



Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Dario Šušnić

Student 1. godine Doktorskog sveučilišnog studija KEMIJA – smjer ORGANSKA KEMIJA

MOLEKULSKA ANIONSKA PUMPA

Kemijski seminar I

Seminar izrađen prema:

B. Shao, H. Fu, I. Aprahamian, *Science* **385** (2024) 544–549.

Zagreb, 2025.

Sadržaj

§ 1. UVOD.....	1
§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME	2
2.1. Literaturni pregled	2
2.1.1. <i>Biološki transport iona i prirodne pumpe.....</i>	<i>2</i>
2.1.2. <i>Razvoj umjetnih molekulskih pumpi.....</i>	<i>2</i>
2.1.3. <i>Mehanizmi djelovanja umjetnih ionskih pumpi.....</i>	<i>3</i>
2.1.4. <i>Fotosklopke u funkciji molekulskih pumpi</i>	<i>4</i>
2.2. Metode sinteze i karakterizacije spojeva	5
2.3. Analiza podataka i rezultata	7
2.3.1. <i>Fotoizomerizacija.....</i>	<i>7</i>
2.3.2. <i>Termička stabilnost i fazne tranzicije</i>	<i>9</i>
2.3.3. <i>Afinitet vezanja aniona na hidrazonski receptor.....</i>	<i>9</i>
2.3.4. <i>Ispitivanje transporta iona u U-oblikovanim epruvetama</i>	<i>14</i>
2.4. Zaključak.....	17
§ 3. LITERATURNI IZVORI.....	XVIII

§ 1. UVOD

Transport iona kroz membrane ključan je mehanizam za mnoge biološke procese, uključujući regulaciju stanične homeostaze, prijenos signala i održavanje energetskega balansa.¹ Prirodni transporteri, poput natrij-kalij pumpe i protonskih pumpi, osiguravaju stabilne uvjete u stanicama koristeći energiju u obliku ATP-a ili elektrokemijskih gradijenata.² Njihova sposobnost, da selektivno premještaju ione, omogućuje vitalne funkcije poput živčane signalizacije, mišićne kontrakcije i održavanja pH ravnoteže.³

U novije vrijeme, znanstvenici su se usmjerili na razvoj umjetnih molekularskih pumpi koje mogu oponašati ove, ali i druge prirodne procese.⁴ Takvi umjetni sustavi mogu se koristiti pri selektivnom propuštanju iona kroz membrane⁵ te pročišćavanju vode zagađene radioaktivnim elementima iz nuklearnog otpada⁶.

Jedan od glavnih izazova u dizajnu umjetnih ionskih pumpi jest postizanje ravnoteže između selektivnosti, kinetike vezanja i otpuštanja iona te stabilnosti sustava.⁶ Materijali temeljeni na hidrazonskim fotosklopkama pokazali su se kao obećavajući kandidati za rješavanje ovih problema zato što omogućuju dinamičku kontrolu nad transportom iona korištenjem svjetlosne energije.⁷ Razvoj molekularskih pumpi temeljenih na hidrazonima otvara mogućnost za stvaranje učinkovitih i selektivnih prijenosnih sustava, koji mogu pronaći široku primjenu u znanosti o okolišu i biomedicinskim znanostima.⁸

U ovom radu istraženi su sinteza, svojstva i primjena hidrazonskih molekularskih pumpi, pri čemu su analizirane njihove učinkovitosti u prijenosu aniona i potencijalne industrijske primjene. Poseban naglasak stavljen je na eksperimentalne metode korištene za karakterizaciju ovih sustava te mogućnosti njihovog daljnjeg razvoja.

§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME

2.1. Literaturni pregled

2.1.1. *Biološki transport iona i prirodne pumpe*

Prirodni biološki sustavi razvili su različite metode aktivnog transporta iona kroz membrane kako bi održali homeostazu i omogućili pravilno funkcioniranje stanica. Natrij-kalij pumpa (Na^+/K^+ -ATPaza) jedan je od najvažnijih mehanizama transporta iona, a njezina funkcija je održavanje elektrokemijskog gradijenta između unutarstaničnog i izvanstaničnog prostora. Ova pumpa aktivno premješta tri natrijeva iona iz stanice i dva kalijeva iona u stanicu koristeći energiju iz hidrolize ATP-a. Održavanje ovog gradijenta ključno je za pravilno provođenje živčanih impulsa i kontrakciju mišića.⁹

Osim natrij-kalij pumpe, u stanicama postoje i druge vrste transportnih sustava, poput kalcijevih pumpi (Ca^{2+} -ATPaza), koje reguliraju razinu kalcija u citoplazmi. Kalcijevi ioni igraju ključnu ulogu u procesima poput eksocitoze neurotransmitera, kontrakcije mišića i regulacije signalnih puteva.¹⁰ Protonske pumpe (H^+ -ATPaza) omogućuju transport vodikovih iona kroz membrane i sudjeluju u regulaciji pH unutarstaničnog prostora i staničnog okoliša. Primjer takvog sustava je protonaska pumpa u želucu koja regulira izlučivanje kiseline i igra ključnu ulogu u probavi hrane.¹¹

Pored ATPaza, postoje i pasivni transportni sustavi, poput ionskih kanala i prijenosnika, koji omogućuju brzu izmjenu iona između stanice i njezina okoliša. Ovi procesi, iako ne koriste ATP, ovise o koncentracijskim gradijentima i membranskim potencijalima, a njihova regulacija ključna je za fiziološke funkcije organizma.¹²

Razumijevanje prirodnih transportnih mehanizama pruža temelj za razvoj umjetnih molekularnih pumpi koje mogu oponašati ove funkcije. S obzirom na njihovu važnost u biološkim sustavima, istraživanja u području umjetnih transportera mogu dovesti do inovacija u medicini, energetici i industriji pročišćavanja vode.⁶

2.1.2. *Razvoj umjetnih molekularnih pumpi*

Razvoj umjetnih molekularnih pumpi inspiriran je biološkim sustavima koji omogućuju kontrolirani prijenos iona kroz membrane. Prvi pokušaji stvaranja umjetnih ionskih pumpi

koristili su mehaničke i kemijske podražaje. Supramolekulska kemija omogućila je dizajn pumpi koje koriste vanjske izvore energije, poput svjetlosne energije ili električnih potencijala, kako bi omogućile selektivan transport iona.¹³ Upravo molekulske pumpe građene od fotosklopki pod utjecajem svjetlosti prolaze kroz povratne promjene konformacije omogućujući kontrolirani prijenos iona kroz membrane.⁷

2.1.3. *Mehanizmi djelovanja umjetnih ionskih pumpi*

Umjetne molekulske pumpe koriste različite mehanizme za prijenos iona kroz membrane. Neki od najčešćih mehanizama uključuju supramolekulske interakcije, elektrokemijske gradijente i fotokemijski inducirane promjene konformacije.¹⁴ Učinkovitost ovih sustava ovisi o kinetici vezanja iona, stabilnosti sustava i sposobnosti selektivnog prijenosa iona u određenom smjeru.⁶

Supramolekulske interakcije omogućuju stvaranje kompleksa između molekulske pumpe i iona, što omogućava selektivno hvatanje i prijenos iona kroz membranu. Ovi sustavi koriste vodikove veze, elektrostatske interakcije i hidrofobne učinke kako bi regulirali transport iona na precizan način. Osim toga, interakcije domaćin-gost igraju ključnu ulogu u prepoznavanju iona i olakšavanju njihove migracije kroz membrane.¹⁵

Elektrokemijski gradijenti predstavljaju još jedan važan mehanizam kojim umjetne pumpe omogućuju transport iona. Koristeći razlike u naboju i koncentraciji iona između dviju strana membrane, pumpe mogu usmjeravati transport iona protiv njihovog prirodnog gradijenta, omogućujući stvaranje energetskih potencijala korisnih u biološkim i tehnološkim sustavima.¹⁶

Fotokemijski inducirane promjene konformacije sve se više istražuju kao održiv način kontrole transporta iona. Ove pumpe koriste svjetlosnu energiju za promjenu strukture fotosklopki, omogućujući otvaranje i zatvaranje transportnih kanala u odgovoru na specifične valne duljine svjetlosti.⁷

Termodinamička analiza pokazuje da umjetne pumpe mogu raditi na način sličan biološkim sustavima, uz bolju prilagodljivost i otpornost na vanjske čimbenike. Novija istraživanja pokazuju da optimizacija molekularnih interakcija unutar umjetnih pumpi može značajno povećati njihovu učinkovitost i dugotrajnost. Nadalje, razvoj novih materijala i dizajna molekularnih pumpi omogućuje njihovu prilagodbu za specifične primjene, uključujući medicinsku terapiju i filtraciju vode.⁴

2.1.4. Fotosklopke u funkciji molekulskih pumpi

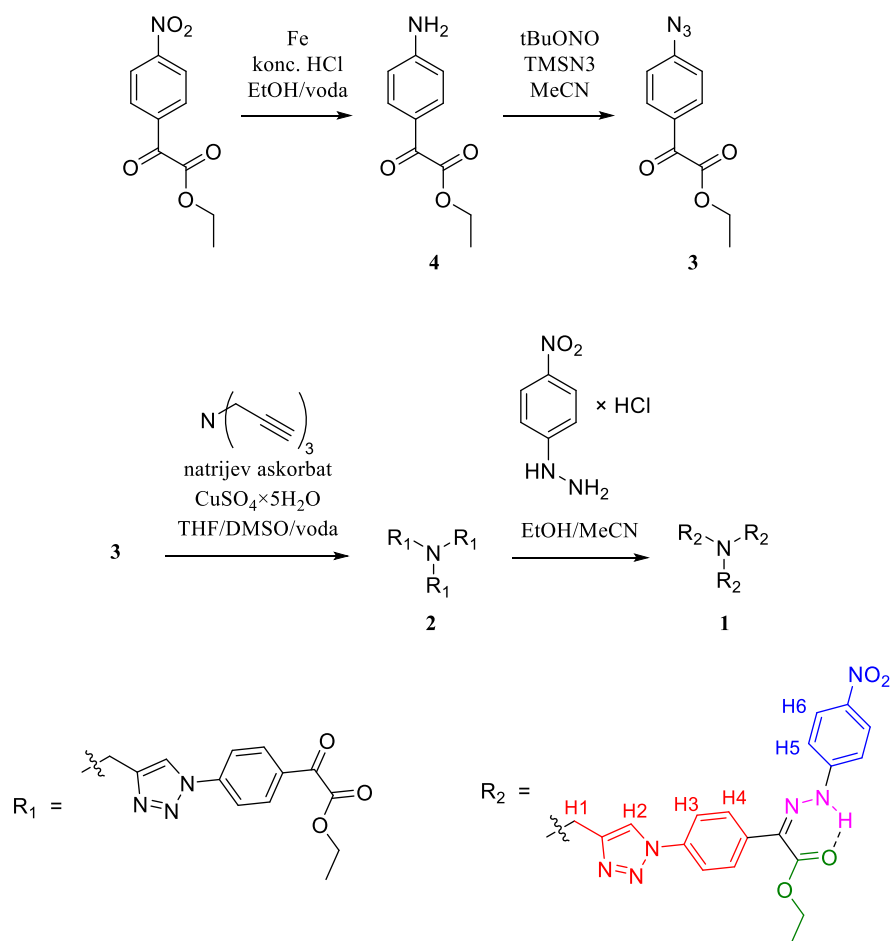
Fotosklopke, poput hidrazona, azobenzena i stilbena, koriste svjetlosne podražaje za promjenu konformacije i kontrolu vezanja iona. Ovi sustavi omogućuju razvoj preciznih i energetski učinkovitih pumpi koje ne zahtijevaju dodatne kemijske reagense. Upotrebom svjetlosne energije, fotosklopke omogućuju reverzibilne promjene u molekulskoj strukturi, čime se postiže selektivno vezanje i otpuštanje iona.¹⁷

Jedna od glavnih prednosti fotosklopki je njihova sposobnost upravljanja transportom iona bez potrebe za vanjskim kemijskim stimulansima. Ovaj princip koristi se u razvoju supramolekulskih uređaja koji omogućuju kontrolirani prijenos iona kroz membranske sustave. Takvi uređaji mogu imati važnu ulogu u razvoju umjetnih bioinspiriranih sustava, uključujući umjetne ionske pumpe i senzora.⁷

2.2. Metode sinteze i karakterizacije spojeva⁵

Sinteza molekulskih pumpi temeljenih na hidrazonskim jedinicama izvedena je korištenjem metoda organske sinteze visoke čistoće.

Detaljni postupak sinteze temelji se na reakciji u više koraka uključujući redoks reakciju sa željeznim prahom u smjesi etanola i vode uz koncentriranu klorovodičnu kiselinu, kao katalizator (nastajanje međuproducta 4), reakciju nastanka azida iz amina pomoću *tert*-butilnitrita (*t*-BuONO) i trimetilsilil-azida (TMSN₃) u acetonitrilu (nastajanje međuproducta 3), cikloadicijsku reakciju uz prisutnost modre galice i natrijeva askorbata u smjesi otapala tetrahidrofurana, dimetilsulfoksida i vode (nastajanje međuproducta 2) te kondenzaciju s aromatskim hidrazinima kako bi se dobila ciljna hidrazonska struktura (nastajanje produkta 1). Sintetizirani produkt jest trimer te ima različite geometrijske izomere. Svaka podjedinica sintetiziranog hidrazona jest *Z* izomer, stoga se sintetizirani trimer označava kao 1-*Z,Z,Z*. Priprava željenog hidrazona prikazana je na slici 1. Postignuta iskorištenja, u svakom koraku reakcije, iznosila su od 80 do 90 %, čime je osigurana učinkovitost procesa.



Slika 1. Sinteza tripodalne hidrazonske fotosklopke (preuzeto i prilagođeno iz literature).⁵

Karakterizacija dobivenih spojeva provedena je korištenjem više analitičkih tehnika. Nuklearna magnetska rezonancija (NMR) korištena je za potvrdu kemijske strukture i konformacije spojeva, uključujući ^1H NMR, ^{13}C NMR i 2D NMR spektroskopiju. Posebna pažnja posvećena je NMR spektroskopskoj metodi – DOSY – radi utvrđivanja stupnja agregacije spojeva u otopini. Masena spektrometrija (MS) korištena je za određivanje molekulskih masa i strukture spojeva, dok je infracrvena spektroskopija (IR) omogućila dodatnu potvrdu prisutnosti specifičnih funkcionalnih skupina.

Fotoizomerizacijska svojstva hidrazonskih jedinica ispitana su pomoću UV/Vis spektroskopije, gdje su analizirane promjene u apsorpcijskim spektrima pod utjecajem svjetlosti različitih valnih duljina. Kvantitativne analize fotoizomerizacijskih procesa provedene su korištenjem kemijske aktinometrije, čime su određeni kvantni prinosi izomerizacije pri različitim valnim duljinama svjetlosti. Osim toga, izotermna titracijska kalorimetrija (ITC) korištena je za ispitivanje termodinamičkih parametara vezanja iona i hidrazona, dok su ispitivanja u U-cijevima omogućila određivanje učinkovitosti prijenosa iona kroz lipidne membrane.

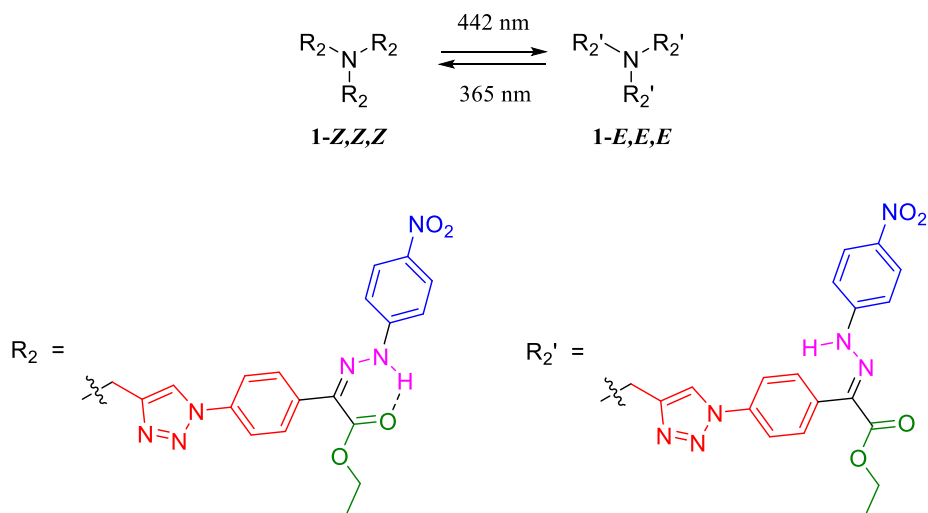
Nadalje, pokušaji kristalizacije spojeva za potrebe rendgenske kristalografije nisu rezultirali formiranjem kristala pogodnih za strukturalnu analizu, unatoč brojnim optimizacijama otapala i uvjeta kristalizacije.

2.3. Analiza podataka i rezultata⁵

Analiza podataka obuhvatila je nekoliko ključnih elemenata istraživanja: spektroskopske karakterizacije, istraživanja kinetike transporta iona te ispitivanje stabilnosti spojeva pod različitim uvjetima. Svaka metoda odabrana je s ciljem detaljnog razumijevanja funkcionalnosti pripremljenih molekularskih pumpi, njihove strukturne stabilnosti i učinkovitosti prijenosa iona.

2.3.1. Fotoizomerizacija

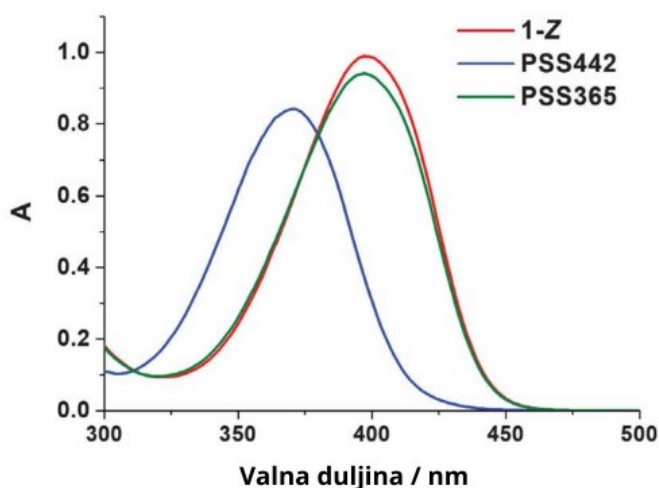
UV/Vis spektroskopija korištena je za ispitivanje fotoizomerizacijskih svojstava pripremljenih spojeva. Cilj ove analize bio je kvantificirati sposobnost sustava da mijenja konformaciju između *E* i *Z* izomera pod utjecajem svjetlosti, što je ključno za mehanizam rada molekularske pumpe (slika 2).



Slika 2. Proces fotoizomerizacije trimera 1-*Z,Z,Z* u 1-*E,E,E* korištenjem svjetlosnog zračenja od 442 nm i 365 nm (preuzeto i prilagođeno iz literature).⁵

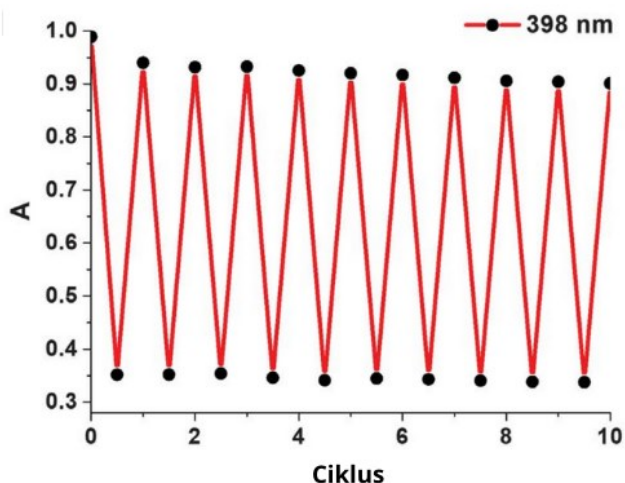
Eksperimentalni postupak uključivao je snimanje apsorpcijskih spektara otopina hidrazona u diklormetanu, pri različitim valnim duljinama svjetlosti. Snimanja su provedena u kvarnoj kiveti, čija je duljina optičkog puta 1,0 cm. Otopine su ozračene i snimljeni su odgovarajući UV-Vis spektri. Ciklusi izomerizacije mjereni su izmjenjivanjem vrijednosti valnih duljina zračenja i praćene su promjene u UV-Vis spektrima. Uočene su dvije valne duljine u kojima se postižu apsorpcijski maksimumi za pojedine izomere. Izomeri prisutni pri određenim valnim duljinama su stabilni te se njihova stanja nazivaju fotostacionarna stanja (PSS). Ona su određena neprekidnim zračenjem uzorka sve dok nije uočena daljnja izomerizacija. 1-*Z,Z,Z* izomer pokazuje apsorpcijski maksimum pri valnoj duljini od 398 nm. Ukoliko se takva otopina

ozrači svjetlošću valne duljine 442 nm, dolazi do izomerizacije analita iz 1-*Z,Z,Z* u 1-*E,E,E* izomer, pri čemu je prisutno 97 % 1-*E,E,E* izomera. Apsorpcijski maksimum čistog 1-*E,E,E* izomera postiže se pri 370 nm. S druge strane, ukoliko se upotrijebi svjetlo valne duljine 365 nm, dolazi do izomerizacije analita iz 1-*E,E,E* u 1-*Z,Z,Z* izomer, pri čemu je prisutno 93 % 1-*Z,Z,Z* izomera. Promjene u spektrima prikazane su na slici 3.



Slika 3. UV-Vis spektri (1×10^{-5} M) izomera 1-*Z,Z,Z* (crveno) i pri različitim fotostacionarnim stanjima (442 nm i 365 nm) snimljenih u diklormetanu (preuzeto i prilagođeno iz literature).⁵

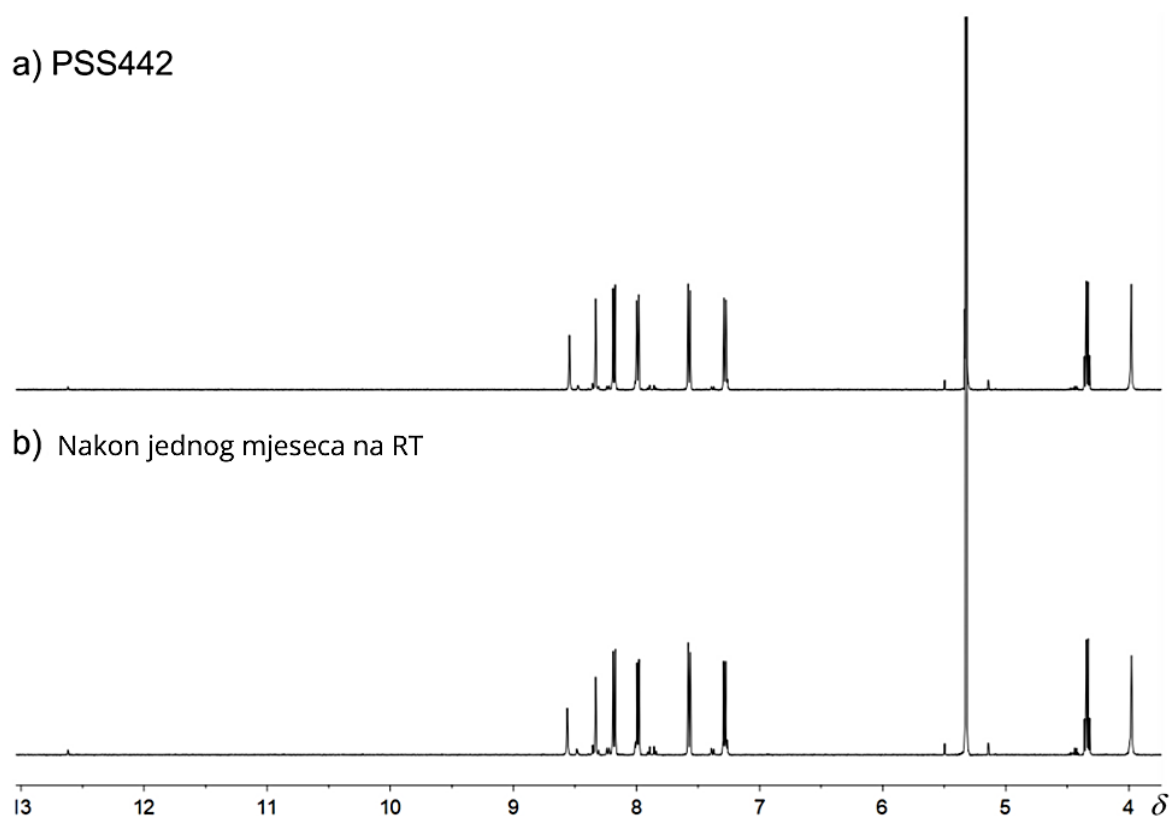
Fotoizomerizacijski proces jest reverzibilan te je promatran kroz 10 ciklusa bez značajnih znakova zaustavljanja tog procesa (slika 4).



Slika 4. Ciklusi fotoizomerizacije hidrazona 1 u diklormetanu izmjenjujući valne duljine zračenja – 442 i 365 nm. Izomerizacija je praćena pri valnoj duljini od 395 nm (preuzeto i prilagođeno iz literature).⁵

2.3.2. Termička stabilnost i fazne tranzicije

Izomerizacija analita 1-*E,E,E* u 1-*Z,Z,Z* proučavana je pri sobnoj temperaturi. Uzorak izomera 1-*E,E,E* u diklormetanu (1×10^{-3} M) pripremljen je u cjevčici za NMR spektroskopiju te je ozračen svjetlošću valne duljine od 442 nm da bi se postiglo PSS442. NMR cjevčice zatim su zatvorene parafilmom i ostavljene na tamnom mjestu mjesec dana. NMR analiza spektara (slika 4) uzoraka na početku eksperimenta te nakon mjesec dana pokazala je da je *E* → *Z* izomerizacija iznimno spora te da postotak promjene iznosi otprilike 0,4 %.

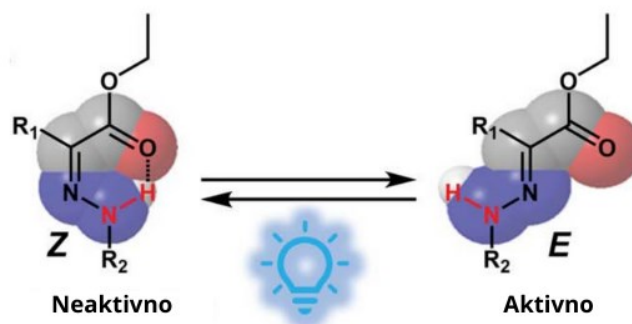


Slika 5. ^1H NMR spektri hidrazona 1 u deuteriranom diklormetanu, pri 294 K – a) nakon postizanja PSS442, b) nakon jednog mjeseca u tamnom prostoru (preuzeto i prilagođeno iz literature).⁵

2.3.3. Afinitet vezanja aniona na hidrazonski receptor

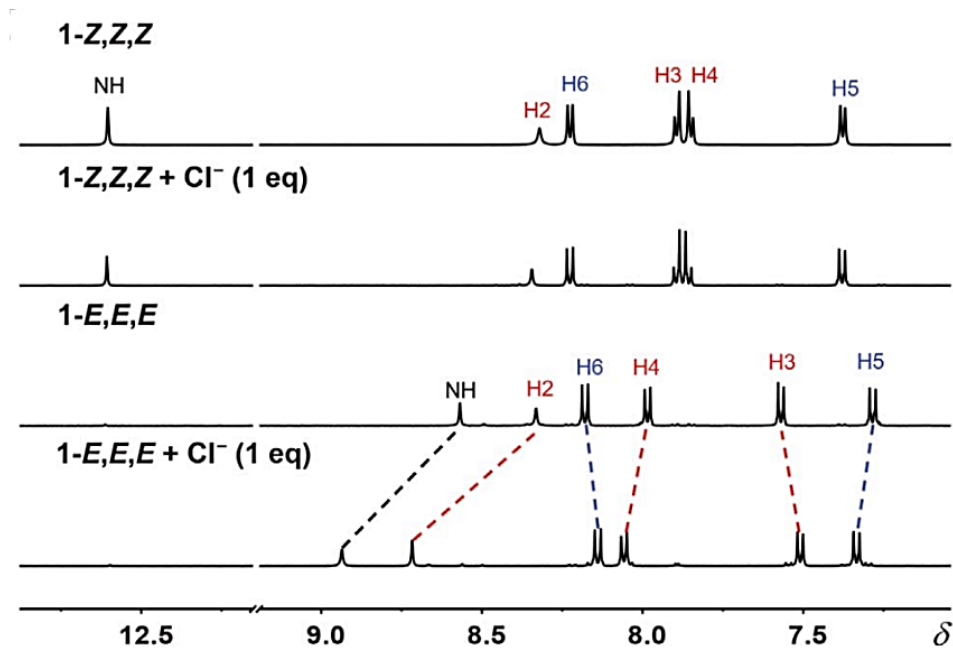
U ovom istraživanju proučavana je sposobnost vezanja hidrazonskog receptora 1 za različite anione pomoću niza eksperimentalnih tehnika, s posebnim naglaskom na utjecaj izomerizacije između *E* i *Z* oblika.

Ključna uloga izomerizacije očituje se u različitim sposobnostima vezanja između *E* i *Z* izomera. *E* izomer se pokazao kao aktivan oblik jer njegovi NH protoni ostaju dostupni za vodikove veze s anionima, omogućujući snažno vezanje. S druge strane, *Z* izomer formira intramolekulske vodikove veze između NH protona i karbonilne skupine, što blokira vezna mjesta i značajno smanjuje afinitet prema anionima (slika 6). Ova razlika naglašava važnost prostornog rasporeda i dostupnosti veznih mjesta u supramolekulskom prepoznavanju aniona.



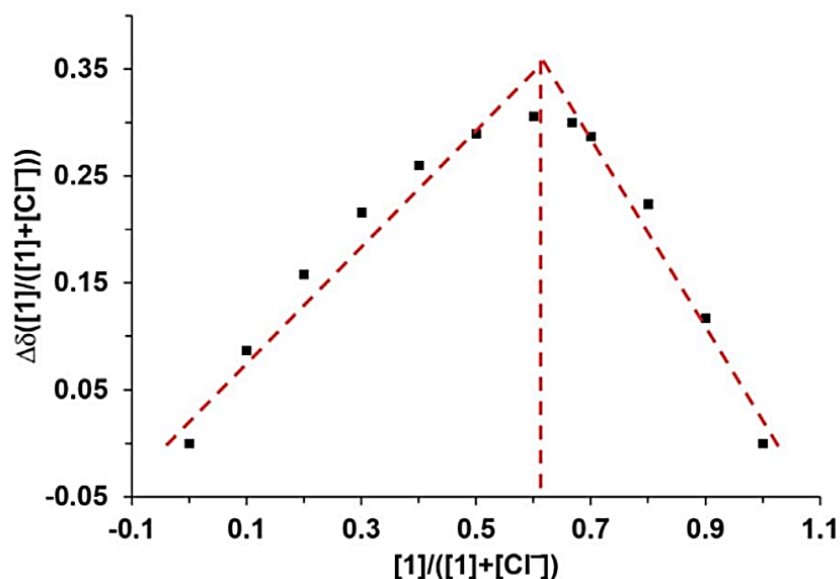
Slika 6. Glavni strukturni motiv stabilnih hidrazona koji pokazuje kako fotoizomerizacija rezultira nastajanje i kidanje motiva vodikove veze (preuzeto i prilagođeno iz literature).⁵

Provedeni su eksperimenti ^1H NMR titracije otopine receptora 1 s otopinama tetrabutilamonijevih soli koje u svom sastavu sadrže različite anione, uključujući halogenide (Cl^- , Br^- , I^-) te veće anione poput BF_4^- i PF_6^- . Tijekom titracija uočeni su značajni kemijski pomaci NH protona hidrazona i CH protona triazola (H_2) receptora 1-*E*, što je ukazivalo na sudjelovanje ovih skupina u vezanju aniona. S druge strane, prilikom analize ^1H NMR spektara kompleksiranog i nekomplesiranog receptora 1-*Z*, uočeno je da nema značajnijih kemijskih pomaka promatranih vodikovih atoma (slika 7).



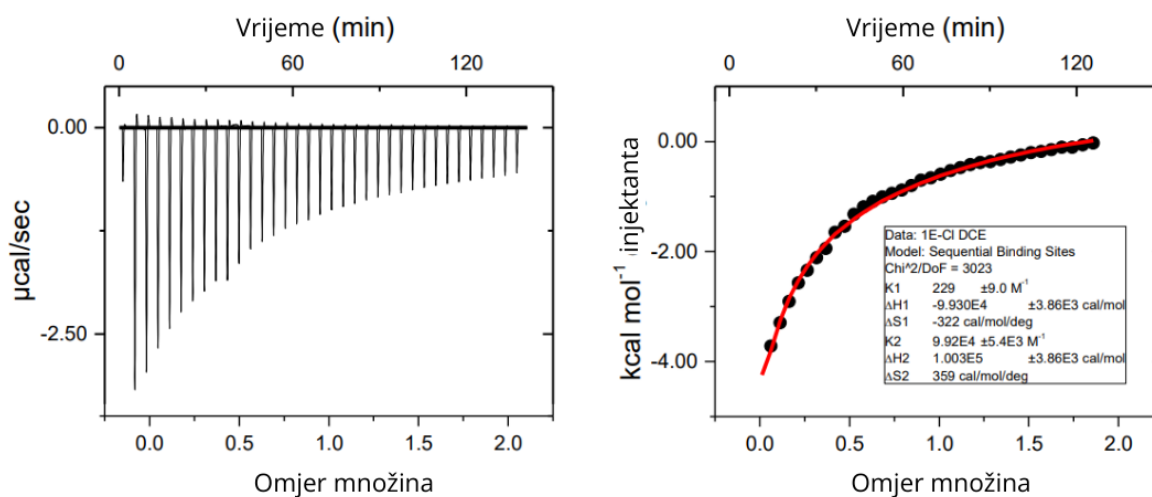
Slika 7. ^1H NMR spektri 1-Z,Z,Z i 1-E,E,E (1,0 mM u deuteriranom diklormetanu) prije (0 ekvivalenata) i nakon titriranja s 1 ekvivalent TBACl (preuzeto i prilagođeno iz literature).⁵

Kako bi se odredio stehiometrijski omjer kompleksa, korištena je Jobova analiza (slika 8). Rezultati su pokazali da *E* izomer formira 2:1 komplekse s manjim anionima poput Cl^- , dok su za veće anione formirani slabiji 1:1 kompleksi. Ovi nalazi potvrđeni su i pomoću spektrometrije masa, gdje su precizno određene molekulske mase kompleksa i njihova izotopna raspodjela.



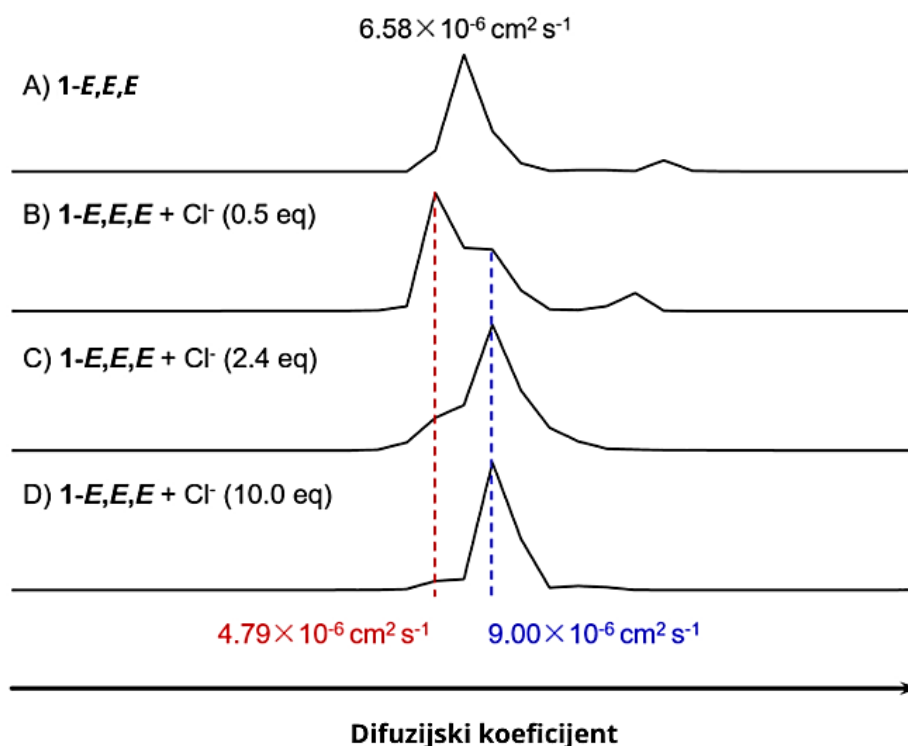
Slika 8. Jobova analiza kompleksacije između 1-E,E,E i TBACl u deuteriranom diklormetanu na 298 K (preuzeto i prilagođeno iz literature).⁵

Daljnje istraživanje provedeno je pomoću izotermalne titracijske kalorimetrije (ITC), kojom su određene konstante vezanja i fizikalni parametri reakcija kao što je entalpija vezanja (slika 9). Utvrđena je pozitivna kooperativnost vezanja kod 2:1 kompleksa, što znači da prvo vezanje aniona povećava afinitet drugog koraka vezanja.



Slika 9. ITC podaci za titraciju 1-*E,E,E* (0,20 mM) s TBAC1 (2,0 mM) u DCM na 298 K; crvena linija prilagođena modelom sekvencijalnih mjesta vezivanja s vrijednostima navedenim u uokvirenome pravokutniku ispod grafičkog prikaza. Postavka pokusa: ukupan broj injekcija = 50; temperatura ćelije = 25 °C; referentna snaga = 20 µCal/sec.; volumen u ITC ćeliji = 1,60 ml; početna odgoda = 60 sek.; volumen 1. injekcije = 2,0 µL; volumen injekcija mirovanja = 8,0 µL; vrijeme razmaka između svake injekcije = 240 sek.; brzina miješanja = 372 o/min (preuzeto i prilagođeno iz literature).⁵

Zaključna analiza uključivala je kombinaciju DOSY spektroskopije i spektrometrije masa, čime su određene molarne mase i difuzijski koeficijenti kompleksa. Utvrđeno je da 2:1 kompleks ima veću hidrodinamičku veličinu u usporedbi s 1:1 kompleksom, dok vezanje većih aniona uzrokuje smanjenje difuzijskog koeficijenta. Na slici 10 prikazan je 1D spektar koji prikazuje kako se mijenja difuzijski koeficijent s obzirom na količinu dodanih molarnih ekvivalenata kloridnih iona, pri čemu je moguće uočiti dvije specije različitih koeficijenata vezanja.



Slika 10. Razvoj dviju različitih kompleksnih populacija u DOSY spektrima kao funkcija dodanih ekvivalenata Cl^- iona dok se koncentracija 1-E,E,E (receptor) održava konstantnom. A) nevezani 1-E,E,E; B-D) nakon dodavanja 0,5 eq, 2,4 eq, odnosno 10,0 eq Cl^- (preuzeto i prilagođeno iz literature).⁵

Titracijom otopine 1-E izomera u kloroformu s otopinom tetrametilamonijevog klorida (TBACl) u kloroformu dobiveni su podaci koji su obrađeni pomoću programa *HypNMR2008* te su uključivali spoznaje o broju vezanih jedinki unutar jedne kompleksne vrste.

Analizom podataka dobivene su $\log \beta$ vrijednosti, koje ukazuju na jačinu vezanja aniona na receptor, iz kojih se mogu izračunati vrijednosti konstanti vezanja aniona na receptor (tablica 1). Uočeno je da se manji halogenidni anioni jače vežu na receptor u odnosu na veće anione, pri čemu najveće vezanje pokazuje kloridni anion, te da se izomer 1-Z receptora ne pokazuje kao dobar aktivirani receptor.

Ovo istraživanje pokazalo je da se vezanje aniona može kontrolirati fotokemijskom izomerizacijom hidrazonskog receptora, pružajući novi pristup u dizajnu supramolekulskih sustava s prilagodljivim svojstvima. Takvi sustavi mogu imati široku primjenu u području senzora, katalize i selektivnog transporta aniona – u ovome slučaju transporta kloridnih aniona kroz membranu pomoću novopripravljene molekulske pumpe.

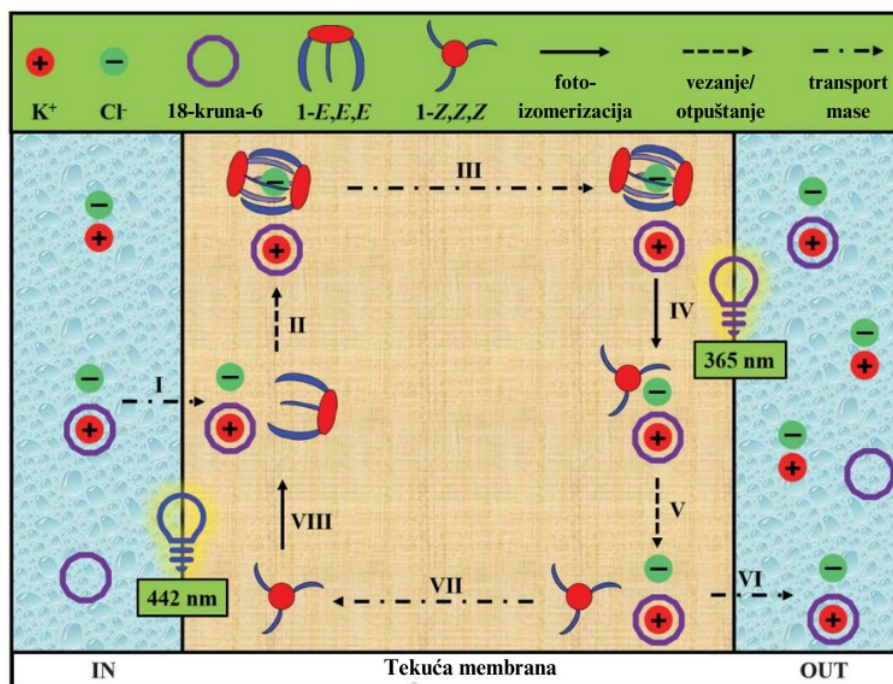
Tablica 1. Sažetak afiniteta vezanja hidrazona 1 s različitim anionima (preuzeto i prilagođeno iz literature).⁵

Konfiguracija	Anion	Omjer receptora 1 i aniona	Konstanta vezanja
1- <i>E,E,E</i>	Cl ⁻	2:1	$2,05 \pm 0,14 \times 10^6 \text{ M}^{-2}$
	Br ⁻	2:1	$1,48 \pm 0,13 \times 10^6 \text{ M}^{-2}$
	I ⁻	2:1	$5,96 \pm 0,48 \times 10^5 \text{ M}^{-2}$
	BF ₄ ⁻	1:1	$9,57 \pm 0,59 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$
	PF ₆ ⁻	1:1	$6,50 \pm 0,06 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$
1- <i>Z,Z,Z</i>	Cl ⁻	1:1 (pretpostavljeno zbog jako slabih interakcija)	$9 \pm 1 \text{ M}^{-1}$
	Br ⁻		$7 \pm 1 \text{ M}^{-1}$
	I ⁻		$2 \pm 1 \text{ M}^{-1}$

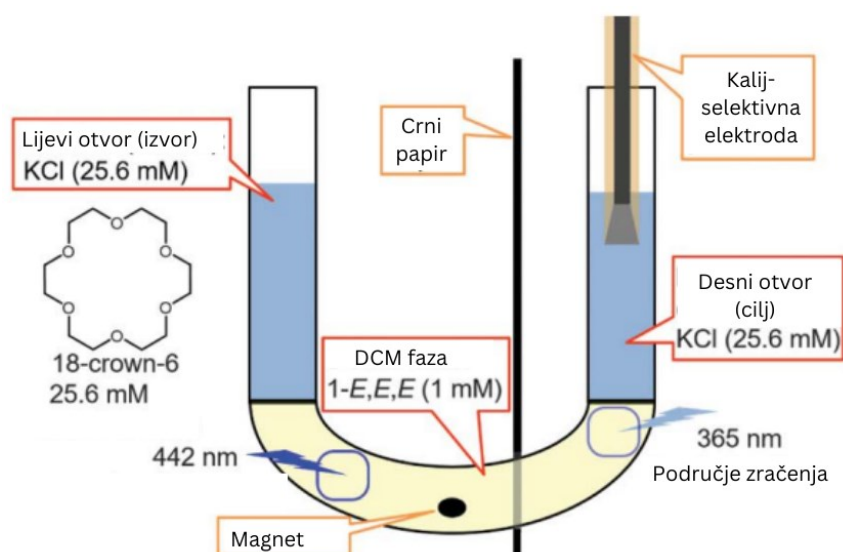
2.3.4. Ispitivanje transporta iona u U-oblikovanim epruvetama

Ekperiment prijenosa kloridnih iona kroz tekuću membranu uz pomoć fotokemijske izomerizacije izveden je u U-cijevi, pri čemu su IN i OUT faze sadržavale vodene otopine kalijevog klorida, dok je organska faza između njih sadržavala receptor 1-*E* otopljen u diklormetanu (DCM). Kako bi se olakšao prijenos kalijevih iona, u sve faze dodan je 18-kruna-6 eter. Proces je bio dodatno olakšan miješanjem organske faze magnetnim mješačem brzinom od 100 okretaja u minuti. Na granici između IN faze i DCM faze korištena je vidljiva svjetlost valne duljine 442 nm koja potiče izomerizaciju receptora u *E* izomer, koji ima visoki afinitet za vezanje kloridnih iona. Nasuprot tome, na sučelju između DCM i OUT faze korišteno je UV svjetlo od 365 nm kako bi se receptor izomerizirao u *Z* izomer, omogućujući oslobađanje kloridnih iona u OUT fazu (slika 11.B). Shematski prikaz promjena koje se događaju u IN, OUT i DCM fazi prikazan je na slici 11.A.

Nakon 12 sati kontinuiranog rada, koncentracija Cl⁻ iona u OUT fazi povećala se za $211,4 \pm 25,9$ ppm. Kontrolni eksperimenti bez spoja 1 pokazali su manji porast koncentracije ($123,2 \pm 21,1$ ppm), što je pripisano isparavanju vode. Uz korekciju zbog isparavanja, sustav je ostvario aktivni transport $8,8 \pm 2,6\%$ Cl⁻ iona protiv koncentracijskog gradijenta, uz stvaranje membranskog potencijala od 4,2 mV. Udaljenost prijenosa iznosila je približno 3,5 cm, što je značajno veće od dosadašnjih sustava molekulskih pumpi.



A.



B.

Slika 11. A. Shematski prikaz U-cijevi koja prikazuje pumpanje ionskog para KCl kroz tekuću membranu; sve uključene kemikalije kao i putovi pumpanja, označeni su na prikazu; B. Pojedini detalji eksperimentalne postavke U-cijevi, u kojoj su lijevi (izvor) i desni (cilj) otvor opremljeni su s 1000 ppm KCl otopine i odvojene tekućom membranom koja sadrži 1-*E,E,E* (1,0 mM), 18-kruna-6 (za olakšavanje transporta protukationa) i kalij-selektivnu elektrodu (za mjerenje koncentracije kalija u faza primanja tijekom vremena) (preuzeto i prilagođeno iz literature).⁵

Uloga miješanja u procesu pumpanja ispitana je kontrolnim eksperimentima bez miješanja otopine. Bez miješanja, povećanje koncentracije K^+ iona u OUT fazi bilo je manje (108,0 ppm), što je potvrdilo važnost miješanja za prijenos mase. Kako bi se smanjio utjecaj isparavanja, U-cijev je dodatno zatvorena parafilmom, a rezultati su analizirani tehnikom ICP-MS. Mjerenja su pokazala smanjenje koncentracije K^+ iona u IN fazi na $870,8 \pm 8,0$ ppm i porast u OUT fazi na $937,3 \pm 8,0$ ppm, što odgovara transportu 4,1% Cl^- iona protiv gradijenta.

Operativni prinos pumpe procijenjen je između 4,1% i 8,8%, što je usporedivo s drugim molekulkim pumpama, ali na znatno većim udaljenostima. Iako porfirinske membrane pokazuju veću učinkovitost, one djeluju na kraćim udaljenostima. Ovaj sustav pruža novu strategiju za aktivni prijenos aniona u sustavima molekulkih strojeva, kombinirajući svojstva vezanja i modulacije u jednom spoju.

2.4. Zaključak

Ovo istraživanje pokazalo je da hidrazonske molekulske pumpe predstavljaju inovativan pristup u dizajnu umjetnih ion-transportnih sustava. Rezultati eksperimenata potvrdili su njihovu sposobnost selektivnog vezanja i prijenosa aniona pod utjecajem svjetlosne energije, što ih čini obećavajućim kandidatima za daljnju primjenu u raznim tehnološkim i biomedicinskim područjima.

Spektroskopska analiza pokazala je učinkovitu fotoizomerizaciju, pri čemu je omjer *E/Z* izomera precizno kontroliran vanjskim podražajima. Elektrokemijska mjerenja potvrdila su selektivnost transporta iona, s naglaskom na visoku učinkovitost prijenosa kloridnih iona.

Mogućnosti primjene ovih sustava su široke, od pročišćavanja vode i separacije iona do potencijalne uporabe u medicini za regulaciju ionskih procesa u stanicama. Daljnja istraživanja trebala bi se usmjeriti na optimizaciju kinetike izomerizacije i poboljšanje stabilnosti sustava u biološkim uvjetima. Integracija ovih sustava u funkcionalne membrane mogla bi otvoriti vrata novim, energetski učinkovitim tehnologijama prijenosa iona.

Ukupno gledano, ovo istraživanje potvrđuje važnost supramolekulske kemije u razvoju naprednih funkcionalnih materijala te postavlja temelje za daljnji razvoj molekulskih pumpi u svrhu industrijskih i biomedicinskih primjena.

§ 3. LITERATURNI IZVORI

1. D. C. Gadsby, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **10** (2009) 344–352.
2. J. M. Russell, *Physiol. Rev.* **80** (2000) 211–276.
3. S. M. O’Grady, H. C. Palfrey, M. Field, *Am. J. Physiol.* **253** (1987) C177–C192.
4. J. F. Stoddart, *Angew. Chem. Int. Ed.* **56** (2017) 11094–11125.
5. B. Shao, H. Fu, I. Aprahamian, *Science* **385** (2024) 544–549.
6. N. Kaltsoyannis, S. T. Liddle, *Chem* **1** (2016) 659–662.
7. I. Aprahamian, *ACS Cent. Sci.* **6** (2020) 347–358.
8. N. Busschaert et al., *Nat. Chem.* **9** (2017) 667–675.
9. T. Clausen, *Physiol Rev* **83** (2003) 1269–1324.
10. M. Brini, E. Carafiol, *Physiol Rev* **89** (2009) 1341–1378.
11. G. Sachs, J. M. Shin, C. W. Howden, *Aliment Pharmacol Ther* **23** (2006) 2–8.
12. D Purves, G. J. Augustine, D. Fitzpatrick et al., *Neuroscience*, Sinauer Associates, Sunderland, 2001., 69–93.
13. T. Mei, H. Zhang, K. Xiao, *ACS Nano* **16** (2022) 13323–13338.
14. K. D. Garlid, *Encyclopedia of Biological Chemistry*, Elsevier, Oregon, 2004., 405–412.
15. F. Huang, E. V. Anslyn, *Chem. Rev.* **115** (2015) 6999–7000.
16. Z. Farsi, R. Jahn, A. Woehler, *Bioessays*. **39** (2017) 1600240.
17. J. Morstein, D. Trauner, *Methods in Enzymology – Volume 638*, Elsevier, Pasadena, 2020., 219–232.