

Summary

Self-assembly is nature's favorite, most economic and reliable way to generate large and complex biological systems. Due to the high efficiency of nature using noncovalent interactions to assemble complex aggregates, self-assembly is nowadays considered as one of the most promising ways for building synthetic functional structures. This thesis describes the assembly of large hydrogen-bonded systems (double rosettes) and their ability to act as receptors. Due to the formation of 36 hydrogen bonds that bring together three calix[4]arene dimelamines and six barbiturates or cyanurates, these double rosettes exhibit a high thermodynamic stability.

Chapter 2 reviews briefly the assembly of hydrogen-bonded aggregates that have been described in the literature in the past decade. The chapter describes the most representative examples of this type of noncovalent assemblies with emphases on the hydrogen-bonded motifs forming the assemblies and the ability of the assemblies to complex guest molecules.

Chapter 3 shows that a large range of functional groups can be introduced in the rosette platform, allowing the generation of large molecular diversity in a very simple way. Calix[4]arene dimelamines functionalized with alkyl, aminoalkyl, ureido, pyridyl, carbohydrate, amino acid and peptide functionalities self-assemble with a variety of barbiturates or cyanurates to form double rosettes. These functionalities influence strongly the stability of the double rosettes in MeOH/CHCl₃ solvent mixtures. Steric hindrance close to the rosette platform exerted by the building blocks decreases the stability. In general, carbohydrate moieties in the calix[4]arene dimelamines decrease the thermodynamic stability of the assemblies dramatically, while with amino acid functionalities stable assemblies are obtained. For peptide functionalized assemblies, the amino acids at the first position do not seem to affect the stability, while certain amino acids at the second position seem to decrease the stability of the assemblies. Furthermore, the stability of double rosettes with different amino acids in MeOH/CHCl₃ mixtures strongly depends on the structure of the barbiturate or the cyanurate building blocks. In

all cases, assemblies with barbiturate derivatives are less stable than double rosettes with cyanurates. Furthermore, bulkier branched cyanurates also decrease the thermodynamic stability of the double rosettes.

Chapter 4 describes a detailed thermodynamic study of the self-assembly of single- and double rosettes by isothermal titration microcalorimetry. ΔG° , ΔH° and $T\Delta S^\circ$ values indicate that the thermodynamics exhibited by the double rosettes reflect in some cases the independent assembly of two individual rosette structures while in other cases the assembly process is the result of the assembly of two individual rosettes reinforced by additional stabilizing interactions. Correlating the ΔG° with the solvent polarity, the formation of double rosettes in pure methanol or water is predicted. The formation of the hydrogen-bonded double rosette assemblies in pure methanol is proven by ^1H NMR and CD spectroscopy.

Chapter 5 describes the encapsulation of different anthraquinone derivatives inside of a double rosette (*endo*-receptor). The dynamic character of the double rosettes allows the internal rearrangement of the building blocks to obtain the “perfect” fit for three guest molecules. The encapsulation of the anthraquinone derivatives is very selective and sensitive to small structural changes. The selectivity exhibited by the receptor is due to small differences in steric hindrance between the guest molecules and the receptor cavity. The highest binding affinity was observed for anthraquinone derivatives that can form an intermolecular hydrogen-bonded network between the three encapsulated guest molecules.

Double rosettes can also function as *exo*-receptors. Chapter 6 describes the binding of phenol derivatives, aromatic carboxylic acids and *n*-octylgalactopyranoside to the exterior of double rosettes functionalized with ureido, amino and Gly-*L*-Ser moieties, respectively. The multivalent complementary recognition site of the receptors is used efficiently to complex multiple guests. A 1:3 binding mode was found for the complexation of the phenol derivatives DES and bisphenol-A. These guests bind ditopically to their receptor via the formation of two hydrogen bonds. Binding of the aromatic carboxylic acids in a 1:6 binding fashion, involves hydrogen bonding between the amino groups of the receptor and the carboxylic acid groups of the guests. *n*-Octylgalactopyranoside binds to a Gly-*L*-Ser functionalized double rosette probably by

formation of hydrogen bonds between the serine hydroxyl of the receptor and the hydroxyl groups of the guest. In this case, the number of guest molecules bound to the receptor is not determined unambiguously.

Most of the well-defined assemblies based exclusively on hydrogen bonding are not stable in water. But a close look to the molecular recognition processes in biological systems reveals that many bio-recognition processes occur at interfaces or at membrane surfaces between two aqueous compartments. Chapter 7 describes a novel approach to mimic bio-recognition processes by embedding of the hydrogen-bonded double rosettes in the membranes of non-ionic surfactant based vesicles (niosomes). CD spectroscopy indicates the formation of double rosettes after incorporation of the assembly components in bilayer membranes. Furthermore, niosomes containing only calix[4]arene dimelamine are able to extract barbiturates or cyanurates from the aqueous exterior allowing the formation of the hydrogen-bonded assemblies in the membranes.

Samenvatting

Zelf-assemblage is de favoriete, meest economische en betrouwbare manier om grote en complexe biologische systemen te genereren. Vanwege de hoge mate van efficiëntie waarmee de natuur niet-covalente interacties gebruikt om complexe aggregaten samen te stellen wordt zelf-assemblage vandaag de dag beschouwd als één van de meest veelbelovende manieren om synthetische functionele structuren te maken. Dit proefschrift beschrijft de assemblage van grote waterstofbrug-gebonden systemen (dubbele rozetten) en de mogelijkheid om deze te laten functioneren als receptoren. Vanwege de vorming van 36 waterstofbruggen, die drie calix[4]areen dimelamines en zes barbituraten samenbrengen, vertonen deze dubbele rozetten een hoge thermodynamische stabiliteit.

Hoofdstuk 2 geeft een overzicht van de assemblage van waterstofbrug-gebonden aggregaten die in het laatste decennium in de literatuur zijn beschreven. Het hoofdstuk beschrijft de meest representatieve voorbeelden van dit soort niet-covalente assemblages, waarbij de nadruk wordt gelegd op de waterstofbrug-gebonden motieven die de assemblages vormen en de mogelijkheid van de assemblages om gastmoleculen te complexeren.

Hoofdstuk 3 laat zien dat een groot aantal functionele groepen geïntroduceerd kunnen worden in het rozet platform, waardoor het mogelijk is om, op een eenvoudige manier, grote moleculaire diversiteit te genereren. Calix[4]areen dimelamines voorzien van alkyl-, aminoalkyl-, ureido-, pyridyl-, koolhydraat-, aminozuur- en peptidefunctionaliteiten vormen met een reeks barbituraten en cyanuraten dubbele rozetten. Deze functionele groepen hebben een sterke invloed op de stabiliteit van de dubbele rozetten in MeOH/CHCl₃ mengsels. Sterische hindering dichtbij het rozet platform, die veroorzaakt wordt door de bouwstenen, verlaagt de stabiliteit van de dubbele rozetten. In het algemeen verlagen koolhydraatgroepen in de calix[4]areen dimelamines de thermodynamische stabiliteit van de assemblages drastisch, terwijl met aminozuren stabiele assemblages worden verkregen. Voor assemblages met peptiden geldt dat de

aminozuren op de eerste positie de stabiliteit niet beïnvloeden, terwijl een aantal aminozuren op de tweede positie de stabiliteit lijken te verlagen.

De stabiliteit van de aminozuurgefunctionaliseerde dubbele rozetten in MeOH/CHCl₃ mengsels hangt sterk af van de structuur van de barbituraat of de cyanuraat bouwstenen. In alle gevallen zijn de assemblages met barbituraatderivaten minder stabiel dan de dubbele rozetten met cyanuraten. Verder verminderen volumineus vertakte cyanuraten ook de thermodynamische stabiliteit van de dubbele rozetten.

Hoofdstuk 4 beschrijft een gedetailleerde thermodynamische studie naar de zelf-assemblage van enkele en dubbele rozetten waarbij gebruik gemaakt is van isothermische titratie microcalorimetrie. ΔG° -, ΔH° - en $T\Delta S^\circ$ -waarden geven aan dat de thermodynamica voor de formatie van de dubbele rozetten in sommige gevallen beschouwd kan worden als de onafhankelijke assemblage van twee individuele rozetstructuren, terwijl in andere gevallen het assemblage proces het resultaat is van de assemblage van twee individuele rozetten versterkt met bijkomende stabiliserende interacties. Door de ΔG° -waarden te correleren met de oplosmiddelpolariteit is de formatie van waterstofbrug-gebonden dubbele rozetten in zuiver methanol voorspeld. De formatie van een waterstofbrug-gebonden dubbele rozet in zuiver methanol is vervolgens aangetoond door middel van ¹H NMR en CD spectroscopie.

Hoofdstuk 5 beschrijft het insluiten van verscheidene anthrachinonverbindingen binnen een dubbele rozet (*endo*-receptor). Het dynamische karakter van de dubbele rozetten staat een interne herschikking van de bouwstenen toe om zo de "perfecte" pasvorm voor drie gastmoleculen te verkrijgen. De insluiting van anthrachinonverbindingen is zeer selectief en gevoelig voor kleine structurele veranderingen van de anthrachinonderivaten. De sterke selectiviteit van de receptor is het gevolg van kleine verschillen in sterische hindering tussen de gastmoleculen en de receptorholte. De hoogste bindingsaffiniteit werd waargenomen voor anthrachinonverbindingen die een intermoleculair waterstofbrug-gebonden netwerk kunnen vormen tussen de drie ingesloten gastmoleculen.

Dubbele rozetten kunnen ook functioneren als *exo*-receptoren. Hoofdstuk 6 beschrijft de binding van fenolderivaten, aromatische carbonzuren en *n*-octylgalactopyranose aan de oppervlakte van dubbele rozetten die gefunctionaliseerd zijn met respectievelijk

ureido-, amino- en Gly-*L*-Ser-groepen. De multivalente complementaire herkenningsplaats van de receptoren wordt efficiënt gebruikt om meerdere gastmoleculen te binden. Een 1:3 bindingsmodus werd gevonden voor de complexatie van de fenolderivaten DES en bisfenol-A. Deze gasten binden ditopisch aan hun receptor door het vormen van twee waterstofbruggen. De binding van de aromatische carbonzuren in een 1:6 bindingswijze gaan gepaard met het vormen van waterstofbruggen tussen de aminogroepen van de receptor en de carbonzuurgroepen van de gastmoleculen. *n*-Octylgalactopyranose bindt waarschijnlijk met de Gly-*L*-Ser-gefunctionaliseerde dubbele rozet door middel van het vormen van waterstofbruggen tussen de serine-hydroxylgroep van de receptor en de hydroxylgroepen van de gast. In dit geval is het aantal gastmoleculen dat bindt met de receptor niet eenduidig vastgesteld.

De meeste goed-gedefinieerde assemblages die uitsluitend gebaseerd zijn op het vormen van waterstofbruggen zijn niet stabiel in water. Echter, een nadere beschouwing van de moleculaire herkenningsprocessen in biologische systemen laat zien dat veel biologische herkenningsprocessen zich afspelen op grensvlakken of aan membraanoppervlakken tussen twee watercompartimenten. Hoofdstuk 7 beschrijft een nieuwe benadering om biologische herkenningsprocessen na te bootsen door middel van het verankeren van de waterstofbrug-gebonden dubbele rozetten in de membranen van niet-ionische surfactantgebaseerde vesicles (niosomen). CD spectroscopie toont de vorming van dubbele rozetten aan nadat de assemblage componenten zijn geïncorporeerd in de dubbellaag membranen. Verder zijn niosomen die enkel calix[4]areen dimelamines bevatten in staat om barbituraten of cyanuraten te extraheren van de buitenliggende wateromgeving waarna de waterstofbrug-gebonden assemblages in de membranen kunnen worden gevormd.