

Jarosław Granda

**Funkcjonalizowane monosacharydami
receptory w rozpoznaniu chiralnym anionów**

Praca doktorska przedstawiona

Radzie Naukowej

Instytutu Chemii Organicznej

Polskiej Akademii Nauk

Promotor: Prof. dr hab. Janusz Jurczak

A-21-6
K-C-123
K-C-132
K-g-152
K-C-125
K-C-130

Biblioteka Instytutu Chemii Organicznej PAN

O-B.364/14



90000000190995

Warszawa 2014



B. Org. 364/14

Panu Profesorowi Januszowi Jurczakowi
bardzo dziękuje za zaproponowanie interesującego
tematu pracy, cenne dyskusje oraz pomoc
i opiekę w czasie jej wykonywania

Dziękuję Koleżankom i Kolegom z Zespołu VIII
za miłą atmosferę pracy

Wyniki przedstawione w pracy zostały częściowo opublikowane:

1. J.M. Granda, J. Jurczak, *Org. Lett.* **2013**, 15, 4730-4733.
2. J.M. Granda, J. Jurczak, *Chem. Eur. J.* **2014**, 20, 12368-12372.
3. J.M. Granda, O. Staszewska-Krajewska, J. Jurczak, *Chem. Eur. J.* **2014**, 20, 12790-12795.
4. J.M. Granda, J. Jurczak, *Curr. Org. Chem.* **2014**, 18, 1886-1896.
5. *Carbohydrate Chemistry*, **2014**, 40, Chapter 21: J.M. Granda, J. Jurczak, Sugar decorated receptors for chiral anions.

Praca doktorska została wykonana
w ramach projektu POIG.01.01.02-14-102/09
„Cukry jako surowce odnawialne w syntezie produktów o wysokiej wartości dodanej”.
Badania były współfinansowane przez Unię Europejską
z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego.



INNOWACYJNA GOSPODARKA
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI



UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI FUNDUSZ
ROZWOJU REGIONALNEGO



Spis używanych skrótów

Ac - grupa acetylowa
ANN - sztuczna sieć neuronowa
Asn - asparagina
 α - selektywność
DFT - teoria funkcjonału gęstości
DMF - *N,N*-dimetyloformamid
DCM - dichlorometan
DCI - karbonyldiimidazol
DCC - *N,N'*-dicykloheksylokarbodiimid
DMSO - dimetylosulfotlenek
ESI - źródło jonów *elektrosprej*
G - cząsteczka gościa
Glu - kwas glutaminowy
H - cząsteczka gospodarza
K - stała trwałości
Leu - leucyna
Me - grupa metylowa
PCA - analiza głównych składowych
Ph - grupa fenylowa
PCT - fotoindukowany transfer ładunku
Phe - fenyloalanina
Phg - fenyloglicyna
PET - fotoindukowany transfer elektronu
Ser - seryna
Met - metionina
RAS - Rentgenowska Analiza Strukturalna
TBA - kation tetrabutylamoniowy
TMA - kation tetrametylamoniowy
TOF - analizator czasu przelotu
THF - tetrahydrofuran
TLC - chromatografia cienkowarstwowa
Trp - tryptofan
Val - walina
Trp - tryptofan
T.t. - temperatura topnienia

SPIS TREŚCI

1. Założenia i cel pracy	1
2. Część Literaturowa.....	4
2.1. Wstęp.....	4
2.2. Synteza i właściwości kompleksujące chiralnych receptorów na kationy	9
2.3. Synteza i właściwości kompleksujące chiralnych receptorów na aniony	17
2.3.1. Przegląd wybranych motywów strukturalnych używanych w konstrukcji enancjoselektywnych receptorów na aniony	17
2.3.2. Monosacharydy w receptorach wiążących achiralne aniony	27
2.3.3. Monosacharydy w receptorach wiążących chiralne aniony	33
2.4. Podsumowanie	37
3. Badania własne.....	39
3.1. Wprowadzenie.....	39
3.2. Synteza i właściwości kompleksujące receptora wywodzącego się z diindolometanu i kwasu D-glukuronowego	39
3.3. Użycie przesunięć chemicznych receptora do wyznaczania konfiguracji α -karboksylanów.....	51
3.3.1. Krótkie wprowadzenie do sztucznych sieci neuronowych.....	51
3.3.2. Sztuczna sieć neuronowa w rozpoznaniu chiralności	55
3.3. Synteza nowej platformy bispirolobenzenowej i jej właściwości kompleksujące.....	61
3.3.1. Próba syntezy monosacharydowej pochodnej bispirolobenzenu	71
4. Podsumowanie i wnioski.....	73
5. Część eksperymentalna	76
5.1. Uwagi ogólne	76
5.2. Synteza receptorów	77
5.3. Badania właściwości kompleksujących	83
5.4. Ustalenie stechiometrii - metodą Joba	88
5.5. Modelowanie molekularne receptora 82 z anionami fluorkowymi.....	90
5.6. Badanie wpływu anionów fluorkowych na bariere rotacji receptora 82	91
5.7. Dane krystalograficzne.....	96
5.8. Zmiany przesunięć chemicznych grup metylowych i acetylowych receptora 74 używane do wyznaczania chiralności anionowych gości z użyciem ANN	98
6. Bibliografia.....	103
Aneks. Program do trenowania i testowania sztucznej sieci neuronowej.....	a

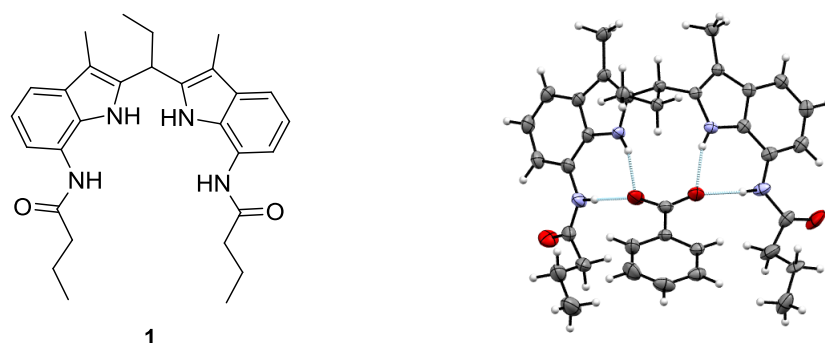
1. Założenia i cel pracy

O ile klasyczna chemia zajmuje się konstrukcją cząsteczek poprzez tworzenie i modyfikacje wiązań kowalencyjnych, o tyle chemia supramolekularna bada subtelniejsze oddziaływania pomiędzy molekułami, wynikające z oddziaływań słabych (oddziaływań dyspersyjnych, van der Waalsa, wiązań wodorowych, wiązań koordynacyjnych, itp.). Chemia supramolekularna została określona przez Jean-Marie Lehna w jego Noblowskim Wykładzie jako „chemia poza cząsteczką”.^[1] Wiązanie substratu przez receptor, przebiegające z utworzeniem kompleksu supramolekularnego (supercząsteczki), poprzedzone jest procesem rozpoznania molekularnego. Oddziaływania pomiędzy molekułami, chociaż słabe, zmnożone mogą prowadzić do modyfikacji strukturalnych lub generowania ciekawych właściwości powstałej supercząsteczki.

Chemia supramolekularna miała swój początek w rozpoznaniu kationów metali grupy I i II przez etery koronowe, ale relatywnie szybko zaczęła ewoluować w kierunku rozpoznania kationów amoniowych. Jedną z głównych gałęzi chemii supramolekularnej, której poświęca się ostatnio duże zainteresowanie, są badania obojętnych receptorów na aniony, wiążących je poprzez słabe oddziaływania, głównie wiązania wodorowe.^[2-6] Rozpoznanie anionów jest z kilku powodów o wiele trudniejsze, w porównaniu do analogicznego procesu rozpoznania kationów. Po pierwsze, aniony wykazują wysoce zróżnicowaną geometrię, począwszy od kulistych anionów halogenkowych, poprzez trygonalny anion azotanowy, aż po oktaedryczne aniony heksafluorofosforanowe. Ponadto, aniony ulegają silnej solwatacji i charakteryzują się znacznie mniejszą gęstością ładunku niż analogiczne kationy, co wynika z większego promienia jonowego. Z powyższych powodów, rozpoznaniem anionów zaczęto zajmować się dopiero w ostatnim dwudziestoleciu. Najczęściej rozpoznanie anionów realizowane jest z użyciem donorów wiązania wodorowego, takich jak amidy,^[7-11] (tio)moczniki^[12] i heterocykliczne NH (np. pirolowe,^[13] karbazolowe^[14]).

W Zespole VIII ICHO PAN, moi poprzednicy zajmowali się, między innymi, rozpoznaniem anionów przez pochodne 7-aminoindolu^[15] i diindolometanu.^[16] Receptor

diindolometanowy wykazywał znakomite powinowactwo do oksoanionów, nawet w wymagających rozpuszczalnikach, takich jak mieszaniny DMSO/H₂O czy MeOH. Rysunek 1 przedstawia receptor diindolometanowy **1** i strukturę jego kompleksu z anionem benzooesanowym, wynikającą z Rentgenowskiej Analizy Strukturalnej (RAS). Warty podkreślenia jest doskonale dopasowanie tego motywu wiążącego do geometrii anionu karboksylanowego.



Rysunek 1. Diindolometanowy receptor **1** i struktura jego kompleksu z anionem benzooesanowym (RAS)

Pomimo ogromnych postępów w rozwoju supramolekularnej chemii anionów, wciąż niewiele wiadomo na temat ich chiralnego rozpoznania. Chiralne rozpoznanie jest jednym z najsubtelniejszych rodzajów rozpoznania, bowiem jedyna różnica pomiędzy enancjomerycznymi gośćmi polega na ich przestrzennym zróżnicowaniu (różna kolejność podstawników według konwencji Cahn-Ingolda-Preloga). Do skutecznej realizacji procesu chiralnego rozpoznania niezbędne jest precyzyjne dopasowanie gość-gospodarz. Ponadto, chiralne rozpoznanie jest zjawiskiem powszechnie spotykanym w biologii, gdzie większość cząsteczek, występujących w organizmach żywych, jest chiralna. Jednym z najbardziej spektakularnych fenomenów tego zjawiska jest fakt, że właściwości biologiczne jednego enancjomeru mogą diametralnie różnić się od drugiego z nich. Głębsze zrozumienie procesów chiralnego rozpoznania może znaleźć zastosowanie przy projektowaniu nowych katalizatorów reakcji enancjoselektywnych, czy też w chemii analitycznej, przy konstruowaniu sensorów na chiralne aniony oraz chiralnych faz chromatograficznych. Z powyższych powodów zdecydowałem się zsyntezować hybrydowy receptor diindolometan–kwas D-glukuronowy i zbadać jego zdolność do wiązania achiralnych anionów w tak wymagającym rozpuszczalniku jak mieszanina (DMSO i H₂O). Miało to umożliwić zbadanie wpływu fragmentów cukrowych na właściwości wiążące tego typu receptorów. Z drugiej strony, cukry są w biologii ważnym

elementem odpowiedzialnym za rozpoznanie molekularne (receptory ściany komórkowej)^[17] oraz są dogodnym odnawialnym źródłem chiralności.

Mając na uwadze funkcje, jakie pełnią aniony karboksylanowe w biologii (np. α -hydroksykwasy, aminokwasy), zdecydowałem się zbadać ich chiralne rozpoznanie przez wyżej opisany receptor, przy użyciu techniki miareczkowania pod kontrolą ^1H NMR, w wymagających, wspomnianych wyżej, rozpuszczalnikach. Po zbadaniu jego zdolności do chiralnego rozpoznania anionów, planowałem badania strukturalne z użyciem zaawansowanych technik NMR i RAS, które pozwoliłyby na wyjaśnienie mechanizmu chiralnego rozpoznania i dały wskazówki co do projektowania nowych, efektywnych receptorów, jak również nowych platform, które mogą być użyte do ich konstrukcji.

2. Część Literaturowa

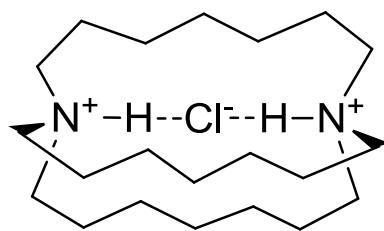
2.1. Wstęp

Chiralne rozpoznanie jest jednym z najbardziej istotnych, a przy tym trudnych, zagadnień chemii supramolekularnej. Rozróżnienie pomiędzy enancjomerami jest bardzo subtelnym procesem, polegającym na dokładnym dopasowaniu jednego z nich do receptora. Chiralne rozpoznanie jest także powszechnym i podstawowym fenomenem w biologii. Większość biologicznie istotnych cząsteczek, zaczynając od aminokwasów, poprzez cukry do hormonów, jest chiralna i występuje w żywych organizmach w formie optycznie czystej. Żywe organizmy używają, jako bloków budulcowych, L-aminokwasów i D-cukrów, co definiuje „chiralną stronę życia”. Naturalną konsekwencją tego jest fakt, że duże biocząsteczki, takie jak białka, polisacharydy, czy kwasy nukleinowe, są również homochiralne. W większości przypadków enancjomery wykazują *in vivo* różne oddziaływania z otoczeniem.

Badania chiralnego rozpoznania uwarunkowane są wieloma czynnikami. Po pierwsze, zbadanie chiralnego rozpoznania może prowadzić do lepszego zrozumienia procesów zachodzących w naturze. Z kolei, szersza analiza enancjoróżnicujących receptorów powinna umożliwić projektowanie nowych, efektywniejszych katalizatorów reakcji enancjoselektywnych. Mogą one znaleźć szerokie zastosowania także w chemii analitycznej, np. jako fragmenty sensorów na chiralne jony, lub jako składniki chromatograficznych faz stacjonarnych.

Chemia supramolekularna, która miała swój początek w rozpoznaniu i kompleksowaniu kationów metali I i II grupy (oczywiście achiralnych), co zostało opisane przez Pedersena^[18, 19] i Crama,^[20] relatywnie szybko ewoluowała w kierunku rozpoznania kationów amoniowych i później ich chiralnych analogów. Ten ostatni przykład został zrealizowany poprzez wbudowanie cukru w strukturę eterów koronowych. Z drugiej strony, jakkolwiek pierwszy przykład rozpoznania anionu chlorkowego przez elektrycznie

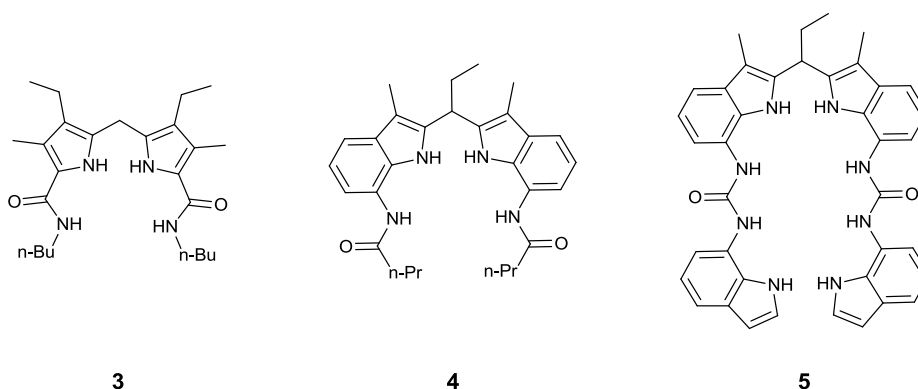
naładowany kryptand **2** (Rysunek 2) został opisany dość wcześnie,^[21] rozpoznanie anionów przez elektrycznie obojętne receptory zaczęło być realizowane dopiero w ostatnich latach.^[2-6]



2

Rysunek 2. Wiązanie anionu chlorkowego poprzez elektrycznie naładowany kryptand **2**

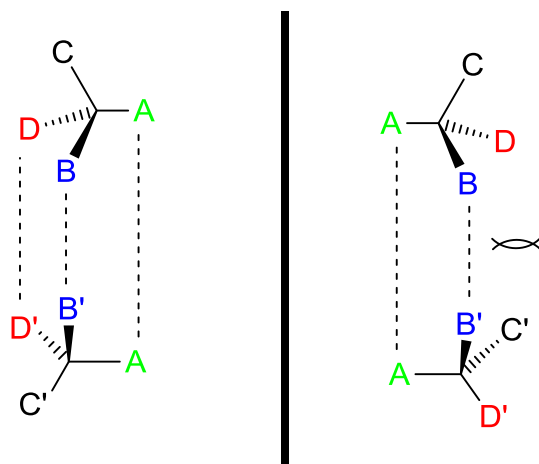
Projektowanie receptorów na aniony, oddziałujących z gościem poprzez wiązania wodorowe, jest jedną z najważniejszych gałęzi współczesnej chemii supramolekularnej.^[2-6, 22, 23] Przyjmuje się dwa czynniki odpowiedzialne za powinowactwo receptora do anionu: liczbę i siłę donorów wiązania wodorowego oraz ich odpowiednie ułożenie w przestrzeni. Wśród najczęściej używanych motywów, będących donorami wiązania wodorowego, znajdujemy amidy,^[7-11, 24-26] tioamidy,^[27] moczniki,^[12,28] tiomoczniki,^[29] a także heterocykliczne NH.^[13] Heterocykliczne NH, np. indolowe, pirolowe, czy karbazolowe, mają tę zaletę, że są wyłącznie donorami wiązania wodorowego, nie będąc jednocześnie jego akceptorami, co wyklucza niekorzystne wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe, które mogą spowodować spadek powinowactwa do anionów. Ponadto zaobserwowano, że im bardziej kwaśny proton w grupie donorowej, tym większa zdolność do tworzenia wiązania wodorowego. W przypadku heterocyklicznych NH, jako donorów wiązania wodorowego, ich kwasowość można zwiększyć nie tylko poprzez podstawniki elektronoakceptorowe w pierścieniu, ale również poprzez wymuszenie delokalizacji elektronów. Miarą tej delokalizacji są wartości pKa, np. dla pirolu 23,0 i dla indolu 20,9.^[30] Gale i współpracownicy^[31] otrzymali bisamidopirolometany typu **3** (Rysunek 3), które wiązały aniony nawet w bardzo wymagających rozpuszczalnikach.



Rysunek 3. Receptory **3-5**, bazujące na pirolu i indolu

Następnie, brytyjscy autorzy postanowili wyznaczyć stałe trwałości dla kompleksów receptora **3** z prostymi anionami. Stałe trwałości zostały wyznaczone za pomocą miareczkowań pod kontrolą ^1H NMR, w mieszaninie $\text{DMSO-}d_6$ z wodą (95:5 v/v). Receptor **3** wiązał anion fluorkowy i benzoesanowy ze stochiometrią 1:1 oraz z dużymi stałymi trwałości (odpowiednio 7560 i 354 M^{-1}). W naszym laboratorium, znacząca poprawa właściwości wiążących podobnych receptorów, została osiągnięta w wyniku zastąpienia amidopirolu przez blok amidoindolowy,^[16] tak jak ma to miejsce w receptorze **4** (Rysunek 3). Ten, oparty na indolometanie, receptor wykazywał wyjątkową zdolność wiązania oksoanionów w wymagających rozpuszczalnikach. Stała trwałości kompleksu związku **4** z anionem benzoesanowym ($K = 2060 \text{ M}^{-1}$ w $\text{DMSO-}d_6$ z wodą (95:5 v/v)) była około sześć razy większa w porównaniu z analogicznym kompleksem receptora **3**. Warto zauważyć, że receptory **3** i **4** posiadają podobne motywy wiążące i taką samą liczbę donorów wiązania wodorowego. Dalsze zwiększenie powinowactwa do anionów było możliwe poprzez zwiększenie liczby donorów wiązania wodorowego,^[32] tak jak w receptorze **5** (Rysunek 3). Taka zmiana strukturalna pozwoliła na skuteczne wiązanie anionów nawet w metanolu.

Analizując przebieg chiralnego rozpoznania, można łatwo zauważyć, że jego podstawą jest tworzenie się diastereomerycznych kompleksów receptora z chiralnym gościem, posiadających zróżnicowane stałe trwałości. Za podstawową regułą w projektowaniu chiralnych receptorów na aniony, przyjmuje się, że do wystąpienia chiralnego rozpoznania niezbędne są co najmniej trzy zdefiniowane oddziaływanie pomiędzy gościem a gospodarzem (Rysunek 4).^[33]



Rysunek 4. Model oddziaływania trójpunktowego tłumaczący chiralne rozpoznanie

Warto zauważyć, że nie wszystkie z tych oddziaływań mają charakter wiążący i często zdarza się, że niekorzystne oddziaływania steryczne odgrywają istotną rolę modyfikującą relacje gość–gospodarz, umożliwiającą zrozumienie danego przypadku chiralnego rozpoznania. Z praktycznego punktu widzenia, zamianie jednego enancjomeru na drugi, towarzyszy utrata jednego z oddziaływań wiążących, co powoduje obniżenie stałej trwałości utworzonego supramolekularnego połączenia.

Najczęściej, jako miarę chiralnego rozpoznania, przyjmuje się stosunek stałych trwałości dla enancjomerycznych gości α (1) lub różnicę energii swobodnej Gibbsa, zmierzonej dla procesów ich powstawania.

$$\alpha = \frac{K_R}{K_S} \quad (1)$$

Stosuje się wiele różnorodnych technik wyznaczania stałych trwałości w kompleksach supramolekularnych,^[34] z których najpopularniejszą jest miareczkowanie pod kontrolą ^1H NMR.^[35] Jedną z głównych zalet tej metody jest fakt, że oprócz możliwości wyznaczenia stałej trwałości kompleksu, daje ona informacje o strukturze tworzącego się kompleksu. Informacje te wynikają ze zmian przesunięć chemicznych protonów gospodarza lub gościa, indukowanych wiązaniem gościa.

Miareczkowanie pod kontrolą ^1H NMR polega na badaniu określonych wyżej zmian δ receptora, w zależności od stężenia dodanego gościa. Dla najprostszego modelu kompleksowania o stechiometrii 1:1, równowaga opisana jest wyrażeniem (2):



natomiast stała kompleksowania jest opisana przez równanie (3).

$$K = \frac{[HG]}{[H][G]} \quad (3)$$

Przy wyznaczaniu stałej trwałości, na ogół nie można wyznaczyć równowagowych stężeń kompleksu [HG] oraz wolnych składników – receptora [H] i gościa [G]. Podczas miareczkowania obserwuje się zmianę jednego z parametrów fizycznych układu, w zależności od liczby ekwiwalentów dodanego gościa, zazwyczaj z użyciem jednej (najdogodniejszej) z metod spektroskopowych. Wykres zmiany tej wielkości, w zależności od liczby dodanych ekwiwalentów gościa, nosi nazwę izotermy wiązania. Wyznaczanie stałych trwałości w kompleksach supramolekularnych przeprowadza się zazwyczaj przy stałym stężeniu gospodarza. Dla stechiometrii wiązania (1:1) daje się wyprowadzić stosunkowo prosty model matematyczny, wiążący zmianę wielkości fizycznej (ΔY) (w miareczkowaniu ^1H NMR jest to zmiana przesunięcia chemicznego, w miareczkowaniu UV/VIS zmiana absorbancji) z liczbą ekwiwalentów dodanego gościa. Dla miareczkowania pod kontrolą ^1H NMR, zmianę przesunięcia chemicznego pod wpływem kompleksowania opisuje równanie (4), gdzie $[H_0]$ jest początkowym stężeniem gospodarza, $[HG]$ jest równowagowym stężeniem kompleksu, $\delta_{\Delta HG}$ jest różnicą przesunięcia chemicznego pomiędzy supramolekularnym kompleksem i wolnym gospodarzem (zakładając proces szybki w skali czasu NMR).

$$\Delta\delta = \delta_{\Delta HG} \left(\frac{[HG]}{[H_0]} \right) \quad (4)$$

Można również wyprowadzić wzór (5) na równowagowe stężenie kompleksu [HG], w zależności od stężeń początkowych gospodarza i gościa oraz od stałej trwałości kompleksu K_a :

$$[HG] = \frac{1}{2} \left(G_0 + H_0 + \frac{1}{K_a} \right) - \sqrt{\left(G_0 + H_0 + \frac{1}{K_a} \right)^2 + 4[H_0][G_0]} \quad (5)$$

Wyznaczenie stałej trwałości K_a polega na dobraniu parametrów $\delta_{\Delta HG}$ i K_a tak, aby suma błędów, pomiędzy obserwowanymi a obliczonymi zmianami przesunięć chemicznych, była jak najmniejsza. Dysponując zależnością stałej tworzenia kompleksu od temperatury, można również wyznaczyć parametry termodynamiczne ΔG , ΔH i ΔS procesu kompleksowania, z użyciem równań (6) (7) i (8).

$$\Delta G = -RT \ln K_a \quad (6)$$

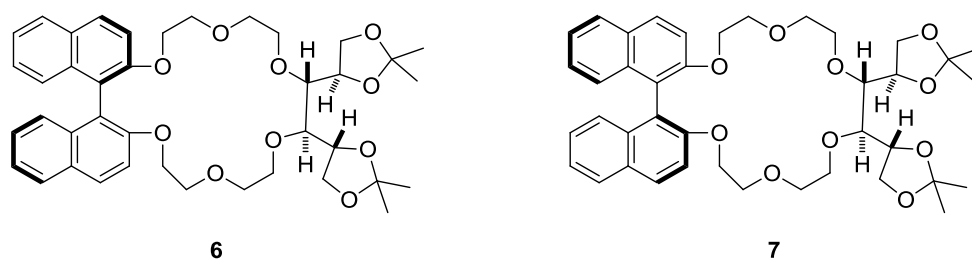
$$\Delta G = H - T\Delta S \quad (7)$$

$$\ln K = -\frac{\Delta H}{R} \frac{1}{T} + \frac{\Delta S}{R} \quad (8)$$

W powyższym wstępie starałem się przedstawić krótkie wprowadzenie do chemii supramolekularnej anionów, jak również zasady użyteczne w projektowaniu receptorów efektywnych w chiralnym rozpoznaniu. W następnej części pokażę wybrane literaturowe przykłady receptorów (pochodne monosacharydów) na chiralne kationy. Z kolei, omówię wybrane receptory na chiralne aniony, które posiadają różne bloki budulcowe (cyklodekstryny, aminokwasy, steroidy, binole, diaminy) jako źródła chiralności. W końcu, pokażę jak wbudowanie fragmentu cukrowego w strukturę receptora modyfikuje jego właściwości wiążące, na przykładzie achiralnych anionów, jak również rozpoznanie chiralne anionów przez powyższe receptory.

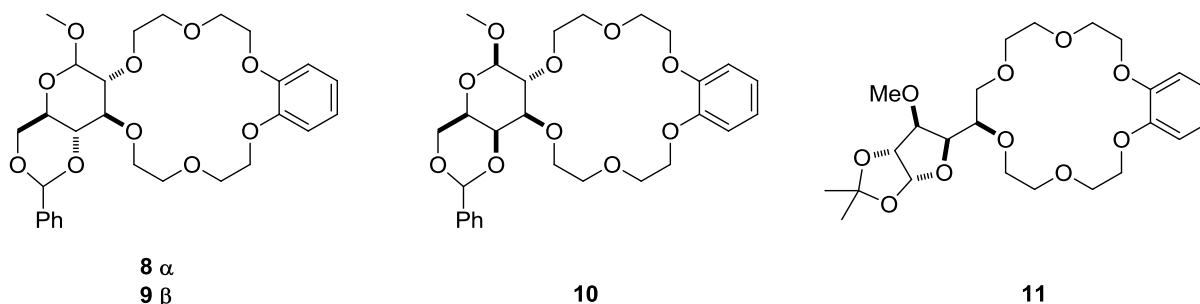
2.2. Synteza i właściwości kompleksujące chiralnych receptorów na kationy

Jeden z pierwszych przykładów chiralnego rozpoznania kationów, z użyciem receptorów zawierających cukry, został opisany w roku 1976 przez Stoddarta.^[36] Etery koronowe, będące hybrydami D-mannitolu z enancjomerami binaftolu (Rysunek 5), wykazały znaczące rozpoznanie chiralnych kationów amoniowych, zmierzone z użyciem techniki ¹³C NMR. Czwartorzędowe atomy węgla, w kompleksie receptora **6** z racemiczną fenyloetyloaminą·HPF₆ w postaci soli, wykazały znaczące różnice w przesunięciach chemicznych dla *R*- i *S*-enancjomeru, które wynosiły odpowiednio 137.48 i 137.05 ppm. Dodatkowo, wyznaczenie selektywności receptora **6** było możliwe poprzez porównanie integracji sygnałów odpowiednich diastereomerycznych kompleksów, którą określono na *R/S* = 62/38. Hybrydowy receptor **7**, w którym zawarto drugi enancjomer binaftolu, również wykazywał preferencje w kierunku kationu powstałego z *R*- α -fenyloetyloaminy (*R/S* = 63/37).



Rysunek 5. Struktura eterów koronowych **6** i **7** wywodzących się z D-mannitolu i binaftolu

Gross i współpracownicy^[37] badali, z użyciem techniki ekstrakcyjnej, chiralne rozpoznanie kationów amoniowych przez etery koronowe **8-11**, zawierające monosacharydy (Rysunek 6).



Rysunek 6. Struktura badanych eterów koronowych będących pochodnymi anomerów glukopiranozy (**8 i 9**), galaktopiranozy (**10**) i glukofuranozy (**11**)

Typowy eksperyment ekstrakcyjny polega na wytrząsaniu roztworu badanego eteru koronowego **8-11**, rozpuszczonego w deuterowanym chloroformie, z roztworem racemicznej soli estru metylowego aminokwasu, rozpuszczonej w D₂O. Po rozdzieleniu warstw, stosunek enancjomerów w fazie organicznej był mierzony za pomocą technik ¹H i ¹³C NMR.

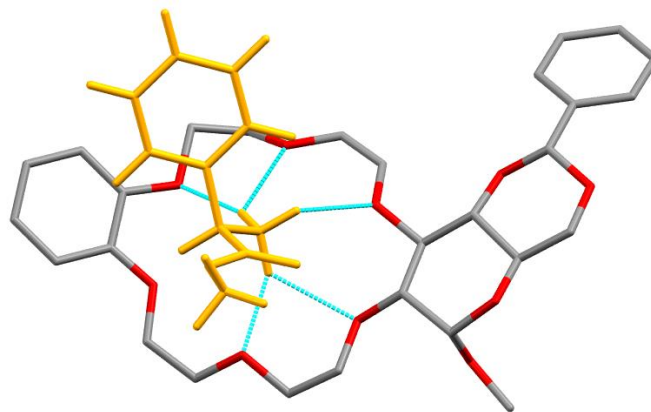
Receptory **8-10** wykazały zdolność chiralnego rozpoznania enancjomerycznych kationów, wywodzących się z α -aminokwasów i α -fenyloetyloaminy (stosunek zawartości enancjomerów D/L w fazie organicznej wynosił poniżej 2,7), przy czym obserwowano preferencje dla enancjomeru D dla wszystkich badanych aminokwasów. Zdolność chiralnego rozpoznania receptorów **8-10** została wytłumaczona oddziaływaniem pierścienia 4,6-*O*-benzylidenowego z cząsteczkami kationowych gości. Jak sugerują autorzy, cząsteczka katecholu, będąca fragmentem eteru koronowego, może też modulować chiralne rozpoznanie, poprzez usztywnienie konformacji eteru koronowego. Z drugiej strony, labilna konformacyjnie pochodna eteru koronowego **11** nie wykazała znaczącego rozpoznania chiralnego (Tabela 1).

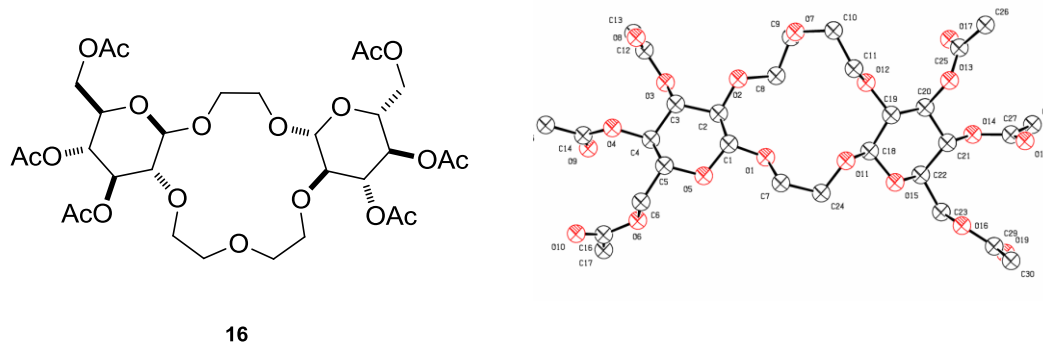
Tabela 1. Rozpoznanie kationów α -fenyloetyloaminy lub aminokwasów przez etery koronowe **8–11**^a

Lp	Eter koronowy	Wartość równowagowa	α -fenyloetyloamina	Phg	Ala	Val	Phe	Tyr	Trp	Met
1	8	CRF ^b	1,50	2,30	1,50	2,70	2,00	1,50	1,60	1,60
		Główny enancjomer	<i>R</i>	D	D	D	D	D	D	D
2	9	CRF	1,50	2,00	1,80	1,80	2,10	2,00	1,80	1,70
		Główny enancjomer	<i>R</i>	D	D	D	D	D	D	D
3	10	CRF	160	2,10	1,70	2,60	2,00	1,50	1,50	1,80
		Główny enancjomer	<i>R</i>	D	D	D	D	D	D	D
4	11	CRF	1,10	1,10	1,00	1,05	1,10	1,00	1,00	1,00
		Główny enancjomer	<i>S</i>	L	-	L	L	-	-	-

^aaminokwasy zostały użyte jako heksafluorofosforany estrów metylowych, fenyloetyloamina w postaci tiocyjanianu. ^bCRF (Chiral Recognition Factor) jest stosunkiem zawartości enancjomerów L/D lub D/L w fazie organicznej.

Rentgenowska analiza strukturalna^[38] kompleksu receptora **8** z kationem D-fenyloglicyny (Rysunek 7) pokazała, że makropierścień jest spłaszczony w porównaniu do struktury innych eterów koronowych, w których atomy tlenu są położone zazwyczaj na przemian – pod i nad płaszczyzną korony. Również kąty torsyjne atomów cukrowych, będących częścią eteru koronowego, ulegają zmniejszeniu. Zostało to wyjaśnione kompleksowaniem kationu amoniowego, jak również wynikać może z obecności pierścienia katecholowego, który usztywnia strukturę eteru koronowego.

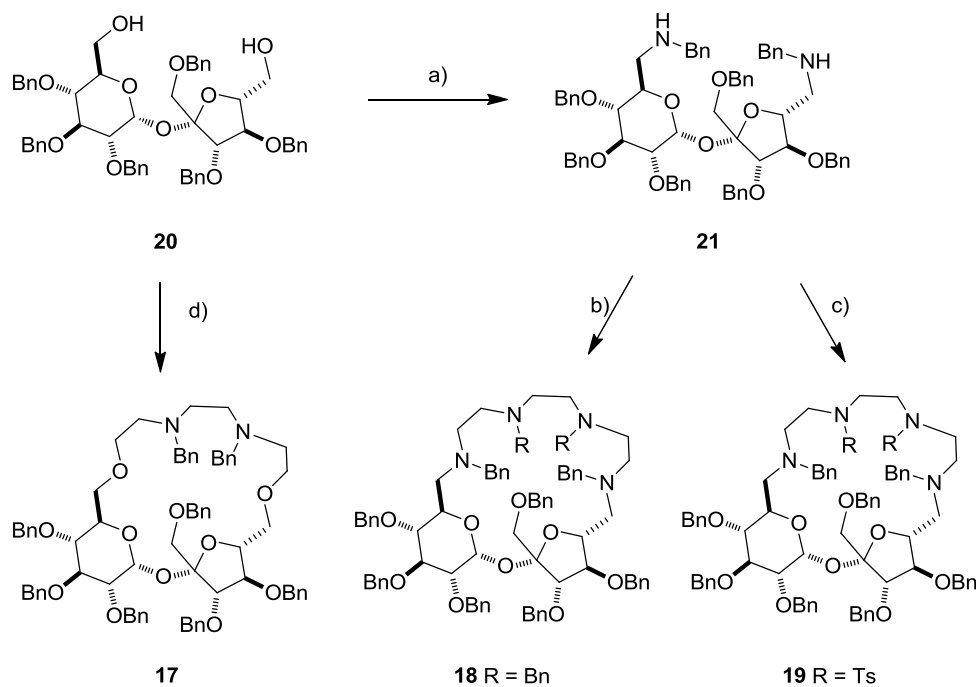
**Rysunek 7.** Struktura kompleksu (RAS) receptora **8** z heksafluorofosforanem estru metylowego D-fenyloglicyny. Przeciwnon heksafluorofosforanowy został usunięty dla przejrzystości rysunku



16

Rysunek 9. Cząsteczka eteru koronowego **16** i jego struktura uzyskana z RAS

Jarosz i współpracownicy^[41] badali rozpoznanie chiralnych kationów przez receptory **17-19** będące sacharozowymi pochodnymi. Receptory te zostały otrzymane w kilkuetapowej syntezie, wychodząc z pochodnej sacharozy **20** (Schemat 1).



a) i) MsCl, Et₃N, CH₂Cl₂; ii) BnNH₂, MeCN, Na₂CO₃ b) i) BrCH₂CO₂t-Bu; toluen, K₂CO₃, reflux, 48 h, 79%; ii) LAH, THF iii) MsCl, Et₃N, CH₂Cl₂ iv) BnNHCH₂CH₂NHBn, Na₂CO₃, MeCN; c) TsOCH₂CH₂N(Ts)CH₂CH₂N(Ts)CH₂CH₂OTs, Na₂CO₃, MeCN; d) i) BrCH₂COOt-Bu, NaOH, TBABr, H₂O/toluen; ii) LAH, THF; iii) MsCl, Et₃N, CH₂Cl₂; iv) BnNH₂, MeCN, Na₂CO₃; v) TsO(CH₂CH₂)OTs MeCN, Na₂CO₃;

Schemat 1. Synteza azakoronandów **17-19**, pochodnych sacharozy

Związek **20**, będący substratem w omawianej syntezie, posiada dwie wolne grupy hydroksylowe, które pozwalają na łatwe modyfikacje struktury eteru koronowego i wprowadzenie sacharozy jako źródła chiralności. Pochodna **20** posłużyła jako substrat do

syntezy receptora **17**, a jej pochodna diaminowa **21**^[42] była wykorzystana jako prekursor w syntezie azakoronandów **18** i **19**.

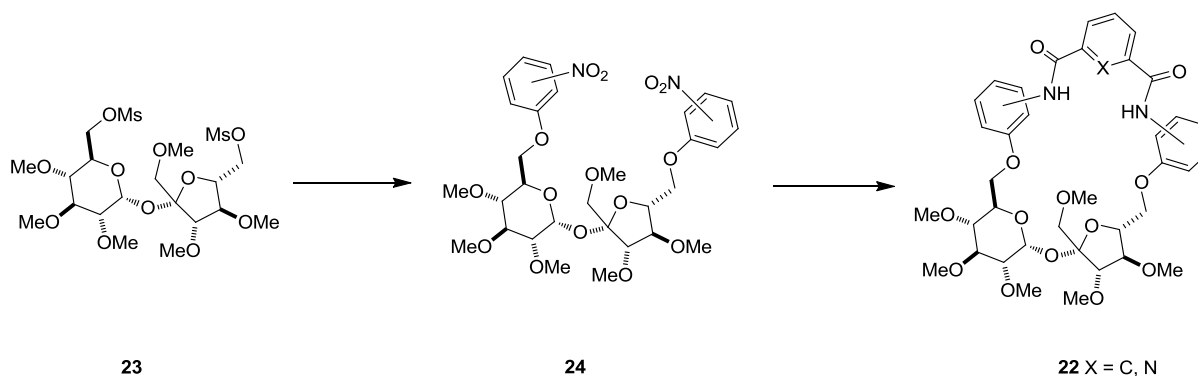
Etery koronowe **17-19** charakteryzują się interesującymi zdolnościami w rozpoznaniu chiralnych kationów. Kationy amoniowe, pochodzące z α -fenyloetyloaminy, zostały użyte w charakterze modelowych chiralnych gości. Receptory **17-19** wykazują wyraźną preferencję w stosunku do enancjomerów *S*. Stałe trwałości kompleksowania receptorów **17** i **19** z *S*-gośćmi wynosiły odpowiednio 945 i 264 M⁻¹ (Tabela 2). Natomiast receptor **18** w ogóle nie kompleksował kationów amoniowych, wywodzących się z α -fenyloetyloaminy.

Tabela 2. Wiązanie kationów amoniowych α -fenyloetyloaminy przez receptory **17-19**

Lp	Receptor	$K_a(S(-), \text{CDCl}_3)$	$K_a(R(+), \text{CDCl}_3)$
1	17	945±221	a
2	18	a	a
3	19	264±36	a

^aZmiana przesunięcia chemicznego nie była obserwowana podczas miareczkowania ¹H NMR.

Ta sama grupa badawcza przedstawiła również makrocykliczne diamidowe pochodne sacharozy typu **22** (Schemat 2).^[43]

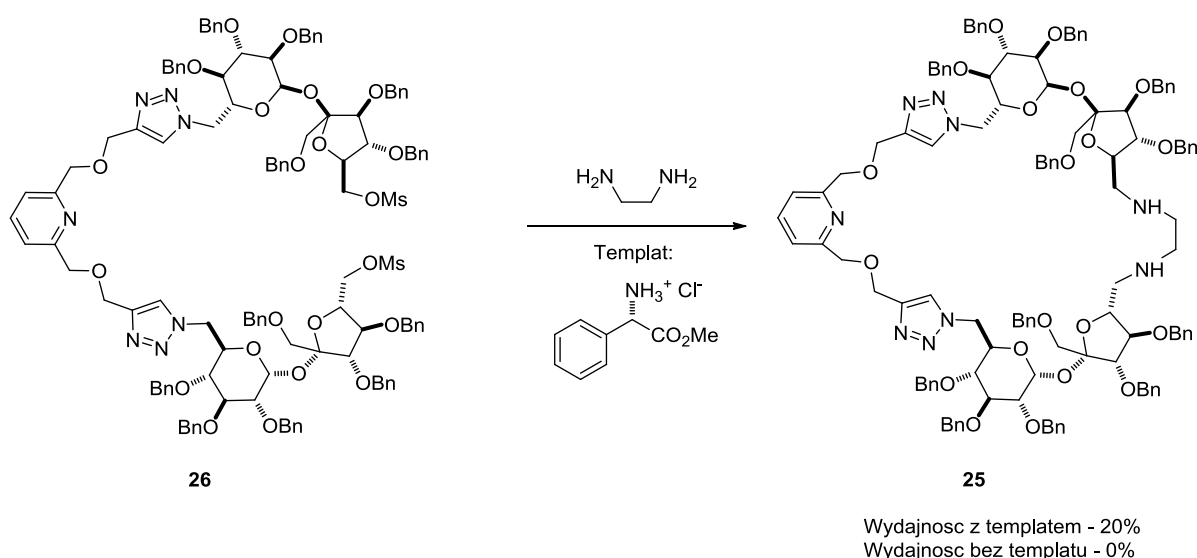


Schemat 2. Synteza makrocyklicznych pochodnych sacharozy typu **22**

Synteza tego typu makrocykli jest stosunkowo prosta i zrealizowana została przy użyciu opisanej powyżej metodologii. Sacharoza została selektywnie zabezpieczona w celu utworzenia pochodnej *O*-metylowej **23**, która następnie reaguje z nitrofenolem, dając pochodną *O,O'*-nitrofenylową **24** z wydajnością 85-90% (Schemat 2). Redukcja nitrowych pochodnych **24** prowadzi do odpowiednich amin, które następnie były zastosowane do reakcji makrocyklizacji w warunkach dużego rozcieńczenia, z użyciem odpowiednich chlorków

kwasowych. Kondensacja *o*- i *m*-amin aromatycznych dawała monomeryczne produkty makrocykliczne z wydajnością 57-78%. Natomiast pochodna z grupą aminową w pozycji *para*, tworzyła wprawdzie monomeryczny produkt typu **22**, (z wydajnością 18-23%), któremu towarzyszyły jednak dwa produkty dimeryczne. Dobra wydajność powyższych makrocyklizacji została wytłumaczona poprzez preorganizację cząsteczek substratów. Warto w tym miejscu podkreślić, że związki typu **22** mogą funkcjonować jako skuteczne receptory heteroditopowe dla zwitterjonów oraz soli; zawierają one, z jednej strony podjednostkę sacharozową, która upodabnia je do klasycznych eterów koronowych wiążących kationy, a z drugiej zaś podjednostkę diamidową, która znana jest za zdolności wiązania anionów.^[8, 9, 11]

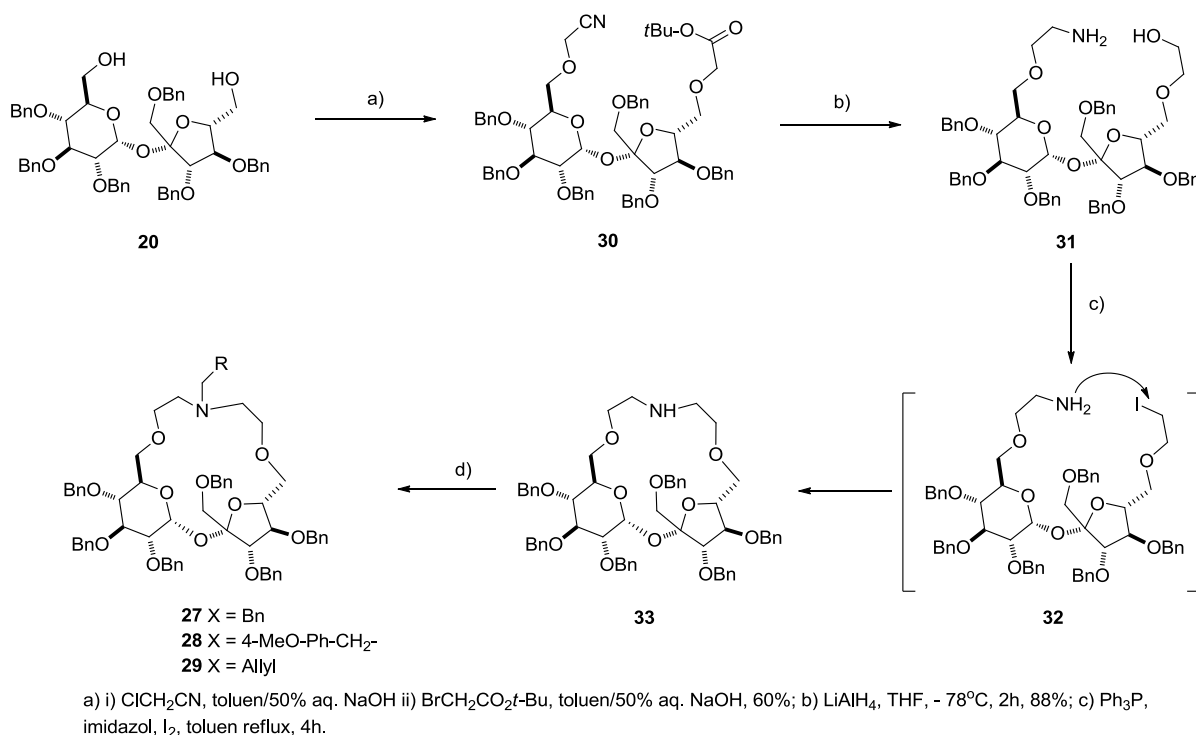
Ciekawe podejście do rozpoznania chiralnego zostało zasugerowane w wyniku analizy przebiegu opisanej poniżej reakcji makrocyklizacji, templatowanej chiralnym kationem amoniowym, pokazanej na Schemacie 3.^[44]



Schemat 3. Templatowana aminokwasem synteza związku makrocyklicznego **25**

Makrocykl **25** powstaje wyłącznie w obecności odpowiedniego templaty – kationu wygenerowanego z L-fenyloglicyny. Ten efekt templatowy został wytłumaczony poprzez korzystne oddziaływania substratów z odpowiednim, jak się okazało, templatem: triazolowy atom azotu tworzy zapewne wiązania wodorowe z kationem amoniowym, natomiast grupa estrowa aminokwasu z etylenodiaminą. W ten sposób, reagujące cząsteczki są odpowiednio preorganizowane, co umożliwia zamknięcie makropierścienia.

Z kolei, interesujące azakoronandy **27-29** zostały zsyntezowane z pochodnej sacharozy **20** (Schemat 4), a następnie użyto je do zbadania chiralnego rozpoznania kationów amoniowych, wywodzących się z α -fenyloetyloaminy i kilku α -aminokwasów.^[45]



Schemat 4. Synteza azakoronandów **27-29**, pochodnych sacharozy, poprzez cyklizację inicjowaną Ph₃P, I₂

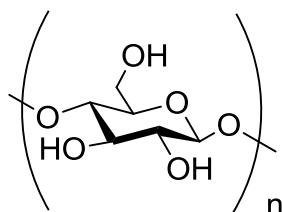
W pierwszym etapie syntezy, wolne grupy hydroksylowe w substracie **20** były sekwencyjnie alkilowane (wykorzystuje się różnice reaktywności grup hydroksylowych 6 i 6'), co prowadziło do związku **30**. Następnie, zarówno grupa cyjankowa jak i estrowa w **30**, były redukowane do aminoalkoholu **31**. Aminoalkohol ten był poddany reakcji cyklizacji z użyciem układu PPh₃/I₂/imidazol, co prowadziło do niewyodrębnianej jodopochodnej **32**, która spontanicznie cyklizowała do oczekiwanego produktu **33**. Związek **33** był następnie *N*-alkilowany, dając odpowiednie azakoronandy **27-29**, z zadawalającymi wydajnościami.

Właściwości kompleksujące receptorów **27-29** były badane techniką miareczkowania pod kontrolą ¹H NMR w CDCl₃, z użyciem modelowych kationów amoniowych, wywodzących się z α-feniloetyloaminy. Receptory **27-29** wykazywały preferencje dla enancjomeru *S*, natomiast dla enancjomeru *R* nie obserwowano zmian przesunięć chemicznych protonów tych receptorów, co świadczy o braku kompleksowania badanych kationów. Z drugiej strony, dla soli aminokwasów w tych samych warunkach, stałe wiązania były zbyt duże, aby można było je dokładnie wyznaczyć w CDCl₃, natomiast w DMSO enancjoselektywność była umiarkowana, np. 2.0 dla D-Ala-OMe·HCl.

2.3. Synteza i właściwości kompleksujące chiralnych receptorów na aniony

2.3.1. Przegląd wybranych motywów strukturalnych używanych w konstrukcji enancjoselektywnych receptorów na aniony

Spośród wielu ważnych pochodnych monosacharydów, używanych w rozpoznaniu chiralnym, niepoślednią rolę odgrywają cyklodekstryny (CD) **34**. Rola ta jest związana z ich strukturą, pokazaną na Rysunku 10.



34

n = 6 α -cyklodekstryna

n = 7 β -cyklodekstryna

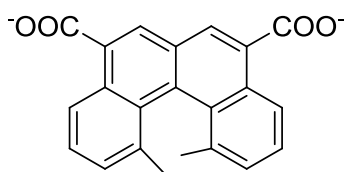
n = 8 γ -cyklodesktryna

Rysunek 10. Struktura α -, β - i γ - cyklodekstryny

Cyklodekstryny (CD) zawierają mery glukozy, połączone wiązaniami 1,4-diacetalowymi, tworzące strukturę cykliczną, przypominającą toroid. CD posiadają dwa brzegi – węższy, w którym znajdują się wszystkie pierwszorzędowe grupy hydroksylowe oraz szerszy, w którym lokują się drugorzędowe grupy hydroksylowe. Odpowiednie ułożenie grup hydroksylowych w cyklodekstrynach powoduje również to, że wnętrza CD posiada charakter hydrofobowy i ma możliwość tworzenia kompleksów inkluzyjnych,^[46, 47] co znajduje szerokie zastosowanie w chemii analitycznej (np. stacjonarne fazy chromatograficzne).^[48]

Kano i współpracownicy^[49] badali rozpoznanie helikalności kwasów fenantrodikarboksylowych **35** (Rysunek 11). Stała wiązania kwasu *M-35* z β -cyklodekstryną ($18700 \pm 1700 \text{ M}^{-1}$) była dużo większa niż dla jego izomeru *P-35* ($2200 \pm 100 \text{ M}^{-1}$). Natomiast γ -cyklodekstryna również preferowała helisę *M* dikwasu **35**, niemniej jednak, stałe wiązania gości były mniejsze w porównaniu do β -CD ($K = 3100 \pm 100$ i $690 \pm 20 \text{ M}^{-1}$ odpowiednio dla dikwasu *M-35* i *P-35*). Struktura kompleksów została zbadana przy zastosowaniu techniki 2D

ROESY NMR. Analiza struktur tych kompleksów pokazała, że grupy karboksylowe gości **35** znajdują się w otoczeniu drugorzędowych grup hydroksylowych β -cyklodekstryny.

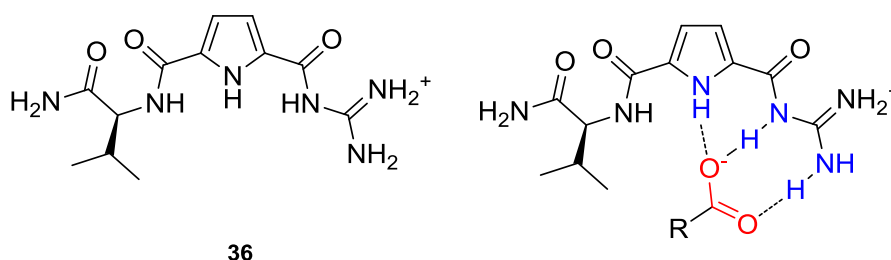


35

Rysunek 11. Struktura kwasu fenantrenodikarboksylowego

Dodatkowo, *P*-tetrahelicen **35** znajduje się głębiej w luce wiążącej β -CD, co powoduje konieczność dehydratacji jednej z grup karboksylowych. Różnica w strukturze kompleksów, utworzonych przez β -cyklodekstrynę i enancjomeryczne tetraheliceny, została wytłumaczona przez fakt, że cyklodekstryny, po rozpuszczeniu w wodzie, mogą przyjmować strukturę przypominającą helisę. Enancjoselektywność β -CD, preferującej wiązanie izomeru *M*-**35**, wynika z faktu, że głębsze wnikanie enancjomeru *P*-**35** do wnętrza luki wiążącej β -CD powoduje konieczność dehydratacji grupy karboksylowej, co jest niekorzystne entalpowo i powoduje spadek stałej wiązania enancjomeru *P*-**35**.

Ciekawymi receptorami, z punktu widzenia rozpoznania chiralnego anionów, są niesymetryczne pochodne kwasu 2,5-pirolodikarboksylowego, których reprezentant pokazany jest na Rysunku 12.^[50] Związek **36** jest z jednej strony podstawiony α -aminokwasem, z drugiej zaś kationem guanidynowym, co w połączeniu z pirolowym donorem wiązania wodorowego umożliwiło badanie rozpoznania chiralnego w mieszaninie DMSO-*d*₆ z wodą.



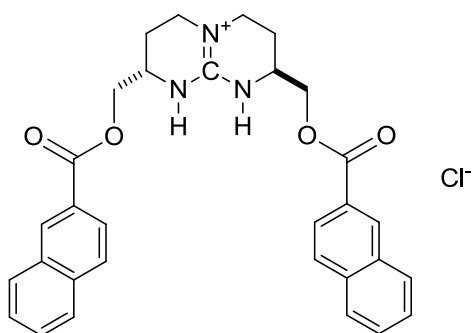
36

Rysunek 12. Cząsteczka pirolowego receptora **36** i zaproponowana struktura jego kompleksu z anionem karboksylanowym

W powyższy sposób zbadano rozpoznanie anionów *N*-acetylowanych α -aminokwasów, takich jak alanina, fenyloalanina i tryptofan (w postaci soli tetrametyloamoniowych). Enancjoselektywność procesu wiązania fenyloalaniny wynosiła

1,16 ($K_D = 680$, $K_L = 585$), natomiast dla alaniny uzyskano wartość 1.73 ($K_L = 1610$, $K_D = 930$). Receptor **36** nie wykazywał praktycznie rozpoznania anionów tryptofanu (uzyskane wyniki oscylowały wokół granicy błędu pomiaru). W przypadku alaniny lepiej wiązany był L-enancjomer, a w przypadku fenyloalaniny – D-enacjomer. Zmiana kierunku enancjoselektywności została wyjaśniona na podstawie danych z modelowania molekularnego. W przypadku alaniny, dla słabiej wiązanego enancjomeru D występują niekorzystne oddziaływania steryczne pomiędzy jej łańcuchem bocznym a grupą izopropylową receptora **36**. Te oddziaływania są nieobecne w przypadku enancjomeru L. Z badań fenyloalaniny, posiadającej pierścień aromatyczny, wynika, że następuje odwrócenie enancjoselektywności na skutek oddziaływań π - π pomiędzy gościem a gospodarzem.

Motyw guanidynowy został również z powodzeniem zastosowany do konstrukcji receptora **37** (Rysunek 13), którego użyto do chiralnego rozpoznania anionów karboksylanowych, wywodzących się z soli sodowej *N*-acetylo- i *N*-Boc-tryptofanu.^[51]

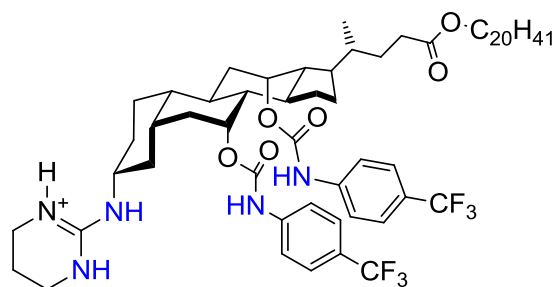


37

Rysunek 13. Chiralny receptor guanidynowy

Tryptofan posiada pierścień indolowy, na skutek czego może oddziaływać z receptorem **37** poprzez interakcje π - π pomiędzy pierścieniami aromatycznymi. Eksperymenty ekstrakcyjne, z użyciem tego receptora, dały nadmiar diastereomeryczny (de) około 17% dla pochodnych L-tryptofanu.

Ciekawą grupą chiralnych receptorów na aniony są związki zawierające steroidy jako źródło chiralności. Receptor **38** został zsyntezowany, w prosty sposób, z łatwo dostępnego kwasu cholowego (Rysunek 14).^[52]

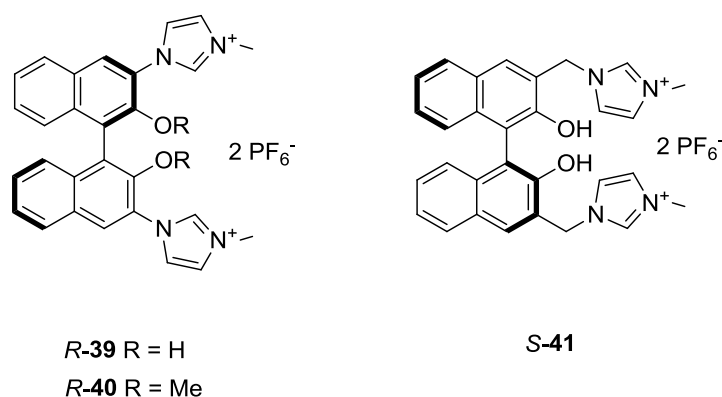


38

Rysunek 14. Receptor 38 wywodzący się z kwasu cholowego

Zdolność tego receptora do chiralnego rozpoznania w odniesieniu do anionów, była badana, z zastosowaniem technik ekstrakcyjnych, w układzie H₂O/rozpuszczalnik chlorowcowany/H₂O. W jednej z faz nieorganicznych (w buforze o pH = 8,1) została rozpuszczona *N*-acetylowana fenyloalanina (*N*-Ac-L/D-PheOH), a fazą organiczną był 1,2-dichloroetan, który zawierał rozpuszczony receptor 38. Druga faza wodna zawierała rozpuszczony KBr; anion bromkowy był transportowany w przeciwnym kierunku niż anion karboksylanowy. Pomiar enancjoselektywności wykazały, że dzięki selektywnemu transportowi jednego z enancjomerów, możliwe było osiągnięcie nadmiaru enancjomerycznego 70% ee dla pochodnej fenyloalaniny, ze wskazaniem na enancjomer L (*N*-Ac-L-Phe-OH). Uzyskana wartość nadmiaru enancjomerycznego odpowiada, w przybliżeniu, czterokrotnie szybszemu transportowi enancjomeru L w stosunku do enancjomeru D.

Fluoroscencyjne receptory anionów 39-41 zostały zaprojektowane przez Yu.^[53] Autorzy otrzymali te receptory dla obu enancjomerów binolu jako źródeł chiralności, przy czym jako część wiążącą użyto dodatkowo naładowane jednostki imidazolowe (Rysunek 15).



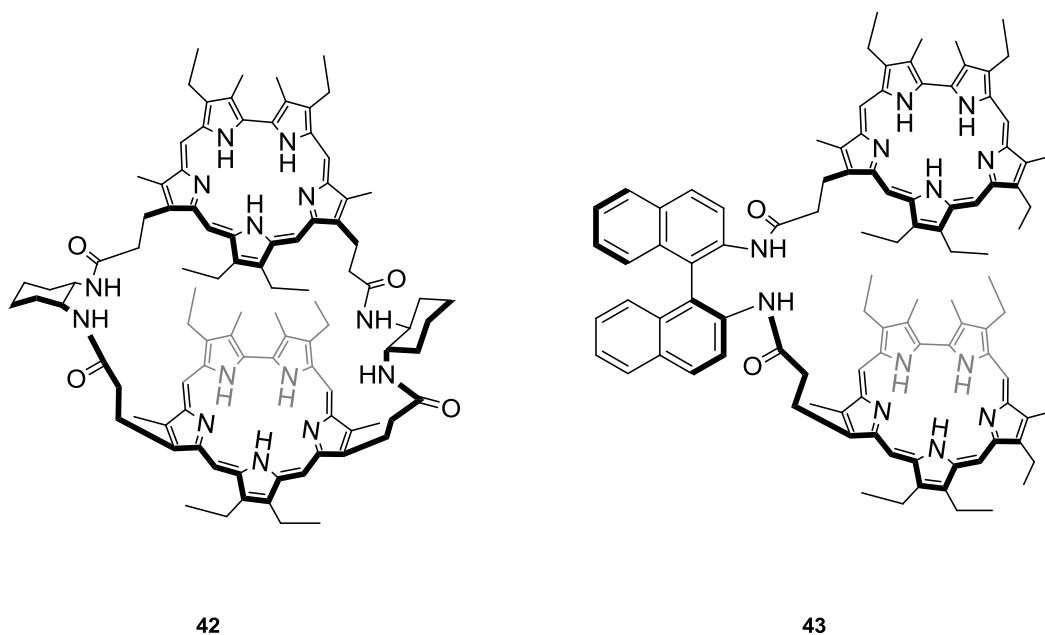
Rysunek 15. Zawierające binol receptory 39-41

Wstępne badania kompleksowania achiralnych anionów pokazały, że dodatek anionu powoduje wygaszenie fluorescencji. Dodatkowo, wiązanie zasadowych anionów: fluorkowego i octanowego, umożliwiło wizualizację rozpoznania tych anionów poprzez wykorzystanie procesu transferu protonu w stanie wzbudzonym, co wiąże się z batochromowym przesunięciem maksimum fluorescencji. Do badania chiralnego rozpoznania z zastosowaniem tych receptorów użyto *N*-Boc-zabezpieczonych soli tetrabutylammoniumowych, takich aminokwasów, jak alanina (Ala), seryna (Ser), leucyna (Leu) i fenyloalanina (Phe). Receptor **R-39** wykazywał podobne wygaszenie fluorescencji, wynikające z wiązania anionu dla obu enancjomerów D- i L-Boc-alaniny. Stałe wiązania anionów dla D- i L-alaniny były różne (Tabela 3), przy czym lepsze rozpoznanie wykazał receptor **R-39** ($K_L/K_D = 4,5$). Z kolei, receptor **S-41** wiązał aniony aminokwasów z większymi stałymi trwałości, ale wykazywał mniejszą enancjoselektywność. Może to zostać przypisane łącznikom metylenowym, które powodowały odsunięcie centrum wiążącego od jednostki binolowej, co prowadziło do zmniejszenia zawady sterycznej, odpowiedzialnej za stopień chiralnego rozpoznania.

Tabela 3. Stałe wiązania aminokwasów przez receptory **39** i **41** w MeCN

Lp	Anion	R-39			S-41		
		K_L	K_D	K_L/K_D	K_L	K_D	K_D/K_L
1	Ala	$4,55 \cdot 10^5$	$1,02 \cdot 10^5$	4,5	$2,13 \cdot 10^5$	$6,26 \cdot 10^5$	2,9
2	Ser	$7,31 \cdot 10^5$	$3,45 \cdot 10^5$	2,1	$8,03 \cdot 10^5$	$14,2 \cdot 10^5$	1,8
3	Leu	$2,12 \cdot 10^5$	$0,55 \cdot 10^5$	3,9	$3,96 \cdot 10^5$	$5,94 \cdot 10^5$	1,5
4	Phe	$3,23 \cdot 10^5$	$1,93 \cdot 10^5$	1,7	$3,50 \cdot 10^5$	$5,26 \cdot 10^5$	1,5

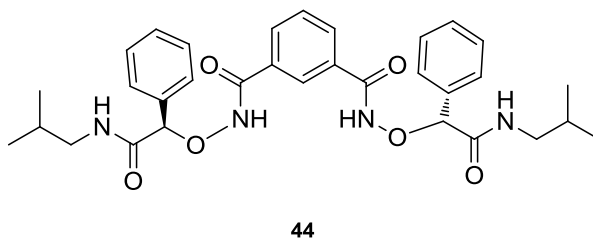
Sessler^[54] wykorzystał *S,S*-1,2-diaminocykloheksan (DACH) i *S*-2,2'-diaminobinaftalen do konstrukcji odpowiednich receptorów **42** i **43** (Rysunek 16). Receptory te zostały z powodzeniem wykorzystane do rozpoznania chiralnych anionów dikarboksyłanowych, wywodzących się z kwasów glutaminowego i asparaginowego. Jako część wiążącą receptora zastosowano safirybę.



Rysunek 16. Receptory na aniony **42** i **43**

Receptor **43** wykazał się silnym powinowactwem do dianionów *N*-Cbz-Asp i *N*-Cbz-Glu w mieszaninie chlorku metylenu z metanolem (19/1 (v/v)), stałe trwałości kompleksów w tym układzie były rzędu 10^4 - 10^5 M^{-1} . W badaniach tych nie zaobserwowano wyraźnego chiralnego rozpoznanie tych dianionów. Przeciwnie, mimo że makrocykliczny receptor **42** charakteryzował się znacznie mniejszymi stałymi wiązania anionów ($K_D = 16\ 200$, $K_L = 3800$ M^{-1}), wykazał on znacznie większą enancjoselektywność $K_D/K_L = 4,26$ dla kwasu glutaminowego, w porównaniu z receptorem **43** ($K_L/K_D = 1,49$).

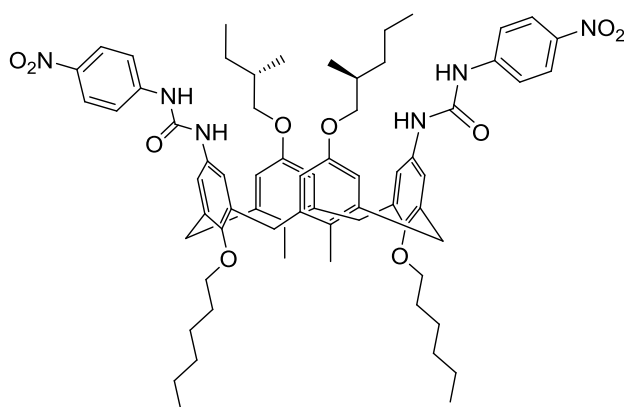
Inny receptor na aniony (**44**, Rysunek 17) został z powodzeniem zastosowany również jako odczynnik przesunięcia chemicznego NMR dla chiralnych kwasów karboksylowych.^[55] Receptor **44** oddziaływał z kwasami karboksylowymi poprzez wiązania wodorowe, a wynikające stąd różnice przesunięć chemicznych były wystarczające do określania nadmiaru enancjomerycznego badanych anionów.



Rysunek 17. Receptor **44** – odczynnik przesunięcia chemicznego dla kwasów karboksylowych

Przeprowadzono również miareczkowania receptora **44** enancjomerycznymi anionami kwasu migdałowego (użyte jako sole tetrabutylamoniowe w CDCl_3), otrzymując zadawalającą wartość enancjoselektywności $K_S/K_R = 1,88$.

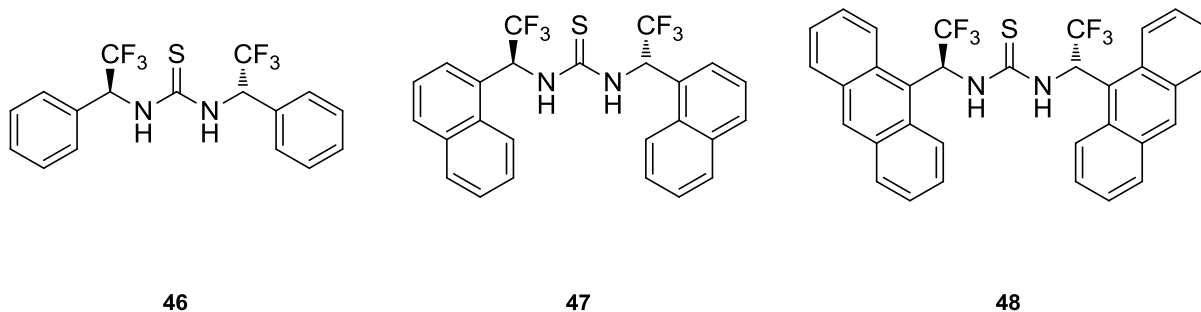
Bardzo wygodnymi elementami konstrukcyjnymi chiralnych receptorów okazały się kaliks[4]areny, czego przykładem jest receptor **45** (Rysunek 18).^[56] Fakt występowania tego receptora w 1,3-naprzemianległej konformacji, pozwolił na skuteczne wiązanie anionów z jednoczesnym wprowadzeniem centrów stereogenicznych w pobliże luki wiążącej anion. Właściwości kompleksujące receptora **45** zostały zbadane w DMSO, z wykorzystaniem metody miareczkowania pod kontrolą ^1H NMR. Anion Ac-N-D-PheO^- był wiązany lepiej ($K_D = 348 \text{ M}^{-1}$) niż jego enancjomer Ac-N-L-PheO^- ($K_L = 161 \text{ M}^{-1}$) ($K_D/K_L = 2,16$). Receptor ten wykazał jeszcze lepsze chiralne rozpoznanie dla anionów niezabezpieczonej fenyloalaniny ($K_D/K_L = 2,86$), natomiast zawiódł w próbach różnicowania anionów α -hydroksykwasów, dla których rozpoznanie było na granicy błędu pomiaru.



45

Rysunek 18. Chiralny receptor anionów, bazujący na kaliksarenie

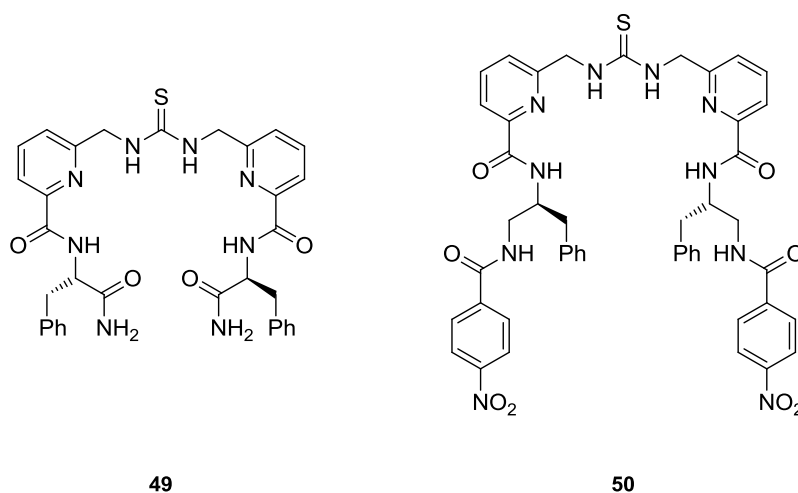
Bardzo ciekawym, a przy tym wyjątkowo istotnym, omawianym tu strukturalnym motywem jest funkcja tiomocznikowa. Chiralne pochodne tiomocznika **46-48** zostały użyte w rozpoznaniu anionów kwasu migdałowego.^[57] Pokazane na Rysunku 19 receptory **46-48**, zawierały podstawnik fenyłowy, 1-naftyłowy oraz 9-antracenenowy, co umożliwiło modulowanie bariery sterycznej i zbadanie jej wpływu na efektywność chiralnego rozpoznania.



Rysunek 19. Chiralne tiomoczniki 46-48

Spośród tych receptorów, najlepsze chiralne rozpoznanie prezentowała pochodna naftalenu **47** ($K_R/K_S = 2,08$). Zamiana podstawnika naftyłowego na mniejszy fenyłowy, prowadziła do zmniejszenia stopnia tego rozpoznania ($K_R/K_S = 1,64$). Wprowadzenie większego podstawnika (9-antracenowego) prowadziło z kolei do jeszcze większego spadku enancjoselektywności omawianego procesu, co prawdopodobnie jest konsekwencją nioselektywnych oddziaływań sterycznych. Powyższe przykłady ilustrują, jak ważny jest dobór zawady sterycznej, która powinna umożliwiać kierunkowe oddziaływania z jednym z anionowych gości, prowadząc do jego dyskryminacji.

Kilburn i współpracownicy^[58] zbadali zdolność chiralnego rozpoznania serii aminokwasów (Ala, Phe, Asn, Gln, Trp, Ser) przez acykliczne pochodne tiomocznika **49** i **50** (Rysunek 20).

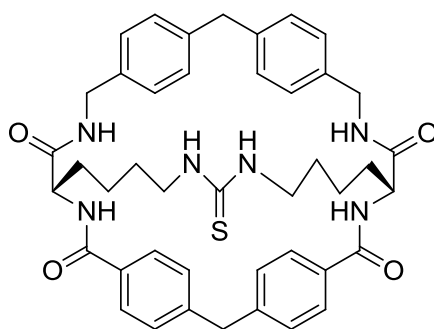


Rysunek 20. Tiomocznikowe receptory 49 i 50

Miareczkowania pod kontrolą ^1H NMR pokazały, że receptor **49** nie wykazuje zdolności chiralnego rozpoznania większości badanych aminokwasów, a najlepszy wynik, otrzymany dla receptora **49**, wskazywał że wiąże on anion *N*-Ac-L-Gln dwa razy silniej niż

jego D-enancjomer. Mimo to, receptor **49** był bardzo selektywny wobec poszczególnych par aminokwasów, np. kompleksował *N*-Ac-Trp 30 razy silniej niż *N*-Ac-Ser. Z kolei, receptor **50** był zdolny do selektywnego kompleksowania *N*-Boc-tryptofanu ($K_L = 1925$, $K_D = 3785 \text{ M}^{-1}$), natomiast w przypadku kompleksowania anionów naproksenu, została zaobserwowana umiarkowana enancjoselektywność.

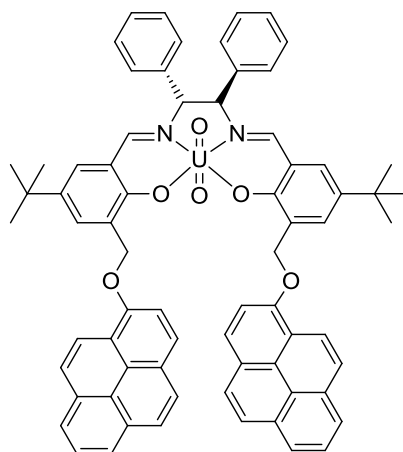
Do rozpoznania chiralnych anionów użyto również receptor **51** o strukturze kryptandu (Rysunek 21).^[59] Z jego udziałem zbadano rozpoznanie *N*-acetylo pochodnych α -aminokwasów (Ala, Phe, Asp), użytych w postaci soli tetrabutylamoniowych. Pomimo, że receptor **51** charakteryzował się umiarkowanym rozpoznanem chiralnym (1,15-1,65), badania strukturalne pokazały, że D-aminokwasy są wiązane poza luką makrocykliczną receptora poprzez silne wiązanie wodorowe z funkcją tiomocznikową, natomiast, L-aminokwasy są wiązane wewnątrz luki makrocyklicznej.



51

Rysunek 21. Macrobicykliczny receptor na aniony

Ostatnim z omawianych przykładów jest wysoce nietypowa funkcja uranylowa. W oparciu o nią został zsyntezowany chiralny ditopowy uranylo-salenowy receptor **52** (Rysunek 22).^[60]



52

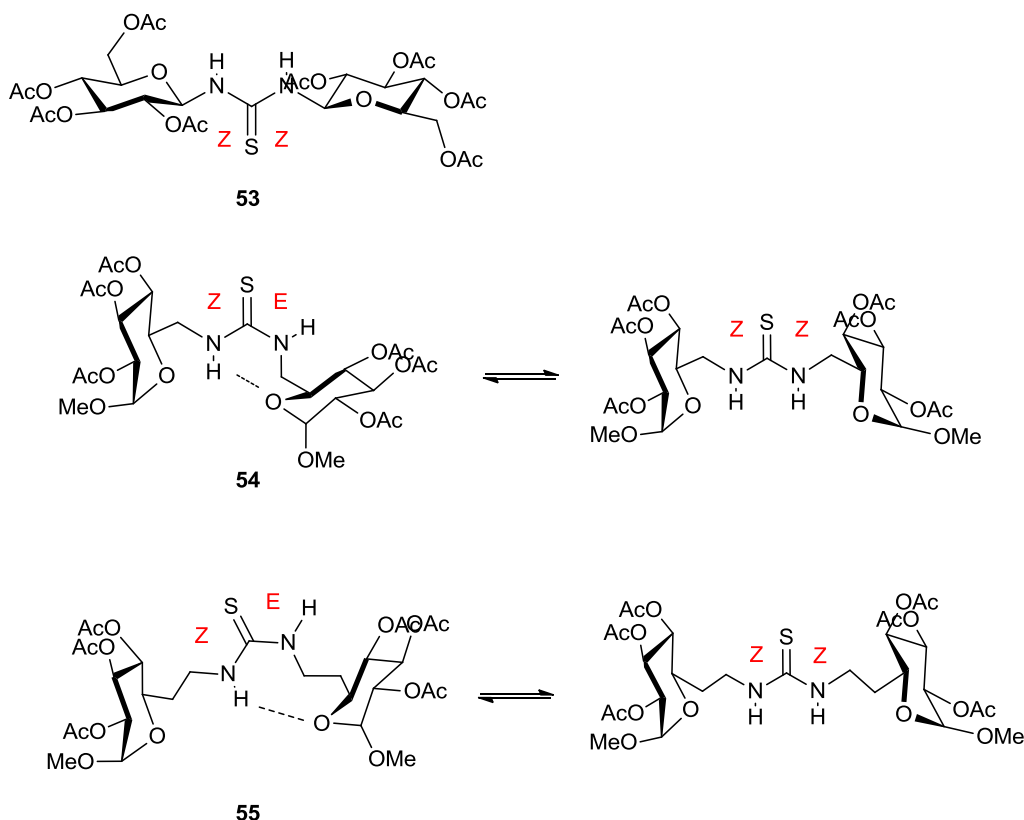
Rysunek 22. Heteroditopowy receptor

Część uranylo-salenowa pełni funkcje kwasu Lewisa, umożliwiając koordynację anionu. Z kolei, bogate w elektrony ramiona pirenowe umożliwiają efektywne wiązania kationu. W ramach wstępnych badań, przeprowadzono próby kompleksowania chlorków tetrabutylamoniowego (TBACl) i tetrametylamoniowego (TMACl), celem odpowiedzi na pytanie czy receptor **52** posiada zdolność rozpoznania kationów amoniowych. Zmiana przesunięć chemicznych protonów amoniowych (w górę pola), jak również zmiana przesunięć chemicznych protonów łączników metylenowych w receptorze **52** (w dół pola), świadczyły, że następuje oddziaływanie kationów amoniowych z podjednostkami pirenowymi. Z drugiej strony, zmiana przesunięć chemicznych protonów mostka salenowego świadczyła, że zachodzi kompleksowanie anionu. TBACl był kompleksowany 28 razy silniej niż TMACl, co wynika z większej liczby oddziaływań C-H $\cdots\pi$, które występują w przypadku kationu tetrabutylamoniowego.

Chiralne rozpoznanie z użyciem receptora **52** zostało zbadane wykorzystując modelowe aminokwasy: tryptofan oraz fenyloalaninę, w postaci obu wzmiankowanych wcześniej soli tetrabutylamoniowej i tetrametylamoniowej, w procesie miareczkowania pod kontrolą UV/VIS. Receptor wykazał interesujące właściwości chiralnego rozpoznania, w zależności od rodzaju aminokwasu i użytego kationu amoniowego. Receptor **52** rozpoznał D- i L-TrpTBA z dobrą enancjoselektywnością ($K_L/K_D = 6,7$), natomiast D- i L-PheTBA z bardzo słabą enancjoselektywnością ($K_L/K_D = 0,61$). Zamiana kationu TBA na TMA w przypadku fenyloalaniny, doprowadziła do dużego wzrostu enancjoselektywności ($K_L/K_D = 34$).

2.3.2. Monosacharydy w receptorach wiążących achiralne aniony

Fernandez i współpracownicy^[61] badali wpływ wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego na właściwości kompleksujące receptorów anionów, zawierających monosacharydy. Receptory **53-55** (Rysunek 23) posiadają tiomocznik jako kluczowy motyw odpowiedzialny za wiązanie anionów.



Rysunek 23. Monosacharydowe receptory anionów **53-55** i ich równowagi konformacyjne

Relatywnie wysoka kwasowość protonów tiomocznikowych NH jest powiązana z ich funkcją doskonałych donorów wiązania wodorowego.^[28] Ta właściwość pozwala na wiązanie anionów, takich jak karboksylany, diwodorofosforany oraz siarczany, jednocześnie umożliwiając skuteczną preorganizację receptorów (**54** i **55**), poprzez utworzenie wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego.

Drugorzędowa struktura receptorów **53-55** była badana za pomocą techniki zmiennotemperaturowych pomiarów NMR (ang. VT NMR), jako że stałe szybkości interkonwersji $E \rightleftharpoons Z$ wiązania pseudoamidowego N-C(=S) w tiomocznikach, mieszczą się w zakresie skali czasu NMR. Jako jedyny z pośród badanych receptorów anionów, związek **53** przyjmował konformację Z,Z, w wyniku czego protony tiomocznikowe skierowane były w β-stronę pierścienia glukopiranozowego. Natomiast receptory **54** i **55** istniały w równowadze konformacyjnej pomiędzy formami Z,Z i E,Z, z temperaturami koalescencji odpowiednio 285

i 268 K. Konformacja *Z,E* jest dodatkowo stabilizowana poprzez utworzenie siedmioczłonowego pseudopierścienia, zawierającego wiązanie wodorowe $\text{NH}\cdots\text{O}_{\text{endocykliczne}}$. Populacje konformerów dla omawianych receptorów są przedstawione w Tabeli 4.

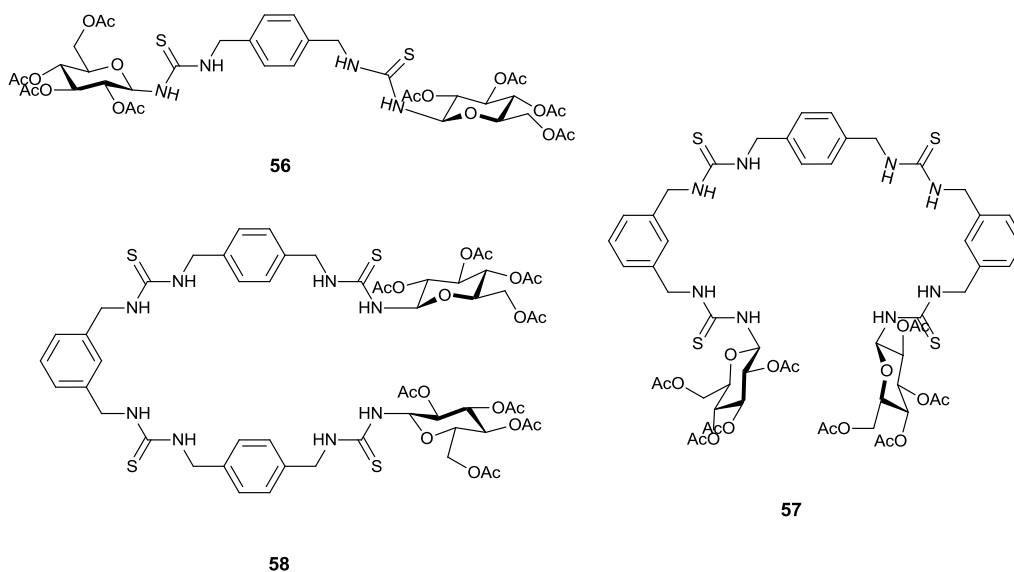
Tabela 4. Wiązanie karboksylanów przez receptory **53-55**

Lp	Receptor	Populacje rotamerów ^a	T _c (K)	K ^b (BzO ⁻ , M ⁻¹)	K ^b (AcO ⁻ , M ⁻¹)
1	53	100% (<i>Z,Z</i>)	-	210	197
2	54	4:1 (<i>Z,E</i>)/(<i>Z,Z</i>)	285	102	95
3	55	9:1 (<i>Z,E</i>)/(<i>Z,Z</i>)	268	590	630

^aotrzymane przez całkowanie sygnałów NH poniżej temperatury koalescencji. ^bzmierzone w CDCl₃, w 300K, błąd mniejszy niż 10%.

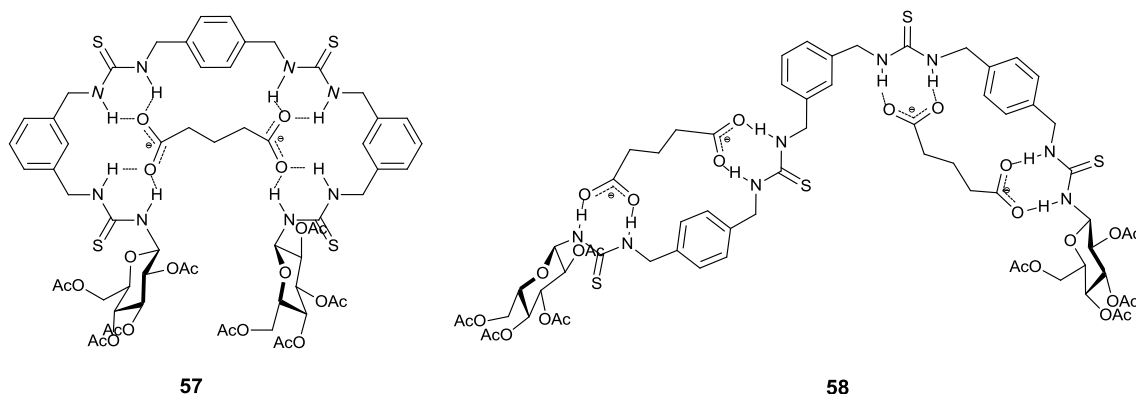
Właściwości wiążące tej klasy receptorów były badane na drodze miareczkowania pod kontrolą ¹H NMR, prowadzonego w CDCl₃. Jako że dookordynowanie anionu karboksylanowego do funkcji tiomocznikowej wymusza zmianę jej konformacji na *Z,Z*, rozsądnym mogło się wydawać, że receptor **53**, będący w tej konformacji, powinien posiadać największą stałą wiązania anionów. Wyznaczona stała trwałości *K* dla receptora **55** była około trzy razy większa, niż dla jego analogu **53** i sześć razy większa niż dla związku **54**. Powyższe rezultaty wskazują na to, że preorganizacja części wiążącej anion nie jest wystarczająca do osiągnięcia dużego powinowactwa w stosunku do anionów karboksylanowych, przy czym ważne jest również najbliższe otoczenie, co zostało pokazane dla badanych receptorów **53-55**.

Kontynuując powyższe badania, ten sam autor^[62] przedstawił labilne konformacyjnie pochodne glukozy **56-58** (Rysunek 24). *p*-Ksylenobis(tiomocznik), posiadający odpowiednią geometrię dla anionów dikarboksylanowych, został użyty jako aromatyczna platforma, na której zbudowano receptory **56-58**. Łączniki *m*-ksylenowe w receptorach **57 i 58**, zostały tak dobrane, aby zapewnić wiązanie anionu bez powstawania naprężeń sterycznych, powstających w wyniku jego związania.



Rysunek 24. Monosacharydowe receptory anionów (**56-58**)

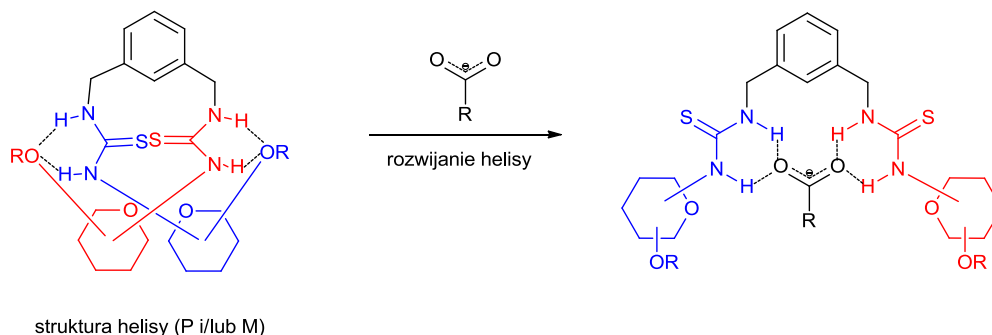
Właściwości kompleksujące pochodnych **56-58** były badane z użyciem modelowego anionu dikarboksylianowego, wywodzącego się z kwasu glutarowego, w CDCl_3 oraz w $\text{DMSO-}d_6$. Kontrolowane NMR miareczkowania dla receptora **56**, prowadzone w $\text{DMSO-}d_6$, wskazały na umiarkowane powinowactwo w stosunku do omawianego anionu ($K = 391 \text{ M}^{-1}$), przy czym należy podkreślić 1:1 stechiometrię tego procesu. Co ciekawe, wartość stałej trwałości dla tego receptora była wielokrotnie mniejsza od tej, otrzymanej dla analogicznego receptora, posiadającego podstawniki *n*-butylowe, zamiast monosacharydowych (10000 M^{-1}).^[63] W mniej wymagającym rozpuszczalniku, jakim jest CDCl_3 , wykres Joba wskazywał na inną stechiometrię wiązania anionów, a mianowicie 2:1 (stałe wiązania $K_1 = 235$ i $K_2 = 247 \text{ M}^{-1}$). Dobrze preorganizowany receptor **57** wykazywał również stechiometrię 1:1, zarówno w $\text{DMSO-}d_6$, jak i w CDCl_3 , a stałe trwałości w obydwu rozpuszczalnikach były zbyt duże, aby je precyzyjnie wyznaczyć metodą NMR. Problem ten autorzy rozwiązali poprzez zwiększenie ilości wody zawartej w $\text{DMSO-}d_6$ (do 10%), co pozwoliło na wyznaczenie stałej trwałości dla związku **11** ($K = 1000 \text{ M}^{-1}$). Z kolei receptor **58** wykazywał bardziej złożony model wiązania anionów, w $\text{DMSO-}d_6$ przeważała stechiometria 1:2 ($K_1 = 10^5$, $K_2 = 10^2 \text{ M}^{-1}$), natomiast w CDCl_3 preferowany był model 2:1 ($K_1 = 104 \text{ M}^{-1}$, $K_2 = 103 \text{ M}^{-1}$). Sugerowane modele wiązania badanego anionu są pokazane na Rysunku 25.



Rysunek 25. Proponowane mechanizmy wiązania anionu glutarowego przez receptory **57** i **58** w $\text{DMSO-}d_6$

Powyższe rezultaty pokazują, że przy konstruowaniu konformacyjnie labilnych receptorów anionów, takich jak **56-58**, należy wnikliwie rozważyć właściwą preorganizację receptora i topologię donorów wiązania wodorowego.

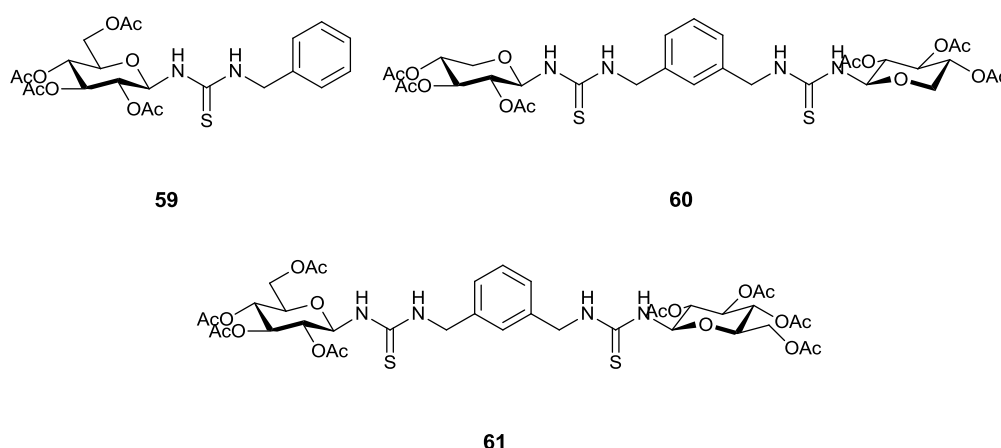
Hybrydowe receptory anionów (tiomocznik-monosacharyd) zostały również zastosowane do badania dalekosiężnych oddziaływań wodorowych, występujących w procesach tworzenia supramolekularnych helis.^[64] Jak pokazano na Schemacie 5, tego typu foldamery mogą tworzyć 15-członowe pseudopierścienie „zamknięte” wiązaniem wodorowym pomiędzy tiomocznikowym NH i cukrowym atomem tlenu.



Schemat 5. Schematyczna reprezentacja rozwijania się supramolekularnej helisy pod wpływem wiązania anionu karboksylanowego.

Istnienie wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego w związku **61**, a także dobrze zdefiniowanej supramolekularnej helisy, zostało potwierdzone na podstawie analizy populacji rotamerów wiązań mocznikowych w pochodnych **59-61**. Jak wykazano, receptory **59** i **60** istniały jako mieszaniny rotamerów *E,Z* i *Z,Z*, podczas gdy pochodna **61** istniała wyłącznie jako pojedynczy *Z,Z*-konformer. Stabilność supramolekularnej helisy została potwierdzona poprzez porównanie powinowactwa receptorów do modelowego anionu benzoesanowego, monotopowego **59** oraz ditopowych **60** i **61**. Porównanie pochodnych **59** i **60** dało spodziewany dziesięciokrotny wzrost stałej trwałości dla ditopowego receptora **60**, w

porównaniu do monotopowego **59**. Izotermi wiązania i wykresy Joba były zgodne ze stechiometrią 1:1, a stałe kompleksowania wynosiły odpowiednio 1749 i 18140 M⁻¹. Natomiast wyniki miareczkowań dla receptora **61** pokazały dużo niższą wartość pierwszej stałej (**61** ⊂ benzoesan $K_{1:1} = 1106$ M⁻¹), czemu towarzyszyła bardziej złożona stechiometria gość/gospodarz 2:1/1:1. Ta zmiana odzwierciedla dodatkową energię, jaka jest niezbędna do rozerwania supramolekularnej struktury w przypadku pochodnej **61**. Energia swobodna niezbędna do rozerwania tej supramolekularnej helisy została oszacowana na 60 J·mol⁻¹.

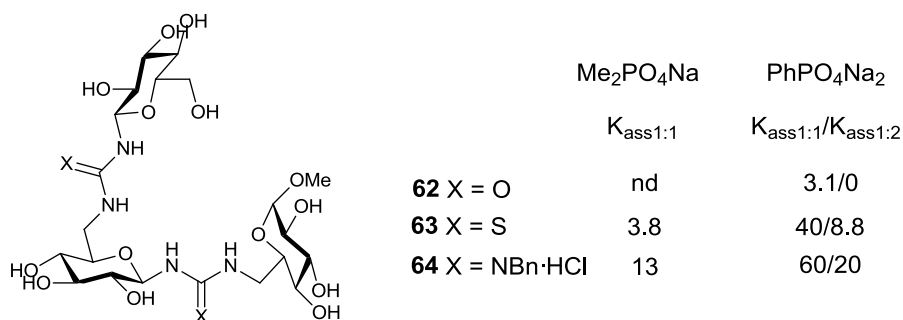


Rysunek 26. Struktury cukrowo-tiomocznikowych receptorów anionów **59-61**

Pod wpływem kompleksowania anionu benzoesanowego, wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe są rozrywane, co prowadzi do rozwinięcia się supramolekularnej helisy, podczas gdy większość foldamerów opisanych w literaturze tworzy natomiast helisę pod wpływem wiązania anionu^[65-67] lub obserwuje się zmianę chiralności pod jego wpływem.^[68]

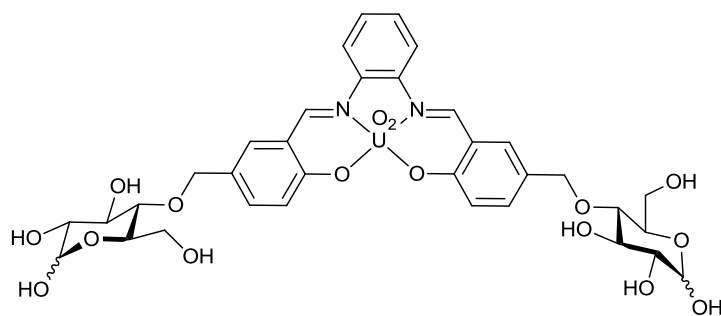
Ta sama grupa badawcza^[69] zaprojektowała receptory na aniony typu **62-64**, które potrafiły skutecznie wiązać fosforany w wodzie (Rysunek 27). Autorzy otrzymali rozpuszczalne w wodzie receptory anionów, posiadające funkcję mocznikową, tiomocznikową oraz ugrupowanie guanidynowe, jako fragmenty wiążące aniony. Receptor **63** wiązał dimetylofosforan ($K = 3,8$ M⁻¹), jak również fenylofosforan ($K = 40$ M⁻¹), co stwierdzono za pomocą miareczkowań pod kontrolą ¹H NMR. Porównanie stałych trwałości dla receptorów **63** i **64** wykazało tylko niewielkie różnice dla wymienionych wyżej fosforanów. Mimo oczekiwań, że oddziaływania elektrostatyczne ujemnie naładowanych fosforanów z dodatnio naładowanym fragmentem guanidynowym powinno wpłynąć na silniejsze wiązanie anionu, zjawiska tego nie obserwowano. Wy tłumaczyć to może fakt, że w polarnym rozpuszczalniku, jakim jest woda, kation guanidynowy jest bardzo silnie solwatowany, co zmniejsza jego zdolność do wiązania anionu. Pochodna mocznikowa **62**,

ulegająca silnej solwatacji, posiadająca protony NH o niższej kwasowości, wykazywała także bardzo niskie powinowactwo do anionów. Warty uwagi jest również fakt, że oddziaływania receptora z anionem mogą być dodatkowo stabilizowane przez wolne cukrowe grupy hydroksylowe, będące donorami wiązania wodorowego.



Rysunek 27. Struktury receptorów anionów (**62-64**) i stałe wiązania dla anionów fosforanowych, zmierzone w D₂O przy 298 K

Inne podejście do wiązania anionów opiera się na użyciu kwasu Lewisa jako części wiążącej anion. Zostało ono zaproponowane przez Corta i Schiaffino,^[70] którzy badali hybrydowy receptor anionów (glukoza-uranyl-salofen) **65** (Rysunek 28).



65

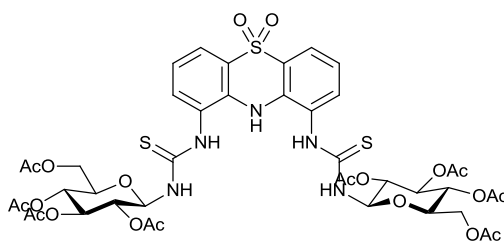
Rysunek 28. Chiralny uranylo-salofenowy receptor na aniony

Dzięki użyciu dwóch cząsteczek glukozy do konstrukcji tego receptora, był on rozpuszczalny w wodzie, co pozwoliło na wyznaczenie stałych trwałości w tym ekstremalnie wymagającym rozpuszczalniku. Receptor **65** wiązał aniony fluorkowe w wodzie ze stałą trwałości $K = 115 \text{ M}^{-1}$. Silne oddziaływanie kwas Lewisa–anion fluorkowy było w stanie przewyciężyć koszt energetyczny, związany z desolvatowaniem małego anionu fluorkowego. Salofenowa pochodna **65** wykazała również silne powinowactwo do anionów

HPO_4^{2-} i $\text{P}_2\text{O}_7^{2-}$, jak również do biologicznie ważnych anionów polifosforanowych: AMP^{2-} , ADP^{3-} i ATP^{4-} . Stała trwałości dla monofosforanu adenozyiny AMP^{2-} wynosiła $K = 83 \text{ M}^{-1}$ i była sześć razy niższa niż dla HPO_4^{2-} ($K = 480 \text{ M}^{-1}$), natomiast dla pozostałych fosforanów stałe trwałości kompleksów z receptorem **65** były większe niż $10\,000 \text{ M}^{-1}$.

2.3.3. Monosacharydy w receptorach wiążących chiralne aniony

W jednym z podejść do rozpoznania chiralnego, Huszthy i współpracownicy^[71] użyli dioksyfenotiazynę jako aromatyczną platformę do konstrukcji enancjoselektywnego receptora na aniony **66** (Rysunek 29, Tabela 5).



66

Rysunek 29. Chiralny receptor anionów **66** bazujący na dioksyfenotiazynie

Tabela 5. Rozpoznanie chiralnych anionów przez receptor **66**

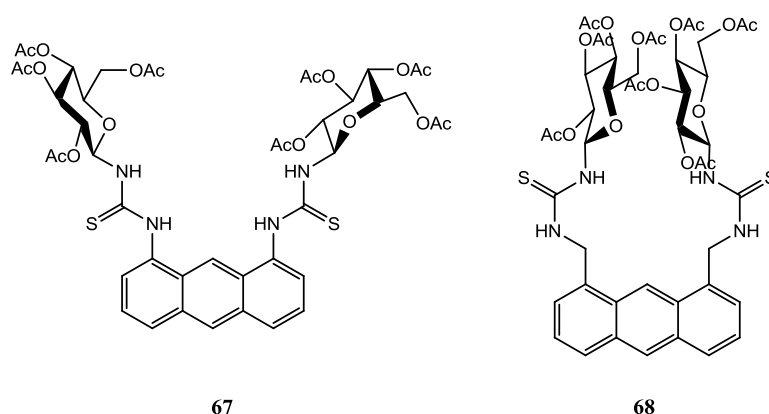
Lp	Anion ^a	logK	$\Delta \log K$
1	<i>R</i> -Migdalan	4,92	
2	<i>S</i> -Migdalan	4,73	0,19
3	(<i>R</i>)-Boc-Phg	5,43	
4	(<i>S</i>)-Boc-Phg	5,21	0,22
5	(<i>R</i>)-Boc-Phe	5,88	
6	(<i>S</i>)-Boc-Phe	5,79	0,09
7	(<i>R</i>)-Boc-Ala	5,94	
8	(<i>S</i>)-Boc-Ala	5,90	0,04

^aaniony w postaci soli tetrabutylamoniowych

Stałe trwałości kompleksów receptora **66** z chiralnymi anionami zostały zmierzone przy użyciu metody miareczkowania pod kontrolą UV/VIS. Pochodna fenotiazyny **66** była w stanie rozpoznać aniony chiralnych kwasów karboksylowych, posiadające podstawnik aromatyczny w pozycji α do centrum stereogenicznego (kwas migdałowy i fenyloglicyna). Natomiast w przypadku gdy podstawnik aromatyczny połączony był z centrum stereogenicznym poprzez grupę metylenową (fenyloalanina), lub zamieniono podstawnik

aromatyczny na alifatyczny, obserwowano znikomą enancjoselektywność. Stwierdzono również wpływ rozmiaru grupy *N*-zabezpieczającej na wielkość rozpoznania chiralnego. Porównano takie aminokwasy jak *N*-formylo-, *N*-acetylo- i *N*-piwaloilofenyloglicynę. Receptor **66** wykazywał najlepsze rozpoznanie chiralne dla największych grup zabezpieczających (Boc, Piv). Dla *N*-formylofenyloglicyny prawie nie zaobserwowano rozpoznania chiralnego.

Hyun i współpracownicy^[72] opisali fluorescencyjne sensory anionów **67** i **68**, służące chiralnemu rozpoznaniu *N*-Boc- i *N*-DNB-zabezpieczonych aminokwasów (Rysunek 30).

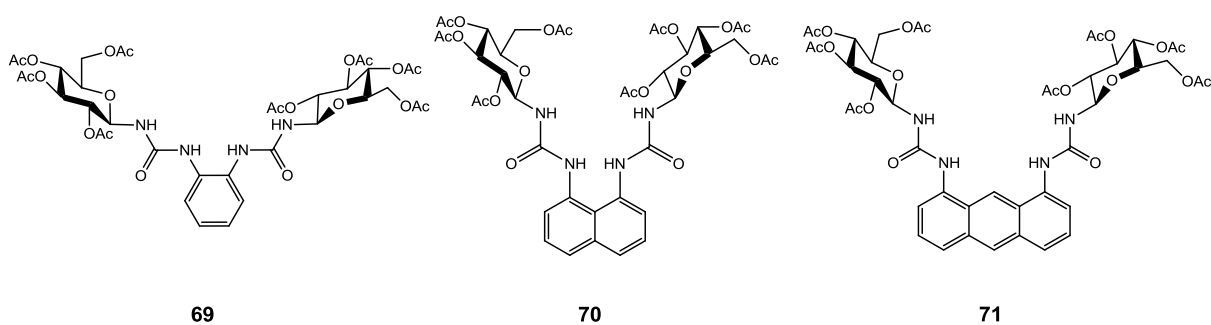


Rysunek 30. Fluorescencyjne receptory na aniony (**67** i **68**)

Aminokwasy takie jak alanina (Ala), walina (Val), treonina (Thr) czy leucyna (Leu), zostały użyte jako modelowe cząsteczki gości. Wiązanie anionów aminokwasów przez oba receptory **67** i **68** powodowało wygaszenie fluorescencji, związane z kompleksowaniem gościa (ang. chelation enhanced fluorescence quenching (CHEQ)). Wygaszenie fluorescencji dla receptora **67** zostało przypisane fotoindukowanemu transportowi ładunku (PCT), podczas gdy dla **68** fotoindukowanemu transportowi elektronu (PET). *N*-DNB-Zabezpieczone aminokwasy wykazywały dużo wyraźniejsze wygaszenie fluorescencji, w porównaniu do analogicznych *N*-Boc-pochodnych. Zostało to przypisane obecności grupy nitrowej, wykazującej dodatkową zdolność wygaszania fluorescencji. Przykładowe wygaszenie fluorescencji (w procentach) dla receptora **67** z D- i L-Boc-fenyloglicyną, wynosiło odpowiednio 22,5 i 26,1, podczas gdy dla kompleksu receptora **68** z D- i L-DNB-*N*-fenyloglicyną obserwowano wartości odpowiednio 66,6 i 63,9. Stałe wiązania zostały policzone z użyciem przybliżenia Benesiego-Hildebranda, a stechiometria wiązania anionu została potwierdzona za pomocą wykresów Joba. Najlepsze rezultaty zostały otrzymane dla

N-Boc-zabezpieczonej alaniny. Stałe wiązania anionów, wywodzących się z D- i L-Boc-alaniny, przez receptor **67**, wynosiły odpowiednio 11800 i 2160 M⁻¹. Co ciekawe, podobny motyw wiążący w receptorze **68**, spowodował przeciwną selektywność w porównaniu z receptorem **67** (zmierzone stałe wiązania dla D- i L-Boc-alaniny były odpowiednio 2300 i 23900 M⁻¹). Ta wysoka enacjoselektywność ($K_I/K_D = 10,4$) dla receptora **68**, została wytłumaczona poprzez oddziaływania CH- π pomiędzy szkieletem antracenowym a grupą metylową alaniny, obecnymi w badanym kompleksie **68** z alaniną. Te interakcje są natomiast niemożliwe dla receptora **67**, w którym brak grup metylenowych, potencjalnie odpowiedzialnych za labilność konformacyjną układu.

Ostatnio w naszym laboratorium zbadaliśmy, zdolność wiązania anionów przez trzy pochodne mocznikowo-glukopiranozowe **69-71** (Rysunek 31).^[73]



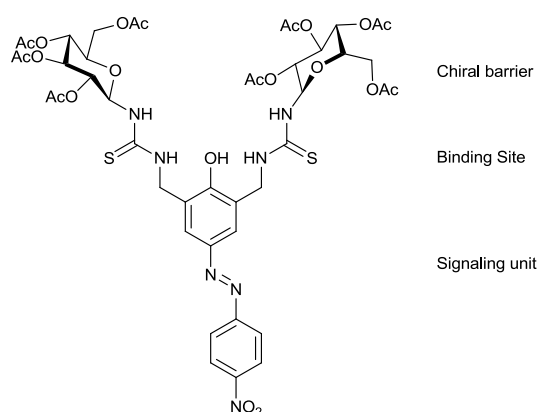
Rysunek 31. Monosacharydowe receptory anionów (**69-71**)

Użycie trzech różnych aromatycznych platform, pozwoliło na konstrukcję receptorów anionów o zmiennej geometrii i kształcie luki wiążącej. Najmniejszą lukę posiada pochodna naftalenu **70**, średniej wielkości – pochodna benzenu **69**, największą natomiast – pochodna antracenowa **71**. Aby zbadać wstępnie wpływ rozmiaru luki wiążącej na zdolność wiązania anionów, przeprowadzono miareczkowania pod kontrolą ¹H NMR, z użyciem modelowych karboksylanów – octanu i benzoesanu, w rozpuszczalniku DMSO-woda (99,5:0,5 v/v). We wszystkich przypadkach, mniejszy i bardziej zasadowy anion octanowy charakteryzował się większymi stałymi trwałości. Natomiast względny stosunek stałych kompleksowania $K_{\text{octan}}/K_{\text{benzoesan}}$ zależał od rozmiaru luki wiążącej. Receptor **71** wiązał anion octanowy dziesięć razy silniej niż benzoesanowy. Dla pozostałych dwóch receptorów **69** i **70** ten stosunek wynosił, odpowiednio, trzy i pięć.

Następnie zbadano rozpoznanie chiralne anionów kwasu migdałowego i *N*-Boc-zabezpieczonego tryptofanu z użyciem receptorów **69-71**. Dla receptorów **69** i **70** nie

stwierdzono chiralnego rozpoznania dla wyżej opisanych anionów, zaobserwowano natomiast tego typu rozpoznanie enancjomerów tryptofanu przez receptor **71**, stałe wiązania były odpowiednio 343 (dla D-Trp-COO⁻) i 190 M⁻¹ (dla L-Trp-COO⁻). Ponadto stwierdzono, że receptor **71** był w stanie rozpoznać enancjomery Boc-*N*-fenyloalaniny i Boc-*N*-waliny. Powyższe przykłady pokazują, jak ważne jest uwzględnienie geometrii luki wiążącej anion w projektowaniu chiralnych receptorów.

Użyteczny w UV/VIS receptor anionów **72** (Rysunek 32), został opisany jako efektywny układ w chiralnym rozpoznaniu anionów.^[74]

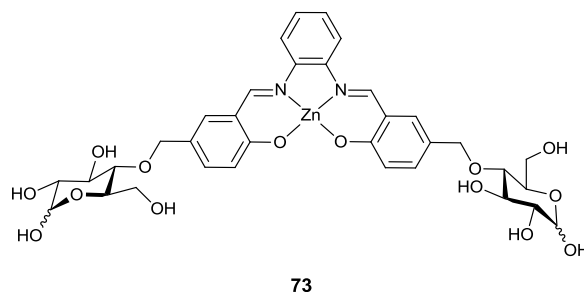


72

Rysunek 32. Kolorymetryczny sensor anionów do rozpoznania chiralnych anionów karboksylanowych

Maksimum absorbancji w widmie UV/VIS związku **72**, po dodaniu anionów uległo znacznemu przesunięciu batochromowemu (~145 nm). Tak duże przesunięcie zostało wytłumaczone deprotonowaniem azofenolu, co powoduje fotoindukowany transport ładunku (ang. photo-induced charge transfer, PCT). Zdolność rozpoznania chiralnego receptora **72** została zbadana za pomocą miareczkowań prowadzonych pod kontrolą UV/VIS, a stałe trwałości wyznaczono z użyciem przybliżenia Benesiego–Hildebranda. Receptor **72** wykazał dobre rozpoznanie chiralne dla *N*-zabezpieczonych aminokwasów, wiążąc silniej D-*N*-Boc zabezpieczone aminokwasy z enancjoselektywnością około 3.6 dla alaniny. Natomiast DNB-*N*-zabezpieczone aminokwasy były rozpoznawane z umiarkowanymi enancjoselektywnościami (1,10 – 2,55). Zdolność receptora **72** do rozpoznania chiralnego była również sprawdzona z użyciem innych chiralnych anionów karboksylanowych, pochodzących z naproksenu i kwasu 2-fenylopropionowego. Miareczkowania pod kontrolą UV/VIS dały, dla tych przykładów, enancjoselektywności równe odpowiednio 1,86 i 2,95.

Chiralne rozpoznanie zwitterjonów aminokwasów przez receptor **73**, zawierający Zn-salofen jako miejsce wiążące oraz D-glukozę jako fragment enancjoróżnicujący, było zbadane za pomocą miareczkowań pod kontrolą UV/VIS w wodzie (Rysunek 33).^[75]



Rysunek 33. Rozpuszczalny w wodzie, zawierający Zn-salofen, receptor na aniony

Stale wiązania aminokwasów, w porównaniu do achiralnego anionu octanowego, uległy znacznemu zmniejszeniu. Zostało to wytłumaczone poprzez niekorzystne oddziaływania steryczne aminokwasu z pierścieniami glukopiranozowymi. Stale wiązania aminokwasów z szeregu D i L były różne, a najwyższa zaobserwowana dla fenyloalaniny enancjoselektywność wynosiła 9,6. To bardzo dobre chiralne rozpoznanie daje się wytłumaczyć poprzez dwa różne oddziaływania: anion karboksylanowy jest wiązany przez Zn-salofen, podczas gdy kation amoniowy może skutecznie oddziaływać, poprzez wiązania wodorowe z grupami hydroksylowymi glukozy.

2.4. Podsumowanie

W niniejszym rozdziale starałem się pokazać ewolucję, jaką przechodziły różnorodne receptory, wykazujące chiralne rozpoznanie różnych jonów. Receptory zawierające monosacharydy jako fragmenty odpowiedzialne za rozpoznanie chiralnych kationów, zostały stosunkowo szybko zsyntezowane poprzez wbudowanie ich w strukturę eterów koronowych. Zbadanie właściwości kompleksotwórczych w różnych rozpuszczalnikach pokazało, że otrzymane receptory są w stanie różnicować chiralne kationy amoniowe. Jakkolwiek w tym czasie pojawiły się pierwsze przykłady receptorów potrafiących kompleksować achiralne aniony, dalszy rozwój tej dziedziny chemii supramolekularnej, chemii receptorów na aniony, rozpoczął się dopiero w ostatnim dwudziestoleciu. Jeszcze później pojawiły się receptory na chiralne aniony. W Rozdziale 2.3.1 zaprezentowałem typowe motywy strukturalne – źródła chiralności, które są używane w konstruowaniu chiralnych receptorów na aniony, np. aminokwasy, steroidy, pochodne binaftyli, czy chiralne diaminy. Aby zilustrować, jak

włączenie w strukturę receptora monosacharydu wpływa na właściwości kompleksujące, przedstawiłem zawierające cukry receptory **53-65**. Wnikliwe studia literaturowe pokazały, że istnieje tylko kilka przykładów chiralnych receptorów zawierających cukry. Analiza struktur receptorów **66-73** pokazuje, że większość z nich zawiera źródła chiralności praktycznie nie zmodyfikowane lub posiadają one tylko zabezpieczone grupy funkcyjne, które są znacznie prostsze strukturalnie niż np. centrów aktywnych enzymów. Jednocześnie pokazują, że z połączenia kilku prostych bloków budulcowych można otrzymać cząsteczki wykazujące ciekawe właściwości w rozpoznaniu chiralnym.

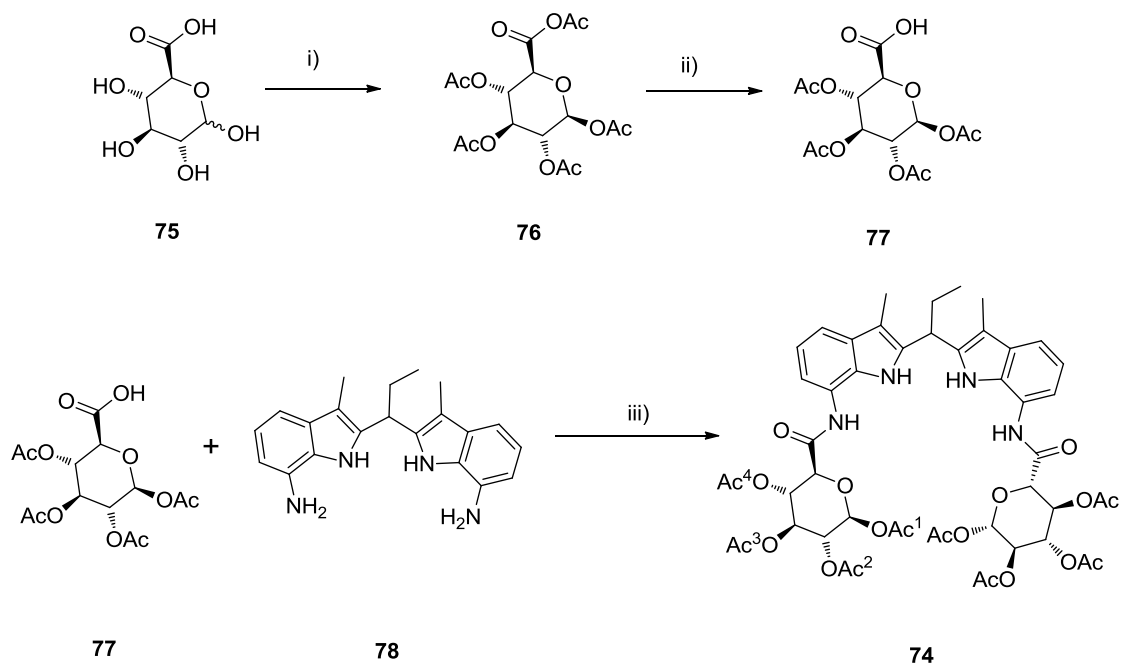
3. Badania własne

3.1. Wprowadzenie

Oprócz terpenów, steroidów, aminokwasów i hydroksykwasów, cukry stanowią ważny segment tzw. chiral pool. Odgrywają one ważną rolę w wielu procesach biologicznych i technologicznych, takich jak chiralne rozpoznanie, badania szlaków metabolicznych, asymetryczna synteza i kataliza, posiadają także szerokie zastosowanie w procesach rozdzielania chromatograficznego. Stanowią przy tym odtwarzalne źródło chiralności, które może zostać łatwo wbudowane w strukturę potencjalnego receptora, przy czym konfiguracja poszczególnych centrów stereogenicznych może być łatwo zmieniana poprzez użycie cukrów z szeregu D. Na podstawie powyższych danych, zdecydowałem się użyć cukry jako elementy odpowiedzialne za chiralność receptorów na chiralne aniony. Jako że synteza chiralnego receptora, bazującego na opisanym wcześniej bloku diindolometanowym, wymagała użycia chiralnego kwasu – do syntezy zdecydowałem się użyć pochodną D-glukozy – kwas D-glukuronowy.

3.2. Synteza i właściwości kompleksujące receptora wywodzącego się z diindolometanu i kwasu D-glukuronowego

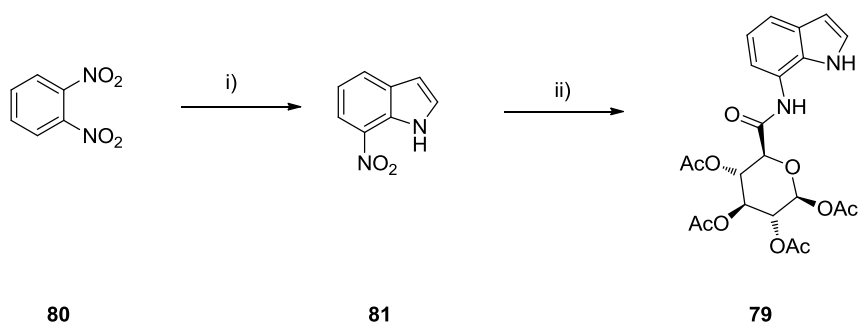
Syntezę receptora **74** (Schemat 6) rozpocząłem wychodząc z handlowo dostępnego kwasu D-glukuronowego **75**, który następnie acetylowałem przy użyciu bezwodnika octowego w reakcji katalizowanej elementarnym jodem.



i) Ac_2O , I_2 , 70%; ii) THF/ H_2O , 78%; iii) $(\text{COCl})_2$, DMF, DCM, 68%

Schemat 6. Synteza chiralnego receptora **74**, bazującego na platformie diindolometanowej.

β -Anomer, który powstawał jako główny produkt, został następnie oczyszczony od α -anomeru przez prostą krystalizację. Tak otrzymany mieszany bezwodnik **76** poddałem następnie hydrolizie, która doprowadziła do peracetylowanego kwasu glukuronowego **77**. Ten z kolei został przekształcony w chlorek kwasowy, przy użyciu chlorku oksalilu, w katalizowanej DMF reakcji i poddany *in situ* reakcji z 7,7'-diaminową pochodną **78**, otrzymaną za pomocą katalicznego wodorownika 7,7'-dinitrodiindolometanu. Równoległe postanowiłem zsyntezować receptor odniesienia **79** (Schemat 7).

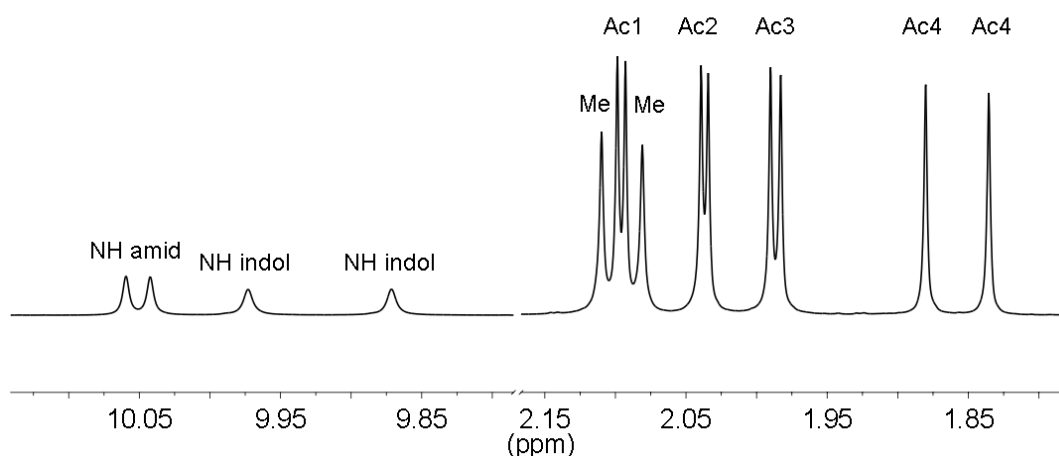


i) THF, -50 - -60°C , bromek winylomagnezowy, 37%; ii) a) H_2 , Pd/C; b) chlorek kwasu peracetylo-D-glukuronowego, DCM, 91%

Schemat 7. Synteza receptora odniesienia **79**

Receptor **79** zsyntezowałem wychodząc z 1,2-dinitrobenzenu (**80**). W pierwszym etapie, 1,2-dinitrobenzen poddałem reakcji z bromkiem winylomagenzowym, otrzymując 7-nitroindol **81**, który zredukowałem do 7-aminoidolu, a ten z kolei poddałem reakcji z chlorkiem kwasu D-glukuronowego, uzyskując pożądany receptor **79**.

Strukturę i czystość opisanych wyżej receptorów określiłem poprzez analizę widm ^1H NMR, ^{13}C NMR, spektrometrię mas i analizę elementarną. Co ciekawe, analiza widma ^1H i ^{13}C NMR receptora **74** pozwala zaobserwować dwa zestawy sygnałów, odpowiadające poszczególnym podjednostkom cukrowym (protony pierścienia glukopiranozowego i grup acetylowych). Podobnie, można było zaobserwować cztery sygnały w widmie ^1H NMR dla protonów NH, będących donorami wiązania wodorowego ($\delta = 9.87$ i 9.97 ppm (dla indolowego NH) oraz $\delta = 10.04$ i 10.07 ppm (dla amidowego NH) (Rysunek 34). Wyniki powyższe świadczą nie tylko o dobrze zdefiniowanej strukturze receptora **74**, ale również o jego zdolności do preorganizacji.



Rysunek 34. Fragment widma receptora **74** w DMSO- d_6

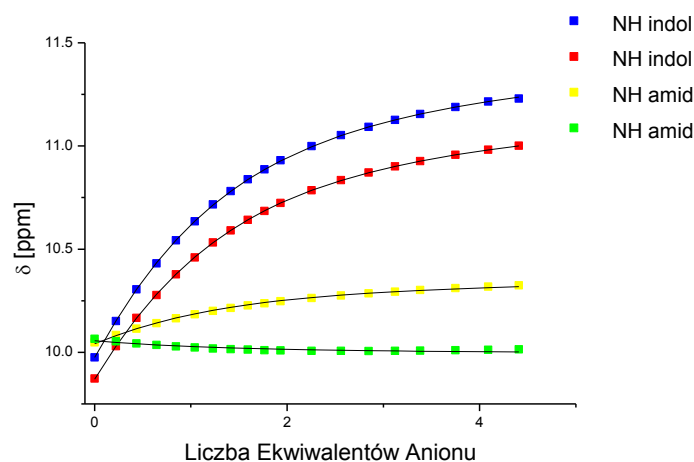
Przed przystąpieniem do zbadania możliwości chiralnego rozpoznania przez receptory **74** i **79**, postanowiłem sprawdzić ich zdolności kompleksowania achiralnych anionów. W tym celu użyłem czterech modelowych anionów – octanu, benzoesanu, diwodorofosforanu i chlorku, w postaci soli TBA (Tabela 6). W ten sposób mogłem porównać je z wynikami otrzymanymi wcześniej dla achiralnych pochodnych diindolometanu oraz sprawdzić, jak wbudowanie jednostek monosacharydowych moduluje powinowactwo receptora **74** do wybranych anionów, chodziło mi przede wszystkim o rolę zwiększonej zawady sterycznej.

Tabela 6. Stałe trwałości i przesunięcia chemiczne protonów NH zaangażowanych w wiązanie wodorowe receptora **74** z achiralnymi gośćmi w DMSO- d_6 + 0.5 % H₂O

Lp	Anion ^c	K /M ^{-1a}	$\Delta\delta_{\max}$ /ppm ^d NH indol	$\Delta\delta_{\max}$ /ppm ^d NH indol	$\Delta\delta_{\max}$ /ppm ^d NH amid	$\Delta\delta_{\max}$ /ppm ^d NH amid
1	Cl ⁻	95,1	1,55	1,39	0,33	-0,12
2	H ₂ PO ₄ ⁻	1500 ^b	2,72	2,41	1,94	1,89
3	PhCOO ⁻	2421	2,75	2,38	0,71	0,55
4	AcO ⁻	>10 ⁴	2,71	2,56	0,81	0,68

^aoczacowany błąd mniejszy niż 10% ^bpowolna równowaga wiązania. ^cużyte jako sole tetrabutylu-amonioowe. ^dasymptotyczna zmiana przesunięcia chemicznego otrzymana przez regresję nieliniową.

Słabo zasadowy anion chlorkowy charakteryzował się umiarkowaną stałą trwałości kompleksu z receptorem **74** ($K = 95,1 \text{ M}^{-1}$), natomiast wartym zauważenia jest fakt, że kompleksowanie tego sferycznego anionu powodowało odmienne zachowanie się protonów amidowych obecnych w receptorze (Rysunek 35).



Rysunek 35. Zmiana przesunięć chemicznych protonów NH receptora **74** podczas miareczkowania anionem chlorkowym

Jeden z amidowych protonów NH przesunął się w górę pola (na skutek zwiększania się gęstości elektronowej w wyniku wiązania anionu), natomiast drugi – w dół pola, na skutek tworzenia się wiązania wodorowego z anionem chlorkowym. Świadczy to o tym, że luka wiążąca tego receptora jest zbyt mała aby zmieścić anion chlorkowy. Dodatkowo, obserwacja ta potwierdza obniżenie symetrii receptora **74**, widoczne w jego widmie ¹H NMR. Wiązanie anionu diwodorofosforanowego przebiegało powoli w czasie NMR (stała szybkości wymiany kompleks-wolny receptor była powolna w skali czasu NMR). W przypadku modelowych

karboksylanów (Tabela 6, lp 3 i 4) bardziej wymagający sterycznie benzoesan charakteryzował się stałą trwałości $K = 2421 \text{ M}^{-1}$, natomiast mniejszy z anionów karboksylanowych–octan stałą $K > 10\,000 \text{ M}^{-1}$. Wprowadzenie kwasu glukuronowego do struktury receptora diindolometanowego spowodowało kilkukrotny spadek obu stałych trwałości, w porównaniu do achiralnego analogu.^[16]

Zdolność receptorów **74** i **79** do chiralnego rozpoznania anionów zbadalem z udziałem modelowego anionu, pochodzącego od kwasu *R*- i *S*-migdałowego (MA). W celu wyznaczenia stałych trwałości przeprowadziłem miareczkowania pod kontrolą ¹H NMR, w typowych dla chemii receptorów na aniony warunkach (DMSO-*d*₆+ 0,5% H₂O). Zbadalem również wpływ polarności rozpuszczalnika na przebieg chiralnego rozpoznania. Wszystkie te rezultaty są przedstawione w Tabeli 7.

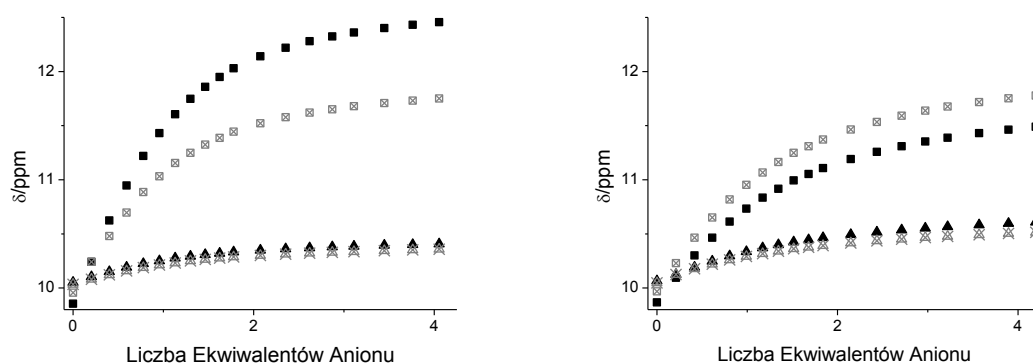
Tabela 7. Chiralne rozpoznanie anionów kwasu migdałowego

Lp	Anion ^a	Receptor	K/M ^{1b}	Rozpuszczalnik	K _R /K _S
1	(<i>S</i>)-MA	74	119	DMSO- <i>d</i> ₆ +0.5% H ₂ O	1,95
2	(<i>R</i>)-MA	74	233	DMSO- <i>d</i> ₆ +0.5% H ₂ O	
3	(<i>S</i>)-MA	74	58,6	DMSO- <i>d</i> ₆ +5% H ₂ O	2,01
4	(<i>R</i>)-MA	74	118	DMSO- <i>d</i> ₆ +5% H ₂ O	
5	(<i>S</i>)-MA	74	6147	MeCN- <i>d</i> ₃	– ^c
6	(<i>R</i>)-MA	74	>10 ⁴	MeCN- <i>d</i> ₃	
7	(<i>S</i>)-MA	79	22,0	DMSO- <i>d</i> ₆ +0.5% H ₂ O	0,94
8	(<i>R</i>)-MA	79	20,7	DMSO- <i>d</i> ₆ +0.5% H ₂ O	
9	(<i>S</i>)-MA	79	693	MeCN- <i>d</i> ₃	1,07
10	(<i>R</i>)-MA	79	740	MeCN- <i>d</i> ₃	

^aaniony zostały użyte jako sole tetrabutylamoniumowe. ^bszacowany błąd mniejszy niż 10%. ^cstałe wiązania zbyt duże aby możliwe było ich porównanie.

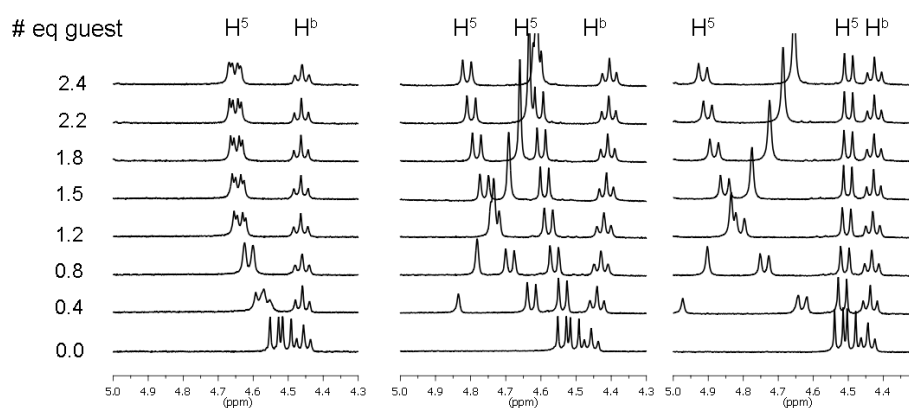
W opisanych wyżej warunkach, receptor **74** dobrze rozpoznawał enancjomery migdałanu (Tabela 7, lp. 1 i 2), przy czym zaobserwowałem około dziesięciokrotny spadek stałej trwałości, w porównaniu do kompleksu benzoesanu, a stałe wiązania enancjomerycznych migdałanów były różne. *R*-Migdałan był wiązany przez receptor **74** z większą stałą trwałości ($K = 233 \text{ M}^{-1}$) niż *S*-migdałan ($K = 119 \text{ M}^{-1}$). Natomiast dokładniejsza analiza zmian przesunięć chemicznych protonów NH tego receptora, w obecności anionów, ujawniła kilka nowych ciekawych danych na temat wiązania enancjomerycznych migdałanów. Dla słabiej wiązanego *S*-migdałanu, izotermy wiązania protonów indolowych

zachowywały się w bardzo podobny do siebie sposób i wykazywały zbliżone przesunięcia chemiczne (δ_{\max}) 11,81 i 12,15 ppm (Rysunek 36). Natomiast w przypadku *R*-migdalanu, przesunięcia chemiczne wyżej wymienionych protonów uległy zamianie. Proton indolowy, który posiadał najniższe przesunięcie chemiczne w wolnym receptorze **74** ($\delta = 9,87$ ppm), po dodaniu *R*-migdalanu TBA przesuwał się najniżej (przesunięcie chemiczne 12,76 ppm), prawie 0,8 ppm więcej niż drugi proton indolowy (izotermy wiązania dla protonów indolowych uległy przecięciu).



Rysunek 36. Porównanie izoterm wiązania przez receptora **74** *R*(-)-migdalanu (lewy) i *S*(+)-migdalanu (prawy) w $\text{DMSO-}d_6 + 0.5\% \text{H}_2\text{O}$. Zmiany przesunięć chemicznych dla protonów indolowych (kwadraty) i amidowych (trójkąty)

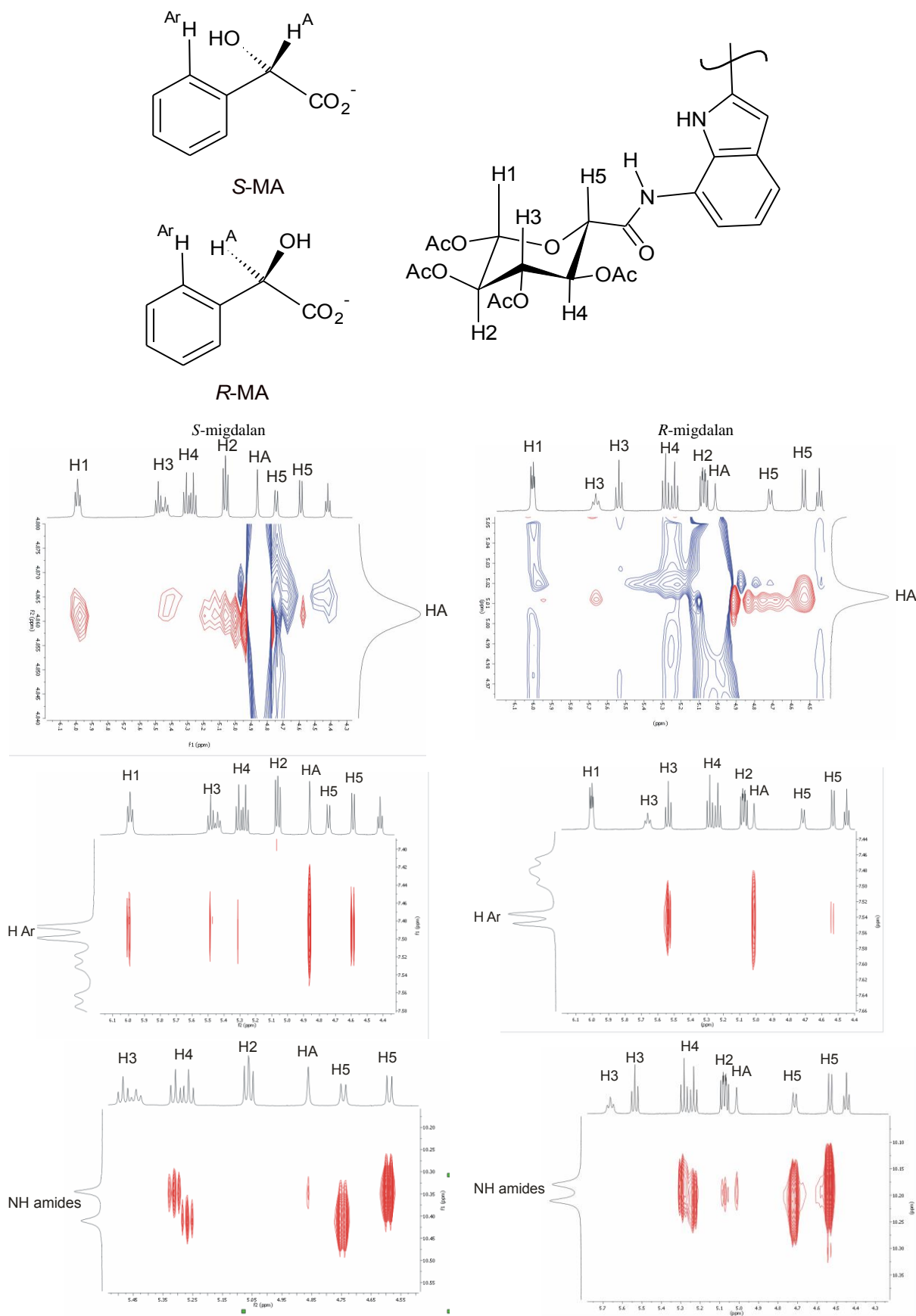
Ponadto, mniejsze, ale dające się dobrze obserwować, zmiany przesunięć chemicznych dla protonów w pierścieniu glukopiranozowym receptora **74** sugerują występowanie równowag konformacyjnych podczas wiązania enancjomerycznych migdalanów (Rysunek 37). Protony H^5 , znajdujące się w sąsiedztwie grupy karbonylowej receptora **74**, ulegały dla *S*-migdalnu przesunięciu w dół pola o około 0,1 i 0,2 ppm. Natomiast *R*-migdalan wykazał się inną charakterystyką – przesunięcie chemiczne ulegało zmianie tylko dla jednego z wymienionych protonów. Z kolei, w przypadku kompleksowania achiralnego anionu octanowego, protony H^5 nie ulegały różnicowaniu, co świadczyć może, że ich rozróżnianie jest spowodowane obecnością chiralnego gościa.



Rysunek 37. Fragmenty miareczkowań ^1H NMR receptora **74** z octanem (lewy) *S*-migdalan (środkowy) i *R*-migdalan (prawy). H^5 protony w pierścieniu glukopiranozowym, H^b proton mostkowy w diindolometanie w $\text{DMSO-}d_6 + 0.5\% \text{H}_2\text{O}$.

Dalszych wskazówek na temat mechanizmu wiązania anionów przez receptor **74**, dostarczyły widma spektroskopii korelacyjnej ^1H - ^1H ROESY (Rysunek 38). Widmo ROESY kompleksu receptora **74** z *R*-migdalanem, pokazuje korelacje pomiędzy aromatycznymi protonami gościa i protonami cukrowymi (H^3 i H^5). Natomiast występujące obok głównych, dodatkowe korelacje dla *S*-migdalnu, świadczą o jego głębszym umiejscowieniu wewnątrz luki wiążącej anion. Ten fakt znajduje również potwierdzenie w wyraźnym zróżnicowaniu pików korelacyjnych protonu α z protonami pierścienia cukrowego, dla obu enancjomerów migdalanów.

Główny pik korelacyjny dla *R*-migdalanu pochodzi od protonu H^5 , znajdującego się w pobliżu luki wiążącej anion, inaczej niż w przypadku protonu α *S*-migdalanu, dla którego główny pik korelacyjny pochodzi od protonu anomerycznego. Wnioski płynące ze spektroskopii ROESY sugerują dwa różne sposoby wiązania anionu. Można wnioskować, że geometria receptora **74** powoduje iż *S*-migdalan umiejscowiony jest głębiej wewnątrz luki wiążącej, co powoduje większą liczbę niekorzystnych oddziaływań i w konsekwencji spadek wartości stałej trwałości. Należy nadmienić, że *R*-migdalan oddziałuje głównie z jednym pierścieniem glukopiranozowym. Fakty te znajdują także odzwierciedlenie w zmianach przesunięć chemicznych protonu H^5 , pokazanych na Rysunku 37.



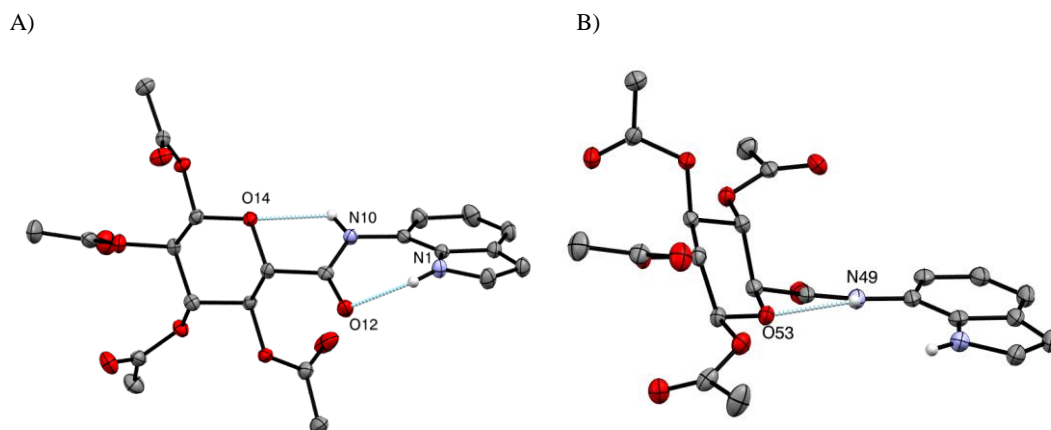
Rysunek 38. Porównanie pomiędzy widmami ¹H – ¹H ROESY receptora 74 z migdalanami (1.0 ekw.)

W celu zbadania wpływu rozpuszczalnika na opisane rozpoznanie chiralne, przeprowadziłem też dodatkowe miareczkowania, w DMSO- d_6 +5% H₂O oraz w MeCN- d_3 . Zwiększenie polarności mieszaniny DMSO-H₂O doprowadziło do spodziewanego spadku stałych trwałości dla enancjomerycznych migdalanów, jakkolwiek nie przyczyniło się do osłabienia zdolności chiralnego rozpoznania receptora **74** (Tabela 7). Z kolei, w mniej polarnym acetonitrylu stałe wiązania anionu były obarczone zbyt dużym błędem, aby można było oszacować zdolność do chiralnego rozpoznania przez receptor **74** w tym środowisku.

Receptor odniesienia **79** nie był w stanie zróżnicować enancjomerycznych migdalanów, jako że stałe ich wiązania były identyczne (uwzględniając błąd pomiaru) dla obu enancjomerów, niezależnie od polarności rozpuszczalnika (Tabela 7).

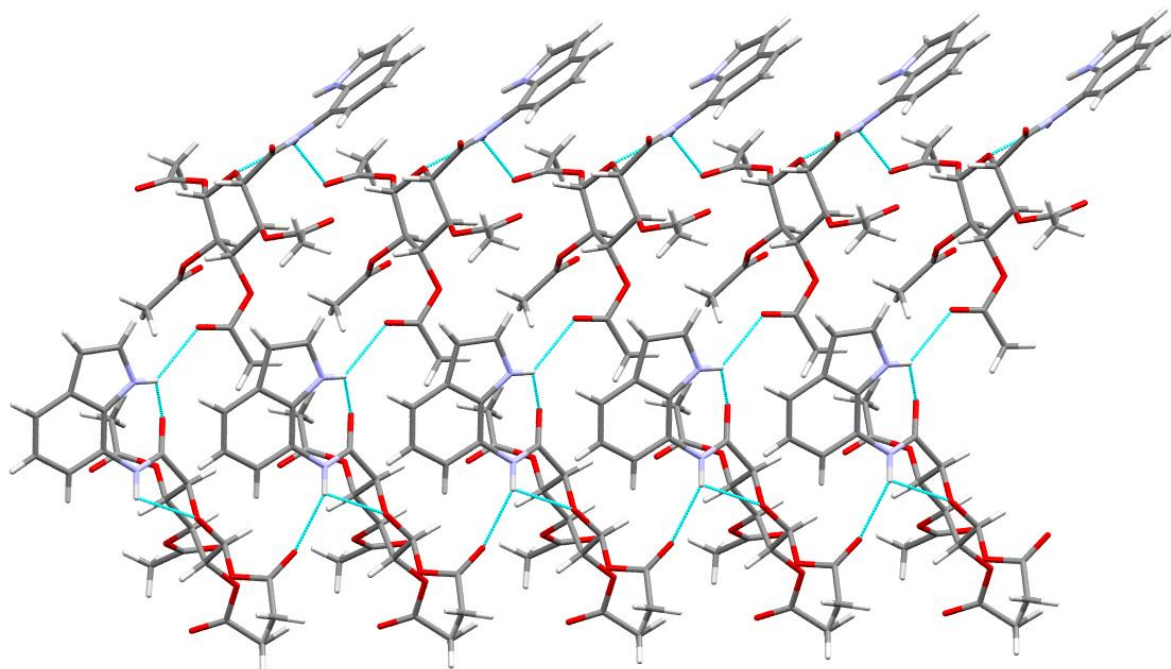
Pomimo wielu wysiłków włożonych w próby otrzymania monokryształu receptora **74**, nie udało mi się uzyskać próbki nadającej się do wyznaczenia struktury metodą RAS. Wobec tego postanowiłem uzyskać przynajmniej monokryształ receptora **79**. Powolna dyfuzja eteru naftowego do rozpuszczonego w dichlorometanie związku **79**, doprowadziła do powstania monokryształów, które umożliwiły ustalenie struktury tego receptora w ciele stałym. Rentgenowska analiza strukturalna wykazowała dwa motywy strukturalne, w których występował receptor **79**, różniące się położeniem pierścienia glukopiranozowego względem pierścienia indolowego (*syn* vs. *anti*) (Rysunek 39).

W konformacji *anti* receptora **79** (Rysunek 39A) protony amidowy i indolowy są zaangażowane w wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe. Indolowy proton NH uczestniczy w wiązaniu wodorowym z grupą karbonylową kwasu glukuronowego ($d_{N1-O12} = 2.743 \text{ \AA}$), podczas gdy proton amidowy NH bierze udział w wiązaniu wodorowym z anomerycznym atomem tlenu O¹⁴. Podobne wiązania wodorowe zostały zaobserwowane wcześniej dla drugorzędowych amidów kwasu glukuronowego.^[76] Z kolei, w konformacji *syn* (Rysunek 39B) proton amidowy, podobnie jak w poprzednim przypadku, zaangażowany jest w wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe z anomerycznym atomem tlenu O⁵³ ($d_{N49-O53} = 2.612 \text{ \AA}$). Płaszczyzna pierścienia glukopiranozowego jest prawie prostopadła do pierścienia indolowego. Taka konformacja odpowiada za ochranianie jednej strony pierścienia indolowego i może być odpowiedzialna za efektywność rozpoznania chiralnego.



Rysunek 39. Fragmenty A i B w strukturze receptora **79** w konformacjach *anti* i *syn*. Parametry przemieszczeń atomów pokazany jest dla 50% prawdopodobieństwa. Atomy wodoru zostały usunięte dla przejrzystości rysunku

Te dwa, wspomniane wcześniej, motywy strukturalne, widoczne w ciele stałym, połączone są siecią wiązań wodorowych. Przykładowo, proton indolowy NH fragmentu A tworzy wiązanie wodorowe z karbonylowym atomem tlenu grupy acetylowej fragmentu B. Wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe zdają się odgrywać ważną rolę w preorganizacji cząsteczki receptora **79** (Rysunek 40).



Rysunek 40. Sieć wiązań wodorowych w kryształce receptora **79**.

W dalszym toku badań nad rozpoznaniem chiralnym anionów przez receptor **74** zdecydowałem się użyć, jako modelowych gości, trzech *N*-Boc zabezpieczonych aminokwasów: tryptofan, waline, i fenyloalaninę – wyniki tych badań są przedstawione w Tabeli 8.

Tabela 8. Rozpoznanie chiralne aminokwasów przez receptor **74**

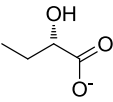
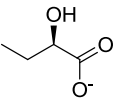
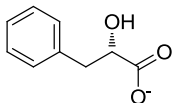
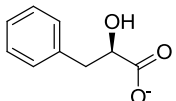
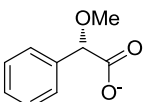
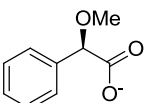
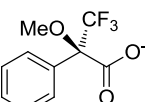
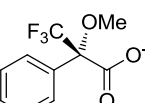
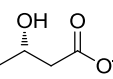
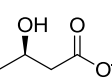
Lp	Anion ^[a]	K/M ⁻¹ [b]	K _R /K _S
1	Boc- <i>N</i> -D-Trp-COO ⁻	227	2,57
2	Boc- <i>N</i> -L-Trp-COO ⁻	88.0	
3	Boc- <i>N</i> -D-Val-COO ⁻	305	2,42
4	Boc- <i>N</i> -L-Val-COO ⁻	126	
5	Boc- <i>N</i> -D-Phe-COO ⁻	224	2,40
6	Boc- <i>N</i> -L-Phe-COO ⁻	93.3	

^aaniony używane jako sole tetrabutylamoniowe. ^bstałe wiązania w DMSO-*d*₆ + 0.5% H₂O otrzymane z miareczkowań ¹H NMR, otrzymane błędy mniejsze niż 10%.

Receptor **74** wykazywał preferencję dla wiązania enancjomerów D wszystkich trzech zbadanych aminokwasów, dla których stałe trwałości były co najmniej dwa razy większe niż dla enancjomerów L. Również analiza przesunięć protonów grup acetylowych oraz protonów pierścieni glukopiranozowych, wykazała analogiczne zachowanie jak w przypadku enancjomerycznych migdalanów.

W celu rozwinięcia charakterystyki chiralnego rozpoznania przez receptor **74**, przeprowadziłem miareczkowania z innymi chiralnymi anionami, posiadającymi różne podstawniki przy centrum stereogenicznym, których wyniki pokazane są w Tabeli 9. W porównaniu do wcześniej zbadanego kwasu migdałowego, enancjomery kwasu 2-hydroksymasłowego i 3-fenylomlekowego były rozpoznawane z większymi enancjoselektywnościami, odpowiednio 2.55 i 3.68. Receptor **74** zdaje się lepiej rozpoznawać α -hydroksykwasy zawierające podstawnik alifatyczny. Receptor **74** nie wykazywał chiralnego rozpoznania dla anionów kwasu metoksyfenylooctowego, co sugeruje że obecność dodatkowego donora wiązania wodorowego jest niezbędna do skutecznego rozpoznawania enancjomerycznych anionów przez receptor **74**. Ten efekt można wytłumaczyć przypuszczeniem, że grupa hydroksylowa może tworzyć jedno, bądź więcej wiązań wodorowych z atomami tlenu grup acetylowych lub anomerycznym atomem tlenu.

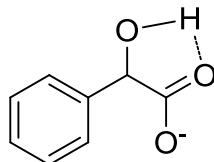
Tabela 9. Rozpoznanie karboksylanów przez receptor **74**

Lp.	Anion ^a	K/M^{-1b}	K_R/K_S
1		606	2,55
2		1542	
3		259	3,68
4		952	
5		2236	1,02
6		2284	
7		35.6	1,31
8		27.0	
9		737	1,22
10		902	

^aaniony używane jako sole tetrabutylamoniowe. ^bstałe wiązania w DMSO-*d*₆ + 0.5% H₂O otrzymane z miareczkowań ¹H NMR, otrzymane błędy mniejsze niż 10%.

Dodatkowe wiązania wodorowe występują prawdopodobnie tylko dla jednego z enancjomerów, różnicując stałe trwałości diastromerycznych kompleksów. Porównanie stałych trwałości anionów, wywodzących się z kwasu migdałowego i kwasu metoksyfenylooctowego pokazało też, że ten ostatni posiada stałe trwałości około dziesięciokrotnie większe niż te, pochodzące od kwasu migdałowego. Jedną z możliwości wytłumaczenia tego faktu jest istnienie wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego w

anionie migdalanowym, które prowadzi do delokalizacji, na grupę hydroksylową, ujemnego ładunku karboksylanu, co w konsekwencji prowadzi do osłabienia wiązań wodorowych tego anionu z receptorem (Rysunek 41).



Rysunek 41. Wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe w anionie migdalanowym

Anion kwasu 3-hydroksymasłowego był w znikomym tylko stopniu rozpoznawany przez receptor **74** ($K_R/K_S = 1,22$ mieści się w granicy błędu pomiaru). Fakt ten sugeruje, że centrum stereogeniczne musi znajdować się w pozycji α , aby receptor **74** mógł efektywnie rozpoznawać chiralnego gościa. Obecność czwartorzędowego centrum stereogenicznego w anionach wywodzących się z kwasu Moshera, spowodowała dalszy spadek stałych trwałości kompleksów z receptorem **74**, jednocześnie nie zaobserwowałem wyraźnego chiralnego rozpoznania tych anionów. Receptor **74** nie był w stanie odróżnić grupy trifluorometylowej i metoksylowej.

3.3. Użycie przesunięć chemicznych receptora do wyznaczania konfiguracji α -karboksylanów

Zainspirowany zmianami przesunięć sygnałów pochodzących od grup acetylowych oraz od protonów pierścienia glukopiranozowego receptora **74** zdecydowałem się rozwinąć ich analizę z punktu widzenia określania konfiguracji kompleksowanych anionowych gości. Do realizacji tego celu postanowiłem zastosować metodę sztucznych sieci neuronowych oraz tzw. analizę głównych składowych.

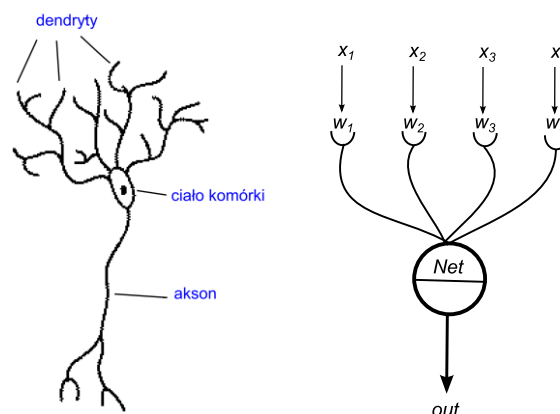
3.3.1. Krótkie wprowadzenie do sztucznych sieci neuronowych

Sztuczne sieci neuronowe zostały pierwotnie skonstruowane jako modele przetwarzania informacji poprzez układ nerwowy wyższych organizmów.^[77, 78] Oczywistym jest, że mózg człowieka posiada zdolność przetwarzania informacji o wiele bardziej zaawansowaną niż współczesne komputery. Aby komputer mógł rozwiązać konkretny problem, musi zostać

uprzednio wyposażony w określony algorytm, który jest dostosowany do tego problemu. Sztuczne sieci neuronowe działają na innej zasadzie i mogą wykonywać wiele zadań, w zależności od zaistniałej potrzeby. Typowe zadania, które mogą wykonywać sieci neuronowe to:

1. klasyfikacja – obiekt charakteryzowany poprzez kilka właściwości może zostać przypisany przez sieć neuronową do jednej z kilku kategorii;
2. modelowanie – właściwości charakteryzujące obiekt mogą zostać użyte do przewidzenia jego innej właściwości;
3. asocjacja – sieci neuronowe mogą być wykorzystane do porównywania i/lub znajdowania relacji pomiędzy obiektami;
4. mapowanie – bardziej złożone informacje mogą zostać przetworzone na ich prostsze reprezentacje.

Biologiczne sieci neuronowe składają się z podjednostek zwanych neuronami, które połączone są ze sobą w sieć. Podobnie, sztuczne sieci neuronowe składają się z jednostek zwanych sztucznymi neuronami (Rysunek 42), których zadaniem jest naśladowanie procesów zachodzących w biologii. Neuron posiada rozgałęzienia zwana dendrytami, które otrzymują sygnał elektryczny i przekazują go do komórki. Wszystkie sygnały, otrzymane przez dendryty, są ze sobą sumowane, jeżeli ta suma przekracza wartość progową dla danego neuronu, powoduje jego aktywację i sygnał transportowany jest aksonem do dendrytów kolejnych neuronów. Neurony łączą się z sobą połączeniami zwanymi synapsami.



Rysunek 42. Budowa neuronu i jego matematyczny model

Synapsa posiada zdolność modyfikowania sygnału otrzymanego z aksonu, co jest związane z jej siłą synaptyczną. Sygnał wejściowy x_i , otrzymany przez synapsę i , ulega modyfikacji wyrażonej intensywnością $s_i = w_i x_i$, po przejściu przez synapsę o sile w_i . Neuron

posiada i dendrytów, które dostarczają wiele sygnałów jednocześnie. Wszystkie te sygnały są następnie sumowane przez neuron dając sygnał wejściowy Net (1).

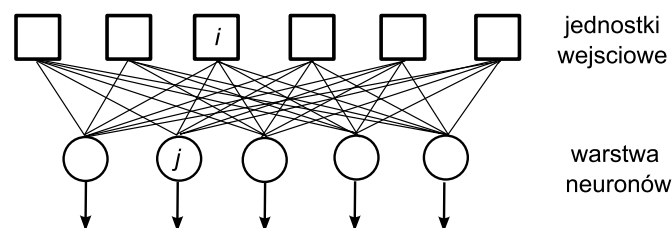
$$Net = \sum_i s_i = \sum_i x_i w_i \quad (1)$$

Wartość wejściowa Net nie jest jeszcze wartością, która jest transmitowana aksonem do kolejnych neuronów. W celu nadania modelowi neuronu właściwości, które spotykane są w układach biologicznych, sygnał wejściowy poddawany jest najczęściej działaniu funkcji sigmoidalnej, zwanej też funkcją logistyczną; wyjście neuronu określone jest równaniem (2).

$$out = \frac{1}{1 + e^{-(\alpha Net + \delta)}} \quad (2)$$

Parametry α i δ pozwalają na dalsze modyfikowanie właściwości funkcji logistycznej. Ważnymi cechami funkcji logistycznej są jej wartość (zawsze znajdująca się w przedziale 1-0) i jej nieliniowy charakter. Nieliniowe właściwości funkcji logistycznej są bardzo ważne przy modelowaniu złożonych procesów.

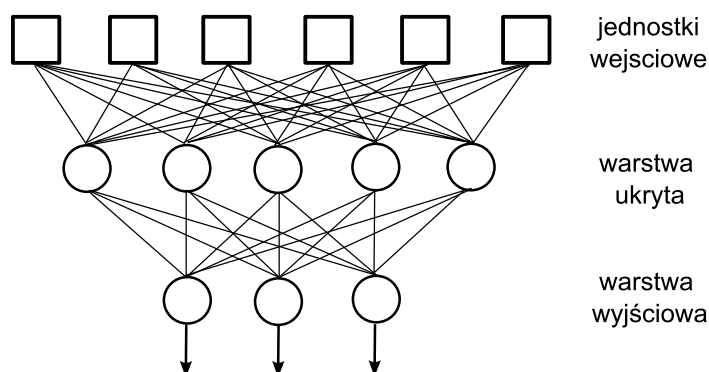
Zaprezentowany model neuronu jest uproszczeniem jego biologicznego odpowiednika i pozwala realizować tylko bardzo proste operacje. Wyjątkowe właściwości i elastyczność sieci neuronowych powstają z połączenia sztucznych neuronów. Najczęściej stosowaną architekturą sztucznych sieci neuronowych jest struktura jednokierunkowej sieci neuronowej (Rysunek 43). W tej architekturze można rozróżnić warstwy neuronów, które są połączone ze wszystkimi partnerskimi neuronami z warstwy poprzedniej i warstwy następnej. Nie są one natomiast połączone między sobą w obrębie jednej warstwy. Każdy neuron j w warstwie ma dostęp do całości danych wejściowych $x_1, x_2, \dots, x_i, \dots, x_m$ i generuje wartość wyjściową out_j . Na Rysunku 43 jednostki wejściowe są zaznaczone jako kwadraty i nie przeprowadzają one żadnych operacji arytmetycznych, bowiem ich zadaniem jest tylko propagacja sygnału do neuronu w następnej warstwie. Każdy neuron otrzymuje inny sygnał, ponieważ połączenie neuronu j z jednostką wejściową ma inną wagę w_{ij} , reprezentującą siłę synaptyczną. Rysunek 43 przedstawia najprostszą sieć neuronową, zwaną perceptronem, posiada ona tylko jedną warstwę neuronów i wyjście tej warstwy jest jednocześnie wyjściem sieci.



Rysunek 43. Najprostsza sieć neuronowa.

Taka prosta architektura posiada poważne ograniczenia w transformacji danych wejściowych w wyjściowe. W celu usunięcia tych ograniczeń stosuje się bardziej rozbudowane modele, posiadające kilka warstw neuronów, połączonych ze sobą (Rysunek 44). Tak skonstruowana sieć neuronowa otrzymuje dane wejściowe X_1 , które zostaną poddane działaniu pierwszej warstwy neuronów, dając dane wyjściowe Out_1 . Wyjście pierwszej warstwy neuronów stanowi jednocześnie dane wejściowe dla następnej warstwy neuronów $Out_1 = X_2$. W ten sposób dane wyjściowe są propagowane poprzez poszczególne warstwy i dane wyjściowe ostatniej warstwy neuronowej są danymi wyjściowymi sieci.

Aby sztuczna sieć neuronowa mogła spełniać zadania opisane na początku tego rozdziału, jej wagi w_{ij} muszą mieć odpowiednią wartość. Przykładowo, prosta sztuczna sieć neuronowa, pokazana na Rysunku 44, posiada 48 wag do ustalenia. Dobieranie odpowiednich wag w_{ij} , określane jest mianem procesu uczenia sieci neuronowej. Jednym z najbardziej popularnych algorytmów, który stosowany jest do uczenia sztucznych sieci neuronowych, jest algorytm propagacji wstecznej błędów.^[79] Do jednostek wejściowych dostarczane są odpowiednie dane X , a do warstwy wyjściowej – pożądana odpowiedź Out sieci neuronowej. Zadaniem algorytmu jest takie ustawienie wag w_{ij} , aby zminimalizować różnice odpowiedzi sieci neuronowej z oczekiwanym rezultatem.



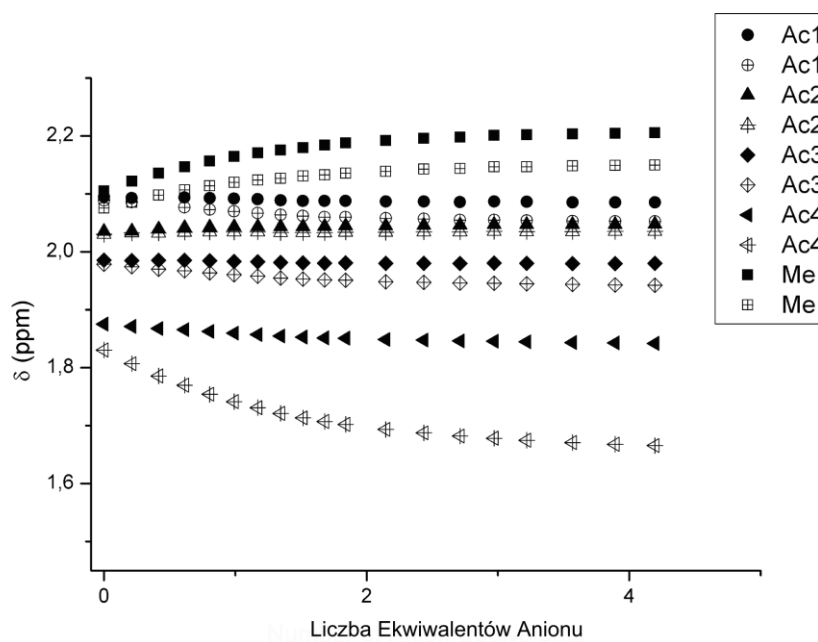
Rysunek 44. Dwuwarstwowa sztuczna sieć neuronowa

Po zakończeniu procesu uczenia sztucznej sieci neuronowej, może ona zostać użyta do realizacji odpowiedniego zadania. Po dostarczeniu odpowiednich danych wejściowych X , sztuczna sieć neuronowa powinna być w stanie przewidzieć pożądaną przez nas właściwość.

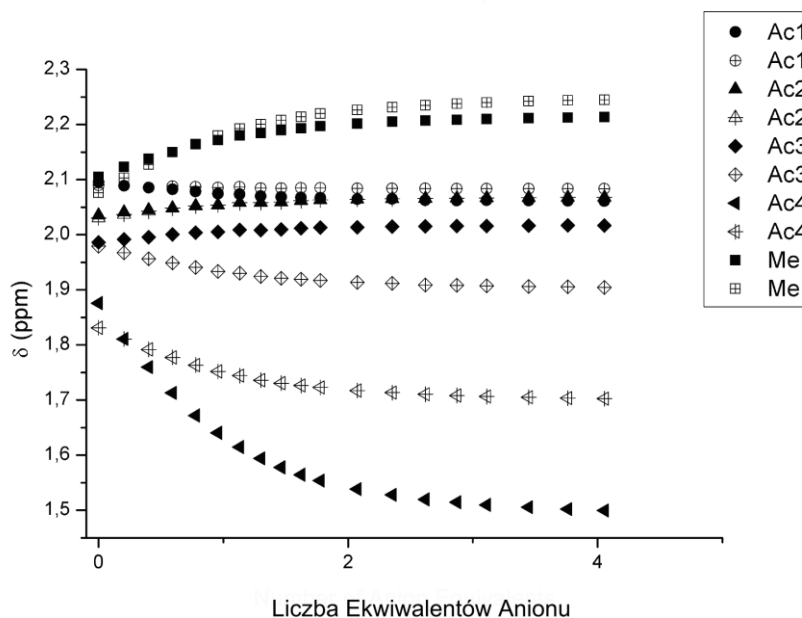
3.3.2. Sztuczna sieć neuronowa w rozpoznaniu chiralności

Jak pokazałem wcześniej, receptor diindolometanowy **74** posiada zdolność rozpoznawania biologicznie istotnych anionów karboksylanowych, manifestującą się nie tylko przez różne stałe trwałości kompleksów z enancjomerycznymi gośćmi, ale również poprzez różne przesunięcia chemiczne protonów receptora. Przykładowe przesunięcia chemiczne dla protonów grup acetylowych i metylowych, podczas miareczkowania anionów wywodzących się z kwasu migdałowego, są przedstawione na Rysunku 45. Przeanalizowanie zmian przesunięć chemicznych protonów grup acetylowych i pierścienia glukopiranozowego, podczas miareczkowania chiralnymi anionami, pozwala dojść do wniosku, że są one związane z rozmiarem i kształtem anionowego gościa. To powinno pozwolić na wyznaczenie konfiguracji absolutnej α -karboksylanu, na podstawie zmian przesunięcia chemicznego receptora **74**, pod wpływem wiązania anionu. Jednocześnie, zmiany przesunięć chemicznych są na tyle złożone, że ich analiza dla większej liczby gości wymaga zastosowania odpowiednich narzędzi. Dlatego zdecydowałem się użyć sztuczne sieci neuronowe, które należą do jednych z bardziej skomplikowanych modeli obliczeniowych, używanych w analizie wzorców. Sieci neuronowe zostały wprowadzone do chemii kilkanaście lat temu^[77,78] i są powszechnie używane do przewidywania różnorodnych właściwości chemicznych^[80-85] i fizycznych.^[86,87] Jest znanych tylko kilka przykładów użycia sieci neuronowych do określania chiralności analitu (nadmiaru enancjomerycznego).^[88,89] Natomiast sieci neuronowe nie były dotychczas stosowane w chemii supramolekularnej anionów.

A)

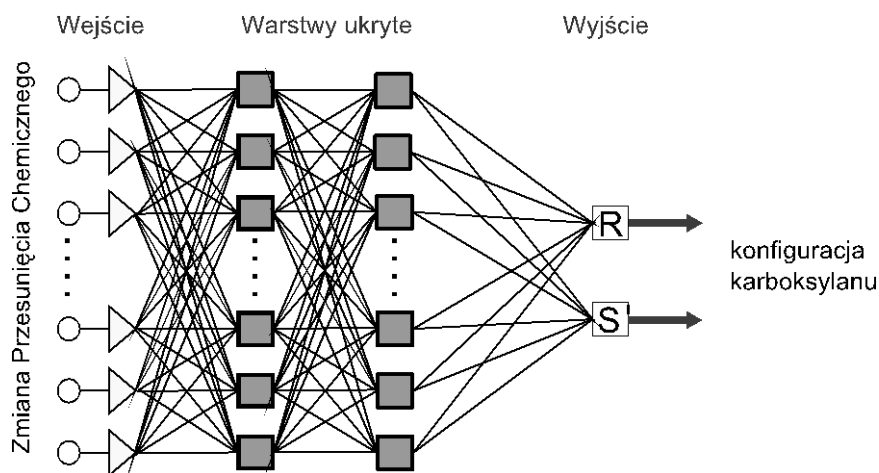


B)



Rysunek 45. Zmiany przesunięć grup acetylowych i metylowych w receptorze **74** podczas miareczkowania *S*(+)-migdalanem (A) i *R*(-)-migdalanem (B).

Rysunek 46 pokazuje zaproponowane przez mnie organizacje jednokierunkowej sieci neuronowej, używanej do określania konfiguracji anionów α -karboksylanowych. Wielowarstwowa struktura sieci pozwala na dostosowanie jej możliwości do rozpoznawania wzorców przesunięć chemicznych. Liczba wejść sieci odpowiada liczbie protonów których zmiana przesunięcia chemicznego pod wpływem anionu była przez mnie badana. Sieć ta posiada dwa wyjścia, odpowiadające chiralności anionowego gościa.

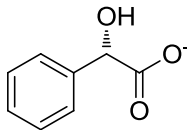
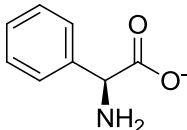
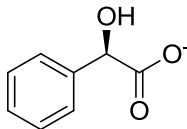
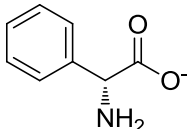
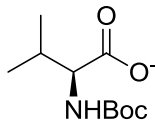
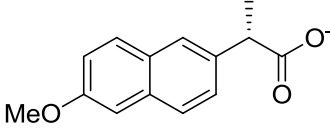
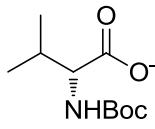
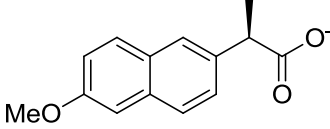
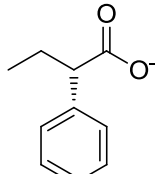
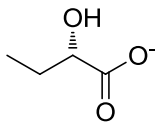
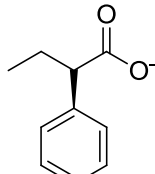
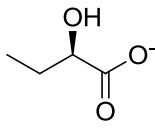


Rysunek 46. Schematyczna reprezentacja sztucznej sieci neuronowej

Niezbędne dane do uczenia (trenowania) sieci neuronowej zostały otrzymane poprzez zarejestrowanie widma ^1H NMR samego receptora **74** i widm receptora z dodatkiem chiralnych karboksylanów (4 ekwiwalenty, 26 anionów). Na tej podstawie policzyłem i znormalizowałem zmiany przesunięć chemicznych protonów grup metylowych i acetylowych, otrzymując w ten sposób supramolekularne odciski palców (fingerprint) dla badanych anionów. Następnie dane te podzieliłem na dwa zestawy. Zestaw treningowy użyty do uczenia sieci oraz zestaw testowy użyty do walidacji czy sieć nauczyła się rozpoznawania wzorców zmian przesunięć chemicznych, odpowiedzialnych za chiralność.

Proces uczenia sieci neuronowej zrealizowałem z użyciem algorytmu propagacji wstecznej błędów. W tym algorytmie do neuronów wejściowych dostarcza się zmiany przesunięć chemicznych, a do neuronów wyjściowych – chiralność gości, odpowiednio [1, 0] dla *S*- lub [0, 1] dla *R*-karboksylanów. Inną kwestią związaną z samą siecią neuronową jest jej topologia. Stosuje się różne metody dobierania optymalnej topologii sieci neuronowych. Metodą prób i błędów znalazłem najlepsze wyniki dla sieci posiadającej dwie warstwy ukryte po 10 neuronów. Zestaw treningowy dostarczony do sieci neuronowej składał się ze zmian przesunięć chemicznych receptora **74** dla anionów posiadających różnorodne podstawniki przy centrum stereogenicznym (Tabela 10). W ten sposób sztuczna sieć neuronowa powinna nauczyć się, które przesunięcia chemiczne odpowiadają za transfer chiralności z anionu do receptora **74**.

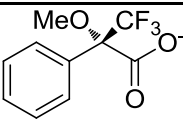
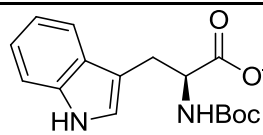
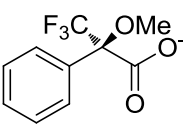
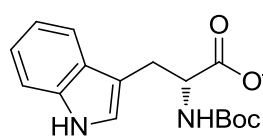
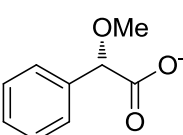
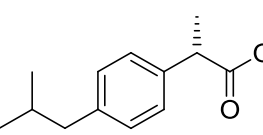
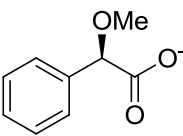
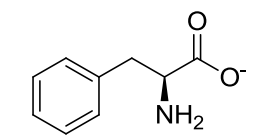
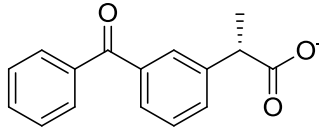
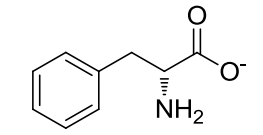
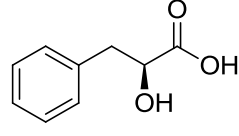
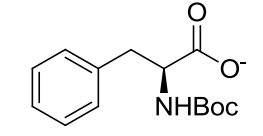
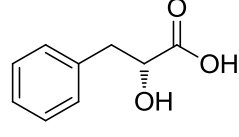
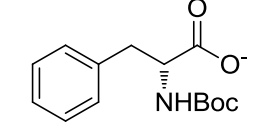
Tabela 10. Aniony użyte (jako sole tetrabutylamoniowe) w zestawie treningowym i stan wyjść sieci neurowych .

Anion	ANNs output chirality (S/R)	Anion	ANNs output chirality (S/R)
	[1.0, 0.0]		[0.97, 0.03]
	[0.0, 1.0]		[0.0, 1.0]
	[0.98, 0.02]		[0.98, 0.02]
	[0.03, 0.97]		[0.0, 1.0]
	[0.96, 0.04]		[1.0, 0.0]
	[0.05, 0.95]		[0.01, 0.99]

W Tabeli 10 przedstawiłem aniony zestawu treningowego. Pierwsze z nich, pochodzące od kwasu migdałowego, zawierają aromatyczny pierścień fenylowy i donor wiązania wodorowego w postaci grupy hydroksylowej. Następne wywodzące się z kwasu mlekowego posiadają podstawnik alifatyczny oraz donor wiązania wodorowego, również w postaci grupy hydroksylowej. Z kolei, aniony kwasu 2-fenylomlekowego, zawierają oba podstawniki – aromatyczny i alifatyczny. Aniony wywodzące się z waliny posiadają donor wiązania wodorowego NH i podstawnik alifatyczny, a z fenyloglicyny – wolną grupę NH₂ i podstawnik aromatyczny

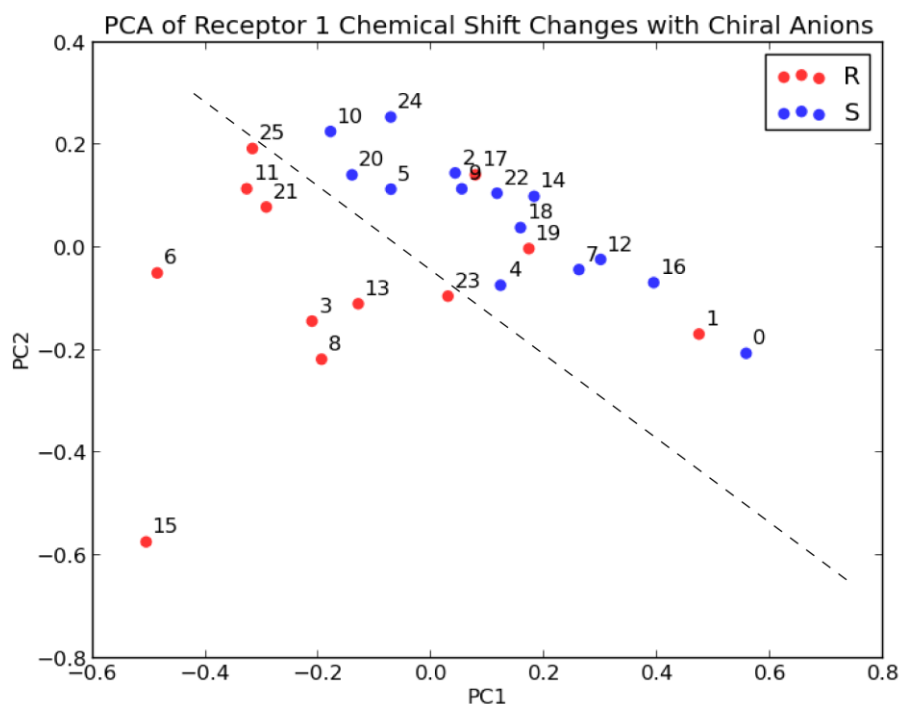
Po zakończeniu działania algorytmu odpowiedzialnego za uczenie sieci neuronowej, była ona w stanie odtworzyć chiralność gości, użytych w zestawie testowym. Mając tak wytrenowaną sieć przeprowadziłem dalszą jej walidację z użyciem przesunięć chemicznych 14 anionów, nieobecnych w zestawie treningowym (Tabela 11).

Tabela 11. Aniony użyte (jako sole tetrabutylamoniowe) w zestawie testowym

Anion	ANNs predicted chirality (S/R)	Anion	ANNs predicted chirality (S/R)
	[1.0, 0.0]		[1.0, 0.0]
	[0.06, 0.94]		[0.0, 1.0]
	[1.0, 0.0]		[0.99, 0.01]
	[0.06, 0.95]		[0.98, 0.02]
	[1.0, 0.0]		[0.01, 0.99]
	[1.0, 0.0]		[1.0, 0.0]
	[0.0, 1.0]		[0.0, 1.0]

Przygotowana w opisany powyżej sposób sieć neuronowa, była w stanie skutecznie sklasyfikować chiralność dla wszystkich anionów obecnych w zestawie testowym, co potwierdza fakt, że „nauczyła” się ona mechanizmu odpowiedzialnego za transport chiralności od anionu do receptora i że może być skutecznie zastosowana do określania chiralności nowych anionów, spoza zestawu treningowego i testowego.

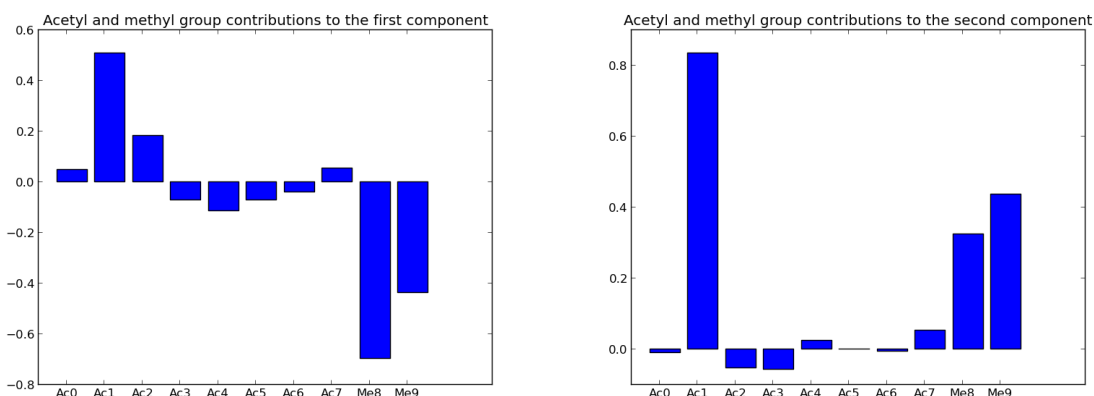
Dodatkowo zdecydowałem się na zastosowanie analizy głównych składowych do dalszego wykorzystania zmian przesunięć chemicznych receptora **74**. Analiza głównych składowych (ang. principal component analysis, PCA) jest jedną z technik statystyki, w której otrzymuje się tak zwane główne składowe zestawu danych, które posiadają maksymalną wariancję.^[90] W ten sposób możliwa jest redukcja wymiarowości danych, z zachowaniem jak największej ilości informacji. Rysunek 47 pokazuje dwuwymiarowy wykres dla dwóch pierwszych składowych. Co warto podkreślić, dwie pierwsze składowe zawierały aż 84% wariancji danych. Ponadto możliwe jest graficzne rozróżnienie dla większości enancjomerów.



0: kwas (S)-(-)- α -metoksy- α -(trifluorometylo)fenylooctowy	1: kwas (R)-(+)- α -metoksy- α -(trifluorometylo)fenylooctan	2: kwas (S)-(+)- α -metoksy-octowy	3: kwas (R)-(-)- α -metoksy-fenylooctowy
4: (S)-ketoprofen	5: L-(-)-3-fenylolekowy	6: D-(+)-3-fenylolekowy	7: Boc-N-L-Trp
8: Boc-N-D-Trp	9: (S)-Ibuprofen	10: L-fenyloalanina	11: D-fenyloalanina
12: Boc-N-L-Phe	13: Boc-N-D-Phe	14: kwas (S)-migdałowy	15: kwas (R)-migdałowy
16: Boc-N-L-Val	17: Boc-N-D-Val	18: kwas (S)-2-fenylomasłowy	19: kwas (R)-2-fenylomasłowy
20: L-fenyloglicyna	21: D-fenyloglicyna	22: (S)-naproksen	23: (R)-naproksen
24: kwas (S)-2-hydroksymasłowy	25: (R)-2-hydroksymasłowy		

Rysunek 47. Analiza głównych składowych (PCA) dla zmian przesunięć chemicznych receptora **74** po dodaniu różnych anionów, wywodzących się z kwasów karboksylowych i aminokwasów. Wariancja PC1 = 59.8%; Wariancja PC2 = 24.5%;

Innym ciekawym aspektem PCA jest możliwość analizy wkładów poszczególnych protonów do pierwszych dwóch komponentów (Rysunek 48).



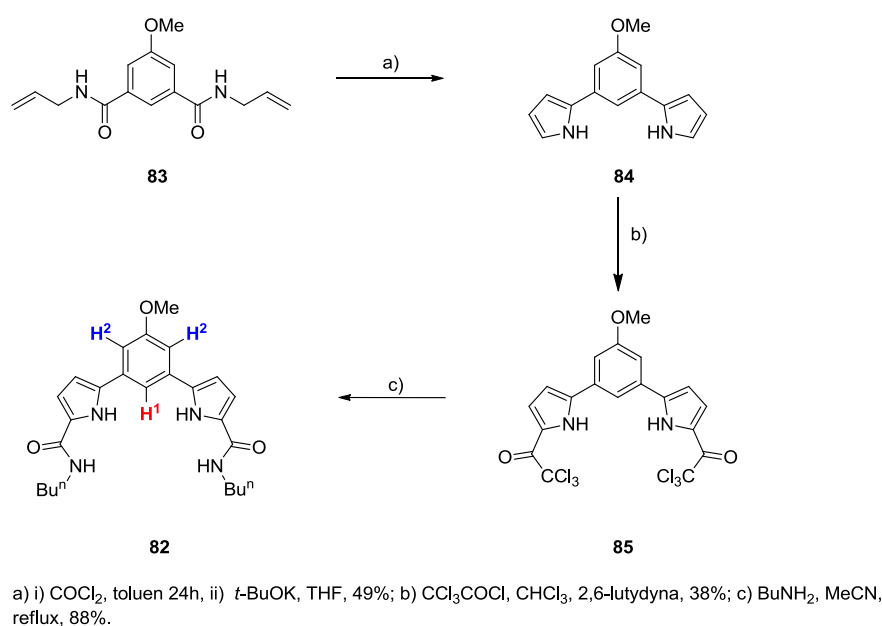
Rysunek 48. Wkłady poszczególnych protonów receptora **74** do komponentów PC1 i PC2

Najwięcej informacji zawierały przesunięcia chemiczne protonów grup metylowych diindolometanu oraz protonów grup acetylowych w pozycji 4 w pierścieniu glukopiranozowym. Wkłady tych protonów mogą zostać łatwo wyjaśnione. Protony grup acetylowych znajdują się w bezpośrednim otoczeniu luki wiążącej anion i zmiana ich przesunięć chemicznych może być bezpośrednio powiązana z chiralnością gościa. Natomiast zmiany przesunięć chemicznych protonów diindolometanowych można powiązać ze strukturą supramolekularnej helisy, tworzoną przez część diindolometanową, która może ulegać procesowi zwijania lub rozwijania pod wpływem wiązania anionu.

3.3. Synteza nowej platformy bispirolobenzenowej i jej właściwości kompleksujące

Badania właściwości kompleksujących receptora diindolometanowego **74** pokazały, że receptor charakteryzujący się zdolnością do efektywnego chiralnego rozpoznania, nie musi być ugruntowany konformacyjnie. Receptor diindolometanowy **74** posiada dwie labilnie konformacyjnie jednostki indolowe, których wzajemne ustawienie może być regulowane poprzez kompleksowanie chiralnego gościa. Jak pokazałem w poprzednich dwóch rozdziałach, prowadzi to do jego interesujących, z punktu widzenia rozpoznania chiralnego, właściwości. Receptor bispirolobenzenowy **82** został zaprojektowany przeze mnie na podstawie wniosków uzyskanych z badań nad receptorem **74**.

Receptor bispirolobenzenowy **82** zsyntezowałem w trzech etapach, wychodząc z handlowo dostępnego kwasu 5-metoksyizoftalowego (Schemat 8).



Schemat 8. Synteza nowej platformy wiążącej aniony opartej na szkielecie bispirolobenzenu **82**

W pierwszym etapie generowany jest dichlorek z kwasu 5-metoksyizoftalowego, w wyniku reakcji z chlorkiem tionylu, katalizowanej DMF. Reakcja tego dichloru kwasowego z alliloaminą prowadzi do diamidu **83**. Szkielet bispirolobenzenowy został otrzymany na drodze reakcji diamidu **83** z fosgenem, a następnie poprzez traktowanie iminochlorkowego produktu pośredniego $t\text{-BuOK}$ w THF. Tak otrzymany bispirolobenzen **84**, został następnie poddany reakcji acylowania chlorkiem kwasu trichlorooctowego, co prowadziło do związku **85**. Syntezę receptora anionów **82** zakończyłem reakcją n -butyloaminy z pochodną trichloroacetylową **85**.

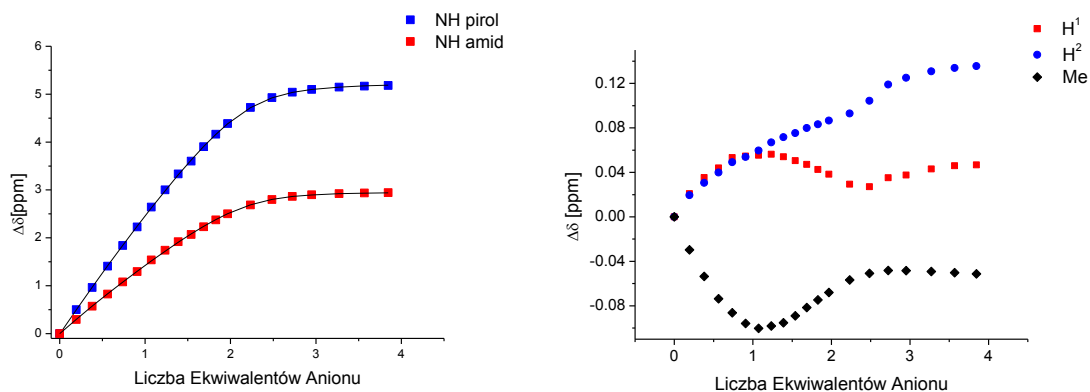
Właściwości kompleksujące receptora **82** zostały zbadane metodą miareczkowania pod kontrolą ^1H NMR, prowadzone przy stałym stężeniu receptora w mieszaninie DMSO + 0.5% H_2O . Stałe trwałości wyznaczyłem stosując regresję nieliniową indukowanej wiązaniem anionu zmiany przesunięć chemicznych protonów NH – amidowego i pirolowego. Stechiometria kompleksowania została dodatkowo potwierdzona za pomocą eksperymentów Joba. Miareczkowania receptora **82** standardowym, wybranym przeze mnie, zestawem anionów pokazały, że wszystkie aniony, z wyjątkiem anionów fluorkowych, były wiązane ze stechiometrią 1:1 (Tabela 12).

Tabela 12. Stałe wiązania wyznaczone dla receptora **82** za pomocą miareczkowań ^1H NMR w DMSO + 0.5% H_2O .

Lp.	Anion ^a	K_d/M^{-1}	Stechiometria (H-G)	$\Delta\delta_{\text{max}}^{\text{b}}$ pirol/ppm	$\Delta\delta_{\text{max}}^{\text{b}}$ amid/ppm
1	F ⁻	66±25	1:1	5,24	3,01
2		1456±121	1:2		
3	Cl ⁻	6.0±1	1:1	1,41	1,71
4	AcO ⁻	297±9	1:1	1,54	1,35
5	PhCOO ⁻	47.5±1	1:1	1,84	0,87
6	H ₂ PO ₄ ⁻	1037±94	1:1	2,44	1,81

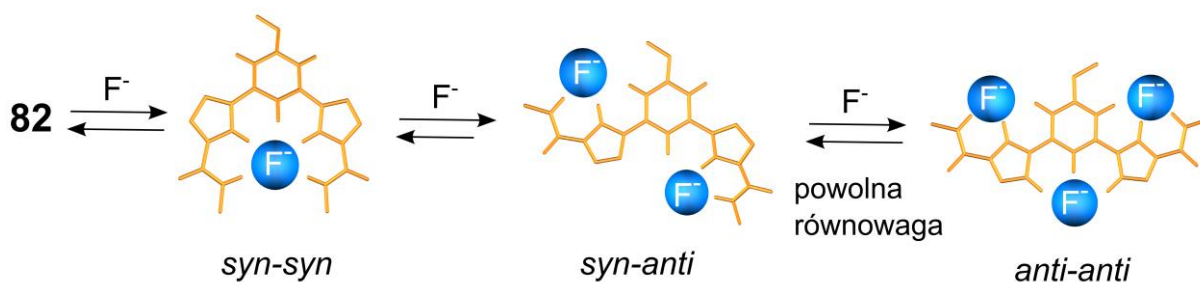
^aużyte jako sole tetrabutylamoniowe ^basymptotyczna zmiana przesunięcia chemicznego

Typowe aniony karboksylanowe – octan i benzoesan, były wiązane ze stałymi, odpowiednio 297 i 47.5 M^{-1} . Znacznie mniej zasadowy anion chlorkowy był wiązany z mniejszą stałą 6.0 M^{-1} . Natomiast anion bromkowy prawdopodobnie jest zbyt duży, w porównaniu do luki wiążącej receptora **82**, wobec czego jego dodatek do receptora nie powodował widocznych zmian przesunięć chemicznych protonów NH. Z kolei, tetraedryczny anion diwodorofosforanowy wykazywał największą stałą trwałości 1037 M^{-1} . Stałe trwałości kompleksów receptora **82** z anionami są stosunkowo małe w porównaniu do wcześniej badanych receptorów anionów, bazujących na dipirolometanie^[31] i diindolometanie.^[16] (wszystkie omawiane tu receptory anionów posiadają cztery donory wiązania wodorowego). Wiązanie anionu przez konformacyjnie labilny receptor **82** wymaga, aby przyjął on zdefiniowaną konformację. Receptor **82** posiada lukę wiążącą w konformacji *syn-syn*, która dobrze dopasowuje się do większości anionów. Szczególny charakter miał proces wiązania anionu fluorkowego – przebiegał ze stochiometrią gość – gospodarz 2:1, a druga stała wiązania $K_{2:1}$ była dużo większa (1456 M^{-1}) niż pierwsza ($K_{1:1} = 66 \text{ M}^{-1}$). Dodatkowo, bardziej szczegółowa analiza izoterm wiązania pokazuje, że dla protonów aromatycznych i protonów grupy metylowej receptora **82**, obserwuje się kilka ciekawych właściwości wiązania receptora **82** z anionem fluorkowym (Rysunek 49).



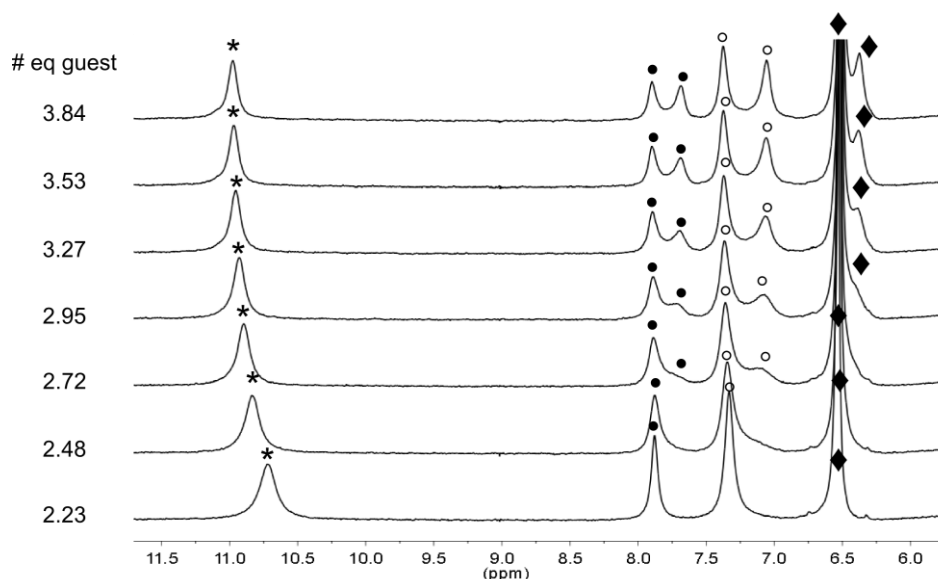
Rysunek 49. Zmiany przesunięć chemicznych protonów receptora **82** podczas miareczkowania anionami fluorkowymi

Po dodaniu do roztworu receptora **82** jednego ekwiwalenta anionów fluorkowych, protony H^1 i H^2 ulegały przesunięciu w dół pola, co może zostać zinterpretowane jako przesunięcie równowagi w kierunku konformacji *syn-syn* receptora (Schemat 9).



Schemat 9. Proponowany mechanizm wiązania anionu fluorkowego przez receptor **82**

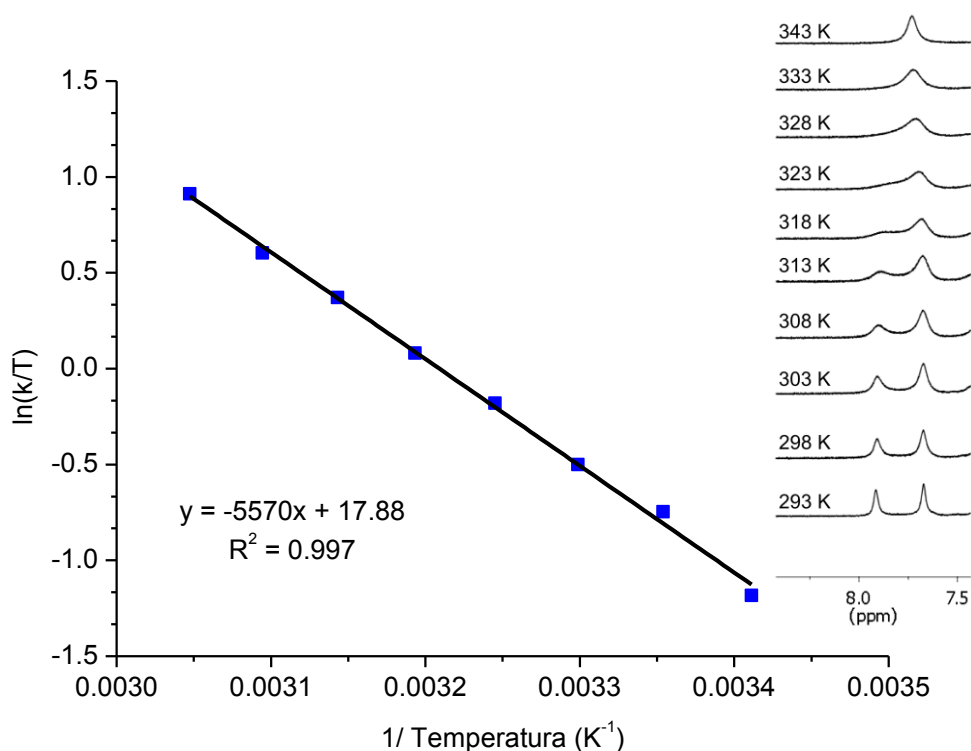
Natomiast protony grupy metylowej zostały przesłonięte (przesuwają się w górę pola), co można wytłumaczyć zwiększeniem się gęstości elektronowej pierścienia benzenowego na skutek wiązania anionu fluorkowego. Dalsze zwiększanie stężenia anionu fluorkowego (do dwóch ekwiwalentów) powodowało przeciwną zmianę kierunku przesunięcia chemicznego dla protonu H^1 , mianowicie jego ponowne przesunięcie w górę pola. Można to interpretować jako częściowe rozerwanie wiązania wodorowego pomiędzy anionem fluorkowym a protonem H^1 . Prawdopodobnie jest to skorelowane ze zmianą konformacji receptora **82** na *syn-anti*, wymaganej do wiązania dwóch anionów fluorkowych. W tym momencie dalsze zwiększanie stężenia anionu fluorkowego nie powodowało znaczącej zmiany przesunięć protonów NH – amidowego i pirolowego. Powodowało natomiast znaczącą zmianę przesunięcia chemicznego protonu H^2 i spowolnienie rotacji konformerów w skali czasu NMR, manifestującej się poszerzaniem sygnałów (Rysunek 50).



Rysunek 50. Fragmenty widm podczas miareczkowania receptora **82** anionem fluorkowym. Indukowana anionami fluorkowym powolna równowaga konformacyjna receptora **82** w skali czasu NMR (* amidowy NH, • H¹, ◊H², ◊pirolowe Ar-H)

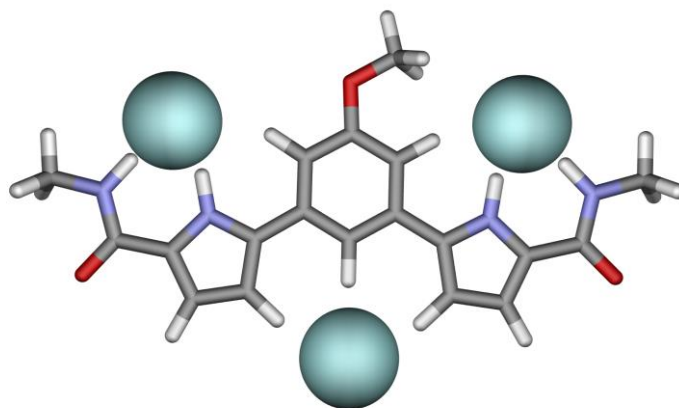
Protony CH, należące do pierścieni pirolowych i benzenowego, wykazały ten typ powolnej równowagi, co pozwala wnioskować, że ma to związek z zahamowaną rotacją pierścieni pirolowych względem pierścienia benzenowego. Można to wytłumaczyć przypuszczeniem, że receptor **82** wiąże dodatkowy, trzeci anion fluorkowy za pomocą słabych oddziaływań CH...anion. Wiązanie tego anionu wymusza zmianę konformacji receptora **82** na *anti-anti* i jest powolne w skali czasu NMR. Proponowany mechanizm wiązania anionu fluorkowego jest przedstawiony na Schemacie 9.

Odwracalność tego procesu zbadalem poprzez dodatek wolnego receptora **82** do roztworu receptora **82**, wysyczonego anionem fluorkowym (4 ekwiwalenty), co spowodowało koalescencję sygnałów protonów H¹ i H². W celu głębszego zbadania tej indukowanej anionem zmian równowagi konformacyjnej, zostały przeprowadzone eksperymenty z użyciem zmiennotemperaturowych pomiarów NMR (VT NMR, Rysunek 51). Podwyższenie temperatury powodowało poszerzenie sygnałów protonów należących do pierścienia benzenowego, z temperaturą koalescencji 328 K. Mimo tego, że bariera rotacji zależy od stałej wiązania anionu fluorkowego, która jest również zależna od temperatury, analiza zależności $\ln(k/T)$ od $1/T$ wykazuje, że ma ona charakter liniowy (Równanie Eyringa).



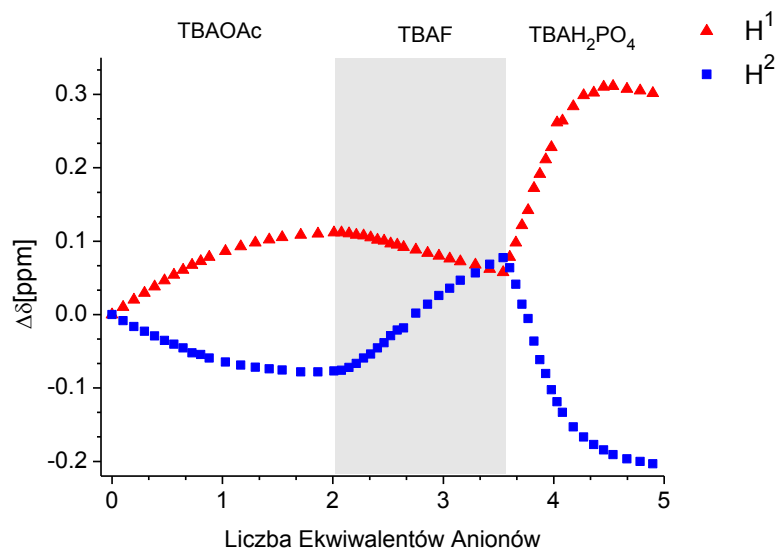
Rysunek 51. Wykres Eyringa dla stałych wymiany otrzymany z analizy kształtu linii protonu H^1 w receptore anionów **82** z anionem fluorkowym (4 ekw.) w $DMSO-d_6+0,5\% H_2O$. Bariera rotacji $\Delta G_{298\text{ K}}^\ddagger = 14,5$ kcal/mol została policzona z $\Delta H^\ddagger = 11,06 \pm 0,05$ kcal/mol i $\Delta S^\ddagger = -11,7 \pm 0,7$ cal/mol (wstawka pokazuje fragment widma protonu H^1)

Poprawność zaprezentowanego modelu wiązania anionu fluorkowego przez receptor **82** potwierdziłem również modelowaniem molekularnym, które pokazało, że receptor w konformacji *anti-anti* może wiązać dodatkowy anion fluorkowy. Ta konformacja ma odpowiednią geometrię donorów wiązania wodorowego (protony CH benzenu i pirolu), pozwalającą wiązać mały anion fluorkowy poprzez słabe wiązania wodorowe. Jak było to pokazane wcześniej, aniony mogą być wiązane poprzez słabe oddziaływanie $C-H \cdots \text{anion}$.^[91, 92] Struktura kompleksu receptora **82** z trzema anionami fluorkowymi jest pokazana na Rysunku 52. Odległości pomiędzy anionem fluorkowym a atomami C-H (benzenowym i pirolowym) wynosiły odpowiednio 2,013 Å i 2,127 Å.



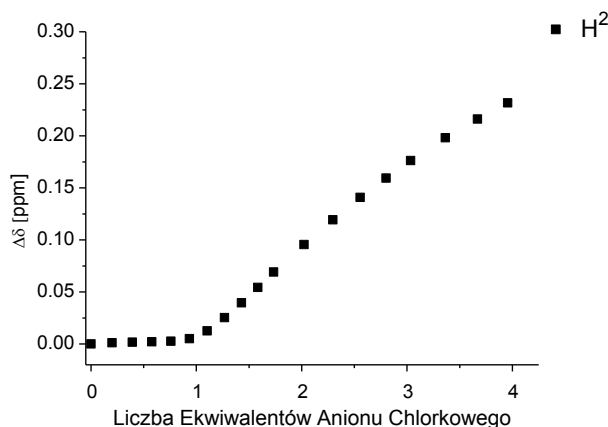
Rysunek 52. Widok na zoptymalizowaną strukturę DFT (ω B97X-D/6-311++G**) kompleksu receptora **82** z anionami fluorkowymi. W celu uproszczenia obliczeń grupy *n*-butylowe zostały zastąpione przez grupy metylowe

Zdolność zmiany konformacji receptora pod wpływem wiązania anionu została również zbadana przy użyciu miareczkowania konkurencyjnego dla trzech różnych anionów, które tworzyły kompleksy o różnej stechiometrii (octan i diwodorofosforan (1:1) oraz anion fluorkowy (1:2)). Po dodaniu octanu TBA do roztworu receptora **82**, jego konformacja ulega zmianie na *syn-syn*, w wyniku tworzenia się kompleksu o stechiometrii 1:1, z wszystkimi donorami wiązania wodorowego skierowanymi ku anionowi. Natomiast dodatek anionu fluorkowego prowadzi do zmiany konformacyjnej w kierunku *syn-anti*, w wyniku tworzenia się kompleksu o stechiometrii 1/2. Z kolei, dodanie trzeciego anionu – diwodorofosforanowego prowadzi powrotnie do konformacji *syn-syn* (prawdopodobnie zasadowy anion fluorkowy jest w stanie deprotonować diwodorofosforan, a wielokrotnie naładowane aniony fosforanowe są w stanie wyprzeć anion fluorkowy). Dowód na takie zmiany konformacyjne, podczas konkurencyjnego miareczkowania, uzyskałem z analizy zmian przesunięć chemicznych protonów H^1 i H^2 , które mogą tworzyć wiązania wodorowe w odpowiedniej konformacji. Proton H^1 preferuje tworzenie wiązania wodorowego z anionem w konformacji *syn-syn*, natomiast H^2 – w konformacji *syn-anti*. Zmiany przesunięć chemicznych protonów H^1 i H^2 , podczas miareczkowania konkurencyjnego, pokazane są na Rysunku 53.



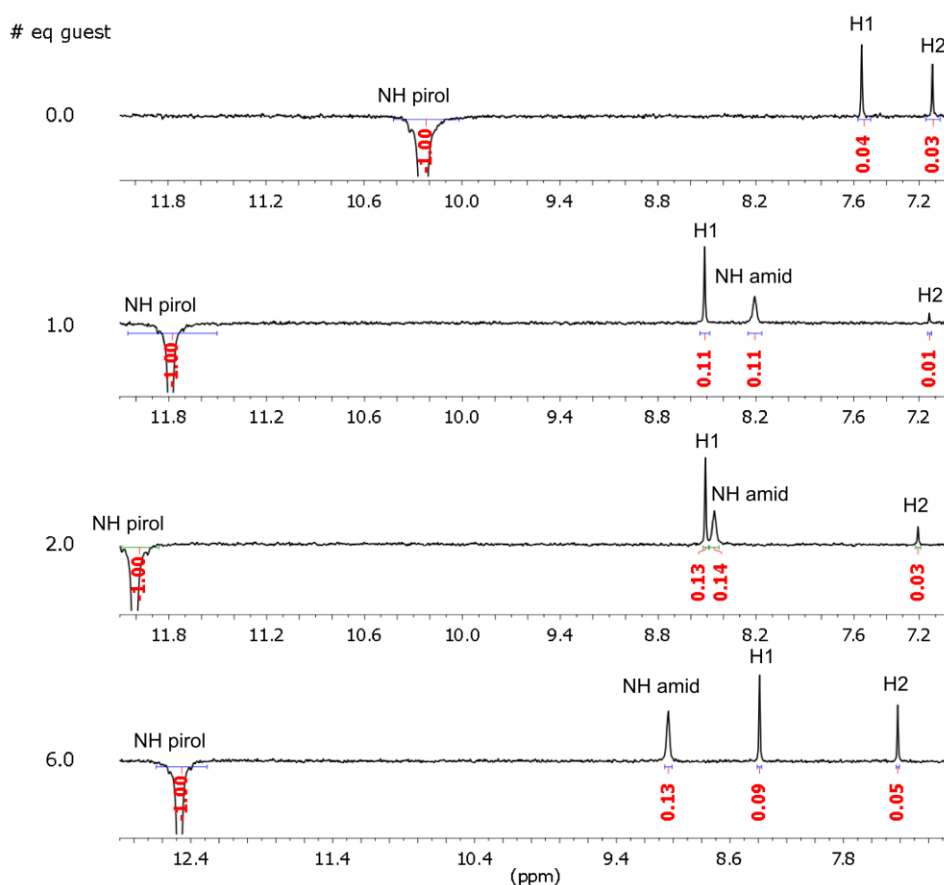
Rysunek 53. Zmiany przesunięć chemicznych protonów H^1 i H^2 receptora **82**, przy dodaniu AcO^- , F^- i $H_2PO_4^-$, podczas miareczkowania konkurencyjnego

Eksperymenty ROESY i NOESY dla receptora **82** z dodatkiem anionów fluorkowych nie pozwoliły na wysunięcie dodatkowych wniosków na temat zmian konformacyjnych związanych z kompleksowaniem anionu, z powodu poszerzania się sygnałów w widmie 1H NMR. Miareczkowanie receptora **82** w acetonitrylu dało interesujące wyniki, świadczące o zachodzącej zmianie konformacyjnej pod wpływem anionu chlorkowego (Rysunek 54). Przykładowo, przesunięcie chemiczne protonu H^2 ulegało zmianie (na skutek tworzącego się wiązania wodorowego) dopiero po dodaniu więcej niż jednego ekwiwalentu anionu chlorkowego. Świadczy to, że receptor **82** z dodatkiem jednego ekwiwalenta anionu chlorkowego tworzy stabilny kompleks o stechiometrii 1:1 (konformacja *syn-syn*). Dalsze zwiększanie stężenia anionu chlorkowego prowadzi do zmiany konformacji na *syn-anti*.



Rysunek 54. Zmiany przesunięcia chemicznego dla protonu H^2 receptora **82** podczas miareczkowania anionem chlorkowym w $MeCN-d_3$ ($K_{1:1} = 11590 \pm 3940$ $K_{2:1} = 27 \pm 12$)

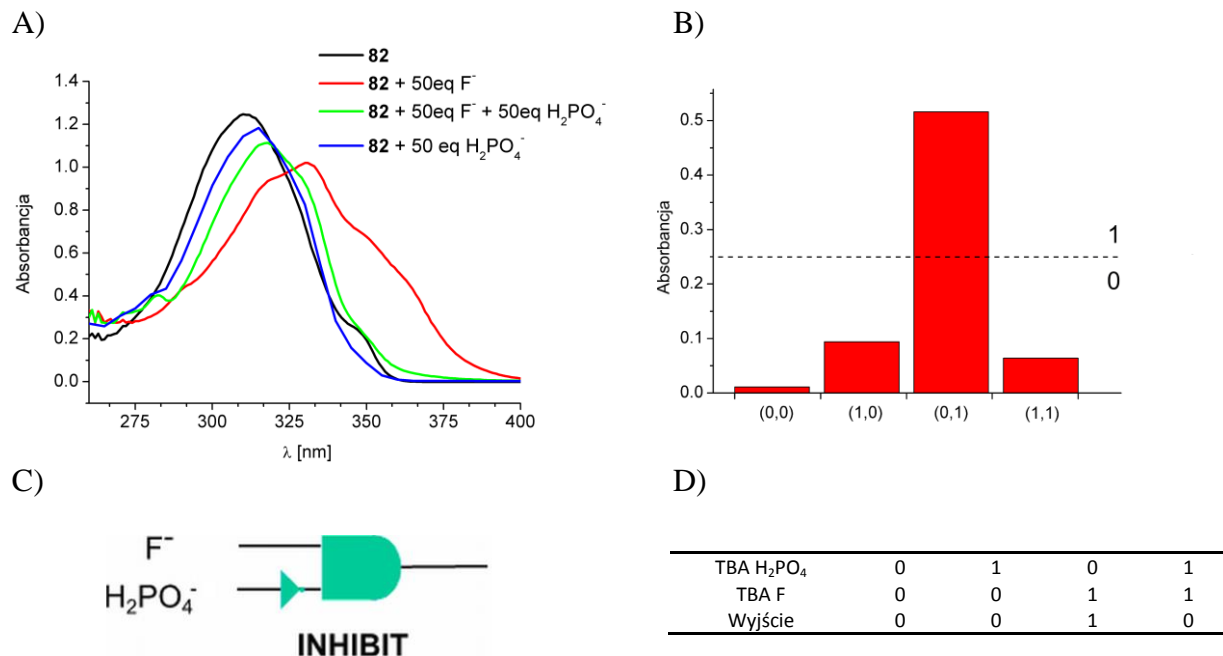
Analiza widm 1D NOESY potwierdziła powyższe obserwacje. Widmo 1D NOESY receptora pokazało, że rozkład konformerów jest praktycznie statystyczny; gdy dodano jeden ekwiwalent anionu chlorkowego, receptor zmienił swoją konformację na *syn-syn*, co uwidacznia się jako zwiększenie intensywności sygnału protonu H¹ przy „naświetlaniu” protonu indolowego. Dalsze zwiększenie stężenia anionu chlorkowego prowadziło do zwiększenia intensywności protonu H² kosztem protonu H¹, co jest konsekwencją zmiany konformacji na *syn-anti*.



Rysunek 55. Widma 1D NOESY receptora **82** przy różnych stężeniach anionu chlorkowego w MeCN-*d*₃

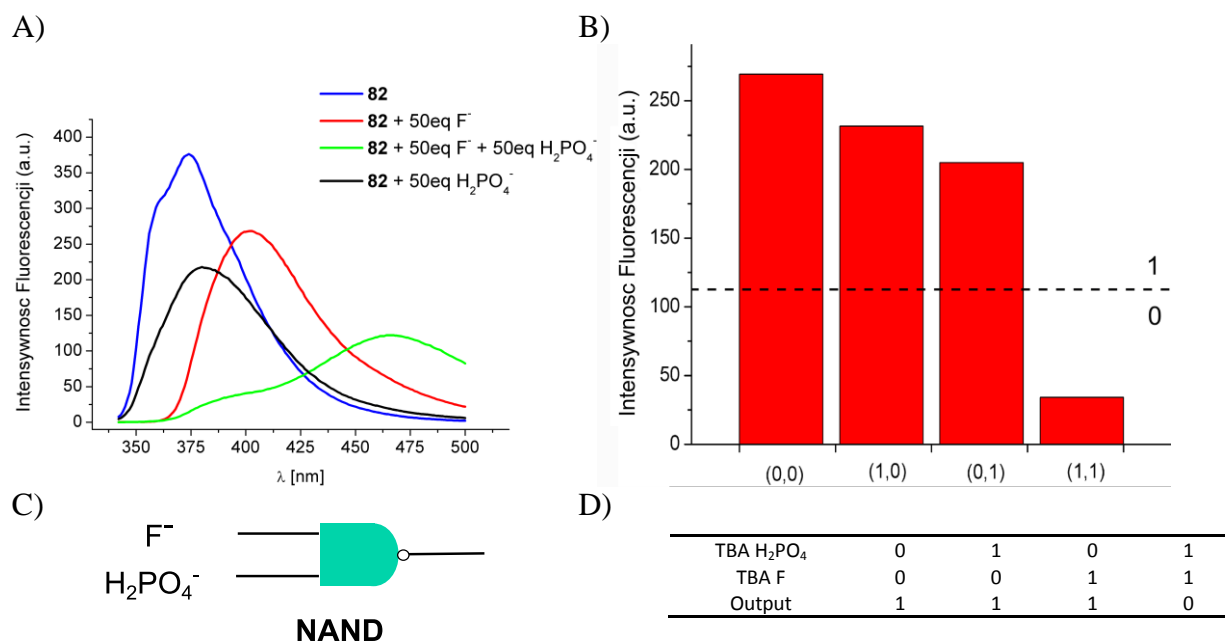
Powyższe wyniki sugerują, że receptor anionów **82** może pełnić funkcję molekularnej bramki logicznej. Dlatego przeprowadziłem badania w tym kierunku, z użyciem anionów fluorkowego i diwodorofosforanowego, z odczytem za pomocą widm UV/VIS i fluorescencyjnego. Obecność anionu w roztworze w określonym stężeniu została zdefiniowana jako stan wejścia 1, a jego nieobecność jako 0. Rysunek 56A pokazuje widma UV/VIS dla receptora **82** dla różnych kombinacji anionowych wejść. Tylko obecność anionu fluorkowego (0,1) powoduje batochromowe przesunięcie maksimum absorpcji. Odpowiednio, receptor anionów **82** pełni funkcję bramki logicznej INHIBIT. Bramka logiczna INHIBIT może być rozpatrywana jako bramka AND z jednym z wejść, odwróconym przez funkcję

NOT. Rysunek 56B pokazuje (na wykresie słupkowym) absorbancję mierzoną dla 360 nm. Wykres ten łatwo pozwala określić jej stan na podstawie absorbancji przy różnych anionowych wejściach. Rysunek 56C pokazuje odpowiednik w postaci układu elektronicznego. Na rysunku 56D zawarta jest tabela prawdy dla tej bramki logicznej.



Rysunek 56. Receptor **82** jako molekularna bramka logiczna INHIBIT, F⁻ i H₂PO₄⁻ jako wejścia i odczyt absorbancji UV/VIS. A) Widma UV/VIS dla kombinacji wejść w DMSO, B) Wykres słupkowy pokazujący eksperymentalną absorbancję dla 360 nm. Przerywana linia reprezentuje hipotetyczny próg dla procesu odczytu. C) Ekwiwalent w postaci układu elektronicznego dla bramki INHIBIT. D) Tabela prawdy dla tej bramki logicznej

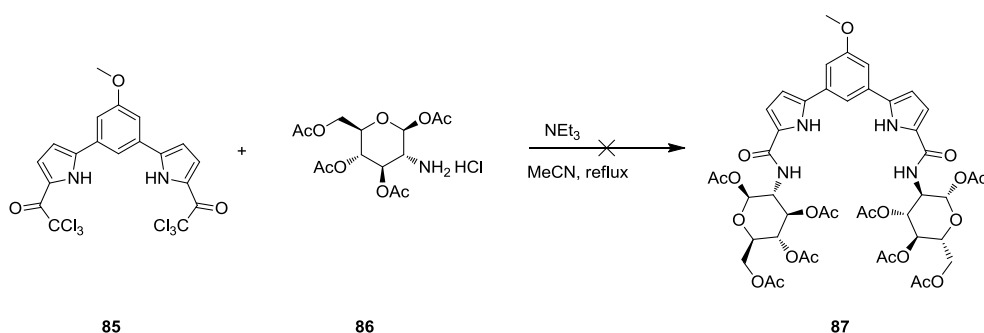
Z kolei, analiza zmian fluorescencji receptora **82** ujawniła, że przy użyciu tego odczytu receptor **82** pełni funkcję innej bramki logicznej. Rysunek 57A pokazuje zmiany fluorescencji receptora **82** przy różnych kombinacjach anionowych wejść. W tym przypadku mierzona fluorescencja ulega dużemu przesunięciu batochromowemu, tylko w przypadku jednoczesnej obecności anionu fluorkowego i diwodorofosforanowego. Rysunek 57B pokazuje intensywność fluorescencji mierzoną przy 390 nm. Analiza tych zmian pozwoliła ustalić, że receptor anionów pełni funkcję bramki logicznej NAND. Bramka logiczna NAND może być rozpatrywana jako bramka AND, z wyjściem odwróconym poprzez funkcję NOT. Rysunek 57C pokazuje ekwiwalent elektroniczny tej bramki. Natomiast rysunek 57D prezentuje tabelę prawdy, która potwierdza, że receptor **57** pełni funkcję bramki NAND z odczytem fluorescencyjnym. Warto jest również zauważyć, że receptor **57** może funkcjonować jako bramka logiczna AND przy pomiarze fluorescencji przy 470 nm.



Rysunek 57. Receptor anionów **82** jako bramka logiczna NAND, F^- i $H_2PO_4^-$ jako wejścia i odczyt fluorescencyjny A) Widma emisyjne dla kombinacji wejść przy wzbudzeniu 330 nm B) Wykres słupkowy pokazujący eksperymentalną fluorescencję przy 390nm dla wzbudzenia 330 nm. Przerywana linia reprezentuje hipotetyczny próg dla procesu odczytu. C) Ekwiwalent elektroniczny dla bramki logicznej NAND. D) Tabela prawdy dla bramki NAND

3.3.1. Próba syntezy monosacharydowej pochodnej bispirolobenzenu

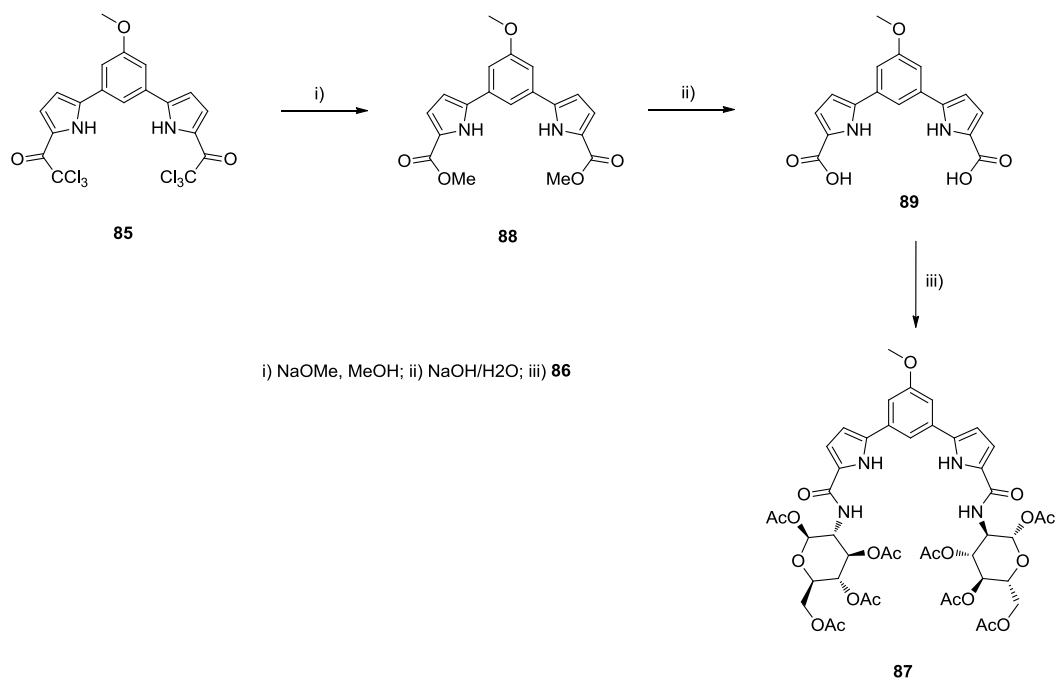
Jako że receptor **82** wykazał ciekawe właściwości kompleksujące dla achiralnych anionów, postanowiłem zsyntezować jego połączenie z glukozaminą, aby otrzymać potencjalny receptor na chiralne aniony. Reakcja chlorowodoru peracetylowanej glukozaminy **86** z pochodną trichloroacetylową **85**, w obecności trietyloaminy, we wrzącym acetonitrylu, nie doprowadziła niestety do oczekiwanego produktu **87** (Schemat 10).



Schemat 10. Planowana synteza receptora **87**

Sytuacji nie poprawiło wydłużenie czasu reakcji, zaobserwowałem jedynie rozkład substratów. Powyższa obserwacja sugeruje, że atom azotu w peracetylowanej glukozaminie

86 nie jest wystarczająco nukleofilowy. Dodatkowo, jego reaktywność jest zmniejszana przez sąsiednie grupy acetylowe, które stanowią istotną zawadę steryczną. Wydaje się, że receptor **87** może zostać otrzymany w alternatywnej syntezie (Schemat 11).



Schemat 11. Proponowana synteza receptora **87**

Pochodną trichloroacetylową **85** można poddać metanolizacji w obecności metanolanu sodu co powinno prowadzić do pochodnej diestrowej **88**. Diester **88** można z kolei poddać hydrolizacji, prowadzącej do dikwasu **89**. Receptor **90** może zostać zsyntezowany z użyciem typowych odczynników sprzęgających np. DCC lub DCI. Proponowane próby tej syntezy zostaną podjęte tuż po zakończeniu prac nad moim doktoratem.

4. Podsumowanie i wnioski

Cele naukowe, postawione w mojej rozprawie doktorskiej, wiązały się z następującymi głównymi zadaniami:

- synteza hybrydowych receptorów – pochodnych diindolometanu i monosacharydów,
- zbadanie właściwości wiążących otrzymanych receptorów oraz ich zdolności do rozpoznawania chiralnych anionów,
- badania strukturalne otrzymanych receptorów i ich kompleksów z anionami, z użyciem technik NMR i RAS.

Cele powyższe zostały zrealizowane, a najważniejsze wnioski płynące z uzyskanych przeze mnie wyników przedstawiam poniżej.

Z powodzeniem zsyntezowałem receptor **74**, będący pochodną diindolometanu i kwasu D-glukuronowego. Otrzymałem także receptor odniesienia **79**, będący analogiczną pochodną 7-aminoindolu. Badania kompleksowania achiralnych anionów, octanowego i benzoesanowego pokazały, że receptor **74** charakteryzuje się stałymi kompleksowania mniejszymi o rząd wielkości, w porównaniu z jego achiralnym wariantem, prawdopodobnie na skutek większej zawady sterycznej. Jeszcze mniejsze stałe trwałości obserwowałem dla układów chiralny receptor – chiralny gość (kolejne zmniejszenie o rząd wielkości).

Receptor **74** był w stanie różnicować chiralne aniony, wywodzące się z α -hydroksykwasów i *N*-zabezpieczonych aminokwasów, np. z enancjoselektywnością dochodzącą do wartości 3.7 dla kwasu 3-fenylomlekowego. Badania chiralnego rozpoznania anionów, wywodzących się z różnorodnych kwasów, pokazały, że obecność dodatkowego donora wiązania wodorowego w pozycji α anionu jest decydująca, aby receptor **74** wykazywał skuteczność w tym procesie. Z kolei, użycie techniki $^1\text{H} - ^1\text{H}$ ROESY do zbadania oddziaływań istniejących w kompleksie receptora **74** z anionami, wywodzącymi się z kwasu migdałowego, pozwoliło pokazać, że enancjomeryczne migdałany są różnie umiejscowione wewnątrz luki wiążącej receptora.

Co było do przewidzenia, receptor odniesienia **79** nie wykazał znaczącego chiralnego rozpoznania w odniesieniu do omawianych anionów. Potwierdza to trafność wyboru

platformy diindolometanowej jako motywu wiążącego w konstrukcji receptorów, efektywnych w chiralnym rozpoznaniu. Rentgenowska Analiza Strukturalna receptora **79** pokazała również istnienie szeregu wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych, pomiędzy indolowym i amidowym NH, a cukrowymi atomami tlenu. Te wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe mogą odgrywać ważną rolę w odpowiednim preorganizowaniu jednostki indolowej względem pierścienia glukopiranozowego, co pokazuje, jak istotne mogą być wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe w projektowaniu receptorów efektywnych w chiralnym rozpoznaniu anionów.

W trakcie prowadzonych przeze mnie badań metodą NMR oddziaływań receptora **74** z chiralnymi anionami, zauważyłem, że związek ten wykazuje ciekawe zmiany przesunięć chemicznych dla protonów pierścienia glukopiranozowego i protonów grup acetylowych, indukowane kompleksowaniem anionu. Skłoniło mnie to do skorelowania tych zmian z chiralnością anionowych gości. Do analizy wykorzystałem metodę sztucznych sieci neuronowych. Wymagało to wybrania odpowiedniej jej topologii i „nauczenia” jej rozpoznawania chiralności gości. Po tym procesie, sztuczna sieć neuronowa była w stanie określić chiralność 14 anionowych gości, na podstawie zmian przesunięć chemicznych ($\Delta\delta$).

Niespodziewanie dla mnie, analiza głównych składowych (PCA) przesunięć chemicznych receptora **74**, indukowanych wiązaniem chiralnych anionów pozwoliła na znalezienie ukrytej struktury zmian przesunięć chemicznych, mianowicie, na rozróżnienie konfiguracji większości badanych anionów, bez uprzedniego dostarczenia tej informacji *explicite*. Obserwacje te pokazują, że zmiany przesunięć chemicznych receptora **74** niosą ze sobą zakodowaną informację na temat chiralności anionowego gościa.

Otrzymane przeze mnie dla diindolometanowego receptora **74** rezultaty, skłoniły mnie do zaprojektowania i zsyntezowania nowego receptora **82** z bispirolobenzenowym motywem wiążącym aniony. Receptor **82** zsyntezowałem w kilkietapowej syntezie, w której kluczowym etapem była konstrukcja pierścieni pirolowych posiłkując się pochodną **83**. Zgodnie z moimi oczekiwaniami, receptor **82** wykazał ciekawe właściwości wiążące aniony, co potwierdziłem doświadczalnie. Wiązanie większości anionów w DMSO-*d*₆ + 0.5 H₂O przebiegało ze stechiometrią 1:1, z wyjątkiem anionu fluorkowego, który wykazywał bardziej złożony model procesu kompleksowania. Ponadto, wiązanie anionu fluorkowego powodowało zahamowanie rotacji pierścieni indolowych względem pierścienia benzenowego. Do wyjaśnienia tego faktu, zaproponowałem kompleksowanie trzeciego anionu fluorkowego przy użyciu nieklasycznych oddziaływań C-H \cdots F. Potwierdziłem to modelowaniem molekularnym, które pokazało że w konformacji *anti-anti* receptor **82** posiada odpowiednią

geometrię dla wiązania trzeciego anionu fluorkowego. Z kolei, za pomocą techniki ^1H NOESY wykazałem, że w mniej wymagającym rozpuszczalniku, jakim jak $\text{MeCN-}d_3$, konformacja receptora może być kontrolowana zmianą stężenia anionów chlorkowych.

Receptor **82** może być również rozpatrywany jako molekularna bramka logiczna INHIBIT lub NAND, których stan był kontrolowany użyciem anionowych wejść – anionów fluorkowego i diwodorofosforanowego, a jej wyjście może być odczytane przy użyciu spektroskopii UV/VIS i fluorescencji.

Jestem przekonany, że przedstawiony tutaj motyw wiążący może być użyteczny w konstruowaniu receptorów anionów, przy czym szczególnie ciekawe wydaje się być jego wykorzystanie w chiralnym rozpoznaniu.

Analiza powyższych stwierdzeń wskazuje, że udało mi się zrealizować prawie wszystkie zaplanowane cele, a uzyskane wyniki dostarczają istotnych wskazówek, co do konstrukcji receptorów skutecznych w chiralnym rozpoznaniu. Niestety, nie było mi danym, jak dotąd, zbadanie właściwości chiralnego rozpoznania nowego receptora z opisanym wyżej motywem bispirolobenzenowym.

5. Część eksperymentalna

5.1. Uwagi ogólne

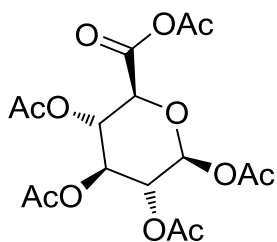
Odczynniki i rozpuszczalniki:

Wszystkie reagenty handlowo dostępne (Sigma-Aldrich) były używane bez dalszego oczyszczania. *N*-Boc zabezpieczone aminokwasy są handlowo dostępne z Iris Biotech GMBH. Dichlorometan był suszony nad wodorkiem wapnia. THF był destylowany z ketylu benzofenonu sodu.

Metody analityczne:

Temperatury topnienia zostały wyznaczone za pomocą aparatu Boëtius M HMK i nie były korygowane. Skręcalności właściwe zostały wyznaczone za pomocą polarymetru Jasco 2000. Chromatografia preparatywna była prowadzona na żelu krzemionkowym Merck Kieselgel 60 (230-400 mesh). Natomiast do chromatografii TLC była używałem płytek Merck Kieselgel F254. Do wizualizacji chromatogramów stosowałem UV, a tam gdzie było to niezbędne, również używałem wywoływacza cerowo-molibdenowego. Analizy spaleniowe były wykonywane na aparacie Perkin-Elmer typ 240. Widma masowe wysokiej rozdzielczości były wykonywane z użyciem techniki ESI i analizatorem TOF. Pomiar NMR były prowadzone na aparatach Varian200, Varian400, Varian600, Bruker500. Przesunięcia chemiczne są podane w ppm. Użyto następujących skrótów do opisu multipletowości sygnałów. (s – singlet, d – dublet, t – tryplet, q –kwartet, qn – kwintet, dd – dublet dubletów, m – multiplet). Stałe sprzężeń *J* są podane w Hz. Rentgenowska Analiza Strukturalna receptora **79** została wykonana w Pracowni Krystalochemii Uniwersytetu Warszawskiego za pomocą dyfraktometru KM4CCD κ -axis.

5.2. Synteza receptorów

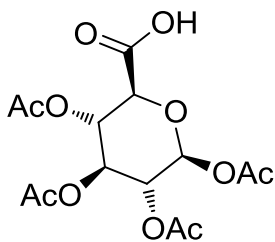


1,2,3,4-Tetra-O-acetylo- β -D-glukuronian acetylu (76) Kwas D-glukuronowy (75) (5.00 g, 25.75 mmol) zawiesiłem w bezwodniku octowym (75ml). Mieszaninę reakcyjną ochłodziłem do 0 °C w łaźni woda/lód, i dodałem powoli jod elementarny (350mg, 1.65mmol). Czerwona zabarwioną mieszaninę reakcyjną mieszałem w temperaturze 0°C przez 2h a następnie przez 3h w temperaturze pokojowej. Nieprzereagowany bezwodnik octowy usunąłem pod zmniejszonym ciśnieniem na próżniowej wyparce rotacyjnej (temperatura łaźni wodnej nie powinna przekraczać 40 °C). Po usunięciu rozpuszczalnika, surowy produkt uległ zestaleniu i został przeze mnie rozpuszczony w dichlorometanie (100mL) i przemyty dwukrotnie wodnym roztworem Na₂S₂O₃ 1M (2x50ml), wysuszony (bezw. Na₂SO₄), przesączony i zatężony. α -Anomer obecny jako zanieczyszczenie, usunąłem przez krystalizację z mieszaniny dichlorometanu z eterem naftowym. Bezbarwne kryształy (7.29 g, 70%). T.t. 130-131 °C, [α _D] = 2.2 (c 1.011, CH₂Cl₂).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.80 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 5.36 (t, *J* = 9.1 Hz, 1H), 5.28 (dd, *J* = 10.9, 6.7 Hz, 1H), 5.11 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 4.31 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 2.26 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.03 (s, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 169.95, 169.47, 169.31, 168.79, 164.88, 162.68, 91.48, 73.15, 71.42, 70.17, 68.19, 22.23, 20.85, 20.67 (s, 2C), 20.61.

ESI-HRMS: C₁₆H₂₀O₁₂ obliczono 427.0847, znaleziono 427.0859, dla [M+Na]⁺.

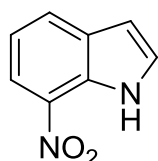


Kwas 1,2,3,4-Tetra-O-acetylo- β -D-glukuronowy (77) Bezwodnik 76 (7.29 g, 18 mmol) rozpuściłem w mieszaninie (2:1) wody i THF (200 ml) i roztwór mieszałem przez 12h. Następnie usunąłem THF pod zmniejszonym ciśnieniem aż do pokazania się białej zawiesiny produktu w wodzie. Produkt ekstrahowałem dichlorometanem (100 ml), fazę organiczną oddzieliłem od fazy wodnej, którą osuszyłem (Na₂SO₄) i zatężyłem. Krystalizacja z mieszaniny dichlorometan/eter naftowy doprowadziła do otrzymania produktu w postaci bezbarwnych kryształów: (5.1 g, 78%) T.t. 138-139 °C, [α _D] = 10.7° (c 1.042, CH₂Cl₂)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.10 (bs, 1H, COOH), 5.79 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 5.35 – 5.25 (m, 2H), 5.19 – 5.10 (m, 1H), 4.28 – 4.22 (m, 1H), 2.12 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.03 (s, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.44, 170.14, 169.89, 169.43, 169.07, 91.39, 72.47, 71.84, 70.16, 68.65, 20.90, 20.69 (s,2C), 20.64.

ESI-HRMS: C₁₄H₁₈O₁₁ obliczono 407.05608 dla [M-H+2Na]⁺ znaleziono 407.05619.



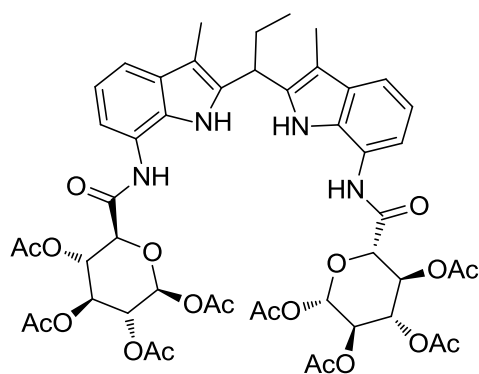
7-Nitroindol (81) Do kolby trójszyjnej (250 ml), zaopatrzonej w mieszadło i termometr, dodałem 1,2-dinitrobenzen **80** (5.0 g, 29.74 mmol) i rozpuściłem w suchym THF (110ml). Otrzymany roztwór mieszałem w atmosferze argonu i ochłodziłem do -60 °C, a następnie wkropliłem roztwór bromku winylomagnezowego w THF (1M, 95 ml) tak aby utrzymywać wewnętrzną temperaturę -50 °C – -60 °C. Po zakończeniu wkrapiania mieszanina reakcyjna była mieszana w -60 °C przez 3h. Po tym czasie dodałem roztwór chlorku amonu (10.5 g) w wodzie (40 ml) i przesączyłem mieszaninę reakcyjną przez celit. THF usunąłem pod zmniejszonym ciśnieniem a produkt wyekstrahowałem chloroformem, wysuszyłem (bezw. Na₂SO₄), i zateżyłem. Produkt **81** oczyściłem finalnie poprzez chromatografie kolumnową (heksan/AcOEt)(9/1)(v/v). Żółte kryształy: (1.81 g, 37%) T.t. 92-93 °C.

¹H NMR ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.92 (s, 1H), 8.09 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.53 (t, *J* = 2.8 Hz, 1H), 7.23 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.74 (dd, *J* = 3.2, 1.9 Hz, 1H).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 132.63, 132.10, 128.94, 128.73, 128.10, 118.70, 118.47, 103.15.

Analiza elementarna (%) Obliczono dla C₈H₆N₂O₂: C 59.26, H 3.74, N 17.28, znaleziono C 59.44, H 3.74, N 17.49.

ESI-HRMS: C₈H₆N₂O₂ obliczono 162.04293 dla [M+Na]⁺ znaleziono 162.04228.



Receptor 74. Kwas 1,2,3,4-tetra-*O*-acetyl-β-D-glukuronowy **77** (724 mg, 2 mmol) rozpuściłem w suchym DCM (40 ml), ochłodziłem do 0 °C a następnie dodałem chlorek oksalilu (0,18 ml, 2.2 mmol) i DMF (0.30 ml). Mieszaninę reakcyjną utrzymywałem w tej temperaturze przez 30 min, a następnie mieszałem w temperaturze pokojowej przez 1h. W oddzielnej kolbie okrągłodennej (100 mL) umieściłem 1,1-bis-(3-metyl-7-nitro-1H-

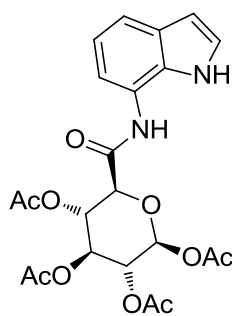
indol-2-yl)-propan^[16] (392 mg, 1 mmol), rozpuściłem w metanolu (50 mL) i dodałem 10% palladu na węglu (100 mg). Mieszaninę reakcyjną mieszałem w obecności wodoru, a postęp reakcji badałem za pomocą TLC. Po zakończeniu reakcji, katalizator palladowy usunąłem poprzez przesączenie mieszaniny reakcyjnej przez celit. Po usunięciu rozpuszczalnika otrzymałem 1,1-bis-(7-amino-3-metylo-*1H*-indol-2-yl)-propan (**78**). Roztwór otrzymanej diaminy **78** i pirydyny (0.40 ml, 4.9 mmol) w DCM (40 ml) został powoli dodany do otrzymanego wcześniej chlorku kwasowego w 0 °C. Mieszanina reakcyjna była mieszana w tej temperaturze przez 30 min, a następnie przez 2 h w temperaturze pokojowej. Po zakończeniu procedury, mieszaninę reakcyjną przenieśliem do rozdzielacza i przemyłem 0.1M wodnym chlorowodem (50 ml) i nasyconym wodnym roztworem NaHCO₃ (50 ml). Faza organiczna oddzieliłem od wodnej i wysuszyłem bezw. Na₂SO₄, a rozpuszczalnik usunąłem pod zmniejszonym ciśnieniem. Produkt oczyściłem poprzez chromatografię kolumnową CH₂Cl₂:AcOEt (4:1)(v/v), otrzymując produkt **74** (695 mg, 68%) w postaci bezbarwnego proszku, T.t. 136-137 °C, [α_D] = 21.2° (c 1.018, CH₂Cl₂)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.06 (s, 1H, NH), 10.04 (s, 1H, NH), 9.97 (s, 1H, NH-indol), 9.87 (s, 1H, NH-indol), δ 7.32 – 7.20 (m, 4H, Ar-H), 6.93 (td, *J* = 7.8, 1.6 Hz, 2H, Ar H), 6.09 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.08 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 5.58 (t, *J* = 9.6 Hz, 1H), 5.55 (t, *J* = 9.6 Hz, 1H), 5.33 (t, *J* = 9.7 Hz, 1H), 5.31 (t, *J* = 9.7 Hz, 1H), 5.11 (t, *J* = 9.7 Hz, 1H), 5.09 (t, *J* = 9.7 Hz, 1H), 4.55 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H), 4.51 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H), 4.46 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 2.29 – 2.22 (m, 2H), δ 2.11 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.88 (s, 3H), 1.84 (s, 3H), 0.93 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 169.51 (s, 2C), 169.12 (s, 2C), 169.07 (s, 2C), 168.84 (s, 2C), 164.27 (s, 2C), 135.52, 135.36, 130.78, 130.69, 127.48, 127.29, 121.54, 121.44, 118.40, 118.38, 115.04, 114.97, 114.30, 114.09, 106.90, 106.84, 90.87 (s, 2C), 73.63 (s, 2C), 71.25 (s, 2C), 69.79 (s, 2C), 69.30, 69.28, 36.89, 25.91 (s, 2C), 20.50 (s, 2C), 20.30 (s, 2C), 20.23 (s, 2C), 20.18 (s, 2C), 12.14, 8.44.

Analiza elementarna (%) Obliczono dla C₄₉H₅₆N₄O₂₀: C 57.64, H 5.53, N 5.49, znaleziono C 57.59, H 5.80, N 5.34.

ESI-HRMS: C₄₉H₅₆N₄O₂₀ obliczono 1043.33801 dla [M+Na]⁺, znaleziono 1043.3379.



Receptor anionów 79. Kwas 1,2,3,4-tetra-*O*-acetylo- β -D-glukuronowy **77** (1811 mg, 5 mmol) rozpuściłem w suchym DCM (100 ml) i ochłodziłem do 0 °C; następnie dodałem chlorek oksalilu (0,46 ml, 5.5 mmol) i DMF (0.75 ml). Mieszaninę reakcyjną utrzymywałem w tej temperaturze przez 30 min, a później mieszałem w temperaturze pokojowej przez 1h. W oddzielnej kolbie okrągłodennej (100 mL)

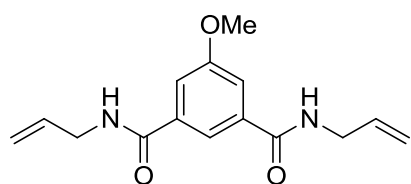
rozpuściłem 7-nitroindol **81** (811 mg, 5 mmol) w metanolu (50 mL) i dodałem 10% pallad na węglu (100 mg). Mieszaninę reakcyjną mieszałem w atmosferze wodoru, a postęp reakcji monitorowałem za pomocą TLC. Po zakończeniu reakcji, katalizator usunąłem poprzez sączenie przez Celit, a, rozpuszczalnik odparowałem pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując 7-aminoindol. Do roztworu 7-aminoindolu i pirydyny (1.00 mL, 12,5 mmol) w DCM (50 mL) powoli wkropliłem otrzymany chlorek kwasowy w temperaturze 0 °C i mieszałem w tej temperaturze przez 30 min i 2 h w temperaturze pokojowej. Mieszanina reakcyjna została przeniesiona do rozdzielacza i przemyta wodnym roztworem HCl (100 mL, 0.1 M) i wodnym nasyconym roztworem NaHCO₃ (100 ml). Fazę organiczną oddzieliłem od wodnej i osuszyłem bezw. Na₂SO₄ i zatężyłem. Produkt został finalnie oczyszczony przez chromatografię kolumnową CH₂Cl₂:AcOEt (10:1) co dało produkt **79** (2180 mg, 91%) w postaci bezbarwnego ciała stałego, T.t. 169-170 °C, [α _D] = 34.2 (c 1.190, CH₂Cl₂)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.63 (s, 1H), 9.88 (s, 1H), 7.40 – 7.35 (m, *J* = 7.0, 4.5 Hz, 2H), 7.26 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 6.95 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.46 (dd, *J* = 3.0, 1.9 Hz, 1H), 6.13 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 5.60 (t, *J* = 9.6 Hz, 1H), 5.37 (t, *J* = 9.7 Hz, 1H), 5.12 (dd, *J* = 9.7, 8.3 Hz, 1H), 4.58 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H), 2.10 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.93 (s, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 169.51, 169.19, 169.06, 168.79, 164.47, 129.27, 128.62, 125.32, 121.98, 118.80, 117.38, 114.74, 101.60, 90.75, 73.66, 71.33, 69.76, 69.31, 20.55, 20.33 (s, 3C).

Analiza elementarna (%) Policzono dla C₂₄H₂₄N₂O₁₀: C 55.46, H 5.08, N 5.88, znaleziono C 55.52, H 5.20, N 6.01.

ESI-HRMS: C₂₂H₂₄N₂O₁₀ obliczono 499.13232 dla [M+Na]⁺ znaleziono 499.13288.



N,N'-Diallyl-5-metoksyizoftalamid (83). Mieszaninę kwasu 5-metoksyizoftalowego (11.76 g, 60 mmol), chlorek tionylu (13.1mL, 180mmol), toluen (100 mL) i 10 kropli DMF ogrzewałem w temperaturze wrzenia przez 4h.

Nadmiar chlorku tionylu i toluen usunąłem pod zmniejszonym ciśnieniem, otrzymując

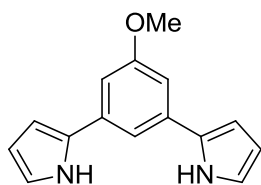
chlorek kwasowy, który użyłem w następnej reakcji bez oczyszczania. Otrzymany chlorek kwasowy rozpuściłem w suchym DCM (100 mL) i ten roztwór wkropiłem do roztworu alliloaminy (9.0 mL, 120 mmol) i trietyloaminy (19.52 mL, 140 mmol) w suchym DCM (100 mL), z chłodzeniem w łaźni woda-lód. Po zakończeniu wkraplania, usunąłem łaźnię chłodzącą i mieszaninę reakcyjną mieszałem przez 12h. Następnie mieszaninę reakcyjną przenieśliem do rozdzielacza i przemyłem ją wodą (3 x 100 mL) i solanką (100 mL). Warstwę organiczną osuszyłem bezw. Na₂SO₄ a rozpuszczalnik usunąłem pod zmniejszonym ciśnieniem. Bezbarwne kryształy (14.94 g, 91%) T.t. 101-102°C.

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.76 (t, *J* = 1.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.43 (d, *J* = 1.4 Hz, 2H, Ar-H), 6.90 (t, *J* = 5.5 Hz, 2H, NH), 5.84 (ddt, *J* = 17.0, 10.3, 5.7 Hz, 2H, -CH=C), 5.18 (ddd, *J* = 17.1, 3.0, 1.5 Hz, 2H, C=CH₂), 5.10 (ddd, *J* = 10.2, 2.6, 1.3 Hz, 2H, C=CH₂), 3.98 (tt, *J* = 5.7, 1.4 Hz, 4H, CH₂), 3.78 (s, 3H, OMe).

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 166.69, 160.04, 136.11, 133.86, 117.26, 116.88, 115.93, 55.78, 42.67.

Analiza elementarna (%) obliczona dla C₁₅H₁₈N₂O₃: C 65.68, H 6.61, N 10.21, znaleziono C 65.62, H 6.66, N 10.29.

ESI-HRMS: C₁₅H₁₈N₂O₃ obliczono 297.12096 dla [M+Na]⁺ znaleziono 297.1212.



2,2'-(5-Metoksy-1,3-fenylene)bis-1H-pirol (**84**)

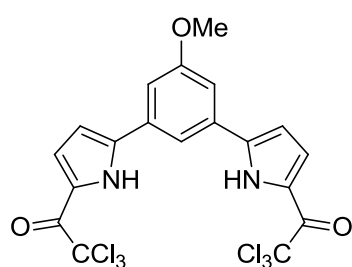
Mieszaninę *N,N'*-diallilo-5-metoksisoftalamidu **83** (2.74 g, 10.0 mmol) z 20 % roztworem fosgenu w toluenie (40 mL) i dodatkiem czterech kropli DMF, mieszałem w RT przez 15 h w atmosferze Ar, a następnie ogrzewałem w 40 – 45 °C przez 2 h. Nadmiar fosgenu i toluen usunąłem pod zmniejszonym ciśnieniem (fosgen powinien być dokładnie usunięty w celu otrzymania czystego produktu w następnym etapie, **Uwaga: fosgen jest wysoce toksyczny!**). Otrzymaną pozostałość rozpuściłem w THF (60 mL) i wkraplałem do mieszanego roztworu *tert*-butanolanu potasu (5.89 g, 52 mmol) w THF (60 mL) w atmosferze Ar z chłodzeniem w łaźni woda/lód. Utrzymując temperaturę mieszaniny reakcyjnej pomiędzy 5 – 10 °C. Po zakończeniu wkraplania, mieszaninę reakcyjną dodatkowo mieszałem przez 1h, a następnie reakcję zakończyłem przez wylanie mieszaniny reakcyjnej do wody z lodem (100 mL). Produkt ekstrahowałem DCM (3x100 mL). Fazę organiczną oddzieliłem, wysuszyłem bezw. Na₂SO₄ i usunąłem rozpuszczalnik. Produkt **84** oczyściłem z użyciem chromatografii kolumnowej (żel krzemionkowy, eter naftowy/dichlorometan (1:2) (v/v)) żółtawy osad: (1.18 g, 50%) m.p. 149 – 150 °C.

¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.26 (s, 2H, NH), 7.50 (s, 1H, Ar-H), 7.00 (s, 2H, Ar-H), 6.86 (m, *J* = 1.4 Hz, 2H, Ar-H), 6.58 (m, 2H, Ar-H), 6.12 (dd, *J* = 5.4, 2.7 Hz, 2H, Ar-H), 3.82 (s, 3H, OMe).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 160.56, 134.75, 132.02, 119.14, 112.66, 110.23, 107.71, 106.53, 55.52.

Analiza elementarna (%) obliczona. dla C₁₅H₁₄N₂O: C 75.61, H 5.92, N 11.76, znaleziono: C 75.65, H 5.93, N 11.66.

EI-HRMS: Znaleziono 238.11121, Obliczono dla 238.11061 [M]⁺.



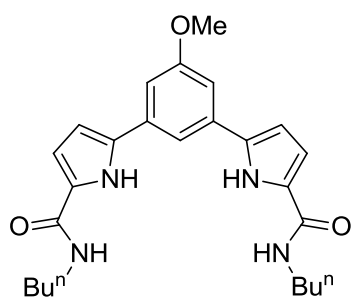
1,1'-Bistrichloroacetyl-2,2'-(5-metoksy-1,3-fenylen)bis-1H-pirol (85).

2,2'-(5-Metoksy-1,3-fenylen)bis-1H-pirol (**84**) (1.18g, 5.0 mmol) rozpuściłem w chloroformie (50 mL) i w temperaturze wrzenia wkropliłem chlorek kwasu trichlorooctowego (2.23 mL, 20 mmol) i 2,6-lutydynę (2.32 mL, 20 mmol). Mieszanina reakcyjna zabarwiła się na zielono, i przebieg reakcji monitorowałem w TLC. Po zakończeniu reakcji, rozpuszczalnik usunąłem pod zmniejszonym ciśnieniem, a pozostałość rozpuściłem w eterze dietylowym (100 mL) przemyłem 3N wodnym HCl (100 mL) i wodą (3 x 50 mL). Fazę organiczną oddzieliłem i wysuszyłem bezw. Na₂SO₄. Produkt oczyściłem przy użyciu chromatografii kolumnowej (żel krzemionkowy, eluent: DCM), zielonkawe ciało stałe (1.08 g, 38% yield) T.t. 185 - 186 °C (Uwaga: produkt **85** ulega rozkładowi w przypadku ekspozycji na światło widzialnym).

¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.64 (s, 2H), 8.14 (s, 1H), 7.59 (s, 2H), 7.46 (dd, *J* = 4.2, 2.4 Hz, 2H), 7.05 (dd, *J* = 4.2, 2.4 Hz, 2H), 3.90 (s, 3H).

¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ 171.63, 160.01, 141.04, 131.68, 122.87, 122.72, 116.16, 111.47, 110.50, 95.33, 55.74.

ESI-HRMS: C₁₉H₁₂Cl₆N₂O₃ obliczono 526.9057 dla [M+H]⁺ znaleziono 526.9058.



Receptor anionów 82

Do roztworu 1,1'-bistrichloroacetyl-2,2'-(5-metoksy-1,3-fenylen)bis-1H-pirolu (**85**) (264.5 mg, 0.5 mmol) w suchym acetonitrylu (20 mL) została dodana *n*-butyloamina (0.24 mL, 2.2 mmol). Mieszanina reakcyjna była ogrzewana w temperaturze wrzenia przez 12h. Rozpuszczalnik usunąłem pod zmniejszonym ciśnieniem, a produkt oczyściłem poprzez chromatografię kolumnową (żel

krzemionkowy, dichlorometan/octan etylu (4/1) (v/v)). Bezbarwne ciało stałe (193 mg, 88%)
T.t. 162-163 °C.

¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.57 (s, 2H, NH), 8.03 (s, 2H, NH), 7.86 (s, 1H, Ar-H),
7.24 (d, *J* = 1.1 Hz, 2H, Ar-H), 6.84 (dd, *J* = 3.7, 2.2 Hz, 2H, Ar-H), 6.70 (dd, *J* = 3.6, 2.2 Hz,
2H, Ar-H), 3.85 (s, 3H, OMe), 3.25 (dd, *J* = 12.5, 6.6 Hz, 4H), 1.60 – 1.21 (m, 8H, CH₂), 0.91
(t, *J* = 7.2 Hz, 6H, Me).

¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ 161.10, 160.77, 134.86, 134.04, 128.56, 114.01, 112.04,
108.91, 108.16, 56.14, 38.94, 32.37, 20.41, 14.53.

Analiza elementarna (%) Obliczona dla C₂₅H₃₂N₄O₃: C 68.78, H 7.39, N 12.83, znaleziono
C 68.62, H 7.48, N 12.91.

EI-HRMS: C₂₅H₃₂N₄O₃ obliczono 459.23666 dla [M+Na]⁺ znaleziono 459.23780.

5.3 Badania właściwości kompleksujących

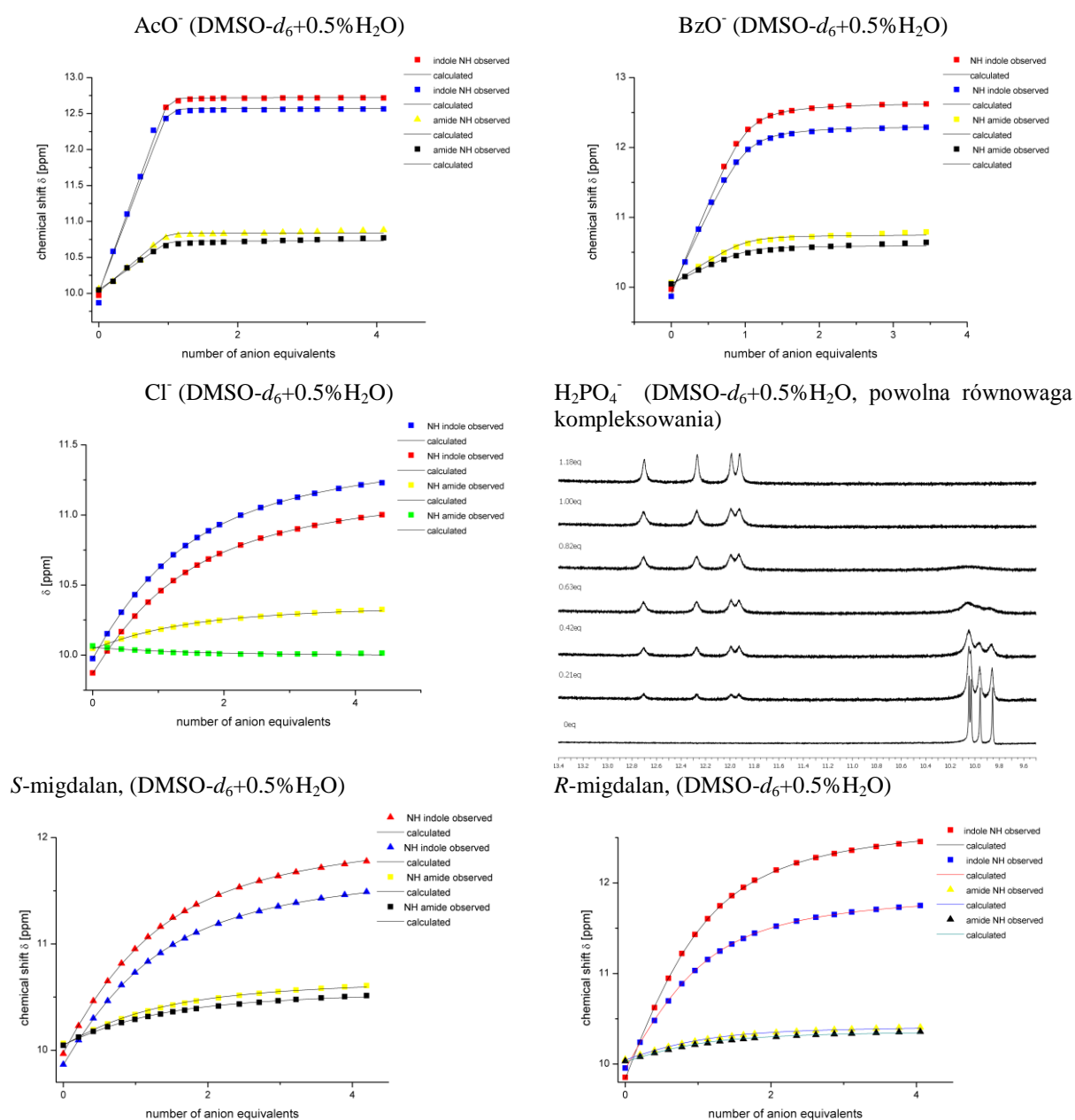
Wyznaczanie stałych trwałości – uwagi ogólne

Sole tetrabutylamoniowe odpowiednich kwasów były używane jako źródło anionów. Octan, benzoesan, chlorek, fluorek i diwodorofosforan TBA są handlowo dostępne. Sole tetrabutylamoniowe chiralnych kwasów karboksylowych i aminokwasów zostały otrzymane przez dodanie metanolowego roztworu Bu₄NOH (1.0 ekw.) do metanolowego roztworu odpowiedniego kwasu karboksylowego lub aminokwasu (1.0ekw.). Po usunięciu metanolu pod zmniejszonym ciśnieniem, sole tetrabutylamoniowe były suszone po wysoką próżnią nad P₂O₅. Woda destylowana była dodawana do handlowo dostępnego DMSO-*d*₆, 99.8% D (Eurisotope) w takiej ilości aby można otrzymać jej pożądaną zawartość.

Miareczkowanie ¹H NMR:

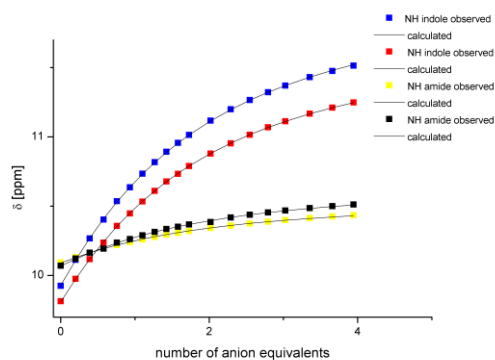
Roztwór receptora (około 10⁻²M) umieszczony w próbówce NMR, był miareczkowany 0.1-0.2 M roztworem odpowiedniego anionu w postaci soli tetrabutylamoniowej. Roztwór dodawanej soli tetrabutylamoniowej zawierał też miareczkowany receptor o stężeniu identycznym z tym, znajdującym się w próbówce NMR. Użycie tej procedury pozwala utrzymywać stałe stężenie receptora podczas całego miareczkowania. Wybór liczby ekwiwalentów badanego anionu, podyktowany był wartością spodziewanej stałej trwałości kompleksu anion-receptor. Dla stałej trwałości rzędu ~ 100 M⁻¹ stosowane były

miareczkowania w zakresie 0.0-4.0 ekwiw. anionu. W tym zakresie stężeń izoterma miareczkowania ulega pełnemu wypłaszczeniu, co pozwala na wyznaczenie stałej trwałości z małym błędem. Stałe trwałości badanych kompleksów zostały wyznaczone poprzez regresję nieliniową danych eksperymentalnych, z użyciem programu HypNMR.^[93,94] Do wyznaczenia stałej trwałości wykorzystywałem protony NH, będące donorami wiązania wodorowego (amidowe, pirolowe i indolowe NH). Uzyskana w ten sposób stała trwałości była stałą globalną. W celu potwierdzenia stechiometrii wiązania przeprowadzono eksperymenty Joba.

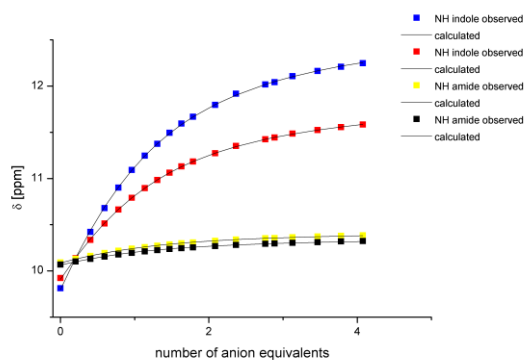


Rysunek 58. Izotermy miareczkowań receptora 74 różnymi anionami. Punkty przedstawiają dane doświadczalne, natomiast krzywe są krzywymi teoretycznymi dopasowywanymi do danych doświadczalnych.

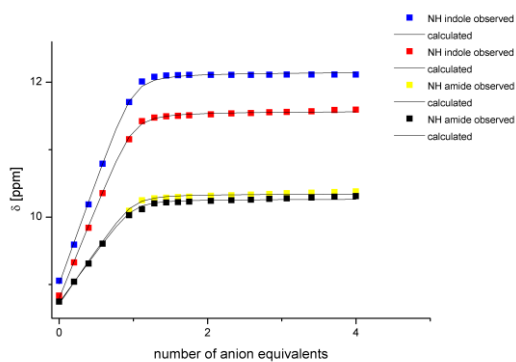
S-migdalalan (DMSO- d_6 +5% H_2O)



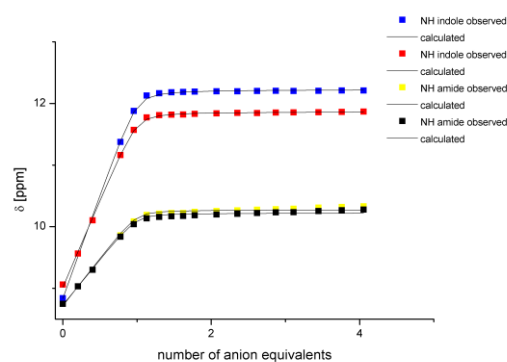
R-migdalalan (DMSO- d_6 +5% H_2O)



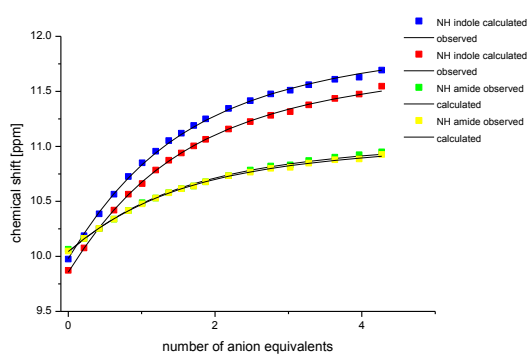
S-migdalalan (MeCN- d_3)



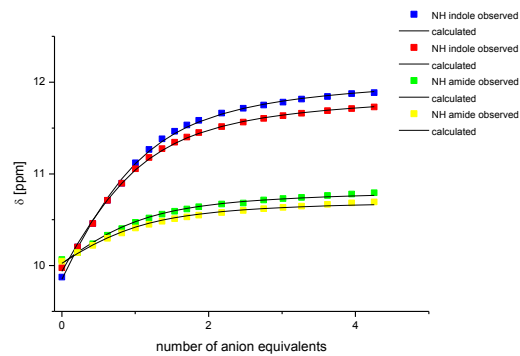
R-migdalalan (MeCN- d_3)



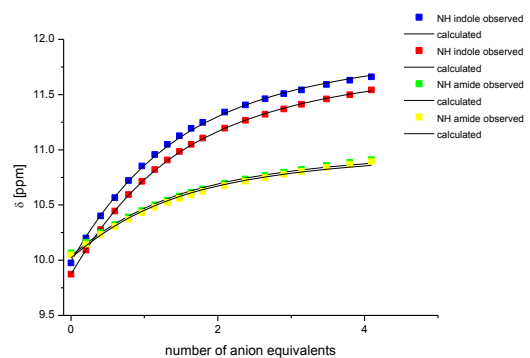
Boc-*N*-L-Trp (DMSO- d_6 + 0.5% H_2O)



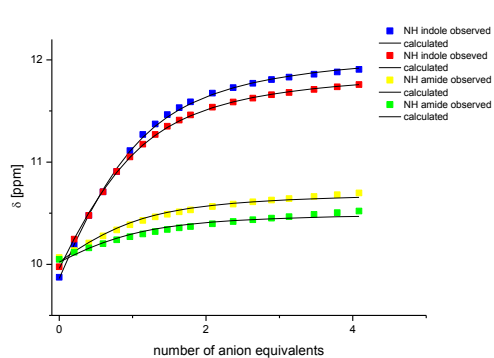
Boc-*N*-L-Trp (DMSO- d_6 + 0.5% H_2O)



Boc-*N*-L-Phe (DMSO- d_6 + 0.5% H_2O)

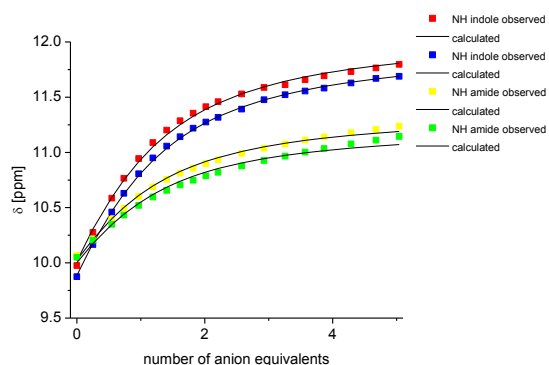


Boc-*N*-D-Phe (DMSO- d_6 + 0.5% H_2O)

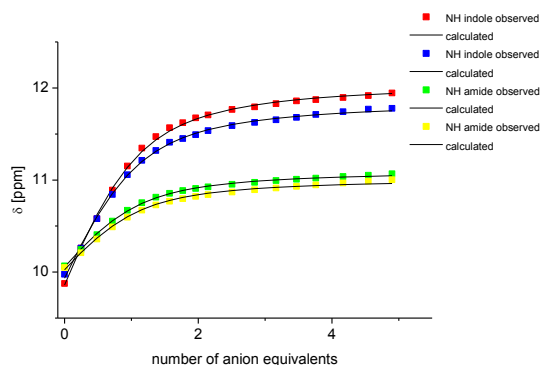


Rysunek 59. Izotermie miareczkowań receptora **74** różnymi anionami. Punkty przedstawiają dane doświadczalne, natomiast krzywe są krzywymi teoretycznymi dopasowywanymi do danych doświadczalnych.

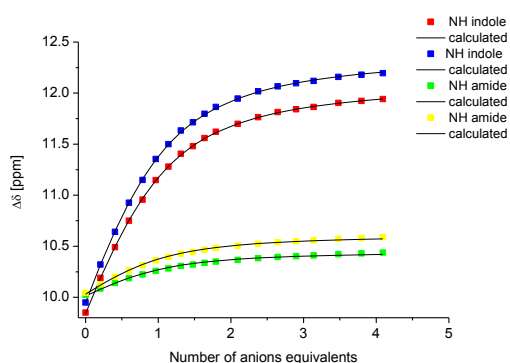
Boc-N-L-Val (DMSO- d_6 + 0.5% H₂O)



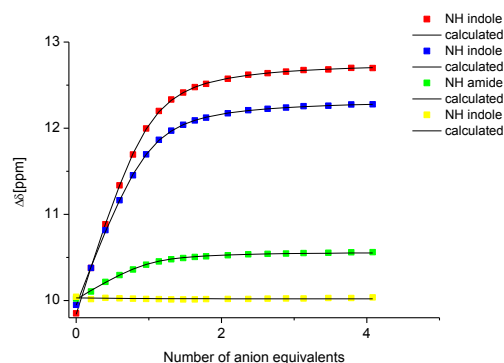
Boc-N-L-Val (DMSO- d_6 + 0.5% H₂O)



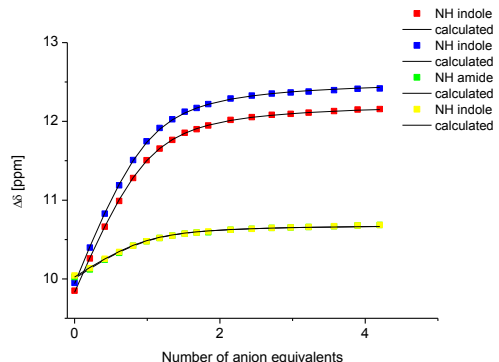
Anion kwasu 3-fenyl-L(-)-mlekowego



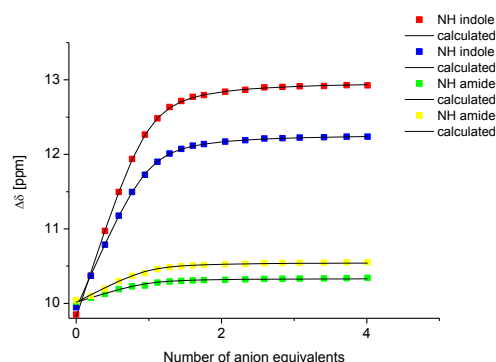
Anion kwasu 3-fenyl-D(+)-mlekowego



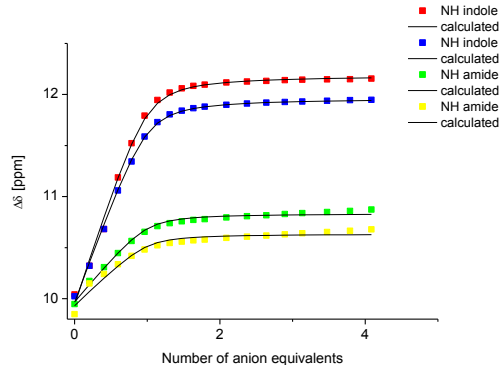
Anion kwasu S-2-hydroksymaslowego



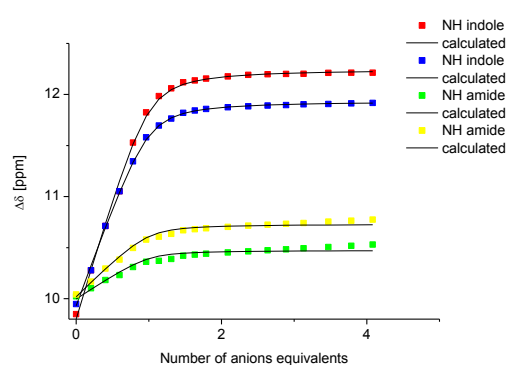
Anion kwasu R-2-hydroksymaslowego



Anion kwasu S-fenylometoksyoctowego

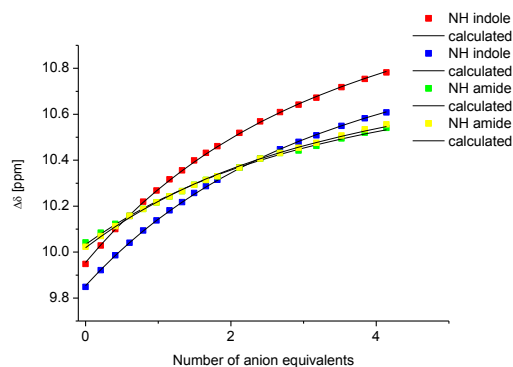


Anion kwasu R-fenylometoksyoctowego

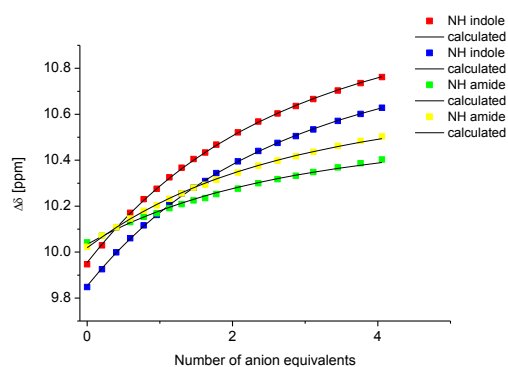


Rysunek 60. Izotermie miareczkowań receptora **74** różnymi anionami. Punkty przedstawiają dane doświadczalne, natomiast krzywe są krzywymi teoretycznymi dopasowywanymi do danych doświadczalnych.

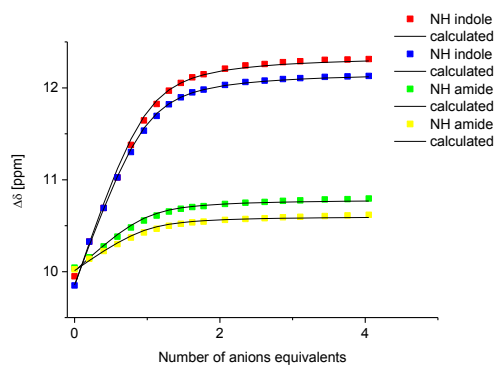
Anion *S*-kwasu Moshera



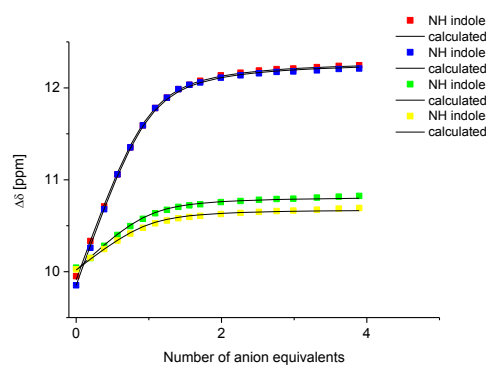
Anion *R*-kwasu Moshera



Anion kwasu 3-*S*-hydroksy masłowego

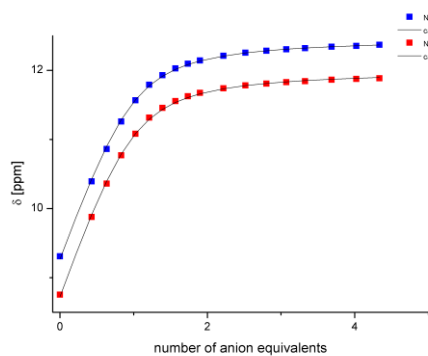


Anion kwasu 3-*R*-hydroksy masłowego

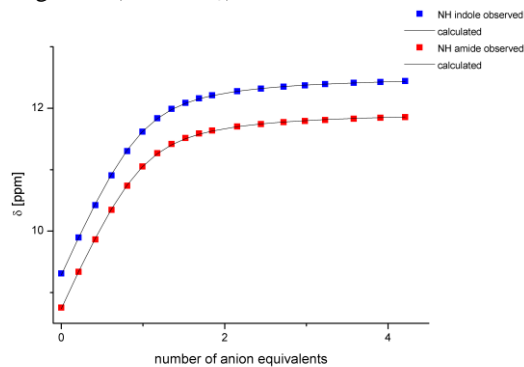


Rysunek 61. Izotermie miareczkowań receptora **74** różnymi anionami. Punkty przedstawiają dane doświadczalne, natomiast krzywe są krzywymi teoretycznymi dopasowywanymi do danych doświadczalnych.

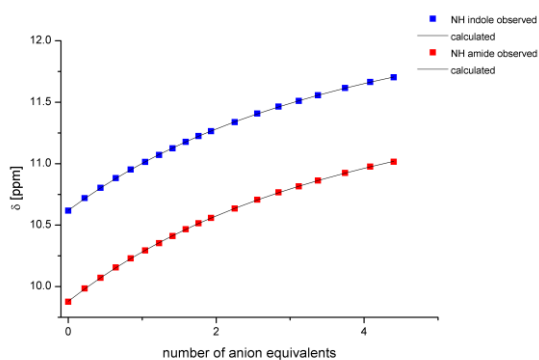
S-migdałan (MeCN-*d*₃)



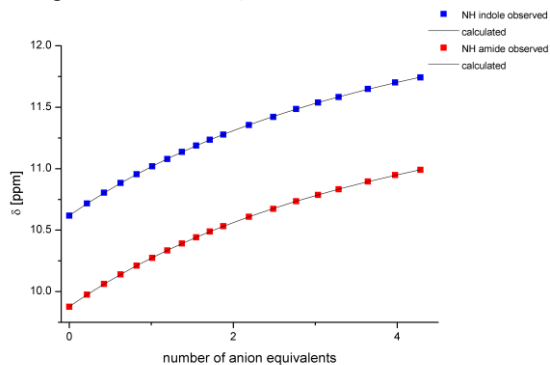
R-migdałan (MeCN-*d*₃)



S-migdałan (DMSO-*d*₆+0.5% H₂O)

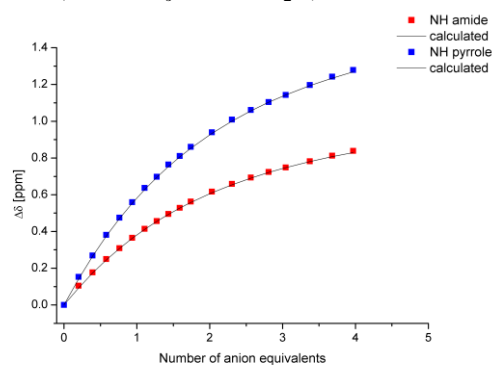


R-migdałan (DMSO-*d*₆+0.5% H₂O)

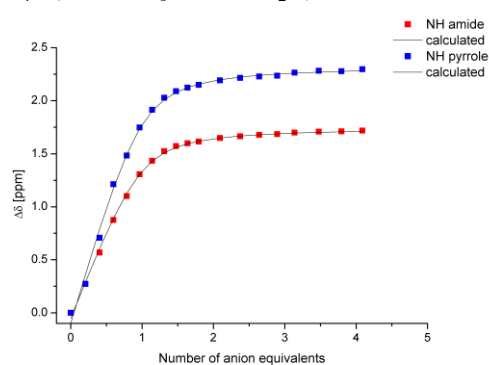


Rysunek 62. Izotermie miareczkowań receptora **79** różnymi anionami. Punkty przedstawiają dane doświadczalne, natomiast krzywe są krzywymi teoretycznymi dopasowywanymi do danych doświadczalnych

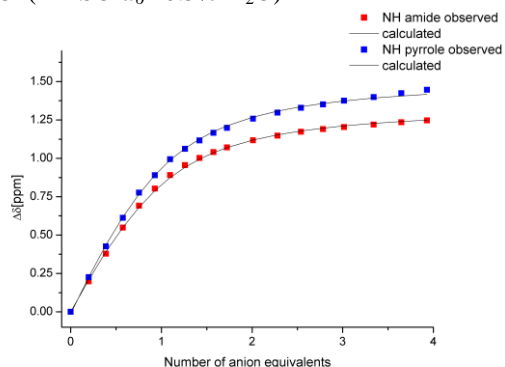
PhCOO⁻ (DMSO-*d*₆ + 0.5% H₂O)



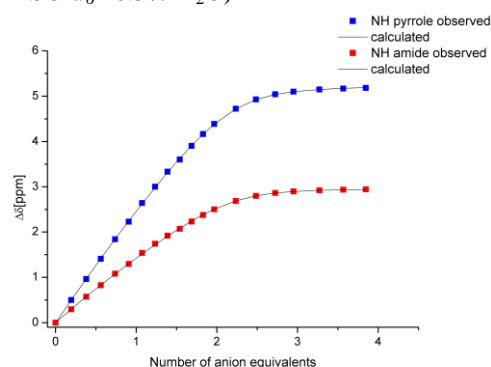
H₂PO₄²⁻ (DMSO-*d*₆ + 0.5% H₂O)



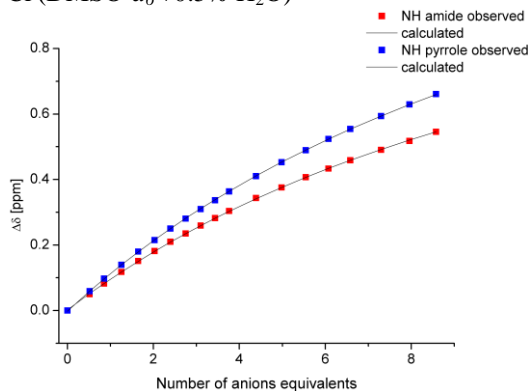
AcO⁻ (DMSO-*d*₆ + 0.5% H₂O)



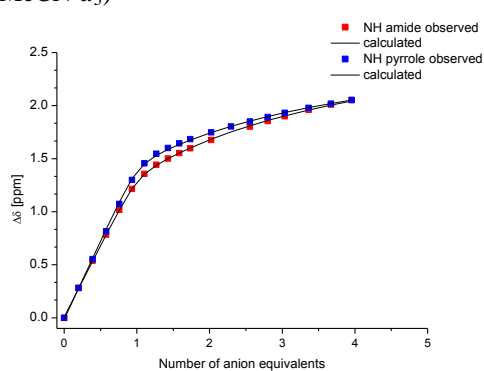
F⁻ (DMSO-*d*₆ + 0.5% H₂O)



Cl⁻ (DMSO-*d*₆ + 0.5% H₂O)



Cl⁻ (MeCN-*d*₃)



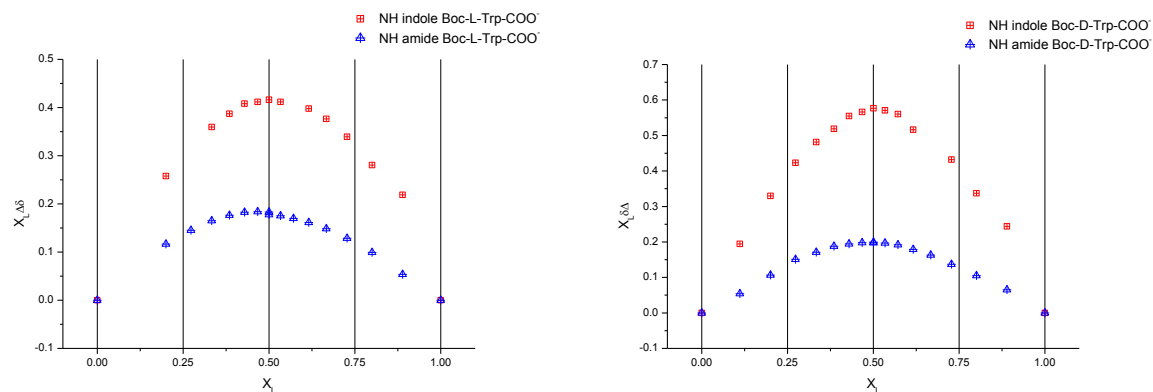
Rysunek 63. Izotermi miareczkowań receptora bispirolobenzenowego **82** różnymi anionami. Punkty przedstawiają dane doświadczalne, natomiast krzywe są krzywymi teoretycznymi dopasowywanymi do danych doświadczalnych

5.4. Ustalenie stechiometrii - metodą Joba

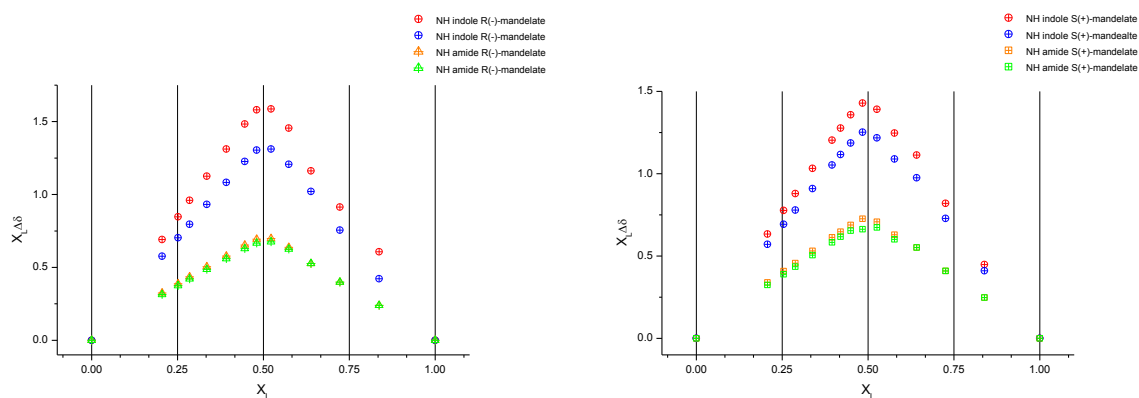
Eksperyment Joba:

Roztwór receptora (0,40 mL 2×10^{-2} M), umieszczony w probówce NMR był miareczkowany roztworem anionu o tym samym stężeniu (poprzez dodatek $8 \times 50 \mu\text{L}$), osiągając w ten sposób stosunek anionu do receptora 1:1. Podobnie miareczkowano roztwór anionu za pomocą

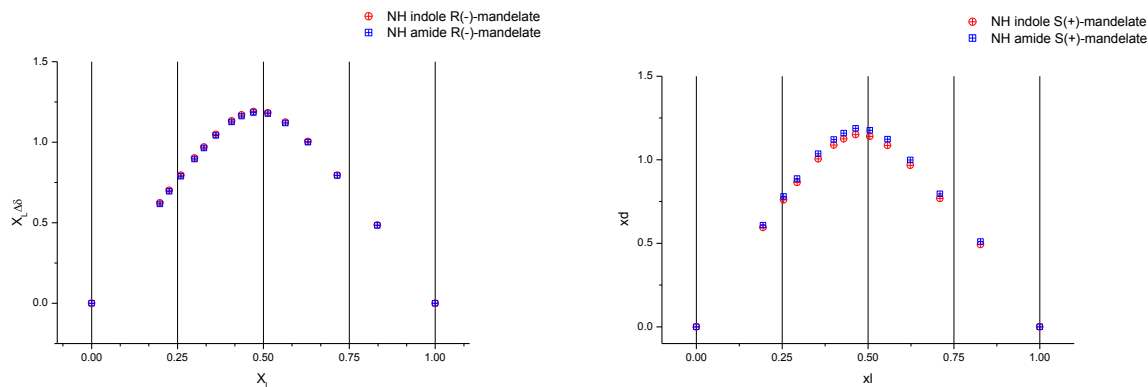
roztworu receptora o stężeniach identycznych jak w poprzednim eksperymencie. Wykres zależności iloczynu ułamka molowego x_R i zmiany przesunięcia $\Delta\delta$ od ułamka molowego x_R , daje wykres, którego maksimum mówi nam o stechiometrii tworzącego się kompleksu. I tak dla kompleksu o stechiometrii 1:1 gość/gospodarz wykres Joba posiada maksimum dla $x_R = 1/2$, dla stechiometrii 2:1 gość/gospodarz maksimum $x_R = 1/3$.



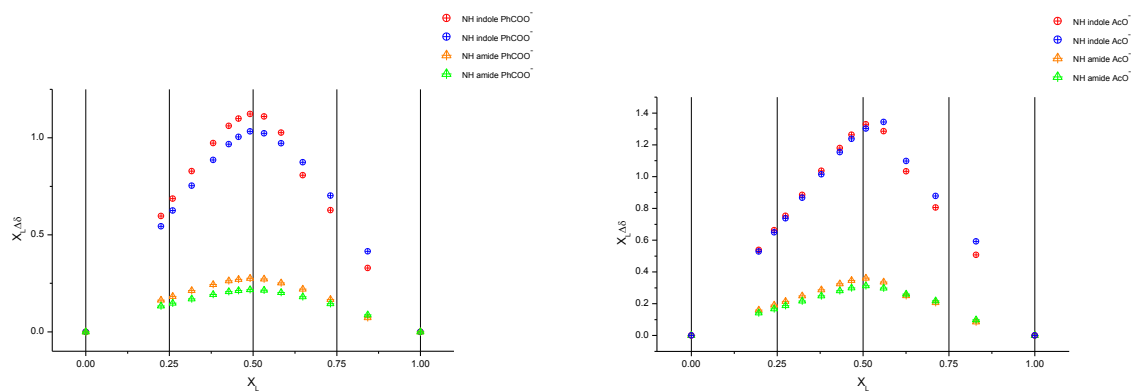
Rysunek 64. Wykresy Joba dla receptora **74** z Boc-L-Trp-COO⁻ (lewy) i Boc-D-Trp-COO⁻ (prawy) w DMSO-*d*₆+0.5% H₂O.



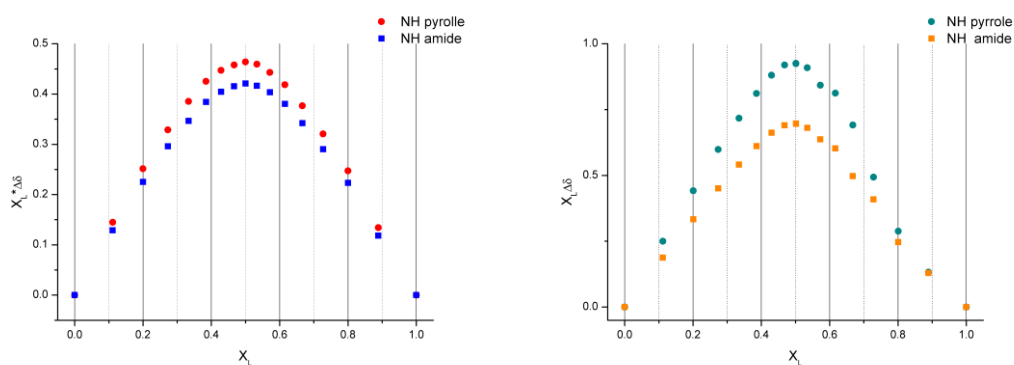
Rysunek 65 Wykresy Joba dla receptora **74** z R(-)-migdalaniem (lewy) and S(+)-migdalaniem (prawy) w MeCN-*d*₃



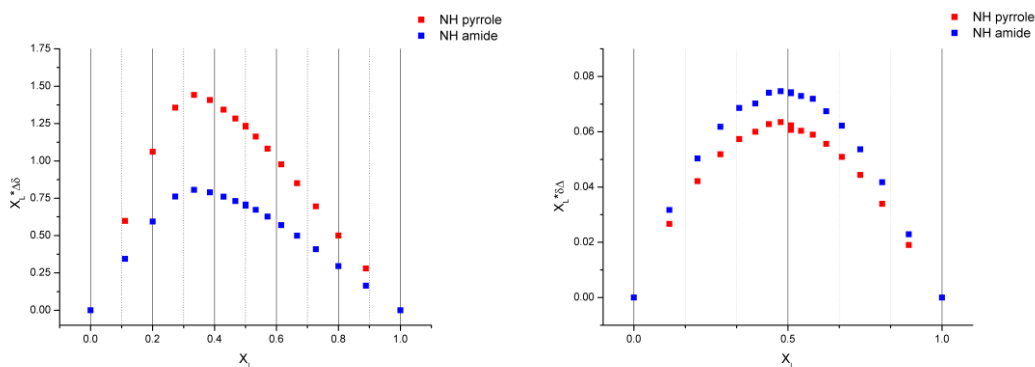
Rysunek 66. Wykresy Joba dla receptor **79** z R(-)-migdalaniem (lewy) and S(+)-migdalaniem (prawy) w MeCN-*d*₃.



Rysunek 67. Wykresy Joba dla receptora **74** z benzoianem (lewy) i octanem (prawy) w DMSO- d_6 +0.5% H₂O.



Rysunek 68. Wykresy Joba dla receptora bispirolobenzenowego **82** z octanem (lewy) i diwodorofosforanem (prawy) w DMSO- d_6 +0.5% H₂O.



Rysunek 69. Wykresy Joba dla receptora bispirolobenzenowego **82** z anionem fluorkowym (lewy) i chlorkowym (prawy) w DMSO- d_6 +0.5% H₂O.

5.5. Modelowanie molekularne receptora **82** z anionami fluorkowymi

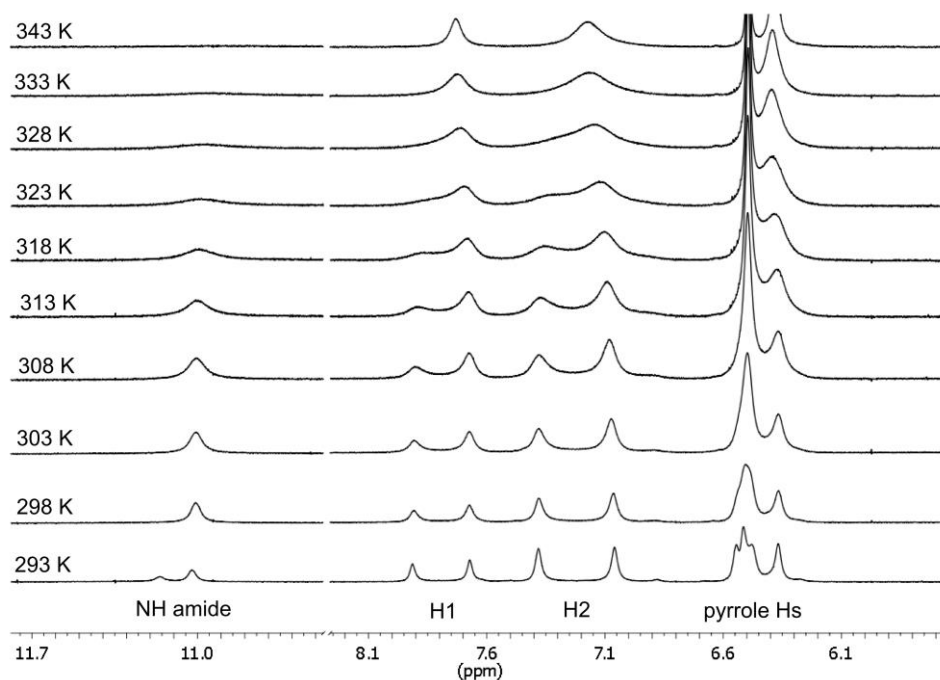
Wszystkie obliczenia zostały przeprowadzone z użyciem programu Spartan 10. Geometria kompleksu **82** + 3F⁻ została zoptymalizowana z użyciem teorii funkcjonałów gęstości elektronowej (DFT) ωB97X-D/6-311++G**. Dla uproszczenia obliczeń grupy *n*-butylowe zostały zastąpione grupami metylowymi.

Optymalna geometria **82** \subset 3F⁻ XYZ:

C	0.023848	-2.066674	0.005125	H	-3.944394	-0.949799	-0.008051
C	-0.063354	0.714070	-0.000314	C	6.061692	0.880486	-0.004723
C	-1.212157	-1.423310	0.003817	C	-6.193578	0.722839	-0.000053
C	1.211249	-1.349265	0.003351	O	-7.046715	1.626174	0.010598
C	1.165317	0.054934	0.000551	O	6.925640	1.772156	-0.007520
C	-1.258130	-0.025876	0.001341	N	-6.548110	-0.582796	-0.013485
H	-2.115870	-2.026548	0.004999	H	-5.831417	-1.361131	-0.014847
H	2.168598	-1.858357	0.004249	N	6.405925	-0.432041	-0.001651
H	-0.091809	1.810723	-0.001835	H	5.691316	-1.200754	-0.000188
C	-2.540716	0.698310	0.001601	C	7.791579	-0.804037	-0.002614
N	-3.756110	0.074893	-0.002601	H	8.324431	-0.411743	0.874512
C	-4.751773	1.021212	0.001202	H	8.319740	-0.426254	-0.889023
C	-4.144618	2.269741	0.007841	H	7.849225	-1.895514	0.006071
C	-2.750682	2.076342	0.007912	C	-7.937228	-0.939998	-0.008744
H	-4.679873	3.207841	0.011995	H	-8.006846	-2.030449	-0.042828
H	-1.959851	2.829759	0.011763	H	-8.473233	-0.520099	-0.871009
C	2.418052	0.827301	-0.001063	H	-8.454989	-0.578303	0.891003
N	3.642369	0.225021	-0.003246	F	4.544664	-2.292911	0.001320
C	4.624033	1.183640	-0.003996	F	-4.726306	-2.415283	-0.014561
C	3.996106	2.423421	-0.002552	O	-0.010986	-3.445061	0.008697
C	2.603839	2.208508	-0.000540	C	1.225441	-4.113317	0.011773
H	4.515235	3.370692	-0.003120	H	1.828678	-3.873681	-0.872063
H	1.792938	2.942834	0.001356	H	0.990424	-5.180819	0.015705
H	3.838136	-0.796804	-0.002228	H	1.827841	-3.866974	0.894412
				F	-0.079896	3.824163	0.004611

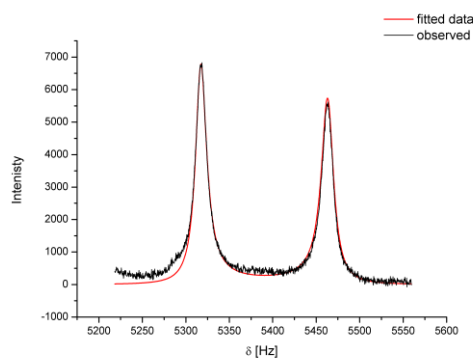
5.6. Badanie wpływu anionów fluorkowych na barierę rotacji receptora **82**

Bariera rotacji receptora **82** z TBAF (4.0ekw.) była badana poprzez pomiary zmiennotemperaturowe ¹H NMR (Varian VNMRS 600 MHz) poprzez analizę kształtu linii protonów należących do pierścienia benzenowego w receptorze anionów **82**. Stałe szybkości wymiany $k_{\text{exch}} = \pi(h-h_0)$ h = szerokość połówkowa pików h_0 = szerokość pików przy powolnej wymianie lub jej braku zostały otrzymane przez analizę kształtu linii z użyciem programu WinDNMR. Widma zostały zarejestrowane w temperaturach od 293 do 343 K.

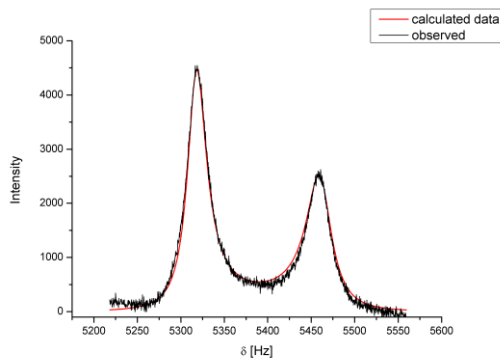


Rysunek 70. Pomiar bariery rotacji z anionem fluorkowym (4ekw.) w DMSO- d_6 poprzez VT NMR (^1H NMR 600 MHz). Widna receptora **82** w różnych temperaturach protony amidowe (lewe) benzenowe (środkowe), i pirolowe (prawe)

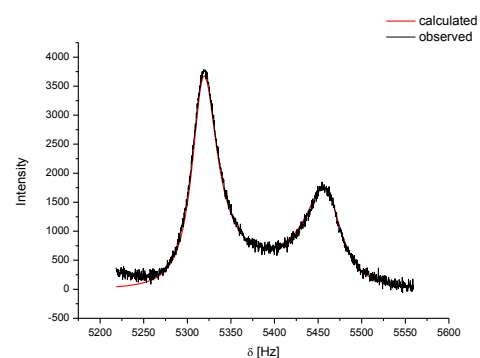
$T = 293 \text{ K}$ $k_{\text{exchn}} = 89.8$



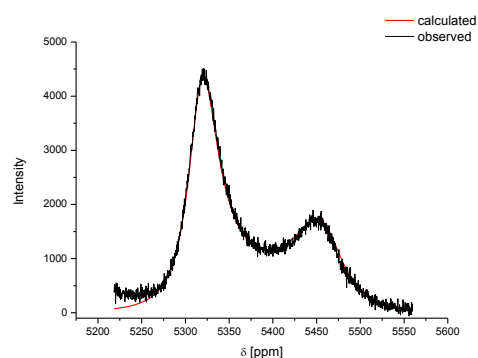
$T = 303.15 \text{ K}$ $k_{\text{exchn}} = 183.8$



$T = 308 \text{ K}$ $k_{\text{exchn}} = 257.1$

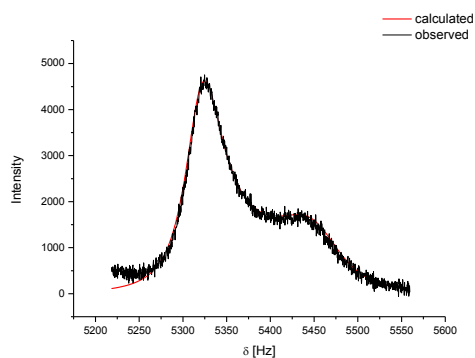


$T = 313.15 \text{ K}$ $k_{\text{exchn}} = 339.5$

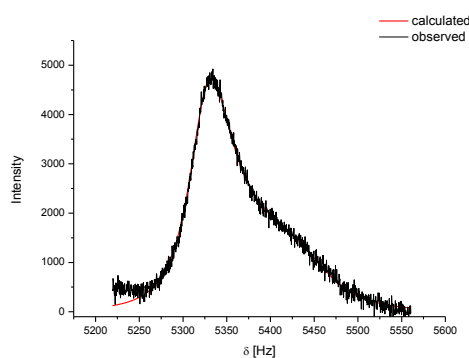


Rysunek 71. Analiza kształtu linii protonu H^1 w receptorze **82** z anionem fluorkowym (4ekw.) w DMSO- d_6 + 0.5% H_2O .

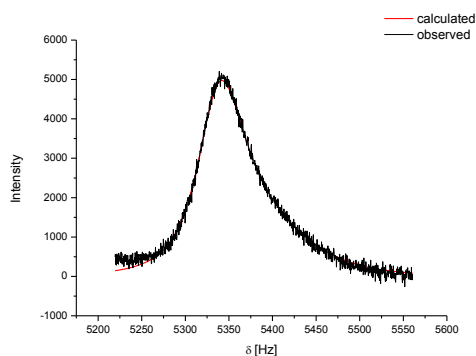
$T = 318.15 \text{ K}$ $k_{\text{exchn}} = 461.2$



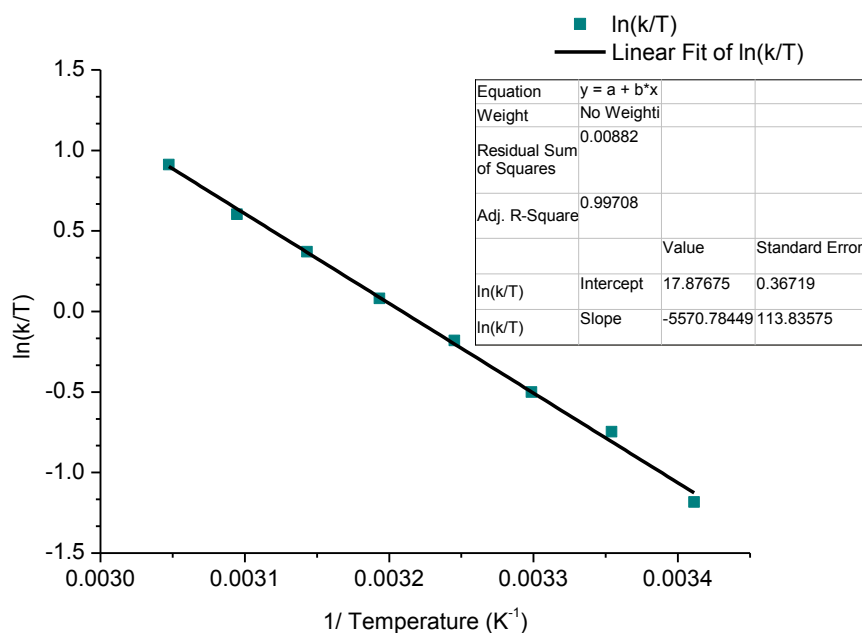
$T = 323.15 \text{ K}$ $k_{\text{exchn}} = 590.8$



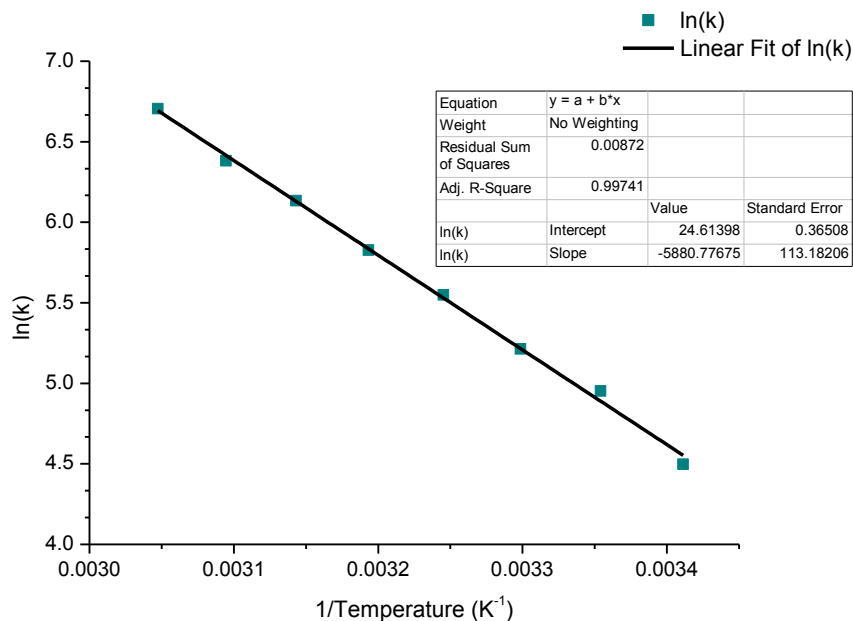
$T = 328.15 \text{ K}$ $k_{\text{exchn}} = 817$



Rysunek 72. Analiza kształtu linii protonu H^1 w recepcorze **82** z anionem fluorkowym (4ekw.) w $\text{DMSO-}d_6$ + 0.5% H_2O .

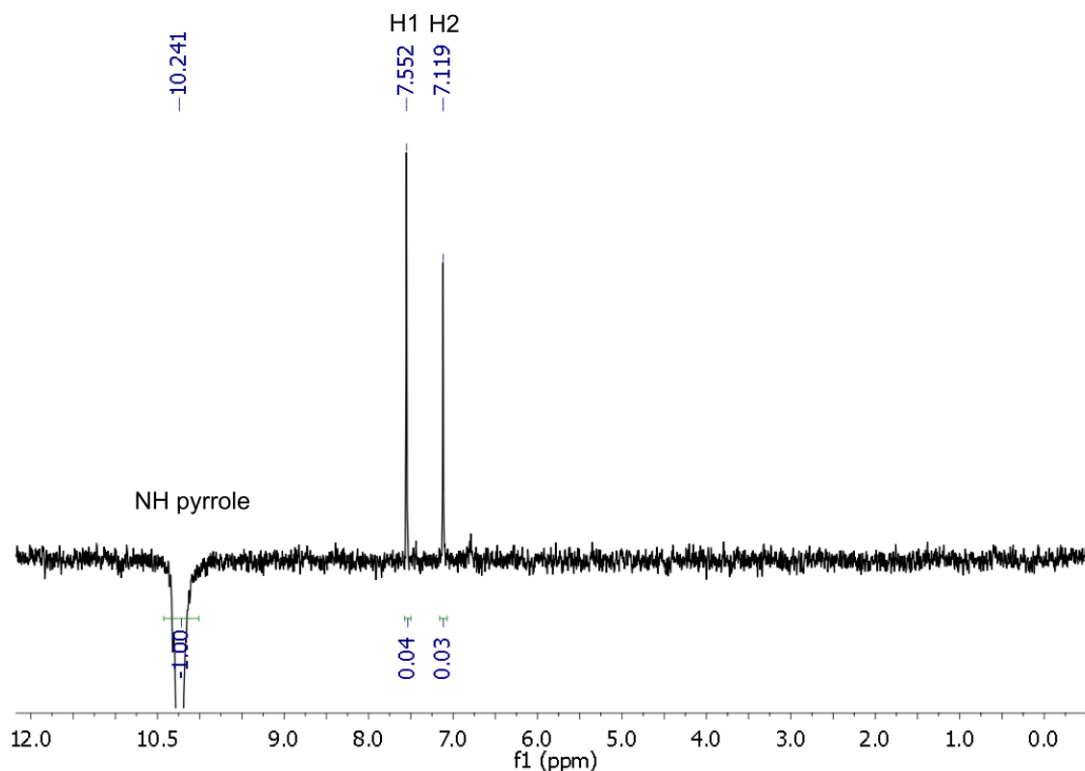


Rysunek 73. Wykres Eyringa dla stałych szybkości wymiany otrzymany z analizy kształtu linii dla protonu H^1 z anionem fluorkowym (4 ekw.). Bariera rotacji $\Delta G_{298 \text{ K}}^\ddagger = 14.5 \text{ kcal/mol}$ została obliczona z $\Delta H^\ddagger = 11.06 \pm 0.05 \text{ kcal/mol}$ i $\Delta S^\ddagger = -11.7 \pm 0.7 \text{ cal/mol}$.

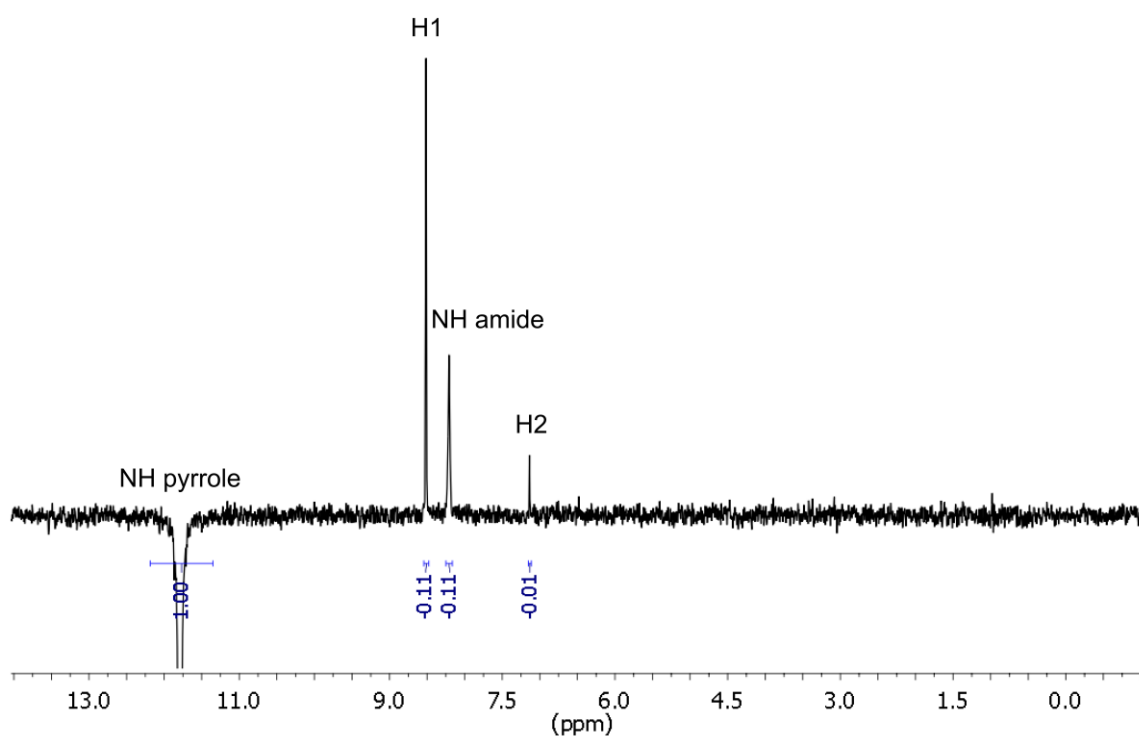


Rysunek 74. Wykres Arrheniusa z stałych szybkości wymiany dla receptora **82** z anionem fluorkowym (4eq) otrzymanym z analizy kształtu linii VT NMR. Energia aktywacji dla rotacji receptora **82** $E_a = 11.70$ kcal/mol została policzona z współczynnika kierunkowego prostej.

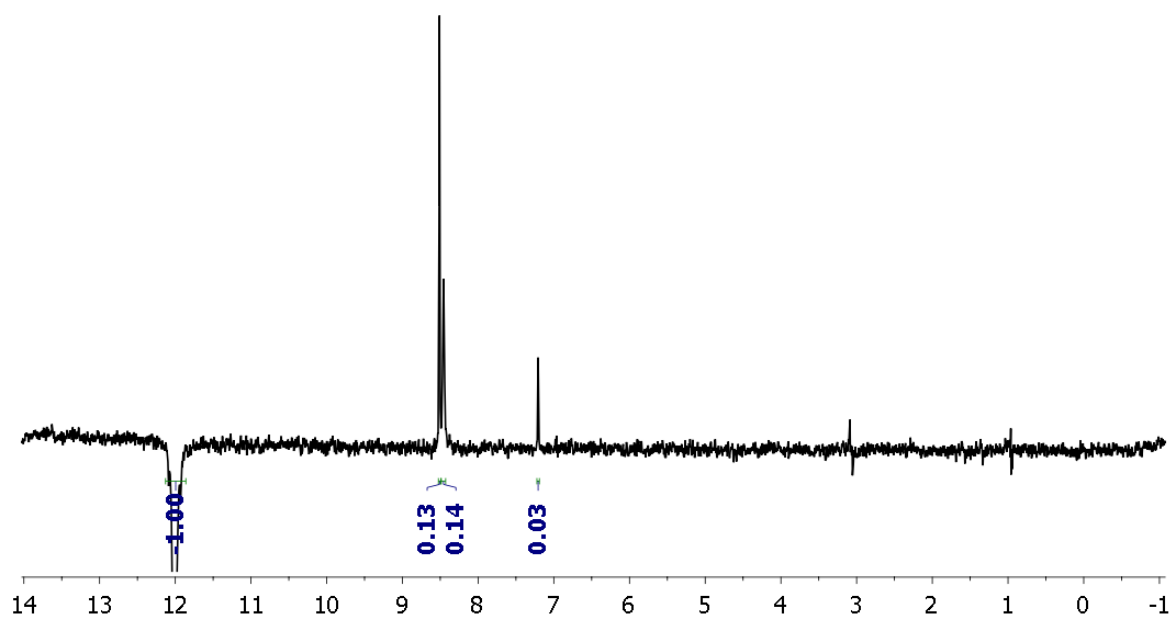
Badania konformacji receptora **82** w roztworze przy pomocy technik NMR.



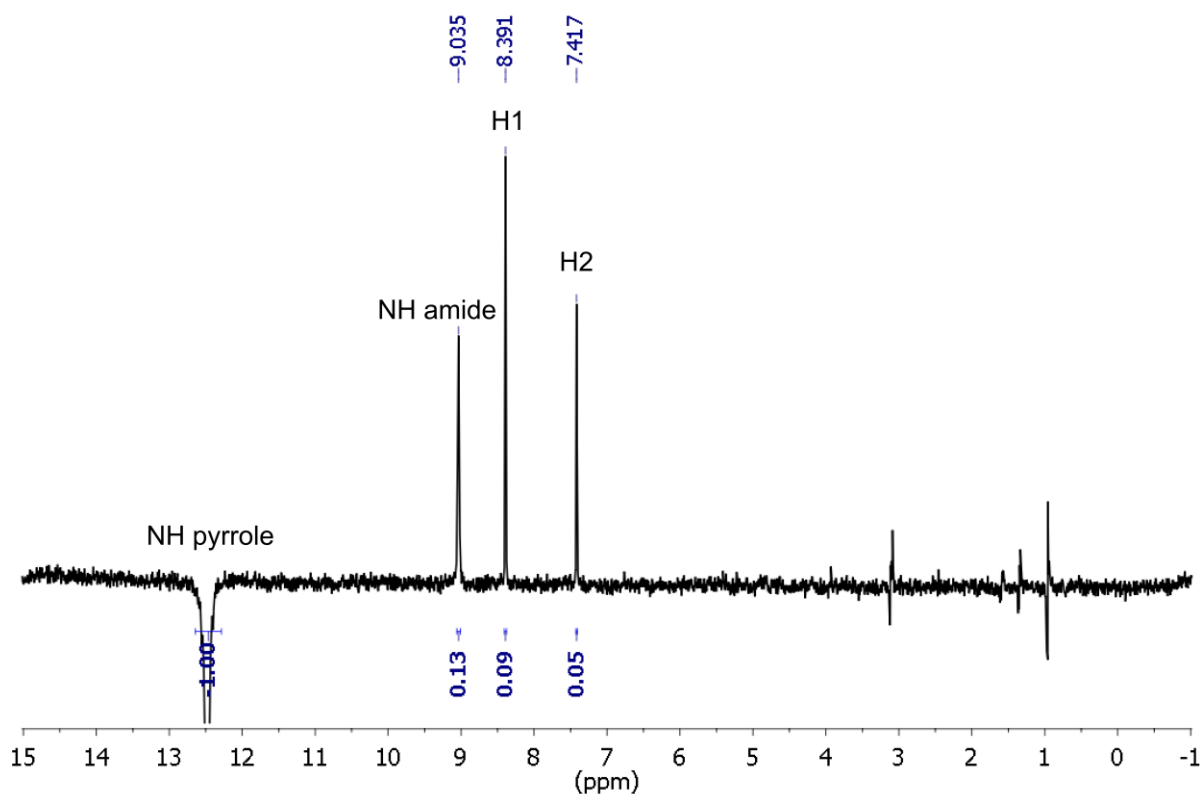
Rysunek 75. Fragment widma 1D NOESY receptora **82** w MeCN



Rysunek 76. Fragment widma 1D NOESY receptora **82** z anionem chlorkowym (1.0ekw.) w MeCN



Rysunek 77. Fragment widma 1D NOESY receptora **82** z anionem chlorkowym (2.0 ekw.) w MeCN



Rysunek 78. Fragment widma 1D NOESY receptora **82** z anionem chlorkowym (6.0 ekw.) w MeCN

5.7. Dane krystalograficzne

Monokryształ receptora **79**, odpowiedni dla Rentgenowskiej Analizy Strukturalnej,ostał otrzymany poprzez powolną dyfuzję eteru naftowego do roztworu receptora **79** w dichlorometanie. Pomiar został wykonany na dyfraktometrze KM4CCD κ -axis z użyciem promieniowania $\text{MoK}\alpha$ i monochromatorem grafitowym. Kryształ został umieszczony w odległości 50 mm od kamery CCD. 1214 danych zostało zmierzonych w przedziale 1° z czasem pomiaru 25 sek. Dane zostały skorygowane na efekty Lorentza i polaryzacyjne. Zastosowano również korektę multi-skanową współczynników absorpcji. Analiza i redukcja danych została przeprowadzona przy użyciu programów Agilent.^[95]

Struktura została rozwiązana przy użyciu metod bezpośrednich i udokładniana przy użyciu SHELXL^[96] i WinGX Program System.^[97] Współczynniki rozpraszania zostały użyte z Tabel 6.1.1.4 and 4.2.4.2.^[98] Tabela 13 prezentuje podstawowe dane krystalograficzne i szczegóły udokładnienia monokryształu receptora **79**, natomiast Tabela 14 wiązania wodorowe istniejące w ciele stałym.

Tabela 13 Dane krystalograficzne dla receptora **79**.

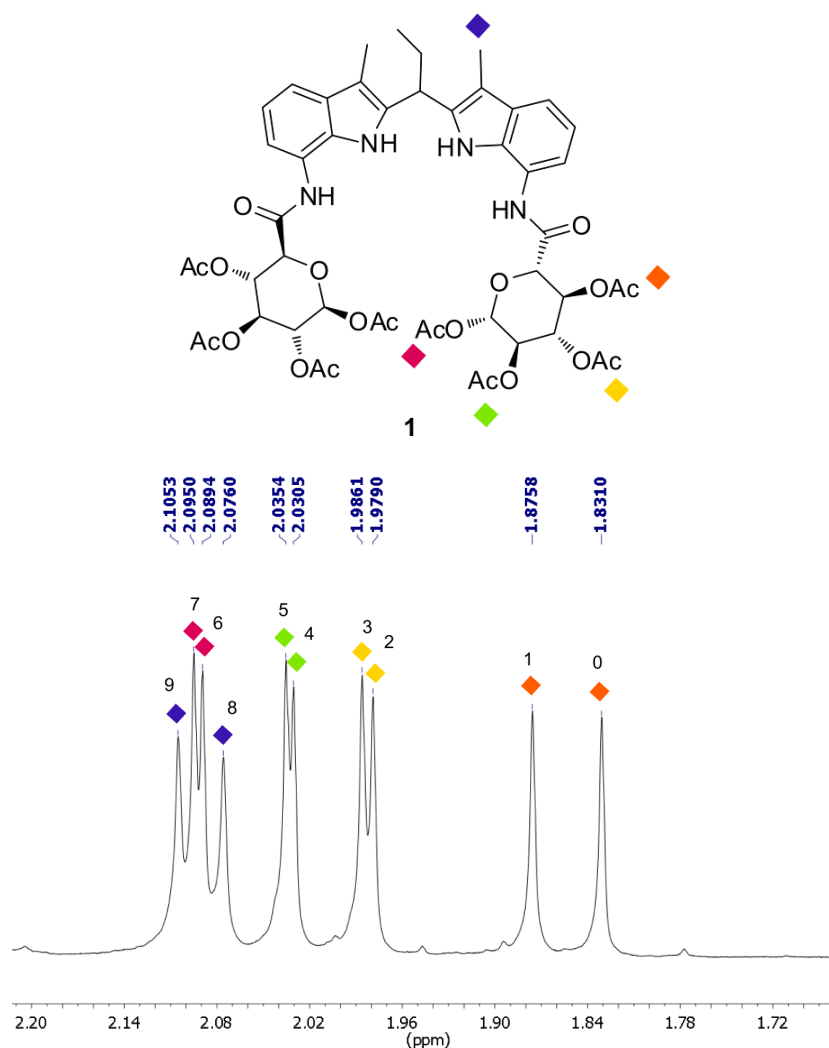
Kod identyfikacyjny CCDC	CCDC 943660
Wzór empiryczny	C ₄₄ H ₅₀ N ₄ O ₂₁
Masa cząsteczkowa	970,88
Temperatura	100(2) K
Długość fali	0,71073 Å
Układ krystalograficzny, grupa przestrzenna	Trójskośny, P1
Wymiary komórki elementarnej	a = 6,3054(3) Å alpha = 97,215(4) deg. b = 9,0002(4) Å beta = 92,994(4) deg. c = 20,7980(9) Å gamma = 98,644(4) deg.
Objętość	1154.59(9) Å ³
Z, Obliczona gęstość	1, 1,396 Mg/m ³
Współczynnik absorpcji	0.112 mm ⁻¹
F(000)	510
Rozmiar kryształu	0,31 x 0,22 x 0,07 mm
Zakres theta dla zbieranych danych	3,24 to 26,37 °
Zakres indeksów	-7<=h<=7, -11<=k<=11, -25<=l<=25
Zebrane refleksy (wszystkie / niezależne)	23642 / 9381 [R(int) = 0.0292]
Kompletność theta = 26.37	99.8 %
Poprawki na absorpcję	Półempiryczne dla ekwiwalentów
Transmisja (min/max)	0,9922 and 0,9660
Metoda udokładnienia	Pełno macierzowa metoda najmniejszych kwadratów oparta o F ²
Dane / więzy / parametry	9381 / 7 / 664
Parametr GooF dla F ²	0,994
Końcowe indeksy R [I>2sigma(I)]	R1 = 0,0341, wR2 = 0,0722
Indeksy R (dla wszystkich danych)	R1 = 0,0448, wR2 = 0,0771
Resztkowe p _{max} i p _{min}	0,179 i -0.169 e.Å ⁻³

Tabela 14 Wiązania wodorowe dla receptora **79** w ciele stałym

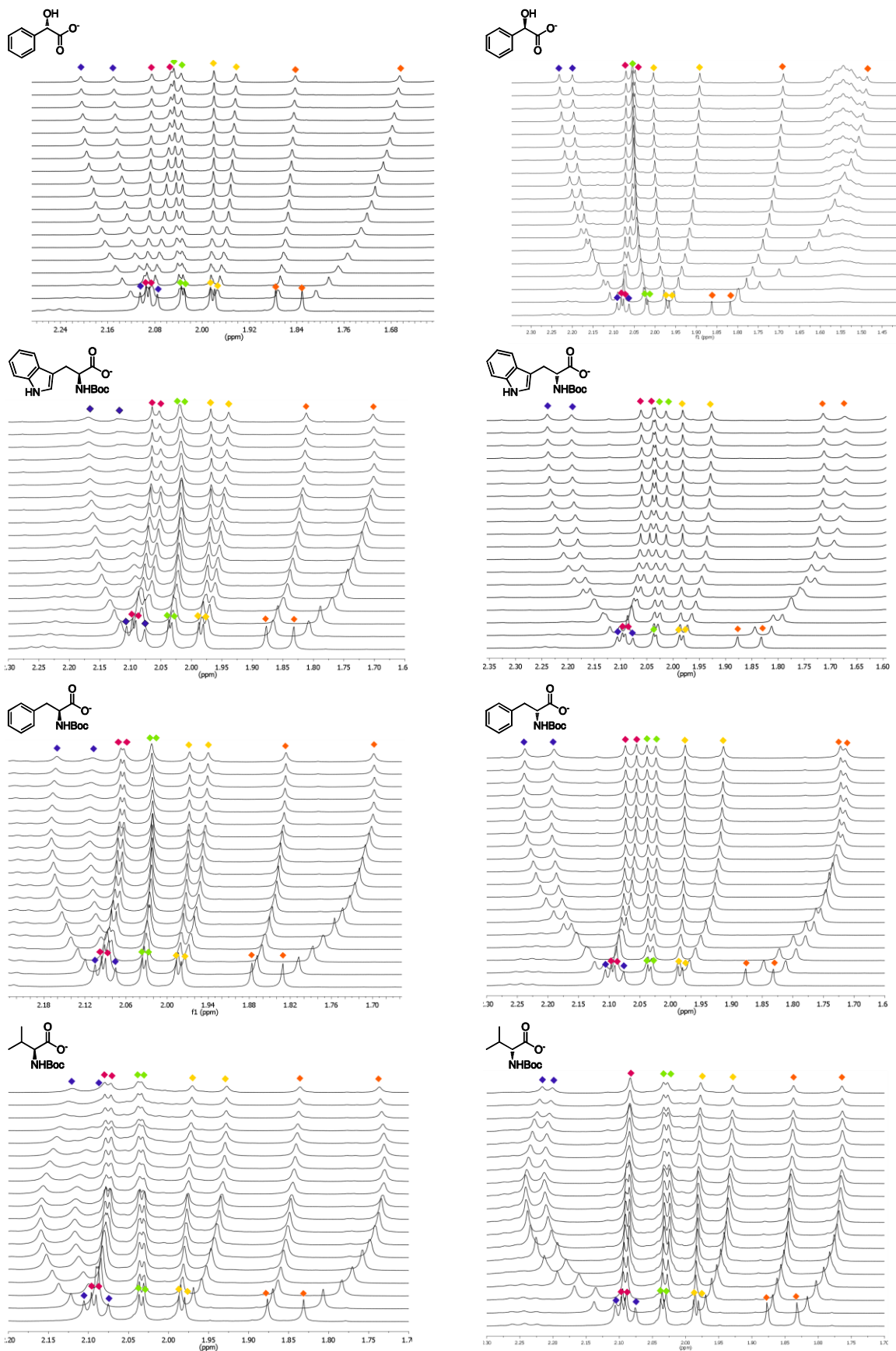
D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
N(49)-H(49)...O(53)	0,83(2)	2,18(2)	2,612(2)	111,9(19)
N(49)-H(49)...O(61)#1	0,83(2)	2,43(2)	3,080(2)	136(2)
N(10)-H(10)...O(22)#2	0,90(2)	2,39(2)	3,154(2)	142.3(19)
N(40)-H(40)...O(101)	0,88(2)	1,87(2)	2,745(6)	174(2)
N(40)-H(40)...O(100)	0,88(2)	2,15(3)	3,004(6)	164(2)
N(1)-H(1)...O(12)	0,89(2)	2,18(2)	2,743(2)	120,9(18)
N(1)-H(1)...O(69)#1	0,89(2)	2,30(2)	2,945(2)	129,3(18)

5.8. Zmiany przesunięć chemicznych grup metylowych i acetylowych receptora **74** używane do wyznaczania chiralności anionowych gości z użyciem ANN

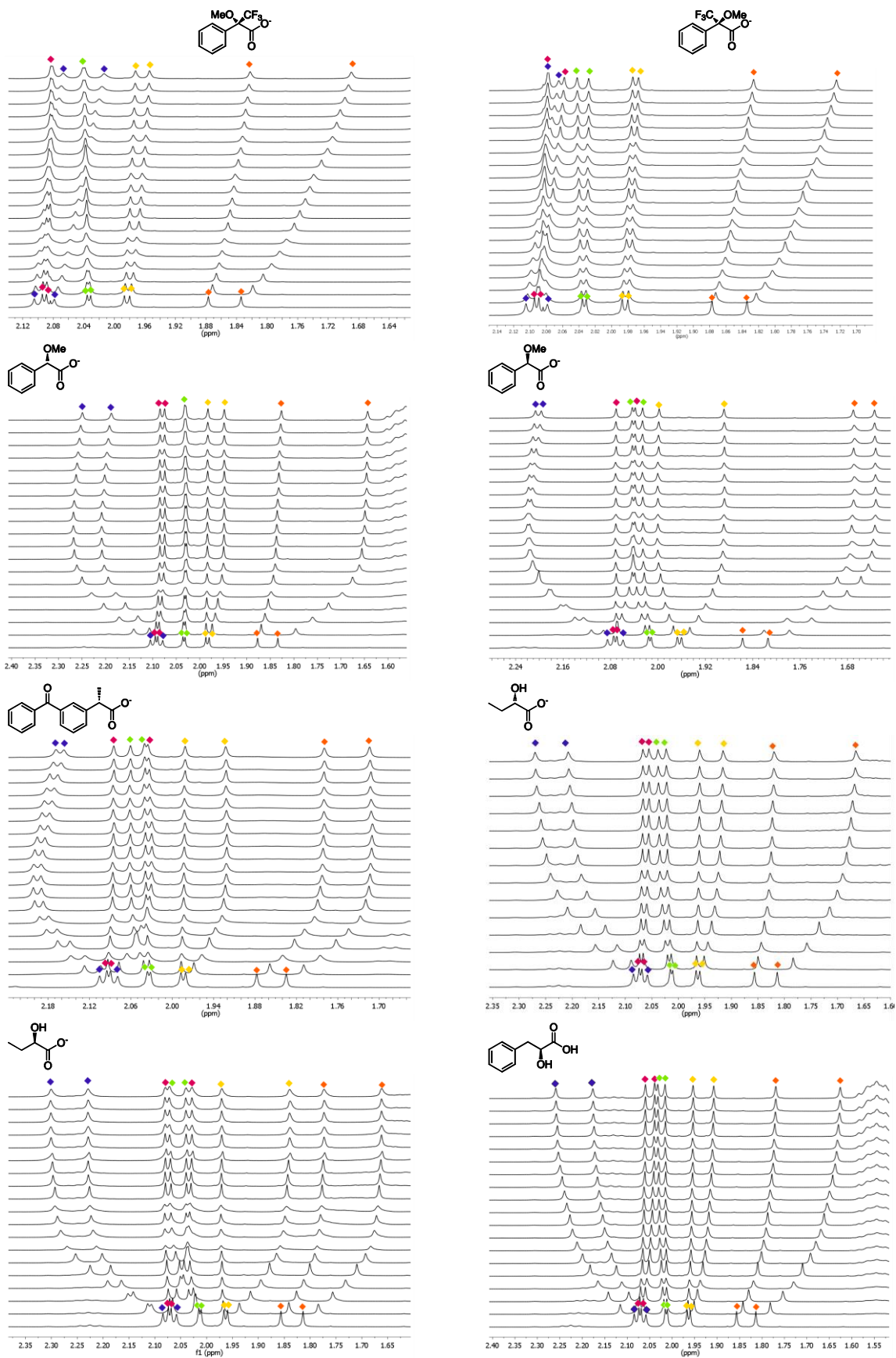
Zmiany przesunięć chemicznych protonów receptora **74** zostały otrzymane z danych rejestrowanych podczas miareczkowań ^1H NMR. Na tej podstawie zmiany przesunięć chemicznych pomiędzy receptorem **74** + 4.0 eqw. anionu i wolnym receptorem zostały policzone i przed dostarczeniem ich do sztucznej sieci neuronowej zostały one znormalizowane poprzez podzielenie przez największą zmianę przesunięcia chemicznego otrzymane dla całej serii danych. ANN były zastosowane i trenowane z użyciem otwartego oprogramowania Rdkit.^[99] Analiza głównych składowych została przeprowadzona z użyciem pakietu oprogramowania Scikit-learn.^[100]



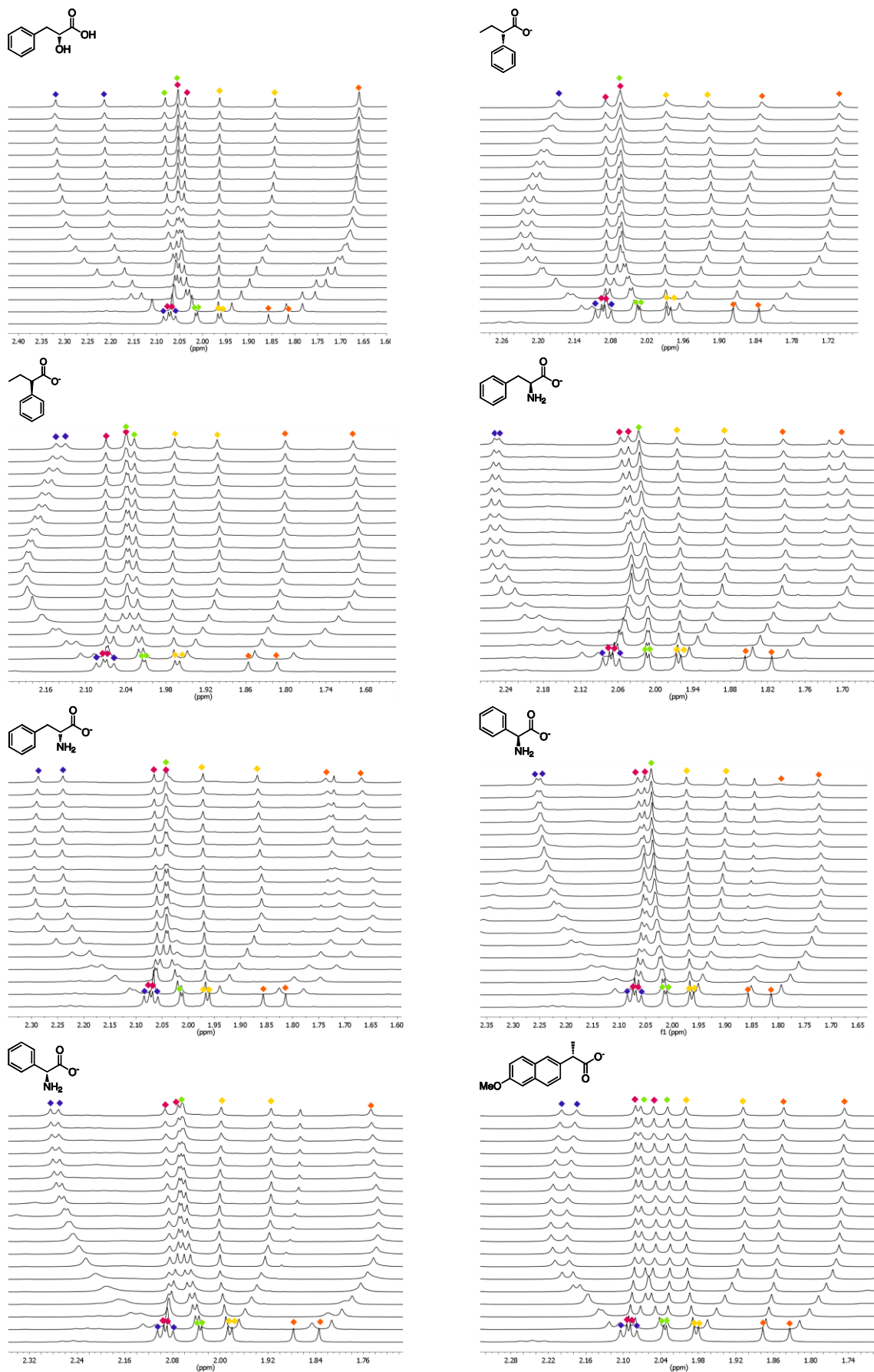
Rysunek 79. Fragment widma ^1H NMR receptora **74** w $\text{DMSO-}d_6+0.5\% \text{H}_2\text{O}$, pokazujący grupy acetylowe i metylowe (przypisanie na podstawie widm COSY, HSQC i HMBC)



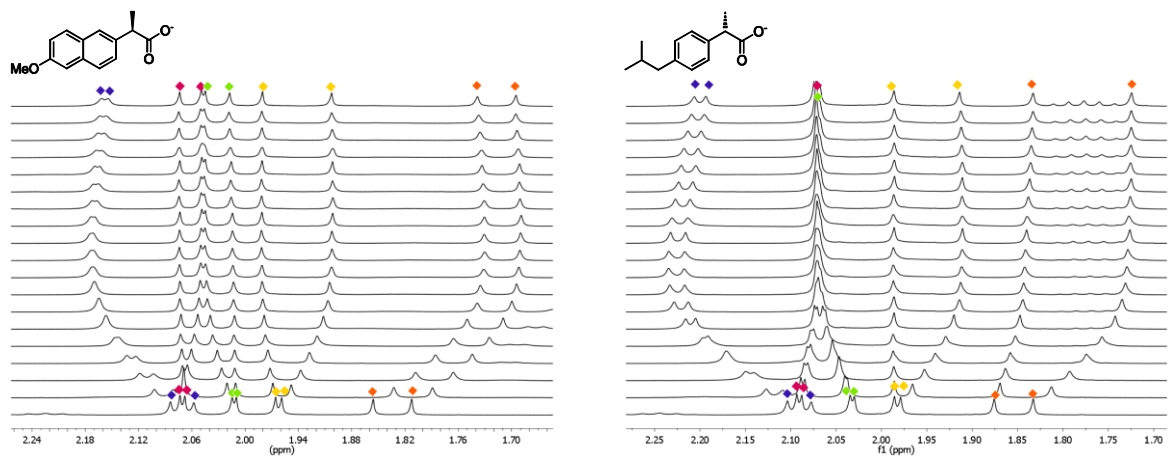
Rysunek 80. Zmiany przesunięć chemicznych receptora **74** podczas kompleksowania różnych chiralnych anionów



Rysunek 81. Zmiany przesunięć chemicznych protonów receptora **74** podczas kompleksowania różnych chiralnych anionów



Rysunek 82. Zmiany przesunięć chemicznych protonów receptora **74** podczas kompleksowania różnych chiralnych anionów



Rysunek 83. Zmiany przesunięć chemicznych protonów receptora **74** podczas kompleksowania różnych chiralnych anionów

6. Bibliografia

- [1] J. M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 89-112.
- [2] M. Wenzel, J. R. Hiscock, P. A. Gale, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 480-520.
- [3] P. A. Gale, N. Busschaert, C. J. E. Haynes, L. E. Karagiannidis, I. L. Kirby, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 205-241.
- [4] P. A. Gale, *Chem. Comm.* **2011**, *47*, 82-86.
- [5] P. A. Gale, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 3746-3771.
- [6] C. Caltagirone, P. A. Gale, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 520-563.
- [7] K. Kavallieratos, C. M. Bertao, R. H. Crabtree, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 1675-1683.
- [8] M. J. Chmielewski, J. Jurczak, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 7652-7667.
- [9] M. J. Chmielewski, J. Jurczak, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6080-6094.
- [10] M. J. Chmielewski, J. Jurczak, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 3085-3088.
- [11] M. Chmielewski, J. Jurczak, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 6007-6010.
- [12] V. Amendola, L. Fabbrizzi, L. Mosca, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 3889-3915.
- [13] P. Dydio, D. Lichosyt, J. Jurczak, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 2971-2985.
- [14] M. J. Chmielewski, M. Charon, J. Jurczak, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3501-3504.
- [15] T. Zielinski, P. Dydio, J. Jurczak, *Tetrahedron* **2008**, *64*, 568-574.
- [16] P. Dydio, T. Zielinski, J. Jurczak, *Chem. Comm.* **2009**, 4560-4562.
- [17] E. Kugelberg, *Nat. Rev. Immunol.* **2014**, 648-649.
- [18] C. J. Pedersen, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 2495-2496.
- [19] C. J. Pedersen, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 7017-7036.
- [20] D. J. Cram, J. M. Cram, *Acc. Chem. Res.* **1978**, *11*, 8-14.
- [21] C. H. Park, H. E. Simmons, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 2431-2432.
- [22] E. Garcia-Espana, P. Diaz, J. M. Llinares, A. Bianchi, *Coord. Chem. Rev.* **2006**, *250*, 2952-2986.
- [23] P. K. Gogoi, S. Bordoloi, *Proc. Nat. Acad. Sci. Ind. Sec. A, Phys. Sci.* **2008**, *78A*, 179-196.
- [24] S. J. Coles, J. G. Frey, P. A. Gale, M. B. Hursthouse, M. E. Light, K. Navakhun, G. L. Thomas, *Chem. Comm.* **2003**, 1462-1462.
- [25] K. Dabrowa, M. Pawlak, P. Duszewski, J. Jurczak, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 6298-6301.
- [26] M. J. Chmielewski, A. Szumna, J. Jurczak, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 8699-8703.
- [27] T. Zielinski, J. Jurczak, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 4081-4089.
- [28] A.-F. Li, J.-H. Wang, F. Wang, Y.-B. Jiang, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 3729-3745.
- [29] S. Nishizawa, P. Buhlmann, M. Iwao, Y. Umezawa, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 6483-6486.
- [30] F. G. Bordwell, X. M. Zhang, J. P. Cheng, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 3216-3219.

- [31] I. E. Vega, S. Camiolo, P. A. Gale, M. B. Hursthouse, M. E. Light, *Chem. Comm.* **2003**, 1686-1687.
- [32] P. Dydio, T. Zielinski, J. Jurczak, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1076-1078.
- [33] W. H. Pirkle, T. C. Pochapsky, *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 347-362.
- [34] K. Hirose, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2001**, *39*, 193-209.
- [35] P. Thordarson, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 1305-1323.
- [36] W. D. Curtis, R. M. King, J. F. Stoddart, G. H. Jones, *JSC Chem. Commun* **1976**, 284-285.
- [37] D. Gehin, P. Dicesare, B. Gross, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 1906-1908.
- [38] A. Courtois, L. Elmasdouri, D. Gehin, B. Gross, *Act. Cryst. C* **1986**, *42*, 850-852.
- [39] M. Shizuma, Y. Kadoya, Y. Takai, H. Imamura, H. Yamada, T. Takeda, R. Arakawa, S. Takahashi, M. Sawada, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4795-4807.
- [40] C. Vicent, J. Jimenezbarbero, M. Martinlomas, S. Penades, F. H. Cano, C. Focesfoces, *JCS-Perkin Trans. 2* **1991**, 905-912.
- [41] B. Lewandowski, S. Jarosz, *Chem. Comm.* **2008**, 6399-6401.
- [42] S. Jarosz, B. Lewandowski, *Carbohydrate Res.* **2008**, *343*, 965-969.
- [43] M. A. Potopnyk, P. Cmoch, S. Jarosz, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 4258-4261.
- [44] B. Lewandowski, S. Jarosz, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 2532-2535.
- [45] M. A. Potopnyk, B. Lewandowski, S. Jarosz, *Tetrahedron: Asymmetry* **2012**, *23*, 1474-1479.
- [46] E. M. M. Del Valle, *Process Biochem.* **2004**, *39*, 1033-1046.
- [47] G. Chen, M. Jiang, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 2254-2266.
- [48] S. Li, W. C. Purdy, *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 1457-1470.
- [49] K. Kano, H. Kamo, S. Negi, T. Kitae, R. Takaoka, M. Yamaguchi, H. Okubo, M. Hirama, *JCS Perkin Trans. 2* **1999**, 15-21.
- [50] C. Schmuck, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 709-718.
- [51] A. Echavarren, A. Galan, J. M. Lehn, J. Demendoza, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 4994-4995.
- [52] B. Baragana, A. G. Blackburn, P. Breccia, A. P. Davis, J. de Mendoza, J. M. Padron-Carrillo, P. Prados, J. Riedner, J. G. de Vries, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 2931-2936.
- [53] Q.-S. Lu, L. Dong, J. Zhang, J. Li, L. Jiang, Y. Huang, S. Qin, C.-W. Hu, X.-Q. Yu, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 669-672.
- [54] J. L. Sessler, A. Andrievsky, V. Kral, V. Lynch, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9385-9392.
- [55] D. Yang, X. Li, Y. F. Fan, D. W. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7996-7997.
- [56] F. Botha, J. Budka, V. Eigner, O. Hudecek, L. Vrzal, I. Cisarova, P. Lhotak, *Tetrahedron* **2014**, *70*, 477-483.
- [57] K. Elisa Trejo-Huizar, R. Ortiz-Rico, M. de los Angeles Pena-Gonzalez, M. Hernandez-Rodriguez, *New J. Chem.* **2013**, *37*, 2610-2613.
- [58] G. M. Kyne, M. E. Light, M. B. Hursthouse, J. de Mendoza, J. D. Kilburn, *JCS Perkin Trans. 1* **2001**, 1258-1263.
- [59] G. J. Pernia, J. D. Kilburn, J. W. Essex, R. J. MortishireSmith, M. Rowley, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10220-10227.
- [60] F. P. Ballistreri, A. Pappalardo, G. A. Tomaselli, R. M. Toscano, G. T. Sfrassetto, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 3806-3810.
- [61] J. L. J. Blanco, J. M. Benito, C. O. Mellet, J. M. G. Fernandez, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1217-1220.

- [62] J. M. Benito, M. Gomez-Garcia, J. L. J. Blanco, C. O. Mellet, J. M. G. Fernandez, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 1366-1372.
- [63] E. Fan, S. A. Vanarman, S. Kincaid, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 369-370.
- [64] D. Rodriguez-Lucena, J. M. Benito, C. Ortiz Mellet, J. M. Garcia Fernandez, *Chem. Comm.* **2007**, 831-833.
- [65] V. R. Naidu, M. C. Kim, J.-M. Suk, H.-J. Kim, M. Lee, E. Sim, K.-S. Jeong, *Organic Letters* **2008**, *10*, 5373-5376.
- [66] J.-M. Suk, K.-S. Jeong, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11868-11869.
- [67] H. Juwarker, J. M. Lenhardt, D. M. Pham, S. L. Craig, *Angew. Chem.Int. Ed.* **2008**, *47*, 3740-3743.
- [68] R. M. Meudtner, S. Hecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 4926-4930.
- [69] J. L. J. Blanco, P. Bootello, J. M. Benito, C. O. Mellet, J. M. G. Fernandez, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 5136-5143.
- [70] A. D. Cort, G. Forte, L. Schiaffino, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 7569-7572.
- [71] A. Kormos, I. Moczar, D. Pal, P. Baranyai, J. Kupai, K. Toth, P. Huszthy, *Tetrahedron:Asymm.* **2013**, *24*, 62-65.
- [72] Y. K. Kim, H. N. Lee, N. J. Singh, H. J. Choi, J. Y. Xue, K. S. Kim, J. Yoon, M. H. Hyun, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 301-304.
- [73] P. Hamankiewicz, J. M. Granda, J. Jurczak, *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 5608-5611.
- [74] M. K. Choi, H. N. Kim, H. J. Choi, J. Yoon, M. H. Hyun, *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 4522-4525.
- [75] A. D. Cort, P. De Bernardin, L. Schiaffino, *Chirality* **2009**, *21*, 104-109.
- [76] M. Tosin, C. O'Brien, G. M. Fitzpatrick, H. Muller-Bunz, W. K. Glass, P. V. Murphy, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4096-4106.
- [77] J. A. Burns, G. M. Whitesides, *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 2583-2601.
- [78] J. Gasteiger, J. Zupan, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 503-527.
- [79] D. E. Rumelhart, G. E. Hinton, R. J. Williams, *Nature* **1986**, *323*, 533-536.
- [80] M. Alonso, B. Herradon, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 3913-3923.
- [81] S. C. McCleskey, P. N. Floriano, S. L. Wiskur, E. V. Anslyn, J. T. McDevitt, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 10089-10092.
- [82] D. W. Elrod, G. M. Maggiora, R. G. Trenary, *J. Chem. Inf. Comp. Sci.* **1990**, *30*, 477-484.
- [83] M. Alonso, C. Miranda, N. Martin, B. Herradon, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13*, 20564-20574.
- [84] V. Simon, J. Gasteiger, J. Zupan, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9148-9159.
- [85] V. Hall, A. Nash, E. Hines, A. Rodger, *J. Comp. Chem.* **2013**, *34*, 2774-2786.
- [86] G. Astray, J. F. Galvez, J. C. Mejuto, O. A. Moldes, I. Montoya, *J. Comp. Chem.* **2013**, *34*, 355-359.
- [87] R. M. Balabin, E. I. Lomakina, *J. Chem. Phys.* **2009**, *131*.
- [88] J. Aires-de-Sousa, J. Gasteiger, *J. Comb. Chem.* **2005**, *7*, 298-301.
- [89] S. H. Shabbir, L. A. Joyce, G. M. da Cruz, V. M. Lynch, S. Sorey, E. V. Anslyn, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 13125-13131.
- [90] S. Stewart, M. A. Ivy, E. V. Anslyn, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 70-84.
- [91] H. Juwarker, J. M. Lenhardt, J. C. Castillo, E. Zhao, S. Krishnamurthy, R. M. Jamiolkowski, K.-H. Kim, S. L. Craig, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 8924-8934.
- [92] F. Garcia, M. Rosario Torres, E. Matesanz, L. Sanchez, *Chem. Comm.* **2011**, *47*, 5016-5018.

- [93] C. Frassinetti, S. Ghelli, P. Gans, A. Sabatini, M. S. Moruzzi, A. Vacca, *Anal. Biochem.* **1995**, 231, 374-382.
- [94] C. Frassinetti, L. Alderighi, P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, S. Ghelli, *Anal. Bioanal. Chem.* **2003**, 376, 1041-1052.
- [95] CrysAlisPro, Agilent Technologies, Version 1.171.35.11 (release 16-05-2011 CrysAlis171 .NET)
- [96] G. M. Sheldrick, *Acta Cryst. A* **2008**, 64, 112-122.
- [97] L. J. Farrugia, *J. Appl. Cryst.*, **1999**, 32, 837-838.
- [98] International Tables for Crystallography, Ed. A. J. C. Wilson, Kluwer:Dordrecht, 1992, Vol.C.
- [99] RDKit: Open-source cheminformatics; <http://www.rdkit.org>
- [100] F. Pedregosa, G. Varoquaux, A. Gramfort, V. Michel, B. Thirion, O. Grisel, M. Blondel, P. Prettenhofer, R. Weiss, V. Dubourg, J. Vanderplas, A. Passos, D. Cournapeau, M. Brucher, M. Perrot, E. Duchesnay, *JMLR* **2011**, 12, 2825-2830.

B. Org. 364/14

Aneks. Program do trenowania i testowania sztucznej sieci neuronowej

```
from rdkit.ML.Neural.Network import Network
from rdkit.ML.Neural import Trainers

def Chirality():
    training_set = [

        ['(S)-mandelate', -0.4356540084, -0.0883438819, -0.0925632911, -0.0150316456,
         0.0139767932, 0.0342827004, -0.0973101266, -0.0250527426, 0.1954113924, 0.2650316456, 1.0, 0.0],

        ['(R)-mandelate', -0.3399261603, -1.0, -0.1935654008, 0.0817510549,
         0.0988924051, 0.0859704641, -0.0158227848, -0.088871308, 0.4459388186, 0.2853375527, 0.0, 1.0],

        ['Boc-N-L-Val-COO-', -0.2489451477, -0.1060126582, -0.1339662447, -0.0419303797,
         0.0087025316, 0.0068565401, -0.0458860759, -0.0408755274, 0.026371308, 0.0379746835, 1.0, 0.0],

        ['Boc-N-D-Val-COO-', -0.1764240506, -0.102056962, -0.1294831224, -0.0232067511,
         -0.0087025316, -0.0055379747, -0.0155590717, -0.0303270042, 0.3291139241, 0.2924578059, 0.0, 1.0],

        ['(S)-2-phenylbutyric acid', -0.3438818565, -0.1202531646, -0.1561181435, 0.0047468354,
         0.0886075949, 0.075685654, -0.0021097046, -0.0814873418, 0.2352320675, 0.157964135, 1.0, 0.0],

        ['(R)-2-phenylbutyric acid', -0.2950949367, -0.1453059072, -0.144778481, 0.0015822785,
         0.0440400844, 0.0648734177, 0.0010548523, -0.0959915612, 0.233649789, 0.1197257384, 0.0, 1.0],

        ['L-phenylglycine-COO-', -0.2813818565, -0.2070147679, -0.2093881857, -0.0340189873,
         0.0242616034, 0.0113396624, -0.0638185654, -0.1131329114, 0.4741561181, 0.3786392405, 1.0, 0.0],

        ['D-phenylglycine-COO-', -0.220464135, -0.3386075949, -0.1669303797, 0.0316455696,
         0.0841244726, 0.0762130802, 0.0079113924, -0.0648734177, 0.5501054852, 0.4377637131, 0.0, 1.0],

        ['S-naproxen', -0.2238924051, -0.0862341772, -0.18407173, 0.0366561181,
         -0.0036919831, 0.0965189873, -0.0991561181, -0.0385021097, 0.3238396624, 0.1830168776, 1.0, 0.0],

        ['R-naproxen', -0.3030063291, -0.3069620253, -0.1434599156, 0.0403481013,
         0.0208333333, 0.0801687764, 0.0137130802, -0.0654008439, 0.2803270042, 0.1845991561, 0.0, 1.0],
```

```

['(S)-2-hydroxybutyrate', -0.3868670886, -0.098628692, -0.1165611814, -0.0179324895,
 0.0337552743, 0.0601265823, -0.0371835443, -0.0255801688, 0.4018987342, 0.4839135021, 1.0, 0.0],
['(R)-2-hydroxybutyrate', -0.3945147679, -0.2188818565, -0.3132911392, 0.0110759494,
 0.1608649789, 0.0635548523, 0.0266350211, -0.1242088608, 0.6445147679, 0.37842827, 0.0, 1.0],
]

neural_net = Network([10,10,10,2])
t = Trainers.BackProp(speed=.8)
t.TrainOnline([anion[1:] for anion in training_set], neural_net, errTol=0.05, useAvgErr=0)

print 'Training set classification:'
print
for example in training_set:
    res = neural_net.ClassifyExample(example[1:-2])
    print example[0], example[-2:], res[-2:]

test_set = [
['(S)-(-)-a-Methoxy-a-(trifluoromethyl)phenylacetate', -0.3726265823, -0.141350211, -0.0635548523, -0.0363924051,
 0.0216244726, 0.0152953586, -0.0221518987, -0.0316455696, -0.164556962, -0.0640822785, 1.0, 0.0],
['(R)-(+)-a-Methoxy-a-(trifluoromethyl)phenylacetate', -0.2803270042, -0.1310654008, -0.0287447257, -0.0319092827,
 -0.0063291139, 0.0179324895, -0.0308544304, -0.0978375527, 0.0044831224, -0.1070675105, 0.0, 1.0],
['(S)-(+)-a-Methoxyphenylacetate', -0.4952531646, -0.1305379747, -0.0796413502, -0.0092299578,
 -0.0018459916, -0.0092299578, -0.0390295359, -0.0284810127, 0.2948312236, 0.3797468354, 1.0, 0.0],
['(R)-(-)-a-Methoxyphenylacetate', -0.4654535865, -0.4894514768, -0.1835443038, 0.0835970464,
 0.0403481013, 0.0730485232, 0.0026371308, -0.082278481, 0.3465189873, 0.3707805907, 0.0, 1.0],
['(S)-(+)-3-Benzoyl-a-methylbenzeneacetate', -0.3095991561, -0.2542194093, -0.1466244726, -0.013185654,
 0.0253164557, 0.06592827, -0.1426687764, -0.0271624473, 0.213871308, 0.1666666667, 1.0, 0.0],
['L(-)-3-phenyllactate', -0.4857594937, -0.2254746835, -0.1305379747, -0.0305907173,
 0.0166139241, 0.0472046414, -0.0780590717, -0.0385021097, 0.3204113924, 0.4607067511, 1.0, 0.0],
]

```

```

['D(+)-3-phenyllactate', -0.3960970464, -0.5142405063, -0.3019514768, -0.0060654008,
 0.1890822785, 0.1028481013, -0.0395556962, -0.0967827004, 0.6969936709, 0.3409810127, 0.0, 1.0],

['Boc-N-L-Trp-COO-', -0.3399261603, -0.1693037975, -0.1031118143, -0.0472046414,
-0.0324367089, -0.0414029536, -0.0970464135, -0.0812236287, 0.1025843882, 0.1674578059, 1.0, 0.0],

['Boc-N-D-Trp-COO-', -0.3082805907, -0.5345464135, -0.1355485232, -0.0113396624,
-0.0445675105, -0.003164557, -0.0743670886, -0.1500527426, 0.4311708861, 0.2323312236, 0.0, 1.0],

['S-ibuprofen', -0.2811181435, -0.1131329114, -0.1687763713, 0.0002637131,
0.1099683544, 0.0970464135, -0.0574894515, -0.0601265823, 0.3430907173, 0.2325949367, 1.0, 0.0],

['L-phenylalanine-COO-', -0.2898206751, -0.1592827004, -0.1811708861, -0.0007911392,
0.0440400844, 0.0311181435, -0.0340189873, -0.0814873418, 0.5139767932, 0.4551687764, 1.0, 0.0],

['D-phenylalanine-COO-', -0.3739451477, -0.3111814346, -0.2357594937, 0.0168776371,
0.0693565401, 0.0751582278, -0.0084388186, -0.0872890295, 0.611814346, 0.4103375527, 0.0, 1.0],

['Boc-N-L-Phe-COO-', -0.3507383966, -0.1292194093, -0.1007383966, -0.0506329114,
-0.0210970464, -0.0340189873, -0.0688291139, -0.0730485232, 0.0862341772, 0.1468881857, 1.0, 0.0],

['Boc-N-D-Phe-COO-', -0.3082805907, -0.4050632911, -0.1708860759, -0.0274261603,
-0.0179324895, 0.0076476793, -0.0421940928, -0.1046940928, 0.4261603376, 0.2233649789, 0.0, 1.0],

]

print 'Test set classification:'
print
for test_case in test_set:
    test_result = neural_net.ClassifyExample(test_case[1:-2])
    print test_case[0], test_case[-2:], test_result[-2:]
return neural_net

if __name__ == '__main__':
    Chirality()

```

Biblioteka Instytutu Chemii Organicznej PAN

O-B.364/14



90000000190995