

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Chemie v přírodních vědách



Luděk Míka

Design a syntéza selektivních chelatantů dvojmocného manganu

Design and Synthesis of Selective Manganese(II) Chelators

Bakalářská práce

Školitel: Doc. RNDr. Jan Kotek, Ph.D.

Praha, 2011

Prohlášení:

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

V Praze, červen 2011

Poděkování

Na tomto místě bych chtěl poděkovat svému školiteli Honzovi Kotkovi, který mne přivedl k této zajímavé práci, byl ochoten poradit s jakýmkoli problémem, který se objevil a v jakoukoli denní dobu odpovídal na otázky všetečné, důležité i ty evidentně hloupé. Chtěl bych mu poděkovat za zpracování Röntgenových struktur a v neposlední řadě za několikanásobné přečtení této práce a opravení chyb.

Můj obdiv a velké díky patří také rodičům, kteří mne podporovali nejen ve studiu a bez jejichž pomoci bych nebyl schopen se věnovat chemii v takové míře, jako to dělám.

Děkuji též:

Velké vědě Chemii za to, že vše funguje tak jak má a že je pořád co zkoumat.

Doktorce Ivaně Císařové za změření Röntgenových struktur těch potvůrek molekul.

Zuzce, Terce, Sandrovi a Plutovi za měření spekter a zasvěcení do tajů NMR.

Honzovi B. a panu Mírovi za to, že se pokaždé nechali přesvědčit o důležitosti dalšího měření hmotnostních spekter.

Všem v „malém“ a „velkém“ labu za utvrzení, že chemici nejsou jen suchaři v bílých pláštích.

A také všem, které jsem zapomněl zmínit, ač byli důležití při mém snažení. Nechť mi to odpustí...

Projekt byl financován z grantu GAČR P207/11/1437.

Název: Design a syntéza selektivních chelatanů dvojmocného manganu

Řešitel: Luděk Míka

Ústav: Katedra anorganické chemie, Přírodovědecká fakulta

Školitel: doc. RNDr. Jan Kotek, Ph.D.

E-mail školitele: modrej@natur.cuni.cz

Abstrakt: Cílem této bakalářské práce byla příprava nových makrobicyklických ligandů odvozených od ethylenem přemostěného cyklamu, potenciálně vhodných pro komplexaci Mn^{2+} . U těchto komplexů se předpokládá jejich použití jako kontrastní látky v tomografii magnetickou rezonancí. Bylo nasyntetizováno celkem 3 ligandy. U syntetizovaných ligandů byla studována jejich schopnost komplexovat manganatý ion ve vodném a nevodném prostředí pomocí hmotnostní spektrometrie. Dále byly pomocí cyklické voltametrie studovány elektrochemické vlastnosti komplexů Mn^{2+} s běžnými chelatujícími ligandy a jedním nasyntetizovaným ligandem.

Klíčová slova: cross-bridged cyklam, fosfonát, fosfinát, pendantní skupina, mangan

Title: Design and synthesis of selective manganese(II) chelators

Autor: Luděk Míka

Department: Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Science

Supervisor: doc. RNDr. Jan Kotek, Ph.D.

Supervisor's e-mail address: modrej@natur.cuni.cz

Abstract: The aim of this project is to synthesize new kind of macrobicyclic ligands derived from cross-bridged cyclam for complexation of Mn^{2+} ions. These complexes may be potentially used as contrast agents in magnetic resonance imaging. Three macrobicyclic ligand with various pendant arms were synthesized. The ability to complex manganese(II) ions were studied by Mass Spectroscopy. Electrochemical properties of manganese(II) complexes with general chelating agents and one synthesized ligand were studied using cyclic voltammetry.

Keywords: cross-bridged cyclam, phosphonate, phosphinate, pendant arms, manganese

Obsah

1	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	8
2	OBECNÝ ÚVOD.....	10
3	TEORETICKÁ ČÁST	12
	NUKLEÁRNÍ MAGNETICKÁ REZONANCE (NMR).....	12
	RELAXACE.....	14
	RELAXACE V PŘÍTOMNOSTI PARAMAGNETIK	14
	MAGNETICKÁ REZONANČNÍ TOMOGRAFIE.....	16
	<i>Kontrastní látky.....</i>	<i>17</i>
	<i>Metoda Manganese-Enhanced MRI.....</i>	<i>19</i>
4	MOTIVACE A CÍLE PRÁCE.....	21
5	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	22
	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....	22
	METODY CHARAKTERIZACE.....	22
	<i>Hmotnostní spektrometrie (MS).....</i>	<i>22</i>
	<i>NMR spektroskopie</i>	<i>22</i>
	<i>Tenkoustvá chromatografie (TLC).....</i>	<i>23</i>
	<i>Röntgenostrukturní analýza.....</i>	<i>23</i>
	<i>Cyklická voltametrie (CV).....</i>	<i>23</i>
	<i>Stanovení teploty tání.....</i>	<i>23</i>
	SYNTEICKÁ ČÁST.....	24
	<i>Perhydro-3a,5a,8a,10a-tetraazapyren (2)</i>	<i>25</i>
	<i>Perhydro-3a,8a-dimethyl-3a,5a,8a,10a-tetraazapyrenium-jodid (3).....</i>	<i>26</i>
	<i>4,11-dimethyl-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (4).....</i>	<i>27</i>
	<i>Perhydro-3a,8a-bis(benzyl)-3a,5a,8a,10a-tetraazapyrenium-bromid (5).....</i>	<i>28</i>
	<i>4,11-dibenzyl-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (6).....</i>	<i>29</i>
	<i>1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (7).....</i>	<i>30</i>
	<i>4,11-bis(acetyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (8).....</i>	<i>32</i>
	<i>4,11-bis(karboxymethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (9).....</i>	<i>33</i>
	<i>4,11-bis(hydroxyfosfinoylmethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (10).....</i>	<i>34</i>
	<i>4,11-bis(diethoxyfosfonoylmethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (11).....</i>	<i>35</i>
	<i>4,11-bis(dihydroxyfosfonoylmethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (12)</i>	<i>36</i>

<i>Chlorid bis(pyridin)manganatý (13)</i>	37
KOMPLEXACE LIGANDŮ	37
<i>Komplexace ligandů ve vodném prostředí</i>	37
<i>Komplexace ligandů v nevodném prostředí</i>	39
MĚŘENÍ CYKLICKÉ VOLTAMETRIE	40
6 VÝSLEDKY A DISKUZE	41
SYNTÉZA 1,4,8,11-TETRAAZABICYKLO[6.6.2]HEXADEKANU (7)	41
SYNTÉZA LIGANDŮ ODVOZENÝCH OD 1,4,8,11-TETRAAZABICYKLO[6.6.2] HEXADEKANU A JEJICH KOMPLEXACE S Mn^{2+} IONTY	43
<i>4,11-dimethyl-1,4,8,11-tetraaza[6.6.2]hexadekan (4)</i>	43
<i>4,11-bis(karboxymethyl)-1,4,8,11-tetraaza[6.6.2]hexadekan (9)</i>	45
<i>4,11-bis(hydroxyfosfonomethyl)-1,4,8,11-tetraaza[6.6.2]hexadekan (10)</i>	46
<i>4,11-bis(dihydroxyfosfonomethyl)-1,4,8,11-tetraaza[6.6.2]hexadekan (12)</i>	47
CYKLICKÁ VOLTAMETRIE MANGANATÝCH KOMPLEXŮ	48
7 ZÁVĚR	50
8 LITERATURA	51
9 PŘÍLOHY	53

1 Seznam použitých zkratek

AcOH	kyselina octová
Bn	benzyl
BnBr	benzylbromid
CA	kontrastní látka (Contrast Agent)
CDTA	cyklohexandiamintetraoctová kyselina (chelaton 4)
CT	počítačová tomografie (Computed Tomography)
CV	cyklická voltametrie (Cyclic Voltammetry)
DMF	dimethylformamid
DOTA	tetraazadodekantetrakarboxylová kyselina
DTPA	diethylentriaminpentaoctová kyselina
EBC	1,8-ethylenem přemostěný cyklam (cross-bridged cyclam)
EDTA	ethylendiamintetraoctová kyselina (chelaton 2)
ESI	ionizace elektrosprejem
Et	ethyl
EtOH	ethylalkohol
Et ₂ O	diethylether
fMRI	funkční MRI (Functional MRI)
IDA	iminodioctová kyselina
Me	methyl
MeCN	acetonitril
MeOH	methanol
MEMRI	Manganese-Enhanced Magnetic Resonance Imaging
MPIO	Micrometer-sized Paramagnetic Iron Oxide
MRI	magnetická rezonanční tomografie (Magnetic Resonance Imaging)
MS	hmotnostní spektroskopie (Mass Spectroscopy)
NMR	nukleární magnetická resonance (Nuclear Magnetic Resonance)
NOTA	triazacyklononantrikarboxylová kyselina

NTA	nitriltriocetová kyselina (chelaton 1)
PET	pozitronová emisní tomografie (Positron Emission Tomography)
RVO	rotační vakuová odparka
SBM	Solomonova-Bloembergenova-Morganova teorie
SHE	standardní vodíková elektroda
SPECT	jednofotonová emisní počítačová tomografie (Single-Photon Emission Computed Tomography)
SPIO	SuperParamagnetic Iron Oxide
<i>t</i> -BuOH	<i>tert</i> -butanol
TLC	tenkovrstvá chromatografie (Thin Layer Chromatography)
USPIO	Ultrasmall SuperParamagnetic Iron Oxide

2 Obecný úvod

Nukleární magnetická rezonance je v dnešní době velmi rozšířená technika. Tato metoda je založena na skutečnosti, že jádra některých atomů, např. vodíku, vložená do vnějšího magnetického pole jsou schopna absorbovat elektromagnetické záření o energii odpovídající rádiovým vlnám. To je dáno interakcí spinu jader s vnějším magnetickým polem. Tuto vlastnost objevili v roce 1946 Felix Bloch a Edward Purcell, kteří následně za tento objev dostali v roce 1952 Nobelovu cenu za fyziku. Díky zapojení počítačů a vývoji pulzních technik je dnes možné používat NMR nejen ke studiu struktury látek v roztocích, a to i tak složitých struktur jakými jsou proteiny, ale i struktur makromolekul v pevném stavu.^{1,2}

Tohoto efektu se také od počátku devadesátých let dvacátého století začalo využívat v klinické praxi. Neinvasivní diagnostická metoda založená na principu magnetická rezonance – magnetická rezonanční tomografie (MRI, Magnetic Resonance Imaging) využívá rezonance vodíkových atomů obsažených v molekule vody a ukazuje rozložení vody ve tkáních.

Pole využití MRI se dále rozšiřuje použitím kontrastních látek (CA, Contrast Agent) během experimentu. Tyto látky, ve většině případů komplexy trojmocného gadolinia, způsobují zvýšení intenzity signálu na určitém místě v organismu, díky čemuž lze zkoumat krevní řečiště, či detekovat nádory. Díky velkému rozlišení a rychlosti analýzy lze provádět také pozorování v reálném čase, v tzv. funkční MRI (Functional Magnetic Resonance Imaging, fMRI). Takto se například dá sledovat tlukot srdce nebo studovat funkce mozku.

V dnešní době je absolutní většina kontrastních látek na bázi komplexů trojmocného gadolinia. Jeho nevýhodou je však vysoká cena a také toxicita gadolinitých iontů. Jako výhodná náhrada gadolinia v kontrastních látkách se proto zdá být mangan, resp. jeho dvojmocný kation. Manganatý ion má sice jen 5 nespárovaných elektronů (na rozdíl od gadolinitého iontu, který má nespárovaných elektronů 7), ale je méně jedovatý a také jeho cena o mnoho nižší. Chlorid manganatý byl také jednou z prvních použitých kontrastních látek vůbec. Volný manganatý ion se používá v tzv. MEMRI experimentech (Manganese-Enhanced Magnetic Resonance Imaging), pro zjišťování funkce mozku u zvířat.³ V dnešní

době se komerčně vyrábí pouze jedna kontrastní látka na bázi manganatých komplexů, přípravek TESLASCAN®.⁴

V přírodě je mangan využíván ke katalýze v mnoha klíčových biologických reakcích, obzvláště takových, kdy dochází k přenosu a uchování většího množství elektronů. Enzymy obsahující ve svém aktivním centru mangan zajišťují v organismu například odbourávání peroxidu vodíku na molekulový kyslík nebo zneškodňování superoxidových radikálů.⁵

Od začátku 80. let 20. století bylo provedeno mnoho studií koordinace dvojmocného manganu s velkým množstvím různých syntetických makrocyclických ligandů. Velký důraz byl kladen na makrocycly s dusíkovými atomy. Tyto ligandy by měly tvořit velmi stabilní komplexy s manganatým iontem.⁵

3 Teoretická část

Nukleární magnetická rezonance (NMR)^{6,7}

Charakteristickou vlastností atomových jader je kromě ostatních kvantových čísel také spinové kvantové číslo I . Z kvantové teorie vyplývá, že I nemůže nabývat libovolné hodnoty, může nabývat pouze nuly nebo kladných násobků jedné poloviny. Z hlediska nukleární magnetické rezonance můžeme rozdělit atomová jádra jednotlivých izotopů právě podle spinového kvantového čísla I na 3 skupiny:

- a) Jádra, která mají nulové I , tedy jádra se sudým počtem protonů a neutronů (^{12}C , ^{16}O , ^{32}S , ...). Tato jádra mají nulový celkový spinový moment μ , a nejsou tedy v NMR spektroskopii pozorovatelná.
- b) Jádra s $I = \frac{1}{2}$ (^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{31}P , ...). Tato jádra mají nenulový magnetický moment μ a jsou snadno měřitelná.
- c) Jádra se spinovým kvantovým číslem $I > \frac{1}{2}$. Tato jádra mají nenulový magnetický moment μ , ale kromě něj mají i spinový kvadrupólový moment, a proto bývají špatně měřitelná.

Z kvantovací podmínky jaderného magnetického momentu vyplývá, že existuje $2I + 1$ různých stavů. Pro jádra se spinovým kvantovým číslem rovným $\frac{1}{2}$ existují tedy dva spinové stavy, pro $I = 1$ existují 3 spinové stavy atd. Jednotlivé spinové stavy popisuje hodnota m_I . Dále budeme uvažovat pouze případ, kdy $I = \frac{1}{2}$ (m_I nabývá hodnot $\pm\frac{1}{2}$).

Již zmíněnou vlastností jader je jejich magnetický moment, pro jehož z -ovou složku platí (1):

$$\mu_z = \gamma m_I \hbar \quad (1)$$

kde je:

γ gyromagnetický poměr, konstanta charakteristická pro dané jádro

m_I moment hybnosti, který nabývá hodnot $m_I = I, I-1, \dots, -I$

\hbar redukovaná Planckova konstanta $\hbar = h / 2\pi$

Pokud je vzorek v základním stavu, jsou jaderné spinové momenty v prostoru orientovány náhodně, a proto mezi nimi neexistují energetické rozdíly. Působením vnějšího magnetického pole \mathbf{B}_0 v ose z na jádro dojde k uspořádání jednotlivých jader. Spiny jsou v magnetickém poli

uspořádány buď paralelně s vektorem magnetického pole \mathbf{B}_0 , nebo antiparalelně. Interakcí vnějšího magnetického pole \mathbf{B}_0 s magnetickým momentem jádra vznikají dvě energetické hladiny, jejichž energii popisuje vztah (2):

$$E_{m_I} = -\mu_z B_z = -\gamma \hbar B_z m_I \quad (2)$$

Kde B_z je intenzita magnetického pole v ose z .

Protože m_I nabývá hodnot $1/2$ nebo $-1/2$, energetický rozdíl mezi těmito dvěma hladinami je:

$$\Delta E = \gamma B_z \hbar \quad (3)$$

Ve vnějším magnetickém poli vykonává jaderný magnetický moment tzv. precesní pohyb.

Rychlost tohoto pohybu musí odpovídat tzv. Larmorově frekvenci ν_L :

$$\nu_L = \frac{\gamma B_z}{2\pi} \quad (4)$$

Ze vztahu (4) je zřejmé, že frekvence tohoto pohybu je přímo úměrná intenzitě magnetického pole a energetické hladiny se se zvyšujícím magnetickým polem oddalují. Vzhledem k faktu, že se populace jednotlivých hladin řídí Boltzmanovým rozdělením, roste se zvyšující se intenzitou magnetického pole také rozdíl populací a tím se také zvyšuje citlivost přístroje. V NMR spektroskopii bývá zvykem označovat sílu magnetického pole přístroje jako Larmorovu frekvenci protonu v jednotkách MHz.

Tabulka 1.1 Magnetické vlastnosti izotopů nejdůležitějších prvků vyskytujících se v organických látkách

Jádro	Spin	Přirozené zastoupení (%)	γ ($10^7 \text{radT}^{-1}\text{s}^{-1}$)	NMR frekvence při 11,74 T (MHz)	Citlivost (%)
^1H	1/2	99,99	26,75	500,0	100
^2H	1	0,01	4,11	76,8	0,0001
^3H	1/2	-	28,54	533,3	0
^{13}C	1/2	1,07	6,73	125,7	0,02
^{14}N	1	99,63	1,93	36,1	0,1
^{15}N	1/2	0,37	-2,71	50,7	0,0004
^{19}F	1/2	100	25,18	470,4	83
^{31}P	1/2	100	10,84	202,4	6,6

Z rovnice (4) je také vidět, že Larmorova frekvence, tedy frekvence, při které bude dané jádro rezonovat, závisí na jeho gyromagnetickém poměru. Jak je zřejmé z tabulky 1.1, z běžných jader má největší gyromagnetický poměr izotop vodíku ^1H . Intenzita signálu daného jádra ale také závisí na relativním zastoupení daného izotopu. Spolu s velkým gyromagnetickým

poměrem dělá 99,99% relativní zastoupení lehkého vodíku v běžných látkách vodík nejcitlivějším jádrem pro NMR měření. Opakem je jádro ^{13}C , které nejenže má pouze čtvrtinový gyromagnetický poměr, ale jeho přirozený výskyt je jen asi 1 %. Jeho citlivost tedy dosahuje pouhé 0,02 % citlivosti protonu.

Relaxace⁶

Při popisu reálného vzorku je nepraktické uvažovat spiny od každého atomu. Zavádí se tedy pojem magnetizace \mathbf{M} , což je makroskopická veličina definovaná jako vektorový součet všech spinů v systému. Při měření nukleární magnetické rezonance dochází vlivem magnetického pulzu o intenzitě \mathbf{B}_1 ke sklápění vektoru magnetizace o libovolný úhel a následně se sleduje návrat vektoru magnetizace zpět do rovnovážné polohy, rovnoběžné s vektorem intenzity magnetického pole. Proces navrácení vektoru magnetizace se nazývá relaxace.

Rozlišujeme dva různé její mechanismy:

i) Spinově-mřížková relaxace (podélná, longitudinální) odpovídá nárůstu z -tové složky vektoru magnetizace (\mathbf{M}_z). Spinově-mřížkový relaxační čas se označuje T_1 , čím je kratší, tím rychleji jádro „relaxuje“, jeho vektor magnetizace se navrácí rychleji do rovnovážné polohy. Hodnota relaxačního času T_1 bývá řádově několik sekund.

ii) Relaxace spin-spinová (příčná, transverzální) naopak odpovídá poklesu vektoru magnetizace v rovině xy (\mathbf{M}_{xy}). Spin-spinový relaxační čas se označuje jako T_2 , čím je kratší, tím rychleji relaxuje vektor magnetizace do rovnovážného stavu. Relaxační čas T_2 bývá obvykle menší nebo roven relaxačnímu času T_1 . Obecně platí, že velké molekuly (proteiny, makromolekuly) mají kratší relaxační časy T_2 , oproti tomu malé rychle se pohybující molekuly rozpouštědla mají spinově-spinový relaxační čas delší. Délka relaxačního času T_2 se podílí na kvalitě spektra, čím kratší relaxační čas T_2 , tím jsou signály širší.

Relaxace v přítomnosti paramagnetik^{8,9}

Pokud se v blízkosti měřené látky nachází nějaké paramagnetické centrum, projeví se zkrácením spin-mřížkového a spin-spinového relaxačního času (T_1 a T_2). Pozorované hodnoty zkrácených relaxačních časů ($T_{1,obs}$, $T_{2,obs}$) jsou dány součtem příspěvku relaxačních časů měřené látky bez vlivu paramagnetické látky (diamagnetický příspěvek, $T_{1,d}$ a $T_{2,d}$) a příspěvku

paramagnetické látky (paramagnetický příspěvek, $T_{1,p}$ a $T_{2,p}$). Pro zředěné látky platí Solomonova-Bloembergenova-Morganova teorie (SBM), která popisuje relaxaci jader rozpouštědla v přítomnosti paramagnetické látky [rovnice (5) a (6)].

$$\frac{1}{T_{1,obs}} = \frac{1}{T_{1,p}} + \frac{1}{T_{1,d}} \quad (5)$$

$$\frac{1}{T_{2,obs}} = \frac{1}{T_{2,p}} + \frac{1}{T_{2,d}} \quad (6)$$

Tato teorie také zavádí veličinu relaxační rychlost R , jako reciprokou hodnotu relaxačního času T . Pomocí tohoto můžou být rovnice (5) a (6) přepsány do tvaru:

$$R_{1,obs} = R_{1,p} + R_{1,d} \quad (7)$$

$$R_{2,obs} = R_{2,p} + R_{2,d} \quad (8)$$

SMB teorie předpokládá, že paramagnetický člen je přímo úměrný koncentraci paramagnetika $[M]$, lze tedy rovnice (7) a (8) zapsat také jako:

$$R_{1,obs} = r_1 [M] + R_{1,d} \quad (9)$$

$$R_{2,obs} = r_2 [M] + R_{2,d} \quad (10)$$

Konstanty úměrnosti r_1 a r_2 , se nazývají relaxivity a charakterizují schopnost paramagnetické látky měnit relaxační rychlost molekul ve svém okolí. Tyto veličiny se uvádí v jednotkách $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$. V MRI jde především o relaxaci molekul vody, proto se r_1 a r_2 označují jako protonové relaxivity.

Relaxace protonů v blízkosti paramagnetického centra probíhá interakcí dvou dipólů mezi jadernými spiny měřené látky a fluktuujícím lokálním magnetickým polem nespárovaných elektronových spinů paramagnetického centra. Kolem paramagnetického centra ale magnetické pole velmi rychle klesá se vzdáleností, je proto nutné, aby se molekuly vody dostaly do k paramagnetickému centru co nejbližší.

Jsou známy 3 typy specifických chemických interakcí mezi paramagnetickým centrem a okolními molekulami. Celková hodnota relaxivity je pak dána součtem příspěvku vnitřní koordinační sféry (IS, inner-sphere), vnější koordinační sféry (OS, outer-sphere) a druhé koordinační sféry (SS, second-sphere), viz rovnice (11) a (12).

$$r_1 = r_1^{\text{IS}} + r_1^{\text{OS}} + r_1^{\text{SS}} \quad (11)$$

$$r_2 = r_2^{\text{IS}} + r_2^{\text{OS}} + r_2^{\text{SS}} \quad (12)$$

Vnitřní koordinační sférou jsou myšleny molekuly přímo koordinované na centrální atom, do vnější koordinační sféry spadají molekuly, které sice nejsou přímo navázány na centrální atom, ale jsou v jeho dostatečné blízkosti. Ve druhé sféře jsou atomy, které jsou v blízkosti paramagnetického centra navázané jiným typem interakce, např. vodíkovou vazbou. Tyto molekuly setrvávají v blízkosti paramagnetického centra déle, než by bylo způsobeno prostou difuzí.

Magnetická rezonanční tomografie^{6,9,10}

Magnetická rezonanční tomografie (MRI) je jednou z nejvíce užitečných aplikací efektu magnetické rezonance. Na rozdíl od jiných, v dnešní době často využívaných metod pro diagnostiku v klinické praxi, jako jsou počítačová tomografie (X-ray Computed Tomography, CT), jednofotonová emisní počítačová tomografie (Single-Photon Emission Computed Tomography, SPECT) či pozitronová emisní tomografie (Positron Emission Tomography, PET), odpadá nutnost použití ionizujícího záření či přímo aplikace radioaktivních nuklidů. Přitom rozlišení této metody je velice dobré, v dnešní době se dosahuje rozlišení až 1 mm³.

Pokud je do NMR spektrometru vložen vzorek obsahující vodíkové atomy a bude měřena rezonance těchto atomů v homogenním magnetickém poli (předpokládáme, že to jsou vodíkové atomy stejných molekul, např. vody, rezonují tedy ve stejném magnetickém poli při stejné Larmorově frekvenci), v získaném spektru bude jen jediný signál, odpovídající těmto vodíkům. Pokud je použito magnetické pole nehomogenní, pak na vodíky nacházející se v různých místech vzorku bude působit jinak intenzivní magnetické pole a budou rezonovat při různých frekvencích.

V praxi se nevyužívá jednoho skenu, ale pulzní techniky zvané spinové echo, kdy se selektivně excitují pouze jádra v oblasti o určité intenzitě magnetického pole. Ze série takovýchto skenů pak lze pomocí výpočetní techniky rekonstruovat intenzitu signálu v určitém místě (řezu zkoumaným vzorkem). Ze série řezů vzorkem pak lze zkonstruovat trojrozměrný obraz.

Intenzita signálu na výsledném snímku je závislá na koncentraci látky v daném místě. V lidském organismu není ve všech tkáních stejné zastoupení vody, při MRI se objeví jasně ohraničené různé tkáně a orgány.

Na různé intenzitě signálů se také podílí různé relaxační časy T_1 a T_2 vody v tkáních. Díky tomu, že je relaxační čas vody v určitém místě kratší, během určitého časového úseku zrelaxuje více jader a detektor tedy zaznamená větší intenzitu signálu. Změna délky relaxačních časů je dána tím, že na molekuly vody působí látky v ní rozpuštěné.

Dále také můžeme rozlišovat T_1 a T_2 vážené snímky (T_{1w} , T_{2w}), v prvním případě pozorujeme zkrácení spinově-mřížkového relaxačního času, v druhém případě zkrácení spinově-spinového relaxačního času. Také tyto snímky ukazují různé rozložení vody a rozpuštěných látek v organismu.

Kontrastní látky^{8,11}

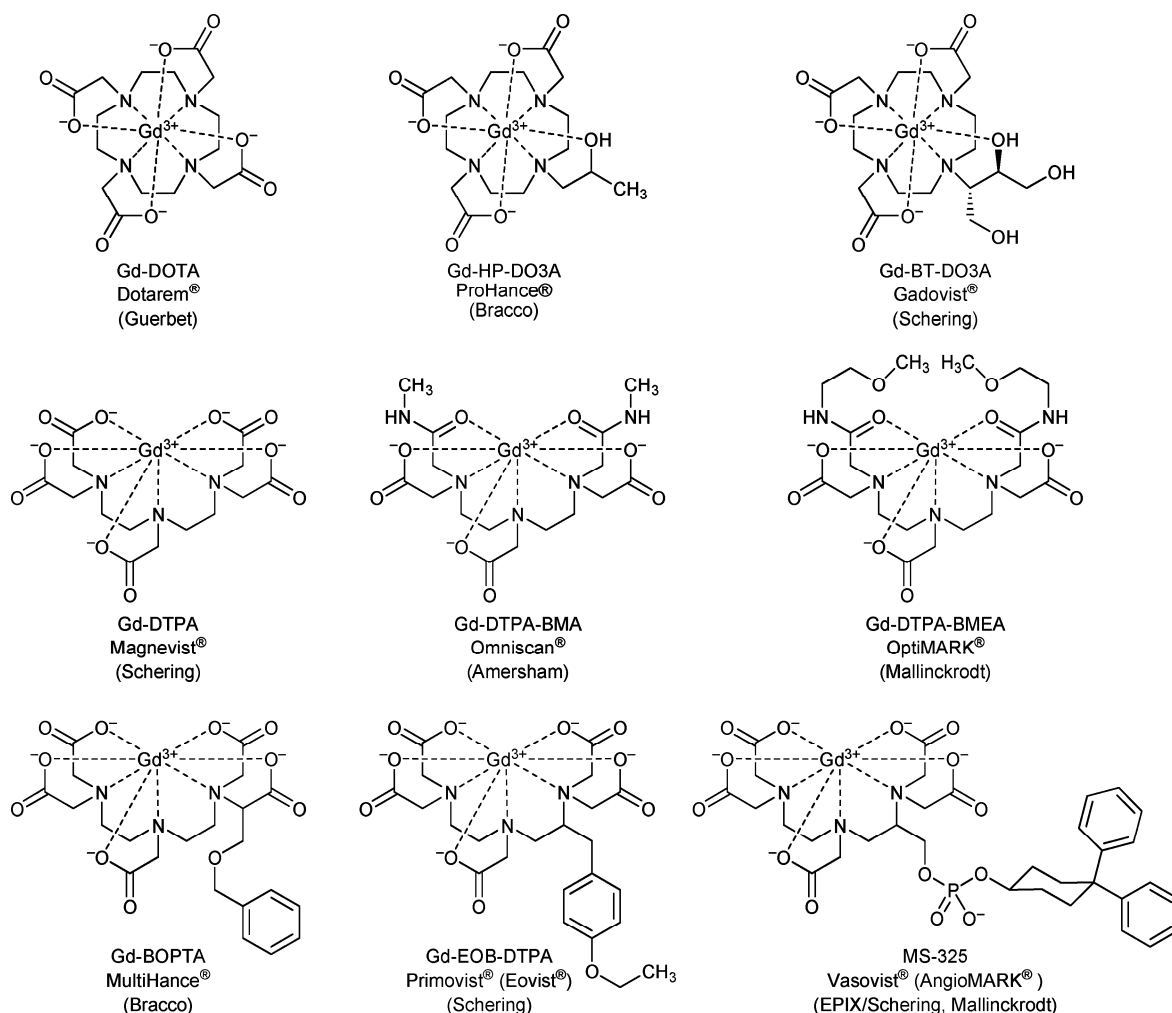
Poměr signálu a šumu při MRI experimentu bohužel není vždy ideální, navíc bývá vhodné zvýraznit na snímku určité struktury v lidském těle. Pro tyto účely byly vyvinuty kontrastní látky, sloučeniny, které při MRI experimentu zvyšují kontrast, případně mohou být různě upravené tak, aby indikovaly určitou strukturu v organismu (krevní řečiště), případně se koncentrovaly v organismu v patologické tkáni, např. v místě nádoru. Podle údajů Americké radiologické společnosti je na celém světě provedeno ročně přes sto milionů vyšetření magnetickou rezonancí, přičemž ve více než 35 % případů jsou využity kontrastní látky.

Z hlediska toho, jak kontrastní látky (CA, contrast agent) fungují, je můžeme rozdělit na dvě skupiny: T_1 kontrastní látky a T_2 kontrastní látky.

T_1 kontrastní látky

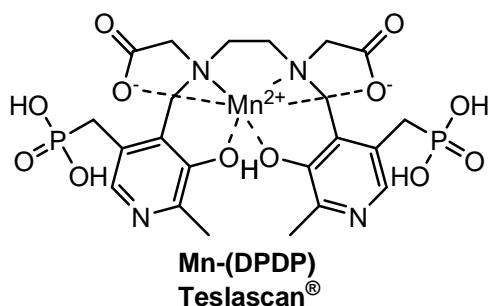
T_1 kontrastní látky se nazývají také paramagnetické. Jsou zodpovědné za pozitivní kontrast: Způsobují lokální zvýšení ^1H NMR signálu, díky čemuž se na snímku objeví světlá skvrna. Jde o komplexy organických chelatujících ligandů s ionty obsahujícími velké množství nespárovaných elektronů (např. Gd^{3+} , Mn^{2+} , Fe^{3+}). Vlastní proces relaxace na paramagnetickém centru probíhá tak, že se molekula vody nakoordinuje na paramagnetický ion, který působením dipólového momentu paramagnetického jádra zrelaxuje vodíkové atomy. Molekula vody se následně odštěpí, vymění se za molekulu jinou a proces se může opakovat.

Z teorie relaxace vyplývá, že jako paramagnetické centrum pro kontrastní látku nelze použít jakýkoli paramagnetický atom, je potřeba, aby měl dlouhý elektronový relaxační čas. Této podmínce vyhovují atomy s orbitaly symetricky zaplněnými elektrony, jako jsou Gd^{3+} , Mn^{2+} nebo Fe^{3+} . Na účinnost kontrastní látky má také vliv rychlost výměny vody a rotační korelační čas celé molekuly. Pokud bude rychlost výměny vody příliš malá, zrelaxované molekuly vody koordinované k paramagnetickému centru se budou vyměňovat pomalu. Naopak, pokud bude rychlost výměny vody příliš velká, nestačí molekula vody koordinovaná k paramagnetickému centru před svým opětovným odštěpením zrelaxovat. Rotační korelační čas reprezentuje, jak moc se molekula kontrastní látky pohybuje, otáčí v prostoru. Omezení tohoto pohybu, tj. dosažení vyšších rotačních korelačních časů, se dá docílit např. zakotvením komplexu ligandu s paramagnetickým iontem na molekulu polymeru, dendrimeru, či jinou makromolekulu.



Obrázek 2.1 T_1 kontrastní látky na bázi gadolinia

V praxi je používáno několik komplexů Gd^{3+} (obrázek 2.1) a jeden komplex Mn^{2+} . Jediná klinicky používaná T_1 kontrastní látka založená na komplexech manganu je komplex Mn^{2+} s DPDP (*N,N'*-dipyridoxylethylendiamin-*N,N'*diacetát-5,5'-bis(fosfát), obrázek 2.2). Jeho hlavní použití je při diagnostice lézí v játrech, protože je internalizován zdravými hepatocyty, ve kterých je rychle metabolizován a transmetalován zinkem⁴. Protože např. nádorové buňky metastází nemohou kontrastní látku internalizovat, projeví se jejich přítomnost na snímku tmavými skvrnami na světlém pozadí zdravých částí jater. Hlavními přednostmi T_1 kontrastních látek na bázi manganu před kontrastními látkami na bázi gadolinia jsou kromě nižší ceny a menší toxicity Mn^{2+} iontu hlavně rychlá výměna koordinované vody a dlouhý elektronový relaxační čas.



Obrázek 2.2 Struktura jediné klinicky používané kontrastní látky založené na manganu

Metoda Manganese-Enhanced MRI^{3,12,13}

Jednou z T_1 kontrastních látek se speciálním využitím je chlorid manganatý. Experimenty MRI, při kterých se $MnCl_2$ používá jako kontrastní látka, se nazývají Manganese-Enhanced Magnetic Resonance Imaging (MEMRI).

Při provádění MEMRI experimentů se využívá toho, že manganatý ion je svou velikostí a tvrdostí (podle teorie tvrdých a měkkých kyselin a zásad) podobný iontu vápenatému. Manganatý ion může tedy využívat vápničkové kanály a vstupovat do excitovatelných buněk. Manganaté ionty se tedy hromadí v aktivních oblastech mozku a srdce. Pomocí tohoto efektu lze u zvířat pozorovat aktivitu mozku při různých činnostech. Lze také vpravit roztok přímo do určité části mozku a pozorovat neuronální dráhy.

Prakticky se tyto experimenty provádí tak, že se do zkoumaného organismu vpraví 100mM roztok chloridu manganatého v bicinovém pufru o fyziologickém pH a osmolarita tohoto roztoku se upraví tak, aby byla blízka osmolaritě fyziologické.

Pro velkou toxicitu manganatých sloučenin, které při chronické expozici vedou k neurologickým potížím ústícím v Parkinsonovu chorobu, a při akutním předávkování hrozí selhání ledvin a srdeční problémy, se tyto pokusy provádějí pouze na zvířatech. V poslední době se intenzivně pracuje na tom, aby byla tato metoda použitelná v klinické praxi. Jde především o vývoj lepších pulzních technik, které by umožňovaly použití menších množství kontrastní látky, aby se potlačila její toxicita.

T_2 kontrastní látky¹⁴

T_2 kontrastní látky se nazývají superparamagnetické. Jejich přítomnost se na snímku projeví tmavým místem: Jsou odpovědné za negativní kontrast. Tyto látky jsou vývojově mladší, ale v dnešní době se v klinické praxi používají jen okrajově. Většinou se jedná o nanočástice oxidů železa s magnetickými vlastnostmi (magnetit Fe_3O_4 , maghemit $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), které jsou pro lepší biokompatibilitu pokryté vrstvou dextransu, polyethylenglykolu, apod. Tyto látky lze rozdělit do tří skupin:

- i) MPIO (Micrometer-sized Paramagnetic Iron Oxide) – velikost částic je v řádu mikrometrů;
- ii) SPIO (SuperParamagnetic Iron Oxide) – částice složené z několika magnetických jader o velikosti 4–5 nm. Velikost celé částice je ve stovkách nanometrů;
- iii) USPIO (Ultrasmall SuperParamagnetic Iron Oxide) – částice o velikosti do 50 nm obsahující jediné magnetické jádro o velikosti 4–5 nm.

Větší obliba T_1 kontrastních látek oproti T_2 kontrastním látkám je dána lepším kontrastem na snímku.

4 Motivace a cíle práce

Cílem této bakalářské práce bylo připravit řadu makrobicyklických ligandů vhodných pro komplexaci iontů přechodných kovů. Byla navržena struktura ligandů odvozených od cyklamu přemostěného ethylenovým můstkem v polohách 1 a 8 (cross-bridged cyclam). Od tohoto základního skeletu byly navrženy deriváty obsahující dvě koordinující pendantní skupiny (viz schéma 3.1).

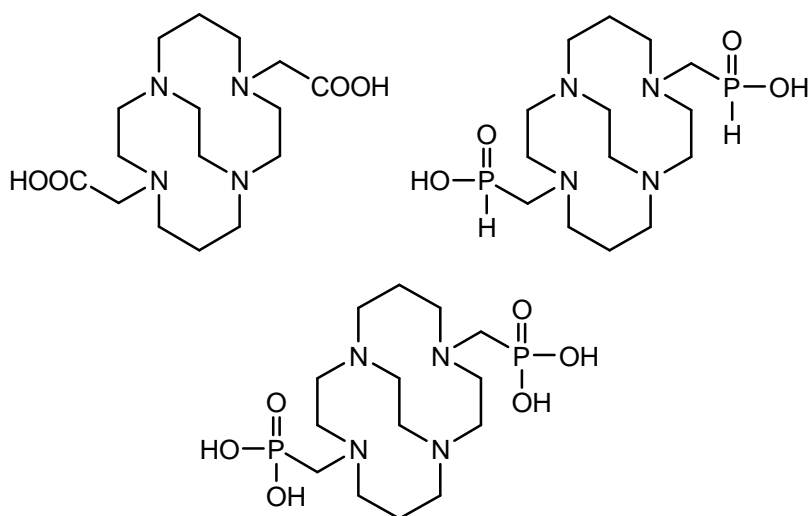


Schéma 3.1 Navržené struktury makrobicyklických ligandů pro komplexaci Mn^{2+} iontu

Tyto látky by měly být též vhodné pro komplexaci dvojmocného manganu. Všechny ligandy jsou navrženy tak, aby měly 6 donorových atomů a byly tedy schopny se hexadentátně vázat k centrálnímu atomu. Vzhledem k tomu, že manganatý ion preferuje koordinační číslo 6–7, může zbývat na centrálním atomu ještě jedno volné místo pro koordinaci vody. Tyto komplexy jsou tedy potenciálními kontrastními látkami pro MRI. Byly proto studovány komplexační schopnosti syntetizovaných ligandů ve vodném a nevodném prostředí. Výsledky komplexací byly zjišťovány pomocí hmotnostní spektroskopie.

Zkoumány byly také elektrochemické vlastnosti syntetizovaných komplexů a pro porovnání také elektrochemické vlastnosti komplexů dvojmocného manganu s jinými chelatujícími ligandy. Tyto komplexy byly studovány pomocí cyklické voltametrie.

5 Experimentální část

Použité chemikálie

Všechny použité chemikálie a rozpouštědla byly v komerčně dostupné kvalitě bez další úpravy. Rozpouštědla označená jako suchá byla vysušena postupy popsány v literatuře¹⁵. Použitý cyklam byl produktem praktik z anorganické chemie na PřF UK. Jeho čistota byla kontrolována pomocí NMR.

Metody charakterizace

Hmotnostní spektrometrie (MS)

Měření hmotnostních spekter byla prováděna na přístroji Bruker ESQUIRE 3000 ES-iontrap s elektrosprejovou ionizací (ESI) v pozitivním i negativním módu (PřF UK). Vzorky byly rozpuštěny v MeOH nebo H₂O, naředěny mobilní fází (MeOH nebo MeCN) a nadávkovány 25 μL stříkačkou Hamilton. Dávkování probíhalo rychlostí 250 μl min⁻¹. Uvedeny jsou jen signály, které se podařilo interpretovat.

Při analýze reakčních směsí při komplexacích ligandů s manganatými ionty nebyla jiná možnost kontroly konverze než analýza hmotnostních spekter. Míra konverze byla určována z intenzit signálů reaktantů a produktů. Toto bylo prováděno s vědomím, že tyto látky jsou rozdílné povahy a při měření se budou ionizovat různě snadno.

NMR spektroskopie

Měření spekter bylo prováděno na přístrojích VNMR300, Varian^{UNITY}INOVA 400 a Bruker Avance (III) 600. Hodnoty chemických posunů δ jsou uváděny v jednotkách ppm a jsou uváděny na dvě desetinná místa. Interakční konstanty J jsou uváděny v jednotkách Hz a jsou zaokrouhleny na jedno desetinné místo. Rezonanční frekvence a typ rozpouštědla je vždy uveden u každé látky. Chemické posuny byly referencovány na interní standardy – *t*-BuOH v D₂O ($\delta_{\text{H}} = 1,25$; $\delta_{\text{C}} = 30,29$ a $70,36$), TMS v CDCl₃ ($\delta_{\text{H}} = 0,00$, $\delta_{\text{C}} = 0,00$) nebo píky rozpouštědla – CHCl₃ ($\delta_{\text{H}} = 7,27$, $\delta_{\text{C}} = 77,00$). K referencování ³¹P NMR spekter byl použit

externí standard 85% H_3PO_4 v D_2O ($\delta_f = 0,00$). Všechna ^{13}C spektra a některá ^{31}P spektra byla měřena s „decouplingem“ vodíkových jader. Měření byla prováděna při 25 °C.

Zkratky používané pro popis spekter: s (singlet), d (dublet), t (triplet), q (kvartet), quin (kvintet), m (multiplet), bs (broad singlet, široký singlet), AB (AB systém), tm (triplet multipletu), dm (dublet multipletu).

Deuterovaná rozpouštědla použitá při měření: D_2O (Armar chemicals), CDCl_3 (Aldrich).

Tenkovrstvá chromatografie (TLC)

Pro tenkovrstvou chromatografii byly použity destičky TLC aluminium sheets silica gel 60 F_{254} (Merck) s nanesenou vrstvou širokoporézního silikagelu. Příslušné mobilní fáze a detekce jsou uvedeny vždy u jednotlivých látek.

Röntgenostrukturní analýza

Struktury monokrystalů byly měřeny na difraktometru NONIUS KAPA CCD se zdrojem záření Mo- $K\alpha$. Zpracování dat bylo provedeno v obslužném programovém balíku BRUKER APEX2. Řešení struktury bylo provedeno v programu balíku BRUKER SAINT. Vypřesňování struktury bylo provedeno programem SHELXL97¹⁶ a vizualizace struktury v programu PLATON¹⁷.

Cyklická voltametrie (CV)

Cyklická voltametrie byla měřena na potenciostatu AUTOLAB PGSTAT101. Měření bylo prováděno pod atmosférou argonu v tříelektrodovém zapojení s platinovou pomocnou elektrodou, argentchloridovou referentní elektrodou (+207 mV vůči standardní vodíkové elektrodě, SHE) a glassy carbon diskovou pracovní elektrodou. Pomocným elektrolytem byl 0,1 M roztok KCl v destilované vodě.

Naměřená data byla zpracovávána v programu NOVA 1.7 dodávaném s přístrojem.

Stanovení teploty tání

Teploty tání byly měřeny na bodotávku Büchi B-540.

Syntetická část

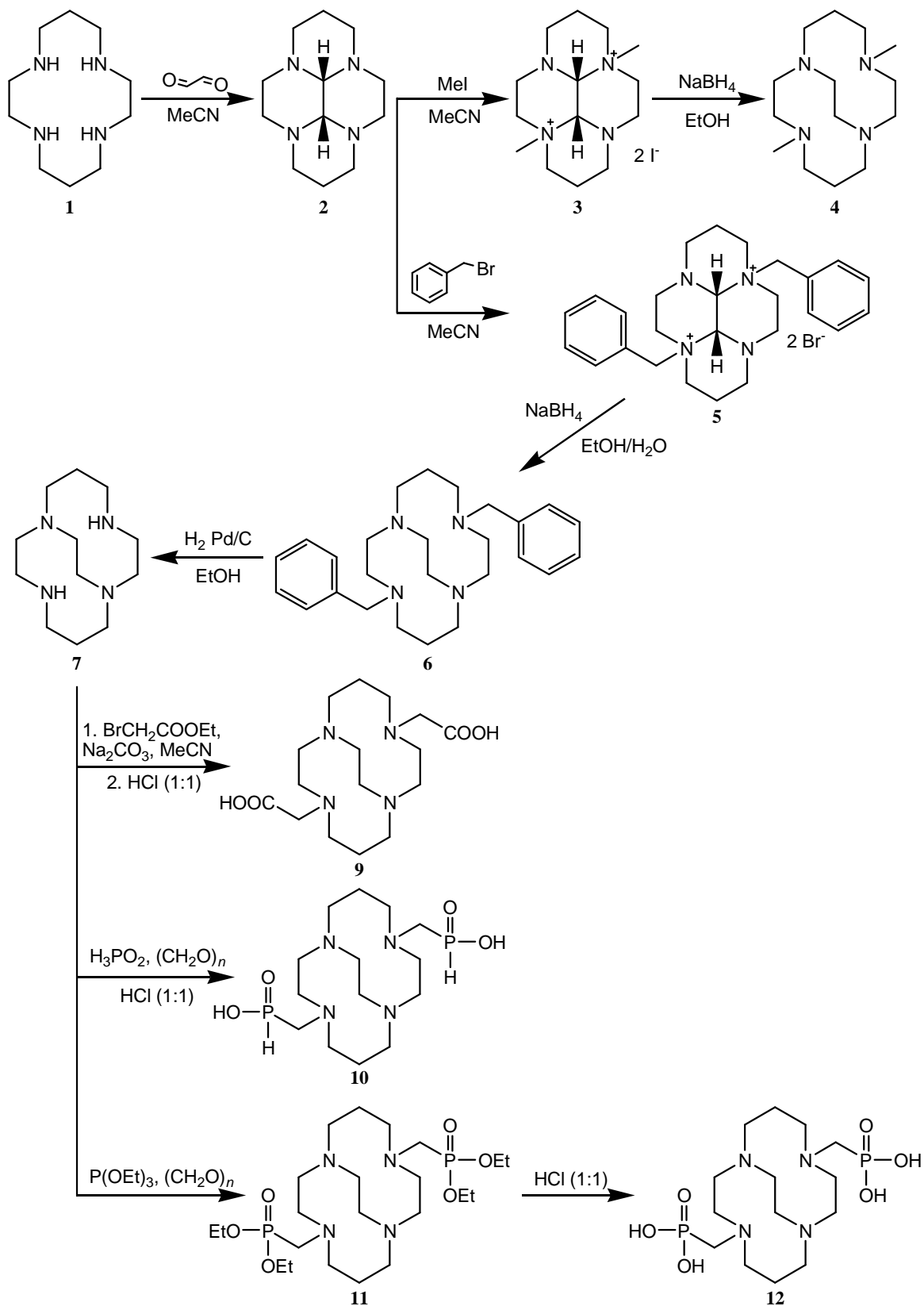
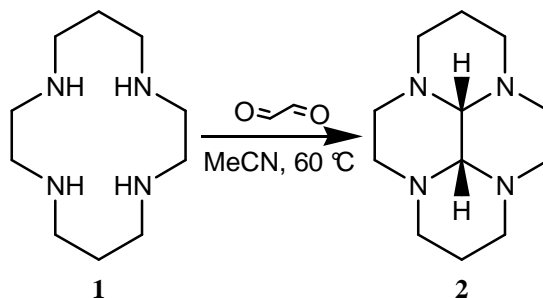


Schéma 5.1 Schéma přípravy látek

Perhydro-3a,5a,8a,10a-tetraazapyren (2)



Syntéza provedena podle upraveného návodu uvedeného v literatuře.^{18,19}

Do 500ml zábrusové varné baňky s magnetickým míchadlem bylo naváženo 5,0 g (25 mmol) látky 1. Následně bylo přilito asi 250 ml acetonitrilu. Baňka byla umístěna do olejové lázně vyhřáté na 60 °C a vzniklá suspenze byla intenzivně míchána.

V 150ml kádince opatřené magnetickým míchadlem bylo suspendováno 2,3 g (11 mmol, což odpovídá 33 mmol, 1,3 ekv. monomeru) trimeru glyoxalhydrátu v 50 ml destilované vody. Suspenze byla zahřívána na magnetické míchače, dokud nedošlo k rozpuštění glyoxalu. Následně byl tento roztok pomocí Pasteurovy pipety pomalu přidán k suspenzi látky 1 v acetonitrilu. Po přidání veškerého glyoxalu byla směs ponechána míchat ještě 2 hodiny při 60 °C. Po této době byla směs ponechána vychladnout na laboratorní teplotu a následně odpařena na RVO dosucha.

K odparku bylo přidáno asi 30 ml suchého toluenu a směs byla opět odpařena dosucha na RVO. Odparek byl následně čtyřikrát extrahován asi 50 ml hexanu, přičemž poslední extrakce byla provedena za varu rozpouštědla. Extrakt byl přefiltrován přes filtrační papír a odpařen dosucha na RVO. Produktem byla bezbarvá krystalická látka.

Výtěžek: 4,2 g, tj. 76 %

Charakterizace:

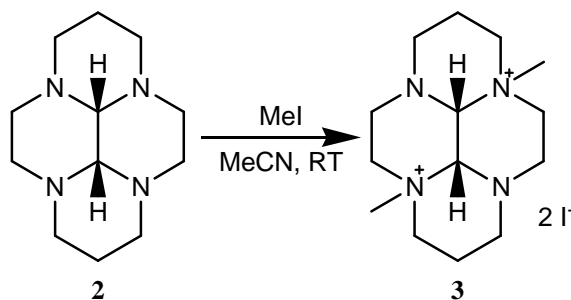
¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ 1,35 (d, 2H, ³J_{H-H} = 13,1); 1,98–2,33 (m, 6H); 2,39–2,43 (d, 2H, ³J_{H-H} = 11,4); 2,71–2,75 (d, 2H, ³J_{H-H} = 11,8); 2,88–2,95 (m, 6H); 3,10 (s, 2H); 3,31–3,39 (t, 2H, ³J_{H-H} = 11,8)

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (75 MHz, D_2O) δ 20,14; 45,06; 52,61; 54,33; 77,01

MS (ESI) (+): 222,8 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, vypočteno 223,2

$T_f = 77,9 - 82,2$ °C (literatura¹⁹ 82,5 – 85 °C)

Perhydro-3a,8a-dimethyl-3a,5a,8a,10a-tetraazapyrenium-jodid (3)



Syntéza provedena podle upraveného návodu uvedeného v literatuře.¹⁹

Do 250ml kulaté varné baňky opatřené magnetickým míchadlem bylo naváženo 2,0 g (9,0 mmol) látky **2** a navážka byla rozpuštěna v asi 70 ml acetonitrilu. Za intenzivního míchání při pokojové teplotě bylo k roztoku přilito 7,7 g (54 mmol, 6 ekv.) methyljodidu. Baňka byla uzavřena zátkou a ponechána míchat 72 hodin. Obsah baňky byl poté na RVO zahuštěn na asi poloviční objem. Bílá vyloučená sraženina byla odsáta, na fritě promyta asi 30 ml acetonitrilu a ponechána sušit prosáváním vzduchem. Rekrystalizace byla provedena rozpuštěním surového produktu v asi 10 ml methanolu za horka a ponecháním vychladnout.

Výtěžek: 2,01 g, tj. 42 %

Charakterizace:

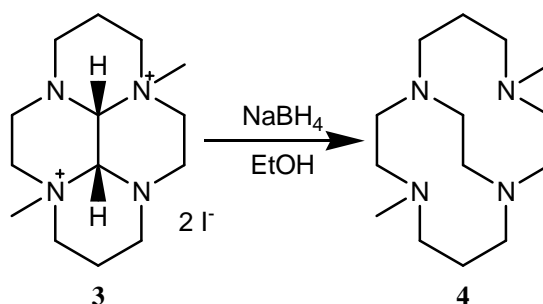
^1H NMR (300 MHz, D_2O) δ 1,87–2,00 (d, 2H, $^3J_{\text{H-H}} = 15,2$); 2,29–2,52 (m, 2H); 2,74–2,88 (tm, 2H, $^3J_{\text{H-H}} = 12,4$); 3,12–3,27 (m, 6H); 3,28–3,37 (dm, 2H, $^3J_{\text{H-H}} = 13,1$); 3,40 (s, 6 H); 3,75–3,81 (m, 2H); 4,41–4,56 (m, 2H); 4,71 (s, 2H)

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (75,4 MHz, D_2O) δ 18,49; 46,25; 49,8; 51,10; 65,13; 76,64

MS (ESI) (+): 236,8 ($\text{M}-\text{Me}$) $^+$, vypočteno 237,2

$T_f = -220$ °C dec. (literatura¹⁹ -220 °C dec.)

4,11-dimethyl-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (4)



Preparace provedena podle upraveného návodu uvedeného v literatuře.¹⁹

V 100ml kulaté varné baňce opatřené magnetickým míchadlem bylo rozpuštěno 1,6 g (3,1 mmol) látky **3** v 60 ml ethanolu. Za intenzivního míchání bylo k roztoku přidáno po částech celkem 1,3 g (34 mmol, 10 ekv.) NaBH₄ a směs byla ponechána míchat při laboratorní teplotě 72 hodin. Reakce byla ukončena pomalým opatrným přidáním 20 ml 10% kyseliny chlorovodíkové. Reakční směs byla odpařena na RVO dosucha, odparek byl rozpuštěn v asi 30 ml 5% NaOH. Roztok byl následně extrahován 4×20 ml chloroformu. Organické extrakty byly spojeny, vysušeny bezvodým Na₂SO₄ a odpařeny na RVO dosucha. Surovým produktem byl slabě žlutý viskózní olej, který stáním přes noc v evakuovaném exsikátoru nad NaOH zkrystalizoval. Surový produkt byl sušen destilací na kugelrohru z lehce nadrcených peciček KOH. Produktem byl bezbarvý viskózní olej.

Výtěžek: 350 mg, tj. 45 %

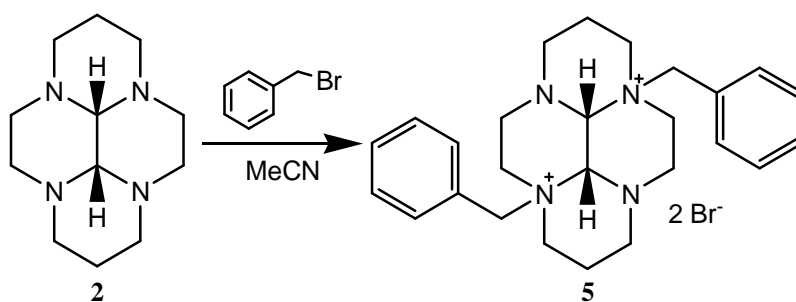
Charakterizace:

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 1,31–1,57 (m, 4H); 2,18 (s, 6H); 2,27–2,50 (m, 12H); 2,57–2,68 (m, 4H); 2,90–3,08 (m, 4H); 3,16 (m, 2H); 3,78–3,91 (m, 2H)

¹³C{¹H} NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 26,73; 43,22; 52,36; 54,75; 55,94; 56,66; 58,75

MS (ESI) (+): 254,9 (M+H)⁺, vypočteno 255,3

Perhydro-3a,8a-bis(benzyl)-3a,5a,8a,10a-tetraazapyrenium-bromid (5)



Reakce byla provedena podle návodu uvedeného v literatuře.^{19,20}

Ve 250ml varné baňce byly rozpuštěny 4,0 g (18 mmol) látky **2** v 50 ml suchého acetonitrilu. K roztoku bylo za intenzivního míchání přikapáno 7,7 g (45 mmol; 2,5 ekv.) benzylbromidu. Poté, co se vyrážela bílá sraženina, bylo do baňky přidáno dalších asi 100 ml suchého acetonitrilu. Baňka byla zavřena zátkou a byla ponechána míchat 3 týdny při pokojové teplotě. Po této době byla bílá sraženina odsáta na fritě, promyta diethyletherem a dosušena ve vakuovém exsikátoru.

Výtěžek: 7,5 g, tj. 74 %

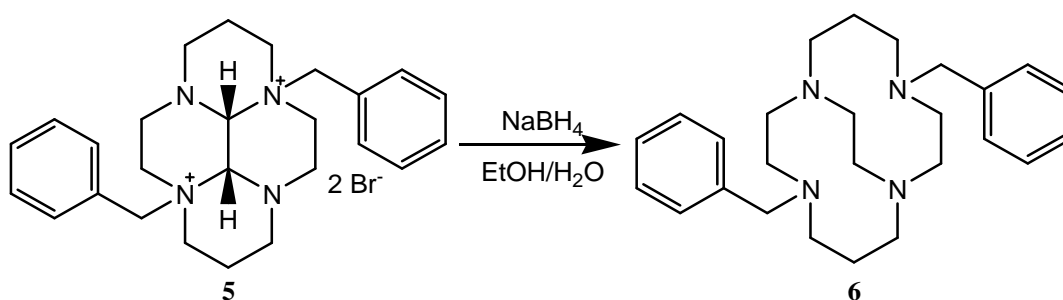
Charakterizace:

¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ 1,91 (d, 2H, ³J_{H-H} = 14,8); 2,27 (q, 2H, ³J_{H-H} = 13,3); 2,88 (t, 2H, ³J_{H-H} = 12,6); 3,23 (d, 4H, ³J_{H-H} = 13,1); 3,38–3,66 (m, 6H); 3,77 (t, 2H, ³J_{H-H} = 12,9); 4,41 (t, 2H, ³J_{H-H} = 13,1); 4,79 a 5,31 (AB, 2H); 5,15 (s, 2 H); 7,53–7,68 (m, 10H)

¹³C{¹H} NMR (75 MHz, D₂O) δ 17,94; 45,98; 46,72; 51,16; 60,43; 62,33; 76,76; 124,64; 129,42; 131,36; 133,17

MS (ESI) (+): 483,0 a 485,0 (M–Br)⁺, vypočteno 483,2 a 485,2 (izotopové zastoupení Br); 312,9 (M–Bn)⁺, vypočteno 312,2

4,11-dibenzyl-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (6)



Reakce provedena podle postupu uvedeného v literatuře.^{19,21}

V 250ml varné baňce opatřené magnetickým míchadlem bylo rozpuštěno 5,0 g (9,0 mmol) látky **5** ve směsi 100 ml lihu a 25 ml destilované vody. Za intenzivního míchání byly po malých dávkách opatrně přisypány 2,0 g NaBH₄ (53 mmol, 6 ekv.). Směs byla ponechána míchat při pokojové teplotě přes noc. Následně byla reakce zastavena opatrným přikapáním 30 ml 10% HCl. Reakční směs byla odpařena dosucha na RVO, odparek byl rozpuštěn v asi 50 ml destilované vody a přidavkem pevného KOH bylo pH upraveno na 13 (univerzální indikátorový papírek). Po úplném rozpuštění byl roztok extrahován 3×50 ml chloroformu. Chloroformové extrakty byly spojeny a vysušeny přidáním lžičky bezvodého Na₂SO₄. Sušidlo bylo odsáto přes fritu a filtrát byl odpařen na RVO dosucha. Surový produkt byl rozpuštěn v horkém acetonu, roztok byl za horka přefiltrován a ponechán vykristalizovat. Produktem byl bílý krystalický prášek.

Výtěžek: 3,34 g, tj. 92,7 %

Charakterizace:

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 1,68–1,79 (m, 4H); 2,67–2,73 (m, 2H); 2,79–2,85 (m, 2H); 2,90–3,02 (m, 6H); 3,15–3,28 (m, 8H); 3,66–3,74 (m, 2H); 3,76 (s, 4H); 7,22–7,38 (m, 8H); 10,73 (bs, 1H, proton v kavitě)

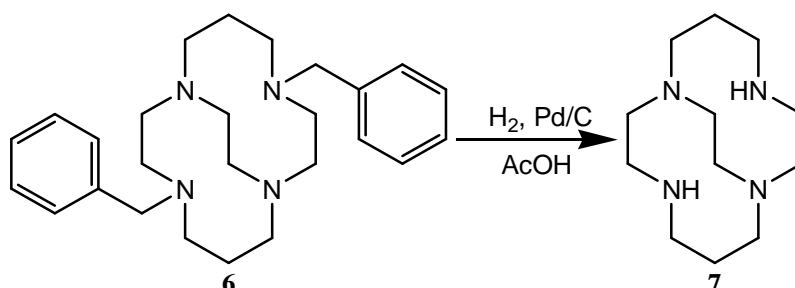
¹³C{¹H} NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 24,12; 50,22; 52,00; 53,29; 54,27; 57,70; 57,80; 127,75; 128,49; 135,53

TLC Merck, EtOH/NH₃ (aq) 1:1, detekce ninhydrin, R_f = 0,8

MS (ESI) (+): 407,1 (M+H)⁺, vypočteno 407,3

1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadekan (7)

Postup 1



Upravená preparace podle literatury.²¹

Do 100ml kulaté baňky opatřené velkým magnetickým míchadlem byly naváženy 2,0 g (5,0 mmol) látky **6** a 0,40 g katalyzátoru 10% Pd/C. Následně bylo ke směsi přilito 75 ml ledové kyseliny octové. Směs byla asi půl hodiny míchána na magnetické míchačce za probublávání argonem injekční jehlou. Následně byla reakční směs vybublána plynným vodíkem a na baňku nasazen balónek s plynným H₂. Směs byla ponechána reagovat za intenzivního míchání 24 hodin při pokojové teplotě. Konverze byla kontrolována pomocí TLC. Reakce byla ukončena po vymizení výchozí látky. Reakční směs byla přefiltrována přes skládaný papírový filtr. Odfiltrovaný katalyzátor byl následně promyt ještě asi 50 ml ledové kyseliny octové. Filtrát byl odpařen na RVO za vzniku žlutohnědého viskózního oleje. Odparek byl rozpuštěn v asi 50 ml 10% KOH a následně extrahován 4×50 ml chloroformu. Organické fáze byly spojeny, vysušeny bezvodým Na₂SO₄ a odpařeny dosucha. Produktem byl slabě nažloutlý olej, který po několikadenním stání prokrystaloval.

Výtěžek: asi 1,0 g, tj. ~ 90 %

Charakterizace:

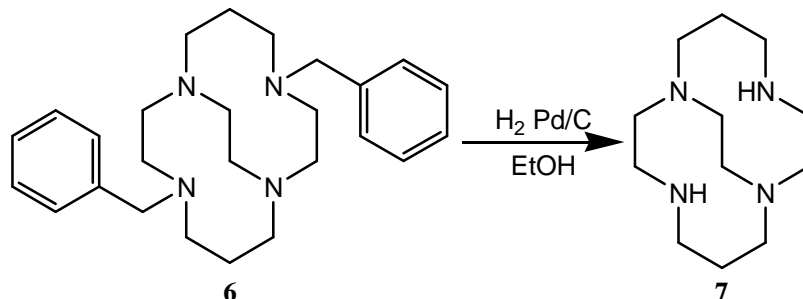
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1,69–1,75 (m, 2H); 2,26–2,40 (m, 2H); 2,48–2,60 (m, 2H); 2,65–2,72 (m, 2H); 2,70–2,96 (m, 2H); 3,04–3,30 (m, 8H); 3,44–3,60 (m, 4H)

¹³C{¹H} NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 22,87; 43,71; 49,18; 50,96; 57,30; 59,64

TLC Merck, EtOH/NH₃ (aq) 1:1, detekce ninhydrin, $R_f = 0,2$

MS (ESI) (+): 226,9 (M+H)⁺, vypočteno 227,2

Postup 2



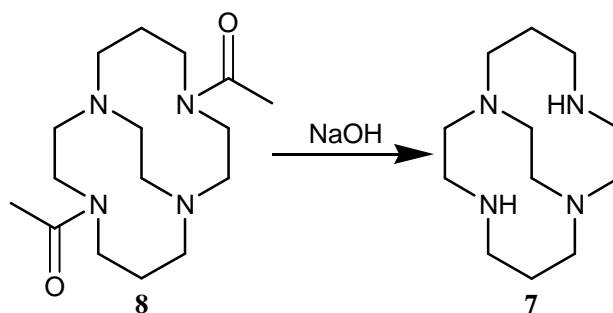
Do 250ml kulaté varné baňky opatřené magnetickým míchadlem bylo naváženo 5,0 g (12 mmol) látky **6**. Navážka byla rozpuštěna ve 150 ml bezvodého lihu. K roztoku bylo přidáno 1,0 g katalyzátoru 10% Pd/C. Směs byla za intenzivního míchání na magnetické míchačce asi půl hodiny probublávána argonem, aby byla zbavena rozpuštěného kyslíku. Následně byl na baňku nasazen balónek s plynným vodíkem a směs se nechala za intenzivního míchání reagovat 24 hodin pod vodíkovou atmosférou. Konverze byla kontrolována pomocí TLC. Jakmile zmizela skvrna výchozí látky, byla reakční směs přefiltrována přes skládaný papírový filtr, filtrát byl odpařen na RVO. Vzniklý nažloutlý viskózní olej byl rozpuštěn ve 100 ml 10% KOH a následně extrahován 4×50 ml chloroformu. Organické fáze byly spojeny, vysušeny bezvodým Na₂SO₄ a odpařeny dosucha na RVO. Vzniklý nažloutlý olej byl rozpuštěn v asi 10 ml Et₂O a roztok byl ponořen do chladicí lázně se směsí suchý led/EtOH. Po chvilce došlo k vysrážení světle žluté sraženiny, která byla odsáta a ponechána sušit v evakuovaném exsikátoru nad NaOH.

Výtěžek: 2,3 g, tj. 83 %

Charakterizace:

Stejná jako v případě postupu 1.

Postup 3



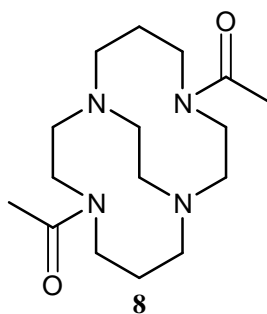
V 250ml kulaté varné baňce opatřené magnetickým míchadlem bylo suspendováno 2,5 g (8 mmol) látky **8** ve 100 ml 20 % NaOH. Směs byla za stálého míchání zahřívána 48 hodin pod zpětným chladičem v olejové lázni nastavené na 80 °C. Následně byl roztok zahuštěn na RVO na poloviční objem a extrahován 4×50 ml CHCl₃. Všechny organické fáze byly spojeny, vysušeny bezvodým Na₂SO₄ a odpařeny dosucha na RVO. Produktem byl nažloutlý viskózní olej, který po několikadenním stání prokrytalizoval.

Výtěžek: 1,64 g, tj. 90 %

Charakterizace:

Stejná jako v případě postupu 1.

4,11-bis(acetyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (**8**)



Při použití kyseliny octové při syntéze látky **7** podle postupu 1 občas docházelo k naacetylování sloučeniny **7** a vytvoření látky **8**. Tato reakce byla nejspíše způsobena zbytky acetanhydridu v kyselině octové použité jako rozpouštědlo při reakci. Tímto byla látka znehodnocena pro další reakce a bylo nutno ji zregenerovat podle návodu na syntézu látky **7**, postup 3.

Delším stáním reakční směsi při přípravě látky **7** podle postupu 1 na vzduchu, docházelo k oxidaci palladia z aktivního katalyzátoru vzdušným kyslíkem. Po zpracování reakční směsi došlo k vytvoření tmavě červených krystalů, jejichž analýzou pomocí Röntgenové difrakce bylo zjištěno, že se jedná o $(\text{H8})_2[\text{PdBr}_4] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.

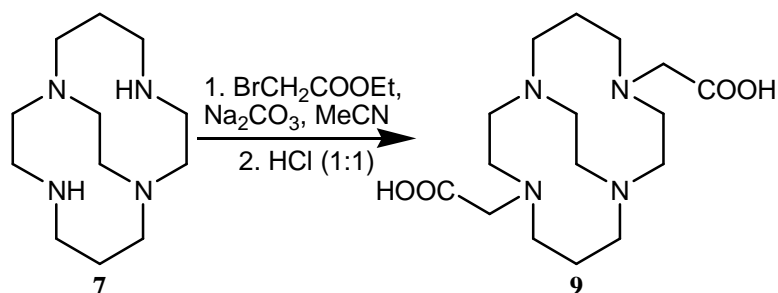
Látka **8** nebyla záměrně syntetizována, byla získána pouze jako vedlejší produkt při syntéze látky **7** podle prvního postupu.

Monokrystal pro Röntgenostrukturní analýzu byl připraven difuzí hexanu do roztoku látky **8** v chloroformu.

Charakterizace:

MS (ESI) (+): 310,9 (M+H)⁺, vypočteno 311,2

4,11-bis(karboxymethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (**9**)



Látka byla připravena podle upraveného návodu uvedeného v literatuře²¹.

Do 100ml kulaté varné baňky opatřené magnetickým míchadlem bylo naváženo 1,0 g (4,4 mmol) látky **7** a 1,0 g (9,4 mmol, 2 ekv.) čerstvě vyžíhaného Na_2CO_3 . Ke směsi bylo přilito asi 30 ml acetonitrilu a přidáno 1,5 g (9,0 mmol, 2 ekv.) ethylbromacetátu. Suspenze byla nechána míchat pod zpětným chladičem v olejové lázni nastavené na 50 °C přes noc. Následně byla směs přefiltrována, pevný podíl byl promyt asi 20 ml acetonitrilu a filtrát odpařen na RVO. Produkt medovitého vzhledu a konzistence byl rozpuštěn v asi 30 ml HCl (1:1) a ponechán míchat pod zpětným chladičem v olejové lázni o teplotě 75 °C 72 hodin. Reakční směs byla následně odpařena na RVO do sucha. Vzniklý olej byl rozpuštěn v asi 10 ml destilované vody a převeden na aniontový iontoměnič (Dowex 1) v OH^- -cyklu (asi 50 ml). Produkt byl z kolony vymyt 10% kyselinou octovou, odpařen na RVO dosucha.

Stáním přes noc se vyloučil slabě nažloutlý krystalický prášek. Další frakce produktu byla získána srážením matečného louhu acetonem.

Výtěžek: 1,2 g, tj. 68 %

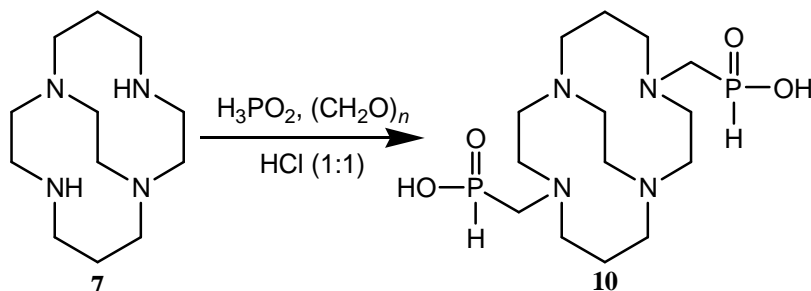
Charakterizace:

^1H NMR (300 MHz, D_2O) δ : 1,74 (d, 2H, $^3J_{\text{H-H}} = 16,5$); 2,21–2,46 (m, 2H); 2,59 (d, 2H, $^3J_{\text{H-H}} = 13,7$); 2,83–3,54 (m, 18 H); 3,58–3,81 (m, 2H); 4,14 (d, 2H, $^3J_{\text{H-H}} = 15,6$)

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (75 MHz, D_2O) δ : 19,74; 48,34; 48,82; 51,98; 56,84; 58,09; 58,36; 170,78

MS (ESI) (+): 343,0 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, vypočteno 343,2; 365,0 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺, vypočteno 365,2; 381,0 ($\text{M}+\text{K}$)⁺, vypočteno 381,2; 685,5 ($2\text{M}+\text{H}$)⁺, vypočteno 685,5; 707,5 ($2\text{M}+\text{Na}$)⁺, vypočteno 707,4; 723,5 ($2\text{M}+\text{K}$)⁺, vypočteno 723,4

4,11-bis(hydroxyfosfinoylmethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (10)



Látka byla připravena podle upraveného návodu uvedeného v literatuře.²¹

V 50ml hruškovité varné baňce opatřené magnetickým míchadlem bylo rozpuštěno 1,0 g (4,4 mmol) látky 7 v 10 ml HCl (1:1), přidáno 5,85 g (44 mmol, 10 ekv.) 50% roztoku kyseliny fosforové a 0,40 g (13 mmol, 3 ekv.) pevného paraformaldehydu. Reakční směs byla ponechána míchat při laboratorní teplotě 72 hodin. Konverze reakce byla sledována pomocí ^{31}P NMR. Následně byla směs odpařena na RVO při teplotě lázně nastavené na 45 °C. Odparek byl rozpuštěn v malém množství destilované vody a nalit na silný kationtový iontoměnič (Dowex 50) v H^+ -cyklu (asi 50 ml). Nezareagovaná kyselina fosforová a další vedlejší produkty nekationtového charakteru byly vymyty vodou, produkt byl vymyt 5% vodným roztokem amoniaku. Roztok byl odpařen na RVO, vzniklý olej rozpuštěn v malém množství

destilované vody a nalit na silný aniontový iontoměnič (Dowex 1) v OH⁻-cyklu (asi 20 ml). Kolona byla promyta vodou a produkt byl následně vymyt 5% roztokem kyseliny octové. Roztok produktu byl odpařen na RVO za vzniku medovitého oleje.

Výtěžek: 1,3 g, tj. ~ 77 %

Charakterizace:

¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ 1,81 (bd, 2H, ³J_{H-H} = 16,72); 2,31–2,50 (m, 2H); 2,61 (d, 2H, ³J_{H-H} = 13,7); 2,74–2,87 (m, 2H) 2,94 (d, 2H, ³J_{H-H} = 12,0); 3,10–3,24 (m, 6H); 3,38–3,53 (m, 4H); 3,61–3,94 (m, 8H); 6,39 a 8,23 (d, 2H, ¹J_{P-H} = 551,7)

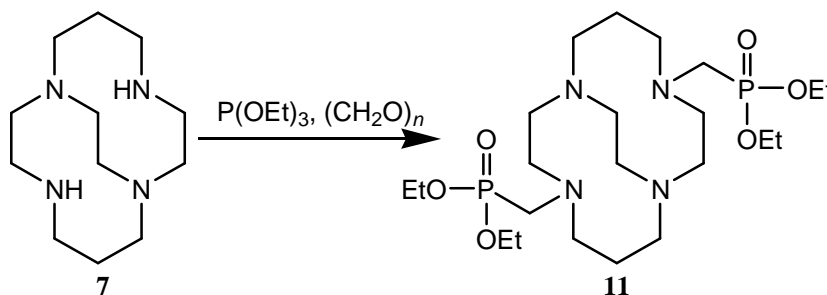
¹³C{¹H} NMR (75 MHz, D₂O) δ 19,49; 47,91; 50,98; 52,62; 53,64; 57,57; 58,45

³¹P NMR (121 MHz, D₂O) δ 11,70 (d, ¹J_{P-H} = 550,7)

MS (ESI) (+): 383,0 (M+H)⁺, vypočteno 383,2; 405,0 (M+Na)⁺, vypočteno 405,2; 421,0 (M+K)⁺, vypočteno 421,2; 427,0 (M+2Na-H)⁺, vypočteno 427,2

MS (ESI) (-): 380,8 (M-H)⁻, vypočteno 381,2; 402,8 (M-2H+Na)⁻, vypočteno 403,2

4,11-bis(diethoxyfosfonylmethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (11)



V 25ml hruškovité baňce opatřené magnetickým míchadlem bylo smícháno 0,40 g (1,8 mmol) látky 7 s 0,16 g (5,3 mmol, 3 ekv) paraformaldehydu a 3,0 g (18 mmol, 10 ekv.) triethylfosfitu. Směs byla za stálého míchání zahřívána 5 dní v olejové lázni nastavené na 50 °C. Konverze byla kontrolována pomocí ³¹P NMR. Následně byla reakční směs nanášena na silný kationtový iontoměnič (Dowex 50) v H⁺-cyklu (asi 30 ml) propláchnutý ethanollem. Reakční směs nanášená v iontoměniči byla ponechána přes noc a poté propláchnuta ethanollem, směsí ethanolu a vody v poměru 1:1 a následně čistou vodou. Produkt byl

z iontoměniče vypláchnut kyselinou chlorovodíkovou (1:1). Eluáty byly spojeny a odpařeny na RVO dosucha. Produktem byl žlutý viskózní olej, který byl ihned použit pro další reakci.

Charakterizace:

^1H NMR (300 MHz, D_2O) δ : 1,38 (t, 6H, $^3J_{\text{H-H}} = 7,1$); 1,81–1,98 (m, 2H); 2,31–2,52 (m, 2H); 2,90 (s, 1H); 3,07 (s, 1H); 3,16–4,00 (m, 14H); 4,26 (quin, 4H, $^3J_{\text{H-H}} = 7,40$)

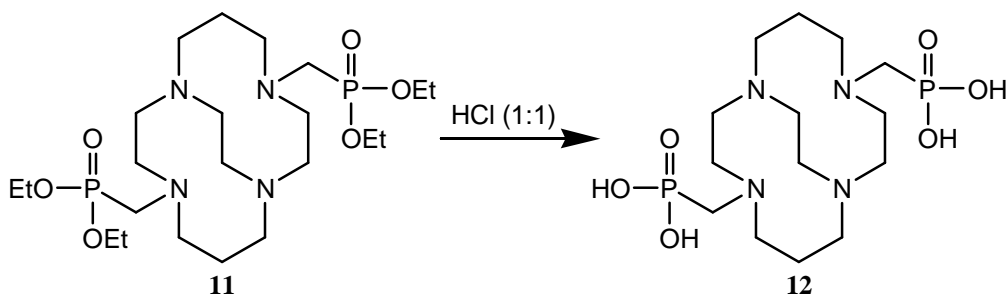
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (75 MHz, D_2O) δ : 15,37; 15,45; 18,91; 46,17; 46,91; 48,07; 52,93; 55,98; 60,82; 63,68; 63,77; 63,87

^{31}P NMR (121 MHz, D_2O) δ 24,03 (s)

MS (ESI) (+): 527,2 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, vypočteno 527,3

MS (ESI) (-): 497,0 ($\text{M}-\text{Et}$)⁻, vypočteno 487,3

4,11-bis(dihydroxyfosfonylmethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (12)



Syntéza byla provedena podle návodu v literatuře.²²

Veškerá látka **11** získaná podle předchozího postupu umístěná v 100ml kulaté varné baňce byla rozpuštěna v asi 50 ml HCl (1:1). Reakční směs byla umístěna do olejové lázně vyhřáté na 75 °C a byla ponechána míchat pod zpětným chladičem 48 hodin. Následně byla reakční směs odpařena dosucha a nanesena na silný aniontový iontoměnič (Dowex 1) v OH^- -cyklu (asi 20 ml). Nečistoty byly vymyty destilovanou vodou a produkt byl eluován kyselinou chlorovodíkovou (1:1). Produkt byl identifikován pomocí MS.

Charakterizace:

MS (ESI) (+)415,0 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, vypočteno 415,2

Chlorid bis(pyridin)manganatý (13)

Syntéza byla provedena podle postupu uvedeného v literatuře.²³

Byl připraven koncentrovaný roztok tetrahydrátu chloridu manganatého rozpuštěním 5,0 g (25 mmol) soli v 25 ml EtOH. K tomuto roztoku byly přility 4,0 g (50 mmol, 2 ekv.) pyridinu. Po chvíli došlo k vysrážení slabě růžové sraženiny, která byla ponechána 30 minut dokrystalizovat a následně byla odsáta na fritě, promyta asi 10 ml EtOH a 5 ml Et₂O. Produkt byl ponechán dosušit v evakuovaném exsikátoru nad NaOH.

Výtěžek: 5,4 g, tj. 75 %

Komplexace ligandů

Komplexace ligandů ve vodném prostředí

Syntetizované látky **4**, **6**, **7**, **9**, a **10** byly zkoumány jako ligandy vhodné pro komplexaci Mn²⁺ iontu. Všechny práce byly prováděny tak, aby bylo co možná nejlépe zamezeno přístupu vzdušného kyslíku k reakční směsi. Ligandy byly vysušeny v evakuovaném exsikátoru nad NaOH. Voda a ethanol byly zbaveny rozpuštěného kyslíku vyvařením pod atmosférou argonu.

Do 5ml ampulí byla vložena malá magnetická míchadélka a krystalek fenolftaleinu, následně do nich byly naváženy ligandy podle tabulky 4.1. Ampule byly propláchnuty injekční jehlou argonem, uzavřeny septem a za stálého zavádění argonu byly přidány injekční stříkačkou 3 ml deoxygenované vody (v případě ligandu **6** 3 ml deoxygenovaného ethanolu). Poté byla ampule umístěna na magnetickou míchačku a za míchání bylo Hamiltonovou stříkačkou přidáno potřebné množství deoxygenovaného 1M roztoku MnCl₂·4H₂O (podle tabulky 4.1). Následně bylo pH reakční směsi upraveno pomalým přidávkem deoxygenovaného 10% roztoku KOH pomocí injekční stříkačky, dokud reakční směs nezřívověla. Takto připravená reakční směs byla zatavena za stálého zavádění argonu. Připravené ampule byly umístěny na magnetickou míchačku do olejové lázně vyhřáté na teplotu podle tabulky 4.1. Po 72 hodinách byly ampule otevřeny a reakční směs byla charakterizována pomocí hmotnostní spektrometrie.

Tabulka 4.1. Složení roztoků při komplexaci ve vodném prostředí

Ligand	Navážka (mg)	Objem Mn ²⁺ (μl)	Rozpouštědlo	Teplota (°C)
6	20,1	49	EtOH	50
7	24,9	88	H ₂ O	80
9	22,5	58	H ₂ O	80
10	21,3	52	H ₂ O	50

Ligand 6

Vyhodnocením hmotnostních spekter bylo zjištěno, že látka **6** nevytvořila s manganem žádný komplex, ve spektru byl identifikován pouze jediný pík odpovídající [6+H]⁺ ($m/z = 407,1$; vypočteno $m/z = 407,3$).

Ligand 7

Analýzou hmotnostního spektra bylo zjištěno, že látka **7** ve vodném prostředí mangan nekomplexuje, reakční směs obsahuje prakticky jen nezreagovaný ligand. Byla pozorována částice [7+H]⁺ ($m/z = 226,9$; vypočteno $m/z = 227,2$).

Ligand 9

Vyhodnocením hmotnostních spekter bylo zjištěno, že došlo ke komplexaci téměř veškerého ligandu. Ve spektru byly pozorovány málo intenzivní píky částic [9+H]⁺ ($m/z = 343,0$; vypočteno $m/z = 343,2$) a [9-H]⁻ ($m/z = 340,8$; vypočteno $m/z = 341,2$), naopak byly pozorovány velice intenzivní píky částic [9-2H+Mn+Na]⁺ ($m/z = 417,9$; vypočteno $m/z = 418,1$) a [9+Mn+Cl-2H]⁻ ($m/z = 429,8$; vypočteno $m/z = 430,1$).

Ligand 10

Analýzováním hmotnostních spekter bylo zjištěno, že většina ligandu byla nezakomplexovaná. Podařily se identifikovat pouze píky odpovídající částici [10+K]⁺ ($m/z = 421,0$; vypočteno $m/z = 421,2$) a [10-H]⁻ ($m/z = 380,8$; vypočteno $m/z = 381,2$).

Komplexace ligandů v nevodném prostředí

Syntetizované látky **4**, **6** a **7** byly zkoumány jako ligandy vhodné pro komplexaci Mn^{2+} iontu v bezvodém prostředí. Použitý acetonitril byl destilován z P_2O_5 a následně probubláván asi 30 minut proudem argonu. Dimethylformamid byl použit komerční, bezvodý.

Použité ligandy byly sušeny ve vakuovém exsikatoru nad NaOH, stejně tak $Mn(py)_2Cl_2$. Do 5ml ampulí opatřených magnetickým míchadélkem byly naváženy ligandy a $Mn(py)_2Cl_2$ podle tabulky 4.2. Ampule byly následně opatrně propláchnuty argonem z injekční jehly a uzavřeny septem. Do ampulí byly následně přidány injekční stříkačkou 3 ml bezvodého bezkyslíkatého rozpouštědla podle tabulky 4.2. Následně byly ampule zataveny. Ampule byly umístěny do olejové lázně na magnetické míchačce o teplotě 80 °C a ponechány míchat 24 hodin. Po vychladnutí byly ampule otevřeny a byl odebrán vzorek na hmotnostní spektrometrii.

Tabulka 4.2. Složení reakční směsi při komplexaci v bezvodém prostředí

Ligand	Navážka ligandu (mg)	Navážka $Mn(py)_2Cl_2$ (mg)	Rozpouštědlo
4	20,0	23,8	MeCN
6	22,0	14,2	MeCN
6	20,6	14,8	DMF
7	20,3	25,6	MeCN
7	20,0	24,8	DMF

Ligand 4

Vyřešením hmotnostních spekter bylo zjištěno, že oproti údajům uvedeným v literatuře²⁴ nedochází ke vzniku komplexu příliš ochotně. Nejintenzivnější pík ($m/z = 255,0$; vypočteno $m/z = 255,3$) odpovídá částici $[4+H]^+$. Pík odpovídající částici $[4+Mn+Cl]^+$ ($m/z = 343,9$; vypočteno $m/z = 344,2$) má pouze asi desetinovou intenzitu.

Ligand 6

Analýzou hmotnostních spekter bylo zjištěno, že ligand **6** nemá příliš velkou tendenci komplexovat manganatý ion, ve spektru byl identifikován pouze pík odpovídající částici

$[6+H]^+$ ($m/z = 407,1$; vypočteno $m/z = 407,3$). Dále byl ve spektru identifikován pík o intenzitě odpovídající asi 5 % píku protonovaného ligandu, který odpovídá částici $[6+Mn+Cl]^+$ ($m/z = 496,1$; vypočteno $m/z = 496,2$).

Ligand 7

Z hmotnostních spekter vyplývá, že komplex ligandu s manganem se tvoří velice ochotně. Dva dominantní píky na hmotnostním spektru reakční směsi v DMF odpovídají částici $[7+Mn+Cl]^+$ ($m/z = 315,8$; vypočteno $m/z = 316,1$) a částici $[2\ 7+2Mn+3Cl]^+$ ($m/z = 667,2$; vypočteno $m/z = 667,2$).

Měření cyklické voltametrie

Do 4ml skleněných vialek byly naváženy jednotlivé ligandy podle tabulky 4.3. Následně byly navážky rozpuštěny v 3 ml 0,1M roztoku KCl. K roztoku ligandu bylo přidáno injekční stříkačkou typu Hamilton 50 μ l 1M roztoku tetrahydrátu chloridu manganatého. Poté bylo pH reakční směsi upraveno přidávkem 10% roztoku KOH na pH mezi 6 a 7. Roztoky byly ponechány doreagovat 12 hodin při pokojové teplotě. Následně byly přelity do elektrolytické cely a doplněny na objem asi 20 ml. Do takto připraveného roztoku byly ponořeny měřící elektrody a bylo provedeno měření cyklické voltametrie. Z voltamogramů byly odečteny hodnoty redoxních potenciálů pro jednotlivé elektrochemické reakce.

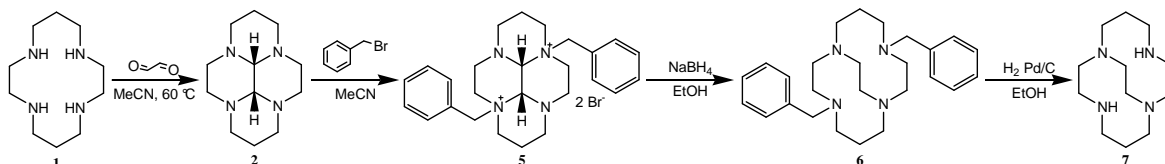
Tabulka 4.3 Složení roztoků pro CV ve vodném prostředí

ligand	navážka ligandu (mg)	objem 1M Mn^{2+} (μ l)	pH
IDA	40,8	50	8,1
NTA	38,9	50	9,7
EDTA	19,3	50	6,6
CDTA	20,3	50	6,4
DTPA	20,8	50	6,8
NOTA	16,4	50	6,7
DOTA	23,9	50	6,7
9	25,7	50	6,5

6 Výsledky a diskuze

Syntéza 1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekanu (7)

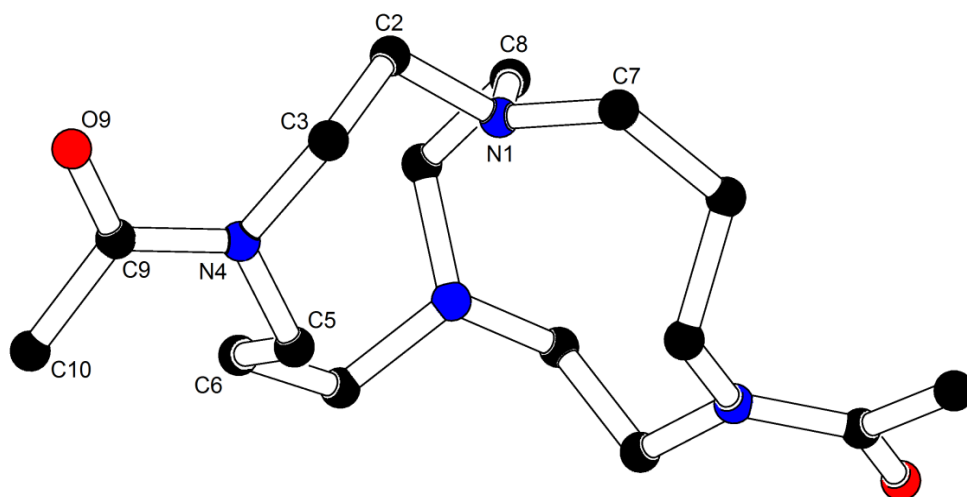
Základní skelet molekuly pro následné navázání pendantních skupin, látka 7, byl připraven sledem reakcí podle návodů uvedených v literatuře.^{19,20,21}



Výchozí látkou pro tuto syntézu byl cyklam (látka 1), látka syntetizovaná podle odzkoušeného návodu v rámci pokročilých praktik z anorganické chemie na PřF UK. Syntéza látky 2 proběhla podle návodu popsáno v literatuře¹⁸, u kterého byly upraveny navážky a následně byla přidána extrakce horkým hexanem. Ukázalo se také, že je důležité udržovat reakční teplotu stanovou v literatuře, při jejím nedodržení docházelo k rapidnímu snížení výtěžku. Rozdíl v teplotě tání oproti literatuře¹⁹ byl odůvodněn bazickou povahou této látky, která stáním na vzduchu pravděpodobně zreagovala se vzdušným CO₂, za tvorby uhličitanu. Dosažený výtěžek činil 76 %.

Při syntéze látky 5 se využívá toho, že benzylová skupina je objemná a při reakci vzniká pouze derivát s benzylovými skupinami navázanými vůči sobě v „trans“ (3a, 8a) polohách. Ukázalo, že je důležité nechat reakční směs reagovat celé 3 týdny. Kvůli špatné rozpustnosti meziproductu, kterým je jednou benzylovaný makrocyklus, reakce probíhá pomalu a při dřívějším odstavení reakční směsi docházelo ke snížení výtěžku a výsledný produkt byl znečištěn již zmíněným meziproductem. Výtěžek činil 74 %.

Následná redukce pyreniové soli NaBH₄ probíhá prakticky kvantitativně s výtěžky okolo 93 %. Po extrakci chloroformem ze silně bazického roztoku byla získána téměř čistá látka 6, pouze výjimečně ji bylo nutné přechistit rekrystalizací z horkého acetonu.



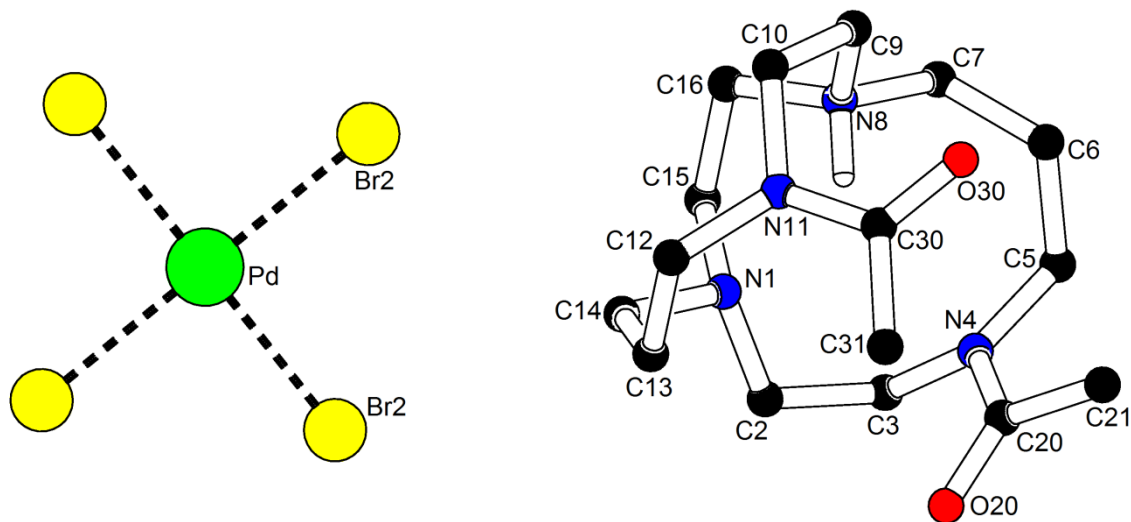
Obrázek 6.1 Struktura látky 8

Krystalografická data: **8**, $C_{16}H_{30}N_4O_2$, jednoklonná, $M_r = 310,44$, $a = 16,4700(11)$ Å, $b = 11,4397(7)$ Å, $c = 8,8213(6)$ Å, $\alpha = 90,00^\circ$, $\beta = 97,280(2)^\circ$, $\gamma = 90,00^\circ$, $U = 1648,64(19)$ Å³, $Z = 4$, prostorová grupa $C2/c$, $R_1 = 0,0415$, $R_2 = 0,908$

Při syntéze látky **7** z látky **6** podle původního postupu, tj. hydrogenací na palladiovém katalyzátoru v bezvodé kyselině octové, docházelo pravděpodobně vlivem nekvalitní kyseliny octové obsahující stopy acethydridu k tvorbě látky **8** (viz obrázek 6.1). Tomuto bylo zabráněno použitím bezvodého ethanolu jako rozpouštědla pro hydrogenaci látky **6**. Produktem těchto hydrogenací byl žlutohnědý viskózní olej, který po několika dnech stání na vzduchu prokrytalizoval, bohužel se ale nepodařilo získat krystal pro röntgenostrukturní analýzu. Látka **7** v pevné formě byla získána až vymražením roztoku látky **7** v diethyletheru ve směsi suchého ledu a lihu. Následnou filtrací byl oddělen produkt od matečného louhu ve formě hygroskopického prášku. Tato látka byla následně použita pro další reakce. Výtěžek se pohyboval kolem 90 % v případě hydrogenace v kyselině octové. Při hydrogenaci v bezvodém lihu byl výtěžek o něco menší, ale stále přijatelných 83 %.

Při delším stání reakční směsi po hydrogenaci v kyselině octové na vzduchu docházelo také k rozkladu katalyzátoru. Rozklad byl natolik intenzivní, že z reakční směsi vykrytalizovaly neznámé červené krystaly. Jejich Röntgenostrukturní analýzou bylo následně zjištěno, že se jedná o $(H8)_2[PdBr_4] \cdot 4H_2O$ (viz obrázek 6.2). Tvorbě této sloučeniny bylo zabráněno rychlým zpracováním reakční směsi. Látka **8** byla následně převedena na látku **7** vařením v roztoku hydroxidu sodného.

Komplexační reakce s Mn^{2+} ukázaly, že látka 7 ve vodném prostředí nemá tendenci manganatý ion komplexovat, v nevodném prostředí (suchý DMF) ke komplexaci dochází.



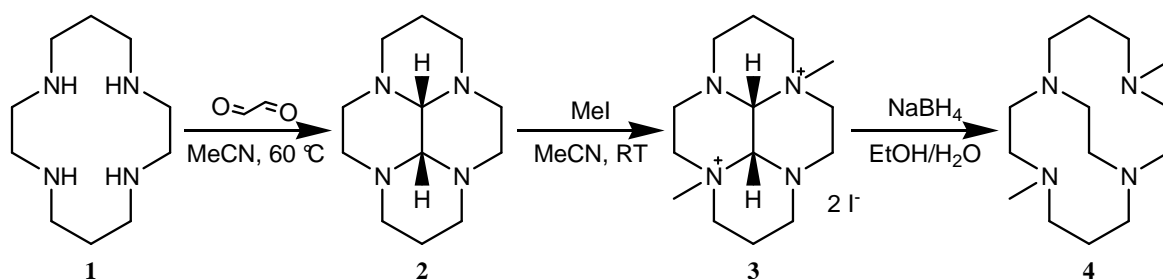
Obrázek 6.2 Struktura $(H8)_2[PdBr_4] \cdot 4H_2O$

Krystalografická data: $(H8)_2[PdBr_4] \cdot 4H_2O$, $C_{32}H_{70}Br_4N_8O_8Pd$, jednoklonná, $M_r = 1120,98$, $a = 8,6605(7) \text{ \AA}$, $b = 24,5724(18) \text{ \AA}$, $c = 9,7316(6) \text{ \AA}$, $\alpha = 90,00^\circ$, $\beta = 104,954(4)^\circ$, $\gamma = 90,00^\circ$, $U = 2000,8(3) \text{ \AA}^3$, $Z = 2$, prostorová grupa $P2_1/n$, $R_1 = 0,0969$, $R_2 = 0,2596$

Syntéza ligandů odvozených od 1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekanu a jejich komplexace s Mn^{2+} ionty

4,11-dimethyl-1,4,8,11-tetraaza[6.6.2]hexadekan (4)

Látka 4, resp. její manganatý komplex, byla syntetizována kvůli měření cyklické voltametrie v bezvodném prostředí (MeCN), kde komplexy syntetizovaných látek s Mn^{2+} vznikají ochotněji. Měla být použita pro kontrolu správnosti měření a pro porovnání s ostatními ligandy. Syntéza komplexu s Mn^{2+} i provedení CV je popsáno v literatuře.^{24,25,26} Vzhledem k tomu, že tato molekula nemá pendantní skupiny schopné se koordinovat na centrální atom, nedá se příliš uvažovat o použití komplexu tohoto ligandu jako kontrastní látky pro MRI. Absence dalších dvou koordinačně schopných skupin zapříčiňuje, že komplex není ve vodném prostředí termodynamicky stálý. Nicméně u tohoto komplexu je studováno jeho použití jako katalyzátoru pro různé oxidační reakce, např. epoxidace.²⁷



Látka **4** byla syntetizována podobným sledem reakcí jako látka **6**. Syntéza opět vycházela z cyklamů, který byl převeden na látku **2** stejným způsobem jako v předchozím textu.

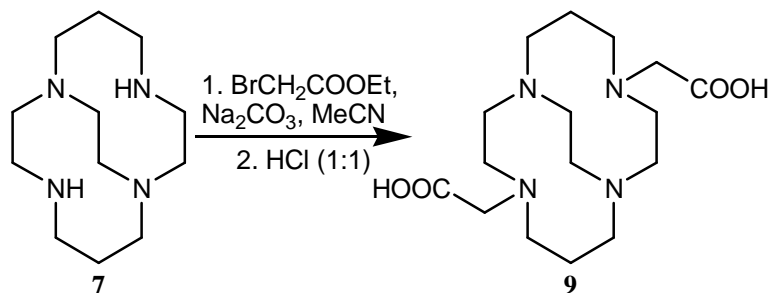
Syntéza látky **3** probíhala přidáním methyljodidu k látce **2** rozpuštěné v acetonitrilu. Následně byla směs ponechána reagovat za stálého míchání při pokojové teplotě 72 hodin. Opět je důležité dodržet tuto dobu, produkt byl jinak znečištěn malým množstvím jednou methylovaného produktu. Z důvodu velké těkavosti methyljodidu byla reakce prováděna v dobře uzavřené varné baňce s velkým nadbytkem methyljodidu. Produktem byla bílá mikrokrystalická látka, která se během reakce z roztoku vysrážela. Po jejím odfiltrování a promytí diethyletherem následovalo ještě její rekrystalizování z horkého methanolu. Rekrystalizací byl produkt zbaven zbytků jednou methylovaného derivátu. Výtěžek této reakce dosahoval 42 % z důvodu práce s malým množstvím chemikálií. Nezanedbatelné množství látky **3** také zůstalo rozpuštěno v matečném louhu při rekrystalizaci z methanolu.

Následná redukce látky **3** byla provedena pomocí NaBH_4 v ethanolu byla provedena podle návodu uvedeného v literatuře.¹⁹ Reakce byla po 72 hodinách zastavena rozložením nezreagovaného NaBH_4 přidáním 10 % kyseliny chlorovodíkové. Po odpaření reakční směsi na RVO byl produkt rozpuštěn v roztoku NaOH a extrahován chloroformem. Spojené chloroformové extrakty po vysušení a odpaření poskytly surovou látku **4** ve formě světle žlutého medu, který po několikadenním stání v exsikátoru prokrystalizoval. Následně byla látka **4** přečištěna destilací z peciček pevného KOH na kugelrohr. Tímto byla získána čistá látka **4** v deprotonovaném stavu ve formě bezbarvého viskózního oleje. Z důvodu práce s malými množstvími činil výtěžek 45 %.

Komplexace látky **4** s Mn^{2+} byla prováděna podle upraveného návodu literatuře.²⁴ Analýza reakční směsi pomocí hmotnostní spektrometrie ukázala, že zakomplexována je pouze část ligandu. Toto může být způsobeno nedodržením dokonale bezvodého prostředí při reakci

(nedokonale vysušený MeCN) a také zoxidování části $\text{Mn}(\text{py})_2\text{Cl}_2$ použitého jako zdroje Mn^{2+} iontu, které se projevilo vysrážením hnědého zákalu.

4,11-bis(karboxymethyl)-1,4,8,11-tetraaza[6.6.2]hexadekan (9)



Látka **9** byla syntetizována podle dříve publikovaného návodu uvedeného v literatuře²¹, tento návod byl jen nepatrně pozměněn.

Syntéza byla provedena ve dvou krocích, v prvním kroku byly naalkylovány iminoskupiny látky **7** ethylbromacetátem, v druhém kroku byl vzniklý meziprodukt deesterifikován zahříváním se zředěnou kyselinou chlorovodíkovou.

Reakce látky **7** s ethylbromacetátem byla prováděna v acetonitrilu, do reakční směsi byl přidán čerstvě vyzíhaný uhličitan sodný jako báze na zneutralizování kyseliny bromovodíkové, která se při reakci uvolňuje a mohla by při substituci konkurovat ethylbromacetátu. Po odpaření reakční směsi byl získán meziprodukt, dvojnásobný ethylester látky **9**, ve formě žlutého viskózního oleje. Tato látka nebyla nijak čištěna ani charakterizována a byla rovnou použita na následující reakci.

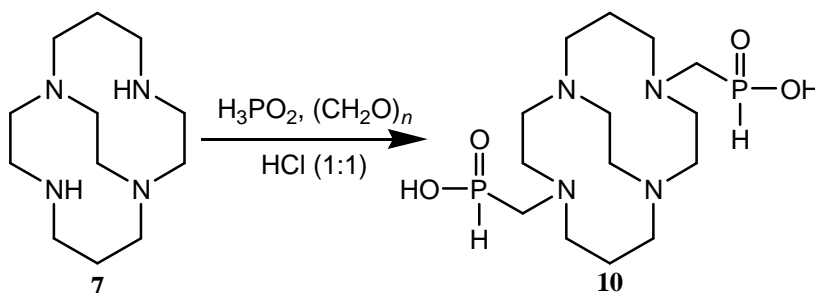
Veškerý vzniklý meziprodukt, byl rozpuštěn ve zředěné kyselině chlorovodíkové a zahříván pod zpětným chladičem. Po odpaření reakční směsi byl produkt separován pomocí silného aniontového iontoměniče. Produkt byl získán ve formě slabě nažloutlého krystalického prášku, výtěžek činil 68 %.

Návod na syntézu této látky byl také publikován v literatuře.¹⁹ Tento návod se od použitého postupu lišil v navázkách, reakčních podmínkách a způsobu čištění produktu. Syntézu podle tohoto návodu ale se nepodařilo reprodukovat, produktem byla tmavě hnědá, asfaltu podobná látka, ze které se nepodařilo chtěnou látku vyseparovat.

Komplexace s manganatým iontem ve vodě ukázaly, že látka **9** má velkou afinitu k manganatému iontu, v hmotnostních spektrech byly identifikovány pouze píky odpovídající komplexu látky **9** s manganem.

4,11-bis(hydroxyfosfinoylmethyl)-1,4,8,11-tetraaza[6.6.2]hexadekan (**10**)

Látka **10** byla syntetizována upravenou Mannichovou reakcí, kde místo látky obsahující aktivní C-H vazbu byla použita kyselina fosforová.

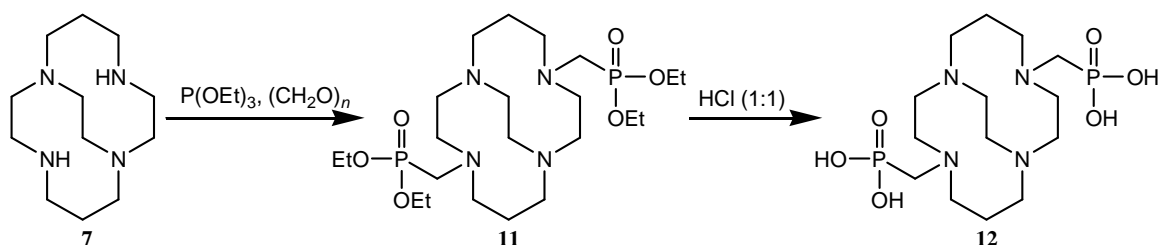


Syntéza byla provedena podle modifikovaného návodu dostupného v literatuře.²¹ Nevýhodou Mannichovy reakce v tomto provedení je skutečnost, že při nízké teplotě probíhá reakce jen pomalu, při zvýšené teplotě ale dochází kromě zavádění hydroxyfosfinoylmethylové skupiny na skelet makrocyclu také k tvorbě vedlejších produktů jako je hydroxymethylfosfinová kyselina. Navíc při zvýšené teplotě jsou vedlejší produkty preferovanější než vznik látky **10**. Proto byla reakce prováděna při pokojové teplotě, přičemž směs byla ponechána míchat po dobu asi 4 až 5 dnů. Konverze reakce byla ^{31}P NMR, porovnáváním integrálů intenzit píků příslušejících výchozí látce, látce **10** a vedlejších produktů. Separace produktu od vedlejších produktů byla provedena po odpaření na RVO chromatografií. Nejdříve byla reakční směs zbavena nadbytku kyseliny fosforové na kationtovém iontoměniči, následně byl produkt vyčištěn od látek nekationtového charakteru na aniontovém iontoměniči. Látka **10** byla získána ve formě světle hnědého medu, který vzdoroval veškerým pokusům o jeho zkrystalování, ať už zbavení přebytečné vody vysušením v exsikatoru, tak i krystalizací difuzí acetonových par do ethanolického roztoku. Proto je výtěžek 77 % pouze orientační.

Komplexace látky **10** s manganatými ionty ve vodě přinesla zjištění, že tato látka mangan nekomplexuje. Pro vytvoření komplexu by bylo potřeba ligand vyčistit krystalizací a zbavit ho protonu nakoordinovaného do kavity a následně komplexaci provádět v striktně bezvodém prostředí.

4,11-bis(dihydroxyfosfonoylmethyl)-1,4,8,11-tetraaza[6.6.2]hexadekan (12)

Látka **12** byla připravena dvoukrokovou syntézou. Prvním krokem byla modifikovaná Kabachnikova–Fieldsova reakce, jejímž produktem byla látka **11**, následujícím krokem byla hydrolýza tohoto esteru na látku **12**.



Syntéza látky **11** byla prováděna v modifikaci, kdy jako rozpouštědlo sloužila jedna komponenta reakční směsi – triethylfosfit. Do baňky byla navážena látka **7** a potřebné množství paraformaldehydu, tyto reagenty byly následně rozpuštěny v triethylfosfitu, směs byla uzavřena v baňce a ponechána zahřívát na vodní lázni při $50\text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 5 dní. Konverze byla sledována pomocí ^{31}P NMR, reakce byla ukončena v okamžiku, kdy nedocházelo v reakční směsi k viditelné změně. Reakční směs byla následně zpracována nanesením na silný kationtový iontoměnič v ethanolu a ponecháním přes noc. Během této doby došlo k převedení nezreagovaného triethylfosfitu na diethylfosfit, který byly z kolony vymyt. Produkt (látka **11**) byl následně z iontoměniče vymyt kyselinou chlorovodíkovou. Po odpaření na RVO byla získána látka **11** jako nažloutlý viskózní olej.

V následujícím kroku syntézy byla látka **11** hydrolyzována varem v zředěné kyselině chlorovodíkové. Reakční směs byla po jednom dnu analyzována pomocí hmotnostní spektroskopie, kdy byl identifikován pík látky **12** spolu s píky odpovídajícími látce **12** s různým počtem (1–3) navázaných ethylových skupin. Tato reakce nebyla z důvodu nedostatku času dokončena, předpokládá se ale, že delším varem dojde ke kvantitativnímu převedení látky **11** na látku **12**.

Z tohoto důvodu také nebyly zkoumány komplexace tohoto ligandu s Mn^{2+} iontem.

Cyklická voltametrie manganatých komplexů

Pomocí cyklické voltametrie byly studovány elektrochemické vlastnosti komplexů dvojmocného manganu s chelatujícími ligandy CDTA, DOTA, DTPA, EDTA, IDA, NOTA, NTA a dále s nasyntetizovanou látkou **9**. Voltametrie byly prováděny ve vodném prostředí, elektrolytem byl 0,1M roztok KCl ve vodě.

Roztoky komplexů k měření cyklické voltametrie byly připraveny rozpuštěním navážek ligandů v 0,1M roztoku KCl, ke kterému byl následně přidán roztok chloridu manganatého. Pomocí hydroxidu draselného bylo pH upraveno na hodnotu mezi 6–7, aby došlo k deprotonování ligandů a podpořila se komplexace manganatého iontu. Při výpočtu navážek ligandů bylo počítáno s asi 10% nadbytkem ligandu vůči manganatému iontu. Pouze v případě komplexu Mn^{2+} s NTA a IDA bylo vzhledem k nízké afinitě ligandu k manganatému iontu naváženo dvojnásobné (NTA) a trojnásobné (IDA) množství ligandu vůči kovu. Také pH bylo u těchto vzorků zvýšeno až na 9,7 (NTA) resp. 8,1 (IDA). Za těchto podmínek byl podle vypočtených distribučních diagramů manganatý ion plně zakomplexován.

Cyklické voltametrie byly měřeny při různých rychlostech změny potenciálu (20, 50, 100, 200, 500 $mV s^{-1}$). Z naměřených voltamogramů byly odečteny hodnoty oxidačních píků E_a a redukčních píků E_c . (viz tabulka 6.1). Z těchto hodnot byly následně vypočteny separace píků ΔE a redukční potenciály E . Hodnoty E_a a E_c byly odečítány z voltamogramů měřených při nejnižší rychlosti změny potenciálu, pokud byly píky málo výrazné, byly použity voltamogramy naměřené při vyšší rychlosti. Naměřené voltamogramy jsou k nahlédnutí v příloze.

Naměřená data byla v souladu s hodnotami nalezenými v literatuře²⁸ (EDTA $E = 0,81 V$, naměřeno $E = 0,835 V$; NOTA $E = 0,74 V$, naměřeno $E = 0,793 V$).

Bylo zjištěno, že komplexy manganatého iontu se zkoumanými ligandy mívají dva píky, které pravděpodobně odpovídají přechodům $Mn^{2+/3+}$ a $Mn^{3+/4+}$.

Přechod mezi dvojmocným a trojmocným manganem pro tyto ligandy bývá reverzibilní, s malou separací. Potenciál tohoto přechodu je ovlivňován koordinačním okolím

manganatého iontu. Korelace mezi počtem koordinovaných atomů dusíku a kyslíku na velikosti potenciálu této redoxní změny ale nalezena nebyla.

V případě přechodu mezi trojmocným a čtyřmocným manganem byly pozorovány dva případy. V prvním případě je kvazireverzibilní přechod okolo 0,9 V s velkou separací oxidačního a redukčního píku (okolo 240 mV). Vzhledem k faktu, že tento přechod nastává vždy při téměř stejném potenciálu, je toto chování přisuzováno oxidaci trojmocného manganu na burel, kdy ion manganu není koordinován původním ligandem a nezasahuje tedy do redoxního potenciálu. Toto chování bylo pozorováno u všech ligandů kromě ligandu NOTA.

Druhý případ byl pozorován u komplexu manganu s ligandem NOTA. V tomto případě je separace oxidačního a redukčního píku malá, jde o dokonale reverzibilní proces. Předpokládá se, že tento ligand je natolik silný, že dokáže udržet i mangan v oxidačním čísle 4. Podobné chování by mělo být pozorovatelné podle literatury²⁴ i u komplexu manganu s ligandem **4** při měření v bezvodém prostředí.

Tabulka 6.1 Naměřené potenciály komplexů (vs. SHE)

komplex	přechod	E_a (V)	E_c (V)	E (V)	ΔE (mV)
CDTA	2+/3+	0,85657	0,77096	0,814	86
	3+/4+	1,3752	1,03784	1,207	337
DOTA	2+/3+	1,01633	1,00595	1,011	10
DTPA	2+/3+	0,83475	0,74655	0,791	88
	3+/4+	1,255	1,01114	1,133	244
EDTA	2+/3+	0,89181	0,77768	0,835	114
	3+/4+	1,2757	1,03189	1,154	244
IDA	2+/3+	0,47891	0,20197	0,340	277
	3+/4+	1,2242	0,98749	1,106	237
NOTA	2+/3+	0,84512	0,74136	0,793	104
	3+/4+	1,2602	1,18753	1,224	73
NTA	2+/3+	0,95727	0,92706	0,942	30
	3+/4+	1,2544	1,11337	1,184	141
9	2+/3+	0,53934	0,47891	0,509	60
	3+/4+	1,0524	0,84091	0,947	211

7 Závěr

V rámci této bakalářské práce byly syntetizovány 4 deriváty ethylenem přemostěného cyklamu, které jsou potenciálně vhodné pro komplexaci manganatého iontu. Vzniklé komplexy by následně měly být použitelné jako kontrastní látky pro MRI. U těchto komplexů byla pomocí hmotnostní spektrometrie studována schopnost komplexovat Mn^{2+} .

U jednoho připraveného komplexu (látka **9**) byly studovány elektrochemické vlastnosti jeho manganatého komplexu pomocí cyklické voltametrie, které byly porovnávány s elektrochemickými vlastnostmi manganatých komplexů běžných chelatujících ligandů (IDA, NTA, EDTA, CDTA, DTPA, NOTA, DOTA).

Připravené látky budou dále studovány. Je potřeba optimalizovat některé kroky syntézy a prostudovat jejich termodynamické a kinetické vlastnosti, tj. stanovit konstanty stability komplexů s manganatým iontem a s jinými vybranými ionty kovů.

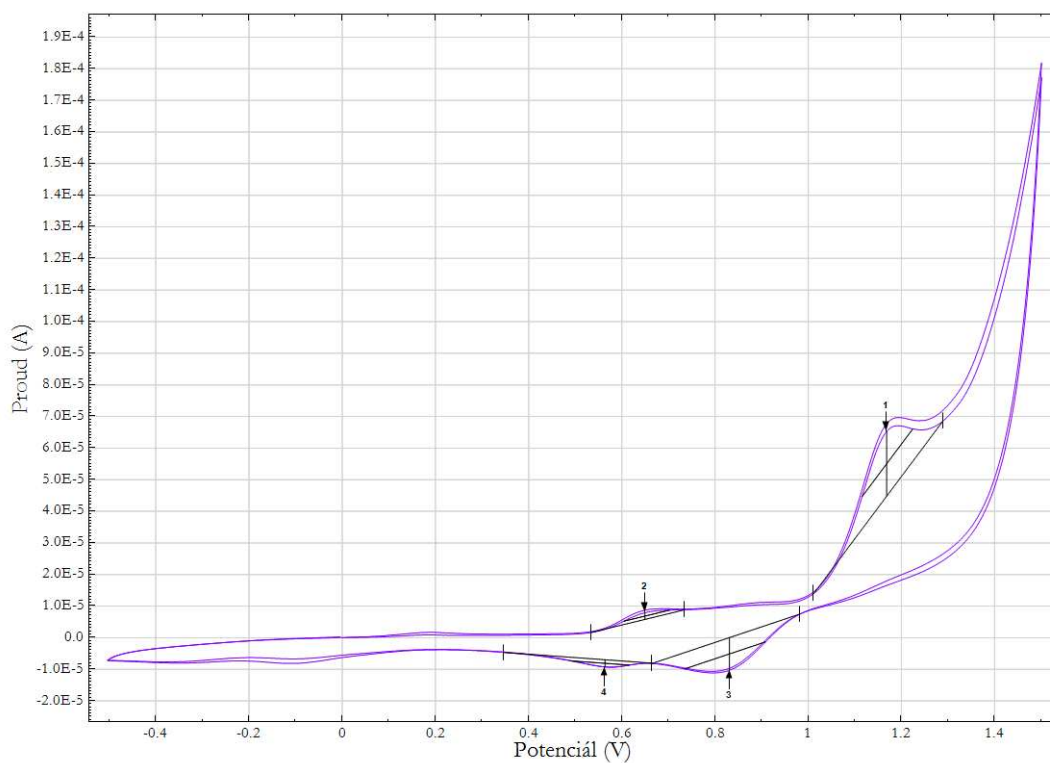
8 Literatura

- ¹ http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2003/, staženo 27. 5. 2011
- ² http://nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1952/, staženo 28. 5. 2011
- ³ A. P. Koretsky, A. C. Silva. *NMR Biomed.*, **2004**, *17*, 527–531
- ⁴ K. G. Toft, S. O. Husvedt, D. Grant, I. Martinsen, P. B. Gordon, G. A. Friisk, A. J. Korsmo, T. Skotland. *Acta Radiol.*, **1997**, *38*, 677–689
- ⁵ D. C. Weatherburn, S. Mandal, S. Mukhopadhyay, S. Bhaduri, L. F. Lindoy. *Manganese in Comprehensive Coordination chemistry II*, Elsevier, Oxford **2004**
- ⁶ P. Atkins, J. de Paula. *Physical Chemistry, 8th edition*, Oxford University Press, Oxford **2006**
- ⁷ http://www.uochb.cz/web/document/cms_library/747.pdf, staženo 7. 5. 2011
- ⁸ A. E. Merbach, É. Tóth. *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*, Jon Wiley & Sons, Chichester **2001**
- ⁹ P. Hermann, J. Kotek, V. Kubíček, I. Lukeš. *Dalton Trans.*, **2008**, *23*, 3027–3047
- ¹⁰ V. Kuperman. *Magnetic Resonance Imaging*, Academic Press, San Diego **2000**
- ¹¹ É. Tóth, L. Helm, A. E. Merbach. *Metal Complexes as MRI Contrast Enhancement Agents in Comprehensive Coordination Chemistry II*, Elsevier, Oxford **2004**
- ¹² A. C. Silva, J. H. Lee, I. Aoki, A. P. Koretsky. *NMR Biomed.*, **2004**, *17*, 532
- ¹³ N. A. Bock, F. F. Paiva, A. C. Silva. *NMR Biomed.*, **2008**, *21*, 473
- ¹⁴ H. B. Na, I. Ch. Song, T. Hyeon. *Adv. Mater.*, **2009**, *29*, 2133
- ¹⁵ D. D. Perrin, W. L. F. Armarego. *Purification of Laboratory Chemicals, 3rd edition*, Pergamon Press, New York **1988**
- ¹⁶ G. M. Hledrick. *SHELXL-97, A Computer Program for Refinement of Crystal Structures*, University of Göttingen, Göttingen **1997**
- ¹⁷ A. L. Spek. *PLATON – A Multipurpose Crystallographic Tool*, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands, **2005**
- ¹⁸ G. R. Weisman, S. C. H. Ho, V. Johnson. *Tetrahedron Lett.*, **1980**, *21*, 335–338

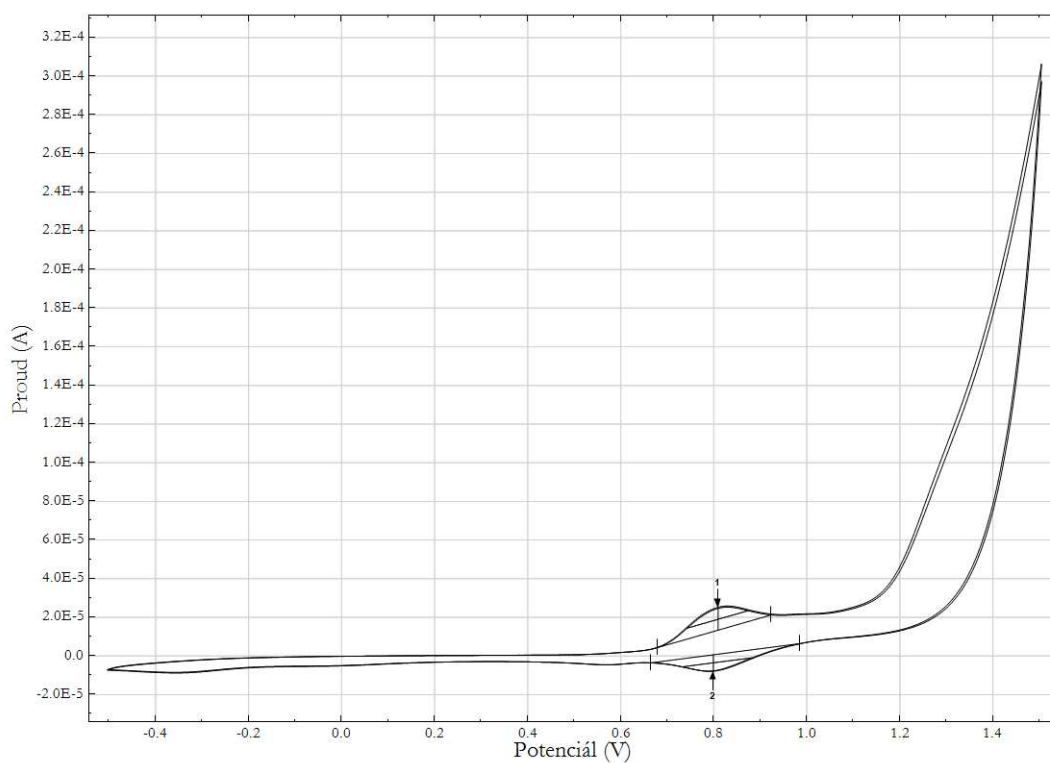
-
- ¹⁹ E. H. Wong, G. R. Weisman, D. C. Hill, D. P. Reed, M. E. Rogers, J. S. Condon, M. A. Fagan, J. C. Calabrese, K. Ch. Lam, I. A. Guzei, A. L. Rheingold. *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 10561
- ²⁰ J. Koteck, *Diplomová práce*, PřF UK, **1999**
- ²¹ J. Plutnar. *Disertační práce*, PřF UK, Praha **2007**
- ²² D. J. Stigers, R. Ferdani, G. R. Weisman, E. H. Wong, C. J. Anderson, J. A. Golen, C. Moored, A. L. Rheingold. *Dalton Trans.*, **2010**, *39*, 1699–1701
- ²³ H. T. Witteveen, B. Nieuwenhuijse, J. Reeddijk, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **1974**, *36*, 1535
- ²⁴ T. J. Hubin, J. M. McCormick, S. R. Collinson, M. Buchalova, Ch. M. Perkins, N. W. Alcock, P. K. Kahol, A. Raghunathan D. H. Busch. *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 2512–2522
- ²⁵ T. J. Hubin, J. M. McCormick, S. R. Collinson, N. W. Alcock, D. H. Busch. *Chem. Commun.*, **1998**, 1675–1676
- ²⁶ T. J. Hubin, J. M. McCormick, N. W. Alcock, D. H. Busch. *Inorg. Chem.*, **2001**, *40*, 435–444
- ²⁷ G. Yin, A. M. Danby, D. Kitko, J. D. Carter, W. M. Scheper, D. H. Busch. *Inorg. Chem.*, **2007**, *46*, 2173–2180
- ²⁸ Y. Fukuda, M. Hirota, M. Kon-no, A. Nakao, K. Umezawa. *Inorg. Chim. Acta.*, **2002**, *339*, 322–326

9 Přílohy

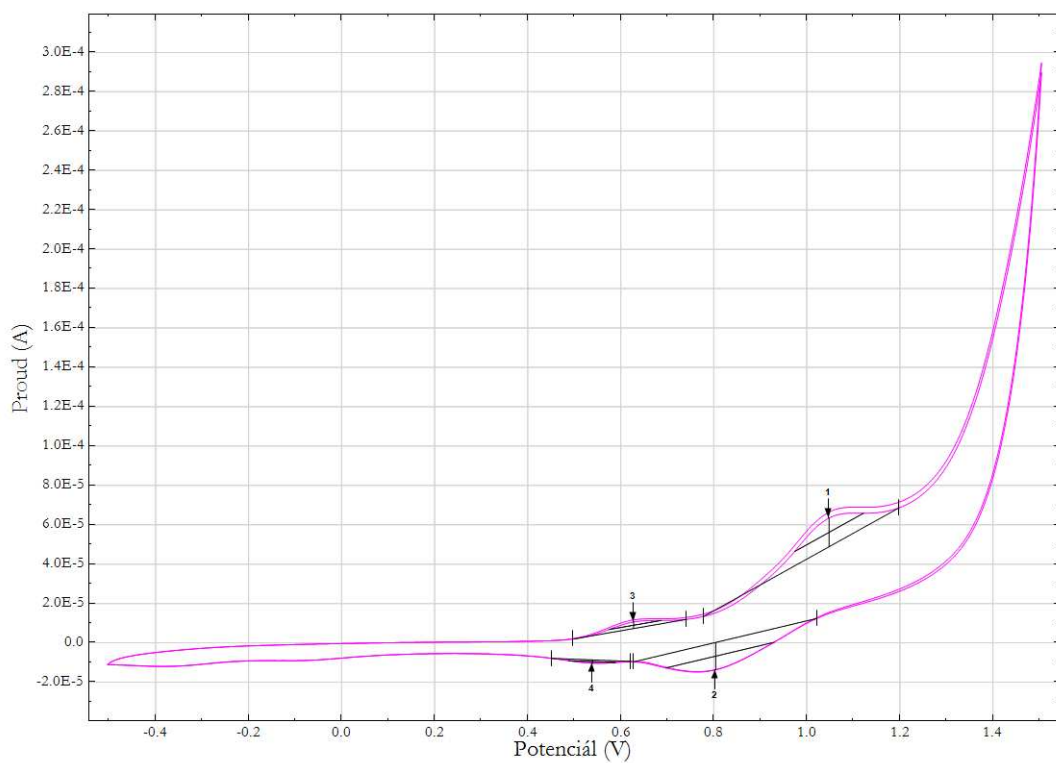
Graf 9.1 Cyklovoltamogram komplexu MnCDTA 2,5 mM při rychlosti 20 mV s^{-1}



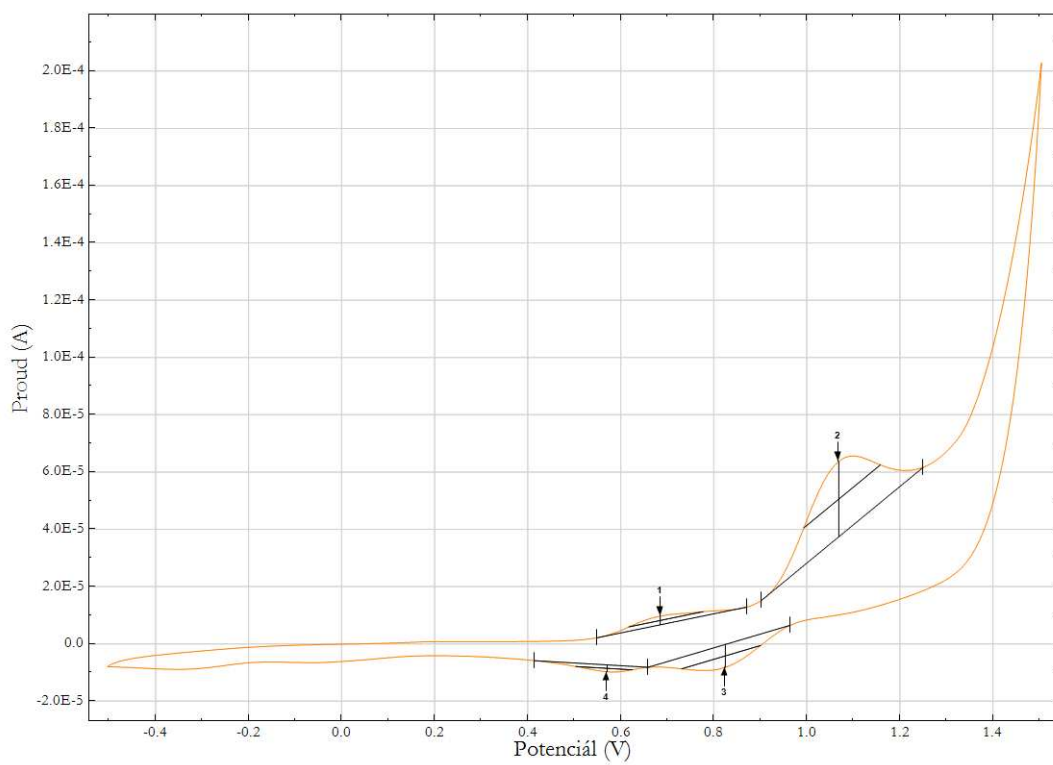
Graf 9.2 Cyklovoltamogram komplexu MnDOTA 2,5 mM při rychlosti 20 mV s^{-1}



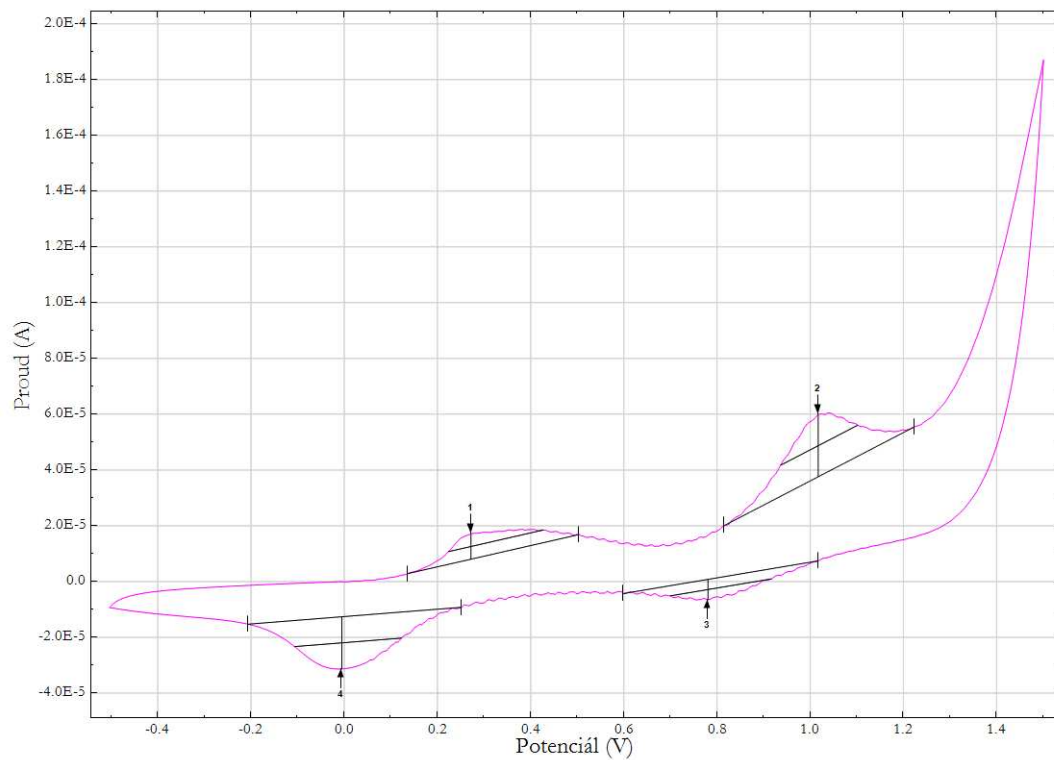
Graf 9.3 Cyklovoltamogram komplexu MnDTPA 2,5 mM při rychlosti 50 mV s^{-1}



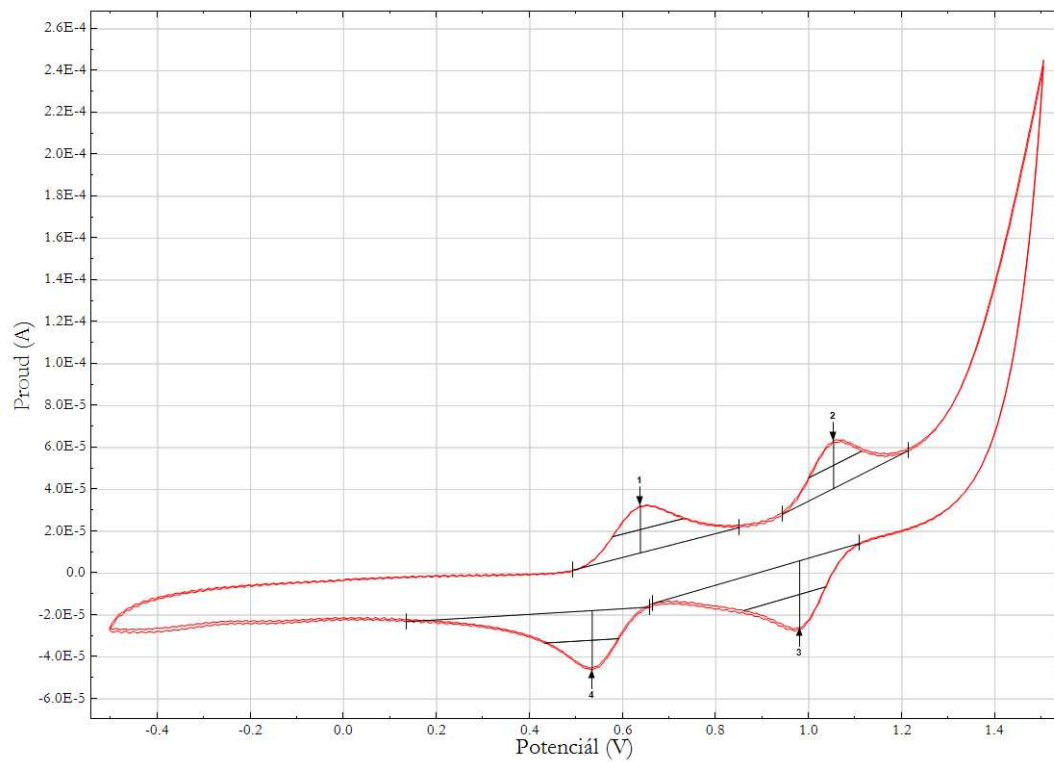
Graf 9.4 Cyklovoltamogram komplexu MnEDTA 2,5 mM při rychlosti 20 mV s^{-1}



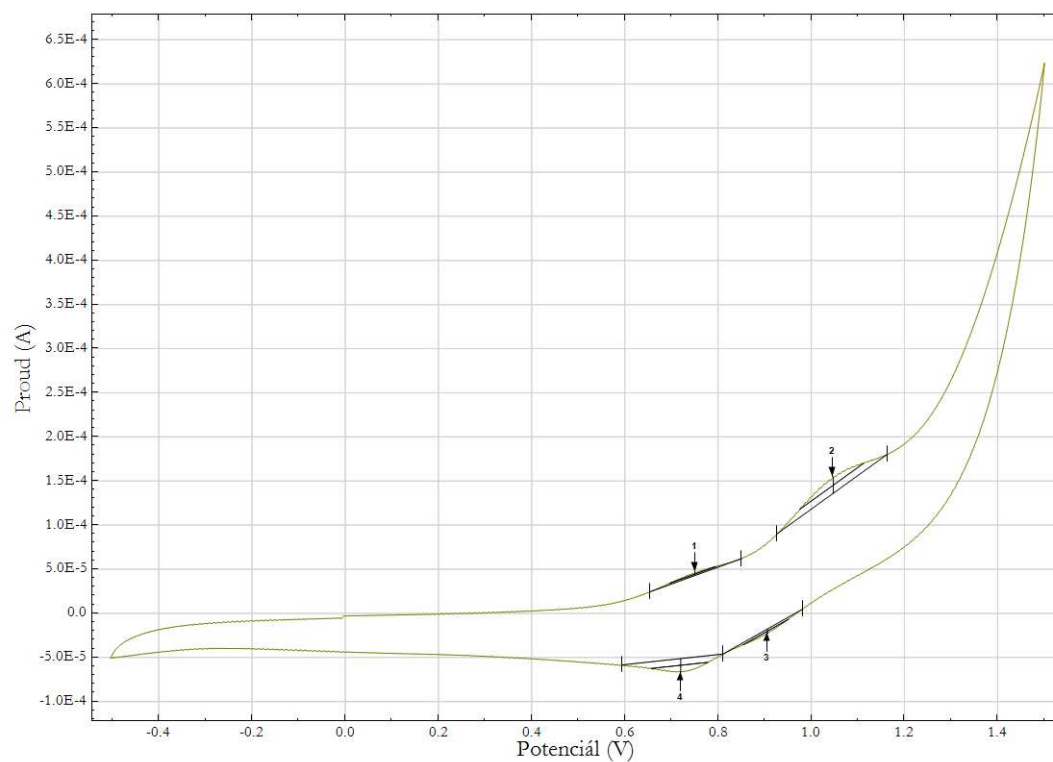
Graf 9.5 Cyklovoltamogram komplexu $\text{Mn}(\text{IDA})_2$ 2,5 mM při rychlosti 20 mV s^{-1}



Graf 9.6 Cyklovoltamogram komplexu MnNOTA 2,5 mM při rychlosti 200 mV s^{-1}



Graf 9.7 Cyklovoltamogram komplexu $\text{Mn}(\text{NTA})_2$ 2,5 mM při rychlosti 500 mV s^{-1}



Graf 9.8 Cyklovoltamogram komplexu $\text{MnH}_2\text{9}$ 2,5 mM při rychlosti 50 mV s^{-1}

