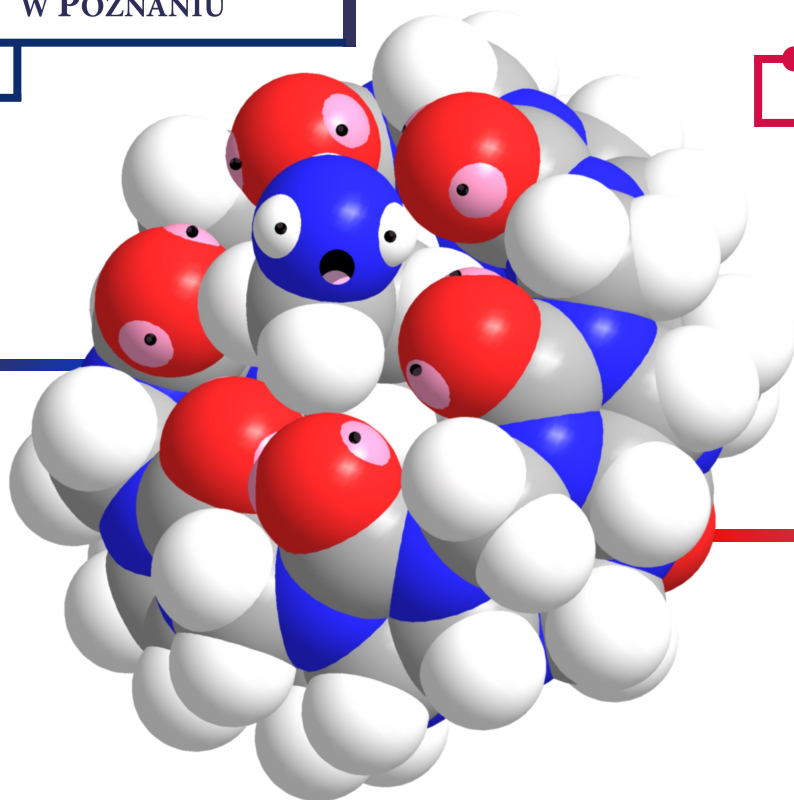




UNIWERSYTET
IM. ADAMA MICKIEWICZA
W POZNANIU

WYDZIAŁ CHEMII

SKRYPT DO ZAJĘĆ
LABORATORYJNYCH



FIZYKOCHEMIA RECEPTORÓW
MOLEKULARNYCH

SKRYPT DO ĆWICZEŃ LABORATORYJNYCH

FIZYKOCHEMIA RECEPTORÓW MOLEKULARNYCH

Łukasz Tabisz, Monika Papsdorf, Radosław Pankiewicz



Recenzenci

dr hab. inż. Ewa Wagner-Wysiecka, prof. UG

dr hab. inż. Zbigniew Rozwadowski, prof. ZUT

Okładka i opracowanie graficzne

Łukasz Tabisz

Projekt szaty graficznej

Tomasz Florczak

Wydanie I

2021

Wydział Chemii

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

ISBN 978-83-62783-14-4

SPIS TREŚCI

A1. Cyklodekstryny: budowa i modyfikacje	5
A2. Cyklodekstryny: kompleksowanie i ochrona substancji bioaktywnych.....	13
B. Kukurbit[6]uril: synteza wspomagana mikrofalami (MAS).....	21
C. Stałe kompleksowania: metoda dopasowania krzywych.....	29
D1. Kataliza przeniesienia międzyfazowego: sole czwartorzędowe	43
D2. Kataliza przeniesienia międzyfazowego: aspekty fizykochemiczne.....	51
 Wzory raportów	 61

ĆWICZENIE A1

Cyklodekstryny: budowa i modyfikacje

A1

1.1 Część teoretyczna	6
1.2 Część praktyczna	10
Raport	11
1.3 Literatura	12

ĆWICZENIE A2

13

Cyklodekstryny: kompleksowanie i ochrona substancji bioaktywnych

A2

A1.1

Czy wiesz że...

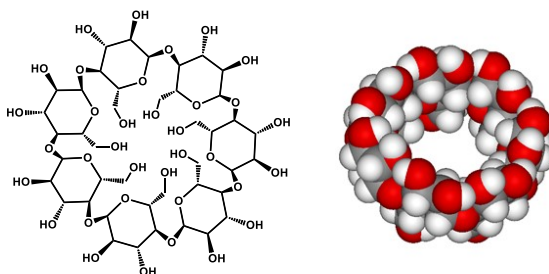
Przynależność do tzw. **grupy krwi** warunkują łańcuchy oligosacharydów występujące na powierzchni czerwonych krwinek, wchodzące w skład odpowiednich antygenów (A, B, H). (Nie)zgodność grup krwi jest bezpośrednim wynikiem zjawiska ich **rozpoznania molekularnego** - mechanizmu kluczowego dla funkcjonowania zarówno organizmów żywych, jak i syntetycznych receptorów molekularnych.

1.1 Część teoretyczna

CYKLODEKSTRYNY: STRUKTURA I WYSTĘPOWANIE

Oligo- i polimery węglowodanowe występują powszechnie w przyrodzie: jako materiał budulcowy (celuloza) i zapasowy (skrobia), a także funkcjonalny, często jako składniki glikolipidów i glikoprotein.

Nietypowym przedstawicielem oligosacharydów jest rodzina cyklodekstryn. Nazywane również cykloamylozami, posiadają bowiem taką samą podjednostkę strukturalną: mery α -D-glukopiranozy połączone wiązaniami O-glikozydowymi w kierunku 1 \rightarrow 4 (Ryc. 1). Są to naturalne związki makrocykliczne, z których najistotniejsze są heksa-, hepta- i oktamer (nazywane, odpowiednio, α -, β - i γ -cyklodekstrynami).



Ryc. 1. Wzór strukturalny i model przestrzenny β -cyklodekstryny (atomy tlenu zaznaczono kolorem czerwonym).

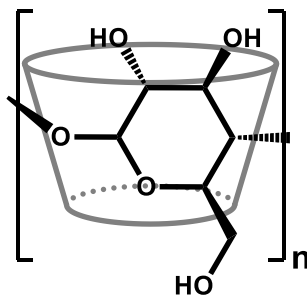
Otrzymywane są ze skrobi na drodze hydrolizy enzymatycznej prowadzonej przez niektóre bakterie, archeany oraz przedsiębiorstwa chemiczne (z wykorzystaniem tego samego enzymu, glukozylotransferazy cyklodekstrynowej, CGT-azy). Zazwyczaj wytwarzana jest niestechiometryczna mieszanina α -, β - i γ -cyklodekstryn, rozdzielana później na drodze krystalizacji i metod chromatograficznych. Ze względu na steryczność cyklodekstryny przyjmują charakterystyczną, sztywną konformację, z pierwszorzędowymi grupami hydroksylowymi skierowanymi ku węższej, a drugorzę-

dowymi ku szerszej stronie ściętego stożka (Ryc. 2). Wewnątrz tej struktury utrzymywana jest wnęka, decydująca o przynależności cykloamyloz do grupy **kawitandów** (ang. *cavity* – wnęka, wgłębienie). Ponieważ atomy tlenu znajdują się na jej obrzeżach, sama wnęka charakteryzuje się trwałym, **hydrofobowym** charakterem, podczas gdy powierzchnia cyklodekstryn pozostaje **hydrofilowa**.

CYKLODEKSTRYNY: WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE

Tak jak wiele innych oligosacharydów, cyklodekstryny dobrze rozpuszczają się w wodzie i bardzo słabo w rozpuszczalnikach niepolarnych. Istotne różnice w rozpuszczalnościach α -, β - i γ -cyklodekstryn w wodzie są podstawą do oddzielenia heptameru (18,5 g/L) od hekso- (145 g/L) i oktamery (232 g/L) na drodze krystalizacji. W związku z tym β -cyklodekstryna pozostaje najłatwiejszą w otrzymaniu (a więc także najtańszą), ale i najmniej wykorzystywaną przemysłowo cykloamylozą.

Niższa od przewidywanej rozpuszczalność wszystkich cyklodekstryn wynika (częściowo) z konieczności wypełnienia hydrofobowej wnęki silnie polarnymi cząsteczkami wody. Tym samym **zysk entropowy** (zmiana energii wynikająca z wzrostu nieuporządkowania – entropii – układu) wynikający z przejścia cząsteczek oligosacharydu z fazy krystalicznej do roztworu jest osłabiony przez konieczność przyjęcia przez wodę w jego wnęce uporządkowanej struktury - bardziej kompatybilnej z lipofilowym otoczeniem. Jest to element tzw. **efektu hydrofobowego**, jednego z ważnych elementów chemii supramolekularnej. Jego interesującym następstwem jest obserwowany wzrost rozpuszczalności cyklodekstryn w roztworach zawierających domieszkę związków niepolarnych (np. niektórych rozpuszczalników organicznych). Cyklodekstryny niezwykle chętnie uwalniają bowiem ze swojej wnęki cząsteczki wody, zastępując je cząsteczkami lipofilowymi i tworząc kompleksy inkluzyjne.



Ryc. 2. Rozmieszczenie grup hydroksylowych na obrzeżach ściętego stożka cykloamylozy.

A1.1

Czy wiesz że...

Często powtarzana zasada „podobne rozpuszcza podobne” jest znacznym uproszczeniem, którego mankamenty dobrze obrazuje przykład β -cyklodekstryny. Aby wyjaśnić ogromne różnice w rozpuszczalności (w wodzie) między heptamerem a innymi cykloamylozami, musimy zrozumieć, że na proces ten składa się zarówno energia zyskana wskutek solwatacji, jak i stracona w wyniku rozpadu wiązań międzycząsteczkowych budujących kryształ.

Stąd wniosek, że jeśli pierwsza z tych składowych jest podobna, to za znaczne różnice w rozpuszczalności dwóch substancji odpowiada dużo trwalsza struktura krystaliczna.

W skrócie: β -cyklodekstryna wyjątkowo dobrze upakuje się w kryształ dzięki korzystnemu rozkładowi oddziaływań wodorowych pomiędzy grupami -OH.

CYKLODEKSTRYNY: REAKTYWNOŚĆ I MODYFIKACJE

Mimo nietypowej struktury makrocyclicznej cyklodekstryny pozostają węglowodanami – alkoholami polihydroksylowymi. Ulegają wszystkim reakcjom typowym dla alkoholi, są jednak mniej podatne na hydrolizę od łańcuchowych amyloz (nie są jednak całkiem odporne – najłatwiej hydrolizują na gorąco, w środowisku silnie kwaśnym). Głównym problemem syntetycznym jest niska selektywność i trudność w kontrolowaniu ilości miejsc podlegających modyfikacji – każdą z sześciu/siedmiu/ośmiu pierwszorzędowych grup -OH w pozycji 6- pierścieni glukopiranozowych (patrz *Ryc. 2*) cechuje jednakowa reaktywność. Drugorzędowe grupy hydroksylowe reagują zdecydowanie wolniej, ze względu na niższą nukleofilowość.

Przykładami typowych reakcji z udziałem cyklodekstryn są:

- reakcje substytucji nukleofilowej z halogenkami alkilowymi (katalizowane silnymi zasadami)
- reakcje z otwarciem pierścieni epoksydowych (analogiczna jak powyżej reakcja typu S_N2)
- estryfikacje kwasami wielokarboksylowymi / bezwodnikami kwasowymi
- utlenianie do aldehydów

Jednymi z najczęściej prowadzonych modyfikacji są te mające na celu poprawę rozpuszczalności β -cyklodekstryny oraz tworzonych przez nią kompleksów w wodzie. W tym wypadku kluczowe jest często uzyskanie konkretnej *funkcjonalności* produktu, a nie jego *tożsamość* – mieszaniny metylowanych lub estryfikowanych w różnym stopniu cykloheptamyloz nierzadko używane są w przemyśle z pominięciem rozdziału (kosztownego i czasochłonnego) na poszczególne związki.

CEL ĆWICZENIA

Celem przeprowadzanego ćwiczenia będzie wykorzystanie do modyfikacji β -cyklodekstryny zdolności niektórych **kwasów polikarboksylowych** do tworzenia (w odpowiednich

A1.1

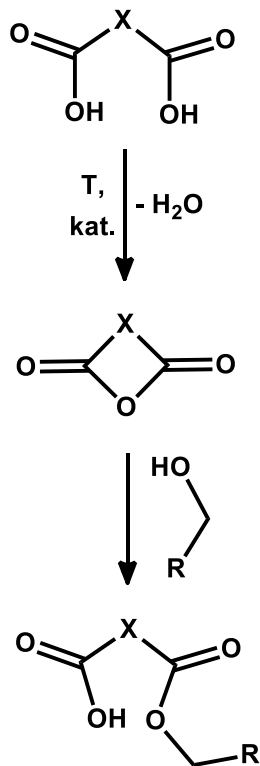
warunkach) jedynie monoestrów w reakcji z alkoholami. Dzięki temu w zmodyfikowanej cząsteczce otrzymujemy jedną lub więcej wolnych grup karboksylowych, co nadaje jej bardziej polarny (hydrofilowy) charakter niż typowym estrom. Mechanizm reakcji opiera się na wewnątrzcząsteczkowej cyklizacji kwasu do bezwodnika, a następnie jego otwarciu przez alkohol - dzięki temu estryfikacja nie wymaga obecności mocnego kwasu (np. H_2SO_4) i zachodzi nawet w obecności wody (ogólny mechanizm przedstawiony jest na Ryc. 3).

Do wyboru otrzymasz **kwas itakonowy** oraz **kwas cytrynowy** - oba spełniają powyższe wymagania. Przypomnij sobie mechanizm reakcji estryfikacji z wykorzystaniem bezwodników kwasowych i spróbuj zapisać najbardziej prawdopodobną reakcję monoestryfikacji β -cyklodekstryny, odnajdź wzory chemiczne wspomnianych kwasów i wybierz, którego z nich użyjesz.

Choć chemia akademicka przyzwyczaja nas do ściśle kontrolowanych warunków procesu, dobrze scharakteryzowanych produktów reakcji oraz ich czystości, chemia przemysłowa często kładzie większy nacisk na właściwości użytkowe gotowego produktu. Nierzadko rozdzielanie mieszaniny związków na, przykładowo, konkretne izomery nie jest ekonomicznie uzasadnione, jeśli ich surowa mieszanina sprawdza się równie dobrze w danym zastosowaniu.

PYTANIA?

- 1) Jaki jest prawdopodobny cel modyfikacji β -cyklodekstryny, którą przeprowadzisz?
- 2) Jakich zmian fizykochemicznych możesz się spodziewać po produkcji (produktach?) tej reakcji?
- 3) Dlaczego ten typ estryfikacji może być lepszym wyborem w przypadku modyfikacji oligoamyloz niż np. klasyczna estryfikacja Fischera?



Ryc. 3. Mechanizm katalitycznej cyklizacji i otwarcia pierścienia kwasów polikarboksylowych, gdzie X to łącznik o długości 2 lub 3 atomów. Powstający bezwodnik jest trwały dzięki strukturze 5- lub 6-członowego pierścienia.

A1.2

Odczynniki

- fosforan(III) sodu jednowodny (podfosforyn)
- kwas itakonowy **LUB** kwas cytrynowy
- β -cyklodekstryna
- woda destylowana
- propan-2-ol
- eter dietylowy
- palmitynian retinyli (nasycony roztwór w etanolu)

Aparatura

- suszarka laboratoryjna
- mieszadło magnetyczne (2x)
- aparat do mierzenia temperatury topnienia
- pipeta Pasteura szklana (3x)
- zlewka 25-50 mL (1x)
- fiolka 8-10 mL (3x)
- bagietka szklana lub łopata metalowa
- szczypce drewniane
- pipeta miarowa 5 mL (1x)
- dipol magnetyczny mały (2x)
- folia aluminiowa

1.2 Część praktyczna

PROCEDURA

1) Nastaw suszarkę laboratoryjną na 110°C.

2) Na wadze analitycznej odważ ostrożnie do jednej fiolki:

- 3 mg $\text{NaH}_2\text{PO}_2 \times \text{H}_2\text{O}$ (± 1 mg)
- 114 mg β -cyklodekstryny (± 3 mg)
- 35 mg kwasu itakonowego (± 1 mg) **LUB**
52 mg kwasu cytrynowego (± 1 mg)

3) Do fiolki dodaj 3-4 krople wody destylowanej i rozmieszaj składniki na jednolitą pastę (staraj się nie rozcierać mieszaniny po ściankach fiolki). Umieść otwartą fiolkę w nagrzaną suszarkę.

4) Po 30 i 60 minutach dodaj do fiolki ponownie 3-4 krople wody i szybko rozmieszaj składniki. W sumie ogrzewanie prowadź przez 1,5 godziny.

5) Po 90 minutach usuń fiolkę z suszarki i dodaj do niej ~5 mL propan-2-olu, dokładnie rozmieszaj zawartość a następnie przesącz ją na lejku Buchnera.

UWAGA! Mieszanina poreakcyjna może przyjąć formę przezroczystej, zestalonej warstwy na dnie fiolki - uważaj, by przenieść ją w całości na sączek!

6) Przemyj osad propan-2-olem (~5 mL), odłącz wąż pompki wodnej, przemyj go ~5 mL eteru dietylowego, rozmieszaj ostrożnie osad i ponownie podłącz wąż.

UWAGA! Osad powinien wyschnąć i stać się sypki przed zdjęciem z sączka!

7) Ostrożnie przenieś produkt ilościowo do wytarowanej fiolki i zważ ją.

8) Wykonaj dwa badania porównujące właściwości otrzymanej, estryfikowanej pochodnej i wyjściowej, czystej β -cyklodekstryny:

8a) Oznacz zakres temperatur ich rozkładu:

Pracując na aparacie do mierzenia temperatury topnienia, zanotuj barwę próbek w odstępach co 25°C w zakresie 150-300°C.

8b) Porównaj ich szacunkową rozpuszczalność (szybkość rozpuszczania) w wodzie:

Do jednej fiołki odważ 57 (± 1) mg β -cyklodekstryny, do drugiej 70 (kwas itakonowy) lub 75 (kwas cytrynowy) (± 1) mg otrzymanego produktu*. Do obu fiołek dodaj po 5 mL wody destylowanej i równocześnie rozpocznij mieszanie na dwóch osobnych mieszadłach magnetycznych; obserwuj i porównaj szybkość rozpuszczania obu próbek.

*

Podana masa uwzględnia zmianę masy molowej zmodyfikowanej cyklodekstryny wynikającą z estryfikacji, jak również zaadsorbowane cząsteczki wody.

PRZYGOTOWANIE DO ĆWICZENIA A2

Oznaczone fiołki z rozpuszczonymi próbkami cyklodekstryn z podpunktu (8b) owiń dokładnie folią aluminiową (tak by można było kontynuować ich mieszanie). Przygotuj dwa paski parafilmu. Do obu fiołek dodaj po 1 mL roztworu palmitynianu retinyłu (otrzymasz go od prowadzącego), mały dipol magnetyczny, natychmiast zamknij je i zabezpiecz parafilmem. Pozostaw je mieszające się przez tydzień (do kolejnych zajęć) w wyznaczonym miejscu.

RAPORT

Należy zawrzeć wszystkie informacje wyszczególnione we **wzorze raportu syntetycznego** (strona 67).

Dodatkowo zwróć szczególną uwagę na:

- 1) Zamieszczenie poprawnego równania reakcji estryfikacji z użyciem konkretnego kwasu wielokarboksylowego.
- 2) Czytelne przedstawienie oraz omówienie różnic w fizykochemicznych właściwościach β -cyklodekstryny (substratu) oraz produktu jej modyfikacji.

1. Hedges, A. R. (1998). Industrial applications of cyclodextrins. *Chemical Reviews*, 98(5), 2035-2044.
2. Saenger, W., Jacob, J., Gessler, K., Steiner, T., Hoffmann, D., Sanbe, H., Koizumi, K., Smith, S.M. and Takaha, T. (1998). Structures of the common cyclodextrins and their larger analogues beyond the doughnut. *Chemical Reviews*, 98(5), 1787-1802.
3. Xiaohong, G., Yang, C. Q. (2000). FTIR spectroscopy study of the formation of cyclic anhydride intermediates of polycarboxylic acids catalyzed by sodium hypophosphite. *Textile Research Journal*, 70(1), 64-70.
4. Jarosz, M., Kapusta-Kołodziej, J., Pawlik, A., Syrek, K., Sulka, G. D. (2017). Drug delivery systems based on titania nanostructures. In: *Nanostructures for Drug Delivery* (pp. 299-326). Elsevier.
5. Feng, X., Xiao, Z., Sui, S., Wang, Q., Xie, Y. (2014). Esterification of wood with citric acid: The catalytic effects of sodium hypophosphite (SHP). *Holzforschung*, 68(4), 427-433.
6. Chatjigakis, A. K., Donze, C., Coleman, A. W., Cardot, P. (1992). Solubility behavior of beta.-cyclodextrin in water/cosolvent mixtures. *Analytical Chemistry*, 64(14), 1632-1634.
7. Nazi, M., Malek, R. M. A., Kotek, R. (2012). Modification of β -cyclodextrin with itaconic acid and application of the new derivative to cotton fabrics. *Carbohydrate Polymers*, 88(3), 950-958.
8. Khan, A. R., Forgo, P., Stine, K. J., D'Souza, V. T. (1998). Methods for selective modifications of cyclodextrins. *Chemical Reviews*, 98(5), 1977-1996.
9. Wikibooks. *Structural Biochemistry/Carbohydrates/Blood Type*. Na podstawie: Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S. L., Matsudaira, P., Baltimore, D., & Darnell, J. (2000). *Molecular cell biology* 4th edition. National Center for Biotechnology Information, Bookshelf. Dostęp online: https://en.wikibooks.org/wiki/Structural_Biochemistry/Carbohydrates/Blood_Type.

ĆWICZENIE A1

5

Cyklodekstryny:
budowa i modyfikacje

A1

ĆWICZENIE A2

Cyklodekstryny: kompleksowanie
i ochrona substancji bioaktywnych

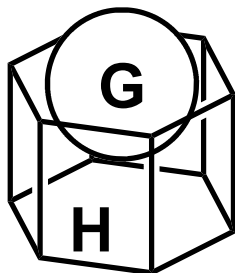
A2

1.1 Część teoretyczna	14
1.2 Część praktyczna	18
Raport	19
1.4 Literatura	20

2.1 Część teoretyczna

CYKLODEKSTRYNY: KOMPLEKSY INKLUZYJNE

Kompleks inkluzyjny to kompleks supramolekularny charakteryzujący się wnikaniami cząsteczki **gościa** (ang. *guest*) w głąb wnęki strukturalnej gospodarza (ang. *host*); termin ten kojarzony jest przede wszystkim z kawitanami (*Ryc. 1*).



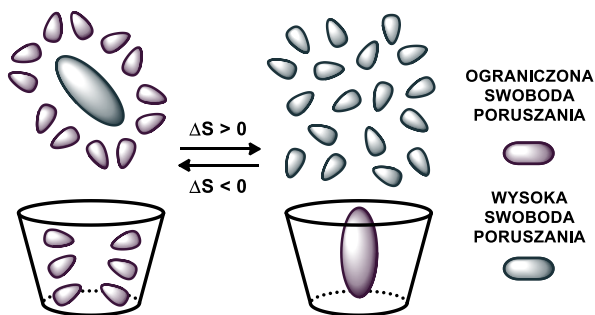
Ryc. 1. Gość (ang. „guest”, G) jest komplementarny z wnęką zapewnianą przez makrocyclicznego gospodarza (ang. „host”, H).

Wiele z badanych kompleksów tego typu (w tym znakomita większość tych tworzonych przez α -, β - i γ -cyklodekstryny) posiada **stechiometrię 1:1**. Siłami napędowymi tworzenia tych układów mogą być niemal wszystkie efekty i **oddziaływania niekwalencyjne** istotne w chemii supramolekularnej, przy czym dla kompleksów cyklodekstryn warto wyróżnić dwa zjawiska:

- efekt makrocycliczny
- efekt hydrofobowy

Efekt hydrofobowy wyjaśnia pozorny paradoks obserwowanego wzrostu entropii układu podczas przenoszenia lipofilowej cząsteczki z roztworu do wnęki cykloamylozy - choć w ten sposób dokonujemy „uporządkowania” układu, to cząsteczki wody, które wcześniej otaczały cząsteczkę gościa, oraz te, które znajdowały się we wnęcie gospodarza zostają „uwolnione”, odzyskując swobodę poruszania. Sumarycznie, entropia układu może więc wzrastać (*Ryc. 2*).

Efekt makrocycliczny, definiowany jako efekt **preorganizacji** liganda w strukturę cykliczną/przestrzenną, odpowiada za większą niż przewidywana teoretycznie stabilność kompleksu kiedy wnęki gospodarza dokładnie odpowiada geometrycznym wymaganiom gościa. Zbyt duży gość nie zmieści się w luce strukturalnej, zbyt mały nie może jednocześnie efektywnie wykorzystywać wszystkich oddziaływań zapewnianych przez wnękę i jest bardziej podatny na solwatację przez cząsteczki rozpuszczalnika.



Ryc. 2. Efekt hydrofobowy wspomaga utworzenie kompleksu inkluzyjnego: choć inkluzja niepolarnych cząsteczek wewnątrz luk cyklodekstryny zmniejsza nieuporządkowanie układu, uwolnione cząsteczki wody odzyskują swobodę poruszania i całkowita entropia układu rośnie ($\Delta S > 0$).

SKUTKI UTWORZENIA KOMPLEKSU INKLUZYJNEGO

Im trwalsze wiązanie pomiędzy gościem a gospodarzem, tym większe zmiany we właściwościach obu partnerów obserwujemy. Choć konkretne skutki zależą w dużej mierze od struktury obu składników kompleksu, inkluzja zawsze oznacza **ograniczenie kontaktu ze środowiskiem** zewnętrznym. Stąd dla gościa często obserwuje się:

- wzrost odporności chemicznej/oksydacyjnej
- zmniejszenie wrażliwości na promieniowanie UV-Vis
- wzrost udziału jednej konformacji/struktury rezonansowej (jeśli może występować w wielu)
- możliwość efektywnego przeniesienia do rozpuszczalnika preferowanego przez gospodarza

Cyklodekstryny są doskonałym przykładem związków, których kompleksy z substancjami lipofilowymi wykazują wszystkie powyższe właściwości. Warto jednak pamiętać, że

Czy wiesz że...

Podstawą chemii supramolekularnej są oddziaływania niekovalencyjne. Najważniejsze, w kolejności od najsilniejszych do najsłabszych, można uszeregować następująco:

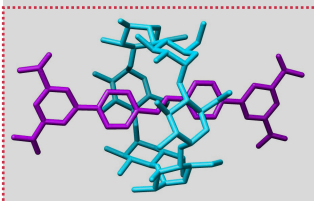
1. jon–jon
2. jon – dipol
3. wiązania wodorowe
4. dipol–dipol
5. siły dyspersyjne Londona

Siła tych oddziaływań spada gwałtownie zarówno wraz z poruszaniem się w dół listy, jak i z odległością na jaką mogą zbliżyć się do siebie odpowiednie fragmenty obu cząsteczek. Warto też pamiętać, że wiązanie wodorowe (3) jest specyficznym przypadkiem oddziaływania typu dipol-dipol (4).

A2.1

Czy wiesz że...

Rotaksany należą do przedstawicieli intrygującej klasy układów chemicznych, których elementy połączone są **wiązaniem mechanicznym** lub **topologicznym**. Najłatwiej zrozumieć jego ideę spoglądając na przykładową strukturę:



Rotaksan składa się z makrocyklu („koła”, łac. *rota*) i „hantli” lub „osi” (łac. *axis*). **Brak wiązań kowalencyjnych** między składnikami pozwala na ich wzajemny obrót, za to duży rozmiar „stoperów” na końcu liniowej cząsteczki uniemożliwia dysocjację składników. Paradoksalnie, to właśnie ta „permanentność” układu sprawia, że rotaksany nie mogą być traktowane jak klasyczne kompleksy supramolekularne.

im trwalszy kompleks inkluzyjny, tym trudniejsze jego późniejsze rozdzielenie na składniki.

CYKLODEKSTRYNY: ZASTOSOWANIA

Postępy w badaniach nad otrzymywaniem, modyfikacją, metabolizmem i wpływem cyklodekstryn na organizm sprawiły, że są one obecnie jednymi z najpowszechniej wykorzystywanych związków makrocyclicznych, m.in.:

- jako dodatek do żywności i substytut rozpuszczalnego błonnika (α - i γ -cyklodekstryny nie mają nawet określonych dziennych dopuszczalnych limitów spożycia)
- do otrzymywania produktów spożywczych o zmniejszonej zawartości cholesterolu
- jako emulgatory, zarówno w kosmetykach jak i produktach spożywczych
- do utrwalania koloru i redukcji niepożądanych (lub przedłużenia żywotności pożądaných) zapachów
- jako czynniki chroniące substancje bioaktywne przed światłem
- w celu zwiększenia biodostępności lub do kontrolowanego uwalniania leków
- do zmniejszenia wrażliwości substancji aktywnych (np. witamin) na utlenienie w kontakcie z powietrzem
- jako modyfikatory faz stacjonarnych w kolumnach chromatograficznych
- do selektywnej ekstrakcji i rozdzielania substancji lipofilowych
- w celu oczyszczania roztworów wodnych z niepolarnych zanieczyszczeń
- w syntezie bardziej skomplikowanych układów supramolekularnych (np. rotaksanów)

- w ilościowych oznaczeniach kolorymetrycznych substancji organicznych

CEL ĆWICZENIA

Celem ćwiczenia będzie porównanie jak skutecznie niezmodyfikowana β -cyklodekstryna oraz otrzymany w ćwiczeniu A1 ester chronią wrażliwy, acz cenny składnik produktów spożywczych i kosmetycznych, jakim jest **palmitynian retinyłu**. Znajduje on zastosowanie nie tylko jako antyoksydant, występuje też powszechnie w kremach i dodawany jest do odtłuszczonego mleka, w celu otrzymania produktu o zbliżonej do oryginalnej zawartości **witaminy A**. W porównaniach od ostatnich zajęć próbkach, zawierających ten składnik w mieszaninie z oligoamylozami, zdążył częściowo wytworzyć się trwały **kompleks inkluzyjny**.

PYTANIA?

- 1) Odnajdź wzór strukturalny oraz podstawowe informacje na temat palmitynianu retinyłu; dlaczego fiolki z poprzedniego ćwiczenia musiały zostać owinięte folią aluminiową?
- 2) Jak pamiętasz, β -cyklodekstryna cechuje się wyjątkowo niską rozpuszczalnością w wodzie; biorąc pod uwagę tę informację oraz strukturę palmitynianu retinyłu, jak sądzisz, czy kompleks inkluzyjny będzie miał wyższą czy niższą rozpuszczalność od „pustego” ligandu? Skąd takie wnioski?
- 3) Jakie inne, wrażliwe substancje biologicznie czynne będą zyskiwały dzięki kompleksowaniu z cyklodekstrynami? Dla jakich taka forma ochrony nie będzie się sprawdzać lub może powodować obniżenie ich przydatności w formulacji spożywczej/kosmetycznej?
- 4) Przeczytaj uważnie część praktyczną: wpływ/ochronę przed jakimi czynnikami środowiskowymi będziesz analizować?

A2.2

2.2 Część praktyczna

Odczynniki

- woda destylowana
- etanol 96%
- palmitynian retinyłu (nasycony roztwór w etanolu)
- roztwory cyklodekstryn i palmitynianu retinyłu z ćwiczenia A1

UWAGA!

Pamiętaj by każdorazowo zamykać kolby korkiem, gdy z nich nie korzystasz oraz o ich owinięciu folią aluminiową!

Aparatura

- wirówka laboratoryjna
- łaźnia ultradźwiękowa
- spektrofotometr UV-Vis
- lampa UV-A
- kuwety spektrofotometryczne (8x)
- kolba miarowa 25 mL (4x)
- kolba miarowa 10 mL (4x)
- pipeta wielomiarowa 1-2 mL (2x)
- próbówka wirówkowa 10-15 mL (2x)
- pasterówka szklana (3x)

PROCEDURA

1) Zabezpiecz folią aluminiową (pojedynczą warstwą) trzy kolby miarowe o pojemności 25 mL oraz trzy kolby o pojemności 10 mL.

2) Próbkę cyklodekstryn z palmitynianem retinyłu z poprzedniego ćwiczenia umieść na 2 minuty w łaźni ultradźwiękowej, a następnie przenieś do probówek wirówkowych; dopełnij je wodą do 10 mL i odwiruj roztwory.

3) Przenieś do dwóch kolb o pojemności 25 mL odpowiednio po pięć mililitrów klarownego roztworu (fazy wodnej) z probówek wirówkowych. Dopełnij je wodą destylowaną do 2/3 objętości i dokładnie wymieszaj. Dopełnij roztwory do kreski.

4) Trzecią kolbę o pojemności 25 mL napełnij w 2/3 etanolem, dodaj do niej 0,5 mL otrzymanego od prowadzących roztworu palmitynianu retinyłu w etanolu, wymieszaj zawartość i dopełnij roztwór do kreski. Pobierz 0,5 mL roztworu i przenieś go do kolby o pojemności 10 mL, dopełnij alkoholem do kreski.

5) Zmierz absorbancję roztworów: **przy 325 nm i spektrofotometrze wyzerowanym na etanol** dla roztworu wolnego palmitynianu retinyłu oraz **przy 288 nm i spektrometrze wyzerowanym na wodę** dla próbek z cyklodekstrynami.

6) Jeżeli absorbancja roztworów zawiera się w zakresie 0,3-1,2 - możesz przystąpić do dalszej części ćwiczenia. Jeżeli jest niższa lub wychodzi poza skalę, przygotuj roztwór o odpowiednio większym lub mniejszym stężeniu, korzystając z roztworów podstawowych znajdujących się w kolbach o pojemności 25 mL.

7) Zanotuj rozcieńczenia i odpowiadające im wyjściowe absorbancje wszystkich roztworów (A_0).

8) Każdym roztworem napełnij po dwie kuwety:

A2.2

8a) Jedną pozostaw przy sztucznym oświetleniu **LUB** blisko okna. Zmierz i zanotuj absorbancję próbek w czasie:

t: 1 min 5 min 10 min 15 min 30 min
 45 min 60 min (w sumie 60 minut)

8b) Zawartość drugiej będziesz naświetlać pod lampą UV - zmierz zmiany absorbancji po następujących po sobie kolejno czasach naświetlania:

t: 5 s 5 s 10 s 15 s 25 s 45 s
 1 min 2 min 5 min 10 min

UWAGA!

Nie pomył się i pamiętaj by zawsze używać spektrofotometru wyzerowanego na długość fali i rozpuszczalnik odpowiedni dla danej próbki!

RAPORT

Należy zwrócić szczególną uwagę na ujęcie w raporcie poniższych elementów:

- 1) Informacji w jaki sposób została zmodyfikowana β -cyklodekstryna (**A1**), która jest poddawana analizie.
- 2) Obserwacji z przygotowania roztworów do badań: kolor, ilość faz, wygląd przed i po odwirowaniu (porównanie wraz z krótkim komentarzem).
- 3) Tabeli z wynikami dla wszystkich próbek (próbka, czas, absorbancja - łącznie z A_0).
- 4) Dwóch wykresów - osobno (**8a**) i (**8b**) - każdego zawierającego po trzy krzywe, pokazujących zmianę absorbancji roztworów badanych w czasie. Aby możliwe było porównanie prób o różnej absorbancji na jednym wykresie, na osi y można umieścić **stosunek absorbancji w czasie t do absorbancji wyjściowej** danego roztworu ($y=A_t/A_0$).
- 5) Wniosków, obszernie porównujących ze sobą wyniki dla nieskompleksowanego palmitynianu retinyli oraz dla jego kompleksów z β -cyklodekstryną i samodzielnie otrzymaną pochodną z ćwiczenia **A1**.

2.3 Literatura

1. Hedges, A. R. (1998). Industrial applications of cyclodextrins. *Chemical Reviews*, 98(5), 2035-2044.
2. Saenger, W., Jacob, J., Gessler, K., Steiner, T., Hoffmann, D., Sanbe, H., Koizumi, K., Smith, S.M. and Takaha, T. (1998). Structures of the common cyclodextrins and their larger analogues beyond the doughnut. *Chemical Reviews*, 98(5), 1787-1802.
3. Nepogodiev, S. A., Stoddart, J. F. (1998). Cyclodextrin-based catenanes and rotaxanes. *Chemical Reviews*, 98(5), 1959-1976.
4. Vilanova, N., Solans, C. (2015). Vitamin A Palmitate- β -cyclodextrin inclusion complexes: Characterization, protection and emulsification properties. *Food Chemistry*, 175, 529-535.
5. Cravotto, G., Binello, A., Baranelli, E., Carraro, P., Trotta, F. (2006). Cyclodextrins as food additives and in food processing. *Current Nutrition & Food Science*, 2(4), 343-350.
6. Rawat, S., Jain, S. K. (2004). Solubility enhancement of celecoxib using β -cyclodextrin inclusion complexes. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 57(2), 263-267.
7. Spencer, B. J., Purdy, W. C. (1997). Comparison of the separation of fat-soluble vitamins using β -cyclodextrins in high-performance liquid chromatography and micellar electrokinetic chromatography. *Journal of Chromatography A*, 782(2), 227-235.
8. Buschmann, H. J., Schollmeyer, E. (2002). Applications of cyclodextrins in cosmetic products: a review. *Journal of Cosmetic Science*, 53(3), 185-192.

ĆWICZENIE B

Kukurbit[6]uril: synteza wspomagana mikrofalami (MAS)

B

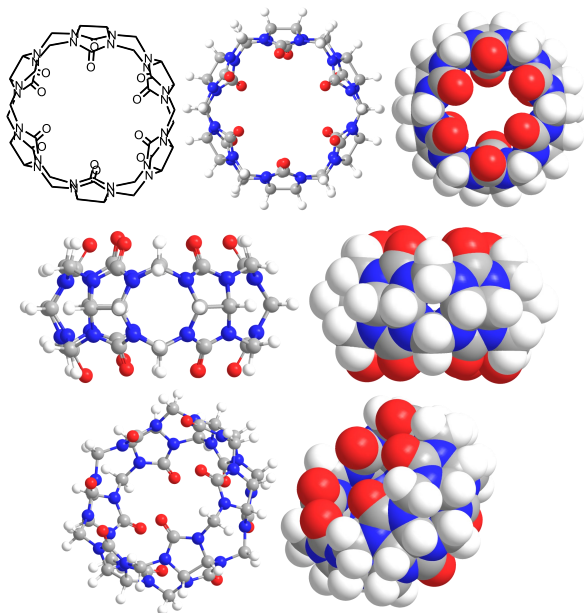
B.1 Część teoretyczna	22
B.2 Część praktyczna	26
Raport	27
B.3 Literatura	28

B.1

B.1 Część teoretyczna

KUKURBITURILE: BUDOWA

Kukurbituryle są **cyklicznymi receptorami** o trójwymiarowej strukturze, upodabniającej je nieco do innych kawitandów - cyklodekstryn czy kaliksarenów. W przeciwieństwie do tych ostatnich (również syntetycznego pochodzenia) cechuje je jednak większa symetria i **polarny charakter**.



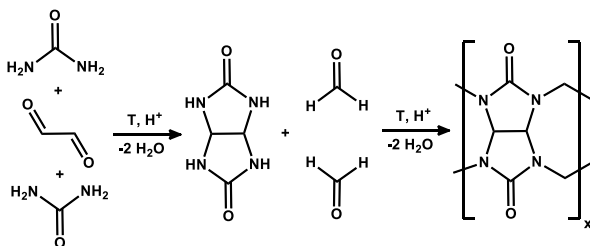
Ryc. 1. Struktura przestrzenna kukurbit[6]urilu. Atomy azotu - kolor niebieski, tlenu - kolor czerwony, węgla - szary, wodoru - biały.

Budowę kukurbiturili (nazwanych tak ze względu na wizualne podobieństwo do dyniowatych, *Cucurbitaceae*) cechują: **niepolarna wnęka** i **dwie polarne obręcze** „broniące” do niej dostępu, o wyraźnie mniejszej średnicy. Częsteczki kukurbiturili cechuje bardzo **wysoka symetria** i **zahamowana możliwość obrotu wokół wiązań** chemicznych.

KUKURBITURILE: PRODUKT TERMODYNAMICZNY

Choć ruch atomów w omawianym makrocyklu jest niezwykle utrudniony, **kukurbit[6]uril** to **termodynamicznie najtrwalszy** oligomer naturalnie zgiętego glikolurilu, połączonego mostkami metylenowymi $-\text{CH}_2-$ (porównaj *Ryc. 2*).

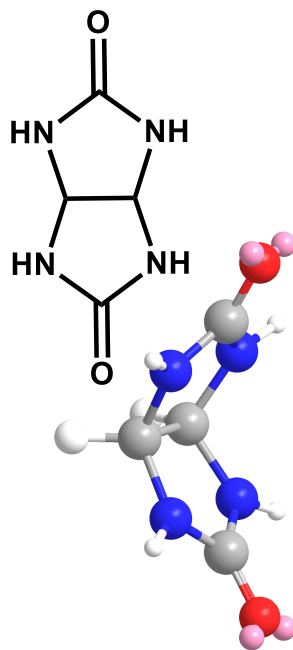
Reakcja syntezy tego związku (w jawnym kontraście do syntezy cyklodektryn, eterów koronowych i wielu innych ligandów supramolekularnych) przebiega w **drastycznych warunkach**; najwyższe wydajności uzyskuje się przy temperaturach wyższych niż 150°C i z zastosowaniem stężonego kwasu siarkowego(VI) jako rozpuszczalnika(!). Jedyną strukturą wystarczająco termodynamicznie trwałą by nie ulec rozkładowi w tych warunkach (tzw. **termolizie**, dysocjacji termicznej) jest właśnie kukurbit[6]uril. Co więcej, surowce do produkcji kukurbiturili są tanie i łatwo dostępne, co zwiększa potencjał ich wykorzystania:



Ryc 3. Surowce do syntezy kukurbiturili na drodze kondensacji: mocznik, gliksal i formaldehyd.

KUKURBITURILE: RECEPTORY MOLEKULARNE

Kukurbiturile są doskonałymi receptorami jonów - przykładowo rozpuszczalność kukurbit[6]urilu w czystej wodzie jest bliska zeru, ale wzrasta drastycznie w obecności soli, a nawet kwasów (zachodzi kompleksowanie kationu H^+ przez grupy karbonylowe). Stanowi to podstawową metodę jego



*Ryc 2. Struktura glikolurilu. Przedstawiona „zgięta” konformacja jest **jedyną** termodynamicznie trwałą formą związku.*

B.1

Czy wiesz że...

Mikrofałe to rodzaj promieniowania elektromagnetycznego, o długości pomiędzy promieniowaniem podczerwonym i falami radiowymi (granice te są umowne):

MIKROFAŁE					
10^3	$10^0 \cdot 10^{-2} \text{ m}$	10^{-5}	10^{-8}	10^{-10}	10^{-12}
RADIO		IR	UV	X	γ

Interakcja mikrofał z materiałem polega na wzbudzeniu **mobilnych ładunków elektrycznych**: polarne cząsteczki zaczynają oscylovac i przekazywać zaabsorbowaną energię w postaci ciepła podczas zderzeń z innymi molekułami. Oznacza to, że niepolarne rozpuszczalniki są w znacznym stopniu „przezroczyste” podczas gdy **związki jonowe i te o dużym momencie dipolowym bardzo silnie absorbują mikrofałe**.

oczyszczania. Najwyższe **stałe kompleksowania** obserwuje się jednak dla protonowanych amin o lipofilowych resztach, które mogą ukryć swój charakter wewnątrz wnętrza kukurbiturilu (dodatkowy zysk energetyczny dzięki **efektowi hydrofobowemu**). Problemem jest jedynie wymiar owej wnęki, ściśle zależny od liczby reszt glikolurilowych w makrocyklu. Na przykład kukurbit[6]uril z trudnością tworzy kompleksy inkluzyjne ze związkami zawierającymi układy aromatyczne i pierścieniowe, ale z łatwością z alkiloaminami.

MAS (MICROWAVE-ASSISTED SYNTHESIS)

Choć pierwszy artykuł dotyczący obserwowanego przyspieszenia reakcji chemicznych prowadzonych w mikrofałowce (tak, kuchennej mikrofałowce) pojawił się w roku 1986, brak profesjonalnego sprzętu umożliwiającego ścisłą kontrolę warunków procesu opóźnił akceptację mikrofał jako alternatywy dla klasycznych źródeł ciepła - łaźni wodnych czy olejowych. Obecnie znanych jest wiele procesów chemicznych, dla których warunki MAS (ang. *microwave-assisted synthesis*, syntezy wspomagananej mikrofałami) są bardziej pożądane od innych - przynajmniej w skali laboratoryjnej. Nowoczesne reaktory mikrofałowe pozwalają na prowadzenie reakcji w izolowanym środowisku, przy znacznie podwyższonym ciśnieniu - pozwalając m.in. na przekroczenie temperatury wrzenia zastosowanego rozpuszczalnika i dalsze skrócenie czasu reakcji.

Klasyczna (i pierwsza opublikowana) synteza kukurbiturili opierała się o tygodniową reakcję między substratami w wysokiej temperaturze, podczas której z mieszaniny reakcyjnej powoli wypadał (cechujący się najniższą rozpuszczalnością) kukurbit[6]uril. Wkrótce jednak odkryto, że drastyczne warunki reakcji, optymalne dla syntezy cyklicznego oligomeru, mogą być skuteczniej zapewnione wewnątrz reaktora mikrofałowego - a reakcja ta skrócona z 5 dni do zaledwie 5 minut. Oczywiście, dzieje się tak tylko przy założeniu **wysokiej czystości, zachowanej stechiometrii i dobrego rozmie-**

B.1

szania substratów - bez których cała mieszanina ulega efektownemu zwęgleniu.

CEL ĆWICZENIA

Celem przeprowadzonego eksperymentu będzie dwuetapowa synteza imponującego (i cennego) liganda supramolekularnego - kukurbit[6]urilu - z prostych bloków budulcowych. W pierwszym etapie wykorzystasz klasyczną metodę syntezy aby otrzymać glikoluril, w drugim - syntezę wspomaganą mikrofalami by szybko otrzymać docelowy kawitand.

Zwróć szczególną uwagę na czystość i jednorodność substratów oraz półproduktów. Niedostateczne dosuszenie glikolurilu, złe wymieszanie substratów z kwasem siarkowym lub zaburzony stosunek molowy reagentów doprowadzi do otrzymania silnie zanieczyszczonego produktu i bardzo niskiej wydajności.

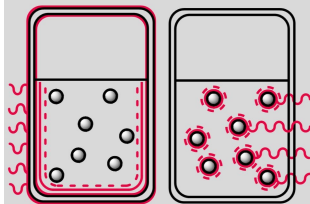
PAMIĘTAJ! O pomoc związaną z obsługą reaktora mikrofalowego zwróć się do prowadzącego ćwiczenie.

PYTANIA?

- 1) Przyjrzyj się strukturze glikolurilu - jak sądzisz, dlaczego termodynamicznie preferowanymi polimerami tego związku są struktury cykliczne, a nie liniowe?
- 2) Jaki typ oddziaływań międzycząsteczkowych najprawdopodobniej dominuje podczas kompleksowania jonów przy górnej i dolnej obręczy kukurbiturilu?
- 3) W przypadku syntezy jakich ligandów supramolekularnych lub w jakich warunkach MAS nie będzie korzystną alternatywą dla standardowych układów reakcyjnych?

Czy wiesz że...

Ogrzewanie mieszaniny reakcyjnej za pomocą mikrofalał przebiega odmiennie od klasycznej konwekcji cieplnej obecnej przy zastosowaniu płyt, czasz czy łażni grzejnych.



Dobre naczynie do zastosowań MAS jest przezroczyste dla mikrofalał, absorbowanych w zamian przez polarne cząsteczki i jony znajdujące się w roztworze. Wzbudzone w ruch drgający, te indywidualne następnie oddają energię otoczeniu. Zastosowanie niepolarnego rozpuszczalnika, podczas gdy reagenty są związkami o dużym momencie dipolowym, może skutkować olbrzymim wzrostem szybkości reakcji. ... Niestety, także reakcji rozkładu termicznego.

B.2

Odczynniki

- mocznik
- kwas siarkowy(VI) 96%
- glioksal 40%
- węglan (lub wodorowęglan) sodu
- woda destylowana
- etanol
- kwas solny 28%
- aceton

Aparatura

- reaktor mikrofalowy
- mieszadło magnetyczne
- płaszcz grzejny mały
- chłodnica zwrotna
- dipol magnetyczny średni
- kolba okrągłodenna 25 mL
- pipeta miarowa 1-5 mL
- bagietka szklana
- próbówka mikrofalowa 10 mL
- kolba stożkowa 250 mL
- zlewka 25-50 mL
- kolba ssawkowa
- lejek Buchnera

UWAGA!

Stechiometria jest niezwykle ważna na tym etapie syntezy! Naważ i przenieś substraty do fiolek z dużą dokładnością.

B.2 Część praktyczna

PROCEDURA I - GLIKOLURIL

1) Do 25 mL kolby okrągłodennej odważ 1,80 ($\pm 0,05$) g mocznika, dodaj 2,5 mL wody i umieść na mieszadle magnetycznym, w płaszczu grzejnym (zadbaj by płaszcz nie ogrzewał szkła nad poziomem roztworu); nad kolbą przygotuj gotową do podłączenia chłodnicę zwrotną.

2) Wkropl do kolby (przy włączonym intensywnym mieszananiu) 0,5 mL stężonego kwasu siarkowego w ciągu około 2 minut (po kropli, starając się nie zabrudzić szlif).

3) Następnie wkropl do kolby, ponownie w ciągu 2 minut, 40% roztwór glioksalu (1,4-1,5 mL). W tym czasie rozpocznij ogrzewanie roztworu.

4) Zamontuj chłodnicę zwrotną i prowadź reakcję przy wrzeniu rozpuszczalnika (ale nie przegrzewając znacząco naczynia) przez 30 minut.

5) Po tym czasie szybko schłódź kolbę pod strumieniem zimnej wody. W tym czasie przygotuj zestaw do sączenia pod próżnią.

6) Odsącz powstały produkt, przemyj go 1x wodą, 1x rozcieńczonym roztworem (wodoro)węglanu sodu (2,5-5%), ponownie 1x wodą, a następnie 1x alkoholem etylowym (porcje po 5-10 mL).

7) Umieść produkt w suszarce nastawionej na 110°C na ok. 10 minut.

8) Zważ produkt (później oblicz wydajność syntezy i oznacz jego temperaturę rozkładu) i użyj go w **Procedurze II**.

PROCEDURA II - KUKURBIT[6]URIL

1) Do próbówki mikrofalowej z grubego szkła naważ 0,60 g otrzymanego glikolurilu i 0,27 g paraformaldehydu. Wymieszaj substraty bagietką. **Zgłoś się do prowadzącego.**

2) Ostrożnie zmieszaj ze sobą 2,5 mL wody i 2,5 mL stężone-

B.2

go kwasu siarkowego. Gorącym kwasem (~10 M) natychmiast zalej substraty i rozpocznij mieszanie zawartości próbówki bagietka szklana; staraj się uzyskać możliwie jednorodną mieszaninę. Na koniec umieść w środku mieszadłko magnetyczne.

3) Umieść naczynie reakcyjne w reaktorze mikrofalowym; ogrzewaj zawartość przez min. 4 minuty w 160°C. Uzyskany roztwór przenieś do kolby, rozcieńcz go 40 mL zimnej wody destylowanej, a następnie 40-60 mL acetonu (więcej, jeśli osad nie wytrąca się).

4) Powstały surowy produkt odsącz pod zmniejszonym ciśnieniem, przemyj go mieszaniną wody i acetonu (1:1 v:v, 2x5 mL); umieść produkt na 5-10 minut w suszarce (110°C).

5) Przenieś osad do małej zlewki i rozpuść go w **minimalnej ilości 28% HCl (kilka kropli!)**.

6) Rozcieńcz roztwór 10 mL wody, przenieś go do kolby stożkowej na 250 mL i dopełnij ją wodą. Pozostaw kolbę na tydzień w lodówce celem wytrącenia osadu kukurbiturilu.

7) Odsącz produkt, przemyj go wodą, umieść w suszarce nastawionej na 110°C na minimum godzinę. Następnie określ jego temperaturę rozkładu i porównaj z wartością literaturową.

RAPORT

Należy zawrzeć wszystkie informacje wyszczególnione we **wzorze raportu syntetycznego** (strona 67).

Dodatkowo zwróć szczególną uwagę na:

1) Dokładne oznaczenie temperatur rozkładu obu związków; skomentowanie ewentualnych odstępstw.

2) Poprawne obliczenie wydajności reakcji: obu etapów osobno oraz sumarycznej. Zwróć uwagę na stechiometrię syntezy oligomerycznego kukurbiturilu oraz na to który z substratów powinien być potraktowany jako odniesienie.

M = mol/dm³

*

Osad rozpuszcza się w kwasie powoli, ale **bardzo dobrze**. Nie ryzykuj - zwołaj prowadzącego zanim przesadzisz! Nawet minimalny nadmiar kwasu solnego spowoduje drastyczne obniżenie wydajności rekrytalizacji!

B.3

B.3 Literatura

1. Masson, E., Ling, X., Joseph, R., Kyeremeh-Mensah, L., Lu, X. (2012). Cucurbituril chemistry: a tale of supramolecular success. *Rsc Advances*, 2(4), 1213-1247.
2. Gedye, R., Smith, F., Westaway, K., Ali, H., Baldisera, L. (1986). The use of microwave ovens for rapid organic synthesis. *Tetrahedron letters*, 27(3), 279-282.
3. Jansen K., Buschmann H. J., Wego A., Döpp D., Mayer C., Drexler H. J., Holdt H. J., Schollmeyer E. (2001). Cucurbit[5]uril, decamethylcucurbit[5]uril and cucurbit[6]uril. Synthesis, solubility and amine complex formation. *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, 39(3-4), 357-363.
4. Marquez, C., Nau, W. M. (2001). Two Mechanisms of Slow Host-Guest Complexation between Cucurbit[6]uril and Cyclohexylmethylamine: pH-Responsive Supramolecular Kinetics. *Angewandte Chemie International Edition*, 40(17), 3155-3160.
5. Kim, K., Selvapalam, N., Ko, Y. H., Park, K. M., Kim, D., Kim, J. (2007). Functionalized cucurbiturils and their applications. *Chemical Society Reviews*, 36(2), 267-279.
6. Wheate, N. J., Patel, N., Sutcliffe, O. B. (2010). Microwave synthesis of cucurbit[n]urils. *Future medicinal chemistry*, 2(2), 231-236.

ĆWICZENIE C

Stałe kompleksowania: metoda dopasowania krzywych

C

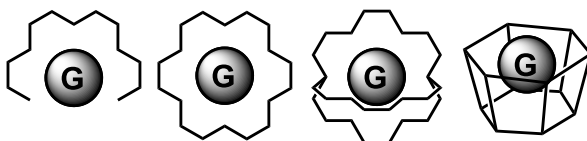
C.1 Część teoretyczna	30
C.2 Część praktyczna	36
Raport	37
C.3 Addendum do obliczeń	38
C.4 Literatura	42

C.1

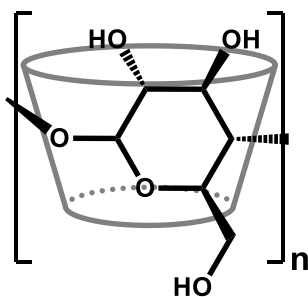
C.1 Część teoretyczna

KOMPLEKSY SUPRAMOLEKULARNE

Najprostszym przypadkiem **kompleksu supramolekularnego** jest układ złożony z pojedynczej cząsteczki „gospodarza” - **receptora**, oraz jednej cząsteczki komplementarnego do niego „gościa” - **substratu**. Rozróżnienie między tymi składnikami bywa kwestią umowną, a o randze receptora molekularnego decyduje jego większa masa cząsteczkowa i/lub stopień skomplikowania struktury. W **kompleksach inkluzyjnych** „gospodarza” charakteryzuje trwała wnęka, dopasowana chemicznie i geometrycznie do cząsteczki „gościa”. Kaliksareny, kukurbituryle i cyklodekstryny należą do najpopularniejszych receptorów tego typu (porównaj: wstęp teoretyczny do ćwiczeń A i B).



Ryc. 1. Schematyczne przedstawienie niektórych klas ligandów supramolekularnych. Od lewej do prawej: podand, makrocykl, karcerand, kawitand. G - „gość”.



Ryc. 2. Struktura chemiczna i przestrzenna cyklodekstryny. Szczegóły znajdziesz we wstępie teoretycznym do ćwiczenia A.

Cyklodekstryny to cykliczne oligosacharydy zbudowane z cząsteczek α -D-glukopiranozy połączonych w kierunku 1 \rightarrow 4, jak w amylozie, składniku skrobi, z której są produkowane na drodze hydrolizy enzymatycznej. Najbardziej powszechne są α -, β - i γ -cyklodekstryny, zawierające odpowiednio 6, 7 i 8 jednostek cukrowych (scharakteryzowano jednak związki zawierające od 5 do 32 glukopiranozy w pierścieniu). Wszystkie charakteryzują się dobrze zdefiniowaną, **hydrofobową wnęką** oraz **hydrofilowym charakterem powierzchni zewnętrznej**. Dodatkowe, cenne informacje o ich budowie i właściwościach znajdziesz w tym skrypcie przy opisach ćwiczeń **A1** i **A2**.

Cyklodekstryny niezwykle chętnie tworzą kompleksy inkluzyjne z wieloma związkami lipofilowymi (m.in.: barwnikami, karotenoidami, kwasami tłuszczowymi, sterolami), umożliwiając ich przeniesienie do środowiska wodnego, w którym same dobrze się rozpuszczają (choć β -cyklodekstryna różni się od α i γ niemal 10-krotnie niższą rozpuszczalnością w wodzie - jest to ok. 18,5 g/L). Związana cząsteczka „gościa” często przejawia dramatycznie inne właściwości od swojej formy niezwiązanej - zarówno jej charakterystyka spektralna, trwałość fizykochemiczna jak i sam **układ wiązań** może ulec zmianie we wnętrzu cyklodekstryny.

STAŁA KOMPLEKSOWANIA

Każda reakcja wiązania się gościa (G) i gospodarza (H) w kompleks jest reakcją odwracalną i równowagową. To zdanie, i jego sens fizykochemiczny, determinują znaczną część badań prowadzonych na gruncie **chemii supramolekularnej**. Dzięki tej zależności i wynikających z niej konsekwencji możliwe staje się ilościowe obliczenie kluczowych parametrów, takich jak chociażby selektywność enzymów (oraz ich syntetycznych odpowiedników, których otrzymywanie stanowi kolejną pokazną część tej dziedziny chemii).

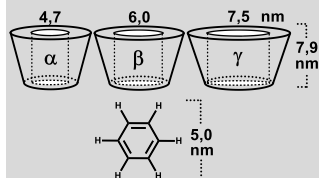
W danych warunkach (z których najbardziej **kluczowa jest temperatura**) można zapisać dla tego procesu odpowiednie **równanie równowagi chemicznej**:



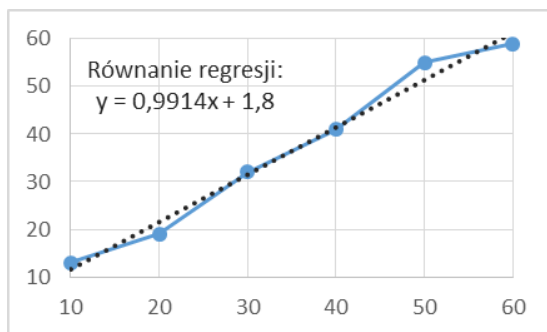
Ponieważ **stałe równowagi determinują stężenia molowe w stanie równowagi**, praktycznie każda wielkość fizyczna powiązana z tymi stężeniami może służyć do wyznaczenia **stałej tworzenia kompleksu** (K_f , od ang. *formation*). Wielkości używane w tym celu to np. absorbancja (powiązana ze stężeniem przez molowy współczynnik absorpcji), emisja, ale także np. wartość przesunięcia chemicznego sygnału na widmie $^1\text{H NMR}$.

Czy wiesz że...

Selektywność określa zdolność liganda/gospodarza do **rozpoznania molekularnego** gościa spośród innych cząsteczek. **Specyficzność** oznacza z kolei „100% selektywności” w tej **dyskryminacji** między danym gościem a innymi związkami. Co istotne, **kompleksy typu gość-gospodarz** nie opierają się jedynie na chemicznym dopasowaniu - ale także **stricte fizycznej komplementarności** pod względem wielkości. „Natura nie znosi próżni”, ale też ścisłości - na podstawie rozmiarów wnęk cyklodekstryn łatwo wywnioskować dlaczego to właśnie heptamer tworzy **najtrwalsze kompleksy inkluzyjne** ze związkami posiadającymi resztę fenylową:



Obecnie powszechnie wykorzystywane oprogramowanie obliczeniowe pozwala na zastosowaniu **metody dopasowania krzywej** w celu wyznaczenia K_f (zamiast popularnych w przeszłości uproszczeń i innych metod graficznych). Jak sama nazwa wskazuje, **polega ona na iteracyjnym** (powtarzanym wielokrotnie) **dobieraniu** przez program obliczeniowy **parametrów do danego równania** - aż do uzyskania „teoretycznego” wykresu najbardziej zbliżonego do tego otrzymanego w eksperymencie (Ryc. 2).



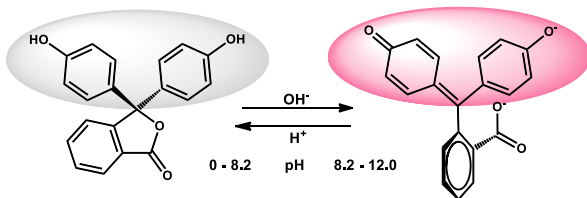
Ryc. 2. Regresja liniowa - najprostszy przykład **metody dopasowania krzywej**. W tym wypadku zadaniem równaniem jest funkcja liniowa, $y = a \cdot x + b$.

Aby jednak program mógł wykonać za nas większość pracy, najpierw musimy wiedzieć **jak sformułować problem**, który chcemy rozwiązać - wyprowadzić odpowiednie równanie, zwane **modelem**. Zależć będzie ono w dużej mierze od wykorzystywanej metody analitycznej.

KOLORYMETRIA

Barwa substancji organicznych (przy nieobecności jonów metali) związana jest ściśle z ich strukturą elektronową. W (znacznym) uproszczeniu można powiedzieć, że im więcej wiązań sprzężonych w cząsteczce, tym bardziej pasmo absorpcji przesunięte jest w kierunku długości fal światła widzialnego. Dlatego zmiany struktury skutkujące zanikiem **regularnego układu wiązań podwójnych** często prowadzą

do osłabienia lub zaniku barwy. Rozważ bardzo znany przykład pokazany poniżej:



Ryc. 3. Protonowana (bezbarwna) i deprotonowana (barwna) forma fenoloftaleiny. Zwróć uwagę na kluczową zmianę w układzie sprzężonych wiązań podwójnych.

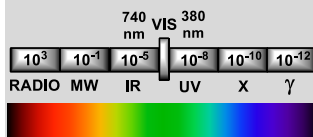
Fenoloftaleina jest wskaźnikiem alkacymetrycznym, który w zakresie pH 8,2-12,0 barwi roztwór na malinowo, co wynika z deprotonowania fenolowych grup -OH, rozpadu pierścienia laktamowego i utworzenia **sprzężonego układu wiązań podwójnych**. Jednak nawet w alkalicznym środowisku **roztwór fenoloftaleiny ulega silnemu odbarwieniu w obecności β -cyklodekstryny**. Wynika to z utworzenia wysoce stabilnego, bezbarwnego kompleksu inkluzyjnego.

Należy pamiętać, że barwa obserwowana jest **dopełniająca** do promieniowania absorbowanego przez cząsteczkę. Rozróżniane przez ludzkie oko spektrum barw można umownie zamknąć w „koło”, gdzie przeciwstawne barwy są do siebie **komplementarne** (zobacz „Czy wiesz że...” obok). Dlatego też wiele związków organicznych ma żółtą barwę – dopełniającą do znajdującego się na samym początku zakresu światła widzialnego fioletu (licząc od najkrótszych długości fali elektromagnetycznej).

Oczywiście, sytuacja robi się bardziej złożona gdy związek wykazuje absorpcję w kilku zakresach światła widzialnego.

Czy wiesz że...

Światło widzialne to niezwykle wąski zakres promieniowania elektromagnetycznego, znajdujący się pomiędzy promieniowaniem ultrafioletowym i podczerwonym:



Wiele barw, które dostrzegamy jest komplementarnych do długości fal absorbowanych przez nasze otoczenie. „**Koło kolorów**” dość wiernie oddaje zależność między obserwowaną barwą a absorbowaną częstotliwością promieniowania (znajdują się po jego przeciwnych stronach):



C.1

$$K_f = \frac{[HG]}{[H] \cdot [G]}$$

$$A_c = A_1 + A_2 + A_3 + \dots$$

$$K_f = \frac{x}{([H]_0 - x) \cdot ([G]_0 - x)} =$$

$$= \frac{x}{[H]_0[G]_0 - [H]_0x - [G]_0x - x^2}$$

$$A_0 = A_{H0} + A_{G0}$$

$$A = A_H + A_G + A_{HG}$$

$$\Delta A = A - A_0$$

$$= A_H + A_G + A_{HG} - A_{H0} - A_{G0}$$

$$A_{HG} = \varepsilon_{HG} \cdot x$$

$$A_H = \varepsilon_H \cdot [H], A_{H0} = \varepsilon_H \cdot [H]_0$$

$$A_G = \varepsilon_H \cdot [G], A_{G0} = \varepsilon_G \cdot [G]_0$$

$$[H] = [H]_0 - x, [G] = [G]_0 - x$$

$$x = \frac{\Delta A}{\Delta \varepsilon}$$

Spektrofotometryczne wyznaczanie K_f

Punktem wyjścia do rozważań są dwa elementarne równania: to opisujące stałą tworzenia kompleksu 1:1, wspomniane wcześniej, oraz prawo addytywności absorbancji.

W przypadku takiej reakcji (gdy nie zachodzą inne procesy), niech x oznacza stężenie kompleksu [HG] w stanie równowagi. Stężenia $[G]_0$ i $[H]_0$ niech zaś oznaczają wyjściowe stężenia substancji (jeszcze przed zajściem reakcji).

Niewiadomą x możemy znaleźć w oparciu o pomiary spektrofotometryczne. Niech A_0 będzie absorbancją roztworu przed utworzeniem kompleksu (a więc **równą sumie absorbancji substratów**), a A - absorbancją roztworu, w którym już utworzył się kompleks.

Następnie wyznaczamy **zmianę** absorbancji (ΔA) podczas tworzenia kompleksu.

Korzystając z **prawa Lamberta-Beera** przekształcamy absorbancje w odpowiadające im **iloczyny stężeń oraz molowych współczynników absorpcji**.

Pamiętając, że **stężenia substratów i kompleksu są ściśle powiązane**, można teraz podstawić te równania do wzoru na ΔA :

$$\Delta A = \varepsilon_H([H]_0 - x) + \varepsilon_G([G]_0 - x) + \varepsilon_{HG} \cdot x - \varepsilon_H[H]_0 - \varepsilon_G[G]_0$$

$$\Delta A = \varepsilon_{HG} \cdot x - \varepsilon_H \cdot x - \varepsilon_G \cdot x = (\varepsilon_{HG} - \varepsilon_H - \varepsilon_G)x = \Delta \varepsilon \cdot x$$

Teraz pozostaje już tylko podstawić uzyskane równanie, wiążące stężenie kompleksu w stanie równowagi z pomiarem spektrofotometrycznym, do równania na stałą K_f:

$$K_f = \frac{\Delta A}{\Delta \varepsilon \cdot ([H]_0[G]_0 - [H]_0 \frac{\Delta A}{\Delta \varepsilon} - [G]_0 \frac{\Delta A}{\Delta \varepsilon} + (\frac{\Delta A}{\Delta \varepsilon})^2)}$$

Wygląda skomplikowanie? Dla dzisiejszych komputerów powyższy model nie jest znacznie trudniejszy od $y = a \cdot x + b$.

CEL ĆWICZENIA

Twoim zadaniem będzie wyznaczenie stałej tworzenia kompleksu inkluzyjnego β -cyklodekstryny oraz fenoloftaleiny. Jest to wdzięczny przykład ze względu na:

- prostą, dobrze zdefiniowaną stechiometrię 1:1;
- niskie niezbędne stężenia substancji;
- widmo absorpcji mieszaniny substratów różniące się znacząco od widma absorpcyjnego kompleksu.

Wykorzystasz w tym celu metodę dopasowania krzywej, do użycia której wystarczy jakikolwiek komputer z programem *Excel*. Jeśli spojrzysz na równanie z poprzedniej strony, dane, które musisz zebrać w eksperymencie to jedynie: **stężenia początkowe** gospodarza (oligosacharydu) i gościa (wskaźnika) oraz **absorbancja**, odpowiednio przed i po utworzeniu kompleksu.

PYTANIA?

- 1) Spójrz na część praktyczną: jakich zmian spodziewasz się po kolejnych roztworach cyklodekstryny i barwnika?
- 2) Czy kompleksowanie substancji we wnęce cyklodekstryny zawsze wiązać się będzie z wyraźnymi zmianami w widmie absorpcyjnym związku?
- 3) Jak myślisz, czy możliwe jest zbadanie stałej kompleksowania substancji nieabsorbującej w zakresie promieniowania widzialnego przez β -cyklodekstrynę? Czy można by w tym celu - mimo wszystko - wykorzystać spektrofotometr?
- 4) Spróbuj rozpisać równanie obrazujące tworzenie się kompleksu o stechiometrii 1:2 lub 2:1. Wyznacz z niego równanie stałej tworzenia kompleksu i porównaj jego złożoność z modelem kompleksu 1:1.

C.2

C.2 Część praktyczna

Odczynniki

- fosforan(V) sodu dwunastowodny
- wodorofosforan (V) sodu bezwodny
- fenoloftaleina
- β -cyklodekstryna
- woda destylowana

UWAGA!

Zwróć baczna uwagę! Jeśli na dnie kolb pozostaje nawet minimalny osad nierozpuszczonych związków, skorzystaj z łaźni ultradźwiękowej!

Aparatura

- spektrofotometr UV-Vis
- kolba miarowa 250 mL (1x)
- kolba miarowa 100 mL (1x)
- kolba miarowa 25 mL (1x)
- kolba miarowa 10 mL (8x)
- pipeta jednomiarowa 5 mL (2x)
- pipeta wielomiarowa 5 mL (1x)
- pipeta jednomiarowa 1 mL (3x)
- pipeta Pasteura szklana (4x)
- zlewka 25-50 mL (3x)
- kuweta pomiarowa plastikowa (10x)

PROCEDURA

1) Na wadze analitycznej odważ:

- 1,225 g bezw. Na_2HPO_4 (± 20 mg)
- 1,425 g $\text{Na}_3\text{PO}_4 \times 12 \text{H}_2\text{O}$ (± 20 mg)
- 51 mg i 34 mg β -cyklodekstryny (± 1 mg)
- 16 mg fenoloftaleiny (± 1 mg)

2) Sporządź z powyższych substancji następujące roztwory:

- **[B]** bufor fosforanowy w kolbie o pojemności 250 mL

UWAGA! Wszystkie pozostałe roztwory i rozcieńczenia są wykonywane z użyciem buforu **B**, a nie wody!

- **[C1, C2]** dwa roztwory β -cyklodekstryny w kolbach o pojemności 10 mL (**C1** przygotuj z większej naważki, **C2** z mniejszej)
- **[F0]** stężony roztwór fenoloftaleiny w kolbie 100 mL
- **[F]** roboczy roztwór fenoloftaleiny, przez 10x rozcieńczenie 2,5 mL **F0** w kolbie o pojemności 25 mL
- **[C3-C8]** kolejne 6 roztworów w kolbach o pojemności 10 mL, poprzez **dwukrotne rozcieńczenia** (5 mL **C** + 5 mL **B**) bardziej stężonych roztworów β -cyklodekstryny:
 $\text{C1} \rightarrow \text{C3} \rightarrow \text{C5} \rightarrow \text{C7}$ oraz $\text{C2} \rightarrow \text{C4} \rightarrow \text{C6} \rightarrow \text{C8}$

3) Przygotuj spektrofotometr do pracy:

- ustaw zakres: 335 - 635 nm, krok: 1 nm
- wykonaj pomiar linii bazowej (bufor fosforanowy, **B**)

4) Wykonaj pomiar wstępny (A_0) próbki sporządzonej przez zmieszanie w kuwecie pomiarowej 1 mL **F** oraz 1 mL **B**.

5) Odnajdź na widmie maksimum absorpcji (λ_{max}) w zakresie 545 - 555 nm. Dla tej i wszystkich kolejnych próbek zanotuj absorbancję przy trzech długościach fali:

$$\lambda_{\max}, \lambda_{\max}+10, \lambda_{\max}+20 \text{ [nm]}$$

6) Dla każdego stężenia cyklodekstryny (zaczynając od C8) wykonaj pomiar absorbancji (A) roztworu otrzymanego przez zmieszanie bezpośrednio w kuwecie 1 mL F i 1 mL roztworu C8-C1.

OPRACOWANIE WYNIKÓW

Korzystając z otrzymanego od prowadzącego arkusza programu *Excel* oraz dodatku *Solver*, wyznacz stałą tworzenia kompleksu β -cyklodekstryna-fenoloftaleina, osobno dla wyników przy każdej długości fali. W tym celu, biorąc pod uwagę dokładne naważki i wszystkie rozcieńczenia, oblicz G_0 (początkowe stężenie fenoloftaleiny) i H_0 (początkowe stężenia β -cyklodekstryny) w kuwetach pomiarowych. Następnie oblicz odpowiadające im zmiany absorbancji ($\Delta A = A - A_0$) i wprowadź wszystkie uzyskane dane do arkusza.

Szczegółowe instrukcje obsługi dodatku *Solver* zamieszczone są na kolejnych stronach, w części C.3 *Addendum do obliczeń*.

RAPORT

Należy zawrzeć wszystkie informacje wyszczególnione we **wzorze raportu analitycznego** (strona 68).

Dodatkowo zwróć szczególną uwagę na:

- 1) Zamieszczenie wykresu z porównaniem eksperymentalnej i dopasowanej krzywej teoretycznej dla λ_{\max} .
- 2) Porównanie otrzymanych wartości K_f dla różnych długości fali między sobą (także pod kątem średnich odchyień standardowych) oraz z wartością literaturową i wyciągnięcie wniosków dotyczących dokładności zastosowanej metody oraz stabilności analizowanego kompleksu inkluzyjnego.

C.3

C.3 Addendum do obliczeń

KOMPLEKS β -CYKLODEKSTRYNA-FENOLOFTALEINA

Wróćmy na moment do **ogólnego wzoru** pozwalającego na spektrofotometryczne wyznaczenie stałej tworzenia kompleksu o stechiometrii 1:1.

$$K_f = \frac{\Delta A}{\Delta \varepsilon \cdot ([H]_0[G]_0 - [H]_0 \frac{\Delta A}{\Delta \varepsilon} - [G]_0 \frac{\Delta A}{\Delta \varepsilon} + (\frac{\Delta A}{\Delta \varepsilon})^2)}$$

ZAUWAŻ

Dysponując wzorem po prawej stronie, pozornie nic nie stoi na przeszkodzie by wyznaczyć K_f kompleksu z pojedynczego punktu pomiarowego. Niestety, ze względu na złożoność wzoru, błąd takiego oznaczenia mógłby być kolosalny. Dużo dokładniejszy wynik uzyskać można porównując całe krzywe zależności $y = f(x)$.

Przyjrzyjmy się powyższemu równaniu:

- stężenia $[H]_0$ i $[G]_0$ wynikają bezpośrednio z przygotowania eksperymentu - naważek substratów, mas molowych i objętości roztworów
- stała $\Delta \varepsilon$ wynika z właściwości spektralnych substratów oraz kompleksu; w przypadku gdy **ani kompleks ani gospodarz praktycznie nie absorbują przy danej długości fali** (jak w przypadku kompleksu β -cyklodekstryny i fenoloftaleiny), warto zauważyć, że różnica molowych współczynników absorpcji ulega znacznemu uproszczeniu, do formy: $\Delta \varepsilon = -\varepsilon_G$
- wartości ΔA uzyskane są z pomiarów spektrofotometrycznych; od absorbancji roztworu, w którym powstał kompleks należy odjąć **absorbancję jego składników** (w niniejszym przypadku - absorbancję samej fenoloftaleiny, gdyż tylko ona absorbuje w badanym zakresie)

Aby program mógł skorzystać z naszego wyprowadzenia, musimy jednak przedstawić mu model w formie $y = f(x)$. Ponieważ w doświadczeniu wykonywany jest pomiar absorbancji, a zmienną jest stężenie cyklodekstryny, najlogiczniejszą formą będzie przekształcenie do zależności $\Delta A = f([H]_0)$.

Nie jest to przekształcenie banalne, ale na szczęście tutaj też z pomocą przychodzi program komputerowe:

MODEL 1:1

$$\Delta A = \frac{1}{2} \cdot \frac{\Delta \varepsilon \cdot ([G]_0 \cdot K_f + [H]_0 K_f + 1 - \sqrt{[G]_0^2 \cdot K_f^2 - 2 \cdot [G]_0 \cdot [H]_0 \cdot K_f^2 + [H]_0^2 \cdot K_f^2 + 2 \cdot [G]_0 \cdot K_f + 2 \cdot [H]_0 \cdot K_f + 1}}{K_f}$$

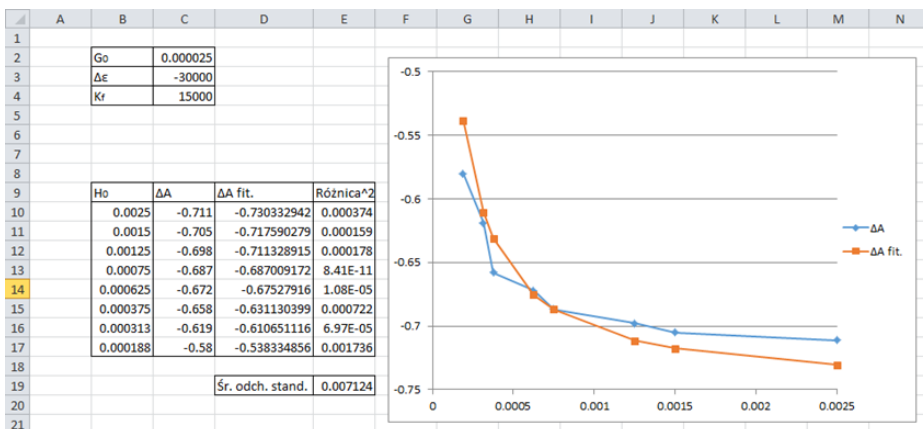
PRZYGOTOWANIE ARKUSZA EXCEL

Poniżej znajduje się przykładowo wypełniony arkusz kalkulacyjny, przygotowany do przeprowadzenia dopasowania krzywej zależności $\Delta A = f([H]_0)$ dla kompleksów typu 1:1.

- 1) Spośród stałych – **współczynników** – w komórkach [C2:C4] niezbędne jest uzupełnienie wartości „Go” (stężenia gościa, **fenoloftaleiny**, obliczone z naważki wskaźnika i przeliczone zgodnie z rozcieńczeniami).
- 2) Za wartość „ $\Delta \varepsilon$ ” można wstępnie przyjąć wartość „tablicową”: -30000. Będzie ona jednak dopasowana przez program jako drugi współczynnik w równaniu.
- 2) W kolumnie „ H_0 ” wpisujemy kolejne stężenia β -cyklodekstryny (obliczone z naważek i odpowiednio przeliczone na rozcieńczenia).
- 3) Kolumnę ΔA uzupełniamy odpowiadającymi im zmianami absorbancji, związanymi z utworzeniem kompleksu, obliczonymi zgodnie z wzorem $\Delta A = A_0 - A$.
- 4) Na wykresie z tych punktów powstaje **krzywa eksperymentalna** (kolor niebieski).

Włączanie dodatku Solver:

- otwórz program Excel 2010+
- kliknij zakładkę [Plik]
- wybierz menu [Opcje]
- wybierz panel [Dodatki]
- na dole strony kliknij [Przejdź...] przy wybranej opcji [Zarządzaj: Dodatki programu Excel]
- zaznacz opcję [Dodatek Solver] i kliknij [OK]
- dodatek pojawia się jako nowy przycisk, po prawej stronie w zakładce [Dane]



C.3

5) Następnie w kolumnie „ ΔA fit.” wprowadzamy **model 1:1** z poprzedniej strony, oczywiście przedstawiony w **zapisie jednolinijkowym** (tzw. *string*).

$$[=1/2*\$C\$3/\$C\$4*(\$C\$2*\$C\$4+B10*\$C\$4+1-(\$C\$2^2*\$C\$4^2-2*\$C\$2*B10*\$C\$4^2+B10^2*\$C\$4^2+2*\$C\$2*\$C\$4+2*B10*\$C\$4+1)^(1/2))]$$

Choć dla naszego, niewprawnego oka wydaje się on bardzo skomplikowany, dla współczesnych komputerowych programów obliczeniowych jest on dość banalny.

6) Z nowej kolumny ([D10:D17]) oraz odpowiadających im wartości H_0 ([B10:B17]) powstaje **krzywa teoretyczna** (kolor pomarańczowy).

7) Kolejnym krokiem jest „wytlumaczenie” programowi po czym poznać **najlepsze dopasowanie krzywych**. Służy do tego kolumna „ $Różnica^2$ ”, czyli w naszym wypadku [E10]:

$$[=(C10-D10)^2]$$

Czyli **kwadrat z różnicy między wartością teoretyczną i eksperymentalną**. Jest to sedno znanej (przynajmniej z nazwy) **metody najmniejszych kwadratów**.

8) Jej podsumowanie (chcemy porównać ze sobą całe krzywe, a nie pojedyncze wartości) stanowi komórka [E19]:

$$[=PIERWIASTEK(SUMA(E10:E17))/ILE.LICZB(C10:C17)]$$

Jest to **średnie odchylenie standardowe**. W skrócie - im jest ono mniejsze, tym lepiej dopasowane są krzywe teoretyczna i eksperymentalna.

9) Wszystkie potrzebne dane są już wprowadzone. Modyfikując teraz współczynniki K_ϵ i $\Delta\epsilon$ w komórkach [C3:C4] można by teraz samodzielnie testować kolejne wartości i obserwować zmiany na wykresie, szukając najlepszego dopasowania. Dodatek Solver umożliwia zautomatyzowanie tego procesu i przyspieszenie go kilka(dziesiąt) tysięcy razy.

C.3

Czy wiesz że...

Metoda dopasowania krzywych jest nie tylko dokładna, ale jej **wizualny charakter** przydaje się podczas analizy nowych modeli lub układów eksperymentalnych (ludzki mózg jest w stanie dużo szybciej porównać nakładanie się dwóch krzywych na wykresie niż tabelę zawierającą dwie serie kilkunastu wartości liczbowych). Jeżeli mimo modyfikacji parametrów równania, nawet najlepiej dopasowana krzywa wyraźnie odstaje kształtem od krzywej eksperymentalnej - jest to bardzo mocna sugestia o **błędnie zadanym modelu**. Przykładowo, gdyby cyklodekstryna kompleksowała fenoloftaleinę w stosunku 2:1, dopasowywane krzywe nigdy nie miałyby takiego samego przebiegu jak te uzyskane z modelu 1:1, niezależnie od wprowadzonych wartości K_f i $\Delta\epsilon$.

ZASTOSOWANIE DODATKU SOLVER

Po kliknięciu przycisku dodatku w zakładce [Dane], pojawia się okno widoczne poniżej:

Parametry dodatku Solver

Ustaw cel: [pole tekstowe]

Na: Maks Min Wartość: [pole tekstowe]

Przez zmienianie komórek zmiennych: [pole tekstowe]

Podlegających ograniczeniom:

[pole listowe]

Ustaw wartości nieujemne dla zmiennych bez ograniczeń

Wybierz metodę rozwiązywania: Nieliniowa GRG

Metoda rozwiązywania

W przypadku gładkich nieliniowych problemów dodatku Solver wybierz aparat nieliniowy GRG. Dla liniowych problemów dodatku Solver wybierz aparat LP Simplex, natomiast w przypadku problemów, które nie są gładkie, wybierz aparat ewolucyjny.

Pomoc Rozwiąż Zamknij

„Ustaw cel” – naszym jest uzyskanie najmniejszej („Min.”) wartości **średniego odchylenia standardowego** ([E19]) „przez zmienianie komórek zmiennych” [C3:C4] (czyli K_f oraz $\Delta\epsilon$). Ponieważ pracujemy także na wartościach ujemnych, odznaczamy kratkę „Ustaw wartości nieujemne(...)”.

Klikamy „Rozwiąż” - i voilà.

W kilka sekund otrzymujemy **najdokładniejsze przybliżenie stałej tworzenia kompleksu** K_f - odbiegające od wartości rzeczywistej (i literaturowej) jedynie przez wzgląd na ewentualną niedokładność w przygotowaniu roztworów (z której trzeba będzie wytłumaczyć się w protokole z ćwiczenia).

Co warto podkreślić, raz przygotowany arkusz nadaje się do analizy **każdego kompleksu o stechiometrii 1:1**.

C.4

C.4 Literatura

1. Saenger, W., Jacob, J., Gessler, K., Steiner, T., Hoffmann, D., Sanbe, H., Koizumi, K., Smith, S.M. and Takaha, T. (1998). Structures of the common cyclodextrins and their larger analogues beyond the doughnut. *Chemical Reviews*, 98(5), 1787-1802.
2. Fomin, Y. D., Tsiok, E. N., Ryzhov, V. N. (2015). The behavior of benzene confined in a single wall carbon nanotube. *Journal of Computational Chemistry*, 36(12), 901-906.
3. Taguchi, K. (1986). Transient binding of phenolphthalein- β -cyclodextrin complex: an example of induced geometrical distortion. *Journal of the American Chemical Society*, 108(10), 2705-2709.
4. Takezawa, H., Akiba, S., Murase, T., Fujita, M. (2015). Cavity-directed chromism of phthalein dyes. *Journal of the American Chemical Society*, 137(22), 7043-7046.
5. Zarzycki, P. K., Lamparczyk, H. (1998). The equilibrium constant of β -cyclodextrin-phenolphthalein complex; influence of temperature and tetrahydrofuran addition. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 18(1-2), 165-170.
6. Khalafi, L., Rafiee, M. (2013). Cyclodextrin based spectral changes. W: Radis-Baptista G. (Edyt.) (2013). *An Integrated View of the Molecular Recognition and Toxinology-From Analytical Procedures to Biomedical Applications*. Rijeka: InTech.
7. Thordarson, P. (2011). Determining association constants from titration experiments in supramolecular chemistry. *Chemical Society Reviews*, 40(3), 1305-1323.

ĆWICZENIE D1

Kataliza przeniesienia międzyfazowego: sole czwartorzędowe

D1

1.1 Część teoretyczna	44
1.2 Część praktyczna	48
Raport	49
1.3 Literatura	50

ĆWICZENIE D2

51

Kataliza przeniesienia międzyfazowego: aspekty fizykochemiczne

D2

D1.1

1.1 Część teoretyczna

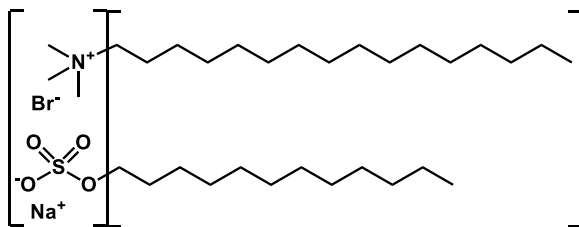
STRUKTURA A ROZPUSZCZALNOŚĆ

Kurs chemii organicznej oswoił Cię z ideą ugrupowań hydrofilowych i hydrofobowych (lipofilowych). Przykładowo: poliole (alkohole wielowodorotlenowe, np. glicerol) rozpuszczają się dużo lepiej w wodzie niż w heksanie, natomiast retinoidy (pochodne witaminy A, zawierające pierścieni i łańcuch węglowodorowy) - wręcz przeciwnie. W przypadku chemii nieorganicznej sytuacja jest jeszcze mniej skomplikowana: pomijając różną rozpuszczalność w wodzie, tylko nieliczne wyjątki wykazują znaczącą rozpuszczalność w substancjach organicznych (z wyraźną preferencją tych bardziej polarnych - jak alkohole czy proste kwasy karboksylowe). A co z **solami organicznymi**? Sole kwasów karboksylowych i amin wykazują z reguły szerszy zakres rozpuszczalności (Tabela 1).

Sól	Rozpuszczalnik	
	Woda	Etanol
$\text{Na}^+ \text{Cl}^-$	36	0,08
$\text{NH}_4^+ \text{Cl}^-$	38	0,6
$\text{Na}^+ \text{CH}_3\text{COO}^-$	123	~3,2
$\text{NH}_4^+ \text{CH}_3\text{COO}^-$	143	~1,0
$\text{CH}_3\text{NH}_3^+ \text{Cl}^-$	>>100	~20

Tabela 1. Rozpuszczalność soli (w gramach na 100 mL).

Co się jednak stanie gdy połączymy ugrupowanie jonowe – z natury preferujące polarne rozpuszczalniki – z wybitnie niepolarną grupą, np. długim łańcuchem alkilowym? Typowymi przykładami takich związków są **surfaktanty**, wykorzystywane powszechnie w przemyśle spożywczym, kosmetycznym, inżynierii materiałów i wielu, *wielu* innych dziedzinach chemii użytkowej.



FRAGMENT
POLARNY

FRAGMENT
NIEPOLARNY

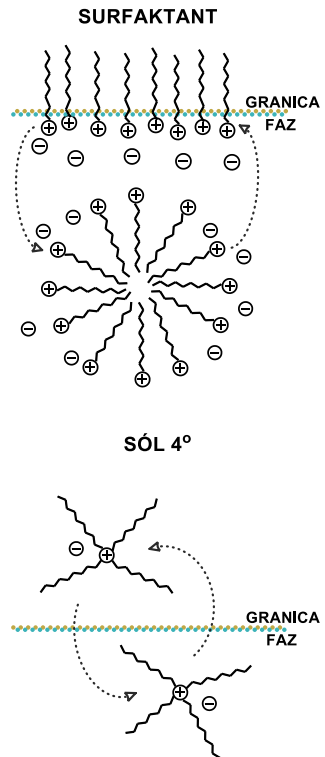
Ryc. 1. Bromek trimetylocetyloamoniowy (CTAB) i laurylo-siarczan sodu (SLS) - jedne z najbardziej rozpowszechnionych surfaktantów w produktach kosmetycznych.

Wyraźny podział na „hydrofilową głowę” i „hydrofobowy ogon” w surfaktantach skutkuje ich tendencją do tworzenia **miceli**, a także zdolnością stabilizacji emulsji. Jeśli jednak będziemy kontynuować „ukrywanie” jonowego charakteru związku przez wprowadzanie kolejnych, niepolarnych ugrupowań, w końcu doprowadzimy do sytuacji gdy - mimo posiadania charakteru soli - nasz produkt cechować się będzie porównywalnym, a nawet **większym powinowactwem do fazy organicznej niż do fazy wodnej**. W efekcie zarówno lipofilowy jon, jak i jego przeciwjon (czyli cała **para jonowa**) będą samoistnie i dość swobodnie przemieszczały się przez granicę faz woda-olej (lub heksan, chloroform, eter...). Takie związki stanowią najlepszy przykład **katalizatorów przeniesienia międzyczazowego**.

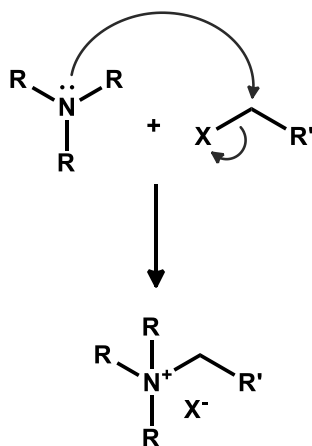
SOLE CZWARTORZĘDOWE

Większość wykorzystywanych laboratoryjnie i komercyjnie **PTC** (ang. *phase-transfer catalysts*) stanowią czwartorzędowe sole amoniowe. Kation w tych związkach to atom azotu o trwałym ładunku dodatnim i tetraedrycznym otoczeniu czterech reszt alkilowych lub arylowych - dzięki którym wykazuje znaczącą rozpuszczalność w substancjach o umiarkowanej polarności (np. alkoholach, acetonie, chloroformie). Warto jednak zauważyć, iż **każdy niemetal 15 grupy** układu okresowego, po utworzeniu 3 wiązań i uzyskaniu oktetu elektronowego nadal dysponuje wolną parą elektronową - za pomocą której może utworzyć wiązanie koordynacyjne. Stąd biorą swój początek **sole amoniowe, fosfoniowe, arsoniowe** czy **stiboniowe** (Sb, łac. *stibium*). Ze względów czysto ekonomicznych (oraz być może z powodu doskonale udokumentowanej toksyczności związków arsenu) jedynie dwie pierwsze grupy mają zastosowanie praktyczne. Należy też pamiętać o mnogości form w jakich azot występuje w związkach organicznych (Ryc. 3).

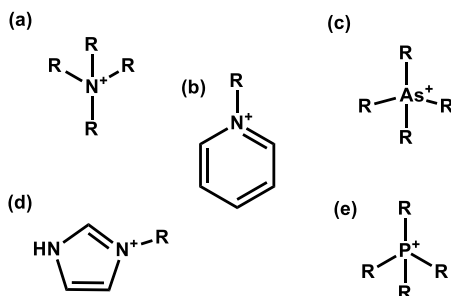
Synteza soli czwartorzędowych z amin (lub fosfin) trzeciorzędowych oraz halogenków alkilowych (arylowych) jest przykładem doskonałej reakcji z nurtu „zielonej chemii” –



Ryc. 2. Porównanie zachowania soli organicznych z jedną (surfaktant) i czterema (PTC) długimi resztami alkilowymi, w układzie dwufazowym ciecz-ciecz (woda i rozpuszczalnik niepolarny).



Ryc. 4. Reakcja Menshutkina. Szybkość reakcji (S_N2) zależy m.in. od załoczenia sterycznego aminy (im mniejsze, tym zachodzi szybciej) oraz rodzaju halogenku (szybkość substytucji X: $I \gg Br \gg Cl$).



Ryc. 3. Sole (kationy) czwartorzędowe: (a) amoniowy, (b) pirydyniowy, (c) arsoniowy, (d) imidazoliowy, (e) fosfoniowy.

charakteryzuje się ona 100% „ekonomią atomową”. Znaczy to, że podczas reakcji nie powstają *żadne* produkty uboczne, a masa produktów jest (teoretycznie) równa masie substratów (Ryc. 4).

WŁAŚCIWOŚCI CZWARTORZĘDOWYCH SOLI AZOTU

Surfaktanty kationowe są z reguły łagodniejsze niż detergenty anionowe (słabiej ingerują w naturalny płaszcz lipidowy skóry), a ze względu na ładunek dodatni silnie adsorbują na powierzchni włosów (zawierających znaczne ilości kwasów asparaginowego i glutaminowego) – stąd ich powszechne występowanie w odżywkach. Mają również uniwersalne działanie biobójcze o różnym natężeniu; szczególnie **sole pirydyniowe** są regularnie dodawane do płukanek do ust, stanowią też istotną część środków ochrony roślin, preparatów antygrzybiczych, a nawet antykorozyjnych (powierzchnia metali naturalnie obdarzona jest ładunkiem ujemnym - ze względu na uwspólnioną chmurę elektronową - stąd ich powinowactwo do kationów, tworzących na ich powierzchni warstwę ochronną).

W ostatnich latach popularne stały się także **cieczce jonowe** - substancje o charakterze soli, ale o temperaturach topnienia bliskich temperatury pokojowej. Związki te można uzyskać przez połączenie jonów o „ukrytym” ładunku (np. sole N-alkylimidazoliowe) lub niskiej gęstości elektronowej (np.

heksafluorofosforany, PF_6), co dodatkowo obniża siłę wiązania jonowego, a co za tym idzie - temperaturę topnienia.

CEL ĆWICZENIA

Twoim zadaniem w tym eksperymencie będzie synteza czwartorzędowej soli azotowej, którą wybierzesz. **Bromek benzylotrietyloamoniowy (X)** jest jednym z najbardziej znanych katalizatorów przeniesienia międzyfazowego, powszechnie stosowanym w laboratoriach zarówno uniwersyteckich jak i przemysłowych. **Bromek cetylopirydyniowy (Y)** okazjonalnie też jest wykorzystywany w tym aspekcie - ale bardziej rozpoznawalny jest jako antyseptyk w preparatach do higieny jamy ustnej.

Ze względu na ograniczenia czasowe ćwiczeń synteza będzie zachodziła z ograniczoną wydajnością - każda minuta stracona na przygotowanie zestawu skutkować będzie cennymi procentami wydajności! Postaraj się zatem zawczasu przygotować plan działania i wyobrazić montaż zestawu reakcyjnego. Pamiętaj, że będziesz pracować z **bromkami alkilowymi** - są to lotne, reaktywne substancje, w połączeniu z parą wodną hydrolizujące z uwolnieniem **bromowodoru** - szkodliwego i silnie drażniącego błony śluzowe związku. Zachowaj ostrożność i pracuj sprawnie. W razie jakichkolwiek wątpliwości skonsultuj je z prowadzącym na początku zajęć (lub, nawet lepiej, przed).

PYTANIA?

- 1) Jak myślisz, która z amin (trietyloamina czy pirydyna) będzie bardziej reaktywna w reakcji Menshutkina?
- 2) Z drugiej strony - czy to bromek benzyloowy czy cetylowy będzie szybciej reagował? Z jakiego powodu?
- 3) Przeczytaj dokładnie *Część praktyczną* oraz fragment *Cel ćwiczenia*. Jak myślisz, dlaczego szczególną uwagę poświęcono dokładnemu przemyciu produktu oraz szybkiemu pozbyciu się przesączu?
- 4) Czy gdyby „skrzyżować” reagenty [X] i [Y] również otrzymalibyśmy produkty o charakterze PTC?

Czy wiesz że...

Czwartorzędowe sole amoniowe to nie tylko syntetyczne detergenty (CTAB), konserwanty uwalniające formaldehyd (Quaternium-15) czy środki antyseptyczne i spermicydy (chlorki benzalkoniowe). Są też powszechne w przyrodzie: acetylocholina to kluczowy neuroprzebiegacz, podczas gdy fosfatydylocholina (lecytyna) są elementem budulcowym błony każdej komórki człowieka (choć komercyjnie pozyskiwane są oczywiście z soi).

D_{1.2}

Odczynniki

- [X] bromek benzylu LUB [Y] bromoheksadekan
- [X] trietyloamina LUB [Y] pirydyna
- toluen
- eter dietylowy
- chlorek wapnia bezwodny

Aparatura

- mieszadło magnetyczne
- dipol magnetyczny średni
- płaszcz grzejny mały
- chłodnica zwrotna
- kolba okrągłodenna 50 mL z korkiem
- pipeta miarowa 5-10 mL
- pipeta automatyczna 1 mL
- suszka
- łopatką metalowa
- kolba ssawkowa
- lejek Büchnera
- pipeta Pasteura szklana
- szalka Petriego

PAMIĘTAJ!

Jeśli masz problemy z izolacją produktu lub obserwujesz niską wydajność - zgłoś się do prowadzącego (najlepiej *w trakcie procedury*, a nie po wyłaniu przesączu). Pamiętaj, że będziesz potrzebował swojego związku w ćwiczeniu D2.

1.2 Część praktyczna

PROCEDURA

- 1) Zmontuj zestaw do prowadzenia reakcji pod chłodnicą zwrotną, z płaszczem grzejnym nad mieszadłem magnetycznym; na szczycie chłodnicy zamontuj suszkę z chlorkiem wapnia.
- 2) Do kolby okrągłodennej wprowadź ok. 8 mL toluenu.
- 3) Szybko wprowadź do kolby 10 mmoli odpowiedniej aminy 3-rzędowej (oblicz potrzebną objętość korzystając z masy molowej i gęstości).
- 4) Szybko wprowadź do roztworu 3 mmole odpowiedniego bromku alkilowego (poproś o niego prowadzącego ćwiczenie).
- 5) Umieść kolbę pod chłodnicą zwrotną, rozpocznij mieszanie i ogrzewanie roztworu (zachowaj odstęp między ściankami kolby i płaszczem grzejnym).
- 6) Prowadź reakcję przy intensywnym wrzeniu rozpuszczalnika przez co najmniej 100 minut.
- 7) Pod koniec wyznaczonego czasu przygotuj łaźnię lodową z łapą do przytrzymania kolby.
- 8) Po wyłączeniu ogrzewania szybko usuń płaszcz grzejny, schłódź kolbę pod strumieniem zimnej wody do temperatury bliskiej pokojowej; umieść kolbę w łaźni lodowej.
- 9) Powoli rozcieńcz roztwór, dodając do niego (porcjami po kilka kropel) ok. 5-10 mL eteru dietylowego, delikatnie mieszając.
- 10) W trakcie krystalizacji przygotuj zestaw do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem.
- 11) Odsącz wykrystalizowany produkt; jeśli osad nie wypada samoistnie, potrzyj ścianki kolby łopatką i/lub wytrząśnij zawartość; jeśli to nie skutkuje, dodaj kolejne 2-3 mL eteru.

D_{1.2}

12) Odłącz wąż od pompki wodnej i przemyj dokładnie produkt na sączku trzema porcjami eteru dietylowego (po ok. 5 mL), za każdym razem dokładnie mieszając surowy produkt w rozpuszczalniku.

13) Natychmiast po tym wylej przesącz do pojemnika na zlewki organiczne i umyj kolbę ssawkową 2-3 krotnie alkoholem.

14) Osad wysusz na powietrzu w ciągu 5-10 minut (powinien stać się sypki i łatwo odchodzić od sączka). Zważ go.

15) Oznacz temperaturę topnienia produktu i porównaj ją z wartością literaturową. Na tej podstawie oceń jego czystość.

UWAGA!

Bromki alkilowe są silnymi **lakrymatorami** (substancjami powodującymi mocne łzawienie i podrażnienie oczu). Ogranicz swój kontakt z parami tych związków oraz kontakt cieczy z powietrzem (parą wodną) do minimum!

RAPORT

Należy zawrzeć wszystkie informacje wyszczególnione we **wzorze raportu syntetycznego** (strona 67).

Dodatkowo zwróć szczególną uwagę na:

1) Zamieszczenie reakcji syntezy konkretnego związku, wraz z mechanizmem.

2) Dokładne oznaczenie temperatury topnienia oraz porównanie jej z temperaturą literaturową; skomentowanie ewentualnych odstępstw.

1. Menschutkin, N. (1890). Beiträge zur Kenntnis der Affinitätskoeffizienten der Alkylhaloide und der organischen Amine. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, 5(1), 589-600.
2. Sasson, Y., Neumann, R. (Edyt.). (2012). *Handbook of phase transfer catalysis*. Springer Science & Business Media.
3. Siswanto, C., Battal, T., Schuss, O. E., Rathman, J. F. (1997). Synthesis of alkylphenyl ethers in aqueous surfactant solutions by micellar phase-transfer catalysis. 1. Single-phase systems. *Langmuir*, 13(23), 6047-6052.
4. Marek, J., Stodulka, P., Cabal, J., Soukup, O., Pohanka, M., Korabecny, J., Musilek, K. and Kuca, K. (2010). Preparation of the pyridinium salts differing in the length of the N-alkyl substituent. *Molecules*, 15(3), 1967-1972.
5. Wikipedia. Quaternary ammonium cation. Dostęp online: https://en.wikipedia.org/wiki/Quaternary_ammonium_cation (wraz z zawartymi tam cytowaniami).
6. Staroń, P., Banach, M., Kowalski, Z. (2011). Keratyna: źródła, właściwości, zastosowanie. *Chemik*, 65(10), 1019-1026.
7. Obłąk, E., Gamian, A. (2010). Biologiczna aktywność czwartorzędowych soli amoniowych (CSA). The biological activity of quaternary ammonium salts (QASs). *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej (Online)*, 64, 201-211.
8. Jones A. (2001) *Quaternary Ammonium Salts: Their Use in Phase-Transfer Catalysis* (str. 11-22). London: Academic Press.

ĆWICZENIE D1

43

Kataliza przeniesienia międzyfazowego:
sole czwartorzędowe

D1

ĆWICZENIE D2

Kataliza przeniesienia międzyfazowego:
aspekty fizykochemiczne

D2

1.1 Część teoretyczna	52
1.2 Część praktyczna	56
1.3 Raport	58
1.4 Literatura	60

Czy wiesz że...

Dlaczego tak naprawdę tłuszcz nie rozpuszcza się w wodzie?

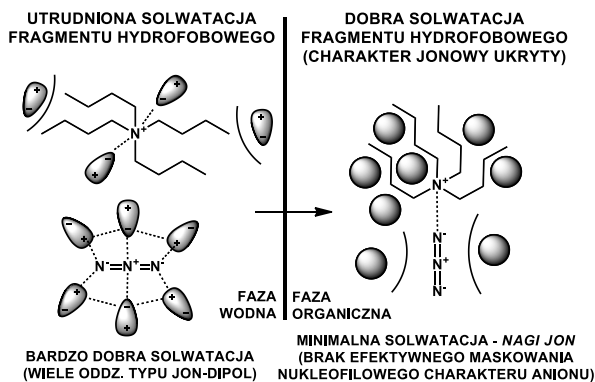
Przecież woda jest dużo „silniejszym” rozpuszczalnikiem od, przykładowo, heksanu?

Z jednej strony – cząsteczka tłuszczu posiada tylko kilka miejsc (grupy estrowe), które mogą skorzystać z tej dodatkowej energii wiązań typu dipol-dipol.

Dużo ważniejszym jest jednak to, że woda musiałaby *zrobić miejsce* cząsteczkom tłuszczu w sieci swoich (silniejszych) wiązań wodorowych. Innymi słowy: to nie słabe oddziaływania woda-tłuszcz stoją za niską rozpuszczalnością obu substancji w sobie nawzajem. To skutek *silnych* oddziaływań woda-woda, których część musiałaby zostać przerwana, by cząsteczki triglicerydu znalazły się w fazie wodnej.

SOLWATACJA

Skuteczna solwatacja - czyli korzystna i łatwa interakcja między cząsteczkami rozpuszczalnika i substancji rozpuszczonej - jest niezbędna by rozbić inherentnie odporną strukturę kryształu. Innymi słowy: im słabsze oddziaływania pomiędzy cząsteczkami (lub jonami) danego związku chemicznego i im silniejsze te między jego cząsteczkami a cząsteczkami rozpuszczalnika, tym lepsza rozpuszczalność danej substancji. Oczywiście, jest to pewne uproszczenie - podobnie jak reguła „podobne rozpuszcza podobne”. Im bardziej skomplikowany układ - więcej faz, więcej rozpuszczalników w mieszaninie, więcej substancji rozpuszczonych, w większych stężeniach - tym bardziej skomplikowane interakcje i trudniejsze do przewidzenia zachowanie pojedynczych składników. W chemii supramolekularnej solwatacja rozpatrywana jest jako siła bezpośrednio przeciwstawiająca się kompleksowaniu (cząsteczki rozpuszczalnika nieprzerwanie konkurują z cząsteczkami liganda/gospodarza - porównaj ćw. A1, A2, C) oraz w kontekście **nagich jonów**. Jest to termin opisujący **nieskompleksowany i nieskutecznie solwatowany jon**. Rozważ poniższy przykład:



Ryc. 1. Solwatacja pary jonowej podczas PTC: kation tetra-*n*-butyloamoniowy i anion azydkowy.

D2.1

Mocna sieć wiązań wodorowych, oddziaływań typu jon-jon i jon-dipol dominuje w fazie wodnej, skutecznie **ekranując** anion i **zmniejszając jego reaktywność**. Po przeniesieniu do fazy organicznej, jako **nagi jon**, azydek staje się dobrym **nukleofilem**. Ta zwiększona nukleofilowość jest celem większości reakcji prowadzonych z wykorzystaniem PTC (**ang. phase-transfer catalyst**, katalizator przeniesienia międzyfazowego).

POTENCJAŁ ELEKTRYCZNY I SEPARACJA ŁADUNKU

Z tego samego powodu dla którego z roztworu nie można wytrącić samych jonów Na^+ , i dla którego jony w roztworze (choć oddzielone cząsteczkami rozpuszczalnika) nigdy nie tworzą dodatnio-ujemnego gradientu (gdyż skutkuje to pojawieniem się i szybkim wzrostem potencjału elektrycznego, który uniemożliwia dalszą separację ładunków), niemożliwym jest też przeniesie z fazy wodnej do organicznej *tylko* kationu lub *tylko* anionu. Jony typu PTC, ze względu na mieszaną budowę, cechują się również mieszaną rozpuszczalnością; żaden rozpuszczalnik nie jest w stanie ich „doskonale” solwatować, ale z drugiej strony substancje te mogą przenikać względnie łatwo przez **granice faz**, przy okazji zabierając ze sobą **przeciwnon** w tzw. **lipofilowej parze jonowej**. Aniony (bardziej niż kationy) różnią się dramatycznie w łatwości z jaką są ekstrahowane do fazy organicznej. Wiąże się to z koniecznością rozerwania wszystkich oddziaływań jon-dipol między nimi a cząsteczkami wody – a więc im silniejsze są to wiązania, tym trudniejszy do przeniesienia anion. Duże **jony o niskiej gęstości ładunku elektrycznego** (klasycznym „nieorganicznym” przykładem jest tu I^-) bywają nawet czasem nazywane *lipofilowymi* ze względu na łatwość z jaką przechodzą do fazy organicznej.

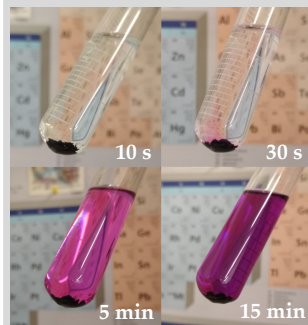
KATALIZATORY PRZENIESIENIA MIĘDZYFAZOWEGO (PTC)

Lipofilowe sole czwartorzędowe nie są jedynymi związkami używanymi w PTC. Obojętne ligandy supramolekularne, zdolne kompleksować kation lub anion (zdecydowanie częściej kation) i rozpuszczalne w fazie organicznej również

Czy wiesz że...

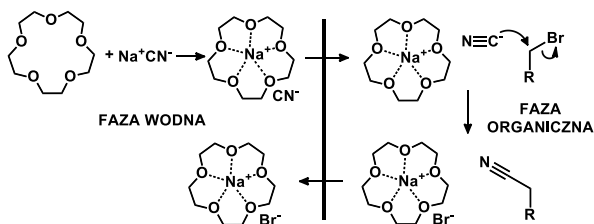
Manganian(VII) potasu (KMnO_4) jest jednym z najbardziej rozpoznawalnych związków nieorganicznych o intensywnie fioletowej barwie i niezwykle silnym utleniaczem. Era chemii supramolekularnej pozwoliła na skuteczne wykorzystanie go w warunkach bezwodnych - pod postacią tzw. „fioletowego benzenu”.

Jest to roztwór zawierający aniony MnO_4^- wyekstrahowane do fazy niepolarniej z pomocą PTC. Oryginalnie, był nim eter koronowy; poniżej użyliśmy (dużo prostszego) chlorku tetrabutylamoniowego:



D2.1

skutecznie transportują jego przeciwjon w formie nagiego jonu. Archetypicznymi ligandami tego typu są etery koronowe (Ryc. 2).



Ryc. 2. Schemat syntezy nitryli z bromków alkilowych i cyjanku sodu przy użyciu 15-korony-5 jako PTC.

Nie tylko makrocykliczne polietera, ale też ich długołańcuchowe odpowiedniki, a nawet poliaminy w odpowiednich warunkach mogą przenosić jony między fazami. Co warto podkreślić, nie muszą to być dwie fazy ciekłe, ale także **faza stała** (krystaliczna, sól) i **faza organiczna**. W tym wypadku ligand odrywa jon(y) bezpośrednio ze struktury kryształu i przenosi go do roztworu. Gdy międzycząsteczkowe siły w kryształach są wyraźnie słabsze niż energia solwatacji jonu w wodzie, taki rodzaj PTC może okazać się dużo wydajniejszy; ponadto można w tym wypadku stosować nawet związki o bardzo wysokiej rozpuszczalności w wodzie, które w układzie ciecz-ciecz nie byłyby przez to efektywne (np. glikole polietylenowe, sole czwartorzędowe o krótszych resztach alifatycznych).

CEL ĆWICZENIA

Twoim zadaniem w niniejszym ćwiczeniu będzie wyczerpująca analiza zdolności otrzymanego w ćwiczeniu **D1** związku (o charakterze soli 4^o) do transportu różnego rodzaju jonów przez granicę faz ciecz-ciecz (a konkretnie woda-chloroform).

D2.1

Zbadasz takie parametry jak jego rozpuszczalność, współczynnik podziału, ale też właściwości użytkowe - trwałość hydrolityczną czy szybkość rozdzielania się faz po zakończeniu eksperymentu. Pamiętaj, aby na końcu porównać swoje obserwacje i wnioski z grupami pracującymi na innych związkach i wzbogacić o nie własny raport. Zwróć uwagę na czynniki, które wydają się mieć kluczowe znaczenie dla efektywnej katalizy przeniesienia międzyfazowego. Czy Twój związek byłby dobrym wyborem w procesie wykorzystującym PTC?

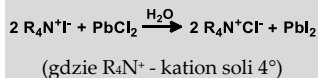
PYTANIA?

- 1) Przypomnij sobie właściwości chloroformu (a także - w razie potrzeby - starej, dobrej wody): jak plasuje się jego gęstość czy stała dielektryczna na tle innych rozpuszczalników? Z jakimi spośród nich się miesza, w jakich jest trudno rozpuszczalny? Jakie związki chemiczne się w nim rozpuszczają?
- 2) Odnajdź struktury chemiczne związków wymienionych jako źródła barwnych anionów w tabeli w *Części praktycznej*. Jak oceniasz ich powinowactwo do fazy wodnej, a jak do organicznej? W jakiej formie występować będą w roztworach, które przygotowujesz?
- 3) Jak wyjaśnisz potrzebę rozcieńczenia próbek po procesie przeniesienia międzyfazowego? Dlaczego wytrąsnięte roztwory będą umieszczane w gorącej łaźni wodnej celem szybszego rozdzielania faz? Jak sądzisz, czy wszystkie roztwory będą rozdzielały się tak samo szybko? Dlaczego?
- 4) Rozważ raz jeszcze mechanizmy schematycznie przedstawione na rycinach (*Ryc. 1* i *Ryc. 2*): jak wyjaśnisz nazywanie związków, o których mowa „katalizatorami”?



Czy wiesz że...

Choć jodki alkilowe reagują z aminami trzeciorzędowymi niezwykle szybko, ich przydatność w katalizie przeniesienia międzyfazowego jest znikoma. Anion I⁻ jest jednym z typowych „lipofilowych jonów” - jego przeniesienie do fazy organicznej wymaga minimalnej pomocy ze strony PTC. Wprowadzony do środowiska reakcji razem z hydrofobowym kationem czwartorzędowym skutecznie blokuje jego zdolność do przeniesienia innych anionów - niemal wszystkie pary będą lepiej solwatowane w wodzie niż para kation-jodek. Aby skorzystać z łatwości z jaką jodki alkilowe tworzą sole 4⁺, ale uzyskać przydatny katalizator PTC, stosuje się reakcję metatezy solnej, zwanej też reakcją podwójnej wymiany. Przykładowo, ze względu na bardzo niską rozpuszczalność PbI₂, popularna jest podwójna wymiana:



D2.2

2.2 Część praktyczna

Odczynniki

- chloroform (CHCl_3)
- wodorotlenek sodu 3 M/0,1 M
- woda destylowana
- chlorek sodu
- [X] bromek benzylotrietyloamoniowy
- [Y] bromek cetylopirydyniowy
- zielen bromokrezolowa (ZB) LUB purpura bromokrezolowa (PB)
- manganian(VII) potasu
- aldehyd benzoesowy

PROCEDURA

1) Porównanie rozpuszczalności.

- Do dwóch fiolek wsyp po kilka kryształków otrzymanej w poprzednim tygodniu soli 4°; następnie dodaj do nich, odpowiednio, po 3-5 kropli wody lub chloroformu. Oceń rozpuszczalność związku (dobrze/słabo rozpuszczalny).

2) Stabilność hydrolytyczna.

- Do fiołki wsyp ok. 15-20 mg otrzymanej soli 4° i rozpuść ją w 1-2 mL 3 M NaOH. Zamknij szczelnie fiołkę i pozostaw na ok. 2 godziny.

- Po tym czasie obejrzyj zawartość fiołki, odkręć i ostrożnie powąchaj roztwór; porównaj zapach i kolor/wygląd z substratami użytymi w ćwiczeniu D1. Wyciągnij wnioski na temat zachodzących reakcji.

3) Przeniesienie jonów do fazy organicznej.

- Używając mianowanego roztworu NaOH, sporządź litr roztworu o stężeniu 1,5 mM (15 mL roztworu 0,1 M rozcieńcz w kolbie miarowej o pojemności 1 litra) - roztwór W.

- Sporządź solankę (S): ok. 5 g NaCl wsyp do 15 mL W. Umieść roztwór na 5-10 minut w łaźni ultradźwiękowej.

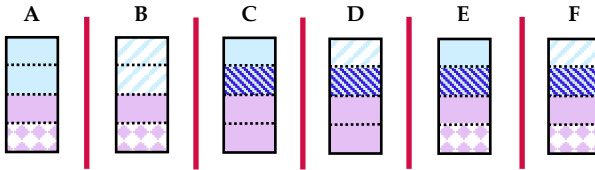
- Sporządź roztwory: swojej soli 4° (X/Y) w chloroformie oraz związku barwnego (ZB/PB)CM w 1,5 mM NaOH (W) wedle wskazań kolumn m, R₁ i V₁ w Tabeli 1:

Związek / roztwór	M [g/mol]	m [mg]	R ₁	V ₁ [mL]	R ₂	V ₂ [mL]	λ _{max} [nm]	ε [M ⁻¹ ·cm ⁻¹]
X	272,22	81,7	CHCl ₃	10	W	5	257	300
Y	384,44	115,3	CHCl ₃	10	W	50	260	4070
ZB	698,01	17,5	W	50	W	5	615	22000
PB	540,22	13,5	W	50	W	5	588	22000

Tabela 1. Dane do części praktycznej - przeniesienie jonów do fazy organicznej. R - rozpuszczalnik do sporządzenia pierwotnego roztworu (1) i późniejszego rozcieńczenia (2). W - 1,5 mM NaOH w H₂O.

D_{2.2}

- W małych, szczelnie zakręczonych fiolkach sporządź następujące mieszaniny (po 4 mL, każda kratka to 1 mL):



- Zakręć dokładnie opisane fiolki i **zanotuj pierwsze obserwacje**; następnie wytrząśnij energicznie zawartość 4-5x w krótkich odstępach czasu i **ponownie zanotuj obserwacje**.

- Przygotuj łaźnię wodną przez zagotowanie wody i wlanie jej do krystalizatora umieszczonego na mieszadło nastawionym na 100°C (poziom cieczy powinien być taki by fiolki nie przewracały się); umieść w niej fiolki aż do rozdzielenia faz.

- Z ostudzonych fiolek pobieraj kolejno po 1 mL fazy wodnej i rozcieńczaj do 5 mL (V2) z pomocą roztworu **W** (użyj dużych fiolek); jeśli roztwory nie wyklarowały się całkowicie, umieść je na ok. 1 minutę w otwartych fiolkach w gorącej łaźni; dla związku **Y** (próbki **A** i **B**) rozcieńcz roztwór jeszcze 10-krotnie (przez ilościowe przeniesienie do kolby o pojemności 50 mL i dopełnienie **W** do kreski)

- Rozcieńczone roztwory przenoś kolejno do **kuwety kwarcowej** i mierz ich absorbancję przy odpowiedniej dla danej jonu długości fali λ_{\max} (spektrofotometr wyzeruj za każdym razem na **W**).

- Korzystając z podanych w **Tabeli 1** współczynników absorpcji, oblicz stężenie badanego kationu soli 4° pozostającego w fazie wodnej i chloroformowej w próbkach **A** i **B**; na podstawie tych wartości oblicz współczynnik podziału **P** swojego związku dla obu układów.

- Traktując absorbancję próbki **C** jako odniesienie (0% przejścia jonu), oblicz przybliżony **procent przeniesienia anionu** do fazy organicznej w próbkach **D-F**.

Legenda

- chloroform (CHCl_3)
- 1,5 mM NaOH (**W**)
- solanka (**S**)
- sól 4° (**X/Y**), w CHCl_3
- **ZB / PB**

Aparatura

- spektrofotometr UV-Vis
- mieszadło magnetyczne z termoparą
- łaźnia ultradźwiękowa
- kolba miarowa 10 mL (1x)
- kolba miarowa 50 mL (3x)
- kolba miarowa 1 L (1x)
- pipeta wielomiarowa 5 mL (2x)
- pipeta jednomiarowa 1 mL (3x)
- pipeta Pasteura szklana (3x)
- zlewka 50 mL (2x)
- fiolka mała (4 mL), szczelna z korkiem (8x), bezbarwna
- fiolka duża (6-12 mL) z korkiem (6x)
- krystalizator 100-200 mL (1x)
- kuweta kwarcowa (2x)

D2.2

4) Utlenianie aldehydu benzoowego w warunkach PTC.

- Do dwóch małych fiolek wsyp po kilka kryształków KMnO_4 i umieść w nich po mieszadélku magnetycznym.
- Do jednej fiołki dodaj 2 mL chloroformu i kroplę aldehydu benzoowego; ostrożnie powąchaj zawartość, następnie zamknij fiołkę i rozpocznij mieszanie, notując obserwacje.
- W tym czasie do drugiej fiołki dodaj pozostałą ilość roztworu swojego PTC w chloroformie z części (3) oraz kroplę aldehydu benzoowego; zamknij ją i rozpocznij mieszanie, notując obserwacje.
- **Zanotuj obserwacje** dla obu probówek **po 1, 5 i 15 minutach**; **pod koniec zajęć zanotuj obserwacje finałowe** (odkręć fiołki i powąchaj ostrożnie ich zawartość).

WAŻNE! Porównajcie swoje wyniki z grupą pracującą na innej soli 4°. Wyciągnijcie dodatkowe wnioski, którymi wzbogacie nawzajem swoje protokoły. W razie wątpliwości związanymi z wykonaniem lub otrzymanymi rezultatami ćwiczenia zgłóście się do prowadzącego w celu ich wyjaśnienia przed przystąpieniem do pisania raportu.

RAPORT

Należy zawrzeć wszystkie informacje wyszczególnione we **wzorze raportu analitycznego** (strona 68).

Dodatkowo zwróć szczególną uwagę na:

- 1) Zamieszczenie wzorów strukturalnych analizowanych soli 4° i związków barwnych, ich mas molowych oraz dokładnych naważek, wraz z przeliczeniem na liczbę moli.
- 2) Niezwykłe uważne obliczenie stężeń i absorbancji teoretycznych analizowanych jonów w układach dwufazowych (fiołki w seriach **A-B**).

D_{2.2}

3) Zamieszczenie zmierzonych wartości absorbancji, ich przeliczenia na stężenia w obu fazach (A-B), obliczenia współczynnika podziału $P_{\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{O}}$

4) Obliczenia dotyczące przeniesienia jonu (%) barwnika organicznego dla próbek (C)D-F.

5) Co najważniejsze: wyciągnięcie wyczerpujących wniosków na temat:

- stabilności/reaktywności otrzymanych soli 4° (punkty 2, 4)
- łatwości przechodzenia różnych jonów (jakich, w których próbkach?) do fazy organicznej (punkty 3 i 4)
- wpływu siły jonowej (solanka) na to zjawisko (punkt 3)
- możliwości (oraz zalet i wad!) stosowania związków otrzymanych w ćwiczeniu D1 w reakcjach typu PTC (punkty 1-4)

PAMIĘTAJ!

Wzbogać swój protokół (oraz własną wiedzę!) o wyniki drugiej grupy ćwiczeniowej, pracującej na odmiennej soli 4°! Analiza porównawcza jest niezwykle cennym źródłem informacji i pomaga wyciągnąć znacznie więcej wniosków.

1. Sasson, Y., Neumann, R. (Edyt.). (2012). Handbook of phase transfer catalysis. Springer Science & Business Media.
2. Jones A. (2001) Quaternary Ammonium Salts: Their Use in Phase-Transfer Catalysis (str. 11-22). London: Academic Press.
3. Landini, D., Maia, A., & Rampoldi, A. (1986). Stability of quaternary onium salts under phase-transfer conditions in the presence of aqueous alkaline solutions. *The Journal of Organic Chemistry*, 51(16), 3187-3191.
4. Brändström, A. (1977). Principles of phase-transfer catalysis by quaternary ammonium salts. In *Advances in physical organic chemistry* (Vol. 15, pp. 267-330). Academic Press.
5. Adelantado, F. V. G. (2021). Phase-transfer catalysis and the ion pair concept. In: *Organocatalysis* (pp. 197-228). De Gruyter.
6. Nath, S. (2018). Molecular mechanistic insights into uncoupling of ion transport from ATP synthesis. *Biophysical Chemistry*, 242, 15-21.

SYNTETYCZNEGO

ANALITYCZNEGO

Wzór raportu syntetycznego

Imiona studentów		Data zajęć
Specjalność chemiczna	Numer ćwiczenia	Godzina (transza)

Cel ćwiczenia sformułowany w jednym zdaniu

Równanie konkretnej reakcji chemicznej przeprowadzanej na zajęciach

- masy molowe, gęstości i objętości (substraty ciekłe), masy substratów
- obliczone teoretyczne masy produktów (przy założeniu 100% wydajności reakcji)

Wypunktowany opis wykonania ćwiczenia ze szczególnym uwzględnieniem obserwacji (np. „Po piętnastu minutach zaobserwowano wytrącanie się białego osadu”, „Po dodaniu trietyloaminy do roztworu, natychmiast przyjął on pomarańczowe zabarwienie”).

Należy wyraźnie zaznaczyć odstępstwa od przewidywanego przebiegu reakcji lub błędy popełnione podczas wykonania ćwiczenia.

Podsumowanie przeprowadzonego ćwiczenia

- obliczenie wydajności reakcji (pojedynczych etapów i sumarycznej)
- charakterystyka produktu i porównanie z teorią (kolor, wygląd, temperatura topnienia/rozkładu, inne)
- wnioski (np. wyjaśnienie różnic w charakterystyce, niskiej wydajności), także związane z konkretnym ćwiczeniem
- inne uwagi

Wzór raportu analitycznego

Imiona studentów		Data zajęć
Specjalność chemiczna	Numer ćwiczenia	Godzina (transza)
Cel ćwiczenia sformułowany w jednym zdaniu		
<u>Wypunktowany</u> opis wykonania ćwiczenia ze szczególnym uwzględnieniem <u>obserwacji</u> oraz ewentualnych odstępstw od przewidywanego skryptem toku analitycznego.	<u>Dokładne</u> naważki reagentów. Obliczenia stechiometryczne niezbędne dla dalszego opracowania wyników, <u>zapisane w sposób klarowny i jednoznaczny</u> , pozwalający na prześledzenie toku rozumowania.	
Zestawienie, opracowanie i przedstawienie wyników niezbędnych do przeprowadzenia wnioskovania, najczęściej w formie graficznej lub stabelaryzowanej. (Załączniki w postaci wykresów, tabel i innych wydruków komputerowych)		
Podsumowanie przeprowadzonego ćwiczenia		
<ul style="list-style-type: none">• jakościowa i ilościowa analiza wyników, także pod kątem zgodności/niezgodności z przewidywaniami teoretycznymi• komentarz dotyczący błędów w wykonaniu (np. wyniki obliczeń wskazują na niemożliwie wysokie stężenie reagentów, obserwacje stojące w jawnej sprzeczności z logiką chemiczną i posiadaną wiedzą)• wnioski na temat opisany celem ćwiczenia, ewentualne porównanie wyników pomiędzy grupami		