

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra anorganické chemie

**DESIGN A SYNTÉZA SELEKTIVNÍCH CHELATANTŮ
DVOJMOCNÉHO MANGANU**

**Design and Synthesis of Selective Manganese(II)
Chelators**

Bakalářská práce
studijního oboru Chemie v přírodních vědách

Praha 2009

Miroslav Pniok

Tato bakalářská práce vznikla v souvislosti s řešením výzkumného záměru: Nové molekulární systémy pro pokročilé aplikace prospěšné pro zdraví a šetrné k životnímu prostředí (MSM0021620857).

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně pod vedením školitele RNDr. Jana Kotka, Ph.D., a všechny použité prameny jsem řádně citoval v seznamu literatury.

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

V Praze, srpen 2009

Obsah

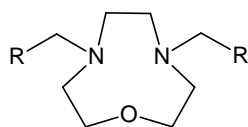
1. Obecný úvod	5
2. Teoretická část	7
2.1. Nukleární magnetická rezonance (NMR)	7
2.1.1. Fyzikální princip.....	7
2.1.2. Relaxační procesy.....	8
2.2. Relaxace v přítomnosti paramagnetik.....	8
2.3. Chemická povaha kontrastních látek	10
2.3.1. Kontrastní látky založené na komplexech Gd^{3+}	11
2.3.2. Kontrastní látky založené na sloučeninách Mn^{2+}	12
3. Motivace a cíle práce	14
4. Experimentální část	15
4.1. Seznam použitých chemikálií	15
4.2. Metody charakterizace	15
4.2.1. NMR spektroskopie.....	15
4.2.2. Hmotnostní spektroskopie (MS).....	15
4.2.3. Tenkovrstvá chromatografie (TLC).....	16
4.2.4. Rentgenostrukturní analýza.....	16
4.2.5. Elementární analýza	16
4.2.6. Stanovení teploty tání	16
4.3. Syntetická část	16
4.3.1. <i>N,N'</i> -bis(<i>p</i> -toluensulfonyl)ethylendiamin (2) – postup 1.....	17
4.3.2. <i>N,N'</i> -bis(<i>p</i> -toluensulfonyl)ethylendiamin (2) – postup 2.....	18
4.3.3. <i>N,N'</i> -bis(<i>p</i> -toluensulfonyl)diethylenglykol (4).....	18
4.3.4. 4,7-bis(<i>p</i> -toluensulfonyl)-1-oxa-4,7-diazacyklononan, $Ts_2[9]-N_2O$ (5).....	19
4.3.5. 1-oxa-4,7-diazacyklononan, $[9]-N_2O$ (6).....	20
4.3.6. 1-oxa-4,7-diazacyklononan-4,7-dioctová kyselina, $[9]-N_2ODA$ (H_2L1).....	21
4.3.7. 1-oxa-4,7-diazacyklononan-4,7-bis(methylenfosfinová kyselina), $[9]-N_2OBPIN$ (H_2L2)	22
4.3.8. 1-oxa-4,7-diazacyklononan-4,7-bis[methylen(fenylfosfinová kyselina)], $[9]-N_2OBPhPIN$ (H_2L3).....	23
4.3.9. Tetraethyl 1-oxa-4,7-diazacyklononan-4,7-bis(methylenfosfonát), $[9]-N_2O(PO_3Et_2)_2$ (7)	24
4.3.10. Diethyl 1-oxa-4,7-diazacyklononan-4,7-bis(methylenfosfonát), $[9]-N_2O[PO(OH)OEt]_2$ (H_2L4)	25

4.3.11. 1-oxa-4,7-diazacyklononan-4,7-bis(methylenfosfonová kyselina), [9]-N ₂ OBPON (H ₄ L5).....	26
5. Výsledky a diskuze.....	27
5.1. Syntéza [9]-N ₂ O·2HBr.....	27
5.2. Syntéza ligandů.....	28
6. Závěr	32
7. Literatura.....	33
8. Seznam použitých zkratek.....	35

1. Obecný úvod

Nukleární magnetická rezonance (NMR) je velmi rozšířená technika, která je založena na interakci jaderného spinu a vnějšího magnetického pole. V roce 1946 Felix Bloch a Edward Mills Purcell nezávisle na sobě zjistili (za tento objev obdrželi v roce 1952 Nobelovu cenu za fyziku), že některá atomová jádra mohou absorbovat energii radio-frekvenčního elektromagnetického pole, když jsou umístěna v externím magnetickém poli.^[1] S nástupem počítačů a pulzních technik se stala tato metoda nepostradatelná při zkoumání chemické struktury, sledování dynamických procesů či určování konformací molekul. V posledních letech se stala velmi důležitou aplikací NMR efektu diagnostická a zobrazovací technika zvaná tomografie magnetické rezonance (MRI, *Magnetic Resonance Imaging*). Nespornou výhodou MRI ve srovnání s jinými diagnostickými metodami, jako jsou např. počítačová tomografie (CT), jednofotonová emisní počítačová tomografie (SPECT) nebo pozitronová emisní tomografie (PET), je, že nevystavuje sledovaný objekt vlivům vysoce energetického ionizujícího záření. Princip této metody je založen na pomyslném rozdělení sledovaného objektu na segmenty využitím gradientů magnetického pole a následným počítačovým zpracováním naměřených NMR signálů, čímž se získá výsledný MRI obraz. Měřeným jádrem je nejčastěji ^1H v molekule vody, protože té obsahuje lidské tělo kolem 70 hm%. Právě díky tomu lze sledovat patologické či fyziologické změny v měkkých tkáních. Podle uspořádání MRI experimentu lze získat obraz odpovídající distribuci vody ve zkoumané tkáni nebo také hodnotám T_1 -a T_2 -relaxačních časů (o relaxaci a relaxačních časech bude pojednáno v kapitole 2.1.2.). Takto lze získat různé snímky, označované jako tzv. vážené protonovou hustotou nebo T_1 - či T_2 -vážené. Vzniklý kontrast je poté dán skutečností, že T_1 - a T_2 -relaxační časy se liší mezi různými tkáněmi, popř. mezi zdravou a patologicky změněnou částí téže tkáně. Hodnoty relaxačních časů se mění v závislosti na biochemických podmínkách (koncentrace vody, teplota, pH, koncentrace solí atd.) ve zkoumané tkáni.^[2] Uměle je lze změnit aplikací tzv. kontrastní látky (CA, *Contrast Agent*). Po intravenózním podání kontrastní látka putuje krevním řečištěm až do sledované tkáně. Její nerovnoměrnou distribucí pak na MRI snímku vzniká kontrast. Jako kontrastní látky se používají sloučeniny s paramagnetickým iontem kovu. V dnešní době jsou v humánní medicíně využívány nejčastěji komplexy Gd^{3+} . Jedny z prvních kontrastních látek však byly sloučeniny Mn^{2+} .^[3] Dvojmocný mangan je vysoce paramagnetický a ve spojení s unikátními biologickými vlastnostmi se stává atraktivní kontrastní látkou pro MRI. Protože je však mangan ve vysokých dávkách neurotoxický pro lidský organismus, brání to jeho dalšímu využití. Jedna z možností, jak snížit jeho toxicitu, je mangan vhodně komplexovat s organickými ligandy.

Tato bakalářská práce se zabývá návrhem a vlastní syntézou potencionálně vhodných makrocyclických ligandů pro komplexaci Mn^{2+} , založených na 1-oxa-4,7-diazacyklononanovém skeletu s různými pendantními rameny (Obrázek 1-1).



H₂L1 R = -COOH

H₂L2 R = -PO(OH)H

H₂L3 R = -PO(OH)Ph

H₂L4 R = -PO(OH)(OEt)

H₄L5 R = -PO(OH)₂

Obrázek 1-1: Ligandy, které byly navrženy a syntetizovány pro selektivní komplexaci Mn^{2+}

2. Teoretická část

2.1. Nukleární magnetická rezonance (NMR)

2.1.1. Fyzikální princip

lit.^[4,5]

Spinové kvantové číslo jádra I je charakteristická vlastnost jader. Může nabývat nuly, poločíselných a celočíselných hodnot. Jádra se sudým protonovým a nukleonovým číslem (^{12}C , ^{16}O) mají $I=0$. Jádra s lichým protonovým číslem a sudým nukleonovým číslem mají $I = \text{celočíselný}$ (^{14}N , ^2H). A konečně jádra s lichým nukleonovým číslem mají $I = \text{poločíselný}$ (^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{31}P). V NMR spektroskopii jsou aktivní jen jádra s nenulovým spinovým kvantovým číslem ($I \neq 0$).

Velmi důležitou vlastností částic s nábojem je magnetický moment $\boldsymbol{\mu}$. Pro jeho z -tovou komponentu μ_z platí vztah (1):

$$\mu_z = \gamma m_1 \hbar \quad (1)$$

kde je:

γ gyromagnetický poměr jádra

m_1 moment hybosti; nabývá hodnot $m_1 = I, I-1, \dots, -I$

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

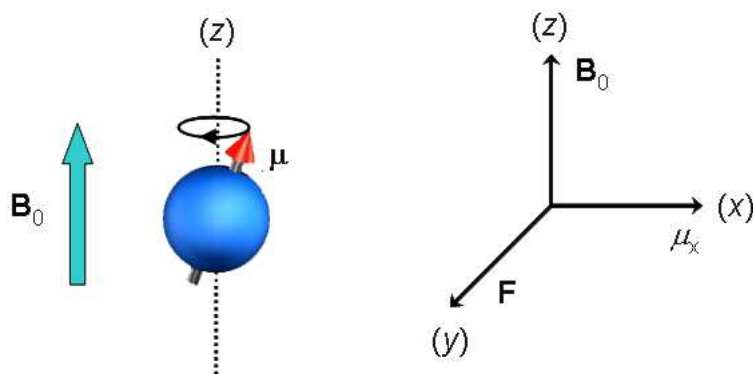
Spinové stavy jádra jsou prostorově kvantovány a nabývají $2I + 1$ hodnot. Jednotlivé spinové stavy popisuje hodnota m_1 . V základním stavu nejsou jaderné spiny v prostoru nijak uspořádány a neexistují mezi nimi žádné energetické rozdíly. Situace se ovšem změní, pokud na tento spinový systém působíme vnějším magnetickým polem \mathbf{B}_0 . Pro jádra s $I = \frac{1}{2}$ dochází k uspořádání spinů buď v paralelním nebo antiparalelním směru s vektorem \mathbf{B}_0 . Každé orientaci přísluší jistá energie E_{m_1} , pro tu platí vztah (2):

$$E_{m_1} = -\mu_z \mathbf{B}_0 = -\gamma \hbar \mathbf{B}_0 m_1 \quad (2)$$

Energetický rozdíl mezi dvěma energetickými hladinami je poté $\Delta E = \gamma \hbar \mathbf{B}_0$. Populace jednotlivých energetických hladin se řídí Boltzmannovou distribucí. Jaderný magnetický moment vykonává ve vnějším magnetickém poli precesní pohyb (Obrázek 2-1), který lze popsat Larmorovou frekvencí ν_L (3):

$$\nu_L = \frac{\gamma \mathbf{B}_0}{2\pi} \quad (3)$$

Bývá proto zvykem v NMR spektroskopii vyjadřovat intenzitu magnetického pole v jednotkách Larmorovy frekvence (MHz).



Obrázek 2-1: Ve vnějším magnetickém poli \mathbf{B}_0 vykonává magnetický moment $\boldsymbol{\mu}$ precesní pohyb charakterizovaný Larmorovou frekvencí. Precesní pohyb je způsoben interakcí \mathbf{B}_0 a μ_x . Síla \mathbf{F} , která nutí magnetický moment k precesi, je dána vektorovým součinem $\mathbf{F} = \boldsymbol{\mu} \times \mathbf{B}$ a je orientována ve směru y-osy. Protože je \mathbf{F} kolmá na \mathbf{B}_0 a $\boldsymbol{\mu}$, opisuje $\boldsymbol{\mu}$ kruhovou dráhu kolem osy z

2.1.2. Relaxační procesy

lit.^[4]

Pro popis reálného vzorku je dobré zavést pojem soubor spinových stavů. Každému spinu v tomto souboru přísluší jaderný magnetický moment. Vektorovým součtem těchto jednotlivých příspěvků pak vzniká makroskopická veličina \mathbf{M} zvaná magnetizace, která je orientována ve směru vnějšího magnetického pole \mathbf{B}_0 . Vektor magnetizace lze sklopit o libovolný úhel aplikací různě dlouhého pulzu s magnetickou indukcí \mathbf{B}_1 . Takto sklopený vektor magnetizace je nucen vykonávat precesní pohyb o Larmorově frekvenci dané intenzitou magnetického pole \mathbf{B}_0 . Mechanismy, které navrací vektor magnetizace do rovnovážné polohy, se označují jako relaxační procesy. Rozlišujeme dva možné mechanismy. Spin-mřížkovou relaxaci, která souvisí s nárůstem složky vektoru magnetizace ve směru osy z (M_z), označovanou jako longitudinální, charakterizovanou časovou konstantou T_1 , a spin-spinovou relaxaci, označovanou jako transverzální. Ta souvisí s úbytkem složky vektoru magnetizace z roviny xy (M_{xy}) a popisuje ji časová konstanta T_2 .

2.2. Relaxace v přítomnosti paramagnetik

lit.^[6,7,8]

Přítomnost paramagnetického centra blízko molekuly vody se projeví zkrácením longitudinálního a transverzálního relaxačního času (T_1 , T_2). Pozorované hodnoty relaxačních časů ($T_{1,obs}$, $T_{2,obs}$) rozpouštědla jsou dány součtem diamagnetického příspěvku ($T_{1,d}$ a $T_{2,d}$; relaxační čas samotného rozpouštědla bez přítomnosti paramagnetické látky) a paramagnetického příspěvku ($T_{1,p}$ a $T_{2,p}$). Ve zředěných roztocích platí Solomon-Bloembergen-Morganova teorie popisující relaxaci

jader rozpouštědla v přítomnosti paramagnetické látky (4). Tato teorie také zavádí pojem relaxační rychlost R jako reciprokou hodnotu relaxačního času T . S využitím tohoto vztahu může být rovnice (4) přepsána do tvaru (5):

$$\frac{1}{T_{i,obs}} = \frac{1}{T_{i,d}} + \frac{1}{T_{i,p}}, \quad i = 1, 2 \quad (4)$$

$$R_{i,obs} = R_{i,d} + R_{i,p}, \quad i = 1, 2 \quad (5)$$

Protože paramagnetický člen je přímoúměrný koncentraci paramagnetické látky $[M]$, lze rovnici (5) zapsat také jako:

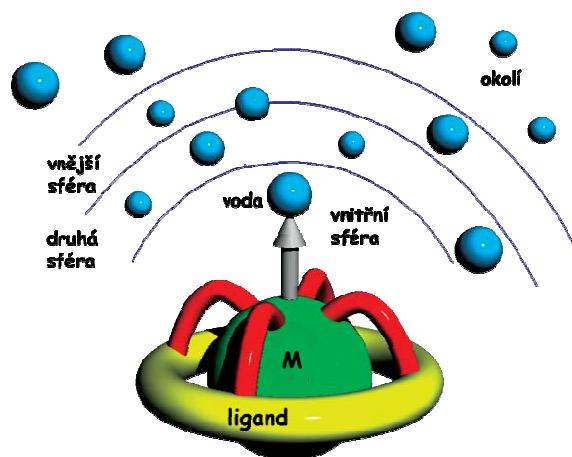
$$R_{i,obs} = R_{i,d} + r_i[M], \quad i = 1, 2 \quad (6)$$

Konstanta úměrnosti r_i se nazývá relaxivita a charakterizuje schopnost paramagnetické látky vyvolat relaxaci. Uvádí se v jednotkách $\text{mM}^{-1} \text{s}^{-1}$. Protože v MRI se jedná o relaxaci protonů vody, označuje se r_i jako protonová relaxivita. Celková hodnota relaxivity je dána součtem příspěvku vnitřní koordinační sféry (IS, inner-sphere), vnější koordinační sféry (OS, outer-sphere) a druhé koordinační sféry (SS, second-sphere) (7):

$$r_i = r_i^{\text{IS}} + r_i^{\text{OS}} + r_i^{\text{SS}} \quad (7)$$

Příspěvek r_i^{IS} pochází z relaxace molekul vody, které jsou přímo koordinovány na paramagnetický ion kovu. Tyto molekuly jsou nejbližší k paramagnetickému centru a mají nejvíce urychlenou relaxaci vodíkových jader. Paramagnetický ion kovu však ovlivňuje i relaxaci molekul vody, které na něj nejsou přímo koordinovány, ale nacházejí se v dostatečné blízkosti paramagnetického centra, např. vlivem difuze. Tento příspěvek popisuje člen r_i^{OS} a je srovnatelný s r_i^{IS} . Delší vzdálenost molekul vody od paramagnetického centra je vyvážena větším počtem přítomných molekul vody. Speciální případ vnější koordinační sféry je druhá koordinační sféra. Tuto sféru tvoří molekuly vody vázané na paramagnetický komplex jiným typem interakce, např. vodíkovou vazbou. Molekuly vody tak setrvávají v blízkosti paramagnetického centra déle, než odpovídá výměně způsobené difuzí. K celkové relaxivitě přispívá člen r_i^{SS} 10–20 %. Zatímco příspěvek vnější koordinační sféry nelze ovlivnit volbou ligandu (je čistě závislý na difuzi), tak příspěvek vnitřní koordinační sféry a druhé koordinační sféry lze ladit volbou ligandu. Schématické znázornění tří typů molekul vody v blízkosti paramagnetického komplexu znázorňuje Obrázek 2-2.

Protonová relaxivita je přímoúměrná počtu molekul koordinované vody na paramagnetický kov. Počet koordinovaných molekul vody vyjadřuje hydratační číslo q .



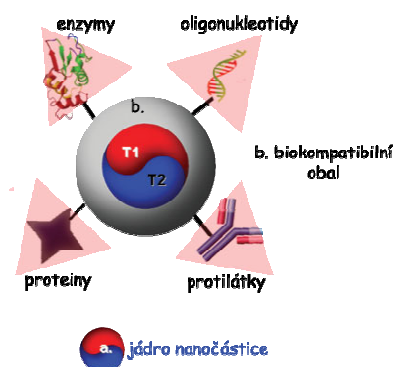
Obrázek 2-2: Schématické znázornění tří typů molekul vody, které se nacházejí v okolí paramagnetického iontu kovu. V první koordinační sféře je molekula vody přímo koordinována na paramagnetický ion kovu. Vnější koordinační sféra je také ovlivněna paramagnetickým iontem kovu. Speciální případ vnější koordinační sféry je druhá koordinační sféra, ve které jsou molekuly vody vázané na paramagnetický komplex např. vodíkovou vazbou. Zdroj: obrázek byl převzat z lit.^[2]

2.3. Chemická povaha kontrastních látek

Z fyzikálního pohledu lze kontrastní látky rozdělit na T_1 -kontrastní látky, označované jako paramagnetické, a T_2 -kontrastní látky, označované jako superparamagnetické.^[7] Zatímco T_1 -kontrastní látky indukují pozitivní kontrast, tj. zesilují ^1H NMR signál ve tkáni, tak T_2 -kontrastní látky způsobují lokální snížení ^1H signálu, které se projeví ztmavnutím zobrazované tkáně.^[9] T_1 -kontrastní látky jsou chemickou povahou komplexy paramagnetických iontů kovů s vhodnými ligandy. Nejčastěji se jedná o komplexy Gd^{3+} , méně často o komplexy Fe^{3+} a Mn^{2+} .^[10] Podstatně novější skupinou jsou T_2 -kontrastní látky. Většinou se jedná o nanočástice oxidů železa (magnetit Fe_3O_4 , maghemit $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) pokryté vrstvou např. dextransu nebo polyethylenglykolu (Obrázek 2-3). Podle své velikosti jsou rozděleny na tři hlavní skupiny:

i) MPIO (*Micrometer-sized Paramagnetic Iron Oxide*; řádově mikrometry), ii) SPIO (*Superparamagnetic Iron Oxide*; řádově stovky nanometrů), a iii) USPIO (*Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide*; <50 nm).^[11] Mimo to lze kontrastní látky rozdělit na nespecifické a orgánově specifické. Většina gadolinitých komplexů jsou nespecifické kontrastní látky, výjimku tvoří gadolinité komplexy s vysokou hepatobiliární exkrecí. Mezi orgánově specifické kontrastní látky lze zahrnout SPIO a preparáty založené na komplexech Mn^{2+} .^[12]

Důležitým parametrem potencionálních kontrastních



Obrázek 2-3: Schématické znázornění MRI kontrastní látky založené na nanočásticích. Jádro nanočástice je obaleno biokompatibilním obalem, na kterém mohou být navázány bioaktivní molekuly. Zdroj: obrázek byl převzat z lit.^[11]

látek pro použití *in vivo* je jejich stabilita v roztoku. Na tu lze nahlížet buď termodynamickým nebo kinetickým pohledem. Vysokých konstant stability je dosaženo vhodnou volbou ligandu. Mnohem důležitější je však kinetická stabilita. Jedná se hlavně o kinetickou inertnost vůči transmetalaci biogenními prvky (hlavně Ca^{2+} a Zn^{2+}), transchelataci a kyselé dekomplexaci. Potencionální kontrastní látky musí být samozřejmě dobře rozpustné ve vodě a je vhodné, aby měly nízkou osmolalitu.

2.3.1. Kontrastní látky založené na komplexech Gd^{3+}

V klinické praxi se používá několik nízkomolekulárních gadolinitých komplexů, některé z nich uvádí Obrázek 2-4. Magnevist[®], Omniscan[®], Dotarem[®] a Prohance[®] patří mezi neselektivní extracelulární T_1 -kontrastní látky. MultiHance[®] a Primovist[®] kombinují vlastnosti konvenčních neselektivních Gd^{3+} -kontrastních látek a selektivitu vůči jaterním buňkám. Použité ligandy lze rozdělit do dvou strukturních skupin odvozených od makrocyclického ligandu DOTA (resp. DO3A) a acyklického ligandu DTPA. Koordinační číslo Gd^{3+} v komplexech je obvykle 8–9, vzhledem k použitým oktaedrálním ligandům zbývá tedy nanejvýš jedno koordinační místo pro další ligand, nejčastěji vodu. Všechny klinicky používané Gd^{3+} -kontrastní látky mají $q = 1$.

Gadolinitý ion má sedm nepárových f -elektronů, které způsobují vysoký efektivní magnetický moment $\mu_{\text{eff}} = 7,94 \text{ B.M.}^{(a)}$

Ačkoli některé lanthanoidy mají μ_{eff} ještě vyšší (např. Dy^{3+} a Ho^{3+} , viz. Tabulka 2-1), je další výhodou Gd^{3+} jeho totálně symetrický elektronový stav $^8\text{S}_{7/2}$, díky kterému má zhruba 10^5 -krát delší elektronové relaxační časy T_{1e} a T_{2e} než ostatní lanthanoidy.^[14] Právě tato vlastnost má zásadní vliv na schopnost Gd^{3+} urychlovat relaxaci okolních jader.

Komplexy Gd^{3+} jsou hydrofilní, jsou proto

Tabulka 2-1: Efektivní magnetické momenty vybraných lanthanitých kationtů. Hodnoty jsou uvedeny v hodnotách Bohrova magnetonu (B.M.), lit.^[14]

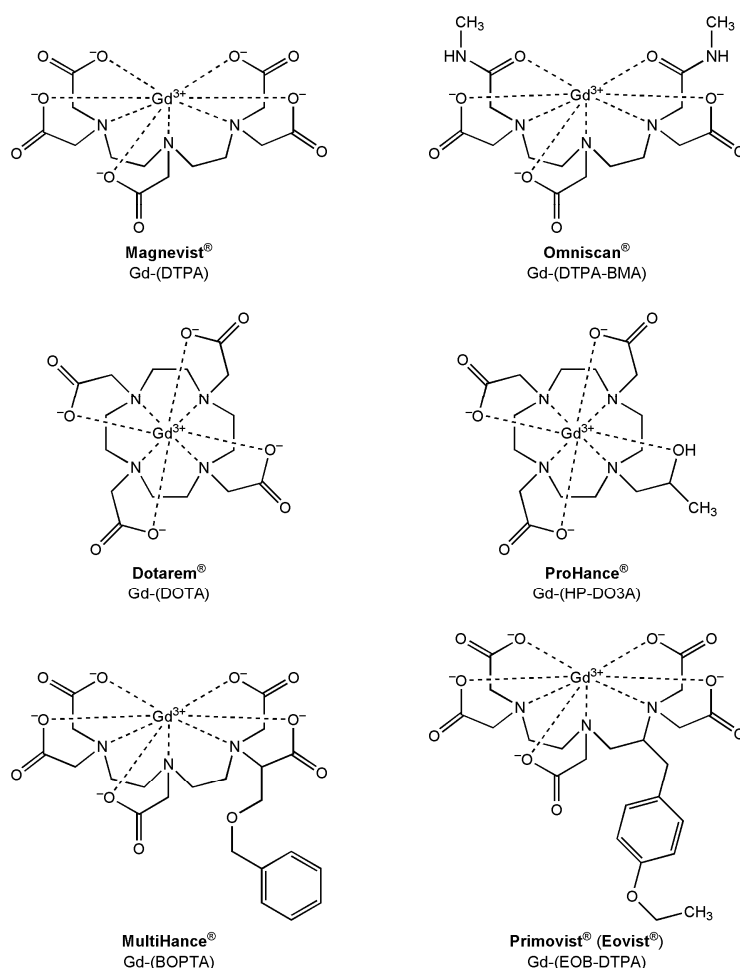
Ln^{3+}	μ_{eff} B.M.
Ce^{3+}	2,56
Pr^{3+}	3,62
Nd^{3+}	3,68
Sm^{3+}	1,55–1,65
Eu^{3+}	3,40–3,51
Gd^{3+}	7,94
Tb^{3+}	9,70
Dy^{3+}	10,6
Ho^{3+}	10,6
Er^{3+}	9,60
Tm^{3+}	7,60
Yb^{3+}	4,50

^(a) Bohrov magneton B.M. vyjadřuje přibližně magnetický moment elektronu, je dán vztahem $\mu_B = \frac{e\hbar}{2m_e}$.

V SI jednotkách má hodnotu $\mu_B = 927,400915(23) \text{ J T}^{-1}$.^[13]

z těla vylučovány v nemetabolizované formě močí. U pacientů s renální insuficiencí může dojít v souvislosti s používáním Gd^{3+} -kontrastních látek k onemocnění zvanému systémová nefrogenní fibróza (NSF, *Nefrogenic Systemic Fibrosis*). Toto onemocnění postihuje kůži, ledviny, srdce, játra a plíce.^[15] Jedná se hlavně o Gd^{3+} -komplexy s acyklickými ligandy odvozenými od DTPA. Tento efekt je vysvětlován menší kinetickou inertností těchto komplexů vůči kyselé dekomplexaci a delší době, kterou kontrastní látka stráví v těle v důsledku špatné funkce ledvin.^[2]

Kvůli své nízké molekulové hmotnosti (kolem 500 Da) jsou Gd^{3+} -kontrastní látky rychle vyplaveny z intravaskulárního prostoru kapilárami do intersticiálního prostoru. Jejich biodistribuce je tedy nespecifická. Další nevýhodou je neschopnost proniknout přes hemoencefalickou bariéru. Slouží proto primárně k zobrazování krevního řečiště a integrity hemoencefalické bariéry v nádorech či po úrazu.^[16]

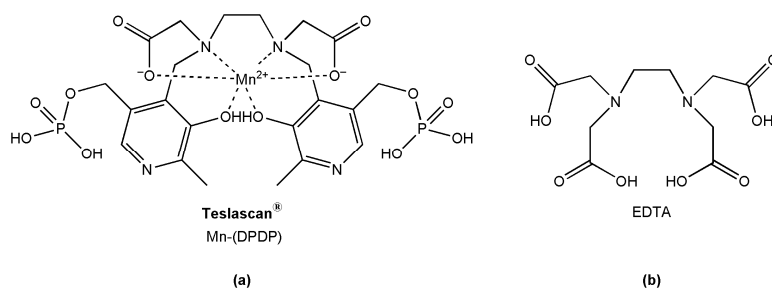


Obrázek 2-4: Struktury některých klinicky používaných nízkomolekulárních komplexů Gd^{3+} jako kontrastních látek v MRI; koordinovaná voda ($q = 1$ pro všechny komplexy) byla pro přehlednost vynechána

2.3.2. Kontrastní látky založené na sloučeninách Mn^{2+}

K dnešnímu dni je v klinické praxi využíván jen jeden preparát – Teslascan®, komplex Mn^{2+} a DPDP (Obrázek 2-5a). Tento preparát slouží k zobrazení jater, slinivky, ledvin a srdečního

svalu.^[12] Na tomto ligandu lze vidět jistou strukturní a koordinační podobnost s EDTA (Obrázek 2-5b). Hexadentátní ligand dovoluje koordinaci jedné molekuly vody. Práce, které se zabývaly studiem komplexů Mn^{2+} a EDTA, ukazují, že ligandy odvozené od EDTA by mohly být dobrým začátkem pro návrh nových ligandů pro komplexaci manganu. Je známa malá toxicita $Na_2[Mn(EDTA)]$ ($LD_{50} = 7 \text{ mmol kg}^{-1}$ pro krysou) ve srovnání s $MnCl_2$ ($LD_{50} = 0,22 \text{ mmol kg}^{-1}$).^[17,18] Navíc relaxivity $[Mn(EDTA)H_2O]^{2-}$ a $[Gd(DTPA)H_2O]^{2-}$ jsou podobné ($2,9$ a $4,1 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$, měřeno při 20 MHz , $35 \text{ }^\circ\text{C}$).^[19]



Obrázek 2-5: (a) Struktura jediného Mn^{2+} -komplexu používaného v klinické praxi jako T_1 -kontrastní látka v MRI; koordinovaná voda ($q = 1$) byla pro přehlednost vynechána. (b) Struktura ligandu EDTA

Ve stopových množstvích je mangan nezbytný pro zdravý vývoj a funkci těla. Je důležitý pro správnou funkci několika tříd enzymů. Je kofaktor řady biologicky důležitých enzymů, zahrnující argininu a mangan superoxid dismutasu v mitochondriích, která hraje důležitou roli v obraně proti volným radikálům.^[20] Téměř 80 % manganu se nalézá v mozku v astrocytech ve specifickém enzymu glutaminsyntetase, který se zúčastňuje neurotransmise. Na druhou stranu existuje mnoho studií, které popisují otravy lidí vystavených velkým expozicím manganu. U exponovaných lidí a některých primátů je popsána forma Parkinsonovy choroby – manganismus. Patologický mechanismus je založen na poškození bazálních ganglií.^[16]

Sloučeniny Mn^{2+} , nejčastěji $MnCl_2$, se používají jako kontrastní látky pro *in vivo* studie neuroarchitektury u zvířat. Technika, která se k tomu využívá, se označuje MEMRI (*Manganese Enhanced MRI*). Tato technika dovoluje pořídít T_1 -vážené snímky mozku nebo jeho částí po nitrožilní aplikaci, po aplikaci do smyslových orgánů lze sledovat spojení s mozkiem, lze také vizualizovat spojení mezi jednotlivými centry v mozku, popř. dlouhodobě sledovat plasticitu neuronových spojů během přirozeného vývoje nebo nemoci mozku.^[21,22,23] Těchto zajímavých aplikací je dosaženo unikátními vlastnostmi Mn^{2+} . Je to dáno skutečností, že Mn^{2+} má podobný efektivní iontový poloměr jako Ca^{2+} ($r_{Mn^{2+}} = 90,0 \text{ pm}$, $r_{Ca^{2+}} = 100 \text{ pm}$) a dokáže ho v mnoha biologických systémech mimikovat.^[24] Důležitou roli hraje distribuce manganu do centrálního nervového systému (CNS). Ta je zprostředkována přestupem přes hemoencefalickou bariéru. Z dosavadních výsledků vyplývá, že se na něm podílí dva mechanismy – přestup přes cerebrální kapiláry a cerebrospinální mok, a nebo čichovým nervem.^[20]

3. Motivace a cíle práce

Cílem této bakalářské práce bylo připravit modelovou řadu nových potencionálních ligandů pro selektivní komplexaci Mn^{2+} . Motivací je skutečnost, že nejsou známy komplexy Mn^{2+} s vhodnými ligandy s relevantními vlastnostmi pro použití jako potencionální kontrastní látky pro MRI. Jedná se hlavně o termodynamickou a kinetickou stabilitu. Je známo, že mangan má velkou afinitu k ligandům s *O*-donorovými atomy, menší k *N*-donorovým atomům.

Kladný náboj Mn^{2+} v komplexu je nutné kompenzovat např. karboxylovou skupinou. Z donorových atomů, ke kterým má mangan afinitu, se nabízí jako možnost různě derivatizovaný *N*-atom. Proto byl jako základní skelet ligandů zvolen 1-oxa-4,7-diazacyklononan, [9]- N_2O . Díky makrocyclickému efektu by mohly připravené ligandy vykazovat větší kinetickou inertnost ve srovnání s acyklickými ligandy s motivem EDTA. Bazicitu dusíkového atomu lze změnit vhodnou substitucí. Jako pendantní ramena byly zvoleny karboxylová, fosfinová (popř. fenyfosfinová) a fosfonová skupina. U fosfinové a fenyfosfinové skupiny je předpokládán záporný indukční efekt ($-I$), který má vliv na snížení bazicity dusíkového atomu. Naopak fosfonová skupina s kladným indukčním efektem ($+I$) má obvykle opačný vliv.^[25] Preferované koordinační číslo Mn^{2+} v komplexech je 6–7. Připravené pentadentátní ligandy dovolují tedy koordinaci minimálně jedné molekuly vody.

4. Experimentální část

4.1. Seznam použitých chemikálií

Všechny komerčně dostupné chemikálie a rozpouštědla byly od dodavatelů Acros Organics, Aldrich, Fluka, Lach-Ner a Penta. Pro svůj účel nebyly dále čištěny a sušeny, kromě *N,N*-dimethylformamidu (DMF), který byl sušen podle lit.^[26], a MeCN, který byl sušen refluxem s P₄O₁₀ a následnou destilací. Při syntézách byl použit paraformaldehyd odfiltrovaný ze starých roztoků formalínu. Pro měření NMR spekter byla použita deuterovaná rozpouštědla – D₂O, 99,8 % D (Chemotrade) a DMSO-*d*₆, 99,5 % D (Chemotrade).

Detekční činidla pro TLC

Dragendorffovo činidlo: roztok A: 1,7 g Bi(NO₃)₃·3H₂O ve 100 mL směsi H₂O:AcOH 80:20; roztok B: 40,0 g KI ve 100 mL H₂O; smícháno 5 mL roztoku A, 5 mL roztoku B, 20 mL konc. AcOH, 70 mL H₂O

ninhydrin, 0,5% ethanolický roztok

Cu(OAc)₂, 5% vodný roztok

4.2. Metody charakterizace

4.2.1. NMR spektroskopie

Měření spekter ¹H, ¹³C a ³¹P NMR bylo prováděno na spektroskopu VNMRS300, spektroskopu Varian^{UNITY} INOVA 400 a spektroskopu Bruker Avance (III) 600. Pokud není uvedeno jinak, měření probíhalo při teplotě 25 °C. Všechny uváděné hodnoty chemických posunů δ jsou v jednotkách ppm a jsou zaokrouhlovány na dvě desetinná místa. Interakční konstanty *J* jsou v jednotkách Hz, zaokrouhleny na jedno desetinné místo. Chemické posuny signálů byly referencovány na interní standardy *t*-BuOH ($\delta_{\text{H}} = 1,25$; $\delta_{\text{C}} = 30,29$ a $70,36$) nebo píky rozpouštědla CD₂HSOCD₃ ($\delta_{\text{H}} = 2,50$), (CD₃)₂SO ($\delta_{\text{C}} = 39,52$), HDO ($\delta_{\text{H}} = 4,70$). Pro referenci ³¹P NMR byl použit externí standard 85% roztok H₃PO₄ v D₂O ($\delta_{\text{P}} = 0,00$). Všechna ¹³C NMR spektra a některá ³¹P NMR spektra byla naměřena s „decouplingem“ vodíkových jader.

4.2.2. Hmotnostní spektroskopie (MS)

Hmotnostní spektra byla naměřena na hmotnostním spektrometru Bruker ESQUIRE 3000 ES-iontrap s ionizací elektrosprejem (ESI) v pozitivním i negativním modu (PřF UK), a hmotnostním spektroskopu Thermo Scientific LCQ Fleet (Ústav organické chemie a biochemie AV ČR v Praze). HR MS spektra byla získána ESI instrumentací. Vzorčky byly rozpuštěny buď

v MeOH nebo v H₂O, naředěny mobilní fází (MeOH nebo MeCN) a injektovány 25 μL mikrošťříkačkou Hamilton rychlostí 250 μL min⁻¹. Uvedeny jsou jen signály, které se podařilo interpretovat.

4.2.3. Tenkovrstvá chromatografie (TLC)

Tenkovrstvá chromatografie byla prováděna na dvou typech destiček: Silufol[®] (Kavalier) s širokoporézním silikagelem naneseným na hliníkové fólii a TLC aluminium sheets silica gel 60 F₂₅₄ (Merck). Příslušné mobilní fáze a metody detekce jsou uvedeny vždy u jednotlivých látek. Hodnoty *R_f* jsou uváděny na dvě desetinná místa.

4.2.4. Rentgenostrukturní analýza

Struktury monokrystalů byly naměřeny na čtyřkruhovém difraktometru NONIUS KAPPA CCD se zdrojem záření Mo-K α . Řešení struktury bylo provedeno v programu SIR92^[27], vypřesňování struktury v programu SHELXL97^[28] a vizualizace struktury v programu PLATON.^[29]

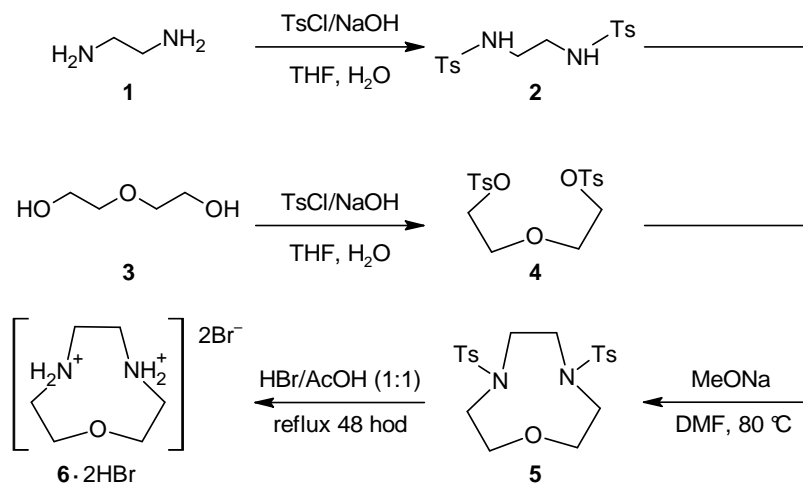
4.2.5. Elementární analýza

Elementární analýza byla provedena na Ústavu makromolekulární chemie AV ČR v Praze na automatickém analyzátoru Perkin Elmer 2400. Hmotnostní procenta jsou uváděna na dvě desetinná místa.

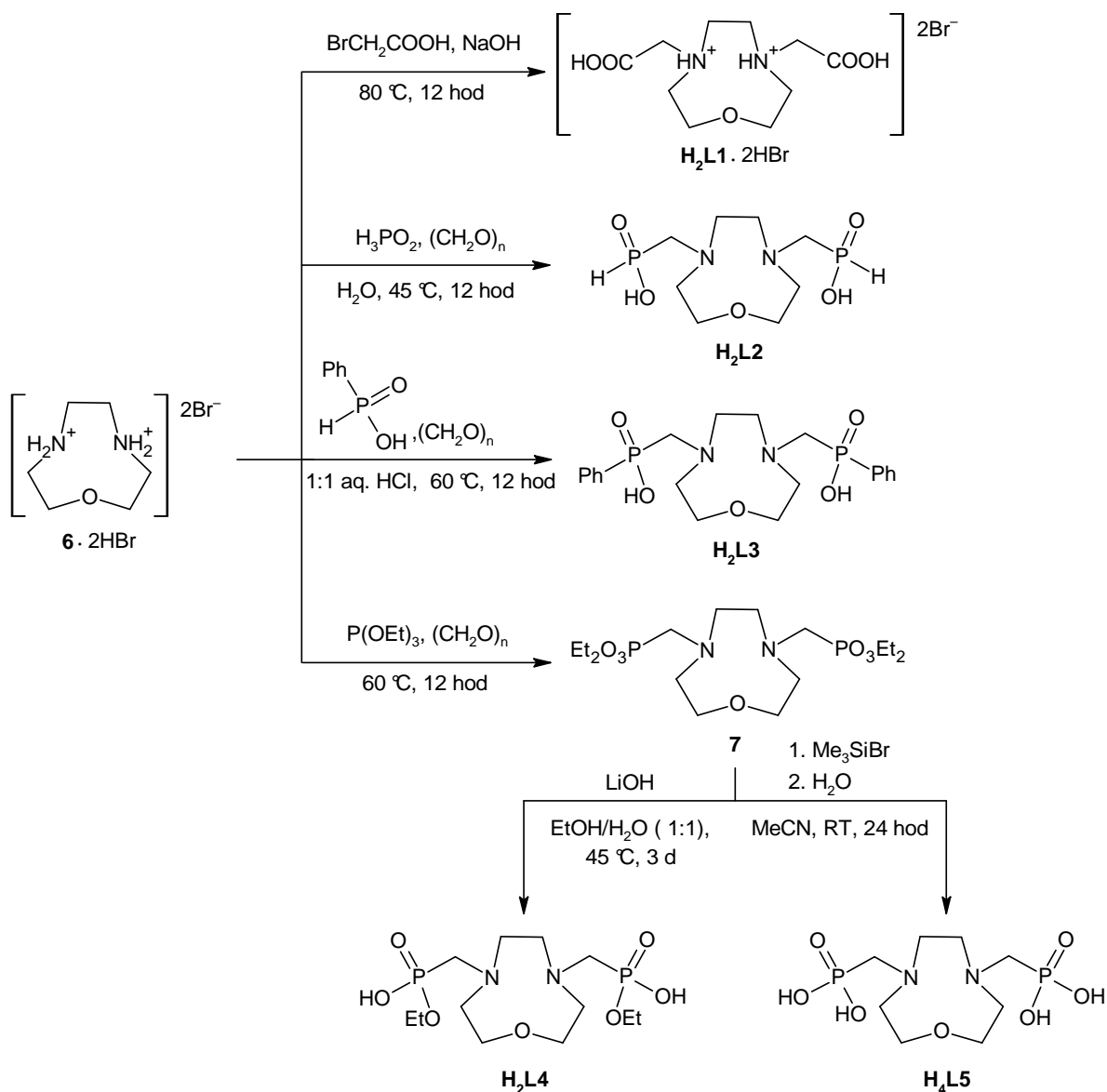
4.2.6. Stanovení teploty tání

Teploty tání byly stanoveny na bodotávku Büchi B-540.

4.3. Syntetická část

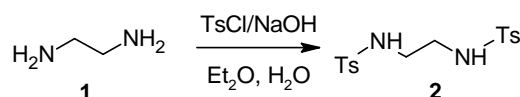


Obrázek 4-1: Schéma přípravy [9]-N₂O·2HBr (6·2HBr)



Obrázek 4-2: Schéma přípravy ligandů

4.3.1. *N,N'*-bis(*p*-toluensulfonyl)ethyldiamin (**2**) – postup 1



Reakce byla provedena analogicky podle lit.^[30] Do 1L varné baňky s magnetickým míchadlem bylo vneseno 10,00 g (0,17 mol) **1**, 50 mL destilované vody a 14,50 g (0,36 mol, 2,1 ekvivalentů) NaOH. Během dvou hodin pak bylo za důkladného míchání přidáno 68,70 g (0,36 mol, 2,1 ekvivalentů) TsCl v 250 mL Et₂O. Během exotermní reakce došlo k vyvaření většiny Et₂O. Bílá krystalická sraženina produktu **2** byla suspendována v destilované vodě, následně odsáta na Büchnerově nálevce a několikrát promyta vodou. Surový produkt byl rekrystalován z 1,5 L horkého EtOH. Roztok byl ponechán k volné krystalizaci přes noc. Vyloučené bílé krystalky produktu byly

odsáty na fritě S2. První frakce bylo získáno 54,00 g, tj. 86 % teorie. Matečný roztok byl odpařen cca na 1/3 objemu, ponechán k volné krystalizaci a následně byla izolována druhá frakce s výtěžkem 1,50 g, tj. 2 % teorie.

Charakterizace:

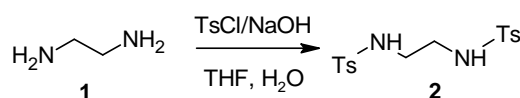
$T_t = 163,0\text{ }^\circ\text{C}$ (EtOH) (lit.³¹ 163,0–164,0 $^\circ\text{C}$).

$^1\text{H NMR}$ (399,95 MHz, DMSO-*d*6): δ 2,38 (s, 6H, -CH₃), 2,71 (d, 4H, -CH₂NH-, $^3J_{\text{HH}} = 5,6$ Hz), 7,37 (d, 4H, arom., $^3J_{\text{HH}} = 8,0$ Hz), 7,59–7,62 (m, 6H, arom., -NH-).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (100,58 MHz, DMSO-*d*6): δ 20,93 (2C, -CH₃), 42,10 (2C, -CH₂-), 126,43 (4C, arom. -CH-), 129,63 (4C, arom. -CH-), 137,31 (2C, arom. kvartérní), 142,70 (2C, arom. kvartérní).

MS (ESD): (+) 390,8 (M+Na)⁺, vypočteno 391,1.

4.3.2. *N,N'*-bis(*p*-toluensulfonyl)ethyldiamin (**2**) – postup 2

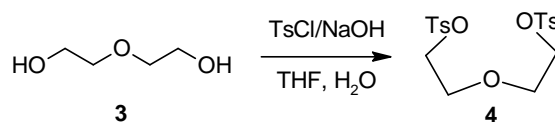


Do 1L varné baňky s magnetickým míchadlem bylo vneseno 30,00 g (0,50 mol) **1**, 185 mL destilované vody, 185 mL THF a 67,50 g (1,69 mol, 3,4 ekvivalentů) NaOH. Obsah baňky byl chlazen v ledové lázni o teplotě 0 $^\circ\text{C}$. Během dvou hodin pak bylo za důkladného míchání přidáno 200,20 g (1,05 mol, 2,1 ekvivalentů) TsCl ve 450 mL THF. Reakční směs byla míchána přes noc při laboratorní teplotě. Následně byl obsah baňky převeden do cca 1 L 5% aq. HCl. Za chvíli se začala tvořit bílá sraženina produktu **2** (pozn. sraženinu je dobré nechat dobře prokristalovat přes noc). Vyloučená sraženina byla odsáta na Büchnerově nálevce a 3krát promyta destilovanou vodou. Surový produkt byl rekrystalován z horkého EtOH. Vyloučené bílé krystalky produktu byly odsáty na fritě S2. Bylo získáno 137,50 g (75 % teoretického výtěžku).

Charakterizace:

Látka **2** byla charakterizována stejně jako při postupu 1.

4.3.3. *N,N'*-bis(*p*-toluensulfonyl)diethylenglykol (**4**)



Reakce byla provedena podle lit.^[32] Do 1L varné baňky s magnetickým míchadlem bylo vneseno 32,00 g (0,30 mol) **3**, 42,00 g (1,06 mol, 3,5 ekvivalentů) NaOH, 200 mL destilované vody a 200 mL THF. Za dobrého míchání a chlazení v ledové lázni o teplotě 0 $^\circ\text{C}$ byl během 2 hodin

přikapán roztok 126,00 g (0,66 mol, 2,2 ekvivalentů) TsCl v 300 mL THF. Reakční směs byla míchána přes noc. Následně byla převedena do 2L kádinky s 300 mL 5% aq. HCl. Za mírného míchání se vyloučila nažloutlá krystalická sraženina produktu **4**, která byla odsáta na Büchnerově nálevce a několikrát promyta vodou. Surový produkt byl rekrystalován z 750 mL horkého EtOH. Bylo získáno 65,50 g, tj. 56,5 % teorie, bílých krystalků produktu **4**. Matečný roztok byl odpařen *in vacuo* cca na 1/3 objemu, ponechán k volné krystalizaci a následně byla izolována druhá frakce s výtěžkem 4,60 g, tj. 4 % teorie.

Charakterizace:

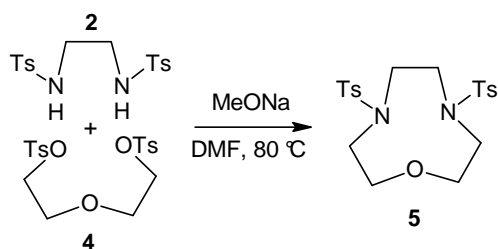
$T_f = 88,0\text{--}89,4\text{ }^\circ\text{C}$ (EtOH) (lit.^[32] 87,0–87,5 °C).

^1H NMR (299,94 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2,41 (s, 6H, -CH₃), 3,51 (t, 4H, -CH₂-, $^3J_{\text{HH}} = 4,5$ Hz), 4,05 (t, 4H, -CH₂-, $^3J_{\text{HH}} = 4,5$ Hz), 7,46 (d, 4H, arom., $^3J_{\text{HH}} = 9,3$ Hz), 7,76 (d, 4H, arom., $^3J_{\text{HH}} = 8,4$ Hz).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (75,420 MHz, DMSO-*d*₆): δ 21,07 (2C, -CH₃), 67,77 (2C, -CH₂-), 69,72 (2C, -CH₂-), 127,58 (4C, arom. -CH-), 130,11 (4C, arom. -CH-), 132,33 (2C, arom. kvartérní); 144,91 (2C, arom. kvartérní).

MS (ESI): (+) 436,9 (M+Na)⁺, vypočteno 437,1.

4.3.4. 4,7-bis(*p*-toluensulfonyl)-1-oxa-4,7-diazacyklononan, Ts₂[9]-N₂O (**5**)



Reakce byla provedena podle postupu v lit.^[33], který byl modifikován. Ve 2L dvojhrdlé baňce opatřené shora mechanickým míchadlem a z boku přikapávačkou s chlorkalciovou rourkou bylo rozpuštěno 24,66 g (67 mmol) **2** v 670 mL suchého DMF. Za dobrého míchání při teplotě 80 °C bylo přidáno 28,00 g (154 mmol, 2,3 ekvivalentů) 30% roztoku MeONa v MeOH. Začala se tvořit bílá sraženina a uvolněný MeOH byl odpařen do odtahu digestoře. Do této směsi bylo během 3 hodin za intenzivního míchání přikapáno 27,74 g (67 mmol) **4** v 340 mL suchého DMF. Reakční směs byla míchána při této teplotě přes noc. Následně byla na rotační vakuové odparce zahuštěna cca na 1/10 objemu. Hustý nažloutlý roztok byl poté převeden do 2 L destilované vody. Během mírného míchání došlo k vyloučení bílé sraženiny produktu **5**, která byla odsáta na Büchnerově nálevce. Surový produkt byl rekrystalován z 1200 mL horkého EtOH. Bylo získáno 14,00 g bílých krystalků, tj. 48 % teorie.

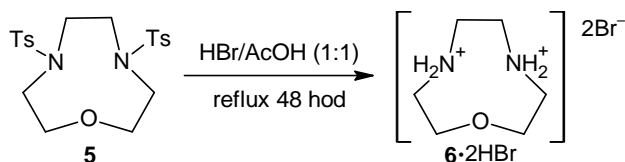
Charakterizace:

$T_f = 200,0\text{ }^\circ\text{C}$ (EtOH) (lit.^[34] 199,0–201,0 $^\circ\text{C}$).

$^1\text{H NMR}$ (399,95 MHz, DMSO-*d*6): δ 2,40 (s, 6H, -CH₃), 3,16 (t, 4H, -CH₂-, $^3J_{\text{HH}} = 4,4$ Hz), 3,33 (s, 4H, -NCH₂-), 3,76 (t, 4H, -CH₂-, $^3J_{\text{HH}} = 4,4$ Hz), 7,43 (d, 4H, arom., $^3J_{\text{HH}} = 8,0$ Hz), 7,70 (d, 4H, arom., $^3J_{\text{HH}} = 8,4$ Hz).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (100,57 MHz, DMSO-*d*6): δ 20,94 (2C, -CH₃), 51,05 (2C, -CH₂-), 51,12 (2C, -CH₂-), 71,66 (2C, -CH₂-), 127,05 (4C, arom. -CH-), 129,90 (4C, arom. -CH-), 134,83 (2C, arom. kvartérní), 143,39 (2C, arom. kvartérní).

MS (ESI): (+) 460,9 (M+Na)⁺, vypočteno 461,1.

4.3.5. 1-oxa-4,7-diazacyklononan, [9]-N₂O (6)

Reakce byla provedena podle postupu publikovaného v lit.^[35] V 1L baňce bylo ve směsi 180 mL 99% AcOH a 180 mL konc. HBr suspendováno 15,00 g **5**. Tato směs byla refluxována 48 hodin na olejové lázni. Následně byl načervenalý roztok několikrát odpařen na rotační vakuové odparce. Surový produkt **6** byl přečištěn chromatografií na silném kationtovém iontoměnič (Dowex 50, 50–100 mesh, H⁺-cyklus, 2,5×20 cm). Kyselé nečistoty byly odstraněny promýváním H₂O. Produkt byl eluován 1:1 aq. HCl. Eluát byl odpařen dosucha a poté 2krát z konc. HBr. Odparek byl rozpuštěn v minimálním množství směsi EtOH/HBr 1:1 a vysrážen přídatkem Et₂O. Vyloučené bílé krystalky produktu **6**·2HBr byly odsáty na fritě S2, promyty Et₂O a dosušeny volně na vzduchu. Výtěžek reakce byl 7,90 g, tj. 85 %.

Charakterizace:

TLC: Merck, EtOH/aq. NH₃ 1:1, detekce Dragendorffovým činidlem, $R_f = 0,70$

Silufol[®] (Kavalier), EtOH/aq. NH₃ 1:1, detekce ninhydrinem, $R_f = 0,50\text{--}0,70$.

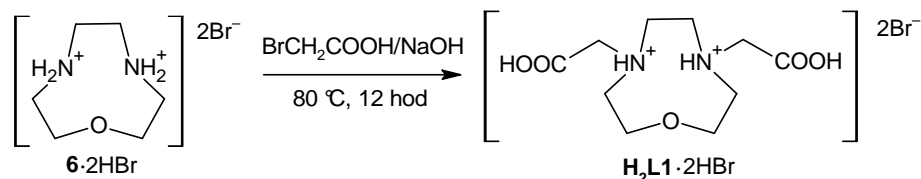
$^1\text{H NMR}$ (399,95 MHz, D₂O): δ 3,51 (t, 4H, -OCH₂CH₂NH-, $^3J_{\text{HH}} = 5,2$ Hz), 3,76 (s, 4H, -NHCH₂-), 4,05 (t, 4H, -OCH₂-, $^3J_{\text{HH}} = 5,2$ Hz).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (100,57 MHz, D₂O): δ 46,60 (2C, -CH₂-), 48,66 (2C, -CH₂-), 68,42 (2C, -CH₂-).

MS (ESI): (+) 130,9 (M+H)⁺, vypočteno 131,1.

Elementární analýza: nalezeno (vypočteno pro C₆H₁₄N₂O·2HBr, $M_r = 292,01$) C: 24,52 (24,68), H: 5,29 (5,52), Br 55,34 (54,73), N: 9,27 (9,59).

4.3.6. 1-oxa-4,7-diazacyklononan-4,7-dioctová kyselina, [9]-N₂ODA (H₂L1)



Ve 250mL baňce bylo v 25 mL destilované vody rozpuštěno 5,00 g (17,1 mmol) **6·2HBr** a 10% aq. roztokem NaOH bylo upraveno pH na hodnotu 9–10. Roztok byl zahříván na olejové lázni na 80 °C a během hodiny byl přidán roztok 5,94 g (42,8 mmol, 2,5 ekvivalentů) BrCH₂COOH v 25 mL destilované vody. Během přidávání alkylačního činidla bylo pH stále kontrolováno pH-elektrodou a upravováno 10% aq. roztokem NaOH na hodnotu 9–10. Reakční směs byla míchána při této teplotě přes noc.

Z reakční směsi byl produkt izolován chromatografií na silném kationtovém iontoměnič (Dowex 50, 50–100 mesh, H⁺-cyklus, 2,5×20 cm). Nečistoty byly odstraněny promýváním H₂O. Produkt byl eluován 5% aq. NH₃. Eluát byl zahuštěn na 1/10 objemu a převeden na silný aniontový iontoměnič (Dowex 1, OH⁻-cyklus, 2,5×10 cm, eluce 5% aq. AcOH). Po několikerém odpaření eluátu na rotační vakuové odparce byl odparek ještě 2krát odpařen z konc. HBr. Odparek byl rozpuštěn ve směsi EtOH:konc. HBr (1:1) a srážen Et₂O. Produkt byl odsán na fritě S2 a promyt Et₂O. Bylo připraveno 5,40 g, tj. 80 % teorie, bílého jemně krystalického prášku ve formě **H₂L1·2HBr·H₂O**.

Charakterizace:

TLC: Merck, *i*-PrOH/aq. NH₃/H₂O 7:3:3, detekce Dragendorffovým činidlem, $R_f = 0,70$.

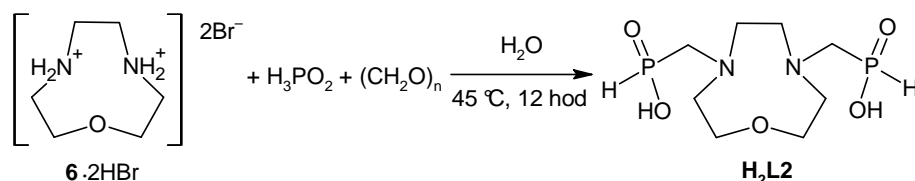
¹H NMR (399,95 MHz, D₂O): δ 3,42 (t, 4H, -CH₂-, ³J_{HH} = 5,2 Hz), 3,53 (s, 4H, -CH₂-), 3,95 (t, 4H, -CH₂-, ³J_{HH} = 5,2 Hz), 4,06 (s, 4H, -CH₂-).

¹³C{¹H} NMR (100,57 MHz, D₂O): δ 53,87 (2C, -CH₂-), 56,42 (2C, -CH₂-), 58,92 (2C, -CH₂-), 67,92 (2C, -CH₂-), 173,18 (2C, -COOH).

MS (ESI): (+) 246,8 (M+H)⁺, vypočteno 247,1; (+) 268,7 (M+Na)⁺, vypočteno 269,1; (-) 244,6 (M-H)⁻, vypočteno 245,1.

Elementární analýza: nalezeno (vypočteno pro C₁₀H₁₈N₂O₅·2HBr·H₂O, $M_r = 426,10$) C: 28,64 (28,19), H: 5,18 (5,20), Br: 36,90 (37,50), N: 6,53 (6,57).

**4.3.7. 1-oxa-4,7-diazacyklononan-4,7-bis(methylenfosfinová kyselina),
[9]-N₂OBPIN (H₂L2)**



Ve 100mL baňce s kulatým dnem a magnetickým míchadlem byly rozpuštěny 3,00 g (10,3 mmol) **6**·2HBr v 30 mL vody. Dále bylo přidáno 13,60 g 50% aq. roztoku H₃PO₂ (103 mmol, 10 ekvivalentů). Baňka byla uzavřena plastovou zátkou a reakční směs byla zahřívána na olejové lázni o teplotě 45 °C. Během jedné hodiny bylo k reakční směsi přidáno po malých dávkách 1,23 g (41,2 mmol, 4 ekvivalenty) paraformaldehydu. Reakční směs byla míchána při této teplotě přes noc.

Následně byla zahuštěna na rotační vakuové odparce (teplota vodní lázně nesmí překročit 45 °C) cca na 1/5 objemu. Zahuštěná reakční směs byla čištěna chromatografií na silném kationtovém iontoměniči (Dowex 50, 50–100 mesh, H⁺-cyklus, 2×30 cm, eluce H₂O). Byly jímány frakce po 50 mL. Přítomnost produktu byla sledována pomocí TLC (EtOH/aq. NH₃ 5:1, detekce Dragendorffovým činidlem, R_f = 0,40). Chromatografie byla provedena 2krát. Eluát byl zahuštěn na rotační vakuové odparce na čirý hustý olej, který byl rozpuštěn v cca 20 mL vody a lyofilizován. Produkt **H₂L2** byl připraven ve formě hygroscopické sklovité látky (1,62 g, 55 %).

Charakterizace:

TLC: Silufol[®] (Kavalier), EtOH/aq. NH₃ 5:1, detekce roztokem Cu(OAc)₂, R_f = 0,40

Merck, EtOH/aq. NH₃ 5:1, detekce Dragendorffovým činidlem, R_f = 0,40.

¹H NMR (299,94 MHz, D₂O): δ 3,49 (d, 4H, -CH₂PO(OH)H, ²J_{HP} = 9,9 Hz), 3,67 (t, 4H, -CH₂-cyklus, ³J_{HH} = 7,2 Hz), 3,88 (s, 4H, -NCH₂- cyklus), 4,07 (t, 4H, -CH₂- cyklus, ³J_{HH} = 7,2 Hz), 7,29 (d, 2H, -PO(OH)H, ¹J_{HP} = 554,9 Hz).

³¹P{¹H} NMR (121,42 MHz, D₂O): δ 13,10 (bs, 2P), 12,71 (t, 2P, ¹J_{DP} = 85,0 Hz).

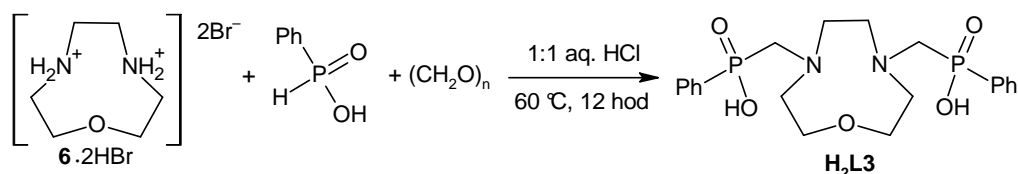
³¹P NMR (121,42 MHz, D₂O): δ 12,73 (t, 2P, ¹J_{DP} = 85,0 Hz), 13,11 (d, 2P, ¹J_{HP} = 555,7 Hz).

¹³C{¹H} NMR (100,57 MHz, D₂O, T = 40 °C): δ 52,8 (s, 2C, -CH₂- cyklus), 55,15 (s, 2C, -CH₂- cyklus), 56,4 (d, 2C, -NCH₂-, ¹J_{CP} = 87,3 Hz), 65,7 (s, 2C, -CH₂- cyklus).

MS (ESI): (+) 286,8 (M+H)⁺, vypočteno 287,1; (+) 308,7 (M+Na)⁺, vypočteno 309,1; (+) 324,7 (M+K)⁺, vypočteno 325,1; (-) 284,6 (M-H)⁻, vypočteno 285,1.

Elementární analýza: z důvodů silné hygroscopicity vzorku nebyla elementární analýza provedena.

**4.3.8. 1-oxa-4,7-diazacyklononan-4,7-bis[methylen(fenylfosfinová kyselina)],
[9]-N₂OBPhPIN (H₂L3)**



Ve 100mL baňce bylo ve 30 mL 1:1 aq. HCl rozpuštěno 3,00 g (10,3 mmol) **6.2HBr** a suspendováno 7,30 g (51,5 mmol, 5 ekvivalentů) kyseliny fenylfosfinové. Baňka byla uzavřena plastovou zátkou a směs byla zahřívána v olejové lázni na 60 °C. Během hodiny pak bylo po částech přidáno 1,90 g (61,8 mmol, 6 ekvivalentů) paraformaldehydu. Reakční směs byla míchána při této teplotě přes noc. Následně byla reakční směs zpracována chromatografií na silném kationtovém iontoměničči (Dowex 50, 50–100 mesh, H⁺-cyklus, 300 mL). Kyselé nečistoty byly odstraněny promýváním H₂O. Produkt byl eluován 5% aq. NH₃. Po odpaření eluátu na rotační vakuové odparce byl nažloutlý odparek rozpuštěn v minimálním množství EtOH. Po několikadenním stání se vyloučily bílé mikrokrytalické krystalky produktu **H₂L3**·NH₃·2H₂O, které byly odsáty na fritě S3 a vysušeny v exsikátoru nad P₄O₁₀. Bylo připraveno 3,18 g, což odpovídá 67 % teorie. Monokrystal pro RTG analýzu byl připraven pomalou difuzí acetonu do vodného roztoku **H₂L3**·NH₃·2H₂O.

Charakterizace:

TLC: Merck, EtOH/aq. NH₃ 5:1, detekce Dragendorffovým činidlem, R_f = 0,80.

¹H NMR (299,94 MHz, D₂O): δ 3,00 (bm, 12H), 3,64 (bm, 4H), 7,51–7,77 (m, 10H)

³¹P{¹H} NMR (121,42 MHz, D₂O): δ 23,91 (s, 2P).

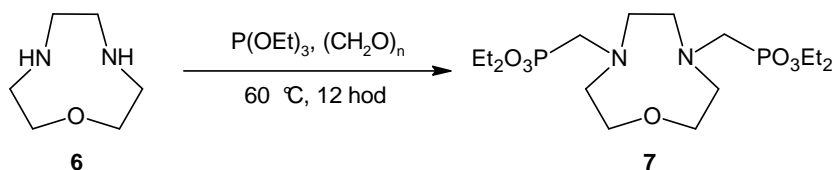
³¹P NMR (121,42 MHz, D₂O): δ 23,91 (s, 2P).

¹³C{¹H} NMR (150,91 MHz, D₂O): δ 52,23 (s, 2C, -CH₂- cyklus), 53,39 (s, 2C, -CH₂- cyklus), 55,30 (d, 2C, -NCH₂-, ¹J_{CP} = 104,1 Hz), 65,92 (s, 2C, -CH₂- cyklus), 128,75 (s, 4C, -CH- arom.), 131,11 (s, 4C, -CH- arom.), 131,86 (s, 2C, arom. kvartérní), 135,20 (d, 2C, -PO(OH)C- arom. kvartérní, ¹J_{CP} = 127,8 Hz).

MS (ESI): (+) 438,9 (M+H)⁺, vypočteno 439,2; (+) 461,0 (M+Na)⁺, vypočteno 461,1; (+) 477,5 (M+K)⁺, vypočteno 477,1; (-) 436,8 (M-H)⁻, vypočteno 437,1.

Elementární analýza: nalezeno (vypočteno pro C₂₀H₂₈N₂O₅P₂·NH₃·2H₂O, M_r = 491,46) C: 49,18 (48,88), H: 7,32 (7,18), N: 8,47 (8,55), P: 10,25 (12,60).

4.3.9. Tetraethyl 1-oxa-4,7-diazacyklononan-4,7-bis(methylenfosfonát), [9]-N₂O(PO₃Et₂)₂ (7)



Navážka 3,00 g (10,3 mmol) **6**·2HBr byla rozpuštěna v 10 mL aq. roztoku NaOH o pH = 12 a extrahována 3krát 10 mL CHCl₃. Chloroformové extrakty byly spojeny a vysušeny bezvodým Na₂SO₄. Po odpaření rozpouštědla na rotační vakuové odparce byl získán nažloutlý olej látky **6**, který byl použit dále k reakci.

Odparek látky **6** byl v 50mL baňce s magnetickým míchadlem rozpuštěn v 17 mL (103,0 mmol, 10 ekvivalentů) P(OEt)₃. Dále bylo přidáno 0,77 g (25,75 mmol, 2,5 ekvivalentů) paraformaldehydu. Baňka byla uzavřena plastovou zátkou a zahřívána na olejové lázni o teplotě 60 °C po dobu 12 hodin. Následně byl z reakční směsi odfiltrován nezreagovaný paraformaldehyd na fritě S3 a promyt malým množstvím EtOH.

Reakční směs byla čištěna chromatografií na silném kationtovém iontoměnič (Dowex 50, 50–100 mesh, H⁺-cyklus, 300 mL). Před nanesením reakční směsi na sloupec byla kolona nejdříve promyta 500 mL EtOH. Po nanesení byl sloupec promyt 1,5 L EtOH a následně 0,5 L vody. Produkt **7** byl eluován 2,5% roztokem NH₃ v EtOH. Odpařením eluátu na rotační vakuové odparce bylo získáno 2,49 g produktu **7**, tj. 60 % teorie, ve formě nažloutlého oleje, který byl dosušen pod vakuem.

Charakterizace:

TLC: Merck, EtOH/ aq. NH₃ 5:1, detekce Dragendorffovým činidlem, $R_f = 0,75$.

¹H NMR (299,94 MHz, D₂O): δ 1,28 (t, 12H, -OCH₂CH₃, ³J_{HH} = 7,2 Hz), 2,91 (s, 4H, -NCH₂-cyklus), 2,99 (t, 4H, -CH₂-cyklus, ³J_{HH} = 3,6 Hz), 3,15 (d, 4H, -CH₂PO(OEt)₂, ²J_{HP} = 9,9 Hz), 3,70 (t, 4H, -CH₂-cyklus, ³J_{HH} = 3,6 Hz), 4,11 (dq, 8H, -OCH₂CH₃).

³¹P{¹H} NMR (121,42 MHz, D₂O): δ 27,72 (s, 2P).

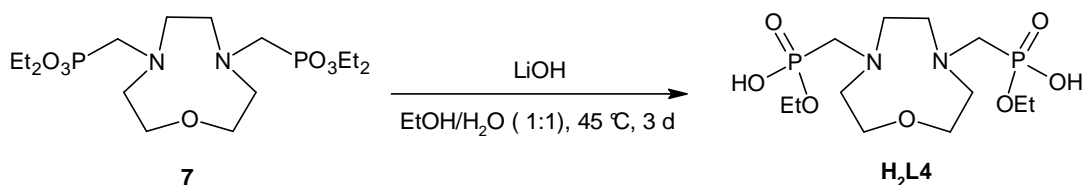
³¹P NMR (121,42 MHz, D₂O): δ 27,72 (t, 2P, ³J_{HP} = 7,7 Hz).

¹³C{¹H} NMR (150,91 MHz, D₂O): δ 15,70 (s, 4C, -OCH₂CH₃), 51,40 (d, 2C, -NCH₂-, ¹J_{CP} = 155,8 Hz), 54,87 (s, 2C, -CH₂-cyklus), 55,64 (s, 2C, -CH₂-cyklus), 64,21 (s, 6C, -CH₂-cyklus a -OCH₂CH₃).

MS (ESI): (+) 292,8 (M-C₄H₁₀O₃P[•])⁺, vypočteno 293,2; (+) 431,0 (M+H)⁺, vypočteno 431,2.

Elementární analýza: z důvodů silné hygroskopicity vzorku nebyla elementární analýza provedena.

4.3.10. Diethyl 1-oxa-4,7-diazacyklononan-4,7-bis(methylenfosfonát), [9]-N₂O[PO(OH)OEt]₂ (H₂L4)



V 50mL baňce bylo rozpuštěno 403 mg (0,94 mmol) látky **7** v 10 mL směsi EtOH/H₂O 1:1. K tomuto roztoku bylo přidáno 118 mg (2,81 mmol, 3 ekvivalenty) LiOH·H₂O. Reakční směs byla míchána v uzavřené baňce tři dny při teplotě 45 °C. Průběh reakce byl sledován ³¹P{¹H} NMR. Následně byla reakční směs odpařena na rotační vakuové odparce. Odparek byl rozpuštěn v minimálním množství vody a surový produkt byl přečištěn na silném kationtovém iontoměnič (Dowex 50, 50–100 mesh, H⁺-cyklus, 3×10 cm). Produkt byl eluován vodou. Eluát byl odpařen na rotační vakuové odparce. Bylo získáno 320 mg, tj. 91 % teorie, produktu **H₂L4** ve formě hnědožlutého oleje, který byl dosušen pod vakuem.

Charakterizace:

TLC: Merck, *i*-PrOH/aq. NH₃/H₂O 7:3:3, detekce roztokem Cu(OAc)₂, R_f = 0,60.

¹H NMR (299,94 MHz, D₂O): δ 1,06 (t, 6H, -OCH₂CH₃, ³J_{HH} = 6,9 Hz), 3,36 (d, 4H, -CH₂PO(OH)(OEt), ²J_{HP} = 12,9 Hz), 3,48 (bt, 4H, -CH₂- cyklus), 3,72 (s, 4H, -NCH₂- cyklus), 3,80–3,86 (m, 8H, -OCH₂CH₃ a -CH₂- cyklus).

³¹P{¹H} NMR (121,42 MHz, D₂O): 10,66 (s, 2P).

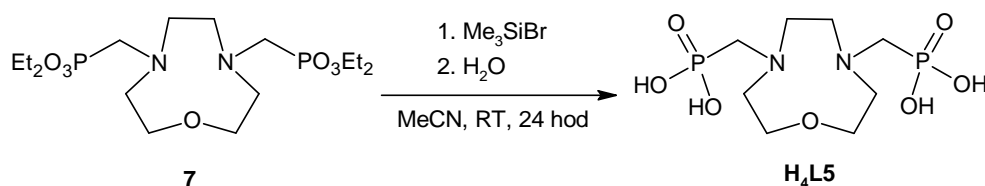
³¹P NMR (121,42 MHz, D₂O): δ 10,66 (s, 2P).

¹³C{¹H} NMR (75,42 MHz, D₂O): δ 15,75 (d, 2C, -OCH₂CH₃, ³J_{CP} = 5,6 Hz), 51,94 (d, 2C, -NCH₂-, ¹J_{CP} = 140,8 Hz), 51,68 (d, 2C, -CH₂- cyklus, ³J_{CP} = 5,5 Hz), 54,41 (s, 2C, -CH₂- cyklus), 62,03 (d, 2C, -OCH₂CH₃, ²J_{CP} = 6,6 Hz), 64,75 (s, 2C, -CH₂- cyklus).

MS (ESI): (+) 375,1 (M+H)⁺, vypočteno 375,1; (+) 397,2 (M+Na)⁺, vypočteno 397,1; (-) 373,2 (M-H)⁻, vypočteno 373,1, (-) 395,2 (M-2H+Na)⁻, vypočteno 395,1. HR MS (ESI): 373,1299 (M-H)⁻, vypočteno 373,1299.

Elementární analýza: z důvodů silné hygroskopicity vzorku nebyla elementární analýza provedena.

4.3.11. 1-oxa-4,7-diazacyklononan-4,7-bis(methylenfosfonová kyselina), [9]-N₂OBPON (H₄L5)



V 50 mL baňce bylo rozpuštěno 150 mg (0,349 mmol) **7** ve 3 mL suchého MeCN. Při laboratorní teplotě byly plastovým kapátkem přidány 2 mL (13,9 mmol, 40 ekvivalentů) bromotrimethylsilanu. Baňka byla uzavřena skleněnou zátkou. Reakční směs byla míchána ve tmě při laboratorní teplotě 24 hodin. Následně byla reakce stopnuta přidávkem 5 mL vody. Reakční směs byla odpařena na rotační vakuové odparce. Hnědožlutý olej byl rozpuštěn v minimálním množství vody a surový produkt byl přečištěn chromatografií na silném kationtovém iontoměničči (Dowex 50, 50–100 mesh, H⁺-cyklus, 1,5×15 cm, eluce H₂O). Byly jímány frakce po 5 mL. Přítomnost produktu byla sledována pomocí TLC (*i*-PrOH/aq. NH₃/H₂O 7:3:3, detekce roztokem Cu(OAc)₂, R_f = 0,25). Frakce s produktem **H₄L5** byly spojeny a odpařeny na rotační vakuové odparce. Nažloutlý olej byl rozpuštěn v minimálním množství vody a nakapán do suchého EtOH (30 mL). Vyloučené bílé krystalky produktu **H₄L5** byly odsáty na fritě S3 a několikrát promyty suchým EtOH. Bylo připraveno 36 mg (32 % teorie).

Charakterizace:

TLC: Merck, *i*-PrOH/aq. NH₃/H₂O 7:3:3, detekce roztokem Cu(OAc)₂, R_f = 0,25.

¹H NMR (299,94 MHz, D₂O+0,1M NaOD): δ 2,94 (d, 4H, -CH₂PO(OH)₂, ²J_{HP} = 10,8 Hz), 3,21 (t, 4H, -CH₂- cyklus, ³J_{HH} = 4,2 Hz), 3,23 (s, 4H, -NCH₂- cyklus), 3,81 (t, 4H, -CH₂- cyklus, ³J_{HH} = 4,2 Hz).

³¹P{¹H} NMR (121,42 MHz, D₂O+0,1M NaOD): δ 11,76 (s, 2P).

³¹P NMR (121,42 MHz, D₂O+0,1M NaOD): δ 11,76 (t, 2P, ²J_{HP} = 10,2 Hz).

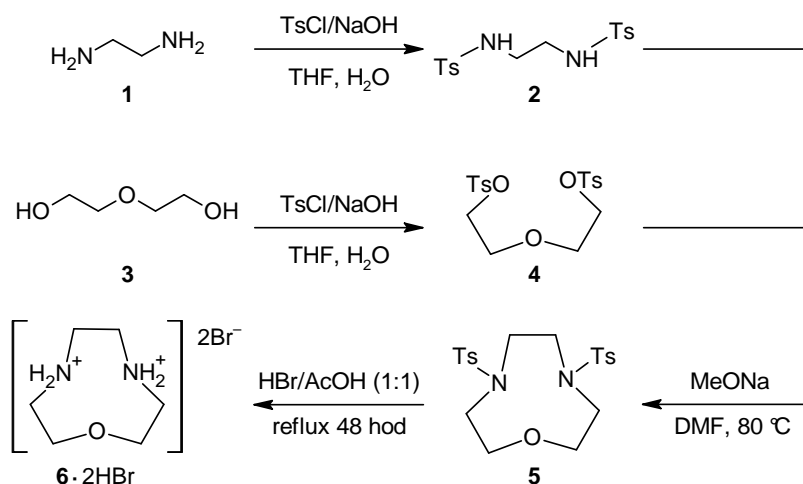
¹³C{¹H} NMR (100,57 MHz, D₂O+0,1M NaOD): δ 50,50 (s, 2C, -CH₂- cyklus), 51,96 (d, 2C, -NCH₂-, ¹J_{CP} = 146,9 Hz), 52,69 (s, 2C, -CH₂- cyklus), 65,31 (s, 2C, -CH₂- cyklus).

MS (ESI): (+) 319,1 (M+H)⁺, vypočteno 319,1; (+)341,2 (M+Na)⁺, vypočteno 341,1; (+) 357,1 (M+K)⁺, vypočteno 357,0; (-) 317,1 (M-H)⁻, vypočteno 317,1, (-) 339,2 (M-2H+Na)⁻, vypočteno 339,1. HR MS (ESI): 317,0671 (M-H)⁻, vypočteno 317,0673.

5. Výsledky a diskuze

5.1. Syntéza [9]-N₂O·2HBr

Zvolená cesta přípravy 6·2HBr (Obrázek 5-1) vychází z původní metody přípravy crown etherů, popř. jejich dusíkatých analogů, popsané Richmanem a Atkinsem.^[33]



Obrázek 5-1: Schéma přípravy [9]-N₂O·2HBr (6·2HBr)

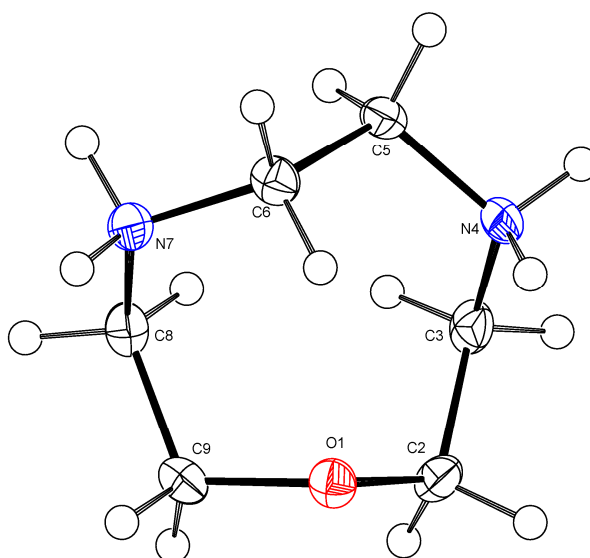
Při přípravě látky **2** byly vyzkoušeny dva postupy. Oba postupy poskytovaly dobré výtěžky (okolo 80 %). V postupu (1) byl použit Et₂O jako rozpouštědlo. Při zpracování reakční směsi však docházelo k tvorbě špatně filtrovatelné sraženiny produktu. Tento problém se podařilo vyřešit modifikovaným postupem (2), kdy byl použit jako rozpouštědlo THF.

Standardní postupy přípravy tosylovaných alkoholů v pyridinu, který slouží jako rozpouštědlo i jako báze, selhaly, přestože byl k reakci použit čerstvě přesušený pyridin. Proto byl k přípravě látky **4** použit postup publikovaný v lit.^[32]

Při cyklizační reakci, která vede k přípravě látky **5** je nutné použít čisté výchozí látky, dobře vysušený DMF a čerstvý methoxid sodný. Jako klíčová se ukázala kvalita použitého methoxidu sodného. Při použití zvětralého methoxidu sodného pravděpodobně nedošlo k úplnému nagenování příslušné disodné soli **2**. I když u takto malého makrocyclu se ještě nedá mluvit o templátové syntéze v pravém slova smyslu, i zde hrají Na⁺ ionty jistou roli při vzniku „templátu“. Při cyklizační reakci vznikaly různé v EtOH nerozpustné polymery, které byly společně s výchozími látkami snadno odstraněny rekrystalizací surového produktu **5** ve větším množství EtOH.

Čistota připravených rekrystalovaných látek **2**, **4** a **5** byla mj. kontrolována stanovením teploty tání. Tato metoda se ukázala jako velmi průkazná a rychlá pro stanovení čistoty konečných produktů.

Detosylace na cyklických aminech může probíhat hladce. Na druhou stranu, mnoho z používaných metod jsou relativně drastické. Oblíbenou metodou pro aza crowny je hydrolyza v konc. H_2SO_4 po dobu řádově několika minut při teplotě $150\text{ }^\circ\text{C}$ až několika dní při teplotě $100\text{ }^\circ\text{C}$.^[33,36] Tento přístup nelze použít při odchránění oxa-aza crownů, protože dochází k protonaci *O*-atomu a následně ke stěpení vazby *C–O*. Další možností je směs 48% HBr –konc. AcOH v přítomnosti nebo nepřítomnosti fenolu^[35,37] nebo sodíkem v kapalném amoniaku.^[38,39] Byla vyzkoušena detosylace sodíkem v kapalném amoniaku, která však také vedla k rozbití makrocyklu. Byl proto zvolen postup publikovaný v lit.^[35] Touto cestou bylo dosaženo dobrého výtěžku (85 %). Při rekrystalizaci $\mathbf{6}\cdot 2\text{HBr}$ byl získán monokrystal pro rentgenostrukturní analýzu (Obrázek 5-2).



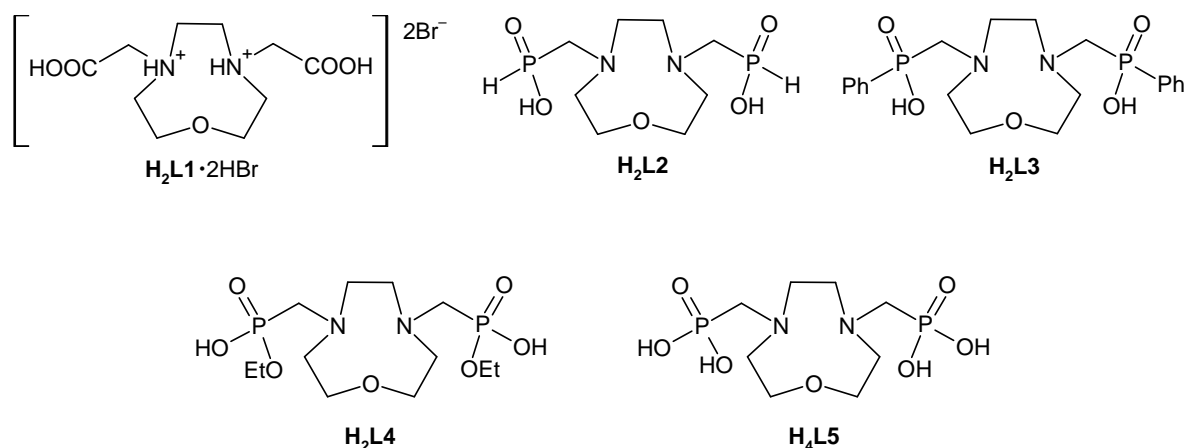
Obrázek 5-2: Molekulární struktura kationtu $\text{H}_2\mathbf{6}^{2+}$ ze struktury $\mathbf{6}\cdot 2\text{HBr}$. Teplotní elipsoidy jsou vykresleny s 50% pravděpodobností

Krystalografická data: $\mathbf{6}\cdot 2\text{HBr}$, $\text{C}_6\text{H}_{16}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}$, $M_r = 292,03$, rhombická, $a = 12,3828(2)\text{ \AA}$, $b = 8,3185(2)\text{ \AA}$, $c = 9,8806(3)\text{ \AA}$, $\alpha = 90,00^\circ$, $\beta = 90,00^\circ$, $\gamma = 90,00^\circ$, $U = 1017,76(4)\text{ \AA}^3$, $Z = 4$, prostorová grupa $Pca2_1$, $R_1(\text{int}) = 0,0635$, $wR_2(\text{all}) = 0,0463$

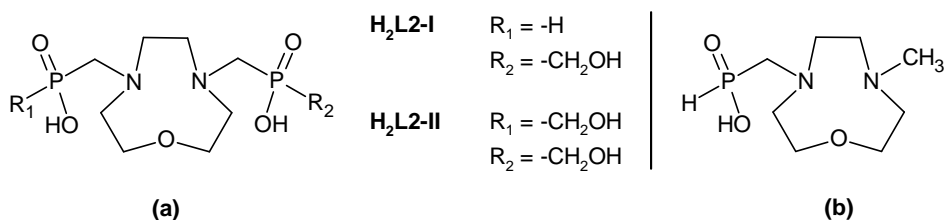
5.2. Syntéza ligandů

Přehled připravených ligandů v rámci této práce uvádí Obrázek 5-3. Ligand $\mathbf{H}_2\mathbf{L1}\cdot 2\text{HBr}$ byl připraven alkylací látky $\mathbf{6}\cdot 2\text{HBr}$ kyselinou bromoctovou v bazickém prostředí se 100% konverzí (průběh reakce sledován TLC). Ke ztrátám došlo během čistících operací.

Při přípravě ligandu **H₂L2** bylo využito Mannichovy reakce ve vodném prostředí. Kyselé prostředí bylo zajištěno velkým nadbytkem kyseliny fosforené (10 ekvivalentů). Použitý paraformaldehyd byl získán odfiltrováním ze starých roztoků formalínu. Komerčně dostupný paraformaldehyd byl méně reaktivní. Ke zvýšení reaktivity je nutné reakční směs zahřát. Při vyšších teplotách však dochází ke vzniku nežádoucích vedlejších produktů (Obrázek 5-4), které byly odděleny chromatografií na silném kationtovém iontoměniči. Jako kompromis byla zvolena teplota 45 °C. Průběh reakce byl sledován ³¹P{¹H} NMR a ³¹P NMR. Výtěžek reakce (55 %) je přijatelný vzhledem ke ztrátám při čištění.

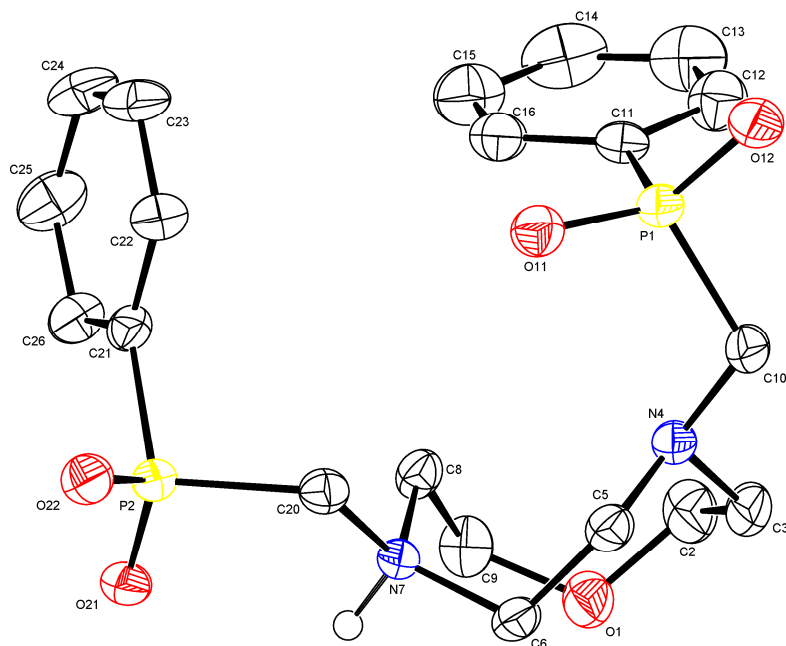


Obrázek 5-3: Ligandy, které byly připraveny v rámci této bakalářské práce



Obrázek 5-4: Možné vedlejší produkty při syntéze **H₂L2**. (a) Vedlejší produkty, které vznikají při vyšších teplotách. (b) Monosubstitovaný derivát vzniká jako produkt reductivní methylace

Mannichova reakce byla použita i při přípravě ligandu **H₂L3**. Reakce byla provedena v 1:1 aq. HCl, která zajistila potřebné pH. Stejně tak byl použit paraformaldehyd odfiltrovaný ze starých roztoků formalínu. Rekrystalizací NH₄⁺-soli **H₂L3** v EtOH byl ligand připraven ve formě **H₂L3**·NH₃·2H₂O. Podařilo se také vypěstovat monokrystal pro rentgenostrukturní analýzu (Obrázek 5-5).



Obrázek 5-5: Molekulární struktura **HL3⁻** ze struktury **H₂L3·NH₃·2H₂O**. Teplotní elipsoidy jsou vykresleny s 50% pravděpodobností. Pro přehlednost byly atomy vodíku na neheteroatomech vynechány

Krystalografická data: **H₂L3·NH₃·2H₂O**, C₂₀H₃₅N₃O₇P₂, *M_r* = 491,45, triklinická, *a* = 10,28520(10) Å, *b* = 19,6411(2) Å, *c* = 25,1860(3) Å, α = 87,6708(6)°, β = 84,8661(7)°, γ = 82,4399(6)°, *U* = 5021,16(9) Å³, *Z* = 8, prostorová grupa *P*-1, *R*₁(int) = 2,16, *wR*₂(all) = 0,1591

Meziprodukt **7** byl připraven kondenzací **6** s paraformaldehydem a P(OEt)₃. Jedná se o alternativu Michaelis-Arbuzovovy reakce. Výchozí látku **6**·2HBr je nutné převést na volnou bázi **6**. Přítomnost Br⁻ aniontů totiž způsobuje částečnou hydrolyzu vznikajících ethyl esterů.^[40] Triethylfosfit sloužil také jako rozpouštědlo. Vznik produktu byl sledován ³¹P{¹H} NMR a ³¹P NMR. Přebytek P(OEt)₃ byl odstraněn iontovou chromatografií na silném kationtovém iontoměničím promýváním velkým množstvím EtOH a následně vodou. Všechny kondenzační reakce, které vedly k látkám **H₂L2**, **H₂L3** a meziproductu **7**, byly prováděny v baňce uzavřené plastovou zátkou. Jen tak bylo zabráněno úniku plynného CH₂O z reakční směsi.

Ligand **H₂L4** byl připraven selektivní hydrolyzou meziproductu **7** pomocí LiOH ve směsi EtOH/H₂O 1:1. Obecně používanou metodou přípravy monoalkyl fosfonátů je selektivní hydrolyza 1M KOH (NaOH). Byla vyzkoušena hydrolyza hydroxidem sodným, která však nevedla k cíli. Současně byla také vyzkoušena monodealkylace KI v MeCN. Tento přístup ovšem také neposkytl požadovaný produkt.

Pro syntézu ligandu **H₄L5** byly navrženy dva přístupy. První přístup vycházel z oxidace ligandu **H₂L2**. Jednou z možností je použití HIO₄ jako oxidačního činidla. Průběh reakce byl sledován ³¹P{¹H} NMR a ³¹P NMR. Podle naměřených NMR spekter lze usuzovat, že požadovaný produkt nevznikal ani po delší době (řádově dny). Během oxidace dochází pravděpodobně ke štěpení C-P vazby pendantního ramene a k následné oxidaci až na kyselinu fosforečnou. Druhý přístup vycházel z kyselá hydrolyzy **7** v refluxující 1:1 aq. HCl. Průběh reakce byl opět sledován ³¹P{¹H}

NMR a ^{31}P NMR. Podle naměřených ^1H NMR, $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR a ^{31}P NMR spekter a MS spekter nebyl produkt **H₄L5** v reakční směsi přítomen. Během reakce pravděpodobně probíhala „retro-Mannichova reakce“, která vedla k tvorbě směsi těžko interpretovatelných látek. Jako účinná metoda se ukázala až dealkylace **7** bromotrimethylsilanem. Tento přístup je velmi oblíbený z důvodu čisté a kvantitativní konverze dialkyl fosfonátů na příslušné trimethylsilyl estery, které jsou zhydrolyzovány vodou na fosfonové kyseliny.^[41] Výtěžek této reakce byl však malý (~30 %). Podle $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR spekter a TLC reakce proběhla kvantitativně. Větší část produktu však pravděpodobně zůstala v matečném roztoku, ze kterého se produkt nepodařilo izolovat.

6. Závěr

V rámci této bakalářské práce bylo připraveno pět ligandů pro potencionální komplexaci Mn^{2+} . Ligandy **H₂L1**·2HBr a **H₄L5** jsou již popsány. Nově připraveny byly ligandy **H₂L2**, **H₂L3** a **H₂L4**. Ligandy byly charakterizovány dostupnými metodami. U ligandu **H₂L3** byla také ověřena struktura v pevném stavu rentgenostrukturní analýzou. Jednotlivé syntetické kroky byly optimalizovány, aby poskytovaly přijatelné výtěžky. Sada připravených ligandů bude dále studována. V první řadě je třeba prostudovat termodynamické a kinetické vlastnosti, tj. stanovit konstanty stability s vybranými ionty kovů a prostudovat acidobazické chování.

7. Literatura

- [1] http://nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1952/, staženo 1. 4. 2009.
- [2] P. Hermann, J. Kotek, V. Kubíček, I. Lukeš, *Dalton Trans.*, **2008**, 3027–3047.
- [3] N. A. Bock, F. F. Paiva, A. C. Silva, *NMR Biomed.*, **2008**, 473–478.
- [4] P. Atkins, J. de Paula, *Physical Chemistry 8th edition*, Oxford University Press, Oxford **2006**.
- [5] J. B. Lambert, E. P. Mazzola, *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, Prentice Hall, New Jersey **2003**.
- [6] P. F. Lebdušková, *PhD práce*, PřFUK v Praze, Praha **2006**.
- [7] A. E. Merbach, É. Tóth, *The chemistry of Contrasts Agents in Medical Magnetic Resonance imaging*, John Wiley & Sons, Chichester **2001**.
- [8] M. Polášek, *Diplomová práce*, PřFUK v Praze, Praha **2004**.
- [9] M. T. Vlaardingerbroek, J. A. den Boer, *Magnetic Resonance Imaging. Theory and Practice*, Springer, Verlag **1996**.
- [10] D. D. Schwert, J. A. Davies, N. Richardson, *Topics Curr. Chem.*, **2002**, 221, 165–199.
- [11] H. B. Na, I. Ch. Song, T. Hyeon, *Adv. Mater.*, **2009**, 29, 2133–2148.
- [12] M. F. Bellin, *Eur. J. Rad.*, **2006**, 60, 314–323.
- [13] P. J. Mohr, B. N. Taylor, D. B. Newell, *Rev. Mod. Phys.*, **2008**, 80, 635–724.
- [14] J. A. Peters, J. Huskens, D. J. Raber, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, **1996**, 28, 283–350.
- [15] http://en.wikipedia.org/wiki/Nephrogenic_systemic_fibrosis, staženo 26. 7. 2009.
- [16] N. A. Bock, A. C. Silva, *Future Neurol.*, **2007**, 2, 297–305.
- [17] J. S. Troughton, M. T. Greenfield, J. M. Greenwood, S. Dumas, A. J. Wiethoff, J. Wang, M. Spiller, T. J. McMurry, P. Karavan, *Inorg. Chem.*, **2004**, 43, 6313–6323.
- [18] S. Aime, P. L. Anelli, M. Botta, M. Broccheta, S. Canton, F. Fedeli, E. Gianolio, E. Terreno, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **2002**, 7, 58–67.
- [19] S. H. Koenig, C. Baglin, R. D. Brown, C. F. Brewer, *Magn. Reson. Med.*, **1984**, 1, 496–501.
- [20] M. Aschner, K. M. Erikson, D. C. Dorman, *Crit. Rev. Toxicol.*, **2005**, 35, 1–32.
- [21] A. P. Koretsky, A. C. Silva, *NMR Biomed.*, **2004**, 17, 527–531.
- [22] A. Van der Linden, V. Van Meir, I. Tindemans, M. Verhoye, J. Baltazart, *NMR Biomed.*, **2004**, 17, 602–612.
- [23] Y. T. Kuo, A. H. Herlihy, P. W. So, J. Bell, *NMR Biomed.*, **2006**, 19, 1028–1034.
- [24] R. D. Shannon, *Acta Cryst.*, **1976**, 32, 751–767.
- [25] I. Lukeš, J. Kotek, P. Vojtíšek, P. Hermann, *Coord. Chem. Rev.*, **2001**, 216–217, 287–312.

-
- [26] D.D. Perrin, W.L.F. Armarego, *Purification of Laboratory Chemicals 3rd edition*, Pergamon Press, New York **1988**.
- [27] *SIR92 – A Program for Automatic Solution of Crystal Structures by Direct Methods*.
A. Altomare, G. Cascarano, C. Giacovazzo, A. Guagliardi, M. C. Burla, G. Polidori, M. Camalli, *J. Appl. Cryst.*, **1994**, 27, 435.
- [28] G.M. Hledrick, *SHELXL-97, A computer program for refinement of crystal structures*.
University of Göttingen, Göttingen **1997**.
- [29] A. L. Spek, *PLATON – A Multipurpose Crystallographic Tool*, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands, **2005**.
- [30] K. Bazakas, *Disertační práce*, PĚFUK v Praze, Praha **1994**.
- [31] G. R. Newkome, S. Pappalardo, V. K. Gupta, F. R. Fronczek, *J. Org. Chem.*, **1983**, 48, 4848–4851.
- [32] M. Ouchi, Y. Inoue, T. Kanzaki, T. Hakushi, *J. Org. Chem.*, **1984**, 49, 1408–1412.
- [33] J.E. Richman, T.J. Atkins, *J. Am. Chem. Soc.*, **1974**, 26, 2268–2270.
- [34] W. Rasshofer, W. Wehner, F. Voegtle, *Eur. J. Org. Chem.*, **1976**, 5, 916–923.
- [35] V.J. Thöm, M.S. Shaikjee, R.D. Hancock, *Inorg. Chem.*, **1986**, 25, 2992–3000.
- [36] A. McAuley, P. R. Norman, O. Olubugide, *Inorg. Chem.*, **1984**, 23, 1938–1943.
- [37] A.S. Fernandes, J. Gaspar, M. F. Cabral, C. Caneiras, R. Guedes, J. Rueff, M. Castro, J. Costa, N. G. Oliveita, *J. Inorg. Biochem.*, **2007**, 101, 849–858.
- [38] J. M. Lehn, F. Moutavon, *Helv. Chim. Acta*, **1976**, 59, 1566–1583.
- [39] F. Bottino, M. D. Grazia, P. Finocchiaro, F. R. Fronczek, A. Mamo, S. Pappalardo, *J. Org. Chem.*, **1988**, 53, 3521.
- [40] P. Lebdušková, P. Hermann, L. Helm, É. Toth, J. Kotek, K. Binnemans, J. Rudovský, I. Lukeš, A. Merbach, *Dalton Trans.*, **2007**, 4, 493–501.
- [41] Ch. E. McKenna, J. Schmidhauser, *J. C. S. Chem. Comm.*, **1979**, 739.

8. Seznam použitých zkratek

BOPTA	10-karboxy-3,6,9-tris(karboxymethyl)-13-fenyl-12-oxa-3,6,9-triazatridekanová kyselina
CA	contrast agent (kontrastní látka)
CNS	centrální nervový systém
CT	computed tomography (počítačová tomografie)
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DO3A	1,4,7-tris(karboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekan
DOTA	1,4,7,10-tetrakis(karboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekan
DPDP	<i>N,N'</i> -dipyridoxylethylendiamin- <i>N,N'</i> -diacetát 5,5'-bis(fosfát)
DTPA	1,1,4,7,7-diethylenetriaminpentaoctová kyselina
DTPA-BMA	bis(methylamid) 1,1,4,7,7-diethylenetriaminpentaoctová kyselina
EDTA	ethylendiamin- <i>N,N,N',N'</i> -tetraoctová kyselina
EOB-DTPA	glycin, <i>N</i> -[2-[bis(karboxymethyl)amino]-3-(4-ethoxyfenyl)propyl]- <i>N</i> -[2-[bis(karboxymethyl)amino]ethyl]
Et ₂ O	diethyleter
EtOH	ethanol
HP-DO3A	10-(2-hydroxy-propyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekan-1,4,7-trioctová kyselina
HR MS	high resolution mass spectroscopy (hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením)
MeCN	acetonitril
MEMRI	manganese enhanced MRI
MeOH	methanol
MRI	magnetic resonance imaging (tomografie magnetické rezonance)
MS	mass spectroscopy (hmotnostní spektrometrie)
NMR	nukleární magnetická rezonance
NSF	nefrologic systemic fibrosis (systémová nefrogenní fibrosa)
PET	positron emission tomography (pozitronová emisní tomografie)
SPECT	single photon emission computed tomography
SPIO	superparamagnetic iron oxides (superparamagnetické oxidy železa)
THF	tetrahydrofuran
TLC	thin layer chromatography (tenkovrstvá chromatografie)
TsCl	<i>p</i> -toluensulfonyl chlorid

Poděkování:

Na tomto místě bych rád poděkoval svému školiteli Honzovi Kotkovi, který mě přivedl k práci na tomto zajímavém projektu, za jeho trpělivost, ochotu poradit s jakýmkoliv problémem a za zpracování rentgenových struktur. V závěrečné fázi sepsování pak za několikeré přečtení a podnětné poznámky.

Mé velké díky patří mým rodičům, kteří mi věřili a vždy mě podporovali v mém zájmu o chemii. Děkuji jim také za finanční podporu, bez které bych nemohl nerušeně studovat.

Dále děkuji

Zuzce Kotkové, Sandrovi a Plutovi za naměření NMR spekter.

Tomáši Vithovi za zasvěcení do tajů hmotnostní spektrometrie.

Skupině Josefa Cvačky za naměření některých MS spekter a za naměření HR MS spekter.

Ivaně Císařové za naměření rentgenových struktur.

Romaně Svitákové za provedení elementární analýzy.

Miroslavu Lorencovi za oponenturu této práce.

Kolektivu „Honzovy laborky“ a laboratoře „19“ za příjemné a podněcující pracovní prostředí.

Své přítelkyni Martince za psychickou podporu a za ochotu si tuto práci přečíst a opravit chyby.

Mým kamarádům a kamarádkám, kteří mi mnohokrát připomněli, že život není jen chemie.

Nakonec děkuji a současně se omlouvám všem, na které jsem zapomněl.