

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Veronika Hlinová

KOORDINAČNÍ VLASTNOSTI MONOESTERŮ
AMINOFOSFONOVÝCH KYSELIN

Coordination properties of aminophosphonate monoesters

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: Doc. RNDr. Vojtěch Kubíček, Ph.D.

Praha 2015

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

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

V Praze dne 29. května 2015.

ABSTRAKT

Byl syntetizován monoester aminofosfonové kyseliny – diethylester kyseliny piperazin-*-N,N'*-bis(methylenfosfonové). Potenciometrickými titracemi byly stanoveny disociační konstanty daného ligandu. Bylo studováno koordinační chování této látky a stanoveny konstanty stability s vybranými dvojmocnými ionty přechodných kovů – Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} a Zn^{2+} .

KLÍČOVÁ SLOVA

Ligandy, disociační konstanty, potenciometrie, fosfonáty, komplexy.

ABSTRACT

Aminophosphate monoester – diethylpiperazine-*N,N'*-bis(methylenephosphonate) was prepared. Acid-base and coordination properties of the ligand were studied by potentiometry. Protonation constants and stability constants with selected ions of transition metals – Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} and Zn^{2+} were determined.

KEYWORDS

Ligands, dissociation constants, potentiometry, phosphonates, complexes.

OBSAH

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Úvod..... | 7 |
| 1.1 | Kyseliny aminofosfonové a aminofosfinové | 7 |
| 1.1.1 | Acidobazické vlastnosti | 10 |
| 1.1.2 | Koordinační vlastnosti | 11 |
| 1.2 | Polyaminofosfonáty a polyaminofosfináty | 13 |
| 1.3 | Cíl práce..... | 18 |
| 2 | Experimentální část..... | 19 |
| 2.1 | Užité chemikálie | 19 |
| 2.2 | Charakterizační metody | 19 |
| 2.3 | Syntéza..... | 20 |
| 2.4 | Potenciometrické titrace | 21 |
| 3 | Výsledky a diskuze | 24 |
| 3.1 | Syntéza ligandu..... | 24 |
| 3.2 | Acidobazické vlastnosti | 24 |
| 3.3 | Koordinační vlastnosti | 27 |
| 4 | Závěr | 33 |
| 5 | Použitá literatura | 34 |

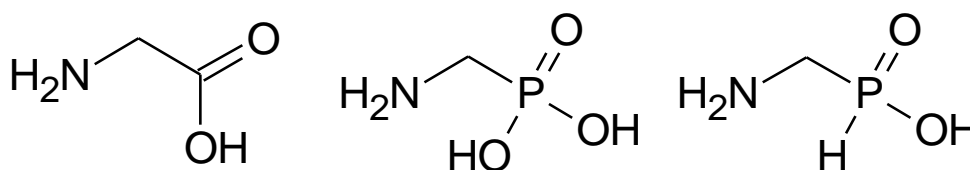
SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

| | |
|---------|-----------------------------------|
| MRI | tomografie magnetické rezonance |
| PET | pozitronová emisní tomografie |
| SPECT | jednofotonová emisní tomografie |
| NMR | nukleární magnetická rezonance |
| ESI | ionizace elektrospřejem |
| ATP | adenosintrifosfát |
| GTP | guanosintrifosfát |
| M | kov |
| L | ligand |
| β | celková konstanta stability |
| pK_a | disociační konstanta |
| K_w | iontový součin vody |
| E_0 | standardní elektroodový potenciál |
| E | elektroodový potenciál |
| J_A | kyselá odchylka elektrody |
| J_B | zásaditá odchylka elektrody |
| S | Nernstova směrnice |

1 ÚVOD

1.1 KYSELINY AMINOFOSFONOVÉ A AMINOFOSFINOVÉ

Kyseliny aminofosfonové a aminofosfinové tvoří významnou skupinu látek s širokým využitím. Mohou být chápány jako analoga karboxylových kyselin vznikající záměnou karboxylové skupiny za skupinu fosfonovou ($-\text{PO}_3\text{H}_2$), resp. fosfinovou ($-\text{PO}_2\text{H}_2$) (**Obr. 1.1**).



Obr. 1.1 Kyselina α -aminokarboxylová (vlevo), kyselina α -aminofosfonová (uprostřed), kyselina α -aminofosfinová (vpravo).

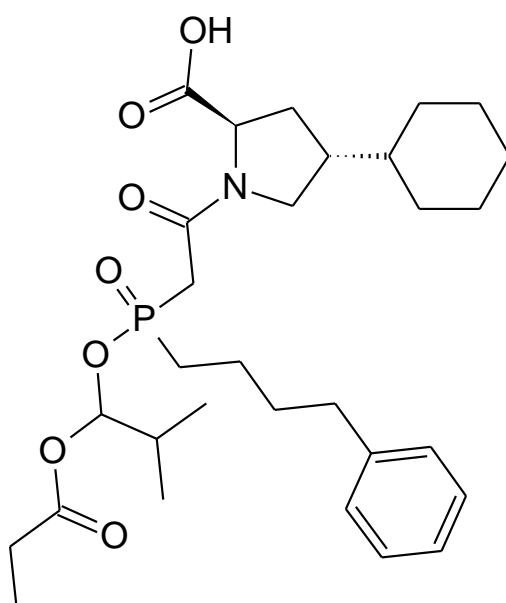
Fosfonová/fosfinová skupina se může nacházet v různých pozicích uhlíkatého řetězce. Zvláště studované jsou ty látky, u nichž se aminoskupina vyskytuje na uhlíkovém atomu, který přímo sousedí s atomem fosforu, tedy v pozici α . Důležitým rysem α -aminofosfonových/fosfinových kyselin je motiv $\text{HN}-\text{C}-\text{P}=\text{O}$, seskupení aminové a fosfo(i)nové skupiny oddělené pouze methylenovým můstkem. Tento motiv nese zásadní význam pro koordinační a acidobazické vlastnosti. Sloučeniny s aminoskupinou v poloze β ustupují do pozadí, ačkoli rovněž vykazují biologickou aktivitu.¹

Zájem o studium α -aminoderivátů fosfo(i)nových kyselin roste v mnoha směrech (biochemie, farmacie, organická syntéza a další) díky unikátní kombinaci vazebných míst různého charakteru, dále pak variabilnímu lipofilnímu charakteru a možnosti sterického ovlivnění vazebné pozice. Kyseliny α -aminofosfonové nacházejí uplatnění v agrochemii jako insekticidy, fungicidy, ale i jako změkčovadla a stabilizátory polymerů, aditiva do samozhášecích materiálů a katalyzátory. Hojně jsou i jejich aplikace pro medicínální účely.¹

Řada α -aminofosfonátů vykazuje biologické účinky právě díky uspořádání $\text{N}-\text{C}-\text{P}$. Toto uskupení způsobuje inhibici některých proteáz na principu imitace karboxylových intermediátů vznikajících v tranzitním stavu enzymové hydrolytické reakce. Kyseliny α -aminofosfonové mají velký potenciál v syntéze pseudopeptidů, v nichž do peptidové vazby vstupuje nehydrolyzovatelná fosfo(i)nová skupina.² Zatímco tetraedrický uhlíkový

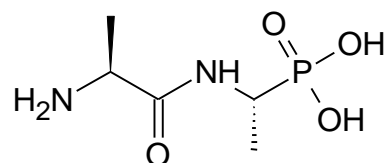
meziprodukt je nestabilní a snadno podléhá hydrolyze, jeho fosforový analog vykazuje v této konfiguraci vysokou stabilitu.

Syntéza pseudopeptidů (peptidylfosfonátů) se stala předmětem řady vědeckých studií. Byly připraveny potenciální inhibitory mnohých enzymů – pepsinu, chymotrypsinu, karboxypeptidasy A, lidské kolagenasy, termolysinu, hydroxymethylglutamylCoA reductasy, *D*-alanyl-*D*-alanin ligasy a β -laktamasy.³ Fosinopril (**Obr. 1.2**) byl prvním klinicky studovaným inhibitorem enzymu konvertujícího angiotenzin. Je základem preparátu dostupného pod komerčním označením Monopril, jenž je určený ke snížení arteriálního krevního tlaku u pacientů s hypertenzí. Jeho užívání zajišťuje prevenci kardiovaskulárních onemocnění.^{4,5}



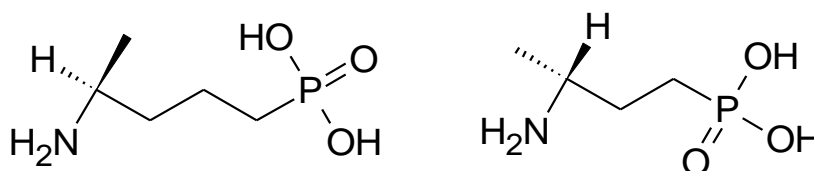
Obr. 1.2 Účinná látka fosinopril.

U některých aminofosfonových kyselin byly prokázány antibakteriální, antivirové a protirakovinné účinky.⁶ Jedná se často o chirální sloučeniny, jejichž biologická aktivita je determinována absolutní konfigurací uhlíkového atomu nesoucího aminoskupinu. Příkladem může být (*R,S*)-alafosfalin (**Obr. 1.3**) působící proti gram-pozitivním mikroorganismům. Jeho ostatní diastereoizomery tuto aktivitu nevykazují buď vůbec, nebo ji směřují proti jiným bakteriálním druhům.⁶⁻⁸



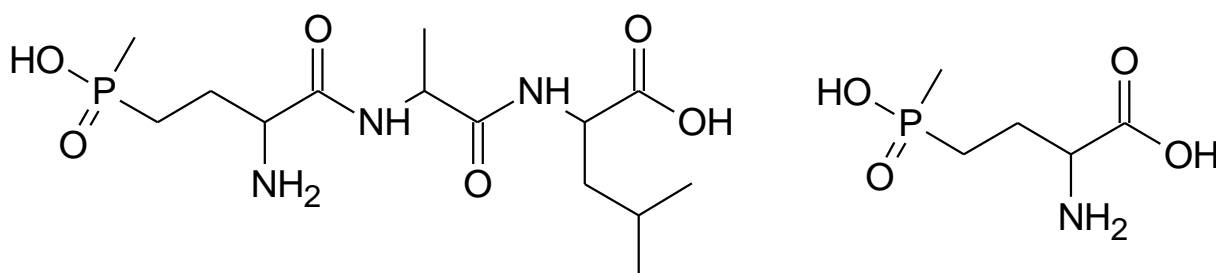
Obr. 1.3 *R,S*-alafosfalin vykazující antibakteriální účinky.

U 2-amino-4-fosfonobutanové kyseliny byla u *S*-stereoizomeru pozorována zhruba dvacetinásobně větší aktivita při potlačení nervového přenosu zprostředkovaného glutamátem než u *R*-izomeru. Role kompetitivního antagonisty *N*-methyl-*D*-aspartátu je připisována *R*-formě 2-amino-5-fosfonopentanové kyseliny, jiné izomery se v této oblasti neuplatňují (**Obr. 1.4**).⁸



Obr. 1.4 *S*-2-amino-4-fosfonobutanová (vpravo), *R*-2-amino-4-fosfonopentanová (vlevo).

Antibiotikum Phosalacin bylo izolováno z mikroorganismů *Kitasatosporia phosalacinea*. Chemicky se jedná o *L*-phosphinothricyl-*L*-alanyl-*L*-leucin. Studium mechanismu jeho protirakovinných a herbicidních účinků bylo zjištěno, že zabudováním Phosalacinu do bakteriálních a rostlinných buněk dochází k přeměně na phosphinothricin, který inhibuje glutaminsyntetázu, klíčový enzym metabolismu dusíku (**Obr. 1.5**).⁹

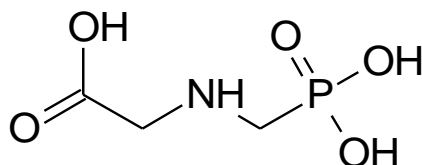


Obr. 1.5 Antibiotikum Phosalacin (vlevo) se mění na phosphinothricin (vpravo).

Stereochemie není zobrazena.

Záměnou *L*-leucinu na terminálním uhlíku za *L*-alanin získáme strukturu, která je známá pod názvem Bialaphos a uplatňuje se v zemědělství jako herbicid.⁹

Dalším velmi používaným herbicidem potlačujícím růst dlouhých travin a širokolistých plevelů je glyphosát – *N*-(fosfonomethyl)glycin (**Obr. 1.6**), který vykazuje velmi nízkou toxicitu a míru negativního ovlivnění životního prostředí.¹⁰



Obr. 1. 6 Glyphosát s herbicidní aktivitou.

Kyseliny aminofosfonové i aminofosfinové jsou schopny ve fyziologickém mediu, *in vitro*, komplexovat různé ionty kovů – fyziologicky přítomné v organismu i uměle vnesené za konkrétním účelem. To otevírá širokou škálu možností jejich potenciálního využití *in vivo* v radiofarmacii a při zobrazovacích metodách, kde je přirozeně kladen velký důraz na dosažení cílové tkáně a minimalizování kumulace často toxických iontů v organismu. Funkci chelatantu zastávají jak acyklické polyaminy, tak kruhové skelety tzv. polyazamakrocykly modifikované kyselými fosfonovými či fosfinovými skupinami.¹¹ Vhodně zvolená pendantní ramena významně ovlivňují koordinační vlastnosti.

1.1.1 ACIDOBAZICKÉ VLASTNOSTI

Již bylo uvedeno, že formálně existuje paralela mezi aminofosfo(i)novými kyselinami a aminokarboxylovými kyselinami. Karboxylová a fosfonová (fosfinová) skupina se ovšem liší v podstatných aspektech, jakými jsou velikost, tvar a náboj. Dají se tedy očekávat i odlišnosti v jejich acidobazickém a koordinačním chování. Změny lze demonstrovat na glycinu a jeho fosfonovém $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{PO}(\text{OH})_2$ (H_2GlyP) a fosfinovém $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{PO}(\text{R})\text{OH}$ (HGlyP^{H}) derivátu.¹² První disociační konstanty odpovídají protonizaci dusíků, další pak disociaci karboxylových, fosfonových a fosfinových skupin (**Tab. 1.1**).

Tab. 1.1 Disociační konstanty glycinu a jeho fosforových analogů.¹²

| | HGly | H ₂ GlyP | HGlyP ^H |
|-------------------------|------|---------------------|--------------------|
| p <i>K</i> ₁ | 9,57 | 10,00 | 8,06 |
| p <i>K</i> ₂ | 2,36 | 5,38 | < 0,5 |
| p <i>K</i> ₃ | – | ~ 0,5 | – |

Porovnáním hodnot pK_a vlastního α -aminokarboxylátu a jeho fosforových derivátů je zřejmé, že kyselost aminoskupiny aminofosfonových, aminofosfinových a aminokarboxylových kyselin koreluje s efektem odčerpávání elektronů, který má následující trend $-\text{PO}_3^{-2} < -\text{OPO}_3^{-2} < -\text{CO}_2^- < -\text{PO}_2\text{R}^- < -\text{PO}_2\text{H}^-$, a je tedy nejvyšší u aminofosfinových analogů.

Vyšší zásaditost aminoskupiny aminofosfonátů se vysvětluje vyšší elektronovou hustotou v okolí negativně nabitých kyslíkových atomů (2–). Aminofosfináty disponují pouze polovičním záporným nábojem (1–), vykazují tedy menší elektronovou hustotu na atomu dusíku. U některých aminofosfonátů či aminofosfinátů je pozorovatelný trend zvyšování hodnot disociačních konstant z důvodu tvorby intramolekulárních vodíkových můstků.^{12,13}

1.1.2 KOORDINAČNÍ VLASTNOSTI

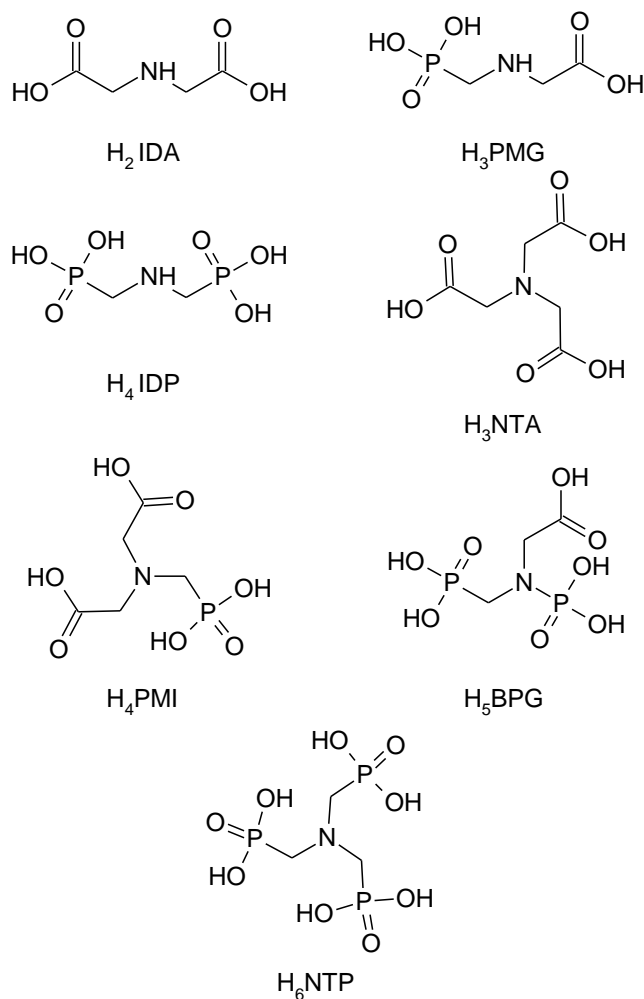
Stěžejní vlastností aminofosfo(i)nátů je jejich schopnost komplexace iontů kovů. Konstanty stability komplexů aminofosfonových analogů s kovy nabývají podobně vysokých či vyšších hodnot v porovnání s konstantami stability odpovídajících komplexů aminokarboxylových sloučenin. Nejnižší termodynamickou stabilitu vykazují komplexní částice aminofosfinátů. Trend tohoto poklesu má souvislost s klesající bazicitou donorových aminoskupin.¹³

Konstanty stability komplexů již jednou zmíněného *N*-(phosphonomethyl)glycinu (H₃PMG), známého pro svou herbicidní aktivitu pod triviálním názvem glyphosate, s vybranými kovy se ukázaly být vyšší v porovnání s analogickými komplexy kyseliny iminodioctové (**Tab. 1.2**).¹⁴ Byly porovnávány i komplexy dalších fosforových derivátů H₂IDA a H₃NTA jako H₄PMI, H₆NTP, H₄IDP a H₅BPG (**Obr. 1.7**, **Tab. 1.2**). Z výsledků vyplynulo, že záměnou karboxylové skupiny za skupinu fosfonovou je dosaženo vyšší

chelatační síly. To odpovídá trendu, který byl vypořádan i u glycinu a jeho fosforových analogů.¹⁵

Tab. 1.2 Konstanty stability $\log\beta$ vybraných komplexů α -aminokarboxylových kyselin a jejich fosforových analogů s Cu^{2+} ($I = 0,20 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ (KCl), $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$).

| | IDA ²⁻ | PMG ³⁻ | IDP ⁴⁻ | NTA ³⁻ | PMI ⁴⁻ | BPG ⁵⁻ | NTP ⁶⁻ |
|--------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| [Cu(H ₃ L)] | – | – | – | – | – | – | 30,23 |
| [Cu(H ₂ L)] | – | – | 21,5 | – | – | 24,67 | 26,84 |
| [Cu(HL)] | 12,9 | 15,53 | 17,75 | 14,8 | 18,52 | 21,14 | 22,37 |
| [CuL] | 10,56 | 11,68 | 12,90 | 13,1 | 13,83 | 15,97 | 16,19 |
| [Cu(H ₁ L)] | 2,0 | 2,16 | 2,16 | 3,9 | 3,98 | 5,56 | 4,72 |
| [Cu(H ₄ L ₂)] | – | – | 41,9 | – | – | – | – |
| [Cu(H ₃ L ₂)] | – | – | 37,92 | – | – | – | – |
| [Cu(H ₂ L ₂)] | – | 29,37 | 32,52 | – | – | – | – |
| [Cu(HL ₂)] | – | 24,61 | 26,73 | – | – | – | – |
| [CuL ₂] | 16,4 | 16,42 | 16,86 | 17,5 | – | – | – |



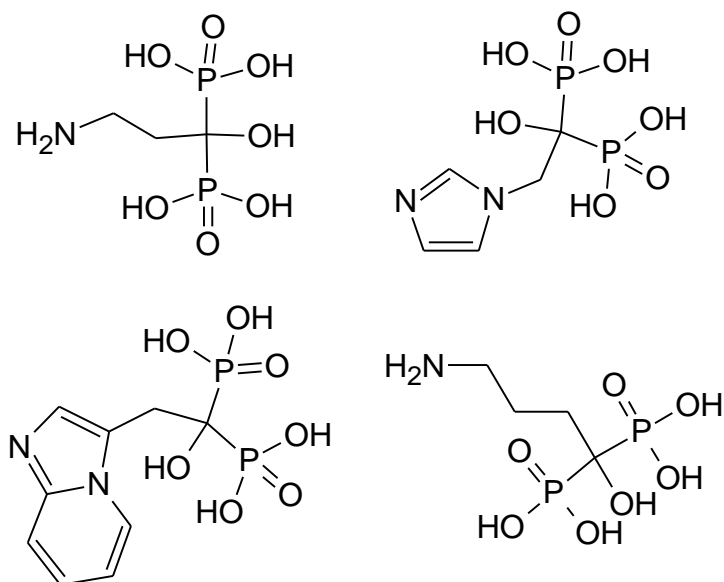
Obř. 1.7 Fosforové analogy H₂IDA a H₃NTA.

1.2 POLYAMINOFOSFONÁTY A POLYAMINOFOSFINÁTY

Bylo připraveno velké množství fosforových analogů aminokarboxylových kyselin obsahujících více atomů fosforu. V zásadě je lze klasifikovat do dvou tříd. Jednou z nich jsou geminální bis(fosfonáty) se společným strukturním motivem P–C–P zodpovědným za velkou afinitu těchto látek k hydroxyapatitu a umožňujícím variabilitu substituce na atomu α -uhlíku.¹⁴ Do druhé třídy můžeme zařadit všechny ty polyaminofosfo(i)náty, jejichž atomy fosforu odděluje delší uhlíkatý řetězec, který může být větvený či obsahovat heteroatomy a cykly.

Geminální bis(fosfonáty) (dále pouze bis(fosfonáty)) mají obecný vzorec $RR'(PO_3H_2)_2$ a jsou chemicky stabilními analogy anorganického pyrofosfátu. Pyrofosfát cirkuluje krevním oběhem, zastává funkci endogenního „změkčovače vody“ a pod jeho kontrolou jsou mineralizovány kosterní i měkké tkáně.¹⁶ Zjištění, že bis(fosfonáty) jsou schopny potlačovat kostní resorpci, z nich udělalo nejrozšířenější skupinu léků určených k léčbě kosterních onemocnění (např. postmenopauzální a jiných typů osteoporózy, Pagetovy choroby) a rovněž nacházejí uplatnění jako nosiče chemoterapeutik pro kostní metastázy. Princip spočívá v selektivní vazbě těchto látek na mineralizovaný povrch kostí, kde interferují s osteoklasty, které za kostní resorpci zodpovídají. Do klinické praxe se v 70. a 80. letech minulého století dostala léčiva etidronate, clodronate, pamidronate. Dle způsobu, jakým působí na buněčné úrovni v organismu, lze bis(fosfonáty) rozdělit minimálně do dvou skupin – na dusík neobsahující a dusík obsahující bis(fosfonáty). Mezi dusík neobsahující bis(fosfonáty) patří i první dvě uvedená léčiva, která jsou metabolicky přeměněna na nehydrolyzovatelné analogy ATP. Ty se nemohou dále začlenit do metabolických drah závislých na ATP. Pamidronate a řadu dalších analogů, které se v posledních letech objevily na trhu jako neridronate, risedronate, zoledronate, minodronate, alendronate, řadíme do skupiny dusík obsahujících bis(fosfonátů) (**Obr. 1.8**). Jejich účinkem je inhibován enzym farnesyl-pyrofosfát synthasa, klíčový enzym pro biosyntézu izoprenoidních sloučenin nutných pro posttranslační modifikaci GTP-vázajících proteinů, které zajišťují signalizační procesy uvnitř osteoklastů.^{14,17,18}

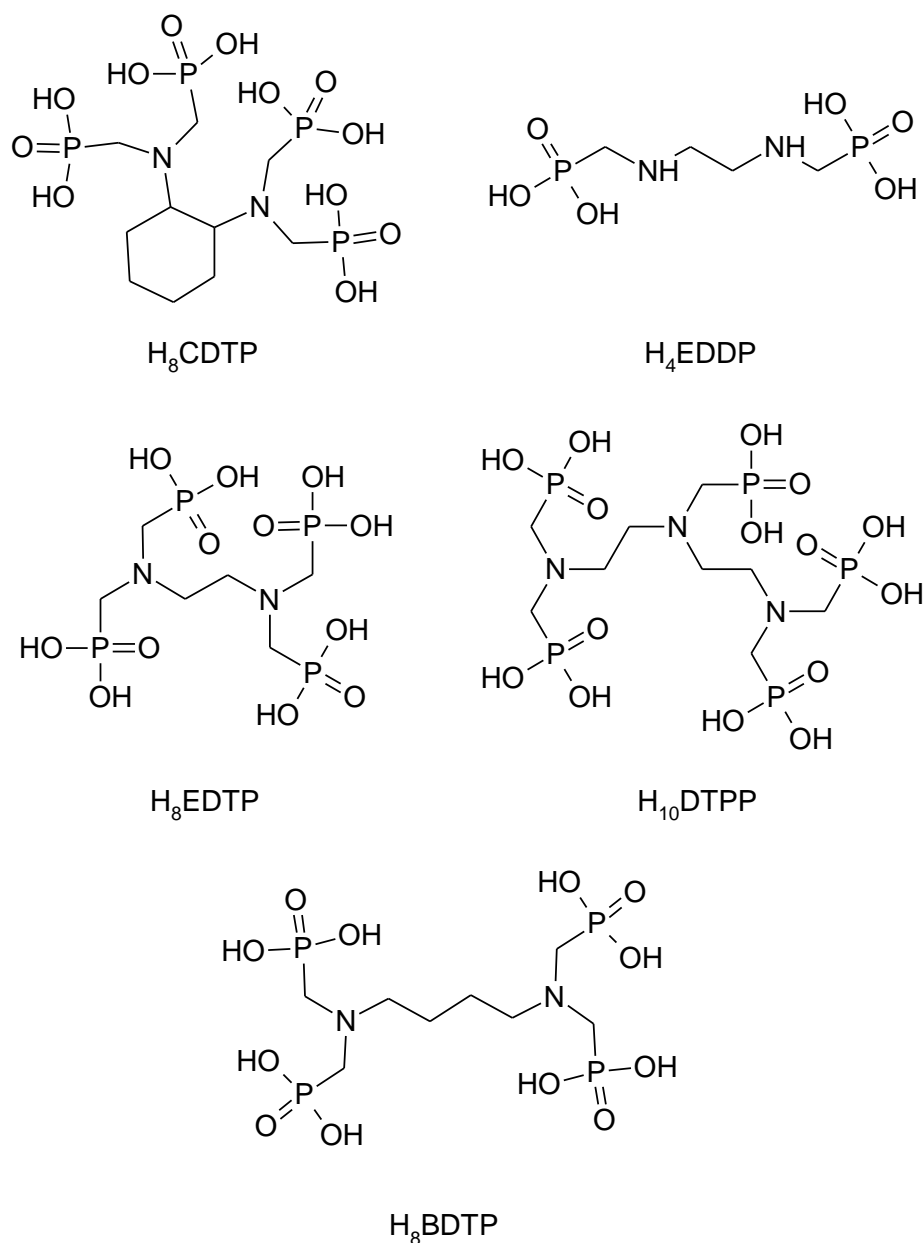
Významně se bis(fosfonáty) uplatňují jako detekční činidla při diagnostice kostních metastáz a dalších onemocnění kostí. Využívá se zde jejich vazby na radioaktivní izotop technecia emitující záření gama.¹⁹



Obr. 1. 8 Některé dusík obsahující bis(fosfonáty) využívané v medicíně – pamidronate (vlevo nahoře), zoledronate (vpravo nahoře), minodronate (vlevo dole), alendronate (vpravo dole).

Třída polyaminofosfo(i)nátů, které neobsahují ve svých strukturách uskupení P–C–P, zahrnuje velké množství rozmanitých sloučenin jak lineárních s otevřeným řetězcem, tak cyklických. Tyto sloučeniny plní funkci polydentátních chelatanů, které vytvářejí termodynamicky i kineticky stabilní komplexy s různými ionty kovů.

Lineární aminopolyfosfonáty H₄IDP, H₆NTP, H₈CDTP, H₄EDDP, H₈EDTP, H₁₀DTPP a H₈BDTP (**Obr. 1.9**) velmi efektivně vážou Ln(III) a ionty přechodných kovů – Cu(II), Ni(II) a Fe(III).²⁰

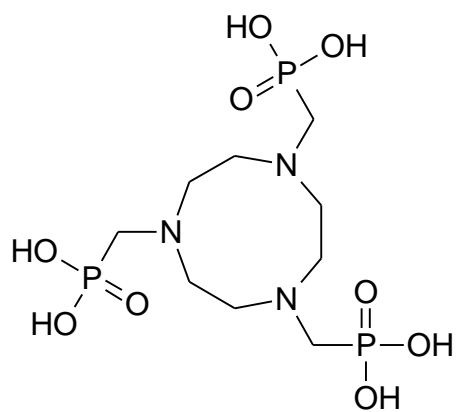


Obr. 1.9 Lineární aminofosfonáty hojně užívané jako chelatační činidla.

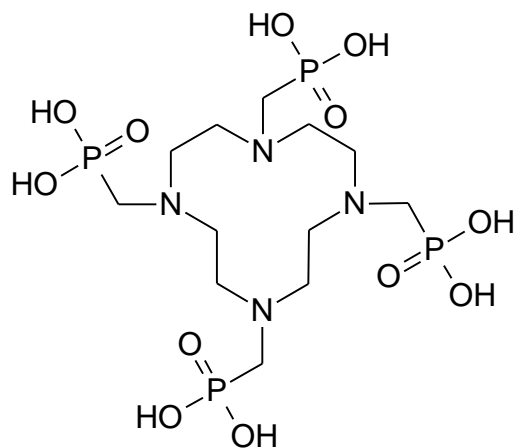
Polyazamakrocyclický kruh – 1,4,8,11-tetraazacyklododekan (cyclen) – s karboxylovými pendantními skupinami tvoří paramagnetický komplex s ionty Gd^{3+} , který byl studován se záměrem získání účinné kontrastní látky pro MRI (*Magnetic Resonance Imaging*). Zjistilo se, že obsahuje-li struktura místo karboxylových skupin fosfonové či fosfinové skupiny, pozorujeme pozitivní vliv na kontrast obrazu.²¹ Komplexy obsahující výše zmíněný makrocyclus či jiné podobné cyklické struktury jako 1,4,7-triazacyklononan (TACN) či 1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan (cyclam) jsou základem kontrastních látek

i pro další zobrazovací metody – PET (*Positron Emission Tomography*), SPECT (*Single-Photon Emission Computer Tomography*).²²

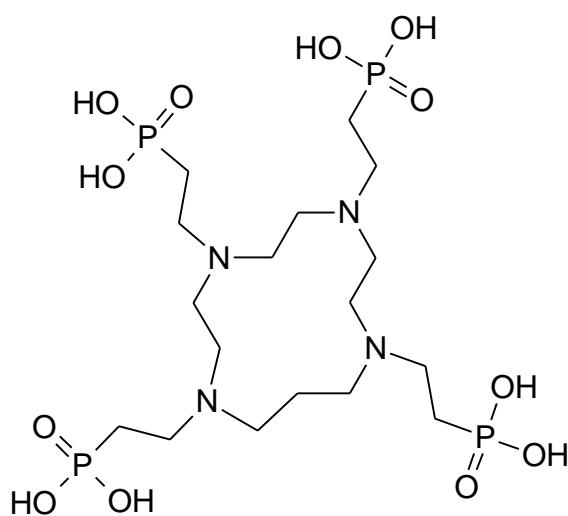
Makrocyclické sloučeniny s fosfonovými pendantními rameny H_6NOTP , H_8DOTP , H_4DO_2P , H_8TRITP , H_8TETP (**Obr. 1.10**) tvoří monomerní, extrémně stabilní komplexy s ionty lanthanoidů. Selektivita daného ligandu závisí na velikosti cyklu. DOTP je ligand vhodný pro koordinaci kovů s vysokým koordinačním číslem. TETPT dobře váže ionty přechodných kovů díky velkému kruhu, který umožňuje planární koordinaci všech dusíkových atomů. Z krystalové struktury komplexu $Cu(II)$ –DOTP je patrné, že $Cu(II)$ je příliš velký iont na to, aby se vešel do kruhu, aniž by deformoval vznikající oktaedrické uspořádání. Dvě ze čtyř pendantních ramen se koordinace ze sterických důvodů vůbec nezúčastní. U dvoumocných iontů přechodných kovů je proto vhodnější menší počet fosforových pendantních ramen. Pro stabilitu vznikajícího komplexu je určující počet dusíkových atomů v cyklu.²⁰



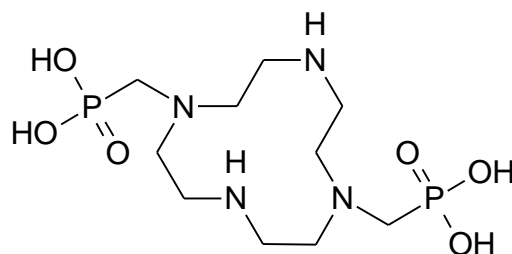
H₆NOTP



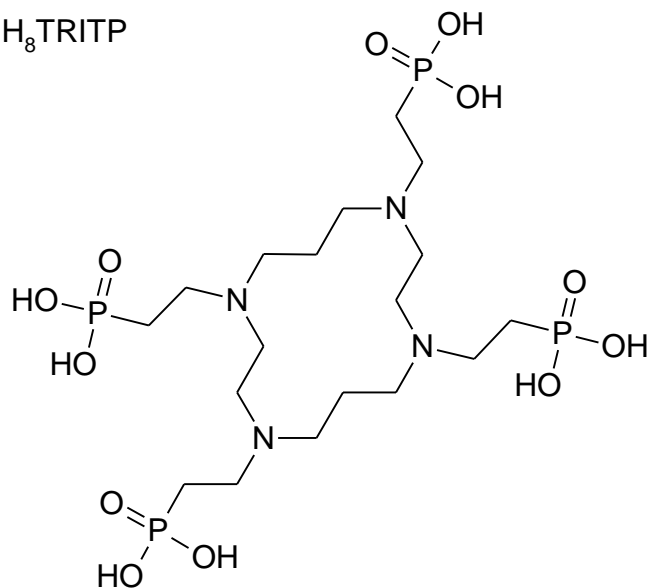
H₈DOTP



H₈TRITP



H₄DO2P



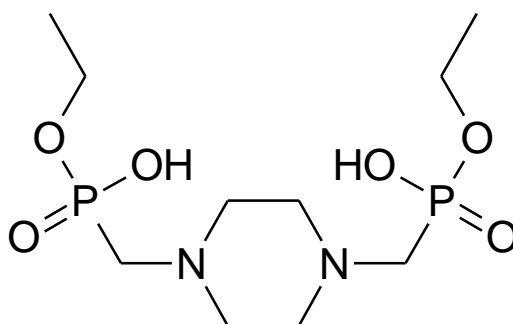
H₈TETP

Obr. 1.10 Vybrané makrocyclické polyaminofosfonáty.

1.3 CÍL PRÁCE

Využitelnost aminofosfinátů je limitována slabou koordinační schopností. Aminofosfonáty tvoří silné komplexy, avšak v přítomnosti kovů často rychle vytvářejí nežádoucí polymerní struktury vykazující omezenou rozpustnost ve vodě. Předejít těmto problémům lze přípravou aminofosfonových monoesterů, které by svými vlastnostmi měly stát na pomezí aminofosfinátů a aminofosfonátů.²³

Předmětem této bakalářské práce byla syntéza a studium koordinačních vlastností diethylesteru kyseliny piperazin-*N,N'*-bis(methylen)fosfonové ($\text{H}_2\text{Pipz}(\text{PEt})_2$) (**Obr. 1.11**). Pomocí potenciometrických titrací bylo studováno koordinační chování při komplexaci iontů přechodných kovů – Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} a Zn^{2+} . Syntéza i potenciometrické titrace daného aminofosfonového monoesteru s vybranými ionty kovů již byly v minulosti provedeny²⁴, avšak data získaná potenciometrickými titracemi nebyla použitelná pro další zpracování. Práce si kladla za cíl studium daného ligandu zopakovat a doplnit chybějící údaje – disociační konstanty ligandu a konstanty stability příslušných komplexů ve vodném roztoku.



Obr. 1.11 Studovaná struktura – diethylester kyseliny piperazin- *N,N'*-bis(methylen)fosfonové ($\text{H}_2\text{Pipz}(\text{PEt})_2$).

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 UŽITÉ CHEMIKÁLIE

K syntéze byly využity komerčně dostupné chemikálie od firem Acros, Lachema, Lach-Ner, Penta a Sigma Aldrich.

Deionizovaná voda byla připravena iontově výměnnou chromatografií na Přírodovědecké fakultě UK.

2.2 CHARAKTERIZAČNÍ METODY

Nukleární magnetická rezonance

^1H a ^{31}P spektra byla pořízena na spektrometru Varian Unity INOVA VNMRs 300 na Přírodovědecké fakultě UK. Měření vzorků bylo prováděno v 5mm kyvetách. Jako rozpouštědlo byla použita D_2O (99,8 % D, Chemotrade) s *t*-butanolem jako interním standardem a CDCl_3 (99,8 % D, ARMAR Chemicals). Chemický posun *t*-butanolu v D_2O je 1,25 ppm. Spektra měřená v CDCl_3 byla referencována na posun CH- skupiny CHCl_3 (7,26 ppm). Spektra ^{31}P byla referencována externě na 85 % H_3PO_4 ($\delta_{\text{P}}(\text{H}_3\text{PO}_4) = 0,00$ ppm).

Elementární analýza

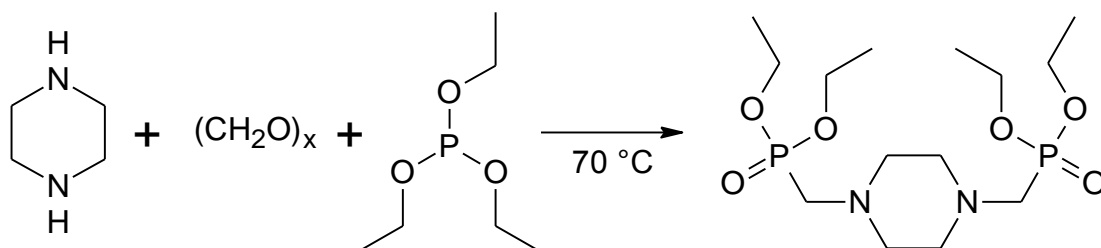
Obsah jednotlivých prvků (uhlíku, dusíku a vodíku) byl zjištěn elementární organickou analýzou provedenou servisním pracovištěm Ústavu makromolekulární chemie Akademie věd ČR s využitím přístroje Perkin Elmer 2400. Výsledky jsou aritmetickým průměrem jednotlivých měření udány jako hmotnostní procenta (přesnost jedno desetinné místo).

Hmotnostní spektrometrie

K měření hmotnostních spekter byl využit přístroj Bruker ESQUIRE 300. Ionty byly získány pomocí ESI (Electrospray Ionization) a jako detektor byla využita iontová past (Ion Trap). Změřena byla pozitivní i negativní spektra, uvedeny jsou pouze signály, které poskytují možnost interpretace.

2.3 SYNTÉZA

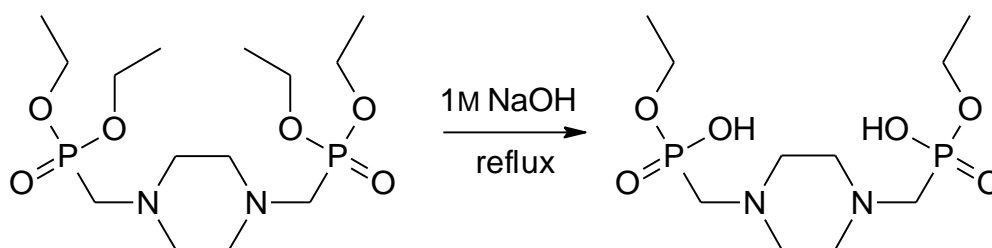
Tetraethylester kyseliny piperazin- *N,N'*-bis(methylenfosfonové)



Do 250ml baňky opatřené magnetickým míchadlem bylo naváženo 5,0 g piperazinu (0,058 mol) a 7,0 g paraformaldehydu. Bylo přidáno 75 ml triethylfosfitu a reakční směs byla zahřívána na $70\text{ }^\circ\text{C}$ přes noc na olejové lázni. Po vychladnutí směsi byl nezreagovaný paraformaldehyd odfiltrován přes fritu S4. Filtrát byl částečně odpařen za sníženého tlaku a přečištěn přes silný kationtový iontoměnič (DOWEX 50, H^+ -cyklus). Nežádoucí vedlejší produkty byly vymyty 3 l roztoku ethanolu s vodou (1:1) a produkt byl eluován 1 l roztoku 10% pyridinu s ethanolem (3:2). Eluát byl odpařen na rotační vakuové odparce do sucha, odparek měl podobu žlutohnědé tuhé látky. Výtěžek činil 12,65 g (56 %).

^{31}P NMR (CDCl_3): $\delta(\text{ppm})$ 22,5 s, ^1H NMR (CDCl_3): $\delta(\text{ppm})$ 1,27 (t, 12H, $-\text{CH}_3$, $^3J_{\text{HH}} = 7,2$ Hz), 2,66 (s, 8H, $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}$), 2,75 (d, 4H, $\text{N}-\text{CH}_2-\text{P}$, $^2J_{\text{HP}} = 12,0$ Hz), 4,11 (m, 8H, $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{P}$).

Diethylester kyseliny piperazin- *N,N'*-bis(methylenfosfonové) – hydrát



2,0 g (5,2 mmol) tetraethylpiperazin-*N,N'*-bis(methylenfosfonátu) byly ve 250ml baňce rozpuštěny ve 100 ml hydroxidu sodného o koncentraci $1\text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$. Míchaná směs byla refluxována přes noc. Následně byla reakční směs nanesena na silný aniontový

iontoměnič (DOWEX 1, OH⁻-cyklus). Sodné ionty byly odstraněny promýváním deionizovanou vodou do neutrálního pH. Produkt byl eluován 600 ml 50% roztoku kyseliny octové a odpařen na rotační vakuové odparce. Odparek byl rozpuštěn v přibližně 20 ml destilované vody a krystalizován difuzí ethanolu přes plynnou fázi. Bylo získáno 1,56 g (tj. 73 %) bílé krystalické látky.

Elementární analýza (vypočteno pro C₁₀H₂₄O₆N₂P₂·4,4 H₂O, M_r = 330,26·4,4 H₂O):

C: 29,3, H: 8,0, N: 6,8, nalezeno: C: 29,42, H: 7,59, N: 6,67

³¹P NMR (D₂O): δ(ppm) 16,7 s, ¹H NMR (D₂O): δ(ppm) 1,32 (t, 6H, -CH₃, ³J_{HH} = 7,2 Hz), 2,78 (d, 4H, N-CH₂-P, ³J_{HP} = 12,0 Hz), 2,67 (s, 8H, N-CH₂-CH₂-N), 4,14 (m, 4H, -CH₂-O-P).

Hmotnostní spektrometrie (ESI): (+) 352,8 [M+Na]⁺, vypočteno 353,3 ; (-) 328,6 [M-H]⁻, vypočteno 329,3 ; 657,9 [2M-H]⁻, vypočteno 659,6

2.4 POTENCIOMETRICKÉ TITRACE

Při potenciometrických titracích byla využívána deionizovaná voda vyšší kvality připravená na katedře Analytické chemie Přírodovědecké fakulty UK (dále jen deionizovaná voda).

Odměrné roztoky

Zásobní roztok ligandu H₂Pipz(PEt)₂ byl připraven kvantitativním převedením navážky do odměrné baňky o přesně známém objemu (zjištěn kalibrací pomocí deionizované vody při 25 °C) a následným rozpuštěním v deionizované vodě. Přesná koncentrace zásobního roztoku ligandu (*c* ~0,02 mol·dm⁻³) byla stanovena titrací roztokem hydroxidu tetramethylamonného o známé koncentraci.

Titrační roztok NMe₄OH byl připraven rekrystalizací chloridu tetramethylamonného, který byl následně nanesen na kolonu obsahující aniontový iontoměnič (DOWEX 1, OH⁻-cyklus) a eluován převařenou vodou. Byl přečištěn s aktivním uhlím a zfiltrován. Faktor byl stanoven titračně na kyselý rekrystalizovaný ftalát draselný.

Byl použitý komerčně dostupný 37% roztok kyseliny chlorovodíkové, který byl naředěný deionizovanou vodou na koncentraci přibližně 0,03 mol·dm⁻³ přesně. K zajištění konstantní iontové síly během titrace byl přidán pevný chlorid tetramethylamonný.

Koncentrace zásobních roztoků dusičnanů kobaltnatého, nikelnatého a zinečnatého byly stanoveny komplexometricky pomocí roztoku Chelatonu III na hodnotu přibližně $0,5 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ přesně, zásobní roztok chloridu měďnatého za stejných podmínek na hodnotu $0,6 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$.

Provedení titrací

Systém, v němž byly prováděny titrace, byl termostatován na $25 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$. Všechny titrace probíhaly při iontové síle $0,1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ (NMe_4Cl) v intervalu pH 2–12, resp. do vyloučení hydroxidu příslušného kovu. Za účelem zajištění inertní atmosféry byl nad hladinu titrovaného roztoku kontinuálně přiváděn argon sycený vodní parou (realizováno vedením přes vodný roztok KNO_3 o koncentraci $0,1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$). Počáteční objem titrovaného roztoku byl $\sim 5 \text{ ml}$.

Deionizovaná voda, roztok HCl, roztoky dusičnanů jednotlivých kovů i roztok ligandu byly přidávány pomocí byret s mikrometrickými šrouby o objemech $\sim 0,5 \text{ ml}$, $\sim 1,25 \text{ ml}$ a $\sim 2,5 \text{ ml}$ (od VŠCHT Pardubice a META Brno). Přesný objem těchto byret byl zjištěn hmotnostní kalibrací s deionizovanou vodou. K měření potenciálu byla využita kombinovaná skleněná argentchloridová elektroda GK 240 C a pH metr PHM 240 (přesnost $0,1 \text{ mV} - 1/10$ promile vůči celkovému rozsahu) zapojený v režimu voltmetr. Titrační roztok NMe_4OH o koncentraci $\sim 0,2 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ přesně byl přidáván 2ml automatickou byretou ABU 900.

Pro zrychlení odezvy byla elektroda před samotným měřením střídavě po 5 minutách ponořována do kyselého $\sim 0,1\text{M}$ roztoku HCl a bazického $\sim 0,1\text{M}$ roztoku KOH po dobu přibližně 30 minut. Byly prováděny kalibrační titrace k zajištění stabilních a odpovídajících parametrů elektrody (dosažení dostatečně rychlé odezvy na změny pH). Při nich byla titrována směs $\sim 2,5 \text{ ml}$ deionizované vody a $\sim 2,5 \text{ ml}$ roztoku HCl. Následně byl titrován ligand a systémy ligand:kov v poměrech 1:1 a 2:1. Jednotlivé titrace byly provedeny ve třech (v případě viditelného odchýlení jedné z titrací i ve čtyřech) opakováních. Dvě následující titrace byly vždy proloženy výše popsaným kalibračním měřením.

Každé změně titrovaného systému předcházela poloautomatická titrace, jejímž smyslem bylo pozorování rychlosti ustavování rovnovážného napětí na kombinované elektrodě a určení pravděpodobného konce titrace. Ukončení titrace bylo často spojeno se vznikem sraženiny. Vylučování pevné fáze se projevilo kolísáním rovnovážného napětí elektrody. Na základě zaznamenaných výsledků poloautomatické titrace byl sestaven

program, který řídil průběh automatické titrace. Adekvátní programové příkazy pro dílčí části titrační křivky byly sdruženy do cyklů. Titrační křivku vytvářelo přibližně 40 – 60 experimentálních bodů ($E/V(\text{NMe}_4\text{OH})$) v závislosti na titrovaném systému. Body nacházející se v oblasti ekvivalence byly vynechány vyššími přídávky titračního činidla (hodnoty potenciálů jsou zde zatíženy velkou chybou). Celkový čas jedné titrace se pohyboval mezi 25 – 40 minutami.

Získaná data byla matematicky zpracována programem OPIUM²⁵. Byly spočteny disociační konstanty ligandu a konstanty stability jednotlivých koordinačních systémů (využito funkce nelineární regrese s metodou nejmenších čtverců).

Celkovou konstantu popisující protonizaci ligandu definuje následující vztah.

$$\beta = [\text{H}_h\text{L}_l] / [\text{H}]^h \cdot [\text{L}]^l \quad (2.1)$$

Z celkových konstant β získáme konsektivní disociační konstanty pK_a následovně.

$$pK_a = \log\beta_n - \log\beta_{(n-1)} \quad (2.2)$$

Celkové konstanty stability ligandu s ionty kovů lze definovat analogicky.

$$\beta = [\text{M}_m\text{H}_h\text{L}_l] / [\text{M}]^m \cdot [\text{H}]^h \cdot [\text{L}]^l \quad (2.3)$$

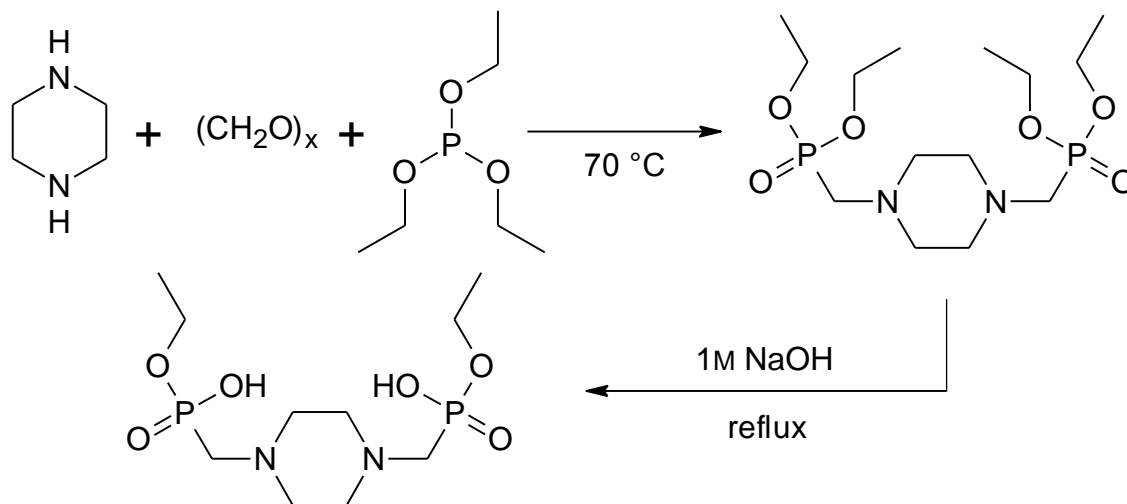
Parametry elektrody E_0 , S , J_A , J_B byly určeny z kalibračních titrací funkcí:

$$E = E_0 + S \cdot \log[\text{H}^+] + J_A \cdot [\text{H}^+] + J_B \cdot K_w / [\text{H}^+], \quad (2.4)$$

v níž E_0 je standardní potenciál elektrody, S je tzv. Nernstova směrnice, parametry J_A a J_B vyjadřují odchylku od lineární závislosti E na $-\log[\text{H}^+]$ v silně kyselé a zásadité oblasti, K_w je iontový součin vody. Hodnota záporného dekadického logaritmu iontového součinu vody $pK_w = 13,81$ pro $I(\text{NMe}_4\text{Cl}) = 0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ při $25 \text{ }^\circ\text{C}$ stejně jako konstanty stability hydroxidokomplexů jednotlivých iontů kovů byly převzaty z literatury.²⁶

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 SYNTÉZA LIGANDU



Ligand $\text{H}_2\text{Pipz}(\text{PEt})_2$ byl připraven dvoukrokovou syntézou. Piperazin byl ponechán reagovat s paraformaldehydem a triethylfosfitem reakcí Mannichovského typu za vzniku tetraethylpiperazin- N,N' -bis(methylenfosfonátu). Na rozdíl od dříve navrženého postupu²⁴ nebylo použito benzenu jako rozpouštědla z důvodu prokázané karcinogenity. Hexahydrát piperazinu byl oproti původnímu postupu nahrazen bezvodým piperazinem k zajištění přítomnosti co nejmenšího množství vody v reakční směsi. Rovnováha reakce je pak posunuta směrem k produktům. Použití triethylfosfitu místo diethylfosfitu umožňuje částečné odpaření před nanesením reakční směsi na chromatografickou kolonu s iontoměničovým nosičem. Výtěžek 56 % je způsoben ztrátami, ke kterým docházelo při chromatografickém čištění.

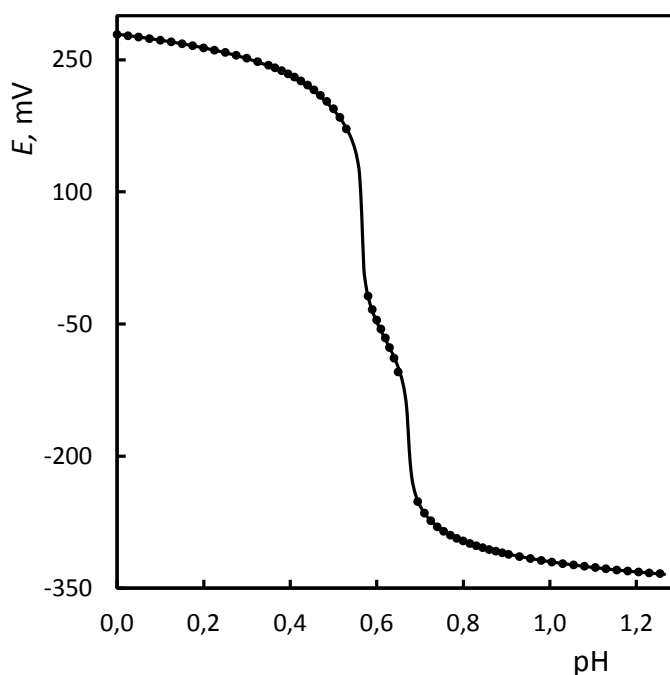
Druhým syntetickým krokem byla hydrolyza. Tetraethylpiperazin- N,N' -bis(methylenfosfonát) byl selektivně bazicky hydrolyzován do prvního stupně. Hydrolyza byla poprvé ukončena po dvou hodinách, což se ukázalo jako nedostatečné. Reakci bylo třeba nechat probíhat přes noc. Produkt byl krystalizován difuzí ethanolu přes plynnou fázi. Výtěžek dosáhl 73 %.

3.2 ACIDOBAZICKÉ VLASTNOSTI

Potenciometrickými titracemi bylo studováno acidobazické chování ligandu $\text{H}_2\text{Pipz}(\text{PEt})_2$ v roztoku. Daný ligand obsahuje čtyři místa schopná protonizace a v roztoku se

může teoreticky vyskytovat v pěti různých formách v závislosti na pH – $[H_4L]^{2+}$, $[H_3L]^+$, $[H_2L]$, $[HL]^-$ a $[L]^{2-}$.

Titrací v rozmezí pH 2–12 byly nalezeny dvě disociační konstanty odpovídající deprotonizacím atomů dusíků (**Obr. 3.1**). Disociační konstanty fosfonátových skupin nebylo možné stanovit, neboť protonizované částice $[H_4L]^{2+}$ a $[H_3L]^+$ nedosahují na počátku titrace při pH 2 potřebného zastoupení. Počáteční pH nelze s ohledem na funkčnost elektrody již více snižovat.



Obr. 3.1 Proložení experimentálně získaných bodů simulovanou titrační křivkou pro stanovení disociačních konstant ligandu

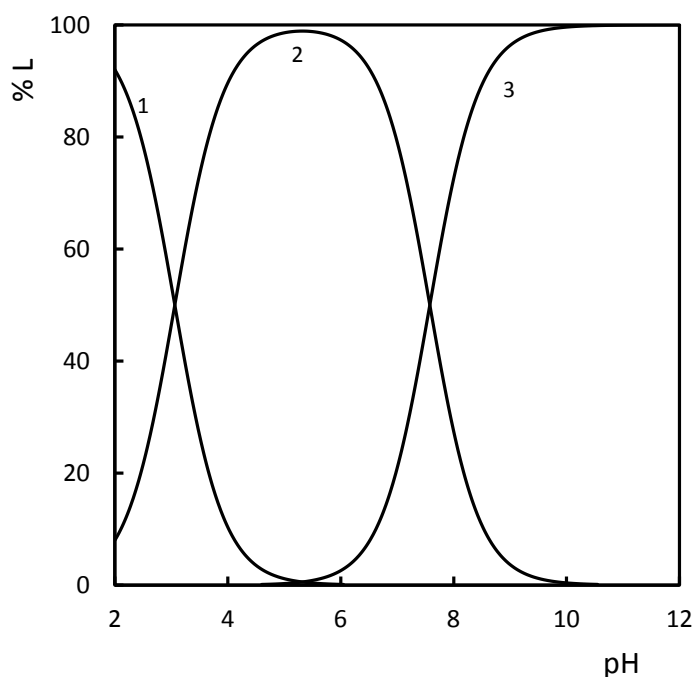
($c_{\text{lig}} = 0,02 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, $I = 0,1 \text{ M (NMe}_4\text{Cl)}$, $t = 25 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$).

Hodnoty disociačních konstant zkoumaného ligandu se pohybovaly v očekávaném rozsahu (**Tab. 3.1**). Byla pozorována dobrá shoda s dřívějšími výsledky.²⁴ Ve srovnání se strukturálně příbuzným ligandem, kyselinou piperazin-*N,N'*-bis(methylenkarboxylovou) ($\text{Pipz}(\text{COOH})_2$), pozorujeme u $\text{H}_2\text{Pipz}(\text{PEt})_2$ nižší hodnoty disociačních konstant²⁷. Příčinou je nižší bazicita dusíku. Fosfinátový analog, piperazin-*N,N'*-bis(methylenfosfinová) kyselina ($\text{H}_2\text{Pipz}(\text{P}^{\text{H}})_2$), poskytuje ještě o něco nižší hodnoty.²⁸ Údaje týkající se fosfonového derivátu této kyseliny nejsou k dispozici. Studovaný ligand se svými acidobazickými vlastnostmi blíží spíše chování α -aminofosfinových kyselin.

Tab. 3.1 Celkové konstanty protonizace $\log\beta$ a disociační konstanty zkoumaného ligandu ($I = 0,1 \text{ M (NMe}_4\text{Cl)}$, $t = 25 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$), disociační konstanty strukturně příbuzných sloučenin.

| | $\log\beta$ ($\text{H}_2\text{Pipz(PEt)}_2$) | pK_a ($\text{H}_2\text{Pipz(PEt)}_2$) | pK_a ($\text{H}_2\text{Pipz(PEt)}_2$) ²⁴ | pK_a ($\text{H}_2\text{Pipz(P}^{\text{H}})_2$) ²⁸ | pK_a (Pipz(COOH)_2) ²⁷ |
|--------------------|---|--|--|---|---|
| [HL] | 7,58(1) | 7,58 | 7,50(2) | 6,72 | 8,67 |
| [H ₂ L] | 10,64(1) | 3,06 | 3,05(4) | 2,62 | 4,40 |
| [H ₃ L] | – | – | 0,90(7) | – | 1,8 |

Z distribučního diagramu (**Obr. 3.2**) je zřejmé, že v daném intervalu pH vznikají tři částice – $[\text{H}_2\text{L}]$, $[\text{HL}]^-$ a $[\text{L}]^{2-}$. Na počátku titrace dominuje dvakrát protonizovaná forma. Snižováním koncentrace H_3O^+ v roztoku narůstá množství jednou protonizované částice. Přibližně při pH 5,5 dosahuje tato částice maximálního zastoupení. Zároveň se objevuje plně deprotonovaný ligand, který při pH 10 dosahuje téměř 100% zastoupení.



Obr. 3.2 Distribuční diagram studovaného ligandu $\text{H}_2\text{Pipz(PEt)}_2$ ($c_{\text{lig}} = 0,02 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, $I = 0,1 \text{ M (NMe}_4\text{Cl)}$, $t = 25 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$). 1 – $[\text{H}_2\text{L}]$, 2 – $[\text{HL}]^-$, 3 – $[\text{L}]^{2-}$

3.3 KOORDINAČNÍ VLASTNOSTI

Koordinační chování ligandu s ionty vybraných přechodných kovů – Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} a Zn^{2+} bylo studováno potenciometrickými titracemi (**Obr. 3.3 – 3.6**). Byly stanoveny konstanty stability jednotlivých systémů (**Tab. 3.2**). Každý systém byl titrován ve dvou poměrech ligand:kov 1:1 a 2:1. Odpovídající stanovení bylo provedeno již v minulosti²⁴, dospělo se však ke zcela odlišným chemickým modelům.

Přechodné kovy mají tendenci tvořit v oblasti neutrálního až mírně bazického pH hydroxidokomplexy. Dochází k vylučování hydroxidů kovů způsobujících nestabilitu potenciálu elektrody. Tento jev udává horní hranici intervalu pH, v němž je možné koordinační vlastnosti systému ligandu s daným iontem kovu studovat.

Komplexace kovů je zkoumaný ligand schopen až po deprotonaci aminoskupin, k níž dochází při relativně vysokých hodnotách pH. Vzniklé komplexy jsou velmi slabé.

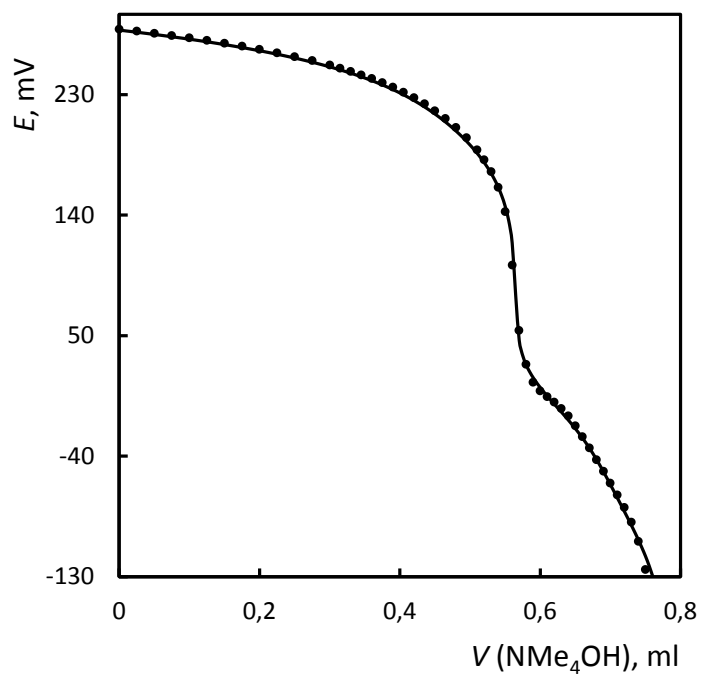
Tab. 3.2 Konstanty stability $\log\beta$ zkoumaných systémů ($I = 0,1 \text{ M (NMe}_4\text{Cl)}$, $t = 25 \pm 0,1^\circ\text{C}$).

| | Cu^{2+} | Co^{2+} | Ni^{2+} | Zn^{2+} |
|---------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| $\log\beta [\text{M(HL)}]$ | – | 9,70(2) | 9,11(5) | 9,40(4) |
| $\log\beta [\text{M(L)}]$ | – | 2,54(2) | 2,28(2) | – |
| $\log\beta [\text{M(L)(OH)}]$ | –2,91(1) | –6,12(2) | – | – |
| $\log\beta [\text{M(L)(OH)}_2]$ | –11,14(6) | – | –14,53(2) | –12,73(1) |

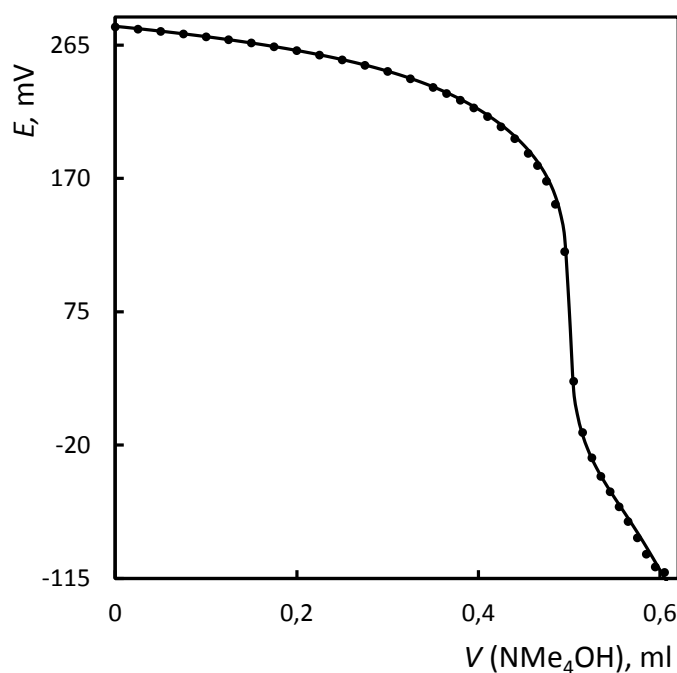
Získané konstanty stability komplexů $[\text{Co(L)}]$ a $[\text{Ni(L)}]$ byly porovnány s analogickými konstantami komplexů kyseliny piperazin- N,N' -bis(methylenfosfinové) ($\text{H}_2\text{Pipz(P}^{\text{H}})_2$) s danými ionty kovů. Hodnoty vykazují značnou podobnost (**Tab. 3.3**).

Tab. 3.3 Porovnání konstant stability komplexů studovaného ligandu a jeho aminofosfinového analogu s vybranými ionty kovů.

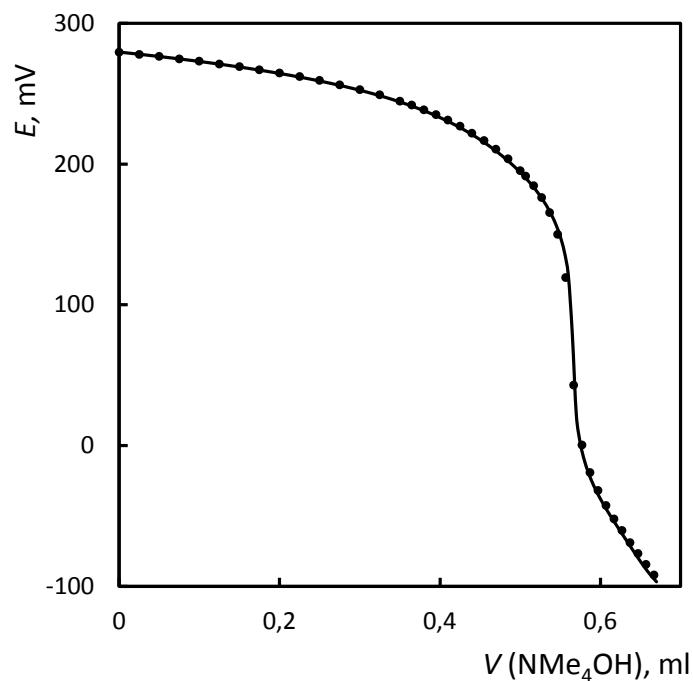
| | $\log\beta$ $(\text{H}_2\text{Pipz(PEt)}_2)^{28}$ | $\log\beta$ $(\text{H}_2\text{Pipz(P}^{\text{H}})_2)$ |
|------------------|--|--|
| $[\text{Ni(L)}]$ | 2,28(2) | 3,16(2) |
| $[\text{Co(L)}]$ | 2,52(2) | 1,72(4) |



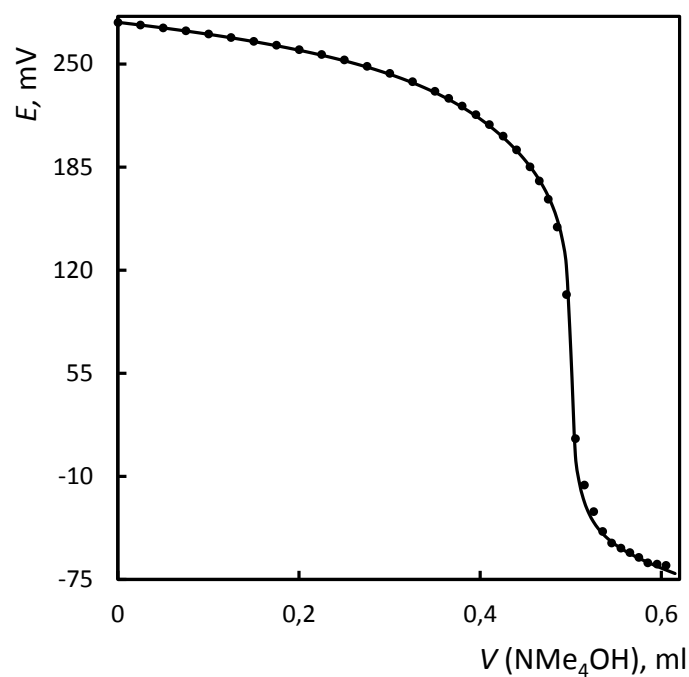
Obr. 3.3 Proložení experimentálně získaných bodů simulovanou titrační křivkou pro stanovení konstant stability ligandu H₂Pipz(PEt)₂ s Cu²⁺ ($c_{\text{lig}} = 0,02 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, $c_{\text{kov}} = 0,01 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, $I = 0,1 \text{ M (NMe}_4\text{Cl)}$, $t = 25 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$).



Obr. 3.4 Proložení experimentálně získaných bodů simulovanou titrační křivkou pro stanovení konstant stability ligandu H₂Pipz(PEt)₂ s Co²⁺ ($c_{\text{lig}} = 0,02 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, $c_{\text{kov}} = 0,02 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, $I = 0,1 \text{ M (NMe}_4\text{Cl)}$, $t = 25 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$).

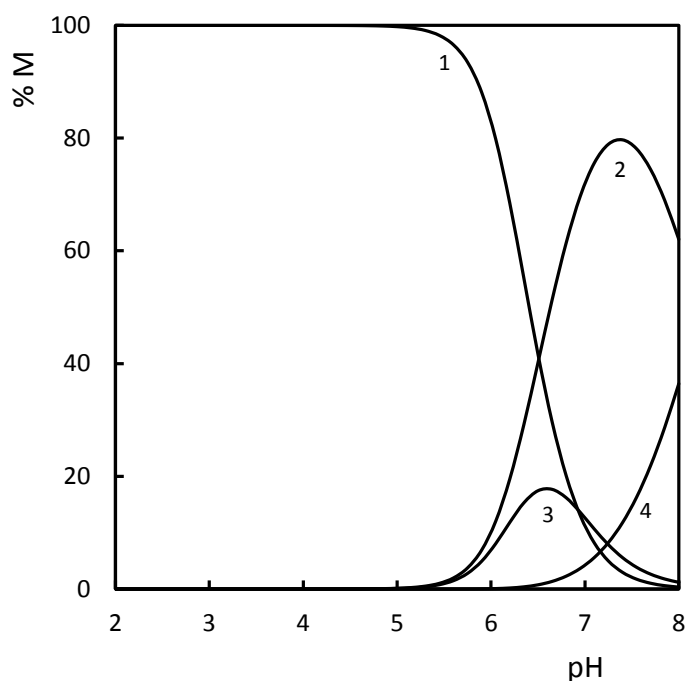


Obr. 3.5 Proložení experimentálně získaných bodů simulovanou titrační křivkou pro stanovení konstant stability ligandu $\text{H}_2\text{Pipz}(\text{PEt})_2$ s Ni^{2+}
 ($c_{\text{lig}} = 0,02 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, $c_{\text{kov}} = 0,01 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, $I = 0,1 \text{ M (NMe}_4\text{Cl)}$, $t = 25 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$).



Obr. 3.6 Proložení experimentálně získaných bodů simulovanou titrační křivkou pro stanovení konstant stability ligandu $\text{H}_2\text{Pipz}(\text{PEt})_2$ se Zn^{2+}
 ($c_{\text{lig}} = 0,02 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, $c_{\text{kov}} = 0,02 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, $I = 0,1 \text{ M (NMe}_4\text{Cl)}$, $t = 25 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$).

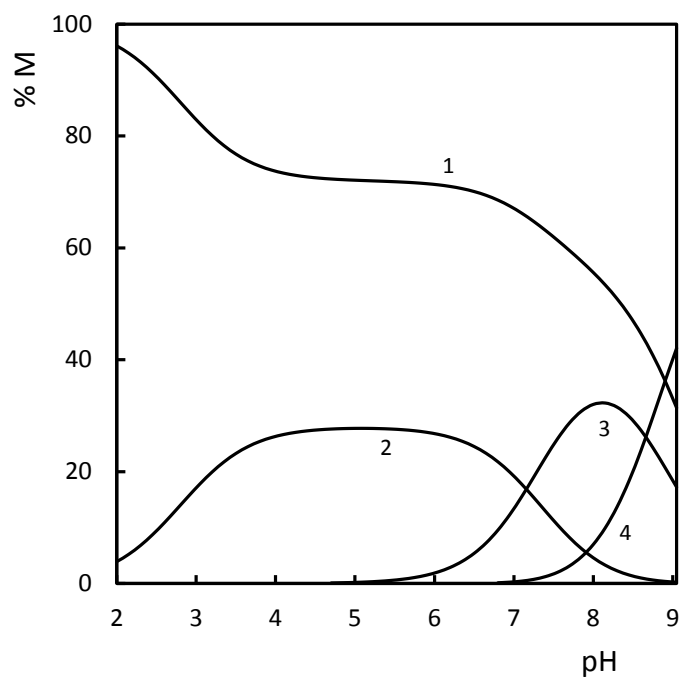
Studovaný ligand komplexuje ionty Cu^{2+} při tak vysoké hodnotě pH, že vznikají přímo hydroxidokomplexy $[\text{Cu}(\text{L})(\text{OH})]^-$, $[\text{Cu}_2(\text{OH})_2]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{L})(\text{OH})_2]^{2-}$, jak je zřejmé z distribučního diagramu systému $\text{H}_2\text{Pipz}(\text{PEt})_2\text{-Cu}^{2+}$ (**Obr. 3.7**). Příčinou je fakt, že měď má z vybraných prvků největší afinitu k atomům dusíku, jejichž deprotonizace je vyžadována k tvorbě koordinačně kovalentní vazby mezi kovem a ligandem. K deprotonizacím však dochází až při vyšších hodnotách pH.



Obr. 3.7 Distribuční diagram nalezonych forem Cu^{2+} v závislosti na pH
 ($c_{\text{lig}} = 0,02 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, $c_{\text{kov}} = 0,01 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, $I = 0,1 \text{ M}$ (NMe_4Cl), $t = 25 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$).
 1 – Cu^{2+} , 2 – $[\text{Cu}(\text{L})(\text{OH})]^-$, 3 – $[\text{Cu}_2(\text{OH})_2]^{2+}$, 4 – $[\text{Cu}(\text{L})(\text{OH})_2]^{2-}$

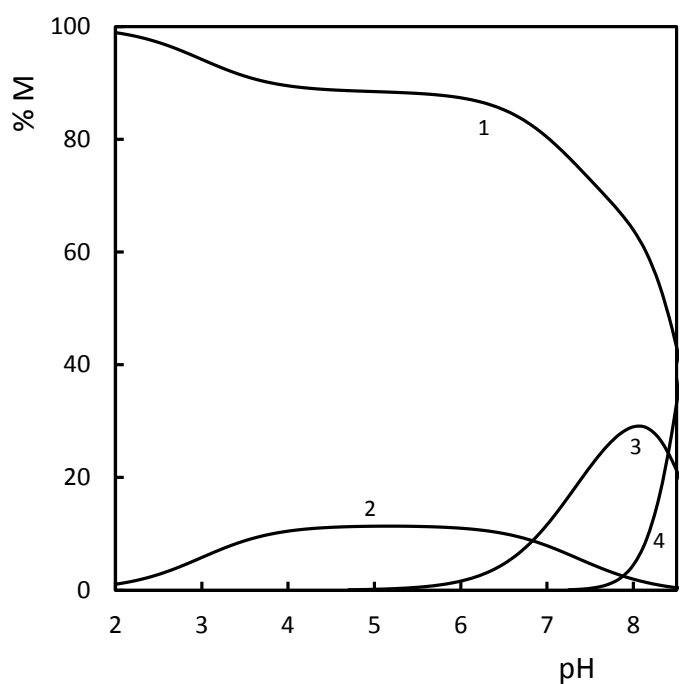
Z distribučního diagramu systému $\text{H}_2\text{Pipz}(\text{PEt})_2\text{-Co}^{2+}$ (**Obr. 3.8**) je patrná tvorba dvou typů slabých komplexů $[\text{Co}(\text{HL})]^+$ a $[\text{Co}(\text{L})]$. První zmíněná částice $[\text{Co}(\text{HL})]^+$ dosahuje kolem pH 5 zastoupení na hranici 30 %. Částice $[\text{Co}(\text{L})]$ má své maximální zastoupení opět velmi nízké (mírně přes 30 %) v oblasti, kde se již začíná vytvářet hydroxidokomplex $[\text{Co}(\text{L})(\text{OH})]^-$.

Distribuční diagram systému $\text{H}_2\text{Pipz}(\text{PEt})_2\text{-Ni}^{2+}$ (**Obr. 3.9**) ukazuje, že zastoupení volného kovu pozvolna klesá kolem pH 3 na úkor vznikající komplexní částice $[\text{Ni}(\text{HL})]^+$. Tato částice dosahuje velmi nízkého zastoupení. V oblasti neutrálního a mírně bazického pH se tvoří komplex $[\text{Ni}(\text{L})]$. Nad pH 8 začíná být částice $[\text{Ni}(\text{L})]$ nahrazována hydroxidokomplexem $[\text{Ni}(\text{L})(\text{OH})_2]^{2-}$.



Obr. 3.8 Distribuční diagram nalezených forem Co^{2+} v závislosti na pH
 ($c_{\text{lig}} = 0,02 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, $c_{\text{kov}} = 0,02 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, $I = 0,1 \text{ M (NMe}_4\text{Cl)}$, $t = 25 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$).

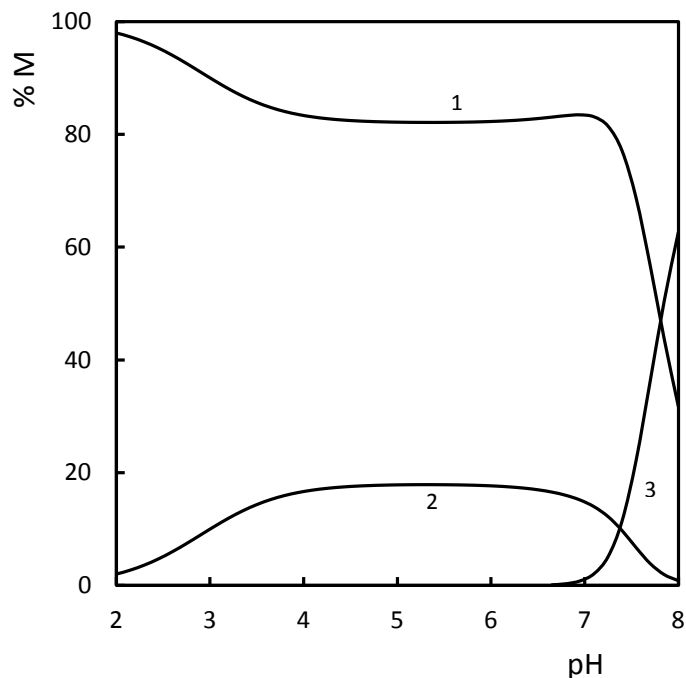
1 – Co^{2+} , 2 – $[\text{Co(HL)}]^+$, 3 – $[\text{Co(L)}]$, 4 – $[\text{Co(L)(OH)}]^-$



Obr. 3.9 Distribuční diagram nalezených forem Ni^{2+} v závislosti na pH
 ($c_{\text{lig}} = 0,02 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, $c_{\text{kov}} = 0,01 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, $I = 0,1 \text{ M (NMe}_4\text{Cl)}$, $t = 25 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$).

1 – Ni^{2+} , 2 – $[\text{Ni(HL)}]^+$, 3 – $[\text{Ni(L)}]$, 4 – $[\text{Ni(L)(OH)}_2]^{2-}$

Distribuční diagram systému $\text{H}_2\text{Pipz}(\text{PEt})_2\text{-Zn}^{2+}$ (**Obr. 3.10**) dokazuje slabou koordinační schopnost daného ligandu. Částice $[\text{Zn}(\text{L})]$ není zastoupena ani z 20 %. Při pH 7 již převažuje tvorba hydroxidokomplexu $[\text{Zn}(\text{L})(\text{OH})_2]^{2-}$.



Obr. 3.10 Distribuční diagram nalezených forem Zn^{2+} v závislosti na pH
 ($c_{\text{lig}} = 0,02 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, $c_{\text{kov}} = 0,02 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, $I = 0,1 \text{ M}$ (NMe_4Cl), $t = 25 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$).
 1 – Zn^{2+} , 2 – $[\text{Zn}(\text{HL})]^+$, 3 – $[\text{Zn}(\text{L})(\text{OH})_2]^{2-}$

4 ZÁVĚR

O acidobazickém a koordinačním chování α -aminokarboxylových kyselin, α -aminofosfinových kyselin a α -aminofosfonových kyselin existuje již řada informací. Pro ucelení pohledu na celou skupinu těchto biologicky významných látek byl studován α -aminofosfonový monoester – diethylester kyseliny piperazin-*N,N'*-bis(methylenfosfonové). Byla provedena jeho syntéza a zkoumány vlastnosti s využitím potenciometrických titrací. Byly nalezeny dvě disociační konstanty, které se svými hodnotami přibližují disociačním konstantám nalezených u α -aminofosfinových kyselin. Schopnost komplexace kovových iontů byla testována s ionty čtyř vybraných přechodných kovů – Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} a Zn^{2+} . Ukázalo se, že ligand tvoří s těmito kovy jen velmi slabé komplexy v důsledku nízké bazicity aminoskupin. Komplexní částice vznikají až při vyšších hodnotách pH, kdy už jsou z roztoku vylučovány hydroxidy příslušných kovů.

5 POUŽITÁ LITERATURA

- (1) Chen, M. Y.; Yang, D.-X.; *Chemical Engineering Methods and Technology: Phosphorus: Properties, Health Effects and the Environment*; Nova Science Publishers, Inc.: New York, NY, USA, **2012**; Vol. 217.
- (2) Collinsova, M.; Jiráček, J. *Curr. Med. Chem.* **2000**, *7*, 629.
- (3) Hirschmann, R.; Yager, K. M.; Taylor, C. M.; Witherington, J.; Sprengeler, P.A.; Phillips, B. W.; Moore, W.; Smith, A. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8177.
- (4) Mucha, A.; Kafarski, P.; Berlicki, L. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 5955.
- (5) Singhvi, S. M.; Duchin, K. L.; Morrison, R. A.; Willard, D. A.; Everett, D. W.; Frantz, M. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **1988**, *25*, 9.
- (6) Maruyama, H. B.; Arisawa, M.; Sawada, T. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1979**, *16*, 444.
- (7) Allen, J. G.; Atherton, F. R.; Hall, M. J.; Hassall, C. H.; Holmes, S. W.; Lambert, R. W.; Nisbet, L. J.; Ringrose, P. S. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1979**, *15*, 684.
- (8) Mikolajczyk, M. *J. Organomet. Chem.* **2005**, *690*, 2488.
- (9) Omura, S.; Murata, M.; Hanaki, H.; Hinotozawa, K.; Oiwa, R.; Tanaka, H. *J. Antibiot.* **1984**, *37*, 829.
- (10) Mallat, E.; Barcelo, D. *J. Chromatogr. A* **1998**, *823*, 129.
- (11) Ševčíková, R.; Lubal, P.; Campello, M. P. C.; Santos, I. *Polyhedron* **2013**, *62*, 268.
- (12) Lukeš, I.; Kotek, J.; Vojtíšek, P.; Hermann, P. *Coord. Chem. Rev.* **2001**, *216*, 287.
- (13) Kukhar, V. P., Hudson, H. R. *Aminophosphonic and Aminophosphinic Acids: Chemistry and Biological Activity*; Chichester: Wiley, **2000**; Vol. 634.
- (14) Madsen, H. E. L.; Christensen, H. H.; Gottliebpetersen, C. *Acta Chemica Scandinavica Series a-Physical and Inorganic Chemistry* **1978**, *32*, 79.
- (15) Buglyo, P.; Kiss, T.; Dyba, M.; JezowskaBojczuk, M.; Kozłowski, H.; Bouhsina, S. *Polyhedron* **1997**, *16*, 3447.
- (16) Russell, R. G. G. *Bone* **2011**, *49*, 2.
- (17) Cremers, S.; Papapoulos, S. *Bone* **2011**, *49*, 42.

- (18) Ebetino, F. H.; Hogan, A. M. L.; Sun, S. T.; Tsoumpra, M. K.; Duan, X. C.; Triffitt, J. T.; Kwaasi, A. A.; Dunford, J. E.; Barnett, B. L.; Oppermann, U.; Lundy, M. W.; Boyde, A.; Kashemirov, B. A.; McKenna, C. E.; Russell, R. G. G. *Bone* **2011**, *49*, 20.
- (19) Fogelman, I.; Bessent, R. G.; Turner, J. G.; Citrin, D. L.; Boyle, I. T.; Greig, W. R. *J. Nucl. Med.* **1978**, *19*, 270.
- (20) Galezowska, J.; Gumienna-Kontecka, E. *Coord. Chem. Rev.* **2012**, *256*, 105.
- (21) Lebdušková, P.; Hermann, P.; Helm, L.; Tóth, É.; Kotek, J.; Binnemans, K.; Rudovský, J.; Lukeš, I.; Merbach, A. E. *Dalton Trans.* **2007**, 493.
- (22) Blower, P. J.; Lewis, J. S.; Zweit, J. *Nucl. Med. Biol.* **1996**, *23*, 957.
- (23) Bligh, S. W. A.; Choi, N.; Failla, S.; Finocchiaro, P.; Ilyasov, A.; Libertini, M.; McGrath, C. M.; McPartlin, M.; Woodroffe, T. M. *J. Chem. Soc.-Dalton Trans.* **1994**, 3333.
- (24) Lebdušková, P. *Diplomová práce*, PřF UK **2001**.
- (25) Kývala, M., Lukeš, I. *Chemometrics '95*, Pardubice, Czech Republic, **1995**.
- (26) Baes, C. F. Jr., Mesmer, R. E. *The Hydrolysis of Cations*; Wiley: New York, **1976**.
- (27) Martell, A. E., Smith, R. M. *Critically Selected Stability Constants of Metal Complexes Database* **1998**.
- (28) Lukeš, I.; Bazakas, K.; Hermann, P.; Vojtíšek, P. *J. Chem. Soc.-Dalton Trans.* **1992**, 939.

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala svému školiteli, Vojtovi Kubíčkoví, za příjemný a velmi ochotný přístup při vedení práce.

Velké poděkování patří Zuzce Böhmové za trpělivost a vstřícnost při řešení problematiky potenciometrických titrací.

Děkuji Mariu Babuňkovi nejen za měření NMR spekter.

Chtěla bych poděkovat i všem ostatním členům laboratoře za cenné rady, vlídnost a vytvoření přátelského prostředí.

Děkuji Honzíkovi, že mi se vším pomáhá a je mi oporou.

Nejvíce děkuji svým rodičům, kteří mi poskytli báječné zázemí a podmínky pro studium.