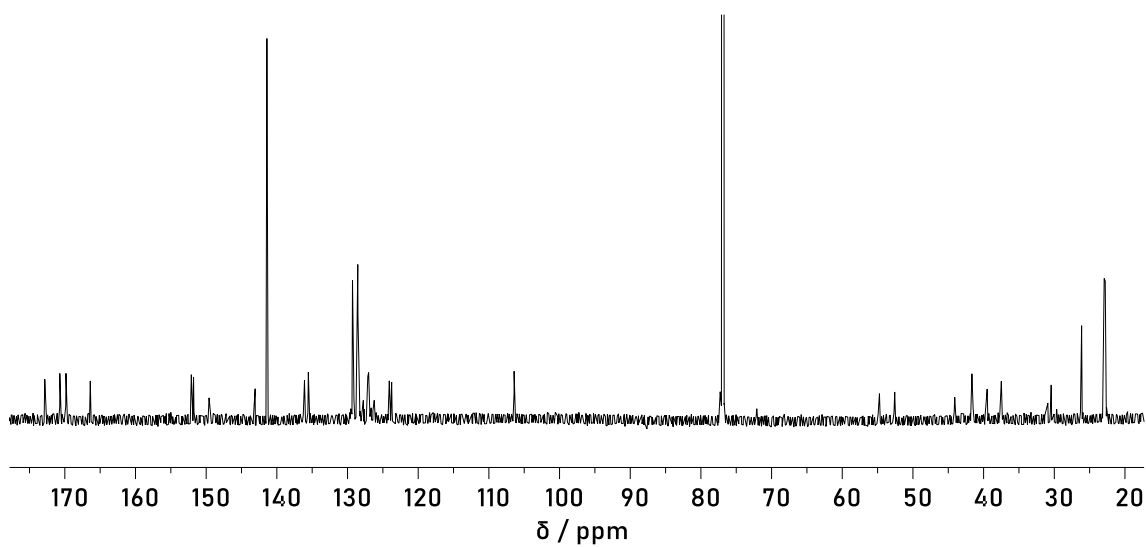
^{13}C NMR (CDCl_3 , 298 K, 150 MHz): δ 173,0; 170,9; 170,0; 166,6; 152,3; 151,9; 149,7; 141,6; 136,2; 135,7; 129,45; 129,41; 128,71; 128,69; 127,28; 127,17; 126,4; 124,3; 123,9; 106,6; 54,9; 52,7; 44,3; 41,8; 39,7; 37,7; 30,6; 26,3; 23,24; 23,11; 22,96.

DOSY NMR (CDCl₃, 298 K, 600 MHz) $2,7 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

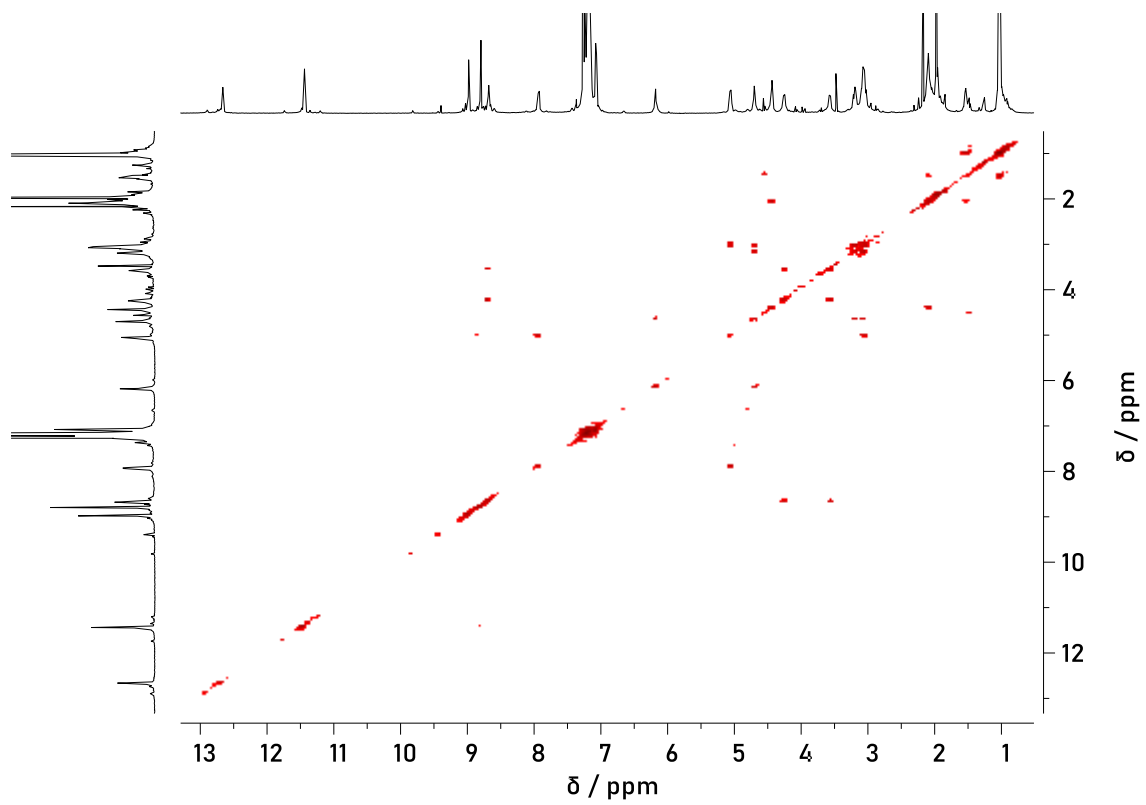
HR-MS (ESI-TOF): obliczona masa m/z (C₃₃₂H₃₀₉N₄₀O₄₈)³⁻ [M-3H]³⁻: 1874,4317, wartość eksperymentalna: 1874,4310.



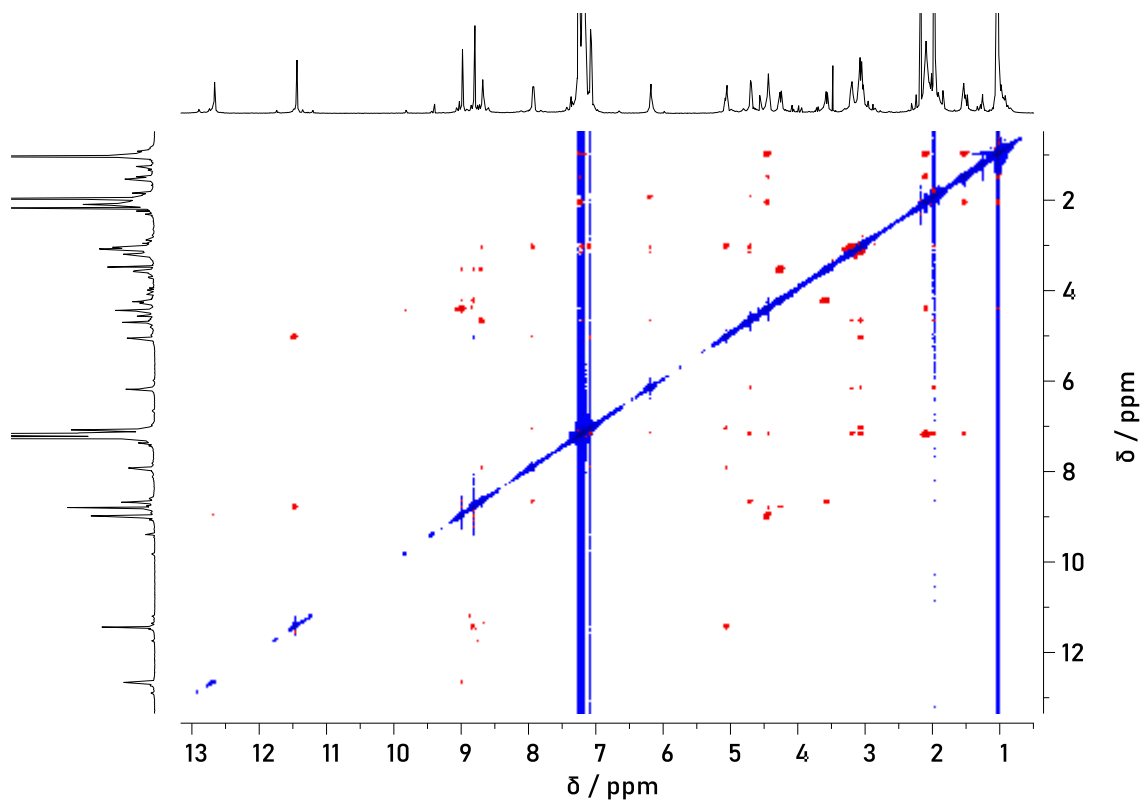
Rys. 101 Widmo ¹H NMR związku (156)₂C₆₀ (CDCl₃, 298 K, 600 MHz).



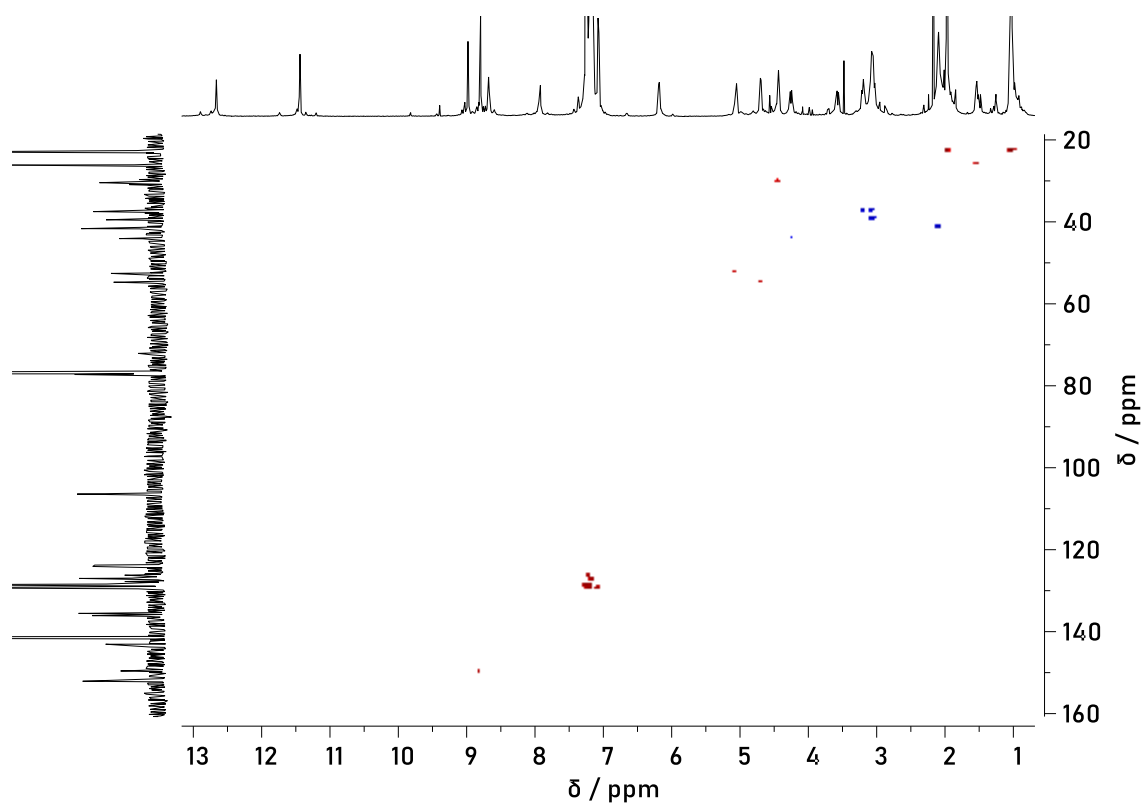
Rys. 102 Widmo ¹³C NMR związku (156)₂C₆₀ (CDCl₃, 298 K, 150 MHz).



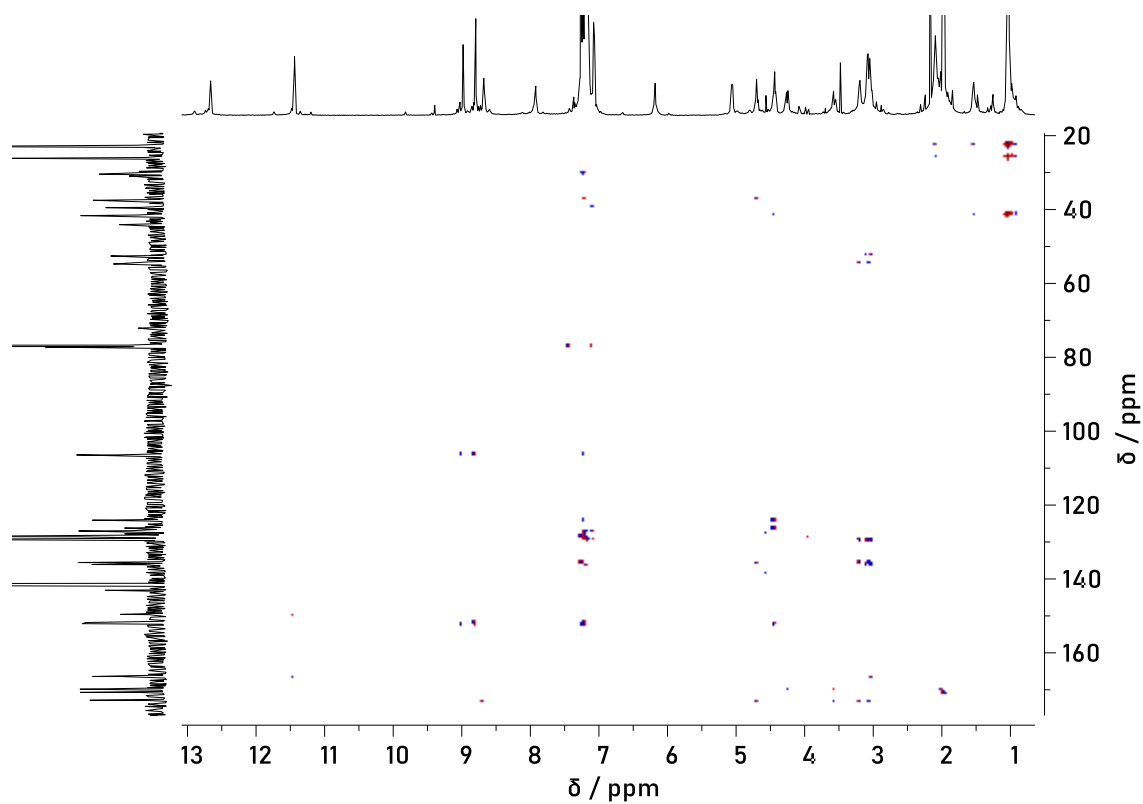
Rys. 103 Widmo ^1H - ^1H COSY NMR związku $(156)_2\text{C}_{60}$ (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 104 Widmo ^1H - ^1H ROESY NMR związku $(156)_2\text{C}_{60}$ (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).

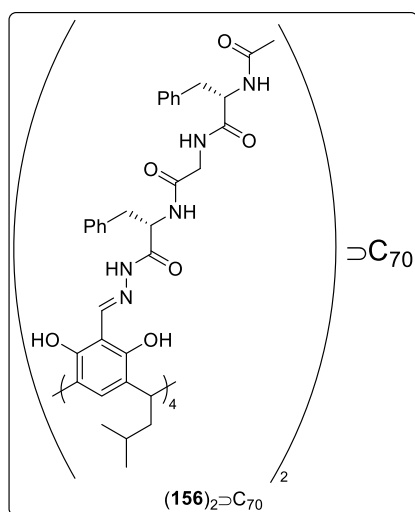


Rys. 105 Widmo ^1H - ^{13}C HSQC NMR związku $(156)_2\text{C}_{60}$ (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 106 Widmo ^1H - ^{13}C HMBC NMR związku $(156)_2\text{C}_{60}$ (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).

(156)₂⊃C₇₀



Kompleks (156)₂⊃C₇₀ otrzymano z wykorzystaniem procedury analogicznej do procedury opisanej dla kompleksu (142a)₂⊃C₆₀ używając substratu 153 (0,2 mmol, 85 mg) oraz fullerenu C₇₀ (0,025 mol, 21 mg). Otrzymano produkt (156)₂⊃C₇₀ (0,048 mmol, 138 mg) jako czerwony osad z wydajnością 96%.

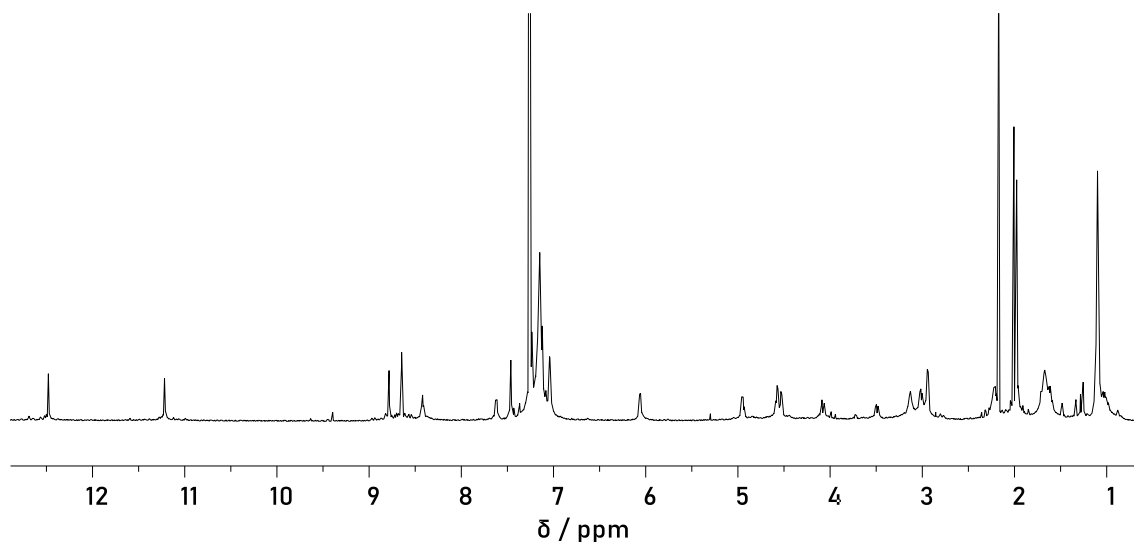
¹H NMR (CDCl₃, 298 K, 600 MHz): δ 12,48 (s, 8H); 11,22 (s, 8H); 8,79 (s, 8H); 8,65 (s, 8H); 8,43 (bt, 8H); 7,63 (bd, 8H); 7,46 (s, 8H); 7,26-6,98 (m, 80H); 6,10 (bd, 8H); 4,95 (dd, *J* = 15,9, 6,3 Hz, 8H); 4,57 (dd,

J = 12,3, 6,2 Hz, 8H); 4,53 (dd, *J* = 7,3, 5,6 Hz, 8H); 4,08 (dd, *J* = 16,7, 5,4 Hz, 8H); 3,49 (dd, *J* = 16,8, 5,8 Hz, 8H); 3,13 (dd, *J* = 13,2, 7,3 Hz, 8H); 3,01 (dd, *J* = 13,2, 5,7 Hz, 8H); 2,94 (m, 16H); 2,22 (m, 8H+8H); 1,61 (m, 8H); 1,11 (d, *J* = 6,1, 24H); 1,10 (d, *J* = 6,2, 24H).

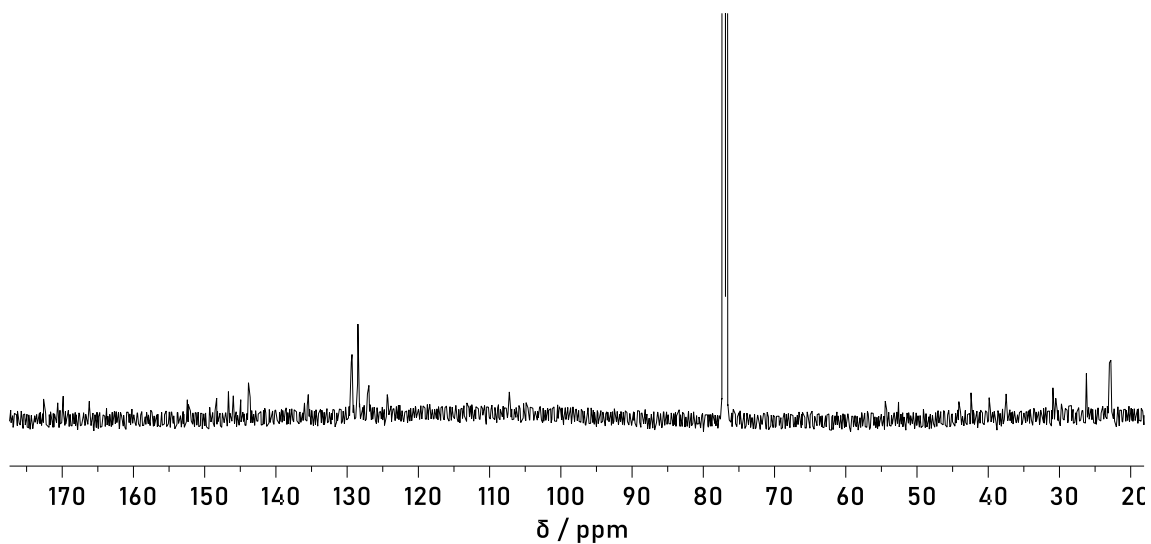
¹³C NMR (CDCl₃, 298 K, 150 MHz): δ 172,8; 170,8; 170,0; 166,3; 152,58; 152,44; 149,4; 148,5; 146,8; 146,1; 145,1; 143,99; 143,76; 136,1; 135,6; 129,63; 129,62; 129,56; 129,46; 128,64; 128,63; 127,3; 127,1; 124,52; 124,44; 107,4; 54,6; 52,8; 44,3; 42,6; 40,0; 37,6; 30,7; 26,4; 23,27; 23,14; 22,94.

DOSY NMR (CDCl₃, 298 K, 600 MHz) 3,0×10⁻¹⁰ m² s⁻¹.

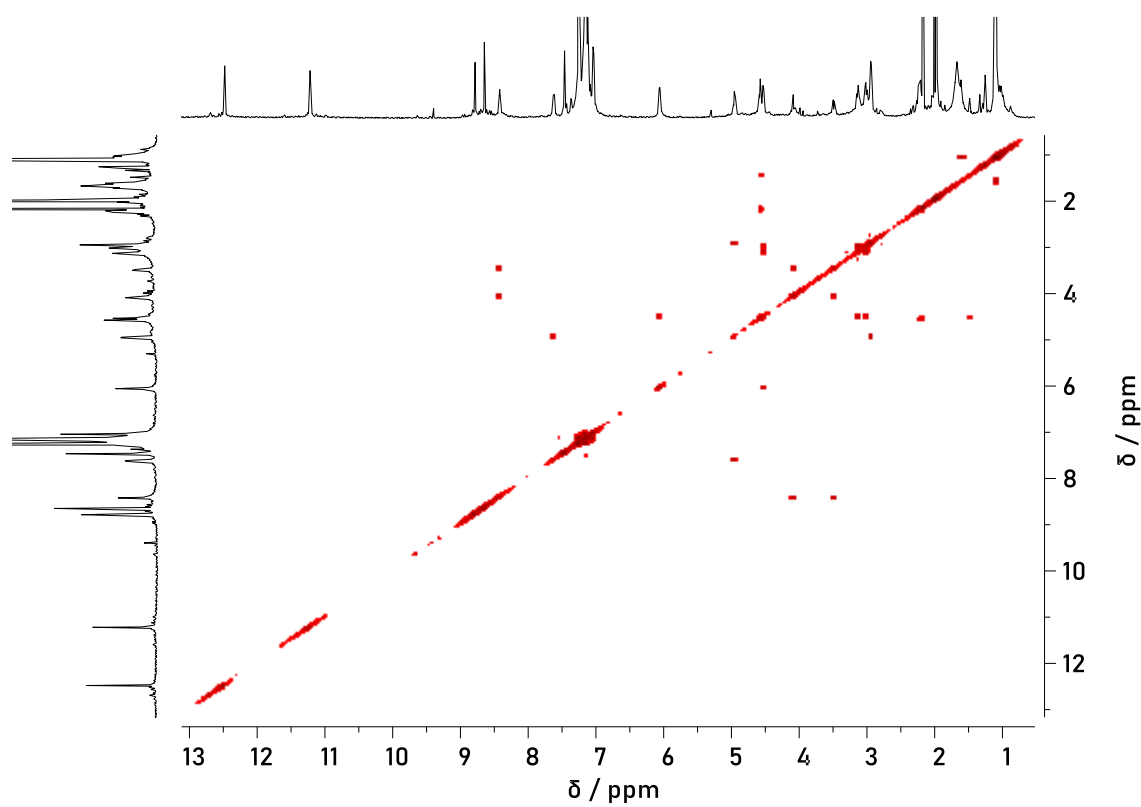
HR-MS (ESI-TOF): obliczona masa m/z (C₃₄₂H₃₁₂N₄₀O₄₈Na₃)³⁺ [M+3Na]³⁺: 1938,4293, wartość eksperymentalna: 1938,4363.



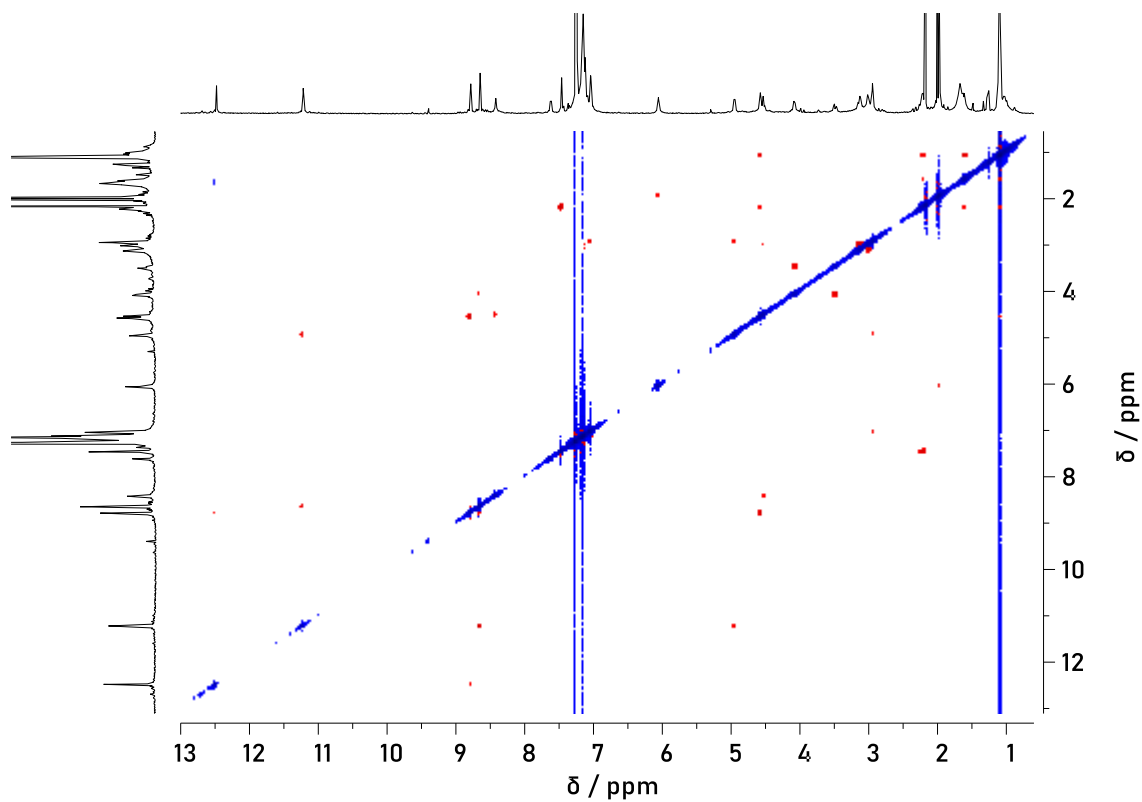
Rys. 107 Widmo ¹H NMR związku (156)₂⊃C₇₀ (CDCl₃, 298 K, 600 MHz).



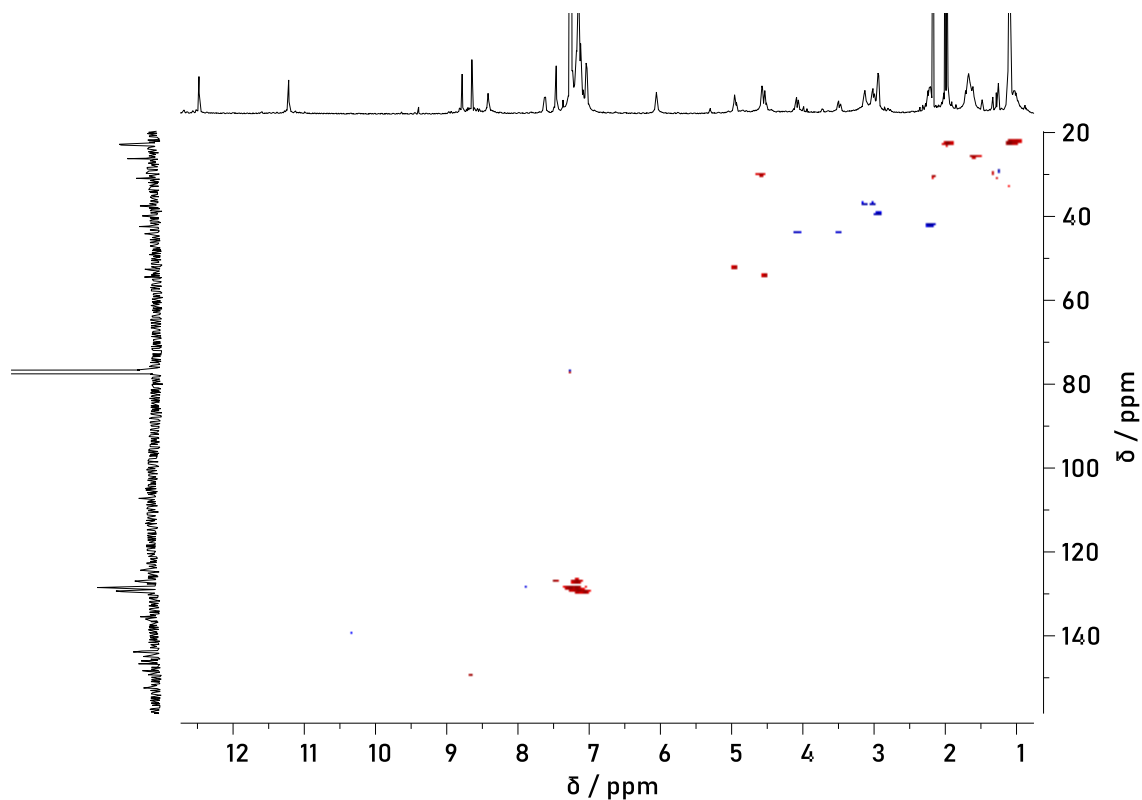
Rys. 108 Widmo ^{13}C NMR związku $(156)_2\text{C}_{70}$ (CDCl_3 , 298 K, 150 MHz).



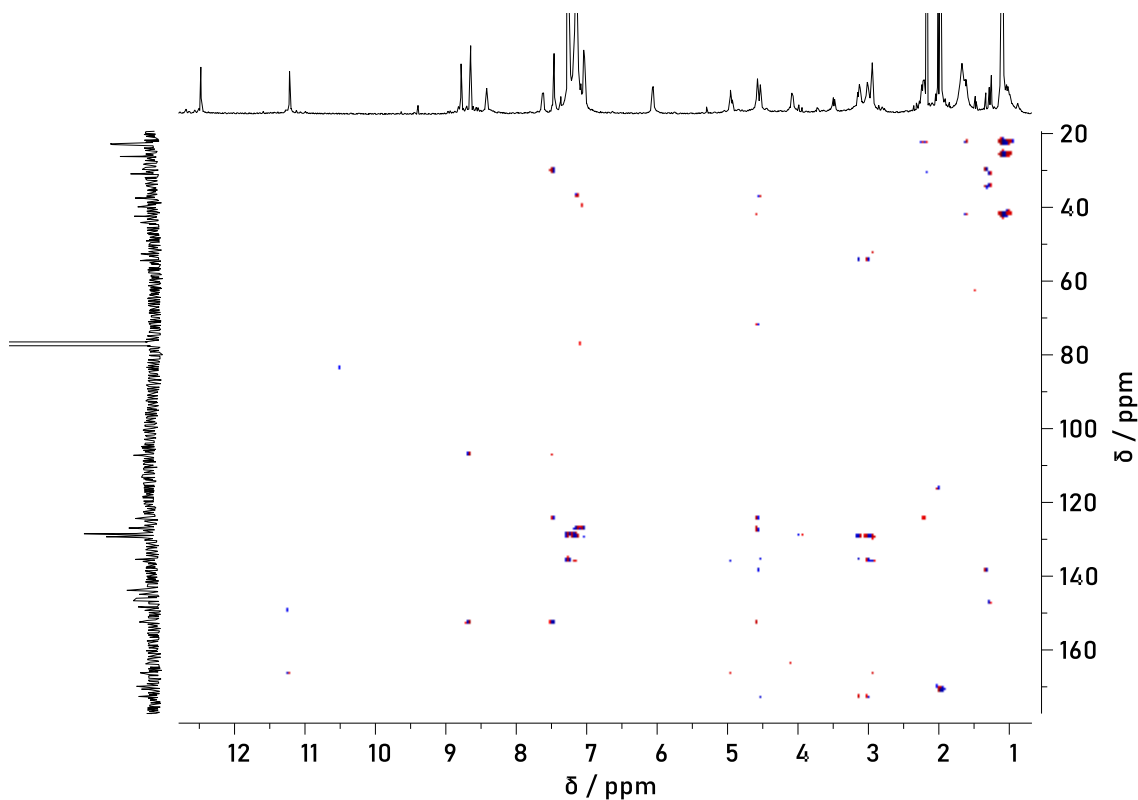
Rys. 109 Widmo ^1H - ^1H COSY NMR związku $(156)_2\text{C}_{70}$ (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 110 Widmo ^1H - ^1H ROESY NMR związku $(156)_2\text{C}_{70}$ (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).

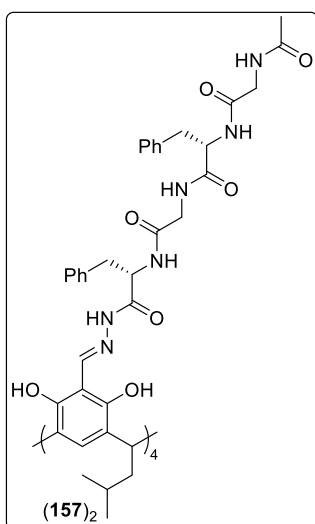


Rys. 111 Widmo ^1H - ^{13}C HSQC NMR $(156)_2\text{C}_{70}$ (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 112 Widmo ^1H - ^{13}C HMBC NMR związku $(\mathbf{156})_2$ (CDCl₃, 298 K, 600 MHz).

157 występujący w formie kapsuły $(\mathbf{157})_2$



Związek **157** otrzymano z wykorzystaniem procedury B używając substratu **155** (0,2 mmol, 97 mg) w mieszaninie rozpuszczalników CHCl₃:MeOH (95:5, v:v). Otrzymano produkt **157** (0,05 mmol, 134 mg) jako żółty osad, który był analizowany bez dalszego oczyszczania.

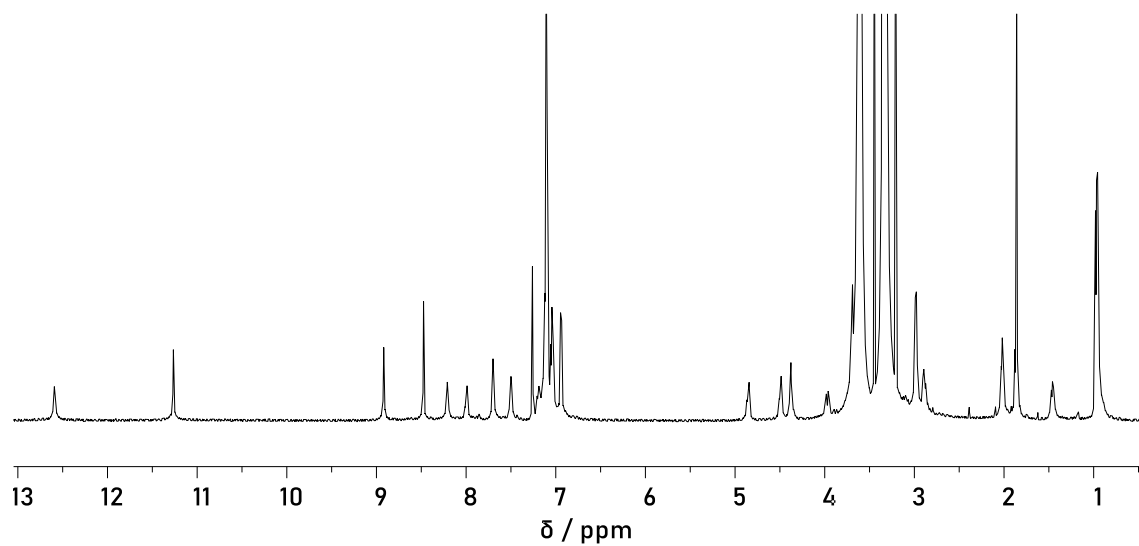
^1H NMR (CDCl₃:CH₃OH, 95:5, v:v, 298 K, 600 MHz): δ 12,59 (s, 4H); 11,26 (s, 4H); 8,92 (s, 4H); 8,47 (s, 4H); 8,21 (bt, 4H); 8,00 (bd, 4H); 7,70 (bt, 4H); 7,50 (bd, 4H); 7,23-6,85 (m, 44H); 4,85 (dd, $J = 15,6, 6,9$ Hz, 4H); 4,49 (dd, $J = 11,8, 6,9$ Hz, 4H); 4,38 (t, $J = 7,7$ Hz, 4H); 4,00-3,86 (m, 4H+4H);

3,78-3,63 (m, 4H+4H); 2,98 (m, 4H+4H); 2,89 (m, 4H+4H); 2,02 (m, 8H); 1,86 (s, 12H); 1,46 (m, 4H); 0,97 (d, $J = 6,5$ Hz, 12H); 0,95 (d, $J = 6,6$ Hz, 12H).

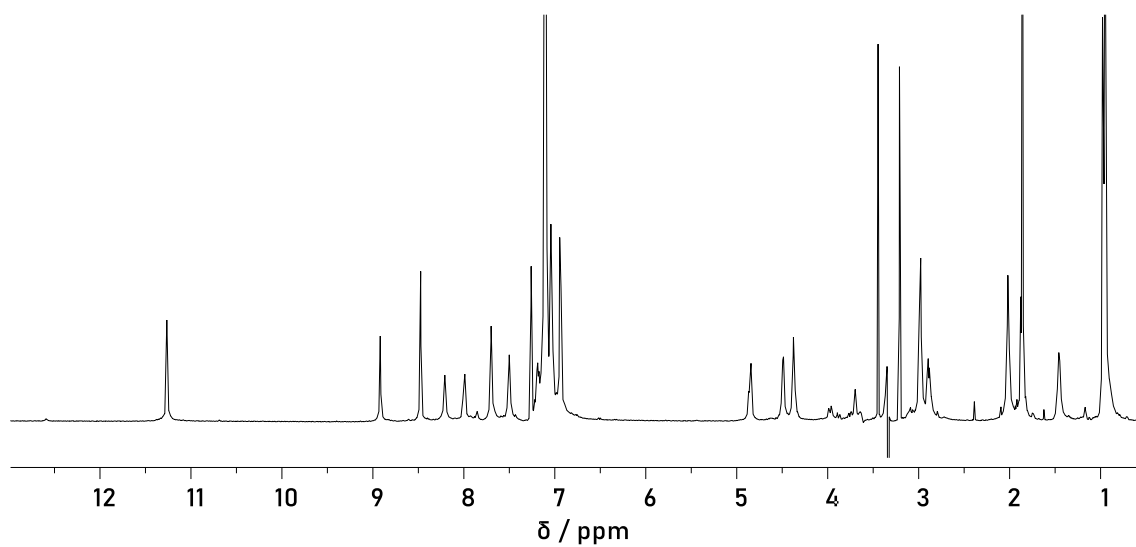
^{13}C NMR (CDCl₃:CH₃OH, 95:5, v:v, 298 K, 150 MHz): δ 173,3; 171,8; 170,1; 169,8; 166,2; 152,09; 152,05; 148,2; 136,0; 135,7; 129,20; 129,15; 128,53; 128,40; 127,1; 126,4; 124,0; 123,7; 106,8; 55,7; 53,3; 43,6; 42,9; 41,4; 39,2; 37,2; 30,4; 26,1; 22,68; 22,61; 22,43.

DOSY NMR (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz) $2,6 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

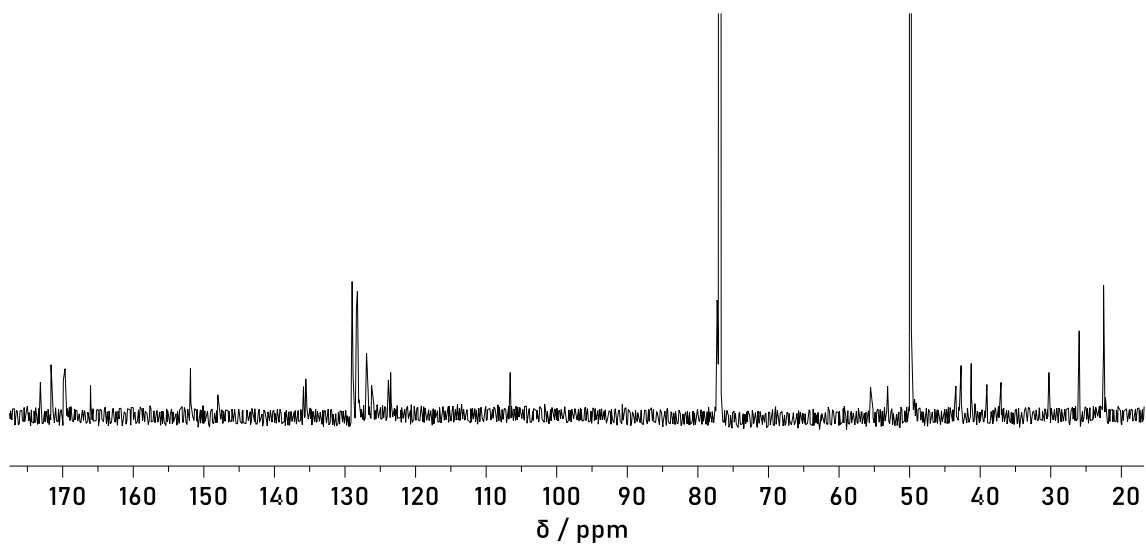
HR-MS (ESI-TOF): obliczona masa m/z ($\text{C}_{144}\text{H}_{168}\text{N}_{24}\text{O}_{28}\text{Na}_2$) $^{2+}$ $[\text{M}+2\text{Na}]^{2+}$: 1363,6122, wartość eksperymentalna: 1363,6128.



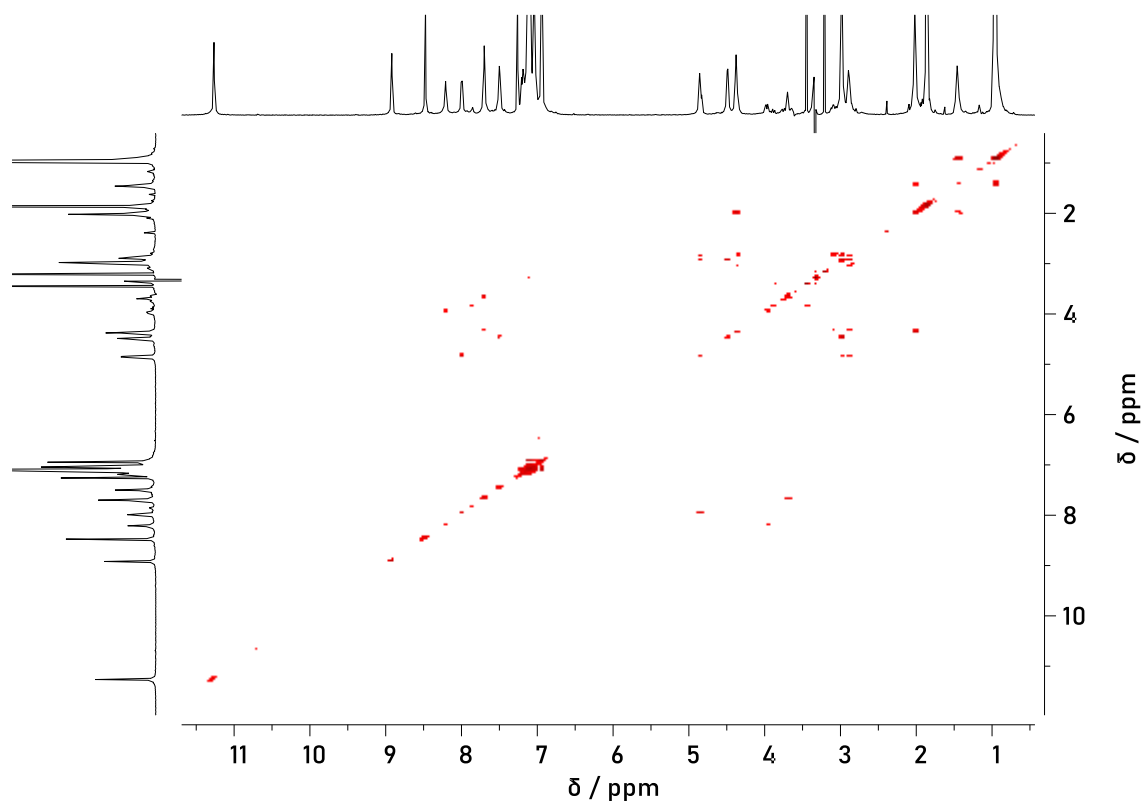
Rys. 113 Widmo ^1H NMR związku **157** ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, 298 K, 600 MHz).



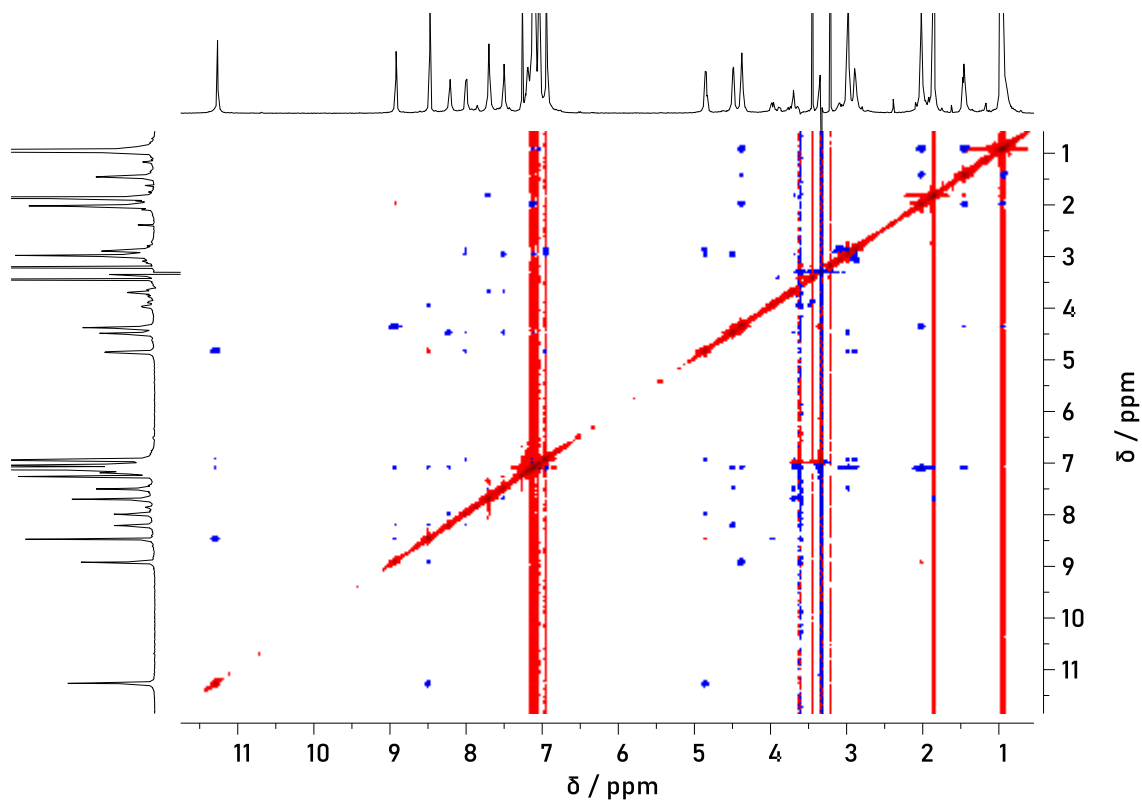
Rys. 114 Widmo ^1H NMR związku **157** ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, wygaszanie rozpuszczalnika, 298 K, 600 MHz).



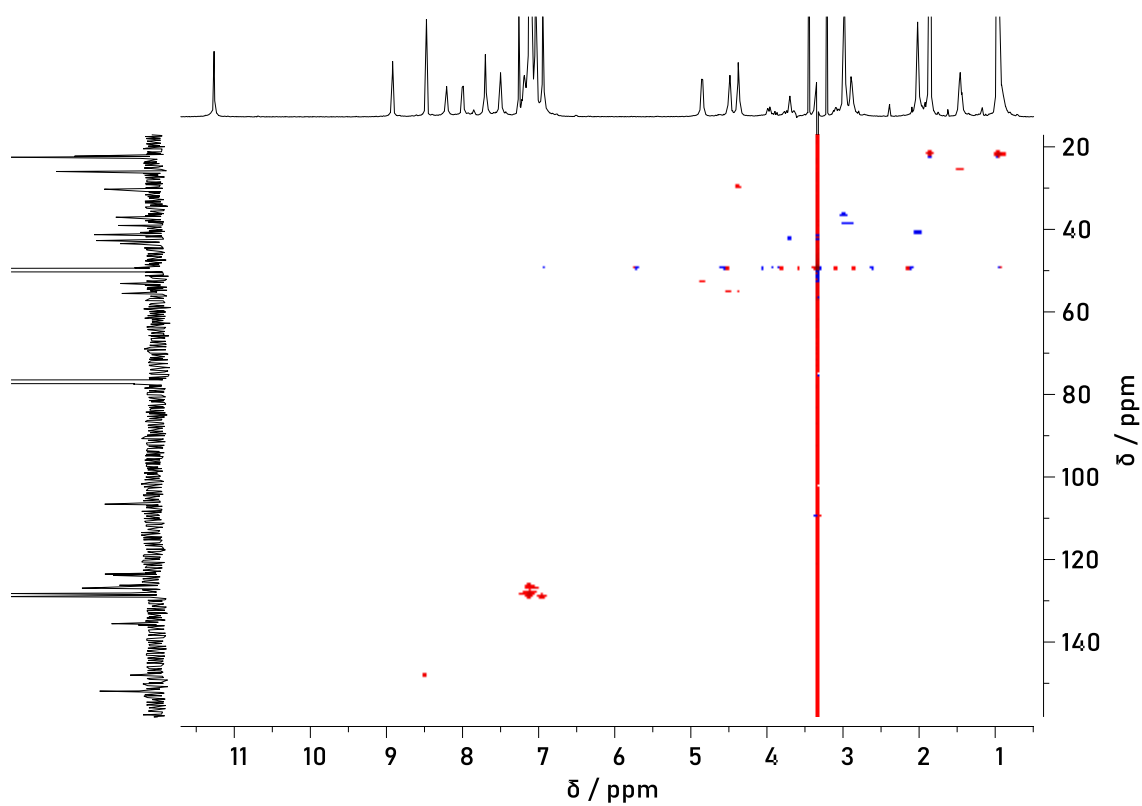
Rys. 115 Widmo ^{13}C NMR związku **157** ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, 298 K, 150 MHz).



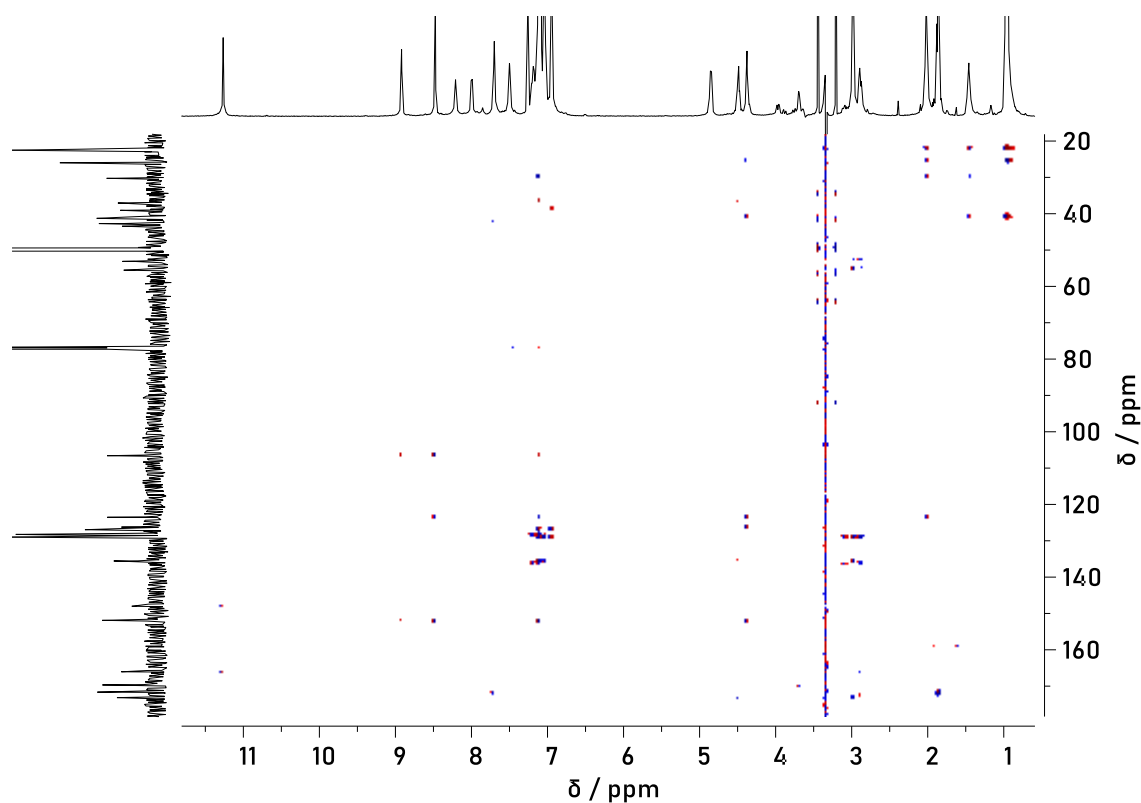
Rys. 116 Widmo $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY NMR związku **157** ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, wygaszanie rozpuszczalnika, 298 K, 600 MHz).



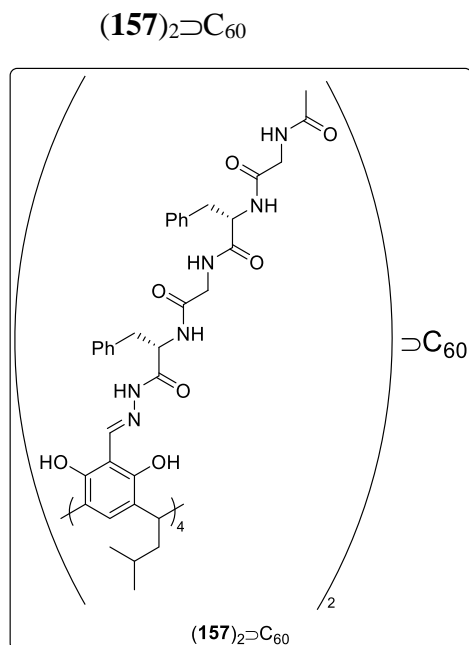
Rys. 117 Widmo ^1H - ^1H ROESY NMR związku **157** (CDCl_3 : CH_3OH , 95:5, v:v, wygaszenie rozpuszczalnika, 298 K, 600 MHz).



Rys. 118 Widmo ^1H - ^{13}C HSQC NMR związku **157** (CDCl_3 : CH_3OH , 95:5, v:v, wygaszenie rozpuszczalnika, 298 K, 600 MHz).



Rys. 119 Widmo ^1H - ^{13}C HMBC NMR związku **157** (CDCl_3 : CH_3OH , 95:5, v:v, wygaszanie rozpuszczalnika, 298 K, 600 MHz).



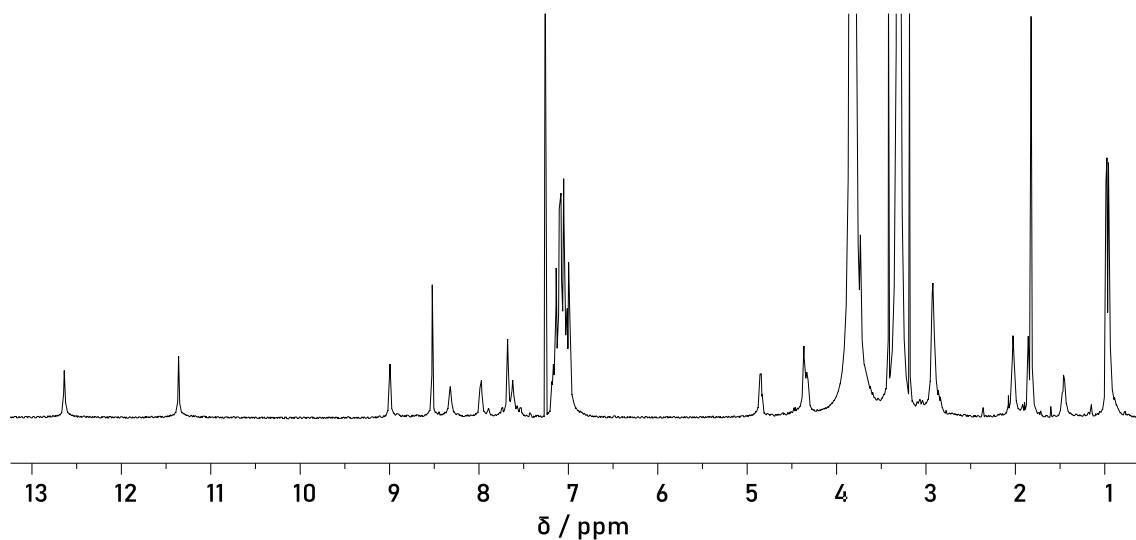
Kompleks **(157)₂⊃C₆₀** otrzymano z wykorzystaniem procedury analogicznej do procedury opisanej dla kompleksu **(142a)₂⊃C₆₀** używając substratu **155** (0,2 mmol, 97 mg) w mieszaninie rozpuszczalników CHCl_3 : MeOH (95:5, v:v). Otrzymano produkt **(157)₂⊃C₆₀** jako czarny osad (0,048 mmol, 146 mg) z wydajnością 96%.

^1H NMR (CDCl_3 : CH_3OH , 95:5, v:v, 298 K, 600 MHz): δ 12,64 (s, 8H); 11,36 (s, 8H); 8,99 (s, 8H); 8,52 (s, 8H); 8,32 (s, 8H); 7,98 (bd, 8H); 7,68 (bt, 8H); 7,62 (s, 8H); 7,20-6,96 (m, 88H); 4,85 (dd, $J = 14,6, 6,2$ Hz, 8H); 4,41-4,28 (m, 8H+8H); 3,67-3,51 (m, 8H+8H+8H+8H); 2,99-2,80 (m, 8H+8H+8H+8H); 2,03 (m, 16H); 1,82 (s, 24H); 1,46 (m, 8H); 0,98 (d, $J = 6,5$ Hz, 24H); 0,95 (d, $J = 6,5$ Hz, 24H).

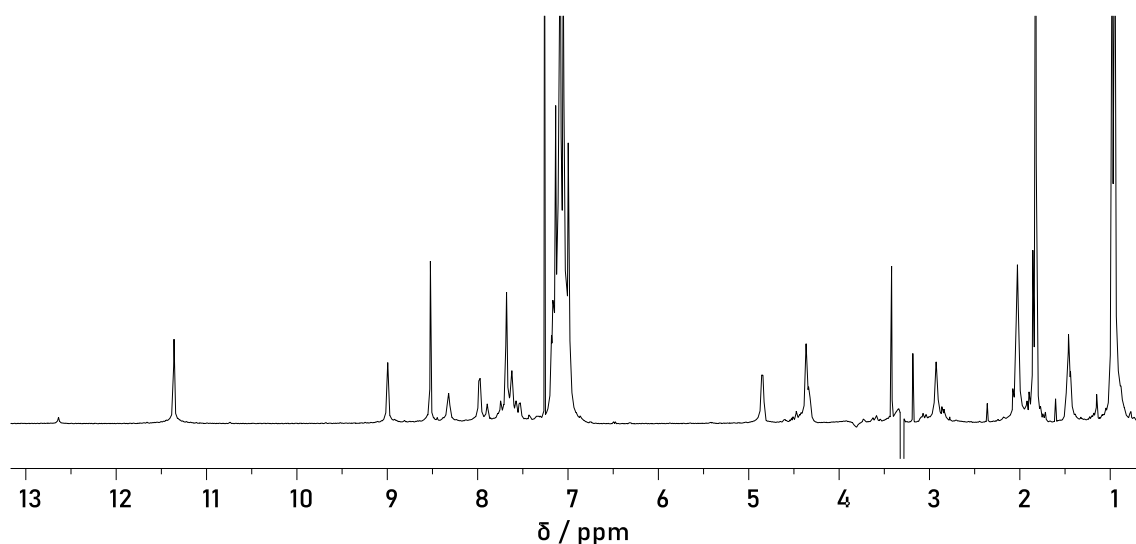
^{13}C NMR ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, 298 K, 150 MHz): δ 173,1; 171,8; 170,05; 170,00; 165,9; 151,67; 151,64; 148,9; 141,3; 135,8; 135,6; 129,2; 129,0; 128,5; 128,3; 127,10; 127,04; 126,4; 124,22; 124,05; 106,3; 55,5; 53,3; 43,6; 42,9; 41,4; 39,2; 37,2; 30,4; 26,2; 22,7; 22,5; 22,3.

DOSY NMR (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz) $2,2 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

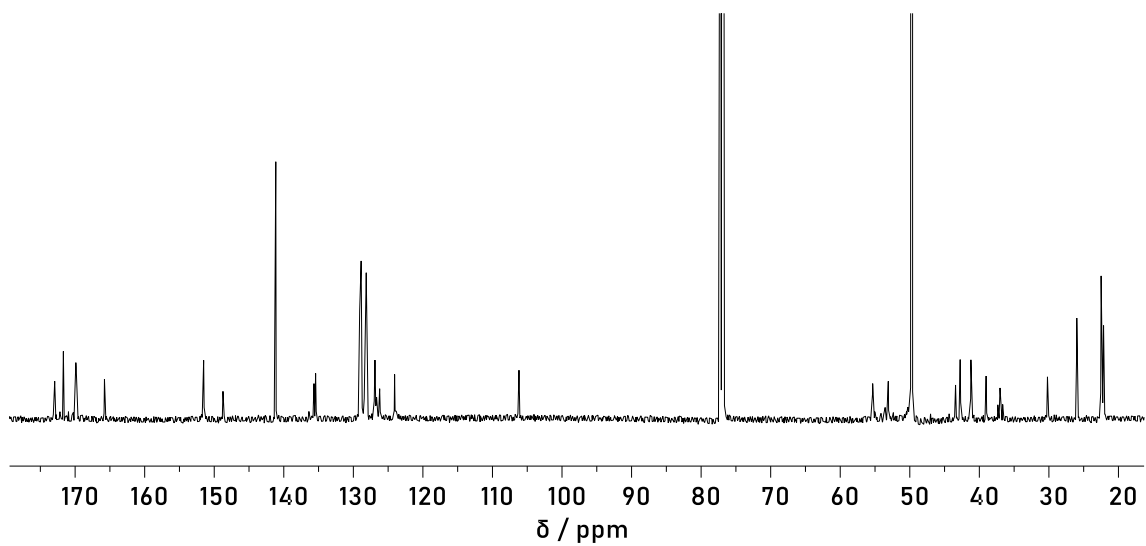
HR-MS (ESI-TOF): obliczona masa m/z ($\text{C}_{348}\text{H}_{333}\text{N}_{48}\text{O}_{56}$) $^{3-}$ $[\text{M}-3\text{H}]^{3-}$: 2026,4890, wartość eksperymentalna: 2026,4865.



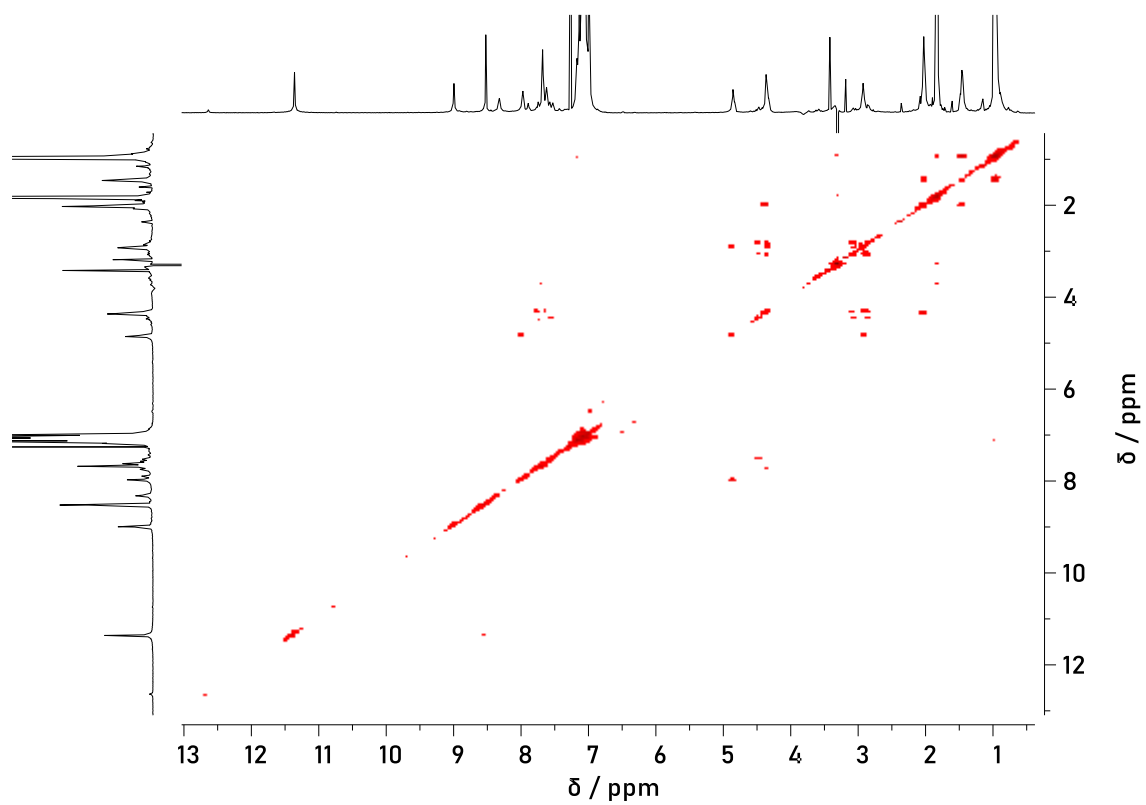
Rys. 120 Widmo ^1H NMR związku $(157)_2\text{C}_{60}$ ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, 298 K, 600 MHz).



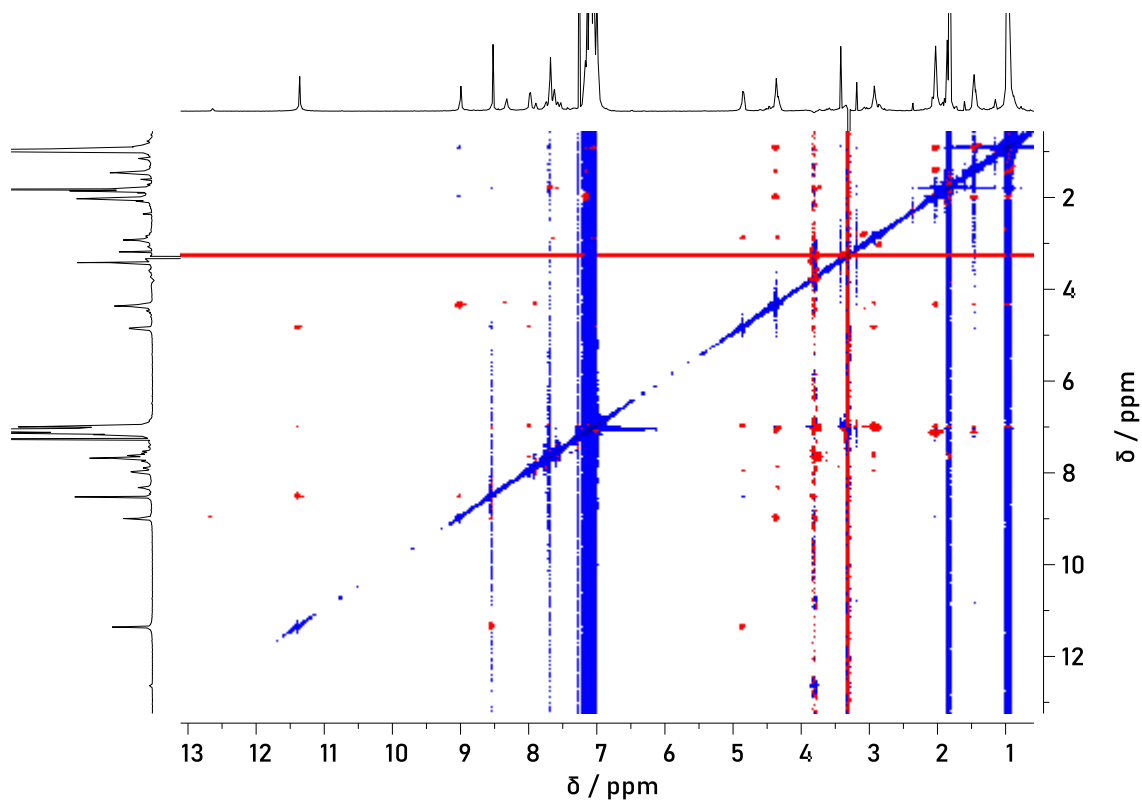
Rys. 121 Widmo ^1H NMR związku $(157)_2\text{C}_{60}$ ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, wygaszanie rozpuszczalnika, 298 K, 600 MHz).



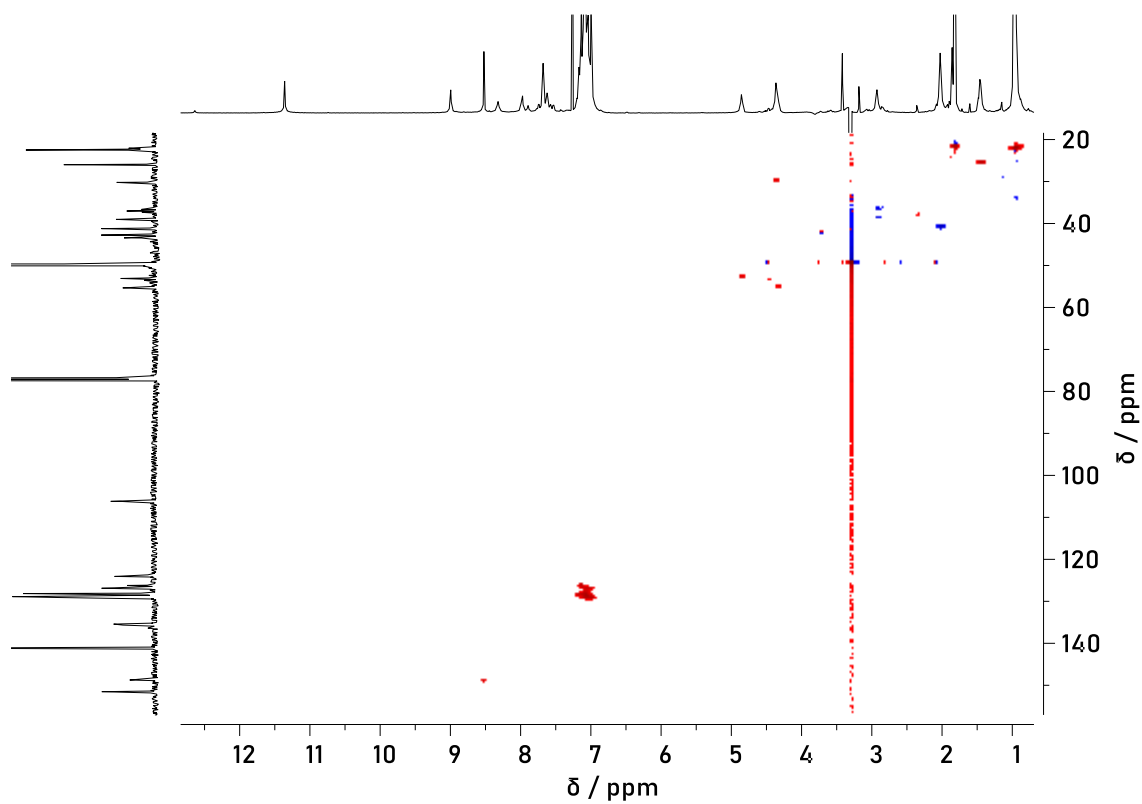
Rys. 122 Widmo ^{13}C NMR związku $(157)_2\text{C}_{60}$ ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, 298 K, 150 MHz).



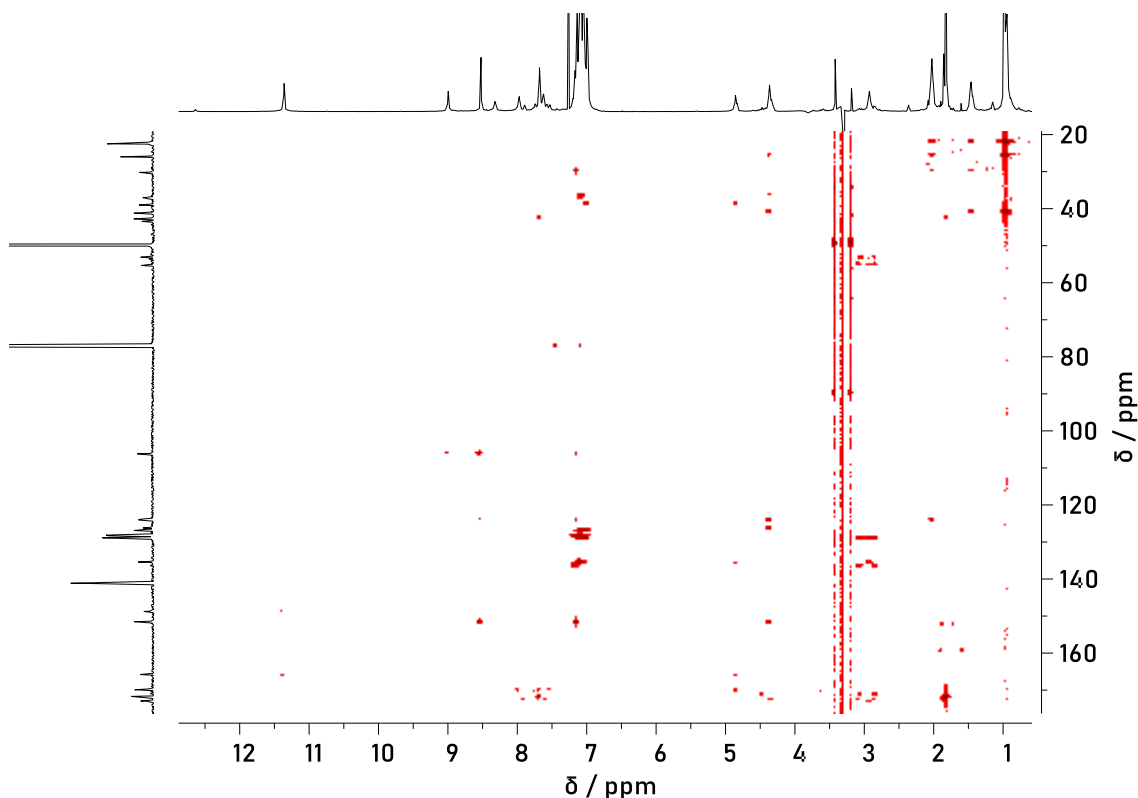
Rys. 123 Widmo ^1H - ^1H COSY NMR związku $(157)_2\text{C}_{60}$ ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, wygaszanie rozpuszczalnika, 298 K, 600 MHz).



Rys. 124 Widmo ^1H - ^1H ROESY NMR związku $(157)_2\text{C}_{60}$ ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, wygaszanie rozpuszczalnika, 298 K, 600 MHz).

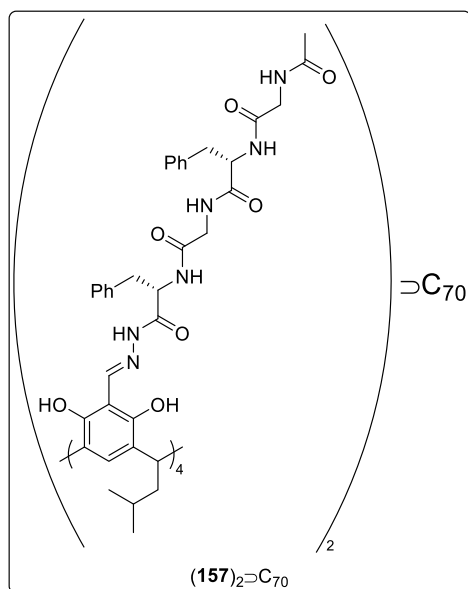


Rys. 125 Widmo ^1H - ^{13}C HSQC NMR związku $(157)_2\text{C}_{60}$ ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, wygaszanie rozpuszczalnika, 298 K, 600 MHz).



Rys. 126 Widmo ^1H - ^{13}C HMBC NMR związku $(\mathbf{157})_2@C_{60}$ ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, wygaszanie rozpuszczalnika, 298 K, 600 MHz).

$(\mathbf{157})_2@C_{70}$



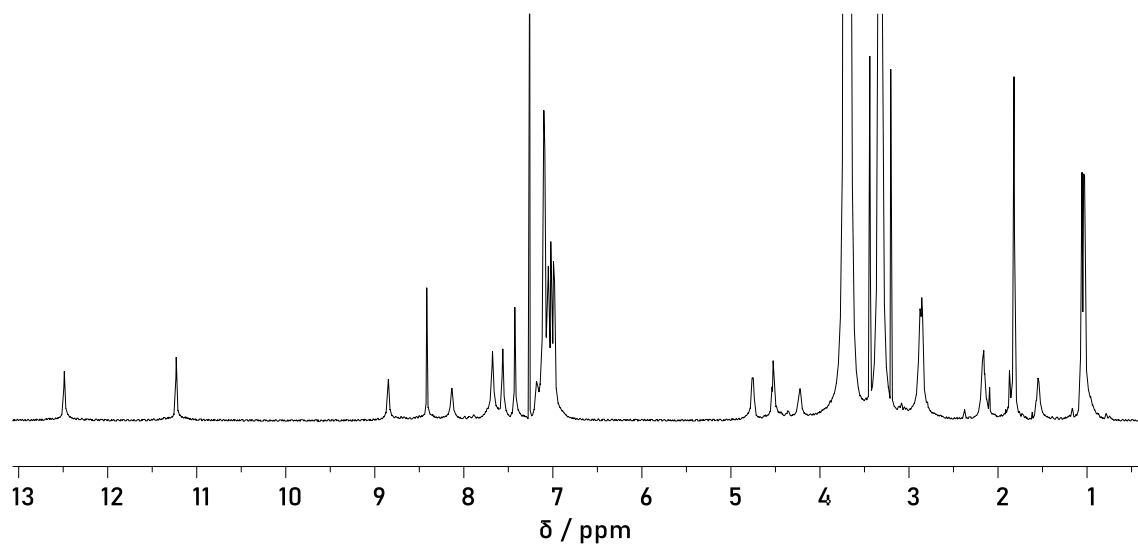
Kompleks $(\mathbf{157})_2@C_{70}$ otrzymano z wykorzystaniem procedury analogicznej do procedury opisanej dla kompleksu $(\mathbf{142a})_2@C_{60}$ używając substratu **155** (0,2 mmol, 97 mg) oraz fulerenu C_{70} (0,025 mol, 21 mg) w mieszaninie rozpuszczalników $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (95:5, v:v). Otrzymano produkt $(\mathbf{157})_2@C_{70}$ (0,048 mmol, 149 mg) jako czerwony osad z wydajnością 96%.

^1H NMR ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, 298 K, 600 MHz): δ 12,49 (s, 8H); 11,23 (s, 8H); 8,85 (s, 8H); 8,42 (s, 8H); 8,14 (s, 8H); 7,68 (bd, 8H); 7,56 (bd, 8H); 7,43 (s, 8H); 7,21-6,96 (m, 88H); 4,76 (bdd, 8H); 4,53 (t, $J = 7,7$ Hz, 8H); 4,36 (bdd, 8H); 3,70 (m, 8H+8H); 3,66 (m, 8H+8H); 2,87 (m, 8H+8H+8H+8H); 2,16 (m, 16H); 1,82 (s, 24H); 1,55 (m, 8H); 1,06 (d, $J = 6,5$ Hz, 24H); 1,03 (d, $J = 6,5$ Hz, 24H).

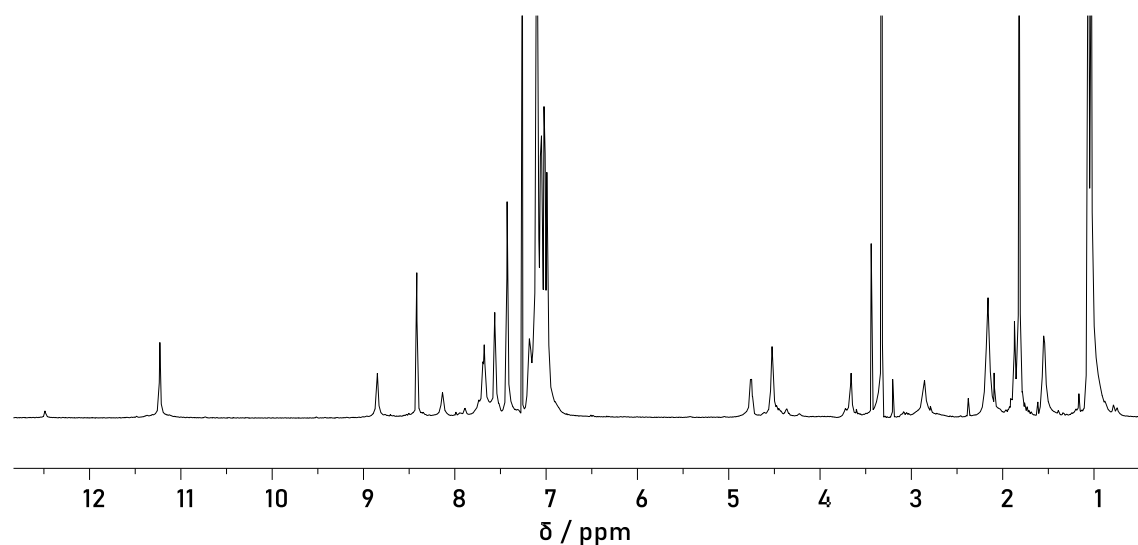
^{13}C NMR ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, 298 K, 150 MHz): δ 172,9; 171,7; 170,17; 170,00; 165,8; 152,3; 151,8; 148,9; 148,3; 146,5; 146,1; 144,9; 143,66; 143,64; 135,65; 135,51; 129,4; 129,0; 128,5; 128,3; 127,18; 127,11; 126,99; 124,7; 124,5; 107,0; 55,1; 53,4; 43,6; 43,0; 42,1; 39,4; 37,1; 30,5; 26,3; 22,7; 22,5; 22,3.

DOSY NMR (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz) $2,3 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

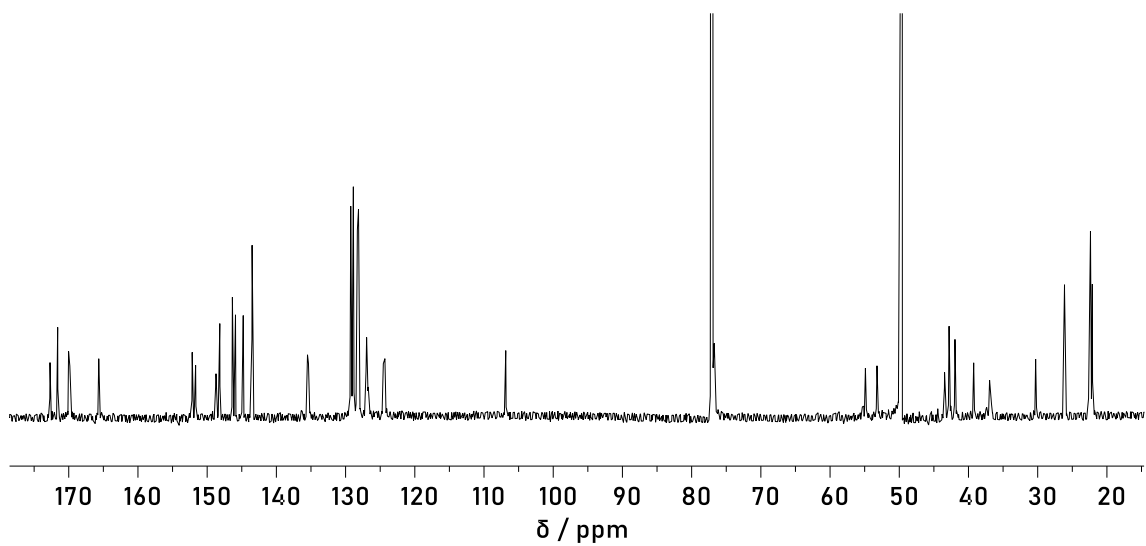
HR-MS (ESI-TOF): obliczona masa m/z ($\text{C}_{358}\text{H}_{333}\text{N}_{48}\text{O}_{56}$) $^{3-}$ $[\text{M}-3\text{H}]^{3-}$: 2066,4890, wartość eksperymentalna: 2066,4880.



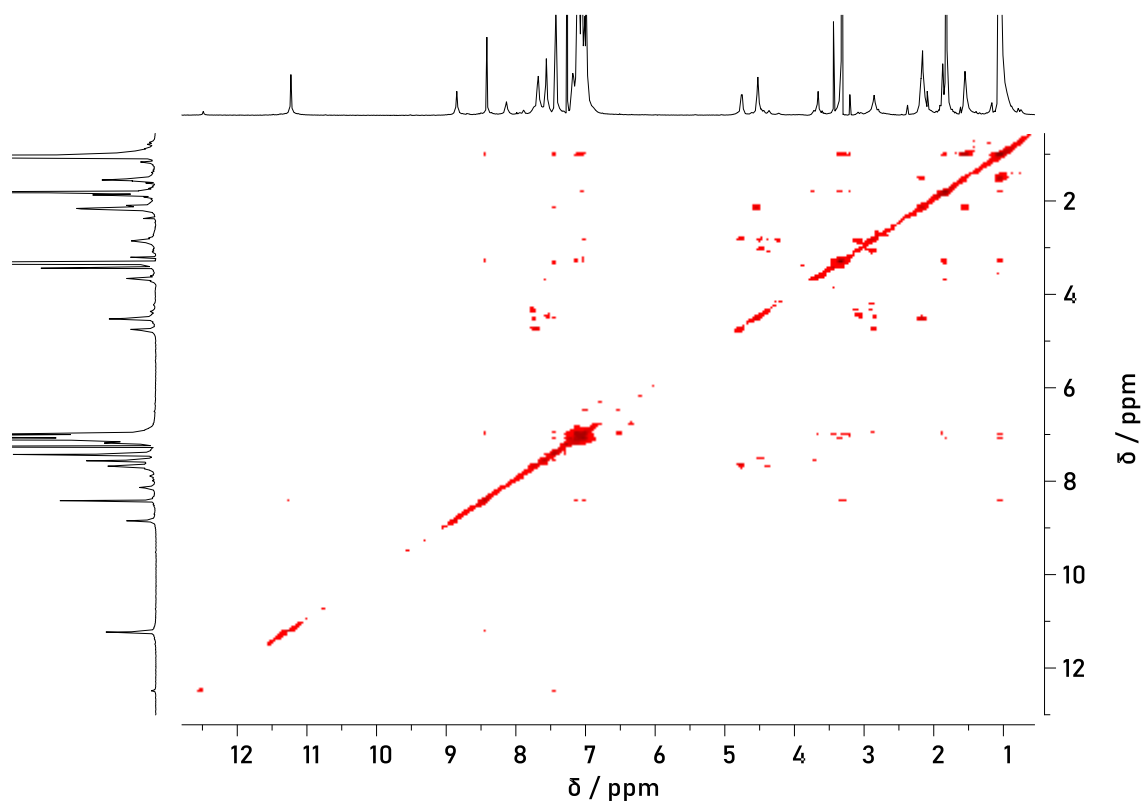
Rys. 127 Widmo ^1H NMR związku $(157)_2\text{C}_{70}$ ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, 298 K, 600 MHz).



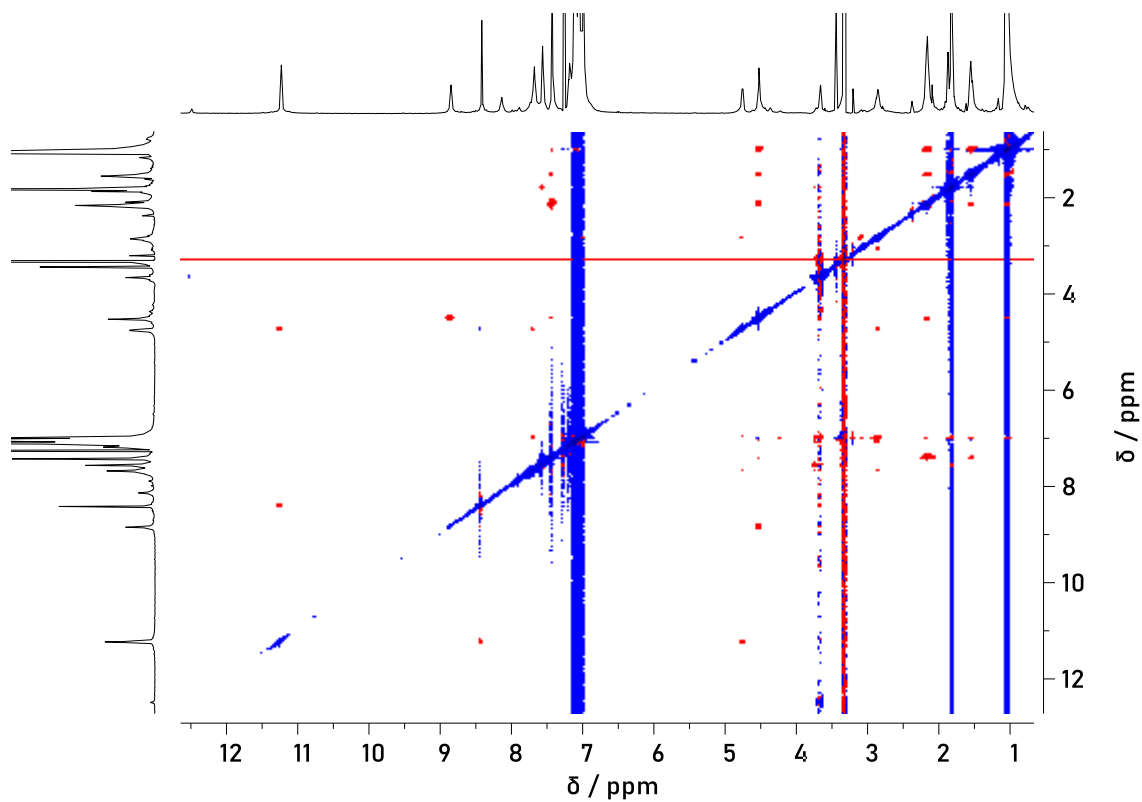
Rys. 128 Widmo ^1H NMR związku $(157)_2\text{C}_{70}$ ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, wygaszanie rozpuszczalnika, 298 K, 600 MHz).



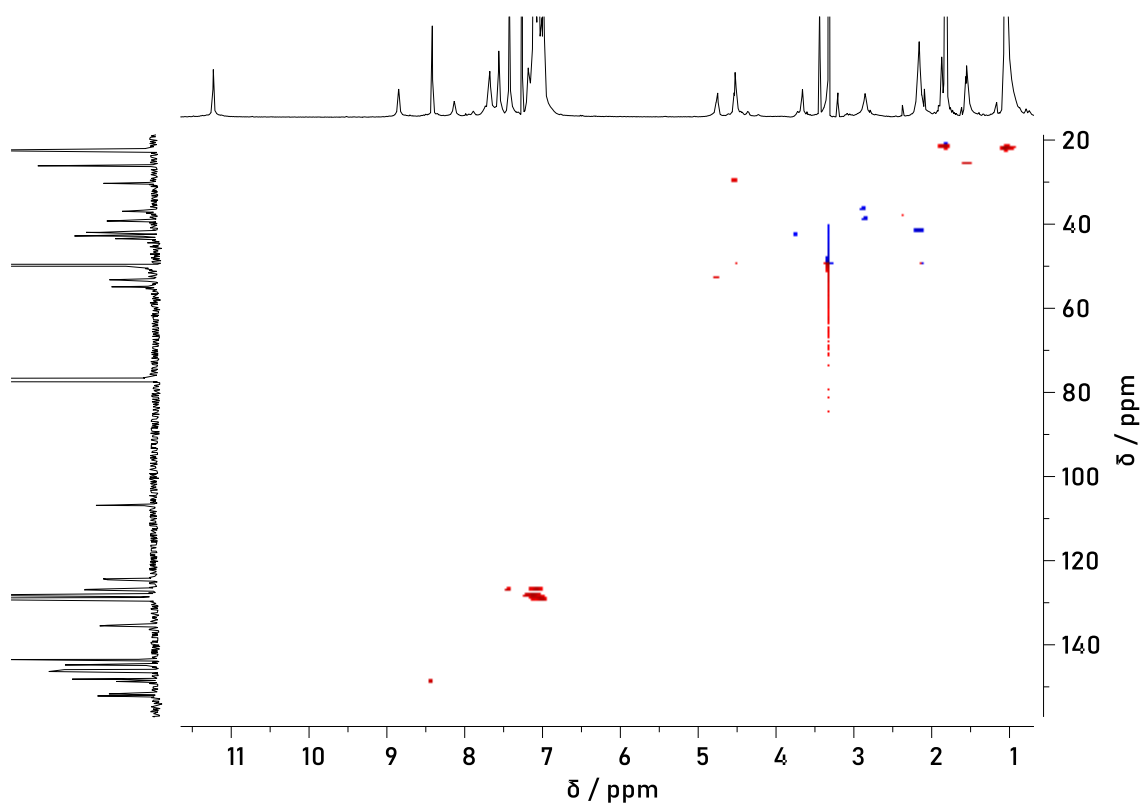
Rys. 129 Widmo ^{13}C NMR związku $(157)_2\text{C}_{70}$ ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, 298 K, 150 MHz).



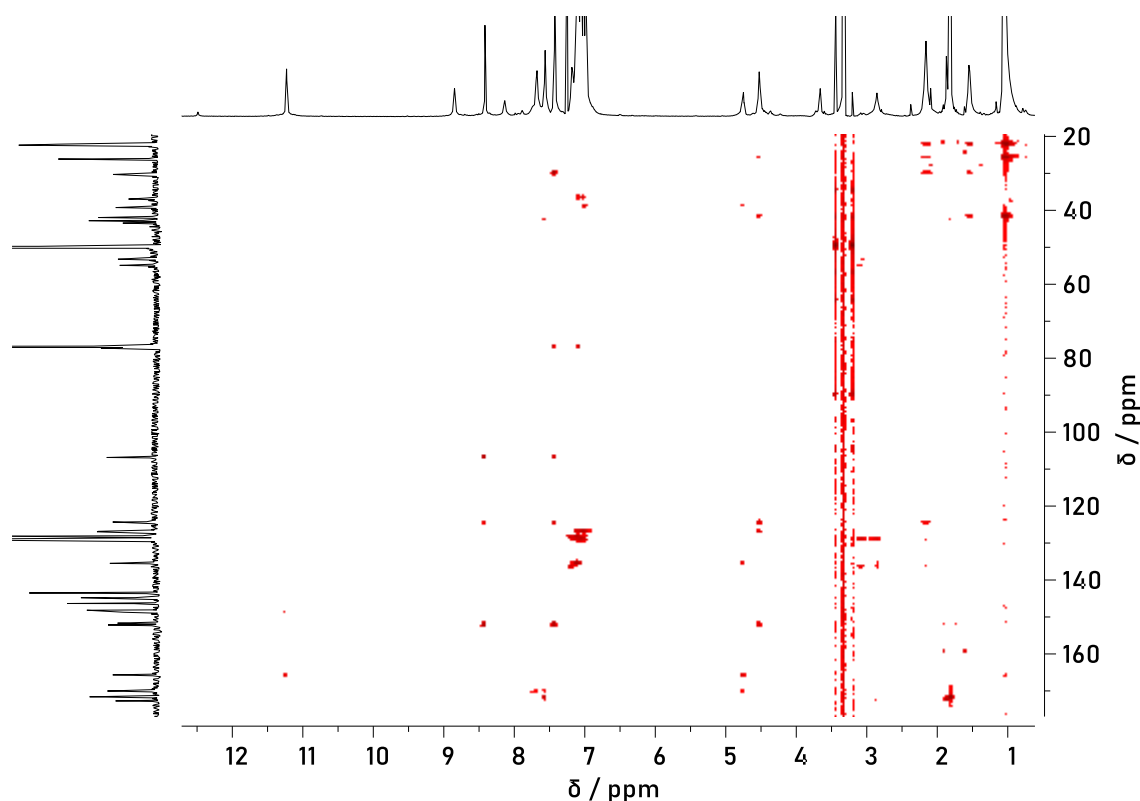
Rys. 130 Widmo ^1H - ^1H COSY NMR związku $(157)_2\text{C}_{70}$ ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, wygaszanie rozpuszczalnika, 298 K, 600 MHz).



Rys. 131 Widmo ^1H - ^1H ROESY NMR związku $(157)_{2}\text{C}_{70}$ ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, wygaszanie rozpuszczalnika, 298 K, 600 MHz).

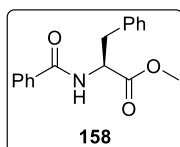


Rys. 132 Widmo ^1H - ^{13}C HSQC NMR związku $(157)_{2}\text{C}_{70}$ ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, wygaszanie rozpuszczalnika, 298 K, 600 MHz).



Rys. 133 Widmo ^1H - ^{13}C HMBC NMR związku (**157**) $_{20}\text{C}_{70}$ ($\text{CDCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$, 95:5, v:v, wygaszanie rozpuszczalnika, 298 K, 600 MHz).

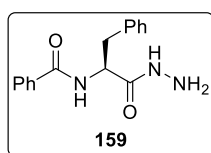
158: PhC(O)-L-Phe-OMe



Związek **149** (5 mmol, 1,08 g) rozpuszczono w CH_2Cl_2 (50 ml) i ochłodzono do temperatury 0 °C. Do mieszaniny dodano Et_3N (11 mmol, 1,53 ml), po ok. 10 min dodano chlorek benzoilu (5,5 mmol, 0,64 ml) i pozostawiono w temperaturze 0 °C. Po dwóch godzinach mieszaninę reakcyjną ogrzano do t. pok. i mieszano przez 20 godzin. Mieszaninę przemywano kolejno 1M HCl (2 x 15 ml), H_2O (15 ml), NaHCO_3 nas. (3 x 15 ml), H_2O (15 ml), 5% wodnym roztworem kwasu cytrynowego (2 x 15 ml) oraz solanką (15 ml). Fazę organiczną osuszono MgSO_4 i odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymano produkt **158** (4,42 mmol, 1,25 g) jako biały osad z wydajnością 88%.

^1H NMR (CDCl_3 , 298 K, 200 MHz): δ 7,77-7,68 (m, 2H); 7,53-7,37 (m, 3H); 7,32-7,23 (m, 3H); 7,17-7,09 (m, 2H); 6,60 (bd, $J = 7,6$ Hz, 1H); 5,19-5,01 (m, 1H); 3,77 (s, 3H); 3,38-3,16 (m, 1H+1H).

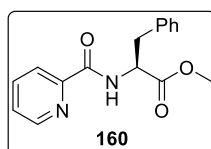
Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.⁷⁰

159: PhC(O)-L-Phe-NH-NH₂

Związek **159** otrzymano z wykorzystaniem procedury A używając substratu **158** (4,42 mmol, 1,25 g). Otrzymano produkt **159** (4,40 mmol, 1,24 g) jako biały osad z wydajnością 99%.

¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 400 MHz): δ 9,28 (bt, *J* = 3,5 Hz, 1H); 8,54 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H); 7,85-7,76 (m, 2H); 7,54-7,46 (m, 1H); 7,46-7,38 (m, 2H); 7,38-7,29 (m, 2H); 7,29-7,21 (m, 2H); 7,20-7,11 (m, 1H); 4,72-4,62 (m, 1H); 4,25 (d, *J* = 3,6 Hz, 2H); 3,08-2,97 (m, 1H+1H).

Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.⁷¹

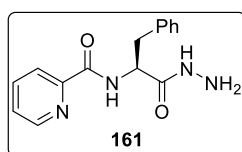
160: 2-PyC(O)-L-Phe-OMe

Związek **149** (3 mmol, 646 mg) oraz kwas 2-karbonylpirydylowy (3 mmol, 369 mg) rozpuszczono w DMF (35 ml) i ochłodzono do temperatury 0 °C. Dodano OXYMA (3 mmol, 426 mg) oraz Et₃N

(6 mmol, 0,83 ml). Po ok. 10 min dodano EDCI (3 mmol, 575 mg), pozostawiono do powolnego ogrzania się do t. pok. Po 20 godzinach mieszaninę reakcyjną odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem i dodano mieszaninę CH₂Cl₂:H₂O (40 ml:15 ml), rozdzielono fazy. Fazę organiczną przemyto kolejno: H₂O (4 x 10 ml), NaHCO₃ nas. (3 x 10 ml) oraz H₂O (2 x 10 ml). Fazę organiczną osuszono MgSO₄ i odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość rozpuszczono w mieszaninie CHCl₃:MeOH (95:5, v:v) i przesączono przez żel krzemionkowy używając powyższej mieszaniny (CHCl₃:MeOH, 95:5, v:v, 400 ml). Otrzymano produkt **160** (2,51 mmol, 714 mg) jako bezbarwny olej z wydajnością 84%.

¹H NMR (CDCl₃, 298 K, 400 MHz): δ 8,55 (ddd, *J* = 4,8, 1,7, 0,9 Hz, 1H); 8,47 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H); 8,15 (ddd, *J* = 7,8, 1,1, 0,9 Hz, 1H); 7,83 (ddd, *J* = 7,7, 7,7, 1,7 Hz, 1H); 7,42 (ddd, *J* = 7,6, 4,8, 1,2 Hz, 1H); 7,31-7,14 (m, 5H); 5,12-5,02 (m, 1H); 3,72 (s, 3H); 3,30-3,18 (m, 1H+1H).

Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.⁷²

161: 2-PyC(O)-L-Phe-NH-NH₂

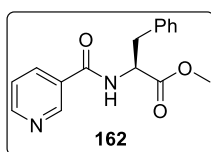
Związek **161** otrzymano z wykorzystaniem procedury A używając substratu **160** (2,51 mmol, 714 mg). Po zaniku substratu zaobserwowano (w trakcie analiz TLC), poza plamką

odpowiadającą produktowi, dodatkową plamkę. Podjęto próby krystalizacji z układów:

THF:Et₂O, AcOEt:Hex, CHCl₃:Hex, THF:MTBE – we wszystkich przypadkach otrzymano zanieczyszczony produkt w postaci oleju. Podjęto również próby rozdzielania związków z wykorzystaniem chromatografii kolumnowej, jednak bardzo podobny współczynnik *R_f* dla produktu i zanieczyszczenia nie pozwolił na ich rozdzielenie. Po oddestylowaniu rozpuszczalników pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymano żółty osad zanieczyszczonego produktu **161** (643 mg).

¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 400 MHz): δ 9,35 (s, 1H); 8,64 (bs, 1H); 8,59 (bd, 1H); 7,97 (bs, 2H); 7,60 (bs, 1H); 7,39-7,00 (m, 6H); 4,75 (bddd, 1H); 4,22 (b, 2H); 3,14-2,94 (bm, 2H) – sygnały pochodzące od głównego produktu.

162: 3-PyC(O)-L-Phe-OMe

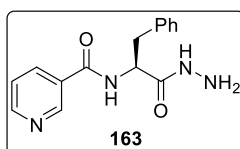


Związek **149** (3 mmol, 646 mg) rozpuszczono w CH₂Cl₂ (30 ml) i ochłodzono do temperatury 0 °C. Do mieszaniny dodano Et₃N (9,3 mmol, 1,3 ml), po ok. 10 min dodano chlorowodorek chlorku kwasu nikotynowego (3 mmol, 534 mg) i pozostawiono w temperaturze 0 °C. Po dwóch godzinach reakcję ogrzano do t. pok. Po 20 godzinach mieszaninę przemyto kolejno NaHCO₃ nas. (3 x 10 ml), 5% wodnym roztworem kwasu cytrynowego (2 x 10 ml) oraz solanką (10 ml). Fazę organiczną osuszono MgSO₄ i odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymano produkt **162** (2,51 mmol, 712 mg) jako bezbarwny olej z wydajnością 84%.

¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 200 MHz): δ 9,10 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H); 8,92 (dd, *J* = 2,3, 0,9 Hz, 1H); 8,71 (dd, *J* = 4,8, 1,8 Hz, 1H); 8,12 (ddd, *J* = 8,1, 2,2, 1,9 Hz, 1H); 7,50 (ddd, *J* = 7,9, 4,8, 0,9 Hz, 1H); 7,37- 7,12 (m, 5H); 4,69 (ddd, *J* = 9,9, 7,8, 5,5 Hz, 1H); 3,65 (s, 3H); 3,19 (dd, *J* = 13,7, 5,5 Hz, 1H); 3,07 (dd, *J* = 13,7, 9,9 Hz, 1H).

Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.⁷³

163: 3-PyC(O)-L-Phe-NH-NH₂

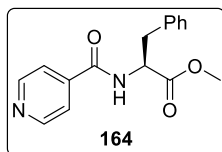


Związek **163** otrzymano z wykorzystaniem procedury A używając substratu **162** (2,51 mmol, 712 mg). Otrzymano produkt **163** (2,5 mmol, 709 mg) jako biały osad z wydajnością 99%.

¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 400 MHz): δ 9,34 (s, 1H); 8,92 (dd, *J* = 2,2 Hz, 0,8 Hz, 1H); 8,82 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H); 8,67 (dd, *J* = 4,8 Hz, 1,7 Hz, 1H); 8,15-8,07 (m, 1H); 7,46 (ddd, *J* = 8,0 Hz, 4,8 Hz, 0,8 Hz, 1H); 7,38-7,20 (m, 4H); 7,20-7,12 (m, 1H); 4,68 (ddd,

$J = 10,5$ Hz, 8,6 Hz, 4,6 Hz, 1H); 4,27 (s, 2H); 3,07 (dd, $J = 13,6$ Hz, 4,5 Hz, 1H); 2,98 (dd, $J = 13,6$ Hz, 10,5 Hz, 1H).

164: 4-PyC(O)-L-Phe-OMe



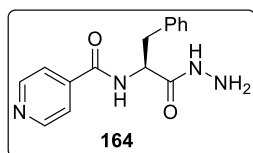
Związek **164** otrzymano z wykorzystaniem procedury analogicznej do procedury opisanej dla związku **162** używając substratu chlorowodoru chlorku kwasu izonikotynowego (3 mmol, 534 mg).

Otrzymano produkt **164** (2,49 mmol, 704 mg) jako bezbarwny olej z wydajnością 83%.

^1H NMR (CDCl_3 , 298 K, 400 MHz): δ 8,73 (dd, $J = 4,5$, 1,7 Hz, 2H); 7,53 (dd, $J = 4,4$, 1,7 Hz, 2H); 7,35-7,22 (m, 3H); 7,15-7,07 (m, 2H); 6,65 (bd, $J = 6,8$ Hz, 1H); 5,07 (ddd, $J = 7,0$, 5,7, 5,6 Hz, 1H); 3,79 (s, 3H); 3,30 (dd, $J = 13,9$, 5,8 Hz, 1H); 3,23 (dd, $J = 13,9$, 5,5 Hz, 1H).

Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.⁷³

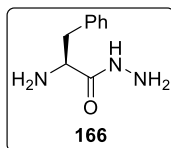
165: 4-PyC(O)-L-Phe-NH-NH₂



Związek **165** otrzymano z wykorzystaniem procedury A używając substratu **164** (2,49 mmol, 704 mg). Otrzymano produkt **165** (2,47 mmol, 699 mg) jako biały osad z wydajnością 99%.

^1H NMR (DMSO-d_6 , 298 K, 400 MHz): δ 9,35 (bt, 1H); 8,90 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H); 8,69 (dd, $J = 4,4$ Hz, 1,6 Hz, 2H); 7,68 (dd, $J = 4,4$ Hz, 1,7 Hz, 2H); 7,36-7,20 (m, 4H); 7,20-7,12 (m, 1H); 4,67 (ddd, $J = 10,3$ Hz, 8,6 Hz, 4,6 Hz, 1H); 4,27 (bd, 2H); 3,07 (dd, $J = 13,7$ Hz, 4,6 Hz, 1H); 2,99 (dd, $J = 13,6$ Hz, 10,4 Hz, 1H).

166: H-L-Phe-NH-NH₂



Związek **166** otrzymano z wykorzystaniem procedury A używając substratu **149** (3 mmol, 645 mg) z nadmiarem 64% roztworu hydrazyny (10 mmol, 0,49 ml). Po odparowaniu mieszaniny reakcyjnej, dodano 3 ml

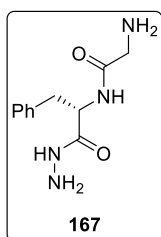
bezwodnego MeOH i odsączono powstały osad. Po odparowaniu pod zmniejszonym ciśnieniem filtratu i rekrystalizacji (CH_2Cl_2 :*i*-PrOH, 3:1, v:v, 4 ml) otrzymano produkt **166** (2,36 mmol, 423 mg) jako biały osad z wydajnością 79%.

^1H NMR (CDCl_3 , 298 K, 400 MHz): δ 8,19 (bs, 1H); 7,35-7,17 (m, 5H); 3,83 (bs, 2H); 3,65 (dd, $J = 9,2$, 4,2 Hz, 1H); 3,27 (dd, $J = 13,7$, 4,2 Hz, 1H); 2,72 (dd, $J = 13,7$, 9,2 Hz, 1H).

^1H NMR (DMSO- d_6 , 298 K, 400 MHz): δ 8,97 (bs, 1H); 7,31-7,22 (m, 2H); 7,22-7,14 (m, 3H); 4,23 (bs, 2H); 3,36 (dd, $J = 7,9, 5,7$ Hz, 1H); 2,88 (dd, $J = 13,3, 5,6$ Hz, 1H); 2,62 (dd, $J = 13,3, 7,9$ Hz, 1H).

Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.⁷⁴

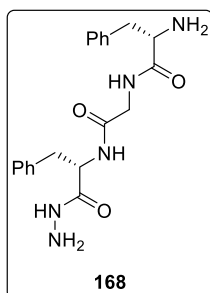
167: H-Gly-L-Phe-NH-NH₂



Związek **167** otrzymano przy użyciu procedury C ze związków Cbz-Gly-OH (3 mmol, 0,63 g) i **151** (3 mmol, 0,94 g). Otrzymany produkt Cbz-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz odbezpieczono zgodnie z procedurą E. Otrzymano produkt **167** (2,38 mmol, 0,56 g) jako biały osad z wydajnością 80%.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 298 K, 400 MHz): δ 9,19 (s, 1H); 8,00 (bs, 1H); 7,30-7,14 (m, 5H); 4,48 (bs, 1H); 4,20 (bs, 2H); 3,01 (s, 2H); 2,95 (dd, $J = 13,6, 5,5$ Hz, 1H); 2,81 (dd, $J = 13,6, 8,5$ Hz, 1H); 1,80 (bs, 2H).

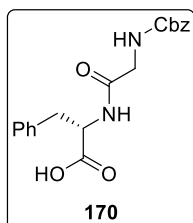
168: H-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH₂



Związek **168** otrzymano przy użyciu procedury C ze związków Cbz-L-Phe-OH (3 mmol, 0,9 g) i **152** (3 mmol, 1,11 g). Otrzymany produkt Cbz-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz odbezpieczono zgodnie z procedurą E. Otrzymano produkt **168** (2,91 mmol, 1,89 g) jako biały osad z wydajnością 97%.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 298 K, 200 MHz): δ 9,25 (bs, 1H); 8,27 (s, 1H); 8,23 (s, 1H); 7,36-7,10 (m, 5H+5H); 4,54-4,35 (m, 1H); 3,78 (dd, $J = 16,6, 4,7$ Hz, 1H); 3,59 (dd, $J = 16,6, 5,3$ Hz, 1H); 3,05-2,89 (m, 1H+1H); 2,84-2,57 (m, 1H+1H).

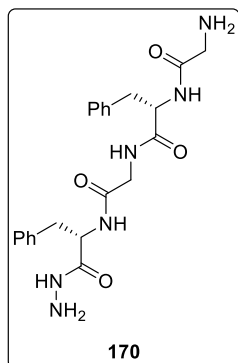
169: Cbz-Gly-L-Phe-OH



Związek **169** otrzymano przy użyciu procedury C ze związków Cbz-Gly-OH (3 mmol, 0,63 g) i H-L-Phe-*Ot*-Bu·HCl (3 mmol, 0,77 g) oraz 2 ekw. Et₃N. Otrzymany produkt Cbz-Gly-L-Phe-*Ot*-Bu odbezpieczono poprzez reakcję z TFA (145 mmol, 11ml) w CH₂Cl₂ (11 ml). Po 20 godzinach mieszaninę reakcyjną odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Powstały osad przemyto H₂O. Otrzymano produkt **169** (2,91 mmol, 1,04 g) jako biały osad z wydajnością 97%.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 298 K, 200 MHz): δ 8,15 (bs, 1H); 8,11 (bs, 1H); 7,49-7,12 (m, 5H+5H); 5,02 (s, 2H); 4,53-4,33 (m, 1H); 3,73-3,47 (m, 2H); 3,04 (dd, $J = 13,8, 5,1$ Hz, 1H); 2,88 (dd, $J = 13,7, 8,6$ Hz, 1H).

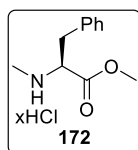
170: H-Gly-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH $_2$



Związek **170** otrzymano przy użyciu procedury C ze związków **169** (2,9 mmol, 0,93 g) i **152** (2,9 mmol, 1,07 g). Otrzymany produkt Cbz-Gly-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz odbezpieczono zgodnie z procedurą E. Otrzymano produkt **168** (1,22 mmol, 0,55 g) jako biały osad z wydajnością 42%.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 298 K, 200 MHz): δ 9,22 (bs, 1H); 8,26 (dd, $J = 5,8, 5,5$ Hz, 1H); 8,17 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H); 7,75 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H); 7,35-7,09 (m, 5H+5H); 4,66-4,37 (m, 1H+1H); 3,80 (dd, $J = 16,7, 5,9$ Hz, 1H); 3,56 (dd, $J = 16,7, 5,3$ Hz, 1H); 3,19-2,62 (m, 1H+1H+1H+1H); 2,04 (s, 2H).

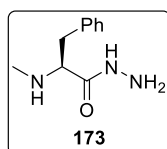
172: HCl·Me-L-Phe-OMe



Związek **172** otrzymano z wykorzystaniem procedury analogicznej do procedury opisanej dla związku **144** używając substratu **171** (10 mmol, 1,8 g). Otrzymano produkt **172** (8,4 mmol, 1,93 g) jako biały osad z wydajnością 84%.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 298 K, 200 MHz): δ 7,36-7,07 (m, 5H); 3,55 (s, 3H); 3,33 (t, $J = 7,0$ Hz, 1H); 2,82 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H); 2,20 (s, 3H).

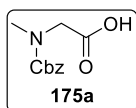
173: Me-L-Phe-NH-NH $_2$



Związek **173** otrzymano z wykorzystaniem procedury A używając substratu **172** (8,4 mmol, 1,93 g) z nadmiarem 64% roztworu hydrazyny (28 mmol, 1,36 ml). Po odparowaniu mieszaniny reakcyjnej, dodano 9 ml bezwodnego MeOH i odsączono powstały osad. Po odparowaniu pod zmniejszonym ciśnieniem filtratu i rekrytalizacji (CH $_2$ Cl $_2$:*i*-PrOH, 3:1, v:v, 12 ml) otrzymano produkt **173** (7,2 mmol, 1,39 g) jako biały osad z wydajnością 86%.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 298 K, 200 MHz): δ 9,01 (bs, 1H); 7,32-7,07 (m, 5H); 3,06 (dd, $J = 7,6, 6,4$ Hz, 1H); 2,77 (dd, $J = 13,4, 6,4$ Hz, 1H); 3,65 (dd, $J = 13,4, 7,6$ Hz, 1H); 2,12 (s, 3H).

175a: Cbz,Me-Gly-OH

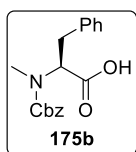


Związek Me-Gly-OH (10 mmol, 0,89 g) i Na₂CO₃ (30 mmol, 3,18 g) rozpuszczono w H₂O (30 ml) i ochłodzono do temperatury 0 °C. Do mieszaniny powoli wkraplano Cbz-Cl (11 mmol, 1,57 ml) w dioksanie (10 ml). Po pół godziny reakcji ogrzano do t. pok. i pozostawiono na 20 godzin. Następnie dodano Et₂O (10 ml) i rozdzielono fazy. Fazę wodną doprowadzono do pH = 2 i ekstrahowano AcOEt (3 x 10 ml). Fazy organiczne połączono, osuszono MgSO₄ i odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymano produkt **175a** (9,6 mmol, 2,14 g) jako biały osad z wydajnością 96%.

¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 200 MHz): δ 7,46-7,24 (m, 5H); 5,09 i 5,05 (s i s, 1H); 3,96 i 3,93 (s i s, 2H); 2,91 i 2,87 (s i s, 3H) – sygnały podwojone z powodu zahamowanej rotacji.

Dane analityczne zgodne z danymi literaturowymi.⁷⁵

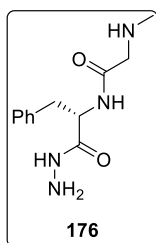
175b: Cbz,Me-L-Phe-OH



Związek **175b** otrzymano z wykorzystaniem procedury analogicznej do procedury opisanej dla związku **175a** używając substratu Me-Gly-OH (4 mmol, 716 mg). Otrzymano produkt **175b** (4 mmol, 1,25 g) jako biały osad z ilościową wydajnością.

¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 200 MHz): δ 12,86 (bs, 1H); 7,39-7,12 (m, 5H+5H); 5,02 (bs, 1H); 4,95 (bs, 1H); 4,83 (dd, *J* = 11,3, 4,9 Hz, 1H); 3,29-2,88 (m, 1H+1H); 2,72 i 2,69 (s i s, 3H) – sygnały podwojone z powodu zahamowanej rotacji.

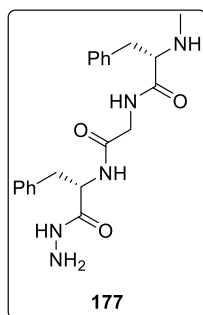
176: Me-Gly-L-Phe-NH-NH₂



Związek **176** otrzymano przy użyciu procedury C ze związków **175a** (9,6 mmol, 2,14 g) i **151** (9,6 mmol, 3,0 g). Otrzymany produkt Cbz,Me-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz odbezpieczono zgodnie z procedurą E. Otrzymano produkt **176** (8,5 mmol, 2,13 g) jako biały osad z wydajnością 89%.

¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 400 MHz): δ 9,23 (s, 1H); 7,95 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H); 7,29-7,12 (m, 5H); 4,56-4,47 (m, 1H); 3,07-2,90 (m, 2H+1H); 2,80 (dd, *J* = 13,7, 9,1 Hz, 1H); 2,12 (s, 3H).

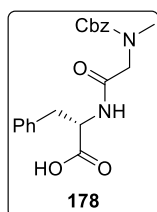
177: Me-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH₂



Związek **177** otrzymano przy użyciu procedury C ze związków **175b** (1,9 mmol, 0,6 g) i **152** (1,9 mmol, 0,7 g). Otrzymany produkt Cbz,Me-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz odbezpieczono zgodnie z procedurą E. Otrzymano produkt **177** (1,44 mmol, 0,57 g) jako biały osad z wydajnością 76%.

¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 200 MHz): δ 9,24 (s, 1H); 8,18 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H); 8,02 (dd, *J* = 5,5, 5,4 Hz, 1H); 7,35-7,12 (m, 5H+5H); 4,54-4,34 (m, 1H); 3,75 (dd, *J* = 16,6, 5,5 Hz, 1H); 3,57 (dd, *J* = 16,6, 5,6 Hz, 1H); 3,21-3,06 (m, 1H); 3,02-2,54 (m, 1H+1H+1H+1H); 2,13 (s, 3H).

178: Cbz,Me-Gly-L-Phe-OH

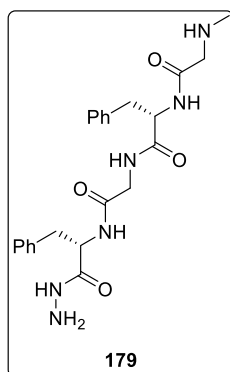


Związek **178** otrzymano przy użyciu procedury C ze związków **175a** (4 mmol, 0,89 g) i H-L-Phe-*Ot*-Bu·HCl (4 mmol, 1,03 g) oraz 2 ekw. Et₃N. Otrzymany produkt Cbz-Gly-L-Phe-*Ot*-Bu odbezpieczono poprzez reakcję z TFA (15ml) w CH₂Cl₂ (15 ml). Po 20 godzinach dodano H₂O (15 ml).

Rozdzielono fazy i ekstrahowano CH₂Cl₂ (3 x 10 ml). Fazy organiczne połączono, osuszono MgSO₄ i odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymano produkt **178** (3,72 mmol, 1,38 g) jako biały osad z wydajnością 93%.

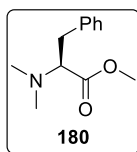
¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 200 MHz): δ 8,31 (bd, 1H); 7,47-7,17 (m, 5H+5H); 5,06 (s, 1H); 4,99 (s, 1H); 4,60-4,35 (m, 1H); 3,97-3,61 (m, 1H+1H); 3,19-2,99 (m, 1H); 2,96-2,78 (m, 1H); 2,75 (s, 3H).

179: Me-Gly-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH₂



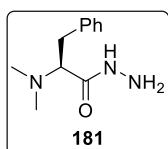
Związek **179** otrzymano przy użyciu procedury C ze związków **178** (3,72 mmol, 1,38 g) i **152** (3,72 mmol, 1,38 g). Otrzymany produkt Cbz,Me-Gly-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz odbezpieczono zgodnie z procedurą E. Otrzymano produkt **179** (2,72 mmol, 1,23 g) jako biały osad z wydajnością 73%.

¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 200 MHz): δ 9,23 (s, 1H); 8,29 (dd, *J* = 5,9, 5,8 Hz, 1H); 8,17 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H); 8,05 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H); 7,40-7,09 (m, 5H+5H); 4,62-4,35 (m, 1H+1H); 3,83 (dd, *J* = 17,0, 5,9 Hz, 1H); 3,56 (dd, *J* = 16,8, 5,3 Hz, 1H); 3,12-2,69 (m, 1H+1H+1H+1H+1H+1H); 2,10 (s, 3H).

180: Me₂-L-Phe-OMe

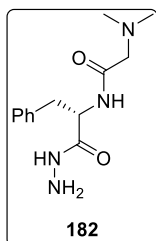
Do 40% roztworu formaldehydu w wodzie (120 mmol, 3,5 ml) w THF (15 ml) z H₂SO₄ stęż. (3 ml) porcjami przez 15 min dodawano roztwór **149** (3 mmol, 0,65g) z Et₃N (0,42 ml) i NaBH₄ (25 mmol, 0,95g) w mieszaninie THF:H₂O (30 ml:5 ml). Po 30 min reakcję doprowadzono do pH = 9 i ekstrahowano AcOEt (3 x 10 ml). Połączone fazy organiczne przemyto solanką (10 ml), osuszono MgSO₄ i odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymano produkt **180** (3 mmol, 620 mg) jako biały osad z ilościową wydajnością.

¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 200 MHz): δ 7,35-7,08 (m, 5H); 3,54 (s, 3H); 3,45 (dd, *J* = 8,2, 7,2 Hz, 1H); 2,93 (dd, *J* = 12,6, 7,2 Hz, 1H); 2,83 (dd, *J* = 12,6, 6,2 Hz, 1H); 2,26 (s, 6H).

181: Me₂-L-Phe-NH-NH₂

Związek **181** otrzymano z wykorzystaniem procedury A używając substratu **180** (3 mmol, 620 mg). Otrzymano produkt **181** (3 mmol, 620 mg) jako biały osad z ilościową wydajnością.

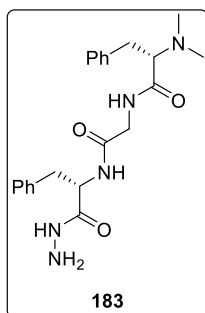
¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 400 MHz): δ 8,90 (s, 1H); 7,27-7,21 (m, 2H); 7,19-7,12 (m, 3H); 3,14 (dd, *J* = 8,8, 5,7 Hz, 1H); 2,93 (dd, *J* = 13,3, 8,9 Hz, 1H); 2,76 (dd, *J* = 13,3, 5,7 Hz, 1H); 2,24 (s, 6H).

182: Me₂-Gly-L-Phe-NH-NH₂

Związek **182** otrzymano przy użyciu procedury C ze związków Me₂-Gly-OH (6 mmol, 0,62 g) i **151** (5 mmol, 1,57 g). Przy oczyszczaniu nie używano roztworu kw. cytrynowego, przemywano dodatkowo 2 razy H₂O. Otrzymany produkt Me₂-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz odbezpieczono zgodnie z procedurą E. Otrzymano produkt **182** (3,2 mmol, 0,85 g) jako biały osad z wydajnością 64%.

¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 400 MHz): δ 9,21 (s, 1H); 7,67 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H); 7,33-7,14 (m, 5H); 4,57-4,48 (m, 1H); 2,97 (dd, *J* = 13,7, 5,2 Hz, 1H); 2,89-2,80 (m, 1H+1H); 2,69 (d, *J* = 15,4 Hz, 1H); 2,07 (s, 6H).

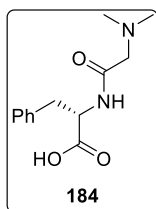
183: Me₂-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH₂



Związek **183** otrzymano przy użyciu procedury C ze związków Me₂-L-Phe-OH (2 mmol, 386 mg) i **152** (1,8 mmol, 666 mg). Przy oczyszczaniu nie używano roztworu kw. cytrynowego, przemywano dodatkowo 2 razy H₂O. Otrzymany produkt Me₂-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz odbezpieczono zgodnie z procedurą E. Otrzymano produkt **183** (1,3 mmol, 608 mg) jako biały osad z wydajnością 72%.

¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 200 MHz): δ 9,22 (s, 1H); 8,14 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H); 7,93 (dd, *J* = 5,5, 5,4 Hz, 1H); 7,28-7,09 (m, 5H+5H); 4,54-4,36 (m, 1H); 4,24 (bs, 2H); 3,78 (dd, *J* = 16,6, 6,0 Hz, 1H); 3,45 (dd, *J* = 16,5, 5,1 Hz, 1H); 3,34-3,23 (m, 1H); 3,04-2,82 (m, 1H+1H); 2,82-2,62 (m, 1H+1H); 2,22 (s, 6H).

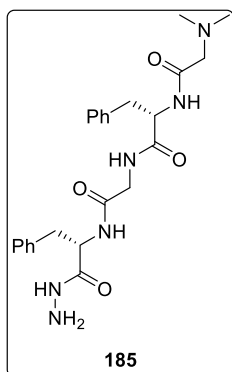
184: Me₂-Gly-L-Phe-OH



Związek **184** otrzymano przy użyciu procedury C ze związków Me₂-Gly-OH (3,3 mmol, 0,34 g) i H-L-Phe-OBn·TsOH (3 mmol, 0,76 g) oraz 2 ekw. Et₃N. Przy oczyszczaniu nie używano roztworu kw. cytrynowego, przemywano dodatkowo 2 razy H₂O. Otrzymany produkt Me₂-Gly-L-Phe-OBn odbezpieczono zgodnie z procedurą E. Otrzymano produkt **184** (1,41 mmol, 353 mg) jako biały osad z wydajnością 47%.

¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 200 MHz): δ 7,83 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H); 7,33-7,12 (m, 5H); 4,48 (ddd, *J* = 8,3, 8,2, 5,0 Hz, 1H); 3,11 (dd, *J* = 13,8, 5,1 Hz, 1H); 2,98 (dd, *J* = 13,8, 8,4 Hz, 1H); 2,89 (d, *J* = 15,4 Hz, 1H); 2,81 (d, *J* = 15,5 Hz, 1H); 2,12 (s, 6H).

185: Me₂-Gly-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH₂

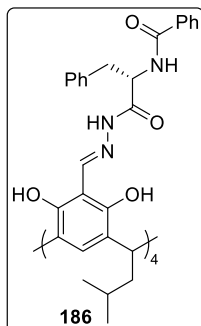


Związek **185** otrzymano przy użyciu procedury C ze związków **184** (1,41 mmol, 353 mg) i **152** (1,3 mmol, 481 mg). Przy oczyszczaniu nie używano roztworu kw. cytrynowego, przemywano dodatkowo 2 razy H₂O. Otrzymany produkt Me₂-Gly-L-Phe-Gly-L-Phe-NH-NH-Cbz odbezpieczono zgodnie z procedurą E. Otrzymano produkt **185** (0,86 mmol, 351 mg) jako biały osad z wydajnością 66%.

¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 200 MHz): δ 9,22 (s, 1H); 8,26 (dd, *J* = 5,7, 5,5 Hz, 1H); 8,17 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H); 7,75 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H); 7,32-7,10 (m, 5H+5H); 4,66-4,36 (m,

1H+1H); 4,29 (bs, 2H); 3,80 (dd, $J = 16,7, 5,9$ Hz, 1H); 3,56 (dd, $J = 16,7, 5,3$ Hz, 1H); 3,18-2,62 (m, 1H+1H+1H+1H+1H+1H); 2,04 (s, 6H).

186 występujący w formie kapsuły (**186**)₂



Związek **186** otrzymano z wykorzystaniem procedury B używając substratu **159** (0,2 mmol, 57 mg). Otrzymano produkt **186** (0,05 mmol, 94 mg) jako żółty osad, który był analizowany bez dalszego oczyszczania.

¹H NMR (CDCl₃, 298 K, 600 MHz): δ 12,41 (s, 4H); 11,34 (s, 4H); 7,95 (s, 4H); 7,73 (bd, 8H); 7,64 (bs, 8H+4H); 7,48 (s, 4H); 7,24 (s, 4H); 7,22-7,16 (m, 8H+8H); 7,14 (bd, 4H); 6,98 (s, 4H); 5,54 (bdd, 4H); 4,17 (bdd, 4H); 3,27 (bdd, 4H); 3,15 (bdd, 4H); 1,91 (m, 4H); 1,86 (m, 4H); 1,33 (m, 4H); 0,94 (bd, 12H); 0,92 (bd, 12H).

¹³C NMR (CDCl₃, 298 K, 150 MHz): δ 169,2; 166,7; 152,2; 152,2; 147,6; 136,1; 133,9; 132,2; 129,6; 129,4; 128,4; 127,3; 126,9; 125,9; 123,0; 122,6; 106,3; 53,5; 42,2; 40,2; 29,7; 25,9; 22,6.

¹H NMR (DMSO-d₆, 298 K, 600 MHz): δ 11,89 (s, 4H); 11,16 (b, 4H); 10,54 (b, 4H); 8,78 (bd, 4H); 8,71 (s, 4H); 7,80 (bd, 8H); 7,50 (m, 4H+4H); 7,43 (bt, 8H); 7,34 (bd, 8H); 7,26 (bt, 8H); 7,16 (bt, 4H); 4,69 (m, 4H); 4,57 (m, 4H); 3,15 (bdd, 4H); 3,07 (bdd, 4H); 2,08 (m, 8H); 1,38 (m, 4H); 0,94 (bd, 24H).

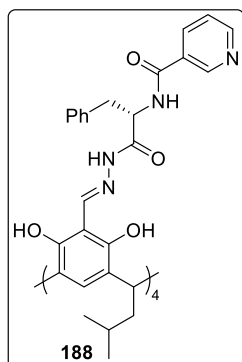
¹³C NMR (DMSO-d₆, 298 K, 150 MHz): δ 167,5; 166,5; 152,0; 146,7; 138,0; 133,7; 131,4; 129,1; 128,2; 127,5; 126,4; 123,7; 106,5; 54,2; 42,3; 36,8; 30,7; 26,0; 22,8; 22,7.

DOSY NMR (CDCl₃, 298 K, 600 MHz) $3,2 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

DOSY NMR (DMSO-d₆, 298 K, 600 MHz) $1,2 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

HR-MS (ESI-TOF): obliczona masa m/z (C₁₁₂H₁₁₅N₁₂O₁₆)⁻ [M-H]⁻: 1883,8554, wartość eksperymentalna: 1883,8533.

188



Związek **188** otrzymano z wykorzystaniem procedury B używając substratu **163** (0,25 mmol, 71 mg) w MeOH. Powstały w reakcji żółty osad odsączono otrzymując produkt **188** (0,048 mmol, 90 mg) z wydajnością 95%.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 298 K, 600 MHz): δ 11,90 (s, 4H); 11,07 (b, 4H); 10,58 (b, 4H); 9,05 (bd, 4H); 8,94 (bd, 4H); 8,72 (s, 4H); 8,70 (bdd, 4H); 8,20-8,04 (m, 4H); 7,48 (m, 4H+4H); 7,34 (bd, 8H); 7,27

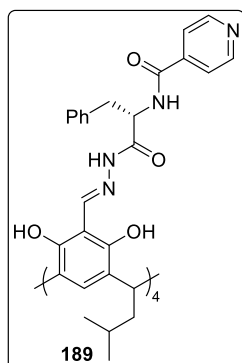
(bt, 8H); 7,17 (bt, 4H); 4,73 (m, 4H); 4,59 (bt, 4H); 3,19 (bdd, 4H); 3,05 (bdd, 4H); 2,08 (bm, 8H); 1,39 (m, 4H); 0,94 (bd, 24H).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 298 K, 150 MHz): δ 167,2; 165,1; 152,0; 148,6; 146,8; 137,8; 135,2; 129,3; 129,1; 128,2; 126,4; 123,7; 123,3; 106,4; 54,2; 42,4; 36,9; 30,7; 26,0; 22,8; 22,7.

DOSY NMR (DMSO- d_6 , 298 K, 600 MHz) $1,2 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

HR-MS (ESI-TOF): obliczona masa m/z ($\text{C}_{108}\text{H}_{114}\text{N}_{16}\text{O}_{16}$) $^{2+}$ $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$: 1890,8588, wartość eksperymentalna: 1890,8594.

189



Związek **189** otrzymano z wykorzystaniem procedury B używając substratu **165** (0,25 mmol, 71 mg) w MeOH. Powstały w reakcji żółty osad odsączono otrzymując produkt **189** (0,049 mmol, 92 mg) z wydajnością 98%.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 298 K, 600 MHz): δ 11,91 (s, 4H); 11,01 (b, 4H); 10,62 (b, 4H); 9,13 (bd, 4H); 8,74-8,68 (m, 8H+4H); 7,70 (m, 8H); 7,48 (s, 4H); 7,33 (bd, 8H); 7,26 (bt, 8H); 7,17 (bt, 4H); 4,72

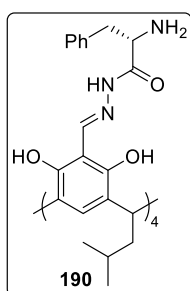
(bddd, 4H); 4,59 (bt, 4H); 3,18 (bdd, 4H); 3,05 (bdd, 4H); 2,07 (m, 8H); 1,38 (m, 4H); 0,94 (bd, 24H).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 298 K, 150 MHz): δ 167,1; 165,0; 152,0; 150,1; 137,7; 129,1; 128,29; 128,18; 126,5; 123,7; 121,4; 106,4; 54,2; 42,4; 36,8; 30,7; 25,9; 22,7; 22,7.

DOSY NMR (DMSO- d_6 , 298 K, 600 MHz) $1,2 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

HR-MS (ESI-TOF): obliczona masa m/z ($\text{C}_{108}\text{H}_{111}\text{N}_{16}\text{O}_{16}$) $^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$: 1887,8364, wartość eksperymentalna: 1887,8376.

190 występujący w formie dwóch kapsuł *M*-(**190**)₂ i *P*-(**190**)₂



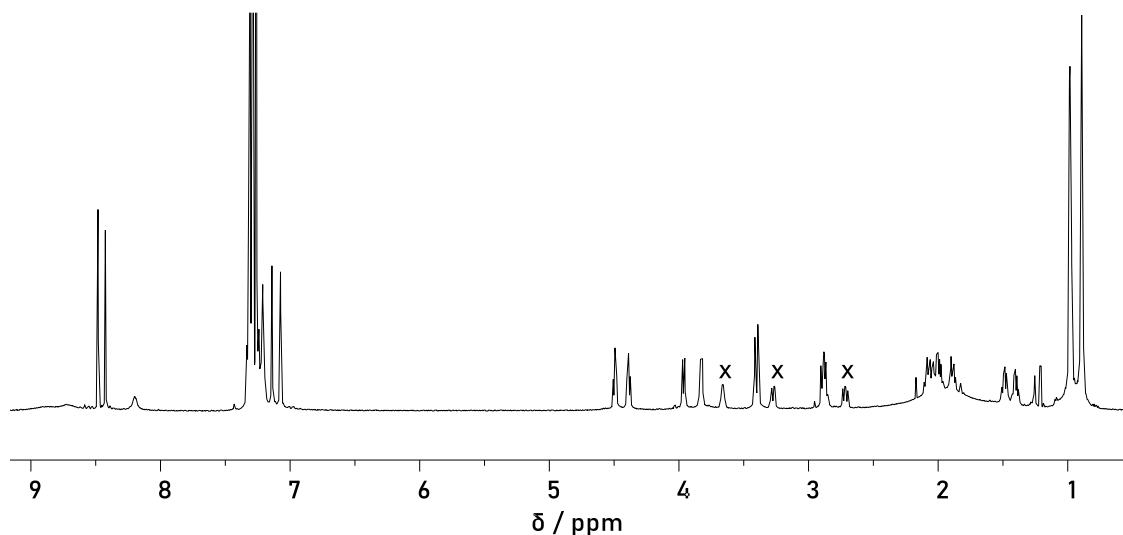
Związek **190** otrzymano z wykorzystaniem procedury B używając substratu **166** (0,2 mmol, 36 mg). Otrzymano produkt **190** (0,05 mmol, 73 mg) jako żółty osad, który był analizowany bez dalszego oczyszczania.

¹H NMR (CDCl₃, 298 K, 600 MHz): δ 8,48 (s, 4H); 8,43 (s, 4H); 7,35-7,19 (m, 40H); 7,14 (s, 4H); 7,07 (s, 4H); 4,49 (dd, *J* = 8,1, 7,9 Hz, 4H); 4,39 (dd, *J* = 8,1, 7,9 Hz, 4H); 3,97 (dd, *J* = 9,9, 3,7 Hz, 4H); 3,83 (dd, *J* = 9,5, 4,7 Hz, 4H); 3,43-3,40 (m, 4H); 3,40-3,38 (m, 4H); 2,92-2,84 (m, 4H+4H); 2,11-1,95 (m, 4H+4H+4H); 1,93-1,85 (m, 4H); 1,53-1,45 (m, 4H); 1,44-1,36 (m, 4H); 0,98 (dd, *J* = 6,6, 2,7 Hz, 24H); 0,89 (dd, *J* = 6,6, 5,4 Hz, 24H).

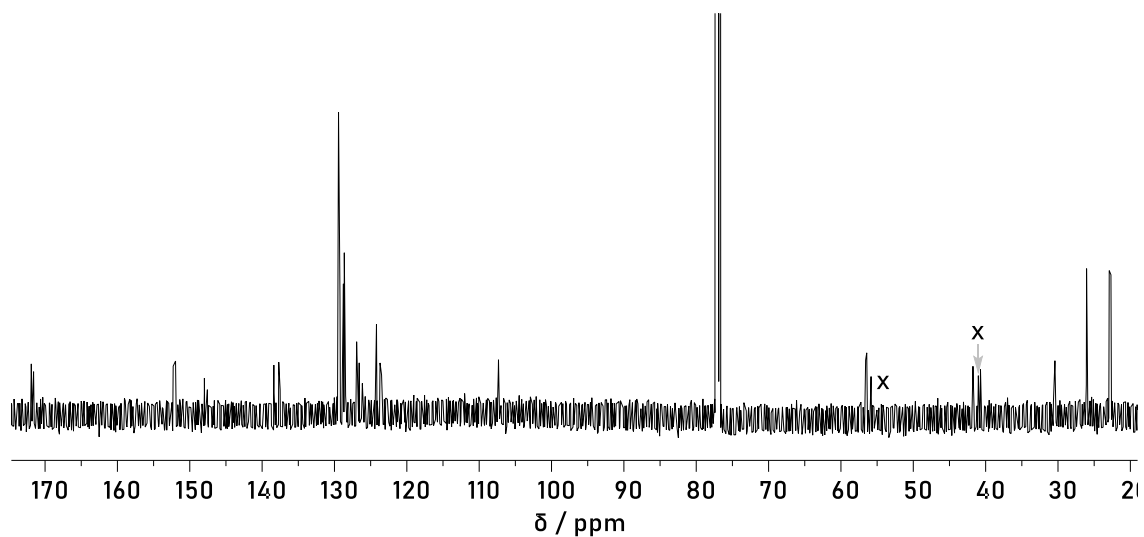
¹³C NMR (CDCl₃, 298 K, 150 MHz): δ 171,9; 171,6; 152,3; 152,1; 152,00; 151,97; 148,0; 147,6; 138,4; 137,7; 129,44; 129,44; 128,6; 128,5; 126,8; 126,6; 126,1; 126,0; 124,20; 124,20; 123,7; 123,5; 107,4; 107,3; 56,6; 56,4; 41,9; 41,8; 40,9; 40,7; 30,4; 30,3; 26,05; 26,05; 22,92; 22,85; 22,7; 22,5.

DOSY NMR (CDCl₃, 298 K, 600 MHz) $3,7 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

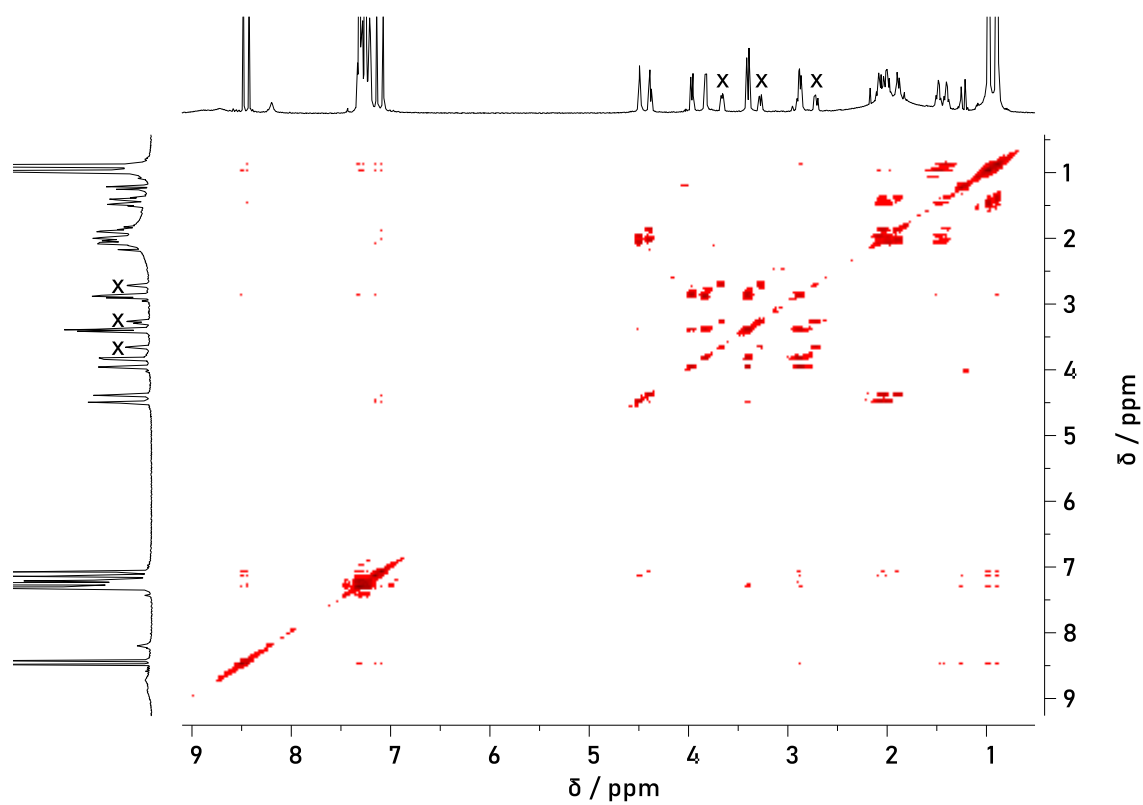
HR-MS (ESI-TOF): obliczona masa m/z (C₈₄H₁₀₁N₁₂O₁₂)⁺ [M+H]⁺: 1469,7662, wartość eksperymentalna: 1469,7612.



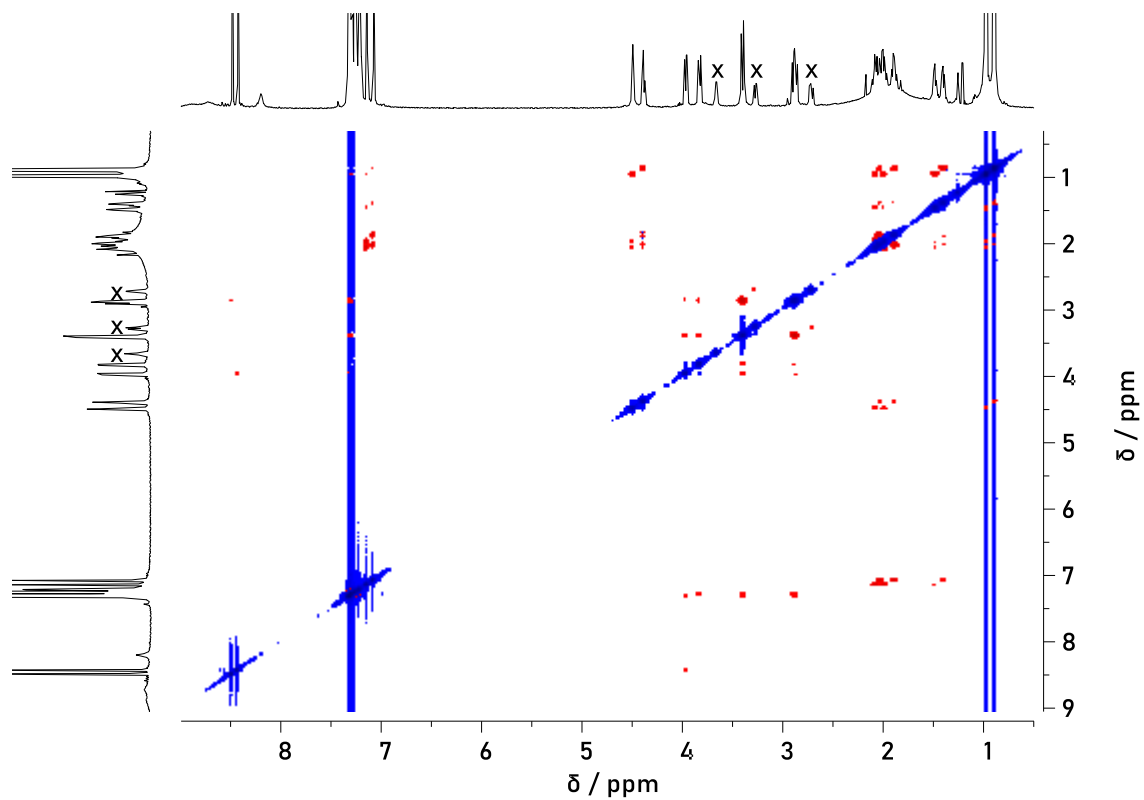
Rys. 134 Widmo ¹H NMR związku **190** (CDCl₃, 298 K, 600 MHz), x – sygnały substratu **166**.



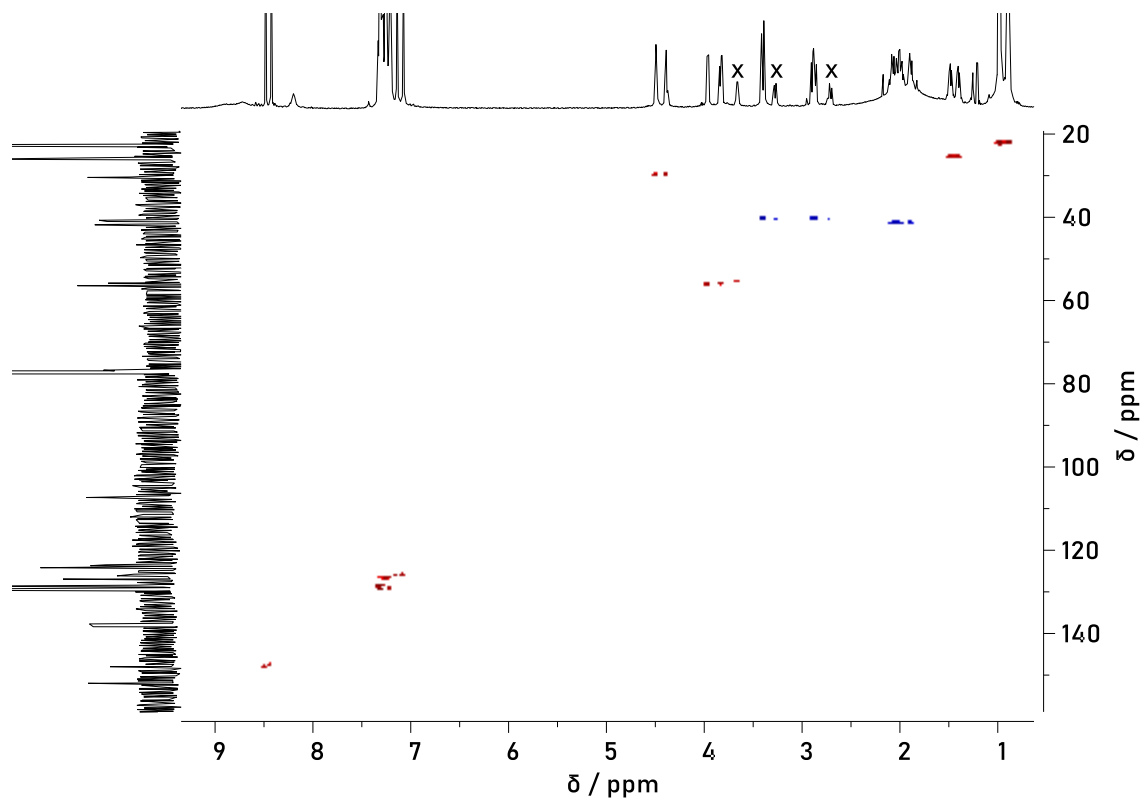
Rys. 135 Widmo ^{13}C NMR związku **190** (CDCl_3 , 298 K, 150 MHz), x – sygnały substratu **166**.



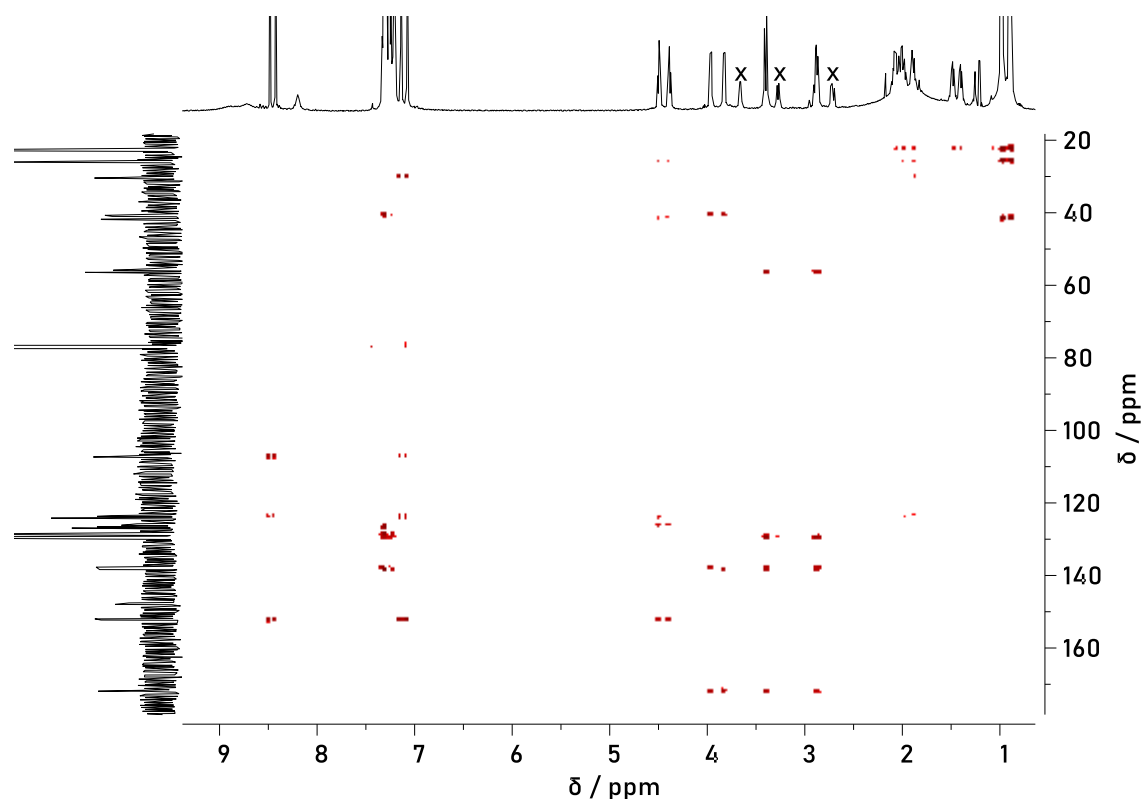
Rys. 136 Widmo ^1H - ^1H COSY NMR związku **190** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz), x – sygnały substratu **166**.



Rys. 137 Widmo ^1H - ^1H ROESY NMR związku **190** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz), x – sygnały substratu **166**.

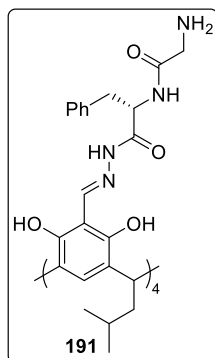


Rys. 138 Widmo ^1H - ^{13}C HSQC NMR związku **190** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz), x – sygnały substratu **166**.



Rys. 139 Widmo ^1H - ^{13}C HMBC NMR związku **190** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz), x – sygnały substratu **166**.

191 występujący w formie kapsuły (**191**)₂



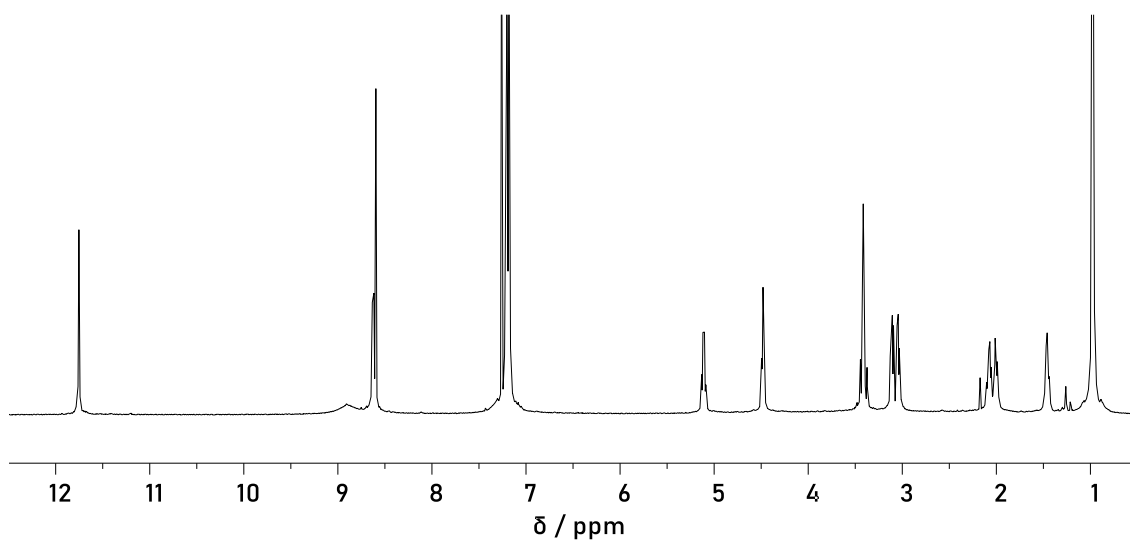
Związek **191** otrzymano z wykorzystaniem procedury B używając substratu **167** (0,2 mmol, 47 mg). Otrzymano produkt **191** (0,05 mmol, 85 mg) jako żółty osad, który był analizowany bez dalszego oczyszczania.

^1H NMR (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz): δ 11,75 (s, 4H); 8,90 (bs, 4H); 8,63 (d, $J = 10,1$ Hz, 4H); 8,60 (s, 4H); 7,32-7,13 (m, 20H+4H); 5,11 (dd, $J = 10,2, 7,5, 7,5$ Hz, 4H); 4,48 (dd, $J = 7,9, 7,9$ Hz, 4H);

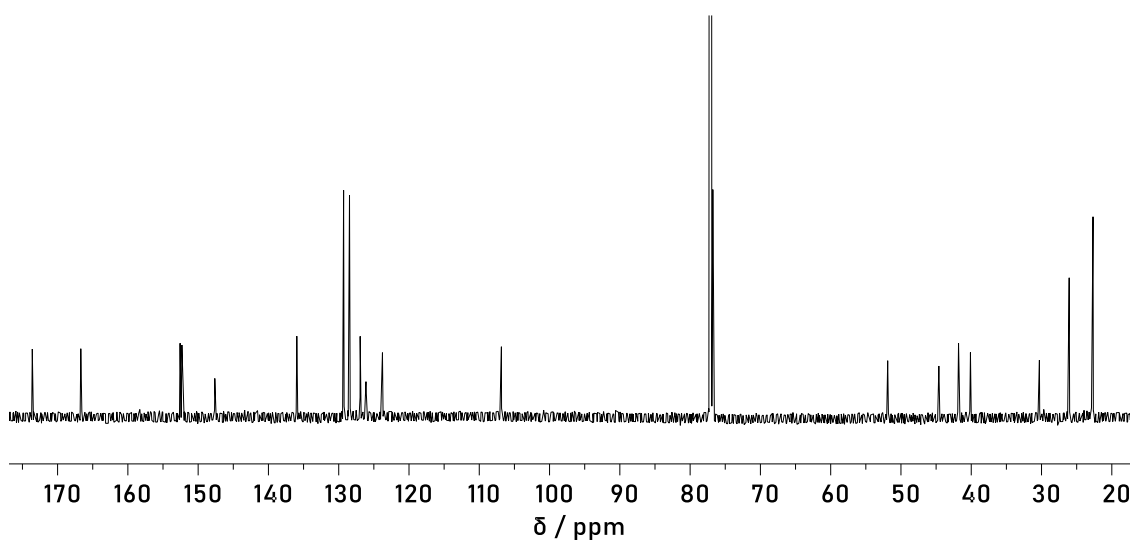
3,47-3,35 (m, 4H+4H); 3,11 (dd, $J = 13,5, 7,6$ Hz, 4H); 3,04 (dd, $J = 13,5, 7,3$ Hz, 4H); 2,14-2,04 (m, 4H); 2,04-1,96 (m, 4H); 1,50-1,42 (m, 4H); 0,98 (d, $J = 3,7$ Hz, 24H); 0,97 (d, $J = 3,7$ Hz, 24H).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 298 K, 150 MHz): δ 173,6; 166,7; 152,6; 152,3; 147,6; 136,0; 129,3; 128,5; 127,0; 126,1; 123,8; 123,6; 106,9; 51,9; 44,6; 41,8; 40,1; 30,3; 26,1; 22,8; 22,7.

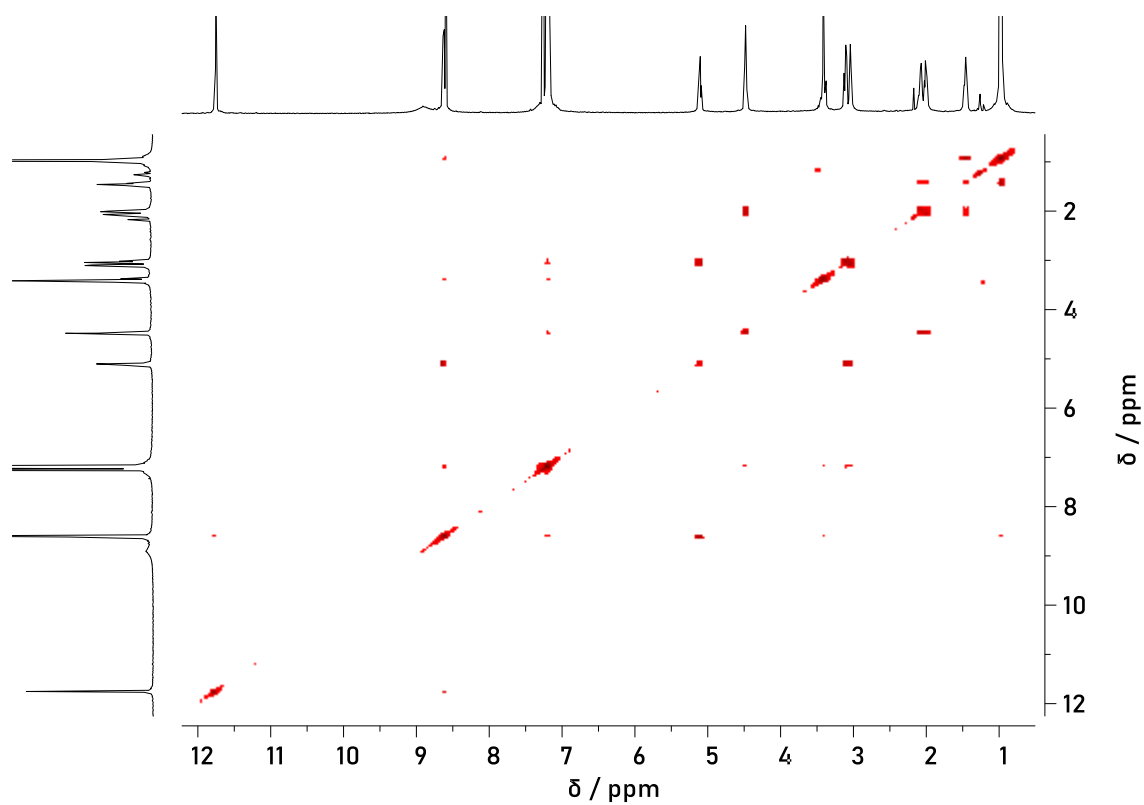
DOSY NMR (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz) $3,2 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.



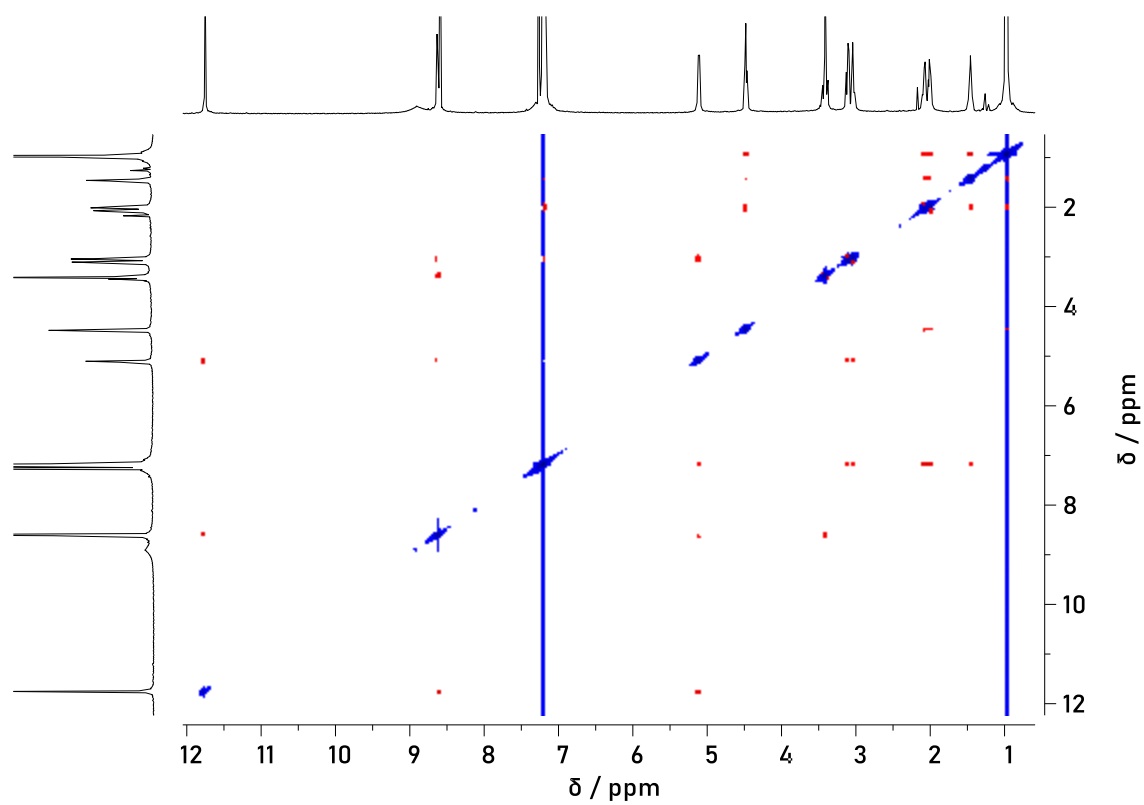
Rys. 140 Widmo ^1H NMR związku **191** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



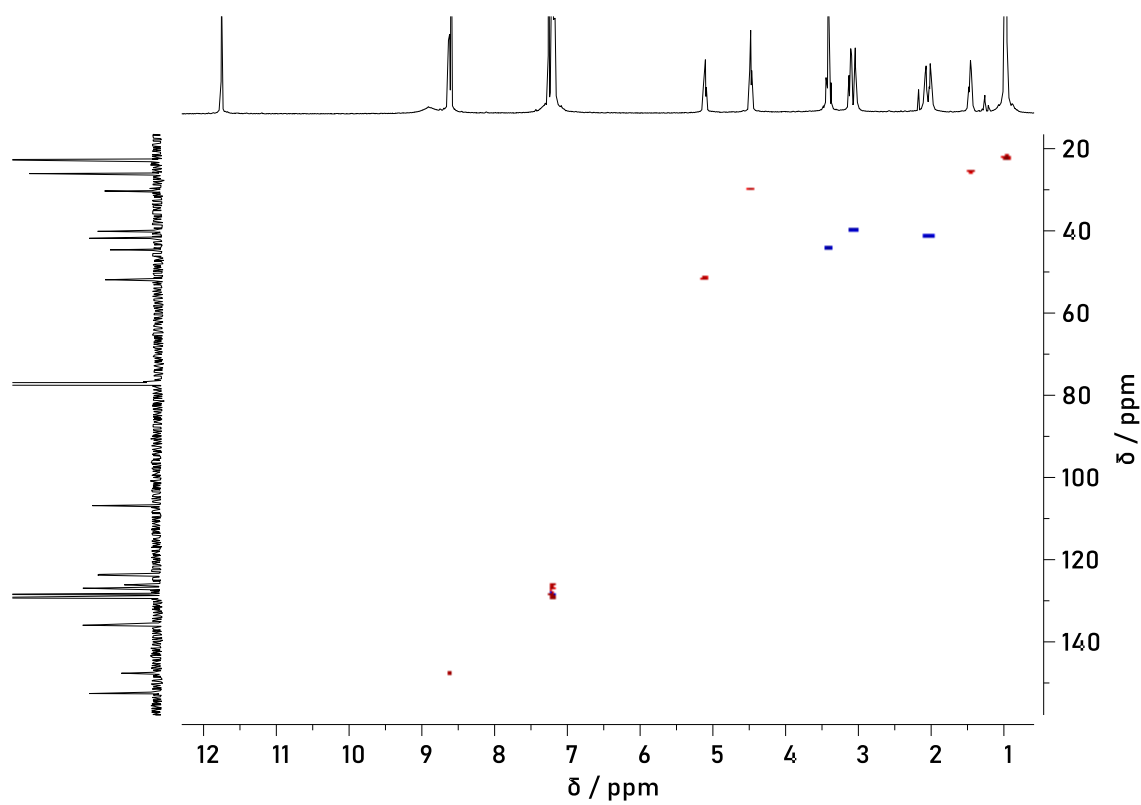
Rys. 141 Widmo ^{13}C NMR związku **191** (CDCl_3 , 298 K, 150 MHz).



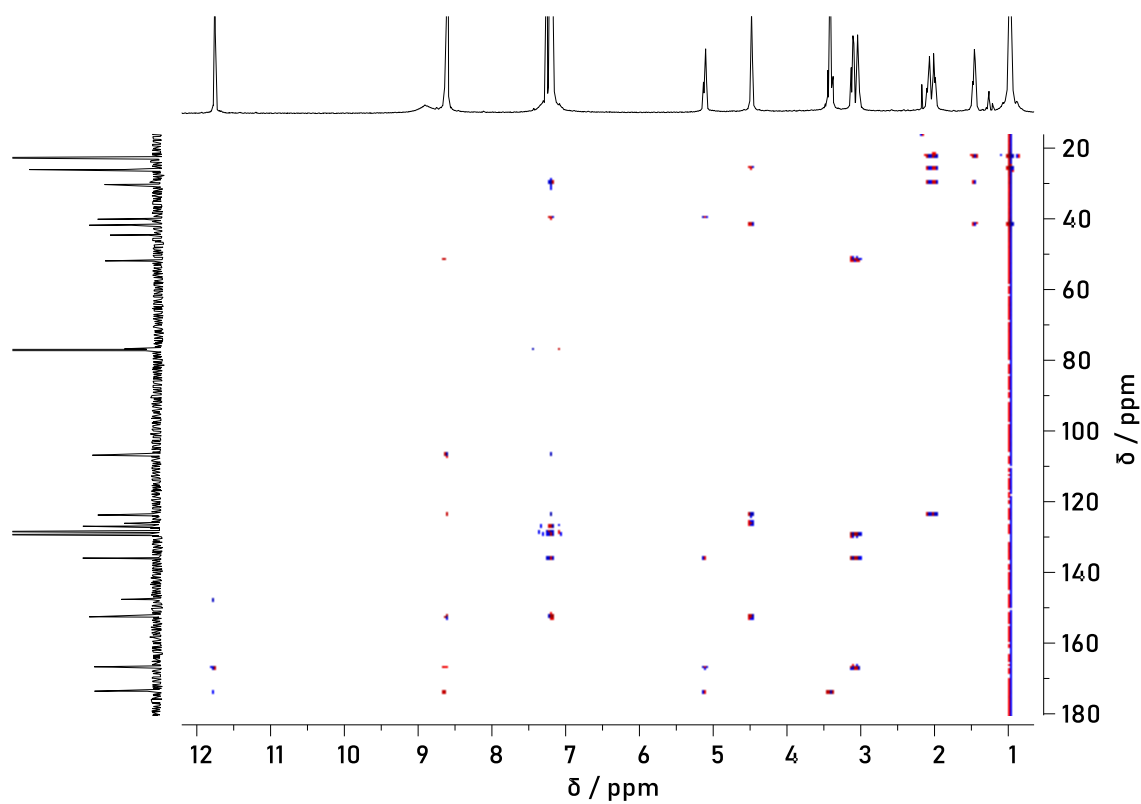
Rys. 142 Widmo ^1H - ^1H COSY NMR związku **191** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 143 Widmo ^1H - ^1H ROESY NMR związku **191** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).

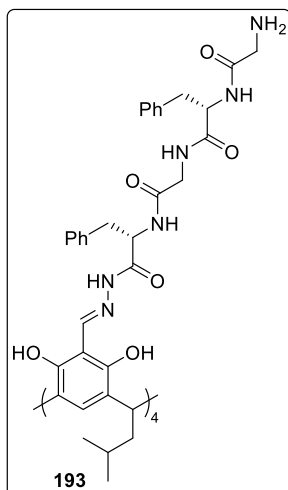


Rys. 144 Widmo ^1H - ^{13}C HSQC NMR związku **191** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 145 Widmo ^1H - ^{13}C HMBC NMR związku **191** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).

193 występujący w formie kapsuły (**193**)₂



Związek **193** otrzymano z wykorzystaniem procedury B używając substratu **170** (0,2 mmol, 88 mg). Otrzymano produkt **193** (0,05 mmol, 126 mg) jako żółty osad, który był analizowany bez dalszego oczyszczania.

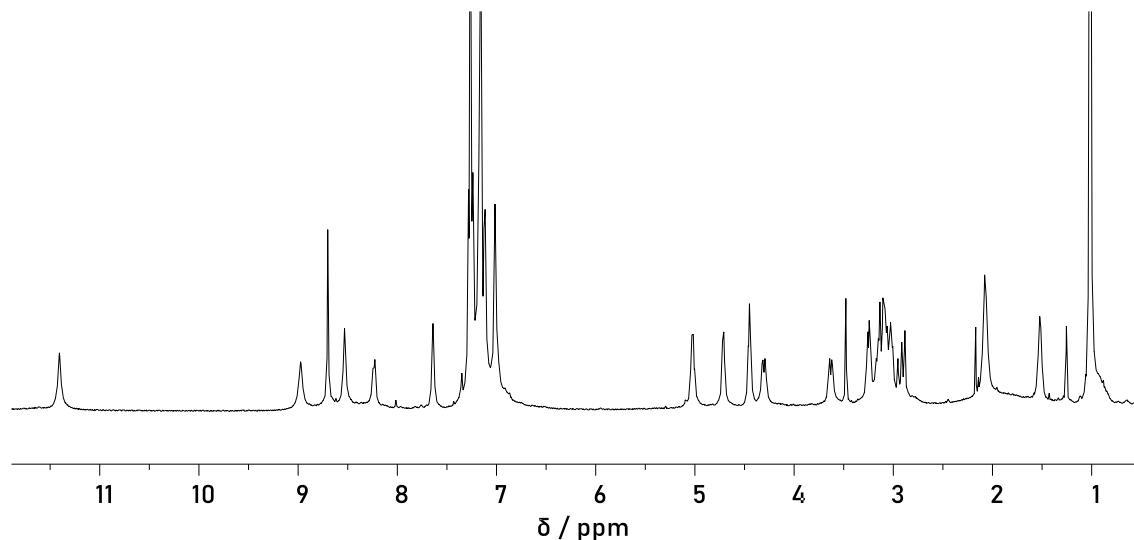
¹H NMR (CDCl₃, 298 K, 600 MHz): δ 11,41 (s, 4H); 8,97 (bs, 4H); 8,70 (s, 4H); 8,53 (bt, *J* = 6,0, 5,6 Hz, 4H); 8,23 (bd, *J* = 9,7 Hz, 4H); 7,64 (bd, *J* = 4,8 Hz, 4H); 7,33-6,94 (m, 20H+20H+4H); 5,06-4,99 (m, 4H); 4,74-4,68 (m, 4H); 4,45 (dd, *J* = 7,7, 7,6 Hz, 4H); 4,30 (dd, *J* = 17,6, 6,1 Hz, 4H); 3,63 (dd, *J* = 17,8, 5,5 Hz, 4H); 3,25 (dd, *J* = 13,8, 5,9 Hz, 4H); 3,18-2,99

(m, 4H+4H+4H+4H+4H); 2,13-2,02 (m, 4H+4H); 1,56-1,49 (m, 4H); 1,04-0,99 (m, 12H+12H).

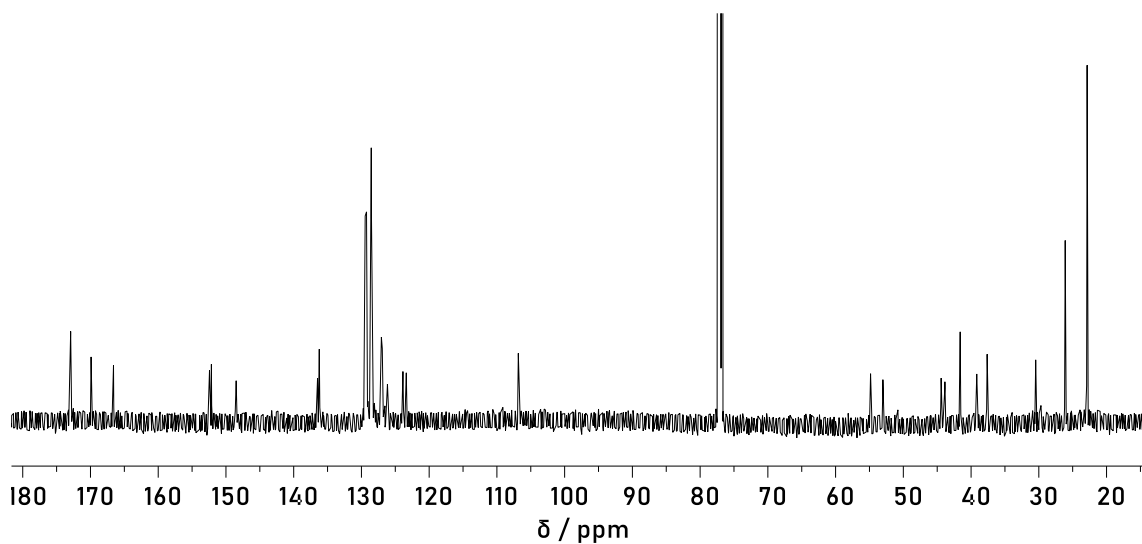
¹³C NMR (CDCl₃, 298 K, 150 MHz): δ 172,9; 169,9; 166,6; 152,4; 152,2; 148,5; 136,5; 136,2; 129,4; 129,3; 128,55; 128,52; 127,1; 126,9; 126,2; 123,9; 123,4; 106,8; 54,8; 53,0; 44,4; 43,9; 41,6; 39,2; 37,6; 30,5; 26,1; 22,87; 22,86.

DOSY NMR (CDCl₃, 298 K, 600 MHz) $2,6 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

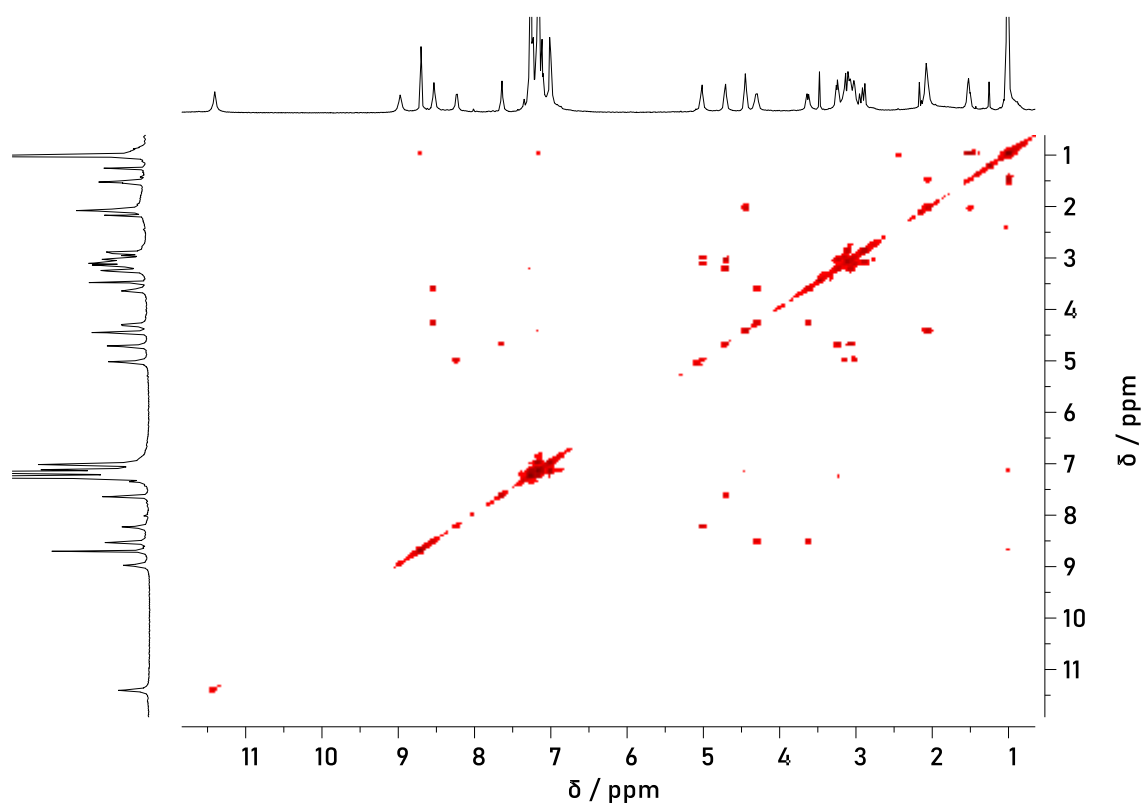
HR-MS (ESI-TOF): obliczona masa m/z (C₁₃₆H₁₆₂N₂₄O₂₄)²⁺ [M+2H]²⁺: 2515,2183, wartość eksperymentalna: 2515,2214.



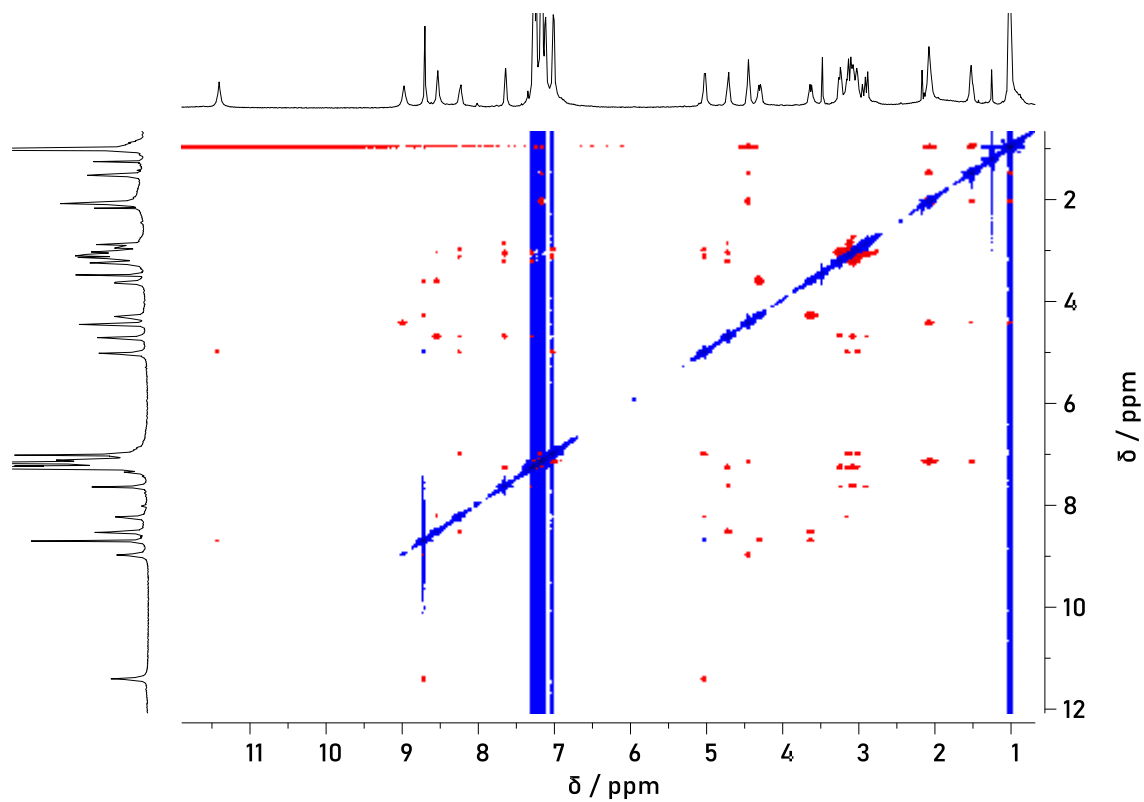
Rys. 146 Widmo ¹H NMR związku **193** (CDCl₃, 298 K, 600 MHz).



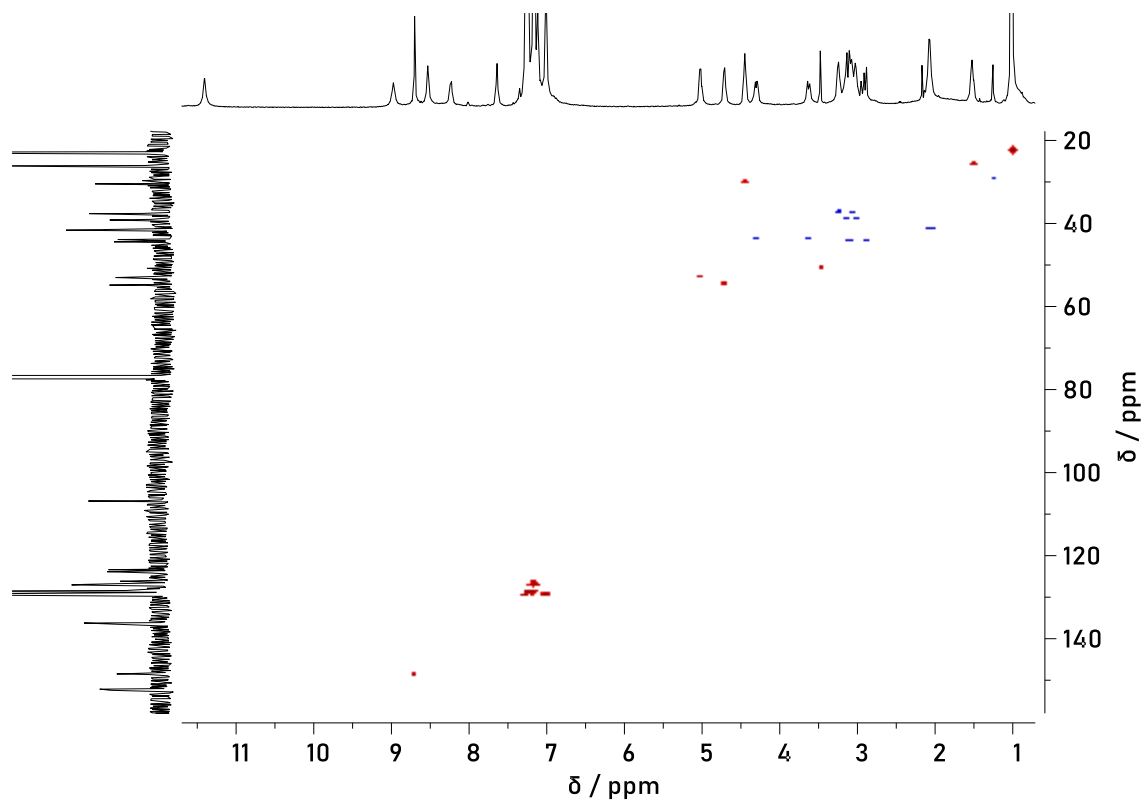
Rys. 147 Widmo ^{13}C NMR związku **193** (CDCl_3 , 298 K, 150 MHz).



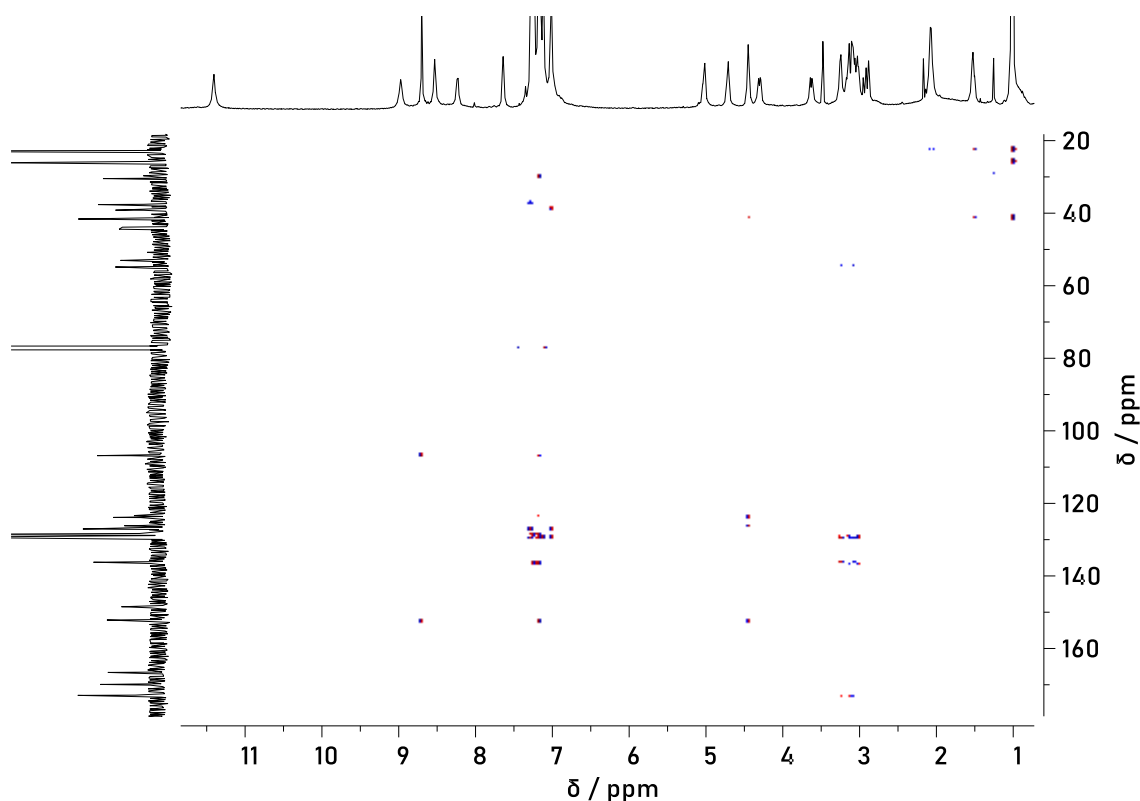
Rys. 148 Widmo ^1H - ^1H COSY NMR związku **193** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 149 Widmo ^1H - ^1H ROESY NMR związku **193** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).

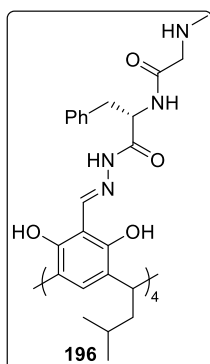


Rys. 150 Widmo ^1H - ^{13}C HSQC NMR związku **193** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 151 Widmo ^1H - ^{13}C HMBC NMR związku **193** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).

196 występujący w formie kapsuły (**196**)₂



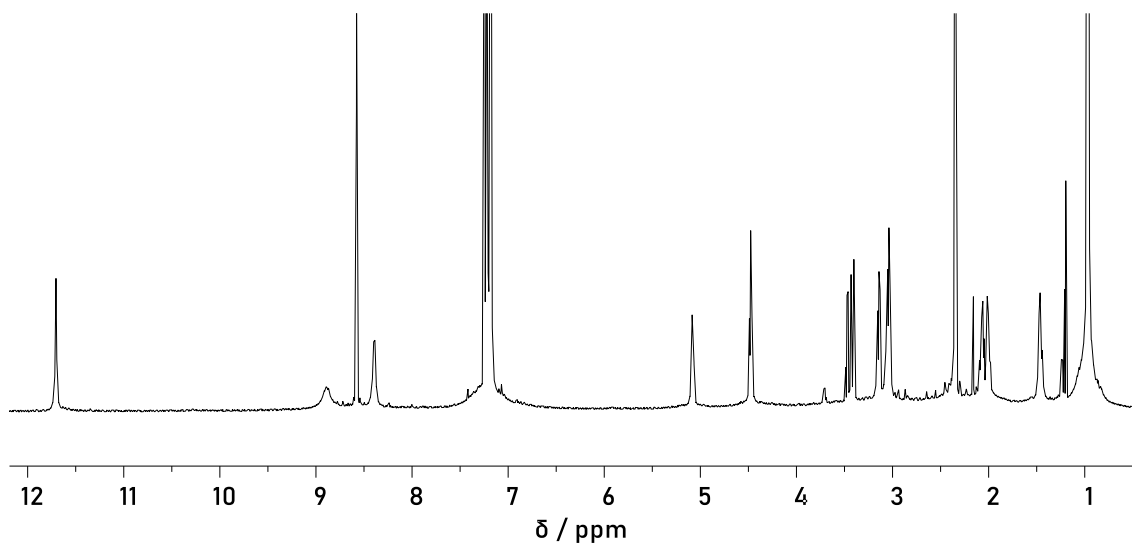
Związek **196** otrzymano z wykorzystaniem procedury B używając substratu **176** (0,2 mmol, 50 mg). Otrzymano produkt **196** (0,05 mmol, 88 mg) jako żółty osad, który był analizowany bez dalszego oczyszczania.

^1H NMR (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz): δ 11,71 (s, 4H); 8,89 (bs, 4H); 8,58 (s, 4H); 8,39 (d, $J = 9,6$ Hz, 4H); 7,25-7,16 (m, 20H+4H); 5,08 (dd, $J = 7,9, 7,7$ Hz, 4H); 4,48 (dd, $J = 7,9, 7,9$ Hz, 4H); 3,42 (d, $J = 17,5$ Hz, 4H); 3,15 (dd, $J = 13,6, 6,9$ Hz, 4H); 3,08-3,00 (m, 4H+4H); 2,35 (s, 12H); 2,11-2,04 (m, 4H); 2,04-1,97 (m, 4H); 1,50-1,43 (m, 4H); 0,98-0,95 (m, 12H+12H).

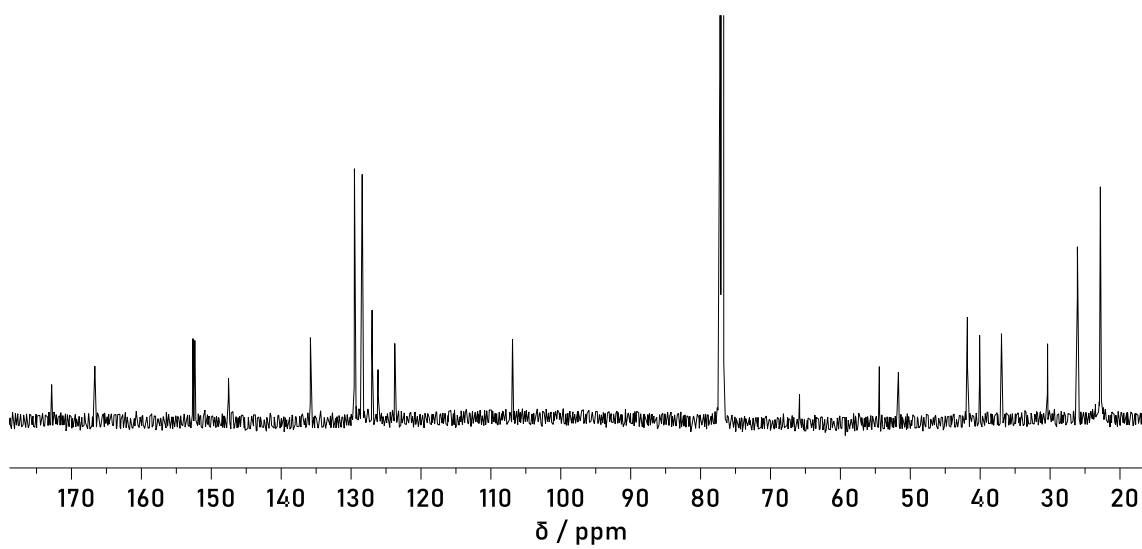
^{13}C NMR (CDCl_3 , 298 K, 150 MHz): δ 172,8; 166,7; 152,6; 152,4; 147,5; 135,8; 129,5; 128,4; 127,0; 126,1; 123,8; 123,6; 106,9; 54,4; 51,7; 41,8; 40,1; 37,0; 30,4; 26,1; 22,81; 22,75.

DOSY NMR (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz) $3,2 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

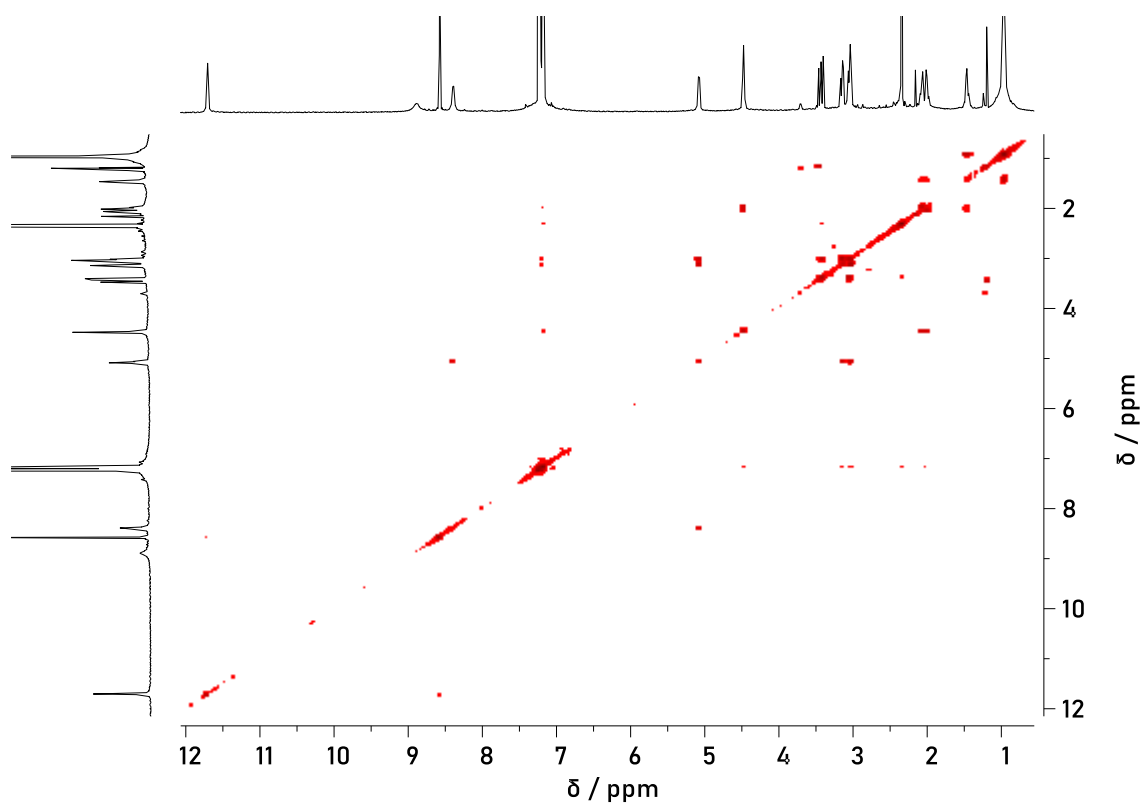
HR-MS (ESI-TOF): obliczona masa m/z ($\text{C}_{96}\text{H}_{122}\text{N}_{16}\text{O}_{16}$)²⁺ $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$: 1754,9214, wartość eksperymentalna: 1754,9212.



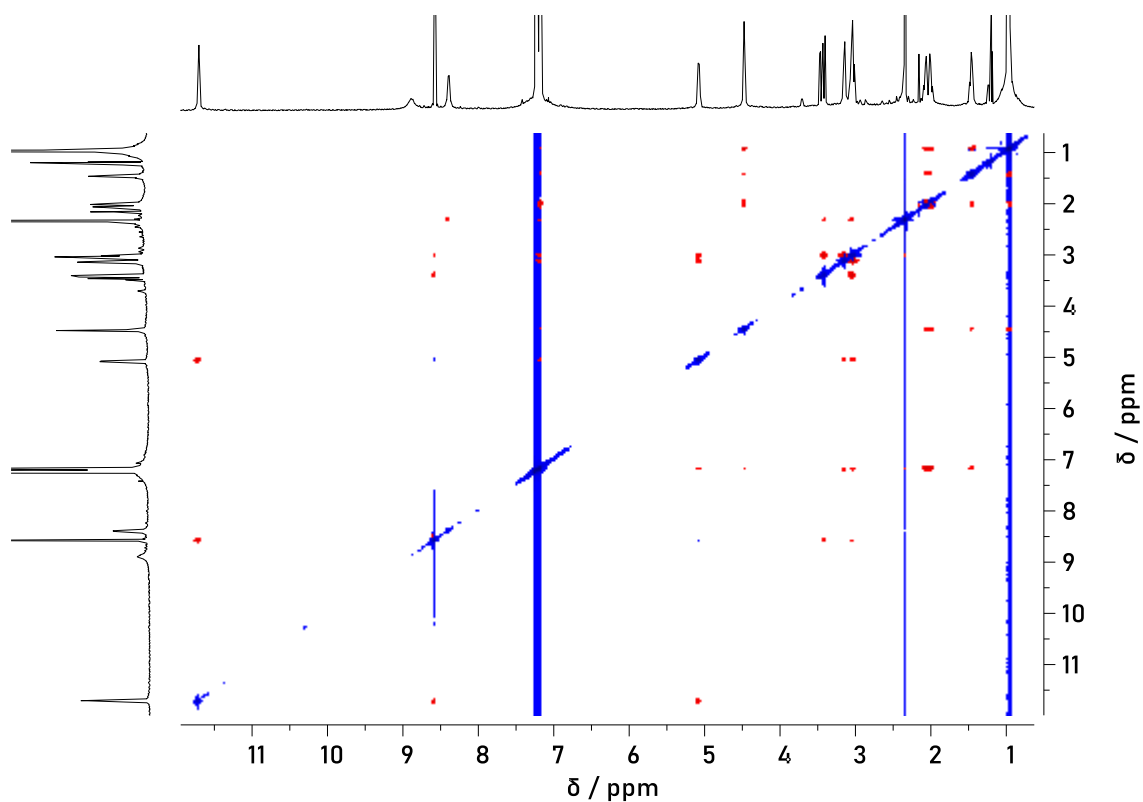
Rys. 152 Widmo ^1H NMR związku **196** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



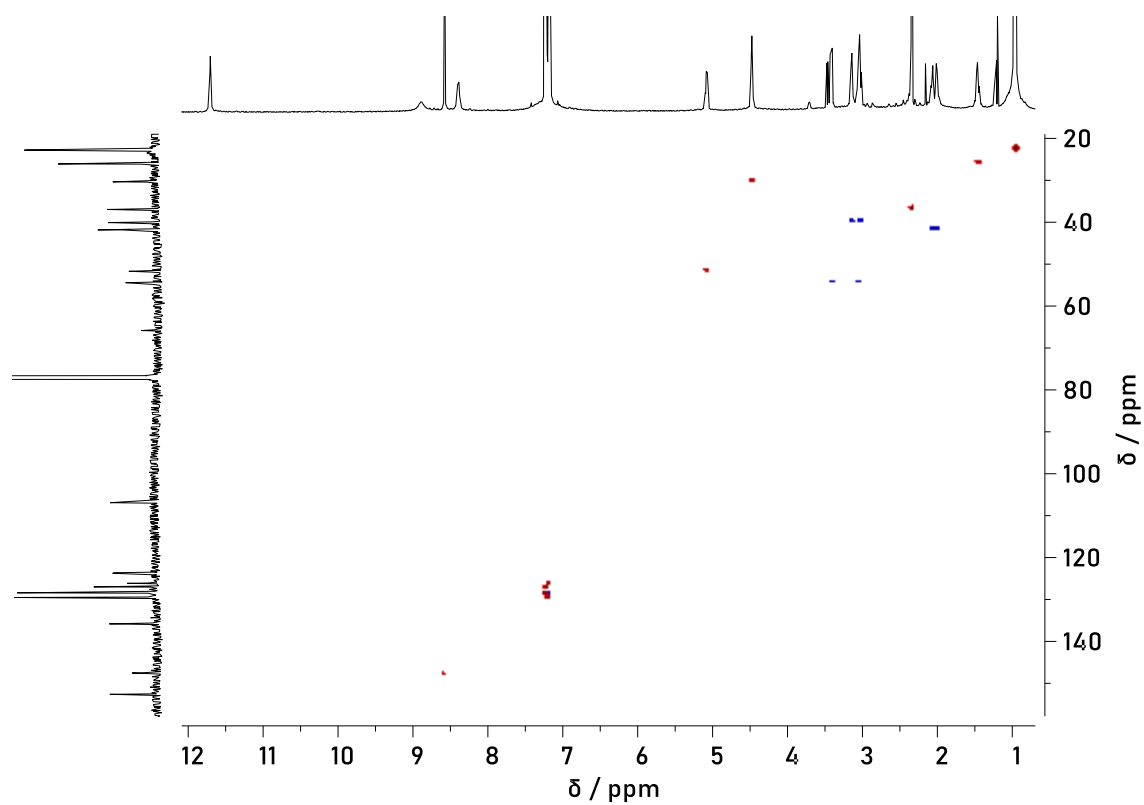
Rys. 153 Widmo ^{13}C NMR związku **196** (CDCl_3 , 298 K, 150 MHz).



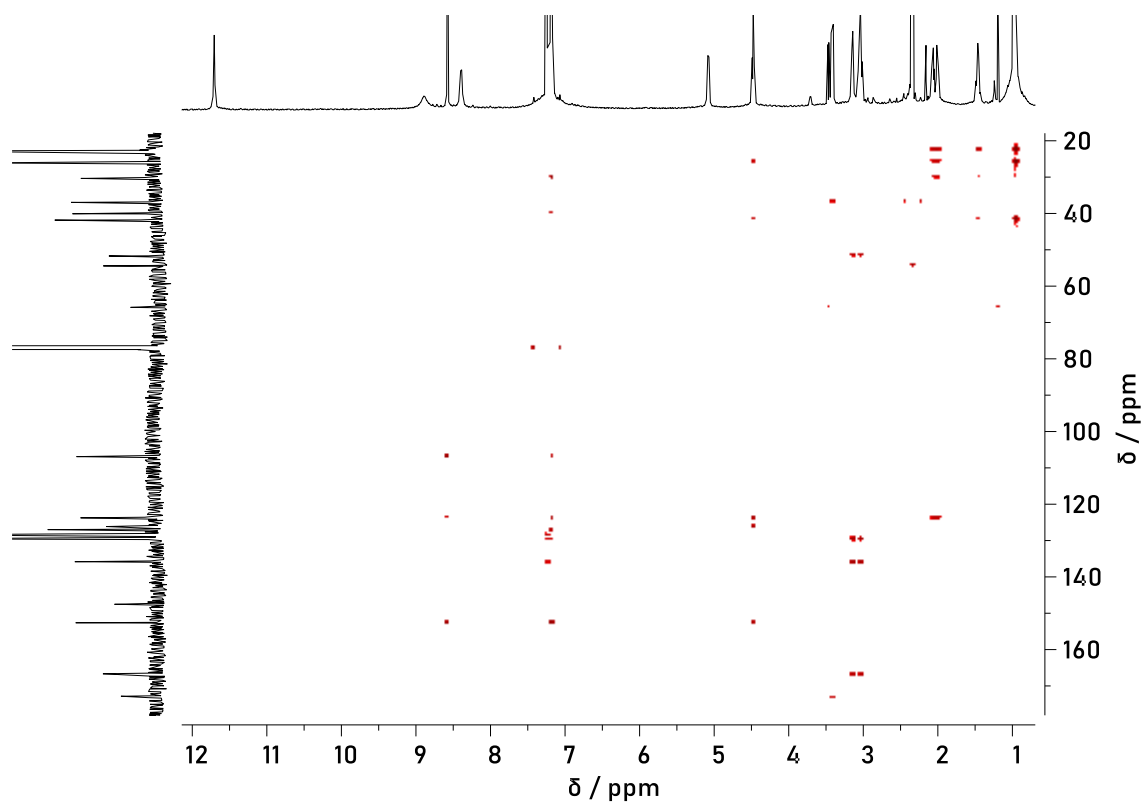
Rys. 154 Widmo ^1H - ^1H COSY NMR związku **196** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 155 Widmo ^1H - ^1H ROESY NMR związku **196** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).

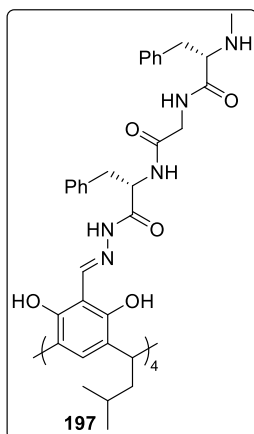


Rys. 156 Widmo ^1H - ^{13}C HSQC NMR związku **196** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 157 Widmo ^1H - ^{13}C HMBC NMR związku **196** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).

197 występujący w formie kapsuły (**197**)₂



Związek **197** otrzymano z wykorzystaniem procedury B używając substratu **177** (0,2 mmol, 79 mg). Otrzymano produkt **197** (0,05 mmol, 117 mg) jako żółty osad, który był analizowany bez dalszego oczyszczania.

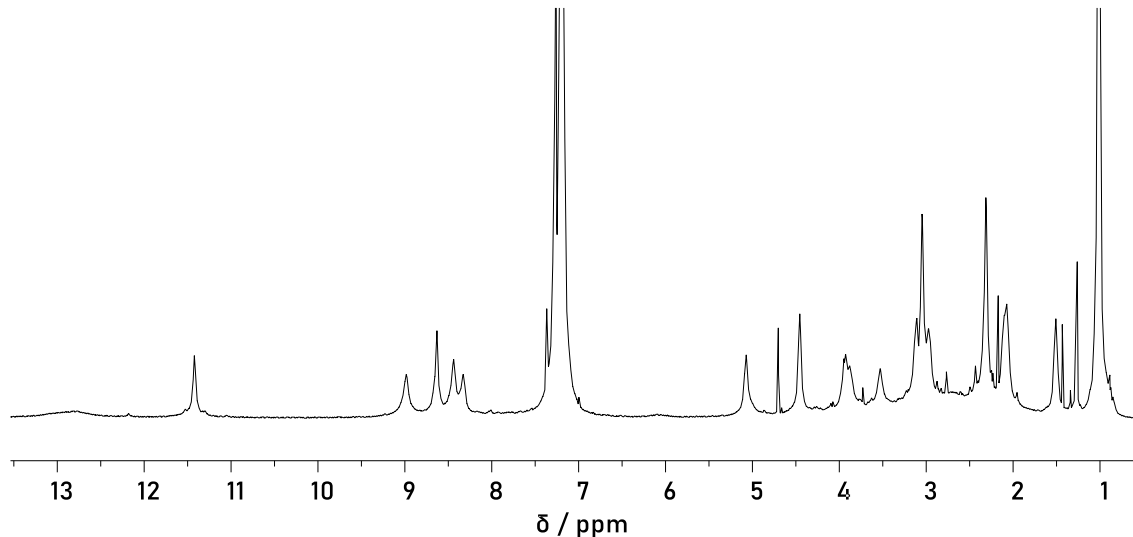
¹H NMR (CDCl₃, 298 K, 600 MHz): δ 12,78 (bs, 4H); 11,42 (s, 4H); 8,99 (bs, 4H); 8,63 (s, 4H); 8,44 (bs, 4H); 8,33 (bs, 4H); 7,40-7,04 (m, 20H+20H+4H); 5,07 (bs, 4H+4H); 4,45 (bs, 4H); 3,93 (m, 8H+4H); 3,53 (bs, 4H); 3,19-2,91 (m, 4H+4H); 2,31 (s, 12H); 2,16-2,01 (m, 4H+4H); 1,51 (m, 4H); 1,08-0,96 (m,

12H+12H).

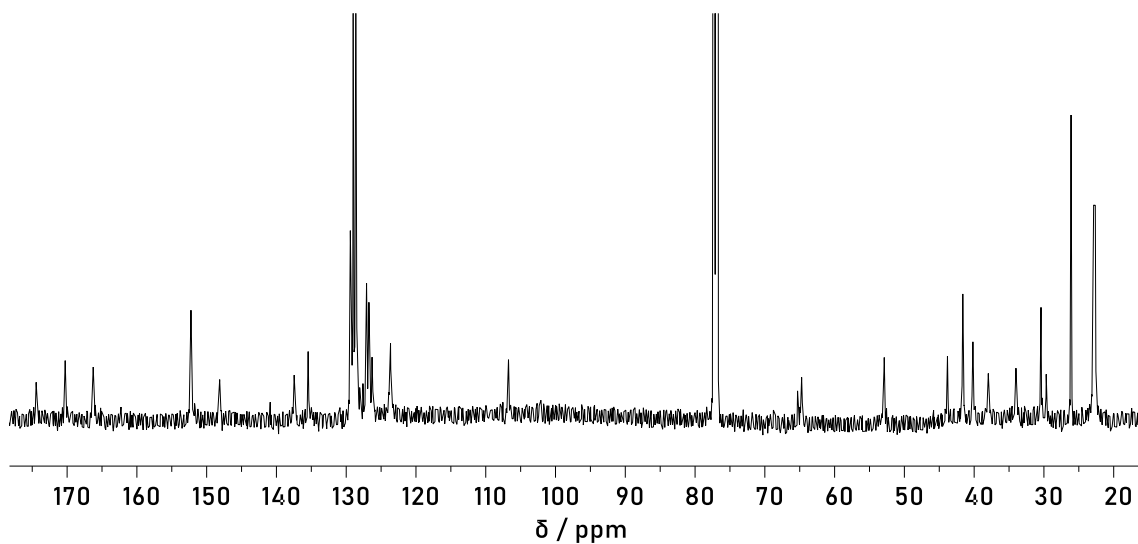
¹³C NMR (CDCl₃, 298 K, 150 MHz): δ 174,4; 170,3; 166,3; 152,25; 152,23; 148,1; 137,5; 135,5; 129,4; 129,0; 128,62; 128,57; 127,1; 126,8; 126,3; 123,70; 123,64; 106,7; 64,7; 52,9; 43,8; 41,6; 40,2; 38,0; 34,0; 30,4; 29,7; 26,1; 22,9; 22,6.

DOSY NMR (CDCl₃, 298 K, 600 MHz) $2,8 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

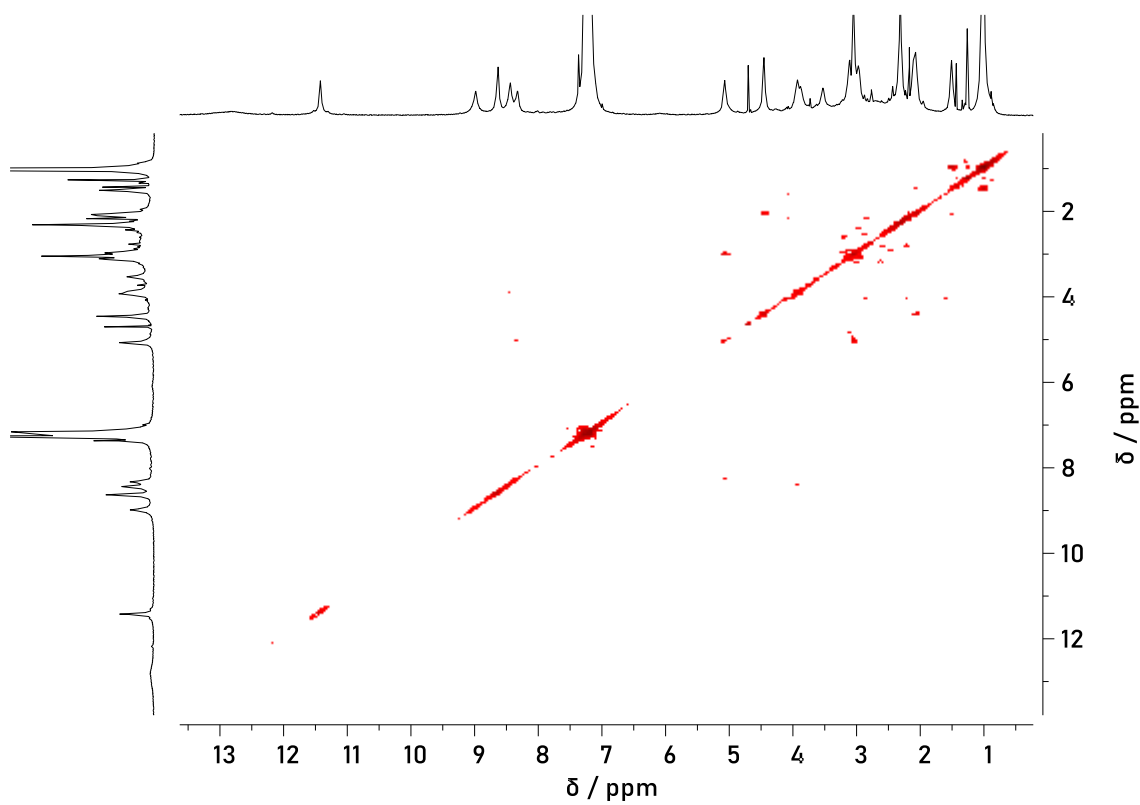
HR-MS (ESI-TOF): obliczona masa m/z (C₁₃₂H₁₅₈N₂₀O₂₀)²⁺ [M+2H]²⁺: 2343,1950, wartość eksperymentalna: 2343,1988.



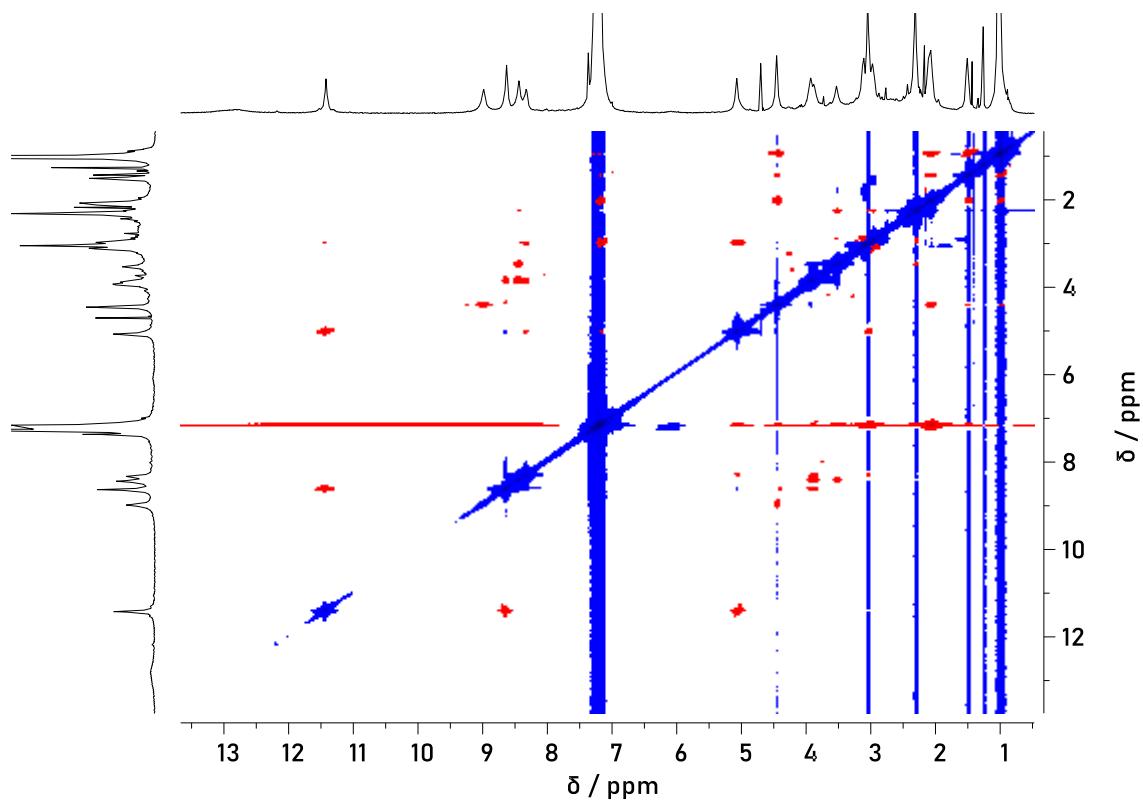
Rys. 158 Widmo ¹H NMR związku **197** (CDCl₃, 298 K, 600 MHz).



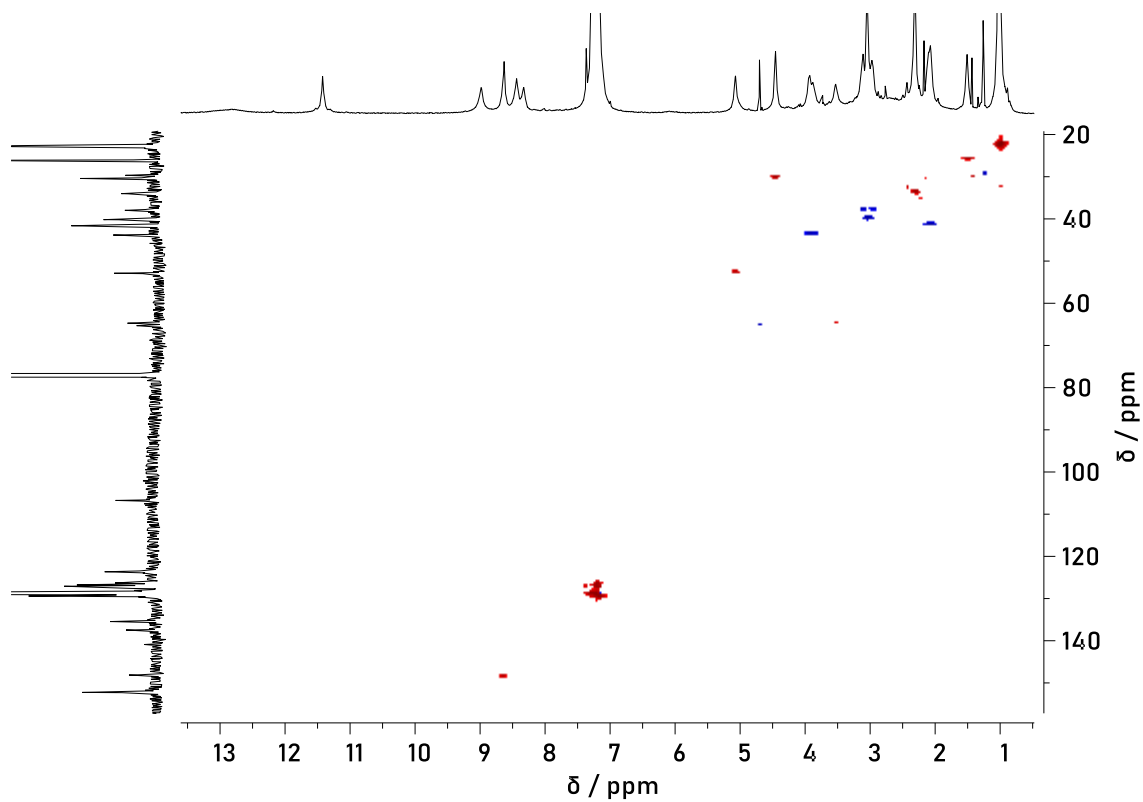
Rys. 159 Widmo ^{13}C NMR związku **197** (CDCl_3 , 298 K, 150 MHz).



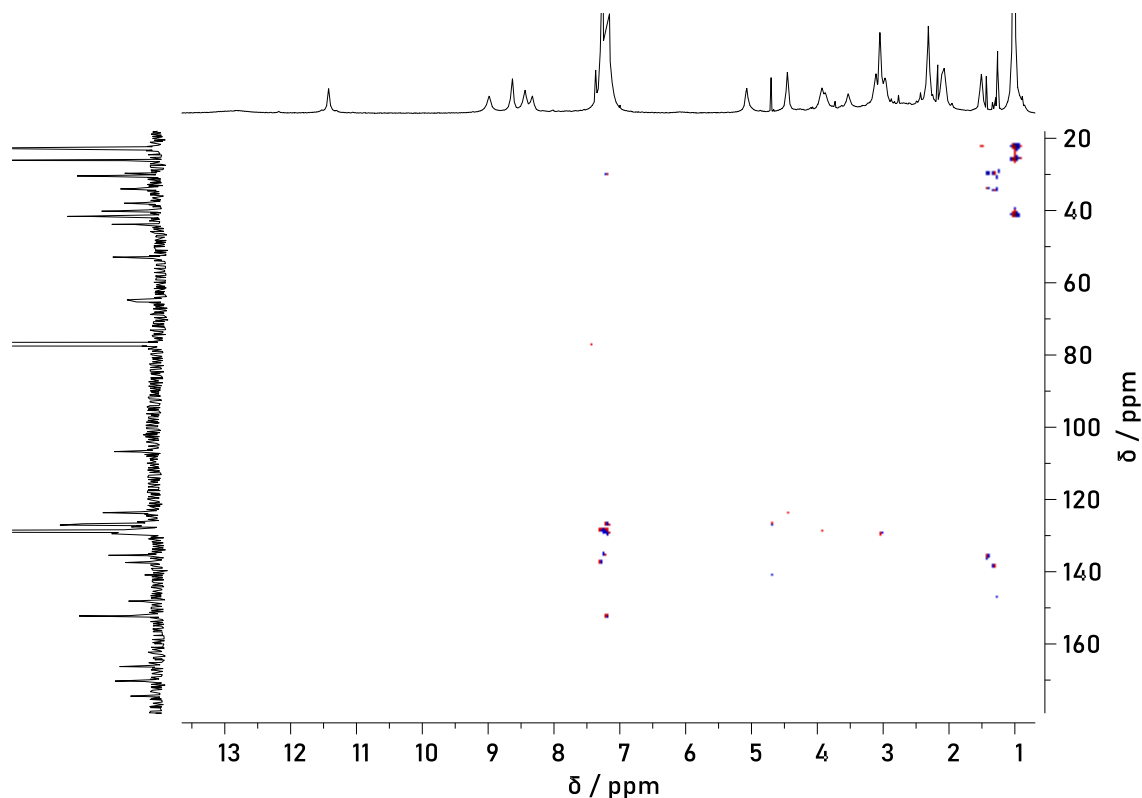
Rys. 160 Widmo ^1H - ^1H COSY NMR związku **197** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 161 Widmo ^1H - ^1H ROESY NMR związku **197** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).

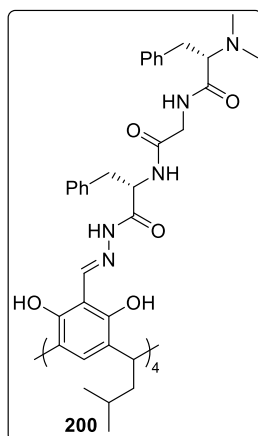


Rys. 162 Widmo ^1H - ^{13}C HSQC NMR związku **197** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 163 Widmo ^1H - ^{13}C HMBC NMR związku **197** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).

200 występujący w formie kapsuły (**200**)₂



Związek **200** otrzymano z wykorzystaniem procedury B używając substratu **183** (0,2 mmol, 82 mg). Otrzymano produkt **200** (0,05 mmol, 120 mg) jako żółty osad, który był analizowany bez dalszego oczyszczania.

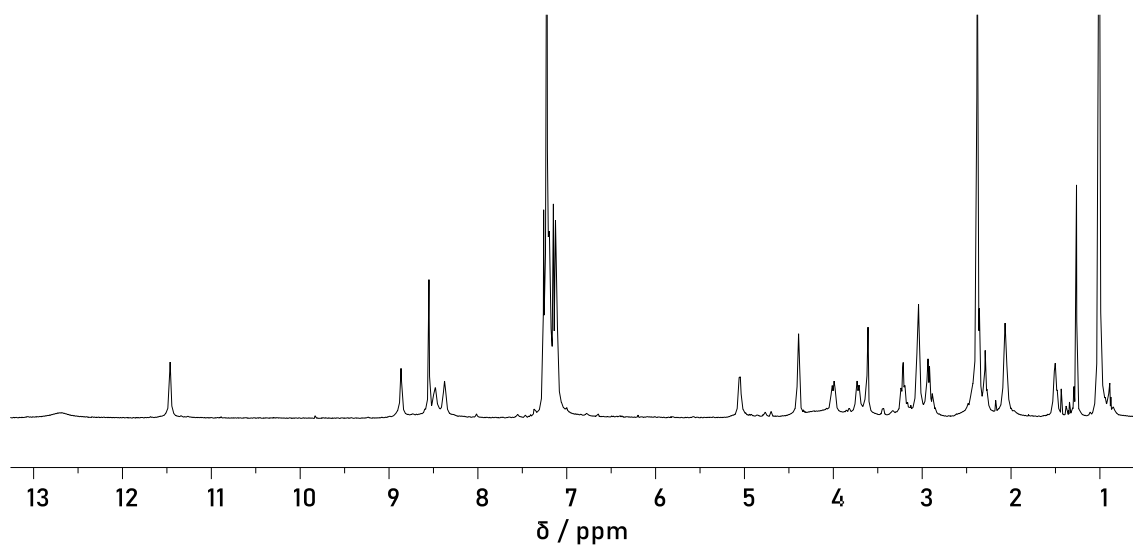
^1H NMR (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz): δ 12,70 (bs, 4H); 11,46 (s, 4H); 8,87 (bs, 4H); 8,55 (s, 4H); 8,48 (bd, 4H); 8,37 (bs, 4H); 7,29-7,07 (m, 20H+20H+4H); 5,05 (dd, $J = 8,4, 7,8$ Hz, 4H); 4,39 (dd, $J = 8,0, 7,9$ Hz, 4H); 4,00 (dd, $J = 17,1, 5,9$ Hz, 4H); 3,72 (dd, $J = 16,6, 6,5$ Hz, 4H); 3,65-3,59 (m, 4H); 3,22 (d, $J = 13,6, 9,2$ Hz,

4H); 3,09-3,00 (m, 4H+4H); 2,93 (dd, $J = 13,5, 4,5$ Hz, 4H); 2,38 (s, 24H); 2,12-2,01 (m, 4H+4H); 1,55-1,46 (m, 4H); 1,03-0,99 (m, 12H+12H).

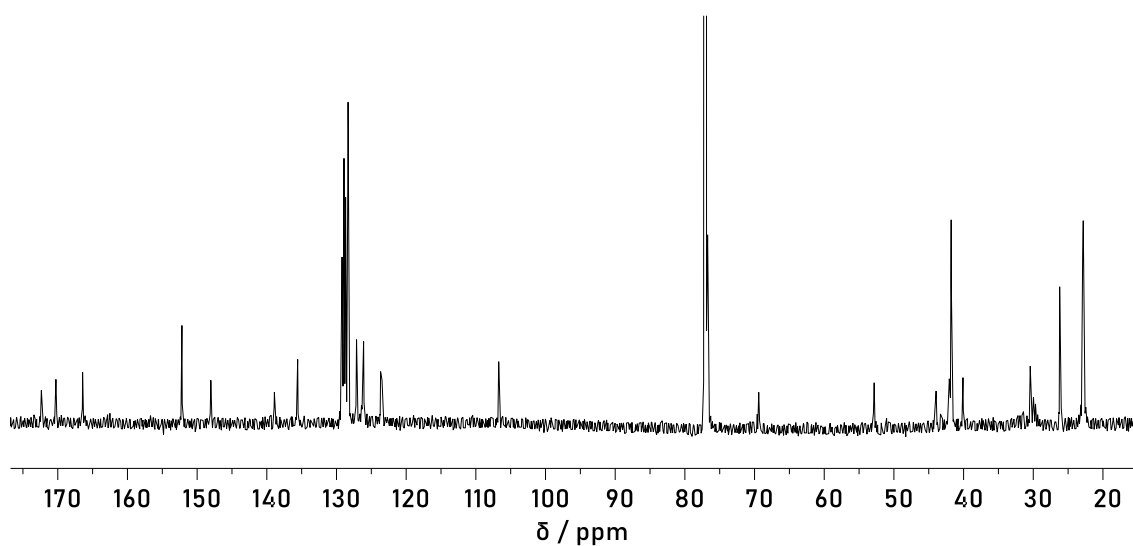
^{13}C NMR (CDCl_3 , 298 K, 150 MHz): δ 172,4; 170,3; 166,4; 152,18; 152,18; 148,0; 138,9; 135,6; 129,2; 128,9; 128,7; 128,3; 127,1; 126,2; 126,1; 123,7; 123,5; 106,7; 69,4; 52,8; 43,9; 41,8; 41,7; 30,4; 29,7; 26,2; 22,9; 22,8.

DOSY NMR (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz) $2,8 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

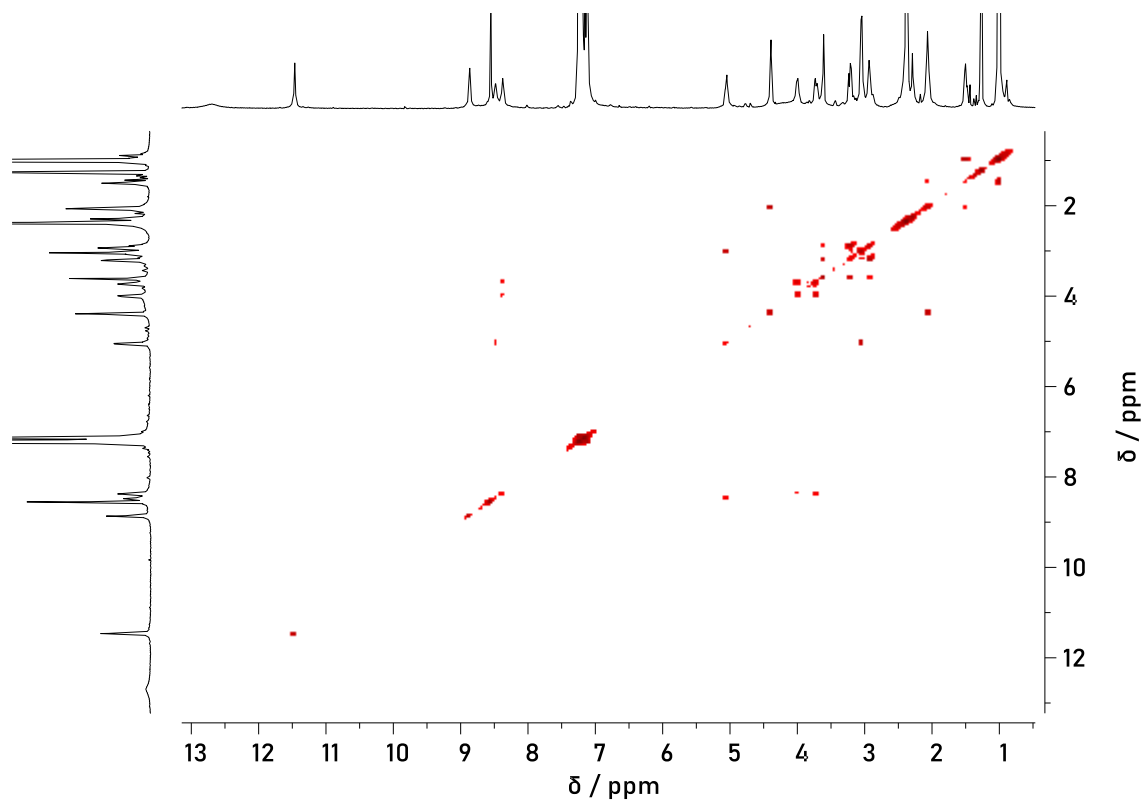
HR-MS (ESI-TOF): obliczona masa m/z ($C_{136}H_{167}N_{20}O_{20}$)³⁺ $[M+3H]^{3+}$: 2400,2649, wartość eksperymentalna: 2400,2637.



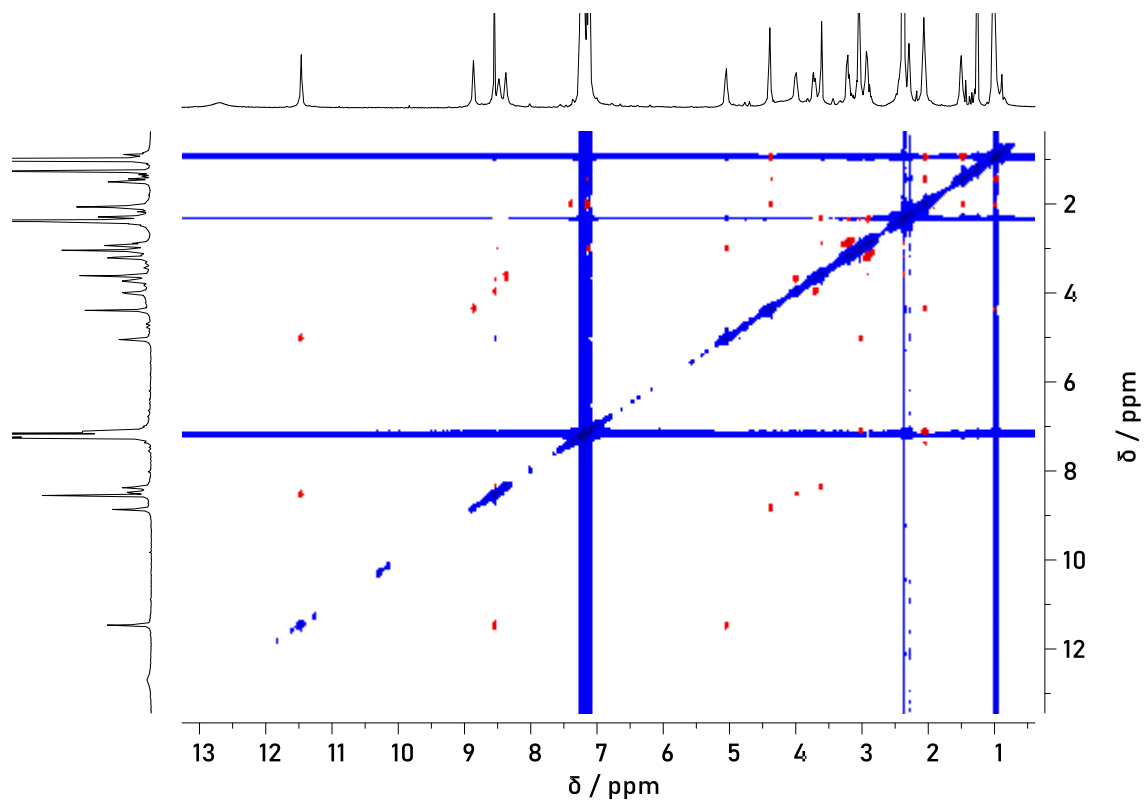
Rys. 164 Widmo ¹H NMR związku **200** (CDCl₃, 298 K, 600 MHz).



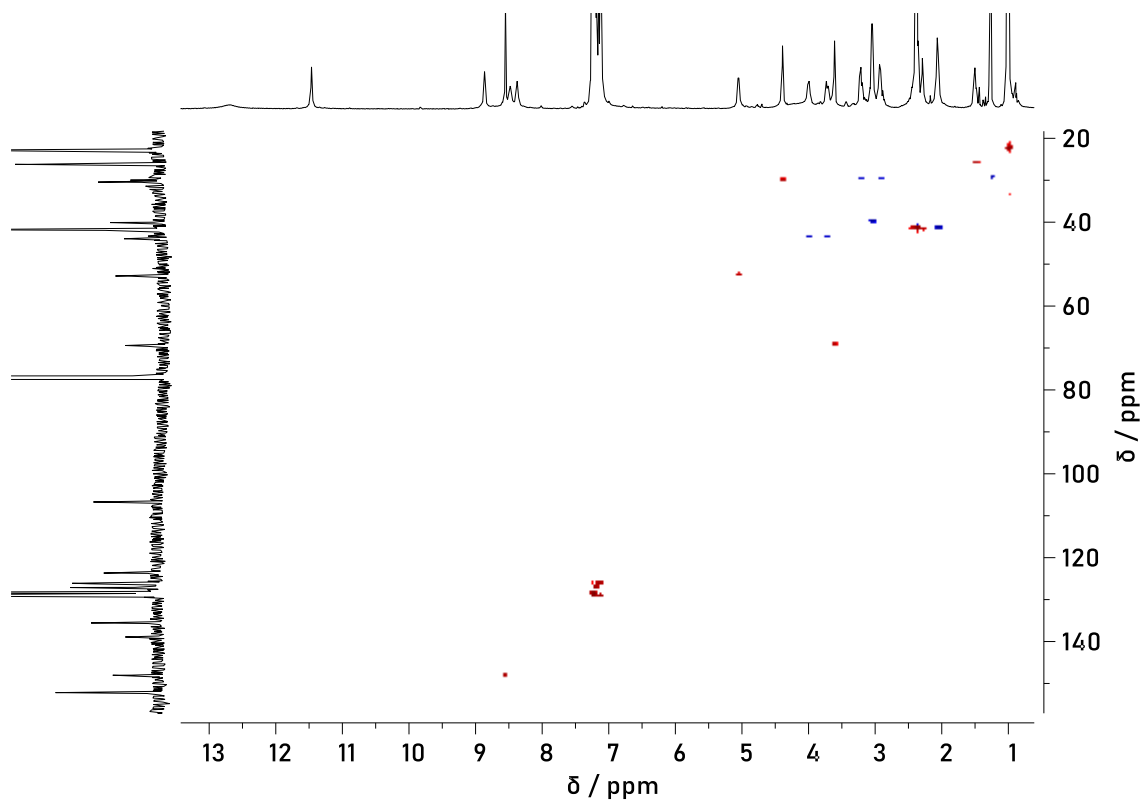
Rys. 165 Widmo ¹³C NMR związku **200** (CDCl₃, 298 K, 150 MHz).



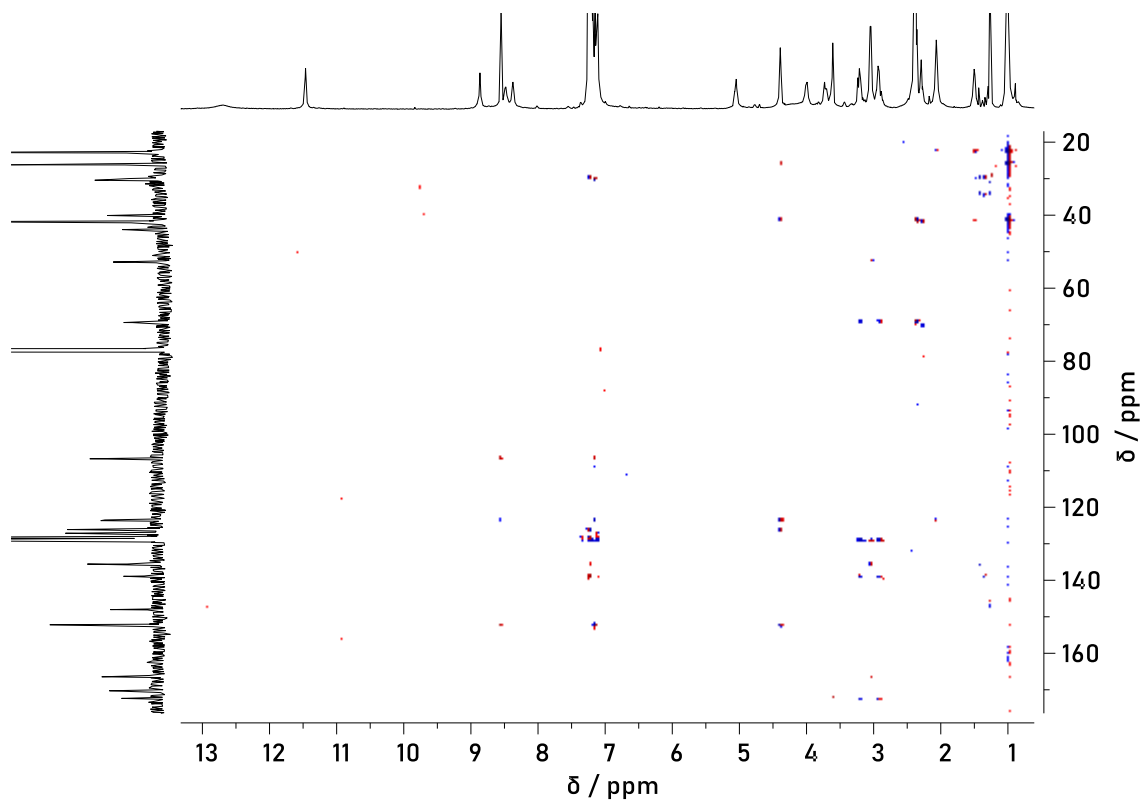
Rys. 166 Widmo ^1H - ^1H COSY NMR związku **200** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 167 Widmo ^1H - ^1H ROESY NMR związku **200** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).

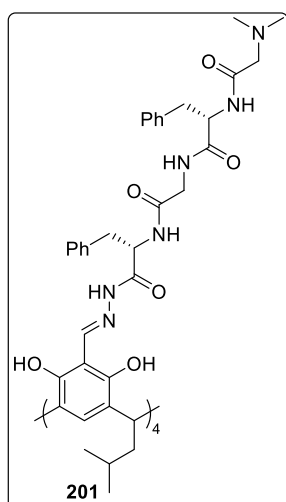


Rys. 168 Widmo ^1H - ^{13}C HSQC NMR związku **200** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 169 Widmo ^1H - ^{13}C HMBC NMR związku **200** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).

201 występujący w formie kapsuły (**201**)₂



Związek **201** otrzymano z wykorzystaniem procedury B używając substratu **185** (0,2 mmol, 94 mg). Otrzymano produkt **201** (0,05 mmol, 131 mg) jako żółty osad, który był analizowany bez dalszego oczyszczania.

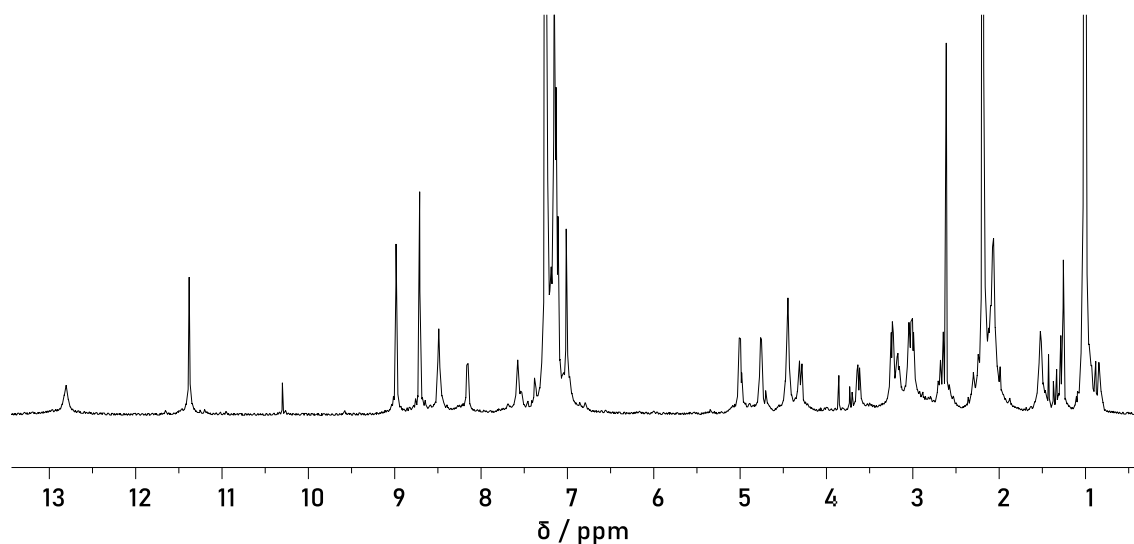
¹H NMR (CDCl₃, 298 K, 600 MHz): δ 12,81 (bs, 4H); 11,38 (s, 4H); 8,98 (s, 4H); 8,71 (s, 4H); 8,49 (dd, *J* = 6,2, 6,1 Hz, 4H); 8,16 (d, *J* = 9,6 Hz, 4H); 7,58 (bs, 4H); 7,32-6,96 (m, 20H+20H+4H); 5,00 (dd, *J* = 8,0, 7,9 Hz, 4H); 4,76 (dd, *J* = 6,9, 6,6 Hz, 4H); 4,45 (dd, *J* = 8,0, 7,9 Hz, 4H); 4,30 (dd, *J* = 17,5, 6,3 Hz, 4H); 3,63 (dd, *J* = 17,5, 5,8 Hz, 4H); 3,24 (dd,

J = 13,7, 6,2, 4H); 3,18 (dd, *J* = 13,5, 7,8 Hz, 4H); 3,04 (dd, *J* = 13,5, 7,9 Hz, 4H); 3,00 (dd, *J* = 13,3, 6,4 Hz, 4H); 2,72-2,54 (m, 4H+4H); 2,19 (s, 24H); 2,11-2,02 (m, 4H+4H); 1,56-1,49 (m, 4H); 1,02 (bs, 12H); 1,00 (bs, 12H).

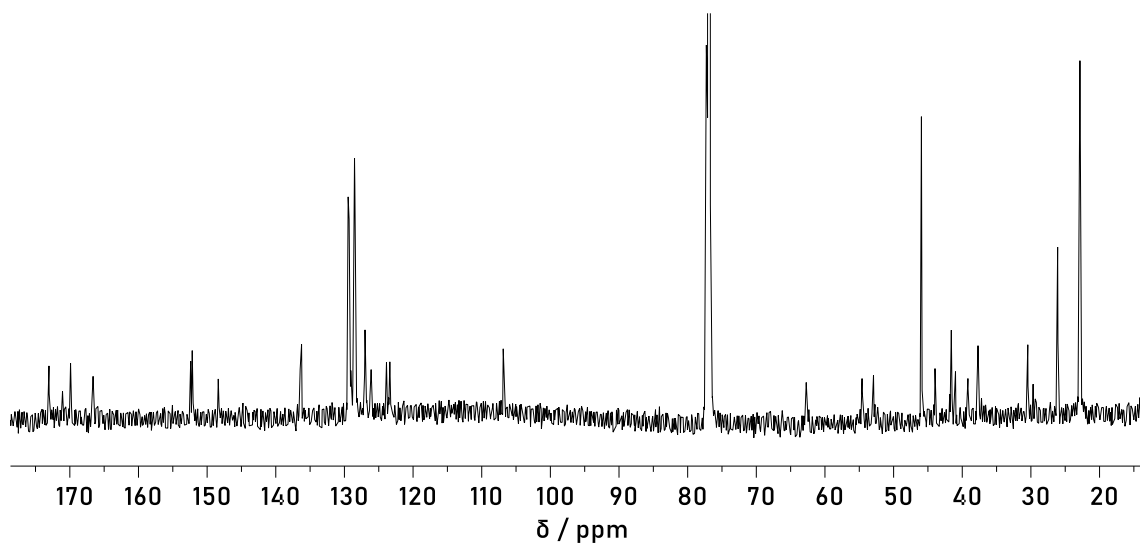
¹³C NMR (CDCl₃, 298 K, 150 MHz): δ 173,0; 171,1; 169,9; 166,6; 152,4; 152,2; 148,4; 136,5; 136,2; 129,5; 129,3; 128,53; 128,48; 127,0; 126,9; 126,1; 123,9; 123,4; 106,9; 62,7; 54,6; 52,9; 46,0; 44,0; 41,6; 41,0; 39,2; 37,7; 30,5; 26,1; 22,86; 22,86.

DOSY NMR (CDCl₃, 298 K, 600 MHz) $2,8 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

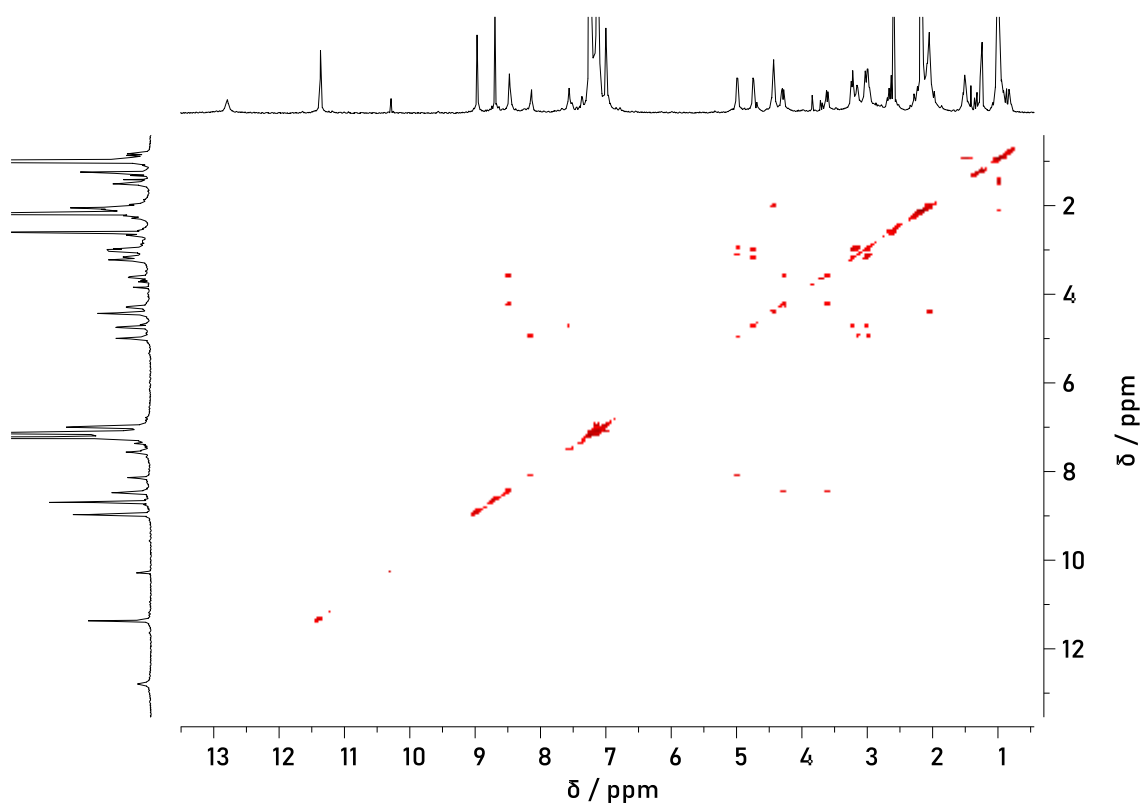
HR-MS (ESI-TOF): obliczona masa m/z (C₁₄₄H₁₇₈N₂₄O₂₄)²⁺ [M+2H]²⁺: 2627,3435, wartość eksperymentalna: 2627,3428.



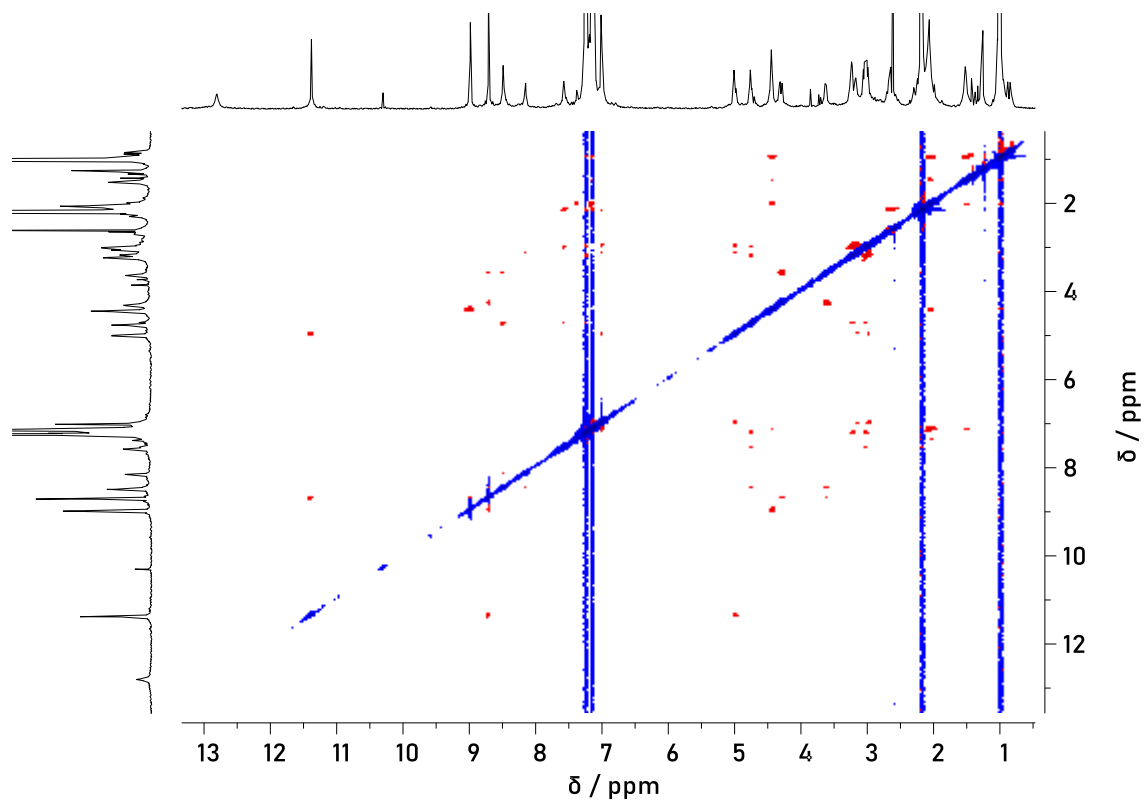
Rys. 170 Widmo ¹H NMR związku **201** (CDCl₃, 298 K, 600 MHz).



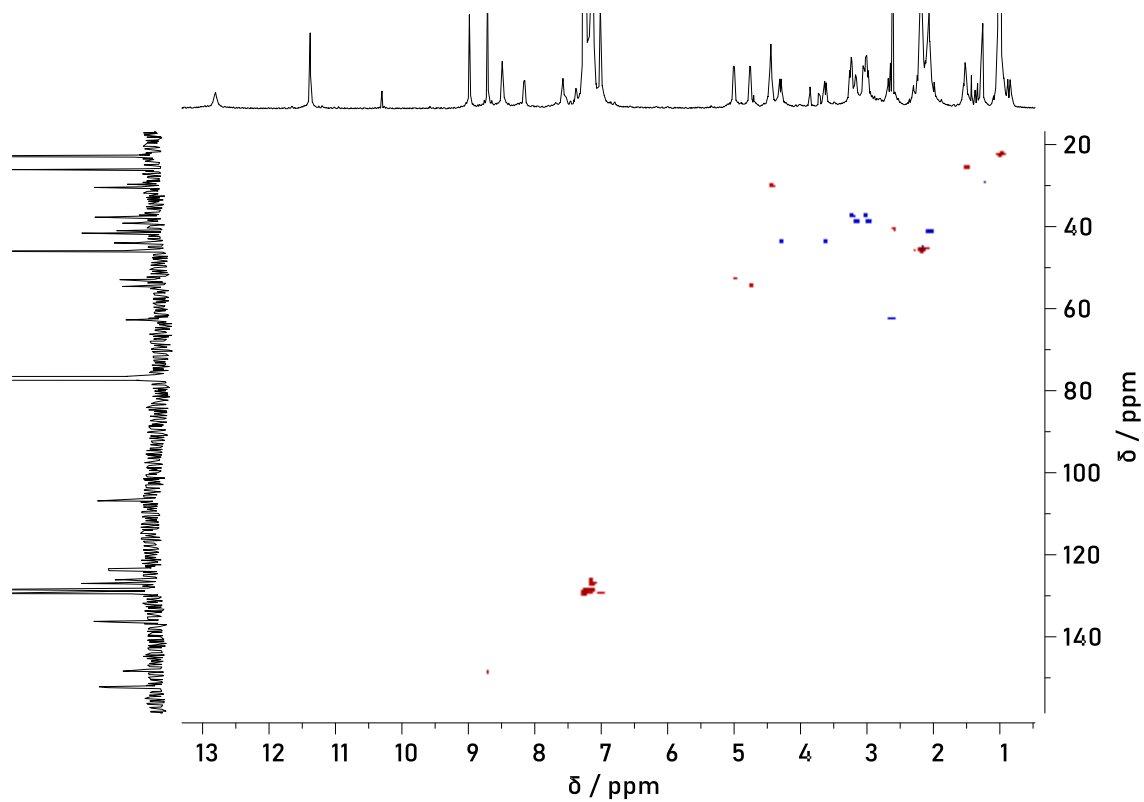
Rys. 171 Widmo ^{13}C NMR związku **201** (CDCl_3 , 298 K, 150 MHz).



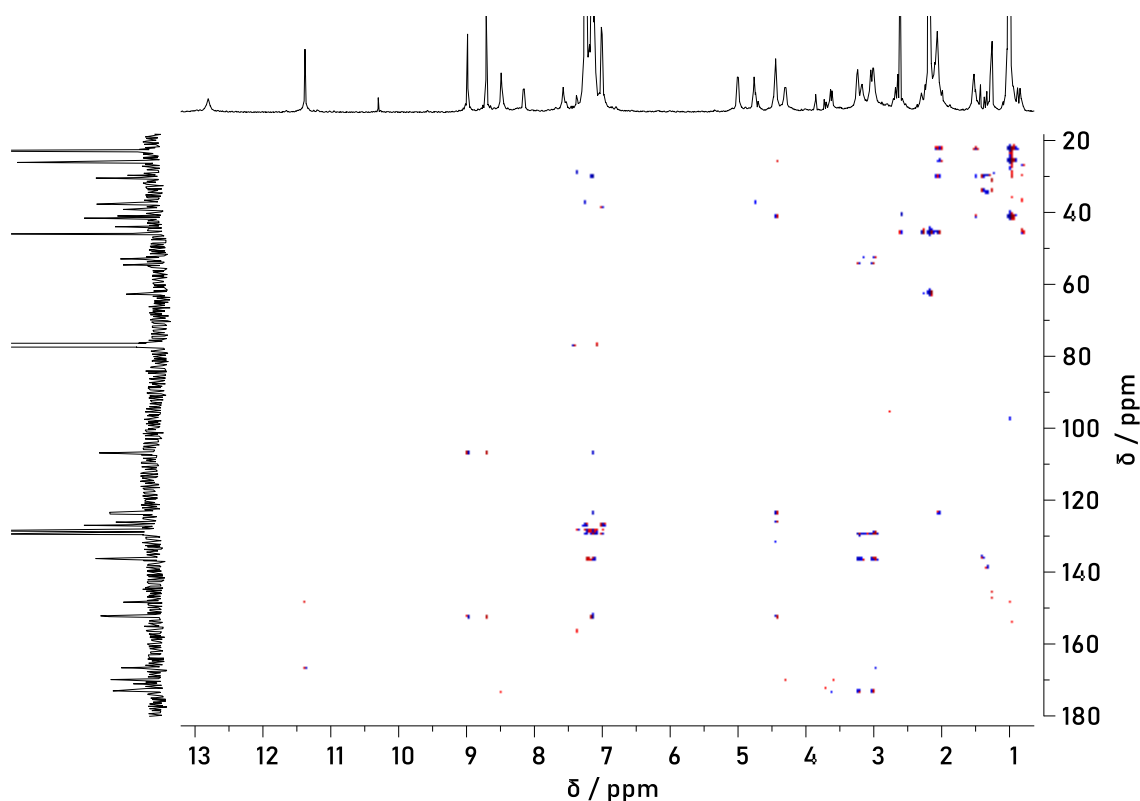
Rys. 172 Widmo ^1H - ^1H COSY NMR związku **201** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 173 Widmo ^1H - ^1H ROESY NMR związku **201** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).

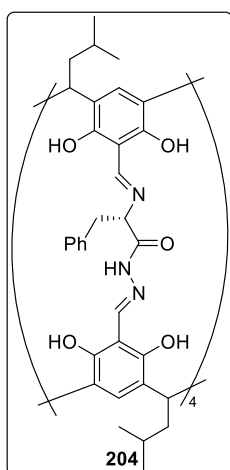


Rys. 174 Widmo ^1H - ^{13}C HSQC NMR związku **201** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 175 Widmo ^1H - ^{13}C HMBC NMR związku **201** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).

204



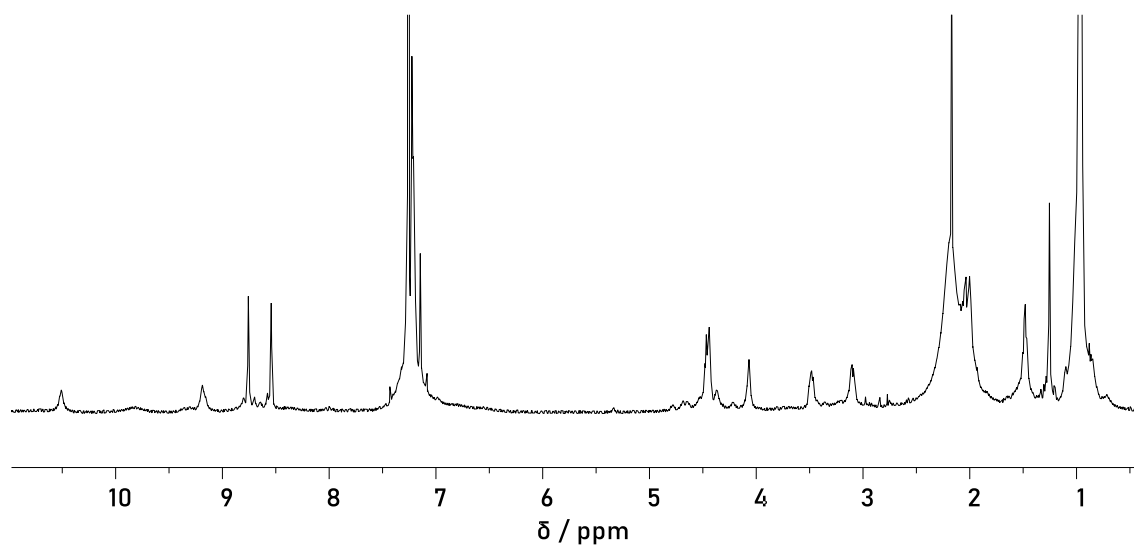
Związek **166** (0,2 mmol, 36 mg), związek **136** (0,1 mmol, 83 mg) oraz związek **137a** (0,2 mmol, 36 mg) rozpuszczono w CHCl_3 (2 ml) w zamkniętym naczyniu i ogrzewano w $70\text{ }^\circ\text{C}$. Po 20 godzinach mieszaninę reakcyjną ochłodzono i przemyto 5% roztworem kw. cytrynowego w H_2O (1 ml). Fazę organiczną osuszono MgSO_4 , odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymano produkt **204** (0,048 mmol, 106 mg) jako żółty osad z wydajnością 95%.

^1H NMR (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz): δ 10,51 (bs, 4H); 9,18 (bs, 4H); 8,76 (s, 4H); 8,54 (s, 4H); 7,31-7,11 (m, 20H+4H+4H); 4,57-4,33 (m, 4H+ 4H); 4,07 (bs, 4H); 3,48 (dd, $J = 8,9, 8,1$ Hz, 4H); 3,48 (dd, $J = 8,9, 8,1$ Hz, 4H); 2,08-1,96 (m, 4H+4H+4H+4H); 1,52-1,43 (m, 4H+4H); 0,99-0,94 (m, 24H+24H).

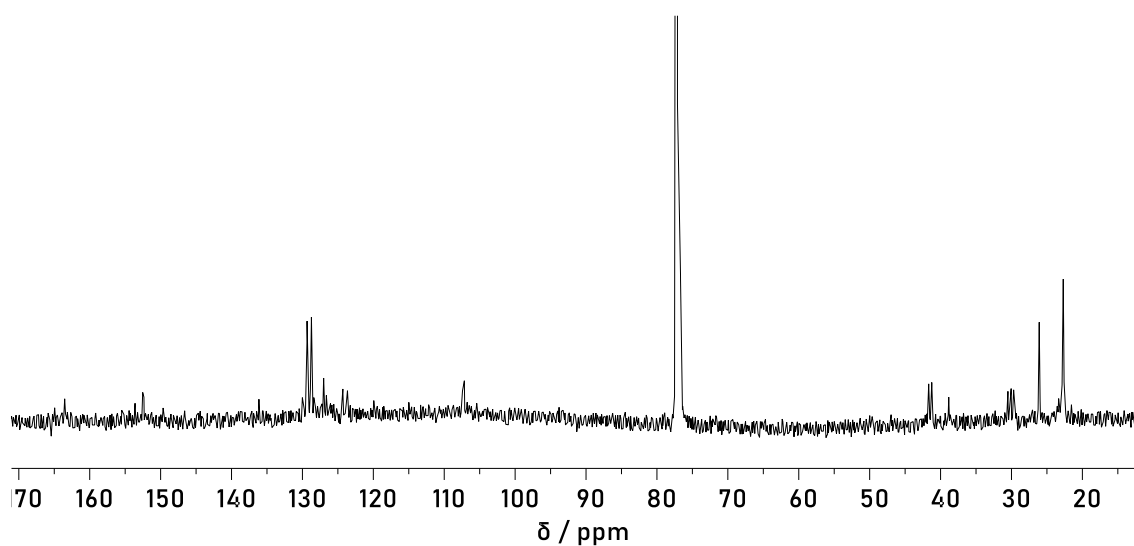
^{13}C NMR (CDCl_3 , 298 K, 150 MHz): δ 164,9; 163,5; 153,6; 152,5; 152,4; 136,1; 129,3; 128,7; 127,0; 124,3; 123,7; 107,4; 107,2; 71,7; 41,7; 41,2; 38,8; 30,5; 30,0; 26,16; 26,09; 22,82; 22,73; 22,69; 22,64.

DOSY NMR (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz) $3,6 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

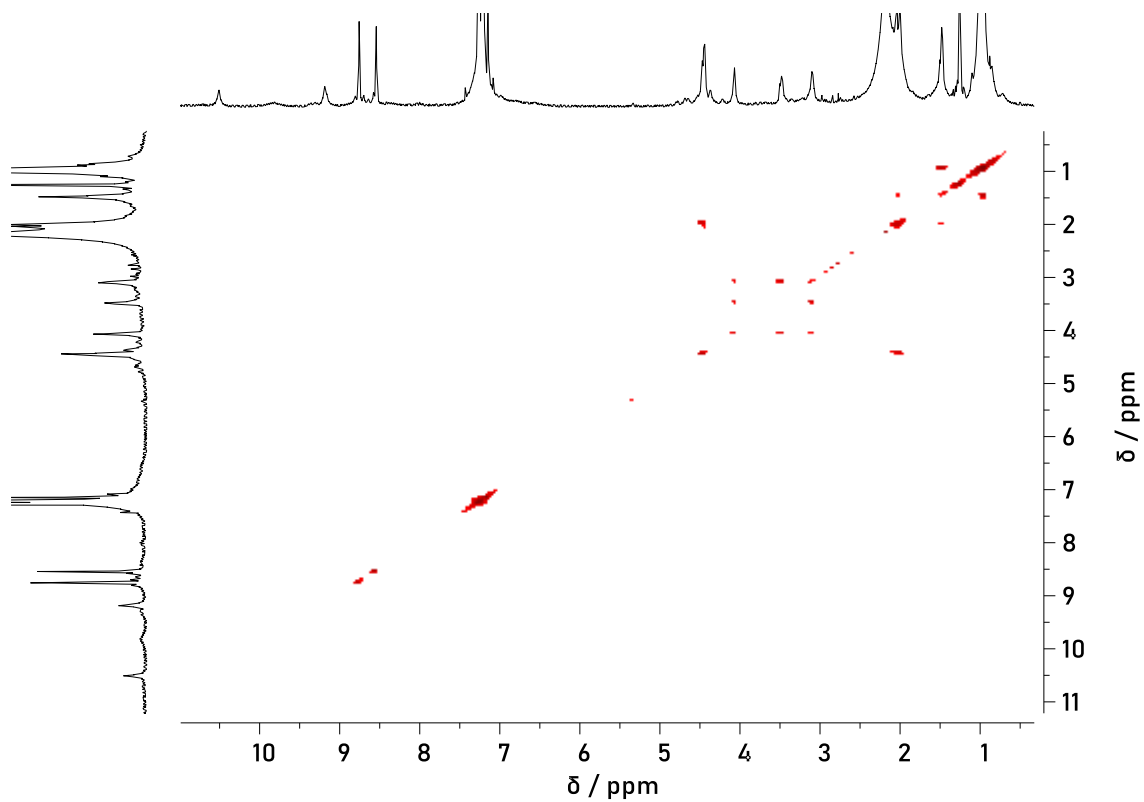
HR-MS (ESI-TOF): obliczona masa m/z ($C_{132}H_{146}N_{12}O_{20}$)²⁻ [M-2H]²⁻: 2219,0765, wartość eksperymentalna: 2219,0712.



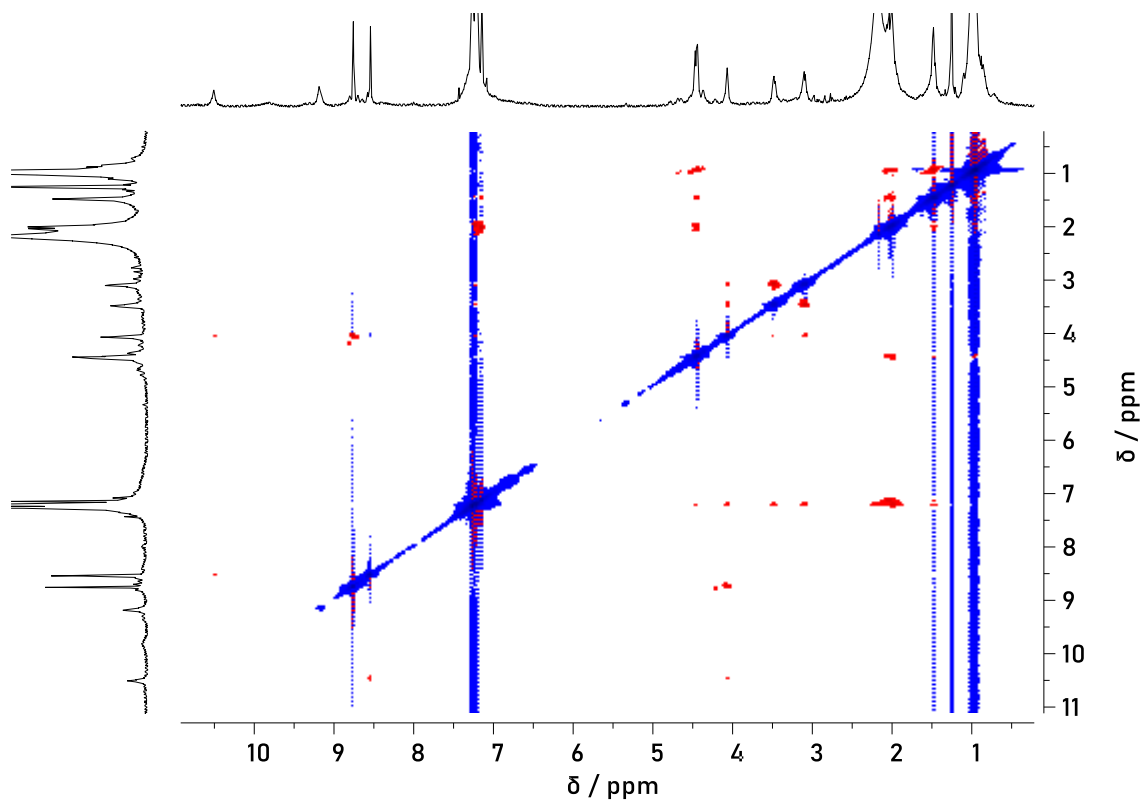
Rys. 176 Widmo ¹H NMR związku **204** (CDCl₃, 298 K, 600 MHz).



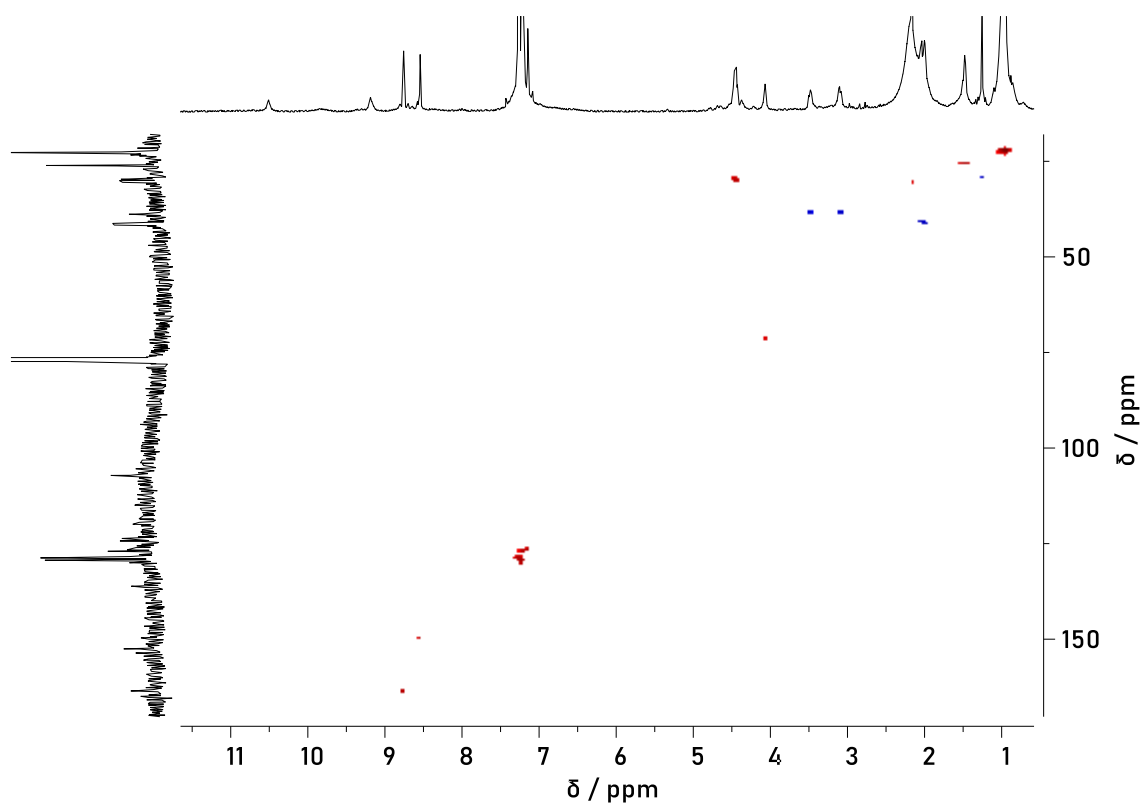
Rys. 177 Widmo ¹³C NMR związku **204** (CDCl₃, 298 K, 150 MHz).



Rys. 178 Widmo ^1H - ^1H COSY NMR związku **204** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



Rys. 179 Widmo ^1H - ^1H ROESY NMR związku **204** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).



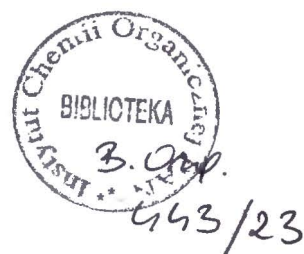
Rys. 180 Widmo ^1H - ^{13}C HSQC NMR związku **204** (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz).

6. LITERATURA

- ¹ J. M. Lehn, *Science*, **1993**, *260*, 1763–1763.
- ² N. Busschaert, C. Caltagirone, W. V. Rossom, P. A. Gale, *Chem. Rev.*, **2015**, *115*, 8038–8155.
- ³ N. L. Strutt, R. S. Forgan, J. M. Spruell, Y. Y. Botros, J. F. Stoddart, *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133*, 5668–5671.
- ⁴ C. J. Brown, F. D. Toste, R. G. Bergman, K. N. Raymond, *Chem. Rev.*, **2015**, *115*, 3012–3035.
- ⁵ D. J. Cram, *Nature*, **1992**, *356*, 29–36.
- ⁶ N. M. Sangeetha, U. Maitra, *Chem. Soc. Rev.*, **2005**, *34*, 821–836.
- ⁷ T. Kato, N. Mizoshita, K. Kishimoto, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, *45*, 38–68.
- ⁸ T. Friščić, S. L. James, E. V. Boldyreva, C. Bolm, W. Jones, J. Mack, J. W. Steed, K. S. Suslick, *Chem. Commun.*, **2015**, *51*, 6248–6256.
- ⁹ S. L. James, et al., *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, *41*, 413–447.
- ¹⁰ D. Tan, T. Friščić, *Eur. J. Org. Chem.*, **2018**, 18–33.
- ¹¹ T. Friščić, C. Mottillo, H. M. Titi, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2020**, *59*, 1018–1029.
- ¹² T. Friščić, *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, *41*, 3493–3510.
- ¹³ F. Toda, K. Tanaka, A. Sekikawa, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1987**, 279–280.
- ¹⁴ A. Orita, L. Jiang, T. Nakano, N. Ma, J. Otera, *Chem. Commun.*, **2002**, 1362–1363.
- ¹⁵ M. Fujita, S.-Y. Yu, T. Kusukawa, H. Funaki, K. Ogura, K. Yamaguchi, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **1998**, *37*, 2082–2085.
- ¹⁶ M. Fujita, J. Yazaki, K. Ogura, *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 5645–5647.
- ¹⁷ J. Antesberger, G. W. V. Cave, M. C. Ferrarelli, M. W. Heaven, C. L. Raston, J. L. Atwood, *Chem. Commun.*, **2005**, 892–894.
- ¹⁸ B. Içli, N. Christinat, J. Tönnemann, C. Schüttler, R. Scopelliti, K. Severin, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, 3154–3155.
- ¹⁹ A. Pichon, A. Lazuen-Garay, S. L. James, *CrystEngComm*, **2006**, *8*, 211–214.
- ²⁰ C. Giri, P. K. Sahoo, R. Puttreddy, K. Rissanen, P. Mal, *Chem. Eur. J.*, **2015**, *21*, 6390–6393.
- ²¹ P. Mal, J. R. Nitschke, *Chem. Commun.*, **2010**, *46*, 2417–2419.
- ²² P. J. Stang, B. Olenyuk, D. C. Muddiman, R. D. Smith, *Organometallics*, **1997**, *16*, 3094–3096.
- ²³ Y. Nishioka, T. Yamaguchi, M. Kawano, M. Fujita, *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 8160–8161.
- ²⁴ M. Fujita, D. Oguro, M. Miyazawa, H. Oka, K. Yamaguchi, K. Ogura, *Nature*, **1995**, *378*, 469–471.
- ²⁵ O. Chepelin, J. Ujma, X. Wu, A. M. Z. Slawin, M. B. Pitak, S. J. Coles, J. Michel, A. C. Jones, P. E. Barran, P. J. Lusby, *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, *134*, 19334–19337.
- ²⁶ T. Liu, Y. Liu, W. Xuan, Y. Cui, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 4121–4124.
- ²⁷ C. Gütz, R. Hovorka, C. Klein, Q.-Q. Jiang, C. Bannwarth, M. Engeser, C. Schmuck, W. Assenmacher, W. Mader, F. Topić, K. Rissanen, S. Grimme, A. Lützen, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, *53*, 1693–1698.
- ²⁸ C. Klein, C. Gütz, M. Bogner, F. Topić, K. Rissanen, A. Lützen, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, *53*, 3739–3742.
- ²⁹ T. R. Schulte, J. J. Holstein, G. H. Clever, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2019**, *58*, 5562–5566.
- ³⁰ Y. Ding, C. Shen, F. Gana, J. Wanga, G. Zhanga, L. Li, M. Shu, B. Zhu, J. Crassous, H. Qiu, *Chin. Chem. Lett.*, **2021**, *32*, 3988–3992.
- ³¹ K. Li, L.-Y. Zhang, C. Yan, S.-C. Wei, M. Pan, L. Zhang, C.-Y. Su, *J. Am. Chem. Soc.*, **2014**, *136*, 4456–4459.
- ³² K. Wu, K. Li, Y.-J. Hou, M. Pan, L.-Y. Zhang, L. Chen, C.-Y. Su, *Nat. Commun.*, **2016**, *7*, 10487.
- ³³ J. L. Bolliger, A. M. Belenguer, J. R. Nitschke, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, *52*, 7958–7962.
- ³⁴ D.-H. Ren, D. Q., C.-Y. Pang, Z. Li, Z.-G. Gu, *Chem. Commun.*, **2015**, *51*, 788–791.
- ³⁵ Y. Yang, J.-H. Jia, X.-L. Pei, H. Zheng, Z.-A. Nana, Q.-M. Wang, *Chem. Commun.*, **2015**, *51*, 3804–3807.
- ³⁶ Y. Yang, Y. Wu, J.-H. Jia, X.-Y. Zheng, Q. Zhang, K.-C. Xiong, Z.-M. Zhang, Q.-M. Wang, *Cryst. Growth Des.*, **2018**, *18*, 4555–4561.

- ³⁷ C. Zhao, Q.-F. Sun, W. M. Hart-Cooper, A. G. DiPasquale, F. D. Toste, R. G. Bergman, K. N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, *135*, 18802–18805.
- ³⁸ C. Zhao, F. D. Toste, K. N. Raymond, R. G. Bergman, *J. Am. Chem. Soc.*, **2014**, *136*, 14409–14412.
- ³⁹ L.-L. Yan, C.-H. Tan, G.-L. Zhang, L.-P. Zhou, J.-C. Bünzli, Q.-F. Sun, *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, *137*, 8550–8555.
- ⁴⁰ K.-H. Yim, C.-T. Yeung, M. R. Probert, W. T. K. Chan, L. E. Mackenzie, R. Pal, W.-T. Wong, G.-L. Law, *Commun. Chem.*, **2021**, *4*, 116.
- ⁴¹ W. Xue, T. K. Ronson, Z. Lu, J. R. Nitschke, *J. Am. Chem. Soc.*, **2022**, *144*, 6136–6142.
- ⁴² C. García-Simón, R. Gramage-Doria, S. Raouf-moghaddam, T. Parella, M. Costas, X. Ribas, J. N. H. Reek, *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, *137*, 2680–2687.
- ⁴³ Y. Ye, T. R. Cook, S.-P. Wang, J. Wu, S. Li, P. J. Stang, *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, *137*, 11896–11899.
- ⁴⁴ A. J. Terpin, M. Ziegler, D. W. Johnson, K. N. Raymond, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, *40*, 157–160.
- ⁴⁵ S. Wan, L.-R. Lin, L. Zeng, Y. Lina, H. Zhang, *Chem. Commun.*, **2014**, *50*, 15301–15304.
- ⁴⁶ P. Mal, D. Schultz, K. Beyeh, K. Rissanen, J. R. Nitschke, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2008**, *47*, 8297–8301.
- ⁴⁷ P. Bonakdarzadeh, F. Pan, E. Kalenius, O. Jurček, K. Rissanen, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2015**, *54*, 14890–14893.
- ⁴⁸ K. Harris, D. Fujita, M. Fujita, *Chem. Commun.*, **2013**, *49*, 6703–6712.
- ⁴⁹ K. Suzuki, M. Kawano, S. Sato, M. Fujita, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 10652–10653.
- ⁵⁰ D. Fujita, K. Suzuki, S. Sato, M. Yagi-Utsumi, Y. Yamaguchi, N. Mizuno, T. Kumasaka, M. Takata, M. Noda, S. Uchiyama, K. Kato, M. Fujita, *Nat. Commun.*, **2012**, *3*, 1093.
- ⁵¹ M. Ikemi, T. Kikuchi, S. Matsumura, K. Shiba, S. Sato, M. Fujita, *Chem. Sci.*, **2010**, *1*, 68–71.
- ⁵² L. Chen, J. Kang, H. Cui, Y. Wang, L. Liu, L. Zhang, C.-Y. Su, *Dalton Trans.*, **2015**, *44*, 12180–12188.
- ⁵³ S. A. Boer, K. F. White, B. Slater, A. J. Emerson, G. P. Knowles, W. A. Donald, A. W. Thornton, B. P. Ladewig, T. D. M. Bell, M. R. Hill, A. L. Chaffee, B. F. Abrahams, D. R. Turner, *Chem. Eur. J.*, **2019**, *25*, 8489–8493.
- ⁵⁴ C. Zhu, H. Tang, K. Yang, Y. Fang, K.-Y. Wang, Z. Xiao, X. Wu, Y. Li, J. A. Powell, H.-C. Zhou, *J. Am. Chem. Soc.*, **2021**, *143*, 12560–12566.
- ⁵⁵ B. Kuberski, A. Szumna, *Chem. Commun.*, **2009**, 1959–1961.
- ⁵⁶ M. Wierzbicki, A. Szumna, *Chem. Commun.*, **2013**, *49*, 3860–3862.
- ⁵⁷ M. Grajda, M. Wierzbicki, P. Cmoch, A. Szumna, *J. Org. Chem.*, **2013**, *78*, 11597–11601.
- ⁵⁸ H. Jędrzejewska, M. Wierzbicki, P. Cmoch, K. Rissanen, A. Szumna, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, *53*, 13760–13764.
- ⁵⁹ H. Jędrzejewska, A. Szumna, *Chem. Sci.*, **2019**, *10*, 4412–4421.
- ⁶⁰ M. Szymański, M. Wierzbicki, M. Gilski, H. Jędrzejewska, M. Sztylko, P. Cmoch, A. Shkurenko, M. Jaskólski, A. Szumna, *Chem. Eur. J.*, **2016**, *22*, 3148–3155.
- ⁶¹ R. S. Ruoff, D. S. Tse, R. Malhotra, D. C. Lorents, *J. Phys. Chem.*, **1993**, *97*, 3379–3383.
- ⁶² M. J. Frisch, et al., *Gaussian 09, Revision D.01*, Gaussian, Inc., Wallingford, CT, **2009**.
- ⁶³ M. P. Szymański, H. Jędrzejewska, M. Wierzbicki, A. Szumna, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2017**, *19*, 15676–15680.
- ⁶⁴ M. Grajda, M. J. Lewińska, A. Szumna, *Org. Biomol. Chem.*, **2017**, *15*, 8513–8517.
- ⁶⁵ M. P. Szymański, M. Grajda, A. Szumna, *Molecules*, **2021**, *26*, 7100–7108.
- ⁶⁶ M. Gilski, P. Bernatowicz, A. Sakowicz, M. P. Szymański, A. Zalewska, A. Szumna, M. Jaskólski, *Acta Cryst. B*, **2020**, *76*, 815–824.
- ⁶⁷ M. Szymański, *Praca Inżynierska „Synteza oraz właściwości hydrazonowych kawitandów i kapsuł molekularnych opartych na szkielecie rezorcyn[4]arenu”*, *Politechnika Warszawska Wydział Chemiczny*, Warszawa **2015**
- ⁶⁸ M. P. Szymański, J. S. Czajka, P. Cmoch, W. Iwanek, A. Szumna, *Supramol. Chem.*, **2018**, *30*, 430–437.
- ⁶⁹ M. Szymański, *Praca Magisterska „Synteza, badania stabilności oraz właściwości kompleksujących hydrazonowych kapsuł molekularnych”*, *Politechnika Warszawska Wydział Chemiczny*, Warszawa **2016**
- ⁷⁰ A. J. Metrano, S. J. Miller, *J. Org. Chem.*, **2014**, *79*, 1542–1554.

-
- ⁷¹ R. Pierre, F. Gaigne, G. El-Bazbouz, G. Mouis, G. Ouvry, L. Tomas, C. S. Harris, *Synlett*, **2018**, 29, 1102–1106.
- ⁷² G. He, Y. Zhao, S. Zhang, C. Lu, G. Chen, *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, 134, 3–6.
- ⁷³ A. M. Blanco-Rodríguez, M. Towrie, J. Sýkora, S. Záliš, A. Vlček Jr., *Inorg. Chem.*, **2011**, 50, 6122–6134.
- ⁷⁴ N. Bouzayani, S. Marque, Y. Kacem, J. Krařem, F. Bourdreux, J. Marrotb, B. Ben Hassine, *New J. Chem.*, **2019**, 43, 4777–4786.
- ⁷⁵ P. A. Ottersbach, G. Schnakenburg, M. Gütschow, *Tetrahedron Letters*, **2015**, 56, 4889–4891.



Biblioteka Instytutu Chemii Fizycznej PAN

O-B.443/23



1000000110508