

Bazı Makrosiklik Resöptörlerin Moleküler Tanımada Kullanılması Üzerine Bir Derleme

Yrd. Doç. Dr. Murat SÜNKÜR

*Batman Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, 72100 Batman Türkiye,
murat.sunkur@batman.edu.tr

Özet

Moleküler tanıma çalışmalarının organik kimyadaki önemi gün geçtikçe artmaktadır. Canlı hücrelerindeki biyomoleküllerde, tıbbi ve zirai ilaçların çoğunda kiral moleküller bulunmaktadır. Biyolojik moleküllerin temel yapı taşı olmalarından dolayı amin veya protonlanmış amin bileşikleriyle yapılan moleküler tanıma çalışmaları çok ilgi görmektedir. Bu kiral moleküllerin tanıma çalışmalarında kullanmak için de birçok yeni reseptör bileşik sentezlenmiştir.

Bu çalışmada dört makrosiklik reseptörün kiral organik amonyum tuzları ve amino asitlerle tanıma çalışmalarında kullanılan nicel tayin yöntemleri üzerine bir inceleme yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Moleküler tanıma, kiral molekül, spektroskopi, moleküler modelleme.

A Review on the Use of Some Macrocyclic Receptors in Molecular Recognition

Abstract

The importance of molecular recognition studies in organic chemistry is increasing day by day. There are chiral molecules in the biomolecules in living cells and in the majority of pharmaceuticals and agrochemicals. Because they are the building blocks of biological molecules, molecular recognition studies with amine or protonated amine compounds is widespread interest. Many novel receptor compound was synthesized for in use recognition study of this chiral molecules.

In this study, it conducted a review on the quantitative determination methods for used on recognition studies of four macrocyclic receptors with chiral organic ammonium salts and amino acids.

Keywords: Molecular recognition, chiral molcul, spectroscopy, molecular modeling.

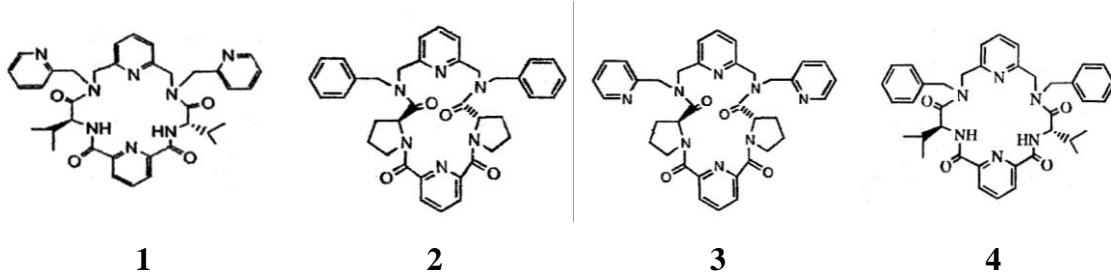
1. GİRİŞ

Amin ve protonlanmış amin bileşikleri ile yapılan enantiyomerik tanıma çalışmaları, bu bileşiklerin biyolojik moleküllerin temel yapı taşları olmalarından dolayı önemlidir. Kiral organik amonyum tuzlarının, kiral taç eterlerle enantiyomerik tanınması ilk kez Cram ve çalışma grubu tarafından çalışıldı [1]. Onların öncü çalışmalarından beri optikçe aktif amonyum tuzlarının, kiral taç eterlerle enantiyomerik tanınma olayı oldukça ilgi çekici bir hale geldi [2]. Taç eterlerdeki seçiciliği ve kompleksleşme kararlılığını artırmaya yönelik, çeşitli yapısal değişiklikler yapılmaya gidildi. Taç eterler, örneğin metal ve organik katyonlara seçici olarak güçlü bir şekilde bağlanma yeteneği gösterirler [3-6].

Kiral reseptör moleküllerin sentezinin asıl amacı konuk molekülleri için moleküler tanıma çalışmalarıdır. Yeni kiral makrosikliklerin moleküler tanıma yeteneğini ölçmede infrared (IR) spektroskopisi, FAB-MS, floresans spektroskopisi, ultraviolet-visible (UV-Görünür), moleküler modelleme ve NMR titrasyon gibi çeşitli spektroskopik metotlar kullanışlı araçlardır. Moleküler tanımanın derecesi, bu metotlarla nicel olarak ölçülebilir.

2. IR SPEKTROSKOPİSİ

Moleküler tanıma çalışmalarında IR Spektroskopisi yaygın olarak kullanılan bir metottur [7]. Poliamit makrosiklikler durumunda, C=O çift bağı 1650 cm^{-1} de karakteristik bir pike sahiptir. Hidrojen bağı oluşması, konukçuyla konuk arasındaki etkileşime işaret eden pik pozisyonunun daha düşük frekansa kaymasına neden olur. Şekil 1’de bu çalışmada incelenen makrosikliklerin yapıları verilmiştir. Tablo 1’de konuk molekülleriyle makrosikliklerin belirtilen C=O ve N-H bandlarının konuğun ve kompleksinin titreşim frekansları ve bunlar arasındaki $\Delta\nu_{\text{CO}}$ ve $\Delta\nu_{\text{NH}}$ farkları değişik konukçularla konukların etkileşimine örnek olarak verilmiştir.



Şekil 1. Çalışmada incelenen makrosiklikler.

Tablo 1. Makrosiklikler ile konuk moleküllerinin IR verileri(ν/cm^{-1}).

Konukçu+konuk	$\nu_{\text{C=O}}$	$\Delta\nu_{\text{C=O}}$	$\nu_{\text{N-H}}$	$\Delta\nu_{\text{N-H}}$
1	1669		3426	
1+L-Ala-OMe·HCl	1658	11	3422	4
1+D-Ala-OMe·HCl	1651	18	3420	6
1+L-Phe-OMe·HCl	1659	10	3420	6
1+D-Phe-OMe·HCl	1650	19	3390	36
1+L-Val-Obz·HCl	1655	14	3420	6
1+BPHME	1659	10	3392	34
1+CPH	1657	12	3443	-17
2	1648		-	
2+L-Phe-OMe·HCl	1644	4	-	-
2+D-Phe-OMe·HCl	1642	6	-	-

Katı haldeki 1:1 mol oranındaki konukçu-konuk karışımında ölçüm alınmıştır. Ala-OMe: alanin metil ester; Phe-OMe: fenilalanin metil ester; Val-OBz: valin benzil ester; BPHME: Z-Phe-His-OMe doğrusal dipeptit. CPH: siklodipeptit Phe-His.

Tablo 1'deki IR verileri, hazırlanan 1:1 mol oranındaki konukçu-konuk karışımlarından elde edilmiş olan bu değerler, C=O ve N-H esneme titreşimlerinin konukçuyla konuk arasında oluşan H bağından ötürü, düşük frekansa kaydığını açıkça göstermektedir.

Makrosiklik **1**'in *D*- ve *L*-fenilalanin metil ester hidroklorürü için **2** ligandına göre daha iyi kiral tanıma gösterdiğini, bu tabloda örnek olarak alınan makrosikliklerin genellikle aminoasit metil ester hidroklorürlerinin *D*- ve *L*- izomerleri arasında enantiyomerik ayırım yapabilme yeteneğine sahip olduğunu göstermektedir.

3. FAB-MS

Hızlı atom bombardıman kütle spektrometresi (FAB-MS), yumuşak bir iyonizasyon tekniği olarak supramoleküler komplekslerin bir çeşidi için etkilidir [8]. Tablo 2'teki FAB kütle spektrumlarından bazı konukçu-konuk sistemlerinde konukçu-konuğun 1+1 moleküler iyon pikinin ortaya çıktığı görülmektedir. Hem makrosiklik **1** hem de makrosiklik **2**'nin aminoasit metil ester hidroklorürlerini bağlayabildiklerini görebiliyoruz. Bir benzen halkası içeren hidroklorürler makrosikliklerle iyi bağlanırlar.

Çünkü konuktaki benzen halkası, makrosiklikteki piridinle π - π stacking'e sahip olabilmektedir. Benzen halkasının büyüklüğü de makrosikliğin kavitesine çok iyi uymaktadır. Konuğun aminoasit metilester hidroklorür olduğu durumda moleküler iyon piki gözlenmemiştir. Aynı şekilde CPH (Siklodipeptit Phe-His) makrosiklik **1** arasındaki kompleksin moleküler iyon piki de, CPH'nin makrosikliğe göre hacimsel büyüklüğünün fazla olması nedeniyle gözlenmemiştir. Ayrıca bir makrosiklik molekülün iki konuğu bağladığına dair kanıtın olmadığı; buradan da bağlanma sitokiyometrisinin 1:1 olduğu sonucu çıkarılabilir.

Tablo 2. Makrosiklikler ile aminoasit türevlerinin FAB-MS verileri.^a

Konukçu+konuk	M + 1 Piki	Bağıl Şiddet
1 + <i>L</i> -Ala-OMe·HCl	649 (H)	G
1 + <i>D</i> -Ala-OMe·HCl	649 (H)	G
1 + <i>L</i> -Phe-OMe·HCl	828 (H + G)	Z
1 + <i>D</i> -Phe-OMe·HCl	828 (H + G)	Z
1 + <i>L</i> -Val-Obz·HCl	856 (H + G)	Z
1 + BPHME	1099 (H + G)	Z
1 + CPH	649 (H)	G
2 + <i>L</i> -Phe-OMe·HCl	822 (H + G)	Z
2 + <i>D</i> -Phe-OMe·HCl	822 (H + G)	Z

^a 1:1 mol oranındaki konukçu-konuk karışımında ölçüm alınmıştır. ^b G=Güçlü; Z=Zayıf.

4. FLUORESANS SPEKTROSKOPİSİ

Fluoresans spektroskopinin, diğer spektroskopik metotlara göre daha yüksek bir hassasiyete sahip olduğu bilinmektedir [9]. Bu nedenle *D*- ve *L*- aminoasit türevlerinin bu homokiral makrosiklik reseptörlerle enantiyomerik tanınması, fluoresans spektroskopisi ile karakterize edilebilir. Bu kiral ligandların kiral tanıma gösterdiği, fluoresans şiddetinden ve fluoresans maksimumundaki farklardan anlaşılır. Aminoasit metil ester hidroklorürlerin enantiyomerleri ile makrosikliklerin fluoresans verileri Tablo 3'te görülmektedir.

Tabloda konukçu-konuk etkileşimleri sırasındaki serbest ligandın ve kompleksin $\lambda_{\max(\text{nm})}$ 'ları, $\Delta\delta_{(\text{nm})}$ ve I/I_0 (relatif intansite) değerleri verilmiştir. Tablo 3'te görüldüğü gibi hem fluoresans şiddeti hem de fluoresans maksimumu bir miktar fark

göstermektedir. Floresansın şiddeti, floresans moleküllerin çevresine bağlı olarak artar ya da azalır. Konuk ile karıştırıldığı zaman **1** ve **3** nolu makrosikliklerin floresans şiddeti artarken; **2** ve **4** nolu makrosikliklerin floresans şiddeti azalır. Bu olayın nedeni şöyle açıklanabilir; piridin halkasındaki azot, bağlayıcı uç olarak proton ile statik kuvvetle etkileşir. Fakat benzen halkasında böyle bir etkileşim yoktur.

Tablo 3. Aminoasit metil ester hidroklorürlerin enantiyomerleri ile makrosikliklerin floresans verileri.

Konukçu ^a -Konuk ^a	$\lambda_{\max}(\text{nm})^b$	$\Delta \lambda_{\max}(\text{nm})$	I/I_0 (bağıl şiddet)
1	361.2		
1 + <i>L</i> -Ala-OMe·HCl	362.5	1.3	1.07
1 + <i>D</i> -Ala-OMe·HCl	362.0	0.8	1.24
1 + <i>L</i> -Phe-OMe·HCl	361.6	0.4	1.12
1 + <i>D</i> -Phe-OMe·HCl	363.0	1.8	1.23
2	377.4		
2 + <i>L</i> -Ala-OMe·HCl	379.8	2.4	0.49
2 + <i>D</i> -Ala-OMe·HCl	380.4	3.0	0.49
2 + <i>L</i> -Phe-OMe·HCl	381.2	3.8	0.65
2 + <i>D</i> -Phe-OMe·HCl	378.2	0.8	0.52
3	382.1		
3 + <i>L</i> -Ala-OMe·HCl	374.0	-8.1	1.18
3 + <i>D</i> -Ala-OMe·HCl	380.1	-2.0	1.26
3 + <i>L</i> -Phe-OMe·HCl	368.4	-13.7	1.89
3 + <i>D</i> -Phe-OMe·HCl	372.9	-9.2	1.52
4	371.1		
4 + <i>L</i> -Ala-OMe·HCl	376.4	5.3	0.56
4 + <i>D</i> -Ala-OMe·HCl	378.7	7.6	1.11
4 + <i>L</i> -Phe-OMe·HCl	362.4	-8.7	0.77
4 + <i>D</i> -Phe-OMe·HCl	372.0	0.9	0.71

^a Makrosikliklerin ve tuzların eşmolar (2×10^{-5} M) miktarları çözücü karışımında (CH₃OH/CH₃CN=1:30) çözüldü. ^b $\lambda_{\text{ex}}=300$ nm.

5. UV-VİSİBLE SPEKTROSKOPİSİ

UV-Görünür spektroskopisi iyonik olmayan bağlanma ile sonuçlanan etkileşimlerin incelenmesinde yaygın olarak kullanılan uygun bir yöntemdir [10].

Reseptörle substrat serbest ya da kompleksleşmiş durumda, farklı dalga boyunda ışık absorpsiyonu yaptığı zaman ultraviyole spektrumunda λ_{\max} 'taki absorpsiyon şiddetindeki farklar moleküler tanımanın hesaplanmasına yeterli olabilir. UV titrasyon metodu, birleşme sabitinin elde edilmesinde kullanılabilir. Makrosiklinin (konukçu) derişimi, konuğunkinden çok küçük olduğu zaman ($[H]_0 \ll [G]_0$) modifiye edilmiş Hildebrand–Benesi denklemi, bu koşullar altında kullanılabilir [11]. Bu şekilde oluşan supramoleküler sistemin kararlılık sabiti, aşağıda verilen modifiye edilmiş Hildebrand–Benesi denklemine göre hesaplanabilir.

$$[G]_0[H]_0 / \Delta A = 1 / K\Delta\epsilon + [G]_0 / \Delta\epsilon$$

$[H]_0$ = Makrosiklinin başlangıç derişimi

$[G]_0$ = Konuğun başlangıç derişimi

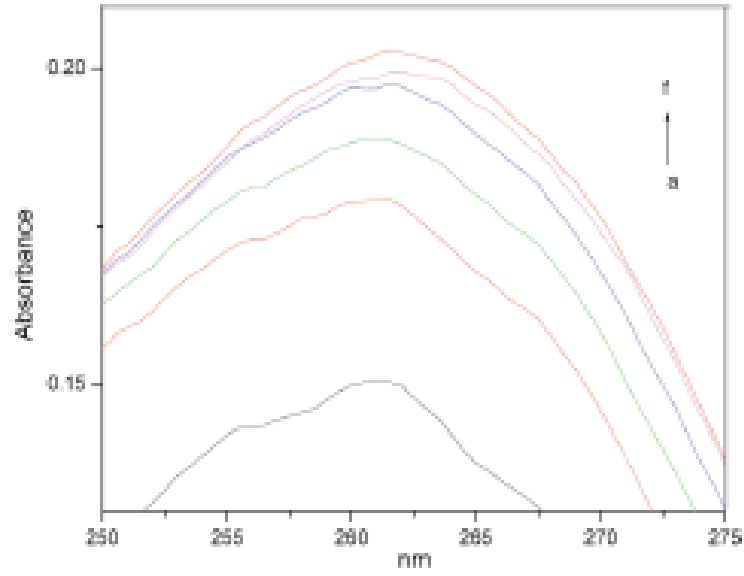
ΔA = Konuğun ilavesi üzerine makrosiklinin UV-Görünür şiddetinin değışimi

K = Birleşme sabiti

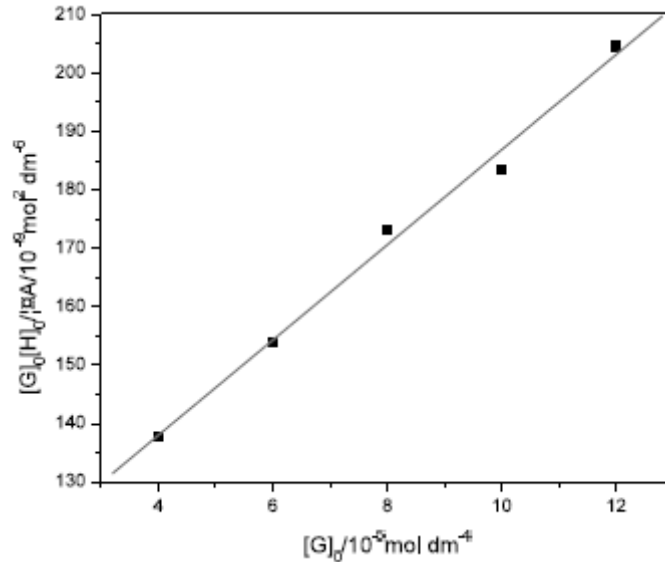
$\Delta\epsilon$ = Molar ekstnsiyon katsayısı

Metot uygulanırken ilk olarak konukçunun belli bir derişimine karşı (genelde 1.10^{-5} Mol.dm⁻³), değışik derişimlerdeki konuğun ($[H]_0 \ll [G]_0$ olacak şekilde) ilave edilerek dalga boyuna karşı absorpsiyon grafiğı çizilir.

Şekil 2'de görüleceğı gibi değışik derişimlerde konuğun ilavesi üzerine, makrosiklinin maksimum absorpsiyonunda buna paralel olarak düşme gözlenir. Daha sonra $[G]_0[H]_0 / \Delta A$ oranı, $[G]_0$ 'ın fonksiyonu olarak grafiğı geçilir. Buradan düzgün bir doğru elde edildiğı takdirde (Şekil 3), doğrusal grafiğın eğiminden, birleşme sabiti hesaplanır. Farklı konuklar için bu şekilde hesaplanan kararlılık sabitlerinden enantiyomerik tanıma oranı ya da seçicilik oranı hesaplanır.



Şekil 2. Değişik derişimlerde konuğun ilavesiyle makrosikliğin maksimum absorpsiyonundaki değişimler.



Şekil 3. Konukçu-konuk kompleksleşmesinde $[G]_0[H]_0/\Delta A$ 'ya karşılık $[G]_0$ 'ın grafiği.

6. MOLEKÜLER MODELLEME

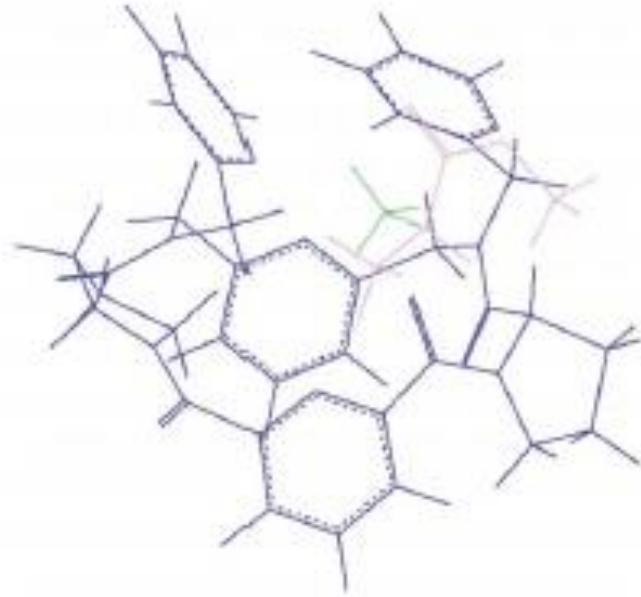
Konukçu ve konuk arasındaki etkileşim modu ve yapı çalışmalarına ilave olarak bağlanmayı taklit etmek üzere bilgisayar modellemesi kullanılabilir. IR verilerinden konukçu ve konuğun, proton ve amit grupları arasındaki hidrojen bağlarıyla birbirleriyle etkileştiklerini görebiliyoruz.

Önceki araştırmalara dayanarak [12], bu etkileşimlerin makrosikliklerle konuk arasındaki tripod hidrojen bağlanmasından ortaya çıktığı düşünülmektedir. Burada **1** ve

3 nolu makrosiklikler, konformasyonel araştırmalar için örnek olarak seçilmiştir. Araştırmada Syby16.4 silikon grafik O2 (R5000) çalışma istasyonu üzerinden araştırma yürütülmüştür. şekil 4 makrosiklik **1**'in L-fenilalanin metilester hidroklorür ile birleşmesinin; şekil 5 ise D-Fenilalanin metil ester hidroklorürün **3** nolu makrosiklik ile etkileşiminin hesaplama sonucu elde edilen konformasyonunu göstermektedir.



şekil 4. Makrosiklik **1**'in L-fenilalanin metilester hidroklorür ile moleküler modelleme ile elde edilen konformasyonu.



şekil 5. **3** nolu makrosiklikle D-Fenilalanin metil ester hidroklorürün etkileřiminin moleküler modelleme sonucu elde edilen konformasyonu.

Tablo 4'teki moleküler modelleme sonucu elde edilen enerji verilerinden, makrosiklikler konuk ile birleştiği zaman toplam enerji değerlerinin daha düşük olduğu görülebilmektedir.

Tablo 4. Makrosikliklerle aminoasit metil ester hidroklorürlerin enantiyomerlerinin optimize edilmiş konformasyonlarının enerji verileri.

Konukçu-konuk	Enerji kcal/(mol Å)	ΔE
1	38.535	
1 + <i>L</i> -Phe-OMe·HCl	10.785	-27.750
1 + <i>D</i> -Phe-OMe·HCl	3.279	-34.256
3	18.130	
3 + <i>L</i> -Ala-OMe·HCl	-6.305	-24.435
3 + <i>D</i> -Ala-OMe·HCl	-14.070	-32.200

Hem makrosiklik **1** hem de makrosiklik **3**'ün daha iyi enantiyomerik tanımayı *L*-izomerlerden ziyade *D*-izomerlere karşı gösterdikleri görülebilmektedir. Çünkü *D*-izomerlerin makrosikliklerle kompleksleşme enerjisi *L*-izomerlerinininkinden daha düşüktür.

Moleküler modelleme tekniği ile deneysel sonuçların birbiriyle uyumlu olduğu görülmektedir.

7. SONUÇ

Moleküler tanıma çalışmalarında IR spektroskopisi, oluşan hidrojen bağı nedeniyle konukçu ve konukta karakteristik piklerin kaymasını incelemek için kullanılmıştır. Ortaya çıkan frekans kaymalarına göre enantiyomerik ayırma yapılabileceği gösterilmiştir. Hızlı atom bombardıman kütle spektrometresi (FAB-MS) tekniğinde konukçu ile konuğun 1+1 moleküler iyon pikinin ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Floresans spektroskopisi diğer spektroskopik metotlara göre daha yüksek hassasiyette olması nedeniyle enantiyomerik tanıma çalışmalarında çokça kullanılmıştır. Bu yöntemde konukçu konuk etkileşimlerinde floresans şiddeti ve floresans maksimumlarındaki farklılıklardan yararlanır. UV visible spektroskopisi iyonik olmayan bağlanma etkileşimlerinin incelenmesinde sıklıkla kullanılır. Konukçu ve konuğun

serbest ya da kompleksleşmiş durumunda UV spektrumunda λ_{max} 'taki absorpsiyon şiddetindeki farklar moleküler tanımanın hesaplanmasında kullanılır. Moleküler modelleme çalışmaları konukçu ile konuk arasındaki bağlanmayı taklit etmek üzere bilgisayar modellemesi kullanır. Hesaplamalar sonucu elde edilen konformasyonlardan, konukçu konuk birleşmelerinden sonraki toplam enerji değerleri hesaplanabilir. Buradan da enantiyomerik tanıma miktarı elde edilir.

KAYNAKLAR

- [1] Cram D.J., 1988. The design of molecular hosts, guests, and their complexes, *Science*, 240: 760-767.
- [2] Zhang X. X.; Bradshaw J. S.; Izatt R. M., 1997. Enantiomeric recognition of amine compounds by chiral macrocyclic receptors, *Chemical Reviews*, 97: 3313-3361.
- [3] Ebmeyer, F.; Vögtle, F.; Atwood, J.L.; Davies, J.E.D.; MacNicol, D.D., 1991. Inclusion Compounds, vol. 4, *Oxford University Press*, New York, p. 263.
- [4] Pedersen C.J., Izatt R.M., Christensen J.J., 1978. Synthetic Multidentate Macrocyclic Compounds, *Academic Press*, New York, p. 21.
- [5] Izatt R.M., Pawlak K., Bradshaw J.S., Nielsen S.A., Lamb S.D., Christensen J.J., Sen P., 1985. Thermodynamic and kinetic data for cation-macrocyclic interaction, *Chemical Reviews*, 85: 271-339.
- [6] Izatt R.M., Pawlak K., Bradshaw J.S., Bruening R.L., 1991. Thermodynamic and kinetic data for macrocyclic interaction with cations and anions, *Chemical Reviews*, 91: 1721-2085.
- [7] Williams D.H., Fleming I., 1995. Spectroscopic Methods in Organic Chemistry, 5th ed., *McGraw-Hill*,
- [8] Breitenbach J., Boosfeld J., Vogtle F., 1996. Comprehensive Supramolecular Chemistry, *Elsevier Science*, New York, p. 29-67.
- [9] Hamada F., Narita M., Makabe A., Itoh H., 2001. The effect of dansyl-modified β -cyclodextrin on the chaperone activity of heat shock proteins, *Journal of Inclusion Phenomena*, 40: 83-88.
- [10] You J.S., Yu X.Q., Zhang G.L., 2001. Novel chiral imidazole cyclophane receptors: Synthesis and enantioselective recognition for amino acid derivatives, *Chemical Communications*, 18: 1816-1817.
- [11] Liu Y., Han B.H., Sun S.X., 1999. Molecular recognition study on supramolecular systems. 20. Molecular recognition and enantioselectivity of aliphatic alcohols by L-tryptophan-modified β -cyclodextrin, *Journal of Organic Chemistry*, 64: 1487-1493.
- [12] Zhao H. W., Hua W.T., 2000. Synthesis and characterization of pyridine-based polyamido-polyester optically active macrocycles and enantiomeric recognition for D- and L-amino acid methyl ester hydrochloride, *Journal of Organic Chemistry*, 65: 2933-2938.