



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Disertační práce

**Rotaxanový umělý enzym
s aktivitou řiditelnou vnějšími podněty**

**Rotaxane-based artificial enzyme
having external stimuli-driven activity**

Autor:	Ing. Marek Jurtík
Studijní program:	Technologie makromolekulárních látek
Školitel:	doc. Mgr. Robert Vícha, Ph.D.
Konzultant:	doc. Ing. Michal Rouchal, Ph.D.

Zlín, březen 2026

Klíčová slova: supramolekulární chemie, hostitel–host chemie, rotaxan, multitopický ligand, umělý enzym, biomimetický systém

Keywords: supramolecular chemistry, host–guest chemistry, rotaxane, multitopic guest, artificial enzyme, biomimetic system

ABSTRAKT

Supramolekulární chemie nabízí jedinečné možnosti, jak uspořádat molekuly do funkčních nadstruktur napodobujících principy biologických systémů. Jednu z rychle se rozvíjejících oblastí představuje vývoj umělých enzymů, jejichž aktivita je řízena změnami vnějších podmínek. Motivací této práce bylo vytvořit vícesložkový supramolekulární systém, jehož struktura i funkce by byly ovlivnitelné vnějšími podněty a který by mohl sloužit jako modelový nástroj pro biomimetickou katalýzu.

Cílem disertační práce bylo navrhnout, syntetizovat a detailně charakterizovat nový heptatopický ligand schopný současně interagovat s několika typy makrocyclů (cyklodextriny, cucurbit[*n*]urily) i s kovovými ionty. Dalším cílem bylo ověřit, zda lze tyto interakce kombinovat za vzniku stabilních vícesložkových uspořádání s potenciální katalytickou aktivitou a zda je možné jejich funkci regulovat vnějšími podněty, například molekulárním signálem.

V práci byly využity metody syntetické organické chemie, ^1H NMR a UV-Vis spektroskopie. Ty nástroje umožnily jednak připravit používané komponenty a jednak popsat vazebné preference jednotlivých makrocyclů, jejich reorganizaci na ose ligandu, interakce s kovovými kationty, stabilitu vzniklých komplexů i jejich vzájemnou kompatibilitu.

Výsledky ukázaly, že ligand selektivně váže různé makrocycly na specifická místa své struktury a kombinací těchto makrocyclů vznikají stabilní vícesložkové (pseudo)rotaxanové systémy. Byla rovněž jednoznačně potvrzena koordinace kovových iontů k bipyridinové jednotce ligandu. Navržené systémy byly následně testovány jako potenciální umělé enzymy, a to hydrolázy. Tyto testy byly nejúspěšnější při hydrolýze ethyl-formiátu (modelového substrátu), kde byla prokázána akcelerace průběhu reakce v přítomnosti navržených systémů.

Tato práce představuje komplexní studii návrhu, organizace a funkce multikomponentních supramolekulárních systémů. Výsledky otevírají cestu k cílenému vývoji regulovatelných biomimetických katalyzátorů, jejichž aktivita by mohla být řízena molekulárními signály, změnou hostitele či reorganizací supramolekulární architektury.

ABSTRACT

Supramolecular chemistry offers unique opportunities to organize molecules into functional architectures that mimic principles of biological systems. One of its rapidly developing areas is the formation of artificial enzymes whose activity can be regulated by changes of external conditions. The motivation of this work was to prepare a multicomponent supramolecular system whose structure and function could be modulated by external stimuli, serving as a model platform for biomimetic catalysis.

The aim of this dissertation was to design, synthesize, and thoroughly characterize a new heptatopic ligand capable of simultaneously interacting with several classes of macrocyclic hosts (cyclodextrins and cucurbit[*n*]urils) as well as with metal ions. A further objective was to verify whether these interactions can be combined to form stable multicomponent assemblies with potential catalytic activity, and whether their function can be regulated by external stimuli, such as a molecular signal.

Methods of synthetic organic chemistry, ^1H NMR spectroscopy, and UV-Vis spectroscopy were employed to prepare the required components and to describe the binding preferences of the individual macrocycles, their reorganization along the ligand axis, their interactions with metal cations, and the stability and mutual compatibility of the resulting complexes.

Results show that the ligand selectively binds different macrocycles at specific sites within its structure and that combinations of these hosts give rise to stable multicomponent (pseudo)rotaxane systems. Coordination of metal ions to the bipyridine unit of the ligand was also unambiguously confirmed. The constructed systems were subsequently evaluated as potential artificial enzymes, specifically hydrolases. The hydrolysis of ethyl formate (used as a model substrate) exhibited the most significant catalytic effect, with a clear acceleration of the reaction in the presence of the supramolecular assemblies.

This work provides a comprehensive study of the design, organization, and function of multicomponent supramolecular systems. The results pave the way for the targeted development of controllable biomimetic catalysts whose activity may be regulated by molecular signals, host exchange, or reorganization of the supramolecular architecture.

PODĚKOVÁNÍ

V první řadě děkuji doc. Mgr. Robertu Víchovi, Ph.D., za jeho odborné vedení, cenné rady, čas věnovaný společným rozpravám a pomoc, kdykoliv jsem potřeboval.

Poděkování patří také doc. Ing. Michalu Rouchalovi, Ph.D. a Ing. Zdeňce Pruckové, Ph.D., stejně jako dalším kolegům z Ústavu chemie za odbornou a často okamžitou spolupráci.

Největší vděk za dlouhodobou, neutuchající a ne pouze morální podporu však zaslouží moje rodina a mí nejbližší, bez kterých by vznik této práce nebyl zcela jistě možný.

OBSAH

ABSTRAKT	3
ABSTRACT.....	4
PODĚKOVÁNÍ.....	5
ÚVOD	8
SOUČASNÝ STAV POZNÁNÍ	10
1. Rotaxanové a pseudorotaxanové systémy	10
1.1 Regulování geometrie rotaxanových a pseudorotaxanových systémů	13
2. Enzymy a umělé enzymy	20
2.1 Skupiny umělých enzymů	24
2.1.1 Umělé enzymy založené na makrocyclických sloučeninách	25
2.1.2 Umělé enzymy založené na kontejnerových molekulách	33
2.1.3 Umělé enzymy založené na proteinových řetězcích.....	37
2.1.4 Umělé enzymy založené na řetězcích nukleových kyselin	39
2.1.5 Umělé enzymy založené na samoskladných molekulách	43
CÍLE A KONCEPT DISERTAČNÍ PRÁCE	47
VÝSLEDKY A DISKUZE	53
3. Syntéza cílového ligandu a látek příbuzných	53
4. Principy a přístup ke studiu interakcí hostitel–host systémů	61
5. Interakce s makrocycly	65
5.1 Dvousložkové systémy.....	65
5.2 Systémy s více makrocycly	76
5.3 Reorganizace supramolekulárních systémů vlivem kompetitoru.....	89
6. Interakce s kationty kovů	94
7. Interakce s makrocycly a kationty kovů zároveň	110
8. Funkční testování supramolekulárních systémů	122
9. Ostatní projekty	143
9.1 Design a příprava trojrozměrných supramolekulárních hydrogelových sítí	143

9.2	Světlem indukované změny struktur supramolekulárních komplexů.....	149
9.3	Komplexy a jejich stechiometrie vybraných ligandů s γ -CD.....	156
ZÁVĚR.....		165
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST		167
CURRICULUM VITAE A PUBLIKAČNÍ ČINNOST		199
SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ		201
PŘÍLOHA – REFERENČNÍ KARTA		202
REFERENCE		203

ÚVOD

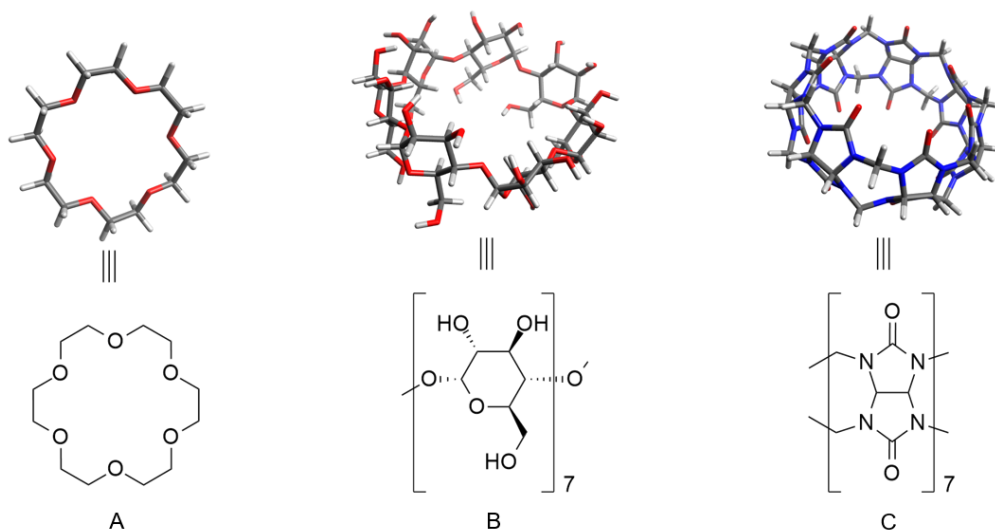
Principy reakcí uplatňující se v experimentální organické chemii se do jisté míry odlišují od principů reakcí biochemických probíhajících v živých systémech. Organičtí chemici nechávají nízkomolekulární látky „náhodně“ reagovat s volným substrátem v roztoku. Selektivita dosažená v takových reakcích pak vychází z rozdílné reaktivity určitých funkčních skupin substrátu a také z jejich prostorové náročnosti, což může bránit přiblížení reaktantů z určitých směrů.

Naproti tomu, v biochemických reakcích vystupují enzymy, které vážou a orientují reaktanty v prostoru. Biochemická selektivita vychází spíše z orientace substrátu v prostoru jako takové, než z vnitřní reaktivity substrátu. To znamená, že v reakcích katalyzovaných enzymy často pozorujeme například selektivní oxidace chemicky (z pohledu organické chemie) neaktivních částí molekuly substrátu, zatímco mnohem reaktivnější části substrátu zůstávají nezměněny. Výsledky takových biochemických procesů jsou často kvalitativně, kvantitativně i časově lepší ve srovnání s výsledky jednoduchých, v laboratořích realizovaných syntéz. Enzymatické reakce obvykle probíhají velmi rychle i za mírných (fyziologických) podmínek, uvažíme-li například pH a teplotu prostředí. Není ničím neobvyklým, že reakce katalyzované enzymy jsou až deset miliardkrát rychlejší než stejné reakce probíhající bez přítomnosti katalyzátoru.

Většina reakcí katalyzovaných enzymy vykazuje selektivitu výběru substrátů v jejich směsi, specifickou v prováděném typu přeměny, stereoselektivitu a regioselektivitu. Schopnost vybírat si jen určité substráty k reakci, zatímco jiné zůstávají nedotčeny, je klíčovým prvkem v biochemii, kde se pracuje s živými organismy a komplexními směsmi chemických sloučenin nesoucími celou plejádu funkčních skupin. Ve srovnání se syntetickou chemií, kde bývají substráty čisté a jedinou relevantní entitou v systému, má tato selektivita menší význam. Selektivita v typu prováděné reakce je běžná jak v chemických, tak v biochemických reakcích. Nicméně, regioselektivita a stereoselektivita, zvláště pak schopnost vytvářet čisté stereoizomery produktu z achirálních prekurzorů, jsou takové aspekty enzymatické chemie, které by měly být vnímány a studovány syntetickými chemiky.¹

Během několika posledních dekad bylo syntetickými chemiky připraveno nepřehledné množství umělých enzymů využívajících principů supramolekulární

chemie. Strukturu těchto již popsaných umělých enzymů tvoří často (mimo jiné) i makrocyclické sloučeniny obsahující kavitu, např. crownethery, cyklodextriny nebo cucurbit[*n*]urily (**Obrázek 1**).^{2–5} Známé umělé enzymy však často postrádají schopnost regulace, tj. měnit rychlost nebo směr reakce, kterou katalyzují. Tato regulace je možná například u rotaxanových systémů na bázi oligotopických ligandů (s různými vazebnými místy) a makrocyclů s širokou škálou selektivity danou velkým rozsahem vazebných konstant vůči různým vazebným místům (limitně až k 10^{17} M^{-1}).⁶

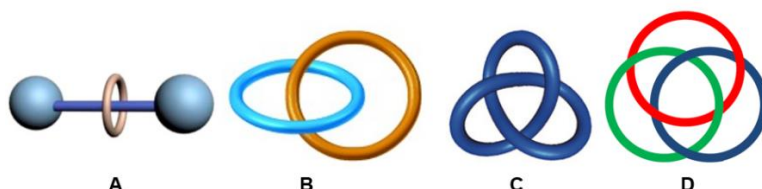


Obrázek 1 Modely a chemické vzorce vybraných zástupců makrocyclických sloučenin. A: 18-crown-6. B: β -cyklodextrin. C: cucurbit[7]uril.

SOUČASNÝ STAV POZNÁNÍ

1. Rotaxanové a pseudorotaxanové systémy

Již přes šedesát let se někteří chemici zabývají mechanicky propojenými molekulami (anglicky *Mechanically Interlocked Molecules*, MIMs). Jedná se o složitější systémy tvořené alespoň dvěma (vyjma uzlanů) chemickými entitami, propojenými nikoliv chemickými vazbami, nýbrž právě mechanicky. Bez přerušení kovalentní vazby v alespoň jedné z entit není možné od sebe oddělit tyto dvě vzájemně propojené struktury. Do skupiny MIMs (**Obrázek 2**) lze zařadit rotaxany, katenany, uzlaný a molekulární Boromejské kruhy.^{7–10}



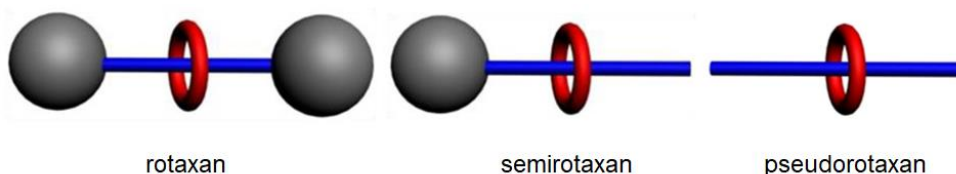
Obrázek 2 Modely vybraných zástupců mechanicky propojených molekul.

A: Rotaxan. B: Katenan. C: Uzlan. D: Boromejské kruhy. Upraveno.^{11–14}

Právě rotaxany jsou předmětem mého zkoumání. Rotaxany jsou systémy, které se skládají z lineární jednotky (nazývané též tyčovitá jednotka, osa, nebo z pohledu supramolekulární chemie host) a cyklické jednotky (nazývané též korálkovitá jednotka, nebo z pohledu supramolekulární chemie hostitel). Při vzniku rotaxanu jsou tyto dvě jednotky vzájemně propojeny pomocí nekovalentních interakcí tak, že cyklická jednotka obklopuje jednotku lineární. Jinými slovy, lineární jednotka prochází skrz kavitu cyklické jednotky.

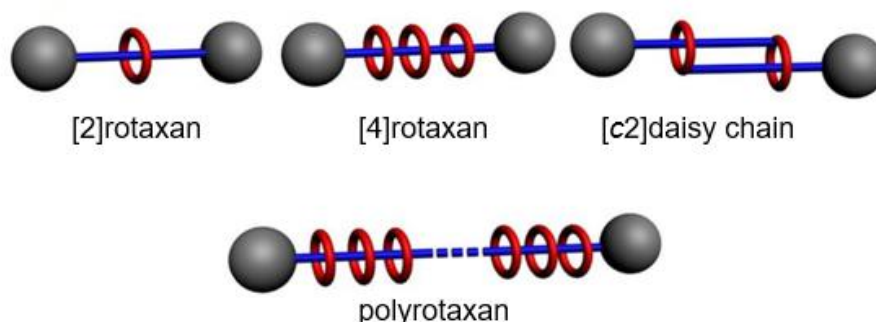
Z hlediska možných vzájemných vztahů lineární jednotky (s přihlédnutím k objemnosti koncových skupin) a makrocyclické jednotky rozlišujeme tři stavy, a to rotaxany, semirotaxany a pseudorotaxany (**Obrázek 3**). Lineární jednotka rotaxanů obsahuje na obou svých koncích objemné substituenty (tzv. stoppery), které brání „vyvléknutí“ cyklické jednotky z jednotky lineární. Semirotaxany jsou charakteristické přítomností pouze jednoho objemného substituentu.

Pseudorotaxanová lineární jednotka pak neobsahuje žádný objemný substituent.^a V případě semi- a pseudorotaxanů tedy nelze hovořit o molekulárních entitách, ale „jen“ o supramolekulárních komplexech.¹⁵



Obrázek 3 Různé možnosti vztahů mezi lineární a cyklickou jednotkou (upraveno).¹⁵

Obrázek 4 znázorňuje, jak rotaxany rozlišujeme z hlediska komplexnosti systémů, tedy kolik cyklických jednotek je v danou chvíli navázáno na jedné lineární. Existují nejjednodušší [1]rotaxany,¹⁶ dále pak složitější systémy, jako jsou například [2]rotaxany,¹⁷ oligorotaxany,¹⁸ polyrotaxany,¹⁹ či tak zvané *daisy chain*^b rotaxany.²⁰



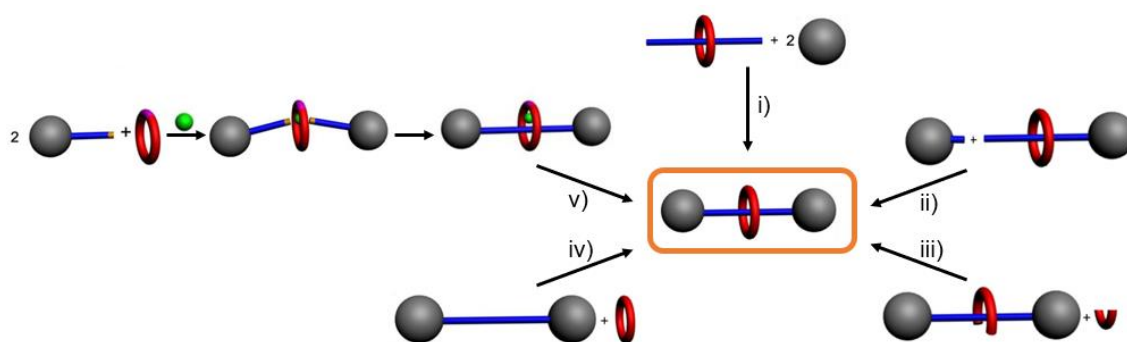
Obrázek 4 Zástupci rotaxanů s různou složitostí systému (upraveno).¹⁵

^a Toto je velmi složité definovat. Existují strukturně hraniční systémy mezi rotaxany a pseudorotaxany. Osa může být ohraničena objemnou jednotkou, ale její objemnost nemusí být dostatečná, aby bránila převléknutí makrocyclu.

^b Daisy chain rotaxany jsou velmi komplexní systémy, které vykazují vnitřní posuvné pohyby v rámci své struktury v závislosti na vnějších stimulech. Tento pohyb nejvíce připomíná funkci svalů, tedy kontrakci a relaxaci, odtud se jim říká molekulární svaly. Uplatňují se při výzkumu molekulárních strojů a pokročilých supramolekulárních systémů.

Strategie syntéz rotaxanových systémů se vyvíjely od náhodného statistického navlékání lineární jednotky do cyklické (bez uplatnění jakýchkoliv přitažlivých sil mezi těmito jednotkami), až po řízené syntézy s využitím aktivních templátů.^{21,22} Právě tyto novější metody umožnily v posledních dekádách přípravu i velmi složitých rotaxanových systémů. Tyto metody využívají pro vhodnou prostorovou orientaci reagentů například π – π interakce,²³ vodíkové vazby,²⁴ hydrofobní interakce,²⁵ koordinace kovových iontů,²⁶ nebo různých aniontů.²⁷

V principu rozlišujeme pět různých metod syntézy rotaxanů, tedy způsobů, jak mohou být propojeny lineární a cyklická jednotka (**Obrázek 5**). Jedná se o i) *stopping*, ii) *trapping*, iii) *clipping*, iv) *slipping* a v) *active metal template synthesis*.^c



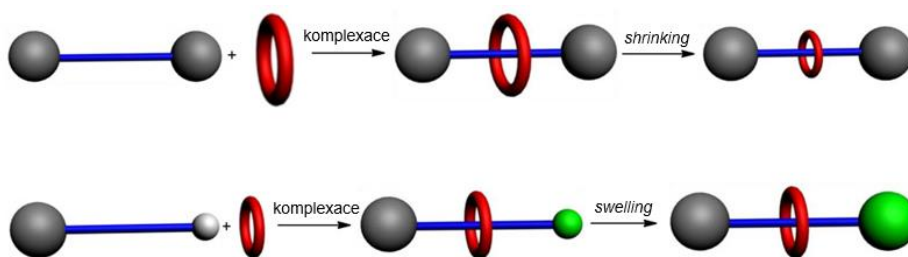
Obrázek 5 Běžné metody přípravy rotaxanů (upraveno).¹⁵

Metoda *stopping* je založena na reakci pseudorotaxanu s molekulami obsahující objemný substituent. Na obou stranách tak najednou dochází k zablokování cyklické jednotky na ose ligandu stejnými substituenty.²⁸ Podobnou metodou syntézy rotaxanu je *trapping*, kdy dochází k reakci semirotaxanu s molekulou obsahující objemný substituent za tvorby kovalentní vazby mezi nimi. Tato metoda umožňuje přípravu rotaxanů s nesymetricky zakončenými lineárními jednotkami.²⁹ Další možnou metodou přípravy rotaxanu je *clipping*, kde je posledním krokem uzavření makrocyclu okolo lineární jednotky s objemnými substituenty.³⁰ Metoda *slipping* spočívá v zahřívání směsi

^c Z důvodu nesnadného jednoslovného překladu do českého jazyka a perfektní výstižnosti v anglickém jazyce, jsou názvy těchto metod zachovány v cizím jazyce.

makrocyclu a lineární jednotky nesoucí na koncích objemné substituenty. Za zvýšených teplot je možné, že se cyklická jednotka „převlékne“ přes objemné substituenty lineární jednotky.³¹ Další možností syntézy rotaxanů je metoda *active metal template*, která využívá koordinačních schopností kovových iontů přidaných do systému. Tento kovový ion koordinuje, tím přibližuje a předuspořádává reakční komponenty (typicky cyklickou jednotku a části lineární jednotky) a zároveň katalyzuje vznik chemické kovalentní vazby mezi těmito komponenty za vzniku rotaxanové struktury.³²

V tomto tisíciletí byly popsány i další metody syntézy rotaxanů. Tyto metody spočívají v chemické úpravě „nezamknutých“ rotaxanů, tedy stavu, kdy je cyklická jednotka navázána okolo lineární (Obrázek 6). Tento stav je proti dekomplexaci zafixován buď chemickým zvětšením objemu koncových skupin, tak zvaný *swelling*,³³ nebo naopak chemickým zmenšením průměru cyklické jednotky (*shrinking*).^{34, 35}



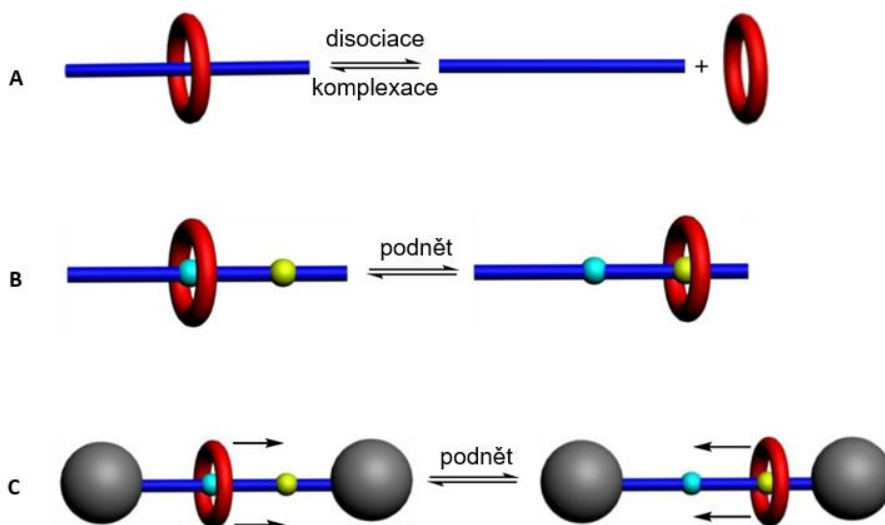
Obrázek 6 Novější metody přípravy rotaxanů (upraveno).¹⁵

1.1 Regulování geometrie rotaxanových a pseudorotaxanových systémů

Rotaxany jsou jedinečné svými propojenými strukturami a díky relativně vysokému stupni volnosti mezi jednotlivými jednotkami (lineární a cyklickou) disponují schopností měnit geometrická uspořádání systémů, které tvoří. Poloha makrocyclu na lineární jednotce, respektive jeho pohyb po ní vychází ze struktury a symetrie jednotky lineární (Obrázek 7).

V případě, že má lineární jednotka ve své struktuře dvě nebo více stejně afinitních míst pro daný makrocyclus, lze předpokládat, že se makrocyclická jednotka bude po lineární ose (respektive mezi jejími vazebnými místy)

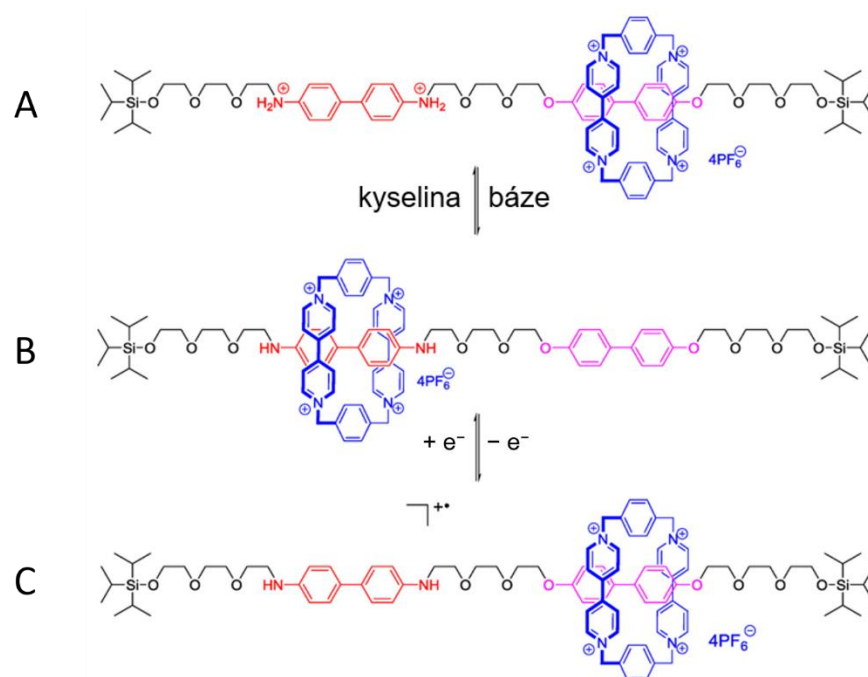
pohybovat spontánně za vzniku degenerovaného^d molekulárního kyvadla. V případě lineární jednotky nesoucí právě dvě stejná atraktivní místa pro jednotku makrocyclickou, bude statistická distribuce mezi těmito dvěma místy 50:50.³⁶



Obrázek 7 Možnosti pohybů cyklické jednotky po jednotce lineární. A: Cyklická jednotka je buď na ose, nebo mimo ni. B: Cyklická jednotka se nachází na různých vazebných místech jednotky lineární v závislosti na podnětech a může i disociovat. C: Cyklická jednotka se nachází na různých místech jednotky lineární v závislosti na podnětech a nemůže disociovat. Upraveno.¹⁵

V případě, že lineární jednotka má ve své struktuře dvě nebo n různých vazebných míst pro daný makrocycklus, existují dvě nebo n rovnovážných uspořádání. Zastoupení jednotlivých geometrických uspořádání pak závisí na tom, jak velké jsou rozdíly v hodnotách asociačních konstant mezi jednotlivými vazebnými místy lineární jednotky vůči jednotce makrocyclické. Makrocyclická jednotka tak spolu s lineární tvoří v tomto případě nede degenerované říditelné molekulární kyvadlo. Takový systém (**Obrázek 8**) popsali R. Bissell a spol.³⁷ Je-li lineární jednotka nabitá (kyselé prostředí), pak elektronově deficitní makrocycklus preferuje bifenolový motiv (A). Po alkalizaci (B) se makrocycklus přemísťuje na elektronově bohatý benzidinový motiv, který může být oxidován za vzniku kation-radikálu (C), což vyvolá přesun makrocycclu opět na bifenolovou jednotku.

^d Degenerovaný systém obecně vykazuje více možností prostorové orientace při podobné energii.



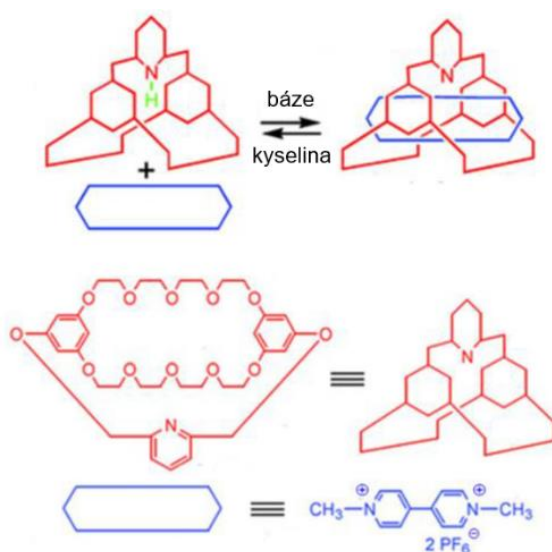
Obrázek 8 Příklad nedegenerovaného říditelného molekulárního kyvadla. Mezi stavy A–C je možné vzájemně přecházet změnou pH nebo změnou redoxního potenciálu prostředí. Upraveno.³⁷

Supramolekulární komplexy pseudorotaxanů představují velmi zajímavou oblast výzkumu, zvláště díky jejich potenciálním aplikacím v konstrukci umělých molekulárních strojů, které mohou reagovat na vnější podněty. Podpořením přitažlivých, nebo odpudivých sil mezi lineární a cyklickou jednotkou pseudorotaxanu lze dosáhnout buď asociace, nebo disociace komplexu, a to vratně. Stimuly pro změnu polohy cyklické jednotky na lineární jednotce pseudorotaxanu mohou být různé. Nejprve je nutno zmínit, že vzájemnou polohu lineární a makrocyclické jednotky (pseudo)rotaxanu lze řídit vnějšími stimuly, tedy použitým rozpouštědlem (solvatace,³⁸ polarita rozpouštědla,^{39–41} tvorba vodíkových vazeb,⁴² hydrofobní efekt⁴³) nebo teplotou.^{44,45, 46} Jinou, významnější skupinou, jsou molekulární stimuly. Ty mohou být chemické,⁴⁷ fotochemické,⁴⁸ redoxní (elektrochemické),⁴⁹ případně jiné.⁵⁰

Do skupiny chemických stimulů řadíme změnu pH roztoků,^{51–54} přidávání kationtů nebo aniontů do roztoku,^{55–57} případně přidávání další molekuly vystupující v roli kompetitoru.^{58–60} U rotaxanových systémů lze měnit polohu cyklické jednotky na lineární jednotce všemi výše zmíněnými stimuly, nikoliv však přidáním kompetitoru, neboť není možné, aby došlo k disociaci rotaxanu.

Právě ale přidání kompetitoru k pseudorotaxanům představuje (z aplikačního úhlu pohledu) velmi zajímavý přístup při manipulaci s makrocyclickou jednotkou na ose ligandu. Dochází totiž k jejímu úplnému vyvlečení z lineární jednotky. Poloha cyklické jednotky na ose může být měněna v principu všemi výše zmíněnými stimuly.

Typický vliv změny pH roztoku popisuje například práce F. Huanga a spol. publikovaná roku 2005.⁶¹ Předmětem tohoto výzkumu byla schopnost komplexace/dekomplexace kryptandu (s 2,6-disubstituovanou pyridinovou jednotkou v jeho struktuře) a *N,N'*-dimethyl-4,4'-bipyridiniové soli (methyl-viologenu) v závislosti na pH.

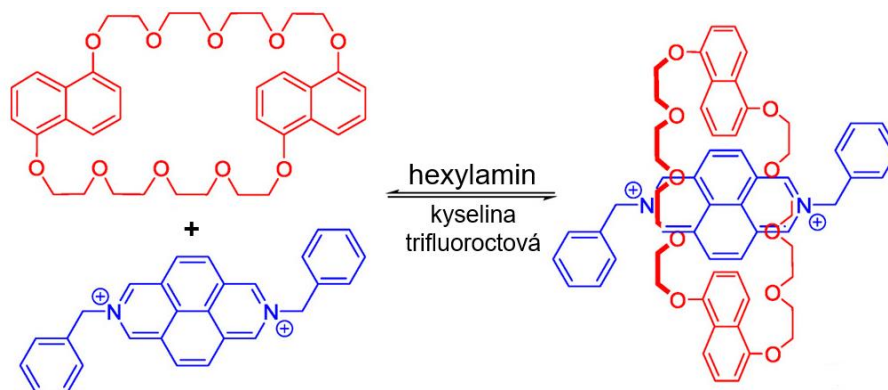


Obrázek 9 Příklad asociace a disociace způsobené molekulárním stimulem (upraveno).⁶¹

Pokud nebyl atomu dusíku v pyridinu nabitý (alkalické pH), tak se elektronově deficitní methyl-viologen nacházel uvnitř kavity kryptandu, což autoři potvrdili pomocí NMR experimentů v acetonu- d_6 . Po okyselení směsi došlo k navázání atomu vodíku na pyridinový atom dusíku a následné dekomplexaci. Neutralizací kyseliny trifluoroctové triethylaminem potom kryptand opět získal schopnost „hostit“ *N,N'*-dimethyl-4,4'-bipyridiniovou sůl (**Obrázek 9**).

Zajímavým případem kombinace dvou z výše zmíněných molekulárních stimulů (změna pH roztoku a přítomnost kompetitoru) je práce R. Ballardiniho a spol. z roku 1996.⁶² V rámci této práce byl připraven dvojnásobně nabitý 2,7-

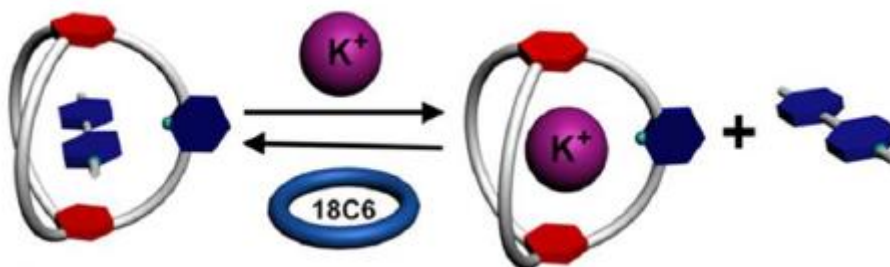
dibenzyl-2,7-diazapyreniový kation (reprezentující lineární jednotku pseudorotaxanu) a 1,5-dinafto[38]crown-10 (reprezentující cyklickou jednotku pseudorotaxanu). Tyto dvě látky spolu tvoří komplex s $K_{ass} = 3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ (v acetonitrilu). Tento komplex je poměrně stabilní, neboť sestává z π -elektronově chudé 2,7-diazapyreniové soli a π -elektronově bohatého crownetherového motivu (**Obrázek 10**). Zmíněný 2,7-dibenzyl-2,7-diazapyreniový kation je zajímavý ještě z jiného úhlu pohledu, a sice, že s hexylaminem tvoří komplex v poměru 1:2 s $K_{ass} = 10^8 \text{ M}^{-2}$. Autoři předpokládají, že tento komplex je stabilní nejen díky přenosu náboje mezi akceptorem (pyreniová sůl) a donorem (hexylamin) elektronů, ale i vodíkovým vazbám ve směru od H-donoru (kyselých α -vodíků v benzylové poloze pyreniové soli) k H-akceptoru (volný elektronový pár aminoskupiny hexylaminu). Právě faktu, že tento komplex pyreniové soli s kompetitorem (alifatický amin) má vyšší asociační konstantu, bylo využito pro změnu vzájemné polohy původní lineární a cyklické jednotky pseudorotaxanu, čímž pseudorotaxan zanikl. Tento jev je ale vratný, a to protonací hexylaminu kyselinou trifluoroctovou. Protonací aminoskupiny ztrácí hexylamin schopnost kompetice, a tak se pyreniová sůl opět komplexuje s naftocrownetherem.



Obrázek 10 Příklad asociace a disociace způsobené kombinací molekulárních stimulů (upraveno).¹⁵

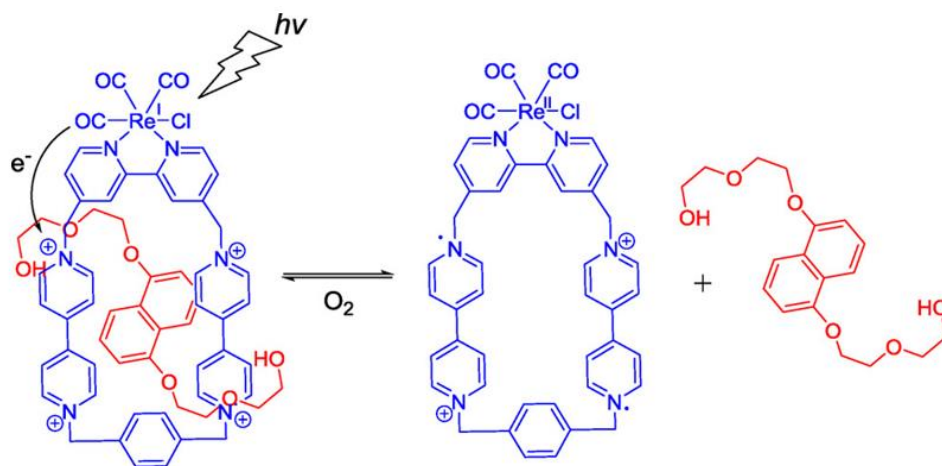
O vratném molekulárním stimulu v podobě přidavku kationtů pojednává ve své práci H. Gibson a spol.⁶³ Byl popsán komplex kryptandu (strukturně značně podobný pyridinovému kryptandu výše zmíněného v práci,⁶¹ kde byl H. Gibson spoluautor) a *N,N'*-bis(2-hydroxyethyl)-4,4'-bipyridiniové soli s $K_{ass} = 1,4 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ (v acetonu- d_6). Host tohoto komplexu může být kvantitativně

nahrazen draselným kationtem (z $\text{K}[\text{PF}_6]$). Byl-li k tomuto draselnému komplexu následně přidán 18-crown-6, přešel draselný kation do kavity crownetheru a bipyridiniová sůl tak zaujmula původní místo hosta (**Obrázek 11**).



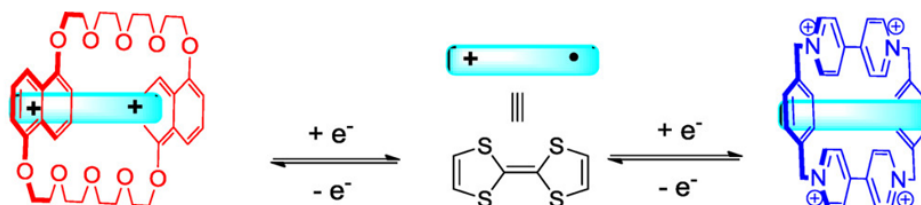
Obrázek 11 Příklad asociace a disociace způsobené přidavkem kationtů do systému (upraveno).¹⁵

Vedle výše zmíněných molekulárních stimulů pro změnu vzájemné polohy lineární a cyklické jednotky pseudorotaxanu, byly studovány zároveň i podněty fotochemické. Pseudorotaxany mohou disociovat na volnou lineární a cyklickou jednotku mimo jiné, například redukcí elektron-akceptorní jednotky (typicky cyklická), nebo oxidací elektron-donorní jednotky (typicky lineární). Způsob, jak toto realizovat, spočívá v zabudování fotosenzitivního substituentu do struktury některé komponenty pseudorotaxanu. Tento fenomén publikovali například P. Ashton a spol. roku 1998,⁶⁴ kteří syntetizovali cyklofan na bázi 4,4'-bipyridiniových, elektronově chudých jednotek. Cyklofan obsahoval ve své struktuře i zabudovaný 2,2'-bipyridinový motiv, který je znám svou schopností koordinovat kationty kovů. Jako koordinovaný kov použili autoři rhenium nebo ruthenium (nesoucí další ligandy), které mají schopnost se jedoelektronově oxidovat světlem. Tímto připravili makrocyklus nesoucí fotosenzitizér. Po komplexaci tohoto makrocyklu s elektronově bohatou lineární jednotkou vznikl pseudorotaxan založený na interakci elektronově chudé a elektronově bohaté látky. **Obrázek 12** znázorňuje, jak excitace pseudorotaxanu světlem způsobila přesun jednoho elektronu z atomu kovu na 4,4'-bipyridiniový skelet (jeho redukce), čímž přišel o statut elektronově chudé látky a došlo tak k disociaci pseudorotaxanu. Po zavedení molekulárního kyslíku do tohoto systému došlo k oxidaci 4,4'-bipyridiniového skeletu, který tím získal zpět povahu elektronově chudé látky a opětovně tak došlo ke vzniku rotaxanu.



Obrázek 12 Příklad asociace a disociace způsobené fotochemickým stimulem (upraveno).¹⁵

Další významnou skupinu molekulárních stimulů představují podněty redoxní, respektive elektrochemické. Změna ve struktuře zúčastněných komponent je vyvolána aplikováním elektrického napětí. Roku 1999 publikoval P. Ashton a spol.⁶⁵ práci popisující schopnost tetrathiafulvalenu (TTF) vázat se k různým cyklickým jednotkám (za vzniku pseudorotaxanů) v závislosti na jeho oxidačním stavu. Mezi jeho oxidačními stavy lze přecházet elektrochemicky, kdy se jedná o jednoelektronové oxidace/redukce. Neutrální tetrathiafulvalen je elektronově bohatá sloučenina, schopná tvorby pseudorotaxanu s elektronově chudým makrocyklem (typicky permanentně nabitým, nesoucím 4,4'-bipyridiniové motivy). Naopak dikation tetrathiafulvalenu (forma s nejvyšším oxidačním stavem) lze považovat za již elektronově chudou látku, která bude přednostně tvořit pseudorotaxany s elektronově bohatšími makrocykly (typicky deriváty arenocrownetherů). Oxidační mezistupeň tetrathiafulvalenu, kation-radikál, netvoří s výše uvedenými druhy cyklických jednotek žádné komplexy (**Obrázek 13**).



Obrázek 13 Změny oxidačního stavu TTF mění jeho afinitu vůči makrocyclickým sloučeninám (upraveno).¹⁵

2. Enzymy a umělé enzymy

Enzymy jsou biologické katalyzátory,^e které urychlují biochemické procesy (reakce) v živých organismech,⁶⁶ a které lze extrahovat z buněk a následně je využít ke katalýze široké škály komerčně důležitých procesů (biotechnologie,⁶⁷ modifikace antibiotik,⁶⁸ výroba potravin a nápojů⁶⁹). Enzymy byly zkoumány od přelomu 19. a 20. století (extrakce z biologických materiálů, charakterizace a komerční využití mnoha enzymů), ale až ve 20. letech 20. století, kdy byly první enzymy krystalizovány, bylo zjištěno, že se vlastně jedná o látky bílkovinné povahy. Nicméně, v 80. letech 20. století bylo zjištěno, že existuje malá skupina enzymů, která je tvořena molekulami ribonukleové kyseliny (RNA), čímž zanikla teorie, že biologickými katalyzátory jsou jen proteinové enzymy. Tato skupina látek se nazývá ribozymy.⁶⁶

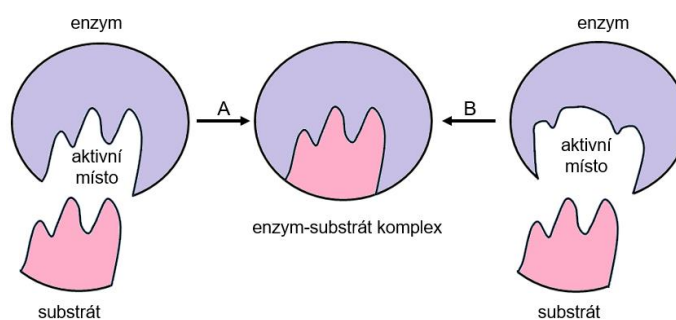
Hlavní skupina přírodních enzymů je tak tvořena globulárními proteiny, které sestávají z různého počtu aminokyselin (typicky od >100 po <2000). Tyto aminokyseliny jsou v rámci enzymu spojeny amidovou vazbou a tvoří tak jeden, nebo více polypeptidových řetězců, které jsou v prostoru „pozohýbané a vzájemně propletené“ tvořící třírozměrnou strukturu. Enzym ve své struktuře obsahuje tzv. aktivní místo, do kterého se váže přeměňovaný substrát. Aktivní místo je tvořeno relativně malým počtem aminokyselin z celkového počtu aminokyselin tvořících daný enzym. Právě tvar a elektrický náboj tohoto místa jsou odpovědné za specifitu enzymu, tedy že daný enzym přeměňuje pouze jistý substrát na jistý produkt. Zbytek (většina enzymu), který není součástí aktivního místa, toto aktivní místo stabilizuje a tvoří vhodné okolí pro přístup substrátu. Aktivní místo tedy v principu nelze oddělit od zbytku enzymu, aniž by ztratil svou katalytickou aktivitu.⁶⁶

Přestože spousta druhů enzymů je čistě bílkovinné povahy, mnohé bílkovinné enzymy obsahují navíc ještě další složku nebílkovinné povahy, tzv. kofaktor. Ten je nezbytný pro fungování, tedy katalytickou aktivitu enzymu jako takového. Kofaktorem může být v principu buď organická (tzv. koenzym),⁷⁰ nebo

^e Jako katalyzátory jsou enzymy v reakcích vyžadovány pouze ve velmi nízkých koncentracích, v reakcích nejsou spotřebovávány a zároveň z nich vystupují v nezměněné formě, v jaké do reakcí vstupují. Katalyzátory vedou reakci jinou reakční cestou, což umožňuje energeticky méně náročný průběh reakce.

anorganická složka (typicky ionty kovů).⁶⁶ Obvyklým příkladem koenzymů jsou menší organické molekuly, například nukleotidy a vitaminy.⁷¹ Mezi zástupce anorganických kofaktorů řadíme nejčastěji Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^+ , Cu^{2+} , Mn^{2+} .⁷²

Základní principy enzymatické katalýzy položil již roku 1894 E. Fischer, který je autorem konceptu klíče a zámku. Tento koncept říká, že molekula substrátu svým tvarem přesně zapadá do molekuly enzymu.⁷³ Pozdější práce přišly s obecně přijímanou teorií tranzitního stavu.^{74,75} Novější teorie indukovaného přizpůsobení popisuje interakce mezi substrátem a enzymem přesněji. A sice, že enzym, nebo i substrát, mají schopnost přizpůsobit prostorové uspořádání aktivního místa, respektive molekuly substrátu s tím, jak se navzájem přibližují. Až po úplném navázání substrátu do aktivního místa enzymu pak splní i Fischerův koncept klíče a zámku (**Obrázek 14**).⁷⁶

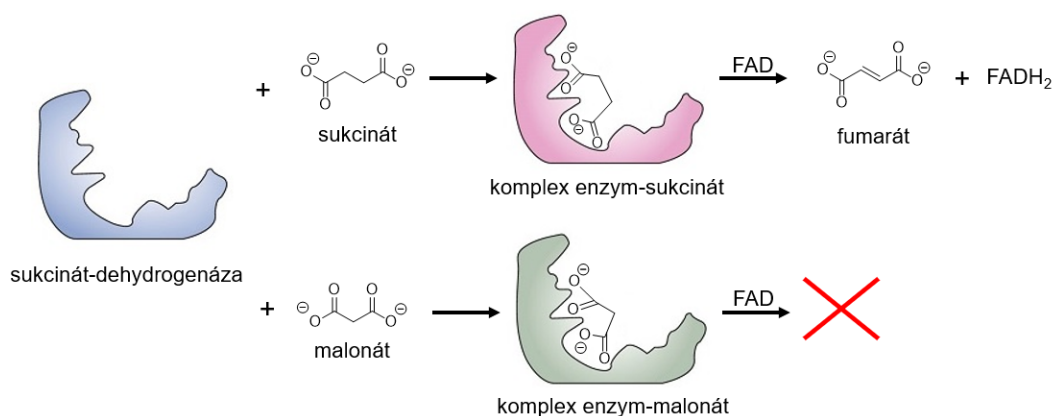


Obrázek 14 Porovnání konceptu klíče a zámku (cesta A) a teorie indukovaného přizpůsobení (cesta B).

Prvním krokem v enzymatické katalýze je rozpoznání substrátu enzymem pomocí vhodných supramolekulárních interakcí. Substrát interaguje s enzymem v aktivním místě, které sestává z vazebného místa enzymu (v prostoru přesně rozmístěné funkční skupiny aminokyselin schopné interakcí, tedy skupiny kyselé, bazické, hydrogensulfanylové, hydroxylové) a z katalytického místa (typicky kofaktory). Vzhledem k primární (chemické) struktuře enzymů je zřejmé, že mohou zaujímat mnoho prostorových uspořádání. Právě přiblížení substrátu indukuje konformační změny enzymu, což bylo potvrzeno jak experimentálně, tak simulačně.^{77,78} Tyto změny stabilizují tranzitní stav katalyzované reakce. V některých případech byla dokonce naměřena velmi vysoká asociační konstanta v komplexu enzym–tranzitní stav ($K_{ass} > 10^{11} \text{ M}^{-1}$).⁷⁹ Produkty enzymatických

reakcí typicky disponují velmi nízkou afinitou k enzymům, které katalyzovaly jejich vznik a neblokuje je a nesnižují jejich účinnost.

Co ale naopak snižuje katalytickou schopnost enzymů, jsou inhibitory. Ty ovlivňují katalytické vlastnosti aktivního místa buď přímo, nebo nepřímo. Inhibitory mohou být pro buňky jednak cizího původu (xenobiotika), jednak mohou být přirozenou součástí buňky (přirozený buněčný metabolismus). Reverzibilní inhibitory se do aktivního místa vážou vratně, jedná se o látky strukturně podobné skutečným, původně zamýšleným substrátům. Hovoříme tak o kompetitivní inhibici. Typickým příkladem takového systému je enzym sukcinát-dehydrogenáza, jeho substrát sukcinát a jeho kompetitor malonát. Enzym sukcinát-dehydrogenáza běžně oxiduje pomocí flavinadenindinukleotidu (FAD) čtyřuhlíkatý nasycený sukcinát na čtyřuhlíkatý nenasyčený fumarát. Inhibitorem sukcinát-dehydrogenázy je tříuhlíkatý malonát, tedy látka strukturně velmi podobná sukcinátu. Nicméně malonát nelze oxidovat stejným způsobem jako sukcinát, právě kvůli absenci čtvrtého atomu uhlíku (**Obrázek 15**). Negativní účinek reverzibilních inhibitorů lze potlačit zvýšením koncentrace substrátů.⁸⁰

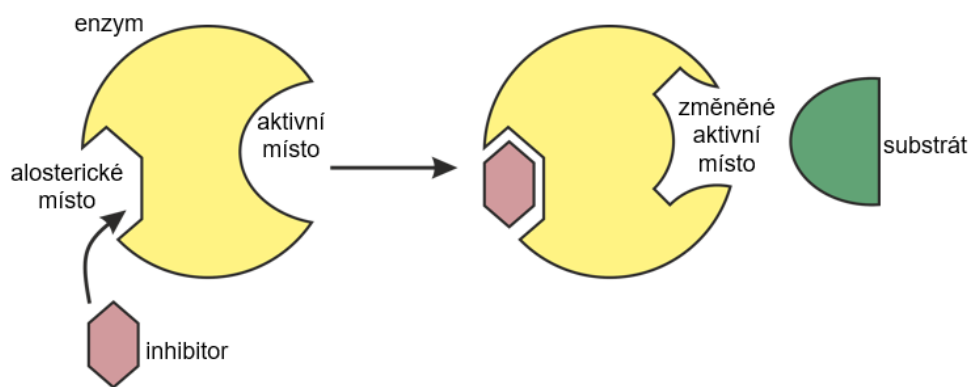


Obrázek 15 Malonát v roli kompetitivního inhibitoru (upraveno).⁸¹

Jiný typ inhibitorů neblokuje přístup substrátu k enzymu, ale váže se až na komplex enzym–substrát (nikoliv na samotný enzym), za vzniku ternárního komplexu enzym–substrát–inhibitor. Inhibitor nebývá strukturně podobný substrátu, jako u kompetitivní inhibice. Negativní účinek inhibitoru v akompetitivní inhibici nelze potlačit zvýšením koncentrace substrátu.⁸²

Velké množství enzymů ve své struktuře obsahuje i místo alosterické (modulační). Při nekompetitivní inhibici se inhibitor váže právě sem a nikoliv do

aktivního místa enzymu. Navázání inhibitoru na alosterické místo vyvolá změnu konformace (prostorového uspořádání) enzymu a dojde i k ovlivnění konformace aktivního místa. Toto znemožní přístup a navázání substrátu (**Obrázek 16**). Negativní účinek alosterických inhibitorů nelze potlačit vyšší koncentrací substrátu, neboť ten nevykazuje dostatečnou afinitu vůči alosterickému místu – nejedná se o kompetitivní inhibici. Alosterické enzymy jsou klíčové regulační enzymy, které řídí činnost metabolických dějů právě prostřednictvím interakce s inhibitory.^{83,84}



Obrázek 16 Alosterická nekompetitivní inhibice.

Známy jsou i enzymatické inhibice ireverzibilní, kdy je struktura enzymu již nevratně změněna permanentním navázáním inhibitoru do jeho struktury. Takovými inhibitory jsou některé organické sloučeniny fosforu (nervově-paralytické látky) nebo ionty těžkých kovů (Hg^{2+}).^{85,86}

Přírodní enzymy jsou tedy biologické makromolekuly, které katalyzují chemické reakce^f v živých organismech. Naopak umělé enzymy jsou syntetické molekuly, které napodobují katalytickou aktivitu přírodních enzymů. Hlavní rozdíly mezi přírodními a umělými enzymy jsou:

^f Enzymy typicky katalyzují reakce redoxní (oxidoreduktázy), přenosy funkčních skupin (transferázy), reakce hydrolytické (hydrolázy), štěpení funkčních skupin (lyázy), intramolekulární změny ve struktuře (izomerázy), reakce spojené s hydrolýzou adenosintrifosfátu (ligázy) a přesun látek přes biologické membrány (translokázy).

1. Původ: Přírodní enzymy jsou produkovány živými organismy, zatímco umělé enzymy jsou syntetizovány v laboratoři.

2. Struktura: Přírodní enzymy se skládají z proteinogenních α -L-aminokyselin a mají složitou trojrozměrnou strukturu, zatímco umělé enzymy mohou být připraveny z různých látek, včetně peptidů, nukleových kyselin a syntetických polymerů, ale typicky s jednodušší, snadněji definovatelnou strukturou. Může se jednat i o menší organické sloučeniny.

3. Specifická: Přírodní enzymy jsou vysoce specifické ve své katalytické aktivitě, zatímco umělé enzymy mohou být navrženy tak, aby katalyzovaly širokou škálu chemických reakcí.

4. Stabilita: Přírodní enzymy jsou často citlivé na změny teploty a pH, též mohou být denaturovány, zatímco umělé enzymy mohou být navrženy tak, aby byly stabilnější i za „drsnějších“ podmínek.

5. Funkce: Přírodní enzymy se podílejí zvláště na biochemických procesech, zatímco umělé enzymy mají potenciální využití v *ex vivo* procesech, biotechnologiích, medicíně a dalších oblastech.

Umělé enzymy jsou stále v raných fázích vývoje, ale dosavadní výsledky dosažené v tomto odvětví se jeví jako slibné – umělé enzymy tak mohou být účinné biokatalyzátory s jedinečnými vlastnostmi, které lze přizpůsobit konkrétním aplikacím.^{87,88}

Supramolekulární chemie poskytuje a vysvětluje základní poznatky o vztazích mezi dynamickými strukturami a jejich funkcemi. Na základě konceptů supramolekulární chemie byly navrženy a studovány některé umělé katalytické systémy.^{5,89–91} O těchto systémech bude pojednáno v následujícím textu.

2.1 Skupiny umělých enzymů

Struktura umělých enzymů může být založena na různých motivech, typicky se jedná o makrocyclické sloučeniny (ať už kovalentně modifikované, či

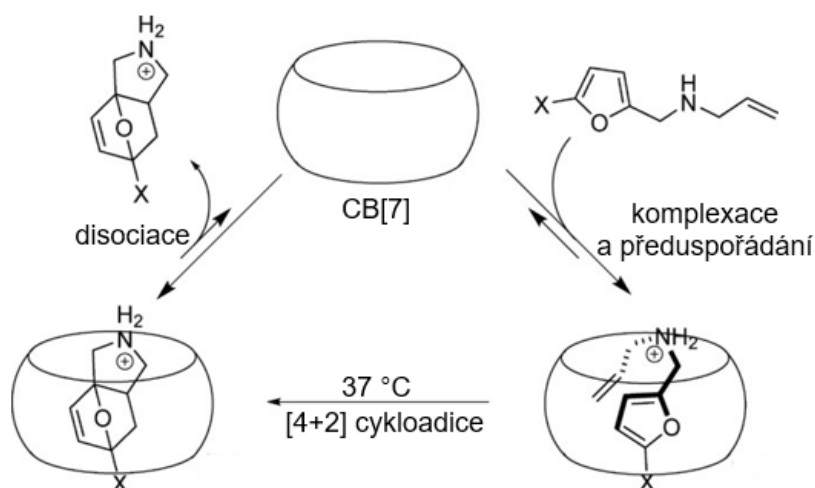
nikoliv), kontejnerové molekuly, proteinové řetězce, řetězce nukleových kyselin, nebo o amfifilní systémy vznikající samoskladbou.

2.1.1 Umělé enzymy založené na makrocyclických sloučeninách

Ve snaze napodobit kavitu enzymu (okolí aktivního místa), byly do vývoje umělých enzymů zahrnuty i makrocyclické sloučeniny. Kavita u enzymů poskytuje vhodné prostředí pro reakci, odděluje substráty od jiných látek v systému a substráty předuspořádává. Byly popsány umělé enzymy, jejichž struktura vycházela z plejády nemodifikovaných, i modifikovaných makrocyclických sloučenin, konkrétně se jedná o cyklodextriny,⁹² cucurbit[*n*]urily,^{93,94} calixareny,⁹⁵ kavitandy,⁹⁶ cyklofany⁹⁷ a crownethery.⁹⁸

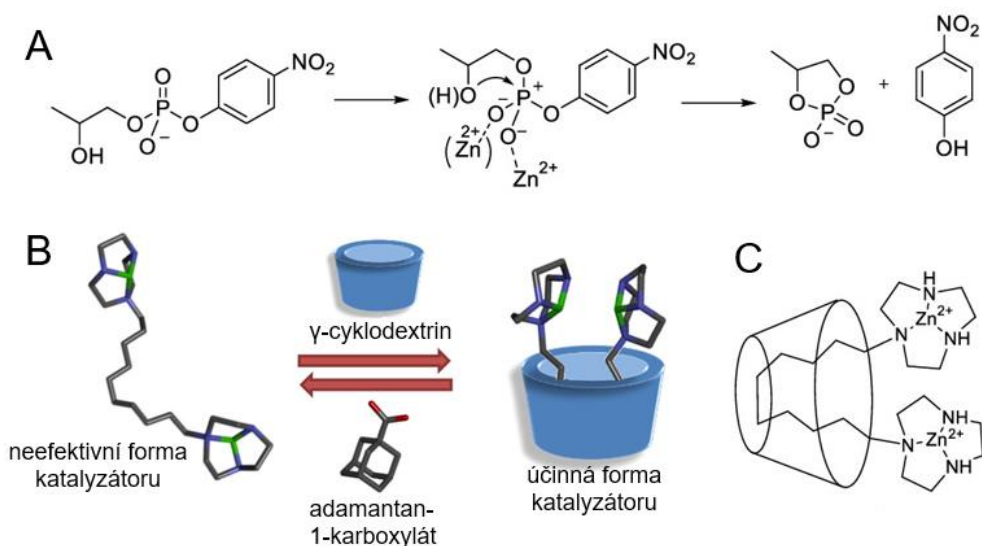
Nemodifikované makrocyclické sloučeniny

A. Palma a spol. publikovali v roce 2017 studii o vlivu cucurbit[7]urilu (CB7) na katalýzu intramolekulární Dielsovy–Alderovy reakce různě 5-substituovaných *N*-allyl-2-furfurylaminů. Autoři zkoumali tuto reakci za fyziologických podmínek (voda, 37 °C) a prováděli ji bez nutnosti použití chránicích skupin na atomu dusíku. Ukázalo se, že právě kavita CB7 má zásadní vliv na průběh reakce, kdy s výchozí látkou tvoří supramolekulární komplex, mění její prostorové uspořádání do vysoce reaktivní konformace (přiblížení volné dvojné vazby k furanovému kruhu) a v průběhu cykloadice brání přístupu vody. Bohužel, vznikající produkty (například vazebná konstanta vznikajících pyrrolidinů vůči CB7 činí $6,3 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ (X=H); $2,9 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ (X=Br); $6,3 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ (X=Cl)) vykazují vůči CB7 vyšší afinitu než výchozí látky (vazebná konstanta výchozích derivátů furanu vůči CB7 činí $3 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ (X=H); $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ (X=Br); $4,6 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ (X=Cl)), v což reakci jako takovou zpomaluje (**Obrázek 17**).⁹⁹



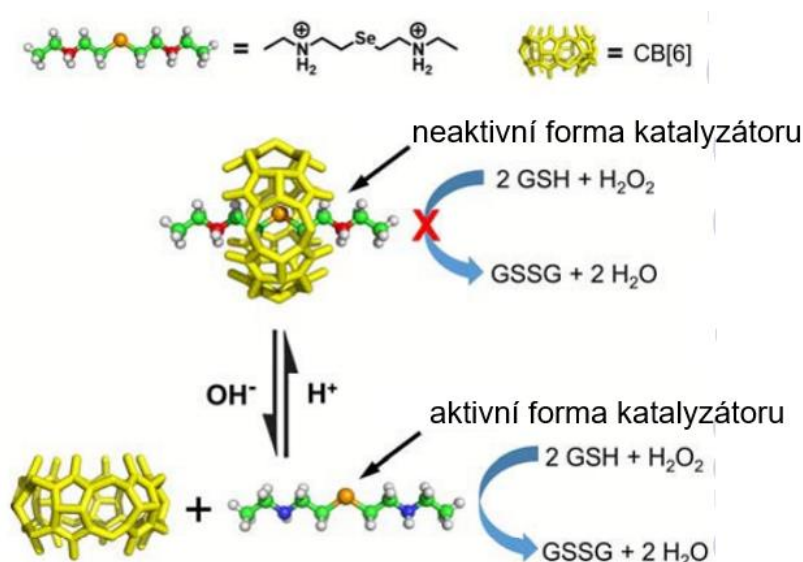
Obrázek 17 CB7 jako katalyzátor Dielsovy–Alderovy reakce (upraveno).⁹⁹

Práce J. Czescikové a spol. z roku 2020 popisuje případ regulovatelného katalytického systému. Katalyzátorem transesterifikační reakce modelového RNA substrátu, 2-hydroxypropyl-(4-nitrofenyl)-hydrogenfosfátu, byl dizinečnatý komplex sestávající ze dvou triazacyklononanových jednotek spojených C_{10} řetězcem. Tento alifatický řetězec vykazuje vysoký stupeň volnosti a není vhodně předuspořádaný. Po přidání γ -cyklodextrinu dochází ke vzniku hostitel–host komplexu se stechiometrií 1:1, kdy je značná část nepolárního alifatického řetězce inkludována v kavitu γ -CD, zatímco oba zinečnaté kationty se nachází mimo kavitu γ -CD. Ty jsou v takovém okamžiku v prostoru vhodně orientovány a efektivně katalyzují zmíněnou transesterifikační reakci. Přidáním kompetitoru, adamantan-1-karboxylátu, který má vyšší afinitu vůči γ -CD, než alkylový řetězec, se výrazně snižuje rychlost katalyzované reakce, neboť kovová centra již nejsou vhodně uspořádána z důvodu, že jejich nositel již netvoří komplex s γ -CD (**Obrázek 18**).¹⁰⁰



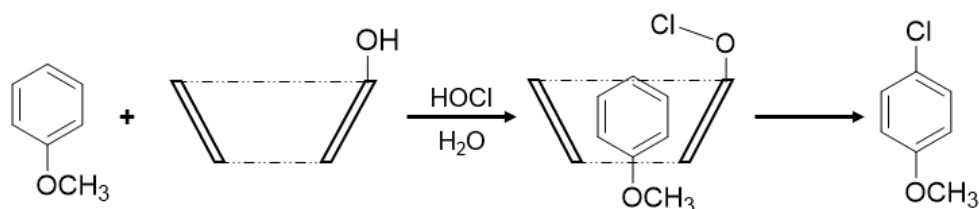
Obrázek 18 A: Mechanismus hydrolyzy 4-nitrofenylesteru. B: Možnosti (de)aktivace katalyzátoru. C: Struktura katalyzátoru. Upraveno.¹⁰⁰

J. Li a spol.¹⁰¹ popsali roku 2015 umělý enzym, kdy využili faktu, že cucurbit[6]uril (CB6) tvoří velmi stabilní komplexy s α,ω -alkandiamoniovými solemi (typicky C_4 , C_5 nebo C_6), zatímco v alkalickém prostředí jsou tyto komplexy velmi málo stabilní. Zabudováním atomu selenu do struktury takového diaminu získali selenoenzym, glutathionperoxidázu (GPx). Při nízkých hodnotách pH byla selenadiamoniová sůl navázána uvnitř kavity CB6, tvořící pseudorotaxan. Ale při pH 6 a vyšším se selenadiamin již v kavitě nenacházel a mohl se tak podílet na katalýze reakce (**Obrázek 19**). Tato molekula katalyzovala oxidaci glutathionu peroxidem vodíku za vzniku glutathiondisulfidu (dimeru glutathionu). Autoři tak dospěli k pH responzivnímu umělému enzymu s říditelnou aktivitou.



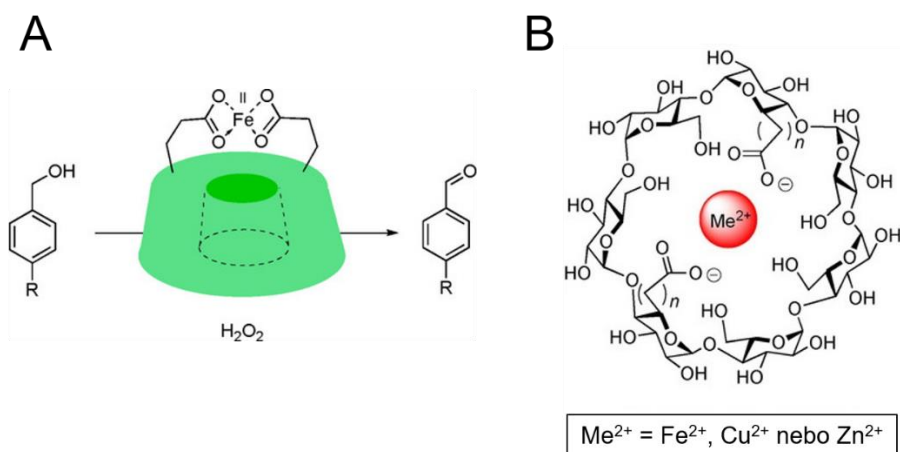
Obrázek 19 Regulace aktivity umělé glutathionperoxidázy (upraveno).¹⁰¹

Elektrofilní chlorace anisolu (methoxybenzenu) pomocí kyseliny chlorné poskytuje směs 2-chloranisolu a 4-chloranisolu v poměru 40:60. Je-li tato reakce provedena v přítomnosti α -, nebo β -CD, vzniká výhradně *para*-substituovaný produkt. Anisol se totiž komplexuje do kavity CD, čímž je *ortho*- (ale i *meta*-) poloha blokována a jediná přístupná poloha pro atak elektrofilu je *para*-poloha. Toto popsali R. Breslow a spol.¹⁰² již roku 1971. Obě analoga cyklodextrinů poskytují výhradně 4-chloranisol, nicméně reakce katalyzovaná α -CD probíhá značně rychleji, neboť anisol efektivněji vyplňuje kavitu α -CD ($K_{\text{anisol}@\alpha\text{-CD}} = 2,7 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$) oproti kavitě β -CD ($K_{\text{anisol}@\beta\text{-CD}} = 1,4 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$). Reakce komplexu anisol@CD s HOCl dle autorů poskytuje cyklodextrinový ester kyseliny chlorné, z něhož následně přechází chlor na substrát (**Obrázek 20**).



Obrázek 20 Selektivní chlorace anisolu uvnitř kavity α -CD.

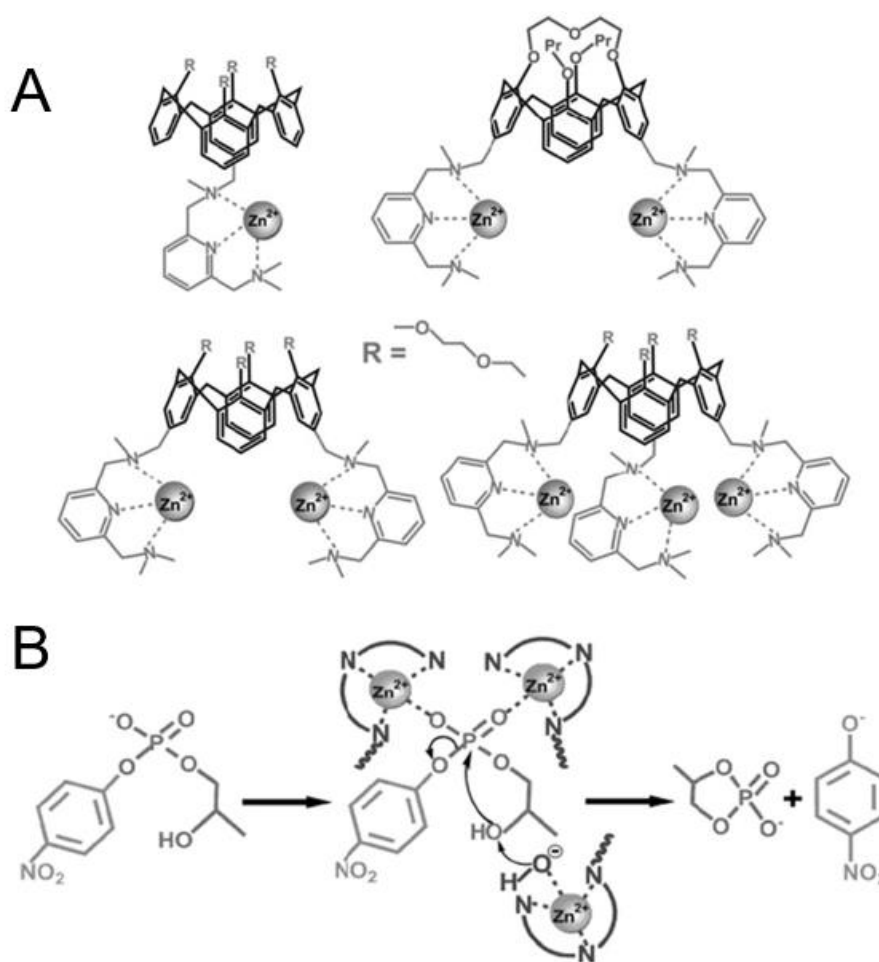
B. Wang a spol.¹⁰³ popsali přípravu série strukturně jednoduchých umělých metaloenzymů založených na solích α -, nebo β -cyklodextrindikarboxylátů, které se lišily počtem uhlíkových atomů ($n = 0, 1, 2$) mezi $-\text{COOH}$ skupinami a cukernou jednotkou, ze které vycházely. Tyto umělé enzymy disponovaly schopností urychlovat oxidaci alkoholů benzylového typu peroxidem vodíku na příslušné aldehydy. Právě použití různých kationtů (Cu^{2+} , Zn^{2+} a Fe^{2+}) dikarboxylátů ovlivňovalo rychlost oxidační reakce (**Obrázek 21**). Nejvyšší rychlosti reakce bylo dosaženo v přítomnosti železnatých solí, které reakci urychlovaly až 2700 $\times$. Urychlení reakce zbylými kationty nebylo významné.



Obrázek 21 A: Schéma katalyzované oxidace. B: Struktury β -cyklodextrinových katalyzátorů. Upraveno.¹⁰³

Taktéž byly popsány umělé enzymy na bázi calix[4]arenů. Modifikací těchto makrocyclů byla připravena série látek nesoucích ve své struktuře jeden, dva nebo tři zinečnaté kationty reprezentující katalytická místa enzymu. Zinečnaté kationty byly koordinovány k bis(dimethylaminomethyl)pyridinovým jednotkám, které byly jednou, dvakrát nebo třikrát kovalentně navázány na horní okraj calix[4]arenu v konické konformaci. Dolní okraj každého jádra byl monoalkylován, pouze v jednom případě byla 1,3-jádra kovalentně přemostěna diethylenglykolovým můstkem. Katalytická aktivita těchto umělých enzymů byla

testována na schopnosti transesterifikovat modelový RNA substrát, 2-hydroxypropyl-(4-nitrofenyl)-hydrogenfosfát (**Obrázek 22**). Calix[4]arenový systém s jedním Zn^{2+} iontem modelovou reakci překvapivě zpomaloval, zhruba 50× oproti nekatalyzované reakci. Umělý enzym se dvěma kovovými centry (a kovalentně nepřemostěnými 1,3-aromáty) urychloval modelovou reakci až 23000×. Pakliže umělý enzym nesl kationty tři, reakce byla urychlena až 32000×. Za zmínku stojí i porovnání katalytické aktivity dvou různých dvoukovových umělých enzymů, a to 1,3-nepřemostěného (flexibilnější systém) a 1,3-přemostěného (více předuspořádaný, rigidnější systém). Proti očekávání dosáhl vyšší rychlosti reakce nepřemostěný calix[4]arenový enzym, což značí, že pro přístup substrátu je nutný jistý stupeň flexibility v calix[4]arenové kavitě. Vedle série umělých enzymů odvozených od calix[4]arenů, byla testována katalytická aktivita i samotné jednotky nesoucí katalytické centrum reakce, Zn^{2+} kation, tedy zinečnatý komplex bis(dimethylaminomethyl)pyridinu. Katalytická aktivita této samotné jednotky s jedním zinečnatým kationtem byla nižší, než katalytická aktivita umělého enzymu složeného z calix[4]arenové jednotky a jednoho kovového centra. Toto indikuje, že přítomnost kavity makrocyclu má pozitivní vliv na průběh katalýzy.¹⁰⁴



Obrázek 22 A: Struktury umělých enzymů na bázi calix[4]arenů.
B: Transesterifikační reakce katalyzovaná těmito umělými enzymy. Upraveno.⁸⁹

Teprve v roce 2008 byly objeveny pillar[n]areny, nová skupina makrocyclických sloučenin, sestávajících z hydrochinonových, nebo dialkoxybenzenových jednotek, které jsou v počtu 5 až 10 propojeny v *para*-polohách methylenovými můstky do cyklu.¹⁰⁵ Také tyto makrocikly již byly využity pro tvorbu supramolekulárních umělých enzymů. Chemickou modifikací jednoduchého derivátu pillar[5]arenu byl připraven složitější derivát nesoucí deset imidazolových substituentů. Takto modifikovaný makrocycklus vykazoval vysokou aktivitu v hydrolytických reakcích arylfosfodiesterů. Aromatické jádro fosfoesteru se komplexuje do kavity makrocycclu, přičemž díky výhodné délce linkeru mezi kavitou a imidazolovým substituentem je místo ataku vody, centrální atom esteru, výhodně předuspořádan pro jeho hydrolýzu. Nukleofilní atom dusíku imidazolu atakuje atom fosforu za odstoupení fenolátu, a vzniku nestabilního

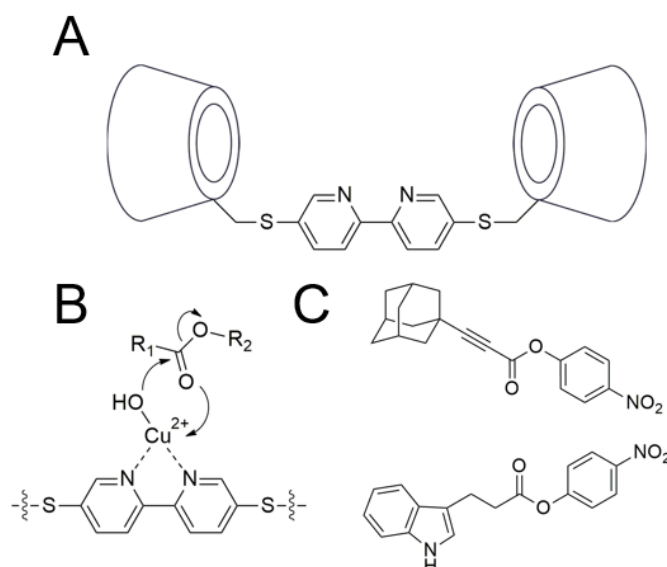
fosforamidátu, který rychle hydrolyzuje, čímž se regeneruje katalyzátor. Reakce katalyzovaná imidazolovým pillar[5]arenem byla zhruba 270× rychlejší, než reakce katalyzovaná samotným imidazolem (**Obrázek 23**).¹⁰⁶



Obrázek 23 A: Struktura umělého enzymu na bázi pillar[5]arenu.

B: Hydrolytická reakce katalyzovaná tímto enzymem. Upraveno.¹⁰⁶

R. Breslow a spol.¹⁰⁷ popsali umělý enzym založený na dvou jednotkách β -CD kovalentně propojených spojkou s katalytickým místem (5,5'-disubstituovaný-2,2'-bipyridin) schopným komplexovat kovový ion. Jsou-li hydrofobní koncové části molekuly substrátu komplexovány do kavit jednotek β -CD, pak se samotná esterová funkce nachází výhodně mezi kavitami a v blízkosti kovového centra na spojce, které katalyzuje hydrolýzu onoho esteru. Tento systém s měďnatým kationtem výrazně urychluje hydrolýzu esterů, 4-nitrofenyl-1-adamantylpropynoátu a 4-nitrofenyl-3-indolpropanoátu (**Obrázek 24**), za fyziologických podmínek (oproti nekatalyzované reakci až více než 200 000×).



Obrázek 24 A: Schématická struktura umělého enzymu. B: Mechanismus hydrolytické reakce. C: Struktury substrátů katalyzované hydrolýzy.

V odborné literatuře se lze setkat s řadou dalších prací, v nichž se autoři věnují syntéze umělých enzymů na bázi makrocyclických sloučenin a následnému studiu jejich katalytických vlastností v různých typech reakcí.^{108–112}

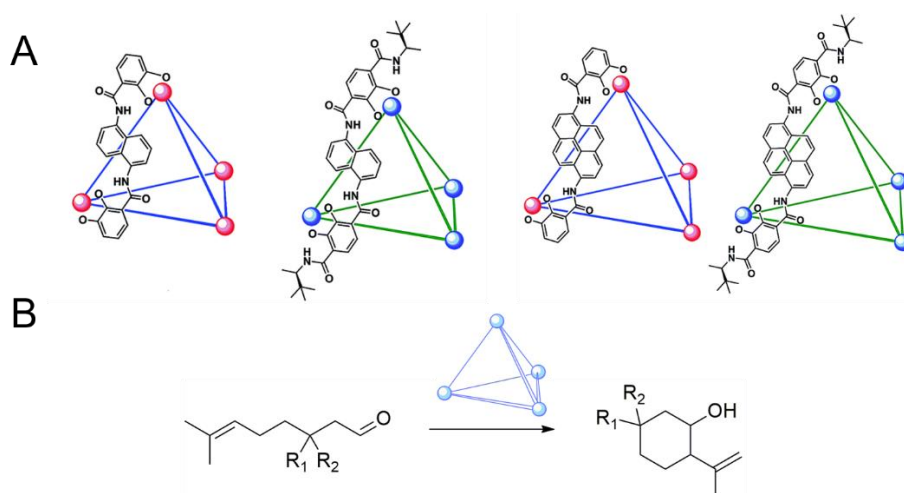
2.1.2 Umělé enzymy založené na kontejnerových molekulách

Vedle makrocyclických sloučenin nacházejí své uplatnění při konstrukci umělých enzymů i tzv. kontejnerové molekuly (zajímavé i z jiných úhlů pohledu⁸)¹¹³, tedy nadstruktury, které sice také obsahují kavitu, ale ta je typicky větší než u makrocyclů a je tvořena několika molekulárními entitami. Tato kavita opět napodobuje aktivní místo enzymu, tedy kapsu, která odděluje reakční centrum od okolí.¹¹⁴ Kontejnerové molekuly mohou vznikat buď méně obvykle synteticky,¹¹⁵ nebo mnohem častěji samoskladbou.³

⁸ Své uplatnění nacházejí také mimo oblast umělých enzymů, a to při enkapsulaci a stabilizaci extrémně reaktivních, jinak nezachytitelných, intermediátů reakcí. Tyto intermediáty je možné studovat právě jen ve formě komplexů s kontejnerovými molekulami, čímž napomáhají objasňovat reakční mechanismy.

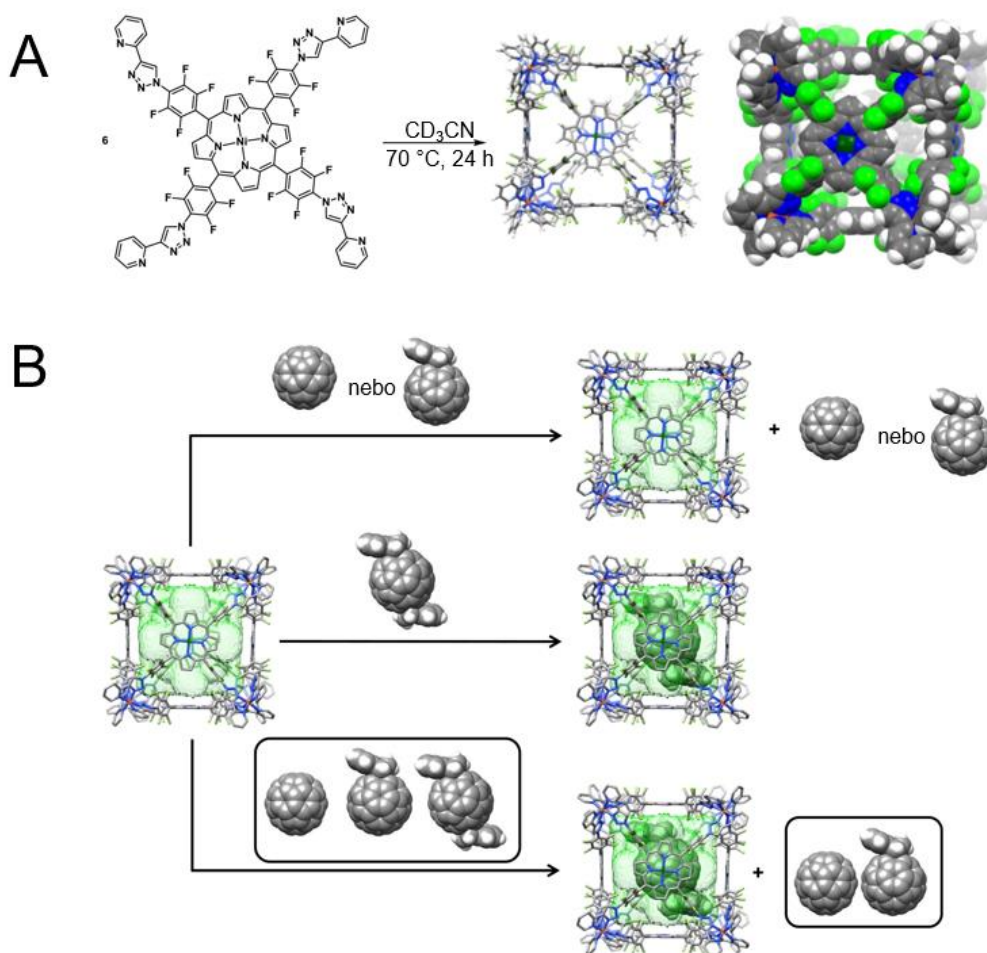
Klasické makrocyclické sloučeniny nejsou schopny komplexovat objemnější molekuly, proto se některé výzkumné týmy začaly zabývat chemickým rozšířením kavit klasických makrocyclů, tj. syntézou vícejednotkových cyklů (například cucurbit[14]urilu,¹¹⁶ nebo cyclodextrinu složeného z 26 glukózových jednotek)¹¹⁷ ve snaze expandovat kavitu tak, aby byla schopna komplexovat opravdu velké molekuly (fullerény, přírodní látky, barviva, léčiva). Bohužel bylo zjištěno, že některá vyšší analoga nejsou dostatečně rigidní nebo se různě „kroutí“, jiné se proplétají, přehýbají, překrývají a kolabují, v důsledku čehož nejsou pro komplexaci větších molekul vhodné.¹¹⁸

W. Hart-Cooper a spol.¹¹⁹ popsali přípravu kontejnerové molekuly získané smícháním a zahříváním dusičnanu gallitého s nadbytkem lineární molekuly nesoucí na každém z konců vazebná místa pro gallitý kation (pyrokatecholový motiv). Tato kontejnerová molekula vzniká samoskladbou a má tetraedrický tvar, jehož vrcholy tvoří ionty Ga^{3+} a hrany jsou tvořeny výše zmíněnými lineárními molekulami. V kavitě této kontejnerové molekuly byla úspěšně katalyzována Prinsova reakce, intramolekulární cyklizace lineárního 6-enalu za vzniku cyklohexanolového skeletu. Autoři sledovali vliv odlišných lineárních komponent v systému (tedy hran čtyřstěnu vzniklého samoskladbou) na výsledky reakce. Lineární komponenty se lišily jednak vazebnými místy pro Ga^{3+} (monosubstituovaný pyrokatecholový motiv versus disubstituovaný pyrokatecholový motiv) a jednak velikostí spojky (vzdáleností mezi koordinačními místy) ve struktuře (1,5-disubstituovaný naftalen versus 1,6-disubstituovaný pyren). Strukturní změna v chelatačním centru ovlivňovala rychlost katalyzované reakce, ale ne její selektivitu. Změna ve struktuře spojky ovlivňovala jak rychlost, tak i selektivitu, respektive diastereoselektivitu reakce. Reakce probíhající v tomto kontejnerovém uskupení (a ním katalyzovaná) byla 10^4 až $10^5\times$ rychlejší než stejná reakce prováděná bez přítomnosti katalyzátoru (**Obrázek 25**).



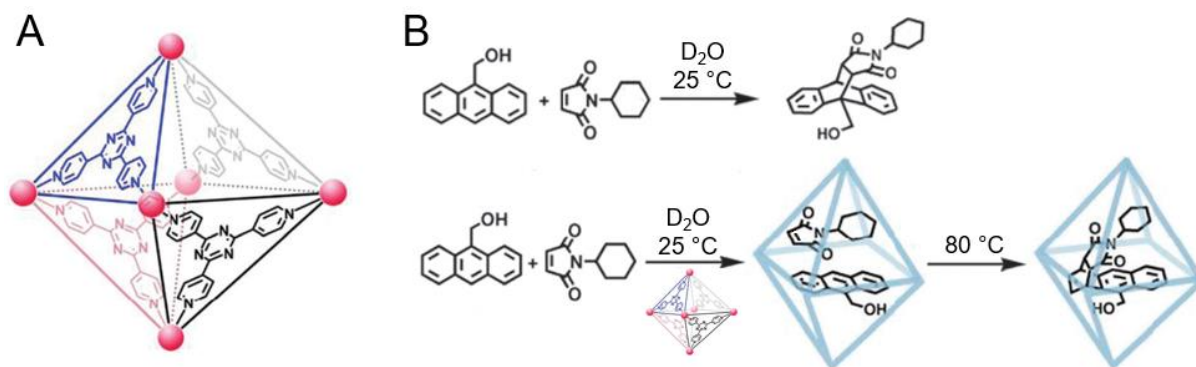
Obrázek 25 A: Kontejnerové molekuly s různými spojkami. B: Cyklizační reakce katalyzovaná kontejnerovými molekulami. Upraveno.¹¹⁹

W. Brenner a spol. popsali roku 2017 samoskladbu kontejnerové molekuly krychlového tvaru, nesoucí ve svých vrcholech osm kationtů Fe^{2+} nebo Zn^{2+} .¹²⁰ Stěny této kubické molekuly tvoří šest symetrických, plně konjugovaných substituovaných derivátů porfyrinu ve tvaru kříže s centrálním nikelnatým kationtem. Tato kubická klec s elektronově chudými stěnami selektivně komplexuje kovalentní bisadukty fullerenu s anthracenem, nebo indenem, konkrétně C_{60} -bisanthracen a C_{60} -bisinden, zatímco jejich monoadukty (C_{60} -anthracen a C_{60} -inden), či nesubstituované fullereny nikoliv (**Obrázek 26**). Tato supramolekulární kontejnerová molekula navíc katalyzuje právě funkcionalizaci fullerenu C_{60} dvěma molekulami anthracenu za vzniku výhradně bisaduktu, který je po svém vzniku enkapsulován do kavity. Reakce za stejných podmínek bez přítomnosti této kontejnerové molekuly vůbec neprobíhá. Tyto fullerenové bisadukty nacházejí uplatnění například ve výzkumu polymerních solárních systémů.



Obrázek 26 A: Samoskladba a struktura kubické kontejnerové molekuly. B: Selektivita vůči fullerenům, jejich monoaduktům a bisaduktům. Upraveno.¹²⁰

Smícháním čtyř ekvivalentů *exo*-tridentárního tripyridyltriazinu s šesti ekvivalenty palladnatých iontů v roztoku vzniká samoskladebným procesem oktaedrická kontejnerová molekula. M. Yoshizawa a spol.¹²¹ studovali roku 2006 vliv této kavity na regioselektivitu Dielsovy–Alderovy reakce mezi *N*-cyklohexylimidem kyseliny maleinové (reagujícím jako dienofil) a 9-hydroxymethylantracénem. Druhý zmíněný reaguje obecně v Dielsově–Alderově reakci jako dien a reaguje na prostředním benzenovém jádře za vzniku 9,10-aduktů. Reaktivita se zásadně změní v přítomnosti zmíněné palladnaté kontejnerové molekuly. Obě výchozí látky se komplexují do této klece a jsou v jejím prostoru předuspořádány tak, že se dienofil, respektive jeho dvojná vazba, přesouvá nad krajní benzenové jádro anthracenu, se kterým pak reaguje za vzniku netypického 1,4-aduktu (**Obrázek 27**).



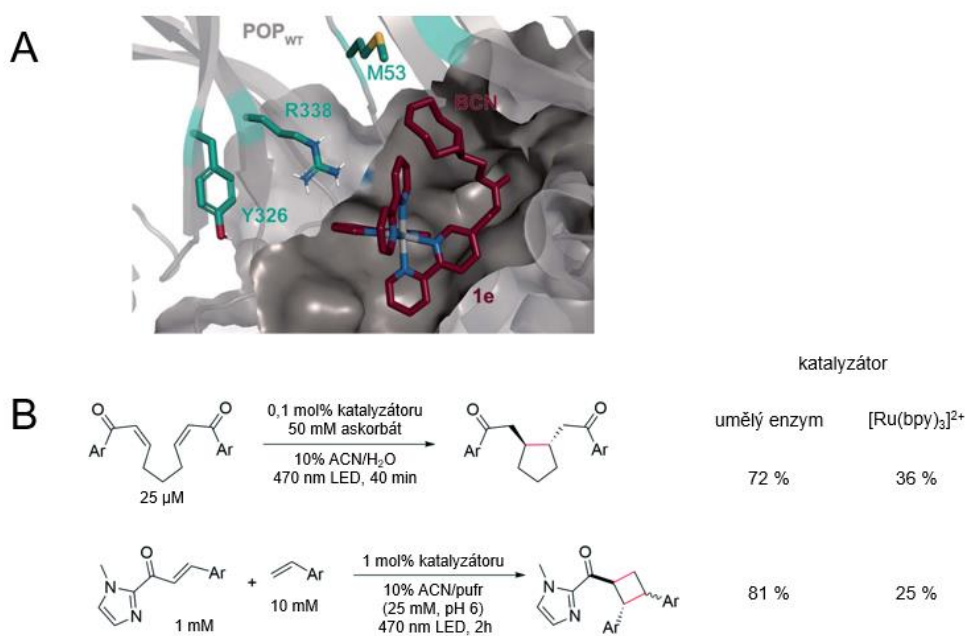
Obrázek 27 A: Oktaedrická kontejnerová molekula s Pd²⁺ ionty ve vrcholech. B: Selektivita Dielsovy–Alderovy reakce bez přítomnosti a v přítomnosti kontejnerové molekuly. Upraveno.⁸⁹

Další systémy využívající kontejnerové molekuly jako umělé enzymy byly předmětem výzkumu v rámci již publikovaných prací zabývajících se například stabilizací a přenosem karbenoidů, nebo stabilizací intermediátů aza-Prinsovy reakce.^{122–124}

2.1.3 Umělé enzymy založené na proteinových řetězcích

Umělé enzymy založené na proteinových řetězcích vychází strukturně z přírodních látek, které byly modifikovány implementací další (syntetické) entity do struktury původního proteinu. Obecně existují tři přístupy pro přípravu umělých enzymů tohoto typu, kdy se jedná se o funkcionizaci nativního enzymu „umělou“ jednotkou, případně o modifikaci peptidů s dostatečně velkými hydrofobními kavitami, ale postrádajícími katalytická místa. V obou případech dochází ke vzniku umělých enzymů, které mají nové vazebné schopnosti a všestrannější aktivitu. Třetím přístupem je jejich *de novo* design, využívající pokročilých metod výpočetní chemie a simulací. Přitom je nutné znát reakční mechanismy a tranzitní stavy zamýšlených reakcí, aby byla co nejvhodněji navržena sekvence aminokyselin a tvar aktivního místa v nově připraveném umělém enzymu.¹²⁵

Zajímavý případ zavedení nového katalytického centra, a tím nových katalytických vlastností do struktury existujícího přírodního enzymu, popsali Y. Zubi a spol.,¹²⁶ kteří modifikovali prolyl oligopeptidázu^h za vzniku umělého metaloenzymu. Připravili sérii různých derivátů proteinů, buď kovalentně, nebo nekovalentně nesoucích tris(bipyridin)ruthenatý komplex $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$. Účinnost těchto katalyzátorů byla úspěšně ověřena jednak na fotoreduktivní cyklizaci diendionů a jednak na [2+2]cykloadiční reakci organických alkenů. Tyto ruthenatým komplexem modifikované enzymy poskytly vyšší výtěžky a rychlejší průběh reakce, než katalýza samotným $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$. Nicméně žádný z těchto katalyzátorů nefavorizoval některý z enantiomerů produktů (**Obrázek 28**).

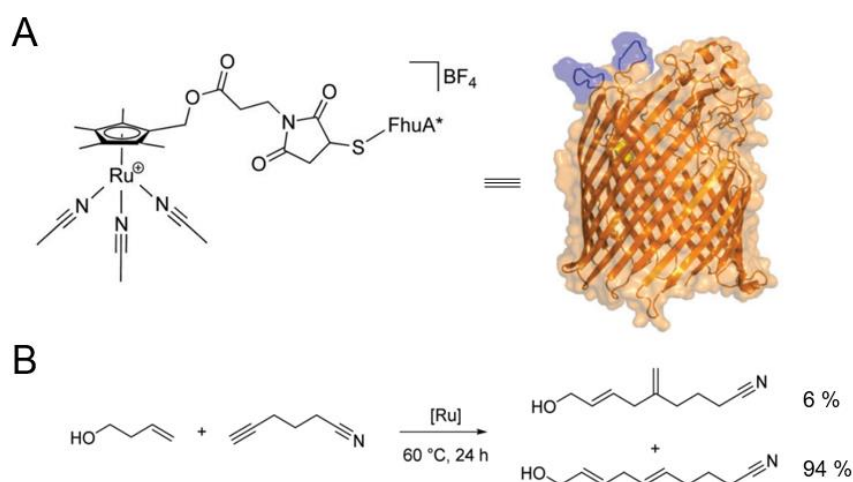


Obrázek 28 A: Softwarová simulace proteinu s ligandem a substráty. B: Reakce studované v rámci práce a jejich výtěžky. Upraveno.¹²⁶

Protein FhuA, který vychytává a přes cytoplazmatickou membránu bakterií *E. coli* transportuje ionty železa ve formě hydroxamátů, má tvar velkého β -barelu. Reprezentuje tak skupinu proteinů s širokou hydrofobní kavitou. Tento protein modifikovali do formy umělého enzymu a jeho katalytickou aktivitu popsali

^h Prolyl oligopeptidáza je enzym z řady serinových peptidáz, které selektivně hydrolyzují peptidy sestávající z <30 aminokyselin.

A. Thiel a spol.¹²⁷ roku 2021. Na volné sulfanylové skupiny cysteinů v proteinu FhuA kovalentně navázali Cp*Ru komplex přes maleimidovou skupinu (ve smyslu Michaelovy adice). Tento umělý metaloenzym úspěšně katalyzoval intermolekulární alken–alkyn coupling mezi but-3-en-1-olem a hex-5-yn-nitrilem. Taková reakce může poskytovat obecně dva produkty, a sice lineární a rozvětvený dien (**Obrázek 29**). Při katalýze Cp*Ru-modifikovaným proteinem je reakce až desetkrát rychlejší a je výrazně (16:1) preferován vznik lineárního produktu oproti katalýze samotným Cp*Ru komplexem (2:1).



Obrázek 29 A: Struktura barelového proteinu nesoucího rutheniové katalytické místo. B: Reakce katalyzovaná tímto umělým enzymem výrazně preferuje vznik lineárního produktu. Upraveno.¹²⁷

V literatuře se lze setkat také s dalšími systémy využívajícími modifikované proteiny jako umělé enzymy^{128,129} a systémy využívajícími *de novo* design nových umělých enzymů.^{130,131}

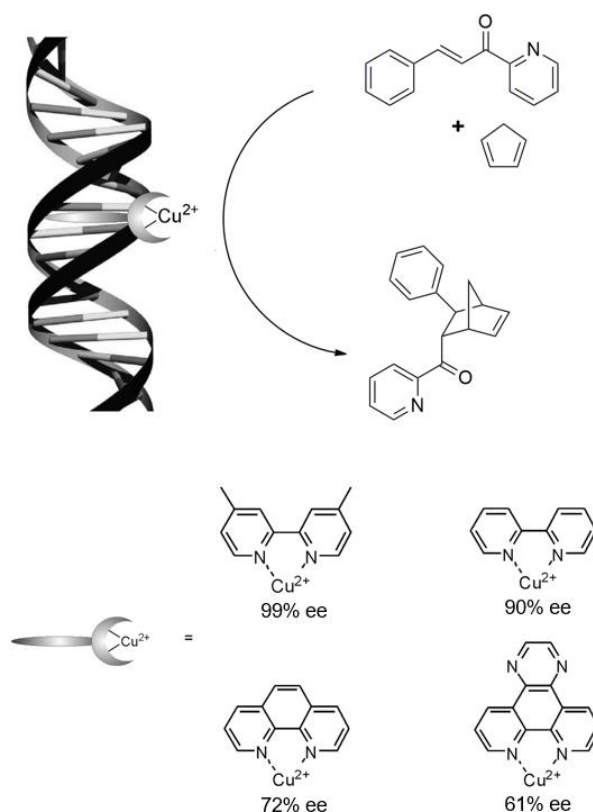
2.1.4 Umělé enzymy založené na řetězcích nukleových kyselin

Řetězce nukleových kyselin s unikátní sekundární strukturou mohou katalyzovat různé chemické reakce a napodobovat tak přírodní enzymy. Ke své funkci ale nutně potřebují kofaktory, typicky nějaký komplex přechodného kovu

(katalytické centrum), který je pomocí nekovalentních interakcí zabudován do řetězce DNA, či RNA. Reakce katalyzované takto vzniklým umělým enzymem jsou často enantioselektivní a probíhají vysokou rychlostí. Dochází při nich k modifikaci prochirálních substrátů na chirální produkty.^{132–135}

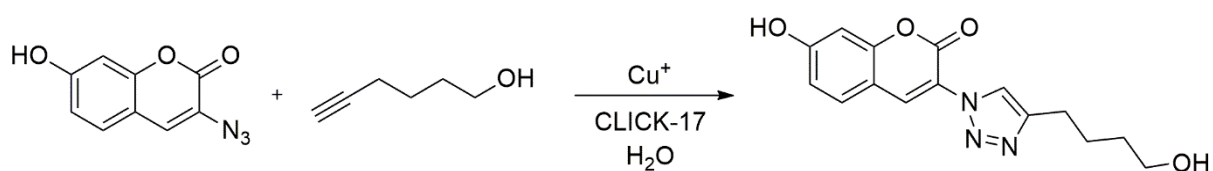
DNA nekovalentně modifikovaná měďnatými komplexy derivátů 2,2'-bypiridnu úspěšně katalyzuje enantioselektivní Dielsovu–Alderovu reakci mezi cyklopentadienem a azachalkonem. A. Boersma a spol.¹³⁶ zjistili, že tato modelová reakce může probíhat s až 99% ee,ⁱ a to v případě modifikace DNA měďnatým komplexem 4,4'-dimethyl-2,2'-bypiridinu (**Obrázek 30**). Reakce katalyzovaná pouze samotným komplexem (tedy bez DNA matrice) je o dva řády pomalejší. Autoři také zjistili, že absolutní konfigurace produktu je značně ovlivněna sekvencí bází nukleových kyselin nacházejících se v okolí Cu²⁺ komplexu.

ⁱ Zkratka ee znamená enantiomerní přebytek (z anglického *enantiomeric excess*). Vyjadřuje čistotu chirálních látek, tedy převahu jednoho enantiomeru ve vzorku nad druhým enantiomerem. Matematicky je vyjádřen jako absolutní hodnota rozdílu molárních zlomků jednotlivých enantiomerů.



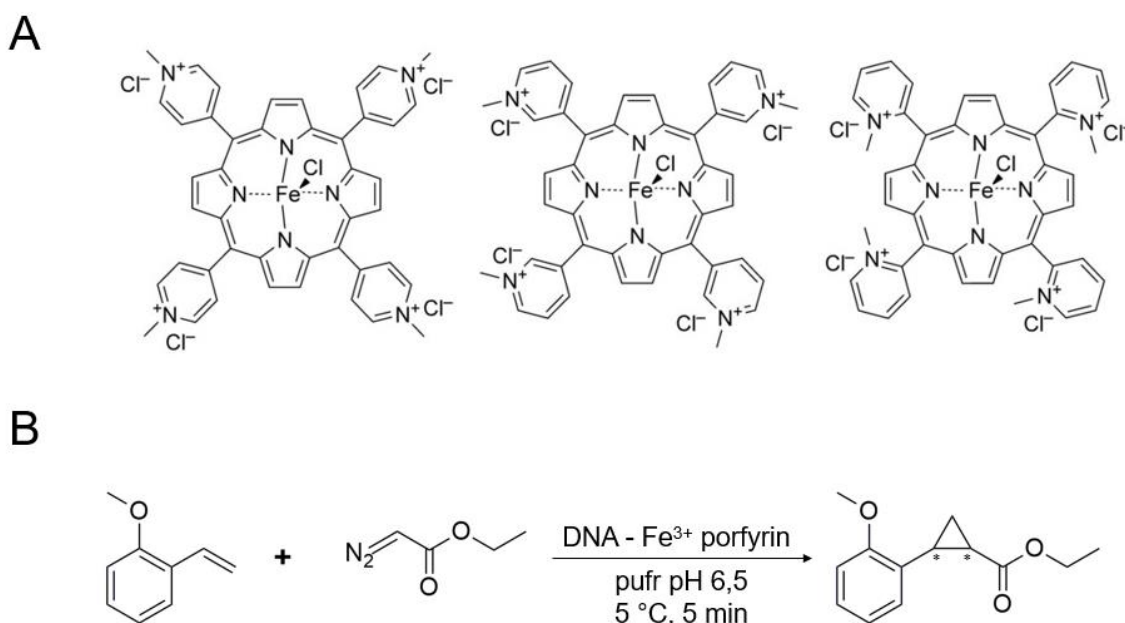
Obrázek 30 Dielsova–Alderova reakce katalyzovaná různými umělými enzymy (upraveno).¹³⁶

K. Liu a spol.¹³⁷ popsali nový DNA-katalyzátor pro 1,3-dipolární cykloadici mezi alkynem a azidem (tzv. klik reakce), kdy se jedná se o syntetický polymer složený ze 79 nukleotidů, jehož části byly při postupné syntéze v automatickém syntetizátoru DNA modifikovány různými substituenty, například fluorofory nebo jejich deriváty. Tento umělý enzym na bázi DNA, který autoři nazvali pracovně CLICK-17, vykazoval vynikající katalytické vlastnosti v klik reakcích, neboť tyto reakce probíhaly i při limitně nízkých (menších než mikromolárích) koncentracích, pro reakci nezbytných, Cu^+ iontů. Reakce probíhala dokonce i bez přítomnosti askorbátu, který se při těchto reakcích používá jako redukční činidlo v katalytickém cyklu Cu^{2+} iontů. Jako modelovou reakci zvolili autoři cykloadici mezi hex-5-yn-1-olem a 3-azido-7-hydroxykumarinem (**Obrázek 31**). Reakce probíhá o několik řádů pomaleji, je-li přítomen jako katalyzátor pouze Cu^+ ion, nikoliv nukleotidový skelet.



Obrázek 31 Cykloadice katalyzovaná syntetickým polynukleotidem.

Jako účinný a enantioselektivní katalyzátor cyklopropanace 2-methoxystyrenu ethyl-diazoacetátem popsali A. Rioz-Martínez a spol.¹³⁸ adukt přírodní DNA a železitého komplexu tetrakis(*N*-methylpyridinium)porfyrinu. Autoři zkoumali strukturní vliv relativní pozice pyridinových atomů dusíku vůči místu vazby na porfyrinový skelet. Nejlepších výsledků při reakcích dosahoval porfyrin substituovaný pyridin-2-ylem. Reakce, přenos karbenu na dvojnou vazbu, probíhala za velmi mírných podmínek, ve vodě a při 5 °C (**Obrázek 32**). Rychlost takto katalyzované reakce byla o několik řádů vyšší (zvláště v případě pyridin-2-ylového substituentu), než reakce katalyzovaná stejným porfyrinem, ale bez přítomnosti DNA.



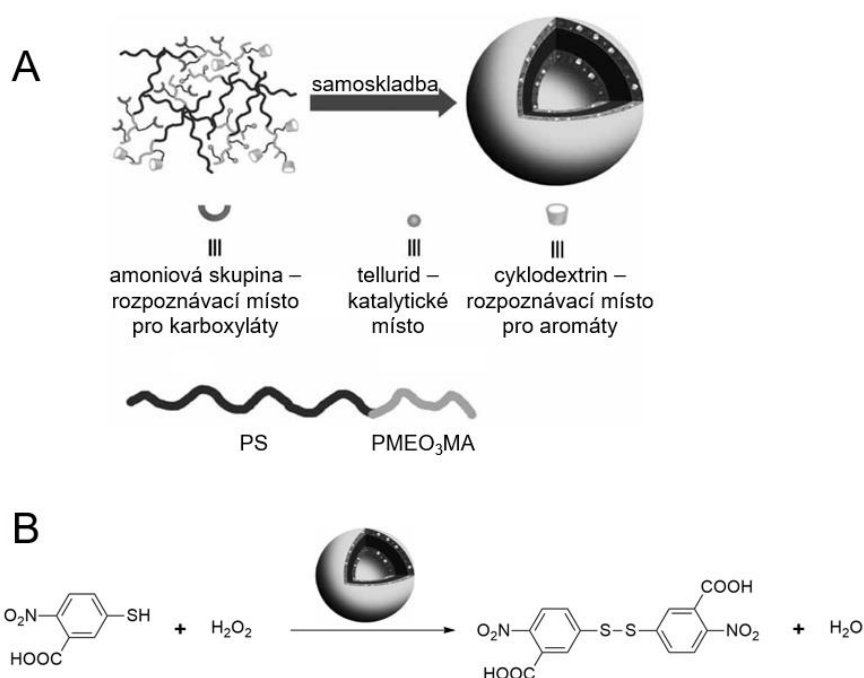
Obrázek 32 A: Struktury porfyrinových kofaktorů DNA. B: Reakce katalyzovaná komplexem DNA-Fe³⁺porfyrin. Upraveno.¹³⁸

V odborné literatuře byly popsány další systémy využívající umělé enzymy založené na struktuře modifikovaných nukleových kyselin. Tyto enzymy byly úspěšně použity při sulfoxidacích,¹³⁹ hydratacích enonů,¹⁴⁰ demethylacích,¹⁴¹ nebo dalších transformacích.^{142–145}

2.1.5 Umělé enzymy založené na samoskladných molekulách

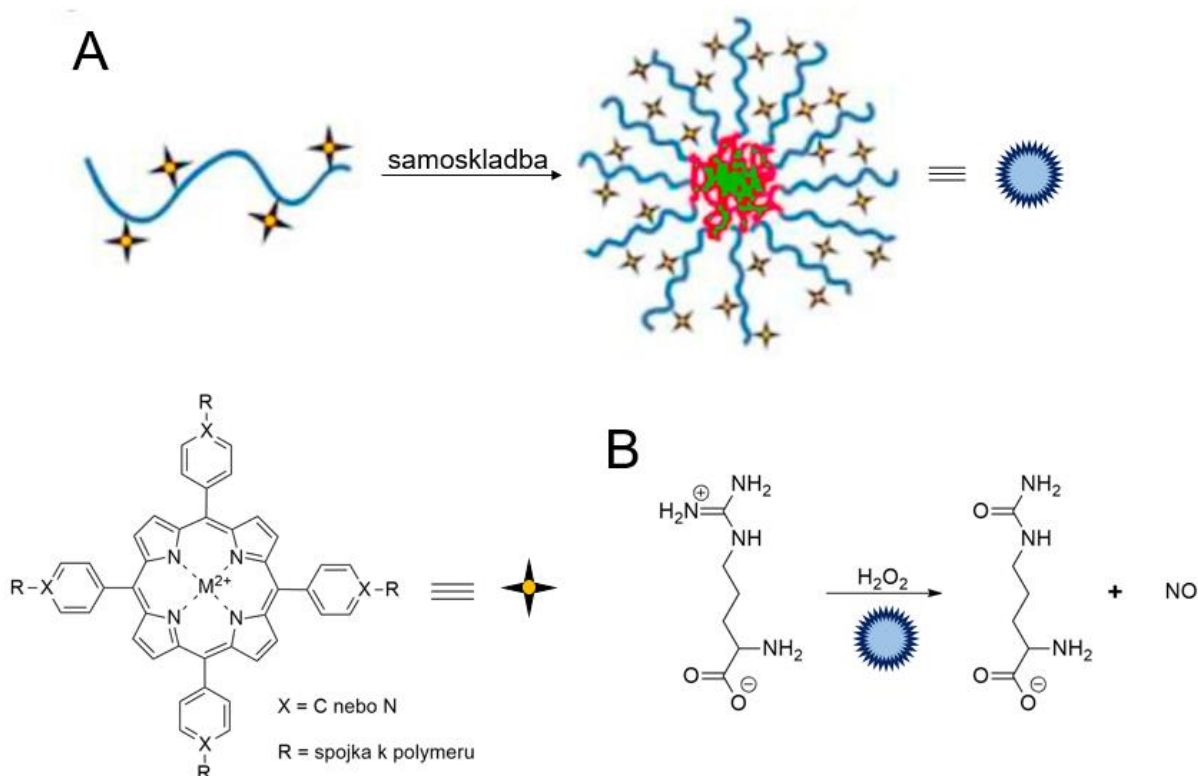
Jak již bylo zmíněno, přírodní enzymy jsou tvořeny proteinovými řetězci s různým prostorovým uspořádáním. Tyto řetězce jsou vzájemně propojeny pomocí nekovalentních interakcí. Tyto se zároveň uplatňují při vzniku a existenci nanostruktur, například vezikul, micel, nanotubic, nanogelů a nanovláken. Do těchto „nanometrových“ struktur mohou být zavedeny další funkční skupiny, či různé substituenty, sloužící jako základ pro konstrukci umělých enzymů.²

Pro napodobení funkce enzymu glutathion-peroxidázy (GPx) vyvinuli Y. Yin a spol.¹⁴⁶ umělý amfifilní enzym ve tvaru vezikuly, který nesl ve své struktuře GPx aktivní místa. Tato vezikula vznikla samoskladbou blokového substituovaného polymeru připraveného radikálovou polymerací polystyren-*blok*-poly[tri(ethylenglykol)methylether-akrylátu] (PS-PMEO₃MA). Monomery tohoto polymeru již měly zabudovaná katalytická (atom telluru navázaný do struktury) a rozpoznávací (β -cyklodextrinové jednotky pro komplexaci aromatických jader substrátů a amoniové jednotky pro komplexaci karboxylových skupin substrátů) místa ve svých strukturách. Takto připravený umělý enzym vykazoval vysokou katalytickou aktivitu při oxidacích sulfanylových skupin aromátů peroxidem vodíku na příslušné disulfidy (**Obrázek 33**).



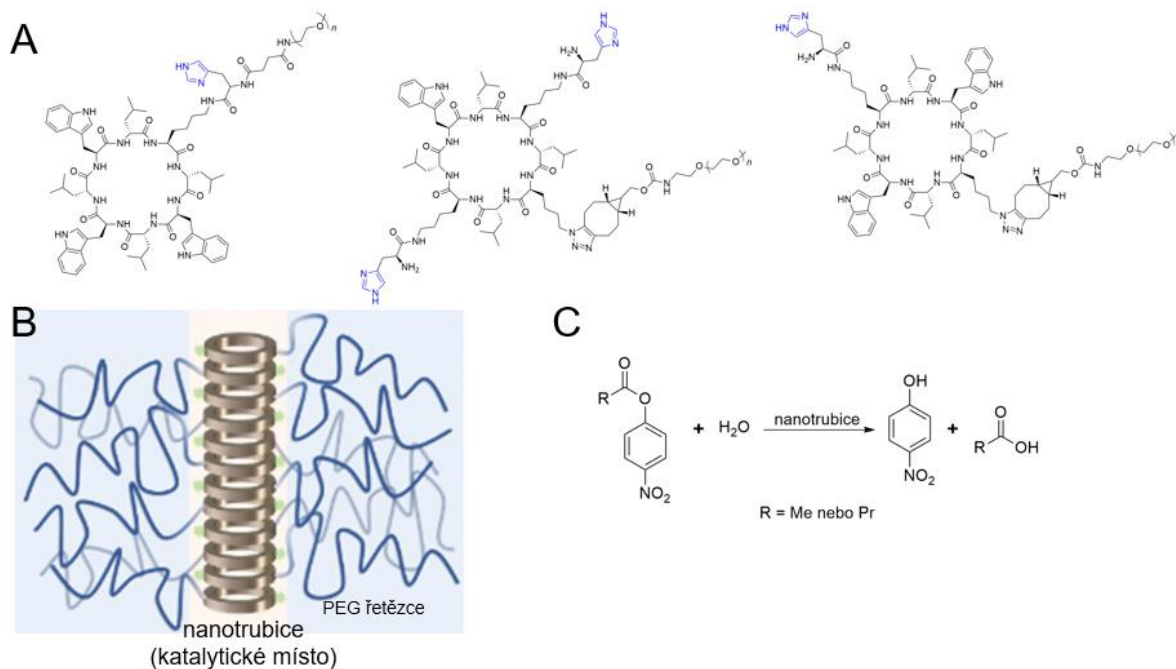
Obrázek 33 A: Vznik a složení vezikuly. B: Reakce katalyzovaná vezikulou.
Upraveno.¹⁴⁶

X. Qian a spol. popsali micelární umělý enzym,¹⁴⁷ který napodobuje přírodní enzym (syntázu oxidu dusnatého), jenž v přítomnosti peroxidu vodíku uvolňuje z L-argininu oxid dusnatý. Struktura tohoto umělého enzymu byla založena na metaloporfyrinech (Fe²⁺, Mn²⁺, nebo Co²⁺), které byly kovalentně navázány k hydrofilnímu homopolymeru poly(2-karboxyethyl-akrylátu) (PCEA). Tento systém poskytl samoskladbou strukturu micely s katalytickými vlastnostmi (**Obrázek 34**). Autoři připravili i další katalyzátory toho typu, jiné deriváty metaloporfyrinů konjugované k dalším polymerům, například k blokovému kopolymeru poly(cholesteryl-methakrylátu)-*blok*-PCEA. Tyto micelární katalyzátory pracovaly až třikrát rychleji než samotné metaloporfyriny.



Obrázek 34 A: Vznik a struktura umělého micelárního enzymu. B: Reakce katalyzovaná tímto enzymem. Upraveno.¹⁴⁷

Samoskladbou polyethylenglykolovými řetězci substituovaných cyklických oligopeptidů nesoucích ve struktuře alespoň jednu molekulu histidinu vznikají supramolekulární nanotrubičky, které mají vlastnosti umělých enzymů. Vnitřní prostor nanotrubičky je tvořen kavitami právě těchto cyklických oligopeptidů. Takový systém popsali Q. Song a spol.¹⁴⁸ roku 2023. Tyto nanotrubičkové katalyzátory výrazně urychlují hydrolyzu esterů, a to až 70× oproti nekatalyzovaným reakcím. Díky amfifilní povaze (hydrofobicitě kavity) těchto nanotrubiček, jsou schopny hydrolyzovat i ve vodě nerozpustné estery (**Obrázek 35**).



Obrázek 35 A: Cyklické oligopeptidy. B: Nanotrubice vznikající samoskladbou cyklických oligopeptidů. C: Reakce katalyzovaná nanotrubicovým umělým enzymem. Upraveno.¹⁴⁸

Byly popsány též další systémy využívající umělé enzymy strukturně založené na amfifilních uskupeních, jako například koacerváty a nanovlákná, která vznikají samoskladbou.^{149–153}

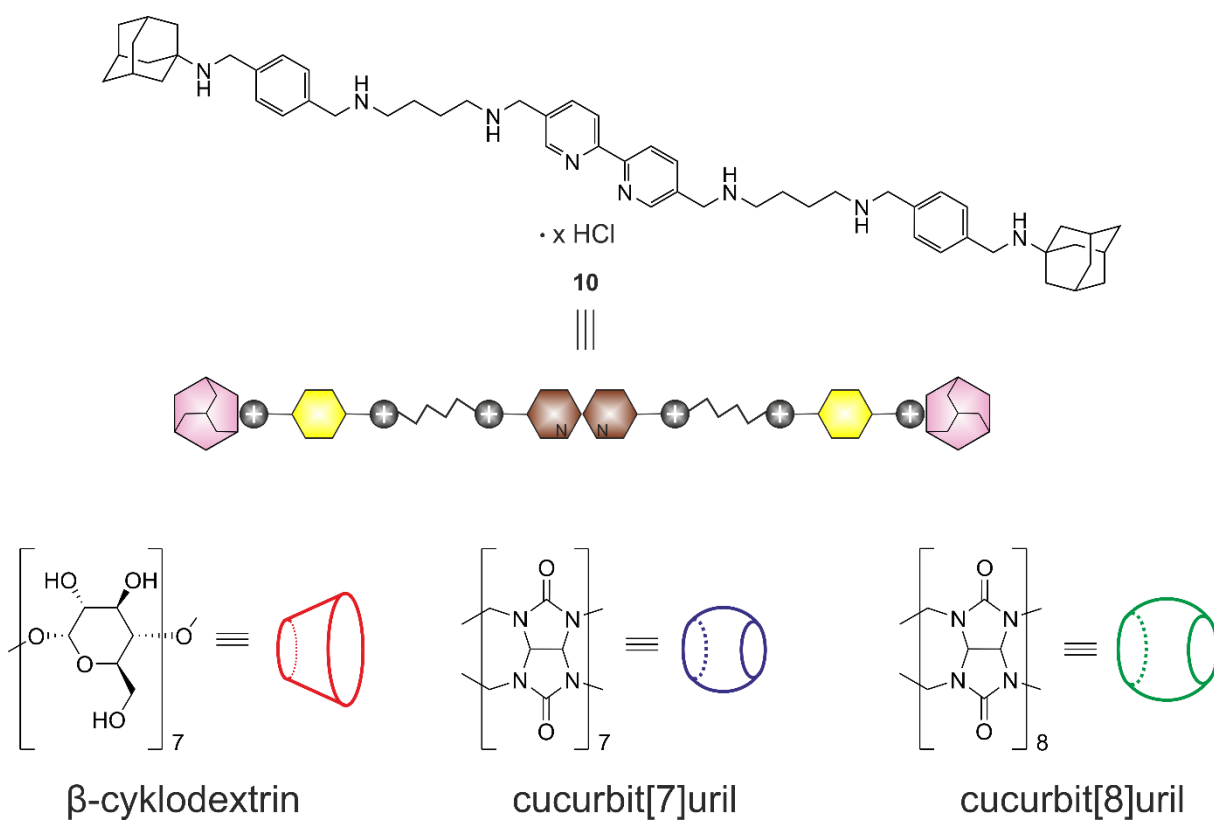
CÍLE A KONCEPT DISERTAČNÍ PRÁCE

Tato kapitola představuje cíle a koncepci disertační práce a obsahuje také schematická znázornění klíčových komponent a očekávaných systémů v navržených formách.

1. Na základě detailní literární rešerše navrhnout strukturu umělého enzymu (a jeho aktivního místa) s ohledem na očekávané supramolekulární interakce s makrocyclickými hostitelskými molekulami.
2. Prozkoumat navržené syntetické strategie, provést jednotlivé reakční kroky vedoucí k cílové struktuře ligandu. Nové sloučeniny charakterizovat pomocí dostupných instrumentálních metod, tj. 1D a 2D spektroskopie nukleární magnetické resonance (NMR), infračervené spektroskopie (IČ) a hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením (HRMS).
3. Připravený ligand podrobit supramolekulárním experimentům, kdy bude studováno jeho chování v přítomnosti vybraných makrocyclických sloučenin z rodiny cyklodextrinů, či cucurbit[*n*]urilů. Sledovat odezvu systému pomocí studia laterálních interakcí mezi nově vázaným makrocyklem a makrocyklem v systému již přítomným. Toto zkoumat zejména pomocí NMR titrací, případně UV-Vis spektroskopie a isothermální titrační mikrokolorimetrie.
4. Provést „screening“ interakcí cílové látky s vybranými ionty kovů, které budou koordinačně-kovalentně vázány k centrální jednotce připraveného ligandu. Tato část se poté stane aktivním místem umělého enzymu.
5. Po získání poznatků z předchozích bodů provést testy, které prověří katalytickou aktivitu enzymu při vybrané chemické reakci, a sice hydrolyze. Zároveň zkoumat možnost řízení průběhu a rychlosti vybrané hydrolytické reakce v závislosti na složení systému, zvláště molekulárním signálem. Tím se pokusit validovat koncept umělého enzymu s aktivitou řiditelnou vnějšími podněty.

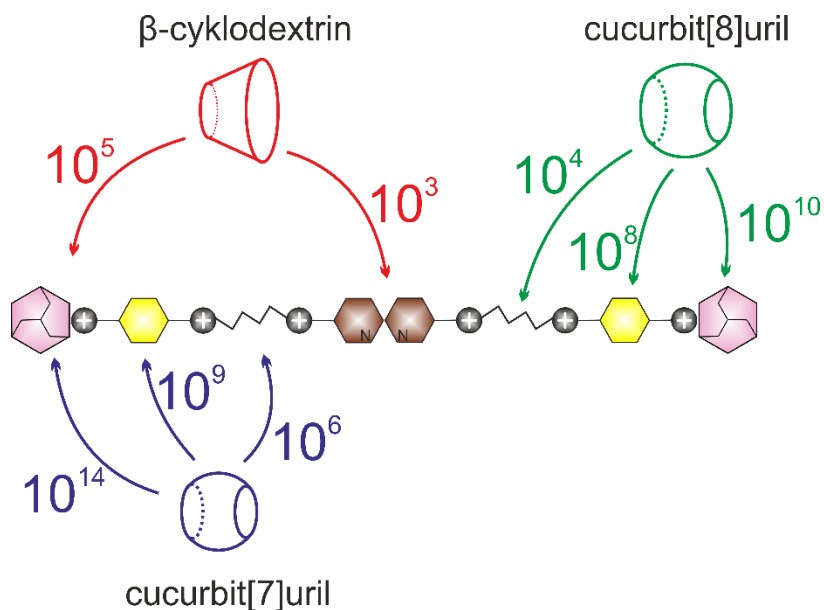
6. Získané výsledky interpretovat a následně publikovat v mezinárodním impaktovaném odborném periodiku.

Cílovou strukturou této disertační práce je heptatopický ligand **10** nesoucí typově čtyři různá vazebná místa (adamantylamin, *p*-xylylendiamin, butan-1,4-diamin a 2,2'-bipyridin), která se mezi sebou liší afinitou k makrocyclickým sloučeninám, zvláště pak cyklodextrinům a cucurbit[*n*]urilům. Tyto struktury a jejich schématická zobrazení, která budou v následujícím textu hojně užívány, znázorňuje **Obrázek 36**.



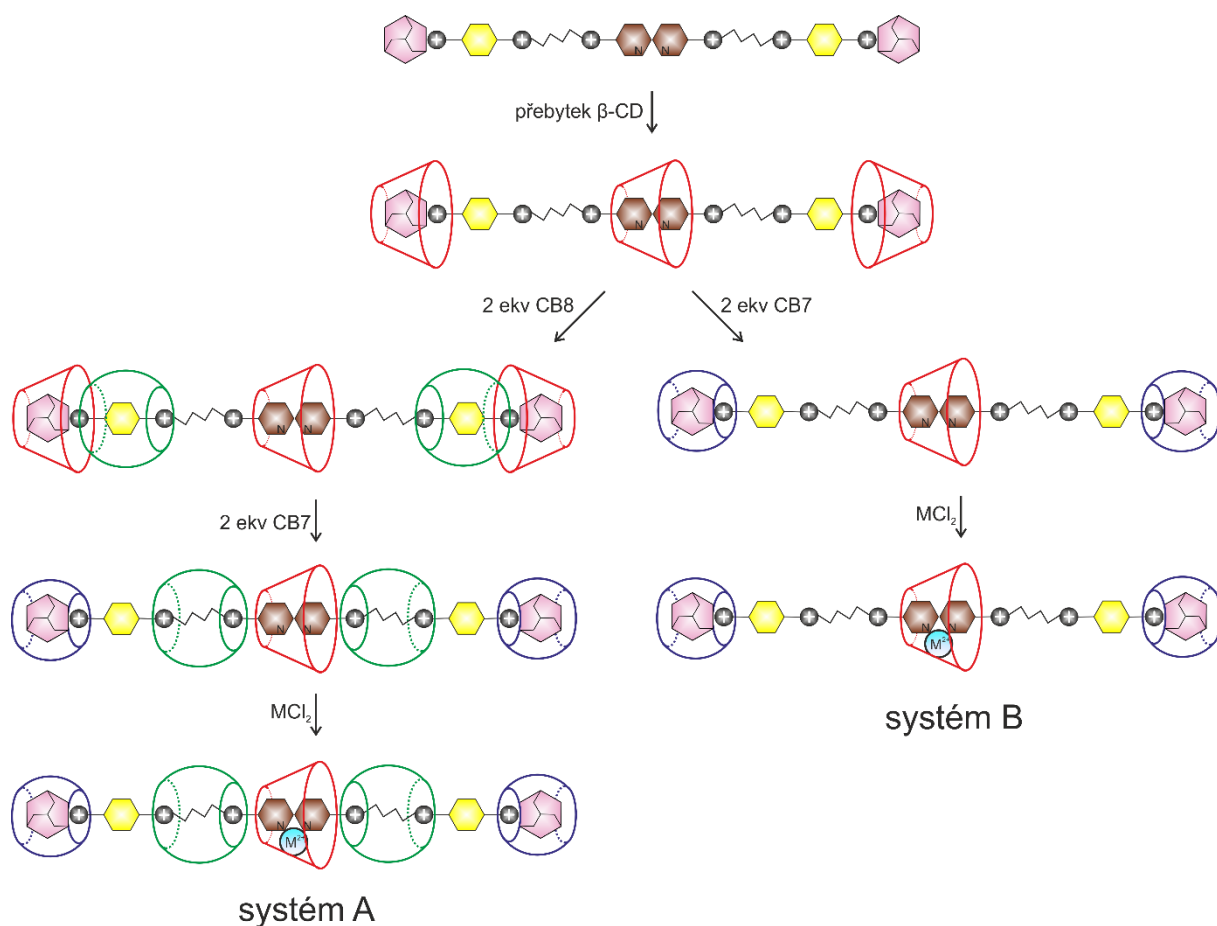
Obrázek 36 Schématická zobrazení struktur stěžejních pro tuto práci.

Pořadí jednotlivých vazebných míst na ose ligandu bylo navrženo s ohledem na známé asociační konstanty cucurbit[*n*]urilů (zvláště pak CB7 a CB8) a cyklodextrinů (zvláště pak β -CD) vůči jednotlivým vazebným motivům. Obvyklé asociační konstanty, respektive jejich běžné řady pro jednotlivé makrocycly a jednotlivá (samostatně stojící) vazebná místa zachycuje **Obrázek 37**.⁶⁰



Obrázek 37 Obvyklé řady asociačních konstant vybraných makrocyclů vůči samostatně stojícím vazebným motivům tvořícím ligand **10**.

Zamýšlený katalyzátor vybrané hydrolytické reakce je tvořen heptatopickým ligandem s centrálním bipyridinovým motivem koordinujícím kation kovu. Na ose ligandu katalyzátoru se nachází makrocyclické jednotky různých typů. Jako předpokládané aktivní centrum slouží právě zmíněný kovový ion spolu s β -cyklodextrinem, jehož kavita hostí bipyridinovou jednotku a usměrňuje tak interakci se substrátem. Tento makrocyclus je na ose ligandu „uzamčen“ okolními makrocycly. Zamýšlené varianty výstavby umělého enzymu znázorňuje **Obrázek 38**.



Obrázek 38 Varianty výstavby katalyzátorů – očekávané interakce heptatopického ligandu s dalšími komponentami přidávanými do systému.

Řízení aktivity umělého enzymu a možnost zpomalení či zastavení vybrané hydrolytické reakce je v obou ilustrovaných případech systémů A a B založeno na vyvázání obou CB7 z terminálních adamantanových vazebných míst pomocí kompetitoru s vyšší vazebnou konstantou, než mají adamantylaminové motivy. Tímto by mělo v obou případech dojít k reorganizaci systémů.

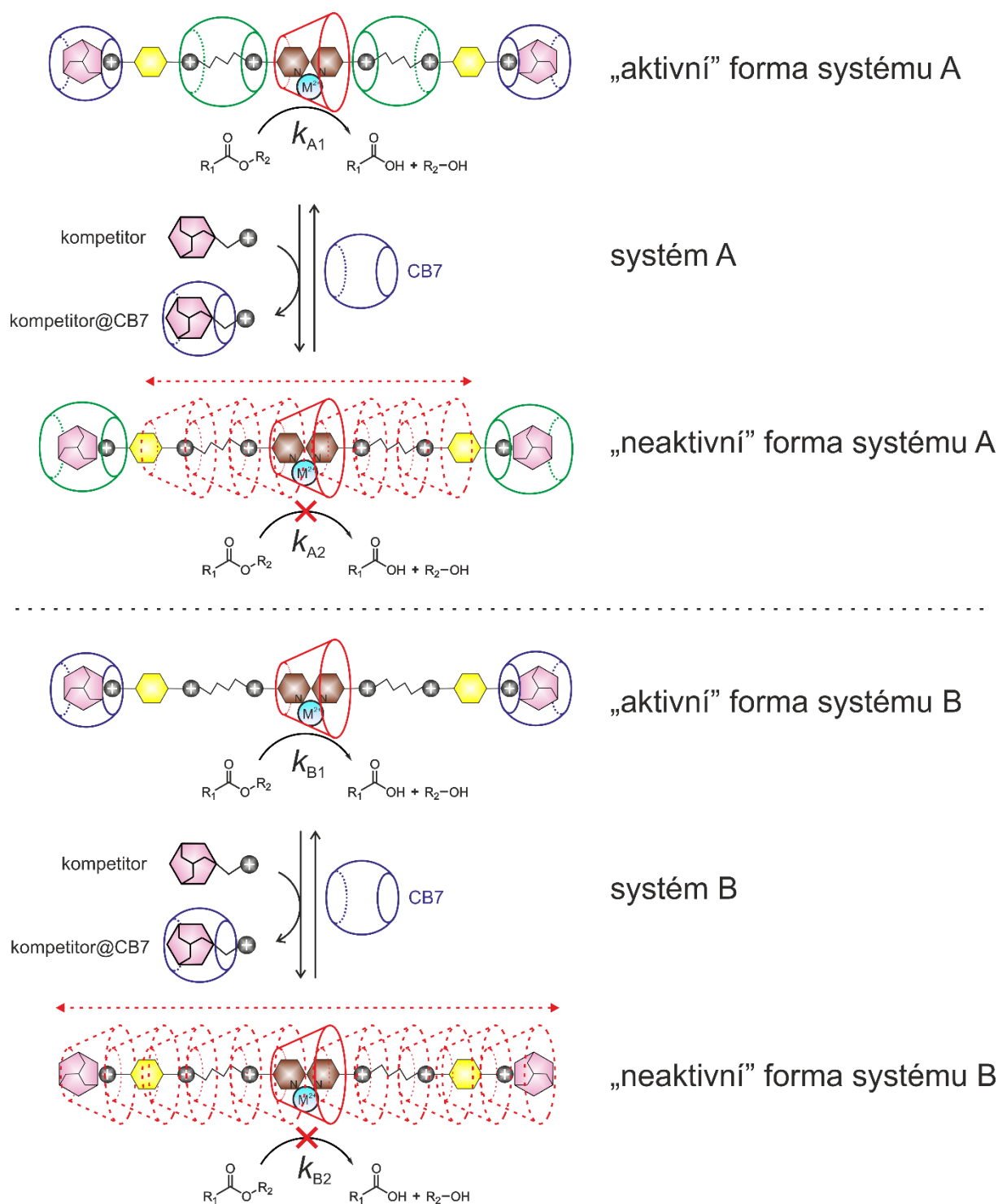
V případě „aktivní“ formy systému A probíhá katalyzovaná reakce rychlostí k_{A1} . Reorganizace systému molekulárním signálem ve variantě A znamená přesun jednotek CB8 z xylylenových na terminální adamantanová vazebná místa, což s sebou nese jakési rozvolnění pro β -CD, který se pořád bude nacházet na ose ligandu, avšak nebude pevně „uzamčen“ na jednom vazebném místě, kde usměrňuje interakci se substrátem. Tím by došlo ke vzniku méně aktivní (potažmo až neaktivní) formy systému A s rychlostí hydrolytické reakce k_{A2} .

V případě „aktivní“ formy systému B probíhá reakce rychlostí k_{B1} . Reorganizace systému ve variantě B znamená úplné rozvolnění pro β -CD, který se může pořád nacházet někde na ose ligandu, ale nebude na ní pevně „uzamčen“. Z hlediska ^1H NMR by se dalo u signálů β -CD hovořit o změně z režimu pomalé výměny do režimu rychlé výměny. Tím dojde ke vzniku „neaktivní“ formy systému B s rychlostí hydrolytické reakce k_{B2} .

Opětovné aktivace v obou případech lze dosáhnout přidavkem CB7 tak, aby komplexoval terminální adamantanové motivy ligandu **10**, což opět způsobí reorganizaci systému, „uzamčení“ β -CD na centrálním bipyridinovém motivu a návrat do výchozího uspořádání. Tento princip zachycuje **Obrázek 39**.

Z kinetického hlediska lze oba systémy popsat pomocí zmíněných konstant rychlosti hydrolytické reakce k_{A1} , k_{A2} , k_{B1} , a k_{B2} , které odpovídají jejich „aktivním“ a „neaktivním“ formám. V případech obou systémů A i B je předpokládáno, že $k_1 > k_2$, tedy že reorganizace systému vlivem kompetitoru vede ke zpomalení reakce. Tento rozdíl lze vyjádřit pomocí poměrového parametru $\rho = \frac{k_1}{k_2}$, který slouží jako měřítko rozdílu mezi aktivním a neaktivním stavem.

Je však třeba zdůraznit, že porovnání mezi systémy A a B (tedy systémy s a bez CB8) nelze provádět přímo, neboť se tyto systémy liší nejen složením, ale i sterickými parametry aktivního místa a s tím související přístupností substrátu. Lze proto pouze předpokládat, že u každého z nich samostatně platí, že $\rho > 1$, což by potvrzovalo, že kompetitivní vyvázání CB7 a následná reorganizace komplexu skutečně ovlivňuje funkční stav katalytického systému.

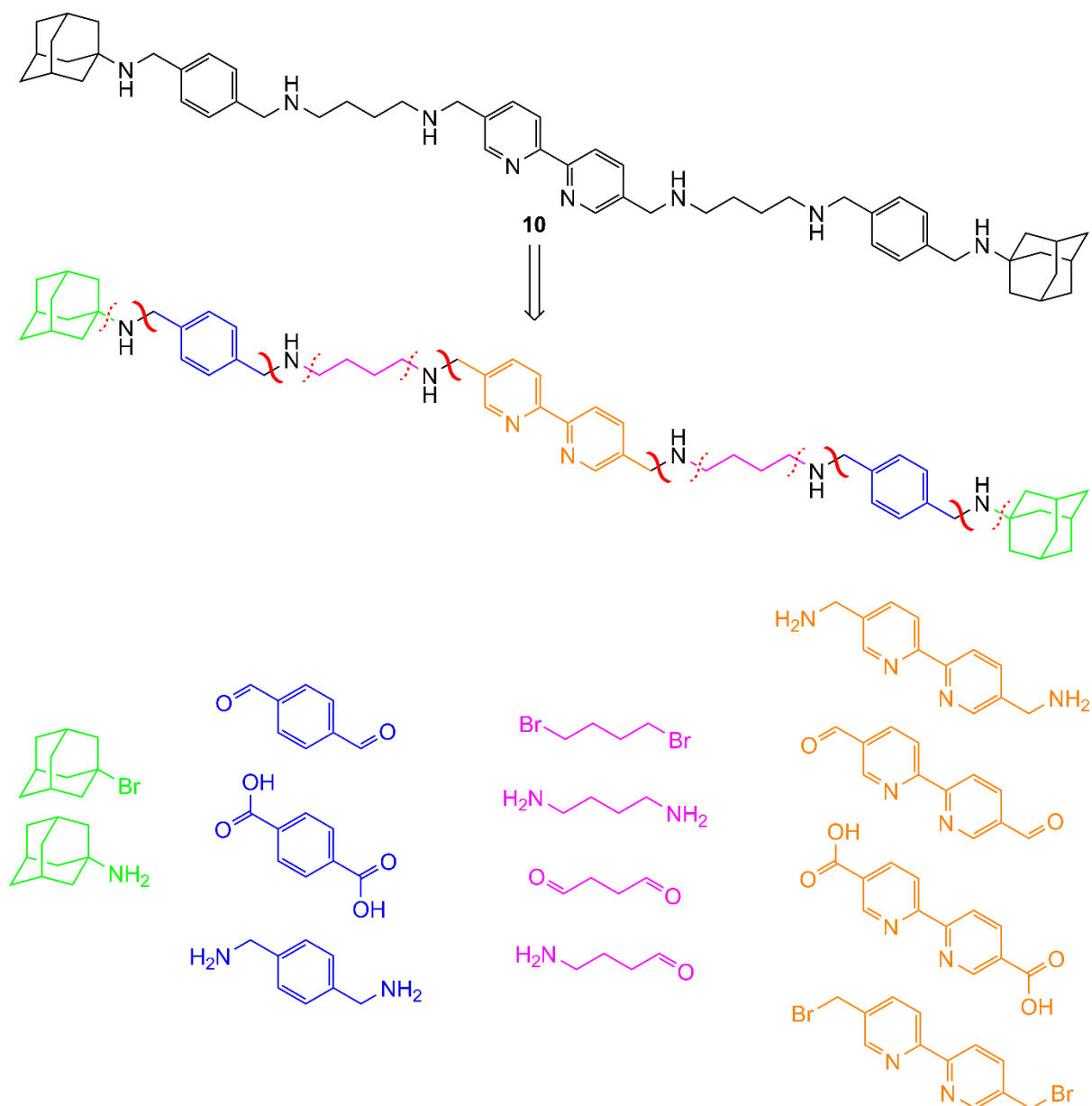


Obrázek 39 Očekávané možnosti přepínání mezi aktivními a neaktivními formami katalyzátoru – umělého enzymu. Znázorněnou míru volnosti pohybu jednotky β -CD po ose ligandu je nutné chápat relativně a jako porovnání mezi dvěma krajními stavy každého ze systémů zvlášť.

VÝSLEDKY A DISKUZE

3. Syntéza cílového ligandu a látek příbuzných

Strukturu cílové látky **10** lze z pohledu retrosyntetické analýzy rozdělit do několika logických fragmentů různé povahy, jejichž vhodným spojováním lze teoreticky získat cílovou látku.

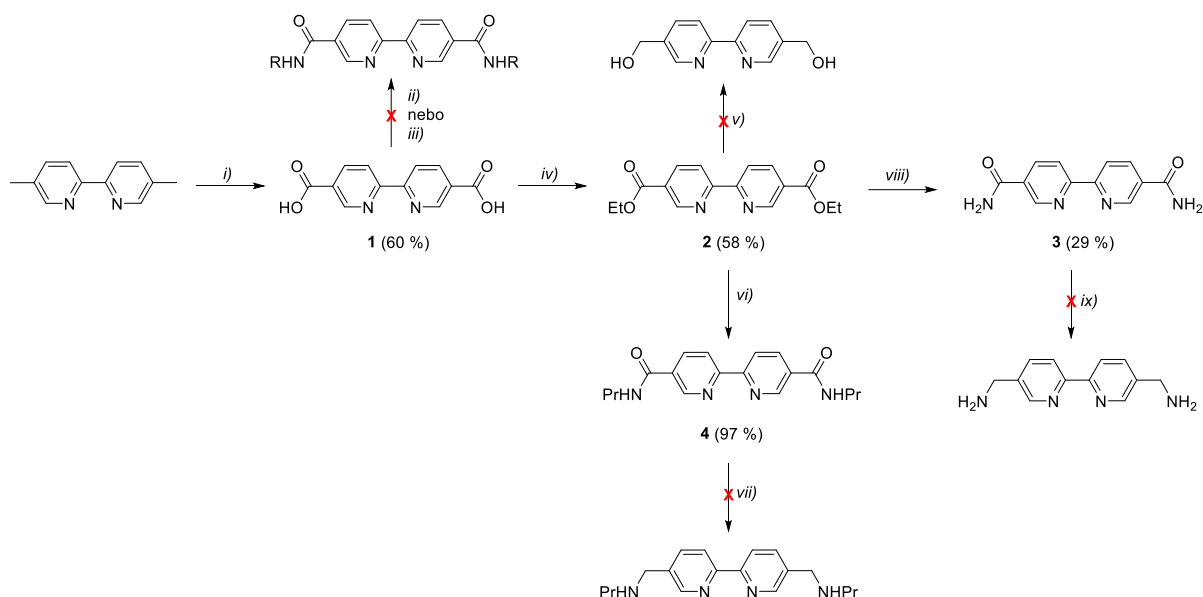


Obrázek 40 Retrosyntetické fragmenty látky **10**.

Obrázek 40 znázorňuje struktury reprezentující různé syntony vyplývající z retrosyntetické analýzy. Vzhledem k tomu, že ligand **10** obsahuje více sekundárních aminoskupin, je tak hlavní reakcí při jeho syntéze právě vznik nových C–N vazeb probíhající v různých oxidačních stavech substrátů. Teoreticky se jedná o syntézy amidů karboxylových kyselin a jejich následnou redukci na aminy, redukční aminace (syntézy iminů a jejich redukce na aminy) nebo prosté alkylace aminů probíhající ve smyslu nukleofilních substitucí. Důležitým aspektem při syntéze látky **10** je také její symetrie. Rovina symetrie látky **10** prochází 5,5'-disubstituovaným-2,2'-bipyridinovým motivem. Právě tohoto faktu bylo při plánování syntézy s výhodou využito. Symetrie molekuly totiž umožnila provádět reakce paralelně na obou ramenech molekuly, čímž se celý syntetický proces zjednodušil.

Vhodným syntetickým ekvivalentem 5,5'-disubstituovaného-2,2'-bipyridinového motivu a zároveň komerčně dostupnou sloučeninou je 5,5'-dimethyl-2,2'-bipyridin. Pro jeho zapojení do struktury cílové látky je nutné jej derivatizovat, tedy zavést do jeho struktury reaktivní skupiny, které budou moci být vhodně spojeny se sousedními fragmenty.

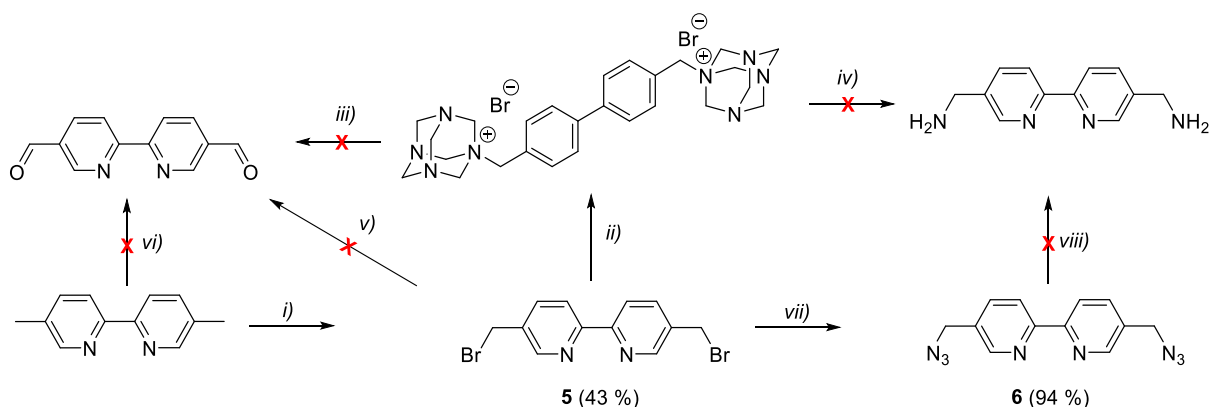
První možností modifikace 5,5'-dimethyl-2,2'-bipyridinu je oxidace postranního řetězce a následné reakce v oxidačním stupni karboxylové kyseliny (**Obrázek 41**). Konkrétně se jedná o oxidaci methylových skupin manganistanem draselným za vzniku příslušné dikarboxylové kyseliny **1** (60 %). Ta byla podrobena reakcím s aminy jednak za „steglichovských“ podmínek, jednak po převodu na její dichlorid, nicméně reakce byly neúspěšné, pravděpodobně kvůli omezené rozpustnosti komponent, případně produktů. Dikyselina **1** tak byla následně esterifikována ve smyslu Fischerovy esterifikace na diethylester **2** (60 %), který byl použit jako výchozí látka do několika dalších reakcí. Jednalo se o redukci na příslušný dialkohol (LiAlH_4 , NaBH_4),^{154,155} kdy docházelo k vymizení výchozí látky v reakční směsi, avšak všechny pokusy selhaly ve fázi zpracování reakční směsi a izolace produktu, pravděpodobně pro jeho velmi omezenou rozpustnost. Dále byl diester **2** podroben reakcím s amoniakem a s propan-1-aminem pro teoreticky snadné zisky amidů karboxylové kyseliny **3**, respektive **4** a pro zisk substrátu vhodného k redukci na amin. Ovšem i tyto cesty byly ukončeny neúspěšnou redukcí.



Obrázek 41 Přehled první syntetické strategie. i) KMnO_4 , H_2O , reflux; ii) 1. SOCl_2 (též i $(\text{COCl})_2$) 2. 4-nitroanilin,^j TEA, DCM; iii) 4-nitroanilin, EDCI, HOBt, DMAP, DIPEA, DMF; iv) EtOH, H_2SO_4 , reflux; v) LiAlH_4 , THF, reflux (též i NaBH_4 , MeOH, reflux); vi) PrNH_2 , reflux; vii) $\text{BH}_3 \cdot \text{Me}_2\text{S}$, THF, reflux; viii) NH_4OH , reflux; ix) $\text{BH}_3 \cdot \text{Me}_2\text{S}$, THF, reflux (též i $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$, THF, reflux a LiAlH_4 , THF, reflux).

Další syntetické snahy se tak přesunuly do nižších oxidačních stavů (**Obrázek 42**). Druhou možností modifikace 5,5'-dimethyl-2,2'-bipyridinu je radikálová substituce, konkrétně tedy bromace na methylových skupinách *N*-bromsukcinimidem v tetrachlormethanu katalyzovaná benzoylperoxidem. Tato reakce poskytovala 5,5'-bis(brommethyl)-2,2'-bipyridin (5) ve výtěžcích okolo 40 %. Ten může být jednak převeden na příslušný diamin, na příslušný dialdehyd nebo může sloužit jako alkylační činidlo pro jiné aminy.

^j V počátcích práce figuroval ve struktuře cílové molekuly 1,4-fenylendiaminový motiv. Tento motiv má pro zamýšlené supramolekulární komplexace srovnatelné vazebné konstanty, jako 1,4-butandiaminový motiv, za který byl nahrazen z důvodu redoxní stability.



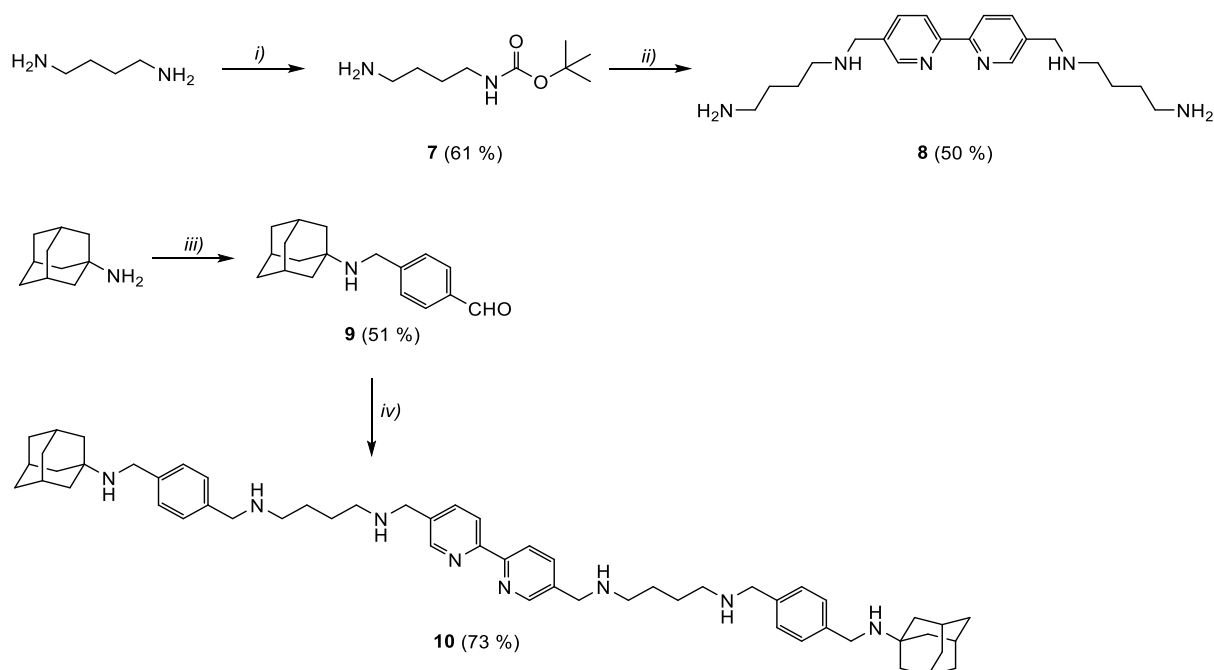
Obrázek 42 Další modifikace 5,5'-disubstituovaných-2,2'-bipyridinových derivátů. *i)* NBS, Bz₂O₂, CCl₄, reflux; *ii)* urotropin, CHCl₃, reflux; *iii)* AcOH, H₂O, reflux; *iv)* HCl, reflux; *v)* DMSO, NaHCO₃, 130 °C; *vi)* 1. Bredereckovo činidlo, DMF, 120 °C; 2. NaIO₄, DCM, THF, H₂O; *vii)* NaN₃, DMF, 70 °C; *viii)* H₂, Pd/C, MeOH (též i Ph₃P, THF).

Ve snaze připravit další sloučeniny z dibromderivátu byla provedena alkylace urotropinu a následný rozklad diurotropiniové soli za různě kyselých podmínek, bohužel příslušný diamin, ani dikarbaldehyd nebyly izolovány. To mohlo být způsobeno buď nestabilitou produktů, nebo jejich rozpustností ve vodě, či kyselých roztocích.

Další kroky se tak ubíraly k přípravě dikarbaldehydu. 5,5'-bis(bromomethyl)-2,2'-bipyridin (**5**) byl ve smyslu Kornblumovy oxidace zahříván v DMSO a přítomnosti báze, žádaný produkt byl izolován, bohužel opakovaně ve velmi nízkém výtěžku do 10 %, což tuto metodu činí prakticky nepoužitelnou. Další možností, jak získat příslušný dikarbaldehyd, je v literatuře popsána dvoukroková syntéza vycházející přímo z komerčně dostupného 5,5'-dimethyl-2,2'-bipyridinu.¹⁵⁶ Použitím poměrně exotického Bredereckova činidla^k přechází substrát na enaminový derivát, který je následně štěpen jodistanem sodným za vzniku dikarbaldehydu. Reakce proběhly dle očekávání, ale pravděpodobně pro nižší kvalitu dodaného komerčního činidla byl izolovaný výtěžek opět velmi nízký (do 10 %), což i tuto metodu činí prakticky nepoužitelnou.

^k Chemicky se jedná o *tert*-butoxybis(dimethylamino)methan.

Pro alternativní způsob přípravy 5,5'-bis(aminomethyl)-2,2'-bipyridinu byla nejprve provedena nukleofilní substituce atomů bromu azidem sodným poskytující derivát **6** (94 %). Jako problematický se ale ukázal druhý krok – redukce azidoskupin. Při redukci vodíkem na palladiu docházelo do nezanedbatelné míry i k hydrogenolýze C–N vazeb v benzylové poloze a k úplnému odredukování dusíkaté funkce. Tomu sice bylo zabráněno při Staudingerově redukci, nicméně vzhledem k horší rozpustnosti produktu a neúspěšným pokusům jej separovat chromatograficky se nepodařilo oddělit produkt od trifenylfosfinoxidu.



Obrázek 43 Syntéza cílové látky a jejích prekurzorů. i) Boc_2O , DCM; ii) 1. **5**, MeCN, reflux; 2. AcCl, MeOH, 0 °C; iii) 1. tereftaldehyd, 75 W, MeOH, 100 °C; 2. trimethyl-orthoformiát, *p*-TsOH; 3. NaBH_4 , MeOH; 4. H_2SO_4 , H_2O ; iv) 1. **8**, 75 W, MeOH, 100 °C; 2. NaBH_4 , MeOH.

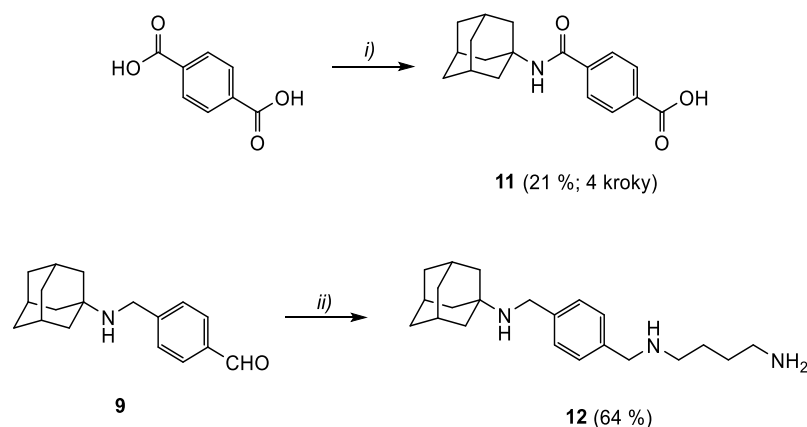
Naopak mezi úspěšné syntézy lze zařadit prosté alkylace alifatických aminů bisbromderivátem **5** (**Obrázek 43**). Vzhledem ke struktuře cílové látky se jedná zvláště o alkylace 4-substituovaných butan-1-aminů. Stěžejním aminem pro alkylace byl *tert*-butyl-(4-aminobutyl)karbamát (**7**), připravený reakcí butan-1,4-diaminu s di-*tert*-butyl-dikarbonátem (výtěžky ~ 60 %). Pro zmíněnou alkylační

reakci probíhající mezi deriváty **5** a **7** za refluxu v acetonitrilu bylo použito pouze 10–12,5 mol. % alkylačního činidla **5** ve snaze zabránit alkylacím do vyšších stupňů. To s sebou pochopitelně nese velké množství nezreagovaného výchozího aminu **7** v reakční směsi, proto nebyl produkt alkylace izolován a celá reakční směs byla ihned podrobena dalšímu kroku – kyselému odstranění všech Boc-skupin. Po dvou krocích tak byla možná izolace produktu **8** ve výtěžcích okolo 50 %.

Pro syntézu koncového fragmentu **9**, bylo využito již ověřeného postupu kolegy Petra Janovského.¹⁵⁷ Tato příprava sestává ze čtyř kroků. Celá sekvence je zahájena mikrovlnami asistovanou kondenzací adamantylaminu s přebytkem tereftaldehydu. Vzniklý iminoaldehyd je na karbonylové funkci ochráněn na dimethylacetal před redukcí NaBH₄. Po zisku aminu redukcí iminu je acetal kyselě hydrolyzován na aminobenzaldehydový derivát **9**. Ten je izolován po chromatografii v cca 50% výtěžku. Dva ekvivalenty tohoto aminoaldehydu **9** v posledním syntetickém kroku reagují s diaminem **8** ve smyslu reduktivní aminace (opět mikrovlnami asistovanou) za vzniku finální sloučeniny **10**.

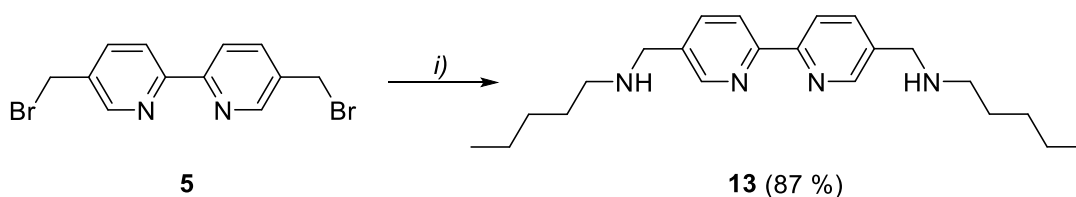
Pro provedení zamýšlených supramolekulárních a koordinačně-chemických experimentů s cílovou látkou bylo nutné ji izolovat ve formě rozpustné ve vodě. Byla tedy převedena na hydrochlorid pomocí etherického chlorovodíku. U izolované pevné látky nebyl přímo určen její náboj, tedy kolik molekul HCl připadá na jednu molekulu cílové látky. Byla ale stanovena její experimentální molekulová hmotnost pomocí ¹H NMR na standard kyseliny maleinové. Dle tohoto experimentu se jedná o hexahydrochlorid (nabízí se, že jsou nabitě právě všechny sekundární alifatické aminoskupiny cílové molekuly), nicméně izolovaný materiál zcela jistě obsahuje vlhkost, zbytková rozpouštědla (jichž se nedařilo zbavit) a jiné minoritní nečistoty.

V průběhu vývoje nejvhodnější syntetické cesty vedoucí k derivátu **10** byly připraveny i další fragmenty, které ovšem nebyly k jeho finální syntéze nakonec použity. **Obrázek 44** ukazuje deriváty **11** a **12** jako alternativní syntony látky **10**.



Obrázek 44 Alternativní syntony látky 10. *i)* 1. MeOH, H₂SO₄, reflux; 2. KOH, MeOH, reflux; 3a. SOCl₂, reflux; 3b. adamantylamin, TEA, DCM; 4. LiOH, THF, H₂O; *ii)* 1. 7, 75 W, MeOH, 100 °C; 2. NaBH₄, MeOH; 3. TFA, DCM.

Pro sledování vlivů jednotlivých částí (funkčních skupin) finální látky na výsledky supramolekulárních experimentů byl připraven ještě další amin **13**, který nenese koncové primární aminoskupiny (**Obrázek 45**).



Obrázek 45 Příprava modelového ligandu **13**. *i)* pentan-1-amin, MeCN, reflux.

SYNTÉZA CÍLOVÉHO LIGANDU A LÁTEK PŘÍBUZNÝCH – SHRNUÍ

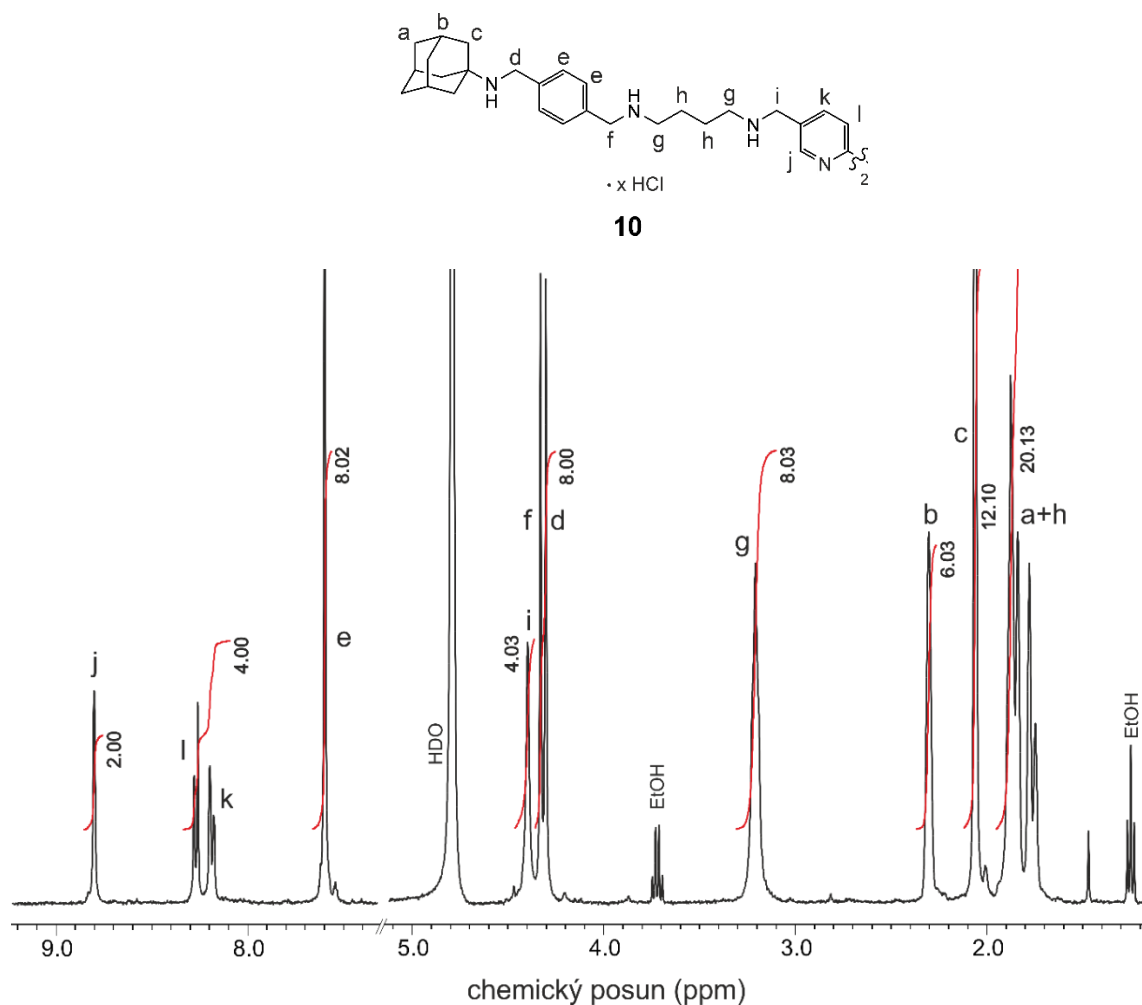
Na základě retrosyntetické analýzy byla navržena syntetická strategie cílové látky vycházející z centrálního symetrického 2,2'-bipyridinového motivu. Jako výchozí sloučenina byl použit komerčně dostupný 5,5'-dimethyl-2,2'-bipyridin, který byl po radikálové bromaci převeden na 5,5'-bis(bromomethyl)-2,2'-bipyridin. Ten byl následně využit jako alkylační činidlo při přípravě symetrického bis(4-aminobutyl)derivátu **8**. Paralelně byl připraven aldehyd **9**

vycházející z kondenzace adamantylaminu s tereftaldehydem. Finální látka **10** byla připravena souběhem těchto dvou větví ve smyslu reduktivní aminace mezi látkami **8** a **9** s výtěžkem 73 %. Pro potřeby následných supramolekulárních a koordinačně-chemických experimentů byl ligand převeden na ve vodě rozpustný hydrochlorid. V průběhu optimalizace syntetické cesty byly připraveny také další alternativní fragmenty a modelový ligand **13** určený ke studiu vlivu jednotlivých společných strukturních motivů ligandů na supramolekulární a koordinačně-chemické chování.

4. Principy a přístup ke studiu interakcí hostitel–host systémů

Studium interakcí v hostitel–host systémech a sledování jejich strukturálních změn v průběhu komplexací je zásadním pilířem této práce. Klíčovým nástrojem pro jejich sledování je v rámci této práce ^1H nukleární magnetická rezonance, která umožňuje detailní rozbor chemického okolí jednotlivých jader a tím i přímé pozorování komplexačních dějů.

Pro vyhodnocování supramolekulárních experimentů bylo nejprve nezbytné provést důkladný rozbor ^1H NMR spektra sloučeniny **10** a přiřadit všechny signály této látky (**Obrázek 46**). Kvůli tomu, že veškeré následující experimenty byly vzhledem k jejich povaze prováděny ve vodném prostředí, respektive v D_2O , byla látka **10** připravena a používána ve formě hydrochloridu.

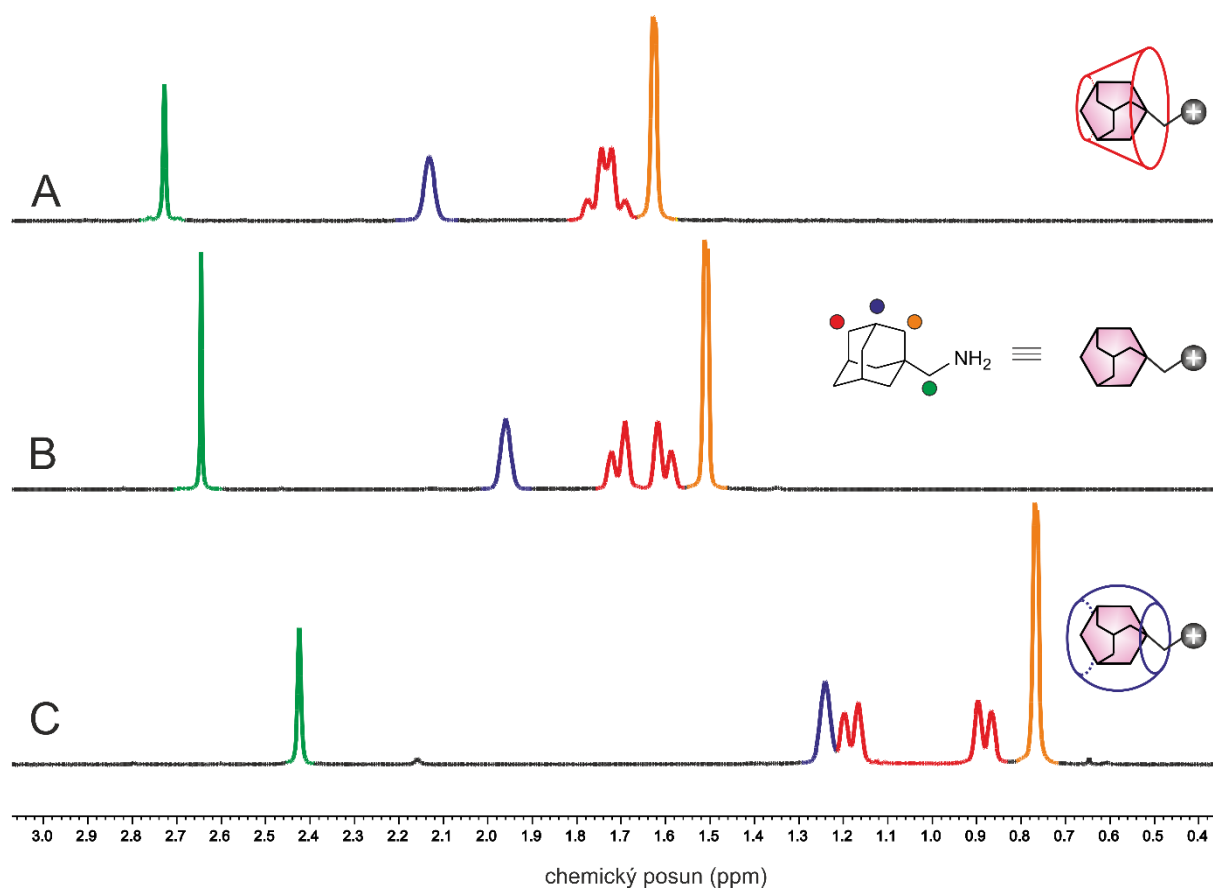


Obrázek 46 ^1H NMR spektrum látky **10** a přiřazení signálů.

Přiřazení jednotlivých signálů ke konkrétním protonům ligandu **10** bylo provedeno na základě kombinace následujících NMR experimentů: ^1H , ^{13}C , HMBC, HSQC, COSY. Nejvíce odstíněny jsou protony bipyridinového jádra (j, k, l), následované xylylendiaminovým motivem, který se i přes nesymetrickou substituci projevuje jako singlet (e). V oblasti kolem 4,4 ppm se objevují tři singlety odpovídající třem odlišným benzylovým polohám (i, f, d). Zbývající část spektra náleží alifatickým protonům. Čtyřuhlíkatá spojka je zastoupena signály dvojicí „vnějších“ NCH_2CH_2 (g) a „vnitřních“ NCH_2CH_2 skupin (h), přičemž signály „vnitřních“ methylenových jednotek se částečně překrývají se signály adamantanu (a, b, c). Ve spektru jsou dále přítomny signály zbytkového ethanolu, jehož úplného odstranění se nepodařilo dosáhnout ani opakovaným sušením vzorku za nízkého tlaku (0,05 bar), či zvýšené teploty (60 °C).

Vzhledem k velkému počtu prezentovaných titračních spekter v následujících kapitolách, není přiřazení jednotlivých protonových signálů ligandů opakováno u každého experimentu. Pro usnadnění orientace je k disertační práci přiložena samostatná referenční karta obsahující přehled přiřazení signálů, která může být použita jako orientační pomůcka při studiu spekter titračních experimentů.

Jak již bylo zmíněno, látka **10** obsahuje ve své struktuře několik různých vazebných motivů, zvláště pro cyklodextriny a cucurbit[n]urily. Při vzniku inkluzních komplexů ovlivňují kavity, či portály hostitele chemické okolí hosta, což se typicky projeví v chemickém posunu dotčených signálů. Vliv na pozorované jádro je dán souběhem celé řady jevů – prostou elektronovou hustotou, přítomností a orientací silně magneticky anizotropních skupin, Lewisovskými páry uvnitř kavity a dalšími typy nevazebných interakcí. Z tohoto souběhu jevů pro komplexy cucurbit[n]urilů vyplývá, že atomy hostů uvnitř kavit jsou typicky stíněny, zatímco atomy hostů uvnitř kavit cyklodextrinů jsou mírně odstíněny. Tento obecný trend je zde ilustrován na ^1H NMR spektrech hydrochloridu adamantan-1-ylmethylaminu v D_2O (**Obrázek 47**) jak v přítomnosti 1 ekvivalentu CB7 (spodní spektrum), tak v přítomnosti 1 ekvivalentu β -CD (horní spektrum). Analyzované směsi vznikly prostým smícháním dvou roztoků.



Obrázek 47 Vliv komplexace $\text{AdCH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$ (L) různými makrocikly na posun jeho ^1H NMR signálů. A) L@ β -CD (1:1); B) L; C) L@CB7 (1:1).

Naproti tomu postupná NMR titrace ligandu makrocyklem představuje informativnější přístup ke studiu komplexačních dějů, neboť umožňuje detailnější sledování změn chemických posunů v závislosti na molárním poměru složek, a tím i odhad stechiometrie komplexu a charakteru výměnného režimu. Tento přístup byl zvolen pro všechny dále popsané experimenty. Pro každou komponentu titrace byla stanovena její efektivní molární hmotnost pomocí přesných navážek se standardem (kyselinou maleinovou). Tyto molární hmotnosti byly následně použity při výpočtech navážek komponent titrací. Autentické roztoky makrocyclů byly pro zjištění přesné koncentrace před samotnou titrací taktéž standardizovány na kyselinu maleinovou.

PRINCIPY A PŘÍSTUP KE STUDIU INTERAKCÍ HOSTITEL–HOST SYSTÉMŮ – SHRNU TÍ

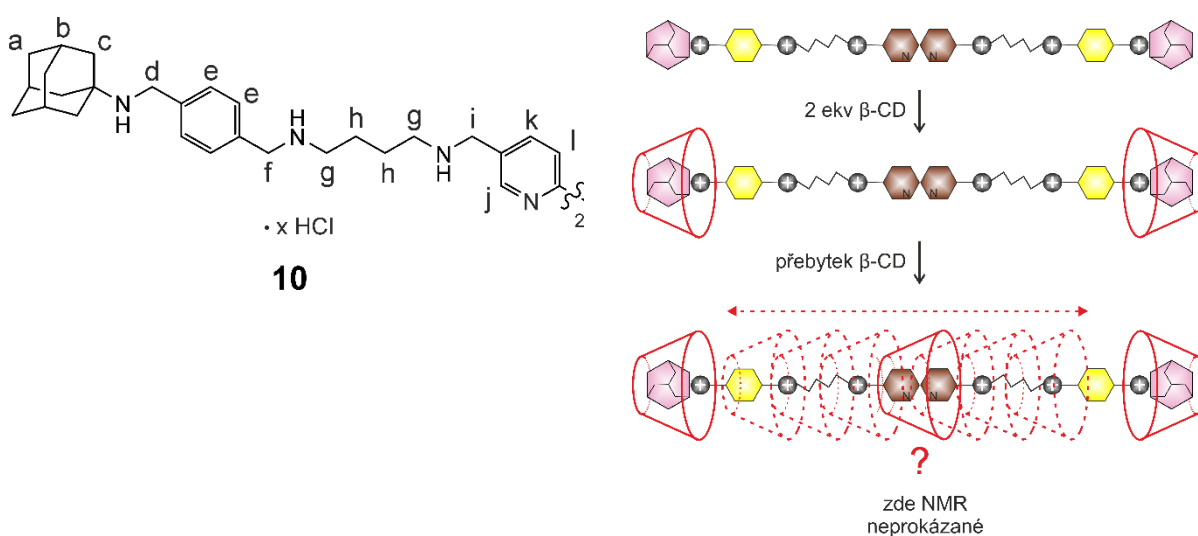
Interakce hostitel–host byly v této práci studovány především pomocí ^1H NMR spektroskopie. Vznik inkluzních komplexů se v NMR spektrech projevuje charakteristickými změnami chemických posunů signálů, jejichž směr i velikost závisí na typu makrocyclického hostitele a povaze interakcí v komplexu. Pro správnou interpretaci těchto změn je zásadní úplné přiřazení signálů v ^1H NMR spektru cílové látky. Pro detailnější studium komplexačních procesů byly využity metody ^1H NMR titrací, které umožňují sledovat změny ve spektrech v závislosti na molárním poměru složek a poskytují informace o stechiometrii a charakteru komplexu.

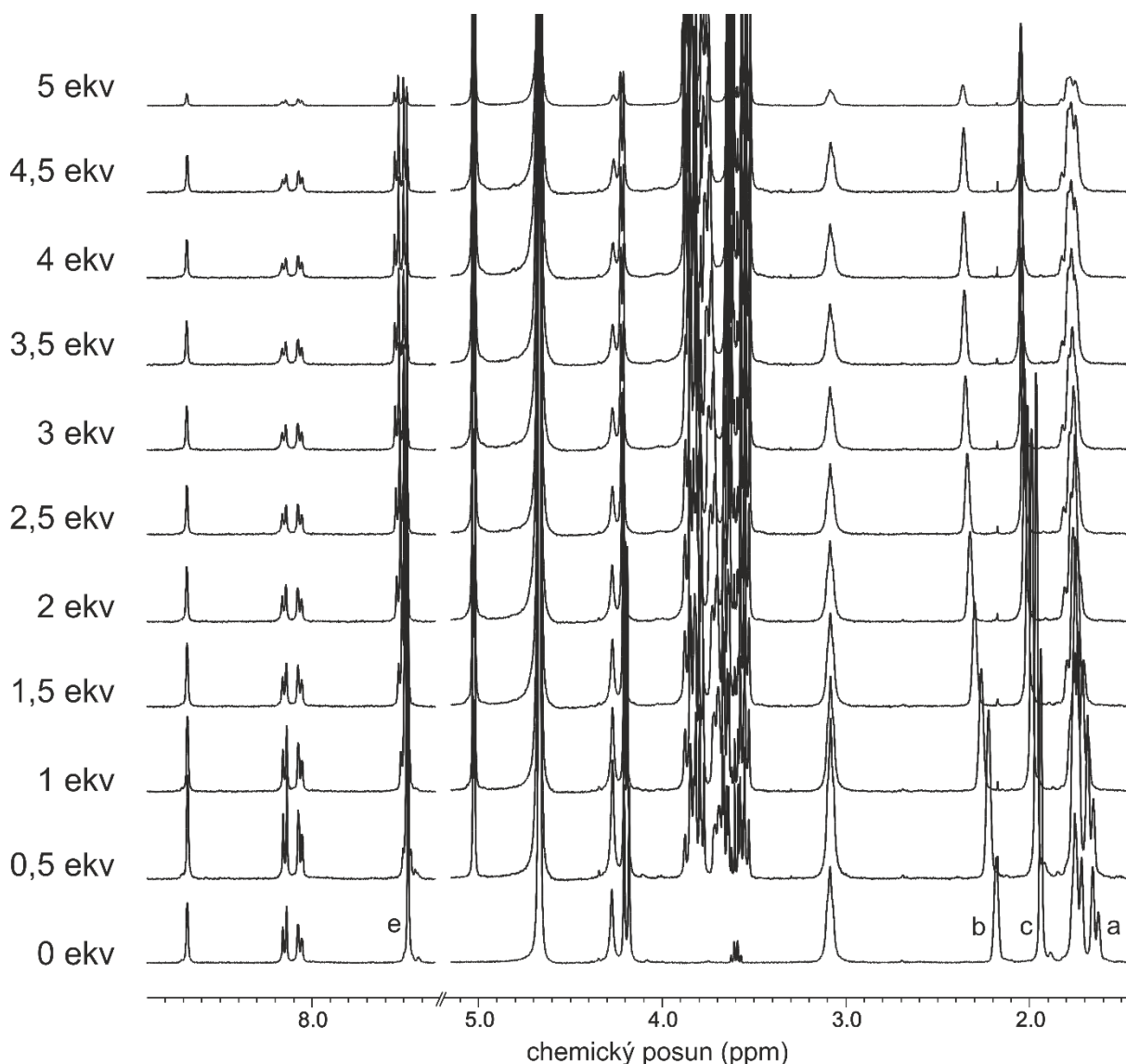
5. Interakce s makrocyclky

5.1 Dvousložkové systémy

Interakce ligandu **10** s β -CD

Se zvyšujícím se podílem β -CD (zhruba do 2,5 ekvivalentů makrocyclky, kde posun ustává) vůči ligandu **10** dochází k postupnému obsazování obou terminálních adamantanových jednotek, což se v ^1H NMR spektrech projevuje posunem jejich signálů (a, b, c) směrem k nižšímu poli (**Obrázek 48**). Z pohledu ^1H NMR signálů makrocyclky se jedná o rychlou výměnu, což znamená, že tyto signály představují zároveň jak volný (přebytkový) makrocyclus, tak makrocyclus navázaný na ose ligandu **10**. Byť při těchto titracích až do přebytku (5 ekv.) β -CD nebyval patrný signál prokazující interakce třetí jednotky β -CD s ligandem **10**, o čemž by svědčil druhý signál anomerního protonu z makrocyclky kolem 5,0 ppm, který by byl v režimu pomalé výměny, byla tato interakce (mezi β -CD a centrální bipyridinovou jednotkou ligandu **10**) u složitějších systémů prokázána (viz dále). Navázání β -CD na terminální adamantanové jednotky má mírný vliv také na sousední xylylenové jednotky, což se projevuje změnou tvaru jejich signálů (e). Snižující se intenzita signálů je způsobena postupným snižováním koncentrace studovaného roztoku systémemi jednotlivými přídávky.





Obrázek 48 ^1H NMR spektra titrace látky **10** roztokem β -CD.

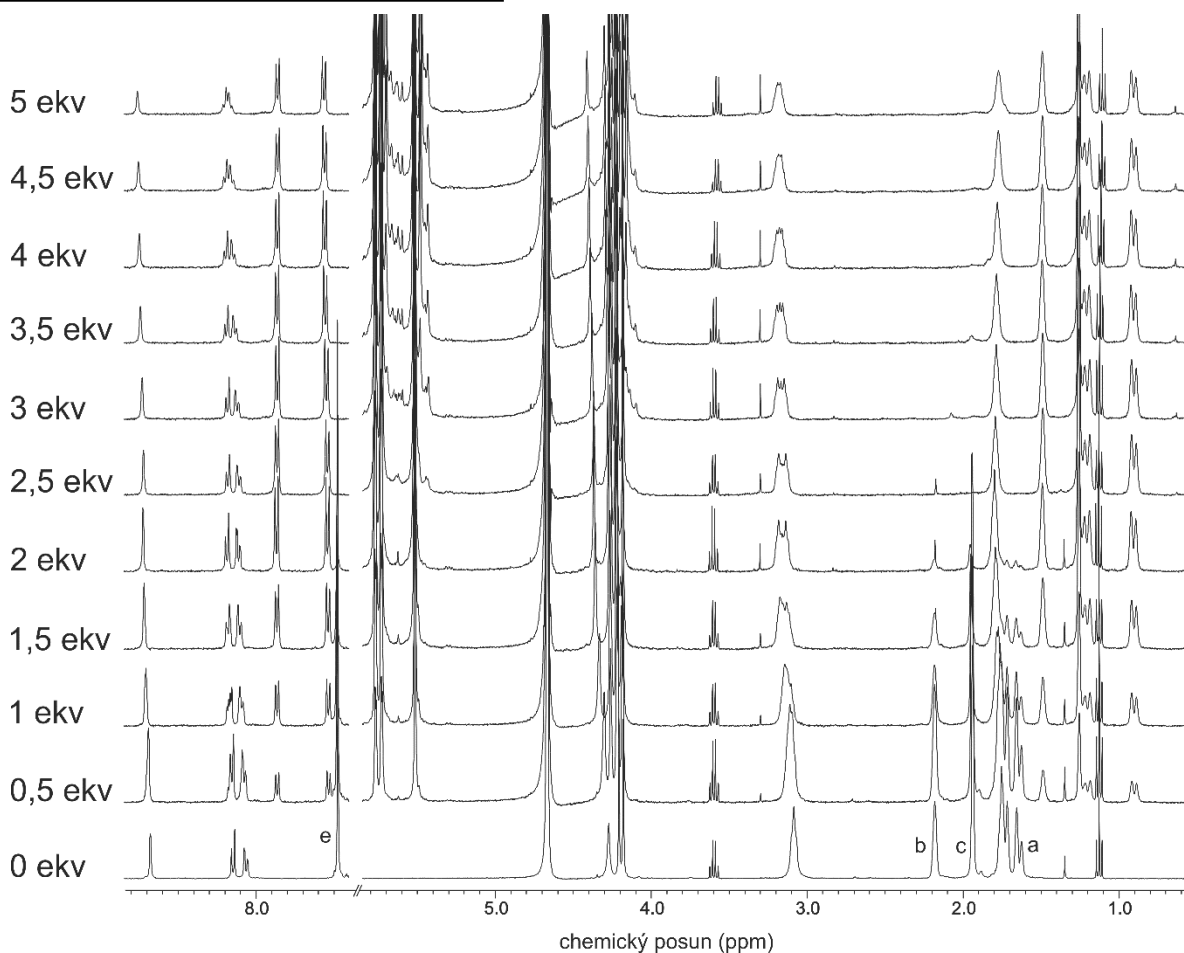
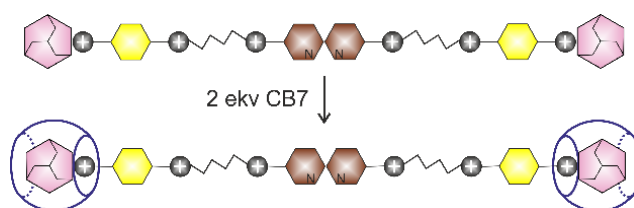
Interakce ligandu **10** s γ -CD

Při ^1H NMR titraci ligandu **10** γ -CD nebyly pozorovány žádné významné změny v chemických posunech ani tvarech signálů, což naznačuje absenci měřitelné interakce mezi makrocylem a ligandem za daných podmínek. Příčinou je pravděpodobně příliš objemná kavita γ -CD. Z tohoto důvodu byl tento makrocyclus vyřazen z dalších experimentů.

Interakce ligandu **10** s CB7

Titrace ligandu **10** cucurbit[7]urilem vede k postupnému obsazování obou adamantanových jednotek, což se v ^1H NMR projevuje posunem jejich signálů (a, b, c) směrem k vyššímu poli (zhruba do 2,5 ekv.). Navázání CB7 má zároveň vliv na sousední xylylenové jednotky. Jejich signál (e) se v důsledku blízkosti portálu CB7 posunuje směrem k nižšímu poli, mění tvar a multiplicitu (**Obrázek 49**). Další přidávky CB7 (od 2,5 ekv.) již nikterak nemění ^1H NMR spektra, a tak je velmi pravděpodobné, že stechiometrie systému **10**@CB7 je 1:2.

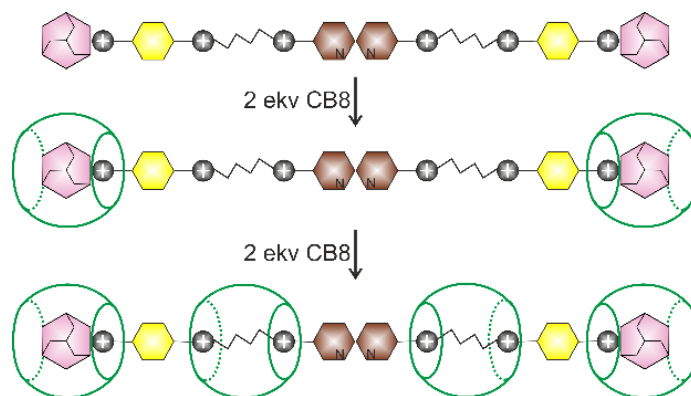
Přehled přiřazení jednotlivých signálů H-atomů příslušných ligandů je uveden na referenční kartě přiložené k disertační práci.

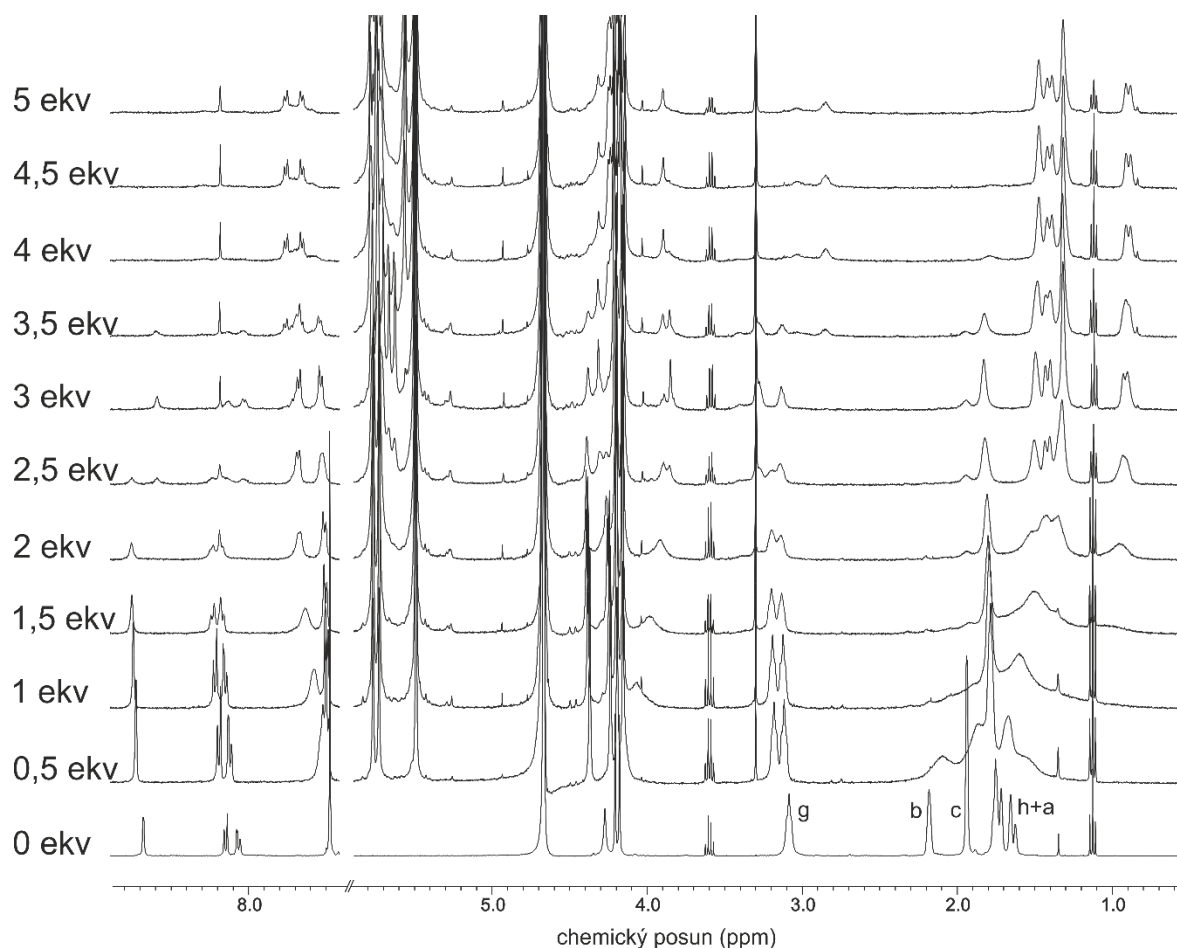


Obrázek 49 ^1H NMR spektra titrace látky **10** roztokem CB7.

Interakce ligandu **10** s CB8

Titrace ligandu **10** cucurbit[8]urilem (**Obrázek 50**) vede k postupnému obsazování obou adamantanových jednotek, což se v ^1H NMR projevuje posunem jejich signálů (a, b, c) směrem k vyššímu poli. Při ještě vyšších koncentracích CB8, tj. od 3 až 3,5 ekvivalentu CB8 dochází k reorganizaci systému a jednotky CB8 jsou z adamantanových vazebných míst „zatlačovány“ dále po ose ligandu **10** na alifatické C_4 řetězce. Toto se v ^1H NMR spektrech odráží v posunu jejich signálů (h, g) směrem k vyššímu poli. Adamantanové jednotky jsou okamžitě obsazeny dalším volným CB8 z roztoku. Přítomnost CB8 na alifatických spojkách ovlivňuje i všechny sousední aromatické jednotky na ose, u nichž jsou vlivem portálů CB8 patrné změny chemických posunů, tvaru i intenzity signálů. Ligand **10** je tedy schopen interakce až se čtyřmi jednotkami CB8.



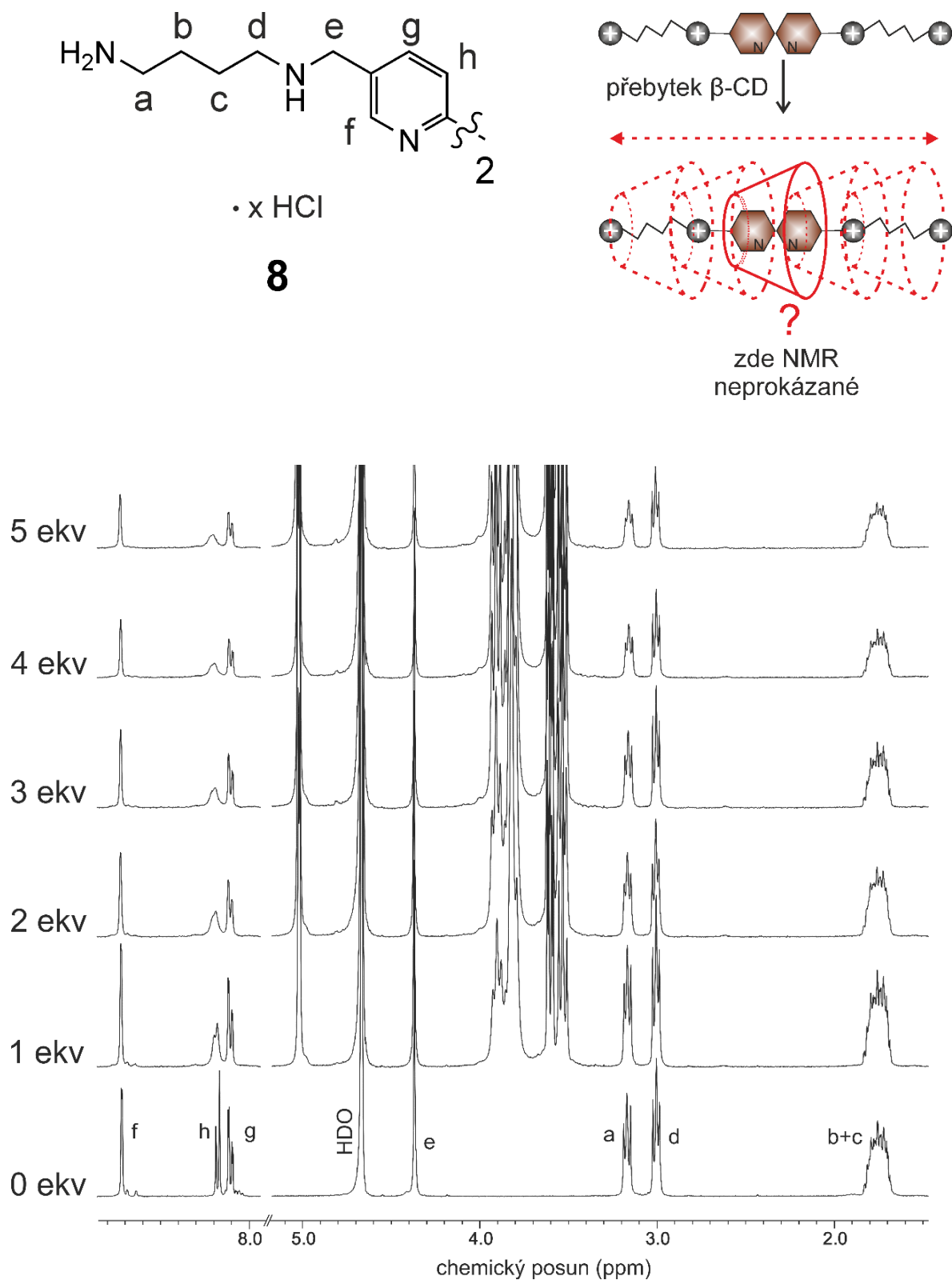


Obrázek 50 ^1H NMR spektra titrace látky **10** roztokem CB8.

Ve snaze prověřit vliv struktury ligandu a jednotlivých vazebných motivů v něm přítomných na tvorbu komplexů s makrocyclickými sloučeninami, byly ve stejném duchu provedeny také titrace látek **8** a **13**. I u těchto derivátů bylo provedeno přiřazení jednotlivých signálů v ^1H NMR spektrech konkrétním H-atomům.

Interakce ligandu **8** s β -CD

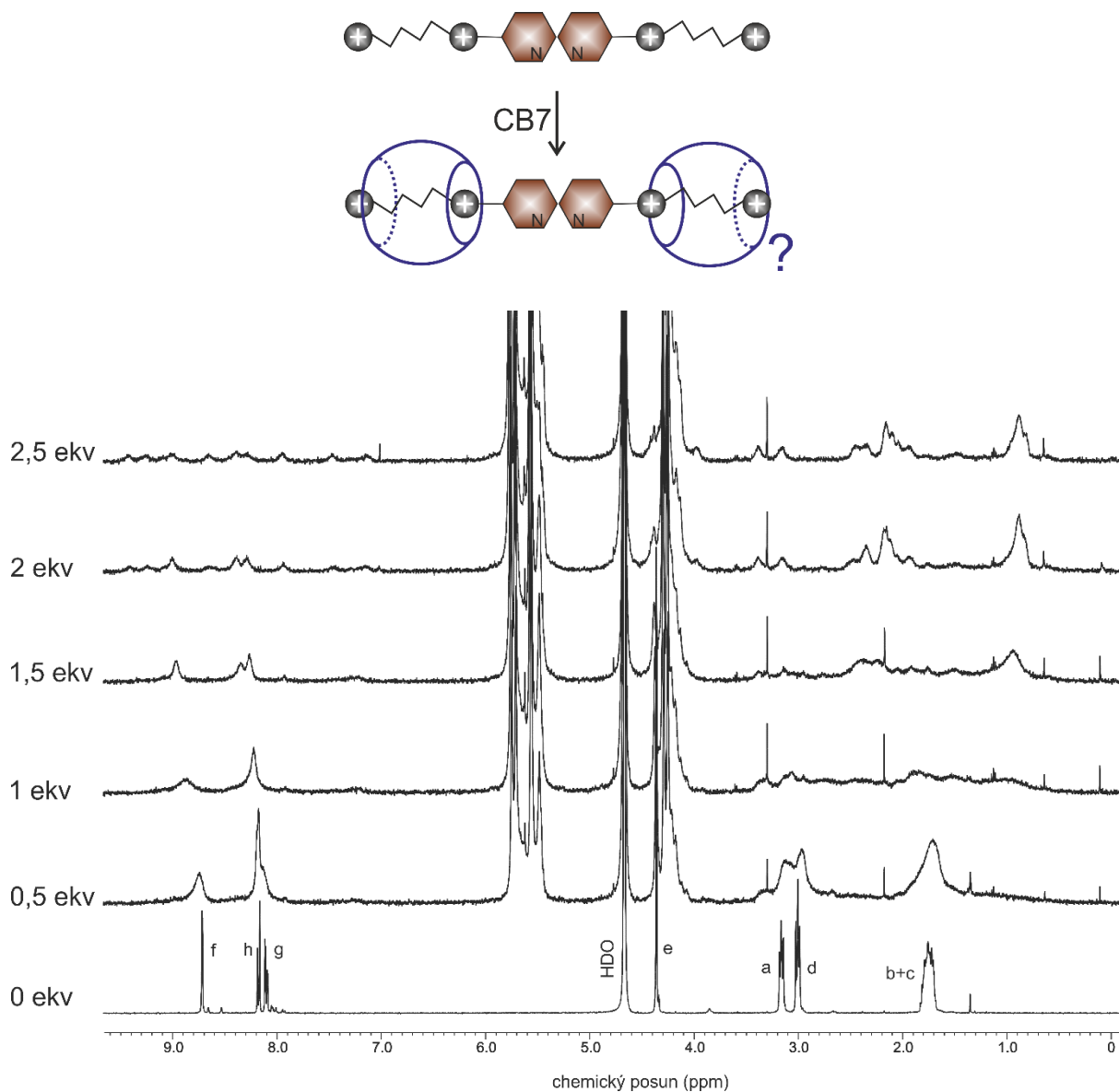
Při titraci hydrochloridu **8** nebyly pozorovány žádné výrazné změny, pouze mírné rozšíření signálu (h) z centrální bipyridinové jednotky (**Obrázek 51**).



Obrázek 51 ^1H NMR spektra titrace látky **8** roztokem β -CD.

Interakce ligandu **8** s CB7

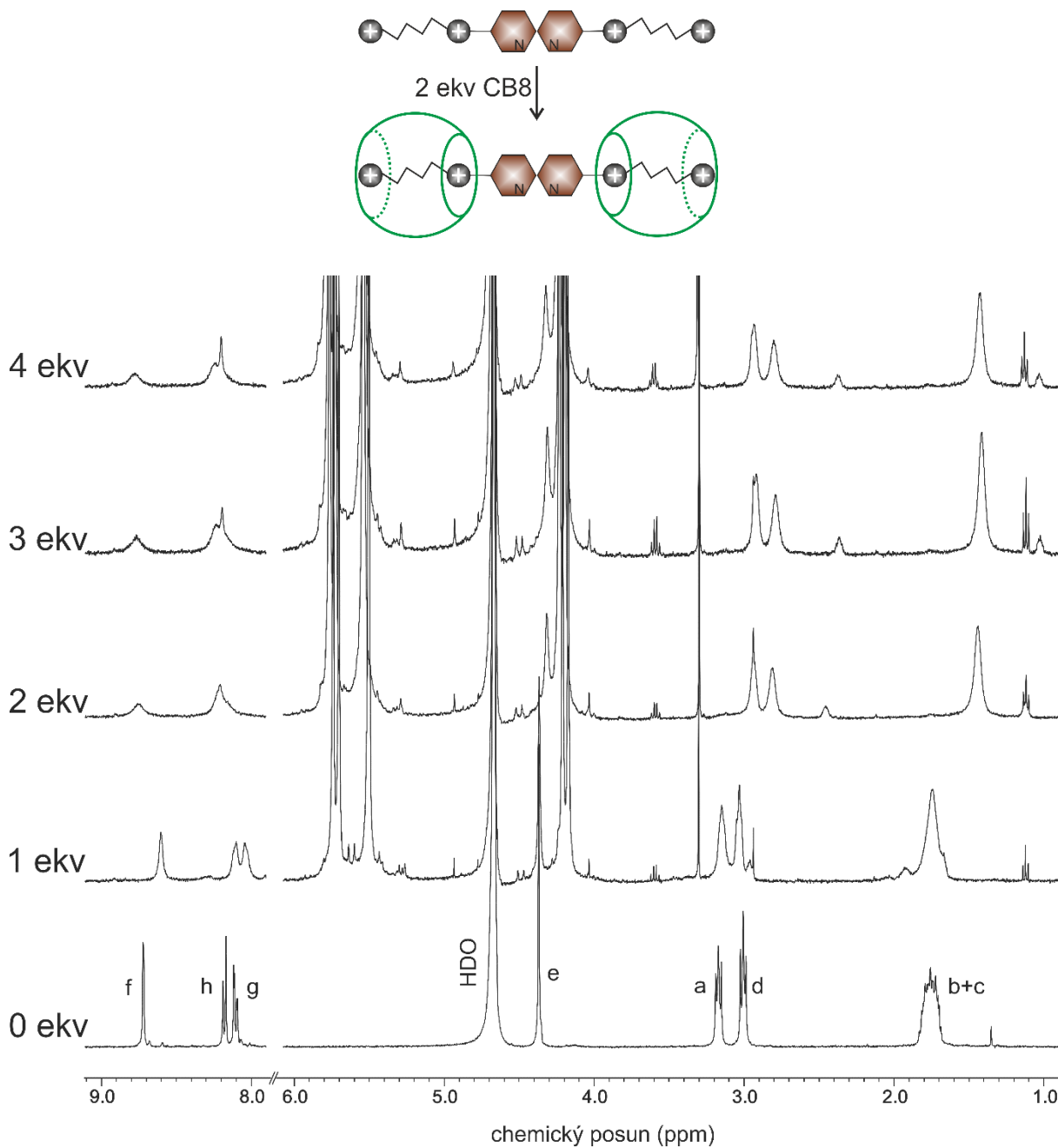
Dochází k navázání CB7 na butan-1,4-diaminový motiv ligandu **8**. Poměrně komplikovaná ^1H NMR spektra mohou naznačovat přítomnost více druhů komplexů – část molekul ligandu **8** váže jednu jednotku CB7 (posun signálů C_4 spojky a, b, c, d směrem k vyššímu poli) a část molekul ligandu **8** dvě jednotky CB7 (**Obrázek 52**). Titrace byla provedena do 2,5 ekvivalentu CB7.



Obrázek 52 ^1H NMR spektra titrace látky **8** roztokem CB7.

Interakce ligandu **8** s CB8

S postupně rostoucím množstvím CB8 dochází k navázání makrocyklu na obě alifatická ramena ligandu **8**, což se v ^1H NMR spektrech projevuje posunem jejich signálů (a, b, c, d) směrem k vyššímu poli (**Obrázek 53**).



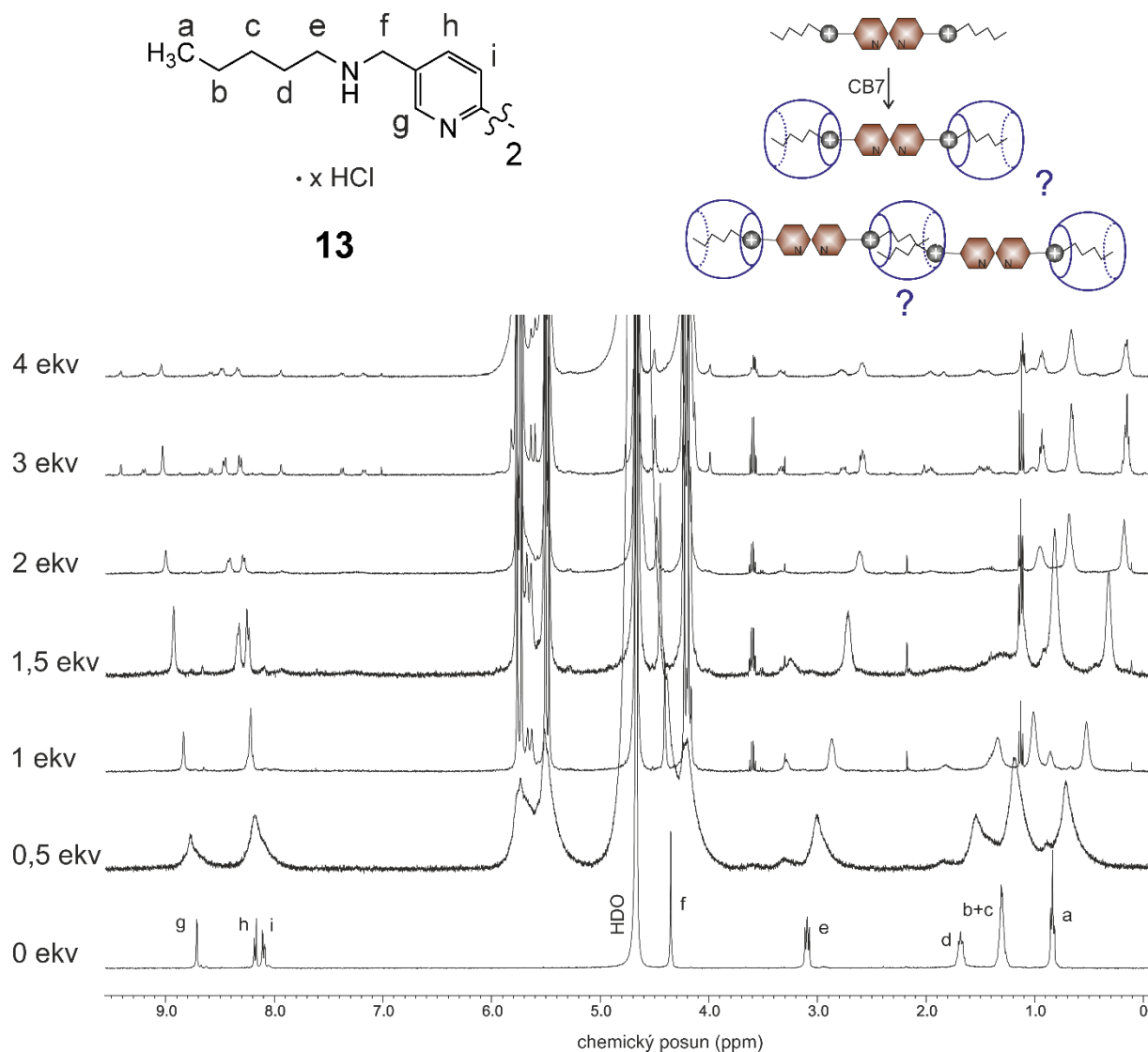
Obrázek 53 ^1H NMR spektra titrace látky **8** roztokem CB8.

Interakce ligandu **13** s β -CD

Při ^1H NMR titraci ligandu **13** β -CD nebyly pozorovány žádné změny v chemických posunech ani tvarech signálů, což naznačuje absenci měřitelné interakce mezi makrocylem a ligandem za daných podmínek.

Interakce ligandu **13** s CB7

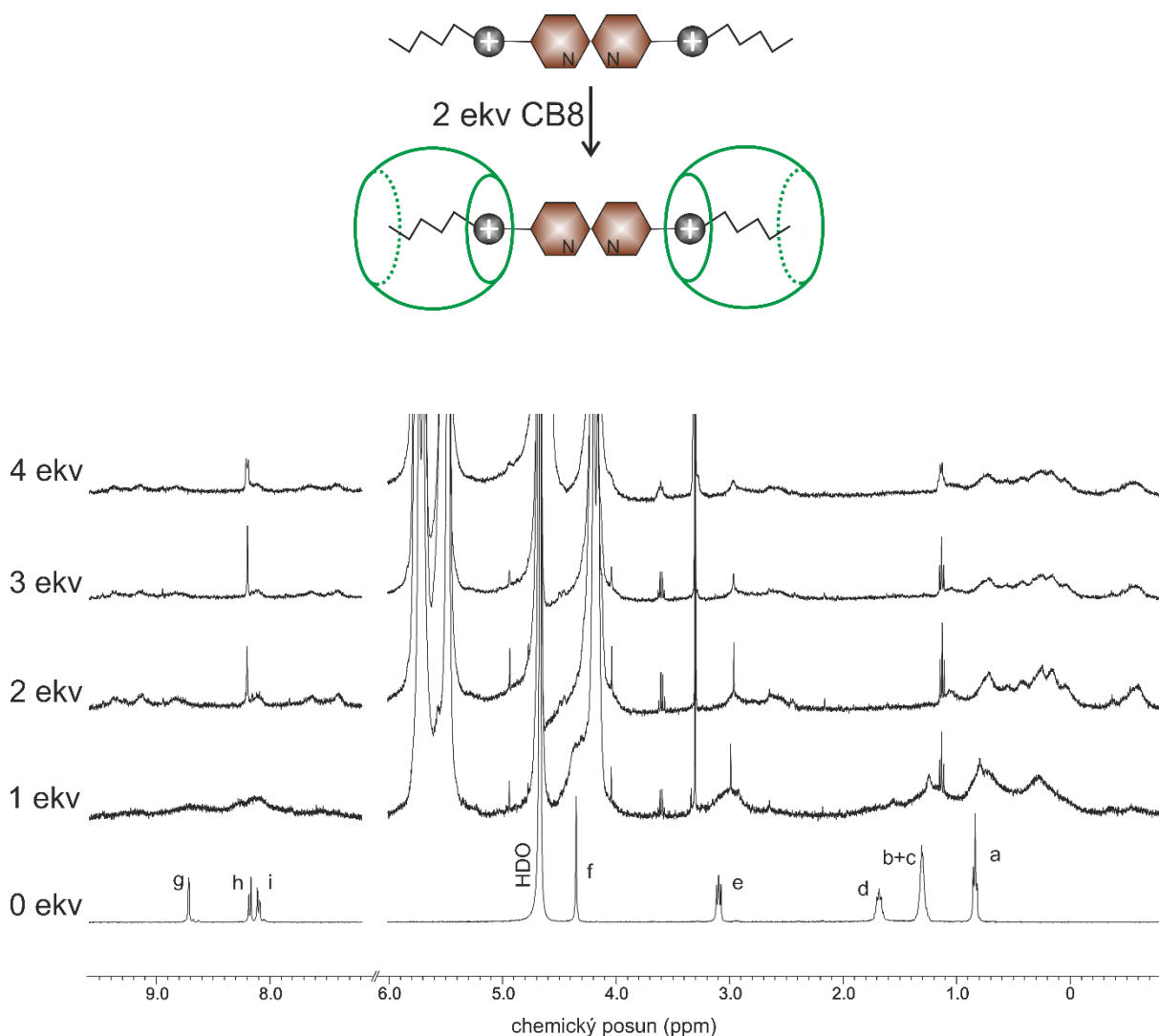
Dochází k navázání CB7 na pentylaminový motiv ligandu **13**. Dosti komplikovaná ^1H NMR spektra mohou naznačovat přítomnost více typů komplexů. Nicméně všem signálům (a, b, c, d, e) alifatických C_5 řetězců v průběhu titrace klesá v ^1H NMR spektrech chemický posun, což indikuje jejich komplexaci v kavitě CB7. Lze pozorovat také významné změny ve tvarech, a multiplicitách signálů aromatických protonů (g, h, i) (**Obrázek 54**).



Obrázek 54 ^1H NMR spektra titrace látky **13** roztokem CB7.

Interakce ligandu **13** s CB8

Podobně jako při titraci cucurbit[7]urilem, dochází i při titraci ligandu **10** cucurbit[8]urilem k obsazení obou pentylaminových řetězců makrocycly (pozorováno ve spektrech od 2–3 ekvivalentů CB8). Ne zcela přehledná ^1H NMR spektra tento trend potvrzují. Všechny signály C_5 řetězce vykazují posun směrem k vyššímu poli, dokonce až k záporným hodnotám chemického posunu. Dochází taktéž k poměrně významné změně tvarů všech signálů látky **13** ve spektru (**Obrázek 55**).



Obrázek 55 ^1H NMR spektra titrace látky **13** roztokem CB8.

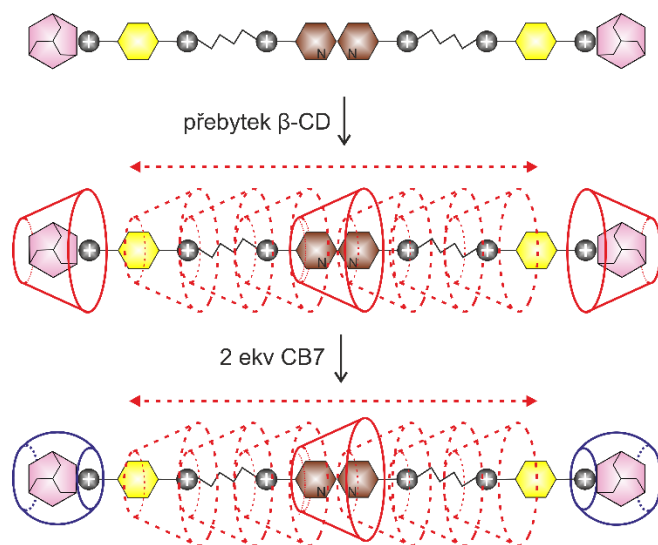
DVOUSLOŽKOVÉ SYSTÉMY – SHRnutí

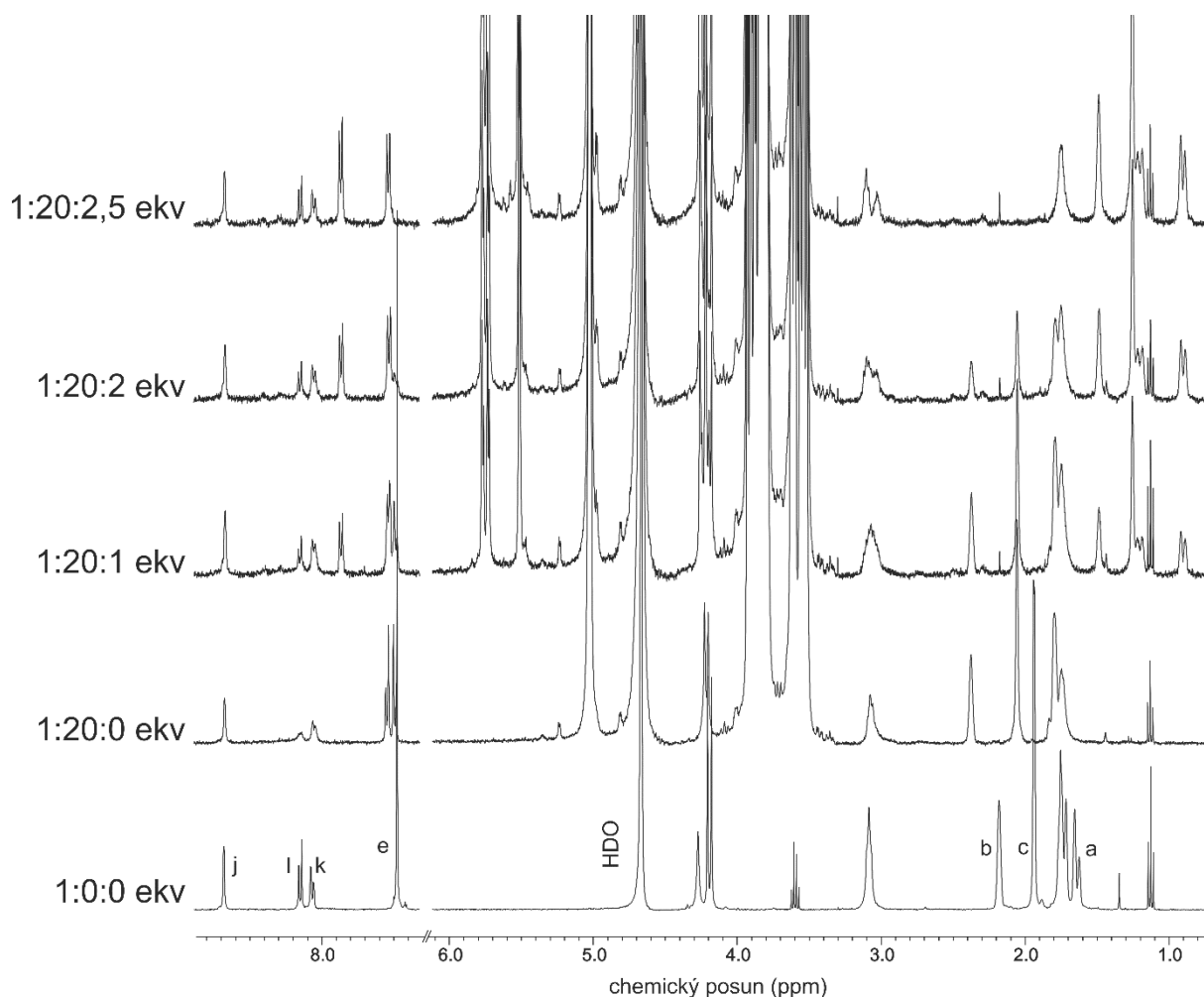
CB7 a CB8 představují afinitnější a univerzálnější hostitele schopné komplexovat různé části ligandů s rozdílnou afinitou a specifitou, zatímco β -CD vykazuje afinitu zejména k adamantanové části. Vzhledem k tomu, že nebyly pozorovány žádné změny v ^1H NMR spektrech v případě titrací ligandu **10** s γ -CD, jeví se daný makrocyklus pro strukturní motivy v těchto ligandech zřejmě nevhodným hostitelem. Výsledky experimentů s ligandy **8** a **13** podpořily předpoklad o existenci interakcí makrocyclických hostitelů s konkrétními vazebnými motivy přítomnými rovněž v ligandu **10**.

5.2 Systémy s více makrocikly

Interakce ligandu **10** s přebytkem β -CD a s CB7

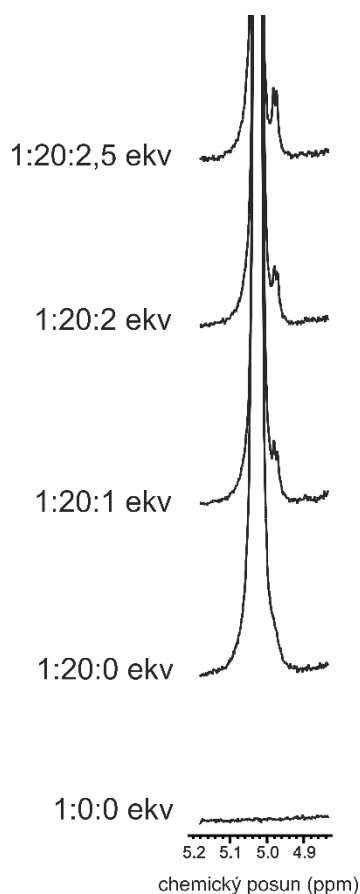
Ligand **10** byl smíchán s přebytkem β -CD (**Obrázek 56** reprezentuje stav s 20 ekv. β -CD), který obsazuje celkem dvě jeho vazebná místa, a sice terminální adamantanové jednotky (v ^1H NMR jsou patrné posuny signálů a, b, c směrem k nižšímu poli) a částečně interaguje i s centrální bipyridinovou jednotkou. Přídavky CB7 vedou k postupnému nahrazení obou jednotek β -CD na adamantanových motivech, a to díky až o osm řádů vyšší vazebné konstantě CB7 vůči Ad (ve srovnání s β -CD).⁶⁰ To se projevuje v ^1H NMR posunem signálů (a, b, c) naopak směrem k vyššímu poli. Tím dochází k „uzamčení“ prostřední jednotky β -CD na ose ligandu **10**, čímž vzniká (pseudo)rotaxanová struktura (**Obrázek 56**). Tento fenomén, tj. „uzamčení“ jednoho makrocyklu na ose ligandu jinými dvěma makrocykly, byl již dříve pozorován a publikován.^{158,159}





Obrázek 56 ^1H NMR spektra titrace směsi **10** a 20 ekv. β -CD roztokem CB7.

Přídavek CB7 do roztoku se však projevuje i v další rovině. Přestože v ^1H NMR spektrech nedochází ke změně chemických posunů signálů centrálního biarylu (j, k, l), jak by se dalo očekávat, objevuje se minoritní signál u „paty“ hlavního signálu anomerních protonů β -CD při cca 5,0 ppm (**Obrázek 57**). Tento minoritní signál ukazuje na existenci β -CD v odlišném režimu výměny oproti hlavní formě (majoritní signál), pravděpodobně v důsledku omezené disociace způsobené „uzamčením“ terminálních adamantanových jednotek ligandů v kavitách CB7.



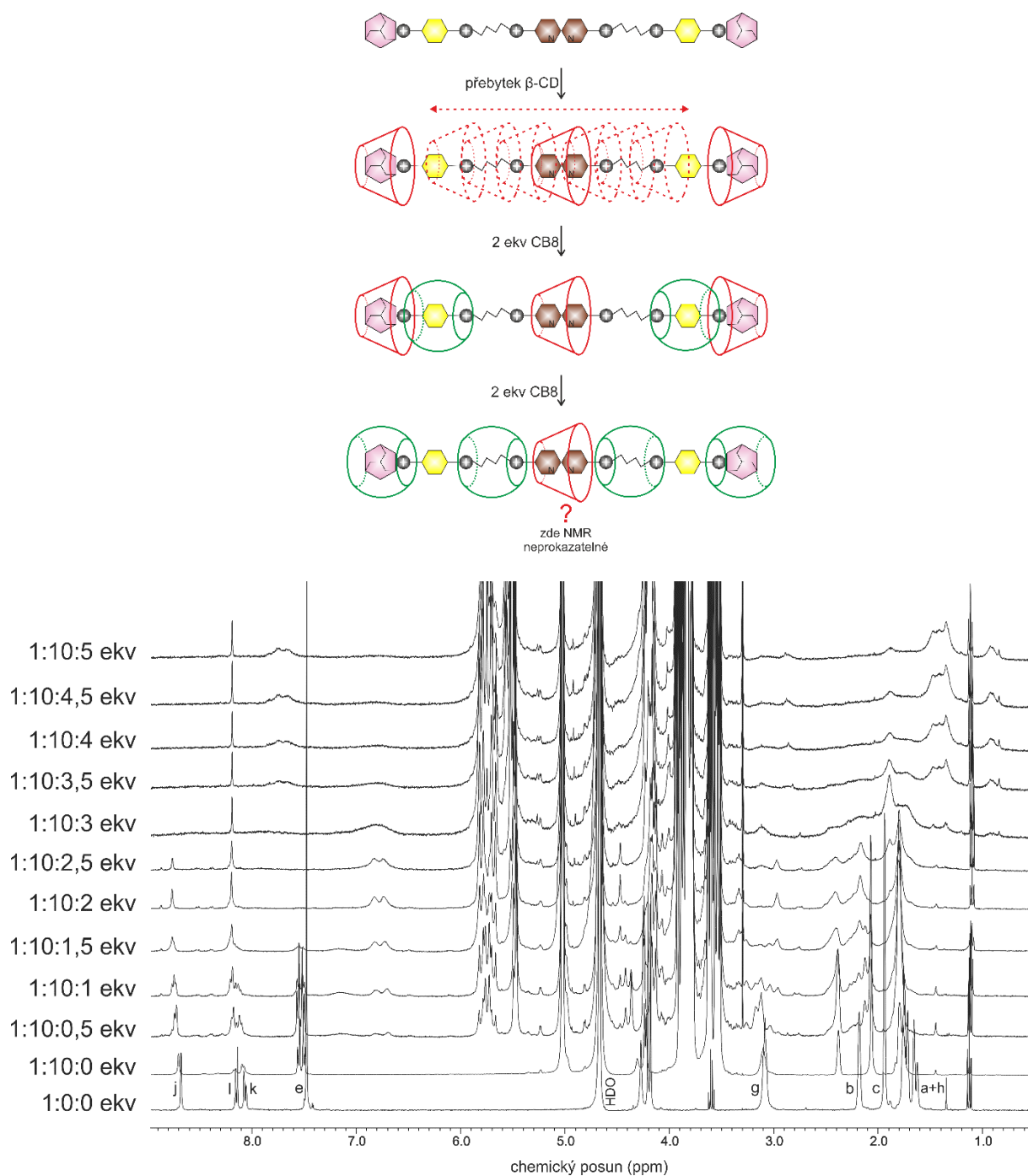
Obrázek 57 Výřez oblasti okolo 5 ppm z Obrázku 56.

Integrální intenzita tohoto minoritního signálu neodpovídala ekvivalentně integrálním intenzitám signálům ligandu **10**, což ukazuje, že i při přebytku β -CD (20 ekv.) nedošlo ke komplexaci všech molekul ligandu; komplexováno tímto makrocylem bylo přibližně 50 % ligandu **10**. Při analogickém experimentu s nižším přebytkem β -CD (10 ekv.) byl podíl komplexu se stechiometrií 3:1 zhruba 35 % ve vztahu k ligandu **10**. Tyto experimenty byly bohužel obtížně reprodukovatelné. Přímá úměra mezi množstvím do systému přidaného β -CD a podílem komplexované formy ligandu **10** by teoreticky mohla platit, avšak její praktické ověření je limitováno omezenou rozpustností β -CD (při zachování množství ostatních komponent, a zvláště pak objemu). Taktéž je třeba zdůraznit, že cílový supramolekulární systém by měl obsahovat β -CD ideálně pouze ve formě komplexované a uzamčené na ose ligandu **10** jednotkami CB7, nikoli jako volný β -CD v roztoku (více v kapitole 8).

Interakce ligandu **10** s přebytkem β -CD a s CB8

Přebytek β -CD (zde 10 ekv.) vede k obsazení obou terminálních adamantanových jednotek a zároveň k navázání určitého podílu makrocyclu na centrální bipyridinovou část ligandu **10** (viz výše). Přídavek CB8 v množství 2 ekvivalentů způsobí to, že se CB8 navleče na osu ligandu, tentokrát však zcela neočekávaně na xylylenové jednotky (**Obrázek 58**). V tomto stavu jsou tedy v ^1H NMR spektrech pozorovatelné signály adamantanových jednotek (a, b, c) posunuté směrem k nižšímu poli (v kavitě β -CD), zatímco signály xylylenu (e) se posouvají směrem k vyššímu poli, až pod hodnotu 7,0 ppm z důvodu jejich komplexace v kavitě CB8. Pro třetí jednotku β -CD „uzamčenou“ na ose ligandu **10** je v ^1H NMR spektrech opět patrný signál anomerních protonů okolo 5,0 ppm. Tento signál je nicméně patrný pouze do 2,5 ekv. CB8, kdy je touto třetí β -CD jednotkou komplexováno zhruba 20–50 % ligandu **10**.

Další přídavky CB8 (od 2 do 5 ekv.) vyvolávají další výraznější změny. Jednotky β -CD jsou z terminálních adamantanových jednotek postupně nahrazovány silnějším vazebným hostitelem CB8. Nicméně, vzhledem k repulzivním interakcím mezi dvěma sousedními CB8 dochází k přesunu vnitřního CB8 z xylylenových jednotek až na alifatické C_4 můstky. Tento přesun makrocyclů je v ^1H NMR spektrech doprovázen posunem signálů xylylenu (e) směrem k nižšímu poli a současně posunem signálů alifatických řetězců (h, g) směrem k vyššímu poli (tyto vazebné motivy se nachází uvnitř kavity CB8). Vlivem blízkosti portálů CB8 k centrální bipyridinové jednotce se její signály (j, k, l) v ^1H NMR spektrech rozšiřují a ztrácejí v šumu. Co se týče osudu vnitřního β -CD navázaného na bipyridinovou část v přítomnosti CB8, nelze na základě dostupných ^1H NMR dat spolehlivě potvrdit jeho přítomnost. Ta je ještě patrná, jak je uvedeno výše, těsně před přídavkem přebytku (více než 2,5 ekv.) CB8, který následně iniciuje rozsáhlou reorganizaci celého komplexního systému.



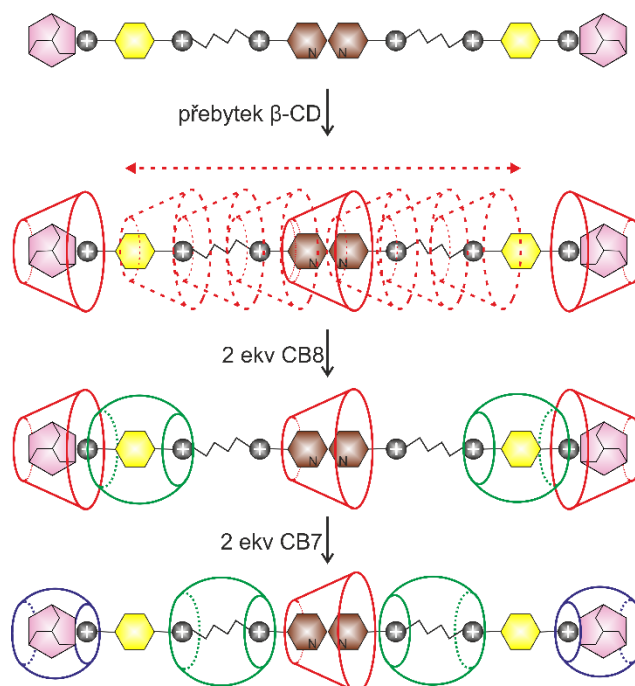
Obrázek 58 ^1H NMR spektra titrace směsi **10** a 10 ekv. β -CD roztokem CB8.

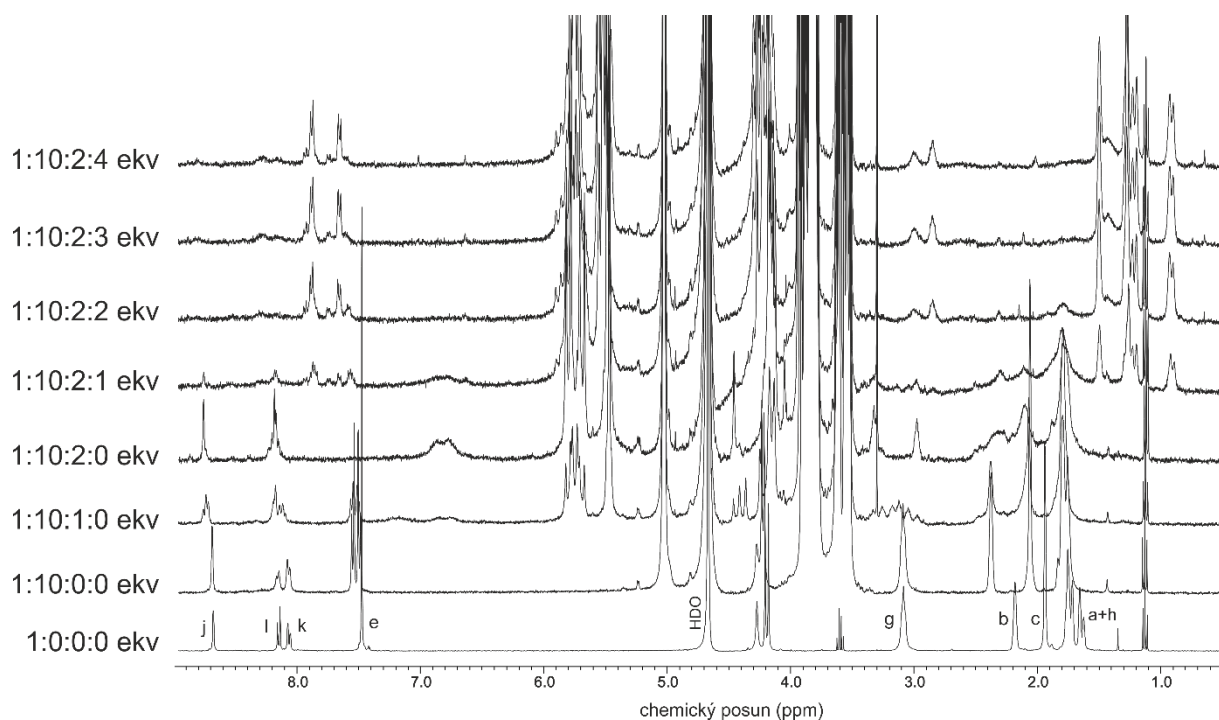
Interakce ligandu **10** s přebytkem β -CD, s 2 ekv. CB8 a s přebytkem CB7

Začátek experimentu byl shodný s předchozím případem: ligand **10** byl smíchán s přebytkem β -CD (10 ekv.) a dvěma ekvivalenty CB8. Následně byl do systému místo dalšího množství CB8 postupně přidáván CB7 (až 4 ekv.), což

vyvolalo obdobnou reorganizaci komplexu jako v případě přebytku CB8. Terminální adamantanové jednotky, původně vázané v kavitách β -CD, jsou postupně obsazovány jednotkami CB7, které tímto způsobem „zatlačují“ CB8 ze sousedních xylylenových jednotek až k alifatickým C_4 můstkům, blíže k centrální části ligandu **10**.

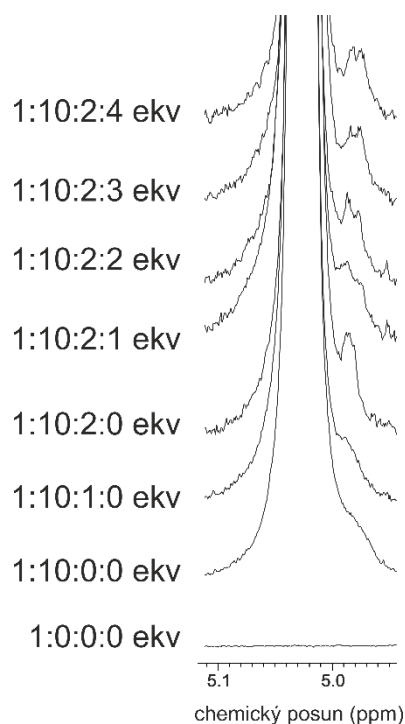
Tyto změny se v ^1H NMR spektrech projevují posunem signálů xylylenových protonů (e) směrem k nižšímu poli. Přestože v této fázi nejsou xylylenové jednotky přímo komplexovány žádným hostitelem, jejich chemické posuny se zvyšují vlivem blízkosti portálů CB_n z obou stran, a to dokonce více, než je jejich chemický posun ve výchozím stavu. Současně dochází k posunu signálů alifatických protonů „h“ a „g“ (C_4 můstky) směrem k vyššímu poli. Vlivem blízkosti portálů CB8 k centrální bipyridinové jednotce se signály „j, k, l“ výrazně rozšiřují a ztrácejí na intenzitě, až se stávají prakticky nerozlišitelné (**Obrázek 59**).





Obrázek 59 ^1H NMR spektra titrace směsi **10**, 10 ekv. β -CD, 2 ekv. CB8 roztokem CB7.

Zásadní rozdíl oproti předchozímu systému obsahujícímu přebytek CB8 spočívá v tom, že signál anomerních protonů β -CD, „uzamčeného“ na ose ligandu, zůstává v ^1H NMR spektru nadále dobře patrný (**Obrázek 60**). To naznačuje, že ve výsledném komplexu může být přítomno až pět makrocyclů tří různých typů (β -CD, CB7 a CB8).



Obrázek 60 Výřez oblasti okolo 5 ppm z Obrázku 59.

Interakce ligandu **10** s přebytkem β -CD, s 2 ekv. CB7 a s přebytkem CB8

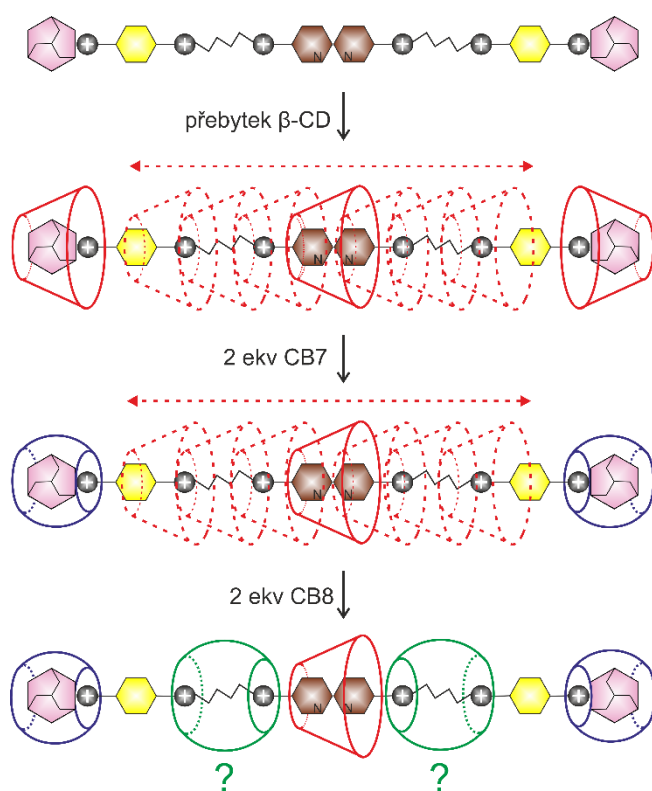
Ve výchozím stavu před provedením ^1H NMR titrace jsou na ose ligandu **10** přítomny celkem tři makrocikly. Systém byl připraven analogicky k předchozím experimentům, přičemž na ose ligandu **10** se nachází jednotka β -CD, „uzamčená“ dvěma jednotkami CB7 na terminálních adamantanových klecích. Postupné přidavky až čtyř ekvivalentů CB8 vedou k reorganizaci systému.

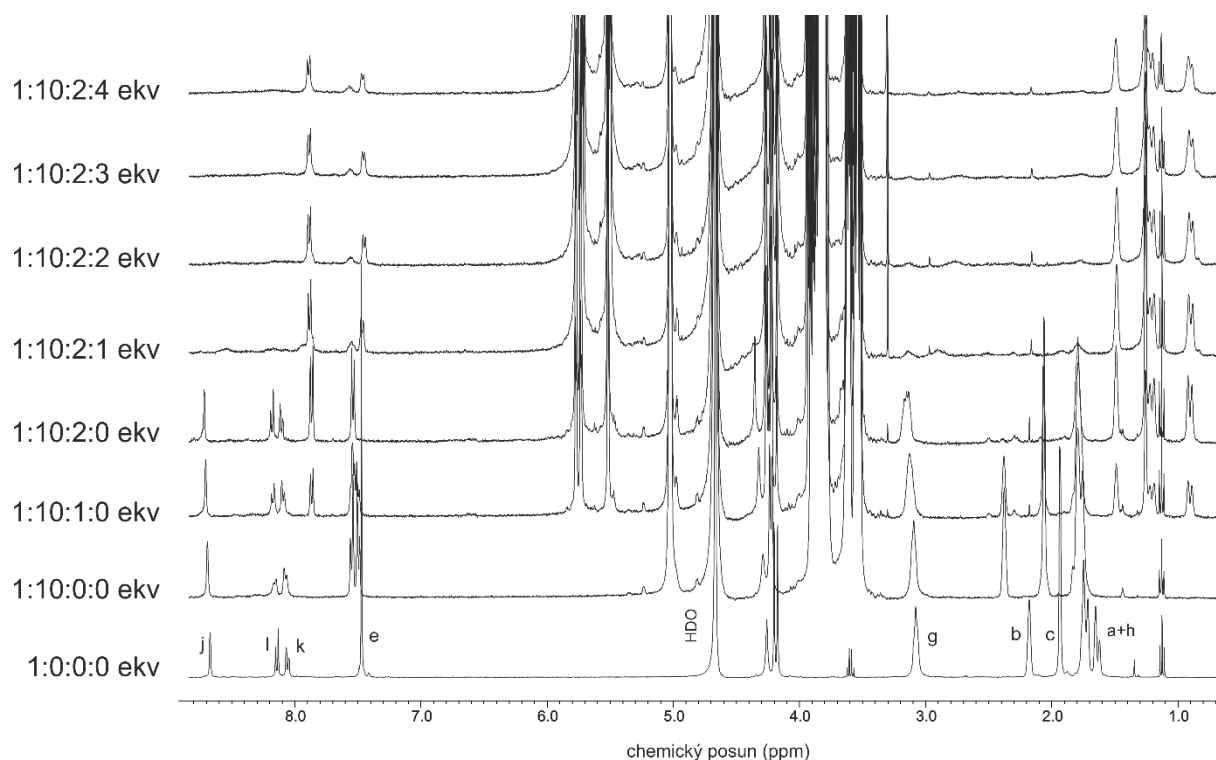
V ^1H NMR spektrech v průběhu titrace nejprve dochází k mírnému posunu signálů (h, g) směrem k vyššímu poli, následně k výraznému snížení jejich integrální intenzity (prakticky až k jejich vymizení). Toto pravděpodobně naznačuje komplexaci obou butan-1,4-diaminových můstků cucurbit[n]urilovými jednotkami. Nelze však s jistotou určit, zda tyto pozice obsazuje CB7 nebo CB8,¹ jelikož obecný vliv jejich kavit na chemické posuny protonů hosta je obdobný –

¹ Při porovnání hodnot vazebných konstant komplexů mezi použitými makrocykly a přítomnými vazebnými motivy se nabízí, že vznikne komplex s nejvyšší vazebnou konstantou, a to Ad@CB7. C₄ spojky by tak byly komplexovány CB8.

signály se typicky posouvají směrem k vyššímu poli. Ve srovnání s předchozím případem, kdy byl systém ligandu **10** + 10 ekv. β -CD + 2 ekv. CB8 titrován CB7, je tento experiment méně jednoznačný právě kvůli nejasnému osudu signálů C₄ spojky (h, g).

Signál anomerních protonů β -CD „uzamčeného“ na ose ligandu zůstává v průběhu ¹H NMR titrace nadále zřetelný, což naznačuje, že β -CD zůstává na ose ligandu **10** navázán a nedochází k jeho disociaci. Podobně jako v předchozích případech jsou signály centrálního biarylu (j, k, l) výrazně rozšířené a jejich intenzita významně klesá, až prakticky mizí v šumu (**Obrázek 61**).

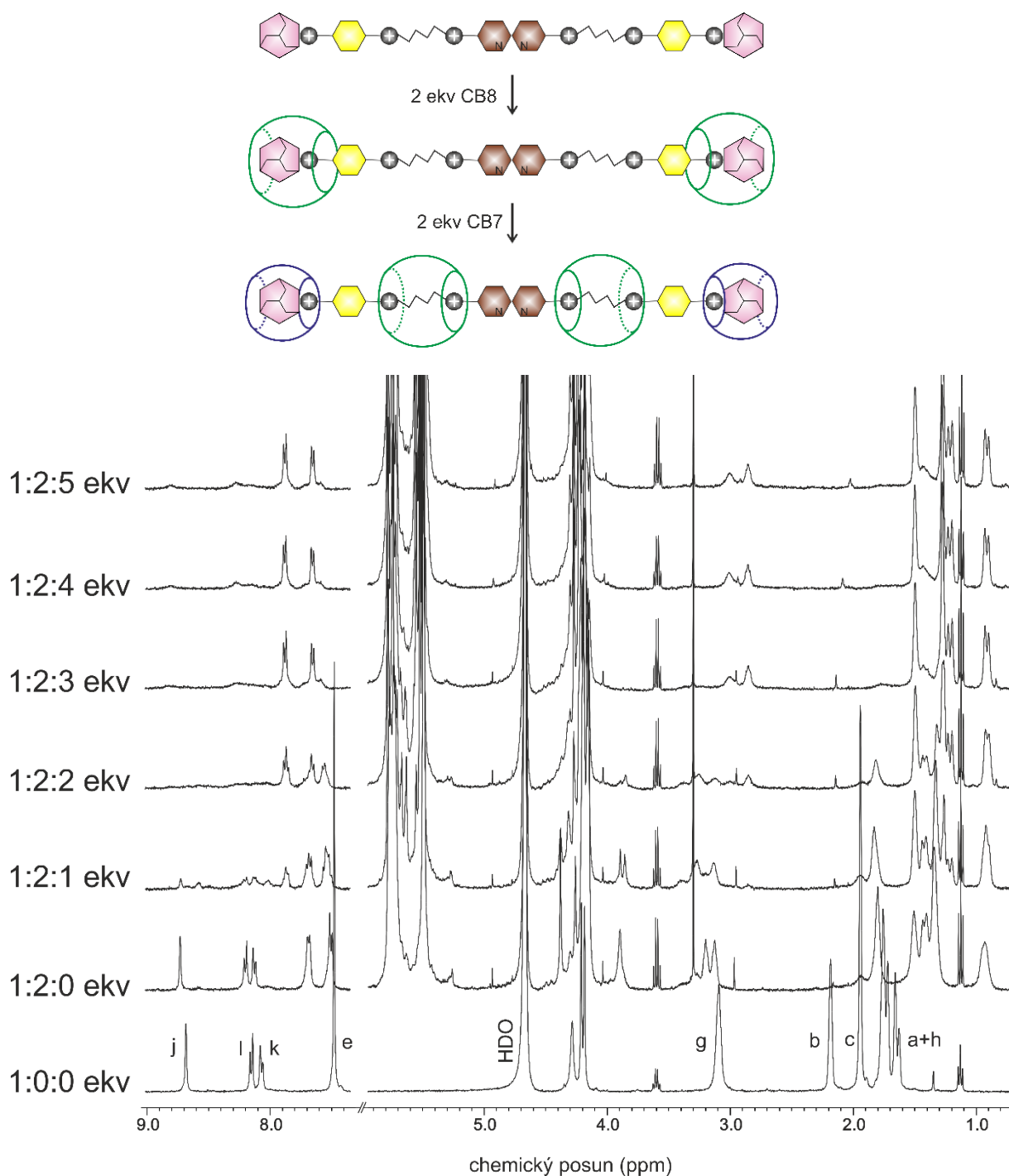




Obrázek 61 ^1H NMR spektra titrace směsi **10**, 10 ekv. β -CD, 2 ekv. CB7 roztokem CB8.

Interakce ligandu **10** s 2 ekv. CB8 a s přebytkem CB7

Ve výchozím stavu před titrací je ligand **10** komplexován dvěma jednotkami CB8, které obsazují oba terminální adamantanové motivy (v ^1H NMR spektru je patrný očekávaný posun signálů a, b, c směrem k vyššímu poli). Postupné přidávky CB7 vedou k reorganizaci systému. Dva přidané ekvivalenty CB7 postupně vytěsňují CB8 z těchto krajních pozic směrem ke středu osy ligandu **10**, pravděpodobně na alifatické C_4 řetězce. V průběhu titrace je tento děj doprovázen charakteristickým posunem ^1H NMR signálů alifatických protonů (h, g) směrem k vyššímu poli. Pravděpodobně vlivem blízkosti portálů CB8 se signály centrální bipyridinové jednotky (j, k, l) v ^1H NMR spektrech jeví jako rozšířené a málo intenzivní (**Obrázek 62**).

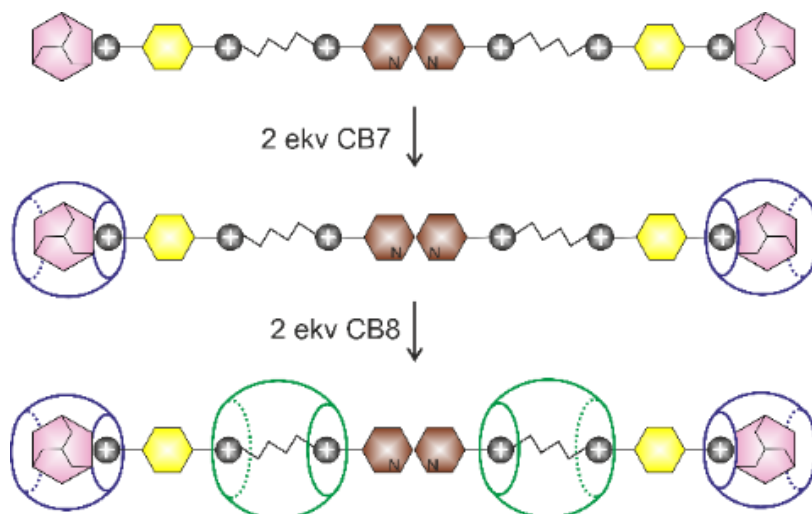


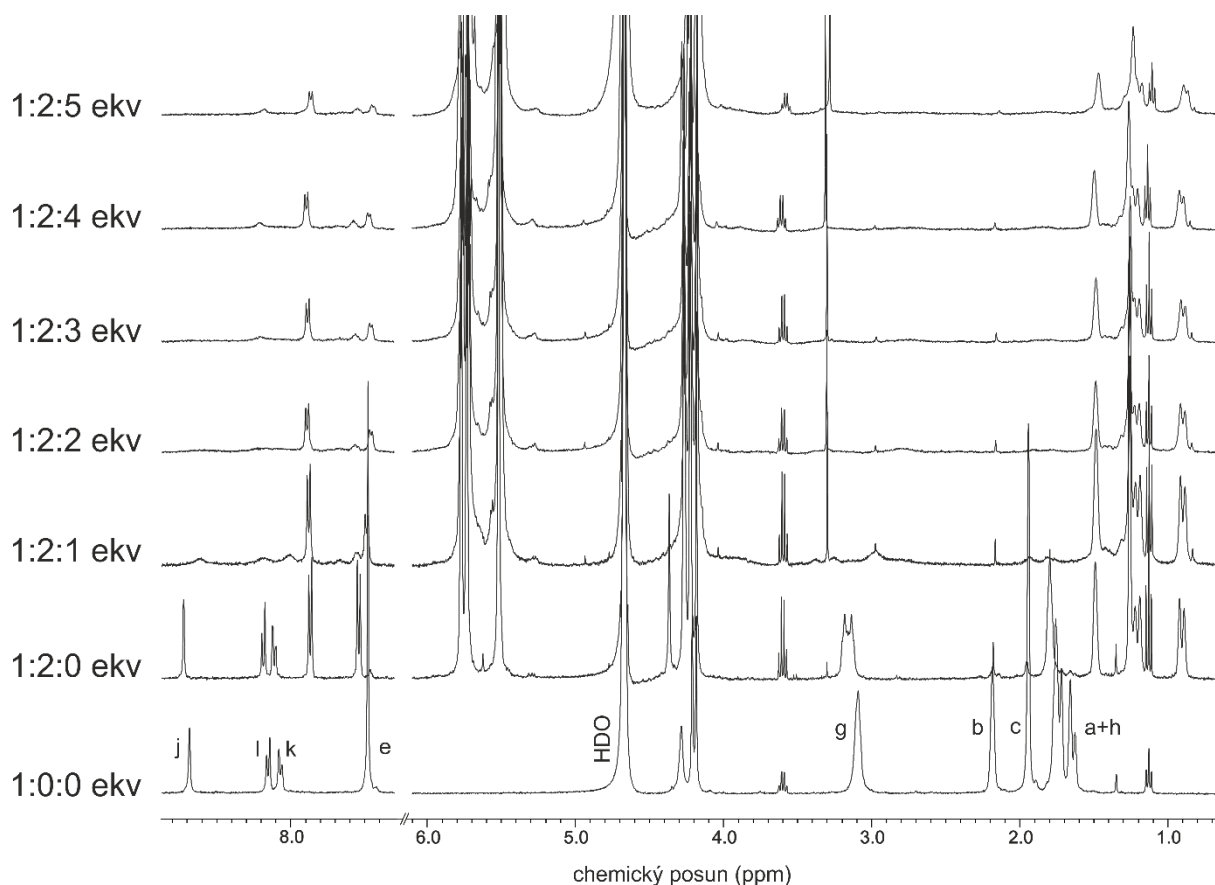
Obrázek 62 ^1H NMR spektra titrace směsi **10**, 2 ekv. CB8 roztokem CB7.

Interakce ligandu **10** s 2 ekv. CB7 a s přebytkem CB8

Ve výchozím stavu před samotnou ^1H NMR titrací je ligand **10** komplexován dvěma jednotkami CB7, které obsazují oba terminální adamantanové motivy (v ^1H NMR spektru je patrný očekávaný posun signálů a,

b, c směrem k vyššímu poli). Postupné přidavky CB8 vedou k reorganizaci systému. Jakkoliv není průběh reorganizace zcela zřejmý, dochází pravděpodobně k navlečení dvou jednotek CB8 na osu ligandu **10**. V ^1H NMR spektrech v průběhu titrace dochází postupně k mírnému posunu signálů C_4 spojky (h, g) směrem k vyššímu poli. Zároveň ale bohužel dochází i k výraznému rozšíření těchto signálů, až prakticky mizí v šumu. Toto pravděpodobně naznačuje komplexaci obou butan-1,4-diaminových můstků cucurbit[n]urilovými jednotkami. Opět však nelze jednoznačně určit, zda C_4 spojku obsazuje CB7 nebo CB8. Pravděpodobně vlivem blízkosti portálů CB_n k centrální bipyridinové jednotce a ke xylylenovým jednotkám se signály (j, k, l, e) v ^1H NMR spektrech jeví jako značně rozšířené a jejich intenzita výrazně klesá, až prakticky mizí v šumu (**Obrázek 63**).





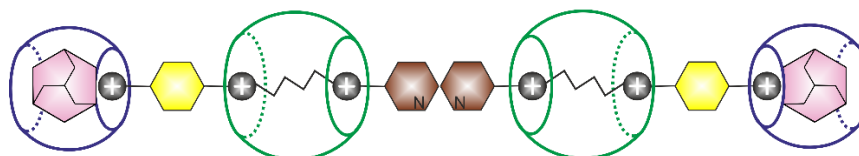
Obrázek 63 ^1H NMR spektra titrace směsi **10**, 2 ekv. CB7 roztokem CB8.

SYSTÉMY S VÍCE MAKROCYKLY – SHRUTÍ

Studium vícesložkových systémů potvrdilo, že ligand **10** je schopen interagovat najednou s více makrocycly různých typů, které se na jeho ose uspořádávají v závislosti na pořadí přidání, na jejich vazebných konstantách a na sterických možnostech. Ligand **10** s přebytkem β -CD a v přítomnosti CB7 tvoří heteroternární systém, kde dochází k „uzamčení“ jedné jednotky β -CD na ose ligandu **10** mezi dvě jednotky CB7, což vede ke vzniku (pseudo)rotaxanové struktury. Přidá-li se naopak ke směsi ligandu **10** s přebytkem β -CD vyšší homolog z rodiny CB n , a sice CB8, dochází k výrazně odlišnému chování: CB8 neočekávaně preferuje xylylenové vazebné místo, zatímco β -CD zůstává na terminálních adamantanových motivech. Následné přídavky CB8 nebo CB7 způsobují další reorganizace systému.

5.3 Reorganizace supramolekulárních systémů vlivem kompetitoru

Tato část předložené práce se zaměřuje na výše zmíněné možnosti řízení rozmístění makrocyclů na ose ligandu **10** vnějším podnětem, v tomto případě přidavkem kompetitoru. Cílem bylo ověřit, zda lze pomocí molekulárního signálu (hydrochloridu adamantan-1-ylmethylaminu)^m ovlivnit rovnováhu mezi jednotlivými supramolekulárními komplexy ligandu **10** s CB8 a CB7. Všechny zde popsané „*proof-of-concept*“ experimenty byly provedeny bez kovového iontu a bez substrátu pro sledování funkčnosti systému, aby bylo možné izolovaně sledovat čistě supramolekulární efekty. Taktéž byly tyto systémy pro zjednodušení a jeho předpokládaný zanedbatelný vliv oproštěny od β -CD. Takto zvolená sestava umožňuje zjednodušený pohled na vzájemnou soutěž o vazebná místa – tj. jak se CB7 a CB8 přeskupují po ose ligandu **10** v závislosti na přítomnosti kompetitoru. Tyto reorganizace byly sledovány pomocí ¹H NMR. Do NMR kyvet byl k roztoku ligandu **10** nejprve přidán roztok CB8 (2,2 ekv.), následován přidavkem CB7 (2,2 ekv.) a takto vzniklá směs (**Obrázek 64**) byla považována za výchozí uspořádání systému při experimentech s kompetitorem. Detailněji je příprava této směsi (včetně NMR spekter) popsána výše (**Obrázek 62**).

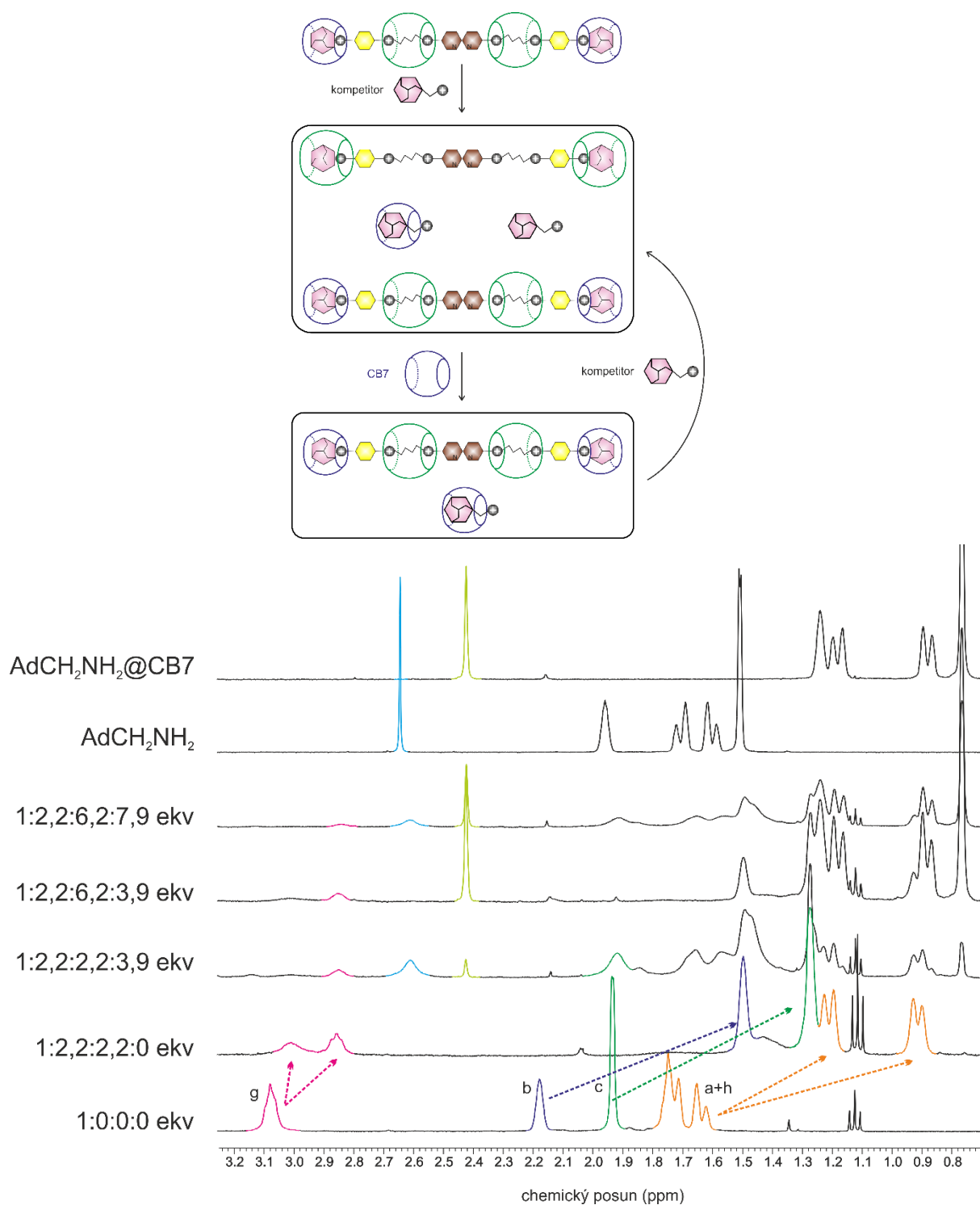


Obrázek 64 Ligand **10** komplexovaný jednotkami CB8 (na alifatických C₄ vazebných místech) a jednotkami CB7 (na adamantanových vazebných místech).

V prvním experimentu byl do kyvety obsahující výchozí systém (**Obrázek 64**) přidán kompetitor AdCH₂NH₂ (3,9 ekv.). ¹H NMR spektrum zaznamenané přibližně po 15 minutách od přidavku kompetitoru ukázalo, že zhruba 20 % kompetitoru bylo komplexováno CB7, zatímco přibližně 80 %

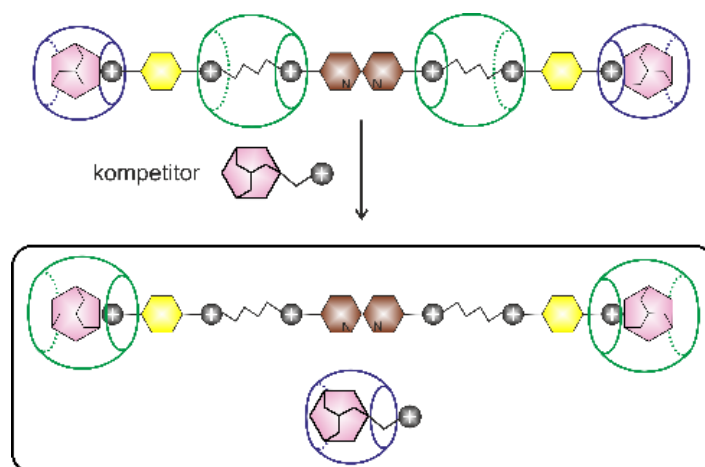
^m Vazebná konstanta pro komplex AdCH₂NH₂@CB7 činí řádově 10¹⁵ M⁻¹ a představuje jednu z vůbec nejvyšších publikovaných konstant.

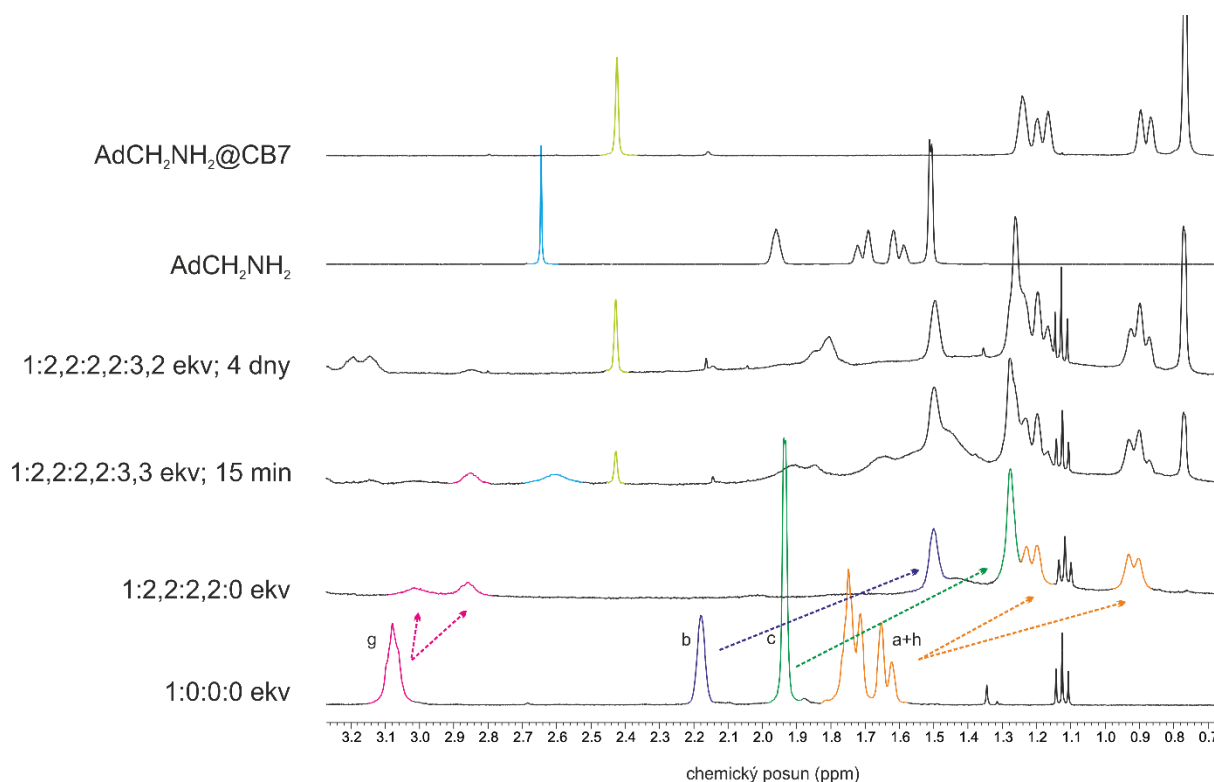
kompetitoru zůstalo volně v roztoku. Nicméně v experimentu bylo dále pokračováno a ve zhruba 30minutovém okně byl do systému přidán další podíl CB7 (4 ekv.), což vedlo ihned (zhruba po 15 min) k úplné komplexaci jak kompetitoru, tak adamantanových vazebných míst (a, b, c) ligandu **10** (do toho momentu obsazených CBn) – signály odpovídající jakýmkoliv volným adamantanovým motivům z ^1H NMR spektra prakticky zmizely. Krátce poté byl do kyvety přidán znovu kompetitor (4 ekv.) a po zhruba 15 minutách bylo zaznamenáno další ^1H NMR spektrum. V tomto stavu vytvořil kompetitor opět pouze zčásti komplex s CB7, zatímco část kompetitoru zůstala volně v roztoku (nekomplexovaná). Celkově tak experiment prokázal, že předpokládaná reorganizace probíhá, ale nikoliv okamžitě, a že rovnovážný stav nebyl během tohoto krátkého (vyšší desítky minut) experimentu dosažen (**Obrázek 65**).



Obrázek 65 Výřez z alifatické oblasti ^1H NMR spekter směsi **10**, CB8, CB7 a kompetitoru sledující vývoj reorganizace systému řádu desítek minut vlivem přidavku jednotlivých komponent. Pořadí hodnot ekvivalentů u jednotlivých spekter odpovídá pořadí **10**:CB8:CB7:AdCH₂NH₂.

Na základě těchto zjištění byl proveden návazný experiment, kdy byl do výchozího roztoku komplexu ligandu **10**, CB8 a CB7 jednorázově přidán kompetitor AdCH_2NH_2 (3,3 ekv.). První ^1H NMR spektrum bylo zaznamenáno přibližně 15 minut po přidavku kompetitoru a bylo patrné, že zhruba 30 % kompetitoru se nachází ve formě komplexu. Na rozdíl od předchozího experimentu byla kyveta ponechána stát po dobu 4 dní při teplotě laboratoře a až poté podrobena ^1H NMR analýze. V dané směsi nebyl pozorován žádný signál volného kompetitoru, což svědčí o úplné komplexaci AdCH_2NH_2 jednotkami CB7. Zároveň jsou adamantanové protony (a, b, c) ligandu **10** stále komplexovány, s velkou pravděpodobností jednotkami CB8, který se přesunul z C_4 můstků zpět na terminální pozice po vyvázání CB7 kompetitorem. Signály protonů C_4 spojek (g, h) v tomto konečném stavu nejsou komplexovány žádným makrocylem a naopak vykazují mírný posun směrem k nižšímu poli, což může naznačovat jejich umístění v blízkosti portálů cucurbiturilových jednotek (**Obrázek 66**).





Obrázek 66 Výřez z alifatické oblasti ^1H NMR spekter směsi **10**, CB8, CB7 a kompetitoru sledující vývoj reorganizace systému v řádu dní. Pořadí hodnot ekvivalentů u jednotlivých spekter odpovídá pořadí **10**:CB8:CB7:AdCH₂NH₂.

REORGANIZACE SUPRAMOLEKULÁRNÍCH SYSTÉMŮ VLIVEM KOMPETITORU – SHRUTÍ

Provedené experimenty prokázaly, že kompetitor dokáže narušit rovnováhu v komplexu ligandu **10** s CB7 a CB8. V krátkodobém měřítku (minuty) dochází k částečné komplexaci kompetitoru jednotkami CB7 původně obsazujícími adamantanová vazebná místa ligandu **10**, zatímco úplná reorganizace systému probíhá postupně během několika hodin až dnů. ^1H NMR spektra jednoznačně ukazují, že po dostatečně dlouhé době dochází k úplnému vyvázání CB7 z ligandu **10** na kompetitor, zatímco CB8 se stabilizuje na terminálních adamantanových vazebných místech ligandu **10**. Získané výsledky tak potvrzují, že rozmístění makrocyclů po ose ligandu lze cíleně řídit vnějším molekulárním podnětem, což představuje důležitý krok směrem k realizaci funkčně přepínatelných supramolekulárních systémů.

6. Interakce s kationty kovů

Jeden ze základních pilířů této práce představují rovněž koordinačně-chemické schopnosti centrálního motivu liganduⁿ **10** (potažmo ligandu **8**) reprezentovaného 5,5'-disubstituovaným-2,2'-bipyridinem. Motiv 2,2'-bipyridinu je heteroaromatický ligand^o schopný tvořit stabilní chelátové komplexy s mnoha přechodnými kovy díky dvěma dusíkovým donorovým atomům, které umožňují vznik pětičlenného chelátového kruhu.

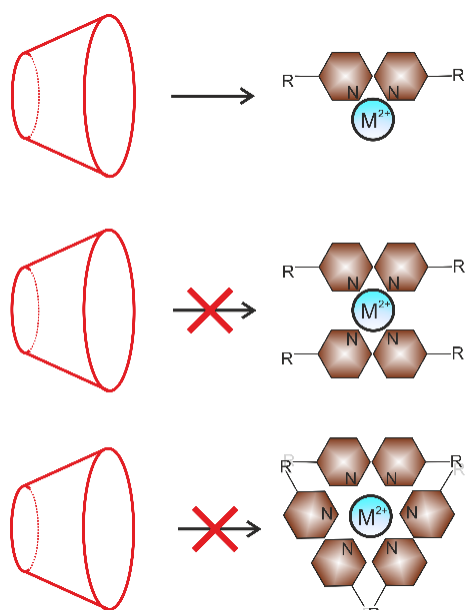
Jako kationty kovů byly pro tuto práci vybrány Cu^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} a Zn^{2+} . Tento výběr vychází z Irvingovy–Williamsovy řady, která popisuje obecný trend stability komplexů dvojmocných kationtů přechodných 3d kovů a je obecně formulována jako: $\text{Mn}^{2+} < \text{Fe}^{2+} < \text{Co}^{2+} < \text{Ni}^{2+} < \text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$.¹⁶⁰

Výběr těchto čtyř kovů tak odpovídá teoreticky nejvhodnějším kandidátům z hlediska stability komplexů. Do zkoumaných systémů byly v rámci této práce přidávány kovy k syntetizovaným látkám s 2,2'-bipyridinovým motivem ve struktuře ve formě svých chloridů. UV-Vis měření byla prováděna ve vodě při koncentraci organického substrátu 50 μM , NMR experimenty pak v D_2O při koncentraci organického substrátu 1 mM. Pro NMR experimenty bylo před použitím tyto chloridové soli kovů (dodávané komerčně jako hydráty) vždy nutno dehydratovat vhodnou metodou (reflux s SOCl_2 či žíhání). Vzhledem k tomu, že hlavní studované deriváty obsahující 2,2'-bipyridinový motiv byly používány ve formě hydrochloridů, bylo praktické volit i kovové soli ve formě chloridů. Tento přístup zajišťuje vzájemnou kompatibilitu systémů a zároveň umožňuje zachovat srovnatelné experimentální podmínky napříč všemi měřeními.

Žádaný komplex kov–bipyridinový motiv ligandu **10** je kvůli supramolekulárnímu přesahu práce zamýšlen jako stericky co nejméně náročný, spíše lineární. Tedy tak, aby komplex pohodlně prošel do kavity makrocyclu. Z tohoto důvodu byl zvolen ekvimolární poměr směsi bipyridinový motiv:ion

ⁿ Z pohledu supramolekulární chemie nazýváme ligandem molekulu, která je vázána (komplexována) makrocyklem, přičemž makrocyclus je v tomto kontextu hostitel a ligand host.

^o Naproti tomu ligand v koordinační chemii poskytuje volný elektronový pár pro koordinaci kovového centra (je donor, host) a kov je akceptor (hostitel).



Obrázek 67 Očekávané interakce bipyridinové jednotky ligandu **10** s β -CD.

kovu, aby bylo předejito navázání dvou nebo tří bipyridinových ligandů na jeden kov za vzniku objemných tetraedrických či oktaedrických komplexů, jejichž rozměry by překročily prostorovou kapacitu kavity β -CD a nebylo by možné je efektivně hostit.

Jinými slovy, při experimentálním návrhu systému bylo zároveň nezbytné zohlednit, že každý bipyridinový motiv by měl koordinovat právě jeden kovový ion. Tento přístup by měl zamezit tvorbě rozsáhlejších komplexních struktur typu $M(\text{bipy})_2$ či $M(\text{bipy})_3$, jejichž vznik by vedl k prostorově náročným agregátům s omezenou schopností vstoupit do kavity makrocyclu (**Obrázek 67**). Teoreticky by k zajištění tohoto stavu mohl být použit mírný

přebytek kovu, aby každá bipyridinová jednotka ligandu **10** měla zaručeně své kovové centrum. Takový přístup s přebytkem $M\text{Cl}_2$ by však později při sledování funkčnosti systému vedl k přítomnosti volných kovových iontů v roztoku, které by mohly samy působit jako nezávislá katalytická centra. Vzhledem k tomu, že cílem této práce je studium katalytických vlastností komplexu, v němž je aktivním místem výhradně kov koordinovaný k bipyridinovému motivu, nebylo žádoucí, aby v roztoku zůstávaly volné ionty kovu schopné ovlivnit rychlost či mechanismus sledovaných reakcí.

Z hlediska koordinační chemie navíc platí, že přechodné kovy typu Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} a Zn^{2+} obvykle vykazují koordinační čísla vyšší než dva. To znamená, že bipyridin poskytuje právě dva donorové atomy dusíku, zatímco zbývající koordinační pozice jsou zaplňovány dalšími ligandy z prostředí, zde pravděpodobně molekulami vody nebo chloridovými anionty. Přítomnost těchto slabě koordinujících ligandů je přirozeným důsledkem použitého rozpouštědla a solí. V závislosti na kovovém centru tak lze očekávat vznik čtvercových, tetraedrických, či oktaedrických komplexů, kde je ke kovu koordinován jeden stericky náročný organický skelet (derivát 2,2'-bipyridinu) a dále několik stericky málo náročných jednoduchých ligandů typu voda a chloridový anion.

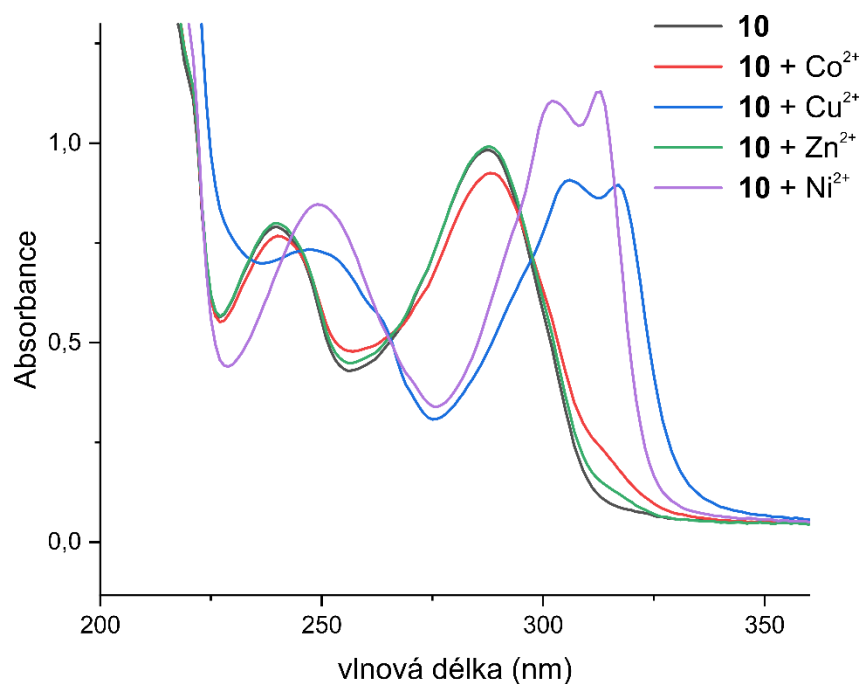
Interakce látky **10** s ionty vybraných kovů

K charakterizaci komplexačních schopností ligandu **10** byly použity dvě spektroskopické metody: UV-Vis spektroskopie (umožňující sledovat tvar a posun pásů absorpčních maxim a změny intenzit při tvorbě komplexu) a ^1H NMR spektroskopie (poskytující detailní informace o vlivu kovových iontů na chemické okolí signálů protonů ligandu **10**).

Studium interakcí pomocí UV-Vis

Absorpční spektra samotného ligandu **10** a jeho směsí s chloridy Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} a Ni^{2+} byla zaznamenána ve vodném prostředí. K ligandu **10** bylo pro každé měření přidáno šest ekvivalentů příslušného kovového kationtu. Tento poměr byl zvolen záměrně, neboť cílem těchto měření nebylo napodobit skutečné reakční podmínky budoucího katalytického systému, ale umožnit plnou saturaci koordinačních míst a maximalizovat pozorovaný spektrální efekt. Přebytek kovu zajišťuje, že každý bipyridinový motiv je efektivně komplexován, a umožňuje tak spolehlivě detekovat posuny a změny v UV-Vis spektrech odpovídající tvorbě komplexu. Stejně interakce byly též sledovány pomocí NMR titrací (viz dále), které pokrývaly mj. i molární poměr 1:1. UV-Vis měření tak sloužilo výhradně k potvrzení schopnosti vzniku komplexů bipyridin–kov a k charakterizaci jejich základních spektroskopických vlastností, zatímco strukturní a kvantitativní informace byly získávány z NMR titrací, které jsou diskutovány v další části práce.

Zaznamenaná spektra ukázala, že látka **10** vykazuje typicky dvě hlavní absorpční pásma – méně intenzivní $\pi\text{--}\pi^*$ přechod pod 250 nm a intenzivní pásmo kolem 280–300 nm. Při přidavku Cu^{2+} nebo Ni^{2+} dochází k bathochromnímu posunu obou těchto pásů doprovázenému změnou tvaru (štěpení) a změnou intenzity, což naznačuje rigidizaci π -systému a tvorbu stabilního komplexu s kovovým kationtem. Naproti tomu, směsi s Co^{2+} a Zn^{2+} nevykazují oproti spektru samotného ligandu žádné významné změny, což by mohlo naznačovat spíše nižší afinitu těchto kovů k bipyridinovému motivu za daných experimentálních podmínek (**Obrázek 68**).



Obrázek 68 UV-Vis spektra látky **10** a jejích směsí s kovovými ionty.

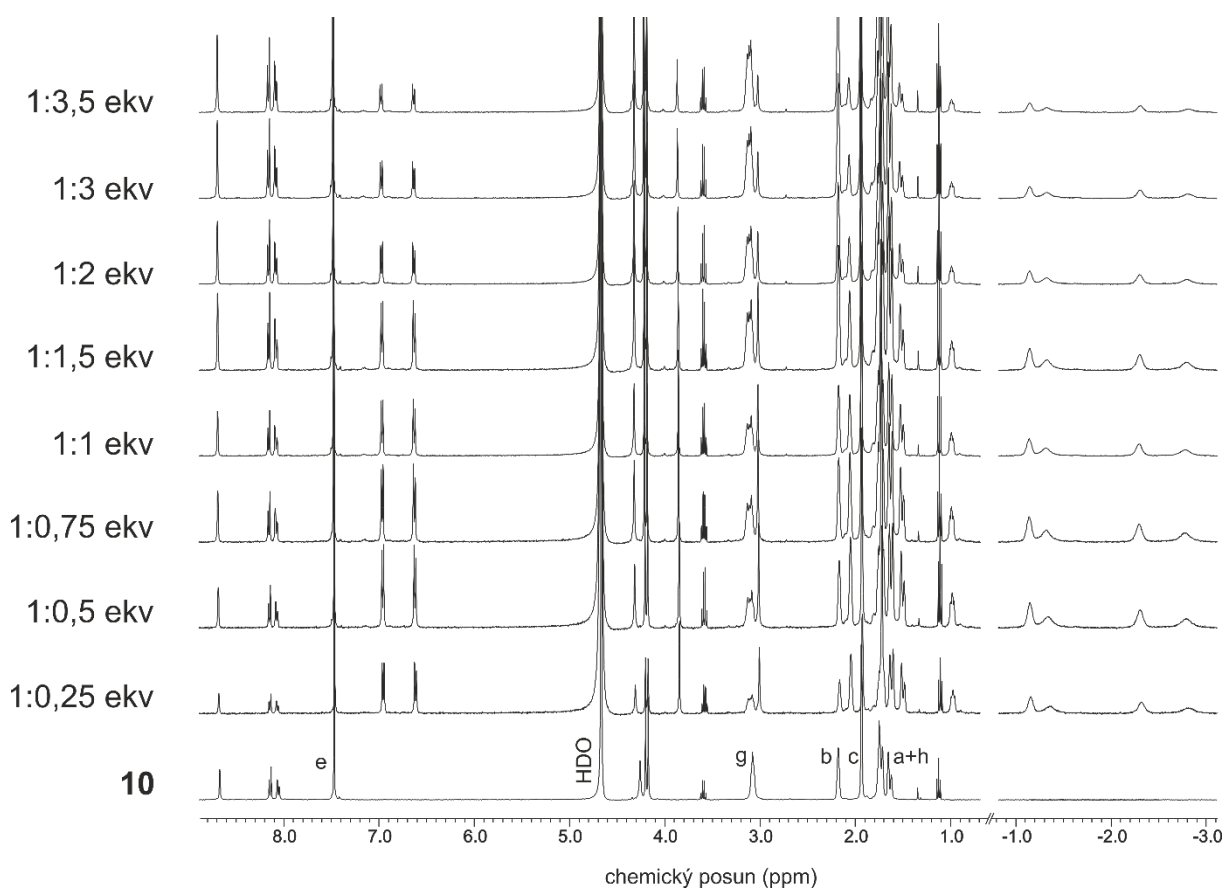
Studium interakcí pomocí ^1H NMR

Do NMR kyvety byl na začátku daného experimentu připraven definovaný objem roztoku kovové soli o známé koncentraci. Postupně byl do kyvety přidáván roztok ligandu s přesně stanovenou koncentrací (1 mM) a kontrolovaným objemem každého přídavku. Tento postup umožňuje pokrýt široké spektrum stechiometrických poměrů kov:ligand, počínaje nízkými ekvivalenty ligandu (například 0,25 ekvivalentu ligandu), přes ekvivalenci 1:1, až po stav, kdy je ligand v nadbytku. Díky tomu lze teoreticky sledovat vznik a vývoj komplexů s různými stechiometriemi v průběhu titrace. Pro usnadnění identifikace signálů ligandu bylo pod následující série titračních spekter vloženo referenční spektrum čistého ligandu **10**, měřené samostatně, protože při takto provedené titraci nelze přímo získat spektrum samotného volného ligandu **10**.

Interakce látky **10** s CoCl_2

Již po prvním přídavku ligandu **10** k roztoku CoCl_2 jsou v ^1H NMR spektru patrné okamžité změny, což naznačuje tvorbu komplexu. Přesto v systému stále zůstává významné množství volného ligandu **10**. Jedná se tak s velkou

pravděpodobností o směs komplexovaného a nekomplexovaného ligandu **10**. Neočekávané je zachování ostrého tvaru signálů a celkové „čistoty“ spektra, přestože Co^{2+} je paramagnetický kation (d^7), u kterého se očekává výrazné rozšíření signálů. V ^1H NMR spektrech se objevují nové signály v ne zcela typických oblastech, a to kolem 17 ppm (rozšířené signály, které pro velký nepoměr intenzit vůči ostatním signálům nejsou vyobrazeny) a od -1 do -3 ppm. Zcela nové sady signálů poskytuje xylylen (e) a taktéž všechny alifatické protony (a, b, c, g, h) (**Obrázek 69**). Pro srovnání ^1H NMR chování byla provedena analogická titrace CoCl_2 se strukturně podobnou látkou ligandu **10**, ve které byl bipyridinový motiv nahrazen bifenylovou jednotkou. V tomto případě nebyly pozorovány žádné změny spektra, což naznačuje, že přítomnost bipyridinové jednotky je nezbytná pro koordinaci Co^{2+} , zatímco samotná azaalifatická ramena se na komplexaci Co^{2+} podle experimentálně získaných výsledků nepodílejí.

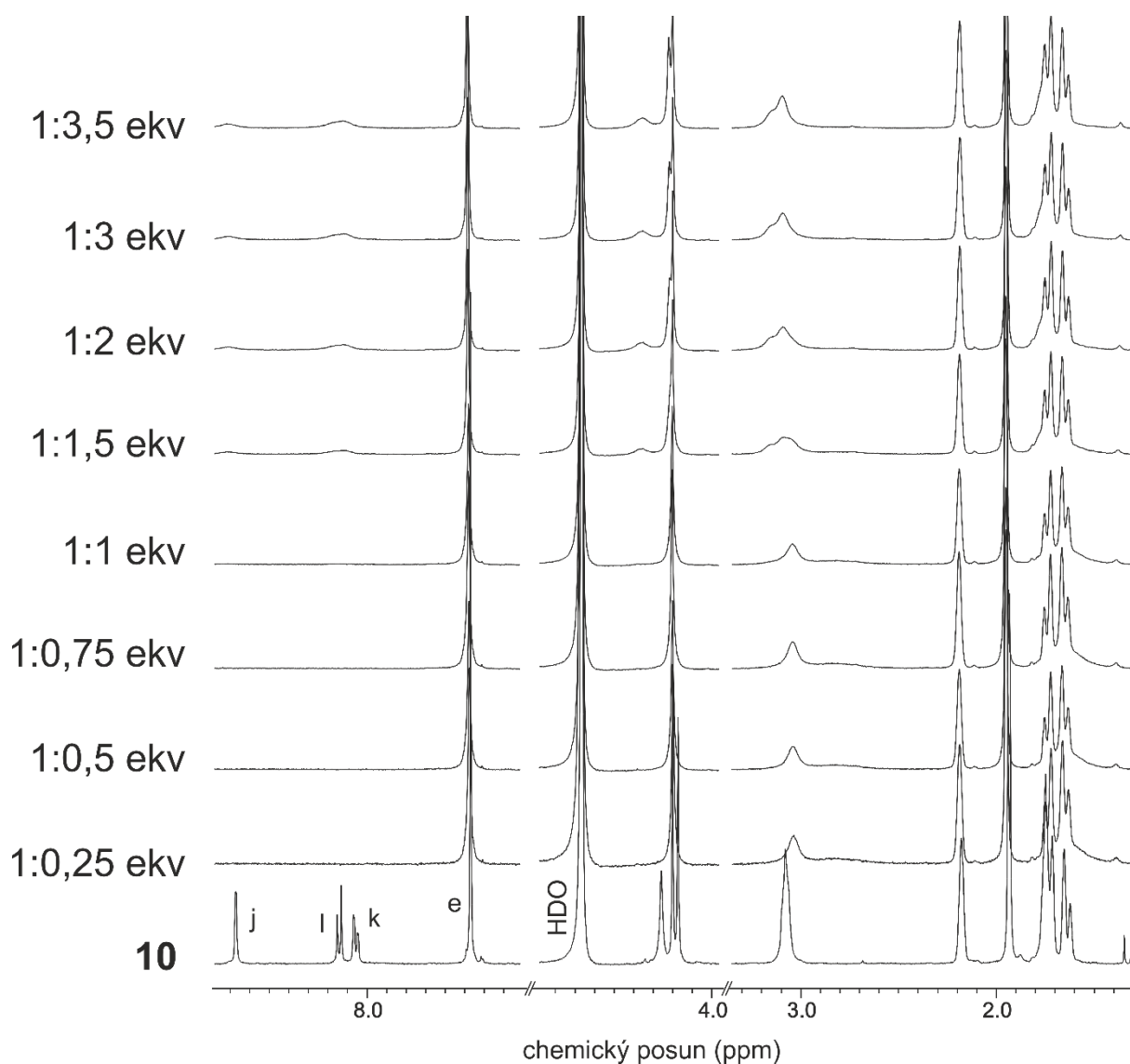


Obrázek 69 ^1H NMR spektra titrace roztoku CoCl_2 látkou **10**.

Interakce látky **10** s CuCl_2

Již po prvním přidavku ligandu **10** (0,25 ekv.) k roztoku CuCl_2 dochází v ^1H NMR spektru k výrazným změnám. Objevují se široké signály typické pro paramagnetické komplexy ($\text{Cu}^{2+}: d^9$). Aromatické protony bipyridinového motivu (j, k, l) jsou pravděpodobně natolik ovlivněny komplexací měďnatým kationtem, že jejich signály jsou silně rozšířené a velmi málo intenzivní. V kontrastu k tomu zůstává signál xylylenové jednotky (e) v aromatické oblasti zachován jako relativně ostrý singlet, což naznačuje, že tyto protony pravděpodobně nejsou přímo ovlivněny komplexací kovu (**Obrázek 70**).

K zajímavému vývoji dochází v ^1H NMR spektrech při obsahu přibližně 1,5 ekv. ligandu **10**, kdy se v oblasti kolem 11,5 ppm (pro výrazný nepoměr intenzit vůči ostatním signálům nevyobrazeno) původně přítomný rozšířený signál postupně ztrácí a současně se objevují nové signály v oblasti 8–9 ppm. Tyto změny ve spektrech mohou souviset s přibýváním volného nekomplexovaného ligandu **10**, nebo se vznikem druhé, strukturně odlišné formy komplexu – pravděpodobně s jinou stechiometrií (např. přechod od $\text{M}(\text{bipy}) \rightarrow \text{M}(\text{bipy})_2$). Přesná interpretace však není vzhledem k silnému paramagnetickému ovlivnění možná.

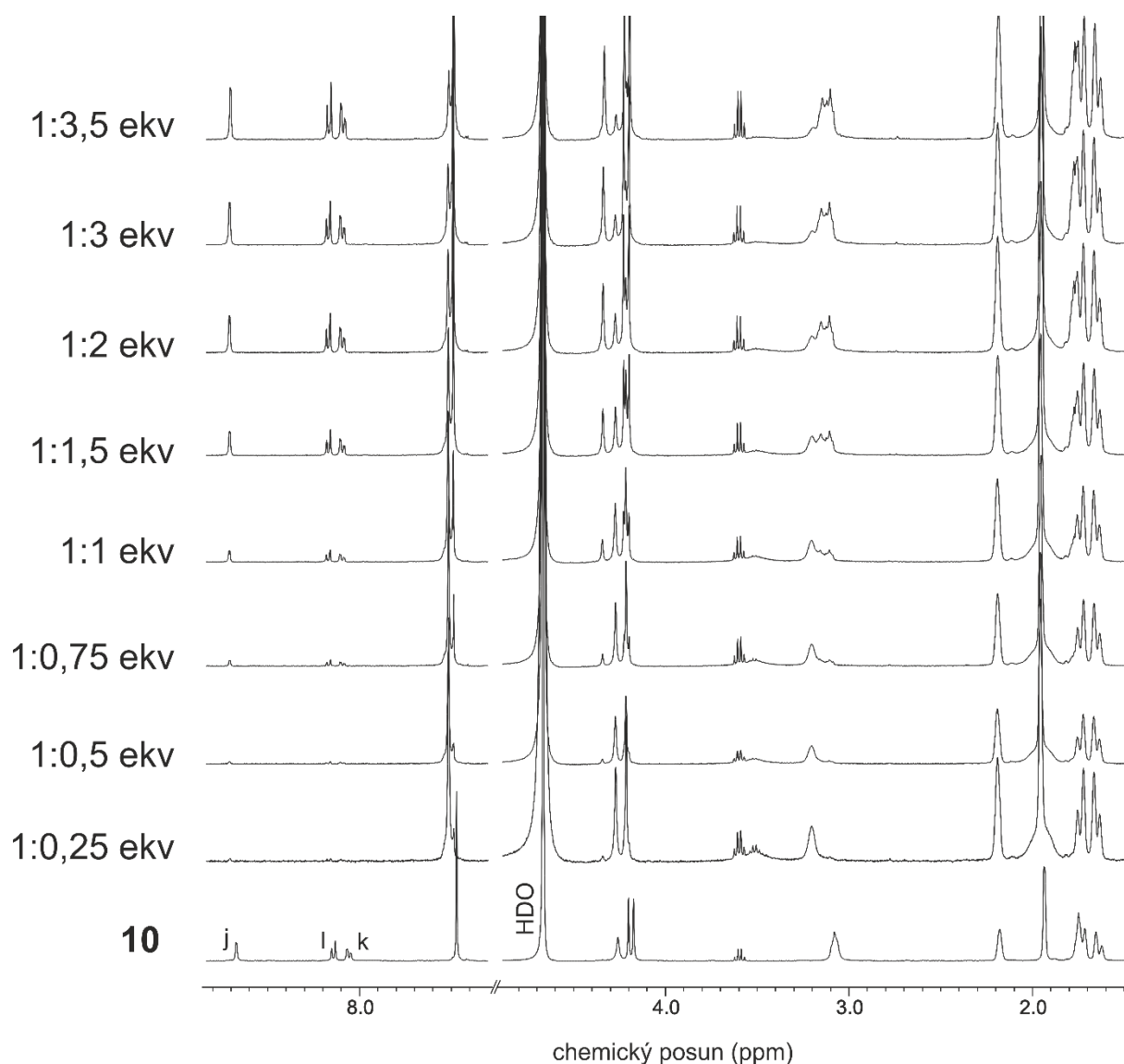


Obrázek 70 ^1H NMR spektra titrace roztoku CuCl_2 látkou **10**.

Interakce látky **10** s NiCl_2

Spektra získaná titrací zůstávají poměrně „čistá“ a signály relativně „ostré,“ což by odpovídalo spíše diamagnetickému charakteru tohoto vzniklého komplexu Ni^{2+} (d^8). Již po prvním přidavku ligandu **10** k roztoku NiCl_2 byly v ^1H NMR spektru pozorovány nové, avšak a méně intenzivní signály s chemickým posunem okolo 10 a 14 ppm (pro výrazný nepoměr intenzit vůči ostatním signálům nevyobrazeny), což svědčí o okamžité interakci kationtu Ni^{2+} s bipyridinovými centry ligandu **10**. S postupným navyšováním množství ligandu **10** až do stechiometrie 1:1 zůstává tvar spekter relativně neměnný, což naznačuje, že v roztoku převládá jeden typ komplexu. Po překročení tohoto poměru dochází

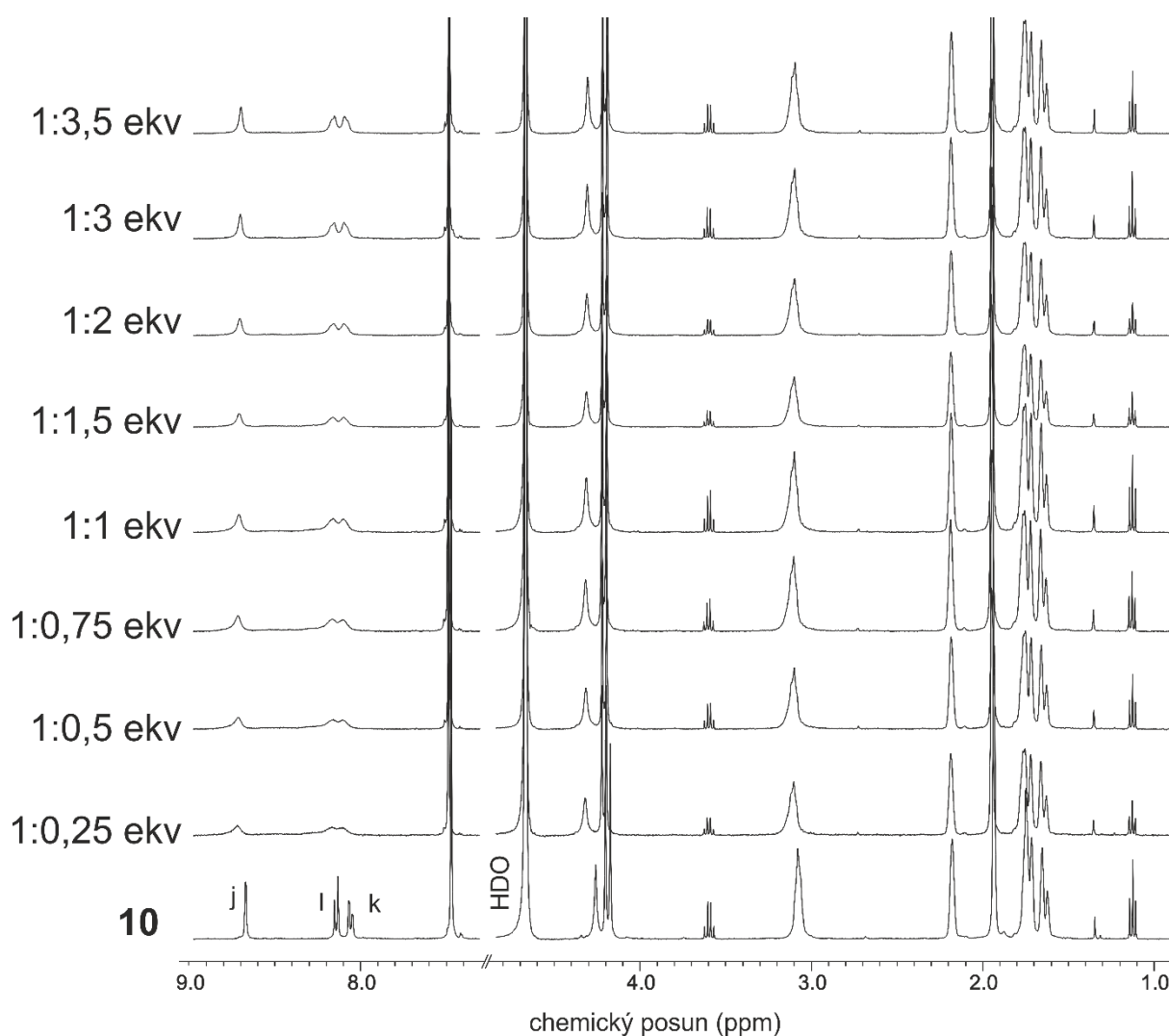
především ke zvyšování polohy maxim signálů (j, k, l) volného ligandu, které na začátku titrace vůbec nebyly pozorovány, zatímco signály odpovídající původnímu komplexu postupně slábnou. Tento jev může být způsoben ředěním během titrace. Jemné změny v chemických posunech a změny ve tvaru signálů alifatické C₄ spojky okolo 3,1 ppm pak naznačují, že i tato ramena by se svými krajními dusíkatými atomy mohla podílet na komplexaci kovu. (**Obrázek 71**).



Obrázek 71 ¹H NMR spektra titrace roztoku NiCl₂ látkou **10**.

Interakce látky **10** s ZnCl_2

Při ^1H NMR titraci ZnCl_2 bipyridinovým ligandem **10** byly pozorovány pouze minimální změny v získaných spektrech, což může naznačovat, že interakce mezi Zn^{2+} a ligandem **10** jsou za daných experimentálních podmínek pravděpodobně slabšího charakteru. Vzhledem k elektronové konfiguraci Zn^{2+} (d^{10}) byla očekávána „čistá a ostrá“ spektra, což se plně potvrdilo. V průběhu titrace se neobjevily žádné nové signály, pouze signály bipyridinové jednotky (j, k, l) vykazovaly mírné rozšíření, „rozostření“ tvaru a velmi mírný posun směrem k nižšímu poli vůči spektru samotného ligandu (**Obrázek 72**).



Obrázek 72 ^1H NMR spektra titrace roztoku ZnCl_2 látkou **10**.

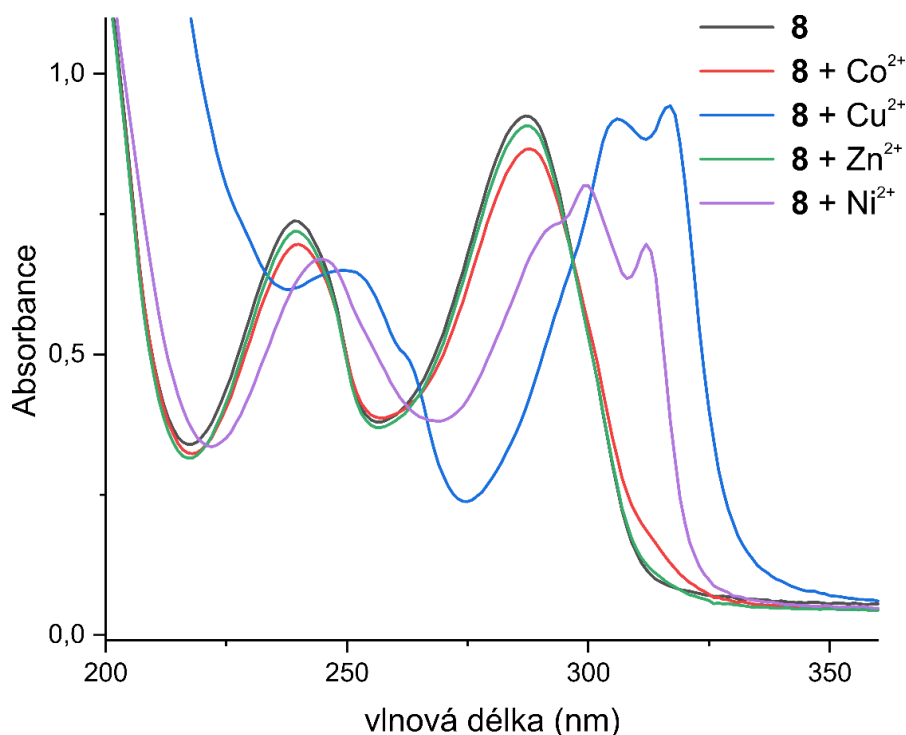
Interakce látky **8** s ionty vybraných kovů

S vidinou objasnění rozdílných výsledků získaných při studiu interakcí mezi ligandem **10** a různými kationty, byl dále studován modelový ligand **8**, ve kterém je bipyridinové koordinační centrum zachováno, avšak ramena ligandu jsou kratší. Byly sledovány komplexační vlastnosti a vliv participace dusíkatých funkčních skupin na vznik interakcí. K charakterizaci chování ligandu **8** v přítomnosti kovových iontů byly opět použity dvě komplementární spektroskopické metody: UV-Vis a ^1H NMR.

Studium interakcí pomocí UV-Vis

Pro modelový ligand **8** byla UV-Vis měření provedena analogicky jako u ligandu **10**. Cílem bylo potvrdit schopnost tohoto modelového ligandu **8** interagovat s vybranými kovovými kationty.

Získaná UV-Vis spektra modelového ligandu **8** byla obdobná, jako v případě ligandu **10**. Při přidavku Cu^{2+} k ligandu **8** došlo k výraznému bathochromnímu posunu a ke změně tvaru obou výše zmíněných absorpčních pásů, což potvrzuje interakci **8** s Cu^{2+} . U Ni^{2+} byl pozorován stejný trend, avšak s méně výrazným posunem než u **10**. Naopak směsi s Co^{2+} a Zn^{2+} nevykázaly žádné významné změny a poskytly stejné výsledky jako v případě ligandu **10**, což svědčí o slabší interakci těchto kovů i s ligandem **8** za daných experimentálních podmínek (**Obrázek 73**). Vzhledem k prakticky stejným výsledkům pro oba ligandy lze soudit, že signifikantní pro vazbu na kov je u ligandů **10** a **8** společný strukturní motiv.



Obrázek 73 UV-Vis spektra látky **8** a jejích směsí s kovovými ionty.

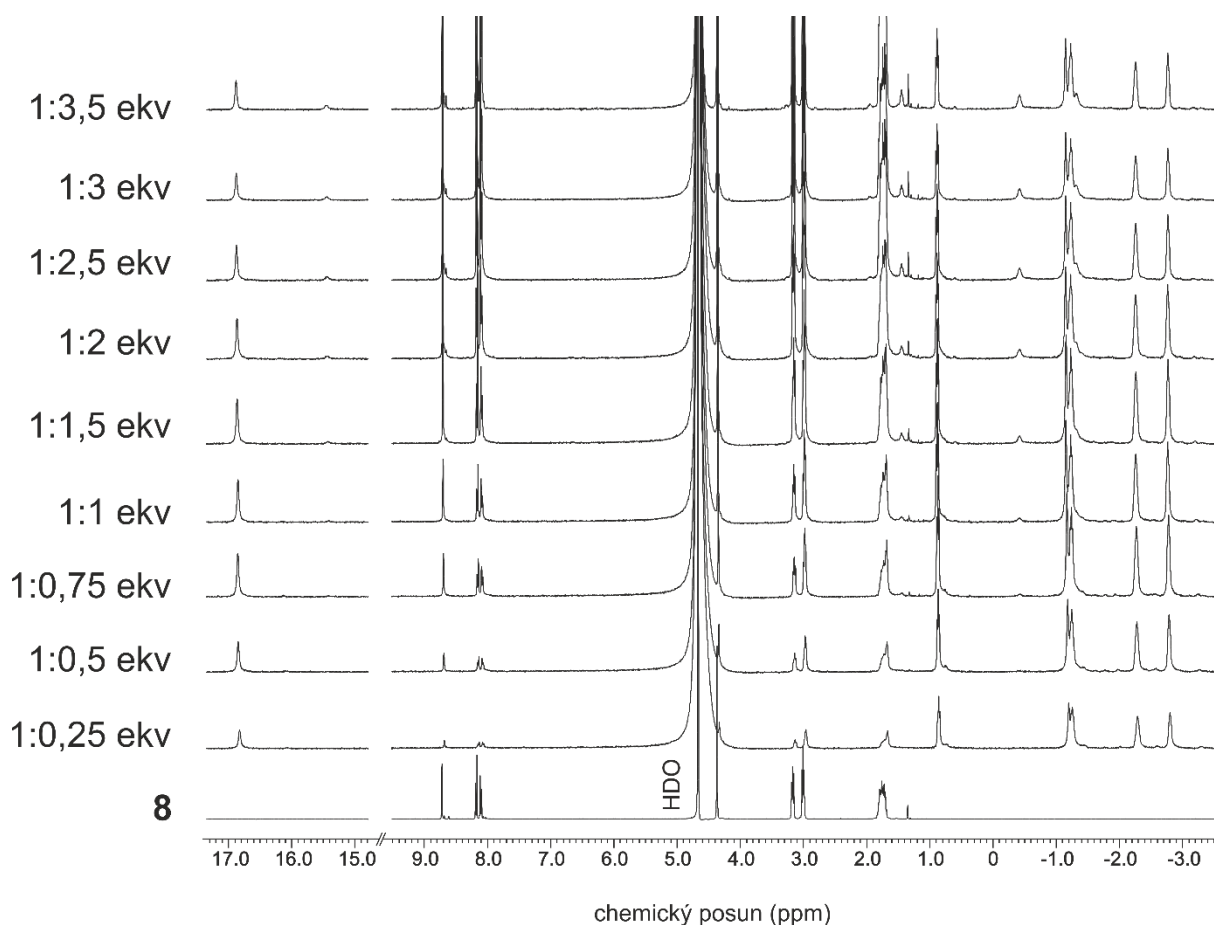
Studium interakcí pomocí ¹H NMR

Postup ¹H NMR titrací u modelového ligandu **8** byl zcela analogický jako v případě ligandu **10**, tedy postupným dávkováním roztoku ligandu do roztoku soli za účelem pokrytí různých stechiometrických poměrů.

Interakce látky **8** s CoCl₂

Již po prvním přidavku ligandu **8** k roztoku CoCl₂ se v ¹H NMR spektrech objevují nové signály v neobvyklých oblastech chemického posunu, a sice kolem 17 ppm a –1 až –3 ppm, zatímco signály volného ligandu **8** v počáteční fázi titrace nejsou téměř pozorovatelné. To naznačuje, že větší část ligandu je ve formě komplexu. Přestože Co²⁺ je paramagnetický, signály zůstávají překvapivě poměrně ostré a spektrum je celkově dobře rozlišené. Od poměru přibližně 1:1 začíná významně růst relativní intenzita signálů volného ligandu **8**, což naznačuje nasycení kovového centra a vznik rovnováhy mezi komplexovanou a volnou formou ligandu (**Obrázek 74**). Od poměru 1:1 se také objevuje minoritní sada signálů reprezentovaná méně intenzivními píky okolo –0,5 a 15,5 ppm, která by

například mohla příslušet komplexu s vyšší stechiometrií. Průběh titrace je tedy do jisté míry podobný jako u ligandu **10**.

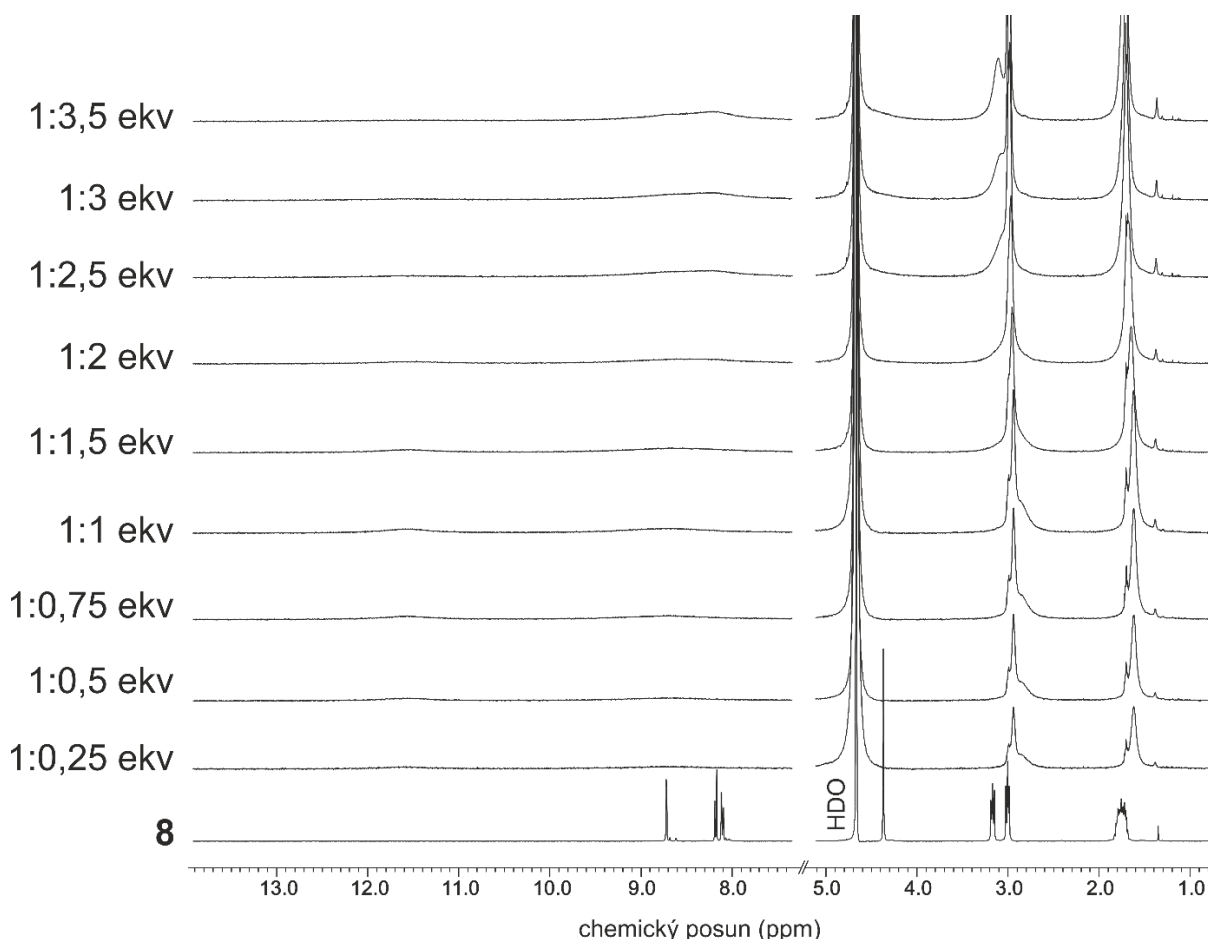


Obrázek 74 ^1H NMR spektra titrace roztoku CoCl_2 látkou **8**.

Interakce látky **8** s CuCl_2

Již po prvním přidavku ligandu **8** k roztoku CuCl_2 dochází v ^1H NMR spektru k výrazným změnám, které svědčí o rychlé tvorbě komplexu. Jednotlivé signály se výrazně rozšiřují a ztrácejí svou původní strukturu pravděpodobně v důsledku silného paramagnetického vlivu kationtu Cu^{2+} (d^9). Aromatické protony bipyridinového jádra vykazují značné rozšíření až téměř do vymizení signálů, přičemž se nově objevují široké a méně intenzivní píky v oblasti kolem 12 a 9 ppm. V průběhu titrace intenzita signálu u 12 ppm postupně klesá, zatímco pás u 9 ppm mírně narůstá a nepatrně se posouvá, což naznačuje možnou změnu stechiometrie komplexu a nárůst koncentrace volné formy ligandu. Signály

odpovídající alifatickým ramenům se jen mírně posouvají směrem k vyššímu poli a vykazují menší ostrost. Celkový vývoj spekter je velmi podobný chování pozorovanému u ligandu **10** a potvrzuje interakci mezi CuCl_2 a ligandem **8** (Obrázek 75).

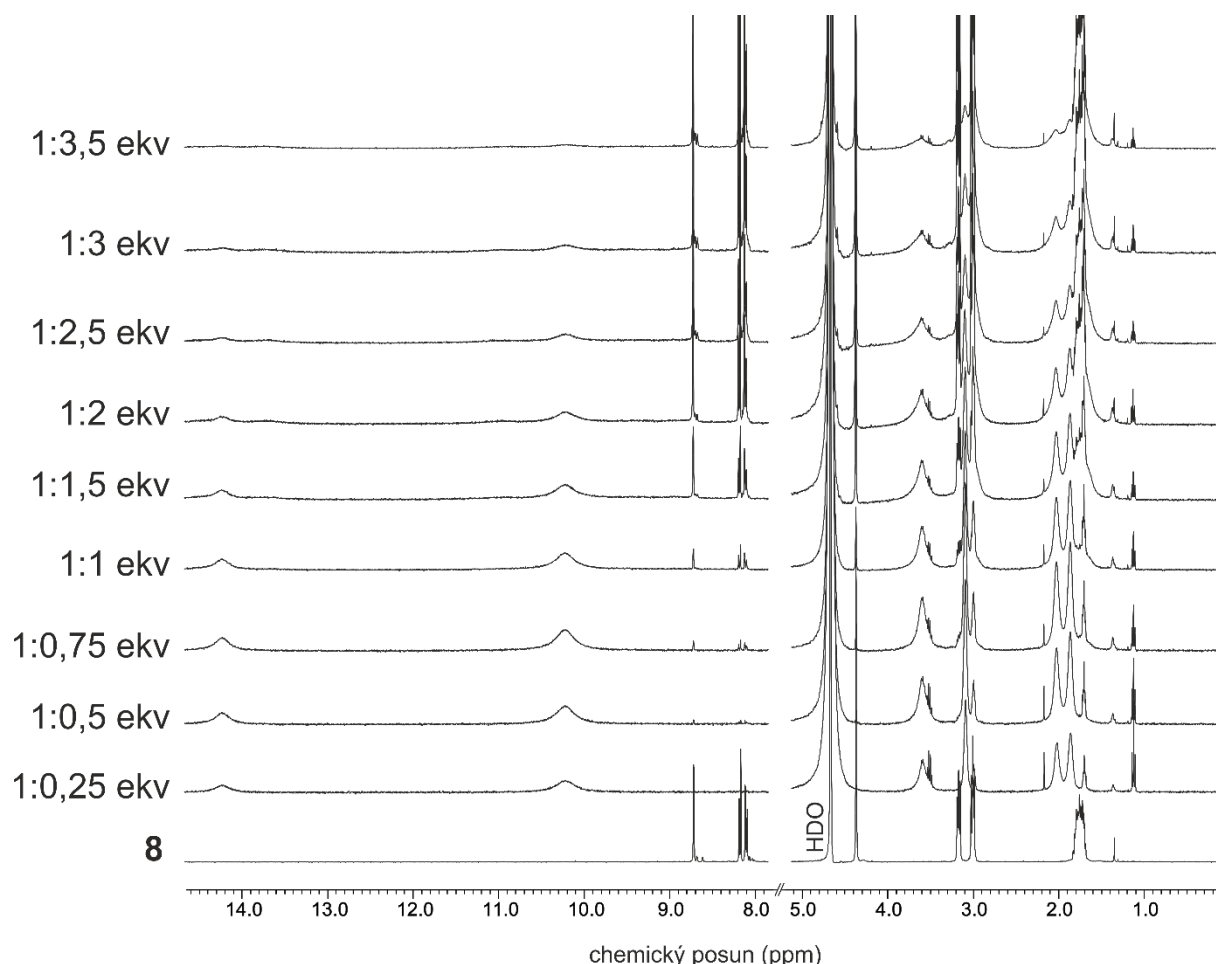


Obrázek 75 ^1H NMR spektra titrace roztoku CuCl_2 látkou **8**.

Interakce látky **8** s NiCl_2

Po přidavku ligandu **8** k roztoku NiCl_2 dochází v ^1H NMR spektru k okamžitým změnám, které naznačují tvorbu komplexu. Již po prvním přidavku se objevují nové, rozšířené signály v oblasti kolem 10 a 14 ppm, zatímco původní signály ligandu téměř mizí. Do poměru přibližně 1:1 zůstává tvar spekter relativně neměnný, což naznačuje přítomnost jednoho dominantního typu komplexu. Po překročení tohoto poměru se začínají zřetelně objevovat ostré signály volného ligandu **8**, zatímco signály komplexu postupně slábnou, pravděpodobně

v důsledku disociace nebo ředění během titrace. V oblasti 10–14 ppm lze navíc při vyšších ekvivalentech pozorovat jemné dělení původních rozšířených signálů, které může naznačovat vznik minoritních forem s odlišnou stechiometrií (**Obrázek 76**). Celkový průběh titrace odpovídá chování pozorovanému u ligandu **10**.

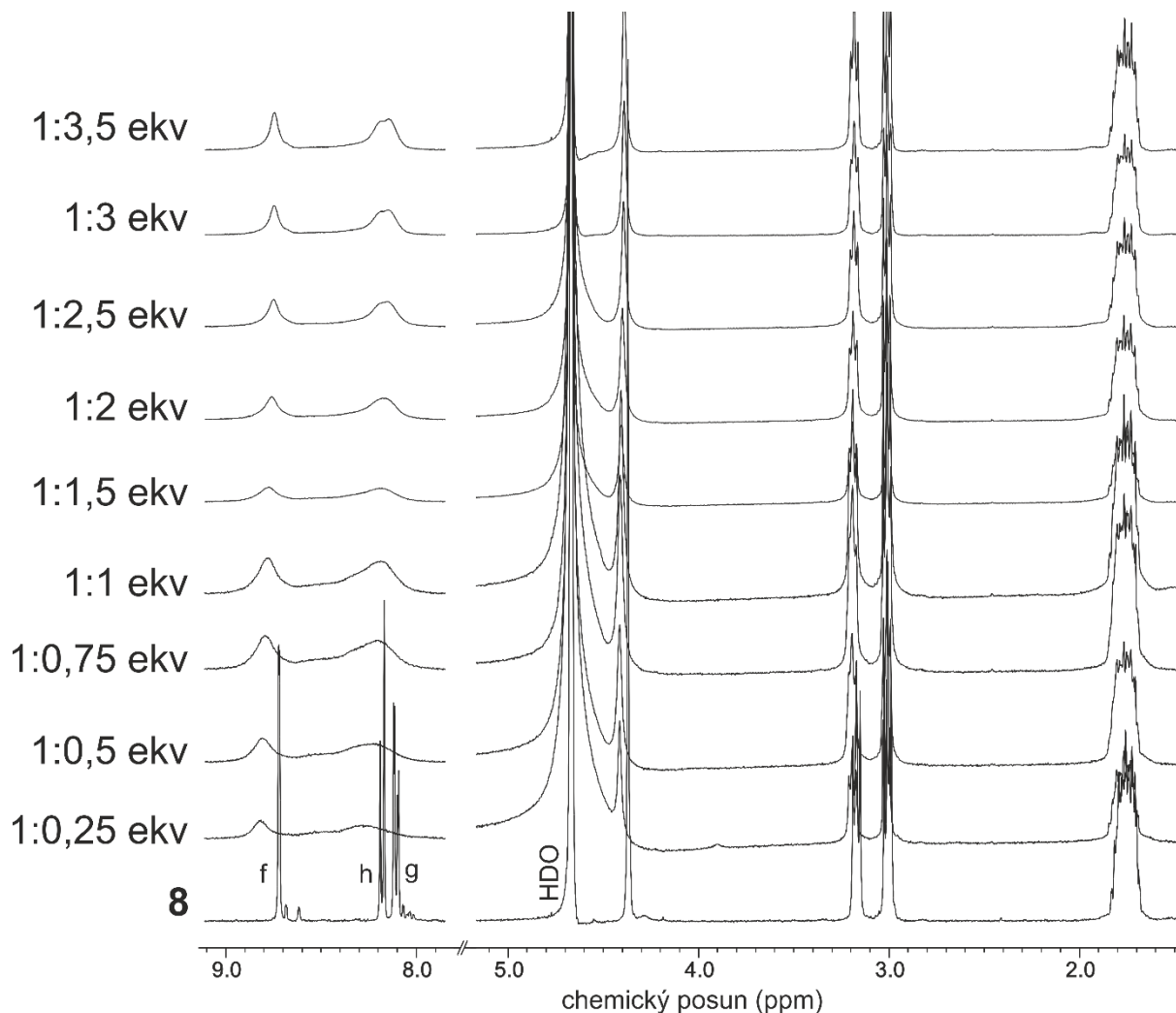


Obrázek 76 ^1H NMR spektra titrace roztoku NiCl_2 látkou **8**.

Interakce látky **8** s ZnCl_2

Při ^1H NMR titraci ZnCl_2 ligandem **8** byly pozorovány pouze minimální změny ve spektrech, což svědčí o interakci slabšího charakteru mezi Zn^{2+} a bipyridinovým centrem ligandu **8** za daných experimentálních podmínek. Spektra zůstávají ostrá, jak lze očekávat pro kation s konfigurací d^{10} , a bez nových signálů. Nejvýraznější změnou je mírné rozšíření a „zaoblení“ signálů

bipyridinové části, zatímco jejich chemické posuny zůstávají prakticky beze změny. Ostatní protonové signály ligandu **8** se během titrace nemění, což naznačuje, že interakce nemusí být až tak silná (**Obrázek 77**).



Obrázek 77 ^1H NMR spektra titrace roztoku ZnCl_2 látkou **8**.

Pro úplnost je třeba zmínit, že ^1H NMR titracím se všemi čtyřmi vybranými ionty kovů byl podroben i ligand **13**, a to ve stejném duchu, jako tomu bylo v případě ligandů **10** a **8**. Získané výsledky ukázaly, že trendy pozorované při interakcích kovů s ligandy **10** a **8** byly shodně patrné i v případě ligandu **13**. Lze tedy předpokládat, že pro vazbu kovu je u ligandů **10**, **8** a **13** klíčový jejich společný strukturní motiv. Vzhledem k prakticky totožnému průběhu titrací

nejsou ^1H NMR spektra pro ligand **13** v této práci dále uvedena. Interakce ligandu **13** s kovovými ionty nebyly studovány pomocí UV-Vis spektrometrie.

INTERAKCE S KATIONTY KOVŮ – SHRNUÍ

Kombinace UV-Vis a ^1H NMR spektroskopie potvrdila, že bipyridinové ligandy **10**, **8** a **13** vykazují schopnost interagovat především s ionty Cu^{2+} a Ni^{2+} . V případě ligandů **10** a **8** byly u těchto kationtů pozorovány výrazné změny jak v UV-Vis (posuny pásů, změna tvaru a intenzity), tak i v NMR spektrech (vznik nových signálů a jejich rozšíření), což naznačuje tvorbu koordinačních komplexů. Ligand **13** vykazoval v ^1H NMR experimentech analogické chování, což podporuje závěr o obdobném typu interakce a potvrzuje význam společného strukturního motivu pro vazbu kovu. Určitá odlišnost byla pozorována v případě interakcí s Co^{2+} . Zatímco změny byly zřetelně patrné v ^1H NMR spektrech, v UV-Vis spektrech nebyly zaznamenány výrazné změny. Tento rozdíl může naznačovat, že k interakci sice dochází, avšak její vliv na elektronové absorpční přechody sledované metodou UV-Vis je méně výrazný. Naopak v případě Zn^{2+} nebyly ani jednou z použitých metod zaznamenány významné změny ve spektrech, což pravděpodobně naznačuje spíše nižší afinitu tohoto diamagnetického kationtu k bipyridinovým centrům ligandů **10**, **8** a **13**.

7. Interakce s makrocykly a kationty kovů zároveň

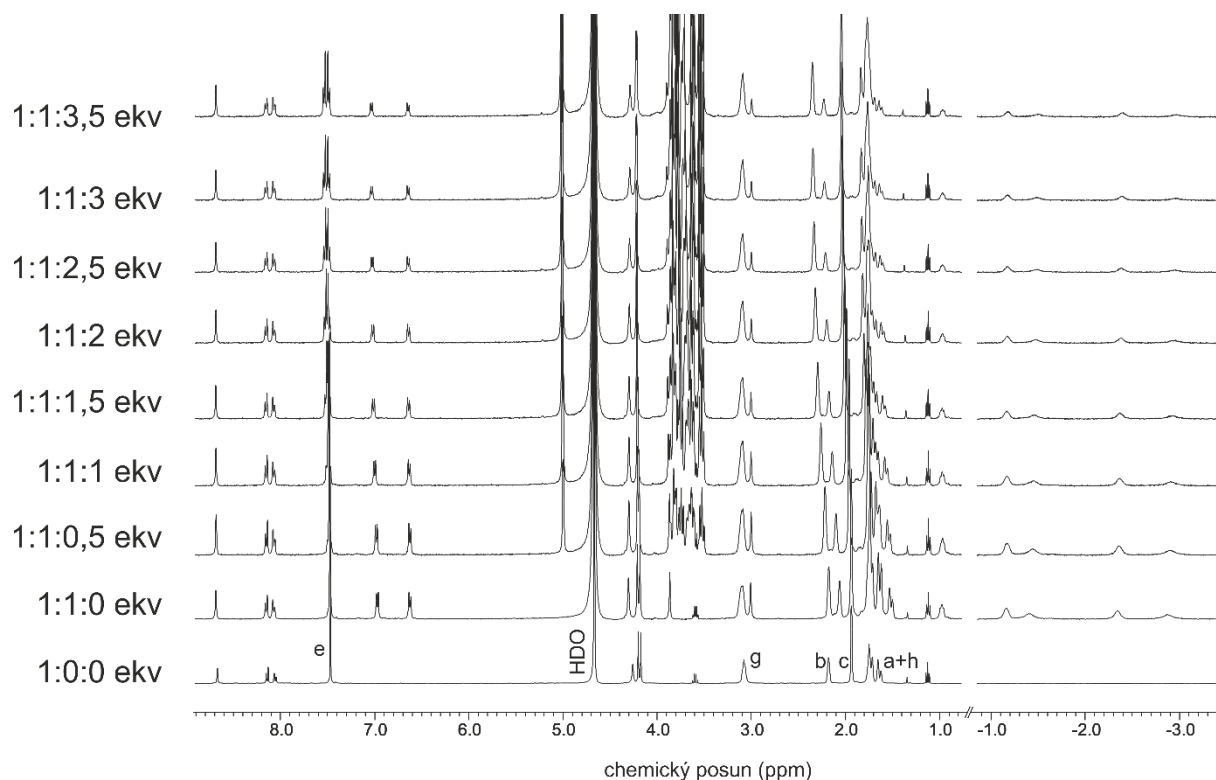
Studium vícesložkových systémů tvořených ligandem, kationtem kovu a makrocyclickými hostiteli představuje další krok k poznání komplexačních vlastností připravených ligandů a jejich schopností vytvářet hierarchicky uspořádané supramolekulární struktury. Tyto systémy umožňují sledovat především vzájemné ovlivňování jednotlivých komponent, kompetici o vazebná místa a případnou kooperativitu při tvorbě komplexů. Cílem této části práce je popsat, jak přítomnost kovového centra ovlivňuje komplexaci ligandů s makrocykly a naopak, jak začlenění těchto makrocyclů modifikuje koordinační chování bipyridinového jádra vůči kovovým iontům.

Pro systém hlavního ligandu **10** byly nejprve zkoumány interakce se čtyřmi vybranými kovy (Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+}) v přítomnosti β -CD. Každá titrace byla provedena tak, že do NMR kyvety byl nejprve připraven roztok ligandu **10** s jedním ekvivalentem příslušného kovového kationtu, čímž vznikl předem definovaný komplex $\text{M}(\text{bipy})$. Tento roztok byl následně titrován roztokem β -CD, přičemž byly zaznamenávány změny v chemických posunech a tvarech signálů v závislosti na přidávaném množství makrocyclu. Titrace probíhaly v D_2O a umožnily sledovat, jak přítomnost kovového centra ovlivňuje polohu a stabilitu makrocyclu na ose ligandu a jak se mění koordinační chování bipyridinového motivu. V následných experimentech byly vybrané komplexy rozšířeny o CB7, což umožnilo pozorovat vznik čtyřkomponentních systémů a vyhodnotit, jakým způsobem se tyto dva typy makrocyclů navzájem ovlivňují.

Interakce látky **10** s CoCl_2 a s β -CD

Po přidavku jednoho ekvivalentu Co^{2+} k ligandu **10** se objevuje nová sada signálů příslušející komplexované formě. Určitý podíl ligandu **10** v roztoku s Co^{2+} neinteraguje (v ^1H NMR spektrech zůstávají původní signály samotného ligandu). Objevují se již dříve pozorované „markerové signály kobaltu“ při 17 ppm (pro výrazný nepoměr intenzit vůči ostatním signálům nevyobrazeno) a při -1 až -3 ppm (viz dvousložkové titrace). Při titraci β -CD se dle očekávání primárně komplexují adamantanové jednotky – jejich signály (a, b, c) v ^1H NMR spektrech vykazují posun směrem k nižšímu poli. Tento trend je patrný u obou forem

ligandu: volného i Co-komplexovaného. Toto je zvláště zřejmé u vývoje signálu „b“ při 2,2 ppm. Nově vzniklý signál (po přidavku Co^{2+}) při 2,1 ppm lze přiřadit témuž protonu, ale v Co-komplexované formě ligandu **10**. Během následující titrace β -CD oba signály vykazují obdobný posun k nižšímu poli, avšak intenzita signálu odpovídajícího Co-komplexu se postupně snižuje, což naznačuje změnu zastoupení jednotlivých forem v roztoku. Původní singlet xylylenu (e) se po částečné komplexaci ligandu **10** Co^{2+} štěpí na dva dublety (posun pod 7 ppm); jeden z dubletů se v průběhu titrace posouvá směrem k nižšímu poli pravděpodobně vlivem blízkosti portálu β -CD. Signály (g, h) alifatické C_4 spojky nevykazují v průběhu titrace systematické posuny, ale je patrná druhá sada jejích signálů související s komplexací Co^{2+} . Intenzita všech signálů druhé sady v průběhu titrace klesá, buď vlivem disociace, nebo ředění (**Obrázek 78**).

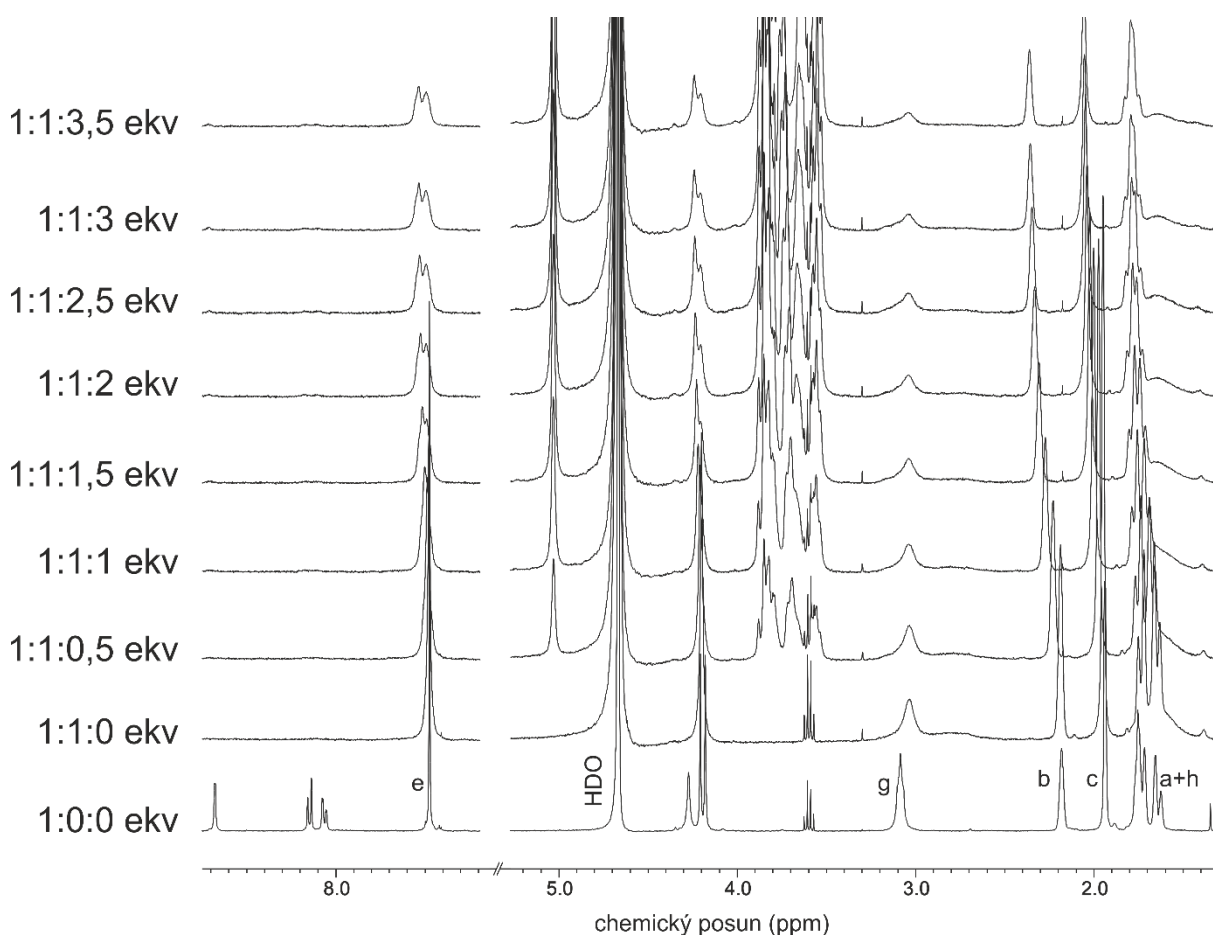


Obrázek 78 ^1H NMR spektra titrace směsi **10** a 1 ekv. CoCl_2 roztokem β -CD.

Interakce látky **10** s CuCl_2 a s β -CD

Po přidavku jednoho ekvivalentu Cu^{2+} k ligandu **10** dochází k výrazným změnám ve spektru. Aromatické signály bipyridinového jádra v ^1H NMR

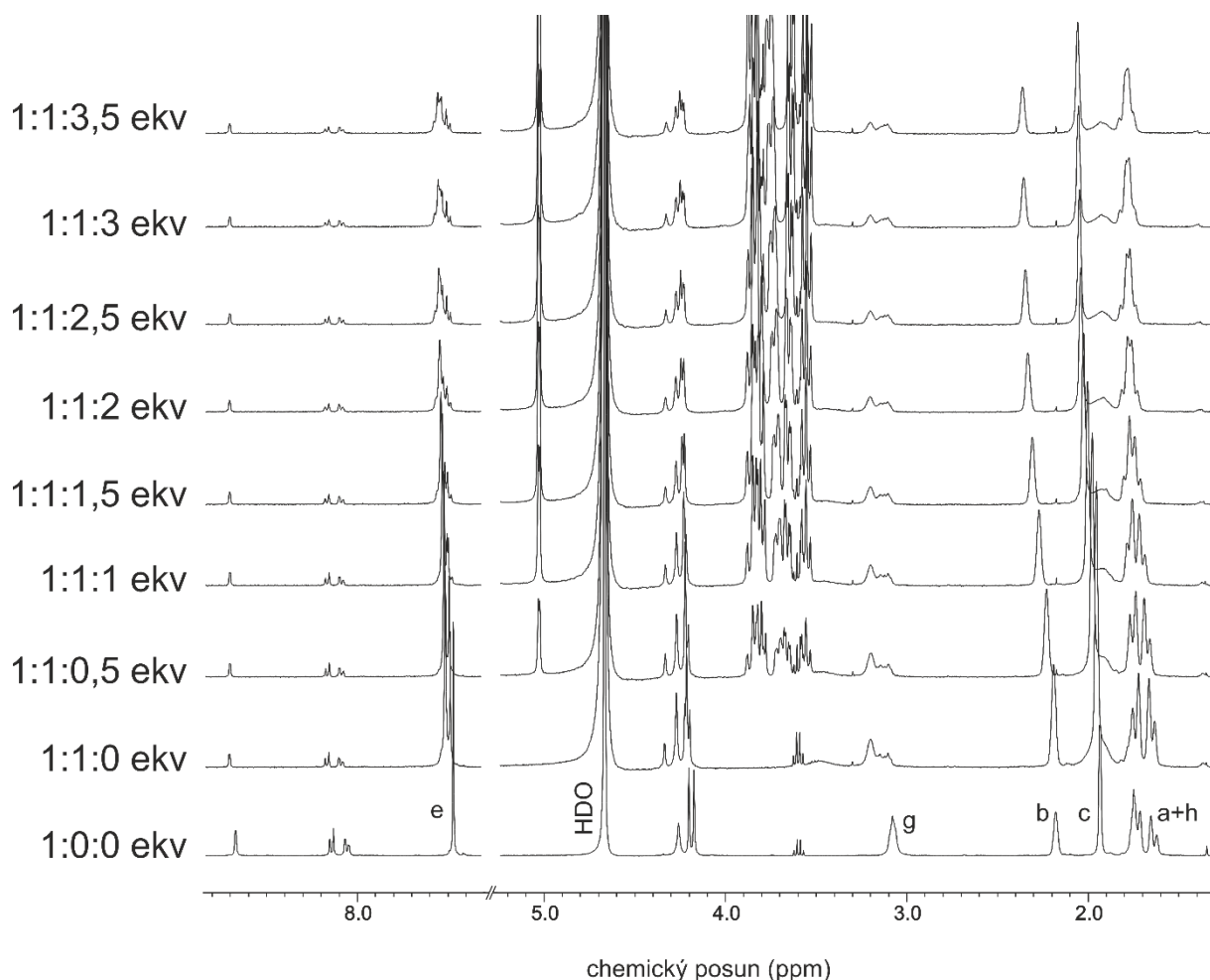
spektrech jsou rozšířené a dochází k dramatickému snížení jejich maximální výšky, což je činí prakticky až „neviditelné“. Toto odpovídá vlivu paramagnetického Cu^{2+} . Objevují se široké signály, téměř v šumu, při přibližně 12 a 9 ppm (viz dvousložkové titrace), jejichž poloha maxima v průběhu titrace ještě navíc dále klesá. Pro tento výrazný nepoměr intenzit zde nejsou vyobrazeny. Po celou dobu titrace je patrná pouze jedna sada signálů, což naznačuje, že ligand **10** je plně komplexován měďnatým kationtem a v roztoku nepřetrvává jeho volná forma. Při titraci β -CD se dle očekávání komplexují adamantanové jednotky – jejich ^1H NMR signály (a, b, c) se posouvají směrem k nižšímu poli. Signály (g, h) příslušející C_4 spojce jsou od počátku rozšířené a v průběhu titrace dále ztrácí ostrost a snižuje se poloha jejich maxima, což ukazuje na ovlivnění této části ligandu komplexací Cu^{2+} . Xylylenový singlet „e“ postupně snižuje polohu svého maxima, mění multiplicitu a mírně se rozšiřuje. Ligand **10** je tedy v přítomnosti Cu^{2+} pravděpodobně plně komplexován a β -CD při titraci obsazuje obě adamantanové jednotky (**Obrázek 79**).



Obrázek 79 ^1H NMR spektra titrace směsi **10** a 1 ekv. CuCl_2 roztokem β -CD.

Interakce látky **10** s NiCl_2 a s β -CD

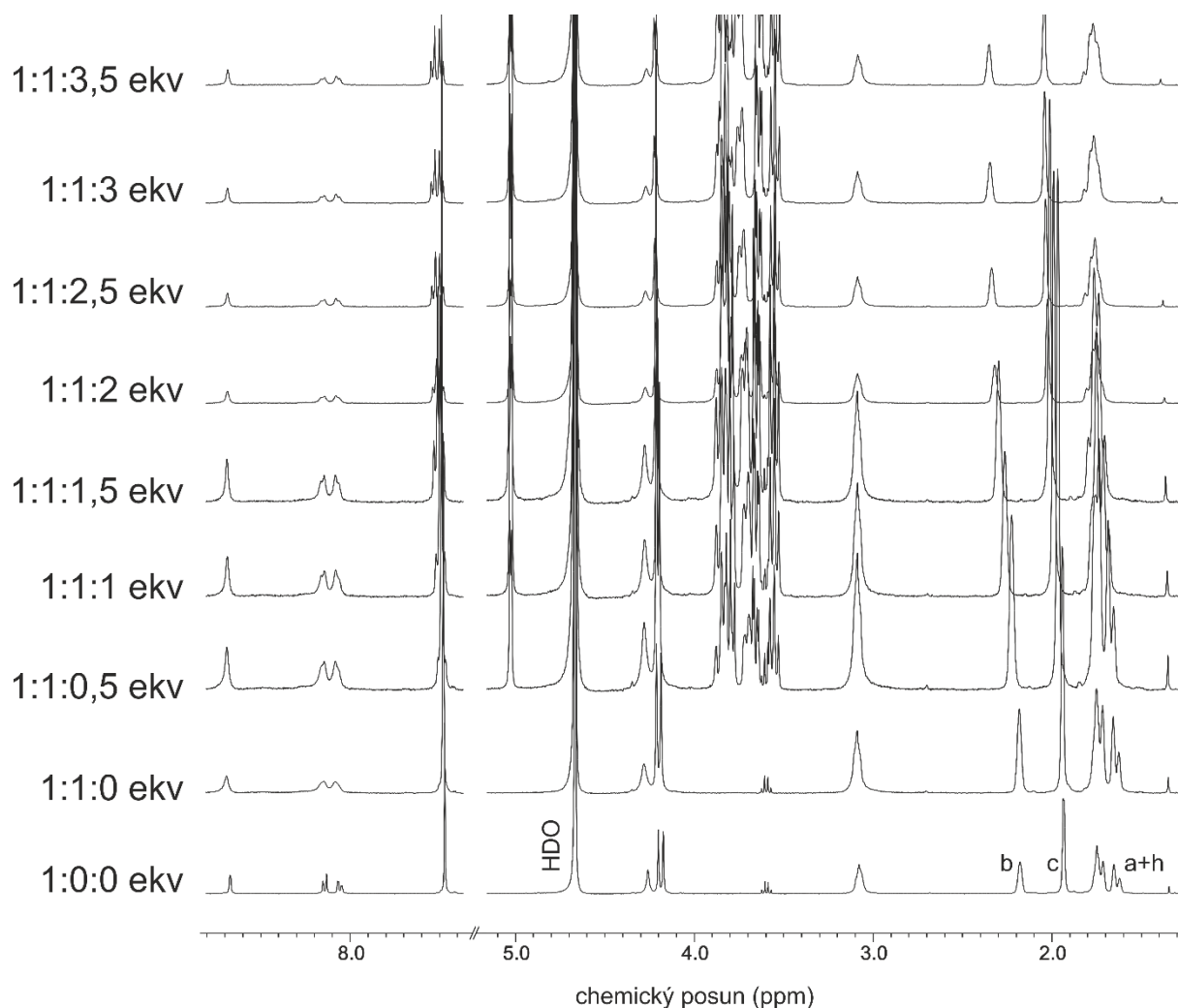
Po přidavku jednoho ekvivalentu Ni^{2+} k ligandu **10** se v ^1H NMR spektru objevují nové, rozšířené signály v oblasti přibližně 10 a 14 ppm (viz dvousložkové titrace), které lze přiřadit Ni-komplexované formě ligandu. V průběhu následné titrace β -CD dochází ke snižování poloh jejich maxim a také k jejich rozšiřování. Tyto signály zde nejsou vyobrazeny pro výrazný nepoměr intenzit vzhledem k ostatním signálům. Aromatické signály bipyridinového jádra se po přidavku kovu mírně posouvají směrem k nižšímu poli, dále se však již výrazně nemění. Spektra zůstávají poměrně dobře rozlišená, což odpovídá spíše diamagnetickému charakteru vznikajícího Ni^{2+} komplexu (d^8). Signály xylylenové (e) i benzylové části při 4,2 ppm se v průběhu titrace postupně štěpí na více složek. Signály alifatické spojky (g, h) vykazují po komplexaci ligandu **10** s Ni^{2+} mírný posun i rozšíření, které se během titrace již dále nemění. Nejvýraznější změny se projevují u signálů adamantanové jednotky (a, b, c), jejichž posun směrem k nižšímu poli je v souladu s jejich inkluzí do kavity β -CD. V průběhu celé titrace přetrvává jedna sada signálů, což ukazuje, že v roztoku dominuje pravděpodobně jediná forma komplexu, přičemž se zdá, že koordinace Ni^{2+} na bipyridinovém jádru zůstává zachována a komplexace β -CD probíhá na terminálních adamantanových motivech (**Obrázek 80**).



Obrázek 80 ^1H NMR spektra titrace směsi **10** a 1 ekv. NiCl_2 roztokem $\beta\text{-CD}$.

Interakce látky **10** s ZnCl_2 a s $\beta\text{-CD}$

Po přidavku jednoho ekvivalentu Zn^{2+} k ligandu **10** zůstává ^1H NMR spektrum celkově poměrně ostré a bez výrazných změn, což odpovídá diamagnetické povaze iontu Zn^{2+} . Nejsou pozorovány žádné nové signály ani žádné významné posuny signálů ligandu **10**. Pouze mírné rozšíření a rozostření signálů bipyridinové jednotky naznačují slabší interakci mezi kovem a ligandem. Během titrace $\beta\text{-CD}$ jsou mírné změny pozorovány v oblasti protonů benzylových skupin. Při titraci dochází také k posunu signálů adamantanových protonů (a, b, c) směrem k nižšímu poli, v souladu s očekáváním. Titrace tedy ukazuje, že Zn^{2+} má na komplexaci ligandu **10** s $\beta\text{-CD}$ minimální vliv (**Obrázek 81**).

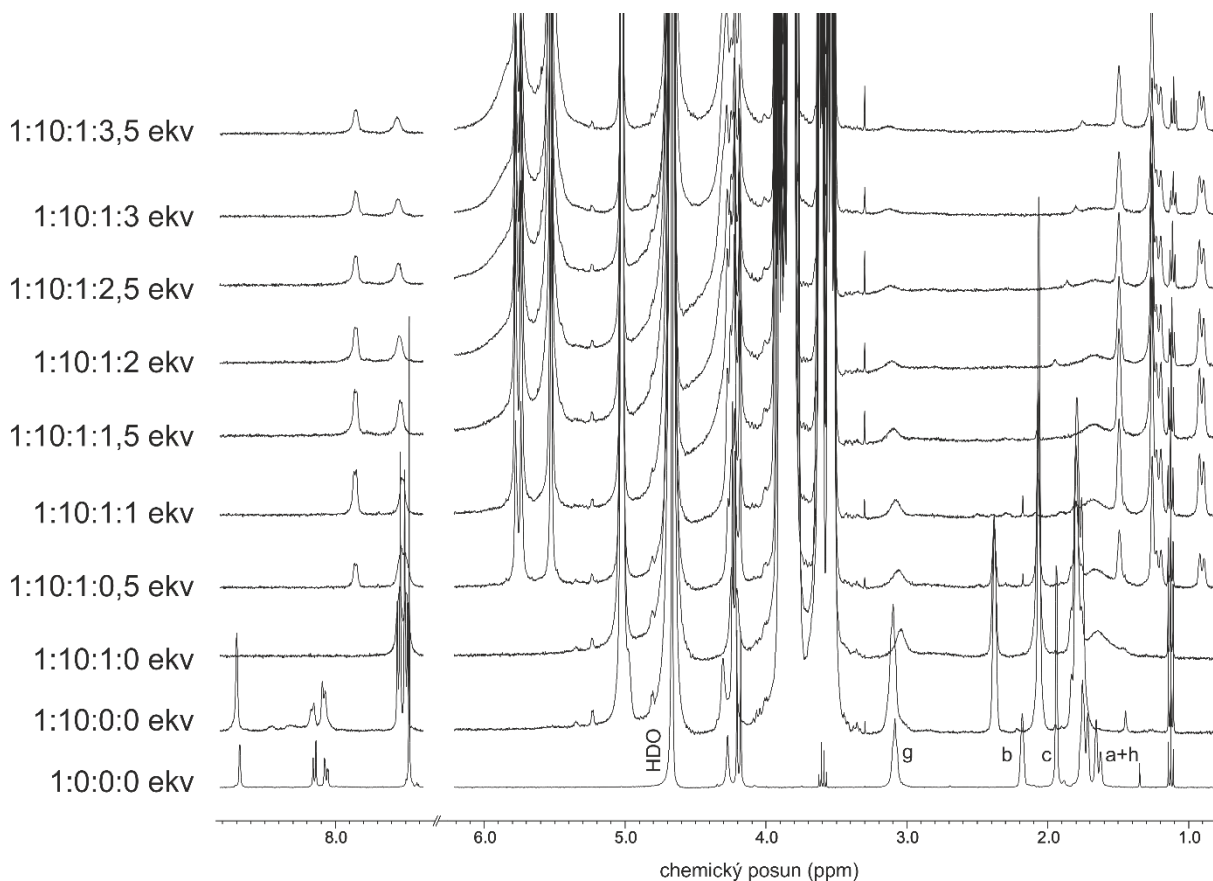


Obrázek 81 ^1H NMR spektra titrace směsi **10** a 1 ekv. ZnCl_2 roztokem $\beta\text{-CD}$.

Na předchozích systémech bylo pomocí ^1H NMR spektroskopie prokázáno, že ligand **10** může zároveň interagovat s kationty vybraných kovů (díky přítomnosti bipyridinového centra) i s jednotkami $\beta\text{-CD}$ (díky přítomnosti terminálních adamantanových substituentů). Dalším krokem bylo objasnit, jak se systém zachová při přidavku dalšího makrocyclu, a sice CB7. Tedy zda CB7 může $\beta\text{-CD}$ „uzamknout“ na ose ligandu (viz výše) a současně zachovat koordinaci kovu na bipyridinovém centru. Vzhledem k předchozím výsledkům byly pro tyto experimenty vybrány pouze systémy s ionty Cu^{2+} a Ni^{2+} , tedy kovy, které ve všech předchozích částech vykazovaly výrazné a jednoznačné projevy komplexace. Titrace CB7 byly prováděny na výchozích komplexech ligand **10** + M^{2+} + $\beta\text{-CD}$, připravených ve stechiometrii 1:1:10 v prostředí D_2O .

Interakce látky **10** s CuCl_2 , s přebytkem β -CD a s přebytkem CB7

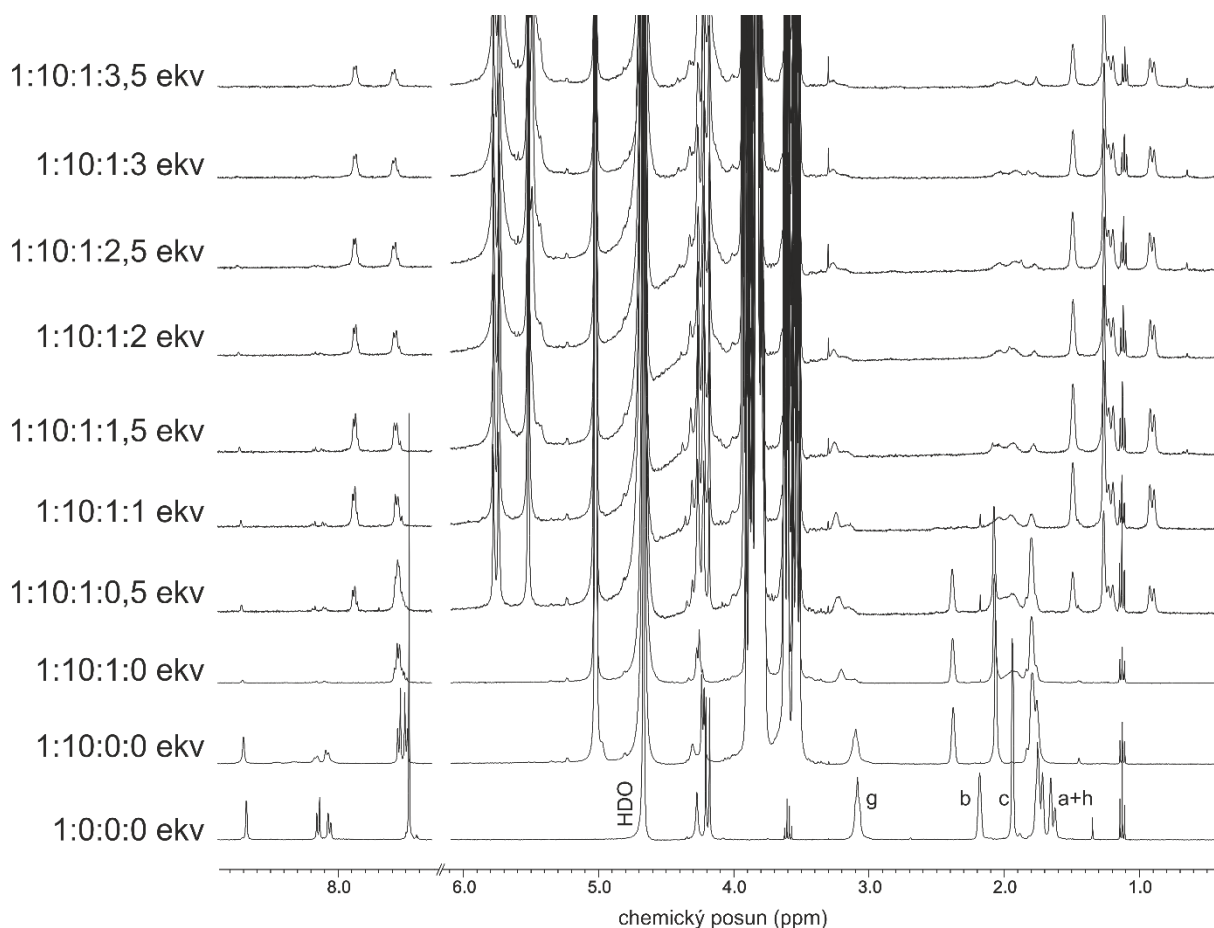
Ve výchozím stavu před samotnou titrací jsou pozorovány výše popsané trendy – ^1H NMR signály adamantanových protonů ligandu **10** jsou posunuty směrem k nižšímu poli a je patrná interakce bipyridinového jádra s Cu^{2+} . Postupnými přidávkami CB7 dochází při titraci k systematickému posunu signálů adamantanových protonů (a, b, c) směrem k vyššímu poli, což odpovídá náhradě původně komplexovaných jednotek β -CD za CB7 vykazujícím vůči adamantanovým motivům vyšší vazebnou afinitu. Ve spektrech jsou nadále pozorovány změny spíše méně významného charakteru: dochází k rozlišení signálů xylylenových protonů (vlivem blízkosti portálu CB7) a signály čtyřuhlíkaté spojky postupně snižují polohu maxim. Na rozdíl od předchozích experimentů bez M^{2+} (viz oddíl 5.2) se však nepodařilo jednoznačně prokázat přítomnost „uzamčené“ β -CD na ose ligandu **10** – v ^1H NMR spektrech chybí charakteristický signál anomerního H-atomu kolem 5,0 ppm, který by potvrdil přítomnost β -CD v režimu pomalé výměny (**Obrázek 82**).



Obrázek 82 ^1H NMR spektra titrace směsi **10**, 10 ekv. β -CD, 1 ekv. CuCl_2 roztokem CB7.

Interakce látky **10** s NiCl_2 , s přebytkem $\beta\text{-CD}$ a s přebytkem CB7

Ve výchozím stavu titrace jsou patrné již dříve popsané projevy interakcí mezi ligandem **10**, Ni^{2+} a $\beta\text{-CD}$ – signály adamantanových protonů jsou posunuty směrem k nižšímu poli a v aromatické oblasti jsou zřetelné známky komplexace kovového centra s bipyridinovým jádrem. Postupnými přidávkami CB7 dochází, obdobně jako v případě systému s Cu^{2+} , k posunu signálů adamantanových protonů (a, b, c) směrem k vyššímu poli, což odpovídá postupné náhradě $\beta\text{-CD}$ makrocikly CB7 na terminálních pozicích. Signály čtyřuhlíkaté spojky (g, h) se v průběhu titrace rozšiřují a štěpí na několik signálů s nižší polohou maxim. Na rozdíl od analogických experimentů bez kovu se ani zde nepodařilo jednoznačně prokázat přítomnost „uzamčené“ $\beta\text{-CD}$ na ose ligandu – v ^1H NMR spektrech chybí charakteristický signál anomerního H-atomu kolem 5,0 ppm (**Obrázek 83**).

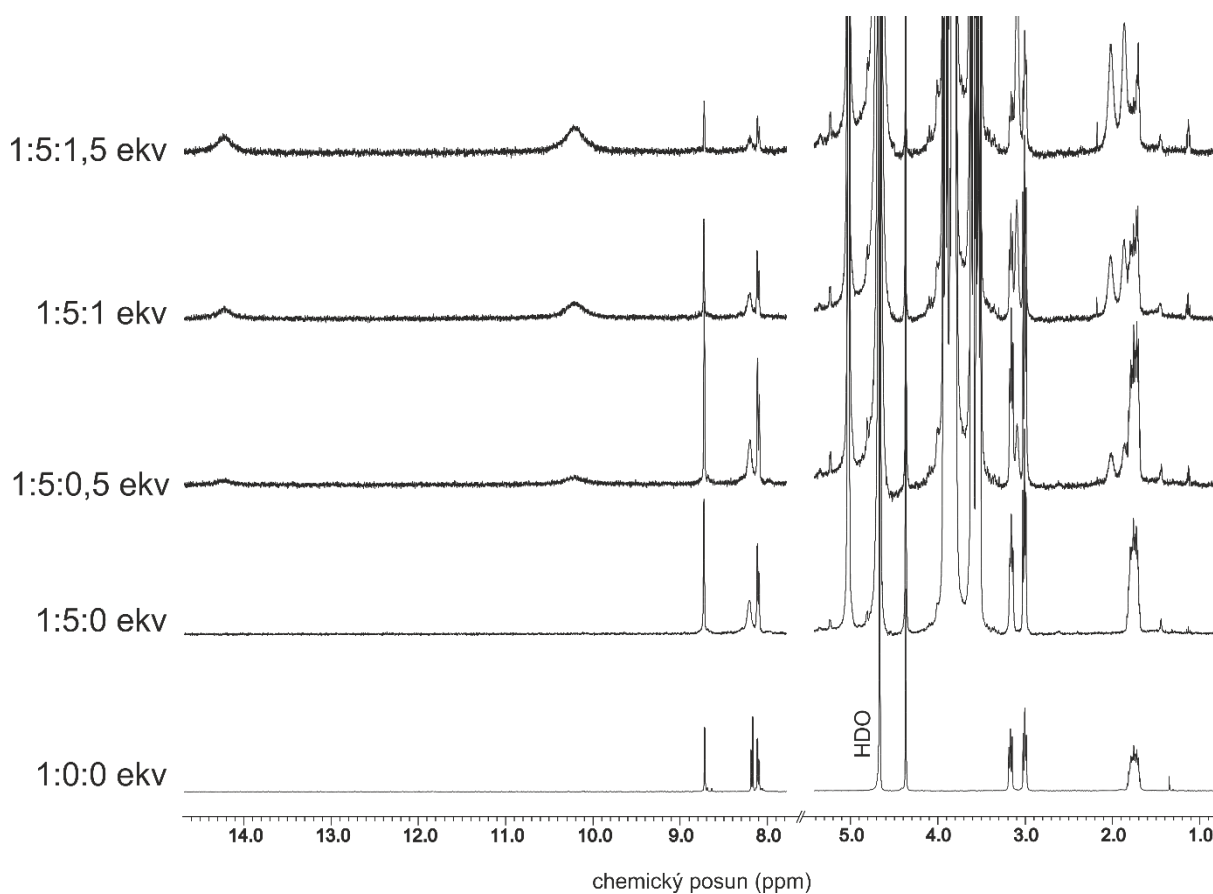


Obrázek 83 ^1H NMR spektra titrace směsi **10**, 10 ekv. $\beta\text{-CD}$, 1 ekv. NiCl_2 roztokem CB7.

Modelový ligand **8** byl také zařazen do zkoumání vícesložkových systémů. Cílem těchto následujících experimentů bylo především ověřit, zda pořadí přidávků jednotlivých komponent (ligand – β -CD – kation) ovlivňuje výsledné uspořádání systému a zda ke komplexacím může docházet nezávisle na předchozí vazbě jedné ze složek. Pro tyto experimenty byl vybrán pouze Ni^{2+} .

Interakce látky **8** s β -CD a s NiCl_2

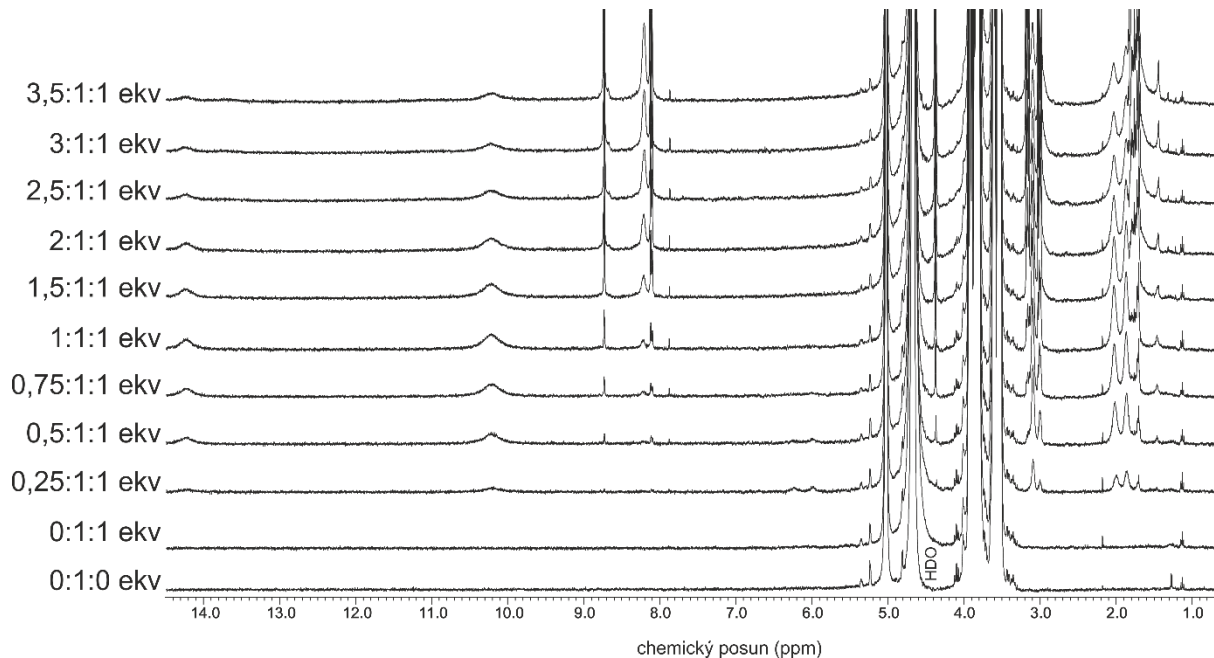
Titrace modelového ligandu **8** β -CD je již popsána na str. 69 a 70. Do systému ligandu **8** a 5 ekv. β -CD byl přidáván roztok NiCl_2 po 0,5 ekv. Již první přídavek vedl ke změnám ve spektru – v aromatické oblasti se objevily nové, rozšířené signály kolem 10 a 14 ppm, odpovídající interakci Ni^{2+} s bipyridinovým centrem. Současně se objevují mírně posunuté, rozšířené a zaoblené signály v oblasti alifatických protonů butylového řetězce okolo 1,8–2,0 ppm, což naznačuje i částečné ovlivnění této části molekuly koordinací kovu. Další přídavky NiCl_2 již zásadně nemění charakter spekter, což naznačuje ustavení rovnováhy mezi volným a Ni-komplexovaným ligandem (**Obrázek 84**).



Obrázek 84 ^1H NMR spektra titrace směsi **8**, 5 ekv. β -CD roztokem NiCl_2 .

Interakce β -CD s NiCl_2 a s látkou **8**

Oproti spektru samotného β -CD, nevykazuje směs NiCl_2 s β -CD žádné změny v ^1H NMR spektru, což naznačuje, že mezi těmito dvěma složkami nedochází k významné ^1H NMR pozorovatelné interakci. Při postupném přidávání ligandu **8** (v rozmezí 0,25–3,5 ekv.) se však spektra mění již od prvního přídavku. Objevují se nové, dosti rozšířené a zaoblené signály v oblasti kolem 10 a 14 ppm, odpovídající koordinaci Ni^{2+} k bipyridinovému centru ligandu **8**. Změny jsou patrné také v oblasti alifatických protonů butylového řetězce, kde se při 1,8–2,0 ppm objevují široké, mírně posunuté signály, což naznačuje částečné ovlivnění této části molekuly koordinačním procesem s Ni^{2+} . Až do přibližně 0,5 ekv. ligandu **8** je ve spektru patrná převaha komplexované formy a volný ligand není téměř detekovatelný. Při dalším přídavku se začínají objevovat signály volného ligandu, zatímco intenzita signálů odpovídajících komplexu zůstává víceméně konstantní. To ukazuje na vznik komplexu s pevně danou stechiometrií. Mírné rozšíření jednoho aromatického signálu bipyridinové části (cca 8,2 ppm), pozorované již u dvousložkového systému ligand **8** + β -CD (viz výše), naznačuje slabší interakci s cyklodextrinem, která však na koordinační rovnováhu Ni^{2+} –ligand nemá zásadní vliv (**Obrázek 85**).

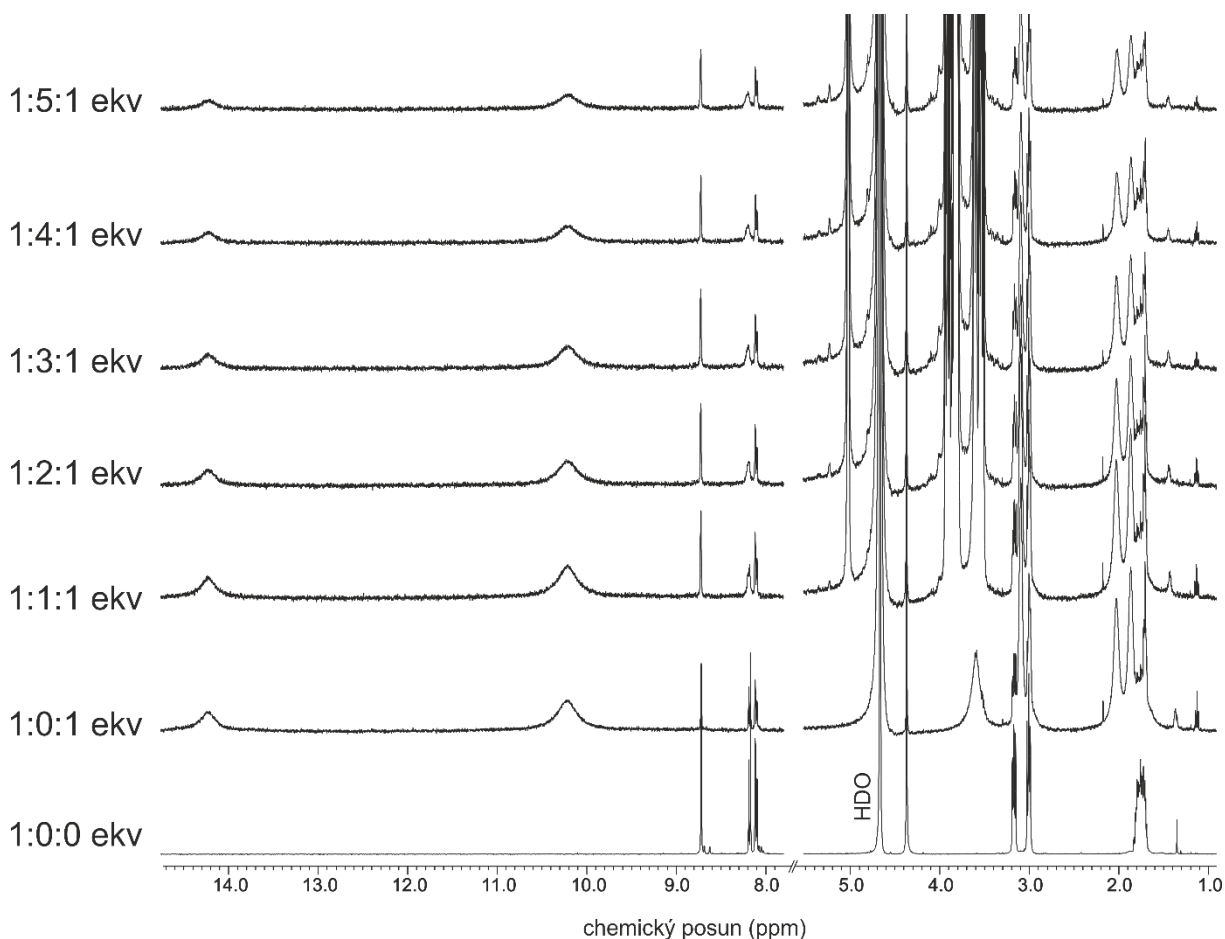


Obrázek 85 ^1H NMR spektra titrace směsi 1 ekv. β -CD a 1 ekv. NiCl_2 roztokem látky **8**. Pořadí hodnot ekvivalentů u jednotlivých spekter odpovídá pořadí **8**: β -CD: NiCl_2 .

Interakce látky **8** s NiCl_2 a s $\beta\text{-CD}$

Po přidavku jednoho ekvivalentu NiCl_2 k ligandu **8** se v ^1H NMR spektru objevují charakteristické nové signály kolem 10 a 14 ppm, odpovídající komplexaci kationtu Ni^{2+} na bipyridinové centrum a dále rozšířené signály v oblasti butylového řetězce. Část ligandu přitom zůstává v nekomplexované formě, jak naznačuje přítomnost původních signálů ligandu **8**.

Postupné přidavky $\beta\text{-CD}$ v rozmezí 1–5 ekvivalentů nevedou k zásadním změnám v poloze ani tvaru signálů komplexu. Jediným patrným efektem je mírné zaoblení aromatického signálu bipyridinového jádra přibližně při 8,2 ppm, které se stává zřetelným od přibližně 2–3 ekvivalentů $\beta\text{-CD}$ (**Obrázek 86**). Tento jev odpovídá slabší interakci mezi $\beta\text{-CD}$ a částí ligandu v okolí bipyridinového centra, obdobně jako bylo pozorováno i v předchozích systémech.



Obrázek 86 ^1H NMR spektra titrace směsi **8** a 1 ekv. NiCl_2 roztokem $\beta\text{-CD}$. Pořadí hodnot ekvivalentů u jednotlivých spekter odpovídá pořadí **8**: $\beta\text{-CD}$: NiCl_2 .

INTERAKCE S MAKROCYKLY A S KATIONTY KOVŮ ZÁROVEŇ – SHRNUTÍ

Kombinace makrocyclických hostitelů a kovových kationtů s bipyridinovými ligandy umožnila detailní pohled na jejich vzájemné ovlivňování a stabilitu vznikajících komplexů. Výsledky prokázaly, že ligand **10** si i v přítomnosti β -CD zachovává schopnost koordinovat kovy, přičemž k nejvýraznějším interakcím dochází s ionty Cu^{2+} a Ni^{2+} . β -CD se ve všech případech váže dle očekávání na adamantanové konce ligandu, zatímco bipyridinové jádro zůstává dostupné pro koordinaci kovového centra. Zavedení druhého hostitele, CB7, vedlo k náhradě β -CD na terminálních pozicích ligandu.

Experimenty s modelovým ligandem **8** potvrdily obdobné trendy a ukázaly, že pořadí přidávaných složek nemá zásadní vliv na výsledné uspořádání systému – koordinace Ni^{2+} na bipyridinovém jádru probíhá spolehlivě i v přítomnosti β -CD. Celkově lze tedy konstatovat, že kovové centrum a makrocykly interagují s ligandy a tyto interakce spolu mohou koexistovat bez výrazné kompetice. To představuje důležitý předpoklad pro následnou konstrukci hierarchicky složitějších supramolekulárních systémů.

8. Funkční testování supramolekulárních systémů

Po studiu jednotlivých hostitel–host interakcí, reorganizací supramolekulárních komplexů a interakcí ligandů s kationty kovů byla pozornost dále zaměřena na možnost využít tyto poznatky k vytvoření funkčního systému s katalytickou aktivitou. Zatímco v předchozích částech práce byly sledovány převážně rovnovážné, avšak i dynamicky se měnící systémy (reorganizací vyvolanou přidávkem dalších makrocyclů či kompetitoru), cílem této části projektu bylo posunout tyto principy ještě o úroveň dále – k systému, který nejenže může měnit své uspořádání, ale zároveň vykonává chemickou funkci.

Inspirací pro návrh takových systémů jsou především práce amerického chemika Ronalda Breslowa, který již v druhé polovině 20. století prokázal, že základní principy enzymové katalýzy lze napodobit i mimo biologické prostředí.⁹¹ Breslow demonstroval, že vhodně uspořádaný hydrofobní mikroprostor v kombinaci s polárními skupinami nebo kovovými centry může vést ke zvýšení rychlosti reakcí, typicky u hydrolytických procesů, proto jeho práce položily základ konceptu umělých hydroláz.

V návaznosti na tento přístup byla pro experimentální část této práce zvolena právě hydrolýza esterů, jako modelová reakce pro testování katalytické aktivity připravených systémů. Hydrolytické reakce představují v oblasti biomimetické katalýzy ideální volbu z několika důvodů:

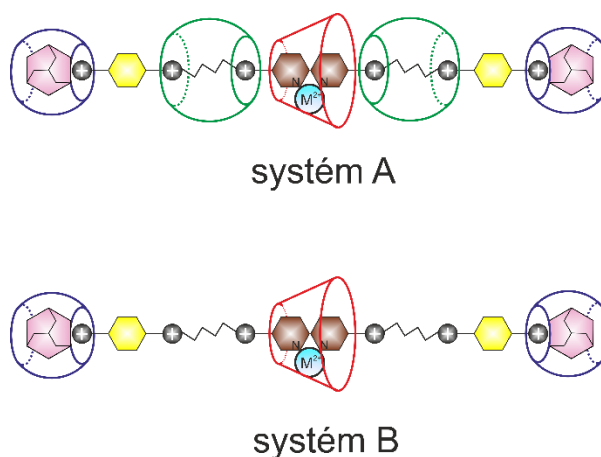
- mají dobře prostudovaný mechanismus založený na aktivaci karbonylu a následném nukleofilním ataku,
- umožňují poměrně jednoduché a přesné sledování průběhu reakce (např. ¹H NMR spektroskopie, nebo UV-Vis spektroskopie),
- probíhají za mírných podmínek a ve vodě, což odpovídá prostředí přírodních enzymů,
- mají jistou biologickou relevanci, protože hydrolýzy esterů jsou klíčové pro řadu biochemických procesů (lipázy, fosfatázy, karboxyesterázy, apod.).

Z hlediska laboratorních experimentů tak hydrolýza esterů představuje vhodnou reakci, která by mohla prokázat účinnost navrženého umělého enzymu. Cílem této části práce je tedy ověřit, zda lze navržený multikomponentní

supramolekulární systém využít jako funkční analog katalytického centra enzymu.

Od každé složky systému se očekává nějaká funkce: ligand **10** slouží jako nositel vazebných míst pro makrocikly i kovový kation, β -CD hostí bipyridinovou jednotku a může tak usměrňovat interakci se substrátem, CB7 a CB8 různou měrou „uzamykají“ jednotku β -CD na ose ligandu **10** a očekává se, že se budou podílet na regulaci aktivity systému. Kovový kation koordinovaný na bipyridinové jednotce je uvažován jako Lewisova kyselina aktivující karbonyl substrátu (esteru) pro adici nukleofilu (vody).

Jak již bylo popsáno výše, kombinací těchto uvedených komponent lze připravit dva různé supramolekulární systémy, jeden s CB8, druhý bez něj (**Obrázek 87**).

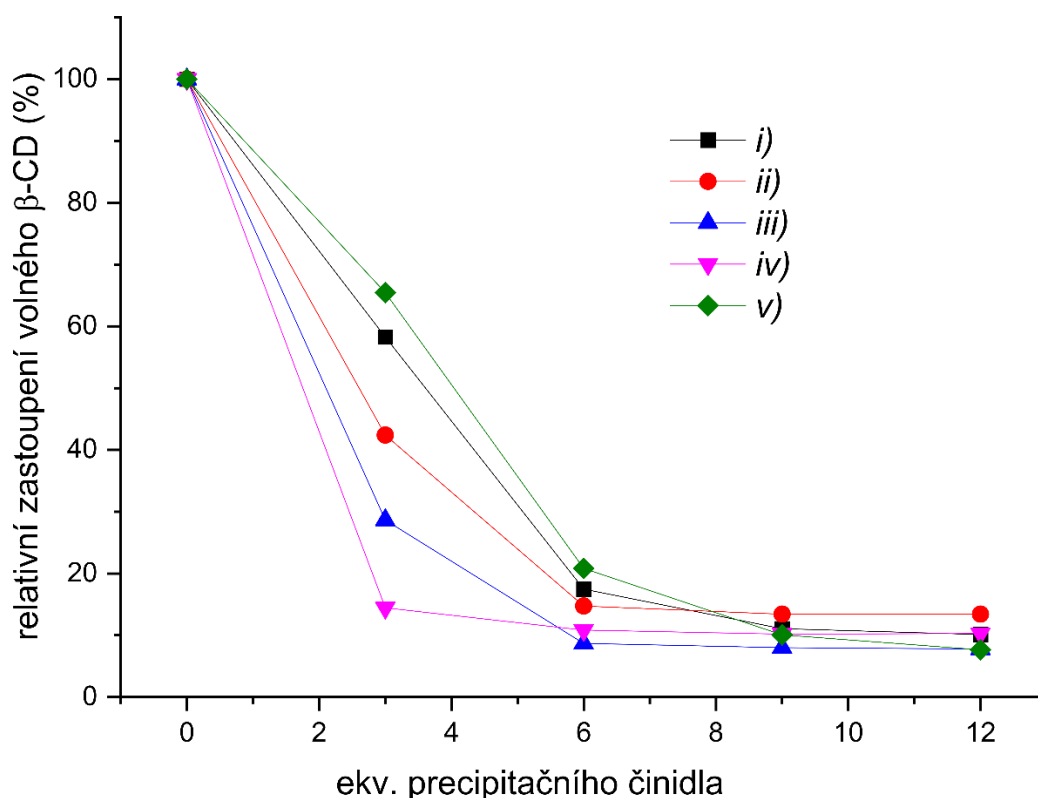


Obrázek 87 Možnosti uspořádání supramolekulárních systémů pro studium katalýzy.

Praktická příprava těchto systémů je podobná. Nejprve byl ligand **10** rozpuštěn v roztoku β -CD (10 ekv., eventuálně 20 ekv.), který obsadil terminální adamantanové jednotky ligandu **10** a částečně interagoval s bipyridinovou jednotkou. Při přípravě systému A byl následně přidán roztok CB8 (2,2 ekv.) Následně byl postup stejný pro oba systémy: byl přidán roztok CB7 (2,2 ekv.), jenž nahradil β -CD na krajních adamantanových pozicích a zároveň „uzamkl“

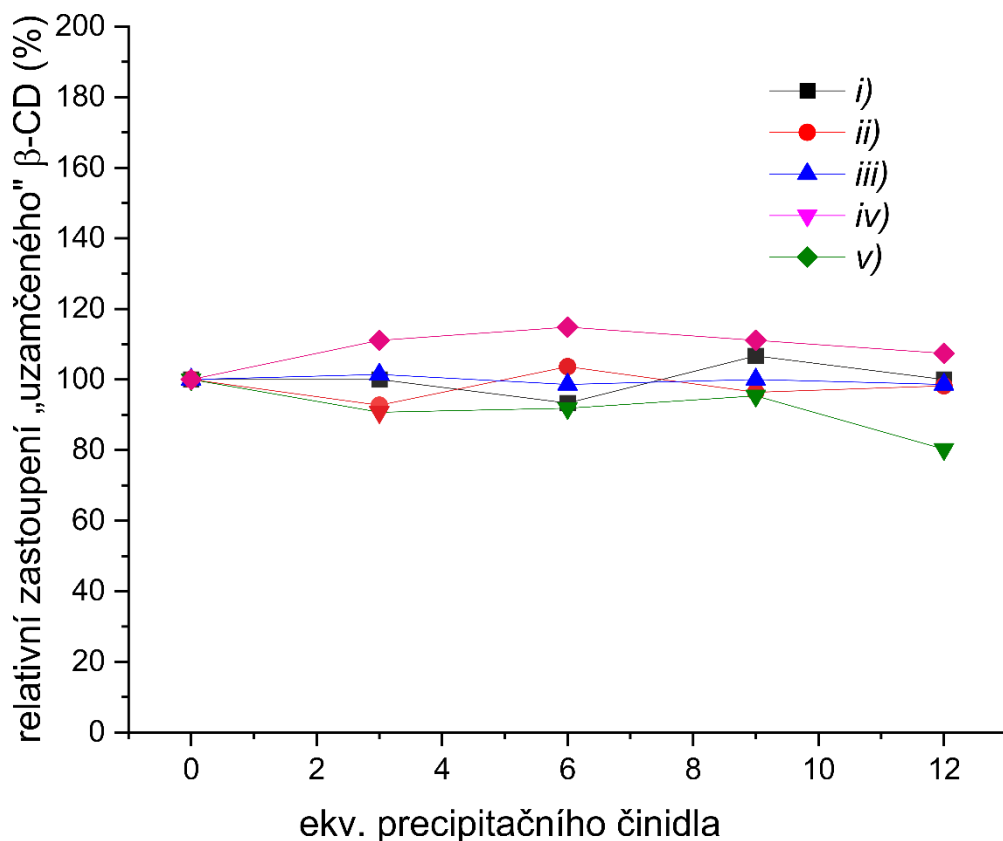
jednu jednotku β -CD (a v případě systému A také dvě jednotky CB8) na ose ligandu **10**, čímž vznikla (pseudo)rotaxanová struktura.

V takto připravených roztocích se však společně s žádanou pseudorotaxanovou formou (A nebo B) nacházel i zbytek volného, nyní již nežádoucího β -CD (na začátku bylo použito 10 ekv., potažmo 20 ekv.). Jeho množství v roztoku se podařilo poměrně výrazně snížit postupnými přidávkami cyklohexanu, nebo toluenu. Tato nepolární rozpouštědla tvoří totiž s β -CD ve vodě téměř nerozpustný inkluzní komplex, který byl po „uzrání“ odstraněn z roztoku systému A nebo systému B filtrací. Nicméně srážení nebylo nikdy zcela kvantitativní, tj. jistý podíl volného β -CD se v roztoku, dle ^1H NMR spekter, nacházel i po přidání přebytku precipitačního činidla (**Obrázek 88**; ekvivalenty precipitačního činidla na ose x jsou uvedeny vůči celkové navážce β -CD).



Obrázek 88 Vývoj obsahu volného β -CD při jeho srážení precipitačním činidlem (PČ) za různých podmínek. i) systém B, 10 ekv. β -CD, PČ: cyklohexan; ii) systém B, 10 ekv. β -CD, PČ: toluen; iii) systém B, 20 ekv. β -CD, srážedlo: PČ; iv) systém B, 20 ekv. β -CD, PČ: toluen; v) systém A, 20 ekv. β -CD, PČ: cyklohexan.

Při tomto procesu pravděpodobně nedochází ke srážení žádných jiných komponent systému. Důležité je také to, že se dle ^1H NMR srážením nikterak zásadně nemění obsah β -CD „uzamčeného“ na ose ligandu **10** (Obrázek 89).



Obrázek 89 Vývoj obsahu „uzamčeného“ β -CD při jeho srážení precipitačním činidlem (PČ) za různých podmínek. i) systém B, 10 ekv. β -CD, PČ: cyklohexan; ii) systém B, 10 ekv. β -CD, PČ: toluen; iii) systém B, 20 ekv. β -CD, PČ: cyklohexan; iv) systém B, 20 ekv. β -CD, PČ: toluen; v) systém A, 20 ekv. β -CD, PČ: cyklohexan.

Po odfiltrování pevného komplexu precipitační činidlo@ β -CD bylo nutné stanovit skutečnou koncentraci látek v roztoku filtrátu. To bylo provedeno v jeho alikvotním podílu pomocí ^1H NMR experimentu s kyselinou maleinovou jako interním standardem. Na základě experimentálně zjištěné koncentrace ligandu **10** v získaném filtrátu byl přidán roztok 1 ekvivalentu příslušné kovové soli MCl_2 , jejíž volba odráží výsledky experimentů uvedené v kapitolách 6 a 7 (nejčastěji se jednalo o CuCl_2). Kov byl vždy přidáván až jako poslední (resp. předposlední,

vzhledem k substrátu) komponenta kvůli tomu, aby bylo možné provést zmíněné ^1H NMR stanovení koncentrace ligandu **10** a rozpoznání přítomnosti a množství komplexovaného β -CD. Kationty paramagnetických kovů by zcela jistě znemožňovaly provedení přesného ^1H NMR experimentu.

Kation se i zde s velkou pravděpodobností koordinoval k bipyridinové centrální jednotce ligandu **10** (patrné ^1H NMR změny potvrzující interakce).

Finálním krokem byl přidavek substrátu, který zároveň definoval začátek měření času (t_{mixing}) při sledování jeho hydrolýzy. Výběr vhodného modelového substrátu podléhal několika kritériím: i) ester musí být dobře rozpustný ve vodném prostředí (typicky malá organická molekula nebo látka s nábojem), ii) musí podléhat hydrolýze v experimentálně vhodném časovém rámci (minuty až hodiny pro první $\tau_{1/2}$), aby bylo možné pomocí ^1H NMR spektroskopie sledovat časový vývoj systému a porovnat vliv složení katalytické směsi, iii) musí poskytovat produkty s jednoznačně rozlišitelnými signály v ^1H NMR spektrech bez překryvu s ostatními látkami v systému (ligand, makrocykly), iv) alternativně musí ve své struktuře obsahovat vhodné chromofory pro jednoznačné sledování pomocí UV-Vis spektroskopie.

Hydrolýzy byly monitorovány při různých teplotách, jak při teplotě laboratoře (20–25 °C), tak při řízené teplotě na 30 °C, 35 °C, nebo 45 °C.

Dalším testovaným parametrem bylo reakční prostředí. Substráty byly zkoumány pomocí ^1H NMR spektroskopie buď v nepufrovaném D_2O , tedy v roztoku všech komponent bez jakékoli úpravy pH, nebo naopak v pufrovaných roztocích připravených v D_2O . Byly připraveny a použity roztoky pufrů fosfátového (pH 7,14), boraxového (pH 7,31) a TRIS pufru (pH 7,26).^p Koncept práce počítá s tím, že hydrolýzu esteru by měl Lewisovsky katalyzovat vybraný M^{2+} , nikoliv „extrémní kyselost, či zásaditost prostředí“. Zároveň je nutno dodat, že pH celého systému teoreticky nesmí být vyšší než cca 8, aby byla zajištěna protonace sekundárních aminoskupin v ligandu **10**, což z jeho jednotlivých částí činí atraktivní vazebné motivy pro cucurbit[n]urily (základní podmínka konceptu

^p Fosfátový pufr (dle Sørensen) se skládá z KH_2PO_4 a Na_2HPO_4 . Boraxový pufr (dle Palitzsche) se skládá z $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, H_3BO_3 a NaCl . TRIS pufr je roztok tris(hydroxymethyl)aminomethanu okyselený HCl , resp. DCl .

práce). Důležitým parametrem pro sledování kinetiky vybraných procesů je také celková absolutní molární koncentrace jednotlivých komponent.

Součástí experimentální strategie bylo také zkoumání vlivu jednotlivých komponent systému na hydrolýzu substrátu, a tak byly zároveň s ostatními prováděny kontrolní experimenty (slepé experimenty), v nichž byly některé složky (ligand, makrocykly, kovový ion nebo jejich kombinace) záměrně vynechány.

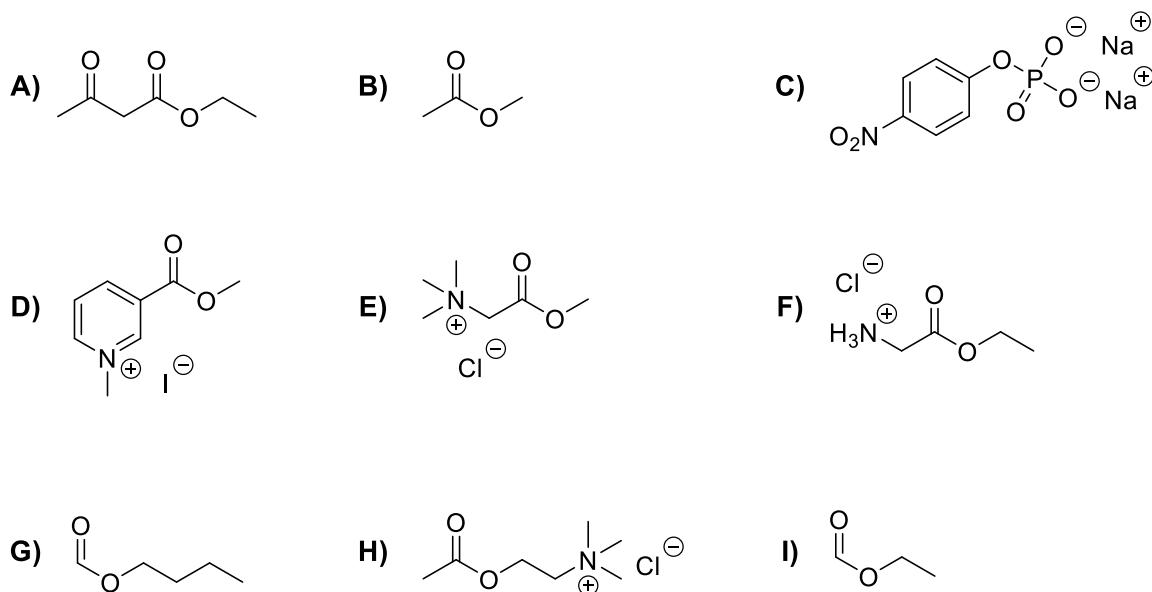
Počet možných kombinací experimentálních podmínek je u takových vícesložkových systémů enormní. Z praktických a časových důvodů proto nebylo možné všechny z nich experimentálně otestovat. Zmíněným slepým experimentům byla zpočátku věnována větší pozornost, umožňují totiž nahlédnout na obecnou stabilitu samotného esteru vůči hydrolýze při různých teplotách, v různém prostředí a v závislosti na přítomnosti dalších komponent v systému.

Tyto ^1H NMR experimenty byly vedeny a analyzovány dvěma způsoby. V tom prvním byla NMR kyveta se vzorkem ihned po přípravě analyzována s využitím JEOL NMR metody „kinetics“, tedy byla vložena do temperovaného NMR spektrometru na vyšší desítky hodin (bez vysunutí). Průběh analýzy byl nastaven na automatické měření ^1H spekter vzorku každých 30 minut. Druhý způsob představuje diskontinuální sledování: připravený vzorek byl ve stanovených intervalech vyjmut z temperované lázně, rychle proměřen jednoduchým ^1H NMR experimentem a následně byl vzorek vrácen do temperované lázně zpět. Tento postup je vhodný a byl zvolen zejména pro dlouhodobá sledování trvající dny až měsíce.

Data získaná metodou JEOL NMR „kinetics“ byla vyhodnocena pomocí softwaru JEOL Delta integrací jednoho vybraného signálu napříč všemi naměřenými spektry. Počáteční obsah výchozího esteru byl stanoven normalizací jeho integrální hodnoty na 100 % při čase t_0 (mezi časem přidání substrátu ke katalyzátoru t_{mixing} a časem změření prvního spektra t_0 nutně uplynula doba řádově v minutách; vzhledem k vyhodnocení však spíše zanedbatelná). Konverze substrátu pak byla následně vyjádřena porovnáním jeho integrálu v daném časovém bodě s touto počáteční hodnotou. V případech, kdy to bylo vhodnější nebo nezbytné, byl obdobným způsobem sledován i nárůst integrálních hodnot signálů produktů (např. ethanol, cholin). Jak již bylo zmíněno, součástí

experimentálního plánu byla také celá řada kontrolních, tzv. slepých experimentů, jejichž účelem bylo zjistit, jakou měrou přispívají k hydrolýze jednotlivé složky komplexních supramolekulárních systémů. Tyto experimenty byly provedeny za obdobných podmínek, pouze s vynecháním jedné nebo více komponent: ligandu **10**, kovového iontu, β -cyklodextrinu, CB7, CB8, či jejich kombinací. Umožnily tak jednoznačně odlišit vlastní katalytický efekt výsledného systému od spontánní hydrolýzy substrátu či od příspěvku jednotlivých látek v roztoku.

V rámci této práce bylo v různé míře otestováno několik různých esterových substrátů, (**Obrázek 90**) a to za široké škály experimentálních podmínek (teplota, reakční prostředí a složení systému). Jednalo se o: A) ethyl-acetoacetát, B) methyl-acetát, C) 4-nitrofenyl-fosfát disodný, D) 3-(methoxykarbonyl)-*N*-methylpyridinium-jodid, E) methyl-*N,N,N*-trimethylglycinát chlorid, F) ethyl-glycinát hydrochlorid, G) butyl-formiát, H) acetylcholin chlorid a I) ethyl-formiát. Řada z nich se však z různých důvodů ukázala jako nevhodné substráty pro sledování průběhu jejich hydrolýzy.



Obrázek 90 Přehled struktur testovaných esterů.

A) Ethyl-acetoacetát byl vybrán za účelem otestování vlivu přítomnosti α,β -dikarbonylového systému, který by mohl působit jako bidentátní ligand

a efektivněji se koordinovat k Cu^{2+} , než jednoduché estery. Bylo totiž předpokládáno, že by toto mohlo hydrolyzu ethyl-acetoacetátu akcelarovat. Již v ^1H NMR spektru samotného ethyl-acetoacetátu v D_2O však bylo pozorováno významné zastoupení enol formy, jenž vedlo k celkově hůře interpretovatelnému spektru. Po přidavku CuCl_2 do roztoku nedošlo k žádným ^1H NMR pozorovatelným změnám vlivem koordinace. Zároveň u tohoto vzorku s Cu^{2+} nebyl ani po 120 hodinách při 45°C pozorován významný úbytek esteru. Vzhledem ke kombinaci pomalé hydrolyzy a spektrální nejednoznačnosti způsobené tautomerizací se tento substrát ukázal jako nevhodný pro další experimenty.

B) Methyl-acetát byl zařazen jako jednoduchý, ve vodě rozpustný ester. Po přidavku CuCl_2 docházelo k jeho pozvolné hydrolyze, po 9 dnech při 45°C bylo přeměněno zhruba 50 % substrátu. Celkově průběh odpovídá kontinuální, ale pomalé hydrolyze.

C) 4-Nitrofenyl-fosfát disodný byl zvolen jako atraktivní kandidát díky přítomnosti chromoforu v produktu jeho hydrolyzy, 4-nitrofenolu, což by v ideálním případě umožnilo sledovat průběh hydrolyzy jednoduše pomocí UV-Vis spektroskopie. Nejprve však byla testována jeho stabilita a reaktivita v přítomnosti CuCl_2 pomocí ^1H NMR při různých teplotách. V D_2O probíhala hydrolyza velmi pomalu: při laboratorní teplotě dosahovala po zhruba třech týdnech jen cca 5–6% konverze, teprve při 45°C bylo za stejnou dobu dosaženo přibližně 40% přeměny. I přes zajímavý potenciál sledovat tuto hydrolyzu pomocí UV-Vis se ukázalo, že reakce je příliš pomalá. Při pokusu převést systém do pufru ($\text{pH} \sim 7$) docházelo po smíchání 4-nitrofenyl-fosfátu s kterýmkoliv z uvažovaných pufrů k okamžitému vzniku sraženiny. Tato precipitace znemožnila jakékoliv spolehlivé NMR nebo UV-Vis sledování. Z těchto důvodů byl 4-nitrofenyl-fosfát disodný pro další experimenty vyřazen, přestože z hlediska detekce by jinak šlo o velmi zajímavý substrát.

D) 3-(Methoxykarbonyl)-*N*-methylpyridinium-jodid se ukázal jako nevhodný substrát již v přípravné fázi experimentů. Po smíchání jeho vodného roztoku s roztokem CuCl_2 totiž docházelo okamžitě k ne zcela očekávané nežádoucí redoxní reakci: měďnatý kation oxidoval jodidový anion za uvolnění elementárního jódu, za současné tvorby nerozpustné měďné soli, což zcela

znehodnotilo připravený vzorek. Z tohoto důvodu byl tento ester pro další studium vyřazen.

E) Methyl-*N,N,N*-trimethylglycinát chlorid je ve vodě dobře rozpustný kationtový ester s malou molekulou, avšak v přítomnosti CuCl_2 byl velmi stabilní vůči hydrolýze. Ani při 45 °C a více než měsíčním sledování nedocházelo dle ^1H NMR k jakékoliv detekovatelné konverzi tohoto permanentně nabitého substrátu.

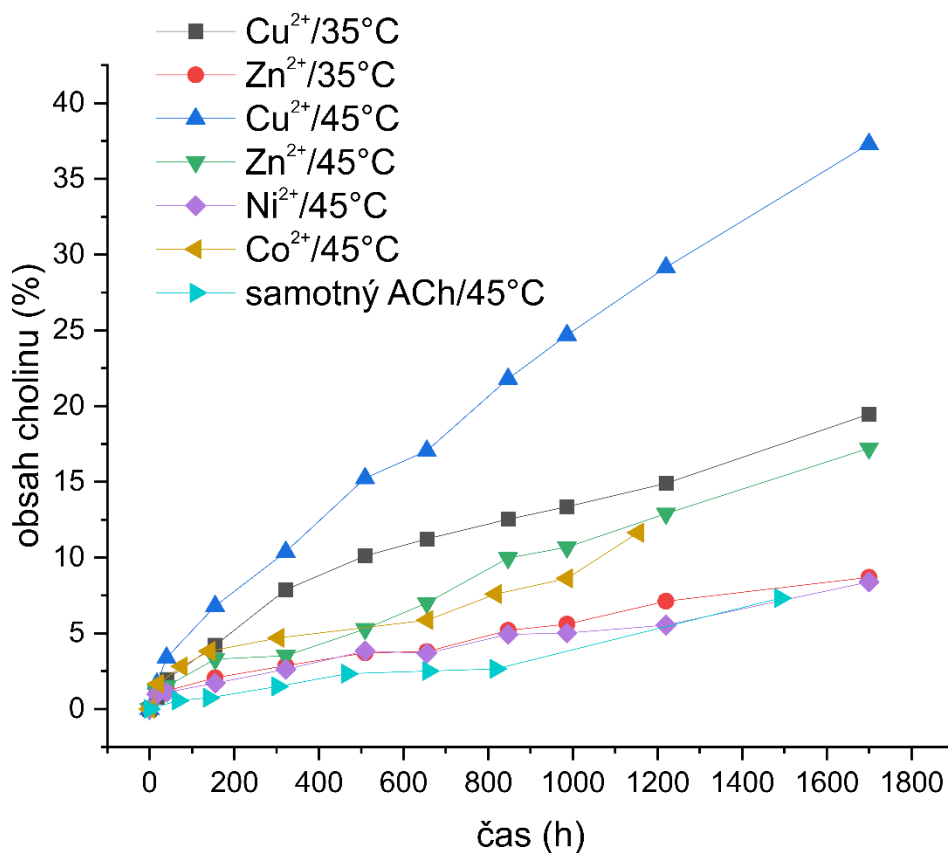
F) U ethyl-glycinátu hydrochloridu sledovaného v přítomnosti CuCl_2 při 45 °C byla hydrolýza také velmi pomalá. Osmý den činila konverze několik jednotek procent. Po více než 5 týdnech bylo hydrolyzováno přibližně 40 % substrátu. Takto pomalý rozklad činí z ethyl-glycinátu nevhodného kandidáta pro detailní kinetické studie v rámci této práce.

G) U butyl-formiátu byla hydrolýza, v porovnání s předchozími estery, rychlejší. V nepřítomnosti kovu při laboratorní teplotě probíhal rozklad spíš pozvolna – během prvních 24 h vzniklo cca 3 % butanolu, po 4–5 dnech se konverze pohybovala okolo 10 %. Přídavek CuCl_2 hydrolýzu znatelně urychlil: při laboratorní teplotě bylo po 24 h rozštěpeno asi 17 % substrátu, zatímco při 45 °C dosahovala přeměna během jednoho dne přibližně 75 %. Je však nutno dodat, že butyl-formiát není zcela mísitelný s vodou, což může do jisté míry zkreslovat výsledky.

H) Samotný acetylcholin chlorid v prostředí D_2O hydrolyzuje mimořádně pomalu, a to i při 45 °C. Po zhruba 140 hodinách je detekováno méně než 1 % cholinu a ani po 300 hodinách nepřesahuje jeho obsah 1,5 %. Po více než zhruba 800 hodinách zůstává obsah cholinu pod 3 %. Po dvou měsících hydrolyzovalo přibližně 7 % substrátu. Tyto hodnoty dobře ilustrují, že spontánní rozklad acetylcholinu v čistém vodném prostředí je zanedbatelný.

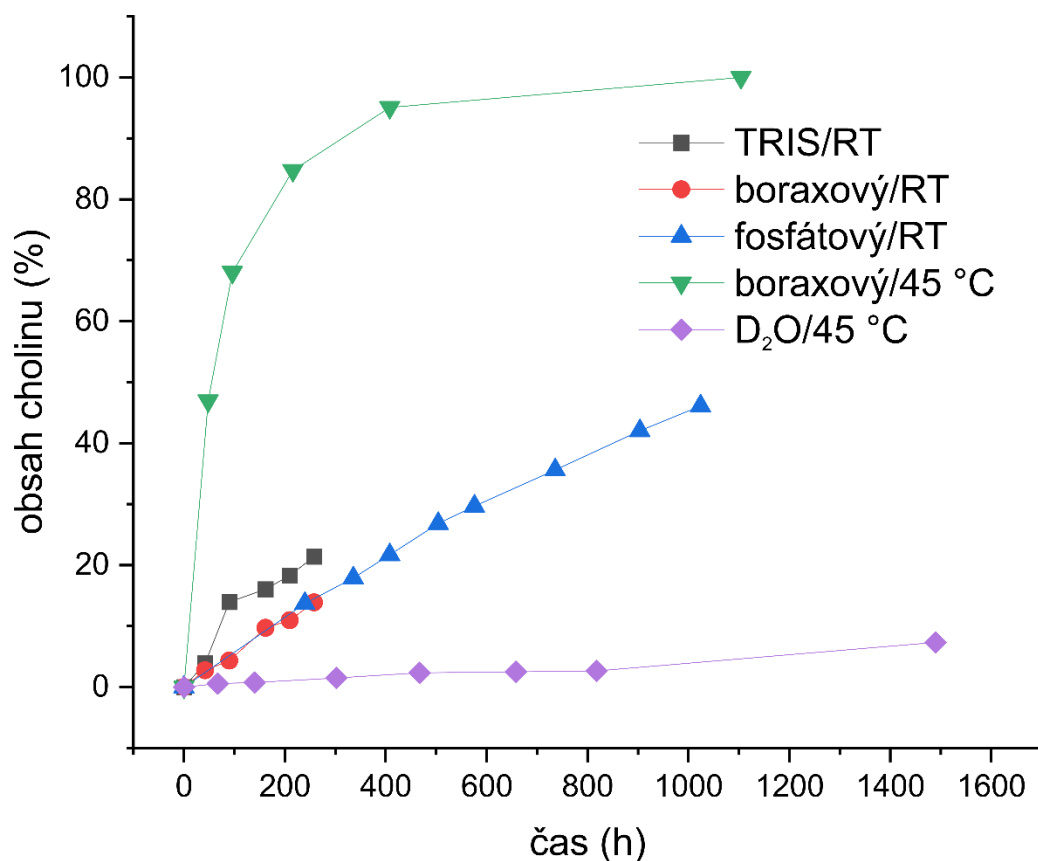
Jeho hydrolýza v přítomnosti samotných kovových iontů (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+}) probíhala poměrně pomalu, avšak mezi jednotlivými kovy byly patrné výrazné rozdíly. Nejvyšší aktivitu vykazoval Cu^{2+} , přičemž zvýšení teploty z 35 na 45 °C vedlo k téměř dvojnásobnému urychlení. Zn^{2+} při 45 °C vykazoval pouze mírný katalytický efekt, srovnatelný s Co^{2+} . Ni^{2+} , byť při 45 °C, byl při hydrolýze acetylcholinu nejméně účinný (**Obrázek 91**). Acetylcholin chlorid byl

první ester, u kterého byly navzdory ne zcela vyhovující rychlosti hydrolýzy při předběžných analýzách provedeny i komplexnější experimenty.



Obrázek 91 Vývoj obsahu cholinu při hydrolýze acetylcholinu (4 mM) v D_2O za různých podmínek ($c_{\text{MCl}_2} = 1\text{mM}$).

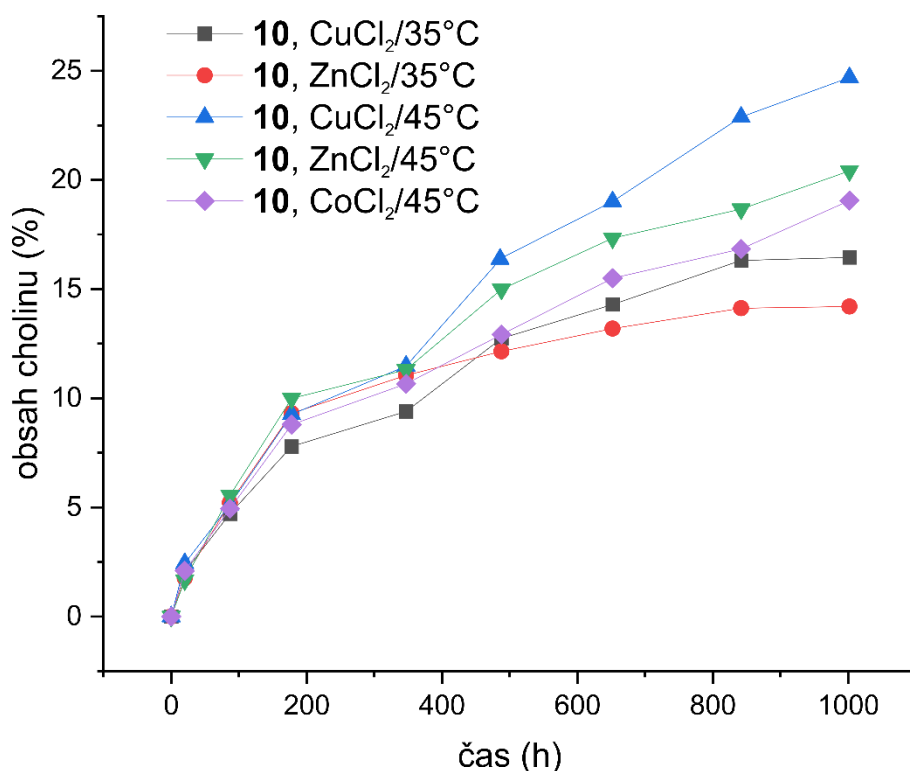
V porovnání s pokusy s kovovými ionty a s hydrolýzou samotného acetylcholinu v prostředí D_2O se ukázalo, že použití pufrů ovlivňuje rychlost hydrolýzy substrátu výrazněji, než by odpovídalo jejich běžné roli v udržování pH. Rychlosti hydrolýz substrátu v jednotlivých pufrech (fosfátový, boraxový, TRIS) se mezi sebou navzájem při laboratorní teplotě lišily jen mírně (10–15 % konverze po zhruba 8 dnech). Zásadní zlom však nastal po zvýšení teploty experimentu. V boraxovém pufru při 45°C hydrolýza dramaticky zrychlila (např. 47 % po 2 dnech, 68 % po 4 dnech) (**Obrázek 92**).



Obrázek 92 Vývoj obsahu cholinu po rozpuštění acetylcholinu (4 mM) v příslušných pufrch za různé teploty.

Po koordinaci kovového iontu k bipyridinové jednotce ligandu **10** se ukázalo, že rychlost hydrolýzy acetylcholinu v tomto komplexnějším systému se oproti systémům s volně rozpuštěnými, resp. nekoordinovanými kovy mírně zvýšila, avšak zůstává celkově nízká.

Při 35 °C poskytly komplexy ligandu **10** s Cu^{2+} a Zn^{2+} srovnatelné výsledky – po zhruba dvou týdnech bylo dosaženo pouze 9–11% konverze na cholin, což je jen mírné zrychlení oproti pokusům bez ligandu **10**. Teplotní zvýšení na 45 °C vede u všech koordinovaných kovů ke zrychlení hydrolýzy substrátu, avšak rozdíly mezi jednotlivými ionty jsou stále spíše menší. Nejaktivnější je ve sledované reakci komplex ligandu **10** s Cu^{2+} , který dosahuje nejvyšší konverze v rámci celého experimentu, následovaný komplexem s Zn^{2+} a mírně pomalejším Co^{2+} (**Obrázek 93**).



Obrázek 93 Vývoj obsahu cholinu při hydrolýze acetylcholinu (4 mM) v D₂O za různých podmínek ($c_{10} = c_{MCl_2} = 1\text{mM}$).

V další fázi práce byly testovány plně sestavené supramolekulární systémy, v nichž jsou přítomny všechny komponenty navrženého umělého enzymu: ligand **10**, β -CD, CB7 a potažmo CB8, kovový ion (typicky Cu^{2+}) koordinovaný k centrální bipyridinové jednotce a substrát acetylcholin chlorid. Systém A odpovídá variantě s CB8 na ose ligandu, zatímco systém B představuje jednodušší uspořádání pouze s β -CD a CB7.

U obou systémů bylo očekáváno, že jejich předuspořádání (kov koordinovaný k bipyridinu, β -CD komplexovaný na centrální bipyridinové jednotce v blízkosti substrátu a „uzamčení“ systému pomocí CB7 na terminálních adamantanových jednotkách) povede k akceleraci hydrolýzy substrátu ve srovnání nejen se samotným acetylcholinem v D₂O, ale i se systémy obsahujícími pouze kov bez makrocyclů, nebo kov a ligand **10** bez makrocyclů. Experimentální výsledky však ukázaly, že tomu tak bohužel není.

Systém B

Většina několikrát opakovaných experimentů provedených se systémem B (s CuCl_2 , bez CB8) prokázala při 45 °C téměř nulovou nebo jen minimální hydrolyzu acetylcholinu. Pokles koncentrace acetylcholinu byl spíše zanedbatelný: po 20–40 h se hodnoty obsahu cholinu pohybovaly v desetinách procenta, po 200–300 h zpravidla nepřesahovaly 2–4 % a ani po 900–1300 h se množství produktu nedostalo nad 5–8 %. Tento výsledek byl reprodukovatelný ve větším počtu nezávislých opakování.

Jedinou výjimku představoval jeden z prvních pokusů z této série s uvedeným složením provedený v D_2O . Zde bylo pozorováno postupné zvyšování koncentrace cholinu až na 40–44 % po 1300–1360 h. Přestože tento experiment dával naději na úspěch, jeho výsledek se již nikdy nepodařilo zopakovat a následné vyšší jednotky experimentů za stejných podmínek vedly k téměř nulové konverzi.

Za výjimku lze považovat také experimenty se složením odpovídajícím systému B provedené v boraxovém pufru při 45 °C, kde rychlost hydrolyzy acetylcholinu dramaticky vzrostla: po 24 h vzniklo 20–25 % cholinu, po dvou dnech to bylo 35–37 %, po deseti dnech 80–85 %. Tyto výsledky byly pozorovány ve dvou nezávislých experimentech. Je tedy zřejmé, že hydrolyza zde není způsobena vlastní supramolekulární strukturou systému B, ale zejména účinkem boraxového pufru. Vzhledem k zanedbatelnému vlivu pufru na akceleraci hydrolyzy acetylcholinu bylo od jeho dalšího použití ustoupeno.

Systém A

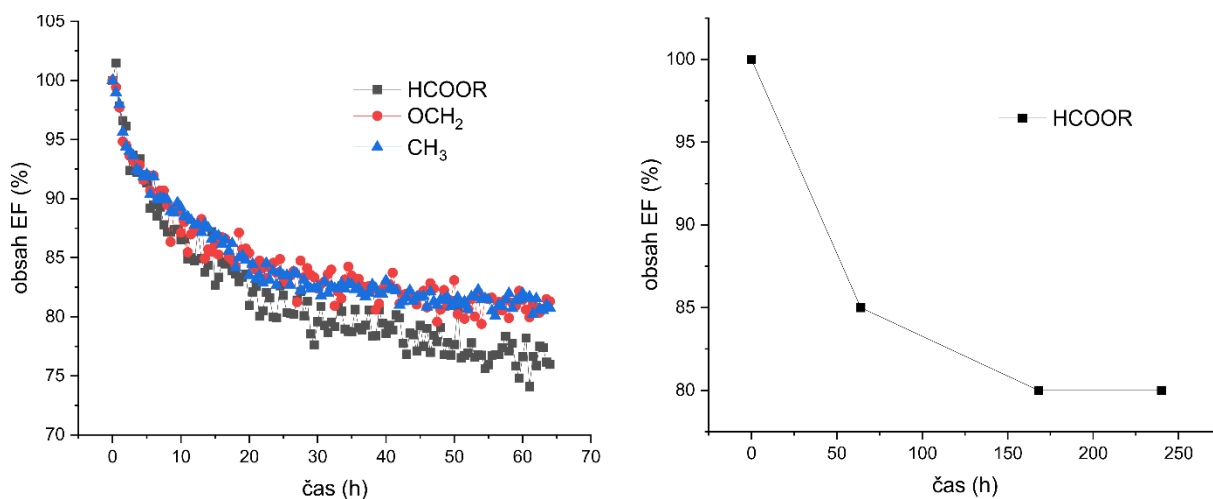
Systém A (s CuCl_2 , obsahující navíc dvě jednotky CB8 vázané na C_4 spojky ligandu **10**), byl testován v D_2O za různých teplot (RT, 35 °C, 45 °C). Ve všech případech byl výsledek stejný: hydrolyza acetylcholinu neprobíhala vůbec, po 16 dnech nebyl v ^1H NMR spektrech patrný ani náznak signálu cholinu.

Tato absolutní neaktivita je zvláštní zejména v porovnání s tím, že samotný acetylcholin v D_2O hydrolyzuje sice pomalu, ale měřitelně, stejně tak hydrolyzuje i v přítomnosti kovu nebo ligandu **10** a kovu. Systém A nebyl na základě dosavadních výsledků testován v pufrech.

Celkově tak komplexní systémy A a B v rámci provedených experimentů nevykázaly vůči hydrolýze acetylcholinu jednoznačný katalytický efekt. Z tohoto důvodu nemohlo být postoupeno k zamýšleným experimentům s kompetitorem a záměrnou regulací rychlosti hydrolytické reakce.

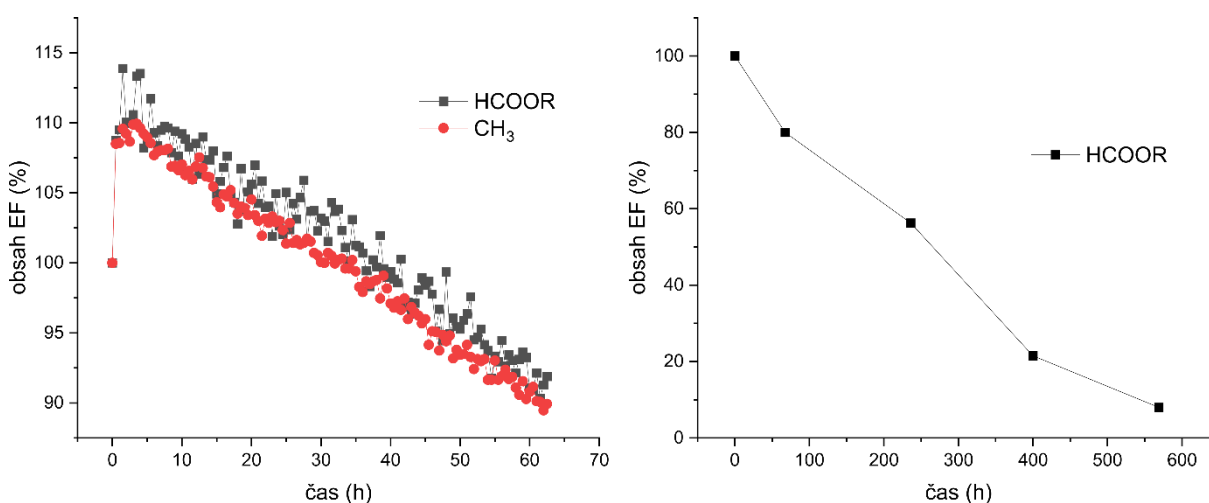
I) Ethyl-formiát (EF) se v předběžných experimentech ukázal jako potenciálně vhodný ester pro zamýšlené hydrolytické experimenty (konverze dostatečně rychlá za různých podmínek a přehledná v ^1H NMR spektrech). Proto byla s tímto esterem provedena ucelená série experimentů, v nichž byly všechny systémy různého složení studovány za stejných podmínek: počáteční koncentrace EF byla pokaždé stejná, a to 1,6 mM a všechny experimenty probíhaly při 30 °C. Tato série experimentů umožnila přímé porovnání vlivu jednotlivých komponent systému – kovového iontu, ligandu i makrocyclů na celkovou rychlost hydrolýzy ethyl-formiátu.

Hydrolýza samotného ethyl-formiátu v čistém D_2O ($c_0 = 1,6 \text{ mM}$) probíhá rychleji než u acetylcholinu, ale její rychlost se poměrně brzy snižuje a systém zhruba po týdně směřuje do rovnováhy (kolem 80 % substrátu) (**Obrázek 94**). V rámci předběžných experimentů byla při vyšší koncentraci substrátu přirozeně pozorována vyšší rychlost hydrolýzy.



Obrázek 94 Vývoj obsahu ethyl-formiátu v D_2O (1,6 mM; 30 °C). Vlevo: Data z kinetického kontinuálního měření prvních zhruba 65 hodin. Jednotlivé křivky představují ^1H NMR signály substrátu, které byly použity pro vyhodnocení. Vpravo: Vývoj obsahu ethyl-formiátu v témže vzorku dále analyzovaném diskontinuálně.

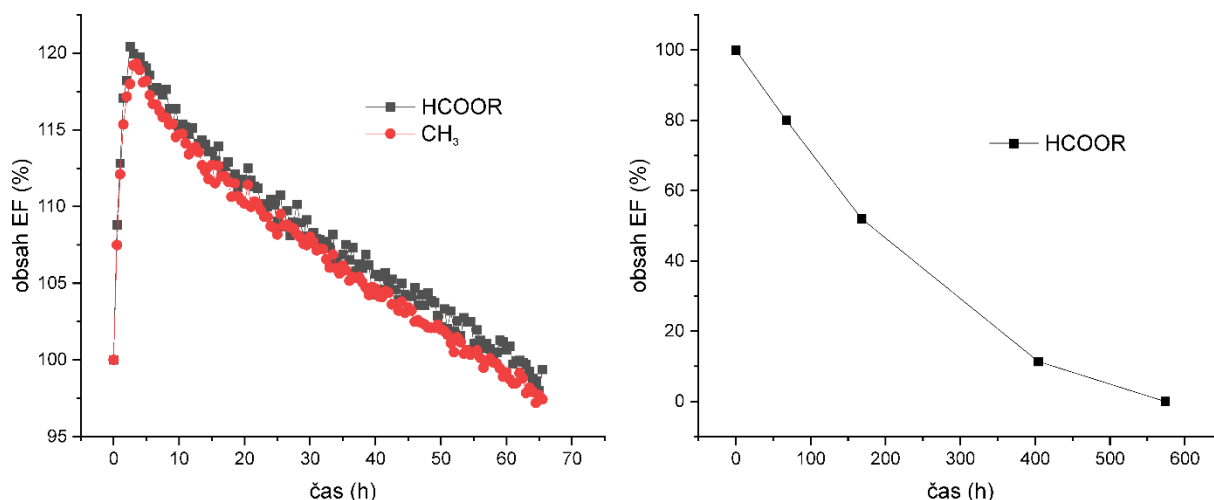
V přítomnosti 0,25 ekv. CuCl_2 hydrolyzuje ethyl-formiát (1 ekv.) výrazně rychleji než ester samotný. Nicméně v ^1H NMR spektrech kinetického experimentu byl na začátku pozorován anomální nárůst koncentrace substrátu. Původ této anomálie nebyl objasněn a bude předmětem dalšího studia. Přítomnost měďnatého kationtu vede k téměř úplné konverzi substrátu. Po 68 h klesá obsah substrátu na zhruba 80 %, po 10 dnech na 56 %. Dvacátý čtvrtý den je zhydrolyzováno 92 % výchozího esteru. V porovnání s acetylcholinem, který v přítomnosti Cu^{2+} vykazuje pouze mírné zrychlení hydrolýzy oproti hydrolýze samotného esteru v D_2O je aktivace ethyl-formiátu měďnatým iontem mnohem účinnější (**Obrázek 95**).



Obrázek 95 Vývoj obsahu ethyl-formiátu (1,6 mM; 4 ekv.) v přítomnosti 1 ekv. CuCl_2 v D_2O (30 °C). Vlevo: Data z kinetického kontinuálního měření prvních zhruba 65 hodin. Jednotlivé křivky představují ^1H NMR signály substrátu, které byly použity pro vyhodnocení. Vpravo: Vývoj obsahu ethyl-formiátu v témže vzorku dále analyzovaném diskontinuálně. Pozn.: První bod odpovídá bodu s nejvyšší y-hodnotou v grafu vlevo.

I v systému obsahujícím ethyl-formiát (4 ekv.), ligand **10** (1 ekv.) a CuCl_2 (1 ekv.) byla při 30 °C v ^1H NMR spektrech kinetického experimentu pozorována stejná, výše popsaná anomálie. Po týdnu již zůstávala pouze polovina původního množství ethyl-formiátu a během 400 hodin klesl jeho obsah prakticky na jednotky procent. Systém, kde ligand **10** mění koordinační sféru Cu^{2+} kationtu koordinací k bipyridinové jednotce, tak vykazuje mírně vyšší rychlost hydrolýzy

esteru, než když je kation Cu^{2+} volně v roztoku, respektive když není koordinován (**Obrázek 96**).

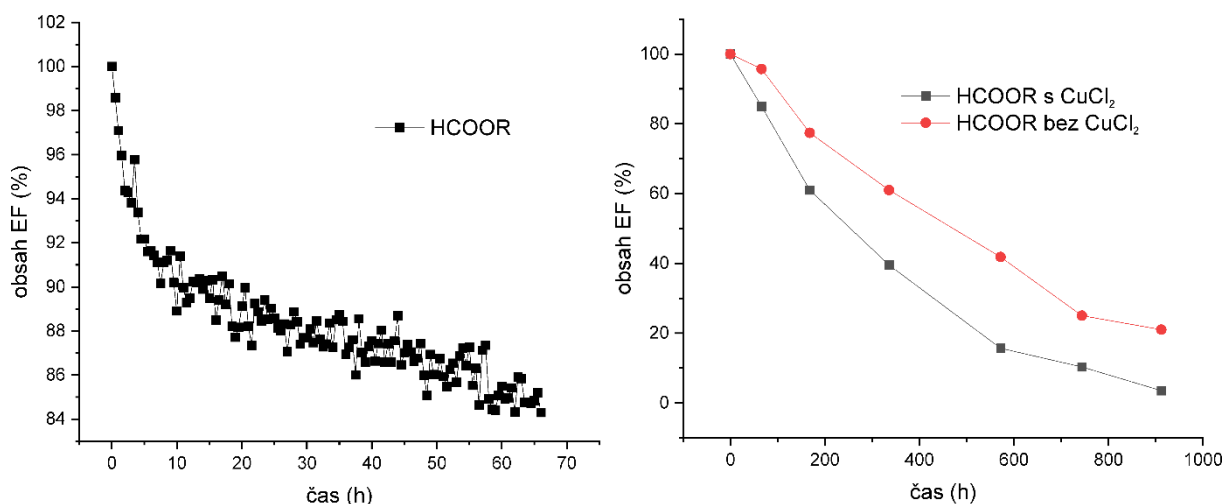


Obrázek 96 Vývoj obsahu ethyl-formiátu (1,6 mM; 4 ekv.) v přítomnosti 1 ekv. ligandu **10**, 1 ekv. CuCl_2 v D_2O (30 °C). Vlevo: Data z kinetického kontinuálního měření prvních zhruba 65 hodin. Jednotlivé křivky představují ^1H NMR signály substrátu, které byly použity pro vyhodnocení. Vpravo: Vývoj obsahu ethyl-formiátu v témže vzorku dále analyzovaném diskontinuálně. Pozn.: První bod odpovídá bodu s nejvyšší y-hodnotou v grafu vlevo.

System B

Hydrolyza ethyl-formiátu v přítomnosti supramolekulárního systému B (obsahujícího ligand **10**, β -cyklodextrin a CB7) probíhá různě rychle v závislosti na tom, zda je či není v systému přítomen kovový ion Cu^{2+} . V systému B obsahujícím CuCl_2 je hydrolyza výchozího esteru efektivnější. Za 66 hodin je jeho konverze zhruba 15%, po 336 hodinách dosahuje 60 %. Po uplynutí 572 hodin obsahoval vzorek okolo 84 % ethanolu.

Kontrolní experiment provedený za stejných podmínek, avšak bez CuCl_2 , ukazuje mírně odlišný průběh. Po 168 hodinách hydrolyzuje přibližně 23 % substrátu a po 336 hodinách 39 %. Za 912 hodin zůstává přítomno stále kolem 20 % výchozího substrátu. Tento systém tedy rovněž vykazuje tedy nižší reaktivitu, než jeho měďnatý analog (**Obrázek 97**).

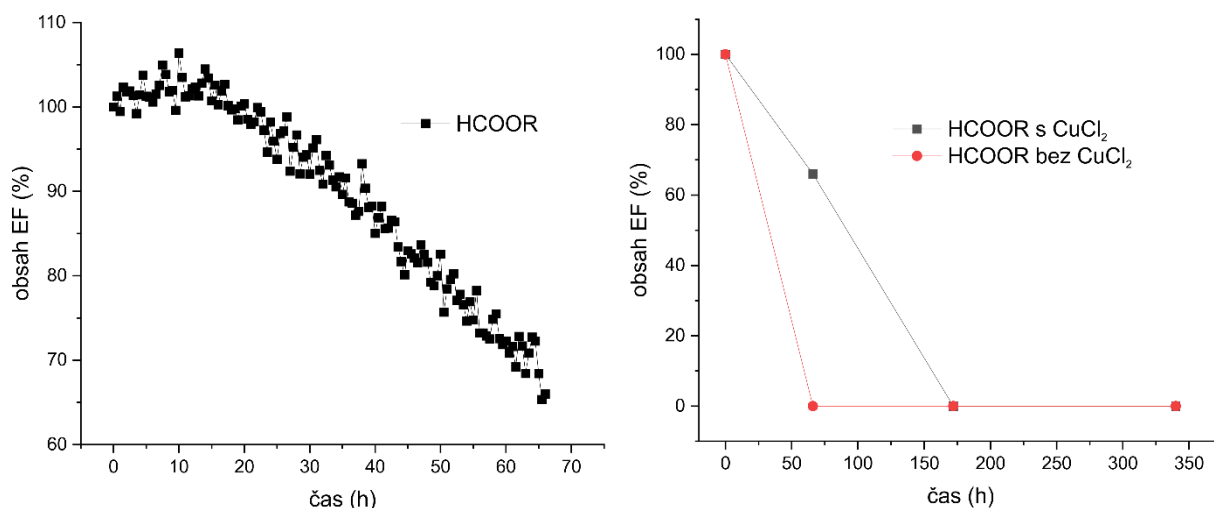


Obrázek 97 Vývoj obsahu ethyl-formiátu (1,6 mM; 4 ekv.) v systému B (1 ekv. ligandu **10**, β -CD, 2,2 ekv. CB7, 1 ekv. CuCl_2) v D_2O (30 °C). Vlevo: Data z kinetického kontinuálního měření prvních zhruba 65 hodin. Křivka představuje ^1H NMR signál substrátu, který byl použit pro vyhodnocení. Vpravo: Vývoj obsahu ethyl-formiátu v témže vzorku dále analyzovaném diskontinuálně (černá křivka). Červená křivka reprezentuje analogické uspořádání, ale bez CuCl_2 .

Systém A

V systému A (tedy v plně sestaveném supramolekulárním uspořádání s ligandem **10**, β -CD, CB7, CB8 a CuCl_2) probíhala hydrolýza ethyl-formiátu zřetelně nejrychleji ze všech dosud testovaných sestav. ^1H NMR kinetické sledování prvních 70 hodin hydrolýzy ukázalo pokles obsahu substrátu přibližně k 66 %. Následné měření potvrdilo vysokou katalytickou aktivitu systému A: po 238 hodinách (pravděpodobně dříve) již nebyl v ^1H NMR spektru detekován žádný výchozí ester. Takto rychlého a úplného rozkladu nebylo dosaženo u žádného jiného testovaného uspořádání.

V doplňkovém experimentu k systému A bez CuCl_2 došlo k ještě rychlejšímu snížení obsahu ethyl-formiátu: již po 66 hodinách nebyl detekován žádný zbytkový substrát (tento stav přetrval i při pozdějších měřeních) (**Obrázek 98**).



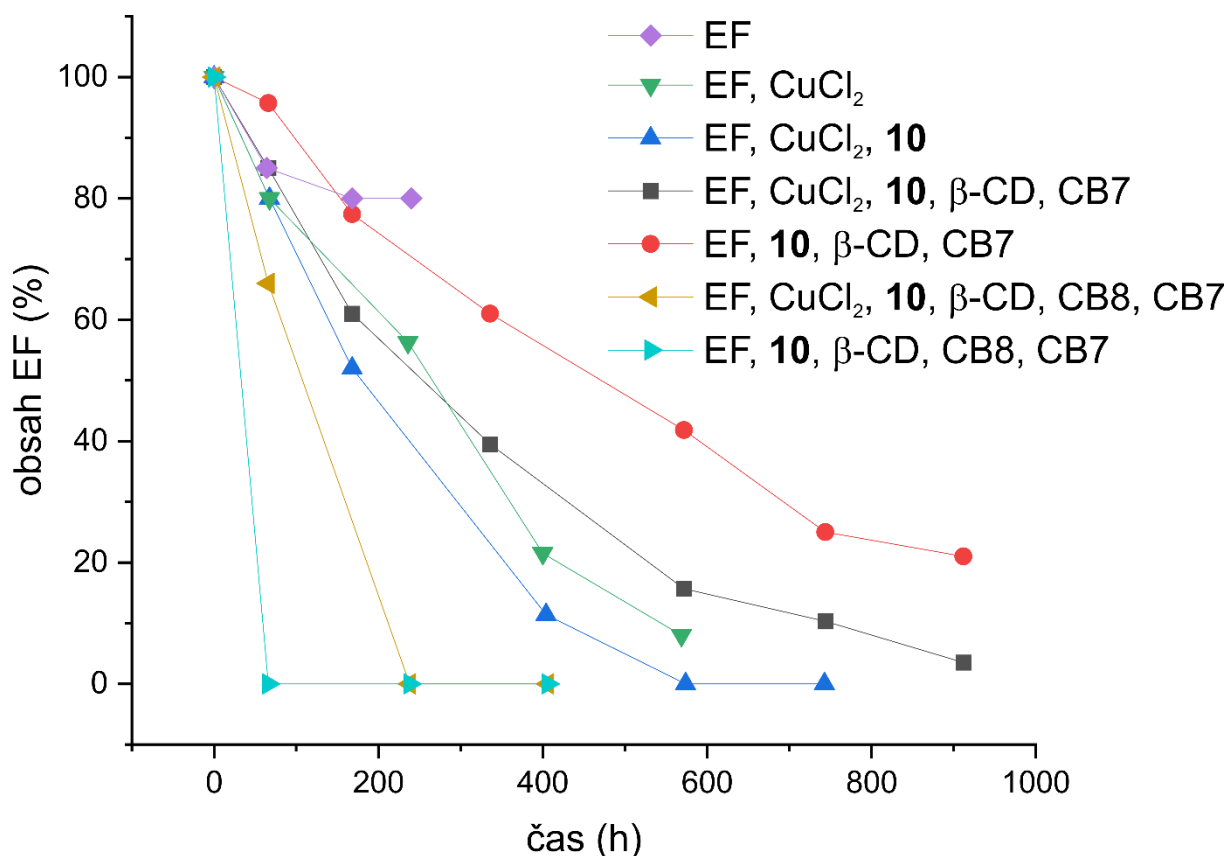
Obrázek 98 Vývoj obsahu ethyl-formiátu (1,6 mM; 4 ekv.) v systému A (1 ekv. ligandu **10**, β -CD, 2,2 ekv. CB7, 2,2 ekv. CB8, 1 ekv. CuCl_2) v D_2O (30 °C). Vlevo: Data z kinetického kontinuálního měření prvních 65 hodin. Křivka představuje ^1H NMR signál substrátu, který byl použit pro vyhodnocení. Vpravo: Vývoj obsahu ethyl-formiátu v témže vzorku dále analyzovaném diskontinuálně (černá křivka). Červená křivka reprezentuje analogické uspořádání, ale bez CuCl_2 .

V celkovém srovnání ethyl-formiátu s acetylcholinem, který v komplexních systémech vykazoval téměř nulovou konverzi hydrolýzou, představuje ethyl-formiát mnohem reaktivnější substrát. Plné supramolekulární sestavení zde tedy nevede k inhibici, ale k dramatickému zrychlení reakce (**Obrázek 99**).

Celkové porovnání testovaných systémů z hlediska rychlosti úbytku EF ($c_0 = 1,6 \text{ mM}$) shrnuje **Tabulka 1**.

Tabulka 1 Porovnání prvních poločasů rozpadu EF v různém prostředí.

system	$\tau_{1/2}$ EF (h)
EF, 10 , β -CD, CB8, CB7	> 66
EF, CuCl_2 , 10 , β -CD, CB8, CB7	108
EF, CuCl_2 , 10	180
EF, CuCl_2 , 10 , β -CD, CB7	246
EF, CuCl_2	265
EF, 10 , β -CD, CB7	471



Obrázek 99 Porovnání vývoje obsahu ethyl-formiátu (EF) ve všech výše zmíněných systémech.

Pozorovaná výrazná akcelerace hydrolýzy ethyl-formiátu v systému A jasně ukazuje, že navržená supramolekulární architektura může skutečně vykazovat funkční vlastnosti principů umělých enzymů.

Na získané experimentální výsledky logicky navazuje nutnost jejich ověření, tedy zopakování (potvrzení reprodukovatelnosti). Nejdůležitějším dalším krokem jsou závěrečné experimenty s kompetitorem, které ověří, zda lze aktivitu systémů A a B při hydrolýze substrátu regulovat cíleným přidavkem další látky (molekulárním signálem). Nabízí se rovněž sledování vlivu jiných koncentrací substrátu a komponent systémů, vlivu různých teplot nebo vlivu změny reakčního prostředí (pufry) na průběh hydrolýzy vybraných substrátů. Před zahájením těchto plánovaných experimentů však došlo k uplynutí standardní doby prezenční formy doktorského studia.

I přes uvedené skutečnosti poskytují výsledky dosažené v rámci této disertační práce východisko pro případné navazující studie zaměřené na další, hlubší zkoumání nastíněných systémů. Současně však odhalily několik aspektů, které vyžadují podrobnější analýzu a experimentální upřesnění.

V první řadě by měly být experimenty s kompetitorem, popsané v oddíle 5.3, realizovány přímo na plně sestavených supramolekulárních systémech za podmínek již probíhající hydrolýzy, zatímco dosud byly tyto studie prováděny na zjednodušených, katalyticky neaktivních modelech. Bude nezbytné ověřit, zda kompetitorem indukovaná reorganizace systému skutečně vede ke změně rychlosti hydrolýzy v reálném katalytickém uspořádání.

V dalších studiích by bylo vhodné systematicky ověřit vliv samotného složení supramolekulárního systému, zejména porovnávat plně sestavený systém A obsahující CB8 se systémem B (bez této komponenty). Další, velmi významnou pozornost si zaslouží volba dalších vhodných substrátů pro hydrolýzu. Důležitým faktorem je také reakční prostředí (teplota a případná pufrace), které může ovlivňovat jak rovnováhy supramolekulárních interakcí, tak rychlost hydrolýzy.

Je rovněž žádoucí zopakovat a ověřit dříve pozorovaný neobvyklý nárůst koncentrace ethyl-formiátu v NMR „kinetics“ experimentech. Otázkou zůstává vliv samotných CB n , jakožto součástí supramolekulárních systémů při hydrolýzách substrátů s kvarterní amoniovou skupinou, či jinou aminoskupinou. Takové motivy jsou totiž obecně známy svou afinitou k CB n . Nelze tak zcela vyloučit, že tyto interakce mohou (a mohly) ovlivňovat chování substrátu v systému, ať už prostřednictvím inkluze do kavity nebo jiných interakcí v oblasti portálů makrocyclu.

FUNKČNÍ TESTOVÁNÍ SUPRAMOLEKULÁRNÍCH SYSTÉMŮ – SHRNUTÍ

Tato kapitola demonstruje, že navržené supramolekulární sestavy lze skutečně využít jako účinné katalyzátory. Hydrolýza acetylcholinu se bohužel ukázala jako pomalá reakce, která nebyla významně urychlena ani samotnými kovy, ani koordinovaným ligandem **10**, ani plně sestavenými systémy A a B.

Výjimku tvořily pouze experimenty v boraxovém pufru, kde však zvýšená reaktivita vychází z vlastností pufru, nikoli ze systému samotného.

Zcela odlišný obraz byl pozorován u ethyl-formiátu, jehož hydrolýza byla rychlejší už v samotném D₂O a dále byla výrazně akcelerována přítomností Cu²⁺ i koordinací kovu ligandem **10**. Nejvýraznější účinek na rychlost sledované reakce poskytl plně sestavený systém A, kdy bylo dosaženo rychlého a úplného rozkladu substrátu, a to i v nepřítomnosti kovového iontu. Tento výsledek ukazuje, že vhodně uspořádaná supramolekulární architektura může pro určité substráty vytvořit skutečně funkční a „enzymu podobné“ prostředí.

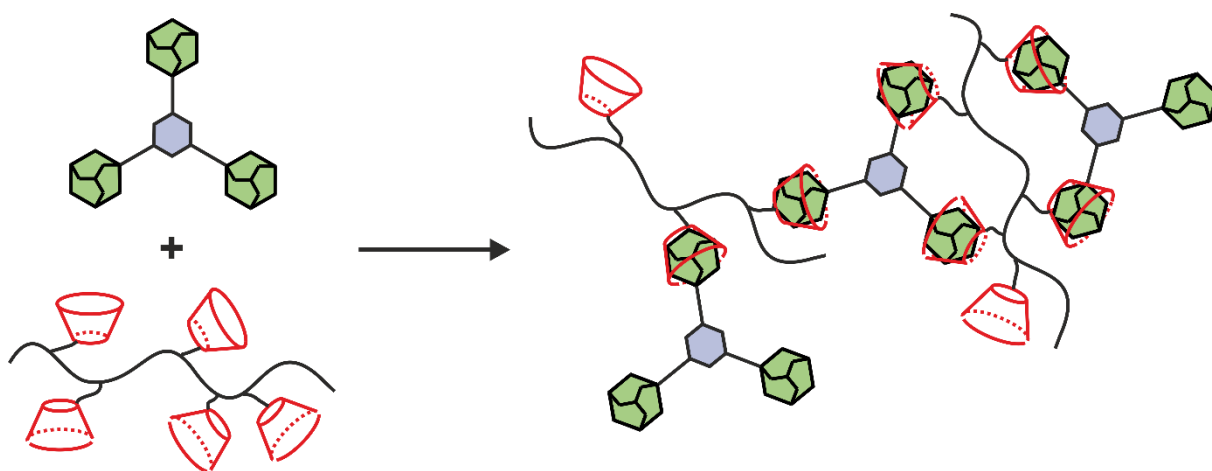
Lze konstatovat, že účinek supramolekulárního systému na rychlost sledované reakce silně závisí na povaze substrátu: zatímco acetylcholin zůstává vůči hydrolýze poměrně inertní, ethyl-formiát je v těchto systémech poměrně rychle hydrolyzován. Tato zjištění tvoří pevný výchozí bod pro další vývoj regulovatelných umělých hydroláz založených na kombinaci makrocyclů, ligandů a kovových center.

9. Ostatní projekty

V průběhu doktorského studia jsem se různou mírou podílel na dalších třech projektech zaměřených na supramolekulární chemii. Míru mého příspěvku k dané problematice zohledňuje následující text.

9.1 Design a příprava trojrozměrných supramolekulárních hydrogelových sítí

Tento interdisciplinární projekt byl zaměřen na vývoj supramolekulárních hydrogelů založených na hostitel–host interakcích mezi adamantylovými skupinami navázanými na jedné komponentě (nízkomolekulární tritopické ligandy) a β -cyklodextrinem navázaným na druhé komponentě (hyaluronan). Cílem bylo vytvořit polymerní 3D sítě s proměnlivými mechanickými vlastnostmi dostatečně stabilní pro 3D tisk a potenciální biomedicínské aplikace (**Obrázek 100**). Výsledky tohoto výzkumu byly publikovány v prestižním mezinárodním recenzovaném časopise *Carbohydrate Polymers*.¹⁶¹



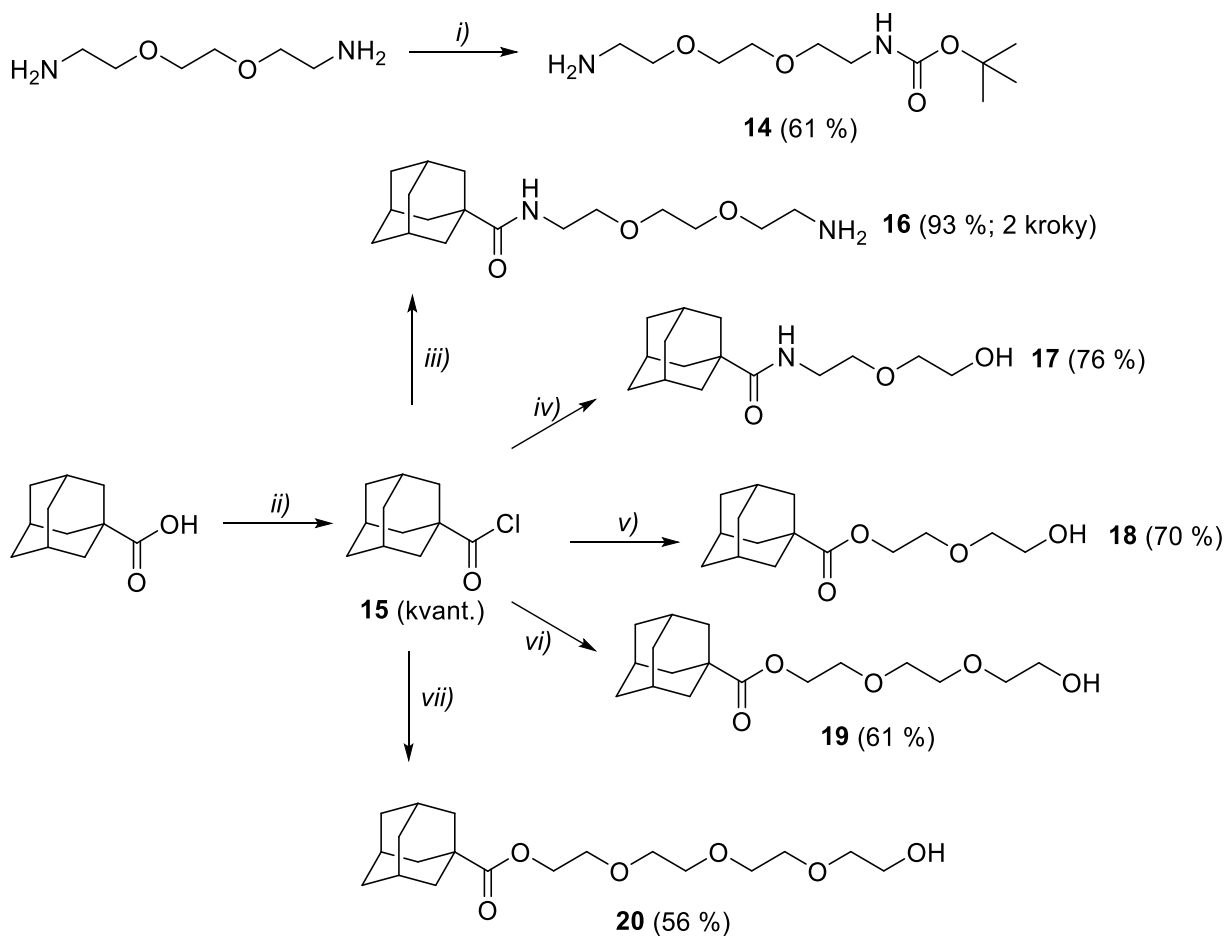
Obrázek 100 Schéma vzniku supramolekulární 3D sítě pomocí nekovalentních interakcí.

V rámci tohoto projektu jsem se společně s Barborou Gřeškovou věnoval návrhu struktur cílových nízkomolekulárních látek, jejich syntetické strategie a samotné syntéze. Taktéž jsme se společně zabývali chemickou modifikací

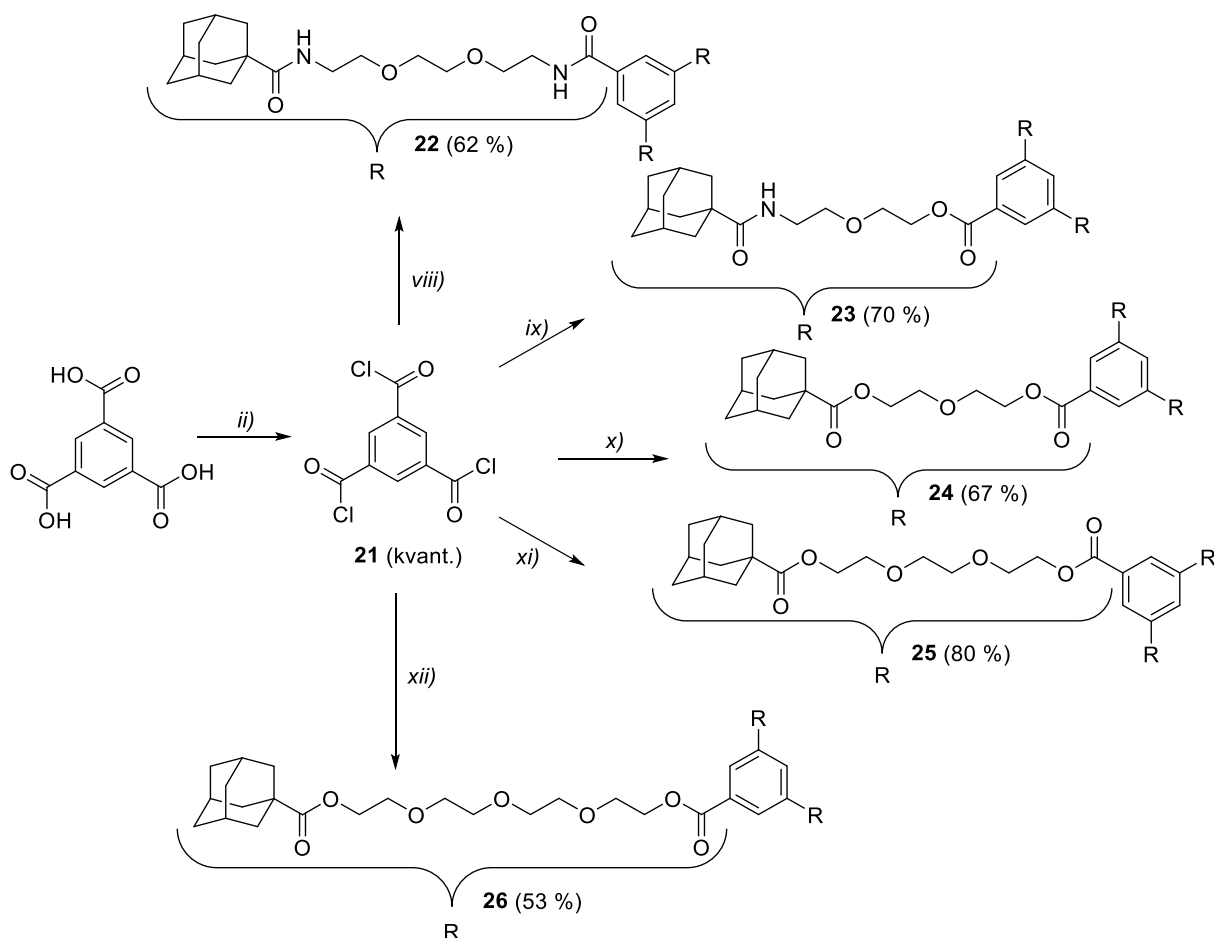
polymerů (hyaluronanů) a jejich chemickou a fyzikálně-chemickou charakterizací. Hodnocení biologické kompatibility a reologické studie připravených látek, respektive materiálů, byly zajištěny spolupracujícími týmy z FT UTB ve Zlíně.

Byla syntetizována pětice „ramen“ **16–20** reakcemi adamantan-1-karbonylchloridu (**15**) s příslušnými nukleofily (**Obrázek 101A**). Dále byla připravena série pěti nízkomolekulárních, C_{3h} symetrických, organických molekul **22–26**, tzv. „tripodů“ s různými typy vazeb (amidy, estery) a s různými délkami ramen, nesoucí vždy kovalentně vázané tři adamantanové jednotky (**Obrázek 101B**). Jednalo se vesměs o poměrně jednoduché syntézy postavené na nukleofilních acylových substitucích na trichloridu **21** dříve připravenými rameny **16–20**. Látky **22–26** sloužily jako síťovací činidla modifikovaných polymerů, z pohledu supramolekulární chemie se jedná o hosty.

A



B



Obrázek 101 A: Příprava prekurzorů hostujících molekul. B: Příprava hostujících molekul. i) Boc_2O , DCM; ii) SOCl_2 , reflux; iii) 1. **14**, TEA, DCM; 2. TFA, DCM; iv) 2-(2-aminoethoxy)ethanol, DCM; v) diethylenglykol, TEA, DCM; vi) triethylenglykol, TEA, DCM; vii) tetraethylenglykol, TEA, DCM; viii) **16**, TEA, DCM; ix) **17**, TEA, DCM; x) **18**, TEA, DCM; xi) **19**, TEA, DCM; xii) **20**, TEA, DCM.

Pro kovalentní navázání β -CD na řetězcce hyaluronanu přes 1,2,3-triazolovou spojku bylo zapotřebí připravit mono-6-azido-6-deoxy- β -cyklodextrin (β -CD- N_3). Jeho syntézu provedla Barbora Gřešková.

Dále byly připraveny β -cyklodextrinem substituované hyaluronany (CD-HA) **28** a **30**. Byly syntetizovány dvě varianty CD-HA s různou povahou vazby mezi polymerním řetězcem a substituentem nesoucím makrocyclus. Ty se

The reaction scheme illustrates the synthesis of cyclodextrin-modified chitosan copolymers. It begins with a chitosan derivative (27) and proceeds through two parallel pathways (i and ii) to intermediates 28 and 29, which are then further modified (iii) to yield the final products 28 and 30.

27 (64 %; 3 kroky), $m = 0,91-0,92$

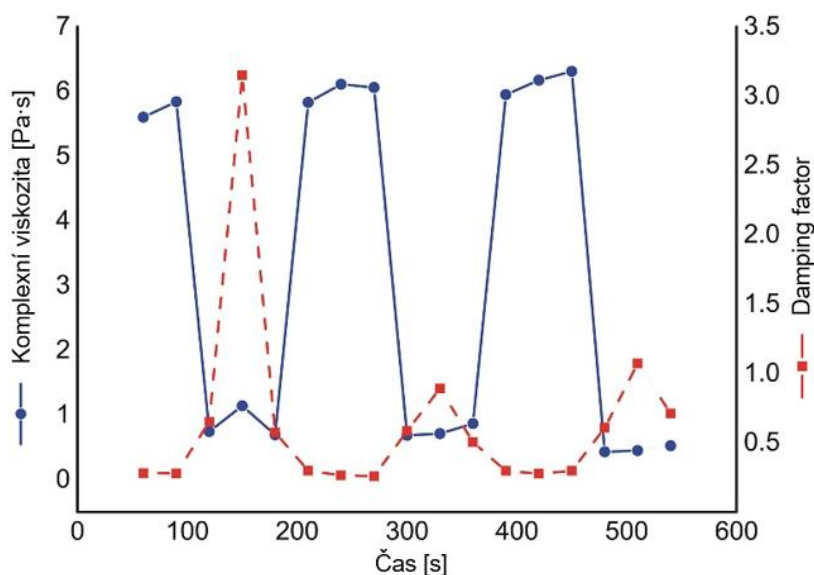
28 (98 %), $m = 0,91-0,92$

29 (92 %; 3 kroky), $m = 0,75$

30 (90 %), $m = 0,75$

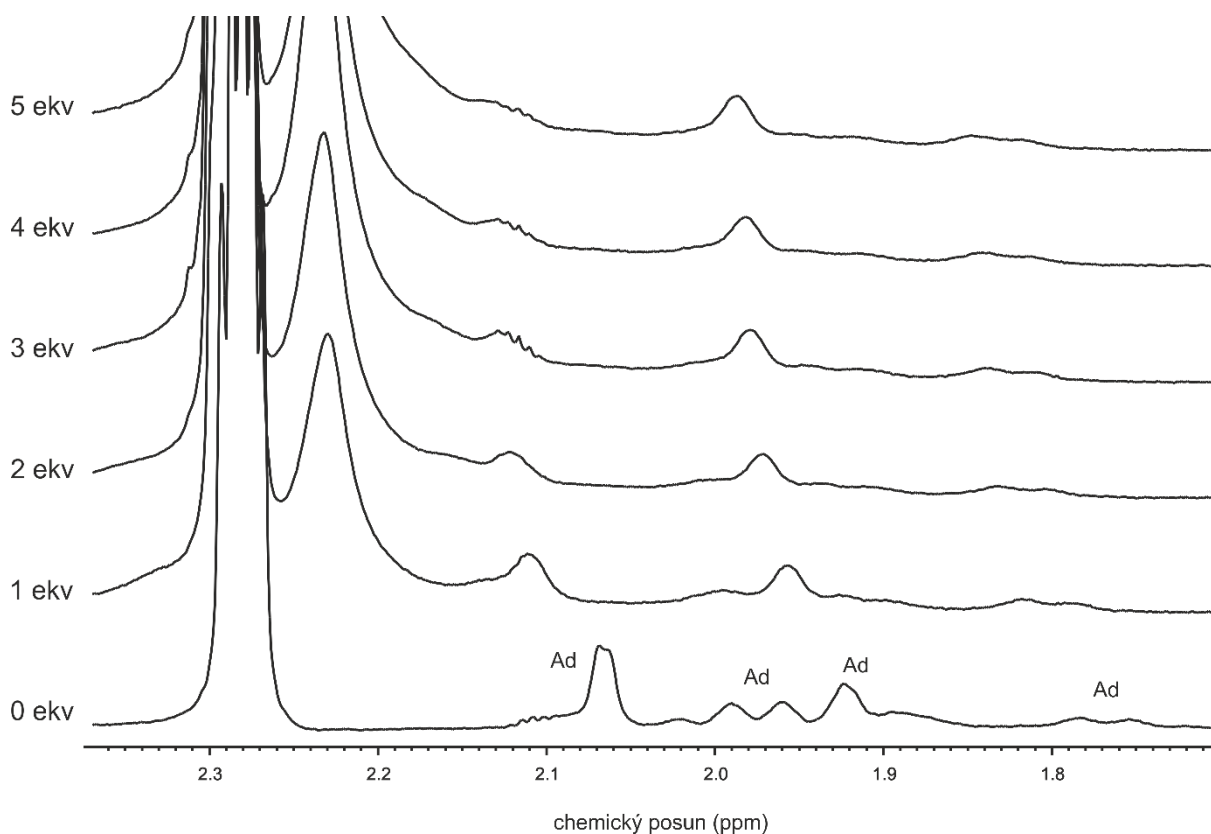
Existence interakcí mezi hostem a hostitelem, tedy vznik komplexů Ad@CD(-HA) a tím pádem i vznik hydrogelu a supramolekulární 3D sítě byly zkoumány pomocí reologických experimentů a ^1H NMR spektroskopie.

Reologická měření byla provedena a vyhodnocena Lenkou Vítkovou z Ústavu fyziky a materiálového inženýrství FT UTB. Experimenty byly prováděny při 15 °C pro minimalizaci nežádoucích vlivů tepelného pohybu (tření) ve směsi vody a acetonitrilu (a sice 4:1, v/v). V této směsi byly rozpuštěny oba CD-HA deriváty **28** a **30** tak, aby vznikly jejich 4% rozotky, které byly následně jednotlivě smíchány s tripody **22–26**, analyzovány a vzájemně porovnány. Výsledky reologických oscilačních experimentů ukázaly, že amino-CD-HA (**28**) vykazuje vyšší komplexní viskozitu a lepší mechanickou stabilitu vzniklé sítě než amido-CD-HA (**30**), a to i při nižší koncentraci polymeru. Vzorky s derivátem **28** vykazovaly všechny typické vlastnosti gelu (damping factor < 1), síťové chování (moduly nezávislé na frekvenci) i střižné ztenčování. Rovněž bylo prokázáno, že struktura nízkomolekulárních síťovacích činidel **22–26** má vliv na viskoelastické vlastnosti výsledných gelů – amidové struktury (tedy deriváty **22** a **23**) vykazovaly lepší mechanické chování než esterové deriváty. V neposlední řadě bylo ověřeno, že nekovalentní vazby tvořící síť mají reverzibilní charakter – po jejich přerušení vnější silou došlo k poklesu komplexní viskozity a po ustání vnější síly došlo k samovolné obnově nekovalentních vazeb mezi hostem a hostitelem a opětovnému zvýšení komplexní viskozity směsi, což potvrzuje samoregenerační schopnosti systému. Příklad výsledku z cyklického testu smykového zatížení znázorňuje **Obrázek 103**.



Obrázek 103 Cyklický test smykového zatížení směsi amino-CD-HA (**28**) a tripodu **23**.

Dále byly všechny připravené adamantanové tripody **22–26** podrobeny ^1H NMR titraci s amino-CD-HA **28** (na základě horších výsledků z reologických měření byl derivát **30** vyřazen z následujících experimentů). Vzhledem k omezené rozpustnosti tripodů v D_2O bylo nutné pro celou titraci použít směs $\text{D}_2\text{O}:\text{CD}_3\text{CN}$ v poměru 2:1 (v/v). Příslušný tripod byl rozpuštěn v této směsi za vzniku 0,92mM roztoku. Do NMR kyvet s roztoky tripodů byla postupně přidávána definovaná množství zásobního roztoku amino-CD-HA **28** a to po 1 ekvivalentu až do dosažení 5 ekvivalentů. Po každém přidavku byl vzorek důkladně promíchán a ponechán ustálit, aby byla před měřením NMR spektra zajištěna rovnovážná distribuce komplexu. Ve všech případech byly ve směsi tripodů **22–26** s amino-CD-HA (**28**) v ^1H NMR spektrech pozorovány posuny signálů protonů adamantanu směrem k nižšímu poli po smíchání, což potvrzuje vznik inkluzního komplexu $\text{Ad}@\text{CD}(-\text{HA})$. Reprezentativní příklad ^1H NMR titrace znázorňuje **Obrázek 104**.



Obrázek 104 Výřez alifatické oblasti ^1H NMR spektra titrace tripodu **23** roztokem modifikovaného polymeru **28**.

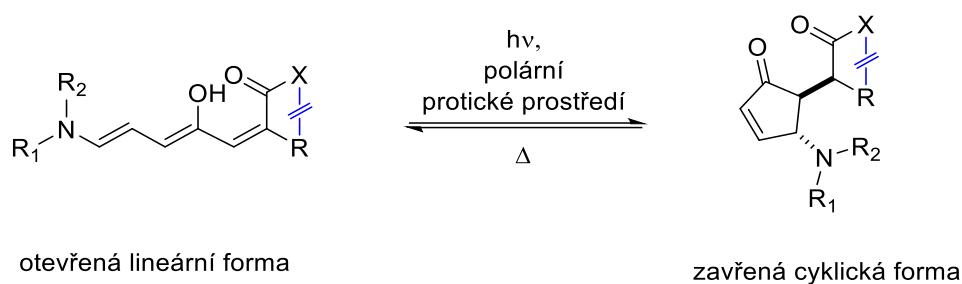
DESIGN A PŘÍPRAVA TROJROZMĚRNÝCH SUPRAMOLEKULÁRNÍCH HYDROGELOVÝCH SÍTÍ – SHRUTÍ

V rámci tohoto projektu byly úspěšně připraveny a charakterizovány supramolekulární hydrogely na bázi polymeru CD-HA (hostitel) a molekul s adamantanovými substituenty (host). Tyto hydrogely vykazovaly proměnlivé mechanické vlastnosti a vysokou biokompatibilitu. Moje role spočívala zejména v syntéze cílových látek a jejich strukturální a fyzikálně-chemické charakterizaci. Publikovaný článek představuje výsledek multidisciplinární spolupráce, ve které byly spojeny chemické, biologické a materiálové oblasti výzkumu.

9.2 Světlem indukované změny struktur supramolekulárních komplexů

Na tomto projektu jsem se podílel v rámci mé zahraniční stáže na University of Huelva ve Španělsku pod vedením prof. Uwe Pischela, jednoho z předních světových odborníků v oblasti supramolekulární fotochemie, s jehož výzkumnou skupinou Ústav chemie FT UTB ve Zlíně spolupracuje. Projekt se zabýval problematikou molekul DASA (z angl. *Donor-Acceptor Stenhouse Adducts*). Výsledky tohoto výzkumu byly publikovány ve vysoce prestižním mezinárodním recenzovaném časopise *Journal of American Chemical Society* (JACS).¹⁶²

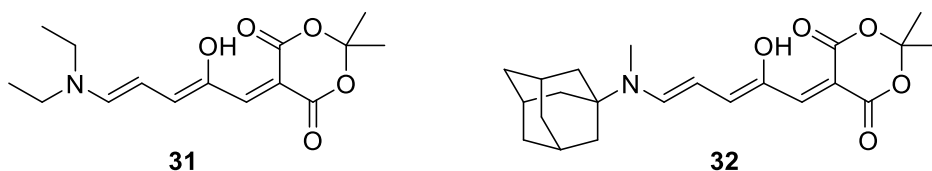
DASA deriváty představují třídu fotochromních *push-pull* molekul schopných (reverzibilní) izomerace vlivem viditelného světla. Díky své schopnosti přecházet mezi lineární barevnou formou a cyklickou bezbarvou strukturou nacházejí uplatnění například v oblasti světlem řízených materiálů a molekulárních přepínačů. Jejich praktické využití však často limituje nízká stabilita a relativně rychlá izomerace v polárním protickém prostředí. Obecně se struktura DASA molekul skládá ze tří částí: donorová (terciární amin), konjugovaný trienový můstek a akceptorová (deriváty Meldrumovy kyseliny, barbiturové kyseliny, a další) (**Obrázek 105**).



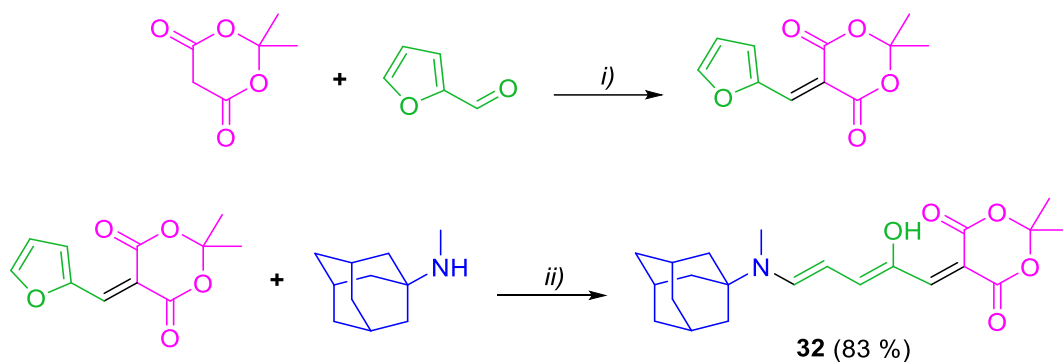
Obrázek 105 Izomery molekul DASA.

Jeden z perspektivních přístupů, jak ovlivnit (zpomalit) rychlost izomerace (tedy přechodu mezi lineární a cyklickou formou DASA derivátů), představuje souběh dvou úrovní spočívající jednak zavedení vhodných vazebných motivů pro makrocyclické sloučeniny do struktury otevřené lineární formy (konkrétně do její donorové oblasti) a jednak tvorba hostitel–host komplexů s těmito makrocyclickými molekulami. V důsledku sterické náročnosti komplexu lineární formy derivátu DASA s makrocyklem by mohla být zpomalena cyklizacační reakce.

Cíl mého výzkumu v rámci tohoto projektu spočíval v posouzení a porovnání stability vodných roztoků dvou různě *N*-substituovaných DASA molekul (z nichž jednu jsem syntetizoval) a zároveň jejich komplexů s CB7, a to i v závislosti na dodané světelné energii. Konkrétně se jednalo o deriváty **31** a **32** (**Obrázek 106**). Látka **31** je asi nejrozšířenějším zástupcem molekul DASA popsáných v literatuře, ale ve své struktuře obsahuje z hlediska supramolekulární chemie pro CB7 jen slabě afinitní diethylaminový motiv. Proto byla navržena a syntetizována látka **32** obsahující adamantylaminový motiv, který je naopak jedním z nejvíce afinitních vazebných motivů pro CB7 (**Obrázek 107**). Tato poměrně jednoduchá dvoukroková syntéza sestává z kondenzace furfuralu s Meldrumovou kyselinou a následného otevření furanového kruhu sekundárním aminem, zde *N*-methyladamantan-1-aminem.



Obrázek 106 Struktury stěžejních látek tohoto projektu.



Obrázek 107 Příprava adamantanového DASA derivátu **32**. i) H₂O, 75 °C; ii) THF.

Látky typu DASA v otevřené lineární formě jsou obecně špatně rozpustné ve vodě (navíc v ní jako v protickém rozpouštědle spontánně přechází na uzavřenou formu), proto byly dopředu rozpuštěny v THF (kde jsou dobře rozpustné a stabilní) a následně byly tyto roztoky naředěny vodou na požadované koncentrace (15 až 30 μM, obsah THF 1 % v/v) a ihned analyzovány pomocí UV-Vis spektrofotometrie. Látky **31** a **32** jsou však rozpustné ve vodných roztocích CB7 (15 až 30 μM, 8 ekv. CB7), tvorba komplexů s CB7 tak byla studována bez nutnosti přidávat THF jako kosolvent. Vzhledem k tomu, že studované látky jsou rozpustné pouze při nízkých koncentracích, nebyla pro studium tvorby supramolekulárních komplexů s CB7 využita NMR spektroskopie. Vyjma UV-Vis byla tvorba hostitel–host komplexů derivátů **31** a **32** s CB7 potvrzena také pomocí hmotnostní spektrometrie (ESI-MS).

Pomocí UV-Vis byl sledován úbytek absorbance (a tedy i koncentrace) výchozí barevné lineární formy (i jejího komplexu s CB7) s maximem vlnových délek 460 až 490 nm a zvyšování absorbance (a tedy i koncentrace) bezbarvé cyklické formy (případně jejího komplexu s CB7) s maximem vlnových délek okolo 260 nm v čase, a to buď za vyloučení světla, nebo za ozařování vzorku xenonovou lampou s filtrem propouštějícím vlnové délky ≥ 455 nm. Vznikla tak matice osmi kombinací: **31** a **32**, komplexy **31**@CB7 a **32**@CB7, kde každý z těchto systémů byl analyzován za dvou různých podmínek (tma vs. ozařování). Byly vyhodnoceny poločasy rozpadů jednotlivých systémů (**Tabulka 2**). U experimentů s ozařováním byly navíc stanoveny kvantové výtěžky izomerace.¹⁶³

Tabulka 2 Přehled poločasů rozpadů jednotlivých systémů.

systém	$\tau_{1/2}$ za vyloučení světla	$\tau_{1/2}$ při ozařování	$\lambda_{\max}$ [nm]	ϕ
31	200 min	100 s	481	0,12
31@CB7	20 h	190 min	491	0,01
32	30 min	120 s	481	0,2
32@CB7	28 d	92 min	461	0,09

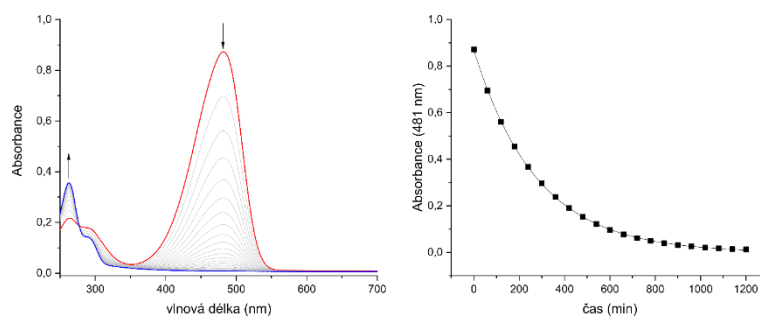
Levé grafy (**Obrázek 108** a **Obrázek 109**) reprezentují celá UV-Vis spektra roztoků příslušných systémů v rozsahu od 250 nm do 700 nm a jejich vývoj v průběhu času. Červená linie značí počátek experimentu (první měření), modrá linie poté konečný stav (poslední měření – absorbance (koncentrace) výchozí látky (systému) je prakticky nulová). Šedé linie značí průběžná spektra získaná během experimentu. Právě grafy znázorňují vývoj absorbance z pásu maxima vlnové délky v čase (**Obrázek 108** a **Obrázek 109**).

Komplexace látek **31** a **32** s CB7 má výrazný vliv na jejich stabilitu i fotochemické chování. U obou derivátů DASA je patrné, že přítomnost CB7 výrazně zpomaluje přechod z otevřené lineární formy do uzavřené cyklické formy, a to jak při vyloučení světla, tak při ozařování.

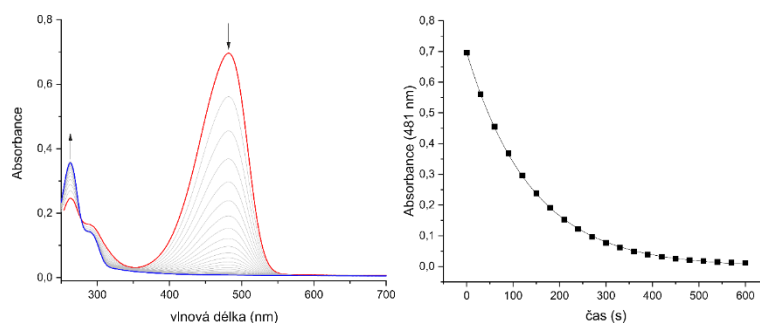
Zatímco samotný derivát **31** vykazuje poločas rozpadu ve tmě přibližně 200 minut, jeho komplex **31@CB7** dosahuje hodnoty až 20 hodin, tedy zhruba šestinásobného prodloužení stability. Podobný trend je pozorován i při ozařování – komplexací se poločas prodlužuje ze 100 sekund na 190 minut, což odpovídá výraznému potlačení fotoizomerace v přítomnosti hostitele (**Obrázek 108A–D**).

Ještě výraznější efekt komplexace s CB7 byl pozorován u sloučeniny **32**. Zatímco volná forma vykazuje poločas rozpadu ve tmě pouze 30 minut, komplex **32@CB7** je mimořádně stabilní, s poločasem rozpadu přibližně 28 dní. I při ozařování komplexu **32@CB7** se poločas rozpadu prodlužuje ze 120 sekund na 92 minut. Tento trend potvrzuje, že komplexace do kavity CB7 účinně chrání otevřenou formu DASA před spontánní i světlem indukovanou cyklizací, pravděpodobně díky sterickým důvodům a omezené flexibilitě lineární formy v hostitel–host komplexu (**Obrázek 109A–D**).

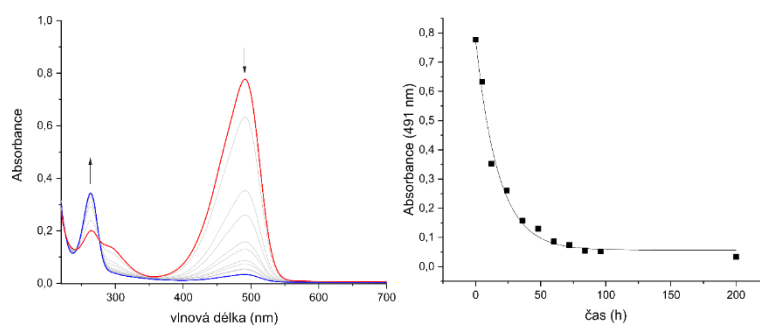
A) **31**, 1% THF ve vodě (v/v), za vyloučení světla



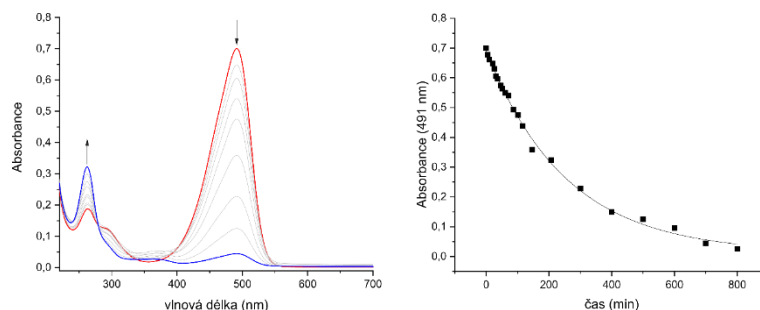
B) **31**, 1% THF ve vodě (v/v), ozařování >455 nm



C) **31@CB7**, ve vodě, za vyloučení světla

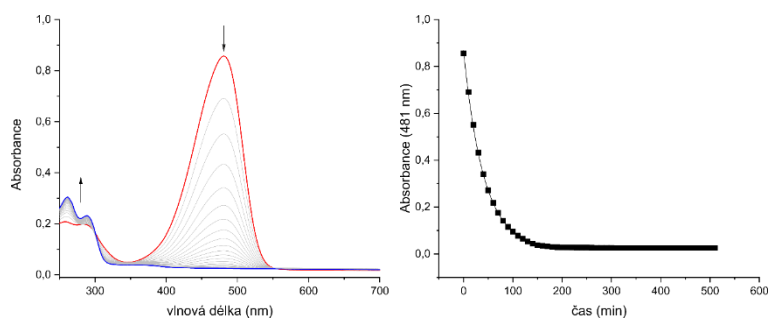


D) **31@CB7**, ve vodě, ozařování >455 nm

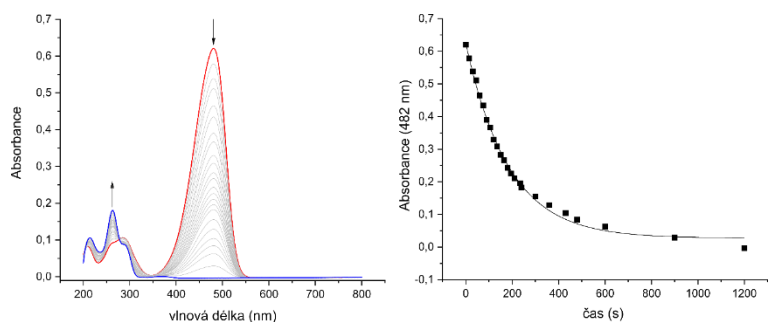


Obrázek 108 UV-Vis spektra derivátu **31** a jeho komplexů s CB7 získaná za různých podmínek.

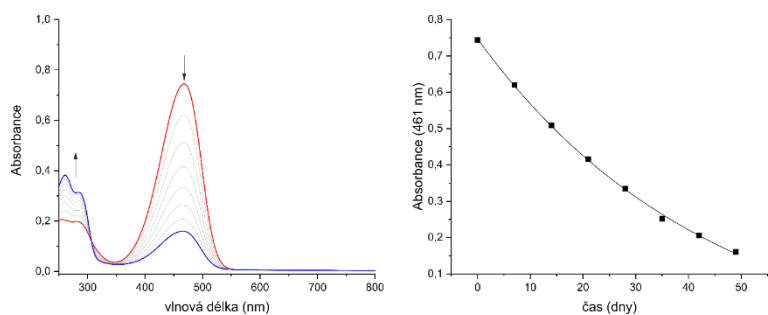
A) **32**, 1% THF ve vodě (v/v), za vyloučení světla



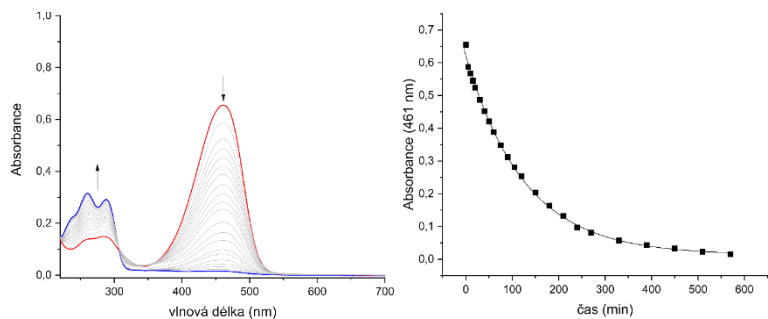
B) **32**, 1% THF ve vodě (v/v), ozařování >455 nm



C) **32@CB7**, ve vodě, za vyloučení světla



D) **32@CB7**, ve vodě, ozařování >455 nm



Obrázek 109 UV-Vis spektra derivátu **32** a jeho komplexů s CB7 získaná za různých podmínek.

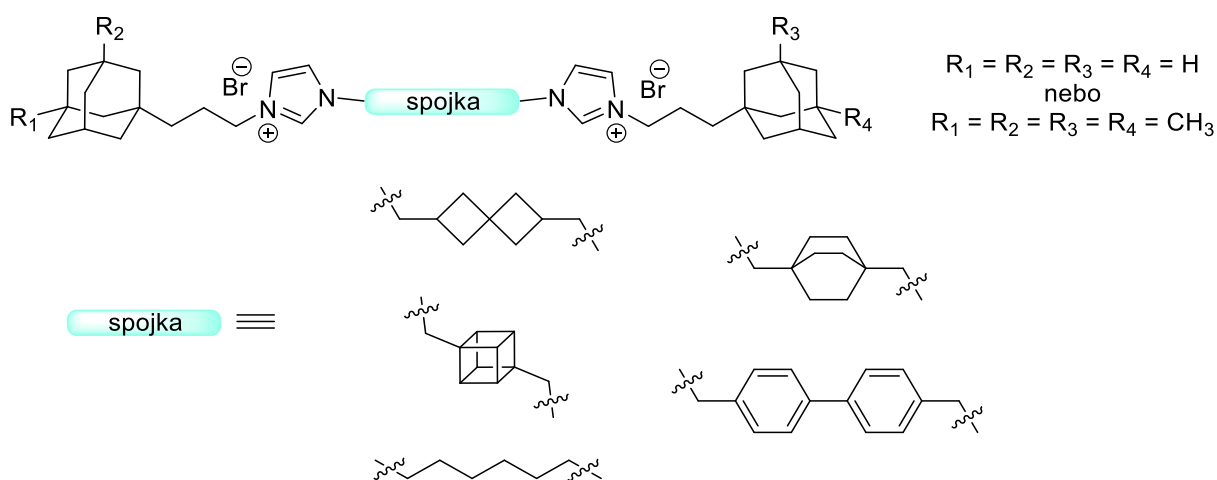
Dále je patrné, že komplexace látek **31** a **32** s CB7 vede ke změně polohy pásu absorpčního maxima $\lambda_{\max}$ oproti volným nekomplexovaným formám. Je zajímavé, že u derivátů **31** a **32** je tento trend protichůdný. V případě **31** se jedná o bathochromní posun (481 nm $\rightarrow$ 491 nm), zatímco DASA **32** vykazuje při komplexaci s CB7 hypsochromní posun (481 $\rightarrow$ 461 nm). Toto je pravděpodobně způsobeno rozdílnou vzájemnou polohou (kavity) CB7 a samotného DASA. V případě **32** kavita pravděpodobně zahrnuje pouze adamantanovou klec, zatímco u **31** nesoucí slabě afinitní motiv se v kavitě nachází i část trienového můstku. Kvantové výtěžky izomerací jsou u obou komplexů s CB7 systematicky nižší, což odpovídá potlačení efektivity fotoizomerace v důsledku sterického omezení a nižší flexibility lineární formy v hostitel–host komplexu.

SVĚTLEM INDUKOVANÉ ZMĚNY STRUKTUR SUPRAMOLEKULÁRNÍCH KOMPLEXŮ – SHRnutí

V rámci této studie byly zkoumány spontánní a světlem indukované izomerace dvou derivátů DASA a jejich komplexů s CB7 ve vodných roztocích. Výsledky ukázaly, že komplexace s CB7 významně stabilizuje lineární barevnou formu obou derivátů DASA, přičemž u komplexu adamantanového DASA s CB7 došlo k prodloužení poločasů rozpadu až na desítky dní. Současně byly u komplexů zaznamenány nižší kvantové výtěžky izomerace, svědčící o sterické náročnosti komplexů a tím náročnější izomeraci. Pozorované rozdílné posuny absorpčních maxim komplexů odrážejí rozdílný způsob interakce mezi DASA a CB7. Tyto výsledky dokládají, že komplexace s CB7 je po začlenění vhodných vazebných motivů do struktury fotopřepínače účinným nástrojem pro řízení stability a fotochemických vlastností DASA systémů.

9.3 Komplexy a jejich stechiometrie vybraných ligandů s γ -CD

Projekt je zaměřen na přípravu a detailní studium série symetrických multitopických hostitelských ligandů, které se liší typem centrálního vazebného motivu (spiro[3.3]heptan, kuban, hexamethylen, bicyklo[2.2.2]oktan, nebo bifenylyl) a stupněm substituce adamantanových koncových jednotek (nesubstituované nebo 3,5-dimethylované). Společným rysem těchto sloučenin jsou permanentně nabitě adamantylpropylimidazoliové motivy (**Obrázek 110**). Molekuly jsou navrženy pro vytváření stabilních hostitel–host komplexů zvláště s γ -CD, přičemž variabilita struktury umožňuje systematicky zkoumat vliv struktury ligandu na podobu komplexu s γ -CD.



Obrázek 110 Struktury ligandů pro komplexy s γ -CD.

V rámci projektu jsem se podílel na syntéze dvou ligandů z této série, a sice látek **38** (s bifenylovým centrálním motivem) a **39** (s hexamethylenovým centrálním motivem), v obou případech s nesubstituovanými adamantanovými terminálními jednotkami. Následně jsem se podílel na studiu jejich supramolekulárních interakcí s γ -CD. Experimentální ověřování vzniku a stechiometrie komplexů bylo provedeno kombinací NMR titrací, metody kontinuálních variací (Jobova metoda) a izotermální titrační kalorimetrie (ITC).

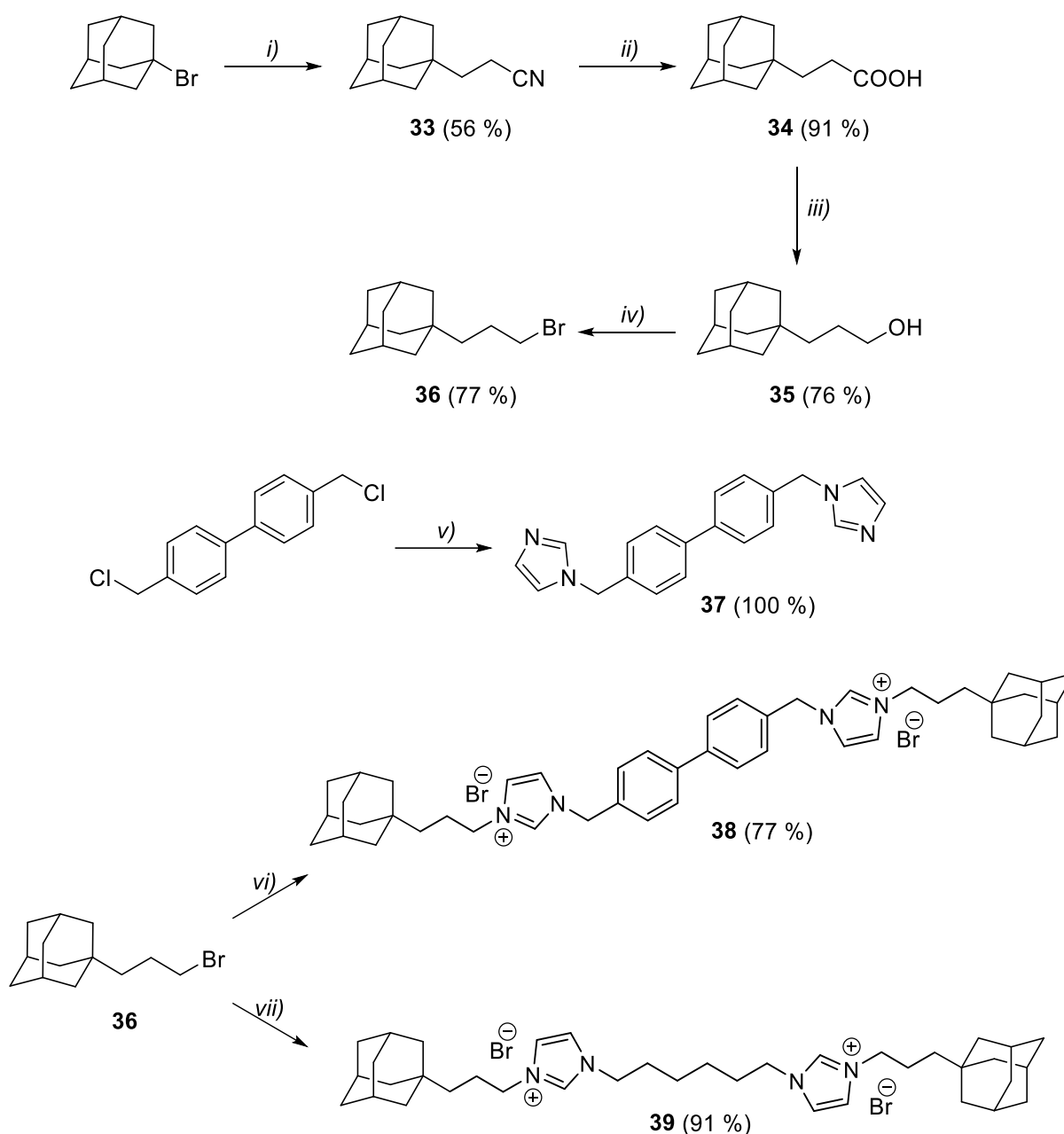
Cílové symetrické bisimidazoliové látky **38** i **39** vznikaly dvojitou kvarternizační reakcí, jejíž výchozí komponenty byly syntetizovány ve dvou větvích zahrnujících přípravu alkylačního činidla **36** a přípravu nukleofilního bisimidazolového derivátu **37** (**Obrázek 111**). První syntetická větev začíná syntézou 1-(3-brompropyl)adamantanu (**36**), a to méně obvyklou reakcí mezi komerčním 1-bromadamantanem a akrylonitrilem probíhající ve smyslu radikálové adice. Jedná se o poměrně výhodnou metodu, jak adamantanovou klec substituovat v jednomu kroku C₃ řetězcem, navíc funkcionalizovaným. Výtěžky se pohybují okolo 60 %.

Sekvence reakcí pokračuje alkalickou hydrolyzou nitrilu **33**, která vyžadovala zhruba dvoudenní reflux, po vykyselení byla karboxylová kyselina **34** získána ve výtěžku 91 %. Redukce této karboxylové funkce poskytovala čistý alkohol **35** (76 %). Posledním krokem této větve byla bromace za mírných podmínek probíhající ve smyslu Appelovy reakce. Po purifikaci byl izolován čistý bromderivát **36** (77 %).

Druhá syntetická větev zahrnovala jednoduchou jednokrokovou přípravu centrální jednotky **37**. K *in-situ* hydridem sodným generovanému imidazolidu byl přidán komerční 4,4'-bis(chlormethyl)-1,1'-bifenyl, kdy výtěžek reakce byl takřka kvantitativní.

Druhý centrální motiv, 1,6-di(1*H*-imidazol-1-yl)hexan, připravila a mně poskytla Barbora Gřešková.

Finální kvarternizační reakce probíhaly zahříváním látky **36** s látkou **37**, resp. s 1,6-di(1*H*-imidazol-1-yl)hexanem v acetonitrilu po poměrně dlouhou dobu, zhruba jeden týden). Jejich vysrážení diethyletherem s následnou purifikací surové směsi byly získány požadované sloučeniny **38** a **39** ve výtěžcích 77 %, respektive 91 %.

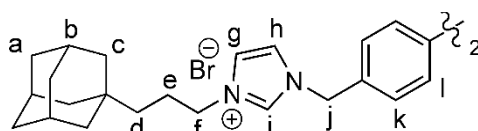


Obrázek 111 i) akrylonitril, Bu_3SnH , AIBN, PhCH_3 , reflux; ii) 1. KOH, EtOH, H_2O , reflux; 2. HCl; iii) 1. LiAlH_4 , Et_2O , reflux; 2. H_2O ; iv) CBr_4 , Ph_3P , DCM, 0°C ; v) imidazol, NaH, MeCN, reflux; vi) **37**, MeCN, 70°C ; vii) 1,6-di(1H-imidazol-1-yl)hexan, MeCN, 70°C .

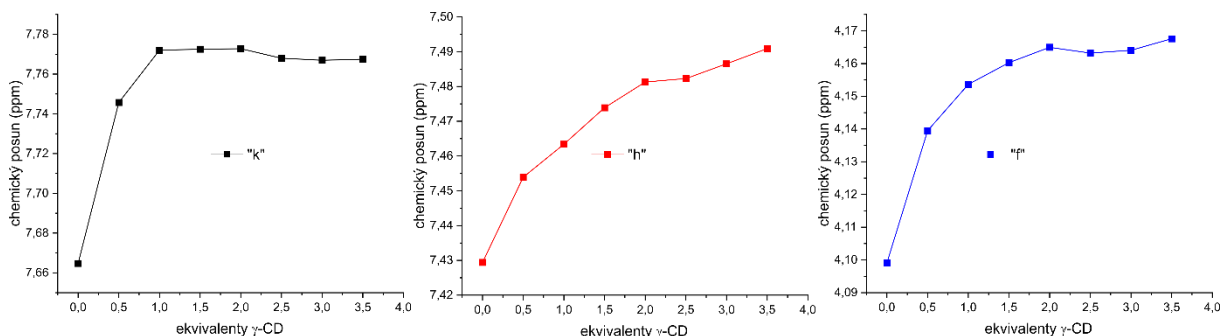
Obě připravené kvarterní imidazoliové soli **38** a **39** byly podrobeny NMR titraci s γ -CD. Každý ligand byl rozpuštěn v D_2O , přičemž počáteční koncentrace těchto roztoků činila 1,83 mM. Zásobní roztok γ -CD pro titraci byl připraven rovněž v D_2O . Do NMR kyvet s roztoky ligandů byla postupně přidávána

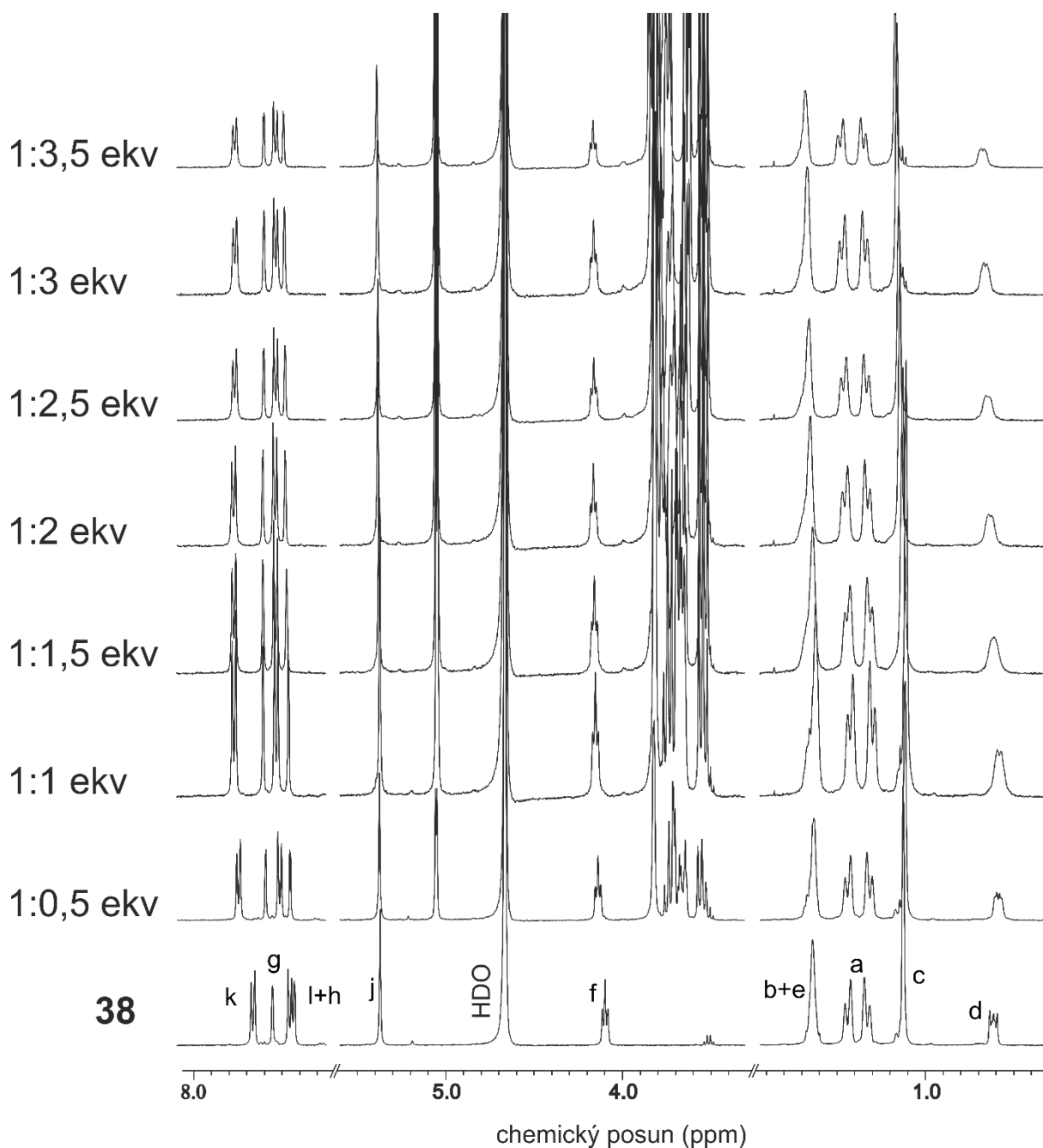
definovaná množství zásobního roztoku γ -CD, po 0,5 ekvivalentu až do dosažení 3,5 ekvivalentu. Po každém přidavku byl vzorek důkladně promíchán a ponechán ustálit.

Některé ze signálů atomů vodíku ligandu **38**, například signál „f“ při 4,1 ppm, nebo aromatické protony „k, l, g, h“ (signál kyselého protonu „i“ byl téměř nedetekovatelný), vykazují při titraci γ -CD mírné posuny směrem k nižšímu poli. Pro vybrané signály z titračních spekter byly vyneseny grafy závislosti chemického posunu na počtu ekvivalentů γ -CD. Výsledky ne zcela přesvědčivě naznačují stechiometrii 1:1. Bohužel nelze jednoznačně určit přesnou polohu makrocyclu na ose ligandu (**Obrázek 112**).



38



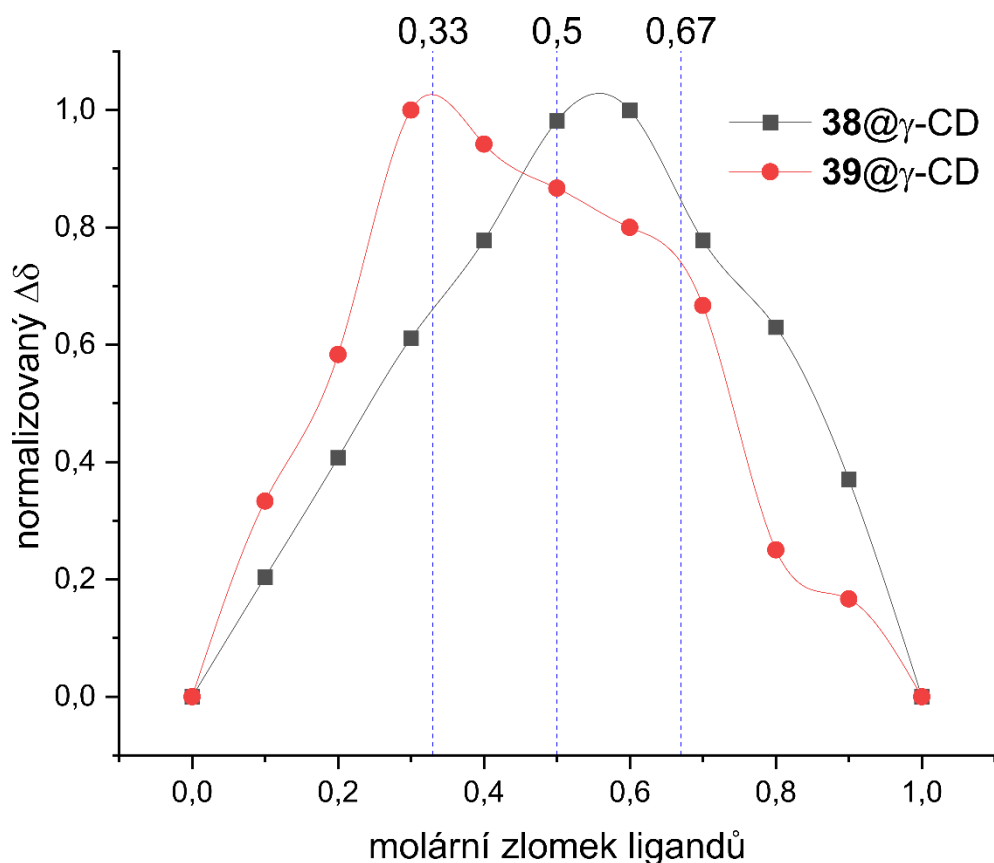


Obrázek 112 ^1H NMR spektra titrace látky **38** roztokem γ -CD.

Při ^1H NMR titraci ligandu **39** γ -CD vykazují mírný posun směrem k nižšímu poli signály imidazolu „g, h, i“ a obě CH_2 skupiny (signály „j, f“) s ním těsně sousedící. Taktéž byly pro vybrané signály z titračních spekter vyneseny grafy závislosti chemického posunu na počtu ekvivalentů γ -CD, avšak s ne zcela jasnou stochiometrií. Bohužel ani v tomto případě nelze jednoznačně určit přesnou polohu makrocylu na ose ligandu (**Obrázek 113**).

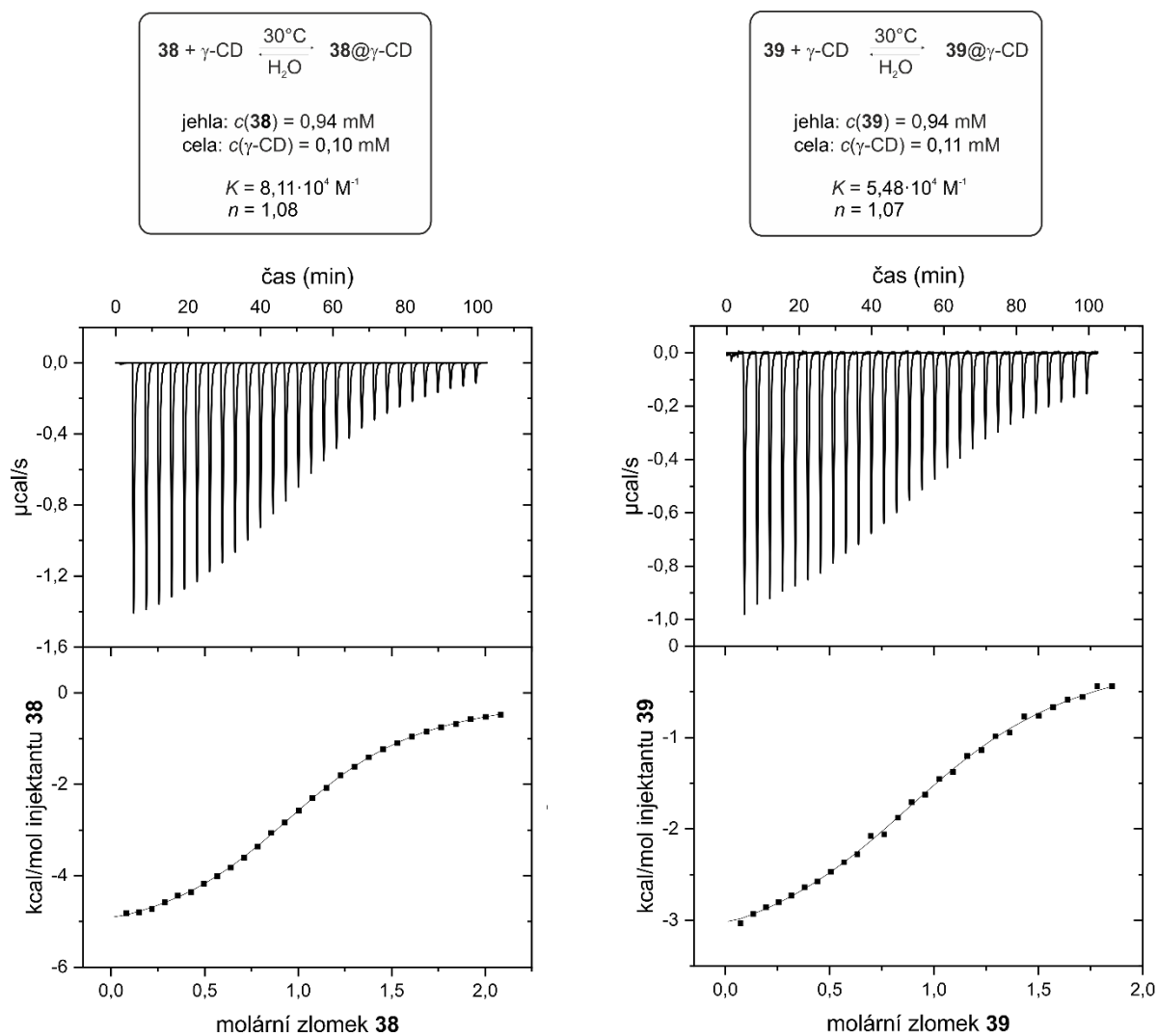
Stechiometrie těchto komplexů byla následně měřena pomocí metody kontinuálních variací. Byly připraveny zásobní roztoky ligandů **38**, resp. **39** a γ -CD v D_2O o shodné koncentraci. Tyto zásobní roztoky byly vzájemně míchány v různých poměrech (ovšem za zachování shodné výsledné hodnoty objemu v kyvetě) tak, aby celková molární koncentrace (ligand + γ -CD) zůstala konstantní (1,83 mM). Molární zlomek ligandu byl postupně měněn od 0 do 1 v krocích po 0,1. Po přípravě byly vzorky promíchány, ponechány ustálit a následně analyzovány pomocí 1H NMR.

Pro komplex **38**@ γ -CD se maximum křivky získané z rozdílů chemických posunů signálů nachází mezi hodnotami 0,5 (komplex 1:1) a 0,67 (komplex 2:1), avšak blíže hodnotě 0,5. Maximum normalizované křivky komplexu **39**@ γ -CD má polohu blízko hodnoty 0,33, což indikuje stechiometrii 1:2. Nutno podotknout, že získaná data nejsou zcela jednoznačná (**Obrázek 114**).



Obrázek 114 Křivky získané metdou kontinuálních variací pro komplexy **38**, resp. **39** s γ -CD.

Do třetice byla stechiometrie těchto komplexů stanovována pomocí isothermální titrační kalorimetrie (ITC). Ligandy **38** i **39** byly podrobeny analýze v klasickém ITC uspořádání, tj. roztok ligandu v jehle kalorimetru a roztok γ -CD v cele kalorimetru. Při tomto uspořádání byla stanovena stechiometrie komplexu makrocyclu a ligandu 1:1 pro oba ligandy **38** a **39** (**Obrázek 115**). Pro ověření pozorovaného chování γ -CD bylo provedeno také ITC stanovení v reverzním režimu, kdy v jehle kalorimetru byl roztok γ -CD a v cele kalorimetru byl roztok ligandu. I v tomto uspořádání se hodnota vazebného poměru n blížila v obou případech k 1.



Obrázek 115 Výsledky z ITC stanovení stechiometrie komplexů **38**, resp. **39** s γ -CD.

KOMPLEXY A JEJICH STECHIOMETRIE VYBRANÝCH LIGANDŮ S γ -CD – SHRnutí

V rámci této studie byly připraveny a charakterizovány dva symetrické bisimidazoliové ligandy, **38** a **39**, lišící se typem centrální vazebné jednotky (bifenyl, resp. hexamethylen). Oba ligandy nesou vazebné motivy schopné interakce s γ -CD, čímž umožňují tvorbu supramolekulárních komplexů.

Stanovení stechiometrie komplexů těchto ligandů s γ -CD bylo provedeno kombinací tří metod: ^1H NMR titrací, metody kontinuálních variací (Jobova metoda) a izotermální titrační kalorimetrie (ITC). Výsledky ^1H NMR titrací obou ligandů **38** a **39** mohou naznačovat stechiometrii přibližně 1:1, avšak tento závěr nelze považovat za jednoznačný. Výsledky Jobovy metody tento závěr podpořily, avšak pouze u derivátu **38**. Měření pomocí ITC ukazovala na vznik komplexů s převládající stechiometrií 1:1 u obou ligandů bez ohledu na uspořádání titrace (klasické či reverzní). Závěrem je třeba zdůraznit, že na této sérii ligandů bude nutné v budoucnu provést další experimenty (NMR analýza reziduální distribuce dat a HRMS, či ESI-MS) s cílem stanovit skutečnou stechiometrii komplexů s γ -CD. Taktéž bude zkoumáno i vazebné chování těchto ligandů s dalšími makrocycly typu CD a CBn.

ZÁVĚR

Tato disertační práce se zabývala návrhem, přípravou, charakterizací a funkčním testováním vícesložkových supramolekulárních systémů založených na kombinaci interakcí makrocyclických hostitelů a kovových kationtů se syntetizovaným heptatopickým ligandem. Cílem práce bylo ověřit, zda lze navržené syntetické systémy využít jako analogy přírodních enzymů a zda je možné aktivitu těchto syntetických systémů dále regulovat reorganizačními principy supramolekulární chemie.

Nejprve byly detailně charakterizovány interakce přiraveného ligandu s jednotlivými makrocycly (β -CD, CB7 a CB8) i s jejich kombinacemi. Tyto hostitele lze na ose ligandu kombinovat a vzájemně reorganizovat, či nahrazovat, což umožňuje vznik několika typů (pseudo)rotaxanových uspořádání. Bylo potvrzeno, že jednotlivé makrocycly interagují s odlišnými vazebnými místy ligandu a jejich rozložení lze řídit pořadím přidání i složením systému.

Další provedené experimenty byly zaměřeny na studium koordinace vybraných kovových kationtů (Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} a Zn^{2+}) k bipyridinovému centru ligandu. Získaná data ukázala, že nejstabilnější komplexy vznikají s Cu^{2+} a Ni^{2+} , které zároveň poskytují nejmarkantnější spektroskopické změny. Bylo rovněž potvrzeno, že makrocycly nebrání koordinaci kovu (a zároveň i naopak), což byl klíčový poznatek pro konstrukci složitějších systémů.

Následně byly obě tyto roviny (hostitel–host interakce a koordinace kovů) zkombinovány do dvou navržených supramolekulárních sestav (systém A s CB8 a systém B bez něj). Zároveň byla optimalizována jejich příprava s ohledem na snížení množství přebytečného β -CD.

Funkční testování obou systémů probíhalo na základě toho, jakým způsobem ovlivňovaly rychlost vybrané reakce, a sice hydrolýzy esterů. Nejprve byla předběžně studována reaktivita různých esterů, na základě čehož byla vyčleněna dvojice vhodných substrátů pro důkladnější experimenty. Nejvíce experimentů bylo provedeno při sledování průběhu hydrolýzy acetylcholinu chloridu a ethyl-formiátu. Prvně jmenovaný vykázal poměrně vysokou stabilitu vůči hydrolýze za různých podmínek v různě uspořádaných systémech. Zato ethyl-formiát se ukázal jako mnohem vhodnější substrát díky vyšší reaktivitě,

přehledné NMR monitorovatelnosti a citlivosti vůči změnám v systému. Synteticky připravené supramolekulární systémy použité jako katalyzátory vykazaly významně zvýšenou rychlost hydrolýzy oproti nekatalyzované reakci.

Z časových důvodů nebyly provedeny plánované experimenty s kompetitorem, které měly testovat možnost řídit aktivitu systému pomocí molekulárního signálu. Nebyly zopakovány experimenty pro všechny úspěšné systémy a nebyly provedeny detailní teplotní a koncentrační studie.

Celkově lze uzavřít, že v této práci byl úspěšně navržen, připraven a studován multikomponentní supramolekulární systém, jenž vykazuje katalytický efekt v hydrolýze vhodného substrátu. Tato práce tak otevírá cestu k hlubšímu výzkumu řízené supramolekulární katalýzy, včetně možnosti regulace pomocí kompetitorů, variací hostitelů, změn molekulárních geometrií či studia dalších typů reakcí.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Materiálové a přístrojové vybavení

Veškerá použitá rozpouštědla, činidla a další chemikálie byly zakoupeny od komerčních dodavatelů a používány bez další úpravy, pokud není uvedeno jinak. Bezvodá rozpouštědla byla připravena destilací za přítomnosti sodíku (diethylether, tetrahydrofuran), oxidu fosforečného (dichlormethan, chloroform, tetrachlormethan, acetonitril), případně hořčíku (methanol, ethanol). DMSO byl vysušen pomocí hydridu vápenatého (CaH_2), DMF pomocí molekulového síta. Obě tato vysokovroucí rozpouštědla byla destilována za sníženého tlaku (7 torr). Všechna výše zmíněná rozpouštědla byla po destilaci následně uchovávána nad molekulovým sítem o velikosti pórů 3 Å nebo 4 Å, které byly před použitím žíhány při 400 °C po dobu čtyř hodin. Makrocyclické sloučeniny použité v této práci byly pořízeny z komerčních zdrojů, nebo připraveny podle publikovaných postupů zaměstnanci ÚCH FT UTB ve Zlíně.¹⁶⁴

Mikrovlnami asistované syntézy byly provedeny v mikrovlnném reaktoru CEM Discover SP v uzavřených zkumavkách o objemu 10 nebo 35 cm³, opatřených septem, za podmínek zvýšeného tlaku.

NMR spektra byla naměřena spektrometrem JEOL ECZ 400, který pracuje na frekvenci 399,78 MHz pro jádra ^1H a 100,53 MHz pro jádra ^{13}C . Jako vnitřní standardy pro ^1H NMR byly použity reziduální signály rozpouštědel, zatímco pro kalibraci ^{13}C NMR sloužily signály deuterovaných rozpouštědel. Použité chemické posuny: ^1H HDO (4,79 ppm), ^1H CHCl_3 (7,26 ppm), ^1H DMSO- d_5 (2,50 ppm), ^{13}C CDCl_3 (77,16 ppm), ^{13}C DMSO- d_6 (39,52 ppm). Označení typů signálů bylo následující: s (singlet), d (dublet), t (triplet), q (kvartet), dd (dublet dubletů), dt (dublet tripletů), br s (rozšířený singlet) a m (multiplet). U specifických typů látek, jako jsou modifikované polymery, byla interpretace spekter provedena v odlišném formátu vzhledem k povaze jejich signálů a strukturní složitosti. Pro určení efektivní molární hmotnosti látek pomocí ^1H NMR byla použita jako standard kyselina maleinová. Ta byla taktéž použita jako standard pro stanovení přesné (reálné) koncentrace konkrétních roztoků makrocyclů nebo ligandů. Pokud není uvedeno jinak, měření byla prováděna při teplotě 30 °C. V titračních experimentech byla počáteční koncentrace ligandů v NMR kyvetách nastavena na 0,6 mM, pokud není uvedeno jinak. V opačně

vedených titračních experimentech, tj. při postupném přidavku ligandu k roztoku jiné komponenty (typicky MCl_2) odpovídala koncentrace ligandu hodnotě 1 mM při dosažení molárního poměru 1:1, pokud není uvedeno jinak. U vícesložkových experimentů monitorovaných ^1H NMR odpovídá pořadí hodnot pořadí komponent uvedených v popisu systému, pokud není uvedeno jinak.

Elementární analýza prvků C, H a N na zařízení Thermo Fisher Scientific Flash EA 1112 byla provedena Lenkou Trhlíkovou.

Infračervená spektra (IČ) byla zaznamenána metodou disperze v KBr tabletách s využitím spektrometru FTIR ALPHA-T (Bruker, Německo). Měření byla provedena v rozsahu vlnových čísel $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$, s akumulací 16 skenů na spektrum a spektrálním rozlišením 1 cm^{-1} . Intenzity absorpčních pásů ve spektrech jsou klasifikovány následujícími označeními: w (weak – slabý), m (medium – střední), s (strong – silný), bs (broad strong – silný a široký).

Teploty tání byly určeny metodou vizuálního pozorování na Koflerově teplotním bloku; naměřené hodnoty nejsou korigovány vůči standardním referencím.

Hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením (HRMS) byla provedena na přístroji 6530 Q-TOF (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) vybaveném elektrosprejovým ionizačním zdrojem. Měření probíhala v kladném skenovacím módu. Přístroj pracoval za následujících podmínek: napětí na kapiláře $-4,0\text{ kV}$, tlak rozprašovacího plynu $275,8\text{ kPa}$, průtok sušícího plynu $8,0\text{ dm}^3\cdot\text{min}^{-1}$ a teplota sušícího plynu $300\text{ }^\circ\text{C}$. Spektra byla zaznamenávána v rozsahu m/z $50\text{--}3000$ při rychlosti $3\text{ spektra}\cdot\text{s}^{-1}$. Přesná měření hmotnosti byla provedena s využitím interních referenčních standardů – purinu ($\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4$, m/z 121,050873) a HP-0921 [hexakis(1*H*,1*H*,3*H*-tetrafluoropentoxy)fosfazenu] ($\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_6\text{N}_3\text{P}_3\text{F}_{24}$, m/z 922,009798). Záznam a zpracování dat v softwaru MassHunter verze B.05.01 (Agilent Technologies) byly provedeny Michalem Rouchalem.

Hmotnostní spektrometrie s elektrosprejovou ionizací (ESI-MS) byla provedena na přístroji amaZon X (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) vybaveném elektrosprejovým ionizačním zdrojem. Měření probíhala v kladném skenovacím módu. Roztoky vzorků byly do iontového zdroje přiváděny pomocí automatické pumpy při konstantním průtoku přibližně $3\text{--}4\text{ }\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$. Jako médium byla použita směs methanol:voda (1:1, v/v). Ionizace byla prováděna při napětí

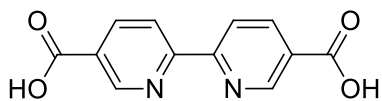
na kapiláře $-4,0$ až $-4,2$ kV a při napětí na výstupu z kapiláry 140 V. Dusík byl použit jako sušící i rozprašovací plyn s průtokem přibližně $6 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$. Teplota sušícího plynu se pohybovala v rozmezí 220 – 300 °C a tlak rozprašovacího plynu činil 55 – 210 kPa, v závislosti na charakteru měřeného vzorku. Záznam a zpracování dat byly provedeny Michalem Rouchalem.

UV-Vis spektra látek **8** a **10** byla zaznamenána na spektrofotometru Thermo Helios Alpha v křemenné kyvetě o délce optické dráhy 1 cm. Pro měření UV-Vis spekter látek **31** a **32** v křemenných kyvetách s délkou hrany 1 cm byl použit spektrofotometr CARY 5000 (Agilent Technologies), pro ozařování vzorků byla použita 150 W Xe lampa (Oriel GmbH & Co. KG) s filtrem pro vlnové délky ≥ 455 nm.

Gelová permeační chromatografie (GPC) byla použita ke stanovení střední molární hmotnosti a molekulové hmotnostní distribuce hyaluronanu a jeho derivátů. Měření byla provedena na systému vysokoúčinné kapalinové chromatografie Shimadzu Prominence (Shimadzu, Japonsko) vybaveném refraktometrickým detektorem (RI, řada LC-20). Jako mobilní fáze byl použit 0,1M pufr PBS (pH = 7,4) při průtoku $0,8 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ a teplotě 30 °C. Chromatografický systém byl osazen kolonami PL aqua gel-OH 60 a PL aqua gel-OH 40 ($8 \text{ }\mu\text{m}$, $300 \times 7,5$ mm) zapojenými v sérii. Kalibrace molární hmotnosti byla provedena pomocí pullulanových standardů ($M_w = 805$ – $0,342$ kDa; PSS GmbH, Německo). Vzorky o koncentraci $2,5 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-3}$ byly před analýzou filtrovány přes nylonový filtr ($0,45 \text{ }\mu\text{m}$, průměr 13 mm) a objem nástřiku činil $0,01 \text{ cm}^3$. Data byla získána a vyhodnocena v softwaru LabSolutions GPC (Shimadzu) Evou Achbergerovou.

Izotermální titrační kalorimetrie (ITC) byla provedena na mikrokolorimetru MicroCal VP-ITC (Malvern Panalytical) při teplotě 30 °C. Měření probíhala ve vodném prostředí, přičemž roztok jedné ze složek systému byl umístěn v kalorimetrické cele, zatímco druhá složka byla přidávána pomocí jehly v sérii postupných přidavků. Obvyklý počet přidavků činil 29, s objemem jednoho přidavku $10 \text{ }\mu\text{l}$. Vyvíjené teplo po každém přidavku bylo automaticky zaznamenáváno a korekce na ředící teplo byla zahrnuta do výpočtů. Experimentální data byla naměřena, analyzována a vyhodnocena v softwaru MicroCal Origin pomocí nelineární regresní analýzy Zdeňkou Pruckovou.

(2,2'-bipyridin)-5,5'-dikarboxylová kyselina (1)

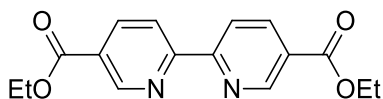


Do baňky byl předložen manganistan draselný (7,6 g; 48,01 mmol), voda (100 cm³) a 5,5'-dimethyl-2,2'-bipyridin (1 g; 5,43 mmol). Reakční směs byla refluxována 4 hodiny a po ochlazení byla zfiltrována. K filtrátu byla přidána koncentrovaná HCl (10 cm³). Pevný podíl byl odsát, promýván vodou do vymizení kyselé reakce a vysušen v sušárně. Bylo získáno 0,79 g (60 %) bezbarvé krystalické látky. Naměřená data jsou v dobré shodě s literárními údaji.¹⁶⁵

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 13,37 (br s, 2H); 9,20 (d, *J* = 1,5 Hz, 2H); 8,57 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H); 8,45 (dd, *J* = 8,4 Hz, *J'* = 2,3 Hz, 2H) ppm.

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz) δ 165,9; 157,2; 150,2; 138,5; 127,2; 121,1 ppm.

diethyl-(2,2'-bipyridin)-5,5'-dikarboxylát (2)

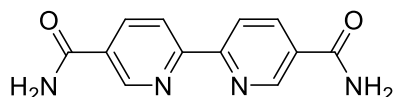


Do baňky byla předložena (2,2'-bipyridin)-5,5'-dikarboxylová kyselina (**1**; 1,25 g; 5,12 mmol), ethanol (25 cm³) a kyselina sírová (2,5 cm³). Vzniklá směs byla refluxována po dobu 24 hodin. Vzhledem k tomu, že se po 24 hodinách stále jednalo o suspenzi, byl znovu přidán ethanol (40 cm³) i kyselina sírová (5 cm³) a bylo pokračováno v refluxování. Již po dalších třech hodinách byla reakční směs čirá. Po ochlazení byly zhruba dvě třetiny reakční směsi oddestilovány na RVO. Ke zbytku byla za chlazení přidávána voda, dokud docházelo k vylučování pevného podílu. Ten byl následně odsát a promýván vodou do vymizení kyselé reakce a vysušen v sušárně. Bylo získáno 0,886 g (58 %) bezbarvé krystalické látky. Naměřená data jsou v dobré shodě s literárními údaji.¹⁶⁶

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 9,29 (d, $J = 1,9$ Hz, 2H); 8,57 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H); 8,43 (dd, $J = 8,2$ Hz, $J' = 2,1$ Hz, 2H); 4,45 (q, $J = 7,1$ Hz, 4H); 1,44 (t, $J = 7,2$ Hz, 6H) ppm.

^{13}C NMR (CDCl_3 , 101 MHz) δ 165,3; 158,5; 150,8; 138,2; 126,7; 121,4; 61,7; 14,4 ppm.

(2,2'-bipyridin)-5,5'-dikarboxamid (3)

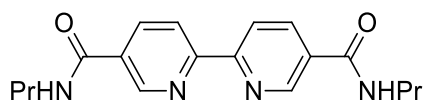


Do tlakové ampule o objemu 15 cm^3 byl předložen diethyl-(2,2'-bipyridin)-5,5'-dikarboxylát (2; 0,127 g; 0,42 mmol) a 28% vodný roztok amoniaku (8 cm^3). Důkladně uzavřená ampule byla následně zahřívána na olejové lázni na teplotu $150\text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 17 hodin. Pevný podíl byl zfiltrován, promýván vodou do vymizení zásadité reakce a vysušen v sušárně. Bylo získáno 0,03 g (29 %) bezbarvé krystalické látky. Literární údaje z NMR nejsou k dispozici.

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) δ 9,15 (s, 2H); 8,50 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H); 8,39 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H); 8,23 (s, 2H); 7,64 (s, 2H) ppm.

^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 101 MHz) se nepodařilo získat vzhledem k velmi omezené rozpustnosti látky.

$N^5, N^{5'}$ -dipropyl-(2,2'-bipyridin)-5,5'-dikarboxamid (4)

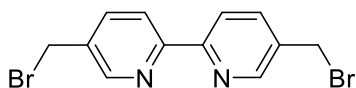


Do baňky byl předložen diethyl-(2,2'-bipyridin)-5,5'-dikarboxylát (2; 0,055 g; 0,18 mmol) a propylamin (10 cm^3). Reakční směs byla refluxována 20 dní. Po ochlazení byly těkavé podíly oddestilovány na RVO. Bylo získáno 0,058 g (97 %) bezbarvé krystalické látky. Naměřená data pro ^1H NMR jsou v dobré shodě s literárními údaji.¹⁶⁷

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 9,11 (d, *J* = 1,9 Hz, 2H); 8,73 (t, *J* = 5,5 Hz, 2H); 8,50 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H); 8,36 (dd, *J* = 8,2 Hz, *J'* = 2,1 Hz, 2H); 3,29–3,25 (m, 4H); 1,62–1,53 (m, 4H); 0,92 (t, *J* = 7,2 Hz, 6H) ppm.

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz) δ 164,3; 156,2; 148,3; 136,2; 130,4; 120,4; 41,0; 22,3; 11,4 ppm.

5,5'-bis(brommethyl)-2,2'-bipyridin (5)

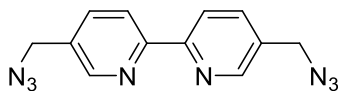


Do baňky byl předložen 5,5'-dimethyl-2,2'-bipyridin (2 g; 10,86 mmol), *N*-bromsukcinimid (4,06 g; 22,8 mmol), benzoylperoxid (katalytické množství) a tetrachlormethan (40 cm³). Vzniklá suspenze byla refluxována pod argonovou atmosférou po dobu 3 hodin. Po ochlazení byly všechny těkavé podíly oddestilovány na RVO. Zbytek byl suspendován v methanolu (cca 50 cm³) a ponechán 30 minut v ultrazvukové lázni. Pevný podíl byl odsát na fritě a promyt methanolem. Po vysušení byl rozpuštěn v tetrahydrofuranu (cca 20 cm³) a následně z tohoto roztoku vysrážen přebytkem vody (cca 60 cm³) a znovu odsát na fritě. Po vysušení bylo získáno 1,613 g (43 %) bezbarvé krystalické látky. Naměřená data jsou v dobré shodě s literárními údaji.¹⁶⁸

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,68 (d, *J* = 1,9 Hz, 2H); 8,40 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H); 7,85 (dd, *J* = 8,4 Hz, *J'* = 2,3 Hz, 2H); 4,51 (s, 4H) ppm.

¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ 155,6; 149,5; 137,7; 134,0; 121,3; 29,7 ppm.

5,5'-bis(azidomethyl)-2,2'-bipyridin (6)



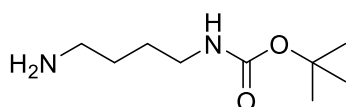
Do baňky byl předložen 5,5'-bis(bromomethyl)-2,2'-bipyridin (5; 0,5 g; 1,46 mmol), azid sodný (0,57 g; 8,77 mmol) a bezvodý *N,N*-dimethylformamid (20 cm³). Reakční směs byla zahřívána na 70 °C pod argonovou atmosférou po dobu 90 hodin. Po ochlazení byla reakční směs naředěna vodou (20 cm³) a extrahována dichlormethanem (40 cm³), organický podíl byl následně promyt

vodou ($4 \times 40 \text{ cm}^3$) a vysušen síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů bylo získáno 0,365 g (94 %) bezbarvé krystalické látky. Naměřená data jsou v dobré shodě s literárními údaji.¹⁶⁹

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8,62 (s, 2H); 8,43 (d, $J = 8,4 \text{ Hz}$, 2H); 7,78 (dd, $J = 8,0 \text{ Hz}$, $J' = 1,9 \text{ Hz}$, 2H); 4,43 (s, 4H) ppm.

^{13}C NMR (CDCl_3 , 101 MHz) δ 155,8; 148,9; 136,8; 131,4; 121,3; 52,1 ppm.

***tert*-butyl-(4-aminobutyl)karbamát (7)**

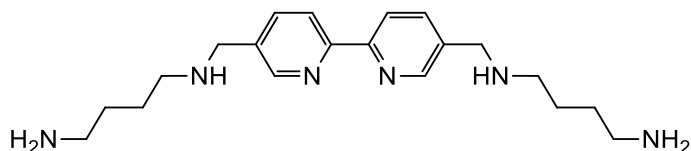


Do baňky byl předložen butan-1,4-diamin (20 g; 0,227 mol) a dichlormethan (75 cm^3). Vzniklý roztok byl vychlazen na 0°C a pomocí přikapávací nálevky k němu byl pomalu přikapáván roztok di-*tert*-butyl-dikarbonátu (5 g; 22,9 mmol) v dichlormethanu (75 cm^3). Druhého dne byla reakční směs převedena do dělicí nálevky a promyta vodou ($5 \times 100 \text{ cm}^3$). Organická vrstva byla vysušena síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů na RVO bylo získáno 2,613 g (61 %) světle žluté olejovité látky. Naměřená data jsou v dobré shodě s literárními údaji.¹⁷⁰

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 4,80 (s, 1H); 3,17–3,06 (m, 2H); 2,75–2,49 (m, 2H); 1,47–1,39 (m, 13H); 1,27 (s, 2H) ppm.

^{13}C NMR (CDCl_3 , 101 MHz) δ 156,1; 79,2; 42,0; 40,6; 31,0; 28,6; 27,6 ppm.

$N^1, N^{1'}\text{}-([2,2'\text{-bipyridin}]\text{-}5,5'\text{-diylbis(methylen)})\text{bis(butan-1,4-diamin)}$ (8)



Do baňky byl předložen 5,5'-bis(brommethyl)-2,2'-bipyridin (5; 0,59 g; 1,72 mmol), *tert*-butyl-(4-aminobutyl)karbamát (2,6 g; 13,8 mmol) a bezvodý acetonitril (30 cm^3). Vzniklá suspenze byla refluxována pod argonovou

atmosférou 16 hodin. Po ochlazení byly těkavé podíly oddestilovány na RVO. Zbytek byl rozmíchán ve vodném roztoku hydroxidu sodného (20 cm³) a extrahován dichlormethanem (4 × 40 cm³), spojené organické podíly byly vysušeny nad bezvodým síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů byl zbytek rozpuštěn v bezvodém methanolu.

Do prázdné a vysušené baňky byl předložen bezvodý methanol (30 cm³), za chlazení na 0 °C k němu byl přikapán acetylchlorid (2 cm³). Po třiceti minutách byl do této směsi přikapán methanolický roztok destilačního zbytku (viz výše). Druhý den byly těkavé podíly oddestilovány na RVO, zbytek byl rozmíchán ve vodném roztoku hydroxidu sodného (30 cm³), extrahován dichlormethanem (4 × 40 cm³) a vysušen síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů bylo získáno 0,31 g (50 %) nažloutlé olejovité látky.

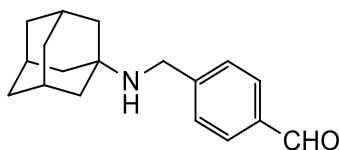
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,60 (s, 2H); 8,34 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H); 7,79 (d, *J* = 6,1 Hz, 2H); 3,87 (s, 4H); 2,73–2,66 (m, 8H); 1,55–1,50 (m, 8H) ppm.

¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ 155,2; 149,2; 136,9; 135,9; 120,9; 51,3; 49,4; 42,3; 31,7; 27,6 ppm.

IČ (KBr) $\tilde{\nu}$ 3373 (m), 3277 (m), 3011 (m), 2933 (s), 2863 (s), 1583 (s), 1554 (s), 1466 (s), 1413 (s), 1110 (w), 1027 (w), 816 (m), 742 (m) cm⁻¹.

HRMS (*m/z*): teoreticky pro [M+H]⁺: 357,2722; nalezeno: 357,2784.

4-((adamantan-1-ylamino)methyl)benzaldehyd (9)



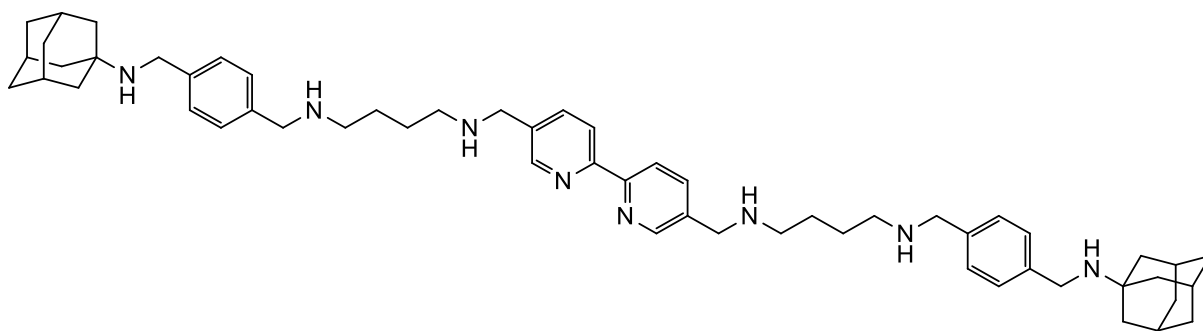
Do mikrovlnné zkumavky o objemu 35 cm³ byl předložen adamantylamin (1,0 g; 6,61 mmol), tereftaldehyd (1,773 g; 13,22 mmol) a bezvodý methanol (25 cm³). Vzniklý roztok byl zahříván v mikrovlnném reaktoru na teplotu 100 °C po dobu 35 minut (75 W). Dle GC-MS zreagovala s aminem za vzniku iminu právě jedna karbonylová skupina tereftaldehydu. Reakční směs byla převedena do baňky, byl k ní přidán trimethyl-orthoformiát (5 cm³; velký přebytek)

a monohydrát kyseliny *p*-toluensulfonové (1,38 g; 7,25 mmol) a byla míchána pod argonovou atmosférou po dobu 90 minut. Následná GC-MS analýza potvrdila úplnou acetalizaci všech karbonylových skupin. K roztoku reakční směsi byl za účelem alkalizace přidán methoxid sodný (1,9 g; velký přebytek) a následně v několika porcích tetrahydridoboritan sodný (0,38 g; 10 mmol). Druhého dne byla pomocí GC-MS potvrzena nepřítomnost iminu. Těkavé podíly byly oddestilovány pomocí RVO, zbytek byl rozmíchán ve vodě a extrahován diethyletherem ($4 \times 40 \text{ cm}^3$), spojené organické podíly byly promyty nasyceným roztokem chloridu sodného ($2 \times 50 \text{ cm}^3$) a vysušeny nad bezvodým síranem sodným. Po filtraci sušidla byl roztok diethyletheru zahuštěn pomocí RVO na zhruba poloviční objem a vychlazen na 0°C na ledové lázni. Do tohoto roztoku byla za intenzivního míchání přikapávána koncentrovaná kyselina sírová (0,5 až 1 cm^3). Okamžitě docházelo k vylučování sraženiny, která byla následně odsáta na fritě a promyta bezvodý diethyletherem. Po jejím vysušení byla sraženina převedena do baňky a rozpuštěna v minimálním množství vody, vzniklý roztok byl míchán za laboratorní teploty po dobu 60 minut, následně provedená GC-MS analýza potvrdila hydrolyzu acetalu (odchránění benzaldehydové skupiny). Roztok byl následně alkalizován vodným roztokem hydroxidu sodného a extrahován dichlormethanem ($4 \times 40 \text{ cm}^3$), spojené organické podíly byly promyty nasyceným roztokem chloridu sodného ($2 \times 50 \text{ cm}^3$) a vysušeny nad bezvodým síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů byl zbytek přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, ethyl-acetát). Bylo získáno 0,91 g (51 %) bezbarvé krystalické látky. Naměřená data jsou v dobré shodě s literárními údaji.¹⁷¹

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 9,97 (s, 1H); 7,83 (d, $J = 8,0 \text{ Hz}$, 2H); 7,58 (d, $J = 8,0 \text{ Hz}$, 2H); 3,79 (s, 2H); 2,02 (s, 3H); 1,64–1,56 (m, 12H) ppm.

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 101 MHz) δ 192,7; 150,4; 134,6; 129,3; 128,3; 50,2; 44,0; 42,3; 36,3; 29,0 ppm.

N^1 -(4-((adamantan-1-ylamino)methyl)benzyl)- N^4 -((5'-(((4-((4-((adamantan-1-ylamino)methyl)benzyl)amino)butyl)amino)methyl)-(2,2'-bipyridin)-5-yl)methyl)butan-1,4-diamin (10)



Do mikrovlnné zkumavky o objemu 35 cm³ byl předložen *N*¹,*N*^{1'}-([2,2'-bipyridin]-5,5'-diylbis(methylen))bis(butan-1,4-diamin) (**8**; 0,65 g; 1,82 mmol), 4-((adamantan-1-ylamino)methyl)benzaldehyd (**9**; 0,98 g; 3,65 mmol) a bezvodý methanol (25 cm³). Vzniklý roztok byl zahříván v mikrovlnném reaktoru na teplotu 100 °C po dobu 35 minut (75 W). Reakční směs byla převedena do baňky, vychlazena na 0 °C a následně byl v několika porcích přidán tetrahydridoboritan sodný (0,28 g; 7,37 mmol). Druhého dne byly těkavé podíly oddestilovány pomocí RVO, zbytek byl rozmíchán ve vodě a extrahován dichlormethanem (5 × 20 cm³), spojené organické podíly byly promyty nasyceným roztokem chloridu sodného (2 × 50 cm³) a vysušeny nad bezvodým síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů bylo získáno 1,113 g (73 %) světle žluté olejovité látky. Ta byla následně rozpuštěna v bezvodém ethanolu a k tomuto roztoku byl přidáván etherický roztok chlorovodíku. Vzniklá sraženina byla odsáta na fritě a promyta bezvodým ethanolem a bezvodým diethyletherem. Bylo získáno 0,91 g světle oranžové krystalické látky. Vzhledem k nejasnému náboji látky a počtu HCl připadajících na přítomné aminoskupiny, není určen výtěžek. Látka byla analyzována a používána ve stavu soli (hydrochloridu).

¹H NMR (D₂O, 400 MHz) δ 8,85 (s, 2H); 8,31 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H); 8,24 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H); 7,62 (s, 8H); 4,49 (s, 4H); 4,36 (s, 4H); 4,33 (s, 4H); 3,27 (dt, *J* = 24,4 Hz, *J'* = 7,0 Hz, 8H); 2,31 (s, 6H); 2,08 (d, *J* = 2,3 Hz, 12H); 1,92–1,76 (m, 20H) ppm.

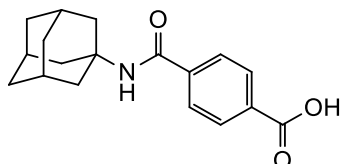
¹³C NMR (D₂O, 101 MHz) δ 155,6; 150,3; 140,2; 133,2; 131,9; 130,6 (2×); 128,1; 122,9; 58,6; 50,7; 48,2; 47,0; 46,6; 43,1; 38,2; 35,0; 29,1; 22,9 (2×) ppm.

IČ (KBr) $\tilde{\nu}$ 3431 (m), 3011 (s), 2926 (s), 2913 (s), 2851 (m), 2801 (s), 1603 (w), 1561 (m), 1433 (s), 1371 (s), 1077 (m), 981 (m) cm⁻¹.

HRMS (m/z): teoreticky pro $[M+H]^+$: 863,6383; nalezeno: 863,6480.

$T_f > 300\text{ }^\circ\text{C}$.

kyselina 4-(adamantan-1-ylkarbamoyl)benzoová (11)



Do baňky byla předložena kyselina tereftalová (6 g; 36,11 mmol), methanol (100 cm³) a kyselina sírová (2 cm³). Vzniklá směs byla refluxována po dobu 24 hodin. Vzhledem k tomu, že se stále jednalo o suspenzi, byl znovu přidán methanol (15 cm³) i kyselina sírová (1 cm³) a bylo pokračováno v refluxování. Již po dalších dvou hodinách byla reakční směs čirá. Po ochlazení byly všechny těkavé podíly oddestilovány na RVO. Zbytek byl suspendován v dichlormethanu (cca 100 cm³) promyt vodou (3 × 50 cm³) a nasyceným roztokem chloridu sodného (2 × 50 cm³). Organická vrstva byla vysušena síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů bylo získáno 6,16 g (88 %) dimethyl-tereftalátu ve formě bezbarvé krystalické látky, která byla ihned použita do dalšího kroku.

Do baňky byl předložen hydroxid draselný (1,471 g; 26,2 mmol) a methanol (50 cm³), za intenzivního míchání vznikl čirý roztok, poté byla přidána krystalická látka z předchozího kroku (5,093 g; 26,2 mmol), vzniklá směs byla refluxována právě 4 hodiny. Po ochlazení byly těkavé podíly oddestilovány na RVO. Zbytek byl rozmíchán ve vodě (50 cm³) a extrahován dichlormethanem (3 × 15 cm³), vodná vrstva byla poté okyselena přidávkou koncentrované kyseliny chlorovodíkové (15 cm³), vyloučená sraženina byla odsáta na fritě, promyta vodou (2 × 50 cm³) a vysušena při 60 °C. Bylo získáno 3,896 g (82 %) 4-(methoxykarbonyl)benzoové kyseliny ve formě bezbarvé krystalické látky, která byla ihned použita do dalšího kroku.

Do baňky byla předložena krystalická látka z předchozího kroku (0,2 g; 1,11 mmol), thionylchlorid (3 cm³) a dvě kapky *N,N*-dimethylformamidu. Vzniklá suspenze byla pod argonovou atmosférou refluxována do jejího úplného rozpuštění po dobu 90 minut. Po ochlazení byly všechny těkavé podíly oddestilovány na RVO. Zbytek byl rozpuštěn v bezvodém dichlormethanu

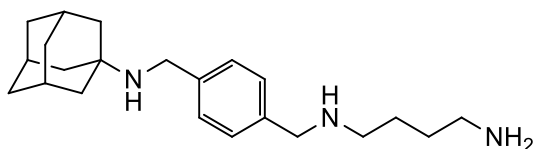
(25 cm³). Vzniklý roztok byl pomocí injekční stříkačky s jehlou pomalu dávkován proti proudu argonu do baňky se směsí adamantylaminu (0,176 g; 1,16 mmol), triethylaminu (0,45 g; 4,44 mmol) a bezvodého dichlormethanu (25 cm³) vychlazené na 0 °C. Druhého dne byla reakční směs převedena do dělicí nálevky a promyta vodou (2 × 50 cm³), vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (2 × 50 cm³), 10% vodným roztokem kyseliny chlorovodíkové (2 × 50 cm³) a nasyceným roztokem chloridu sodného (2 × 50 cm³). Organická vrstva byla vysušena nad bezvodým síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů byl zbytek přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, petrolether:ethyl-acetát, 3:1, v:v). Bylo získáno 0,136 g (39 %) methyl-4-(adamantan-1-ylkarbamoyl)benzoátu ve formě nažloutlé krystalické látky, která byla ihned použita do dalšího kroku.

Do baňky byla předložena krystalická látka z předchozího kroku (0,1 g; 0,32 mmol), hydroxid lithný monohydrát (0,07 g; 1,68 mmol), tetrahydrofuran (2 cm³) a voda (1,4 cm³). Vzniklá směs byla míchána za laboratorní teploty po dobu čtyř hodin, poté byla pomocí TLC (silikagel, petrolether:ethyl-acetát, 3:1, v:v) prokázána nepřítomnost výchozí látky. Po oddestilování těkavých podílů na RVO byl odparek rozpuštěn ve vodě (7 cm³). K tomuto roztoku byla dávkována po kapkách koncentrovaná HCl, dokud docházelo k vylučování pevného podílu. Ten byl odsát na fritě, promyt vodou (4 × 5 cm³) a vysušen při 60 °C. Bylo získáno 0,07 g (73 %) bezbarvé krystalické látky. Naměřená data jsou v dobré shodě s literárními údaji.¹⁷²

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 13,11 (br s, 1H); 7,96 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H); 7,85 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H); 7,74 (s, 1H); 2,07 (s, 9H); 1,66 (s, 6H) ppm.

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz) δ 166,8; 165,3; 139,8; 132,5; 128,9; 127,5; 51,7; 40,8; 36,0; 28,8 ppm.

***N*¹-(4-((adamantan-1-ylamino)methyl)benzyl)butan-1,4-diamin (12)**



Do mikrovlnné zkumavky o objemu 10 cm³ byl předložen *tert*-butyl-(4-aminobutyl)karbamát (7; 0,026 g; 0,138 mmol), 4-((adamantan-1-

ylamino)methyl)benzaldehyd (**9**; 0,037 g; 0,138 mmol) a bezvodý methanol (5 cm³). Vzniklý roztok byl zahříván v mikrovlnném reaktoru na teplotu 100 °C po dobu 35 minut (75 W). Reakční směs byla převedena do baňky, vychlazená na 0 °C a následně byl v několika porcích přidán tetrahydridoboritan sodný (0,05 g; 1,32 mmol). Druhého dne byly těkavé podíly oddestilovány pomocí RVO, zbytek byl rozmíchán ve vodě a extrahován dichlormethanem (3 × 10 cm³). Spojené organické podíly byly promyty nasyceným roztokem chloridu sodného (2 × 10 cm³) a vysušeny nad bezvodým síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů na RVO bylo získáno 0,052 g (86 %) *terc*-butyl-(4-((4-((adamantan-1-ylamin)methyl)benzyl)amino)butyl-karbamátu ve formě nažloutlé olejovité látky, která byla ihned použita do dalšího kroku.

Odparek byl rozpuštěn a míchán ve směsi bezvodého dichlormethanu (2,5 cm³) a kyseliny trifluoroctové (0,7 cm³), vzniklý roztok byl míchán při teplotě laboratoře. Druhého dne byly těkavé podíly oddestilovány pomocí RVO, odparek byl rozmíchán v 10% vodném roztoku hydroxidu sodného (15 cm³) a extrahován dichlormethanem (5 × 15 cm³), spojené organické podíly byly promyty nasyceným roztokem chloridu sodného (2 × 15 cm³) a vysušeny nad bezvodým síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů bylo získáno 0,030 g (64 %) žluté olejovité látky.

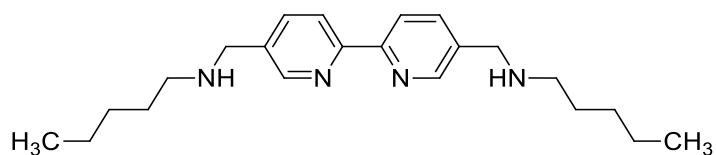
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7,27 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H); 7,22 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H); 3,74 (s, 2H); 3,72 (s, 2H); 2,64 (dt, *J* = 25,4 Hz, *J'* = 6,7 Hz, 4H); 2,07 (s, 3H); 1,69–1,43 (m, 20H) ppm.

¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ 140,5; 138,9; 128,4; 128,3; 53,8; 51,0; 49,2; 44,9; 43,0; 42,2; 36,9; 31,6; 29,8; 27,5 ppm.

IČ (KBr) $\tilde{\nu}$ 3468 (w), 3425 (w), 3051 (m), 3010 (m), 2903 (s), 2846 (s), 1650 (m), 1584 (s), 1462 (s), 1355 (m), 1143 (m), 988 (w), 815 (m) cm⁻¹.

HRMS (*m/z*): teoreticky pro [M+H]⁺: 342,2865; nalezeno: 342,2919.

***N,N'*-([2,2'-bipyridin]-5,5'-diylbis(methylen))bis(pentan-1-amin) (**13**)**



Do baňky byl předložen 5,5'-bis(brommethyl)-2,2'-bipyridin (**5**; 0,318 g; 0,93 mmol), pentan-1-amin (0,81 g; 9,3 mmol) a bezvodý acetonitril (20 cm³). Vzniklá suspenze byla refluxována pod argonovou atmosférou 16 hodin. Po ochlazení byly těkavé podíly oddestilovány. Zbytek byl rozmíchán ve vodném roztoku hydroxidu sodného (20 cm³) a extrahován dichlormethanem (4 × 20 cm³), spojené organické podíly byly vysušeny nad síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů na RVO bylo získáno 0,287 g (87 %) bezbarvé krystalické látky. Ta byla následně rozpuštěna v bezvodém ethanolu a k tomuto roztoku byl přidáván etherický roztok chlorovodíku. Vzniklá sraženina byla odsáta na fritě a promyta bezvodým ethanolom a bezvodým diethyletherem. Bylo získáno 0,32 g bezbarvé krystalické látky. Vzhledem k nejasnému náboji látky a počtu HCl připadajících na přítomné aminoskupiny, není určen výtěžek. Látka byla analyzována a používána ve stavu soli (hydrochloridu).

¹H NMR (D₂O, 400 MHz) δ 9,04 (s, 2H); 8,62–8,56 (m, 4H); 4,57 (s, 4H); 3,25 (t, *J* = 7,8 Hz, 4H); 1,85–1,78 (m, 4H); 1,46–1,39 (m, 8H); 0,96 (t, *J* = 6,9 Hz, 6H) ppm.

¹³C NMR (D₂O, 101 MHz) δ 149,2; 147,8; 143,9; 130,7; 124,3; 48,0; 47,5; 27,9; 25,3; 21,5; 13,1 ppm.

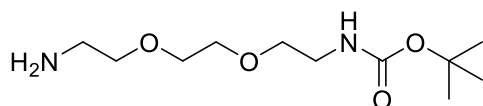
IČ (KBr) $\tilde{\nu}$ 3425 (w), 3008 (m), 2935 (s), 2866 (s), 2791 (s), 1599 (w), 1553 (w), 1469 (s), 1431 (s), 1385 (m), 1054 (w), 848 cm⁻¹.

HRMS (*m/z*): teoreticky pro [M+H]⁺: 355,2817; nalezeno: 355,2884.

T_t >300 °C (rozklad).

Syntézy k ostatním projektům

terc-butyl-(2-(2-(2-aminoethoxy)ethoxy)ethyl)karbamát (14**)**



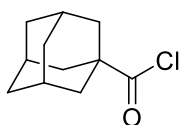
Do baňky byl předložen 2,2'-(ethan-1,2-diylbis(oxy))bis(ethan-1-amin) (16,3 g; 0,11 mol) a dichlormethan (30 cm³). Vzniklý roztok byl vychlazen na 0 °C a pomocí přikapávací nálevky k němu byl pod dusíkovou atmosférou

pomalu přikapáván roztok di-*terc*-butyl-dikarbonátu (4 g; 18,3 mmol) v dichlormethanu (40 cm³). Druhého dne byla reakční směs převedena do dělicí nálevky a promyta vodou (6 × 70 cm³). Organická vrstva byla vysušena nad síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů bylo získáno 2,73 g (61 %) bezbarvé olejovité látky. Naměřená data jsou v dobré shodě s literárními údaji.¹⁷³

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5,16 (s, 1H); 3,67–3,52 (m, 4H); 3,52–3,40 (m, 4H); 3,31–3,17 (m, 2H); 2,94–2,66 (m, 2H); 1,37 (s, 9H); 1,24 (s, 2H) ppm.

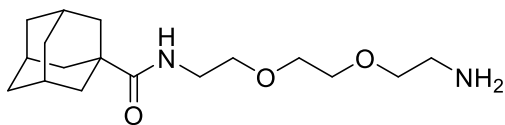
¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ 156,0; 79,1; 73,6; 70,2 (3×); 41,8; 40,4; 28,4 ppm.

adamantan-1-karbonylchlorid (15)



Do baňky byla předložena adamantan-1-karboxylová kyselina (3 g; 16,6 mmol), přebytek thionylchloridu a dvě kapky *N,N*-dimethylformamidu (DMF). Vzniklá směs byla zahřívána k refluxu po dobu 3 hodin za vzniku čirého roztoku. Těkavé podíly byly oddestilovány, čímž byl kvantitativně získán požadovaný produkt ve formě nažloutlé pevné látky, která byla ihned použita do dalšího kroku.

N-(2-(2-(2-aminoethoxy)ethoxy)ethyl)-1-adamantankarboxamid (16)



Do baňky byl předložen *terc*-butyl-(2-(2-(2-aminoethoxy)ethoxy)ethyl)karbamát (**14**; 2,585 g; 10,4 mmol), triethylamin (8,7 cm³; 62,5 mmol) a bezvodý dichlormethan (25 cm³). Vzniklý roztok byl vychlazen na 0 °C a pomocí přikapávací nálevky k němu byl pomalu přikapáván roztok adamantan-1-karbonylchloridu (**15**; 2,7 g; 13,6 mmol) v bezvodém dichlormethanu (30 cm³). Druhého dne byla reakční směs převedena do dělicí nálevky a promyta 1M roztokem uhličitanu draselného (2 × 70 cm³) a nasyceným roztokem chloridu sodného (1 × 70 cm³). Organická vrstva byla vysušena nad

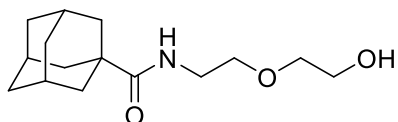
síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů na RVO bylo získáno 1,868 g (99 %) *tert*-butyl-(2-(2-(2-(adamantan-1-karboxamido)ethoxy)ethoxy)-ethylkarbamátu ve formě žluté olejovité látky, která byla ihned použita do dalšího kroku.

Odparek byl rozpuštěn a míchán ve směsi bezvodého dichlormethanu (10 cm³) a kyseliny trifluoroctové (5 cm³). Po třech hodinách byly těkavé podíly oddestilovány na RVO, zbytek byl rozmíchán v 10% vodném roztoku hydroxidu sodného (30 cm³) a extrahován dichlormethanem (5 × 30 cm³), spojené organické vrstvy byly promyty 10% vodným roztokem hydroxidu sodného (2 × 150 cm³) nasyceným roztokem chloridu sodného (2 × 150 cm³) a vysušeny nad bezvodým síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů bylo získáno 3,03 g (94 %) žluté olejovité látky. Naměřená data jsou v dobré shodě s literárními údaji.¹⁷⁴

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 6,07 (s, 1H); 3,64–3,56 (m, 4H); 3,55–3,46 (m, 4H); 3,45–3,36 (m, 2H); 2,85 (t, *J* = 5,2 Hz, 2H); 2,06–1,95 (m, 3H); 1,88–1,75 (m, 6H); 1,77–1,61 (m, 6H); 1,38 (br s, 2H) ppm.

¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ 178,2; 73,3; 70,5; 70,3; 70,0; 41,9; 40,7; 39,4; 39,0; 36,8; 28,4 ppm.

***N*-(2-(2-hydroxyethoxy)ethyl)-1-adamantan-1-karboxamid (17)**

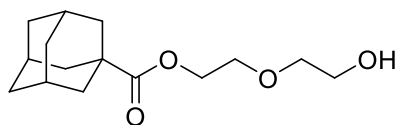


Do baňky byl předložen 2-(2-aminoethoxy)ethanol (2,4 cm³; 24 mmol) a bezvodý dichlormethan (10 cm³). Vzniklý roztok byl vychlazen na 0 °C a pomocí přikapávací nálevky k němu byl pomalu přikapáván roztok adamantan-1-karbonylchloridu (**15**; 1,2 g; 6 mmol) v bezvodém dichlormethanu (5 cm³). Druhého dne byla reakční směs převedena do dělicí nálevky a promyta 1M roztokem kyseliny chlorovodíkové (4 × 20 cm³) a nasyceným roztokem chloridu sodného (1 × 20 cm³). Organická vrstva byla vysušena nad síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů bylo získáno 1,23 g (76 %) bezbarvé olejovité látky. Naměřená data jsou v dobré shodě s literárními údaji.¹⁷⁵

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 6,04 (s, 1H); 3,79–3,70 (m, 2H); 3,62–3,52 (m, 4H); 3,49–3,39 (m, 2H); 2,30 (br s, 1H); 2,07–1,95 (m, 3H); 1,90–1,78 (m, 6H); 1,79–1,62 (m, 6H) ppm.

^{13}C NMR (CDCl_3 , 101 MHz) δ 178,3; 72,3; 70,2; 61,9; 40,8; 39,4; 39,2; 36,7; 28,3 ppm.

2-(2-hydroxyethoxy)ethyl-1-adamantankarboxylát (18)



Do baňky byl předložen diethylenglykol (1,147 cm³; 12 mmol), triethylamin (1,01 cm³; 7,2 mmol) a bezvodý dichlormethan (10 cm³). Vzniklý roztok byl vychlazen na 0 °C a pomocí přikapávací nálevky k němu byl pomalu přikapáván roztok adamantan-1-karbonylchloridu (**15**; 1,2 g; 6 mmol) v bezvodém dichlormethanu (5 cm³). Druhého dne byla reakční směs převedena do dělicí nálevky a promyta 10% roztokem hydrogenuhličitanu sodného (2 × 20 cm³) a nasyceným roztokem chloridu sodného (1 × 20 cm³). Organická vrstva byla vysušena nad síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů byl zbytek přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, ethyl-acetát). Bylo získáno 1,135 g (70 %) bezbarvé olejovité látky.

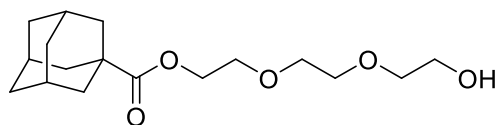
^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 4,21 (t, J = 4,8 Hz, 2H); 3,79–3,64 (m, 4H); 3,59 (t, J = 4,6 Hz, 2H); 2,19 (br s, 1H); 2,06–1,96 (m, 3H); 1,94–1,81 (m, 6H); 1,79–1,62 (m, 6H) ppm.

^{13}C NMR (CDCl_3 , 101 MHz) δ 177,6; 72,2; 69,2; 63,1; 61,8; 40,7; 38,8; 36,5; 27,9 ppm.

IČ (KBr) $\tilde{\nu}$ 3441 (br m), 2907 (s), 2853 (s), 1728 (s), 1454 (m), 1324 (w), 1269 (m), 1236 (s), 1134 (m), 1104 (m), 1079 (s) cm⁻¹.

ESI-MS (pos.) m/z (%): 559,2 [$2\cdot\text{M}+\text{Na}^+$]⁺ (87); 422,1 [$3\cdot\text{M}+\text{H}^++\text{K}^+$]²⁺ (10); 291,0 [$\text{M}+\text{Na}^+$]⁺ (100).

2-(2-(2-(2-hydroxyethoxy)ethoxy)ethoxy)ethyl-1-adamantankarboxylát (19)

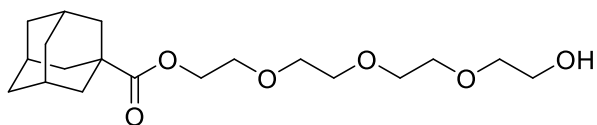


Do baňky byl předložen triethylenglykol (8,883 cm³; 66,6 mmol), triethylamin (5,57 cm³; 40 mmol) a bezvodý dichlormethan (25 cm³). Vzniklý roztok byl vychlazen na 0 °C a pomocí příkapávací nálevky k němu byl pomalu příkapáván roztok adamantan-1-karbonylchloridu (**15**; 6,61 g; 33,3 mmol) v bezvodém dichlormethanu (25 cm³). Druhého dne byla reakční směs převedena do dělicí nálevky a promyta 10% roztokem hydrogenuhličitanu sodného (3 × 70 cm³) a nasyceným roztokem chloridu sodného (1 × 70 cm³). Organická vrstva byla vysušena nad síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů byl zbytek přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, ethyl-acetát). Bylo získáno 6,315 g (61 %) bezbarvé olejovité látky. Naměřená data jsou v dobré shodě s literárními údaji.¹⁷⁶

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 4,22 (t, *J* = 4,8 Hz, 2H); 3,77–3,75 (m, 2H); 3,71–3,60 (m, 6H); 2,25–2,22 (m, 1H); 2,03 (s, 3H); 1,95–1,84 (m, 6H); 1,77–1,66 (m, 6H) ppm.

¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ 177,6; 72,5; 70,7; 70,5; 69,3; 63,1; 61,8; 40,7; 38,8; 36,5; 27,9 ppm.

2-(2-(2-(2-(2-hydroxyethoxy)ethoxy)ethoxy)ethoxy)ethyl-1-adamantankarboxylát (20)



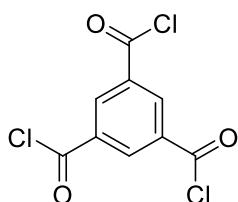
Do baňky byl předložen tetraethylenglykol (2,085 cm³; 12 mmol), triethylamin (1,01 cm³; 7,2 mmol) a bezvodý dichlormethan (10 cm³). Vzniklý roztok byl vychlazen na 0 °C a pomocí příkapávací nálevky k němu byl pomalu příkapáván roztok adamantan-1-karbonylchloridu (**15**; 1,2 g; 6 mmol) v bezvodém dichlormethanu (5 cm³). Druhého dne byla reakční směs převedena do dělicí nálevky a promyta 10% roztokem hydrogenuhličitanu sodného (3 × 20 cm³) a nasyceným roztokem chloridu sodného (1 × 20 cm³). Organická vrstva byla vysušena nad síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů byl zbytek

přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, ethyl-acetát). Bylo získáno 1,2 g (56 %) bezbarvé olejovité látky. Naměřená data jsou v dobré shodě s literárními údaji.¹⁷⁷

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 4,22 (t, *J* = 5,2 Hz, 2H); 3,75–3,61 (m, 14H); 2,44–2,42 (m, 1H); 2,02 (s, 3H); 1,94–1,90 (m, 6H); 1,74–1,69 (m, 6H) ppm.

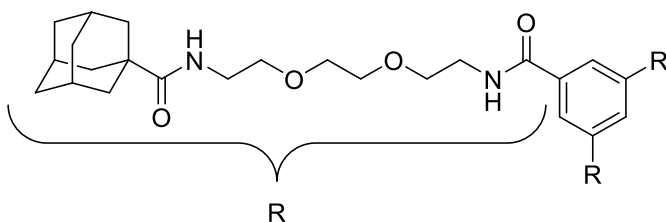
¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ 177,7; 77,2; 72,5; 70,8; 70,7; 70,5; 69,4; 63,3; 61,9; 40,8; 38,9; 36,6; 28,0 ppm.

benzen-1,3,5-trikarbonylchlorid (21)



Do baňky byla předložena benzen-1,3,5-trikarboxylová kyselina (1 g; 4,8 mmol), přebytek thionylchloridu a dvě kapky *N,N*-dimethylformamidu (DMF). Vzniklá směs byla zahřívána k refluxu po dobu 4 hodin za vzniku čirého roztoku. Těkavé podíly byly oddestilovány pomocí RVO, čímž byl kvantitativně získán produkt ve formě bílé až nažloutlé pevné látky, která byla ihned použita do dalšího kroku.

*N*¹,*N*³,*N*⁵-tris(2-(2-(2-(adamantan-1-karboxamido)ethoxy)ethoxy)ethyl)benzen-1,3,5-trikarboxamid (22)



Do baňky byl předložena sloučenina **16** (3,79 g; 12,2 mmol), triethylamin (1,86 cm³; 13,3 mmol) a bezvodý dichlormethan (15 cm³). Vzniklý roztok byl vychlazen na 0 °C a pomocí přikapávací nálevky k němu byl pomalu přikapáván roztok benzen-1,3,5-trikarbonylchloridu (**21**; 0,983 g; 3,7 mmol) v bezvodém dichlormethanu (15 cm³). Druhého dne byla reakční směs převedena do dělicí nálevky a promyta 10% roztokem hydrogenuhličitanu sodného (3 × 30 cm³)

a nasyceným roztokem chloridu sodného ($1 \times 30 \text{ cm}^3$). Organická vrstva byla vysušena nad síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů byl zbytek přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, ethyl-acetát:ethanol, 3:1, v:v). Bylo získáno 2,5 g (62 %) bezbarvé olejovité látky.

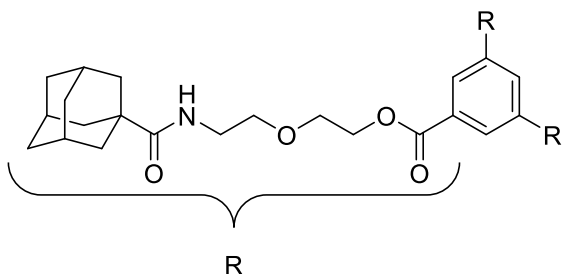
^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8,45 (s, 3H); 7,33 (s, 3H); 6,22 (t, $J = 5,1 \text{ Hz}$, 3H); 3,67–3,59 (m, 24H); 3,55 (t, $J = 5,3 \text{ Hz}$, 6H); 3,43–3,32 (m, 6H); 2,02–1,94 (m, 9H); 1,87–1,76 (m, 18H); 1,75–1,58 (m, 18H) ppm.

^{13}C NMR (CDCl_3 , 101 MHz) δ 178,4; 166,0; 135,1; 128,5; 70,3; 70,1; 69,8; 69,5; 40,6; 40,0; 39,2; 39,0; 36,5; 28,1 ppm.

ÍČ (KBr) $\tilde{\nu}$ 3351 (m), 3076 (w), 2904 (s), 2850 (s), 1640 (s), 1534 (s), 1452 (m), 1288 (m), 1134 (m), 1105 (m), 742 (w) cm^{-1} .

ESI-MS (pos.) m/z (%): 1125,6 $[\text{M}+\text{K}^+]^+$ (5); 1109,7 $[\text{M}+\text{Na}^+]^+$ (100); 1106,6 $[2\cdot\text{M}+\text{H}^++\text{K}^+]^{2+}$ (7); 1087,7 $[\text{M}+\text{H}^+]^+$ (11); 566,3 $[\text{M}+2\cdot\text{Na}^+]^{2+}$ (18); 563,3 $[\text{M}+\text{H}^++\text{K}^+]^{2+}$ (17); 555,3 $[\text{M}+\text{H}^++\text{Na}^+]^{2+}$ (11).

tris(2-(2-(adamantan-1-karboxamido)ethoxy)ethyl)-benzen-1,3,5-trikarboxylát (23)



Do baňky byl předložen *N*-(2-(2-hydroxyethoxy)ethyl)-1-adamantankarboxamid (**17**; 1,037 g; 3,9 mmol), triethylamin (0,59 cm^3 ; 4,25 mmol) a bezvodý dichlormethan (10 cm^3). Vzniklý roztok byl vychlazen na 0°C a pomocí přikapávací nálevky k němu byl pomalu přikapáván roztok benzen-1,3,5-trikarbonylchloridu (**21**; 0,313 g; 1,18 mmol) v bezvodém dichlormethanu (5 cm^3). Druhého dne byla reakční směs převedena do dělicí nálevky a promyta 10% roztokem hydrogenuhličitanu sodného ($3 \times 15 \text{ cm}^3$) a nasyceným roztokem chloridu sodného ($1 \times 15 \text{ cm}^3$). Organická vrstva byla vysušena nad síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů byl zbytek přečištěn sloupcovou

chromatografií (silikagel, ethyl-acetát:ethanol, 7:1, v:v). Bylo získáno 0,79 g (70 %) bezbarvé olejovité látky.

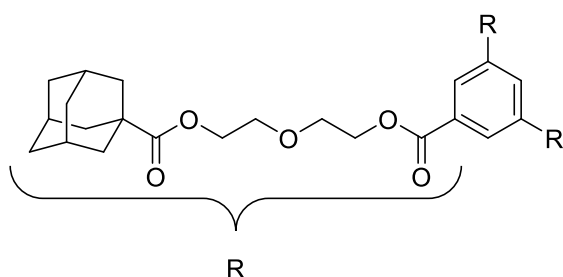
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,87 (s, 3H); 6,01 (s, 3H); 4,63–4,45 (m, 6H); 3,92–3,74 (m, 6H); 3,59 (t, *J* = 5,2 Hz, 6H); 3,44 (q, *J* = 5,3 Hz, 6H); 2,00–1,91 (m, 9H); 1,83–1,76 (m, 18H); 1,73–1,57 (m, 18H) ppm.

¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ 178,0; 164,8; 134,7; 131,2; 70,0; 68,8; 64,6; 40,6; 39,2; 39,0; 36,5; 28,1 ppm.

ÍČ (KBr) $\tilde{\nu}$ 3361 (m), 3085 (w), 2905 (s), 2851 (s), 1732 (s), 1640 (s), 1524 (s), 1452 (m), 1241 (s), 1136 (s), 742 (m) cm⁻¹.

ESI-MS (pos.) *m/z* (%): 996,5 [M+K⁺]⁺ (9); 980,5 [M+Na⁺]⁺ (100); 977,5 [2·M+H⁺+K⁺]²⁺ (11); 958,5 [M+H⁺]⁺ (14); 501,7 [M+2·Na⁺]²⁺ (6); 498,7 [M+H⁺+K⁺]²⁺ (7); 490,7 [M+H⁺+Na⁺]²⁺ (5).

tris(2-(2-((adamantan-1-karbonyl)oxy)ethoxy)ethyl)-benzen-1,3,5-trikarboxylát (24)



Do baňky byl předložen 2-(2-hydroxyethoxy)ethyl-1-adamantankarboxylát (**18**; 1,39 g; 5,18 mmol), triethylamin (0,79 cm³; 5,65 mmol) a bezvodý dichlormethan (10 cm³). Vzniklý roztok byl vychlazen na 0 °C a pomocí přikapávací nálevky k němu byl pomalu přikapáván roztok benzen-1,3,5-trikarbonylchloridu (**21**; 0,417 g; 1,6 mmol) v bezvodém dichlormethanu (5 cm³). Druhého dne byla reakční směs převedena do dělicí nálevky a promyta 10% roztokem hydrogenuhlčitanu sodného (3 × 15 cm³) a nasyceným roztokem chloridu sodného (1 × 15 cm³). Organická vrstva byla vysušena nad síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů byl zbytek přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, ethyl-acetát:petrolether, 5:3, v:v). Bylo získáno 1,01 g (67 %) bezbarvé olejovité látky.

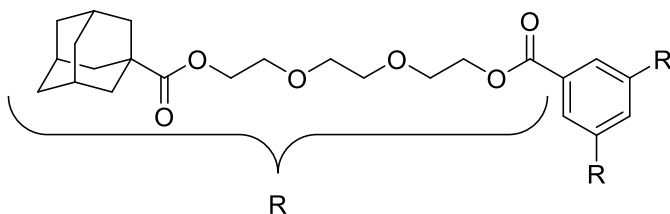
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,88 (s, 3H); 4,53 (t, *J* = 4,8 Hz, 6H); 4,22 (t, *J* = 5,0 Hz, 6H); 3,85 (t, *J* = 5,0 Hz, 6H); 3,73 (t, *J* = 5,0 Hz, 6H); 1,99–1,91 (m, 9H); 1,88–1,80 (m, 18H); 1,75–1,61 (m, 18H) ppm.

¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ 177,5; 164,9; 134,8; 131,2; 69,3; 68,9; 64,5; 63,1; 40,7; 38,8; 36,5; 27,9 ppm.

IČ (KBr) $\tilde{\nu}$ 3434 (w), 3085 (w), 2907 (s), 2852 (s), 1729 (s), 1608 (w), 1454 (m), 1325 (m), 1235 (s), 1104 (m), 1078 (s), 867 (w), 742 (m) cm⁻¹.

ESI-MS (pos.) *m/z* (%): 983,5 [M+Na⁺]⁺ (100).

tris(2-(2-(2-((adamantan-1-karbonyl)oxy)ethoxy)ethoxy)ethyl)-benzen-1,3,5-trikarboxylát (25)



Do baňky byl předložen 2-(2-(2-hydroxyethoxy)ethoxy)ethyl-1-adamantankarboxylát (**19**; 1,62 g; 5,2 mmol), triethylamin (0,8 cm³; 5,8 mmol) a bezvodý dichlormethan (10 cm³). Vzniklý roztok byl vychlazen na 0 °C a pomocí přikapávací nálevky k němu byl pomalu přikapáván roztok benzen-1,3,5-trikarbonylchloridu (**21**; 0,33 g; 1,24 mmol) v bezvodém dichlormethanu (5 cm³). Druhého dne byla reakční směs převedena do dělicí nálevky a promyta 10% roztokem hydrogenuhličitanu sodného (3 × 15 cm³) a nasyceným roztokem chloridu sodného (1 × 15 cm³). Organická vrstva byla vysušena nad síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů byl zbytek přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, ethyl-acetát:petrolether, 5:3, v:v). Bylo získáno 1,37 g (80 %) bezbarvé olejovité látky.

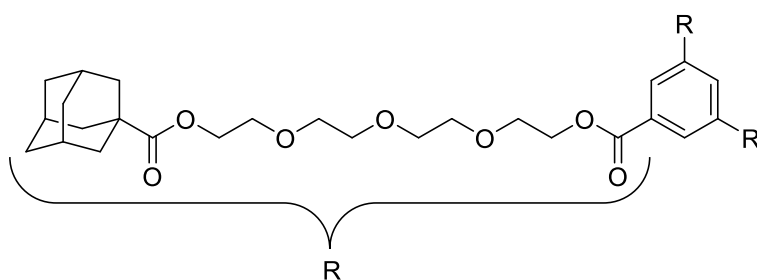
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,87 (s, 3H); 4,53 (t, *J* = 4,8 Hz, 6H); 4,19 (t, *J* = 5,0 Hz, 6H); 3,87 (t, *J* = 4,8 Hz, 6H); 3,73–3,63 (m, 18H); 2,03–1,95 (m, 9H); 1,93–1,84 (m, 18H); 1,77–1,64 (m, 18H) ppm.

¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ 177,5; 164,9; 134,8; 131,2; 70,69; 70,66; 69,3; 69,1; 64,7; 63,2; 40,7; 38,8; 36,5; 27,9 ppm.

IČ (KBr) $\tilde{\nu}$ 3430 (w), 3086 (w), 2907 (s), 2853 (s), 1729 (s), 1608 (w), 1453 (m), 1325 (m), 1237 (s), 1104 (m), 1078 (s), 865 (m), 742 (m) cm^{-1} .

ESI-MS (pos.) m/z (%): 1115,6 $[\text{M}+\text{Na}^+]^+$ (100).

tris(1-(adamantan-1-yl)-1-oxo-2,5,8,11-tetraoxatridekan-13-yl)-benzen-1,3,5-trikarboxylát (26)



Do baňky byl předložen 2-(2-(2-(2-hydroxyethoxy)ethoxy)ethoxy)ethyl-1-adamantankarboxylát (**20**; 1,87 g; 5,2 mmol), triethylamin (0,8 cm^3 ; 5,8 mmol) a bezvodý dichlormethan (15 cm^3). Vzniklý roztok byl vychlazen na 0 °C a pomocí přikapávací nálevky k němu byl pomalu přikapáván roztok benzen-1,3,5-trikarbonylchloridu (**21**; 0,423 g; 1,6 mmol) v bezvodém dichlormethanu (5 cm^3). Druhého dne byla reakční směs převedena do dělicí nálevky a promyta 10% roztokem hydrogenuhličitanu sodného (3 $\times$ 20 cm^3) a nasyceným roztokem chloridu sodného (1 $\times$ 20 cm^3). Organická vrstva byla vysušena nad síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů byl zbytek přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, ethyl-acetát). Bylo získáno 1,04 g (53 %) bezbarvé olejovité látky.

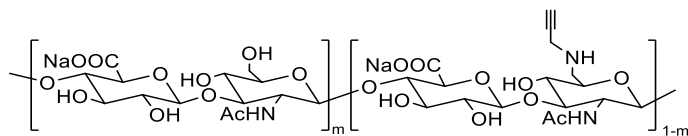
^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8,85 (s, 3H); 4,52 (t, J = 4,8 Hz, 6H); 4,18 (t, J = 5,0 Hz, 6H); 3,85 (t, J = 5,0 Hz, 6H); 3,72–3,61 (m, 30H); 2,02–1,95 (m, 9H); 1,92–1,85 (m, 18H); 1,77–1,64 (m, 18H) ppm.

^{13}C NMR (CDCl_3 , 101 MHz) δ 177,5; 164,9; 134,8; 131,2; 70,66 (2 $\times$); 70,64; 70,58; 69,2; 69,0; 64,7; 63,2; 40,6; 38,8; 36,5; 27,9 ppm.

IČ (KBr) $\tilde{\nu}$ 3432 (w), 3086 (w), 2906 (s), 2854 (s), 1728 (s), 1608 (w), 1454 (m), 1325 (m), 1238 (s), 1078 (s), 865 (m), 742 (m) cm^{-1} .

ESI-MS (pos.) m/z (%): 1263,6 $[\text{M}+\text{K}^+]^+$ (6); 1247,7 $[\text{M}+\text{Na}^+]^+$ (100); 635,3 $[\text{M}+2\cdot\text{Na}^+]^{2+}$ (26); 632,3 $[\text{M}+\text{H}^++\text{K}^+]^{2+}$ (10).

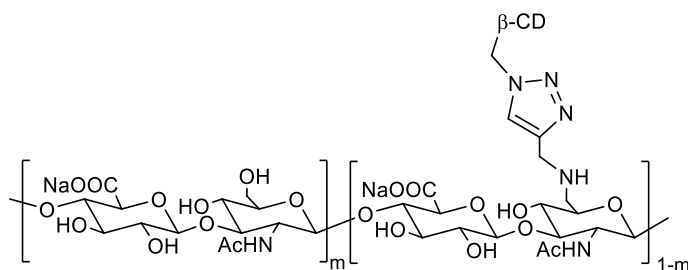
Propargylamino-HA (27)



Do baňky byl předložen hyaluronan sodný ($M_w = 124$ kDa; 1,1 g; 2,75 mmol) a voda (73 cm³). Po jeho rozpuštění druhého dne byl do baňky přidán bromid sodný (0,212 g; 2,1 mmol) a dodekahydrát hydrogenfosforečnanu disodného (1,21 g; 3,4 mmol). Tento roztok byl vychlazen na 0 °C a následně byl probubláván dusíkem. Do roztoku byl přidán 4-acetamido-TEMPO (5,86 mg; 0,03 mmol) a chlornan sodný (1,34 cm³; 4,9% vodný roztok). Po 20 minutách míchání bylo upraveno pH reakční směsi na 5 pomocí přídatku kyseliny octové a byl přidán propargylamin hydrochlorid (0,4 g; 4,36 mmol). Po pěti hodinách míchání byl přidán komplex boran-pikolin (90 mg; 0,84 mmol) a reakční směs byla míchána do dalšího dne. Produkt byl přečištěn dialýzou přes 14 kDa membránu proti 0,1% roztoku NaCl a 0,1% roztoku NaHCO₃ (2 × 8 dm³) a následně proti demineralizované vodě (6 × 8 dm³). Po lyofilizaci bylo získáno 0,76 g (64 %) bezbarvé látky (stupeň substituce: 8–9 %; $M_w = 79$ kDa). Naměřená data jsou v dobré shodě s literárními údaji.¹⁷⁸

¹H NMR (NaOD v D₂O, 400 MHz) δ 4,50 (d, 2H); 4,09–3,40 (m, 10H); 3,19–3,10 (m, CH₂); 2,88–2,71 (m, CH₂); 1,89 (s, 3H).

β -Cyklodextrinem modifikovaná amino-HA (28) (amino-CD-HA)

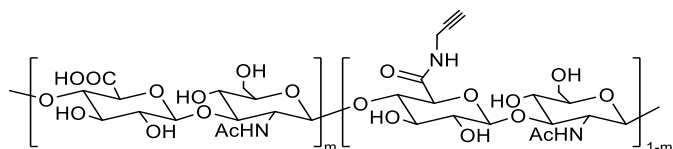


Do baňky byla předložena propargylamino-HA (27; $M_w = 79$ kDa; 0,51 g; 1,25 mmol) a 0,1M pufr PBS o pH 7,4 (25 cm³). K tomuto roztoku byl přidán mono-6-azido-6-deoxy- β -cyklodextrin (0,23 g; 0,2 mmol), pentahydrát síranu měďnatého (0,02 g; 0,08 mmol) a askorban sodný (0,02 g; 0,1 mmol). Reakční směs byla intenzivně míchána do dalšího dne při laboratorní teplotě. Produkt byl přečištěn dialýzou přes 14 kDa membránu proti 0,01% roztoku EDTA (2 × 8 dm³)

a následně proti demineralizované vodě ($6 \times 8 \text{ dm}^3$). Po lyofilizaci bylo získáno 0,61 g (98 %) bezbarvé látky (stupeň substituce: 8–9 %; $M_w = 105 \text{ kDa}$). Naměřená data jsou v dobré shodě s literárními údaji.¹⁷⁹

$^1\text{H NMR}$ (D_2O , 400 MHz) δ 8,24 (s; CH triazol); 5,18–5,01 (m); 4,53–4,47 (m); 4,00–3,32 (m); 2,00 (s; 3H) ppm.

Propargylamido-HA (29)

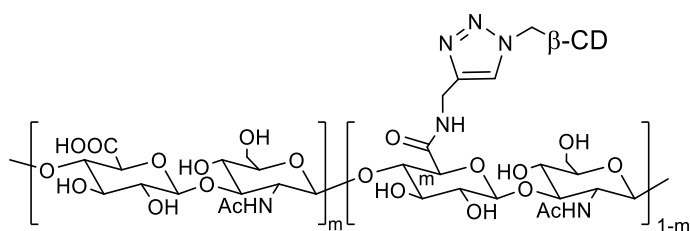


Do baňky byl předložen hyaluronan sodný ($M_w = 600 \text{ kDa}$; 1,5 g) a voda (100 cm^3). Po rozpuštění byla k roztoku přisypána kyselá iontoměničová pryskyřice DOWEX 50WX4 (6 g). Po čtyřech hodinách míchání byla tato směs zfiltrována a filtrát byl lyofilizován. Byla získána kyselina hyaluronová.

Do baňky byla předložena získaná látka ($M_w = 200 \text{ kDa}$; 0,5 g; 1,32 mmol) a bezvodý dimethylsulfoxid (50 cm^3). Pro rychlejší rozpuštění byla směs zahřáta na $60 \text{ }^\circ\text{C}$. Po rozpuštění a ochlazení na laboratorní teplotu byl do roztoku přidán triethylamin ($0,92 \text{ cm}^3$; 6,6 mmol), vzniklá směs byla míchána 10 minut, poté byl přidán ethyl-chlorformiát ($0,4 \text{ cm}^3$; 3,0 mmol). Po 1 hodině míchání byl do reakční směsi přidán propargylamin ($0,1 \text{ cm}^3$; 1,32 mmol). Reakční směs byla míchána do dalšího dne, následně byla vychlazená na $0 \text{ }^\circ\text{C}$ a naředěna demineralizovanou vodou (50 cm^3). Produkt byl přečištěn dialýzou přes 14 kDa membránu proti 0,1% roztoku NaCl ($2 \times 8 \text{ dm}^3$) a následně proti demineralizované vodě ($6 \times 8 \text{ dm}^3$). Po lyofilizaci bylo získáno 0,46 g (92 %) bezbarvé látky (stupeň substituce: 25 %; $M_w = 135 \text{ kDa}$). Naměřená data jsou v dobré shodě s literárními údaji.¹⁷⁸

$^1\text{H NMR}$ (D_2O , 400 MHz) δ 4,53–4,42 (m, CH_2); 4,10–3,98 (m); 3,91–3,72 (m); 3,51–3,35 (m); 2,00 (s, 3H) ppm.

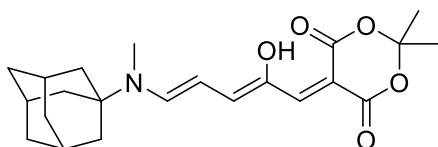
β -Cyklodextrinem modifikovaná amido-HA (30) (amido-CD-HA)



Látka byla připravena podle modifikovaného postupu.¹⁸⁰ Do baňky byla předložena propargylamido-HA (**29**; $M_w = 135$ kDa; 0,41 g; 1,01 mmol) a 0,1M pufr PBS o pH 7,4 (25 cm³). K tomuto roztoku byl přidán mono-6-azido-6-deoxy- β -cyklodextrin (0,58 g; 0,5 mmol), pentahydrát síranu měďnatého (0,05 g; 0,2 mmol) a askorban sodný (0,05 g; 0,25 mmol). Reakční směs byla intenzivně míchána do dalšího dne při laboratorní teplotě. Produkt byl přečištěn dialýzou přes 14 kDa membránu proti 0,01% roztoku EDTA (2 $\times$ 8 dm³) a následně proti demineralizované vodě (6 $\times$ 8 dm³). Po lyofilizaci bylo získáno 0,64 g (90 %) bezbarvé látky (stupeň substituce: 25 %; $M_w = 26$ kDa).

¹H NMR (D₂O, 400 MHz) δ 7,98 (s; CH triazol); 5,17–4,98 (m); 4,54–4,48 (m); 4,00–3,35 (m); 2,00 (s, CH₃) ppm.

5-((2Z,4E)-5-(adamantan-1-yl(methyl)amino)-2-hydroxypenta-2,4-dien-1-yliden)-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion (32)



Do baňky byl předložen 2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion (3 g; 20 mmol), furfural (1,92 g; 20 mmol) a destilovaná voda (40 cm³). Vzniklá směs byla zahřívána po dobu 2 hodin na 75 °C, kdy došlo k vyloučení pevného podílu. Ten byl po ochlazení odsát a promyt studenou vodou (2 $\times$ 40 cm³). Následně byl rozpuštěn v dichlormethanu (40 cm³) a promyt nasyceným roztokem NaHSO₃ (40 cm³) a vodou (40 cm³). Organická vrstva byla vysušena nad bezvodým síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů bylo získáno 4,3 g (98 %) 5-(furan-2-ylmetylen)-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dionu ve formě světle žluté krystalické látky, která byla ihned použita do dalšího kroku.

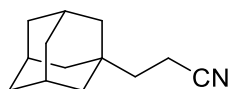
Látka z předchozího kroku (0,269 g; 1,2 mmol) byla rozpuštěna v bezvodém tetrahydrofuranu (10 cm³), do vzniklého roztoku byl přidán *N*-methyldamantan-1-amin (0,2 g; 1,2 mmol) a směs byla míchána 30 minut při laboratorní teplotě a poté 30 minut při 0 °C. Vyloučený pevný podíl byl odsát, promyt vychlazeným diethyletherem (3 × 5 cm³) a vysušen za sníženého tlaku. Bylo získáno 0,4 g (85 %) fialové krystalické látky.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 11,44 (s, 1H); 7,53 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H); 7,06 (t, *J* = 2,6 Hz, 1H); 6,74 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H); 6,09 (t, *J* = 12 Hz, 1H); 2,29 (s, 3H); 1,92 (s, 6H); 1,78 (d, *J* = 13,0 Hz, 3H); 1,71 (s, 6H); 1,68 (d, *J* = 13,0 Hz, 3H) ppm.

¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ 167,1; 165,3; 153,8; 151,5; 145,0; 138,9; 103,4; 102,7; 90,4; 61,4; 40,7; 35,6; 31,8; 29,4; 26,7 ppm.

HRMS (*m/z*): teoreticky pro [M-H]⁺: 386,1962; nalezeno: 386,1983.

3-(adamantan-1-yl)propionitril (33)

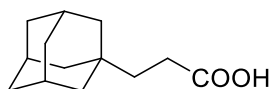


Do baňky byl předložen 1-bromadamantan (2,8 g; 13 mmol), bezvodý toluen (45 cm³), akrylonitril (1,72 cm³; 26,2 mmol), tributylstannan (4,23 cm³; 15,6 mmol) a několik kapek 0,2M roztoku AIBN v toluenu. Reakční směs byla zahřívána k refluxu pod argonovou atmosférou 6 hodin. Po ochlazení byla reakční směs převedena do dělicí nálevky, byla promyta 0,5M vodným roztokem amoniaku (3 × 50 cm³) a nasyceným roztokem chloridu sodného (1 × 50 cm³). Organická vrstva byla vysušena nad síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů byl zbytek přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, petrolether:ethyl-acetát, 30:1, v:v). Po oddestilování těkavých podílů bylo získáno 1,388 g (56 %) bezbarvé krystalické látky. Naměřená data jsou v dobré shodě s literárními údaji.¹⁸¹

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 2,27 (t; *J* = 8,0 Hz; 2H); 2,07–1,90 (m, 3H); 1,67 (dd; *J* = 40,4 Hz, *J'* = 11,8 Hz; 6H); 1,52–1,42 (m, 8H) ppm.

¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ 121,0; 41,8; 39,6; 37,0; 32,3; 28,6; 11,1 ppm.

3-(adamantan-1-yl)propionová kyselina (34)

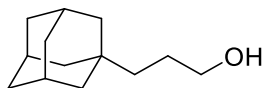


Do baňky byl předložen 3-(adamantan-1-yl)propionitril (**33**; 1,388 g; 7,3 mmol), hydroxid draselný (1,892 g; 33,7 mmol), ethanol (16 cm³) a demineralizovaná voda (16 cm³). Reakční směs byla zahřívána k refluxu po 47 hodin. Po ochlazení byla reakční směs zbavena těkavých podílů na RVO. Ke zbytku byla přidána koncentrovaná HCl (10 cm³). Pevný podíl byl odsát, promýván vodou do vymizení kyselé reakce a vysušen v sušárně. Bylo získáno 1,385 g (91 %) bezbarvé krystalické látky. Naměřená data jsou v dobré shodě s literárními údaji.¹⁸²

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 9,83 (br s; 1H); 2,36–2,24 (m, 2H); 2,02–1,90 (m, 3H); 1,67 (dd; *J* = 35,3 Hz, *J'* = 11,6 Hz; 6H); 1,52–1,39 (m, 8H) ppm.

¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ 180,9; 42,2; 38,8; 37,2; 32,1; 28,8; 28,0 ppm.

3-(adamantan-1-yl)propan-1-ol (35)

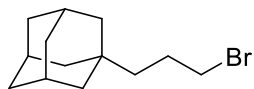


Do baňky byl předložen bezvodý diethylether (15 cm³) a tato baňka byla pod argonovou atmosférou vychlazená na 0 °C. Do baňky byl za stálého míchání postupně dávkován tetrahydridohlinitan lithný (0,783 g; 20,6 mmol) a 3-(adamantan-1-yl)propionová kyselina (**34**; 1,385 g; 6,65 mmol), směs byla míchána 15 minut za laboratorní teploty. Následně byla reakční směs zahřívána k refluxu pod argonovou atmosférou 4 hodiny. Po ochlazení na 0 °C byla do reakční směsi opatrně přidána demineralizovaná voda (1 cm³), 15% vodný roztok hydroxidu sodného (1 cm³) a opět demineralizovaná voda (3 cm³). Vzniklá suspenze byla odsáta pomocí Büchnerovy nálevky, dvoufázový filtrát byl převeden do dělicí nálevky. Organická vrstva byla promyta 1M roztokem uhličitanu draselného (2 × 20 cm³), nasyceným roztokem chloridu sodného (1 × 20 cm³) a vysušena nad síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů bylo získáno 0,979 g (76 %) bezbarvé krystalické látky. Naměřená data jsou v dobré shodě s literárními údaji.¹⁸³

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 3,59 (t; $J = 6,7$ Hz; 2H); 2,02–1,87 (m, 3H); 1,66 (dd; $J = 33,4$ Hz, $J' = 11,6$ Hz; 6H); 1,56–1,44 (m, 8H); 1,13–1,02 (m, 2H) ppm.

^{13}C NMR (CDCl_3 , 101 MHz) δ 64,1; 42,6; 40,5; 37,4; 32,1; 28,9; 26,1 ppm.

1-(3-bromopropyl)adamantan (36)

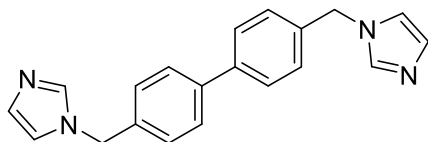


Do baňky byl předložen 3-(adamantan-1-yl)propan-1-ol (35; 0,978 g; 5,0 mmol) a bezvodý dichlormethan (50 cm^3). Baňka byla vychlazená na $0\text{ }^\circ\text{C}$ a byl do ní přidán tetrabrommethan (2,0 g; 6 mmol) a po částech trifenyfosfin (2,2 g; 8,4 mmol). Reakční směs byla míchána při $0\text{ }^\circ\text{C}$ pod argonovou atmosférou 4 hodiny, následně byla uložena na noc do lednice. Druhého dne byla reakční směs naředěna vychlazeným pentanem (50 cm^3) a míchána při $0\text{ }^\circ\text{C}$ jednu hodinu, čímž došlo k vyloučení sraženiny trifenyfosfinoxydu, který byl odsát. Filtrát byl zbaven těkavých podílů na RVO a zbytek opětovně naředěn vychlazeným pentanem (50 cm^3), tato procedura byla opakována ještě třikrát. Po oddestilování těkavých podílů byl zbytek přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, petrolether). Bylo získáno 1,0 g (77 %) bezbarvé olejovité látky. Naměřená data jsou v dobré shodě s literárními údaji.¹⁸⁴

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 3,37 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H); 2,02–1,89 (m, 3H); 1,88–1,76 (m, 2H); 1,66 (dd, $J = 34,5$ Hz, $J' = 11,6$ Hz, 6H); 1,53–1,41 (m 6H); 1,22–1,10 (m, 2H) ppm.

^{13}C NMR (CDCl_3 , 101 MHz) δ 43,3; 42,6; 37,3; 35,1; 32,3; 28,9; 26,7 ppm.

4,4'-bis((1*H*-imidazol-1-yl)methyl)-1,1'-bifenyl (37)



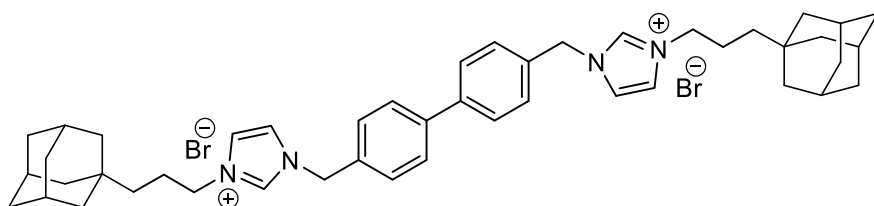
Do baňky byla pod argonovou atmosférou předložena 60% suspenze hydridu sodného v minerálním oleji (0,454 g; 11,4 mmol), která byla promyta bezvodým pentanem ($3 \times 5\text{ cm}^3$). Do baňky byl následně přidán bezvodý

acetonitril (10 cm³) a roztok imidazolu (0,813 g; 11,9 mmol) v bezvodém acetonitrilu (10 cm³). Vzniklá suspenze byla míchána dvě hodiny pod argonovou atmosférou. Poté byl do baňky přidán roztok 4,4'-bis(chlormethyl)-1,1'-bifenylu (1,0 g; 3,98 mmol) v bezvodém acetonitrilu (10 cm³). Reakční směs byla zahřívána k refluxu pod argonovou atmosférou 8 hodin. Po ochlazení byly těkavé podíly oddestilovány na RVO. Zbytek byl rozmíchán v demineralizované vodě (50 cm³) a extrahován dichlormethanem (3 × 50 cm³), spojené organické podíly byly vysušeny nad síranem sodným. Po oddestilování těkavých podílů bylo získáno 1,26 g (kvant.) bezbarvé krystalické látky. Naměřená data jsou v dobré shodě s literárními údaji.¹⁸⁵

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7,66–7,46 (m, 6H); 7,25–7,19 (m, 4H); 7,15–7,05 (m, 2H); 6,97–6,88 (m, 2H); 5,16 (s, 4H) ppm.

¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ 140,5; 137,6; 135,7; 130,1; 127,9; 127,8; 119,4; 50,6 ppm.

1,1'-((1,1'-bifenyl)-4,4'-diylbis(methylen))bis(3-(3-adamantan-1-yl)propyl)-1*H*-imidazol-3-ium dibromid (38)



Do baňky byl předložen 1-(3-brompropyl)adamantan (**36**; 0,233 g; 0,91 mmol), 4,4'-bis((1*H*-imidazol-1-yl)methyl)-1,1'-bifenyl (**37**; 0,095 g; 0,3 mmol) a bezvodý acetonitril (6 cm³). Reakční směs byla zahřívána na 70 °C 168 hodin. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla reakční směs naředěna diethyletherem (20 cm³), čímž došlo k vyloučení sraženiny, která byla izolována odstředěním pomocí centrifugy a opakovaně promývána diethyletherem (5 × 10 cm³). Po vysušení bylo získáno 0,193 g (77 %) našedlé krystalické látky.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 9,46–9,31 (m, 2H); 7,96–7,81 (m, 4H); 7,72 (d, *J* = 8,0 Hz, 4H); 7,52 (d, *J* = 8,0 Hz, 4H); 5,48 (s, 4H); 4,14 (t, *J* = 7,2 Hz, 4H); 1,96–1,85 (m, 6H); 1,83–1,70 (m, 4H); 1,61 (dd, *J* = 35,7 Hz, *J'* = 11,6 Hz, 12H); 1,46–1,32 (m, 12H); 1,02–0,90 (m, 4H) ppm.

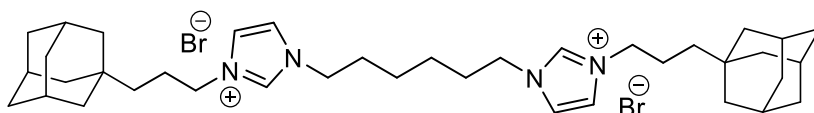
^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 101 MHz) δ 139,7; 136,1; 134,4; 128,9; 127,2; 122,8; 122,5; 51,5; 49,7; 41,7; 39,7; 36,5; 31,5; 27,9; 22,9 ppm.

IČ (KBr) $\tilde{\nu}$ 3424 (m), 3129 (w), 3058 (m), 2900 (s), 2845 (s), 1616 (w), 1560 (m), 1450 (m), 1361 (w), 1159 (m), 811 (w), 755 (w), 639 (w) cm^{-1} .

EA pro $\text{C}_{46}\text{H}_{60}\text{Br}_2\text{N}_4$ (%): teoreticky C 66,66; H 7,30; N 6,76; nalezeno C 65,46; H 7,51; N 6,88.

$T_f = 235\text{--}235\text{ }^\circ\text{C}$.

1,1'-(hexan-1,6-diyl)bis(3-(3-adamantan-1-yl)propyl)-1H-imidazol-3-ium dibromid (39)



Do baňky byl předložen 1-(3-brompropyl)adamantan (**36**; 0,265 g; 1,03 mmol), 1,6-di(1H-imidazol-1-yl)hexan (0,075 g; 0,34 mmol) a bezvodý acetonitril (6 cm^3). Reakční směs byla zahřívána na 70 $^\circ\text{C}$ po dobu 168 hodin. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla reakční směs naředěna diethyletherem (20 cm^3), čímž došlo k vyloučení sraženiny, která byla izolována odstředěním pomocí centrifugy a opakovaně promývána diethyletherem (5 $\times$ 10 cm^3). Po vysušení bylo získáno 0,229 g (91 %) našedlé krystalické látky.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 9,31–9,18 (m, 2H); 7,89–7,74 (m, 4H); 4,24–4,06 (m, 8H); 1,97–1,87 (m, 6H); 1,86–1,71 (m, 8H); 1,62 (dd, $J = 38,3$ Hz, $J' = 11,6$ Hz, 12H); 1,48–1,35 (m, 12H); 1,33–1,21 (m, 4H); 1,04–0,91 (m, 4H) ppm.

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 101 MHz) δ 135,9; 122,4; 122,4; 49,5; 48,7; 41,7; 39,7; 36,5; 31,5; 29,0; 27,9; 24,8; 22,9 ppm.

IČ (KBr) $\tilde{\nu}$ 3423 (m), 3135 (w), 3070 (m), 2900 (s), 2846 (s), 1625 (w), 1563 (m), 1451 (m), 1362 (w), 1171 (m), 639 (w) cm^{-1} .

EA pro $C_{38}H_{60}Br_2N_4$ (%): teoreticky C 62,29; H 8,25; N 7,65; nalezeno C 60,36; H 8,38; N 7,91.

T_f = 139–141 °C.

CURRICULUM VITAE A PUBLIKAČNÍ ČINNOST

Marek Jurtík

Academic curriculum vitae

Vzdělání

Ph.D. Technologie makromolekulárních látek

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Název disertační práce: Rotaxanový umělý enzym s aktivitou říditelnou vnějšími podněty

Školitel: doc. Mgr. Robert Vícha, Ph.D.

Konzultant: doc. Ing. Michal Rouchal, Ph.D.

Ing. Organická chemie

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

Název diplomové práce: Příprava makrocyclů s močovinovými jednotkami

Vedoucí práce: Ing. Bc. Michal Himl, Ph.D.

Bc. Chemie a chemické technologie

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

Název bakalářské práce: Syntéza aduktů cysteinu a *N*-acetylcysteinu s 2-naftylaminem

Vedoucí práce: Ing. Bc. Michal Himl, Ph.D.

Zahraniční stáž

University of Huelva

1. 4.–30. 6. 2024

Photocontrol of dynamic chemical systems

Školitel: Prof. Dr. Uwe Pischel

Publikace

M. Jurtík, B. Gřešková, Z. Prucková, M. Rouchal, L. Dastychová, L. Vítková, K. Valášková, E. Achbergerová, R. Vícha: Assembling a supramolecular 3D network with tuneable mechanical properties using adamantylated cross-linking agents and β -cyclodextrin-modified hyaluronan. *Carbohydrate Polymers* **2023**, 313, 120872.¹⁶¹ <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.120872>

F. G. Blandón-Cumbreras, M. Jurtík, A. Závodná, P. Janovský, M. Rouchal, R. Vícha, U. Pischel: Reversible Photoswitching of Donor–Acceptor Stenhouse Adducts in Water. *Journal of the American Chemical Society* **2026**, 148, 1, 130–134.¹⁶² <https://doi.org/10.1021/jacs.5c19813>

Účast na grantových projektech

Projekt interní grantové agentury ve Zlíně IGA/FT/2021/001 – Multitopické ligandy: Od základních principů k funkčním molekulám, *spoluřešitel*.

Projekt interní grantové agentury ve Zlíně IGA/FT/2022/001 – Rotaxanové katalyzátory, *spoluřešitel*.

Projekt interní grantové agentury ve Zlíně IGA/FT/2023/001 – Supramolekulární stavebnice, *spoluřešitel*.

Projekt interní grantové agentury ve Zlíně IGA/FT/2024/001 – Funkční supramolekulární systémy a jejich komponenty, *řešitel*.

Projekt interní grantové agentury ve Zlíně IGA/FT/2025/001 – Syntéza a vlastnosti komponent supramolekulární stavebnice, *spoluřešitel*.

Junior Grants of TBU in Zlin, JUNG-2020-007 – Development of biopolymer-based hydrogels for microextrusion, *internal researcher*.

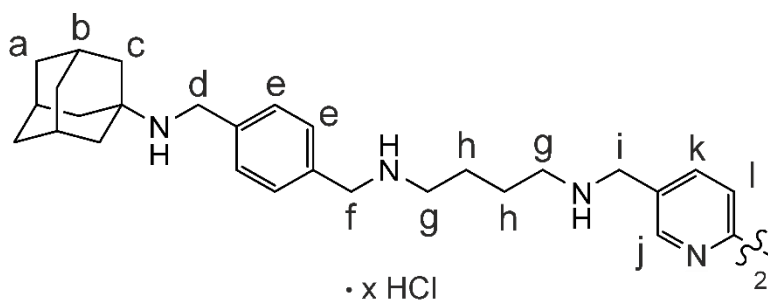
SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

4-AcNH-TEMPO	4-acetamido-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)oxyl
AcCl	acetylchlorid
AcOH	kyselina octová
Ad	adamantan-1-yl
AIBN	2,2'-azobis(2-methylpropanitril)
Boc ₂ O	di- <i>terc</i> -butyl-dikarbonát
Bz ₂ O ₂	benzoylperoxid
DASA	Donor-Acceptor Stenhouse Adduct
DCM	dichlormethan
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropylethylamin
DMAP	<i>N,N</i> -dimethylaminopyridin
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
ECF	ethyl-chlorformiát
EDCI	ethyl(dimethylaminopropyl)karbodiimid
ekv (potažmo ekv.)	molární ekvivalenty
Et ₂ O	diethylether
EtOH	ethanol
HOBt	benzotriazol-1-ol
NBS	<i>N</i> -bromsukcinimid
PBS	phosphate-buffered saline
Ph ₃ P	trifenylfosfin
ppm	parts per million
PrNH ₂	propan-1-amin
<i>p</i> -TsOH	kyselina <i>p</i> -toluensulfonová
RT	laboratorní teplota
RVO	rotační vakuová odparka
TEA	triethylamin
TFA	trifluorooctová kyselina
THF	tetrahydrofuran
φ	kvantový výtěžek
λ _{max}	maximum vlnové délky
τ _{1/2}	poločas rozpadu

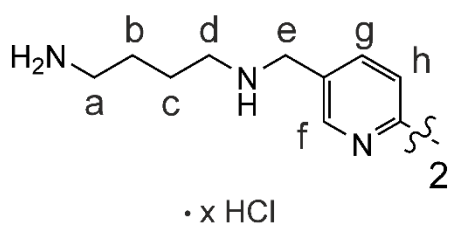
PŘÍLOHA – REFERENČNÍ KARTA

DISERTAČNÍ PRÁCE – MAREK JURTIK

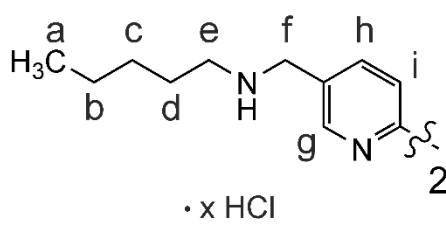
REFERENČNÍ KARTA



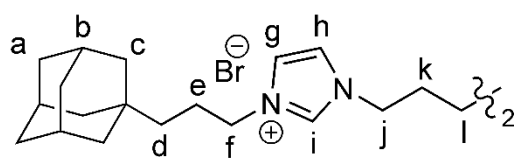
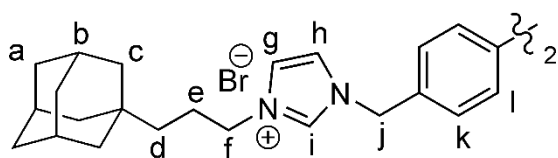
10



8



13



REFERENCE

1. Breslow, R., Biomimetic control of chemical selectivity. *Accounts of Chemical Research* **1980**, *13*, 170-177.
2. Gale, P. A.; Steed, J. W., *Supramolecular chemistry : from molecules to nanomaterials*. Wiley Chichester, West Sussex: Chichester, West Sussex, 2012.
3. Wiester, M. J.; Ulmann, P. A.; Mirkin, C. A., Enzyme mimics based upon supramolecular coordination chemistry. *Angewandte Chemie International Edition* **2011**, *50*, 114-137.
4. Kirby, A. J.; Hollfelder, F., *From enzyme models to model enzymes*. Royal Society of Chemistry 2009.
5. Dong, Z.; Wang, Y.; Yin, Y.; Liu, J., Supramolecular enzyme mimics by self-assembly. *Current opinion in colloid & interface Science* **2011**, *16*, 451-458.
6. Cao, L.; Šekutor, M.; Zavalij, P. Y.; Mlinarić-Majerski, K.; Glaser, R.; Isaacs, L., Cucurbit [7] uril· guest pair with an attomolar dissociation constant. *Angewandte Chemie* **2014**, *126*, 1006-1011.
7. Browne, W. R.; Feringa, B. L., Making molecular machines work. *Nature nanotechnology* **2006**, *1*, 25-35.
8. Stoddart, J. F., The chemistry of the mechanical bond. *Chemical Society Reviews* **2009**, *38*, 1802-1820.
9. Coskun, A.; Banaszak, M.; Astumian, R. D.; Stoddart, J. F.; Grzybowski, B. A., Great expectations: can artificial molecular machines deliver on their promise? *Chemical Society Reviews* **2012**, *41*, 19-30.
10. Durola, F.; Heitz, V.; Reviriego, F.; Roche, C.; Sauvage, J.-P.; Sour, A.; Trolez, Y., Cyclic [4] rotaxanes containing two parallel porphyrinic plates: Toward switchable molecular receptors and compressors. *Accounts of Chemical Research* **2014**, *47*, 633-645.
11. Tan, S.; Ang, C.; Zhao, Y., Smart Therapeutics Achieved via Host–Guest Assemblies. **2017**.
12. Gil-Ramírez, G.; Leigh, D. A.; Stephens, A. J., Catenanes: fifty years of molecular links. *Angewandte Chemie International Edition* **2015**, *54*, 6110-6150.
13. Fielden, S. D.; Leigh, D. A.; Woltering, S. L., Molecular knots. *Angewandte Chemie International Edition* **2017**, *56*, 11166-11194.
14. Baas, N. A.; Fedorov, D.; Jensen, A.; Riisager, K.; Volosniev, A.; Zinner, N., Higher-order Brunnian structures and possible physical realizations. *Physics of Atomic Nuclei* **2014**, *77*, 336-343.
15. Xue, M.; Yang, Y.; Chi, X.; Yan, X.; Huang, F., Development of pseudorotaxanes and rotaxanes: from synthesis to stimuli-responsive motions to applications. *Chemical Reviews* **2015**, *115*, 7398-7501.
16. Xue, Z.; Mayer, M. F., Actuator prototype: Capture and release of a self-entangled [1] rotaxane. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132*, 3274-3276.
17. Yang, Y.; Dou, D., Triply and quadruply hydrogen bonded systems: Design, structure and application. *Progress in Chemistry* **2014**, *26*, 706.
18. Belowich, M. E.; Valente, C.; Smaldone, R. A.; Friedman, D. C.; Thiel, J.; Cronin, L.; Stoddart, J. F., Positive cooperativity in the template-directed synthesis of monodisperse macromolecules. *Journal of the American Chemical Society* **2012**, *134*, 5243-5261.
19. Harada, A.; Hashidzume, A.; Yamaguchi, H.; Takashima, Y., Polymeric rotaxanes. *Chemical reviews* **2009**, *109*, 5974-6023.
20. Hmadeh, M.; Fang, L.; Trabolsi, A.; Elhabiri, M.; Albrecht-Gary, A.-M.; Stoddart, J. F., On the thermodynamic and kinetic investigations of a [c 2] daisy chain polymer. *Journal of Materials Chemistry* **2010**, *20*, 3422-3430.
21. Harrison, I. T.; Harrison, S., Synthesis of a stable complex of a macrocycle and a threaded chain. *Journal of the American Chemical Society* **1967**, *89*, 5723-5724.

22. Amabilino, D. B.; Stoddart, J. F., Interlocked and intertwined structures and superstructures. *Chemical reviews* **1995**, *95*, 2725-2828.
23. Asakawa, M.; Ashton, P. R.; Ballardini, R.; Balzani, V.; Bělohradský, M.; Gandolfi, M. T.; Kocian, O.; Prodi, L.; Raymo, F. M.; Stoddart, J. F., The slipping approach to self-assembling [n] rotaxanes. *Journal of the American Chemical Society* **1997**, *119*, 302-310.
24. Schalley, C. A.; Weilandt, T.; Brüggemann, J.; Vögtle, F., Hydrogen-bond-mediated template synthesis of rotaxanes, catenanes, and knotanes. *Templates in Chemistry I: -/-* **2004**, 141-200.
25. Nepogodiev, S. A.; Stoddart, J. F., Cyclodextrin-based catenanes and rotaxanes. *Chemical reviews* **1998**, *98*, 1959-1976.
26. Chambron, J. C.; Heitz, V.; Sauvage, J. P., Transition metal templated formation of [2]- and [3]-rotaxanes with porphyrins as stoppers. *Journal of the American Chemical Society* **1993**, *115*, 12378-12384.
27. Hänni, K. D.; Leigh, D. A., The application of CuAAC 'click' chemistry to catenane and rotaxane synthesis. *Chemical Society Reviews* **2010**, *39*, 1240-1251.
28. Reuter, C.; Wienand, W.; Hübner, G. M.; Seel, C.; Vögtle, F., High-yield synthesis of ester, carbonate, and acetal rotaxanes by anion template assistance and their hydrolytic dethreading. *Chemistry—A European Journal* **1999**, *5*, 2692-2697.
29. Isnin, R.; Kaifer, A. E., Novel class of asymmetric zwitterionic rotaxanes based on α -cyclodextrin. *Journal of the American Chemical Society* **1991**, *113*, 8188-8190.
30. Yin, J.; Dasgupta, S.; Wu, J., Synthesis of [n] rotaxanes by template-directed clipping: the role of the dialkylammonium recognition sites. *Organic Letters* **2010**, *12*, 1712-1715.
31. Affeld, A.; Hübner, G. M.; Seel, C.; Schalley, C. A., Rotaxane or pseudorotaxane? Effects of small structural variations on the deslipping kinetics of rotaxanes with stopper groups of intermediate size. *European Journal of Organic Chemistry* **2001**, *2001*, 2877-2890.
32. Beves, J. E.; Blight, B. A.; Campbell, C. J.; Leigh, D. A.; McBurney, R. T., Strategies and tactics for the metal-directed synthesis of rotaxanes, knots, catenanes, and higher order links. *Angewandte Chemie International Edition* **2011**, *50*, 9260-9327.
33. Chiu, C.-W.; Lai, C.-C.; Chiu, S.-H., "Threading-followed-by-swelling": a new protocol for rotaxane synthesis. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 3500-3501.
34. Yoon, I.; Narita, M.; Shimizu, T.; Asakawa, M., Threading-followed-by-shrinking protocol for the synthesis of a [2] rotaxane incorporating a Pd (II)-salophen moiety. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*, 16740-16741.
35. Hsueh, S. Y.; Ko, J. L.; Lai, C. C.; Liu, Y. H.; Peng, S. M.; Chiu, S. H., A Metal-Free "Threading-Followed-by-Shrinking" Protocol for Rotaxane Synthesis. *Angewandte Chemie* **2011**, *29*, 6773-6776.
36. Anelli, P. L.; Spencer, N.; Stoddart, J. F., A molecular shuttle. *Journal of the American Chemical Society* **1991**, *113*, 5131-5133.
37. Bissell, R. A.; Córdova, E.; Kaifer, A. E.; Stoddart, J. F., A chemically and electrochemically switchable molecular shuttle. *Nature* **1994**, *369*, 133-137.
38. Smithrud, D.; Sanford, E.; Chao, I.; Ferguson, S.; Carcanague, D.; Evanseck, J.; Houk, K.; Diederich, F., Solvent effects in molecular recognition. *Pure and applied chemistry* **1990**, *62*, 2227-2236.
39. Ashton, P. R.; Campbell, P. J.; Glink, P. T.; Philp, D.; Spencer, N.; Stoddart, J. F.; Chrystal, E. J.; Menzer, S.; Williams, D. J.; Tasker, P. A., Dialkylammonium ion/crown ether complexes: the forerunners of a new family of interlocked molecules. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1995**, *34*, 1865-1869.
40. Hu, X.-Y.; Zhang, P.; Wu, X.; Xia, W.; Xiao, T.; Jiang, J.; Lin, C.; Wang, L., Pillar [5] arene-based supramolecular polypseudorotaxanes constructed from quadruple hydrogen bonding. *Polymer Chemistry* **2012**, *3*, 3060-3063.

41. Johnston, A. G.; Leigh, D. A.; Murphy, A.; Smart, J. P.; Deegan, M. D., The synthesis and solubilization of amide macrocycles via rotaxane formation. *Journal of the American Chemical Society* **1996**, *118*, 10662-10663.
42. Spickermann, C.; Felder, T.; Schalley, C. A.; Kirchner, B., How Can Rotaxanes Be Modified by Varying Functional Groups at the Axle?—A Combined Theoretical and Experimental Analysis of Thermochemistry and Electronic Effects. *Chemistry—A European Journal* **2008**, *14*, 1216-1227.
43. Southall, N. T.; Dill, K. A.; Haymet, A., A view of the hydrophobic effect. ACS Publications 2002; Vol. 106, pp 521-533.
44. Ashton, P. R.; Baxter, I.; Fyfe, M. C.; Raymo, F. M.; Spencer, N.; Stoddart, J. F.; White, A. J.; Williams, D. J., Rotaxane or pseudorotaxane? That is the question! *Journal of the American Chemical Society* **1998**, *120*, 2297-2307.
45. Raymo, F. M.; Houk, K.; Stoddart, J. F., The mechanism of the slippage approach to rotaxanes. Origin of the “all-or-nothing” substituent effect. *Journal of the American Chemical Society* **1998**, *120*, 9318-9322.
46. Ashton, P. R.; Bělohradský, M.; Philp, D.; Stoddart, J. F., Slippage—an alternative method for assembling [2] rotaxanes. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1993**, 1269-1274.
47. Zhang, M.; Zheng, B.; Huang, F., Synthesis of a four-armed cage molecule and its pH-controlled complexation with paraquat. *Chemical Communications* **2011**, *47*, 10103-10105.
48. Yu, G.; Han, C.; Zhang, Z.; Chen, J.; Yan, X.; Zheng, B.; Liu, S.; Huang, F., Pillar [6] arene-based photoresponsive host–guest complexation. *Journal of the American Chemical Society* **2012**, *134*, 8711-8717.
49. Qian, H.; Guo, D. S.; Liu, Y., Cucurbituril-Modulated Supramolecular Assemblies: From Cyclic Oligomers to Linear Polymers. *Chemistry—A European Journal* **2012**, *18*, 5087-5095.
50. Zhang, K.-D.; Zhao, X.; Wang, G.-T.; Liu, Y.; Zhang, Y.; Lu, H.-J.; Jiang, X.-K.; Li, Z.-T., Foldamers in pseudo [2] rotaxanes and [2] rotaxanes: tuning the switching kinetics and metastability. *Tetrahedron* **2012**, *68*, 4517-4527.
51. Han, T.; Chen, C.-F., A triptycene-based bis (crown ether) host: complexation with both paraquat derivatives and dibenzylammonium salts. *Organic letters* **2006**, *8*, 1069-1072.
52. Liu, Y.; Ke, C.-F.; Zhang, H.-Y.; Wu, W.-J.; Shi, J., Reversible 2D pseudopolyrotaxanes based on cyclodextrins and cucurbit [6] uril. *The Journal of organic chemistry* **2007**, *72*, 280-283.
53. Zhang, H.; Wang, Q.; Liu, M.; Ma, X.; Tian, H., Switchable V-type [2] pseudorotaxanes. *Organic Letters* **2009**, *11*, 3234-3237.
54. Chen, M.; Han, S.; Jiang, L.; Zhou, S.; Jiang, F.; Xu, Z.; Liang, J.; Zhang, S., New switchable [2] pseudorotaxanes formed by pyridine N-oxide derivatives with diamide-based macrocycles. *Chemical communications* **2010**, *46*, 3932-3934.
55. Pederson, A. M.-P.; Ward, E. M.; Schoonover, D. V.; Sleboznick, C.; Gibson, H. W., High-yielding, regiospecific synthesis of cis (4, 4')-di (carbomethoxybenzo)-30-crown-10, its conversion to a pyridyl cryptand and strong complexation of 2, 2'-and 4, 4'-bipyridinium derivatives. *The Journal of Organic Chemistry* **2008**, *73*, 9094-9101.
56. Rambo, B. M.; Gong, H.-Y.; Oh, M.; Sessler, J. L., The “texas-sized” molecular box: a versatile building block for the construction of anion-directed mechanically interlocked structures. *Accounts of Chemical Research* **2012**, *45*, 1390-1401.
57. Gong, H.-Y.; Rambo, B. M.; Karnas, E.; Lynch, V. M.; Keller, K. M.; Sessler, J. L., Environmentally responsive threading, dethreading, and fixation of anion-induced pseudorotaxanes. *Journal of the American Chemical Society* **2011**, *133*, 1526-1533.
58. Wang, X. Z.; Li, X. Q.; Shao, X. B.; Zhao, X.; Deng, P.; Jiang, X. K.; Li, Z. T.; Chen, Y. Q., Selective Rearrangements of Quadruply Hydrogen-Bonded Dimer Driven by Donor–Acceptor Interaction. *Chemistry—A European Journal* **2003**, *9*, 2904-2913.

59. Ding, Z.-J.; Zhang, H.-Y.; Wang, L.-H.; Ding, F.; Liu, Y., A heterowheel [3] pseudorotaxane by integrating β -cyclodextrin and cucurbit [8] uril inclusion complexes. *Organic Letters* **2011**, *13*, 856-859.
60. Barrow, S. J.; Kasera, S.; Rowland, M. J.; Del Barrio, J.; Scherman, O. A., Cucurbituril-based molecular recognition. *Chemical reviews* **2015**, *115*, 12320-12406.
61. Huang, F.; Switek, K. A.; Gibson, H. W., pH-Controlled assembly and disassembly of a cryptand/paraquat [2] pseudorotaxane. *Chemical communications* **2005**, 3655-3657.
62. Ballardini, R.; Balzani, V.; Credi, A.; Gandolfi, M. T.; Langford, S. J.; Menzer, S.; Prodi, L.; Stoddart, J. F.; Venturi, M.; Williams, D. J., Simple molecular machines: chemically driven unthreading and rethreading of a [2] pseudorotaxane. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1996**, *35*, 978-981.
63. Gibson, H. W.; Wang, H.; Slebodnick, C.; Merola, J.; Kassel, W. S.; Rheingold, A. L., Isomeric 2, 6-pyridino-cryptands based on dibenzo-24-crown-8. *The Journal of Organic Chemistry* **2007**, *72*, 3381-3393.
64. Ashton, P. R.; Balzani, V.; Kocian, O.; Prodi, L.; Spencer, N.; Stoddart, J. F., A light-fueled "piston cylinder" molecular-level machine. *Journal of the American Chemical Society* **1998**, *120*, 11190-11191.
65. Ashton, P. R.; Balzani, V.; Becher, J.; Credi, A.; Fyfe, M. C.; Mattersteig, G.; Menzer, S.; Nielsen, M. B.; Raymo, F. M.; Stoddart, J. F., A three-pole supramolecular switch. *Journal of the American Chemical Society* **1999**, *121*, 3951-3957.
66. Robinson, P. K., Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays in biochemistry* **2015**, *59*, 1.
67. Wu, S.; Snajdrova, R.; Moore, J. C.; Baldenius, K.; Bornscheuer, U. T., Biocatalysis: enzymatic synthesis for industrial applications. *Angewandte Chemie International Edition* **2021**, *60*, 88-119.
68. Efremenko, E.; Stepanov, N.; Aslanli, A.; Lyagin, I.; Senko, O.; Maslova, O., Combination of enzymes with materials to give them antimicrobial features: Modern trends and perspectives. *Journal of Functional Biomaterials* **2023**, *14*, 64.
69. Raveendran, S.; Parameswaran, B.; Ummalyima, S. B.; Abraham, A.; Mathew, A. K.; Madhavan, A.; Rebello, S.; Pandey, A., Applications of microbial enzymes in food industry. *Food technology and biotechnology* **2018**, *56*, 16.
70. Richter, M., Functional diversity of organic molecule enzyme cofactors. *Natural product reports* **2013**, *30*, 1324-1345.
71. Fischer, J. D.; Holliday, G. L.; Thornton, J. M., The CoFactor database: organic cofactors in enzyme catalysis. *Bioinformatics* **2010**, *26*, 2496-2497.
72. Harris, E., Cofactors: inorganic. *Encyclopedia of Human Nutrition*. 3rd ed. Academic Press. Oxford, UK **2013**, 357-365.
73. Fischer, E., Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1894**, *27*, 2985-2993.
74. Pauling, L., Molecular architecture and biological reactions. *Chemical and engineering news* **1946**, *24*, 1375-1377.
75. Haldane, J., Enzymes (Monographs on Biochemistry). London and New York **1930**, 11.
76. Koshland Jr, D., Application of a theory of enzyme specificity to protein synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1958**, *44*, 98-104.
77. Olsson, M. H.; Parson, W. W.; Warshel, A., Dynamical contributions to enzyme catalysis: critical tests of a popular hypothesis. *Chemical Reviews* **2006**, *106*, 1737-1756.
78. Benkovic, S. J.; Hammes, G. G.; Hammes-Schiffer, S., Free-energy landscape of enzyme catalysis. *Biochemistry* **2008**, *47*, 3317-3321.
79. Miller, B. G.; Wolfenden, R., Catalytic Proficiency: The Unusual Case of OMP Decarboxylase. *Annual Review of Biochemistry* **2002**, *71*, 847-885.

80. Yang, Y.; Shao, R.; Tang, L.; Li, L.; Zhu, M.; Huang, J.; Shen, Y.; Zhang, L., Succinate dehydrogenase inhibitor dimethyl malonate alleviates LPS/d-galactosamine-induced acute hepatic damage in mice. *Innate Immunity* **2019**, *25*, 522-529.
81. Seçkin, A. Ç.; Gençer, Ç.; Yildirim, M., Deep learning structures used in pulmonary cancer diagnosis. *Research & Reviews in Health Sciences* **2021**, 1912.
82. Pesaresi, A., Mixed and non-competitive enzyme inhibition: underlying mechanisms and mechanistic irrelevance of the formal two-site model. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* **2023**, *38*, 2245168.
83. Kundu, P.; Saha, S.; Gangopadhyay, G., Kinetics of allosteric inhibition of single enzyme by product molecules. *The Journal of Physical Chemistry B* **2020**, *124*, 11793-11801.
84. Piwonski, H. M.; Goomanovsky, M.; Bensimon, D.; Horovitz, A.; Haran, G., Allosteric inhibition of individual enzyme molecules trapped in lipid vesicles. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2012**, *109*, E1437-E1443.
85. Rando, R. R., [3] Mechanism-based irreversible enzyme inhibitors. In *Methods in enzymology*, Elsevier 1977; Vol. 46, pp 28-41.
86. Baker, B., Specific irreversible enzyme inhibitors. *Annual Review of Pharmacology* **1970**, *10*, 35-50.
87. Selvakumar, K.; Motiei, L.; Margulies, D., Enzyme– artificial enzyme interactions as a means for discriminating among structurally similar isozymes. *Journal of the American Chemical Society* **2015**, *137*, 4892-4895.
88. Breslow, R., Artificial enzymes. *Artificial Enzymes* **2005**, 1-35.
89. Dong, Z.; Luo, Q.; Liu, J., Artificial enzymes based on supramolecular scaffolds. *Chemical Society Reviews* **2012**, *41*, 7890-7908.
90. Huang, X.; Liu, X.; Luo, Q.; Liu, J.; Shen, J., Artificial selenoenzymes: Designed and redesigned. *Chemical Society Reviews* **2011**, *40*, 1171-1184.
91. Breslow, R.; Dong, S. D., Biomimetic reactions catalyzed by cyclodextrins and their derivatives. *Chemical reviews* **1998**, *98*, 1997-2012.
92. Zou, H.; Sun, H.; Wang, L.; Zhao, L.; Li, J.; Dong, Z.; Luo, Q.; Xu, J.; Liu, J., Construction of a smart temperature-responsive GPx mimic based on the self-assembly of supra-amphiphiles. *Soft matter* **2016**, *12*, 1192-1199.
93. Klöck, C.; Dsouza, R. N.; Nau, W. M., Cucurbituril-mediated supramolecular acid catalysis. *Organic Letters* **2009**, *11*, 2595-2598.
94. Assaf, K. I.; Nau, W. M., Cucurbiturils: from synthesis to high-affinity binding and catalysis. *Chemical Society Reviews* **2015**, *44*, 394-418.
95. Schühle, D. T.; Peters, J. A.; Schatz, J., Metal binding calixarenes with potential biomimetic and biomedical applications. *Coordination Chemistry Reviews* **2011**, *255*, 2727-2745.
96. Hooley, R. J.; Rebek, J., Chemistry and catalysis in functional cavitands. *Chemistry & biology* **2009**, *16*, 255-264.
97. Opatz, T.; Liskamp, R. M., A selectively deprotectable triazacyclophane scaffold for the construction of artificial receptors. *Organic Letters* **2001**, *3*, 3499-3502.
98. Jiang, L.; Liu, Z.; Liang, Z.; Gao, Y., An artificial aspartic proteinase system. *Bioorganic & medicinal chemistry* **2005**, *13*, 3673-3680.
99. Palma, A.; Artelsmair, M.; Wu, G.; Lu, X.; Barrow, S. J.; Uddin, N.; Rosta, E.; Masson, E.; Scherman, O. A., Cucurbit [7] uril as a supramolecular artificial enzyme for Diels–Alder reactions. *Angewandte Chemie* **2017**, *129*, 15894-15898.
100. Czescik, J.; Lyu, Y.; Neuberg, S.; Scrimin, P.; Mancin, F., Host–guest allosteric control of an artificial phosphatase. *Journal of the American Chemical Society* **2020**, *142*, 6837-6841.
101. Li, J.; Si, C.; Sun, H.; Zhu, J.; Pan, T.; Liu, S.; Dong, Z.; Xu, J.; Luo, Q.; Liu, J., Reversible pH-controlled switching of an artificial antioxidant selenoenzyme based on pseudorotaxane formation and dissociation. *Chemical Communications* **2015**, *51*, 9987-9990.

102. Breslow, R.; Campbell, P., Selective aromatic substitution by hydrophobic binding of a substrate to a simple cyclodextrin catalyst. *Bioorganic Chemistry* **1971**, *1*, 140-156.
103. Wang, B.; Bols, M., Artificial metallooxidases from cyclodextrin diacids. *Chemistry—A European Journal* **2017**, *23*, 13766-13775.
104. Molenveld, P.; Engbersen, J. F.; Reinhoudt, D. N., Synthesis of a Dinuclear ZnII–Calix [4] arene Enzyme Model with Additional General Base Groups–Catalytic Activity in Phosphate Diester Transesterification. *European journal of organic chemistry* **1999**, *1999*, 3269-3275.
105. Ogoshi, T.; Kanai, S.; Fujinami, S.; Yamagishi, T.-a.; Nakamoto, Y., para-Bridged symmetrical pillar [5] arenes: their Lewis acid catalyzed synthesis and host–guest property. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 5022-5023.
106. Wanderlind, E. H.; Liz, D. G.; Gerola, A. P.; Affeldt, R. F.; Nascimento, V.; Bretanha, L. C.; Montecinos, R.; Garcia-Rio, L.; Fiedler, H. D.; Nome, F., Imidazole-functionalized pillar [5] arenes: highly reactive and selective supramolecular artificial enzymes. *ACS Catalysis* **2018**, *8*, 3343-3347.
107. Breslow, R.; Zhang, B., Very fast ester hydrolysis by a cyclodextrin dimer with a catalytic linking group. *Journal of the American Chemical Society* **1992**, *114*, 5882-5883.
108. Rousseau, C.; Nielsen, N.; Bols, M., An artificial enzyme that catalyzes hydrolysis of aryl glycosides. *Tetrahedron letters* **2004**, *45*, 8709-8711.
109. Ortega-Caballero, F.; Rousseau, C.; Christensen, B.; Petersen, T. E.; Bols, M., Remarkable supramolecular catalysis of glycoside hydrolysis by a cyclodextrin cyanohydrin. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 3238-3239.
110. Murakami, Y.; Kikuchi, J.; Ohno, T.; Hayashida, O.; Kojima, M., Syntheses of macrocyclic enzyme models. 7. Octopus cyclophanes having L-aspartate residues as novel water-soluble hosts; aggregation behavior and induced-fit molecular recognition. *Journal of the American Chemical Society* **1990**, *112*, 7672-7681.
111. Hosseini, M. W.; Lehn, J. M.; Jones, K. C.; Plute, K. E.; Mertes, K. B.; Mertes, M. P., Supramolecular catalysis: polyammonium macrocycles as enzyme mimics for phosphoryl transfer in ATP hydrolysis. *Journal of the American Chemical Society* **1989**, *111*, 6330-6335.
112. Bakirci, H.; Koner, A. L.; Dickman, M. H.; Kortz, U.; Nau, W. M., Dynamically Self-Assembling Metalloenzyme Models Based on Calixarenes. *Angewandte Chemie International Edition* **2006**, *45*, 7400-7404.
113. Wang, R.; Liang, Y.; Rebek Jr, J.; Yu, Y., Stabilization and detection of labile reaction intermediates in supramolecular containers. *Chinese Chemical Letters* **2023**, 109228.
114. Wang, T.; Fan, X.; Hou, C.; Liu, J., Design of artificial enzymes by supramolecular strategies. *Current Opinion in Structural Biology* **2018**, *51*, 19-27.
115. Brotin, T.; Dutasta, J.-P., Cryptophanes and their complexes • present and future. *Chemical reviews* **2009**, *109*, 88-130.
116. Cheng, X.-J.; Liang, L.-L.; Chen, K.; Ji, N.-N.; Xiao, X.; Zhang, J.-X.; Zhang, Y.-Q.; Xue, S.-F.; Zhu, Q.-J.; Ni, X.-L., Twisted cucurbit [14] uril. *Angew. Chem., Int. Ed* **2013**, *52*, 7252-7255.
117. Gessler, K.; Usón, I.; Takaha, T.; Krauss, N.; Smith, S. M.; Okada, S.; Sheldrick, G. M.; Saenger, W., V-Amylose at atomic resolution: X-ray structure of a cycloamylose with 26 glucose residues (cyclomaltohexaicosaoase). *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1999**, *96*, 4246-4251.
118. Liu, W.; Stoddart, J. F., Emergent behavior in nanoconfined molecular containers. *Chem* **2021**, *7*, 919-947.
119. Hart-Cooper, W. M.; Zhao, C.; Triano, R. M.; Yaghoubi, P.; Ozores, H. L.; Burford, K. N.; Toste, F. D.; Bergman, R. G.; Raymond, K. N., The effect of host structure on the selectivity and mechanism of supramolecular catalysis of Prins cyclizations. *Chemical science* **2015**, *6*, 1383-1393.

120. Brenner, W.; Ronson, T. K.; Nitschke, J. R., Separation and selective formation of fullerene adducts within an M18L6 cage. *Journal of the American Chemical Society* **2017**, *139*, 75-78.
121. Yoshizawa, M.; Tamura, M.; Fujita, M., Diels-Alder in aqueous molecular hosts: unusual regioselectivity and efficient catalysis. *Science* **2006**, *312*, 251-254.
122. van den Boomen, O. I.; Coumans, R. G.; Akeroyd, N.; Peters, T. P.; Schlebos, P. P.; Smits, J.; de Gelder, R.; Elemans, J. A.; Nolte, R. J.; Rowan, A. E., Carbenoid transfer reactions catalyzed by a ruthenium porphyrin macrocycle. *Tetrahedron* **2017**, *73*, 5029-5037.
123. Kaphan, D. M.; Toste, F. D.; Bergman, R. G.; Raymond, K. N., Enabling new modes of reactivity via constrictive binding in a supramolecular-assembly-catalyzed aza-Prins cyclization. *Journal of the American Chemical Society* **2015**, *137*, 9202-9205.
124. Zhang, T.; Zhou, L.-P.; Guo, X.-Q.; Cai, L.-X.; Sun, Q.-F., Adaptive self-assembly and induced-fit transformations of anion-binding metal-organic macrocycles. *Nature communications* **2017**, *8*, 15898.
125. Hanreich, S.; Bonandi, E.; Drienovská, I., Design of artificial enzymes: insights into protein scaffolds. *ChemBioChem* **2023**, *24*, e202200566.
126. Zubi, Y. S.; Liu, B.; Gu, Y.; Sahoo, D.; Lewis, J. C., Controlling the optical and catalytic properties of artificial metalloenzyme photocatalysts using chemogenetic engineering. *Chemical Science* **2022**, *13*, 1459-1468.
127. Thiel, A.; Sauer, D. F.; Markel, U.; Mertens, M. S.; Polen, T.; Schwaneberg, U.; Okuda, J., An artificial ruthenium-containing β -barrel protein for alkene-alkyne coupling reaction. *Organic & biomolecular chemistry* **2021**, *19*, 2912-2916.
128. Stein, A.; Chen, D.; Igareta, N. V.; Cotellet, Y.; Rebelein, J. G.; Ward, T. R., A dual anchoring strategy for the directed evolution of improved artificial transfer hydrogenases based on carbonic anhydrase. *ACS Central Science* **2021**, *7*, 1874-1884.
129. Doble, M. V.; Obrecht, L.; Joosten, H.-J.; Lee, M.; Rozeboom, H. J.; Branigan, E.; Naismith, J. H.; Janssen, D. B.; Jarvis, A. G.; Kamer, P. C., Engineering thermostability in artificial metalloenzymes to increase catalytic activity. *ACS Catalysis* **2021**, *11*, 3620-3627.
130. Huang, P.-S.; Feldmeier, K.; Parmeggiani, F.; Fernandez Velasco, D. A.; Höcker, B.; Baker, D., De novo design of a four-fold symmetric TIM-barrel protein with atomic-level accuracy. *Nature chemical biology* **2016**, *12*, 29-34.
131. Romero-Romero, S.; Costas, M.; Manzano, D.-A. S.; Kordes, S.; Rojas-Ortega, E.; Tapia, C.; Guerra, Y.; Shanmugaratnam, S.; Rodríguez-Romero, A.; Baker, D., The stability landscape of de novo TIM barrels explored by a modular design approach. *Journal of Molecular Biology* **2021**, *433*, 167153.
132. Jiao, Y.; Shang, Y.; Li, N.; Ding, B., DNA-based enzymatic systems and their applications. *Isience* **2022**.
133. Boersma, A. J.; Megens, R. P.; Feringa, B. L.; Roelfes, G., DNA-based asymmetric catalysis. *Chemical Society Reviews* **2010**, *39*, 2083-2092.
134. Ringenberg, M. R.; Ward, T. R., Merging the best of two worlds: artificial metalloenzymes for enantioselective catalysis. *Chemical communications* **2011**, *47*, 8470-8476.
135. Kumar, S.; Jain, S.; Dilbaghi, N.; Ahluwalia, A. S.; Hassan, A. A.; Kim, K.-H., Advanced selection methodologies for DNAzymes in sensing and healthcare applications. *Trends in biochemical sciences* **2019**, *44*, 190-213.
136. Boersma, A. J.; Klijn, J. E.; Feringa, B. L.; Roelfes, G., DNA-based asymmetric catalysis: sequence-dependent rate acceleration and enantioselectivity. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 11783-11790.
137. Liu, K.; Lat, P. K.; Yu, H.-Z.; Sen, D., CLICK-17, a DNA enzyme that harnesses ultra-low concentrations of either Cu⁺ or Cu²⁺ to catalyze the azide-alkyne 'click' reaction in water. *Nucleic acids research* **2020**, *48*, 7356-7370.

138. Rioz-Martínez, A.; Oelerich, J.; Ségaud, N.; Roelfes, G., DNA-accelerated catalysis of carbene-transfer reactions by a DNA/cationic iron porphyrin hybrid. *Angewandte Chemie* **2016**, *128*, 14342-14346.
139. Cheng, M.; Li, Y.; Zhou, J.; Jia, G.; Lu, S.-M.; Yang, Y.; Li, C., Enantioselective sulfoxidation reaction catalyzed by a G-quadruplex DNA metalloenzyme. *Chemical Communications* **2016**, *52*, 9644-9647.
140. Boersma, A. J.; Coquière, D.; Geerdink, D.; Rosati, F.; Feringa, B. L.; Roelfes, G., Catalytic enantioselective syn hydration of enones in water using a DNA-based catalyst. *Nature Chemistry* **2010**, *2*, 991-995.
141. Wang, Q.; Tan, K.; Wang, H.; Shang, J.; Wan, Y.; Liu, X.; Weng, X.; Wang, F., Orthogonal demethylase-activated deoxyribozyme for intracellular imaging and gene regulation. *Journal of the American Chemical Society* **2021**, *143*, 6895-6904.
142. García-Fernández, A.; Megens, R. P.; Villarino, L.; Roelfes, G., DNA-accelerated copper catalysis of Friedel–Crafts conjugate addition/enantioselective protonation reactions in water. *Journal of the American Chemical Society* **2016**, *138*, 16308-16314.
143. Huang, P. J. J.; de Rochambeau, D.; Sleiman, H. F.; Liu, J., Target self-enhanced selectivity in metal-specific DNAzymes. *Angewandte Chemie* **2020**, *132*, 3601-3605.
144. Breaker, R. R.; Joyce, G. F., A DNA enzyme that cleaves RNA. *Chemistry & biology* **1994**, *1*, 223-229.
145. Purtha, W. E.; Coppins, R. L.; Smalley, M. K.; Silverman, S. K., General deoxyribozyme-catalyzed synthesis of native 3'–5' RNA linkages. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 13124-13125.
146. Yin, Y.; Huang, X.; Lv, C.; Wang, L.; Yu, S.; Luo, Q.; Xu, J.; Liu, J., Construction of an artificial glutathione peroxidase active site on copolymer vesicles. *Macromolecular bioscience* **2010**, *10*, 1505-1516.
147. Qian, X.; Ramos-Docampo, M.; Ade, C.; Brodzskij, E.; Westensee, I.; Städler, B., Nitric oxide producing artificial enzymes based on metalloporphyrins. *Materials Today Chemistry* **2022**, *23*, 100743.
148. Song, Q.; Cheng, Z.; Perrier, S., Supramolecular peptide nanotubes as artificial enzymes for catalysing ester hydrolysis. *Polymer Chemistry* **2023**, *14*, 4712-4718.
149. Lu, Y.; Allegri, G.; Huskens, J., Vesicle-based artificial cells: materials, construction methods and applications. *Materials horizons* **2022**, *9*, 892-907.
150. Gaur, D.; Dubey, N. C.; Tripathi, B. P., Biocatalytic self-assembled synthetic vesicles and coacervates: From single compartment to artificial cells. *Advances in Colloid and Interface Science* **2022**, *299*, 102566.
151. Qu, R.; Shi, H.; Wang, R.; Cheng, T.; Ma, R.; An, Y.; Shi, L., Hemin-micelles immobilized in alginate hydrogels as artificial enzymes with peroxidase-like activity and substrate selectivity. *Biomaterials science* **2017**, *5*, 570-577.
152. Chordia, S.; Narasimhan, S.; Lucini Paioni, A.; Baldus, M.; Roelfes, G., In vivo assembly of artificial metalloenzymes and application in whole-cell biocatalysis. *Angewandte Chemie International Edition* **2021**, *60*, 5913-5920.
153. Hou, C.; Li, J.; Zhao, L.; Zhang, W.; Luo, Q.; Dong, Z.; Xu, J.; Liu, J., Construction of protein nanowires through cucurbit [8] uril-based highly specific host–guest interactions: an approach to the assembly of functional proteins. *Angewandte Chemie International Edition* **2013**, *52*, 5590-5593.
154. Forato, F.; Belhboub, A.; Monot, J.; Petit, M.; Benoit, R.; Sarou-Kanian, V.; Fayon, F.; Jacquemin, D.; Queffelec, C.; Bujoli, B., Phosphonate-Mediated Immobilization of Rhodium/Bipyridine Hydrogenation Catalysts. *Chemistry—A European Journal* **2018**, *24*, 2457-2465.
155. Puodziukynaite, E.; Oberst, J. L.; Dyer, A. L.; Reynolds, J. R., Establishing dual electrogenerated chemiluminescence and multicolor electrochromism in functional ionic transition-metal complexes. *Journal of the American Chemical Society* **2012**, *134*, 968-978.

156. Hodacová, J.; Buděšínský, M., New Synthetic Path to 2, 2'-Bipyridine-5, 5'-dicarbaldehyde and Its Use in the [3+ 3] Cyclocondensation with trans-1, 2-Diaminocyclohexane. *Organic Letters* **2007**, *9*, 5641-5643.
157. Janovský, P. Syntéza sedmivazebných ligandů pro supramolekulární systémy. Disertační práce, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2024.
158. Sun, H. L.; Zhang, H. Y.; Dai, Z.; Han, X.; Liu, Y., Insights into the Difference between Rotaxane and Pseudorotaxane. *Chemistry—An Asian Journal* **2017**, *12*, 265-270.
159. Branná, P.; Rouchal, M.; Prucková, Z.; Dastychová, L.; Lenobel, R.; Pospíšil, T.; Maláč, K.; Vícha, R., Rotaxanes capped with host molecules: Supramolecular behavior of adamantylated bisimidazolium salts containing a biphenyl centerpiece. *Chemistry—A European Journal* **2015**, *21*, 11712-11718.
160. Irving, H.; Williams, R., 637. The stability of transition-metal complexes. *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1953**, 3192-3210.
161. Jurtík, M.; Gřešková, B.; Prucková, Z.; Rouchal, M.; Dastychová, L.; Vitkova, L.; Valášková, K.; Achbergerová, E.; Vícha, R., Assembling a supramolecular 3D network with tuneable mechanical properties using adamantylated cross-linking agents and β -cyclodextrin-modified hyaluronan. *Carbohydrate Polymers* **2023**, *313*, 120872.
162. Blandón-Cumbreras, F. G.; Jurtík, M.; Závodná, A.; Janovský, P.; Rouchal, M.; Vícha, R.; Pischel, U., Reversible Photoswitching of Donor–Acceptor Stenhouse Adducts in Water. *Journal of the American Chemical Society* **2025**.
163. Kuhn, H.; Braslavsky, S.; Schmidt, R., Chemical actinometry (IUPAC technical report). *Pure and Applied Chemistry* **2004**, *76*, 2105-2146.
164. Bardelang, D.; Udachin, K. A.; Leek, D. M.; Margeson, J. C.; Chan, G.; Ratcliffe, C. I.; Ripmeester, J. A., Cucurbit [n] urils (n= 5–8): a comprehensive solid state study. *Crystal growth & design* **2011**, *11*, 5598-5614.
165. Embaby, A. M.; Lelieveldt, L. P.; Diness, F.; Meldal, M., Metallo-Organozymes with Specific Proteolytic Activity. *Chemistry—A European Journal* **2018**, *24*, 17424-17428.
166. An, B.; Zeng, L.; Jia, M.; Li, Z.; Lin, Z.; Song, Y.; Zhou, Y.; Cheng, J.; Wang, C.; Lin, W., Molecular iridium complexes in metal–organic frameworks catalyze CO₂ hydrogenation via concerted proton and hydride transfer. *Journal of the American Chemical Society* **2017**, *139*, 17747-17750.
167. Santra, S.; Bej, S.; Nandi, M.; Mondal, P.; Ghosh, P., Syntheses of metallo-pseudorotaxanes, rotaxane and post-synthetically functionalized rotaxane: a comprehensive spectroscopic study and dynamic properties. *Dalton Transactions* **2017**, *46*, 13300-13313.
168. Rashid, A.; Mondal, S.; Mondal, S.; Ghosh, P., A Bis-heteroleptic Imidazolium-bipyridine Functionalized Iridium (III) Complex for Fluorescence Lifetime-based Recognition and Sensing of Phosphates. *Chemistry—An Asian Journal* **2022**, *17*, e202200393.
169. Akhuli, B.; Cera, L.; Jana, B.; Saha, S.; Schalley, C. A.; Ghosh, P., Formation and transmetalation mechanisms of homo-and heterometallic (Fe/Zn) trinuclear triple-stranded side-by-side helicates. *Inorganic Chemistry* **2015**, *54*, 4231-4242.
170. Nigro, F.; Civra, A.; Porporato, D.; Costantino, M.; Francese, R.; Poli, G.; Romani, A.; Lembo, D.; Marinozzi, M., Cholenamide-based, antiviral fluorescent probes targeting oxysterol-binding protein. *Bioorganic Chemistry* **2024**, *153*, 107922.
171. Nally, R.; Isaacs, L., Toward supramolecular polymers incorporating double cavity cucurbituril hosts. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 7249-7258.
172. Wang, P.; Batt, S. M.; Wang, B.; Fu, L.; Qin, R.; Lu, Y.; Li, G.; Besra, G. S.; Huang, H., Discovery of novel thiophene-arylamide derivatives as DprE1 inhibitors with potent antimycobacterial activities. *Journal of medicinal chemistry* **2021**, *64*, 6241-6261.
173. Rishfi, M.; Krols, S.; Martens, F.; Bekaert, S.-L.; Sanders, E.; Eggermont, A.; De Vloed, F.; Goulding, J. R.; Risseuw, M.; Molenaar, J., Targeted AURKA degradation: Towards new

- therapeutic agents for neuroblastoma. *European journal of medicinal chemistry* **2023**, *247*, 115033.
174. Samanta, A.; Tesch, M.; Keller, U.; Klingauf, J. r.; Studer, A.; Ravoo, B. J., Fabrication of hydrophilic polymer nanocontainers by use of supramolecular templates. *Journal of the American Chemical Society* **2015**, *137*, 1967-1971.
 175. Korošec, E.; Poljšak, D.; Urleb, U., Synthesis of N-Acylamino-ethoxyacetic Acid Derivatives. *Archiv der Pharmazie* **1992**, *325*, 251-252.
 176. Facchin, M.; Scarso, A.; Selva, M.; Perosa, A.; Riello, P., Towards life in hydrocarbons: Aggregation behaviour of "reverse" surfactants in cyclohexane. *RSC advances* **2017**, *7*, 15337-15341.
 177. Jiang, Y.; Pan, X.; Chang, J.; Niu, W.; Hou, W.; Kuai, H.; Zhao, Z.; Liu, J.; Wang, M.; Tan, W., Supramolecularly engineered circular bivalent aptamer for enhanced functional protein delivery. *Journal of the American Chemical Society* **2018**, *140*, 6780-6784.
 178. Huerta-Angeles, G.; Němcová, M.; Příkopová, E.; Šmejkalová, D.; Pravda, M.; Kučera, L.; Velebný, V., Reductive alkylation of hyaluronic acid for the synthesis of biocompatible hydrogels by click chemistry. *Carbohydrate polymers* **2012**, *90*, 1704-1711.
 179. Kovačević, J.; Prucková, Z.; Pospíšil, T.; Kašpárková, V.; Rouchal, M.; Vícha, R., A New Hyaluronan Modified with β -Cyclodextrin on Hydroxymethyl groups forms a dynamic supramolecular network. *Molecules* **2019**, *24*, 3849.
 180. Huerta-Angeles, G.; Šmejkalová, D.; Chládková, D.; Ehlová, T.; Buffa, R.; Velebný, V., Synthesis of highly substituted amide hyaluronan derivatives with tailored degree of substitution and their crosslinking via click chemistry. *Carbohydrate polymers* **2011**, *84*, 1293-1300.
 181. Guo, X.; Price, N. G.; Zhu, Q., Electrochemical Cyanation of Alcohols Enabled by an Iodide-Mediated Phosphine P (V/III) Redox Couple. *Organic Letters* **2024**, *26*, 7347-7351.
 182. Garrett, T. R.; Gilchrist, J.; McKenzie, A. D.; Larik, F. A.; Danon, J. J.; Werry, E. L.; Kassiou, M., An Investigation on Linker Modifications of Cyanoguanidine-Based P2X7 Receptor Antagonists. *ChemMedChem* **2024**, *19*, e202400163.
 183. Yu, C. X.; Wei, B. Y.; Kong, X. Q.; Yang, C. G.; Nan, F. J., Synthesis and Structure-Activity Relationships of Ring-Opened Bengamide Analogues against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Chinese Journal of Chemistry* **2021**, *39*, 671-676.
 184. Jelínková, K.; Kovačević, J.; Wrzecionková, E.; Prucková, Z.; Rouchal, M.; Dastychová, L.; Vícha, R., Binding study on 1-adamantylalkyl (benz) imidazolium salts to cyclodextrins and cucurbit [n] urils. *New Journal of Chemistry* **2020**, *44*, 7071-7079.
 185. Chaudhary, S.; Kędziera, D.; Rafiński, Z.; Dobrzańska, L., Solvent-induced polymorphism in dipodal N-donor ligands containing a biphenyl core. *RSC advances* **2023**, *13*, 30625-30632.