

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Přírodovědecká fakulta
Katedra anorganické chemie

**DESIGN A SYNTÉZA
SELEKTIVNÍCH CHELATANTŮ DVOJMOCNÉ MĚDI**

*Design and synthesis of
selective copper(II) chelators*

Diplomová práce
studijního oboru Anorganická chemie

DESIGN A SYNTÉZA SELEKTIVNÍCH CHELATANTŮ

DVOJMOCNÉ MĚDI

JAN HAVLÍK

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracoval samostatně pod vedením školitele doc. RNDr. Jana Kotka, Ph.D., a že jsem všechny použité prameny řádně citoval.

Jsem si vědom 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 11. srpna 2010

Poděkování

Velmi rád bych poděkoval všem, kteří mi pomáhali při vzniku této práce. Obzvláště děkuji svému školiteli Honzovi Kotkovi za nevyčerpatelnou ochotu věnovat svůj čas a energii na pomoc s řešením úskalí, jež mi syntetická chemie uchystala. Velmi si též cením odborných rad a připomínek poskytnutých při sepisování a korekci tohoto textu.

Mimořádné poděkování patří také mým rodičům za všestrannou podporu během studia, jež mi umožnila se naplno věnovat studiu.

Děkuji všem, kteří byli ochotni mi ve svém volném čase měřit spektra poskytnutých látek.

Děkuji doc. Lubalovi za zasvěcení do tajů spektrofotometrie a poskytnutí přístrojového vybavení.

Děkuji Petrovi Slovákovi za zajištění útulného zázemí při pobytech v Brně.

Děkuji všem nadšeným korektorům za ochotu si tuto práci přečíst a opravit množství chyb v ní přítomných.

Děkuji Dr. Petrovi Holzhauserovi za ochotu mou práci oponovat.

Děkuji také celému osazenstvu laboratoře „19“ a přilehlých místností za přátelský přístup a mimořádnou odolnost vůči nežádoucím důsledkům mé experimentální činnosti.

Závěrem bych chtěl poděkovat také všem kamarádkám a kamarádům za snahu ze mě udělat civilizovaného člověka, díky čemuž jsem se během studia rozhodně nenudil.

Obsah

1. Teoretický úvod	7
1.1. Diagnostické metody v nukleární medicíně	7
Planární scintigrafie	7
SPECT	8
PET	8
Hybridní metody SPECT/CT a PET/CT	9
1.2. Radiofarmaka pro SPECT a PET	9
Molekulární nosiče	9
Radionuklidy	10
Přehled radionuklidů vhodných pro PET	11
1.3. Vlastnosti a příprava radioizotopů mědi	13
Izotop ^{60}Cu	14
Izotop ^{61}Cu	15
Izotop ^{62}Cu	15
Izotop ^{64}Cu	15
Izotop ^{67}Cu	16
1.4. Chemie mědi	18
Oxidační stav I (d^{10})	18
Oxidační stav II (d^9)	19
Oxidační stavy III a IV (d^8 , d^7)	19
Biochemie mědi	20
1.5. Selektivní chelatanty dvojmocné mědi	20

Bis(thiosemikarbazony)	21
Polyaza makrocykly	22
Polyaminokarboxylové makrocykly	23
Polyaminofosfonátové makrocykly	23
1.6. Selektivní chránění cyklamového skeletu	25
Chránění v polohách 1,4	25
Chránění v polohách 1,8	26
Chránění v polohách 1,11	27
1.7. Cíle diplomové práce	28
2. Experimentální část	29
2.1. Seznam použitých chemikálií	29
2.2. Metody charakterizace	30
Nukleární magnetická rezonance (NMR)	30
Hmotnostní spektrometrie (MS)	31
Tenkovrstvá chromatografie (TLC)	31
Elementární analýza	31
UV-VIS spektrofotometrie	32
Rentgenostrukturní analýza	32
2.3. Syntéza výchozích látek a ligandů	32
Příprava látky 1	34
Příprava látky 2 (dipin)	35
Příprava látky 3	36
Příprava látky 4	41
Pokus o přípravu látky 5	42
Příprava látky 6	42
Pokus o přípravu látky 7	43
Příprava látky 8a	43
Příprava látky 8b	44
Pokus o přípravu látky 9	45
Přísuvná syntéza látky XL	45
Příprava látky XXXII	46

Syntéza látky XXXV	47
Syntéza látky XXXVI	48
Syntéza látky XXXVII	49
Modifikovaná syntéza látek XXXVIII a XXXIX	50
2.4. Potenciometrické stanovení protonizačních konstant látky 2	51
Potenciometrická měření	51
Použité vztahy	51
2.5. Studium disociační kinetiky Cu^{2+} komplexu látky 2	52
2.6. Studium formační kinetiky Cu^{2+} komplexu látky 2	52
3. Diskuze	53
3.1. Diskuze syntézy látek a ligandů	53
Látka 1	53
Látka 2 (dipin)	53
Látka 3	54
Látka 4	59
Pokus o přípravu látky 5	60
Látka 6	60
Pokus o přípravu látky 7	61
Příprava látky 8a	61
Látka 8b	62
Pokus o přípravu látky 9	62
Látka XXXII	62
Látky XXXV–XXXVII	63
Modifikovaná syntéza látek XXXVIII a XXXIX	64
3.2. Potenciometrické stanovení protonizačních konstant	64
3.3. Disociační kinetika komplexu $\text{Cu}(\text{dipin})$	65
3.4. Formační kinetika komplexu $\text{Cu}(\text{dipin})$	68
4. Závěr	71
5. Seznam použitých zkratk	72
6. Použitá literatura	74

1. Teoretický úvod

Intenzivní rozvoj zobrazovacích metod v nukleární medicíně společně se stále lepším pochopením molekulárně biologických příčin a projevů nejrůznějších onemocnění vyvolává poptávku po nových a sofistikovanějších radiofarmakách. Jejich nedostatek je patrný především v relativně nedávno zavedené pozitronové emisní tomografii (PET), ve které jsou v současné době v klinické praxi používána takřka výhradně radiofarmaka značená nuklidem ^{18}F .^[1] Ten umožňuje vzhledem ke svému krátkému poločasu rozpadu a chemickým vlastnostem pouze omezené spektrum aplikací. Stále snadnější dostupnost nových radionuklidů vhodných pro PET, jako jsou ^{64}Cu , ^{68}Ga a ^{86}Y , proto vybízí k hledání vhodných ligandů těchto kovů pro použití v budoucích radiofarmakách.

1.1. Diagnostické metody v nukleární medicíně

Nukleární medicína je interdisciplinární obor využívající ionizujícího záření k diagnostice a terapii onemocnění. K nejběžněji používaným diagnostickým metodám patří planární a tomografická scintigrafie, kterou lze dále v závislosti na druhu použitého záření a způsobu jeho detekce rozdělit na **SPECT** (Single Photon Emission Computed Tomography – Jednofotonová emisní počítačová tomografie) a **PET** (Positron Emission Tomography – Pozitronová emisní tomografie).^[2]

Planární scintigrafie

Planární scintigrafie je nejběžněji využívanou diagnostickou metodou nukleární medicíny. Po aplikaci radiofarmaka a jeho následné distribuci je pomocí detektoru snímána aktivita γ -záření vycházejícího z pacientova těla v závislosti na souřadnicích detektoru. Výsledkem vyšetření je 2D projekce distribuce

radiofarmaka v těle. Metodu lze použít i v dynamické formě, při které je pořizováno několik snímků v krátkém časovém odstupu za sebou, díky čemuž lze pozorovat dynamiku vylučování radiofarmaka. Orgány běžně vyšetřované touto metodou jsou například srdce, játra, plíce, štítná žláza a ledviny.^[2,3]

SPECT

Tomografická scintigrafie SPECT umožňuje zobrazit celkový prostorový obraz distribuce radiofarmaka v těle vznikající na základě počítačové rekonstrukce ze série planárních obrazů snímaných pod různými úhly. Oproti planární scintigrafii, ve které je detektor fixován v jedné rovině, u SPECT detektor γ -záření (v závislosti na typu konstrukce mohou být až tři) obíhá okolo pacienta v rozsahu 360° .^[4] Energie γ -fotonů vyzařovaných radionuklidem by se měla pro účely detekce pomocí metody SPECT pohybovat v ideálním případě mezi 100–250 keV. Při energiích nižších než 100 keV dochází k rozptylu záření v tkáni, zatímco při energiích vyšších než 250 keV vznikají problémy s kolimací paprsku (tzn. absorpcí fotonů přicházejících z nesprávného směru) a se sníženou odezvou scintilátoru tvořeného NaI(Tl) (thaliem dopovaný jodid sodný), což se v obou případech projeví sníženou kvalitou získaného obrazu.^[5]

PET

Pozitronová emisní tomografie využívá radionuklidy s nedostatkem neutronů v jádře, které emitují při jaderném rozpadu pozitron (β^+). V důsledku interakce s okolní hmotou vyzářený pozitron rychle ztrácí kinetickou energii. Přibližně ve vzdálenosti 0,2–5 mm od místa rozpadu (v závislosti na typu nuklidu) pak pozitron zachytí některý z elektronů přítomných v hmotě a vytvoří tak dvojčásticový atom zvaný *pozitronium*. Částice v *pozitroniu* následně ve zlomku sekund anihilují za vzniku dvou γ -fotonů s energií 511 keV, šířících se z místa anihilace v důsledku kvantové neurčitosti navzájem v přibližně opačných směrech, pod úhlem $180 \pm 0,5^\circ$. Takto vzniklé páry γ -fotonů jsou zaznamenávány soustavou detektorů rozmístěných v kruhu kolem pacienta. Fotonům dopadlým na protilehlé detektory ve stejný časový okamžik (s maximálním časovým rozdílem 4–10 ns) jsou poté

přiděleny tzv. koincidenční přímky, které jsou počítačově zpracovávány do podoby prostorového zobrazení distribuce aktivity v těle.^[6,7]

Metoda PET přináší ve srovnání s metodou SPECT výrazně vyšší citlivost i rozlišení. Délka hrany voxelu (prostorového bodu) u moderních přístrojů PET je přibližně 4 mm, u SPECT více než 12 mm. Vysoká energie γ -fotonů však klade u PET zvýšené nároky na stínění přístroje a hustotu scintilátorů, které proto, namísto běžně užívaného NaI(Tl), bývají na bázi germaničitanů bismutu nebo v novějších přístrojích orthokřemičitanů yttria, lutecia a gadolinia.^[6,7]

Hybridní metody SPECT/CT a PET/CT

Metody SPECT a PET jsou v posledních letech kombinovány v hybridních přístrojích s metodou CT (Computer Tomography – rentgenová počítačová tomografie), díky čemuž je možné získané fyziologické nálezy ze SPECT a PET přesněji lokalizovat proložením podrobnými anatomickými detaily získanými z CT.^[6]

1.2. Radiofarmaka pro SPECT a PET

Jako radiofarmaka jsou označována radioaktivní léčiva používaná v oborech nukleární medicíny. Radiofarmakum se skládá z molekulárního nosiče, který určuje osud léčiva v organismu (farmakokinetiku) a z radionuklidu emitujícího ionizující záření, jež umožňuje následnou detekci a vizualizaci v případě diagnostiky, či ozáření a následné zničení patologické tkáně v případě terapie. Vzhledem k tomu, že radionuklidy obsažené v radiofarmakách jsou chemicky nerozlišitelné od neaktivních nuklidů téhož prvku, je možné též využít radiačně značené sloučeniny přímo k zobrazení biochemických procesů *in vivo*. Lze tak například odhalit patologické změny na molekulární úrovni ještě před výskytem morfologických symptomů.^[8,9]

Molekulární nosiče

Molekulární nosiče mají za cíl dopravit radionuklid na místo účinku. Vzhledem k velmi nízkým koncentracím radiofarmaka v těle (nano až pikomoly) a ke snaze o zamezení ozáření okolní zdravé tkáně je vyžadována vysoká specifita a selektivita

nosiče vůči cílené tkáni nebo receptoru.^[10] Nosiče na místě určení se svým cílem interagují buďto přímo, jako substrát enzymů či agonisté a antagonisté receptorů, nebo se účastní jako jedna ze složek metabolických procesů. Patologické tkáně vykazují ve většině případů fyziologické nebo molekulárně biologické rozdíly oproti tkáním zdravým, díky čemuž je možné dosáhnout selektivnějšího zacílení nosiče.^[8]

K cílení nosičů pak bývají využívána nejčastěji následující místa:

- Charakteristické receptory
- Protilátky
- Enzymy
- Přenašeče
- Specifické poruchy metabolismu
- Hypoxická tkáň
- Rozdílné energetické požadavky buněk
- Změny v expresi genů nebo proteinů
- Rozdíly v cévním zásobení a perfuzi

Radionuklidy

Využívání radionuklidů ve farmacii ve formě komplexů a biomolekul patří k relativně novým oblastem vývoje medicíny. Za počátek rozvoje nukleární medicíny lze označit přelom 40. a 50. let 20. století, kdy došlo k využití dříve nedostupných jaderných reaktorů, urychlovačů a cyklotronů k produkci radionuklidů pro medicínální účely. V roce 1959 je pak v Brookhaven National Laboratory vyvinut první radionuklidový generátor využívající přeměny ^{99}Mo na $^{99\text{m}}\text{Tc}$ a o pět let později jsou v University of Chicago připravena první radiofarmaka značená $^{99\text{m}}\text{Tc}$.^[5,11,12] I přes to, že $^{99\text{m}}\text{Tc}$ zůstává nejpoužívanějším radionuklidem i v dnešní době, pro mnoho diagnostických metod nejsou bohužel jeho fyzikální vlastnosti vhodné. Během minulých desetiletí bylo proto prozkoumáno velké množství jiných radionuklidů potenciálně lépe vyhovujících rozdílným typům vyšetření v nukleární medicíně. Jejich stručný přehled s popisem vhodné aplikace je uveden v **Tab. 1.**^[13]

Tabulka 1: Radionuklidy užívané v diagnostice

Nuklid	Použití	Nuklid	Použití
¹¹ C	vyšetření mozku PET	⁷⁵ Se	studie proteinů, zobrazování jater a slinivky
¹⁴ C	značené sloučeniny	^{81m} Kr	zobrazování plic
¹³ N	vyšetření PET	⁸² Rb	lokalizační agens myokardu
¹⁵ O	vyšetření cévního zásobení mozku pomocí PET	⁸⁵ Sr	měření metabolismu kostí
¹⁸ F	vyšetření PET	^{99m} Tc	zobrazování srdce, plic, štítné žlázy, žlučníku, kůže, lymfatických uzlin, kostí, jater, sleziny a ledvin
³² P	diagnostika chorob kostí	¹⁰⁹ Cd	detekce nádorové tkáně, pediatrická vyšetření, diagnostika nemocí srdce
³³ P	značené sloučeniny	¹¹¹ In	detekce odmítnutí srdečních transplantátů, zobrazení břišních infekcí, zobrazení metastazujících melanomů
³⁵ S	diagnostika nemocí srdce, značení nukleových kyselin	¹²³ I	poruchy štítné žlázy
⁴⁷ Ca	buněčné funkce a tvorba kostí	¹²⁵ I	detekce osteoporózy, značení léčiv
⁴⁶ Sc	studie krevního oběhu	¹³¹ I	poruchy štítné žlázy, patobiochemie mozku
⁴⁷ Sc	diagnostika rakoviny	¹²⁷ Xe	zobrazování plic, zobrazování neurálních poruch mozku
⁵¹ Cr	studium červených krvinek, vnitřní krvácení	¹³³ Xe	studium plicní ventilace
⁵¹ Mn	lokalizační agens myokardu	¹⁶⁹ Yb	diagnostika GIT
⁵² Mn	vyšetření PET	^{191m} Ir	kardiovaskulární angiografie
⁵⁹ Fe	vyšetření kostní dřevě, studium metabolismu železa	^{195m} Pt	farmakokinetické studie protinádorových léčiv
⁵⁷ Co	zobrazování různých orgánů		
⁵⁸ Co	indikátor zhoubné anémie		
⁶⁴ Cu	vyšetření PET		
⁶⁷ Cu	diagnostika a terapie rakoviny		
⁶⁷ Ga	zobrazování nádorových a zánětlivých lézí		
⁶⁸ Ga	studie trombózy a aterosklerózy, PET		
⁷² Se	zobrazování mozku		

Přehled radionuklidů vhodných pro PET

Radionuklidy využitelné v PET lze rozdělit na tradiční „nekovové“, jako jsou ¹¹C, ¹³N, ¹⁵O a ¹⁹F, a na nově zaváděné „kovové“, zahrnující např. některé nuklidy mědi, gallia a yttria. Jejich fyzikální vlastnosti jsou shrnuty v **Tab. 2.**^[5,8] Tradiční nuklidy bývají vzhledem k velmi krátkým poločasům rozpadu inkorporovány do strukturně jednoduchých molekul, což společně s rychlým vymýváním z tkání a často zdlouhavou přípravou umožňuje pouze jednoduchá a krátká měření. Dlouhodobější biologické procesy trvající v řádech hodin a dnů však zůstávají mimo jejich

zobrazovací možnosti.^[14] Nejběžněji využívaným zástupcem tradičních PET radionuklidů je ^{18}F ($t_{1/2} = 110$ min), aplikovaný nejčastěji ve formě 2-deoxy-2- (^{18}F)fluoro-D-glukózy (FDG).^{†[15]} Ta má, stejně jako obyčejná glukóza, výraznou afinitu k nádorovým tkáním, kde je následně fosforylována. Narozdíl od nefluorované glukózy však FDG nemůže být dále metabolizována a dochází tak k její akumulaci v buňkách, což se projeví zvýšením aktivity v nádoru. Částečným nedostatkem FDG je však její vychytávání i v rakovinou nepostižených tkáních se zvýšenou spotřebou glukózy, jako jsou například zánětlivá ložiska, kvůli čemuž se snižuje diagnostická specifita vyšetření využívajících toto radiofarmakum.^[16]

Tabulka 2:
Nejdůležitější radionuklidy pro PET

Nuklid	$t_{1/2}$	Příprava
^{11}C	20 min	$^{14}\text{N}(p,\alpha)^{11}\text{C}$
^{13}N	10 min	$^{16}\text{O}(p,\alpha)^{13}\text{N}$
^{15}O	2 min	$^{14}\text{N}(d,n)^{15}\text{O}$
^{18}F (F)	110 min	$^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$
^{18}F (F ₂)	110 min	$^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$
^{55}Co	17,5 h	$^{54}\text{Fe}(d,n)^{55}\text{Co}$
^{62}Cu	10 min	$^{62}\text{Zn}/^{62}\text{Cu}$ generátor
^{64}Cu	12,7 h	$^{64}\text{Ni}(p,n)^{64}\text{Cu}$
^{66}Ga	9,5 h	$^{63}\text{Cu}(\alpha,n\gamma)^{66}\text{Ga}$
^{68}Ga	1,1 h	$^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generátor
^{82}Rb	1,3 min	$^{82}\text{Sr}/^{82}\text{Rb}$ generátor
^{86}Y	14,7 h	$^{86}\text{Sr}(p,n)^{86}\text{Y}$

Radionuklidy kovů poskytují oproti klasickým radionuklidům pro PET univerzálnější možnosti využití. Jejich poločasy rozpadu se pohybují od 10 min (^{62}Cu) po několik dní (^{67}Ga), což umožňuje zvolit vhodný radionuklid podle potřeb daného radiofarmaka. Jako příklad vhodného použití lze na jedné straně uvést vyšetření perfúze mozku a srdce vyžadující krátce žijící nuklidy a na druhé

[†] FDG byla poprvé připravena v neznámené podobě v roce 1968 na PřF UK prof. Pacákem a prof. Černým.

radiofarmaka s monoklonálními protilátkami vyžadující mnoho hodin k dosažení optimálního vychytání v nádorové tkáni. Důležitými požadavky jsou také cena a dostupnost. Optimálním řešením se ukazují být nuklidy, které lze připravit pomocí generátoru. Dceřiný nuklid lze od mateřského snadno izolovat pomocí iontové výměnné chromatografie nebo extrakcí rozpouštědlem. Za předpokladu cenově dostupné výroby mateřského nuklidu jsou navíc náklady na provoz generátoru velmi nízké.

Cenově porovnatelnou, avšak poněkud problematictější variantou z hlediska dostupnosti pak bývají radionuklidy připravované pomocí jaderného reaktoru. Za ekonomicky velmi nákladnou pak je považována příprava radionuklidů pomocí urychlovačů a cyklotronů, neboť tato zařízení nejsou, narozdíl od reaktorů, schopna produkovat najednou více než jeden druh radionuklidu.^[5,8]

Při volbě vhodného nuklidu pro účely diagnostiky je třeba také často přihlédnout i k požadavkům terapie. Ta v současné době vyžaduje možnost aplikace velmi vysokých aktivit nezbytných pro zničení i radiorezistentních tumorů. Je proto nezbytné co nejpřesněji odhadnout odpovídající dávku β^- emitujícího radiofarmaka dopravenou na místo určení. Řešením se ukazuje být předterapeutické dozimetrické měření za využití jiného, β^+ emitujícího, izotopu téhož prvku, se stejným molekulárním nosičem. Vhodným kandidátem by mohla být například některá z dvojic β^+/β^- emitorů $^{64}\text{Cu}/^{67}\text{Cu}$, $^{86}\text{Y}/^{90}\text{Y}$ nebo $^{124}\text{I}/^{131}\text{I}$. Nevýhodou ^{131}I je však silné doprovodné γ -záření, kvůli kterému je v některých zemích vyžadována během terapie izolace pacienta ve stíněné místnosti. Z tohoto důvodu jsou preferovány spíše nuklidy bez a nebo pouze se slabou γ -emisí.^[16]

1.3. Vlastnosti a příprava radioizotopů mědi

Z prvků s více použitelnými radioizotopy nabízí měď jednu z nejširších nabídek radionuklidů pro účely diagnostiky i terapie. Díky dobře prozkoumané koordinační chemii, biochemii a relativně cenově dostupné přípravě tak představují izotopy mědi jednu z možných budoucích nadějí vývoje radiofarmak.^[17]

Měď je v přírodě zastoupena dvěma stabilními izotopy ^{63}Cu (69,17 %) a ^{65}Cu (30,83 %). Kromě nich bylo připraveno jadernými reakcemi dalších 24 izotopů se známým poločasem rozpadu, z nichž tři jsou metastabilní. Jejich poločasy rozpadu se pohybují mezi 188 ms a 61,83 h. Celkem 16 z nich se rozpadá téměř čistou β^- přeměnou, šest kombinací emise β^+ a záchytu elektronu a dva z nich jiným, nebo kombinací předchozích způsobů.^[18] Po vynechání izotopů s příliš krátkým poločasem rozpadu nebo příliš nákladným způsobem přípravy se pro použití v nukleární medicíně ukazují akceptovatelné izotopy ^{60}Cu , ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , a ^{67}Cu , přičemž jako nejvíce perspektivní se jeví dvojice ^{64}Cu a ^{67}Cu . Podrobný přehled fyzikálních vlastností těchto izotopů je uveden v **Tab 3**.^[14,17]

Tabulka 3: Fyzikální vlastnosti radionuklidů mědi

Radionuklid	$t_{1/2}$	β^- keV (%)	β^+ keV (%)	EC (%)	γ keV (%)	Penetrace (mm)	Způsob přípravy
^{60}Cu	23,4 min	–	2000 (69 %)	7,4 %	511 (186 %)	4,4 (β^+)	cyklotron
			3000 (18 %)		850 (15 %)		
^{61}Cu	3,32 h	–	1220 (60 %)	40 %	284 (12 %)	2,6 (β^+)	cyklotron
			3920 (6 %)		380 (3 %)		
^{62}Cu	9,76 min	–	2910 (97 %)	2 %	511 (194 %)	6,6 (β^+)	generátor, cyklotron
^{64}Cu	12,7 h	573 (39,6 %)	665 (17,4 %)	41 %	511 (34,8 %)	1,4 (β^+)	reaktor, cyklotron
					1350 (0,6 %)	0,95 (β^-)	
^{67}Cu	62,0 h	395 (45 %)	–	–	184 (40 %)	0,61 (β^-)	reaktor, cyklotron
		484 (35 %)					
		577 (50 %)					

Izotop ^{60}Cu

Izotop ^{60}Cu je β^+ -emitor s poločasem rozpadu $t_{1/2} = 23$ min. Lze jej připravit i na malých cyklotronech (11 MeV) jadernými reakcemi $^{60}\text{Ni}(p,n)^{60}\text{Cu}$ a $^{60}\text{Ni}(d,2n)^{60}\text{Cu}$

s využitím obohacených ^{60}Ni -terčů, jejichž výhodou je vzhledem k existenci metody recyklace relativně nízká cena.^[17,19]

Izotop ^{61}Cu

Stejně jako ^{60}Cu je ^{61}Cu β^+ -emitor s poměrně dlouhým poločasem rozpadu ($t_{1/2} = 3,3$ hodiny), díky čemuž je možné případné regionální zásobování zdravotnických zařízení. Vzhledem k poměrně dlouhému poločasu rozpadu je také tento nuklid potenciálně využitelný pro značení složitějších biomolekul.^[20] Při použití nízkoenergetických lékařských cyklotronů lze izotop ^{61}Cu připravit reakcemi $^{61}\text{Ni}(p,n)^{61}\text{Cu}$ nebo $^{61}\text{Ni}(d,2n)^{61}\text{Cu}$ s využitím obohacených ^{61}Ni -terčů.^[21] Alternativou je díky nízké ceně ^{60}Ni -terčů výrazně levnější příprava reakcí $^{60}\text{Ni}(d,n)^{61}\text{Cu}$.^[22]

Izotop ^{62}Cu

I přes svůj krátký poločas rozpadu ($t_{1/2} = 9,76$ min) je tento β^+ -emitor díky existenci generátoru potenciálně dobře využitelný i ve vzdálenějších pracovištích. Při jeho přípravě je využíván mateřský nuklid ^{62}Zn ($t_{1/2} = 9,2$ h), který je schopen zajistit odpovídající zásobování po dobu 3 dní.^[17,23] Nuklid ^{62}Zn je vyráběn pomocí cyklotronu reakcí $^{63}\text{Cu}(p,2n)^{62}\text{Zn}$, využívající vysoké přírodní zastoupení izotopu ^{63}Cu .^[24]

Izotop ^{64}Cu

Tento nuklid je považován díky svému rozpadovému schématu kombinujícím elektronový záchyt (41 %), emisi β^+ (19 %), emisi β^- (40 %) a rozpad s emisí Augerových elektronů za nejvšestrannější radioizotop mědi. Jeho dlouhý poločas rozpadu ($t_{1/2} = 12,7$ h) poskytuje dostatek času i pro radiofarmaka s velmi pomalou farmakokinetikou.^[17]

Při jeho přípravě lze využít buďto přímou aktivaci $^{63}\text{Cu}(n,\gamma)^{64}\text{Cu}$ v jaderném reaktoru^[25] nebo dražší přípravu v cyklotronu reakcí $^{64}\text{Ni}(p,n)^{64}\text{Cu}$ s vyšší specifickou aktivitou.^[21,26] Další alternativní způsoby přípravy jsou ozařování ^{64}Ni nebo ^{64}Zn terčů deuterony: $^{64}\text{Ni}(d,2n)^{64}\text{Cu}$, $^{64}\text{Zn}(d,2p)^{64}\text{Cu}$.^[22,27]

Izotop ^{67}Cu

Radionuklid ^{67}Cu je nejdéle žijícím izotopem mědi ($t_{1/2} = 62$ h). Přeměňuje se β^- rozpadem následovaným některou z následujících cest (Sch. 1):

- (50 %) do excitované hladiny $^{67}\text{Zn}^{2*}$ s energií 185 keV za vyzáření elektronu ($E = 395$ keV)
- (22 %) do excitované hladiny $^{67}\text{Zn}^*$ s energií 93 keV za vyzáření elektronu ($E = 484$ keV)
- (20 %) přímo na ^{67}Zn v základním energetickém stavu za vyzáření elektronu ($E = 577$ keV)
- (1,2 %) do excitované hladiny $^{67}\text{Zn}^{3*}$ s energií 393 keV za vyzáření elektronu ($E = 183$ keV)

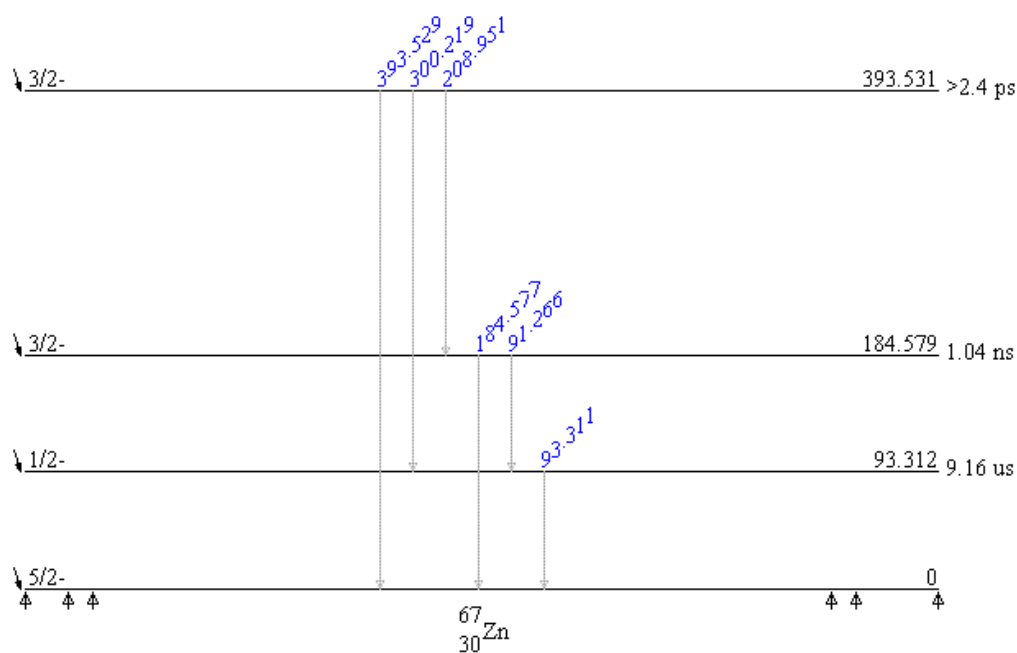


Schéma 1: Energie přechodů excitovaných hladin ^{67}Zn

(Převzato z <http://ie.lbl.gov>)

Excitované atomy zinku následně poskytují při návratu do základního stavu γ -fotony o energiích 91, 93 a 185 keV, které jsou vhodné pro diagnostiku metodou

SPECT. Lze tedy přímo v průběhu terapie sledovat správnou distribuci radiofarmaka.^[17]

Beznosičové ^{67}Cu lze připravit v reaktoru reakcí $^{67}\text{Zn}(n,p)^{67}\text{Cu}$ ozařováním zinkových terčů intenzivním tokem neutronů.^[28] Alternativní příprava reakcí $^{\text{nat.}}\text{Zn}(p,2p)^{67}\text{Cu}$ v cyklotronu ozařováním zinkových terčů protony však v současné době patří vzhledem k omezenému počtu dostupných reaktorů k více preferovaným. Nevýhodou této přípravy je však požadovaná vysoká energie urychlení protonů (>60 MeV), což její využití omezuje pouze na malý počet dostatečně velkých cyklotronů. Metoda se kromě toho také potýká s velkým počtem sekundárních kontaminantů vyžadujících následnou separaci.^[29,30] Její zajímavou modifikací je použití obohacených ^{68}Zn terčů, díky kterým lze dosáhnout přibližně čtyřikrát vyšší specifické aktivity.^[31] K jiným způsobům přípravy ^{67}Cu patří například ozařování přírodního zinku deuterony za současné produkce ^{64}Cu , ^{67}Cu a ^{67}Ga jadernými reakcemi $^{64}\text{Zn}(d,2p)^{64}\text{Cu}$, $^{67}\text{Zn}(d,2p)^{67}\text{Cu}$ a $^{68}\text{Zn}(d,n)^{67}\text{Ga}$ následovanými chemickou separací,^[32] nebo příprava reakcí $^{70}\text{Zn}(p,\alpha)^{67}\text{Cu}$.^[33]

1.4. Chemie mědi

Elementární měď je ušlechtilý ($E_0 = +0,337$ V) červeně zbarvený kov patřící do IB skupiny s elektronovou konfigurací $[Ar]3d^{10}4s^1$. Některé její fyzikální a chemické vlastnosti jsou shrnuty v **Tab. 4**. Měď se ve sloučeninách vyskytuje v oxidačních číslech I, II, III a IV. Je sice známo několik sloučenin mědi s oxidačním číslem 0, jako je například $Cu_2(CO)_6$, jsou však nestabilní i při nízkých teplotách a podléhají snadnému rozkladu.^[34]

Tabulka 4:
Vybrané fyzikální a chemické vlastnosti mědi^[35]

Protonové číslo	29		
Atomová hmotnost	63,546 g·mol ⁻¹		
Hustota	8,96 g·cm ⁻³		
Teplota tání	1084,5 °C		
Teplota varu	2567 °C		
Elektronegativita	1,65		
	Cu⁺	Cu²⁺	Cu³⁺
Iontový poloměr [pm]	96	72	60
Ionizační energie [eV]	7,726	20,292	33,667

Oxidační stav I (d^{10})

Měď v oxidačním stavu I má elektronovou konfiguraci $[Ar]3d^{10}$ a je tudíž diamagnetická. Její sloučeniny jsou s výjimkou zbarvení způsobených ligandy nebo CT pásy zpravidla bezbarvé. Vzhledem k výrazně nižší hydratační energii volných iontů Cu^+ oproti iontům Cu^{2+} (582 vs. 2100 kJ·mol⁻¹) jsou ionty Cu^+ ve vodných roztocích nestálé a disproportionují na Cu a Cu^{2+} . Stabilních roztoků Cu^+ je však možno dosáhnout v acetonitrilu, ve kterém jsou některé halogenidy mědi dobře rozpustné.^[36] Ve vodných roztocích je možné Cu^+ stabilizovat v málo rozpustných sloučeninách nebo za pomoci π -akceptorových či snadno polarizovatelných ligandů jako jsou fosfíny, thioestery, nitrily či kyanidové a jodidové ionty. V komplexních sloučeninách je pro jednomocnou měď typické koordinační číslo 4 s tvorbou tetraedrických komplexů, jako jsou $[Cu(CN)_4]^{3-}$, $[Cu(NH_4)_4]^+$ nebo $[Cu(py)_4]^+$.

Koordinanční čísla 2 a 3 jsou však také běžná. Vzhledem ke zcela zaplněným *d*-orbitalům nejsou komplexy Cu^+ stabilizovány pomocí LFSE a jejich geometrické uspořádání je proto dáno především konformačními a sterickými vlivy. Jejich stabilita bývá v porovnání s komplexy Cu^{2+} obecně výrazně nižší.^[34,37]

Oxidační stav II (d^9)

Vzhledem k vysoké hydratační enthalpii je Cu^{2+} $[\text{Ar}]3d^9$ nejstálejší valenční stav mědi ve vodných roztocích, ve kterých se podle nedávných zjištění vyskytuje ve formě jasně modrého komplexu $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_5]^{2+}$.^[38] Zbarvení komplexů dvojmocné mědi je závislé na síle ligandového pole a pohybuje se od modré k zelené (absorpční maximum leží mezi 11000 a 16000 cm^{-1}). Nejběžnější koordinanční čísla dvojmocné mědi jsou 4, 5 a 6, přičemž komplexy mívají vlivem Jahnova-Tellerova efektu nepravidelná geometrická uspořádání. Cu^{2+} ochotně tvoří komplexy s širokou škálou *N*-donorových ligandů. Od jednovazných, jako jsou amoniak a pyridin, přes bidentátní bipyridin a ethylendiamin, k makrocyclickým, založených na skeletu ftalocyaninu nebo cyklamu. Početná je též skupina komplexů mědi s *O*-donorovými ligandy. Jako příklad lze uvést H_2O , β -diketonáty, karboxyláty nebo deriváty katecholu. Z *O,N*-donorových ligandů pak k významným skupinám látek patří aminokyseliny, peptidy a Schiffovy báze.^[37]

Oxidační stavy III a IV (d^8 , d^7)

Měď v méně běžném oxidačním čísle III tvoří sytě modrý kation Cu^{3+} $[\text{Ar}]3d^8$ (izoelektronový s Ni^{2+}), z důvodu oxidace vody nestálý ve vodných roztocích [$E_0^\circ(\text{CuO}^+/\text{Cu}^{2+}) = +1,8 \text{ V}$]. Redoxní potenciál Cu^{3+} v komplexních sloučeninách však bývá výrazně nižší a pohybuje se v závislosti na typu ligandu mezi +0,45 a +1,02 V.^[36] Cu^{3+} tvoří s výjimkou $\text{K}_3[\text{CuF}_6]$ nízkospinové diamagnetické komplexy, nejčastěji čtvercově planárního uspořádání, jako je například ocelově modrý polymer $\text{K}[\text{CuO}_2]$, nebo hnědooranžový $\text{Na}[\text{Cu}(\text{OH})_4]$.^[34,37,39]

Oxidační stav IV $[\text{Ar}]3d^7$ byl u mědi prokázán na počátku 70. let, kdy byla působením fluoru na $\text{Cs}_2[\text{CuF}_4]$ za vysokého tlaku a teploty získána komplexní sůl

o složení $\text{Cs}_2[\text{CuF}_6]$. Tato sloučenina má sytě červenooranžovou barvu, je paramagnetická (nízkospinová) a prudce reaguje při styku s vodou.^[40]

Biochemie mědi^[41]

Měď je významný biogenní prvek obsažený v mnoha metaloenzimech a poruchy jejího metabolismu mohou vyústit v choroby jako jsou anémie, Menkeho syndrom (porucha transportu mědi z trávicího ústrojí do krve), nebo Wilsonova choroba (hromadění mědi v játrech a mozku z důvodu poruchy jejího vylučování).

Měď je po vstřebání do organismu střevní sliznicí navázána na proteiny albumin a transkuprein a následně krevním řečištěm transportována k uskladnění v hepatocytech jater, odkud je dále distribuována prostřednictvím ceruloplasminu. Měď v organismu slouží především jako kofaktor metaloenzymů, ve kterých funguje většinou jako katalyzátor redoxních procesů, zahrnujících kyslík a jeho radikály. Typickým zástupcem je například cytochrom c oxidáza (EC 1.9.3.1), která katalyzuje v mitochondriích redukci O_2 na H_2O , nebo superoxid dismutáza (EC 1.15.1.1) přeměňující v cytosolu buněk radikál O_2^- na O_2 a H_2O_2 , čímž plní ochranou funkci proti oxidativnímu poškození buňky. Měď je také doposud ne zcela objasněným způsobem svázána s metabolismem železa.

Měďnaté ionty jsou prudce toxické pro většinu nižších organismů. Velká část obratlovců má však vyvinuty mechanismy zamezující vstřebávání a urychlující vylučování mědi v případě jejího nadbytku. V případě chronického vystavení vysokým koncentracím však dochází k cirhóze jater, hemolýze, poškození ledvin a následně i ostatních orgánů.

1.5. Selektivní chelatanty dvojmocné mědi

Před rozvojem zobrazovacích metod sloužily v medicíně chelatanty dvojmocné mědi především při intoxikacích nebo při léčbě poruch metabolismu mědi.^[42] V současné době se těžiště jejich významu přesouvá k roli nosičů radionuklidů pro účely molekulárního zobrazování, což klade specifické nároky na jejich vlastnosti.

Základním požadavkem nukleární medicíny je termodynamická stálost komplexu spojená s maximální selektivitou k mědi při jeho vzniku v kompetici

s ostatními ionty přítomnými v roztoku (Zn^{2+} , Ni^{2+} a Ga^{3+}). Velmi významnou roli hraje v podmínkách *in vivo* i kinetická inertnost vůči dekomplexaci. Ta může probíhat dvěma hlavními mechanismy. Transchelatací, tedy přenosem Cu^{2+} na ligandy přítomné v krevním řečišti a transmetalací, během které je Cu^{2+} nahrazena v komplexu jiným kationtem, nejčastěji Zn^{2+} a Ca^{2+} .

Komplex použitelný jako součást radiofarmaka by měl vzhledem k možné přítomnosti chemicky citlivých cílicích látek vznikat v rozmezí pH 4–9 a za mírných teplotních podmínek (20–37 °C). Měl by také mít z důvodu usnadnění čištění dobře definovanou podobu. Z důvodu použití krátce žijících radionuklidů v mikro až nanomolárních koncentracích je pak nezbytná také jejich rychlá a kvantitativní komplexace v řádu minut.^[43,44,45] Pro komplexy obsahující měď je specifický také požadavek na redoxní stálost, neboť u některých jinak inertních komplexů byla *in vivo* pozorována redukce Cu^{2+} na Cu^+ spojená s dekomplexací.^[46] Závěrečným požadavkem na chelatanty pro účely radiomedicíny je možnost zavedení funkční skupiny umožňující jejich kovalentní spojení s biologicky aktivní molekulou peptidu, proteinu, nebo protilátky. Chelatanty splňující tento požadavek jsou nazývány bifunkční.^[5,44]

Bis(thiosemikarbazony)

Bis(thiosemikarbazony) – BTS – jsou jedna z nejvíce studovaných skupin chelatanů Cu^{2+} , s termodynamicky ($\log K = 17\text{--}18$) i kineticky relativně stálými komplexy. Všechny BTS tvoří s Cu^{2+} komplexy čtvercově-planárního uspořádání se třemi pětičlennými kruhy. Přehled a zkratky nejběžnějších typů BTS jsou uvedeny v Tab. 5.^[47] Jejich redukční potenciál a lipofilita jsou dobře laditelné vhodnou alkylací uhlíkové kostry a koncových aminových funkčních skupin. Tato strukturní variabilita umožňuje optimální design selektivního radiofarmaka pro sorpci v hypoxické tkáni.^[47,48] Přesný mechanismus redukce a studium stability BTS jsou stále předmětem výzkumu.^[49,50] Skupina sloučenin BTS se poprvé stala předmětem vědeckého zájmu již v 60. letech minulého století z důvodu protinádorové aktivity.^[51] V současné době probíhá především snaha o optimalizaci komplexů, např. vůči oxidativní degradaci.^[52] V relativně nedávné době byl učiněn pokus o spojení

BTS s bifunkčními ligandy. Byl připraven hybridní ligand BTS a pyridylhydrazinu kombinující vlastnosti BTS s přítomností pendantní karboxylové skupiny umožňující případnou konjugaci.^[53]

Tabulka 5:
Struktura a zkratky komplexů Cu-BTS

		R ¹	R ²	R ³	R ⁴
(I)	GTS	H	H	H	H
(II)	GTSM	H	H	CH ₃	H
(III)	PTS	CH ₃	H	H	H
(IV)	PTSM	CH ₃	H	CH ₃	H
(V)	PTSM ₂	CH ₃	H	CH ₃	CH ₃
(VI)	PTSE	CH ₃	H	C ₂ H ₅	H
(VII)	PTSP	CH ₃	H	C ₂ H ₅	H
(VIII)	ATS	CH ₃	CH ₃	H	H
(IX)	ATSM	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H
(X)	CTS	C ₂ H ₅	CH ₃	H	H
(XI)	CTSM	C ₂ H ₅	CH ₃	CH ₃	H
(XII)	DTS	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	H	H
(XIII)	DTSM	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	CH ₃	H

Polyaza makrocykly

Díky své vysoké kinetické stabilitě patří polyaza makrocyklické ligandy (Sch. 2) k nejrozšířenějším bifunkčním chelatantům spojujícím radioměď s protilátkami a peptidy.^[54,55] V případě, že je do skeletu cyklu navíc začleněn i „cross-bridge“ můstek (XVII), je výrazně zvýšena *in vivo* odolnost vůči transchelataci.^[56] V minulých letech bylo testováno velké množství derivátů sloučenin (XIV) a (XV), jejichž velikost cyklu se však ukázala nedostatečná. Současným předmětem výzkumu jsou proto především ligandy založené na cyklamovém skeletu (XVI), který bývá funkcionalizován různými pendantními rameny.^[57,58] Jako příklad lze uvést užití methylfosfonátových funkčních skupin napomáhajících zvýšení selektivity komplexace Cu²⁺.^[59]

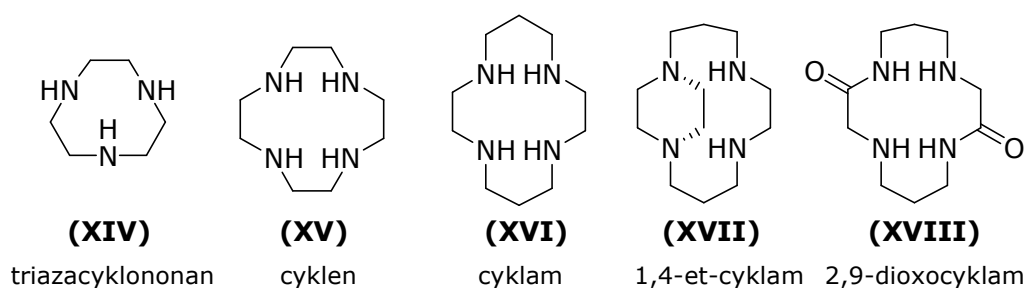
Polyaminokarboxylové makrocykly

Preference častého užití pendantních ramen zakončených karboxylovou skupinou při designu ligandů má několik příčin: snadnost syntézy, kinetická a termodynamická stabilita komplexů, rozpustnost ve vodě a jejich rezistence vůči transmetalaci.^[60,61] Nejpopulárnějším makrocyklem z této skupiny látek je nejspíše H₄dota (XIX), vytvářející s mědí komplex s geometrickou konfigurací *cis*-oktaedru, ve kterém je Cu²⁺ koordinován dvěma atomy dusíku v ekvatoriální rovině a dvěma karboxylovými skupinami koordinovanými kyslíkovými atomy v poloze *cis*. Zbylé dva atomy dusíku jsou v takřka axiální poloze nad a pod rovinou oktaedru. Pozice Cu²⁺ nad ekvatoriální rovinou pak svědčí o tom, že velikost kavity v komplexech založených na skeletu cyklu (XV) je příliš malá pro vznik planární konfigurace. V současné době tedy bývá spíše preferován skelet založený na poněkud větším cyklu (XVI).^[45] Takovýmto zástupcem pak může být například H₄teta (XXI), která vytváří výjimečně stálé komplexy s ionty kovů první přechodné řady. Vzhledem k tomu, že většina iontů však preferuje s makrocyklickými ligandy tvorbu oktaedrických komplexů, má oktadentátní H₄teta více koordinačních míst, než je nutné. Vhodnějším řešením je proto použití disubstituovaných derivátů.^[62,63,64]

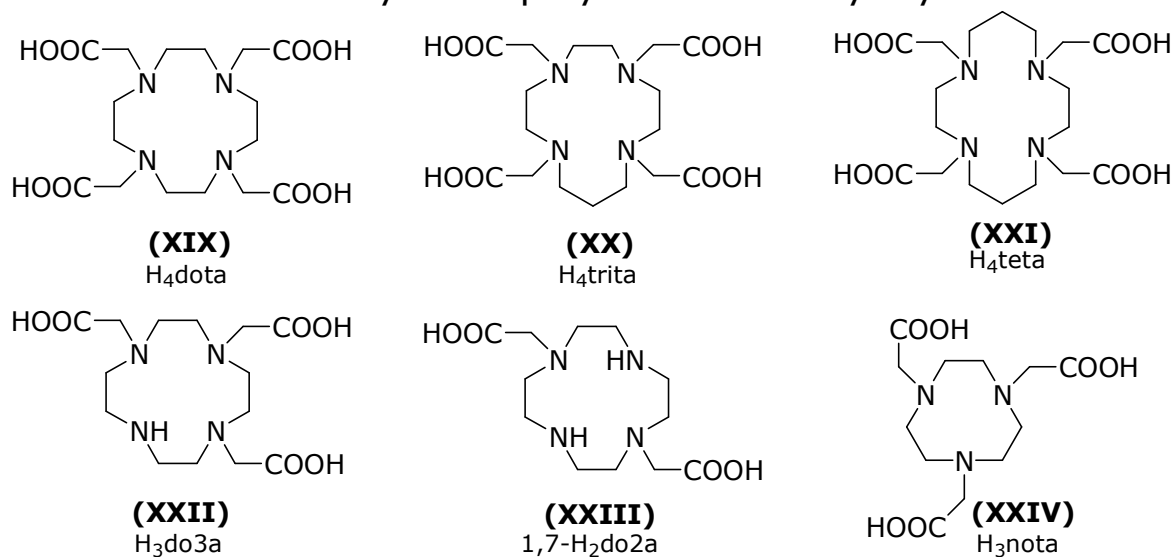
Polyaminofosfonátové makrocykly

Vzhledem k velmi obtížné protonizaci atomu kyslíku na fosfonátové skupině vykazují komplexy z této skupiny ligandů odolnost vůči kysele katalyzované disociaci, díky čemuž dobře odpovídají požadavkům pro použití v zobrazování i terapii.^[65] Komplexy značené ⁶⁴Cu obsahující fosfonátové funkční skupiny vykazují, nejspíše z důvodu vazby methylfosfonátových skupin na hydroxyapatit, vysokou akumulaci v kostech. Tohoto efektu by mohlo být potenciálně využito při designu radiofarmak sloužících k zobrazování kostí.^[66,67] Příkladem polyaminofosfonátového makrocyklu vhodného pro selektivní chelataci Cu²⁺ je ligand 1,8-H₄te2p (XXX), tvořící s mědí termodynamicky velmi stabilní komplex ve dvou izomerních formách, z nichž obě jsou kineticky velmi inertní.^[68]

Makrocyclické polyaminy



Makrocyclické polyaminokarboxyláty



Makrocyclické polyaminofosfonáty

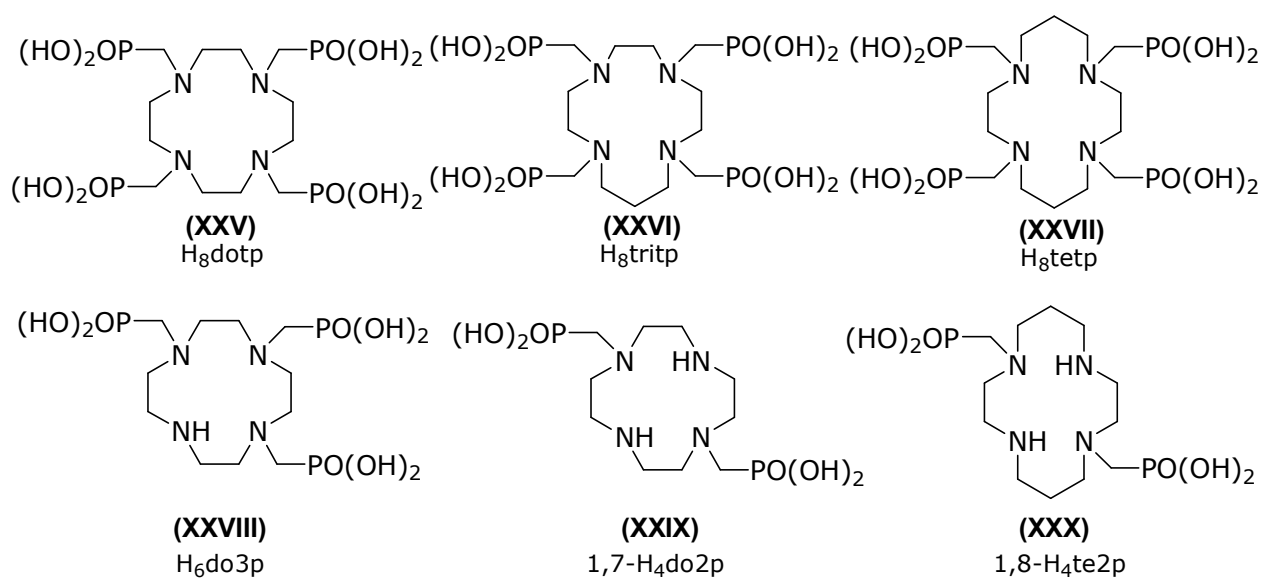
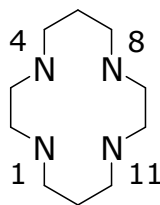


Schéma 2: Vybraní zástupci makrocyclických polyaminů

1.6. Selektivní chránění cyklamového skeletu

Během posledních dvou desetiletí zaznamenal cyklam a jeho deriváty desítky nových uplatnění v základním výzkumu i v aplikacích sahajících od čištění odpadních vod,^[69] přes katalýzu^[70] k inhibitorům HIV^[71] a nosičům radionuklidů.^[5] Stále vzrůstající komplexita syntetizovaných sloučenin znamená velkou výzvu k nalezení vhodných cest k jejich syntéze. Narozdíl od poměrně přímočarých způsobů přípravy zcela substitovaných derivátů jsou možnosti přípravy částečně substituovaných skeletů výrazně náročnější. V současné době bohužel neexistuje univerzální způsob chránění a při výběru vhodné metody je tedy třeba volit mezi jejich možnými výhodami a nevýhodami. Vzhledem k tématu diplomové práce se dále budu zabývat způsoby chránění během přípravy disubstituovaných derivátů. Dostupné metody přípravy derivátů mono a trisubstituovaných jsou popsány například v obsáhlém přehledném článku *F. Denat et al.*^[72]

Číslování atomů dusíku cyklamového skeletu v této práci je provedeno podle konvence naznačené na **Obr. 1**.

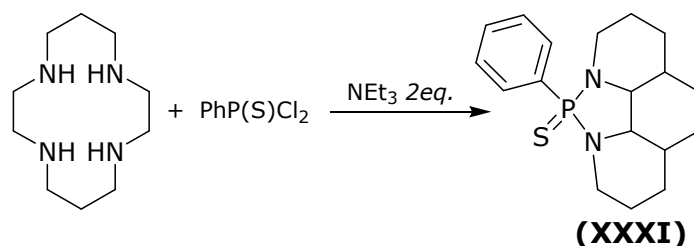


Obrázek 1: Číslování atomů dusíku cyklamového skeletu

Chránění v polohách 1,4

V současné době je znám pouze omezený počet způsobů chránění v poloze 1,4. Syntézy využívající této konfigurace proto patří mezi méně běžné. Jednou z možností je templátová syntéza s Ni^{2+} za použití selektivně substituovaného 5,8-dibenzyl-1,5,8,12-tetraazadodekanu. Výchozí amin je však obtížně dostupný.^[73] Další možností je použití oxalylového chránění. Následné odštěpení chránících skupin však probíhá v refluxujícím koncentrovaném roztoku hydroxidu, což vylučuje možné použití mnoha typů substituentů.^[74] Asi nejlépe přístupnou

možností je pak chránění pomocí dichloridu fenylothiofosfonové kyseliny za vzniku sloučeniny XXXI (Obr. 2).^[62]



Obrázek 2: Chránění v poloze 1,4 pomocí PhP(S)Cl₂

Chránění v polohách 1,8

Příprava 1,8-regioizomerů patří k relativně nejlépe zvládnutým a většina disubstituovaných derivátů je proto dostupná právě s touto izomerií.^[75] Jedna z přístupných cest k přípravě 1,8-substituovaných derivátů vede přes „trans“-dioxo cyklam (XVIII), jehož dva amidové dusíky nejsou prakticky přístupné substituci. Odštěpení chránící skupiny je prováděno jemnou redukcí BH₃·THF, takže je tato metoda použitelná i pro přípravu derivátů s chemicky senzitivními pendantními rameny.^[76] Velmi elegantním způsobem přípravy trans-izomerů se ukázal být také bisaminalový můstek (Sch. 3) vznikající v polohách 1,11 reakcí cyklamu s dichlormethanem za refluxu s NaOH, nebo reakcí cyklamu s vodným roztokem formaldehydu za pokojové teploty.^[77,78] Při následné alkylationi methyljodidem nebo benzylbromidem pak dochází ke vzniku 1,8-bismethyl, resp. 1,8-bisbenzylderivátu s pendanty připojenými ke kvarterním atomům dusíku. Biskvarternizace je totiž ze sterických a nábojových důvodů umožněna pouze do poloh „trans“. Odštěpení chránící skupiny cyklu je následně provedeno v silně kyselém nebo alkalickém prostředí.

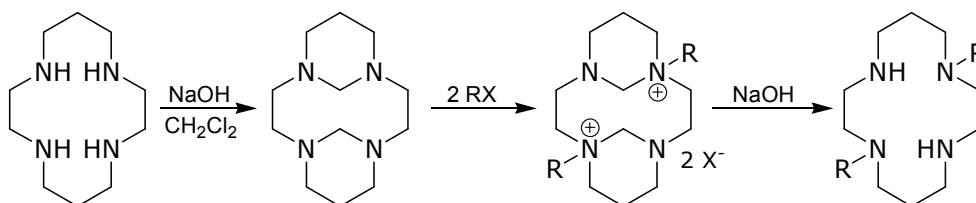


Schéma 3: Chránění skeletu cyklamu pomocí bisaminalového můstku

Obdobou tohoto způsobu chránění je pak využití glyoxalového můstku (Sch. 4). Takto chráněný cyklam je následně benzylován na kvarterních atomech dusíku a chránicí skupina je poté odštěpena v bazickém prostředí.

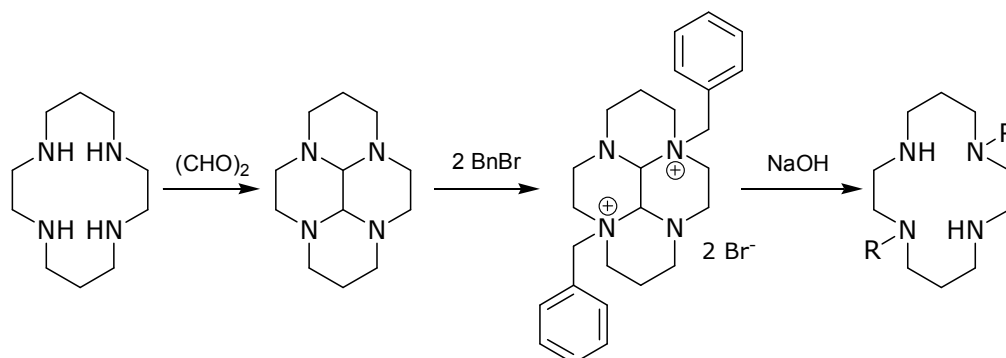


Schéma 4: Chránění skeletu cyklam pomocí glyoxalového můstku

Chránění v polohách 1,11

Chránění cyklam v polohách 1 a 11 lze ze všech tří typů chránění považovat za nejproblematictější, neboť spektrum použitelných chránících skupin je i v současné době stále velmi omezené. Jedním z přístupů k řešení tohoto problému je, obdobně jako při 1,8-chránění, volba vhodně substituovaného *cis*-dioxocyklam, který je následně redukován na cyklam s dvěma substituenty v polohách 1 a 11.^[79] Alternativní možností chránění je zavedení methylenového můstku reakcí cyklam s (*N,N*-diethylamino)tributylstannanem ve vřoucím dichlormethanu (Sch. 5). Následnou reakcí aminalem přemostěného cyklam s nadbytkem Boc_2O lze dosáhnout 1,11 di(Boc) derivátu (XXXIII). Relativně nestálý aminalový můstek pak lze odstranit obdobou Koevenagelovy reakce.^[80] Poslední možností, užitou v této diplomové práci, je využití dimethylacetal (*N,N*-dimethyl)formamidu reagujícího s cyklamem za vzniku velmi stálé formamidiniové soli (XXXV).^[81] Po substituci volných atomů dusíku lze následně formamidiniový můstek odbourat refluxem v 10% vodném roztoku hydroxidu. Alternativní způsob vyvinutý v této diplomové práci pak je několikadenní působení vodného roztoku hydrazinu při mírně zvýšené teplotě.

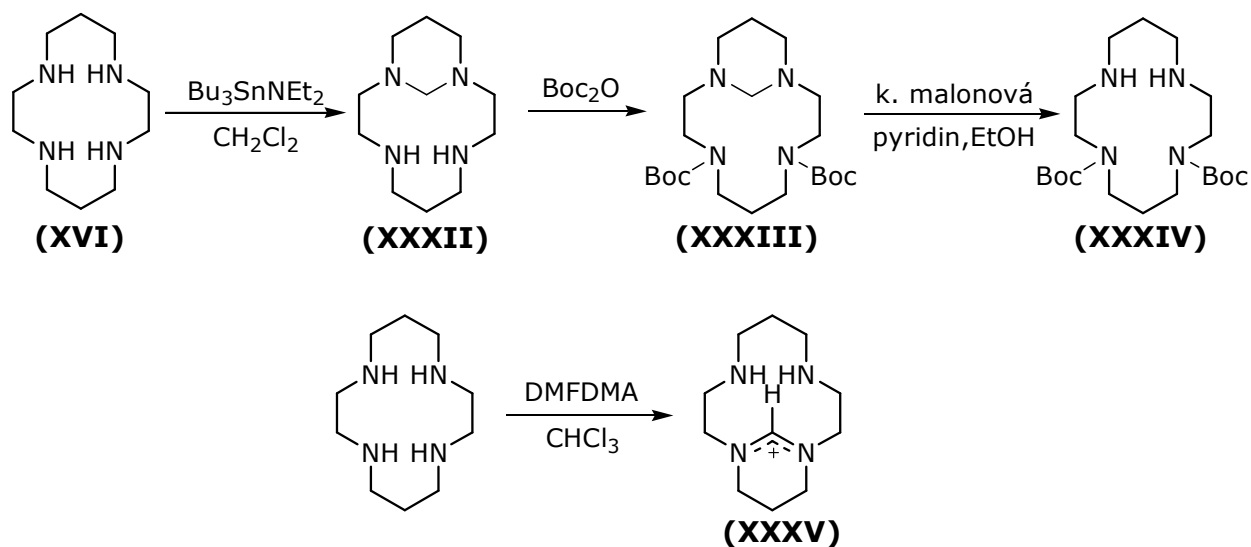
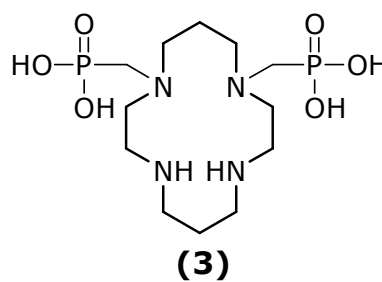
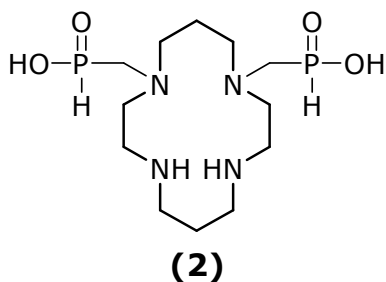


Schéma 5: Příklady chránění cyklamového skeletu v polohách 1,11

1.7. Cíle diplomové práce

Cílem této diplomové práce je:

- Nalézt novou syntetickou cestu k přípravě látky (3)
- Nalézt způsob přípravy látky (2)
- Stanovení protonizačních konstant látky (2)
- Provedení komplexačních a disociačních studií systému Cu^{2+} – látka (2)



2. Experimentální část

Látky označené římskými číslicemi byly připraveny na základě předchozích prací jiných autorů. Jejich charakterizace je tedy pouze orientační a sloužila k potvrzení správného průběhu syntézy. Citace originálních prací obsahující plné charakterizace jsou vždy zmíněny v části diskuze věnované přípravě dané látky.

2.1. Seznam použitých chemikálií

benzylbromid, 96%	Sigma-Aldrich
cyklam (připraven v rámci pokročilého praktika)	PřF UK
dimethylacetal (<i>N,N</i> -dimethyl)formamidu (DMFDMA)	Acros Organics
formaldehyd	Fluka
fluorid boritý, <i>etherát</i>	Loba Feinchemie
hexamethyldisilazan	Fluka
hydrazin, 80% vodný roztok	Riedel-de Häen
hydroxid sodný, čistý	Penta
hydroxid draselný, čistý	Penta
chlorid rtuťnatý	LACHEMA
chloristan sodný	Fluka
jod	LACHEMA
kyselina bromoctová	Merck
kyselina bromovodíková, 48% vodný roztok	Penta
kyselina fosforová (připravena v rámci pokročilého praktika)	PřF UK
kyselina chlorovodíková, 36% vodný roztok	Lach-Ner
kyselina chloristá, 70% vodný roztok	Merck
kyselina jodistá	Loba Feinchemie
kyselina sírová	Lach-Ner

kyslík	Linde
<i>p</i> -formaldehyd (odfiltrován ze starých rozt. formaldehydu).....	PřF UK
síra, <i>prášková</i>	LACHEMA
triethylfosfit, 95%.....	Fluka
uhličitan draselný.....	Lach-Ner
aceton.....	Lach-Ner
acetonitril.....	Lach-Ner
amoniak, 25% <i>vodný roztok</i>	Lach-Ner
diethylether.....	Lach-Ner
ethanol denaturovaný.....	lihovar Kolín
isopropanol.....	Lach-Ner
hexanol.....	Lach-Ner
chloroform.....	Penta
methanol.....	Lach-Ner
pyridin.....	Lach-Ner
toluen	Lach-Ner
voda, <i>deionizovaná</i>	PřF UK
D ₂ O, 99,95 %	Chemotrade
CDCl ₃ , 99,8 %	Sigma-Aldrich
MeOD, 99,8 %	Chemotrade

2.2. Metody charakterizace

Nukleární magnetická rezonance (NMR)

Měření spekter ¹H, ¹³C a ³¹P bylo uskutečněno na přístrojích Varian^{UNITY} INOVA 400 (PřF UK) a VNMRS300 (PřF UK). Rezonanční frekvence a standardy pro referenci jsou uvedeny v **Tab. 6**. Všechny uvedené hodnoty chemických posunů δ jsou v jednotkách ppm, interakční konstanty *J* v Hz. Hodnoty chemických posunů jsou uváděny u ¹H na dvě desetinná místa, posuny signálů ¹³C a ³¹P na jedno desetinné místo.

Tabulka 6:

Měřená jádra, jejich rezonanční frekvence a použité standardy NMR

Měřené jádro	Rezonanční frekvence (MHz)		Standardy
	INOVA 400	NMRS300	
^1H	399,95	299,94	TMS ($\delta = 0,00$), <i>t</i> -BuOH ($\delta = 1,25$)
^{13}C	100,6	75,4	TMS ($\delta = 0,00$); CDCl_3 ($\delta = 77,0$), <i>t</i> -BuOH ($\delta = 30,29$)
^{31}P	161,9	121,4	H_3PO_4 85% <i>aq.</i> ($\delta = 0,00$)

Spektra byla měřena Bc. Jiřím Bártou, Mgr. Tomášem Davidem, RNDr. Janem Plutnarem, Ph.D., Bc. Miroslavem Pniokem, Mgr. Jakubem Šimečkem, nebo Bc. Ondřejem Zemkem. Technické detaily a výsledky měření jsou uvedeny u příslušných látek v syntetické části.

Hmotnostní spektrometrie (MS)

Hmotnostní spektra byla měřena Bc. Miroslavem Pniokem nebo RNDr. Vojtěchem Kubíčkem, Ph.D. na přístroji Bruker ESQUIRE 3000 umožňujícím ionizaci elektrosprejem a vybaveným iontovou pastí. Při měření byla získána spektra kladných i záporných iontů. Uvedeny jsou pouze signály molekulového iontu, které se podařilo interpretovat.

Tenkvrstvá chromatografie (TLC)

K tenkovrstvé chromatografii byly použity destičky typu *Silufol*[®] (*Kavalier*) se sorbentem Silpearl (širokoporézní silikagel) naneseným na hliníkové fólii se škrobem jako pojivem. Příslušné mobilní fáze jsou uvedeny u jednotlivých látek individuálně. Detekce byla prováděna nanesením aerosolu 0,5% ethanického roztoku ninhydrinu nebo ponořením do lázně 1% roztoku síranu měďnatého.

Elementární analýza

Obsah uhlíku, vodíku, dusíku, fosforu a chloru byl stanoven v Ústavu makromolekulární chemie AVČR v Praze na automatickém analyzátoru Perkin Elmer 2400. Obsah kyslíku byl stanoven dopočtením do 100 %. Všechny uvedené hodnoty jsou v hmotnostních procentech.

UV-VIS spektrofotometrie

Kinetické studie byly měřeny na jednopaprskovém „diode-array“ spektrofotometru Hewlett Packard HP 8453A a na dvoupaprskovém spektrofotometru Unicam U2. K měření byla použita termostatovaná křemenná kyveta o šířce 1,000 cm.

Rentgenostrukturní analýza

Měření bylo provedeno RNDr. Ivanou Císařovou, CSc. na difraktometru NONIUS KAPPA CCD se zářením Mo-K α , která též vyřešila strukturu pomocí programu SIR92. Vypřesnění bylo provedeno doc. RNDr. Janem Kotkem, Ph.D. pomocí programu SHELXL97, vizualizace byla provedena v programu PLATON.

2.3. Syntéza výchozích látek a ligandů

V níže uvedeném textu se pod pojmem „odpaření“ rozumí odpaření na rotační vakuové odparce (RVO). Teplota lázně se lišila v závislosti na odpařovaném rozpouštědle. Orientační teploty lázně jsou uvedeny v **Tab. 7**.

Tabulka 7:
Orientační teplota lázně RVO pro různé druhy rozpouštědel

Rozpouštědlo	teplota lázně (°C)
Et ₂ O	40
CHCl ₃	45
H ₂ O	65
Ostatní použitá rozpouštědla	50–55

Pojmem „amoniak (NH₃)“ je v následujícím textu použit jako označení pro jeho 25% vodný roztok. Pojmem „teplota“ je myšlena teplota olejové lázně, ve které byla baňka s reakční směsí ponořena.

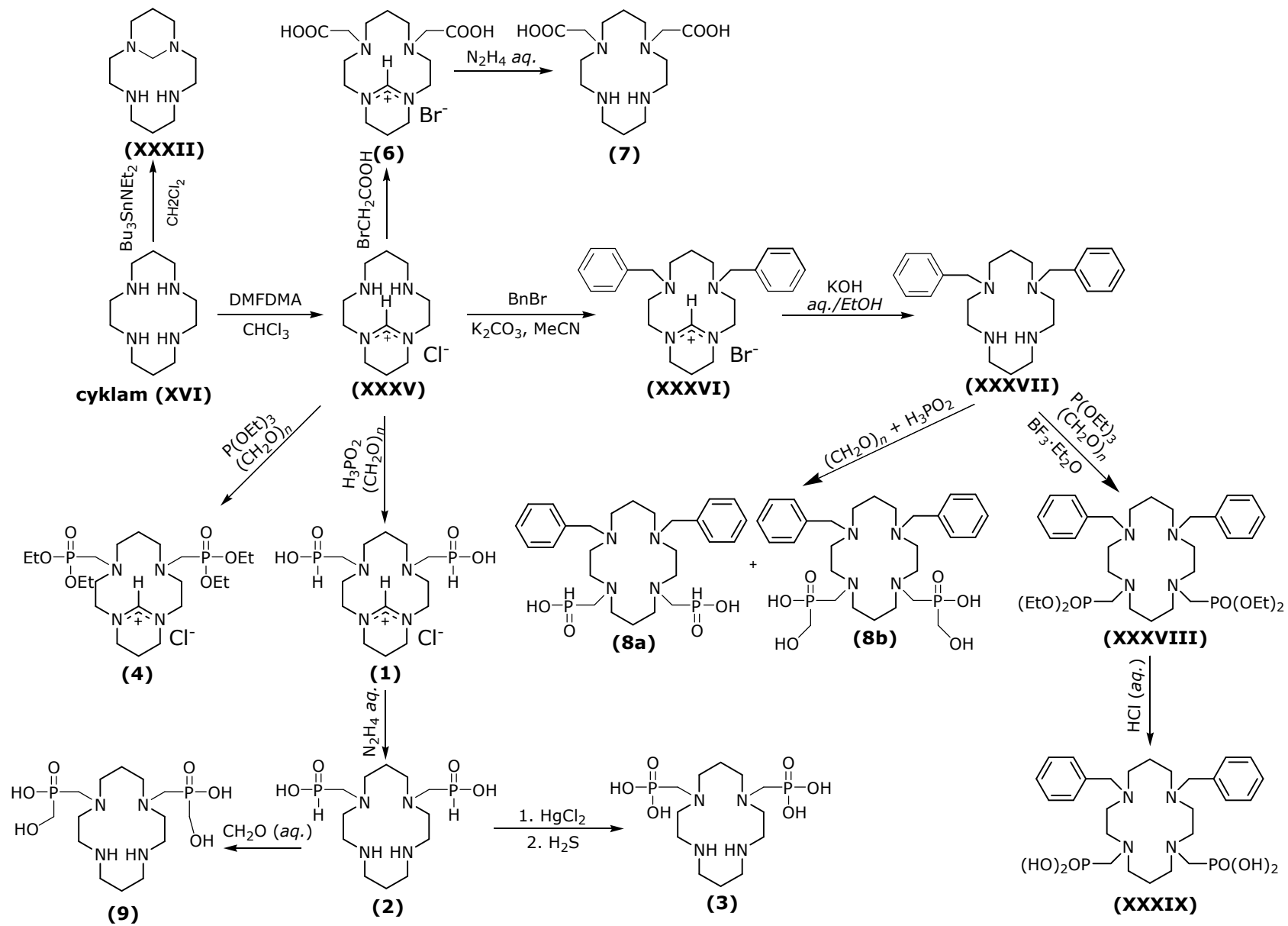
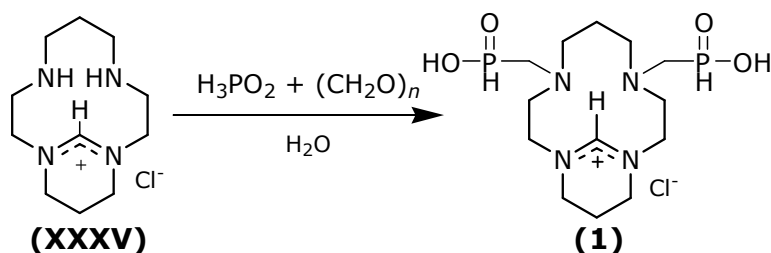


Schéma 6: Přehled připravených látek a jejich číslování

Příprava látky 1



Látka (XXXV) (6,3 g) ve formě hygroskopického tmavě hnědého oleje byla rozpuštěna v 100 ml H₂O ve 250ml baňce. K roztoku byla přidána H₃PO₂ (10 ekv., 24,4 g) a pevný *p*-formaldehyd (10 ekv., 11 g). Směs byla ponechána za stálého míchání reagovat při 30 °C po dobu 5 dní. Průběh reakce byl kontrolován pomocí MS. Nadbytečný *p*-formaldehyd byl poté odfiltrován na fritě S3. Filtrát byl nanesen na kolonu se silným iontoměničem (Dowex 50) v H⁺-cyklu. Po propláchnutí iontoměniče 500 ml H₂O byl produkt eluován 5% amoniakem a odpařen dosucha.

Vzhledem k přítomnosti meziproduktů byl surový produkt dále čištěn chromatografií na koloně SiO₂ (3×20 cm). Jako mobilní fáze byly použity směsi NH₃:EtOH s gradientem (1:20–1:5) a v závěru pak směs IPA 7:3:3. (Žádaná frakce obsahující produkt (1) byla eluována z kolony při poměru 1:5). Obsah frakcí byl analyzován pomocí TLC. Frakce obsahující látku (1) bez příměsí byly spojeny. Produkt byl izolován ve formě hnědého oleje (6,8 g, 62 % t.v.), který byl následně převeden na hydrochlorid rozpuštěním v 20 ml směsi HCl:H₂O (1:1) a odpařením do sucha na RVO. Produkt byl rozpuštěn v malém množství vody a precipitován jako pevný hydrochlorid nadbytkem acetonu. Po odsátí na fritě S3 a propláchnutí 20 ml acetonu a 10 ml Et₂O byl produkt vysušen přes noc v evakuovaném exsikátoru nad KOH. Bylo získáno 6,5 g (přibližný t.v. 45 %) hydrochloridu látky (1) ve formě bílého mikrokrytalického prášku.

Charakterizace:

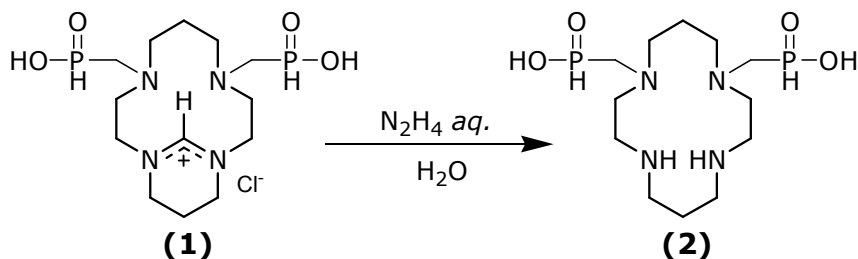
MS: 364,7 ([M-H]⁻)

TLC: Mobilní fáze: IPA 7:3:3, R_f = 0,75

¹H-NMR: (D₂O, ref. = *t*-BuOH = 1,25): 1,85 (CH₂-CH₂-CH₂, 2H, p, ³J_{HH} = 6,4 Hz); 1,95 (CH₂-CH₂-CH₂, 2H, p, ³J_{HH} = 6,9 Hz); 3,03 (CH₂-P, 4H, d, ²J_{HP} = 9,9 Hz); 3,1-3,4 (N-CH₂-CH₂-N, N-CH₂-CH₂-N, 8H, m); 6,97 (P-H, 2H, d, ¹J_{HP} = 554,4 Hz); 8,15 (N=CH-N, 1H, s)

³¹P-NMR: 19,6 (d, ¹J_{PH} = 545,1 Hz)

Příprava látky 2 (dipin)



K hydrochloridu látky (1) (3,0 g) bylo v 50ml baňce přidáno 20 ml hydrazinu (80% vodný roztok) a směs byla ponechána míchat při 30 °C po dobu 2 týdnů. Poté byla směs nanášena na kolonu se silným aniontovým iontoměničem (Amberlite IRA) v OH⁻-cyklu. Po propláchnutí kolony 500 ml H₂O byl produkt eluován vodným roztokem HCl (15%), odpařen dosucha, rozpuštěn v malém množství vody a nanášen na kolonu silného iontoměniče (Dowex 50) v H⁺-cyklu. Po propláchnutí kolony větším množstvím vody byl produkt eluován 5% amoniakem a odpařen dosucha. Získaný olej byl v 500ml baňce rozpuštěn s 300 ml H₂O a za stálého míchání byla směs půl hodiny refluxována s cca 0,5 g aktivního uhlí, přefiltrována před fritu S4 a odpařena do sucha. Přechištěný olej byl rozpuštěn v 20 ml HCl (konc.), odpařen do sucha a poté rozpuštěn v nejmenším možném množství vody. K roztoku byl za stálého míchání postupně přidán velký nadbytek acetonu. Následující den byl vysrážený hydrochlorid látky (2) odsát na fritě S3, promyt 10 ml EtOH a 10 ml Et₂O a ponechán v evakuovaném exsikatoru nad KOH do druhého dne. Získaný lehce nahnědlý mikrokrytalický prášek byl rozpuštěn ve 100ml baňce ve 20 ml H₂O a zahuštěn na RVO do prvních známek krystalizace. Baňka s produktem byla poté přemístěna na chladné místo a ponechána do následujícího dne krystalizovat. Produkt byl poté odsát na fritě S3, promyt 20 ml EtOH a 20 ml Et₂O a následně vysušen přes noc v evakuovaném exsikatoru nad KOH. Bylo

izolováno 1,5 g (cca 50 % t.v.) hydrochloridu látky (2) ve formě bílého mikrokrystallického prášku.

Charakterizace:

MS: 354,7 ($[M-H]^-$)

TLC: mobilní fáze IPA 7:3:3, $R_f = 0,70$

1H -NMR: (D_2O , ref. = t -BuOH = 1,25): 2,18 (P-CH₂-N-CH₂-CH₂-CH₂, 2H, p, $^3J_{HH} = 7,6$ Hz); 2,25 (HN-CH₂-CH₂-CH₂, 2H, p, $^3J_{HH} = 7,8$ Hz); 3,38 (CH₂-P, 4H, d, $^2J_{HP} = 9,6$ Hz); 3,43–3,47 (N-CH₂-CH₂-CH₂-N, 8H, m); 3,63 (HN-CH₂-CH₂-N, 4H, t, $^3J_{HH} = 7,2$ Hz); 3,73 (HN-CH₂-CH₂-N, 4H, t, $^3J_{HH} = 6,9$ Hz); 7,29 (P-H, 2H, d, $^1J_{HP} = 555,9$ Hz)

^{13}C -NMR: 19,0 (HN-CH₂-CH₂-CH₂, 1C, s); 19,2 (P-CH₂-N-CH₂-CH₂-CH₂, 1C, s); 38,2 (HN-CH₂-CH₂-N, 2C, s); 41,4 (HN-CH₂-CH₂-CH₂-NH, 2C, s); 48,1 (HN-CH₂-CH₂-N, 2C, s); 51,3 (P-CH₂-N-CH₂-CH₂-CH₂, 2C, s); 53,5 (P-CH₂-N, 2C, d, $^1J_{CP} = 72,5$)

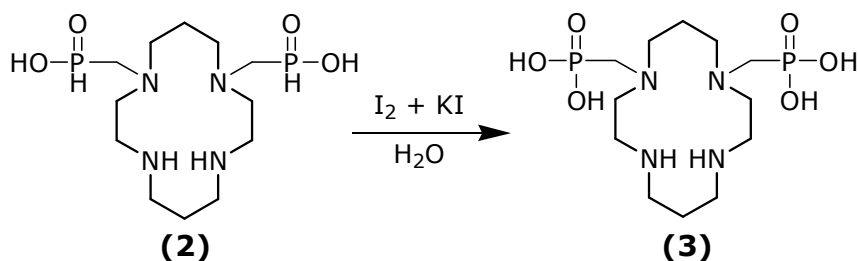
^{31}P -NMR: 13,9 (d, $^1J_{PH} = 555,8$ Hz)

Elementární analýza: nalezeno (vypočteno) pro: (3) · 4 HCl · 0,5 H₂O;

C₁₂H₃₅N₄Cl₄O_{4,5}P₂; C 28,19 (28,44); H 6,90 (6,91); N 10,96 (10,67), Cl 27,74 (27,47), P 12,12 (12,01)

Příprava látky 3

Experiment 1



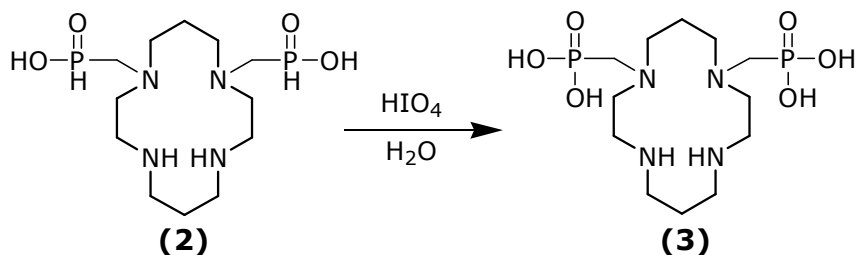
Hydrochlorid látky (2) (50 mg) byl rozpuštěn v 200 μ l H₂O. K roztoku bylo přidáno 2,5 ekv. I₂ (0,1 g) s 2,5 ekv. KI (0,12 g). Částečně heterogenní směs byla hodinu míchána při pokojové teplotě. Poté byl po kapkách přidáván do odbarvení

roztoku 80% roztok hydrazinu. Získaný lehce nažloutlý roztok byl odpařen do sucha a analyzován pomocí NMR.

Charakterizace:

^{31}P -NMR: nepřehledná směs látek

Experiment 2

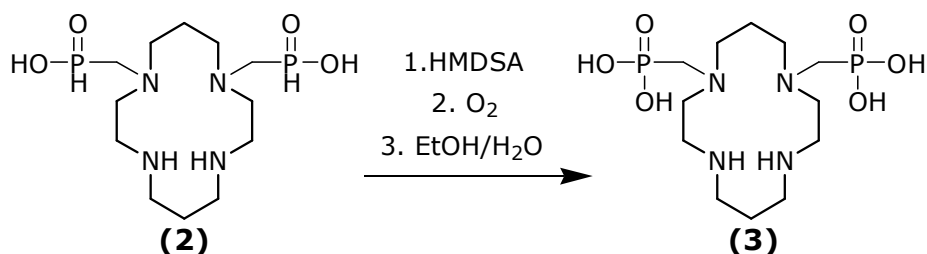


Hydrochlorid látky (2) (50 mg) byl rozpuštěn v 200 μl H_2O . K roztoku bylo přidáno za stálého míchání 2,5 ekv. HIO_4 (0,05 g). Směs se během několika sekund zabarvila intenzivně do hnědožluta. Po několika minutách však postupně došlo k částečnému odbarvení na nažloutlý roztok, který během následující hodiny svoji barvu již neměnil. Ke směsi byl po kapkách přidáván do odbarvení roztoku 80% roztok hydrazinu. Získaný bezbarvý roztok byl odpařen do sucha a analyzován pomocí NMR.

Charakterizace:

^{31}P -NMR: 0,0 (H_3PO_4 , s); 4,7–7,3 (multiplet slabé intenzity)

Experiment 3



Do dvou NMR kyvet bylo naváženo po 50 mg hydrochloridu látky (2) a následně pod proudem argonu do každé přidáno 0,7 ml HMDSA. Zátkou uzavřené směsi byly zahřáty na 100 $^\circ\text{C}$ a za intenzivního míchání byly ponechány 2 dny reagovat do

úplného rozpuštění hydrochloridu. Teplota kyvety č. 1 byla poté nadále udržována na 100 °C, zatímco kyveta č. 2 byla vytažena z lázně a ponechána vychladnout na pokojovou teplotu. Do obou kyvet byl následně zaváděn po dobu 60 minut injekční jehlou kyslík z tlakové lahve, který byl předsušen průtokem přes trubičku s P₄O₁₀. Oba roztoky shodně změnilly barvu na intenzivně žlutou. Od obou roztoků byla změřena NMR spektra. Následně byly obsahy kyvet 1 a 2 hydrolyzovány v 25ml baňkách postupným přidavkem 5 ml EtOH a 5 ml H₂O. Roztoky byly odpařeny do sucha na RVO a analyzovány pomocí NMR.

Charakterizace: (Pro kyvetu udržovanou během oxidace na 100 °C)

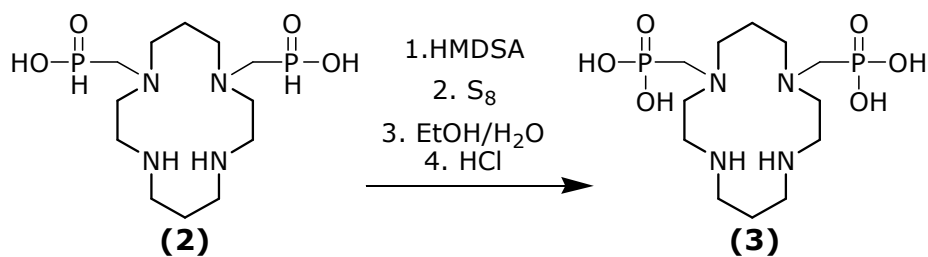
³¹P-NMR:

Před oxidací: 8,2–24,8 [(P=O)(OSi)₃, R-(P=O)(OSi)₂, R-(P=O)H(OSi)], m); 109,0 (P-(OSi)₃, s); 155,0 (R-P-(OSi)₂, s)

Před hydrolyzou: -23,1 ((P=O)(OSi)₃, s); -11,6 (H-(P=O)(OSi)₂, s); 10,8 (R-(P=O)(OSi)₂, s)

Po hydrolyze: 0,0 (H₃PO₄, s)

Experiment 4



K hydrochloridu látky 2 (100 mg) v 20ml baňce byly přidány 3 ml HMDSA pod proudem argonu a zátkou uzavřená směs byla zahřáta na 100 °C a za intenzivního míchání ponechána do druhého dne doreagovat. Ke směsi bylo přidáno 5 ml toluenu a 0,1 g práškové síry. Směs byla za stálého míchání ponechána 2 dny reagovat. Po provedení kontrolní NMR analýzy bylo k medově hnědému roztoku přemístěnému do 100ml baňky přidáno 20 ml H₂O a směs byla 2× odpařena s vodou na RVO. Vyloučená síra byla odfiltrována na fritě S3. K filtrátu bylo v 100ml baňce přidáno 30 ml HCl (konc.) a obsah baňky byl pod zpětným chladičem

refluxován přes noc. Reakční směs byla poté odpařena na RVO a analyzována pomocí NMR.

Charakterizace:

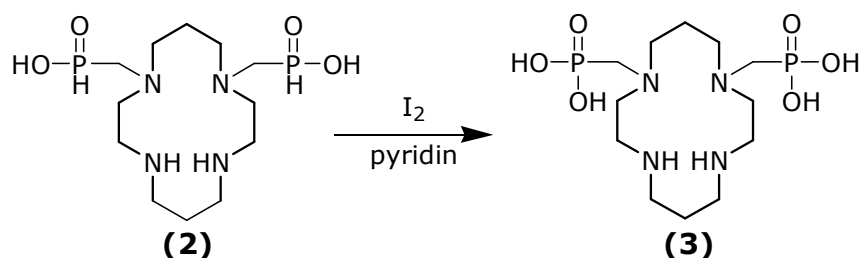
³¹P-NMR: Před oxidací: Stejně jako u experimentu 3

Po oxidaci sírou: -25,3(s); 8,4 (s); 32,2 (s); 70,1 (R-(P=S)(OSi)₂, s)

Po hydrolyze vodou: 0,0 (H₃PO₄, s); 45,7 (R-(P=S)(OH)₂, bs)

Po hydrolyze v HCl: 0,0 (H₃PO₄, s); 7,0–9,9 (m)

Experiment 5

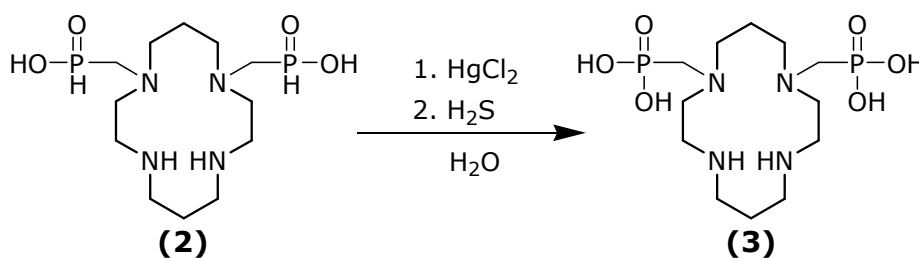


Hydrochlorid látky (2) (100 mg) byl nanesen na kolonu se silným iontoměničem (Dowex 50) v H⁺-cyklu. Kolona byla propláchnuta 300 ml H₂O. Látka (2) ve formě volné báze byla eluována 200 ml 5% vodného roztoku NH₃ a odpařena dosucha na RVO. Poté k ní bylo v 25ml baňce přidáno 5 ml pyridinu. K intenzivně se míchající heterogenní směsi bylo postupně přikapáno 2,5 ekv. I₂ (0,1 g) v 5 ml pyridinu. Směs byla ponechána za stálého míchání 3 dny reagovat. Vzhledem k velmi malé rozpustnosti látky (2) v pyridinu bylo v závěru reakce přidáno 10 ml H₂O a směs byla ponechána přes noc doreagovat. Nadbytečný jod byl následně zredukován přikapáním 80% vodného roztoku hydrazinu. Směs byla odpařena do sucha na RVO a analyzována pomocí NMR.

Charakterizace:

³¹P-NMR: Nepřehledná směs produktů a nezreagované látky (2).

Experiment 6 – Úspěšná příprava látky 3



Hydrochlorid látky (2) (1,0 g) byl v 250ml baňce rozpuštěn v 20 ml H₂O. Po rozpuštění látky (2) bylo do baňky přidáno 5 ekv. HgCl₂ (2,7 g, 0,01 mol) rozpuštěného v 150 ml H₂O a směs byla ponechána míchat 3 dny při teplotě 50 °C za postupné precipitace vyredukovaného Hg₂Cl₂.

Poté byla směs opatrně přefiltrována bez použití vakua přes fritu S4. Zachycená sraženina byla propláchnuta 3 × 10 ml H₂O. Filtrát byl poté zahuštěn na RVO na objem cca 100 ml. Do roztoku produktu se zbytky Hg²⁺ byl poté zaváděn plynný H₂S z Kippova přístroje za postupného vzniku červeného koloidu, přecházející v bílou sraženinu, postupně se zcela přeměňující na sraženinu černou. Po 10 minutách od posledního zjevného přírůstku množství černé sraženiny byla baňka na RVO pod vakuem částečně zbavena rozpuštěného H₂S. Její obsah byl následně převeden na fritu S4 a opatrně, bez použití vakua, zfiltrován. Černá sraženina byla propláchnuta 3 × 10 ml H₂O a poté umístěna do sběrné nádoby na těžké kovy. Produkt byl zahuštěn na RVO na objem 10 ml a přefiltrován pomocí injekční stříkačky přes HPLC mikrofiltr, čímž byl zbaven zbytku koloidních částic a prachu. Roztok byl po přidání 10 ml HCl (konc.) odpařen do prvních známek krystalizace a poté byl vysrážen přidáním nadbytku ethanolu. Získané krystaly hydrochloridu látky (3) byly odsáty na fritě S3, promyty 10 ml EtOH a 10 ml EtO₂ a ponechány v evakuovaném exsikátoru nad KOH do druhého dne. Bylo izolováno 0,7 g látky (3) (přibližně 65 % t.v.) ve formě bílého mikrokrystalického prášku.

Charakterizace:

TLC: mobilní fáze IPA 7:3:3, $R_f = 0,30$

MS: 389,1 ($[M+H]^+$)

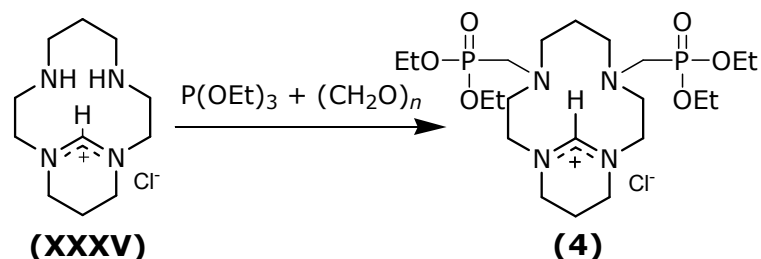
$^1\text{H-NMR}$: (D_2O , ref. = *t*-BuOH = 1,25): 1,95–1,97 (N-CH₂-CH₂-CH₂-N, NH-CH₂-CH₂-CH₂-NH, 4H, m); 3,15 (CH₂-P, d, 4H, $^2J_{\text{HP}} = 12,0$ Hz); 3,20–3,45 (N-CH₂-CH₂-CH₂-N, N-CH₂-CH₂-N, m)

$^{13}\text{C-NMR}$: 21,6 (CH₂-CH₂-CH₂, 2s, 2C); 40,7; 43,9 (CH₂-NH-CH₂, 2s, 4C) 50,3 (P-CH₂-N-CH₂, 2C, d, $^3J_{\text{CP}} = 5,3$ Hz); 53,6 (P-CH₂-N-CH₂, 2C, d, $^3J_{\text{CP}} = 4,9$ Hz); 54,0 (P-CH₂, 2C, d, $^2J_{\text{CP}} = 141,1$ Hz)

$^{31}\text{P-NMR}$: (D_2O): 12,6 (s)

$^{31}\text{P-NMR} \{^1\text{H}\}$: (D_2O): 12,6 (s)

Příprava látky 4



Látka (XXXV) (cca. 1 g) ve formě hnědého hygroskopického oleje byla odpařena s 2 × 25 ml bezvodého EtOH. Poté byl přidán *p*-formaldehyd (3 ekv. 0,43 g) a triethylfosfit (10 ekv. 7,9 g). Směs byla při teplotě 60 °C míchána 2 dny. Nadbytečný *p*-formaldehyd byl poté odfiltrován na fritě S3 a filtrát nanesen na kolonu se silným iontoměničem (Dowex 50) v H⁺-cyklu. Po propláchnutí iontoměniče 500 ml H₂O byl produkt eluován 5% lihovým roztokem amoniaku a odpařen dosucha. Bylo získáno 1,4 g (58 % t.v.) hnědožlutého oleje, který byl ihned použit k pokusu o přípravu látky (5).

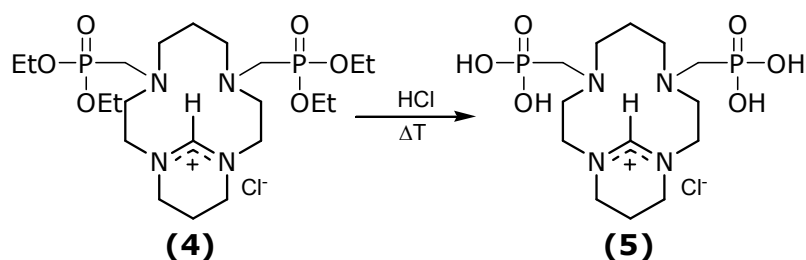
Charakterizace:

MS: 511,1 ($[M+H]^+$)

$^1\text{H-NMR}$: 1,9–2,1 (CH₂-CH₂-CH₂, 4H, m); 2,4–3,8 (ostatní vodíky cyklu, 16H, m); 8,25 (N=CH-N, 1H, s)

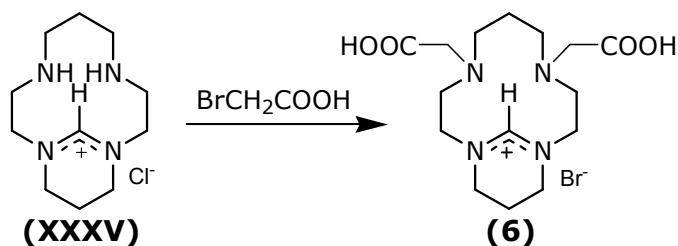
$^{31}\text{P-NMR}$: 30,7 (bs)

Pokus o přípravu látky 5



K látce (4) (1,4 g) bylo ve 100ml baňce přidáno 40 ml HCl (konc.). Směs byla pod zpětným chladičem refluxována do následujícího dne. Po odpaření na RVO byla získána tmavě hnědá hmota nerozpustná v lihu a dobře rozpustná ve vodě, která byla následně na fritě S3 zbavena nerozpustných usazenin a nanesena na kolonu se silným iontoměničem (Dowex 50) v H^+ -cyklu. Po propláchnutí iontoměniče 250 ml H_2O byl produkt eluován 5% amoniakem a odpařen dosucha. Získaný hnědý olej odpovídá dle MS a NMR nepřehledné směsi rozkladných produktů.

Příprava látky 6



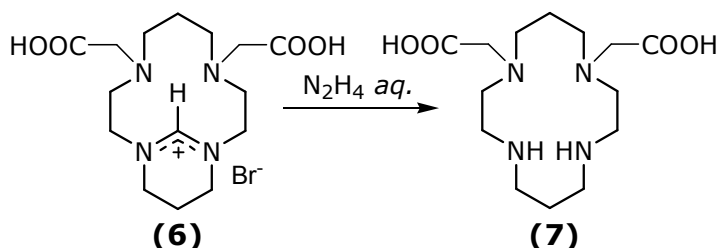
Látka (XXXV) (0,85 g) rozpuštěná v 30 ml H_2O byla smíchána s 2,2 ekv. kyseliny bromoctové (1,38 g). Poté byl za stálého míchání ke směsi pomalu přikapáván 10% vodný roztok NaOH do okamžiku dosažení zásaditého pH (indikováno fenolftaleinem). Směs byla ponechána doreagovat při pokojové teplotě do následujícího dne. Poté byla směs nanesena na kolonu se silným iontoměničem (Dowex 50) v H^+ -cyklu. Po propláchnutí iontoměniče 400 ml H_2O byl produkt eluován 5% amoniakem a odpařen dosucha. Bylo získáno 1,16 g produktu (88 % t.v.) ve formě žlutého oleje, který je dobře rozpustný ve vodě, špatně rozpustný v lihu a v acetonu zcela nerozpustný.

Charakterizace:

MS: 326,9 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)

$^1\text{H-NMR}$: 1,8–2,2 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$, 4H, m); 2,5–3,8 (ostatní vodíky cyklu, 16H, m); 3,93 ($\text{N-CH}_2\text{-COOH}$, 4H, s); 7,92 (N=CH-N , 1H, s) (spektrum neumožňuje přesnou interpretaci z důvodu přítomnosti vedlejších produktů)

Pokus o přípravu látky 7



K látce (6) (500 mg) bylo v 50ml baňce přidáno 25 ml 80% vodného roztoku hydrazinu. Za stálého míchání byla směs jeden týden zahřívána na 40 °C. Poté byla nanesena na silný iontoměnič (Amberlite IRA) v acetátovém cyklu. Kolona byla postupně vymyta 300 ml H_2O , 300 ml AcOH (50%) a 300 ml vodného roztoku HCl (1:1). Frakce byly odpařeny dosucha a analyzovány pomocí MS.

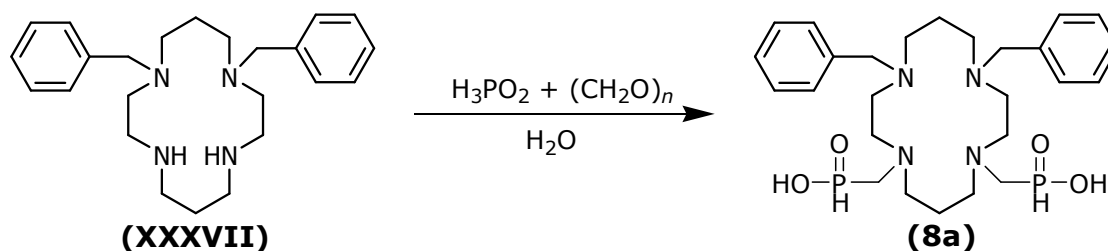
Minoritní acetátová frakce byla také analyzována v kyselém prostředí pomocí NMR. Po přidání 20% roztoku NaOH v D_2O došlo k vysrážení bílých mikrokrytalů nerozpustných ve vodě a špatně rozpustných v methanolu.

Charakterizace:

MS: 316,9 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)

$^1\text{H-NMR}$: : 2,12 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$, 2H, p) 2,13 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$, 2H, p); 2,8–4,0 (nepřehledné množství signálů)

Příprava látky 8a



Hydrochlorid látky (**XXXVII**) (1,0 g, 1,9 mmol) byl ve 100ml baňce rozpuštěn v 20 ml H₂O. K roztoku bylo přidáno 10 ekv. *p*-formaldehydu (0,57 g) a 10 ekv. kyseliny fosforové (1,25 g). Směs byla za stálého míchání ponechána reagovat při teplotě 35 °C po dobu 5 dní. Nadbytečný *p*-formaldehyd byl poté odfiltrován na fritě S3. Filtrát byl nanesen na kolonu se silným iontoměničem (Dowex 50) v H⁺-cyklu. Po propláchnutí iontoměniče 500 ml H₂O byl produkt eluován 5% amoniakem a odpařen dosucha. Bylo izolováno 0,55 g žlutohnědého oleje tvořeného látkou (**8a**) s příměsí látky (**8b**).

Charakterizace:

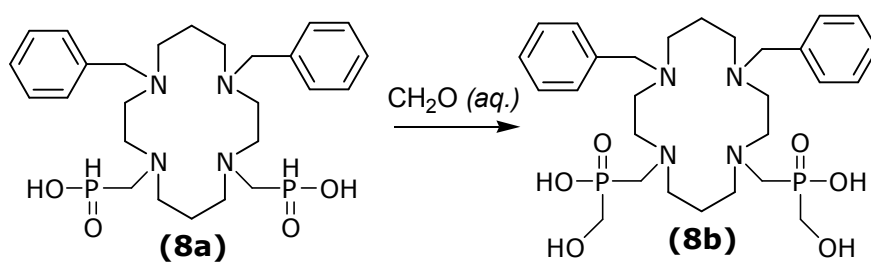
¹H-NMR: (D₂O, ref. = *t*-BuOH = 1,25): 1,8–2,0 (N-CH₂-CH₂-CH₂-N, m, 4H) 2,5–2,9 (vodíky cyklu, m, 16H), 6,93 (P-H, d, 2H, ¹J_{HP} = 519,6 Hz), 3,87 (CH₂-arom., s, 4H); 7,1–7,3 (arom., m, 10H);

³¹H-NMR: 19,16 (d, ¹J_{PH} = 520,0 Hz)

TLC: mobilní fáze NH₃:EtOH (1:20), R_f = 0,3

MS: 535 ([M-H]⁻); 537 ([M+H]⁺)

Příprava látky **8b**



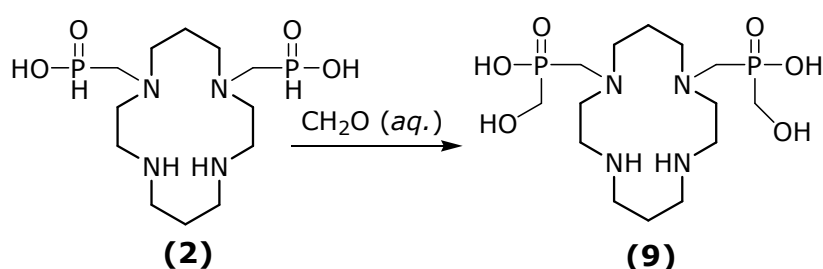
Látka (**8a**) (0,55 g) ve formě žlutého oleje byla v 100ml baňce rozpuštěna v 10 ml H₂O a poté bylo ke směsi přidáno 5 ml roztoku formaldehydu (36%). Směs byla poté za stálého míchání 3 dny zahřívána na 50 °C. Následně byla směs nanesena na kolonu se silným iontoměničem (Dowex 50) v H⁺-cyklu. Po propláchnutí iontoměniče 300 ml H₂O byl produkt eluován 5% amoniakem a odpařen dosucha. Bylo izolováno 0,5 g látky (**8b**) ve formě oleje.

Charakterizace:

$^1\text{H-NMR}$: 1,85–2,2 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$, 4H, m); 2,6–3,4 (vodíky cyklu, 16H, m); 2,95 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-P}$, 4H, d, $^2J_{\text{Hp}} = 7,5$ Hz) 3,66 ($\text{N-CH}_2\text{-P}$, 4H, d, $^2J_{\text{Hp}} = 6,3$ Hz); 4,04 ($\text{CH}_2\text{-arom.}$, 4H, s); 7,4–7,5 (arom., 10H, m)

$^{31}\text{P-NMR}$: 31,6 (s), 34–36 (signál neznámého původu)

MS: 597,2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); 595,2 ($[\text{M}-\text{H}]^-$)

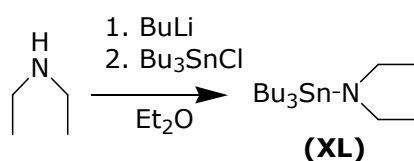
Pokus o přípravu látky 9

Látka (2) (200 mg) byla ve formě světle žlutého oleje v 25ml baňce rozpuštěna v 5 ml H_2O a poté bylo ke směsi přidáno 5 ml roztoku formaldehydu (36%). Směs byla poté za stálého míchání 3 dny zahřívána na 50 °C. Následně byla směs nanesena na kolonu se silným iontoměničem (Dowex 50) v H^+ -cyklu. Po propláchnutí iontoměniče 300 ml H_2O byl produkt eluován 5% amoniakem a odpařen dosucha. Bylo izolováno 120 mg látky (9) ve formě oleje.

Charakterizace:

MS: 417,0 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); 414,9 ($[\text{M}-\text{H}]^-$)

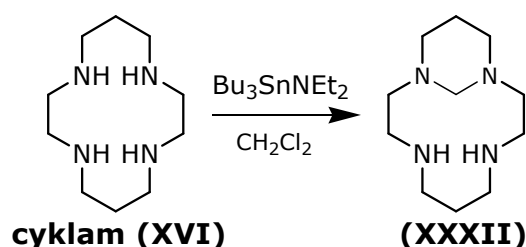
$^{31}\text{P-NMR}$: 27,9 (s), 31,9 (s)

Přísuvná syntéza látky XL

Do vysušené aparatury s argonovou atmosférou bylo přes septum přidáno 10 ml BuLi (2,5 M, 25 mmol) spolu s 10 ml Et_2O . Baňka byla poté ochlazena kapalným

dusíkem na cca. $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Následně byl ke směsi přidán diethylamin (1,75 g, 24 mmol) a obsah baňky byl za stálého míchání ponechán pozvolna ohřát na pokojovou teplotu. Po dvou hodinách byl přidán Bu_3SnCl (7,81 g, 24 mmol) a směs byla ponechána reagovat následující 4 hodiny za občasného doplnění odpařujícího se etheru. Obsah baňky byl poté zfiltrován na fritě S4 pod proudem argonu a zbaven těkavých nečistot jejich odpařením na RVO při teplotě $55\text{ }^{\circ}\text{C}$. Získaný produkt (XL) byl přečištěn destilací pomocí kugellohru a uschován v chladu pro použití při přípravě látky (XXXII).

Příprava látky XXXII

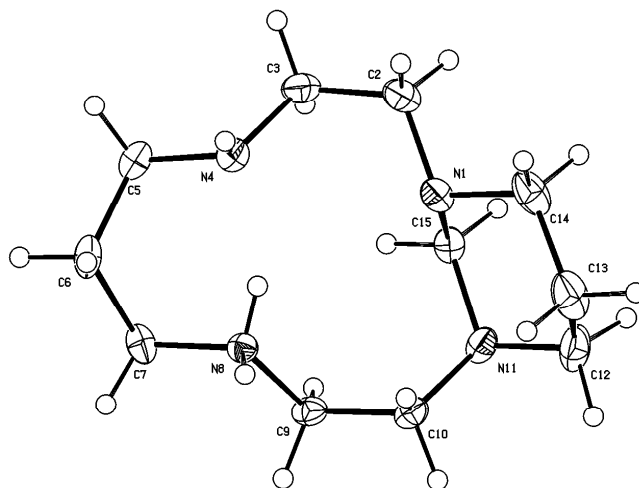


K cyklam (0,5 g) bylo v 50ml baňce přidáno 30 ml CH_2Cl_2 a 1 ekv. $\text{Bu}_3\text{SnNEt}_3$ (0,91 g), směs byla refluxována 7 hodin pod zpětným chladičem. Poté odpařena, rozpuštěna v 30 ml MeCN a přečištěna pětkrát opakovaným vytřepáním 25 ml hexanu. Frakce rozpuštěná v MeCN byla následně odpařena dosucha a analyzována pomocí NMR a MS. Produkt byl izolován ve formě žlutého viskózního oleje o hmotnosti 0,4 g (t.v. cca 70 %). Při rekrystalizaci byl získán monokrystal pro rentgenostrukturální analýzu (Obr. 3).

Charakterizace:

$^1\text{H-NMR}$: Obsahuje velké množství signálů odpovídajících zřejmě několika možným prostorovým uspořádáním molekuly.

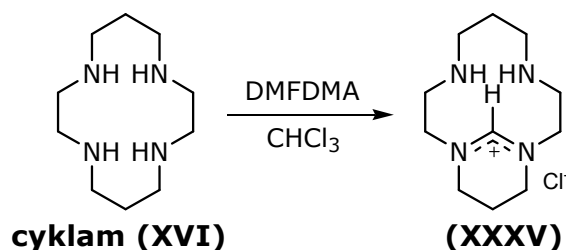
MS: 213,1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), 591–599 ($\text{Bu}_3\text{Sn-O-SnBu}_3$)



Obrázek 3: Molekulární struktura kationtu H(XXXII)^+ ze struktury $\text{H(XXXII)}^+\text{Cl}^- \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$. Teplotní elipsoidy jsou vykresleny s 50% pravděpodobností.

Krystalografická data: $\text{H(XXXII)}^+\text{Cl}^- \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$, $\text{C}_{11}\text{H}_{26}\text{ClN}_4\text{O}_{0,5}$, $M_r = 257,81$, soustava monoklinická, $a = 6,7738(2) \text{ \AA}$, $b = 12,5540(4) \text{ \AA}$, $c = 8,4160(3) \text{ \AA}$, $\alpha = 90,00^\circ$, $\beta = 107,461(2)^\circ$, $\gamma = 90,00^\circ$, $U = 682,71(4) \text{ \AA}^3$, $Z = 2$, prostorová grupa $P 2_1$, $R_1 = 0,0389$, $wR_2 = 0,0984$

Syntéza látky XXXV



K cyklam (5,0 g) byl ve 250ml baňce přidán CHCl_3 (10 ml, suchý) a DMFDMA (1,3 ekv., 4,1 g, 95%). Směs byla pod zpětným chladičem se sušící trubičkou s CaCl_2 za stálého míchání výkonným magnetickým míchadlem na olejové lázni postupně zahřívána. Při teplotě $82 \text{ }^\circ\text{C}$ došlo k roztavení cyklam za vzniku nažloutlé viskózní kapaliny. Teplota lázně byla poté zvýšena na $85 \text{ }^\circ\text{C}$ a směs byla ponechána 4 dny refluxovat. Průběh reakce byl kontrolován pomocí MS.

Po doreagování byla aparatura demontována a baňka byla připojena pomocí redukce k membránové vakuové pumpě a upevněna v lázni vyhřáté na $60 \text{ }^\circ\text{C}$. Za

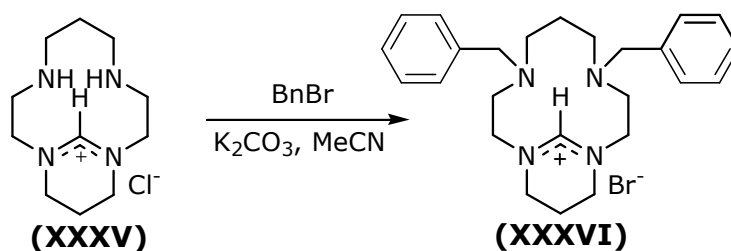
stálého míchání byly opatrně pod vakuem odpařeny zbytky rozpouštědel. Odpařování bylo ukončeno v okamžiku, kdy viskozita produktu již neumožňovala promíchávání ani při zvýšení teploty lázně na 75 °C. Velmi viskózní karamelově hnědá hmota byla rozpuštěna ve MeCN (100 ml, bezvodý), refluxována přes noc a poté přefiltrována přes fritu S3 a odpařena dosucha. Produkt byl izolován ve formě hygroskopického oleje o hmotnosti 4,9 g (95 % t.v.).

Charakterizace:

MS: 211,1 ($[M]^+$)

$^1\text{H-NMR}$: (CD_3OD): 1,8–2,3 (N-CH₂-CH₂-CH₂-N, m, 4H) 3,0–3,8 (vodíky cyklu, m, 16H), 8,45 (N-CH=N, s, 1H)

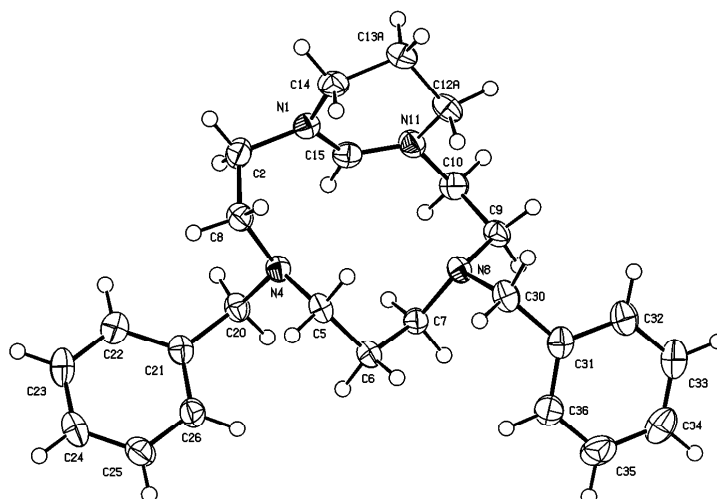
Syntéza látky XXXVI



K látce (XXXV) (4,9 g, 23 mmol) rozpuštěné v 40 ml MeCN byl ve 100ml baňce přidán benzylbromid (8,68 g, 2,2 ekv.). Po promíchání byl přisypán ve velkém nadbytku K_2CO_3 (32 g, 10 ekv.). Směs byla 2 dny míchána za laboratorní teploty. Poté bylo ke směsi přidáno 30 ml EtOH a filtrací přes jemnou fritu byly odstraněny nerozpuštěné zbytky uhličitanu. Směs byla na RVO odpařena do sucha. Produkt (XXXVI) byl izolován jako medově hnědý viskózní olej o hmotnosti 7,3 g (80 % t.v.). Při rekrystalizaci byl získán monokrystal pro rentgenostrukturní analýzu (Obr. 4).

Charakterizace:

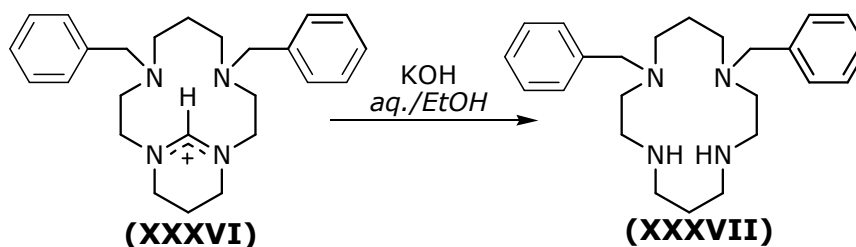
MS: 391,3 ($[M]^+$)



Obrázek 4: Molekulární struktura látky (XXXVI) ze struktury (XXXVI)·HBr·H₂O. Teplotní elipsoidy jsou vykresleny s 50% pravděpodobností.

Krystalografická data: (XXXVI)·HBr·H₂O, C₂₅H₃₇BrN₄O, $M_r = 489,50$, soustava monoklinická, $a = 18,2584(3) \text{ \AA}$, $b = 9,1035(3) \text{ \AA}$, $c = 14,8098(5) \text{ \AA}$, $\alpha = 90,00^\circ$, $\beta = 100,1980(17)^\circ$, $\gamma = 90,00^\circ$, $U = 2422,73(12) \text{ \AA}^3$, $Z = 4$, prostorová grupa P 2₁/c, $R_1 = 0,0377$, $wR_2 = 0,0788$

Syntéza látky XXXVII



K látce XXXVI (7,3 g) rozpuštěné v 50 ml EtOH v 250ml baňce bylo za intenzivního míchání přidáno 60 ml vodného roztoku KOH (5M). Směs byla doplněna malým množstvím vody k zajištění dokonalého spojení obou fází. Poté byla směs za intenzivního míchání jeden den refluxována pod zpětným chladičem. Po ochlazení byla směs částečným odpařením na RVO zbavena většiny EtOH a následně extrahována do CHCl₃ (3×30 ml) a odpařena dosucha. Získaný medově hnědý olej byl přečištěn chromatografií na koloně SiO₂ (3×20 cm). Jako mobilní fáze byla použita směs NH₃:EtOH s gradientem (1:20–1:5). (Produkt byl eluován z kolony při poměru 1:10.) Izolovaný produkt byl rozpuštěním v HCl (konc.) a

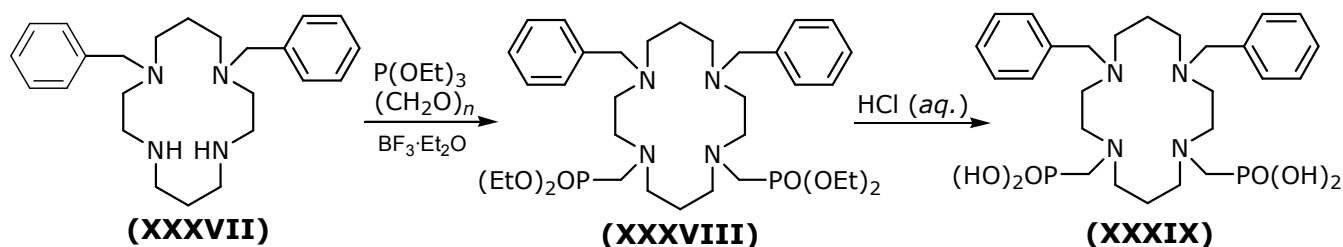
následným odpařením převeden na hydrochlorid, který byl následně rozpuštěn v minimálním možném množství H₂O a pomalu precipitován nadbytkem acetonu ve formě bílé mikrokrystalické sraženiny. Následující den byla jemná sraženina hydrochloridu látky (XXXVII) odsáta na fritě S4 a vysušena v evakuovaném exikátoru nad P₄O₁₀. Bylo získáno 3,7 g (38 % t.v.) hydrochloridu látky (XXXVII).

Charakterizace:

MS: 381,3 ([M+H]⁺)

TLC: mobilní fáze: NH₃:EtOH (1:10), R_f = 0,48

Modifikovaná syntéza látek XXXVIII a XXXIX



Hydrochlorid látky (XXXVII) (2 g) byl převeden rozpuštěním v 50 ml vodného roztoku NaOH (10%) na volnou bázi, která byla následně extrahována CHCl₃ (3 × 20 ml). Po odpaření na RVO bylo získáno 0,69 g látky (XXXVII) (1,8 mmol) ve formě nažloutlého oleje, k níž byly v 25ml baňce přidány 3 ekv. *p*-formaldehydu (0,16 g) a 10 ekv. triethylfosfitu (3,0 g). Za stálého míchání bylo přidáno katalytické množství (0,1 ml) BF₃·Et₂O a směs byla po dobu 5 dní míchána při teplotě 45 °C.

Zreagovaná směs byla rozpuštěna v 10 ml EtOH a po jejím kvantitativním přenesení do 100ml baňky bylo přidáno 40 ml HCl (konc.) a směs byla přes noc refluxována pod zpětným chladičem. Následující den byla směs odpařena dosucha, rozpuštěna v 50 ml HCl (konc.) a znovu refluxována do následujícího dne. Po odpaření na RVO byla směs nanášena na kolonu se silným iontoměničem (Dowex 50) v H⁺-cyklu. Po propláchnutí iontoměniče 400 ml H₂O byl produkt eluován 5% amoniakem a odpařen dosucha. U získaného produktu byla provedena NMR analýza složení. Bylo získáno 1,3 g polosurového produktu ve formě žlutohnědého oleje obsahujícího větší množství vedlejších produktů (viz diskuze).

2.4. Potenciometrické stanovení protonizačních konstant látky 2

Stanovení protonizačních konstant bylo provedeno RNDr. Janou Havlíčkovou. V této diplomové práci je uvedeno z důvodu použití získaných protonizačních konstant při vyhodnocení formační kinetiky měďnatého komplexu látky 2 (dipin).

Potenciometrická měření

Potenciometrické titrace byly prováděny při teplotě $25,0 \pm 0,1$ °C při konstantní iontové síle titrovaného roztoku 0,1M KNO₃ s použitím automatické byrety ABU 900 s výtlačným objemem 2 ml, kombinované elektrody GK 2401 B a pH-metru PHM 240. Rozmezí pH při titracích bylo přibližně 1,8–12,1. Titrace byly prováděny v dusíkové atmosféře nasycené vodními parami vedením přes roztok 0,1M KNO₃. Titrace byly prováděny automatickou byretou řízenou počítačovým programem OPIUM, kterým byly provedeny i následné výpočty a zpracování výsledků.

Do titrační nádoby byl napipetován pomocí byret s mikrometrickým šroubem o objemu 2,5 ml a 1,25 ml roztok kyseliny dusičné (v 0,200M roztoku KNO₃), deionizovaná voda a roztok ligandu tak, aby výsledná koncentrace ligandu byla přibližně přesně 4mM a výsledná iontová síla roztoku byla $I = 0,100$ M.

Ke zjištění disociačních konstant bylo provedeno 5 titrací s přibližně 30 experimentálními body na titraci. Z naměřených dat byly vypočteny disociační konstanty ligandu.

Použité vztahy

Celkové rovnovážné konstanty stability β_{mhl} jsou definovány vztahem (1), kde $[M_mH_hL_l]$ je koncentrace komplexní částice, $[M]$ je koncentrace volného kationtu, $[H]$ je koncentrace H₃O⁺, $[L]$ je koncentrace plně deprotonovaného ligandu a indexy m , h a l jsou stechiometrické koeficienty. Protonizační konstanty lze pak definovat vztahem (2).

$$\beta_{mhl} = \frac{[M_mH_hL_l]}{[M]^m \cdot [H]^h \cdot [L]^l} \quad (1)$$

$$\beta_h = \frac{[H_hL]}{[H]^h \cdot [L]} \quad (2)$$

Ze vztahu (1) a (2) lze pak na základě znalosti vztahů (3) a (4) odvodit, že hodnoty disociačních konstant pK_a lze vypočítat odečtením hodnot $\log \beta_{mhl}$ částic lišících se o jeden proton.

$$\beta_h = K_1 \cdot K_2 \cdot K_3 \cdot \dots \cdot K_h \quad (3)$$

$$\log \beta_h = pK_1 + pK_2 + pK_3 + \dots + pK_h \quad (4)$$

2.5. Studium disociační kinetiky Cu^{2+} komplexu látky 2

Disociační kinetika měďnatého komplexu látky (2) byla měřena v prostředí 0,5 až 5M HClO_4 . Iontová síla roztoku byla dorovnáována 7M NaClO_4 na konstantní hodnotu $I = 5,0$ M. Disociace byla měřena v rozmezí teplot 60–90 °C. Roztok komplexu byl připraven smícháním 1,2 ekv. hydrochloridu látky (2) a 1 ekv. roztoku obsahujícího Cu^{2+} tak, aby koncentrace komplexu v zásobním roztoku po doplnění redestilovanou vodou byla $1 \cdot 10^{-3}$ M. Kyselost roztoku byla následně upravena na pH 6 přídatkem roztoku NaOH.

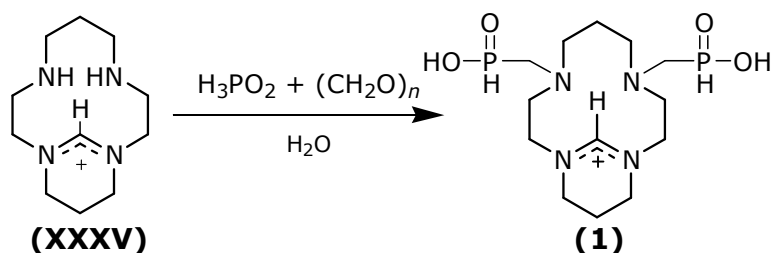
2.6. Studium formační kinetiky Cu^{2+} komplexu látky 2

Byla studována rychlost vzniku měďnatého komplexu látky (2) v závislosti na pH a koncentraci ligandu. Koncentrace ligandu i Cu^{2+} byla $1,25 \cdot 10^{-4}$ M. Hodnoty pH byly ustanovovány v rozmezích pH 1,5 až 3,0 přidáním definovaného množství roztoku HClO_4 . Iontová síla byla upravována 2M roztokem KCl na konstantní hodnotu $I = 0,1$ M. Teplota byla udržována termostatem na hodnotě 25,0 °C.

3. Diskuze

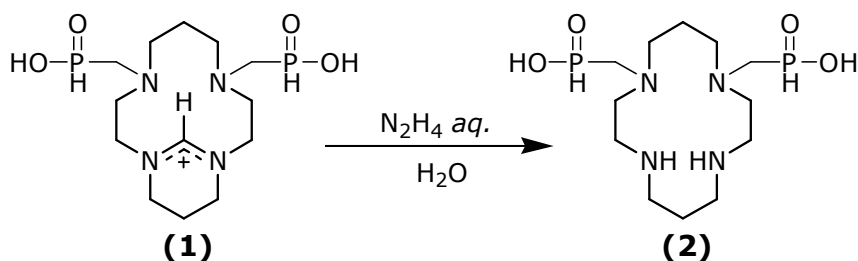
3.1. Diskuze syntézy látek a ligandů

Látka 1



Při přípravě látky (1) je použita Mannichova reakce s kyselinou fosfornou a pevným *p*-formaldehydem ve vodném prostředí. Tato reakce je nejproblematičtější krokem při syntéze 1,11-H₄te2p. Výtěžek reakce a množství vedlejších produktů je velmi závislé na teplotě, při které je reakce prováděna, poměru *p*-formaldehydu a kyseliny fosforené, a zřejmě i době, po kterou reakce probíhá. V případě budoucí přípravy ve větším množství bude nutné nalezení optimálních reakčních podmínek omezující vznik špatně separovatelného vedlejšího produktu, kterým je cyklus s jedním nebo dvěma hydroxymethylfosfinovými pendanty.

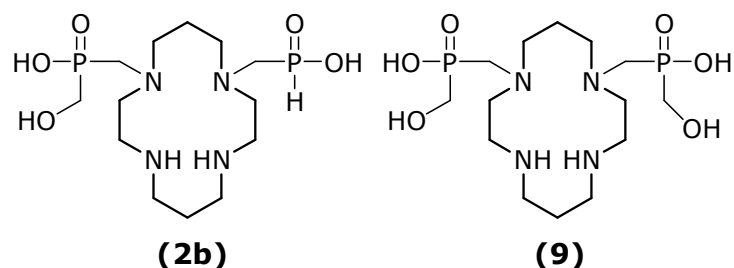
Látka 2 (dipin)



Využití hydrazinu k odbourání formamidiniové chránicí skupiny se ukázalo jako vhodná metoda pro chemicky senzitivní molekuly neumožňující využití koncentrovaných roztoků hydroxidu draselného. Při přípravě látky (2) byla z důvodů

zamezení možného rozkladu při vyšších teplotách volena teplota lázně 30 °C, která je však zřejmě příliš nízká pro dostatečně rychlý průběh odštěpení chránicí skupiny. Úplná konverze reaktantu na produkt proto vyžaduje 2–3 týdny. V případě budoucí přípravy by proto bylo vhodné provedení série experimentů umožňujících nalezení maximální teploty, při které ještě nedochází k nežádoucímu rozkladu. Možnost sledování průběhu reakce je však bohužel ztížena přítomností N_2H_4 , znemožňujícího použití TLC bez předchozích čistících operací.

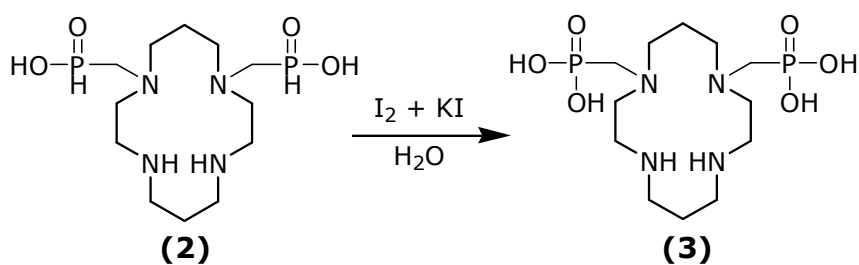
Hlavním problémem při přípravě látky (2) je separace vedlejších produktů (2b) a (9), které jsou jen velmi problematicky oddělitelné. Částečným řešením se ukázala frakční krystalizace hydrochloridu látky (2), která však znatelně snižuje výtěžek syntézy.



Látka 3

Hledání vhodného způsobu oxidace methylfosfinových funkcí na funkce methylfosfonové se ukázalo jako velmi komplikované. V experimentech popsanych níže jsou ve stručnosti popsány detaily a úskalí jednotlivých zkoušených metod přípravy.

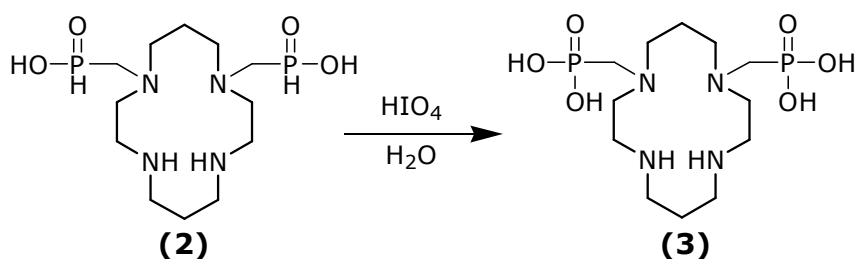
Experiment 1



První volbou činidla pro citlivé oxidace byl trijodidový anion. Technické provedení bylo mírně zkomplikováno špatnou rozpustností směsi jodu a jodidu

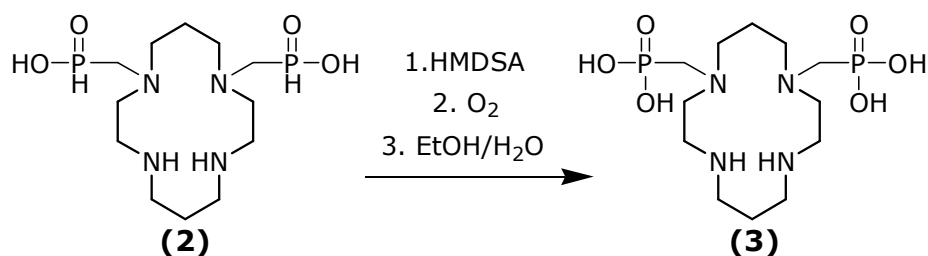
draselného při vyšších koncentracích. Roztok byl do jisté míry v průběhu reakce heterogenní. Průběh reakce byl sledován pomocí ^{31}P -NMR, při kterém mělo při správném průběhu docházet ke snižování intenzity signálu s posunem $\delta = 13,9$ ppm (d) a k nárůstu intenzity signálu s posunem $\delta = 12,6$ ppm (s). Při reálném experimentu bylo však již 30 minut po zahájení oxidace možno pozorovat kromě slabého signálu s posunem $\delta = 12,6$ ppm odpovídajícího nejspíše produktu i majoritní signál s posunem $\delta = 0,0$ ppm odpovídající volné kyselině fosforečné. Ve spektru vzorku odebraného o hodinu později již byl přítomen pouze signál odpovídající kyselině fosforečné.

Experiment 2



V experimentu prováděném současně s experimentem 1 byla pro oxidaci zvolena ve vodě dobře rozpustná kyselina jodistá. Po přikapání roztoku kyseliny k roztoku látky (2) došlo po několika sekundách k zabarvení původně čirého roztoku do intenzivní hnědé barvy. Změnu lze nejspíše přisuzovat vzniku elementárního jodu. Během následujících několika minut však došlo opět k téměř úplnému odbarvení, což lze přisoudit ustanovení rovnováhy mezi jednotlivými oxidačními stavy sloučeniny jodu v roztoku. Vzorek odebraný 30 minut po začátku reakce byl analyzován pomocí ^{31}P -NMR. Spektrum vzorku obsahuje jediný signál s posunem $\delta = 0,00$ ppm odpovídající kyselině fosforečné.

Experiment 3



Způsob přípravy látky (3) v tomto experimentu byl zvolen na základě analogie s metodou popsanou *Berlickim et al.* v článku [82]. Metoda spočívá v reakci fosfinových kyselin s HMDSA a následné oxidaci silylovaného meziprojektu kyslíkem (Sch. 7). Reakce byla prováděna ve dvou NMR kyvetách umožňujících analýzu produktů oxidace vznikajících při laboratorní i zvýšené teplotě.

Rozpustnost hydrochloridu látky (2) je v HMDSA omezená a samotná reakce proto probíhala heterogenně. Látka (2) byla považována za odreagovanou v okamžiku úplného rozpuštění. ^{31}P -NMR analýza potvrdila přítomnost signálu s posunem 155 ppm, který odpovídá přítomnosti trikoordinovaného atomu fosforu ve skupině $\text{R-P}(\text{-O-})_2$.

Kyslík užitý k následné oxidaci byl předsušen pomocí P_4O_{10} k zamezení možné hydrolyzy. Oxidace při různých teplotách ukázala, že vyšší teplota je pro průběh reakce příznivější. Při nižších teplotách probíhá reakce výrazně pomaleji. Při ochlazení také vzniká bílý precipitát, složením nejspíše odpovídající chloridu amonnému, který zamezuje účinnému míchání. Spektrum získané následnou analýzou reakční směsi pomocí ^{31}P -NMR ukázalo kromě signálu s posunem 10,8 ppm odpovídajícího pravděpodobně silylované fosfonové skupině také několik signálů rozkladných produktů. Výsledky ^{31}P -NMR analýzy vzorku připraveného po hydrolyze zoxidovaného meziprojektu nasvědčují celkovému rozkladu pendantních ramen při oxidaci.

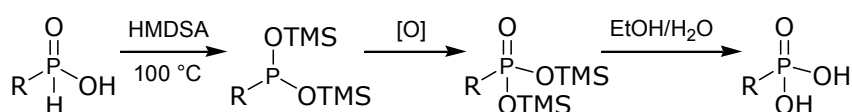
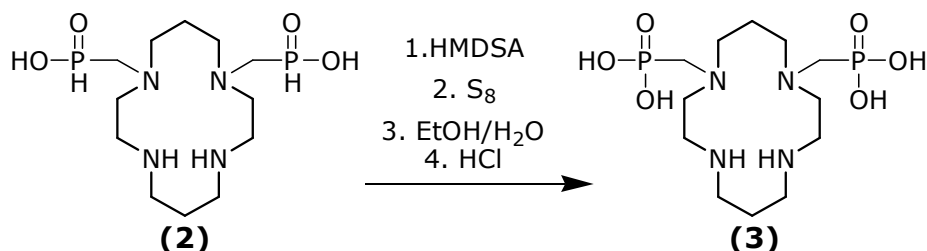


Schéma 7: Oxidace fosfinových kyselin kyslíkem

Experiment 4



Tato reakce je obdobou experimentu 3. Jako oxidační činidlo je však v tomto případě použita elementární síra. Očekávaný průběh reakce je naznačen ve **Sch. 8**. Dle analýzy NMR se produkty jednotlivých mezikroků zdají být mírně stabilnější vůči rozkladu než jejich kyslíková analoga. Očekávaný methylthiofosfonový meziprodukt v kroku tři je například dle ^{31}P -NMR přítomen v přibližně 50% teoretickém výtěžku. Kritickým krokem tohoto experimentu je tak nejspíše závěrečná hydrolyza v kyselině chlorovodíkové, během které dojde k rozkladu pendantních ramen za vzniku kyseliny fosforečné.

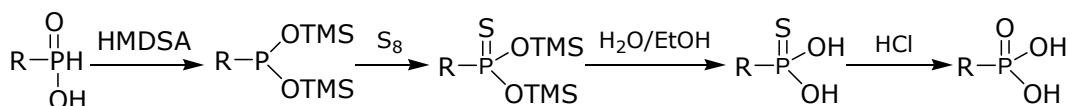
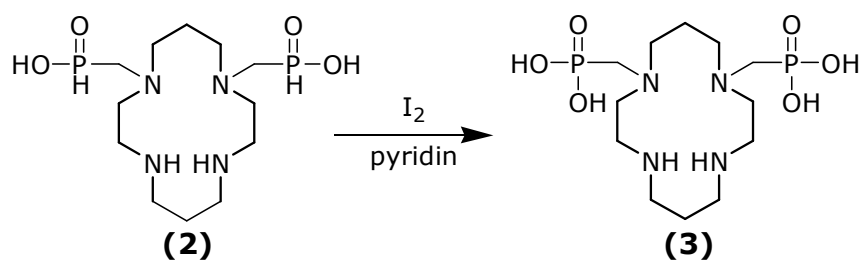


Schéma 8: Oxidace fosfinových kyselin sírou

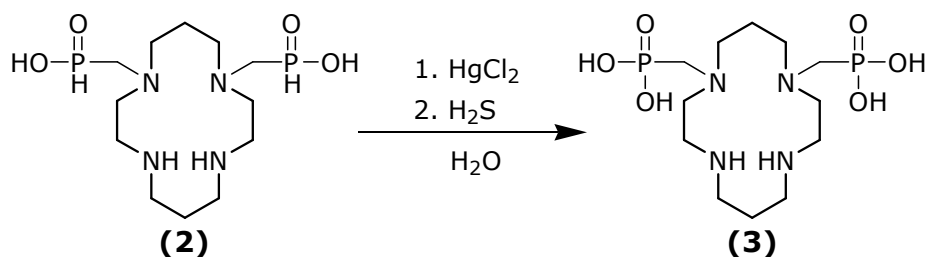
Experiment 5



Cílem tohoto experimentu bylo ověřit možný rozdílný průběh oxidace jodem ve vodném a nevodném prostředí. Oproti vodě v experimentu (1) bylo v tomto

případě zvoleno jako rozpouštědlo pyridin. Z důvodu přechodu do nevodného rozpouštědla byla látka (2) převedena na iontoměnič ze zcela nerozpustného hydrochloridu na poněkud lépe rozpustnou volnou bázi. I přes částečné rozpuštění látky (2) nanesené na stěnách baňky ve formě viskózního filmu její rozpustnost nebyla dostatečná a reakce tak probíhala výrazně heterogenně. Výrazněji rozpustné v pyridinu nebyly ani vznikající produkty, neboť ani po třech dnech od nasazení reakce nedošlo k výraznějšímu úbytku oleje ze stěn baňky. K reakční směsi tedy bylo přidáno malé množství vody, které mělo zvýšit rozpustnost reaktantu i produktů, což se částečně povedlo. Spektrum získané následující den po zpracování reakce analýzou ^{31}P -NMR poskytovalo poměrně nepřehledné množství signálů, z nichž dva majoritní píky odpovídaly dubletu P–H vazby methylfosfinátových skupin výchozí látky.

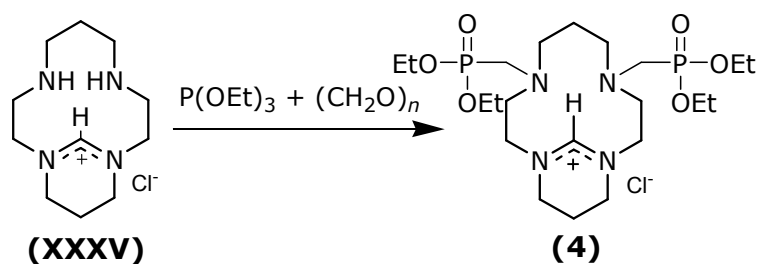
Experiment 6 – úspěšná příprava látky 3



Z důvodu toxicity původně zavrhaná oxidace dvojmocnou rtuťí se ukázala být elegantní metodou pro jemnou oxidaci methylfosfinových skupin na methylfosfonové. Reakce probíhá již při mírně zvýšených teplotách a její průběh lze orientačně sledovat pomocí přibývajícího množství nerozpustné sraženiny Hg_2Cl_2 , kterou lze při zpracování reakce snadno odfiltrovat na jemné fritě. Nadbytek Hg^{2+} je možno z roztoku následně vysrážet ve formě HgS zaváděním plynného sulfanu. Samotné srážení má poměrně komplikovaný průběh. V první fázi dochází ke chvilkovému vytvoření jemného červeného koloidu odpovídajícího zřejmě jemně rozptýlené sraženině HgS , která během dalšího zavádění přejde na dobře sedimentující bílou sraženinu. Složením patrně odpovídající Hg_2Cl_2 , která se během pokračujícího zavádění H_2S postupně zcela přemění na černou sraženinu HgS , kterou je možno opatrně odfiltrovat na fritě S4. (K následnému vyčištění frity se osvědčilo použití kyseliny peroxosírové.)

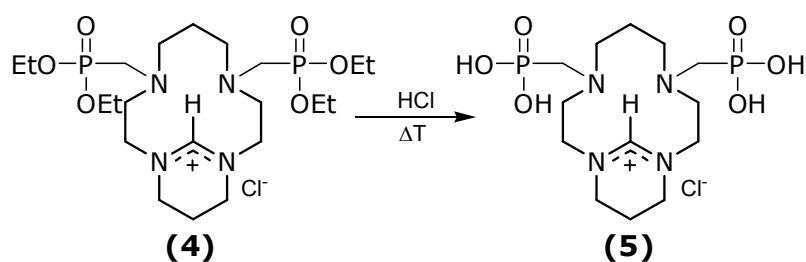
Touto metodou lze získat látku (3) s velkým výtěžkem bez nutnosti dalšího čištění. Vznikající sraženina na sebe také naváže drobné částice nečistot a prachu, díky čemuž sama o sobě plní do jisté míry funkci čistící operace.

Látka 4



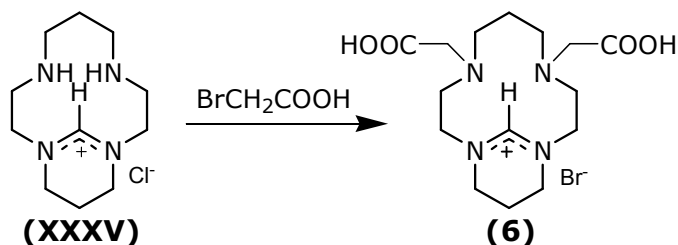
Po objevu šetrného způsobu odštěpení formamidiniového můstku ve vodném roztoku hydrazinu byla navržena alternativní syntézní cesta přípravy 1,11-H₄te2p využívající přímo formamidiniového chránění bez nutnosti přípravy benzylovaných meziproductů. Oproti postupu použitému v bakalářské práci^[83] by se tak počet mezikroků snížil z pěti na tři. Látka (4) měla sloužit společně s látkou (5) jako jeden z mezikroků. NMR analýza nebyla v experimentální části uvedena, neboť při reakci vzniklo větší množství vedlejších produktů, kvůli kterým byla naměřená spektra nepřehledná. Před podrobnější analýzou by bylo nejspíše nutné provést chromatografii na SiO₂ k separování vedlejších produktů, což nebylo pro účely testování následujícího kroku syntézy nezbytné.

Pokus o přípravu látky 5



Stejně jako v předchozích pokusech o deesterifikaci fosfonových skupin kyselou hydrolyzou i v této reakci dochází k výraznému rozkladu produktu za tvorby nepřehledné směsi vedlejších produktů. V případě budoucích experimentů je tedy nezbytné najít alternativní způsob deesterifikace.

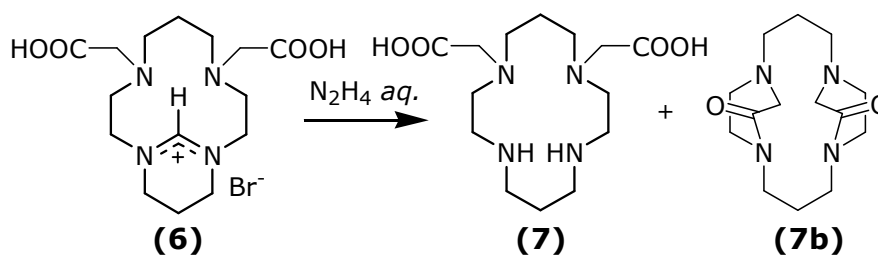
Látka 6



Tento experiment je motivován snahou o přípravu bis-acetátového analogu 1,11-H₄te2p. Příprava látky (6) probíhá bez větších obtíží s dobrým výtěžkem. Při ustanovování bazického prostředí byl jako indikátor použit roztok fenolftaleinu, který se však příliš neosvědčil, neboť docházelo k jeho rozkladu. V případě budoucí

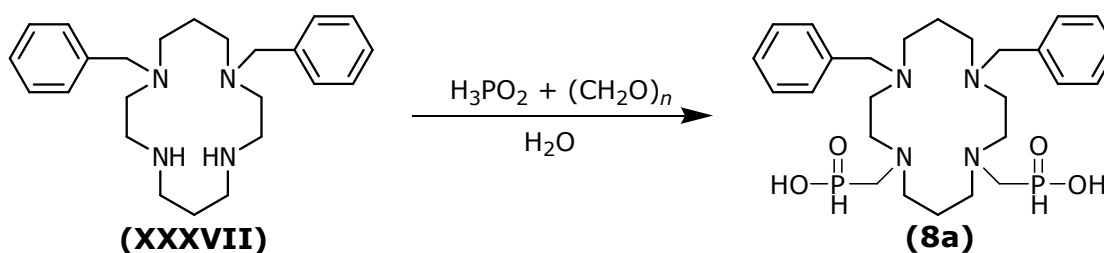
syntézy je proto vhodnější využití elektronického pH-metru. Při analýze produktu pomocí MS byl získán jediný majoritní pík odpovídající produktu. Signály v $^1\text{H-NMR}$ spektru nebylo možné vzhledem k přítomnosti vedlejších produktů zcela přesně interpretovat.

Pokus o přípravu látky 7



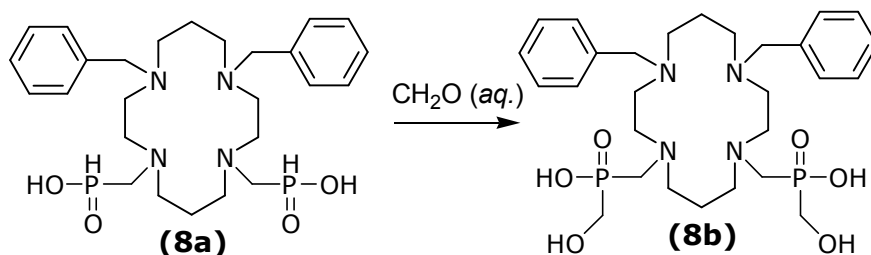
Podobně jako u již dříve připravených regioizomerů te2a byla i u látky (7) předpokládána citlivost vůči tvorbě laktamu (7b) v kyselém prostředí. Separace na aniontovém iontoměničích tedy byla uskutečněna v acetátovém cyklu elucí kyselinou octovou, která je vůči hrozící laktamizaci ohleduplnější, než kyselina chlorovodíková. Analýza acetátové frakce metodou MS prokázala přítomnost signálu 326,9 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), který odpovídá látce (7). Byla též provedena analýza produktu metodou $^1\text{H-NMR}$, která však při neutrálním pH roztoku neumožňovala jednoznačnou interpretaci v důsledku absence jednoznačně přiřaditelných signálů. Při zvýšení pH roztoku přidávkem NaOH došlo k vyloučení bílé sraženiny nerozpustné ve vodě a rozpustné v methanolu, která pravděpodobně odpovídá laktamu (7b). Analýza frakce eluované kyselinou chlorovodíkovou pomocí metody MS prokázala intenzivní signál 326,9 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), který odpovídá laktamu (7b). Syntéza látky (7) je tedy formálně možná, avšak její analýza a případná aplikace je velmi omezena sklonem k tvorbě laktamu s volnými aminovými funkcemi.

Příprava látky 8a



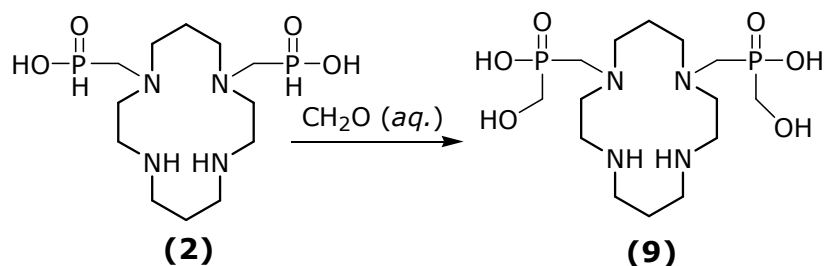
Analýza ^{31}P -NMR prokázala ve výsledné směsi přibližně 10% zastoupení vedlejšího produktu (**8b**). Vzhledem k velmi obtížné oddělitelnosti těchto dvou látek proto byla směs převedena kvantitativně na látku (**8b**).

Látka 8b



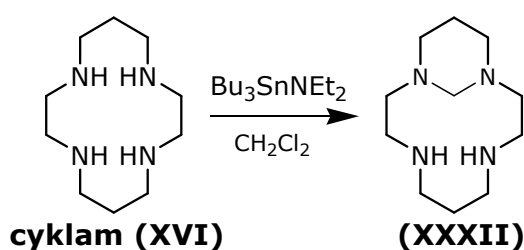
V ^{31}P -NMR spektru látky byly identifikovány dva signály, z nichž jeden odpovídá zřejmě látce (**8b**) a druhý je buďto projevem vlivu vodíkových vazeb, nebo se jedná vedlejší produkt neznámého složení. Přesná identifikace původu druhého signálu nemohla být provedena z časových důvodů. Ostatní analýzy však naznačují, relativně vysokou čistotu izolované látky (**8b**).

Pokus o přípravu látky 9

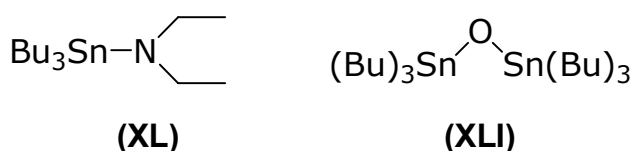


Podobně jako u látky (**8b**) i u látky (**9**) obsahuje ^{31}P -NMR spektru dva signály, z nichž jeden odpovídá očekávanému produktu a původ druhého se nepodařilo zatím objasnit.

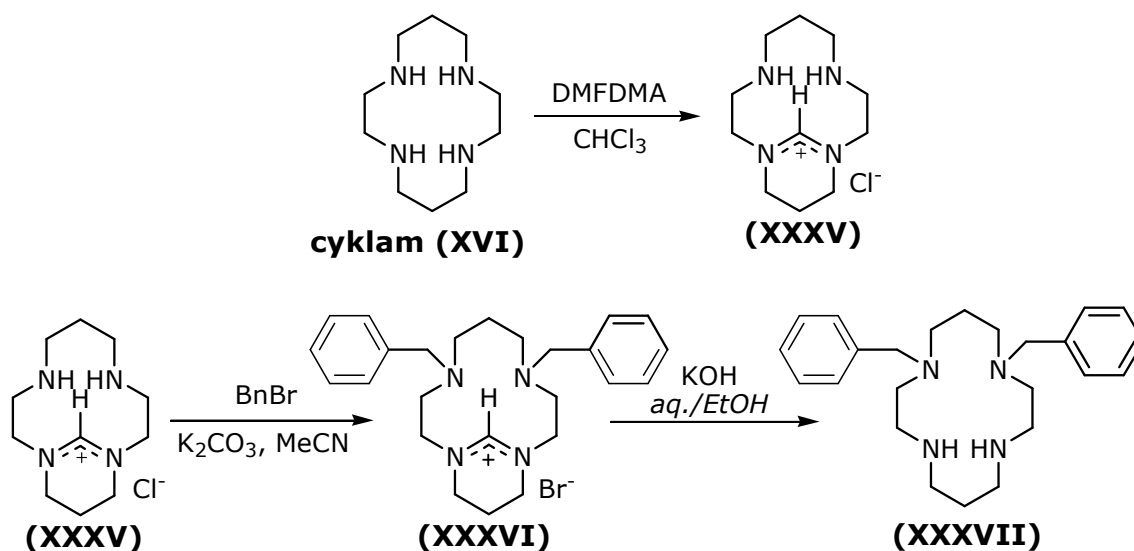
Látka XXXII



Důvodem syntézy látky (XXXII) byla snaha o využití methylenového můstku jakožto potenciální chránicí skupiny pro přípravu 1,11 disubstituovaných derivátů cyklamu. Příprava látky byla uskutečněna podle postupu použitého v článku [80] s dobrým výtěžkem. Získaný produkt byl však znečištěn špatně separovatelnou sloučeninou (XLI) poskytující ve spektrech MS charakteristický multiplet signálů pro $m = 591-599$ odpovídající přírodnímu zastoupení jednotlivých izotopů cínu ve sloučenině. Látka (XLI) vzniká pravděpodobně jako produkt hydrolyzy látky (XL) během extrakce nesusušeným MeCN. V případě budoucí přípravy je tedy vhodné použít všechna rozpouštědla suchá.

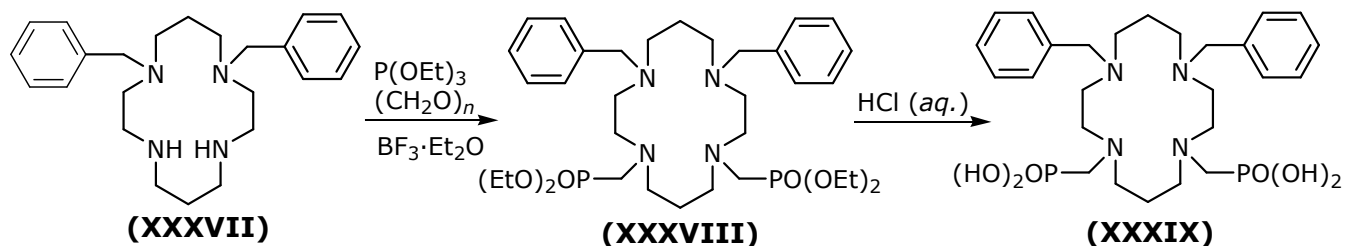


Látky XXXV–XXXVII



Tyto látky byly připraveny podle postupu popsáno v bakalářské práci.^[83] Drobnou modifikací je pouze použití KOH místo NaOH při přípravě látky (XXXVII). Důvodem je lepší rozpustnost KOH v lihu, díky čemuž je možné snáze dosáhnout homogenního průběhu reakce.

Modifikovaná syntéza látek XXXVIII a XXXIX



Látky (XXXV–XXXIX) byly v rámci této diplomové práce připravovány s cílem pokusit se optimalizovat některé problematické kroky syntetické cesty uvedené v předchozí bakalářské práci.^[83] Aplikovaná katalýza $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ umožňuje spolu s mírným zvýšením výtěžku také oproti původnímu postupu snížit teplotu reakce přibližně o 20 °C. Problematický krok hydrolýzy pomocí HCl se však optimalizovat nepodařilo. Pro přípravu látky (3) byla proto zvolena alternativní syntetická cesta popsána v této diplomové práci.

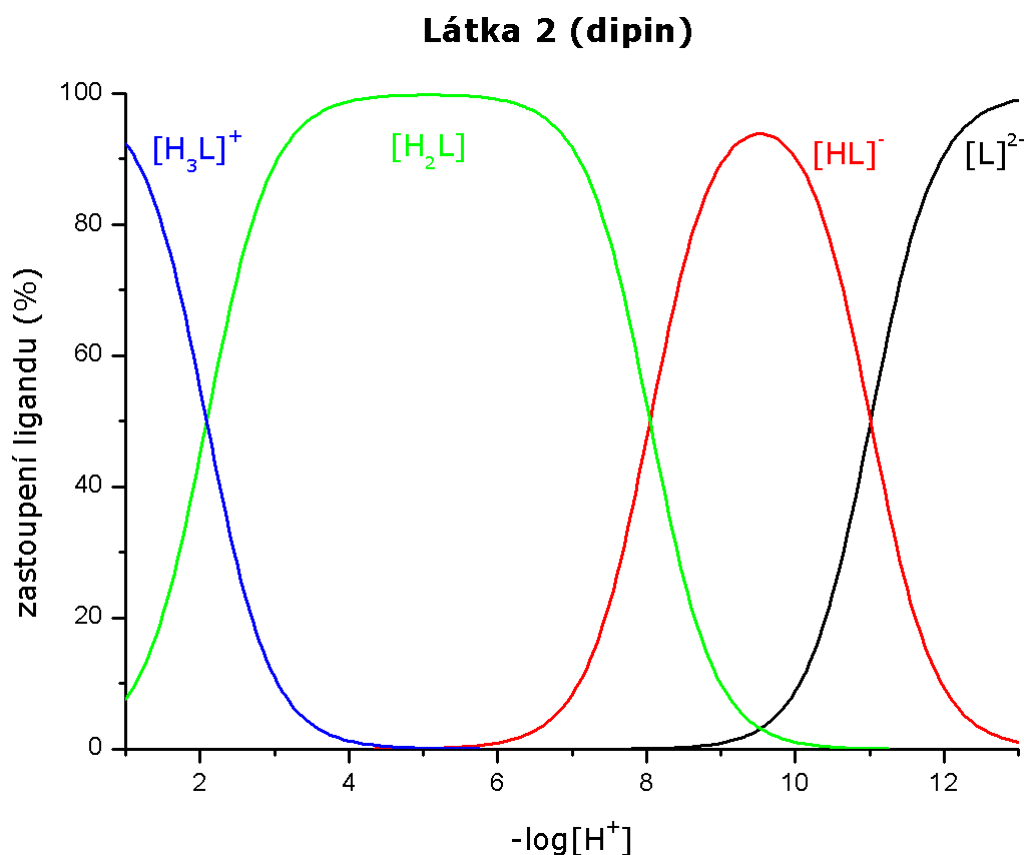
3.2. Potenciometrické stanovení protonizačních konstant

Při protonizaci látky (2) je v závislosti na pH teoreticky možná existence sedmi různých částic. Zcela deprotonovaného ligandu L^{2-} a šesti forem ($[\text{HL}]^-$ až $[\text{H}_6\text{L}]^{4+}$) vznikajících postupnou protonizací dusíkových atomů a pendantních methylfosfinátových skupin. Potenciometricky se podařilo stanovit tři disociační konstanty (Tab. 8), které odpovídají postupné protonizaci aminových skupin cyklu. Hodnoty ostatních $\text{p}K_a$ nebylo možno stanovit z důvodu příliš vysoké kyselosti odpovídajících protonizovaných skupin.

Tabulka 8:
Protonizační konstanty látky 2

Částice	$\log \beta_{\text{mhl}}$	$\text{p}K_a$
HL^-	11,01(1)	11,01
H_2L	19,06(2)	8,05
H_3L^+	21,14(3)	2,08

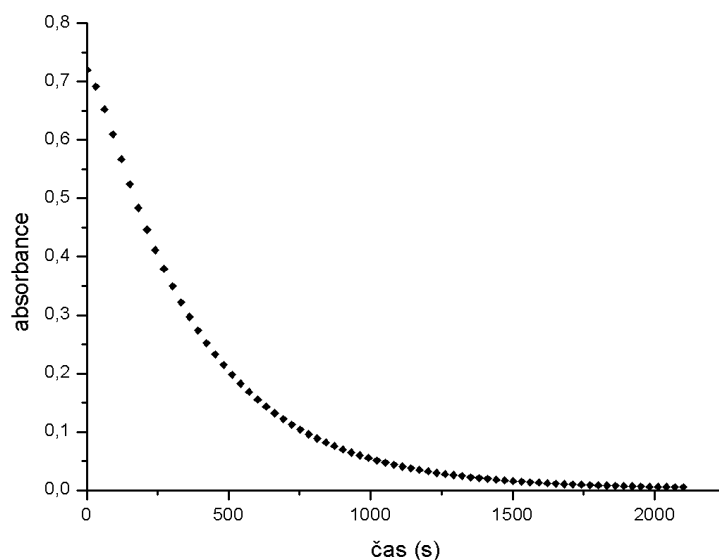
Distribuční diagram (Obr. 5) vyjadřuje zastoupení jednotlivých forem ligandu v závislosti na pH v daném systému.



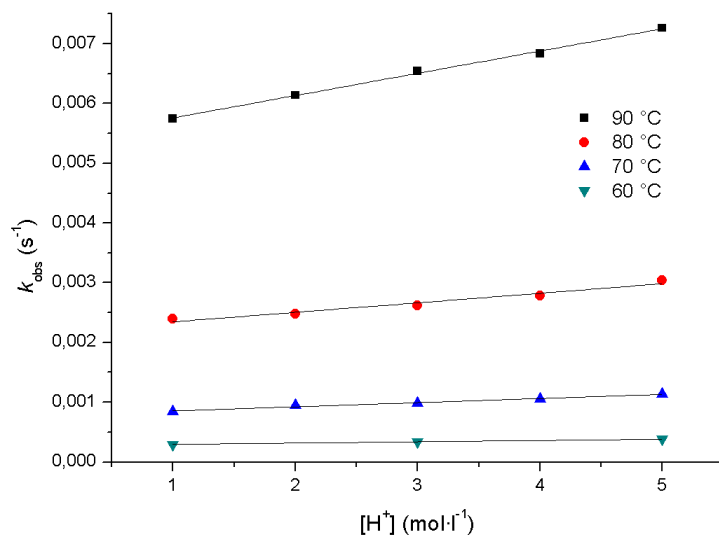
Obrázek 5: Distribuční diagram zastoupení jednotlivých forem látky (2) v závislosti na pH v daném systému.

3.3. Disociační kinetika komplexu Cu(dipin)

Byla proměřena disociační kinetika komplexu Cu(dipin) v závislosti na koncentraci HClO_4 . Za předpokladu celkové disociace kyseliny lze prohlásit $[\text{HClO}_4]$ rovnou $[\text{H}^+]$. Měření změny absorbance v závislosti na čase probíhala při vlnové délce 280 nm. Příklad naměřené závislosti absorbance na čase je uveden na Obr. 6. Získané hodnoty byly proloženy exponenciální funkcí, jejíž exponenciální faktor odpovídá rychlostní konstantě pseudoprvního řádu k_{obs} . Získané hodnoty rychlostních konstant k_{obs} pro jednotlivé koncentrace H^+ a teploty jsou uvedeny v Tab. 9. Závislost naměřené rychlostní konstanty k_{obs} na koncentraci HClO_4 ukazuje Obr. 7.



Obrázek 6: Změna absorbance v závislosti na čase během disociace komplexu Cu(dipin) v 3M HClO₄, $\lambda = 280$ nm, $t = 80$ °C, $I = 5$ M Na(H)ClO₄



Obrázek 7: Lineární závislost k_{obs} na $[\text{H}^+]$ pro teploty 90 °C, 80 °C, 70 °C a 60 °C.

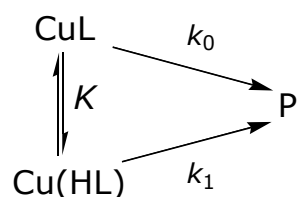
Tabulka 9:

Rychlostní konstanty k_{obs} popisující rozklad komplexu Cu (dipin), $\lambda = 280$ nm

$[\text{H}^+]$ (mol·l ⁻¹)	$k_{\text{obs}} \cdot 10^3$ (s ⁻¹)			
	90 °C	80 °C	70 °C	60 °C
5,0	7,27	3,05	1,14	0,38
4,0	6,84	2,79	1,06	–
3,0	6,54	2,62	0,99	0,34
2,0	6,14	2,48	0,91	–
1,0	5,75	2,40	0,84	0,30

Závislost rychlostní konstanty pseudoprvního řádu k_{obs} na $[\text{H}^+]$ při disociaci komplexů s makrocyclickými ligandy mívá obvykle saturační nebo lineární průběh. Saturační kinetika disociace je charakteristická lineárním růstem při nižších koncentracích H^+ iontů. Při vysokých hodnotách koncentrací H^+ iontů se stává rychlostní konstanta nezávislá na koncentraci, tzn. její směrnice je téměř nulová.

Na základě empirických závislostí rychlostních konstant na $[\text{H}^+]$ byl navržen následující mechanismus dekomplexace:



Rychlost disociace pak lze vyjádřit rovnicí (5), kde člen $[\text{CuL}]_{\text{tot}}$ odpovídající celkové koncentraci komplexu je definován vztahem (6).

$$v = [\text{CuL}]_{\text{tot}} \cdot k_{\text{obs}} = k_1 \cdot [\text{Cu(HL)}] + k_0 \cdot [\text{Cu(L)}] \quad (5)$$

$$[\text{CuL}]_{\text{tot}} = [\text{Cu(L)}] + [\text{Cu(HL)}] = [\text{Cu(L)}] \cdot (1 + K \cdot [\text{H}^+]) \quad (6)$$

Po dosazení vztahu (6) do rovnice (5) a následném vyjádření k_{obs} dostáváme rovnici (7).

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_0 + k_1 \cdot K \cdot [\text{H}^+]}{1 + K \cdot [\text{H}^+]} \quad (7)$$

Vzhledem k velmi nízké bazicitě fosfinových pendantů (typické $\text{pK}_a \ll 1$) lze předpokládat, že člen $K \cdot [\text{H}^+] \ll 1$ a lze ho tedy zanedbat. Rovnici (7) je po této úpravě možno vyjádřit zjednodušeným vztahem (8).

$$k_{\text{obs}} = k_1 \cdot K \cdot [\text{H}^+] + k_0 \quad (8)$$

Za pomoci Arrheniovy rovnice (9), kde k je rychlostní konstanta, A je empirická konstanta, E_A aktivační energie $[\text{J} \cdot \text{mol}^{-1}]$, R univerzální plynová konstanta a T je teplota $[\text{K}]$, získáváme ze závislosti $\ln(k_0)$ na $1/T$ směrnici, která je rovna aktivační energii E_A .

$$\ln k = \ln A - \frac{E_A}{RT} \quad (9)$$

Hodnoty aktivačních parametrů ΔH^\ddagger a ΔS^\ddagger byly vypočteny z Eyringovy rovnice (10), kde k je rychlostní konstanta, k_b je Boltzmannova konstanta, h je Planckova

konstanta, ΔH^\ddagger je změna aktivační enthalpie [$\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$] a ΔS^\ddagger je změna aktivační entropie [$\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$]. Aktivační parametry byly získány vynesemím přirozeného logaritmu podílu rychlostní konstanty a teploty $\ln(k/T)$ jako funkce reciproké hodnoty T ; tj. $\ln(k/T) = f(1/T)$.

$$\ln \frac{k}{T} = -\frac{\Delta H^\ddagger}{R} \cdot \frac{1}{T} + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} + \ln \frac{k_b}{h} \quad (10)$$

Z porovnání získaných aktivačních parametrů s parametry pro komplexy $\text{Cu}(1,4\text{-H}_2\text{te}_2\text{p})^{[84]}$ a $\text{Cu}(1,8\text{-H}_2\text{te}_2\text{p})^{[85]}$ (Tab. 10), lze říci, že reakční mechanismus disociace komplexu $\text{Cu}(\text{dipin})$ bude obdobný jako u těchto komplexů.

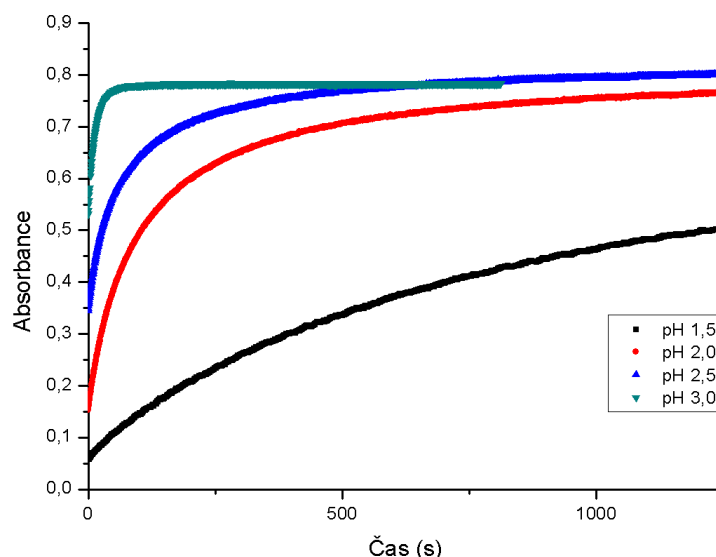
Tabulka 10:

Porovnání aktivačních parametrů komplexu $\text{Cu}(\text{dipin})$ s jinými komplexy

Komplex	Aktivační parametry		
	ΔH^\ddagger [$\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$]	ΔS^\ddagger [$\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$]	E_A [$\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$]
Cu(dipin)	97,5(13)	-21,5(4)	100,4(1)
<i>trans</i> -Cu(1,4-H ₂ te ₂ p)	93,6(9)	-42(2)	96,6(9)
<i>trans</i> -Cu(1,8-H ₂ te ₂ p)	95(7)	-68(23)	98(7)

3.4. Formační kinetika komplexu $\text{Cu}(\text{dipin})$

Formační kinetika komplexu $\text{Cu}(\text{dipin})$ byla měřena v rozmezí pH 1,5–3,0 (Obr. 8). Vzhledem vysoké rychlosti komplexace byla experimentální data naměřená při pH 3 vynechána ze zpracování z důvodu příliš vysoké experimentální chyby.



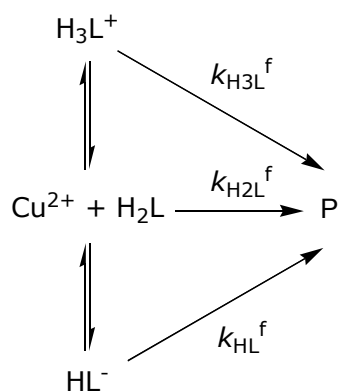
Obrázek 8: Změna absorbance v závislosti na čase při studiu formace komplexu Cu(dipin), $\lambda = 280 \text{ nm}$, $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,1 \text{ M}$, $\text{pH} = 1,5\text{--}3,0$, $C_{\text{Cu}} = C_{\text{dipin}} = 1,25 \cdot 10^{-4}$

Naměřené změny absorbance v závislosti na čase pro měřená pH 1,5–2,5 byly analyzovány pomocí programu Pro-KII, který na základě očekávaného mechanismu průběhu komplexace $\text{Cu} + \text{L} = \text{CuL}$ vypočítal rychlostní konstanty formace pro dané hodnoty pH (Tab. 11).

Tabulka 11: hodnoty rychlostních konstant k_1 v závislosti na pH

pH	k_1
1,5	10,34
2,0	103,8
2,5	170,9

Získané rychlostní konstanty byly společně s protonizačními konstantami látky (2) (Tab.8) zpracovány doc. RNDr. Janem Kotkem, Ph.D. v programu Scientist podle následujícího navrženého reakčního mechanismu pro reakci ligandu s Cu:



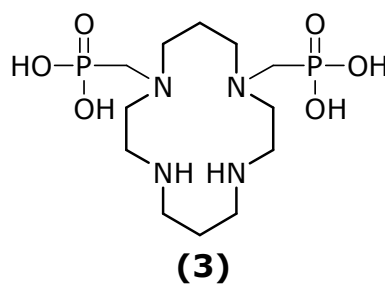
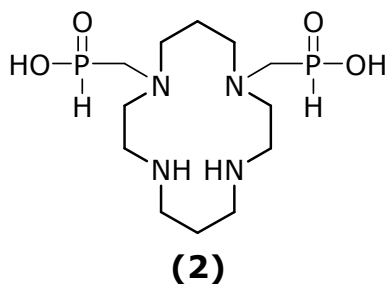
Na základě provedených simulací pak byla přisouzena rozhodující role při komplexaci částici H_2L s rychlostní konstantou: $k_{(H_2L)}^f = 200(40) \text{ s}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$.

Tato hodnota je však vzhledem k velmi omezenému množství získaných dat pouze orientační. Pro určení hodnot ostatních konstant a zpřesnění konstanty $k_{(H_2L)}^f$ by bylo nutné využití metody „stopped flow“ umožňující přesné měření ve větším rozsahu pH, která však v době měření nebyla k dispozici.

4. Závěr

V rámci této diplomové práce:

- Bylo připraveno 13 látek, z toho 7 zcela nových.
- Byla nalezena alternativní syntetická cesty přípravy látky (3) umožňující její syntézu v množství dostačujícím pro další studie.
- Byla syntetizována a plně charakterizována látka (2) „dipin“.
- Byly stanoveny protonizační konstanty látky (2) „dipin“.
- Byla studována disociační a formační kinetika komplexu Cu(dipin). Byly určeny rychlostní konstanty a aktivační parametry disociace komplexu Cu(dipin). Byla určena formační rychlostní konstanta pro částici H₂L při vzniku komplexu Cu(dipin).



5. Seznam použitých zkratek

bipy	2,2'-bipyridin
BuLi	buthyllithium
Boc.....	<i>tert</i> -butyloxykarbonyl
BTS	bis(thiosemikarbazony)
Bu ₃ SnNEt ₃	(<i>N,N</i> -diethylamino)tributylstannan
CT.....	Computed Topography (rentgenová počítačová tomografie)
DMFDMA.....	dimethylacetal (<i>N,N</i> -dimethyl)formamidu
EtOH.....	ethanol
EC.....	Electron Capture (elektronový záchyt)
<i>i</i> -PrOH	propan-2-ol
eV.....	elektronvolt (1 eV = 1,602 176 53·10 ⁻¹⁹ J)
FDG	2-deoxy-2-(¹⁸ F)fluoro-D-glukóza
HMDSA	bis(trimethylsilyl)amin (<i>hexamethyldisilazan</i>)
IPAV 7:3:3	směs izopropanol, 25% amoniak <i>aq.</i> , voda 7:3:3
LFSE	Ligand Field Stabilisation Energy (stabilizační energie ligandového pole)
MeCN.....	acetonitril
MS.....	hmotnostní spektrometrie
NMR.....	nukleární magnetická rezonance
PET	Positron Emission Tomography (pozitronová emisní tomografie)
R _f	retenční faktor
RVO.....	rotační vakuová odparka

SPECT	Single Photon Emission Computed Tomography (jednofotonová emisní počítačová tomografie)
$t_{1/2}$	poločas rozpadu
<i>t</i> -BuOH.....	<i>terc</i> -butanol
TLC	Thin Layer Chromatography (chromatografie na tenké vrstvě)
t.v.....	teoretický výtěžek

6. Použitá literatura

- [1] Seznam prováděných vyšetření PET centra Na Homolce, cit. 6. 8. 2010, dostupné na: <http://www.homolka.cz/cz/oddeleni_nuklearni_mediciny_-_pet_centrum/?p=2350>
- [2] V. Ulmann, AstroNuklFyzika, cit. 5. 8. 2010, Dostupné na: <<http://astronuklfyzika.cz/>>
- [3] G. B. Saha, *Fundamentals of Nuclear Pharmacy – 5th ed.*, Springer Science, U.S.A., 2004
- [4] G. Choppin, J-O. Liljenzin, J. Rydberg, *Radiochemistry and Nuclear Chemistry – 3rd ed.*, Butterworth–Heinemann, U.S.A., 2002
- [5] C. J. Anderson, M. J. Welch, *Chem. Rev.*, 1999, 99, 2219–2234
- [6] P. E. Christian, K. M. Waterstram–Rich, *Nuclear Medicine and PET/CT – 6th ed.*, Mosby Elsevier, U.S.A., 2007
- [7] D. W. Townsend, *Ann. Acad. Med. Singapore*, 2004, 33, 133–145
- [8] W. Wadsak, M. Mitterhauser, *Eur. J. Rad.*, 2010, 73, 461–469
- [9] Číselník IVLP, cit. 4. 8. 2010, Dostupné na: <<http://www.vzp.cz/cms/internet/cz/Lekari/Ciselniky/630/IVLP/radiofarmaka.html>>
- [10] M. Shokeen, C. J. Anderson, *Acc. Chem. Res.*, 2008, 42, 832–841
- [11] W. H. Briner, *Mod. Hosp.*, 1960, 95, 110–114
- [12] P. V. Harper, R. Beck, D. Charleston, K. A. Lathrop, *Nucleonics*, 1964, 22, 50

- [13] W. Loveland, D. J. Morrissey, G. T. Seaborg, *Mod. Nucl. Chem.*, Wiley-Interscience, U.S.A., **2006**
- [14] T. J. Wadas, E. H. Wong, G. R. Weisman, C. J. Anderson, *Curr. Pharm. Des.*, **2007**, *13*, 3–16
- [15] J. Pacák, M. Černý, *Chem. Listy*, **2002**, *96*, 704–707
- [16] J. Barbet, J.-F. Chatal, F. Gauché, J. Marino, *Eur. J. Med. Mol. Imaging*, **2006**, *33*, 627–630
- [17] P. J. Blower, J. S. Lewis, J. Zweit, *Nucl. Med. Biol.*, **1996**, *23*, 957–980
- [18] Lawrence Berkeley National Laboratory – Nuclear Science Division, The Isotopes Project, *cit. 8. 8. 2010*, Dostupné na:
<http://ie.lbl.gov/education/parent/Cu_iso.htm>
- [19] R. J. Nickles, *J. Labeled Compd. Radiopharm.*, **2003**, *46*, 1–27
- [20] P. Rowshanfarzad, M. Sabet, A. R. Jalilian, M. Kamalidehghan, *Appl. Radiat. Isot.*, **2006**, *64*, 1563–1573
- [21] F. Syelecsényi, G. Blessing, S. M. Qiam, *Appl. Radiat. Isot.*, **1993**, *44*, 575–580
- [22] J. Zweit, A. M. Smith, S. Downey, H. L. Sharma, *Appl. Radiat. Isot.*, **1991**, *42*, 193–197
- [23] G. Bormans, A. Janseen, P. Adriaens, D. Crombey, A. Witsenboer, J. DeGoeij, L. Mortelmans, A. Verbruggen, *Appl. Radiat. Isot.*, **1992**, *43*, 1437–1441
- [24] H. Piel, S. M. Qaim, G. Stöcklin, *Radiochim. Acta*, **1992**, *57*, 1–5
- [25] L. Zinn, T. Chaudhuri, T.-P. Cheng, J. Morris, W. Meyer, *Cancer (Suppl.)*, **1994**, *73*, 774–778
- [26] D. W. McCarthy, R. E. Schefer, R. E. Klinkowstein, L. A. Bass, W. H. Margenau, C. S. Cutler, C. J. Anderson, C. J. Welch, *Nucl. Med. Biol.*, **1997**, *24*, 35–43

- [27] K. Abbas, J. Kozempel, M. Bonardi, F. Groppi, A. Alfarano, U. Holzwarth, F. Simonelli, H. Hofman, W. Horstmann, E. Menapace, L. Lešetický, N. Gibson, *Appl. Radiat. Isot.*, **2006**, *64*, 1001–1005
- [28] L. F. Mausner, K. L. Kolsky, V. Joshi, S. C. Srivastava, *Appl. Radiat. Isot.*, **1998**, *49*, 285–294
- [29] R. Schwarzbach, K. Zimmermann, P. Blauenstein, A. Smith, P. A. Schubinger, *Appl. Radiat. Isot.*, **1995**, *46*, 329–336
- [30] I. Novak–Hofer, P. A. Schubinger, *Eur. J. Nucl. Med.*, **2002**, *29*, 821–830
- [31] R. Schwarzbach, K. Zimmermann, I. Novak-Hoffer, P. A. Schubinger, *J. Labelled Compd. Radiopharm.*, **2001**, *44*, 809–811
- [32] R. D. Neirincks, *Appl. Radiat. Isot.*, **1977**, *28*, 802–803
- [33] S. M. Quaim, *Radiochim. Acta*, **2001**, *89*, 297–302
- [34] A. F. Holleman, E. Wiberg, N. Wiberg, *Inorganic Chemistry – 1st ed.*, Academic Press, U.S.A, **2001**
- [35] J. Vohlídal, A. Julák, K. Štulík, *Chemické a analytické tabulky*, GRADA publishing, Praha, **1999**
- [36] F. A. Cotton, G. Wilkinson, C. A. Murillo, M. Bachmann, *Advanced Inorganic Chemistry – 6th ed.*, A Wiley-Interscience publication, U.S.A., **1999**
- [37] N. N. Greenwood, A. Earnshaw, *Chemie prvků*, Informatorium, Praha, **1993**
- [38] A. Pasquarello, I. Petri, P. S. Salmon, O. Parisel, R. Car, E. Toth, D. H. Powell, H. E. Fischer, L. Helm, A. E. Merbach, *Science*, **2001**, *291*, 856–859
- [39] T. V. Popova, N. V. Askenova, *Russian Journal of Coordination Chemistry*, **2003**, *29*, 743–765
- [40] W. Harnischmacher, R. Hoppe, *Angew. Chem.*, **1973**, *85*, 590–590
- [41] M. C. Linder, M. Hazegh-Azam, *Am. J. Clin. Nutr.*, **1996**, *63*, 797S–811S
- [42] P. Karlson, W. Gerok, W. Gross, *Pathobiochemie*, Academia, Praha, **1987**

- [43] I. Svobodová, J. Havlíčková, J. Plutnar, P. Lubal, J. Kotek, P. Hermann, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2009**, 3577–3592
- [44] X. Sun, C. J. Anderson, *Methods Enzymol.*, **2004**, 386, 237–261
- [45] S. V. Smith, *J. Inorg. Biochem.*, **2004**, 98, 1874–1901
- [46] K. S. Woodin, K. J. Heroux, C. A. Boswell, E. H. Wong, G. R. Weisman, W. Niu, *et al.*, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2005**, 4829–4833
- [47] J. L. J. Dearling, J. S. Lewis, D. W. McCarty, M. J. Welch, P. J. Blower, *Chem. Commun.*, **1998**, 7, 2531–2532
- [48] J. L. J. Dearling, J. S. Lewis, G. E. Mullen, M. J. Welch, P. J. Blower, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **2002**, 7, 249–249
- [49] R. I. Maurer, P. J. Blower, *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 1420–1431
- [50] J. P. Holland, J. C. Green, J. R. Dilworth, *Dalton Trans.*, **2006**, 783–794
- [51] B. A. Gingras, R. W. Hornal, C. H. Bayley, *Can. J. Chem.*, **1960**, 38, 712–719
- [52] A. R. Cowley, J. R. Dilworth, P. S. Donnelly, A. D. Gee, J. M. Heslop, *Dalton Trans.*, **2004**, 2404–2412
- [53] A. R. Cowley, J. R. Dilworth, P. S. Donnelly, J. M. White, *Inorg. Chem.*, **2006**, 45, 496–498
- [54] C. S. Cutler, M. Wuest, C. J. Anderson, D. E. Reichert, Y. Z. Sun, A. E. Martell, M. J. Welch, *Nucl. Med. Biol.*, **2000**, 27, 375–380
- [55] J. Yoo, D. E. Reichert, M. J. Welch, *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 6625–6637
- [56] C. A. Boswell, X. Sun, W. Niu, G. R. Weisman, E. H. Wong, A. L. Rheingold, C. J. Anderson, *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 1465–1474
- [57] X. Liang, P. J. Sadler, *Chem. Soc. Rev.*, **2004**, 33, 246–266
- [58] W. Sun, M. Wuest, G. R. Weisman, E. H. Wong, D. P. Reed, C. A. Boswell, R. Motekaitis, A. E. Martell, M. J. Welch, C. J. Anderson, *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 469–477

- [59] S. Füzarová, J. Kotek, I. Císařová, P. Hermann, K. Binnemans, I. Lukeš, *Dalton Trans.*, **2005**, 2908–2915
- [60] P. Barbaro, C. Bianchini, G. Capannesi, L. Di Luca, F. Laschi, D. Petroni, P. A. Salvadori, A. Vacca, F. Vizza, *Dalton Trans.*, **2000**, 2393–2401
- [61] D. Ma, F. Lu, T. Overstreet, D. E. Milenic, M. W. Brechbiel, *Nucl. Med. Biol.*, **2002**, *29*, 91–105
- [62] T. Vitha, J. Kotek, J. Rudovský, V. Kubíček, I. Císařová, P. Hermann, I. Lukeš, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **2006**, *71*, 337–367
- [63] D. M. Tinei, D. C. Ware, P. J. Brothers, P. G. Plieger, G. R. Clark, *Dalton Trans.*, **2006**, *1*, 152–158
- [64] K. J. Heroux, K. Woodin, G. R. Weisman, S. A. Tomellini, D. Tranchemontange, C. J. Anderson, L. N. Zakharov, S. Kassel, A. L. Rheingold, *Abstract of Papers of the American Chemical Society*, **2005** *229*, 1071–1072
- [65] C. Bianchini, G. Giambastiani, F. Laschi, P. Mariani, A. Vacca, F. Vizza, P. Zanello, *Org. Biomol. Chem.*, **2003**, *5*, 879–886
- [66] X. Sun, M. Wuest, Z. Kovacs, A. D. Sherry, R. Motekaitis, Z. Wang, A. E. Martell, M. J. Welch, C. J. Anderson, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **2003**, *8*, 217–225
- [67] X. Sun, Y. J. Kim, H. Bigott, Z. Kovacs, A. D. Sherry, M. J. Welch, C. J. Anderson, *J. Nucl. Med.*, **2002**, *43*, 136–136
- [68] I. Svobodová, P. Lubal, P. Hermann, J. Kotek, J. Havel, *Microchim. Acta*, **2004**, *148*, 21–26
- [69] F. Barbette, F. Rascalou, H. Chollet, J. L. Babouhot, F. Denat, R. Guillard, *Anal. Chim. Acta*, **2004**, *502*, 179–187
- [70] E. Kimura, *Tetrahedron*, **1992**, *48*, 6175–6217

- [71] E. De Clercq, *Nat. Rev. Drug Discovery*, **2003**, *2*, 581-587
- [72] F. Denat, S. Brandes, R. Guilard, *SYNLETT*, **2000**, *5*, 561-574
- [73] E. K. Barefield, F. Wagner, K. D. Hodges, *Inorg. Chem.*, **1976**, *16*, 220-225
- [74] F. Bellouard, F. Chuburu, N. Kervarec, L. Toupet, S. Triki, Y. Le Mest, H. Handel, *J. Chem. Soc. - Perkin Trans. 1*, **1999**, *23*, 3499-3505
- [75] J. Kotek, P. Hermann, P. Vojtíšek, J. Rohovec, I. Lukeš, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **2000**, *65*, 243
- [76] S. Brandes, F. Denat, S. Lacour, F. Rabiet, F. Barbette, P. Pullumbi, R. Guilard, *Eur. J. Org. Chem.*, **1998**, 2349-2360
- [77] C. Bucher, G. Royal, J.-M. Barbe, R. Guilard, *Tetrahedron Lett.*, **1999**, *40*, 2315-2318
- [78] G. R. Weisman, S. C. H. Ho, V. Johnson, *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 335-338
- [79] I. M. Helps, D. Parker, J. R. Morphz, J. Chapman, *Tetrahedron*, **1989**, *45*, 219-226
- [80] R. Guilard, A. G. Bessmertnykh, I. P. Beletskaya, *SYNLETT*, **1997**, 1190-1192
- [81] P. J. Davies, M. R. Taylor, K. P. Wainwright, *Chem. Commun.*, **1998**, 827-828
- [82] L. Berlicki, A. Mucha, P. Kafarski, *Polish J. Chem.*, **2007**, 1959-1962
- [83] J. Havlík, *Bakalářská práce*, PŘF UK, Praha, **2008**
- [84] H. Medová, *Diplomová práce*, PŘF UK, Praha, **2007**
- [85] J. Kotek, P. Lubal, P. Hermann, I. Čísařová, Ivan Lukeš, T. Godula, I. Svobodová, P. Táborský, J. Havel, *Chem. Eur. J.*, **2003**, 233-248