

TARTU ÜLIKOOL

Loodus- ja täppisteaduste valdkond

Keemia instituut

Analüütilise keemia õppetool

Alo Rüütel

**Karbasoolil põhinevad hübriidretseptorid karboksülaatanioonide sidumiseks**

Bakalaureusetöö

Keemia

12 EAP

Juhendajad:

Sandip Ashokrao Kadam (PhD)

Prof. Ivo Leito

Tartu 2016

## Sisukord

Lühendid.....	4
Sissejuhatus .....	5
1. Kirjanduse ülevaade .....	6
1.1. Supramolekulaarkeemia .....	6
1.2. Anioonide retseptorid .....	6
1.3. Molekulaarretseptorite disain .....	7
1.4. Afiinsuskonstandid .....	9
2. Eksperimentaalne osa .....	10
2.1. Aparatuur ja töövahendid .....	10
2.1.1. Spektromeetrid .....	10
2.1.2. Kromatograafia .....	11
2.1.3. Kasutatud reagentid ja lahustid .....	11
2.1.4. Ülejäänud töövahendid .....	12
2.2. Süntees.....	13
2.2.1. Sünteesiprotokollid .....	14
2.3. Afiinsusmõõtmised .....	23
2.4. Arvutusmeetod.....	24
3. Tulemused .....	25
3.1. Uuritud ühendid .....	25
3.2. Anioonide seostumisskaalad.....	25
3.1.1. Atsetaadi seostumisskaala.....	26
3.1.2. Bensoaadi seostumisskaala .....	27
3.1.3. Laktaadi seostumisskaala.....	27
4. Tulemuste arutelu .....	28
4.1. Läbitud sünteesirada .....	28
4.2. Seosed retseptormolekulide struktuuri ja afiinsuste vahel .....	29

Kokkuvõte .....	32
Summary .....	33
Viited .....	34
Lisad .....	37
Lisa 1. CZ011 spektrid .....	38
Lisa 2. CZ012 spektrid .....	42
Lisa 3. CZ013 spektrid .....	46
Lisa 4. CZ014 spektrid .....	50
Lisa 5. CZ015 spektrid .....	54
Lisa 6. Afiinsusmõõtmiste spektrid .....	58
Infoleht .....	82
Litsents .....	83

## Lühendid

$\delta$  - keemiline nihe

AcN - atsetonitriil

Boc - tert-butüüloksükarbonüül kaitserühm

DCM - diklorometaan

DIPEA - N,N-diisopropüületüülamiin

DMAP - 4-dimetüülaminopüridiin

DMF - dimetüülformamiid

DMSO - dimetüülsulfoksiid

DMSO-d<sub>6</sub> - deuteeritud dimetüülsulfoksiid

EDC·HCl - 1-etüül-3-(3-dimetüülaminopropüül)karbodiimiid vesinikkloriid

EtOAc - etüülatsetaat

HOBT - 1-hüdroksübensotriasool

ICP-MS - induktiivplasma-massispektromeetria

IR - infrapuna

MALDI-MS - abimaatriksiga laserdesorptsioon-ionisatsioon-massispektromeetria

MeOH - metanool

MS - massispektromeetria

R<sub>f</sub> - retentsiooniindeks

THF - tetrahüdrofuraan

TMR - tuumamagnetresonantsspektroskoopia

## Sissejuhatus

Analüütilise keemia alase teadustöö tsentraalseks küsimuseks on: „Kuidas määrata konkreetses proovis analüüti?“ Vahendid ja meetodika valitakse alati sõltuvalt olukorrast ja proovi omadustest. Üliõpilastele õpetatakse ühe analüüsimeetodina metallikatioonide määramist kompleksonomeetrisel tiitrimisega. Selle analüüsi juures kasutatavat etüleendiamiintetraatsetaati (EDTA) võib vaadelda kui molekuli, mis suudab selektiivselt ära tunda analüüti ja sellega kompleksi moodustada. Seega on tegemist molekulaarretseptoriga. Selliseid retseptoreid on mitmeid erinevad. Nende efektiivne kasutamine analüütilistel eesmärkidel motiveerib otsima sarnaste omadustega uusi molekule.

Tartu Ülikoolis on uuritud mitmeid uurea, bisuurea, indolokarbasooli jm tüüpi molekulaarretseptoreid. Selliseid aineid kasutatakse anioonide määramiseks. Eelnevate tööde loogiline järg on parimate kandidaatide edasiarendamine keerulisemateks retseptoriteks. Eesmärgiks on saavutada paremat afiinsust ja selektiivsust ning leida sobivad retseptorid, mida kasutada reaalses anioonide sensorites.

Loodavaid retseptoreid saab kasutada analüütide määramiseks otse lahuses (näiteks UV-VIS või TMR meetodite abil) või siduda tahkele kandjale. Viimast saab kasutada sensorites või statsionaarse faasina kromatograafias ja/või proovide ettevalmistamise padrunites. Põhimõtteliselt sobib molekulaarretseptorite rakenduskohaks ükskõik milline proov, mis vajab mõne analüüdi määramist.

Käesolev uurimus hõlmab nii molekulaarretseptorite sünteesimist kui ka nende sobivuse hindamist erinevate anioonsete analüütide määramiseks.

Uurimuse eesmärgid on:

- sünteesida karbasoolist lähtuvad uudsed molekulaarretseptorid karboksülaatanioonide äratundmiseks
- määrata sünteesitud molekulaarretseptorite afiinsuskonstandid kolme erineva karboksülaataniooni suhtes
- leida retseptorite struktuuride ja afiinsuste vahel seoseid, mida saab kasutada uute retseptorite väljatöötamisel.

## 1. Kirjanduse ülevaade

### 1.1. Supramolekulaarkeemia

Supramolekulaarkeemia tegeleb mittekovalentsete vastasmõjude uurimisega kahe või enama osakese (molekuli, iooni) vahel. Valdkonna keskseks printsiibiks on molekulide võime üksteist ära tunda ja komplekse moodustada. Need kompleksid on mittekovalentsed ja seetõttu dünaamilised – võimelised olenevalt tingimustest tekkima ja lagunema.<sup>1</sup> Keemiliste ühendite oskus üksteist eristada on üheks looduslike protsesside käimapanevaks jõuks.

Molekule, mis suudavad selektiivselt ära tunda kindlaid analüüte, nimetatakse molekulaarretseptoriteks.<sup>2,3</sup> Tihti on nendeks makromolekulaarsed ühendid. Tavaliselt ei saavutata suurt selektiivsust ühe kindla analüüdi suhtes, vaid sarnaste omadustega molekulide rühma suhtes.

Molekulaarretseptoritele on mitmeid rakendusi analüütilistel eesmärkidel, meditsiinis, nanotehnoloogias jm.<sup>2,4</sup> Uusi kandidaate otsitakse pidevalt, seetõttu on tähtis selliste molekulide sünteetiline valmistamine.

Looduses on tuntumaks retseptormolekulide perekonnaks valgud, samuti peptiidid.<sup>5</sup> Üheks tuntud sünteetilise retseptormolekuli (täpsemini iooni) näiteks on etüleendiamiintetraatsetaat (EDTA), mis efektiivselt seob suurt hulka metallkatioone.<sup>6</sup>

### 1.2. Anioonide retseptorid

Anioonsed ühendid on olulised nii looduses, kui tehnoloogias. Suur hulk ravimite, mürkide, väetiste jms ainete toimeaineid on anioonid.<sup>7</sup> Mistahes soolas on alati üheks komponendiks anioon.

Käesolevas töös uuritakse retseptoritega seondumise seisukohast kolme aniooni – atsetaat, bensoaat ja laktaat. Need anioonid erinevad teineteisest mitmete omaduste poolest. Atsetaat on neist kõige aluselisem (etaanhappe  $pK_a$  väärtus DMSO's 12.6)<sup>8</sup> ja kõige väiksemate mõõtmetega. Bensoaat on keskmise aluselisusega (bensoehappe  $pK_a$  DMOS's 11.0)<sup>9</sup>, hüdrofoobseim ja mõõtmetelt suurim. Laktaat on uuritud anioonidest kõige madalama aluselisusega (piimhappe  $pK_a$  DMSO keskkonnas 8.0)<sup>10</sup> ja kõige hüdrofiilsem. Kõik need anioonid on tähtsad biokeemilistes protsessides. Atsetaat on tähtis tsitraaditsükli atsetüülkoensüüm-A vormis, rasvhapete biosünteesis jm. Bensoaati kasutatakse urea tsükli häirete korral ravimina, et vähendada ammoniaagi hulka veres. Anaeroobsetes tingimustes

tekib lihaskudedes püruvaadi redutseerimisel piimhape. Selle protsessi käigus deprotoneerub piimhape laktaadiks. Tekkiv happeline keskkond piirab lihaste töövõimet.<sup>11</sup>

Anioone siduvaid retseptoreid saab laengu järgi liigitada neutraalseteks ja katioonseteks. Enamasti seonduvad katioonsed retseptorid anioonidega tugevamini, aga on samas vähem selektiivsed. Katioonsed retseptorid vajavad ka vastasiooni, mis võib komplitseerida nende konkureerimist seotava aniooniga. Seetõttu on neutraalsed retseptorid eelistatud.<sup>12</sup>

Käesolevas töös tegeletakse ainult anioonsete ühendite äratundmist võimaldavate neutraalsete retseptoritega. Retseptor- ja külaliskemikuli vahelisel äratundmisel mõjuvad erinevad vastasmõjud:

- vesiniksidemed<sup>13</sup>
- Van der Waalsi jõud<sup>14</sup>
- ioon-ioon interaktsioonid<sup>14</sup>
- $\pi$ - $\pi$  interaktsioonid aromaatsete tuumade vahel<sup>14</sup>
- solvofoobsed efektid.<sup>15</sup>

Neutraalsete molekulide anioonidega seonduvusse panustavad enamasti vesiniksidemed, mis tekivad N-H, O-H ja F-H fragmentide vastasmõjul molekulides või ioonides esinevate elektronegatiivsete (negatiivset osalaengut kandvate) fragmentidega.<sup>16</sup> Vesiniksidemeid andvad (vesiniksideme-donoorsed) funktsionaalrühmad on anioonsete retseptormolekulide põhilisteks seonduvustsentriteks. Tekkiv kompleks on püsiv vesiniksidemete tõttu, mis on tugevamad kui Van der Waalsi jõud, kuid nõrgemad kui kovalentsed sidemed.<sup>17,18</sup>

Funktsionaalrühmade arv, mis annavad vesiniksidemeid, mõjutab oluliselt retseptormolekuli afiinsust. Samas ei kehti alati reegel, et mida rohkem on retseptoris vesiniksidet andvaid rühmi, seda kõrgem on afiinsus anioonide suhtes.<sup>19</sup> Lisaks vesiniksideme-donoorsete rühmade arvule on oluline nende ruumiline paigutus.

### *1.3. Molekulaarretseptorite disain*

Molekulaarses äratundmises on lisaks erinevatele vastasmõjudele oluline roll molekuli kujul. Täpsemini – molekuli liikumisvabadusel. Retseptori struktuur peab võimaldama analüüt-anioonide eristamist nende geomeetriliste omaduste alusel. Analüüdi struktuuri arvesse võttes on võimalik molekulaarretseptor kujundada analüüdi suhtes üsnagi selektiivseks. Õiget sünteesiteed valides on enamikel juhtudel võimalik retseptor ka sünteesida.

Uute retseptorite disainimisel kasutatakse eelinformatsioonina varasemate afiinsusmõõtmiste tulemusi. Eelistatud on struktuurid, mille sarnased on näidanud tugevat seostumist külalismolekulidega ja mille sünteetiline valmistamine on võimalik mõistliku pingutusega. Tihti modelleeritakse uuritav retseptor-anioon kompleks mõne arvutuskeemilise meetodiga (näiteks COSMO-RS). See annab täiendavat informatsiooni komplekseerumise mehhanismi kohta.<sup>20</sup>

Tartu Ülikoolis on varem määratud anioone erinevate neutraalsete retseptoritega nagu bis-uurea derivaadid, indolokarbasooli derivaadid jt.<sup>19</sup> Nimetatud retseptorid on üles näidanud häid seondumisomadusi. Mõningate retseptorite puhul on täheldatud vabas olekus sisemolekulaarse vesiniksideme tekkimist.<sup>21</sup> See on mittesoovitatav nähtus, kuna võimalik seostumisfragment on hõivatud juba enne komplekseerumist. Kasutada tuleb sellist struktuuri, mis enda jäikusega ei luba molekulil iseenda erinevate osade vahel vesiniksidet luua. Selle jaoks kõlbavad hästi karbasool ja indolokarbasool.

Kõige enam panustavad külalisanioonide äratundmisesse vesiniksidemed. Anioonide retseptorid sisaldavad seetõttu enamasti mitmeid funktsionaalrühmi, mis käituvad vesinikside doonoritena. Retseptormolekulides on tavalisemad vesiniksidemete doonorid amiidrühmad, lämmastikku sisaldavad heterotsüklid ning asendatud uuread ja tiouuread.<sup>22</sup>

Siinses töös kasutatakse uudsete retseptormolekulide valmistamise selgroona karbasooli. Karbasoolist saab uurea ja tiouurea fragmentide lisamise abil valmistada erinevaid hübriidretseptoreid. Karbasoolist valmistatakse ka makrotsükleid.<sup>23</sup> Viimased väärivad supramolekulaarkeemia seisukohalt erilist huvi, sest eri tüüpi makrotsüklitel on mitmeid väga praktilisi omadusi,<sup>24</sup> lisaks huvitavad selektiivsusomadused.<sup>25</sup>

#### 1.4. Afiinsuskonstandid

Retseptor-anioon kompleksi tekkimine on tasakaaluline reaktsioon, mida kirjeldab valem (1).



Molekulaarretseptorite afiinsust analüütide suhtes väljendatakse afiinsuskonstantide  $K_{af}$  (või nende kümnendlogaritmid  $\log K_{af}$ ) abil. Afiinsuskonstant avaldub võrrandis (1) esinevate osakeste aktiivsuste kaudu järgmiselt:

$$K_{af} = \frac{a_{HG}}{a_H a_G} \quad (2)$$

Afiinsuskonstante saab määrata erinevate meetoditega, kasutades UV-Vis spektroskoopiat, fluoretsentspektroskoopiat, TMR-i ja kalorimeetriat.<sup>26,27</sup> Kõik meetodid põhinevad tiitrimisel, kus afiinsuse määra hinnatakse peremees-külaline kompleksi tekkimise kaudu. Komplekseerumise alusel arvutatakse afiinsuskonstant, mis on võtmetähtsusega faktor retseptori sobivuse hindamisel. Seejuures on afiinsuskonstante võimalik esitada kahel moel – absoluutsel kujul, st  $\log K_{af}$  (siin ja mujal kasutatakse edaspidi afiinsuskonstantide kümnendlogaritme) või suhtelisel kujul, st  $\Delta \log K_{af}$ . Absoluutne afiinsuskonstant näitab otseselt võimet moodustada peremees-külalise kompleksi. Suhteline konstant näitab kui palju on ühe retseptori afiinsus sama analüüdi suhtes teise omast kõrgem.

Käesolevas töös mõõdetakse vahetult suhtelisi afiinsuskonstante, kasutades TMR meetodit.<sup>28</sup> Suhteliste afiinsuskonstantide määramine:

- on kiirem ja mugavam
- annab kõrgema täpsusega tulemused
- võimaldab analüüsida mitut erinevat retseptorikandidaati samaaegselt.

Lisaks võimaldab TMR meetod saada infot erinevate funktsionaalrühmade panuste kohta komplekseerumisse. Saadud info on kasulik uute retseptormolekuli kandidaatide disainimisel. TMR meetodi mõningateks puudusteks on vajadus deutereeritud solvendi järele ja madal tundlikkus, mis tingib vajaduse suuremate ainekoguste järele.

## 2. Eksperimentaalne osa

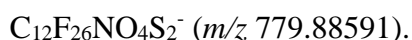
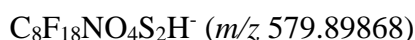
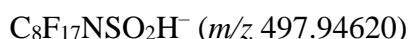
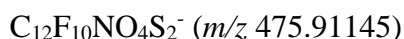
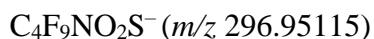
### 2.1. Aparatuur ja töövahendid

#### 2.1.1. Spektromeetrid

TMR mõõtmistel kasutati Bruker Avance-III 700 MHz TMR spektromeetrit magnetvälja tugevusega 16.4 T. Struktuuranalüüsi mõõtmistel kasutati DMSO-d<sub>6</sub> solventi. Afiinsusmõõtmistel kasutati DMSO-d<sub>6</sub> solventi, kuhu oli lisatud 0.5% MilliQ vett. Kõik spektrid kalibreeriti solventi signaali suhtes. Spektrite töötlemiseks kasutati TopSpin 3.2 tarkvara.

Kõrglahutusega ja –massitäpsusega massispektrid registreeriti FT-ICR massispektromeetritega Varian 930 MALDI-FT-ICR-MS ja Varian 910 ESI-FT-ICR-MS. Mõõtmised ESI ionallikaga teostas Tõiv Haljasorg, mõõtmised MALDI ionallikaga teostas Pilleriin Peets. Mõlemad massispektromeetrid kasutasid Variani 7.0 T ülijuhtmagnetit. Ainete teoreetiliste  $m/z$  väärtuste arvutamiseks kasutati Varian FTMS Systems ExactMassCalculator versioon 9.0.15 tarkvara. ESI ionallikal kasutati negatiivsete ionide režiimi järgmiste allika parameetritega: pihustuskapillaari pinge -4000 V, MS sisendi katte pinge -300 V, ionkapillaaripinge -40 V, pihustusgaasi (N<sub>2</sub>) rõhk 30 *psi*, kuivatusgaasi (N<sub>2</sub>) rõhk 10 *psi* (T = 300 °C). Instrumendi J-320 osas selekteeriti ioonid  $m/z$  vahemikus 100-800 ning suunati edasi ICR-i kogumisrakku. Ioonide kogumisajaks oli 600 ms. ICR-i detekteerimisparameetrid olid järgmised: detekteerimisaja pikkus 262.144 ms, konverteerimiskiirus 4 MHz. Spektrid salvestati 10 skaneeringu keskmisena.

Retseptorid CZ011 ja CZ012 mõõdeti ESI ionallikaga negatiivses režiimis. Analüüsitavaatest ainetest valmistati lahused ning lisati 1 µl sisekalibrantide lahust, mis sisaldas järgmiseid anioone:



Saadud lahust infuseeriti massispektromeetrisse kiirusega 10 µl/min.

Retseptorid CZ013, CZ014 ja CZ015 mõõdeti MALDI ionallikaga positiivses režiimis, kasutades laserit New Wave Orion 50083 Nd:YAG (355 nm, energia 4 mJ, sagedus 5 Hz). Maatriksina kasutati 2,5-dihüdrosübensoehapet. Kõik spektrid mõõdeti sisekalibrantide CALMIX – ProteoMass (Sigma-Aldrich) abil.

IP spektrid mõõdeti Nicolet 6700 FT-IR spektromeetriga. Kasutati teemantiga Smart Orbit mikro-ATR lisaseadet. Iga spekter mõõdeti 128 skänniga.

### *2.1.2. Kromatograafia*

**Kolonnkromatograafia.** Reaktsioonisegude puhastamiseks kasutati klassikalisi klaaskolonne. Ainekoguseid, mis olid suuremad kui 1 g puhastati 10 cm sisediameetrise kolonniga. Väiksemad kogused kui 1 g puhastati 5 cm sisediameetrise kolonniga. Statsionaarse faasina kasutati silikageeli (Sigma-Aldrich), mille osakeste läbimõõt valiti vastavalt lahutatavale segule.

Kromatografeeritav segu kaaluti ja adsorbeeriti silikageelile, mida võeti lahutatavast segust massi järgi umbes 4-5 korda rohkem. Statsionaarse faasi valmistamiseks suspendeeriti silikageel ja kolonn täideti märja sorbendiga vajaliku kõrguseni. Seejärel lisati silikageelile ettevaatlikult adsorbeeritud ainesegu. Sorbendi kiht kaitsti vatiga, et vältida eluendi lisamisel kolonni vigastamist. Kogutud fraktsioone analüüsiti planaarkromatograafia meetodil. Mobiilne faas eraldati fraktsioonidest rotaatorauruti abil ja taaskasutati.

**Planaarkromatograafia.** Reaktsiooniprotsesside ja kolonnkromatograafia jälgimiseks kasutati Macherey-Nagel Alugram Sil-G planaarkromatograafia plaate silikageel-60 statsionaarse faasi ja UV markeritega (254 nm ja 366 nm). Voolutussegudena kasutati EtOAc:Heksaan, THF:Heksaan ja MeOH:DCM lahusteid, mille täpne protsendiline koostis määrati eksperimentaalselt iga lahutatava segu jaoks eraldi.

### *2.1.3. Kasutatud reagentid ja lahustid*

Enamik kasutatud reagente telliti firmast Sigma-Aldrich ja olid vähemalt 97% puhtusega. Boc-glütsiin oli pärit U. Ragnarssoni uurimisgrupist.<sup>29</sup> Kõik kasutatud solvendid telliti Sigma-Aldrichist. Sünteesis kasutatud kuivatatud solvendid saadi VAC 103991 solvendipuhastussüsteemi abil. Nimetatud süsteem kuivatab solventi pideva tsirkuleerimisega läbi molekulaarsõelte. Kuivatatud solvendid koguti kuivboksis inertgaasi atmosfääris. Kõik töös kasutatud retseptormolekulid, mis ei olnud uudsed, sünteesiti Sandip A. Kadami poolt, välja arvatud 1,3-difenüüluurea ja karbasool, mis telliti Sigma-Aldrichist.

Afiinsusmõõtmistes kasutatud anioonide tetrabutüülammooniumsoolad telliti Sigma-Aldrichist, välja arvatud tetrabutüülammooniumlaktaat, mille valmistas Kristjan Haav. Kõiki anioonide sooli hoiustati kuivkapis inertgaasi atmosfääris. Afiinsusmõõtmistes kasutatud DMSO-d<sub>6</sub>/H<sub>2</sub>O (99.5%:0.5% m/m) valmistati gravimeetriliselt kasutades MilliQ vett.

#### *2.1.4. Ülejäänud töövahendid*

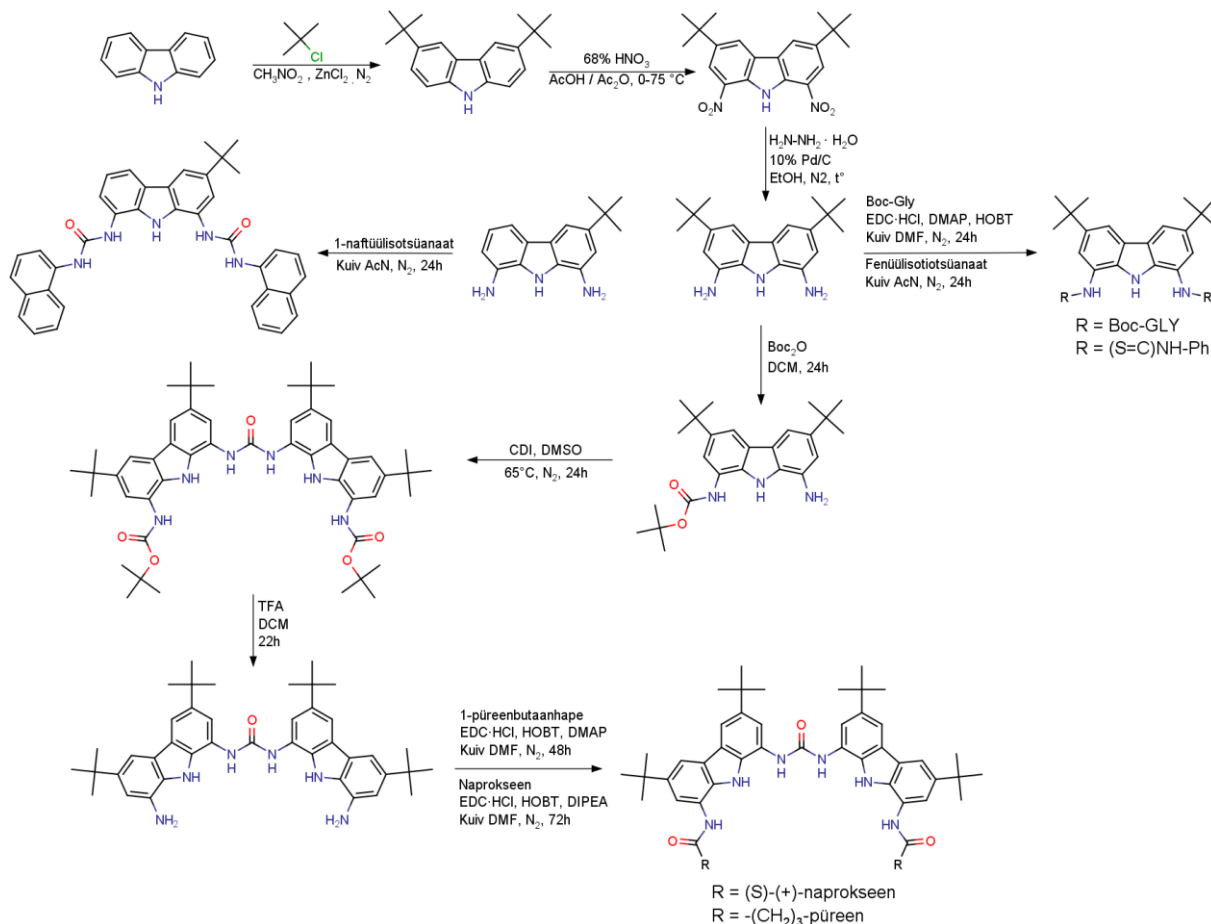
Orgaanilises sünteesis kasutatud ained kaaluti Oertling YA124 analüütilise kaaluga, mille lahutusvõime on 0.0001 g. Afiinsusmõõtmiste jaoks kasutatud ained kaaluti Sartorius CPA-225D-0CE analüütilistel kaaludel, mille lahutusvõime on 0.00001 g.

Avatud kapillaare kasutades määrati sulamistemperatuurid Büchi B-540 aparaadiga. Kõik sulamistemperatuurid on esitatud kolme mõõtmistulemuse keskmistena.

Töös kasutati 5.0 puhtusega lämmastikku.

## 2.2. Süntees

Karbasoolist lähtuv süntees uute retseptormolekulide saamiseks toimus üle mitme reaktsioonietapi.



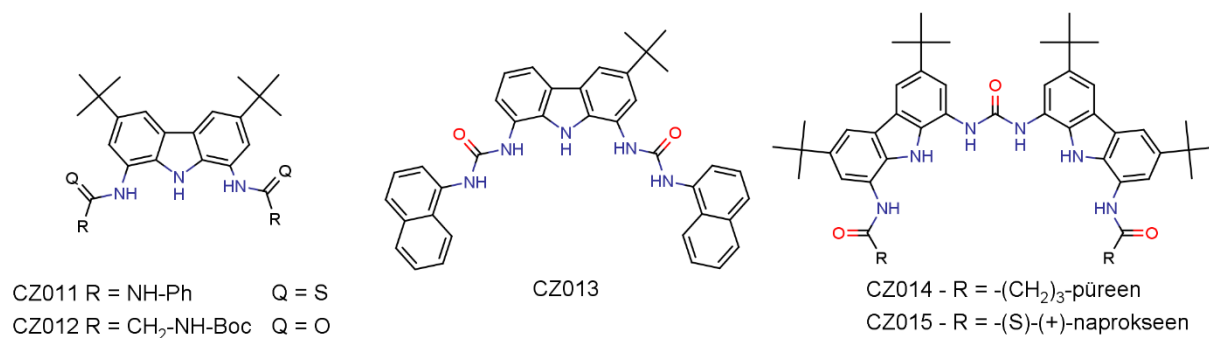
### Skeem 1. Kasutatud sünteesirada.

Kasutatud reagentid ja reaktsioonid on valitud tuginedes kirjanduse andmetele ning meie töögrupi varasemale kogemusele seda tüüpi reaktsioonidega. Esimene reaktsioon viidi läbi nagu on kirjeldatud Liu *et.al.* artikli lisades.<sup>30</sup> Järgnevalt toetatud reaktsioonietappe on kirjeldanud Sanchez *et.al.*<sup>31</sup>

Reaktsiooniskeemi läbimisel täheldati ühe tert-butüülühema eemaldumist, mida ei ole varasemalt kirjeldatud. Kõrvalühend 1,8-diamino-6-tert-butüül-9H-karbasool eraldati puhtal kujul, kuid täpselt ei selgunud, millises reaktsioonietapis – nitreerimise või redutseerimise käigus – eemaldumine toimub.

Töös sünteesiti 5 uutset retseptormolekuli CZ011–CZ015 (skeem 2). Kõigi uudsete retseptormolekulide sünteesiks rakendati ühel või teisel moel karbasoolile lisatud aminorühmi asendites 1 ja 8.

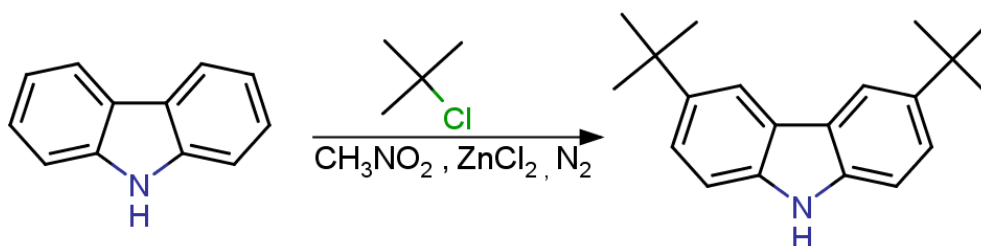
Molekul CZ011 sünteesiti aminorühmade reageerimisel fenüül-isotiotsüanaadiga ja CZ013 1-naftüülisotsüanaadiga. Molekulide CZ012, CZ014 ja CZ015 sünteesimiseks seoti karbasooli aminorühmad erinevate asendajatega peptiidside abil.



## Skeem 2. Sünteesitud retseptormolekulid.

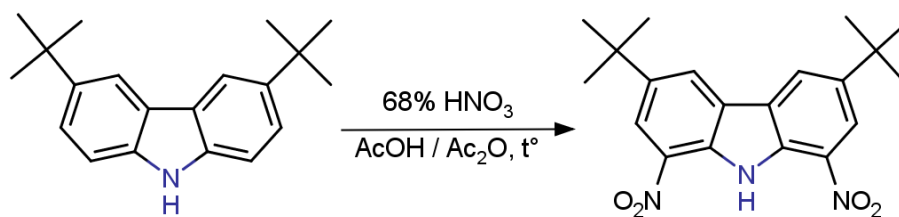
### 2.2.1. Sünteesiprotokollid

#### 3,6-di-tert-butüül-9H-karbasool



5.01 g karbasooli lahustati 150 ml nitrometaanis koos 12.24 g tsinkkloriidiga. 40 minuti vältel lisati tilkhaaval 11 ml 2-kloro-2-metüülpropani. Reaktsioonisegu hoiti toatemperatuuril üleöö N<sub>2</sub> atmosfääris. Reaktsioon peatati 500 ml MilliQ vee lisamisega ja reaktsioonisegu ekstraheeriti diklorometaaniga. Saadud ekstrakti pesti kolm korda 500 ml veega. Pärast reaktsioonisegu kokkuaurutamist rotaatoraurutiga pesti saadud produkti pentaaniga. Puhastatud produkti saadi 5.85 g (0.02 mol, 70%).

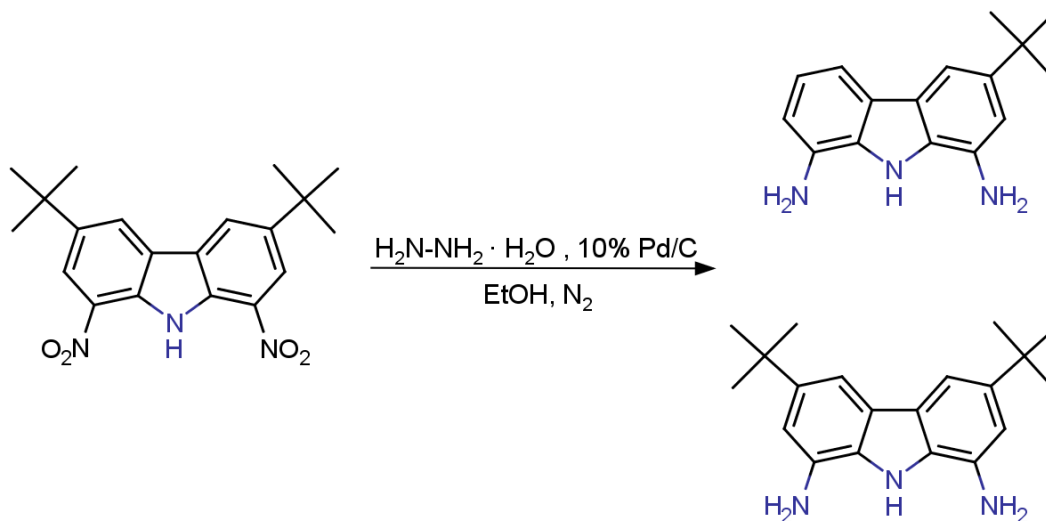
### 1,8-dinitro-3,6-di-tert-butüül-9H-karbasool



5.75 g 3,6-di-tert-butüül-9H-karbasooli lahustati 22.5 ml äädikhappe ja 16.7 ml atsetanhüdriidi segus. Lahust jahutati jäävannis. Tilkaaval lisati 12 ml 65% HNO<sub>3</sub> lahust. Lämmastikhappe lisamine toimus kolmes etapis. 1/8 summaarsest kogusest lisati, kui reaktsioonisegu oli veel jäävannis. Järgnevalt asetati reaktsioonisegu õlivanni ja kuumutati 60°C-ni ning seejärel lisati pool allesjäänud HNO<sub>3</sub> kogusest. Seejärel tõsteti temperatuur 75°C-ni ja lisati ülejäänud HNO<sub>3</sub>.

Tunni aja möödudes filtreeriti reaktsioonisegu (kuumalt) ning pesti keeva äädikhappega. Saadud neonkollast pastalaadset ainet pesti omakorda vee ja dimetüülformamiidiga. Töö tulemusel saadi 3.4 g produkti (0.01 mmol, 44%).

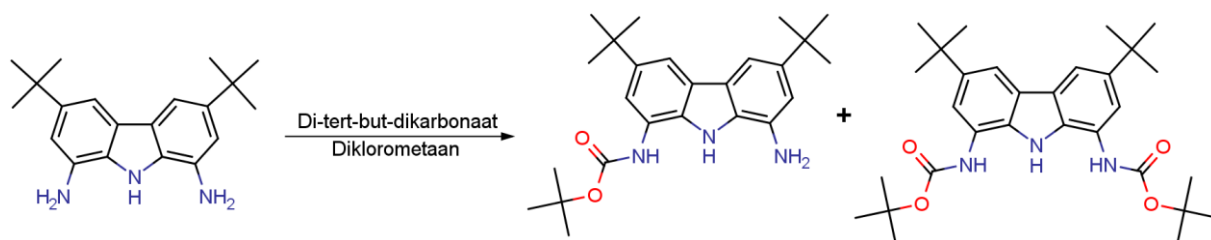
### 1,8-Diamino-3,6-di-tert-butüül-9H-karbasool; 1,8-Diamino-6-tert-butüül-9H-karbasool



Lämmastiku atmosfääris lisati 3.4 g 1,8-dinitro-3,6-di-tert-butüül-9H-karbasooli ja 0.75 g 10% Pd/C katalüsaatori segule 70 ml etanooli. Reaktsioonisegusse lisati tilkaaval 12 ml hüdrasiinhüdraati. Reaktsioonisegu keedeti püstjahutiga üleöö. Järgnevalt reaktsioonisegu filtreeriti, saadud ainesegu pesti esmalt etanooliga, seejärel metanooliga.

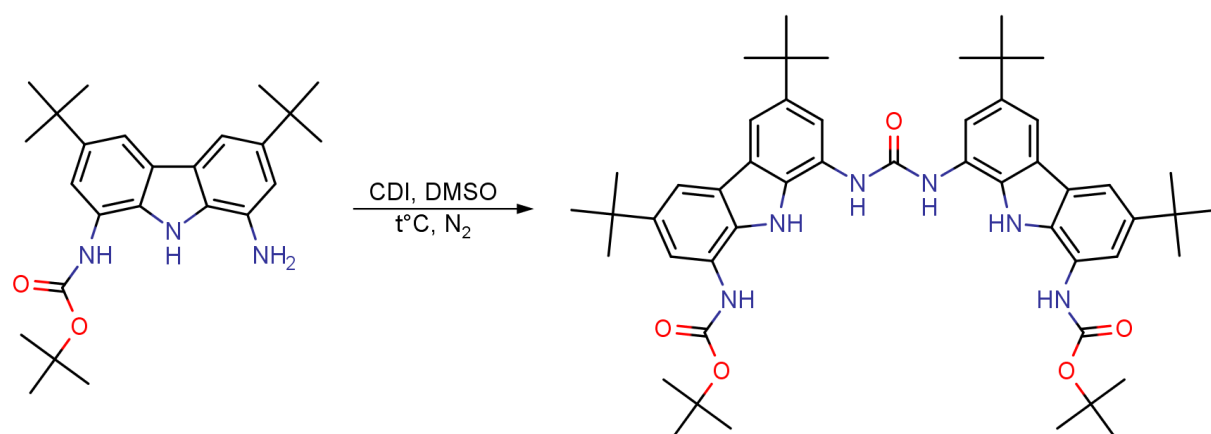
Saadud reaktsioonisegu puhastati edasi kolonnkromatograafiaga, mille tulemusel saadi kaks ainet 1,8-Diamino-3,6-di-tert-butüül-9H-karbasool ( 1.4 g, 0.004 mol) ja 1,8-Diamino-6-tert-butüül-9H-karbasool (1.0 g, 0.004 mol). Statsionaarseks faasiks oli silikageel terasuuruste vahemikuga 40-63  $\mu\text{m}$ . Kasutati gradientelueerimist alustades puhtast diklorometaanist ja lõpetades seguga 10% MeOH:DCM. Metanooli kogust eluendis kasvatati vastavalt ainete järk-järgulisele elueerumisele.

### Tert-butüül-(8-amino-3,6-di-tert-butüül-9H-karbasool-1-üül)karbamaat



3.77 g 1,8-diamino-6-tert-butüül-9H-karbasooli lahustati 150 ml diklorometaanis. 5.2 ml di-tert-butüül-dikarbonaati lahustati 50 ml diklorometaanis ja lisati tilkhaaval lahusesse. Reaktsioonisegu hoiti üleöö toatemperatuuril. Järgnevalt aurutati reaktsioonisegu kokku rotaatoraurutiga. Edasine puhastamine toimus kolonnkromatograafia meetodil, kasutades statsionaarseks faasiks silikageeli keskmise terasuurusega vahemikus 40-63  $\mu\text{m}$ . Mobiilse faasina kasutati 15% EtOAc:Heksaan segu. Kromatografeerimise tulemusel koguti 1.12 g (0.002 mol, 22.4%) puhastatud produkti.

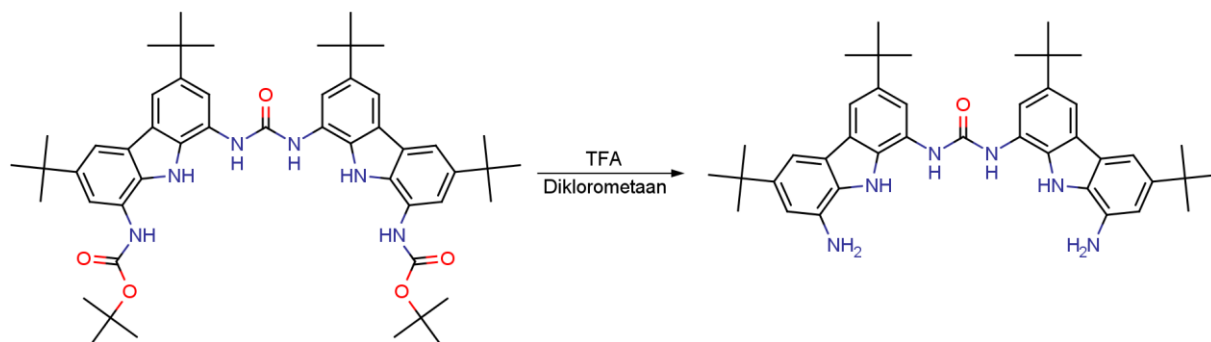
### 1,3-Bis(3,6-di-tert-butüül-8-(tert butoksükarbonüülamino)-9H-karbasool-1-üül)uurea



1.06 g tert-butüül-(8-amino-3,6-di-tert-butüül-9H-karbasool-1-üül)karbamaati kaaluti 100 ml ümarkolbi. 0.35 g 1,1-karbonüüldiimidasooli lahustati 60 ml dimetüülsulfoksiidis ja valati kolbi. Reaktsioonisegu hoiti  $\text{N}_2$  atmosfääris ja kuumutati  $65^\circ\text{C}$ -ni. Segu reageeris öö läbi, misjärel peatati reaktsioon 400 ml MilliQ vee lisamisega, jahutati toatemperatuurini ja

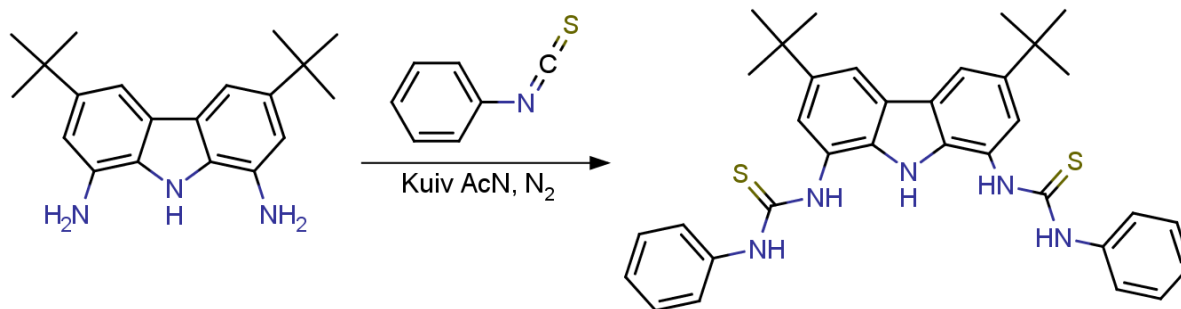
filtreeriti. Saadud ainesegu puhastati kolonnkromatograafiaga, mille statsionaarseks faasiks oli silikageel terasuuruste vahemikuga 63-200  $\mu\text{m}$ . Kasutati gradientelueerimist alustades puhtast heksaanist ja lõpetades seguga 10% EtOAc:Heksaan. Etüülatsetaadi kogust eluendis kasvatati vastavalt ainete järk-järgulisele elueerumisele. Kromatografeerimise tulemusena koguti 0.67 g (0.79 mmol, 61%) puhastatud produkti.

### 1,3-bis(8-amino-3,6-di-tert-butüül-9H-karbasool-1-üül)uurea



660 mg 1,3-Bis(3,6-di-tert-butüül-8-(tert butoksükarbonüülamino)-9H-karbasool-1-üül)uureat kaaluti 100 ml ümarkolbi ja lahustati 50 ml diklorometaanis. 3.6 ml trifluoroäädikapet lisati tilkhaaval lahusesse. Reaktsioonisegu hoiti toatemperatuuril 22 tundi. Seejärel lisati kolbi 50 ml küllastunud  $\text{NaHCO}_3$  lahust ja ekstraheeriti diklorometaaniga. Ekstrakti pesti kolm korda 100 ml MilliQ veega. Eraldatud diklorometaanis lahust kuivatati magneesiumsulfaadiga ja aurutati kokku rotaatoraurutil. Saadi 0.5 g (0.77 mmol, 99%) puhastatud produkti.

### CZ011 - 3,6-Di-tert-butüül-1,8-bis-(3-fenüül-tioureido)-9H-karbasool



108 mg 3,6-di-tert-butüül-9H-karbasooli lahustati atsetonitriilis, millele lisati 200 µl fenüülisotiotsüanaati. Reaktsiooni hoiti üleöö toatemperatuuril N<sub>2</sub> atmosfääris. Järgnevalt reaktsioonisegu filtreeriti, saadud ainesegu pesti heksaaniga ja aurutati kokku rotaatoriaurutil. Edasine puhastamine toimus kolonnkromatograafia abil. Kasutati gradientelueerimist alustades puhta heksaaniga ja lõpetades seguga 30% EtOAc:Heksaan. Etüülatsetaadi kogust eluendis kasvatati vastavalt ainete järk-järgulisele elueerumisele. Statsionaarse faasina kasutati silikageeli terasuuruste vahemikuga 40-63 µm. Produkti koguti 119 mg (0.205 mmol, 59%). St: 141 °C.

<sup>1</sup>H NMR (700.1 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, +25 °C) δ: 10.30 (*bs*, karb. NH, 1H), 9.88 (*bs*, NH, 2H), 9.74 (*bs*, NH, 2H), 8.02 (*d*, 2H), 7.55-7.45 (*m*, 6H), 7.35-7.27 (*m*, 4H), 7.11-7.06 (*m*, 2H) ja 1.38 (*s*, 18H) ppm.

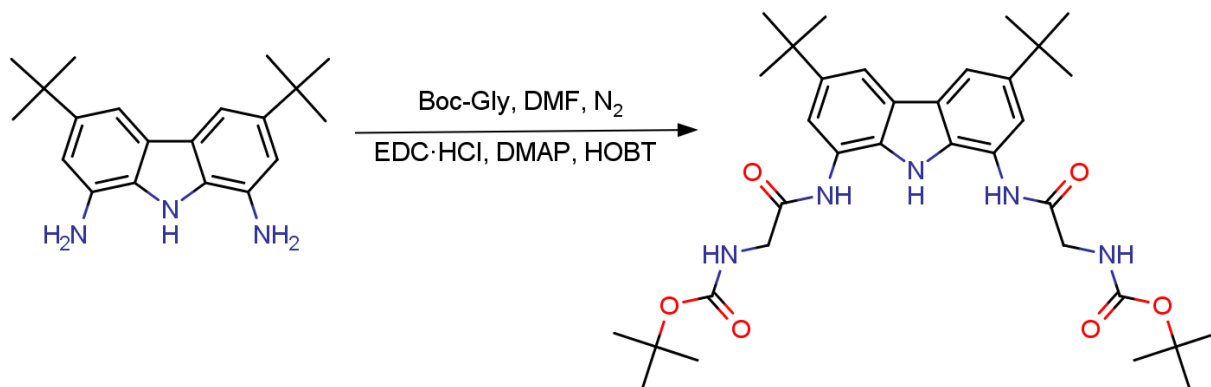
<sup>13</sup>C NMR (176.0 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, +25 °C) δ: 180.2, 142.0, 140.0, 133.4, 128.8, 125.0, 124.8, 123.2, 120.9, 114.3, 34.9 ja 32.2 ppm.

IR (ATR-FT-IRS)  $\tilde{\nu}$ : 3200, 2952, 2922, 2852, 1594, 1524, 1495, 1230, 1199 ja 690 cm<sup>-1</sup>.

ESI FT-ICR (*m/z*): 578.24176 arvutatud [C<sub>34</sub>H<sub>36</sub>N<sub>5</sub>S<sub>2</sub>]<sup>-1</sup> jaoks. Määratud (*m/z*): 578.24184.

Lahusti – AcN.

## CZ012 - 3,6-Di-tert-butüül-1,8-bis-(2-tert-butüüloksükarbonüül-aminoatsetüül)-9H-karbasool



100 mg 1-8-diamino-3,6-di-tert-butüül-9H-karbasooli lahustati kuues milliliitris kuivatatud DMF-is. Lahusesse lisati 100 mg DMAP-i, 157 mg EDC·HCl-i ja 92 mg HOBT-i. Reagendina lisati 119 mg Boc-kaitstud glütsiini. Reaktsioonisegu hoiti üleöö toatemperatuuril ja N<sub>2</sub> atmosfääri all. Järgnevalt peatati reaktsioon 10-15 ml MilliQ vee lisamisega ja segu filtreeriti. Saadud ainesegu pesti veega. Koguti 135 mg reaktsioonisegu, mille edasine puhastamine toimus kolonnkromatograafiaga, mille statsionaarseks faasiks oli silikageel terasuuruste vahemikuga 40-63 µm. Eluendina kasutati THF:Heksaan segu, milles THF sisaldust suurendati järk-järgult vastavalt kromatografeerimise kulgemisele ruumalavahemikus 0-25%. Saadi üks puhas ühend (punane õlilaadne aine) ja üks ainesegu. Saadud ainete analüüsimisel TMR <sup>1</sup>H spektrite abil selgus, et sünteesiprodukt on kromatografeerimise tulemusel ulatuslikult lagunened. Kogutud ainesegust suudeti preparatiivse planaarkromatograafia meetodil eraldada väike kogus puhas soovitud ainet.

<sup>1</sup>H NMR (700.1 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, +25 °C) δ: 10.00 (bs, NH, 3H), 7.96 (s, ArH, 2H), 7.66 (s, ArH, 2H), 7.08 (t, NH, 2H), 3.90 (s, CH<sub>2</sub>, 4H), 1.415 (s, CH<sub>3</sub>, 18H) ja 1.38 (s, CH<sub>3</sub>, 18H) ppm.

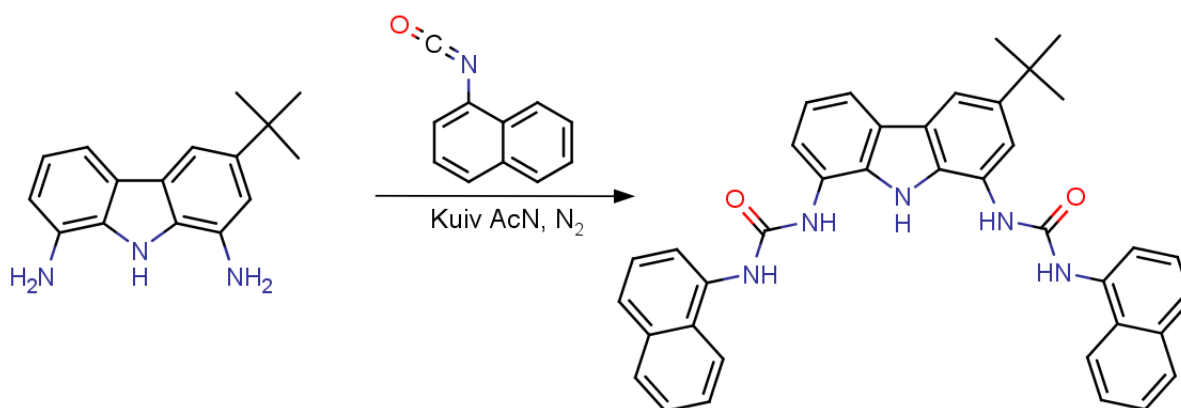
<sup>13</sup>C NMR (176.0 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, +25 °C) δ: 168.80, 156.31, 142.02, 131.09, 124.67, 122.43, 117.39, 113.25, 78.55, 44.09, 34.87, 32.24 ja 28.65 ppm.

IR (ATR-FT-IRS)  $\tilde{\nu}$ : 3300, 2963, 2906, 2833, 1677, 1493, 1392, 1162, 861, 651 cm<sup>-1</sup>.

ESI FT-ICR (*m/z*): 658.33769 arvutatud [C<sub>34</sub>H<sub>49</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>Cl]<sup>-1</sup> jaoks. Määratud (*m/z*): 658.33789.

Lahusti – MeOH.

### CZ013 - 6-tert-butüül-1,8-bis-(3-naftaleen-1-üül-ureido)-9H-karbasool



107.5 mg 1,8-diamino-6-tert-butüül-9H-karbasooli lahustati 10 ml kuivas atsetonitriilis N<sub>2</sub> atmosfääris. Reaktsioonisegule lisati tilkhaaval 0.2 ml 1-naftüül-isotsüanaati. Reagendi lisamisel tekkis kohe tumehall sade. Umbes 15 minuti möödudes hakkas sade heledamaks muutuma. Reaktsioonisegu hoiti N<sub>2</sub> atmosfääris üleöö. Reaktsioonisegu filtreeriti ja pesti metanooliga. Produkti aurutati kokku rotaatoraurutil. Koguti 200 mg puhastatud tumehalli tahkist (0.84 mmol, 84.5%). St: 261 °C.

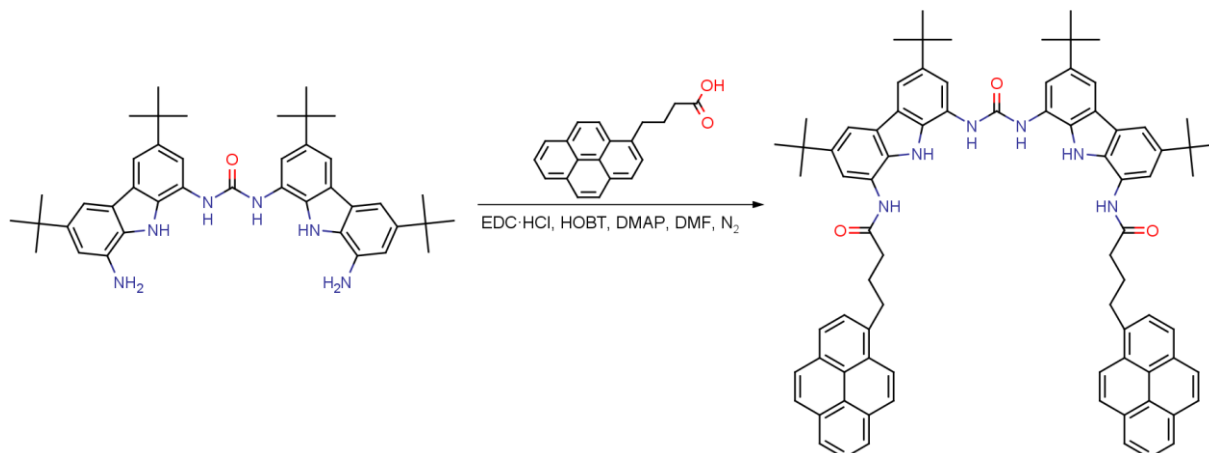
<sup>1</sup>H NMR (700.1 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, +25 °C) δ: 10.53 (*bs*, karb. NH, 1H), 8.98 (*bs*, NH, 1H), 8.99 (*bs*, NH, 1H), 8.94 (*bs*, NH, 1H), 8.78 (*bs*, NH, 1H), 8.38 (*s*, 1H), 8.25-8.10 (*m*, 5H), 7.95-7.94 (*m*, 2H), 7.84 (*s*, 1H), 7.63-7.34 (*m*, 9H), 7.33 (*d*, 1H), 2.07 (*s*, 2H) ja 1.42 (*s*, 9H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (176.0 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, +25 °C) δ: 154.0, 153.8, 141.8, 136.6, 135.1, 135.0, 134.2, 132.6, 131.8, 128.9, 126.44, 126.34, 126.34, 126.33, 126.29, 125.25, 126.11, 126.06, 124.2, 123.5, 123.3, 123.1, 123.0, 121.9, 121.8, 118.9, 118.5, 118.2, 117.3, 112.3, 112.0, 110.6, 34.8 ja 32.3 ppm.

IR (ATR-FT-IRS)  $\tilde{\nu}$ : 3290, 3049, 2954, 2863, 1644, 1543, 1494, 1395, 1222 ja 765 cm<sup>-1</sup>.

MALDI FT-ICR (*m/z*): 614.25265 arvutatud [C<sub>38</sub>H<sub>33</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>Na]<sup>+1</sup> jaoks. Määratud (*m/z*): 614.25204. Lahusti – DMSO.

## CZ014 - 1,3-bis(8-(4-(1-püreenüül)butaanamido)-3,6-di-tert-butüül-9H-karbasool-1-üül)uurea



50 ml ümarkolbi kaaluti 70 mg 1,3-bis(8-amino-3,6-di-tert-butüül-9H-karbasool-1-üül)uureat koos 65.2 mg EDC·HCl-i, 64.4 mg DMAP-i ja 46.1 mg HOBT-i. Komponendid lahustati 7 ml kuivatatud dimetüülformamiidis ja lisati 75.7 mg 1-püreenbutaanhapet. Reaktsioonisegu hoiti N<sub>2</sub> atmosfääris toatemperatuuril kaks ööpäeva, misjärel reaktsioon peatati MilliQ vee ja NaHCO<sub>3</sub> küllastunud lahuse lisamisega. Ümarkolvi sisu viidi kvantitatiivselt üle 300 ml Erlenmeyeri kolbi. Lahusele lisati MilliQ vett kuni 200 ml märgini ja segati pool tundi. Järgnevalt reaktsioonisegu filtreeriti ja pesti vee ning metanooliga. Saadud puhastatud produkt kuivatati rotaatoraurutiga. Koguti 75 mg produkti (0.063 mmol, 58%). St: 194-208 °C.

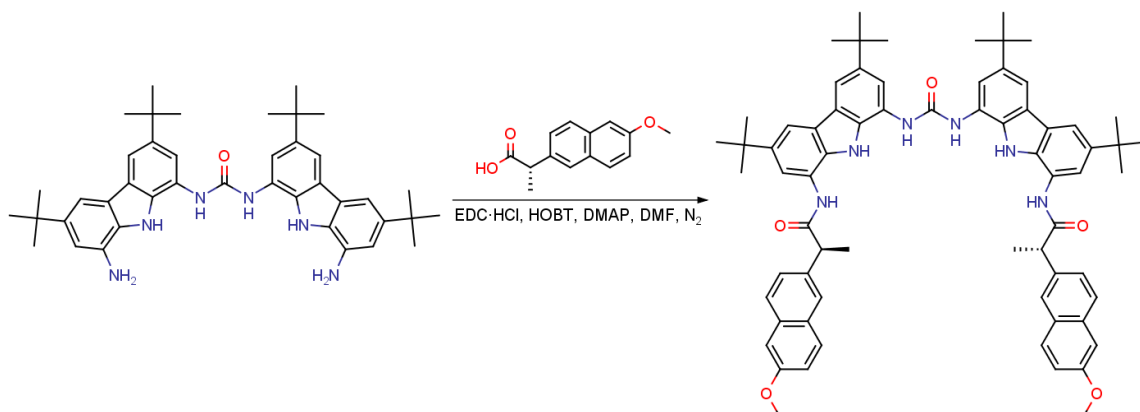
<sup>1</sup>H NMR (700.1 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, +25 °C) δ: 10.12 (*bs*, karb. NH, 2H), 9.92 (*bs*, NH, 2H), 8.78 (*bs*, NH, 2H), 8.29 (d, 2H), 8.19 (d, 2H), 8.14 (d, 2H), 8.11-7.81 (m, 14H), 7.72-7.69 (m, 2H), 7.51-7.49 (m, 2H), 3.36-3.32 (m, 4H), 2.18-2.14 (m, 4H), 1.40 (s, 18H) ja 1.37 (s, 18H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (176.0 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, +25 °C) δ: 171.0, 153.6, 141.7, 141.5, 136.1, 131.0, 130.7, 130.5, 130.2, 129.1, 128.01, 127.3, 127.2, 127.0, 126.3, 125.9, 124.7, 124.5, 124.3, 124.1, 124.0, 123.2, 122.9, 122.5, 116.2, 112.4, 35.5, 34.3, 34.2, 31.9, 31.7, 31.66 ja 27.1 ppm.

IR (ATR-FT-IRS)  $\tilde{\nu}$ : 3304, 3041, 2951, 2920, 2850, 1648, 1559, 1435, 1232, 840 ja 632 cm<sup>-1</sup>.

MALDI FT-ICR (*m/z*): 1207.61841 arvutatud [C<sub>81</sub>H<sub>80</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>Na]<sup>+1</sup> jaoks. Määratud (*m/z*): 1207.61768. Lahusti – DMSO.

## CZ015 - 1,3-bis(8-(2-(6-metoksünaftaleen-2-üül)propaanamido)-3,6-di-tert-butüül-9H-karbasool-1-üül)uurea



10 ml ümarkolbi kaaluti 50 mg 1,3-bis(8-amino-3,6-di-tert-butüül-9H-karbasool-1-üül)uureat koos 74.8 mg EDC·HCl-iga ja 51.6 mg HOBT-iga. Komponendid lahustati 7 ml kuivatatud dimetüülformamiidis. Lahusele lisati 55 µl N,N-diisopropüületüülamiini ja 45 mg naprokseeni ((S)-(+)-6-metoksü-α-metüül-2-naftaleenäädikhape). Reaktsioonisegu hoiti N<sub>2</sub> atmosfääris kolm ööpäeva, pärast mida reaktsioon peatati 250 ml MilliQ vee lisamisega. Lahust ekstraheeriti dietüüleetri. Kogutud orgaaniline kiht kuivatati magneesiumsulfaadiga. Ekstraktist eemaldati lahusti rotaatoraurutiga. Saadud ainesegu edasine puhastamine toimus kolonnkromatograafia abil. Statsionaarse faasina kasutati silikageeli terasuuruste vahemikuga 40-63 µm. Kasutati gradientelueerimist alustades puhtast diklorometaanist ja lõpetades seguga 1.3% MeOH:DCM. Metanooli kogust eluendis kasvatati vastavalt ainete järk-järgulisele elueerumisele. Koguti kaks puhastatud produkti – reaktsiooni põhiprodukt (40.7 mg, 0.038 mmol, 48%) ja monoasendatud vaheühend (27.0 mg). St: ühend laguneb kuumutamisel üle 260 °C.

<sup>1</sup>H NMR (700.1 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, +25 °C) δ: 10.22 (*bs*, NH, 2H), 10.12 (*bs*, NH, 1H), 10.09 (*bs*, NH, 1H), 9.00 (*bs*, NH, 2H), 7.97-7.96 (*m*, 4H), 7.73-7.71 (*m*, 2H), 7.67 (*m*, 2H), 7.62 (*d*, 1H), 7.57-7.56 (*m*, 2H), 7.54-7.50 (*m*, 3H), 7.45-7.42 (*m*, 2H), 7.01-6.95 (*m*, 4H), 4.04-4.01 (*m*, 2H), 3.72 (*s*, 3H), 3.71 (*s*, 3H), 1.42 (*s*, 18H) ja 1.36 (*s*, 18H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (176.0 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, +25 °C) δ: 173.0, 157.3, 154.2, 142.4, 142.1, 137.4, 133.5, 131.7, 131.0, 129.5, 128.7, 127.2, 126.7, 125.8, 125.1, 125.1, 123.5, 122.9, 118.9, 117.1, 116.6, 116.5, 113.3, 112.6, 110.7, 105.9, 105.9, 55.4, 46.1, 34.9, 32.3, 32.2 ja 19.3 ppm.

IR (ATR-FT-IRS)  $\tilde{\nu}$ : 3301, 3060, 2952, 2922, 2851, 1634, 1605, 1550, 1491, 1230, 1157, 1033, 851, 807 ja 652 cm<sup>-1</sup>.

MALDI FT-ICR (*m/z*): 1091.57694 arvutatud [C<sub>69</sub>H<sub>76</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>Na]<sup>+1</sup> jaoks. Määratud (*m/z*): 1091.57618. Lahusti – MeOH.

### 2.3. Afiinsusmõõtmised

Töö raames uuriti kolme aniooni – atsetaat, bensoaat, laktaat – afiinsusi peremeesmolekulide suhtes. Nimetatud anioonid valiti eesmärgiga laiendada juba olemasolevaid afiinsuste skaalaid.<sup>19</sup> Arvestati anioonide suurusi, et need mahuks 1:1 stöhhiomeetriselises vahekorras retseptormolekulide seostumisasukohtadesse. Mõõdeti suhtelisi afiinsuskonstante TMR meetodiga ja loodi iga aniooni jaoks seondumisskaala.<sup>28</sup>

Iga mõõtmiseeria jaoks valiti vähemalt kolm peremeesmolekuli, mis võimaldas saada ühes seerias kolm  $\Delta \log K_{af}$  väärtust. Kõik ained ja anioonid lahustati DMSO- $d_6$  solventis, kuhu oli lisatud 0.5% vett. Vee lisamine on vajalik, et tagada vee reprodutseeritav sisaldus DMSO keskkonnas. DMSO on hügrokoopne ja imab kuivana kergesti õhuniiskust. Kui veesisaldus on madal, siis lahusti omadused on veesisalduse muutuste suhtes tundlikud. Kirjeldatud probleem võib mõjutada mõõtmistulemuste reprodutseeritavust, sest erinevatel päevadel võib veesisaldus erineda. Lisades 0.5% vett tagatakse, et õhuniiskusest tingitud muutused ei mõjuta märkimisväärselt mõõtmistulemusi.<sup>32</sup>

Afiinsusmõõtmiste jaoks kaaluti mõned milligrammid uuritavaid aineid TMR-i tuubi ja lisati solvent. Retseptormolekulide lahus sonifitseeriti tagamaks parem lahustumine. Anioonide tetrabutüülammooniumsooladest valmistati töölahused viaalidesse ja suleti pealt lahtiste septumit sisaldavate korkidega. Lahuseid võeti läbi septumi automaatsüstlaga. Iga aniooni lahus valmistati kahes kontsentratsioonis – lahja (0.17 M – 0.44 M) ja kontsentreeritud (0.65 M – 1.41 M). Esimest lahust kasutati tiitrimise esimeses etapis, kus komplekseerumise ulatus oli väike. Kontsentreeritud lahust kasutati tiitrimise lõpu lähenedes, kus  $^1H$  spektris  $\delta$  muutuse jaoks oli vaja lisada rohkem aniooni.

Enne tiitrimise algust määrati TMR spektrite põhjal molekulide seondumisasukohad. Tiitrimise käigus lisati automaatsüstlaga TMR-i tuubi vähehaaval uuritava aniooni lahust, mille tulemusena hakkasid seostumisasukohtade keemilised nihked muutuma. Olukorras, kus tiitrimise käigus lahus hakkas aniooniga küllastuma, pidi iga järgneva süstiga lisama järjest rohkem aniooni. Lõpp-punktiks loeti olukord, kus väga suure koguse aniooni lisamisel keemilised nihked praktiliselt enam ei muutunud.

## 2.4. Arvutusmeetod

Afiinsuskonstantide arvutamiseks kasutati meetodit, mida kirjeldasid Kadam *et al.*<sup>28</sup>

Suhtelise afiinsuskonstandi leidmiseks kasutatakse valemite (4). Komplekseerumise ulatust hinnatakse <sup>1</sup>H TMR spektri abil, kus erinevaid retseptormolekule mõõdetakse üksteise vastu. Esmalt leitakse retseptormolekuli seostumistsentri vesinikuaatomi keemiline nihe tiitrimise alguses (enne aniooni lisamist)  $\delta_H$ . Tiitrimise lõpus, mil praktiliselt kõik lahuses olevad retseptormolekulid on seondunud, seostumistsentri vesinikuaatomi keemiline nihe praktiliselt enam ei muutu. Seda lõppväärtust tähistatakse  $\delta_{HG}$ . Kasutades seostumise hetkväärtust  $\delta$  leitakse komplekseerumise ulatus (komplekseerunud retseptormolekulide hulga ja retseptormolekulide koguhulga suhe) igas tiitrimispunktis valemiga (3).

$$\alpha = \frac{(\delta - \delta_H)}{(\delta_{HG} - \delta_H)} \quad (3)$$

Mõlema retseptori  $\alpha$  väärtuste alusel saab arvutada suhtelise afiinsuskonstandi valemiga (4).

$$\Delta \log K_{af} = \frac{\alpha_1(1 - \alpha_2)}{(1 - \alpha_1)\alpha_2} \quad (4)$$

Leitud  $\Delta \log K_{af}$  väljendab suhtelist afiinsuskonstandi väärtust igas tiitrimispunktis eraldi. Lõplik suhteline afiinsuskonstant arvutatakse keskmistades  $\Delta \log K_{af}$  väärtused 10-90% komplekseerumise ulatuses. Tulemuste usaldusväärsust hinnatakse leides individuaalsete  $\Delta \log K_{af}$  väärtuste standardhälbed.

Absoluutse afiinsuskonstandi  $\log K_{af}$  leidmiseks kasutatakse vähimruutude meetodit. Igale uuritavale retseptormolekulile määratakse umbkaudne  $\log K_{af}$  väärtus, mis ennustatakse mõõtmistulemustest. Ruutude summa leitakse mõõdetud  $\Delta \log K_{af}$  ja määratud  $\log K_{af}$  erinevustest valemiga (5),

$$SS = \sum_{i=1}^{n_m} \left( \Delta \log K_{af} - [\log K_{af}(A) - \log K_{af}(B)] \right)^2 \quad (5)$$

kus (A) ja (B) on retseptormolekulid, mille vastu  $\Delta \log K_{af}$  mõõdeti.<sup>33</sup> Saadud SS väärtust minimeeritakse, muutes määratud  $\log K_{af}$  väärtusi. Väärtuste arvutamisel ankurdatakse leitavad väärtused mõne varasemalt teadaoleva retseptormolekuli  $\log K_{af}$  väärtuse külge.  $\Delta \log K_{af}$  ja  $\log K_{af}$  väärtuste kooskõlalisuse hindamiseks leitakse kooskõlastusparameeter  $s$  valemiga (6),

$$s = \sqrt{\frac{SS}{n_m - n_c}} \quad (6)$$

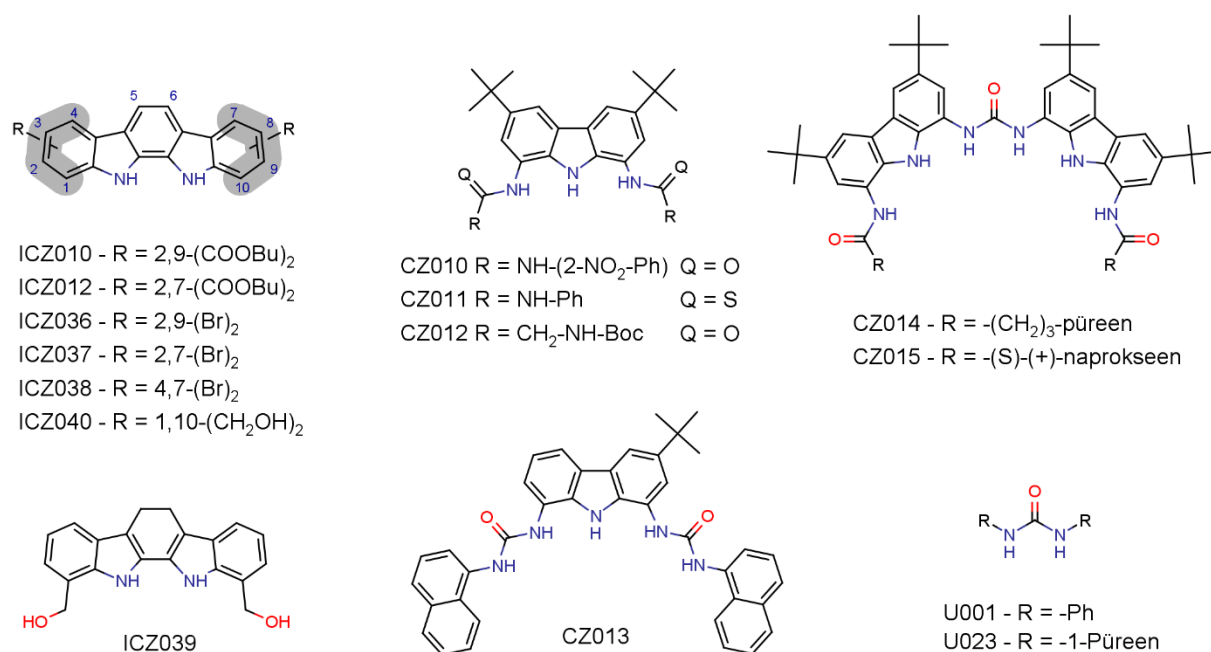
kus  $n_m$  on  $\Delta \log K_{af}$  väärtuste arv ja  $n_c$  on  $\log K_{af}$  väärtuste arv.<sup>33</sup>

### 3. Tulemused

#### 3.1. Uuritud ühendid

Töö tulemusena õnnestus kõik soovitud retseptorid (CZ011-CZ015) sünteesida ja mõõtmisteks piisava puhtusastmeni puhastada. Sünteesitud ainete struktuurid tõestati TMR ja kõrglahutusega massispektromeetria abil.

Afiinsusmõõtmistes uuriti kokku 15 retseptormolekuli, mis on esitatud Skeemil 3. Iga aniooni seondumisskaala jaoks määrati 27  $\Delta\log K_{af}$  väärtust.



**Skeem 3.** Uuritud retseptormolekulid.

#### 3.2. Anioonide seostumisskaalad

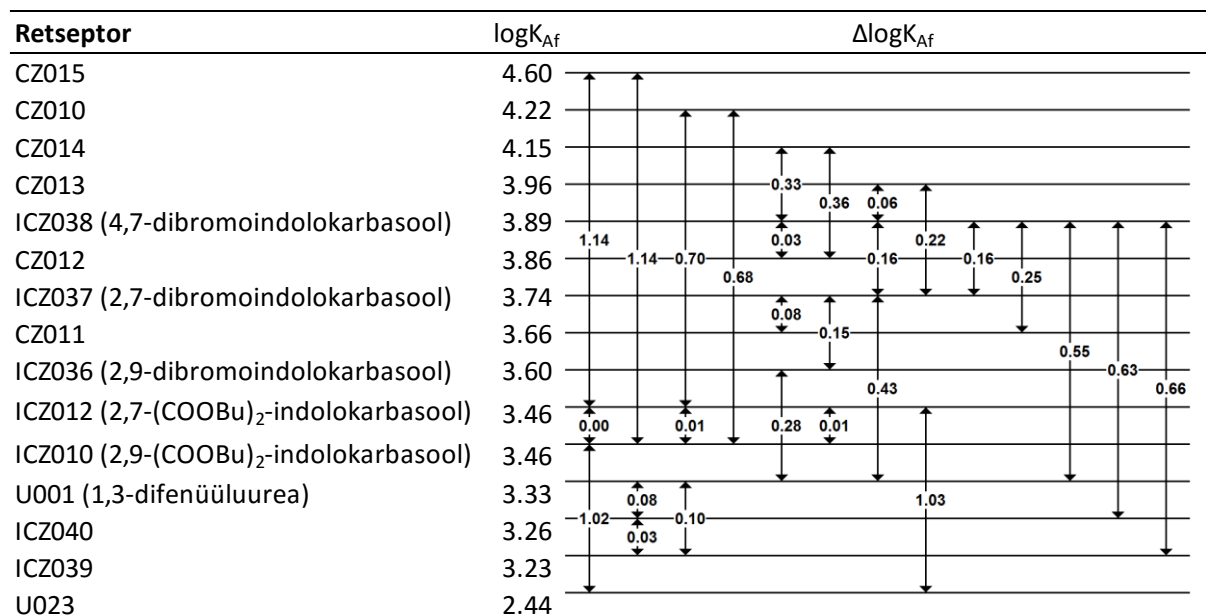
Määratud  $\Delta\log K_{af}$  väärtused ulatusid üle kahe suurusjärgu. Arvutatud tulemused ankurdati difenüüluurea (U001) absoluutsete seondumiskonstantide külge, mille väärtused erinevate anioonide jaoks võeti kirjandusest.<sup>19</sup>

Afiinsuskonstandid karboksülaatanioonide jaoks				
#	Retseptor	Atsetaat	Bensoaat	Laktaat
1	CZ015	4.60	4.42	3.59
2	CZ010	4.22	4.10	2.73
3	CZ014	4.15	4.19	3.16
4	CZ013	3.96	3.41	2.61
5	ICZ038 (4,7-dibromindolokarbasool)	3.89	3.24	2.61
6	CZ012	3.86	3.25	2.45
7	ICZ037 (2,7-dibromindolokarbasool)	3.74	3.10	2.48
8	CZ011	3.66	3.14	2.46
9	ICZ036 (2,9-dibromindolokarbasool)	3.60	2.95	2.48
10	ICZ012 (2,7-(COOBu) <sub>2</sub> -indolokarbasool)	3.46	3.33	2.63
11	ICZ010 (2,9-(COOBu) <sub>2</sub> -indolokarbasool)	3.46	3.33	2.66
12	U001 (1,3-difenüüluurea)	3.33	2.82	2.27
13	ICZ040	3.26	2.71	1.99
14	ICZ039	3.23	2.66	1.95
15	U023	2.44	2.52	1.92

**Tabel 1.** Afiinsuskonstandid karboksülaatanioonide jaoks DMSO-d<sub>6</sub>/H<sub>2</sub>O (99.5%:0.5% m/m) solvendis.

### 3.1.1. Atsetaadi seostumiskaala

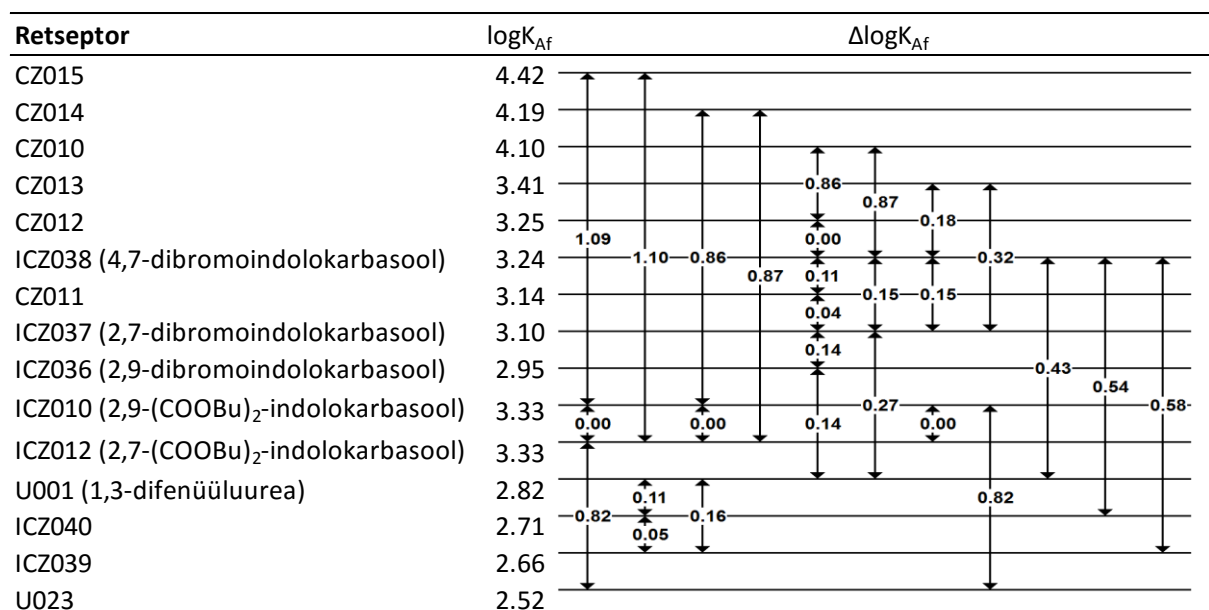
Uuritud retseptormolekulid seostusid kõige paremini atsetaadiga. Koostatud skaala ulatus on 2.16 logK<sub>af</sub> ühikut ja kooskõlastusparameeter on 0.010 logK<sub>af</sub> ühikut.



**Joonis 1.** Retseptormolekulide afiinsused atsetaadi suhtes DMSO-d<sub>6</sub>/H<sub>2</sub>O (99.5%:0.5% m/m) solvendis.

### 3.1.2. Bensoadi seostumiskaala

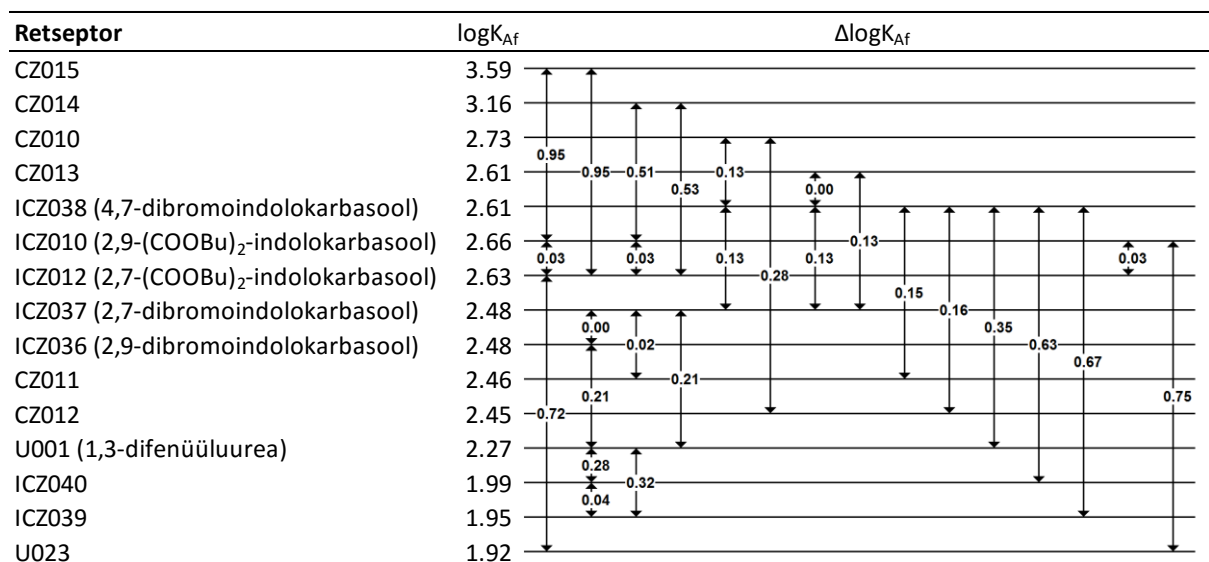
Skaala ulatus on  $1.90 \log K_{af}$  ühikut ja kooskõlastusparameeter on  $0.004 \log K_{af}$  ühikut.



**Joonis 2.** Retseptormolekulide afiinsused bensoadi suhtes DMSO-d<sub>6</sub>/H<sub>2</sub>O (99.5%:0.5% m/m) solvendis.

### 3.1.3. Laktaadi seostumiskaala

Skaala ulatus on  $1.68 \log K_{af}$  ühikut ja kooskõlastusparameeter on  $0.006 \log K_{af}$  ühikut.



**Joonis 3.** Retseptormolekulide afiinsused laktaadi suhtes DMSO-d<sub>6</sub>/H<sub>2</sub>O (99.5%:0.5% m/m) solvendis.

## 4. Tulemuste arutelu

### 4.1. Läbitud sünteesirada

Keerukamate retseptormolekulide süntees karbasoolist on mitmeetapiline protsess (Skeem 1). Mõnede etappide madalate saagiste tõttu tuleb alustada suurte ainekogustega. Kõrvalreaktsioonide tulemusena tekivad tihti oodatud saadusega struktuurselt sarnased ained (planaarkromatograafia  $\Delta R_f < 0.1$ ). Sellistest reaktsioonisegudest vajaliku saaduse eraldamiseks on tihti ainus võimalus kolonnkromatograafia. Sünteesiraja esimeses pooles on see mahukas töö, kuna lahutatavad ainekogused on mitmetes grammides.

Suureks väljakutseks karbasooli derivaatide valmistamisel on nende madal lahustuvus enamikus lahustites. Molekulide koosseisus olevad pikad alküülrühmad ja aromaatsed tuumad, kõrvuti kõrge polaarsusega rühmadega, piiravad sobilike lahustite valikut. Seetõttu osutub reaktsioonisegude puhastamine ja analüüsimine sageli keeruliseks.

Teiseks oluliseks probleemiks on reaktsioonikeskkonna niiskustundlikkus. Käesolevas töös seotakse 1,8-diamino-3,6-di(tert-butüül)karbasooli molekuli aminorühmade külge erinevad uurea, tiourea ja amiidsed fragmendid. Kõik selleks kasutatavad reaktsioonid on niiskustundlikud ja eeldavad põhjalikku tööd solvendi kuivatamisel. Reaktsioonid tuleb läbi viia intertgaasi atmosfääris, et vähendada õhuniiskuse mõju. Amiidse fragmendi sisseviimiseks (ained CZ012, CZ014 ja CZ015) vajavad vastavad reaktsioonid toatemperatuuril kulgemiseks katalüsaatorit ja/või aktiveerivaid reagente.<sup>34</sup> Isegi viimaste manulusel on reaktsioonid aeglased ja eeldavad veevaba reaktsioonikeskkonda.

Retseptormolekulide CZ012, CZ014 ja CZ015 valmistamisel kasutati peptiidsideme sünteesiks mitmeid katalüsaatoreid, millest mõningate eemaldamine reaktsioonisegust on keeruline ja nõuab mõnel juhul kolonnkromatograafiat.

CZ015 sünteesiti kahel erineval meetodil. Neist esimesel juhul kasutati katalüsaatorite seas DMAP-i, teisel juhul DIPEA-d. Mõlema katalüsaatori kasutamisel oli produkti tekkimine pärsitud. Reaktsioonisegusse jäi osaliselt alles monoasendatud vaheühend, milles vaid üks aminorühm oli reageerinud. DIPEA kasutamine DMAP-i asemel vähendas reaktsiooniks vajalikku aega ning monoasendatud vaheühendit jäi reaktsioonisegusse vähemal määral.

Eelpool mainitud raskused ületati ja sünteesiti vajalikud retseptorid vähemalt rahuldavate saagistega. Seetõttu saab kasutatud sünteesiraja pidada selliste retseptorite sünteesi jaoks sobivaks.

#### *4.2. Seosed retseptormolekulide struktuuri ja afiinsuste vahel*

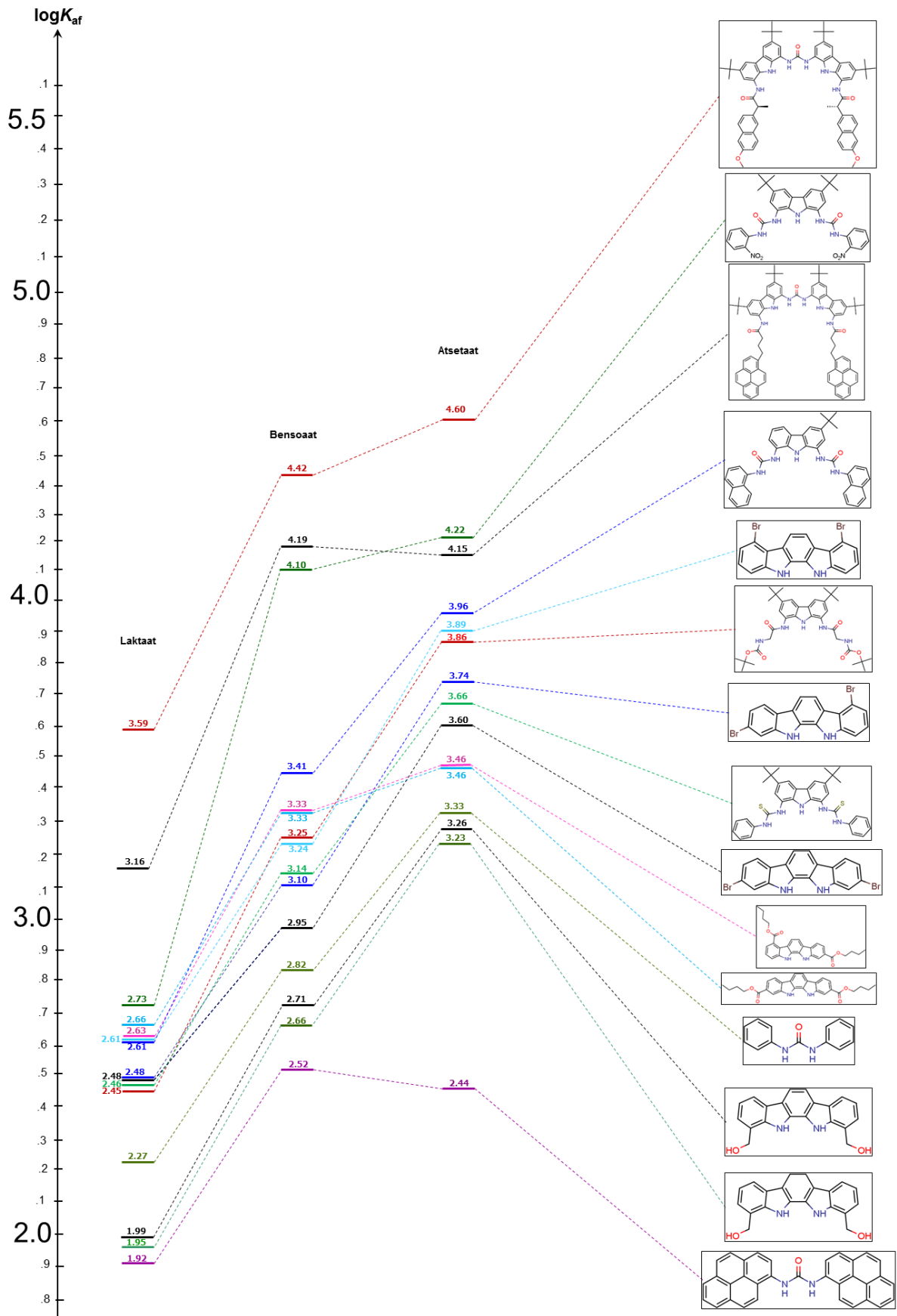
**Retseptori selgroog.** Retseptorite seondumisafiinsuste mõõtmiste tulemustest selgus, et uuritud retseptoritest annavad karboksülaatioonide suhtes kõige madalamaid afiinsusi lihtsad uurea tüüpi retseptormolekulid. Indolokarbasoolil põhinevate lihtsa struktuuriga retseptorite afiinsused olid kõrgemad. Neist parim, ICZ038, konkureeris mõningate karbasoolil põhinevate hübriidretseptoritega.

Karbasoolil põhinevad hübriidretseptorid näitasid karboksülaatioonide suhtes häid afiinsusi (vt Tabel 1). Selle põhjusteks saab lugeda täiendavaid vesiniksidemeid andvate fragmentide lisandumist ja nende sobivat ruumilist paiknemist.

Kahe karbasooli molekuli sidumisel bis-karbasooli tüüpi hübriidretseptoriks (CZ014 ja CZ015) saavutati veelgi paremaid tulemusi (vt Tabel 1). Selline keerukas struktuur tõi aga kaasa olukorra, kus anioonide kõrgetel kontsentratsioonidel hakkasid retseptorid järjestikku siduma kahte aniooni (seondumine 2:1 stöhhiomeetriselises vahekorras). Seda demonstreerivad <sup>1</sup>H spektrid, kust on näha täiendavat „lainet“, mis vastab teise aniooni seondumisele.

**Retseptormolekulide selektiivsus.** Uuritud retseptormolekulide afiinsus karboksülaatide suhtes kasvab eeskätt nende aluseliseuse kasvades: laktaat < bensoaat < atsetaat. Erineva selektiivsuse saavutamiseks peab aniooni ja retseptori vahel kasutama täiendavaid vastasmõjusid, näiteks solvofoobset vastasmõju. Selline olukord esineb retseptorite U023 ja CZ014 korral, kus asendusrühmades on kasutatud püreenituuma. Nende retseptorite puhul on vähenenud afiinsus võrreldes neile sarnaste retseptoritega (näiteks U001 ja CZ015), kuid suurenenud on selektiivsus bensoaadi suhtes. Püreeni ja bensoaadi aromaatsete tuumade vahel võivad esineda täiendavad  $\pi$ - $\pi$  interaktsioonid, andes aluse paremale selektiivsusele. Olukord, kus retseptori afiinsus bensoaadi suhtes on kõrgem kui atsetaadi suhtes, on ebatavaline, kuna seondumisafiinsus üldjuhul suureneb anioonide aluseliseuse kasvades. Käesolevad tulemused viitavad, et retseptorite U023 ja CZ014 korral võib see nii olla, aga usaldusväärse tulemuse saamiseks tuleks seda veel täiendavalt uurida.

Uuritud anioonidest seondus laktaat retseptoritega kõige madalama afiinsusega. Laktaatioon oli uuritud anioonidest kõige madalama aluseliseusega ja kõige hüdrofiilsem.



Joonis 4. Uuritud retseptormolekulide afiinsusomadused eri anioonide suhtes.

**Asendusrühmade mõju.** Mõõtmistulemused näitavad, et bromorühma lisamine indolokarbasoolile suurendab seondumisafiinsust. Varasemalt on meie töörühmas mõõdetud kloro-asendatud indolokarbasooli seondumist anioonidega.<sup>19</sup> Bromo-asendatud indolokarbasool on kõrgema afiinsusega, kui kloro-asendatud indolokarbasool. On võimalik, et halogeeni elektronegatiivsuse vähenemisega võib kasvada afiinsus. Kehtib seos, et halogeeni paiknemine asendites 4 ja 7 suurendab afiinsust rohkem kui asendites 2 ja 9.<sup>27</sup> Nitrorühma kasutamine asendusrühmas suurendab retseptormolekuli afiinsust anioonide suhtes. Karbasooli retseptoritest näitab parimat seondumist anioonidega retseptor CZ010.

Nitro- kui ka bromorühmade lisamine muudab vesiniksidemeid andvad uurea fragmendid happelisemaks ja seeläbi kasvatab ka nende vesiniksideme-donoorsust.<sup>35</sup>

Saadud tulemused on kooskõlas varasemate eksperimentidega, kinnitades mõõtmismeetodi head reprodutseeritavust.<sup>19</sup>

## Kokkuvõte

Uudsete karbasooli ja urea (või tiourea) fragmentidest koosnevate anioone siduvate hübriidretseptorite sünteesimisel kasutati karbasoolist lähtuvat sünteesirada. Urea ja tiourea fragmentide saamiseks kasutati erinevate asendajatega isotsüanaate ja isotiotsüanaate. Amiidsete karbasooli hübriidretseptorite sünteesimisel kasutati karboksüülhappeid koos erinevate katalüsaatoritega.

Uued retseptormolekulid erinesid oluliselt molekulaarmasside, lahustuvus- ja afiinsusomaduste poolest. Kõik uudsed molekulid karakteriseeriti IR, MS ja TMR spektroskoopia abil.

Retseptorite afiinsused määrati atsetaadi, bensoaadi ja laktaadi suhtes, kasutades TMR suhteliste afiinsusmõõtmiste meetodit. Kokku uuriti 15 retseptormolekuli afiinsust, millest viis olid autori poolt sünteesitud uudsed retseptorid. Kokku viidi läbi 81  $\Delta\log K_{af}$  väärtuse mõõtmist. Kõigi kolme karboksülaataniooni jaoks koostati afiinsusredelid (skaalad), mis ulatusid üle kahe suurusjärgu ja olid heade kooskõlalispärametritega (0.004 kuni 0.010). Saamaks absoluutseid  $\log K_{af}$  väärsusi ankurdati skaalad 1,3-difenüüluurea kui ankurretseptori külge.

Saadud andmetest järelitati erinevaid seoseid retseptormolekulide struktuuri, anioonide omaduste ja seondumisafiinsuste vahel. Tulemused näitavad, et retseptori afiinsus sõltub ühest küljest uuritava aniooni aluselisusest, teisest küljest vesiniksidemeid andvate fragmentide kogusest ja spetsiifilistest asendusrühmadest retseptormolekulides. Täheledatakse, et vesinikside ei ole ainus seondumisse panustav vastasmõjuliik.

Tulemused on kooskõlas varasemate uurimustega. Samadel tingimustel mõõdetud afiinsuskonstante on võimalik koostatud skaalade kaudu omavahel võrrelda. Saadud informatsiooni saab tulevikus kasutada keerukamate retseptormolekulide disainimisel.

## Summary

For the synthesis of novel carbazole-, urea- and/or thiourea-based hybrid molecular receptors for discriminating carboxylate anions, a multistep synthetic pathway with carbazole as the parent molecule was used. Different substituted isocyanates and isothiocyanates were used for coupling of urea and thiourea fragments. Amide-based carbazole hybrid receptors were prepared by using carboxylic acids and different catalysts.

The novel molecular receptors differed significantly by molecular masses, solubility and association properties. All novel compounds were characterised with IR, HRMS and NMR spectra.

Association constants for the receptor molecules were determined towards acetate, benzoate and lactate anions using an NMR-based relative binding measurement method. Association constants were determined for 15 receptor molecules, five of which were novel compounds synthesised by the author. Altogether 81  $\Delta\log K_{\text{ass}}$  were measured. Self-consistent binding scales were composed for three carboxylate anions. The scales spanned over two orders of magnitude and had excellent consistency parameters (ranging from 0.004 to 0.010). For the evaluation of absolute association constants, binding ladders were anchored to 1,3-diphenylurea.

By studying the obtained data, different binding properties were observed between the molecular receptors and anions. Results show that receptor affinity is mainly influenced by the basicity of the analytes, the number of hydrogen bond forming fragments and specific substituent groups present in the receptor molecules. It was observed that hydrogen bonding is not the only interaction contributing to complexation.

The obtained results are consistent with earlier studies. Association constants, that have been measured with the same criteria, can be compared with other binding scales. The data from this thesis can be used in future studies for the design of more sophisticated molecular receptors.

## Viited

- (1) Lehn, J.-M. Toward Self-Organization and Complex Matter. *Science* **2002**, 295 (5564), 2400–2403.
- (2) Anslyn, E. V. Supramolecular Analytical Chemistry. *J. Org. Chem.* **2007**, 72 (3), 687–699.
- (3) Busschaert, N.; Caltagirone, C.; Van Rossom, W.; Gale, P. A. Applications of Supramolecular Anion Recognition. *Chem. Rev.* **2015**, 115 (15), 8038–8155.
- (4) Reinhoudt, D. N. Supramolecular Chemistry and Heterocycles. In *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*; Elsevier, 2013.
- (5) Elmes, R. B. P.; Jolliffe, K. A. Anion Recognition by Cyclic Peptides. *Chem Commun* **2015**, 51 (24), 4951–4968.
- (6) Skoog, D. A. *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8th ed.; Thomson-Brooks/Cole, 2004.
- (7) *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2000.
- (8) Bordwell, F. G.; Algrim, D. Nitrogen Acids. 1. Carboxamides and Sulfonamides. *J. Org. Chem.* **1976**, 41 (14), 2507–2508.
- (9) Olmstead, W. N.; Bordwell, F. G. Ion-Pair Association Constants in Dimethyl Sulfoxide. *J. Org. Chem.* **1980**, 45 (16), 3299–3305.
- (10) pKa on arvutuslikult hinnatud COSMO-RS meetodil, mis on kirjeldatud allikas Klamt, A. *COSMO-RS: From Quantum Chemistry to Fluid Phase Thermodynamics and Drug Design*; Elsevier Science: Amsterdam, 2005. Arvutuse teostas Astrid Pung.
- (11) Nelson, D. L.; Cox, M. M.; Lehninger, A. L. *Lehninger Principles of Biochemistry*, Sixth Edition.; W.H. Freeman: New York, 2013.
- (12) Antonisse, M. M.; Reinhoudt, D. N. Neutral Anion Receptors: Design and Application. *Chem. Commun.* **1998**, No. 4, 443–448.
- (13) Arunan, E.; Desiraju, G. R.; Klein, R. A.; Sadlej, J.; Scheiner, S.; Alkorta, I.; Clary, D. C.; Crabtree, R. H.; Dannenberg, J. J.; Hobza, P.; et al. Definition of the Hydrogen Bond (IUPAC Recommendations 2011). *Pure Appl. Chem.* **2011**, 83 (8).
- (14) Reichardt, C. *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*, 3rd edition.; Wiley-VCH: Weinheim, 2003.

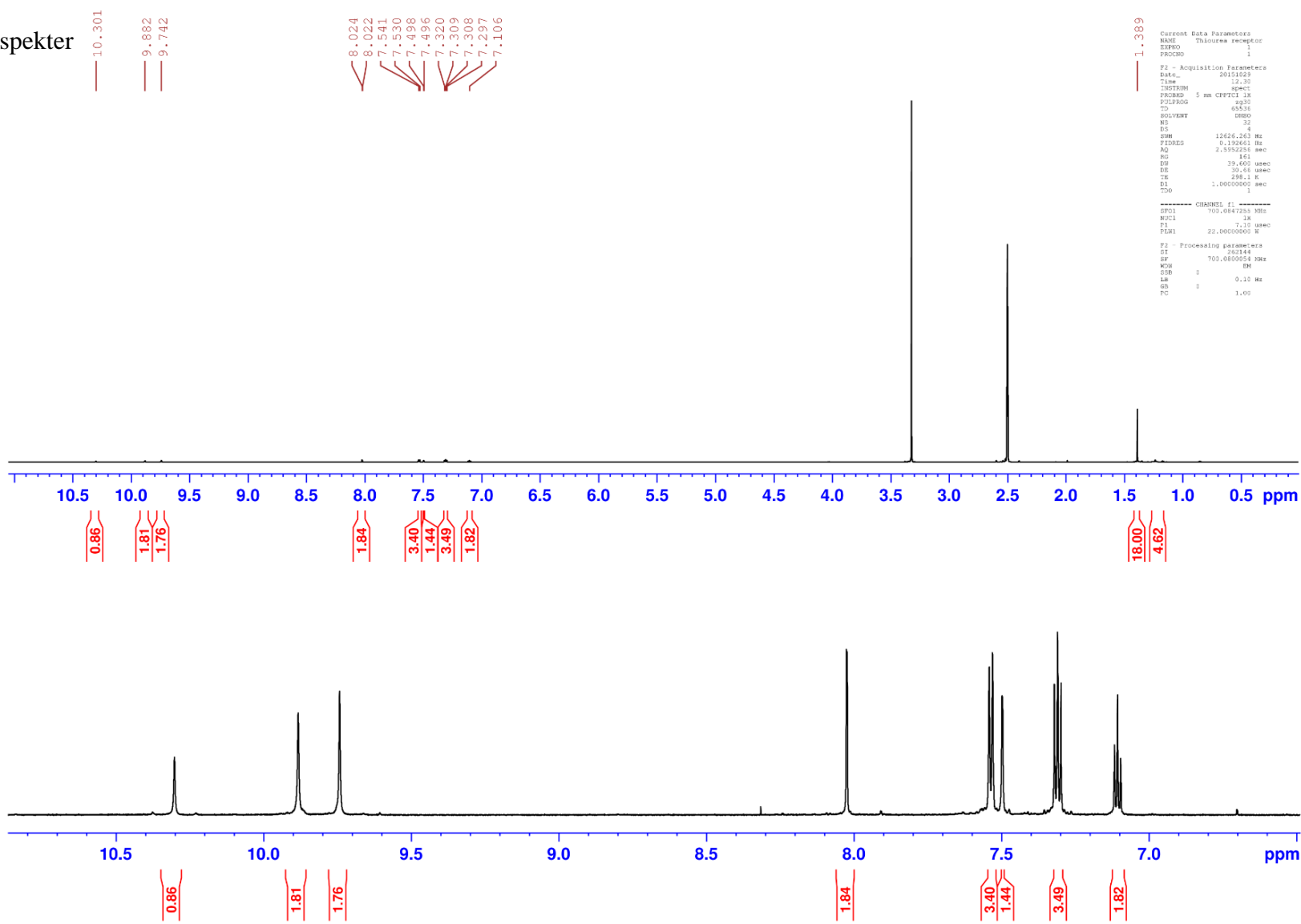
- (15) Biedermann, F.; Nau, W. M.; Schneider, H.-J. The Hydrophobic Effect Revisited—Studies with Supramolecular Complexes Imply High-Energy Water as a Noncovalent Driving Force. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53* (42), 11158–11171.
- (16) Gale, P. A.; Caltagirone, C. Anion Sensing by Small Molecules and Molecular Ensembles. *Chem Soc Rev* **2015**, *44* (13), 4212–4227.
- (17) Desiraju, G. R. Hydrogen Bonding. In *Encyclopedia of Supramolecular Chemistry*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2004; Vol. 1, pp 658–665.
- (18) Schneider, H.-J. Van Der Waals Forces. In *Encyclopedia of Supramolecular Chemistry*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2004; Vol. 2, pp 1550–1556.
- (19) Kadam, S. A.; Martin, K.; Haav, K.; Toom, L.; Mayeux, C.; Pung, A.; Gale, P. A.; Hiscock, J. R.; Brooks, S. J.; Kirby, I. L.; et al. Towards the Discrimination of Carboxylates by Hydrogen-Bond Donor Anion Receptors. *Chem. - Eur. J.* **2015**, *21* (13), 5145–5160.
- (20) Tshepelevitsh, S.; Oss, M.; Pung, A.; Leito, I. Evaluating the COSMO-RS Method for Modeling Hydrogen Bonding in Solution. *ChemPhysChem* **2013**, *14* (9), 1909–1919.
- (21) Brooks, S. J.; Edwards, P. R.; Gale, P. A.; Light, M. E. Carboxylate Complexation by a Family of Easy-to-Make Ortho-Phenylenediamine Based Bis-Ureas: Studies in Solution and the Solid State. *New J Chem* **2006**, *30* (1), 65–70.
- (22) Gale, P. A.; Busschaert, N.; Haynes, C. J. E.; Karagiannidis, L. E.; Kirby, I. L. Anion Receptor Chemistry: Highlights from 2011 and 2012. *Chem Soc Rev* **2014**, *43* (1), 205–241.
- (23) Ahmed, N.; Suresh, V.; Shirinfar, B.; Geronimo, I.; Bist, A.; Hwang, I.-C.; Kim, K. S. Fluorogenic Sensing of CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub><sup>-</sup> and H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> by Ditopic Receptor through Conformational Change. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10* (10), 2094.
- (24) Gibson, S. E.; Lecci, C. Amino Acid Derived Macrocycles—An Area Driven by Synthesis or Application? *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45* (9), 1364–1377.
- (25) Svec, J.; Necas, M.; Sindelar, V. Bambus[6]uril. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49* (13), 2378–2381.
- (26) Schmidtchen, F. P. Isothermal Titration Calorimetry in Supramolecular Chemistry. In *Analytical Methods in Supramolecular Chemistry*; Schalley, C. A., Ed.; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, 2012; Vol. 1, pp 67–103.
- (27) Curiel, D.; Cowley, A.; Beer, P. D. Indolocarbazoles: A New Family of Anion Sensors. *Chem. Commun.* **2005**, No. 2, 236.

- (28) Kadam, S. A.; Haav, K.; Toom, L.; Haljasorg, T.; Leito, I. NMR Method for Simultaneous Host–Guest Binding Constant Measurement. *J. Org. Chem.* **2014**, *79* (6), 2501–2513.
- (29) Koppel, I. A.; Koppel, J.; Leito, I.; Pihl, V.; Grehn, L.; Ragnarsson, U. The Acidity of Some Neutral NH-Acids in Water and Dimethyl Sulfoxide. *J. Chem. Res. - S* **1994**, No. 6, 212–213.
- (30) Liu, Y.; Nishiura, M.; Wang, Y.; Hou, Z.  $\pi$ -Conjugated Aromatic Enynes as a Single-Emitting Component for White Electroluminescence. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (17), 5592–5593.
- (31) Sanchez, G.; Espinosa, A.; Curiel, D.; Tarraga, A.; Molina, P. Bis(carbazolyl)ureas as Selective Receptors for the Recognition of Hydrogenpyrophosphate in Aqueous Media. *J. Org. Chem.* **2013**, *78* (19), 9725–9737.
- (32) Kaupmees, K.; Kaljurand, I.; Leito, I. Influence of Water Content on Basicities in Acetonitrile. *J. Solut. Chem.* **2014**, *43* (7), 1270–1281.
- (33) Kütt, A.; Leito, I.; Kaljurand, I.; Sooväli, L.; Vlasov, V. M.; Yagupolskii, L. M.; Koppel, I. A. A Comprehensive Self-Consistent Spectrophotometric Acidity Scale of Neutral Brønsted Acids in Acetonitrile. *J. Org. Chem.* **2006**, *71* (7), 2829–2838.
- (34) Valeur, E.; Bradley, M. Amide Bond Formation: Beyond the Myth of Coupling Reagents. *Chem Soc Rev* **2009**, *38* (2), 606–631.
- (35) Zhang, Z.-H.; Liu, J.; Wan, L.-Q.; Jiang, F.-R.; Lam, C.-K.; Ye, B.-H.; Qiao, Z.; Chao, H.-Y. Synthesis, Characterization, Photophysics and Anion Binding Properties of Platinum Acetylide Complexes with Urea Group. *Dalton Trans* **2015**, *44* (17), 7785–7796.

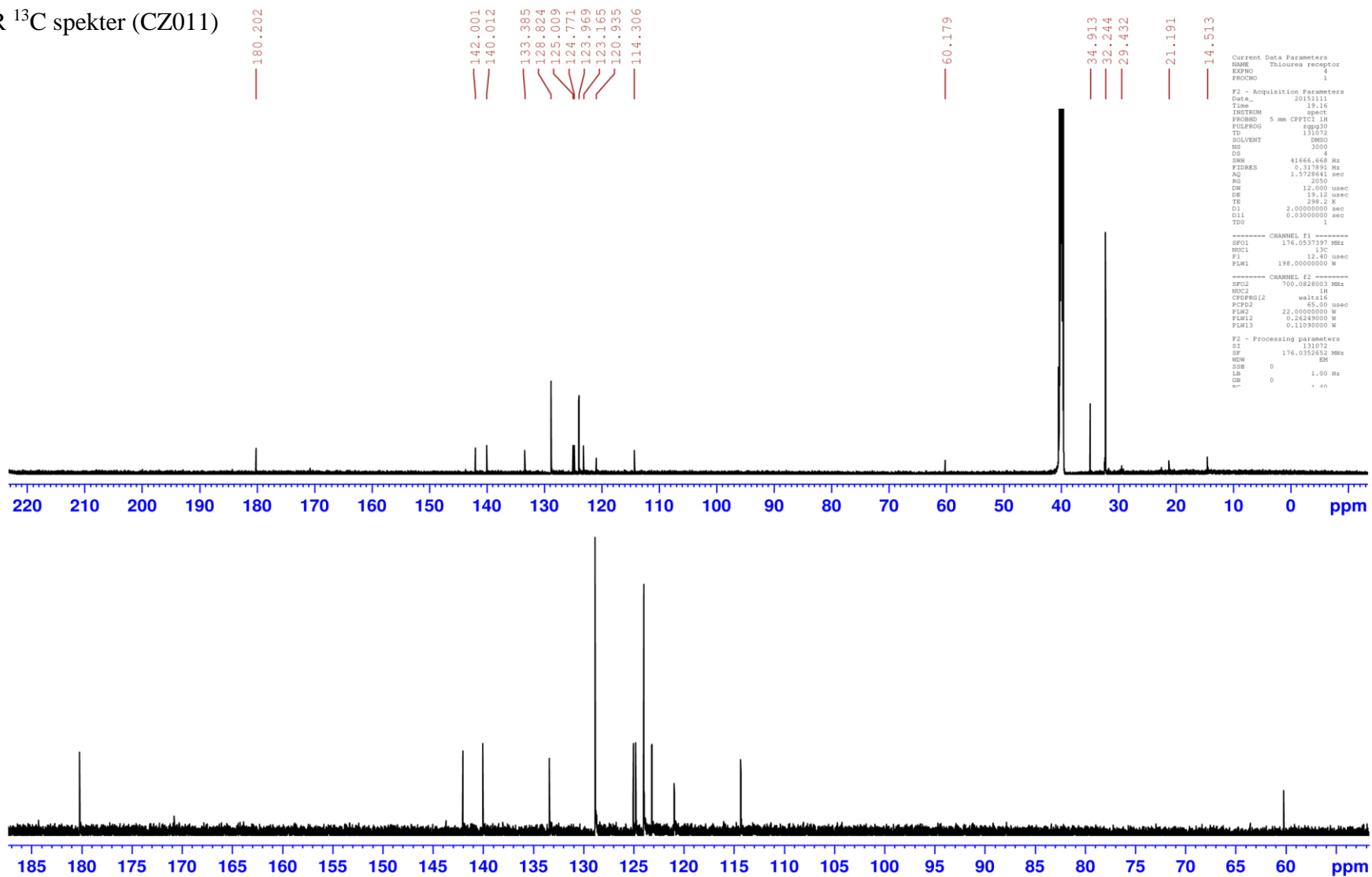
**Lisad**

Lisa 1. CZ011 spektrid

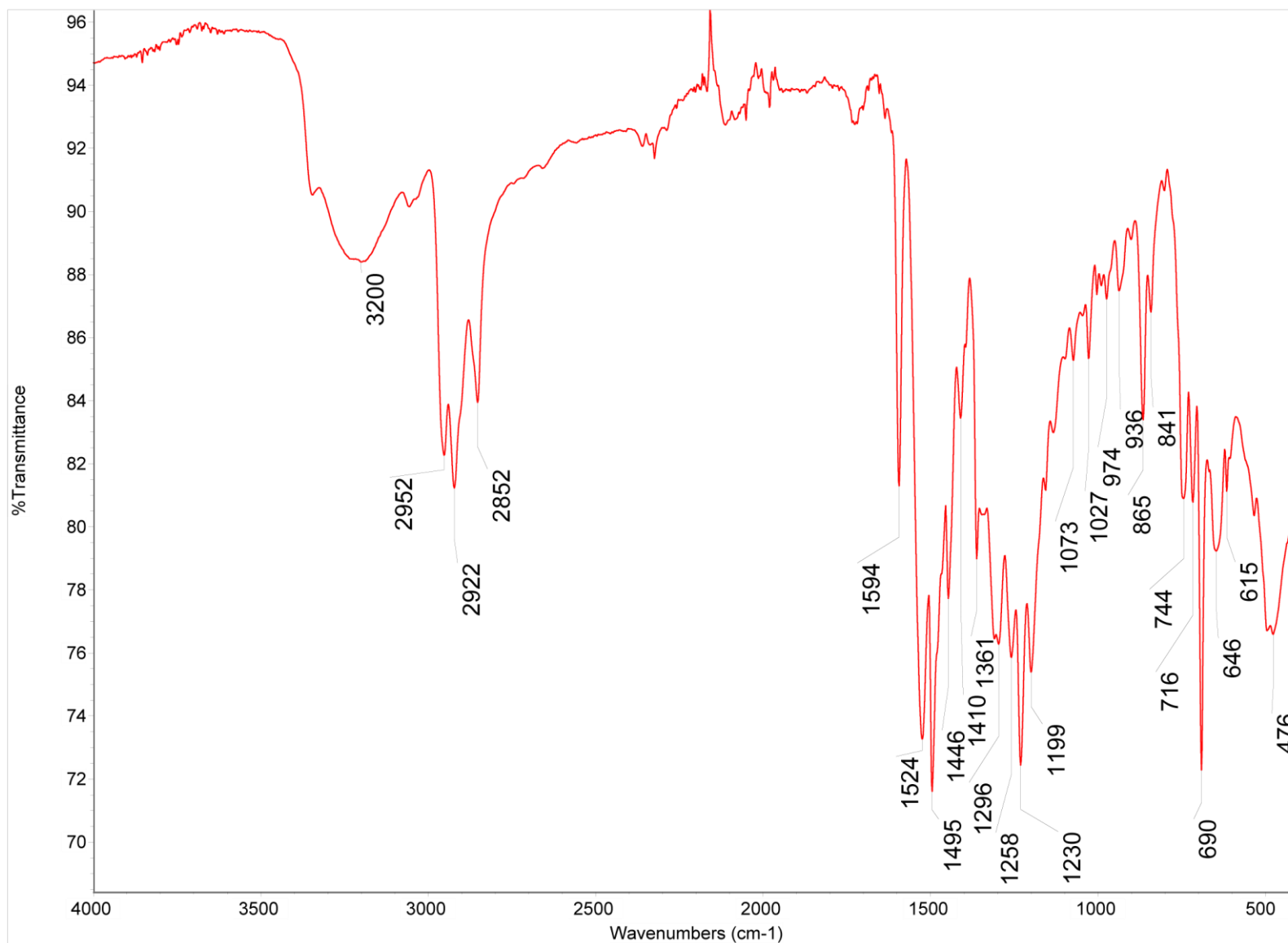
TMR <sup>1</sup>H spekter



TMR <sup>13</sup>C spekter (CZ011)



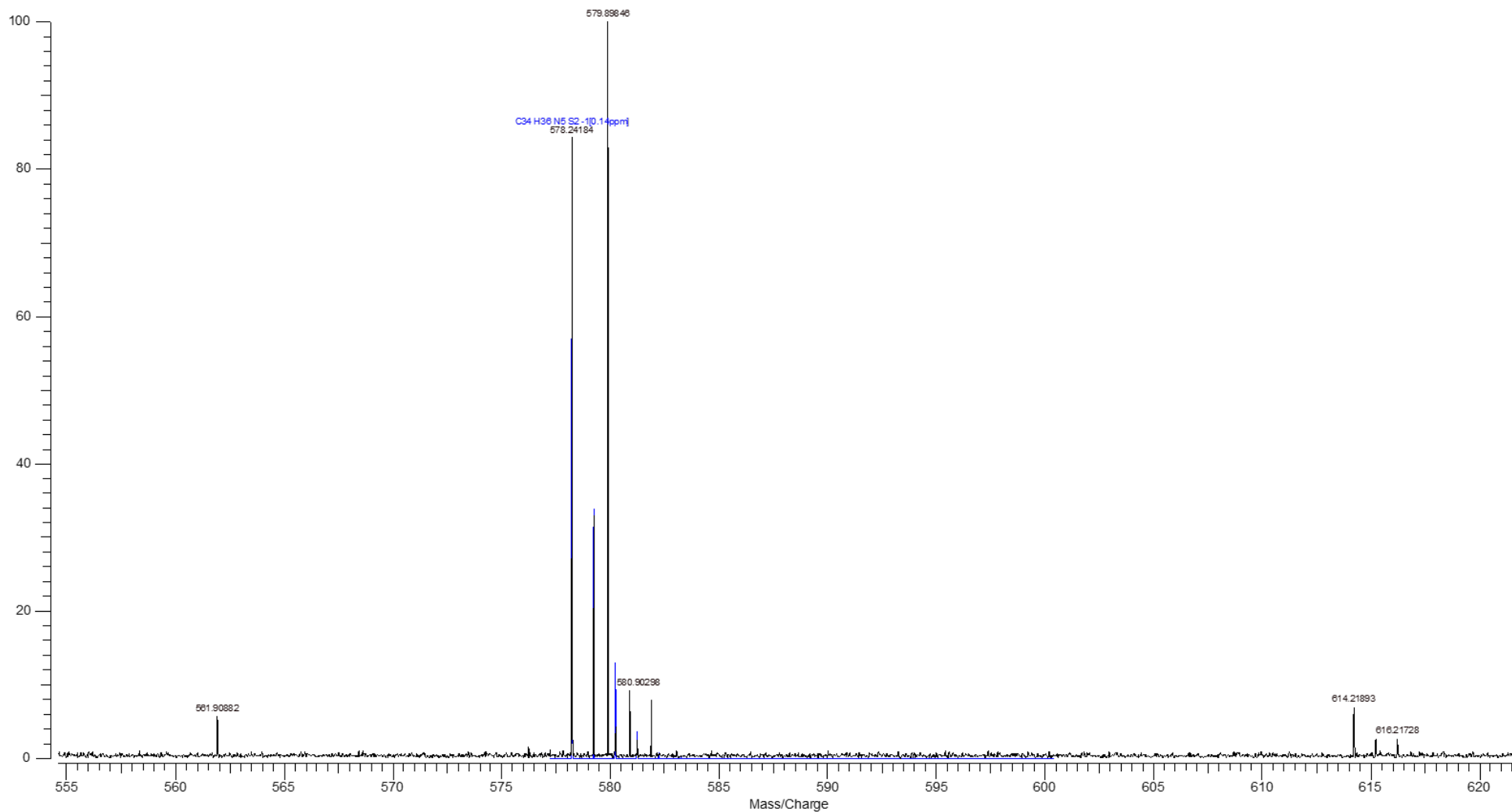
# IR spekter (CZ011)



# Massispekter (CZ011)

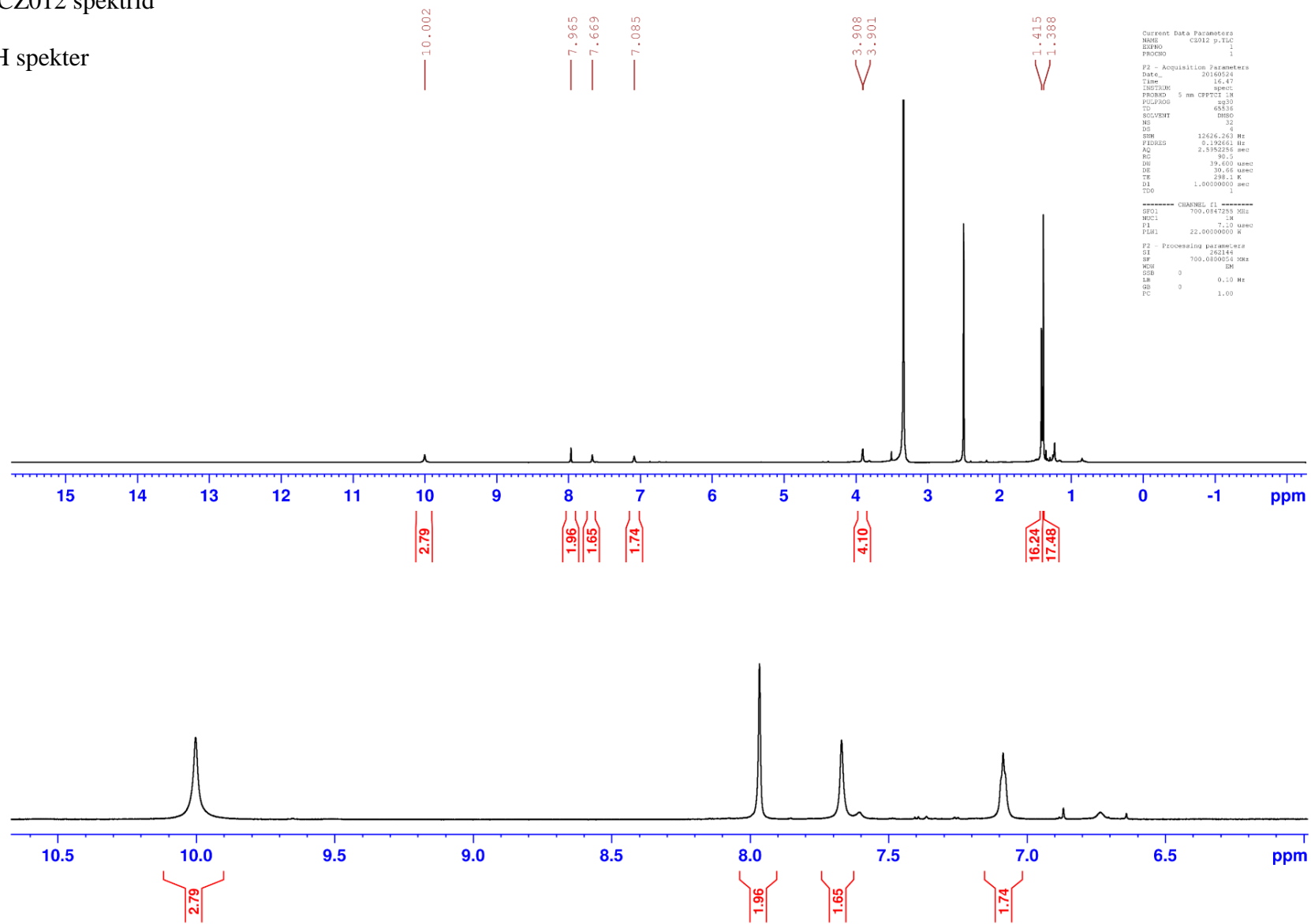
Varian MS  
File: D:\Abi\24.10.2015\AR20151024\_0002\_ESI.trans  
FFT Size: 4096K Window: Blackman Trans Pts. Used: 1024K Zero-Fills: 2

Remove Noises 24-OCT-2015 15:46:12

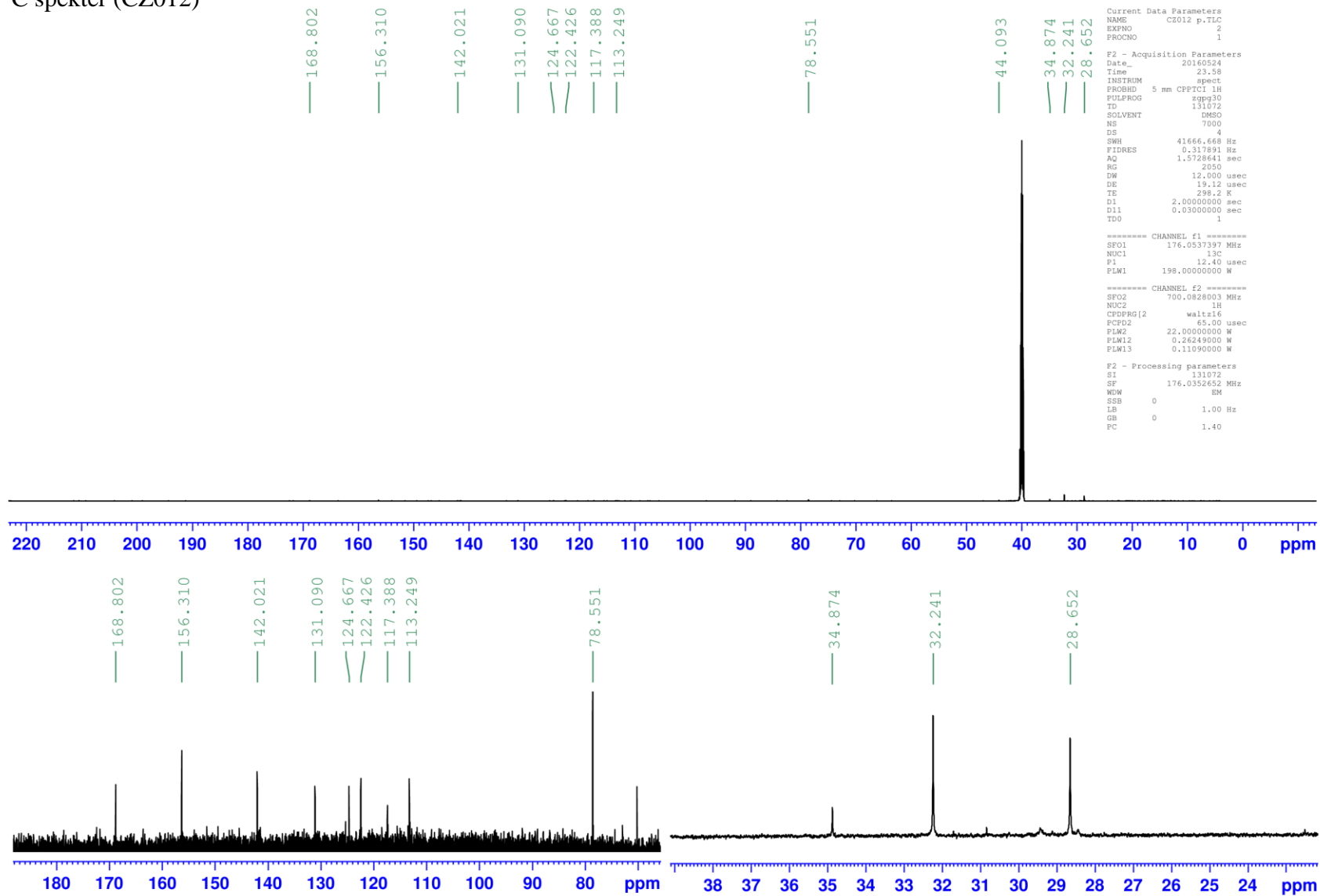


Lisa 2. CZ012 spektrid

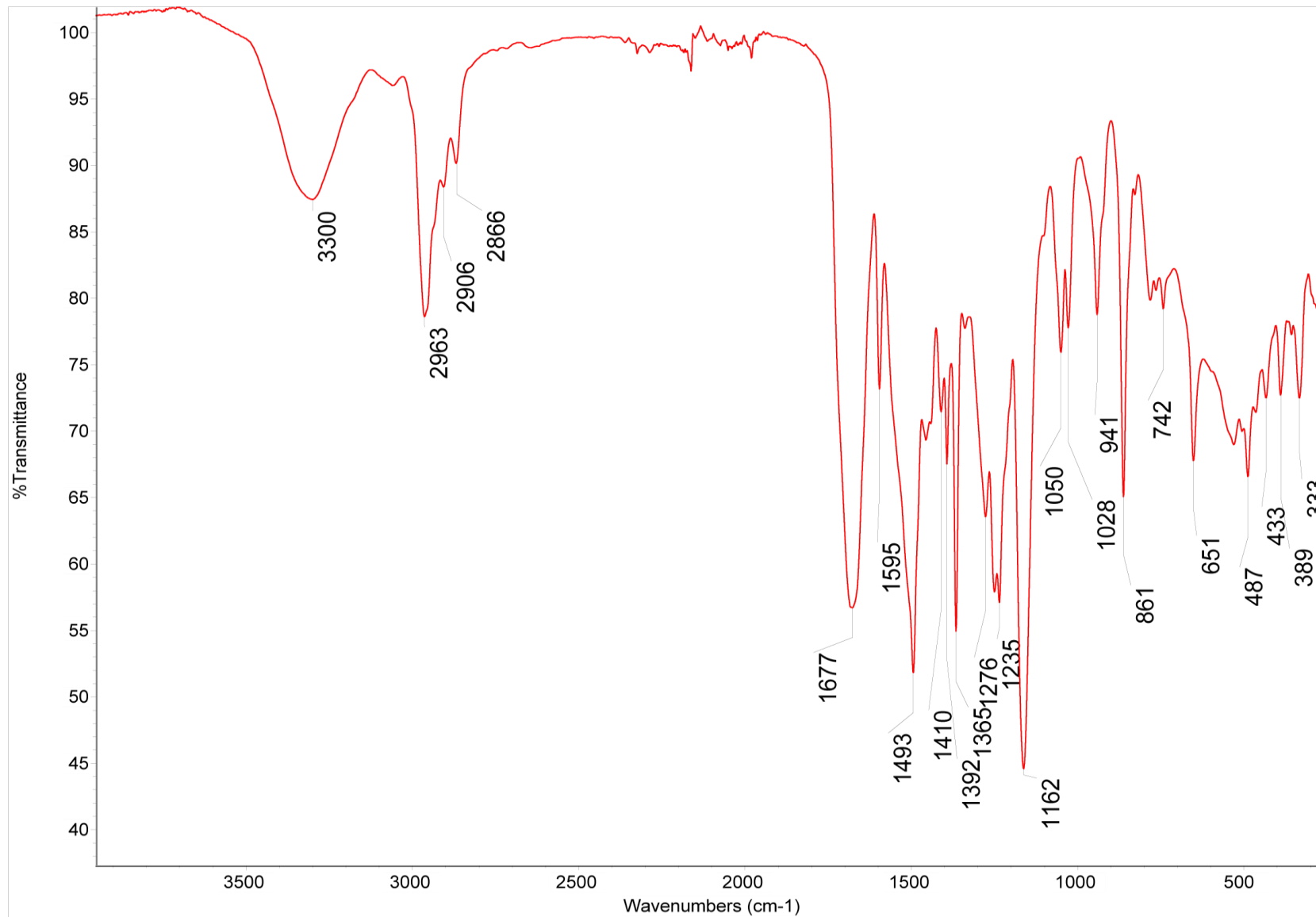
TMR <sup>1</sup>H spekter



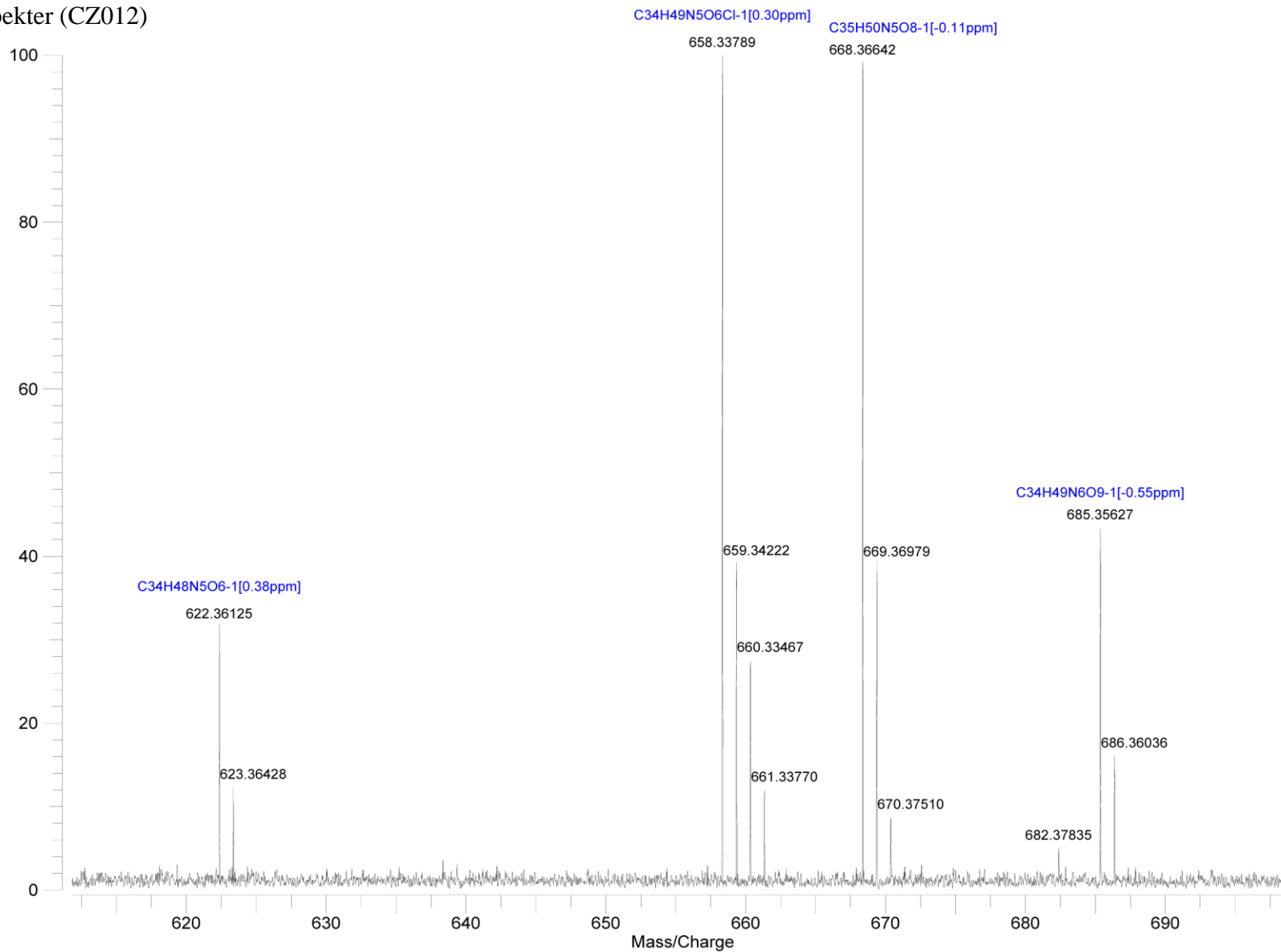
TMR <sup>13</sup>C spekter (CZ012)



# IR spekter (CZ012)

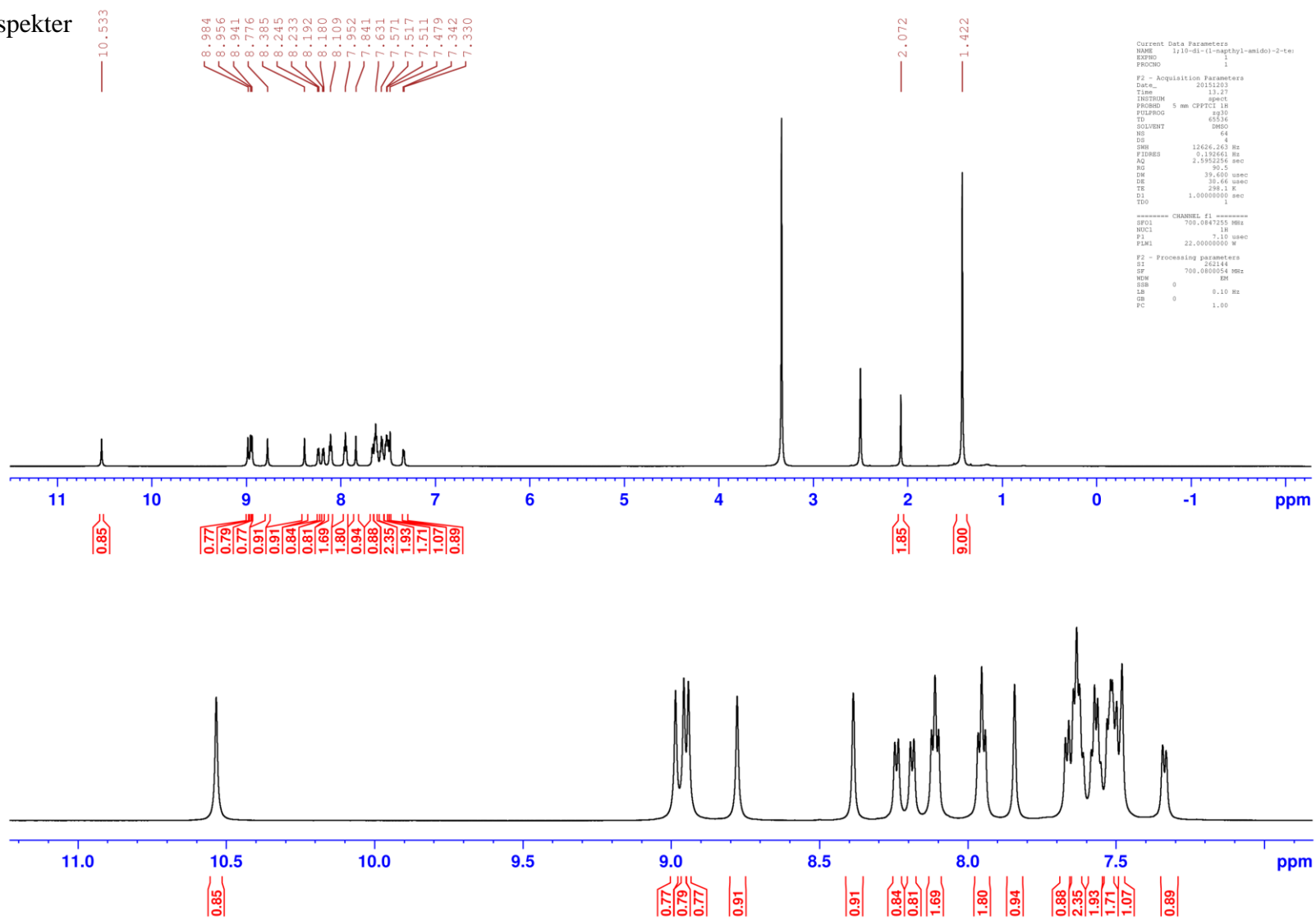


### Massispekter (CZ012)

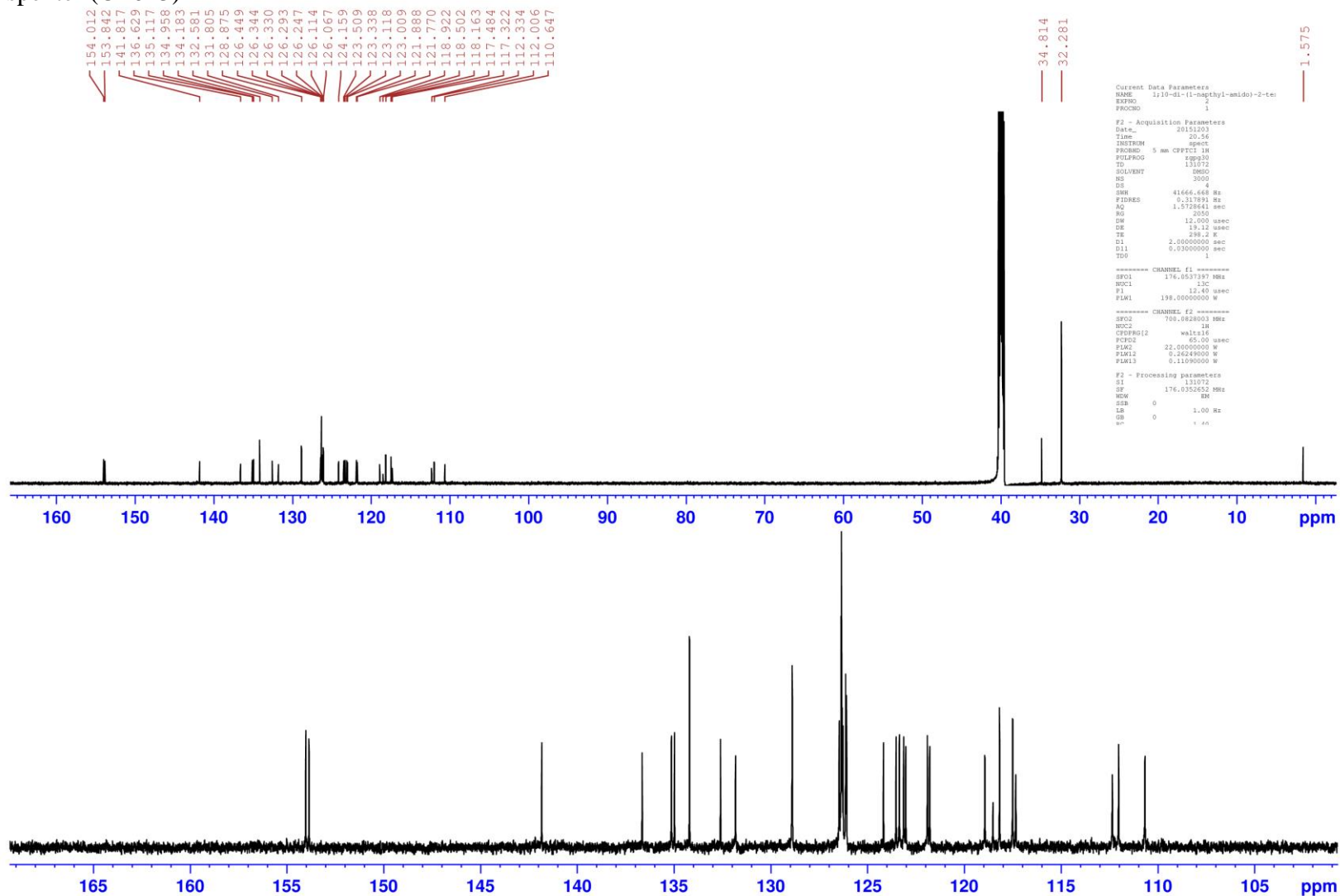


Lisa 3. CZ013 spektrid

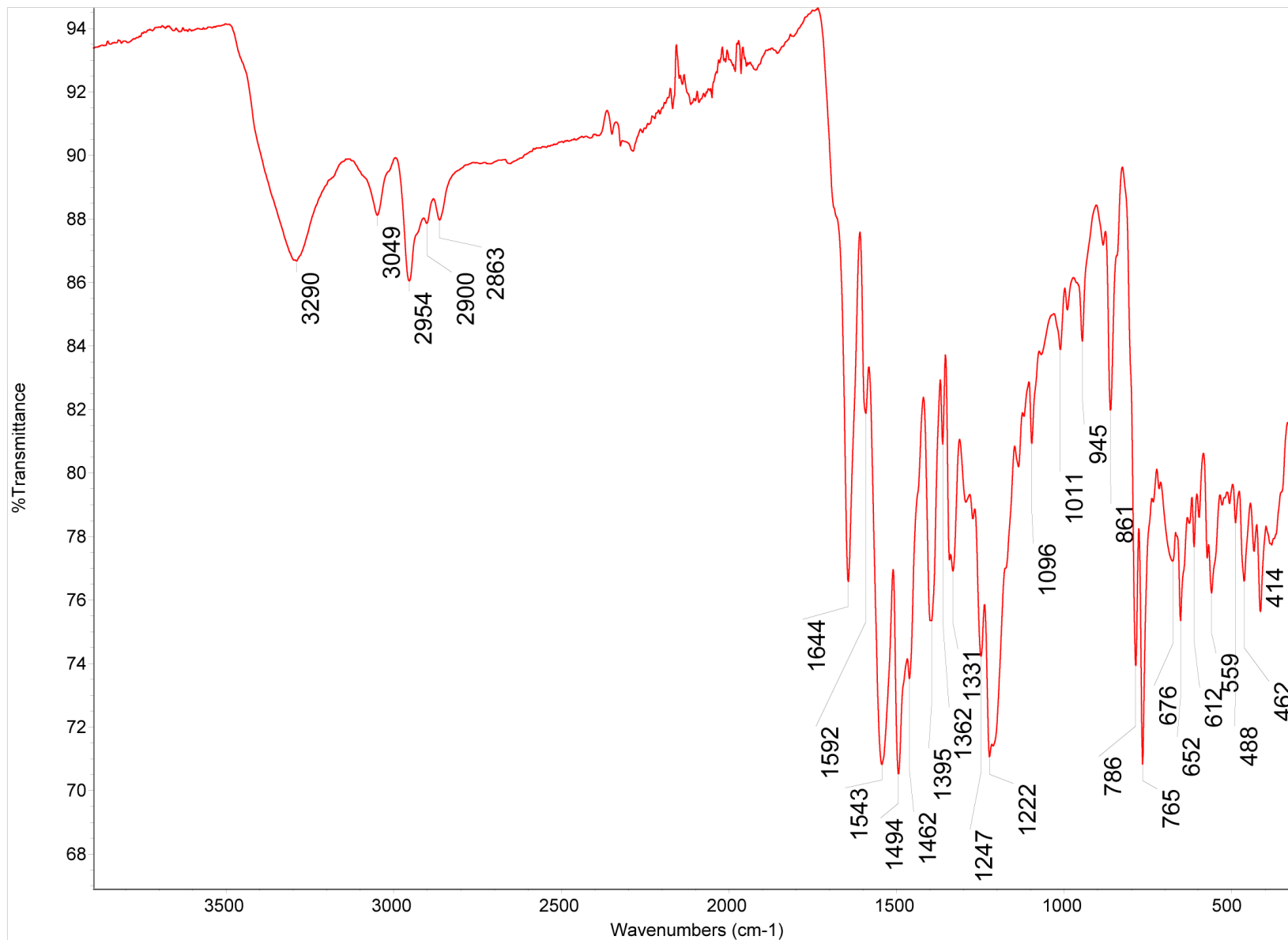
TMR <sup>1</sup>H spekter



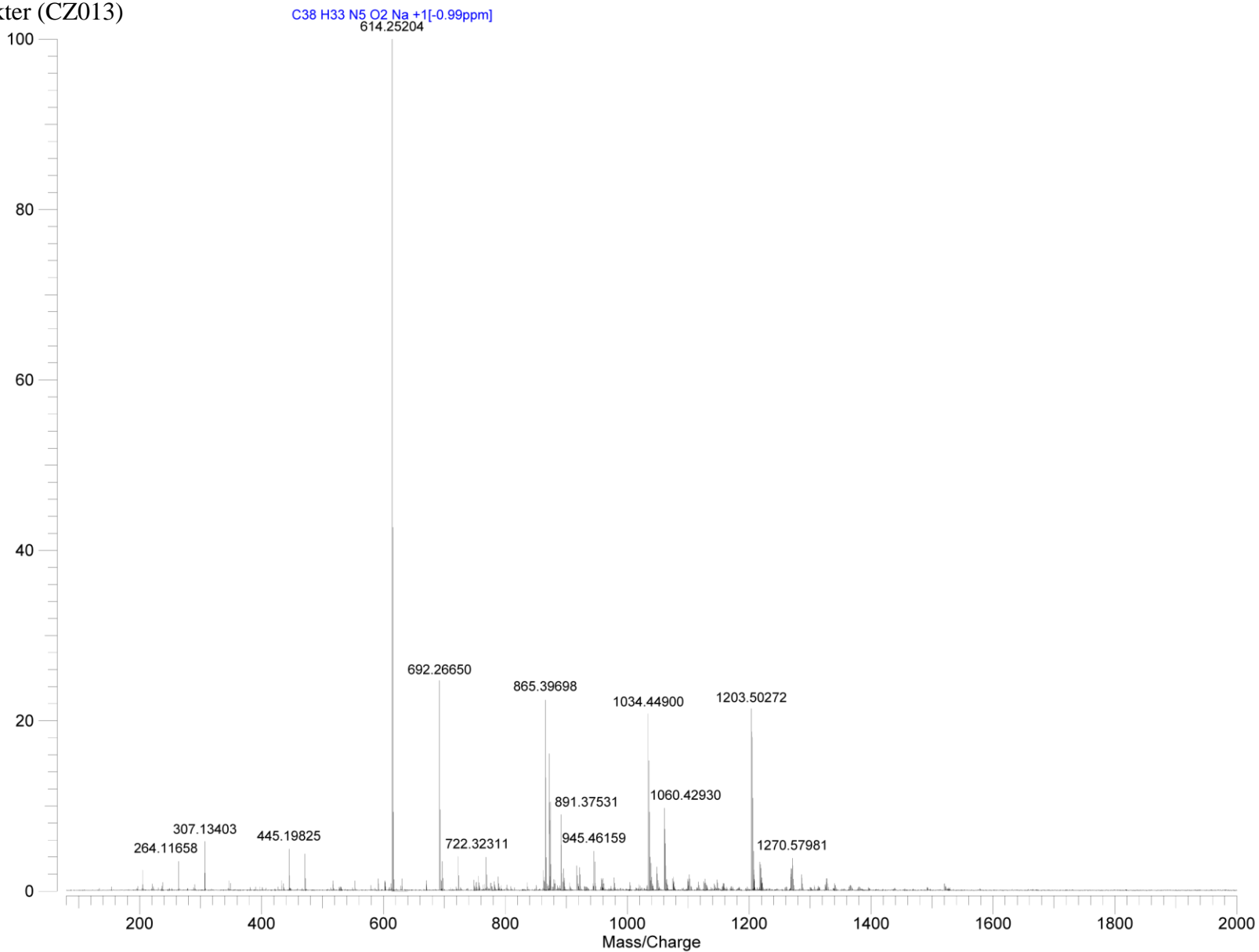
TMR <sup>13</sup>C spekter (CZ013)



# IR spekter (CZ013)

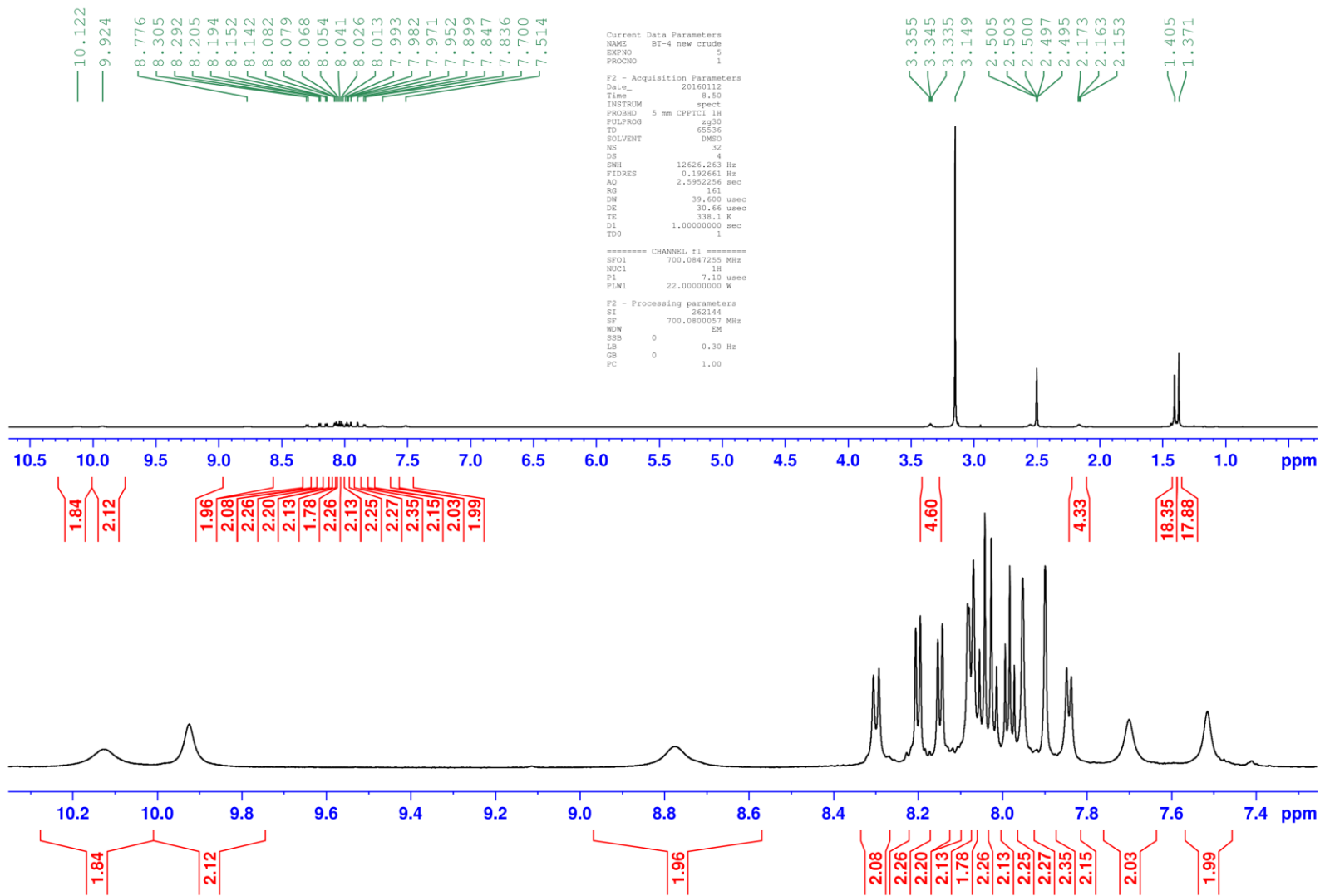


# Massispekter (CZ013)

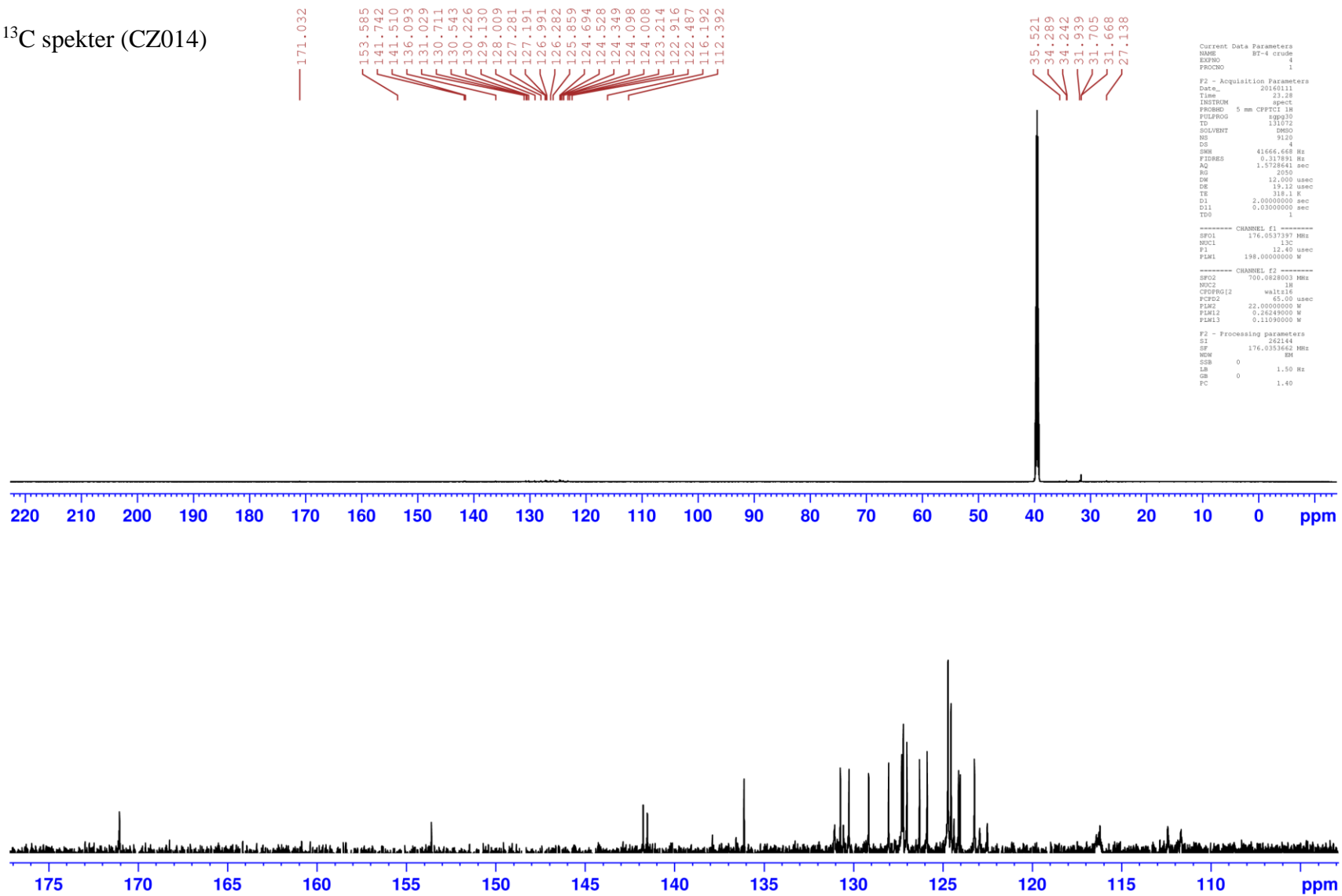


Lisa 4. CZ014 spektrid

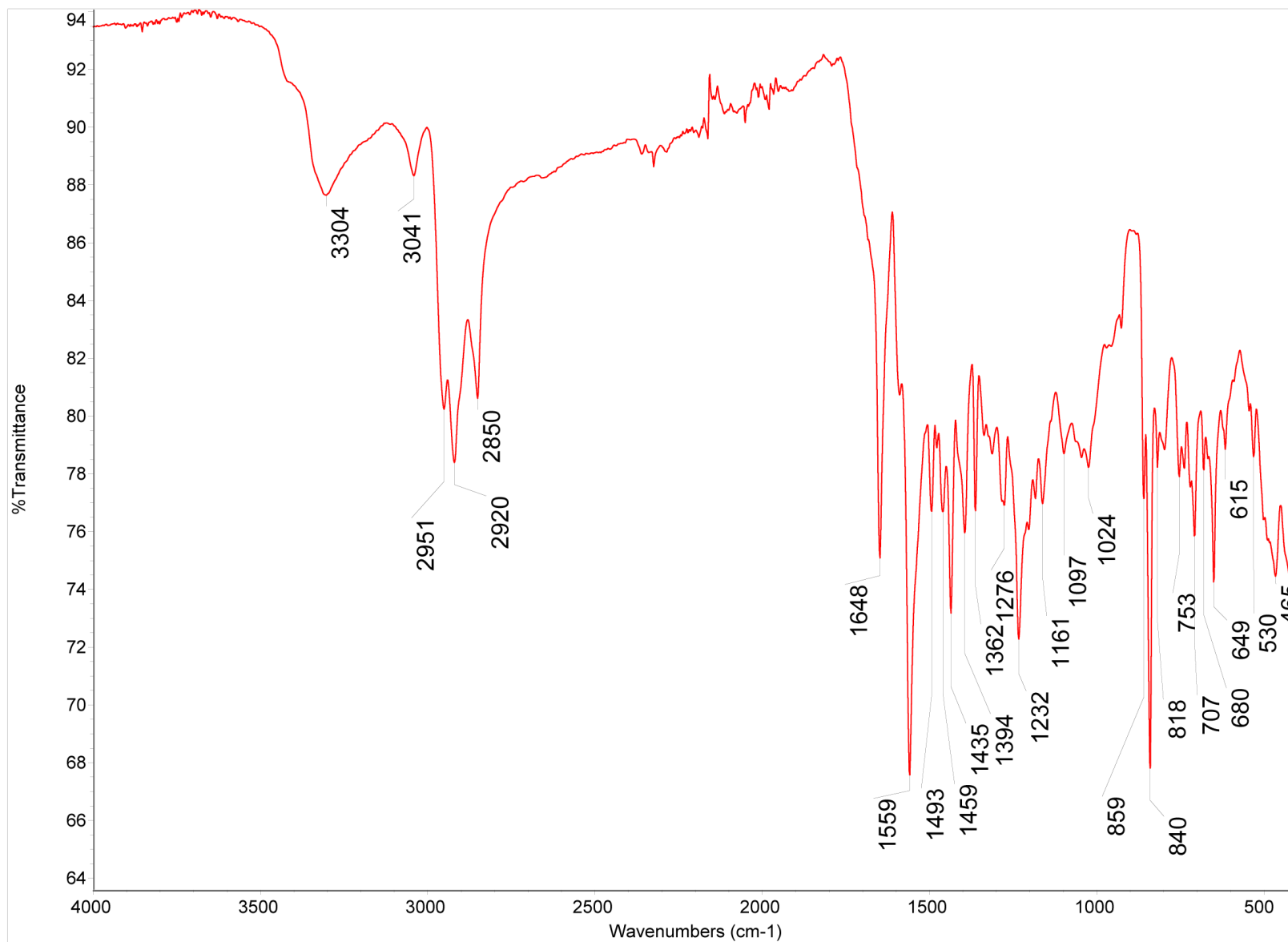
TMR <sup>1</sup>H spekter



TMR <sup>13</sup>C spekter (CZ014)



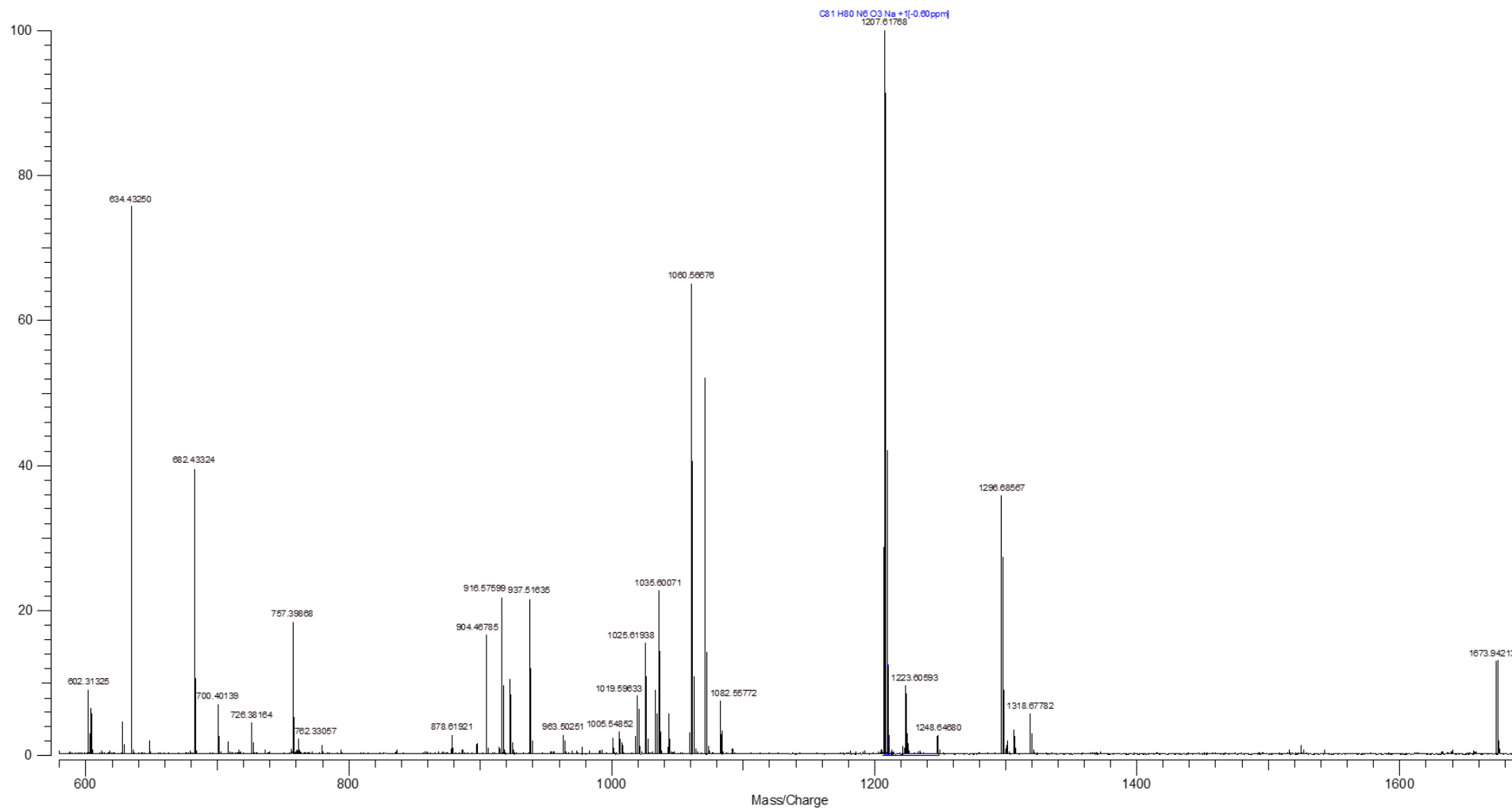
# IR spekter (CZ014)



# Massispekter (CZ014)

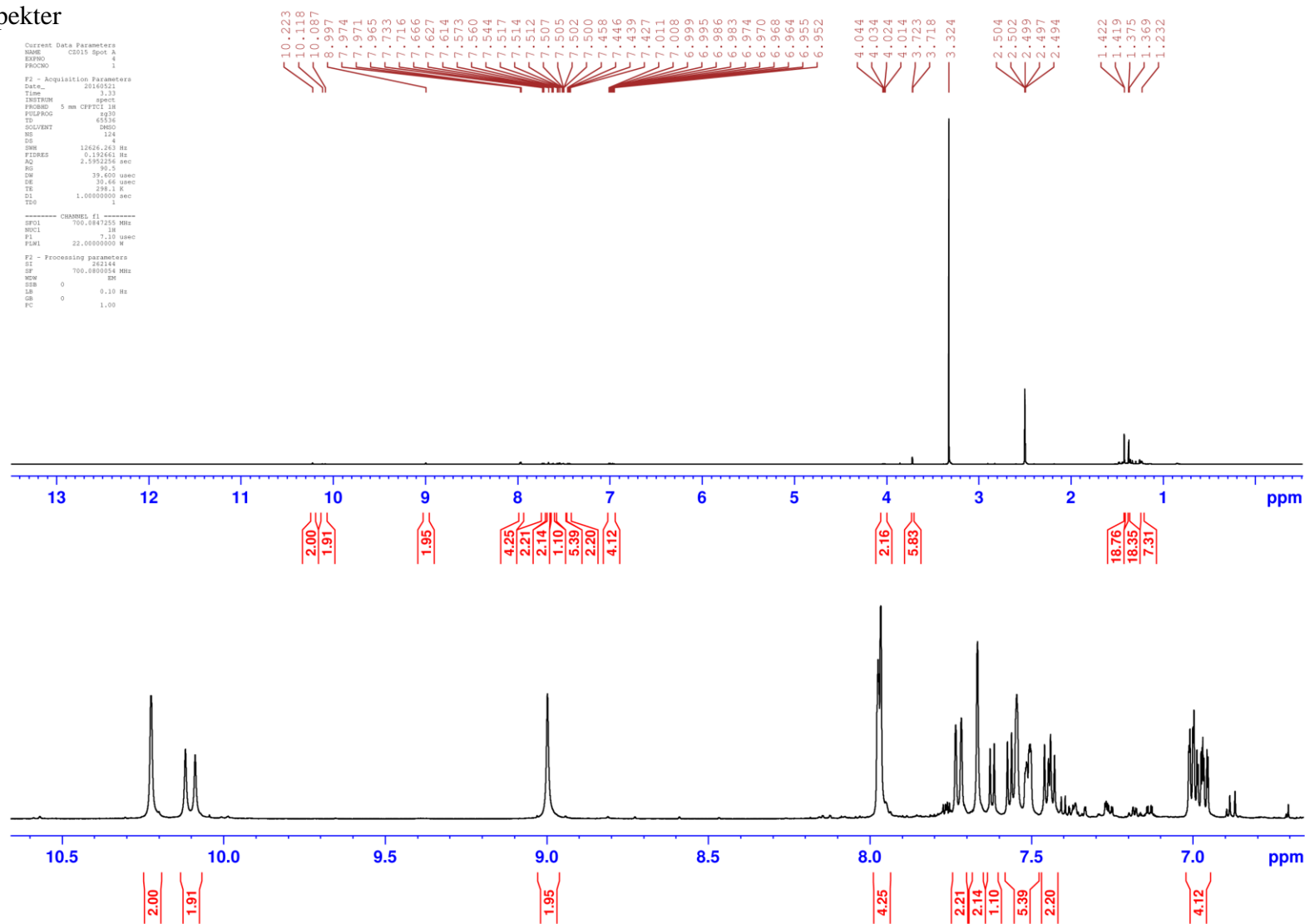
Varian MS  
File: D:\Signet\24\_03\_2016\katse 2\BT\_4\_katse6\_kalibreritud.trans

Varian MS 24-MAR-2016 18:30:59

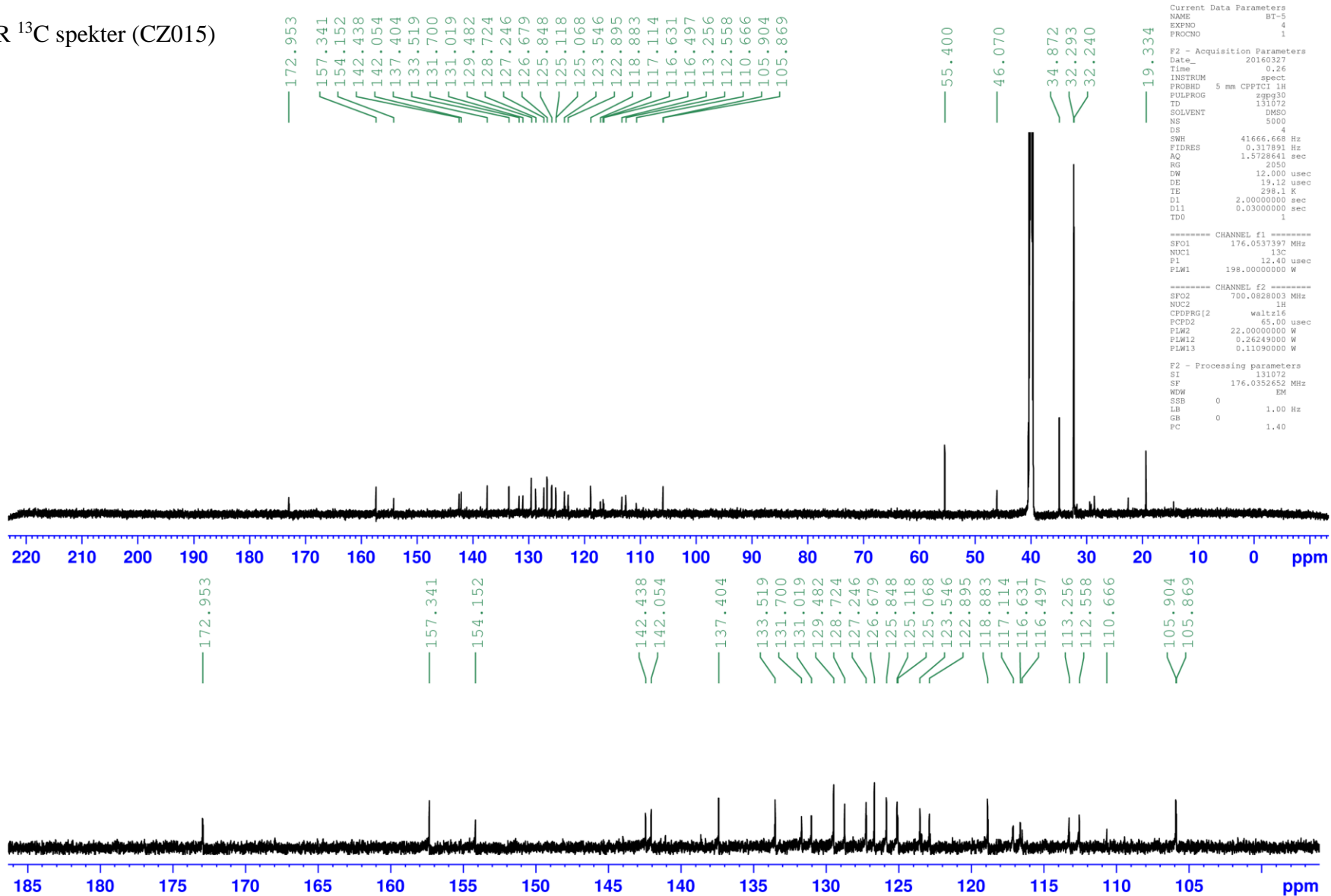


# Lisa 5. CZ015 spektrid

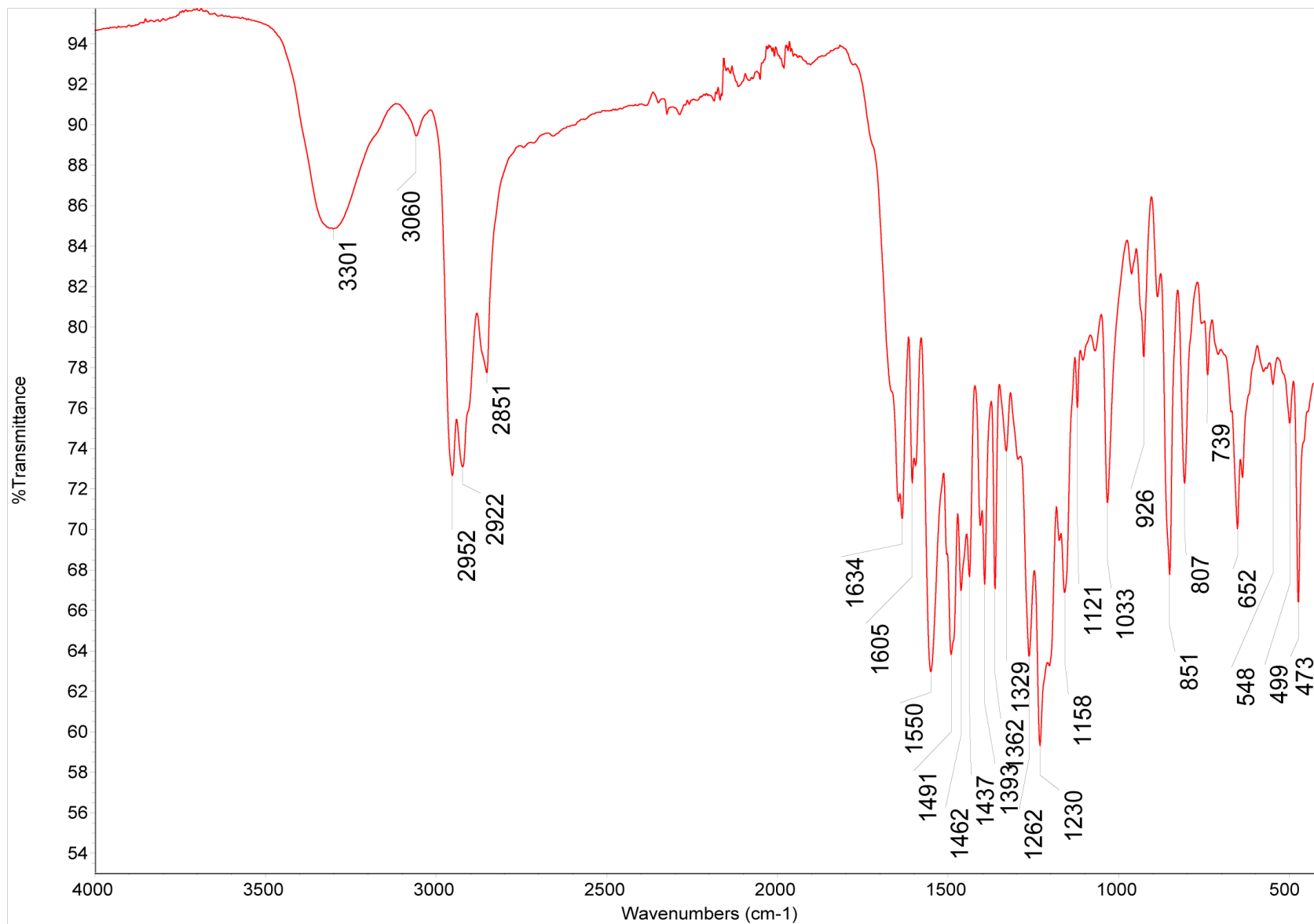
## TMR <sup>1</sup>H spekter



TMR <sup>13</sup>C spekter (CZ015)



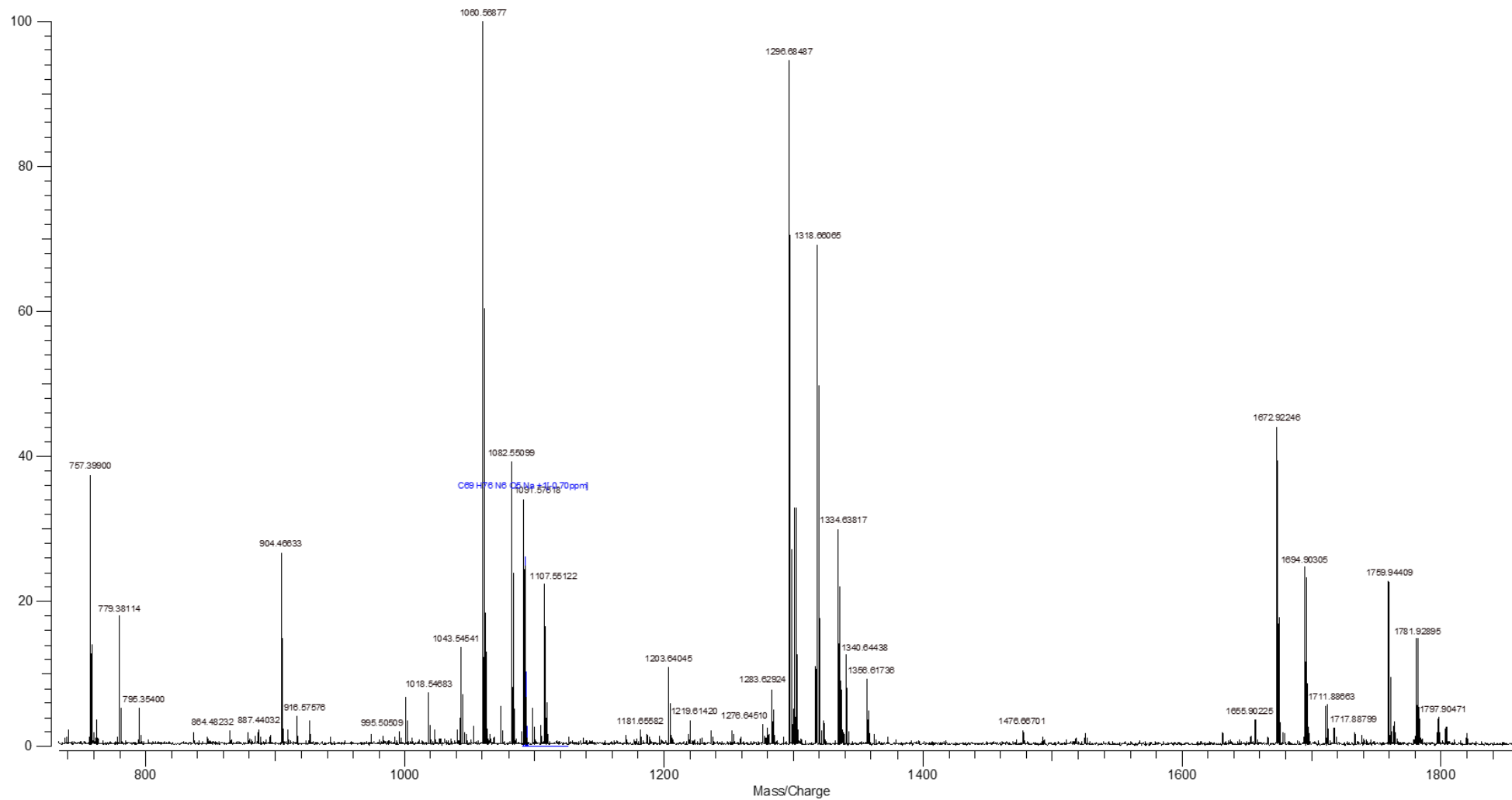
# IR spekter (CZ015)



# Massispekter (CZ015)

Varian MS  
File: D:\Signe\24\_03\_2016\katse 2\BT\_5\_katse2\_kalibreeritud.trans

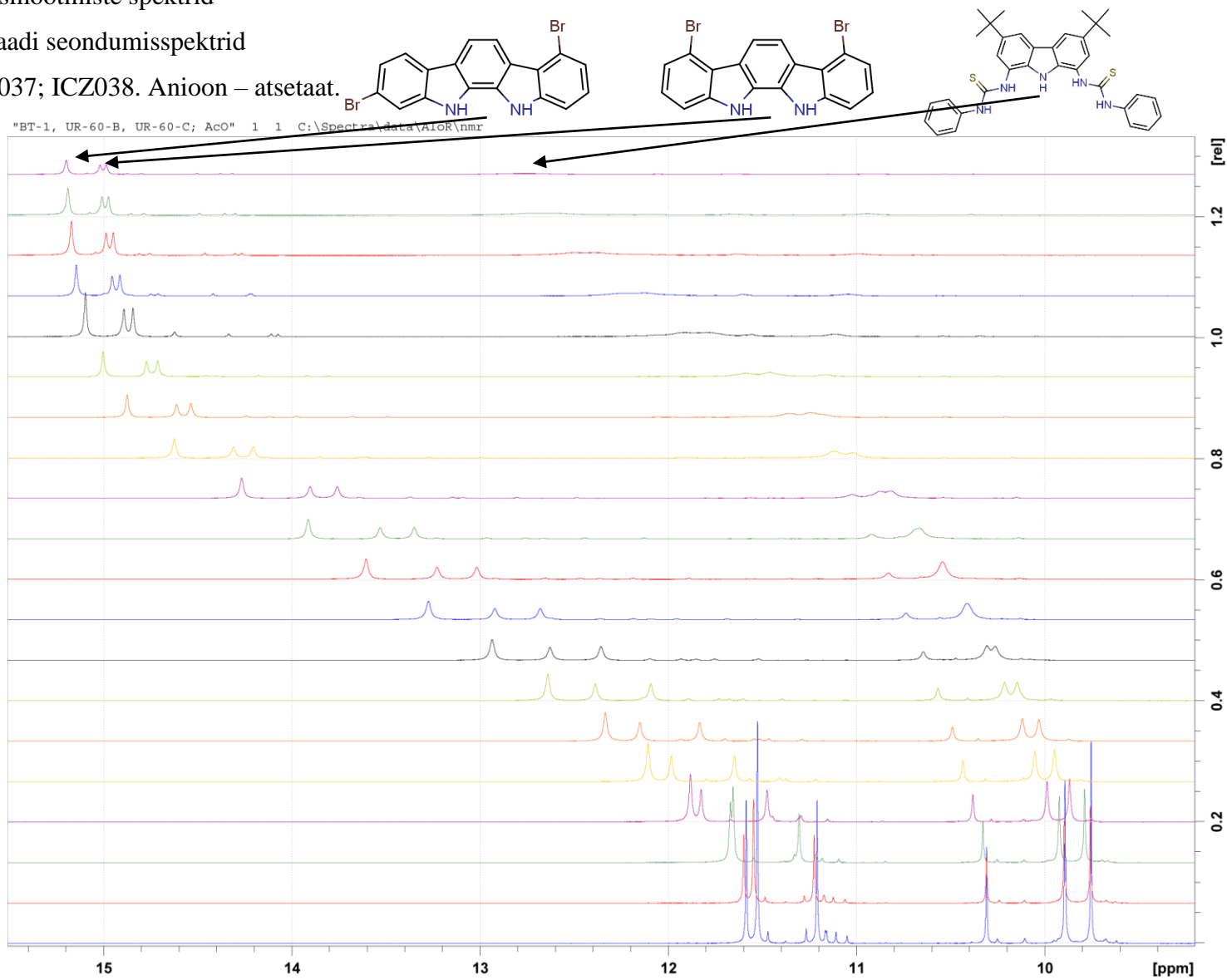
Varian MS 24-MAR-2016 19:02:46



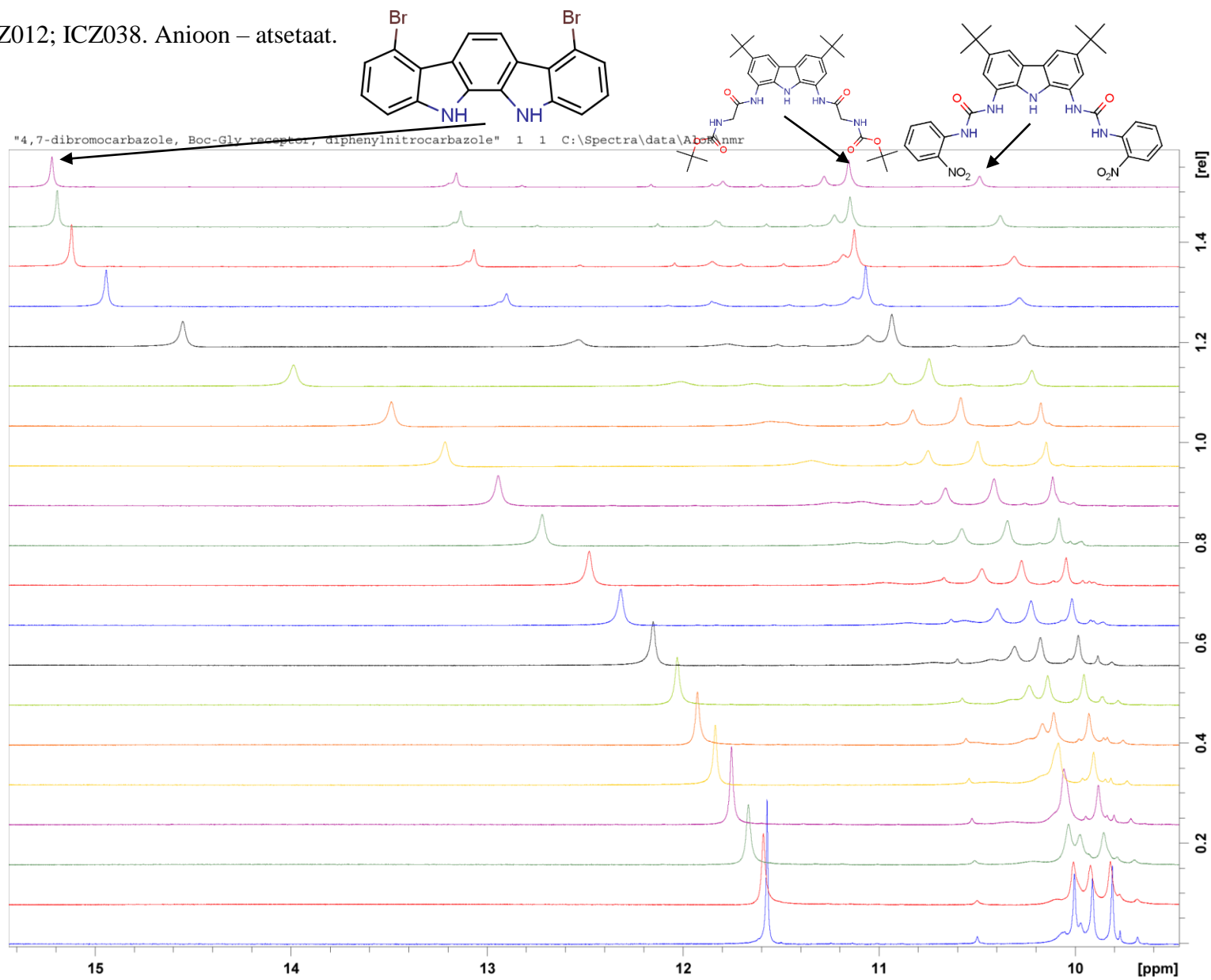
Lisa 6. Afiinsusmõõtmiste spektrid

Lisa 6.1. Atsetaadi seondumisspektrid

1. CZ011; ICZ037; ICZ038. Anioon – atsetaat.



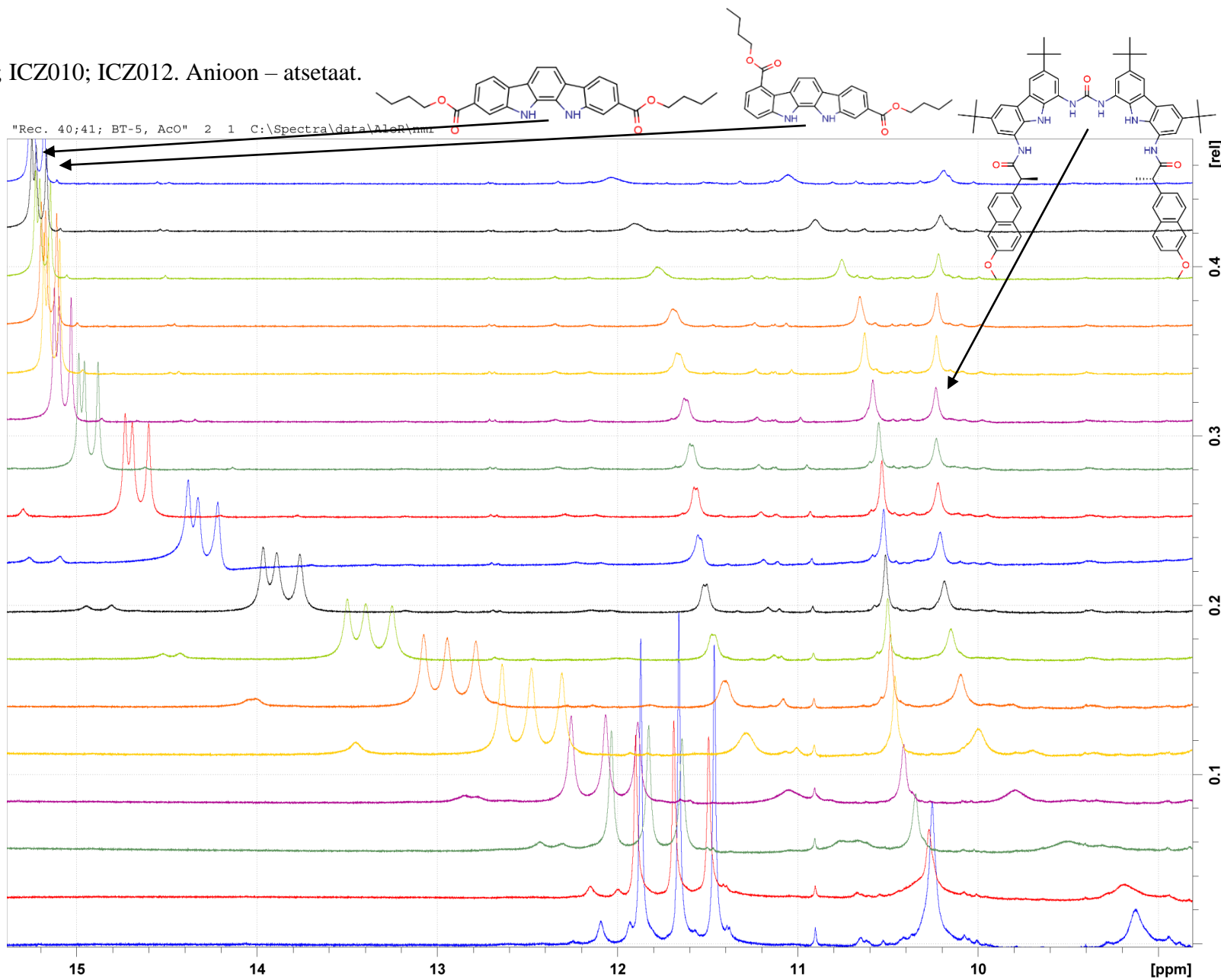
2. CZ010; CZ012; ICZ038. Anioon – atsetaat.



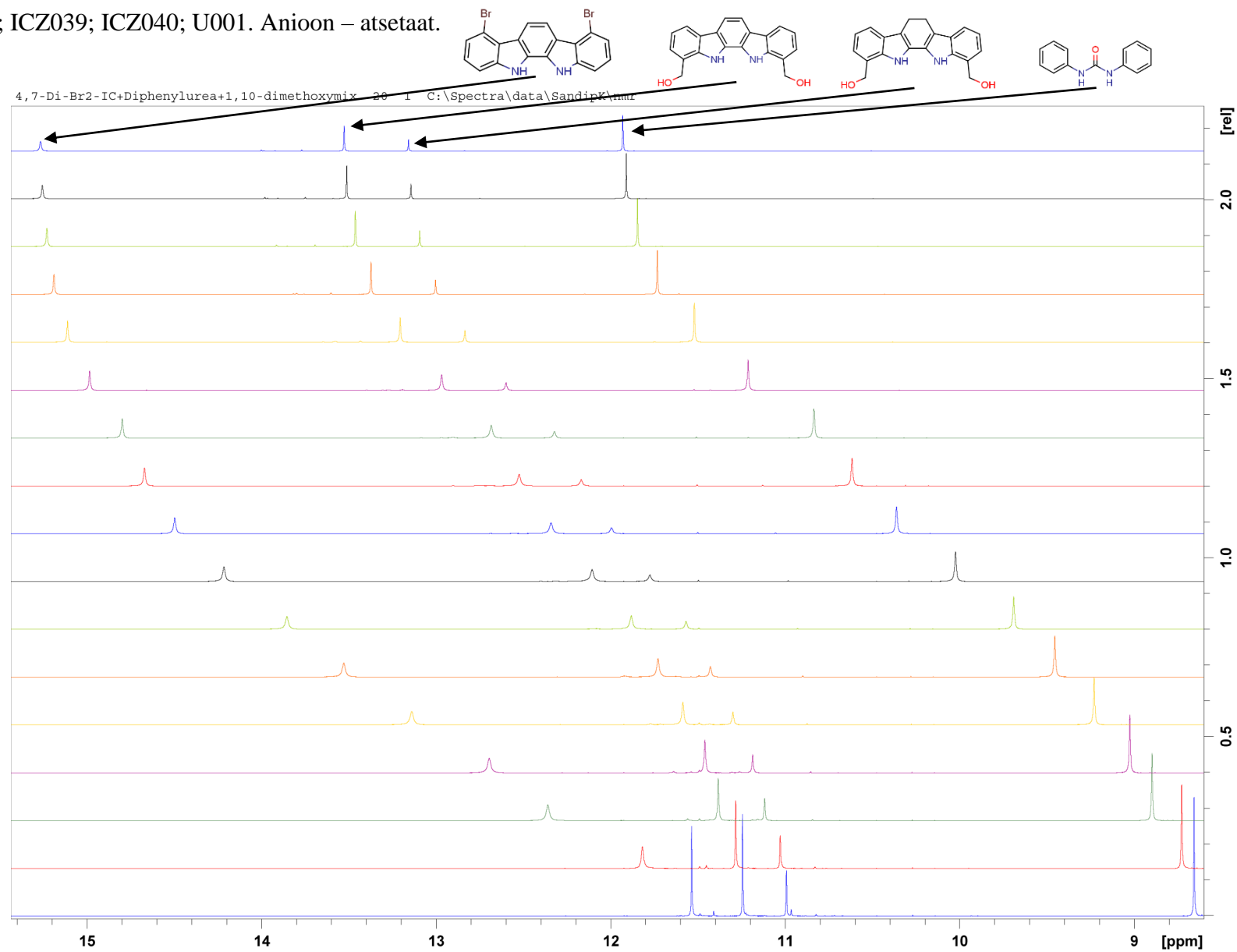




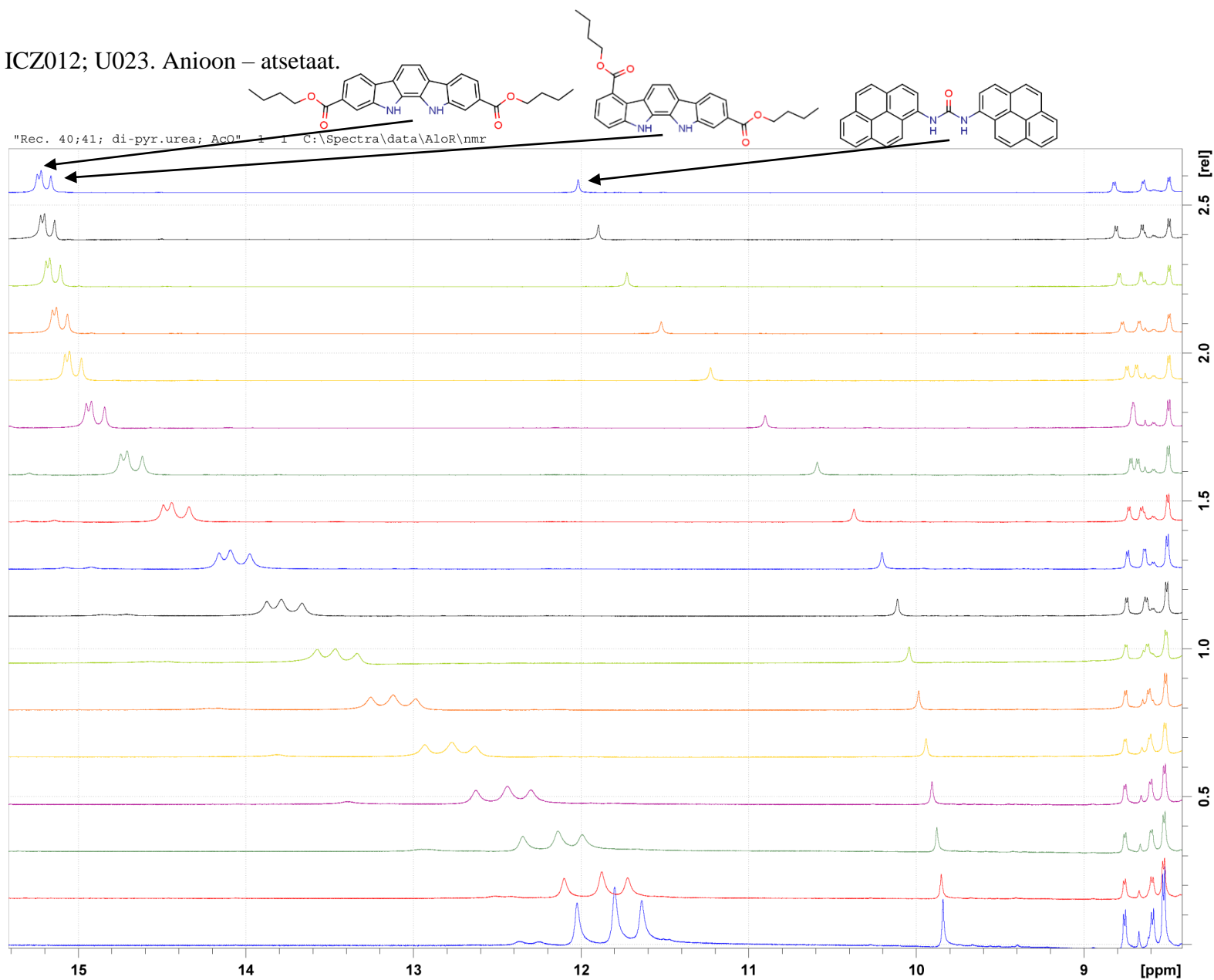
5. CZ015; ICZ010; ICZ012. Anioon – atsetaat.



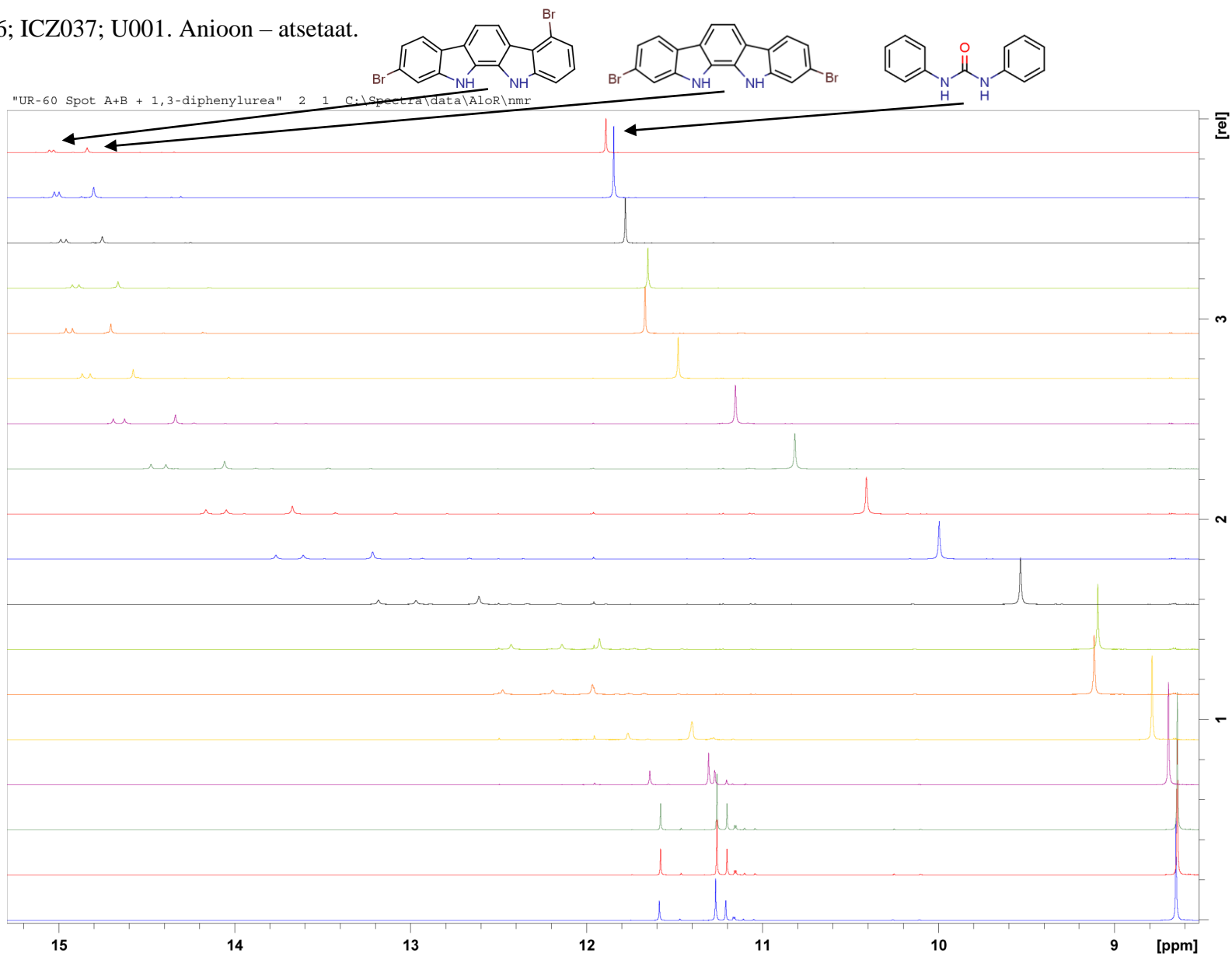
6. ICZ038; ICZ039; ICZ040; U001. Anioon – atsetaat.



7. ICZ010; ICZ012; U023. Anioon – atsetaat.

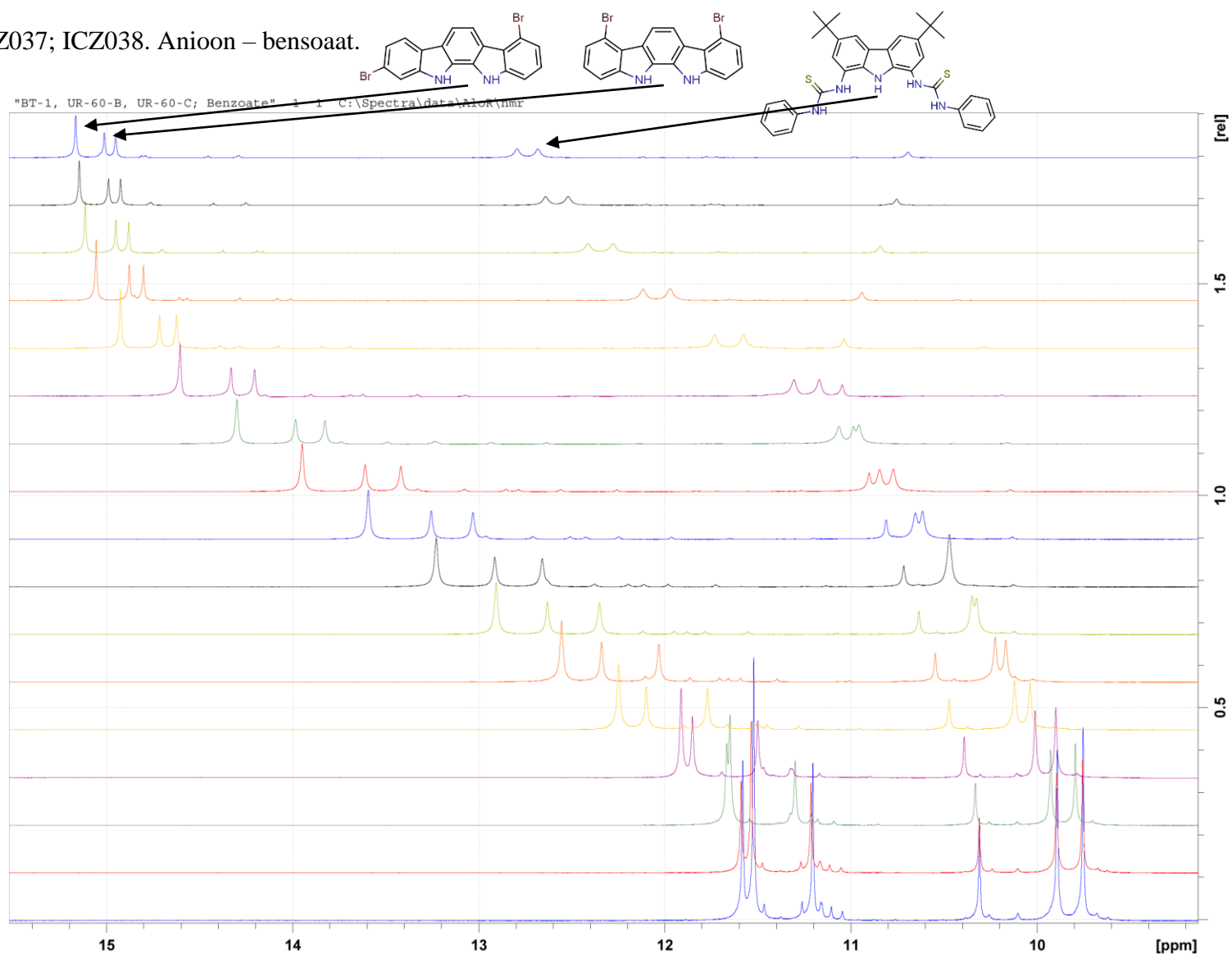


8. ICZ036; ICZ037; U001. Anioon – atsetaat.

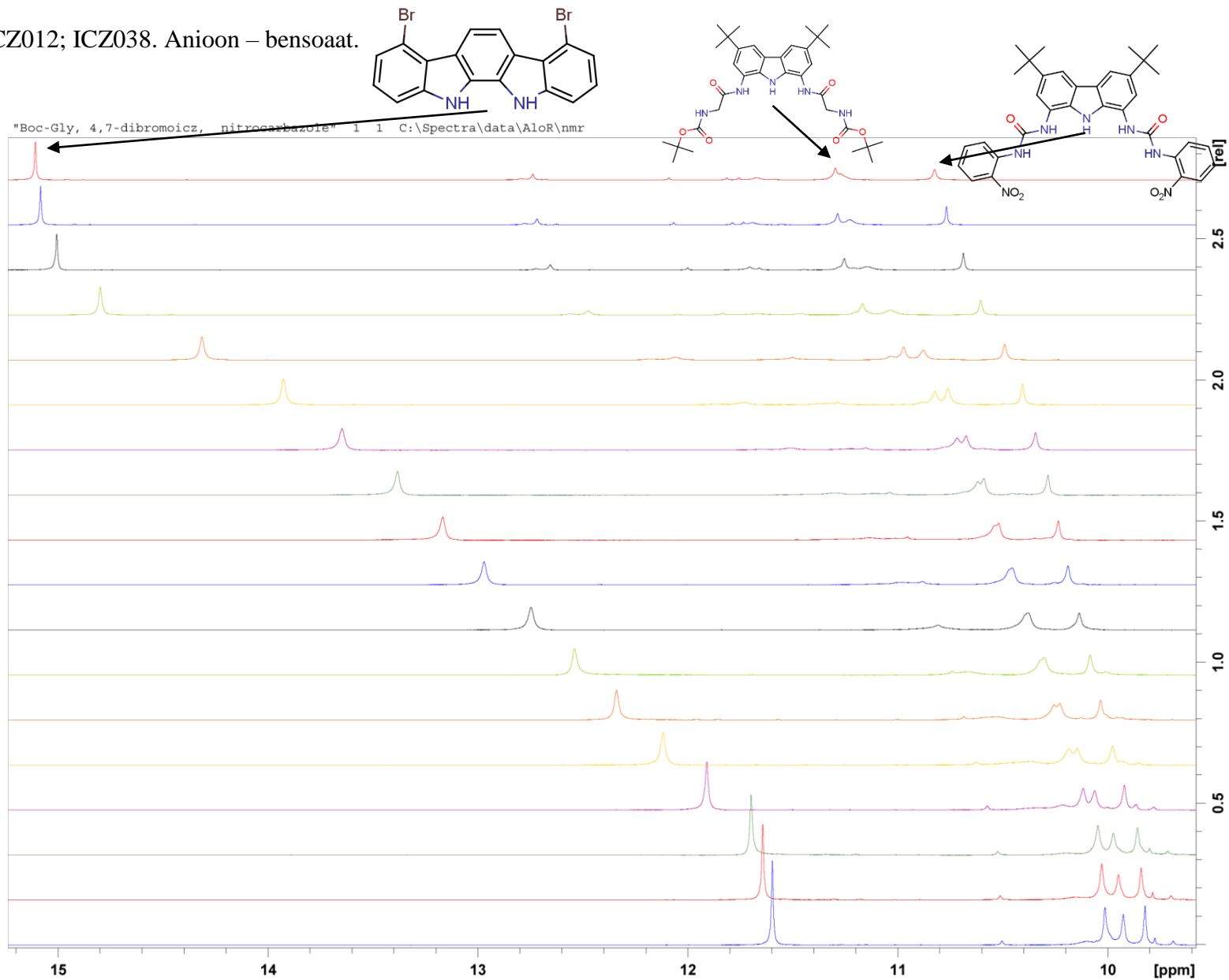


## Lisa 6.2. Bensoadi seondumisspektrid

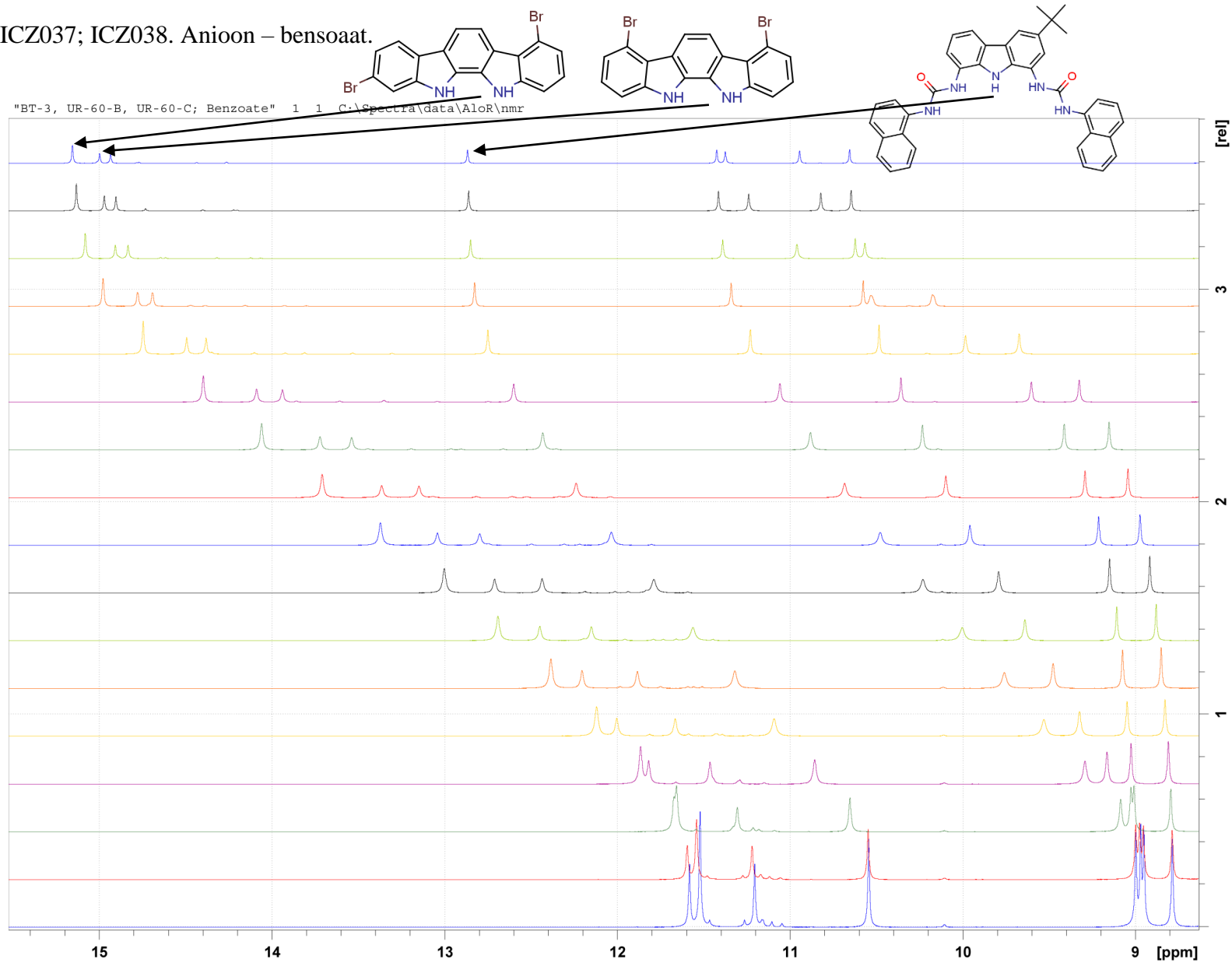
1. CZ011; ICZ037; ICZ038. Anioon – bensoaat.



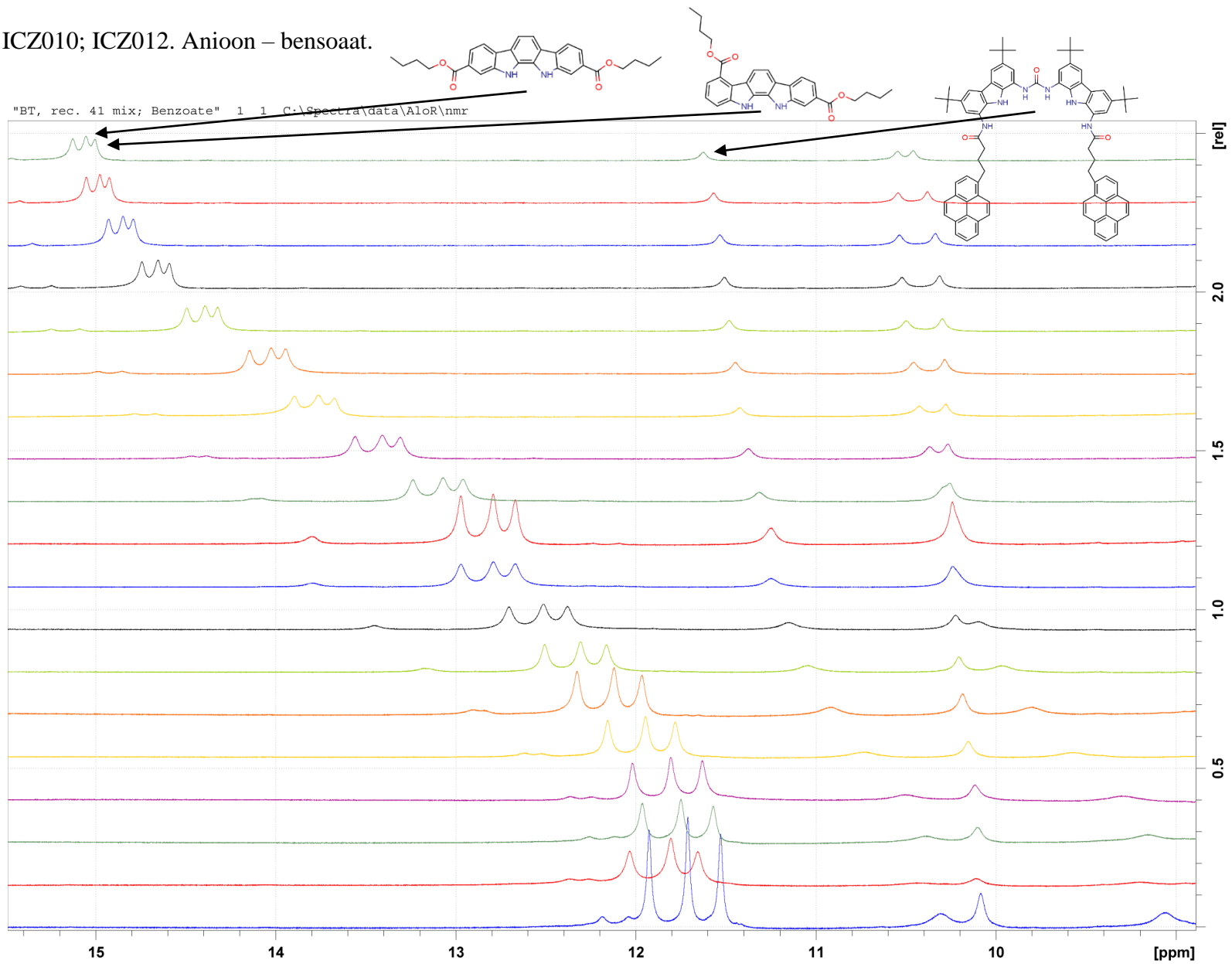
2. CZ010; CZ012; ICZ038. Anioon – bensoaat.



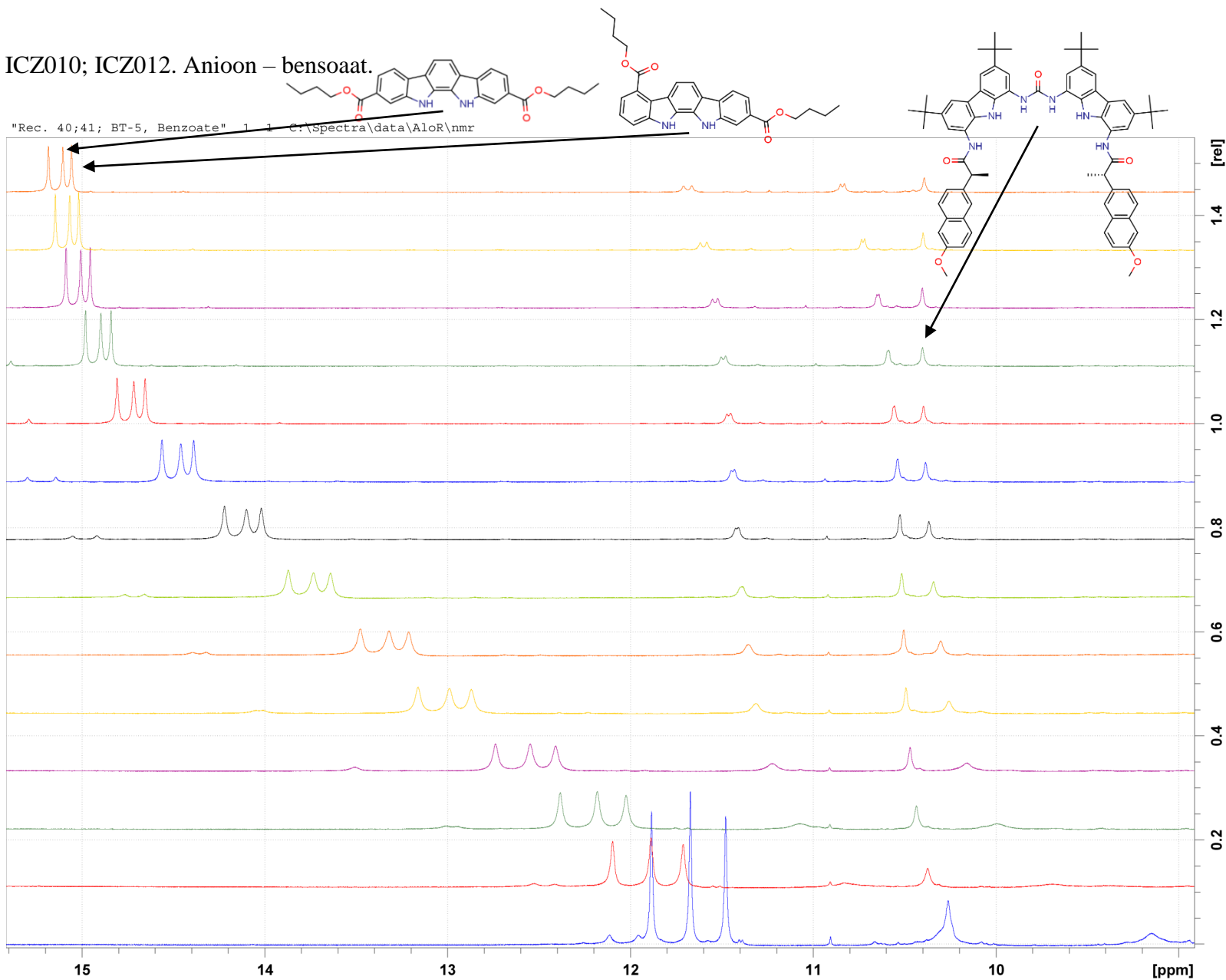
3. CZ013; ICZ037; ICZ038. Anioon – bensoaat.



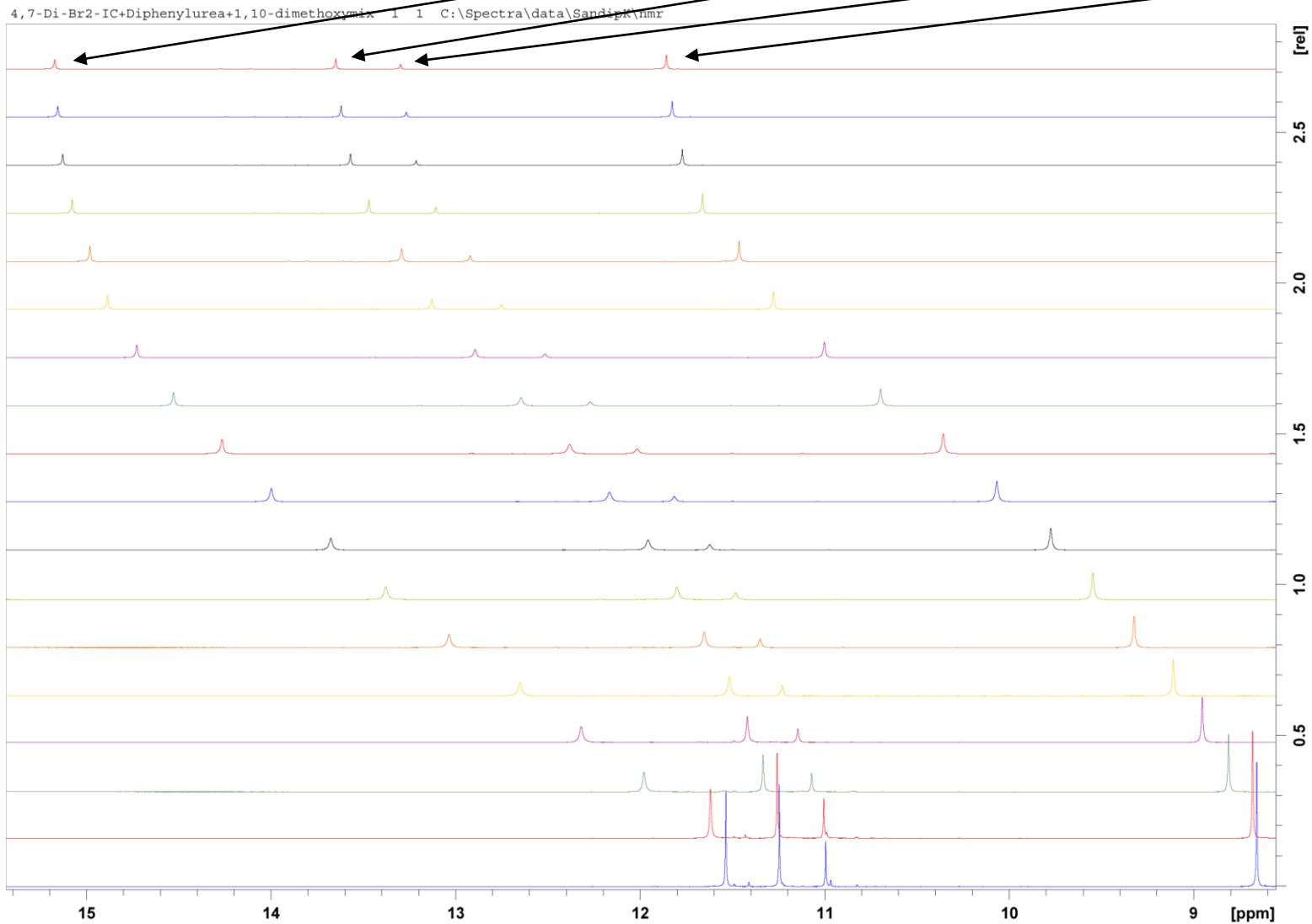
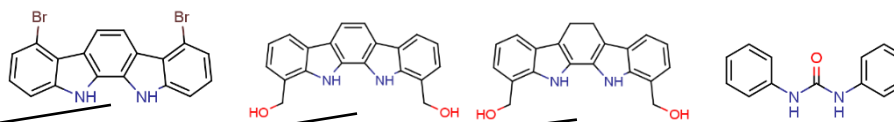
4. CZ014; ICZ010; ICZ012. Anioon – bensoaat.



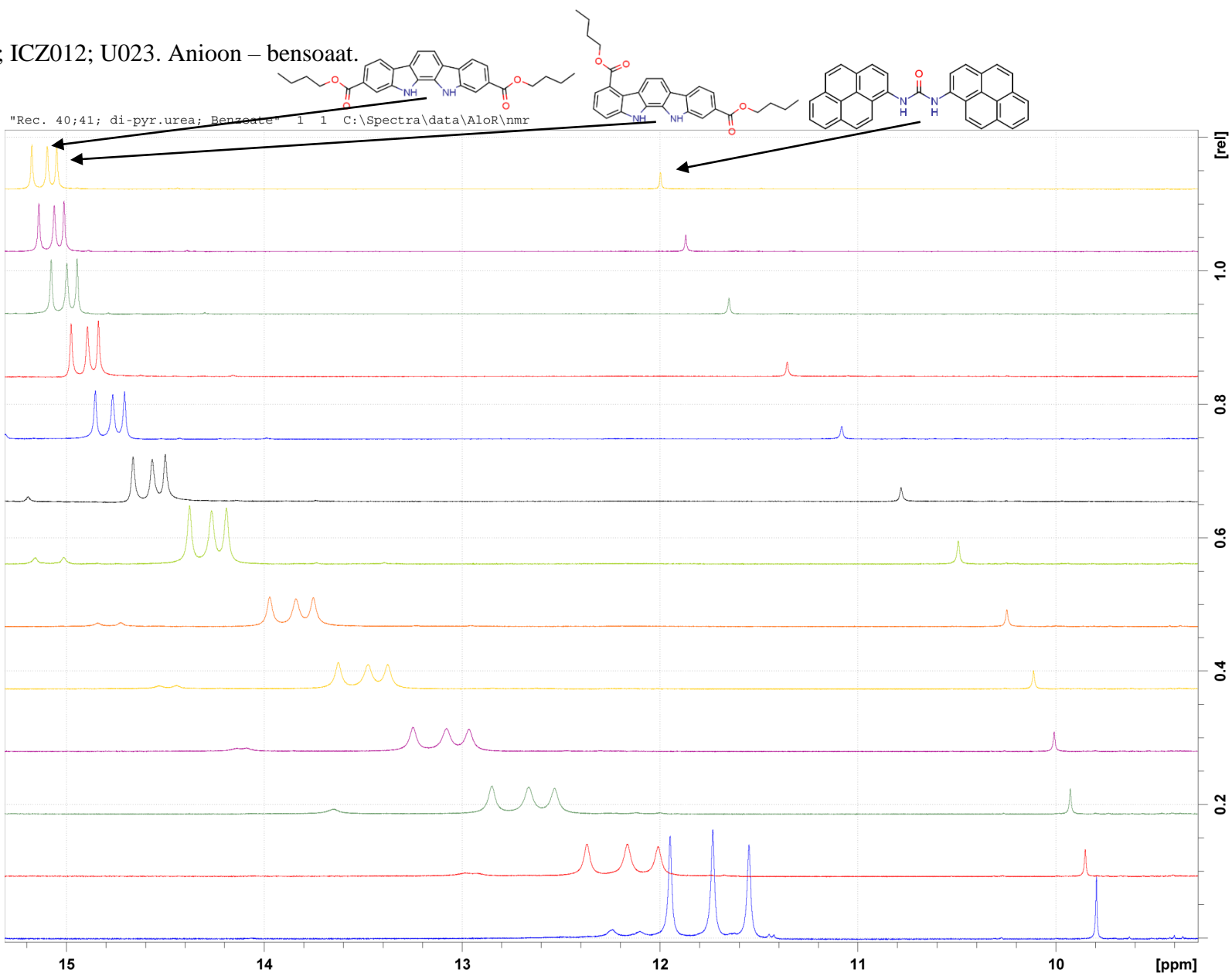
5. CZ015; ICZ010; ICZ012. Anioon – bensoaat.



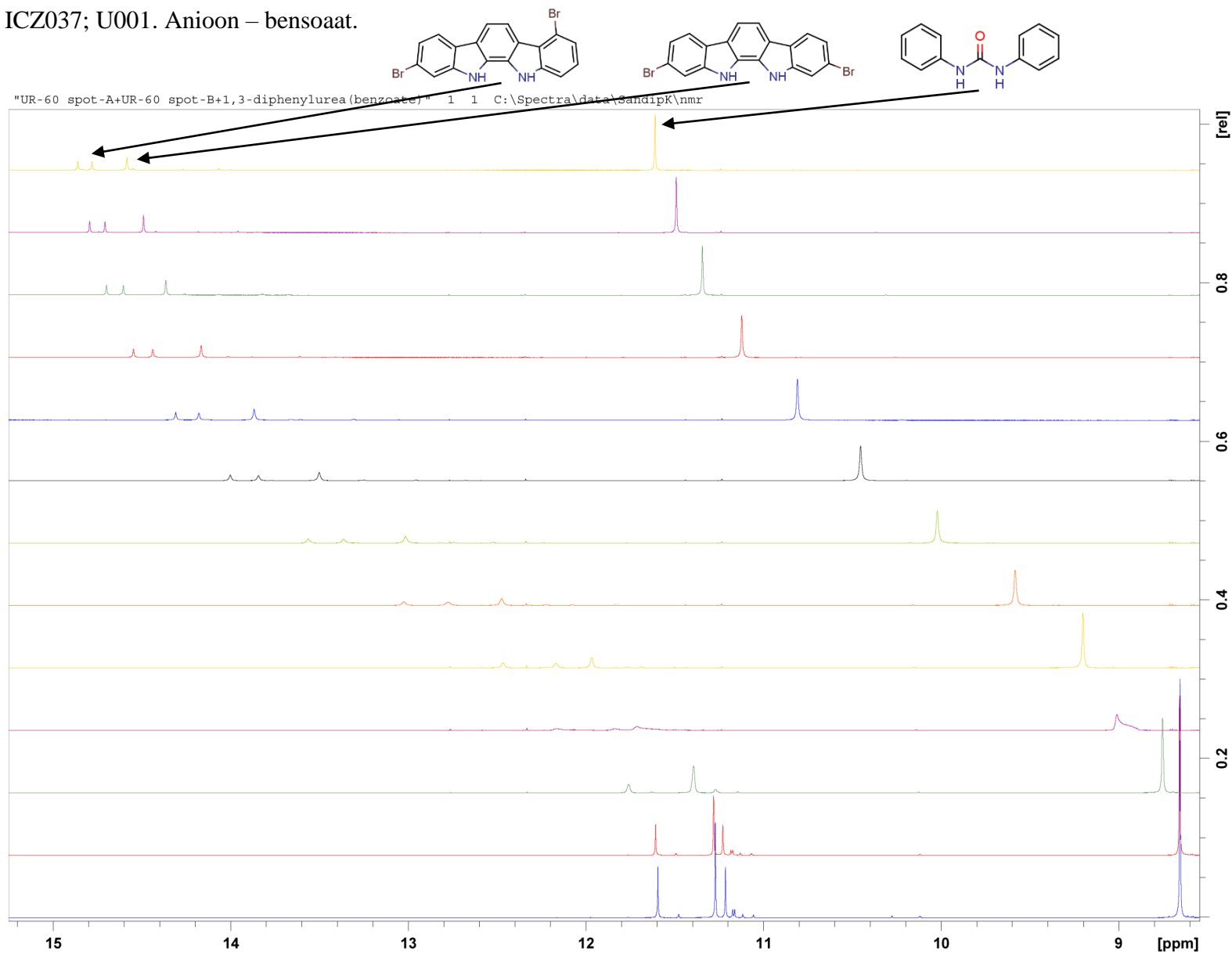
6. ICZ038; ICZ039; ICZ040; U001. Anioon – bensoaat.



7. ICZ010; ICZ012; U023. Anioon – bensoaat.

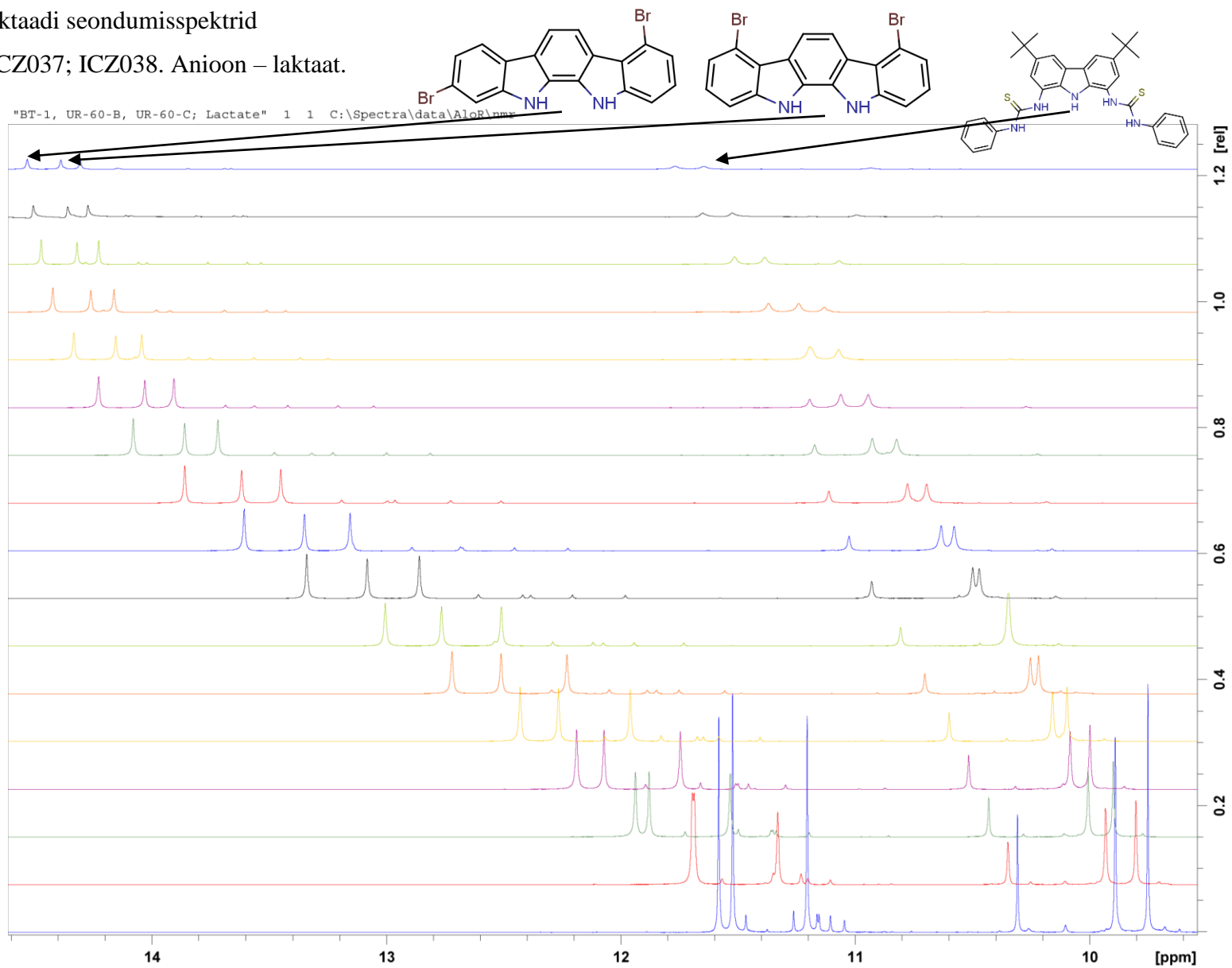


8. ICZ036; ICZ037; U001. Anioon – bensoaat.

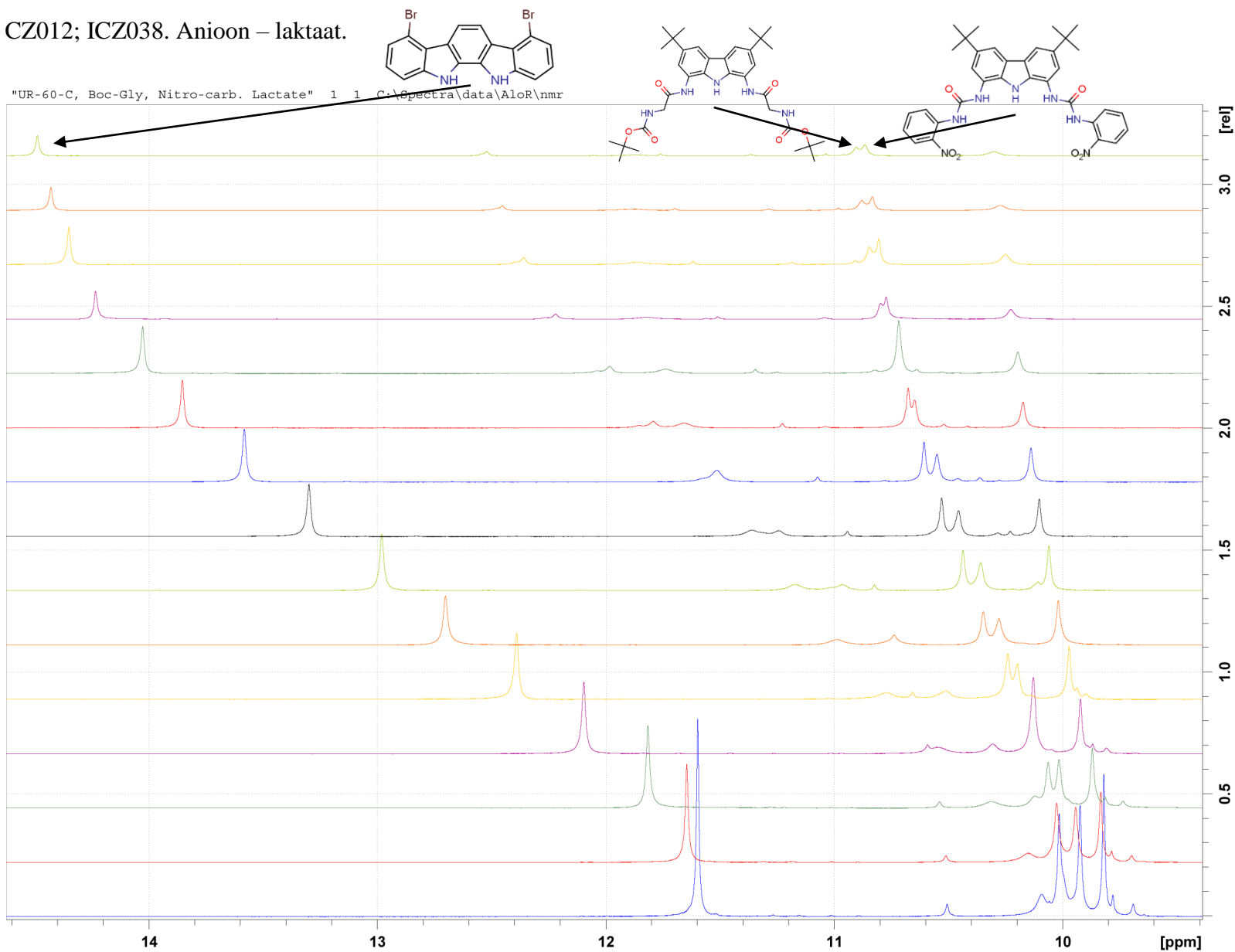


### Lisa 6.3. Laktaadi seondumisspektrid

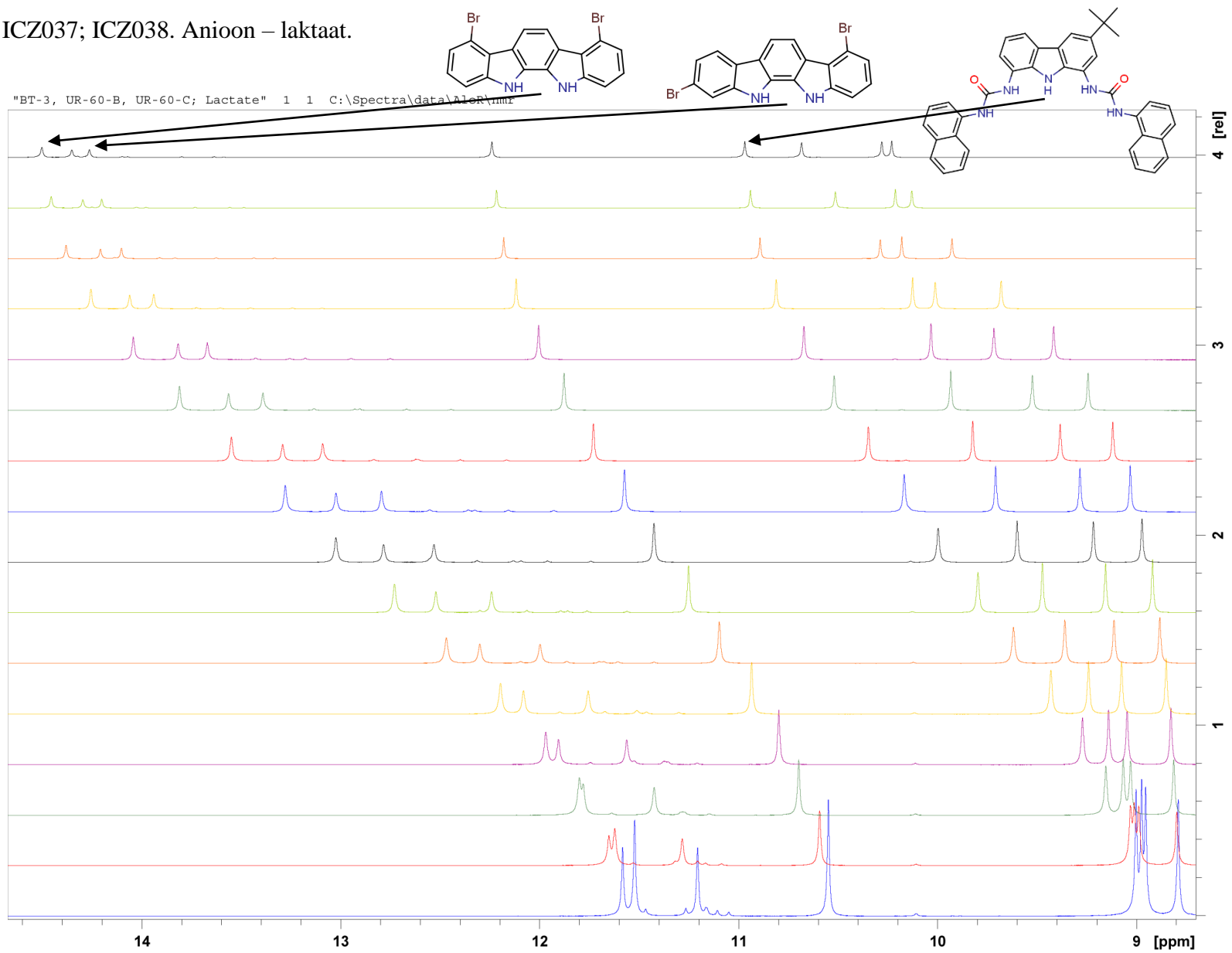
1. CZ011; ICZ037; ICZ038. Anioon – laktaat.



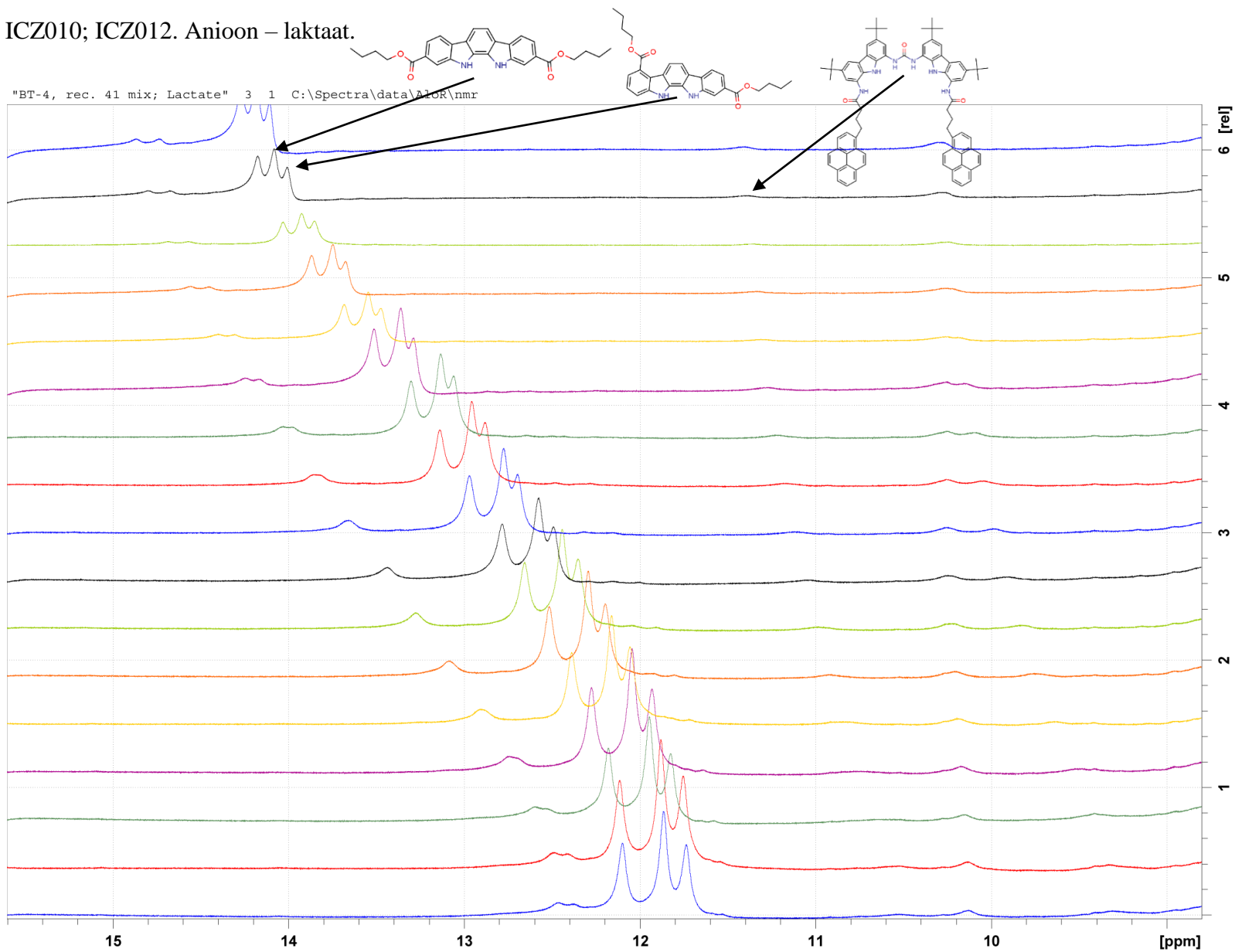
2. CZ010; CZ012; ICZ038. Anioon – laktaat.



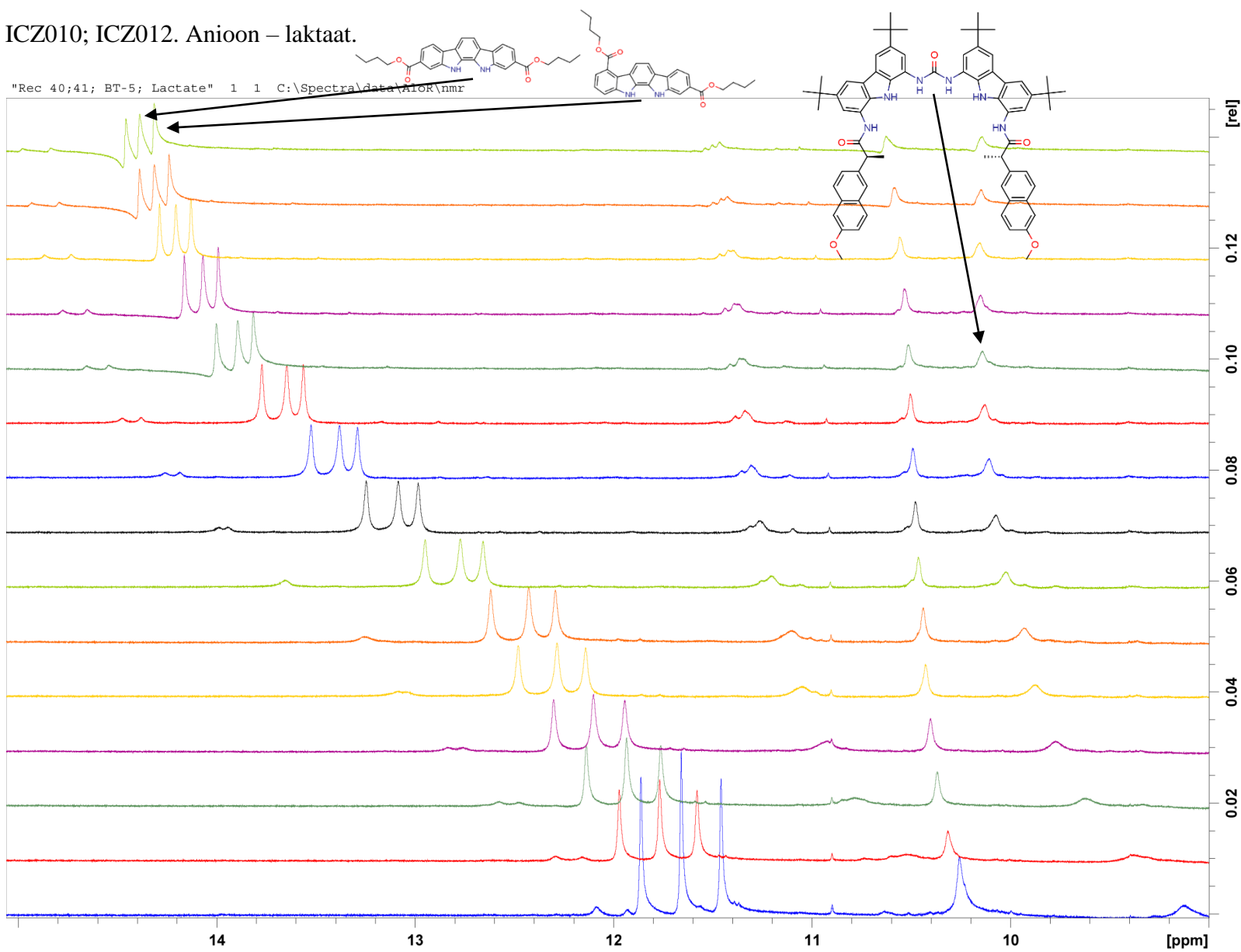
3. CZ013; ICZ037; ICZ038. Anioon – laktaat.



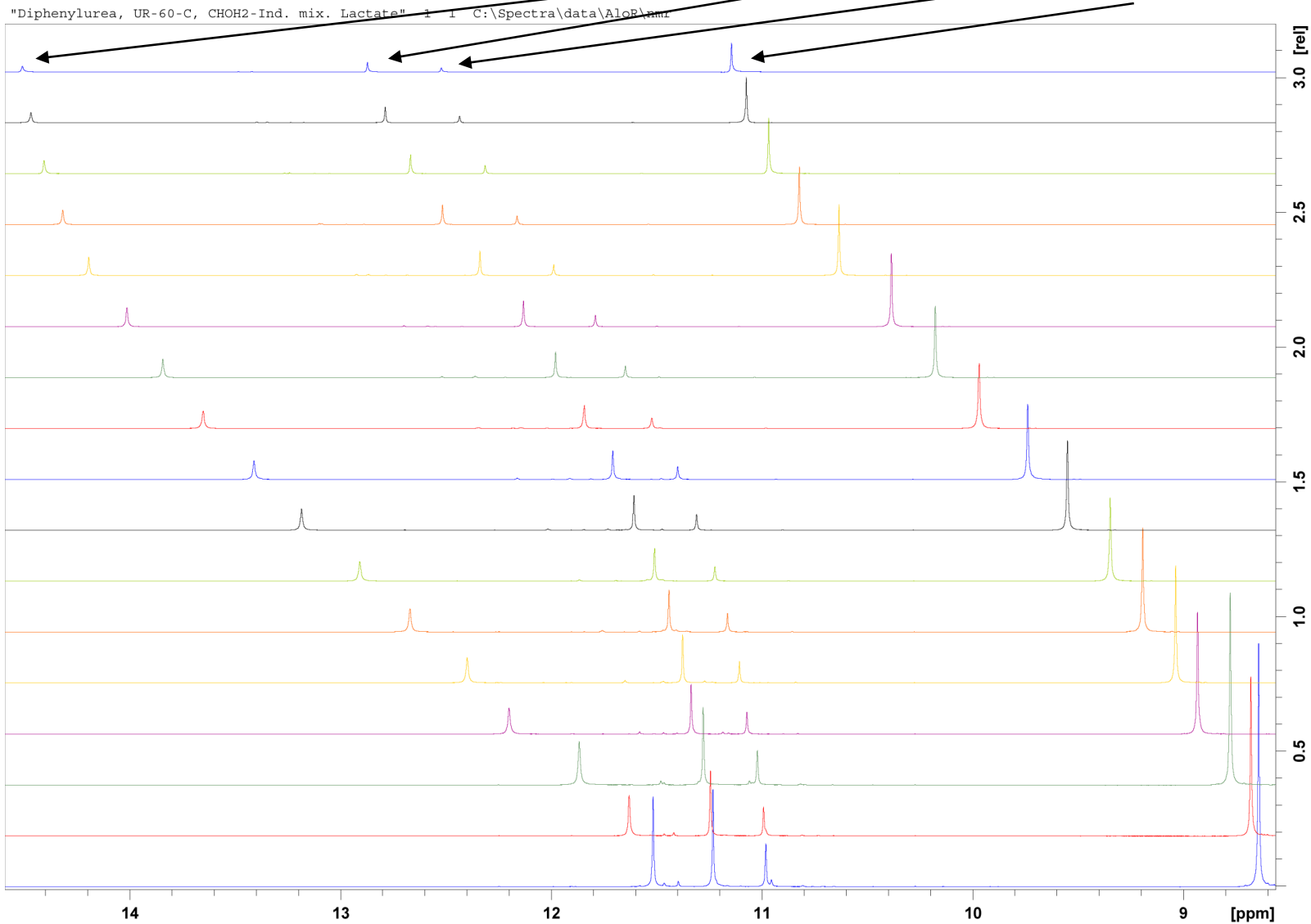
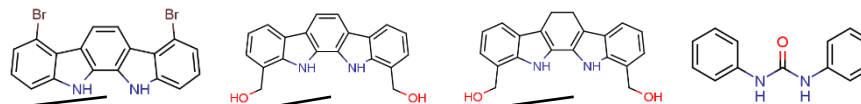
4. CZ014; ICZ010; ICZ012. Anioon – laktaat.



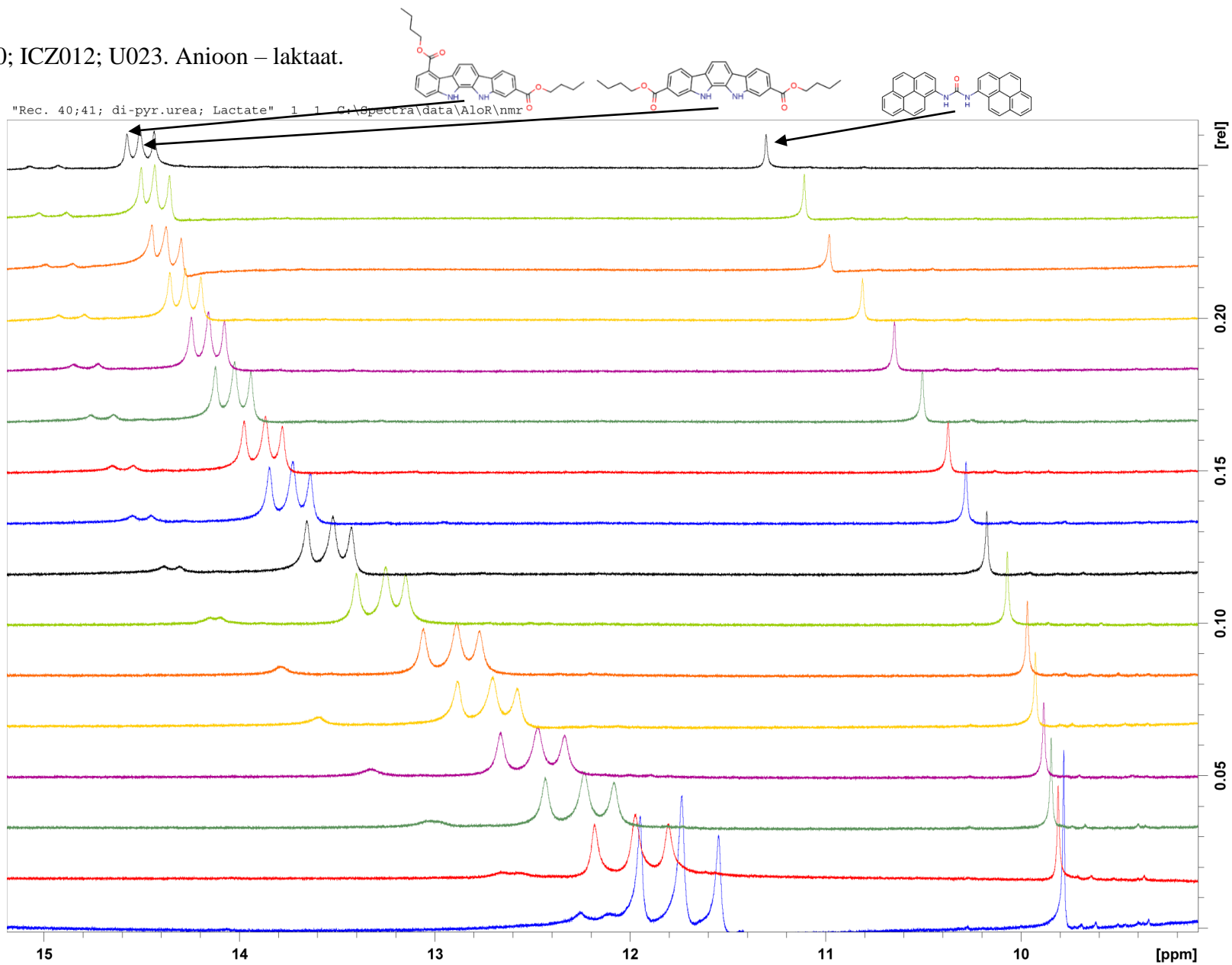
5. CZ015; ICZ010; ICZ012. Anioon – laktaat.



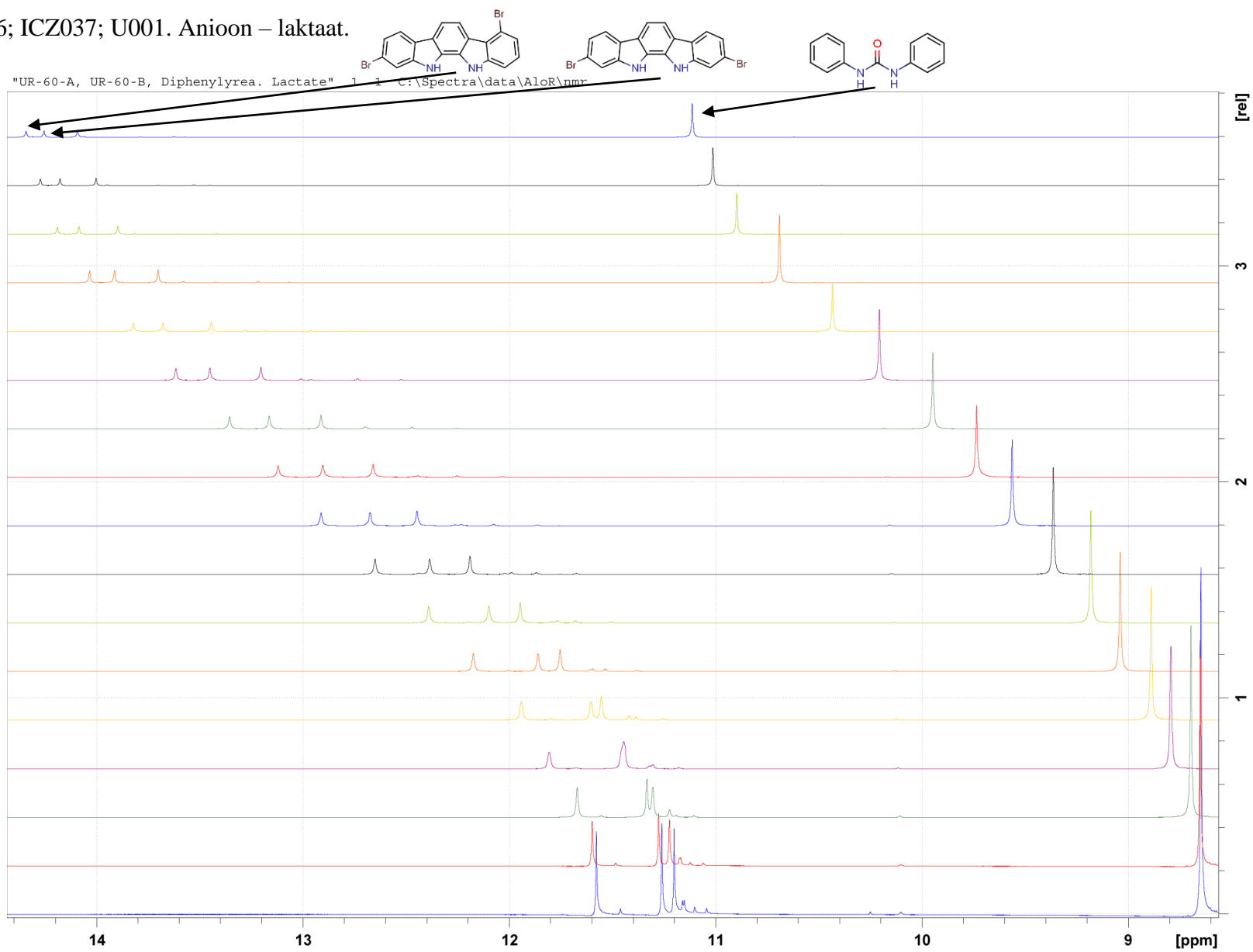
6. ICZ038; ICZ039; ICZ040; U001. Anioon – laktaat.



7. ICZ010; ICZ012; U023. Anioon – laktaat.



8. ICZ036; ICZ037; U001. Anioon – laktaat.



## **Infoleht**

### **Karbasoolil põhinevad hübriidretseptorid karboksülaatanioonide sidumiseks**

Käesoleva bakalaureusetöö eesmärgiks on sünteesida mõned uued karbasoolist lähtuvad hübriidsed retseptormolekulid, mida saab rakendada erinevate karboksülaatanioonide analüütilisel määramisel. Retseptormolekulide sünteesimiseks kasutatakse kirjandusallikatel põhinevat mitmeetapilist sünteesirada. Afiinsusomaduste hindamiseks kasutatakse varasemalt väljatöötatud TMR meetodit. Koostatakse seostumisskaalad kolme erineva aniooni jaoks – atsetaat, bensoaat ja laktaat. Skaalade valmistamiseks uuritakse erinevaid urea, indolokarbasooli ning karbasooli ja biskarbasooli tüüpi hübriidseid molekulaarretseptoreid. Arvutatakse suhtelised ja absoluutsed afiinsuskonstandid 15 retseptormolekuli jaoks heade kooskõlalispärametritega ( $s \leq 0.01 \log K_{af}$  ühikut). Kõik sünteesitavad uued molekulid karakteriseeritakse TMR, MS ja IR spektrite abil.

Märksõnad: TMR, supramolekulaarkeemia, karboksülaatanioonid, orgaaniline süntees, afiinsuskonstandid.

CERCS eriala P390 Orgaaniline keemia.

### **Carbazole based hybrid molecular receptors for binding carboxylate anions**

The aim of this thesis is to synthesize novel carbazole based hybrid molecular receptors which could be used towards the analytical detection of different carboxylate anions. A multistep synthesis pathway is used for the preparation of molecular receptors that has been described in literature. For the determination of binding properties, a previously reported NMR based relative binding measurement method is used. Three different binding ladders are composed for acetate, benzoate and lactate anions. Different urea, indolocarbazole and hybrid (bis)carbazole receptors are studied. Relative and absolute association constants are calculated for 15 different receptor molecules with exemplary consistency parameters ( $s \leq 0.01 \log K_{ass}$  units). All novel compounds are characterised with the use NMR, HRMS and ATR-IR spectra.

Keywords: NMR, supramolecular chemistry, carboxylate anions, organic synthesis, association constants.

CERCS code: P390 Organic chemistry.

## Litsents

### Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Alo Rüütel,

(sünnikuupäev: 12.07.1992)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose „Karbasoolil põhinevad hübriidretseptorid karboksülaatanioonide sidumiseks,“ mille juhendajad on Sandip Ashokrao Kadam ja Ivo Leito,
  - 1.1.reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
  - 1.2.üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu alates **02.06.2019** kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus 26.05.2016