

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra anorganické chemie

Studijní program Chemie



Veronika Kad'orková

Elektrochemie makrocyclických komplexů

Electrochemistry of macrocyclic complexes

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Alan Liška, Ph.D.

Praha 2022

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně, pod vedením školitele RNDr. Alana Lišky, Ph.D., a že jsem všechny použité prameny řádně citovala.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze, 20.05.2022

Veronika Kad'orková

.....

Abstrakt

Předkládaná práce se zabývá studiem základních elektrochemických vlastností měďnatých komplexů tří makrocyclických ligandů odvozených od cyklamu, které by mohly najít uplatnění v radiomedicině. Komplexy byly studovány metodami DC-polarografie a cyklické voltametrie ve vodném prostředí po předchozí přípravě z roztoků síranu měďnatého a ligandu. Všechny komplexy se redukují v prostředí acetátového pufru při pH 5 na rtuťových elektrodách v jednom ireverzibilním dvouelektronovém kroku za vzniku volného ligandu a amalgámu mědi. Pozorovaná podmíněná termodynamická stabilita komplexů (vyjádřená jako posun redukčního potenciálu vůči síranu měďnatému) koreluje se strukturálními motivy v molekulách jednotlivých ligandů. Ke stabilitě přispívá přítomnost můstku a karboxylátových skupin, naopak fenolické atomy kyslíku v roli donorových atomů jsou méně efektivní.

Klíčová slova

Elektrochemie, komplexy, ligandy, makrocykly, deriváty cyklamu

Abstract

The present thesis summarizes fundamental electrochemical properties of copper(II) complexes derived from three cyclame-*like* macrocyclic ligands. Target application of the studied complexes is radioimaging in medicine. The complexes were studied by means of DC-polarography and cyclic voltammetry on mercury hanging drop electrode in buffered media (0.1M sodium acetate, pH 5) upon mixing of the ligand and copper(II) sulfate stock solutions. All three complexes undergo a single two-electron irreversible reduction process yielding free ligand and copper amalgam. The apparent thermodynamic stability of the investigated complexes (expressed as negative shift of the observed reduction potentials relatively to copper(II) sulfate) correlates to structural motifs employed in the individual ligand molecules. Presence of the bridged moiety as well as the carboxylate group seems to enhance the overall stability whereas the phenolic oxygen atoms in role of donor atoms seem to be less efficient.

Keywords

Electrochemistry, complexes, ligands, macrocycles, cyclam derivatives

Obsah

1. TEORETICKÝ ÚVOD	6
VYUŽITÍ KOMPLEXŮ MĚDI V MEDICÍNĚ	6
NUKLEÁRNÍ MEDICÍNA	6
<i>Planární scintigrafie</i>	6
<i>SPECT</i>	6
<i>PET</i>	7
RADIOIZOTOPY MĚDI	7
KOORDINAČNÍ CHEMIE MĚDI	8
ELEKTROCHEMICKÁ REDUKCE MĚDNATÝCH KOMPLEXŮ S MAKROCYKLICKÝMI LIGANDY	10
ELEKTROCHEMIE	11
ELEKTROANALYTICKÉ METODY	11
POLAROGRAFIE A VOLTAMETRIE	13
CÍL PRÁCE.....	15
2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	16
POUŽITÉ CHEMIKÁLIE	16
POUŽITÉ PŘÍSTROJE.....	16
EXPERIMENTÁLNÍ POSTUPY A PODMÍNKY	17
3. VÝSLEDKY A DISKUSE	18
ELEKTROCHEMICKÉ VLASTNOSTI LIGANDŮ	18
ELEKTROCHEMICKÉ REDUKCE MĚDNATÝCH IONTŮ	18
OBECNÝ REDUKČNÍ MECHANISMUS KOMPLEXŮ	19
TERMODYNAMICKÁ STABILITA KOMPLEXŮ $Cu-L^1 - Cu-L^3$	23
4. ZÁVĚR	24
5. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	25
6. PODĚKOVÁNÍ.....	26
7. ZDROJE	27
8. PŘÍLOHY	30

1. Teoretický úvod

Využití komplexů mědi v medicíně

Řada komplexů kovů je dnes využívána v medicíně, jednou z nejvýznamnějších skupin jsou komplexy mědi. Komplexy Cu(II) byly široce využívány při štěpení DNA pro generování aktivovaných forem kyslíku díky redoxnímu cyklování mezi Cu(II) a Cu(I) pravděpodobně hydroxylovým radikálem, který může reagovat na několika místech nukleové kyseliny a rozštěpit je. Komplexy Cu(II) s donory N a O byly studovány z hlediska jejich nukleázových vlastností. Měď se hromadí v nádorech díky selektivní permeabilitě membrány rakovinných buněk pro sloučeniny mědi. Z těchto důvodů byla řada komplexů mědi testována na jejich protirakovinnou aktivitu a některé z nich byly účinné jak *in vivo*, tak *in vitro*. [1] Dnes nejvíce studovaná aplikace komplexů mědi je v medicíně nukleární.

Nukleární medicína

Nukleární medicína je interdisciplinární lékařský obor, který využívá ionizující záření za účelem diagnostiky a terapie onemocnění. [2] Nachází uplatnění v různých oblastech medicíny. Tomografická scintigrafie patří k nejběžněji používaným zobrazovacím metodám pro diagnostiku chorob. Tomografickou scintigrafii jde rozdělit dle způsobu detekce na planární scintigrafii, SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography – Jednofotonová emisní počítačová tomografie) a PET (Positron Emission Tomography – Pozitronová emisní tomografie). [3] [4]

Planární scintigrafie je základní technika, která poskytuje informace o rozložení radioaktivního materiálu v jediném dvourozměrném snímku, analogicky k planárnímu rentgenovému skenování. Má dost špatný poměr signálu k šumu a nízké prostorové rozlišení, ale má extrémně vysokou citlivost, kdy je schopna detekovat nanogramy radioaktivního materiálu. Nejčastěji používané radioaktivní indikátory jsou komplexy technecia (^{99m}Tc). [3]

SPECT tvoří trojrozměrný obraz distribuce radioindikátoru emitujícího gama záření vstříkovaného do těla. Jednou z výhod SPECT je, že lze paralelně studovat více sond značených samostatnými izotopy, protože každý izotop může být spojen se svým jedinečným γ -spektrům V současné době většina aplikací SPECT zahrnuje studie kardiovaskulárních onemocnění. [3]

PET je nejcitlivější metoda, která využívá γ -paprsky produkované v procesu anihilace pozitronů a elektronů a vyžaduje radionuklidy emitující pozitrony. Stejně jako u SPECT touto metodou lze získat vysoce kvalitní trojrozměrné snímky. Kvantifikace pomocí PET může poskytnout spolehlivou informaci o koncentraci radionuklidu emitující pozitrony uvnitř těla. [3]

Pro všechny tyto metody jsou velice zajímavé jednotlivé radioizotopy mědi.

Radioizotopy mědi

V přírodě se měď vyskytuje ve dvou stabilních izotopech ^{63}Cu (69,17 %) a ^{65}Cu (30,83 %). Kromě toho měď nabízí v nukleární medicíně vhodný výběr radionuklidů pro zobrazování a cílenou radionuklidovou terapii. Radionuklidy podléhají β^- , elektronovému záchytu i pozitronovým rozpadům, což vede k emisím částic vhodných pro terapii a gama záření pro tomografické zobrazování. Radionuklid ^{64}Cu kombinuje všechny tři typy rozpadu a je tak jedinečný pro použití jak při zobrazovací PET, tak při cílené terapii. Díky dobré dostupnosti radionuklidů nabízí izotopy mědi podobně širokou škálu aplikací jako radioizotopy jódu (^{123}I , ^{124}I , ^{131}I). [5] Vývoj vedl k různým aplikacím radioizotopů mědi, jako jsou činidla pro perfúzi myokardu a činidla pro zobrazení hypoxie, detekce multirezistence, zobrazování a terapie cílené na peptidy, terapie cílená na hypoxii, radioimuno-zobrazování a radioimunoterapie. [1]

Izotop ^{60}Cu – Radionuklid ^{60}Cu emituje pozitrony (93 %) s poločasem rozpadu $t_{1/2} = 20$ min. Je relativně snadné ho vyrobit pomocí malého cyklotronu jadernými reakcemi $^{60}\text{Ni}(p,n)^{60}\text{Cu}$ a $^{60}\text{Ni}(d,n)^{61}\text{Cu}$ s použitím obohaceného ^{60}Ni -terče. [5] [6]

Izotop ^{61}Cu – Radionuklid ^{61}Cu také emituje pozitrony (62%) s delším poločasem rozpadu $t_{1/2} = 3,33$ h. [5] [6]

Izotop ^{62}Cu – Radionuklid ^{62}Cu nabízí perspektivu v PET studiích díky své dostupnosti. Jeho krátký poločas rozpadu $t_{1/2} = 9,74$ min je vhodný pro opakovatelné studie za různých fyziologických podmínek. [5]

Izotop ^{64}Cu – je ze všech radionuklidů nejuniverzálnější díky svému jedinečnému rozpadovému schématu, které kombinuje záchyt elektronů (41 %), β^- (40 %) a β^+ (19 %) rozpady a také vede k emisi Augerových elektronů s terapeutickým potenciálem. Má dostatečně dlouhý poločas rozpadu $t_{1/2} = 12,7$ h pro radiofarmaceutickou syntézu mnoha sloučenin a je kompatibilní s *in vivo* kinetikou různých molekulárních nosičů. [5]

Izotop ^{66}Cu – Radionuklid ^{66}Cu je β^- emitor s krátkou dobou života. Poločas rozpadu $t_{1/2} = 5,1$ min. Je vhodný pro cílenou terapii velkých nádorů. Vysokoenergetické emise z ^{66}Cu nabízejí v kombinaci s nízkoenergetickými emisemi β^-/β^+ částic ^{64}Cu nebo β^- z ^{67}Cu potenciál pro zvýšení terapeutické účinnosti v koktejlovém přístupu k cílené terapii. [5]

Izotop ^{67}Cu – Nejdelší dobu života má radionuklid ^{67}Cu s poločasem rozpadu $t_{1/2} = 62$ h. Rozpadá se zcela β^- zářením na 50 % do 185 keV excitovaného stavu ^{67}Zn , 20 % k základnímu stavu ^{67}Zn , 22% do 93 keV stavu ^{67}Zn a 1,2 % do 393 keV excitovaného stavu ^{67}Zn . Tyto přechody vedou ke třem γ -paprskům, vhodným pro jednofotonové zobrazení s energiemi 91 (7 %), 93 (16%) a 185 (48 %) keV, umožňující zobrazení distribuce radionuklidů během terapie. [5]

Koordinační chemie mědi

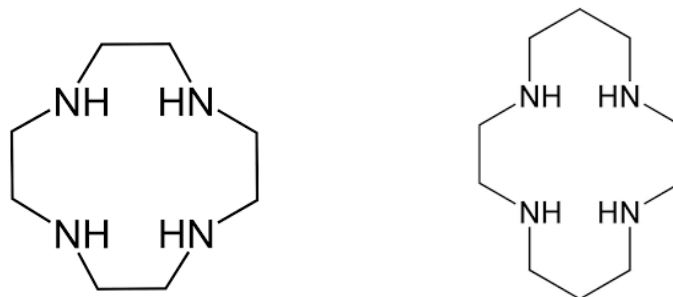
Měď je ušlechtilý kov 11. skupiny, který má v elementárním stavu dobrou elektrickou i tepelnou vodivost a výbornou tažnost a kujnost. Typický oxidační stupeň je +II, existují však i sloučeniny v oxidačních stavech +I a +III. Sloučeniny měďné se v roztocích vyskytují výhradně v podobě komplexů, typická koordinační čísla jsou 2 a 4. Naproti tomu u měďnatých komplexů bývá koordinační sféra vlivem Jahn-Tellerova efektu deformovaná, což vede k nejasnostem při určení koordinačního čísla. Nesymetrická elektronová konfigurace d-elektronů u měďnatých komplexů jim často předurčuje kinetickou labilitu. Nicméně pro možnosti aplikace komplexů radioizotopů mědi v medicíně je klíčovou podmínkou, aby byl komplex z kinetického hlediska inertní. Toho lze docílit použitím makrocyclických ligandů. [1]

Kromě požadavku na kinetickou inertnost aplikovaného komplexu mědi v oxidačním stavu +II je dále potřeba, aby zvolený ligand účinně koordinoval také měď v oxidačním stavu +I. Při metabolizaci radiofarmak založených na azamakrocyclických komplexech mědi se totiž předpokládá reduktivní krok, přičemž pro bezpečnou funkci preparátu je podstatné, aby po enzymatické redukci nedošlo k dekomplexaci. Volný ion měďný je ve vodném prostředí nestabilní vůči disproportionaci na ion měďnatý a elementární měď. Proto musí být voleny ligandy tak, aby komplexy byly stabilní v obou oxidačních stavech, nebo aby k redukci měďnatého komplexu v těle vůbec nedocházelo. **Proto je zapotřebí komplexy studovat i z elektrochemického hlediska,** s ohledem

na reálné podmínky použití (vliv rozpouštědla, pH, stechiometrie, koncentrace, teploty, iontové síly, přítomnosti dalších látek, teploty a podobně). [7]

Na základě teorie ligandového pole se očekávají rozdíly v geometrických preferencích pro Cu(I) a Cu(II). Cu(I) je d^{10} systém, a proto nemá geometrickou preferenci založenou na energii stabilizace ligandovým polem. Vyskytuje se v koordinačním čísle 2 – lineární geometrie, 3 – trigonální geometrie nebo 4 – rovinné nebo tetraedrická geometrie. Cu(II) je systém d^9 , který vykazuje geometrické preference částečně založené na energii stabilizace ligandovým polem. Často se vyskytuje v koordinačních číslech 4, 5 nebo 6 ve čtvercové rovinné, čtvercové pyramidální nebo axiálně deformované oktaedrické geometrii, přičemž třetí je výsledkem Jahn-Tellerovské deformace. [1] Stereochemická flexibilita Cu(I) znamená, že vazby jsou labilní a procesy výměny ligandů jsou často rychlé, pokud nějaký sférický faktor ligandu nebrání reaktivitě. Proto komplexy Cu(I) s monodentátními ligandy pravděpodobně nebudou mít dostatečnou kinetickou stabilitu pro použití jako radiofarmaka, protože jednovazná měď má nízké konstanty stability a vyžaduje jiné koordinační prostředí. Vývoj kineticky stabilních měďnatých radiofarmak musí být založen na dobře navržených chelatujících makrocyclických ligandech. Proto je využívána měď hlavně ve dvojmocenství. [5]

Vzhledem k potenciální aplikaci jsou intenzivně studovány vlastnosti kovových komplexů založených na různých typech *N*-funkcionalizovaných polyazamakrocyclů. Makrocyclická sloučenina je cyklická sloučenina s devíti nebo více členy a se třemi nebo více donorovými (ligujícími) heteroatomy. [8] Makrocyclickému efektu je připisována kinetická inertnost a termodynamická stabilita. [9] Největší zájem přitahují zejména cyklenové (cyklen je 1,4,7,10-tetraazacyklododekan) a cyklamové (cyklam je 1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan) komplexy (**Obr.1**) obsahující pendantní ramena *N*-octové kyseliny a jejich deriváty byly studovány jako potenciální chelatanty pro zobrazování a terapie.



Obr. 1: Struktura cykvenu (vlevo) a cyklamu (vpravo)

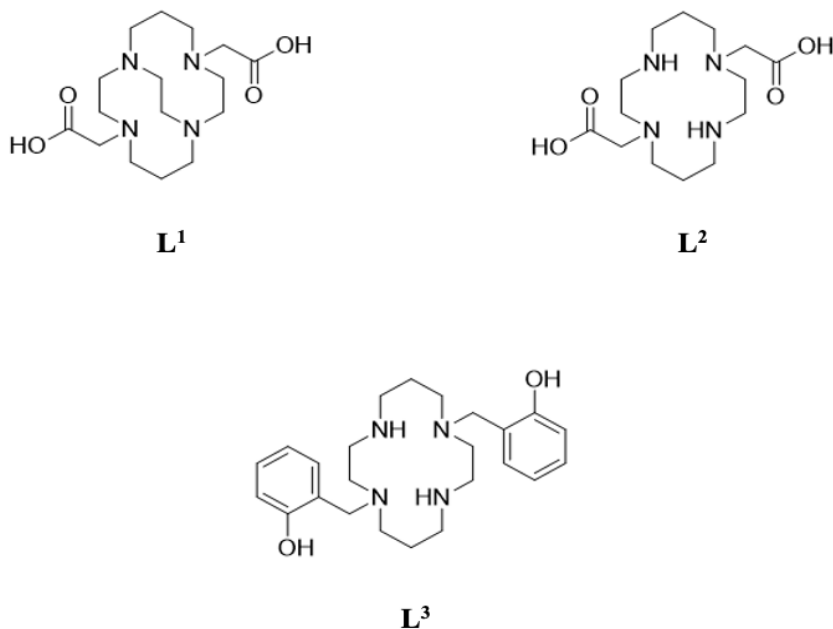
Chelatační činidla se používají ke stabilnímu navázání radioaktivního kovu na nosnou část radiofarmaka. [9,10] Kovové komplexy těchto činidel vykazují různé kinetické inertnosti a termodynamické stability při použití *in vivo* v závislosti na své ligandové struktuře. Výběr ligandů je určen povahou a oxidačním stavem kovového iontu. [11]. Jelikož některé komplexy nejsou stabilní za fyziologických podmínek, ale uvolňují volné ionty mědi, které zvyšují šum pozadí při zobrazování PET, tak bylo za účelem vyřešení tohoto problému stability testováno mnoho makrocyclických ligandů. [12]

Elektrochemická redukce měďnatých komplexů s makrocyclickými ligandy

Elektrochemické vlastnosti řady makrocyclických komplexů měďnatých jsou sice zmiňovány v literatuře [13], nicméně závěry bývají formulovány na základě dílčího voltametrického experimentu bez ambicí studovat celkový redukční mechanismus a systematicky popsat faktory ovlivňující chování systému za různých podmínek. Poněvadž vzhledem k předpokládaným aplikacím komplexů v biomedicíně je kýženým údajem jednoelektronový reverzibilní potenciál $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}$, existuje snaha experiment navrhnout tak, aby měďný komplex mohl vzniknout a udržet se v časové škále experimentu. Ve většině prací se tudíž využívají buď elektrody ze skelného uhlíku, anebo případně nevodné prostředí. Pokud jde o vodné prostředí, potenciál redukce $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}$ bývá u komplexů obvykle natolik záporný, že jej není možné (spolehlivě nebo vůbec) změřit. [13]

Tato práce byla zaměřena na tři ligandy – $\text{L}^1\text{-L}^3$ (**Obr. 2**). Obecně se pro komplexy ligandů tohoto typu hodí použití skelného uhlíku (GC) coby materiálu elektrody. Např. v případě přemostěného komplexu $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-L}^1$ byla v literatuře prokázána kvazi-reverzibilní redukce za vzniku měďného intermediátu jednak v prostředí acetátu (pH 7), jednak v DMSO. Nicméně zdaleka ne vždy bývá tato strategie úspěšná, např. u komplexu $\text{Cu}\text{-L}^2$ měřeného za podobných podmínek (acetátový, fosfátový pufr pH 7) na GC pozorovaný děj byl ireverzibilní. [11,12] Je tedy možné, že pro dosažení reverzibility prvního děje přenosu elektronu je kromě použití GC jako elektrodového materiálu potřeba ještě dodatečný faktor, v tomto případě zřejmě přítomnost můstku ve struktuře ligandu. [14] Na druhou stranu použití GC při voltametrii má i svoje nevýhody – zejména pomalejší kinetiku přenosu náboje vlivem nižší vodivosti a vliv historie elektrody. Proto se s výhodou nabízí použití rtuti, na jejímž obnovitelném povrchu lze pro redukce dosáhnout navíc největšího rozsahu potenciálového okna. [15] Nicméně poněvadž měď tvoří se rtutí stabilní

amalgám, měďnaté komplexy se na rtuťových elektrodách redukují ireverzibilně dvěma elektrony rovnou za vzniku amalgámu mědi. [16]



Obr. 2: Přehled studovaných ligandů L¹-L³

Elektrochemie

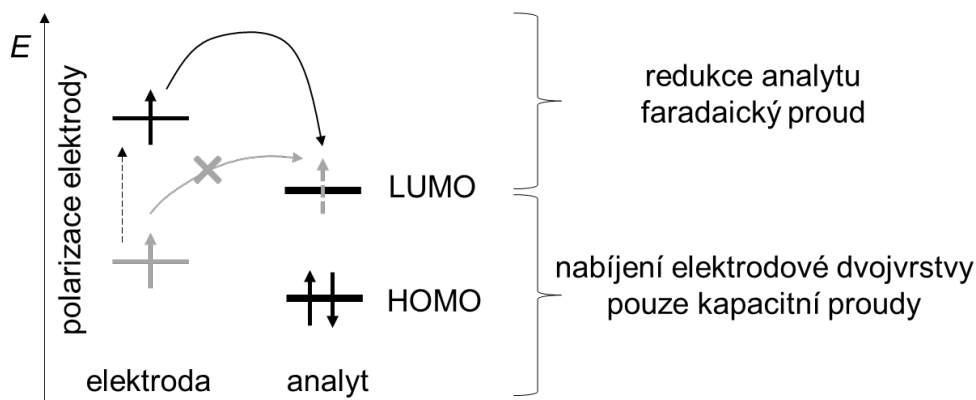
Elektrochemie je odvětví chemie zabývající se studiem chemické změny způsobené průchodem elektrického proudu (a naopak – studiem vzniku elektrického proudu následkem chemické přeměny). Elektrochemické metody spolu s metodami spektrometrickými a separačními tvoří základ současné instrumentální analýzy.

Elektroanalytické metody

Elektroanalytické metody lze dělit na základě několika různých kritérií. Rozeznáváme na jedné straně metody *elektrometrické*, kde se nesleduje elektrodová reakce, ale měří se elektrické vlastnosti roztoku jako celku (konduktometrie, dielektrimetrie). Na druhé straně metody *elektrochemické* jsou založeny na redoxní reakci nebo rovnováze. Analyt lze stanovit buď za podmínek, kdy analyzovaným systémem (elektrochemickým článkem) neprotéká proud na základě ustavení potenciálu vlivem redoxní rovnováhy (rovnovážná potenciometrie), nebo naopak kdy článkem protéká proud. Pokud jde o určení

prošlého náboje, který je potřeba ke kvantitativní redukci nebo oxidaci analytu, hovoříme o coulometrii a elektrogravimetrii. Naopak, je-li stupeň konverze během měření zanedbatelný, identita (kvalitativní hledisko) analytu se určí z charakteristického potenciálu redoxní reakce, zatímco množství (kvantitativní hledisko) odpovídá příslušnému pozorovanému proudu. Takový přístup je typický pro voltametrické metody. [17] [18] [19] [20] [21]

Pozorovaný proud může mít dvě rozdílné příčiny. Buď se jedná o pouhé nabíjení elektrodové dvojvrstvy jako kondenzátoru (*nabíjecí* nebo též *kapacitní proud* typický pro případy, kdy energie elektronů elektrody není dostatečná k tomu, aby byly přeneseny na analyt v roztoku nebo naopak), nebo se sledovaný proud týká přenosu elektronů skrz rozhraní elektroda-roztok (*faradaický proud*, pro který platí Faradayův zákon a který souvisí s redukcí nebo oxidací analytu za podmínek, kdy potenciál elektrody (v absolutní hodnotě) převyšuje termodynamický redoxní potenciál studované látky (**Obr. 3**). [22]. [17] [15]



Obr. 3: Nabíjecí a faradaický proud při katodickém ději

Faradaický proud se může uplatnit za předpokladu, že existuje účinný látkový transport elektroaktivní látky z vnitřku roztoku k povrchu elektrody. [18] Základním a všudypřítomným typem látkového transportu je *difuze*, tedy pohyb částic hnaný gradientem koncentrace. Diagnostickým kritériem procesu řízeného difuzí je závislost limitního proudu na odmocnině výšky rezervoáru se rtutí (při polarografii), případně na odmocnině rychlosti polarizace elektrody (při cyklické voltametii). Limitní proud řízený difuzí je lineárně

závislý na koncentraci analytu, což je důležité pro možnosti vyhodnocení experimentu. Kromě difuze se při látkovém transportu uplatňuje ještě *migrace*, tedy pohyb nabitých částic v elektrickém poli, a *konvekce*, tedy pohyb systému jako celku (např. míchání). Poněvadž migrační proud může být různý podle náboje, solvatace a difuzního koeficientu analytu, je snaha ho při měření potlačit. Toho lze dosáhnout dostatečným nadbytkem disociovaného základního elektrolytu (zhruba 100 násobek koncentrace analytu), který navíc zajišťuje dobrou elektrickou vodivost roztoku.

Důležitým kritériem rozhodujícím o nasazení konkrétní metody je otázka, co se chceme z experimentu dozvědět. U metod založených na *ustáleném stavu* se sledují zejména rovnovážné stavy (čas nehraje rozhodující roli) a pomalé změny veličin, kdy tloušťka difuzní vrstvy se prakticky nemění. Typické metody pracující v režimu ustáleného stavu jsou DC-polarografie a lineární voltametrie na rotující diskové elektrodě, které jsou tudíž vhodné pro získání informací o termodynamických vlastnostech systému. Jejich proudová odezva má typický stupňovitý charakter, vyhodnocují se *vlny*. Naproti tomu metody využívající *přechodový stav* sledují časové odezvy na vyvolané změny (čas hraje významnou roli), rychlé změny veličin. Jsou tak důležité pro studium kinetiky a mechanismu následných reakcí. Difuzní vrstva se u nich během experimentu s časem rozšiřuje. Typickou metodou založenou na přechodovém stavu je cyklická voltametrie, která je cenným nástrojem pro získání informace o vývoji studovaného systému v čase (elektrodová kinetika) a o mechanismu. Proudová odezva v CV má tvar *píku*. [23]

Polarografie a voltametrie

Voltametrie je metoda založená na sledování proudu procházejícího pracovní elektrodou v závislosti na časově proměnném potenciálu (obvykle lineárním) vloženém na pracovní elektrodu. Pokud se potenciálový program skládá pouze z jednoho segmentu (sken jedním směrem na potenciálové ose), jedná se o lineární voltametrii, pokud zahrnuje i zpětný sken, hovoříme o cyklické voltametrii. [23] V praxi se běžně využívá tříelektrodový systém, kdy proud protéká mezi pracovní elektrodou a pomocnou elektrodou, referentní elektroda (II. druhu) je udržována potenciostatem na principu zpětné vazby v bezproudovém stavu. Voltametrie může být realizována na pracovní elektrodě z libovolného elektricky vodivého materiálu, který je chemicky stabilní ve zvoleném prostředí. Nejčastěji se používají ušlechtilé kovy (Pt, Hg, Au, Ag), borem dopovaný diamant, grafit nebo skelný uhlík, případně kompozitní materiály (uhlíkové pasty, amalgám stříbra).

Nevýhodou při použití pevných elektrod je riziko vlivu historie elektrody na výsledky následujících měření. Proto je nutné povrch pevných elektrod mezi jednotlivými experimenty aktivovat (mechanicky, elektrochemicky, termicky apod.). Naproti tomu rtuť jako jediný kapalný prvek (za standardních podmínek) umožňuje dosáhnout vysoké opakovatelnosti a reprodukovatelnosti, poněvadž povrch každé kapky rtuti coby pracovní elektrody je ideálně hladký a absolutně obnovitelný.

Pokud se při lineární voltametii jako pracovní elektroda použije tenká skleněná kapilára (o délce 10-20 cm, vnitřním průměru 30-60 μm) spojená hadicí s rezervoárem (výška rtuťového sloupce cca 30-100 cm), skrz kterou neustále protéká rtuť (doba kapky bez vloženého potenciálu cca 4-8 s), hovoříme o DC-polarografii. První polarografické měření se datuje 10.2.1922 a je s ním spojena Nobelova cena Jaroslava Heyrovského. Rtuť má zásadní výhodu pro použití v katodických experimentech, jelikož na rtuti je největší známé přepětí pro redukci H^+ , tudíž lze dosáhnout maximální šířky potenciálového okna pro redukce (až kolem -2 V pro vodné, resp. -3 V vs. SCE pro aprotické prostředí). Naopak rtuť jako elektrodový materiál se příliš nehodí pro oxidace, protože se snadno oxiduje za vzniku Hg_2^{2+} , Hg^{2+} nebo příslušných nerozpustných solí či nedisociovaných komplexů.

Při DC-polarografii má tedy záznam charakter oscilací, které jsou způsobeny růstem a odtrháváním jednotlivých kapek. Při vyhodnocení se bere v potaz vnější obálka (*vlna*) s limitním proudem.

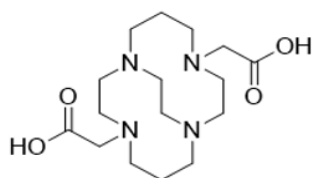
Cyklická voltametrie je reverzní metoda, ve které získáváme informace o kinetice a mechanismu elektrodových dějů. Rozlišujeme děje reverzibilní, kdy je produkt primární reakce přenosu elektronu stabilní (v časové škále experimentu), což se projeví dvojicí píků – katodického a anodického, charakterizovaných příslušnými hodnotami redoxního potenciálu (E_{pc} a E_{pa}) a proudu (i_{pc} a i_{pa}). V ideálním případě je poměr $i_{\text{pa}}/i_{\text{pc}}$ blízký jedné a standardní redoxní potenciál E^0 je průměrem hodnot E_{pc} a E_{pa} . Jestliže při redukci chybí anodický pík úplně, hovoříme o ději ireverzibilním, jehož příčinou může být např. pomalá elektrodová kinetika nebo složitý mechanismus zahrnující předřazené či následné chemické reakce. [15] [23]

Cíl práce

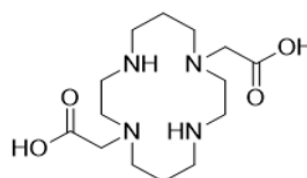
Cílem práce bylo doplnit již existující publikované znalosti o základních elektrochemických vlastnostech vybraných měďnatých komplexů se třemi makrocyclickými ligandy (**Obr. 4**)

Dva základní úkoly zahrnovaly

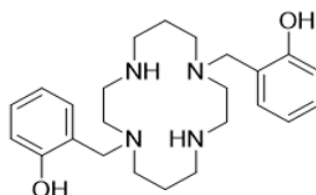
- nezávisle ověřit a kvantifikovat (alespoň formou trendů) termodynamickou stabilitu komplexů (zjistit potenciálové posuny redukčních potenciálů oproti nekoordinovanému iontu Cu^{2+} ve stejném prostředí);
- popsat redukční mechanismus včetně identifikace produktů / intermediátů. Tento aspekt je důležitou charakteristikou kandidátských komplexů pro jejich případné užití v radiomedicíně.



L¹



L²



L³

Obr. 4: Přehled studovaných ligandů **L¹-L³**

2. Experimentální část

Použité chemikálie

Rozpouštědla, základní elektrolyty a ostatní

deionizovaná voda	připravována v budově pracoviště
kyselina octová	p.a., 99%, Lachema
octan sodný	tavený čistý, Lachema
hydroxid sodný	perly, čistý, Lach-Ner
argon	4.8, stlačený, Messer
rtuť	polarografická čistota, Služby výzkumu – – Bechyně
pentahydrát síranu měďnatého	čistota nespecifikována

U chemikálií, kde jejich čistota nebyla specifikována, nebyl zřejmý ani původ. Chemikálie pochází ze skladu Ústavu fyzikální chemie J. Heyrovského. Jejich kvalita byly ověřena voltametričnými experimenty.

Studované ligandy

Tyto látky byly získány od doc. RNDr. Vojtěcha Kubíčka, Ph.D. a Mgr. Milana Maďara a použity bez dalšího čištění.

kyselina 2,2'-(1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan-4,11-diyl)dioctová (**L¹**)

kyselina 2,2'-(1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan-1,8-diyl) dioctová (**L²**)

2,2'-((1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan-1,8-diyl)bis(methylen))difenol (**L³**)

Použité přístroje

pH metr	HI3220 pH/OPR Meter, HANNA instruments
potenciostat	potentiostat/galvanostats Autolab PGSTAT30, Metrohm
stojánek pro HMDE/SMDE	IME663 VA Stand series 05, Metrohm
software pro ovládání experimentů	Nova 2.1

Experimentální postupy a podmínky

Veškeré voltametrické experimenty byly provedeny ve vodném prostředí 0,1 M acetátového pufru (pH = 5 při 25 °C, smícháním kyseliny octové a octanu sodného) s využitím tříelektrodového zapojení (W – rtuť, R – SCE, A – platinový plíšek). Komplexy byly studovány technikou DC-polarografie (drop size – 1, doba kapky - 1 s) a cyklické voltametrie (drop size – 1, rychlosti scanu – 50 mV/s, 100 mV/s, 500 mV/s a 1000 mV/s). Rozpuštěný kyslík byl z roztoků odstraněn proudem argonu. Koncentrace studovaných analytů byla ve všech případech $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

Zásobní roztoky komplexů ($c = 5 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) byly připraveny rozpuštěním ligandu a pentahydrátu síranu měďnatého v acetátovém pufru ($c = 0,1 \text{ M}$, pH = 5). v molárním poměru ligand ku kov 2:1. Potom byly ponechány stát minimálně tři dny v chladu.

Roztoky na měření byly připraveny smísením 1 ml zásobního roztoku a 9 ml acetátového pufru ($c = 0,1 \text{ M}$, pH = 5). Po každém měření bylo ověřováno pH, které se výrazně neměnilo.

3. Výsledky a diskuse

Ligandy L^1 - L^3 (volné i v podobě komplexů) byly studovány metodami DCP a CV na rtuťových elektrodách. Aby bylo možné výsledky jednotlivých měření přímo porovnávat, bylo potřeba držet konstantní podmínky experimentů: stejné složení základního elektrolytu – pufru, stejné pH a iontová síla, stejná metodika (DCP a CV) na stejném materiálu elektrody (rtuť), stejná koncentrace apod. Vytvoření komplexů bylo pozorováno i vizuálně, roztoky měly různé barvy, jak lze vidět na obrázku v příloze (**Obr. P4**).

Elektrochemické vlastnosti ligandů

Ligandy L^1 – L^3 za podmínek elektrochemických experimentů nepodléhají redukčním dějům. Při DC-polarografii byly pozorovány pouze:

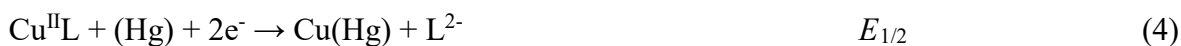
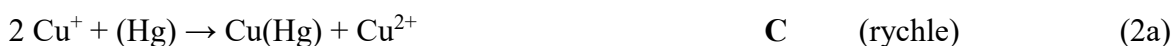
1. posun katodického limitu potenciálového okna k méně záporným potenciálům (cca 100 mV) vlivem přítomnosti látky aminového typu (tj. studovaných ligandů), která katalyzuje redukci protonů;
2. nevýrazná reverzibilní dvojice píků při potenciálech okolo 0 V odpovídající tvorbě a rozkladu příslušných rtuťnatých komplexů (způsobeno schopností použitých ligandů částečně koordinovat ionty Hg^{2+} , a tudíž působit posun oxidačního potenciálu elementární rtuti coby elektrodového materiálu).

Elektrochemické redukce měďnatých iontů

Při podmínkách experimentů (acetátový pufr, pH = 5) se síran měďnatý redukuje při $-0,01$ V (vs. SCE) (**Tab. 1,2**) dvěma elektrony reverzibilně za vzniku amalgámu mědi (3). Stejná hodnota redukčního potenciálu byla naměřena nejen při kontrolním experimentu pouze s $CuSO_4$, ale i během cyklické voltametrie u každého z komplexů $Cu-L^1$ - $Cu-L^3$ (**Tab. 1**). Je tedy zřejmé, že pozorovaný potenciál odpovídá vždy stejné částici, v tomto případě Cu^{2+} .

Obecný redukční mechanismus komplexů

Všechny studované komplexy se redukují na rtuťových elektrodách mechanismem ECE, přičemž po přenosu prvního elektronu (1) dochází pravděpodobně ke vzniku nestálého Cu^{I} intermediátu, který se okamžitě rozkládá za vzniku iontu Cu^+ a volného ligandu (2). Ion Cu^+ buď ihned disproportionuje (2a), případně se při pracovním potenciálu elektrody v její těsné blízkosti redukuje dalším elektronem za vzniku amalgámu mědi (2b). Oba děje (2a), (2b) přispívají k celkovému počtu vyměněných elektronů jedním elektronem, takže celkový mechanismus je navenek dvouelektronový a ireverzibilní (4). Naměřená data (**Obr. 5, Tab. P1-P3, Obr. P1a-P3a, Obr. P1b-P3b**) napovídají, že první redukční děj u všech komplexů je řízený difuzí. Zatímco u komplexu Cu-L^1 je reakce přenosu prvního elektronu (1) rychlá (hodnoty naměřených E_{pc} jsou téměř nezávislé na rychlosti polarizace elektrody, **Obr. P1a**), u zbylých dvou komplexů Cu-L^2 a Cu-L^3 se s rostoucí rychlostí skenu redukční potenciály posouvají ztelněji k zápornějším hodnotám (**Obr. P2a, Obr. P3a**). S tím souvisí zřejmě také odchylky od linearit v diagnostických výnosech (**Obr. P2b, Obr. P3b**) od ideální přímky.



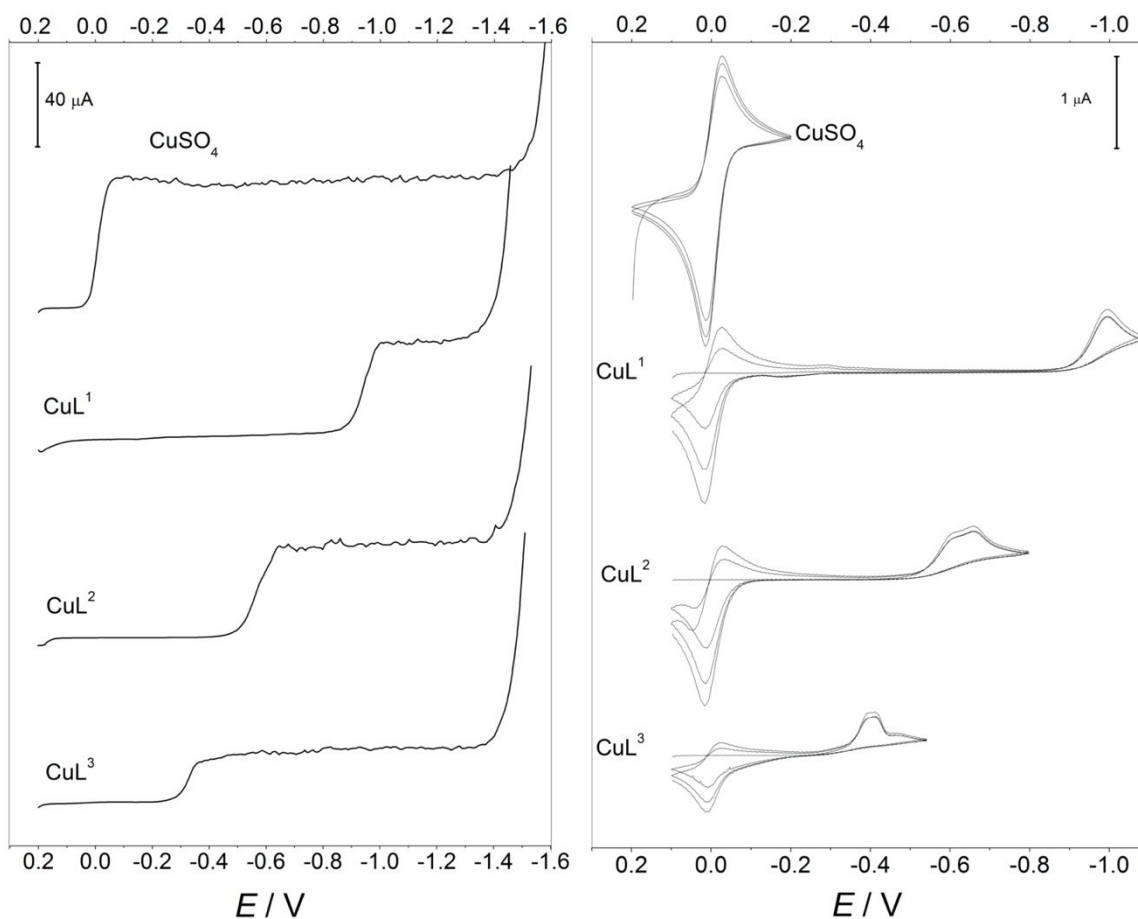
Tab. 1: DC-polarografie – pozorované redukční potenciály a limitní proudy

	$E_{1/2} / \text{V vs. SCE}$	$i_{\text{lim}} / \text{A} \cdot 10^{-7}$
CuSO ₄	-0,01	-6,3
CuL ¹	-0,94	-4,2
CuL ²	-0,56	-4,3
CuL ³	-0,33	-2,4
CuL ³ – zahřívání	-0,35	-4,9

Pozn.: **Tučně** vtištěné hodnoty potenciálů odpovídají reverzibilním dějům.

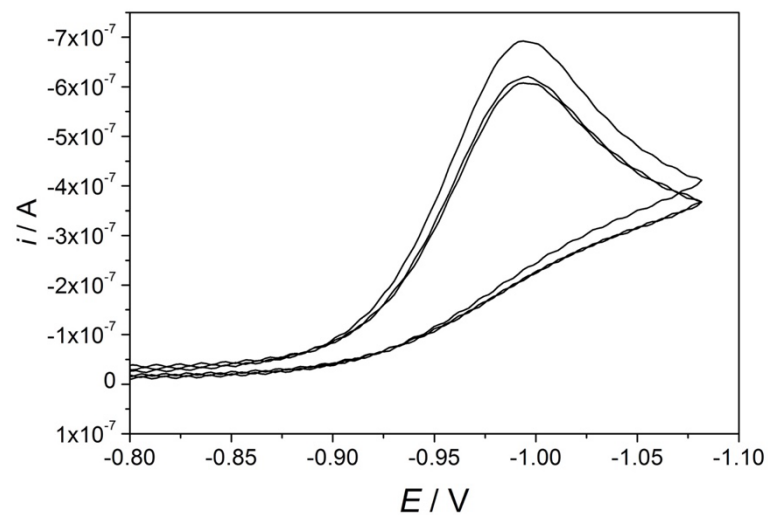
Tab. 2: CV – pozorované potenciály píků při rychlosti skenu 100 mV/s

	$E_{\text{pk}} (\text{Cu}) / \text{V vs. SCE}$	$E_{\text{pa}} (\text{Cu}) / \text{V vs. SCE}$	$E_{\text{pk}} (1) / \text{V vs. SCE}$	$E_{\text{pk}} (2) / \text{V vs. SCE}$
CuSO ₄	-0,03	0,01		
CuL ¹	-0,03	0,01	-0,99	
CuL ²	-0,03	0,01	-0,61	-0,66
CuL ³	-0,03	0,01	-0,39	-0,41
CuL ³ – zahřívání	-0,03	0,01	-0,41	-0,43

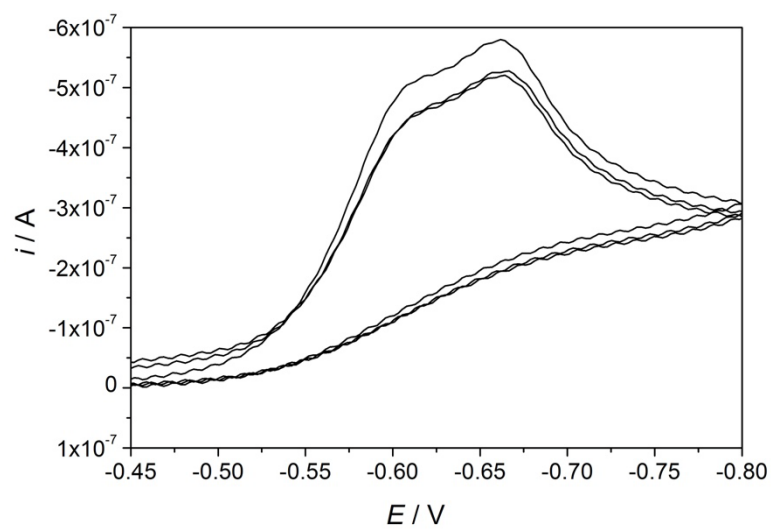


Obr. 5: DC polarografie (vlevo; 10 mV/s) a cyklická voltametrie (vpravo; 100 mV/s) studovaných látek

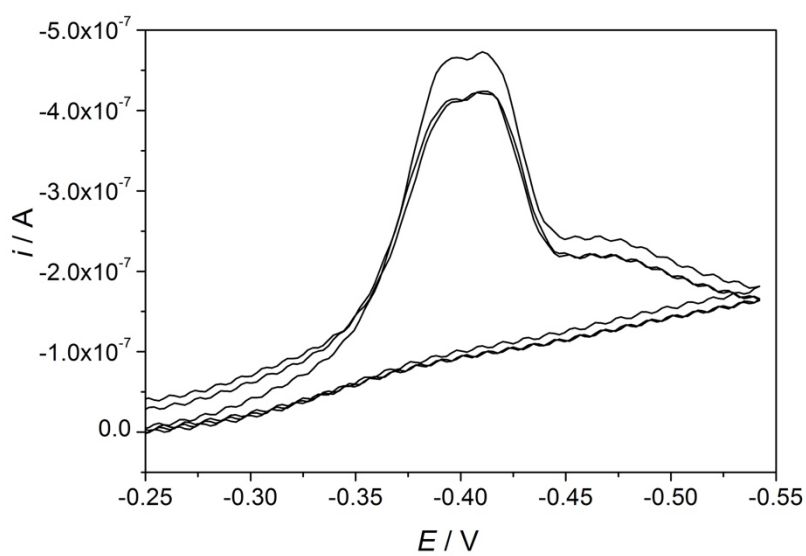
U komplexů Cu-L² a Cu-L³ bylo pozorováno rozštěpení redukčního píku (**Obr. 6a-6c**). Pravděpodobné vysvětlení spočívá v existenci několika možných isomerů, které se liší orientací vodíkových atomů a substituentů na atomu dusíku nad rovinu či pod rovinu kruhu. [16]. Protože tento jev byl zjištěn již v prvním skenu CV, výchozí preparát byl zřejmě již směs isomerních komplexů. Tento problém nebyl dále studován.



Obr. 6a: Přiblížení redukčního píku Cu-L¹ (100 mV/s)



Obr. 6b: Přiblížení redukčního píku Cu-L² (100 mV/s)



Obr. 6c: Přiblížení redukčního píku Cu-L³ (100 mV/s)

Termodynamická stabilita komplexů Cu-L¹ - Cu-L³

Semikvantitativním měřítkem termodynamické stability komplexu ligandu koordinovaného s iontem kovu výlučně na základě σ -donorové interakce (což ligandy L¹-L³ splňují) je míra posunu redukčního potenciálu kovového centra směrem k zápornějším hodnotám (ligand v tomto případě donuje část svojí elektronové hustoty redukčnímu centru, které se tím stává hůře redukovatelné). Nicméně podmíněné konstanty stability komplexů vypočítané na základě zmíněných posunů voltametricky změřených redoxních potenciálů se často od pravých termodynamických hodnot liší i o několik řádů, jestliže je komplex natolik labilní, že se po zredukování volných iontů kovu (při méně záporném potenciálu) stíhá v časové škále experimentu doplňovat dostatečné množství volného iontu kovu (disociací komplexu) pro dosažení pozorovatelného limitního proudu. Studované komplexy nejsou labilní natolik, aby se u nich tento jev dal pozorovat. Protože byly všechny navíc změřeny za identických podmínek (pufr, pH, koncentrace, teplota), lze tak naměřené posuny redukčních potenciálů považovat za míru stability komplexu v daném prostředí.

Vzhledem k mechanismu redukce je potenciálový posun dán hlavně rozdílem mezi stabilitou komplexu měďnatého a měďného, který je dán strukturou makrocyclické části ligandu i přítomností specifických skupin v molekule ligandu. Největší potenciálový posun byl naměřen u komplexu Cu-L¹ (**Obr. 3**), který obsahuje kromě atomů dusíku na cyklamovém kruhu také donorové atomy kyslíku z karboxylátových skupin a můstkovou skupinu -CH₂-CH₂-. Poněkud méně stabilní se jevil komplex Cu-L², který už neobsahuje můstek. Nejméně stabilní se ukázal být komplex Cu-L³, který místo karboxylátových skupin ve své struktuře obsahuje donorové atomy kyslíku z fenolových skupin. Je tedy pravděpodobné, že kromě donorových atomů dusíku mají na stabilizaci měďnatého azamacrocyclického komplexu cyklamového typu uvedené strukturní motivy rostoucí vliv v řadě



Při pH 5 je karboxylová skupina disociovaná (záporně nabitá), zatímco fenolová skupina je nedisociovaná (neutrální). Z toho vyplývá, že se karboxylátové skupiny účinněji podílí v uvedeném prostředí na koordinaci iontu kovu než fenolové skupiny. Můstek zřejmě přispívá ke stabilitě komplexu sterickým vlivem, zvyšujícím rigiditu.

4. Závěr

Měďnaté komplexy studovaných ligandů L^1 - L^3 se na rtuťových elektrodách ve vodném prostředí při pH 5 shodně redukují ECE mechanismem ve dvouelektronovém kroku, při němž dochází k rozkladu původního komplexu na volný ligand a amalgám mědi. Potenciály redukce odrážejí termodynamickou stabilitu komplexů v daném prostředí. Ukazuje se, že na stabilitu má významný vliv přítomnost specifických skupin v molekule ligandu, zejména u ethylenového můstku a nabitých *O*-donorových skupin (záporně nabitý karboxylát se uplatňuje více než nenabitá protonizovaná fenolová skupina).

5. Seznam použitých zkratk

Zkratka	Význam
A	pomocná elektroda
CV	cyklická voltametrie
DCP	stejnoseměrná polarografie (D irect C urrent P olarography)
DME	kapající rtuťová elektroda, jejíž povrch je neustále obnovován
DMSO	dimethylsulfoxid, rozpouštědlo
E	elektrodotový potenciál [V]
$E_{1/2}$	půlvlnový potenciál [V]
E_{pa}	potenciál anodického píku [V]
E_{pk}	potenciál katodického píku [V]
HDME	visící rtuťová kapková elektroda
HOMO	nejvyšší obsazený molekulový orbital (H ighest O ccupied M olecular O rbital)
I_{lim}	limitní difuzní proud [A]
I_{pk}	píkový difuzní proud [A]
LUMO	nejnižší neobsazený molekulový orbital (L owest U noccupied M olecular O rbital)
PET	pozitronová emisní tomografie (P ositron E mission T omography)
R	referentní elektroda
RDE	rotující disková elektroda
SCE	nasyčená kalomelová elektroda (S aturated C alomel E lectrode)
SPECT	jednofotonová emisní počítačová tomografie (S ingle P hoton E mission C omputed T omography)
W	pracovní elektroda

6. Poděkování

Velmi ráda bych poděkovala všem, kteří mi pomáhali při vzniku téhle práce.

Jmenovitě velké díky patří mému školiteli RNDr. Alanu Liškovi, Ph.D. a konzultantovi doc. RNDr. Vojtěchu Kubíčkovi, Ph.D.

Také bych moc chtěla poděkovat Lídě, která byla mojí oporou, a panu prof. RNDr. Jirkovi Ludvíkovi, CSc. z Ústavu fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského AV ČR.

Mimořádné poděkování patří mé rodině, která mě za celou dobu studia podporovala.

Na závěr bych také chtěla poděkovat všem svým kamarádům a kamarádkám, kteří stáli po mém boku.

7. Zdroje

- [1] D. Krajčiová, M. Melník, E. Havránek, A. Forgácsová a P. Mikuš. *Copper compounds in nuclear medicine and oncology. Journal of Coordination Chemistry*. 2014, **67**(9), 1493-1519 doi:10.1080/00958972.2014.915966
- [2] W. Loveland, D. J. Morrissey, G. T. Seaborg, *Modern Nuclear Chemistry*, WILEY-INTERSCIENCE, New Jersey, **2006**
- [3] G. Kramer-Marek aj. Capala. *The role of nuclear medicine in modern therapy of cancer. Tumor Biology* 2012, **33**(3), 629-640 doi:10.1007/s13277-012-0373-8
- [4] V. Ulmann, *AstroNuklFyzika*, cit. 15. 4. 2022, Dostupné na: <http://astronuklfyzika.cz/>
- [5] P. J. Blower, J. S. Lewis, J. Zweit, *Nucl. Med. Biol.*, 1996, 23, 957-980
- [6] D. W. McCarthy, L. A. Bass, P.D. Cutler, et al. *High purity production and potential applications of copper-60 and copper-61. Nuclear Medicine and Biology* 1999, **26**(4), 351-358 doi:10.1016/S0969-8051(98)00113-9
- [7] J. Toužín, *Stručný přehled chemie prvků*. Brno: Tribun EU, 2008. Knihovnicka.cz.
- [8] G. A. Melson, General Introduction. ed. *Coordination Chemistry of Macrocyclic Compounds*. Boston, MA: Springer US, 1979, 1979, s. 1-16 doi:10.1007/978-1-4613-2928-2_1
- [9] R. D. Hancock a A. E. Martell. *The Chelate, Cryptate and Macrocyclic Effects. Comments on Inorganic Chemistry* 1988, **6**(5-6), 237-284: doi:10.1080/02603598808072293

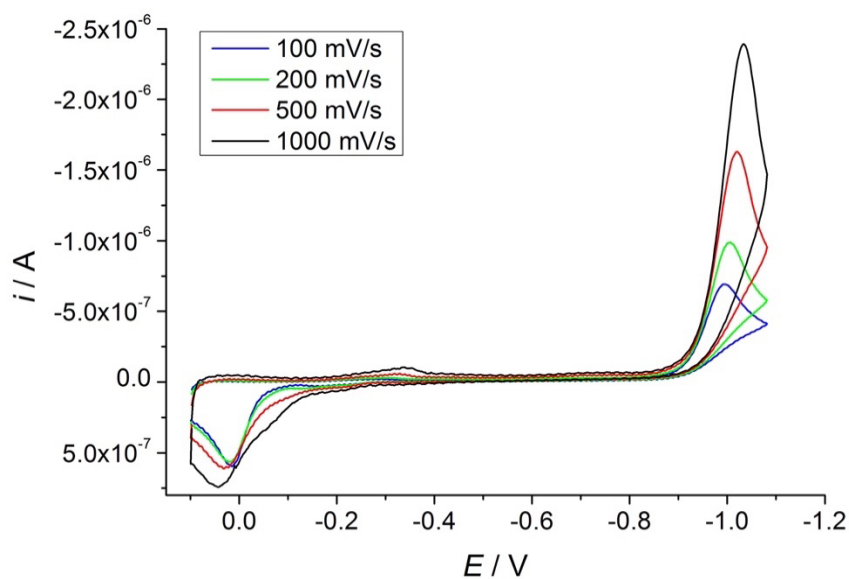
- [10] D. Sarko, M. Eisenhut, U. Haberkorn a W. Mier. *Bifunctional Chelators in the Design and Application of Radiopharmaceuticals for Oncological Diseases. Current Medicinal Chemistry* 2012, **19**(17), 2667-2688 doi:10.2174/092986712800609751
- [11] D. N. Pandya, J. Y. Kim, J. Ch. Park, et al. *Revival of TE2A; a better chelate for Cu(II) ions than TETA?. Chemical Communications* 2010, **46**(20) doi:10.1039/b925703a
- [12] D. N. Pandya, A. V. Dale, J. Y. Kim, H. Lee, Y. Su Ha, G. Il An a J. Yoo. *New Macrobicyclic Chelator for the Development of Ultrastable ⁶⁴ Cu-Radiolabeled Bioconjugate. Bioconjugate Chemistry* . 2012, **23**(3), 330-335 doi:10.1021/bc200539t
- [13] A. J. Bard, M. Stratmann. *Encyclopedia of Electrochemistry*. Wiley-VCH, 2006.
- [14] K. S. Woodin, K. J. Heroux, C. A. Boswell, et al. *Kinetic Inertness and Electrochemical Behavior of Copper(II) Tetraazamacrocyclic Complexes: Possible Implications for in Vivo Stability. European Journal of Inorganic Chemistry* 2005, **2005**(23), 4829-4833: doi:10.1002/ejic.200500579
- [15] J. Heyrovský, J. Kůta, *Základy polarografie*, ČSAV Praha 1962
- [16] J. Kotek, P Lubal, P. Hermann, et al. *High Thermodynamic Stability and Extraordinary Kinetic Inertness of Copper(II) Complexes with 1,4,8,11-Tetraazacyclotetradecane-1,8-bis(methylphosphonic acid): Example of a Rare Isomerism between Kinetically Inert Penta- and Hexacoordinated Copper(II) Complexes. Chemistry - A European Journal* **9**(1), 233-248 10.1002/chem.200390017
- [17] A. J. Bard and L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, New York: Wiley, 2001, 2nd ed.

- [18] A.Liška, *Eletrochemie jako metoda studia složitých makrocyclických molekul*. Praha, 2011. Bakalářská práce. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra anorganické chemie. Vedoucí práce Vojtíšek, Pavel
- [19] J. Barek, F. Opekar a K. Štulík. *Elektroanalytická chemie*. 1. vydání. Praha: Karolinum, 2005
- [20] F. Čůta. *Instrumentální analýza*. 1. vydání. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1986
- [21] J. Zýka, *Analytická příručka*. 4. upravené vydání. Praha: SNTL – Nakladatelství technické literatury, 1988,
- [22] P.W.ATKINS a J. de Paula. *Fyzikální chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2013.
- [23] D. T. Sawyer and J. L. Roberts *Experimental electrochemistry for chemists*, Wiley, New York, 1974.

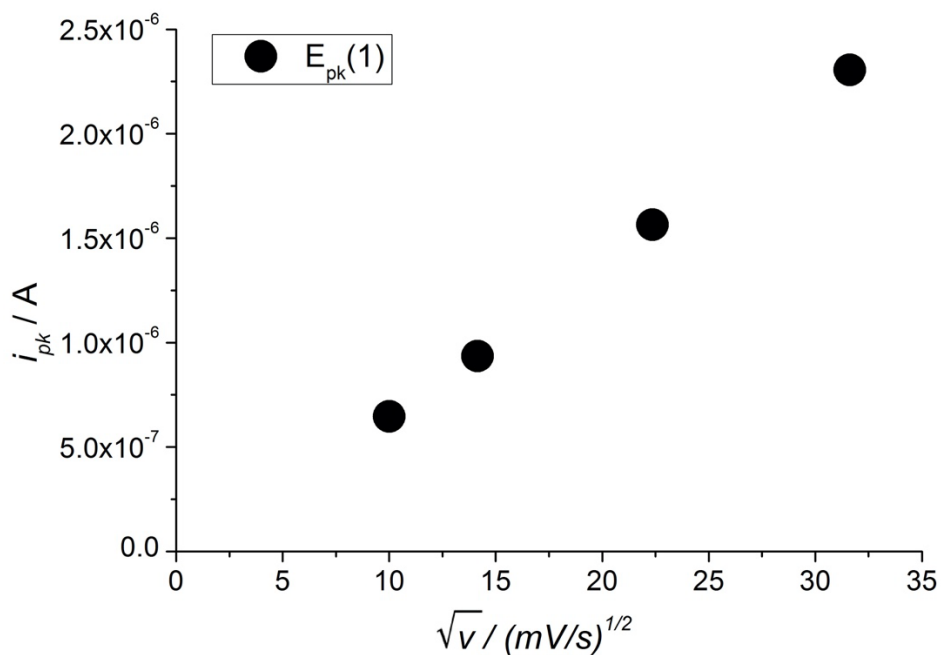
8. Přílohy

Tab. P1: CV komplexu Cu-L¹

$v / \text{mV/s}$	$\sqrt{v} / (\text{mV/s})^{1/2}$	E_{pk1} $i_{\text{pk1}} / \text{A} \cdot 10^{-7}$
100	10	6,47
200	14	9,36
500	22	15,6
1000	32	23,1



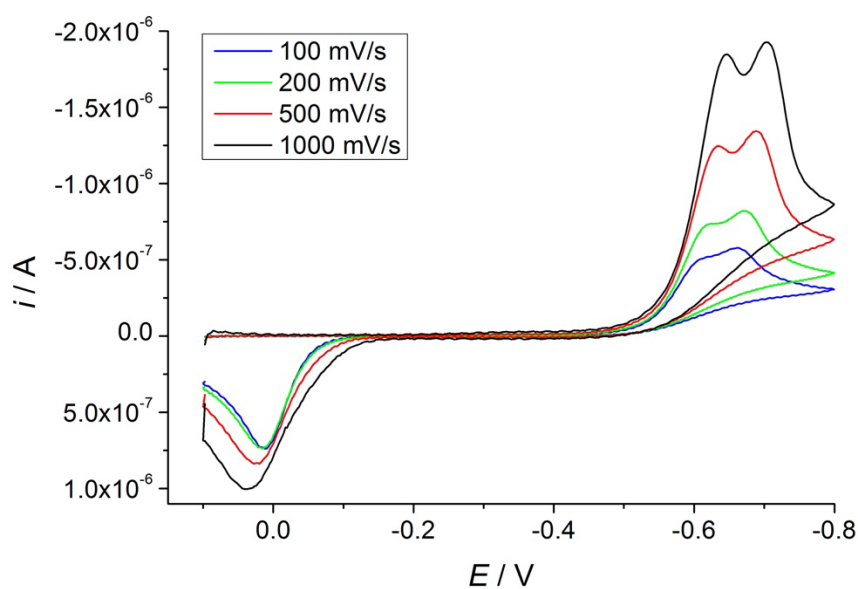
Obr. P1a: CV komplexu Cu-L¹



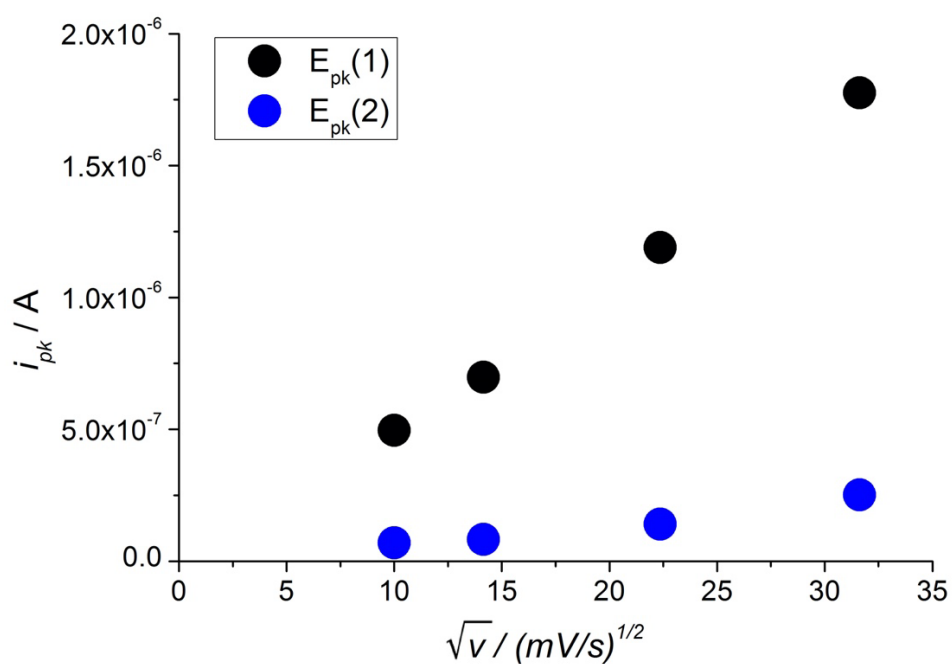
Obr. P1b: Závislost proudu v píku u komplexu Cu-L¹ na odmocnině z rychlosti skenu

Tab. P2: CV komplexu Cu-L²

		E_{pk1}	E_{pk2}
$v / \text{mV/s}$	$\sqrt{v} / (\text{mV/s})^{1/2}$	$i_{pk1} / \text{A} \cdot 10^{-7}$	$i_{pk2} / \text{A} \cdot 10^{-8}$
100	10	4,96	6,99
200	14	6,97	8,33
500	22	11,9	14,1
1000	32	17,8	25,2



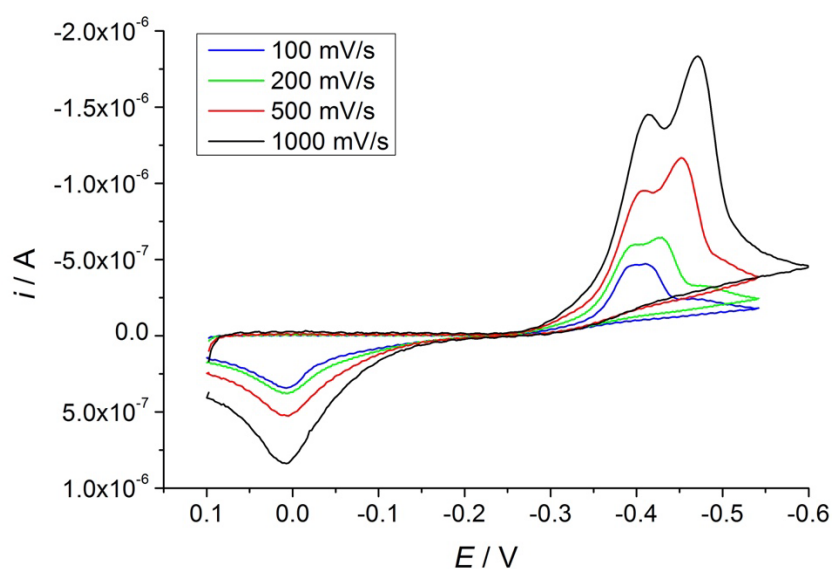
Obr. P2a: CV komplexu Cu-L²



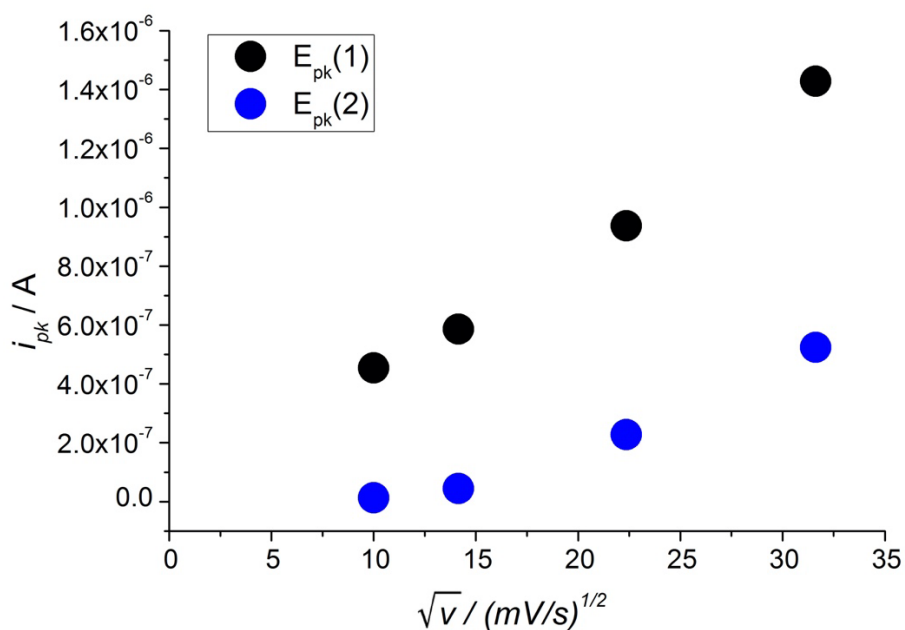
Obr. P2b: Závislost proudů u komplexu Cu-L² na odmocnině z rychlosti skenu

Tab. P3: CV komplexu Cu-L³

		E_{pk1}	E_{pk2}
$v / \text{mV/s}$	$\sqrt{v} / (\text{mV/s})^{1/2}$	$i_{pk1} / \text{A} \cdot 10^{-7}$	$i_{pk2} / \text{A} \cdot 10^{-8}$
100	10	4,54	1,35
200	14	5,86	4,51
500	22	9,37	22,8
1000	32	14,3	52,4



Obr. P3a: CV komplexu Cu-L³



Obr. P3b: Závislost proudů u komplexu Cu-L³ na odmocnině z rychlosti skenu



Obr. P4: Barvy roztoků CuSO_4 a komplexů Cu-L^1 , Cu-L^2 a Cu-L^3