

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Stabilita komplexů kovů s ligandem NOTA

Stability of metal complexes with NOTA ligand

Bakalářská práce

Zpracovala: Zuzana Poláková

Školitel: doc. RNDr. Vojtěch Kubíček, Ph.D.

Květen 2014

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

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného akademického titulu. Verze odevzdané v tištěné a v elektronické podobě jsou totožné.

V Praze dne 27. 5. 2014

Zuzana Poláková

Ráda bych poděkovala svému školiteli doc. RNDr. Vojtěchu Kubíčkoví, Ph.D. za cenné rady a možnost uskutečnit tuto bakalářskou práci a Zuzce za pomoc v laboratoři. Dále bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za podporu během studia.

SOUHRN

Byly stanoveny disociační konstanty kyseliny 1,4,7- triazacyklononan-1,4,7-trioctové (NOTA) pomocí potenciometrických titrací. Stanoveny byly také konstanty stability komplexů ligandu NOTA s ionty kovů: Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} a La^{3+} . Studie byla zaměřena na možnost využití izotopů mědi v biomedicínských aplikacích.

Klíčová slova

Komplexy, makrocyclické ligandy, termodynamická stabilita, potenciometrie

Abstract

Dissociation constants of 1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacetic acid (NOTA) and stability constants of complexes of the ligand with metal ions: Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} and La^{3+} . were determined by potentiometric titration. Study was focused on the possibility copper utilization in biomedical applications.

Keywords

Complexes, macrocyclic ligands, thermodynamic stability, potentiometry

Seznam zkratek

M	kov všeobecně
L	ligand
[M]	rovnovážná koncentrace kovu
[L]	rovnovážná koncentrace deprotonovaného ligandu
[ML]	rovnovážná koncentrace komplexu
K_{ML}	konsekutivní konstanta stability
β	celková konstanta stability
E	elektrodotový potenciál
E_0	standardní elektrodotový potenciál
S	Nernstova konstanta
J_A	kyselá chyba elektrody
J_B	zásaditá chyba elektrody
K_w	iontový součin vody
MRI	tomografie magnetické rezonance
PET	pozitronová emisní tomografie
SPECT	jednofotonová počítačová emisní tomografie

Obsah

1	Teoretický úvod.....	8
1.1	Stabilita komplexů.....	10
1.2	Potenciometrické titrace.....	12
1.3	Využití komplexů v medicíně	14
1.4	Cíl práce.....	17
2	Experimentální část.....	18
2.1	Použité chemikálie	18
2.2	Potenciometrická měření.....	18
2.3	Zpracování výsledků	21
3	Výsledky a diskuze.....	23
3.1	Acidobazické vlastnosti	23
3.2	Koordinační vlastnosti	25
4	Závěr.....	33
5	Použitá literatura.....	34

1 Teoretický úvod

V chemii existuje několik druhů chemických vazeb. Jednou z nich je vazba koordinačně kovalentní. Jedná se o vazbu, kdy jeden partner (donor) poskytuje do vazby elektronový pár a druhý partner (akceptor) se stává příjemcem elektronů. Tato donor-akceptorová vazba se uplatňuje v koordinačních sloučeninách, kdy centrální atomy (převážně atomy kovů) jsou vázány k donorovým částicím, tzv. ligandům.⁽¹⁾ To umožňuje dosáhnout vyššího počtu vazeb vycházejících z centrálního atomu, než odpovídá jeho oxidačnímu stavu.⁽²⁾ O objev koordinačně kovalentní vazby se zasloužil švýcarský chemik Alfred Werner (1886 – 1919). Za jeho vědecký přínos mu byla v roce 1913 udělena Nobelova cena.⁽³⁾

Wernerova teorie (1893) byla založena na předpokladu, že atom kobaltu, vedle tří hlavních valencí daných oxidačním číslem, disponuje ještě vedlejšími valencemi, což mu umožňuje vázat (koordinovat) větší počet molekul (ligandů). Počet atomů vázaných přímo na kovový ion se označuje jako koordinační číslo a pro daný ion je charakteristické. Později se ukázalo, že koordinační číslo nemusí být nutně konstantní pro určitý kationt a není žádný rozdíl mezi hlavní a vedlejší valencí. V roce 1916 Lewis interpretoval koordinačně-kovalentní vazbu jako vazbu zprostředkovanou elektronovými páry.⁽⁴⁾

Mezi nejběžnější koordinační čísla komplexních iontů patří 4 a 6. Méně častá čísla jsou 1, 2, 3, 5, 7 a 8. Další, větší hodnoty koordinačních čísel jsou méně obvyklé, vyskytují se vzácně u lantanoidů a aktinoidů. Jednotlivým hodnotám koordinačních čísel odpovídají ideální tvary nejběžnějších koordinačních polyedrů. Pro některá čísla najdeme i několik koordinačních polyedrů. Koordinační číslo dvě nemá velký výskyt, molekuly zaujímají lineární nebo lomený tvar. Nacházejí se ve sloučeninách Cu^+ , Ag^+ , Au^+ a Hg^{2+} . Ještě méně se v molekulách nachází koordinační číslo 3, jež se vyznačuje tvarem trigonu (trojúhelník) nebo trigonální pyramidy. Naopak koordinační číslo 4 se vyskytuje velmi často. Molekuly mají tvar tetragonu (čtverce) nebo tetraedru. Sloučeniny s koordinačním číslem pět mají tvar trigonální bipyramidy či tetragonální pyramidy. Dalším koordinačním číslem je číslo 6, molekula může být v tvaru tetragonální bipyramidy, trigonálního antiprizmatu nebo oktaedru. Toto koordinační číslo bývá spojeno s komplexy Mn^{2+} , Fe^{3+} , Mo^{2+} a dalšími. Ke koordinačnímu číslu 7 se vztahují tvary pentagonální bipyramida či

deformovaná trigonální prizma a k číslu 8 krychle nebo tetragonální antiprizma. Reálné koordinační polyedry bývají deformovány. Bývá to způsobeno tím, že vrcholy polyedrů nejsou obsazeny ekvivalentními donorovými atomy, tedy atomy téhož prvku ve stejném oxidačním stavu a v téže vazebné situaci. Jindy to může být způsobeno zdeformováním komplexní částice při zabudování do krystalové mřížky.⁽⁵⁾

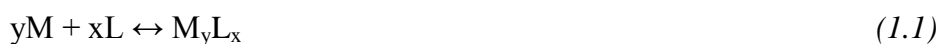
Každý komplex obsahuje centrální atomy, které mají klíčovou úlohu. Nachází-li se v komplexní sloučenině pouze jeden centrální atom, je jednojaderná (mononukleární), je-li více středových atomů, nazývá se částice vícejaderná (polynukleární). Vícejaderné komplexy rozlišují dva způsoby vazby. V prvním případě je donorový atom poután dvěma koordinačně-kovalentními vazbami ke dvěma centrálním atomům anebo dvoudonorový ligand je každým atomem poután k jinému centrálnímu atomu, vzniká můstkové uspořádání. Ligand, který je tímto způsobem poutaný k oběma iontům kovů, se nazývá můstkový. Můstek může být tvořen skupinami OH^- , O^{2-} , nebo CH_3COO^- a dalšími. Druhý způsob se vyznačuje přímým vazebným spojením centrálních atomů. Pokud jsou ve funkci centrálních atomů kovy, jde o komplexní částice s vazbou kov-kov. Můstkové komplexy mohou tvořit lineární polymery nebo tzv. klecové komplexy, z anglického cage complexes. Existují případy, kdy v centrální oblasti komplexní částice je přítomno seskupení tří i více vzájemně vázaných atomů. Jedná se o klastry, z anglického cluster - chomáč, roj, hnízdo.

Ligandy mohou mít různý stupeň vaznosti, rozlišují se především monodentátní a polydentátní. Monodentátní obsahují pouze jeden donorový atom. Mezi jednovazné ligandy se řadí většina jednoduchých anorganických iontů, například halogenidy, a některé neutrální molekuly, například amoniak. Polydentátní (mnohovazné) ligandy jsou převážně organické sloučeniny, které obsahují dva či více donorových atomů. Vytvářejí chelátové cykly, kdy se naváží dva či více donorových atomů na centrální atom.⁽⁶⁾

1.1 Stabilita komplexů

Pro komplexy je velmi důležitá stálost. Stálost komplexu neboli stabilitu popisují konstanty stability, jež vypovídají o schopnosti komplexní částice se v roztoku disociovat. Řada ligandů má povahu kyselin či bází a je tedy schopna protonizace. Protonizační konstanty ligandu jsou důležité pro výpočet konstant stability komplexů zkoumaného ligandu.⁽⁷⁾

Tvorba komplexních sloučenin je doprovázena reakcí, kdy se na centrální atom (ion kovu), M, váží některé částice (ligandy), L.

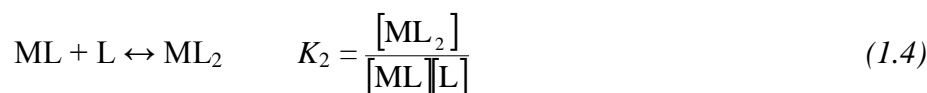
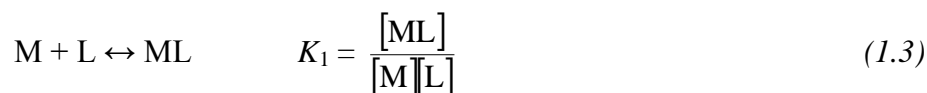


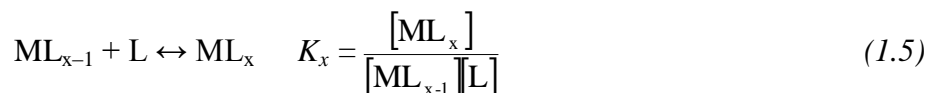
Daná reakce je charakterizována rovnovážnou konstantou stability vznikajícího komplexu

$$\beta_{M_yL_x} = \frac{[M_yL_x]}{[M]^y [L]^x} \quad (1.2)$$

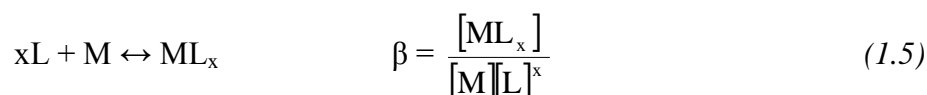
Konstanta stability nám poukazuje na pevnost vzniklého komplexu. Čím je konstanta větší, tím je daný komplex pevnější. Na konstantu nestability (disociační konstanta nestability) poukazuje její převrácená hodnota, $1/K_{M_yL_x}$.

Může-li centrální atom vázat více ligandů, rozlišujeme tzv. postupné (konsekutivní) konstanty stability pro každý krok.





Celkovou konstantu stability β vyjádříme součinem konstant konsektivních ⁽⁸⁾



U polydentálních ligandů mohou i po koordinaci na atom kovu některé skupiny zůstat protonizované. Vznikají protonizované komplexy, které jsou obvykle přítomny hlavně v kyselých roztocích. ⁽⁷⁾

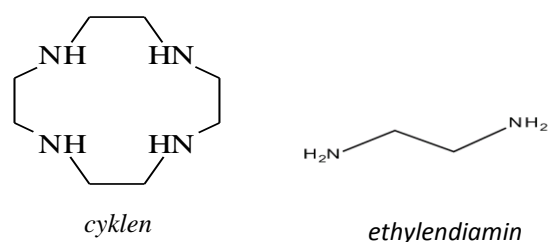


$$\beta_{MHL} = \frac{[MH_zL]}{[H]^z[M][L]} \quad (1.7)$$

Stabilitu komplexů ovlivňuje řada faktorů. Mezi první faktor patří velikost atomů a ligandů. ⁽⁶⁾ Dalším faktorem je přechod vysoko-nízko spinových komplexů. ⁽⁹⁾ Pokud centrální atom nabývá vyšších oxidačních čísel, potom je komplex více stabilní. To je dáno zvýšením elektrostatické interakce. Ve čtvrté periodě stoupá stabilita komplexů se stejnými ligandy obvykle v řadě: $Mn^{2+} < Fe^{2+} < Co^{2+} < Zn^{2+} \sim Ni^{2+} < Cu^{2+}$. Daná řada se nazývá Irvingova-Williamsova. Stabilita komplexů obsahující stejné ligandy také stoupá se zvyšujícím se protonovým číslem iontu kovu. Pro dané oxidační číslo platí $3d \ll 4d < 5d$, například stálost komplexů by měla stoupat v řadě $Ni(II) \ll Pd(II) < Pt(II)$.

Stabilita je významně ovlivněna chelátovým efektem. Chelátový efekt je vysvětlován na základě dvou účinků. První efekt je založen na hydrofobním vlivu můstkových – CH_2 – skupin, ty znesnadňují přístup molekul vody. Je také nazývaný jako vliv enthalpický. Druhý efekt vychází z nepohyblivého (rigidního) uspořádání

chelátového kruhu. Tento jev se nazývá entropický. O větší stabilitě komplexů rozhoduje počet chelátových kruhů. U makrocyclických ligandů, například cyklen (obr. 1. 1), mluvíme o makrocyclickém efektu, jehož vlivem je větší stabilita komplexů než při koordinaci dvou molekul ethylendiaminu (obr. 1. 1).⁽⁶⁾



Obr. 1. 1 Cyklen (makrocyclický ligand) a ethylendiamin

1.2 Potenciometrické titrace

Potenciometrie je metoda spočívající v měření potenciálu dané složky roztoku a sloužící ke stanovení její koncentrace. Metoda umožňuje sledovat různé ionty, ale nejčastěji se využívá k měření potenciálu vodíkového kationtu, k měření pH. Většina organických látek obsahuje kyselé nebo bazické skupiny, které jsou schopné protonizace nebo disociace. Toho využívá potenciometrie ke stanovení disociačních konstant a konstant stability komplexů kovů s těmito organickými ligandy. Ke zjištění těchto údajů jsou nejčastěji využívány potenciometrické titrace, které sledují změnu potenciálu v závislosti na objemu přidávaného činidla.⁽¹⁰⁾ Obvykle se provádí titrace okyseleného roztoku ligandu roztokem hydroxidu.⁽²⁾ Potenciometrické titrace se provádí pomocí dvou elektrod. Elektroda indikační, měřící, reaguje na změnu koncentrace analytu v roztoku. Druhou elektrodou je referenční elektroda, která je zcela neaktivní ke změně koncentrace. Často se využívají elektrody kombinované, elektrody obsahující indikační i referenční elektrodu zároveň. Při měření pH roztoku se využívá kombinované argentchloridové (skleněné) elektrody. Skleněná elektroda je citlivá na H^+ ionty, slouží k měření aktivity vodíkových kationtů. Vnitřní obsah skleněné elektrody je vyplněn nasyceným roztokem KCl, do něhož je ponořená argentchloridová referenční elektroda.

Pro objasnění výsledků a dalšímu počítání s nimi se využívá vztahu mezi potenciálem elektrody a koncentrací H^+ iontů. Skleněná elektroda využívá lineární závislosti potenciálu na logaritmu aktivity H^+ iontů.

$$E = E^0 + S \times \log [a_{H^+}] \quad (1.8)$$

Vzhledem k obtížnému stanovení aktivitních koeficientů se daný vztah zjednoduší a počítá se s koncentrací H^+ iontů. Znamená to, že po celou dobu titrace musí být zabezpečena konstantní iontová síla. Z toho důvodu jsou titrace prováděny v prostředí vhodné soli, jejíž koncentrace řádově převyšuje koncentraci analyzované látky. Ionty roztoku nesmí interagovat s jednotlivými složkami roztoku, kationt nesmí být komplexován stanovovaným ligandem a komplexy aniontu se stanovovaným kovem nesmí být stálé ve vodném prostředí.

$$E = E^0 + S \times \log [H^+] \quad (1.9)$$

Ve velmi kyselém prostředí $pH < 2$ a ve velmi zásaditém prostředí $pH > 12$ dochází k odchýlkám od lineární závislosti kalibrační funkce. Nazývají se kyselá a zásaditá chyba elektrody a vyjadřují je koeficienty J_A a J_B .

$$E = E^0 + S \times \log [H^+] + J_A \times [H^+] + J_B \times K_w / [H^+] \quad (1.10)$$

Pro správnou interpretaci výsledků stanovované látky je nutno provést kalibraci. Kalibrace, která je časově méně náročná a jednodušší, bývá dvoubodová nebo třibodová. Základem je ponoření elektrody do dvou nebo tří roztoků pufrů. Do grafu se vynesou naměřené hodnoty potenciálu proti známým hodnotám pH pufrů. Z proložené křivky lze odečítat pomocí potenciálu pH neznámého roztoku. Tímto způsobem kalibrace jsou získány parametry standardního chemického potenciálu E^0 a Nernstovy konstanty S . Druhý způsob, který je časově náročnější a složitější na provedení, je metoda kalibračních titrací. Stanovení spočívá v titraci známého

obsahu silné kyseliny známým roztokem hydroxidu. Z toho lze odvodit koncentraci H^+ iontů v každém bodě titrační křivky. Pomocí počítače je vyhodnocena závislost naměřených hodnot potenciálu na koncentraci vodíkových kationtů a tím lze zjistit parametry standardního chemického potenciálu E^0 , Nernstovy konstanty S , kyselá (J_A) a zásaditá (J_B) chyba elektrody.

Při potenciometrických titracích je důležité dodržet stálou teplotu pomocí dvouplášťové titrační nádoby, temperované vodou z termostatu. Pokud titrace probíhá v alkalickém prostředí, je nezbytné se vyhnout absorpci oxidu uhličitého, který velmi významně mění acidobazickou rovnováhu. Nad hladinou titrovaného roztoku je proto udržovaná stálá atmosféra inertního plynu dusíku či argonu. Inertní plyn je nasycen vodní parou, aby nedocházelo k odparu vody z titrovaného roztoku.

Stanovení disociačních konstant a konstant stability je třeba provést tak, aby v každém bodě před začátkem měření bylo dosaženo termodynamické rovnováhy. Dosažení termodynamické rovnováhy trvá vždy jiný čas. Při velmi pomalém dosažení rovnováhy, kdy tvorba či rozpad komplexů trvá týdny až měsíce, je potřeba přikročit k tzv. „out of cell“ titraci. Každý bod titrační křivky se namíchá zvlášť (do zvláštní baňky či vialky). Po dosažení rovnováhy se baňky otevrou a kalibrovanou elektrodou se v každé změří potenciál. Přesnost je menší než při klasické titraci. Po celou dobu ustavování rovnováhy je potřeba zamezit odpařování vody nebo kontaminaci vzorků, největším nebezpečím je kontaminace oxidem uhličitým. Z toho důvodu je nezbytné alkalické roztoky zatavit do ampulí. ⁽¹⁰⁾

1.3 Využití komplexů v medicíně

Řada komplexů je využívána v mnoha oblastech medicíny. Jednou z aplikací je léčba intoxikace ionty těžkých kovů. Ligand vytvoří stabilní komplex s toxickým kovem a vzniklé komplexy jsou vyloučeny z těla ven. ⁽²⁾

Speciální aplikací koordinační chemie v medicíně je použití ligandů jako nosičů vybraného kovového iontu, který je potřeba zavést do organismu. Tyto komplexy slouží jako kontrastní látky v řadě zobrazovacích metod. Lékařská diagnostika a vědecký výzkum se stále více zdokonalují a jsou schopny podávat informace o biochemickém stavu určité tkáně až na molekulární úrovni. Moderní diagnostiky bývají neinvazivní a jsou založeny na fyzikálně-chemických principech.

Nejběžnější používanou metodou je magnetická rezonance (MR), v zahraničí též zvanou MRI (magnetic resonance imaging). Metoda sleduje zastoupení a magnetické vlastnosti ^1H jader molekul vody v tělních tkáních.⁽¹¹⁾ Nejběžnější kontrastní látky jsou komplexy s Gd^{3+} , Fe^{3+} a Mn^{2+} .⁽¹²⁾

Další dvě používané metody patří do oblasti radiodiagnostiky.

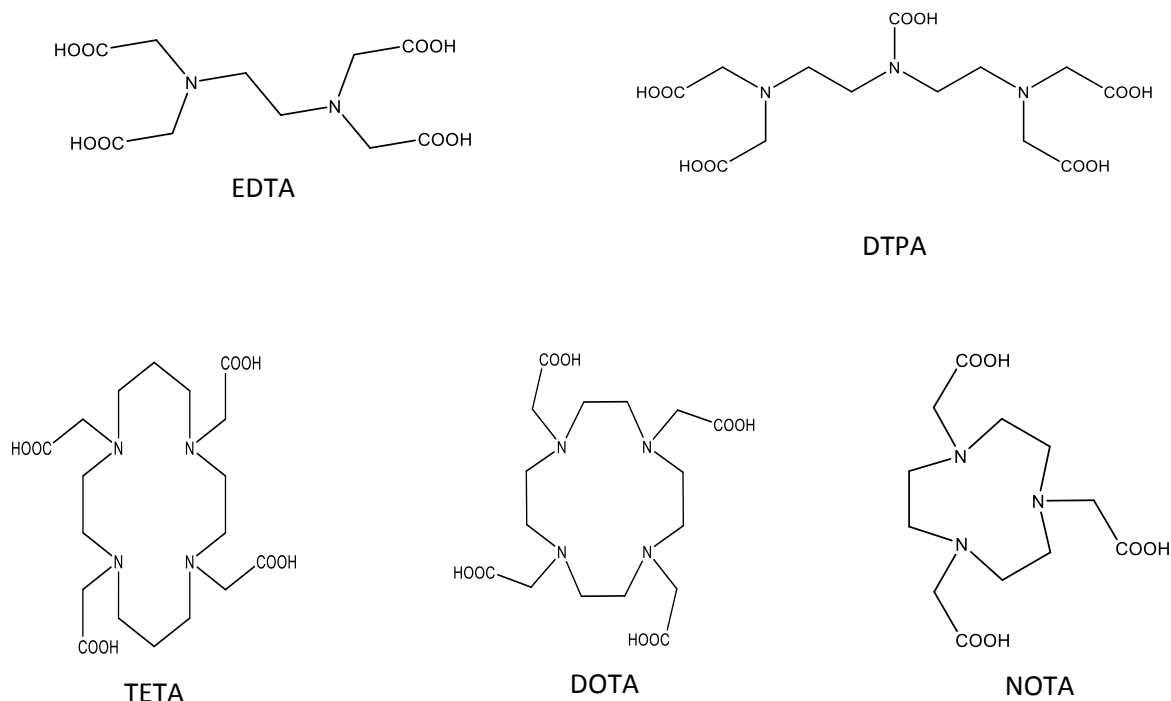
Jednou z metod je SPECT (single-photon emission computed tomography, jednofotonová emisní počítačová tomografie).⁽¹³⁾ Metoda deteguje fotony vzniklé při γ -rozpadu radiofarmaka. Zpětně je tak možno rekonstruovat distribuci izotopu v těle a získat trojrozměrné nebo tomografické snímky.⁽¹⁴⁾ Metoda využívá izotopy emitující gama částice, např. ^{201}Tl , ^{111}In a ^{123}I .⁽¹⁵⁾

Metodou užívající β^+ izotopy je metoda PET (positron emission tomography, pozitronová emisní tomografie). V poslední době došlo ke snížení ceny tomografií a metoda PET se stává nejvyužívanější při detekci nádorů a poškození tkání v nukleární medicíně. Metoda je výhodná pro svou vysokou citlivost, dokáže měřit v pikomolární koncentraci izotopů (tj. 10^{-12} mol/L) a vynikajícím prostorovým rozlišením. Proto se používá ke zviditelnění i velmi malých metastáz. Nejčastěji používaným izotopem je ^{18}F , který se vyrábí v cyklotronech, a z kovových izotopů je nejběžnější ^{68}Ga .⁽¹⁶⁾

Použití radioizotopů kovů je velmi problematické, neboť ve volném stavu jsou toxické a mohou se ukládat v různých tkáních lidského těla. Z toho důvodu je důležité, aby byly navázány ve stabilních komplexech, které zajistí, aby v těle nedocházelo k jejich uvolnění. Použitelný komplex musí být stálý a nesmí docházet k jeho disociaci při vysokých koncentracích konkurenčních ligandů. Vhodný ligand by měl mít co nejvyšší selektivitu komplexace pro žádaný ion kovu (radionuklid). Daný komplex by měl být tzv. kineticky inertní; jednou vzniklý komplex disociuje pomalu i za podmínek, kdy z termodynamického hlediska by mělo dojít k úplnému rozpadu.⁽²⁾

Pro komplexaci radionuklidů kovů jsou nejčastěji používané ligandy ze skupiny polyaminokarboxylátů. Lze je rozdělit do dvou skupin: makrocyclické DOTA (kyselina 1,4,7,10- tetraazacyklododekan-1,4,7,10- tetraoctová), NOTA (kyselina 1,4,7- triazacyklononan-1,4,7- trioctová) a TETA (kyselina 1,4,8,11-

tetraazacyklotetradekan-1,4,8,11-tetraoctová); a necyklické kyseliny EDTA (kyselina diamintetraoctová) a DTPA (diehylenetriaminpentaoctová)⁽¹⁷⁾ (obr. 1.2).

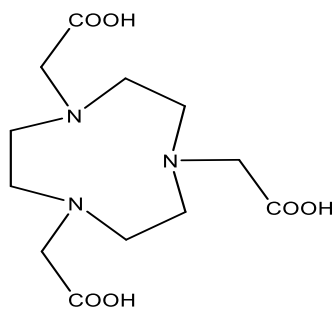


obr. 1. 2: Vhodné ligandy pro kontrastní látky

Jako slibný prvek pro radiodiagnostiku se jeví měď, která má několik využitelných izotopů. Jedná se především o izotop ^{64}Cu , který vzniká v reaktoru reakcí $^{64}\text{Zn}(n, p)^{64}\text{Cu}$ nebo v cyklotronech reakcí $^{64}\text{Ni}(p, n)^{64}\text{Cu}$. Izotop je vhodný pro svůj poločas rozpadu (12,7 hodin), který umožňuje dobrou manipulaci. Izotop ^{64}Cu je zajímavý jako PET radiofarmakum pro zobrazování různých nemocí. Nezbytnou součástí pro zobrazení je vhodný chelátor, který slouží k navázání ^{64}Cu a tím k zacílení poškozené tkáně.⁽¹⁸⁾

1.4 Cíl práce

Cílem práce bylo stanovení disociačních konstant kyseliny 1,4,7-triazacyklononan-1,4,7-trioctové (obr. 1.3) a dále stanovení konstant stability komplexů tohoto ligandu především s Cu^{2+} ionty a pro srovnání i s ionty dalších kovů: Zn^{2+} , Ni^{2+} , La^{3+} a Pb^{2+} .



Obr.1.3: Ligand NOTA

2 Experimentální část

2.1 Použité chemikálie

Při potenciomerických titracích byly použity komerčně dostupné chemikálie. Byl použit plynný argon pro zamezení absorpce oxidu uhličitého. Pro přípravu roztoku byla použita deionizovaná voda. Ligand byl připraven na katedře anorganické chemie.

Zásobní roztok ligandu byl připraven následujícím způsobem. Na analytických vahách bylo naváženo 0,6778 g ligandu NOTA. Navážka byla kvantitativně převedena do 100mL odměrné baňky a rozpuštěna v deionizované vodě. Pro zlepšení rozpustnosti bylo přidáno 7 mL odměrného roztoku NMe_4OH o koncentraci 0,205 M. Přesná koncentrace ligandu byla ověřena během výpočtu protonizačních konstant programem OPIUM.⁽¹⁹⁾

2.2 Potenciometrická měření

Pomocí potenciometrických měření byly stanoveny disociační konstanty a konstanty stability komplexů zkoumaného ligandu s vybranými ionty kovů v molárním poměru 1:1 a 1:2 (nadbytek ligandu).

Titrace a kalibrace byly prováděny při teplotě $25, 0 \pm 0, 1$ °C a při konstantní iontové síle 0,1 mol/L NMe_4Cl . Inertní atmosféra byla tvořena plynným argonem nasyceným vodní parou. Počáteční objem v nádobce při titracích i kalibracích byl přibližně přesně 5 mL. Titračním roztokem byl hydroxid tetramethylamonný o přibližné koncentraci 0,2 mol/L. V průběhu každé titrace byla měřena aktuální koncentrace H^+ iontů článkem skleněná- Ag^+/AgCl elektroda, která měří s přesností na 0,1 mV pomocí pH metru používaného jako voltmetr. Přidaný objem titračního činidla byl odečítán v tisícinách mililitru. Na pH metru PHM 240 byl měřen potenciál kombinované skleněné argenticchloridové elektrody značky GK 240B. Titrační roztok byl přidáván automatickou byretou 2-ml ABU 900.

Před samotným začátkem měření byla elektroda střídavě ponořována do kyselého a bazického roztoku (do roztoku 1 M HCl a 1 M KOH po cca jedné minutě po dobu 10 minut). Před samotným měřením byla provedena příprava (odstranění

bublin z hadic byrety, vymytí a vysušení měřící nádoby, nastavení proudu inertního plynu, temperování aparatury). Pomocí byret s mikrometrickým šroubem (o objemech 2,5 mL, 1,25 mL a 0,5 mL, jejichž přesný objem byl zjištěn hmotnostní kalibrací redestilovanou vodou, výrobce VŠCHT Pardubice a META Brno). Iontová síla konečného roztoku byla 0,1 M a koncentrace ligandu byla 4 mM. Celkový objem v titrační nádobce byl přibližně přesně 5 mL. Titrační roztok NMe_4OH byl přidáván automatickou byretou, ústí teflonové hadičky bylo ponořeno do titračního roztoku těsně v blízkosti magnetického míchadla. Po jednotlivých přídávkách titračního roztoku byla odečtena hodnota rovnovážného potenciálu.

Před titrováním systému ligand: kov a samotného ligandu bylo nutné provést poloautomatickou (ruční) titraci. Při této titraci byla sledována rychlost ustanovení rovnovážného napětí na pH metru. Ze změn na elektrodě byl určen konec titrace. Podle ruční titrace byl nastaven dávkový soubor pro řídicí program, který obsahoval příkazy určující přídavek titračního činidla, čekací dobu mezi přídávkem a odečítáním hodnoty potenciálu a dobu ukončení titrace. Při titracích byly vynechány oblasti ležící v okolí bodu ekvivalence, důvod je velká chyba určení potenciálu. Celková doba titrace se obvykle pohybovala okolo jedné hodiny. Po ukončení titrace byla vždy titrační nádobka promyta 2x destilovanou vodou a 1x acetonem vysušena.

Všecká data byla zpracována programem OPIUM.

Kalibrace

Na začátku byly provedeny dvě kalibrační titrace, kde se titroval roztok vzniklý smísením roztoku $\text{HCl}/\text{NMe}_4\text{Cl}$ s deionizovou vodou, vše bylo titrováno roztokem NMe_4OH za stejných podmínek jako u vlastních titrací v rozmezí 1,8 – 12,1 jednotek $-\log[\text{H}^+]$ pro kalibraci A (tab. 2.1) nebo 1,5 – 12,1 jednotek $-\log[\text{H}^+]$ pro kalibraci B (tab. 2.2).

Tabulka 2.1: Dávkování kalibračních titrací pro kalibraci A

HCl v NMe_4Cl , $c \sim 0,02 \text{ M}$	$\sim 2,5 \text{ mL}$ přesně
Deionizovaná voda	$\sim 2,5 \text{ mL}$ přesně

Tabulka 2.2: Dávkování kalibračních titrací pro kalibraci B

HCl v NMe ₄ Cl, $c \sim 0,02$ M	$\sim 2,5$ mL přesně
HCl, $c \sim 0,2$ M	$\sim 0,4$ mL přesně
Deionizovaná voda	$\sim 2,1$ mL přesně

Stanovení protonizačních konstant ligandu

Zásobní roztoky byly dávkovány na základě tabulky 2.3. Před každou titrací se provedla kalibrace A. Celkově bylo provedeno pět titrací. Z naměřených dat byly pomocí nelineární regrese nalezeny protonizační konstanty ligandu NOTA.

Tabulka 2.3: Dávkování roztoků pro stanovení protonizačních konstant ligandu

HCl v NMe ₄ Cl, $c \sim 0,02$ M	$\sim 2,5$ mL přesně
Deionizovaná voda	$\sim 1,5$ mL přesně
Ligand, $c \sim 0,004$ M	$\sim 1,0$ mL přesně

Stanovení konstant stability

Pokaždé byly provedeny nejméně tři titrace s počtem okolo 60 bodů na jednu titrací a v rozmezí pH 1,8 až 12. Před každou titrací byla provedena kalibrace A. Tímto způsobem byly titrovány systémy ligandu s ionty kovů Cu²⁺, Zn²⁺, Ni²⁺, La³⁺ a Pb²⁺. Systém ligandu s iontem kovu Pb²⁺ byl titrován v poměru L:M = 1:1 a v poměru L:M = 2:1. Dávkování bylo provedeno dle tab. 2.4.

Tabulka 2.4: Dávkování roztoků pro stanovení konstant stability v systému ligand:kov

	1:1	2:1
HCl v NMe ₄ Cl, $c \sim 0,02$ M	$\sim 2,5$ mL přesně	$\sim 2,5$ mL přesně
Deionizovaná voda	$\sim 1,1$ mL přesně	$\sim 1,3$ mL přesně
Ligand, $c \sim 0,004$ M	$\sim 1,0$ mL přesně	$\sim 1,0$ mL přesně
M(NO ₃) ₂ nebo M(NO ₃) ₃ , $c \sim 0,05$ M	$\sim 0,4$ mL přesně	$\sim 0,2$ mL přesně

Stanovení konstant stability systému ligand:Cu²⁺ a ligand:Zn²⁺

Před samotnou titrací ligandu s kovem se provedla kalibrace B. Titrace byly provedeny podle tabulky 2.5.

Tabulka 2.5: Pipetování roztoků pro stanovení konstant stability

HCl v NMe ₄ Cl, $c \sim 0,02$ M	$\sim 2,5$ mL přesně
HCl, $c \sim 0,2$ M	$\sim 0,4$ mL přesně
Deionizovaná voda	$\sim 2,1$ mL přesně
Ligand, $c \sim 0,004$ M	$\sim 1,0$ mL přesně
M(NO ₃) ₂ , $c \sim 0,05$ M	$\sim 0,4$ mL přesně

Out of cell titrace systému ligand:La³⁺

Dvanáct roztoků odpovídajících různým bodům titrační křivky bylo připraveno do zkumavek se zabroušenou horní částí v rozmezí pH 3 až 4 dle tab. 2.6. Zkumavky byly uzavřeny. Po týdnu ustanovení rovnováhy se vložením elektrody změřil potenciál.

Tabulka 2.6: Pipetování roztoků pro „out of cell“ titraci systému ligand:La³⁺

HCl v NMe ₄ Cl, $c \sim 0,02$ M	$\sim 0,5$ mL přesně
Deionizovaná voda	$\sim 0,2$ mL přesně
Ligand, $c \sim 0,004$ M	$\sim 0,2$ mL přesně
M(NO ₃) ₂ nebo M(NO ₃) ₃ , $c \sim 0,05$ M	$\sim 0,1$ mL přesně

2.3 Zpracování výsledků

Protonizační konstanta polydentátního ligandu je definována jako β_{HL} .

$$\beta_{HL} = \frac{[H_z L]}{[H]^z [L]} \quad (2.1)$$

Rovnovážná celková konstanta je pak definována jako z

$$\beta_{MHL} = \frac{[MH_z L]}{[H]^z [M][L]} \quad (2.2)$$

Obecný vztah mezi celkovou konstantou stability β a konsektivní konstantou stability pK_{ML} je následující.

$$pK_{ML} = \log \beta_n - \log \beta_{(n-1)} \quad (2.3)$$

Matematické zpracování výsledků bylo provedeno pomocí programového balíčku OPIUM následujícím způsobem. Pomocí kalibračních titrací byly zjištěny parametry elektrody E_0 , S , J_A , J_B pro kalibrační funkci.

$$E = E^0 + S \times \log [H^+] + J_A \times [H^+] + J_B \times K_W / [H^+] \quad (2.4)$$

Následně na to byly jednotlivé titrační křivky přepočítány do škály $-\log[H^+]$. Dalším krokem byla nelineární regrese a tou byly vypočteny hodnoty konstant stability. Z výsledných hodnot byly vypočteny teoretické titrační křivky a distribuční diagramy částic jednotlivých systémů.

Pro záporný dekadický logaritmus součinu vody byla dosazena hodnota $pK_W = 13,81$ (iontová síla $I = 0,1M$ NMe_4Cl , $25^\circ C$). Pro výpočty rovnovážných konstant ligand-kov byly použity hodnoty konstant stability hydroxokomplexů daného iontu kovu, které byly převzaty z literatury.⁽²⁰⁾

3 Výsledky a diskuze

3.1 Acidobazické vlastnosti

Potenciometrickými titracemi byly stanoveny protonizační konstanty ligandu NOTA. Získané hodnoty jsou shrnuty v tabulce 3.1.

Tabulka 3.1: Hodnoty protonizačních konstant ligandu NOTA

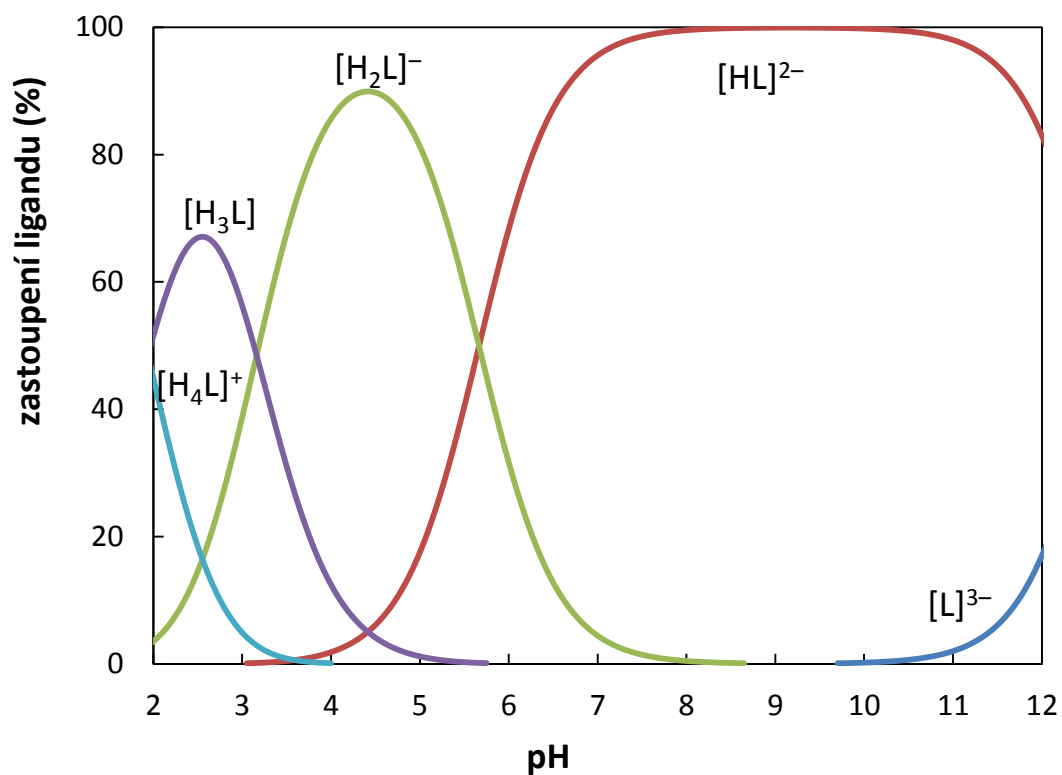
	Log β	p <i>K</i> _a
[HL] ²⁻	13,17 ^a	—
[H ₂ L] ⁻	18,35 ± 0,02	5,18
[H ₃ L]	21,52 ± 0,03	3,16
[H ₄ L] ⁺	23,46 ± 0,03	1,94

^a převzato z [21] stanoveno pomocí ¹H NMR titrace

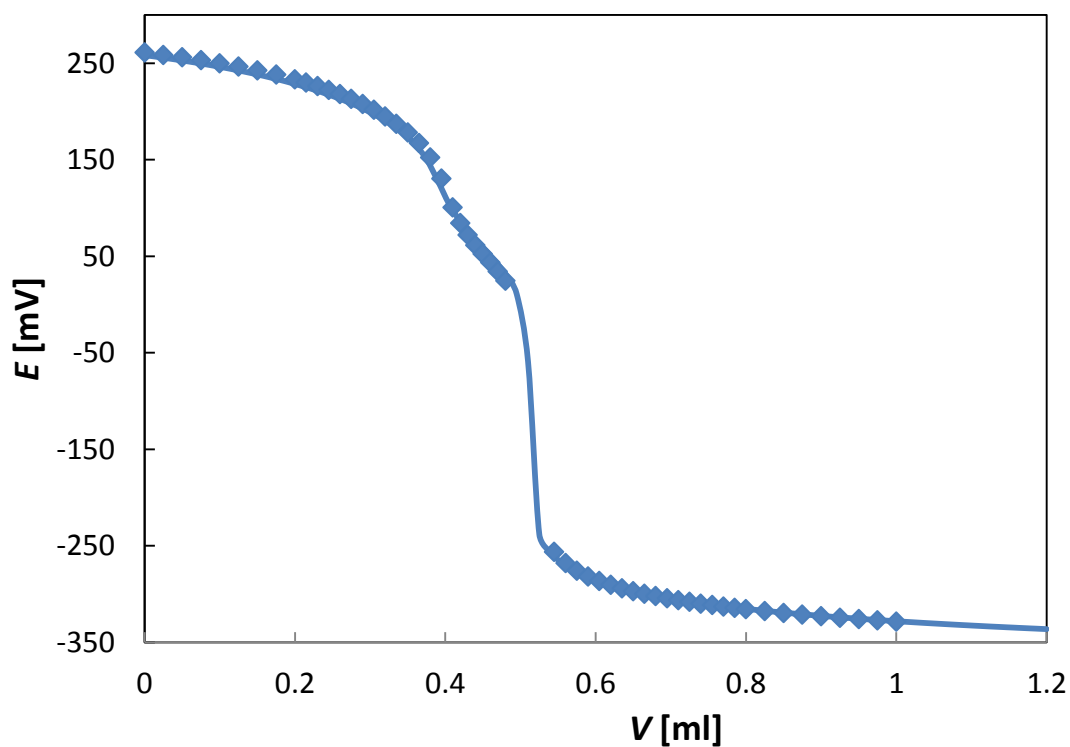
Pro ligand NOTA byly pomocí potenciometrických titrací stanoveny tři protonizační konstanty p*K*₂ – p*K*₄. Konstanta p*K*₁ je mimo rozsah potenciometrických měření, proto byla převzata z literatury [21], kde byla stanovena pomocí NMR. Ve škále pH od 2 až do 12 vzniká pět částic; [H₄L]⁺, [H₃L], [H₂L]⁻, [HL]²⁻ a [L]³⁻ (obr. 3.1). Při pH 2 se v systému nachází tři částice, v největší míře se tam nachází třikrát protonizovaný ligand [H₃L], dále nachází čtyřikrát protonizovaný ligand [H₄L]⁺ a v menší míře i dvakrát protonizovaný ligand [H₂L]⁻. Jeho zastoupení při pH 4,5 dosahuje 90 %. Při pH 3 se v titrovaném roztoku objevuje jednou protonizovaná částice [HL]²⁻, která se od pH 7 do pH 11 nachází v zastoupení prakticky 100 %. Od pH 10 se v systému objevuje částice plně deprotonovaná [L]³⁻.

První i druhá konsektivní konstanta pravděpodobně odpovídá deprotonizaci vodíku na atomech dusíku makrocyklu. U třetí a čtvrté konstanty se patrně jedná o deprotonizaci na karboxylové skupině.

Pro ověření přesnosti měření se provedlo proložení experimentálních bodů teoretickou titrační křivkou (obr. 3.2), ze kterého je patrná velmi dobrá shoda.



Obr. 3.1: Distribuční diagram jednotlivých forem ligandu NOTA v závislosti na pH



Obr. 3.2: Proložení experimentálních bodů teoretickou křivkou pro stanovení protonizačních konstant ligandu NOTA

3.2 Koordinační vlastnosti

Stanovení konstant stability komplexu ligandu NOTA s ionty: Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} a La^{3+} bylo provedeno potenciometrickými titracemi. Na základě získaných výsledků (tab. 3.2) byly sestrojeny distribuční diagramy.

V systému $\text{NOTA}:\text{Cu}^{2+}$ se při pH 1 nachází 50% zastoupení volných Cu^{2+} iontů. Současně se tvoří částice $[\text{Cu}(\text{HL})]$. Od pH 4 dochází k její plné deprotonizaci a nahrazuje ji částice $[\text{CuL}]^-$, která se až do pH 10 nachází v 100% zastoupení. Od pH 10 je nahrazována hydroxokomplexem $[\text{CuL}(\text{OH})]^{2-}$ (obr. 3.3).

U zinečnatých iontů se plně deprotonovaný komplex tvoří již od pH 1. Částice $[\text{ZnL}]^-$ je přítomna v maximálním zastoupení do pH 10. Při vyšším pH se v systému objevuje hydroxokomplex $[\text{ZnL}(\text{OH})]^{2-}$ (obr. 3.5).

Distribuční diagram systému nikelnatých iontů s ligandem NOTA je zcela analogický distribučnímu diagramu téhož ligandu se zinečnatými ionty. Plně deprotonovaný komplex se v 100% zastoupení nachází od pH 3 do pH 10 (obr. 3.7).

Olovnaté ionty tvoří s ligandem NOTA v rozmezí pH od 2 do 12 čtyři částice: volné ionty kovu Pb^{2+} , $[\text{Pb}(\text{HL})]$, $[\text{PbL}]^-$ a $[\text{PbL}_2]^{2-}$. Při pH 2 se v systému nachází první tři zmíněné částice. Částice $[\text{Pb}(\text{HL})]$ je od pH 4 deprotonována a nahrazena částicí $[\text{PbL}]^-$, která je do pH 10 v maximálním zastoupení. Při titraci olovnatých iontů v nadbytku ligandu se od pH 10 objevuje částice $[\text{PbL}_2]^{2-}$ (obr. 3.9).

V systému $\text{La}^{3+}:\text{NOTA}$ se nachází volné lanthanité ionty do pH 5. Od pH 3 se tvoří deprotonovaný komplex $[\text{LaL}]$. Hydroxokomplex $[\text{LaL}(\text{OH})]^-$ v systému pomalu nahrazuje komplex $[\text{LaL}]$ v bazickém prostředí.

Ve všech systémech se provedlo proložení experimentálních bodů teoretickou křivkou. U všech systémů bylo dosaženo výborné shody. Výjimku tvoří lanthanité ionty, které v kyselé oblasti vykazují odchylku od teoretické křivky (obr. 3.12). Ta je dána nízkou rychlostí komplexace. Proto byla v kyselé oblasti provedena „out of cell“ titrace.

Tabulka č. 3.2: Konstanty stability a disociační konstanty komplexů studovaného ligandu s ionty kovů

	Cu ²⁺		Zn ²⁺		Ni ²⁺		Pb ²⁺		Mn ²⁺ [21]	
	logβ	pK	Logβ	pK	logβ	pK	logβ	pK	logβ	pK
[ML]	21,03(4)	—	22,25(4)	—	19,24(3)	—	18,18(1)	—	16,3	—
[M(HL)]	23,73(4)	2,7	—	—	—	—	20,94(1)	2,76	2,87	13,43
[ML(OH)]	8,88(4)	12,15	9,59(6)	12,66	6,95(7)	12,29	—	—	—	—
[ML ₂]	—	—	—	—	—	—	22,61(5)	1,67	—	—
	La ³⁺		Gd ³⁺ [21]		Ga ³⁺ [22]					
	logβ	pK	Logβ	pK	logβ	pK				
[ML]	13,74(6)	—	13,7	—	29,6	—				
[M(HL)]	—	—	3,6	11,1	—	—				
[ML(OH)]	3,07(6)	10,67	—	—	—	—				

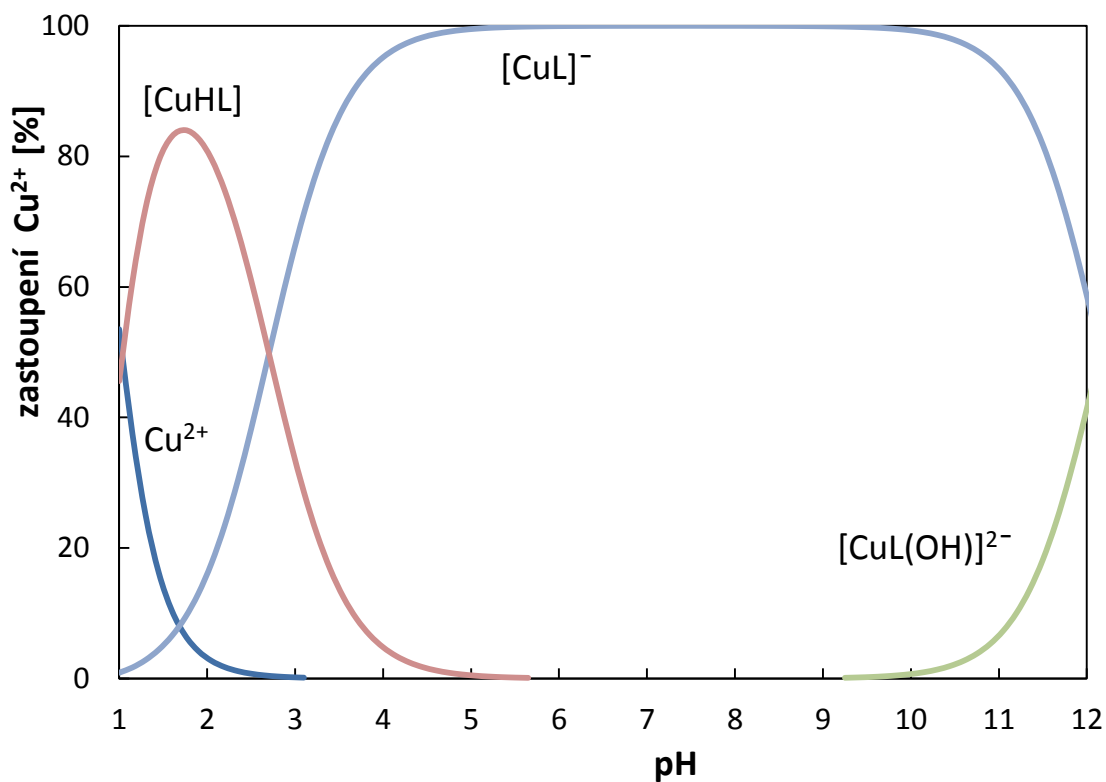
Z tabulky 3.2 je patrné, že největší stabilitu vykazuje Ga³⁺ komplex. Galité ionty jsou malé nabité ionty, které zapadají do dutiny ligandu NOTA. Prvky z první přechodné řady kovů: Cu²⁺, Zn²⁺ a Ni²⁺ vykazují také vysokou stabilitu komplexů. Ta se řídí Irving-Williamsovou řadou a je ovlivněna ligandovým polem. Výjimku tvoří Cu²⁺ ionty. Měďnaté ionty svojí geometrií tvoří nejčastěji oktaedrické uspořádání. Vzhledem k uspořádání valenčních elektronů, měď nedokáže vytvořit pravidelný oktaedr. Dochází k protažení ve směru osy z. Měďnaté ionty preferují ligandy se čtyřmi dusíky v ekvatoriální rovině, což ligand NOTA neumožňuje. Přesto je konstanta stability vysoká a komplex Cu²⁺:NOTA je vhodný pro použití v biomedicínských aplikacích.

Zinečnaté ionty a nikelnaté ionty tvoří s ligandy pravidelné oktaedry. Jsou to ionty s relativně malými poloměry atomu. Kavita ligandu NOTA je pro ně optimální. Konstanty stability splňují Irving-Williamsovu řadu.

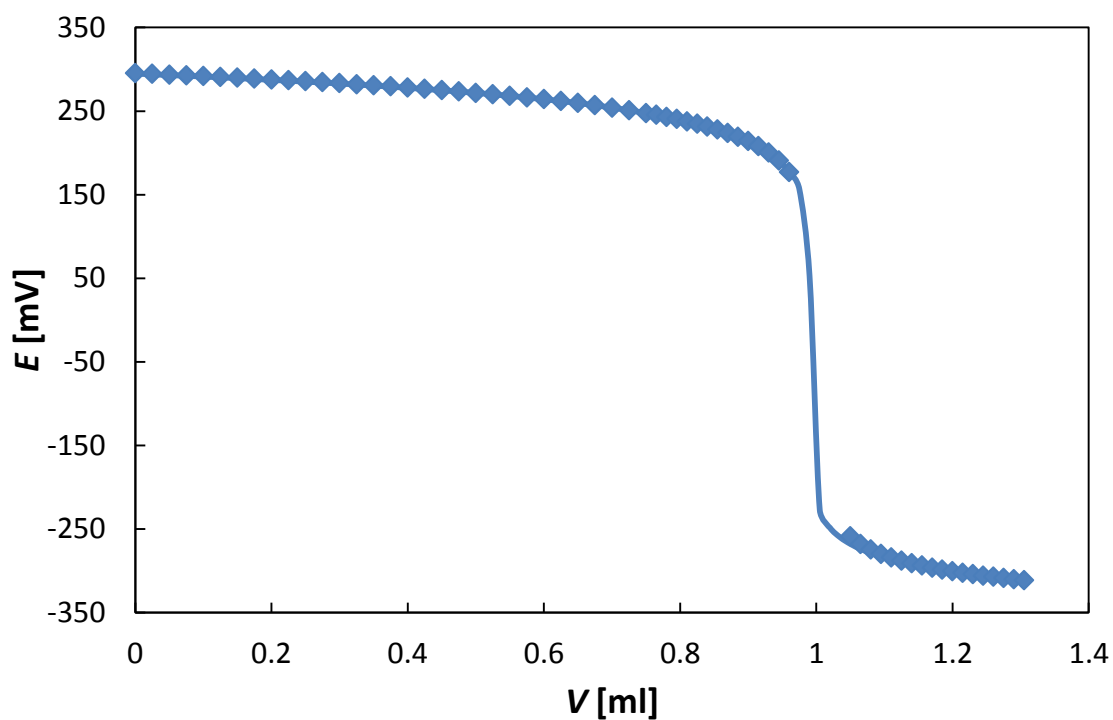
Olovnaté ionty mají větší poloměr atomu a svojí velikostí tak neodpovídají velikosti kavity ligandu. Proto vznikající komplexy vykazují nižší konstantu stability. Vzhledem k jejich velikosti byl systém studován i v nadbytku ligandu. V bazickém

prostředí se na olovnatý iont koordinují dvě molekuly ligandu. Druhá konsektivní konstanta je však velmi nízká.

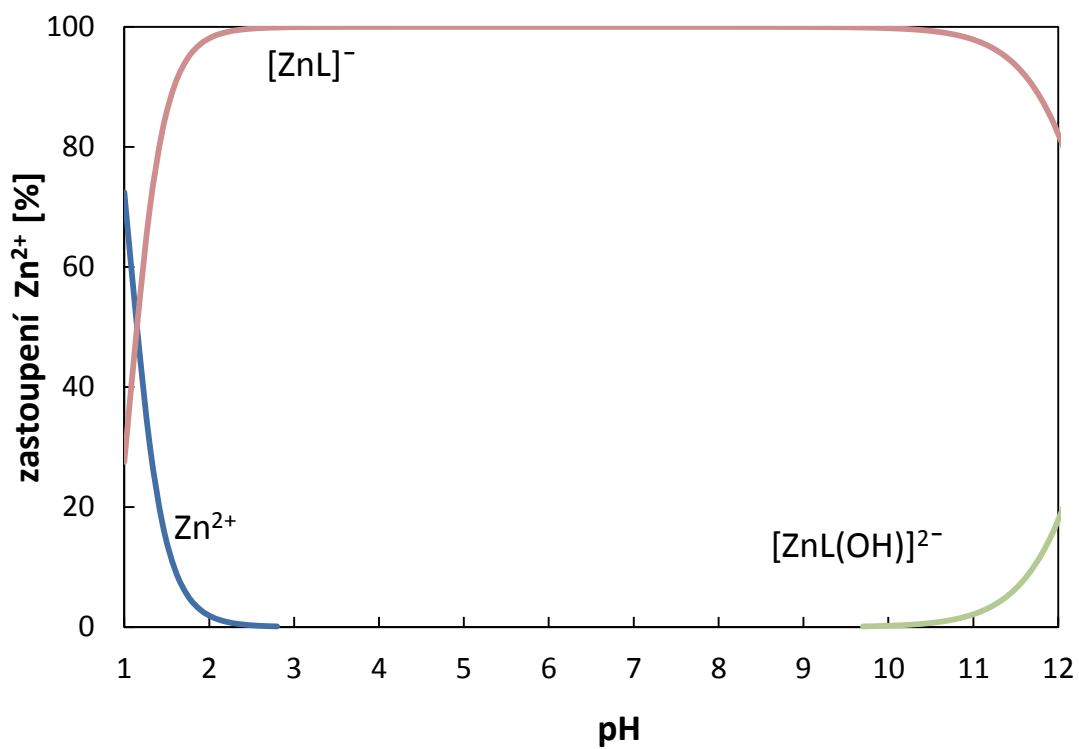
Gadolinité a lanthanité ionty ze skupiny lanthanoidů mají nejmenší konstantu stability z vybraných kovů, což je dáno tím, že oba ionty mají největší atomový poloměr a komplexy nejsou stabilizována ligandovým polem.



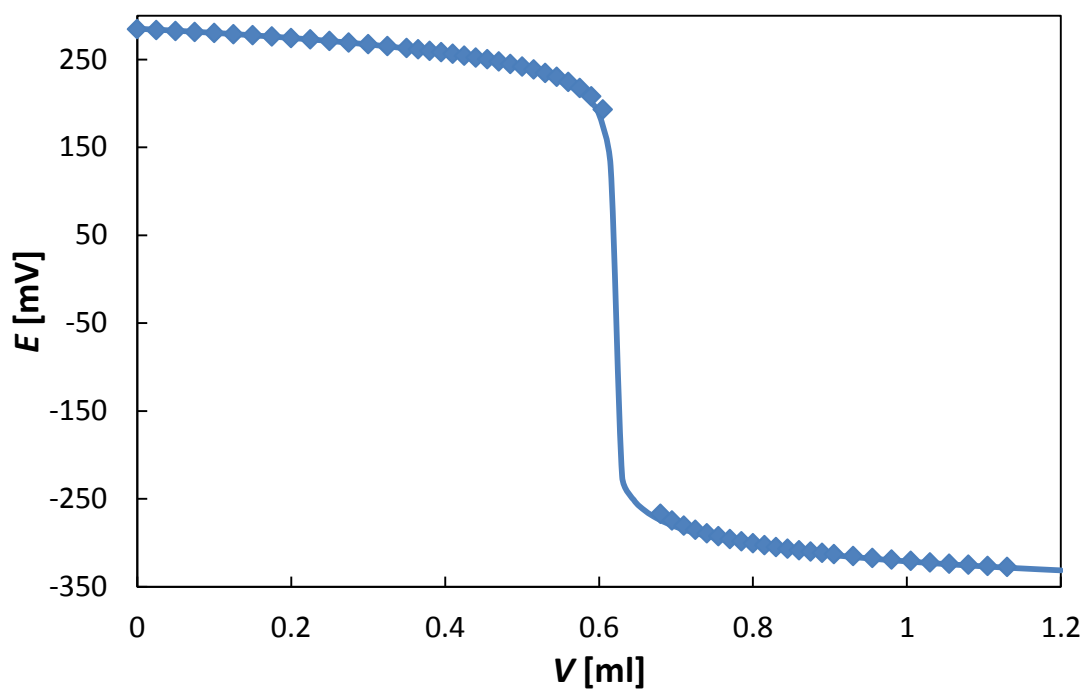
Obr. 3.3: Distribuční diagram jednotlivých forem v závislosti na pH systému NOTA:Cu²⁺ v poměru 1:1



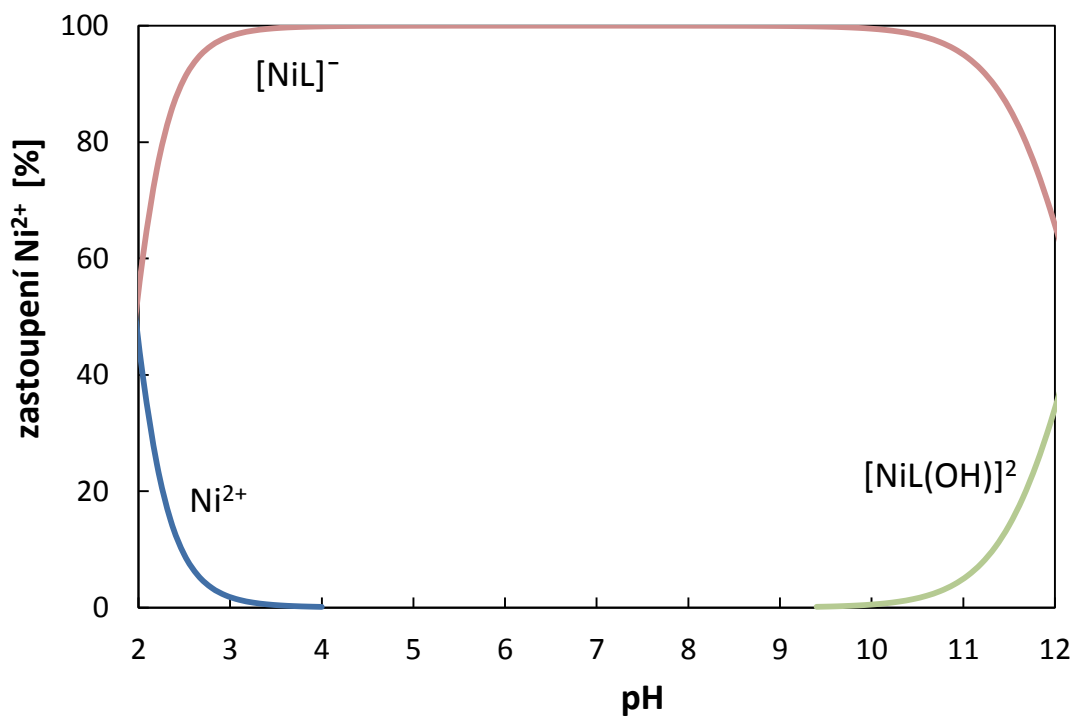
Obr. 3.4: Proložení experimentálních bodů teoretickou křivkou pro stanovení konstant stability Cu^{2+} iontů



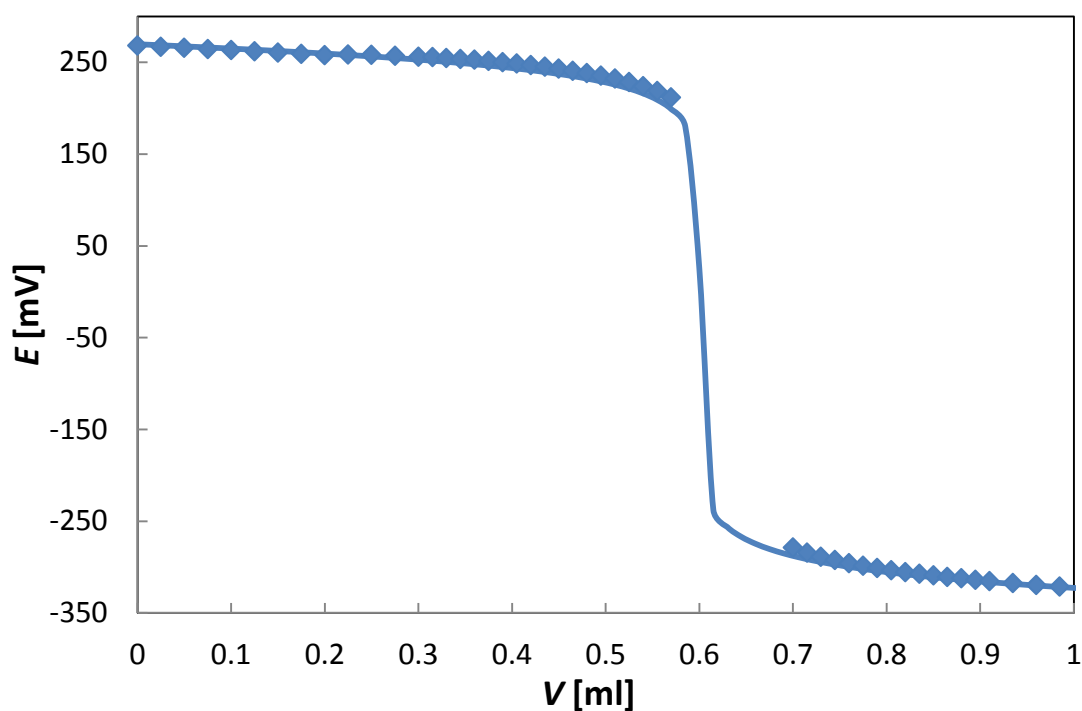
Obr. 3.5: Distribuční diagram jednotlivých forem v závislosti na pH systému $\text{NOTA}:\text{Zn}^{2+}$ v poměru 1:1



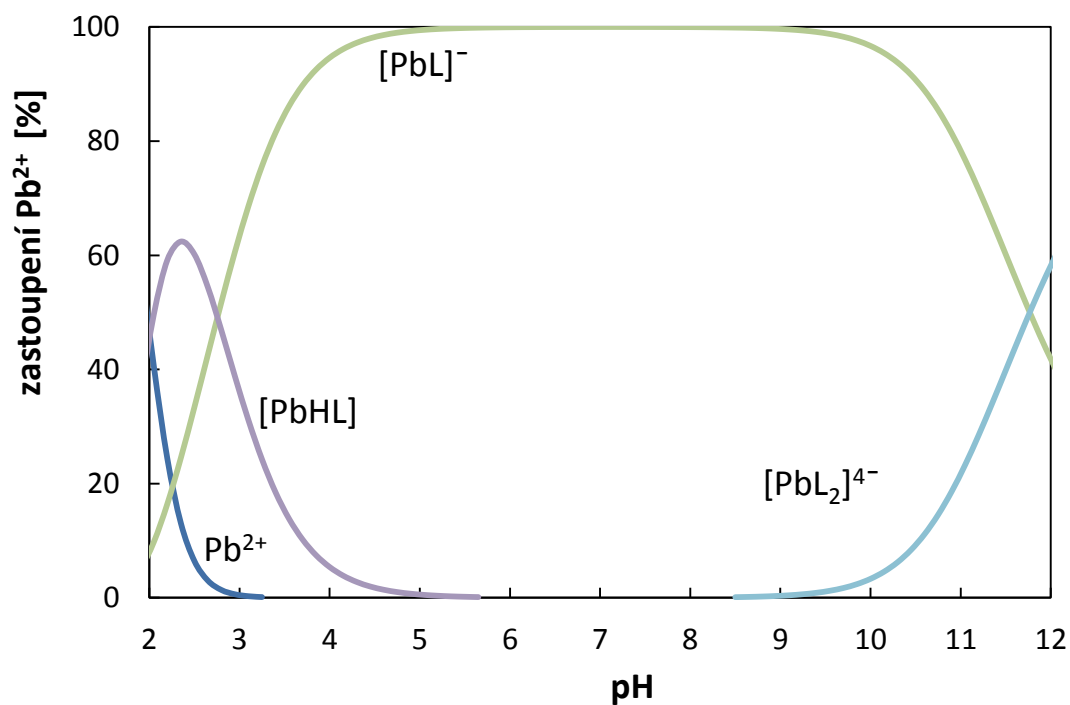
Obr. 3.6: Proložení experimentálních bodů teoretickou křivkou pro stanovení konstant stability Zn^{2+} iontů



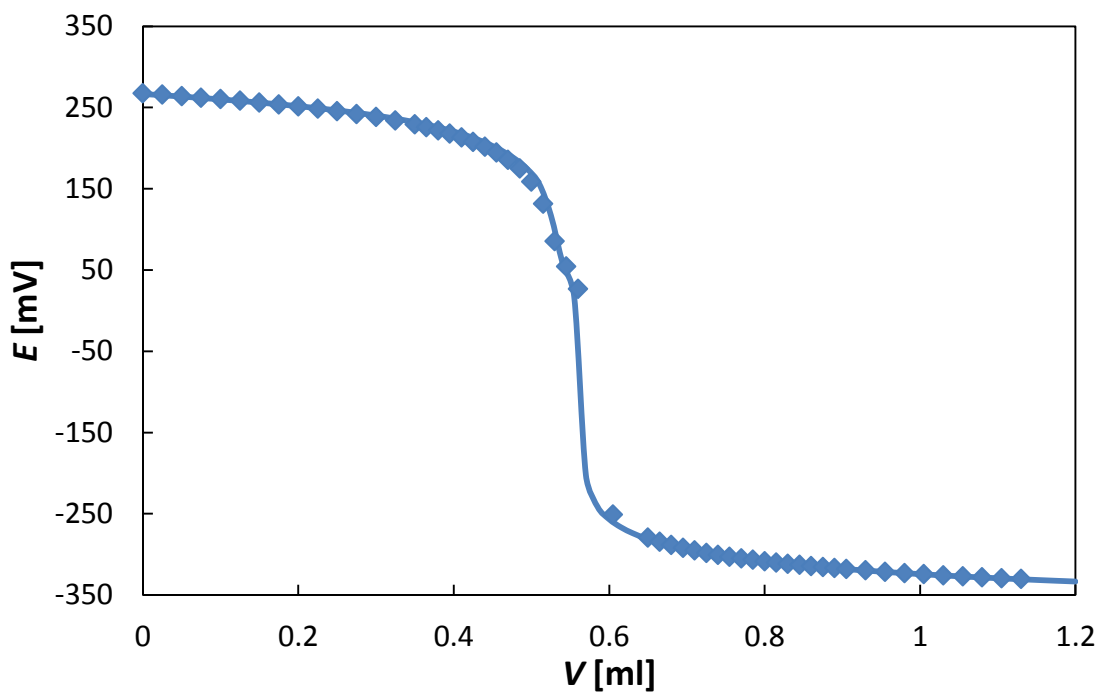
Obr. 3.7: Distribuční diagram jednotlivých forem v závislosti na pH systému $NOTA:Ni^{2+}$ v poměru 1:1



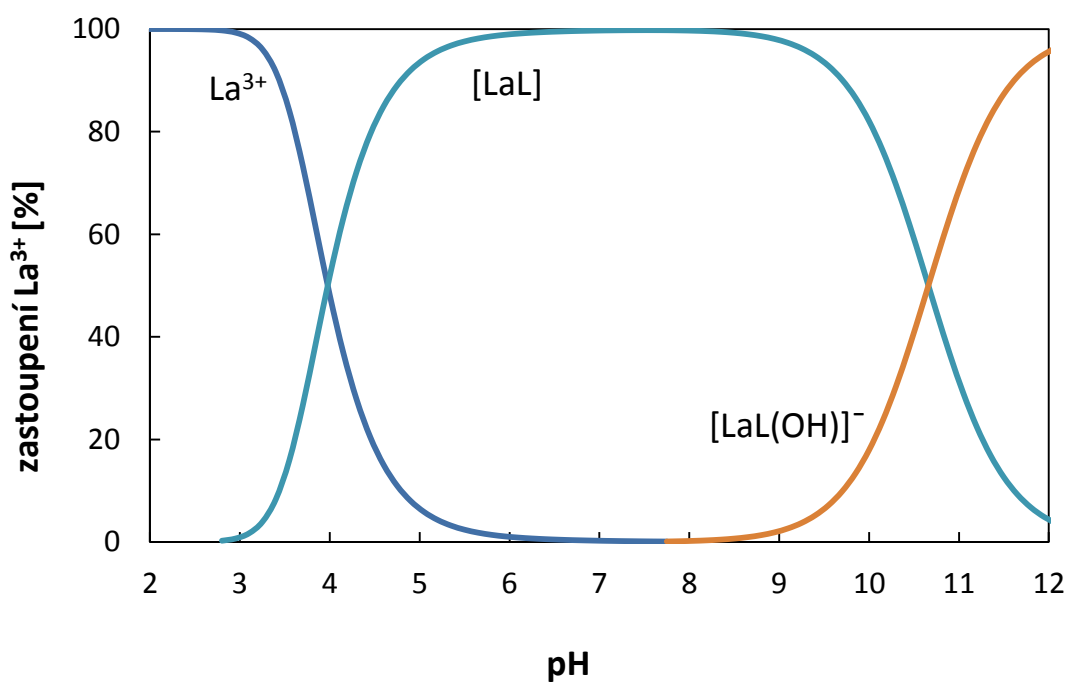
Obr. 3.8: Proložení experimentálních bodů teoretickou křivkou pro stanovení konstant stability Ni^{2+} iontů



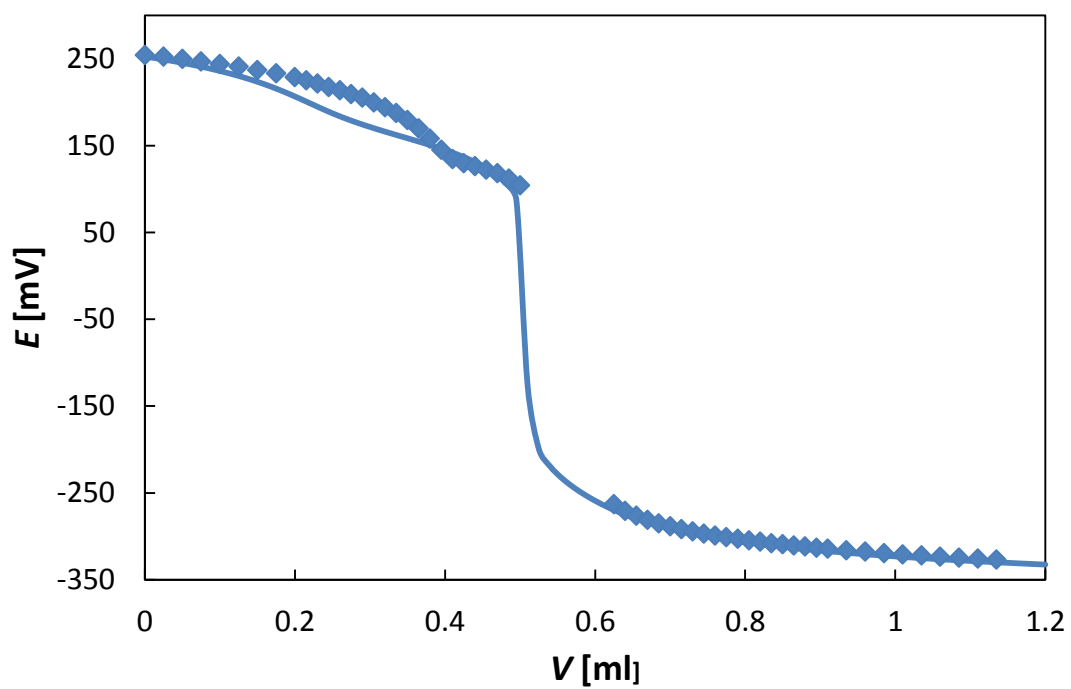
Obr. 3.9: Distribuční diagram jednotlivých forem v závislosti na pH systému $\text{NOTA}:\text{Pb}^{2+}$ v poměru 2:1



Obr. 3.10: Proložení experimentálních bodů teoretickou křivkou pro stanovení konstant stability Pb^{2+} iontů



Obr. 3.11: Distribuční diagram jednotlivých forem v závislosti na pH systému $\text{NOTA}:\text{La}^{3+}$ v poměru 1:1



Obr. 3.12: Proložení experimentálních bodů teoretickou křivkou pro stanovení konstant stability La^{3+} iontů

4 Závěr

Pomocí potenciometrických titrací byly stanoveny protonizační konstanty kyseliny 1,4,7- triazacyklononan-1,4,7- trioctové.

Dále byly stanoveny konstanty stability s ionty kovů: Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} La^{3+} . Konstanta stability ligandu NOTA s Cu^{2+} ionty je $\log\beta$ 21,03. Komplex je dostatečně stabilní pro použití v biomedicínských aplikacích.

5 Použitá literatura

1. Mička, Z.; Lukeš, I.: *Teoretické základy anorganické chemie*. 3. vydání, vyd. Praha, Karolinum 2009.
2. Kotek, J.: *Habitační práce*. Univerzita Karlova v Praze 2009.
3. Kotek, J.: *Disertační práce*. Univerzita Karlova v Praze 2004.
4. Haber, V.: *Koordinační chemie I*. 2. vydání, vyd. Praha, Univerzita Karlova v Praze 1990.
5. Klikorka, J.; Hájek, B.; Votinský, J.: *Obecná a anorganická chemie*. 2. vydání, vyd. SNTL 1998.
6. Lukeš, I.; Mička, Z.: *Anorganická chemie II. (Systematická část)*. Praha, Karolinum 1998.
7. Böhmová, Z. : *Bakalářská práce*, katedra anorganické chemie PŘF UK (2011)].
8. Opekar, F.: *Základní analytická chemie*. vyd. Praha, Karolinum 2003.
9. Steed, J. W.; Atwood, J. L.: *Supramolecular chemistry*. John Wiley&sons, New York 2000.
10. Kubiček, V.: *Učební texty*.
11. Kotek, J; Lukeš, I.: Cheláty pro využití v biomedicinských oborech. *Chem. Listy* **104**, 1163–1179 (2010).
12. Reichert, D., E.; Lewis, J., S.; Anderson, C., J.: *Metal complexes as diagnostic tools*. *Coordination Chemistry Reviews* **184**, 3–66 (1999).
13. US Pat 8629404 Vija, A., H.: *Method and apparatus to optimize injected dose and scan time in SPECT imaginig*. 14.1.2014.
14. Knoll, G., F.: *Single-photon emission computed tomography*. *Proceedings of the IEEE* **71**, 320–329 (1983).
15. Wadas, T., J.; Wong, E., H.; Weisman, G., R.; Anderson, C., J.: *Coordination of radiometals of copper, galium, indium, yttrium, and zirconium for PET and SPECT imaging of disease*. *Chem. Rev.* **110**, 2858–2902 (2010).
16. Li, Z.; Conti, P., S.: *Radiopharmaceutical chemistry for positron emission tomography*. *Advanced Drug Delivery Reviews* **62**, 1031–1051 (2010).
17. Maheshwari, V.; Dearling, J., L.J.; Trevers, S., T.; Packard, A., B.: *Measurement of the rate of copper (II) exchange for ⁶⁴Cu complexes of bifunctional chelators*. *Inorganica Chimica Acta* **393**, 318–323 (2012).

18. Blower, P., J.; Lewis, J. S.; Zweit, J.: *Copper radionuclides and radiopharmaceuticals in nuclear medicine*. *Nuclear Medicine&Biology* **23**, 957–980 (1996).
19. Kývala, M.; Lukeš, I.: *International conference chemometrics '95*, p. 63. Pardubice, Czech Republic, 1995.
20. Baes, C., F., Jr.; Mesmer, R., E.: *The hydrolysis of cations*. New York, Wiley 1976.
21. Drahoš, B.; Kubíček, V.; Bonnet, C., S.; Hermann, P.; Lukeš, I.; Tóth, É.: *Dissociation kinetics of Mn²⁺ complexes of NOTA and DOTA*. *Dalton Trans.* **40**, 1945 (2011).
22. Šimeček, J.; Schulz, M.; Notni, J.; Plutnar, J.; Kubíček, V.; Havlíčková, J.; Hermann, P.: *Complexation of metal ions with TRAP (1,4,7-triazacyclononane phosphinic acid) ligands and 1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacetic acid: Phosphinate-containing ligands as unique chelators for trivalent gallium*. *Inorg. Chem.* **51**, 577–590 (2012).