T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

BAZI MONOMERİK VE POLİMERİK KALİKSARENLERİN SENTEZİ VE ENZİM-MİMİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Begüm TABAKCI

DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
KONYA, 2010

ÖZET

Doktora Tezi

BAZI MONOMERİK VE POLİMERİK KALİKSARENLERİN SENTEZİ VE ENZİM-MİMİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Begüm TABAKCI

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. A.Dinçer BEDÜK
Prof. Dr. Mustafa YILMAZ

2010, 164 sayfa

Jüri:
Prof. Dr. A. Dinçer BEDÜK
Prof. Dr. Mehmet SEZGİN
Prof.Dr. İbrahim KARATAŞ
Prof.Dr. Abdulkadir SIRIT
Doç.Dr. Mustafa Yavuz ERGÜN

Bu çalışma, monomerik ve polimerik yapıdaki kaliks[4]aren türevlerinin sentezlenmesini ve sentezlenen bu türevlerin transaçilaz enzim-mimik olarak kullanılma özelliklerinin incelenmesini kapsamaktadır.

Senztez bölümü iki kısımdan oluşmaktadır. Birinci bölümde monomerik, ikinci bölümde ise polimerik kaliks[4]arenlerin sentezi gerçekleştirldi. Monomerik kaliks[4]arenin sentez çalışmaları da ikili ve dörtlü gruplar taşıyan kaliks[4]arenler olmak üzere iki seri halinde yapıldı. Birinci seri için ilk olarak *p-ter*-bütilkaliks[4]aren (**1**) başlangıç maddesi olarak sentezlendi ve dibenzoil türevine (**2**) dönüştürüldükten sonra *p-ter*-bütil gruplarından *1,3*-distal pozisyondaki iki tanesi seçimli olarak giderildi. Elde edilen bileşik (**3**), hidroliz edilerek benzoil grupları da giderildi ve **4** elde edildi. Daha sonra **4**, *p*-pozisyonu üzerinden dimetilamino

türevine (**5**) dönüştürüldükten sonra metil iyodürle etkileştirilerek **6** elde edildi. Son olarak **6**, önce uygun rektifler kullanılarak ikili imidazol, triazol ve triazol ester bağlı türevleri (**7-9**) ve daha sonrada triazol ester-bağlı kaliks[4]arenin hidroliziyle de **10** da sentezlenerek bu seri tamamlandı. Diğer yandan monomerik kaliks[4]arenlerin ikinci sentez serisi için başlangıç bileşiğinin (**1**) tüm *ter*-bütil grupları giderilerek **11**, bu serinin başlangıç maddesi olarak sentezlendi. Daha sonra **11**, önce tetraaminometilli türevine (**12**) sonrada metil iyodür ile etkileştirilerek **13**'e dönüştürüldü. Son olarak **13**, uygun rektifler kullanılarak dörtlü imidazol ve triazol türevleri (**14** ve **15**) de sentezlenerek bu seri de tamamlandı. Sentez bölümünün ikinci kısmında ise sentezlenen monomerik kaliks[4]aren türevleri kullanılarak polisiloksan yapısına sahip (**20-23**), Merrifield (**24-27**) ve TentaGel (**28**) destekli polimerik yapıdaki kaliks[4]arenler hazırlandı. Bu amaçla ilk olarak monomerik kaliks[4]arenler **7**, **8**, **14** ve **15**, önce 3-glisidoksipropiltrietoksisilan ile etkileştirilerek trietoksisilan türevlerine (**16-19**) daha sonra da tetraetoksilan ile polimerleştirilerek kaliks[4]aren bazlı polisiloksan reçineleri (**20-23**) hazırlandı. Ayrıca **7, 8, 14** ve **15**, uygun şartlarda Merrifield reçinesine bağlanarak Merrifield-destekli polimerler (**24-27**) hazırlandı. Son olarak triazol ester-bağlı kaliks[4]aren **10**, uygun şartlarda amino bağlı TentaGel reçinesine bağlanarak Tentagel-destekli polimer (**28**) hazırlandı. Hazırlanan tüm bileşiklerin yapıları, FTIR, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, element analiz, ve TGA gibi yapı analiz teknikleri kullanılarak aydınlatıldı.

Enzim-mimik çalışmaları, monomerik ve polimerik kaliks[4]arenler ile olmak üzere iki kısımda gerçekleştirildi. İlk olarak monomerik kaliks[4]arenlerin katalitik etkinliklerini belirlemek amacıyla bu bileşikler, *p*-nitrofenil asetatın hidrolizinde katalizörler (**7, 8, 10, 14** ve **15**) olarak kullanıldı. Ayrıca reaksiyon katalizörsüz olarak da gerçekleştirilerek karşılaştırma yapıldı. Daha sonra çalışmalar daha detaylı olarak gerçekleştirildi. Öncelikle optimum pH'ı belirlemek amacıyla hidroliz reaksiyonu farklı pH değerlerinde gerçekleştirildi. Daha sonra reaksiyon kinetiği ile ilgili olarak Michaelis-Menten verilerini belirlemek amacıyla hidroliz reaksiyonu, farklı substrat konsantrasyonları kullanılarak gerçekleştirildi ve ilgili veriler hesaplandı. Ayrıca katalizörlerin farklı substratlara karşı davranışını belirlemek için hidroliz reaksiyonu farklı substratlar kullanılarak gerçekleştirildi Enzim-mimik çalışmalarının ikinci bölümünde ise hazırlanan polimerik

kaliks[4]arenler, katalizör olarak kullanıldı. Katalizörlerin Michaelis-Menten verileri belirlenerek katalitik etkinlikleri belirlendi. Diğer taraftan hidroliz reaksiyonu farklı miktardaki polimerler kullanılarak da gerçekleştirildi. Son olarak enzim-mimik çalışmalarında polimerik katalizörlerle geri kazanım ve yeniden kullanım çalışmaları gerçekleştirildi ve bu şekilde sentezlenen polimerik kaliksarenlerin kullanılabilirlik dereceleri belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Kaliksarenler, enzim-mimik, katalizör, polimer, imidazol, triazol

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

SYNTHESIS AND EXAMINATION OF ENZYME-MIMIC PROPERTIES OF SOME MONOMERIC AND POLYMERIC CALIXARENES

Begüm TABAKCI

Selcuk University Faculty of Science

Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. A. Dinçer BEDÜK
Prof. Dr. Mustafa YILMAZ

2010, 164 pages

Jury:
Prof. Dr. A. Dinçer BEDÜK
Prof. Dr. Mehmet SEZGİN
Prof.Dr. İbrahim KARATAŞ
Prof.Dr. Abdulkadir SIRIT
Doç.Dr. Mustafa Yavuz ERGÜN

This study comprises the synthesis of monomeric and polymeric calix[4]arene derivatives and the investigation of their use as transacylase enzyme-mimics. Synthesis section consisting of two parts. It was performed the synthesis of monomeric calix[4]arenes in first part while the preparation of polymeric calix[4]arenes in second part. The study of synthesis for di- and tetra-substituted monomeric calix[4]arenes was carried out in two serials. For the first series, *p-tert*-butylcalix[4]arene (**1**) was synthesized as a starting material and it was firstly converted to its dibenzoyl derivative, and then two *tert*-butyl groups in 1,3-distal position were selectively removed. After its hydrolysis the obtained compound was firstly converted to its dimethylamino derivative and then compound **6** was synthesized by treatment of **5** with methyl iodide. Finally, with the synthesis of firstly di-imidazole-, -triazole- and -triazole ester-bonded derivatives by using suitable reagents, and then with the hydrolysis of **9** to obtain **10** it was completed one

series. On the other hand for the second series of the synthesis of monomeric calix[4]arenes, **11** was synthesized by removing the all *tert*-butyl groups of the **1** as starting material. **11** was firstly converted to its methylamine derivative (**12**) and then **13** was synthesized by reacting of **12** with methyl iodide. Finally, with the synthesis of di-imidazole- and –triazole it was completed second series of the monomeric calix[4]arenes. Polymeric calix[4]arenes having three polymeric backbone (siloxane, Merrifield- and TentaGel-supported) were prepared by using monomeric calix[4]arenes in the second of synthesis section. For this purpose it was firstly prepared triethoxysilane derivatives (**16-19**) by the treatment of **7**, **8**, **14** and **15** 3-glycidoxypropyl triethoxysilane and then their polymerization of them gave calix[4]arene-based polysiloxane resins (**20-23**). Also it was Merrifield-supported calix[4]arene polymers (**24-27**) were prepared by binding of the **7**, **8**, **14** and **15** to Merrifield resin under suitable conditions. Finally by the binding of the triazol ester-bonded calix[4]arene (**10**) to TentaGel resin under suitable conditions, TentaGel-supported polymer (**28**) it was prepared. Structures of the all monomers and polymers were chracterized by the techniques of structure analysis such as FT-IR, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, elemental analysis and TGA.

Enzyme-mimic studies were separately carried out with monomeric and polymeric calix[4]arenes. Firstly to understand the catalytic powers of monomeric calix[4]arenes (**7**, **8**, **10**, **14** and **15**) were used in the hydrolysis of the *p*-nitrophenyl acetate as catalysts. Also hydrolysis reaction was performed without catalyst for comparison. After that the studies were detailed. For this aim, firstly to determine the opitmum pH, hydrolysis were performed under different pH conditions. Also hydrolysis were done by using various substrate concentrations to calculate the Michaelis-Menten kinetic data. Finally the hydrolysis were performed with various substrates to see the behavior of catalysts toward substrates such as *p*-nitrophenyl acetate, *p*-nitrophenyl palmitate and bis-*p*-nitrophenyl carbonate. On the other hand, hydrolysis reaction were carried out with polymeric calix[4]arenes and then it was determined their Michaelis-Menten kinetic data. Also it was done in different amounts of polymers to learn the effect of the polymer amount to hydrolysis. Finally in this part, it was carried out recovery and reuse studies of the polymeric catalysts.

Keywords : Calixarene, enzyme-mimic, catalyst, polymer, imidazole, triazole

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. A. Dinçer BEDÜK yönetiminde yapılarak Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü' ne Doktora tezi olarak sunulmuştur. Bu çalışma aynı zamanda S.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 07101026 nolu proje ile desteklenmiştir.

Bu çalışmanın yürütülmesinde her türlü bilgi ve önerileriyle bana yön veren danışman hocam Sayın Prof. Dr. A. Dinçer BEDÜK'e teşekkür eder, saygı ve şükranlarımı sunarım. Ayrıca tez konusunun seçiminde bana yön veren ikinci tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mustafa YILMAZ'a ve yardımlarını esirgemeyen Tez İzleme Komitesi üyesi hocalarım Sayın Prof. Dr. Mehmet SEZGİN'e ve Sayın Prof. Dr. Abdülkadir SIRIT'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca bana destek olan canım eşim Doç.Dr. Mustafa TABAKCI'ya ve bana gerekli sabrı, yardımı ve ilgiyi hiçbir zaman esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca her türlü ilgi ve destekleri için çok kıymetli hocam Sayın Doç.Dr. Aydan YILMAZ'a ve yardımları için Uzman Serkan ERDEMİR, Yüksek Kimyager Aslı SAP, arkadaşlarım Arş. Gör. Ezgi AKCEYLAN, Arş. Gör. Özlem ŞAHİN, hocam Sayın Yrd.Doç.Dr. İ. Hilal GÜBBÜK ile Kimya Bölümü'ndeki diğer hocalarıma, araştırma görevlisi ve uzman arkadaşlarıma ve ayrıca maddi desteğinden dolayı S.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım.

Begüm TABAKCI

Konya-2010

Oğlum Ali Tuna'ya..

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **iv**
ÖNSÖZ ..... **vi**
İÇİNDEKİLER ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **x**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **xiv**
SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **xv**
1. GİRİŞ **1**
1.1. Supramoleküler Kimya 1
1.2. Kaliksarenler 3
1.2.1. Kalikarenlerin isimlendirilmesi 4
1.2.2. Kaliksarenlerin sentezi 5
1.2.3. Kalikarenlerin konformasyonu 6
1.2.4. Kaliksarenlerin modifikasyonu 9
1.2.4.1. Kaliksarenlerin fenolik-OH (lower veya narrow rim) üzerinden modifikasyonu 11
1.2.4.2. Kaliksarenlerin p-pozisyonundan (upper veya wide rim) modifikasyonu 12
1.2.5. Kaliksarenlerin fiziksel özellikleri 12
1.2.5.1. Asitlik sabiti ve hidrojen bağı 12
1.2.5.2. Erime noktaları ve çözünürlük 13
1.2.6. Kaliksarenlerin spektral özellikleri 14
1.2.6.1. Infrared spektroskopisi 14
1.2.6.2. NMR spektroskopisi 14
1.2.6.3. Kütle spektroskopisi 15
1.3. Enzimler ve Enzim-Mimikler 15
1.3.1. Enzim kinetiği 18
1.3.2. Enzim konsantrasyonu 18
1.3.3. Substrat konsantrasyonu 18
1.3.4. Sıcaklık 19
1.3.5. pH 19
1.3.6. Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri 19
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **22**
2.1. Zn(II) Kompleksleri: Hidrolitik Metalloenzimler 24
2.2. Cu(II) kompleksleri: Hidrolitik metallo enzimler 28
2.3. Ribonükleaz enzim-mimik 31
2.4. ATPaz enzim-mimik 32
2.5. Aldolaz enzim mimik 33
2.6. *Heme*-mimikler 33
2.7. Karbonik anhidraz enzim-mimik 35
2.8. Biyomimetizm yapısı 35
2.8.1. Biyolojik sistemlerde Cu(I) ve Cu(II) nin önemi 36
2.8.2. Yapısal modeller olarak kaliksaren bazlı Cu(I) ve Cu(II) kompleksleri 36
2.8.3. Biyolojik sistemlerde Zn(II) nin önemi 41
2.8.4. Yapısal olarak kaliksaren bazlı Zn(II) kompleksleri 41
2.8.5. Biyomimetizm bazlı moleküler tanıma ve hidrojen bağının önemi 43
2.9. Açiltransferaz enzim mimik 59

3. DENEYSEL KISIM 62
3.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar 62
3.2. Kaliks[4]aren Bileşiklerinin Sentezi.....62
3.2.1. Monomerik kaliks[4]arenlerin sentezi 63
3.2.1.1. 5,11,17,23-*ter*-Bütil-25,26,27,28-hidroksikaliks[4]aren (1) 63
3.2.1.2. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-26,28-bis[benzoiloksi]kaliks[4]-aren-25,27-diol (2) 63
3.2.1.3. 5,17, Di-*ter*-bütil-26,28-bis[benzoiloksi]kaliks[4]aren-25,27-diol (3) 64
3.2.1.4. 5,17-Di-*ter*-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (4).....65
3.2.1.5. 5,17-Di-*ter*-bütil-11,23-bis(dimetilamino)metil-25,26,27,28-tetra-hidroksikaliks[4]aren (5) 66
3.2.1.6. 5,17-Di-*ter*-bütil-11,23-bis(dimetilamino)metil-25,26,27,28-tetra-hidrok-sikaliks[4]aren iyodür (6).....66
3.2.1.7. Di-imidazol (7), di-triazol (8) ve di-triazol ester (9) bağlı kaliks[4]arenlerin sentezi.....67
3.2.1.8. Di-triazol ester türevli kaliks[4]arenin (9) hidrolizi 68
3.2.1.9. Kaliks[4]arenin sentezi (11) 69
3.2.1.10. 5,11,17,23-Tetrakis(dimetilamino)metil-25,26,27,28-tetra-hidroksika-liks[4]aren (12).....70
3.2.1.11. 5,11,17,23-Tetrakis(dimetilamino)metil-25,26,27,28-tetra-hidroksika-liks[4]aren iyodür (13).....70
3.2.1.12. Tetra-imidazol (14) ve tetra-triazol (15) türevli kaliks[4]arenlerin sentezi 71
3.2.2. Polimerik kaliks[4]arenlerin sentezi.....72
3.2.2.1. İmidazol ve triazol bağlı kaliks[4]aren polisiloksan reçinelerinin (20, 21, 22 ve 23) hazırlanması.....72
3.2.2.2. İmidazol ve triazol bağlı kaliks[4]arenlerin Merrifield reçinesine immobilizasyonu 73
3.2.2.3. İmidazol ve triazol bağlı kaliks[4]arenlerin TentaGel reçinesine immobilizasyonu 74
3.3. Enzim-Mimik Çalışmaları 74
3.3.1. Monomerik kaliks[4]arenler.....74
3.3.1.1. pH etkisi 75
3.3.1.2. Substrat konsantrasyonu etkisi 75
3.3.1.3. Substrat etkisi 75
3.3.1.4. Polimerik kaliks[4]arenler.....76
3.3.1.5. Polimerik katalizör miktarı etkisi 76
3.3.1.6. Polimerik katalizörün yeniden kullanılabilirliği.....76
4. SONUÇ VE TARTIŞMA 77
4.1. Kaliks[4]aren Bazlı Bileşiklerin Sentezi 77
4.1.1. Enzim-mimik olarak kullanılacak temel bileşiklerin sentezi.....77
4.1.1.1. İmidazol ve triazol bağlı kaliks[4]aren polisiloksan reçinelerinin hazırlanması 83
4.1.1.2. İmidazol ve triazol bağlı kaliks[4]arenlerin Merrifield reçinesine immobilizasyonu 85
4.1.1.3. Bileşik 9'un Tentgel-NH_2 üzerine immobilizasyonu.....87
4.2. Enzim-mimik çalışmaları.....89

4.2.1. Monomerik kaliks[4]arenler ile enzim-mimik çalışmaları 89
4.2.1.1. pH etkisi 91
4.2.1.2. Farklı substrat konsantrasyonu etkisi.....93
4.2.1.3. Farklı substrat etkisi.....97
4.2.1.4. Polimerik kaliks[4]arenler ile enzim-mimik çalışmaları.....98
4.2.1.5. Polimer miktarının etkisi.....100
4.2.1.6. Geri kazanım ve yeniden kullanım çalışmaları 101
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER 103
6. KAYNAKLAR.....105
7. EKLER 123
ÖZGEÇMİŞ 151

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Moleküler ve supramoleküler kimya arasındaki ilişkinin şematik gösterimi……... 2

Şekil 1.2. Kaliksarenler ve farklı gösterim şekilleri (R = *ter*-bütil, m = 1, 2, 3, …, n = 3, 4, 5,….)…….. 3

Şekil 1.3. *p-ter*-Bütilkaliks[4]arenin isimlendirilmesi……. 4

Şekil 1.4. Kaliksaren bölgelerinin tanımlanması……. 5

Şekil 1.5. *p-ter*-Bütilkaliks[4]arenin sentezi…… 6

Şekil 1.6. *p-ter*-Bütilkaliks[4]arenin konformasyon şekilleri…….. 7

Şekil 1.7. Farklı kaliks[4]aren konformerlerinin metilen köprülerinin ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR şablonları…… 8

Şekil 1.8. *p-ter*-Bütilkaliks[4]arenin koni konformasyonlarının birbirlerine dönüşümü (R = *ter*-bütil)……. 9

Şekil 1.9. Kaliks[4]arenin sentezi (R = *ter*-bütil)…… 10

Şekil 1.10. Kaliksarenlerin *fenolik-O* üzerinden modifikasyonu……. 10

Şekil 1.11. Kaliksarenlerin *p*-pozisyonu üzerinden modifikasyonu…… 11

Şekil 1.12. *p*-Sülfonatokaliks[4]arenin monoanyon yapısında hidrojen bağı oluşumu……... 13

Şekil 1.13. *p-ter*-Bütilkaliks[4]arenin ^{1}H NMR spektrumu……. 15

Şekil 1.14. Kaliksarenlerin substratlarla etkileşmeleri…… 18

Şekil 1.15. Michaelis-Menten grafiği…….. 20

Şekil 1.16. Lineweaver-Burk grafiği……... 21

Şekil 2.1. HPNP ve EPNP'nin katalizör ile *4*-nitrofenole dönüşümü……. 24

Şekil 2.2. Bir kaliks[4]aren mononükleer Zn(II) modeli…… 25

Şekil 2.3. Referans olarak kullanılan piridin kompleksi……. 25

Şekil 2.4. Bir mononükleer Zn(II)-kaliks[4]aren kompleksinin *p*-nitrofenil stearat ile etkileşimi……. 26

Şekil 2.5. Bir kaliks[4]aren dinükleer Zn(II) modeli ile HPNP hidrolizi için önerilen mekanizma……. 26

Şekil 2.6. Bir kaliks[4]aren-crown dinükleer Zn(II) modeli…… 27

Şekil 2.7. Hidrolitik metalloenzimler için model olarak kullanılan bir trinükleer

Zn(II)-kaliks[4]aren kompleksi…… 28
Şekil 2.8. Kaliks[4]aren-Cu(II) kompleksinin HPNP ile etkileşim için önerilen bir mekanizma…….. 29
Şekil 2.9. Referans mono nükleer kompleksi…….. 29
Şekil 2.10. Bis(imidazol) grupları taşıyan kaliks[4]aren türevleri ve DNA'nın trans-esterleşmesi……. 31
Şekil 2.11. Kaliks[4]arenin ATP ile supramoleküler kompleks yapısı için önerilen yapı……. 32
Şekil 2.12. *Heme*-mimik olarak kullanılan bir kavitant türevi **(a)** ve *p*-(2-aminometil)kaliks[4]aren **(b)**……... 35
Şekil 2.13. Enzimlerdeki mono bakır bölgeleri için model olrak kullanılan kaliksaren Cu(II) kompleksleri ve etkileşimleri.……. 37
Şekil 2.14. Biyomimetik imidazolil pendant gruplarına sahip kaliks[4]aren türevi 38
Şekil 2.15. Biyomimetik kuprik kaliks[6]aren……. 39
Şekil 2.16. Kuprik kaliks[6]aren bir moleküler huni olarak davranışının şematik gösterimi……. 40
Şekil 2.17. Biyomimetik kaliks[6]aren ve Zn kompleksi…… 42
Şekil 2.18. Enzimlerin mononükleer aktif bölgesini modelleyen bir huni kompleks yapısının şematik gösterimi …….. 43
Şekil 2.19. Aminoasit kompleksleşmesinde kullanılan kaliks[4]aren türevleri….. 45
Şekil 2.20. S-(-)-feniletilamin bağlı kiral *p-tert*-bütilkaliks[4]aren ve kaliks[4]aren…… 45
Şekil 2.21. Fenilalaninol bağlı kiral *p-ter*-bütilkaliks[4]aren triamit türevi…… 46
Şekil 2.22. α-Aminoasit esterlerinin kiral tanınmasında kullanılan kiral kaliks[4]aren Schiff baz türevleri……. 46
Şekil 2.23. Dört aminoasit grubu içeren hareketli kaliks[4]aren türevi……... 47
Şekil 2.24. Dört aminoasit grubu içeren rijit kaliks[4]aren-crown türevi furfuril bağlı kaliks[4]azacrown bileşikleri…….. 48
Şekil 2.25. Rasemik karboksilik asitlerin enantiyoselektif tanınmasında kullanılan furfuril bağlı kaliks[4]aza bileşeği…….. 49
Şekil 2.26. C-bağlı peptidokaliks[4]aren bileşikleri…… 49
Şekil 2.27. N-bağlı peptidokaliks[4]aren bileşikleri…… 50

Şekil 2.28. Vankomisin mimik olarak kullanılan bir kaliks[4]aren türevi……. 51
Şekil 2.29. C-bağlı (**a**) ve N-bağlı (**b**) peptidokaliks[4]aren türevleri…… 52
Şekil 2.30. Biyomimetik reseptör olarak kullanılan başlıklı bir kaliks[4]aren türevi…… 52
Şekil 2.31. Lineer bir α-Amino fosfonat bileşiği……. 53
Şekil 2.32. α-Amino fosfonat grubu taşıyan kaliks[4]aren türevleri……... 54
Şekil 2.33. Farklı yapıdaki kiral kaliks[4]aren ester türevleri……. 55
Şekil 2.34. Bazı anyonların kiral tanıma çalışmalarında kullanılan kaliks[4](aza)-crown türevleri……. 56
Şekil 2.35. Farklı aminoasit metilester grupları bağlı kaliks[4]aren türevleri……. 58
Şekil 2.36. Bir transaçilaz katalizörü olan *p-ter*-bütilkaliks[4]aren-crown-5-baryum(II) kompleksi **(a)** ve önerilen mekanizma **(b)**……. 60
Şekil 2.37. Açiltransferaz-mimik olarak kullanılan bir imidazol bağlı kaliks[4]aren türevi…… 60
Şekil 4.1. Katalizörlü (**7, 8, 10, 14** ve **15**) ve katalizörsüz (**blank**) şartlarda *p*-nitrofenil asetatın hidrolizinden *p*-nitrofenolün oluşum kinetiği. [Katalizör] = $66x10^{-5}$ mol L^{-1}; [*p*-NFA] = $95x10^{-5}$ mol L^{-1}; [Tampon]= 0,05 mol L^{-1} (Na_2HPO_4/KH_2PO_4); pH = 6,3; λ = 400 nm; 25°C…….. 89
Şekil 4.2. Kaliks[4]aren katalizörleri ile ester hidrolizi için önerilen mekanizma.. 90
Şekil 4.3. İmidazol/triazol bağlı kaliks[4]aren katalizörlerinin NFA hidrolizindeki pH profili. [Katalizör] = $66x10^{-5}$ mol L^{-1}; [NFA] = $95x10^{-5}$ mol L^{-1}; [Tampon] = 0,05 mol L^{-1} (Na_2HPO_4/KH_2PO_4; NaOH); λ = 400 nm; 25°C……. 91
Şekil 4.4. Katalizörlü (**7, 8, 10, 14** ve **15**) ve katalizörsüz (**blank**) şartlarda *p*-nitrofenil asetatın hidrolizinin Michaelis-Menten eğrileri. [Katalizör] = $66x10^{-5}$ mol L^{-1}; [Tampon]= 0,05 mol L^{-1} (Na_2HPO_4/KH_2PO_4); pH = 6,3; λ = 400 nm; 25°C…….. 92
Şekil 4.5. Bileşik **7** ile katalizlenen NFA'nın hidrolizi için Lineweaver-Burk doğrusu……. 93
Şekil 4.6. Bileşik **8** ile katalizlenen NFA'nın hidrolizi için Lineweaver-Burk doğrusu……. 94
Şekil 4.7. Bileşik **10** ile katalizlenen NFA'nın hidrolizi için Lineweaver-Burk doğrusu……. 94

Şekil 4.8. Bileşik **14** ile katalizlenen NFA'nın hidrolizi için Lineweaver-Burk doğrusu……. 95

Şekil 4.9. Bileşik **15** ile katalizlenen NFA'nın hidrolizi için Lineweaver-Burk doğrusu……. 95

Şekil 4.10. Katalizör kullanılmadan (**blank**) NFA'nın hidrolizi için Lineweaver-Burk doğrusu…… 96

Şekil 4.11. Hidroliz için kullanılan substratlar…… 97

Şekil 4.12. Polimerik katalizörler (**22** ve **26**) ile farklı konsantrasyondaki *p*-NFA'nın hidrolizinden elde edilen $\boldsymbol{k}_{\mathbf{cat}}/\boldsymbol{k}_{\mathbf{uncat}}$ değerleri. [Katalizör] = $66x10^{-5}$ mol L^{-1}; [Tampon]= 0,05 mol L^{-1} (Na_2HPO_4/KH_2PO_4); pH = 6,3; λ = 400 nm; 25°C……. 101

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Bileşik **7**, **8, 14, 15, 20-23 ü**n elementel analiz sonuçları……. 84

Çizelge 4.2. Merrifield ile TentaGel reçinelerinin ve polimer **24-28**'in elementel analiz sonuçları……. 86

Çizelge 4.3. Katalizörlerle farklı konsantrasyonlardaki *p*-NFA hidrolizinden elde edilen Michaelis-Menten kinetik verileri……. 97

Çizelge 4.4. Katalizörlerle farklı substratların hidrolizinden elde edilen k_{cat}/k_{uncat} değerleri……. 98

Çizelge 4.5. Kaliks[4]aren polisiloksanların (**20-23**) kinetik verileri..... 99

Çizelge 4.6. Merrifield (**24-27**) ve TentaGel-destekli (**28**) kaliks[4]aren polimerlerinin kinetik verileri..... 100

Çizelge 4.7. Polimerik katalizörlerin yeniden kullanılabilirliği (%)..... 102

SİMGELER VE KISALTMALAR

$CDCl_3$: Dötoro-kloroform

DMSO-d_6: Dötoro-Dimetilsülfoksit

DMF: N,N-Dimetilformamit

FTIR: Fourier Transform Infrared

NMR: Nükleer Manyetik Rezonans

E.N.: Erime Noktası

Ar: Aromatik

o-: orto

p-: para

TGA: Termogravimetrik Analiz

DTG: Diferansiyel Termogravimetrik Analiz

THF: Tetrahidrofuran

K_M : Michaelis-Menten hız sabiti

V_{max} : Doygun substrat derişiminde enzimin ulaşabileceği maksimum hız.

K_{cat} : Geri dönüşüm sayısı

K_{cat}/K_M : Katalitik etkinlik

V : Tepkime hızı

[S] : Substrat derişimi

p-NFA: *p*-Nitrofenilasetat

p-NFP: *p*-Nitrofenilpalmitat

bis-*p*-NFK: *p*-Nitrofenilkarbonat:

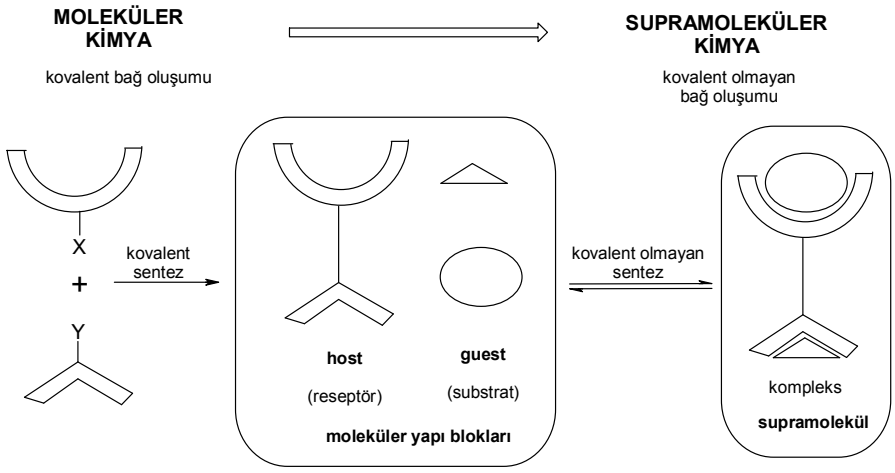
1. GİRİŞ

1.1. Supramoleküler Kimya

Kimya, moleküler kimya ve supramoleküler kimya (Şekil 1.1) olmak üzere iki geniş alana ayrılabilir (Steed ve Atwood 2000). Geleneksel ya da moleküler kimya, başlıca kompleks moleküllerin sentezinden bahsetmektedir ve atomlar arasındaki kovalent bağların kullanılmasıyla etkisi ortaya çıkmaktadır. Birçok biyolojik proseste kovalent bağ oluşumu ya da kırılması gerçekleşmez ve kovalent olmayan moleküller arası etkileşimler meydana gelir. Bu kovalent olmayan moleküller arası etkileşimler de supramoleküler kimyanın temelini oluşturmaktadır.

Supramoleküler kimya, Jean-Marie Lehn'in (1995) tanımladığı gibi molekülün ötesinde bir kimyadır. Supramoleküler kimya, crown eterler (Pedersen 1967, 1988[a,b], İzatt 1992) ve kriptantlar (Lehn 1995, 1988[a,b]) gibi yapay reseptörlerle alkali metallerin seçimli bağlanması ve daha sonra da nötral türler ve anyonlar arasındaki moleküller arası etkileşimlerinin düşünülmesiyle başlamıştır. Supramoleküler kimya, geçmiş birkaç on yıl içerisinde büyük bir gelişime uğramıştır ve günümüzde kimyanın en popüler konularından ve en hızlı büyüyen alanlarından birisi haline gelmiştir. Bilimin disiplinler arası bu alanı, kimyacılar, fizikçiler ve biyologlar arasında birçok ortak çalışma yapılmasına yol açmıştır. Supramoleküler kimyanın en önemli araçları, moleküler *host* (konak) adı verilen makro yapıdaki bileşikler ve bunlarla etkileşen *guest* (konuk) türleridir (molekül veya iyon). Literatürde yüzlerce *host* molekülü açıklanmıştır.

Supramoleküler kimyanın temeli moleküler tanıma ile ilgilidir. Moleküler tanıma, verilen bir *host* molekülün *guesti* bağlama ve seçimi konusundaki enerjisi ve bilgisi ile tanımlanır (Fischner 1994). *Host* terimi, bir molekülün diğer tüm türler arasından bir diğerini bağlama kabiliyetini açıklar ve spesifik olmayan yani bilinen moleküler etkileşimlerden daha büyük bir etkiye sahiptirler. *Guest* ise *host* molekül ile spesifik bir şekilde karşılıklı bağlanarak birbirlerini tamamlarlar. Bu etkileşimler, geometrik ve elektronik düzeni de içermektedirler (Lehn 1988[a,b]). Genelde moleküler tanıma, *host* ve *guest* arasındaki moleküler etkileşime dayanır ve bu etkileşim, iki



Şekil 1.1. Moleküler ve supramoleküler kimya arasındaki ilişkinin şematik gösterimi

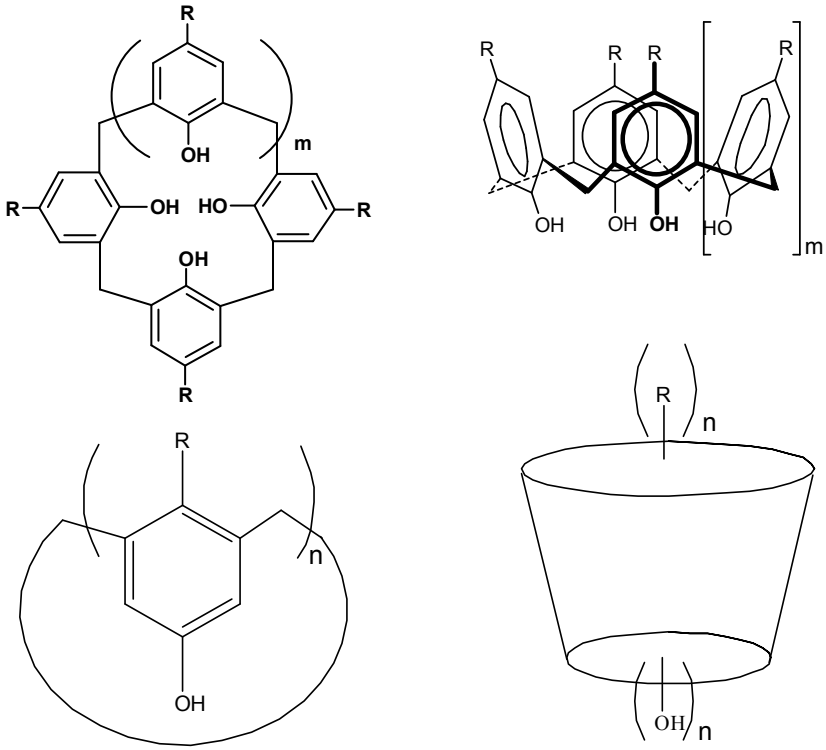
veya daha fazla türün bir araya gelerek iyi tanımlanmış bir yapı oluşturmalarına neden olur. Bu kovalent olmayan etkileşimler: iyon-iyon, iyon-dipol, dipol-dipol, hidrojen bağı, katyon-π ve π-π etkileşimleri, Van der Waals kuvvetleri, hidrofobik etki veya bunların bir kombinasyonu şeklinde olabilmektedir.

Genellikle moleküler tanıma, belirli koşullara bağlıdır. Bir veya daha fazla koşulu değiştirmek bağlanmamaya ya da seçimliliğin azalmasına neden olabilir. Örneğin, belirli bir *guest* türünü belirli bir çözücüde bağlama yeteneğine sahip *host* molekülü, aynı *guest* türünü, başka bir çözücüde bağlama özelliğini kaybedebilir.

Sentetik *hostların* dizaynı, *guestin* özelliğinin iyi düşünülmesini gerektirmektedir. Bu da, yeni *host* sisteminin genel özellikleri konusunda yorum yapmaya olanak sağlar. Bu noktada *host* ve *guest* arasında iyi bir eşleşme veya tamamlayıcılık olmalıdır. Örneğin *Lewis* asitleri *Lewis* bazlarıyla, hidrojen bağı *donörleri* (verici) de *akseptörlerle* (alıcı) eşleşmelidir. *Host* dizaynında bir başka önemli kavram da 'ön-organizasyon'dur. Ortamda ön-organize olmuş bir ligand varsa orada optimum kompleks geometrisini benimsemek için daha uygun bir konformasyonel düzenlenme olacak demektir. Doğal reseptörler, rijit bir *host-guest* dizaynı kavramını izlememesine rağmen, onun tüm anahtar gruplarına sahip rijit bir *host* molekülünün de, kuvvetli bağlanma gösterebilecek bir *guest* molekülünün tamamlayıcısı olarak ön-organize olduğu iyi bilinmektedir. İşte tüm bu özellikleri karşılayabilen son yıllarda birçok uygulama alanında host moleküller olarak kullanılan bileşiklerden birisi de 'kaliksarenler'dir.

1.2. Kaliksarenler

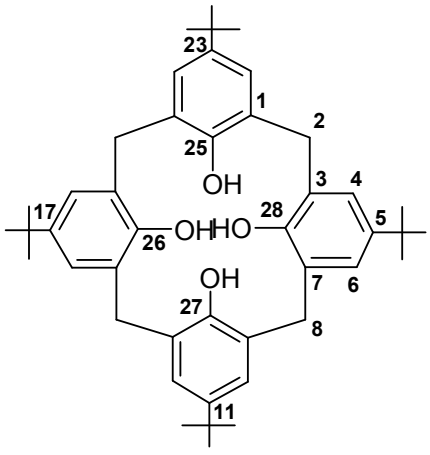
Yüz yılı aşkın bir süre önce *p*-alkilfenollerin (özellikle *p-ter*-bütilfenol) bazik ortamda formaldehitle bir kondensasyon reaksiyonuna uğrayarak oligomerik ürünler verdiği biliniyordu. 1940'ların başlarında bu bileşiklerin halkalı yapıda oldukları keşfedildi (Şekil 1.2) (Zinke ve Ziegler 1941). Önceleri bunlardan dört halkalı olana *tetramer*, altı halkalı olana *hekzamer* ve sekiz halkalı olanlara *oktamer* denilmiştir. Daha sonra bu kondensasyon oligomerlerine aril alt birimlerinin sayısını (özellikle 4, 6 ve 8) ifade edecek şekilde "kaliks[n]arenler" (n, aril alt birimlerinin sayısı) adı verilmiştir (Gutsche 1978, 1981). Bu çalışmalara ilaveten deneysel prosedürler, n = 4 ten 8'e kadar olan halkalı oligomerlerin her biri için özellikle geliştirilmiş (Asfari 2001) ve daha sonrada n = 20 ye kadar olan daha büyük kaliks[n]arenler hazırlanmış ve karakterize edilmiştir (Stewart ve Gutsche 1999). Zaman içerisinde kaliksaren kimyası hızla gelişmiştir ve Gutsche, kaliksaren kimyasına yapılan katkıları, "Calixarenes" (Gutsche) ve "Calixarenes Revised" (Gutsche) adlı kitaplarında geniş bir biçimde ele almıştır.



Şekil 1.2. Kaliksarenler ve farklı gösterim şekilleri (R = ter-bütil, m = 1, 2, 3, …, n = 3, 4, 5,….)

1.2.1. Kalikarenlerin isimlendirilmesi

Kaliksarenlerin isimlendirilmesi için farklı yöntemler kullanılmıştır. Zinke, *p-ter*-bütilfenol ve formaldehitten elde edilen halkalı tetrameri, "cyclischen benzylene" olarak isimlendirmiştir (Zinke 1952). Fakat bu isim karmaşık ve kullanışsız bulunmuştur. Diğer taraftan Gutsche, bu bileşiklere yapılarının vazoya benzemesi nedeniyle çok daha kullanışlı olan "kaliksarenler" ismini vermiştir (Gutsche 1981, Gutsche ve Iqbal 1990, Munch ve Gutsche 1990, Gutsche 1990, Stewart ve Gutsche 1993). Böylece yukarıda bahsedilen halkalı tetramer, tam anlamıyla *p-ter*-bütilkaliks[4]aren olarak isimlendirilmiştir. Burada "kaliks" terimi, Yunancada bir vazo şeklini ifade ederken, "aren" terimi, aromatik halkaları belirtmektedir. Genellikle bu arenler, her biri kararlı bir boşluk oluşturacak şekilde yönlenirler. Parantez içerisindeki numara ise makrosiklik bileşiğin aromatik halka sayısına işaret eder. Ön-ekler ise aromatik halkalar üzerindeki sübstitüent birimlerinin pozisyonunu gösterir (Gutsche 1981, Gutsche ve Iqbal 1990, Munch ve Gutsche 1990, Gutsche 1990, Stewart ve Gutsche 1993). Aynı bileşik, daha sistematik olarak "5,11,17,23-tetra-*ter*-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren" şeklinde isimlendirilebilmektedir. Bu, ayrıca heterosübstitüeli kaliksarenleri (yani farklı fonksiyonel gruplara bağlı kaliksarenler) açıklamada kullanılan bir metottur (Şekil 1.3).



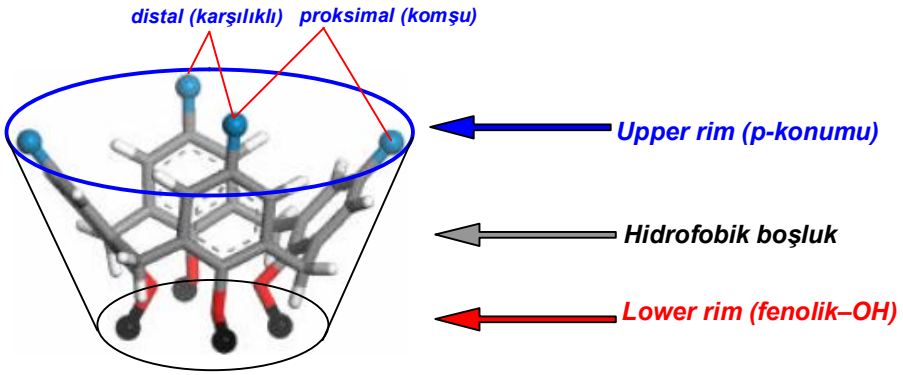
5,11,17,23-tetra-*ter*-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren

Şekil 1.3. *p-ter*-Bütilkaliks[4]arenin isimlendirilmesi

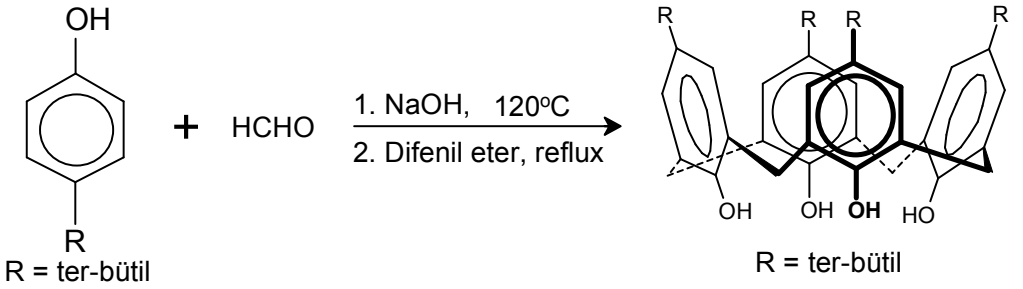
Kaliksarenler, birçok kaliksaren türevinin oluşturduğu iki önemli bölgeye sahiptirler. Birincisi, fenolik hidroksil grupların bulunduğu bölgedir ve "*narrow rim*" veya "*lower rim*" olarak isimlendirilmektedir. İkincisi ise fenolik halkanın *p*-pozisyonlarının oluşturduğu ve "*wide rim*" veya "*upper-rim*" olarak isimlendirilen bölgedir. Ayrıca komşu fenil gruplarını belirtmek için "*proksimal*", karşılıklı pozisyondaki fenil halkaları için ise "*distal*" terimleri de kullanılmaktadır (Şekil 1.4).

1.2.2. Kaliksarenlerin sentezi

Kaliksarenler, bazik koşullarda *p*-sübstitüeli fenoller ve formaldehitin kondensasyon reaksiyonundan elde edilebilirler (Şekil 1.5). Kaliks[4]arenleri sentezleme prosedürü, Zinke (1941) tarafından keşfedilmiş, Cornforth (1955, 1973) tarafından modifiye edilmiş ve Gutsche (1986, 1990) tarafından optimize edilmiştir. Gutsche'nin metodu, *p-ter*-bütilfenol, %37 formaldehit ve NaOH' in ısıtılmasından ibarettir (Gutsche 1981, 1986, 1990). Yeterli baz ilave edilmediğinde tetramerin verimi düşük veya sıfır olmaktadır. Fakat çok fazla baz ilavesi de yüksek verimlerde *hekzamer* oluşumuna, *tetramerin* ise düşük verimlerde oluşmasına neden olmaktadır. Yüksek verimlerde *tetramer* elde etmek için ilave edilmesi gereken baz miktarı, fenole göre 0,03-0,04 eşdeğer miktarlar arasındadır. Ayrıca *tetramer*, termodinamik bir ürün olarak da düşünülmektedir. Reaksiyon sıcaklığı, difenil eterin geri soğutucu altında kaynayabilmesi (refluks) için gerekli yüksek sıcaklık değerlerinde olmalıdır (Gutsche 1989).



Şekil 1.4. Kaliksaren bölgelerinin tanımlanması

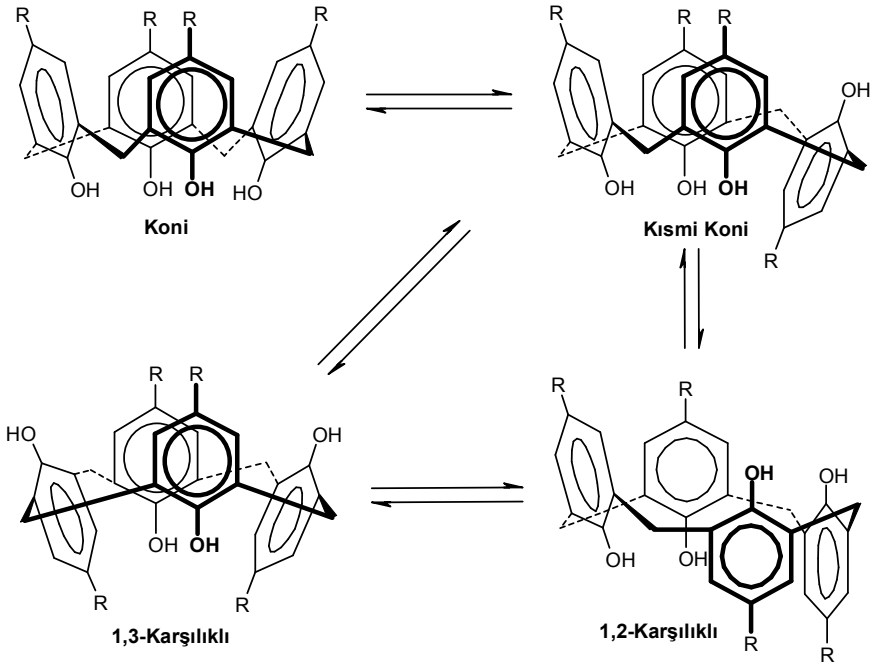


Şekil 1.5. *p-ter*-Bütilkaliks[4]arenin sentezi

Geçmişte Petrolit kurumu, ham yağ emülsiyonları için emülsiyon giderilmesi üzerine çalışmıştır. Alkilfenil-formaldehit reçinelerinden elde edilen ürünler, test edilen ürünler arasında idi. Bu kurum tarafından halkalı *hekzamer* ve halkalı *oktamerin* hazırlanması için geliştirilen prosedürler, daha sonra Gutsche tarafından modifiye edilmiştir (Gutsche 1981, 1989, 1990). *Hekzamerin* oluşumu, daha büyük çaplı katyon bazı (genellikle KOH kullanılır) ve daha fazla miktarda baz kullanıldığında (0,34 eşdeğer) mümkün olur. Reaksiyon ksilen içerisinde refluks ile tamamlanır. Ayrıca Gutsche (1990) tarafından RbOH kullanılarak kaliks[6]arenlerin sentezi için de bir prosedür geliştirilmiştir. *Oktamer*, reaksiyon için gerekli, düşük kaynama noktasına sahip çözücüler varlığında ve katalitik miktarda baz kullanıldığı için kinetik kontrollü bir ürün olarak düşünülmektedir. *p-ter*-Bütilfenol ve paraformaldehit kullanılarak fenole göre 0,03 eşdeğer NaOH varlığında ksilen içerisinde oktamer, ana ürün olarak elde edilir (Gutsche 1990, Munch ve Gutsche 1990).

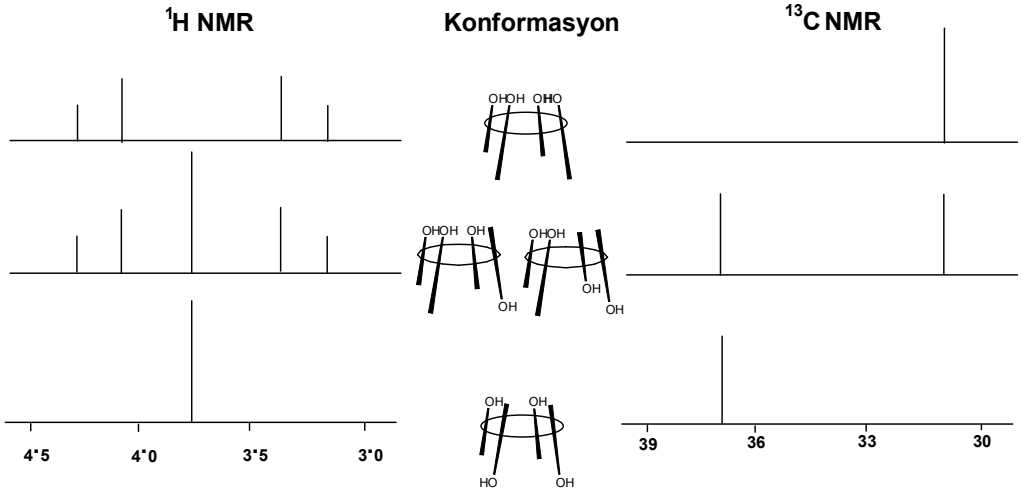
1.2.3. Kalikarenlerin konformasyonu

Kaliksarenlerde, fenolik halkaların bağıl hareketlerine bağlı olarak iki muhtemel dönüş şekli vardır. Bunlardan birisi, bir veya daha fazla fenolik hidroksi grubunun halka boşluğu içine doğru yönlenmesi, diğeri de bir veya daha fazla para-sübstitüentin boşluk içine doğru yönlenmesidir. Bu esneklik, farklı konformerlerin oluşmasına neden olur. Bu konformerlerin esnekliği ve sayısı kaliksaren boşluk hacmine ve *p*-pozisyonunda veya fenolik-O üzerinde bulunan grupların sayısı ve özelliğine bağlıdır. Bu esneklik sebebiyle kaliks[4]arenler, dört muhtemel



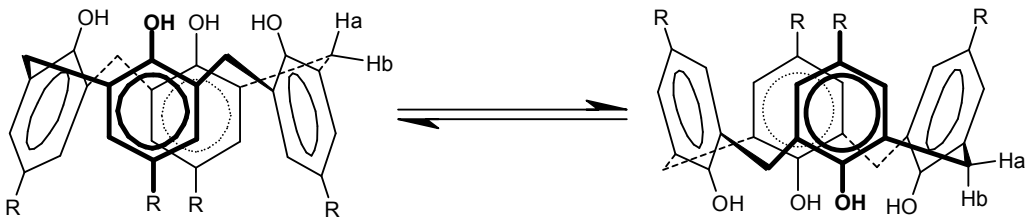
Şekil 1.6. *p-ter*-Bütilkaliks[4]arenin konformasyon şekilleri

konformasyonda bulunabilmektedirler. Bunlardan birisi, dört aril grubunun hepsinin aynı yönde olduğu "koni" konformasyonudur. Üç aril grubu aynı, kalan bir aril grubunun da farklı yönde olduğu konformasyon, "kısmi koni"dir. Komşu olan ve olmayan aril gruplarının aynı yönde olduğu konformasyonlar, sırasıyla "1,2- ve 1,3-karşılıklı" konformasyonlardır (Gutsche 1983) (Şekil 1.6). Çoğu durumda koni konformer, termodinamik olarak en kararlı konformer olarak bulunmuştur. Bu kararlılık, fenolik birimlerin dönüşünü engelleyen fenolik hidroksi grupları arasındaki molekül içi hidrojen bağı oluşumuna yorumlanmaktadır. *p-ter*-Bütilkaliks[4]arenin fenolik-O bölgesindeki sübstitüentlerin modifikasyonunun, konformasyonel davranışını etkileyeceği ortaya çıkarılmıştır. Örneğin; fenolik-O üzerinden propil gruplarının bağlanması, kaliksarenin başka konformasyonda bulunmasını engelleyecektir (Iwamoto 1991). Çünkü bu gruplar, fenolik birimlerin boşluk içine dönüşünü engellemek için yeterince hacimlidirler. Diğer taraftan metil gibi nispeten küçük grupların bağlanması, fenolik birimlerin dönüşünü etkilememektedir (Blixt ve Detellier 1994).



Şekil 1.7. Farklı kaliks[4]aren konformerlerinin metilen köprülerinin ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR şablonları

Kaliks[4]aren konformerleri, "Mendoza Kuralları" (Jaime 1991) olarak bilinen bir uygulama ile ^{1}H veya ^{13}C NMR spektroskopisi ile kolaylıkla ayırt edilebilmektedir. Bu kurallara göre, herhangi bir kaliks[4]arenin konformasyonu, başlıca köprü (metilen) karbonlarının kimyasal kayması ile belirlenebilmektedir. De Mendoza, her köprü karbonunun kimyasal kaymasının, yakın fenolik birimlerin yönlenmesine net bir şekilde bağlı olduğunu bulmuştur. ^{13}C NMR spektrumlarında koni konformer durumunda, yakın halkalar birbirlerine göre *syn* durumundadırlar ve köprü karbonları, nispeten yüksek alanda yani yaklaşık 30 ppm de rezonans olmaktadırlar. 1,3-karşılıklı konformasyonda ise yakın halkalar *anti* pozisyonundadırlar ve köprü karbonları, daha aşağı alanda yani yaklaşık 37 ppm de rezonans olurlar. Diğer taraftan 1,2-karşılıklı ve kısmi koni konformerlerde, fenil halkalarının her ikisi de bir diğerine göre *syn* ve anti yönlenmeye sahiptirler ve beklendiği gibi her ikisi için de köprü karbonları yaklaşık 30 ve 37 ppm lerde rezonans olmaktadırlar. Sonraki iki konformer, sadece ^{1}H NMR spektroskopisinde aromatik proton rezonansları gözlenerek daha iyi ayırt edilebilmektedirler (Şekil 1.7). De Mendoza kuralları, kaliks[5]aren (Stewart 1995) ve kaliks[6]arenler (Kanamathareddy ve Gutsche 1994) gibi daha büyük kaliksarenler içinde başarıyla uygulanmıştır.

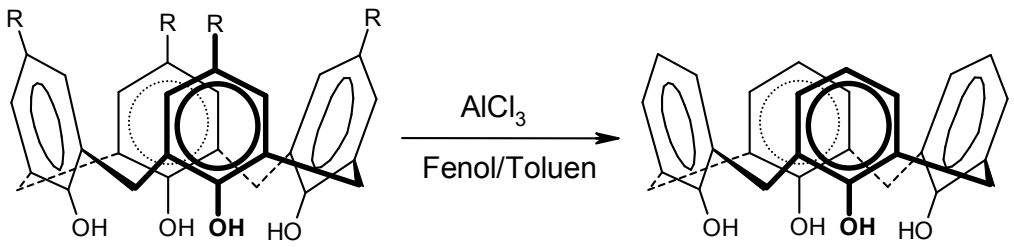


Şekil 1.8. *p-ter*-Bütilkaliks[4]arenin koni konformasyonlarının birbirlerine dönüşümü (R = *ter*-bütil)

Koni konformasyon en kararlı konformer olmasına rağmen, bir koni pozisyonundan başka bir koni pozisyonuna "iç dönüşüm" meydana gelebilmektedir. Bu dönüşümün hızı, hem sıcaklığa hem de çözücüye bağlıdır. Böyle bir dinamik iç dönüşümün (diğer konformerlerde de gözlenmektedir) aktivasyon enerjisi, değişken sıcaklık-^{1}H NMR spektroskopisi ile ölçülebilmektedir. Burada, örneğin *p-ter*-bütilkaliks[4]arende iki eşdeğer olmayan metilen protonları olan $H_{aksiyal}$ (H_a) ve $H_{ekvatoryal}$ (H_b) ın rezonans sinyalleri incelenebilir (Şekil 1.8). Happel ve ark., (1975) *p-ter*-bütilkaliks[4]arenin $CDCl_3$ içinde 16^{o}C ve daha düşük sıcaklıklarda metilen hidrojenlerinin ^{1}H NMR da gözlenebilecek kadar yavaş iç dönüşüm hızından dolayı bir çift dublet piki verdiğini ortaya çıkarmışlardır. Sıcaklık arttığında dönüşüm hızıda artmaktadır. 59^{o}C ve yukarısında iki sinyal birleşerek tek sinyal şeklinde ortaya çıkmaktadır. Bu sıcaklık, *koalesans* (birleşme) sıcaklığı olarak bilinmektedir ve dönüşüm için gerekli aktivasyon enerji sınırını hesaplamada kullanılmaktadır (Gutsche ve Bauer 1985).

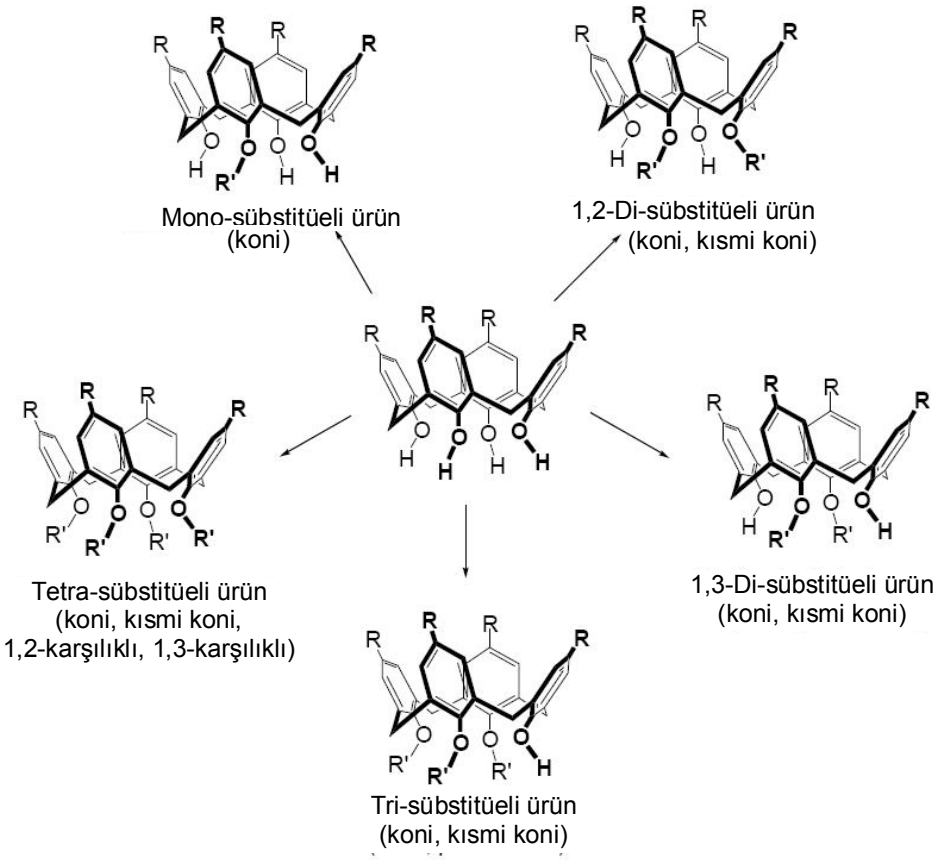
1.2.4. Kaliksarenlerin modifikasyonu

Kaliksarenleri *p*-pozisyonu ve/veya fenolik-O bölgelerinden modifiye etmek, birçok uygulama alanı için uygun türevleri sentezlemeye olanak sağlamaktadır (Böhmer 1995, 2003, McMahon 2003). Kaliksarenler, *p*-pozisyonu üzerinden, ters 'Friedel-Crafts Reaksiyonu' kullanılarak *ter*-bütil grupları giderilerek modifiye edilebilirler. Reaksiyon, alüminyum klorür, fenol ve toluen varlığında gerçekleştirilmektedir (Şekil 1.9) (Gutsche 1985, Gutsche ve Lin 1986, Arduini ve Casnati 1996, Blanda ve Frels 1998). Böylece, *p*-sübstitüeli kaliks[4]arenleri



Şekil 1.9. Kaliks[4]arenin sentezi (R = *ter*-bütil)

sentezlemek için çok kullanışlı bir başlangıç materyali sentezlenmiş olur (Böhmer 2003, Gutche 1985, Percec 2001). Kaliksarenlerin *p*-pozisyonunu modifiye etmek için birçok elektrofilik sübtitüsyon reaksiyonu kullanılmış ve bunun sonucunda da birçok kaliksaren türevi sentezlenmiştir (Gutsche 1989). Alkil grubu olmayan kaliksarenin fenolik-O bölgesi, genellikle hidroksil gruplarını modifiye etmede kullanılır (Gutsche 1989).

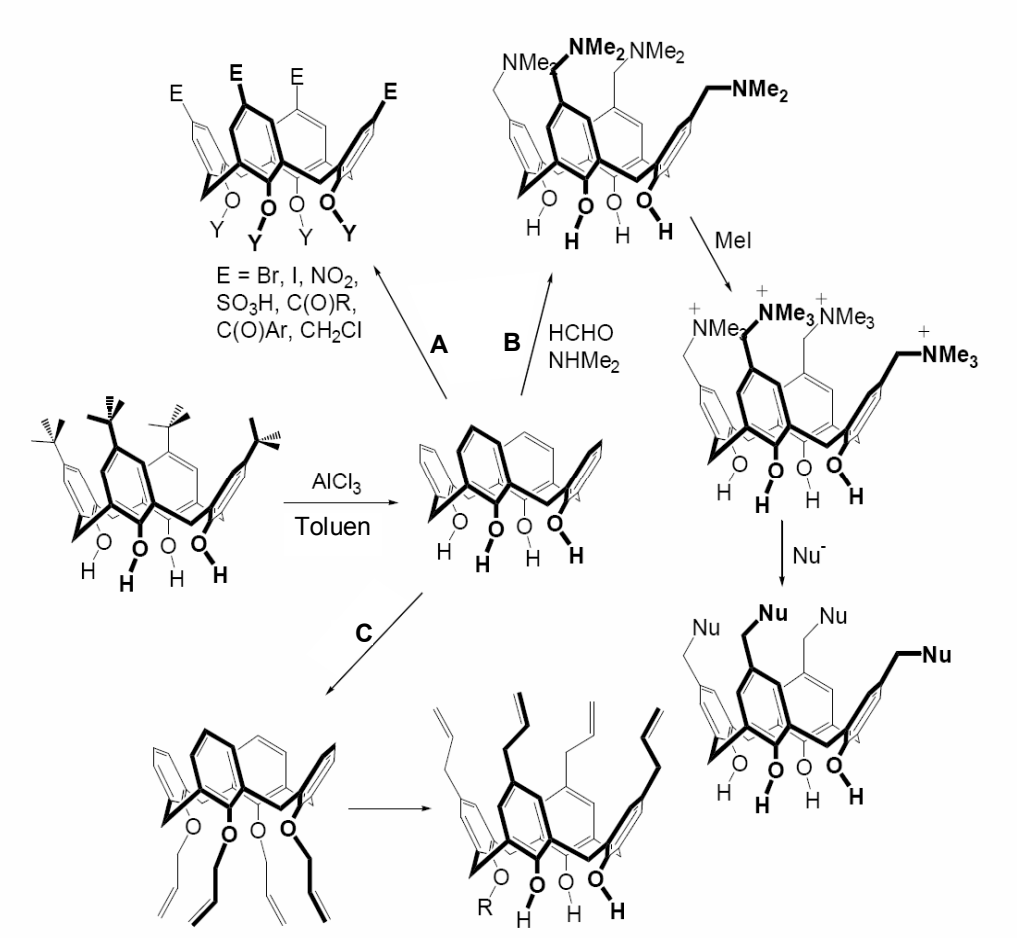


Şekil 1.10. Kaliksarenlerin *fenolik-O* üzerinden modifikasyonu

1.2.4.1. Kaliksarenlerin fenolik-OH (lower veya narrow rim) üzerinden modifikasyonu

Kaliksarenlerin fenolik hidroksil gruplarının esterleşme ve eterleşme reaksiyonları oldukça yaygındır. Şekil 1.10'de görüldüğü gibi reaksiyon şartları ayarlandığında, esterleşme ve eterleşme ürünleri kısmi (mono-, 1,2-di- ve 1,3-di-) ve tamamen (tetra-) direkt olarak yüksek verimle elde edilebilmektedir.

Spesifik bir reaksiyonun oluşumu; çözücü, baz, sıcaklık ve hatta kaliks[4]arenin *p*-sübstitüe grupları gibi birçok faktöre bağlıdır. Örneğin, *p*-allilkaliks[4]arenin benzoilklorür ile reaksiyonundan oluşan ürün, 1,3-karşılıklı konformasyonunda iken *p-ter*-bütilkaliks[4]arenin aynı şartlarda reaksiyonundan oluşan ürün, %90 koni konformasyonunda ve az miktarda da 1,3-karşılıklı konformasyondadır.



Şekil 1.11. Kaliksarenlerin *p*-pozisyonu üzerinden modifikasyonu

Fenolik hidroksil gruplarından bir ya da birkaçı korunarak amaca göre farklı ürünler de sentezlenebilmektedir. Kaliks[4]arenlerin fenolik hidroksil grubu üzerinden bir diğer modifikasyonu ise 1,3-pozisyonunda crown eter bağlanmasıdır. Bu şekilde elde edilen kaliks-crown bileşikleri, metal-iyon taşıma uygulamalarında kullanılmıştır (Yilmaz 2006, Tabakci 2004, Uysal Akkuş 2002)

1.2.4.2. Kaliksarenlerin p-pozisyonundan (upper veya wide rim) modifikasyonu

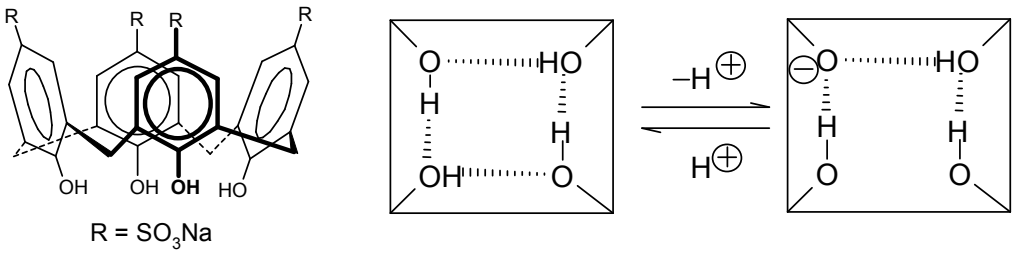
p-Pozisyonunda *ter*-bütil gruplarının dışında farklı sübstütientler kullanıldığı zaman sentez reaksiyonu, çok basamakta gerçekleşmektedir. Bu yolla verim düşüktür, ayrıca uzun bir sentez yolu olması sebebiyle tercih edilmemektedir. *p-ter*-Bütilfenol kullanıldığında ise, yüksek verimle saf ürün elde edilmiştir. Ayrıca *ter*-bütil grupları, Friedel-Crafts reaksiyonu ile dealkilleme yapılarak kolaylıkla uzaklaştırılabilir (Gutsche 1986[a],1986[b]) (Şekil 1.11). Daha sonra *p*-pozisyonuna elektrofilik sübstitüsyon reaksiyonu ile yeni gruplar bağlanabilmektedir. Bu iki basamak tek bir reaksiyonla da gerçekleşebilmektedir.

p-ter-Bütilkaliks[4]arenin Friedel-Crafts reaksiyonu ile dealkilleme işleminden *p*-H-kaliks[4]aren elde edilir. *p*-H-kaliks[4]aren, değişik *p*-sübstitüentlerle elektrofilik sübstitüsyon reaksiyonuna göre etkileştirilerek *p*-sübstitüe kaliks[4]aren elde edilir (Şekil 1.11, METHOD A). *p*-H-Kaliks[4]arenin formaldehit ve dimetil amin ile (Mannich reaksiyonu) reaksiyonundan *p*-aminometilkaliks[4]aren oluşur. Sonra bu bileşik metil iyodür ile etkileştirilerek kuaterner amonyum bileşiği elde edilir (Şekil 1.11, METHOD B). Amonyum tuzuna nükleofil katılması sonucunda *p*-Nü-metilkaliks[4]aren elde edilir. *p*-H-kaliks[4]aren alkil bromür ile bazik ortamda etkileştirildiğinde tetraallil eteri verir. Oluşan ürün, Claisen düzenlenmesi ile *p*-allil kaliks[4]arene dönüşür (Şekil 1.11, METHOD C).

1.2.5. Kaliksarenlerin fiziksel özellikleri

1.2.5.1. Asitlik sabiti ve hidrojen bağı

Kaliksarenlerdeki fenolik hidroksi gruplarının kuvvetli molekül içi hidrojen bağı oluşturdukları bilinmektedir ve bundan dolayı ayrışma özellikleri de etkilenmektedir.



Şekil 1.12. *p*-Sülfonatokaliks[4]arenin monoanyon yapısında hidrojen bağı oluşumu

Temel kaliksarenlerin sudaki çözünürlük problemleri olması nedeniyle suda çözünen bir türev olan *p*-sülfonatokaliks[4]aren hazırlanmıştır. Bu bileşikten (pK_{a1}: 3,26) bir protonun ayrılması, fenole göre beklenmedik bir şekilde düşük pH değerlerinde meydana gelmektedir. Diğer protonlar için pK_a değerleri ise fenole göre normal ya da daha yüksek pH bölgelerindedir (pK_{a2}: 11,8, pK_{a3}: 12,8 ve pK_{a4}: 14) (Shinkai 1993). Kaliks[4]arenler, dört molekül içi hidrojen bağı yaparak bir halkasal hidrojen bağı kemeri oluştururlar. Bu kararlılığın sonucunda ilk protonun ayrılması biraz zor olabilir. Fakat bir oksit anyonu ve üç hidrojen bağından oluşan mono anyon türevleri (Şekil 1.12), daha da kuvvetli hidrojen bağı yaparak daha kararlı olurlar. IR (3150 cm^{-1} civarında) ve ^1H NMR (9-10 ppm) de kaliksarenlerin OH grupları için gözlenen pikler ve X-ray kristalografi ile O…O çekirdekler arası mesafe incelemesi, kuvvetli hidrojen bağına işaret etmektedir.

1.2.5.2. Erime noktaları ve çözünürlük

Serbest OH gruplarına sahip tüm kaliksarenler, genellikle 350^oC civarında yüksek erime noktasına sahiptirler. Ayrıca *p*-pozisyonundaki bir sübstitüentin, erime noktasını önemli derecede etkilediği de bilinmektedir. Temel kaliksarenlerin türevlendirilmesi, genellikle erime noktasında bir miktar düşüşe sebep olur.

Kaliksarenlerin önemli bir özelliği de suda çözünmemeleri, organik çözücülerde ise az çözünmeleridir. Diğer taraftan, kaliksarenin erime noktasının aşağı düşmesine neden olan *p*-sübstitüent, organik çözücülerde çözünürlüğün artmasına yol açmaktadır. Literatürde suda çözünen karboksilat ve sülfonat gibi gruplar içeren kaliksaren türevleri yer almaktadır (Arduini 1984, Shinkai 1984).

1.2.6. Kaliksarenlerin spektral özellikleri

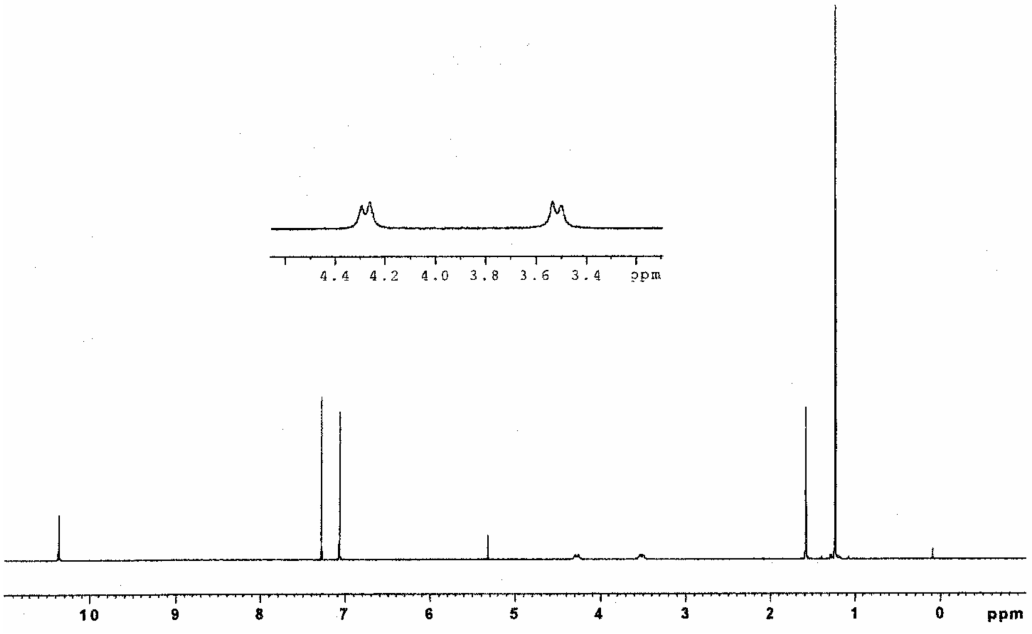
1.2.6.1. Infrared spektroskopisi

Temel kaliksarenler, OH grupları için düşük IR gerilim frekansı gösterirler. Örneğin *p-ter*-bütilkaliks[4]aren için 3150 cm^{-1} de gözlenmektedir. Diğer kaliksarenler (*hekzamer* ve *oktamer*), daha düşük gerilim frekanslarına sahiptirler. Bu düşük gerilim frekansı, moleküller oluşurken, kuvvetli bir hidrojen bağı düzenlenmesinden kaynaklanmaktadır (Choi 1999). 'Parmakizi' bölgesinde özellikle 1500 ve 900 cm^{-1} aralığında temel kaliksarenler arasında yakın bir benzerlik vardır. Fakat 500-900 cm^{-1} bölgesinde spektrumlarda bazı farklılıklar vardır (Choi 1999).

1.2.6.2. NMR spektroskopisi

NMR spektroskopisi, moleküler tanıma çalışmalarında en kuvvetli analitik yöntemlerden birisidir (Buckingham 1993, Gokel 1997, Choi 1999). Günümüzde ^{1}H, ^{13}C, 2D (COSY, NOESY, ROESY…) ve katı-hal NMR teknikleri, *hostların* yapısal ve konformasyonel analizi ve *guest* moleküllerle etkileşimlerini içeren, moleküler tanımadaki birçok amaç için rutin olarak kullanılmaktadır (Bell 1956, Choi 1999, Peterson 1995).

Kaliksarenlerin NMR spektrumu, genellikle nispeten simetrik olmaları nedeniyle halkalı olmayan benzerlerinden daha sade görünümdedir (Choi 1999). Şekil 1.13, *p-ter*-bütilkaliks[4]arenin ^{1}H NMR spektrumunu göstermektedir. Hidroksil (10,34 ppm), aromatik (7,05) ve *ter*-bütil protonlarının (1,21) rezonansları, singlettir. Köprü CH_2 protonları ise 4,25 ve 3,49 ppm de bir çift dublet verir. Genellikle spektrumun en kullanışlı tarafı budur. Bu köprü protonlarının molekülün konformasyonuyla ilgili çok faydalı bilgi sağlamaları nedeniyle sinyallerin sayısı ve çeşitliliği de önemlidir. ^{1}H NMR a ilaveten ^{13}C NMR da kaliksarenlerin konformasyonel özelliğinin belirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır.



Şekil 1.13. *p-ter*-Bütilkaliks[4]arenin ^{1}H NMR spektrumu

1.2.6.3. Kütle spektroskopisi

Kaliksarenlerin molekül ağırlıklarının tayinleri, ilk olarak Zinke tarafından 1941 yılında ortaya atıldıklarından bu yana yoğun bir ilgiye maruz kalmışlardır (Wallimann 1997, Tucci 1999). Kaliksarenin ilk kütle spektrum tayini, 1964 te Ryhage tarafından yapılmıştır (Dhawan 1983). Yaptıkları çalışmada rezorsinol ve asetaldehitten elde ettikleri bir kaliksaren kullanmışlar ve diazometanla onları oktametil eterlere dönüştürmüşlerdir. Kütle spetrum incelemelerinden, halkalı *tetramerin* molekül ağırlığına karşılık gelen '*m/z*: 656' da bir moleküler iyon piki gözlenmiştir.

1.3. Enzimler ve Enzim-Mimikler

Vücuttaki biyokimyasal reaksiyonlar protein yapısında organik moleküller olan 'enzimler' tarafından katalize edilirler. Kelime anlamıyla enzim 'maya=ferment' anlamına gelmektedir. İnsanlar çok eski zamanlardan beri enzimatik

reaksiyonlardan yararlanmışlardır. Örneğin; şarap, yoğurt, ekmek, sirke, boza yapımında yine canlılar tarafından üretilen enzimlerden yararlanmışlar, fakat bu olaylarda enzimlerin katalitik etkilerinin nasıl olduğunu bilememişlerdir. Enzimler reaksiyon hızını çok arttırırlar. Örneğin; dakikada 36 milyon molekülü değişikliğe uğratabilmektedirler.

Enzimlerin etkileyip değişikliğe uğrattığı moleküle 'substrat' adı verilir. Enzim biyokimyasal reaksiyonda substratı değiştirip ürüne dönüştürürken kendisi hiç değişikliğe uğramaz. Enzimler substrat dediğimiz molekülden reaksiyon sırasında ya bir yada birkaç atomu veya fonksiyonel bir grubu koparır yada substrata ekler. Enzimler canlı hücreler tarafından biyolojik koşullarda sentezlenirler, fakat aktivite göstermeleri için hücre içinde bulunmaları gerekmez. Enzimlerin aktivite göstermeleri için gerekli olan ve protein yapısında olmayan genellikle metal iyonlarından meydana gelmiş olan yan gruplarına 'kofaktör' adı verilmektedir. Pekçok enzim kofaktör olarak Cu(II), Fe(II), Zn(II) ve Mg(II) iyonlarına gereksinim duyar. Enzimlerin aktivite göstermeleri için gereksinim duydukları organik moleküllere ise 'koenzim' adı verilmektedir. Koenzimler enzimlerin kopardığı yada eklediği kimyasal grupların taşıyıcısı olan organik moleküllerdir. Koenzimlerin öncül molekülleri vitaminlerdir. Vitaminler vücutta küçük değişikliklerle koenzimleri meydana getirirler. Eğer enzim koenzimi veya kofaktörü ile birlikte ve katalitik bakımından tamamen aktif durumda ise, enzimin bu haline 'holoenzim' adı verilmektedir. Eğer koenzim ve kofaktör enzimden ayrılacak olursa ve enzimde inaktif hale gelirse, enzimin bu haline de 'apoenzim' adı verilmektedir.

Günümüze kadar yapılan en önemli bilimsel gelişmelerden birisi de enzimlerin nasıl çalıştığı konusunda elde edilen bilgidir. Enzimler, yaşam için gerekli reaksiyonlara sebep olan karmaşık *host-guest* sistemleridir. Enzimler, hücrenin kontrol mekanizmasının bir bölümü olarak, spesifik substratları tanır ve onlara yanıt verirler. Enzimler, son derece aktif ve seçimli katalizörlerdir ve *host-guest* konusunda çalışan kimyacılara esin kaynağı olmuşlardır (Steed and Atwood 2000). Enzimler, katalitik etkilerini farklı fenomenlerden alırlar (Fersht 1985, Creighton 1993) ve aktif bölgede substratın bağlanmasıyla substratın ve reaktif grupların konsantrasyonunu artırırlar (Cacciapaglia 2004). Ayrıca enzimler, geçiş halini kararlı hale getirirler ve/veya temel hali kararsız hale getirirler. Bir enzimin seçimliliği, aktif

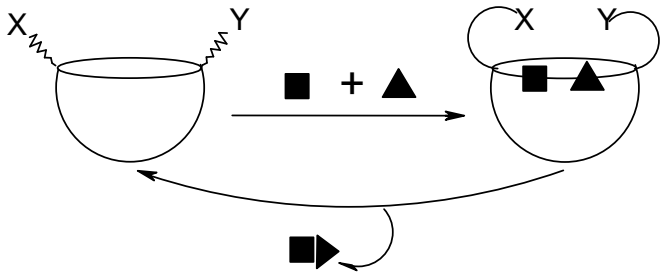
bölgeye bağlı olarak ortaya çıkar. Genellikle aktif bölge, dönüşümü etkilemek için gerekli tüm fonksiyonelliği içeren, enzimin çukur kısmıdır. Aktif bölge içerisinde veya çevresindeki gruplar, substratı aktif bölgeye yönlendirebilirken, aktif bölgedeki aminoasit grupları, sadece istenilen *substratı* katalizleyecek şekilde düzenlenirler.

Enzimler, olağanüstü katalizörlerdir, fakat onlarla çalışmak çok zahmetli olabilmektedir. Proteinler, çok büyük, konformasyonel olarak karmaşık moleküllerdir ve genelde çok küçük miktarlarda kullanılabilmektedirler. Bu sebeple onları geleneksel spektroskopik tekniklerle çalışmak zordur. Fakat bu durum, kataliz ve seçimlilikte önemli etkileşimleri belirlemede, aktif bölgenin küçük molekül mimiklerini kullanmak için bir avantajdır.

Doğa, sentetik organik kimyanın gerekli muhtemel tüm reaksiyonlarına ve katalizlenebilen substratlarına sahip değildir. Sonuç olarak, organik kimyanın reaksiyonlarının ve substratlarının çoğunluğu enzimlerle katalizlenmez. Enzimler sadece belirli sıcaklık, konsantrasyon, çözücü ve pH larda aktiftirler. Bunun dışındaki durumlarda enzimler, katalitik güçlerinin çoğunu kaybederler. Diğer taraftan tüm organik moleküller suda çözünmezler. Bu sebeple doğal seçime gerek duymayan reaksiyonları ve substratları katalizleyecek enzim-mimikleri geliştirmek faydalı olacaktır.

Doğal enzimler tarafından yapılan katalizin çok etkin olması pek çok kimyacının ilgisini çekmiş ve onlara bunun benzerini yapmak (mimik) için ilham vermiştir. Böylece hem enzimlerle etkili katalizin başarıyla yapıldığını açıklamak ve hem de bilinen veya fazla bilinmeyen enzim-mimiklerle onları başarmak için pek çok deneme yapılmıştır. Bu amaç için araştırılan ve verimli sonuçlar elde edilen bir supramoleküler bileşik sınıfı da 'kaliksarenler' dir.

Kaliksarenlerin, uygun şekilde fonksiyonlandırılarak yapılarının siklodekstrinlere benzetilmesi ile kaliksarenler enzim mimik aktivite gösterebilirler (Gutsche 1983). Enzim ile substrat arasında anahtar kilit uyumu vardır. Başka bir deyişle enzimler substrata özeldir. Kaliksarenler, uygun şekilde fonksiyonlandırıldıklarında enzimlerin aktif bölgelerini oluşturabilirler ve kaliksaren boşluğu aktif merkez olarak görev yaparak, substratla burada etkileşmesini sağlar (Şekil 1.14).



Şekil 1.14. Kaliksarenlerin substratlarla etkileşmeleri

1.3.1. Enzim kinetiği

Enzimatik reaksiyonlarda reaksiyon hızı (V), enzim etkisiyle birim zamanda kaybolan substrat miktarı veya oluşan ürün miktarı ile ölçülür. Enzimle katalizlenen reaksiyonların hızını başlıca aşağıda belirtilen faktörler etkilemektedir.

- Enzim Konsantrasyonu
- Substrat Konsantrasyonu
- Sıcaklık
- pH

1.3.2. Enzim konsantrasyonu

Enzimle katalizlenen reaksiyonlarda substrat konsantrasyonu yüksek miktarlarda ise, reaksiyonun başlangıç hızı (V_i), enzim konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Reaksiyon hızı belli bir düzeye vardığında ise azalır.

1.3.3. Substrat konsantrasyonu

Enzimle katalizlenen bir reaksiyonun hızı (V_i), ortamda enzim konsantrasyonunun sabit olması koşuluyla, substrat konsantrasyonu ile [S] birlikte hızla artar ve maksimum hız (V_{max}) değerine varıncaya kadar artış devam eder. Ancak V_{max}'ta substrat konsantrasyonu ne kadar artarsa artsın, kataliz hızı artmaz.

Enzimler genellikle Michaelis-Menten Kinetiği gösterirler. Belli sıcaklıkta ve sabit enzim konsantrasyonunda, bu kinetiğe uyan enzimler, değişen substrat konsantrasyonu ile başlangıç hızı (V_i) arasında hiperbolik bir eğri çizerler.

1.3.4. Sıcaklık

Enzimle katalizlenen bir reaksiyonda sıcaklığın yükselmesi reaksiyon hızını arttırmaktadır. Ancak enzimler protein yapısında maddeler olduklarından, belirli bir ısı derecesinden itibaren enzimin denatürasyonu söz konusu olacağından, reaksiyon hızında da bir azalma meydana gelecektir.

1.3.5. pH

Enzimatik reaksiyonlar ortamın H^+ iyonu konsantrasyonundan (pH) kolaylıkla etkilenirler. Enzim etkinliğinin en yüksek olduğu pH, optimum pH'dır. Her enzimin etki ettiği pH farklıdır.

1.3.6. Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri

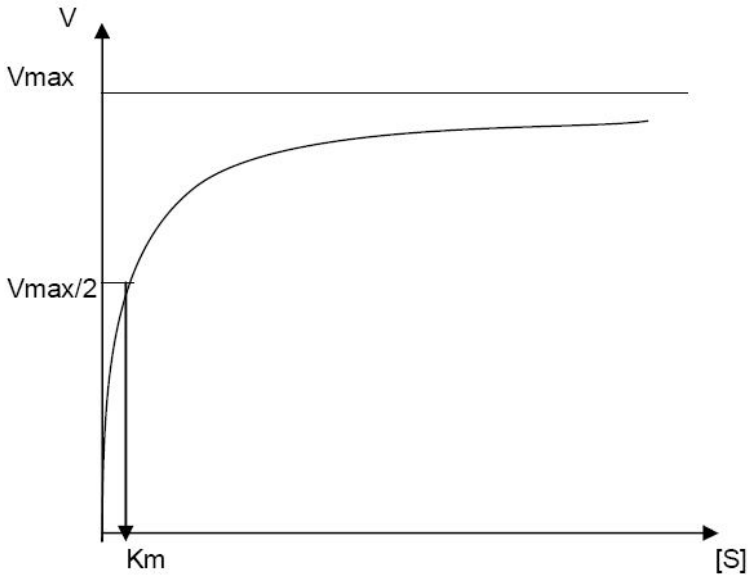
Enzimlerin katalizledikleri reaksiyonlarda genel kimyasal reaksiyon kinetikleri geçerlidir. Enzim kinetiklerinin kantitatif analizleri için geliştirilen Michaelis-Menten modeli, tek substratlı reaksiyonlar için geçerlidir.

$$E + S \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_3} E + Ü$$

Burada k_1, k_2 ve k_3 reaksiyonların hız sabitleridir. Tersinir olarak sabit bir hızla (k_1) substratla [S] birleşen enzim [E], önce enzim-substrat [ES] kompleksini oluşturur. [ES] kompleksi daha sonra başlıca 2 duruma uğrar. Birincisi sabit bir hızla (k_2) yeniden E ve S'a dönüşür. Diğeri ise k_3 sabit hızıyla ürün [Ü] oluşurken enzim de serbestleşerek ilk yapısını kazanır.

Reaksiyon hızı ile substrat konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi tanımlayan Michaelis-Menten denklemi kurulurken aşağıdaki varsayımlar gözönüne alınmıştır:

- Substrat konsantrasyonu [S], enzim konsantrasyonun [E] dan çok daha fazladır. Böylece belli bir zamanda enzime bağlı olan substrat miktarı ihmal edilebilinir.
- Reaksiyonun denge durumunda ES kompleksinin oluşum ve yıkılım hızları birbirine eşittir.



Şekil 1.15. Michaelis-Menten grafiği

Şekil 1.15, klasik bir Michaelis-Menten grafiğini göstermektedir. Burada V_{max}, katalizin ulaşabileceği en yüksek hız değeridir. Enzim bölgeleri substrat ile tam doygunluğa geçince V_{max}'a ulaşılır. K_M, (Michaelis-Menten Sabiti), birincisi, en yüksek hız (V_{max}) değerinin yarısına ulaşmak için gerekli substrat miktarıdır ve ortamda bulunan tüm enzim moleküllerinin aktif bölgelerinin yarısını dolduran substrat miktarıdır. K_M, ayrıca bir substrat ve enzim için spesifiktir. Enzimin substratına ilgisini (affinitesi) ni yansıtır. K_M, enzim-substrat ilişkisinde bir ölçüdür ve K_M'si düşük olan bir enzim, substratına yüksek ilgi gösterir. Enzim, düşük substrat konsantrasyonunda doyar. Aksine büyük K_M, enzimin substratına düşük ilgisini tanımlamaktadır.

Belirli bir andaki kataliz hızı Michaelis-Menten eşitliği ile aşağıdaki gibi gösterilir.

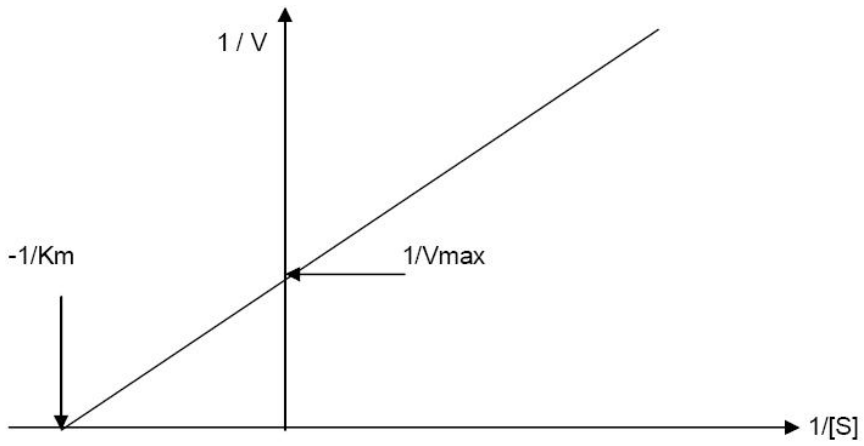
$$V_i = \frac{V_{max}\,(S)}{K_M + (S)} \quad \textbf{Michaelis-Menten Eşitliği}$$

Michaelis-Menten denklemi, bir hiperbolik eğrinin denklemi olduğundan ve hiperbolik eğrinin karakteristik noktalarını belirlemek zor olduğundan bir enzime ait V_{max} ve K_M'yi deneysel olarak incelemeyi kolaylaştırmak için grafiği doğrusal olan

başka denklemler de önerilmiştir. Bunlardan Michaelis-Menten denklemini tersine çevirip çarpanlarına ayırmakla elde edilen Lineweaver-Burk denklemi, bunlardan en sık kullanılanıdır. Şekil 1.16, klasik bir Lineweaver-Burk grafiğini göstermektedir.

$$\frac{1}{V_i} = \frac{K_M}{V_{max}} \times \frac{1}{(S)} + \frac{1}{V_{max}}$$ **Lineweaver-Burk Doğru Denklemi**

Bir enzimatik reaksiyonun hızı, enzim etkisiyle zaman birimi başına (1 dakikada veya 1 saniyede) oluşan ürünün veya ürüne dönüşen substratın miktarına göre ifade edilir. Optimal pH, 25^{o}C sıcaklık ve doyurucu substrat konsantrasyonunda bir tek enzim molekülü tarafından birim zamanda ürüne dönüştürülen substrat molekülü sayısına, enzime ait **dönüşüm sayısı** denir ve kısaca k_{cat} sembolü ile gösterilir



Şekil 1.16. Lineweaver-Burk grafiği

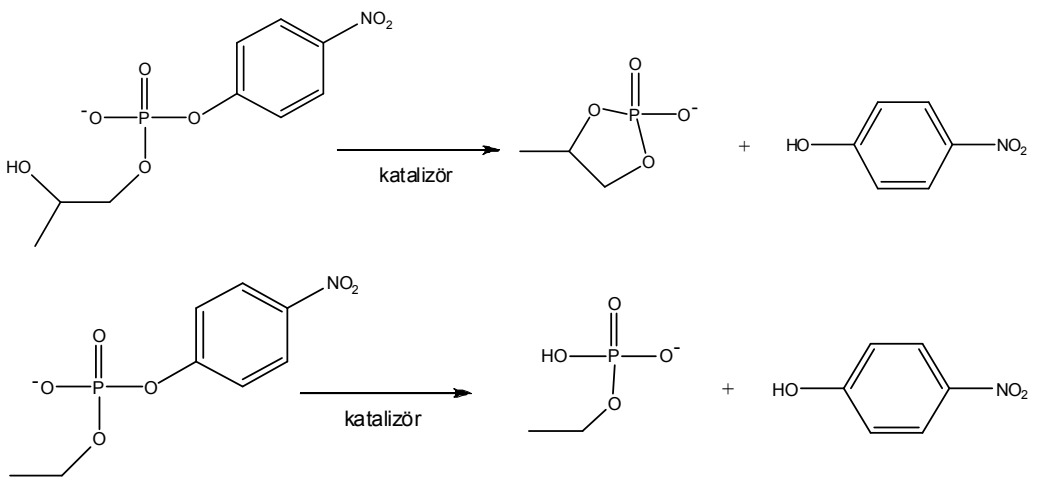
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Supramoleküler sistemlerin fonksiyonel özellikleri iki temel özelliğe son derece bağlıdır. Bunlar, reaktivite ve kataliz özellikleridir. Bağlama bölgeleri dışında uygun reaktif gruplar taşıyan moleküler reseptörler, bir substrat ile kompleks yapabilir veya onunla reaksiyona girerek yeni bir çevrim için bileşik üretebilir. Verimli ve seçimli supramoleküler bileşiklerin ve katalizörlerin dizaynı, katalizin temel basamaklarına mekanistik olarak ışık tutabilir, yeni kimyasal bileşik çeşitlerinin keşfedilmesine yol açabilir ve enzimatik katalize katkı sağlayan faktörleri ortaya çıkaran reaksiyonları etkileyebilir. Bu konuda literatürde çok sayıda türevlendirilmiş siklodekstrin, makrosiklik polieter ve kaliksaren bileşikleri incelenmiştir. Burada kaliksarenlerle ilgili olanlardan bahsedilecektir.

Enzim model çalışmalarında esterlerin hidroliz reaksiyonları çokça çalışılmıştır. Hakikaten fosfat esterlerinin metalloenzimlerle kimyasal dönüşümleri, genellikle P1 nükleaz, DNA polimeraz, fosfolipaz C ve alkalin fosfotaz gibi enzimlerdeki iki metal iyonunun kooperatif hareketiyle kolaylaşmaktadır. Genellikle Zn(II), Mg(II), Mn(II) ve Fe(III) metal iyonları, aktif bölgesinde 3-5 Å luk aralık bulunduran enzimlerde bulunurlar. Fosfat grubu, bu metal iyonlarının Lewis asidi özelliklerinden dolayı aktifleşerek reaktif bir nükleofil oluşturur ve hem beş koordineli fosforik geçiş halini, hem de ayrılan grubu kararlı hale getirir. Literatürde Zn(II) (Molenveld 1997, 1998, 1999[a], 1999[b], 1999[c], 1999[d], Yashiro 1997, Bazzicalupi 1997), Cu(II) (Liu ve Hamilton 1997[a]), Co(III) (Williams 1996, Seog 1996) ve lantanitler(III) (Ragunathan ve Schneider 1996) gibi iki metal merkezinin, bir moleküler yapıya bağlı iki ligand tarafından ayrı tutulduğu çeşitli yapay aktif bölge modelleri çalışılmıştır. Etkili bir enzim-mimik dizaynının uzaysal organizasyonu için uygun bir moleküler yapı gereklidir. Geçmiş yıllarda biyokimyasal reaksiyonları sentetik bileşiklerle katalizlemek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda bileşiklerdeki katalitik gruplar, reaksiyonun geçiş halini kararlı hale getirebilecek uygun bir pozisyona girmektedir. Fakat yine de genellikle enzimlerin gösterdiği katalitik aktiviteye nazaran daha düşük bir aktivite gözlenmektedir. Biyomimetik bileşikler, genellikle çok rijit veya çok esnek olmalarına rağmen, enzimler belirli bir esneklik göstererek bir substratı ve geçiş halini uygun bir mekanizma üzerinden

bağlayabilmektedirler. Dinükleer metallofosfodiesterazlar için çalışılan modeller, genellikle dinükleer geçiş hali kompleksleridir ve bu modellerde bir moleküler yerleştirici, iki katalitik metal iyonuna göre uygun pozisyon almıştır. Moleküler yerleştiricinin seçimi, katalitik özellikleri etkilemektedir. Çok esnek bir yerleştirici, metal merkezleri arasındaki katalitik kooperatifliği sağlayamayabilir. Aksine çok rijit bir moleküler yapı ise, dinamik katalitik işlem sırasında substratın geometriksel değişmelerine uyum sağlayamayabilir. Bu nedenle böyle modellerin verimli bir enzim-mimik olabilmeleri için bu modellerde moleküler yapı, hem çoklu katalitik grubun uygun organizasyonuna hem de belirli bir esneklik derecesine imkan tanımaktadır.İşte kaliksarenler, tıpkı enzimlerin polipeptit iskeletindeki aminoasit grupları ve kofaktörler gibi dinamik olarak ön-organize olabilen çoklu katalitik gruplar taşıyabildikleri için uygun yapı blokları olabilmektedirler. Enzimatik olmayan fosfat ester hidrolizi, Co(III) (Williams ve Chin 1996, Seog 1996, Hettich ve Schneider 1997[a], 1997[b], Komiyama 1997, Rawlings 1997) ve lantanitler(III) iyonları (Ragunathan 1996 ve Schneider 1996, Hettich ve Schneider 1997[a], Baker 1997, Bracken 1997, Sumaoka 1997, Bruice 1996) ile etkili bir şekilde kolaylıkla gerçekleştirilmiştir. Buna karşın yapay nükleazların uygulamasında Co(III) kullanımı, iyi sonuçlar vermemiştir. Çünkü ürünlerle birlikte önemli inert kompleksler de oluştuğu için nötral pH da etkili bir kataliz engellenmiştir. Lantanit(III) iyonlarının deazavantajları, toksik olmaları ve yeterince kararlı kompleksleri zor oluşturmalarıdır. Serbest lantanit(III) iyonları, kolaylıkla lantanit(III) hidroksit çökelekleri oluşturur ve her iki formu da fosfat ester hidrolizinde aktiftir. Bu da kinetik kontrolü daha karmaşık hale getirmektedir. Fosfat ester hidrolizinde bazen önemli hız artışları gözlenmesine rağmen, düşük substrat bağlanması ve verim azlığı, basit model sistemlerle karşılaşılan yaygın problemler arasındadır (Molenveld 1998).

Substratlar olarak genellikle *p*-nitrofenil esterleri kullanılmaktadır. Çünkü reaksiyon hız derecesi, hidroliz sonucu oluşan *p*-nitrofenolatın 400 nm de ki adsorbansındaki artışın ölçülmesiyle kolaylıkla tayin edilebilmektedir. Hidrolitik reaksiyonları çalışmada, katalizörler olarak kaliksaren türevleri kullanılarak başlıca iki model substrat seçilmiştir. Bunlardan birisi, 2-Hidroksipropil *p*-nitrofenil fosfattır



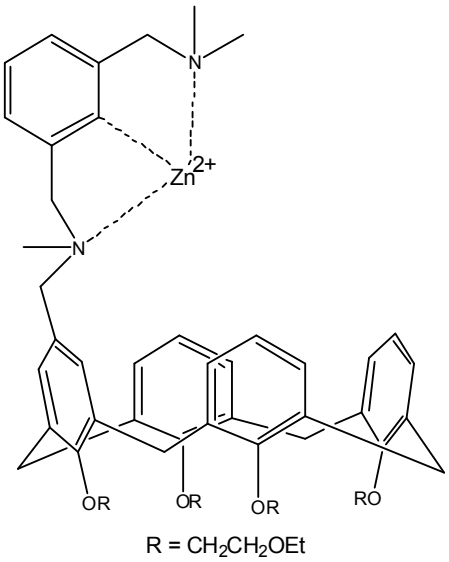
Şekil 2.1. HPNP ve EPNP'nin katalizör ile *4*-nitrofenole dönüşümü

(HPNP) (Şekil 2.1). HPNP, bir RNA model substratıdır ve β-hidroksi grubunun nükleofilik atağı ile molekül içi trans-esterleşme yoluyla reaksiyona girer. Diğer model substrat ise, etil-*p*-nitrofenil fosfattır (EPNP) (Şekil 2.1). EPNP, DNA model substratı olarak düşünülebilir ve bir hidroksit iyonunun moleküller arası nükleofilik atağı yoluyla reaksiyona girer.

2.1. Zn(II) Kompleksleri: Hidrolitik Metalloenzimler

p-Pozisyonu üzerinden türevli bazı kaliksarenler, çinko ve bakır iyonlarının kompleksleşme çalışmalarında kullanılmıştır. Mono- (Şekil 2.2), di- ve trinükleer Zn(II)-kaliksaren kompleksleri, hidrolitik reaksiyonlar için enzim modelleri olarak çalışılmış ve piridin-Zn referans kompleksiyle de karşılaştırılmıştır (Şekil 2.3) (Molenveld 1998, 1999[a], 1999[d], 2000).

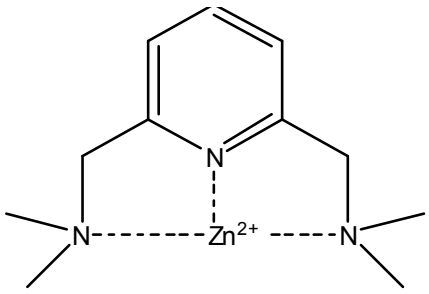
Mononükleer kaliks[4]aren kompleksi (Şekil 2.2), referans kompleksten 6 kat daha fazla aktiflik göstermiştir. Bu sonuç, katalitik işlemde hidrofobik etkinin bir rolü olduğuna işaret etmiştir. Kaliks[4]aren, metal bağlı bir su molekülün pK_a sından daha düşük pK_a ya sahip hidrofobik aromatik yüzeyi ile katalize katkı yapabilmekte ve substratla etkileşebilmektedir. Substratın hem bağlanması, hem de dönüşümü, mononükleer kompleksle karşılaştırıldığında dinükleer komplekste verim çok daha yüksek olmuştur. Mononükleer kompleksin katalitik aktivitesi, dinükleer kompleksle karşılaştırıldığında 50 kat daha az bulunmuştur. Mono türevli kaliks[4]aren (Şekil 2.2) ve referans piridin-çinko kompleksi (Şekil 2.3) karşılaştırıldığında, kaliks[4]aren



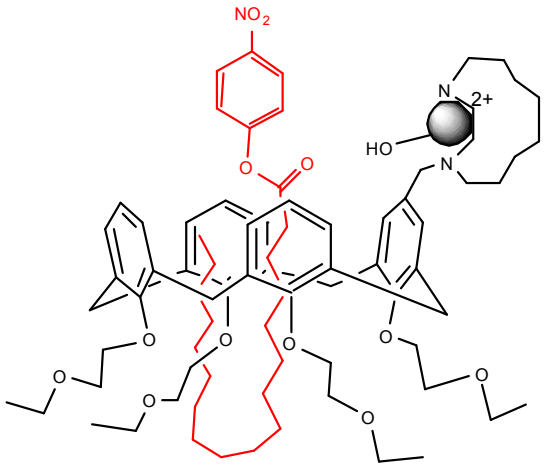
Şekil 2.2. Bir kaliks[4]aren mononükleer Zn(II) modeli

türevinin yüksek katalitik aktivite gösterdiği görülmüştür. Bu da substrat bağlama ve iki Zn(II) merkezinin katalitik olarak sinerjik davranışında kaliksaren yapısının olumlu katkısına yorumlanmıştır.

Ozturk ve Akkaya (2003), yaptıkları çalışmada koni konformasyonunda ve *p*-pozisyonunda bir veya iki siklen(1,4,7,10-tetra-azosiklododekan) grubu taşıyan kaliks[4]arenleri sentezlemişlerdir. Bu bileşiklerin Zn(II) komplekslerinin hidrolitik özellikleri incelenmiş ve substrat olarak *p*-nitrofenil stearat kullanıldığında ilginç sonuçlar elde edilmiştir. Buna göre bis-siklenil-2Zn(II) kompleksi, bu substrat için önemsiz derecede bir hidrolitik aktivite gösterirken, mononükleer kompleks, hidrolitik aktivite olarak pH 8,5 te 400 kat daha etkili olmuştur (Şekil 2.4).

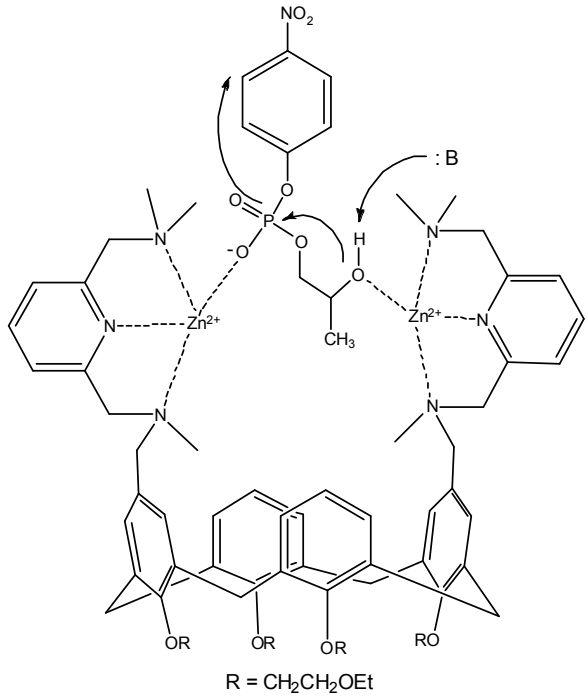


Şekil 2.3. Referans olarak kullanılan piridin kompleksi

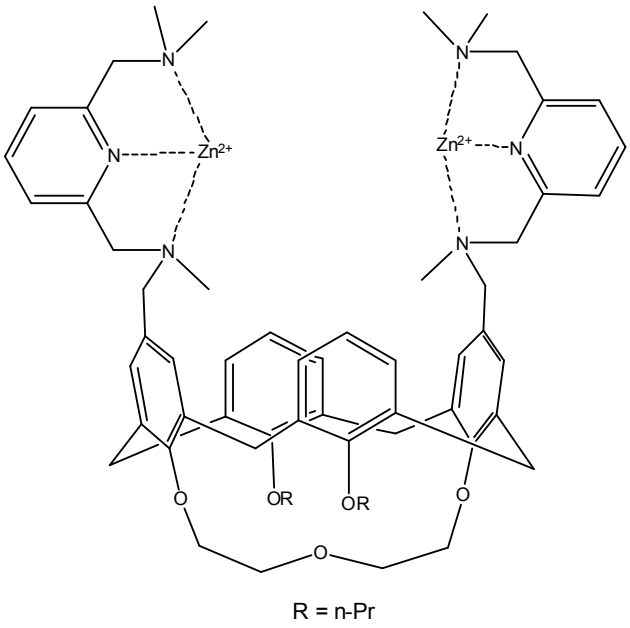


Şekil 2.4. Bir mononükleer Zn(II)-kaliks[4]aren kompleksinin *p*-nitrofenil stearat ile etkileşimi

Bir dinükleer Zn(II) modeli de, HPNP yi iki taraflı koordinasyonla bağlamak için önerilmiştir. Zn(II) merkezlerinden birisi fosforil grubunu aktive ederken, diğeri β-hidroksil grubunu aktive etmekte ve bunu da baz destekli halkalaşma takip etmektedir. Dinükleer kompleksin (Şekil 2.5) katalitik aktivitesi, kaliks[4]arenin



Şekil 2.5. Bir kaliks[4]aren dinükleer Zn(II) modeli ile HPNP hidrolizi için önerilen mekanizma

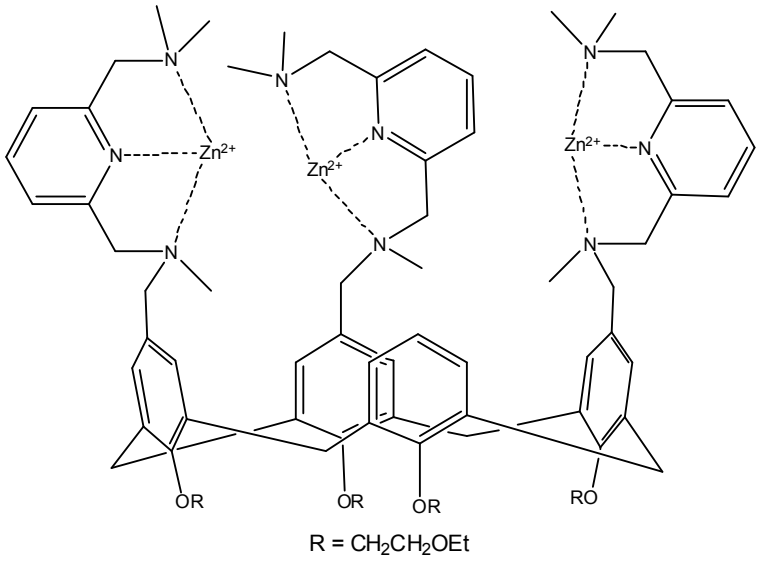


Şekil 2.6. Bir kaliks[4]aren-crown dinükleer Zn(II) modeli

fenolik-O pozisyonundan bir crown köprüsüyle modifikasyonu sonucu elde edilen rijit dinükleer kompleksle (Şekil 2.6) karşılaştırılmış ve esnek dinükleer kompleksin hem HPNP bağlamada hem de dönüşümde gösterdiği verimden 8 kat daha az verim elde edilmiştir. Bu da kataliz sırasında Zn(II) nin kooperatif davranışındaki belirli esnekliğin önemini ortaya çıkarmıştır.

P1 nükleaz gibi fosfodiesteraz enzimleri de, DNA ve RNA gibi nükleotitlerde fosfodiester bağlarının katalitik hidrolizini gerçeleştirmek için aktif bölgede üç tane iki değerlikli metal iyonu (Zn(II) gibi) kullanmaktadır. RNA yı spesifik bölgelerde parçalayan sentetik katalizörler, gen teknolojisinin gelecekteki uygulamaları için ilgi çekmektedir.

Sonraki çalışmalarda dinükleer kompleksler, yapıya bir Zn(II) merkezinin daha katılması sonucu trinükleer metallohidrolazların aktif bölgesine benzeyen trinükleer Zn(II) kompleksine dönüştürülerek büyütülmüştür (Molenveld 1999[a]). Trinükleer Zn(II) modeli (Şekil 2.7), RNA dinükleotitlerinin parçalanması için etkili bir katalizör olarak bulunmuştur. Burada Zn(II) merkezlerinin kooperatif etkisi sonucu yüksek hız artışının ve önemli ölçüde nükleobaz seçimliliğinin olduğu görülmüştür. Bu trinükleer kompleksin katalitik aktivitesi, bir takım RNA-dinükleotitleri için ölçülmüş ve katalizörsüz reaksiyonlara göre çok yüksek aktivite ve verim elde edilmiştir. Ayrıca dinükleotitlerdeki farklı nükleobazlar için oranlarda



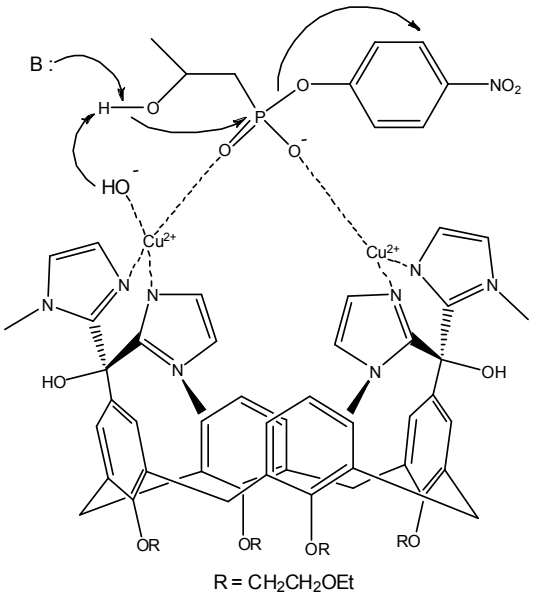
Şekil 2.7. Hidrolitik metalloenzimler için model olarak kullanılan bir trinükleer Zn(II)-kaliks[4]aren kompleksi

büyük farklılıklar gözlenmiştir. Böylece üç Zn(II) iyonunun DNA ve RNA gibi sırasıyla fosfatidilkolin ve nükleotitlerdeki fosfodiesterlerin hidrolizini kataliz ettiği ortaya konulmuştur. Katalizde üç Zn(II) merkezinin kooperatifliği önemlidir. İki komşu Zn(II) merkezi ile çift Lewis aktivasyonu gerçekleşirken, üçüncü bir Zn(II) merkezi muhtemelen HPNP nin β-hidroksi grubunun deprotonasyonunu kolaylaştırabilmektedir veya dinükleer kompleks ile katalize benzer bir Lewis asit aktivasyonu ya da bir hidroksit iyonunun bağlanması gerçekleşmektedir. Bu modeller, daha etkili katalizörler olarak ortaya çıkmıştır ve üçüncü Zn(II) merkezi HPNP nin bölünme oranını %40 tan fazla artırmaktadır. İki Zn(II) ve bir Cu(II) içeren heterodinükleer kompleksin de daha aktif bir model olduğu bulunmuştur (Molenveld 1999[a]).

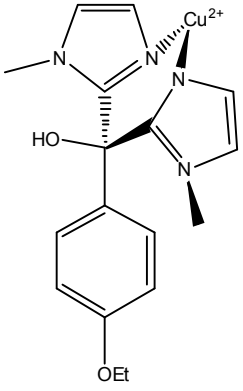
2.2. Cu(II) kompleksleri: Hidrolitik metallo enzimler

Fosfoesteraz metallo enzimlerinde farklı aminoasit grupları, katalize katılmaktadır. Fosfotaz monoesterlerin alkalin fosfotaz ile hidrolizinde, iki Zn(II) ve Mg(II) iyonuna serin, histidin ve arginin yan zincirleri de yardım etmektedir. RNaz A da bir lisin grubunun bir amonyum ucu, bir fosforil grubunu aktive ederken, iki histidin nükleofilin deprotonasyonunda ve ayrılan grubun protonasyonunda görev

yapmaktadır. RNaz A daki aminoasit gruplarının katalitik rolü, bisimidazoller ve imidazoller veya diaminlerin sulu çözeltileri gibi genel asit-baz sistemleriyle mimik edilmiştir (Komiyama 1997). Son zamanlarda poli(etilen glikol)-destekli Cu(II)-triazasiklononan, fosfodiesterin hidrolizinde etkili, tekrar kullanılabilen ve geri kazanılabilen bir katalizör olarak açıklanmıştır (Bonora 2003). Mono (Liu ve Hamilton 1997[b], Linkletter ve Chin 1995, Hegg 1997, Itoh 1997) veya dinükleer (Young ve Chin 1993, Liu ve Hamilton 1997[a]) *cis*-diaqua Cu(II) kompleksleri de fosfat diesterlerin hidrolizinde yapay aktif katalizörler olarak bulunmuştur.

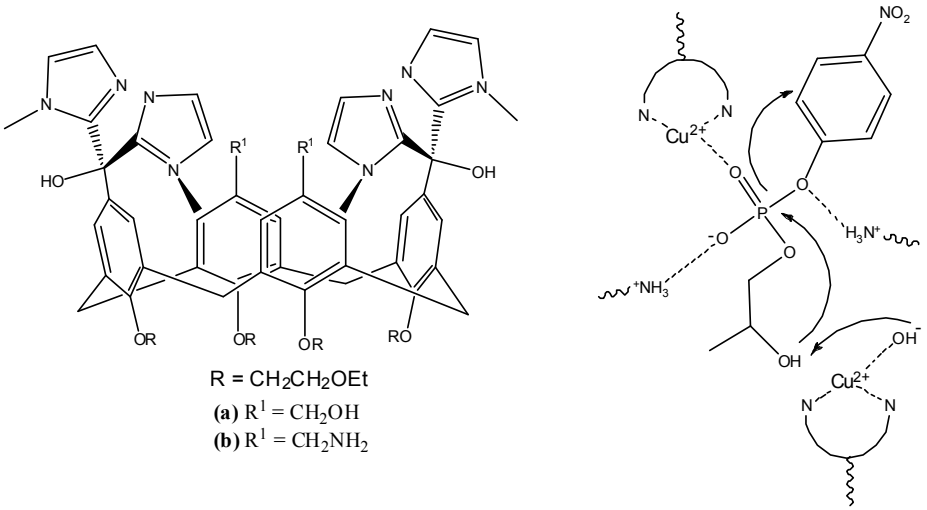


Şekil 2.8. Kaliks[4]aren-Cu(II) kompleksinin HPNP ile etkileşim için önerilen bir mekanizma



Şekil 2.9. Referans mono nükleer kompleksi

Bir dinükleer kaliks[4]aren-Cu(II) kompleksi (Şekil 2.8), ve onun referans mono nükleer kompleksinin (Şekil 2.9) sentezi, karakterizasyonu ve katalitik aktivitesi çalışılmış ve bu kaliksaren kompleksinin dinükleer metallofosfodiesteraz için mimik olduğu görülmüştür (Molenveld 1998). Bu yeni kaliks[4]aren dinükleer Cu(II) kompleksi, HPNP ve EPNP fosfat diesterlerini sırasıyla $1x10^4$ ve $2,7x10^4$ hız artışlarıyla referans kompleksten çok daha etkili bir şekilde hidroliz etmiştir. Bu sonuç, esnek kaliks[4]aren iskeleti üzerinde çok iyi ön-organize olan, iki Cu(II) merkezinin verimli sinerjik hareketinden kaynaklanmıştır. Bu kaliks[4]aren bazlı yapay metalloenzimlerin diğer ilginç benzerliği ise metal(II) bağlı su moleküllerinin önemli ölçüde düşük pK_a değeridir. Bu da onu, az asidikten nötre doğru olan şartlarda aktive edici yapay bir enzim yapmaktadır. Düşük pK_a, nötral enzimlerdeki kaliks[4]aren kısmının aromatik yüzeyinin oluşturduğu hidrofobik çevreden kaynaklanmaktadır (Molenveld 1997). Ayrıca kaliks[4]arenin *p*-pozisyonu üzerinde iki bisimidazolil-Cu(II) merkezi ve iki hidroksi metil grubu taşıyan bifonksiyonelfosfodiesteraz modellerinin sentezi ve HPNP nin transesterleşmesinin katalizi de açıklanmıştır (Molenveld 1999[b]). Aminometilkaliks[4]aren türevi (Şekil 2.10), RNA model substrat HPNP nin molekül içi transesterleşme reaksiyonunun bifonksiyonel katalizinde kullanılmıştır. Burada substrat bağlanması, bir veya her iki Cu(II) merkezinin bir veya iki amonyum grubu ile kooperatif hareketi sonucu gerçekleşmektedir. İki amonyum grubu ve Cu(II) merkezlerinden birisi bağlanarak substratın negatif yüklü fosforil grubunu aktive etmektedir. Kalan Cu(II) merkezi ise daha sonra bir hidroksit iyonu bağlanması sonucu substratın hidroksil grubunun deprotonasyonu ile katalize katkıda bulunmaktadır. Bundan başka, amonyum grupları, geçiş halini ve olası hidrojen bağlanması veya elektrostatik etkileşimlerle ayrılan grubu kararlı hale getirmektedir (Molenveld 1999[b]). Hidroksi metil kaliks[4]aren ve kaliks[4]aren-Cu(II) kompleksi ile aynı şartlarda yapılan katalizsiz reaksiyona göre $6,9x10^3$ kat daha fazla katalitik aktivite elde edilmiştir. İki tane daha amino grubuna sahip dinükleer kompleksin pH 7,4 te $3,1x10^3$ oranında aktivite gösterirken, pH 6,2 de ise etkili bir katalizör olmadığı görülmüştür. Hidroksi metil kaliks[4]arenin ise bazik şartlarda çok daha az aktif olduğu görülmüştür. Bu durum, substratın katalizöre zayıf bağlanmasına işaret etmektedir ve bu zayıf bağlanmanın,



Şekil 2.10. Bis(imidazol) grupları taşıyan kaliks[4]aren türevleri ve DNA'nın trans-esterleşmesi

hidroksimetil gruplarının sterik engelinden ve sıkı bağlı Cu-hidroksitlerden kaynaklandığı yorumuna varılmıştır.

Multinükleer metal türleri, bir takım önemli biyolojik reaksiyona katılan metalloprotein aktif bölgelerinin her yerinde bulunan bileşenlerdir. Örneğin; tricopper bölgeleri, multicopper oksidazlarda (Solomon 2001, Messerschmidt 1998) özellikle metan monooksijenazda (*p*MMO) teşhis edilmiştir. Üç veya dörtten daha fazla bağlı metal iyonuna sahip nükleer türler, daha az yaygındır. Spencer ve ark. (2002), metal kompleksleşmesinde kullanmak üzere kaliks[4]aren ağıyla ön-organize olmuş ve kovalent bağlı bir dizi çok-merkezli ligand geliştirmişlerdir.

2.3. Ribonükleaz enzim-mimik

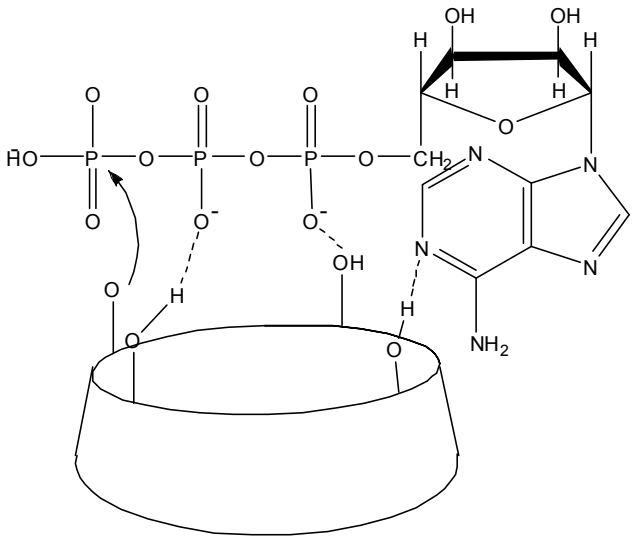
Lantanit bazlı makrosiklik kompleksler, ribonükleazların hidrofobik özelliğini mimik etmektedirler. Burada lantanit iyonları, glisin bazlı makrosiklik bileşik için bir hidrofobik boşluğun oluşumuna ve mRNA model bileşik HPNP nin ise hidrolizinde hız artışına neden olmaktadırlar (Gunnlaugsson 2002).

Komiyama ve ark. (1991) ribonükleazın yer-seçimli katalizi için tamamen yapay bir mimik hazırlamışlardır. Yapılan çalışmada sitidin, uridin, adenozin ve guanozinin 2',3'-halkalı fosfatlar, suda çözünebilen kaliks[n]aren sülfonatların varlığında hidroliz edilmiştir ve ribonükleozit 2',3'-halkalı fosfatın yer-seçimli dönüşümü, enzimatik olmayan asidik bir ortamda başarıyla gerçekleştirilirken, siklodekstrinlerle yer-seçimli kataliz, sadece nötral ve bazik ortamda etkili olmuştur.

Kaliks[6]aren ve kaliks[8]aren ile etkili yer-seçimli kataliz, koni, kısmi koni, karşılıklı ve diğer konformasyonlar arasındaki hızlı değişime bağlanmıştır. Sitidin 2',3'-halkalı fosfatın sitidin 3'-fosfata yer-seçimli dönüşümünde kaliks[4]aren katalizör olarak kullanılmıştır. Kaliks[4]arenin konsantrasyonunun artmasıyla hem yer-seçimliliğin hem de reaksiyon oranının arttığı bulunmuştur. Ayrıca monomerik analog *p*-hidroksi benzensülfonik asit ile yer-seçimlik artışı gözlenmediği için kaliks[4]arenin halkalı yapıda olmasının yer-seçimli kataliz için gerekli olduğu düşünülmüştür. Sitidin 2',3'-halkalı fosfatın sitozin grupları pozitif yüklü iken kaliks[4]aren negatif yüklüdür (hidroksil grubunun biri). Ayrıca adenozin 2',3'-halkalı fosfatın adenin grubu ve guanozin 2',3'-halkalı fosfatın guanin grubu genellikle protonlanmaktadır. Dolayısıyla kaliks[4]aren ve substrat arasında kataliz için gerekli bir elektrostatik etkileşim oluşmuştur.

2.4. ATPaz enzim-mimik

Nükleotit fosfotazlar, özellikle de adenozin mono-, di- ve tri-fosfatlar pek çok biyolojik prosesin enerji döngüsünün önemli parçalarıdır. ATP, hücre transmembran elektrik potansiyelleri için gerekli enerjiyi sağlamaktadır. Bu enerji, ATPaz enzimlerinden gelmektedir. ATPazın fonksiyonu, ATP nin trifosfat grubunun uç fosfat kısmını kolayca hidroliz ederek ADP ve inorganik fosfata dönüştürmektir.


OH
OH
H
H
H
H
O
HO
P
O
O
O

Supramoleküler katalizin örneklerinden birisi de, ATP nin hidrolizinde kaliks[4]arenin supramoleküler etkileşiminin önemli derecede etkisi olduğunun bulunmasıdır (Şekil 2.11) (Ming 2002). Fenolik-O pozisyonundaki hidroksitlerin, *guest* molekülleri ile kuvvetli hidrojen bağı oluşuma neden olduğu ortaya çıkarılmıştır. Burada da kaliksaren ve substrat arasındaki elektrostatik etkileşimin kataliz için gerekli olduğuna işaret edilmiştir. ATP nin hidrolizi, saf sulu çözelti içerisinde yavaş iken çözeltiye suda çözünen kaliks[4]aren ilave edildiğinde hızda dikkat çekici bir şekilde artış olmuştur.

2.5. Aldolaz enzim mimik

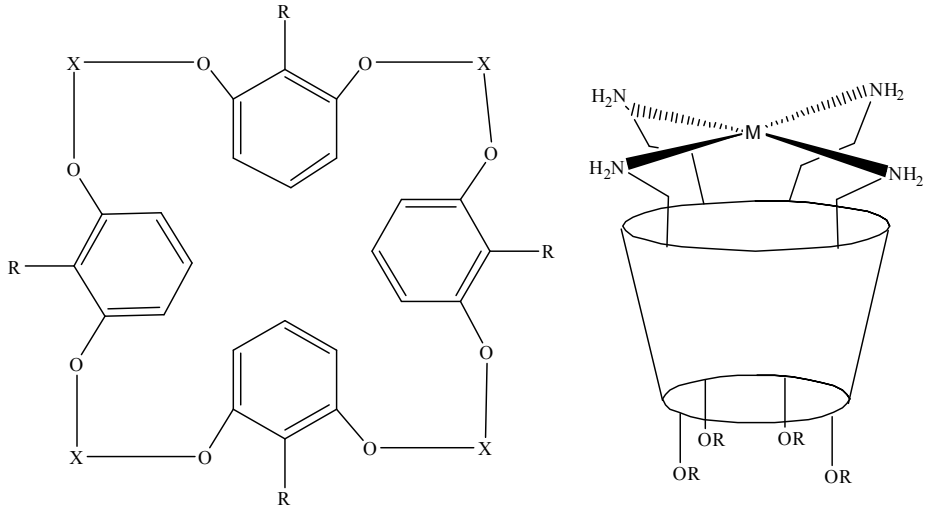
Dihidroksi aseton fosfatın (DHAP) gliseraldehit fosfata (GAP) kondensasyonu, aldolaz enzimiyle katalizlenerek fruktoz 1,6-difosfatı oluşturmaktadır. Literatürde bir kaliks[4]aren türevi, bir aldolaz modeli olarak önerilmiştir. Bu model, metal atom-koordineli dihidroksi aseton fosfatın bir molekülünü tutmaktadır. Burada keto grubu amino fonksiyonuna en yakındır (Schiff bazı oluşur) ve hidroksimetilen grubunun α-hidrojenleri, bir karboksilat grubuna en yakındır (proton ayrılır ve bir karbanyon, enamin oluşur). Daha sonra bir aldehit ile kondensasyon sonucu bir aldol ürünü elde edilmektedir. Benzer şekilde koni veya kısmi koni konformasyonlarda kaliksarenlerin boşlukları etrafına uygun fonksiyonel gruplar bağlanarak birçok enzim-mimik sistemi tasarlamak mümkündür (Gutsche 1983).

2.6. *Heme*-mimikler

Heme, demir bulunduran bir tetrapirol makrosiklik yapısına verilen isimdir. *Heme* proteinlerde demir atomları, beş ya da altı koordinelidir. Beşinci pozisyon komşu demir ligandı ile doldurulur. Bu ligand, sistein molekülünden gelen bir sülfür atomu veya ikincil amin monooksijenaz, katalaz, peroksidaz ve O_2 taşıyıcılarındaki (hemoglobin ve miyoglobin) histidinden gelen imidazolün azot atomları olabilir. Altıncı bölgeyi dolduran ligand eksojen (harici) veya proteinden gelebilir (dioksijen, su, peroksit vs.). *Heme* proteinleri, tersinir dioksijen koordinasyonu, organik maddelerin bir (peroksidazlar) ve iki (sitokrom 450, *sek*-amin monooksijenaz ve daimin oksidaz) elektron oksidasyonu ve halojenasyon (koloroperoksidaz ve tiroit

peroksidaz) içeren değişik bir takım reaksiyonlar gerçekleştirebilir. *Heme*-mimikler geliştirilerek basit model sistemlerden elde edilen yapısal ve fiziksel ölçümler, küçük moleküllerin hemoglobin ve peroksidaz gibi diğer *heme* içerikli sistemlere bağlanması ile ilgili kooperatif mekanizma konusunda çok önemli bilgiler vermiştir. Ayrıca porfirin içeren modeller kullanılarak da dioksijen, karbondioksit ve alkil siyanürlerin hemoglobine bağlanması sonucu *heme* merkezinde meydana gelen yapısal değişiklikler anlaşılabilmektedir (Ashkenasy 2002). *Heme* aktif bölge yapıları ile ilgili önceki çalışmalar, önemli farkın demire yakın histidin bağının uzunluğu olduğunu ve histidinin hidrojen bağı yapma derecesiyle kontrol edilebildiğini göstermişleridir. Son yirmi yıldan daha fazla bir zaman içerisinde sentetik analoglarla bu fonksiyonları mimik eden çok çalışma yapılmıştır. Farklı katalitik sistemlerden oluşan peroksidaz modelleri, oksidatif dönüşümlerin büyük çoğunluğu için etkilidir. Bu sistemlerin çoğunluğu, porfirin halkasını, kontrolü ve reaktifliği kolaylaştıran yardımcı elementlerin (elektron veren veya çeken gruplar) kovalent bağlanması ile modifiye eder. Biyomimetik yaklaşım, porfirin halka sistemini olabildiğince doğal yapısında tutmaya çalışmakla ve tüm modifikasyonları aksiyal koordinasyonda veya ona yakın olacak şekilde yaparak tasarlanabilir. Böyle bir model sistem, sentetik olarak daha az çaba gerektirmekte ve tekil yapı modifikasyonunun etkisini araştırmak için kolay bir yol sağlamaktadır. Literatürde iki komponent (bir bisimidazolil ligand ve bir demir porfirin) sistem çalışılmıştır. Baş gruplar olarak farklı imidazollerin bağlanması sonucu elde edilen asimetri, farklı uzunluktaki iki aksiyal bağın oluşumuna neden olmaktadır. İleri bir modelde imdizollerin birine hidrojen bağlarının ilavesi, bu farkı artırmakta ve porfirin halkasını genişletmektedir. Bu biyomimetik kompleksler, yapısal olarak peroksidaz aktif bölgeler ile hemen hemen yakın özellikte bulunmuştur.

Literatürde porfirin olmayan *heme*-mimik olarak kaliksaren türevli *heme*-mimikler de çalışılmıştır. Cram (1985) tarafından önerilen bir kavitant (Şekil 2.12), oksijen ilgisi göstermiştir. Diğer porfirin olmayan bir *heme*-mimik çalışması da Gutshce (1988) tarafından *p*-(2-aminometil)kaliks[4]arenin (Şekil 2.12) metal kompleksleşme davranışının araştırılmasıdır. Bu çalışmanın amaçlarından birisi, bu maddenin Fe(II) gibi metal iyonlarıyla kompleksleşme kabiliyetini ve oksijen taşıyıcı olarak potansiyel rolünü araştırmak olmuştur.



(a) X = $CH_2CH_2CH_2$, $CH_2CH_2CH_2$, Me_2Si **(b)**

Şekil 2.12. *Heme*-mimik olarak kullanılan bir kavitant türevi **(a)** ve *p*-(2-aminometil)kaliks[4]aren **(b)**

2.7. Karbonik anhidraz enzim-mimik

Literatürde kaliks[4]aren platformu üzerinde ön-organize olmuş, bazı metallo enzimlerin aktivitesini mimik edebilecek, geçiş metalleri ile kompleks yapan heterohalkalı şelatlama ucu ve aktif aminoasit yan birimleri taşıyan lipofilik ligandlar sentezlenmiştir (Molard 1999). Bir karbonik anhidraz biyomimetik modeli hazırlamak için *p*-pozisyonu üzerinde iki veya dört histidin veya glisin grubu taşıyan kaliks[4]arenler sentezlenmiştir. Bu kaliks[4]aren türevlerinin kobalt(II)klorür ile kompleksleşme özellikleri araştırılmış ve glisil uçları ile Co(II) nin kompleksleşmesinin başarısız olduğu fakat histidil analogları ile mavi renkli kompleksler oluşturduğu görülmüştür.

2.8. Biyomimetizm yapısı

Laboratuarda enzimatik reaksiyonların taklit edilmesi zor bir işlemdir. Bunun temel sebebi, enzimatik mekanizma hakkında bilgi eksikliği ve biyolojik sistemlerdeki kimyasal reaksiyonların benzersiz oluşudur. Günümüzde enzimlerin fonksiyonunu belirlemek için farklı metotlar geliştirilmekte ve bu mekanizma, gün geçtikçe daha da netleşmektedir. Enzimlerin molekül ağırlığının çok yüksek olması, onların yapısının tayinini zorlaştırmaktadır. Fakat yapısal mimikler sayesinde enzim aktif merkezi ve onun en yakın çevresini oluşturan atomların tüm koordinatları elde

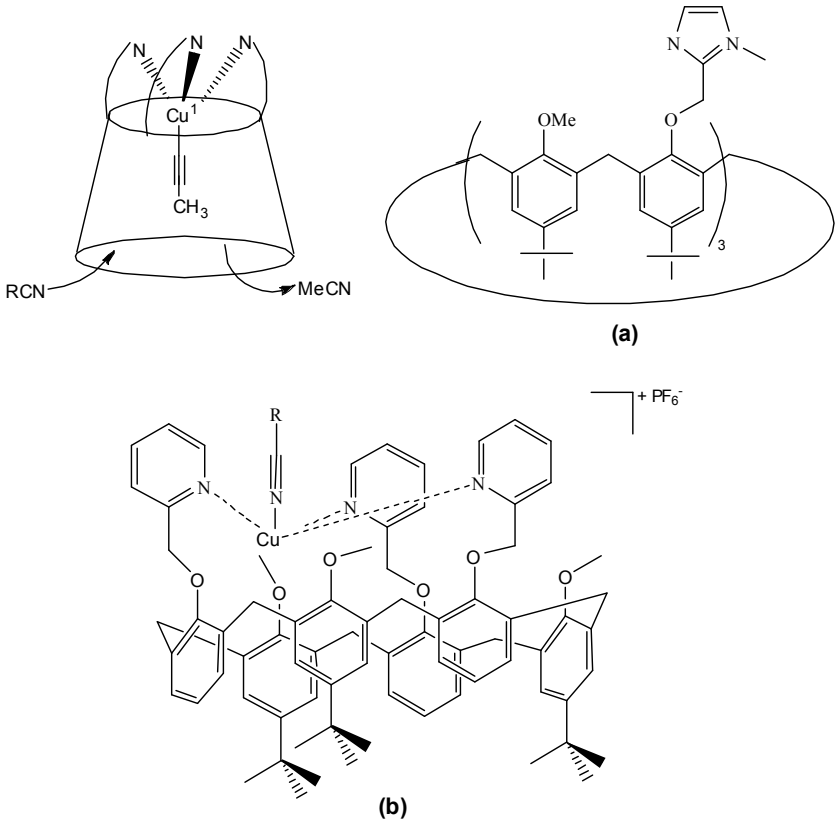
edilebilir. Buradan şu sonuç çıkmaktadır; olağan kimyasal reaksiyonların mekanizması, enzimatik katalizin mekanizması ile benzerlik göstermektedir. Temel fark, daha fazla karmaşıklık ve enzim aktif merkezinde etkileşen moleküllerin mükemmel organizasyonudur. Bu da olağan kimya ile kıyaslandığında yaşayan doğa kimyasındaki kalitatif farkı göstermektedir. Metallo enzim-mimiklerde bütünlüğü sağlamak için anahtar basamak, metal iyonunun biyokoordinasyon küresini yeniden oluşturabilen bir ligand dizayn edebilmektir (Molard 2001). Birçok araştırma grubu, metal iyonunun biyolojik koordinasyon çekirdeğini yeniden oluşturma amacına sahip modeller dizayn etmiştir.

2.8.1. Biyolojik sistemlerde Cu(I) ve Cu(II) nin önemi

Bakır, biyolojik sistemlerde (biyokimyasal indirgenme-yükseltgenme reaksiyonlarında, elektron transferlerinde, O_2 veya bitkisel bir hormon olan etilen gibi küçük gaz moleküllerinin tersinir bağlanmasında) çok önemli bir metal iyonudur ve yaşayan organizmalarda çok farklı bir rol oynamaktadır (Kaim ve Rall 1996). Çünkü, bu sistemlerde Cu(I), aktif form olduğundan, metal reaktifliğinin anlaşılması için koordine-Cu(I) bileşikleri hazırlanmalıdır. Doğal proteinlerde Cu(I) merkezi için spektrokopik araştırmaların eksik olmasından dolayı, küçük yapay ligandlarla onun koordinasyon kimyasını çalışmak önemli olmaktadır (Le Clainche 2000). Biyokimyasal redoks işlemlerinde bakır enzimleri bulunduğundan, Cu(II) nin bağlanma özellikleri de aynı derecede önem taşımaktadır.

2.8.2. Yapısal modeller olarak kaliksaren bazlı Cu(I) ve Cu(II) kompleksleri

Mononükleer bakır enzimleri, proteinlerin önemli bir sınıfını oluşturmaktadır (Kaim ve Rall 1996, Klinman 1996). Çok az sayıda kimyasal sistem, bir monobakır bölgesinde modellemede spesifik kimyaya imkan tanımaktadır. Literatürde mononükleer bakır bölgelerinin supramoleküler bir modeli açıklanmıştır. Üç piridin grubu ile uygun olarak türevlendirilmiş bir kaliks[6]arenin konik şekli bir avantaj olmuştur. Pridin gruplarının rolü, bakır iyonu için bir N_3 donör seti sağlamaktır. Bu set, kararlı bir mononükleer geçiş metal kompleksinin oluşumuna ve harici bir molekülle etkileşen bir kap şeklinin oluşumuna neden olmaktadır. Bu sistem,



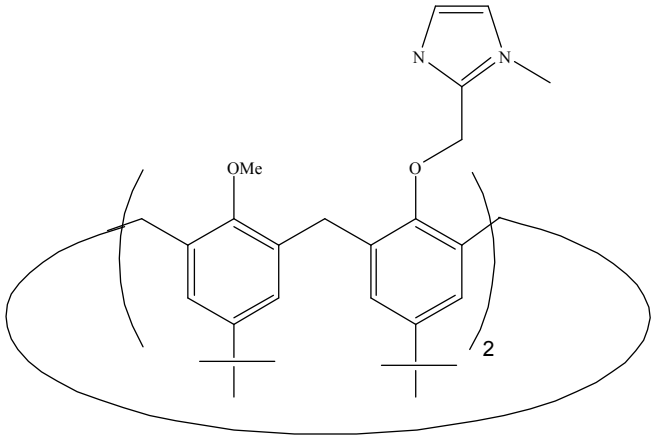
Şekil 2.13. Enzimlerdeki mono bakır bölgeleri için model olrak kullanılan kaliksaren Cu(II) kompleksleri ve etkileşimleri

dopamin-β-hidroksilaz, peptidil glisin, α-amitli mono oksijenazlar, bakır-amin oksidazlar ve nitrat redüktazlar gibi enzimlerdeki Cu(II) iyonlarını koordine eden imidazol gruplarını mimik etmektedir (Klinman 1996). Burada kaliks[6]arenin rolü, organik molekülün yaklaşımını kolaylaştırmak için diğer bir metal merkezi ile istenilmeyen herhangi bir etkileşimi engellemek ve hacmi ve özelliğine bağlı olarak seçimlilik oluşturmasıdır (Blanchard 1998). Boşluğun önemini değerlendirmek için Şekil 2.13'te gösterilen ligand **a** da küçük bir modifikasyon yapılmış ve kaliks[4]arenin üç *ter*-bütil grubu giderilmiştir (Rondelez 2002[a]).

Kısmen *ter*-bütil grupları giderilmiş ligand **b**, ligand **a** dan daha geniş açılarak daha büyük bir moleküler cep oluşturmaktadır. Bu kaliksaren bazlı mononükleer Cu(I) merkezlerine farklı nitril gruplarının yarışmalı olarak bağlanması, ^{1}H NMR spektroskopisiyle incelenmiş ve nitrilli ligandların bakır komplekslerini tanıyan bir model olduğu bulunmuştur. Ligand **a** ile karşılaştırıldığı zaman ligand **b**'nin PhCN ve MeCN ye karşı elde edilen eğilimleri, tersine dönmüştür. Üç *ter*-bütil grubunun

giderilmesi, MeCN nin değişim oranının 100 kat daha hızlanmasına neden olmuştur. Kaliksarenler, aromatik kısımlarının diğer gruplarla etkileşimini optimize edecek çok kullanışlı bir konformasyon oluşturma özelliğine sahiptirler. Bu nedenle kaliksaren konformasyonu, nötral moleküller için seçimli bir huni rolü oynamaktadır. Kaliksarenlerden elde edilen biyomimetik kompleksler, doğal sistemde özellikle substratla hızlı etkileşim ve ürün oluşumu için zorunlu olarak bilinen yüksek esneklik derecesini korumaktadırlar. Bu nedenle bu supramoleküler sistemler, metalloenzim aktif bölgesine ulaşmayı sağlayan hidrofobik substrat kanalı için mükemmel ve seçimli bir model oluşturmaktadırlar. Diğer bir çalışmada biyomimetik imidazolil pendant gruplarına sahip kaliks[4]aren (Şekil 2.14), iki koordineli Cu(I) kompleksinin kararlılığı için bir platform olarak kullanılmıştır. Bu kompleksin O_2 oksidasyonuna karşı aşırı derecede dayanıklı ve hatta açık havada veya potansiyel olarak koordine olduğu protik çözücülerde bile haftalarca kararlı olduğu ortaya çıkmıştır (Le Clainche 2000[a]).

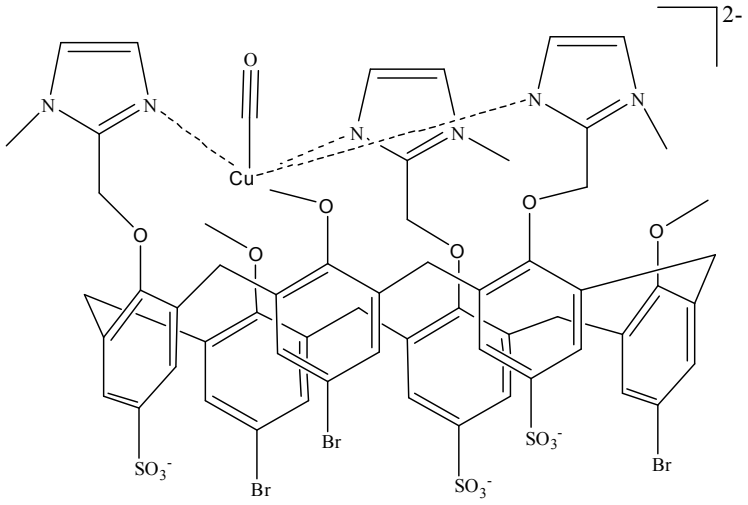
İki piridin halkasından daha ziyade iki imidazol halkasının varlığı, oksidasyona karşı Cu(I) kompleksinin kararlılığının artmasını sağlamaktadır. Bu durum, elektronik faktörlerden olabildiği gibi piridine göre imidazollü türler için iki koordinat şeklini kararlı kılan imidazol-azot atomu ve bakır(I) arasındaki orbital örtüşmesindeki artışla açıklanmıştır. Gerçektende ilgili piridin bazlı kaliks[4]arenden elde edilen bakır(I) kompleksi, O_2 ye aşırı derecede duyarlıdır ve saniyeler içerisinde havada otooksidasyona uğramaktadır. Bu, Cu(I) reaktivitesinin kontrolüne izin veren anahtar özelliklerin birisi olarak, metal bağlanma bölgesinin ön-organizasyonunun



Şekil 2.14. Biyomimetik imidazolil pendant gruplarına sahip kaliks[4]aren türevi

önemini vurgulamaktadır. Bu durum, Cu(I)'in bağlanmasını kullanan ya da hücrelerde diğer proteinlere Cu(I) taşıyan veya ileten bakır kaperonlardaki (chaperones) gibi küçük molekülleri aktive eden veya kararlı hale getiren biyolojik sistemlere benzemektedir (Le Clainche 2000[a]). Rondelez ve ark. (2002[a]) bir biyomimetik tris(imidazol) koordinasyon çekirdeği sağlayan, dört farklı kaliks[6]aren bazlı bakır kompleksi açıklamışlardır. Metal merkezi ve *host* yapısı arasındaki kuvvetli konformasyonel birleşme, sisteme bir supramoleküler kontrol sağlamaktadır.

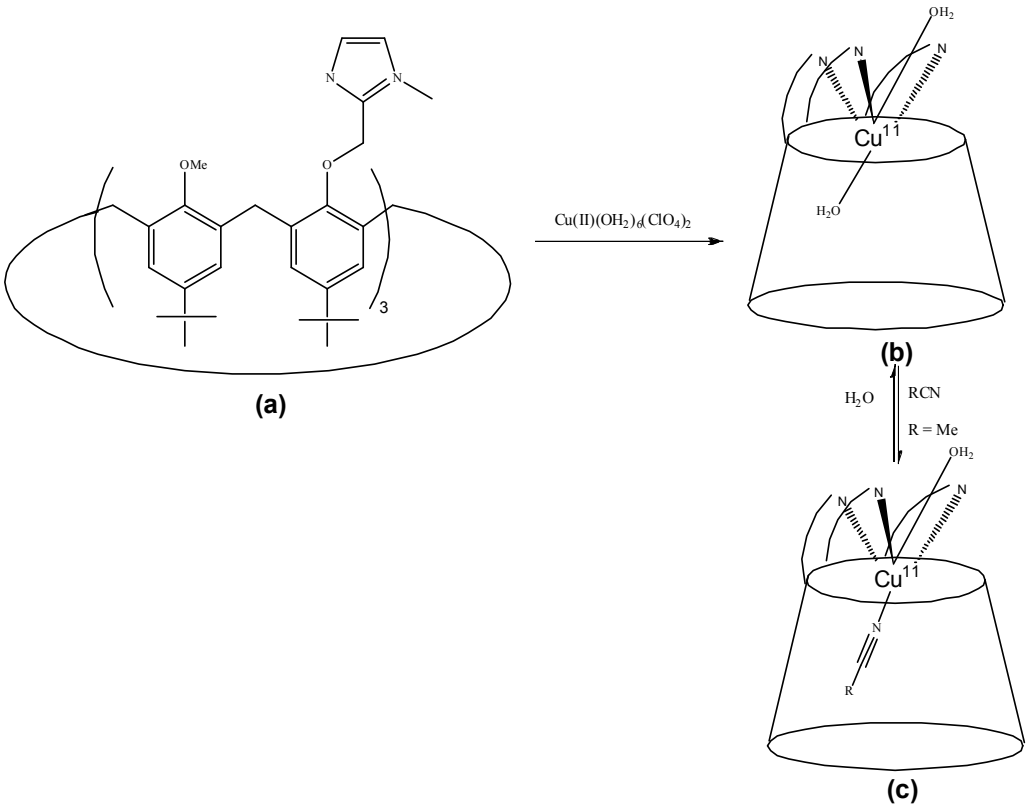
Çözünebilir ve fizyolojik şartlarda kararlı biyomimetik komplekslerin sentezi, önemli bir amaçtır. Bakır enzimleri ile ilgili çalışmalarından biri de, suda çözünebilen biyomimetik kuprik kaliks[6]aren kompleksinin (Şekil 2.15) sentezidir (Rondelez 2002[b]). Bu model, CO ya karşı metal iyonu için kuvvetli ilgiye sahip harici bir ligandın etkileşebileceği dört bağlanma bölgesine sahip bir $N_3Cu(I)$ kompleksinin oluşmasını sağlamaktadır. CO nın varlığı, IR spektrumundaki 2075 cm^{-1} deki absorbsiyon piki ile doğrulanmıştır. Bu kuprik kompleks, disproporsiyona ve hava oksidasyonuna karşı dayanıklıdır. Ayrıca bu model, üç imidazol grubuyla koordinasyon çevresi oluşturmakta ve enzimlerdeki tris(histidin) bağlanma bölgesini mimik etmektedir.



Şekil 2.15. Biyomimetik kuprik kaliks[6]aren

Her ne kadar hekzasülfonatlı kaliks[6]aren türevleri, 1,2,3-karşılıklı konformasyonu (Klinman 1996) tercih eden çok esnek moleküller olarak bilinseler de bir metal katyonunun bağlanması *host* moleküle rijitlik sağlamakta ve *p*-pozisyonu üzerinde sadece üç sülfonat grubu üzerinde nispeten daha az elektrostatik itme sonucu koni konformasyon tercih edilmektedir (Rondelez 2002[b]).

Bakır enzimleri, redoks proseslerinde bulunduğundan bu kaliksaren-bazlı ligandlara Cu(II) nin koordinasyonunun araştırılması çok önemlidir. Bu şekilde ilk bakır komplekslerinin yapısı ve *host-guest* davranışı incelenmiştir. Kompleksin diklormetan çözeltisine MeCN ilavesinden sonra MeCN ve metal merkezi arasındaki etkileşimden dolayı, tetrahedral geometrinin trigonal bipiramidal yapıya doğru yöneldiği gözlenmiştir. Ayrıca propiyonitril veya allil nitril ilavesi, elektron paramanyetik rezonans (EPR) ve görünür spektrumda önemli değişikliklere neden olurken daha hacimli benzilnitril etkisiz olmuştur. Bu durum, kompleksin küçük moleküllerle seçimli etkileşebilen değişken bir koordinasyon bölgesine sahip



Şekil 2.16. Kuprik kaliks[6]aren bir moleküler huni olarak davranışının şematik gösterimi

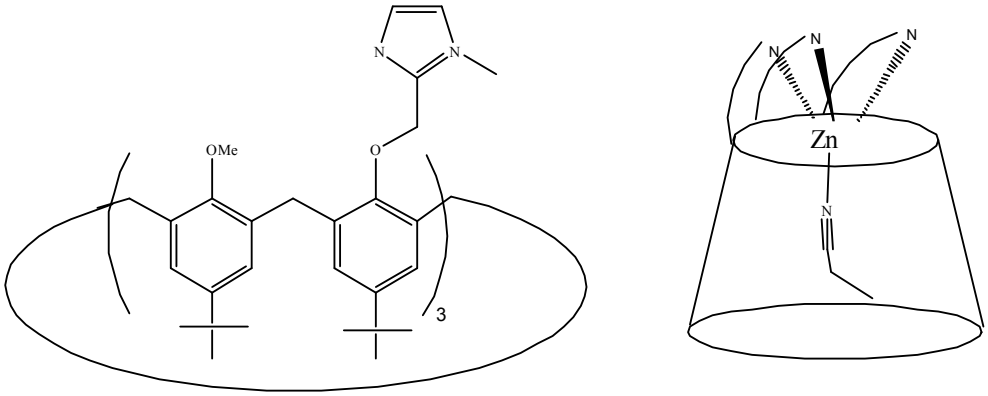
olduğuna işaret etmektedir. Kaliksaren hidrofobik boşluğu, dimerizasyona karşı metal merkezini korumakta ve aynı zamanda organik moleküller için bir moleküler huni olarak rol oynamaktadır (Şekil 2.16) (Le Clainche 2000[b]).

2.8.3. Biyolojik sistemlerde Zn(II) nin önemi

Çinko, iki yüzden daha fazla enzimin bir bileşenidir. Çinko enzimlerinin aktif bölgeleri, enzimin spesifik fonksiyonunu etkileyen özelliğe sahip üç veya dört aminoasit grubu ile protein iskeletine bağlı bir çinko merkezine yer vermektedir. Farklı çinko enzimleri, aktif bölgede farklı aminoasit gruplarını kullanmakta ve bu sebeple çinkonun kimyası, onun koordinasyon çevresiyle ayarlanmaktadır. Çinko(II) iyonu, biyolojik olarak gerekli bir iyondur. Aktif bölgelerinde çinko(II) içeren enzimlerin sayısı arttıkça önemi de artmaktadır (Lipscomb ve Strater 1996, Auld 1997). Literatürde tripodal ligandlara yer veren çinko enzimlerinin biyoorganik kimyası açıklanmıştır (Parkin 2000). Bu enzimler, başlıca hidrolitik proseslerde bulunmakta fakat aynı zamanda alkollerin tersinir oksidasyonunu da katalizlemektedirler. Bu sebeple, enzim aktif merkezi, amitler, karboksilik asitler, aminler, alkoller, aldehitler gibi farklı fonksiyonel gruba sahip moleküllerle etkileşmektedirler. Farklı araştırma grupları, makrosiklik triaminler, tris(imidazolil)-fosfinler veya anyonik tris(pirazolil)-boratlar gibi ligandların farklı özelliklerini kullanan çinko merkezinin koordinasyon çevresini yapısal olarak modellemişlerdir (Ruf 1997, Bergquist ve Parkin 1999). Tüm bu modeller, Zn-hidroksit kompleksler üzerine odaklanmıştır.

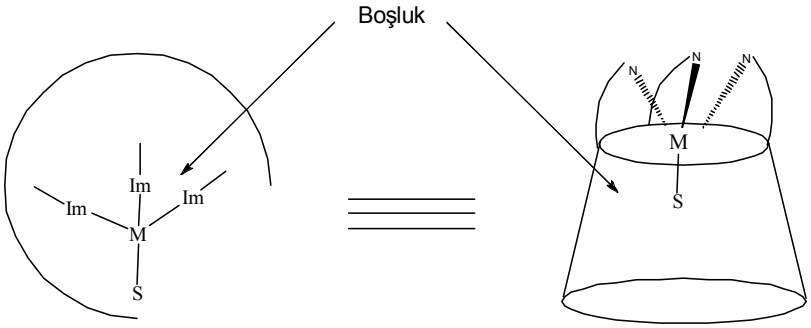
2.8.4. Yapısal olarak kaliksaren bazlı Zn(II) kompleksleri

Seneque ve ark. (2000), çalışmalarını bir supramoleküler sisteme genişletmişlerdir. Bu sistem, bir koordinasyon çekirdeğine sahiptir ve bundan dolayı çinko proteinlerinin aktif merkezini mimik etmektedirler. Bu kaliks[6]aren bazlı sistem (Şekil 2.17), çok kullanışlı olmuştur. Çünkü N-donör seti sebebiyle sterik engel ve elektronik özelliklerin her ikisinin ayarlanmasına izin vermektedir. Bu ligand, bir Zn(II) iyonuna koordinasyon konusunda kayda değer bir biyomimetik dikatyonik çinko-su kompleksi oluşturmuştur.



Şekil 2.17. Biyomimetik kaliks[6]aren ve Zn kompleksi

Hidrofobik boşluk, yine nötral moleküller için seçimli bir moleküler huni görevi yapmıştır (Şekil 2.18). ^{1}H NMR spektroskopi çalışmaları, aminler, alkoller, amitler veya nitrillerin su ile kolay yer değiştirdiğini göstermiştir. Bu çok duyarlı fakat kararlı reseptör, hem *guestlerin* kimyasal özelliğine hem de onların hacim ve şekline bağlı olarak seçimli olmuştur. Primer aminlerle metal merkezine koordinasyon, stokiyometrik ve kantitatiftir. Asetamit, etanol ve DMSO için Zn(II) ye bağlanma, sudan 20-30 kat daha kuvvetli olmuştur. Ayrıca, bu çalışmada DMF de metal merkezine nitrillerden daha kuvvetli bağlanarak mükemmel bir *guest* olmuştur. Ayrıca propiyonaldehit ve asetik asit gibi daha zayıf donör moleküller de bile bağlanma gerçekleşmiştir. Bu durumlarda nedense su molekülleri dominant olmaktan uzak kalmaktadır. Son olarak, eter, THF, aseton, ikincil, üçüncül ve aromatik aminler herhangi tespit edilebilen bir koordineli tür vermemiştir. 2-propanolün koordinasyonu, 1-propanolünkinden 30 kat daha az olmuştur. Etanol ise 1-propanolden çok daha kuvvetli koordine olmuştur (Seneque 2001[a]). Aynı çalışma grubu, biri etanolle diğeri de formamitle olan iki çalışma daha yapmıştır. X-ray yapıları, kaliks[6]aren *hostu* ve *guestler* arasında hidrojen bağı ve CH/π etkileşimlerinin komplekslerin kararlılaştırılmasında önemli bir rol oynadığını ortaya çıkarmıştır. Bunlar, bir terminal alifatik alkol veya amit ligandı sunan kararlı dört-koordineli Zn(II) dikatyonik komplekslerin ilk örneklerini vermiştir. Her iki bileşikteki mononükleer çinko, biyolojik sistemlerde enzim/substrat kompleksleri konusuyla çok ilgilidir. Bu örnekler, benzer kararlılaşma etkileşimleri sunan enzimler olan çinko-peptidaz ve LADH ın katalitik çevrimindeki türler için ilginç yapısal modellerdir. Ayrıca yeni veriler, LADH daki gibi kükürtce zengin koordinasyon



Şekil 2.18. Enzimlerin mononükleer aktif bölgesini modelleyen bir huni kompleks yapısının şematik gösterimi

çekirdeğinin, tetrahedral çinko alkol komplekslerinin kararlılaştırılması için spesifik bir gereksinim olmadığını, fakat hidrür transferi ile substrat aktivasyonu için gerekli olduğunu ortaya çıkarmıştır.

ter-Bütilkaliks[6]arenden çıkarak, tersiyer aminler, pirazoller veya benzimidazol grupları içeren üç-koordineli N ligandları da sentezlenmiştir. Bir tetrahedral çinko dikatyonunu biyomimetik bir ortamda karşılaştırmak amacıyla tüm serilerin özelliği araştırılmıştır. Çalışma, benzimidazol ve pirazolün de imidazol bazlı ligandlarların komplekslerininin kararlılaştırılması için uygun N donörleri olduğunu göstermiştir. Koni konformasyonundaki kaliksaren yapısı, bir hidrofobik boşluk sağlamakta ve harici ligandı (MeCN) sarmaktadır. Üç piridin grubu taşıyan kaliksarenin stokiyometrik şartlarda çok iyi tanımlanmış bir kompleks oluşturmadığı ortaya çıkmıştır. Bu nedenle piridinin tetrahedral dikatyonik çinko komplekslerinin kararlılaştırılması için N donör grupları olarak yeterince iyi olmadığı ortaya çıkmıştır (Seneque 2001[b]).

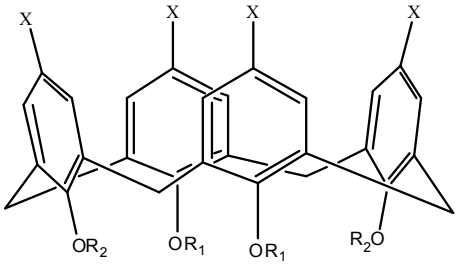
2.8.5. Biyomimetizm bazlı moleküler tanıma ve hidrojen bağının önemi

Moleküler tanıma, muhtemel spesifik bir fonksiyon olmanın yanında bir reseptör molekülün substratları bağlama ve seçimini içeren bir prosestir ve birçok organik kimyacıya yapay reseptörlerin dizaynı için esin kaynağı olmuştur. Karbonhidratlar (Davis ve Wareham 1999) ve aminoasitler (Schneider 2000) gibi biyolojik merkezlerin polar organik molekülleri tanıması, supramoleküler kimyanın güncel konularından birisidir. *p*-Pozisyonu üzerinde karbonhidratlar (gliko-

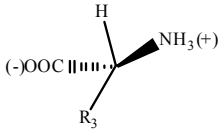
kaliksaren) (Budka 2000), aminoasitler (N-bağlı peptido kaliks[4]aren) (Sansone 1998, 1999) ve tiyoüre (Scheerder 1994, 1995) birimleri taşıyan kaliks[4]aren türevleri sentezlenmiştir. Bunlar, şekerler, aminoasitler ve anyonların kompleksleşmesi için hibrit reseptörlerin örneklerini oluşturmuşlardır.

Elde edilen veriler, α-aminoasitlerin kompleksleşmesinin kaliksaren boşluğu içerisine aromatik veya alifatik bir apolar grubun (R) ilavesiyle meydana geldiğini ortaya koymuştur. L-Alanin, R metil grubunun küçük hacmi nedeniyle herhangi bir *hostla* kompleksleşmemektedir (Arena 1997[a], 1997[b]). Büyük ihtimalle R grubunun polaritesi nedeniyle L-Try için de kompleksleşme gözlenmemiştir.

p-Pozisyonu üzerinden sülfonat grubu olmayan kaliksaren **c** (Şekil 2.19), incelenen aminoasitlerin hiç birisiyle kompleks yapmamıştır. Bu durum, kaliksaren boşluğunda *guestlerin* apolar bağlanmasında yük yardımının önemini kanıtlamaktadır. Aminoasitler için etkili birçok reseptör, sentezlenmiştir. Bunlardan ikisi **a** ve **b** bileşikleridir. Şekil 2.19) *Hostlarının* (**a-e**) yetenekleri, **a** dan **e** ye doğru azalmaktadır. *Host* **a**, daha küresel bir boşluğa sahip iken *host* **e** de fenolik-O üzerindeki sübstitüentler, boşluğun uzaması sonucu uzaklaşmaktadırlar ve bu nedenle de aminoasitler için daha az kullanışlı olmaktadırlar. Tüm durumlarda kompleksleşme, CH-π etkileşimleri (L-Val ve L-Leu) veya π-π etkileşimleri (L-Phe, L-His, L-Trp) sebebiyle bir alifatik veya aromatik apolar grup ile meydana gelmektedir (Arena 1999). Bu çalışmalar, **a-e** bileşikleri kullanılarak metanol, etanol, *n*-propanol, aseton, bütanon ve asetonitril gibi *guestler* olan küçük nötral organik moleküller için genişletilmiştir. *Hostlarla* metanolün komplekleşmesi, gerçekleşmemiştir. Çünkü hidrofobik boşluk içinde küçük metil grubunun komplekleşmesi polar OH grubunun kısmi kompleksleşmesine neden olacaktır. Bu da hidroksil grubunun polar çözücülere daha az maruz kalmasına neden olacaktır. *Host* **e**, hostun olağan dışı konformasyonu nedeniyle herhangi bir *guest* ile komplekleşme yapmamıştır. Çünkü komplekleşme için uygulanabilir alan azalmıştır. *Host* **b**, etanol ve *n*-propanol için daha etkili olurken konformasyonel olarak daha hareketli olan bileşik **a** aseton ve 2-bütanon için daha iyi bir bağlanma göstermiştir. Bu veriler, incelenen *hostların* kompleksleşme yeteneklerinin konformasyonel özellikleri ile sıkı sıkıya ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (Arena 2000).



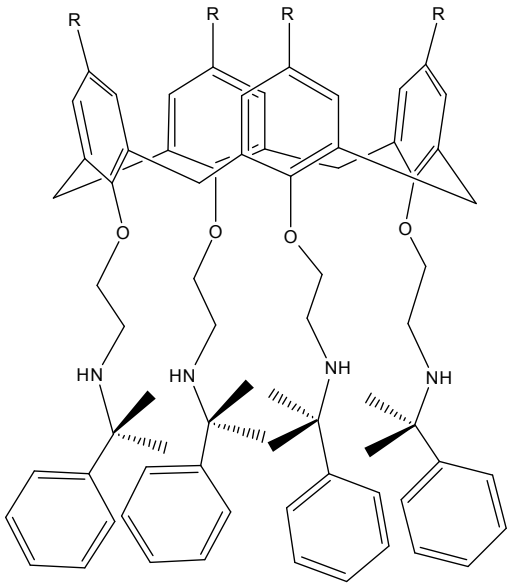
(a) X = SO_3H, R_1 = R_2 = H
(b) X = SO_3H, R_1 = R_2 = CH_2COOH
(c) X = H, R_1 = R_2 = CH_2COOH
(d) X = SO_3H, R_1 = H, R_2 = $CH_2CH_2OCH_2CH_3$
(e) X = SO_3H, R_1 = R_2 = $CH_2CH_2OCH_2CH_3$



(a) R_3 = (alifatik) L-Ala, L-Val, L-Leu
(b) R_3 = (aromatik) L-Phe, L-Tyr, L-His, L-Trp

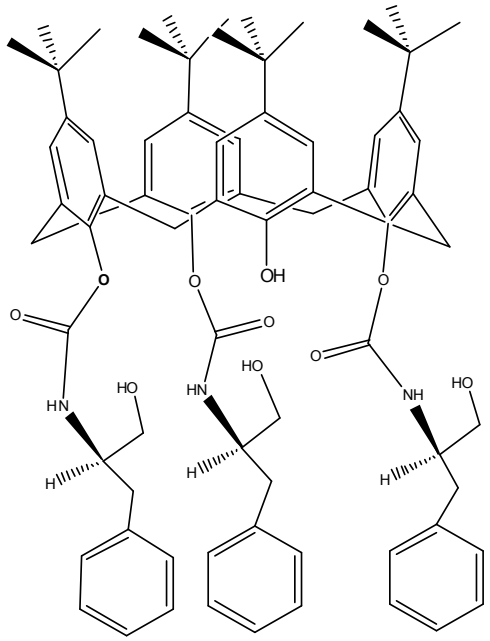
Şekil 2.19. Aminoasit kompleksleşmesinde kullanılan kaliks[4]aren türevleri

Aminoasitlerin ve kiral aminlerin sulu fazdan organik faza ekstrakte edildiği Tabakci ve ark. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada ise, S-(-)-feniletilamin bağlı kaliks[4]aren ve *p-ter*-bütilkaliks[4]aren türevlerinin (Şekil 2.20) seçilmiş α-aminoasitlerin ve kiral α-aminleri oldukça yüksek oranlarda verimli ekstrakte ettiği, fakat kayda değer bir kiral seçimliliğin gözlenmediği sonucuna varılmıştır.



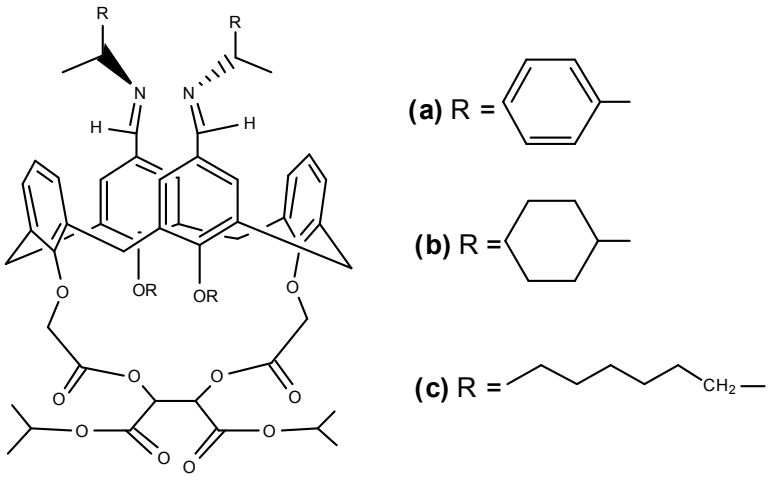
(a) R = *ter*-bütil
(b) R = H

Şekil 2.20. S-(-)-feniletilamin bağlı kiral *p-tert*-bütilkaliks[4]aren ve kaliks[4]aren



Şekil 2.21. Fenilalaninol bağlı kiral *p-ter*-bütilkaliks[4]aren triamit türevi

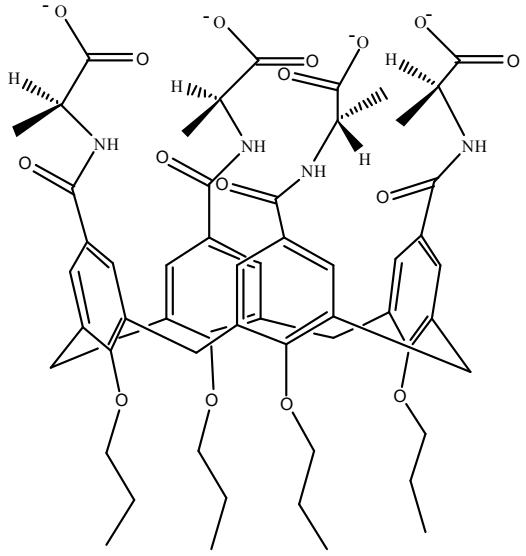
Erdemir ve ark. (2007), yaptıkları bir çalışmada ise D-/L-fenilalaninol sübstitüeli *p-ter*-bütilkaliks[4]aren triamit türevlerini (Şekil 2.21) sentezlemişler ve bu yeni kiral kaliks[4]aren bileşiklerini seçilmiş bazı aminoasitlerin sıvı-sıvı ekstraksiyon çalışmalarında *host* olarak kullanmışlardır. Sonuçlar, sentezlenen kaliks[4]aren triamit türevlerinin tüm aminoasit türleri için çok etkili olduğunu, fakat herhangi bir seçimliliğin oluşmadığını göstermiştir. Ayrıca gözlenen kuvvetli etkileşimde hidrojen bağlarının katkısının büyük olduğu yorumuna varılmıştır.



Şekil 2.22. α-Aminoasit esterlerinin kiral tanınmasında kullanılan kiral kaliks[4]aren Schiff baz türevleri

Diğer taraftan, Durmaz ve ark. (2007), hem *p*-pozisyonu hem de fenolik-O üzerinden yeni kiral kaliks[4]aren Schiff baz türevlerini (Şekil 2.22) sentezlemişler ve α-aminoasit esterlerinin kiral tanıma çalışmalarında kullanmışlardır. Sonuçlardan, sentezlenen kiral reseptörlerin seçilmiş α-aminoasit esterleri için iyi bir kiral tanıma gösterdiği görülmüştür. Ayrıca bu bileşiklerin moleküler tanıma kabiliyetleri ve enantiyoseçimlilik özellikleri termodinamik açıdan da değerlendirilmiştir.

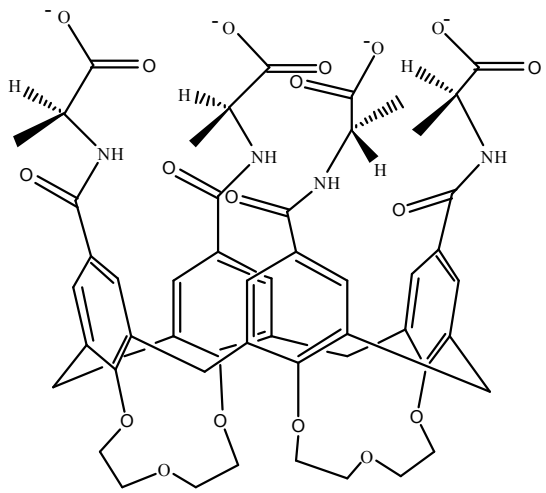
Nötral ve sentetik *hostlarla* karboksilat anyonlarının tanınması, supramoleküler kimyanın diğer güncel konularından birisidir. Çünkü bu türler, biyolojik sistemlerin çeşitli moleküler tanıma fenomenlerinde bulunmaktadırlar. Kiral karboksilatın enantiyoselektif tanınması da önemli bir amaçtır. Çünkü değişik farmakolojik bileşikler, bu fonksiyonel gruba sahiptir. Karboksilat tanıma için biyomimetik reseptörlerde bağlama birimleri olarak doğal aminoasitlerin kullanılması konusunda çok az sayıda çalışma vardır. Peptit NH gruplarının temelde daha düşük hidrojen bağı donör kabiliyeti, diğer zayıf kovalent olmayan etkileşimlerin (π/π, CH/π gibi) kooperatif hareketiyle güçlendirilebilir ve oluşacak *host-guest* bağlanması artırılabilir. *p*-Pozisyonu üzerinden L-Alanin birimleriyle fonksiyonlandırılmış çeşitli koni konformasyonundaki kaliks[4]aren türevleri sentezlenmiştir (Sansone 1998). Bunlardan dört aminoasit grubu içeren bir örneği (Şekil 2.23), nötral pH ta suda çözünmektedir.



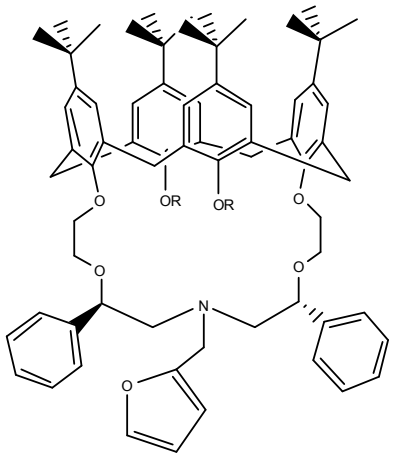
Şekil 2.23. Dört aminoasit grubu içeren hareketli kaliks[4]aren türevi

Şekil 2.23'te görülen *hostun* farklı *guest* moleküllleriyle, özellikle de kiral aminoasitlerle kompleksleşme özellikleri, ^{1}H NMR titrasyon deneyleriyle incelenmiştir. L-fenilalaninin veya onun metil ester hidroklorürürünün konformasyonları arasında artan konformasyonel hareketlilikten dolayı, kompleksleşmenin kaliksaren boşluğu içerisinde meydana gelmediği görülmüştür. Bu nedenle kaliks[4]arenin fenolik-O bölgesindeki 1,2-pozisyonunda olan iki kısa di(etilen glikol) birimi, rijit koni konformasyonundaki konformasyon hareketliliğini engellemektedir (Arduini 1995).

Şekil 2.24'teki *hostun* ise kuaterner amonyum tuzları, aminoasitler ve metil ester hidroklorürleri ile komplekleşme özellikleri, pH 7,3 ve D_2O içerisinde (fosfat tamponu kullanılarak) değerlendirilmiştir. Bağlanma sabiti değerleri, rijit koni peptidokaliksarenin hareketli koni analogundan çok daha etkili olduğunu açıkça göstermiştir. Tüm *guestlerin* kompleksleşmesinde, tanıma prosesinde rijitliğin önemi yine açığa çıkmıştır. Veriler, ayrıca metil esterli aminoasitlerin Zwitter iyonlarınkinden daha iyi kompleksleştiğini göstermiştir. Çünkü daha iyi tamamlayıcılık, sadece bir pozitif yüklü substrat bulunduran tetra anyonik *hostla* (Şekil 2.24) başarılmıştır. Aromatik aminoasitler, alifatik olanlara göre daha kuvvetli kompleksler oluşturmuş ve triptofan için en yüksek birleşim sabiti göstermiştir. Trp nin indol çekirdekleri arasındaki etkileşim, diğer aminoasitlerin aromatik (π-π) veya alifatik (CH-π) grupları için olandan daha kuvvetli olabilmektedir. Ayrıca çok hidrofilik olan glisin ve onun metil esteri *host* ile kompleks oluşturmamıştır.



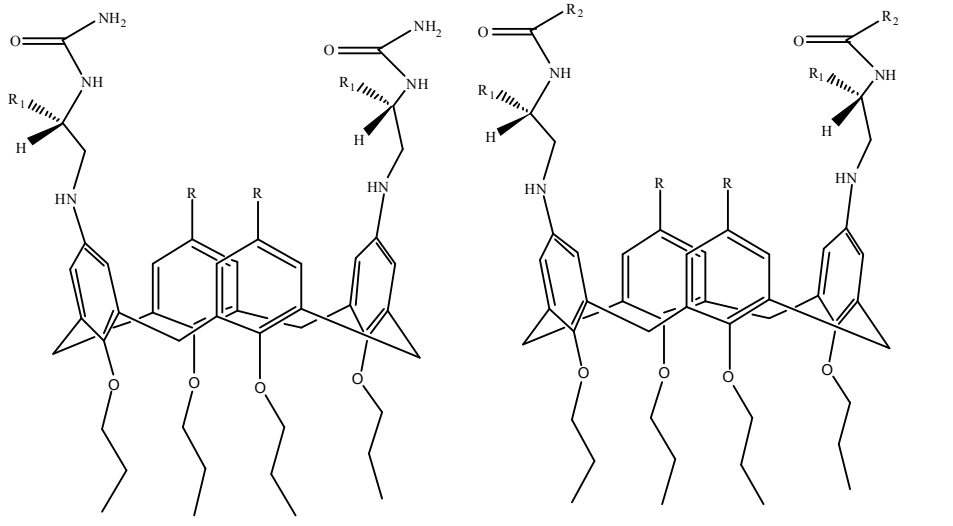
Şekil 2.24. Dört aminoasit grubu içeren rijit kaliks[4]aren-crown türevi



(a) R = H
(b) R = Me

Şekil 2.25. Rasemik karboksilik asitlerin enantiyoselektif tanınmasında kullanılan furfuril bağlı kaliks[4]azacrown bileşikleri

Demirtaş ve ark. (2008), yapmış oldukları çalışmada ise furfuril grubu taşıyan kaliks[4]azacrown eterleri (Şekil 2.25) sentezlemişler ve bunların rasemik karboksilik asitlerin enantiyomerlerinin enantiyoselektif tanınmasındaki davranışlarını ^{1}H NMR spektroskopisiyle inclemişlerdir. Sonuçlardan bu host bileşiklerinin seçilmiş karboksilik asitlerle 1:1 kompleksler yaptıklarını ve bu rasemik guestlere karşı farklı kiral tanıma özelliklerine sahip olduklarını göstermiştir.

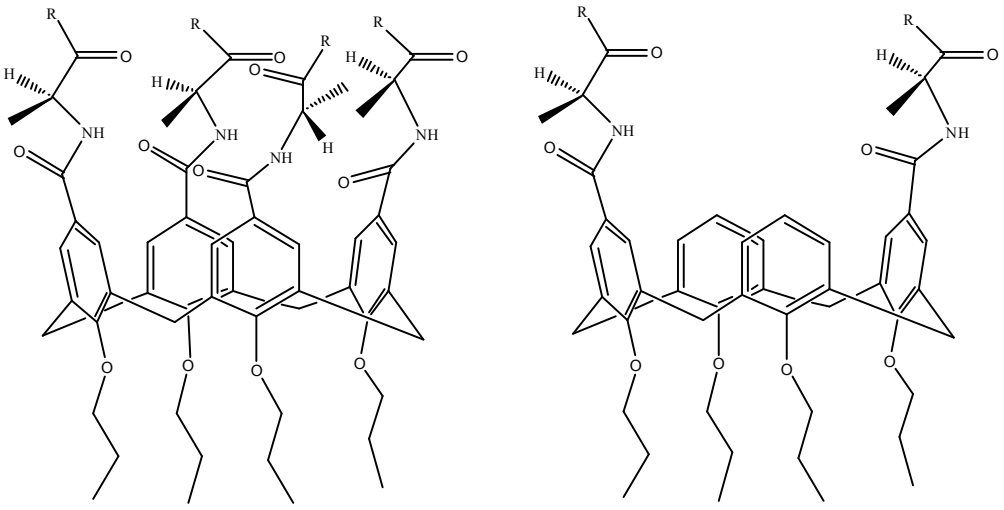


(a) $R_1 = CH_3$, $R = NHCOCH(CH_3)NH_2$
(b) $R_1 = Bn$, $R = NHCOCH(Bn)NH_2$

(a) $R_1 = CH_3$, $R_2 = CH_3$, $R = NHCOCH(CH_3)NHCOCH_3$
(b) $R_1 = Bn$, $R_2 = CH_3$, $R = NHCOCH(Bn)NHCOCH_3$
(c) $R_1 = CH_3$, $R_2 = Ph$, $R = NHCOCH(CH_3)NHCOCH_3$
(d) $R_1 = Bn$, $R_2 = Ph$, $R = NHCOCH(Bn)NHCOPh$
(e) $R_1 = CH_3$, $R_2 = CH_3$, $R = H$
(f) $R_1 = Bn$, $R_2 = CH_3$, $R = H$

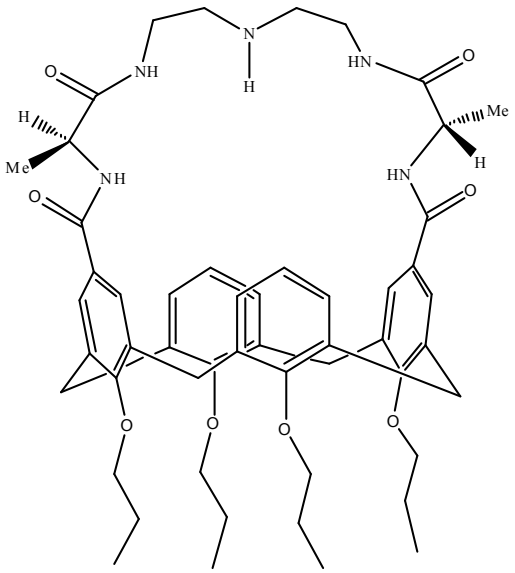
Şekil 2.26. C-bağlı peptidokaliks[4]aren bileşikleri

C-bağlı peptidokaliks[4]arenlerin (Şekil 2.26) tanıma özellikleri, ^{1}H NMR titrasyon deneyleriyle DMSO-d_6 içerisinde araştırılmıştır (Lazzarotto 2001). Lineer amonyum katyonları için hiçbir kompleksleşme gözlenmemiştir. N-korumalı aminoasitler veya karboksilik asitlerin anyonik formları ise kompleks yapmıştır. Bağlanmanın NH grupları ile gerçekleştiği yorumuna varılmıştır. N-bağlı peptidokaliks[4]arenler, $CDCl_3$ içerisinde karboksilik asitler ve amonyum katyonları ile kompleksleşip anyonlarla kompleks yapmazken, peptidokaliks[4]arenin tanıma özelliği, aminoasit birimlerinin kaliksaren platformuna bağlanma şeklinin değişmesi sonucu tersine dönmüştür. Difonksiyonlu C-bağlı peptidokaliks[4]arenlerin molekül içi hidrojen bağı yaptığı bulunmuştur. Bu da, kapalı bir boşluğa sahip koni konformasyonu kararlı hale getirirken, N-bağlı peptidokaliks[4]arenler (Şekil 2.27), açık yarık-tipi bir boşluğa sahip başka bir koni konformasyonunu tercih etmiştir. Uç kısımlarında dört amino grubu taşıyan C-bağlı tetra-fonksiyonlu peptidokaliks[4]arenler, (Şekil 2.26) protonlanarak pozitif yüklü suda çözünen reseptörleri oluştururlarken, N-bağlı suda çözünen peptidokaliks[4]arenler, negatif yüklü karboksilat uç gruplarına sahiptirler. Bu çalışmalar, enzimler, DNA gibi biyolojik olarak önemli *hostlar* ile iki sınıf reseptörün tamamen farklı etkileşim şekillerini ortaya koymaktadır.



R = OCH_3, OH, $NHNH_2$, $NHCH(CH_3)COOCH_3$

Şekil 2.27. N-bağlı peptidokaliks[4]aren bileşikleri

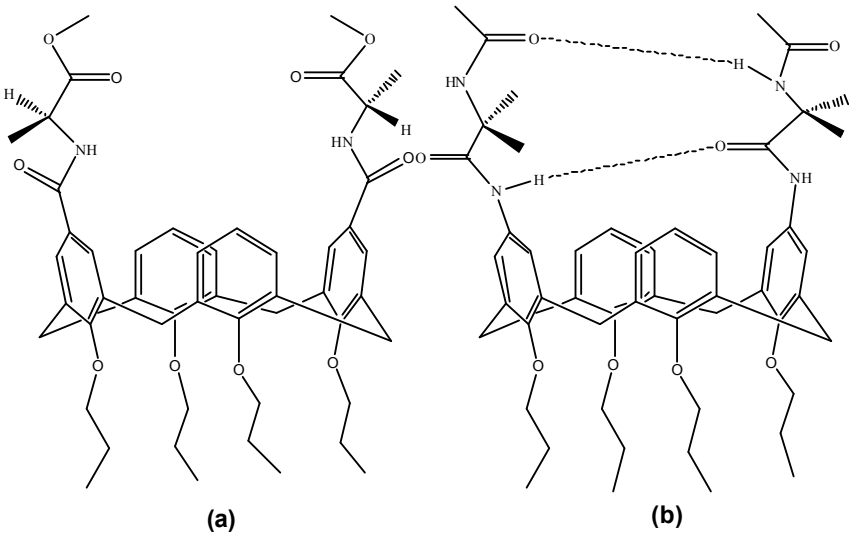


Şekil 2.28. Vankomisin mimik olarak kullanılan bir kaliks[4]aren türevi

Literatürde makrobisiklik peptidokaliksarenin (Şekil 2.28), peptidoglikanların D-alanil-D-alanin bölgesi için bir reseptör olduğu açıklanmıştır. Çalışmanın ilginç sonuçlarından birisi, peptido kaliksarenin *in vitro* (belirli bir bölgede) tavrı olmuştur. Bu durum, vankomisin grubu antibiyotiklerinkine benzemektedir ve onun '*gram*' bakterisine karşı seçimli antimikrobiyal aktivitesi, '*vankomisin'kinden* sadece küçük bir miktar daha az olmuştur (Casnati 1996). Ayrıca literatürde, çeşitli *guestlere* karşı *vankomisin* mimiğinin bağlanma yeteneği çalışılmıştır. *Vankomisin* analoğu olan bir *host* molekülünün, *vankomisin* antibiyotiklerinin hareket bölgesi olduğu düşünülen ala-ala kısmına önemli bir ilgiye sahip olduğu bulunmuştur (Frish 2000).

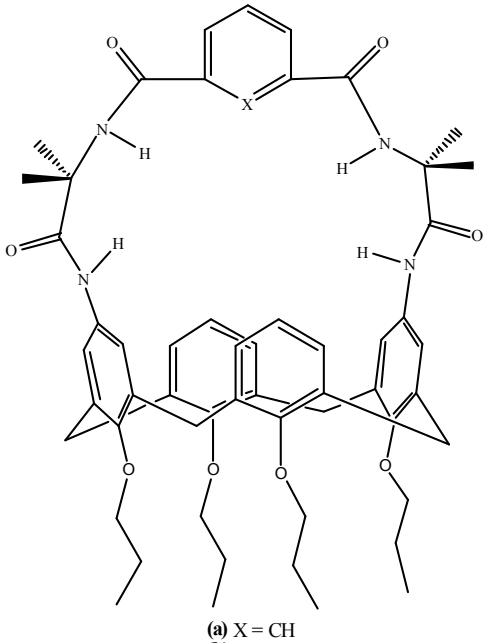
Hem N-bağlı ve hem de C-bağlı (Şekil 2.29) yarık tipi peptidokaliks[4]aren, iyonların ve polar organik moleküllerin tanınmasında çok zayıf reseptörler olmuşlardır. Bunun başlıca sebebi, artan konformasyonel esnekliğin yanında C-bağlı bileşiklerde büyük molekül içi hidrojen bağının da etkili olmasıdır (Şekil 2.29). C-bağlı peptidokaliks[4]arenler, konformasyonel esnekliği azaltmak ve özellikle anyonik *guestlere* karşı makrobisiklik reseptörlerin (Şekil 2.30) *host* özelliklerini araştırmak için uygun aromatik birimlere sahip bir başlıkla gerilmiştir.

Bu ligandların dötoro aseton içerisinde karboksilat anyonlarıyla kuvvetli kompleksler oluşturduğu ve hidrojen bağı ve π-π istiflenmesi sonucu benzoat anyonu için seçimli olduğu bulunmuştur. Koni kaliks[4]arenlerin artan konformasyonel

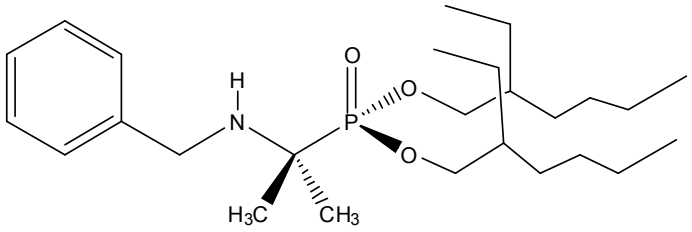


Şekil 2.29. C-bağlı (**a**) ve N-bağlı (**b**) peptidokaliks[4]aren türevleri

hareketliliğinin, 2,6-diaçilpiridin veya izofitaloil kısımlarıyla köprü oluşturularak engellendiği ve bunun sonucunda da reseptörlerin daha iyi ön-organizasyon sağlayarak verimi artırdığı sonucuna varılmıştır. Piridin grubu ve/veya kaliks[4]aren aromatik çekirdeği ile π-π etkileşimleri dışında amit NH bağlarıyla da oluşan hidrojen bağı sebebiyle aromatik karboksilatlar ve özellikle de benzoata karşı seçimlilik gözlenmiştir (Frish 2000, Sansone 2002).



Şekil 2.30. Biyomimetik reseptör olarak kullanılan başlıklı bir kaliks[4]aren türevi

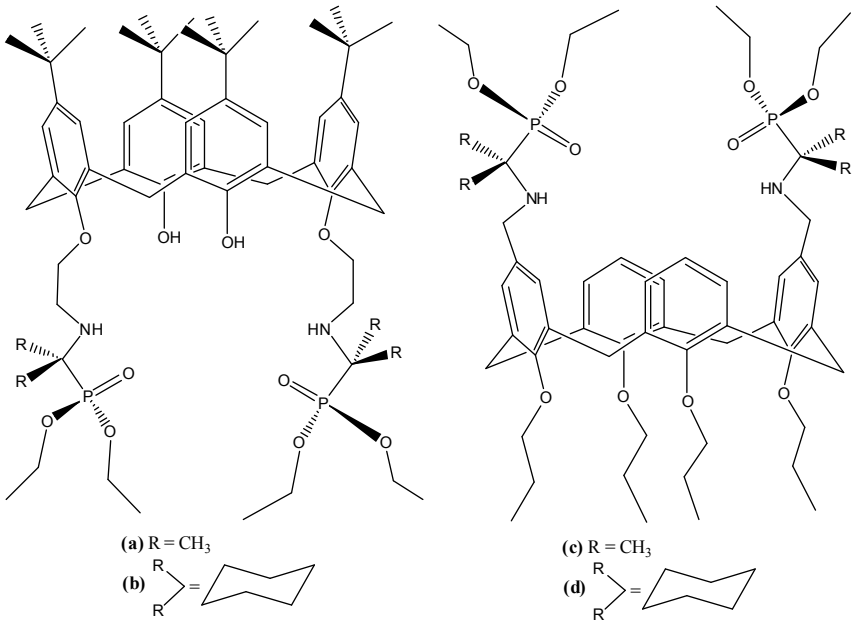


Şekil 2.31. Lineer bir α-Amino fosfonat bileşiği

Aminoasitler, nötral sulu çözeltilerde kuvvetli sarılmış Zwitter iyonları olarak bulunmaktadırlar. Bu bileşiklerin lipofilik membranlardan ekstraksiyonu ve transportu çok zor olmaktadır. Amonyum veya karboksilat gruplarını bağlayan birçok sentetik reseptör açıklanmış (Hiratani ve Yamaguchi 1990, Seel 1995) olmasına rağmen Zwitter iyonik aminoasitlerin transportu ile ilgili çok az örnek bilinmektedir (Sesler 1996, Antipin 1996).

α-Amino fosfonatlar (Şekil 2.31), hem amonyum (fosforil grubu ve azot elektron çifti ile) hem de karboksilat grupları (N-H bağı ile) için bir potansiyel bağlanma düzenine sahiptirler. Antipin ve ark. (1997), α-aminoasit fosfonatlarla yapılan bir polimer film üzerine desteklenmiş sıvı membran içerisinden aminoasitlerin transportunu incelemişlerdir. Burada kaliks[4]aren, rijit bir iskelet oluşturmaktadır ve tüm moleküle bir lipofiliklik sağlamaktadır. Bu amaçla başlangıç maddesi olarak 1,3-diaminokaliks[4]arenler seçilmiştir. Çünkü onlar cımbız tipi bir yapıya sahiptirler ve muhtemelen sterik engelin az olduğu uygun bir bağlanma şeklini benimsemişlerdir.

Şekil 2.32'de görülen reseptörler, *o*-nitrofenil-*n*-oktil eter içerisinde 0,1 M taşıyıcı ile emdirilmiş, gözenekli polimerik desteğe sahip bir sıvı membran içerisinden Zwitter iyonik aminoasitlerin transportunda taşıyıcılar olarak kullanılmıştır (Antipin 1997). Sonuçlar, **b** ve **d** (Şekil 2.32) *hostlarının* temelde aynı oranda aminoasitleri geçirdiğini ortaya çıkarmıştır. Burada alkil grubunun özelliğinin membran transport verimliliğinde önemli bir rolü olmadığı görülmüştür. Kaliks[4]arenin *p*-pozisyonu ve fenolik-O üzerinden amino fosfonat gruplarının bağlanması, aminoasitlerin transport oranında değişikliğe ve seçimliliğe yol açmıştır. Fenolik-O üzerinden bağlı kaliksaren türevi ve lineer aminofosfonat ile çalışılan histidin dışındaki aminoasitlerin transport oranı, önemli bir fark göstermemiştir. Kaliksarenin boşluk bölgesinin, histidinin Zwitter iyonik formuna, polar bir

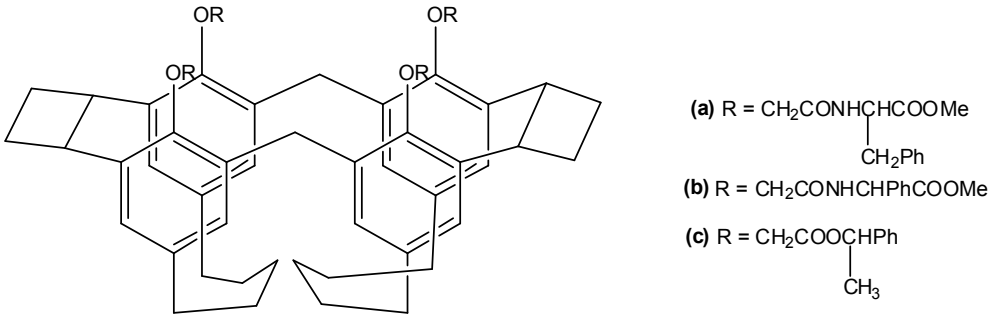


Şekil 2.32. α-Amino fosfonat grubu taşıyan kaliks[4]aren türevleri

mikroçevre tamamlayıcı oluşturduğuna işaret edilmiştir. Bununla birlikte karboksilat ve amonyum grupları ile histidinin imidazol yan zinciri, kaliksarenin amino fosfonat grubu ile etkileşen proton donör ve akseptör merkezine sahiptirler.

Taşıyıcı **a**'dan (Şekil 2.32) farklı olarak *p*-pozisyonu üzerinden bağlı kaliksaren **c**'nin (Şekil 2.32) özel moleküler boşluğu, aminoasitlerin yan zincirlerinin kompleksleşmesinde ve tanınmasında etkili olmaktadır. Yapılan çalışmaların bir başka sonucu da, membran içerisinden bazı aminoasitlerin transport oranının artmış olmasıdır. Örneğin; taşıyıcı **c** (Şekil 2.32), fenil alanini triptofandan 40 kat daha hızlı geçirmiştir. Bu sonuç, iki şeyi kanıtlamaktadır. Birincisi, kaliksarenin moleküler boşluğunun komlekleşmeye katıldığı, diğeride aminoasidin üç bölgeyle (karboksilat, amonyum grupları ve yan zincirlerle) etkileşiminin, transport verimliliğinin ve seçimliliğinin artmasına yol açtığıdır.

Okada ve ark. (1995), bir kiral kaliks[4]aren analoğunun (Şekil 2.33) sentezini ve aminoasitlerin kiral ekstraksiyon ve transport özelliklerini açıklamışlardır. Glisin, L-Alanin ve α-alanin hiçbir şekilde ekstakte edilmezken buna karşın L-fenilalanin ve L-triptofan kullanılan tüm reseptörlerle etkili bir şekilde ekstrakte edilmiştir. Burada ekstraksiyon verimlilik sırası (Phe>Trp>Ala>Gly) ise aminoasitlerin hidrofobikliği ile açıklanmaktadır. Her bir aminoasidin transport seçimlilik sırası, ekstraksiyondaki sıra ile yaklaşık olarak aynı olmuştur.

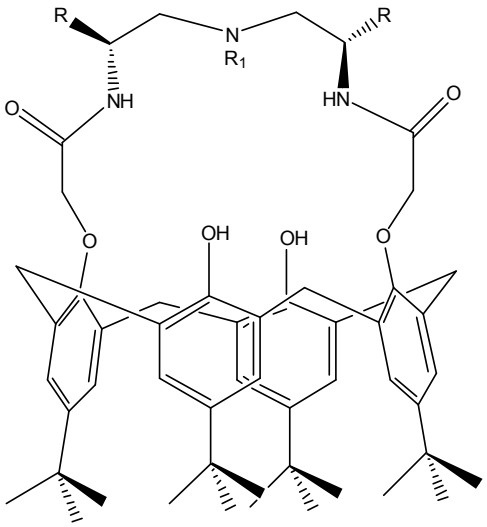


Şekil 2.33. Farklı yapıdaki kiral kaliks[4]aren ester türevleri

Reseptörlerle kuvvetli etkileşen L-aminoasitler, D-aminoasitlerden enantiyoselektif olarak daha çok transport edilmiştir. Kiral merkeze direkt bağlı bir fenil grubu taşıyan, fenilglisin grubuna sahip reseptör, en yüksek transport verimliliği göstermiş ve tüm reseptörler arasında enantiyoselektif olarak *guest* molekülün yapısını en net şekilde tanımıştır.

Azamakrosiklik bileşiklerin sentezi, onların biyomimetik ve katalitik sistemlerle ilişkisi ve ayrıca biyoloji ve tıpta bu tip şelatlama vasıtalarının uygulamaları sebebiyle son yıllarda oldukça çok ilgi çekmiştir. Literatürde, pendant kollar taşıyan makrosiklik ve çok-koordineli ligandların kompleksleri, biyolojik moleküller için modeller olarak incelenmiştir. Azamakrosiklik ligand ile elde edilen kompleksler tarafından DNA, RNA ve ilgili biyomoleküllerin moleküler tanınmasının geniş bir araştırması yapılmıştır (Costamagna 2000). Bir kaliksaren ve aminoasitten türevlendirilen, kiral bir poliaminden oluşan, bazı kiral kaliks(aza)crownlar (Şekil 2.34) sentezlenmiş ve bunların anyon resptörler olarak kiral tanıma kabiliyetleri ve uygulamaları incelenmiştir (He 2002). *Guest* olarak dibenzoat veya rasemik tartarik asit ve rasemik mandelik asit seçilmiştir. ^{1}H NMR spetrumunda rasemik tartarik asidin CH protonları için iki singlet resonansının (δ 6,03 ve 5,99 ppm) görülmesi sonucunda, L- ve D-tartarik asit türevlerinin *host* **a** (Şekil 2.34) ile etkileşimlerinin farklı olduğu anlaşılmıştır.

Host **a** (Şekil 2.34) ve tartarik asit arasındaki etkileşim, *hostun* kompleks yapıda kısmi koni konformasyonda bulunmasına neden olmaktadır. Çünkü uygun bir çevre, tartarik asidin rasemik mandelik asit ile kıyaslandığında nispeten daha büyük moleküler iskeletinin kompleks yapmasına faydalı olacaktır. Bu sonuç, kompleksin



(a) R = $(CH_3)_2CH$, $R_1 = CH_3$
(b) R = $(CH_3)_2CH$, $R_1 = H$

Şekil 2.34. Bazı anyonların kiral tanıma çalışmalarında kullanılan kaliks[4](aza)-crown türevleri

^{13}C NMR spektrumunda iki sinyalin (δ 37,2 ve 31,8 ppm) görülmesine dayandırılmaktadır. Ayrıca bu çalışmada UV-absorbsiyon deneyleri de yapılmıştır. Tüm bu sonuçlar, muhtemel H-bağı ve π-π etkileşimleri sonucu *host* **a** (Şekil 2.34) ile *guest* arasında bir etkileşim olduğuna işaret etmektedir. Bu etkileşim de D- ve L-tartarik asit türevlerini farklı olarak tanıma kabiliyetine ve farklı *guestler* ile de farklı tanıma konformasyonlarına sahiptir.

Halkalı peptitler, protein ikincil yapısı ve biyoaktif peptitlerin yapı-aktivite ilişkileri ile ilgili çalışmalar için kullanışlı maddelerdir. Ayrıca bu bileşikler, biyolojik membranlardan iyon transportunda (Marrone ve Merz 1992), nanotüpler (Clark 1998), enzim modelleri (Ishida 1995) veya yapay reseptörler (Ranganthan 1995, Stil 1996, Bailey 1992) olarak önemli bir rol oynamaktadırlar. Daha başka bu bileşikler, temel lineer moleküleriyle kıyaslandığında konformasyonel esneklikleri azalmıştır, fakat yine de oldukça büyük bir konformasyonel esnekliğe sahiptirler. Halkalı iskelete doğal olmayan aminoasitler (Struthers ve Cheng 1996), S-S zincirleri (Mu 1998, Huang 1998, Ranganathan 1998)ve yarı rijit aromatik birimler (Mu 1998, Huang 1998, Ranganathan 1998, Haubner 1996) gibi çeşitli gruplar bağlanmıştır. Bu nedenle sadece konformasyonel serbestliği azaltmak değil aynı zamanda ek bağlama bölgeleri sağlamak amacıyla halkalı peptitler taşıyan fenolik-O üzerinden bağlı kaliks[4]arenin ilk sentezi, Hu ve ark. (1999[a]) tarafından gerçekleştirilmiştir.

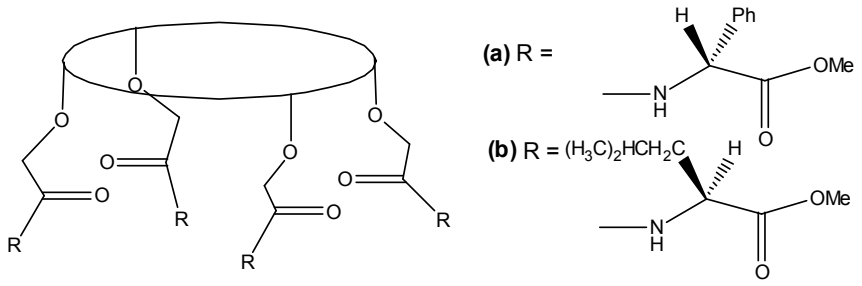
Makrosiklik *hostun* moleküler tanıma potansiyelini araştırmak için disodyum *p*-nitrofenil fosfat ile bağlanma deneyleri yapılmıştır. Karşılaştırma amacıyla siklopeptit ve fenolik-O üzerinden iki sübstitüeli kaliks[4]aren referans reseptörlerinin bağlanma sabitleri de tayin edilmiştir. Sonuçlar, kaliks[4]aren siklopeptitlerin bu üç referans reseptörden çok daha etkili olduğunu göstermiştir. Bunun nedeni, kaliks[4]aren biriminin katılmasının, tanımadan başlıca sorumlu fosfat grubu ve amit gruplarının moleküler tanımayı yeterince çok artırmasıdır. Böylelikle halkalı peptitlerin özellikleri geliştirilmiştir.

Aminoasitler ve peptit grupları biyolojik ilgisi ve ulaşılabilirliği nedeniyle kiral modifiyeli makrosiklik ligandlar elde etmek için kaliksarenlere bağlanmıştır. Siklopeptit ve kaliksaren türevli sadece birkaç çok-halkalı reseptör sistemi sentezlenmiş (Sansone 1998), karakterize edilmiş ve gelecekteki kiral tanıma ve kiral kataliz çalışmaları için uygun adaylar olarak sunulmuştur (Hu 1999[b]).

Selüloz, proteinler ve nükleik asitler gibi büyük biyolojik moleküllerin şekillerini kararlılaştırmada, hidrojen bağının büyük önemi vardır (Stryer 1988). Biyolojik sistemlerde peptitik hidrojen bağlarının kooperatif hareketi, organizasyon, birleşme ve moleküler tanıma proseslerinde önemli bir rol oynamaktadır (Fiammengo 2001).

p-Pozisyonu üzerinde L-alanin ve dipeptit birimleri bağlı kaliks[4]aren hibrit reseptörlerin sentezi açıklanmıştır (Seneque 2001[a]). Molekül içi H-bağları ile organize olmalarını açıklayan *p*-pozisyonu (Sansone 1998) veya fenolik-O üzerinden bağlı (Pena 1996) kaliks[4]aren tetra-(*o*-aminoasit veya dipeptit) üzerine çok az sayıda çalışma yapılmıştır. İki biyomimetik kompleksin X-ray analizi, *guest* ve kaliks[6]aren *host* yapısı arasındaki hidrojen bağının ve CH/π etkileşimlerinin kararlılaştırmada bir anahtar rol oynadıkları ortaya çıkarmıştır (Seneque 2001[a]).

Zinic ve ark. (Frkanec 2000), fenolik-O üzerinde her biri bir aminoasit birimi ihtiva eden bir, iki ve dörtlü hidrojen bağı oluşturan kaliks[4]aren türevlerini (Şekil 2.35) açıklamışlardır. Rebek ve ark. (Castellano 1997, 1999), α-aminoasitlere N-bağlı üreido kaliks[4]arenlerin sentez ve birleşme özelliklerini açıklamışlardır. Bu örneklerde, özellikle izolösin ve valin ile üre-üre birleşmesi meydana gelmektedir. Diğer aminoasitler, sadece basit fenilüreidokaliks[4]arenler (heterodimerler) ile birleşmeye neden olurlar. Daha önce üreido kaliks[4]arenlerin



Şekil 2.35. Farklı aminoasit metilester grupları bağlı kaliks[4]aren türevleri

dimerizasyonu üzerine genişletilmiş peptit zincirlerinin etkisi hiç araştırılmamıştı. Bu nedenle Rincon ve ark. (2001) ilk kez kaliks[4]aren üreidopeptitlerin dimerizasyonunu göstermişlerdir. Dört lösin (C-ucunda oktilamit olan) grubuna sahip kaliks[4]arenlerin sentezi ve birleşme davranışı, *p*-pozisyonu üzerindeki üre gruplarına ve ürelerin üzerindeki dört dipeptit ^{L}leu-^{D}leu-OMe zinciri taşımasına endeksli olmuştur. Polar çözücüde dimerizasyon gözlenmese de sadece yüzde birkaç polar çözücü ilavesi bile, monomerlere ayrışmayla sonuçlanmaktadır (Castellano 1999, Cho 2000, Schalley 1999, Mogck 1997). Bu durum, polar çözücüde birleşebilen sistemleri hazarlamada istenilen bir durumdur. Özellikle de ilaç transportu, iletimi, biyokataliz ve biyomoleküllerin tespiti ve bağlanması ile uyum içinde olabilecek bileşiklerin geliştirilmesi için istenilen bir durumdur. Bu sebeple Brewster ve ark. (2002), polar ve protik bir çözücüde hidrojen-bağlı ortamda kendiliğinden birleşmeye uğrayan ilk kaliks[4]aren türevini açıklamışlardır. Dimerizasyon için K_a değeri, 24:1 MeOH:H_2O çözücü karışımında 29000 M^{-1} olarak bulunmuştur. Bu değer, apolar çözücüde bir peptidilüreidokaliksaren için açıklanan değerden daha yüksektir. Bu tetrapeptidokaliks[4]aren, karboksil ucundan *p*-pozisyonu üzerinden bağlı bir aminoasit taşımaktadır. Bu yeni tip peptidokaliksarenlerin dimerizasyon ve tanıma özellikleri, NMR ve kütle spektroskopisiyle çalışılmıştır. Kaliksaren çözeltisine arginin ve lisinin ilavesinin aminoasitin kaliksarenle 1:1 kompleksler oluşturmasına ve kaliksaren dimerinin ayrılmasına neden olmaktadır. *Guest* ilavesiyle kaliksaren dimerlerinin ayrılması sonucu, daha önce açıklanmamıştı. Bu çalışma, biyolojik çevrelerde moleküler tanıma için kaliksarenlerin kullanımına yol açmıştır.

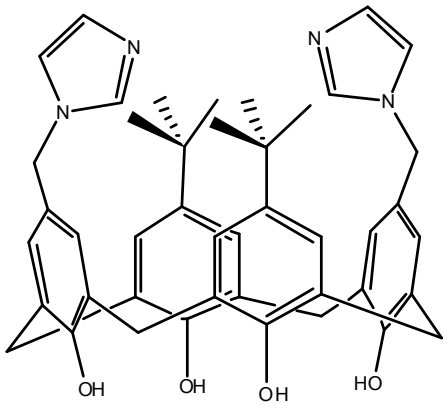
Nomura ve ark. (Nomura 1999), fenolik-O üzerinde aminoasit taşıyan kaliksarenleri sentezlemişlerdir. Bu kaliksarenlerin hidrofilik yalancı boşluklarında

Na^+ ve Ag^+ gibi metal iyonlarına karşı molekül içi hidrojen bağının, bağlanma kabiliyeti üzerine etkisi çalışılmıştır. Sonuçlar, glisin, L-alanin, L-valin ve L-fenil alanin gibi aminoasitlerin bağlanmasının, kaliksarenlerin bağlanma bölgelerinin kararlılaşmasına neden olduğunu ortaya çıkarmıştır. Nomura ve ark. (2000), dairesel molekül içi hidrojen bağıyla hidrofilik yalancı boşluklarını kararlılaştırmak için fenolik-O üzerinde aminoasit gruplarına sahip *p-ter*-bütilkaliks[4]aren türevlerinin polimorfizmi üzerine çalışmalarını genişletmişlerdir. Ito ve ark. (2000), aminoasit grupları taşıyan kiral bishomodiazakaliks[4]areneleri hazırlamışlardır.

Kaliksarenlerin oldukça iyi fonksiyonelliği ve konformasyonel esnekliği, ürünlerin izolasyonunu ve karakterizasyounun zorlaştırmaktadır. Her nedense konformasyonel serbestlilik, mono bakır kompleksler için enzim modellerinin dizaynına olanak sağlamaktadır. Kaliks[6]arenlerin rijit ön-organizeli boşluk yapısı, *guest* tanıması için şarttır. Kaliks[6]aren platformuna aminoasit esterin bağlanmasıyla kovalent olmayan etkileşim, kaliks[6]aren türevlerinin konformasyonel kararlılığına katkıda bulunabilmektedir. Ayrıca kiral merkezler, *guestler* için bir asimetrik çevre sağlamaktadır. Bunu göz önünde tutarak Yuan ve ark. (2000), aminoasit ester gruplarıyla 1,3,5-trimetoksi-*p-ter*-bütil kaliks[6]aren iskeletinin kiral modifikasyonunu başarmışlardır. Onlar, ayrıca bu bileşiğin konformasyonel davranışını da çalışmışlar ve konformasyonların aminoasit gruplarından çok fazla etkilendikleri sonucuna varmışlardır.

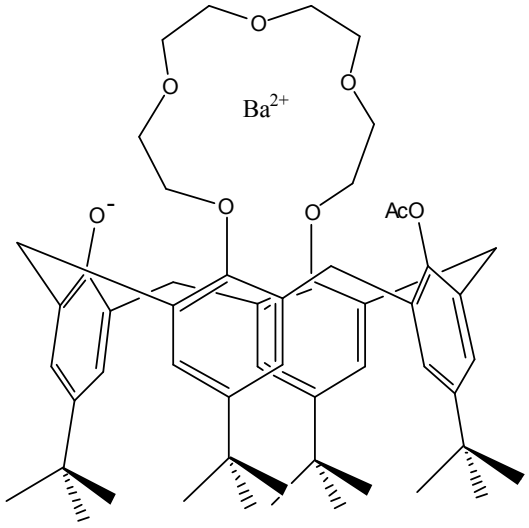
2.9. Açiltransferaz enzim mimik

Reseptörlerde farklı bağlanma etkileşimlerini birlikte çalışmak, esneklik ve seçimlilik ortaya çıkarmaktadır. Bu nedenle supramoleküler enzim mimiklerin katalitik özellikleri için fonksiyonel grupların birlikteliği önemlidir. Özellikle imidazol grupları, hidrolitik proseslerde ve aldol tipi kondensasyon reaksiyonlarının iyileştirilmesinde bir asit-baz çifti veya nükleofil olarak sıkça kullanılmıştır. Son yıllarda Dospil ve Schatz (2001) tarafından trans-açiltransferaz aktivitesi gösteren metalsiz enzim mimik olarak kullanılabilecek farklı pozisyonlarında imidazol grubu taşıyan kaliks[4]arenler (Şekil 2.11) açıklanmıştır. *p*-Pozisyonu üzerinden bir nükleofilik grubun bağlanması, başlangıç reaksiyon oranında bir artışa neden olmuştur. Makrosiklik yapı, halkalı olmayan katalizörle kıyaslandığında hidroliz



Şekil 2.36. Açiltransferaz-mimik olarak kullanılan bir imidazol bağlı kaliks[4]aren türevi

%13, katalizörsüz hidrolize karşı ise %52 lik bir artış oranı elde edilmiştir. Katalitik grupların karşılıklı olarak bağlı olduğu kaliks[4]aren dimidazol kullanıldığında, başlangıç reaksiyon oranı iki katına çıkmıştır. Bu sonuç katalitik grupların bir tür kooperatif hareketine bağlanmıştır. pH 6,3 te imidazol birimlerinin yaklaşık %50 si protonlanmıştır ve bu pH taki bir sulu çözeltide ester hidrolizi için her iki imidazol grubu asit-baz katalizörü olarak rol oynayabilmektedir.



Şekil 2.37. Bir transaçilaz katalizörü olan *p-ter*-bütilkaliks[4]aren-crown-5-baryum(II) kompleksi

Bu konuda yapılan bir başka çalışmada ise Ungaro ve ark. (1991), *p-ter*-bütilkaliks[4]aren-crown-5-baryum(II) kompleksinin *p*-nitrofenil asetatın hidrolizinde oldukça etkili bir transaçilaz katalizörü olarak davrandığını göstermişlerdir. Görüldüğü gibi bu çalışmada da yine bir kaliksaren-metal kompleksinin enzim-mimik olarak kullanıldığı anlaşılmaktadır. Literatür bilgilerine göre metalsiz olarak kaliksarenlerin enzim-mimik modeli olması üzerine Dospil ve Schatz (2001) tarafından önerilen model dışında başka bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada ise yukarıda bahsedilen literatürlerin ışığı altında açiltransferaz mimikleri olarak metalsiz yeni monomerik kaliks[4]aren türevlerinin yanında polimerik analoglarının da hazırlanarak enzim-mimik özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

3. DENEYSEL KISIM

3.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

Erime noktası tayinleri, Büchi B-540 marka erime noktası tayin cihazı ile yapıldı. ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları, Varian 400 MHz spektrofotometre ile $CDCl_3$ veya DMSO-d_6 içinde alındı. IR spektrumları, KBr diskleri halinde Perkin Elmer 1605 FT-IR spektrofotometresinden alındı. TGA analizlerinde 3-15 mg örnekler alındı ve Seteram thermogravimetric analyzer cihazı ile 10˚C/dk ısıtma hızı ile oda sıcaklığından 900˚C e kadar sıcaklık aralığında ve 20 mL/dk akış hızı ile argon atmosferi altında analiz edildi. UV-visible ölçümlerinde ise PG Instruments T80+ UV-visible spektrofotometresi kullanıldı. Elementel analiz tayinleri, Leco CHNS-932 cihazı ile yapıldı. Çözeltilerinin pH ayarlamaları için Orion 420A pH metresi kullanıldı. Tüm ölçümler en az 3 kez tekrarlandı.

İnce tabaka kromatografisi, silika jel (SiO_2, Merck 60 F_{254}) ile kaplanmış alüminyum plakalar kullanarak yapıldı. Kolon kromatografisi işlemlerinde silika jel 60 (Merck, tanecik büyüklüğü 0,040-0,063 mm, 230-240 mesh) kullanıldı. CH_2Cl_2, $CaCl_2$'den ve MeOH, Mg üzerinden distillenip kullanıldı. Toluen CaH_2, tetrahidrofuran sodyum/benzofenon üzerinden geri soğutucu altında kaynatılarak kurutulduktan sonra fraksiyonlu destilasyonla destillendi. Deneylerde kullanılan maddeler analitik saflıkta olup, Merck ya da Sigma-Aldrich firmasından alındı. Tüm sulu çözeltiler, Millipore Milli-Q Plus su arıtma cihazıyla saflaştırılan saf su ile hazırlandı.

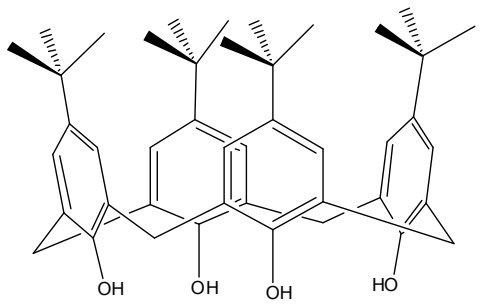
3.2. Kaliks[4]aren Bileşiklerinin Sentezi

Bu çalışmada bir kısmı literatürdeki metotlara, diğerleri ise yeni geliştirilen metotlara göre olmak üzere herbiri kaliks[4]aren türevi olan toplam 28 adet organik madde sentezlendi ve bu bileşiklerin genel sentetik prosedürleri aşağıda verildi.

3.2.1. Monomerik kaliks[4]arenlerin sentezi

3.2.1.1.5,11,17,23-*ter*-Bütil-25,26,27,28-hidroksikaliks[4]aren (1)

100 g (0,665 mol) *p-ter*-bütil fenol, formaldehit (%37; 62,3 mL; 0,83 mol) ve NaOH (1,2 g; 0,03 mol) 1 L'lik bir balona alınır. Reaksiyon karışımı, bir yağ banyosu içerisinde sıcaklığı 110-120^{o}C'da sabit tutularak ksilol başlığı takılı bir geri soğutucu sisteminde, azot gazı altında 1,5-2 saat ısıtılır. Bu esnada reaksiyon karışımı viskoz bir halden önce turuncu renge daha sonra da katı sarı bir kütleye dönüşür. Bu noktada karışım oda sıcaklığına kadar soğutulur ve 800-1000 mL difenil eter ile süspanse edilip 1 saat oda sıcaklığında karıştırılır, azot girişi ve bir ksilol başlığı takılır, balon ısıtılarak suyun ortamdan uzaklaştırılması ve karışımın berraklaşması sağlanır. Su çıkışı tamamlandığında karışım bir geri soğutucu takılarak 1,5-2 saat kaynatılır. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığına soğutularak üzerine 1 L etil asetat ilave edilerek 1 saat karıştırılır ve sonra da çökmenin tamamlanması beklenir. Oluşan beyazımsı çökelek süzülüp iki kez 100 mL etil asetatla, bir kez 200 mL asetik asitle ve en son su ile yıkanır. Kurutulan 66,5 g (%62) ham ürün toluenden yeniden kristallendirilerek 61,6 g parlak, beyaz kristal yapıda başlangıç maddesi **1** elde edilir. E.n.: 344^{o}C (Lit., 344-346^{o}C) (Gutsche 1990). ^{1}H NMR ($CDCl_3$), δ (ppm): 1,20 (s, 36H, Bu^t); 3,45 (d, 4H, $ArCH_2Ar$); 4,25 (d, 4H, $ArCH_2Ar$); 7,05 (s, 8H, ArH); 10,35 (s, 4H, OH).

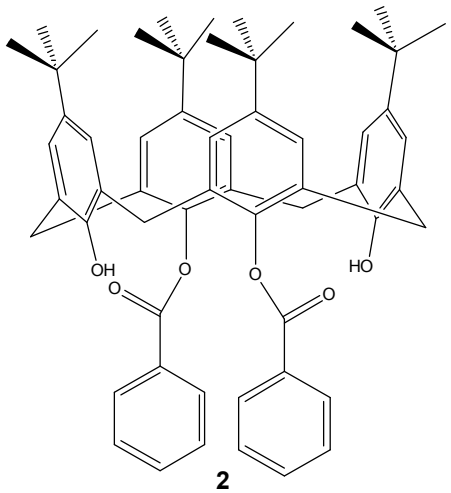


1

3.2.1.2.5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-26,28-bis[benzoiloksi]kaliks[4]-aren-25,27-diol (2)

5 g (7,7 mmol) *p-ter*-bütilkaliks[4]aren, 2,33 g (17 mmol) potasyum karbonat ve 250 mL asetonitril 80^{o}C da 30 dakika karıştırılır. Daha sonra 1,8 mL

(15,4 mmol) benzoil klorür karıştırılarak damlalar halinde ilave edilir ve 4 saat geri soğutucu altında kaynatılır. Soğutulan karışım içerisinden çözücü evoparatörde kuruluğa kadar destillenir. Geriye kalan kısım 100 mL diklormetan içerisine alınır ve 3x50 mL su ile yıkanır, sodyum sülfat üzerinden kurutulur ve daha sonra da 40 mL kalana kadar evoparatörde konsantre edilir. Oluşan ürün içerisine 300 mL metanol ilave edilir ve vakum altında konsantre hale getirilir. Ürün, 6 g (%91) beyaz toz madde halinde elde edilir. E.n.: 320-330^{o}C (bozunma) (Lit., 320-330^{o}C, bozunma) (Dalbavie 2000). IR (KBr): 1730 cm^{-1} (C=O). ^{1}H NMR ($CDCl_3$), δ (ppm): 1,01 (s, 18H, Bu^t); 1,15 (s, 18H, Bu^t); 3,49 (d, *J*=14,1 Hz, 4H, Ar-CH_2-Ar); 3,97 (d, *J*=14,1 Hz, 4H, Ar-CH_2-Ar); 6,91 (s, 4H, ArH), 7,02 (s, 4H, ArH); 7,49 (t, *J*=7, 4 Hz, 4H, C_6H_5); 7,70 (t, *J*= 7,4 Hz, 2H, C_6H_5); 8,33 (d, *J*= 7,1 Hz, 4H, C_6H_5).

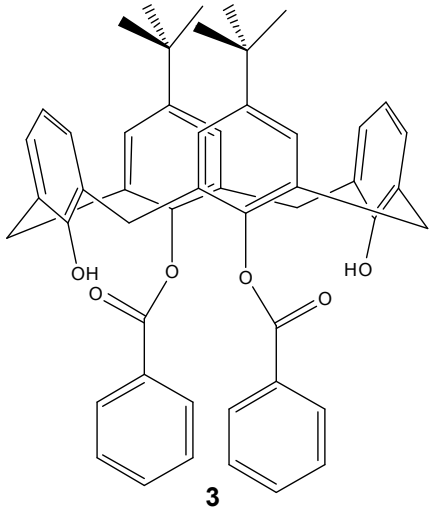


2

3.2.1.3.5,17, Di-*ter*-bütil-26,28-bis[benzoiloksi]kaliks[4]aren-25,27-diol (3)

6 g (7 mmol) **2** nolu bileşik, 4.7 g (35 mmol) alüminyum klorür ve 300 mL toluen renk kırmızı olana kadar karıştırılarak ısıtılır. 2 saat oda sıcaklığında karıştırılan bu karışım üzerine 100 mL su ilave edilir. Oluşan emülsiyon, 30 dakika daha karıştırılır. Toluen fazı 3x100 mL su ile yıkanır, sonra da organik faz kuruluğa kadar evoparatörde destillenir. Sarı ürün 50 mL diklormetan ve 250 mL etanol içerisine alınıp 100 mL ye kadar konsantre edilir. Ürün, 4.2 g (%80) beyaz toz madde halinde elde edilir. E.n.: 320^{o}C (bozunma) (Lit., 320 ^{o}C, bozunma) (Dalbavie

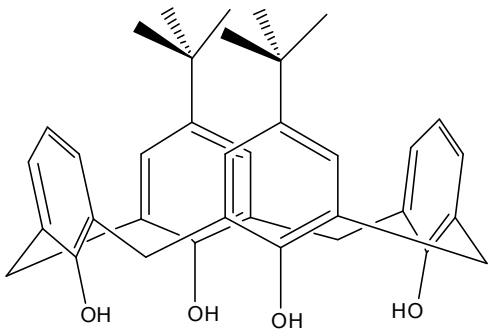
2000). IR (KBr): 1730 cm^{-1} (C=O). ^{1}H NMR ($CDCl_3$), δ (ppm): 1,02 (s, 18H, Bu^t); 3,55 (d, *J*=14,1 Hz, 4H, Ar-CH_2-Ar); 3,82 (d, *J*=14,1 Hz, 4H, Ar-CH_2-Ar); 6,59 (t, *J*= 7,4 Hz, 2H, ArH); 6,93 (d, *J*= 7,4 Hz, 4H, ArH); 7,00 (s, 4H, ArH); 7,52 (t, *J*= 7,7 Hz, 4H, C_6H_5); 7,72 (t, *J*= 7,4 Hz, 2H, C_6H_5); 8,22 (d, *J*= 7,0 Hz, 4H, C_6H_5).



3

3.2.1.4.5,17-Di-*ter*-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (4)

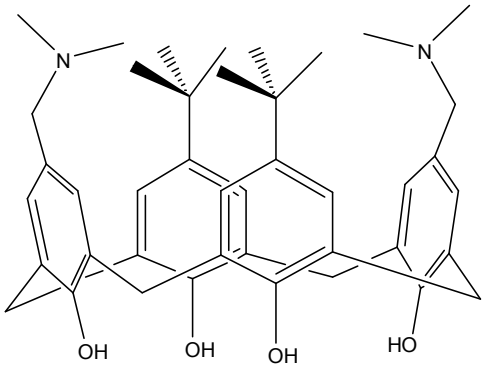
4,2 g (5,6 mmol) **3** nolu bileşik, 8 g (200 mmol) sodyum hidroksit, 120 mL etanol ve 40 mL su içerisinde karıştırılarak geri soğutucu altında 12 saat kaynatılır. Daha sonra soğutulan karışım, hidroklorik asit ile asitlendirilir (pH=5-6). Oluşan beyaz ürün süzülür, diklormetan ile çözülür ve metanolden çöktürülür. Ürün, 3 g (%99) olarak elde edilir. E.n.: 299^{o}C (Lit., 300^{o}C) (Dalbavie 2000). ^{1}H NMR ($CDCl_3$), δ (ppm): 1,20 (s, 18H, Bu^t); 3,42 (d, 4H, Ar-CH_2-Ar); 4,19 (d, 4H, Ar-CH_2-Ar); 6,69 (t, *J*= 7,7 Hz, 2H, ArH); 7,00 (d, *J*= 7,7 Hz, 4H, ArH); 7,07 (s, 4H, ArH); 10,29 (s, 4H, OH).



4

3.2.1.5.5,17-Di-*ter*-bütil-11,23-bis(dimetilamino)metil-25,26,27,28-tetra-hidroksikaliks[4]aren (5)

4 g (7,46 mmol) **4** nolu bileşiğin 34 mL THF içerisindeki çözeltisine 4,12 mL asetik asit, 2.54 mL (18,6 mmol) N,N,N',N'-tetrametildiaminometan ilave edilir. Reaksiyon karışımı, 8 saat oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra çözücüler vakum altında giderilir ve kalıntı, 100 mL su içerisinde çözülür. Sulu çözelti iki kez 50 mL eter ile ekstrakte edildikten sonra K_2CO_3 (%10) ile nötralleştirilir ve oluşan çökelek vakumla süzülerek ayrılır. Elde edilen ürün, vakum altında kurutulduktan sonra kloroformdan kristallendirilir. Ürün, 4.1 g (%82) beyaz iğne kristaller halinde elde edilir. E.n.: 280°C. ^{1}H NMR ($CDCl_3$), δ (ppm): 1,22 (s, 18H, Bu^t); 2,32 (s, 12H, NCH_3); 3,45 (s, 4H, $ArCH_2N$); 3,51 (d, *J*= 11,5 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$); 4,24 (d, *J*= 11,5 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$); 7,01 (s, 4H, ArH); 7,06 (s, 4H, ArH); 8,74 (br, 4H, ArOH). $C_{42}H_{54}N_2O_4$ için Anal. Hesaplanan (%): C, 77,50; H, 8,36; N, 4,3. Bulunan (%): C, 77,59; H, 8,45; N, 4,31.

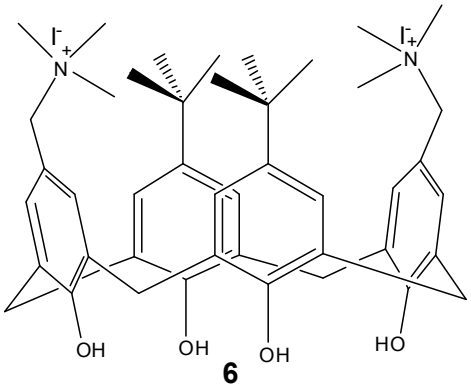


5

3.2.1.6.5,17-Di-*ter*-bütil-11,23-bis(dimetilamino)metil-25,26,27,28-tetra-hidrok-sikaliks[4]aren iyodür (6)

4 g (5,93 mmol) **5** bileşiğinin 12 mL DMSO içerisindeki süspansiyonuna azot atmosferinde 2,6 g (0,018 mol) metil iyodürün DMSO'daki 5 mL çözeltisi yavaşça ilave edilir. Karışım, 3 saat oda sıcaklığında karıştırılır ve daha sonra 50 mL aseton içerisine dökülür. Oluşan karemala şeklindeki madde süzülür ve asetonla yıkanır. Daha sonra açık havada kurutularak toz haline getirilen ham ürün, THF ile yıkanır ve tekrar açık havada kurutulur. Ürün, 4.8 g (%84) renksiz toz halinde elde edilir. E.n.: 272°C. ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ (ppm): 1,1 (s, 18H, Bu^t); 2,51 (s, 10H, NCH_3); 2,85

(s, 8H, NCH_3); 3,21 (d, *J*= 12,5 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$); 4,15 (s, 4H, $ArCH_2N$); 4,27 (d, *J*= 12,4 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$); 6,91 (s, 4H, ArH); 7,08 (s, 4H, ArH). $C_{42}H_{54}I_2N_2O_4$ için Anal. Hesaplanan (%): C, 55,76; H, 6,02; N, 3,10. Bulunan (%): C, 55,8; H, 6,08; N, 3,11.

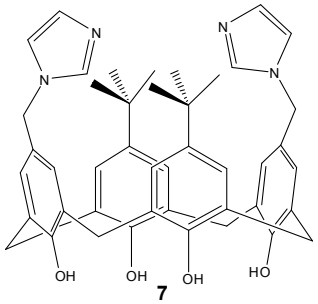


6

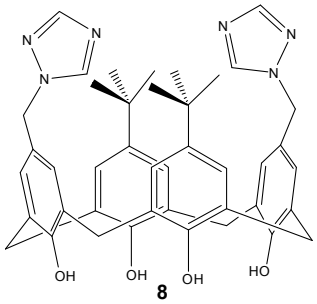
3.2.1.7.Di-imidazol (7), di-triazol (8) ve di-triazol ester (9) bağlı kaliks[4]arenlerin sentezi

4,8 g (5 mmol) **6** nolu bileşiğin 90 mL DMSO içerisindeki çözeltisine 56 mmol imidazol/triazol/triazol ester ilave edilir. Reaksiyon karışımı, 3 saat oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra çözücüler vakum altında giderilir ve kalıntı, 250 mL su içerisinde çözülür. Sulu çözelti iki kez 50 mL eter ile ekstrakte edildikten sonra K_2CO_3 (%10) ile nötralleştirilir ve oluşan çökelek vakumla süzülerek ayrılır. Elde edilen ürün, vakum altında kurutulduktan sonra kloroformdan kristallendirilir. Ürünler (**7-9**) beyaz iğne kristaller halinde elde edilir. Bileşik **7**; 2,9 g (%79), e.n.: 211^oC. ^1H NMR ($CDCl_3$), δ (ppm): 1,16 (s, 18H, Bu^t); 3,34 (d, *J*= 12,7 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$); 4,16 (d, *J*= 12,6 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$); 4,82 (s, 4H, $ArCH_2N$); 6,67 (s, 4H, ArH); 6,74 (s, 2H, İm-H); 6,92 (s, 4H, ArH); 7,01 (d, *J*= 9,8 Hz, 2H, İm-H); 7,42 (s, 2H, İm-H). ^{13}C NMR ($CDCl_3$), δ (ppm): 149.34, 140.32, 135.37, 129.73, 127.83, 127.38, 125.36, 124.79, 123.48, 123.33, 123.29, 118.85, 77.29, 77.16, 77.14, 76.97, 76.86, 76.64, 49.12, 39.14, 38.93, 38.72, 38.51, 38.30, 38.09, 37.88, 32.48, 32.38, 32.35, 31.60, 31.58, 31.51, 30.36, 30.31, 30.20, 30.13, 29.44. $C_{44}H_{48}N_4O_4$ için Anal. Hesaplanan (%): C, 75,83; H, 6,94; N, 8,04. Bulunan (%): C, 75,88; H, 6,97; N, 8,02. Bileşik **8**; 3,3 g (%83), e.n.: 187^oC. ^1H NMR ($CDCl_3$), δ (ppm): 1,23 (s, 18H, Bu^t); 3,49 (d, *J*= 12,4 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$); 4,24 (d, *J*= 12,4 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$); 5,10 (s, 4H,

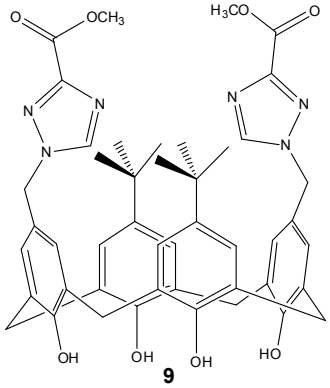
$ArCH_2N$); 6,94 (s, 4H, ArH); 7,03 (s, 4H, ArH); 7,94 (s, 2H, Tri-H); 7,99 (s, 2H, Tri-H). ^{13}C NMR ($CDCl_3$), δ (ppm): 152.05, 150.07, 148.57, 144.71, 143.62, 130.69, 129.97, 129.37, 128.90, 128.75, 128.32, 128.29, 125.99, 125.66, 52.29, 42.24, 42.10, 41.06, 40.78, 40.57, 40.46, 40.36, 40.15, 40.06, 39.94, 39.74, 39.53, 34.37, 34.32, 32.16, 32.09, 32.05, 31.86. $C_{42}H_{46}N_6O_4$ için Anal. Hesaplanan (%): C, 72,18; H, 6,63; N, 12,03. Bulunan (%): C, 72,21; H, 6,68; N, 12,04. Bileşik **9**; 3,2 g (%75), e.n.: 134°C. IR (KBr): 1732 cm^{-1} (C=O). ^1H NMR ($CDCl_3$), δ (ppm): 1,15 (s, 18H, Bu^t); 3,21-4,43 (m, 18H, $ArCH_2Ar$, OCH_3 ve $ArCH_2N$); 7,07 (s, 4H, ArH); 7,32 (s, 4H, ArH); 7,24 (s, 2H, Tri-H). ^{13}C NMR ($CDCl_3$), δ (ppm): 144.29, 133.76, 130.16, 130.02, 128.45, 128.37, 126.14, 126.10, 79.93, 79.60, 79.27, 68.47, 52.28, 45.05, 42.36, 41.17, 40.89, 40.68, 40.47, 40.26, 40.06, 39.85, 39.64, 34.50, 34.45, 32.15, 32.09, 32.02, 31.98, 31.92, 31.85, 31.79, 31.77, 31.75. $C_{46}H_{50}N_6O_8$ için Anal. Hesaplanan (%): C, 67,80; H, 6,18; N, 10,31. Bulunan (%):C, 67,87; H, 6,17; N, 10,30.



7



8

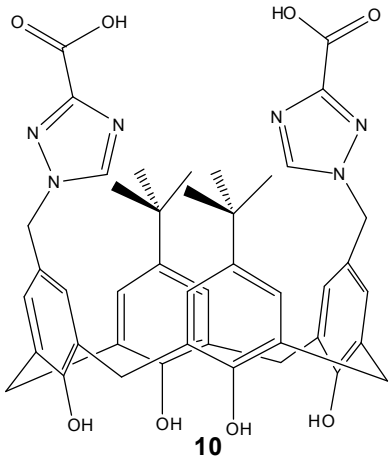


9

3.2.1.8.Di-triazol ester türevli kaliks[4]arenin (9) hidrolizi

3 g (3,69 mmol) **9** nolu bileşik ve 10 mL %15'lik sulu KOH çözeltisi 150 mL etanol içerisinde 24 saat geri soğutucu altında karıştırılarak kaynatılır. Çözücü distillendikten sonra geriye kalan kısım, 50 mL suda çöktürülür ve süzülür. Su ile yıkanır ve kurutulur. Oluşan ham ürün sıcak etanolden kristallendirilerek 2,8 g %95 verimle elde edilir. E.n.: 283°C. IR (KBr): 1715 cm^{-1} (C=O). ^1H NMR ($CDCl_3$), δ (ppm): 1,22 (s, 18H, Bu^t); 3,50 (d, *J*= 13,1 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$); 4,15-4,33 (m, $ArCH_2Ar$ ve $ArCH_2N$); 6,95 (s, 4H, ArH); 6,99 (s, 4H, ArH); 7,06 (s, 2H, Tri-H).

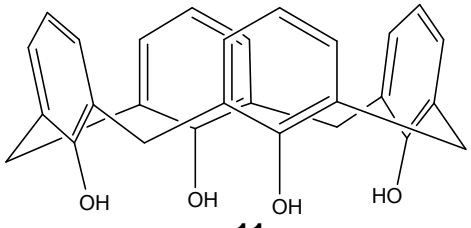
$C_{44}H_{46}N_6O_8$ için Anal. Hesaplanan (%): C, 67,16; H, 5,89; N, 10,68. Bulunan (%):C, 67,23; H, 5,96; N, 10,63.



10

3.2.1.9.Kaliks[4]arenin sentezi (11)

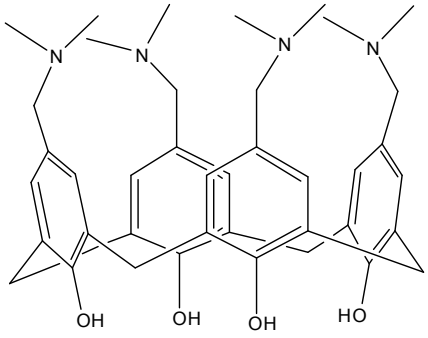
52,4 g (70,71 mmol) *p-ter*-bütilkaliks[4]aren **1**, kuru toluende (675 mL) çözülür ve üzerine fenol (32 g; 340 mmol) ilave edilir. $AlCl_3$ (76 g; 570 mmol) 10 dakika ara ile üç kısımda ilave edilir. Son $AlCl_3$ ilavesinden sonra 4 saat azot atmosferinde oda sıcaklığında karıştırılır. Buz banyosu içerisindeki balona 0,2 M HCl ilave edilir. Organik ve sulu faz ayrılır ve nötralleştirilir. Organik faz $MgSO_4$ ile kurutulur. Oluşan sarı renkli çözelti distillenir ve üzerine 500 mL metanol ilave edilir. Metanol ilavesi ile çöken bej renkli madde süzülür, kurutulur. Kloroform–metanol sisteminde kristallendirilir ve 6,75 g %78 verimle beyaz renkli kristaller halinde bileşik **11** elde edilir. E.n.: 313-315^oC (Lit., 315-318^oC) (Gutsche 1986). ^1H NMR ($CDCl_3$), δ (ppm): 3,35 (d, 4H, *J* = 13 Hz); 4,23 (d, 4H, *J* = 13 Hz, $ArCH_2Ar$); 6,67 (t, 4H, *J* = 7 Hz, ArH); 7,45 (d, 4H, *J* = 7 Hz, ArH); 10,16 (s, 4H, OH).



11

3.2.1.10. 5,11,17,23-Tetrakis(dimetilamino)metil-25,26,27,28-tetra-hidroksika-liks[4]aren (12)

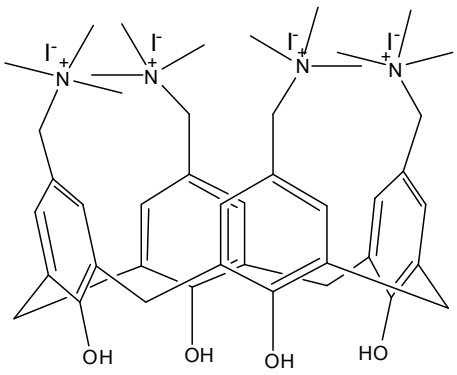
15,9 g (0,0395 mol) **11** nolu bileşiğin 360 mL THF içerisindeki çözeltisine 45 mL asetik asit, 22,5 g (0,2 mol) %40'lık dimetilamin ve 6,2 g (0,2 mol) %37'lik formaldehit 24 saat oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra çözücüler vakum altında giderilir ve kalıntı, 250 mL su içerisinde çözülür. Sulu çözelti iki kez 200 mL eter ile ekstrakte iki kez edildikten sonra K_2CO_3 (%10) ile nötralleştirilir ve oluşan çökelek vakumla süzülerek ayrılır. Elde edilen ürün, vakum altında kurutulduktan sonra kloroformdan kristallendirilir. Ürün, 19,1 g (%78) beyaz iğne kristaller halinde elde edilir. E.n.: 160^{o}C (bozunma) (Lit., 160^{o}C, bozunma) (Gutsche ve Nam 1988). ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ (ppm): 2,20 (s, 24H, N-Me); 3,27 (s, 8H, $ArCH_2N$); 3,14 (d, 8H, J = 12,4 Hz, $ArCH_2Ar$); 4,32 (d, 8H, J = 12,3 Hz, $ArCH_2Ar$); 6,81 (s, 8H, ArH).



12

3.2.1.11. 5,11,17,23-Tetrakis(dimetilamino)metil-25,26,27,28-tetra-hidroksika-liks[4]aren iyodür (13)

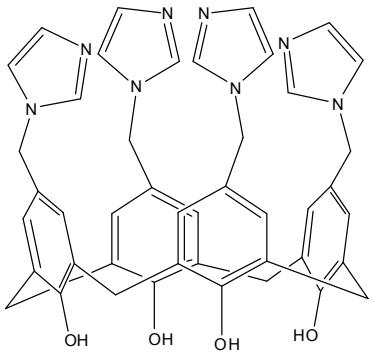
40 g (0,06 mol) **12** bileşiğinin 120 mL DMSO içerisindeki süspansiyoununa azot atmosferinde 52 g (0,36 mol) metiliyodürün DMSO'daki 50 mL çözeltisi yavaşça ilave edilir Karışım, 3 saat oda sıcaklığında karıştırılır ve daha sonra 400 mL aseton içerisine dökülür. Oluşan karemala şeklindeki madde süzülür ve asetonla yıkanır. Daha sonra açık havada kurutularak toz haline getirilen ham ürün, THF ile yıkanır ve tekrar açık havada kurutulur. Ürün, 66 g (%88) renksiz toz halinde elde edilir. E.n.: >349^{o}C (bozunma) (Lit., >350^{o}C, bozunma) (Alam 1994). ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ (ppm): 2,90 (s, 36H, NMe_3); 3,42-4,02 (br, 8H, $ArCH_2Ar$); 4,38 (s, 8H, CH_2N); 7,35 (s, 8H, ArH).



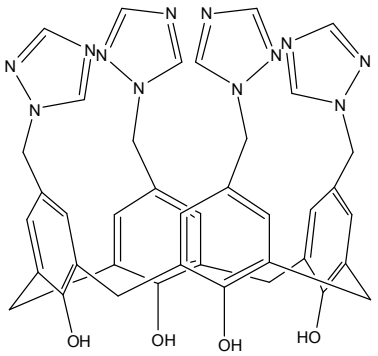
13

3.2.1.12. Tetra-imidazol (14) ve tetra-triazol (15) türevli kaliks[4]arenlerin sentezi

5 mmol **12**, bileşik **13**' e dönüştürüldükten sonra nolu bileşiğin 90 mL DMSO içerisindeki çözeltisine 76 mmol imidazol/triazol/triazol ester ilave edilir. Reaksiyon karışımı, 3 saat oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra çözücüler vakum altında giderilir ve kalıntı, 250 mL su içerisinde çözülür. Sulu çözelti iki kez 50 mL eter ile ekstrakte edildikten sonra K_2CO_3 (%10) ile nötralleştirilir ve oluşan çökelek vakumla süzülerek ayrılır. Elde edilen ürün, vakum altında kurutulduktan sonra kloroformdan kristallendirilir. Ürünler (**14** ve **15**) beyaz iğne kristaller halinde elde edilir. Bileşik **14**; 2,7 g (%72), E.n.: 170°C (bozunma) (Lit. 170°C, bozunma) (Gutsche 1988). ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ (ppm): 3,12 (d, 4H, $ArCH_2Ar$); 4,22 (d, 4H, $ArCH_2Ar$); 4,94 (s, $ArCH_2N$); 6,82 (s, 8H, ArH), 7,19; 7,32, 8,21 (3s, 12H, Im-H). $C_{44}H_{40}N_8O_4$ için Anal. Hesaplanan (%): C, 70,95; H, 5,41; N, 15,04. Bulunan (%): C, 70,99; H, 5,38; N, 15,05. Bileşik **15**; 3,0 g (%81). E.n.: 220°C (bozunma). ^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ (ppm): 3,48 (br, 4H, $ArCH_2Ar$); 4,20 (br, 4H, $ArCH_2Ar$); 5,13 (s, $ArCH_2N$); 6,78 (br, 4H, ArOH); 6,97 (s, 8H, ArH); 7,96 ve 8,03 (2s, 8H, Tri-H). $C_{40}H_{36}N_{12}O_4$ için Anal. Hesaplanan (%): C, 64,16; H, 4,85; N, 22,45. Bulunan (%): C, 64,21; H, 4,89; N, 22,47.



14

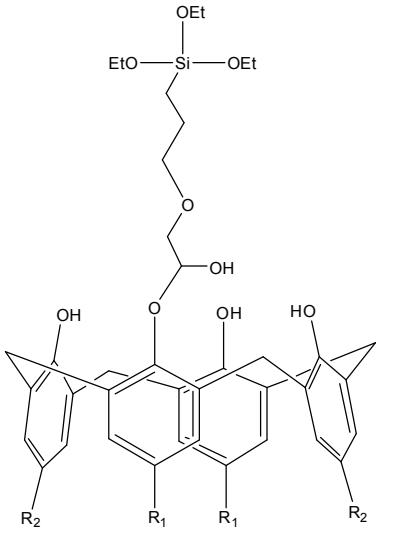


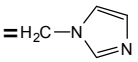
15

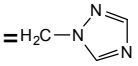
3.2.2. Polimerik kaliks[4]arenlerin sentezi

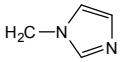
3.2.2.1.İmidazol ve triazol bağlı kaliks[4]aren polisiloksan reçinelerinin (20, 21, 22 ve 23) hazırlanması

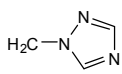
1,66 mmol imidazol/triazol bağlı kaliks[4]aren bileşiğinin (**7**/**8**/**14**/**15**) 20 mL kuru toluendeki çözeltisine 1,66 mmol 3-glisidoksipropil trietoksisilan ilave edilir. Karışım oda sıcaklığında 10 saat azot atmosferi altında karıştırıldıktan sonra (**16, 17, 18** ve **19**) içerisine 1,01 mmol tetraetoksisilan, toluen (10 mL) ve KOH (0,1 mL; 1,0 M) ilave edilir ve oda sıcaklığında 5 saat azot atmosferi altında karıştırılır. Karışım, daha sonra kuru azot akışı ve geri soğutucu altında 24 saat karıştırılarak kaynatılır. Soğutulan karışım süzülür ve sırasıyla ılık toluen, aseton, metanol ve distile su ile üç kez yıkanır. Katı ürünler, 120°C'da vakum altında 3 saat kurutulduktan sonra sırasıyla polisiloksan **20** (0,9 g), **21** (1,4 g), **22** (1,2 g) ve **23** (1,1 g) elde edilir ve kullanılıncaya kadar desikatörde tutulur. Bileşik **20**: IR (KBr), 1098 cm^{-1} (Si-O) ve 3345 cm^{-1} (O-H); Bileşik **21**: IR (KBr), 1097 cm^{-1} (Si-O) ve 3333 cm^{-1} (O-H). Bileşik **22**: IR (KBr), 1075 cm^{-1} (Si-O) ve 3345 cm^{-1} (O-H). Bileşik **23**: IR (KBr), 1095 cm^{-1} (Si-O) ve 3329 cm^{-1} (O-H).

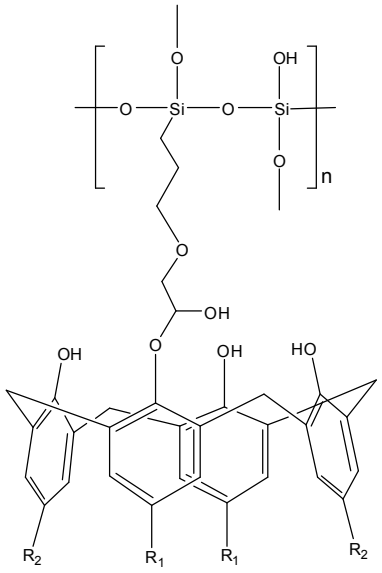


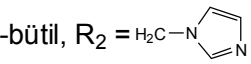
16 R_1 = *ter*-bütil, R_2 = 

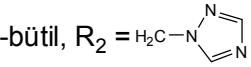
17 R_1 = *ter*-bütil, R_2 = 

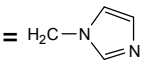
18 $R_1 = R_2$ = 

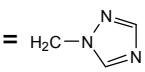
19 $R_1 = R_2$ = 



20 R_1 = *ter*-bütil, R_2 = 

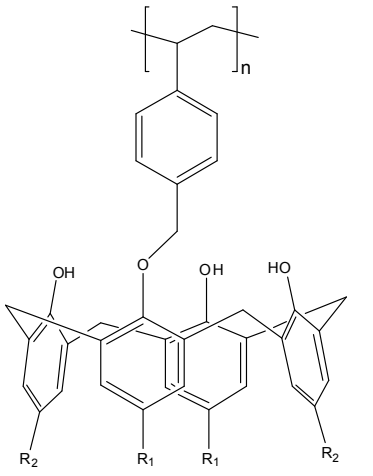
21 R_1 = *ter*-bütil, R_2 = 

22 $R_1 = R_2$ = 

23 $R_1 = R_2$ = 

3.2.2.2.İmidazol ve triazol bağlı kaliks[4]arenlerin Merrifield reçinesine immobilizasyonu

2 mmol imidazol/triazol bağlı kaliks[4]aren bileşiğinin (**7**/**8**/**14**/**15**) 50 mL THF içerisindeki çözeltisine, önce 0,38 g (10 mmol) NaH (%60 oranında parafin yağında dağılmış) ardından başka bir balonda 50 mL DMF içerisinde çözülmüş 2,0 g Merrifield reçinesi (0,8 mmol Cl/g resin) ilave edilir. Daha sonra bu reaksiyon karışımına 0,3 g (2 mmol) NaI ilave edilerek yarım saat kadar oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra 24 saat 80^{o}C'de azot atmosferinde ısıtılır. Soğutulan reaksiyon kalıntısı buzlu su içerisine dökülerek 0,1 N HCl ile asitlendirilir ve oluşan çökelekler süzülür. Süzüntü önce asitliği giderilene kadar distile su ile daha sonra da reaksiyona girmeyen başlangıç maddesini uzaklaştırmak için de az miktarlarda diklormetan ve MeOH ile yıkanır. Vakum altında kurutulduktan sonra sırasıyla **24** (2,2 g), **25** (2,1 g), **26** (2,1 g) ve **27** (2,2 g) elde edilir ve kullanılıncaya kadar desikatörde tutulur. Bileşik **24**: IR (KBr), 696 cm^{-1} (CO), 3348 cm^{-1} (O-H); Bulunan (%): C, 79,97; H, 7,24; N, 0,86. Bileşik **25**: IR (KBr), 696 cm^{-1} (CO), 3341 cm^{-1} (O-H); Bulunan (%): C, 86,87; H, 7,53; N, 0,87. Bileşik **26**: IR (KBr), 696 cm^{-1} (CO), 3345 cm^{-1} (O-H); Bulunan (%): C, 84,96; H, 7,17; N, 1,12. Bileşik **27**: IR (KBr), 696 cm^{-1} (CO), 3347 cm^{-1} (O-H); Bulunan (%): C, 80,54; H, 7.09; N, 2,04.



24 R_1 = *ter*-bütil, R_2 =

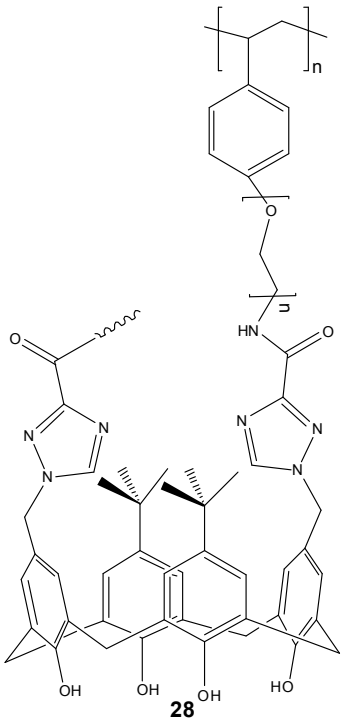
25 R_1 = *ter*-bütil, R_2 =

26 R_1 = R_2 =

27 R_1 = R_2 =

3.2.2.3.İmidazol ve triazol bağlı kaliks[4]arenlerin TentaGel reçinesine immobilizasyonu

0,76 g (0,96 mmol) **9** nolu bileşik toluen:metanol (35 mL/35 mL) içerisinde çözülür. Üzerine 4,8 mmol TentaGel ilave edilir ve 38 saat karıştırılarak kaynatılır. Daha sonra ikinci 4,8 mmol TentaGel'in metanoldeki çözeltisi ilave edilir ve 73 saat karıştırılarak kaynatılır. Bu sürenin sonunda; çözücü destillenir ve geriye kalan ham ürün metanolle yıkanır. Vakum altında kurutulan ürün **(28)** 0,41 g olarak elde edilir. IR (KBr) : 3507 cm^{-1} (O-H), 1641 cm^{-1} (NHC=O). Bulunan (%): C, 62,84; H, 7,82; N, 0.52.



28

3.3. Enzim-Mimik Çalışmaları

3.3.1. Monomerik kaliks[4]arenler

Enzim-mimik çalışmaları, monomerik ve polimerik kaliks[4]arenlerle farklı şekilde gerçekleştirildi. Öncelikle bu çalışmaların yapılabilmesi için üç temel ögenin sağlanması gerekmektedir. Bunlar; katalizör, substrat ve ortamın pH sını sabit tutmak için uygun bir tampon çözelti. Bunun için katalizör olarak hazırlanan kaliks[4]aren

türevleri, tampon olarak farklı pH lara sahip fosfat tamponları ve substratlar olarak da çalışmanın amacına göre *p*-nitrofenil asetat (*p*-NFA), *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NFP) ve *bis*-*p*-nitrofenil karbonat (bis-*p*-FNK) ester türevlerinden herhangi birisi kullanıldı. Monomerik kaliksarenler kullanılarak çalışmalar, aşağıdaki gibi gerçekleştirildi.

- Katalizörlerin $66x10^{-5}$ M'lık çözeltilerinden (MeOH içerisinde) 7 mL alınarak ağzı kapaklı şişelere konuldu.
- Üzerine tampon çözeltiden 3 mL ve $95x10^{-5}$ M'lık substrat çözeltilerinden (MeOH içerisinde) 7 mL ilave edilirek hidroliz reaksiyonu başlatıldı.
- Hidroliz sonucu oluşan *p*-nitrofenolün konsantrasyonu, UV-Visible spektrofotometresiyle takip edilerek, katalizörlerin katalitik özellikleri tayin edildi.

3.3.1.1.pH etkisi

Bunun için yukarıda açıklanan prosedüre göre farklı pH değerlerine (4,5; 5,5; 6,3; 7,3; 7,5; 7,8 ve 8,2) sahip tampon çözeltiler kullanılarak her bir katalizörün farklı pH lardaki enzim-mimik özelliği incelendi.

3.3.1.2.Substrat konsantrasyonu etkisi

Bunun için farklı substrat konsantrasyonlarındaki ($3.25x10^{-5}$, $6.5x10^{-5}$, $9.75x10^{-5}$, $13.5x10^{-5}$ ve $16.75x10^{-5}$ mol L^{-1}) çözeltiler kullanılarak çalışmalar, yukarıda açıklanan prosedüre göre gerçekleştirildi ve her bir katalizörün Michaelis–Menten kinetikleri bu şekilde incelenerek, katalitik özellikler belirlendi.

3.3.1.3.Substrat etkisi

Katalizörlerin farklı substratlara karşı enzim-mimik özelliğini belirlemek amacıyla çalışmalar, yukarıda açıklanan prosedüre göre farklı substratlar (*p*-NFA asetat, *p*-NFP ve *bis*-*p*-NFK) ile gerçekleştirildi.

3.3.1.4.Polimerik kaliks[4]arenler

Polimerik kaliksarenler kullanılarak enzim-mimik çalışmaları aşağıdaki gibi gerçekleştirildi.

- Polimerlerden 10 mg alınarak ağzı kapaklı şişelere konuldu.
- Üzerine 7 mL metanol, 3 mL tampon çözelti ve 7 mL $95x10^{-5}$ M (MeOH içerisinde) substrat çözeltilerinden ilave edilerek hidroliz reaksiyonu başlatıldı.
- Hidroliz sonucu oluşan *p*-nitrofenolün konsantrasyonu UV-Visible spektrofotometresiyle takip edilirek polimerik katalizörlerin katalitik etkinlikleri belirlendi.

3.3.1.5.Polimerik katalizör miktarı etkisi

Bu deneyde, değişen polimerik katalizör miktarının oluşan *p*-nitrofenol miktarı üzerine etkisi incelendi. Bunun için yukarıda açıklanan prosedüre göre farklı polimerik katalizör miktarları (5 mg, 10 mg, 20 mg, 30 mg, 50 mg) kullanıldı.

3.3.1.6.Polimerik katalizörün yeniden kullanılabilirliği

Bu deneyde, polimerik katalizör yukarıda açıklanan prosedüre göre kullanıldıktan sonra su ve metanolle yıkandı. Katalizör, kurutulduktan sonra yeniden kullanıldı. Bu işlem en az beş kere gerçekleştirilerek polimerik katalizörün yeniden kullanılabilirlik özelliği belirlendi.

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

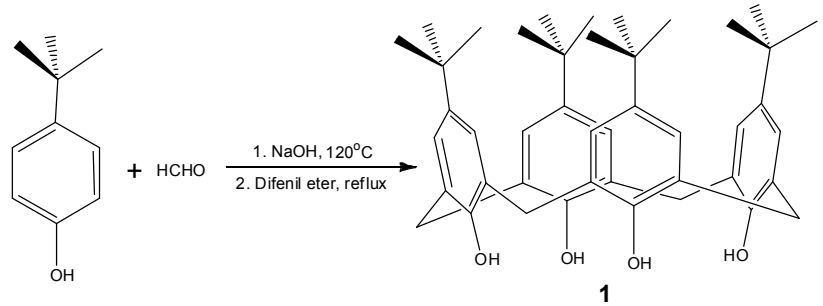
4.1. Kaliks[4]aren Bazlı Bileşiklerin Sentezi

Supramoleküler kimyada yaygın kullanım alanlarının olması sebebiyle, makrosiklik bileşiklerin önemi her geçen gün daha da artmaktadır. Bu bileşikler içerisinden de son yıllarda en çok kullanılanı kaliksarenlerdir. Çünkü bu bileşikler diğerlerine göre daha kolay ve daha yüksek verimle sentezlenebilmekte, ayrıca da daha kolay modifiye edilebilmektedirler. İşte bu çalışmada da çok kullanışlı olan bu kaliksaren bileşiklerinin farklı türevleri sentezlenerek son yıllarda önemi giderek artan enzim-mimik adı verilen yapay enzimler olarak kullanıldı.

Bu çalışma iki bölümden oluşmaktadır. Birinci bölümde enzim-mimik olabilecek monomerik ve polimerik kaliks[4]aren türevlerinin hazırlanması, ikinci bölümde ise hazırlanan bu bileşiklerin enzim-mimik çalışmalarının yapılması açıklandı.

4.1.1. Enzim-mimik olarak kullanılacak temel bileşiklerin sentezi

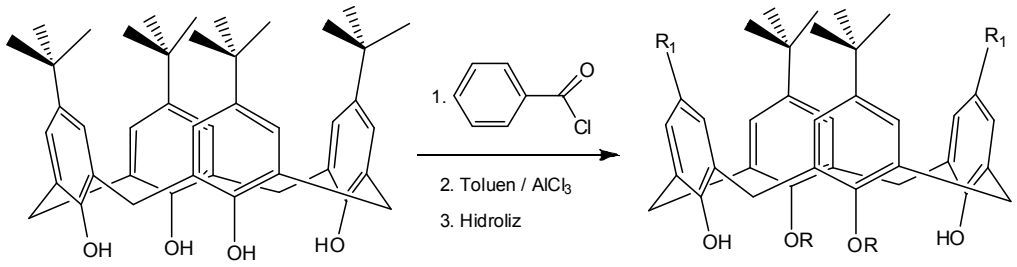
Çalışmanın ilk basamağında başlangıç maddesi olarak *p-ter*-bütilkaliks[4]aren (**1**) literatüre (Gutsche 1990) göre fenol ile formaldehitin bazik ortamdaki kondensasyon reaksiyonu sonucu sentezlendi.



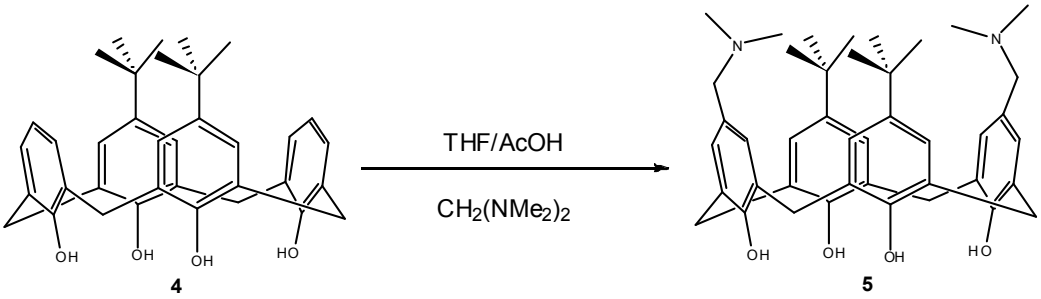
1

Kaliksarenlerin fenolik birimlerinin *p*-konumundan (*upper rim*) imidazol veya triazol türevlerini sentezlemek amacıyla ilk olarak seçimli dealkilleme işlemi yapıldı. Bunun için *p-ter*-bütilkaliks[4]aren (**1)** benzoil klorür ile 1:2 eşdeğer oranında asetonitrilin çözücü olduğu seyreltik ortamda ve K_2CO_3 varlığında reaksiyona sokularak %85 verimle bileşik **2** sentezlendi (Dalbavie ve ark. 2000). Sentezlenen bu bileşiğin IR spektrumunda 1730 cm^{-1} de benzoil grubunun karboniline ait bant gözlenirken, bileşiğin yapısının karakterizasyonu, ^1H NMR spektroskopisi ile desteklenmiştir.

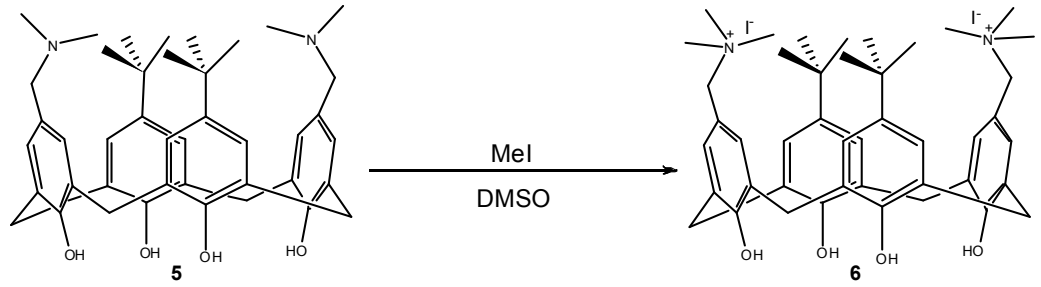
Daha sonra susuz $AlCl_3$ beraberinde toluenin çözücü ortamında dealkilleme işlemi gerçekleştirilerek elde edilen **3** nolu bileşik NaOH/EtOH ile hidroliz edilerek bileşik **4** sentezlendi. **4** nolu bileşiğin IR spektrumunda 1730 cm^{-1} deki benzoil grubuna ait karbonil pikinin kaybolması hidroliz işleminin gerçekleştiğini göstermiştir. Ayrıca ^1H NMR spektrumunda benzoil gruplarına ait 7,72 ve 8,22 ppm deki aromatik piklerin kaybolması da sonucu desteklemektedir.



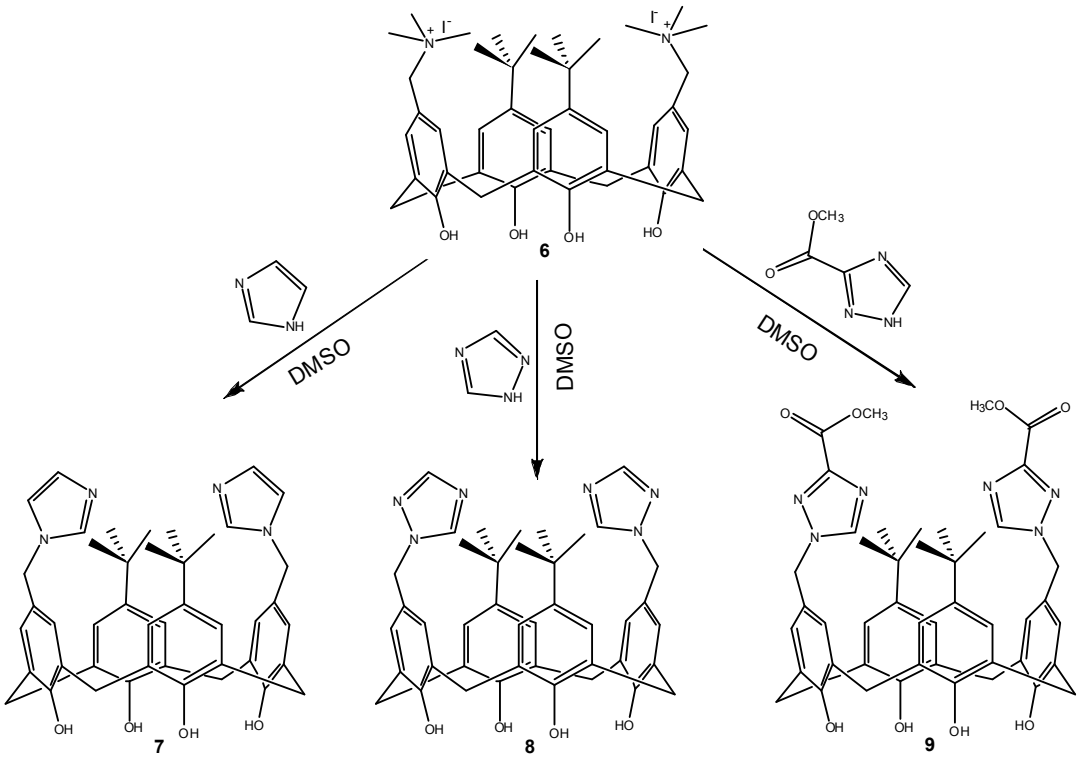
Farklı fonksiyonel grupların enzim-mimik özelliklerinin incelenmesi amacıyla Mannich reaksiyonu kullanılarak iki tane 1-H-imidazol, 1-H-1,2,4-triazol ve metil-1-H-1,2,4-triazol-3-karboksilat grubu taşıyan kaliks[4]aren türevleri (**7-9**) hazırlandı. Bunun için ilk olarak literatür metoduna göre (Dospil 2001) **4** nolu bileşik N,N,N',N'-tetrametildiaminometan ile THF içerisinde etkileştirilerek %82 verimle diamin türevine (**5**) dönüştürüldü.



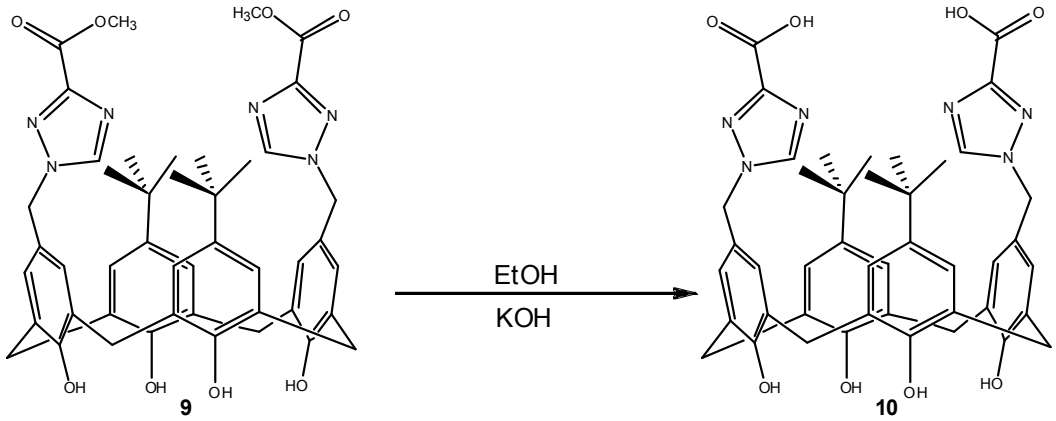
Elde edilen diamin türevi **5** de literatür metoduna göre (Dospil 2001) DMSO içerisinde metil iyodür ile etkileştirilerek kuaterner amonyum türevi (**6**), %84 verimle sentezlendi. Bu şekilde izole edilerek karakterizasyon işlemi gerçekleştirilen **6** nolu bileşik, daha sonraki deneylerde herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.



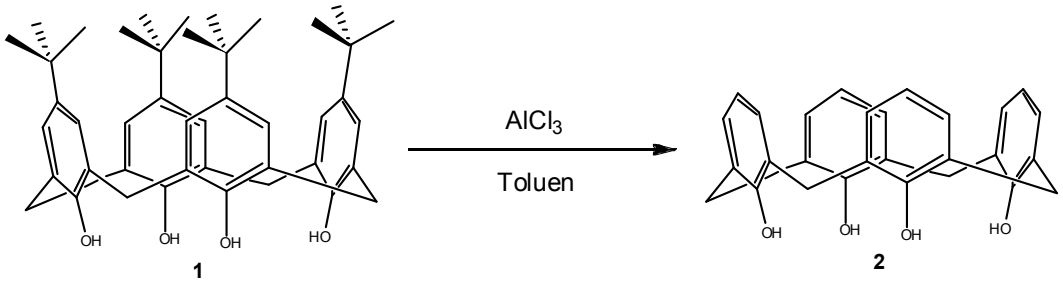
Bileşik **6**, enzim-mimik olarak kullanılacak kaliks[4]aren türevlerinin hazırlanmasında başlangıç maddesi olarak kullanıldı. Bu amaçla literatüre göre (Gutsche 1988) bir kuaterner amonyum türevi olan bileşik **6**, DMSO içerisinde sırasıyla 1-H-imidazol, 1-H-1,2,4-triazol ve metil-1-H-1,2,4-triazol-3-karboksilat ile etkileştirilerek ve daha sonra da kloroformdan kristallendirilirek, beyaz iğne kristaller şeklinde bileşik **7**, **8** ve **9** sırasıyla %79, %83 ve %75 verimle elde edildi. Sentezlenen bileşikler ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR spektroskopileri ile karakterize edildi. ^{1}H NMR spektrumlarından, bileşik **7** için görülen 3,34 (J = 12,6 Hz) ve 4,16 (J = 12,7 Hz) ppm ve bileşik **8** için görülen 3,49 ve 4,24 ppm (J = 12,4 Hz)'deki $ArCH_2Ar$ protonlarına ait dublet pikler, bileşiklerin koni konformasyonuna sahip olduklarını gösterdi. Ayrıca **7** ve **8** için ^{1}H NMR spektrumlarından sırasıyla 4.82 ve 5.10 ppm'de ve **9** için görülen 3,21-4,43 ppm aralığındaki $ArCH_2N$ gruplarına ait pikler, ilgili grupların yapıya bağlandığını doğruladı. Aynı aralıkta bileşik **9** için görülen OCH_3 gruplarına ait pik bu sonucu destekledi.



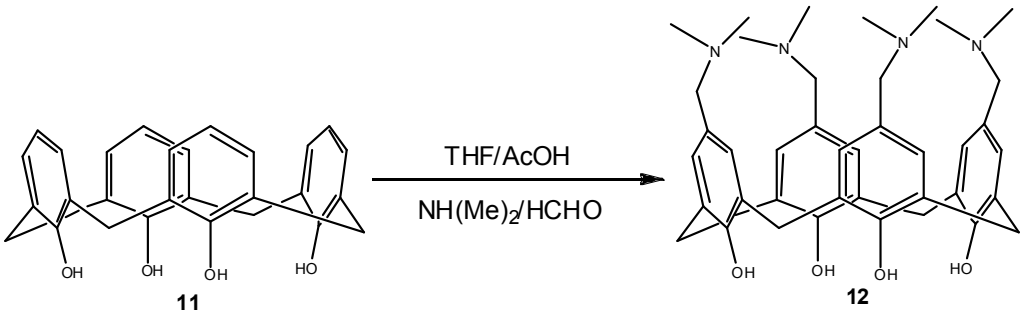
Diğer taraftan ester grupları taşıyan bileşik **9**, KOH/etanol ortamında hidroliz edilerek karboksilat grubu taşıyan bileşik **10**' a %95 verimle dönüştürüldü. Elde edilen bileşik ^{1}H NMR spektroskopisiyle karakterize edildi. Buna göre bileşik **9**'un ^{1}H NMR spektrumundaki OCH_3 gruplarına ait pikin kaybolması, hidrolizin başarıyla gerçekleştiğini kanıtladı. Ayrıca bileşik **9** ve **10**'un IR spektrumları incelendiğinde 1732 cm^{-1} deki ester karbonil bandının kaybolması ve 1715 cm^{-1} de asit karboniline ait yeni bir bandın oluşması hirolizin başarıyla gerçekleştiğini doğruladı.



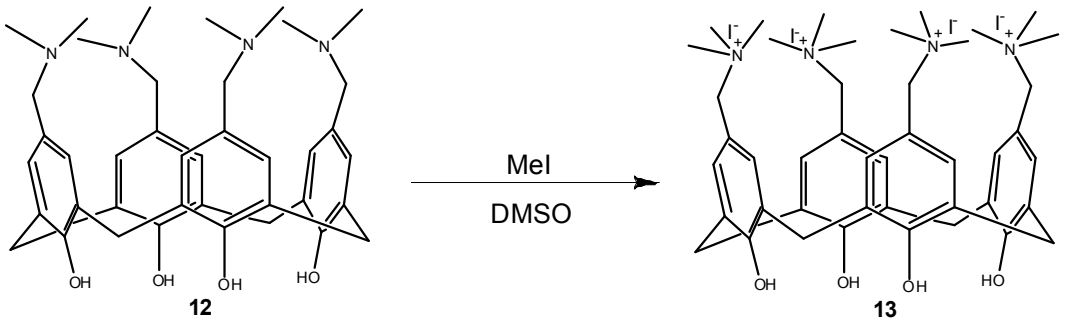
Fonksiyonel grup sayısının etkisini incelemek amacıyla iki imidazol ve triazol grubu taşıyan türevlerin dörtlü analogları sentezlendi. Bu amaçla ilk olarak *p-ter*-bütilkaliks[4]aren (**1**) literatür metoduna göre (Gutsche 1986) metanol/toluen ortamında $AlCl_3$ ile etkileştirilerek *ter*-bütil grupları giderildi ve kaliks[4]aren (**2**) elde edildi.



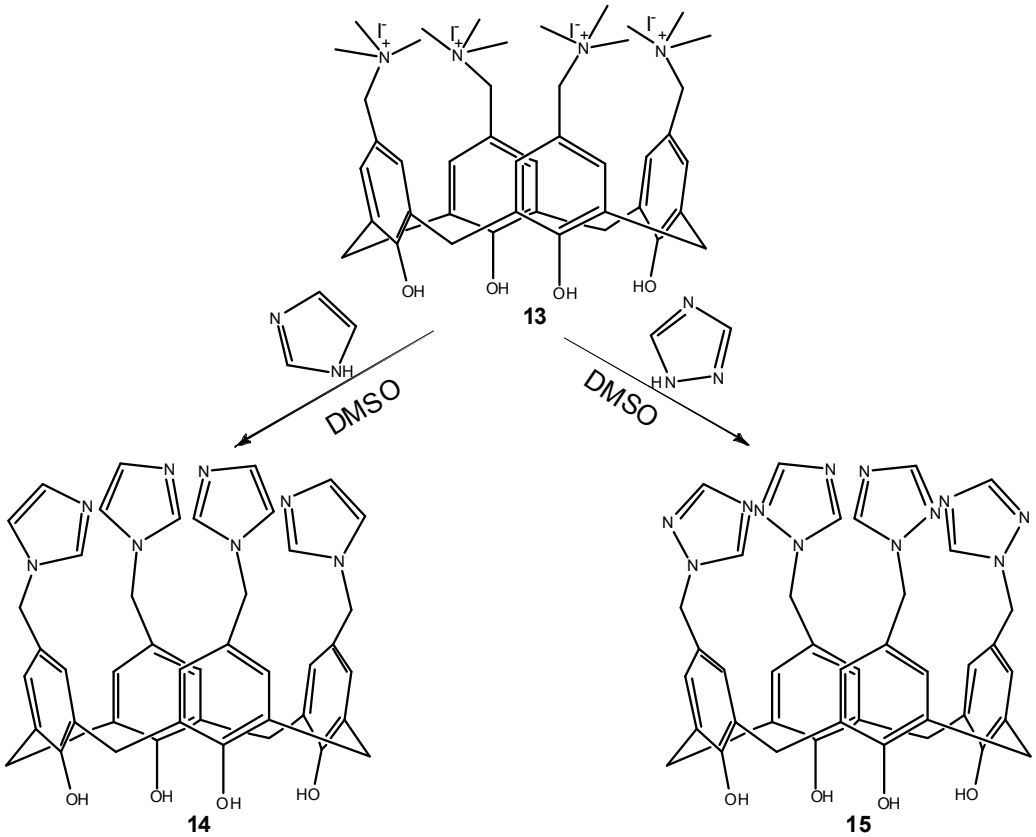
Daha sonra Mannich reaksiyonu yoluyla dört tane 1-H-imidazol ve 1-H-1,2,4-triazol grubu taşıyan kaliks[4]aren türevleri (**14** ve **15**) hazırlandı. Bunun için ilk olarak literatür metoduna göre (Gutsche ve Nam 1988) bileşik **2**, N,N,N',N'-tetrametildiaminometan ile THF içerisinde etkileştirilerek %78 verimle tetraamin türevine (**12**) dönüştürüldü.



Elde edilen diamin türevi **12** ise literatür metoduna göre (Gutsche ve Nam 1988) DMSO içerisinde metil iyodür ile etkileştirilerek kuaterner amonyum türevi (**13**), %88 verimle sentezlendi. Bu şekilde izole edilerek karakterizasyon işlemi gerçekleştirilen **13** nolu bileşik, daha sonraki deneylerde herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.

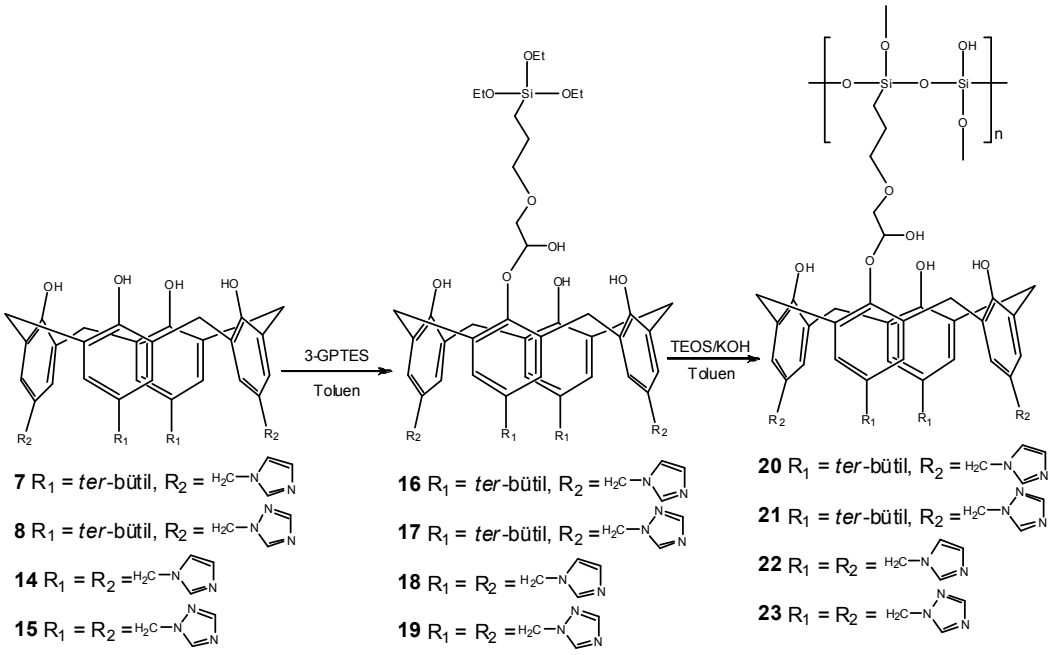


13 nolu bileşik, enzim-mimik olarak kullanılacak dörtlü imidazol ve triazol grubu taşıyan kaliks[4]aren türevlerinin hazırlanmasında başlangıç maddesi olarak kullanıldı. Bu amaçla bir kuaterner amonyum türevi olan bileşik **13**, DMSO içerisinde sırasıyla 1-H-imidazol ve 1-H-1,2,4-triazol ile etkileştirilerek ve daha sonra da kloroformdan kristallendirilirek, beyaz iğne kristaller şeklinde bileşik **14** ve **15** sırasıyla %72 ve %81 verimle elde edildi. Bileşikler ^{1}H NMR spektroskopisiyle karakterize edildi. ^{1}H NMR spektrumlarından, bileşik **14** için görülen 3,12 ve 4,22 ppm ve bileşik **15** için görülen 3,48 ppm ve 4,20'deki $ArCH_2Ar$ protonlarına ait dublet pikler, bu bileşiklerin koni konformasyonuna sahip olduklarını gösterdi. Ayrıca **14** ve **15** için ^{1}H NMR spektrumlarından sırasıyla 4,94 ve 5,13 ppm'de görülen $ArCH_2N$ gruplarına ait pikler, ilgili grupların yapıya bağlandığını doğruladı.



4.1.1.1.İmidazol ve triazol bağlı kaliks[4]aren polisiloksan reçinelerinin hazırlanması

7, 8, 14 ve **15** nolu bileşikler, önce kuru toluen içerisinde 3-glisidoksipropil trietoksisilan ile etkileştirilerek sırasıyla **16, 17, 18** ve **19** nolu bileşiklere dönüştürüldükten sonra ortama tetraetoksisilan ilave edildi ve sırasıyla **20, 21, 22** ve **23** nolu polisiloksan bileşikleri elde edildi. Elde edilen reçinelerin (**20, 21, 22** ve **23**) IR spektrumunda sırasıyla 1123 cm^{-1}, 1110 cm^{-1}, 1234 cm^{-1} ve 1232 cm^{-1} de Si-O-bağlarına ve 3406 cm^{-1}, 3401 cm^{-1}, 3402 cm^{-1} ve 3407 cm^{-1} de de hidroksil grubuna ait bantların oluşması reaksiyonların gerçekleştiğini doğruladı.



Polisiloksan polimerlerin (**20, 21, 22** ve **23**) elementel analiz sonuçları ve kaliksaren bağlanma miktarları Çizelge 4.1'de görülmektedir. Azot içeriğine göre kaliksaren bağlanma oranları, **20** için 0,159 mmol/g, **21** için 0,586 mmol/g, **22** için 0,351 mmol/g ve **23** için 0,176 mmol/g olarak hesaplandı.

Polisiloksan **20**'nin eşzamanlı TGA ve DTG termogramlarına göre üç bölgede ağırlık kayıplarının meydana geldiği ve %49,4'ünün bu sıcaklık aralığında bozunmadan kaldığı anlaşılmaktadır. İlk ağırlık kaybı başlangıçtan yaklaşık 250^{o}C'a kadar devam eden bölgede %0,3 oldu. Bu bölgedeki ağırlık kaybı bilindiği gibi

polimerin ihtiva ettiği suyun yapıdan ayrılmasından kaynaklanmıştır. Hemen arkasından 475^{o}C'a kadar devam eden aralıkta kaliksaren ve imidazol aromatik birimleri ile etil ve aminopropil gruplarına ait %34,2'lik bir ağırlık kaybı olmuştur. 650^{o}C'a kadar olan üçüncü bölgede silanol ve etoksi gruplarına ait %16,1'lik bir ağırlık kaybı meydana gelmiştir. 900^{o}C'a kadar ısıtıldığında %49,4'lük bozunmadan kalan kısım ise silika birimlerine aittir.

Çizelge 4.1. Bileşik **7**, **8, 14, 15, 20-23 ü**n elementel analiz sonuçları

Bileşik	%C	%H	%N	mmol/g[a]
20	47,74	6,597	0,890	0,159 mmol
21	53,36	6,376	4,923	0,586 mmol
22	51,37	5,430	3,929	0,351 mmol
23	54,74	5,858	2,960	0,176 mmol

[a]Bağlanma miktarları (mmol/g) N içeriklerine göre hesaplandı.

Polisiloksan **21**'nin eşzamanlı TGA ve DTG termogramlarına göre beş bölgede ağırlık kayıplarının meydana geldiği ve %33,3'ünün bu sıcaklık aralığında bozunmadan kaldığı anlaşılmaktadır. İlk ağırlık kaybı başlangıçtan yaklaşık 225^{o}C'a kadar devam eden bölgede %2,3 oldu. Bu bölgedeki ağırlık kaybı bilindiği gibi yine polimerin ihtiva ettiği suyun yapıdan ayrılmasından kaynaklanmıştır. Hemen arkasından 275^{o}C'a kadar devam eden aralıkta etil gruplarına ait %9,6'lık, sonra 460^{o}Ca kadar olan kısımda aminopropil gruplarına ait %29,4 ve 580^{o}C a kadar olan kısmında da kaliksaren ve triazol aromatik birimlerine ait %17,2'lik bir ağırlık kaybı gözlenmiştir. 700^{o}C'a kadar olan üçüncü bölgede silanol ve etoksi gruplarına ait %7,9'luk bir ağırlık kaybı meydana gelmiştir. 900^{o}C'a kadar ısıtıldığında %33,3'lük bozunmadan kalan kısım ise silika birimlerine aittir.

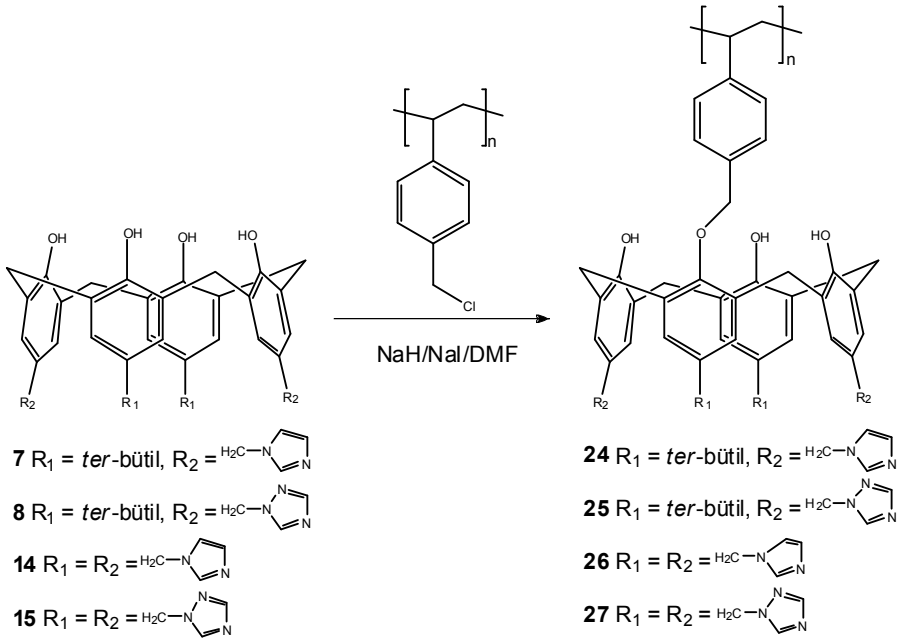
Kaliks[4]aren bazlı polisiloksan **22**'nin eşzamanlı TGA ve DTG termogramlarına göre yine beş bölgede ağırlık kayıplarının meydana geldiği ve %61,4'ünün bu sıcaklık aralığında bozunmadan kaldığı anlaşılmaktadır. İlk ağırlık kaybı başlangıçtan yaklaşık 150^{o}C'a kadar devam eden bölgede %0,5 oldu. Bu bölgedeki ağırlık kaybı, suyun yapıdan ayrılmasından kaynaklanmıştır. Hemen arkasından 325^{o}C'a kadar devam eden aralıkta etil gruplarına ait %4,6'lık, sonra

500^{o}C'a kadar olan kısımda aminopropil gruplarına ait %16,8 ve 580^{o}C a kadar olan kısında da kaliksaren ve imidazol aromatik birimlerine ait %10,3'lük bir ağırlık kaybı gözlenmiştir. 700^{o}C'a kadar olan üçüncü bölgede silanol ve etoksi gruplarına ait %6,5'lik bir ağırlık kaybı meydana gelmiştir. 900^{o}C'a kadar ısıtıldığında %61,4'lük bozunmadan kalan kısım ise silika birimlerine aittir.

Polisiloksan polimerinin **23**'ün eşzamanlı TGA ve DTG termogramlarına göre beş bölgede ağırlık kayıplarının meydana geldiği ve %53,2'sinin bu sıcaklık aralığında bozunmadan kaldığı anlaşılmaktadır. İlk ağırlık kaybı başlangıçtan yaklaşık 200^{o}C'a kadar devam eden bölgede %2,9 oldu. Bu bölgedeki ağırlık kaybı, suyun yapıdan ayrılmasından kaynaklanmıştır. Hemen arkasından 300^{o}C'a kadar devam eden aralıkta etil gruplarına ait %10,1'lik, sonra 500^{o}C'a kadar olan kısımda aminopropil gruplarına ait %18,5 ve 600^{o}C a kadar olan kısında da kaliksaren ve triazol aromatik birimlerine ait %9,1'lik bir ağırlık kaybı gözlenmiştir. 725^{o}C'a kadar olan üçüncü bölgede silanol ve etoksi gruplarına ait %6,2'lik bir ağırlık kaybı meydana gelmiştir. 900^{o}C'a kadar ısıtıldığında %53,2'lik bozunmadan kalan kısım ise silika birimlerine aittir.

4.1.1.2.İmidazol ve triazol bağlı kaliks[4]arenlerin Merrifield reçinesine immobilizasyonu

Ayrıca bu çalışmada ticari bir polimer olan Merrifield reçinesi, imidazol ve triazol bağlı kaliks[4]arenlerin immobilizasyon işlemlerinde kullanıldı. Bunun için imidazol/triazol bağlı kaliks[4]aren bileşikleri, **7, 8, 14** ve **15** Merrifield reçinesi ile NaH ve NaI varlığında DMF içerisinde ayrı ayrı etkileştirilerek Merrifield reçinesi destekli imidazol/triazol bağlı kaliks[4]arenler, **24, 25, 26** ve **27** elde edildi. Elde edilen polimerlerde Merrifield reçinesine kaliks[4]aren bağlanma oranı, elementel analiz sonucuna göre hesaplandı. Merrifield reçinesindeki imidazol/triazol kaliks[4]aren birimlerinin oranı ise, **24, 25, 26** ve **27** için sırasıyla 0.153 mmol/g, 0.104 mmol/g, 0.100 mmol/g ve 0,203 mmol/g olarak hesaplandı.



Diğer taraftan bu Merrifield reçinesi destekli kaliks[4]aren polimerlerinin de eşzamanlı TGA ve DTG termogramları alınmıştır. Buna göre polimer **24**, başlıca iki bölgede ağırlık kaybına uğramış ve %18,5'inin bu sıcaklık aralığında bozunmadan kaldığı anlaşılmaktadır. İlk ağırlık kaybı başlangıçtan yaklaşık 275^{o}C'a kadar devam eden bölgede %3,2 oldu. Bu bölgedeki ağırlık kaybı, suyun yapıdan ayrılmasından kaynaklanmıştır. Hemen arkasından 575^{o}C'a kadar devam eden aralıkta kaliksaren, Merrifield ve imidazol aromatik birimlerine ait %78,3'lük bir ağırlık kaybı gözlenmiştir. 900^{o}C'a kadar ısıtıldığında %18,5'lik bozunmadan kalan kısım ise bağ yapmamış klor-metilli gruplara yorumlanmıştır.

Çizelge 4.2. Merrifield ile TentaGel reçinelerinin ve polimer **24-28**'in elementel analiz sonuçları

Bileşik	%C	%H	%N	mmol/g[a]
Merrifield	87,59	7,413	-	
TentaGel	66,15	8,339	0,513	
24	79,97	7,237	0,858	0,153
25	86,87	7,534	0,870	0,104
26	84,96	7,175	1,121	0,100
27	80,54	7,095	3,410	0,203
28	62,84	7,827	1,873	0,162

[a]Bağlanma miktarları (mmol/g) N içeriklerine göre hesaplandı.

Polimerin **25**'in termogramına göre sadece tek bir sıcaklık aralığında ağırlık kaybı görülmüş ve %14,9'unun bu sıcaklık aralığında bozunmadan kaldığı anlaşılmaktadır. 250-500^{o}C aralığında kaliksaren, Merrifield ve triazol aromatik birimlerine ait %85,1'lik bir ağırlık kaybı gözlenmiştir. 900^{o}C'a kadar ısıtıldığında %14,9'luk bozunmadan kalan kısım ise bağ yapmamış klor-metilli gruplara yorumlanmıştır.

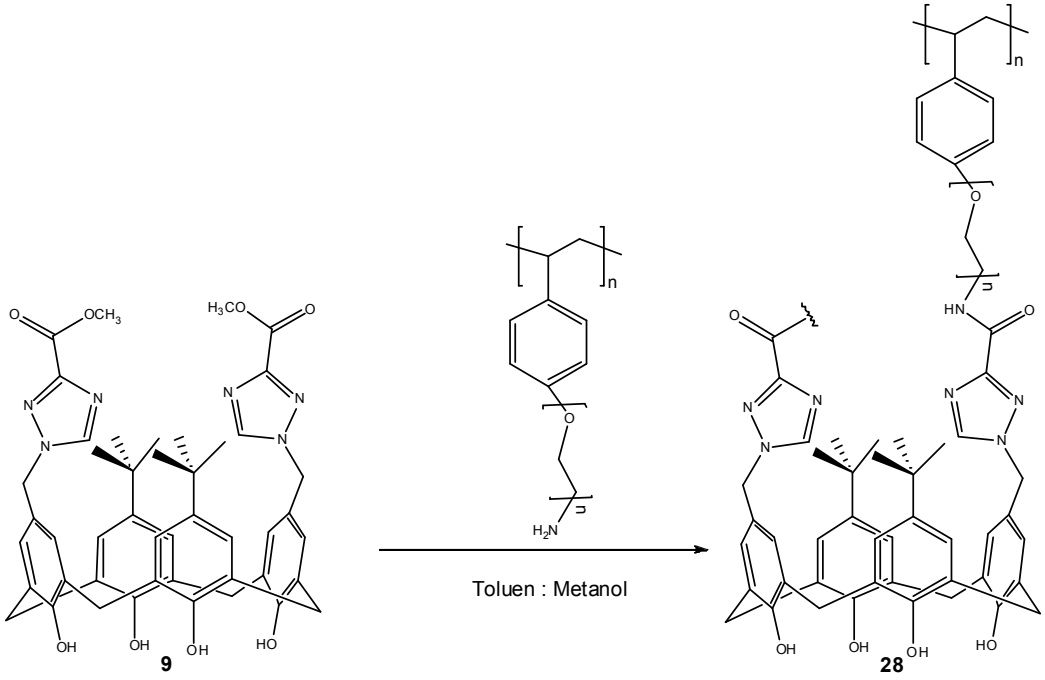
Dörtlü imidazol grubu taşıyan kaliks[4]aren bazlı **26** nolu polimerin termogramına göre de sadece tek bir sıcaklık aralığında ağırlık kaybı görülmüş ve %21,6'sının bu sıcaklık aralığında bozunmadan kaldığı anlaşılmaktadır. 200-525^{o}C aralığında kaliksaren, Merrifield ve imidazol aromatik birimlerine ait %78,4'lük bir ağırlık kaybı gözlenmiştir. 900^{o}C'a kadar ısıtıldığında %21,6'lık bozunmadan kalan kısım ise bağ yapmamış klor-metilli gruplara yorumlanmıştır.

Diğer taraftan dörtlü triazol grubu taşıyan kaliks[4]aren bazlı **27** nolu polimerin termogramına göre ise dört bölgede ağırlık kaybı görülmüş ve %29,9'unun bu sıcaklık aralığında bozunmadan kaldığı anlaşılmaktadır. İlk ağırlık kaybı başlangıçtan yaklaşık 1255^{o}C'a kadar devam eden bölgede %1,2 oldu. Bu bölgedeki ağırlık kaybı, suyun yapıdan ayrılmasından kaynaklanmıştır. Hemen arkasından 300^{o}C'a kadar devam eden bölgede etil gruplarına ait %6,5'lik, sonraki 700^{o}C'a kadar olan bölgede ise kaliksaren, Merrifield ve triazol aromatik birimlerine ait %62,3'lük bir ağırlık kaybı gözlenmiştir. 900^{o}C'a kadar ısıtıldığında %29,9'lık bozunmadan kalan kısım ise bağ yapmamış klor-metilli gruplara yorumlanmıştır.

4.1.1.3.Bileşik 9'un TentGel-NH_2 üzerine immobilizasyonu

Diğer taraftan bu çalışmada ticari bir başka polimer olan Tentagel-NH_2, farklı yapıda bir polimer (amit grubuna sahip ve *p*-pozisyonundan polimerleşmiş) elde etmek için triazolester bağlı kaliks[4]arenin (**9**) immobilizasyon işlemlerinde kullanıldı. Reaksiyon, çözücünün toluen/metanol (1:1) olduğu ortamda, **9** nolu bileşik ile TentaGel-NH_2 (yapısındaki NH_2 oranı 0.40 mmol) in 1:1 eşdeğer oranda geri soğutucu altında etkileştirilmesiyle gerçekleştirildi ve polimer **28** elde edildi. FT-IR de 1754 cm^{-1} deki esterik karbonile ait bandın kaybolup yerine 1641 cm^{-1} de yeni bir bant oluşması hem **9** ile Tentagel arasında oluşması beklenen amit bağına

hem de ester gruplarının her ikisinin de amit bağı oluşturduğuna işaret etmektedir. Polimer **28** ve Tentagel-NH_2'nin elementel analiz sonuçları ve **28**'in kaliksaren bağlanma miktarları, Çizelge 4.2'de görülmektedir. Tentagel-NH_2 ile karşılaştırıldığında **28**'in azot içeriklerindeki artış bağlanmayı doğrulamaktadır. Ayrıca azota içeriğine göre kaliksaren bağlanma oranı, 0,162 mmol/g olarak hesaplandı.



9 **28**

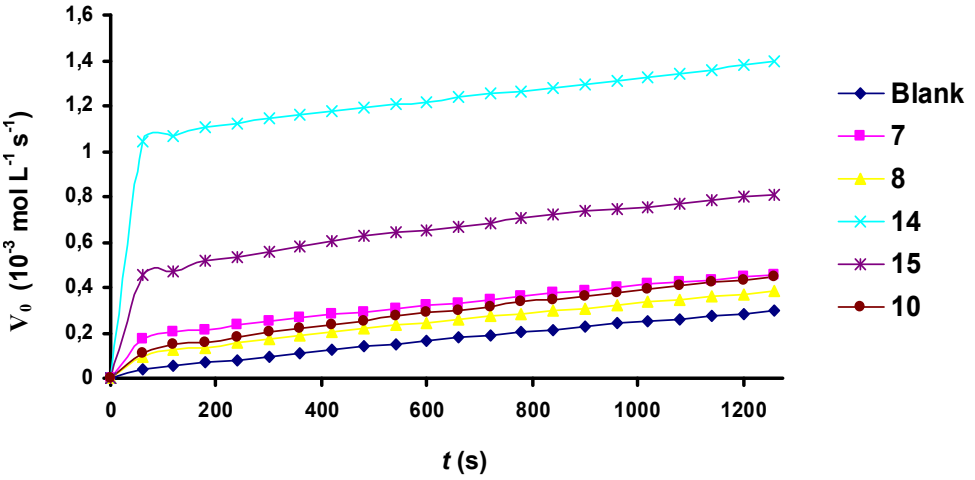
TentaGel-bağlı polimer **28**'in eşzamanlı TGA ve DTG termogramlarına göre başlıca iki bölgede ağırlık kayıplarının meydana geldiği ve %11,4'ünün bu sıcaklık aralığında bozunmadan kaldığı anlaşılmaktadır. İlk ağırlık kaybı, 200-300^oC aralığında %28,7 oranında gerçekleşmiştir. Bu bölgedeki ağırlık kaybı bilindiği yapıda bol miktarda bulunan alkil gruplarına aittir. Hemen arkasından 475^oC'a kadar devam eden aralıkta kaliksaren ve imidazol aromatik birimlerine ait %59,9'lük bir ağırlık kaybı olmuştur. 900^oC'a kadar ısıtıldığında %11,4'lük bozunmadan kalan kısım ise alkiloksi birimlerine aittir.

4.2. Enzim-mimik çalışmaları

Çalışmanın bu bölümünde hazırlanan monomerik ve polimerik kaliks[4]aren türevleri, enzim-mimik özelliklerinin araştırılması için katalizörler olarak kullanıldı.

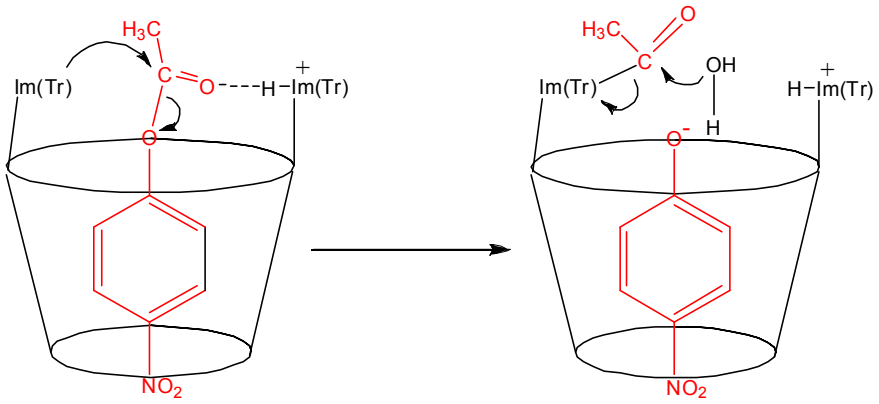
4.2.1. Monomerik kaliks[4]arenler ile enzim-mimik çalışmaları

Sentezlenen monomerik kaliks[4]aren türevlerinin (**7, 8, 10, 14** ve **15**) ester hidrolizindeki enzim-mimik özellikleri deneysel kısımda açıklanan metoda göre gerçekleştirildi. Katalizörlerin hidrolitik aktiviteleri, Şekil 4.1'de grafik olarak gösterildi. Diğer taraftan karşılaştırma yapmak amacıyla deney katalizörsüz olarak da gerçekleştirildi ve sonuç, Şekil 4.1'de verildi. Sonuçlardan ilk olarak sentezlenen kaliks[4]aren bileşiklerinin katalizörsüz şartlara göre daha yüksek hirolitik aktiviteye sahip olduğu açıkça görülmektedir. Buna göre sentezlenen bileşiklerin birer enzim-mimik olduğu ortaya çıkmıştır. Bir diğer sonuç ise katalizörlerin farklı hidrolitik aktivite göstemeleridir. Buna göre aktivite sırası, **14**>**15**>**7**>**10**>**8** şeklinde oluşmuştur. Başka bir deyişle birincisi; dörtlü imidazol/triazol taşıyan kaliks[4]arenler, ikili analoglarından, ikincisi; hem ikili hem de dörtlü imidazol grubu taşıyan kaliks[4]arenler triazol analoglarından, üçüncüsü; ikili karboksilik asit grubu taşıyan triazol fonksiyonlu kaliks[4]aren de bu grubu taşımayan analogundan daha etkili katalizörler olmuşlardır.



Şekil 4.1. Katalizörlü (**7, 8, 10, 14** ve **15**) ve katalizörsüz (**blank**) şartlarda *p*-nitrofenil asetatın hidrolizinden *p*-nitrofenolün oluşum kinetiği. [Katalizör] = $66x10^{-5}$ mol L^{-1}; [*p*-NFA] = $95x10^{-5}$ mol L^{-1}; [Tampon]= 0,05 mol L^{-1} (Na_2HPO_4/KH_2PO_4); pH = 6,3; λ = 400 nm; 25°C.

Yukarıda açıklanan sonuçları yorumlamadan önce kullanılan katalizörlerle hidroliz reaksiyonunun enzim-mimik mekanizmasının bilinmesi gerekmektedir. Buna göre mekanizmanın Şekil 4.2'deki gibi gerçekleştiği düşünülmektedir. Burada pH 6,3' te imidazol/triazol azotlarının yaklaşık %50'si protonlanlandığı düşünülmektedir (Dospil 2001). Buna göre protonlanan bir (**7, 8** ve **10**) veya iki (**14** ve **15**) imidazol/triazol azotları susbtrat (NFA) karbonil oksijeni ile hidrojen bağı yapması, diğer azotların ise karbonile nükleofilik olarak saldırması, –C-O- bağının açılarak substratın fenolat anyonuna dönüşmesine neden olmaktadır. Daha sonra ortamdaki su moleküllerinin hidroksil grubu karbonil grubuna katılarak, protonuda fenolat anyonuna bağlanarak hidroliz reaksiyonu tamamlanmaktadır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Kaliks[4]aren katalizörleri ile ester hidrolizi için önerilen mekanizma.

Şekil 4.2'deki mekanizmaya göre yukarıda açıklanan sonuçlar artık daha kolay yorumlanabilir. O halde dörtlü imidazol/triazol taşıyan kaliks[4]arenlerin ikili analoglarından daha iyi katalizör olmaları, beklenen bir durumdur. Çünkü katalizör üzerinde daha fazla hidrolitik grubun olması, daha çok substrat molekülü ile etkileşim anlamına gelecek ve bunun sonucunda da hidroliz hızı daha da artacaktır.

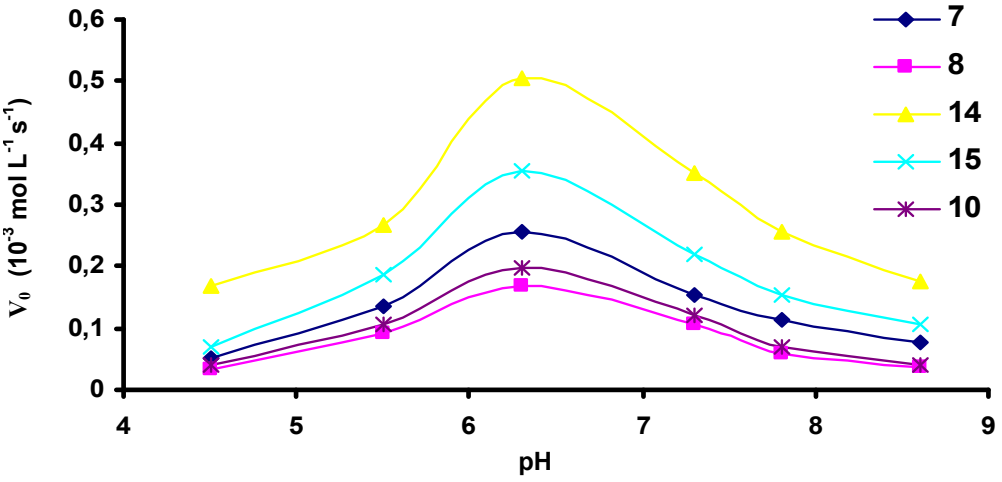
Hem ikili hem de dörtlü imidazol grubu taşıyan kaliks[4]arenlerin, triazol analoglarından daha iyi katalizör olmalarının, imidazol ve triazol gruplarının bazlık dereceleri ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Öyleki Şekil 4.2'deki mekanizmaya göre hidrolitik grupların nükleofilik saldırısı, hidroliz reaksiyonun en önemli basamaklarından birisidir. Dolayısıyla hidrolitik grupların bazlık derecesinin fazla olması, reaksiyon hızını olumlu yönde etkileyecektir. Böylece imidazol gruplarının

bazlık derecesinin (pK_b = 7,05) triazol gruplarından (pK_b = 10,3) daha fazla olması sonucu imidazol bağlı kaliks[4]aren türevleri (**7** ve **14**), triazol analoglarından (**8, 10** ve **15**) daha etkili katalizörler olmuştur.

İkili karboksilik asit grubu taşıyan triazol fonksiyonlu kaliks[4]arenin (**10**), bu grubu taşımayan analogundan (**7**) çok fazla olmasa da daha etkili katalizör olması ise hidroliz mekanizmasının bir diğer önemli basamağı olan hidrojen bağı oluşumu ile ilgili olabilir. Çünkü bileşik **10**'un **7**'den farklı olarak karboksilik asit grupları taşıması, bu bileşiğin hidrojen bağı oluşumuna ilave katkı sağlamasına ve bu yüzden de reaksiyon hızının artmasına neden olduğu düşünülebilir. Bu bilgiler ışığında tüm kaliks[4]aren türevlerinin birer asit-baz katalizörü oldukları ortaya çıkmıştır.

4.2.1.1.pH etkisi

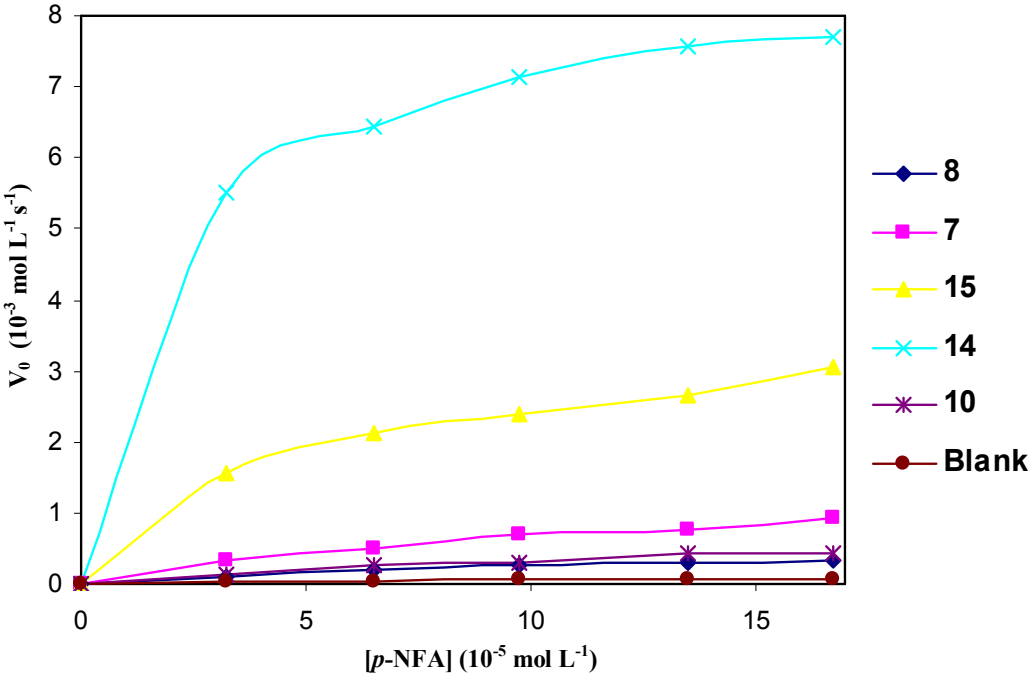
Belirli hidrolitik aktiviteye sahip oldukları görülen kaliks[4]aren katalizörlerinin farklı pH değerlerindeki davranışlarını incelemek amacıyla hidroliz reaksiyonları, tüm katalizörlerle pH 4.5, 5.5, 6.3, 7.3, 7.8 ve 8.6 da gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Şekil 4.3'teki grafikte özetlenmiştir. Buna göre seçilen pH değerlerinden 6,3 değerinin bu hidroliz reaksiyonu için optium pH olduğu



Şekil 4.3. İmidazol/triazol bağlı kaliks[4]aren katalizörlerinin NFA hidrolizindeki pH profili. [Katalizör] = $66x10^{-5}$ mol L^{-1}; [NFA] = $95x10^{-5}$ mol L^{-1}; [Tampon] = 0,05 mol L^{-1} (Na_2HPO_4/KH_2PO_4; NaOH); λ = 400 nm; 25°C.

anlaşılmıştır. Bu sonuç, yukarıda da belirtildiği üzere kullanılan tüm bileşiklerin bir asit-baz katalizörü olarak davranması ile ilgili olabilir. Burada yine protonlanma faktörü ortaya çıkmaktadır. Çünkü pH değerinin farklı olması, protonlanma derecesini, dolayısıyla da reaksiyon hızını etkileyecektir. Bilindiği gibi düşük pH değerlerinde protonlanma daha fazla olacaktır. Bu ise hidroliz reaksiyonun en önemli basamaklarından birisi olan hidrolitik grupların nükleofilik saldırısını etkileyecektir.

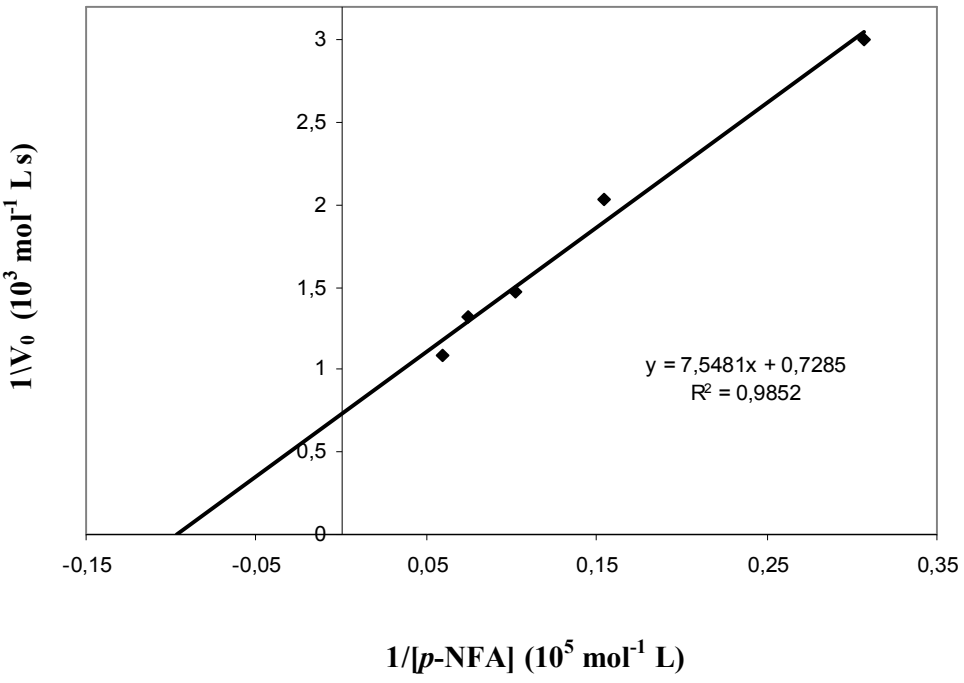
Daha fazla protonlanma, nükleofil olarak etkiyecek protonlanmamış kısmın oranının azalmasına neden olacaktır. Bu da doğal olarak hidroliz reaksiyon hızının azalması demektir. Benzer şekilde yüksek pH'lardaki daha az protonlanma ise bu kez protonlanmanın az olması sonucu reaksiyon hızının az olmasına neden olacaktır. Bu durumda protonlanma derecesinin %50 oranında olması optimum şart olarak düşünülebilir. İşte pH 6.3 değeri, yaklaşık olarak bu oranı sağladığından bu hidroliz reaksiyonunun kataliz için optimum pH olarak belirlenmiştir.



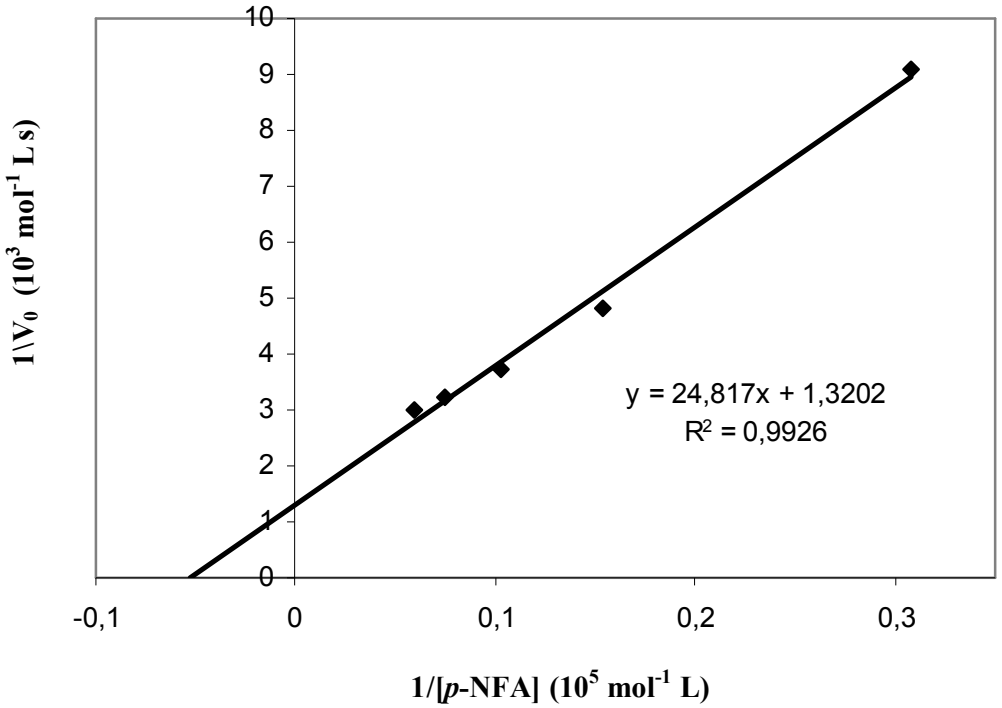
Şekil 4.4. Katalizörlü (**7, 8, 10, 14** ve **15**) ve katalizörsüz (**blank**) şartlarda *p*-nitrofenil asetatın hidrolizinin Michaelis-Menten eğrileri. [Katalizör]= $66x10^{-5}$ mol L^{-1}; [Tampon]= 0,05 mol L^{-1} (Na_2HPO_4/KH_2PO_4); pH = 6,3; λ = 400 nm; 25°C.

4.2.1.2.Farklı substrat konsantrasyonu etkisi

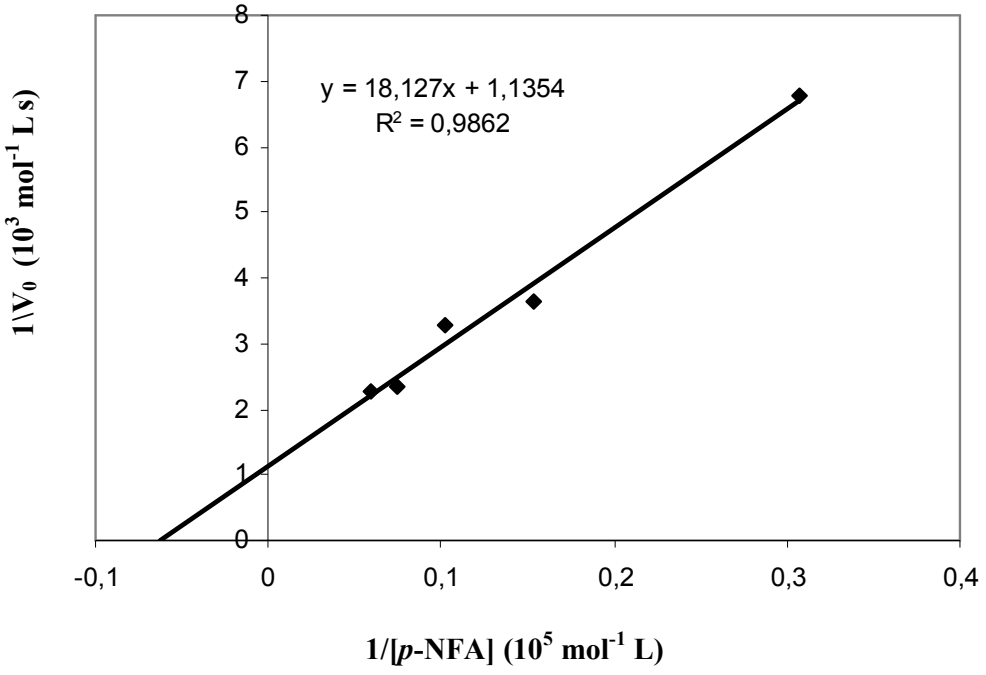
Katalizörlerin (**7, 8, 10, 14** ve **15**) farklı substrat konsantrasyonlarındaki davranışlarını incelemek ve bu şekilde Michaelis-Menten kinetik sabitlerini belirlemek amacıyla hidroliz reaksiyonları, tüm katalizörlerle beş farklı substrat. konsantrasyonu ($3.25x10^{-5}$, $6.5x10^{-5}$, $9.75x10^{-5}$, $13.5x10^{-5}$ ve $16.75x10^{-5}$ mol L^{-1}) seçilerek gerçekleştirildi. Elde edilen sonuçlar, Lineweaver-Burk doğruları ile değerlendirildi. Sonuçların Michaelis-Menten bağıntısından elde edilen grafiği, Şekil 4.4'te verildi. Michaelis-Menten kinetik sabitlerini elde etmek için sonuçlar, Michaelis-Menten bağıntısının doğrusal şekli olan Lineweaver-Burk bağıntısıyla değerlendirildi. **7, 8, 10, 14** ve katalizörsüz deneylerden elde edilen doğrular, sırasıyla Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9 ve Şekil 4.10'da verildi.



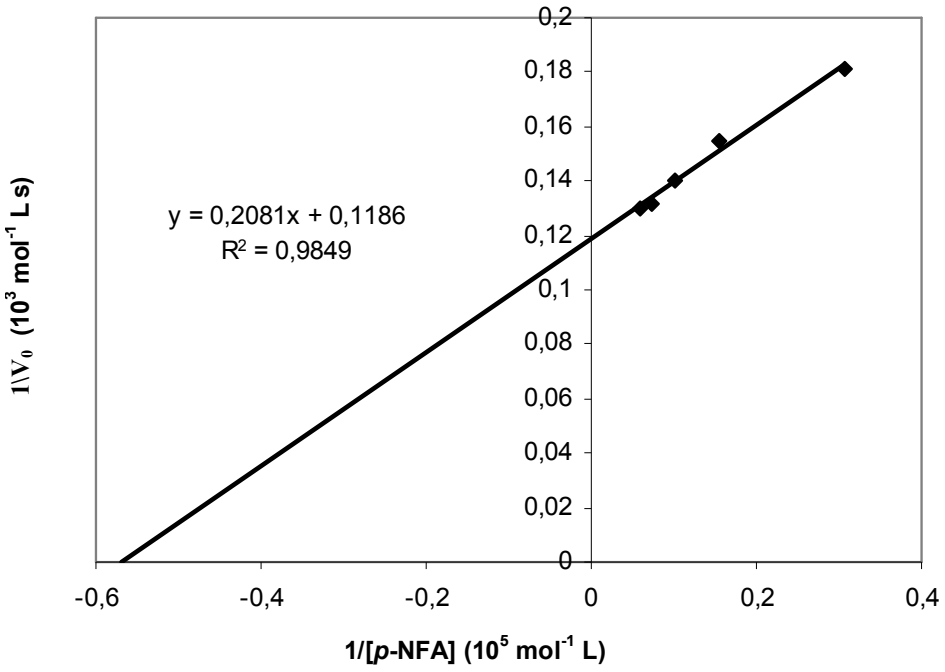
Şekil 4.5. Bileşik **7** ile katalizlenen NFA'nın hidrolizi için Lineweaver-Burk doğrusu



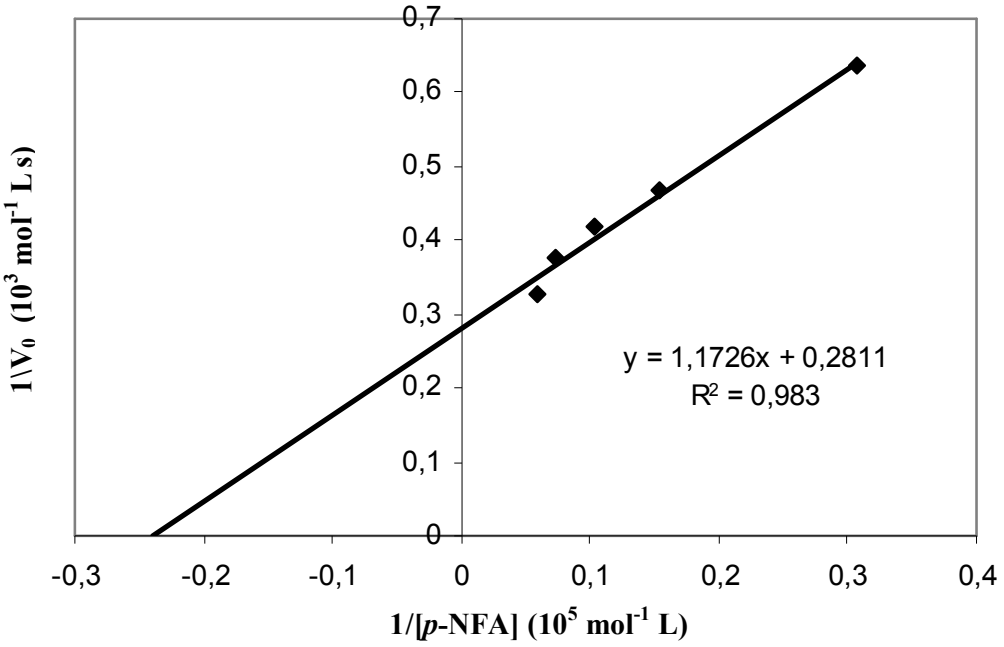
Şekil 4.6. Bileşik **8** ile katalizlenen NFA'nın hidrolizi için Lineweaver-Burk doğrusu



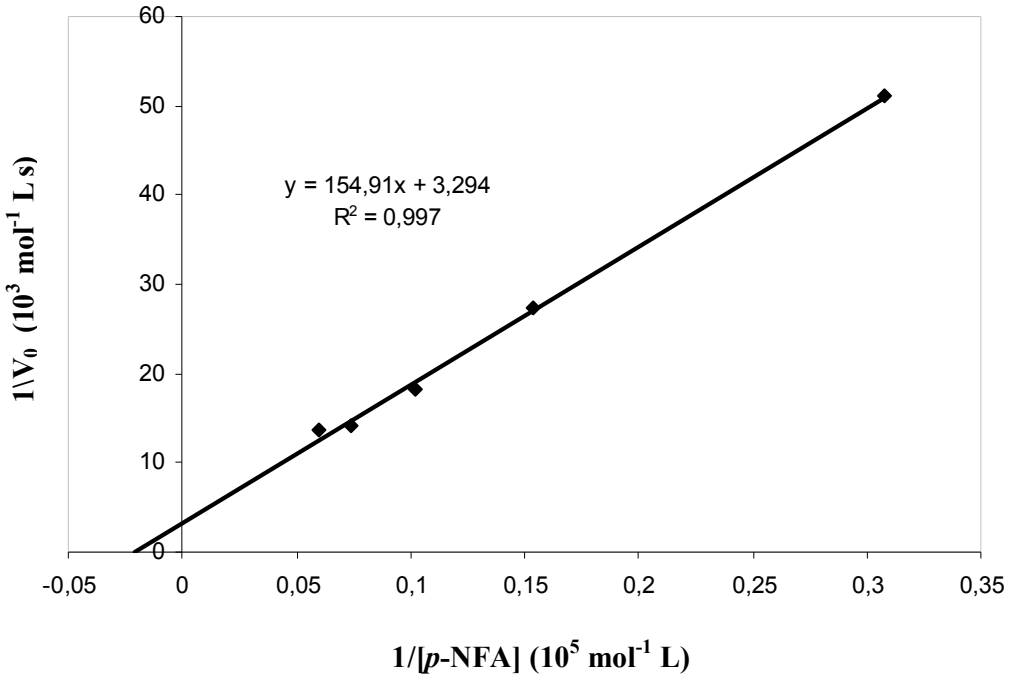
Şekil 4.7. Bileşik **10** ile katalizlenen NFA'nın hidrolizi için Lineweaver-Burk doğrusu



Şekil 4.8. Bileşik **14** ile katalizlenen NFA'nın hidrolizi için Lineweaver-Burk doğrusu



Şekil 4.9. Bileşik **15** ile katalizlenen NFA'nın hidrolizi için Lineweaver-Burk doğrusu



Şekil 4.10. Katalizör kullanılmadan (**blank**) NFA'nın hidrolizi için Lineweaver-Burk doğrusu

Çizilen doğrulardan elde edilen kinetik veriler, Çizelge 4.3'te özetlendi. Veriler incelendiğinde k_{cat} (geri dönüşüm sayısı) değerlerinden katalizörlerin reaksiyon hızına etkileri açıkça görülmektedir. Buna göre katalizörlerin hidroliz reaksiyonunun hızlarını **14**>**15**>**7**>**10**>**8** sırasına göre artırdıkları anlaşılmaktadır. k_{cat}/K_M (hidrolitik etkinlik) değerleri için de aynı sıra gözlendi. $\boldsymbol{k_{cat}/k_{uncat}}$ değerleri de yukarıdaki sırayı doğrulamaktadır fakat $\boldsymbol{k_{cat}/k_{uncat}}$ değerleri daha çok farklı substrat çalışmalarında karşılaştırma yapmak için kullanılmaktadır. Bilindiği gibi K_M değeri büyük olan katalizör daha etkisiz katalizördür. Buna göre K_M değerleri kıyaslanacak olursa yukarıda belirlenen hidrolitik aktivite sırası (**14**>**15**>**7**>**10**>**8**) burada da doğrulanmış olmaktadır. K_M değerinin asıl önemi, bu değerin belirli konsantrasyona sahip katalizör ile en hızlı ve verimli hidrolizin gerçekleşmesi için uygun substrat konsantrasyonunun yarısına eşit olmasıdır. K_{GH} değeri ise, geçiş hali komplesininin ayrılma sabitidir. Bu durumda K_{GH} değerinin küçük olması daha kararlı geçiş-hali kompleksinin oluşmasına, bundan dolayıda katalizör ile substrat arasında daha iyi etkileşime neden olacaktır. K_{GH} [= $\boldsymbol{k_{uncat}/(k_{cat}/K_M)}$] değerleri incelendiğinde bu değerlerin yukarıdaki hidrolitik aktivite sırası ile uyum içinde olduğu görülmektedir.

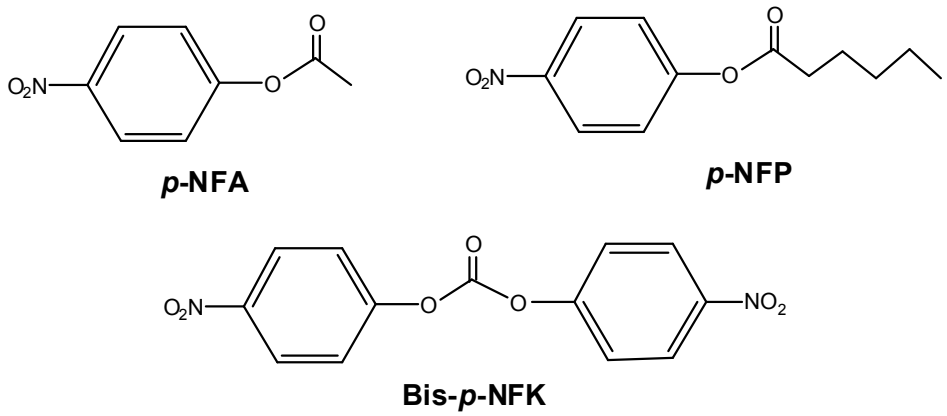
Çizelge 4.3. Katalizörlerle farklı konsantrasyonlardaki *p*-NFA hidrolizinden elde edilen Michaelis-Menten kinetik verileri[a]

Katalizör	k_{cat} (s^{-1})	K_M (10^{-5} mol L^{-1})	k_{cat}/K_M (10^3 mol L^{-1} s^{-1})	k_{cat}/k_{uncat}[b]	K_{GH} (10^{-5} mol L^{-1})
7	0,02	10,4	0,2	4,57	2,3
8	0,011	18,8	0,06	2,53	7,4
10	0,013	16	0,08	2,93	5,4
14	0,128	1,8	7,1	28,1	64,1
15	0,054	4,2	1,28	11,87	35,4

[a][Katalizör] = $66x10^{-5}$ mol L^{-1}; [Tampon]= 0,05 mol L^{-1}, (Na_2HPO_4/KH_2PO_4); pH = 6,3; λ = 400 nm; 25°C.
[b]k_{uncat} = 0,004 s^{-1}

4.2.1.3.Farklı substrat etkisi

Kaliks[4]aren katalizörlerinin (**7, 8, 10, 14** ve **15**) farklı substratlara karşı davranışlarını incelemek amacıyla hidroliz reaksiyonları, tüm katalizörlerle *p*-nitrofenil asetat (*p*-NFA), *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NFP) ve bis-*p*-nitrofenil karbonat (*p*-NFK) substratları (Şekil 4.11) ile gerçekleştirildi. Sonuçlar Şekil 4.4'teki grafikte özetlendi.



Şekil 4.11. Hidroliz için kullanılan substratlar

Çizelge 4.4'ten de görüldüğü gibi tüm katalizörlerin farklı substratlara karşı hidrolitik etkinlik sırası *p*-NFA > *p*-NFP > Bis-*p*-NFK şeklinde olmuştur. Buna göre katalizörler en fazla *p*-NFA'nın hidrolizinde etkin olmuşlardır. *p*-NFP kullanıldığında etkinliğin azalmasının, palmitat alkil gruplarının hareketli olması ve sterik engel oluşturmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bis-*p*-NFK kullanıldığında bu etkinliğin daha da azaldığı görülmektedir. Bunun sebebi olarak da hidroliz sonucunda diğerlerine nazaran iki kat daha fazla ürün oluşumunun, reaksiyon hızını olumsuz yönde etkilemiş olabileceği düşünülmektedir. Çizelge 4.4'ten ayrıca aynı substrat için katalizörler arasındaki farkın giderek azaldığı da açıkça görülmektedir. Bu sonuç da yine sterik engele bağlanabilir. Çünkü oluşan ürün ya da substrat yapısından kaynaklanan birikme, hidrolitik grupların etkin bir şekilde davranmasını zorlaştırmaktadır.

Çizelge 4.4. Katalizörlerle farklı substratların hidrolizinden elde edilen k_{cat}/k_{uncat} değerleri

Katalizör	*p*-NFA	*p*-NFP	Bis-*p*-NFK
7	4,57	3,19	1,36
8	2,53	1,86	1,27
10	2,93	2,1	1,32
14	28,1	6,43	1,45
15	11,87	4,71	1,42

[a][Katalizör] = $66x10^{-5}$ mol L^{-1}; [Tampon]= 0,05 mol L^{-1} (Na_2HPO_4/KH_2PO_4); pH = 6,3; λ = 400 nm; 25°C.

4.2.1.4.Polimerik kaliks[4]arenler ile enzim-mimik çalışmaları

Literatürde enzim-mimik çalışması olarak monomerik kaliks[4]aren türevleri ile ilgili az da olsa bazı çalışmalar yapılmış olmasına rağmen literatür bilgilerine göre polimerik kaliks[4]arenler ile ilgili herhangi bir enzim-mimik modeli önerilmemiştir. Bu açıdan şimdiki çalışma, bu konuda yapılan ilk çalışma olarak değerlendirilebilir. Burada bir konuyu belirtmek, yapılan çalışmaları değerlendirmede çok faydalı olacaktır. Bilindiği gibi genel olarak polimerik yapılar, monomerik yapılara göre daha etkin şartlara daha dayanıklı yapılardır. Ayrıca monomerik yapılar, yapılan analitik işlemden sonra geri kazanım ve yeniden kullanım problemi taşırken,

polimerler çoğunlukla bu problemlerden uzaktırlar ve bu onlar için analitik uygulamalarda bir avantaj sağlamaktadır. İşte bu çalışmada da yukarıda hidrolitik aktiviteleri kanıtlanan monomerik kaliks[4]arenler, farklı polimerik yapılara dönüştürülerek etkin şartlarda daha dayanıklı, geri kazanılabilen ve yeniden kullanılabilen polimerik kaliks[4]aren enzim-mimik modellerinin oluşturulması amaçlanmıştır. Gerçektende bu yapıların ticari olarak uygulamaları düşünüldüğünde bu amacın ne kadar önemli olduğu daha iyi anlaşılabilir. Bu amaçla ilk olarak sentezlenen polimerik kaliks[4]aren türevlerinin (**20-28**) ester hidrolizindeki etkinliklerini belirlemek için enzim-mimik çalışmaları, deneysel kısımda açıklanan metoda göre gerçekleştirildi. Polimerik katalizörlerin hidrolitik özelliklerini daha iyi anlamak için benzer polimerik yapılar birlikte değerlendirildi. Buna göre kaliks[4]aren polisiloksanların (**20-23**) etkinlikleri, k_{cat} ve K_M değerleri olarak Çizelge 4.5'te, Merrifield ve TentaGel-bağlı kaliks[4]aren polimerlerinin (**24-28**) sonuçları ise Çizelge 4.6'da özetlendi.

Çizelge 4.5. Kaliks[4]aren polisiloksanların (**20-23**) kinetik verileri[a]

Katalizör	**20**	**21**	**22**	**23**
k_{cat} **(s^{-1})**	1,38	1,62	3,23	2,15
K_M **(10^{-5} mol L^{-1})**	33,2	27,7	14,1	21,4
k_{kat}/K_M **(10^3 mol L^{-1} s^{-1})**	24,06	17,1	4,37	9,95

[a]Polimer = 10 mg; [Tampon]= 0,05 mol L^{-1} (Na_2HPO_4/KH_2PO_4); pH = 6,3; λ = 400 nm; 25°C.

Çizelge 4.5'teki verilerden dörtlü imidazol/triazol bağlı polimerlerin (**22** ve **23**) daha etkili katalizörler olduğu açıkça görülmektedir. Bu, monomerik analoglarla kıyaslandığında beklenen bir durumdur. Fakat ikili imidazol/triazol bağlı polimerlerde (**20** ve **21**) durum tersine dönmüştür. Yani imidazol bağlı polimer **20**'nin daha etkili olması beklenirken triazol bağlı polimer **21**, daha iyi hidrolitik etkinlik göstermiştir. Bu durum, **20** ve **21**'in kaliks[4]aren içerikleriyle açıklanabilir. Çünkü polimer **21**'in polimer **20**'den yaklaşık 3,5 kat daha fazla kaliks[4]aren içeriğine sahip olması onu daha etkili yapmış olabilir.

Çizelge 4.6. Merrifield (**24-27**) ve TentaGel-destekli (**28**) kaliks[4]aren polimerlerinin kinetik verileri[a]

Katalizör	**24**	**25**	**26**	**27**	**28**
k_{cat} **(s^{-1})**	1,54	1,31	1,69	3,15	2,61
K_M **(10^{-5} mol L^{-1})**	29,9	33,7	27,0	15,6	18,8
k_{kat}/K_M **(10^3 mol L^{-1} s^{-1})**	19,42	25,73	15,98	4,95	7,2

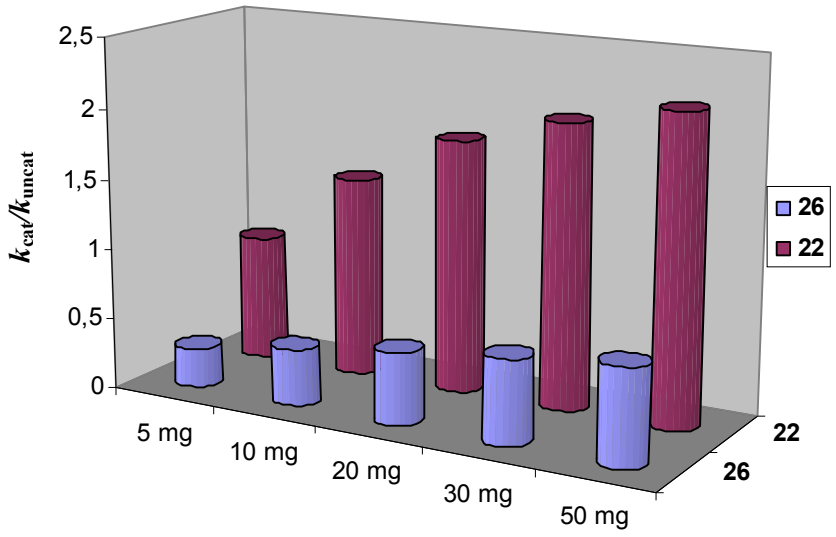
[a]Polimer = 10 mg; [Tampon]= 0,05 mol L^{-1} (Na_2HPO_4/KH_2PO_4); pH = 6,3; λ = 400 nm; 25°C.

Çizelge 4.6'daki verilerden yine dörtlü imidazol/triazol bağlı polimerlerin (**22** ve **23**) daha etkili katalizörler olduğu anlaşılmaktadır. Fakat bu kez de dörtlü imidazol/triazol bağlı polimerlerde (**26** ve **27**) durum tersine dönmüştür. Yani imidazol bağlı polimer **26**'nin daha etkili olması beklenirken triazol bağlı polimer **27**, daha iyi hidrolitik etkinlik göstermiştir. Bu durum yine **26** ve **27**'in kaliks[4]aren içerikleriyle açıklanabilir. Çünkü polimer **27**'nin, polimer **26**'den yaklaşık iki kat daha fazla kaliks[4]aren içeriğine sahip olması onu daha etkili yapmış olabilir.

Diğer taraftan TentaGel-triazol-amit yapısına sahip polimer **28**'in beklenmedik şekilde oldukça daha yüksek aktivite göstermesi, yine bağlanma oranındaki fazlalığa yorumlanabilir. Ayrıca burada dikkat edilmelidir ki monomerik analog olan kaliks[4]aren katalizörünün (**10**), karboksilik asit grubu sebebiyle hidrojen bağına yapmış olduğu katkı, polimerik türevindeki amit grubu ile devam ettrilmesinin yanında TentaGel'in bağ yapmamış amino gruplarının da hem nükleofilik özelliği hem de hidrojen bağına yaptığı katkının bu yüksek katalitik aktiviteye neden olabileceği düşünülmelidir.

4.2.1.5.Polimer miktarının etkisi

Enzim-mimik çalışmalarında kullanılan polimerlerin miktarının hidrolitik aktiviteyi nasıl etkilediğini görmek amacıyla farklı miktarlardaki (5 mg, 10 mg, 20 mg, 30 mg ve 50 mg) polimerler kullanıldı. Bunun için katalizör olarak **22** ve **26**, substrat olarak ise *p*-NFA kullanıldı. Elde edilen sonuçlar, Şekil 4.12'de grafik ile gösterildi. Buna göre her iki polimerik kaliks[4]aren katalizörünün de miktarının artırılmasıyla beklendiği gibi hidrolitik aktivitelerinin de arttığı görüldü.



Şekil 4.12. Farklı miktarlardaki polimerik katalizörler (**22** ve **26**) ile *p*-NFA' nın hidrolizinden elde edilen k_{cat}/k_{uncat} değerleri. [Tampon]= 0,05 mol L^{-1} (Na_2HPO_4/KH_2PO_4); pH = 6,3; λ = 400 nm; 25°C.

4.2.1.6.Geri kazanım ve yeniden kullanım çalışmaları

Yukarıda da açıklandığı üzere polimerik bir katalizör geliştirmek önemli bir anaçtır. Bu sebeple hidroliz reaksiyonu için polimerik katalizör olarak **22**, **26** ve **28**, substrat olarak da *p*-NFA deneysel kısımda açıklanan prosedüre göre kullanıldıktan sonra süzülerek su ve metanolle yıkandı. Daha sonra kurutulan katalizör, aynı deney için yeniden kullanıldı ve bu işlem en az beş kere gerçekleştirilerek polimerik katalizörün yeniden kullanılabilirlik özelliği belirlendi. Yapılan çalışmanın sonuçlarına geçmeden önce kullanılan kaliks[4]aren polimerlerinin yapısını hatırlamak, sonuçları açıklamada faydalı olacaktır. Polimer **22**, dört imidazol birimi taşıyan bir polisiloksan yapısına sahip olup, polimerik yapıyı büyük çoğunlukla –Si-O- bağları oluşturmaktadır. Polimer **26** ise yine dört imidazol birimi taşıyan fakat bu kez sabit bir polimerik desteğe (Merrifield) immobilize edilmiş bir yapıya sahip olup, polimerin büyük bir kısmını alifatik bağlar oluşturmaktadır. Diğer yandan polimer **28** ise iki triazol birimi taşıyan ve sabit bir polimerik desteğe (TentaGel) amit bağıyla bağlı bir yapıya sahip olup, polimerin büyük bir kısmını eterik ve alifatik bağlar oluşturmaktadır. Çizelge 4.7'de özetlenen sonuçlara göre TentaGel-bağlı kaliks[4]aren polimerinin (**28**), üç dönüşüm sonucunda, kaliks[4]aren polisiloksan

polimerinin (**22**) ise beş dönüşüm sonucunda aktivitesini hemen hemen kaybettiği, Merrifield-destekli kaliks[4]aren polimerinin (**26**), beş dönüşüm sonrasında bile yaklaşık %50 oranında bir aktivite gösterdiği anlaşılmıştır. Polisiloksan ve TentaGel polimerlerinin aktivitesindeki bu düşüş, yapıyı oluşturan sırasıyla –Si-O- bağlarının ve -CH_2O-CH_2CH_2- zincirlerinin parçalanmasına yorumlanmıştır. Sonuç olarak, Merrifield-destekli kaliks[4]aren polimerinin (**26**) yapısının değişik şartlara daha dayanıklı olduğu ve kullanışlı bir polimerik katalizör olduğu söylenebilir.

Çizelge 4.7. Polimerik katalizörlerin yeniden kullanılabilirliği (%)[a]

Dönüşüm sayısı	**22**	**26**	**28**
1	85	96	78
2	62	90	45
3	41	81	3
4	28	66	-
5	5	50	-

[a]Polimer = 10 mg; [*p*-NFA] = $95x10^{-5}$ mol L^{-1}; [Tampon]= 0,05 mol L^{-1} (Na_2HPO_4/KH_2PO_4); pH = 6,3; λ = 400 nm; 25°C.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

- Sonuç olarak yapılan bu çalışmada ilk olarak ikili ve dörtlü farklı fonksiyonel gruplara (imidazol, triazol, triazol ester/asit/amit) sahip monomerik ve polimerik yapıdaki kaliks[4]aren türevleri, enzim-mimik çalışmalarındaki etkinliklerininin belirlenmesi amacıyla hazırlandı.
- Hazırlanan bileşiklerin yapıları, FTIR, ^{1}H NMR, element analiz ve TGA gibi yapı analiz teknikleri kullanılarak aydınlatıldı.
- Hem monomerik hem de polimerik kaliks[4]aren türevleriyle enzim-mimik çalışmalarında *p*-nitrofenil asetatın hidroliz reaksiyonu için transaçilaz katalizörleri olarak kullanıldı. Ayrıca reaksiyon katalizörsüz olarak da gerçekleştirilerek karşılaştırma yapıldı.
- Monomerik katalizörlerle yapılan çalışmanın sonuçlardan, kullanılan bileşiklerin **14**>**15**>**7**>**10**>**8** sırasına göre farklı katalitik özellikler gösterdiği anlaşıldı.
- Katalitik etkinlikler belirlendikten sonra monomerik katalizörlerle çalışmalar, daha detaylı olarak gerçekleştirildi. Bu amaçla ilk olarak optimum pH'ı belirlemek amacıyla hidroliz reaksiyonu farklı pH değerlerinde gerçekleştirildi ve pH 6,3 optimum pH olarak belirlendi.
- Reaksiyon kinetiği ile ilgili olarak Michaelis-Menten verilerini belirlemek amacıyla hidroliz reaksiyonu, farklı substrat konsantrasyonları kullanılarak gerçekleştirildi ve Lineweaver-Burk grafiklerinden monomerik kaliks[4]aren katalizörleri (**7, 8, 10, 14** ve **15**) için K_M değerleri sırasıyla 10.4, 18.8, 16.0, 1.8 ve 4.2 olarak hesaplandı. Bu sonuç, yukarıda belirlenen katalitik etkinlik sırasını doğruladı.
- Monomerik kaliks[4]aren katalizörleri (**7, 8, 10, 14** ve **15**) için K_{GH} değerleri, sırasıyla 2.3, 7.4, 5.4, 64.1 ve 35.4 olarak hesaplandı. Buradan kararlı geçiş hali kompleksi oluşturan katalizörlerin daha yüksek katalitik etkinliğe sahip olduğu doğrulandı.
- Farklı substratlara karşı davranışını belirlemek için farklı substratlar (*p*-NFA, *p*-NFP ve bis-*p*-NFK) kullanılarak yapılan hidroliz reaksiyonlarından, tüm katalizörlerin *p*-nitrofenil asetatın hidrolizinde en yüksek etkinliğe sahip

oldukları görüldü. Etkinlik sırası, *p*-NFA>*p*-NFP>bis-*p*-NFK şeklinde gerçekleşti.

- Enzim-mimik çalışmaları, polimerik kaliks[4]aren katalizörleri kullanıldı ve Michaelis-Menten kinetik verileri belirlenerek polimerlerin katalitik özellikleri anlaşıldı.
- Polimerik kaliks[4]aren katalizörlerin katalitik etkinliklerinde polimerlerin kaliksaren içeriklerinin çok önemli bir faktör olduğu görüldü. Ayrıca hidrojen bağının da katalitik etkinlikteki önemi kanıtlandı.
- Farklı miktardaki polimerler kullanılarak yapılan enzim-mimik çalışmalarından polimer miktarının artışı ile katalitik etkinliğinde arttığı görüldü.
- Ayrıca enzim-mimik çalışmalarında polimerik katalizörlerle geri kazanım ve yeniden kullanım çalışmaları gerçekleştirildi ve bu şekilde sentezlenen polimerik kaliksarenlerin kullanılabilirlik dereceleri belirlendi. Buna göre Merrifield-bağlı polimerlerin daha kullanışlı katalizörler oldukları anlaşıldı.
- Sonuç olarak bu çalışmada hazırlanan monomerik ve polimerik kaliks[4]aren türevlerinin birer transaçilaz katalizörü olarak etkili oldukları ve taşıdıkları katalitik grupların cinsine ve sayısına (polimerler için içerdikleri kaliksaren miktarlarına) bağlı olarak farklı katalitik etkinliklere sahip oldukları anlaşıldı. Bu çalışmada hem sentezlenen kaliks[4]aren türevlerinin özellikle de polimerik olanların hem de onların enzim-mimik olarak davranışları, sadece bu konuda değil yapılacak olan başka konulardaki bilimsel çalışmalara ve teknolojik uygulamalara da katkıda bulunabilir.

6. KAYNAKLAR

Agrawal Y.K., Bhatt, H. 2004. Calixarenes and Their Biomimetic Applications. Bioinorganic Chemistry and Applications. 2(3-4): 237-274.

Antipin, I.S., Stoikov, I.I., Garifzyanov, A.R., Konovalov, A.I. 1996. Membrane Extraction of Organic Compounds .1. Alpha-Aminophosphonates as Carriers of alpha-Oxy Acids and alpha-Amino Acids. Zh. Obsch. Khim. 66: 402-406.

Antipin, I.S., Stoikov, I.I., Pinkhassik, E.M., Fitseva, N.A., Stibor, I., Konovalov, A.I. 1997. Calix[4]arene Based alpha-Aminophosphonates: Novel Carriers for Zwitterionic Amino Acids Transport. Tetrahedron Letters 38: 5865-5868.

Arduini, A., Casnati, A. 1996. Calixarenes. Macrocycle Synthesis: A Practical Approach. Parker, D. (ed), pp 145-173, Oxford University Press, Oxford.

Arduini, A., Fabbi, M., Mantovani, M., Mirone, L., Pochini, A., Secchi, A., Ungaro, R. 1995. Calix[4]arenes Blocked in a Rigid Cone Conformation by Selective Functionalization at the Lower Rim. Journal of Organic Chemistry 60: 1454-1457.

Arduini, A., Pochini, A., Raverberi, S., Ungaro, R. 1984. p-t-Butyl-Calix[4]arene Tetracarboxylic Acid. A Water Soluble Calixarene in a Cone Structure. Journal of the Chemical Society, Chemical Communications 981-982.

Arena, G., Casnati, A., Contino, A., Sciotto, D., Ungaro, R. 1997. Charge Assisted Hydrophobic Binding of Ethanol into the Cavity of Calix[4]arene Receptors in Aqueous Solution. Tetrahedron Letters 38: 4685-4688.

Arena, G., Casnati, A., Mirone, L., Sciotto, D., Ungaro, R. 1997. A New Water-Soluble Calix[4]arene Ditopic Receptor Rigidified by Microsolvation: Acid-Base and Inclusion Properties. Tetrahedron Letters 38: 1999-2002.

Arena, G., Contino, A., Gulino, F.G., Magri, A., Sansone, F., Sciotto, D., Ungaro, R. 1999. Tetrahedron Letters 40: 1597-1600.

Arena, G., Contino, A., Gulino, F.G., Magri, A., Sciotto, D., Ungaro, R. 2000. Complexation of Small Neutral Organic Molecules by Water Soluble Calix[4]arenas. Tetrahedron Letters 41: 9327-9330.

Asfari, Z., Böhmer, V., Harrowfield, M.Mcb., Vicens, J. 2001. Calixarenes 2001. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Ashkenasy, G., Margulies, D., Felder, C.E., Shanzer, A., Powers, L.S. 2002. Bidentate Ligation of Heme Analogues; Novel Biomimetics of the Peroxidase Active Site. Chemistry - A European Journal 8: 4017-4026.

Auld, D. S. 1997. Metal Sites in Proteins and Models in Structure and Bonding. Sadler, P.J. (ed), 89, pp 29-50, Springer-Verlag: Berlin- Heidelberg.

Bailey, P.D., Clarke, D.G.W., Crofts, G.A., 1992. Synthesis and Structure of a New Type of Polycyclic Peptide. Journal of the Chemical Society, Chemical Communications 658-660.

Baker, B.F., Khalili, H., Wei, N., Morrow, J.R. 1997. Cleavage of the 5' Cap Structure of mRNA by a Europium(III) Macrocyclic Complex with Pendant Alcohol Groups. Journal of the American Chemical Society 119: 8749-8755.

Bazzicalupi, C., Bencini, A., Bianchi, A., Fusi, V., Giorgi, C., Paoletti, P., Valtancoli, B., Zanchi, D. 1997. Carboxy and Phosphate Esters Cleavage with Mono- and Dinuclear Zinc(II) Macrocyclic Complexes in Aqueous Solution, Crystal Structure of [Zn(2)L1(Mu-Pp)(2)(MeOH)(2)](ClO4)(2) (L1=[30]Anen(6)O(4), Pp-Equals Diphenyl Phosphate). Inorganic Chemistry 36: 2784-2790.

Bell, F., Gibson, J. A., Wilson, R.D. 1956. Stereochemical Aspects of Aromatic Substitution. Part I. Peri-Derivatives of Naphthalene. Journal of the Chemical Society 2335-2340.

Bergquist, C., Parkin, G. 1999. Modeling the Catalytic Cycle of Liver Alcohol Dehydrogenase: Synthesis and Structural Characterization of a Four-Coordinate Zinc Ethoxide Complex and Determination of Relative Zn-OR Versus Zn-OH Bond Energies. Inorganic Chemistry 38: 422.

Blanchard, S., Le Clainche, L., Rager, M.N., Chansou, B., Tuchagues, J.P., Duprat, A.F., Mest, Y.L., Reinaud, O. 1998. Calixarene-Based Copper(I) Complexes as Models for Monocopper Sites in Enzymes. Angewandte Chemie International Edition English 37: 2732-2735.

Blanda, M.T., Frels, J. 1998. Synthesis of Ditopic Calix[4]arenes Receptor Molecules Containing Silicon on the Upper Rim. Supramolecular Chemistry 9: 255-261.

Blixt J., Detellier, C. 1994. Conformational Dynamics of Calixarenes-Kinetics of Conformational Interconversion in 5,11,17,23-tetra-p-tert-Butyl-25,26,27,28-Tetramethoxycalix[4]arene under Entropic Control Journal of the American Chemical Society 116(26): 11957 11960.

Bonora, G.M. Drioli, S., Felluga, F., Mancin, F., Rossi, P., Scrimin, P., Teciila, P. 2003. Poly(Ethylene Glycol)-Supported Copper(II) Triazacyclononane: An Efficient, Recoverable, and Recyclable Catalyst for the Cleavage of a Phosphodiester. Tetrahedron Letters 44: 535-538.

Böhmer, V. 1995. Calixarenes, Macrocycles with (almost) Unlimited Possibilities. Angewandte Chemie International Edition English 34: 713-745.

Böhmer, V. 2003. Calixarenes. The Chemistry of Phenols Part 2. Rappoport, Z. (ed), Chapter 19, pp 1369-1454, Wiley: Chichester, UK.

Bracken, K., Moss, R.A., Ragunathan, K.G. 1997. Remarkably Rapid Cleavage of a Model Phosphodiester by Complexed Ceric Ions in Aqueous Micellar Solutions. Journal of the American Chemical Society 19: 9323-9324.

Brewster, R.E., Shuker, S.B. 2002. Molecular Recognition in Methanol: The First Example of Hydrogen-Bond-Mediated Self-Association of a Calix[4]arene in Polar, Protic Solvent Journal of the American Chemical Society 124: 7902-7903.

Bruice, T.C., Tsubouchi, A., Dempcy, R.O., Olson, L.P. 1996. One- and Two-Metal Ion Catalysis of the Hydrolysis of Adenosine 3'-Alkyl Phosphate Esters. Models for One- and Two-Metal Ion Catalysis of RNA Hydrolysis. Journal of the American Chemical Society 118: 9867-9875.

Buckingham, A.D., Legon, A.C., Roberts, S.M., (eds). 1993. Principles of Molecular Recognition. Blackie Academic and Professional, London.

Budka, J., Tkadlecova, M., Lhotak, P., Stibor, I. 2000. Synthesis of Novel Calixsugars: Calix[4]arene-Monosaccharide Conjugates Based on Amide Bonds. Tetrahedron 5(6): 1883-1887.

Cacciapaglia, R., Di Stefano, S., Mandolini, L. 2004. Effective Molarities in Supramolecular Catalysis of Two-Substrate Reactions. Accounts of Chemical Research 37: 113-122.

Casnati, A., Fabbi, M., Pellizzi, N., Pochini, A., Sansone, F., Ungaro, R. 1996. Synthesis, Antimicrobial Activity and Binding Properties of Calix[4]arene Based Vancomycin Mimics. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters 6: 2699-2704.

Castellano, R.K., Kim B.H., Rebek Jr., J. 1997. Chiral Capsules: Asymmetric Binding in Calixarene-Based Dimers. Journal of the American Chemical Society 119: 12671-12672.

Cho, Y.L., Rudkevich, D.M., Shivanyuk, A., Rissanen K., Rebek Jr., J. 2000. Hydrogen-Bonding Effects in Calix[4]arene Capsules. Chemistry - A European Journal 6: 3788-3796.

Choi, I.S., Bowden, N., Whitesides, G.M. 1999. Shape-Selective Recognition and Self-Assembly of MM-Scale Components. Journal of the American Chemical Society 121: 1754-1755.

Clark, T.D., Buehler, L.K., Ghadiri, M.R. 1998. Self-Assembling Cyclic beta(3)-Peptide Nanotubes as Artificial Transmembrane Ion Channels. Journal of the American Chemical Society 120: 651-656.

Conforth, J.W., Hart, P.D., Nicholls, G.A., Rees, R.J.W., Stock, J.A. 1955. Antituberculous Effects Of Certain Surface-Active Polyoxyethylene Ethers. British Journal of Pharmacology 10(1): 73-88.

Cornforth, J.W., Morgan, E.D., Potts, K.T., Rees, R.J.W., Gutsche, C.D., Iqbal, M., Stewart, D. 1986. Calixarenes. 18. Synthesis Procedures for p-tert-Butylcalix[4]arene. Journal of Organic Chemistry 51: 742-745.

Costamagna, J., Ferraudi, G., Matsuhiro, B., Vallette, M.C., Canales, J., Villagran, M., Vargas, J., Aguirre, M.J. 2000. Complexes of Macrocycles with Pendant Arms as Models for Biological Molecules. Coordination Chemistry Reviews 196: 125-164.

Cram, D.J., Stewart, K.D., Goldberg, I., Trueblood, K.N. 1985. Complementary Solutes Enter Nonpolar Preorganized Cavities in Lipophilic

Noncomplementary Media. Journal of the American Chemical Society 107: 2574-2575.

Creighton, T. E. 1993. Proteins: Structures And Molecular Properties, 2nd Ed., W.H. Freeman And Company, New York.

Dalbavie, J.-O., Regnouf-de-Vains, J.-B., Lamartine, R., Lecocq, S., Perrin, M. 2000. Complexation of Cobalt(II) at the Upper Rim of Two New Calix[4]arene/Bipyridine-Based Podands. European Jurnal of Inorganic Chemistry 683-691.

Davis, A.P., Wareham, R.S. 1999. Carbohydrate Recognition through Noncovalent Interactions: A Challenge for Biomimetic and Supramolecular Chemistry. Angewandte Chemie International Edition English 38: 2978-2996.

Demirtas, H.N., Bozkurt, S., Durmaz, M., Yilmaz, M., Sirit, A. 2008. Synthesis of New Chiral Calix[4]azacrowns for Enantiomeric Recognition of Carboxylic Acids. Tetrahedron: Asymmetry 19(17): 2020-2025.

Dhawan, B. Gutsche, C.D. 1983. Calixarenes. 10. Oxacalixarenes. Journal of Organic Chemistry 48: 1536-1539.

Dospil, G., Schatz, J. 2001. Synthesis and Characterization of Imidazole-Substituted Calix[4]arenes as Simple Enzyme-Mimics with Acyltransferase Activity. Tetrahedron Letters 42: 7837-7840.

Durmaz, M., Alpaydin, S., Sirit, A., Yilmaz, M. 2007. Enantiomeric Recognition of Amino Acid Derivatives by Chiral Schiff Bases of Calix[4]arene Tetrahedron: Asymmetry 18(7): 900-905.

Erdemir, S., Tabakci, M., Yilmaz M. 2007. Synthesis and Amino Acid Extraction Abilities of Chiral Calix[4]arene Triamides Containing Amino Alcohol Units. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry 59:197–202.

Fersht, A. 1985. Enzyme Structure and Mechanism, 2nd Ed., W.H. Freeman And Company, New York.

Fiammengo, R., Calana, M.C., Reinhoudt, D.N. 2001. Synthetic Self-Assembled Models with Biomimetic Functions. Current Opinion in Chemical Biology 5: 660-673.

Fischer, E. 1894. Einfluss Der Configuration Auf Die Wirkung Derenzyme. Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft 27: 2985-2993.

Frish, L., Sansone, F., Casnati, A., Ungaro, R., Cohen, Y. 2000. Complexation of a Peptidocalix[4]arene, a Vancomycin Mimic, with Alanine-Containing Guests by NMR Diffusion Measurements. Journal of Organic Chemistry 65: 5026-5030.

Frkanec, L., Visnjevac, A., Prodic, B.K., Zinic, M. 2000. Calix[4]arene Amino Acid Derivatives. Intra- and Intermolecular Hydrogen-Bonded Organisation in Solution and the Solid State. Chemistry - A European Journal 6: 442-453.

Gunnlaugsson, T., Davies, R.J.H., Nieuwenhuyzen, M., Stevenson, C.S., Viguier, R., Mulready, S. 2002. Rapid Hydrolytic Cleavage of the mRNA Model Compound HPNP by Glycine Based Macrocyclic Lanthanide Ribonuclease Mimics. Journal of the Chemical Society, Chemical Communications 2136-2137.

Gutsche, C.D. 1983. Calixarenes. Accounts of Chemical Research 16: 161-170.

Gutsche, C.D., Bauer, L.J. 1985. Calixarenes. 14. The Conformational Properties of the Ethers and Esters of the Calix[6]arene and the Calix[8]arene. Journal of the American Chemical Society 107: 6059-6063.

Gutsche, C.D., Dhawan, B., Leonis, M., Stewart, D. 1990. para-tert-Butylcalix[6]arene. Organic Syntheses 68: 238-242.

Gutsche, C.D., Dhawan, B., Levine J.A., No, K.H., Bauer, L.J.. 1983. Calixarenes 9: Conformational Isomers of the Ethers and Esters of Calix[4]arenas. Tetrahedron 39: 409-426.

Gutsche, C.D., Dhawan, B., No, K.H., Muthukrishnan, R. 1981. Calixarenes. 4. The Synthesis, Characterization and Properties of the Calixarenes from p-tert-Butylphenol. Journal of the American Chemical Society 103: 3782-92. Idem, Ibid., 1984, 106, 1891.

Gutsche, C.D., Iqbal, M. 1990. p-tert-Butylcalix[4]arene. Organic Syntheses 68: 234-237.

Gutsche, C.D., Iqbal, M., Nam, K.S., See, K., Alam, I. 1988. Conformational and Complexational Characteristics of Calixarenes. Pure and Applied Chemistry 60: 483-488.

Gutsche, C.D., Levine, J.A., Sujeeth, P.K. 1985. Calixarenes. 17. Functionalized Calixarenes: The Claisen Rearrangement Route. Journal of Organic Chemistry 50: 5802-5806.

Gutsche, C.D., Lin, L.-G. 1986. Calixarenes. 12. The Synthesis of Functionalized Calixarenes. Tetrahedron 42(16): 1633-40.

Gutsche, C.D., Lin, L-G. 1986. Calixarenes 12: The Synthesis of Functionalized Calixarenes. Tetrahedron 42: 1633-1640.

Gutsche, C.D., Mukhukrishnan, R. 1978. Calixarenes.1. Analysis of the Product Mixtures Produce by the Base-Catalyzed Condensation of Formaldehyde with p-Substitued Phenols. Journal of Organic Chemistry 43(25): 4905.

Gutsche, C.D., Nam, K.C. 1988. Calixarenes .22. Synthesis, Properties, and Metal Complexation of Aminocalixarenes. Journal of the American Chemical Society 110(18): 6153-6162.

Gutsche, C.D.. 1989. Monograph in Supramolecular Chemistry: Calixarenes. The Royal Society Of Chemistry, Cambridge, London.

Happel, G., Mathiasch, B., Kämmerer, H. 1975. Preparation of Some Cyclo(Oligo[(2-Hydroxy-1,3-Phenylene)Methylene])S—Spectroscopic Analysis of Their Pseudorotation. Makromolekulare Chemie 176: 3317-3334.

Haubner, R., Schmitt, W., Holzemann, G., Goodman, S.L., Jonczyk, A., Kessler, H. 1996. Cyclic Rgd Peptides Containing beta-Turn Mimetics. Journal of the American Chemical Society 118: 7881-7891.

He, Y., Xiao, Y., Meng, L., Zeng, Z., Wu, X., Wu, C.T. 2002. New Type Chiral Calix[4](aza)crowns: Synthesis and Chiral Recognition. Tetrahedron Letters 43: 6249-6253.

Hegg, E.L., Deal, K.A., Kiessling, L.L., Burstyn, J.N. 1997. Hydrolysis of Double-Stranded and Single-Stranded RNA in Hairpin Structures by the Copper(II) Macrocycle Cu([9]Aren(3))Cl-2. Inorganic Chemistry 36: 1715-1718.

Hettich, R., Schneider, H.J. 1997. Cobalt(III) Polyamine Complexes as Catalysts for the Hydrolysis of Phosphate Esters and of DNA. A Measurable 10 Million-Fold Rate Increase. Journal of the American Chemical Society 119: 5638-5647.

Hettich, R., Schneider, H.J. 1997. Supramolecular Chemistry. 71. Evidence for Hydrolytic DNA Cleavage by Lanthanide(III) and Cobalt(III) Derivatives. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2 10:2069-2072.

Hiratani, K., Yamaguchi, T. 1990. Liquid Membrane: Chemical Applications. Araki, T., Tsukube H. (eds), 103, CRC Press, Inc., Florida.

Hu, X.B., Chan, A.S.C., Han, X.X., He, J.Q., Cheng, J. P. 1999. Calix[4]arene-Constrained Cyclopeptides, a Novel Type of Macrocyclic Host Molecule. Tetrahedron Letters 40: 7115-7118.

Hu, X.B., He, J.Q., Chan, A.S.C., Cheng, J.P. 1999. New Chiral Macrocyclic Ligands. Design and Synthesis of (R)-Cysteine-Containing Calix[4]arenas. Tetrahedron Asymmetry 10: 2685-2689.

Huang, H., Mu, L.J., Cheng, J.P., Lu, J.M., Hu, X.B. 1998. Synthesis of a New Series of Cyclic Pseudopeptides Containing Pyridine as Backbone Modifier. Synthetic Communications 28: 4039-4647.

Ito, K., Ohta, T., Ohba, Y., Sone, T. 2000. Syntheses of Chiral Bishomodiazacalix[4]arenes Incorporating Amino Acid Residues: Molecular Recognition for Racemic Ammonium Ions by the Macrocycles Possessing Tyrosine Residues. Journal of Heterocyclic Chemistry 37: 79-85.

Itoh, T., Hisada, H., Sumiya, T., Hosono, M., Usui, Y., Fujii, Y. 1997. Hydrolytic Cleavage of DNA by a Novel Copper(II) Complex with cis,cis-1,3,5-Triaminocyclohexane. Journal of the Chemical Society, Chemical Communications 677-678.

Iwamoto, K., Araki, K., Shinkai, S. 1991. Conformations and Structures of tetra-o-Alkyl-p-tert-Butylcalix[4]arenes. How is the Conformation of Calix[4]arenas. Journal of Organic Chemistry 56(16): 4955–4962.

Izatt, R.M., Bradshaw, J.S., Pawlak, K., Bruening, R.I., Tarbet, B.J. 1992. Thermodynamic and Kinetic Data for Macrocycle Interaction with Neutral Molecules. Chemical Reviews 92(6): 1261-1354.

Jaime, C., Demendoza, J., Prados, P., Nieto, P.M., Sanchez, C. 1991. C-13 NMR Chemical-Shifts-A Single Rule to Determine the Conformation of Calix[4]arenas. Journal of Organic Chemistry 56(10): 3372-3376.

Kaim, W., Rall, J. 1996. Copper - A "Modern" Bioelement. Angewandte Chemie International Edition English 35: 43-60.

Klinman, J.P. 1996. Mechanisms whereby Mononuclear Copper Proteins Functionalize Organic Substrates. Chemical Reviews 96: 2541-2561.

Komiyama, M., Lsaka, K., Shinkai, S. 1991. Water-Soluble Calixarene as the 1st Man-Made Catalyst for Regioselective Cleavage of Ribonucleoside 2',3'-Cyclic Phosphate. Chemistry Letters 937-940.

Komiyama, M., Sumaoka, J., Yonezawa, K., Matsumoto, Y., Yashiro, M. 1997. Structure-Reactivity Relationship for the Cobalt(III) Complex-Catalysed Hydrolysis of Adenosine 3',5'-Cyclic Monophosphate. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2 75-78.

Komiyama, M., Yoshinari, K. 1997. Kinetic Analysis of Diamine-Catalyzed RNA Hydrolysis. Journal of Organic Chemistry 62: 2155-2160.

Lazzarotto, M., Sansone, F., Baldini, L., Casnati, A., Cozzini, P., Ungaro, R. Synthesis and Properties of Upper Rim C-Linked Peptidocalix[4]arenes. 2001. European Journal of Organic Chemistry 595-602.

Le Clainche, L., Giorgi, M., Reinaud, O. 2000. Novel Biomimetic Calix[6]arene-Based Copper(II) Complexes. Inorganic Chemistry 39: 3436-3437.

Le Clainche, L., Giorgi, M., Reinaud, O. 2000. Synthesis and Characterization of a Novel Calix[4]arene-Based Two-Coordinate Copper(I) Complex that is Unusually Resistant to Dioxygen. European Journal of Inorganic Chemistry 1931-1933.

Lehn, J.–M. 1988[a]. Supramolecular Chemistry Scope and Perspectives-Molecules Supermolecules Molecular Devices. Journal of Inclusion Phenomena 6(4): 351-396.

Lehn, J.–M. 1988[b]. Supramolecular Chemistry-Scope and Perspectives Molecules, Supermolecules, and Molecular Devices. Angewandte Chemie International Edition English 27, 89-112.

Lehn, J.–M. 1995. Supramolecular Chemistry. VCH, Weinheim.

Linkletter, B., Chin, J. 1995. Rapid Hydrolysis of RNA with a Cu-II Complex. Angewandte Chemie International Edition English 34: 472-474.

Lipscomb, W.N., Strater, N. 1996. Recent Advances in Zinc Enzymology. Chemical Reviews 96: 2375-2433

Liu, S., Hamilton, A.D. 1997. Catalysis of Phosphodiester Transesterification by Dinuclear Cu(II) Complexes: The Role of the Second Cu(II) Ion. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters 7: 1779-1784.

Liu, S., Hamilton, A.D. 1997. Catalysis of Phosphodiester Transesterification by Cu(II)-Terpyridine Complexes with Peripheral Pendent Base Groups: Implications for the Mechanism. Tetrahedron Letters 38: 1107-1110.

Lshida, H., Donowaki, K., Suga, M., Shimose, K., Ohkubo, K. 1995. Serine Proteinases Mimics-Hydrolytic Activity of Cyclic-Peptides which Include a Nonnatural Amino-Acid. Tetrahedron Letters 36: 8987-8990.

Marrone, T.J., Merz Jr., K.M. 1992. Molecular Recognition of Potassium-Ion by the Naturally-Occurring Antibiotic Ionophore Nonactin. Journal of the American Chemical Society 114, 7542-7549

Mckervey, M.A., Schwing-Will, M.J., Arnaud-Neu, F. 1997. Comprehensive Supramolecular Chemistry. 1: 537.Gokel G.W. (ed), Pergamon.

Mcmahon, G., O'Malley, S., Nolan, K., Diamond, D. 2003. Important Calixarene Derivatives-Their Synthesis and Applications. ARKIVOC VII: 23-31.

Messerschmidt, A. 1998. Metal Sites in Small Blue Copper Proteins, Blue Copper Oxidases and Vanadium-Containing Enzymes. Structure and Bonding 90: 37-68.

Ming, Y.T., Feng, Y.Z., Li, W., Ying, G.J., De, Y.S., Fa, S.X. 2002. Supramolecular Interaction between Water-Soluble Calix[4]arene and ATP—The Catalysis of Calix[4]arene for Hydrolysis of ATP. Spectrochimica Acta Part A 58: 3033-3038.

Mogck, O., Pons, M., Bohmer, V., Vogt, W. 1997. NMR Studies of the Reversible Dimerization and Guest Exchange Processes of Tetra Urea Calix[4]arenes Using a Derivative with Lower Symmetry. Journal of the American Chemical Society 119: 5706-5712.

Molard, Y., Bureau, C., Lopez, H.P., Lamartine, R., De Vains, J.B.R. 1999. Synthesis of Calix[4]arene Podands Bearing Two and Four Histidine or

Glycine Groups at the Lower Rim. Complexation Properties Towards Cobalt(II) Chloride. Tetrahedron Letters 40: 6383-6387.

Molard, Y., Lopez, H.P. 2001. Novel Synthetic Receptors Based on para-Amino-Pyridine Ligands Coupled to p-tert-Butylcalix[4]arene via Amino-Acid Spacers. Tetrahedron Letters 42: 4799-4802.

Molenveld, P., Engbersen, J.F.J., Kooijman, H., Spek, A.L., Reinhoudt, D.N. 1998. Efficient Catalytic Phosphate Diester Cleavage by the Synergetic Action of Two Cu(II) Centers in a Dinuclear cis-Diaqua Cu(II) Calix[4]arene Enzyme Model, Journal of the American Chemical Society 120: 6726-6737.

Molenveld, P., Engbersen, J.F.J., Reinhoudt, D.N. 1999. Dinuclear Bisimidazolyl-Cu(II) Calix[4]arenes as Metalloenzyme Models. Synthesis and Bifunctional Catalysis in Phosphate Diester Transesterification. Journal of Organic Chemistry 64: 6337-6341.

Molenveld, P., Engbersen, J.F.J., Reinhoudt, D.N. 1999. Specific RNA Dinucleotide Cleavage by a Synthetic Calix[4]arene-Based Trinuclear Metallo(II)-Phosphodiesterase. Angewandte Chemie International Edition English 38: 3189-3192

Molenveld, P., Engbersen, J.F.J., Reinhoudt, D.N. 1999. Synthesis of a Dinuclear Zn-II-Calix[4]arene Enzyme Model with Additional General Base Groups-Catalytic Activity in Phosphate Diester Transesterification. Journal of Organic Chemistry 64: 3269-3275.

Molenveld, P., Engbersen, J.F.J., Reinhoudt, D.N. 2000. Dinuclear Metallo-Phosphodiesterase Models: Application of Calix[4]arenes as Molecular Scaffolds. Chemical Society Reviews 29: 75-86.

Molenveld, P., Kapsabelis, S., Engbersen, J.F.J., Reinhoudt, D.N. 1997. Highly Efficient Phosphate Diester Transesterification by a Calix[4]arene-Based Dinuclear Zinc(II) Catalyst. Journal of the American Chemical Society 119: 2948-2949.

Molenveld, P., Stikvoort, W.M.G., Kooijman, H., Spek, A.L., Engbersen, J.F.J., Reinhoudt, D.N. 1999. Dinuclear and Trinuclear Zn(II) Calix[4]arene Complexes as Models for Hydrolytic Metallo-Enzymes. Synthesis and

Catalytic Activity in Phosphate Diester Transesterification. Journal of Organic Chemistry 64: 3896-3906.

Mu, L.J., Cheng, J.P., Huang, H., Lu, J.M., Hu, X.B. 1998. Synthesis of Conformationally Constrained Cyclic Peptides Containing Aromatic Subunit. Synthetic Communications 28: 3091-3096.

Munch, J.H., Gutsche, C.D. 1990. para-tert-Butylcalix[8]arene. Organic Syntheses 68: 243-246.

Nomura, E., Takagaki, M., Nakaoka, C., Uchida, M., Taniguchi, H. 1999. Effects on Metal Binding of Circular NH---O=C Intramolecular Hydrogen Bonding in Hydrophilic Pseudocavities of p-tert-Butylcalix[4]arenes Carrying Amino Acid Moieties. Journal of Organic Chemistry 64: 3151-3156.

Nomura, E., Takagaki, M., Nakaoka, C., Uchida, M., Taniguchi, H. 2000. Thermal Polymorphic Transformation of p-tert-Butylcalix[4]arene Derivatives Bearing Amino Acid Substituents. Journal of Organic Chemistry 65: 5932-5936.

Okada, Y., Kasai, Y., Nishimura, J. 1995. The Selective Extraction and Transport of Amino-Acids by Calix[4]arene-Derived Esters. Tetrahedron Letters 36: 555-558.

Ozturk, G., Akkaya, E.U. 2004. Differential and Substrate-Selective Reactivity of Calix[4]arene Derivatives with Cyclenyl-Zn(II) Modifications at the Upper Rim. Organic Letters 6(2): 241-243.

Parkin., G. 2000. The Bioinorganic Chemistry of Zinc: Synthetic Analogues of Zinc Enzymes that Feature Tripodal Ligands. Journal of the Chemical Society, Chemical Communications 20: 1971-1985.

Pedersen, C.J. 1967. Cyclic Polyethers and Their Complexes with Metal Salts. Journal of the American Chemical Society 89, 2495-2496.

Pedersen, C.J. 1970. Crystalline Salt Complexes of Macrocyclic Polyethers. Journal of the American Chemical Society 92: 386-391.

Pedersen, C.J. 1988[a]. The Discovery of Crown Ethers. Chemica Scripta 28(3): 229-235.

Pedersen, C.J. 1988[b]. The Discovery of Crown Ethers. Journal of Inclusion Phenomena 6: 337-350.

Pena, M.S., Zhang, Y., Thibodeaux, S., Mclaughlin, M.L., De La Pena, A.M., 1996. Synthesis of a Water-Soluble Chiral N-Acylcalix(4)arene Amino Acid Derivative. Tetrahedron Letters 37(33): 5841-5844.

Percec, V., Bera, T.K., De, B.B., Sanai, Y., Smith, J., Holerca, M., Barboiu, B. 2001. Synthesis of Functional Aromatic Multisulfonyl Chlorides and Their Masked Precursors. Journal of Organic Chemistry 66: 2104-2117.

Perreault, D.M., Anslyn, E.V. 1997. Unifying the Current Data on the Mechanism of Cleavage-Transesterification of RNA. Angewandte Chemie International Edition English 36: 432-450.

Peterson, B.R., Wallimann, P., Carcanague, D.R., Diederich, F. 1995. Steroid Complexation by Cyclophane Receptors in Aqueous-Solution-Substrate Selectivity, Enthalpic Driving-Force for Cavity Inclusion, and Enthalpy-Entropy Compensation. Tetrahedron 51: 401-421.

Ragunathan, K.G., Schneider, H.J. 1996. Binuclear Lanthanide Complexes as Catalysts for the Hydrolysis of Bis(p-Nitrophenyl)phosphate and Double-Stranded DNA. Angewandte Chemie International Edition English 35: 1219-1221.

Ranganathan, D., Haridas, V., Karle, L. 1998. Cystinophanes, a Novel Family of Aromatic-Bridged Cystine Cyclic Peptides: Synthesis, Crystal Structure, Molecular Recognition, and Conformational Studies. Journal of the American Chemical Society 120: 2695-2702.

Ranganathan, D., Haridas, V., Madhusudanan, K.P., Roy, R., Nagaraj, R., John, G.B., Sukhaswami, M.B. 1996. Design, Synthesis, and Ion-Transport Properties of a Novel Family of Cyclic, Adamantane-Containing Cystine Peptides. Angewandte Chemie International Edition English 35: 1105-1107.

Rawlings, J., Hengge, A.C., Cleland, W.W. 1997. Heavy-Atom Isotope Effects on Reactions of Co(III)-Bound p-Nitrophenyl Phosphate: Nucleophilic Displacements of p-Nitrophenol and Dissociation of p-Nitrophenyl Phosphate. Journal of the American Chemical Society 119: 542-549.

Rincon, A.M., Prados, P., De Mendoza, J. 2001. A Calix[4]arene Ureidopeptide Dimer Self-Assembled through Two Superposed Hydrogen Bond Arrays. Journal of the American Chemical Society 123: 3493-3498.

Rondelez, Y., Bertho, G., Reinaud, O. 2002. The First Water-Soluble Copper(I) Calix[6]arene Complex Presenting a Hydrophobic Ligand Binding Pocket: A Remarkable Model for Active Sites in Metalloenzymes. Angewandte Chemie International Edition English 41: 1044-1046.

Rondelez, Y., Rager, M.N., Duprat, A., Reinaud, O. 2002. Calix[6]arene-Based Cuprous "Funnel Complexes": A Mimic for the Substrate Access Channel to Metalloenzyme Active Sites. Journal of the American Chemical Society 124: 1334-1340.

Rondelez, Y., Seneque, O., Rager, M.N., Duprat, A.F., Reinaud, O. 2000. Biomimetic Copper(I)-Co Complexes: A Structural and Dynamic Study of a Calix[6]arene-Based Supramolecular System. Chemistry - A European Journal 6: 4218-4226.

Ruf, M., Schell, F.A., Walz, R., Vahrenkamp, H. 1997. Chemical Interconversions in the System Tp*Zn/CO2/Alcohol [Tp* Equals Substituted Tris(Pyrazolyl)Borate]. Chemische Berichte 130: 101-104.

Sansone, F., Baldini, L., Casnati, A., Lazzarotto, M., Ugozzoli, F., Ungaro, R. 2002. Biomimetic Macrocyclic Receptors for Carboxylate Anion Recognition Based on C-Linked Peptidocalix[4]arenes. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 99: 4842-4847.

Sansone, F., Barboso, S., Casnati, A., Fabbi, M., Pochini, A., Ugozzoli, F., Ungaro, R. 1998. European Journal of Organic Chemistry 897-905.

Sansone, F., Barboso, S., Casnati, A., Sciotto, D., Ungaro, R. 1999. A New Chiral Rigid Cone Water Soluble Peptidocalix[4]arene and its Inclusion Complexes with alpha-Amino Acids and Aromatic Ammonium Cations. Tetrahedron Letters 40: 4741-4744.

Schalley, C.A., Castellano, R.K., Brody, M.S., Rudkevich, D.M., Siuzdak, G., Rebek Jr., J. 1999. Investigating Molecular Recognition by Mass Spectrometry: Characterization of Calixarene-Based Self-Assembling Capsule Hosts with Charged Guests. Journal of the American Chemical Society 121: 4568-4579.

Scheerder, J., Engbersen, J.F.J., Casnati, A., Ungaro, R., Reinhoudt, D.N. 1995. Complexation of Halide Anions and Tricarboxylate Anions by Neutral Urea-

Derivatized p-tert-Butylcalix[6]arenes. Journal of Organic Chemistry 60: 6448-6454.

Scheerder, J., Fochi, M., Engbersen, J.F.J., Reinhoudt, D.N. 1994. Urea-derivatized p-tert-Butylcalix[4]arenes-Neutral Ligands for Selective Anion Complexation. Journal of Organic Chemistry 59(25): 7815-7820.

Schneider, H. J. Eblinger, E. Sirish, M. (2000). Synthetic Peptide Receptors/Non-covalent Interactions Involving Peptides. Gokel, G.W. (ed), Advanced Supramolecular Chemistry 6: 185-216.

Seel, C., Galan, A., De Mendoza, J. 1995. Molecular Recognition of Organic-Acids and Anions-Receptor Models for Carboxylates, Amino-Acids, and Nucleotides, Supramolecular Chemistry II-Host Design and Molecular Recognition. Topics In Current Chemistry. Weber, E. (ed), 175, 101-132, Springer-Verlag Berlin.

Seneque, O., Giorgi, M., Reinaud, O. 2001. Hydrogen Bonding and CH/pi Interactions for the Stabilization of Biomimetic Zinc Complexes: First Examples of X-Ray Characterized Alcohol and Amide Adducts to a Tetrahedral Dicationic Zn Center. Journal of the Chemical Society, Chemical Communications 984-985.

Seneque, O., Rager, M.N., Giorgi, M., Reinaud, O. 2000. Calix[6]arenes and Zinc: Biomimetic Receptors for Neutral Molecules. Journal of the American Chemical Society 122: 6183-6189.

Seneque, O., Rondelez, Y., Le Clainche, L., Lnisan, C., Rager, M.N., Giorgi, M., Reinaud, O. 2001. Calix[6]arene-Based N-3-Donors-A Versatile Supramolecular System with Tunable Electronic and Steric Properties-Study on the Formation of Tetrahedral Dicationic Zinc Complexes in a Biomimetic Environment. European Journal of Inorganic Chemistry 2597-2604.

Seog, S.J., Sung, N.D., Hynes, R.S., Chin, J. 1996. Structure and Reactivity of a Dinuclear Cobalt(III) Complex with a Bridging Phosphate Monoester. Inorganic Chemistry 35: 7472-7473.

Sessler, J.L., Andrievsky, A. 1996. Sapphyrin-Lasalocid Conjugate: A Novel Carrier for Aromatic Amino Acid Transport. Journal of the Chemical Society, Chemical Communications 1119-1120.

Shinkai, S. 1993. Calixarenes–The Third Generation of Supramolecules. Tetrahedron 49(40): 8933-8968.

Shinkai, S., Mori, S., Tsubaki, T., Sone, T., Manabe, O. 1984. New Water-Soluble Host Molecules Derived from Calix[6]arene. Tetrahedron Letters 25: 5315-5318.

Solomon, E.I., Chen, P., Metz, M., Lee, S.K., Palmer, A.E. 2001. Oxygen Binding, Activation, and Reduction to Water by Copper Proteins. Angewandte Chemie International Edition English 40: 4570-4590.

Spencer, D.J.E., Johnson, B.J., Johnson B.J., Tolman, W.B. 2002. Calix[4]arenes linked to Multiple Bidentate N-Donors: Potential Ligands for Synthetic Modeling of Multinuclear Metalloenzymes. Organic Letters 4: 1391-1393.

Steed, J.W., Atwood, J. L. 2000. Supramolecular Chemistry. John Wiley and Sons, New York.

Stewart, D.R., Gutsche, C.D. 1993. The One-Step Synthesis of p-tert-Butylcalix[5]arene. Organic Preparations and Procedures International 25: 137-139.

Stewart, D.R., Gutsche, C.D. 1999. Isolation, Characterization, and Conformational Characteristics of p-tert-Butylcalix[9-20]arenes. Journal of the American Chemical Society 121: 4136-4146.

Stewart, D.R., Krawiec, M., Kashyap, R.P., Watson, W.H., Gutsche, C.D. 1995. Conformational Characteristics of Ethers and Esters of p-tert-Butylcalix[5]arene. Journal of the American Chemical Society. 117(2): 586-601.

Still, W.C. 1996. Discovery of Sequence-Selective Peptide Binding by Synthetic Receptors Using Encoded Combinatorial Libraries Ace. Chemical Research 29: 155-163.

Struthers, M.D., Cheng, R.P., Imperiali, B. 1996. Design of a Monomeric 23-Residue Polypeptide with Defined Tertiary Structure. Science 27 I: 342-345.

Stryer, L. 1988. Biochemistry, 3rd Ed., 2(3-4): 2004. W.H. Freeman and Company, New York.

Sumaoka, J., Kajimura, A., Ohno, M., Komiyama, M. 1997. Homogeneous DNA Hydrolysis by Cerium(IV)/Lanthanide(III)/Dextran Ternary Complexes. Chemical Letters 507-508.

Tabakci, M., Memon, S., Yilmaz, M., Roundhill, D.M., 2004. Synthesis and Evaluation of Extraction Ability of Calix[4]-crown-6 Cone Conformer and its Oligomeric Analogue. Reactive and Functional Polymers 58: 27–34.

Tabakci, M., Tabakci, B., Yilmaz, M., 2005. Design and Synthesis of New Chiral Calix[4]arenes as Liquid Phase Extraction Agents for alpha-Amino Acid Methylesters and Chiral alpha-Amines. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry 53: 51-56.

Tucci, F.C., Rudkevich, D.M., Rebek Jr., J. 1999. Deeper Cavitands. Journal of Organic Chemistry 64: 4555-4559.

Uysal Akkuş, G., Memon, S., Yilmaz, M. 2002. Synthesis of Oligomeric Calix[4]arene-Crowns as Novel Ionophores for Alkali and Transition Metals. Polycyclic Aromatic Compounds 22:1075–1086.

Wallimann, P., Marti, T., Fürer, A., Diederich, F. 1997. Steroids in Molecular Recognition. Chemical Reviews 97: 1567-1608.

Williams, N.H., Chin, J. 1996. Metal-Ion Catalysed Phosphate Diester Transesterification: Quantifying Double Lewis-Acid Activation. Journal of the Chemical Society, Chemical Communications 131-132.

Yashiro, M., Lshikubo, A., Komiyama, M. 1997. Efficient and Unique Cooperation of Three Zinc(II) Ions in the Hydrolysis of Diribonucleotides by a Trinuclear Zinc(II) Complex. Journal of the Chemical Society, Chemical Communications 83-84.

Yilmaz, A., Yilmaz, M., Bartsch R.A. 2006. Synthesis of a Calix[4]crown-6 Cone Conformer-Based Oligomer and its Metal Cation Extraction Abililities. Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry 43:637–645.

Young, M.J., Chin, J. 1995. Dinuclear Copper(II) Complex that Hydrolyzes RNA. Journal of the American Chemical Society 117: 10577-10578.

Yuan, H.S., Zhang, Y., Hou, Y.J., Zhang, X.Y., Yang, X.Z., Huang, Z.T. 2000. The Synthesis and Conformational Studies of Chiral Calix[6]arene Derivatives Bearing Amino Acid Ester Residues. Tetrahedron 56: 9611-9617.

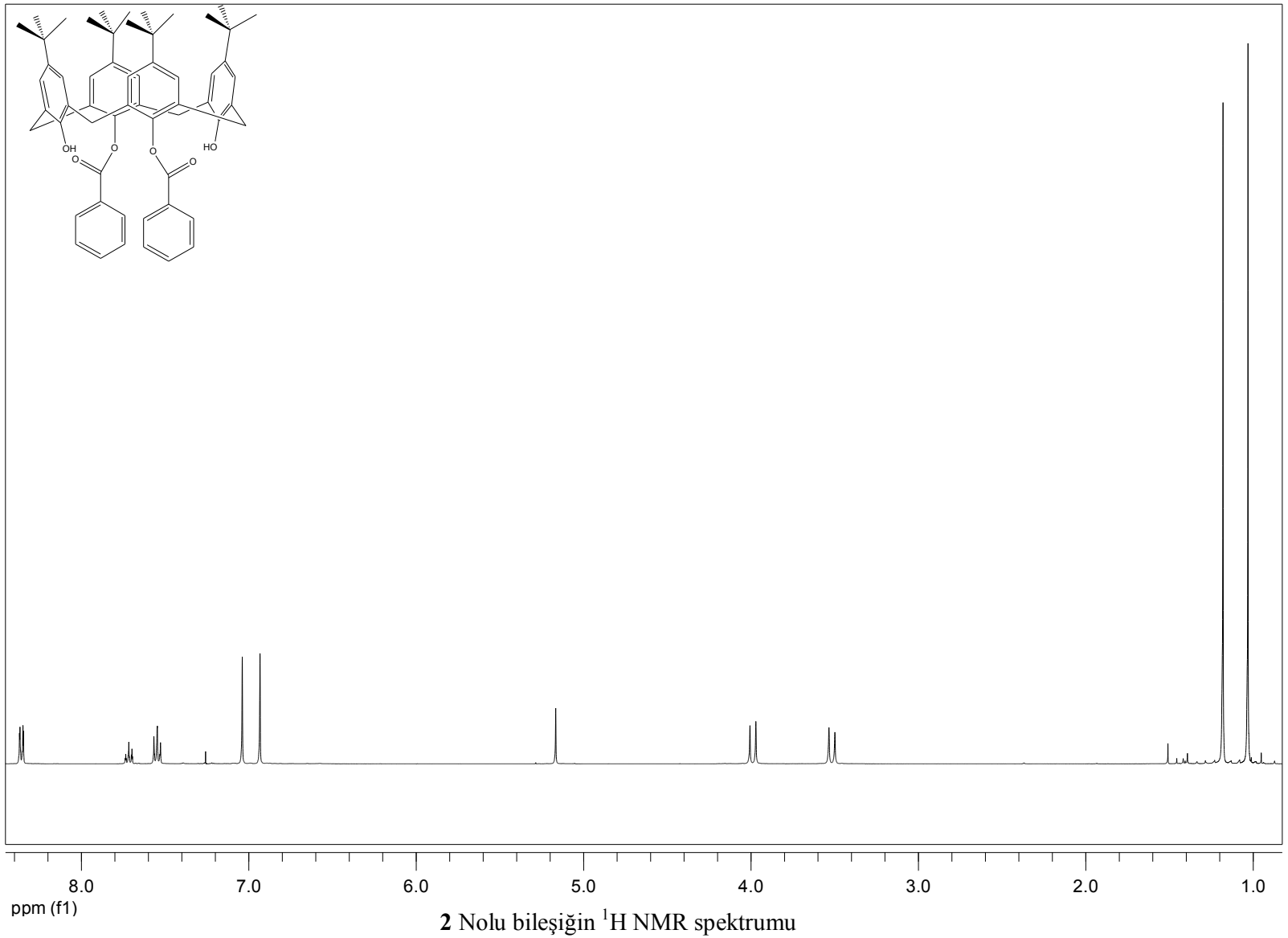
Zinke A., Ziegler, E. 1941. Berlin B74: 1729-1736.

Zinke, A., Kretz, R., Leggewie, E., Hössinger, K. 1952. Zur Kenntnis Des Härtungsprozesses Von Phenol-Formaldehyd-Harzen. Monatshefte für Chemie 83: 1213-1227.

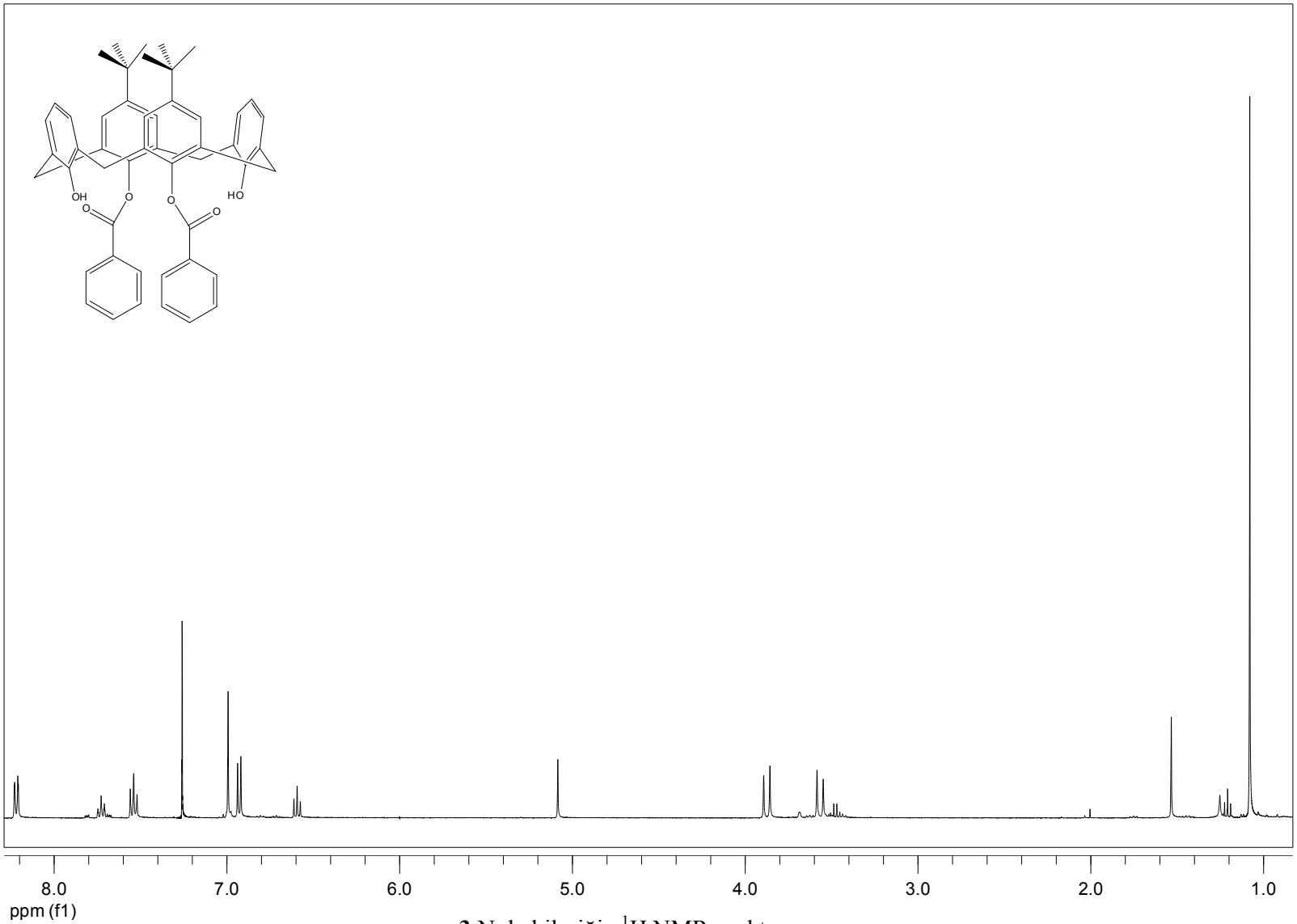
Zinke, A., Ziegler, E. 1944. Zur Kenntnis Des Hartungs-Prozesses Von Phenol-Formaldehyd-Harzen, X. Mitteilung. Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft 77(B): 264-272.

7. EKLER

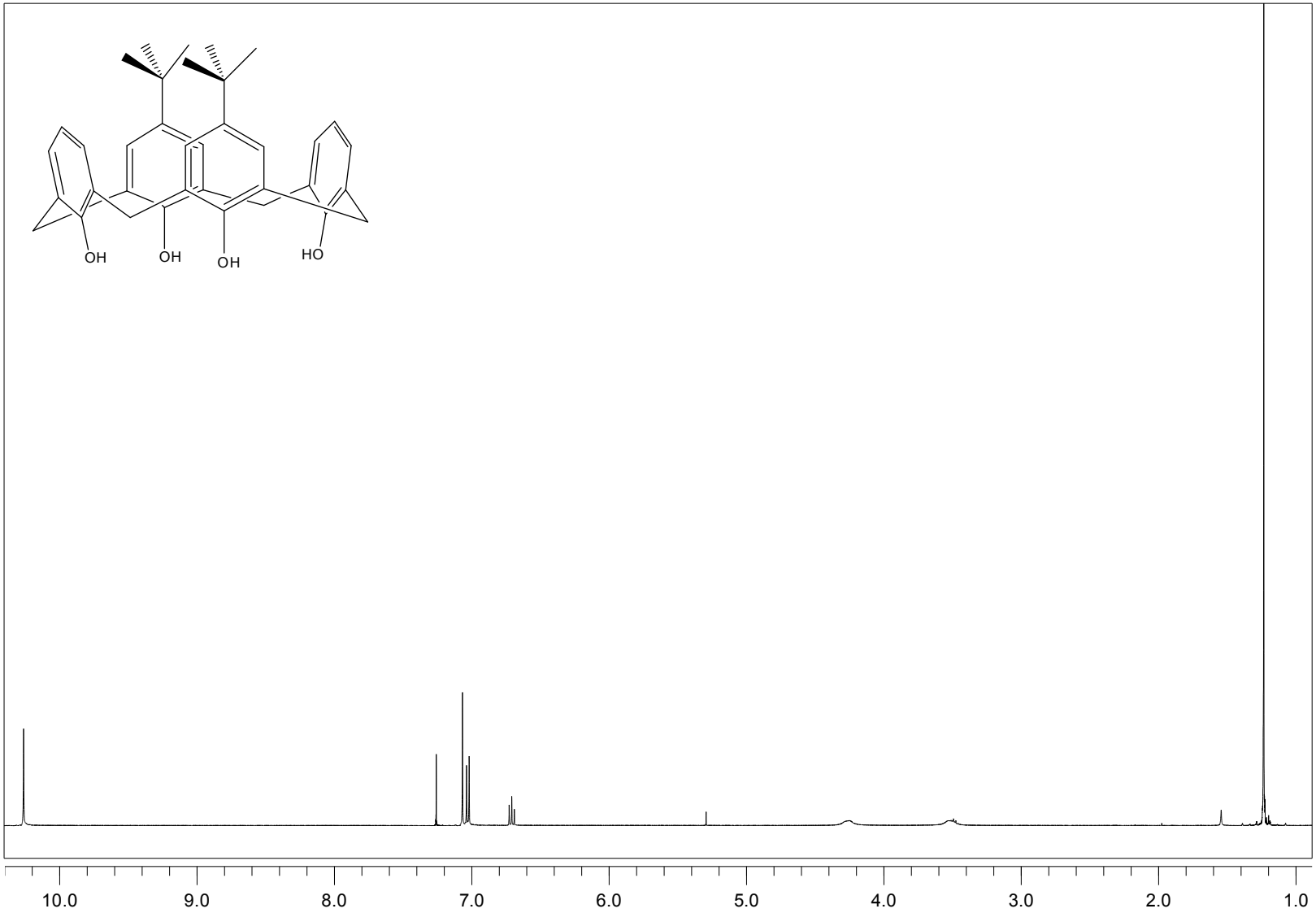
Sentezlenen monomerik/polimerik kaliks[4]arenlere ait ^{1}H NMR/^{13}C NMR Spektrumları ve polimerik kaliks[4]arenlere ait TGA-DTG Termogramları aşağıda verildi.



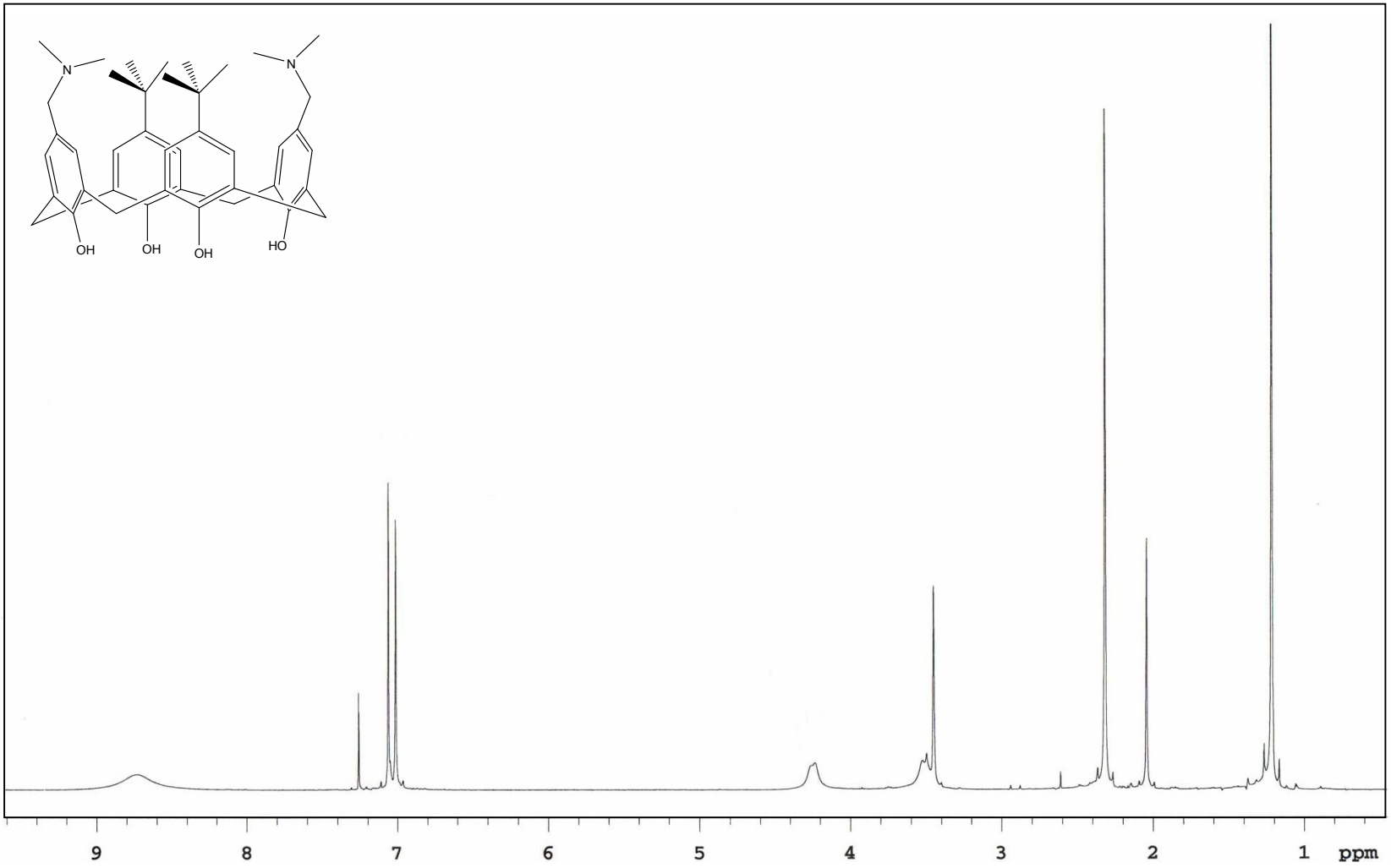
2 Nolu bileşiğin ^{1}H NMR spektrumu



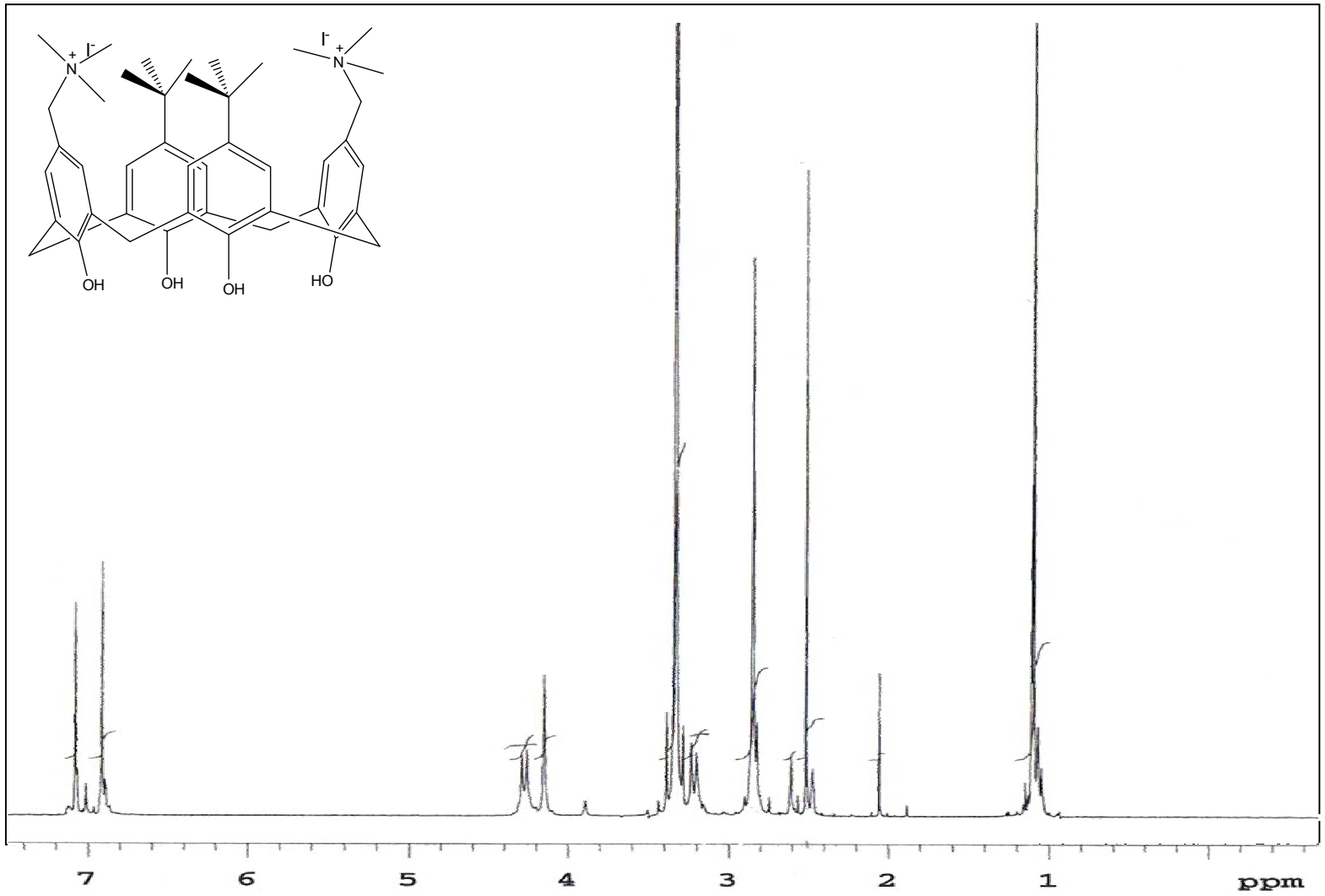
3 Nolu bileşiğin ^{1}H NMR spektrumu



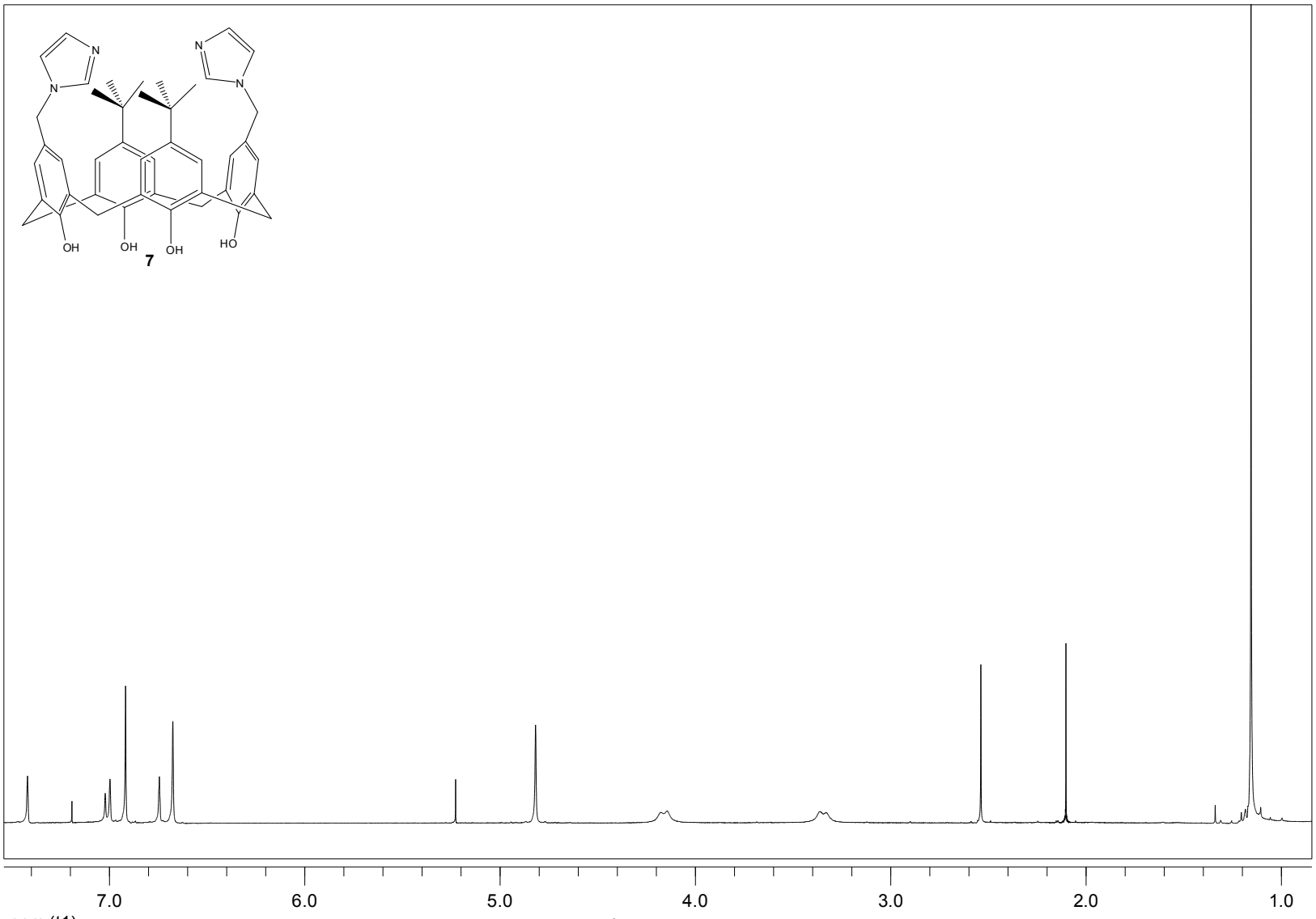
4 Nolu bileşiğin ^{1}H NMR spektrumu



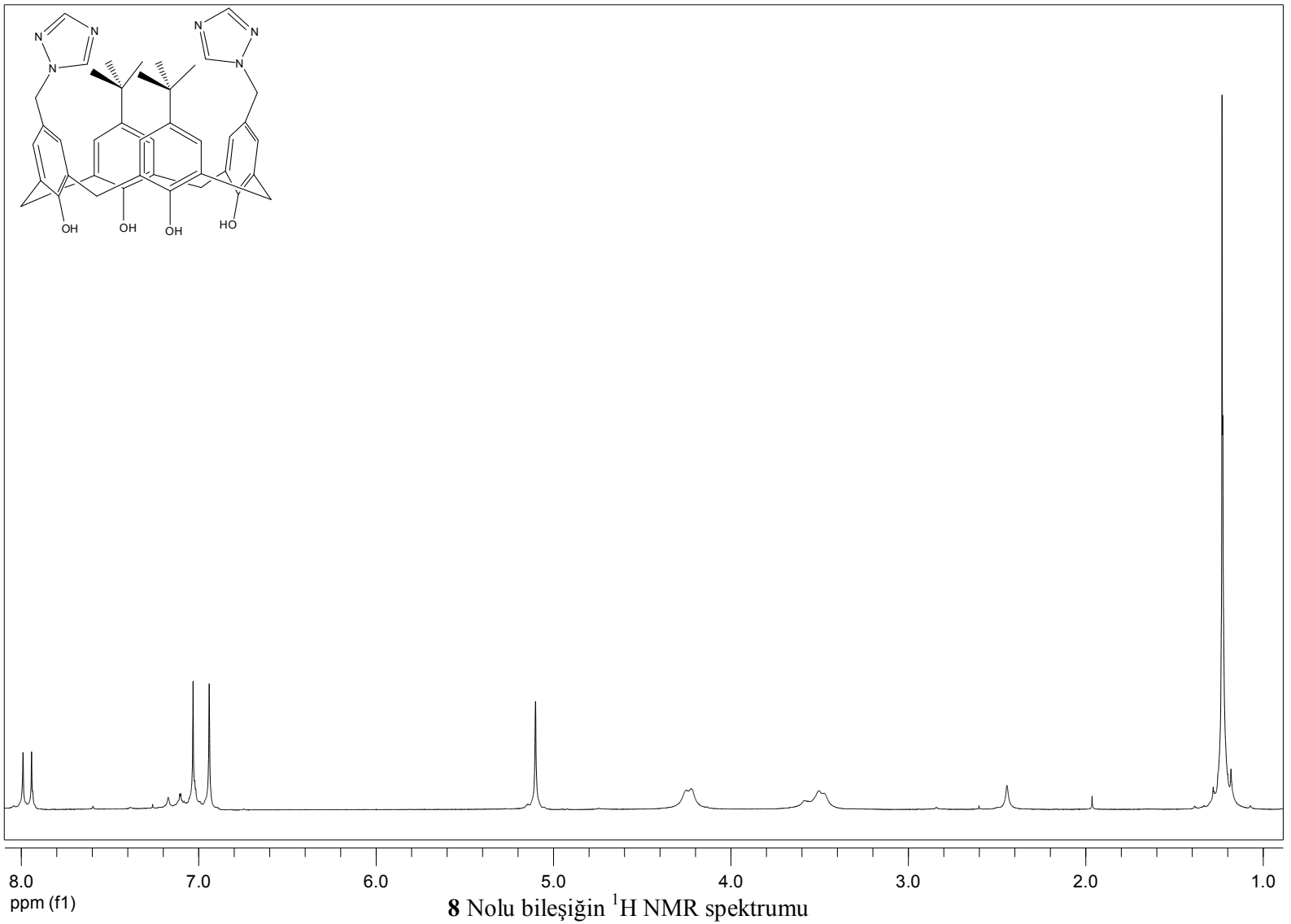
5 Nolu bileşiğin ^{1}H NMR spektrumu



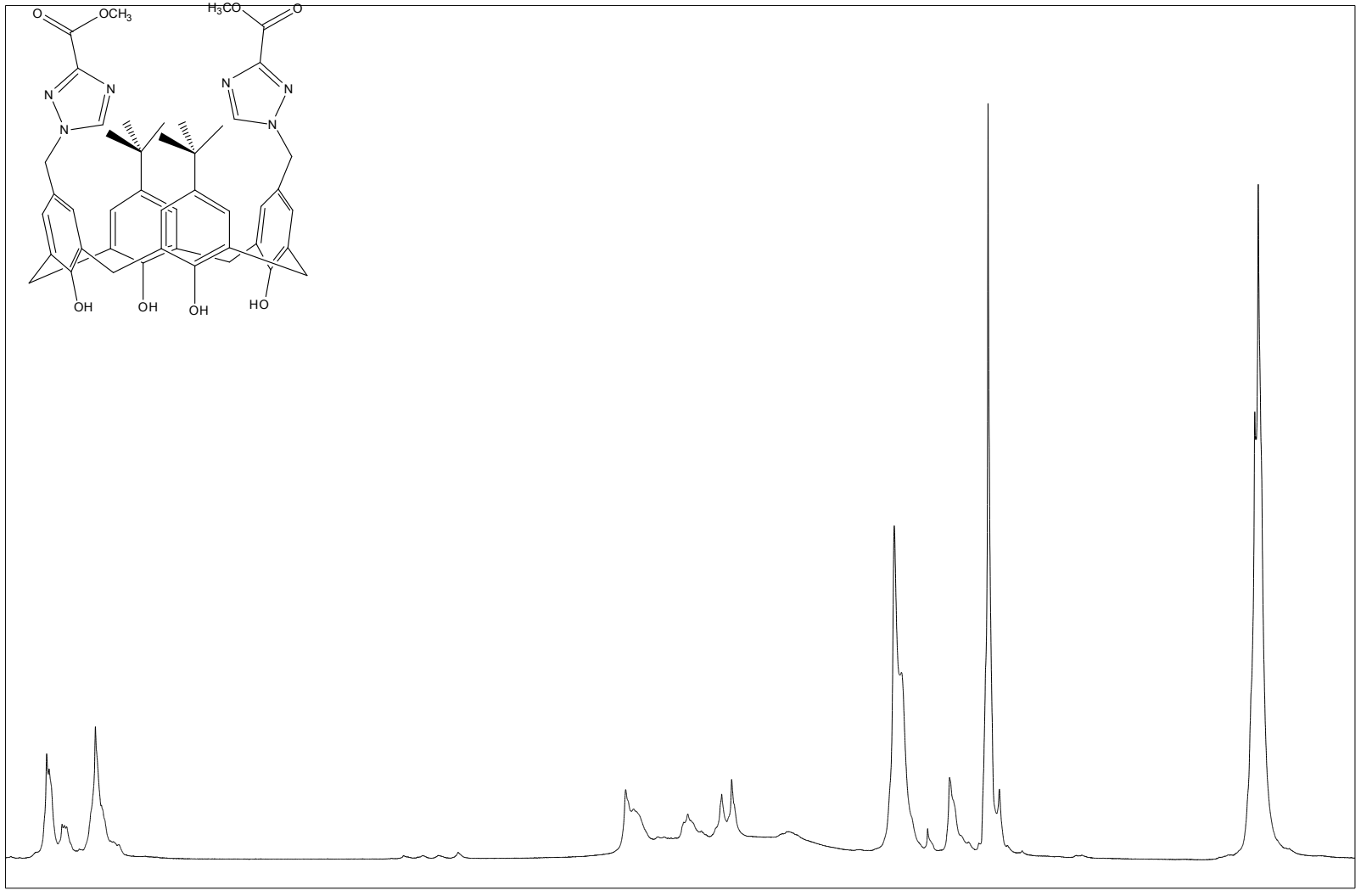
6 Nolu bileşiğin ^{1}H NMR spektrumu



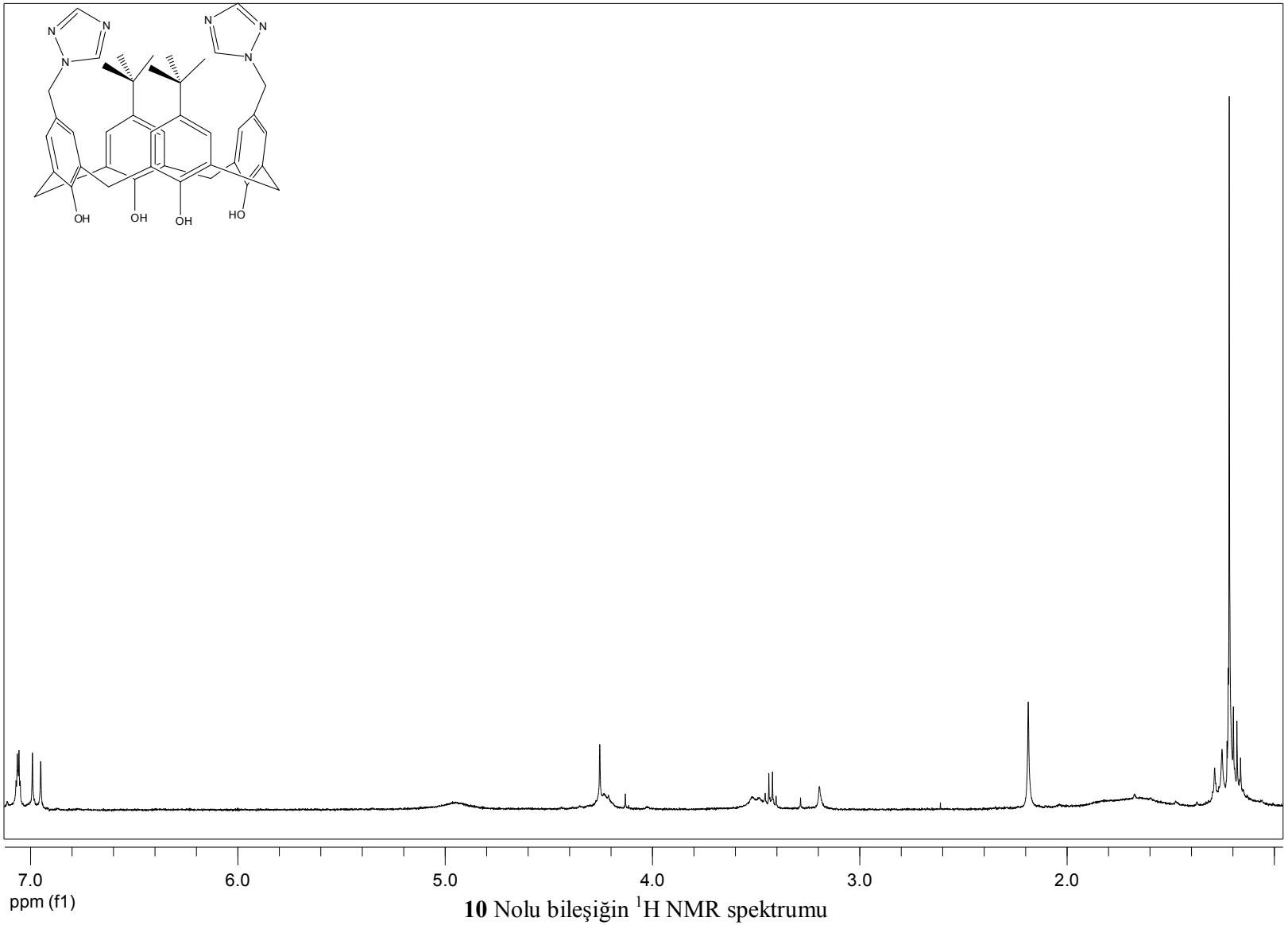
7 Nolu bileşiğin ^{1}H NMR spektrumu



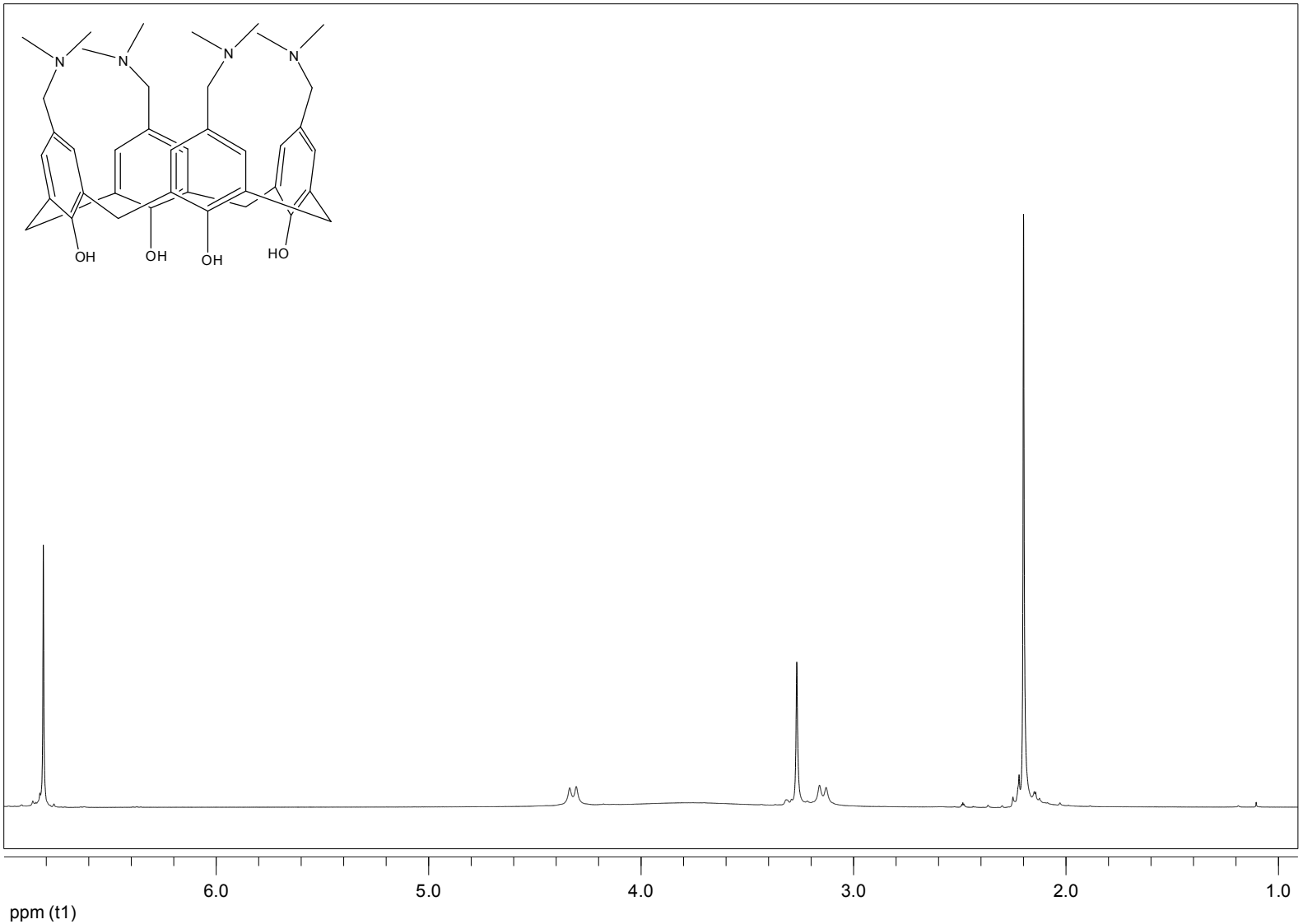
8 Nolu bileşiğin ^{1}H NMR spektrumu



9 Nolu bileşiğin ^{1}H NMR spektrumu



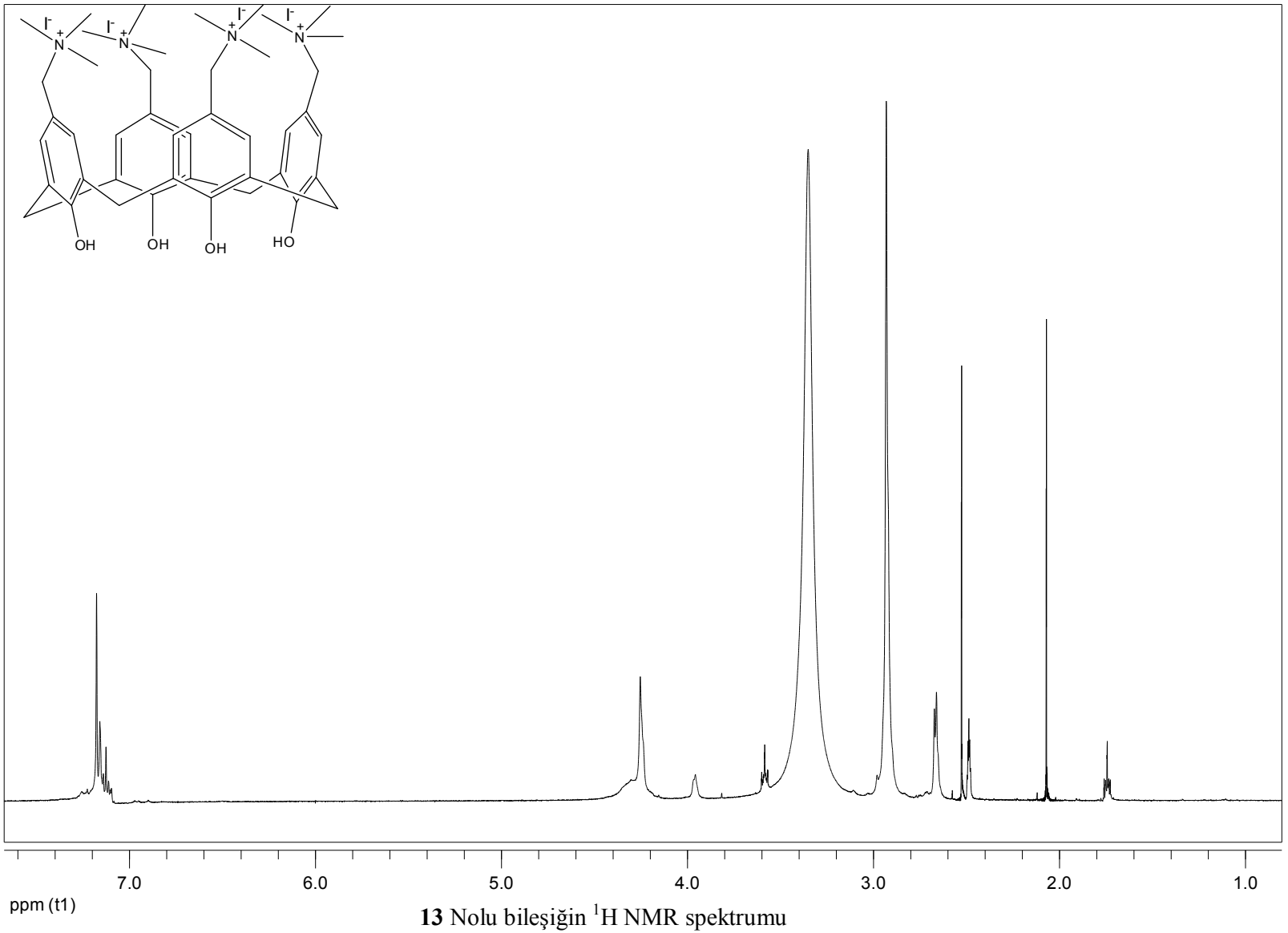
10 Nolu bileşiğin ^{1}H NMR spektrumu



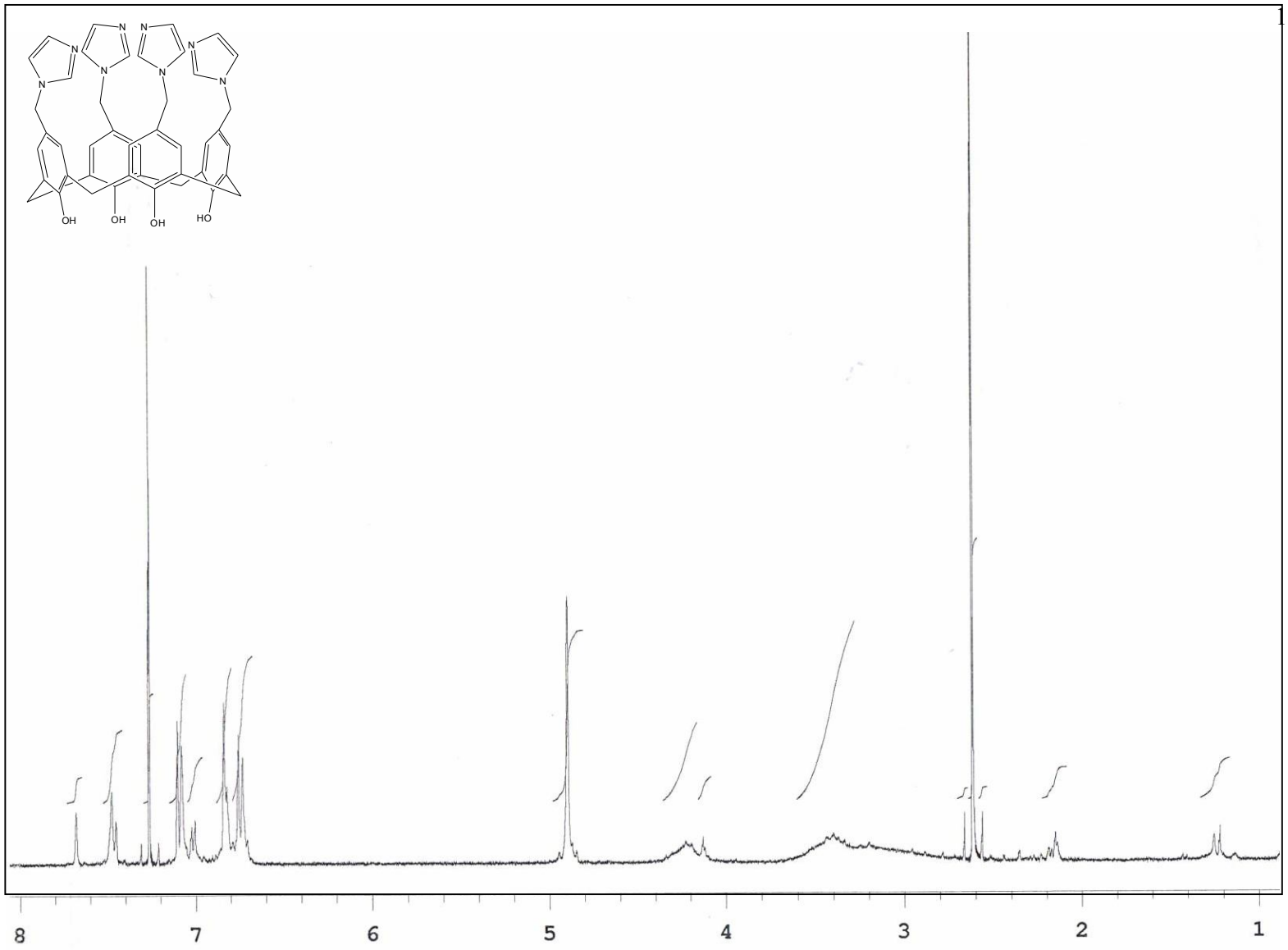
12 Nolu bileşiğin ^{1}H NMR spektrumu

,

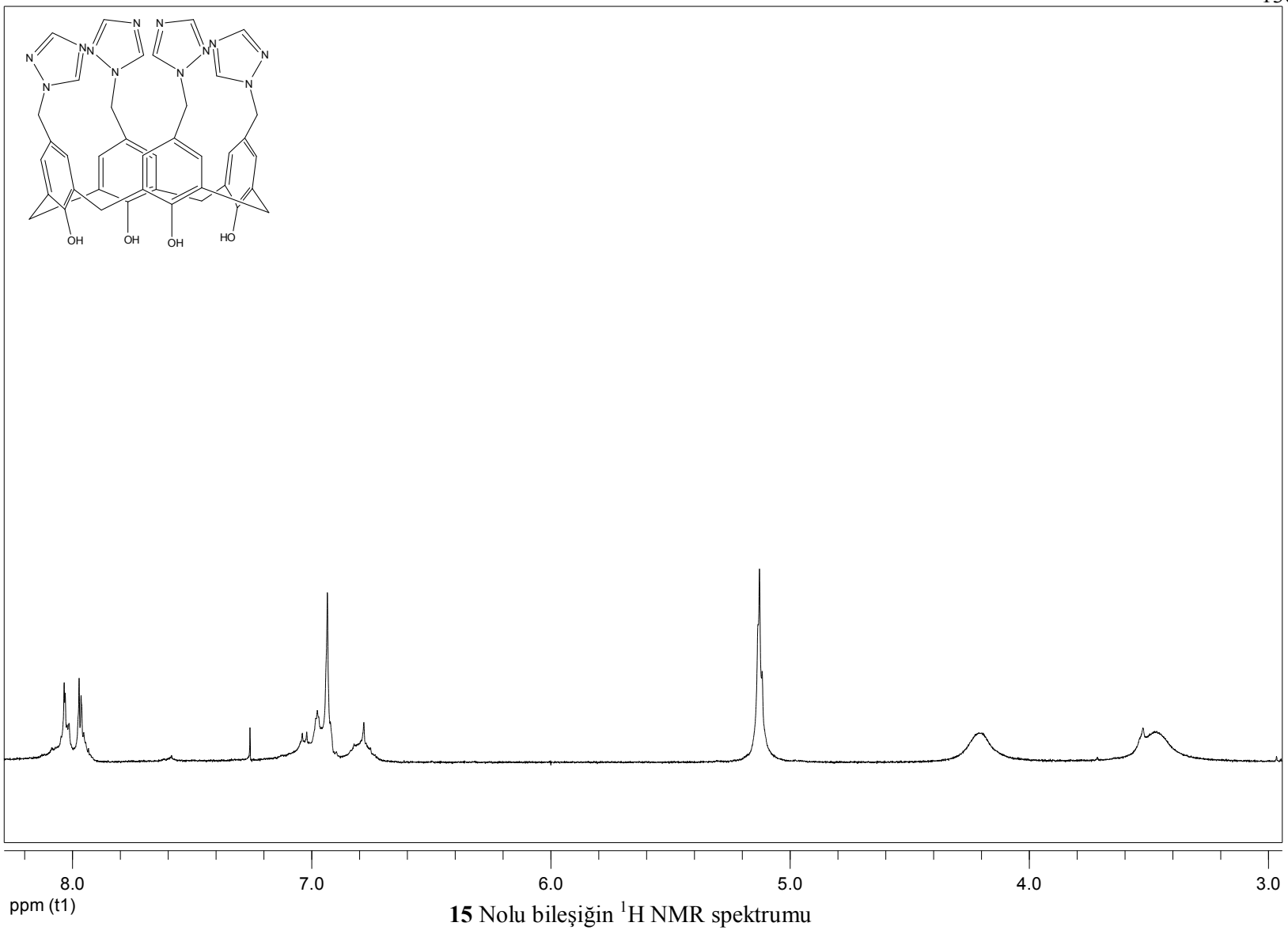
,



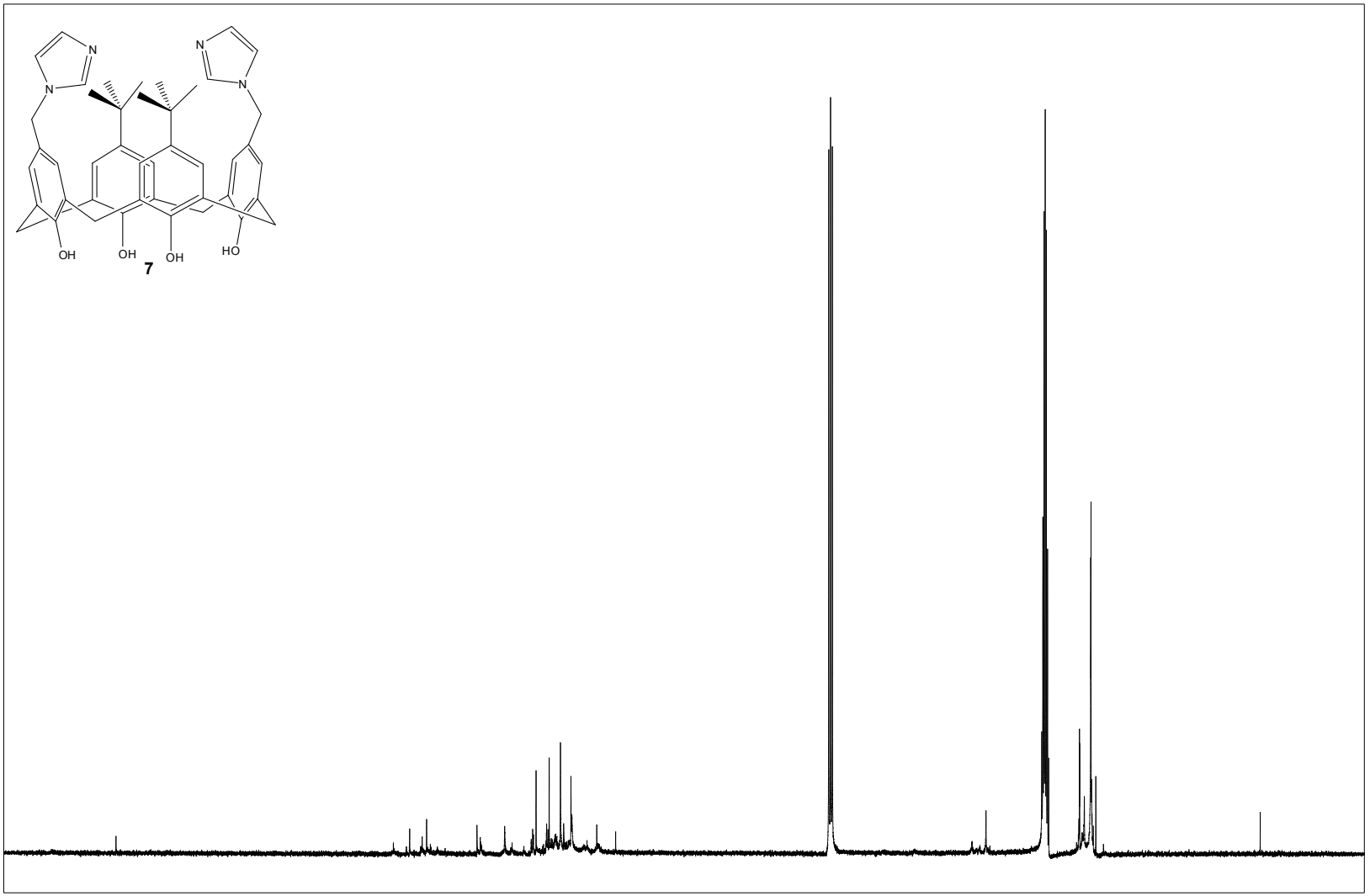
13 Nolu bileşiğin ^{1}H NMR spektrumu



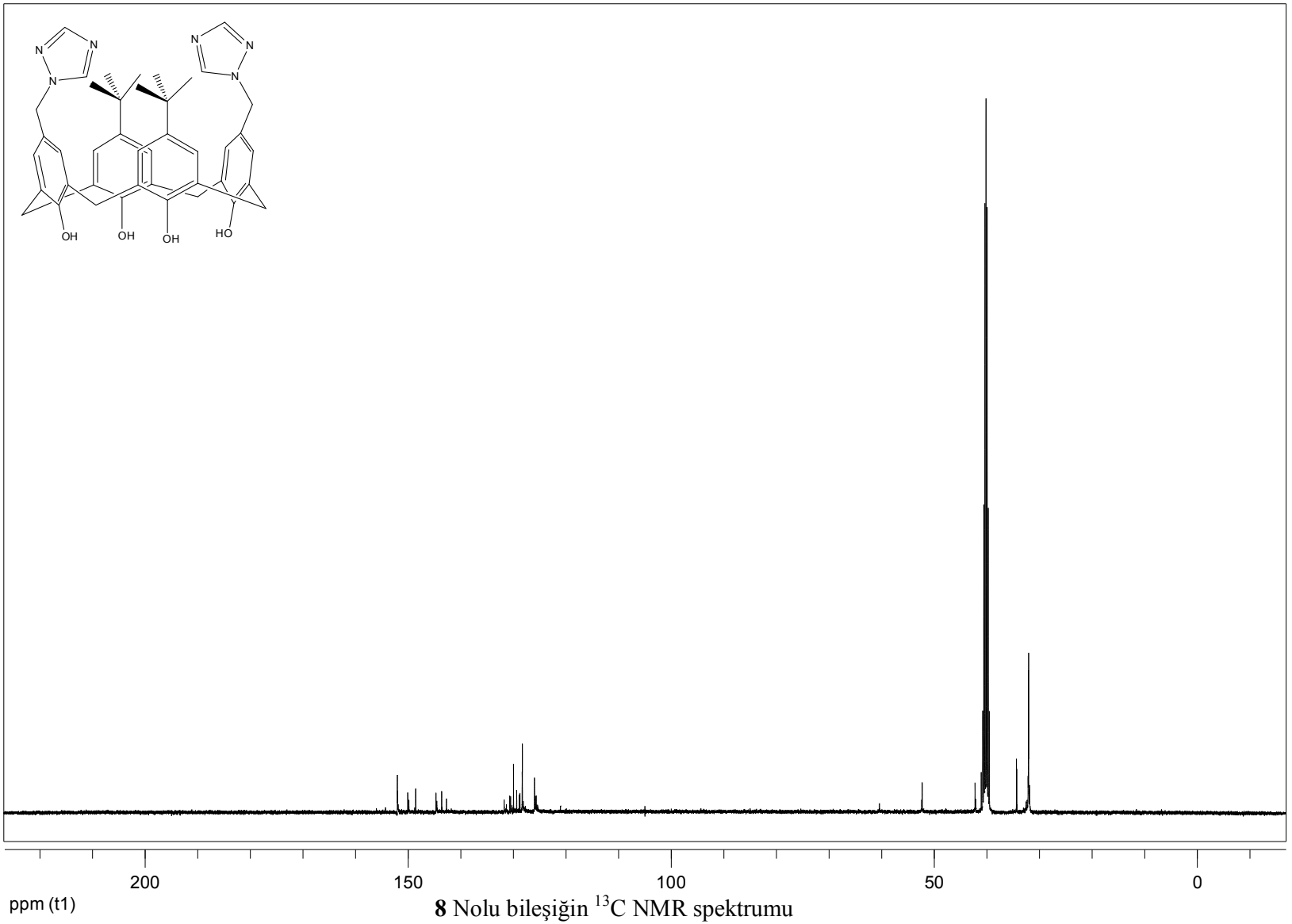
14 Nolu bileşiğin ^{1}H NMR spektrumu



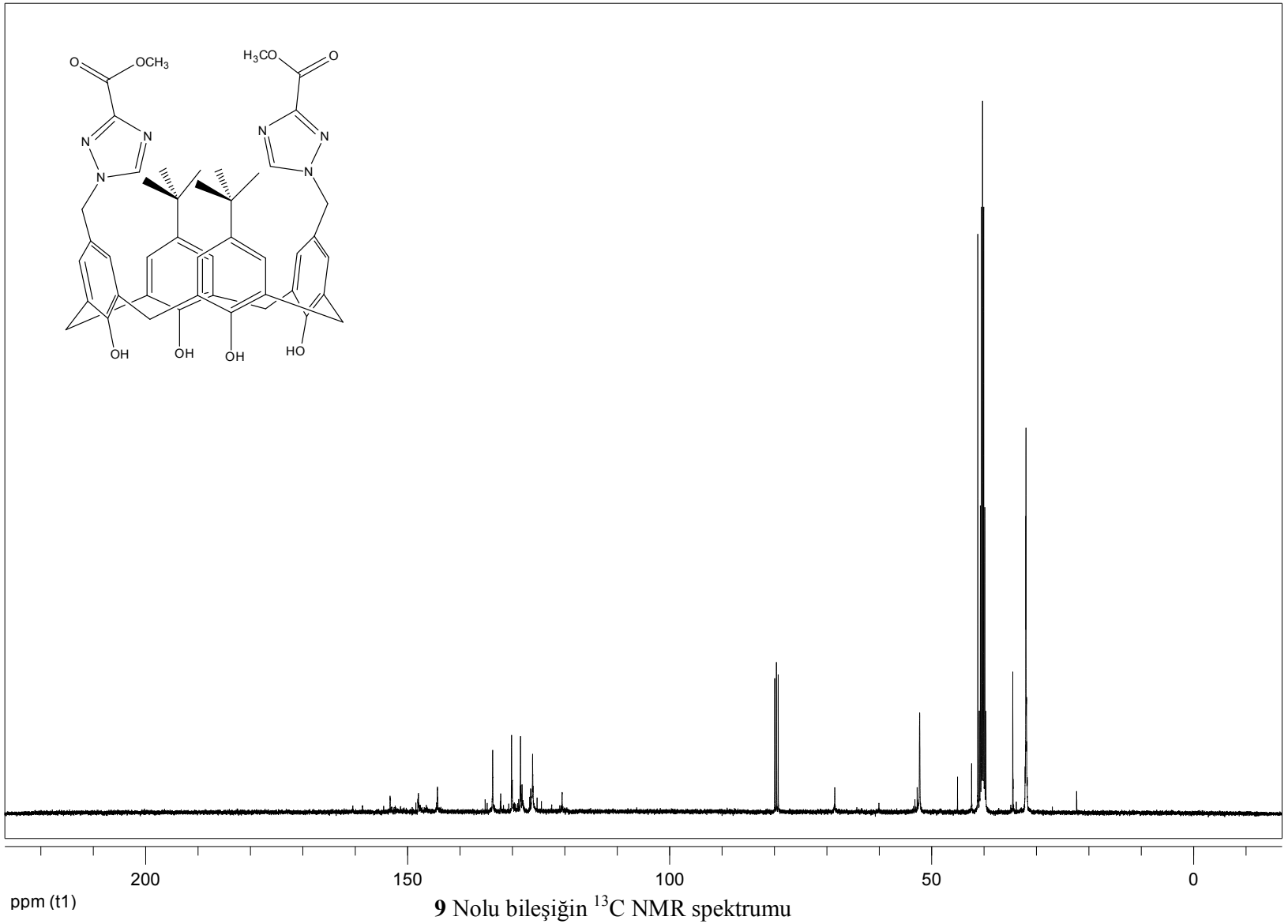
15 Nolu bileşiğin ^{1}H NMR spektrumu



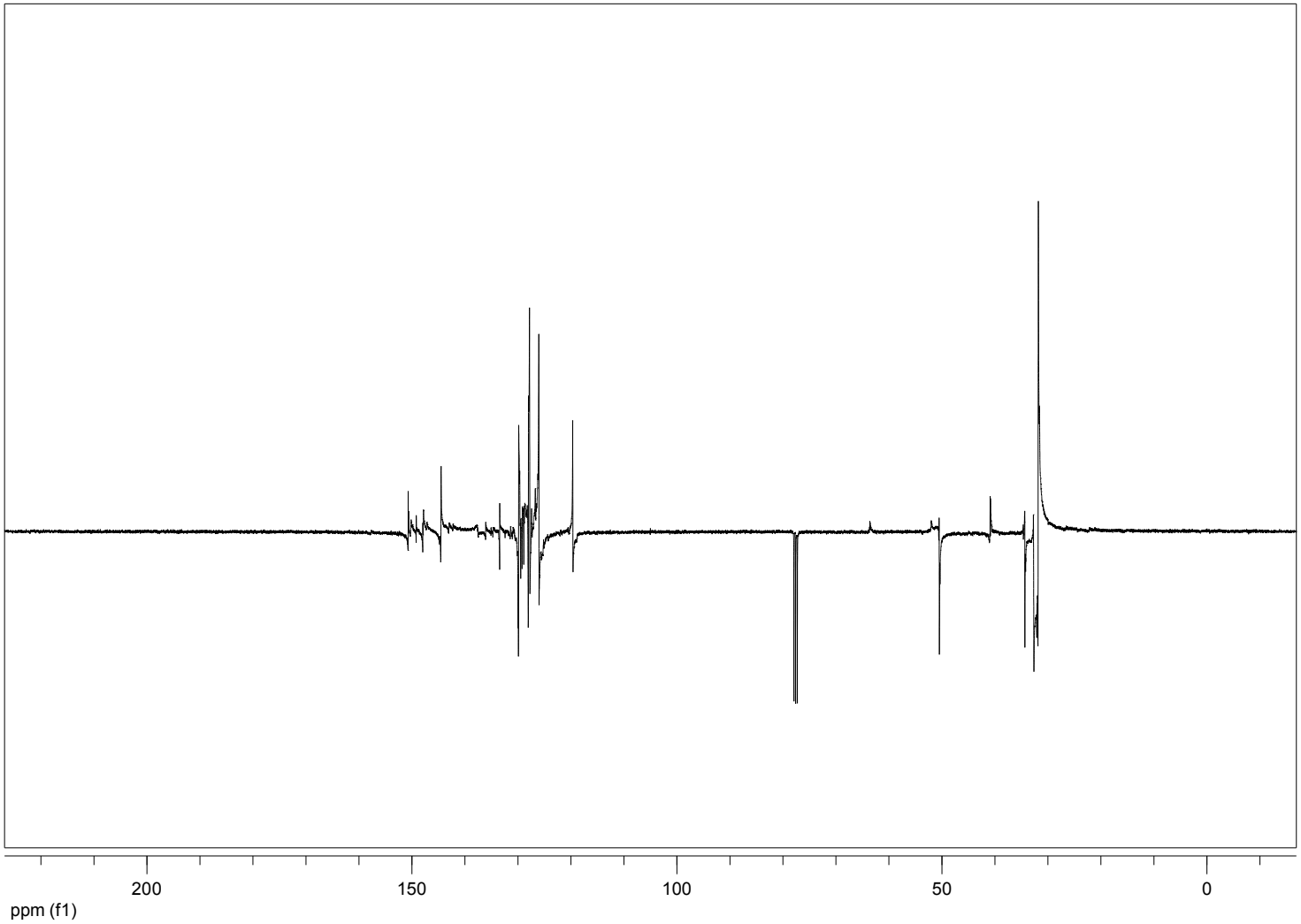
7 Nolu bileşiğin ^{13}C NMR spektrumu



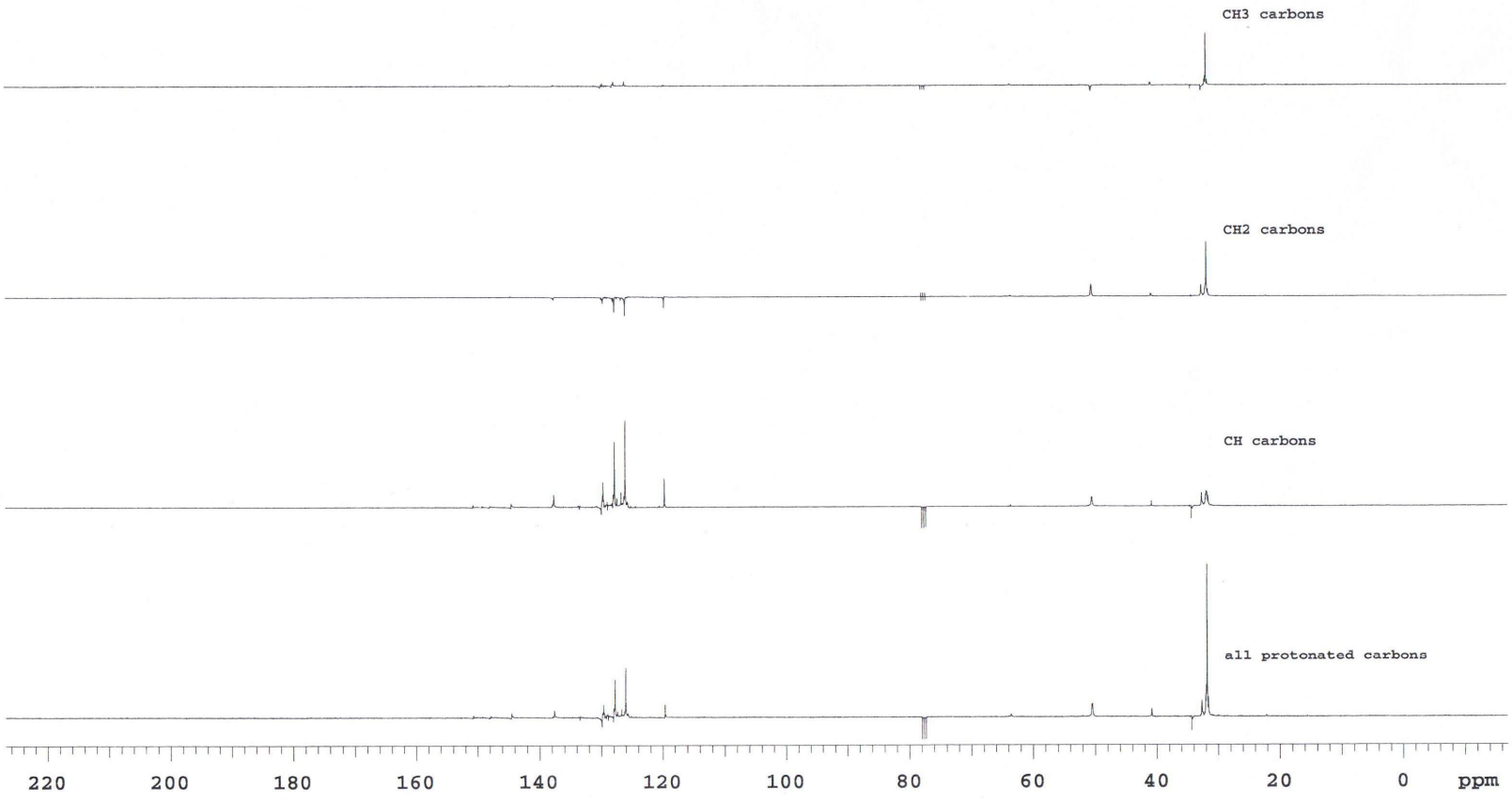
8 Nolu bileşiğin ^{13}C NMR spektrumu



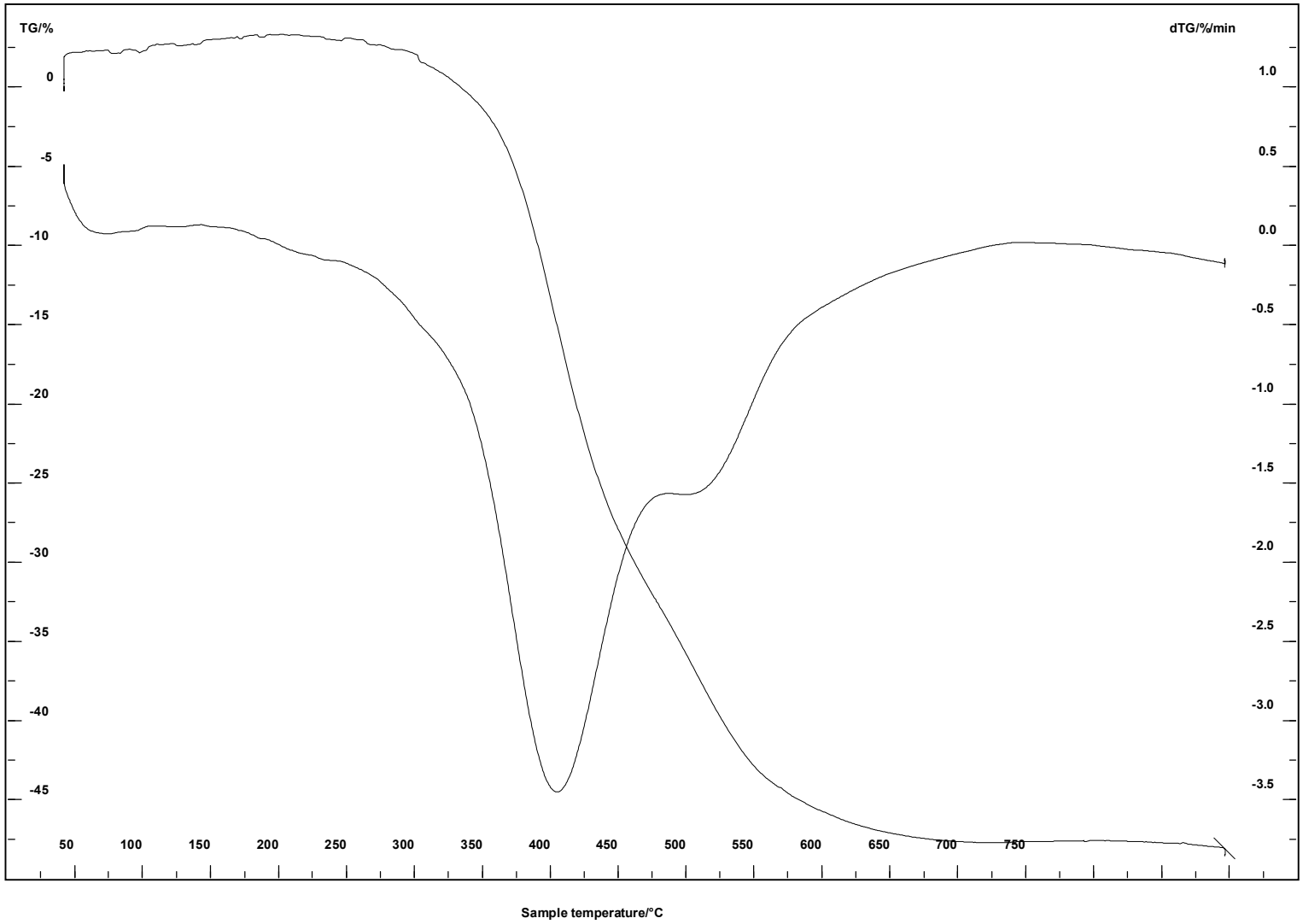
9 Nolu bileşiğin ^{13}C NMR spektrumu



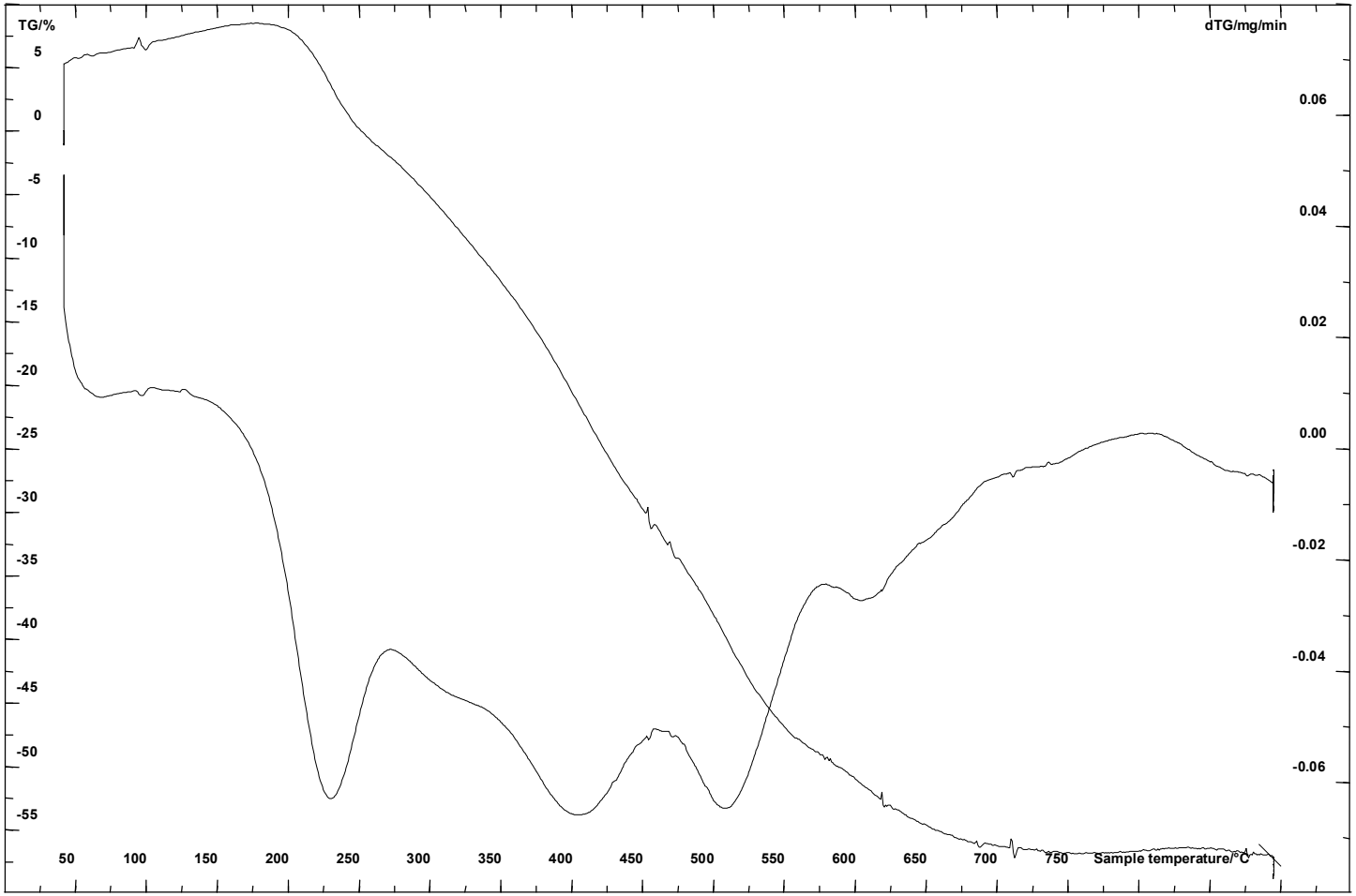
7 Nolu bileşiğin APT spektrumu



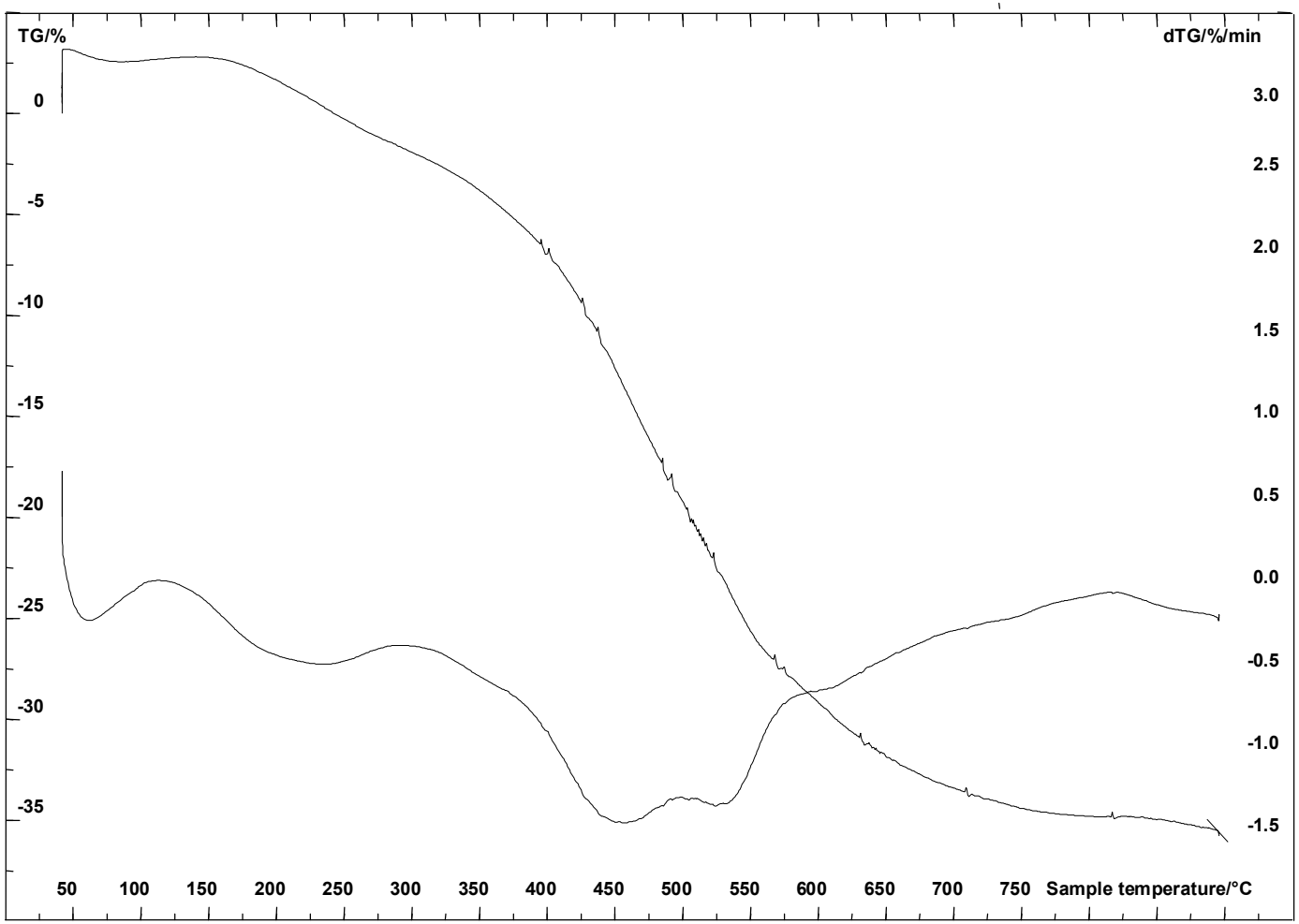
7 Nolu bileşiğin DEPT spektrumu



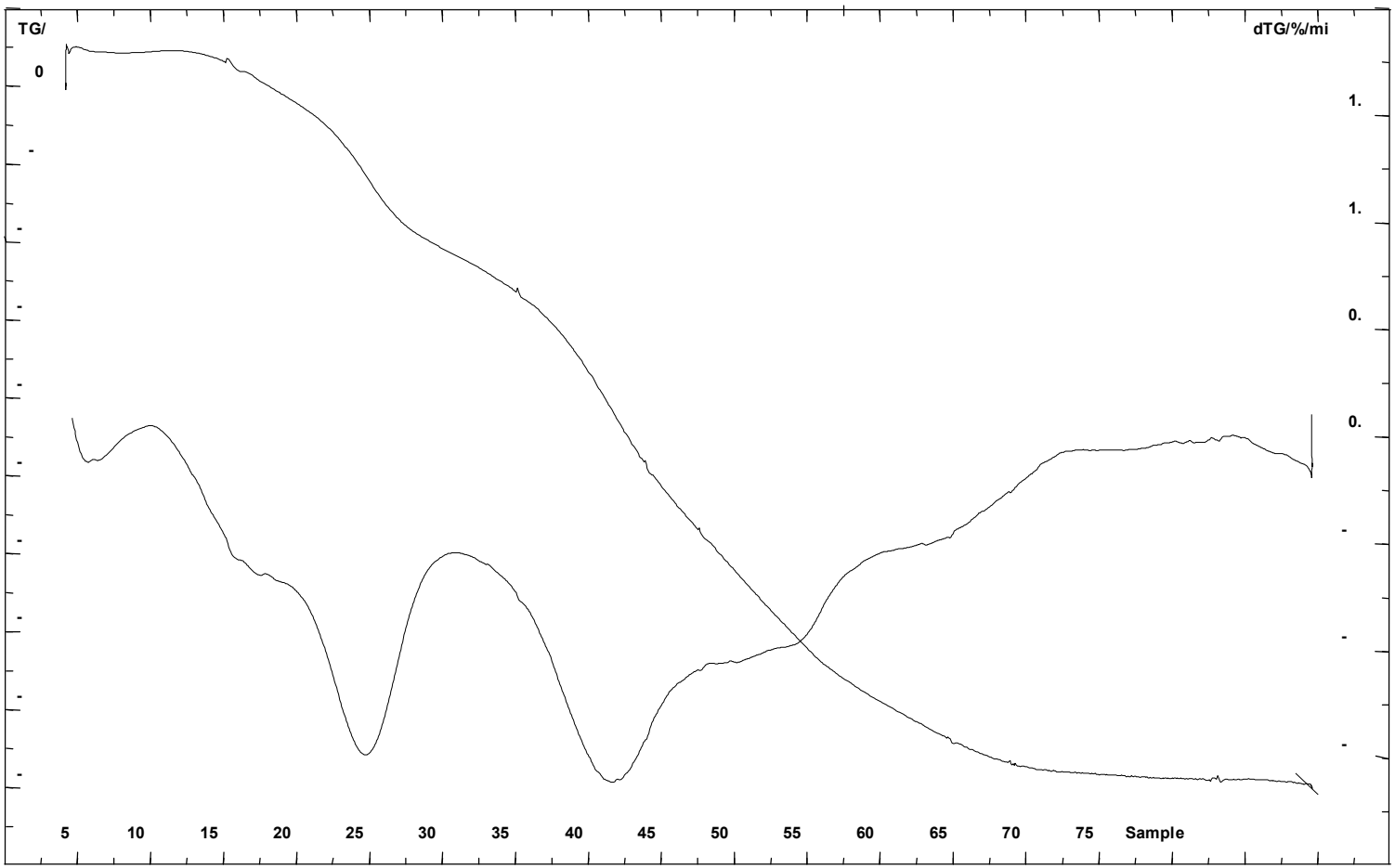
Polimerik kaliks[4]aren **20**'nin TGA ve DTG termogramı



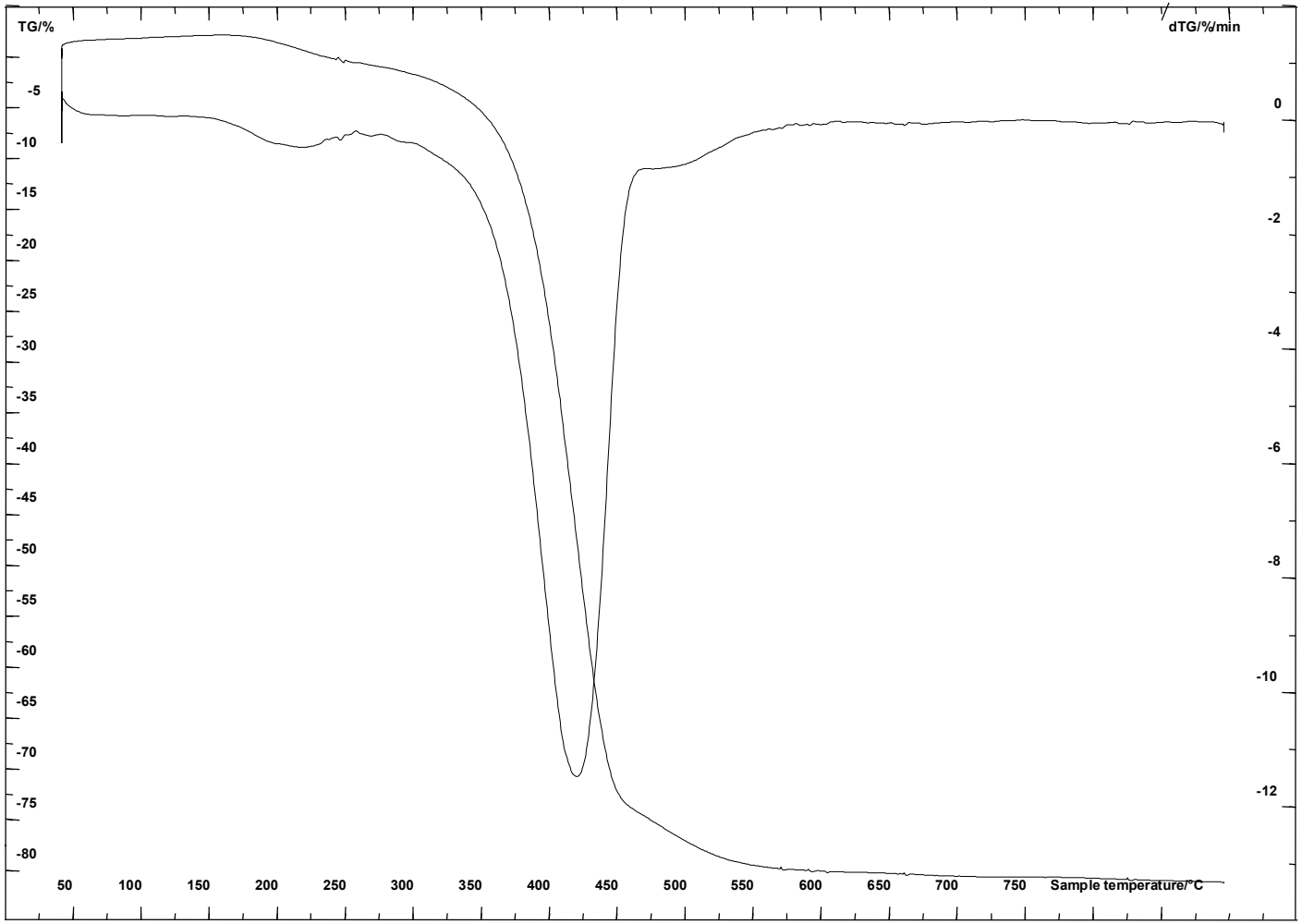
Polimerik kaliks[4]aren **21**'in TGA ve DTG termogramı



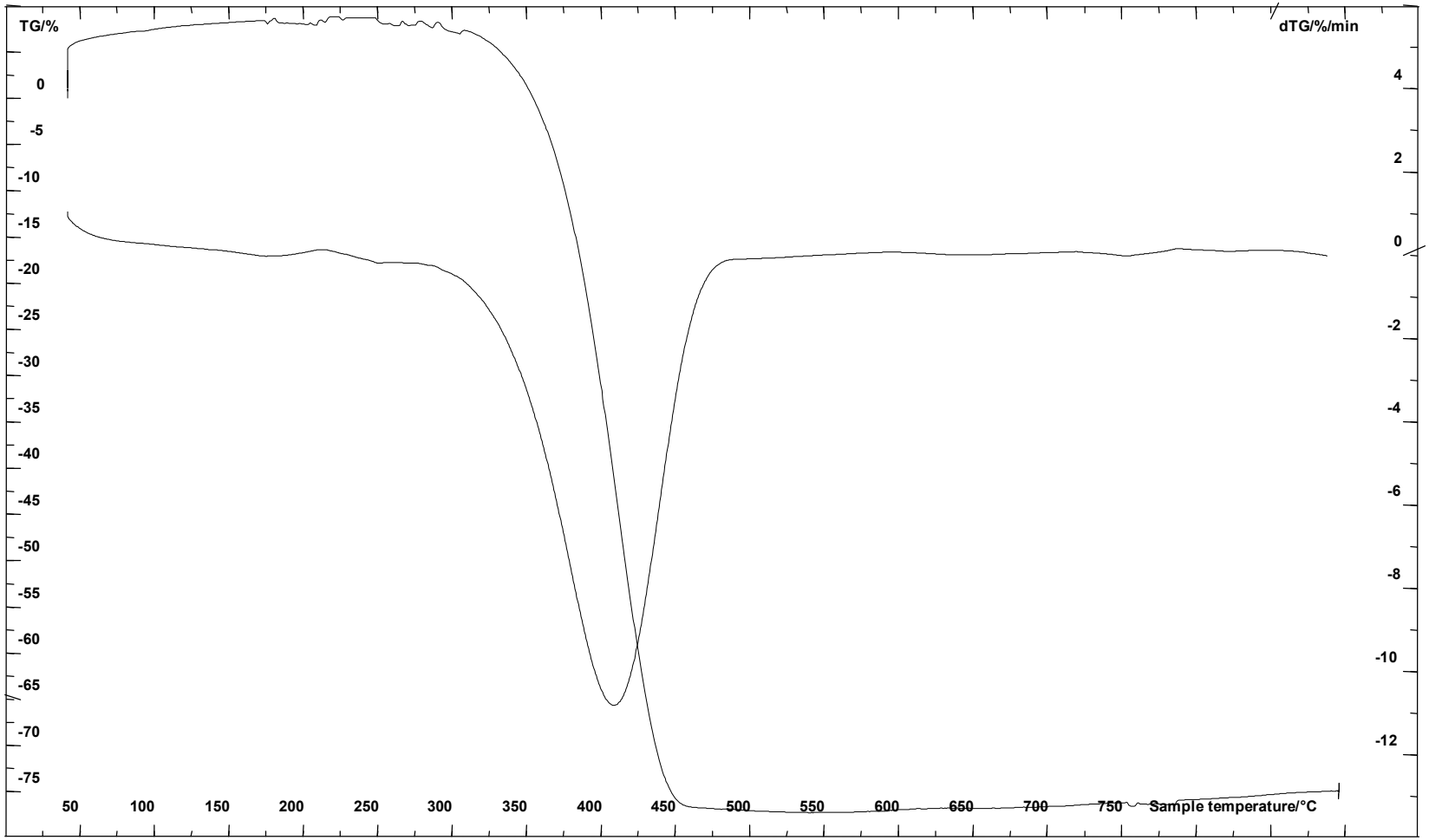
Polimerik kaliks[4]aren **22**'nin TGA ve DTG termogramı



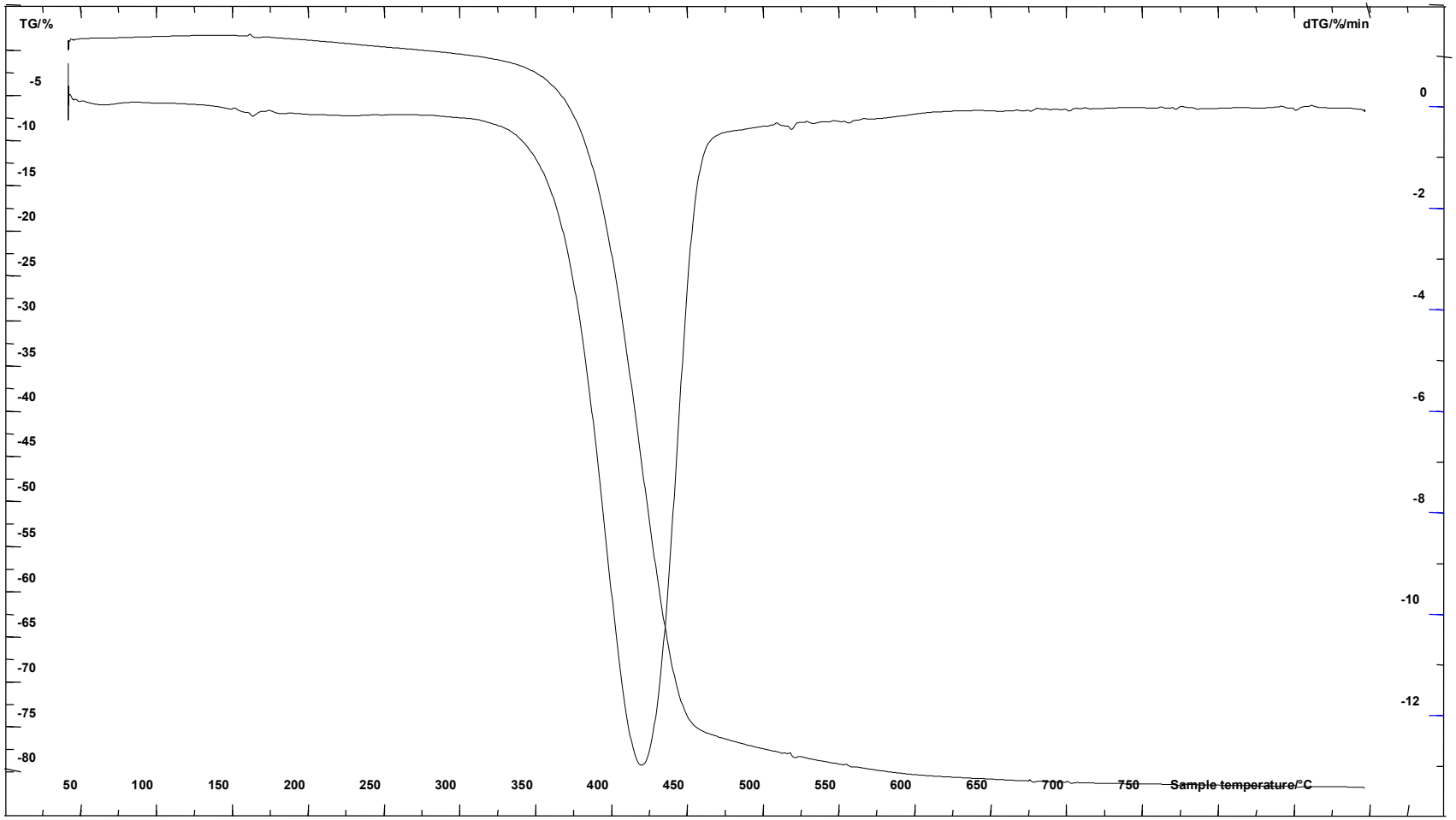
Polimerik kaliks[4]aren **23**'ün TGA ve DTG termogramı



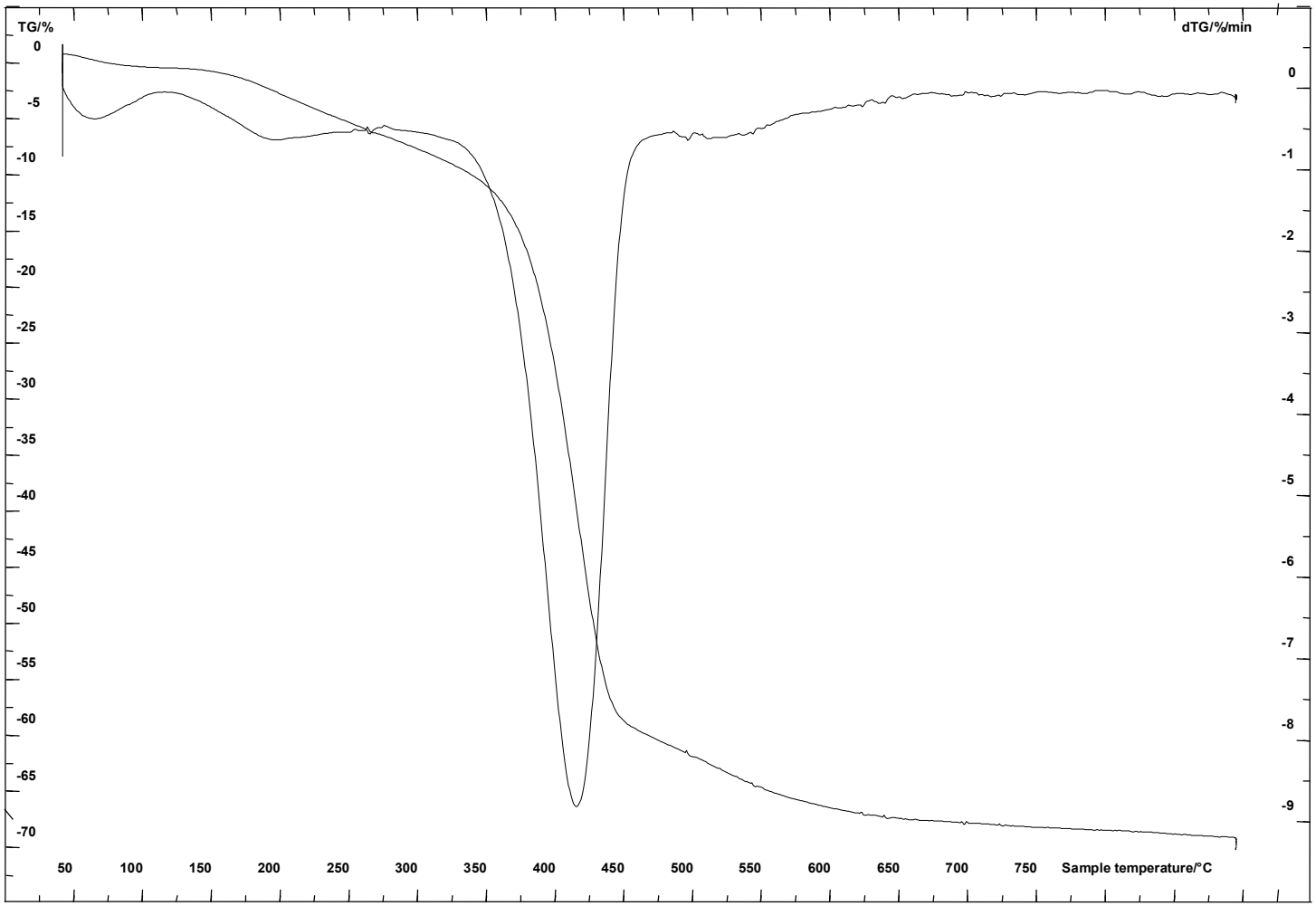
Polimerik kaliks[4]aren **24**'ün TGA ve DTG termogramı



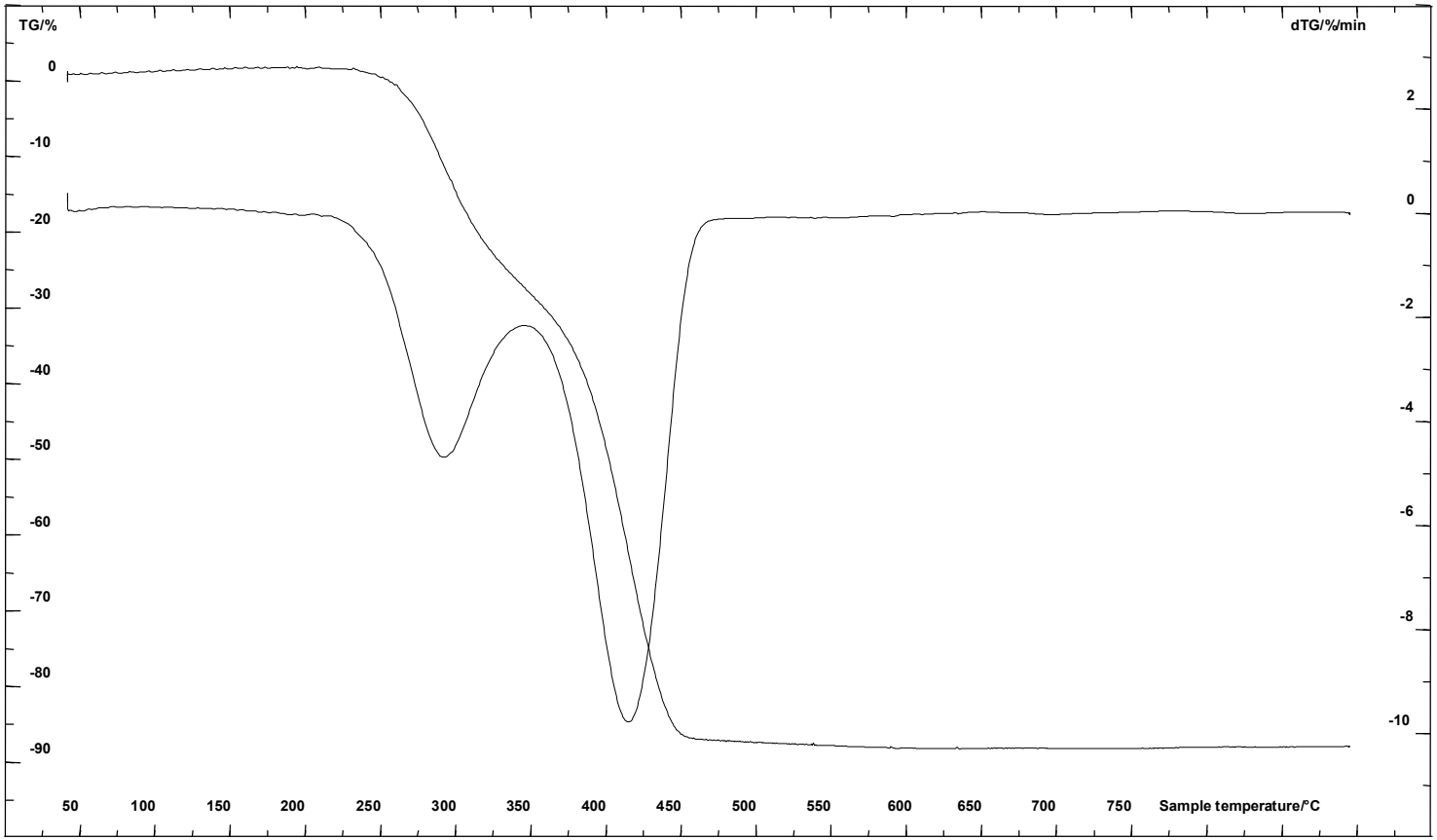
Polimerik kaliks[4]aren **25**'in TGA ve DTG termogramı



Polimerik kaliks[4]aren **26**'nın TGA ve DTG termogramı



Polimerik kaliks[4]aren **27**'nin TGA ve DTG termogramı



Polimerik kaliks[4]aren **28**'nin TGA ve DTG termogramı

ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında İstanbul'da doğdu. Orta ve lise öğrenimini Konya'da tamamladıktan sonra 1996 yılında Selçuk Üniversitesi Kimya Bölümü'nü kazandı. 2000 yılında bu bölümden mezun olduktan sonra yine aynı bölümde Aynı yıl hem Selçuk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı hem de Yüksek Lisans eğitimine başladı. 2004 yılında Yüksek Lisansını tamamladıktan sonra yine aynı sene doktora programına girdi. Halen Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nde Araştırma Görevliliğine devam etmektedir. Evli ve bir çocuk annesidir.