

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Přírodovědecká fakulta
Katedra anorganické chemie

KOORDINACE SUBSTITUOVANÝCH
NITRO- A AMINOKALIX[4]ARENŮ

COORDINATION OF SUBSTITUTED NITRO- AND
AMINOCALIX[4]ARENES

Diplomová práce
studijního oboru klinická a toxikologická analýza

Praha 2008


Petra Němečková

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně, pod vedením školitele RNDr. Pavla Vojtíška, CSc., a že jsem všechny použité prameny řádně citovala.

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

V Praze dne 27. 8. 2008


.....
podpis

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu mé diplomové práce RNDr. Pavlu Vojtíškovi, CSc. za zájem, připomínky a čas, který věnoval mé práci. Dále bych ráda poděkovala Mgr. Janě Klimentové a celému kolektivu katedry anorganické chemie za ochotu pomoci a celkové příjemné prostředí. Můj dík samozřejmě patří i všem mým blízkým za velikou podporu.

Seznam klíčových slov	7
Seznam zkratk a symbolů	7
1 ÚVOD	9
1.1 Kalix[4]areny jako laditelné „spacery“	9
1.2 Kalix[4]areny a jejich využití při MRI	11
1.3 Známé struktury kalix[4]arenových komplexů s acetáty na „dolním“ kruhu 14	
2 CÍL PRÁCE	16
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	17
3.1 Seznam použitých chemikálií	17
3.2 Metodika charakterizace a dalšího studia připravených látek	21
3.2.1 NMR spektroskopie	21
3.2.2 Hmotnostní spektrometrie (MS)	21
3.2.3 Organická elementární analýza	21
3.2.4 Infračervená spektroskopie	22
3.2.5 Ramanova spektroskopie	22
3.2.6 Rentgenová strukturní analýza	22
3.2.7 Atomová absorpční spektroskopie (AAS)	22
3.2.8 Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC)	22
3.2.9 Tenkovrstevná chromatografie (TLC)	23
3.3 Syntetická část	24
3.3.1 Příprava činidel	24
3.3.1.1 Příprava Raney niklu	24
3.3.2 Příprava cílové látky	25
3.3.2.1 Příprava cone-5,11,17,23-tetrakis(1,1-dimethylethyl)-25,26,27,28-tetrakis(ethoxykarbonylmethoxy)kalix[4]arenu	26
3.3.2.2 Příprava cone-5,11,17,23-tetranitro-25,26,27,28-tetrakis(ethoxykarbonylmethoxy)kalix[4]arenu	26
3.3.2.3 Příprava cone-5,11,17,23-tetraamino-25,26,27,28-tetrakis(ethoxykarbonylmethoxy)kalix[4]arenu	27
3.3.2.4 Příprava cone-5,11,17,23-tetraamino-25,26,27,28-tetrakis(karboxymethoxy)kalix[4]arenu	28

3.3.3	Zavržená cesta přípravy cone-5,11,17,23-tetraamino-25,26,27,28-tetrakis(karboxymethoxy)kalix[4]arenu	30
3.3.3.1	Příprava cone-5,11,17,23-tetranitro-25,26,27,28-tetrakis(karboxymethoxy)kalix[4]arenu	30
3.3.3.2	Příprava cone-5,11,17,23-tetraamino-25,26,27,28-tetrakis(karboxymethoxy)kalix[4]arenu	31
3.4	Charakterizace NH₂kC₄A.....	32
3.4.1	Organická elementární analýza.....	32
3.4.2	AAS	32
3.5	Komplexační vlastnosti NH₂kC₄A.....	33
3.5.1	pH titrace.....	33
3.5.2	Interakce ligandu NH ₂ kC ₄ A s europitým kationtem	34
3.5.3	Interakce ligandu NH ₂ kC ₄ A se sodným kationtem	34
3.6	Pokusy o krystalizaci NH₂kC₄A a jeho komplexů s kationty kovů	35
3.6.1	Krystalizace samotného ligandu NH ₂ kC ₄ A	35
3.6.2	Krystalizace ligandu NH ₂ kC ₄ A s kationty kovů	37
3.6.3	Hydrotermální krystalizace	39
3.7	Charakterizace NO₂kC₄A.....	40
3.7.1	HPLC.....	40
3.8	Pokusy o krystalizaci NO₂kC₄A a jeho komplexů s kationty kovů	40
3.8.1	Krystalizace ligandu NO ₂ kC ₄ A	40
3.8.2	Krystalizace ligandu NO ₂ kC ₄ A s kationty kovů	43
4	DISKUZE	46
4.1	Syntéza.....	46
4.2	Charakterizace NH₂kC₄A.....	46
4.2.1	DRIFTS a RAMANova spektroskopie	46
4.2.2	NMR spektroskopie	48
4.2.3	AAS	51
4.2.4	Organická elementární analýza.....	51
4.3	Komplexační vlastnosti NH₂kC₄A	52
4.3.1	pH titrace.....	52
4.3.2	Interakce NH ₂ kC ₄ A s europitým kationtem	54
4.4	Charakterizace NO₂kC₄A.....	56

4.4.1	HPLC.....	56
4.5	Krystalizace NO ₂ kC4A a jeho komplexů s kationty kovu.....	58
4.6	Stanovení struktury NO ₂ kC4A	58
5	ZÁVĚR	66
	Literatura	67

Seznam klíčových slov

Kalix[n]areny, komplexy, koordinace, krystalizace, krystalová struktura, MRI, NMR, rentgenová difrakce, vibrační spektra, zwitter-ion.

Seznam zkratk a symbolů

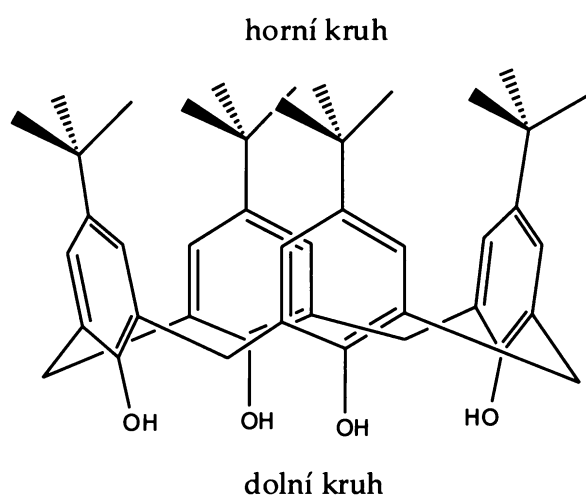
AAS	Atomová absorpční spektroskopie
CCDC	Cambridge Crystallographic Data Centre
δ_x	chemický posun signálu (NMR spektrum); bezrozměrná veličina obvykle udávána v jednotkách ppm
δ	deformační vibrace (infračervené spektrum), [cm^{-1}]
d	dublet (tvar multipletu v NMR spektru)
dd	dublet dubletů (tvar multipletu v NMR spektru)
DMFA	dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DRIFT	difúzní reflexe (metoda měření infračervených spekter)
ESI MS	hmotnostní spektrum získané pomocí ionizace elektrospojem
FTIR	Fourier transform infrared (spectroscopy)
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
IR	infračervené (spektrum)
M_r	relativní molekulová hmotnost
MRI	Magnetic Resonance Imaging
MS	hmotnostní spektrometrie
m/z	hmotnost částice dělená jejím nábojem (hmotnostní spektrum)

NH₂kC4A	<i>cone</i> -5,11,17,23-tetraamino-25,26,27,28-tetrakis(karboxymethoxy)-kalix[4]aren
NMR	jaderná magnetická rezonance
NO₂kC4A	<i>cone</i> -5,11,17,23-tetranitro-25,26,27,28-tetrakis(karboxymethoxy)-kalix[4]aren
pH	vodíkový exponent
q	kvartet (tvar multipletu v NMR spektru)
s	singlet (tvar multipletu v NMR spektru)
t	triplet (tvar multipletu v NMR spektru)
t_R	retenční čas [min.]
terc	terciární
TLC	tenkovrstevná chromatografie
TMAH	hydroxid tetramethylamonný
TMS	tetramethylsilan
UV	ultrafialové (záření)
V_{as/s}	antisymetrická/symetrická valenční vibrace (infračervené spektrum), [cm ⁻¹]

1 Úvod

1.1 Kalix[4]areny jako laditelné „spacery“

Kalix[n]areny, zejména kalix[4]areny, jsou dobře známé stavební jednotky v supramolekulární chemii ⁽¹⁾. Díky relativně snadnému navázání požadovaných substituentů na „horní“ či „dolní“ kruh (obr. 1.1.1) je možné připravit molekuly s rozličnými typy funkčních skupin a ovlivnit tak jejich vlastnosti, jako je například rozpustnost nebo koordinační schopnosti. Dále je možno substituci využít k zablokování základního skeletu v požadované konformaci ⁽²⁾. Právě syntéza různých konformerů s přesně definovanou strukturou a stereochemií umožňuje připravit takový kalix[4]arenový „spacer“, aby vzniklá cílová molekula byla uspořádána v prostoru požadovaným způsobem a byla schopná plnit funkci, pro kterou byla syntetizována.

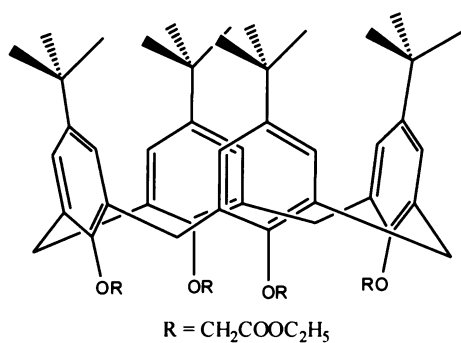


Obr. 1.1.1: Označení „horní“ a „dolní“ kruh kalix[4]arenu

Důležitou předností kalix[4]arenů je synteticky schůdná možnost zavedení požadovaného substituentu do předem zvoleného místa, a převedení tak jinak

hydrofobního kalix[4]arenu na látku ve vodě rozpustnou. Tato rozpustnost je silně ovlivňována pH roztoku, pokud jsou hydrofilními skupinami $-NH_2$ a $-COOH$.

Kalix[4]areny lze také využít jako „nosiče“ různých funkčních skupin. „Horní“ kruh může být substituován skupinami, které umožňují připojení další molekuly, a na dolním kruhu mohou být navázány skupiny ovlivňující rozpustnost. Tyto skupiny bývají zároveň schopné koordinace. Komplexace kationtů, aniontů i neutrálních látek může probíhat často s vysokou selektivitou, což je způsobeno dobře definovaným geometrickým uspořádáním vazebných míst v molekule ligandu ⁽³⁾. Na koordinaci se mohou podílet jak skupiny nesené skeletem, tak i aromtická jádra tvořící vlastní kavitu. Snadná derivatizace společně s unikátní možností volit různou velikost a tvar kavity činí z kalix[4]arenů ideální sloučeniny pro komplexaci kationtů. Existuje proto mnoho derivátů fungujících jako selektivní receptory pro dané kationty, popřípadě jako selektivní nosiče kationtů přes různá fázová rozhraní.⁽⁴⁾ Příkladem takové látky je tzv. kalix[4]aren-acetát (*obr.1.1.2*), který má vyhraněnou selektivitu vůči sodnému kationtu a je schopen ho transportovat přes fosfolipidovou membránu. Je tedy potenciálně využitelný jako nosič sodného iontu v biologických systémech. ⁽⁵⁾

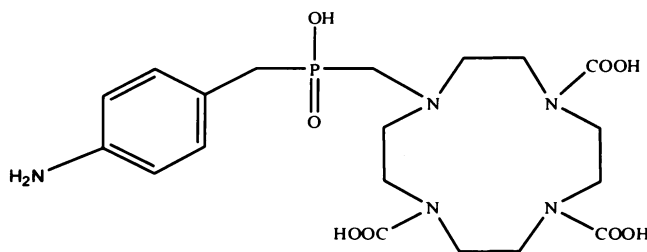


Obr. 1.1.2: Tzv. kalix[4]aren-acetát jako příklad selektivního nosiče kationtů přes různá fázová rozhraní

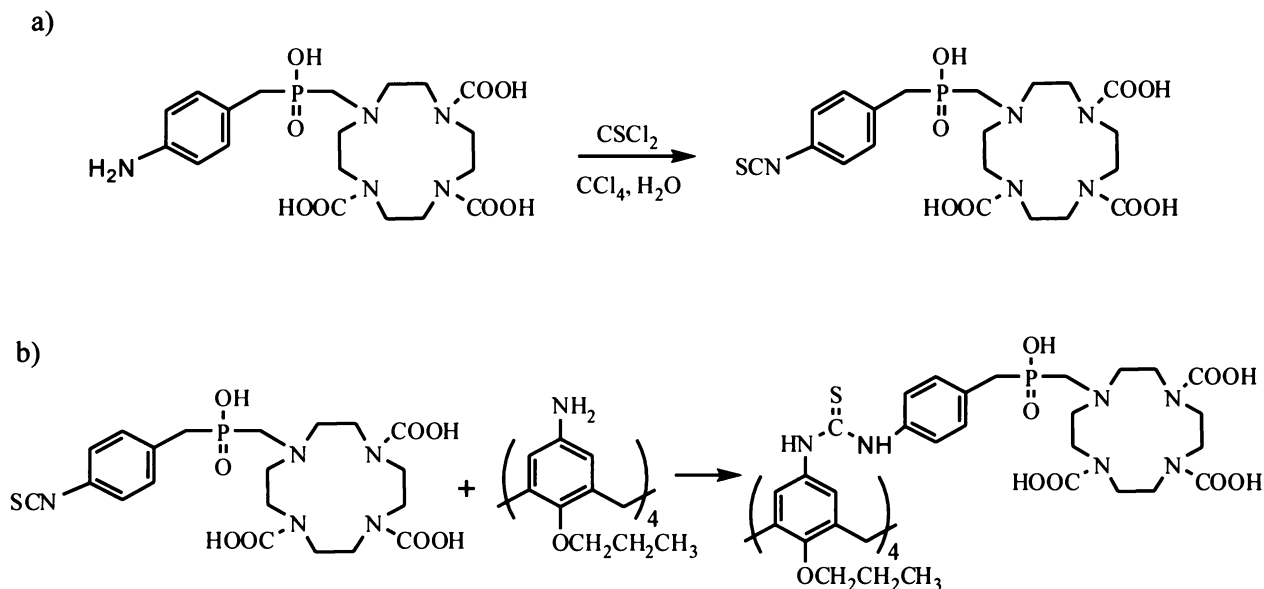
1.2 Kalix[4]areny a jejich využití při MRI

Jednou z možností jak vlastnosti laditelného kalixarenového „spaceru“ využít, mohou být látky potenciálně použitelné v tomografii MRI (Magnetic Resonance Imaging) ⁽⁶⁾. Výběr vhodného ligandu pro kation Gd^{3+} zásadním způsobem ovlivňuje rychlost výměny molekuly vody mezi koordinační sférou kovu a okolním roztokem a je jedním z důležitých parametrů, které lze ovlivnit „chemickou cestou“. Dalším důležitým parametrem je velikost molekuly kontrastní látky a rychlost její rotace (tzv. rotační korelační čas), které úzce souvisejí. Čím pomalejší je pohyb molekuly a tedy delší rotační korelační čas, tím jsou MRI vlastnosti lepší. Připojením jednoho nebo více nízkomolekulárních komplexů Gd^{3+} k nějakému makromolekulárnímu nosiči, například dendrimeru, cyklodextrinu či právě kalix[n]arenu, je možné rotační korelační čas zvýšit ^(6, 7). Tato problematika je tradičně studována na Katedře anorganické chemie PŘF UK, např. v publikacích ^(8, 9, 10, 11).

Zajímavou látkou z pohledu využití pro tomografii MRI byla molekula *cone-5,11,17,23-tetraamino-25,26,27,28-tetrakis(1-propoxy)kalix[4]arenu*, která byla studována na pracovišti TU Delft. Prostřednictvím aminoskupin je možná vazba na makrocyclický tetraamin s pendantními rameny, schopný koordinovat gadolinité ionty (*obr. 1.2.1*), a využít tak kalix[4]aren jako nosič. Návrh syntézy konjugátu je uveden na *obr. 1.2.2*.



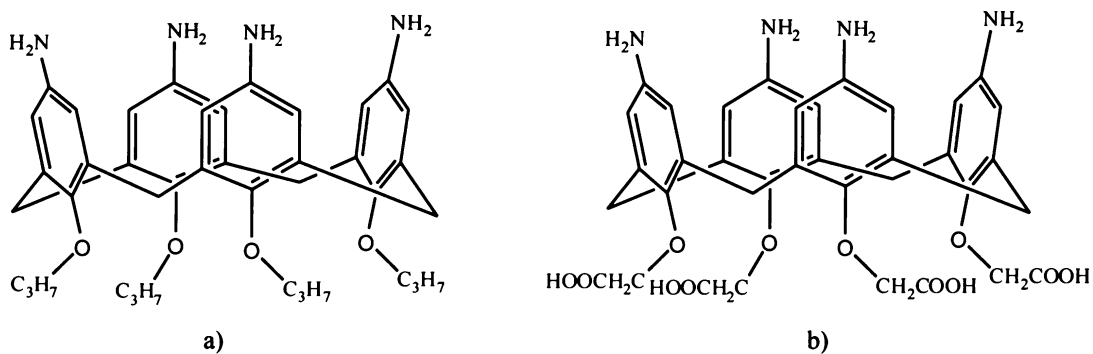
Obr. 1.2.1: Příklad makrocyclického tetraaminu s pendantními rameny schopného koordinovat Gd^{3+} ionty



Obr. 1.2.2: Návrh syntézy konjugátu: a) aktivace makrocycly

b) vazba makrocycly na kalix[4]aren

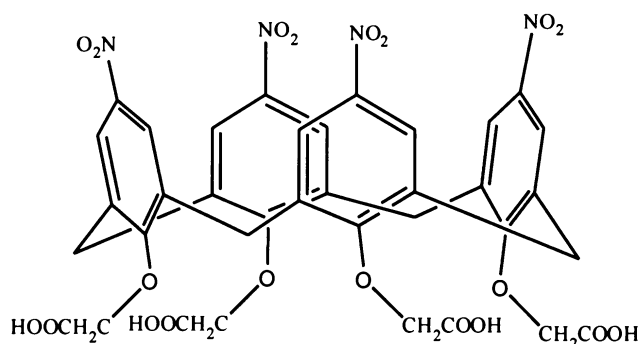
Problémem však byla nerozpustnost této látky ve vodě. Na „dolní“ kruh tedy musel být navázán jiný substituent, který by zvýšil polaritu natolik, aby byla látka ve vodě rozpustná a také byl dostatečně velký, aby byla zablokována *cone* konformace. Dále by tento substituent neměl zasahovat do „dějů na horním kruhu“. Jedním z možným řešení je zavedení acetátových skupin, molekula je zobrazena na obr. 1.2.3.



Obr. 1.2.3: a) *cone*-5,11,17,23-tetraamino-25,26,27,28-tetrakis(1-propoxy)kalix[4]aren
b) *cone*-5,11,17,23-tetraamino-25,26,27,28-tetrakis(karboxymethoxy)-kalix[4]aren

Molekula *cone*-5,11,17,23-tetraamino-25,26,27,28-tetrakis(karboxymethoxy)-kalix[4]arenu obsahuje jak aminoskupiny tak i karboxylové skupiny; je to tedy aromatická aminokyselina. Tyto dvě disociovatelné skupiny jsou schopné acidobazických reakcí a umožňují vznik zwitter-iontu. Rozpustnost je tedy výrazně závislá na pH. V případě vzniku amfiontu se bude molekula ve vodném prostředí srážet, což bude pravděpodobně komplikovat její krystalizaci.

Možností, jak předejít vzniku zwitter-iontu a přesto zachovat koordinační místa na „dolním“ kruhu, je nahrazení aminoskupin jinými substituenty, například nitroskupinami $-\text{NO}_2$ (*cone*-5,11,17,23-tetranitro-25,26,27,28-tetrakis(karboxymethoxy)kalix[4]aren, obr. 1.2.4). Rozpustnost této molekuly ve vodě je však podmíněna přítomností bazické látky, která je schopná „odtrhnout“ proton z acetátu a zvýšit tak polaritu kalix[4]arenu.



Obr. 1.2.4: *cone*-5,11,17,23-tetranitro-25,26,27,28-tetrakis(karboxymethoxy)kalix[4]aren

1.3 Známé struktury kalix[4]arenových komplexů s acetáty na „dolním“ kruhu

Acetátové skupiny, navázané na „dolním“ kruhu, mají možnost podílet se na vzniku koordinačních vazeb s kationty. Z literatury je již známo několik molekul v *cone* konformaci se stejně substituovaným „dolním“ kruhem, které komplexují některé kationty kovů a byla u nich určena přesná krystalová struktura. Příkladem je struktura označovaná v CCDC (*Cambridge Crystallographic Data Centre*) kodenem AHIFEC ⁽¹²⁾. „Horní“ kruh je substituován 1,1,3,3-tetramethylbutylovými skupinami. Prostřednictvím čtyř hydroxylových atomů kyslíku a čtyř acetátových atomů kyslíků došlo ke koordinaci vápenatého iontu. Dosud „koordinačně nevyužitý“ acetátový atom kyslíku váže spolu s dalším acetátovým atomem kyslíku druhé molekuly kalix[4]arenu vápenatý ion a dochází k polymeraci kalix[4]arenových molekul. V porovnání s volnou molekulou kalix[4]arenu nedošlo koordinací k výrazné změně geometrie molekuly.

Další uvedené struktury mají „horní“ kruh substituovaný terc-butylovými skupinami. První z nich je struktura CIQRUP ⁽¹³⁾. Ke komplexaci iontů sodíků jsou využita jen tři „ramena“ dolního kruhu, čtvrté rameno koordinuje, spolu s molekulou 5,5,7,12,12,14-hexamethyl-1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan, měďnatý kation. Prostřednictvím čtyř sodných kationtů jsou propojeny dvě molekuly kalix[4]arenu. K propojení čtyř molekul kalix[4]arenů, tentokrát prostřednictvím deseti vápenatých iontů, došlo také u složité struktury označované EQOSIM ⁽¹⁴⁾. Další je struktura EQOSOS ⁽¹⁴⁾. V tomto případě došlo k polymeraci molekul prostřednictvím kationtů vápníku. U struktury WOPWIH ⁽¹⁵⁾ došlo také k polymeraci kalix[4]arenových jednotek a to prostřednictvím olovnatých kationtů.

Komplexace kationtů sodíků byla pozorována také u molekul, jejichž „horní“ kruh byl substituován skupinou $-S(O)_2O^{1-}$, vlastně tedy sulfonových kyselin, odvozených od kalixarenu. Jsou to například struktury IDEBUO ⁽¹⁶⁾, IDECAV ⁽¹⁶⁾, TEDMOF ⁽¹⁷⁾ a TEDMUL ⁽¹⁷⁾. U všech těchto struktur byl koordinován minimálně jeden kation sodíku. V případě struktury IDEBUO došlo ke koordinaci jednoho kationtu prostřednictvím osmi kyslíkových atomů, v případě struktury IDECAV prostřednictvím sedmi kyslíkových atomů. Struktura TEDMOF koordinuje dva kationty sodíku. Jeden je komplexován pouze kyslíkovými atomy „dolního“ kruhu, u druhého se na komplexaci podílejí ještě dvě molekuly vody. Ve struktuře označované TEDMUL se nacházejí dva typy kalix[4]arenů. První koordinuje tři sodné kationty, kdy jeden kation je komplexován pouze prostřednictvím „dolního“ kruhu a na koordinaci dalších dvou se podílí ještě molekuly vody. Druhý typ kalix[4]arenu koordinuje čtyři sodíkové atomy. Tři z nich jsou koordinovány stejně jako u prvního typu, čtvrtý je spojen jen jednou koordinačně-kovalentní vazbou s kyslíkovým atomem „dolního“ kruhu.

Hydrofilní sloučenina *cone-5,11,17,23-tetraamino-25,26,27,28-tetrakis(karbomethoxy)kalix[4]aren* je tedy zajímavá jak díky přítomnosti aminoskupin vázaných na „horním“ kruhu, tak i acetátů na „dolním“ kruhu. Prostřednictvím aminoskupin by mělo být možné navázání dalšího makrocyklu, schopného koordinovat gadolinové ionty, a vzniklý konjugát tak využít při MRI tomografii, a acetátové skupiny by měly umožňovat komplexaci kationtů kovu.

2 Cíl práce

Hlavním cílem této práce bylo studium hydrofilní látky *cone-5,11,17,23-tetraamino-25,26,27,28-tetrakis(karboxymethoxy)kalix[4]arenu*, její charakterizace a případné studium komplexačních vlastností acetátových skupiny navázaných na „dolním“ kruhu.

Vzhledem k možné komplikaci při studiu předchozí látky z důvodu vzniku zwitter-iontu, bylo dalším cílem práce studium struktury *cone-5,11,17,23-tetra-nitro-25,26,27,28-tetrakis(karboxymethoxy)kalix[4]arenu* a studium komplexačních vlastností „dolního“ kruhu u ní.

3 Experimentální část

3.1 Seznam použitých chemikálií

<i>aceton</i>	p.a., Penta
<i>aceton, předsušený</i>	sušený stáním nad bezvodým K_2CO_3 a odfiltrováním od sušidla
<i>acetonitril</i>	p.a., Penta
<i>acetylacetonát měďnatý</i>	97%, Aldrich, rekrystalizován z chloro- formu
<i>acetylacetonát železitý</i>	přípraven dříve v laboratoři
<i>aktivní uhlí</i>	Fluka
<i>alumina (Al_2O_3 90)</i>	neutrální, 70-120 mesh, Merck
<i>amoniak</i>	$\geq 25\%$ vodný roztok, p.a., Lachema
<i>argon</i>	plynný z tlakové láhve, 99.996%, Linde Techno-plyn
<i>destilovaná voda</i>	získána deionizací pitné vody na iontoměničích na katedře analytické chemie PŘF UK
<i>dichlormethan</i>	p.a., Penta
<i>dušičnan draselný</i>	p.a., Lachema
<i>2,2'-dypiridyl</i>	p.a., Lachema
<i>dimethylformamid</i>	čistý, Lachema
<i>dimehylsulfoxid</i>	čistý, Lachema
<i>ethanol, azeotropický</i>	denaturovaný hexanem 1 %, Penta
<i>ethanol, bezvodý</i>	p.a., Penta
<i>ethylacetát</i>	p.a., Lachema
<i>ethylester kyseliny bromoctové</i>	Fluka
<i>hexan</i>	čistý, Lachema

<i>hydrazin hydrát</i>	80% vodný roztok, Riedel-de-Haën
<i>hydroxid draselný</i>	čistý, Lachema
<i>hydroxid sodný</i>	čistý, Lachema
<i>hydroxid tetramethylamonný</i>	10% roztok, připraven dříve v laboratoři
<i>chlorid draselný</i>	p.a., Lachema
<i>chlorid europitý, hexahydrát</i>	99,9%, Strem Chemicals
<i>chlorid měďnatý, dihydrát</i>	čistý, Lachema
<i>chlorid sodný</i>	p.a., Lachema
<i>chlorid vápenatý, dihydrát</i>	čistý, Lachema
<i>chlorid zinečnatý</i>	p.a., Lachema
<i>chloristan barnatý, trihydrát</i>	připraven dříve v laboratoři
<i>chloristan kademnatý, hexahydrát</i>	připraven dříve v laboratoři
<i>chloristan kobaltnatý, hexahydrát</i>	připraven dříve v laboratoři
<i>chloristan manganatý, hexahydrát</i>	připraven dříve v laboratoři
<i>chloristan měďnatý, hexahydrát</i>	připraven dříve v laboratoři
<i>chloristan nikelnatý, hexahydrát</i>	připraven dříve v laboratoři
<i>chloristan olovnatý, trihydrát</i>	připraven dříve v laboratoři
<i>chloristan vápenatý, hydrát</i>	připraven dříve v laboratoři
<i>chloristan zinečnatý, hexahydrát</i>	připraven dříve v laboratoři
<i>chloroform</i>	p.a., Penta
<i>2,4,6-kollidin</i>	Lachema
<i>kyselina dusičná</i>	koncentrovaná (65%), p.a., Lachema
<i>kyselina fenylfosfonová</i>	Fluka
<i>kyselina chloristá</i>	původ neznámý
<i>kyselina chlorovodíková</i>	koncentrovaná (35%), čistá, Lachema
<i>kyselina octová</i>	99,8%, p.a., Penta
<i>kyselina trifluoroctová</i>	99%, Acros Organics

<i>kyselina trifluoroctová pro HPLC</i>	Aldrich
<i>kyselina trichloroctová</i>	Lachema
<i>2,6-lutidin</i>	Fluka
<i>methanol</i>	p.a., Penta
<i>nitromethan</i>	Merck
<i>octan kobaltnatý, tetrahydrát</i>	Spolek pro chemickou a hutní výrobu
<i>octan měďnatý</i>	Lachema
<i>octan zinečnatý, dihydrát</i>	Lachema
<i>10% palladium na uhlí</i>	Aldrich
<i>2-propanol</i>	p.a., Penta
<i>pyridin</i>	p.a., Penta
<i>Raney slitina (Ni/Al)</i>	30-50 % Ni, původ neznámý
<i>silikagel (SiO₂ 60)</i>	70-230 mesh, Fluka
<i>5,11,17,23-tetrakis(1,1-di-methylethyl)-25,26,27,28-tetrahydroxykalix[4]aren</i>	připraven dříve v laboratoři
<i>toluen</i>	p.a., Penta
<i>vodík</i>	plynný z tlakové láhve, 99,9%, Linde Technoplyn
<i>ytterbium triflát (triflát=trifluormethansulfonová kyselina)</i>	připraven dříve v laboratoři

Deuterovaná rozpouštědla pro NMR měření

<i>dimethylsulfoxid</i>	99,5%, Deutero
<i>chloroform</i>	99,8%, Aldrich
<i>methanol</i>	purum (≥ 99.5%), Fluka
<i>voda</i>	99,8% (+ terc-butanol), Chemotrade

Sušidla

<i>chlorid vápenatý, bezvodý</i>	p.a., Windsor Laboratories
----------------------------------	----------------------------

síran hořečnatý, bezvodý

97%, Acros Organics

uhličitan draselný, bezvodý

p.a., Lachema

3.2 Metodika charakterizace a dalšího studia připravených látek

3.2.1 NMR spektroskopie

Pro měření NMR spekter byl použit přístroj firmy Varian Unity INOVA 400. Jádra ^1H byla měřena při frekvenci vysílače 399.951 MHz nebo 299,940 MHz, jádra ^{13}C při 100.577 MHz. Pro měření jader ^{13}C byl použit decoupling jader ^1H . Seznam všech deuterovaných rozpouštědel použitých pro měření je uveden v části 3.1. Chemické posuny v ^1H a ^{13}C NMR spektrech byly referencovány na signál vnitřního standardu TMS ($\text{Si}(\text{CH}_3)_4$, $\delta_{\text{H}} = 0.000$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 0.000$ ppm) nebo terc-butanolu ($\text{C}(\text{CH}_3)_3\text{OH}$, $\delta_{\text{H}} = 1.250$ ppm), případně na signál rozpouštědla (CHCl_3 , $\delta_{\text{H}} = 7.250$, $\delta_{\text{C}} = 77.000$; CH_3OH , $\delta_{\text{H}} = 3.310$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 49.100$; $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$, $\delta_{\text{H}} = 2.500$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 39.500$ ppm). Podmínky měření spekter (rozpouštědlo, teplota, standard) jsou uvedeny v části 3.3. u popisu příprav jednotlivých látek.

3.2.2 Hmotnostní spektrometrie (MS)

Hmotnostní spektra byla měřena pomocí metody ionizace elektrosprejem na přístroji ESQUIRE 3000 firmy Bruker. Detekce iontů byla prováděna pomocí iontové pasti.

3.2.3 Organická elementární analýza

Obsah uhlíku, vodíku a dusíku byl stanoven servisním pracovištěm elementární analýzy v ústavu makromolekulární chemie AV ČR v Praze.

3.2.4 Infračervená spektroskopie

K měření infračervených spekter byl použit jednopaprskový FTIR spektrometr Magna 760 firmy Nicolet. Spektra byla měřena metodou difúzní reflexe (DRIFTS).

3.2.5 Ramanova spektroskopie

Ramanova spektra práškových vzorků byla měřena na spektrometru Magna 760 firmy Nicolet, vybaveným modulem Nexus FT Raman .

3.2.6 Rentgenová strukturní analýza

Difrakční data byla měřena na přístroji Nonius Kappa CCD difraktometr (Enraf-Nonius) při 150(1) K (Cryostream Cooler Oxford Cryosystem). Byl použit grafitový monochromátor MoK α -radiation ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$) a data byla analyzována použitím HKL program package.

3.2.7 Atomová absorpční spektroskopie (AAS)

K měření atomové absorpční spektrometrie byl použit atomový absorpční spektrometr Varian AA-300A s grafitovou kyvetou GTA 96, napájecí zdroj pro výbojky s vysokou září firmy Photron Austrálie a výbojka s vysokou září téže firmy.

3.2.8 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)

HPLC experimenty byly prováděny na koloně Waters XTerra RP8 150 x 4.6 mm. Mobilní fáze byla připravena smícháním tří zásobních rozpouštědel: acetonitril (A), destilovaná voda s 0.1 % (objemová %) kyselinou trifluoroctovou (B) a voda (C). K detekci byl použit UV detektor s absorbancí při 300 nm.

3.2.9 Tenkovrstevná chromatografie (TLC)

Pro tenkovrstevnou chromatografii byly použity destičky SiO₂ (Alufol, SiO₂ 60 F 254), Al₂O₃ (Al₂O₃ 60 F 254, neutrální, typ E) firmy Merck a SiO₂ (Silufol, SiO₂ 60 F 254) firmy Kavalier Votice. U soustav rozpouštědel pro vyvíjení jsou uváděny objemové poměry rozpouštědel. Detekce látek byla prováděna pomocí UV lampy Konrad Benda NU-8 KL při vlnové délce 254 nm, dále parami jodu a u aminosloučenin postříkem 0.5% roztokem ninhydrinu v ethanolu s následným zahřátím horkovzdušnou pistolí.

3.3 Syntetická část

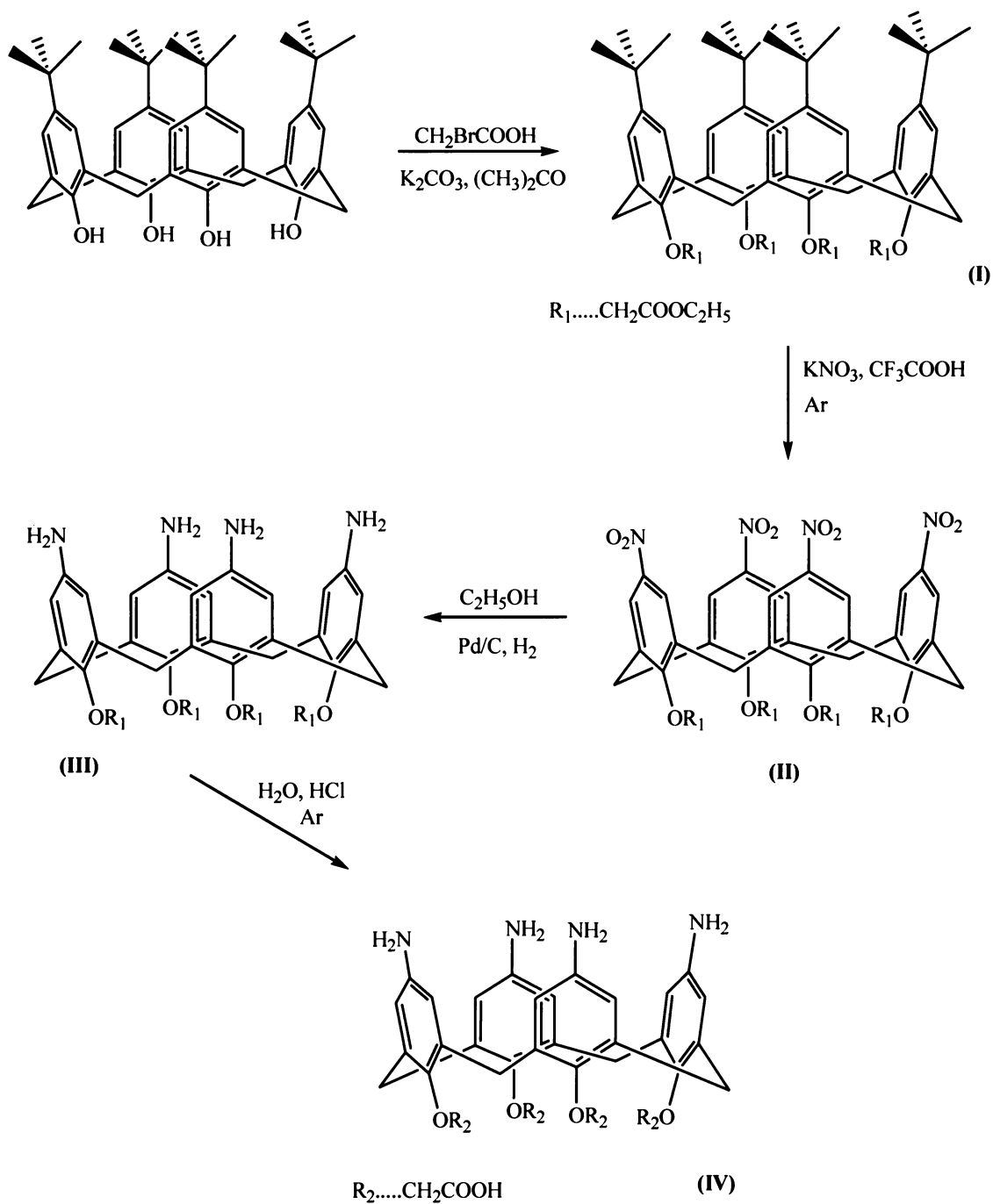
3.3.1 Příprava činidel

3.3.1.1 Příprava Raney niklu⁽¹⁸⁾

2,00 g práškové slitiny Ni/Al (30-50 % Ni) bylo suspendováno ve vysoké 250 ml kádince v 20 ml destilované vody. Po částech za důkladného míchání skleněnou tyčinkou bylo pak přidáváno 4,80 g pevného KOH (dochází k bouřlivé reakci - směs se silně zahřívá, pění (vývin H₂); reakce má indukční periodu 30-60 s). Po přidání poslední dávky KOH byla reakční směs ponechána stát 10 minut bez míchání a poté byla 30 minut zahřívána na 70 °C na vodní lázni. Po usazení pevné fáze byl odlit silně alkalický roztok hlinitanů a Raney nikl byl promyt dekantací čtyřikrát 15 ml destilované vody a třikrát 15 ml methanolu. Připravený hydrogenační katalyzátor (cca 0,6–1,0 g) byl uchováván pod methanolem (v suchém stavu pyroforický) v lednici při 0 °C.

3.3.2 Příprava cílové látky

Syntéza cílové látky je shrnuta na obr. 3.3.1.



Obr. 3.3.1: Schéma reakční cesty

3.3.2.1 Příprava cone-5,11,17,23-tetrakis(1,1-dimethylethyl)-25,26,27,28-tetrakis(ethoxykarbonylmethoxy)kalix[4]arenu (I) ⁽¹⁹⁾:

Do 500 ml dvouhrdlé baňky vybavené výkonným magnetickým míchadlem, zpětným chladičem a sušicí trubičkou naplněnou bezvodým CaCl₂ bylo naváženo 10,0 g 5,11,17,23-tetrakis(1,1-dimethylethyl)-25,26,27,28-tetrahydroxykalix[4]arenu, 21,2 g bezvodého K₂CO₃, 25,6 g (17 ml) ethylesteru kyseliny bromoctové a 200 ml suchého acetonu. Reakční směs byla refluxována sedm dní. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (hexan/ethylacetát 1:1, UV detekce a detekce parami jodu). Po ochlazení na laboratorní teplotu byla suspenze zfiltrována na fritě S4 a promyta 20 ml acetonu. Filtrát byl odpařen dosucha a produkt rekrystalován ze směsi dichlormethan/ethanol.

Výtěžek: 11,34 g (85 %) bílé krystalické látky

Charakterizace: ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, ref. TMS): 1.075 (s, 36 H, C(CH₃)₃), 1.288 (t, 7.2 Hz, 12 H, CH₂CH₃), 3.193 (d, 12.8 Hz, 4 H, CH₂AB), 4.208 (q, 7.2 Hz, 8 H, CH₂CH₃), 4.806 (s, 8 H, OCH₂), 4.856 (d, 13.2 Hz, 4 H, CH₂AB), 6.777 (s, 8 H, Ar-H)

¹³C{¹H} NMR (CDCl₃, 25 °C, ref CDCl₃): 14.17 (CH₂CH₃), 31.33 (C(CH₃)₃), 31.83 (CH₂ můstkový), 33.78 (C(CH₃)₃), 60.26 (CH₂CH₃), 71.27 (OCH₂), 125.30 (C_{ar}-H), 133.41 (C_{ar}-CH₂), 145.10 (C_{ar}-C(CH₃)₃), 152.93 (C_{ar}-O), 170.50 (C=O)

ESI MS (pozitivní mód): m/z 1015.5 ([M+Na]⁺)

3.3.2.2 Příprava cone-5,11,17,23-tetranitro-25,26,27,28-tetrakis(ethoxykarbonylmethoxy)kalix[4]arenu (II) ⁽²⁰⁾:

Do 50 ml dvouhrdlé baňky vybavené magnetickým míchadlem, zaváděcí trubičkou a bublačkou (naplněnou nujolem) bylo naváženo 5,0 g látky (I) a 20,2 g KNO₃. Byl připojen přívod argonu a po kapkách přidáno 16 ml kyseliny trifluoroctové. Směs byla míchána pod proudem argonu za laboratorní teploty

do doby, kdy se temně fialová barva změnila na oranžovou (5-6 h). Vzniklá oranžová suspenze byla nalita do 500 ml destilované vody a směs extrahována jednou 100 ml a dvakrát 50 ml dichlormethanu. Spojená organická fáze byla promyta 100 ml 5% vodného roztoku K_2CO_3 a následně několika 100 ml objemy destilované vody do doby, než byla vodná fáze bezbarvá (tři extrakce byly obvykle dostačující). Pro lepší dělení separovaných fází byl do děličky přidáván KCl. Organická fáze byla poté vysušena bezvodým $MgSO_4$ a odpařena dosucha. Produkt byl rekrystalizován ze směsi dichlormethan/cyklohexan a přečištěn rekrystalizací z acetonitrilu za horka .

Výtěžek: 1,63 g (34 %) světle žluté krystalické látky

Charakterizace: 1H NMR ($CDCl_3$, 25 °C, ref. TMS): 1.310 (t, 7.2 Hz, 12 H, CH_2CH_3), 3.478 (d, 14.8 Hz, 4 H, CH_2AB), 4.238 (q, 7.2 Hz, 8 H, CH_2CH_3), 4.780 (s, 8 H, OCH_2), 5.054 (d, 14.4 Hz, 4 H, CH_2AB), 7.607 (s, 8 H, Ar-H)

$^{13}C\{^1H\}$ NMR ($CDCl_3$, 25 °C, ref. $CDCl_3$): 14.082 (CH_2CH_3), 31.512 (CH_2 můstkový), 61.290 (CH_2CH_3), 71.515 (OCH_2), 124.255 (C_{ar-H}), 135.147 (C_{ar-CH_2}), 143.374 (C_{ar-N}), 160.797 (C_{ar-O}), 168.857 ($C=O$)

ESI MS (pozitivní mód): m/z 971.1 ($[M+Na]^+$)

3.3.2.3 Příprava cone-5,11,17,23-tetraamino-25,26,27,28-tetrakis(ethoxykarbonyl-methoxy)kalix[4]arenu (III):

Do 50 ml dvouhrdlé baňky opatřené magnetickým míchadlem, zaváděcí trubičkou a bublačkou (naplněnou nujolem) bylo naváženo 500 mg (II), 150 mg Pd/C a přilito takové množství bezvodého ethanolu, aby zaváděcí trubička byla ponořená (20-25 ml). Byl napojen přívod vodíku a směs míchána přibližně jednu hodinu. Poté byl napojen balónek s vodíkem. Po třech dnech míchání za laboratorní teploty bylo do reakční směsi přidáno aktivní uhlí, odfiltrováno přes filtrační papír do 100 ml baňky a filtrát odpařen dosucha.

Průběh reakce byl sledován pomocí TLC: 5% NH₃, ethanol/dichlormethan 1:3, detekce ninhydrinem.

Vzhledem k možné oxidaci aminoskupin byl produkt okamžitě použit pro další krok syntézy.

Výtěžek: 0,437 (98 %) světle oranžového prášku

Charakterizace: ¹H NMR (CD₃OD, 25 °C, ref. TMS): 1.281 (t, 7.2 Hz, 12 H, CH₂CH₃), 2.984 (d, 13.6 Hz, 4 H, CH₂AB); 4.190 (q, 7.2 Hz, 8 H, CH₂CH₃); 4.606 (s, 8 H, OCH₂); 4.712 (d, 13.6 Hz, 4 H, CH₂AB); 6.156 (s, 8 H, Ar-H)

¹³C{¹H} NMR (CD₃OD, 25 °C, ref. CD₃OD): 14.59 (CH₂CH₃), 32.56 (CH₂ můstkový), 61.59 (CH₂CH₃), 72.61 (OCH₂), 117.84 (C_{ar}-H), 136.59 (C_{ar}-CH₂), 141.91 (C_{ar}-N), 151.01 (C_{ar}-O), 171.98 (C=O)

3.3.2.4 Příprava cone-5,11,17,23-tetraamino-25,26,27,28-tetrakis(karboxymethoxy)-kalix[4]arenu (IV, v textu dále označován jako NH₂kC4A):

0,43 g látky (III), 12 ml destilované vody a 2 ml koncentrované HCl bylo mícháno v 50 ml baňce, uzavřené septem, nasycené argonem a obalené alobalem, po čtyři dny. Poté bylo přidáno aktivní uhlí a směs přefiltrována přes fritu S4. Produkt byl zbaven ostatních sloučenin prolitím silným katexem (DOWEX50, 4 x 10 cm, H⁺). Po nalití vzorku na regenerovaný katex [regenerace: promytí roztokem HCl (HCl:H₂O, 1:1) a poté destilovanou vodou do neutrálního pH] byla promytím vodou odstraněna HCl a protony, místo kterých se navázal produkt. Ten byl poté vymyt 5% vodným roztokem NH₃. Eluát byl odpařen dosucha, rozpuštěn v minimálním množství vody (přibližně 100 ml) a opět odpařen dosucha. Odpařený produkt byl rozpuštěn v minimálním množství vody, vysrážen acetonem, odsát na fritě S4 a vysušen v exsikátoru.

Produkt byl skladován ve vialce nasycené argonem a zabalené v alobalu kvůli možné oxidaci aminoskupin přítomných na horním kruhu.

Výtěžek: 0,29 g (78 %) světle béžového prášku

Charakterizace: ^1H NMR (D_2O , 25 °C, ref. $\text{C}(\text{CH}_3)_3\text{OH}$): 3.23 (d, 13.2 Hz, 4 H, CH_2AB); 4.45 (s, 8 H, OCH_2); 4.70 (d, 13.6 Hz, 4 H, CH_2AB); 6.52 (s, 8 H, Ar-H)

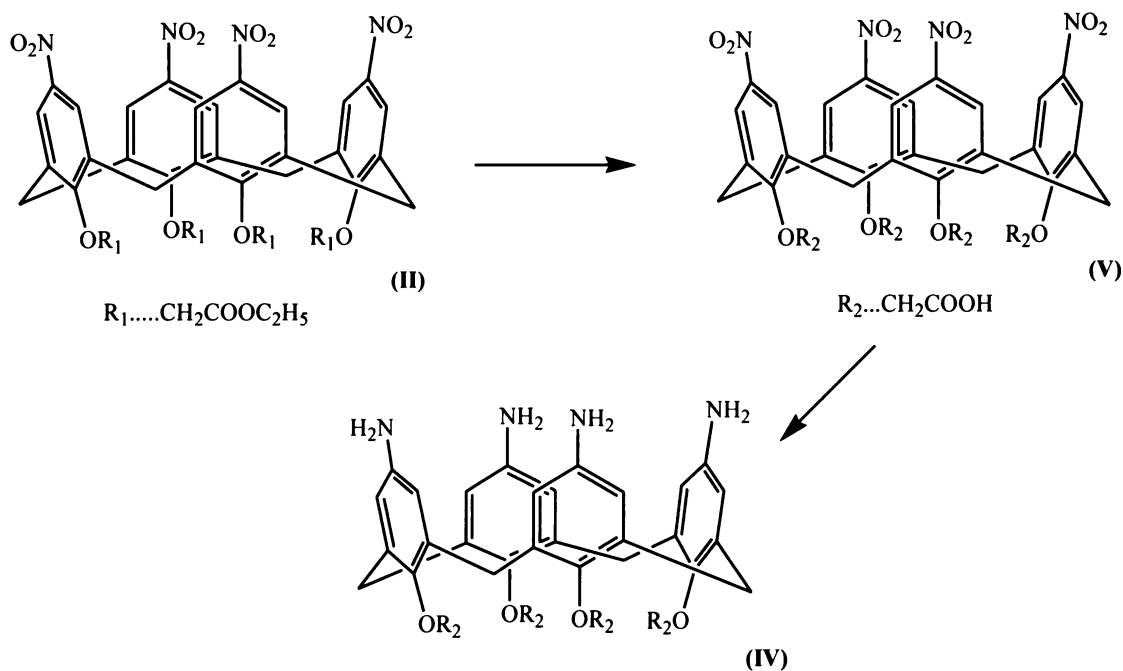
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (D_2O , 25 °C, ref. $\text{C}(\text{CH}_3)_3\text{OH}$): 32.338 (CH_2 můstkový), 77.101 (OCH_2), 118.803 ($\text{C}_{\text{ar-H}}$), 138.812 ($\text{C}_{\text{ar-CH}_2}$), 142.15 ($\text{C}_{\text{ar-N}}$), 151.406 ($\text{C}_{\text{ar-O}}$), 179.737 (C=O)

FTIR (DRIFTS): 2700 cm^{-1} (ν (NH_3^+)), 1603 cm^{-1} (ν_{as} (COO^-)), 1326 cm^{-1} (ν_{s} (COO^-), 1051 cm^{-1} (ν ($\text{C}_{\text{ar-N}}$))

FT Raman: 2600 cm^{-1} (ν (NH_3^+)), 1607 cm^{-1} (ν_{as} (COO^-)), 1329 cm^{-1} (ν_{s} (COO^-), 1050 cm^{-1} (ν ($\text{C}_{\text{ar-N}}$))

3.3.3 Zavržená cesta přípravy cone-5,11,17,23-tetraamino-25,26,27,28-tetrakis(karboxymethoxy)kalix[4]arenu (IV):

Další možnou alternativou přípravy látky (IV) by byla nejdříve hydrolýza látky (II) za vzniku cone-5,11,17,23-tetranitro-25,26,27,28-tetrakis(karboxymethoxy)kalix[4]arenu a následně redukce nitroskupin horního kruhu na aminoskupiny (obr. 3.3.2).



Obr. 3.3.2: Reakční schéma

3.3.3.1 Příprava cone-5,11,17,23-tetranitro-25,26,27,28-tetrakis(karboxymethoxy)kalix[4]arenu (V, v textu dále označován jako $\text{NO}_2\text{kC4A}$)⁽²¹⁾:

0,5 g látky (II) bylo rozpuštěno asi v 20 ml acetonitrilu (tolik, aby bylo vše rozpuštěno), poté byl přidán roztok NaOH (0,27 g NaOH v 25 ml destilované vody). Po jedné hodině míchání za laboratorní teploty byl roztok okyselen koncentrovanou HCl tak, aby pH odpovídalo přibližně jedné a odpařen asi na

jednu polovinu původního objemu. Bílá sraženina byla odsáta na fritě S4, dostatečně promyta destilovanou vodou a vysušena na vzduchu.

Výtěžek: 0,41 g (94 %) světle žlutého prášku

Charakterizace: ^1H NMR (DMSO, 25 °C, ref. DMSO): 3.687 (d, 14.1 Hz, 4 H, CH_2AB), 4.758 (s, 8 H, OCH_2), 4.908 (d, 14.1 Hz, 4 H CH_2AB), 7.657 (s, 8 H, Ar-H)

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (DMSO, 25 °C, ref. DMSO): 30.51 (CH_2 můstkový), 71.11 (OCH_2), 123.85 ($\text{C}_{\text{ar}}\text{-CH}_2$), 135.66 ($\text{C}_{\text{ar}}\text{-H}$), 142.35 ($\text{C}_{\text{ar}}\text{-N}$), 161.42 ($\text{C}_{\text{ar}}\text{-O}$), 170.42 ($\text{C}=\text{O}$)

ESI MS (pozitivní mód): m/z 859.1 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$)

ESI MS (negativní mód): m/z 835.0 (M^-)

HPLC: složení mobilní fáze na začátku experimentu: 50:20:30 (A:B:C), na konci: 80:20:0 (A:B:C), $t_{\text{R}} = 4.00$ min.

3.3.3.2 Příprava cone-5,11,17,23-tetraamino-25,26,27,28-tetrakis(karboxymethoxy)-kalix[4]arenu (IV)

0,1 g látky (V), 0,1 g Raney niklu a 20 ml bezvodého lihu bylo mícháno v 50 ml dvouhrdlé baňce, vybavené chladičem, bublačkou (naplněnou nujolem), zaváděcí trubičkou a magnetickým míchadlem, za přívodu vodíku při teplotě 60 °C. Po 2 hodinách TLC (2-propanol/25% vodný roztok amoniaku/voda 10:3:3, detekce UV zářením a ninhydrinem) prokázala, že produkt nevzniká. Proto bylo přidáno dalších 0,1 g Raney niklu, připojen balonek naplněný vodíkem a směs byla míchána při teplotě 60 °C čtyři dny. TLC poté opět prokázala, že produkt nevzniká. Balonek s vodíkem byl odpojen, přidán 1 ml hydrazin hydrátu a reakční směs byla míchána při teplotě 150 °C. Po třech hodinách bylo opět pomocí TLC zjištěno, že produkt stále nevzniká a byly proto přidány další 2 ml hydrazin hydrátu. Ani po dni míchání nebyl pomocí TLC prokázán vznik produktu a reakce byla zastavena.

3.4 Charakterizace NH₂kC₄A

3.4.1 Organická elementární analýza

Sumární vzorec molekuly NH₂kC₄A je C₃₆H₃₆O₁₂N₄ a molekulová hmotnost je 716,7 g.mol⁻¹. Experimentální výsledky organické elementární analýzy jsou: C 54,76 %, H 6,15 %, N 10,90 % (teoretické výsledky jsou: C 60,33 %, H 5,06 %, N 7,82 %).

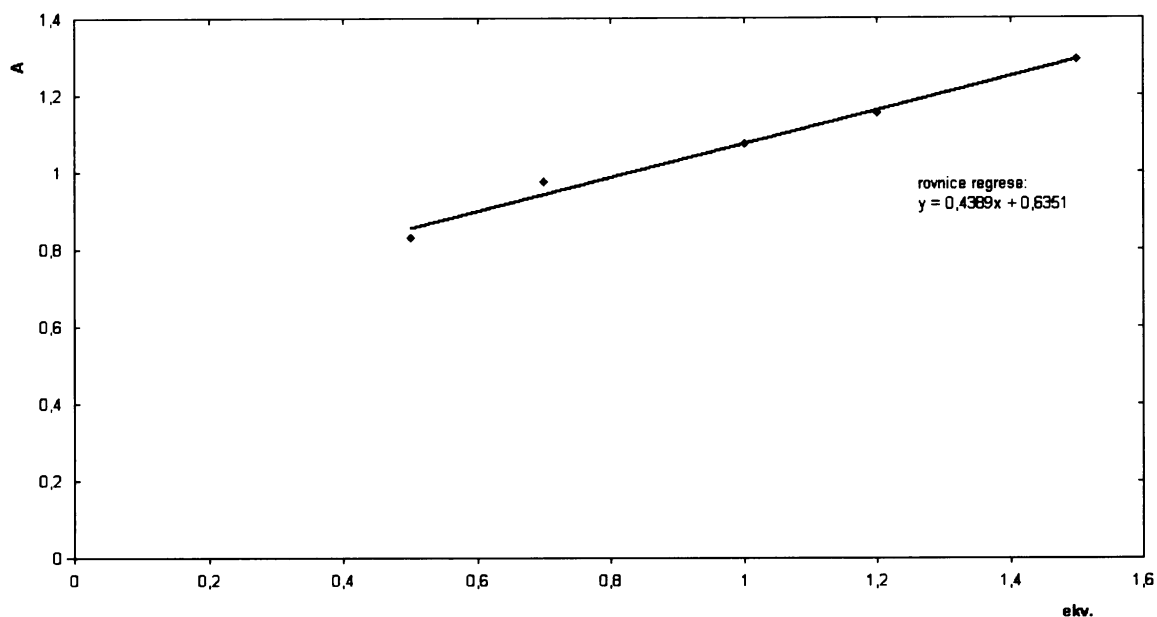
3.4.2 AAS

Vzhledem k tomu, že kalix[4]areny jsou velmi dobré ligandy pro komplexaci sodných iontů ⁽²⁾, byla i u látky NH₂kC₄A jejich přítomnost ověřována pomocí AAS (Atomová absorpční spektroskopie).

Pro měření byla připravena sada pěti kalibračních roztoků se známými koncentracemi Na⁺ a vzorek ligandu o koncentraci 1 ppm. V *tabulce 3.4.1* jsou uvedeny hodnoty změřených absorbancí kalibračních roztoků a vzorku ligandu. V *grafu 3.4.1* je zobrazena kalibrační přímka a rovnice regrese.

Tabulka 3.4.1: Hodnoty absorbancí kalibračních roztoků a vzorku

koncentrace ppm	absorbance
0,5	0,832
0,7	0,974
1	1,073
1,2	1,154
1,5	1,293
vzorek	0,882



Graf 4.2.1: Kalibrační přímka pro přítomnost Na^+ a zobrazení rovnice regrese

3.5 Komplexační vlastnosti $\text{NH}_2\text{kC}_4\text{A}$

3.5.1 pH titrace

Při vlastním pH látky, které se pohybuje kolem hodnoty 6,7, je třeba k úplnému rozpuštění látku zahřát. Po vychladnutí na laboratorní teplotu zůstane jen nepatrný nerozpuštěný zbytek. Látka byla v jednom případě titrována zředěným roztokem kyseliny chlorovodíkové a v druhém zředěným roztokem TMAH (hydroxid tetramethylamonný). Ke zvyšování pH byl v dalším experimentu také použit roztok hydroxidu sodného. K experimentu bylo použito 15 mg ligandu.

pH titrace byla také sledována pomocí ^1H NMR spektroskopie. Nejdříve byla měřena spektra ligandu v kyselé oblasti. K $\text{NH}_2\text{kC}_4\text{A}$ bylo po 0,5 ekvivalentu přidávána zředěná HCl. Po přidání 1,5 ekvivalentu HCl (pH=6,2) došlo ke kompletnímu vysrážení roztoku a ^1H NMR spektra tedy nemohla být měřena.

Až po přidání třech ekvivalentů HCl (pH=3,23) byl roztok opět čirý a měření mohlo pokračovat.

Dále byla měřena spektra v bazické oblasti, kdy byl k ligandu přidáván po 0,5 ekvivalentech TMAH.

3.5.2 Interakce ligandu NH₂kC₄A s europitým kationtem

¹H NMR spektroskopie byl využita ke sledování interakce europitého iontu s ligandem NH₂kC₄A. Ke kalix[4]arenu rozpuštěnému ve vodě bylo přidáno osm ekvivalentů kyseliny chlorovodíkové a pH tak kleslo až k hodnotě 0,54. Dále byl přidán jeden ekvivalent EuCl₃ (vodný roztok) a za laboratorní teploty změřeno ¹H NMR spektrum. Poté byl k roztoku přidáván vždy jeden ekvivalent TMAH a po dvaceti minutách (pro případ pomalé kinetiky) opět změřeno ¹H NMR spektrum. Problém však nastal po přidavku tří ekvivalentů TMAH, kdy se roztok začal kalit. Poslední vzorek, u kterého ještě bylo možné naměřit spektrum, ačkoliv už byl výrazný vliv vzniku sraženiny, bylo při přidavku pěti ekvivalentů TMAH (pH 3,31). K rozpuštění sraženiny dalším zvyšováním pH již nedošlo.

3.5.3 Interakce ligandu NH₂kC₄A se sodným kationtem

Ke kalix[4]arenu rozpuštěnému ve vodě byl po 0,5 ekvivalentu přidáván NaCl (vodný roztok) a po každém přidavku změřeno ¹H NMR spektrum za laboratorní teploty.

3.6 Pokusy o krystalizaci $\text{NH}_2\text{C}_4\text{A}$ a jeho komplexů s kationty kovů

Vypěstování krystalu je ideálním způsobem, jak o látce získat maximum informací. Z toho důvodu byla snaha o vykrytalizování samotného ligandu $\text{NH}_2\text{C}_4\text{A}$ nebo jeho komplexu.

Základním předpokladem úspěšné krystalizace je čirý roztok, jehož stáním, odpařováním, ohříváním či například ochlazováním jsou získány krystaly, pomocí nichž je dále prostřednictvím rentgenové strukturní analýzy určena molekulová struktura látky. U látky $\text{NH}_2\text{C}_4\text{A}$ bylo stěžejním problémem právě získání čirého roztoku v důsledku vzniku zwitter-iontu. V alkalické oblasti byla ještě problémem možná oxidace aminových skupin „horního“ kruhu.

3.6.1 Krystalizace samotného ligandu $\text{NH}_2\text{C}_4\text{A}$

Vykrytalování samotného ligandu by na jedné straně dostatečně charakterizovalo samotný ligand, ale také poskytlo srovnání v případě vykrytalování jeho komplexu.

Způsoby krystalizace čistého ligandu, případně ligandu ve formě soli jsou uvedeny v následujícím přehledu. Není-li uvedeno jinak, pak byl (i v případě krystalizací v dalších kapitolách) krystalizační roztok pouze uzavřen a ponechán, nejdříve za laboratorní teploty a poté při teplotě asi $5\text{ }^\circ\text{C}$, stát.

1. Prvním možným způsobem je krystalizace ligandu bez úpravy pH:
 - Rozpuštění ligandu ve vodě, odsátí nerozpuštěného zbytku → odpařování.
⇒ Odpařováním rozpouštědla nedošlo ke vzniku krystalů.
 - Difúze methanolu/ethanolu k ligandu rozpuštěnému ve vodě.
⇒ Roztok byl i po difúzi rozpouštědla čirý, ke krystalizaci však nedošlo.

- Rozpuštění ligandu v DMSO a difúze vody.
⇒ Roztok byl i po difúzi rozpouštědla čirý, ke krystalizaci však nedošlo.
 - Rozpuštění ligandu v DMFA a difúze vody.
⇒ Roztok byl i po difúzi rozpouštědla čirý, ke krystalizaci však nedošlo.
 - Rozpuštění ligandu ve vodě s methanolem a difúze acetonitrilu.
⇒ Roztok byl i po difúzi rozpouštědla čirý, ke krystalizaci však nedošlo.
 - Rozpuštění ligandu ve vodě a přidavek takového množství methanolu, aby byl roztok stále čirý.
⇒ Postupně začal vznikat zákal.
2. Dalším způsobem krystalizace, je rozpuštění ligandu ve vodě, snížení pH na takovou úroveň, aby byl roztok čirý, a krystalizace soli ligandu:
- pH upraveno pomocí HCl a difúze methanolu/ethanolu.
⇒ Roztok byl i po difúzi rozpouštědla čirý, ke krystalizaci však nedošlo.
 - K roztoku ligandu byla přidána kyselina fenylfosfonová → odpařování.
⇒ Odpařováním rozpouštědla nedošlo ke vzniku krystalů
 - K roztoku ligandu byla přidána kyselina fenylfosfonová a do vialky difundoval acetonitril
⇒ Roztok byl i po difúzi rozpouštědla čirý, ke krystalizaci však nedošlo.
 - K roztoku ligandu byla přidána kyselina trichloroctová → odpařování.
⇒ Odpařováním rozpouštědla nedošlo ke vzniku krystalů

3. Třetím možným způsobem je rozpuštění ligandu ve vodě, zvýšení pH natolik, aby byl roztok čirý, a krystalizace soli ligandu:

- Zvýšení pH pomocí TMAH a difúze 3% HCl.
⇒ Ke krystalizaci nedošlo.
- K roztoku ligandu byl přidán pyridin → odpařování. V dalším experimentu byl roztok s přísadkou pyridinu pouze ponechán při teplotě asi 5 °C (v ledničce) bez odpařování;
⇒ Ve vialce pravděpodobně vznikly krystaly soli ligandu, ale nebyl vypěstován takový monokrystal, který by mohl být změřen pomocí rentgenové difrakce.

Vialky s roztokem byly vždy nasyceny argonem, aby se předešlo možné oxidaci aminoskupin přítomných na „horním“ kruhu. Z tohoto důvodu bylo nevhodné odpařování na vzduchu.

3.6.2 Krystalizace ligandu NH₂C₄A s kationty kovů

Dále bylo zkoušeno vykrystalování některého z komplexů. Hlavní problém, ke kterému opakovaně docházelo, byl vznik sraženiny po přísadce prakticky jakékoli soli k ligandu rozpuštěnému ve vodě při vlastním pH. K rozpuštění sraženiny došlo až při výrazném snížení pH, a to až k hodnotám pH~2. Při tak nízkém pH je nepravděpodobný vznik komplexu. Zvyšováním pH obvykle také nedošlo k rozpuštění sraženiny, pravděpodobně v důsledku vzniku nerozpustných hydroxidů.

Další komplikací bylo rozpuštění izolovaných sraženin. Jediným rozpouštědlem byla 10% kyselina octová, která však není pro krystalizaci ideální.

Pokusy o vykrystalování komplexů jsou uvedeny v následujícím přehledu.

1. Prvním způsobem krystalizace, bylo rozpuštění ligandu ve vodě, přidání soli požadovaného kationtu a snížení či zvýšení pH na takovou úroveň, aby byl roztok čirý:
 - K roztoku ligandu byl přidán 0,5 molární roztok NaCl, hydroxidem sodným bylo zvýšeno pH nad hodnotu izoelektrického bodu, a poté do roztoku difundovala 5% HCl.
⇒ Ke vzniku krystalů nedošlo.
 - K roztoku ligandu byl přidán jeden ekvivalent EuCl_3 , poté takové množství HCl, aby byl roztok čirý a do roztoku difundoval 3% amoniak.
⇒ Postupně vznikala hnědá sraženina.
 - Rozpuštění ligandu ve vodě, přidání $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$ a přidavek takového množství 1% HClO_4 , aby byl roztok čirý. Poté do roztoku difundoval buď methanolu nebo ethanol.
⇒ Došlo ke vzniku žluté sraženiny na dně vialky.
2. Dalším způsobem byla izolace sraženiny, která vznikla po přidavku soli (při vlastním pH ligandu), její rozpuštění a krystalizace.
 - Sraženina, vzniklá po přidavku EuCl_3 k roztoku ligandu, byla rozpuštěna v 10% kyselině octové a do roztoku difundoval v prvním případě 5% a v druhém 3% roztok amoniaku.
⇒ Postupně vznikala hnědá sraženina.
 - Sraženina, vzniklá po přidavku $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$ k roztoku ligandu, byla rozpuštěna v 10% kyselině octové a do roztoku poté difundoval methanol.
⇒ V roztoku sice vznikly krystaly, rentgenovou difrakcí však bylo zjištěno, že nejde o krystaly kalix[4]arenu.

- Sraženina, vzniklá přidávkem $\text{Pb}(\text{ClO}_4)_2$ k roztoku ligandu, byla rozpuštěna v 1% HClO_4 a do roztoku difundoval methanol.
⇒ Postupně vznikala hnědá sraženina.
3. Posledním prováděným experimentem bylo rozpuštění $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$ v acetonitrilu a „navrstvení“ na ligand rozpuštěný ve vodě. Ihned po nepatrném styku s roztokem soli však došlo ke srážení roztoku.

3.6.3 Hydrotermální krystalizace

Posledním experimentem k získání krystalů byla hydrotermální krystalizace. Do každé ze tří ampulí bylo naváženo 10,0 mg $\text{NH}_2\text{C}_4\text{A}$ a rozpuštěno ve vodě. Poté bylo pH upraveno TMAH na $\text{pH} \sim 7$ a do první ampule přidán jeden ekvivalent CuCl_2 , do druhé dva ekvivalenty CuCl_2 a do třetí jeden ekvivalent EuCl_3 . Ampule byly zataveny, umístěny do autoklávu a čtyři dny udržovány při teplotě 150 °C. Stejný experiment byl poté zopakován ještě s nižšími navážkami ligandu, a to s 2,5 mg a 1,0 mg. (V případě navážky 1 mg nedošlo po přidání EuCl_3 ke vzniku sraženiny a čirý roztok byl nechán na vzduchu, zda-li nezačne krystalizovat.)

Ani hydrotermální krystalizace však nevedly ke vzniku krystalů. Ampule s přídatky CuCl_2 obsahovaly hnědou sraženinu, ampule s EuCl_3 temně fialovou sraženinu.

Vzhledem k tomu, že problémy s rozpustností samotného ligandu i jeho komplexů s kationty kovu byly způsobeny vznikem zwitter-iontu, jedinou možností jak studovat komplexační vlastnosti „dolního“ kruhu, a zároveň se vyvarovat právě vzniku zwitter-iontu, je nahrazení aminoskupin na „horním“ kruhu jinými substituenty, a to například nitroskupinami.

3.7 Charakterizace $\text{NO}_2\text{kC}_4\text{A}$

3.7.1 HPLC

Průběh syntézy $\text{NO}_2\text{kC}_4\text{A}$ byl sledován pomocí HPLC, aby bylo jisté, že získaná látka bude čistá, tzn. bez příměsí výchozí látky (II).

Pro měření HPLC byl použit gradient 50:20:30-80:20:0 a délka analýzy byla 20 minut.

50 mg látky (II) bylo rozpuštěno v 4,0 ml acetonitrilu a 0,3 ml vody. Přidáním 23 mg NaOH rozpuštěného v 4,3 ml vody došlo k vysrážení vzorku. Odebrání reprezentativního vzorku pro měření HPLC bylo možné až po čtyřech minutách, kdy byl roztok opět čirý. Ke 20 μl odebraného vzorku byl přidán 1 ml mobilní fáze (obsahovala kyselinu trifluoroctovou), aby se reakce zastavila a vzorek byl změřen. Další vzorky byly z reakční směsi odebrány po 10, 15 a 20 minutách, smíchány s 1 ml mobilní fáze a změřeny.

Dále byl pomocí HPLC proveden další experiment, kdy k látce (II) rozpuštěné v acetonitrilu, byl po kapkách přidáván roztok NaOH a vždy po přidání změřen vzorek.

3.8 Pokusy o krystalizaci $\text{NO}_2\text{kC}_4\text{A}$ a jeho komplexů s kationty kovu

3.8.1 Krystalizace ligandu $\text{NO}_2\text{kC}_4\text{A}$

Látka $\text{NO}_2\text{kC}_4\text{A}$ je kompletně rozpustná v acetonu, acetonitrilu, ethylacetátu a při přidavku báze i ve vodě. Škála rozpouštědel je tedy širší než v případě látky $\text{NH}_2\text{kC}_4\text{A}$, vznik zwitter-iontu je nemožný a krystalizační pokusy by tedy měly být úspěšnější.

Způsoby krystalizace samotného ligandu:

- Rozpuštění ligandu v a)acetonu, b)acetonitrilu, c)ethylacetátu → odpařování.
⇒ Odpařováním ethylacetátu se na stěnách vialky začaly tvořit slabounké krystaly. Ligand byl proto znovu rozpuštěn za horka v ethylacetátu, ponechán ve vodní lázni až do úplného zchladnutí a pak přesunut do lednice. Asi po třech dnech stání byly získány krystaly, které bylo možné změřit pomocí rentgenové difrakce.
⇒ Při použití ostatních rozpouštědel ke krystalizaci ligandu nedošlo.
- Rozpuštění ligandu v acetonitrilu a přídavek takového množství vody, aby byl roztok stále čirý → odpařování.
⇒ Roztok se postupně zakaloval.
- Rozpuštění ligandu v acetonitrilu/acetonu a přídavek takového množství methanolu, aby byl roztok stále čirý → odpařování.
⇒ Roztok se postupně zakaloval.
- Rozpuštění ligandu v acetonu a přídavek nitromethanu → odpařování.
⇒ Odpařováním rozpouštědla nedošlo ke vzniku krystalů.

Způsoby krystalizace ligandu ve formě soli:

- Rozpuštění ligandu v acetonitrilu a přídavek a)2,6-lutidinu, b)pyridinu, c)2,2'-dypiridylu, d)2,4,6-kollidinu → odpařování.
⇒ V případě 2,2'-dypiridylu a 2,6-lutidinu došlo k zakalení roztoku, v případě 2,4,6-kollidinu a pyridinu k odpaření rozpouštědla bez vzniku krystalů.
- Rozpuštění ligandu ve vodě s přídavkem a)2,6-lutidinu, b)pyridinu → odpařování.

- ⇒ V obou případech došlo k odpaření rozpouštědla bez vzniku krystalů.
- Rozpuštění ligandu ve vodě s přídavkem a)2,2'-dipyridylu, b)2,4,6-kollidinu, a přídavek takového množství acetonitrilu, aby byl roztok čirý → odpařování.
⇒ V případě 2,2'-dipyridylu došlo ke vzniku sraženiny, u 2,4,6-kollidinu k odpaření rozpouštědla bez vzniku krystalů.
 - Rozpuštění ligandu v acetonu a přídavek a)2,6-lutidinu, b)2,4,6-kollidinu, c)pyridinu, d)2,2'-dipyridylu → odpařování.
⇒ Při přídavku pyridinu, 2,6-lutidinu a 2,2'-dipyridylu nedošlo odpařováním rozpouštědla ke vzniku krystalů. V roztoku s přídavkem 2,4,6-kollidinu došlo k vyloučení oleje.
 - Rozpuštění ligandu v a)1% KOH, b)v 1% NaOH, c)1% TMAH → odpařování.
⇒ Ani v jednom případě nedošlo odpařováním rozpouštědla ke vzniku krystalů.
 - Rozpuštění ligandu v acetonu a přídavek a)1% KOH, b)1% NaOH, c)1% TMAH → odpařování.
⇒ U roztoků s přídavkem KOH a TMAH nedošlo odpařováním rozpouštědla ke vzniku krystalů. U roztoku s přídavkem NaOH došlo ke vzniku tepelně nestabilních krystalů (stále pouze při nižších teplotách asi do 10 °C), které však nebylo možné měřit pomocí rentgenové difrakce, protože nebyly dostatečně velké.

3.8.2 Krystalizace ligandu $\text{NO}_2\text{kC4A}$ s kationty kovu

Způsoby krystalizace ligandu $\text{NO}_2\text{kC4A}$ s kationty kovu byly prováděny následovně:

- K ligandu rozpuštěnému v acetonitrilu a vodě byl přidán a) $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ rozpuštěný v acetonitrilu, b) CuCl_2 rozpuštěný ve vodě → odpařování. Byl-li do roztoku ještě přidán TMAH došlo k okamžitému vzniku sraženiny.

⇒ V obou případech došlo odpařováním rozpouštědla ke vzniku sraženiny.

- K ligandu rozpuštěnému v acetonitrilu a vodě s přídavkem 2,6-lutidinu byl přidán a) $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$ rozpuštěný v acetonitrilu, b) $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$ rozpuštěný v acetonitrilu, c) $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ rozpuštěný v acetonitrilu → odpařování.

⇒ Ve všech případech došlo odpařováním rozpouštědla ke vzniku sraženiny.

- K ligandu rozpuštěnému v acetonu byl přidán vodný roztok NaCl → odpařování. V dalším pokusu byl k takto připravenému roztoku ještě přidán TMAH.

⇒ Odpařováním rozpouštědla nedošlo ke vzniku krystalů.

- K ligandu rozpuštěnému v acetonu a vodě byla přidána chloristá sůl rozpuštěná v acetonu, a to s kationty Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Ba^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} a Ca^{2+} , dále ytterbium triflát rozpuštěný v acetonu a CuCl_2 a ZnCl_2 rozpuštěné ve vodě → odpařování.

⇒ V přítomnosti ytterbia triflátu a chloristých solí s kationty Ba^{2+} , Ca^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} došlo v roztoku ke vzniku oleje. V případě přídavku CuCl_2 , ZnCl_2 a $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$ došlo ke vzniku sraženiny. V roztoku s přídavkem $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$ došlo odpařováním rozpouštědla

ke vzniku modrých krystalů. Při prvním provedení experimentu měly vzniklé krystaly tvar „srostlice“, v dalších provedeních byly příliš malé. Měření pomocí rentgenové difrakce bylo v obou případech nemožné.

- Další experiment byl shodný jako předcházející s chloristými solemi, jen byl v roztoku ještě přídavek TMAH, kterého tam nesmělo být příliš, jinak by došlo k okamžitému vysrážení roztoku.

⇒ Ve všech případech došlo ke vzniku sraženiny.

- K ligandu rozpuštěnému v acetonitrilu a vodě byla přidána chloristá sůl rozpuštěná v acetonitrilu a to s kationty Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Ba^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} a Ca^{2+} → odpařování.

⇒ V roztocích s kationty Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} a Cu^{2+} došlo postupně ke vzniku sraženiny. Při přítomnosti Ba^{2+} , Co^{2+} , Ca^{2+} a Ni^{2+} došlo k vyloučení oleje.

- Další experiment byl shodný jako předcházející, jen byl v roztoku ještě přídavek TMAH, kterého tam opět nesmělo být příliš, jinak by došlo k vysrážení roztoku.

⇒ V roztocích s kationty Zn^{2+} , Cd^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} a Co^{2+} došlo ke vzniku sraženiny. V přítomnosti Cu^{2+} a Ni^{2+} došlo ke vzniku krystalů, které však byly opět příliš malé na to, aby mohly být změřeny rentgenovou difrakcí.

- K ligandu rozpuštěnému v acetonu a vodě byl přidán octan s kationty Zn^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} rozpuštěný ve vodě → odpařování.

⇒ Ve všech případech došlo ke vzniku sraženiny.

- K ligandu rozpuštěnému v acetonu byl přidán acetylacetonát železitý rozpuštěný v acetonu → odpařování. Stejný experiment byl proveden i s acetonitrilem.

- ⇒ Došlo k úplnému odpaření rozpouštědla bez vzniku krystalů.
- K ligandu rozpuštěnému v acetonu byl přidán acetylacetonát železitý rozpuštěný ve vodě → odpařování.
⇒ Došlo ke vzniku sraženiny.
 - Předcházející experiment byl opakován a v okamžiku, kdy byla asi jedna polovina rozpouštědla odpařena, byl roztok umístěn do prostředí dichlormethanu.
⇒ I po značném zvýšení objemu byl roztok stále čirý.
 - K ligandu rozpuštěnému v acetonu byl přidán acetylacetonát měďnatý rozpuštěný v methanolu → odpařování
⇒ Postupně docházelo ke vzniku sraženiny.

4 Diskuze

4.1 Syntéza

Syntéza látky $\text{NH}_2\text{C}_4\text{A}$ probíhala relativně bezproblémově, byly-li nejprve zredukovány nitroskupiny „horního“ kruhu a poté kyselce zhydrolyzovány esterové skupiny „dolního“ kruhu. Výtěžky meziprojektu i produktu byly prakticky ekvivalentní a produkt neobsahoval žádné významné nečistoty. Kvůli možné oxidaci aminoskupin na „horním“ kruhu, byla látka skladována v prostředí argonu bez přístupu světla.

Nově optimalizovanými kroky byla právě redukce nitroskupin „horního“ kruhu a navázání acetátu na „dolní kruh“. Předcházející dva kroky syntézy, tj. navázání ethoxykarbonylmethoxy skupiny na „dolní“ kruh a nitrace „horního“ kruhu byly převzaty z literatury ^(19,20).

Při opačném provedení syntézy, tzn. nejdříve zhydrolyzování „dolního“ kruhu a až poté redukce nitroskupin „horního“ kruhu, byl bez větších problémů syntetizován pouze meziprojekt $\text{NO}_2\text{C}_4\text{A}$ s téměř ekvivalentním výtěžkem. Zredukování nitroskupin a tedy syntéza $\text{NH}_2\text{C}_4\text{A}$ se již nepodařila.

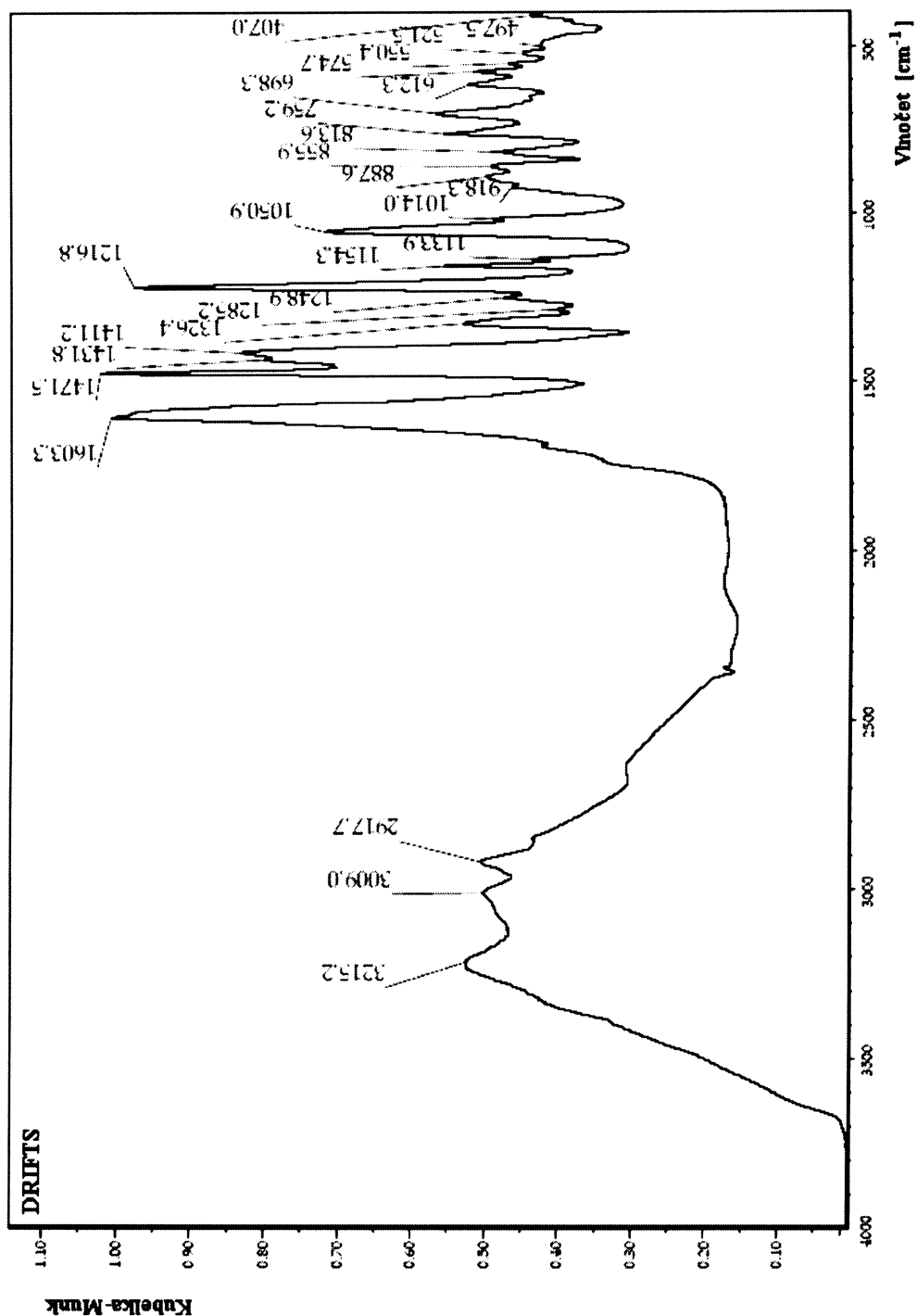
Syntéza $\text{NO}_2\text{C}_4\text{A}$ byla v porovnání s postupem převzatým z literatury ⁽²¹⁾ upravena. Methanol byl nahrazen acetonitrilem a reakční směs tedy nebyla suspenzí, ale roztokem.

4.2 Charakterizace $\text{NH}_2\text{C}_4\text{A}$

4.2.1 DRIFTS a RAMANova spektroskopie

Infračervená spektroskopie byla použita k charakterizaci látky $\text{NH}_2\text{C}_4\text{A}$ a pomohla vyřešit, zda-li se látka v pevném stavu nachází ve formě kationtu, aniontu, případně zwitter-iontu. Zásadní tedy bylo přiřazení především

aminových skupin „horního“ kruhu a acetátových skupin „dolního“ kruhu. Infračervené spektrum látky $\text{NH}_2\text{C}_4\text{A}$ měřené metodou DRIFTS je na obr. 4.2.1.



Obr. 4.2.1: DRIFTS spektrum látky $\text{NH}_2\text{C}_4\text{A}$

V případě přítomnosti deprotonované formy aminových skupin, by měla být antisymetrická valenční vibrace -NH_2 v oblasti $3550\text{-}3330\text{ cm}^{-1}$ a symetrická valenční vibrace v oblasti $3450\text{-}3250\text{ cm}^{-1}$. V případě protonované formy by se měla valenční vibrace -NH_3^+ projevit difúzní absorpcí v širokém rozmezí mezi $3200\text{-}2400\text{ cm}^{-1}$ s mnoha submaximami jako důsledek existence vodíkových vazeb mezi skupinami -NH_3^+ a COO^- . V oblasti kolem 2150 cm^{-1} by se měl nacházet středně silný pás kombinační frekvence (antisymetrická deformační a torsní vibrace -NH_3^+) typický pro spektra iontů se skupinami -NH_3^+ , který se nazývá indikátorový ⁽²²⁾. Podle všech zmíněných „indicií“ je pravděpodobná spíše přítomnost protonizované formy -NH_3^+ .

Dále byl očekáván pás vazby -COOH s vlnočtem přibližně 1750 cm^{-1} ⁽²²⁾. V této oblasti se však ve spektru žádný pás nevyskytoval. Kalix[4]aren se tedy v pevném stavu musí nacházet v deprotonované formě -COO^- . Vlnočť antisymetrické valenční vibrace této vazby je v porovnání s protonovanou formou výrazně nižší ($1610\text{-}1550\text{ cm}^{-1}$) ⁽²²⁾.

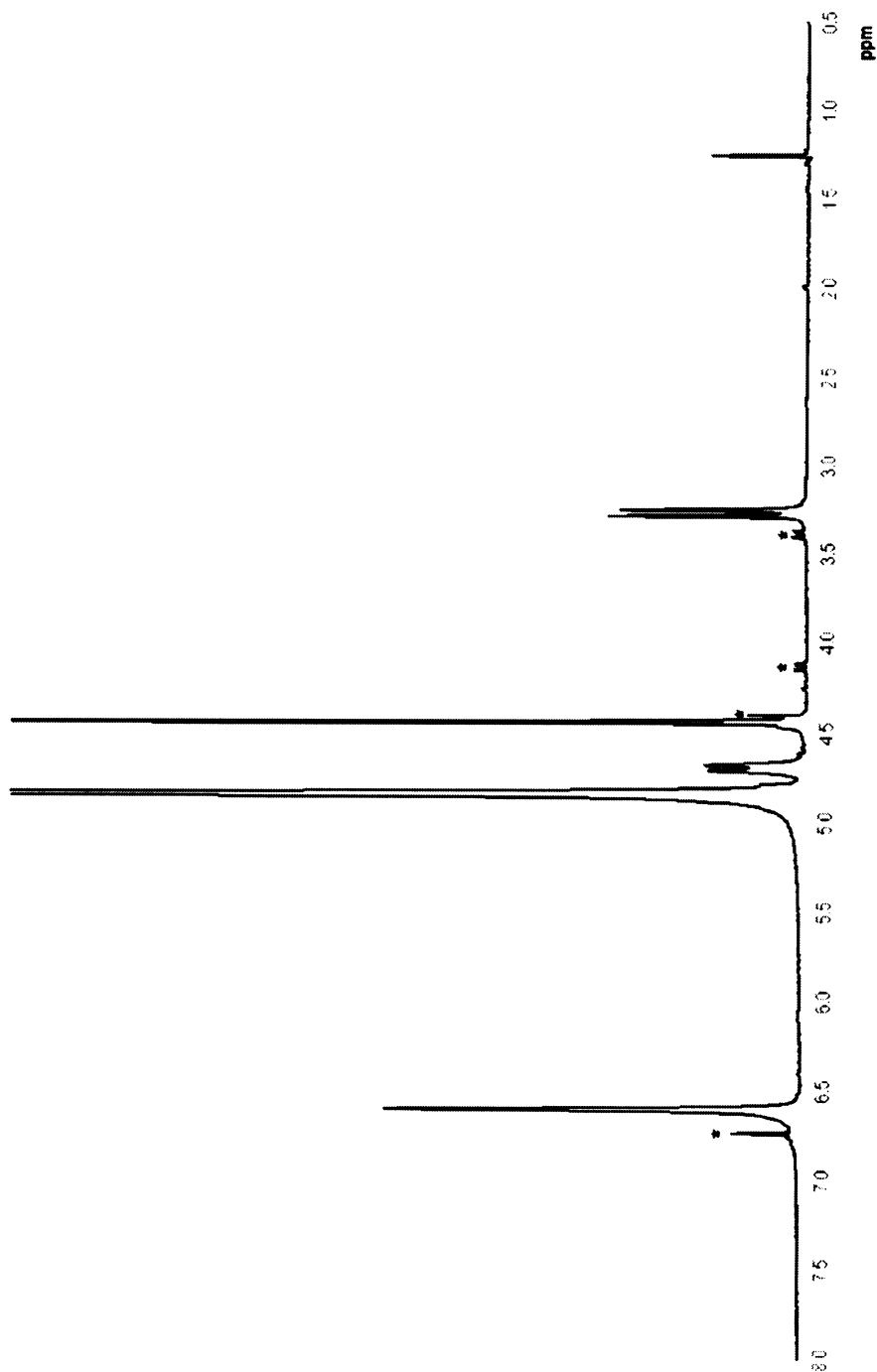
Pomocí infračervené spektroskopie tedy bylo prokázáno, že se látka $\text{NH}_2\text{kC}_4\text{A}$ v pevném stavu vyskytuje ve formě zwitter-iontu.

4.2.2 NMR spektroskopie

Ve změřeném spektru by měly být v ideálním případě přítomny tři signály. Dva signály odpovídající skeletu kalix[4]arenu, a to dublet dubletů můstkových methylenových skupin, jejichž vodíkové atomy nejsou ekvivalentní a singlet aromatických vodíků, které jsou ekvivalentní. Třetí signál by měl být singlet skupiny -OCH_2 „dolního“ kruhu.

Ve změřeném ^1H NMR spektru látky $\text{NH}_2\text{kC}_4\text{A}$, byla však, kromě těchto signálů čistého ligandu, přítomna ještě další sada méně intenzivních signálů. Jsou to také jeden dublet dubletů a dva singlety (*obr. 4.2.2*, 2. sada píků je

označena hvězdičkou). Od čistého ligandu se liší pouze polohami jejich signálů a interakční konstantou mezi dublety dubletů (*tabulka 4.2.1*). Vypadá to tedy, že je ve spektru přítomen ještě jeden, stejně substituovaný, kalix[4]aren.



Obr. 4.2.2: ^1H NMR spektrum látky $\text{NH}_2\text{kC4A}$; 2. sada piků je označena hvězdičkou

Tabulka 4.2.1: Polohy obou sad signálů v ^1H NMR spektru látky $\text{NH}_2\text{kC}_4\text{A}$

skupina	$\text{NH}_2\text{kC}_4\text{A}$ ppm	2.sada signálů ppm
CH_2AB	3.23	3.39
OCH_2	4.45	4.41
CH_2AB	4.70	4.13
Ar-H	6.52	6.72

Jedním možným vysvětlením je, že vzhled spektra je závislý na pH, při kterém je kalix[4]aren měřen. Dalším možným vysvětlením je, že druhá sada signálů odpovídá komplexu $\text{NH}_2\text{kC}_4\text{A}$ s kationty sodíku (přítomny ve vodě nebo skle), protože kalix[4]areny jsou známé jako velmi dobré ligandy pro komplexaci sodných iontů ⁽²⁾. Z toho důvodu byla proměřována ^1H NMR spektra $\text{NH}_2\text{kC}_4\text{A}$ s různými přídávky NaCl a pozorován posun signálů $\text{NH}_2\text{kC}_4\text{A}$. Při nadbytku sodných iontů, by měl být veškerý ligand zakomplexován a ^1H NMR spektrum obsahovat pouze jednu sadu signálů. V tabulce 4.2.2 jsou ukázány posuny obou sad signálů v ^1H NMR spektru $\text{NH}_2\text{kC}_4\text{A}$ bez přídávky sodných iontů a poté s přídávkem pěti ekvivalentů sodných iontů.

Tabulka 4.2.2: Různé posuny dvou sad signálů v ^1H NMR spektru $\text{NH}_2\text{kC}_4\text{A}$ bez přídávky Na^+ a dále posun signálů po přídávce 5 ekvivalentů Na^+

skupina	$\text{NH}_2\text{kC}_4\text{A}$ ppm	2.sada signálů ppm	přídavek 5 ekv. Na^+ ppm
CH_2AB	3.23	3.39	3.34
OCH_2	4.45	4.41	4.40
CH_2AB	4.70	4.13	4.55
Ar-H	6.52	6.72	6.79

Při nadbytku sodných iontů byla v ^1H NMR spektru přítomna skutečně jen jedna sada signálů a posuny se oproti původním hodnotám posunuly blíže k hodnotám 2. sady signálů. Pomocí ^1H NMR spektroskopie bylo tedy potvrzeno, že v syntetizovaném $\text{NH}_2\text{C}_4\text{A}$ je část ligandu zakomplexována se sodným kationtem.

Přítomnost sodných iontů byla také potvrzena pomocí atomové absorpční spektroskopie (viz. další kapitola).

4.2.3 AAS

Pomocí kalibrační přímky a z ní odvozené rovnice regrese bylo spočítáno, že vzorek obsahoval 1,7 % Na^+ , což odpovídá 0,54 ekvivalentu sodného kationtu na jednu molekulu $\text{NH}_2\text{C}_4\text{A}$. Hlavním účelem AAS však bylo především potvrzení přítomnosti sodíku.

4.2.4 Organická elementární analýza

Z výsledků organické elementární analýzy je patrné, že zastoupení atomů dusíku v molekule $\text{NH}_2\text{C}_4\text{A}$ je vyšší než se předpokládalo. Poměr mezi atomy C:H:N spočítaný z experimentálních výsledků je 5,85:7,88:1,00 (teoretický poměr 9:9:1). V jednom z posledních kroků přípravy ligandu bylo jeho vymývání z kolony 5% roztokem amoniaku. S největší pravděpodobností tedy molekula obsahuje dva amoniové ionty. Jejich přítomnost byla dokázána Nesslerovým činidlem. Možná je i přítomnost kationtů sodíku, které byly prokázány atomovou absorpční spektroskopií, a také je pravděpodobná přítomnost několika molekul vody.

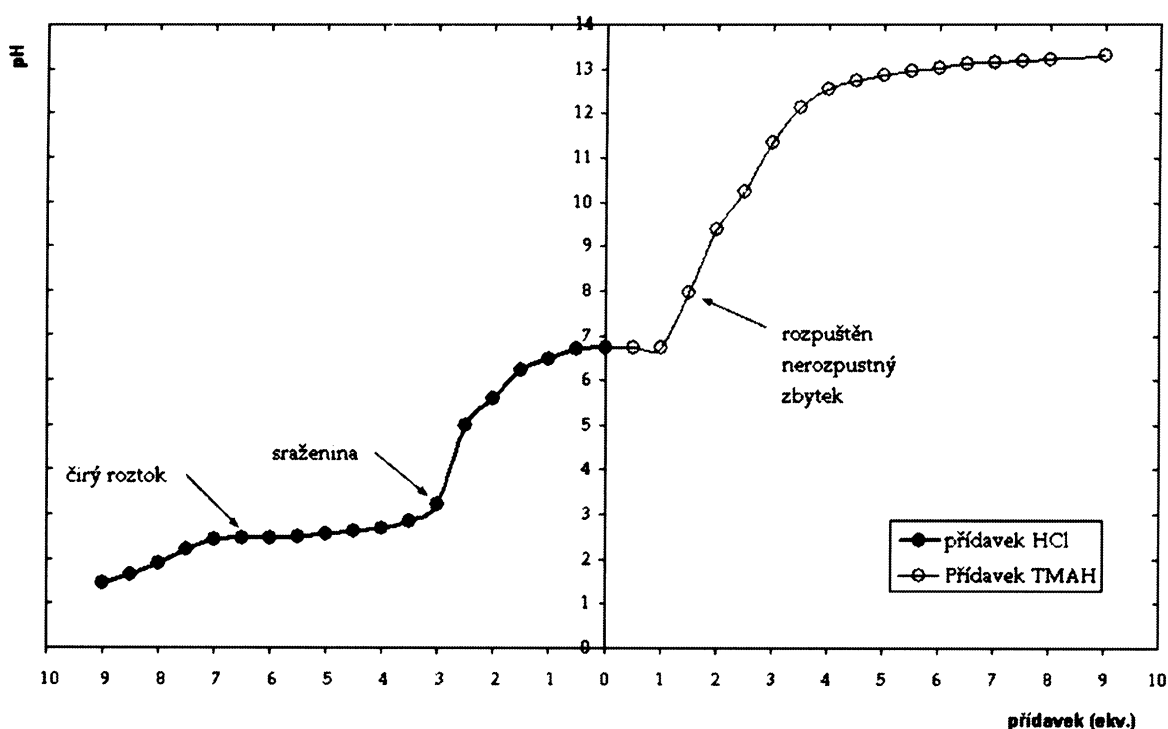
4.3 Komplexační vlastnosti $\text{NH}_2\text{kC}_4\text{A}$

4.3.1 pH titrace

Látka $\text{NH}_2\text{kC}_4\text{A}$ obsahuje dvě disociovatelné skupiny a je proto schopna tvořit zwitter-ion nerozpustný ve vodě, který může výrazně zkomplikovat krystalizaci jak samotné látky, tak i jejího komplexu.

Pomocí pH titrace (graf 4.3.1) bylo určeno rozmezí pH, při kterém je látka nerozpustná. Toto rozmezí je 2,5-7,9. Z titrační křivky byla také odhadnuta kyselá a bazická disociační konstanta. Hodnota kyselé disociační konstanty je 2,64 a hodnota bazické disociační konstanty 9,64.

Ligand byl také titrován roztokem NaOH. Žádný výrazný rozdíl proti TMAH však nebyl pozorován.



Graf 4.3.1: pH titrace látky $\text{NH}_2\text{kC}_4\text{A}$

Průběh pH titrace byl také měřen s využitím ^1H NMR spektroskopie. Při dostatečně nízkém pH, by plně protonizovaná molekula kalix[4]arenu neměla být schopna tvořit jakýkoliv komplex a spektrum by mělo obsahovat pouze jedinou sadu signálů, a to signálů čistého ligandu.

Přibližně do pH 6,4 bylo možné naměřit spektra ligandu, ve kterých byly obě sady signálů. Při dalším snižování pH, bylo, v důsledku vzniku zwitteriontu a tedy vysrážení ligandu, měření nemožné. Při pH 3,2 (tři ekvivalenty HCl) se látka začala opět postupně rozpouštět a při pH 2,5 (pět ekvivalentů HCl) byl roztok opět čirý a spektrum obsahovalo pouze jednu sadu signálů. Polohy signálů při pH 2,5 se poněkud zvýšily (*tabulka 4.3.1*).

Tabulka 4.3.1: Polohy signálů $\text{NH}_2\text{C}_4\text{A}$ bez přídavku HCl a po přídavku pěti ekvivalentů HCl; signál druhého dubletu můstkových methylenových skupin nemohl být s přesností určen, protože byl vnořen do signálu vody a acetátu

skupina	0 ekv. HCl (pH~6,8)		5 ekv. HCl
	$\text{NH}_2\text{C}_4\text{A}$	2.sada signálů (Na^+ komplex)	(pH~2,5)
	ppm	ppm	ppm
CH_2AB	3.23	3.39	3.51
OCH_2	4.45	4.41	4.87
CH_2AB	4.70	4.13	---
Ar-H	6.52	6.72	6.96

Při měření ^1H NMR spekter v bazické oblasti nedošlo k vymizení druhé sady signálů. Polohy signálů čistého ligandu se mírně měnily, ale nedošlo k žádným zásadním posunům (*tabulka 4.3.2*). Největší posun byl u signálu Ar-H, který se z hodnoty 6.55 ppm nejdříve zvýšil na 6.66 ppm a poté klesl až na 6.33 ppm. Po přidání tří ekvivalentů TMAH se už polohy všech signálů nijak významně neměnily. Polohy druhé sady signálů nemohly být s přesností

určeny, protože postupným přidáváním TMAH docházelo k jejich „vnoření“ do šumu základní linie.

Tabulka 4.3.2: Polohy signálů při postupném zvyšování pH pomocí TMAH; odečtení polohy vynechaných signálů CH₂AB nebylo za daných podmínek již jasné, protože byly vnořeny do signálu TMAH nebo vody.

počet ekv. TMAH	pH	CH ₂ AB ppm	OCH ₂ ppm	CH ₂ AB ppm	Ar-H ppm
0	6,69	3.24	4.43	4.68	6.55
0,5	6,72	3.23	4.40	4.70	6.57
1,0	6,75	3.25	4.35	4.68	6.66
1,5	7,96	3.24	4.35	4.67	6.66
2,0	9,38	3.21	4.39	4.70	6.57
3,0	11,36	3.13	4.51	---	6.34
4,0	12,50	---	4.52	---	6.33
5,0	12,87	---	4.52	---	6.33
6,0	13,02	---	4.52	---	6.33
8,0	13,22	---	4.51	---	6.33

4.3.2 Interakce NH₂C₄A s europitým kationtem

pH ligandu bylo nejprve sníženo až na hodnotu 0,54 a poté bylo zvyšováno pomocí TMAH. Se zvyšujícím se pH by mělo dojít k deprotonaci acetátů na „dolním“ kruhu a ke komplexaci europitého kationtu. Ze spektra byl měl být patrný posun signálu -OCH₂.

Komplikace však nastaly již po přidavku tří ekvivalentů TMAH, kdy se roztok začal zakalovat a zvyšováním pH (až k hodnotě 13,46) už se vzniklá

sraženina nerozpustila. Při nižších hodnotách pH sraženinu zřejmě tvořil buď samotný ligand nebo jeho komplex, při vyšších bazických hodnotách došlo pravděpodobně ke srážení hydroxidu europitého. Hodnoty pH vzorku po jednotlivých přídavcích, popis zakalení vzorku a posun signálu $-OCH_2$ je uveden v *tabulce 4.3.3*. V tabulce jsou uvedeny jen hodnoty do přídavku pěti ekvivalentů TMAH, právě kvůli vzniku sraženiny, která zabránila dalšímu NMR měření.

Tabulka 4.3.3: Hodnoty pH po jednotlivých přídavcích TMAH, popis zakalení vzorku a poloha signálu $-OCH_2$

počet ekv. TMAH	pH	zákal	$-OCH_2$ ppm
0	0,54	žádný	4.80
1	1,17	žádný	4.80
2	2,60	žádný	8.24
3	2,89	mírný	8.24
4	2,97	mírný	8.23
5	3,31	střední	8.24

Posun skupiny $-OCH_2$ z hodnoty 4.80 ppm až na hodnotu 8.24 ppm je výrazný a 1H NMR spektroskopie tedy potvrdila interakci europitého iontu s ligandem, a to již při poměrně nízkých hodnotách pH. Použití NMR spektroskopie se však neukázalo jako ideální, vzhledem k problematické rozpustnosti ligandu i jeho komplexu.

Stejný experiment byl prováděn i s chloridem vápenatým. Ke srážení vzorku však došlo již při tak nízkých hodnotách pH, že nebylo možné naměřit žádné 1H NMR spektrum, které by dokazovalo komplexaci vápenatého iontu.

4.4 Charakterizace NO₂kC₄A

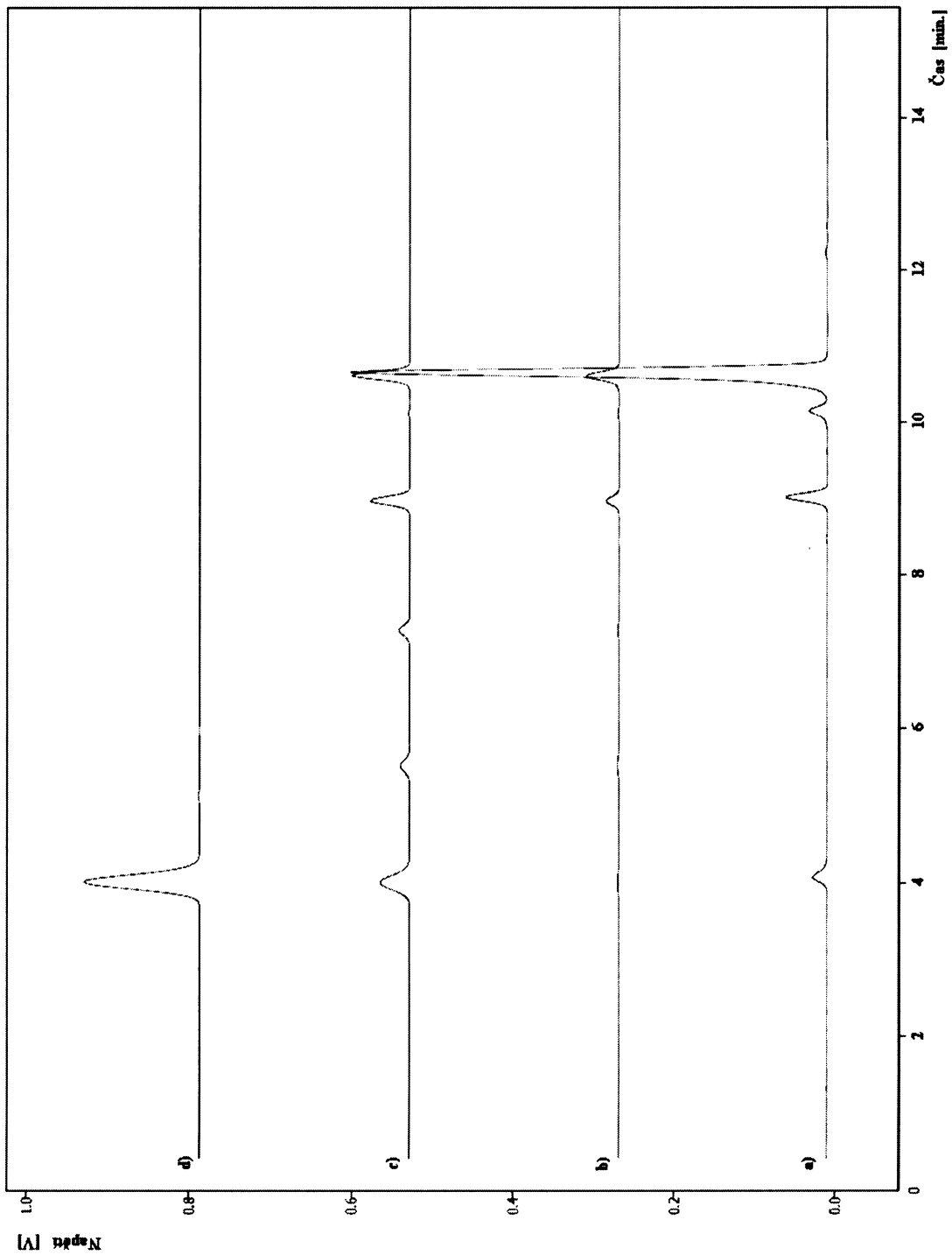
4.4.1 HPLC

Ověřování čistoty sloučeniny NO₂kC₄A bylo prováděno především proto, že v již dříve syntetizovaném podílu byla přítomna nezhydrolyzovaná výchozí látka, která poté krystalizovala namísto NO₂kC₄A.

První experiment, kdy byl k roztoku ligandu přidán roztok NaOH najednou, ukázal, že hydrolyza výchozí látky probíhá velice rychle. V prvním změřeném vzorku (po čtyřech minutách), byla ještě částečně přítomna výchozí látka. Vzorek změřený po deseti minutách však už obsahoval pouze produkt. „Znečištění“ dříve syntetizovaného podílu tedy zřejmě nebylo způsobeno krátkou reakční dobou syntézy, která byla 5 hodin, ale zřejmě neúmyslným zanesením výchozí látky do vialky s produktem.

V druhém experimentu byl do roztoku výchozí látky pomalu přikapáván roztok NaOH a pomocí HPLC sledována kinetika reakce. Chromatogram na *obrázku 4.4.1c* obsahuje tři píky meziproductů a kinetika reakce tedy probíhá obvyklým způsobem.

Z chromatogramu lze odečíst retenční jednotlivých sloučenin. Nejkratší retenční čas má produkt $t_{R1}=4,00$ minut, poté meziproduct se třemi zhydrolyzovanými „rameny“ $t_{R2}=5,51$ minut, se dvěma zhydrolyzovanými „rameny“ $t_{R3}=7,27$ minut a s jedním zhydrolyzovaným ramenem $t_{R4}=8,98$ minut a nakonec výchozí látka $t_{R5}=10,61$ minut.



Obr. 4.4.1: Průběh syntézy $\text{NO}_2\text{C}_4\text{A}$; chromatogram a) výchozí látky, b) po malém přídavku NaOH , c) po větším přídavku NaOH , d) zhydrolyzovaného produktu

4.5 Krystalizace $\text{NO}_2\text{kC}_4\text{A}$ a jeho komplexů s kationty kovu

Byla provedena celá řada krystalizačních pokusů o přípravu monokrystalu ligandu $\text{NH}_2\text{kC}_4\text{A}$, $\text{NO}_2\text{kC}_4\text{A}$, případně jejich komplexů s kationtem kovu. Byla využita difúze organického rozpouštědla, prosté odpařování roztoku nebo jen jeho stání při různých teplotních podmínkách, dokonce byla použita i metoda hydrotermální krystalizace.

Z poměrně širokého počtu krystalizačních pokusů, byla stoprocentně úspěšná, to znamená, že byl vypěstován monokrystal dostatečné velikost, pouze jedna a to krystalizace $\text{NO}_2\text{kC}_4\text{A}$ z ethylacetátu za horka.

V dalších dvou případech byly vykrystalizovány pravděpodobně komplexy ligandu s kovy, vzniklé krystaly však nebyly dostatečně velké, na to, aby mohly být změřeny pomocí rentgenové difrakce. Prvním případem byla krystalizace ligandu s chloristanem měďnatým v acetonu a vodě. Opakovaně vznikaly modré krystaly, ale buď ve formě „srostlice“ nebo právě příliš malých krystalů. Další „úspěšnou“ krystalizací byla krystalizace ligandu s chloristanem nikelnatým v acetonitrilu a vodě s přídavkem TMAH. Na dnech vialek opakovaně vznikaly průhledné krystalky, ale opět nedostačující velikosti.

4.6 Stanovení struktury $\text{NO}_2\text{kC}_4\text{A}$

Při vyjmutí krystalu z roztoku došlo k větrání solvátového rozpouštědla a ke zničení krystalu. Proto byla z vialky odebrána kapka roztoku obsahující krystaly a vybraný krystal přikápnut do silikonového oleje. Poté byl nalepen na skleněné vlákno v náhodné orientaci za použití silikonového tuku a proudem dusíku ochlazen na 150(1) K.

Základní krystalografické údaje jsou shrnuty v *tabulce 4.6.1*.

Tabulka 4.6.1: Základní krystalografické údaje monokrystalu $\text{NO}_2\text{C}_4\text{A}$
(3 $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$)

vlnová délka záření $\lambda/\text{\AA}$	0.71073
Vzorec	$\text{C}_{48}\text{H}_{52}\text{N}_4\text{O}_{26}$
$M/\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$	1100.94
T/K	150(1)
Rozměry krystalu/mm	0.35 x 0.2 x 0.15
Tvar a barva	Bezbarvý hranol
Soustava	Trojklonná
Prostorová grupa	P - 1
$a/\text{\AA}$	12.9930(2)
$b/\text{\AA}$	13.0620(2)
$c/\text{\AA}$	16.3890(2)
$\alpha/^\circ$	72.1130(10)
$\beta/^\circ$	72.3980(8)
$\gamma/^\circ$	84.2440(9)
$U/\text{\AA}^3$	2522.99(6)
Z	2
$D_c/\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$	1.449
μ / mm^{-1}	0.120
F (000)	1152
θ rozmezí pro sběr dat/ $^\circ$	1.36 - 27.57
Rozmezí indexů h, k, l	-16,16; -16,16; -21,21
Počet měřených reflexí	22112
R_σ	0.0263
Počet pozorovaných reflexí [$I > 2\sigma(I)$]	9427
Počet nezávislých reflexí	11576

R_{int}	0.0168
Koeficienty ve váhovém schématu	0.0554; 1.7704
Goodness-of-fit on F^2	1.023
Konečné hodnoty R, R' [$I > 2\sigma(I)$]	0.0456; 0.1158
Maximální změna/e.s.d.	0.001
Zbytkové maximum a minimum elektronové hustoty/ $e\text{\AA}^3$	0.581; -0.411

Látka $\text{NO}_2\text{C}_4\text{A}$ krystalizuje v prostorové grupě $P-1$ a v její struktuře jsou obsaženy tři molekuly ethylacetátu.

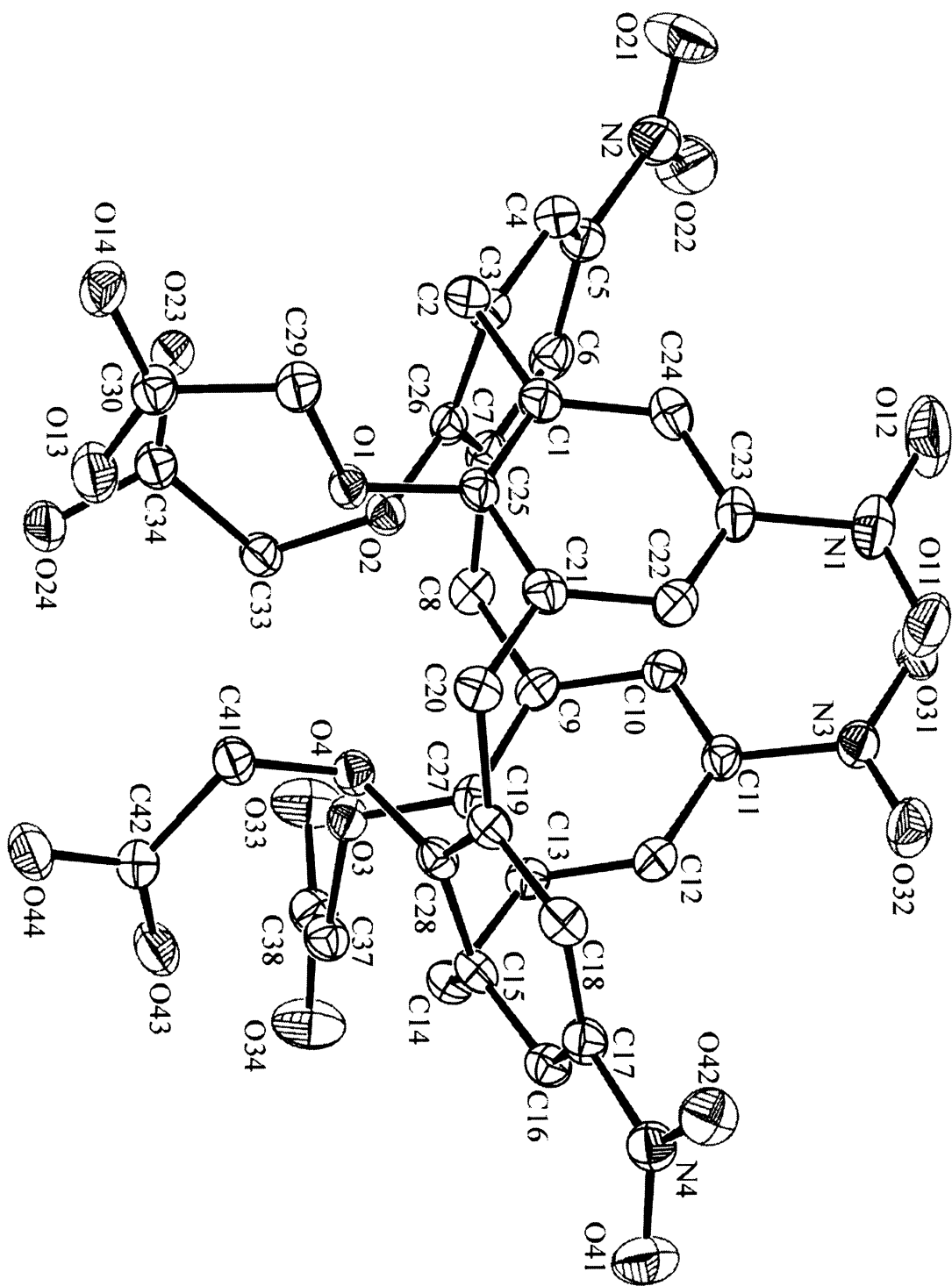
Na *obrázku 4.6.1* je krystalová struktura ligandu (atomy vodíku a molekuly rozpouštědla byly pro přehlednost vynechány).

V *tabulce 4.6.2* jsou uvedeny vybrané vazebné vzdálenosti a úhly. Na *obrázku 4.6.2* je zobrazeno číslování látky.

Molekula ligandu tvoří trojrozměrnou síť vodíkových vazeb. Každá kalix[4]arenová molekula je připojena atomem vodíku na kyslíkovém atomu $\text{O}24$ k atomu kyslíku $\text{O}23^i$ další kalix[4]arenové jednotky ($i \dots -x+1, -y, -z+1$), atomem vodíku na $\text{O}34$ k atomu kyslíku $\text{O}33^{ii}$ druhé molekuly ($ii \dots -x+2, -y, -z$) a atomem vodíku na $\text{O}44$ k atomu kyslíku $\text{O}43^{iii}$ třetí molekuly kalix[4]arenu ($iii \dots -x+2, -y, -z+1$). Také je přítomna vodíková vazba mezi atomem vodíku na $\text{O}14$ a atomem kyslíku ethylacetátu $\text{O}99^i$ (*obr. 4.6.3*). V molekule nejsou přítomny žádné intramolekulární vodíkové vazby. Vodíkové vazby nemají žádný výrazný vliv na geometrii molekuly. Patrné jsou také intermolekulární $\text{CH}-\pi$ interakce mezi fenylovým kruhem kalix[4]arenové molekuly a alifatické $-\text{CH}_2$ skupiny na „dolním“ kruhu další kalix[4]arenové jednotky. „Síť“ kalix[4]arenových jednotek je uspořádána do jakéhosi „kanálu“, který je obsazen molekulami rozpouštědla.

Molekula kalix[4]arenu zaujímá v prostoru *flattened cone* konformaci, tzn. že vzdálenost mezi dvěma protilehlými nitroskupinami „horního“ kruhu je menší než mezi zbylými dvěma, a to v důsledku intramolekulární π - π interakce. Symetrie molekuly je podobná jako u dalších p-nitrokalix[4]arenů ⁽²¹⁾. V případě molekuly NO₂C₄A je hodnota parametru $\alpha=67,8$ (4) °, parametru $\beta=141,3$ (2) ° a parametru $\delta=14,4$ (2) °. U molekuly cone-5,11,17,23-tetranitro-25,26,27,28-tetrakis(1-propoxy)kalix[4]arenu je hodnota parametru $\alpha=67,2$ (1) °, parametru $\beta=146,4$ (1) ° a parametru $\delta=14,4$ (1) ° ⁽²¹⁾. Důvod, proč je hodnota parametru β poměrně vysoká, je pravděpodobně právě kvůli intramolekulární π - π interakci nitroskupin protilehlých kruhů.

Zajímavý je vznik dimerů, které vznikají prostřednictvím vodíkových vazeb „dolních“ kruhů dvou kalix[4]arenových jednotek (*obr. 4.6.3*).



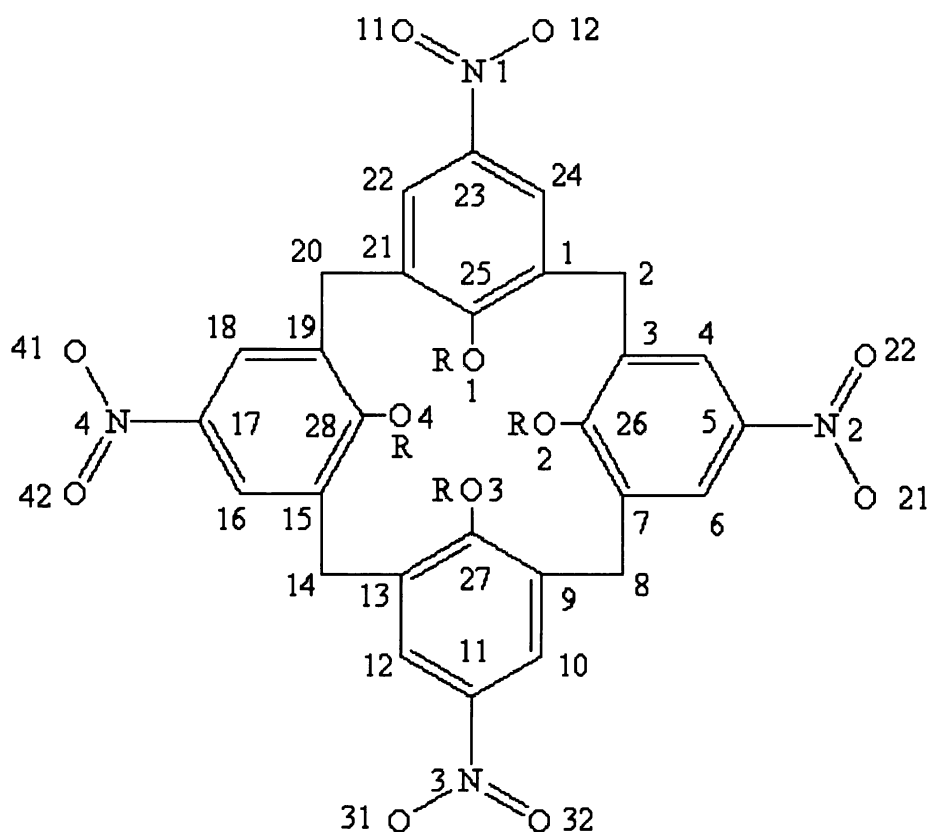
Obr. 4.6.1: Krystalová struktura ligandu $\text{NO}_2\text{kC4A}$

Tabulka 4.6.2: Vybrané vazebné vzdálenosti (\AA) a úhly ($^\circ$) látky $\text{NO}_2\text{kC}_4\text{A}$

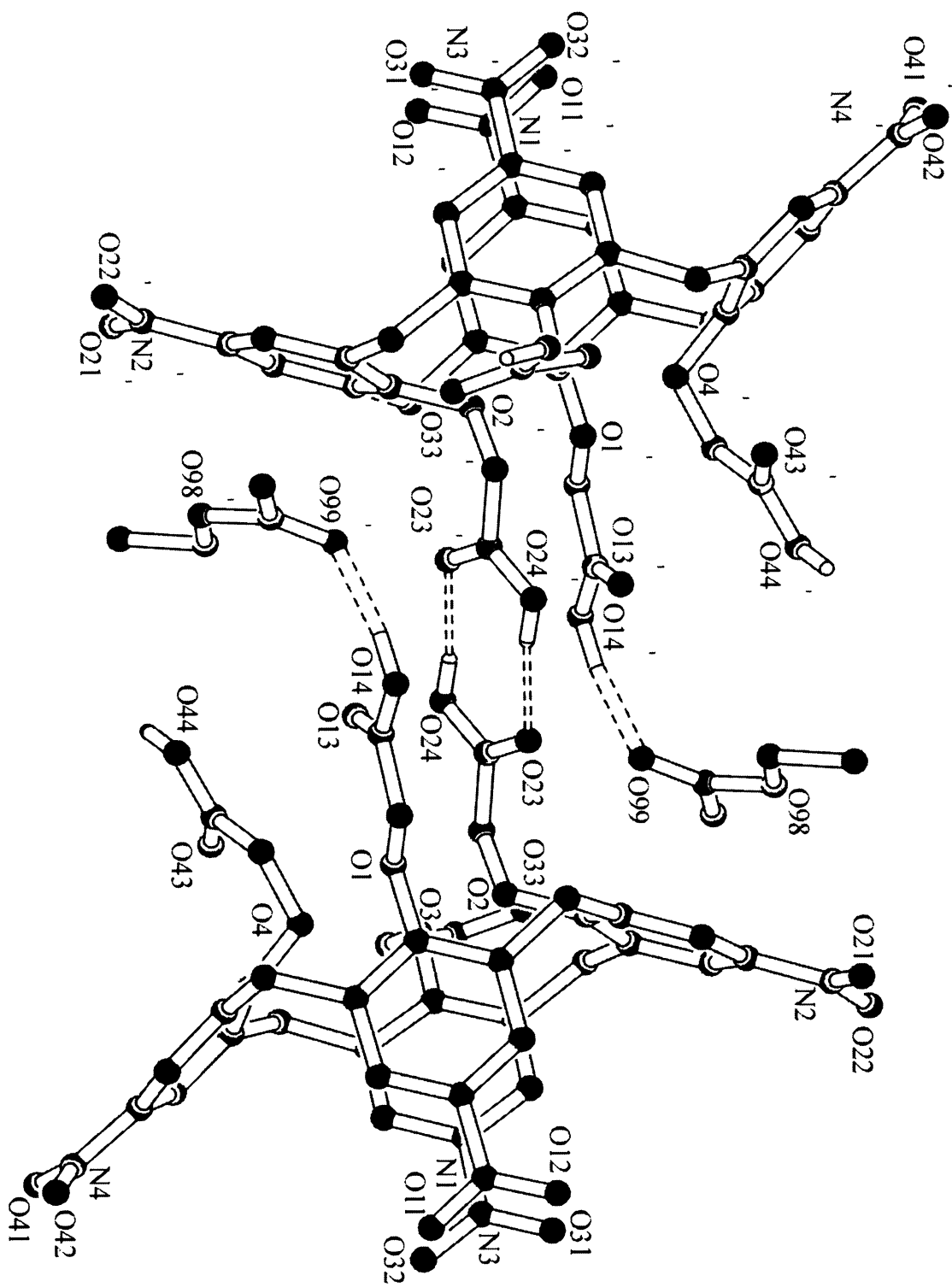
N1 ... N3	3.436(2)	C5 ... C17	10.206(2)
N2 ... N4	12.753(2)	C11 ... C23	3.987(2)
O1 ... O3	5.793(2)	C25 ... C27	5.236(2)
O2 ... O4	3.379(2)	C26 ... C28	5.632(2)
C22-C23-N1	118.9(2)	N1-C23	1.473(2)
C24-C23-N1	118.6(2)	N2-C5	1.472(2)
C4-C5-N2	118.1(2)	N3-C11	1.469(2)
C6-C5-N2	119.1(2)	N4-C17	1.465(2)
C10-C11-N3	118.9(1)		
C12-C11-N3	118.6(1)	N1-O11	1.220(2)
C16-C17-N4	118.4(2)	N1-O12	1.230(2)
C18-C17-N4	119.1(2)	N2-O21	1.231(2)
		N2-O22	1.221(2)
O11-N1-O12	124.0(2)	N3-O31	1.223(2)
O21-N2-O22	123.7(2)	N3-O32	1.226(2)
O31-N3-O32	123.4(1)	N4-O41	1.230(2)
O41-N4-O42	123.8(2)	N4-O42	1.227(2)
C5-N2-O21	117.8(2)	C17-N4-O41	117.8(1)
C5-N2-O22	118.5(2)	C17-N4-O42	118.3(1)
C11-N3-O31	118.4(1)	C23-N1-O11	118.2(2)
C11-N3-O32	118.2(1)	C23-N1-O12	117.8(2)
D-H ...A	DHA	D ... A	
O14-H14 ... O99 ⁱ	168.6	2.702	ⁱ ... -x+1, -y, -z+1

O24-H24 ... O23 ⁱ	171.4	2.664	
O34-H34 ... O33 ⁱⁱ	173.3	2.645	ii ... -x+2, -y, -z
O44-H44 ... O43 ⁱⁱⁱ	175.8	2.647	iii ... -x+2, -y, -z+1

parametr α	67.81(4)
parametr β	141.3(2)
parametr δ	14.4(2)



Obr. 4.6.2: Číslování molekuly NO₂kC₄A (karboxymethylenové skupiny byly kvůli přehlednosti vynechány)



Obr. 4.6.3: Vodíkové vazby v molekule $\text{NO}_2\text{kC4A}$

5 Závěr

Byl připraven a charakterizován nový, v literatuře dosud nepopsaný, *cone*-5,11,17,23-tetraamino-25,26,27,28-tetrakis(karboxymethoxy)kalix[4]aren. Byla odhadnuta jeho kyselá a bazická disociační konstanta a pomocí infračervené spektroskopie byla určena jeho iontová forma v pevném stavu. Byla prokázána jeho interakce s europitým a sodným kationtem. Komplexační i krystalizační pokusy byly výrazně ovlivněny nerozpustnými sraženinami, které vznikaly v důsledku tvorby zwitter-iontu.

Byla optimalizována syntéza *cone*-5,11,17,23-tetranitro-25,26,27,28-tetrakis(karboxymethoxy)kalix[4]arenu a určena jeho krystalová struktura. Molekula se nachází ve *flattened cone* konformaci. Geometrie molekuly je nejvíce ovlivněna π - π stackingem nitroskupin „horního“ kruhu. Kalix[4]arenové jednotky jsou propojeny prostřednictvím intermolekulárních vodíkových vazeb, které ale nemají na geometrii molekuly výrazný vliv. Podařila se pravděpodobně i krystalizace nikelnatého a měďnatého komplexu, vzniklé krystaly však nebyly dostatečně velké, aby mohly být charakterizovány pomocí rentgenové difrakce.

Literatura

- (1) Steed J.W., Atwood J.L., *Supramolecular Chemistry*, John Wiley&Sons, New York **2000**
- (2) Gutsche C., *Calixarenes in Monographs in Supramolecular Chemistry*, Cambridge: the Royal Society Of Chemistry, **1989**
- (3) Palatinusová L., *Bakalářská práce, Stereochemie komplexů kovů se substituovanými kalix[n]areny*, **2005**
- (4) Lhoták P., *Struktura a konformace kalix[n]arenů*. Dostupné online na [http://uoch.vscht.cz/Skupiny/Lhotak/my_webs/Struktura a konformace.htm](http://uoch.vscht.cz/Skupiny/Lhotak/my_webs/Struktura_a_konformace.htm)
- (5) Jin T., Kinjo M., Koyama T., Kobayashi Y., Hirata H., *Langmuir*, **12**, 2684, **1996**
- (6) Chakeres D. W., Schmalbrock P., *Fundamentals of magnetic resonance imaging*, Williams & Wilkins, Baltimore, **1992**
- (7) Buděšínský M., Pelnář J., *Nukleární magnetická rezonance*, 25. svazek cyklu *Organická chemie*, ÚOCHB AV ČR, Praha **2000**
- (8) Hermann P. , Kotek J. , Kubíček V. , Lukeš I., *Dalton Trans.*, 3027, **2008**
- (9) P. Lebdušková, P. Hermann, L. Helm, E. Tóth, J. Kotek, K. Binnemans, J. Rudovský, I. Lukeš, A.E. Merbach, *Dalton Trans.*, 493, **2007**
- (10) J. Rudovský, J. Kotek, P. Hermann, I. Lukeš, V. Mainero, S. Aime, *Org. Biomol. Chem.*, 3, 112 , **2005**
- (11) P. Lebdušková, J. Kotek, P. Hermann, L. Vander Elst, R.N. Muller, I. Lukeš, J. A. Peters, *Bioconjugate Chem.* 15, 881, **2004**
- (12) Volkmer D., Fricke M., Vollhardt D., Siegel S., *J.Chem.Soc.,Dalton Trans.*, 4547, **2002**
- (13) Asfari Z.,Harrowfield J.M, Thuery P., Nierlich M., Vicens J.E., *Aust.J.Chem.*, 52, 403, **1999**
- (14) Volkmer D., Fricke M., *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 629, 2381, **2003**
- (15) Beer P. D., Drew M. G. B., Gale P. A., Ogden M. I., Powell H. R.,

CrystEngComm, 2, 164, 2000

- (16) Di Costanzo L., Geremia S., Randaccio L., Purrello R., Lauceri R., Sciotto D., Gulino F., Pavone V., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 40, 4245, **2001**
- (17) Gulino F. G., Lauceri R., Frish L., Evan- Salem T., Cohen Y., De Zorzi R., Geremia S., Di Costanzo L., Randaccio L., Sciotto D., Purrello R., *Chem.- Eur. J.*, 12, 2722, **2006**
- (18) Černý J. V., Černý M., Paleček M., Procházka M., *Organická synthesa*, 548, Academia Praha 1971
- (19) Arnaud-Neu F., Collins E. M., Deasy M., Ferguson G., Harris S. J., Kaitner B., Lough A. J., McKervey M. A., Marques E., Ruhl B. L., Schwing-Weill M. J., Stewardt E. M., *J. Am. Chem. Soc.*, 111, 8681, **1989**
- (20) Verboom W., Durie A., Egberink R. J. M., Asfari Z., Reinhoudt D. N., *J. Org. Chem.*, 57, 1313, 1992
- (21) Klimentová J., Vojtíšek P., Sklenářová M., *J. Mol. Struct.*, 33, 871, **2007**
- (22) Horák M., Papoušek D., *Infračervená spektra a struktura molekul*, Academia Praha **1976**