

На правах рукописи

**АГАФОНОВА МАРИЯ НИКОЛАЕВНА**

**СИНТЕЗ ФУНКЦИОналиЗИРОВАННЫХ ПО НИЖНЕМУ ОБОДУ  
*n*-трет-БУТИЛ(ТИА)КАЛИКС[4]АРЕНОВ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ  
С РЯДОМ ДИКАРБОНОВЫХ,  $\alpha$ -ГИДРОКСИ- И  $\alpha$ -АМИНОКИСЛОТ**

02.00.03 - Органическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Казань – 2012

Работа выполнена на кафедре органической химии Химического института им. А.М.Бутлерова федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации.

**Научный руководитель:** доктор химических наук, профессор  
**Стойков Иван Иванович**

**Официальные оппоненты:** **Галкина Ирина Васильевна,**  
доктор химических наук, профессор кафедры  
высокомолекулярных и элементоорганических  
соединений ФГАОУВПО «Казанский  
(Приволжский) федеральный университет»,  
г. Казань

**Зиганшина Альбина Юлдузовна,**  
кандидат химических наук, старший научный  
сотрудник лаборатории химии каликсаренов  
ФГБУН «Институт органической и физической  
химии им. А.Е. Арбузова» РАН, г. Казань

**Ведущая организация:** ФГБУН «Институт химии растворов  
им. Г.А.Крестова» РАН, г. Иваново

Защита диссертации состоится «31» мая 2012 года в 16 часов 00 минут на заседании диссертационного совета Д 212.081.03 по химическим наукам при ФГАОУВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» по адресу: 420008, г. Казань, ул. Кремлёвская, 18, Химический институт им. А.М. Бутлерова, Бутлеровская аудитория.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке им. Н.И. Лобачевского Казанского (Приволжского) федерального университета. Отзывы на автореферат просим направлять по адресу: 420008, г. Казань, ул. Кремлёвская, 18, ФГАОУВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», научная часть.

Автореферат разослан «\_\_\_» апреля 2012 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета



Казымова Марина Александровна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность.** Молекулярное распознавание синтетическими рецепторами природных соединений (карбоновых кислот и биогенных аминов, аминокислот, пептидов, белков), участвующих в разнообразных биологических процессах, является предметом исследований в ряде областей знания – биохимии, супрамолекулярной, органической и аналитической химии, медицине, фармакологии. Это обуславливает бурное развитие подходов к дизайну рецепторов с заданными свойствами и определенными функциями, обеспечивающими их сродство и селективность к биологически значимым соединениям. Создание новых рецепторов (молекул-«хозяев») для решения задач обнаружения, разделения, трансмембранного переноса субстратов, содержащих карбоксильную или карбоксилатную группу, открывает новые перспективы для создания сенсорных и диагностических устройств, систем разделения и концентрирования органических соединений на основе реализации принципов биомиметики, а также для более глубокого понимания принципов транспорта веществ через биологические мембраны.

Как известно, формирование и функционирование природных супрамолекулярных систем обусловлено нековалентными взаимодействиями. Однако при дизайне рецепторов на дикарбоновые,  $\alpha$ -гидрокси- и  $\alpha$ -аминокислоты помимо указанных взаимодействий необходимо учитывать ряд дополнительных факторов (самоассоциация органических кислот, сильная гидратация заряженной цвиттер-ионной формы аминокислот, необходимость распознавания гидрофобной боковой цепи, обычно не содержащей заряженных или полярных групп), усложняющих достижение требуемых характеристик распознавания. В связи с этим направленное конструирование указанных рецепторов является комплексной задачей, более сложной, чем распознавание катионов и анионов. Комбинирование различных по природе центров взаимодействия в рамках макроциклической системы открывает новые возможности дизайна «хозяев» для дикарбоновых,  $\alpha$ -гидрокси- и  $\alpha$ -аминокислот.

Каликсарены с уникальной трехмерной и конформационно подвижной структурой являются одной из популярных строительных синтетических платформ для синтеза молекул-«хозяев». Благодаря синтетической доступности исходных соединений, сравнительно легкой функционализации верхнего и/или нижнего ободов макроцикла, способности образовывать несколько конформационных изомеров каликсарены становятся в один ряд с такими хорошо известными классами «хозяев», как краун-эфир, криптанды и циклодекстрины.

**Целью работы** является молекулярное моделирование и направленный синтез рецепторов на  $\alpha$ -гидрокси- и дикарбоновые кислоты, ароматические и алифатические  $\alpha$ -аминокислоты на основе *n*-трет-бутил(тия)каликс[4]аренов, функционализированных сложноэфирными, пентафторфенильными и аминофосфонатными фрагментами, установление структуры полученных макроциклов комплексом физических методов и

характеристика их способности к молекулярному распознаванию методами мембранной экстракции, УФ-спектроскопии и ВЭЖХ.

**Научная новизна работы** состоит в следующем:

– синтезирован ряд новых 1,3-дизамещенных по нижнему ободу *n*-*трет*-бутилкаликс[4]аренов в конфигурации *конус*, функционализированных ароматическими, алкильными, сложноэфирными, пентафторфенильными,  $\alpha$ -аминофосфонатными фрагментами;

– впервые показано, что при замене двух *трет*-бутильных заместителей в 1,3-дизамещенных по нижнему ободу каликс[4]аренах, содержащих пентафторфенильные и сложноэфирные фрагменты, на электроноакцепторные нитро-группы происходит избирательное связывание глутаминовой кислоты;

– впервые разработаны подходы к синтезу моно- и тетразамещенных по нижнему ободу *n*-*трет*-бутилтиакаликс[4]аренов в конформациях *конус* и *1,3-альтернат*, содержащих  $\alpha$ -аминофосфонатные фрагменты;

– установлено, что предорганизация аминофосфонатных заместителей на макроциклической платформе (тиа)каликс[4]арена увеличивает избирательность связывания  $\alpha$ -гидрокси- и дикарбоновых кислот;

– впервые на примере соединений, содержащих  $\alpha$ -аминофосфонатные фрагменты, продемонстрировано, что переход к тиакаликс[4]арену от его «классического» аналога усиливает способность синтетического рецептора взаимодействовать с дикарбоновыми и  $\alpha$ -аминокислотами.

**Практическая значимость работы.** Предложены и реализованы подходы к получению новых рецепторных соединений для эффективного связывания  $\alpha$ -гидрокси-, дикарбоновых и  $\alpha$ -аминокислот. Синтезированы и охарактеризованы 1,3-дизамещенные по нижнему ободу *n*-*трет*-бутилкаликс[4]арены в конформации *конус*, среди которых найдены эффективные и селективные переносчики глутаминовой и винной кислот. Оптимизированы методики синтеза аминофосфонатных производных на основе *n*-*трет*-бутил(тиа)каликс[4]арена в конфигурациях *конус* и *1,3-альтернат*, среди которых выявлены рецепторы для связывания аспарагиновой, гликолевой, щавелевой, винной и глутаминовой кислот. Реализовано разделение смесей дикарбоновых и  $\alpha$ -аминокислот в ряду близких по структуре субстратов, что открывает новые возможности для создания систем анализа и очистки сложных биологических смесей.

**На защиту выносятся:**

Синтез ряда новых 1,3-дизамещенных по нижнему ободу *n*-*трет*-бутилкаликс[4]аренов в конформации *конус*, содержащих фрагменты для связывания дикарбоновых и  $\alpha$ -аминокислот.

Синтез новых производных *n*-*трет*-бутилтиакаликс[4]арена, содержащих один, четыре или восемь аминофосфонатных фрагментов в конфигурациях *конус* и *1,3-альтернат*.

Закономерности, связывающие структурные факторы функционализированных *n*-*трет*-бутил(тия)каликс[4]аренов с их комплексообразующей способностью по отношению к дикарбоновым,  $\alpha$ -гидрокси- и  $\alpha$ -аминокислотам.

**Апробация работы.** Результаты исследований докладывались на Научно-образовательных конференциях студентов Биолого-почвенного факультета (2006-2007 гг.); XV Всероссийской конференции “Структура и динамика молекулярных систем” (Яльчик, Республика Марий-Эл, 2008); Всероссийской школе-конференции «Супрамолекулярные системы на поверхности раздела», посвященной 175-летию со дня рождения Д.И. Менделеева (Москва, 2009 г); Итоговой научной конференции Казанского университета (Казань, 2011); международных научных конференциях: I Международном симпозиуме “Supramolecular and nanochemistry: toward applications” (Харьков, SNCTA-2008); Чугаевской конференции в области супрамолекулярной химии координационных соединений и наноструктур на основе координационных соединений (Санкт-Петербург, 2009); V Международном симпозиуме “Supramolecular Systems in Chemistry and Biology” (Киев, 2009); Международном симпозиуме “Advanced Science in Organic Chemistry” (ASOC–Crimea, Крым, 2010); III Международной летней школе-конференции «Supramolecular System in Chemistry and Biology» (Львов, Украина, 2010).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 3 статьи, 1 монография (глава в книге) и 10 тезисов докладов.

**Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа изложена на 146 страницах машинописного текста, включает 55 рисунков и 16 таблиц. Состоит из введения, трех глав, выводов и списка использованных библиографических источников, включающего 234 ссылки.

В первой главе представлен обзор литературных данных, отражающий современное состояние исследований по молекулярному распознаванию карбоновых и аминокислот функционализированными каликсаренами. Также затронуты вопросы по созданию на основе метациклофанов терапевтических агентов, систем доставки, разделения и концентрирования.

Основные результаты экспериментальных исследований и их обсуждение приведены во второй главе. Обсуждены квантово-механическое моделирование рецепторных структур на основе (тия)каликс[4]аренов, синтез моно-, тетра- и 1,3-дизамещенных *n*-*трет*-бутил(тия)каликс[4]аренов, содержащих различные заместители для связывания органических кислот. Исследованы комплексообразующие свойства полученных соединений по отношению к  $\alpha$ -гидрокси-, дикарбоновым и  $\alpha$ -аминокислотам, а также показана способность избирательного транспорта ряда изученных субстратов через жидкие липофильные мембраны из смеси, содержащей несколько близких по структуре кислот.

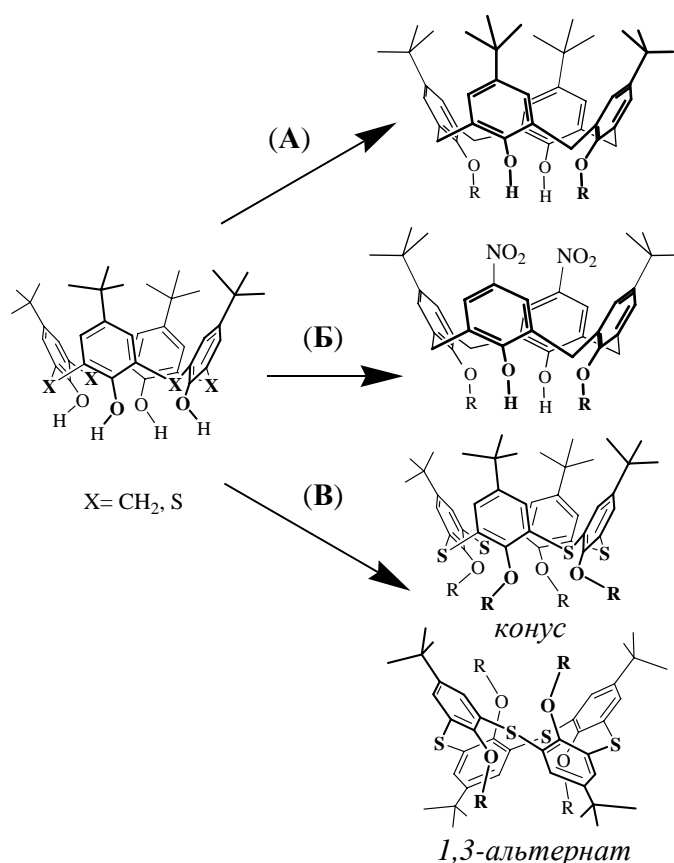
Экспериментальная часть работы, включающая описание проведенных синтетических, экстракционных и спектральных экспериментов, а также ВЭЖХ, приведена в третьей главе диссертации.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### 1 Молекулярный дизайн производных *n*-трет-бутил(тия)каликс[4]аренов, содержащих фрагменты для связывания дикарбоновых, $\alpha$ -гидрокси- и $\alpha$ -аминокислот

Комбинирование в рамках макроциклической системы различных по природе центров взаимодействия открывает новые возможности для дизайна «хозяев». С целью создания рецепторов на основе *n*-трет-бутил(тия)каликс[4]аренов на дикарбоновые,  $\alpha$ -гидрокси- и  $\alpha$ -аминокислоты были предложены следующие участки связывания соответствующих

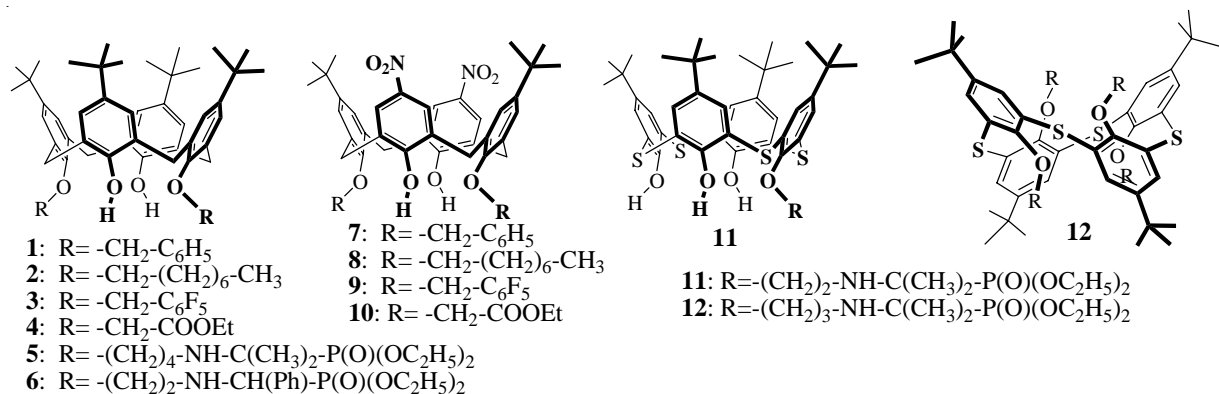
«гостей»: фенольные группы (тия)каликс[4]арена для связывания карбоксильной функции дикарбоновых и  $\alpha$ -гидрокси-  $\alpha$ -аминокислот (рис.1А); электроноакцепторные заместители по верхнему ободу макроцикла, увеличивающие кислотность свободных гидроксильных групп (рис.1Б); сочетание нескольких связывающих участков различной природы, а именно, протонодонорного и протоноакцепторного (рис.1В).



**Рис.1.** Подходы к синтезу целевых функционализированных (тия)каликс[4]аренов.

В рамках первого и второго подходов были рассмотрены 1,3-дизамещенные по нижнему и верхнему ободу *n*-трет-бутилкаликс[4]арены в конфигурации конус **1-4** и **7-10**. Третий подход - сочетание нескольких участков связывания - был реализован на примере макроциклов **5, 6, 11, 12**,

функционализированных по нижнему ободу  $\alpha$ -аминофосфонатными фрагментами.



В качестве субстратов нами были выбраны:  $\alpha$ -гидроксикислоты (гликолевая, d,l-миндальная), дикарбоновые кислоты (d,l-винная, щавелевая, малоновая и янтарная),  $\alpha$ -аминокислоты (d,l-глутаминовая, d,l-аспарагиновая). С целью теоретического обоснования выдвинутых гипотез нами были предварительно проведены расчеты предполагаемой модели связывания органических кислот функционализированными по верхнему и нижнему ободу *n*-трет-бутил(тия)каликс[4]аренами для выявления стерических и/или электронных препятствий образованию комплекса. Молекулярное моделирование структур было проведено на полуэмпирическом уровне с использованием квантово-механического метода PM3.

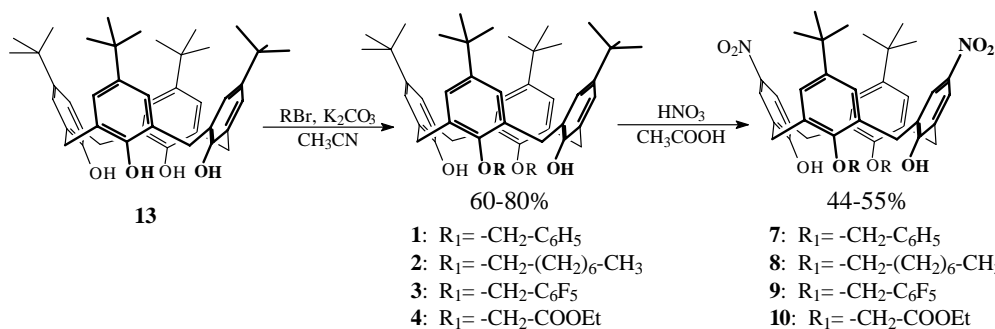
Сопоставление полученных для рецепторных структур **1-12** оптимизированных значений термодинамических характеристик показывает, что наиболее термодинамически выгодное комплексообразование реализуется в случае рецептора **9** и глутаминовой кислоты ( $\Delta E \sim -16$  ккал/моль), тиакаликс[4]арена **11** и щавелевой/малоновой кислот ( $\Delta E \sim -12/-10$  ккал/моль), а также соединения **12** и аспарагиновой кислоты ( $\Delta E \sim -48$  ккал/моль).

Проведенное теоретическое исследование подтвердило отсутствие значительных стерических препятствий комплексообразованию и комплементарность потенциальных центров связывания в исследуемых субстратах и рецепторах. Моделирование новых синтетических рецепторов на основе функционализированных *n*-трет-бутил(тия)каликс[4]аренов для распознавания ряда дикарбоновых,  $\alpha$ -гидрокси- и  $\alpha$ -аминокислот с помощью квантово-химических методов (ММ+, PM3) позволило предложить новых «хозяев»: макроцикл **5** для связывания винной кислоты, **12** - для аспарагиновой, **11** - для малоновой и щавелевой, **9** и **10** - для глутаминовой, **6** - для янтарной кислоты. В связи с этим для подтверждения теоретических предпосылок и экспериментального установления влияния ряда структурных факторов: природы заместителей, кислотно-основных свойств свободных фенольных групп, размера макроциклической полости (тия)каликс[4]арена, пространственного расположения связывающих центров на способность связывать органические кислоты нами в дальнейшем были изучены подходы к синтезу рецепторов на основе (тия)каликс[4]аренов.

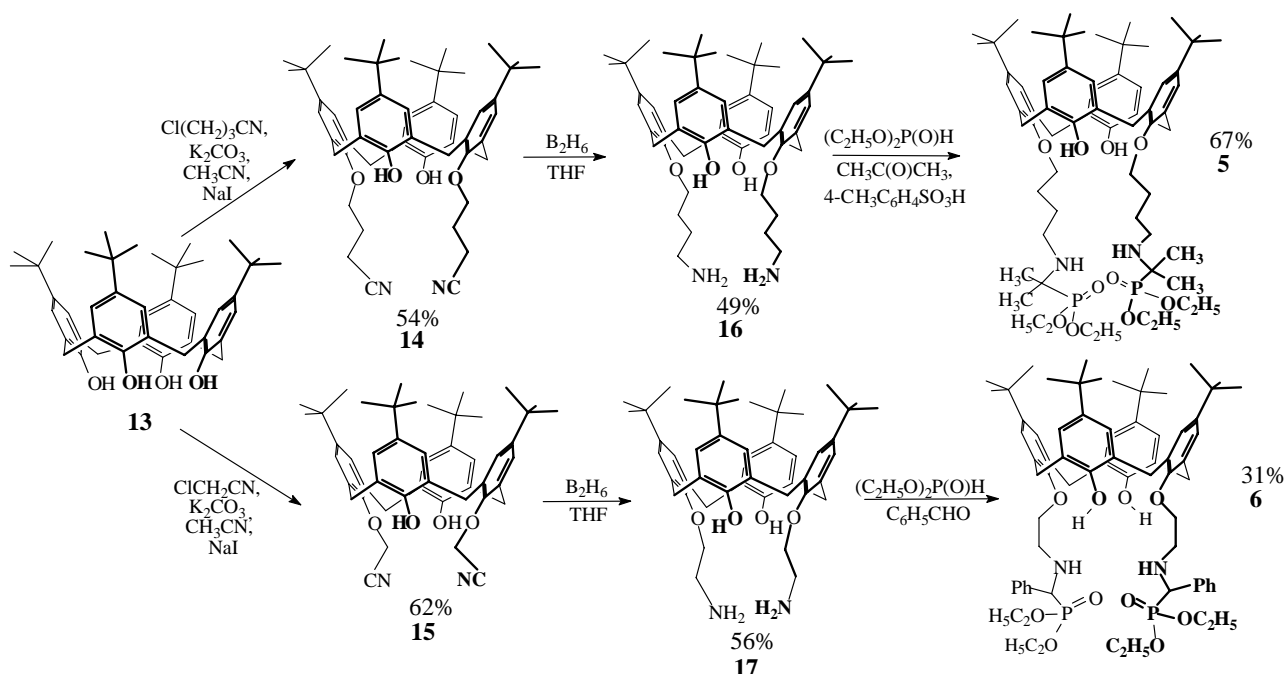
## **2 Синтез функционализированных *n*-трет-бутил(тия)каликс[4]аренов, содержащих алкильные, пентафторфенильные, сложнэфирные и $\alpha$ -аминофосфонатные фрагменты по нижнему ободу**

Селективным алкилированием *n*-трет-бутилкаликс[4]арена **13** соответствующими алкилгалогенидами в ацетонитриле в присутствии карбоната калия был синтезирован ряд 1,3-дизамещенных по нижнему ободу производных каликс[4]арена **1-4** с выходами 60-80%. Затем две трет-бутильные группы на верхнем ободе макроциклов **1-4** были замещены нитро-группами. Макроциклические соединения **7-10** были получены нитрованием 1,3-

дизамещенных по нижнему ободу каликс[4]аренов **1-4** азотной кислотой в хлористом метиле в присутствии уксусной кислоты при  $\sim 20^\circ\text{C}$ .

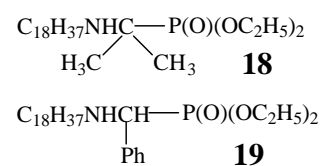


Синтез *n*-трет-бутилтиакаликс[4]аренов **5** и **6** с двумя  $\alpha$ -аминофосфонатными фрагментами по нижнему ободу был осуществлен по реакции Кабачника-Филдса из макроциклов **16** и **17**, диэтилфосфита и соответствующих карбонильных соединений. Целевые  $\alpha$ -аминофосфонаты **5** и **6**, закрепленные на каликс[4]ареновой платформе, были получены с выходами 67% и 31% соответственно.



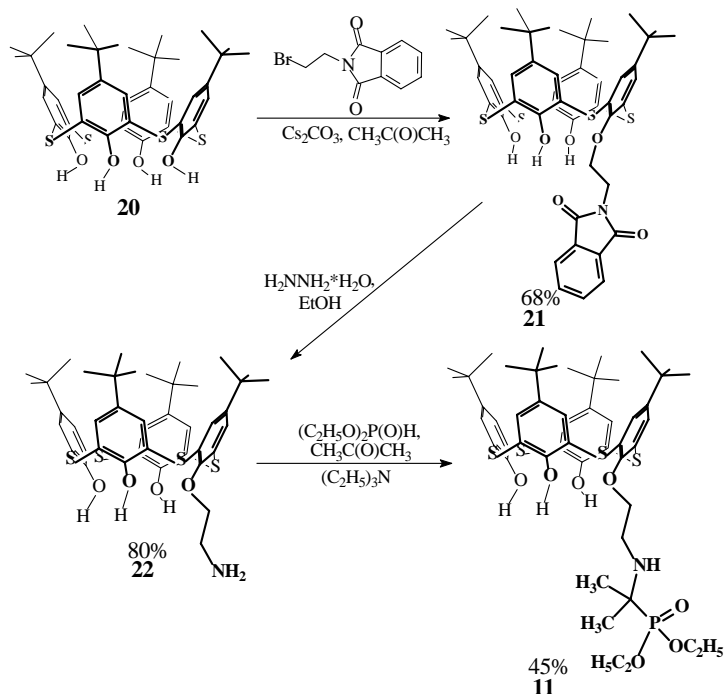
Таким образом, нами получен и охарактеризован ряд новых 1,3-дизамещенных по нижнему ободу каликс[4]аренов в конфигурации конус. Структура и состав впервые полученных соединений **1-10** были охарактеризованы с помощью ряда физико-химических методов: ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$ , ИК-спектроскопии и элементного анализа. Конформация макроциклического кольца полученных соединений была установлена с помощью одномерной ЯМР  $^1\text{H}$  и двумерной ЯМР  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  NOESY спектроскопии.

Для сравнения рецепторной способности фосфорилированных производных каликс[4]арена и ациклических аминоксфонатов, также по реакции Кабачника-Филдса были получены соединения **18** и **19**. Строение и состав продуктов были подтверждены методами ИК, ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{31}\text{P}$  спектроскопии, а также данными элементного анализа.





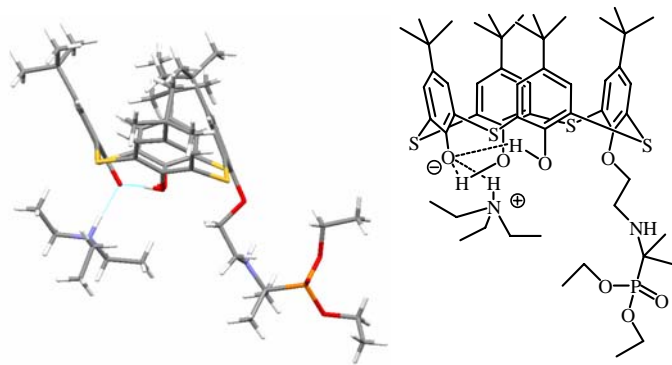
Успешная функционализация аминофосфонатными фрагментами каликс[4]аренов позволила предположить, что создание аналогичных фосфорилированных структур возможно также и на основе тиакаликс[4]аренового макроцикла. С целью получения монозамещенного  $\alpha$ -аминофосфоната на основе *n*-трет-бутилтиакаликс[4]арена по литературным методикам было синтезировано соединение **22**.



Далее нами была изучена реакция аминированного тиакаликс[4]арена **22** с диэтилфосфитом и ацетоном в присутствии различных оснований и катализаторов. Получение монозамещенного *n*-трет-бутилтиакаликс[4]арена **11**, содержащего  $\alpha$ -аминофосфонатный фрагмент, явилось довольно сложной задачей. Первоначально при использовании в качестве оснований карбонатов щелочных металлов (калия, цезия), а также этилата натрия были получены трудноразделимые смеси,

содержащие несколько побочных продуктов. Введение в реакцию в качестве катализатора *n*-толуолсульфокислоты также не привело к получению целевого продукта. Нами было выдвинуто предположение, что появление побочных продуктов может быть обусловлено наличием воды в реакционной смеси. Однако проведение синтеза с использованием насадки Дина-Старка и молекулярных сит (3A) также никак не повлияло на количество образующихся продуктов реакции. Наконец, путем подбора условий реакции удалось установить, что при использовании в качестве основания триэтиламина в спектре ЯМР  $^{31}\text{P}$  реакционной смеси наблюдается преимущественно один продукт ( $\delta_{\text{P}}=31.44$  м.д.), который и был выделен при разработке.

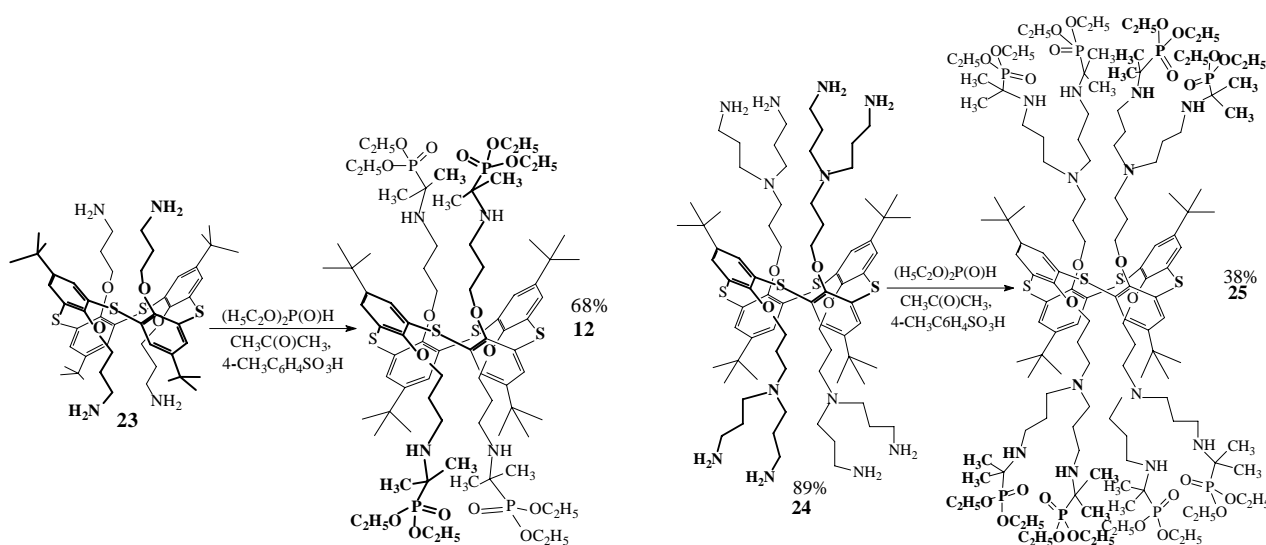
Интересно отметить, что изменение условий разработки вышеописанного синтеза позволяет выделить наряду с продуктом **11** также комплекс, состоящий из монозамещенного тиакаликс[4]арена и триэтиламина в соотношении 1:1 (рис.2) (согласно данным



**Рис.2.** Структура комплекса соединения **11** с триэтиламинном в кристаллическом состоянии.

спектроскопии ЯМР  $^1\text{H}$ ). Структура полученного комплекса подтверждена с помощью данных рентгеноструктурного анализа (рис.2). Рентгенографический анализ показал, что происходит перенос протона от фенольного гидроксила в 3-положении тиакаликсарена **11** к азоту третичного амина с образованием фенокисьной и аммонийной групп со стабилизацией образующегося аниона водородными связями с соседними ОН-группами.

С целью исследования влияния пространственных факторов на рецепторные свойства  $\alpha$ -аминофосфонатов также интересным представлялось получение и исследование других конфигураций фосфорилированных макроциклов. В связи с этим при использовании в качестве прекурсора тетразамещенных аминированных макроциклов **23** и **24** в конфигурации *1,3-альтернат* были получены соединения **12** и **25** соответственно. Выходы продуктов составили 68% для соединения **12** и 38% для соединения **25**.



Структура и состав синтезированных тетразамещенных по нижнему ободу *n*-*трет*-бутилтиакаликс[4]аренов **12** и **25** были охарактеризованы комплексом физических методов. Конформация макроциклического кольца полученных соединений была установлена с помощью одномерной ЯМР  $^1\text{H}$  и двумерной ЯМР  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  NOESY спектроскопии. Наблюдаемые в спектре ЯМР  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  NOESY макроциклов **12** и **25** кросс-пики, обусловленные диполь-дипольным взаимодействием между протонами  $\text{OCH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{NH}$  групп с *трет*-бутильными и арильными фрагментами макроцикла, а также этоксильных протонов при атоме фосфора с протонами *трет*-бутильных фрагментов однозначно свидетельствуют о нахождении *n*-*трет*-бутилтиакаликс[4]аренов **12** и **25** в конфигурации *1,3-альтернат*.

Таким образом, впервые были синтезированы моно- и тетразамещенные по нижнему ободу *n*-*трет*-бутилтиакаликс[4]арены, содержащие  $\alpha$ -аминофосфонатные фрагменты. Получен кристаллический комплекс монофункционализированного по нижнему ободу производного *n*-*трет*-бутилтиакаликс[4]арена с третичным амином, и установлена структура координационного узла в твердом состоянии. Впервые разработан подход к введению  $\alpha$ -аминофосфонатного фрагмента в структуру монозамещенного по нижнему

ободу *n*-*трет*-бутилтиакаликс[4]арена в конформации конус, включающий применение в качестве «темплата» третичного амина.

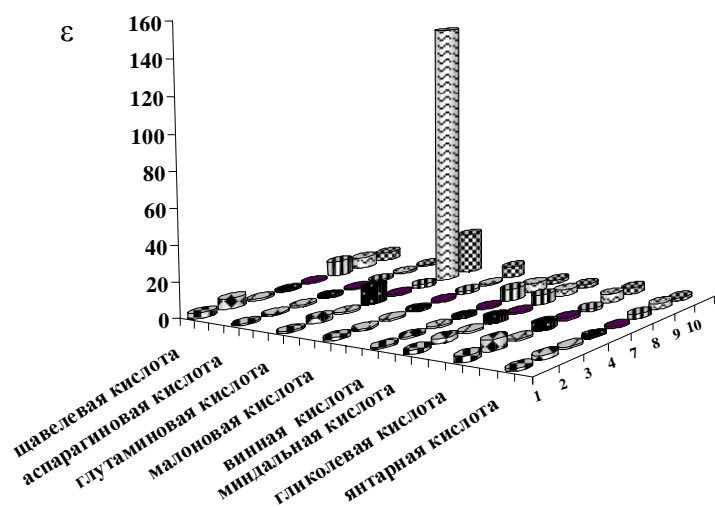
### 3. Комплексообразующие свойства функционализированных производных *n*-*трет*-бутил(тиа)каликс[4]аренов по отношению к $\alpha$ -амино-, $\alpha$ -гидрокси- и дикарбоновым кислотам

Для изучения закономерностей образования комплексов *n*-*трет*-бутил(тиа)каликс[4]аренов с дикарбоновыми,  $\alpha$ -гидрокси- и  $\alpha$ -аминокислотами использовались методы мембранной экстракции, УФ-спектроскопии и высокоэффективной жидкостной хроматографии.

#### 3.1 Индуцированный функционализированными (тиа)каликс[4]аренами мембранный транспорт дикарбоновых, $\alpha$ -гидрокси- и $\alpha$ -аминокислот

Эксперимент по мембранной экстракции проводился в стеклянной термостатируемой ячейке с подвижным цилиндром. Жидкая мембрана представляла собой раствор переносчика в *o*-нитрофенилоктиловом эфире, импрегнированный в поры тефлоновой матрицы. В изученных системах процесс транспорта кислот протекал по схеме диализа, т.е. под действием градиента химического потенциала. По механизму массопереноса транспорт классифицируется как индуцированный, т.е. с участием молекулы-переносчика.

Оказалось, что переносчики на основе 1,3-дизамещенных по нижнему ободу каликс[4]аренов **1-4**, **7-10** с алкильными, ароматическими, пентафторфенильными и сложноэфирными фрагментами демонстрируют невысокую транспортную способность по сравнению с холостым экспериментом (рис.3). Полученные результаты подтверждают, что взаимодействия субстратов только с гидроксильными группами на нижнем ободу 1,3-



**Рис.3.** Коэффициенты усиления потока ( $\epsilon = j_i/j_0$ ) ряда органических субстратов через жидкую ипрегнированную мембрану, содержащую переносчики **1-4**, **7-10**.

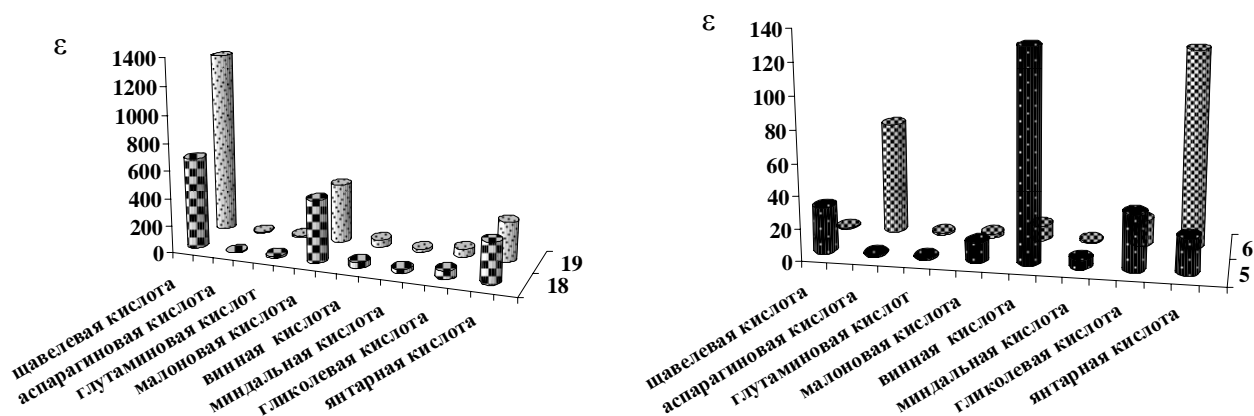
дизамещенного каликс[4]арена недостаточно для связывания и экстракции гидрофильных карбоновых кислот в липофильную мембранную фазу.

При замене двух *трет*-бутильных заместителей на нитро-группы в соединениях **7-10** в большинстве случаев наблюдается рост величины массопереноса исследуемых субстратов через мембрану. В случае соединения **10** наблюдается ускорение транспорта глутаминовой кислоты через

липофильную жидкую мембрану в 23 раза. При замене двух *трет*-бутильных заместителей на электроноакцепторные нитро-группы был получен селективный и эффективный рецептор на глутаминовую кислоту **9**. Очевидно, что в этом случае (макроциклы **9** и **10**) эффективность взаимодействия обусловлена увеличением кислотности свободных гидроксильных групп при введении акцепторных заместителей по верхнему ободу. В результате переносчик демонстрирует усиление потока глутаминовой кислоты в 146 раз.

Далее интересные результаты были получены для рецепторных соединений, содержащих  $\alpha$ -аминофосфонатные фрагменты. Оказалось, что синтезированные соединения **5** и **6** продемонстрировали отличия в транспортной способности по отношению к субстратам по сравнению с ациклическими переносчиками **18** и **19**. Сравнение величин массопереноса с данными «холостого» эксперимента показало, что введение в мембрану модельных переносчиков **18** и **19** приводит к увеличению скорости транспорта субстратов в 10-1000 раз (рис.4). Наибольшее значение коэффициента усиления потока наблюдается для щавелевой кислоты. Для ациклических  $\alpha$ -аминофосфонатов явно прослеживается корреляция между силой кислот и интенсивностью трансмембранного переноса. Соответственно, максимальные значения коэффициента усиления потока показаны для дикарбоновых кислот: щавелевая кислота > малоновая кислота > янтарная кислота.

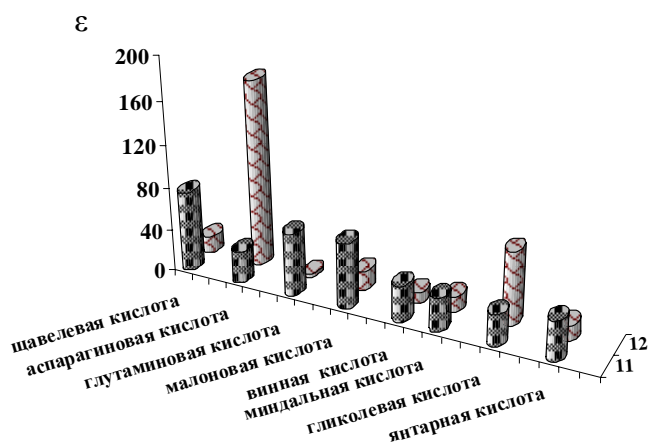
В целом, модельные соединения **18** и **19** продемонстрировали довольно высокую эффективность и селективность транспорта щавелевой кислоты. Для макроциклических рецепторов **5** и **6** наблюдается уменьшение величины коэффициента усиления потока для щавелевой кислоты. Также следует отметить, что происходит переключение селективности на винную кислоту для соединения **5**, и на янтарную и аспарагиновую кислоты для соединения **6**. Очевидно, что данный факт обусловлен, в первую очередь, повышением степени предорганизованности функциональных заместителей переносчиков, что приводит к выходу на передний план не силы кислот, а характеристик структурного и геометрического соответствия участков связывания субстрату.



**Рис.4.** Коэффициенты усиления потока ( $\epsilon = j_i/j_o$ ) ряда органических субстратов через жидкую импрегнированную мембрану, содержащую переносчики **5**, **6**, **18**, **19**.

В связи с вышесказанным логично было предположить, что при переходе к тиакаликс[4]ареновой платформе, которая имеет ряд отличий от «классической», также будет наблюдаться уменьшение эффективности и увеличение селективности макроциклов по отношению к кислотам, что и было продемонстрировано на примере тиакаликс[4]аренов **11** и **12**.

Наличие одного  $\alpha$ -аминофосфонатного фрагмента в структуре тикаликс[4]арена **11** не



**Рис.5.** Коэффициенты усиления потока ( $\epsilon = j_i/j_0$ ) ряда органических кислот через жидкую импрегнированную мембрану, содержащую переносчики **11** и **12**.

предполагает высокой селективности макроцикла, соединение демонстрирует довольно высокую транспортную способность по отношению к изучаемым субстратам, в целом превосходящую 1,3-дизамещенный  $\alpha$ -аминофосфонат **5** на основе каликс[4]ареновой платформы (рис.5). Что касается тетразамещенного макроцикла **12**, то при введении данного соединения в мембранную фазу наблюдается значительное уменьшение массопереноса всего спектра кислот кроме аспарагиновой и гликолевой.

Наблюдаемое усиление скорости массопереноса аспарагиновой и гликолевой кислот в 174 и 70 раз соответственно позволяет говорить об эффективном молекулярном распознавании данных субстратов.

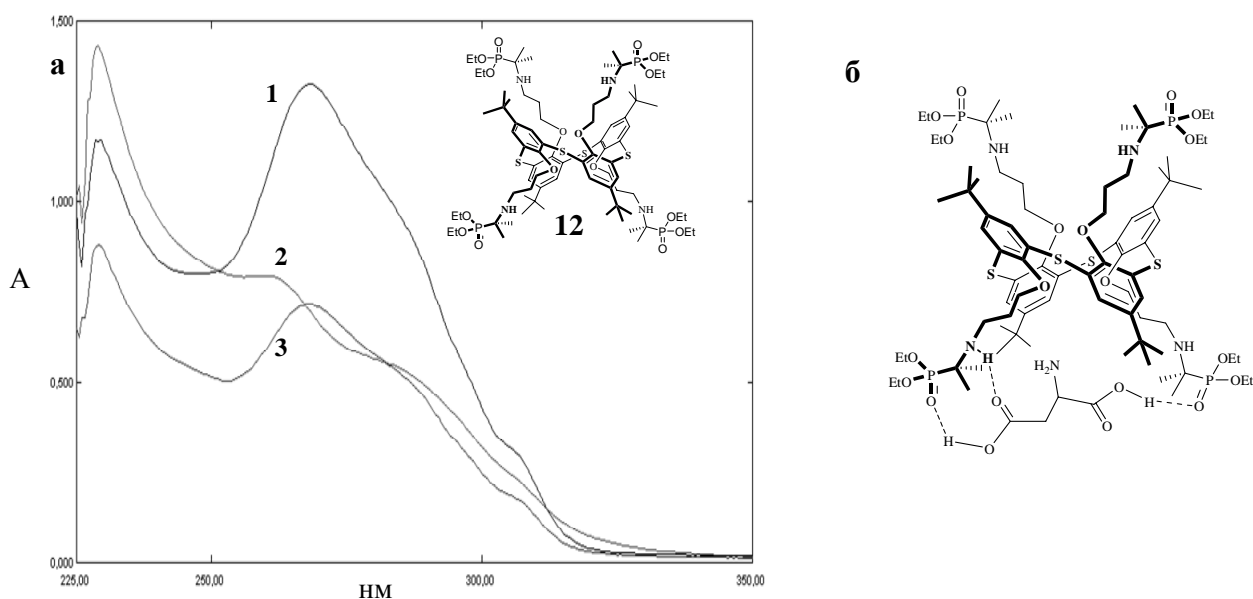
Таким образом, полученные в ходе мембранной экстракции результаты хорошо согласуются с данными молекулярного моделирования квантово-механическим методом РМЗ. Так, наблюдаемые значения коэффициентов массопереноса для (тия)каликс[4]аренов **5**, **6**, **11**, **12**, содержащих  $\alpha$ -аминофосфонатные фрагменты, являются максимальными в ряду исследованных соединений, что свидетельствует об эффективном взаимодействии «переносчик-кислота». Как и ожидалось, макроцикл **5** наиболее эффективно экстрагирует винную кислоту, **12** - аспарагиновую, **11** - малоновую, **9** и **10** - глутаминовую, а **6** - янтарную.

### 3.2 Исследование комплексообразующей способности $\alpha$ -аминофосфонатов на основе *n*-трет-бутил(тия)каликс[4]арена методом УФ-спектроскопии

Для более глубокого понимания механизма связывания, были проведены спектрофотометрические исследования и расширен круг исследуемых аминокислот. Кроме аспарагиновой и глутаминовой были изучены следующие аминокислоты: d,l-аланин, d,l-валин, d,l-гистидин, d,l-лейцин, d,l-лизин.

Было установлено, что при взаимодействии каликс[4]арена **5** с винной кислотой в УФ-спектрах «хозяина» наблюдается гипохромный эффект. В то же время широкая полоса поглощения 290-310 нм претерпевает сильный гипсохромный сдвиг относительно исходного спектра макроцикла. По отношению к остальным исследованным субстратам значимых изменений не зафиксировано. Для монозамещенного аминофосфоната **11** наблюдается преимущественное взаимодействие с глутаминовой, малоновой и щавелевой кислотами. В данном случае происходит небольшое смещение полосы поглощения в спектре комплексов в коротковолновую область, а также наблюдается гипохромный эффект.

В случае же тетразамещенного аминофосфоната **12** изменения происходят только при взаимодействии с гликолевой и аспарагиновой кислотами (рис.6). Наблюдается гипохромный эффект и смещение полосы поглощения с максимумом при 270 нм в область более коротких волн относительно исходного спектра макроцикла. Кроме того, в спектре комплекса тетразамещенного аминофосфоната **12** и гликолевой кислоты наблюдается гиперхромный эффект в диапазоне 225-240 нм, тогда как для других субстратов значимых изменений не зафиксировано. Что касается соединения **25**, то при взаимодействии каликс[4]арена с винной кислотой в УФ-спектрах «хозяина» наблюдается гиперхромный эффект. По отношению к остальным исследованным субстратам значимых изменений не зафиксировано.



**Рис.6.** (а) УФ-спектры растворов *n*-*tert*-бутилкаликс[4]арена **12** ( $1 \cdot 10^{-5}$  М) (1) в дихлорметане после добавления различных кислот: гликолевая (2), аспарагиновая (3). (б) Результаты моделирования методом РМЗ комплекса *n*-*tert*-бутилтиакаликс[4]арена **12** с аспарагиновой кислотой.

Изучение с помощью УФ-спектроскопии способности к молекулярному распознаванию ряда дикарбоновых,  $\alpha$ -гидрокси- и  $\alpha$ -аминокислот (тиа)каликс[4]аренами **5**, **6**, **11**, **12**, **25** в дихлорметане выявило в некоторых случаях значительные изменения в

электронных спектрах поглощения макроциклов при взаимодействии с данными субстратами.

Для количественной характеристики молекулярного распознавания кислотных субстратов функционализированными производными *n*-трет-бутил(тия)каликс[4]арена методом разбавления были установлены константы устойчивости образующихся комплексов (табл.1). Также с помощью метода построения кривых изомолярных серий была установлена стехиометрия комплексов субстрат-*n*-трет-бутилтиакаликс[4]арен, образующихся в дихлорметане.

**Таблица 1.** Значения логарифмов констант устойчивости комплексов (1:1) (тия)каликс[4]аренов **5, 6, 11, 12, 25** с рядом органических кислот в дихлорметане при 20°C.

соединение	lgK <sub>a</sub> , M <sup>-1</sup>				
	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>25</b>
щавелевая	3.0±0.1	2.3±0.1	4.3±0.1	2.3±0.1	2.8±0.1
малеиновая	2.3±0.1	2.1±0.1	2.2±0.1	2.5±0.2	2.7±0.2
аспарагиновая	2.4±0.1	4.4±0.1	2.5±0.1	5.7±0.1	2.4±0.1
глутаминовая	2.1±0.1	2.3±0.1	3.9±0.1	2.1±0.1	2.1±0.1
лизин	2.3±0.1	2.3±0.1	2.9±0.1	3.1±0.1	4.1±0.1
фенилаланин	2.1±0.2	2.0±0.2	2.7±0.2	2.8±0.2	2.9±0.2
валин	2.1±0.2	2.3±0.2	2.8±0.2	2.9±0.2	4.3±0.1*
лейцин	2.2±0.0	2.1±0.0	2.4±0.0	3.4±0.0	3.1±0.1
аланин	2.4±0.1	2.3±0.1	2.7±0.1	3.2±0.1	4.7±0.2*
триптофан	2.1±0.2	2.0±0.2	2.6±0.2	2.6±0.2	3.1±0.1
малоновая	2.4±0.1	2.3±0.1	4.1±0.1	2.2±0.2	2.3±0.2
фумаровая	2.6±0.1	2.1±0.1	2.6±0.1	2.9±0.1	2.2±0.1
винная	5.3±0.2	2.5±0.2	2.7±0.2	3.2±0.2	5.5±0.2*
гликолевая	3.6±0.1	3.2±0.1	2.9±0.1	6.1 ±0.1*	2.4 ±0.1
янтарная	3.1±0.1	5.0±0.1	3.4±0.1	3.4±0.1	2.1±0.1

(\* Стехиометрия 1:2).

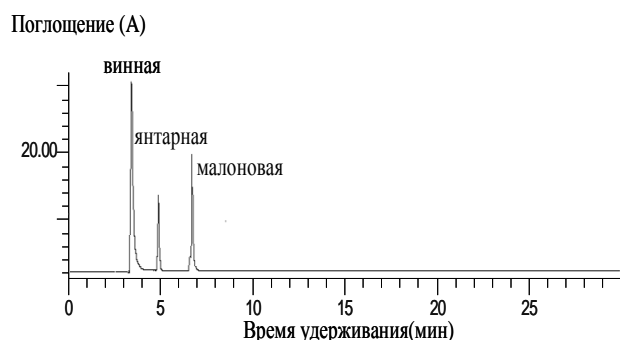
Значения логарифмов констант устойчивости комплексов изученных α-аминофосфонатов с рядом дикарбоновых, α-гидрокси- и α-аминокислот изменяются от 2.1 до 6.1, что свидетельствует об эффективном и в ряде случаев селективном связывании изученных «гостей». Как было показано в процессе квантово-механических расчетов энергии комплексов, подобное эффективное взаимодействие возможно благодаря тому, что карбоксильная, гидроксильная и аминогруппы субстратов могут образовывать водородные связи с атомами азота и кислорода аминофосфонатного фрагмента.

Таким образом, в ходе проведенных исследований с помощью методов мембранной экстракции и УФ-спектроскопии изучена комплексообразующая способность синтезированных производных (тия)каликс[4]аренов по отношению к некоторым α-амино- (аспарагиновая, глутаминовая, аланин, валин, лизин, лейцин, триптофан, фенилаланин), α-

гидрокси- (винная, гликолевая) и дикарбоновым кислотам (малоновая, малеиновая, фумаровая, щавелевая, янтарная). Установлена способность изученных рецепторов к эффективному и избирательному взаимодействию с гликолевой, малоновой, глутаминовой, щавелевой, аспарагиновой кислотами. Эффективность связывания определяется природой субстратов, а также количеством потенциальных центров координации рецептора. Поскольку фосфорилированные соединения **5**, **6**, **11**, **12**, **25** продемонстрировали довольно высокие значения логарифмов констант устойчивости по отношению к узкому кругу субстратов, для дополнительной оценки селективности синтезированных рецепторов нами были проведены эксперименты ВЭЖХ, в ходе которых была исследована их способность к селективному взаимодействию с определенным видом субстратов, близких по структуре.

### 3.3 Исследование комплексообразующей способности фосфорилированных *n*-трет-бутил(тия)каликс[4]аренов методом ВЭЖХ

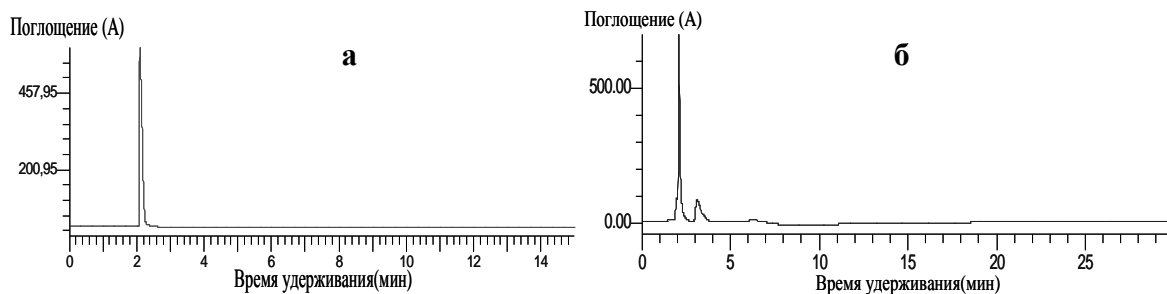
Для дополнительной оценки селективности синтезированных соединений **5** и **12** при проведении эксперимента по индуцированному рецепторами-переносчиками мембранному транспорту методом ВЭЖХ нами контролировалось содержание кислот в принимающей



**Рис.7.** Хроматографический анализ подающей фазы в мембранной экстракции смеси винной, малоновой и янтарной кислот соединением **5**.

фазе. Параметры эксперимента аналогичны условиям, описанным в разделе 3.1. Единственным отличием являлось наличие в подающей фазе смеси различных кислот (тогда как ранее нами исследовалась способность рецепторов к массопереносу определенной кислоты) (рис.7). Отбор образцов принимающей фазы осуществлялся каждый час в течение всего эксперимента (7 часов). В случае макроцикла **5** в принимающей фазе в первые три часа детектировался только пик

винной кислоты (рис.8).



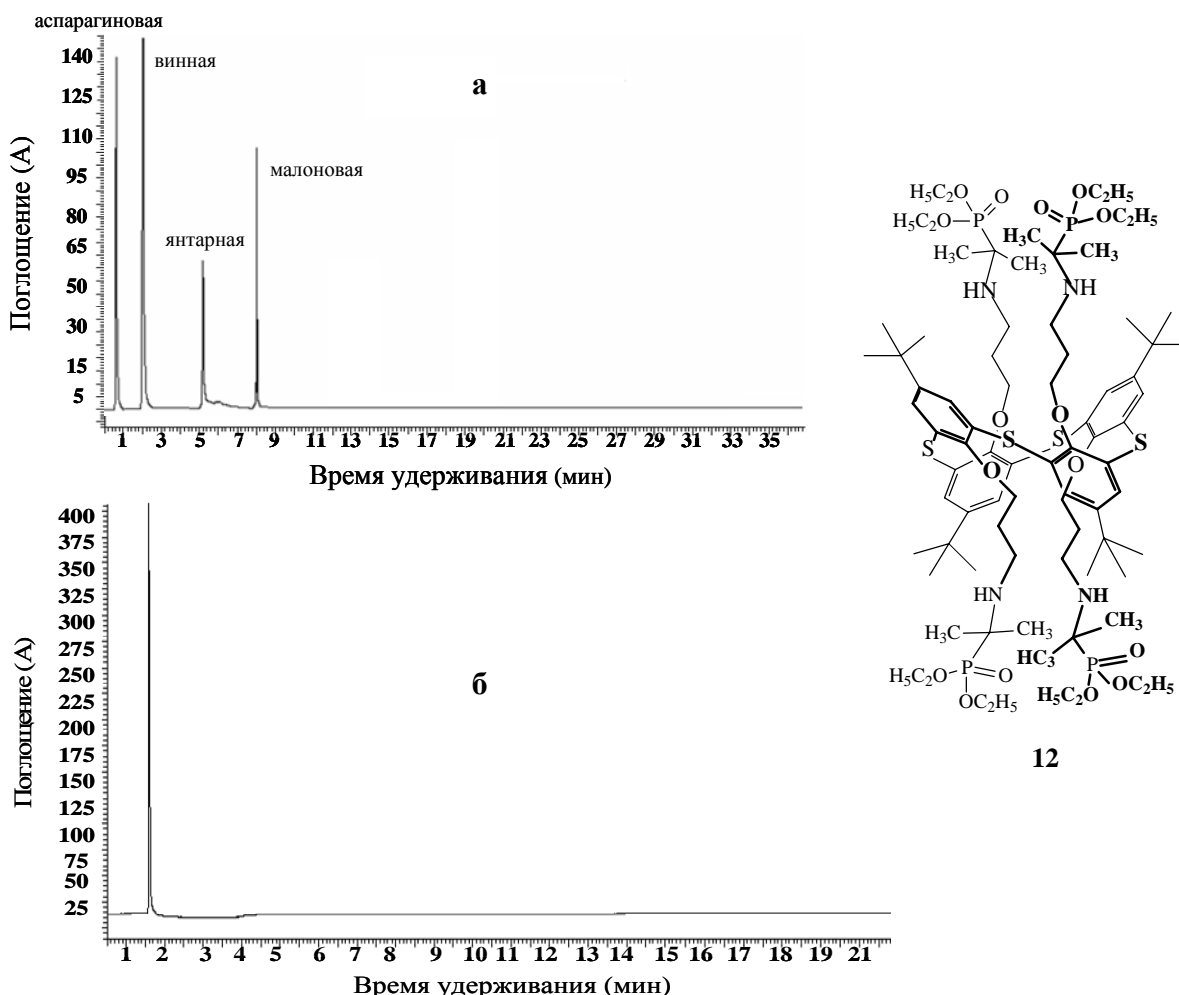
**Рис.8.** Хроматографический анализ принимающей фазы для соединения **5** и смеси винной, малоновой и янтарной кислот после трех (а) и пяти (б) часов эксперимента по мембранной экстракции.



В дальнейшем, по прошествии пяти часов, наблюдалось появление на хроматограмме пика, соответствующего янтарной кислоте. Что касается малоновой кислоты, то ее появления не наблюдалось в течение всего эксперимента.

Полученные результаты хорошо согласуются с данными мембранной экстракции. Так, при снижении коэффициента усиления потока в 6 раз (для янтарной кислоты по сравнению с винной) рецептор **5** способен селективно переносить через мембрану исключительно винную кислоту.

В случае соединения **12** происходит переключение селективности экстракции «гостя» с винной кислоты на аспарагиновую. Из приведенной хроматограммы (рис.9) видно, что даже после семи часов эксперимента детектируется только пик аспарагиновой кислоты. Что касается остальных кислот, содержащихся в подающей фазе (малоновой, винной, янтарной), то их появления не наблюдается в течение всего эксперимента. Полученные результаты хорошо согласуются с данными, полученными с помощью УФ-спектроскопии, так как константы ассоциации комплексов для этих кислот различаются на несколько порядков.



**Рис.9.** Хроматографический анализ: (а) подающей фазы, состоящей из смеси аспарагиновой, винной, малоновой и янтарной кислот и (б) принимающей фазы после 7 часов эксперимента по мембранной экстракции для соединения **12**.

В заключение следует отметить, что в ходе проведенных исследований удалось определить кинетические зависимости процессов мембранного транспорта и величины потока субстратов через жидкие импрегнированные мембраны. Показано, что введение  $\alpha$ -аминофосфонатных групп в (тия)каликс[4]арен приводит к существенному изменению комплексообразующих свойств аминофосфонатных фрагментов по сравнению с ациклическими аналогами. Сравнение селективности «классических» каликс[4]аренов и их тиа-аналогов показало преимущество последних.

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. На основе моделирования квантово-химическими методами предложены новые синтетические рецепторы на основе функционализированных *n-трет*-бутил(тия)каликс[4]аренов для распознавания винной, аспарагиновой, малоновой, глутаминовой и янтарной кислот.

2. Синтезирован ряд новых *n-трет*-бутил(тия)каликс[4]аренов, содержащих алкильные, арильные, сложноэфирные, пентафторфенильные и  $\alpha$ -аминофосфонатные фрагменты. Показана возможность применения полученных соединений в качестве переносчиков дикарбоновых,  $\alpha$ -гидрокси- и  $\alpha$ -аминокислот через жидкие липофильные мембраны.

3. Впервые получен кристаллический комплекс монофункционализованного по нижнему ободу производного *n-трет*-бутилтиакаликс[4]арена с третичным амином, и установлена структура координационного узла в твердом состоянии. Показано, что происходят перенос протона от фенольного гидроксила к амину с образованием феноксильной и аммонийной групп и стабилизация образующегося аниона водородными связями с соседними ОН-группами.

4. Разработан подход к введению  $\alpha$ -аминофосфонатного фрагмента в структуру монозамещенного по нижнему ободу *n-трет*-бутилтиакаликс[4]арена в конформации *конус*, включающий применение в качестве «темплата» третичного амина.

5. Методами мембранной экстракции и электронной спектроскопии (методы разбавления и изомолярных серий) изучены комплексообразующие свойства синтезированных соединений по отношению к ряду органических кислот. Установлены закономерности влияния структуры макроциклических рецепторов на основе замещенных по верхнему и нижнему ободам *n-трет*-бутил(тия)каликс[4]аренов на их комплексообразующую способность по отношению дикарбоновым,  $\alpha$ -гидрокси- и  $\alpha$ -аминокислотам:

- для 1,3-дизамещенных по нижнему ободу *n-трет*-бутилкаликс[4]аренов, содержащих сложноэфирные и пентафторфенильные фрагменты, успешное связывание глутаминовой кислоты осуществляется как заместителями по нижнему ободу макроцикла, так и свободными гидроксильными группами, выступающими в качестве протонодоноров;

- при переходе от ациклических аминоалкил(арил)фосфонатов к их макроциклическим аналогам на основе каликс[4]арена происходит увеличение селективности синтетических рецепторных структур, в частности, наблюдается избирательное взаимодействие с винной, янтарной и аспарагиновой кислотами;

- при увеличении количества  $\alpha$ -аминофосфонатных фрагментов, вводимых в структуру *n*-*tert*-бутилтиакаликс[4]арена, от одного до восьми наблюдается усиление селективности рецепторных соединений по отношению к исследуемым субстратам.

6. Методом ВЭЖХ установлено, что синтезированные *n*-*tert*-бутил(тиа)каликс[4]арены с  $\alpha$ -аминофосфонатными фрагментами в составе жидких импрегнированных мембран способны осуществлять селективное извлечение винной и аспарагиновой кислот из смесей дикарбоновых,  $\alpha$ -гидрокси- и  $\alpha$ -аминокислот.

### Основное содержание работы отражено в следующих публикациях

1. Stoikov, I.I. New membrane carrier for glutamic acid based on *p*-*tert*-butylcalix[4]arene 1,3-disubstituted at the lower rim. / I.I. Stoikov, M.N. Agafonova, P.L. Padnya, E.N. Zaikov, I.S. Antipin // *Mendeleev Communications*. – 2009. – V. 19, N. 3. – P. 163–164.

2. Stoikov, I.I. Molecular Recognition: Biotechnology, Chemical Engineering and Materials Applications. Molecular Recognition of Carboxylic Acids and Carboxylate Anions by Synthetic Receptor [Text] / I.I. Stoikov, M.N. Agafonova, L.S. Yakimova, I.S. Antipin, A.I. Konovalov // NY: Novapublisher. – 2011. – p. 337 (ISBN: 978-1-61122-734).

3. Agafonova, M.N. Selective transmembrane carriers for hydroxycarboxylic acids: influence of a macrocyclic calix[4]arene platform / M.N. Agafonova, O.A. Mostovaya, I.S. Antipin, A.I. Konovalov, I.I. Stoikov // *Mendeleev Communications*. – 2012. – V. 22. – P. 80-82.

4. Агафонова, М.Н. Молекулярное распознавание дикарбоновых,  $\alpha$ -гидрокси- и  $\alpha$ -аминокислот искусственными рецепторами на основе функционализированных по нижнему ободу тиакаликс[4]аренов, содержащих аминофосфонатные фрагменты / М.Н. Агафонова, О.А. Мостовая, К.С. Шибеева, И.И. Стойков, И.С. Антипин, А.И. Коновалов // *Ученые записки Казанского государственного университета. Серия «Естественные науки»*. – 2012. – Книга 1. – С. 7–17.

5. Stoikov, I.I. Design of novel sensing materials for glutamic acid on the basis of calix[4]arene derivatives / I.I. Stoikov, M.A. Agafonova, E.N. Zaikov, L.I. Shamova, I.S. Antipin, A.I. Konovalov // *Book of abstracts of International Symposium on Olfaction and Electronic Noses*. – St. Petersburg, 2006. – P. 109–110.

6. Мостовая, О.А. Индуцированный  $\alpha$ -аминофосфонатами транспорт дикарбоновых и гидроксикислот через липофильные мембраны / О.А. Мостовая, М.А. Агафонова, И.И. Стойков, И.С. Антипин, А.И. Коновалов // *Тезисы докладов VI Всероссийского научного семинара с молодежной научной школой «Химия и медицина»*. – Уфа, 2007. – С. 195.

7. Агафонова, М.Н. Молекулярное распознавание  $\alpha$ -гидрокси- и дикарбоновых кислот  $\alpha$ -аминофосфонатами и рецепторами на основе каликс[4]арена, дизамещенного по нижнему ободу пиридиновыми фрагментами / М.Н. Агафонова, И.И. Стойков // *Тезисы докладов Итоговой научно – образовательной конференции Биолого-почвенного факультета*. – Казань, 2007. – С. 3.

8. Zhukov, A.Yu. Synthesis and study of the complex agent capability of the new thiacalix[4]arene derivatives to a range of organic acids / A.Yu. Zhukov, M.N. Agafonova, I.I.

Stoikov, I.S. Antipin, A.I. Konovalov // Book of abstracts of First International symposium "Supramolecular and nanochemistry: toward applications" SNCTA. – Kharkov, 2008. – P. 1-6.

9. Агафонова, М.Н. Синтез и исследование комплексообразующей способности новых производных тиакаликс[4]арена по отношению к ряду органических кислот / М.Н. Агафонова, А.Ю. Жуков, И.И. Стойков, И.С. Антипин // Тезисы докладов Всероссийской школы-конференции «Супрамолекулярные системы на поверхности раздела», посвященной 175-летию со дня рождения Д.И. Менделеева. – Москва, 2009. – С. 60.

10. Agafonova, M.N. The 1,3-disubstituted at lower rim p-tert-butylcalix[4]arenes as efficient  $\alpha$ -amino,  $\alpha$ -hydroxy and dicarboxylic acid membrane carriers / M.N. Agafonova, I.I. Stoikov, E.N. Zaykov, P.L. Padnya, I.S. Antipin // Book of abstracts of Vth International Symposium "Supramolecular Systems in Chemistry and Biology". – Kyiv, 2009. – P. 192.

11. Agafonova, M.N. The complexation ability of the synthetic receptors based on calix[4]arenes toward a number of  $\alpha$ -hydroxy and dicarboxylic acid / M.N. Agafonova, A.Yu. Zhukov, I.I. Stoikov, V.I. Kalchenko, I.S. Antipin // Тезисы докладов XXIV Международной Чугаевской конференции по координационной химии и Молодежной конференции-школы «Физико-химические методы в химии координационных соединений». – Санкт-Петербург, 2009. – С. 504.

12. Агафонова, М.Н. Молекулярное распознавание  $\alpha$ -амино-,  $\alpha$ -гидрокси- и дикарбоновых кислот синтетическими рецепторами на основе каликс[4]аренов / М.Н. Агафонова // Тезисы докладов Всероссийской конференции с элементами научной школы. – Белгород, 2009. – С. 108.

13. Агафонова, М.Н. Синтетические рецепторы на основе функционализированных каликс[4]аренов, способных индуцировать транспорт дикарбоновых, амино- и гидроксикислот через липофильные мембраны / М.Н. Агафонова, И.И. Стойков, И.С. Антипин, А.И. Коновалов // Тезисы докладов Международного симпозиума "Advanced Science in Organic Chemistry" (ASOC–Crimea). – Крым, 2010. – С. 4.

14. Агафонова, М.Н. Молекулярное распознавание дикарбоновых,  $\alpha$ -гидрокси- и аминокислот искусственными рецепторами на основе функционализированных каликс[4]аренов / М.Н. Агафонова, П.Л. Падня, И.И. Стойков, И.С. Антипин, А.И. Коновалов // Тезисы докладов II Международной молодежной школы-конференции «Супрамолекулярные системы на поверхности раздела». – Туапсе, 2010. – С. 62.

15. Agafonova, M.N. The design and synthesis of receptor structures based on thiacalix[4]arenes capable to recognition a number of  $\alpha$ -hydroxy- and dicarboxylic acids / M.N. Agafonova, A.Yu. Zhukov, A. V. Galukhin, I.I. Stoikov, I.S. Antipin, A.I. Konovalov // Book of abstracts of 3rd International Summer School "Supramolecular Systems in Chemistry and Biology". – Lviv, 2010. – P. 46.