

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
Přírodovědecká fakulta  
Katedra anorganické chemie

---

BIFUNKČNÍ CHELATANTY  
DVOJMOCNÉ MĚDI

Bifunctional ligands  
for copper(II) complexation

---

Bakalářská práce  
studijního oboru Chemie v přírodních vědách

Tato bakalářská práce vznikla v souvislosti s řešením výzkumného záměru MSM0021620857.

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně, pod vedením školitele doc. RNDr. Jana Kotka, 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 dne 4. června 2010.

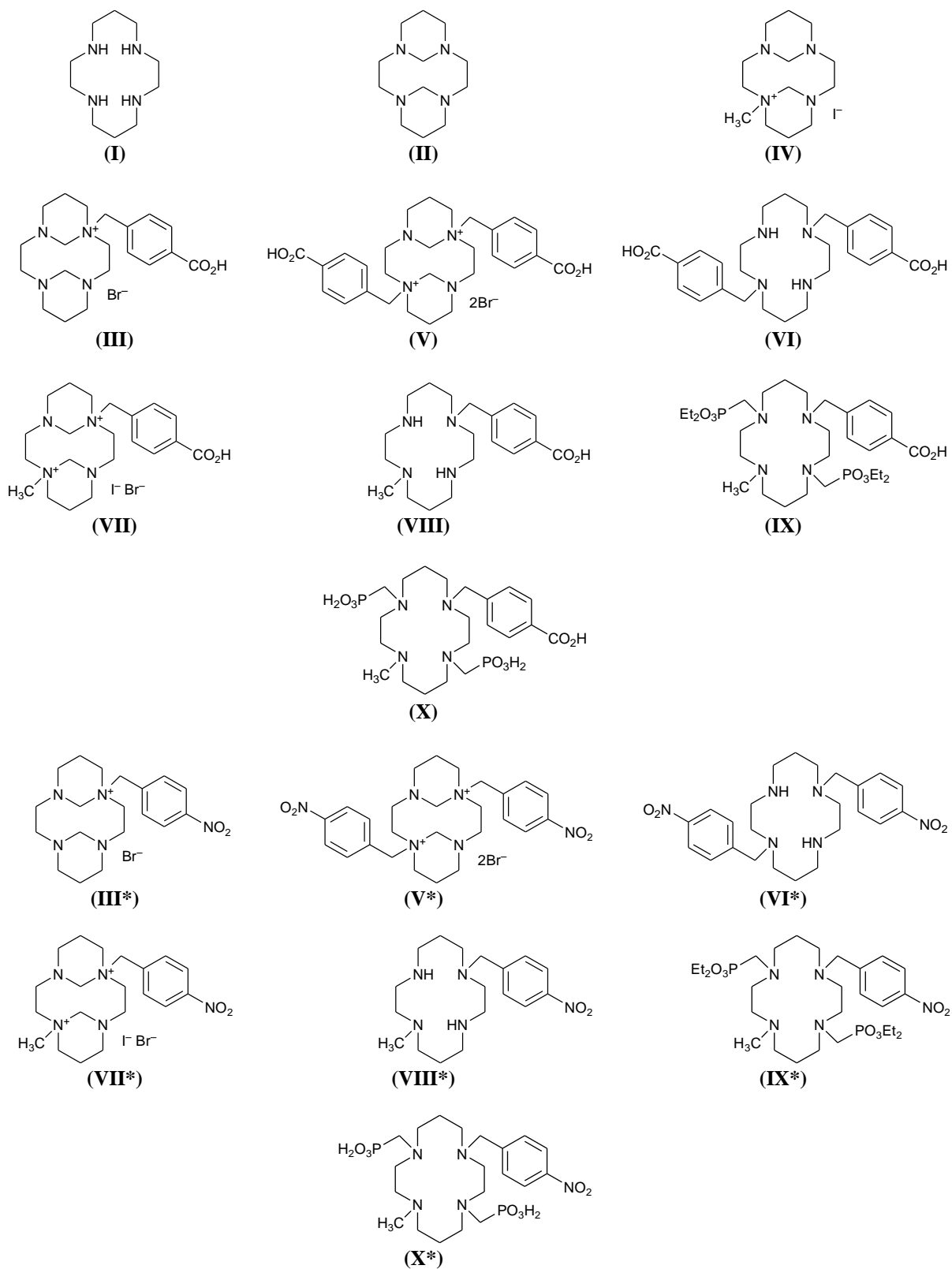
# Obsah

|  |               |
|--|---------------|
| <b>1 Teoretický úvod</b> .....                     | <b>- 6 -</b>  |
| 1.1 Nukleární medicína .....                       | - 6 -         |
| 1.1.1 Radioterapeutika.....                        | - 6 -         |
| 1.1.2 Radiodiagnostika.....                        | - 7 -         |
| 1.2 Měď.....                                       | - 9 -         |
| 1.2.1 Koordinační sloučeniny mědi.....             | - 9 -         |
| 1.2.2 Radioizotopy mědi využívané v medicíně ..... | - 10 -        |
| 1.3 Ligandy komplexující měď .....                 | - 11 -        |
| 1.3.1 Tetraazamakrocykly (polyaminy) .....         | - 11 -        |
| 1.3.2 Makrocyclické polyaminokarboxyláty.....      | - 12 -        |
| 1.3.3 Makrocyclické polyaminofosfonáty .....       | - 12 -        |
| 1.3.4 Bis(thiosemikarbazony) .....                 | - 13 -        |
| 1.3.5 Porfyriny .....                              | - 13 -        |
| 1.4 Teoretické pozadí práce .....                  | - 14 -        |
| 1.5 Cíl bakalářské práce .....                     | - 15 -        |
| <b>2 Experimentální část</b> .....                 | <b>- 16 -</b> |
| 2.1 Seznam použitých chemikálií.....               | - 16 -        |
| 2.2 Metody charakterizace .....                    | - 17 -        |
| 2.2.1 Nukleární magnetická rezonance (NMR).....    | - 17 -        |
| 2.2.2 Hmotnostní spektrometrie (MS).....           | - 17 -        |
| 2.2.3 Rentgenová strukturní analýza .....          | - 17 -        |
| 2.2.4 Tenkovrstvá chromatografie (TLC) .....       | - 17 -        |
| 2.3 Syntéza výchozích látek a ligandů .....        | - 18 -        |
| 2.3.1 Příprava cyklamů (I).....                    | - 19 -        |
| 2.3.2 Příprava bis(aminalů) (II).....              | - 20 -        |
| 2.3.3 Pokusy o přípravu látky (III).....           | - 20 -        |
| 2.3.4 Příprava látky (V).....                      | - 21 -        |
| 2.3.5 Příprava látky (VI) .....                    | - 22 -        |
| 2.3.6 Příprava látky (VII) .....                   | - 22 -        |
| 2.3.7 Příprava látky (VIII).....                   | - 23 -        |
| 2.3.8 Příprava látky (IX) .....                    | - 24 -        |
| 2.3.9 Příprava látky (X).....                      | - 25 -        |
| 2.3.10 Příprava látky (III*).....                  | - 26 -        |
| 2.3.11 Příprava látky (V*).....                    | - 27 -        |
| 2.3.12 Příprava látky (VI*) .....                  | - 27 -        |

|   |               |
|---|---------------|
| 2.3.13 Příprava látky (VII*) .....                | - 28 -        |
| 2.3.14 Příprava látky (VIII*).....                | - 29 -        |
| 2.3.15 Příprava látky (IX*) .....                 | - 29 -        |
| 2.3.16 Příprava látky (X*).....                   | - 30 -        |
| <b>3 Výsledky a diskuze .....</b>                 | <b>- 31 -</b> |
| 3.1.1 Příprava kvarterních solí .....             | - 31 -        |
| 3.1.2 Hydrolýza kvarterních solí.....             | - 32 -        |
| 3.1.3 Zavedení fosfonových pendantních ramen..... | - 34 -        |
| <b>4 Závěr .....</b>                              | <b>- 34 -</b> |
| <b>5 Seznam zkratk .....</b>                      | <b>- 35 -</b> |
| <b>6 Poděkování.....</b>                          | <b>- 36 -</b> |
| <b>7 Použitá literatura .....</b>                 | <b>- 37 -</b> |

Kódová označení jednotlivých sloučenin jsou na Obr. 1.

**Obrázek 1:** Kódová označení jednotlivých sloučenin



# 1 Teoretický úvod

V posledních letech jsou díky své široké paletě fyzikálních a chemických vlastností ve větší míře studovány radioaktivní nuklidy mědi (např.  $^{61}\text{Cu}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ). Tyto izotopy nabízejí možnost rozsáhlého využití v nukleární medicíně, a to jak v diagnostických, tak i v terapeutických aplikacích.

## 1.1 Nukleární medicína<sup>[1,2]</sup>

Nukleární medicína je speciální interdisciplinární lékařský obor, který se zabývá diagnostikou a terapií pomocí radioaktivního záření.

Radioaktivní látky (radiofarmaka) se aplikují perorálně nebo intravenózně. Získává se informace o anatomii, metabolismu a orgánových funkcích. Největšího uplatnění nachází v kardiologii, neurologii a onkologii.

### 1.1.1 Radioterapeutika<sup>[1,3,4]</sup>

Radioterapeutika se zabývá především terapií nádorových onemocnění. Některé sloučeniny s radioizotopy se mohou akumulovat v nádorových buňkách. Účinkem ionizujícího záření pak dochází k usmrcování, či k velkému poškození maligních buněk, a to buď v plném rozsahu (úplné vyléčení – *kurativní terapie*), nebo pozastavení průběhu onemocnění (*paliativní terapie*). Radiofarmaka se volí tak, aby byla selektivní a měla co nejrychlejší akumulaci v cílových tkáních. Používají se především  $\beta^-$  a  $\alpha$ -zářiče o vhodné energii, která určuje dosah záření v tkáni. Důležitým parametrem je poločas rozpadu, který musí být v řádech hodin až dní.

Radioterapeutika se dělí do tří oblastí podle způsobu aplikace radioaktivity do cílového místa.

*Teletapie* (léčení na dálku) využívá ozařování svazkem z vnějšího ozařovače. Již koncem 60. let 20. století našel uplatnění Leksellův gama nůž (Leksell gamma knife). Je to unikátní radiochirurgický přístroj, který se používá pro operace mozku (odstranění nitrolebních lézí či nádorů). Zdrojem záření je  $\gamma$ -záření o vyšší energii než záření RTG. Pracuje na principu polosféry – jedná se o helmu, do které je upevněna pacientova hlava. Radioterapie se odehrává pomocí přesně zacíleného ozáření patologického místa v mozku  $\gamma$  zářením vycházejícím z velkého množství radioaktivních zdrojů  $^{60}\text{Co}$  ( $\gamma$ , 1,17+1,33 MeV). Díky fokusaci mnoha svazků paprsků do oblasti nádoru nedochází k poškození okolní tkáně.

*Brachyterapie* (léčení na blízko) je metoda lokální radioterapie, při níž zdroj záření má těsný kontakt s nádorovým ložiskem. Radionuklidový zdroj záření (uzavřený zapouzdřený radioizotop) se zavádí (punkcí či implantací) přímo do nádorového ložiska nebo do jeho blízkosti.

*Radioisotopová terapie* (metabolická cesta) aplikuje radiofarmaka v chemické formě do organismu. Vlastní činidlo je distribuováno krevním řečištěm do cílového místa, a poté následně metabolizováno nebo vyloučeno.

Radionuklidy používané při radioterapii jsou uvedeny v **Tab. 1**.

**Tabulka 1: Vybrané radionuklidy používané v radioterapii<sup>[1,5]</sup>**

| radionuklid       | způsob rozpadu               | poločas rozpadu | zdroj   |
|-------------------|------------------------------|-----------------|---|
| <sup>67</sup> Cu  | $\beta^-$                    | 61,8 h          | cyklotron, <sup>67</sup> Zn(n,p) <sup>67</sup> Cu   |
| <sup>131</sup> I  | $\beta^-$                    | 8 d             | reaktor, <sup>130</sup> Te(n, $\gamma$ ) <sup>131</sup> Te $\rightarrow$ <sup>131</sup> I |
| <sup>186</sup> Re | $\beta^-$                    | 90 h            | reaktor, <sup>185</sup> Re(n, $\gamma$ ) <sup>186</sup> Re                                |
| <sup>32</sup> P   | $\beta^-$                    | 14,3 d          | reaktor, <sup>32</sup> S(n,p) <sup>32</sup> P   |
| <sup>225</sup> Ac | $\beta^-$                    | 10 d            | cyklotron, <sup>226</sup> Ra(p,2n) <sup>225</sup> Ac                                      |
| <sup>67</sup> Ga  | $\gamma$ /Augerovy elektrony | 3,3 d           | cyklotron, <sup>67</sup> Zn(p,n) <sup>67</sup> Ga   |
| <sup>211</sup> At | $\alpha$                     | 7,2 h           | cyklotron, <sup>209</sup> Bi( $\alpha$ ,2n) <sup>211</sup> At                             |

Úspěšnost každé terapie do značné míry závisí na pečlivé a včasné diagnostice. Důležité je nejen primární vyšetření před léčbou, ale také sledování odezvy během terapie i dlouhodobé dispenzarizace.\*

### 1.1.2 Radiodiagnostika<sup>[1]</sup>

Nejstarší a nejjednodušší vyšetřovací metodou je RTG. Tato metoda používá vysokoenergetické Roentgenovo záření o krátké vlnové délce. Při průchodu pacientem se záření zeslabuje úměrně tloušťce a hustotě prozařované hmoty. Prošlé záření je možné zachytit a zviditelnit na fotografickém papíře nebo na desce jako RTG obraz.

V současné době jsou také využívány moderní skenery. Počítačová tomografie (*CT – Computed Tomography*) kombinuje klasické Roentgenovo vyšetření s počítačovým systémem. Umožňuje rekonstrukci třídimenzionálního obrazu. Tyto medicínské metody však neposkytují vysoké rozlišení, proto se používají citlivější přístroje.

Při některých radiodiagnostických metodách se pacientovi intravenózně nebo perorálně aplikují v malém množství radioaktivní látky – radiofarmaka, radioindikátory. Nejvíce se používají  $\gamma$ -zářiče s energií v oblasti 100–300 keV a krátkým poločasem rozpadu. Po vstupu látky do metabolismu organismu se distribuuje podle svého chemického složení. Fyziologicky nebo patologicky se hromadí v orgánech a následně vylučuje. Z míst uložení vychází  $\gamma$ -záření, které je velmi pronikavé, ven z organismu. Citlivé přístroje založené na scintilačním detektoru pak mohou emitované záření zachytit jako distribuci radiofarmaka v organismu. Metody lze rozdělit na planární a tomografické. Planární scintigrafie umožňuje projekci distribuce radiofarmaka do dvojrozměrné roviny. Tomografická scintigrafie umožňuje trojrozměrné zobrazení v prostoru. Mezi nejvýznamnější metody patří SPECT a PET.

#### *SPECT – Jednofotonová emisní počítačová tomografie (Single Photon Emmision Computed Tomography)*

SPECT je tomografická metoda založená na pohybu detekční kamery po kruhové dráze pod řadou různých úhlů (0–360°). Tím dokáže snímat studovaný objekt ze všech stran. Ze série planárních scintigrafických obrazů se počítačovou rekonstrukcí dosáhne vytvoření trojrozměrného zobrazení

\* dispenzarizace – soustavná péče, aby nedošlo k recidivě nemoci

distribuce radiofarmaka ve vyšetřovaném objektu. Lze zobrazit také jednotlivé řezy v libovolných směrech. Nejpoužívanější radionuklidy jsou uvedeny v **Tab. 2**.

**Tabulka 2: Vybrané radionuklidy používané ve SPECT ( $\gamma$ -zářiče)**<sup>[1,5,6]</sup>

| radionuklid       | poločas rozpadu | zdroj   | použití                                |
|-------------------|-----------------|---|--|
| <sup>99m</sup> Tc | 6 h             | generátor, <sup>99</sup> Mo/ <sup>99m</sup> Tc                          | vyšetření ledvin, plic, jater a srdce  |
| <sup>87m</sup> Sr | 2,8 h           | generátor, <sup>87</sup> Y/ <sup>87m</sup> Sr                           | vyšetření jater a kostí                |
| <sup>123</sup> I  | 12 h            | cyklotron, <sup>123</sup> Te(p,n) <sup>123</sup> I                      | vyšetření mozku, ledvin a štítné žlázy |
| <sup>111</sup> In | 2,8 d           | cyklotron, <sup>111</sup> Cd(p,n) <sup>111</sup> In                     | hematologická diagnostika              |
| <sup>201</sup> Tl | 3,1 d           | cyklotron, <sup>203</sup> Tl(p,3n) <sup>201</sup> Pb→ <sup>201</sup> Tl | vyšetření myokardu                     |

### **PET – Pozitronová emisní tomografie (Positron Emission Tomography)**

PET je v současné době nejmodernější diagnostickou metodou v nukleární medicíně. Je založena na koincidenční detekci dvojice  $\gamma$ -fotonů vzniklých ve tkáni při anihilaci pozitronu (vzniklého ze záření radiofarmaka) s elektronem. Dva fotony vznikající ve stejný okamžik (s energií 511 keV) vyletí z místa vzniku v protilehlých směrech. Jejich současná detekce umožňuje určit původ vzniku s velkou přesností. Ze souborů získaných koincidenčních paprsků se zrekonstruuje trojrozměrné tomografické obrazy. V **Tab. 3** jsou uvedeny nejběžnější pozitronové zářiče, které lze pro diagnostiku použít.

**Tabulka 3: Vybrané radionuklidy používané v PET (pozitronové zářiče)**<sup>[1,5]</sup>

| radionuklid      | poločas rozpadu | příprava izotopu   | dolet záření $\beta^+$ v tkáni než dojde k anihilaci | použití                          |
|------------------|-----------------|--|--|----------------------------------|
| <sup>18</sup> F  | 110 min         | cyklotron, <sup>18</sup> O(p,n) <sup>18</sup> F          | 0,9 mm   | onkologická diagnostika          |
| <sup>15</sup> O  | 2,1 min         | cyklotron, <sup>14</sup> N(d,n) <sup>15</sup> O          | 3,5 mm   | vyšetření cévního zásobení mozku |
| <sup>11</sup> C  | 20,4 min        | cyklotron, <sup>14</sup> N(p, $\alpha$ ) <sup>11</sup> C | 1,7 mm   | vyšetření mozku                  |
| <sup>68</sup> Ga | 1,1 h           | cyklotron, <sup>63</sup> Cu(p,n) <sup>68</sup> Ga        | 4 mm   | studie trombózy a aterosklerózy  |
| <sup>64</sup> Cu | 12,7 h          | cyklotron, <sup>64</sup> Ni(p,n) <sup>64</sup> Cu        | 0,2 mm   | onkologická diagnostika          |

Používaným izotopem je především <sup>18</sup>F ve formě 2-deoxy-2-<sup>18</sup>F-D-glukózy. V poslední době se také zkoumá využití izotopů přechodných kovů, např. <sup>68</sup>Ga, <sup>44</sup>Sc, <sup>60</sup>Cu, <sup>61</sup>Cu, <sup>62</sup>Cu, <sup>86</sup>Y a <sup>94m</sup>Tc.

## 1.2 Měď<sup>[7,8]</sup>

Měď se společně se stříbrem a zlatem nachází v I.B skupině periodické tabulky. Latinský název a symbol jsou úzce spjaty s místem jejího výskytu. Již staří Římané objevili kovovou měď na ostrově Kypr (*aes cyprium*) – odtud tedy pojmenování cuprum.

Ryzí měď je v zemské kůře přítomna poměrně vzácně. Vyznačuje se charakteristickým červeným zabarvením. Nejvíce je však rozšířena v podobě svých sloučenin jako jsou sulfidy, oxidy, uhličitany a hydroxidy.

Měď je důležitým biogenním prvkem a je součástí celé řady sloučenin. Komplexně vázaná měď je kofaktorem některých důležitých metaloenzymů (jako jsou například ceruloplasmin, glutathion, metalothionein, aj.). Je třetím nejrozšířenějším přechodným kovem v lidském těle po železu a zinku. U metabolismu mědi jsou známé dvě geneticky podmíněné choroby (Wilsonova choroba a Menkeho syndrom).

Na druhé straně  $\text{Cu}^{2+}$  ionty jsou vysoce toxické pro mikroorganismy, a proto je na jejich bázi založeno široké spektrum fungicidních a baktericidních prostředků.

### 1.2.1 Koordinační sloučeniny mědi<sup>[7,8,9]</sup>

Měď nabývá ve svých sloučeninách oxidačních čísel I, II a III. V nedávné době se podařilo připravit i komplexní sloučeniny Cu s oxidačním číslem IV. Tyto sloučeniny jsou však omezeny jen na jednoduché fluoridokomplexy,  $\text{Cs}_2[\text{Cu}^{\text{IV}}\text{F}_6]$ .

*Oxidační číslo I (elektronová konfigurace  $d^{10}$ ):*

Sloučeniny s elektronovou konfigurací  $d^{10}$  jsou diamagnetické. Ionty  $\text{Cu}^{\text{I}}$  jsou ve vodném roztoku nestálé. Nestálost je způsobena vysokou hydratační energií  $\text{Cu}^{\text{II}}$  a snadnou disproportionací  $\text{Cu}^{\text{I}}$  na  $\text{Cu}^{\text{II}}$  a  $\text{Cu}^0$ . Oxidační stav  $\text{Cu}^{\text{I}}$  je možné stabilizovat ve velmi málo rozpustných sloučeninách nebo koordinací  $\pi$ -akceptorových ligandů či snadno polarizovatelných ligandů s donorovými skupinami jako jsou nitrily, isonitrily, kyanidy nebo také fosfíny. Pro oxidační číslo I je typická existence tetraedrických komplexů jako jsou  $[\text{Cu}(\text{CN})_4]^{3-}$ ,  $[\text{Cu}(\text{py})_4]^+$  a  $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ . Mezi lineární komplexy (k.č. 2) patří  $[\text{CuCl}_2]^-$ .

*Oxidační číslo II (elektronová konfigurace  $d^9$ ):*

Sloučeniny s elektronovou konfigurací  $d^9$  mají velký význam a jsou nejstálejší. Většina měďnatých solí se rozpouští ve vodě za vzniku modře zbarvených roztoků. Barva je způsobena kationtem  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ . Výjimku tvoří anionty  $\text{CN}^-$  a  $\Gamma^-$ , které tvoří kovalentní sloučeniny nerozpustné ve vodě. Soli velmi snadno krystalují ve formě hydrátů. Nejběžnější solí je síran – modrá skalice, který má široké použití v galvanotechnice.  $\text{Cu}^{\text{II}}$  může tvořit sloučeniny s koordinačním číslem 4, 5 a 6. Komplexy s fluoridem a s vodou mají oktaedrické uspořádání, které však není pravidelné, neboť oktaedr je deformován díky Jahnově-Tellerově efektu. Jsou známy také sloučeniny s tvarem trigonální bipyramidy, či rovinné čtvercové komplexy. Ligandy, které  $\text{Cu}^{\text{II}}$  upřednostňuje, jsou *N*-donorové ftalocyaniny, pyridiny, bipyridiny a cyklamy. Z *O*-donorových ligandů lze uvést

$\beta$ -diketonáty ([Cu(acac)<sub>2</sub>]), dále karboxyláty. Z *O,N*-donorových jsou nejzajímavější aminokyseliny a Schiffovy báze.

*Oxidační číslo III (elektronová konfigurace d<sup>8</sup>):*

Sloučeniny s elektronovou konfigurací d<sup>8</sup> jsou velmi nestálé, a tedy i méně běžné. Snadno podléhají redukcí. Na druhou stranu se účastní některých biologických procesů. Jediný vysokospinový a nejsnáze redukovatelný komplex s Cu<sup>III</sup> je [CuF<sub>6</sub>]<sup>3-</sup>. Ostatní komplexy jsou převážně nízkospinové, tj. diamagnetické se čtvercovou geometrií.

### 1.2.2 Radioizotopy mědi využívané v medicíně<sup>[10,11,12]</sup>

Měď je zastoupena 29 izotopy v rozmezí nukleových čísel od 52 do 80. Díky existenci velkého počtu svých izotopů s vhodnými poločasy rozpadu a druhy a energiemi emitovaných elementárních částic má měď své místo v nukleární medicíně. Některé z nich existují též v metastabilních formách. Poločasy rozpadu jsou řádově od 360 ns <sup>69m</sup>Cu do 61,8 h <sup>67</sup>Cu. V přírodě lze najít pouze 2 stabilní izotopy mědi, <sup>63</sup>Cu (výskyt 69 %) a <sup>65</sup>Cu (výskyt 31 %). Nejdůležitější izotopy použitelné v medicíně jsou uvedeny v **Tab. 4**. V praxi nepoužívanější jsou především izotopy <sup>64</sup>Cu a <sup>67</sup>Cu (radioterapeutika a radiodiagnostika nádorových onemocnění).

**Tabulka 4: Vybrané izotopy mědi<sup>[5,10]</sup>**

| izotop           | poločas rozpadu | rozpad  | zdroj   |
|------------------|-----------------|---|---|
| <sup>60</sup> Cu | 23,7 min        | $\beta^+$ (92,6 %), EZ (7,4 %)                                  | cyklotron, <sup>60</sup> Ni(p,n) <sup>60</sup> Cu       |
| <sup>61</sup> Cu | 3,33 h          | $\beta^+$ (61,4 %), EZ (38,6 %)                                 | cyklotron, <sup>61</sup> Ni(p,n) <sup>61</sup> Cu       |
| <sup>62</sup> Cu | 9,74 min        | $\beta^+$ (98 %), EZ (2 %)                                      | generátor, <sup>62</sup> Zn( $\beta$ ) <sup>62</sup> Cu |
| <sup>63</sup> Cu | stabilní        | –   | výskyt (69 %)   |
| <sup>64</sup> Cu | 12,7 h          | $\beta^+$ (18 %), EZ (44 %), $\beta^-$ (38 %), $\gamma$ (0,5 %) | cyklotron, <sup>64</sup> Ni(p,n) <sup>64</sup> Cu       |
| <sup>65</sup> Cu | stabilní        | –   | výskyt (31 %)   |
| <sup>66</sup> Cu | 5,1 min         | $\beta^-$ (100 %)   | EZ, <sup>66</sup> Zn                                    |
| <sup>67</sup> Cu | 61,8 h          | $\beta^-$ (100 %)   | reaktor, <sup>67</sup> Zn(n,p) <sup>67</sup> Cu         |

#### Radionuklidy <sup>64</sup>Cu a <sup>67</sup>Cu<sup>[13,14]</sup>

Izotop <sup>64</sup>Cu se svými vlastnostmi – vhodným poločasem rozpadu a vhodnými druhy rozpadu [ $\beta^+$  (18 %, 655 keV),  $\beta^-$  (38 %, 573 keV), EZ (44 %, 511 keV) a  $\gamma$  (0,5 %)] – řadí mezi důležité radioizotopy v nukleární medicíně. Výrobu radionuklidu lze provést různými reakcemi v reaktoru nebo v urychlovači. Podle požadované aktivity se volí přímá aktivace <sup>63</sup>Cu(n, $\gamma$ )<sup>64</sup>Cu, nebo nepřímá aktivace na zinkovém terči <sup>64</sup>Zn(n,p)<sup>64</sup>Cu. Vhodné jsou také biomedicínské cyklotrony, kdy lze využít ozařování niklového terče obohaceného o <sup>64</sup>Ni při reakci <sup>64</sup>Ni(p,n)<sup>64</sup>Cu.

Radionuklid <sup>64</sup>Cu má také využití při studiu Wilsonovy choroby. Ta je způsobena selháním transportního enzymu pro měď. Dochází tak k nadměrnému hromadění kovu v organismu, konkrétně v játrech a mozku. Izotop slouží k zjištění celkového zadržení mědi v těle u pacientů s touto chorobou.

Izotop <sup>67</sup>Cu má z izotopů mědi nejdelší poločas rozpadu  $t_{1/2}$  (61,8 h), a je významným radioizotopem s potenciálem pro uplatnění v terapii. Rozpadá se  $\beta^-$  rozpadem přímo na <sup>67</sup>Zn

v základním stavu za vyzáření  $\beta^-$  o energii 577 keV, nebo na některý ze tří metastabilních nuklidů  $^{67m}\text{Zn}$ . Tyto metastabilní izomery pak mohou přecházet do základního stavu vyzářením  $\gamma$ -fotonů. Díky této vlastnosti je možno radionuklid sledovat i pomocí metody SPECT. Lze ho připravit v reaktoru reakcí  $^{67}\text{Ni}(n,p)^{67}\text{Cu}$ . Energie vyzářených  $\gamma$ -fotonů je 185 keV.

### 1.3 Ligandy komplexující měď<sup>[14,15,16]</sup>

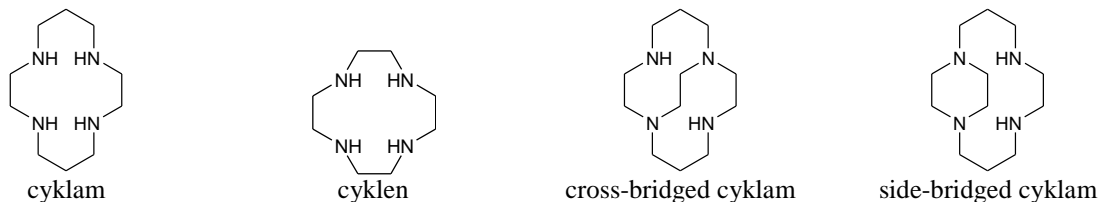
Radioizotopy kovů jsou ve volné formě velmi toxické, a proto je nutné je vázat ve stabilních komplexech, které dopraví dané radioizotopy do cílových tkání. V tělních tekutinách se nacházejí i ionty lehkých či přechodných kovů ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ , atd.), které by mohly obsadit místo v komplexu určené pro radionuklid. Ligandy proto musí mít co největší selektivitu komplexace pro žádaný kovový radionuklid (ion) a vzniklé komplexy musí být vysoce kineticky inertní (tj. pomalu disociovat za podmínek, kdy by z termodynamického hlediska neměly existovat). Komplexace s radioizotopem musí být rychlá, neboť poločasy rozpadů jsou velmi krátké a je důležité, aby radiofarmakum mělo co největší intenzitu záření.

Výše uvedených podmínek lze dosáhnout komplexací s bifunkčními ligandy. Pevně vážou kov na jedné straně a současně mohou být spojeny kovalentní vazbou ke specificky aktivní molekule. Bifunkční ligandy s různými pendantními skupinami jsou polyaminy, polyaminokarboxyláty a polyaminofosfonáty. Pro onkologické aplikace se používají též porfyriny a také bis(thiosemikarbazony) s různými substituenty terciárních aminů.

#### 1.3.1 Tetraazamakrocykly (polyaminy)

Syntéza a studium koordinačních vlastností tetraazamakrocyklů je předmětem stálého zkoumání již řadu let. Nejvíce studované jsou cyklamy a cykleny, Obr. 2, díky své schopnosti koordinovat různé kovové ionty. Pro komplexaci  $\text{Cu}^{\text{II}}$  jsou právě cyklamy nejvhodnějšími ligandy.

**Obrázek 2:** Struktury základních tetraazamakrocyklických ligandů zmíněných v textu



Výzkumné týmy se v současnosti zaměřují spíše na speciální cyklamy kvůli stabilitě jejich komplexů za podmínek *in vivo*. Makrocykly bez postranních skupin ale komplexují velmi pomalu. Oproti tomu, přítomnost postranních substituentů vázaných na dusíkatém atomu základního skeletu (tzv. pendantních ramen) obvykle významně urychlí komplexaci. Pro  $\text{Cu}^{\text{II}}$  jsou jako pendantní ramena vhodné acetátové, fosfonátové, fosfínátové, amidové a alkoxy deriváty. Další vhodné ligandy pro komplexaci s  $\text{Cu}^{\text{II}}$  jsou deriváty přemostěného cyklamu (cross-bridged cyklam a side-bridged cyklam,

Obr. 2), jejichž komplexy se vyznačují vysokou termodynamickou stabilitou a kinetickou inertností.

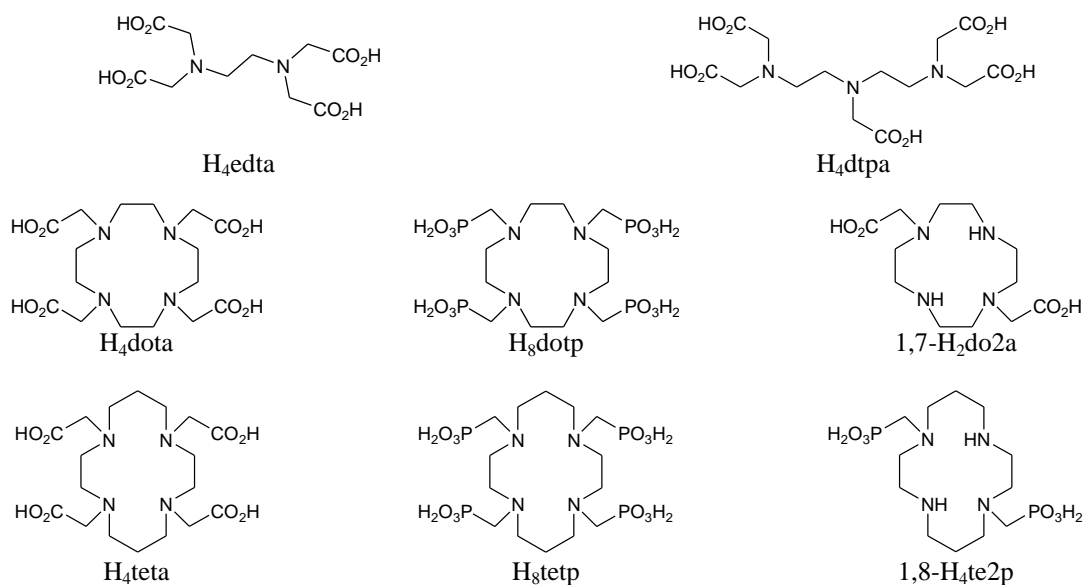
### 1.3.2 Makrocyclické polyaminokarboxyláty

Zpočátku byly zkoumány acyklické polyaminokarboxyláty, jako jsou  $H_4$ edta a  $H_4$ dtpa, Obr. 3. Komplexace s kovovými ionty je rychlá, avšak vzniklý komplex není kineticky inertní. Proto se preferují spíše makrocyclické deriváty. Jejich komplexace je sice pomalejší, ale z hlediska kinetické inertnosti se rozkládají pomaleji.

Mezi nejvýznamnější makrocyclické polyaminokarboxyláty patří  $H_4$ dota a  $H_4$ teta (Obr. 3). Měďnaté ionty v komplexech s  $H_4$ dota mají oktaedrické koordinační okolí. Dva atomy dusíku v ekvatoriální rovině a dva karboxylové atomy kyslíku se koordinují v poloze *cis*. Zbylé dva atomy dusíku obsazují axiální polohy nad a pod ekvatoriální rovinou oktaedru. Ligandy odvozené od cyklamu např.  $H_4$ teta – mají větší kavitu a tvoří s mědí termodynamicky stabilnější komplexy.

Přítomnost karboxylových skupin na pendantních ramenech přináší komplexům mnoho výhod jako jsou dobrá rozpustnost ve vodě, odolnost vůči iontové výměně *in vivo*, jednoduchá syntéza, kinetická a termodynamická stabilita.

**Obrázek 3:** Příklady struktur polyaminokarboxylátů a polyaminofosfátů



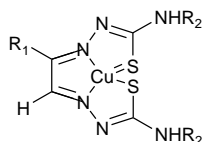
### 1.3.3 Makrocyclické polyaminofosfonáty

Tyto sloučeniny nesou jako pendantní substituenty na atomech dusíku fosfonovou skupinou (methylfosfonové kyseliny), například  $H_8$ dotp a  $H_8$ tetp (Obr. 3). Jejich přední vlastností je vysoká termodynamická stabilita komplexů a koordinační selektivita. Některé mají vysokou akumulaci v kostní tkáni, a mohou být tedy využity k zobrazování kostí a k paliativnímu léčení kostních metastáz. Jejich komplexy jsou velmi stabilní vůči kyselé hydrolyze.

### 1.3.4 Bis(thiosemikarbazony)<sup>[15,17,18]</sup>

Bis(thiosemikarbazony) (BTS) jsou sloučeniny, které tvoří s  $\text{Cu}^{\text{II}}$  termodynamicky a kineticky relativně stálé uzavřené čtvercově planární komplexy s třemi pětičlennými chelátovými kruhy, avšak v porovnání s makrocyclickými ligandy je stabilita jejich komplexů menší. Tato menší stabilita nehraje příliš velkou roli; v praxi je důležitá schopnost rychlého a snadného označení nádorových buněk. Biodistribuce radiofarmaka závisí hlavně na molekulárních vlastnostech komplexu. Tyto vlastnosti lze snadno měnit a přizpůsobit díky alkylationi skeletu molekuly a terminálních aminů (Obr. 4). Komplexy se vyznačují také lipofilitou, nízkou molekulovou hmotností, vysokou membránovou propustností a nízkým redoxním potenciálem. Díky těmto vlastnostem se sloučeniny BTS dají využít také ke značení lidského sérového albuminu při sledování krevního oběhu. Bylo studováno velké množství derivátů BTS.

**Obrázek 4:** Příklady struktur bis(thiosemikarbazonů)<sup>[17]</sup>

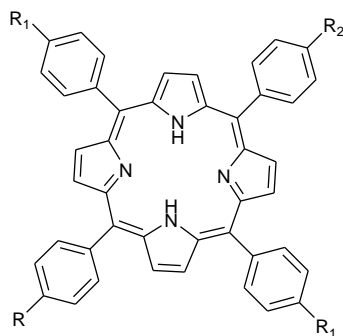


| R <sub>1</sub>  | R <sub>2</sub>                  |
|---|---------------------------------|
| CH <sub>3</sub>   | CH <sub>3</sub>                 |
| CH <sub>3</sub>   | H                               |
| CH <sub>3</sub>   | CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> |
| CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>                                 | H                               |
| CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>                 | H                               |
| CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> | H                               |
| CH(CH <sub>3</sub> )OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>            | H                               |
| CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>                                 | CH <sub>3</sub>                 |
| H   | H                               |
| H   | CH <sub>3</sub>                 |

### 1.3.5 Porfyriny<sup>[18]</sup>

Porfyriny patří do skupiny molekul, které mají schopnost komplexovat různé kovy a jejich radioizotopy. Nejznámější jsou ty, které se nacházejí v lidském těle, jako jsou hemy a cytochromy. Značené porfyriny mají tendenci vázat se na nádorové buňky, nebo se kumulovat v zánětlivých a lymfatických tkáních. Komplexy porfyrinů s  $\text{Cu}^{\text{II}}$  jsou velmi stabilní vůči rozpadu a jejich vlastnosti lze velmi dobře ovlivňovat pomocí různých substituentů, umístěných především na aromatickém kruhu (Obr. 5). Porfyrinové deriváty jsou tedy další potenciální komplexační činidla, která bývají využívána v nukleární medicíně.

**Obrázek 5:** Příklady struktur derivátů porfyrinů<sup>[18]</sup>



| R   | R <sub>1</sub>    | R <sub>2</sub>    |
|---|-------------------|-------------------|
| CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub> | SO <sub>3</sub> H | CO <sub>2</sub> H |
| H   | CO <sub>2</sub> H | CO <sub>2</sub> H |
| H   | SO <sub>3</sub> H | CO <sub>2</sub> H |

#### 1.4 Teoretické pozadí práce<sup>[15,19]</sup>

Již v úvodu bylo nastíněno potenciální využití izotopů mědi (<sup>64</sup>Cu, <sup>67</sup>Cu) v nukleární medicíně. Radioizotopy mědi lze vyrobit ozařováním kovových terčů neutrony (např. <sup>67</sup>Zn(n,p)<sup>67</sup>Cu, <sup>64</sup>Zn(n,p)<sup>64</sup>Cu) v jaderném reaktoru, a nebo ozařováním niklu protony či deuterony v cyklotronech (např. <sup>64</sup>Ni(p,n)<sup>64</sup>Cu). Kromě velkého množství mateřského (ozařovaného) izotopu jsou ve směsi kromě požadovaného radionuklidu přítomny též dceřinné produkty rozpadu a další nečistoty (tj. nuklidy Zn, Ni a Co). Pro aplikace nukleární medicíny je však velmi důležité, aby vyrobené izotopy mědi měly co nejvyšší specifickou aktivitu, a tedy obsahovaly co nejmenší množství nečistot. Tyto nečistoty se od požadovaných radioizotopů dají oddělit využitím separačních metod. Jako příklady lze uvést kationtové a aniontové iontoměniče nebo chelatující pryskyřice. Vyčištěné radioizotopy mědi jsou pak dále zpracovávány a upravovány nejčastěji ve formě chloridu měďnatého. Takto izolovaný radionuklid je přidán do roztoku makrocyclického ligandu za vzniku radiofarmaceutického komplexu.

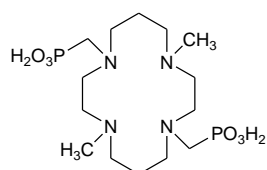
K oddělení radioizotopů mědi od nečistot lze velmi efektivně dosáhnout pomocí vhodných makrocyclických ligandů, které jsou součástí chelatujících pryskyřic. Pokud je v těchto pryskyřicích použit ligand tvořící kineticky nestálé komplexy, je možné zachycené radioizotopy posléze z chelatující pryskyřice vytěsnit působením nadbytku silné kyseliny.

Použitelné ligandy tedy musí mít vhodnou vysokou selektivitu pro komplexaci mědi a vzniklý komplex musí vyhovovat malou kinetickou inertností. Oddělení Ni<sup>II</sup> a Cu<sup>II</sup> probíhá bez problému, neboť komplexace Ni<sup>II</sup> iontů do makrocyclických ligandů probíhá obecně velmi pomalu, na rozdíl od Cu<sup>II</sup>. Avšak v porovnání se Zn<sup>II</sup> ionty je rychlost komplexace velmi podobná, a proto je nutné, aby byly rozdíly v konstantách stability komplexů uvedených iontů s daným ligandem co největší. Cu<sup>II</sup> má z hlediska iontového poloměru a stability komplexů své postavení v Irwingově-Williamsově řadě (vytváří nejstabilnější komplexy ze všech kovů první přechodné řady) a chová se jako silná Lewisova

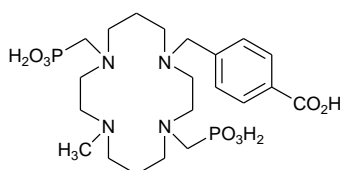
kyselina. Při pH 3–4 lze  $\text{Cu}^{\text{II}}$  úspěšně odseparovat od ostatních kovových iontů, protože při tomto pH se  $\text{Cu}^{\text{II}}$  komplexuje, ostatní ne.

Jedním z makrocyclických ligandů, který splňuje výše uvedené podmínky (selektivita vůči mědi, rychlá komplexace, malá kinetická inertnost vzniklého komplexu), a který byl dříve studován v naší laboratorní skupině, je sloučenina  $\text{H}_4\text{-4,11-Me}_2\text{-1,8-te2p}$  (Obr. 6). Proto bychom chtěli připravit a studovat vlastnosti bifunkčních analogů (tj. takových, které by umožnily navázání ligandu k makromolekulárnímu nosiči). Pro tuto bakalářskou práci byly navrženy deriváty **(X)** a **(X\*)**, Obr. 6.

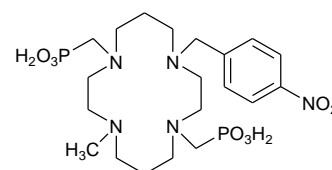
**Obrázek 6:**



$\text{H}_4\text{-4,11-Me}_2\text{-1,8-te2p}$



**(X)**



**(X\*)**

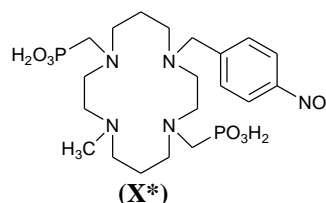
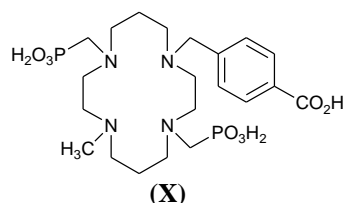
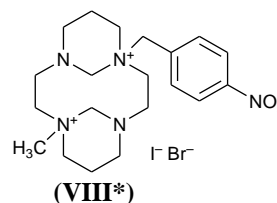
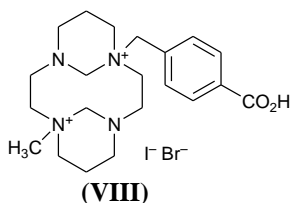
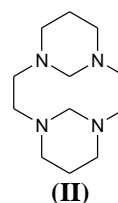
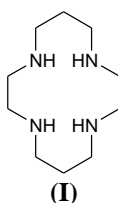
## 1.5 Cíl bakalářské práce

Syntéza výchozích látek:

- Syntéza cyklamu **(I)**
- Syntéza bis(aminalu) **(II)**

Cílem této bakalářské práce je:

- Příprava látek **(VIII)** a **(VIII\*)** ve vhodných formách, aby mohly být použity pro další syntézu
- Nalezení způsobu přípravy látek **(X)** a **(X\*)**



## 2 Experimentální část

### 2.1 Seznam použitých chemikálií

|   |         |
|---|---------|
| bis(3-aminopropyl)-1,2-ethylendiamin (3,2,3-amin) .....           | Aldrich |
| <i>p</i> -brommethylbenzoová kyselina, 97% .....                  | Aldrich |
| <i>p</i> -nitrobenzylbromid, 97% .....                            | Aldrich |
| chlorid vápenatý .....  | Penta   |
| diethylfosfit, 95% .....  | Fluka   |
| formaldehyd, 36% vodný roztok .....                               | Fluka   |
| hexahydrát chloridu nikelnatého .....                             | Lachema |
| hydroxid sodný, čistý .....                                       | Penta   |
| kyanid draselný .....   | Lachema |
| kyselina chlorovodíková, 36% vodný roztok .....                   | Penta   |
| methyljodid, 99% .....  | Fluka   |
| ninhydrin, 0,5% ethanolický roztok .....                          | Lachema |
| paraformaldehyd, <i>odfiltrovaný ze starých roztoků formalínu</i> |         |
| pentahydrát síranu měďnatého, 5% vodný roztok .....               | Lachema |
| RaNi (Raney Nickel) .....   | Lachema |
| síran sodný, <i>bezvodý</i> .....                                 | Penta   |
| triethylfosfit, 95% .....   | Fluka   |
| glyoxaltrimer, <i>hydrát</i> .....                                | Aldrich |

#### Použitá rozpouštědla:

|                                     |               |
|-------------------------------------|---------------|
| acetonitril, <i>suchý</i> .....     | Penta         |
| amoniak, 25% vodný roztok .....     | Penta         |
| ethanol, denaturovaný .....         | Lihovar Kolín |
| chloroform .....                    | Penta         |
| methanol .....                      | Penta         |
| tetrahydrofuran, <i>suchý</i> ..... | Penta         |
| toluen, <i>suchý</i> .....          | Penta         |
| voda, deionizovaná, ROWAPUR 200/100 |               |

#### Použitá deuterovaná rozpouštědla:

|                                 |            |
|---------------------------------|------------|
| CDCl <sub>3</sub> , 99,8% ..... | Aldrich    |
| D <sub>2</sub> O, 99,95% .....  | Chemotrade |

MeOD..... Chemotrade

NaOD (*připravený reakcí  $D_2O + Na$* )

## **2.2 Metody charakterizace**

### **2.2.1 Nukleární magnetická rezonance (NMR)**

Měření spekter  $^1H$ ,  $^{13}C$  a  $^{31}P$  bylo provedeno na přístrojích VNMR300, Varian<sup>UNITY</sup> INOVA 400 a Bruker Avance (III) 600 (všechny spektrometry dostupné na PřF UK). Všechny níže uvedené hodnoty chemických posunů  $\delta$  jsou uvedeny v jednotkách ppm a interakční konstanty  $J$  v jednotkách Hz. Hodnoty chemických posunů jsou uváděny s přesností na dvě desetinná místa pro  $^1H$ , a na jedno desetinné místo pro  $^{13}C$  a  $^{31}P$ .

Spektra byla naměřena RNDr. Zuzanou Kotkovou, RNDr. Janem Plutnarem, Ph.D., a Bc. Miroslavem Pniokem.

### **2.2.2 Hmotnostní spektrometrie (MS)**

Hmotnostní spektra byla naměřena na přístroji Bruker ESQUIRE 3000 umožňující ionizaci elektrosprejem a vybaveným iontovou pastí. Byla měřena spektra v kladném (popř. záporném) módu. Spektra byla naměřena RNDr. Vojtěchem Kubíčkem, Ph.D., a Bc. Miroslavem Pniokem.

### **2.2.3 Rentgenová strukturní analýza**

Difrakční data byla naměřena na přístroji Enraf-Nomius KappaCCD a krystalové struktury byly vyřešeny RNDr. Ivanou Císařovou, CSc., na PřF UK. Vypřesnění krystalografických struktur provedl školitel.

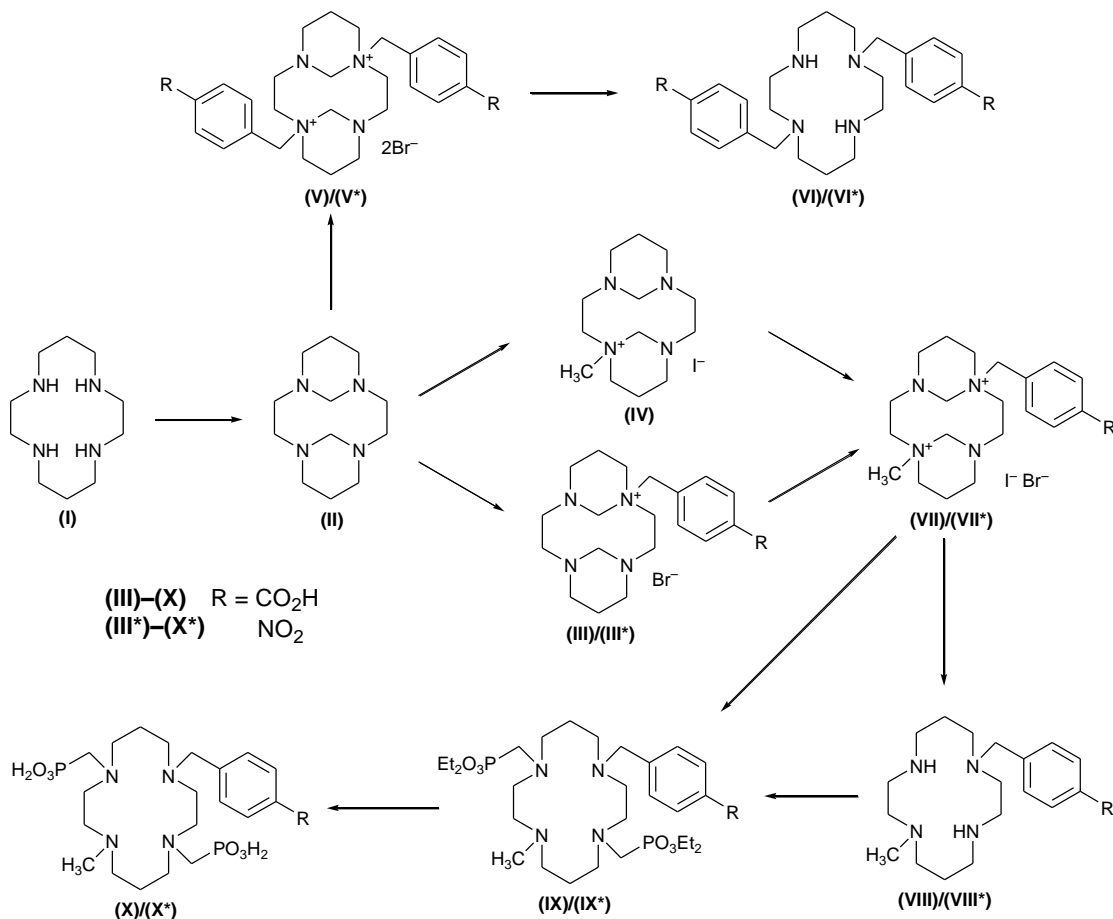
### **2.2.4 Tenkovrstvá chromatografie (TLC)**

K tenkovrstvé chromatografii byly použity destičky typu Silufol<sup>®</sup> (Kavalier) se sorbentem  $SiO_2$  naneseným na hliníkové fólii se škrobem jako pojivem. Dále byly použity destičky Merck TLC (silica gel 60 F<sub>254</sub> plates). U níže připravených látek jsou uvedeny příslušné mobilní fáze. Detekce byla prováděna vizuální detekcí UV lampou – MINERALIGHT<sup>®</sup> LAMP, sprejováním 0,5% ethanolickým roztokem ninhydrinu a následným zahřátím nebo ponořením do  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  (5% vodný roztok).

## 2.3 Syntéza výchozích látek a ligandů

Hlavním cílem bakalářské práce je syntéza látek (**X**) a (**X\***). Schéma syntézy je uvedeno níže (Schéma 1).

**Schéma 1:** Navržené schéma syntézy ligandů

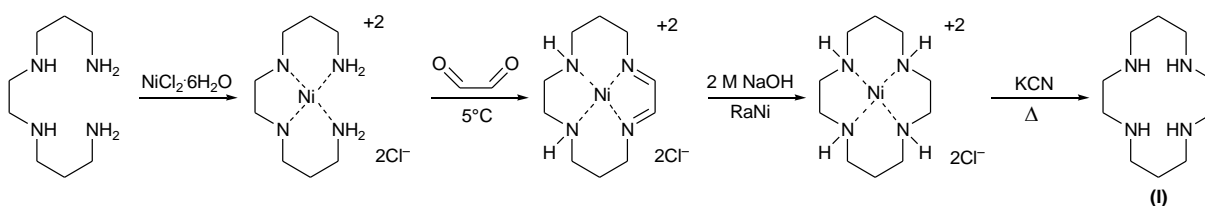


V níže uvedeném textu se pod pojmem „odpaření na RVO“ rozumí odpaření na rotační vakuové odparce. Teplota lázně se lišila v závislosti na odpařovaném rozpouštědle. Dále v textu pod pojmem „amoniak (NH<sub>3</sub>)“ je míněn jeho 25% vodný roztok a pod pojmem „kyselina chlorovodíková (HCl)“ je míněn její 36% vodný roztok. Pod pojmem „teplota“ je míněna teplota olejové lázně, ve které byly ponořeny baňky s reakční směsí.

Orientační teplota lázně RVO pro různé druhy rozpouštědel:

|                                    |          |
|------------------------------------|----------|
| EtOH .....                         | 45 °C    |
| NH <sub>3</sub> .....              | 45 °C    |
| CHCl <sub>3</sub> .....            | 45 °C    |
| Ostatní použitá rozpouštědla ..... | 50–55 °C |
| Směsi obsahující vodu.....         | 60 °C    |

### 2.3.1 Příprava cyklamu (I)<sup>[20,21]</sup>



Bis(3-aminopropyl)-1,2-ethylenediamin (3,2,3-amin) (20,0 g, 110 mmol) byl převeden do 2dm<sup>3</sup> kádinky, poté byl rozpuštěn v 500 ml destilované vody a za stálého míchání byl přidán NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (27,3 g, 110 mmol). Kádinka se vzniklým intenzivně fialovým roztokem byla ponořena do ledové tříště a chlazená na méně než 5 °C.

Trimer glyoxalhydrátu (12,0 g, 57 mmol) byl smíchán se 120 ml destilované vody. Vzniklá suspenze byla zahřívána a míchána při 65 °C do úplného rozpuštění. K intenzivně fialovému roztoku nikelnatého komplexu byl přikapáván (Pasterovou pipetou) připravený horký roztok monomerního glyoxalu. Směs byla míchána přes noc při laboratorní teplotě.

Druhý den byl k reakční směsi přidán NaOH (2M, 500 ml vodného roztoku). K takto připravenému roztoku byl za stálého intenzivního míchání přidáván po částech Raneyův nikl (RaNi, 25,0 g). Získaná suspenze byla míchána přes noc při laboratorní teplotě. Reakční směs byla přefiltrována přes vlhkou papírovou kaši (připravena rozmícháním kousků buničiny v destilované vodě) na fritě S2. K filtrátu byl přidán KCN (50,0 g, 770 mmol). Směs byla přelita do 2dm<sup>3</sup> baňky s kulatým dnem a refluxována pod zpětným chladičem po dobu 3 hodin. Po ochlazení na laboratorní teplotu byl vzniklý cyklam extrahován chloroformem (1 dm<sup>3</sup>). Extrakt byl vysušen Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a zahuštěn na RVO na takový objem, aby docházelo ke krystalizaci produktu. Zahuštěný produkt byl přelit nadbytkem MeCN (trojnásobek objemu suspenze). Vzniklá bílá kaše cyklamu byla odsáta na fritě S3, promyta MeCN a sušena proudem vzduchu 1 hodinu. Vzniklý bílý prášek byl přes noc dosušen v evakuovaném exsikátoru nad KOH. Hmotnost cyklamu (I) po vysušení činila 5,20 g (22 %).

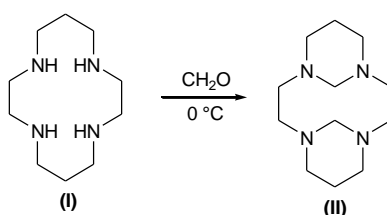
#### Charakterizace:

**MS (+):** 200,8 ([M+H]<sup>+</sup>, teor. 201,2)

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):** 1,71 (p, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,10, 4H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 2,69 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,10, 8H, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 2,71 (s, 8H, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):** 32,15 (s, 2C, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 48,48 (m, 8C, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N)

### 2.3.2 Příprava bis(aminalu) (II)<sup>[22]</sup>



Cyklam (**I**) (5,00 g, 25 mmol) byl převeden do 500ml baňky s kulatým dnem a rozpuštěn v 300 ml destilované vody. Baňka byla dána do ledové tříště a byla chlazená, následně míchána při 0 °C. Do vzniklého roztoku byl rychle přidán formaldehyd (4,5 ml, 36% vodný roztok, 2 ekv.). Směs byla míchána 2 hodiny. Vzniklý produkt byl odsát na fritě S2 a přes noc dosušen na vzduchu. Hmotnost látky po vysušení činila 7,50 g v podobě hexahydrátu (91 %). Hexahydrát bis(aminalu) byl potom převeden do 25ml baňky, uzavřen sušící trubičkou s CaCl<sub>2</sub> a umístěn do sušárny vyhřáté na 110 °C po dobu 30 minut. Hmotnost bis(aminalu) (**II**) činila 6,80 g (85 %, ztráta hydrátové vody je 19 % hmotnosti).

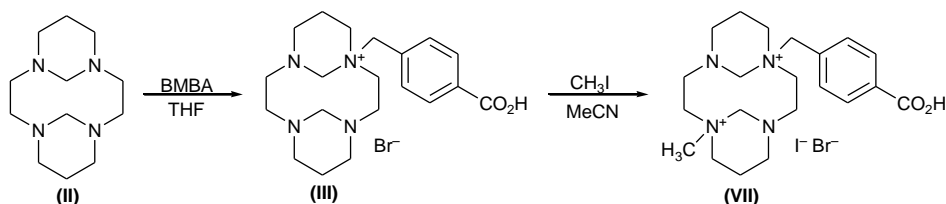
#### Charakterizace:

**MS (+):** 224,9 ([M+H]<sup>+</sup>, teor. 225,2)

**<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD):** 1,14 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 13,20, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 2,19 (m, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 12,90, 4H, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 2,27 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9,60, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 2,51 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 12,00, 4H, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N); 2,75 (m, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6,30, 6H, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N, N-CH<sub>2</sub>-N); 3,09 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9,30, 4H, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 5,30 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10,50, 2H, N-CH<sub>2</sub>-N)

**<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD):** 21,06 (s, 2C, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 51,32 (m, 8C, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N); 69,52 (s, 2C, N-CH<sub>2</sub>-N)

### 2.3.3 Pokusy o přípravu látky (III)<sup>[23]</sup>



Hexahydrát bis(aminalu) (**II**) (1,00 g, 3,0 mmol) byl navážen do 50ml baňky s kulatým dnem. Na baňku byla nasazena sušící trubička s CaCl<sub>2</sub>. Látka byla umístěna do sušárny vyhřáté na 110 °C po dobu 30 minut. Bis(aminal) (**II**) (0,83 g, bezvodý) byl rozpuštěn v THF (20 ml, bezvodý). K roztoku byla přidána *p*-brommethylbenzoová kyselina (BMBA, 0,72 g, 3,3 mmol, 0,9 ekv.) a směs byla míchána hodinu při laboratorní teplotě. Poté byla vzniklá látka (**III**) odfiltrována na fritě S3, promyta malým množstvím vody a dosušena přes noc v evakuovaném exsikatoru nad H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Hmotnost produktu

činila 0,98 g.

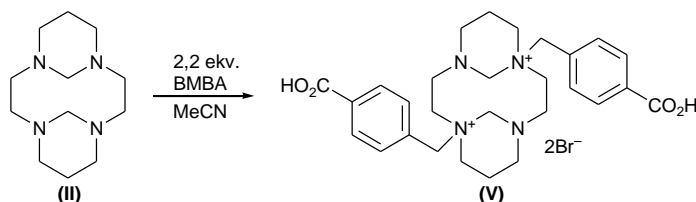
Příprava monokrystalu:

100 mg produktu bylo za horka rozpuštěno v destilované vodě a ponecháno volně krystalizovat za vzniku monokrystalu.

#### Charakterizace:

Podle  $^1\text{H-NMR}$  se jednalo o směs minimálně dvou látek (dva A-B systémy v aromatické oblasti). Z hmotnostního spektra nešlo zjistit přesné hmotnosti látek, neboť směs byla velmi špatně rozpustná. Byla stanovena krystalová struktura, která určila složení krystalu jako látka (V)·10H<sub>2</sub>O. Tím bylo dokázáno, že tento disubstituovaný produkt vzniká při reakci spolu s monosubstituovaným produktem, Byla cíleně provedena syntéza a krystalizace látky (V) (parametry a struktura je uvedena níže).

#### 2.3.4 Příprava látky (V)



Bis(aminal) (II) (0,94 g, 4,2 mmol, bezvodý) byl navážen do 50ml baňky s kulatým dnem. K bis(aminalu) (II) byl přilít MeCN (30 ml, bezvodý) a byla přisypána *p*-brommethylbenzoová kyselina (BMBA, 2,07 g, 10 mmol, 2,3 ekv.). Směs byla míchána 4 dny při laboratorní teplotě. Poté byla vzniklá látka promyta na fritě S3 destilovanou vodou a THF. Bílý produkt byl přes noc dosušen v evakuovaném exsikátoru nad KOH. Hmotnost látky činila 1,95 g.

Příprava monokrystalu:

Látka (V) (100 mg) byla za horka rozpuštěna v destilované vodě a ponechána volně krystalizovat.

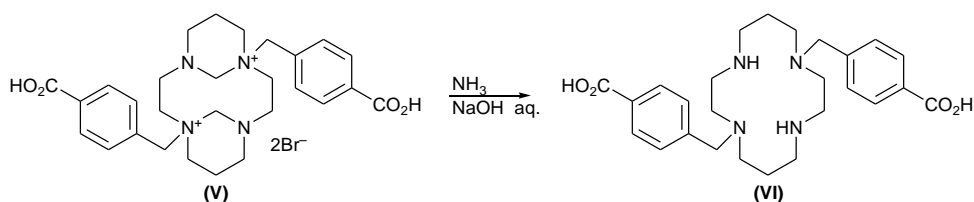
#### Charakterizace:

Hmotnostní a NMR spektra nebyla naměřena, protože látka (V) je špatně rozpustná.

Byla stanovena krystalová struktura, která určila složení krystalu jako C<sub>28</sub>H<sub>56</sub>N<sub>4</sub>O<sub>14</sub> (tj. látka (V) odštěpuje bromovodík za vzniku svého zwitteriontu). Je otázkou, zda je bromid přítomen v původně izolovaném produktu.

**RTG parametry:** (V)·10H<sub>2</sub>O, C<sub>28</sub>H<sub>56</sub>N<sub>4</sub>O<sub>14</sub>;  $M_r = 672,77$ ;  $a = 9,3359(4) \text{ \AA}$ ;  $b = 10,2019(3) \text{ \AA}$ ;  $c = 10,3014(4) \text{ \AA}$ ;  $\alpha = 116,506(2)^\circ$ ;  $\beta = 90,767(2)^\circ$ ;  $\gamma = 107,152(2)^\circ$ ;  $V = 826,82(5) \text{ \AA}^3$ ;  $Z = 1$ ;  $R_1(I > 2\sigma(I)) = 0,0481$ ;  $wR_2(\text{všechna data}) = 0,1407$

### 2.3.5 Příprava látky (VI)



Látka (V) (0,10 g, 0,2 mmol) byla navážena do 25ml baňky s kulatým dnem. Bylo přilito 4 ml amoniaku (25% roztok). Vzniklá směs byla ponechána míchána přes noc při laboratorní teplotě. Druhý den byl přidán NaOH (3M, 5 ml, 3,0 mmol) a látka byla opět míchána přes noc při laboratorní teplotě. Další den byla vzniklá látka (VI) odsáta na fritě S2 a dosušena v evakuovaném exsikatoru nad KOH. Potom látka (VI) byla přečištěna pomocí sloupcové chromatografie na koloně SiO<sub>2</sub> (80 ml). Kolona s nanesenou látkou byla promývána roztokem NH<sub>3</sub>:EtOH (1:5). Hmotnost látky (VI) činila 40,0 mg (43 %).

Příprava monokrystalu:

30,0 mg vzniklé látky (VI) bylo převedeno na hydrochlorid (rozpuštěno v HCl:H<sub>2</sub>O (1:1)). Vzniklý hydrochlorid látky (VI) byl za horka rozpuštěn v destilované vodě a byl ponechán volně krystalizovat.

#### Charakterizace:

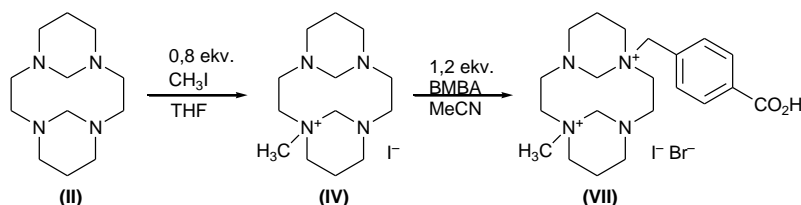
**MS(+):** 469,1 ([M+H]<sup>+</sup>, teor. 469,3); **(-):** 467,0 ([M-H]<sup>-</sup>, teor. 467,3)

**<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O):** 1,78 (s, 4H, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 2,60 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 21,30, 16 H, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N); 3,72 (s, 4H, N-CH<sub>2</sub>-arom.); 7,42 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8,10, 4H, arom.); 7,85 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8,10, 4H, arom.)

**Rentgenová struktura:** Krystalizací byly připraveny monokrystaly překvapivého složení (VI)·2H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>·11,5H<sub>2</sub>O (zdrojem kyseliny sírové je patrně silikagel použitý při chromatografii<sup>[24]</sup>).

**RTG parametry:** (VI)·2H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>·11,5H<sub>2</sub>O, C<sub>26</sub>H<sub>59</sub>N<sub>4</sub>O<sub>23,5</sub>S<sub>2</sub>; M<sub>r</sub> = 867,30; jednoklonná; C2/c; a = 27,8074(7) Å; b = 11,0780(3) Å; c = 14,3674(3) Å; α = 90,00°; β = 110,8559(13)°; γ = 90,00°; V = 4135,89(18) Å<sup>3</sup>; Z = 4; R<sub>1</sub>(I > 2σ(I)) = 0,0430; wR<sub>2</sub>(všechna data) = 0,1396

### 2.3.6 Příprava látky (VII)<sup>[19]</sup>



Hexahydrát bis(aminale) (II) (1,07 g, 4,8 mmol) byl navážen do 50ml baňky s kulatým dnem. Na baňku byla nasazena sušící trubička s CaCl<sub>2</sub>. Látka byla umístěna do sušárny vyhřáté na 110 °C

po dobu 30 minut. Bis(aminal) (**II**) (0,90 g, bezvodý) byl rozpuštěn v THF (20 ml, bezvodý). K roztoku byl přidán CH<sub>3</sub>I (0,46 g, 4,4 mmol, 0,8 ekv.) a míchán 30 minut. Poté byl přebytečný matečný louh dekantován. Vzniklý bílý produkt látky (**IV**) byl přes noc dosušen v evakuovaném exsikátoru nad H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

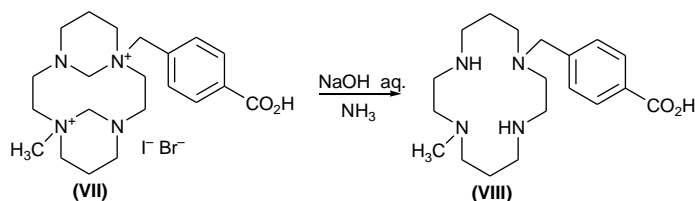
Druhý den látka (**IV**) (0,87 g, 3,6 mmol) byla rozpuštěna v MeCN (20 ml, bezvodý) a míchána. K míchanému roztoku byla přidána kyselina *p*-brommethylbenzoová (BMBA, 0,86 g, 2,3 mmol, 1,1 ekv.). Vzniklá směs byla míchána 7 dní při laboratorní teplotě. Poté byla směs odfiltrována na fritě S3 a promyta THF a látka (**VII**) byla přes noc dosušena v evakuovaném exsikátoru nad H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Hmotnost činila 1,24 g (80 %).

#### Charakterizace:

MS(+): látka (**IV**): 238,9 ([M]<sup>+</sup>, teor. 239,2); látka (**VII**): 373,0 ([M-H]<sup>+</sup>, teor. 373,3)

Podle <sup>1</sup>H-NMR látky (**IV**) se jednalo o směs minimálně dvou látek (dva A-B systémy v aromatické oblasti). Látka (**IV**) byla také špatně rozpustná v běžných rozpouštědlech.

#### 2.3.7 Příprava látky (**VIII**)



Látka (**VII**) (1,00 g) byla rozpuštěna a hydrolyzována s 20 ml směsí NH<sub>3</sub>:H<sub>2</sub>O (1:1). Vzniklý roztok byl míchán 2 dny při laboratorní teplotě.

Následně byla vzniklá látka (**VIII**) přečištěna pomocí sloupcové chromatografie na koloně SiO<sub>2</sub>. Látka byla nanášena na kolonu s SiO<sub>2</sub> (80 ml), který byl promyt EtOH. Kolona s nanášenou látkou byla promývána směsí NH<sub>3</sub>:EtOH (1:10) a postupně byly zachytávány frakce po 50 ml. Frakce byly sledovány na TLC. Asi po 150 ml získaných frakcí byla kolona promývána směsí NH<sub>3</sub>:EtOH (1:5) a byly zachytávány další frakce po 150 ml. Průběh byl opět kontrolován pomocí TLC. Eluovaná látka byla vysušena v evakuovaném exsikátoru nad H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Hmotnost činila 0,60 g (65 %). Látka (**VIII**) byla převedena na hydrochlorid (rozpuštěna v HCl a následně odpařena na RVO).

#### Charakterizace:

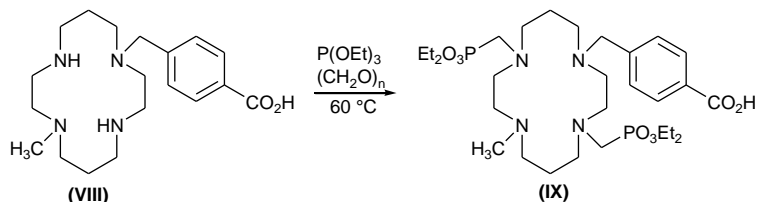
MS(+): 349,0 ([M+H]<sup>+</sup>, teor. 350,3); (-): 346,8 ([M-H]<sup>-</sup>, teor. 347,2)

<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O): 1,25 (p, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7,20, 4H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 2,22 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>); 2,61 (m, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10,40, 16H, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N); 4,75 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>-arom.); 7,42 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2,00, 2H, arom.); 7,93 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2,00, 2H, arom.)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ): 25,38 (s, C,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ ); 25,29 (s, C,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ ); 30,41 (s, C,  $\text{N-CH}_3$ ); 50,32 (m, 8C,  $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ ,  $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$ ); 72,56 (s, C,  $\text{N-CH}_2\text{-arom.}$ ); 129,79 (s, 2C, arom.); 129,94 (s, 2C, arom.); 135,64 (s, C, arom.); 143,52 (s, C, arom.)

### 2.3.8 Příprava látky (IX)

Postup 1



Vzniklá látka (**VIII**) (0,54 g, 1,5 mmol) byla navážena do 25ml odměrné baňky a byla rozpuštěna v triethylfosfitu (4,85 g, 5 ml). Po chvíli míchání byl k reakční směsi přidán paraformaldehyd (0,27 g). Vzniklá směs byla míchána 3 dny při 60 °C.

Po ochlazení byla reakční směs zředěna 5 ml EtOH a přefiltrována přes fritu S3. Pevné zbytky paraformaldehydu zachycené na fritě byly promyty malým množstvím EtOH. Filtrát byl nanesen na kolonu se silným kationtovým iontoměničem (Dowex 50) v  $\text{H}^+$ -cyklu. Kolona byla vypláchnuta a velkým množstvím (asi 500 ml směsi  $\text{H}_2\text{O}:\text{EtOH}$  (1:1)). Látka (**IX**) byla z kolony vymyta roztokem  $\text{NH}_3:\text{EtOH}$  (1:5). Produkt byl odpařen na RVO a čistota byla kontrolována na TLC. Dále byla provedena sloupcová chromatografie na koloně  $\text{SiO}_2$ . Jako mobilní fáze byla použita  $\text{NH}_3:\text{EtOH}$  (1:20, 1:10). Látka (**IX**) byla izolována ve formě zlatohnědého oleje o hmotnosti 0,11 g a následně použita pro další reakci.

#### Charakterizace:

**MS(+):** 649,4 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , teor. 649,4), **(-):** 647,3 ( $[\text{M}-\text{H}]^-$ , teor. 647,3)

**TLC:** mobilní fáze:  $\text{NH}_3:\text{EtOH}$  (1:10)  $R_f = 0,19$

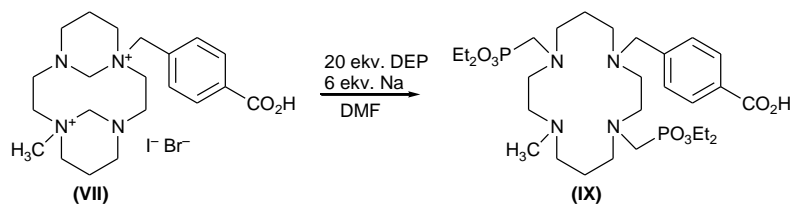
detekce prováděná  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 5% vodný roztok

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 1,30 (m, 12H,  $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$ ); 1,33 (p, 4H,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ ); 2,13 (s, 3H,  $\text{N-CH}_3$ ); 2,65 (m, 16H,  $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2$ ,  $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ ); 3,35 (s, 2H,  $\text{N-CH}_2\text{-arom.}$ ); 4,04 (m, 8H,  $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$ ); 7,37 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 7,80$ , 2H, arom.); 7,90 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 8,40$ , 2H, arom.)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 33,94 (d, 4C,  $^3J_{\text{CP}} = 6$ ,  $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$ ); 23,39 (s, C,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ ); 23,68 (s, C,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ ); 25,81 (s, C,  $\text{N-CH}_3$ ); 42,47 (s, 2C,  $\text{N-CH}_2\text{-P}$ ); 53,66 (m, 8C,  $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$ ,  $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ ); 62,24 (s, C,  $\text{N-CH}_2\text{-arom.}$ ); 63,60 (d, 4C,  $^2J_{\text{CP}} = 13,5$ ,  $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$ ); 130,60 (s, 2C, arom.); 138,30 (s, 2C, arom.); 174,48 (s, C,  $\text{CO}_2\text{H}$ )

$^{31}\text{P-NMR}$   $\{^1\text{H}\}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 30,00 (s); 31,10 (s)

## Postup 2



Diethylfosfit (DEP, 4,27 g, 31,0 mmol, 20 ekv.) byl navážen do 50ml kulaté baňky. Za stálého míchání byl po částech přidán kovový Na (0,22 g, 9,6 mmol, 6 ekv.). Po rozpuštění veškerého sodíku byl k reakční směsi přidán DMF (20 ml, bezvodý). Poté byla přidána látka **(VII)** (0,58 g, 1,6 mmol, 1 ekv.) a vzniklá reakční směs byla míchána přes noc při laboratorní teplotě.

Druhý den byla vzniklá směs látky **(IX)** nanášena na kolonu se silným kationtovým iontoměničem (Dowex 50) v  $H^+$ -cyklu. Kolona byla vypláchnuta velkým množstvím (cca 500 ml) směsí EtOH:H<sub>2</sub>O (1:1) a poté NH<sub>3</sub>:EtOH:H<sub>2</sub>O (1:2,5:2,5). Po odpaření roztoku obsahující produkt na RVO, byla provedena sloupcová chromatografie na koloně SiO<sub>2</sub> (70 ml). Látka byla eluována směsí NH<sub>3</sub>:EtOH (1:1). Byla provedena další (čistící) chromatografie na koloně SiO<sub>2</sub> (70 ml). Směs obsahující cílový produkt látky **(IX)** byla nanášena na kolonu a vzniklý produkt byl eluován směsí NH<sub>3</sub>:EtOH (1:10). Produkt **(IX)** byl izolován ve formě zlatohnědého oleje o hmotnosti 0,26 g.

### Charakterizace:

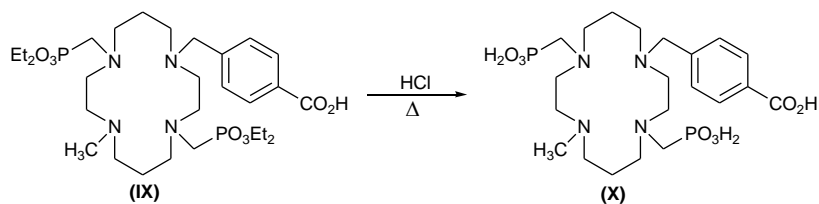
**MS (+):** 649,4 ( $[M+H]^+$ , teor. 649,4), (-): 647,3 ( $[M-H]^-$ , teor. 647,3)

**<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD):** 1,30 (m, 12H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,33 (p, 4H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 2,13 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>); 2,65 (m, 16H, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 3,35 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>-arom.); 4,04 (m, 8H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 7,37 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7,80, 2H, arom.); 7,90 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8,40, 2H, arom.)

**<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD):** 33,94 (d, 4C, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 6, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 23,39 (s, C, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 23,68 (s, C, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 25,81 (s, C, N-CH<sub>3</sub>); 42,47 (s, 2C, N-CH<sub>2</sub>-P); 53,66 (m, 8C, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 62,24 (s, C, N-CH<sub>2</sub>-arom.); 63,60 (d, 4C, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 13,5, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 130,60 (s, 2C, arom.); 138,30 (s, 2C, arom.); 168,20 (s, C, arom.); 174,48 (s, C, CO<sub>2</sub>H)

**<sup>31</sup>P-NMR {<sup>1</sup>H} (CDCl<sub>3</sub>):** 30,00 (s); 31,10 (s)

### 2.3.9 Příprava látky (X)



Látka **(IX)** (0,20 g) byla převedena do 25ml baňky s kulatým dnem. Poté byla přidána směs

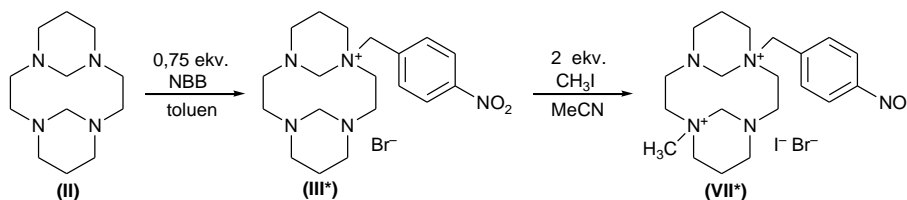
HCl:H<sub>2</sub>O (1:1). Na baňku byl nasazen zpětný chladič. Reakční směs byla zahřívána za stálého míchání na olejové lázni při teplotě 120 °C přes noc. Druhého dne byla vzniklá reakční směs odpařena na RVO do sucha a opět přidána směs HCl:H<sub>2</sub>O (1:1). Směs byla opět refluxována za stálého míchání přes noc při teplotě 120 °C. Další den byla odpařena do sucha na RVO. Hmotnost vzniklého zlatohnědého oleje (**X**) činila 0,11 g.

#### Charakterizace:

**MS(+):** 537,3 ([M+H]<sup>+</sup>, teor. 537,2)

**<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD):** 1,23 (p, 4H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 2,20 (s, 4H, P-OH); 2,53 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>); 3,32 (m, 20H, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, ); 3,93 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>-arom.); 7,80 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,20, 2H, arom.); 8,11 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6,40, 2H, arom.)

#### 2.3.10 Příprava látky (**III\***)



Hexahydrát bis(aminalu) (**II**) (1,02 g, 3,1 mmol) byl navážen do 50ml baňky s kulatým dnem. Na baňku byla nasazena sušící trubička s CaCl<sub>2</sub>. Látka byla umístěna do sušárny vyhřáté na 110 °C po dobu 30 minut.

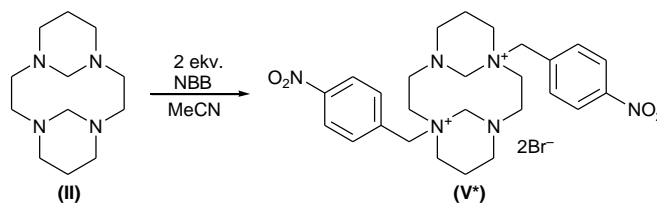
Bis(aminal) (**II**) (0,65 g, 2,9 mmol, bezvodý) byl rozpuštěn v toluenu (5 ml). K roztoku byl přidán *p*-nitrobenzylbromid (NBB, 0,47 g, 2,3 mmol, 0,75 ekv.) rozpuštěný v 10 ml toluenu a směs byla míchána 40 minut při laboratorní teplotě. Poté byla vzniklá látka (**III\***) odfiltrována na fritě S3 a promyta 15 ml toluenu a vysušena na vzduchu. Hmotnost látky (**III\***) činila 0,76 g.

Látka (**III\***) (0,60 g, 1,7 mmol) byla suspendována do MeCN (10 ml, bezvodý) a míchána. K míchanému roztoku byl přidán CH<sub>3</sub>I (0,39 g, 2,7 mmol, 2,0 ekv.) Vzniklá látka (**VII\***) byla míchána přes noc při laboratorní teplotě. Poté byla odfiltrována na fritě S3, promyta a přes noc dosušena v evakuovaném exsikátoru nad H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Hmotnost činila 0,60 g.

#### Charakterizace:

Látky (**III\***) a (**VII\***) v <sup>1</sup>H-NMR spektru vykazovaly znečištění směsí dvou látek (dva A-B systémy v aromatické oblasti). Obě látky byly špatně rozpustné v běžných rozpouštědlech.

### 2.3.11 Příprava látky (V\*)



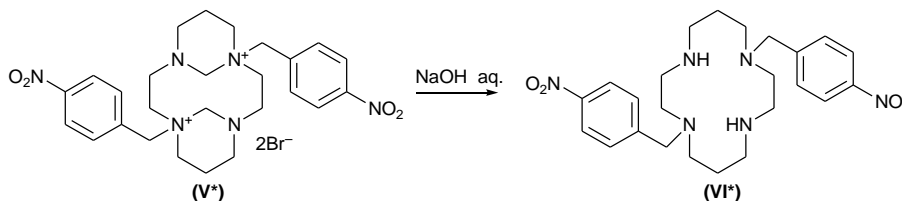
Zbýlý matečný loup z látky (III\*) (0,37 g, 1,7 mmol) byl odpařen do sucha na RVO. K odparku byl přilít MeCN (20 ml, bezvodý) a byl přisypán *p*-nitrobenzylbromid (NBB 1,25 g, 5,8 mmol, 2 ekv.). Směs byla míchána přes noc při laboratorní teplotě. Poté byla vzniklá látka odfiltrována na fritě S3 a promyta MeCN. Světle žlutý produkt byl přes noc dosušen v evakuovaném exsikatoru nad H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Hmotnost látky činila 0,82 g.

#### Charakterizace:

**MS:** 495,1 ([M-H]<sup>+</sup>, teor. 495,3)

Látka byla velmi špatně rozpustná v běžných rozpouštědlech.

### 2.3.12 Příprava látky (VI\*)



Látka (V\*) (0,65 g) byla navážena do 100ml baňky s kulatým dnem. Bylo přilito 20 ml NaOH (3M, 5 ml). Vzniklá směs byla ponechána míchána přes noc při laboratorní teplotě. Druhý den byla vzniklá látka extrahována do chloroformu a odpařena na RVO. Vzniklý žlutý olej byl vysrážen EtOH. Vysrážená žlutá látka byla odsáta na fritě S3 a dosušena v evakuovaném exsikatoru. Hmotnost látky (VI\*) činila 400 mg (32 %).

Příprava monokrystalu:

Látka (VI\*) byla rozpuštěna v dichlormethanu a byla ponechána krystalizovat difúzí EtOH přes plynnou fázi.

#### Charakterizace:

**MS(+):** 471,1 ([M+H]<sup>+</sup>, teor. 471,3)

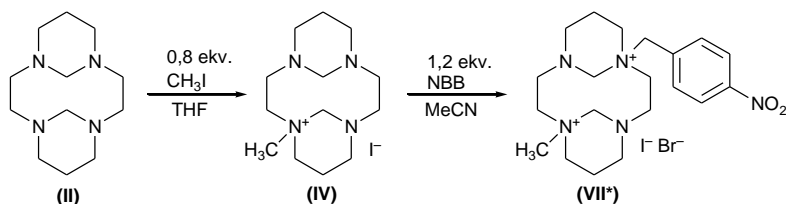
**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):** 1,85 (p, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,20, C, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 2,70 (m, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,20, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N); 3,80 (s, 4H, N-CH<sub>2</sub>-arom.); 7,50 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8,40, 4H, arom.); 8,20 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8,80, 4H, arom.)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 25,86 (s, 2C,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ ); 47,53 (s, 2C,  $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ ); 49,25 (s, 2C,  $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$ ); 51,00 (s, 2C,  $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ ); 57,40 (s, 2C,  $\text{N-CH}_2\text{-arom.}$ ); 123,40 (s, 4C, arom.); 129,75 (s, 4C, arom.); 145,80 (s, 2C, arom.); 147,10 (s, 2C,  $\text{C-NO}_2$ )

Byla stanovena krystalová struktura, která určila složení krystalu jako  $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_4$ .

**RTG parametry:** látka (**VI\***),  $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_4$ ;  $M_r = 470,57$ ; trojklonná; P-1;  $a = 7,4190(3)$  Å;  $b = 7,7962(3)$  Å;  $c = 21,2206(6)$  Å;  $\alpha = 93,533^\circ$ ;  $\beta = 90,674(2)^\circ$ ;  $\gamma = 99,0923(18)^\circ$ ;  $V = 1209,39(8)$  Å<sup>3</sup>;  $Z = 2$ ;  $R_1(I > 2\sigma(I)) = 0,0425$ ;  $wR_2(\text{všechna data}) = 0,1208$

### 2.3.13 Příprava látky (**VII\***)



Hexahydrát bis(aminalu) (**II**) (1,17 g, 5,2 mmol) byl navážen do 50ml baňky s kulatým dnem. Na baňku byla nasazena sušící trubička s  $\text{CaCl}_2$ . Látka byla umístěna do sušárny vyhřáté na  $110^\circ\text{C}$  po dobu 30 minut. Bis(aminal) (**II**) (0,95 g, bezvodý) byl rozpuštěn v THF (20 ml, bezvodý). K roztoku byl přidán  $\text{CH}_3\text{I}$  (0,48 g, 3,4 mmol, 0,8 ekv.) a míchán 30 minut. Poté byl přebytečný matečný louh dekantován. Vzniklý bílý produkt látky (**IV**) byl přes noc dosušen v evakuovaném exsikátoru nad  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Druhý den látka (**IV**) (0,95 g, 4,0 mmol) byla rozpuštěna v MeCN (20 ml, bezvodý) a míchána. K míchanému roztoku byl přidán *p*-nitrobenzylbromid (NBB, 1,03 g, 4,7 mmol, 1,2 ekv.). Vzniklá směs byla míchána 7 dní při laboratorní teplotě. Poté byla směs odfiltrována na fritě S3 a promyta THF a látka (**VII\***) byla přes noc dosušena v evakuovaném exsikátoru nad  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Hmotnost činila 0,94 g (70 %).

#### Charakterizace:

**MS(+):** látka (**IV**): 238,9 ( $[\text{M}]^+$ , teor. 239,2)

Látka (**VII\***) v  $^1\text{H-NMR}$  spektru vykazovala znečištění směsí dvou látek (dva A-B systémy v aromatické oblasti). Látka byla velmi špatně rozpustná v běžných rozpouštědlech.



NH<sub>3</sub>:EtOH (1:5). Produkt byl odpařen na RVO a čistota byla kontrolována na TLC. Dále byla provedena sloupcová chromatografie na koloně SiO<sub>2</sub>. Jako mobilní fáze byla použita NH<sub>3</sub>:EtOH (1:20, 1:5). Látka (**IX\***) byla izolována ve formě zlatohnědého oleje o hmotnosti 50 mg a následně použita pro další reakci.

#### Charakterizace:

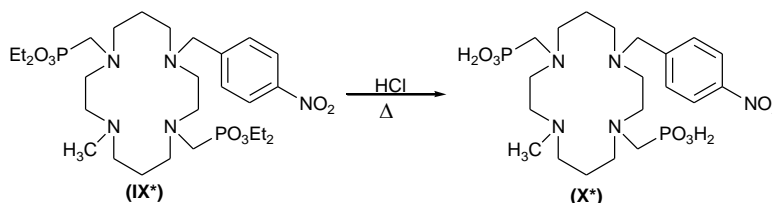
**MS(+):** 650,3 ([M+H]<sup>+</sup>, teor. 650,3)

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):** 1,30 (m, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4,00, 12H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,64 (p, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4,80, 4H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 2,24 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>); 2,80 (m, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9,60, 20H, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, N-CH<sub>2</sub>-P); 3,63 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>-arom.); 4,07 (m, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 4,80, 10H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 7,55 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8,00, 2H, arom.); 8,20 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8,00, 2H, arom.)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):** 16,45 (d, 4C, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 10,6, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 24,30 (s, C, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 24,32 (s, C, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 29,63 (s, C, N-CH<sub>3</sub>); 42,92 (s, 2C, N-CH<sub>2</sub>-P); 52,34 (m, 8C, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 58,13 (s, C, N-CH<sub>2</sub>-arom.); 61,66 (d, 4C, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 9,1, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 123,52 (s, 2C, arom.); 129,39 (s, 2C, arom.); 146,86 (s, C, arom.); 148,48 (s, C, C-NO<sub>2</sub>)

**<sup>31</sup>P-NMR {<sup>1</sup>H} (CDCl<sub>3</sub>):** 24,98 (s); 24,83 (s)

#### 2.3.16 Příprava látky (**X\***)



Látka (**IX\***) (50,0 mg) byla převedena do 25ml baňky s kulatým dnem. Poté byla přidána směs HCl:H<sub>2</sub>O (1:1). Na baňku byl nasazen zpětný chladič. Reakční směs byla zahřívána za stálého míchání na olejové lázni při teplotě 120 °C přes noc. Druhého dne byla vzniklá reakční směs odpařena na RVO do sucha a opět přidána směs HCl:H<sub>2</sub>O (1:1). Směs byla opět refluxována za stálého míchání přes noc při teplotě 120 °C. Další den byla odpařena do sucha na RVO. Hmotnost vzniklého zlatohnědého oleje (**X\***) činila 40,0 mg.

#### Charakterizace:

**MS(-):** 536,0 ([M-H]<sup>-</sup>, teor. 536,2)

**<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD):** 1,30 (p, 4H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 2,20 (s, 4H, P-OH); 2,92 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>); 3,12 (m, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7,20, 20H, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, ); 3,31 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>-arom.); 7,96 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8,80, 2H, arom.); 8,32 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8,40, 2H, arom.)

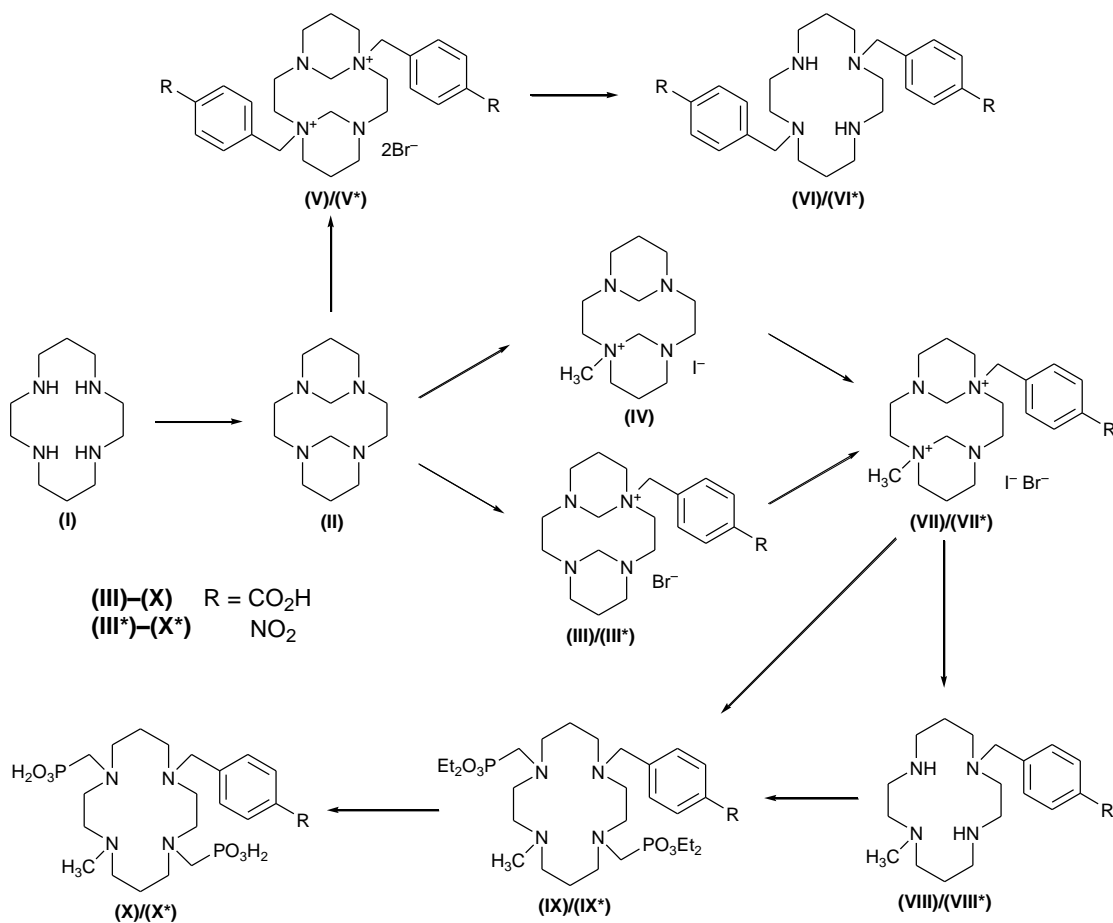
**<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD):** 11,71 (s, C, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 23,78 (s, C, N-CH<sub>3</sub>); 38,81 (m, 10C, N-CH<sub>2</sub>-

CH<sub>2</sub>-N, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 57,51 (s, C, N-CH<sub>2</sub>-arom.); 125,24 (s, 2C, arom.); 134,45 (s, 2C, arom.); 137,52 (s, C, arom.); 150,43 (s, C, C-NO<sub>2</sub>)  
<sup>31</sup>P-NMR {<sup>1</sup>H} (CDCl<sub>3</sub>): 27,99 (s); 17,50 (s)

### 3 Výsledky a diskuze

Sloučeniny, které byly v rámci této bakalářské práce připravovány jsou uvedeny ve Schématu 2.

**Schéma 2:** Schéma syntézy ligandů



#### 3.1.1 Příprava kvarterních solí

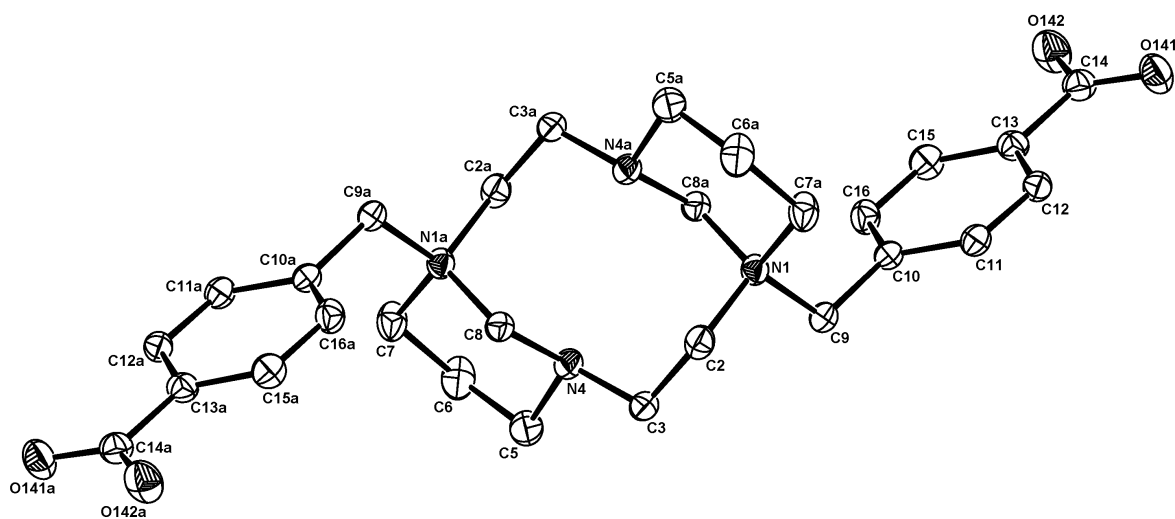
Syntéza čistých produktů **(III)/(III\*)** se nepovedla uskutečnit. Přesto, že byla přidávána alkylační činidla v sub-stechiometrickém množství, a byla použita nepolární rozpouštědla, ve kterých obvykle dojde k vysrážení monokvarterních solí a je potlačena jejich reaktivita do druhého stupně, byly látky **(III)/(III\*)** přítomny ve směsi s disubstituovanými produkty **(V)/(V\*)** (často byly látky **(III)/(III\*)** minoritní složky ve směsi s látkami **(V)/(V\*)**).

Dále byly zpracovány disubstituované látky **(V)/(V\*)**.

Charakterizace látek **(V)/(V\*)** byla velmi obtížná. Přes řadu pokusů se látka **(V)** nepodařila připravit v čistém stavu. Obě látky **(V)/(V\*)** byly velmi špatně rozpustné v běžných rozpouštědlech.

Nicméně se podařilo látku (**V**) vykrytalizovat a charakterizovat alespoň pomocí rentgenové struktury (RTG parametry viz kap. 2.3.4). Složení krystalů neodpovídá tomu, jak je látka (**V**) definována v reakčních schématech (jedná se o zwitterion, nikoliv o předpokládaný bromid), nicméně z důvodu konzistentnosti značení je i pro produkt ve formě zwitteriontu používáno označení (**V**), i když je z formálního hlediska chybné. Je otázkou, zda surový produkt (tj. před rekrystalizací) odpovídal avizovanému složení (byl ve formě kvarterního bromidu) nebo ve formě zwitterionu. Bohužel není z časového důvodu udělána elementární analýza.

**Obrázek 7:** Rentgenová struktura látky (**V**) – molekulová struktura zwitteriontu (**V**) nalezená v krystalové struktuře (**V**)·10H<sub>2</sub>O



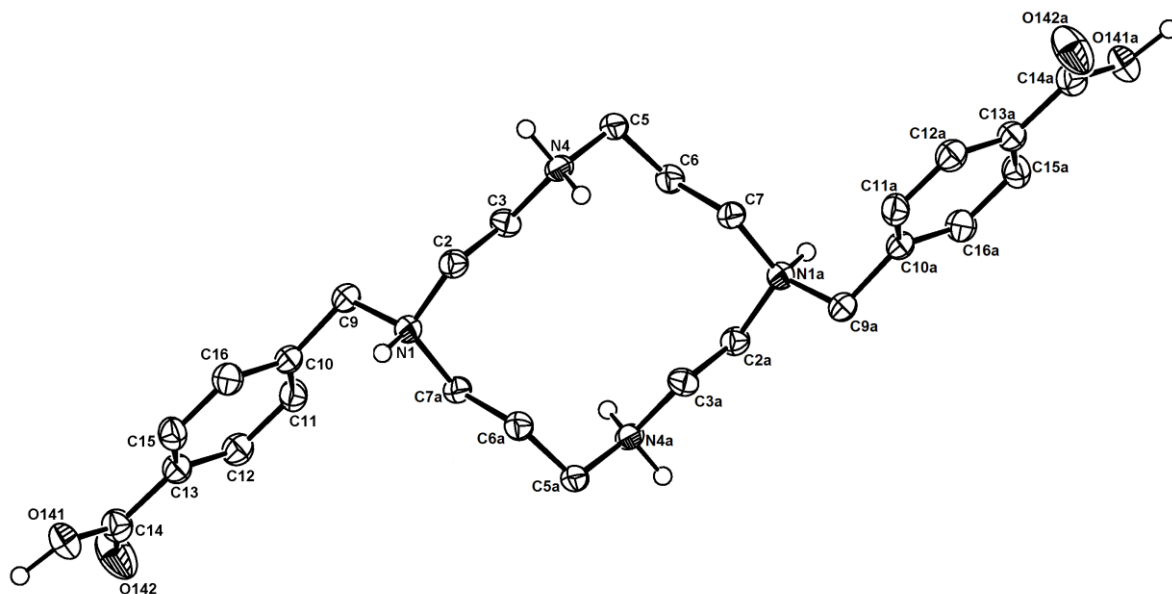
Teplotní elipsoidy jsou nakresleny s 50% pravděpodobností.

Kvarterní soli látek (**VII**)/(**VII**\*) se nepovedlo naizolovat v čistém stavu. Z <sup>1</sup>H-NMR spekter byla pozorována směs dvou látek (dva A-B systémy v aromatické oblasti). Jednalo se patrně o směs látek (**VII**)/(**VII**\*) a (**V**)/(**V**\*).

### 3.1.2 Hydrolýza kvarterních solí

Bylo zjištěno, že látka (**V**) obsahovala přebytečné alkylační činidlo. Přítomnost nadbytku alkylačního činidla mělo negativní dopad po hydrolýze, neboť u nechráněného cyklu probíhala další alkylace za vzniku tetrasubstituovaného produktu. Proto byla nejprve provedena reakce s amoniakem, poté samotná hydrolýza NaOH za vzniku látky (**VI**). Charakterizace byla velmi obtížná, neboť látka byla velmi špatně rozpustná v běžných rozpouštědlech. Nicméně se podařilo látku vykrytalizovat a charakterizovat alespoň pomocí rentgenové struktury (RTG parametry viz kap. 2.3.5).

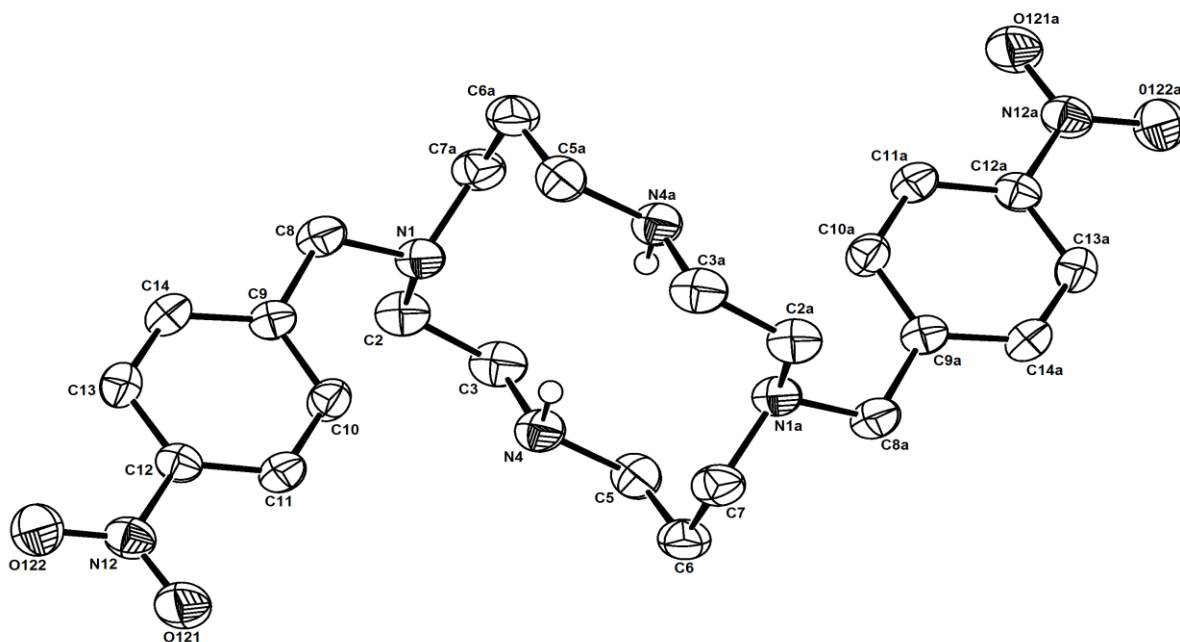
**Obrázek 8:** Rentgenová struktura látky (VI) – molekulová struktura kationtu  $H_4(VI)^{4+}$  nalezená v krystalové struktuře  $(VI) \cdot 2H_2SO_4 \cdot 11,5H_2O$



Teplotní elipsoidy jsou nakresleny s 50% pravděpodobností.

Látka (VI\*) byla připravena ve velmi čisté formě a byla následně vykrystalizována (RTG parametry viz kap. 2.3.12).

**Obrázek 9:** Rentgenová struktura látky (VI\*) – molekulová struktura látky (VI\*)



Teplotní elipsoidy jsou nakresleny s 50% pravděpodobností.



## 5 Seznam zkratek

|                               |   |
|-------------------------------|---|
| BMBA .....                    | <i>p</i> -brommethylbenzoová kyselina   |
| NBB .....                     | <i>p</i> -nitrobenzylbromid   |
| BTS .....                     | bis(thiosemikarbazony)  |
| DEP .....                     | diethylfosfit   |
| DMF .....                     | dimethylformamid  |
| EtOH .....                    | ethanol   |
| EZ .....                      | elektronový záchyt  |
| keV .....                     | kiloelektronvolt (1 eV = 1,602 176 · 10 <sup>-19</sup> J)                                     |
| MeCN .....                    | acetonitril   |
| MS .....                      | hmotnostní spektrometrie  |
| NMR .....                     | nukleární magnetická rezonanční<br>spektroskopie  |
| PET .....                     | positron emission tomography<br>(pozitronová emisní tomografie)                               |
| <i>R<sub>f</sub></i> .....    | retardační faktor   |
| RTG .....                     | rentgen   |
| RVO .....                     | rotační vakuová odparka   |
| SPECT .....                   | single photon emission computed<br>tomography (jednofotonová emisní<br>počítačová tomografie) |
| <i>t</i> <sub>1/2</sub> ..... | poločas rozpadu   |
| THF .....                     | tetrahydrofuran   |
| TLC .....                     | thin layer chromatography<br>(chromatografie na tenké vrstvě)                                 |

## 6 Poděkování

V první řadě bych chtěla poděkovat muži, který mě dovedl ke krásám, poznání a studiu chemie, děkuji dědečku. Chci také poděkovat svým rodičům a své babičce za jejich stálou podporu rodinného a finančního zázemí, díky kterému jsem mohla a můžu dále studovat.

Děkuji vedoucímu své bakalářské práce doc. RNDr. Janu Kotkovi, Ph.D. za pedagogickou, odbornou pomoc a za cenné rady při zpracování mé bakalářské práce. A také za jeho nekonečnou trpělivost.

Děkuji také RNDr. Zuzaně Kotkové, RNDr. Vojtěchu Kubíčkoví, Ph.D., RNDr. Janu Plutnarovi, Ph.D., a Bc. Miroslavovi Pniokovi za měření spekter.

Děkuji doc. RNDr. Petru Hermannovi, Dr. za poskytnutí cenných rad.

Děkuji kolegům z laboratoře „19“ za přátelský přístup a ochotu mi kdykoliv poradit s experimentální činností.

Závěrem bych chtěla poděkovat dalším členům své rodiny, přátelům a kamarádům, kteří mě podporovali během mého tříletého studia v Praze.

## 7 Použitá literatura

---

- [1] V. Ulmann, AstroNuklFyzika, <http://astronuklfyzika.cz/>
- [2] Česká společnost nukleární medicíny, <http://www.csnm.cz/>
- [3] Present and Future Therapeutic Radionuclides, Scientific Electronic Library, <http://www.scielo.br/>
- [4] S. M. Qaim, *Radiochim. Acta*, **2001**, 89, 297–302
- [5] W. Loveland, D. J. Morrissey, G. T. Seaborg, *Modern Nuclear Chemistry*, Wiley-Interscience, New Jersey, **2006**, 113–121, 617–639
- [6] H. Zaidi, B. Hasegawa, *J. Nucl. Med.*, **2003**, 44, 291–315
- [7] N. N. Greenwood, A. Earnshaw, *Chemie prvků*, Informatorium, Praha, **1993**, 1455–1487
- [8] H. Remy, *Anorganická chemie II*, SNTL, Praha, **1971**, 377–402
- [9] C. Chambers, A. K. Holliday, *Modern Inorganic Chemistry*, Butterworth & Co (Publishers) Ltd., Butterworth, **1975**, 408–416
- [10] G. Audi, O. Bersillon, J. Blachot, A. H. Wapstra, *Nucl. Phys. A.*, **2003**, A 729, 3–128
- [11] Lawrence Berkeley National Laboratory, [http://ie.lbl.gov/education/parent/Cu\\_iso.htm](http://ie.lbl.gov/education/parent/Cu_iso.htm)
- [12] H. Cai, Z. Li, Ch. W. Huang, R. Park, A. H. Shahinian, P. S. Conti, *Nucl. Med. Biol.*, **2009**, 37, 57–65
- [13] K. S. Bhatki, A. T. Rane, M. B. Kabadi, *J. Radioanal. Chem.*, **1969**, 2, 73–77
- [14] J. Kotek, P. Lubal, P. Hermann, I. Císařová, I. Lukeš, T. Godula, I. Svobodová, P. Táborský, J. Havel, *Chem. Eur. J.*, **2003**, 9, 233–248
- [15] P. J. Blower, J. S. Lewis, J. Zweit, *Nucl. Med. Biol.*, **1996**, 23, 957–980
- [16] S. Füzarová, J. Kotek, I. Císařová, P. Hermann, K. Binnemans, I. Lukeš, *Dalton Trans.*, **2005**, 2908–2915
- [17] C. J. Mathias, S. R. Bergmann, M. A. Green, *Nucl. Med. Biol.*, **1994**, 36, 1451–1455
- [18] M. Emran, *New Trends in Radiopharmaceutical Synthesis, Quality Assurance, and Regulatory Control*, <http://books.google.com>, American Chemical Society, **1990**, 130–132
- [19] I. Svobodová, J. Havlíčková, J. Plutnar, P. Lubal, J. Kotek, P. Hermann, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2009**, 3577–3592
- [20] E. K. Barefield, F. Wagner, A. W. Herbinger, A. R. Dahl, *Inorg. Synth.*, **1976**, 16, 220–225
- [21] I. Meunier, A. K. Mishra, B. Hanquet, P. Cocolis, R. Guillard, *Can. J. Chem.*, **1995**, 73, 685–695
- [22] G. Royal, V. Dahaoui-Gindrey, S. Dahaoui, A. Tabard, R. Guillard, P. Pullumbi, C. Lecomte, *Eur. J. Org. Chem.*, **1998**, 1971–1975

- 
- [23] C. Bucher, G. Royal, J. M. Barbe, R. Guliard, *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 2315–2318
- [24] T. Vitha, J. Kotek, J. Rudovský, V. Kubiček, I. Císařová, P. Hermann, I. Lukeš, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **2006**, *71*, 337–367
- [25] G. R. Weisman, S. C. H. Ho, V. Johnson, *Tetrahedron Lett.*, **1980**, *21*, 335–338