

UNIVERZITA KARLOVA

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie



Jan Rys

Dimerní cyklamové ligandy

Dimeric cyclam ligands

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: doc. RNDr. Vojtěch Kubíček, Ph.D.

Praha, 2019

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně a uvedl veškeré použité zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 12. 12. 2018

Jan Rys

Rád bych poděkoval vedoucímu své práce doc. RNDr. Vojtěchu Kubíčkovi, Ph.D. za vstřícný a profesionální přístup. Dále bych rád poděkoval celému osazenstvu laboratoře za přátelský přístup a ochotu pomoci, kdykoli to bylo potřeba. Velké díky patří mé rodině za bezmeznou podporu a trpělivost v průběhu celého mého studia.

Abstrakt

Tato práce se zabývá dimerními cyklámovými ligandy a jejich komplexy. Ligand, Plerixafor byl připraven a charakterizován NMR spektroskopií, rentgenovou strukturní analýzou a elementární analýzou. Protonizační konstanty ligandu a konstanty stability měďnatých a zinečnatých komplexů byly stanoveny pomocí potenciometrických titrací. Bylo jednoznačně určeno 6 protonizačních konstant ligandu. Byly stanoveny konstanty stability komplexů $\log\beta$ a disociační konstanty pK_a vznikajících hydroxokomplexů. Měďnatý komplex byl charakterizován rentgenovou strukturní analýzou.

Abstract

This work is aimed at dimeric cyclam ligands and their complexes. Ligand Plerixafor was successfully prepared and characterized by NMR spectroscopy, X-ray crystallography and elemental analysis. Protonation constants of ligand and stability constants of Cu^{2+} and Zn^{2+} complexes were determined by potentiometric titration. Stability constant $\log\beta$ of multiple complexes and dissociation constants $\text{p}K$ of multiple hydroxycomplexes were obtained. Cu^{2+} complex was also characterized by X-ray crystallography.

Obsah

1. Úvod.....	7
1.1 Koordinační chemie dusíku.....	7
1.2 Dusíkaté ligandy.....	7
1.3 Cheláty a chelátový efekt.....	8
1.4 Makrocyclický efekt.....	8
1.5 Makrocykly.....	9
1.5.1 1,4,7-Triazacyklononan (TACN).....	9
1.5.2 1,4,7,10-Tetraazacyklododekan (Cyklen).....	10
1.5.3 1,4,8,11-Tetraazacyklotetradekan (Cyklam).....	10
1.6 Bicyklamy.....	11
1.7 Cíle práce.....	12
2. Experimentální část.....	13
2.1 Metody charakterizace.....	13
2.1.1 Nukleární magnetická rezonance (NMR).....	13
2.1.2 Hmotnostní spektrometrie (MS).....	13
2.1.3 Elementární analýza (EA).....	13
2.1.4 Rentgenová strukturní analýza.....	13
2.1.5 Potenciometrické titrace.....	13
2.2 Syntéza.....	15
2.2.1 Decahydro-1H,6H-3a,5a,8a,10a-tetraazapyren ^{14,15} (DTAP).....	15
2.2.2 1,4-bis(bromomethyl)benzen ¹⁷	15
2.2.3 1,4-bismethyl(DTAP)benzen ¹⁵	16
2.2.4 Plex.....	16
2.2.5 Příprava komplexů ligandu Plex.....	17
3. Diskuze.....	18
3.1 Syntéza.....	18
3.2 Rentgenová strukturní analýza.....	20
3.3 Potenciometrické titrace.....	21
3.3.1 Acidobazické vlastnosti.....	22
3.3.2 Koordinační vlastnosti.....	23
4. Závěr.....	25
5. Použitá literatura.....	26

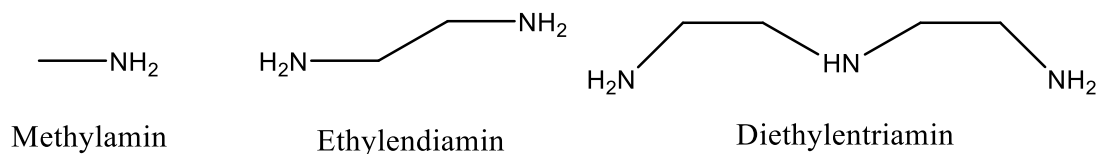
1. Úvod

1.1 Koordinační chemie dusíku

Ačkoliv koordinační sloučeniny byly známy již dávno v minulosti jako různé pigmenty a barviva, byl to právě amoniak, jehož komplexy s kobaltem vedly k vytvoření první teorie o podobě a struktuře koordinačních sloučenin, jak je známe teď. To otevřelo zcela nové brány ve výzkumu koordinační chemie, která se ukázala jako extrémně rozmanitá. Čistě v anorganické sféře to sice není s dusíkem nic zázračného, anorganických dusíkatých ligandů je totiž relativně omezené množství. Z těch nejdůležitějších je to například dusík, amoniak, hydrazin, oxidy dusíku, dusitanový a dusičnanový anion a jiné. V organické chemii jsou však možnosti mnohem větší. Rozmanitost aminů je téměř neomezená a totéž se dá říci o jejich využití v různých oblastech chemie, medicíny, nebo například restaurátorských prací.

1.2 Dusíkaté ligandy

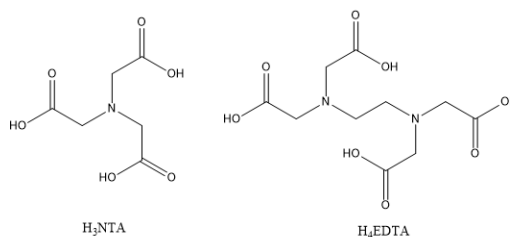
Základní látkou pro výrobu dusíkatých ligandů je amoniak, který je jednou z nejmasivněji vyráběných anorganických sloučenin na světě. Největší část vyrobeného amoniaku je využita na výrobu kyseliny dusičné a dále hnojiv. Další podstatná část výroby je využita v organické syntéze. Dusíkaté ligandy hrají velmi významnou roli v biochemii, a medicíně, například jako vazná a reakční centra metaloproteinů a účinné, nebo transportní molekuly ve farmacii. Amoniak leží na pomezí tvrdých a měkkých ligandů a velmi ochotně komplexuje většinu přechodných kovů, včetně vzácných a platinových kovů, které spadají mezi měkké kovy. Organické aminy jsou také přechodné ligandy.¹ Nejjednodušší amin je methylamin, jedná se o monodentátní ligand s velmi vysokou afinitou k iontům střední a pravé části první řady přechodných kovů. Mnohem důležitějšími ligandy jsou však bidentátní ethylendiamin (**Obrázek 1**) a další polyaminy, případně pendanty modifikované ligandy. Komplexy ethylendiaminu, vykazují řádově vyšší stabilitu.² Tato zvýšená stabilita je dána jevem známým jako chelátový efekt.



Obrázek 1 - Příklady jednoduchých aminových ligandů

1.3 Cheláty a chelátový efekt

Jako cheláty jsou označovány komplexy, které obsahují ligand s více než jedním donorovým atomem, koordinovaným ke stejnému centrálnímu atomu. Nejčastěji se jedná o uhlovodíkový řetězec s vhodně umístěnými donorovými atomy tak, aby po koordinaci vznikl pěti, nebo šestičlenný kruh, což jsou stericky nejstabilnější uspořádání. Komplexy s takovými ligandy bývají řádově stabilnější než jejich monodentátní ekvivalenty (např. methylamin a ethylendiamin). Tomuto jevu se říká chelátový efekt, který je silně ovlivněn kinetikou výměny ligandů na centrálním atomu. Chelatační činidla jsou hojně využívána v analytické chemii pro kvantitativní analýzu, nebo v medicíně pro detoxikaci organismu od těžkých kovů. Jako příklady dusíkatých chelatačních činidel lze uvést například bidentátní ethylendiamin (**Obrázek 1**), což je nejjednodušší aminové chelatační činidlo, tetradentátní H_3NTA (chelaton I) nebo H_4EDTA (chelaton II) (**Obrázek 2**) a její disodnou sůl (chelaton III), což jsou hexadentátní ligandy schopné velmi dobře komplexovat většinu iontů kovů. Stabilita chelátů se zvyšuje s dentátností a kinetická inertnost chelátových komplexů se zvyšuje se sterickou náročností ligandu a se snižující se flexibilitou skeletu ligandu. Právě snižování flexibility vyústí pro velké, uzavřené cyklické ligandy v jev, známý jako makrocyclický efekt.



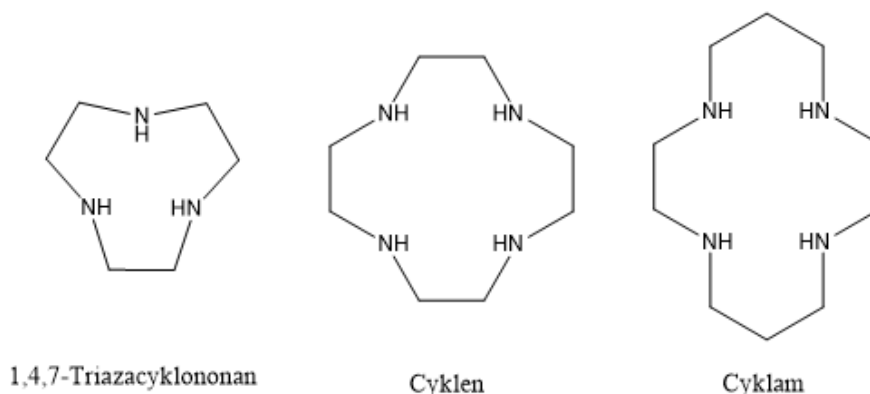
Obrázek 2 - Nejčastější chelatační činidla

1.4 Makrocyclický efekt

Podstatou makrocyclického efektu je, že nízká flexibilita a sterické bránění cyklické molekuly neumožňuje nahrazení jednoho koordinačního místa ligandu jiným ligandem na delší dobu. Pokud k tomu dojde, je takový stav nestabilní a velmi rychle dochází k obnovení stavu původního, jelikož původní donorový atom setrvává více méně ve stejné poloze. Pro rozbití makrocyclického komplexu je potřeba buď ligand s výrazně vyšší afinitou k centrálnímu atomu, nebo je potřeba nahradit všechny vazby velmi rychle a zároveň vytvořit takovou úroveň volného konkurenčního ligandu, aby se statisticky snížila pravděpodobnost, že opět dojde k vytvoření makrocyclického komplexu. Inertnost makrocyclického komplexu oproti necyklickému chelátu je opět řádově vyšší.³

1.5 Makrocykly

IUPAC definice makrocyklů zní: cyklické makromolekuly nebo cyklické části makromolekul.⁴ Tato definice toho obecně moc neřekne. Makrocyklické ligandy jsou často popisovány, jako molekuly s alespoň devíti, nebo vícečlenným uzavřeným kruhem se třemi, nebo více donorovými atomy. Nejčastější příklady takovýchto látek mohou být crown ethery a jejich dusíkaté deriváty aza-crown ethery (například 1,4,7-triazacyklononan, cyklen a cyklam), porfíny a cyklodextriny.⁵ Řada z nich se přirozeně nachází v organismech, například jako vazná centra iontů kovů v metaloproteinech (porfyrin, corrin, chlorin...). Mnoho makrocyklů nachází uplatnění jako antibiotika (makrolidy) nebo jako transportní molekuly. Obrovské uplatnění v koordinační chemii nacházejí aza-crown ethery (**Obrázek 3**), zvláště díky možnosti modifikování atomů dusíku různými řetězci a postranními molekulami a velmi vhodné stereochemii, umožňující koordinaci různých, definovaných iontů. Tyto látky se díky své modifikovatelnosti, kinetické inertnosti a odolnosti vůči redukci/oxidaci velmi hojně využívají v medicíně jako transportní molekuly radioaktivních či paramagnetických jader pro účely diagnostiky (například PET a MRI) a terapie.

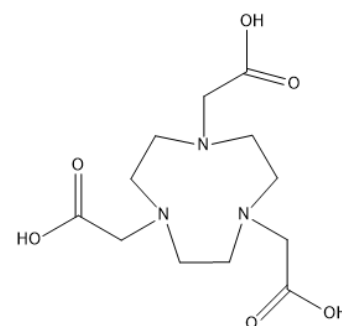


Obrázek 3 - Příklady makrocyklických ligandů - aza-crown etherů

1.5.1 1,4,7-Triazacyklononan (TACN)

Je devítičlenný kruh se třemi symetricky umístěnými atomy dusíku. Strukturně tvoří jakousi miskou, na kterou nasedá iont kovu nad rovinu dusíků. Jako ligand je vhodný pro středně velké až menší ionty kovů, preferující koordinační čísla 4–6. Jedná se o silný sigma donor, stabilizující vysoká oxidační čísla.⁶ TACN a jeho deriváty tvoří velmi inertní komplexy, často odolné i působení silných kyselin, bází nebo oxidačních činidel za vysokých teplot.⁷ Díky své výrazné selektivitě vůči malým iontům (pravá strana první řady přechodných kovů a lehkých polokovů) je vhodný jako nosič aktivních jader těchto prvků pro radiodiagnostické (PET) a radioterapeutické účely. V praxi se však používají různé deriváty tohoto ligandu, vznikající jeho

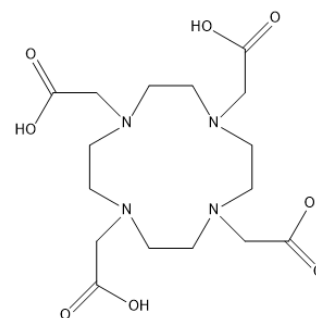
modifikací různými pendantními rameny. Tím se dá velmi dobře modulovat jak sterická selektivita, tak afinita celého ligandu k cílovému iontu. Jedním z nejpoužívanějších ligandů je jeho triacetát, H₃NOTA (**Obrázek 4**). Jedná se o hexadentátní ligand, koordinující se obvykle třemi atomy dusíku a třemi atomy kyslíku, díky čemuž je silně selektivní pro tvrdší až přechodné ionty, například pro ionty měďnaté⁸ a galité.



Obrázek 4 - Ligand H₃NOTA

1.5.2 1,4,7,10-Tetraazacyklododekan (Cyklen)

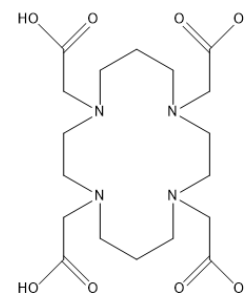
Je dvanáctičlenný symetrický kruh se čtyřmi aminovými atomy dusíku, tvořícími rovinu. Celá molekula pak opět tvoří miskovitou strukturu, na kterou nasedá iont kovu. Deriváty Cykvenu mají preferenci pro větší ionty kovů, například lanthanoidy a ionty druhé a třetí přechodné řady s preferencí koordinačního čísla 5–9. Jeho kinetické a termodynamické vlastnosti jsou podobné předchozímu. Jedním z důležitých derivátů je oktadentátní tetraacetát H₄DOTA (**Obrázek 5**), hojně využívaný pro komplexaci lanthanoidů, zvláště pak Gd³⁺. Takovéto komplexy jsou využívány především v diagnostické medicíně jako T₁ relaxační kontrastní látky pro použití v MRI.



Obrázek 5 - Ligand H₄DOTA

1.5.3 1,4,8,11-Tetraazacyklotetradekan (Cyklam)

Je čtrnáctičlenný kruh se čtyřmi aminovými atomy dusíku v rovině, na rozdíl od dvou předešlých, však cyklam netvoří primárně miskovitou strukturu, ale koordinuje se symetricky kolem centrálního atomu do čtvercově planárního komplexu. Má preferenci pro malé až střední ionty, primárně pak pro ionty kovů ze střední a pravé části první přechodné řady a pravé strany druhé přechodné řady, preferující koordinační číslo 4–6. Jeho modifikací pendanty, stejně jako v případě dvou předešlých, se dá velmi výrazně ovlivňovat specifita ligandu. Acetátovými pendanty opatřený ligand H₄TETA (**Obrázek 6**) je schopen koordinovat většinu iontů kovů přechodné skupiny i lanthanoidů. Jednou z mnoha modifikací cyklamů je jeho propojení s druhým cyklamem, pomocí spojovací molekuly, takovýmito ligandům se pak obecně říká bicyklamy.



Obrázek 6 – Ligand H₄TETA

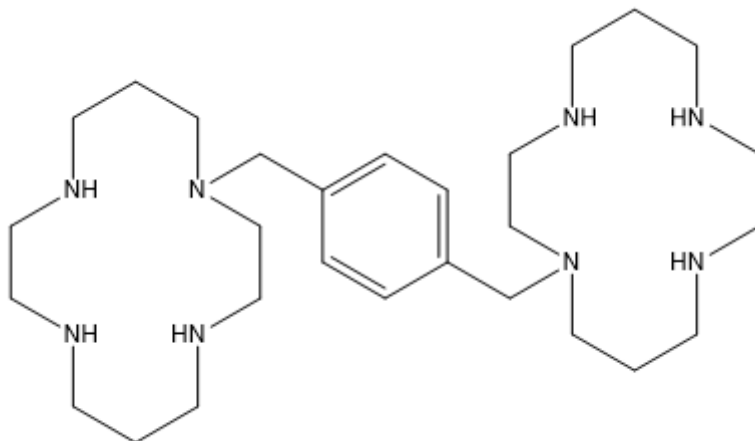
1.6 Bicyklamy

Dimerní cyklamy, nebo také bicyklamy jsou velmi bohatá skupina ligandů tvořena dvěma cyklamovými jednotkami, nebo jejich deriváty, spojenými k sobě, buď přímo, nebo přes můstek. Můstek mezi ligandy může být různý, od alifatických řetězců různé délky přes alkeny a různé konjugované lineární, či větvené molekuly, až po aromatické molekuly a heterocykly. Spousta sloučenin byla zkoumána jak teoreticky, tak experimentálně.^{9,10} Zároveň mohou být cyklamové jednotky spojené přes atomy dusíků (N-N linking) nebo přes atomy uhlíků (C-C linking). Nezávisle na typu použitého můstku je společnou vlastností většiny bicyklamů jejich schopnost vázat se na CXCR4 chemokinový receptor a tím inhibovat jeho funkci. CXCR4 je specifický receptor, reagující pouze s jedním chemokinem, CXCL12. Konkrétně tento receptor je přítomen na T-lymfocytech a na hematopoietických buňkách, což jsou kmenové buňky kostní dřeně, ze kterých vznikají červené i bílé krvinky. Nejvíce zkoumanou látkou s touto vlastností je látka AMD 3100 (Plerixafor) (**Obrázek 7**) a její zinečnaté komplexy, schopné velmi silné vazby s aminokyselinami Asp 171 a Asp 262 vazného místa výše zmíněného receptoru. V případě volného ligandu dochází k formování 3 různě silných vodíkových vazeb, ale v případě komplexu dochází ke koordinaci kovu ke karboxylovým kyslíkům.¹¹

Chemokiny jsou proteiny zodpovědné za regulaci migrace buněk. Jsou například zodpovědné za přísun imunitních buněk do místa zánětu, nebo zárodků buněk na místo, kde jsou potřeba¹². Původní záměr využití byl blokovat CXCR4 receptor T-lymfocytů, jako jednu ze vstupních bran viru HIV do buněk a tím omezit, případně zastavit množení některých kmenů viru v organismu. Dnes se však zinečnatý komplex Plerixaforu využívá jako mobilizátor kmenových buněk kostní dřeně při transplantaci. Jedním z dalších využití látek s CXCR4 inhibiční funkcí by mohlo být například blokování usazování specifických migrujících metastatických buněk. Některé druhy metastatických kmenových buněk totiž mimo jiné využívají právě CXCR4 receptor k migraci a usazení v cílové tkáni.¹¹

1.7 Cíle práce

Cílem práce bylo připravit ligand Plerixafor (**Obrázek 7**) (dále jen Plex), studovat jeho acidobazické a koordinační vlastnosti pomocí potenciometrických titrací za účelem získání disociačních konstant a konstant stability. Dále pak bylo cílem připravit ligand a komplexy v pevné fázi ve formě monokrystalu za účelem stanovení krystalové struktury.



Obrázek 7 - Ligand Plerixafor

2. Experimentální část

2.1 Metody charakterizace

2.1.1 Nukleární magnetická rezonance (NMR)

Všechna spektra byla měřena pomocí přístroje BRUKER AVANCE IIIHD 400 na PřF UK. Měření byla prováděna při teplotě 25 °C v 5mm skleněných kyvetách, ve standardních deuterovaných rozpouštědlech (D₂O, CDCl₃). Chemické posuny jednotlivých signálů byly zaokrouhleny na dvě desetinná místa v případě ¹H a na jedno desetinné místo v případě ¹³C.

2.1.2 Hmotnostní spektrometrie (MS)

Měření byla provedena na přístroji BRUKER amaZONE SL s ESI (elektrospray) ionizací a IT (iontovou pastí). Uvedené jsou pouze jednoznačně přiřaditelné signály s nejvyššími intenzitami.

2.1.3 Elementární analýza (EA)

Elementární analýza byla provedena na Ústavu organické chemie a biochemie v Praze na automatickém analyzátoru PERKIN ELMER 2400 II.

2.1.4 Rentgenová strukturní analýza

Měření byla provedena na přístroji Bruker D8 VENTURE Kappa Duo PHOTON 100 CMOS na PřF UK. 3D struktury byly zpracovány v programu Mercury.

2.1.5 Potenciometrické titrace

Potenciometrické titrace byly prováděny v termostátované cele (25±0,1 °C) pod ochrannou atmosférou vytvořenou proudem argonu, předem nasyceným vodou a při konstantní iontové síle $I(\text{NMe}_4\text{Cl}) = 0,1 \text{ M}$. Měření probíhalo v rozmezí pH přibližně 1,5-12. Pro kalibraci a titraci bylo použito vždy 5 ml roztoku, ve kterém byla koncentrace ligandu přibližně 0,0036M. Měření komplexů s ionty kovů bylo prováděno v poměru kov:ligand 2:1. Potenciál byl měřen na skleněné kombinované argentchloridové elektrodě GK 240B a pH metru PHM 240. Titrační činidlo (0,3M NMe₄OH) bylo přidáváno automatickou byretou ABU 900 s objemem 2 ml. Na každém vzorku byly standardně prováděny 3 shodné titrace, nastavené podle průběhu provedené ruční titrace. Před i po každé jednotlivé titraci je provedena kalibrační titrace na zajištění konstantních parametrů elektrody. V Případě, že se během prováděné ruční titrace zjistí pomalé ustavování potenciálu, je experiment upraven jeho převedením na takzvané out-of-cage měření (dále baničky). To spočívá v předpřipravení dvou sad skleněných baniček,

kdy v každé je 1,00 ml stanovovaného roztoku a definovaný přídavek hydroxidu. Sada vzorků se poté nechá stát dostatečně dlouhou dobu (2–7 dní). Takto předpřipravené vzorky simulují průběh klasického experimentu v rozsahu pH 1,5–8. Další data mohou být získána předpřipravením komplexu při pH 7-8 a klasickou titrací do pH 12. Naměřené hodnoty slouží jako zdrojová data programu OPIUM¹³, ve kterém byly vypočteny jak protonizační konstanty ligandu, tak konstanty stability jednotlivých komplexů. Parametry elektrody, počítané z každé kalibrační titrace jsou počítány podle následující rovnice:

$$E = E_o + S \cdot \log[H^+] + J_A \cdot [H^+] + J_B \cdot K_w/[H^+]$$

kde E_o je standardní elektrodový potenciál, S je Nernstova směrnice, J_A a J_B jsou konstanty kyselé a bazické chyby elektrody a K_w je iontový součin vody.

Z titrací byly pomocí programu OPIUM¹³ vypočteny protonizační konstanty podle rovnice:

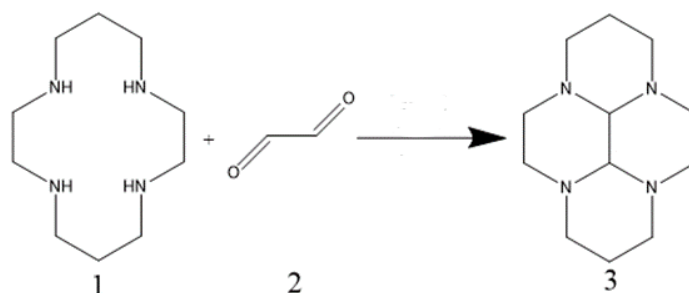
$$\beta_{hl} = [H_h L_l] / [H]_h \cdot [L]_l$$

a konstanty stability systému kov:ligand vztahem:

$$\beta_{mhl} = [M_m H_h L_l] / [M]_m \cdot [H]_h \cdot [L]_l$$

2.2 Syntéza

2.2.1 Decahydro-1H,6H-3a,5a,8a,10a-tetraazapyren^{14,15} (DTAP)

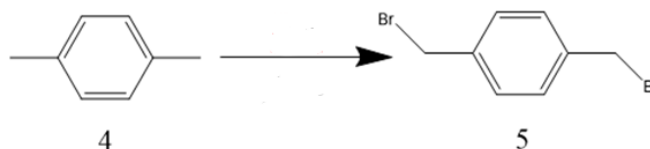


Do 250ml baňky, opatřené magnetickým míchadlem, umístěné v ledové lázni (3 °C), byly naváženy 3,0 g cyklam (1) (15 mmol), které byly následně rozpuštěny ve 120 ml MeOH. Do 25 ml baňky bylo odměřeno 10 ml MeOH a odváženo 2,4 g 40% vodného roztoku glyoxalu (2) (10% molární nadbytek). Roztok byl zahříván na teplotu 80 °C, poté byl ochlazen na 60 °C a během půl hodiny byl po kapkách přidán k roztoku cyklam. Po přidání celého objemu roztoku byla odstraněna chladicí lázeň a reakční směs byla míchána 3 hodiny za pokojové teploty. Následně byla reakční směs odpařena na RVO do sucha a odparek byl rozpuštěn ve 30 ml MeCN a nezreagovaný, nerozpustný cyklam byl odfiltrován na fritě (S3). Po odpaření byl získán nažloutlý olej, který byl vyčištěn rozpuštěním v hexanu (50 ml), následnou dekantací od tmavé usazeniny a odpařením na čirý bezbarvý olej (3).

Výtěžek 2,80 g (84,1 %)

¹H NMR, 400MHz (CDCl₃): 1,22 (dm, ³J_{H-H} = 16 Hz); 2,06-2,37 (bm); 2,74 (d, ³J_{H-H} = 4 Hz); 2,92-2,99 (bm,); 3,47-3,59 (t, ³J_{H-H} = 20 Hz), odpovídá publikovaným datům¹⁶.

2.2.2 1,4-bis(bromomethyl)benzen¹⁷



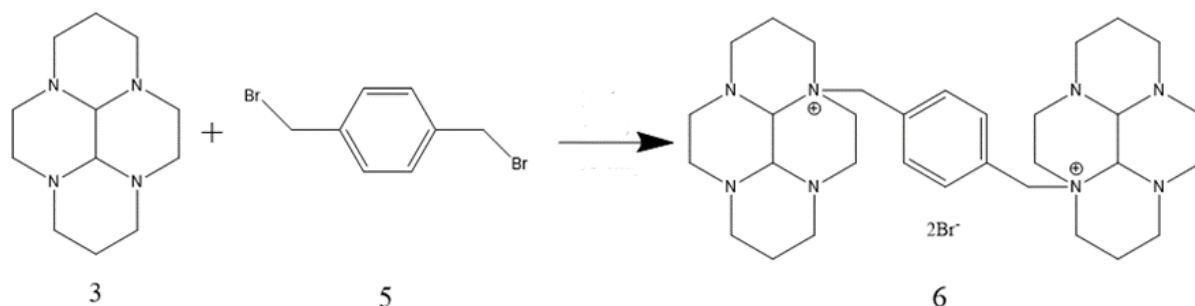
Směs 20,0 g *p*-xylynu (4) (0,19 mol), se 70,0 g NBS (0,39 mol) ve 200 ml CHCl₃ byla iniciována 1,00 g 2-butanon peroxidu a za stálého míchání 5h refluxována. Po vychladnutí bylo do směsi přidáno 200 ml CH₂Cl₂. Směs byla promyta 3 × 100 ml H₂O a sušena přidáním Na₂SO₄. Po odfiltrování sušidla a odpaření rozpouštědla byl produkt rekrystalizován ze 300 ml

směsi *n*-Hexan:EtOH (30:1). Bílý krystalický produkt (**5**) byl poté odfiltrován na fritě (S2) a vysušen prosáváním vzduchu.

Výtěžek: 8,87 g (22,5 %)

$^1\text{H NMR}$ 400 MHz (CDCl_3): 7,39 (s, CH_{ar}); 4,50 (s, CH_2Br)

2.2.3 1,4-bismethyl(DTAP)benzen¹⁵

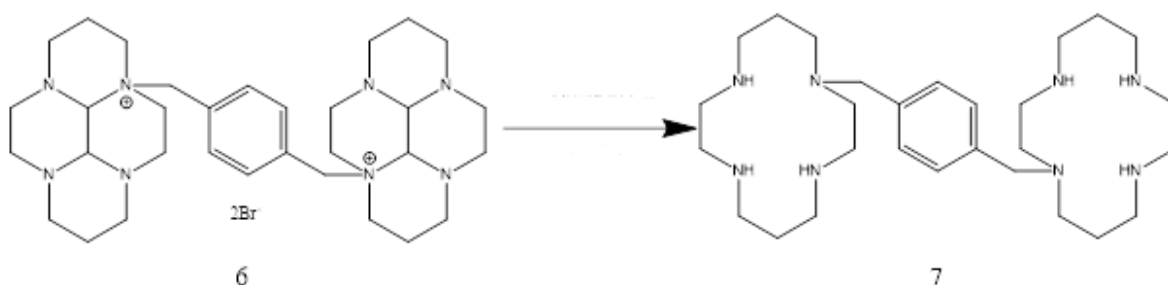


1,12 g DTAP (**3**) (5,04 mmol) bylo společně s 0,62 g (2,34 mmol) 1,4-bis(bromomethyl)benzenu (**5**) rozpuštěno v 10 ml suchého MeCN ve 20ml vialce opatřené míchadlem a uzavřené víčkem. Směs byla míchána po dobu 14 dní a vzniklá jemná, bílá sraženina (**6**) byla poté odsáta na fritě (S4), promyta 10 ml suchého MeCN a sušena prosáváním vzduchu.

Výtěžek: 0,71 g (40,8 %)

NMR: ^{13}C (D_2O): 17,7 (s); 18,0 (s); 18,3 (s); 42,0 (s); 46,3 (s); 46,6 (s); 48,3 (bm); 51,1 (s); 51,8 (s); 53,0 (s); 53,8 (s); 60,1 (s); 61,6 (s); 69,6 (s); 82,0 (bm); 128,5 (s); 134,1 (s)

2.2.4 Plex



0,498 g (0,731 mmol) produktu (**6**) z předchozí reakce bylo naváženo do 10 ml baňky a přelito 4 ml 2M roztoku hydroxylaminu (8 mmol) v bezvodém EtOH. Směs byla 3 hodiny refluxována pod chlorkalciovou trubicí. Následně byly do směsi přidány 4 ml 10% roztoku NaOH a směs byla extrahována 7×5 ml CHCl_3 v injekční stříkačce (20 ml). Organické fáze byly poté slity do 100ml baňky a odpařeny na RVO, získaná olejovitá látka byla rozpuštěna

v 10 ml EtOH. Bylo přidáno 10 ml koncentrované HCl, vzniklá tuhá kompaktní sraženina byla mechanicky rozbita a rozpouštědla odpařena na RVO. Poté byla sraženina rozpuštěna v 10 ml horké HCl (1:1), sraženina přidavkem 40 ml EtOH na jemný prášek. Po vychlazení v lednici byl finální produkt syntézy (7) odfiltrována na fritě S3, sušen prosáváním vzduchu.

Výtěžek: 0,599 g (89 %)

NMR: ^1H (D_2O): 2,07-2,17 (bm, NH-CH₂-CH₂-NH); 3,30-3,38 (bm, NH-CH₂-CH₂-CH₂-NH); 3,52-3,63 (bm, NH-CH₂-CH₂-NH); 4,43 (s, N-CH₂-ben); 7,59 (s, CH_{ar})

MS: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 503$; $[\text{M}+2\text{H}+\text{Cl}]^+ = 539$, $[\text{M}+\text{H}+2\text{Cl}]^- = 573$

EA: vypočtené procentuální zastoupení (C: 36,51; H: 8,32; N: 12,17; Cl: 30,82); naměřené procentuální zastoupení (C: 36,95; H: 7,91; N: 12,00; Cl: 30,26).

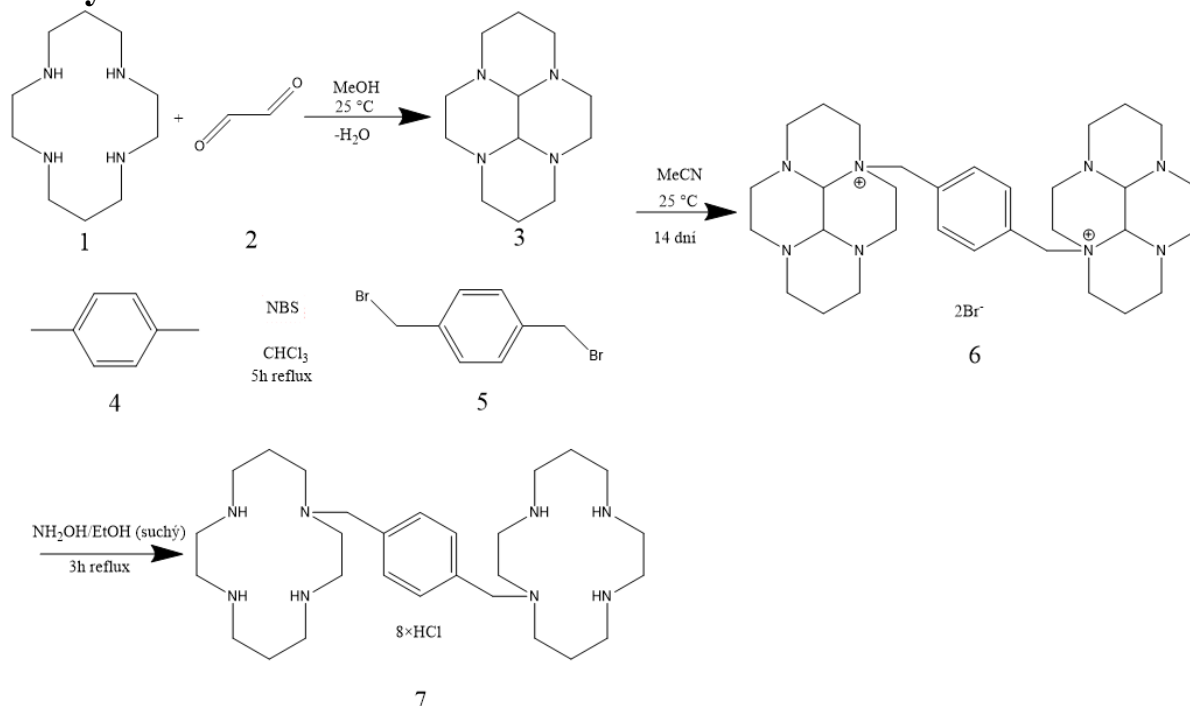
Zjištěnému zastoupení odpovídá vzorec $\text{C}_{28}\text{H}_{54}\text{N}_8 \times 8\text{HCl} \times 7\text{H}_2\text{O}$

2.2.5 Příprava komplexů ligandu Plex

Měďnatý, zinečnatý, nikelnatý a kobaltnatý komplex ligandu (7) získaného v předchozím kroku byly připraveny za stálého míchání, během měření pH elektrodou z 1 ml vodného roztoku ligandu ($12,5 \text{ mmol/dm}^3$) jeho neutralizací na pH 6–7 roztokem LiOH ($0,5 \text{ mol/dm}^3$) a následným přidáním 0,5 ml (50 mmol/dm^3) roztoku chloridu daného kovu. Po přidání chloridu začalo pH roztoku klesat a po ustálení byl roztok opět zneutralizován na pH 7.

3. Diskuze

3.1 Syntéza



Obrázek 8 - reakční schéma

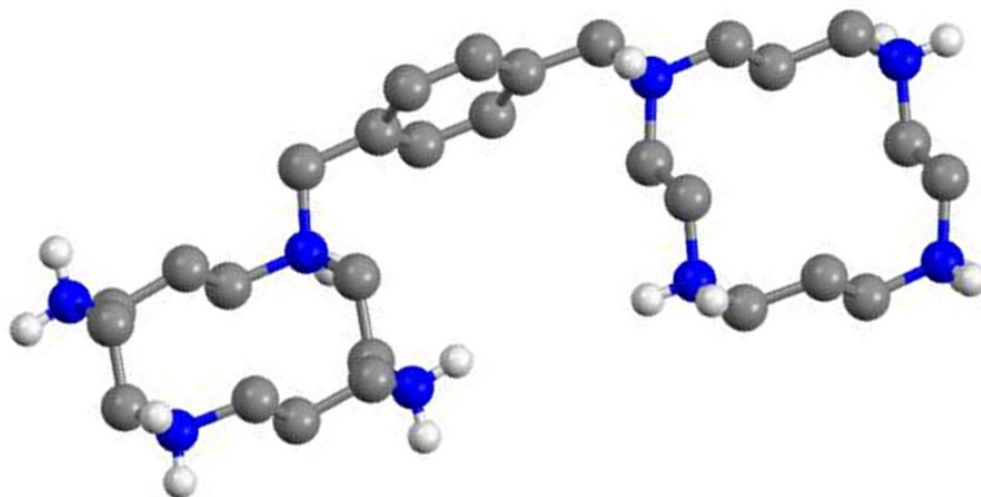
Pro syntézu ligandu Plex (4) bylo použito třikrokové reakční schéma (Obrázek 8) bez nutnosti čištění jednotlivých produktů. Charakterizace meziproductů byla prováděna pouze pomocí NMR, finální produkt byl plně charakterizován. V Prvním kroku byl zaveden glyoxalový můstek do cyklam (1), reakcí cyklam s glyoxalem v methanolu.^{14,15} Produktem reakce je nažloutlá olejovitá látka, kterou není při bezprostředním použití potřeba čistit, způsob čištění žádná použitá literatura neuvádí. Pro delší skladování je vhodné tuto látku přechistit rozpuštěním v hexanu, přičemž se vyloučí hnědé, mazlavé nečistoty. Po zdekantování a odpaření roztoku hexanu byl získán bezbarvý hustý olej, na vzduchu dlouhodobě stabilní. Dalším krokem byla příprava linkeru (2), bromací *p*-xylenu pomocí *N*-bromosukcinimidu.¹⁷ Výsledný produkt, meziproducty i vedlejší produkty reakce jsou silně oči a kůži dráždicí, těkavé látky, je tedy třeba zvýšené opatrnosti. Navíc se zbytek reakční směs velmi obtížně neutralizuje. Ideální je roztok amoniaku v EtOH. Produktem reakce je bílá krystalická látka, vykazující známky pomalého rozkladu na světle. Nízký výtěžek reakce (22,5 %) je způsoben jednak nekvalitními reaktanty, dále pak velkým množstvím produktu, který zůstal rozpuštěn v matečném roztoku, z něhož nebyl pro obtížnou manipulaci s roztoky dále izolován.

V dalším kroku reakce byly látky 1 a 2 smíchány v poměru 2:1, rozpuštěny v suchém MeCN a ponechány míchat. V řádu hodin se z roztoku začne vylučovat meziproduct reakce

v poměru 1:1. Delším mícháním se postupně rozpouští a vylučuje se cílený produkt **(3)** ve formě bílé, jemné sraženiny. Literatura¹⁵ uvádí výtěžek až 98 %, tento výtěžek však předpokládá použití perfektně čistých reaktantů a perfektně suchého rozpouštědla. Při opakování syntézního kroku se získané výtěžky pohybovaly v rozmezí 40–80 %, přičemž v popisu syntézy **(kapitola 2.3)** jsou uvedeny údaje pro poslední pokus, jenž byl proveden s největším množstvím reaktantů. Posledním krokem **(4)** celé syntézy bylo odstranění glyoxalových můstků z cyklamů. Původně byla zkoušena reakce s hydroxidem sodným, ta však vedla k úplnému a rozložení produktu. Následně byla tedy použita metoda štěpení hydroxylaminem v bezvodém EtOH. Po přidání 10% vodného roztoku NaOH byl produkt ze směsi extrahován chloroformem. Organická frakce byla poté odpařena a produkt rozpuštěn v EtOH a sražen koncentrovanou HCl. Vzniklá kompaktní sraženina byla mechanicky rozbita a odpařena do sucha. Následně byl produkt rozpuštěn v minimálním množství HCl:H₂O (1:1) a sražen přídatkem EtOH na jemnou snadno filtrovatelnou sraženinu. Z ligandu se sice podařilo připravit roztoky Cu²⁺, Zn²⁺, Ni²⁺ a Co²⁺ komplexů, avšak kobaltnatý komplex podléhá velmi rychlé oxidaci na komplex kobaltitý, který je však již stabilní.

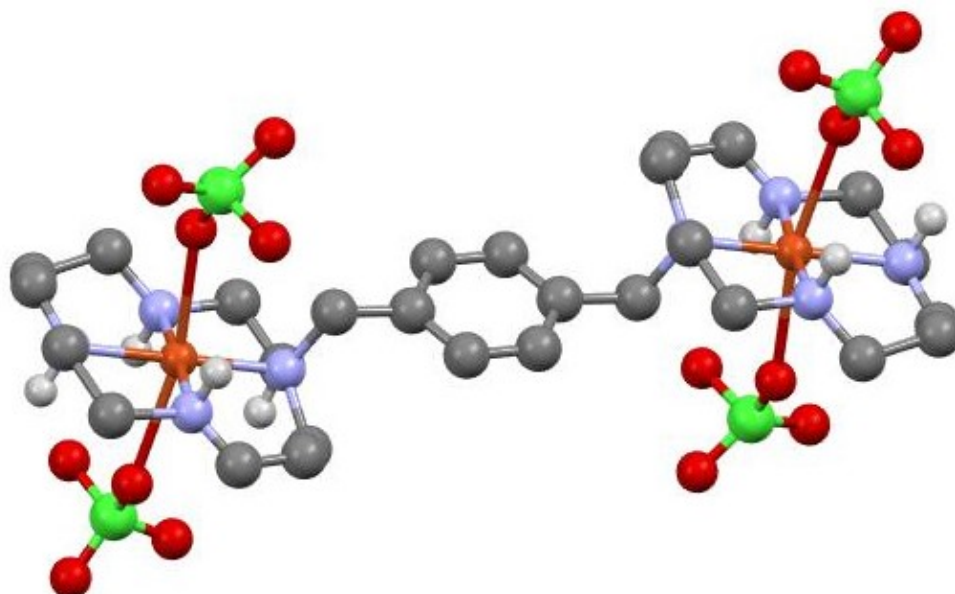
3.2 Rentgenová strukturní analýza

Ligand Plex byl pro měření krystalizován difuzí EtOH do roztoku ligandu (10 mg) v 1% HCl (0,7 ml). Ze získaných krystalů se podařilo naměřit strukturu ligandu (**Obrázek 9**), která odpovídá plně protonizované ($8H^+$) formě.



Obrázek 9 - Ligand Plex

Komplex $[Cu_2Plex]$ byl vysrážen přidavkem ClO_4^- . Krystal byl připraven difuzí Et_2O do roztoku komplexu v EtOH. Toto uspořádání není vzhledem ke kvalitě vzniklých krystalů ideální. Z jiné směsi rozpouštědel se však nepodařilo získat krystaly žádné. Ze získaných krystalů se podařilo stanovit strukturu (**Obrázek 10**). V měřeném komplexu $[Cu_2Plex]$ je měď koordinována čtvercově planárně k aminovým dusíkům cyklamu, s dvěma chloristanovými anionty slabě vázanými v axiálních polohách. Naměřené parametry krystalů Plex i Cu_2Plex jsou uvedeny v **Tabulce 1**.



Obrázek 10 - Komplex $[Cu_2Plex]$

Tabulka 1: Data získaná Rentgenovou strukturní analýzou

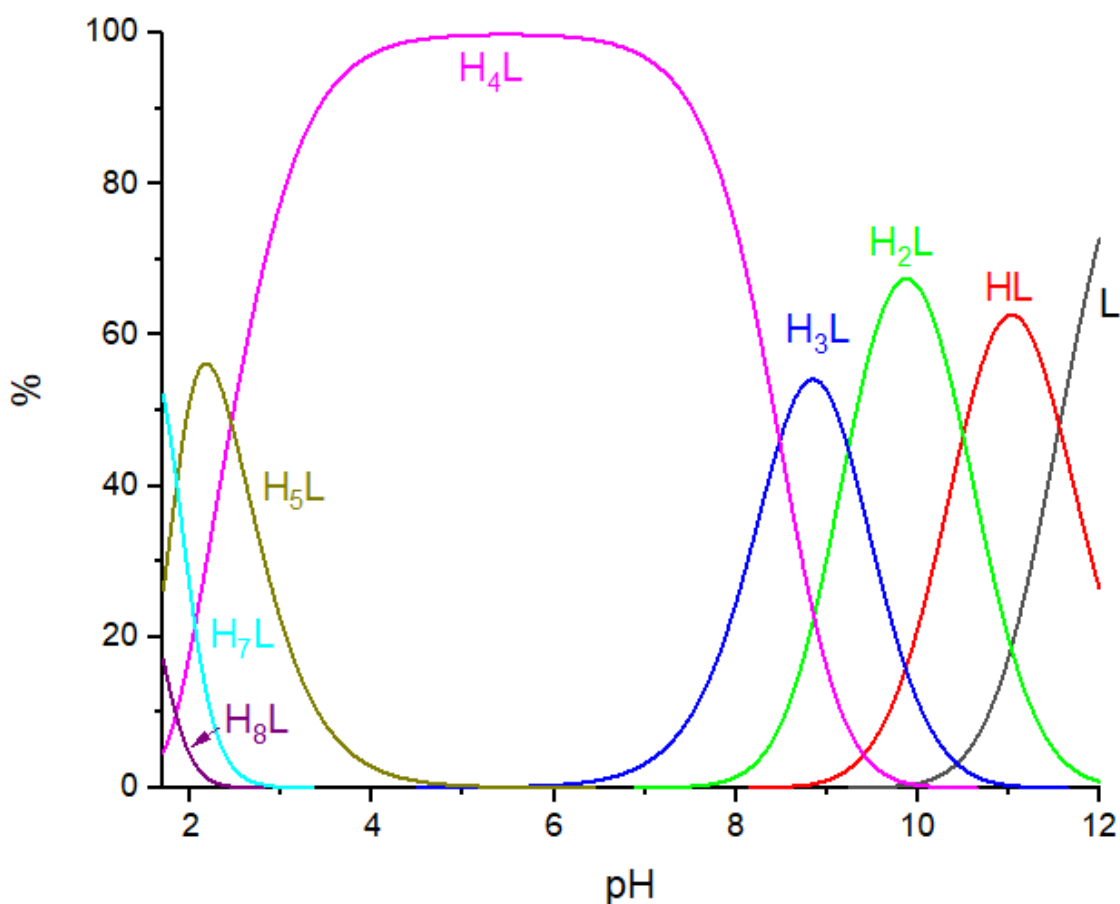
Název sloučeniny	Plex	Cu ₂ Plex
Vzorec	C ₂₈ H _{79,5} C ₈ N ₈ O _{8,25}	C ₂₈ H ₅₄ Cl ₄ Cu ₂ N ₈ O ₁₆
M_r	944,09	1027,67
Barva	Bezbarvý	Fialová
Tvar	Destička	Destička
Krystalová soustava	Trojklonná	Trojklonná
Prostorová grupa	C _i	C _i
a [Å]	10,4645	8,6632
b [Å]	12,6541	15,6848
c [Å]	9,6708	18,6097
α [°]	79,2130	70,569
β [°]	84,349	80,500
γ [°]	73,7180	84,520
V [Å ³]	2453,21	2349,73
Z	2	2
Počet difrakcí	9207	8098
Intenz. difrakcí		
[I>2 σ (I)]	8250	4546
R	0,0862	0,2612
R' [I>2 σ (I)]	0,0808	0,2110
wR	0,2324	0,5453
wR' [I>2 σ (I)]	0,2286	0,5272
Teplota [K]	120	120

3.3 Potenciometrické titrace

Pomocí potenciometrických titrací byly stanoveny disociační konstanty ligandu Plex a disociační konstanty a konstanty stability měďnatého a zinečnatého komplexu v poměru 2:1 (kov:ligand).

3.3.1 Acidobazické vlastnosti

Potenciometrickou titrací se podařilo určit všech 8 protonizačních konstant ligandu H_8Plex , ačkoliv konstanta 6 a 7 se překrývají a byly ve výsledcích uvedeny jako součet. Distribuční diagram (**Obrázek 11**) znázorňuje, že na začátku titrace byly v roztoku přítomny 4 částie (H_8L , H_7L , H_5L a H_4L). Od pH 3 do pH 8 je majoritní částicí H_4L , přičemž její zastoupení mezi pH 5–6 je téměř 100 %. Při přechodu do bazické oblasti začíná H_4L pomalu ubývat a začínají se tvořit $H_{3-1}L$, přičemž maxim dosahují ve stejných rozestupech ($\Delta pH = 1$). Kolem pH = 11,5 začíná v systému převládat plně deprotonizovaný ligand L.



Obrázek 11 - Distribuční diagram ligandu Plex
 $I(NMe_4Cl) = 0,1 \text{ M}$, $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$

V **Tabulce 2** jsou uvedeny konstanty $\log\beta$ včetně chyb výpočtu tak, jak je vypočetl program OPIUM¹³, pK_a uvedena v **Tabulce 3** jsou hodnoty získané odečtením jedné hodnoty od hodnoty následující.

Tabulka 2: Celkové protonizační konstanty $\log\beta$; $I(\text{NMe}_4\text{Cl}) = 0,1 \text{ M}$, $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$

	$\log\beta$
$\text{H} + \text{L} \leftrightarrow [\text{HL}]$	$11,561 \pm 0,006$
$2\text{H} + \text{L} \leftrightarrow [\text{H}_2\text{L}]$	$22,062 \pm 0,006$
$3\text{H} + \text{L} \leftrightarrow [\text{H}_3\text{L}]$	$31,301 \pm 0,009$
$4\text{H} + \text{L} \leftrightarrow [\text{H}_4\text{L}]$	$39,784 \pm 0,009$
$5\text{H} + \text{L} \leftrightarrow [\text{H}_5\text{L}]$	$42,23 \pm 0,01$
$6\text{H} + \text{L} \leftrightarrow [\text{H}_6\text{L}]$	$45,93 \pm 0,014$
$7\text{H} + \text{L} \leftrightarrow [\text{H}_7\text{L}]$	
$8\text{H} + \text{L} \leftrightarrow [\text{H}_8\text{L}]$	$47,14 \pm 0,03$

V **Tabulce 3** jsou uvedeny vypočtené hodnoty $\text{p}K_a$ ligandu Plex a jejich porovnání s odpovídajícími konstantami cyklamu. Vzhledem k tomu, že ligand Plex je tvořen dvěma cyklamy, odpovídají jeho dvě konstanty vždy jedné konstantě cyklamu. První dvojice konstant je velmi podobná volnému cyklamu, druhá dvojice je proti cyklamu posunuta na mírně nižší hodnoty. Vztah třetí a čtvrté dvojice konstant k odpovídajícím konstantám cyklamu není jednoduše určitelný, jednak kvůli chybě zatěžující poslední konstantu, dále pak kvůli nerozlišitelnosti dalších dvou konstant.

Tabulka 3: Disociační konstanty ($\text{p}K_a$) ligandu Plex; $I(\text{NMe}_4\text{Cl}) = 0,1 \text{ M}$, $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$

	Plex $\text{p}K_a$	Cyklam $\text{p}K_a$
$\text{H} + \text{L} \leftrightarrow [\text{HL}]$	11,56	11,4
$\text{H} + \text{HL} \leftrightarrow [\text{H}_2\text{L}]$	10,50	
$\text{H} + \text{H}_2\text{L} \leftrightarrow [\text{H}_3\text{L}]$	9,24	10,28
$\text{H} + \text{H}_3\text{L} \leftrightarrow [\text{H}_4\text{L}]$	8,84	
$\text{H} + \text{H}_4\text{L} \leftrightarrow [\text{H}_5\text{L}]$	2,45	1,6
$\text{H} + \text{H}_5\text{L} \leftrightarrow [\text{H}_6\text{L}]$	1,85	
$\text{H} + \text{H}_6\text{L} \leftrightarrow [\text{H}_7\text{L}]$	1,85	2,1
$\text{H} + \text{H}_7\text{L} \leftrightarrow [\text{H}_8\text{L}]$	1,21	

3.3.2 Koordinační vlastnosti

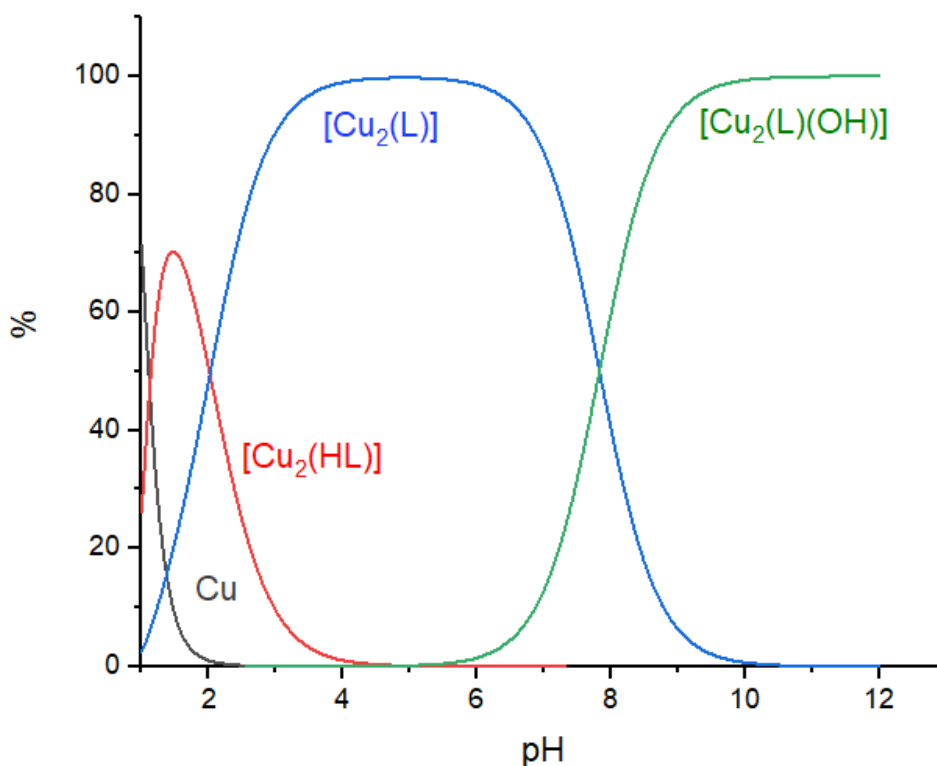
Koordinační vlastnosti ligandu plex byly zkoumány v poměru kov:ligand 2:1 (Cu^{2+} a Zn^{2+}). Konstanty stability ($\log\beta$) komplexů a disociační konstanty ($\text{p}K_a$) hydroxokomplexů obou systému (Zn^{2+} , Cu^{2+}) jsou uvedeny v **Tabulce 4**.

Tabulka 4: Konstanty stability komplexu plex s Cu^{2+} a Zn^{2+} ; $I(\text{NMe}_4\text{Cl}) = 0,1 \text{ M}$, $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$

	$\log\beta$				pK_a	
	$[\text{M}(\text{H}_2\text{L})]$	$[\text{M}_2(\text{L})]$	$[\text{M}_2(\text{HL})]$	$[\text{M}_2(\text{L})(\text{OH})]$	$[\text{M}_2(\text{L})(\text{OH})_2]$	$[\text{M}_2(\text{L})(\text{OH})_3]$
$\text{Zn}^{2+}\text{Plex}$	25,10	32,90	-	8,66	9,32	11,82
$\text{Cu}^{2+}\text{Plex}$	-	42,39	44,41	7,83	-	-

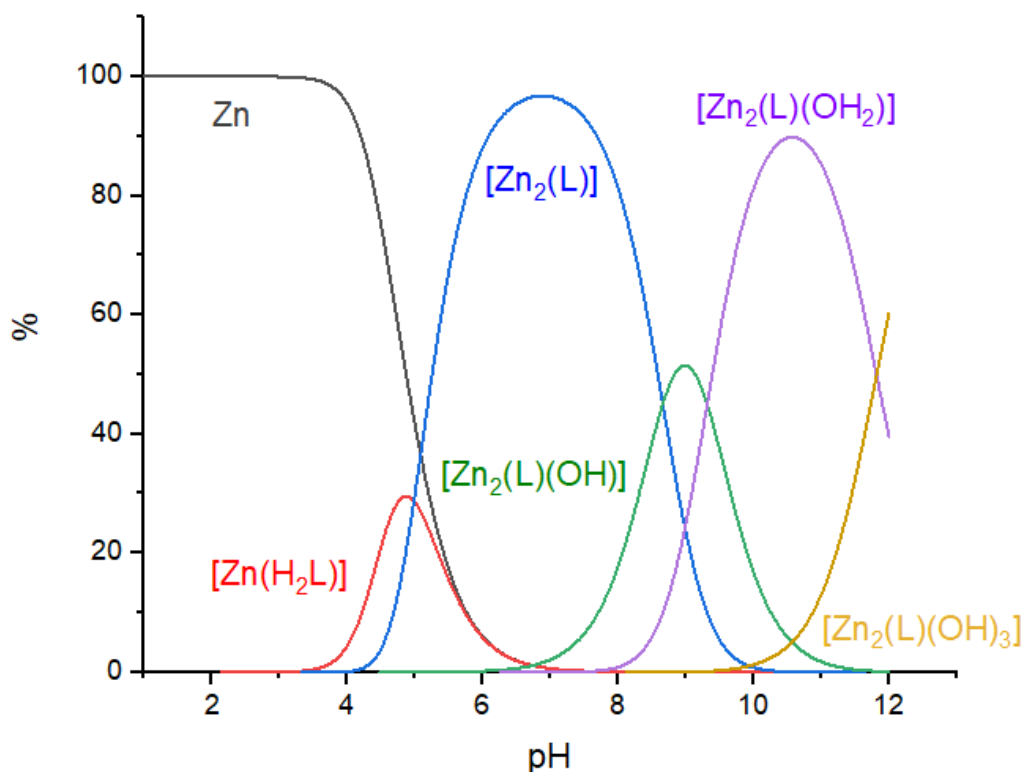
Pro srovnání konstant stability s hodnotami odpovídajících komplexů cyklamu ($\log\beta \text{CuL} = 28,1$; $\log\beta \text{ZnL} = 15,2$) je potřeba hodnoty $\log\beta$ v tabulce vydělit dvěma. V případě hydroxykomplexu cyklamu se zinkem je $pK_a = 9,77$. Z Výsledků je patrné, že v případě komplexu měďnatého je stabilita v důsledku zavedení aromatického linkeru výrazně menší než u cyklamu. Výsledky pro zinečnatý komplex sice vypovídají naopak o vyšší stabilitě.

Jak je z tabulky 4 vidět, jsou komplexy měďnatých iontů výrazně stabilnější, než komplexy iontů zinečnatých. Měďnatý komplex $[\text{Cu}_2\text{Plex}]$ vykazuje výrazně nižší stabilitu, než komplex cyklamu. Zastoupení jednotlivých částic v systému $\text{Plex}:\text{Cu}^{2+}$ je ukázáno v obrázku 12. Z Grafu je patrná úplná komplexace ligandu již při $\text{pH} = 3$. Při nižším pH vzniká jednou protonizovaný komplex $[\text{Cu}_2(\text{HL})]$. Zhruba v rozmezí $\text{pH} = 4\text{--}6$ je ligand plně zakomplexován jako $[\text{Cu}_2(\text{L})]$ Při vyšším pH pak vzniká monohydroxo komplex $[\text{Cu}_2(\text{L})(\text{OH})]$.



Obrázek 12 - Distribuční diagram pro komplex $[\text{Cu}_2\text{Plex}]$
 $I(\text{NMe}_4\text{Cl}) = 0,1 \text{ M}$, $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$

Zastoupení jednotlivých částic v systému Plex:Zn²⁺ je znázorněno v obrázku 13. Ke komplexaci v tomto případě začíná docházet až kolem pH = 3,5, kde vzniká dvakrát protonizovaný komplex v poměru ligand:kov 1:1. Kolem pH = 4 začíná vznikat deprotonizovaný komplex [Zn₂(L)] s maximem kolem pH = 6,5. Poté postupně vzniká hydroxo [Zn₂(L)(OH)] (od pH = 7), dihydroxo [Zn₂(L)(OH)₂] (od pH = 8) a trihydroxo [Zn₂(L)(OH)₃] komplex (od pH = 10).



Obrázek 13 - Distribuční diagram pro komplex [Zn₂Plex]
I(NMe₄Cl) = 0,1 M, t = 25 °C

4. Závěr

Byl připraven ligand Plex (1,4-bis((1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan-1-yl)methyl)benzen) a jeho měďnatý a zinečnatý komplex. Byly stanoveny protonizační konstanty obou makrocyclů ligandu Plex, které jsou velice podobné konstantám cyklamu. Dále byly stanoveny konstanty stability komplexů [Cu₂Plex] a [Zn₂Plex]. Měďnatý komplex ligandu Plex je podle očekávání o několik řádů stabilnější než komplex zinečnatý, jeho stabilita oproti měďnatému komplexu cyklamu je však nižší. Zinečnatý komplex ligandu Plex naopak vykazuje mírně vyšší stabilitu oproti zinečnatému komplexu cyklamu. Dále se podařilo stanovit protonizační konstanty několika různých hydroxokomplexů. U ligandu Plex a jeho měďnatého komplexu Cu₂[Plex] se podařilo naměřit krystalovou strukturu.

5. Použitá literatura

- 1 R. G. Pearson, *J. Am. Chem. Soc.*, 1963, **85**, 3533–3539.
- 2 N. N. Greenwood and A. Earnshaw, *Chemistry of the Elements*, Butterworth-Heinemann, 2nd ed., 1997.
- 3 D. W. Cabbiness, D. K. Margerum, *J. Am. Chem. Soc.*, 1969, **91(23)**, 6540–6541.
- 4 R. G. Jones, J. Kahovec, R. Stepto, E. S. Wilks, M. Hess, T. Kitayama and W. V. Metanomski, *Compendium of Polymer Terminology and Nomenclature*, 2008.
- 5 J. F. Stoddart, Z. Liu and S. R. M. Nalluri, *Chem. Soc. Rev.*, 2017, **46**, 2367–2650.
- 6 A. Thangavel, M. Wieliczko, J. Bacsá and C. C. Scarborough, *Inorg. Chem.*, 2013, 13282–13287.
- 7 P. Chaudhuri and K. Wieghardt, *Prog. Inorg. Chem.*, 1987, 35, 329–428.
- 8 V. Kubíček, Z. Böhmová, R. Ševčíková, J. Vaněk, P. Lubal, Z. Poláková, R. Michalicová, J. Kotek and P. Hermann, *Inorg. Chem.*, 2018, **57**, 3061–3072.
- 9 M. A. Khan, S. A. Khan and P. P. Singh, *Int. J. ChemTech Res.*, 2010, **2**, 996–1009.
- 10 R. K. Singh and M. A. Khan, *Int. J. Quantum Chem.*, 2011, **111**, 4174–4185.
- 11 J. C. Timmons and T. J. Hubin, *Coord. Chem. Rev.*, 2010, **254**, 1661–1685.
- 12 E. J. Fernandez and E. Lolis, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2002, **42**, 469–99.
- 13 M. Kývala, P. Lubal and I. Lukeš, *Spanish-Italian, Mediterr. Congr. Thermodyn. Met. Complexes (SIMEC 98)*.
- 14 J. Plutnar, J. Havlíčková, J. Kotek, P. Hermann and I. Lukeš, *New J. Chem.*, 2008, **32**, 496–504.
- 15 M. Le Baccon, F. Chuburu, L. Toupet, H. Handel, M. Soibinet, I. Déchamps-Olivier, J. P. Barbier and M. Aplincourt, *New J. Chem.*, 2001, **25**, 1168–1174.
- 16 G. R. Weisman and C. H. H. Suzzy, *Tetrahedron Lett.*, 1980, **21**, 335–338.
- 17 X. Tan, P. Wang, S. Nian and G. Wang, *Chem. Pharm. Bull.*, 2014, **62**, 112–117.